

綜 説

Recent Studies on Phytoecdysones. Tetsuo OKAUCHI (Food and Feed Research Laboratories, Research and Development Division, Takeda Chemical Industries, Ltd., Juso, Osaka, Japan).

Phytoecdysone 最近の研究 岡内哲夫 (武田薬品工業株式会社 研究開発本部 食品研究所)

1. はじめに

節足動物である昆虫の生長發育に脱皮現象が不可欠なことは良く知られている。たとえば完全変態の昆虫は数回の幼虫脱皮ののち、蛹となり、さらにこの蛹が脱皮して成虫となる。これら脱皮は脳の神経分泌細胞より分泌される脳ホルモンによって支配される。すなわち脳ホルモンは前胸腺を活性化して脱皮を initiate する脱皮ホルモン (ecdysone) を分泌させる。この ecdysone と、別にアラタ体より分泌される成虫化を抑制する幼若ホルモン (juvenile hormone) との共同作用により昆虫の發育が制御されていると考えられている。

Ecdysone は 1954 年 Butenandt らによりカイコ *Bombyx mori* 蛹より単離され¹⁾、1965 年その構造が決定された^{2,3)}。Juvenile hormone については、活性を有する物質が植物や昆虫の糞から発見されたが、1966 年 Röller らにより methyl 10-epoxy-7-ethyl-2, 6-tridecadienoate がセクロピア蚕 *Hyalophora cecropia* の雄成虫腹部より単離された⁴⁾。また脳ホルモンについては、cholesterol が報告されたことがあったが、現在はタンパク性のホルモンである事実が明らかになりつつある。物質としての ecdysone の発見は、その後の昆虫の生長分化の研究、特に組織学的あるいは生化学的分野での研究を大いに発展せしめ、幾多の注目すべき成果を生むに至った^{5,6)}。

その後昆虫や他の節足動物から数種の ecdysone 類似物質 (Fig. 1, 26~32) がつぎつぎと発見されたが、1966 年これらが植物中にきわめて高濃度に存在することが明らかにされた^{7,8)}。節足動物に特有なホルモンと考えられていた ecdysone 関連物質が、植物からも発見されたことは、ecdysone に関心をもつ多くの人達にとって驚異すべきことであつた。現在までに植物から少なくとも 20 数種の ecdysone 関連物質が発見されているが (Fig. 1)、これら植物起源の ecdysone 関連物質に対しては phytoecdysone なる総称が与えられ、動物起源の zooecdysone と区別されている。ここでも便宜上この分類にしたがっているが、両者の関係は steroid における phytosterol と zoosterol の関係のごときもので本質的な意味は持っていない。

このように phytoecdysone は現在もつぎつぎと新物質が発見されつつある段階であり、これらの生物学的意義についても十分研究されているとはいえないが、今後の研究の発展のためにあえて概説を試みるとともに、幾つかの問題を提起したい。なお有機化学あるいは植物化学的な立場からの総説はすでに見うけられるので、ここでは主として昆虫学の立場から述べるとともに、phytoecdysone の利用に関しても若干論議したい。

2. Phytoecdysone の生物検定法

Ecdysone の生物検定法としては Karlson ら⁹⁾のクロリバエ *Calliphora erythrocephala* をもちいる *Calliphora test* が有名である。これに近い方法としてはイエバエ *Musca domestica* の幼虫をもちいる方法¹⁰⁾、あるいはカイコ幼虫の遊離腹部をもちいる方法¹¹⁾がある。これらはいずれも蛹化直前の終令幼虫を胸腹部間で結紮し、ecdysone の分泌部位と考えられる輪状腺 (ring gland) あるいは前胸腺 (prothoracic gland) を含みぬ腹部に検体を注射して、蛹化の有無から活性を検定するものである。さらに羽化の有無から検定する方法として、蛹化直後に除脳したカイコ類の人工休眠蛹や、蛹の遊離腹部をもちいる方法がある¹²⁾。この方法は羽化現象を見るものだけに結果は明瞭であり精度も高いが、完全な結果を得るまでには 2 週間以上の日時を要する。短時間で結果を知る方法としてはユスリカ *Chironomus tentans* の終令幼虫における唾腺染色体のパフ (puff) の形成の有無を見る組織学的方法¹³⁾も知られている。今後 ecdysone の作用機作が明らかになるに従い、特定の標的器官 (target organ) における物質代謝または酵素活性を *in vitro* で測定する方法も可能になると考えられる。

さて現在までにもちいられてきた生物検定法はすべて注射法によるものであり、昆虫起源のかなり精製された物質の検定には適しているが、のちに述べる phytoecdysone の探索研究には必ずしも適していないと考えられる。すなわち phytoecdysone は通常 methanol または ethanol 等の極性の大きい有機溶媒で抽出されるが、これら溶媒はいずれも昆虫に対して毒性を示す可能性があり、特に methanol の毒性が強いことは良く知られている。さらにエキス中には多くの

混在物を含み、これらのうちにはタンニン等のフェノール性物質、アルカロイドあるいはサポニン等々昆虫に注射された場合当然毒性を示す物質も多いことが考えられる。そこでこれらの問題を解決するために phytoecdysone 発見とともに開発された検定法としてニカメイガ *Chilo suppressalis* 幼虫浸漬法¹³⁾と、後に述べる人工飼料飼育蚕への経口投与方法¹⁴⁾がある。ニカメイガ幼虫浸漬法 (*Chilo dipping test*) は蛹化3日前の

老熟幼虫を胸腹部間で結紮し、1夜放置後 phytoecdysone の methanol 溶液または試験すべき植物の methanol extract 中に5~10秒間浸漬後風乾し、適度の温湿度を保ったシャーレ中に48時間放置し、出現する蛹化個体(新表皮が形成された個体)数の多少から効力を判定する方法である。この方法は精度はかならずしも高くはないが、操作が簡単であり、溶媒も methanol が適しているの、ニカメイチュウ大量飼

Fig. 1-1.

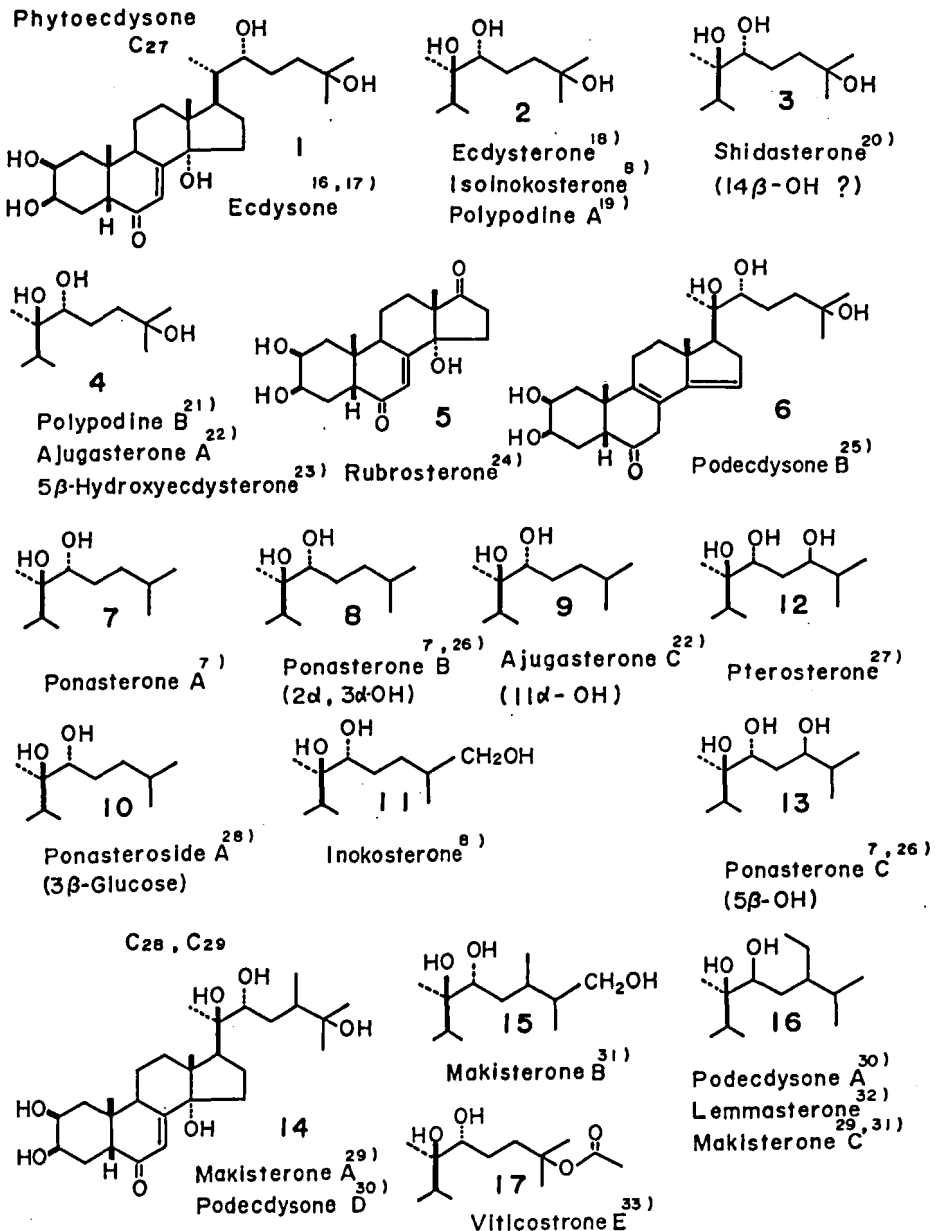


Fig. 1-2.

