特集:昆虫ホルモン研究の現状と問題点〔3〕

## エクジステロイド研究の現状

農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所 田 中 良 明

### はじめに

昆虫の脱皮,変態は前胸腺から分泌される脱皮ホルモンによって引き起こされる。このホルモンはエクダイソン (エクジソン) というステロイドホルモンであり,1953 年に Karlsonと Butenandtによってカイコ蛹から単離,構造決定された最初の昆虫ホルモンである。その後エクダイソンより極性の高い20-ハイドロキシエクダイソンをはじめとして様々な脱皮ホルモン活性物質及びその類似化合物が発見され,これらを総称してエクジステロイドと呼んでいる。エクジステロイドは昆虫のみならず無脊椎動物に広くその存在が確認されているが,植物からも昆虫と同じエクジステロイドばかりでなくポナステロン,イノコステロンなど植物特有のエクジステロイドが発見され,現在のところ,動物からは60種類以上(Rees,1989),植物からは70種類以上(Lafont and Horn,1989)発見されている。

多くの昆虫では、エクダイソンと 20-ハイドロキシエクダイソンの二つが主要なエクジステロイドである。ところが、エクダイソンは培養系における実験で 20-ハイドロキシエクダイソンよりも生物活性が低く、また体内で 20-ハイドロキシエクダイソンに速やかに変換されることから、エクダイソンはホルモンとしての作用を持たないプロホルモンであり、20-ハイドロキシエクダイソンがホルモンとして作用するという説が今のところ支配的である。したがって、エクジステロイドの作用に関する研究では、20-ハイドロキシエクダイソンのみが使われている場合が多い。しかしながら、後述するようにエクダイソンが特異的な作用を持つという報告もしばしばなされている。

エクジステロイドの作用機構は、脊椎動物のステロイドホルモンとほぼ同じである。エクジステロイドは細胞膜を通過して細胞質から核内に入ってエクダイソンリセプター(EcR)と複合体を形成し、Ecdysone response element (EcRE) と呼ばれる DNA 上の特定領域に結合して遺伝子の転写を調節する。EcR は昆虫のホルモンリセプターとしてはショウジョウバエから初めて単離さ

Recent Advances in the Action of Ecdysteroids. By Yoshiaki Tanaka

れ、その後カやタバコスズメガ、ハチミツガ、チャイロコメゴミムシダマシ、カイコなどいくつかの昆虫でもEcR が単離されている。また、最近ではEcRE の解析も盛んに行われており、分子レベルでの作用機構の解析は昆虫ホルモンの中でもエクジステロイドが最も進んでいるといえる。

しかしながら、脊椎動物と昆虫ではその作用に大きな違いがある。脊椎動物の場合、性ホルモンやコルチコイド、ビタミン D など様々なステロイドホルモンがあり、それぞれが特異的な作用を担っている。一方、昆虫の場合、エクジステロイドが脱皮、変態のみならず生殖器官の発育などあらゆる形質の発現を調節している。しかも、エクジステロイドの作用は器官や発育時期によって異なっており、複雑である。なぜ1種類のホルモンがこのように多彩で複雑な作用を示すのであろうか?最近の分子生物学的手法を用いた研究によって、この疑問が明らかになりつつある。

#### I エクジステロイド作用の分子機構

#### 1 ASHBURNERのモデル

エクジステロイドが脱皮,変態を制御する分子機構 は、1974年に ASHBURNERらが行ったショウジョウバエの 唾腺染色体のパフの誘導に関する研究が基になっている (Ashburner et al., 1974)。幼虫の唾腺染色体をエクジス テロイドと培養すると直ちにいくつかのパフ (early パ フ) が誘導される。 さらに 4~5 時間培養を続けると earlyパフは退化し、別のパフ (lateパフ) が誘導される。 このときタンパク合成阻害剤を加えると early パフの誘 導は阻害されないが late パフの誘導は阻害される。こう した結果から彼らは以下のようなモデルを提唱した。エ クジステロイドが分泌されると、エクジステロイドは EcR と結合してエクジステロイド-EcR 複合体を形成 し、earlyパフを誘導する。このパフの産物はDNA結合 因子であり、lateパフを活性化させるとともに自身に対 し負のフィードバック効果を示す。一方, late パフは変 態・脱皮に直接関連する遺伝子をコードしており、エク ジステロイドによって抑制されるが early パフの産物に よって活性化され、lateパフの産物が脱皮・変態を引き 起こす (図-1)。

