特集：殺虫剤作用機構の新展開〔2〕

ピレスロイドの作用機構と膜電位依存性神経イオンチャネル

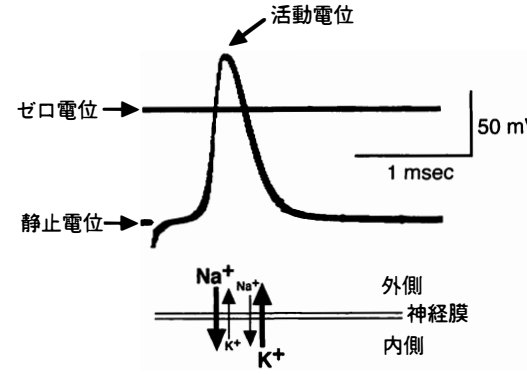
近畿大学農学部農芸化学科　松田一彦（まつだかずひこ）

はじめに

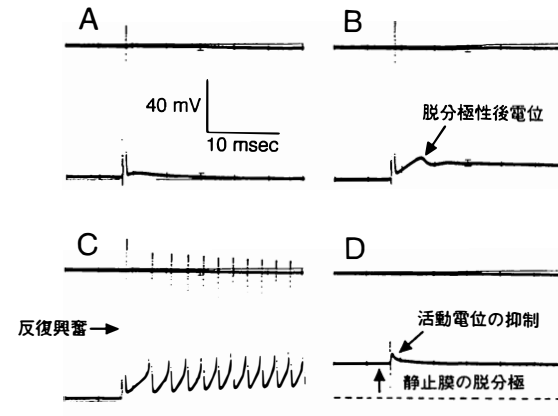
ピレスロイドは，除虫菊の殺虫有効成分ピレトリン類をモデルとして生みだされた殺虫剤であり，家庭用から農業用に至るまで幅広く使用されている。ピレスロイドの構造は多様であり，なかにはピレトリン類とは大きく異なる構造を持つものもあるが，天然ピレトリン類であれ合成物ピレスロイドであれ，共通の作用点に作用して神経活性を発揮する。ピレスロイドの作用機構に関する研究は，林 (1939) と LOWENSTEIN (1942) による報告が契機となって本格的にスタートしたと思われる。二人とも，昆虫の中枢神経索を用いてピレスロイドが神経活性を持つことを電気生理学的に証明した。その後の電気生理学的および分子生物学的実験技術の進歩に伴い，今やピレスロイドの作用機構は分子レベルで語られようとしている。本稿では，ピレスロイドの作用機構がどの程度まで明らかにされているのか，概説したい。

I　神経細胞の膜電位に対するピレスロイドの作用

神経膜電位（神経膜外に対する神経膜内の電位）は，主に膜電位感受性のナトリウムチャネルとカリウムチャネルを介した両イオンに対する透過性の変化によって決まる。静止状態の膜はカリウムイオンに対する透過性が高いので，カリウム平衡電位に近い−80 mV 前後の静止電位を持つ。神経膜は，閾値を超す脱分極が瞬時に生じたときに興奮する。膜が興奮するとナトリウムチャネルが一斉に開き，膜電位は急激に＋30 mV 前後のナトリウム平衡電位付近まで脱分極する。活動電位のピークを過ぎると，ナトリウムチャネルの不活性化によりナトリウムイオンに対する膜の透過性が減少するとともに，カリウムチャネルの活性化によりカリウムイオンに対する膜の透過性が高まるので，膜電位は静止電位に戻る (図-1)。多くのピレスロイドは，活動電位の下降相に脱分極性後電位と呼ばれる電位変化を誘起する（図-2 B)。この電位変化が活動電位の発火閾値を超えると，反復興奮が生ずる（図-2 C)。神経細胞を高濃度のピレスロイドと処理すると静止電位が脱分極変化し（図-2 D)，その結果ナトリウムチャネルが不活性化して活動電位が抑制される。ピレスロイドのなかでもサイフェノスリン，デルタメスリンおよびフェンバレレート（図-3，化合物



