

特集：ポストゲノム時代の害虫防除研究のあり方～昆虫ゲノム情報とIPM～

細胞内共生微生物による害虫防除とゲノム研究

静岡大学 田 上 陽 介

はじめに

昆虫は、体の小ささ、飛行能力、変態による休眠や多様な食性等の特徴により、広く地球上で繁栄している生物である。そして、多くの生物と複雑な相互関係を築いている。農作物にとっても、害虫として被害を与える場合もあれば、花粉媒介のようになくしてはならない働きをしてくれる場合もある。

微生物も昆虫と同様に体サイズが小さいこともあり、広く地球上に繁栄している生物である。さらに昆虫と比較して、より小さな微生物にとって昆虫の体内や細胞内でさえも重要なニッチとなっている。

分子生物学・ゲノム研究の進展もあり、近年、昆虫の体内や細胞内には多様な微生物が息していることが明らかとなってきた。昆虫の細胞内に微生物が共生した場合、宿主の昆虫と微生物の間には、昆虫が新しい生物機能を獲得したり、新たなニッチへ進出・繁栄したりすることを可能とする複雑な相互作用が生じる。このことから、昆虫が広く繁栄している一因は細胞内共生微生物にあるととらえることもできる。

細胞内共生微生物は、宿主の細胞内で生活する。その特性により、宿主の栄養を補うなど宿主昆虫の「生存」に密接なかかわりをもつ場合もある。また、細胞内共生微生物の多くはミトコンドリアや葉緑体の一般的な遺伝様式と同様に細胞質遺伝（母性遺伝）し、一方、宿主昆虫の核遺伝子は雌雄から等しく伝搬される。このような細胞内共生微生物と宿主昆虫との遺伝様式の違いが適応戦略の違いとなり、細胞内共生微生物は自身の適応度を高めるために宿主昆虫の「生殖」を制御している。

害虫防除技術、特に生物を利用した防除法として遺伝的防除（不妊虫放飼）や生物的防除（生物農薬）などがある。これらの技術は、不妊虫放飼では雄を不妊化する技術、生物農薬では天敵の大量増殖を行う技術が必要となる。いずれの方法も昆虫の「生存と生殖」が鍵となっている。したがって新しい防除技術の開発において、昆

虫の「生存と生殖」にかかわる細胞内共生微生物に関する研究は、様々な可能性を秘めているといえる。

本誌の2005年9月号では、*Wolbachia*（ウォルバキア、ボルバキア）による生殖操作と害虫防除技術開発の現状について報告した。昆虫の共生微生物には *Wolbachia* 以外にも多くの種類が様々な形で宿主昆虫と結びついていることが明らかとなってきており、ゲノム研究もますます進展している。本稿では、その後の研究の進展、他の細胞内共生微生物の利用研究、および細胞内共生微生物のゲノム研究を活用した害虫防除技術開発について報告する。

I 細胞内共生微生物

昆虫の共生微生物を生息場所から区分すると、体内（特に腸内）に共生している微生物と細胞内に共生している微生物（細胞内共生微生物）に分けることができる。また細胞内共生微生物は、特殊な体細胞（菌細胞）のみに見られる共生微生物と、宿主の様々な器官の細胞内に普遍的に見られる共生微生物に分けられる。近年多くの昆虫から共生微生物が発見されつつあり、およそ50の共生微生物が見つまっている（HYSPA and NOVAKOVA, 2008；一部を表-1に挙げた）。

昆虫の細胞内共生微生物の中で特に多くの昆虫に感染が確認されているのが *Wolbachia* であり、76%の種が

表-1 代表的な昆虫の共生微生物^{a)}

共生微生物	分類（綱）	宿主
<i>Rickettsia</i>	プロテオバクテリア (α)	様々な節足動物
<i>Wolbachia</i>	プロテオバクテリア (α)	様々な節足動物
<i>Tremblaya</i>	プロテオバクテリア (β)	カイガラムシ
<i>Arsenophonus</i>	プロテオバクテリア (γ)	様々な節足動物
<i>Buchnera</i>	プロテオバクテリア (γ)	アブラムシ
<i>Carsonella</i>	プロテオバクテリア (γ)	キジラミ
<i>Hamiltonella</i>	プロテオバクテリア (γ)	アブラムシ
<i>Regiella</i>	プロテオバクテリア (γ)	アブラムシ
<i>Serratia</i>	プロテオバクテリア (γ)	アブラムシ
<i>Sodalis</i>	プロテオバクテリア (γ)	ツエツエバエ
<i>Cardinium</i>	バクテロイデス	様々な節足動物
<i>Sulcia</i>	バクテロイデス	バッタ目など
<i>Spiroplasma</i>	モーリキューテス	様々な節足動物

