

特集：カイコから害虫ゲノムへの展開

比較ゲノムから見えてきた昆虫の神経ペプチド関連 遺伝子群の特徴と害虫防除への利用展望

(独)農業生物資源研究所 田 中 良 明

はじめに

神経ペプチドは、発育や生殖、行動等動物の様々な生理現象に関与する重要な制御因子である。近年は、様々な昆虫種においてゲノム情報を利用した神経ペプチドや受容体遺伝子の網羅的解析が行われるようになり、その昆虫に存在する神経ペプチドのほぼ全種類が短期間でわかるようになってきた。特に次世代シーケンサーの登場によって、今まで神経ペプチドの研究がほとんどなされていなかった農業害虫でも神経ペプチド関連遺伝子の網羅的解析が可能になってきている。また、ゲノム解読以前は非常に困難であった神経ペプチド受容体遺伝子の単離やリガンド（受容体に特異的に結合する物質）の同定が飛躍的に進み、神経ペプチドの機能を受容体レベルで解明することが可能になった。このように、昆虫の神経ペプチド研究はゲノム解読により近年めざましい進展を見せている。しかし、ペプチドは体内で速やかに分解されてしまうことや経口・経皮投与では効かない等の問題があるため、現在まで農業として実用化したものはない。ここでは、ゲノム解読から明らかになった各昆虫種における神経ペプチドシグナルネットワークの特徴について紹介するとともに、神経ペプチド研究の成果を今後害虫防除に応用できる可能性について考察する。

I ゲノム情報から明らかになった昆虫神経ペプチド関連遺伝子の特徴

昆虫の神経ペプチド関連遺伝子の一般的な特徴としては、①脊椎動物の神経ペプチドとの相同性が低い昆虫独自のペプチドがある、②脊椎動物ではインシュリン遺伝子は通常ゲノム当たり1コピーの単一遺伝子族であるが、昆虫では複数、特にカイコでは30数コピー以上のボンビキシン遺伝子がクラスターを形成する多重遺伝子族である（岩見，1998）、③脊椎動物の神経ペプチド受

容体である G protein coupled-receptor (GPCR) 遺伝子はイントロン*がないが、昆虫ではほとんどの GPCR 遺伝子にイントロンがある、④甲殻類で種類が豊富な CHH 族ペプチドは昆虫では1種類しかないが、甲殻類には存在しない前胸腺刺激ホルモン (PTTH) やヒト副腎皮質刺激ホルモン放出因子タイプの利尿ホルモンがある、等である。

現時点で、全ゲノムが解読された昆虫種すべてに共通して存在する神経ペプチドは全体の半数以下しかない（表-1）。以下に神経ペプチド関連遺伝子が網羅的に解析されている昆虫について特徴を述べる。

1 ハエ目

(1) ショウジョウバエ

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) では昆虫で初めてゲノムが解読され、神経ペプチド関連遺伝子の網羅的な解析がなされた (HEWES and TAGHERT, 2001)。特に、受容体の網羅的な解析およびリガンドの同定に関する一連の研究は、その後の様々な昆虫種における神経ペプチド研究のリファレンスとなっている。最近ではキイロショウジョウバエ以外に11の近縁種でもゲノム情報を利用して神経ペプチド遺伝子の網羅的解析がなされているが、これらの近縁種では生息環境が異なるにもかかわらず神経ペプチドの構造や種類が保存されている (WEGENER and GORBASHOV, 2008)。ショウジョウバエにしか存在しない神経ペプチドとしては、学習などにかかわる Amnesiac や交尾の際にオスからメスの体内に送られてメスの生殖行動を制御する性ペプチドがある。一方、幼若ホルモンの合成を促進する作用をもつアラトトロピンや、カヤバッタで卵巣の発達を制御する作用を示すニューロパルシンは存在しない。ただし、ニューロパルシンはキイロショウジョウバエ亜群以外のショウジョウバエ8種には存在することが最近の研究で明らかになった (VEENSTRA, 2010)。

(2) カ

カではガンビエハマダラカ (*Anopheles gambiae*, RIEHLE et al., 2002) およびネツタイシマカ (*Aedes aegypti*,

* イントロン：転写はされるが最終的には除去される、アミノ酸情報を持たない塩基配列。

Comparative Studies on Neuropeptide-related Genes in Insects and the Potential of these Genes for the Pest Control. By Yoshiaki TANAKA

(キーワード：神経ペプチド，受容体，ゲノム，昆虫，RNA干渉 (RNAi))