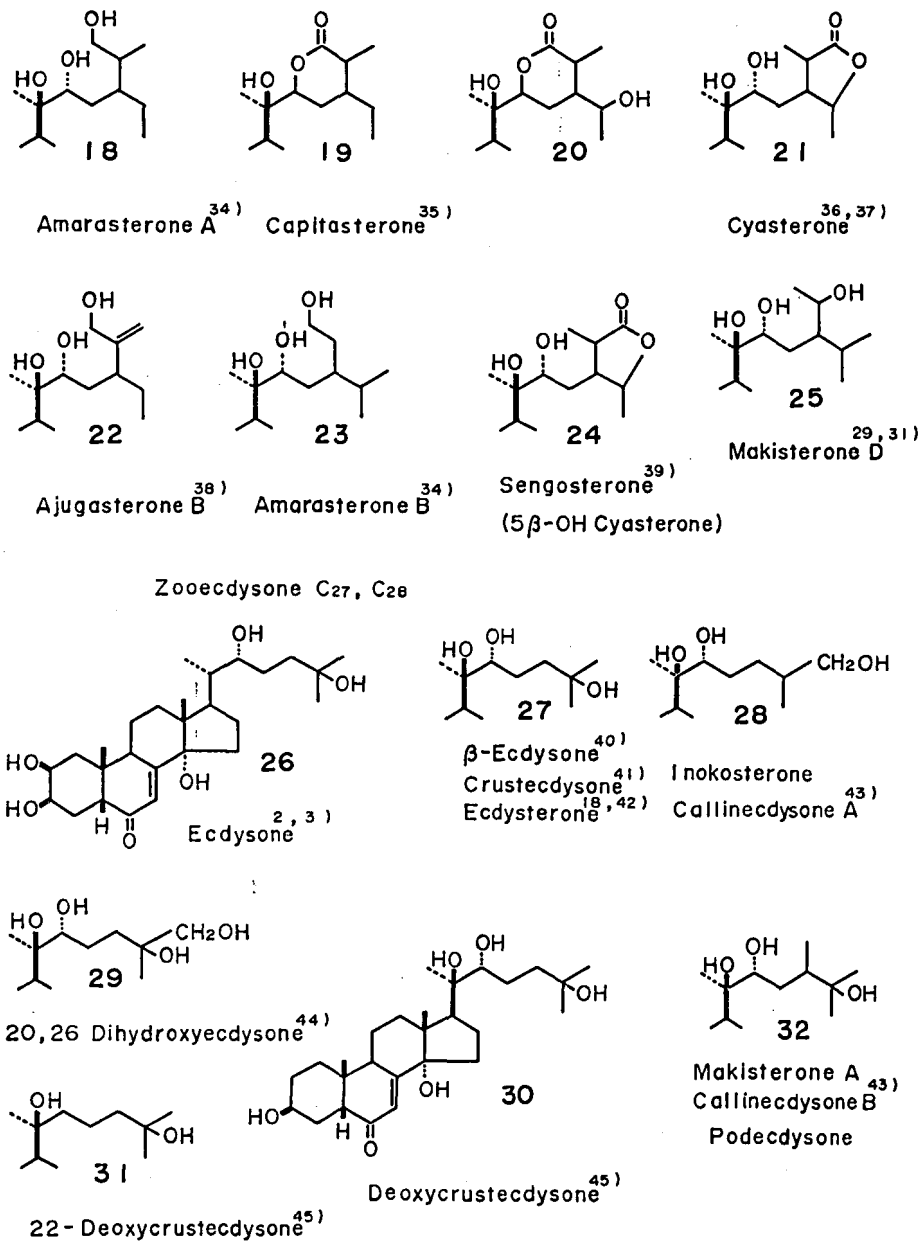


Fig. 1. Phytoecdysones and zooecdysones.

育法の確立¹⁵⁾とあいまって、その後のphytoecdysoneの探索研究に貢献することが大きかった。さらにphytoecdysoneのmethanol溶液は局所施用(topical application)によっても作用することが報告されているが、これらのことから適当な溶媒がもちいられた場合、phytoecdysoneもjuvenile hormoneと同様昆虫の皮膚を透過することを明らかにしたといえる。

経口投与あるいは体表への局所施用によってもphytoecdysoneが昆虫に対して作用を示すことは、後に述べるようにこれら物質の実用化の際きわめて重要な意味を持つことになる。

3. Phytoecdysoneの種類と植物界における分布

Fig. 1は上記のような種々の assay 法により現在ま

でに単離された phytoecdysone と zooeecdysone の化学構造を示したものである。これら ecdysone 類の大多数は炭素数27の polyhydroxy steroid であるが、炭素数28, 29のものもあり、さらに側鎖をもたない炭素数19の rubrosterone も活性を示す。Rubrosterone が発見されたことは、後に述べるように昆虫および植物のステロイド代謝を解明するためにも、あるいは ecdysone 類以外の他の多くの steroid hormone との構造類似性という意味からも大変興味を持たれる。さらにこれら化合物は 5β -cholest-7-en-6-one を基本骨格とし、 2β , 3β , 14α と側鎖 C_{20} , C_{22} に水酸基をもつものが多いが、Fig. 1 から明らかなごとく若干の例外もある。したがって上記の基本構造がすべて脱皮ホルモン活性を示すための必須条件とはいえないが、これらの条件が満たされていない物質はいずれも活性が低下する傾向があり、Hocks らの ecdysone 類緑物質の合成による研究の結果⁴⁶⁾は phytoecdysone の場合にも認められるようである。

さて植物体内における phytoecdysone の生理的意義については他の steroid 類の役割が不明であるのと同じくよく知られていない。Heftmann ら⁴⁷⁾は *Podocarpus elatus* の若木において、 $4-^{14}C$ -cholesterol から radioactive ecdysterone が、ヒキノラ⁴⁸⁾は *P. macrophyllus* の葉において radioactive ponasterone A が生合成されることを見ている。これらのことから phytoecdysone の大半は cholesterol から生合成されることが考えられるが、cyasterone, podecdysone A 等炭素数 28, 29 の phytoecdysone は sitosterol または clinasterol 等から生合成される可能性がある⁴⁹⁾。植物界における phytoecdysone の生合成、すなわち steroid metabolism の研究は植物界における steroid の生理的な役割を理解するためにも重要な意味を持つものと思われるが、以下に述べる phytoecdysone の植物界における分布様式との関連性を比較生化学的に解明するためにも重要である。さら

にこれらの研究は昆虫体内における ecdysone 関連物質の代謝研究に貢献することが大きいと考えられる。

Table 1 に現在までに存在が確認されている phytoecdysone の植物界における分布を要約した。Phytoecdysone が広く植物界に分布していることがわかるが、竹本ら⁶¹⁾および Imai ら⁶²⁾はこれらの分布様式をさらに詳しく知る目的で、種々の植物および生薬類について、ethanol あるいは methanol extract の段階での活性の有無を見た。その結果竹本らは約 120 種の高等植物から 50 種の、約 40 種のシダ植物から 22 種の活性を示す植物を見出したが、地衣類、菌類および海藻類は活性を示さなかった⁶¹⁾。一方 Imai らは 186 科 738 属、1,056 種の植物について系統的に screening し、シダ植物から 3 科 14 属 24 種の、また高等植物から 15 科 20 属 30 種の活性を示す植物を見出した。この実験では入手可能なかぎり少なくとも 1 科中 1 植物については assay をおこない、活性が示された段階では近縁属間の関係についても調べている。その結果について Imai らは、i) 活性を示す植物はシダ植物および裸子植物に多く、被子植物では一般に少ないが、双子葉植物のヒユ科（離弁花）およびクマツヅラ科（合弁花）とこれらの近縁植物に多いこと、ii) 活性を示す植物は属を単位として存在するが、同一科内には活性を示す属と示さない属が混在する場合がある、そして iii) 活性を示す植物は木本あるいは多年性草本に限られ、一年性草本には見られない、と述べている。Staal⁶³⁾は 8 科 34 属 82 種の裸子植物の crude extract の活性をイエバエ幼虫で検定し、活性がマキ科 Podocarpaceae とイチイ科 Taxaceae のみに示されることを認めている。

次に個々の phytoecdysone の分布について見ると、ponasterone 類、cyasterone および inokosterone 等は比較的分類的に近縁な植物間のみ存在するようであるが、ecdysterone はシダ植物から被子植物まで広く分布することがわかる (Table 1)。

Table 1. Distribution of Phytoecdysones.

Plant	Phytoecdysone	Yield	Source	References
Polypodiaceae				
<i>Polypodium vulgare</i> L.	ecdysone	18mg/kg dry	rhizomes	Heinrich and Hoffmeister (1967) ¹⁷⁾
	ecdysterone	1 μ g/kg dry	rhizomes	Jizba <i>et al.</i> (1967) ¹⁹⁾
	polypodine B	400mg/kg dry	rhizomes	Jizba <i>et al.</i> (1967) ²¹⁾
	5β -hydroxy-ecdysterone	400mg/kg dry	rhizomes	Heinrich and Hoffmeister (1968) ²³⁾
<i>Polypodium japonicum</i> MAKINO	ecdysterone	500mg/kg dry	rhizomes	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁹⁾
<i>Polypodium aquilinum</i> KUHN	ecdysone	0.45mg/kg dry	pinnae	Kaplanis <i>et al.</i> (1967) ¹⁹⁾

Plant	Phytoecdysone	Yield	Source	References
	ecdysterone	1 mg/kg dry	pinnae	Kaplanis <i>et al.</i> (1967) ¹⁰⁾
	ponasterone A		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ⁵⁰⁾
	pterosterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ⁵⁰⁾
	warabisterone (ponasteroside A)		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
<i>Lastrea thelypteris</i> BORY	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
	ponasterone A		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
	pterosterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
<i>Onoclea sensibilis</i> L.	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
	ponasterone A		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
	pterosterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ⁵¹⁾
<i>Lemmaphyllum microphyllum</i> PARESŁ	ecdysone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
	pterosterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
	lemmasterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁸⁾
<i>Matteuccia struthiopteris</i> TODARO	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
	ponasterone A		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵¹⁾
<i>Pleopeltis thunbergiana</i> KAULF	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ⁵²⁾
<i>Neocheiropteris ensata</i> CHING	ecdysterone		whole	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ⁵²⁾
Taxaceae				
<i>Taxus baccata</i> L.	ecdysterone	300mg/kg fresh	leaves	Hoffmeister <i>et al.</i> (1967) ⁵³⁾
<i>Taxus cuspidata</i> SIEB. et Zucc.	ponasterone A	445mg/kg fresh	leaves	Imai <i>et al.</i> (1967) ⁵⁴⁾
	ecdysterone	13.5mg/kg fresh	leaves	Imai <i>et al.</i> (1967) ⁵⁴⁾
Podocarpaceae				
<i>Podocarpus elatus</i> R. BR.	ecdysterone		wood	Galbraith and Horn (1966) ⁵⁵⁾
	podecdysone A, B, C		bark	Galbraith <i>et al.</i> (1968) ⁵⁰⁾
	podecdysone D, E, F		bark	Galbraith <i>et al.</i> (1969) ²⁵⁾
<i>Podocarpus Nakaii</i> HAY	ponasterone A	1.6g/kg dry	leaves	Nakanishi <i>et al.</i> (1966) ⁷⁾
	ponasterone B	150mg/kg dry	leaves	Nakanishi <i>et al.</i> (1966) ⁷⁾
	ponasterone C	100mg/kg dry	leaves	Nakanishi <i>et al.</i> (1966) ⁷⁾
	ponasterone D	4mg/kg dry	leaves	Nakanishi <i>et al.</i> (1966) ⁷⁾
<i>Podocarpus chinensis</i> WALL	ponasterone A	300mg/kg fresh	leaves	Imai <i>et al.</i> (1967) ⁵⁴⁾
<i>Podocarpus macrophyllus</i> D. DON.	ponasterone A	380mg/kg fresh	leaves	Imai <i>et al.</i> (1967) ⁵⁴⁾
	ecdysterone	7mg/kg fresh	leaves	Imai <i>et al.</i> (1967) ⁵⁴⁾
	ponasterone A	500mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
	ecdysterone	100mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
	makisterone A	10mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
	makisterone B	1mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
	makisterone C	1mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
	makisterone D	1mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1968) ²⁹⁾
Moraceae				
<i>Morus bombycis</i> KOIDZ.	inokosterone	10mg/kg dry	leaves	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵³⁾
	ecdysterone	1mg/kg dry	leaves	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵³⁾
Amaranthaceae				
<i>Achyranthes fauriei</i> LEV. et VAN.	ecdysterone	100mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵⁾
	inokosterone	100mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵⁾

