カイコ休眠ホルモンの分泌制御機構

清水 勇*

カイコの卵休眠は、環境応答に基づく昆虫の生活史制御現象の一つである。カイコの食道下神経節の腹側後方に位置する一対の神経分泌細胞で、合成された休眠ホルモンは囲食道神経索—脳—NCC3神経をへて、側心体(アラタ体)に輸送される。休眠ホルモンはC末端がアמיד型になった24個のアミノ酸からなるニューロペプチドであるが、このホルモンが蛹期に側心体(アラタ体)から体液中に放出され発育中の卵巣に作用すると、母蛾によって産みつけられた卵は休眠卵となる。脳が囲食道神経索を通じて神経分泌細胞からの休眠ホルモンの分泌を制御しており、非休眠卵を産むように決定づけられたカイコ蛹では前大脳にある制御部位からのGABA性抑制シグナルがホルモン分泌を調整していると考えられる。

1. はじめに

昆虫は、その種に特有の生活の季節適応機構を備えており、多くは休眠という発生の一時停止状態で厳しい冬をやり過ごす戦略を採っている。昆虫は環境が発育に適さない状態になって、あわてて休眠状態に入るのではなく、生活史段階のかなり前に環境情報を読み取り、なんらかの生理的な反応として蓄積・記憶し、適切な時期に発生の制御現象として表すが、大抵の場合は内分泌系(ホルモン)が関与している⁸⁸⁾。

生活史のどのような段階で、いかなる機構で休眠に入るかについては昆虫の種類で違っているが、昆虫の約70%は卵の状態では休眠に入る⁸⁹⁾。卵殻に包まれた状態で越冬することが虫にとっては比較的安全な生活史の制御戦略であったようだ。卵休眠の形態も、どの発生段階で休眠するかによって、いくつか分類できる。カイコは卵休眠する代表的昆虫とし

て知られているが、これは胚葉期を経た頭葉と尾葉が認められる逆ダルマ型胚子期の状態で、休眠に入る⁹⁰⁾。休眠するかしないかは、母蛾が卵や幼虫の時期に経験した光、温度、栄養環境などによって決定される^{36, 64)}。

この現象の生理機構をおおまかに上流(環境受容機構)、中流(ホルモン分泌機構)と下流(ホルモン作用機構)に分けるとすると、最初の部分については、筆者はすでに別の総説で述べた⁶¹⁾。ここでは中流域の休眠ホルモンの分泌制御機構を中心に論述したい。

2. 実験形態学的研究

カイコの食道下神経節が卵休眠を引き起こす活性を持っていることを明らかにした歴史的な移植実験の結果は、1951年日本学士院紀要(Proc.Jap.Acad.誌)に福田宗一氏¹¹⁾と長谷川金作氏¹⁹⁾により同時に発表された。この発見に関しては厳しい先取権争いがあったと言われている。Fukudaは、環境要因によって休眠卵あるいは非休眠卵を産むように決定づけられたカイコの食道下神経節を、非休眠卵を生むように決定づけられた幼虫や蛹に移植すると休眠卵を産む蛾がでることを明かにした。Hasegawaも多化性系統のN4を用いて同様の実験を行い、移植した食道下神経節が卵休眠を引き起こすことを示した。さらに、4、5齢の幼虫の食道下神経節も休眠ホルモン誘導活性を持つこと、蛹化直後の蛹の脳や前胸神経節にはこの活性はないことや、雄の食道下神経節にも休眠ホルモン活性があることが観察されている^{11, 20, 72)}。

休眠卵を産むように決定づけられた蛹(以下休眠卵産下予定蛹と述べる)から、食道下神経節を除去すると全ての蛾は非休眠卵を産むようになる¹²⁾。食道下神経節除去の効果は蛹の日齢によって異なり、

*Isamu SHIMIZU, 京大学生態学研究センター(〒606-8502 京都市左京区北白川西町)

初期の除去処理はほぼ100%非休眠卵となるが中期以降は次第に休眠率が増加する傾向がある^{17, 67, 92)}。これは卵巣内で早く発達した卵が、除去前にすでに休眠ホルモンの作用を受けて休眠化が決定されてしまったためである。食道下神経節の休眠ホルモン活性は5齢幼虫期にも認められ、休眠卵蛹では蛹期に入って減少するが、非休眠卵を生むように決定づけられた蛹(以下非休眠卵産下予定蛹と述べる)では蛹期中期まで増加し、その後減少すると報告されている⁷²⁾。