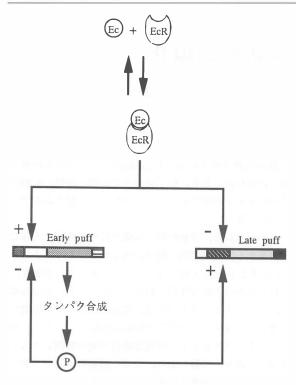


図-1 エクジステロイドの作用の古典的モデル (ASHBURNER et al., 1974より改変) Ec;エクジステロイド, EcR:エクダイソンリセプ ター, P; early 遺伝子の転写産物。

現在では分子生物学的手法により、earlyパフに属する遺伝子のうち特に BR-C、E74、E75 などが詳しく研究され、それらが実際に DNA 結合因子をコードしていて earlyパフや lateパフに結合することが明らかになった。これら earlyパフ遺伝子は複数のプロモーターを持ち、また、スプライシングの違いによって複数のmRNA が生じ異なる遺伝子産物ができる。異なるプロモーターはエクダイソン濃度に対する反応が異なっている場合があり、また、プロモーターから転写される転写物の長さの違いにより転写産物が生ずるタイミングが微妙にずれる。したがって、エクジステロイド濃度の上昇に伴って様々な転写調節因子が、しかも時間的ずれを持って発現することによりきわめて微妙で複雑な遺伝子制御が行われていると考えられる(林・上田、1993)。

ところで、ショウジョウバエでは蛹への変態期には終齢幼虫後期と前蛹後期に二度エクジステロイドが分泌される。この時期に特異的に誘導されるパフがあり、前蛹後期のエクジステロイド分泌直前に誘導されるパフをmid prepupal パフ、分泌とともに誘導されるパフを late prepupal パフと呼んでいる。mid prepupal パフの中に

はFTZ-F1などステロイドホルモンスーパーファミリーに属するDNA結合因子をコードしている遺伝子があり、また late prepupal パフの一部は early パフと同一である。mid prepupal パフは、終齢幼虫の唾腺をエクジステロイド存在下で培養した後、次に非エクジステロイド存在下で培養すると誘導される。そして、これらのパフの誘導がないと late prepupal パフはエクジステロイドに反応しない。これらのことは、この時期には Asheburnerの提唱したモデルよりさらに複雑な遺伝子発現機構が存在し、それがエクジステロイド濃度の変化によって綿密に制御されていることを示唆している(林・上田、1993)。

#### 2 リセプターレベルでの多様性

エクジステロイドは EcR と複合体を形成して DNA 上の EcRE に結合すると考えられていたが、最近の研究 からエクジステロイド-EcR 複合体が EcRE に結合する には別の因子が必要であることが明らかになってきた。 脊椎動物の場合, 性ホルモンや副腎皮質ホルモンなどの ステロイドホルモンリセプターはホモ2量体を形成して DNA 上の応答配列に結合するが、ビタミン D リセプタ ーや非ステロイドであるレチノイン酸や甲状腺ホルモン のリセプターは他のステロイドホルモンリセプターとへ テロ2量体を形成する (梅園, 1993)。 特に重要なのはレ チノイドxリセプター (RXR) で $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ の三つのタイ プがあり、これらのリセプターは RXR との組み合わせ を変えることによって DNA 上の異なった応答配列を認 識することができ、多様な作用を引き起こすと考えられ ている。最近昆虫でも RXR と同じタイプのステロイド ホルモンリセプターである ultraspiracle (usp) が単離さ れ,これが EcR とヘテロ2量体を形成することが DNA やエクジステロイドに結合するために必要であることが 明らかにされた。ステロイドホルモンリセプタースーパ ーファミリーに属する因子は、他にも early 遺伝子であ るE75の産物や、early遺伝子の発現直後に誘導される early-late 遺伝子に属する DHR 3 などがある。これら が何をリガンド (特異的に結合する物質) としているか は現在のところ不明であるが、EcR とヘテロ2量体を形 成する, あるいは EcR 以外の因子と 2 量体を形成するこ とによって多様な作用を発現する可能性が考えられる (図-2) (RICHARDS, 1992)。しかしながら、FTZ-F1のよ うに単量体として応答配列に結合することができる因子 もあるため、昆虫でも脊椎動物でみられるようなリセプ ターの組み合わせに多様性があるかどうかは今後の研究 の進展を待つ必要がある。