Plant	Phytoecdysone	Yield	Source	References
<i>Achyranthes obtusifolia</i> LAM.	ecdysterone	250mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵⁷⁾
<i>Achyranthes rubrofusca</i> WIGHT	ecdysterone	490mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵⁸⁾
	inokosterone		roots	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁴⁾
	rubrosterone		roots	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ²⁴⁾
<i>Achyranthes longifolia</i> MAKINO	ecdysterone	470mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ⁵⁸⁾
<i>Cyathula capitata</i> MOQUIN- TANDON	cyasterone	200mg/kg dry	roots	Takemoto <i>et al.</i> (1967) ³⁶⁾
	capitasterone		roots	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ³⁵⁾
	amarasterone A		roots	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ³⁴⁾
	amarasterone B		roots	Takemoto <i>et al.</i> (1968) ³⁴⁾
	sengosterone		roots	Hikino <i>et al.</i> (1969) ³⁹⁾
Verbenaceae				
<i>Vitex megapota mica</i> SPRENG.	ecdysterone	880mg/kg dry	leaves	Rimpler and Schulz (1967) ⁵⁹⁾
	inokosterone		leaves	Rimpler (1967) ⁶⁰⁾
	pterosterone		leaves	Rimpler (1967) ³³⁾
	polypodine B		leaves	Rimpler (1967) ³³⁾
	viticosterone E		leaves	Rimpler (1967) ³³⁾
Labiate				
<i>Ajuga incisa</i> MAXIM.	ajugasterone A		whole	Imai <i>et al.</i> (1968) ³¹⁾
	ajugasterone B		whole	Imai <i>et al.</i> (1968) ³¹⁾
	cyasterone	80mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
	ecdysterone	120mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
<i>Ajuga japonica</i> MIA.	ajugasterone C	100mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1969) ²²⁾
	ecdysterone	2g/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1969) ²²⁾
	cyasterone	575mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1969) ²²⁾
<i>Ajuga decumbens</i> THUNB.	ajugasterone C	15mg/kg dry	leaves	Imai <i>et al.</i> (1969) ²²⁾
	ecdysterone	120mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
	cyasterone	80mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
<i>Ajuga nipponensis</i> MAKINO	ecdysterone	120mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
	cyasterone	80mg/kg dry	whole	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
Stachyuraceae				
<i>Stachyurus praecox</i> SIEB. et Zucc.	ecdysterone	600mg/kg dry	barks	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
Liliaceae				
<i>Trillium Smallii</i> MAXIM.	ecdysterone	80mg/kg dry	rhizomes	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾
<i>Trillium Tschonoskii</i> MAXIM.	ecdysterone	100mg/kg dry	rhizomes	Imai <i>et al.</i> (1969) ⁴⁰⁾

Phytoecdysone の分布はシダ植物から被子植物まで広範囲にわたっているにもかかわらず、見かけ上は不連続である。これらの原因として、被検植物の採集時期、採集部位あるいは crude extract の段階での検定法等に問題があったことも考えられるが、phytoecdysone が植物の生活にとって必須物質ではなくて、二次的な代謝産物である可能性を示しているといえる。事実現在まで phytoecdysone の植物自体に対する生理的な意義についての知見はほとんどない。

4. Phytoecdysone の昆虫に対する作用

脊椎動物と異なり昆虫にはステロイド骨格を合成する能力がないことが知られている。しかし昆虫体内で steroid は重要な生体構成成分となっているだけでなく、昆虫の生長発育に重要な役割を果している steroid hormone である ecdysone 類生合成の starting material としても不可欠であると考えられてきた^{69,70)}。しかるに、昆虫が食物とする植物に phytoecdysone

が多量に存在することが知られたことは従来の昆虫ホルモンの研究に全く新しい問題を提出した。さらに植物中に含まれるこのような活性物質が摂食された場合にも生理活性を示すとすれば、植物—昆虫間の相互作用という生態学的な意味からも大変興味を持たれる。

以下に著者らが行なった実験結果を紹介するとともに、phytoecdysone の昆虫に対する役割について若干考察を試みたい。

昆虫と植物との相互作用は多くの場合、食うものと食われるものという関係から生ずる。したがって食植性昆虫に対して経口的に与えられた phytoecdysone がどのような作用を示すかということはきわめて重要な問題である。著者らは主としてエリ蚕 *Samia cynthia ricini* の除脳蛹を用いて種々 phytoecdysone の ecdysone 作用を確認したのちクワ *Morus alba* を唯一の食草とするカイコを phytoecdysone を全く含まないように処理した人工飼料⁷⁾を用い、phytoecdysone 類を種々の濃度で添加し、発育を観察した¹⁰⁾。1~4令期のカイコを ponasterone A, ecdysterone, inokosterone および cyasterone を添加した飼料で飼育すると、ponasterone A を含んだ飼料では定量的に就眠、脱皮を著しく促進することがわかったが、ponasterone A 以外の phytoecdysone はエリ蚕除脳蛹に注射した場合はきわめて強い活性を示したにもかかわらず、経口的に与えた場合は ponasterone A の10倍以上の濃度でもほとんど作用を示さなかった。この傾向は5令期前半まで続いて認められ、ponasterone

A を5令初期より添食した場合、発育時期によって効果に強弱は認められるが、添食濃度に比例して就眠促進効果が認められ、過剰脱皮した6令幼虫が出現する。しかし、ecdysterone または inokosterone は ponasterone A の10倍以上の濃度でわずかに6令幼虫が出現する程度である。なお過剰脱皮した6令幼虫は、その後生長せず数日間生存したのち蛹化に至らず死亡する。一方5令後半期に添食した場合は cyasterone を除き、いずれも添食濃度に比例して熟蚕化の促進および蛹化の促進齊一化が認められた (Fig. 2)。この場合 ponasterone A の活性は他の phytoecdysone よりやや大きい。また熟蚕化に要する濃度は5令末期ほど低い。なお cyasterone はエリ蚕除脳蛹に注射した場合、他の phytoecdysone の10倍以上の活性を示したにもかかわらず、経口的に投与した場合、5令末期のカイコに対しては熟蚕化を促進しないばかりでなく、むしろ定量的に正常な蛹化を阻害する。同様な熟蚕化促進効果は、phytoecdysone を含有する植物の crude extract あるいは粗粉末を直接人工飼料に練り込んだ場合でも、クワの葉に直接添加した場合にも認められた。

これらのことは phytoecdysone がカイコの腸管から吸収されることを示している。先に述べたように phytoecdysone は多くの植物に分布することから、昆虫の食草の選択に何らかの役割をしていることも考えられる。すなわちカイコは ecdysterone, inokosterone を高濃度含有するイノコズチや ponasterone

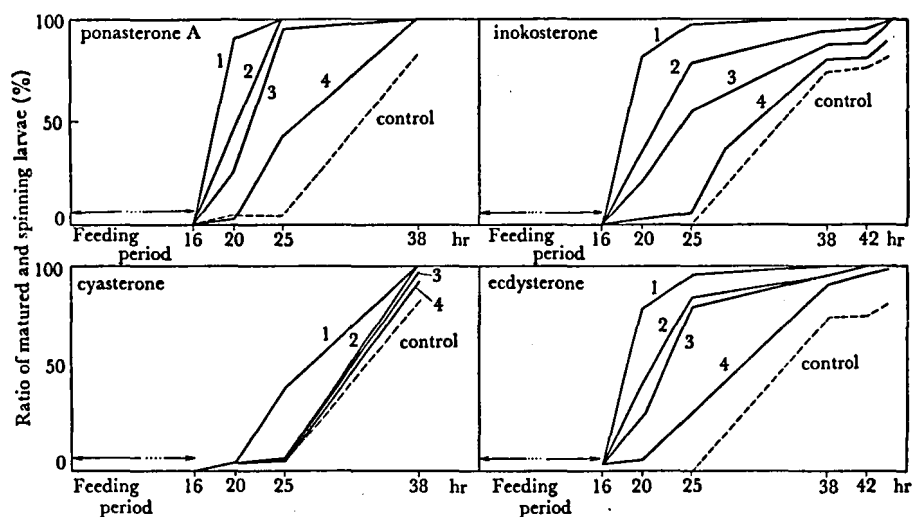


Fig. 2. Effects of phytoecdysones on the maturation and spinning of 5th instar silkworm larvae.

Curve numbers 1, 2, 3 and 4 show various concentration of phytoecdysones. (1:1200 μg , 2:600 μg , 3:300 μg , 4:150 μg /100 g dry diet).

