

昆虫ホルモンの制御機構

—エクダイソン分泌の調節を中心に—

昆虫の脱皮・変態は、エクダイソンと幼若ホルモンによってコントロールされている。それらの構造決定、作用機序の解明に加えて、これらのホルモン分泌の制御機構についての研究が進んでいる。ここでは、脱皮・変態を直接支配しているエクダイソンを分泌する前胸腺の活性について、脳ホルモン、幼若ホルモン、エクダイソンとの相互のかかわりを中心に昆虫内分泌学の最近の動向を解説する。

桜井 勝 Sho SAKURAI
金沢大学理学部生物学教室

1917年、ポーランド人の Kopec が昆虫の脱皮は脳の内分泌現象に支配されていることを示唆したことに始まる昆虫内分泌学の歴史は、1950年までにその第一時代を終えた⁽¹⁾。この約30年の間に、昆虫の脱皮・変態は、以下に述べる3種類のホルモンのコントロール下にあることが、実験形態学的手法（結紮、諸器官の摘出、移植、生体結合など）を駆使することによって証明された。南米産のカメムシ、オオサンガメ *Rhodnius prolixus* を使ったイギリスの V. B. Wigglesworth(1933~'40) は、変態を抑制する物質（幼若ホルモン、JH）が脳に連なる小器官、アラタ体から分泌されることを示した。フランスの若き生物学者 J. J. Bounhiol (1933~'38) はカイコを使った数年にわたる研究の末、アラタ体の変態を抑制する物質を放出していることを確認するとともに、脱皮をひきおこす物質は、前胸部から分泌されていることを示唆した。カイコの幼虫を用いた息の長い研究から、日本の福田宗一(1937~'44)により、脱皮を直接誘導する物質（エクダイソン）は、前胸腺と呼ばれる一対の器官から分泌されることが証明された。その後、アメリカの C. M. Williams (1942~'47) が、その華麗な手術により、エクダイソンの分泌は脳から分泌される脳ホルモン（PTTH）によってコントロールされていることを示した。

1947年6月、国際節足動物内分泌学会がパリで開かれた。これは、この分野で指導的立場にある研究者が、彼らの理論を比較し、将来の研究への共通の素地を築く

ために互いの意見を交換した初めての会議であった。上記5人の科学者のうち、Wigglesworth, Bounhiol, Williams は参加したが、Kopec と福田は出席できなかった。Kopec はその6年前、ポーランドで殺されたが、福田にとってはあまりに遠かった。しかし、福田の前胸腺の発見は、この会議の中心話題の一つであった。この時に、現在クラシカルスキームと呼ばれている脱皮・変態のホルモンコントロールの大意が確立した（図1）。

1950年を境として、第2世代の研究者たちが活躍しはじめた。エクダイソンとJHの構造が決定したのにつづき、その作用機構の研究が進んだ⁽²⁾。1970年代に入る

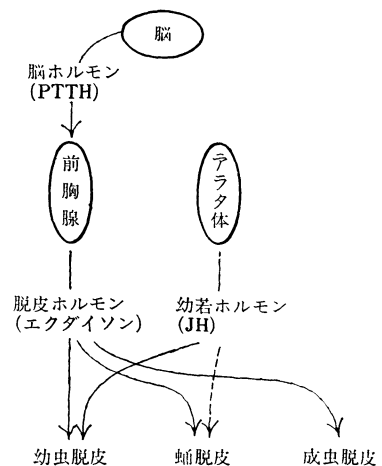


図1 1950年までにできあがっていたクラシカルスキーム

と、エクダイソンと JH のラジオイミュノアッセイ法が確立され、これを駆使して各ホルモンの分泌と分解のダイナミクスの研究が進み、現在にいたっている。

昆虫の脱皮は、一義的にはエクダイソンが誘導する。この意味で、前胸腺からのエクダイソン分泌がどのようにコントロールされているかという問題は、脱皮という昆虫に与えられた成長様式を理解するうえで欠かすことのできない重要なことである。このコントロールは、先に述べた PTHH の他に、JH およびエクダイソンのフィードバック作用を含む。ここでは主として、完全変態昆虫のタバコスズメガ *Manduca sexta* とカイコで最近得られた知見をもとに、これら3種類のホルモンと前胸腺の活性とのかかわりあいを中心に述べようと思う。

1. 脱皮変態にかかわるホルモンの分泌臨界期とその体液濃度変化

カイコなどの昆虫の幼虫期の发育段階をみると、1) 幼虫から幼虫へと脱皮し、成長する期間、たとえば

4 齢期間、2) 終齢幼虫が脱皮・成長し、摂食を止めるまでの期間、3) 摂食を止め、蛹化するに都合のよい場所をさがして蛹化の準備(たとえばマユをつむぐ)をし、次いで蛹化するまでの期間、の3期に区切ることができる。2) の摂食期の終わりに、タバコスズメガはタバコの葉を離れて地面に降り、徘徊し、土にもぐり込むことから、この時期を特にワンダリング期と呼んでいる。

ところで、4, 5 齢期の体液のエクダイソン濃度をラジオイミュノアッセイ法を使って詳細に調べると、いろいろな種の幼虫で図2に示したような変化がみられる⁽³⁻⁶⁾。各種に共通した特徴は、4 齢期では鋭いピークが脱皮の直前に1本あること、5 齢期では、ワンダリング期に入る直前に小さいピークが出現し、その後はるか