Fukuda と Takeuchi^{16, 17)} は、食道下神経節の腹側左方の正中面付近に位置する一对の神経分泌細胞を見いだした。彼等は、休眠卵蛹からこの細胞を含む食道下神経節の表層の一部を切除すると、すべて非休眠卵を生むようになることや、この切除したものを非休眠卵蛹に移植すると、移植されたカイコは休眠卵を生むと述べ、組織学的観察に基づきこれを休眠ホルモン(要因)合成細胞と考え、DF(diapause factor)細胞と名づけた。カイコ以外ではドクガの一種(*Orgyia antica*)の食道下神経節に、この蛾の休眠を支配するホルモンが、存在することが知られている⁵³⁾。

このような歴史的経緯をへて、休眠ホルモンは食道下神経節で生産され、そこで分泌されると考えられるに至ったが、その後カイコの他の組織にも休眠

卵誘導活性を持つことが報告されるようになった。すなわち Sonobe と Keino⁷¹⁾ は休眠卵蛹の脳も休眠卵誘導活性を持つと報告し、囲食道神経索(食道連合)の切断実験から休眠ホルモンが脳で作られ、食道下神経節に輸送されると推論した。また Takeda ら^{76, 79)} は蛹化後一日目のカイコの側心体、あるいはアラタ体の移植実験によって、これらの器官にも強力な休眠ホルモン活性があることを見だし、幼若ホルモン(JH)にはその作用がないことを確認して、休眠ホルモンが脳あるいは食道下神経節で合成され側心体—アラタ体で放出される可能性を論じた。また島田⁶⁸⁾ は、5齢72時間目に幼虫のアラタ体を切除すると休眠率が変化し非休眠卵が生ずると報告した。

このように休眠ホルモン分泌に、現象として、他の器官が関与していることを示唆する観察があるにもかかわらず、単独で移植した食道下神経節でも休眠ホルモンの放出が観られることなどから、このホルモンの分泌サイトは食道下神経節そのものであると考えられてきた^{91, 93)}。

しかし最近になって、休眠ホルモンが食道下神経節で合成され側心体(アラタ体)で放出されていることを直接的に示す証拠が、筆者らの実験形態学的研究で得られた。Shimizu ら^{62, 67)} は非休眠卵産下予定蛹の食道下神経節単独、あるいは脳(側心体—アラタ体を含む)—食道下神経節連合の除去が休眠率に

図1 非休眠卵蛹からの食道下神経節(A)と脳(側心体—アラタ体)—食道下神経節連合(B)の除去効果⁶⁷⁾ 横軸は蛹化してからの日数(蛹化当日を0日)を表し、棒の数は実験個体数を表す。縦軸は一本の卵巣小管中の卵数を表し、黒抜きは休眠卵を、白抜きは非休眠卵蛹を示す。除去手術は0日目から7日目まで毎日一定の時刻に行った。

及ぼす影響をみた(図1)。その結果をみると、食道下神経節の除去に関しては、蛹の初期でのこの処理により100%非休眠卵が生ずるのは予想通りであるが、食道下神経節が休眠ホルモンの製造・分泌部位であるという考えからすると予期せぬことに、2日目以降の処理で休眠卵が生じたのである(図1A)。一本ずつの卵巣小管でみたこの効果帯は、処理する日令に応じて遠位端(輸卵管と反対方向)に移動していくのが観察された。また側心体—アラタ体を含む脳—食道下神経節連合を除去すると、処理した時期にかかわらず全て非休眠卵が生じた(図1B)。一方、休眠卵産下予定蛹からの食道下神経節の除去により休眠卵は2日目から生ずるが、脳(側心体—アラタ体)—食道下神経節連合を除去すると休眠卵の出現が2日遅れることが観察された⁶⁷⁾。

これらの実験結果は、以下のように考えることにより、きわめて合理的に説明できる。すなわち休眠ホルモンは食道下神経節で合成されるが、これは側心体(アラタ体)へ輸送される。休眠卵産下予定蛹では、そこから放出され、非休眠卵蛹では脳により放出が抑えられて蓄積している。非休眠卵蛹における食道下神経節の除去は、ホルモン製造部位の喪失と同時に抑制の解除をもたらす結果として側心体(アラタ体)に蓄積していた休眠ホルモンの体液への放出をもたらす。これは後に述べる組織学的研究によっても確かめられることとなる^{28, 29)}。