類を含有するマキ科、イチイ科等の植物を実際には摂食忌避するので食草とすることはないが、たとえこれらの植物を摂食することが可能としても、正常な発育をすることはできないであろう。シダ植物は昆虫に食害されることの少ない植物として知られているが、シダ植物に phytoecdysone が多いことはすでに述べたとおりである。しかし Staal⁶⁸⁾によれば、裸子植物は種々の昆虫の食害をうけるし、最近 Carlisle と Ellis⁷²⁾は、バッタの1種 *Schistocerca gregalia* が phytoecdysone 含量の高いことが知られているワラビ *Pteridium aquilium* を食草として利用しても、脱皮、生長に何ら異常が認められないと述べている。カイコもクワ葉中に存在することが知られている⁶⁶⁾ inokosterone あるいは ecdysterone を蛹化直前の時期以外は異常に高濃度を摂食しないかぎり影響を受けず、またかなり高濃度の場合でも常時摂食した時は影響をうけることが少なかった。これらのことは昆虫の側にも食草と共に取り込まれる可能性のある phytoecdysone に対して何らかの不活化の機能を獲得していることを示しているといえよう。

たとえば先に述べたように、経口的に与えられた cyasterone がカイコに対して ecdysone 活性を示さなかったのは、カイコの消化液の高い pH (10-11) により側鎖ラクトン環の開裂等の化学変化により不活化されたためではなからうか。

このように、phytoecdysone が昆虫の食物選択の進化の過程で重要な役割を果たしたであろうことは容易に推察できるが、これらについて論議するに十分な知見は現在あまりにも少ない。

著者ら⁷³⁾は phytoecdysone のカイコにおける代謝をさらに詳しく調べ、以下に述べるようにきわめて興

味ある結果を得ることができた。まず 23, 24-³H-ecdysone を前述の人工飼料に添加して 5 令各時期における吸収、分解および排泄を TLC と液体シンチレーションカウンターで調べた。その結果飼料と共に取り込まれた ecdysone は腸管より吸収されたのち体内で分解され、排泄されることが明らかとなった。この分解・排泄の様相をより明確にするために上記 ecdysone を強制的に経口投与または体液中に注射し、至体各部位の代謝産物を Hori の開発した液体カラムクロマトグラフィー⁷⁴⁾で分離、液体シンチレーションカウンターで定量した。外部から与えられた ecdysone は経口投与、注射いずれの場合も体内ですみやかに ecdysterone に変換されたのち、側鎖が切れ、側鎖由来の脂肪酸は塩類 (substance A) となって腸管より排泄される。しかしごく一部の ecdysterone はエステル型になって体液中に存在する。(substance B, C)。これらの代謝経路を模式的に示した (Fig. 3)。

このように ecdysterone はすべて側鎖が切断されたのち排泄されることは明らかとなったが、その骨格 (substance X) がどのように変化し、また体内でどのような挙動を示すかは、³H-ラベルの位置の関係から不明である。また ecdysone から ecdysterone への変換速度は 5 令の経過が進むほど速くなり、ecdysterone の substance A, B および C への変換率は 5 令初期ほど大きい傾向が示された。したがって 5 令末期にはたとえば、体液中には ecdysterone が蓄積される傾向がある。なお最近著者ら⁷⁵⁾はこれら ecdysone のカイコ体内における代謝が脂肪体によって定量的に行なわれることを *in vitro* の実験により明らかにした。これらのことは、前述の経口的に取り込まれた phytoecdysone が、5 令末期以外の時期でカイ

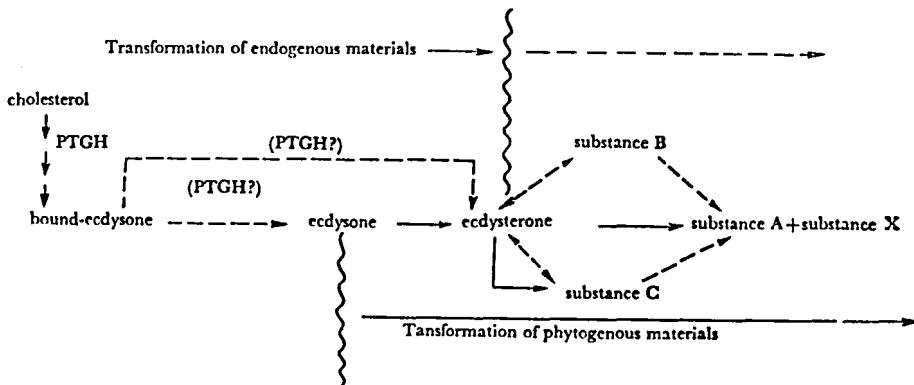


Fig. 3. Metabolism of cholesterol and ecdysones.

Solid arrows denote verified by experiments.

Broken arrows denote which may or may not be existing.

コに対して不活性であるか、または弱い活性しか示さなかったことと深い関係があると考えられる。なおカイコに対して ponasterone A が他の phytoecdysone に比して、特に強い活性を示したのは、クワ葉中で存在の知られていない ponasterone A がカイコの体内では代謝され難いためであろうと推察される。

数種の昆虫について、体内での脱皮ホルモン活性物質の発育経過に伴う消長が生物検定法により知られているが⁷⁴⁻⁷⁸⁾、最近 Karlson と Bode⁷⁹⁾ は食肉性昆虫である *Calliphora erythrocephala* の ecdysone titer が発育の各時期で変動するのは、生合成能そのものの変動によるのではなく、体内の ecdysone 不活性化酵素（脂肪体にあると考えられている）の活性が ecdysone titer と逆に変動することによるものと考えを、生物検定法による実験結果から、提出している。また Ohtaki ら⁸⁰⁾ も *Sarcophaga peregrina* の幼虫について、生物検定法により、puparium 形成が近くなると体内の ecdysone 活性が上昇してくるが、注射された ecdysone の回収率は時間の経過と共に減少することを認めた。そしてこの不活性化は ecdysone を体内各部の fragment と incubate した時には認められるが、homogenate した時には認められなかったと報告している。またこの不活性化には酸素が必要であり、phenylthiourea の存在により抑制されることを認めている。Karlson ら⁷⁹⁾ および Ohtaki ら⁸⁰⁾ のいう不活性化は恐らく著者らがカイコについて見た ecdysterone から後の代謝に関係があるものと考えられる。このように、食植性、食肉性いずれの昆虫も特に異常に高濃度で exogenous な ecdysone 活性物質をとり

入れないかぎり、正常な発育が攪乱されぬような機能を持っているといえる。

最近 King および Siddall⁸¹⁾ は甲殻類の *Crangon nigracauda*, *Uca pugilator* およびクロバエの一種 *Calliphora vicina* においても、前述のカイコの場合と同様、ecdysone が ecdysterone にすみやかに変換することを報告している。

昆虫体内で ecdysone が、上述のように、steroid 20-hydroxyrase により ecdysterone に変換されること、さらに *in vivo*, *in vitro* いずれの場合もその変換速度が今の後半ほど促進され、さらにそれ以後の反応は逆に抑制されて ecdysterone が見かけ上蓄積されてくること等は ecdysone が脱皮ホルモンとして直接生体内で作用するのではないことを示しているといえよう。ecdysone の昆虫体内における代謝経路はおそらく Fig. 4 のようになると考えられる。すなわち ecdysone (I) は C₂₀ の hydroxyration をうけて ecdysterone (II) となる。Ecdysterone は C₂₀-C₂₂ 間で 20 α -22R-dihydroxy steroid C₂₀-22lyase, 17 α -hydroxyrase および 17 α -hydroxy steroid C₁₇-C₂₀ lyase 等の酵素により methyl ketone (III) 体および ketone (IV) 体になることが容易に推察できる。現在昆虫体内におけるこれら酵素群実在の証明は十分とはいえないが、著者ら⁷⁹⁾ の *in vitro* での実験結果は、これらの酵素が存在することを示唆している。また化学的には、phytoecdysone 類の 2-acetate を過ヨウ素酸酸化することにより (III) の 2-acetate が得られることが知られていること^{80,82,83)}、(IV) は rubrosterone として、イノコズチの1種 *Achyranthes*

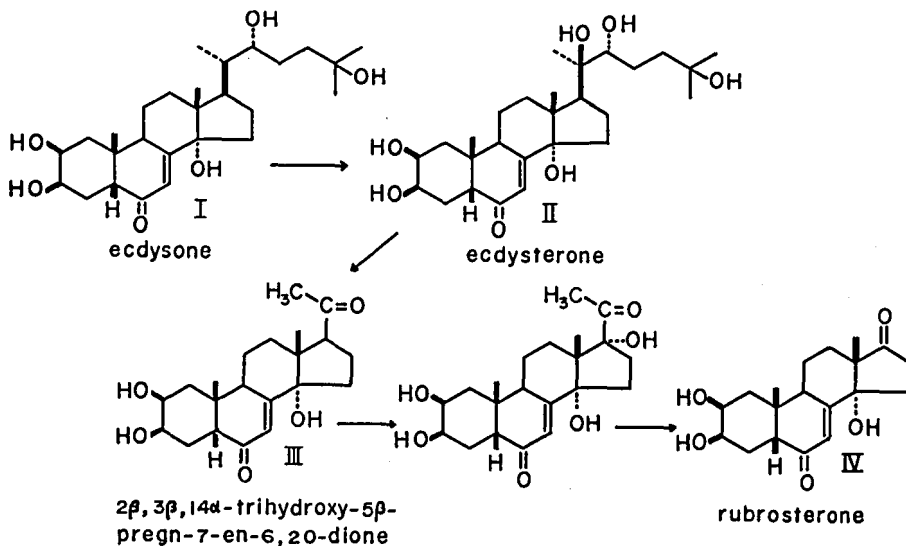


Fig. 4. Metabolism of ecdysone.

rubrofusca から見出されていること⁸⁰⁾等, これら酵素が昆虫体内に存在する可能性はきわめて大きいと考えられる。III および IV は哺乳動物の steroid hormone と構造類似性が大きく, 昆虫の場合も ecdysterone 類は体内でこのように変換されたのち作用する可能性があり, したがって著者らの実験で示された ecdysterone の側鎖切断を直ちに不活性化機構と見ることはできないかも知れない。Siddal ら⁸¹⁾によれば, III は *Calliphora* に対しては不活性であるが, エリ蛭除脳蛹に対しては ecdysone の 1/4 の活性を示すという。しかし 1 ton の crayfish を抽出したかぎりでは, III の実在を証明することはできなかった。前述のように, ecdysone 類はいずれも活性を示すために C₂₀ または C₂₂ に水酸基をもつこと, C₂₀ よりも C₂₂ に水酸基をもつことが必要であると考えられているが, このことは昆虫の体内で 20 hydroxylase の活性が高いことと関係があると思われる。