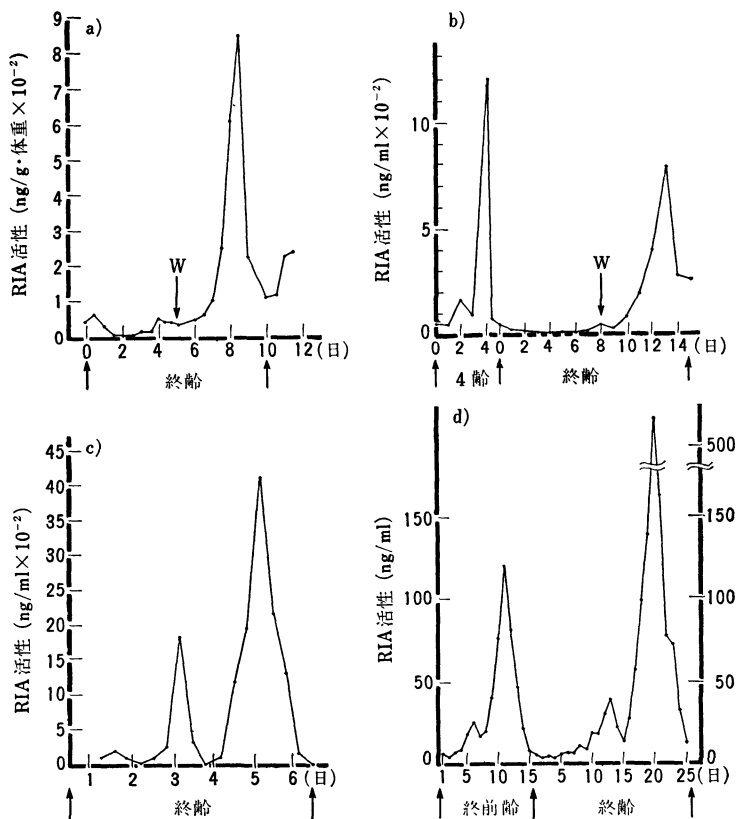


図2 幼虫体液中の脱皮ホルモン濃度の変化

縦軸はエクダイソン濃度 (ng/ml, aのみ ng/g 体重) を示すが、これはすべてラジオイミュノアッセイ (RIA) によって求められた。

a) タバコスズメガ⁽³⁾, b) シンジュ蚕⁽⁴⁾, c) トノサマバッタ *Locusta migratoria*⁽⁵⁾, d) ヤンマの一種 *Aeshna cyanea*⁽⁶⁾。

b) と d) は終前齢期と終齢期を、a) と b) は終齢期のみ示してある。いずれも、脱皮した日が0日。a), b) の W はワンダリング期に入る日を示し、矢印はそれぞれ、脱皮時を示す。

に高く、2日以上にわたるピークがみられることである。これらのピークは、それぞれ4 齢脱皮、摂食終了したともなる脱糞、および蛹化によく対応する。これらのピークはまた、前胸腺の活性の変化を示すものと考えられた。事実、タバコスズメガの前胸腺の活性を器官培養法で調べると、体液濃度に対応する活性変化がみられる(図3)⁽³⁾。

この前胸腺の活性の変化が、先述の脳からの PTHH 分泌によるものかどうかは、頭胸部を結紮する方法で調べられた⁽⁷⁾。タバコスズメガの5 齢幼虫をいろいろな時間で縛ると、ある時を境としてそれ以前に縛った幼虫ではワンダリング期に入るのがずっと遅れる。しかし、それ以後では、結紮しても、結紮しないでおいた幼虫と同じ

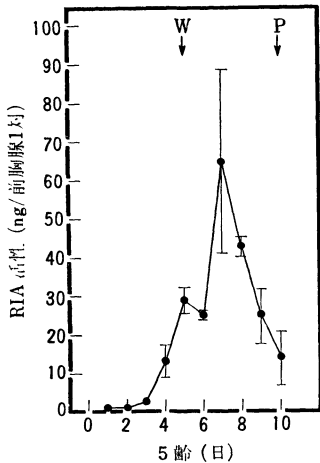


図3 タバコスズメガの前胸腺の分泌活性

分泌活性は、前胸腺を Grace の培養液中で 24 時間培養し、その後培養液中のエクダイソン濃度を RIA で測定した。この図は図 2-a に対応する。縦軸は 1 対の前胸腺が分泌した α -エクダイソン量、W、P はそれぞれワンダリング期に入った日および蛹化した日を示す⁽³⁾。

時にワンダリング期に入る。この臨界期は、図 2 の最初の小さいピーク出現の数時間前にみられることから、ここでは、脳からの PTTH の放出→前胸腺の活性化→エクダイソン濃度の上昇→ワンダリング期に入るという生理・行動の変化の一連のスキームが考えられる。頭胸間結紮とエクダイソン濃度変化の結果から、4 齢および 5 齢の大きなピークもまた、脳の分泌活性の支配のもとにあるとされている。では、これらのエクダイソンの濃度変化を支配する PTTH は、脳のどこで産生され、どのようなコントロールのもとに分泌されるのであろうか。

2. PTTH の産生と分泌

クラシカルスキームに見られるように、前胸腺の活性は、主として脳でつくられる PTTH の支配を受ける。脳が PTTH を産生することがわかるとまもなく、脳のどの部位でつくられるかに関心がもたれた。脳をいろいろな部位で切断、除去したり、一部を焼灼したりして、その脱皮・変態に及ぼす影響をみたり、あるいは切り離れた部位の摩砕物を結紮したり除脳した幼虫や蛹に注射してその効果を調べる等々によって、オオサンガメでは、脳間部神経分泌細胞群が⁽⁴⁾、セクロピア蚕では脳間部神経細胞群と脳側方部神経分泌細胞群が協調して⁽¹⁾、またタバコスズメガでは、脳側方部神経分泌細胞群が⁽⁹⁾

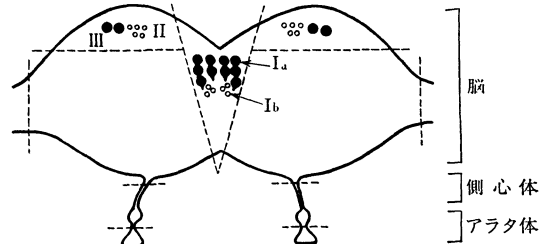


図4 タバコスズメガの脳における神経分泌細胞の分布

中央神経分泌細胞 Ia (黒丸) と Ib (白丸)、側方神経分泌細胞 II (白丸) と III (黒丸) を示す。点線部で切って、各の部分を含む PTTH 活性が調べられた⁽¹⁰⁾。

PTTH を産生していることが示された (図 4)。

PTTH の存在が知られたときから、これは体液性の要因であり、脳から体液に放出されてから前胸腺に作用することがわかっていた。PTTH は脳という神経節から分泌されるので、神経分泌物であり、これは軸索を通過してその末端から放出されるであろう。このことから、次に放出部位が求められた。

