

昆虫の脂肪酸-アミノ酸縮合物 (FACs) の生理・生態学的機能解析



京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 助教 吉永直子

はじめに

「虫食いキノコなら食べても大丈夫」というのは迷信だと言われるが、「野菜の虫食いは安全な証拠」という俗説はどうだろう。昆虫の食害や菌感染に反応して植物が有毒物質を産生することは以前から知られており、食卓に並ぶ植物にもそうした例はある。これら“天然農薬”の発癌性は合成農薬のそれと変わらず、日々の摂取量としては残留農薬よりも多いとする報告もある。もちろん動物は幅広い解毒能力を獲得してきたため、いずれの毒性も問題になるレベルではない。注目したいのは、虫の食害によって想像以上に植物内の二次代謝が動いている点である。食害からわずか数時間で遺伝子が発現し、植物体全体でポリフェノールやタンニン、フラボノイド等の誘導が観察できる。これら二次代謝物には、昆虫に対する直接的な摂食・代謝阻害物質も含まれる。一方で、トウモロコシやワタの葉が鱗翅目幼虫に食害された際に放出するインドールやテルペノイドを含んだ甘い香りは、幼虫の食害に直接は影響せず、幼虫の天敵である寄生蜂がこれら揮発成分を手がかりに飛来することから間接防御物質として機能すると考えられている。また一説には、テルペノイド類の誘導は食害によって媒介される病原菌の感染を阻止するための考えもある。誘導される多様な化学物質の中で、目的や機能がわかっているものは多くない。

昆虫の唾液中から、植物に代謝変動を引き起こす化学因子(エリシター)が次々と発見されてきた。脂肪酸-アミノ酸縮合物 (Fatty acid amino acid conjugates, FACs, 図1) もその一つで、1997年にシロイチモジヨトウ幼虫の唾液から同定された。昆虫由来エリシターの中では最も研究が進んでおり、トウモロコシやタバコ、ナス、ダイズなど多様な植物に対してエチレン・ジャスモン酸等植物ホルモンやプロテアーゼインヒビターを誘導するが、最も顕著なのは揮発成分の誘導である。傷つけた葉に FACs を nmol オーダーで塗布するだけで、食害時と同じ組成で揮発成分の生合成・放出が確認でき、再現性も高い。本研究は、昆虫が自身の生存に不利に働くエリシターを何故持っているのかに着目し、FACsの生理・生態学的な機能の探索を試みた。

1. ハスモンヨトウ幼虫における FACs 生合成機構と生理機能の解明

FACs は微生物が作る界面活性剤と構造が似ている。シロイチモジヨトウ幼虫腸内から単離された細菌がほぼ全てのアミノ酸と脂肪酸を非特異的に縮合することが報告され、FACs は共生微生物由来の界面活性剤であるとの説が一時的有力となった。しかしながら、本種幼虫が持つ FACs はグルタミンと脂肪酸の縮合物のみであり、界面活性能という点ではアミノ酸部分をグルタミンに限る理由がない。筆者らは他のアミノ酸(ロイシン, フェニルアラニン, スレオニン, プロリン)と脂肪酸の縮合物はトウモロコシ幼苗に対してエリシター活性が