哺乳動物の sex hormone 関連物質が昆虫からもすでに幾種類か発見されているが⁸²⁻⁸⁸⁾, ecdysone 関連物質がそれらの前駆物質として利用されうることと考えられる。また後述のように哺乳動物の sex hormone の誘導体に昆虫の生殖腺の発達を抑制するものがあることが知られているが, これらの相互関係を解明することは大変重要なことであると思われる。

先に述べたように, 5 令末期のカイコに対してクワ葉中の含量の 1.5 倍程度の比較的少量の phytoecdysone が熟化促進作用を示したことは, カイコがこれらを利用する可能性のあることを示している。Karlson と Hoffmeister の *Calliphora* をもちいた実験⁸⁹⁾からも明らかなように, 一般に昆虫は cholesterol から ecdysone 類を生合成すると考えられている。食植性昆虫であるカイコはクワ葉中に大量に含まれている β -sitosterol を cholesterol に変換することができるので⁹⁰⁾, この cholesterol から ecdysone を生合成すると考えられる。食草中に高濃度含有される phytoecdysone は昆虫の ecdysone 生合成能にどのような影響をおよぼすであろうか。著者ら⁹¹⁾は前述の人工飼料に種々の濃度の phytoecdysone と 4-¹⁴C-cholesterol を添加して 5 令期のカイコを飼育し, 5~6 日目の体内各部位の radioactive ecdysone および ecdysterone の定量を前述の方法で行なった。しかしカイコ体内における ecdysone 量は cholesterol 量に比してきわめて少なく, さらに前述のように分解速度も大きいことから, 生合成された ecdysone 類は見かけ上ごく僅かな量しか存在せず, 飼料中の phytoecdysone 量との関係を知るまでにはいたらなかった。しかし phytoecdysone を高濃度に添加した飼料で飼育したカイコも, cholesterol より ecdysone を生合

成することが明らかとなった。同様な結果は cholesterol を注射した場合にも認められた。しかしこれらの実験から著者らは以下に述べる幾つかのきわめて興味ある現象を見出した。

i) 前述のように, 注射された ecdysone の ecdysterone への変換速度は非常に大きいにもかかわらず, 経口投与または注射された cholesterol から生合成された ecdysone 量は ecdysterone 量よりも多く, これらはいずれも大部分体液中に存在すること, ii) ecdysterone および ecdysone は 5 令 3 日目までは生合成されないこと, iii) 5 令後半期の幼虫を胸腹部間で結紮して, 頭胸部と遊離腹部にそれぞれ cholesterol を注射した場合, ecdysone および ecdysterone は前胸腺を含む頭胸部からは発見されず, 前胸腺を含まない遊離腹部で発見されたこと等である。

これらのことは以下に述べるようなことがらを示唆しているものと考えられる。i) 生合成された ecdysone は exogenous な ecdysone と異なり, 体液中の他の成分と結合して ecdysterone その他に代謝され難い形となって存在する可能性がある。Ecdysone が熱 ethanol で容易に抽出されてくることから, おそらくタンパク質とゆるく結合して体液中に存在していると考えられる。Ecdysone が体液中で lipoprotein として存在する可能性を示す間接的な証明は, これらの他にもいくつかあるが, 最も興味深いのは Schmidt と Williams⁹²⁾ の実験であろう。すなわち, 昆虫の組織培養において, その細胞の増殖分化に ecdysone 関連物質が必要なことは良く知られているが, 彼等はエリ蛭の蛹の精巣から取り出した生殖細胞を培養する際, 5 令後期や前蛹の体液が必要であり, この体液中の有効成分は透析膜を通過しないし, 熱処理により活性を失なうと述べている。ii) カイコの場合 ecdysone 生合成能は見かけ上, 发育時期の違いによって明らかに変動する。内因性の ecdysone が Karlson ら⁷⁹⁾および Ohtaki ら⁸⁰⁾が考えているようにすべて不活性化されてしまうという証明は現在までのところない。iii) Ecdysone は前胸腺から分泌されているのであろうか。最初に述べたように, カイコの場合も ecdysone は脳ホルモンの刺激により前胸腺から分泌されると信じられている。すなわち, カイコの蛹あるいはその他の昆虫の体全体から抽出された ecdysone 類を遊離腹部に注射した場合と, 前胸腺あるいは輪状腺 (ring gland) を移植した場合とでは同一の作用が認められる。さらに前胸腺細胞が組織学的に哺乳動物における steroid hormone 分泌細胞と類似しているという間接的な証明⁹³⁾や, バッタの 1 種 *Schistocerca gregaria* の ventral gland の磨砕物が ecdysone 作用を示すという報告^{94,95)}もあり, 前胸腺の分泌活性が高くなっ

ている時期と ecdysone titer が高い時期が一致しているという多くの例が知られている。しかし、前胸腺から直接 ecdysone が抽出・単離された例も、また組織化学的にも前胸腺からの ecdysone の放出を証明した例もない。著者ら⁹¹⁾の実験において、ecdysone 類が前胸腺に蓄積されるという事実が認められなかったこと、遊離腹部でも ecdysone の生合成が見られたことは、前胸腺が ecdysone の分泌器官であり、したがって前胸腺ホルモンすなわち ecdysone であるとする従来の考え方に再考の余地が残されていることを示しているとはいえないであろうか。それでは前胸腺は昆虫の脱皮に際していかなる機能を果たしているのだろうか、また前胸腺ホルモンの本体は何であろうか。著者ら⁹¹⁾は上述の一連の実験結果から前胸腺は ecdysone 類の生合成あるいは活性化に関するホルモンもしくは酵素を分泌する機能をもつのではないかと考えているが、いずれも推論の域を出ない。今後、前胸腺ホルモンの実体を明らかにするとともに、前胸腺の機能についてさらに究明する必要があると考えられる。

5. Phytoecdysone による害虫防除

最近 Williams⁹⁰⁾ は “Third-Generation Pesticides” において、“昆虫ホルモンは、より特異的であるのみならず抵抗性獲得に対しても保証された殺虫剤として、将来性が大きい”と述べている。すなわち昆虫ホルモンは本来昆虫にのみ作用するので、他の動植物に対する影響はほとんどないと考えられ、また内因性の物質であるから、これらに対して抵抗性が生じることはない（後者については ecdysone 関連物質に対して昆虫は不活化能力を持つゆえ、若干疑義はあるが）。昆虫ホルモンのうち殺虫剤として利用できる可能性の大きいものとしては幼若ホルモン作用物質があり、皮膚の透過性のよいこと、殺卵作用のあること、比較的種特異性の大きいこと、そして合成が比較的容易であることなどが利点として知られている。一方 ecdysone 関連物質に関しては、これまで、それらの大量入手が困難であったため、殺虫剤としての応用研究の報告はほとんど見られない。しかし、1966年以後 ecdysone の合成法の確立^{97,98)}、および phytoecdysone が発見されたことにより、大量入手が容易となり、ecdysone 関連物質の殺虫剤としての応用化研究は急速に発展しつつある。従来 ecdysone 関連物質の作用についての研究は主として注射法またはそれに準ずる方法によって行われてきた。Phytoecdysone の発見と共に、これらが経皮的あるいは経口的にも作用する可能性が示されたことは、これらの応用に対して重要な足掛りとなるであろう。

Phytoecdysone を用いて害虫防除をはかる方法は、

次の2つの方法に大別できるとされる。その1つは、phytoecdysone の投与により害虫のホルモンバランスを著しく狂わせ、いわゆる生理障害を生ぜしめ害虫を死に至らしめる方法である。この場合昆虫は畸形を生じ、あるいは著しく發育不全となる。他方は phytoecdysone により昆虫の生育を regulate し、環境に対する抵抗性を弱めたり、あるいは生態学的方法を併用することにより害虫を control する方法である。後者の方法は実用的には大変興味を持たれるが、現在までのところ、そのような報告はほとんど知られていない。従ってここでは主として前者の方法に関係があると思われる幾つかの基礎的な実験結果を紹介したい。

Kobayashi ら^{99,100)}は数種の phytoecdysone の活性を、カイコ除脳蛹を用いて assay したが、生理的濃度と思われる $1\mu\text{g}$ 程度を注射した場合は、いわゆる normal adult が出現するが、異常に高い濃度、たとえば $10\mu\text{g}$ 以上、注射した場合は、“second pupa とか pupal-adult mixture”と呼ばれる蛹形質を残した成虫が出現することを見出している。著者ら¹⁰⁾もまたエリ蚕除脳蛹において同様な現象が生じることを確認している。すなわち ecdysterone, inokosterone, cyasterone, ponasterone A, B, C, D および ponasterone A, C の誘導体を注射した場合、ponasterone 類と cyasterone は活性は強いが、腹部に scale を欠いたり、antenna の発達が悪い成虫が出現する。さらに5令前半期以前のカイコ幼虫に phytoecdysone (特に ponasterone A) を大量に経口投与すると、約10時間で就眠し24時間後には脱皮するが、この起蚕は摂食しないまま続いて脱皮を繰返し遂には死亡する。また5令4日目以後に phytoecdysone を異常に高濃度経口投与すると、10～12時間後には吐糸を開始して蛹化するが蛹化は不完全で、いわゆるプロセテリーとなり、さらに濃度の高い場合には吐糸も見られず脱腸症状が生じて死亡する。この時新表皮は形成されている。Williams¹⁰¹⁾ はエリ蚕除脳蛹に生理的濃度の2倍以上の phytoecdysone を注射した場合、蛹の發育は異常となり、さらに10倍以上与えた場合は、蛹形質を多く残した成虫が出現することを認めた。この異常は内部諸器官についても観察され、rectal sac の形成が悪いため、マルピギー管は尿酸でぼう満し、この異常な量の尿酸は体液中にも存在し、体腔いたるところに沈積していた。また脂肪体はこれれやすくなっており、正常な成虫化の途中の状態に似ていた。その他胸部筋肉や後腸の発達は悪く、一方卵管の発達は促進されるが、卵黄のほとんどない卵が形成される。また輸精管にも異常が見られたという。