脳の後方に側心体およびアラタ体と呼ばれる一対の器官がある。これらの器官をすりつぶして、その PTTH 含量を除脳蛹を使う生物検定法で調べてみると、側心体にはそれほどでもないが、アラタ体にはかなりの PTTH 活性がみられた。側心体、アラタ体系へは脳から神経が走っている。アラタ体と側心体の間を切って、切り口を塩化コバルト溶液に漬し、脳本体は生理食塩水に入れて低温下 1 日ほど放置しておく、コバルトイオンは軸索の切り口から脳の方へ流れ込む。時間をみはからって脳をとり出し、硫酸で処理すると、コバルトイオンのあるところには硫酸コバルトが沈着して黒く見える。このようにして、脳のどの神経分泌細胞の軸索がアラタ体までのびているかが明らかにされた⁽⁹⁾。

1980 年、アメリカの Gilbert のところに留学していた安居院は、PTTH 産生細胞に関する画期的な論文を発表した⁽¹⁰⁾。これは、タバコスズメガの脳にある一つ一つの神経分泌細胞をとり出し、その摩砕物の抽出液に PTTH 活性があるかないかを調べたものである。少量の PTTH 活性を厳密に測定するために、前胸腺の培養法が用いられた。脱皮したばかりの蛹の前胸腺のエクダイソン分泌能は低い。一対の前胸腺のうち、片方は普通の培養液で培養し、もう一方の培養液には脳の粗抽出物を加えて一定時間後、培養液中のエクダイソン量を直接

ラジオイミュノアッセイ法で測定すると、エクダイソンの分泌は脳の粗抽出物を加えたものではコントロールの約4倍に上昇した。最大値(約4)の50%レベルまで前胸腺を活性化するために必要な脳の粗抽出物の量はこの系ではほぼ0.1脳相当量であった。

この感度の良い検定法を用いて、初めて1つの細胞が含むPTTH活性が求められるようになり、その結果タバコスズメガでは、PTTHは脳の側方神経分泌細胞(図4のⅢ)でつくられることが明らかにされた。ここには、それぞれの片球について2個の大型の分泌細胞がみられるが、その1個でつくられる。全体としては、2個の分泌細胞が昆虫の脱皮をコントロールしていることになる。安居院らはまた、同じ検定法を用いて、5齢幼虫期の側心体およびアラタ体のPTTH含量を日を追って調べた⁽¹¹⁾ところ、側心体のPTTH含量は常に低いこと、アラタ体の含量は、変動しながらも5齢期中上昇し、蛹化後直ちに低下するが、そののちすぐ急上昇することを見だし、このことからPTTHはアラタ体に蓄積され、放出されると結論した。これは、実験形態学的手法により20年以上前に示唆されていたこととみごとに一致した。

PTTH分泌のタイミングは、いつその昆虫が脱皮するかのカギを握っているはずである。いいかえれば、PTTHの分泌時期の決定は、昆虫の成長にとって重大な問題ともいえる。何がそれをコントロールしているのであろうか。1960年代に、昆虫の行動もまた光周期によってコントロールされていることがわかり、さらに蛹から成虫が羽化してくるタイミングも光周期に依存していることが確かめられていた。アメリカのTrumanは、幼虫脱皮も光周期に支配されているのではないかと考え、タバコスズメガの幼虫を12時間明12時間暗の光周期のもとに飼育した⁽¹²⁾。幼虫の成長は、個体間で少しばらつき、脱皮する時期が2~3日にわたる。しかし、3齢から4齢への脱皮は、成長の早い幼虫でも遅い幼虫でも常に明期におこり、4齢から5齢への脱皮はどの個体でも暗期におきた。ある夜に脱皮しなかった幼虫は、次の夜まで脱皮するのを待っていたわけである。カイコでも幼虫の脱皮は、3齢脱皮は明期に、4齢脱皮は暗期におこる。脱皮のタイミングは、後に述べるPTTHの分泌期以後に脳を抜いても影響を受けない。これはPTTH分泌のタイミングと脱皮のタイミングが密接な関係にあ

ることを示している。

頭と胸の間を縛って頭部を切除することにより、簡単に脳の影響を除く方法がある。これにより、タバコスズメガの幼虫をいろいろな時間に縛ってその幼虫が脱皮できるかどうかを調べたところ、その臨界期は、脱皮のタイミングに対応し、一日のうちのある時に常にあることがわかった。このことから、Trumanは、PTTHの分泌臨界期は光周期性によりコントロールされていると結論した⁽¹²⁾。

これまでの論議をまとめると次のようになる。タバコスズメガでは、脳側方神経分泌細胞のうち各半球1個の大型分泌細胞がPTTHを産生する。この細胞の軸索は、脳間部を横断し、反対側の脳半球および側心体を通してアラタ体にいたる。ここに一旦蓄えられたPTTHは、光刺激などの環境からの情報に応じて放出される。アラタ体から体液中に放出されたPTTHは、前胸腺を活性化する。しかし、PTTHの作用機作についてはほとんど研究されておらず、わずかに前胸腺の総RNAの合成が高まるとか、環状AMP含量の上昇が報告されているにすぎない。第一章で述べたように、5齢期には、エクダイソンのピークが2つある。これらは、Trumanによれば、それぞれに対応したPTTH分泌によるものとされている。前述の前胸腺培養法で検定した、PTTHの体液中の濃度変化には、やはりエクダイソンの2つのピークに対応して小さいピークと大きなピークが認められる⁽¹³⁾。しかし、前胸腺の環状AMP含量は、初めの小さいエクダイソンピークには対応して上昇するが、あとのより高いピークに対応する上昇はみられず、むしろこの時期ではその含量は低いレベルのままという。PTTHが分子量数千のペプチドであることを考え合わせると、おもしろい問題を含んでいるといえる。

以上、幼虫の脱皮・蛹変態にかかわるPTTHとエクダイソンについて述べてきたが、ここで少し蛹から成虫への変化についてふれておく。昆虫は、冬の環境を生き抜くために、いろいろな形態と生理的条件を進化させてきた。その中に、アゲハなどのように蛹で越冬するもの(休眠)がある。このような蛹の成虫分化開始の条件は、Williamsにより、アメリカ産の大形の蛾(セクロピア蚕など)の蛹を用いて調べられた。セクロピア蚕の蛹を室温(25°C)においておくと、1年以上羽化しないで蛹のままている。蛹を数週間冷やしてやると、その後室