^{a)} 代表的な種のみ記載している。

Applications of Insect Symbionts and Their Genomic Research for Insect Pest Control. By Yohsuke TAGAMI

(キーワード：細胞内共生微生物，生殖操作，ゲノム研究，*Wolbachia*)

感染しているという報告もある (JEYAPRAKASH and HOY, 2000)。地域によって違いはあるものの日本国内のチョウ目でも 44%以上の種に感染していることが明らかとなっていることから (TAGAMI and MIURA, 2004), 約半数の昆虫種には *Wolbachia* が感染していると考えて差し支えないだろう。

II 細胞内共生微生物の害虫防除への応用

細胞内共生微生物は宿主昆虫と様々な相互作用をもつことから、宿主に悪影響を及ぼす共生微生物 (Parasitic symbiont)、宿主にとって必須ではないが何らかの利益を与える共生微生物 (Facultative symbiont)、宿主の成長と生存に必須となる共生微生物 (Obligate symbiont) に分けられる。これらの相互作用を利活用することで効率的な害虫防除が可能となるかも知れない。本稿では研究例と、今後防除技術開発が期待される項目について挙げる。

(1) 産雌性単為生殖化の利用

細胞内共生微生物による産雌性単為生殖化 (図-1の右側) は、単為生殖 (産雄性単為生殖: 図-1の左側) を行うハチ、ダニやアザミウマなどで知られている現象である。通常、未交尾では雄を産むはずの雌が、細胞内共生微生物に感染することで未交尾のまま雌を産み、雌のみで世代交代を繰り返すようになる。細胞内共生微生物によって産雌性単為生殖化した膜翅目は 57 種知られている (田上・三浦, 2007)。

寄生蜂は生物的防除に重要な天敵である。細胞内共生微生物により産雌性単為生殖化した天敵寄生蜂を生物的

防除に利用することで、理論的には増殖効率が2倍となり (図-1)、交配により能力が劣る系統に置き換わる可能性が減少し、近親交配の影響も考慮する必要がなくなる。また実際に害虫防除するのは雌であるため、防除効果も上がる。

有望な天敵寄生蜂に産雌性単為生殖化を引き起こす細胞内共生微生物 (*Wolbachia* や *Rickettsia*) の移植はいくつかの機関で試みられている。その結果、感染し継代することや、産雌性単為生殖化することには成功しているが、産雌性単為生殖化した系統の維持には至っていない。この原因として、寄生蜂の種による性決定メカニズムの違いや、寄生蜂—細胞内共生微生物間の相互作用の種による違いが影響していると考えられるが、詳細は不明である。

(2) 細胞質不和合の利用

Wolbachia による細胞質不和合 (一方向性細胞質不和合) とは、感染雄と非感染雌の交配で、子孫が発育途中で死んでしまう現象を指す (表-2)。この場合、感染雌から産まれる子はどの組み合わせでも死亡しないため、感染個体が広まると考えられる。実際そのような例がシヨウジョウバエやウンカなどいくつかの昆虫種で確認されており (TURELLI and HOFFMANN, 1991; HOSHIZAKI and SHIMADA, 1995)、有用系統を野外に広める手段として注目されている。

不妊虫放飼法は、日本では主に南西諸島で行われ、不妊化した雄を継続的に野外に放飼することによって害虫密度を徐々に減らし、害虫を根絶させる方法であるが照射施設建設などに莫大な費用がかかる。細胞質不和合を