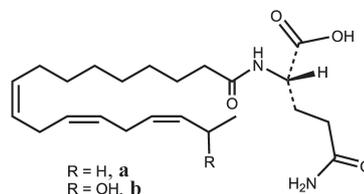


図1 代表的な FACs の化学構造

ないことを確認している。安定同位体でラベルしたアミノ酸をハスモンヨトウに与え、その吐き出し液を LCMS で分析することで、腸管中のアミノ酸濃度に依存することなくグルタミンが特異的に FACs に縮合されることを見出した。グルタミンが昆虫 FACs の生理機能解明の鍵ではないかと筆者らが考えるようになった発端である。そこで ¹⁴C, ¹³C や ¹⁵N でラベルした脂肪酸・アミノ酸・アンモニアを幼虫に与え、一定時間後の各組織における代謝物を LCMS 分析等によりトレースすると共に、*in vivo* ¹⁵N-NMR により虫体全体における FACs 関連化合物の動態を調べた結果、図2のような吸収・代謝の流れを明らかにした。FACs の生合成と腸管内腔への排出はグルタミン合成酵素の活性化に関わっていると考えられ、老廃物アンモニアの取り込みを促進すると予測した。すなわち FACs はグルタミンのリザーバーとして機能し、その生合成/分解を通じて、窒素代謝の効率化に役立っているという仮説である。実際に、餌中の脂肪酸含量を限りなくゼロにすることで FACs の生合成を抑えたところ、幼虫の窒素同化効率は大きく下がった。残念ながらこの方法では、餌中脂肪酸が異化されることで幼虫のグルタミン代謝に寄与する可能性を排除できていない。FACs 生合成酵素をノックアウトするなどして傍証を固める必要があり、現在、ゲノム編集による新プロジェクトを進めている。FACs が界面活性剤としても機能している可能性は否定できないが、グルタミン代謝の効率化が幼虫にとって本来の役割であるとすれば、植物の防御応答を誘導しない他のアミノ酸縮合物で代用する昆虫が今のところ見つかっていない理由が説明できる。

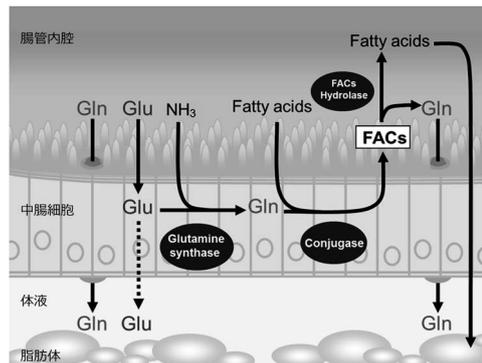


図2 ハスモンヨトウ中腸細胞における FACs 関連代謝物の動態

2. FACs類縁体とエリシター活性

FACsのエリシター研究は主に欧米で進められてきたが、対象昆虫はわずか数種に限られていた。そこで鱗翅目約30種を対象にFACsの有無を調べたところ、3分の2が保有種であった。類縁体プロフィールは個体レベルでわずかな差があるものの、採取年度や産地、幼虫の齢、餌の違いに関係なく一定の比率を示したことから、種特異的であると考えている。これらのFACパターンを鱗翅目の分岐図上に並べると、意外なことが見えてきた。FACsを持つ種と持たない種が同じ科の中でも混在しており、比較的初期に分化したハマキガ科、ボクトウガ科、キバガ科でFACsを持つ種もいれば、スズメガ科のように派生的なグループでもFACsを持たない種が散見された(図3)。進化的背景とは無関係なように見えたが、FACsの類縁体のパターンに着目するといくつか法則性があった。まず、最もシンプルなグルタミンと脂肪酸の縮合物であるグルタミン型(図1a)はFACsを持つ種全てに共通で見つかっており、オーソドックスなFACsである。これに対し、グルタミン部位がグルタミン酸に置き換わった類縁体を併せ持つ種が数種見つかり、中にはグルタミン酸型が優占する種もあった。グルタミン型FACsが窒素代謝の効率化に関わるならグルタミン酸型FACsにも相応の役割があるように思えるが、その説明は今後の課題である。エリシター活性はというと、ナス科植物のタバコやナスなどグルタミン・グルタミン酸型の区別無く反応する植物もあるが、トウモロコシのようにグルタミン酸型FACにあまり反応を示さない植物もある。逆にグルタミン酸型にしか反応しない植物というのは報告例がなく、グルタミン酸型を持つ方が概してリスクは低いと言えるのかもしれない。アミノ酸部位はこの2型しかないが、脂肪酸の17位に水酸基が導入さ

れたFACs(水酸化型)もある。水酸化型は比較的新しい大型蛾類(Macroheterocera)以降の種でしか見つかっていないが、この分岐群には農業害虫として著名な種が多く含まれ、報告例としては多い。敢えて水酸化するにはそれなりの理由がありそうだが、生理機能はまだわかっていない。水酸化型の一つである volicitin(図1b)は植物揮発成分を誘導する昆虫エリシターの第一号であり、トウモロコシに対するエリシター活性は非水酸化型(図1a)より数倍高い。この水酸基が18位にある珍しい水酸化型FACsをタバコスズメ幼虫から発見した。本種はナス科植物の害虫であり、自然条件下でトウモロコシを食害することは無い。そこで、17位ではなく18位が水酸化された volicitin を合成してトウモロコシ幼苗に処理したところ、水酸基があるにもかかわらず、非酸化型と同程度の揮発成分誘導活性しか持たないことがわかった。同様のアッセイを本種の食草であるナスやタバコで行ったところ、これらナス科植物に対しては17位酸化型と同様に強いエリシター活性が見られた。これらの結果から、植物は自身の害虫が持つFACsパターンに合わせて防御機構をカスタマイズしてきた可能性が示唆された。

