

日本農薬学会
農薬科学研究成果報告書
(平成 29 年度研究奨励金交付課題)

研究課題

Diieldrin 抵抗性イエバエ (OCR 系) に対する GABA アンタゴニストの交差抵抗性とそれら化合物の GABA 受容体に対する作用性解明

筆頭研究者氏名 田中啓司

所属 近畿大学農学部応用生命化学科

共同研究者名 (所属)

高市成美 (近畿大学大学院農学研究科応用生命化学専攻修士課程)
尾添嘉久 (島根大学生物資源科学部)
赤松美紀 (京都大学大学院農学研究科)
松田一彦 (近畿大学農学部応用生命化学科)

γ -BHC や Diieldrin だけでなく、 γ -BHC の類縁体 (γ -BHC の塩素原子を H、F、Br、OCH₃、CH₃ などの置換基で置き換えた化合物) や Diieldrin 以外の Cyclodiene、さらには塩素系でない GABA の非競合的アンタゴニストが、Diieldrin に抵抗性を示す OCR 系イエバエに対して、どの程度の殺虫活性を示すかを GABA アンタゴニストの GABA 受容体に対する作用メカニズム解明の一環として調べる研究を平成 29 年度の研究奨励金課題として申請し、採択された。日本農薬学会第 43 回大会・口頭発表 A207 (平成 30 年 5 月 26 日) で、本年度の研究成果を中間報告として発表した。その要約を以下に記す。

【目的】OCR 系イエバエは γ -BHC や Diieldrin に対して高い抵抗性を示す。OCR 系イエバエの GABA 受容体の第 2 膜貫通領域 (M2) の 1 アミノ酸が、感受性イエバエの場合アラニンであるのに対して、OCR 系イエバエの場合はセリンに変異していることが報告されている (J-R. Gao et al., Pestic. Biochem. Physiol., 88, 66-70 (2007)) このポイント変異に着目し、感受性系統と OCR 系統イエバエに対する γ -BHC や Cyclodiene 系殺虫剤等の殺虫活性を調べ、それらに対する抵抗性比をもとに、これらの化合物の GABA 受容体の作用部位周辺に対する結合様式に関する情報を得ることを目的として本研究を実施した。なお、本研究を開始する時点で、Diieldrin に抵抗性を示すチャバネゴキブリに対し、Diieldrin の幾何異性体である Endrin は、感受性系統に対して同等の殺虫活性を示し、あまり抵抗性ではないことを予備試験で確認している。この現象が昆虫種あるいは動物種を超えて共通に見られることなのか、そして GABA アンタゴニストとその受容体との結合性、そして、その結合する部位周辺に関する情報を知る上で、極めて重要な研究であると考えている。なお本研究成果は、同じ作用性グループに属する化合物群に対する IRAC (抵抗性対策委員会) の施策方針に対し、基礎的な情報を提供すると考えている。

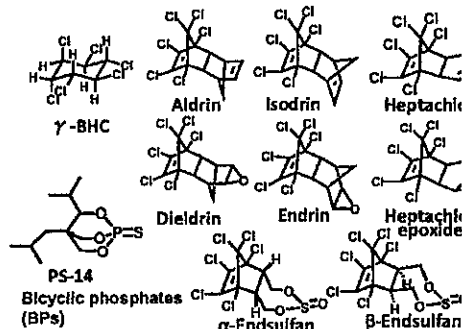


Fig. GABA antagonists

【方法】 γ -BHC、 γ -BHC 類縁体、Cyclodiene 系殺虫剤として Diieldrin、Endrin、Endosulfan、Heptachlor やその関連化合物、さらに有機塩素系でない GABA アンタゴニストなどを供試す

る。さらに、イエバエ以外に、昔から γ -BHC や Dieldrin が効かないことが知られているハスモンヨトウを供試し殺虫活性を評価し、昆虫種間での活性比較をする。感受性および OCR 系イエバエ頭部から調製した神経膜画分 (P2 画分) を用いた GABA 受容体に対する [3 H]EBOB 結合阻害活性評価も行う。ハスモンヨトウの GABA 受容体をショウジョウバエの培養細胞に発現させ、その GABA 受容体に対して、膜電位に応答する蛍光プローブを用いた評価系での GABA のアンタゴニスト活性を評価する。なお、ハスモンヨトウ GABA 受容体の M2 のアミノ酸 (OCR 系イエバエの GABA 受容体で、アラニンからセリンにポイント変異している箇所に対応する部分) は、OCR 系イエバエ同様に、アラニンではなくセリンであることが知られている。