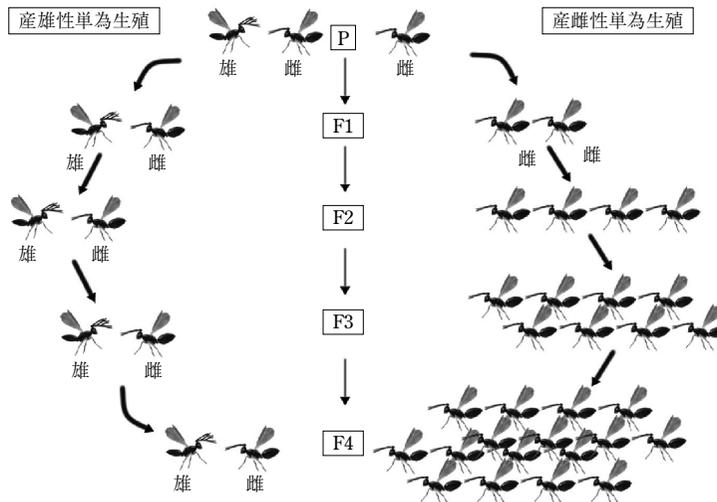


図-1 産雄性単為生殖と産雌性単為生殖

引き起こす *Wolbachia* に感染した場合、感染雄は不妊化した雄と同等の働きをするので、不妊虫放飼法の代替技術として利用することが可能である。ZABALOU et al. (2004) は、*Wolbachia* を移植することで細胞質不和合性をもつチチュウカイミバエを作出した。さらに室内試験ではあるが、感染雄を大量に放飼することで個体群密度の抑制に有効であることを確認している。

アメリカでは施設栽培のキクにおいて、マメハモグリバエの不妊虫を用いた防除法の研究が進められている (KASPI and PARRELLA, 2003; 2006)。マメハモグリバエでは一部の系統が細胞質不和合を引き起こす *Wolbachia* に感染していることが明らかになっている (TAGAMI et al., 2006)。したがって、場合によっては不妊虫の代わりに感染雄を放飼することで防除が可能になると考えられる。施設、作物、作型や害虫の種類によって異なるが、施設での防除手段として検討の余地もあるだろう。

(3) 宿主の生存日数を減少させる *Wolbachia* の利用
ヒト感染症に対する研究ではあるが、宿主成虫の生存日数を減少させる系統の *Wolbachia* は、最近移植の成功が報告されている (McMENIMAN et al., 2009)。McMENIMAN et al. はシヨウジョウバエの成虫寿命を短くする *Wolbachia* (wMelPop) を、デングウイルスを媒介

するネッタイシマカに移植した。この研究では蚊の培養細胞に wMelPop を感染させ、3年間維持し、移植に用いた。

多くの病原体には潜伏期間が必要であるため、図-2のように wMelPop に感染させることで成虫寿命が短くなれば、ヒトへのデングウイルスの媒介を抑えることが可能となる。この技術は、循環型の媒介様式をとる植物病原体媒介昆虫に応用することで同様な効果が期待できるかもしれない。

さらに McMENIMAN et al. (2009) の研究では、wMelPop 移植系統は非感染系統との間で細胞質不和合を引き起こすことも報告されている (図-3)。したがっ

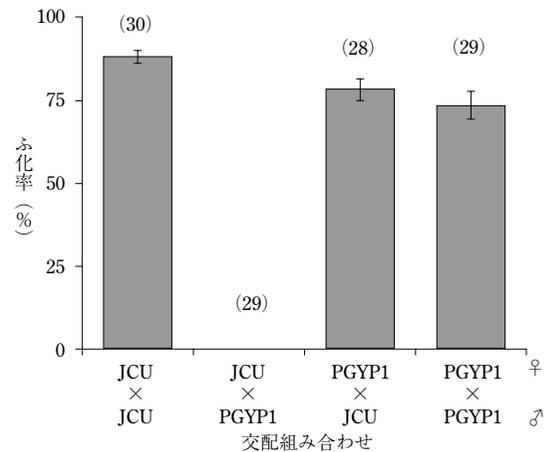


図-3 PGYP1 (wMelPop 感染系統) と JCU (野外の非感染系統) 間の交配とふり率 (McMENIMAN et al., 2009 を改変)
括弧内は反復数を示す。