温に移せば羽化する。十分な期間冷やした蛹の脳を室温においたままの蛹に移植すると、その蛹は羽化する。しかし、室温においたままの蛹の脳はこのような活性をもたない。このことから、休眠の維持は、脳の不活性、すなわち PTH 分泌能をもたないためとされ、脳は、ある一定期間の低温期を経たのちはじめに活性化すると結論された。しかし、この“冷やす”ということが、どのように脳に作用し、活性化するのは一切不明のままである。

3. 前胸腺の活性と幼若ホルモン (JH)

1959年、Williams は示唆に富む1編の論文を発表した⁽¹⁴⁾。成虫のアラタ体(活性がある)を、脳をあらかじめ抜いておいたセクロピア蚕の体眠蛹に移植すると、その蛹は脱皮する。しかし、脱皮した後の体はやはり蛹であった。Gilbert と Schneiderman⁽¹⁵⁾ は、JH 活性のあるセクロピア蚕蛹からの抽出物を注射することにより同じ結果を得た。もし、アラタ体に蓄えられていた PTH が体眠蛹の前胸腺を活性化したとしたら、それは成虫に分化するはずである。ところが、脱皮したあとの形態は蛹(2次蛹)であった。これは、前胸腺からエクダイソンが分泌されたとき、体の中に JH があったことを示す。2次蛹の形成は、JH が前胸腺を活性化した結果と解釈された。この JH 作用は、なぜかその後20年ほどかえりみられなかった。

JH の前胸腺刺激作用は、1978年比留間らにより、さらに終齢幼虫で証明された⁽¹⁶⁾。ヨトウガの幼虫をワンダリング期に入った日に頭胸間で縛ると、それは30日以上幼虫形のままでいる。この結紮幼虫に JH を塗布すると、活性脳を移植した時と同じように幼虫は蛹となる。さらに、胸・腹部間を縛って得られた、脳も前胸腺も含まない遊離腹部に活性の低い前胸腺を移植し、これに JH を塗布したところ、活性脳を植えたときと同様にこの遊離腹部は蛹となった。このことから、彼らは、ワンダリング期の前胸腺は、JH により活性化されると結論した。この結果は、タバコスズメガなどでも確認されている⁽¹⁷⁾。

カイコの5齢幼虫の若い時期に JH を投与すると、その幼虫は蛹にならず永続的に幼虫のままでいるか、また永続蛹にならないまでも、ワンダリング期に入るまでの日数が延びることが知られている。タバコスズメガでも

同様のことが観察されている。5齢中期で幼虫を断頭しても、タバコスズメガの幼虫は予定より少し遅くなるだけでワンダリング期に入る。しかし、これに JH を塗布するか、注射すると、ワンダリング期に入るまでの時間がぐんと延びてしまう。Safranek と Williams は、これらの JH の相反する作用を次のように解釈した⁽¹⁷⁾。すなわち、5齢幼虫の前胸腺は、摂食期間中は JH により阻害(inhibit)される。しかし、ワンダリング期に入ると、逆に前胸腺は JH により刺激されるようになる。蛹の前胸腺もまた JH により活性化される。この阻害から刺激へという変化は、たぶんワンダリング期に入る時におこるのである。

ところで、JH の影響、特にエクダイソンに依存した脱皮・変態への影響を、実験形態学手法からの情況証拠とそれまでのデータと直観から、JH が前胸腺を刺激し、または阻害したと、確信をもって推測することはできるが、直ちに断言することはできない。たとえば、実験形態学的には表皮の変化をみているから、表皮細胞のエクダイソンへの反応性を JH がコントロールしているのかもしれない。また、前胸腺は α -エクダイソンを分泌しているが、これは体内で β -エクダイソンに変換された後、ホルモン作用の多くの部分を発現すると考えられている。事実 培養系で調べた α と β の活性比は、常に β は α の100倍以上であった⁽¹⁸⁾。したがって、JH は α から β へ換える酵素(20位水酸化酵素)の活性を阻害しているのかもしれない。このようなことから次に必要なことは、前胸腺の培養系でも、実際 JH がエクダイソン分泌能を抑え、あるときはそれを上昇させることを証明することであった。幸い、上に述べた他の可能性の有無はともかく、摂食期(ワンダリング期以前)の前胸腺の活性は、培養系でも JH により抑制され、ワンダリング期以後蛹期も含めてその前胸腺は、JH により活性化されることが確認された。

このようにしてみると、同じ5齢幼虫の前胸腺がある時期を境にして生理的条件が変わったことになる。その原因は何であろうか。ワンダリング期に入る条件を調べると、2つの必須条件がある。これは、アメリカの Riddiford 一門による、上皮細胞がいつ、どのような条件下で蛹形質をとれるようになるか、という研究に負うところが多い⁽¹⁹⁾。それは、1) JH が存在しないこと、2) この条件のもとにエクダイソンが作用すること、の2つ

である。この2条件が満たされると、次に脱皮に必要な量のエクダイソンが作用したとき、蛹形質をとるように表皮は運命づけられる。図3に示した、5齢の最初の小さいエクダイソンのピークが2)のエクダイソンにあたると考えられている。そうすると、何も表皮だけではなく、内分泌器官も同様に、このとき蛹への運命づけを受けてもよいわけである。すなわち、JHがない状態でエクダイソンが前胸腺に作用して、幼虫期の前胸腺が蛹期の前胸腺へ変わったということである。

当初、この考え方を実証するために、前胸腺培養法が用いられた。しかし、タバコスズメガの前胸腺は培養系に移すと、その分泌活性は24時間以内に消失してしまう。これでは、前胸腺をまずJHを含まない培養液で培養し、エクダイソンを加えてさらに一定時間培養し、その後前胸腺のJHへの感受性を調べるという長い手順を行なうことはできない。そこで、生体内培養法が試みられた。まず、タバコスズメガは蛹で休眠するので、この脳、アラタ体、前胸腺の不活性な休眠蛹から、脳、側心体、アラタ体、それに前胸腺を摘出しておく。このような変態に関係している内分泌器官をすべて除いた蛹に、摂食期の幼虫の、まだPTTHの洗礼を受けていないと考えられる前胸腺を移植する。この移植された前胸腺