図－1　活動電位と神経膜のイオン透過性の変化



図－2　ピレスロイドによるワモンゴキブリ巨大軸索の膜電位変化

A：コントロール，BおよびC：2.9×10^{-7} M の *meta*-phenoxybenzyl kadethrate を外部潅流しはじめてから 4 分後に記録した活動電位(B)と，5 分後に記録した反復興奮(C)，D：1.8×10^{-5} M の *meta*-phenoxybenzyl kadethrate を外部潅流しはじめてから 8 分後に記録した活動電位．静止電位は上昇し(脱分極)，活動電位は抑制されている．

Mode of Actions of Pyrethroids and Voltage-Sensitive Ion Channels in Nervous Systems.　By Kazuhiko MATSUDA

(キーワード：ピレスロイド，ナトリウムチヤネル，*DSC 1*, *para*, *Kdr*, *Super Kdr*)

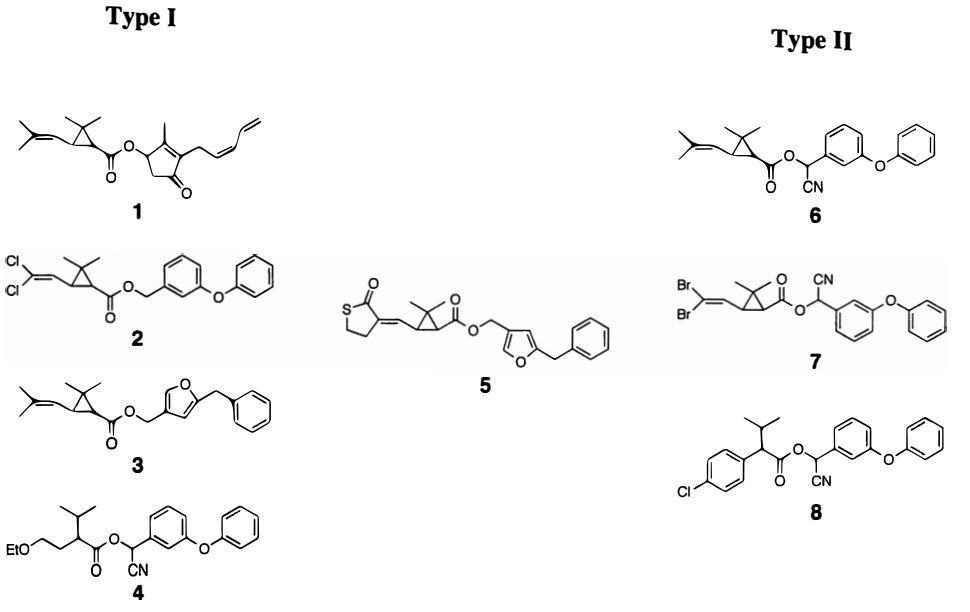
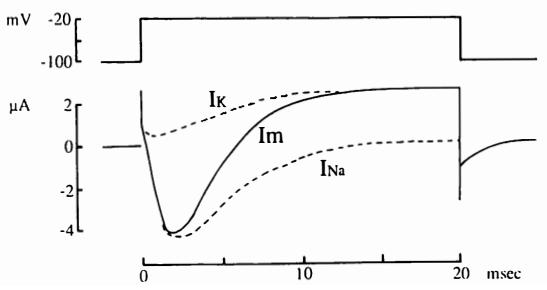


図-3　Type I および Type II ピレスロイド
1：ピレトリンI，2：パーメスリン，3：レスメスリン，4：特定の名前なし，5：カデスリン，
6：サイフェノスリン，7：デルタメスリン，8：フェンバレレート