表-2 一方向性細胞質不和合

	感染♂	非感染♂
感染♀	○	○
非感染♀	×	○

○ は子孫が感染する組み合わせ。○ は生存, × は死亡を示す。

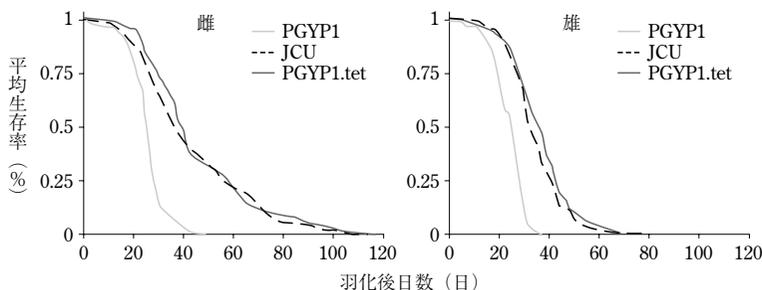


図-2 移植 13 世代後の wMelPop 系統, wMelPop をテトラサイクリンにより除去した系統, 野外系統における成虫の平均生存率 (McMENIMAN et al., 2009 を改変)

PGYP1 は wMelPop を移植した系統, JCU は野外の非感染系統, PGYP1.tet はテトラサイクリン処理により wMelPop を取り除いた系統を示す。試験は雌雄各 25 匹を 6 反復行った。

て、wMelPop 感染系統を野外に放飼することで、自然に感染系統が広まり、デング熱の被害が軽減される可能性がある。

(4) 抗生物質殺菌剤の利用

細胞内共生微生物は、テトラサイクリンやリファンピシンなどいくつかの抗生物質を宿主昆虫の餌物質に混ぜるなどして投与すれば、宿主昆虫から容易に除去することが可能である。細胞内共生微生物を取り除くことで、害虫を防除する方法も考えられている(田上ら, 未発表)。

植物病原微生物による病害の防除手段として抗生物質殺菌剤も市販されている。一部の抗生物質殺菌剤は *Wolbachia* や *Rickettsia* の除去も可能であることが確かめられている。例えばアザミウマ害虫には、*Wolbachia* に感染し産雌性単為生殖化している種がある。このアザミウマが寄生する植物に市販の抗生物質殺菌剤を常用濃度で散布すると、散布約1週間後から産まれる子孫はすべて雄となる(田上ら, 未発表)。ただし、室内でのケージ試験を行った結果、残った少数の雌が多くの子孫を残していると考えられ、結果的には害虫数の減少には至っていない。散布方法や適用しやすい害虫種の選定などが今後の課題である。また、市販の天敵寄生蜂や在来天敵には共生微生物により産雌性単為生殖化している種もある。抗生物質殺菌剤の散布はこれら天敵の共生微生物を取り除き、天敵としての効力低下に結びつく可能性があり、注意が必要となる。

(5) 耐性や適応性の変化の利用

昆虫に対しても無数の病原体があり、それらの病原体を利用しBT剤や昆虫病原糸状菌製剤のような生物農薬も開発されている。HEDGES et al. (2008) は、*Wolbachia* に感染することでいくつかの致死性ウイルスに対する耐性が増すことをショウジョウバエの一種で明らかにした。このような例はアブラムシと共生微生物 (*Regiella*) の関係でも明らかとなっている (SCARBOROUGH et al., 2005)。そのほかにも共生微生物の感染によって寄主植物への適応性が変わったり (TSUCHIDA et al., 2004 ; HOSOKAWA et al., 2007)、寄生蜂への耐性がついたり (OLIVER et al., 2005)、と様々な形で共生微生物が宿主の耐性や適応性とかかわっている。

共生微生物の感染による宿主昆虫の耐性や適応性の変化を利用することで、例えば天敵にウイルスなどの耐性にかかわる共生微生物を感染させることで使いやすい天敵を作出したり、害虫の共生微生物を除去することで農作物への寄生を難しくしたりできると考えられる。