は、蛹の中でその低い分泌活性を維持していた。このような蛹に、エクダイソンだけ、またはエクダイソンとJHをともに投与し、その後、この蛹の中で培養された前胸腺のJHへの感受性を体外培養系で調べる、という手順の後得られた結果を図5に示した。移植数日後、何も投与されなかった蛹の中の移植された前胸腺は、JHで抑制された。これにエクダイソンだけを作用させると、移植前胸腺はJHにより活性化されるようになる。すなわち蛹型の前胸腺となる。しかし、エクダイソンと同時にJHを投与すると、前胸腺はJHにより抑制された。これは、前胸腺の生理そのものは幼虫形質のままだったことになる。以上のことは、前胸腺も、JHがない条件下では、自身が分泌したエクダイソンにより蛹形質へと変化すること、すなわち変態にとまらう変化は、内分泌器官も例外ではない、という証明でもあった⁽²⁰⁾。

前胸腺の生理機能を維持するには、JHが必要であるという考えがある⁽¹⁾。オオサンガメやハサミムシでは、終齢若虫(不完全変態の昆虫で成虫の一段階前の齢)の前胸腺は活性があるが、成虫脱皮後まもなくそれは崩壊し消失してしまう。しかし、活性のあるアラタ体を終齢若虫に移植して、実験的に6齢の過齡若虫をつくると、そこの前胸腺は崩壊せず、生理機能を保つ。カイコやセクロピア蚕では、蛹の後期にこの崩壊がおこるといふ。大関は、この事実を、ハサミムシのアラタ体と前胸腺の移植から成る複雑な実験から、前胸腺の崩壊には少なくとも次のような2条件が要るとの解釈を提出した。すなわち、1)前胸腺がJHのない環境下にある一定期間おかれること、2)この前胸腺をもつ個体が脱皮すること。この後はじめて、前胸腺の崩壊は始まる。1)は、崩壊の運命づけであり、2)は崩壊への直接の引き金である。これらのことを、ワンダリング期にみられる前胸腺のJHへの感受性の変化とともに考えると、JHへの感受性の変化は、崩壊へ向かう前胸腺の変態過程における第一ステップとも考えられる。

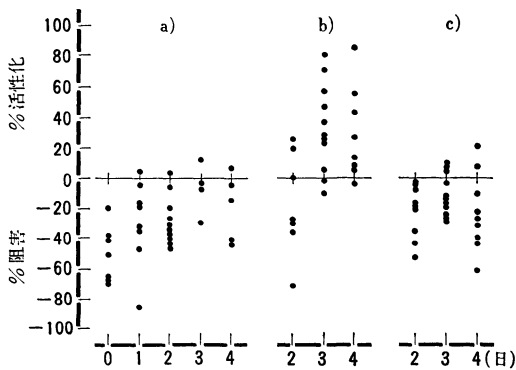


図5 タバコスズメガの5齢2日幼虫を休眠蛹に移植した後のJHへの感受性の変化

0日に移植。移植後の各日に前胸腺をとり出し、一対の前胸腺の一方は単なるGraceの培養液で、もう一方はJHを含む培養液で培養する。前者のエクダイソン分泌量をC、後者のをJとし、縦軸は(J-C)/C値で示した。a) コントロール実験。前胸腺は常にJHで阻害される。b) 0日に移植。1日にエクダイソンを蛹に注射。3日、4日の前胸腺は、JHで活性化されるようになる。c) b)と同様だが、2日にエクダイソンとともにJHを注射。b)でみられたJHによる活性化はおこらない。

4. 前胸腺の活性とエクダイソン

昆虫の実験形態学史上に残る華麗な研究の1つに、1952年に発表されたWilliamsのセクロピア蚕休眠蛹を使っての一連の実験がある⁽²¹⁾。あらかじめ脳を抜いておいた休眠蛹を、尾部と頭部とで生体結合(パラバイオース)させ、前方の蛹から頭・尾・頭・尾・頭と8個

の蛹をあたかも鎖のように連結した。これら個体間では、体液の交流のみがある。先頭の蛹に PTH 分泌活性のある脳を1個移植すると、移植後17日目に先頭と2番目の蛹が発育を始めたのが認められ、32日後にそれらは成虫となった。52日目には、最後尾の蛹も成虫になった。次に、6個の除脳蛹から成るこのような蛹の鎖をつくり、同様に活性脳を1つ先頭の蛹に植えて先頭と2番目の蛹に成虫発育が認められたとき、先頭と最後尾の蛹を他の中間の4個体から成る鎖から切り離れた。そうすると、先頭の蛹および2番目から5番目の蛹は、8週目までに順次成虫となったが、最後尾の切り離れた蛹は成虫発育をせず、18カ月に死んだ。もし、先頭の蛹に植えた脳がすべての蛹の前胸腺を活性化した場合、8つの蛹から成る鎖の各メンバーが成虫化したとしたら、なぜ6つの蛹をつないだ実験で先頭から5番目までは成虫になったのに、最後の蛹は成虫にならなかったのか。脳は1番目と2番目の成虫発育だけをうながし、2番目は3番目をと順次刺激したにちがいないと考えられるからである。

Williams はさらに実験をつづけた。こんどは、蛹から切り取った腹部(脳も前胸腺も含まない)を4個、順次結合し、その先端に一定期間冷やしておいた、室温にもどせば発育を始める完全な蛹をつないだ。この1個の蛹と4個の蛹腹部から成る鎖では、先頭の蛹とそれにつづく1個の腹部は38日目に完全な成虫となったが、2番目の腹部はわずかに成虫化のきざしを示したにすぎず、3番目と4番目は80日後でも蛹のままだった。この鎖の一端を指でおすと、体液は各腹部間でさえぎられることなく流れた。以上の観察から、彼はこう結論した。すなわち、8個の除脳蛹から成る鎖の中で、移植した活性脳は1番目と2番目の前胸腺を活性化した。しかし、3番目の蛹の前胸腺は、移植した活性脳により活性化されたのではなく、2番目の活性化した前胸腺が出した脱皮ホルモンで活性化された。以下順次刺激しあい、8番目の蛹も成虫になった。これらの結果は、エクダイソンはエクダイソンを分泌する内分泌腺——前胸腺——を活性化し、すなわち正のフィードバック作用を示唆した最初の研究だった。