一方, EcR 自体の多様性がエクジステロイドの発育時

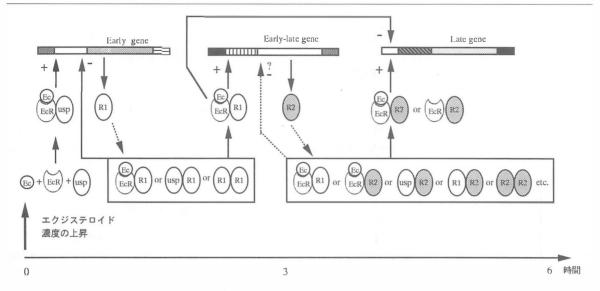


図-2 新しいエクジステロイドの作用モデル (Richards, 1992より改変) usp:ultraspiracle, R1・R2:ステロイドホルモンリセプター

期特異的、器官特異的作用の発現に関与することが推測 されている。例えば、変態期における神経細胞死は細胞 選択的におこるが、こうした選択的細胞死には EcR のタ イプ (アイソフォーム) の違いによっておこることが示 唆されている。ショウジョウバエの EcR は A、B 1、B 2の3種類のアイソフォームが存在する。これらのリセ プターは一つの EcR 遺伝子から作られ、共通する DNA 結合領域とリガンド結合領域を持つが、遺伝子活性化領 域が異なっている。蛹化前の幼虫の神経細胞ではAとB 1のタイプが発現しているが、蛹化後は A の発現を示す ようになる。特に幼虫由来の細胞のうち約300の細胞は A タイプの非常に強い発現を示すようになり、その発現 は蛹期間中続き、それらの細胞のほとんどは羽化後細胞 死を起こして死ぬ。したがって、細胞死を起こすかどう かという選択が、発現する EcR のタイプの違いにより調 節されている可能性が考えられる (Robinow et al., 1993)。

このように、エクジステロイドはそのリセプター自身の多様性、またリセプターとパートナーを形成する因子との多様な組み合わせにより、一つのホルモンの作用を増幅し多彩な作用を引き起こしていることが現在明らかにされつつある。

# Ⅲ エクダイソンはホルモンとして作用するか?

一方, EcR のリガンドになるエクジステロイドの多様性, 例えばエクダイソンの特異的な作用については, 現

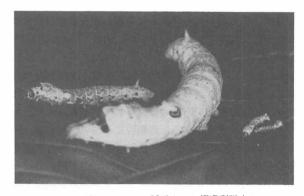


図-3 エクダイソンにより誘導された超過剰脱皮カイコ 幼虫

左:エクダイソン処理された10齢幼虫(孵化後25日),中央:無処理の5齢幼虫(孵化後25日),右:エクダイソン処理された5齢幼虫(孵化後10日).

在のところあまり調べられていない。特にショウジョウバエではエクダイソンは EcR に結合しないことから、エクダイソンの作用はほとんど無視されており、論文でもエクダイソンを 20-ハイドロキシエクダイソンの略称、あるいはエクジステロイドの総称として誤って用いている場合が多い。しかし、1960 年代からいくつかの昆虫でエクダイソンが特異的な作用を持つという報告がなされている。例えばハエの一種の唾腺染色体ではエクダイソンと 20-ハイドロキシエクダイソンで誘導されるパフが異なるし、チャイロコメゴミムシダマシの蛹表皮を培養すると、エクダイソンや 20-ハイドロキシエクダイソン