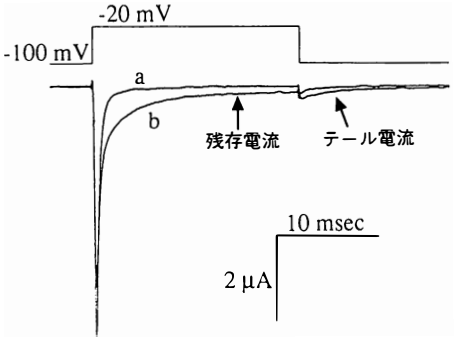
6〜8）などの α-シアノメタフェノキシベンジルエステル類は，脱分極性後電位を誘起しない（正確には，非常に小さくて検出しにくい）が，静止電位を脱分極変化させる活性において優れている（Lund and Narahashi, 1983; Kobayashi et al., 1989）。これらは，神経活性が特徴的であるだけではなく，昆虫や哺乳類にひきおこす中毒症状が他のピレスロイド（Type I）とは異なることから（Verschoyle et al., 1980; Gammon et al., 1981; Lawrence and Cashida, 1982; Cashida et al., 1983），Type IIピレスロイドと呼ばれている。この Type 分けの境界線は，多くの論文で主張されているほど明瞭ではない。例えば，カデスリン（図-3，化合物 **5**）は，非常に小さな脱分極性後電位しか誘起しないので反復興奮を引き起こさないが，脱分極活性に優れており，昆虫に対しても Type II様の中毒症状をもたらす（Matsuda et al., 1989, 1991 a, b）。また，α-シアノメタフェノキシベンジルエステル構造を持つからといって，Type II化合物であるともいえない。例えば，図-3 の **4** のような化合物は，神経軸索標本に対して顕著な脱分極性後電位を誘起するので，Type I に分類される（Kobayashi et al., 1989）。したがって，ピレスロイドの Type 分けに言及するときには，注意が必要である。

II　ナトリウムイオン電流に対するピレスロイドの作用

電気生理学的測定技術の一つである膜電位固定法は，任意の電位に膜電位を保持したときに流れる膜イオン電流を測定する方法であり，膜イオン電流を各イオン成分に分離して測定できるので，ピレスロイドの研究にも多用された。膜電位固定法には，巨視的な膜イオン電流を測定する axial wire のような方法と，電極の先端部を小さな神経細胞の膜に吸着させて，細胞全体を流れる膜電流（ホールセルレコーディング）や吸着させた膜部分に存在する 1〜数個のイオンチャネルを流れる電流を記録する（シングルチャネルレコーディング）ことができるパッチクランプ法がある。図-4 に，神経軸索膜を電位固定したときに観察される膜イオン電流を模式的に示す。Im で表される全膜電流からリークおよび容量性成分を除くと，Im は内向きナトリウムイオン電流 I_{Na} と外向きカリウムイオン電流 I_K からなる。I_{Na} は，膜電位の脱分極変化と同時に内向きに増大してピークに達するが，その後減衰し，20 ms 程度の長さの脱分極性パルスの終了時点では，ほぼゼロになる。それに対して I_K は外向きに流れ，脱分極性パルスの開始とともに徐々に増大して定常に達する。ピレスロイドにより修飾されると，ナトリウムイオン電流の不活性化が遅れ，脱分極パ



図－4 膜電位固定条件下で観察される膜イオン電流の模式図
Im：全膜イオン電流，INa：ナトリウムイオン電流，IK：カリウムイオン電流



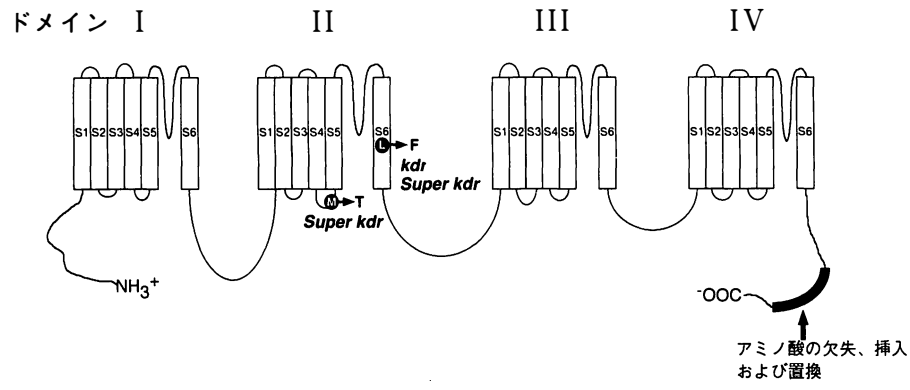
図－5 膜電位固定法を用いて記録したザリガニ巨大軸索のナトリウムイオン電流
a：コントロール，b：2.5×10-4 M の *meta*-methylbenzyl pyrethrate を含む溶液で軸索内部を潅流しはじめてから 1 時間後に記録したナトリウムイオン電流