このような異常現象が生ずる原因としては、いわゆ

るホルモンアンバランスとして、特に幼若ホルモンとの関連において解釈することも可能であるが、Williams¹⁰¹⁾は過量の phytoecdysone の投与により、成虫形質の分化の過程が著しく短縮されることを見ている。したがって、ある形質発現に関与する遺伝子の作用そのものが抑制されるのではなく、時間的ずれを保って段階的に発現すべき形質の形成が一せいに生じてしまうのではなからうか、生理的濃度よりごく僅か高い程度でこのような異常が生じることは、一見非常に不思議なことであるが、著者ら¹⁰⁾はカイコ幼虫において、かなり高濃度の phytoecdysone もこれを常時与え続けた場合は影響が少なく、かなり低濃度でも一時的に与えた方が影響が大きいことを認めている。したがって昆虫は正常な発育の過程に見られる ecdysone 活性物質の連続的な量の増加に対する精巧な調節機能は備えているのであろう。

さて、Sato¹⁰²⁾はニカメイガ、コナガ *Plutella xylostella*、イエバエ、モンシロチョウ *Pieris rapae crucivora*、およびチカイエカ *Culex pipiens molestus* の幼虫に対して phytoecdysone の methanol—水—溶液を浸漬法または噴霧法により体表に処理し、殺虫効果を見た。ニカメイチュウ、コナガおよびチカイエカ幼虫に対しては、かなり強い殺虫作用が認められたが、イエバエとモンシロチョウ幼虫は phytoecdysone に対する感受性が低いことがわかった。またニカメイチュウの感受性は発育時期によって変化し、非休眠の終令幼虫は、3令幼虫または休眠幼虫よりも感受性が高く、これら phytoecdysone を処理された幼虫はいずれも表皮の硬化または蛹化異常により死亡するという。さらに坂井¹⁰³⁾によれば、ニカメイチュウ、ハスモンヨトウ *Prodenia litura*、アワヨトウ *Leucania separata* の2令幼虫を ponasterone A または ecdysterone を添加した人工飼料で飼育すると、3令までに致死作用が現われ、また生存虫も発育が抑制された。ダイズアブラムシ *Aphis glycines*、ヤノネカイガラムシ *Unapsis yanonensis*、コナマダラメイガ *Ephestia cautella*、カンザワハダニ *Tetranychus kanzawai* に対しては作用を示さなかったが、チャバネゴキブリ *Blattella germanica* に対しては生長促進効果が示された。そして、一般に若令幼虫は終令幼虫よりも感受性が低いことが、このように発育段階によって感受性の変化する理由として、坂井は幼若ホルモン量の多少、あるいは脱皮に必要な諸要因の整備の程度と関係があるのであろうと述べている。しかしこれらの実体は先にも述べたように、むしろ不明というべきであり、今後その究明がなされることを期待したい。

Phytoecdysone が殺虫作用を示すためには、これらが生体内にとり入れられる必要がある。Sato¹⁰³⁾は

phytoecdysone の生物検定法として *Chilo dipping* test を開発したが、このとき用いる溶媒の種類および昆虫の種類の違いにより効果に大きい差が生じることを認めている。先に述べた昆虫の種類および発育段階の違いによる、殺虫剤としての phytoecdysone に対する感受性の強弱と、phytoecdysone の皮膚の透過性との間にはどのような相関が見られるであろうか。Phytoecdysone は極性がかなり大きく、皮膚への付着あるいは透過性はかならずしも良いとは考えられない。従って、phytoecdysone を体表から施用する場合、特に応用的な研究を行なうにあたっては溶媒の選択等が十分考慮されなければならないであろう。次に経口的に投与する場合、腸管からの吸収の問題がある。坂井¹⁰³⁾はハスモンヨトウ、アワヨトウの終令3日目の幼虫に 1000ppm の ponasterone A を添加した飼料を与え、これが血液中にも移行するが、はるか大量のものが消化管および脱糞中に存在することを観察している。一方著者ら¹⁰⁾はカイコ5令幼虫を用いた実験では 10ppm 以下の ecdysterone および ponasterone A は効率よく、定量的に腸管から吸収され作用を示すことを見ている。また ³H-ecdysone をもちいた場合でもすみやかに吸収されること⁷³⁾は先に述べた通りである。

体内にとり込まれた phytoecdysone がどのような消長を示すかについては先にも述べたが、坂井¹⁰³⁾によれば、Williams と Ohtaki はカイコおよびセンチニクバエ幼虫体内で cyasterone が ecdysone より長時間脱皮ホルモン活性物質として残留することを bio-assay により明らかにし、phytoecdysone の虫体内での活性の強弱に関係があると述べているという。

このように、phytoecdysone を殺虫剤として利用する場合、i) 皮膚の透過性の良いこと、ii) 腸管内で分解され難く、吸収の良いこと、iii) 体内で分解され難く、また排泄され難いこと等の諸条件を備えていることが必要であり、さらに使用にあたっては、害虫の種類、発育段階あるいは生活様式等を十分考慮することが必要となる。

最近 ecdysone の化学的合成の研究の発展と共に、ecdysone 誘導体の昆虫に対する生理活性が知られるようになってきた。

特に Šorm 一派のこの分野での研究は活発である。すなわち、Hora¹⁰⁴⁾は 3-hydroxy, 6-ketone をもつ cholestane の誘導体が、ホシカメムシ *Pyrrhocoris apterus* の幼虫において、ecdysone によって stimulate される生理的な過程に対して拮抗的にはたらき、皮膚の硬化を阻害することを報告している。さらに Velgová¹⁰⁵⁾、Lábler¹⁰⁶⁾は 2 β , 3 β -hydroxy および 6-または 7-ketone をもつ androstane と pre-

gnan の誘導体にも同様な活性があることを認めている。またこれらはイエバエに対する不妊作用も示す¹⁰⁷⁾といわれている。Robbins ら¹⁰⁸⁾も ecdysterone とその誘導体の作用を、イエバエ、ゴキブリ等について調べ、大量に与えた場合、蛹化あるいは羽化を阻止し、生殖腺の発達をも阻害することを認めている。しかしこれらはいずれも局所施用等では効果がなく、経口投与、注射またはこれに準ずる方法がとられた場合にのみ効果が認められている。

Ecdysone の昆虫体内での代謝機構の解明と共に、これら代謝拮抗を示すと考えられる物質の殺虫剤への応用化研究はますます発展するものと期待される。

Phytoecdysone の殺虫効果を比較的規模の大きいスケールで試験した例、あるいは他の殺虫剤との併用試験を行なった例についての報告は知られていない。前述したように phytoecdysone の害虫防除への応用は、いわゆる毒物としての利用のみでなく、害虫の发育を調節することにより一層有効になると考えられる。特に休眠覚醒により、害虫に不適な環境を与えること等は、phytoecdysone の特性を生かした利用法といえよう。また phytoecdysone により害虫の发育を regulate し、従来の毒性の高い殺虫剤を、少量で有効

に使用する方法等も可能と思われる。

6. 育蚕への応用

近年わが国における養蚕業の規模は栽桑および育蚕作業の省力化により急速に拡大してきた。しかし育蚕作業中約50%を占め、かつ短期間に集中する上簇作業に関しては、自然上簇法または条払い上簇法が合理的な方法として提唱されてきたにもかかわらず、対象となるカイコの发育を十分制御できないために、その普及度は著しく低く、養蚕規模拡大の重大な障害となっている。

著者らは phytoecdysone の生物検定法をカイコを用いて検討中、人工飼料飼育蚕に経口的に投与した場合にも定量的に就眠あるいは熟蚕化が促進されるのみならず、斉一化効果も認められることから、これらを用いてカイコの生長調整剤、特に上簇促進として利用することを提唱した¹⁴⁾。現在各地でこれらの実用化研究が進められているが、ここでは著者らが実用場面で行った実験結果¹⁰⁹⁾の一部を紹介すると共に、実用化にあたっての問題点について若干考察を試みたい。

Ecdysterone, inokosterone およびこれらを含有するエキスを水溶液としてクワ葉に添加して初熟蚕出現

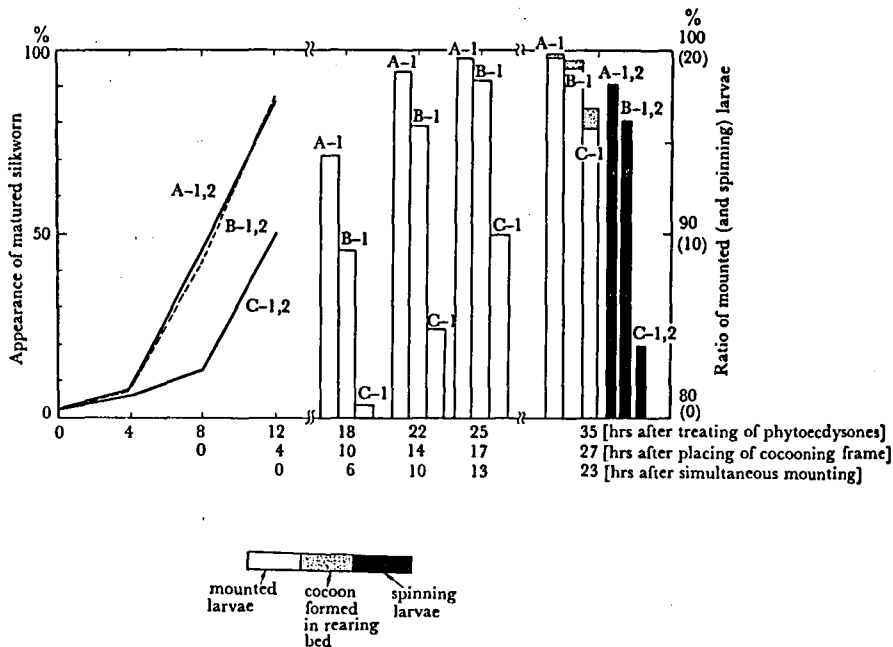


Fig. 5. Effect of phytoecdysones on the inducing maturation and mounting of final instar silkworm.

