

《日本農芸化学会賞》

ガ類性フェロモン産生の分子機構に関する生物有機化学的研究



独立行政法人理化学研究所基幹研究所 主任研究員 松本正吾

オスのガが同種のメスのガにひきつけられる現象は古くから知られており、ファーブルは「昆虫記」の中で、メスの発散する因子によりオスが誘引されることを記述した。この事実に基づき、Butenandt(独)はカイコガを用いてその化学的実体解明に着手し、20年を費やした1959年に初めて、その性誘引物質としてボンピコールの化学構造を明らかにした。ButenandtとKarlsonはこの時、ボンピコールのように同種の他の個体に作用する生理活性物質を、ギリシャ語の *pherein* (運ぶ) と *hormon* (興奮させる) にちなんで *pheromone* (フェロモン) と命名した。それ以降、特異的かつ強力な生理活性物質であるフェロモンの化学的実体解明は、生理学的・生態学的興味とも相まって、多くの化学者、生物学者をひきつけてきた。特に、ガ類昆虫の性フェロモンは、主要な農業害虫が鱗翅目昆虫(ガの仲間)であることから、害虫防除への応用が期待され、これまでに500種以上のガ類の性フェロモンが同定されている。しかし、これら昆虫の種特異的な性フェロモンがどのような分子基盤に立ち、どのような調節機構と機能分子のカスケードを経て産生されるのかという基礎的な問題は明確には理解されていない。

これまで私は、フェロモン研究史において特別な意味をもつカイコガをモデルとして、ガ類性フェロモン産生の分子メカニズムの全体像の解明を目指してきた。その過程で、フェロモン腺細胞では羽化前後にボンピコール産生に向けたさまざまなイベントが協奏的かつダイナミックに進行することを見だし、この過程をフェロモノジェネシスと名づけるとともに、個々のイベントの成り立ちを分子レベルで解明することを試みてきた。そして、有機化学、生化学、分子生物学のさまざまな手法を駆使した解析を包括的に進めることで、その概容を明らかにした。以下に、私が携わった研究の主な成果を概略する。

1. 脂肪滴の化学的実体とその役割

カイコガのフェロモノジェネシスでは、羽化1~2日前より細胞質への大規模な脂肪滴の蓄積が起こるとともに、さまざまなフェロモン腺特異的遺伝子の斉一な転写活性化が起こる。一方、羽化後に神経ホルモンPBAN (Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide) の外部刺激をフェロモン腺が受容すると、細胞外 Ca^{2+} の細胞内流入、脂肪滴の分解(リポリシス)が連動して進行し、ボンピコールが合成される。まず、フェロモン腺細胞に特徴的な脂肪滴の役割を明確にするため、その構成成分を単離・構造解析した結果、脂肪滴の主要成分は、ボンピコール前駆体を主要な構成脂肪酸とするさまざまな分子種からなるトリアシルグリセロールであり、脂肪滴がPBAN刺激に応答してボンピコール前駆体を切り出す性フェロモン前駆体の貯蔵体として機能していることを明らかにした。

2. ボンピコール生合成酵素遺伝子の単離

ボンピコール産生の分子基盤とそこにかかわるタンパク性機

能分子の同定を目的として、フェロモン腺で発現する遺伝子の網羅的解析を進めた。まず、カイコガ純系系統p50のフェロモン腺より平均化cDNAライブラリーを作成し、2000クローンをカタログ化することでフェロモン腺EST (Expressed Sequence Tag) データベースを構築した。さらに、ESTクローンの発現プロファイルより数多くのフェロモン腺特異的遺伝子を浮き彫りにした。これらの遺伝子の中から、ユニークな2種類のボンピコール生合成酵素遺伝子 *pgdesat1* および *pgFAR* の同定に成功した。*pgdesat1* は脂肪酸不飽和化酵素で、飽和脂肪酸(パルミチン酸)に2段階の反応で共役ジェンを導入するbifunctionalな新規の不飽和化酵素であり、われわれの発表を契機に、ガ類における多様なフェロモン腺特異的 multifunctional 不飽和化酵素ファミリーの存在が明らかとなった。一方、*pgFAR* は動物から初めて同定された脂肪酸アシル還元酵素で、われわれの発表を契機に、ヒト、マウスにおける皮脂ワックス生成にかかわる長鎖脂肪酸アシル還元酵素が同定された。また、*pgFAR* の酵母での機能発現解析において、本酵素遺伝子を導入した形質転換酵母がカイコガ雄成虫を誘引したことから、本研究は、フェロモン生合成酵素遺伝子で形質転換した異種生物による害虫の交信(配偶行動)攪乱という応用面での可能性をも示すこととなった。