このことは、最近同じ Williams の研究室で、前胸腺の体内および体外培養法を用いて詳しく研究された⁽²²⁾。脳、側心体、アラタ体を抜いておいたタバコスズメガの

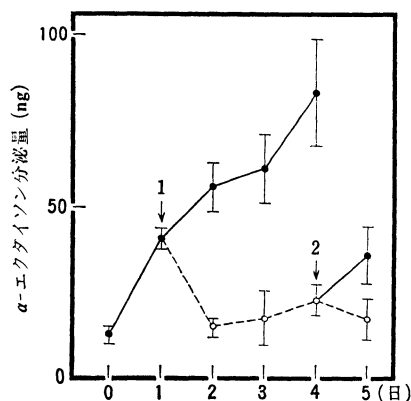


図6 休眠蛹に移植された5日幼虫の前胸腺の活性

0日で移植。その後活性は徐々に上昇する(実線)。1日でエクダイソンを注射(矢印1)すると、その後の前胸腺活性は下がる(破線)。この蛹に4日に2回目のエクダイソンを注射(矢印2)すると、次の日に前胸腺活性は上昇する(実線)。縦軸は1個の前胸腺の α -エクダイソン分泌量。

休眠蛹の前胸腺活性は非常に低い。このような蛹にエクダイソンを注射して、1日ごとに順次前胸腺の活性を体外培養法を用いて追跡すると、前胸腺の活性はエクダイソンを注射した次の日からほぼ直線的に上昇していく。これは、投与したエクダイソンが前胸腺を活性化したことを示していた。さらに、活性の低い前胸腺の培養系にエクダイソンを加えることにより、エクダイソンのもつ活性化作用が確かめられた。休眠蛹の前胸腺だけではなく、摂食期とワンダリング期の前胸腺へのエクダイソンの作用も検討された。摂食期の幼虫の前胸腺を、脳、側心体、アラタ体、前胸腺を摘出した休眠蛹に移植すると、この前胸腺の活性は日を追って徐々に上昇していく(図6)。この上昇期の途中でエクダイソンを注射すると、前胸腺の活性は低レベルに落ち、この活性はもとにもどらず低いままである。はじめのエクダイソン投与後3日目に、2回目のエクダイソンを投与すると、この蛹の中に植えられていた前胸腺の活性は再び上昇する。すなわち、ある程度活性のある前胸腺はエクダイソンにより阻害され(負のフィードバック)、その阻害された活性の低い前胸腺は、エクダイソンにより刺激された(正のフィードバック)のである。

ワンダリング期以後の前胸腺活性は急に上昇し、3日目に最高値に達したのち、また急激に低下する⁽²²⁾。3日目の前胸腺を、前述の脳、側心体、アラタ体、前胸腺を

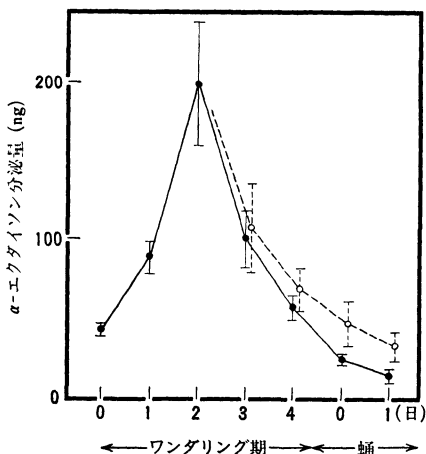


図7 5齢幼虫のワンドリング期以降と蛹化後2日間の前胸腺の活性(実線)

活性は前胸腺を培養し、その後エクダイソン分泌量をRIAで測定。破線は、2日の前胸腺を休眠蛹に移植し、1日ごとに調べたその活性を示す。破線の蛹化0日の値は、移植後3日目の値を示す。

摘出しておいた休眠蛹に移植し、その活性を毎日調べると、この前胸腺の活性は、移植されない前胸腺(幼虫の中の)とほぼ同様に低下する一方であった。そして、この低下の様相は、幼虫の中の前胸腺の活性低下と似ていた(図7)。培養系で3, 4, 5日目の幼虫前胸腺をエクダイソンとともに培養すると、その活性は、それぞれ4, 5日目および蛹化1日目のそれと同程度にまで阻害される。このことから、活性の高い前胸腺は、エクダイソンの負のフィードバック作用を受けるだけであることが示された。この負のフィードバック機構で、ある程度までワンドリング後期にみられる前胸腺の不活性化を説明できると考えられる⁽²²⁾。

5. PTH, JH とエクダイソン

これまで、前胸腺の活性にかかわる各々のホルモンの前胸腺への作用をみてきた。これらの各ホルモンの分泌は、さらに各ホルモン間でも調節しあっている。ここでは、この各ホルモン間のかかわり合いを簡単に述べておく。

オオサンガメやヨトウガの幼虫にエクダイソンを注射したり、脳をエクダイソンとともに培養すると、脳の神経分泌細胞中の分泌顆粒が急激に減少する。この減少は分泌顆粒が放出されたためと考えられる。これがPTHであるという証明はないが、少なくともヨトウガでは、

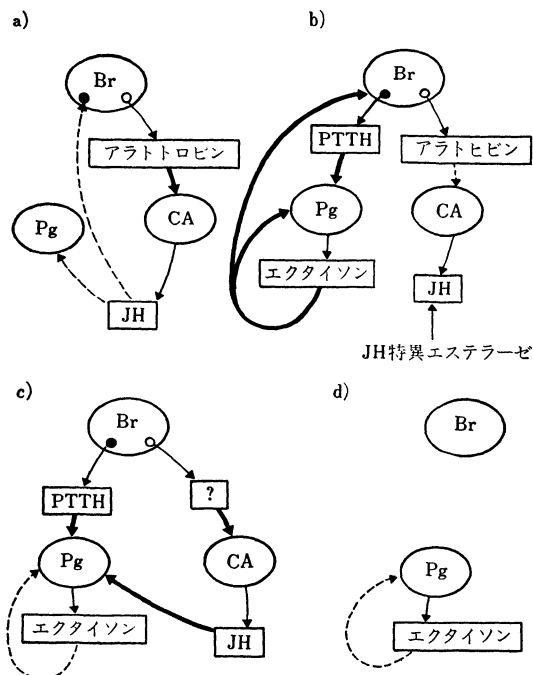


図8 脳(Br)、アラタ体(CA)、前胸腺(Pg)の相互関係

太線は刺激、破線は阻害、実線はホルモン分泌を示す。

a) 5齢初期、アラトロピンにより活性化しているCAはJHを分泌し、BrのPTHおよびPgのエクダイソン分泌を抑制する。

b) ワンドリング期前後。前期にはJH特異エステラーゼによりJH濃度は下り、BrおよびPgの抑制ははずれる。その後、PTHが分泌され、エクダイソン分泌が始まる。この初期、活性の低いPgは正のフィードバックを受ける。ワンドリング期に入るとまもなく、アラトロピンによってCAは不活性化となる。