ルスの終了時点でも電流が観察される（残存電流）。さらに，膜電位を脱分極性パルスを与えた前の電位（−100 mV）に戻した後でも，テール電流と呼ばれる電流が見られ，これがゆっくりと減少する（図-5）。ピレスロイドのなかにはカリウム電流を抑制するものもあるが（Omatsu et al., 1988），ナトリウム電流を顕著に変化させる濃度でカリウム電流を変化させない化合物があることから（Laufer et al., 1985 : Salgado et al., 1989），ナトリウムチャネルはピレスロイドの第一の作用点であると考えられている。巨視的ナトリウムイオン電流レベルで解析した研究により，Type I ピレスロイドは closed と open 両状態のチャネルを修飾し（Lund and Narahashi, 1981），Type II ピレスロイドは特に前者を修飾してチャネルを開いた状態に拘束すると推定された（de Weille et al., 1988 ; Brown and Narahashi, 1992）。しかし，個々のチャネルのコンダクタンス，開閉確率および開閉時間などに対するピレスロイドの作用については不明であった。そこで Narahashi らのグループは，マウス neuroblastoma cell のシングルナトリウムチャネルに対するテトラメスリン，デルタメスリンおよびフェンバレレートの効果を，パッチクランプ法を用いて検討した。その結果，いずれの化合物もナトリウムチャネルの開時間を顕著に延長するが，コンダクタンスには影響を及ぼさないことや（Yamamoto et al., 1983 ; Chinn and Narahashi, 1986），ピレスロイドにより修飾されたナトリウムチャネルとそうでないものとが開時間の差によって明確に区別できることを利用して，フェンバレレートが主に closed state のナトリウムチャネルを修飾することを証明した（Holloway et al., 1989）。

III ピレスロイド抵抗性とナトリウムチャネルの変異

ピレスロイドに対する抵抗性形質のなかでも，*kdr*（knockdown resistant）および *Super kdr* は神経レベルでピレスロイドに対する感受性の低下を引き起こす。*kdr* はもともと DDT に対する抵抗性形質として見いだされ（Busvine, 1951 : Milani, 1954），その後，ピレスロイドに対して交差抵抗性をもたらすことが明らかにされた。一方 *Super kdr* は，DDT に対し *kdr* を上回る抵抗性を付与する *kdr* の対立遺伝子であり（Sawicki, 1978），同形質を持つイエバエはとりわけ Type II ピレスロイドに対して高い抵抗性を示す（Farnham et al., 1987）。*kdr* および *Super kdr* のメカニズムとして，ナトリウムチャネルの密度の減少と，チャネルそのものの変異が考えられたが，*kdr* 系統のイエバエのナトリウムチャネルの数は野生型のそれと変わらないという知見（Grubs et al., 1988 : Sattelle et al, 1988）や，デルタメスリンは野生型のイエバエから調製した神経膜画分に対する [^{3}H]-batrachotoxinin A 20 α-benzoate の結合を促進するが，*Super kdr* 系統種由来の膜画分に対する同化合物の結合は促進しないという知見（Pauron et al., 1989）から，ピレスロイドに対する低感受性はおそらくナトリウムチャネル自身の変化に由来するものと推定されている。

これまでに，昆虫からはショウジョウバエの *DSC 1* ナトリウムチャネル（Salkoff et al., 1987）と *para* 遺伝子産物のナトリウムチャネル（Loughney et al., 1989）の cDNA がクローニングされ，一次構造が明らかにされている。いずれも，他のナトリウムチャネルと高い相同性を示し，6 個の膜貫通セグメントからなるドメインまたはリピートと呼ばれる 4 回の繰り返しの構造を持つ