3. PBAN受容体遺伝子の単離とフェロモン腺でのRNAi法の確立

ガ類性フェロモンの産生において中枢の役割をもつPBAN受容体(PBANR)遺伝子は、縮重プライマーを用いたRT-PCRにより単離し、PBAN受容体がほ乳類の生理活性ペプチドであるニューロメジンU受容体ファミリーに属する7回膜貫通型Gタンパク質結合型受容体(GPCR)であることを示した。さらに、遺伝子機能の新たな解析手法として、カイコガ個体を用いた *in vivo* でのRNA干渉法を確立し、この方法を用いてPBAN受容体を含めた5種類のフェロモン腺特異的遺伝子(*pgdesat1*, *pgACBP*, *mgACBP*, *pgFAR*, *PBANR*)のボンピコール産生過程における役割を *in vivo* で実証した。

4. PBAN刺激に伴う細胞内シグナリングのカスケード

PBAN刺激の際、フェロモン腺の培養系ではいずれのガにおいても細胞外 Ca^{2+} の存在が必須であるため、PBANシグナリングは細胞外からの Ca^{2+} の流入を伴うものと考えられていたが、この事実は直接証明されていなかった。われわれはボンピコール産生細胞における蛍光 Ca^{2+} イメージングを行い、PBAN刺激に伴う細胞外 Ca^{2+} の動員を初めて視覚的にとらえることに成功した。さらに、生化学的、分子生物学的、薬理学的的手法を用いてPBAN受容体を介したシグナル伝達系を解析し、PBAN刺激が、三量体型Gタンパク質Gq、イノシトール1,4,5-トリスリン酸(IP₃)を介したカノニカル経路により、小胞体 Ca^{2+} ストアの枯渇に応答して活性化されるストア作動性