A-1, 2: ecdysterone+inokosterone (900 μ g/100 ml/500 g mulberry leaves)

B-1, 2: crude extracts from the roots of *Achyranthes japonica*

C-1, 2: control

時よりカイコに与え、登簇促進効果、座中繭蚕出現の抑制効果を見ると同時に、繭糸質に対する影響を調べた (Fig. 5). Phytoecdysone の登簇促進効果は自然上簇法において著しく、90%登簇に要する時間は、対照区より7時間以上短縮された。さらに座中繭数を対照区の1/2程度に抑えると共に、結繭開始を著しく促進・斉一化させることを認めた。このように上簇開始より結繭までの所要時間が短縮された結果、熟化に伴って生ずる蚕病 (特に膿病) の発生が、見かけ上抑制され、したがって phytoecdysone 添食区では、上簇数量が約1割増加した。得られた繭について常法により繭質調査、繰糸試験を行なった結果、繭層重、繭層歩合は若干低下したが、その他の繭質、および糸質には何ら影響が認められなかった。このように phytoecdysone を自然上簇法に応用することの有効性は明らかであるが、熟化促進により5令期間が短縮され、その結果繭層重が低下する傾向も見られる。

そこで、phytoecdysone を5令末期各時期のカイコに添食し、熟蚕出現の斉一度と繭質におよぼす影響を見た (Fig. 6). 添食時期が早過ぎたときは熟化促進は認められるが斉一化効果は悪い。前述したように添食量が少ない場合、極度に生長の遅れたカイコは phy-

toecdysone を分解排泄してしまうからである。また経口投与された phytoecdysone が熟化促進を示すのは濃度によっても若干異なるが、添食10時間後であり、晩期添食の場合もまた斉一化効果は弱い。繭質に対する添食時期の影響は、遅いほど少ないが、初熟蚕出現時より添食を開始した場合はほとんど影響しない。なおこの時期は給桑経済の面からも、繭生産に対して最も効率の高い時期であることが解った。

その後さらに、phytoecdysone の種類、添食時期、添食濃度、散布方法、添食時の給桑量あるいは載簇時期の諸条件について種々検討したが、登簇効果および繭質に対して最も大きい影響を与える要因は添食時期であり、また添食量はカイコ1頭あたり0.5~1.5 μg でよいこと、他の条件はほとんど従来の慣行どおりで良いことが明らかとなった。添食適期はカイコの発育状態、あるいは気象条件により若干変動する。したがって今後はこの添食時期を適確に判定する方法を確立することが、実用化にあたっては最も重要な問題であると思われる。

7. む す び

以上、最近急速に発展しつつある phytoecdysone の研究を主として昆虫学の立場から紹介したが、何分にもその関連する分野は広い。特に最近昆虫ホルモン作用機作の分子レベルでの研究成果は目ざましいものがあるが、ここでは触れることができなかった。また phytoecdysone が哺乳動物のタンパク合成を促進するという幾つかの報告¹¹⁰⁻¹¹²⁾、ウズラに対する換羽を促進する作用が見られるという報告¹¹³⁾、あるいは昆虫ホルモンが植物に対してジベレリン作用を示すという報告⁹⁸⁾等が散見される。これらはいずれも非常に興味を持たれるが、内容を紹介することはできなかった。Phytoecdysone の発見が ecdysone 関連化合物の入手を容易にし、従来の昆虫ホルモンの研究を刺激した効果は大きく、これらの研究成果が有効に応用されるには多年月を要しないと考えられる。

引用文献

- 1) Butenandt, A., P. Karlson: *Z. Naturforsch.*, 9b, 389 (1954).
- 2) Hoppe, W., R. Huber: *Chem. Ber.*, 98, 2353 (1965).
- 3) Karlson, P., H. Hoffmeister, H. Hummel, P. Hocks, G. Spitteller: *ibid* 93, 2403 (1965).
- 4) Röller, H., K. H. Dahm, C. C. Sweely, B. M. Trost: *Angew. Chem., Intern. Ed.*, 6, 179 (1967).

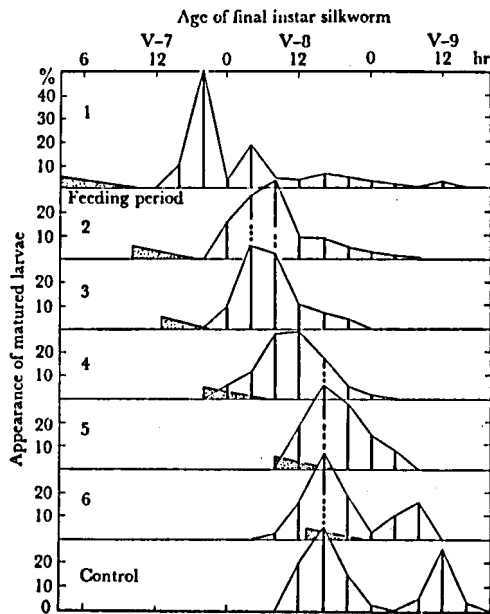


Fig. 6. Effects of various feeding periods of phytoecdysone on the appearance of matured silkworm larvae.

Crude extracts from the root of *Achyranthes japonica* was added to mulberry leaves. (20ml of phytoecdysone solution, 600 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, was sprayed to 100g of mulberry leaves, respectively.

- 5) Karlson, P., C.E. Sekeris: *Recent Progr. Hormone Res.*, 22, 473 (1966).
- 6) Novák, V.J.A.: "*Insect hormones*". Methuen, London. (1966).
- 7) Nakanishi, K., M. Koreeda, S. Sasaki, M.L. Chang, H.Y. Hsu: *Chem. Commun.*, 915 (1966).
- 8) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重: 薬誌, 87, 325, 1469, 1474 (1967).
- 9) Karlson, P., G. Hanser: *Z. Naturforsch.*: 7b, 80 (1952).
- 10) Kaplanis, J. N., L. A. Tabor, M. J. Thompson, W.E. Robbins, T.J. Shortino: *Steroids*, 8, 625 (1966).
- 11) Williams, C.M.: *Biol. Bull.*, 93, 89 (1947).
- 12) Clever, U., P. Karlson: *Exp. Cell Res.*, 20, 623 (1960).
- 13) Sato, Y., M. Sakai, S. Imai, S. Fujioka: *Appl. Entomol. Zool.*, 3, 49 (1968).
- 14) 岡内哲夫, 鶴野恒夫, 鎌田政喜, 今井俊司: 日本蚕糸学会, 名古屋, 1968年4月.
- 15) 佐藤安夫: 応動昆, 8, 6 (1964).
- 16) Kaplanis, J.N., M.J. Thompson, W.E. Robbins, B.M. Bryce: *Science*, 157, 1436 (1967).
- 17) Heinrich, G., H. Hoffmeister: *Experientia*, 23, 995 (1967).
- 18) Hoffmeister, H., H.F. Grümztzmaier: *Tetrahedron Letters*, 4017 (1967).
- 19) Jizba, J., V. Herout, F. Šorm: *ibid* 1689 (1967).
- 20) Takemoto, T., Y. Hikino, T. Okuyama, S. Arihara, H. Hikino: *ibid* 6095 (1968).
- 21) Jizba, J., V. Herout, F. Šorm: *ibid* 5139 (1967).
- 22) Imai, S., E. Murata, S. Fujioka, M. Koreeda, K. Nakanishi: *Chem. Commun.*, 546 (1969).
- 23) Heinrich, G., H. Hoffmeister: *Tetrahedron Letters*, 6063 (1968).
- 24) Takemoto, T., Y. Hikino, H. Hikino, S. Ogawa, N. Nishimoto: *ibid* 3053 (1968).
- 25) Galbraith, M.N., D.H.S. Horn, E.J. Middleton, R.J. Hackney: *Chem. Commun.*, 402 (1966).
- 26) Nakanishi, K., M. Koreeda, M.L. Chang, H.Y. Hsu: *Tetrahedron Letters*, 1105 (1968).
- 27) Takemoto, T., S. Arihara, H. Hikino: *ibid* 375 (1968).
- 28) Takemoto, T., S. Arihara, H. Hikino: *ibid* 4199 (1968).
- 29) Imai, S., M. Hori, S. Fujioka, E. Murata, M. Goto, K. Nakanishi: *ibid* 3883 (1968).
- 30) Galbraith, M.N., D.H.S. Horn, Q.N. Porter, R.J. Hackney: *Chem. Commun.*, 971 (1968).
- 31) Imai, S., S. Fujioka, E. Murata, Y. Sasaki, K. Nakanishi: *Tetrahedron Letters*, 3887 (1968).
- 32) Takemoto, T., Y. Hikino, T. Arai, H. Hikino: *ibid* 4061 (1968).
- 33) Rimpler, H.: *ibid* 329 (1969).
- 34) Takemoto, T., K. Nomoto, H. Hikino: *ibid* 4953 (1968).
- 35) Takemoto, T., K. Nomoto, Y. Hikino, H. Hikino: *ibid* 4929 (1968).
- 36) Takemoto, T., Y. Hikino, K. Nomoto, H. Hikino: *ibid* 3191 (1967).
- 37) Hikino, H., Y. Hikino, K. Nomoto, T. Takemoto: *Tetrahedron*, 24, 4895 (1968).
- 38) Imai, S., S. Fujioka, E. Murata, K. Otsuka, K. Nakanishi: *Chem. Commun.*, 82 (1969).
- 39) Hikino, H., K. Nomoto, T. Takemoto: *Tetrahedron Letters*, 1417 (1969).
- 40) Karlson, P.: *Vitamines and Hormones*, 14, 227 (1956).
- 41) Hampshire, F., D.H.S. Horn: *Chem. Commun.*, 37 (1966).
- 42) Hoffmeister, H.: *Angew. Chem.*, 78, 269 (1966).
- 43) Faux, A., D.H.S. Horn, E.J. Middleton, H.M., Fales, M.E. Lowe: *Chem. Commun.*, 175 (1969).
- 44) Thompson, M.J., J.N. Kaplanis, W.E. Robbins, R.T. Yamamoto: *ibid* 650 (1967).
- 45) Galbraith, M.N., D.H.S. Horn, E.J. Middleton, R.J. Hackney: *ibid* 83 (1968).
- 46) Hocks, P., A. Jager, U. Kerb, R. Weichert: *Angew. Chem.*, 78, 680 (1966).
- 47) Heftmann, E., H.H. Sauer, R.D. Benett: *Naturwiss.*, 55, 37 (1968).
- 48) ヒキノヒロシ, 小沢友昭, 竹本常松: 日本薬学会, 名古屋, 1969年4月.
- 49) Imai, S., T. Toyosato, M. Sakai, Y. Sato, S. Fujioka, E. Murata, M. Goto: *Chem. Pharm. Bull.*, 17, 340 (1969).
- 50) Takemoto, T., S. Arihara, Y. Hikino, H. Hikino: *ibid* 16, 762 (1968).