図－6　ナトリウムチャネルの模式図
チャネルは六つの膜貫通セグメントを含むⅠ～Ⅳの四つのドメインで構成される．*Kdr* および *Super kdr* 系統の昆虫の *para* ナトリウムチャネルにおいて見いだされた変異を明記した．

(図-6) が，実際にチャネルとしての機能をもつことが確認されたのは *para* ナトリウムチャネルだけである (Feng et al., 1995)。Amichot ら (1992) は，ショウジョウバエでは *kdr* 遺伝子が *para* 遺伝子の存在するX染色体ではなく，*DSC 1* チャネルをコードする *sch* 遺伝子が存在する第2染色体上に存在することを明らかにしたうえで，同遺伝子を解析した。その結果，*kdr* 系統のハエでは *DSC 1* チャネルの第IIIドメインのS5-S6リンカー部におけるアスパラギン酸残基がアスパラギン残基に変異していることを見いだした。一方 Matsumura ら (1995) は，*kdr* 系統のチャバネゴキブリの *DSC 1* ナトリウムチャネルを調べ，C末端部におけるフェニルアラニンがセリンに変化することを明らかにした。ところが，イエバエでは *kdr* 遺伝子は *para* 遺伝子と密接に関連することがRFLP (制限断片長多型) 解析によって示された (Williamson et al., 1993: Knipple et al., 1994)。*para* 遺伝子の制限断片長の変化はナトリウムチャネルをコードしないイントロン部の変化による可能性もあることから，Miyazaki ら (1996) と Williamson ら (1996) は，お互いに独立して *kdr* 形質を持つ昆虫と野生型昆虫の *para* 遺伝子のcDNAをRT-PCRによりクローニングして比較し，ともにチャネルの第IIドメインのS6膜貫通セグメント (IIS6) のロイシンが *kdr* 系統種ではフェニルアラニンに変化していることを発見した。さらに Williamson らは，*Super kdr* 系統種の *para* ナトリウムチャネルでは，IIS6における上述のアミノ酸の変異に加えて第IIドメインのS4-S5リンカーにおいてメチオニンがスレオニンに変化していることや，*kdr* および *Super kdr* 系統のイエバエの *para* ナトリウムチャネルのC末端部でアミノ酸の欠失，挿入および置換が起こっていることをも明らかにした (図-6)。*para* ナトリウムチャネルで見いだされたこれらの変異がすべてピレスロイドに対する抵抗性に関与するのかどうか，*para* チャネルをアフリカツメガエルの卵母細胞等に発現させて電気生理学的に検討することが必要であると思われる。

おわりに

ピレスロイドの作用機構は，電気生理学的あるいは分子生物学的実験技術を適用することによって深く理解されるようになった。しかし，*kdr* 系統のナトリウムチャネルで見いだされた変異箇所がドメインIIのみならずC末端にも見いだされていることや，*DSC 1* チャネルではドメインIIIで見いだされていることから，ナトリウムチャネルで見いだされた変異がそのままピレスロイドの結合部位を表しているとは限らないかもしれない。本稿では詳しく述べなかったが，ピレスロイドはある種のプロテインキナーゼ (Matsumura and Clark, 1988) やG-タンパク質 (Rossignol, 1991 a, b) にも作用する。ナトリウムチャネルがこれらのタンパク質により調節されていることを考え合わせると，興味深い。また，最近 α-トコフェロールがピレスロイドの神経活性を抑制することが報告された (Song and Narahashi, 1995)。ピレスロイド拮抗剤としては，これが最初である。ピレスロイドの作用機構は長年にわたり研究されてきたが，まだ検討しなければならないことが残されている。

引用文献

1) Amichot, M. et al. (1992): Pestic. Biochem. Physiol. 44: 183～190.
2) Brown, L.D. and T. Narahashi (1992): Brain Res.