c) ワンドリング期中期(前蛹期)。CAは再び活性化する。PTHもこの時期分泌され、Pgを活性化す。しかし、蛹化に近づくとPTH分泌は止まり、Pgはエクダイソンの負のフィードバックを受けて不活性化する。

d) 蛹期(成虫発生)。脳から分泌されたPTHはPgを活性化す。この初期ではエクダイソンは正のフィードバック作用をPgおよびBrに対してもつ。Pgが活性化してしまうと、こんどはPgに対してエクダイソンは負のフィードバック作用をする。この時期のBrに対する作用は不明である。

PTHを産生すると思われる分泌細胞もこの中に含まれていることから、エクダイソンはPTHの分泌を促進するという考えがある⁽²³⁾。脳、側心体、アラタ体を除いたタバコスズメガの休眠蛹にエクダイソンを注射すると、その前胸腺は活性化するという事は前節で述べた。このエクダイソンの作用を、正常蛹と除脳蛹について調べると、正常蛹の前胸腺のほうが、除脳蛹のそれよりも少量のエクダイソンで活性化される⁽²²⁾。このこと

は、間接証拠によるものだが、前胸腺の分泌したエクダイソンが脳の PTHH 分泌を促進する可能性を示唆している。

JH について、PTHH 分泌への影響を調べてみると、これは逆に神経分泌細胞の分泌顆粒の減少を抑制するという⁽²⁴⁾。これは放出(分泌)を抑えているとも考えられる。これもタバコスズメガでのことだが、脳-側心体-アラタ体系を JH とともに培養すると、培養液中に放出される PTHH 量は、非常に減少するか、ほとんどゼロとなる⁽²²⁾。

これらの事実をもとにして考えたとき、5 齢幼虫の発育、脱皮、変態はどのようにコントロールされているのだろうか。5 齢のタバコスズメガを例にとってみよう(図 8)。幼虫は成長の速いもので、4 日の摂食期のうちワンダリング期に入り、その後 5 日目に蛹化する。摂食期のはじめの 2 日間は JH 濃度が高く、3 日目から 4 日目にかけて急激に低下する⁽²⁵⁾。この間の前胸腺の活性は低い(図 3)。JH の体液濃度がほぼゼロになったのち、PTHH の第 1 回目の分泌がある。次いでエクダイソンが分泌され、ワンダリング期に入る。この後、前胸腺の活性は上昇し、そして急激に低下して幼虫は蛹となる。

アラタ体を 5 齢初期に摘出すると、摂食期は 1 日ほど短縮される。5 齢 3 日の前胸腺は JH で阻害され、また蛹の体内培養系では徐々に活性化す。自らの分泌する少量のエクダイソンが正のフィードバック作用をするのであろうことを考え合わせると、5 齢初期の JH は少なくとも前胸腺の(自動的)活性化を抑制する(図 8-a)、と同時に PTHH 分泌を抑制するという 2 つの作用をもつと考えられる。結果として、摂食している時間、すなわち十分に生育する時間を保証する。これは、幼虫の体重がある一定値を越えると、その後はじめて、JH の体内濃度が低下しはじめるという事実からも推測できる。ところで、ワンダリング期の前、JH の体液濃度はほぼ検出できないレベルまで低下するが、この時期アラタ体の活性は維持されていて、ワンダリング期に入った直後に不活性となる。JH 濃度の減少は、主として JH 特異エステラーゼ(JH を不活性化す酵素)活性が急激に上昇することによる⁽²⁷⁾。このとき、JH 特異エステラーゼの阻害剤を投与すると、その幼虫は 6 齢になってしまうことから、このエステラーゼの果たす役割が示唆される⁽²⁶⁾。

JH 濃度がある閾値以下に下った後、PTHH 分泌期が

ある(図 8-b)。この PTHH 分泌のタイミングは光周性のコントロールのもとにある⁽⁷⁾。JH のほとんどない環境で、最初の PTHH により刺激された前胸腺はエクダイソンを分泌し、これが各器官の蛹化を運命づける。とともに、ワンダリング期という、摂食を止め、タバコの葉から地に降り、土にもぐるという一連の行動を解発するのであろう。この後、前胸腺は再び急激に活性化す。これもたぶん、PTHH によりひきおこされる。この時期再びアラタ体は活性化し、蛹形質の維持とともに、前胸腺の活性化にもあずかる(図 8-c)。前胸腺が活性化した後、刺激するホルモンがなくなると、エクダイソンの負のフィードバックが働いてその活性は急激に低下し、不活性の状態となる(図 8-d)。

以上、タバコスズメガについて述べたことは、一つの説明の試みにすぎない。4 齢期でも投与した PTHH は前胸腺を活性化す。ということは、4 齢幼虫の前胸腺も脳からの PTHH で活性化し、幼虫脱皮がおこると考えられる。しかし、PTHH が分泌されると考えられる時期の JH の体液濃度は 5 齢中期よりはるかに高い。また、正常の 4 齢幼虫に JH を塗布したり、注射しても、その効果は認められない。4 齢の JH と PTHH 分泌のかわりほどのようなものであろうか。4 齢と 5 齢の脳は、異なる生理条件を備えているのであろうか。休眠蛹では、一旦冷やされた後、はじめて脳は PTHH 分泌能をもつようになる。これはどのようなメカニズムによるのか。脱皮と変態の中心にある前胸腺の活性制御機構をめぐる問題は、まだあまりにも多い。