表-1 各昆虫の神経ペプチド遺伝子

神経ペプチド	カイロシヨウ ジヨウハエ	ガンビエ ハマダラカ	ネツタイ シマカ	コクスト モドキ	セイヨウ ミツバチ	キヨウソ ヤドリバチ	カイコ	トビロ ウンカ	エンドウ アブラムシ
脂質動員ホルモン (AKH)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AKH/コラゾニン関連ペプチド (ACP)	-	+	+	+	-	+	+	+	-
アラトスタチン A	+	+	+	-	+	+	+	+	+
アラトスタチン C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アラトスタチン CC	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アラトトロピン	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Amnesiac	+	-	-	-	-	-	-	-	-
抗利尿ペプチド	+	-	-	+	-	-	-	-	-
ITG-like ペプチド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
イノトシン (バソプレッシン様ペプチド)	-	-	-	+	-	+	-	+	+
ホソビキシン/インシュリン関連ペプチド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
バシシオン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
パートナー・オブ・バシシオン	+	+	+	+	-	+	+	+	+
CAPA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CCH アミド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
コラゾニン	+	+	+	-	+	+	+	?	-
CCAP	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CHH ペプチド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
休眠ホルモン/PBAN/ピロキニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
利尿ホルモン 31 (カルシトニン型利尿ペプチド)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ヒト副腎皮質刺激ホルモン放出因子タイプ利尿ホルモン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ecdysis-triggering hormone (ETH)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
羽化ホルモン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FMRF アミド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グリコプロテインホルモン α 2	+	+	+	+	-	-	+	+	+
グリコプロテインホルモン β 5	+	+	+	+	-	-	+	+	+
IMF アミド	-	-	-	-	-	-	+	-	-
キニン	+	+	+	-	+	+	+	+	+
ミオサプレッシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ニューロパルシン	-	+	+	+	-	+	+	+	-
ニューロペプチド F (NPF)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
ニューロペプチド様前駆体 1 (NPLP1)	+	+	+	-	+	+	+	+	+
ニューロペプチド様前駆体 2 (NPLP2)	+	-	-	-	+	-	-	+	-
ニューロペプチド様前駆体 3 (NPLP3)	+	-	-	-	+	-	+	+	-
ニューロペプチド様前駆体 4 (NPLP4)	+	-	-	-	+	-	+	+	-
オルコキニン	+	+	+	-	-	+	+	+	+
色素拡散ホルモン (PDF)	+	+	+	-	+	-	+	+	-
プロクトリン	+	+	+	+	-	-	+	+	+
前胸腺抑制ペプチド	+	+	+	+	-	-	+	+	+
前胸腺刺激ホルモン (PTTH)	+	+	+	+	?	?	+	+	?
RY アミド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
性ペプチド	+	-	-	-	-	-	-	-	-
ショートニューロペプチド F (sNPF)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SIF アミド	+	+	+	+	+	+	+	+	+
スルファキニン	+	+	+	+	-	-	+	+	-
タキキニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+

■ は9昆虫種全てに存在する神経ペプチド. +; 存在する, -; 存在しない

PREDEL et al., 2010) で網羅的解析がなされている。カにしか存在しないという神経ペプチドはないが、同じハエ目のショウジョウバエとは異なり、ニューロバルシンやアラトトロピン、また脂質輸送にかかわる脂質動員ホルモン (Adipokinetic hormone, AKH) とコラゾニンの中間的な構造である AKH/Corazonin-related peptide (ACP) およびその受容体が存在する。

2 甲虫目

甲虫目のコクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*) では、他の昆虫種に共通して存在する色素拡散ホルモン (Pigment dispersing factor, PDF) やコラゾニン、アラトスタチン A タイプ、キニン、ニューロペプチド F およびその受容体遺伝子が存在しない等、他の昆虫と比較すると神経ペプチドシグナルが少ない (Li et al., 2008; HAUSER et al., 2008)。特に、コラゾニンは以前から免疫組織化学により甲虫目だけには存在しないことが推測されていたが、ゲノム情報からそれが裏付けられた。また、昆虫で初めてバソプレッシン様ペプチドであるイノトシン (insect oxytocin/vasopressin-like peptide, inotocin) およびその受容体遺伝子が単離された (STAFFLINGER et al., 2008)。

3 ハチ目

ハチ目ではセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*, HUMMON et al., 2006; HAUSER et al., 2006) およびキョウソヤドリコバチ (*Nasonia vitripennis*, HAUSER et al., 2010) で網羅的解析がなされている。ハチ目で最大の特徴は、前胸腺抑制ペプチド (Prothoracicostatic peptide, PTSP) およびその受容体が存在しないことである。他にもアラトトロピン、プロクトリン、グリコプロテインホルモン、スルファキニンはミツバチとヤドリコバチの両方に存在しない。また、イノトシン、CAPA、オルコキニン、FMRF アミド、キニン、PDF はどちらかの種にしか存在しないなど、同目の昆虫にもかかわらず神経ペプチドの種類の違いが多い。