3. 神経分泌細胞に関する組織学的研究

Fukuda と Takeuchi^{16, 17)} は、食道下神経節の腹側後方に位置する一対の神経分泌細胞を休眠ホルモン合成候補細胞とし、光学顕微鏡レベルでの詳しい観察を行なった。それによると、非休眠卵産下予定蛹ではこの細胞の細胞質はフクシンあるいはアゾカーミン好染色性であるが、休眠卵産下予定蛹ではほとんど染色性が見られないと述べている。その細胞の直径の大きさは平均で約20 μ mであった。また囲食道神経索の両側を切断すると、問題の神経分泌細胞の色素の染色性が悪くなり、またこの神経分泌細胞は非休眠卵蛹の食道下神経節に肉眼で観察されると述べている。これらの観察結果をもとに、彼等は非休眠卵蛹では神経分泌細胞で生産された休眠ホルモンが分泌されずにそのまま蓄積していると主張した。一方、Kobayashi³⁵⁾ は食道下神経節の神経分泌細胞について観察したが、Fukuda らが報告した問題

の大型の神経分泌細胞は観察していない。

その後、休眠ホルモンの構造が同定され(詳しくは後述)、その部分ペプチド配列に対する抗体を用いて、ホルモンの正確な分布をみるための免疫組織学的研究がなされた^{28, 29)}。その結果、食道下神経節には、抗休眠ホルモン血清に対して陽性の3群の12個の細胞(前部に4個、中部に6個さらに後部に2個)が観察されている。この12個の細胞は休眠ホルモンの mRNA の発現が確認されたものと配置的に一致しており⁷¹⁾、フェロモン生合成活性化神経ペプチド(PBAN)に対する抗体にも免疫的に陽性反応を示した。後部一対2個の神経分泌細胞(PNSC)はFukuda と Takeuchi^{16, 17)} の報告した休眠ホルモン合成候補細胞の位置と同じであった。また微少解剖による除去実験により PNSC にだけ蛹での休眠ホルモン誘導能が認められた²⁹⁾。

PNSC に螢光色素のルシファーイエローを注入し、細胞の軸索の走行分布をみると、これが脳をへてNCC3神経を通じて側心体(一部の分岐はアラタ体にも)や、そこから出る回帰神経に投射されていることが判明した²⁸⁾。また PNSC の樹状突起は食道下神経節の上方に左右対称に伸びていた。さらに休眠ホルモンの抗体を用いた免疫組織学的観察によると、食道下神経節以外に側心体にも休眠ホルモン様の物質が認められる。これらの観察は、休眠ホルモンが食道下神経節の一対の神経分泌細胞で合成され、脳のNCC3神経を経て側心体(アラタ体)に輸送され、休眠卵産下予定蛹ではそこから分泌されるという説を、支持するものである。

側心体とアラタ体のいずれが主要な分泌サイトであるかは、PNSC からのバリコシティーが側心体とそこから出る回帰神経上であることから、側心体—回帰神経系であると考えられるが、アラタ体も休眠ホルモン活性を持つことから、この器官も分泌に係わっている可能性は否定できない^{76, 79)}。

同様の形態をした神経分泌細胞がタバコスズメガ(*Manduca sexta*)の食道下神経節でも観察されている⁷⁾。また *O. antica* の食道下神経節でも同じ位置の神経分泌細胞が、この蛾の休眠を支配するホルモンの分泌に関与しているという⁵³⁾。

興味あることに、カイコの食道下神経節の切断などによって、この PNSC の軸索や樹状突起が損傷されると、それぞれの切断端から突起が伸び、結節状のバリコシティーが神経節の表面にそって形成される²⁹⁾。このバリコシティーには、休眠ホルモン様

物質が免疫組織学的に認められることから、再生された神経突起からも休眠ホルモンが体液中に放出されているものと考えられる⁸³⁾。これにより囲食道神経索の切断や食道下神経節の単独移植によっても、休眠ホルモンの体液への分泌が観察される事実を矛盾なく説明できる。

この PNSC の電気生理学的研究が Miyazaki⁴²⁾ によってなされている。それによると、この細胞体の静止電位は約 -42 mV であり、Ca 依存性の持続性活動電位を示す。またこのときの電顕観察によると、非休眠卵産下予定蛹のこの細胞体 (20–24 μ m) は、170–230nm の顆粒を細胞質に豊富に含んでいる。化性に関連して神経分泌細胞の電気生理学的特性を比較した研究が今後必要とされる⁸²⁾。

