

## 島根県に自生する植物の生合理的利用に関する研究

生命工学科 教授

尾添 嘉久

### 目 的

島根県には豊かな自然があり、植物の生育に適した場所が多くある。このような環境を利用して、何か特色のあるものづくりができないか検討することを課題とした。具体的には、島根県に自生する植物が生合成する生理活性物質を島根県の農業に有効利用できないか検討することとした。

本研究で注目した植物は、多年生草本ハエドクソウ (*Phryma leptostachya* L.) である。「蠅の毒草」を意味する方言が各地に残っていることから、ハエドクソウは古くから蠅の駆除に使われてきたものと考えられている。ハエドクソウの研究は谷口栄二らによって精力的に進められ、殺虫成分の構造決定や全合成が行われた。その結果、ハエドクソウには数種の殺虫性リグナンが含まれており、その中でもハエドキサン A が最も殺虫活性が高いことが明らかにされている。しかし、どのようなメカニズムで殺虫活性を発現するか不明のままである。

本研究では、4種類の合成ハエドキサン A 異性体 (下図 2a6a, 2a6b, 2b6a, 2b6b) を用いて作用メカニズムを調べ、有機農業などにおける害虫防除資材として生かすことができるか検討する。

### 研究成果

まず、ハエドクソウが島根県内に自生しているかどうか、現地調査を行った。その結果、ハエドクソウは、山奥あるいは開発されたところではなく、人里近い、日当たりが弱い木陰に見られた。例えば松江市では、松江城の鎮守の森や西川津町の楽山公園などの道の脇に自生していることが分かった。初夏には、名前からは想像できない可憐な花を付けた (下図)。

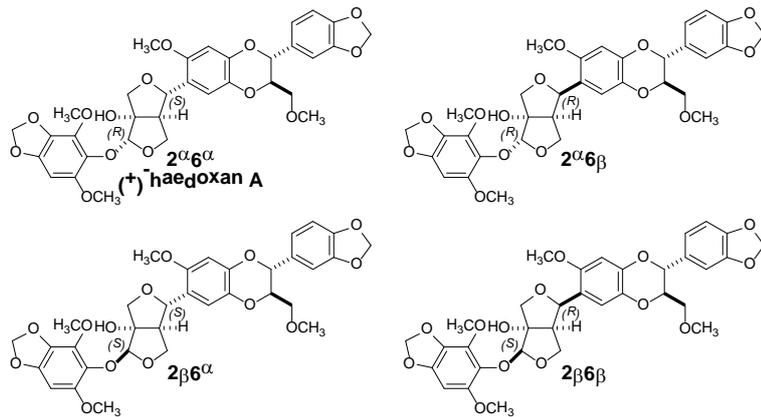
作用メカニズムを調べるために、最初に、チョウ目昆虫由来の培養細胞である Sf9 細胞に対するハエドキサン各異性体の作用を調べた。2a6a の立体配置をもつハエドキサン A には殺虫活性があるが、他の立体配置の異性体には殺虫活性がないことが分かっている。Sf9 細胞の増殖に及ぼす各異性体の影響を 72 時間まで調べたところ、1  $\mu\text{M}$  で 2b6a 体と 2b6b 体は細胞増殖を抑えたが、殺虫活性を示す 2a6a 体は増殖抑制活性を示さなかった。さらに、ハエドクソウから単離精製した天然ハエドキサン A を使って、0.3, 1, および 5  $\mu\text{M}$  の濃度で試したところ、1  $\mu\text{M}$  と 5  $\mu\text{M}$  において増殖を抑制する傾向にあったが、データ変動等を考慮すると有意な抑制ではなかった。従って、ハエドキサン A の殺虫活性は、細胞の増殖を抑制するような活性に基づくものではないと考えられた。

つぎに、Sf9 細胞がプレートに接着した後、1  $\mu\text{M}$  の各異性体を加え、24 時間 28  $^{\circ}\text{C}$  で培養して細胞所見を顕微鏡で観察した。異性体を添加した細胞では、オートファゴソーム様顆粒状構造物が細胞の中に観察された。しかしこの所見は、殺虫性の 2a6a 体よりも非殺虫性の 2a6b 体と 2b6a 体において著しかった。また、天然ハエドキサン A を 0.3, 1, 5, および 10  $\mu\text{M}$  の 4 濃度で試したところ、5  $\mu\text{M}$  以上のときに同様の所見が見られた。従って、効果濃度と特異性を考えると、オートファゴソーム様顆粒状構造物を生成させることがハエドキサン A の殺虫活性の原因ではないと推察された。

過去に、ハエドキサン異性体がラット GABA レセプターに対して弱い相互作用を示すという報告をしたことがあるので、今回、イェバエからクローニングした GABA レセプター遺伝子をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、ハエドキサン A が GABA レセプターによる GABA 誘起電流を阻害するか

調べた。GABA レセプターは既存殺虫剤の重要なターゲットとなっている。検討の結果、合成品 **2 $\alpha$ 6 $\alpha$**  体および天然ハエドキサシ A を 1  $\mu$ M で試したところ、どちらも電流阻害を示さなかった。従って、GABA レセプターの阻害剤ではないことが分かった。

ハエドキサシ A が  $\text{Ca}^{2+}$  と結合することが推察されている。そこで、カイコ由来オクトパミン (OA) レセプタータイプ 1 を安定発現する HEK293 細胞に  $\text{Ca}^{2+}$  結合発光タンパク質イクオリンを共発現させ、イクオリン発光から、ハエドキサシを添加したときの細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  レベルの変化を調べた。このレセプターは、 $\text{Ca}^{2+}$  を主シグナルとして筋収縮などに関わることが知られている。また、OA レセプターは制虫活性のターゲットとしても知られている。実験の結果、1  $\mu$ M の **2 $\alpha$ 6 $\alpha$**  体および天然ハエドキサシ A を添加したときの細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  レベルに変化は見られなかった。従ってハエドキサシは、OA レセプターの活性化、イオノフォア活性等により細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  レベルの上昇を惹起しないと考えられた。



## 社会への貢献

研究開始から 1 年弱しか立っていない現時点で社会貢献できるところまで研究は進展していない。しかし今後、島根県における有機農業などに貢献できる可能性はあると考えられる。

## 次年度に向けた検討状況

再び開花する初夏を待って、根からの抽出物を得た後、種々の昆虫に対する活性測定を行う。今年度実施した研究では、作用メカニズムの解明に至らなかったため、今後、 $\text{Ca}^{2+}$  ATPase など、他の作用点について検討するための情報収集中である。

## 公表論文

本課題に関してなし。

## 学会発表等

本課題に関してなし。

## 受賞等

なし。

## 外部資金

本課題に関してなし。