ヤドリコバチにおける最も大きな発見は、RY アミドペプチドの発見である (HAUSER et al., 2010)。このペプチドはカルボキシル末端に-RY-NH₂ というモチーフ (立体構造の一部) をもつペプチドで、その後多くの昆虫に普遍的に存在することが明らかになったが、その受容体や機能はわかっていない。また、生理活性に重要なシステイン架橋が一部欠落した羽化ホルモンや PTHH の配列が見つかっている。

4 チョウ目

カイコ (*Bombyx mori*) で神経ペプチドおよび受容体の網羅的解析がなされている (ROLLER et al., 2008 ;

YAMANAKA et al., 2008)。カイコ神経ペプチドの最大の特徴は、ゲノム上に 30 コピー以上のボンビキシン (インシュリン様ペプチド) 遺伝子が存在することであるが、それ以外にも SIF アミドのパラログ (遺伝子重複によって出現した類似遺伝子) である IMF アミドが見つかるなど、上述した昆虫種に比較してペプチドの種類が多い。ただし、プロクトリンやイノトシンは存在しない。

5 カメムシ目

(1) アブラムシ

完全変態昆虫以外では、エンドウヒゲナガアブラムシ (*Acyrtosiphon pisum*) の神経ペプチド遺伝子が初めて網羅的に解析されている (HUYBRECHTS et al., 2010)。アブラムシのゲノムからは、コラゾニンや PDF, スルファキニン, PTHH, イノトシンがまだ見つかっていない。

(2) ウンカ

イネの害虫であるトビイロウンカ (*Nilaparvata lugens*) も最近になって次世代シーケンサーにより全ゲノムが解読され、農業生物資源研究所において神経ペプチドおよび受容体遺伝子の網羅的解析が進められている。最も大きな特徴は、今まで神経ペプチド関連遺伝子が網羅的に解析された昆虫種の中で、最も神経ペプチドの種類が多いと推測されることである (田中, 未発表)。カイコとは異なりプロクトリンやイノトシンが存在する等、複数の昆虫種に存在する神経ペプチドはすべてトビイロウンカに存在する。

II 昆虫種間の比較からみた神経ペプチドシグナルの分子進化

昆虫が様々な環境の変化に適応しながら進化を遂げてきた過程では、神経ペプチド関連遺伝子の獲得や消失により生理機能の再編成が行われてきたと考えられる。神経ペプチド関連遺伝子の比較からは、そうした神経ペプチドシグナルの分子進化の過程が見えてくる。

バッタやカで卵巣発育の制御に関与するニューロバルシンは、キイロショウジョウバエ亜群に存在しないがアナナスショウジョウバエ (*D. ananassae*) などそれ以外のショウジョウバエ 8 種には存在する。特に、キイロショウジョウバエとアナナスショウジョウバエの中間的な系統であるカオジロショウジョウバエ (*D. auraria*) には、生物活性に必要なシステイン残基がいくつか欠失したニューロバルシンが存在する (VEENSTRA, 2010)。このことは、ある神経ペプチドが必要でなくなるとまずペプチドの生理活性が失われ、その後ゲノムからも遺伝子が消失することを示唆している。こうした活性に必要なシステイン残基の欠失は、ヤドリコバチの羽化ホルモンや

PTTHにも見られる (HAUSER et al., 2010)。これらのペプチドは昆虫に広く存在し脱皮・変態に重要な役割を果たすと考えられているが、ヤドリコバチの羽化ホルモンやPTTHが実際に生体内で機能するのか興味のあるところである。

神経ペプチドの機能分化には、シグナルを受けとる側の受容体の進化も重要である。神経ペプチド-受容体の共進化には、①1セットの神経ペプチドおよび受容体の祖先遺伝子から遺伝子重複により複数セットの神経ペプチド-受容体が発現し、その後各々が独立して進化したことにより異なる機能を担うようになった (図-1①)、②一つの受容体が新しいリガンドを獲得することで新規の生理機能を獲得した (図-1②)、③一つの神経ペプチドに対して複数の受容体が発現し、各々の受容体が異なる機能に分化した (図-1③)、等様々なパターンがある。①ではAKH/ACP/コラゾニンが代表的な例である。これら3種類のペプチドおよびそれらの受容体は構造が類似していることから共通の祖先遺伝子から進化したと考えられる。しかし、AKH/ACP/コラゾニンは自身の受容体のみを特異的に活性化し、構造が類似している他の受容体は活性化しない (HANSEN et al., 2010)。したがって、AKH/ACP/コラゾニンでは、ペプチドと受容体のセットが独立して進化することで各々が異なる機能を担うように分化したと推測される。②ではPTSP/性ペプチド受容体 (PTSPR/SPR) が代表的な例である。PTSPR/SPRは、ショウジョウバエでは性ペプチド (YAPICI et al., 2007)、カイコではPTSP (YAMANAKA et al., 2010) の受容体として同定された。しかし、PTSPと