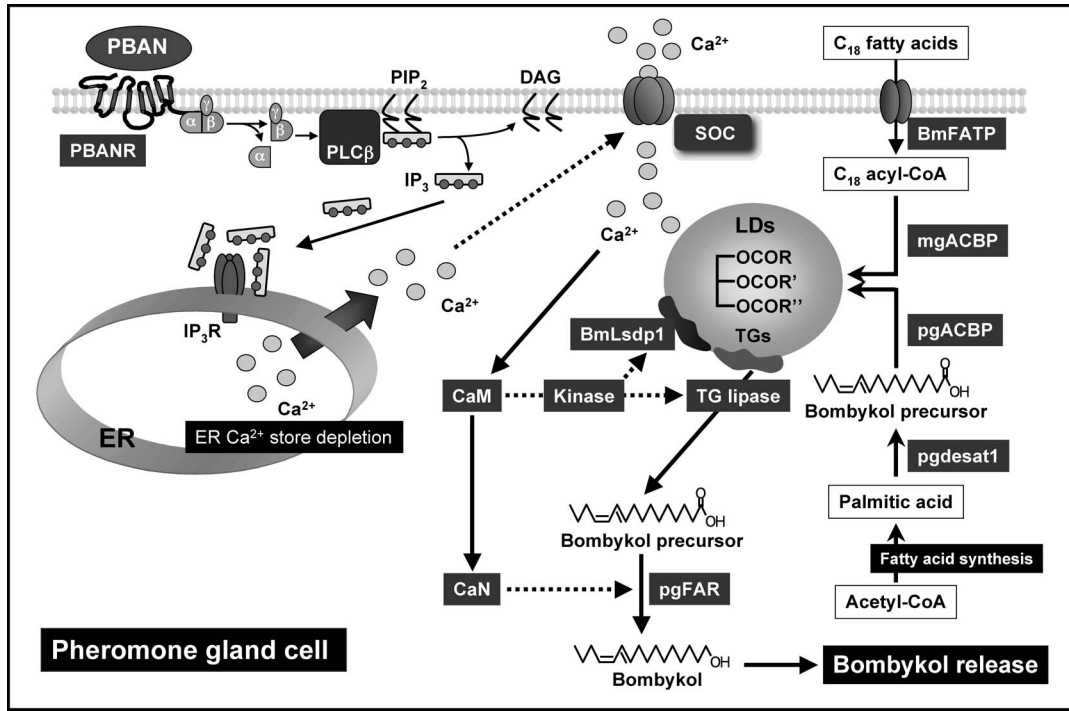


図 1 カイコガ性フェロモン産生の分子機構

Moto et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 9156–9161 (2003); Hull et al.: *J. Biol. Chem.*, **279**, 51500–51507 (2004); Moto et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8631–8636 (2004); Ohnishi et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 4398–4403 (2006); Hull et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 1993–2001 (2007), ほか

Ca²⁺チャネルを開口することを示した。

以上の研究成果を含め、これまでのわれわれの研究から、性フェロモン合成のシグナルであるPBANの受容から性フェロモン（ボンピコール）生成に至る一連の過程が初めて明らかになった（図参照）。

ガ類性フェロモンの産生機構に関する研究は、1980年代初頭よりRoelofsら（米国）が始めた生成研究に加え、1989年の鈴木ら（東大）によるPBANの一次構造決定が契機となり、主にカイコガやタバコガ類を用いて進められた。カイコガは大型のフェロモン腺と比較的シンプルな生成経路をもつため、実験系としての利点が多く、われわれは脂肪滴の役割やボンピコール生成酵素（pgdesat1, pgFAR）、PBAN受容体というキーとなる機能分子のすべてを解明することに成功した。また、われわれが確立したカイコガ個体でのRNAi法は、個々の分子のフェロモン腺での機能を*in vivo*で実証するうえで、極めて重要な役割を果たした。さらに、最近の研究から、われわれはストア作動性Ca²⁺チャネル（SOC channel）を介したPBANの細胞内シグナル伝達の流れを解明するとともに、PBANシグナルが最終的にリン酸化、脱リン酸化を介してリポリシスやアシル基の還元過程を活性化する機構を提示した。ゲノムが解読され、さまざまな遺伝子情報が入手できるカイコガは、今日、ガ類昆虫の類ないモデル昆虫となっており、本研究はその特性を活かしたものと見える。

おわりに

ガ類性フェロモン産生過程は、ホルモン受容体を介した細胞

内シグナル伝達やカルシウムシグナリングという生命科学における重要なテーマを包含するとともに、リポジェネシスやリポリシス、脂質の細胞内取り込みや細胞内輸送およびそれに伴うメンブレントラフィックなど、脂質生物学における重要課題を数多く含む昆虫特有の脂質合成系である。したがって、この脂質合成系をターゲットとした包括的な研究は、昆虫固有の生命現象の理解とその成果に基づく応用面での展開（例えば、フェロモン生成酵素遺伝子を利用した新たな害虫制御技術の開発など）のみならず、基礎面では、その成果を他の生物にフィードバックすることで生物共通の脂質生物学の発展にも寄与するものであると確信している。

本研究は、独立行政法人理化学研究所基幹研究所で行ったものであり、本研究の推進にあたられましたAdrien Fonagy（ハンガリー科学アカデミー）、小澤理香（現京大）、吉賀豊司（現佐賀大）、本賢一（理研）、大西敦（理研）、J. Joe Hull（現ワイオミング大）各氏の協力と努力なしには成し得なかったものです。ここに心から御礼申し上げます。また、多大なご協力をいただきました理研・松本分子昆虫学研究室の阿津澤新二、栗原政明両氏をはじめ、研究員、技師、大学院生、かつて在籍した多くの方々ならびに、理研内および他研究機関の数多くの共同研究者の方々にも厚く御礼申し上げます。最後に、学生時代より長年にわたり温かいご指導をいただきました東京大学名誉教授田村三郎先生、同鈴木昭憲先生、東京大学大学院農学生命科学研究科教授長澤寛道先生に深く感謝いたします。