4. 脳による休眠ホルモン分泌制御

カイコの脳が休眠ホルモンの分泌制御をしている可能性を最初に指摘したのは Fukuda である^{10, 12)}。食道下神経節を単独で、非休眠卵産生蛾になる予定の幼虫に移植すると、食道下神経節の由来によらず休眠卵のみを生む蛾と、非休眠卵のみを生む蛾と休眠卵と非休眠卵とを混合して生む蛾が生ずる。これに対して休眠卵産生予定のカイコの脳—食道下神経節連合を移植すると、休眠卵のみができ非休眠卵産生予定の脳—食道下神経節連合からは非休眠卵のみが生じた。これから Fukuda は脳が囲食道神経索を通じて、非休眠卵蛹では抑制的に働き、休眠卵蛹では促進的に働いていると主張した。また囲食道神経索の切断実験も、この仮説を支持していると述べた¹³⁾。さらに母蛾が経験した環境要因によらず、休眠卵を産む 1 化性の品種や非休眠卵を産む多化性の品種のカイコの食道下神経節や脳—食道下神経節連合の移植実験もこの考えを支持するものと主張した^{14, 15)}。一方、Hasegawa^{19, 20)} は脳による休眠ホルモンの分泌制御に関しては否定的結果を出している。

その後、Morohoshi と Oshiki⁴⁵⁾ は脳の除去実験、食道下神経節や脳—食道下神経節連合の移植実験、さらに囲食道神経索の切断実験などから、脳は食道下神経節に対して促進的作用を持つだけで抑制的制御はないと主張した。一方、Tsuchida と Yoshitake⁸⁵⁾ は、人工飼料育下の幼虫期に光周期で化性を決定づけられたカイコを用いて、脳—食道下神経節の移植実験などを行い、脳は抑制制御のみで食道下神経節からの休眠ホルモンの分泌をコントロー

ルしていると唱えた。しかし両グループの実験データを検討すると、いずれも実質的に Fukuda の報告している結果と変わらず、どちらの傾向を強調するかによって結論がわかれたものと言える。

Matsutani と Sonobe⁴¹⁾ は Fukuda の促進—抑制の二元制御説に基づき、脳の微少解剖によってどのような部位が、それぞれの制御に係わっているかを明らかにしようとした。彼等は複雑な実験結果を総合して、前大脳の背側中央より少し側方の皮質部に抑制中枢があり、前大脳腹側の前側の皮質部に休眠ホルモン分泌の促進中枢があると主張した。また後大脳にも抑制と促進する部位が存在し、これらの制御系の組み合わせによって、最終的に囲食道連合索を通じて食道下神経節から休眠ホルモンの分泌が制御されると考えた。

これらの研究報告の様々な議論や仮説はすべて、休眠ホルモンが食道下神経節から直接分泌されているものとしてなされている。しかし、前述したように、休眠ホルモンは実際は囲食道神経索を経て側心体(アラタ体)で分泌されていることが、最近になって明らかにされている^{28, 29)}。即ち囲食道神経索の切断は脳からの制御経路を遮断するだけでなく、休眠ホルモンの輸送系をも切断することになるので、このような実験結果からは正当な制御機構を論ずることができないのである(図 5 参照)。これらのことをも考慮し Shimizu ら⁶⁷⁾ は脳の実験形態学的実験を行ない、脳による食道下神経節への制御の仕組みにつき最終的な考察を行った。それによるとカイコの脳からの食道下神経節への制御は促進的機構を、とくに考える必要はなく抑制的な機構を考えるだけで説明可能であると結論づけた。即ち非休眠卵産下予定蛹では脳の前大脳部にある抑制制御系により神経分泌細胞からの休眠ホルモンの分泌が抑えられ、休眠卵産下予定蛹ではその抑制が解けてホルモン分泌が自発的に行われると考えるのが妥当である、と主張した。

昆虫の脳が他の器官からのホルモン分泌を抑制的に制御している例としては、休眠中のカメムシ (*Pyrrhocoris apterus*, *Riptortus clavatus*) やニクバエ (*Protophormia terraenovae*) の脳が、側心体やアラタ体からの幼若ホルモン (JH) の放出を神経的に抑制している例^{26, 40, 43)} が知られている。

休眠卵産下予定蛹と非休眠卵産下予定蛹で分泌制御以外に、休眠ホルモンの転写、翻訳、側心体—アラタ体への輸送などの段階で、それぞれ調節がなさ

図2 非休眠卵蛹に対する
ピクロトキシン(雌蛹1頭
あたり90 γ)の注入効果⁶⁷⁾
図の説明は図1と同じ。

れているのが問題になる。これに関して Xu⁹⁰⁾らは転写レベルでの調節があると報告している。一方 Sonobe ら⁷²⁾の報告では非休眠卵蛹の食道下神経節にも休眠ホルモン活性があり、輸送あるいは分泌の段階で調節があることが示唆されている。また蛹期になってから脳からの抑制のない休眠卵蛹で、休眠ホルモンが体液中に放出されるようになる機作も明らかでない。変態にともなう中枢神経系のニューラルネットワークが変化することや⁶⁾、幼虫から蛹への変態にともなう体液(化学)環境の変化、たとえば K^+ イオンや Mg^{2+} イオンの変動が、神経分泌細胞の分極化に影響を及ぼしている可能性が考えられる^{51, 59, 95)}。