(6) Paratransgenesis

ピアス病 (Pierce's disease) はヨコバイ

(*Homalodisca vitripennis*) が媒介するバクテリア (*Xylella fastidiosa* : XF) によって引き起こされる、ブドウの病気である。このヨコバイは、XF 以外に *Alcaligenes xylooxidans* var. *denitrificans* (AXD) という微生物にも感染することが知られている。MILLER et al. (2006) は、Paratransgenesis という手法を用いた防除法の開発に取り組んでいる。Paratransgenesis とは、ベクター (この場合ヨコバイ) の内部共生体 (この場合 AXD) の遺伝子を組み換え、病原体 (この場合 XF) をベクターから除去する手法である。AXD は培養が容易であり XF とニッチが似ているため、抗 XF 因子となる遺伝子を導入するためのバクテリアに選ばれ、研究が進められている。

同様の研究はシャーガス病に関しても行われている (DURVASULA et al., 1997)。シャーガス病 (Chagas disease) は鞭毛虫 (*Trypanosoma cruzi*) によって引き起こされる吸血性のサシガメ (*Rhodnius prolixus*) をベクターとする人獣共通の感染症である。DURVASULA et al. は、サシガメに感染している共生微生物 (*Rhodococcus rhodnii*) に、*T. cruzi* に致死的なダメージを与えるペプチドを合成する遺伝子 (cecropin A) を遺伝子組み換えにより導入し、宿主内での *T. cruzi* の減少に成功している。このように共生微生物への遺伝子組み換えを利用すれば、昆虫媒介の病害防除だけでなく様々な防除法を開発できる可能性がある。

III 細胞内共生微生物のゲノム研究

細胞内共生微生物と宿主昆虫の相互作用のメカニズムを明らかにするうえで、細胞内共生微生物のゲノム解析は重要である。近年、微生物の全ゲノムを短期間で明らかにすることが可能となり、昆虫の細胞内共生微生物も、その宿主との相互作用が注目されていることからいくつかの種や系統で全ゲノム解析が進められている。それらの成果によりいくつかの遺伝子の重要性が示唆されている。

Wolbachia のゲノムからは、多くの ankyrin ドメインが見つかっている。ankyrin リピートをもつタンパク質は細胞周期調節にかかわっていることから、ankyrin ドメインは細胞周期調節のズレによって生じていると考えられる細胞質不和合などの宿主操作にかかわっていることが示唆されており、研究が進められている (ITURBE-ORMAETXE et al., 2005)。また、細菌からタンパク質を分泌するシステムであるタイプ IV 分泌システムをコードするオペロンが *Wolbachia* には存在することが知られており、宿主と共生微生物の相互作用を明らかにするうえ

で注目されている (WU et al., 2004; FOSTER et al., 2005)。

細胞内共生微生物のバクテリオファージにも注目が集まっている。*Wolbachia*には多数のプロファージ遺伝子があり、ファージが*Wolbachia*の密度調節など宿主昆虫との相互作用にかかわっていることが示唆されている (WU et al., 2004)。

細胞内共生微生物の種間ゲノム比較も重要である。全ゲノム解析が進行中である*Cardinium*は、系統的には異なる*Wolbachia*と同様の宿主操作を行う。これら微生物のゲノムを比較することで、宿主操作のメカニズム解明に寄与できると考えられる。

以上のように細胞内共生微生物のゲノム研究から多くの重要だと示唆されている遺伝子などが見つかるが、応用するためには詳細な機能解析が必要であり、今後の課題である。

おわりに

昆虫には多くの細胞内共生微生物が存在し、それらは宿主の栄養生理・代謝・生態など様々な面にかかわっている。細胞内共生微生物を利用することで様々な防除技術開発が可能ではあるが、現状では思い通りにいかないことも多い。この原因には共生微生物による宿主操作のメカニズムが明らかになっておらず、試行錯誤に頼らざるを得ない点が挙げられる。しかし、McMENIMAN et al. (2009) がレシピエント細胞での馴化によって成果を上げたように、新たな手法を用いることで効率的に共生微生物を活用できる可能性が出てきた。今後ゲノム解析も