単独ではなく,両方投与した場合にのみ正常に成虫表皮が形成される。また,オオモンシロチョウでは,20-ハイドロキシエクダイソンのピークではなくエクダイソンのピークに一致していくつかの特異的な生理現象がおこる。これらの結果はエクダイソンもホルモンとして作用し,また20-ハイドロキシエクダイソンとは異なった作用を持つことを示唆するものであるが,残念なことにこれらはごく一部の虫でしか起こらない特殊な現象とみなされてしまっていた。

ところが、最近になって我々の研究室でもこの二つの ホルモンの異なった作用が発見された。エクダイソンや 20-ハイドロキシエクダイソンを人工飼料に混ぜてカイ コ幼虫に食べさせた場合, エクダイソンを食べたカイコ 幼虫は10回以上もの幼虫脱皮(超過剰幼虫脱皮,図-3) を繰り返す (Tanaka and Takeda, 1993 a)。一方, 20-ハ イドロキシエクダイソンを食べさせた場合,1回目の脱 皮は正常に誘導されるが、脱皮後も続けて食べさせる と、体液中に高濃度の20-ハイドロキシエクダイソンが 存在するにもかかわらず、もはや新しい皮膚を形成する ことなく死亡してしまう (TANAKA and TAKEDA, 1993 b)。しかし、エクダイソン、あるいはエクダイソンと 20 -ハイドロキシエクダイソンの両方を餌に混ぜて食べさ せればまた脱皮は誘導される。似たような作用の違いは サツマイモの害虫であるエビガラスズメでもみられ、エ クダイソンを食べさせると過剰脱皮が誘導されるが,20 -ハイドロキシエクダイソンを食べさせても発育に全く 影響を及ぼさない(Tanaka and Nava, 印刷中)。これら の結果は,20-ハイドロキシエクダイソンのみが脱皮を誘 導しているのではなく、エクダイソン、あるいはその代 謝物も重要な役割を果たしている可能性を強く示唆する ものであり、現在、作用するエクジステロイドや標的器 官などについて解明を進めているところである。

また、分子レベルでもエクダイソンの作用の特異性を示唆する結果が最近になって得られている。ショウジョウバエでは EcR の遺伝子発現は 20-ハイドロキシエクダイソンによって誘導されると考えられているが、タバ

コスズメガでは蛹期においてエクダイソンのピークにも一致して EcR の発現がみられる(藤原・Riddiford, 1993)。この時期の EcR の発現が,エクダイソンの特異的な作用を意味するのかどうか興味深い。

このように様々な昆虫から報告されていることから, エクダイソンの特異的な作用は多くの昆虫に共通した現象であることが推測される。今までに20-ハイドロキシエクダイソンで明らかになっている制御機構にさらに複雑な機構が加わるのか,今後の研究の進展が待たれるところである。

#### おわりに

以上、エクジステロイド作用の分子機構を中心にしてエクジステロイド研究の現状について述べてきた。現在のところ、皮膚透過性が低いこと、また昆虫の体内における不活化機構が強力であることなどの理由から、エクジステロイド自体は農薬として実用化されていない。しかし、EcR や usp の構造からアゴニストやアンタゴニストの研究が進むなど、エクジステロイドの作用機構が明らかになるにつれて利用できる道も開けてくると考えられる。

#### 引用文献

- ASHBURNER, M. et al. (1974): Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 38: 655~662.
- 藤原晴彦・RIDDIFORD, L. M. (1993): 日本動物学会第 64 回大会講演要旨集: pp. 25
- 3) 林 茂生・上田 均 (1993): 実験医学 11: 983~991.
- LAFONT, R. and D. H. S. HORN (1989): Ecdysone (KOOLMAN J. ed.), pp. 39~64.
- REES, H. H. (1989): Ecdysone (Koolman, J. ed.): pp. 28~38.
- 6) RICHARDS, G. (1992): Cur. Biol. 2: 657~659.
- 7) Roвinow, S. et al. (1993): Development 119: 1251 ~1259.
- 8) TANAKA, Y and S. Nava (1995): Appl. Entomol. Zool., 30 (印刷中)
- 9) and S. Takeda, (1993 a): Naturwissenschaften 80: 131~132.
- 10) • (1993 b) : J. Insect Physiol. 39 : 805∼809.
- 11) 梅園和彦 (1993): 実験医学 11: 1065~1072.