PTSPR/SPRはハチ目以外の昆虫に広く存在するのに対し性ペプチドはハエ目のショウジョウバエ亜属にしか存在せず、またショウジョウバエ以外のPTSPR/SPRは性ペプチドに対する応答が弱い。したがってPTSPR/SPRの本来のリガンドはPTSPであるが、ショウジョウバエのPTSPR/SPRは性ペプチドを新たなリガンドとして獲得するよう独自に進化したため、PTSPの機能に加え性ペプチドによる性行動の制御という新たな機能を獲得したと推測される (KIM et al., 2010)。③ではヒト副腎皮質刺激ホルモン放出因子タイプの利尿ホルモン受容体が代表的な例である。ショウジョウバエでは一つの利尿ホルモン (DH44) に対して発現組織や活性化される細胞内信号伝達経路が異なる2つの受容体 (DH44-R1, R2) が存在するが、これは複数の受容体が発現することにより一つの神経ペプチドが複数の機能を発現するように進化したと推測される (HECTOR et al., 2009)。

このように、神経ペプチドシグナルの機能分化には様々なパターンが見られるが、ある神経ペプチドシグナルの機能分化が昆虫種特有の生活史や行動とどのように関連するのかは現時点でよくわかっていない。今後各神経ペプチドシグナルの機能解明を進めることで、関連が明らかになると期待される。

III 創農薬のターゲットとしての神経ペプチドシグナルの利用

神経ペプチドやその受容体は脱皮・変態や行動に重要な役割を果たしており、また今までに神経ペプチドシグナルを標的とした農薬は開発されていないことから、抵

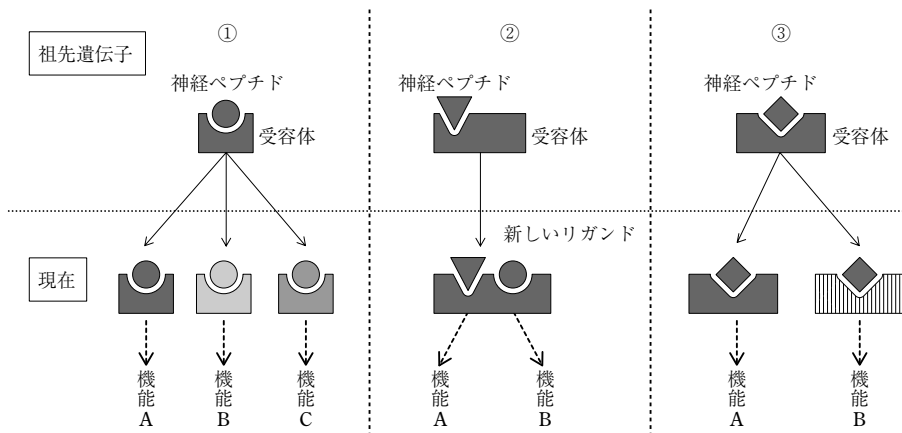


図-1 昆虫に見られる神経ペプチド-受容体の共進化と機能分化

①神経ペプチドと受容体のセットが独立して進化することで機能分化するパターン、②受容体が新たにリガンドを獲得することで機能を新たに獲得するパターン、③一つの神経ペプチドに対して複数の受容体が発現して機能分化するパターン。

抗性の出現に対応した新規の作用点を持つ農薬の開発に結びつくと期待される。今までは、ペプチド自体をリード化合物としてデリバリーの改善、つまり主に皮膚や腸からの浸透効率の向上や体内での分解・吸収の抑制効率の改善のために構造改変が試みられてきた。また、例は少ないが非ペプチド性のアゴニスト（リガンドと同様の働きをする物質）/アンタゴニスト（リガンドの働きを弱める物質）も開発されている。特に、筋収縮作用を示すミオサプレッシンの非ペプチド性アゴニストであるベンゾニウムクロロイドは、ミオサプレッシン受容体に作用することが確認されている（SCHERKENBECK and ZDOBINSKY, 2009）。ただし、非ペプチド性化合物は天然型のペプチドと比較すると活性が弱く、農薬として実用化されるまでには至っていない。