- 51) Takemoto, T., Y. Hikino, T. Arai, M. Kawahara, C. Konno, S. Arihara, H. Hikino: *ibid* 15, 1816 (1957).
- 52) Takemoto, T., Y. Hikino, T. Arai, C. Konno, S. Nabetani, H. Hikino: 16, 759 (1968).
- 53) Hoffmeister, H., G. Heinrich, G. B. Staal, W. J. Van der Burg: *Naturwiss.*, 54, 471 (1967).
- 54) Imai, S., S. Fujioka, K. Nakanishi, M. Koreeda, T. Kurokawa: *Steroids*, 10, 557 (1967).
- 55) Galbraith, M. N., D. H. S. Horn: *Chem. Commun.*, 905 (1966).
- 56) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 平山 瞳, 谷口 忍: 薬誌, 87, 748 (1967).
- 57) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 顔焜栄, 阿部健司, 佐藤維雄, 大沢啓助, 高橋三雄: 薬誌, 87, 1521 (1967).
- 58) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 谷口 忍: 薬誌, 87, 1478 (1967).
- 59) Rimpler, H., G. Schulz: *Tetrahedron Letters*, 2033 (1967).
- 60) Rimpler, H.: *Pharmaz. Ztg.*, 112, 1799 (1967).
- 61) 竹本常松, 小川俊太郎, 西本喜重, 在原重信, 武衛和雄: 薬誌, 87, 1414 (1967).
- 62) Imai, S., T. Toyosato, M. Sakai, Y. Sato, S. Fujioka, E. Murata, M. Goto: *Chem. Pharm. Bull.*, 17, 335 (1969).
- 63) Staal, G. B.: *Pro. Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, Ser. C, 70, 409 (1967).
- 64) Clayton, R. B.: *J. Lipid Res.*, 5, 3 (1964).
- 65) Ritter, F. J., W. H. J. M. Wientjens: *TNO-Nieuws*, 22, 381 (1967).
- 66) 岡内哲夫, 板垣 明, 鎌田政喜: 昭和43年度応用動物昆虫学会, 東京, 1968年4月.
- 67) Carlisle, D. W., P. E. Ellis: *Science*, 159, 1472 (1968).
- 68) 守山 弘, 中西香爾, 岡内哲夫: 日本化学会第22年会, 東京, 1969年4月, *Experientia* へ投稿中.
- 69) Hori, M.: *Steroids*, in press.
- 70) 岡内哲夫, 吉村育子, 鎌田政喜: 未発表.
- 71) Burdette, W. J.: *Science*, 135, 432 (1962).
- 72) Kaplanis, J. N., M. J. Thompson, R. T. Yamamoto, W. E. Robbins, S. P. Louloudes: *Steroids*, 8, 605 (1966).
- 73) Shaaya, E., P. Karlson: *J. Insect Physiol.*, 11, 65 (1965).
- 74) Karlson, P., C. Bode: *ibid* 15, 111 (1969).
- 75) Ohtaki, T., R. D. Milkman, C. M. Williams: *Biol. Bull.*, 135, 322 (1968).
- 76) King, D. S., J. B. Siddall: *Nature*, 221, 955 (1969).
- 77) Horn, D. H. S., E. J. Middleton, J. A. Wunderlich, F. Hampshire: *Chem. Commun.*, 339 (1966).
- 78) Moriyama, H., K. Nakanishi: *Tetrahedron Letters*, 1111 (1968).
- 79) Siddall, J. B., D. H. S. Horn, E. J. Middleton: *Chem. Commun.*, 899 (1967).
- 80) Smissman, E. E. N. A., Jenny, S. D. Beck: *J. Pharm. Sci.*, 53, 1515 (1964).
- 81) Schildknecht, H., R. Siewerdt, U. Maschwitz: *Angew. Chem.*, 78, 392 (1966).
- 82) Schildknecht, H., H. Birringer, U. Maschwitz: *ibid* 79, 579 (1967).
- 83) Schildknecht, H., R. Siewerdt, U. Maschwitz: *Ann. Chem.*, 703, 182 (1967).
- 84) Karlson, P., H. Hoffmeister: *Z. Physiol. Chem.*, 331, 298 (1963).
- 85) Ikekawa, N., M. Suzuki, M. Kobayashi, Tsuda, K.: *Chem. Pharm. Bull.*, 14, 834 (1966).
- 86) Moriyama, H., K. Nakanishi, T. Okauchi: *Experientia* へ投稿中.
- 87) Schmidt, E. L., C. M. Williams: *Biol. Bull.*, 105, 174 (1953).
- 88) Scherrer, B.: *ibid* 95, 186 (1948).
- 89) Carlisle, D. B., P. E. Ellis: *Nature*, 200, 603 (1963).
- 90) Carlisle, D. B., D. J. Osborne, P. E. Ellis, J. E. Moorhouse: *ibid* 200, 1230 (1963).
- 91) Williams, C. M.: *Science*, 217, 13 (1967).
- 92) Kerb, U., G. Schulz, P. Hocks, R. Wiechert, A. Furlenmeier, A. Fürst, A. Langemann, G. Waldvogel: *Helv.*, 49, 1601 (1966).
- 93) Siddal, J. B., A. D. Cross, J. H. Fried: *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 862 (1966).
- 94) Kobayashi, M., T. Takemoto, S. Ogawa, N. Nishimoto: *J. Insect. Physiol.*, 13, 1395 (1967).
- 95) Kobayashi, M., K. Nakanishi, M. Koreeda: *Steroids*, 9, 529 (1967).
- 96) Williams, C. M.: *Biol. Bull.*, 134, 344 (1968).
- 97) Sato, Y.: *Appl. Entomol. Zool.*, 3, 155 (1968).
- 98) 坂井道彦: 日本応用動物昆虫学会シンポジウム, 名古屋, 1969年4月.

- 104) Hora, J., L. Lábler, A. Kasal, V. Černý, F. Šorm, K. Sláma: *Steroids*, 8, 887 (1966).
- 105) Velgová, H., L. Lábler, V. Černý, F. Šorm, K. Sláma: *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.*, 33, 242 (1968).
- 106) Lábler, L., K. Sláma, F. Šorm: *ibid* 33, 2226 (1968).
- 107) Režábová, B., J. Hora, V. Landa, V. Černý, F. Šorm: *Steroids*, 11, 475 (1968).
- 108) Robbins, W. E., J. N. Kaplanis, M. J. Thompson, T. J. Schortino, C. F. Cohen, S. C. Jorner: *Science*, 161, 1158 (1968).
- 109) 岡内哲夫, 板垣 明, 鎌田政喜: 日本蚕糸学会, 東京, 1969年4月.
- 110) Okui, S., T. Otaka, M. Uchiyama, T. Takemoto, H. Hikino, S. Ogawa, N. Nishimoto: *Chem. Pharm. Bull.*, 16, 384 (1968).
- 111) Otaka, T., M. Uchiyama, S. Okui, T. Takemoto, H. Hikino, S. Ogawa, N. Nishimoto: *ibid* 16, 2426 (1968).
- 112) Otaka, T., S. Okui, M. Uchiyama: *ibid* 17, 75 (1969).
- 113) 加藤 勝, 武田継之助, 津久井誠: 第39回日本動物学会, 広島, 1968年10月.

抄 録

Ilybius fenestratus の前胸部防御物質分泌腺から分泌される黄色色素の化学構造 Aufklärung des gelben Prothorakalwehrdrüsen Farbstoffes von *Ilybius fenestratus*. H. Schildknecht, H. Birringer und D. Krauss. *Z. Naturforsch.* 24 (b) 39 (1969).

Ilybius fenestratus は背部は黒く腹部が紺色の体長12mmのゲンゴロウの1種で、池の岸辺の草や水生植物中に生息する。この昆虫は前胸から腹部にかけて大きな防御物質分泌腺を有し、ここから分泌される物質は粗製のアセチレンのような匂いを有し、濃度が高い場合はチオエーテルのような匂いがする。この分泌物は水にはよく溶けるがメタノール中では粘質な沈澱物を生じ、遠沈すると上澄は透明な黄色となる。粗製の分泌物を Sephadex カラムを用いてメタノールで溶出して得られる粗結晶(黄色針状晶)は昇華精製をくりかえすことにより mp 75~75.5°を与える。この結晶はマスペクトルの解析より $C_{11}H_8NO_3$ の分子式

を与え UV スペクトルのデータ (λ_{max}^{EtOH} : 258, 309, 364 m μ ϵ_{max} : 26000, 1105, 1135; $\lambda_{max}^{0.01MKOH}$: 275, 350, 435 ϵ_{max} : 3400, 1995, 2885) を考えあわせてヒドロキシキノリン又はヒドロキシイソキノリンのカルボン酸メチルエステルと推定される。しかも HCl-EtOH 中で UV スペクトルの変化が見られないのは環内Nのプロトン化を阻害する構造が考えられ α 位に $-COOCH_3$ 基があると考えられる。IR スペクトルにおいてもこの推定は矛盾せずとくに 844 cm^{-1} と 768 cm^{-1} の吸収は芳香環において2個と3個の水素原子が隣接していることを示し。NMR の結果 τ 1.54 と τ 1.92 に H_A と H_B が J_{AB} 8.5 Hz で、 α τ 2.34~2.84 に ABX をなす3個の H が観測されるので、この物質は8-ヒドロキシキノリンカルボン酸-2-メチルエステルと推定された。

キサントウレン酸を出発物質として得られる合成物質と比較した結果、融点、IR スペクトルは完全に一致し、混融試験の結果も融点降下を示さなかったので、推定構造の正しいことが証明された。(上野民夫)

昭和44年8月25日 印刷 昭和44年8月31日 発行

防虫科学 第34巻—II 定価 ¥ 500

個人会員 年1000円 団体会員 年2000円 外国会員 年U.S.\$5

主 幹 武居 三吉 編集者 石井象二郎
京都市左京区北白川 京都大学農学部

発行所 財団法人 防虫科学研究所
京都市左京区吉田本町 京都大学内
(振替口座・京都5899)

印刷所 昭 和 印 刷
京都市下京区猪熊通七条下ル