おわりに

最近になって、コオロギ(直翅目)やショウジョウバエ(双翅目)からもFACsを発見した。類縁体のバリエーションは鱗翅目のFACsと同じであったことから、昆虫の祖先種に遡るほどの歴史をFACsがもつ可能性が考えられる。その場合、バッタやカメムシのようにFACsをもたない昆虫の方が多数派である点に注意を払う必要がある。また、コオロギやショウジョウバエが水酸化型を持つことと鱗翅目の祖先種により近い種が水酸化型を持たないことが矛盾なく説明されねばならない。逆に、それぞれの昆虫目で個別にFACsが獲得されてきたとすれば、食性・生態ともに共通点の乏しい昆虫間で収斂進化が起きたことになる。そこで、コオロギとショウジョウバエ、タバコスズメの3種(グルタミン酸型優占)と鱗翅目4種(グルタミン型優占)でFACs生合成特性を比較した。これらの腸管を取り出し、グルタミンまたはグルタミン酸を基質として *in vitro* でFACsを合成させたところ、全ての種においてグルタミン型が優占したことから、FACs縮合酵素のアミノ酸基質特異性は似ていることが示された。一方、コオロギだけがグルタミン型FACsをグルタミン酸型FACsに直接変換でき、実際にかかなりのグルタミン酸型FACsをこのルートで生合成することも明らかになった。祖先種からの遺伝形質なのか、あるいは収斂進化の結果なのか、決着が着くのはもう少し先の話になる。

本研究は学生時代から今日まで京都大学農学研究科応用生命科学専攻化学生態学分野で行われたもので、直接ご指導頂いた森直樹准教授を始め、西田律夫教授、桑原保正教授にこの場を借りて御礼申し上げます。この間、先輩・後輩のご協力並びに同専攻の諸先生方のご尽力も不可欠でした。深く感謝します。また受賞成果にはペンシルヴェニア州立大学James H. Tumlinson博士のもとに留学した4年間の成果を含みます。長期間に亘ってテーマを一貫できたことが本研究の展開に重要であり、ご支援頂いた京大白眉プロジェクトやJSPSに感謝申し上げます。最後になりますが、本賞にご推薦頂きました日本農芸化学会関西支部長の内海龍太郎先生ならびにご支援賜りました諸先生方に厚く御礼申し上げます。

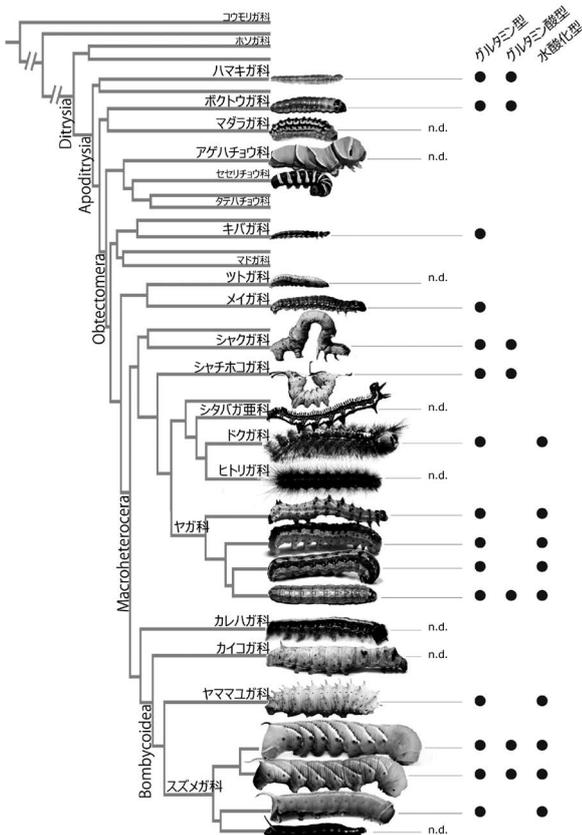


図3 鱗翅目昆虫の分岐図とFACsの類縁体パターン