最近では、どの神経ペプチドシグナルを阻害すればより害虫の発育阻害に有効であるかを、特定の遺伝子の働きを止める RNA 干渉 (RNAi) を用いて探索する研究が様々な昆虫で進んでいる。例えば、脱皮行動を誘導する Ecdysis triggering hormone (ETH) や CCAP の受容体、脱皮後のクチクラの着色・硬化を誘導するバーシコン受容体を RNAi によりノックダウンすると、脱皮の際に致死することがコクヌストモドキで明らかになっている (ARAKANE et al., 2008 ; BAI and PALLI, 2010)。一方、脱皮・変態を制御する最上位の因子と考えられてきた PTH やその受容体である *torso* をノックアウトしたショウジョウバエの変異体は正常に成虫まで成長するため、PTH のシグナル経路は農薬のターゲットとしては有効でない可能性が示唆されている (REWITZ et al., 2009)。これらの研究はモデル昆虫を用いているが、農業生物資源研究所では農業害虫であるトビイロウンカを対象として RNAi 法を用いた遺伝子機能解析を効率的に行うシステムを構築し、発育阻害に有効な神経ペプチド関連遺伝子の同定を進めている (田中, 未発表)。今後は、ウンカのように防除の対象となる農業害虫から直接農薬開発に有用な遺伝子を探索する試みが増えると期待される。

おわりに

農薬分野だけでなく医薬分野でも日本の生理活性ペプチド研究は世界最高水準にありながら、海外とは対照的に日本発で治療や診断に使用されているペプチド関連薬品は非常に少なかった。これは国内では“ペプチドは医薬品には適さない”という考え方が根強いためであった。私達はまずこの先入観を捨て、様々な分野の研究者が関心を持って昆虫神経ペプチド研究に参入できる土壤をつくる必要がある。

引用文献

- 1) ARAKANE, Y. et al. (2008) : *Mech. Dev.* **125** : 984 ~ 995.
- 2) BAI, H. and S. R. PALLI (2010) : *Dev. Biol.* **344** : 248 ~ 258.
- 3) HANSEN, K. K. et al. (2010) : *PJ. Biol. Chem.* **285** : 10736 ~ 10747.
- 4) HAUSER, F. et al. (2006) : *Prog. Neurobiol.* **80** : 1 ~ 19.
- 5) ——— et al. (2008) : *Front. Neuroendocrinol.* **29** : 142 ~ 165.
- 6) ——— et al. (2010) : *J. Proteome Res.* **9** : 5296 ~ 5310.
- 7) HECTOR, C. E. et al. (2009) : *J. Exp. Biol.* **212** : 3142 ~ 3147.
- 8) HEWES, R. S. and P. H. TAGHERT (2001) : *Genome Res.* **11** : 1126 ~ 1142.
- 9) HUMMON, A. B. et al. (2006) : *Science*. **314** : 647 ~ 649.
- 10) HUYBRECHTS, J. et al. (2010) : *Insect Mol. Biol.* **19** Suppl 2 : 87 ~ 95.
- 11) 岩見雅史 (1998) : 無脊椎動物のホルモン, 学会出版センター, 東京, p. 37 ~ 70.
- 12) KIM, Y. J. et al. (2010) : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107** : 6520 ~ 6525.
- 13) LI, B. et al. (2008) : *Genome Res.* **18** : 113 ~ 122.
- 14) PREDEL, R. et al. (2010) : *J. Proteome Res.* **9** : 2006 ~ 2015.
- 15) REWITZ, K. F. et al. (2009) : *Science* **326** : 1403 ~ 1405.
- 16) RIEHLE, M. A. et al. (2002) : *Science* **298** : 172 ~ 175.
- 17) ROLLER, L. et al. (2008) : *Insect Biochem. Mol. Biol.* **38** : 1147 ~ 1157.
- 18) SCHERKENBECK, J. and T. ZDOBINSKY (2009) : *Bioog. Med. Chem.* **17** : 4071 ~ 4084.
- 19) STAFFLINGER, E. et al. (2008) : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **105** : 3262 ~ 3267.
- 20) VEENSTRA, J. A. (2010) : *Insect Biochem Mol Biol.* **40** : 354 ~ 361.
- 21) WEGENER, C. and A. GORBASHOV (2008) : *Genome Biol.* **9** : R131.
- 22) YAMANAKA, N. et al. (2008) : *PLoS ONE* **3** : e3048.
- 23) ——— et al. (2010) : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107** : 2060 ~ 2065.
- 24) YAPICI, N. et al. (2007) : *Nature* **451** : 33 ~ 37.