584: 71～76.
3) CASIDA, J. E. et al. (1983): Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23: 413～438.
4) CHINN, K. and T. NARAHASHI (1986): J. Physiol. (Lond.) 380: 191～207.
5) de WEILLE, J. R. et al. (1988): Brain Res. 445: 1～11.
6) FARNHAM, A. W. et al. (1987): Pestic. Sci. 19: 209～220.
7) FENG, C. et al. (1995): Cell 82: 1001～1011.
8) GAMMON, D. W. et al. (1981): Pestic. Biochem. Physiol. 15, 181～191.
9) GRUBS, R. E. et al. (1988): ibid. 32: 217～223.
10) 林 泉 (1939): 植物及動物 7: 19～26.
11) HOLLOWAY, S. F. et al. (1989): Pflügers Arch. 413: 571～579.
12) KNIPPLE, D. C. et al. (1994): Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 2483～2487.
13) KOBAYASHI, T. et al. (1989): Pestic. Biochem. Physiol. 35: 231～243.
14) LAUFER, J. et al. (1985): Pestic. Sci. 16: 651～661.
15) LAWRENCE, L. J. and J. E. CASIDA (1982): Pestic. Biochem. Physiol. 18: 9～14.
16) LOUGHNEY, K. et al. (1989): Cell 58: 1143～1154.
17) LOWENSTEIN, L. (1942): Nature 150: 760～762.
18) LUND, A. E. and T. NARAHASHI (1981): J. Pharmacol. Exp. Ther. 219: 464～473.
19) ——— (1983): Pestic. Biochem. Physiol. 20: 203～216.
20) MATSUDA, K. et al. (1989): ibid. 35: 300～314.
21) ——— (1991 a): ibid. 41: 170～177.
22) ——— (1991 b): ibid. 41: 178～189.
23) MATSUMURA, F. et al. (1995): Molecular Actions of Insecticides on Ion Channels. ACS Symposium Series 591: pp. 109～127.
24) MATSUMURA, F. and J. M. CLARK (1988): Neurotox '88: Molecular Basis of Drug and Pesticide Action. pp. 235～244.
25) MILANI, R. (1954): Riv. Parasitol. 15: 513～542.
26) MIYAZAKI, M. et al. (1996): Mol. Gen. Genet. 252: 61～68.
27) OMATSU, M. et al. (1988): ibid. 30: 125～135.
28) PAURON, D. et al. (1989): Biochemistry 28: 1673～1677.
29) ROSSIGNOL, P. D. (1991 a): Pestic. Biochem. Physiol. 41: 103～120.
30) ——— (1991 b): ibid. 41: 121～131.
31) SALGADO, V. .L. et al. (1989): Neurotoxicology 10: 1～14.
32) SALKOFF, L. et al. (1987): Science 237: 744～749.
33) SATTELLE, D. B. et al. (1988): Neurotox '88: Molecular Basis of Drug and Pesticide Action. pp. 563～582.
34) SAWICKI, R. M. (1978): Nature 275: 443～444.
35) SONG, J. -H. and T. NARAHASHI (1995): J. Pharmacol. Exp. Ther. 275: 1402～1411.
36) VERSCHOYLE, R. D. and W. N. ALDRIDGE (1980): Arch. Toxicol. 45: 325～329.
37) WILLIAMSON, M. S. et al. (1993): Mol. Gen. Genet. 240: 17～22.
38) ——— et al. (1996): Mol. Gen. Genet. 252: 51～60.
39) YAMAMOTO, D. et al. (1983): Brain Res. 274: 344～349.

発行
日本植物防疫協会

「昆虫の飼育法」

湯嶋 健・釜野静也・玉木佳男 共編
収録種(項目)数 126種
B5判 400ページ
定価 本体11,650円(税別) 送料サービス

昆虫の飼育法について，実際に飼育に従事されている方に，独特のコツを含めて詳述していただいた。総論では，共通性のある，餌の種類／人工飼料の調整／飼育虫の病気対策／虫質管理／飼育環境／飼育施設／飼育計画と作業計画などを，各論では，126種（項目）の虫につき，材料の採集／餌／飼育法／作業計画／注意事項と問題点／参考文献などを詳述。付録に，ビタミン混合とその作り方，無機塩混合物とその作り方，昆虫用市販人工飼料リストを付す。

〈お申し込みは前金(現金書留・郵便振替)で本会まで〉