【成果】

以前、Dieldrin に抵抗性を示すチャバネゴキブリに対し、Endrin、Isodrin は、Dieldrin に比べ、それほど高い抵抗性を示さないことを報告している (Matsumura and Tanaka, Cellular and Molecular Neurotoxicology, 225-240 (1984))。Endrin と Isodrin は、それぞれ Dieldrin と Aldrin の幾何異性体である。そこで Dieldrin に対し高い抵抗性を示す OCR 系イエバエに対して、Endrin や Isodrin がどの程度の抵抗性を示すか調べた結果、一定の抵抗性は示すが、その程度は極めて小さいことを確認した。なお、Isodrin の幾何異性体である Aldrin は OCR 系イエバエに対して、Dieldrin と同様に高い抵抗性を示した。Dieldrin は Aldrin の二重結合部分がエポキシ化された化合物で、Aldrin により殺虫活性は高く、代謝 (エポキシ化) により活性化される化合物である。Isodrin と Endrin の関係も Aldrin, Dieldrin とまさしく同じで、Isodrin に比べそのエポキシ体である Endrin の殺虫活性は高い。Dieldrin と Aldrin、その幾何異性体である Isodrin、Endrin が、M2 領域でアラニンからセリンに変異しているイエバエとチャバネゴキブリとで、同様の現象を示すことが確認でき、このことは、これらの化合物と受容体の作用部位への結合性の点から興味深い結果である。野生種のハスモンヨトウに対しては、 γ -BHC や Cyclodiene 系殺虫剤の殺虫活性が弱いことは古くから知られている。そこで、ハスモンヨトウの GABA 受容体をショウジョウバエの培養細胞に発現させ、その培養細胞を用いて、 γ -BHC やその類縁体 (γ -BHC の塩素原子を H、F、Br、OCH₃、CH₃ などの置換基で置き換えた化合物) の GABA に対するアンタゴニスト活性を評価し、感受性ショウジョウバエの GABA 受容体に対するこれら化合物の GABA アンタゴニスト活性を比較した。その結果ハスモンヨトウの GABA 受容体を発現させた系で、これらの化合物のアンタゴニスト活性は、感受性のショウジョウバエの GABA 受容体を発現させた系での GABA アンタゴニスト活性に比べ、大きく低下していることを確認した。

γ -BHC や Cyclodiene 系殺虫剤以外の、非競合的 GABA アンタゴニストとしてピクロトキシニン、EBOB、架橋二環式リン酸エステル類、フィプロニルなど、多様な化学構造の化合物が知られている。 γ -BHC 類縁体や、Dieldrin、Endrin 以外の Cyclodiene 系殺虫剤を含め、これらの化合物が OCR 系イエバエに対してどの程度の抵抗性を示すか、確認試験を継続中である。先に、尾添らは、フィプロニルや EBOB の抵抗性比は Dieldrin に比べ比較的小さいことを報告している (Ozoe et al., ACS Symposium Series, 948, 39-50 (2007))。供試した γ -BHC 類縁体や Cyclodiene 系殺虫剤の OCR 系統イエバエに対する殺虫活性は、おしなべて感受性系統に比べ劣ることを確認した。Heptachlor や Heptachlor epoxide は高い抵抗性を示したが、 α -と β -Endosulfan は、それほど高い抵抗性を示さなかった。代表的な GABA アンタゴニストとして知られているピクロトキシニンも、それほど高い抵抗性は示さなかったが、架橋二環式リン酸エステル類の PS-14 は高い抵抗性を示した。現在、これら以外の GABA アンタゴニストについての試験を継続中で、それらの結果と GABA 受容体に対する活性 ([3 H]EBOB 結合阻害活性評価など) とを合わせて、その詳細を Journal of Pesticide Science に投稿予定である。