*

この 10 年間、ラジオイミュノアッセイ法の確立により、超微量のエクダイソンと JH を測定できるようになった。これは、1 個の前胸腺、1 個のアラタ体の分泌するホルモン量を正確に測定し、一対の器官の一方をコントロールに、一方を実験区に使うことを可能にした。このため、脱皮・変態にかかわる内分泌学は急速の進歩をとげつつある。本稿では、先人たちが拓いた昆虫の内分泌研究の歴史の一端と、実験形態学的手法を縦横に駆使して、いかに各々の事実を提唱してきたかを述べるとともに、それが現在の手法で証明されつつある過程に焦点を絞った。そのため、1950~60 年代の研究はほとんど省略したが、この間に蓄積された成果⁽²⁾が、現在の

礎となっていることはいうまでもない。

ここでは、PTTH, JH, エクダイソンの前胸腺とのかわり方を中心に述べたが、PTTH と JH の分泌のコントロール機構もまた重要である。アラタ体の活性は、神経系で阻害 (inhibition) されているとともに、アラトヒビンで不活性化 (inactivation) し、またアラトトロピンで活性化するという。ともに脳から分泌されているとされているが、詳細は不明である。体液中の JH 濃度は、アラタ体の活性とともに JH 特異エステラーゼ活性に依存している。この酵素はいかに誘導されるのであろうか。JH によってのみ誘導されることは、実験的に否定されている。PTTH の分子はどのような構造なのか、その分子種は単一なのか、複数なのか。分泌はどの部位でコントロールされているのか、分泌細胞そのものなのか、アラタ体にのびた軸索の末端であらうか。分泌のタイミングは、いかにコントロールされているのか。今、まさに、昆虫の内分泌学はその第3世代へとバトンを渡されたばかりである。

文 献

- 1) V. B. Wigglesworth: 'The hormonal regulation of growth and reproduction in insects', in *Adv. Insect Physiol.*, 2, 247 (1964).
- 2) W. W. Doan: 'Role of hormones in insect development', in "Developmental Systems: Insect", Vol. 2, ed. by S. J. Counce and C. H. Waddington, Academic Press, 1973, p. 291.
- 3) W. E. Bollenbacher, W. V. Vedeckis, L. I. Gilbert & J. D. O'Connor: *Dev. Biol.*, 44, 46 (1975).
- 4) B. Calvez, M. Hirn & M. de Reggi: *FEBS Lett.*, 71, 57 (1976).
- 5) M. Hirn, C. Hetru, M. Lagueux & J. A. Hoffmann: *J. Insect Physiol.*, 25, 255 (1979).
- 6) F. Schaller & M. Charlet: in "Progress in Ecdysone Research", ed. by J. A. Hoffmann, Elsevier, 1980, p. 99.
- 7) J. W. Truman & L. M. Riddiford: *J. Exp. Biol.*, 60, 371 (1974).
- 8) D. Gibbs & L. M. Riddiford: *J. Exp. Biol.*, 66, 255 (1977).
- 9) H. F. Nijhout: *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 4, 529 (1975).
- 10) N. Agui, N. A. Granger, L. I. Gilbert & W. E. Bollenbacher: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 76, 5694 (1979).
- 11) N. Agui, W. E. Bollenbacher, N. A. Granger & L. I. Gilbert: *Nature*, 285, 669 (1980).
- 12) J. W. Truman: *J. Exp. Biol.*, 57, 805 (1972).
- 13) L. I. Gilbert: in Abstracts of XVI International Congress of Entomology in Kyoto (1980).
- 14) C. M. Williams: *Biol. Bull.*, 116, 323 (1959).
- 15) L. I. Gilbert & H. A. Schneiderman: *Nature*, 184, 171 (1959).

- 16) K. Hiruma, H. Shimada & S. Yagi: *J. Insect Physiol.*, 24, 215 (1978).
- 17) L. Safranek, B. Cymborowski & C. M. Williams: *Biol. Bull.*, 158, 248 (1980).
- 18) L. Cherbas, C. D. Yonge, P. Cherbas, C. M. Williams: *Wilhelm Roux's Archives*, 189, 1 (1980).
- 19) T. Mitsui & L. M. Riddiford: *Dev. Biol.*, 62, 193 (1978).
- 20) S. Sakurai, L. Safranek & C. M. Williams: *Biol. Bull.*, in press (1981).
- 21) C. M. Williams: *Biol. Bull.*, 103, 120 (1952).
- 22) S. Sakurai & C. M. Williams: unpublished data.
- 23) N. Agui & K. Hiruma: *J. Insect Physiol.*, 23, 1393 (1977).
- 24) K. Hiruma & N. Agui: *Appl. Ent. Zool.*, 13, 149 (1978).
- 25) H. F. Nijhout & C. M. Williams: *J. Exp. Biol.*, 61, 493 (1974).
- 26) L. Safranek: personal communication.
- 27) R. K. Vince & L. I. Gilbert: *Insect Biochem.*, 7, 115 (1977).

以上の文献の他、JH に関しては、“The Juvenile Hormone”, ed. by L. I. Gilbert, Plenum Press, New York, 1976 が、またエクダイソンについては “Progress in Ecdysone Research”, ed. by J. A. Hoffmann, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1980 に詳しい。

次号予定目次

<解説>

二重鎖 RNA バクテリオファージ φ6岡田 吉美
 牧草のミネラルと家畜の健康高橋 達児
 宿主特異的毒素河野 芳樹

今日の話題：桑の産生するファイトアレキシン・高杉光雄／
 酢酸菌の膜酵素・館山 実／組織培養によるアルミニウム耐
 性作物の育成を目指して・小島邦彦／Fraction 1 タンパクの
 生合成・佐々木幸子

非天然物分解酵素とプラスミド岡田 弘輔
 植物の薬害行本 峰子

<筋肉から食肉への変換-3>

Z-line の脆弱化と Ca²⁺-activated protease鈴木 教士

<連載講座——画像処理による微生物量の測定>

1. コンピュータによる画像処理西川 孝, 辻 堯

<研究のスポット>

コイ筋肉中のアルカリ性プロテアーゼ長谷 純一

<海外だより>

国際熱帯農業研究所 (IITA)浅沼 修一

<学界の動き>

化学療法での最近の動き岡地 諒