含めた多面的な研究の進展によって、生理活性物質や有用遺伝子を活用した害虫防除法の開発、性質を改変した害虫や天敵を用いるなど斬新な害虫防除技術開発が期待される。

引用文献

- 1) DURVASULA, R. V. et al. (1997) : Proc. Natl. Acad. Sci. **94** : 3274 ~ 3278.
- 2) FOSTER, J. et al. (2005) : Plos Biol. **3** : e121.
- 3) HEDGES, L. M. et al. (2008) : Science **322** : 702.
- 4) HOSHIZAKI, S. and T. SHIMADA (1995) : Insect Mol. Biol. **4** : 237 ~ 243.
- 5) HOSOKAWA, T. et al. (2007) : Proc. R. Soc. Lond. B. **274** : 1979 ~ 1984.
- 6) HYSIPA, V. and E. NOVAKOVA (2008) : In Insect Symbiosis, vol.3, CRC Press, Boca Raton, p. 1 ~ 31.
- 7) ITURBE-ORMAETXE, I. et al. (2005) : J. Bacteriol. **187** : 5136 ~ 5145.
- 8) JEVAPRAKASH, A. and M. A. HOY (2000) : Insect Mol. Biol. **9** : 393 ~ 405.
- 9) KASPI, R. and M. P. PARRELLA (2003) : Ann. Appl. Biol. **143** : 25 ~ 34.
- 10) ——— (2006) : J. Econo. Entomol. **99** : 1168 ~ 1175.
- 11) McMENIMAN, C. J. et al. (2009) : Science **323** : 141 ~ 144.
- 12) MILLER, T. et al. (2006) : Insect Symbiosis, Vol.2, (BOURTZIS, K. and T. A. MILLER eds.), Taylor & Francis, Florida, p. 247 ~ 263.
- 13) OLIVER, K. M. et al. (2005) : Proc. Natl. Acad. Sci. **102** : 12795 ~ 12800.
- 14) SCARBOROUGH, C. L. et al. (2005) : Science **310** : 1781.
- 15) TAGAMI, Y. and K. MIURA (2004) : Insect Mol. Biol. **13** : 359 ~ 364.
- 16) ——— et al. (2006) : Biol. Con. **38** : 205 ~ 209.
- 17) 田上陽介・三浦一芸 (2007) : 応動昆 **51** : 1 ~ 20.
- 18) TSUCHIDA, T. et al. (2004) : Science **303** : 1989.
- 19) TURELLI, M. and A. A. HOFFMANN (1991) : Nature **353** : 440 ~ 442.
- 20) WU, M. et al. (2004) : Plos Biol. **2** : 327 ~ 341.
- 21) ZABALOU, S. et al. (2004) : Proc. Natl. Acad. Sci. **101** : 15042 ~ 15045.

学 界 だ よ り

○第9回糸状菌分子生物学コンファレンス

主催：糸状菌分子生物学研究会

後援：糸状菌遺伝子研究会

日時：平成21年11月18日(水)～19日(木)

会場：東京大学弥生講堂一条ホール アネックス

(<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/yayoi/map.html>)

プログラム：公募した演題について口頭または、ポスター形式による発表を行います。内容の詳細につきましては決定次第、本研究会のホームページ (<http://www.biochem.osakafu-u.ac.jp/~fmbsj/>) に掲載いたします。

発表申込方法：申込書、要旨の様式を本研究会のホームページよりダウンロードし、それらに直接記入のうえ添付ファイルとして下記の宛先までE-mailでお送り下さい。発表は本会に入会された方に限ります。入会方法も本研究会ホームページをご参照下さい。

発表申込宛先：名古屋大学大学院生命農学研究科生物機構・機能科学専攻

加藤雅士 (E-mail: kato@agr.nagoya-u.ac.jp)

演題申込締切：平成21年9月4日(必着)

参加費：一般4,000円(学生1,000円)

懇親会：11月18日(水)のシンポジウム終了後に予定しております。

懇親会参加費：4,000円

問い合わせ先：糸状菌分子生物学研究会

〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻 堀内裕之

E-mail: ahhoriu@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

(TEL: 03-5841-5170, FAX: 03-5841-8015)

発表関係の問い合わせ先：

〒464-8601 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院生命農学研究科生物機構・機能科学専攻 加藤雅士

E-mail: kato@agr.nagoya-u.ac.jp

(TEL: 052-789-5744, FAX: 052-789-4087)