5. 休眠ホルモンの GABA 性抑制制御

γ -アミノ酪酸(GABA)は最初、ザリガニの伸張受容ニューロンの脳内抑制物質として発見された⁹⁾。主として哺乳動物の脳での研究から、GABA 作動性ニューロンは神経が過剰に興奮するのを抑えるという補助的機能だけではなく、体全体からもたらされる無数の情報をふるい分け解析していくという、脳中枢神経系の基本的な役割に深く関わっていることが明らかになった¹⁸⁾。昆虫においても GABA 作動性ニューロンの構造や機能について、様々な研究がなされている^{4, 27, 87)}。

Shimizu ら^{66, 67)}は、非休眠卵産下予定蛹に GABA 拮抗物質であるピクロトキシン⁸⁾を注入すると、休眠卵が生ずることを見いだした。一方、休眠卵産下予定蛹に GABA を注射すると非休眠卵が生じた。GABA やピクロトキシンの効果は、食道下神経節単独あるいは脳—食道下神経節連合を取り出して器官培養した *in vitro* 系でも確かめられた²⁵⁾。即ち、カイコの休眠ホルモンの分泌制御に、食道下神経節において GABA 性抑制機構が直接関与している可

能性を示した。

GABA のアンタゴニストであるピクロトキシンを蛹に注入した効果を日令ごとに調査した結果を図2に示した。これにより注入したピクロトキシンが分解あるいは吸収されるまでの間だけ作用しており、卵発育の早い卵巣の輸卵管に近い方の卵から遠位側に向かって効果帯が移動していくのが観察された。これらの事実は、非休眠卵蛹において GABA 抑制が蛹の発育の初期から終期まで持続的に働いていることを示唆している。カイコ蛹の脳には、GABA が存在することが生化学的に示されており⁹⁴⁾、非休眠卵蛹の脳の前大脳部分には、抗 GABA 血清で染色されるニューロンが観察される(図3)。また、囲食道神経索にも抗 GABA 血清で染色される神経軸索が見いだされることから、脳の抑制制御中枢から下降して食道下神経節に投射される GABA ニューロンが、神経分泌細胞の分極性を支配し、休眠ホルモンの分泌制御に係わっているものと予想される。実際どのようなタイプの GABA レセプターがこれに係わっているのかは今後の問題である。

Shimizu ら⁶⁶⁾はまた、脊椎動物の GABA レセプターのアンタゴニストであるビククリンを非休眠卵

図3 カイコ蛹の前大脳の横断面での抗
GABA 血清に陽性のニューロンの分布
蛹化1日目の非休眠卵蛹の脳を観察した。切片作成・染色などの実験方法は Ichikawa²⁷⁾に準じて行った。

産下予定蛹に注入すると休眠卵が生ずることを観察した。昆虫では、GABA レセプターはピクロトキシンによって遮断されるが、ピククリンには一般には感受性を示さないとされている⁷³⁾。カイコの休眠ホルモン分泌に関して、未知の薬理的特性を持った GABA ニューロンが存在するか、あるいはゴキブリ (*Periplaneta americana*) やバッタ (*Locusta migratoria*) で報告されているような、ピククリン感受性のニコチン性アセチルコリンレセプターも現象に関与している可能性が考えられる²⁾。

その他、カイコの休眠現象と関連して以下のような薬理学的観察がある。Morohosi と Ohkuma⁴⁴⁾ はアドレナリンを休眠卵蛹に注入すると、休眠卵と非休眠卵の混合卵を生むようになることを観察し、蛹化 3 日目の処理が最も効果が大いだと報告している。もっともアドレナリンが昆虫において神経伝達物質であるという証拠は今のところない。Takeda と Hasegawa^{77, 78)} は、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ の特異的阻害剤のウバインを、休眠卵蛹と非休眠卵蛹に注入すると、それぞれ休眠と非休眠の混合卵を生むものが出ることを報告している。Yoshitake⁹⁵⁾ は細胞の脱分極をさせる KCl を非休眠卵蛹に注入すると、休眠卵ができることを観察してゐる。これらの薬剤の正確な作用機作はいまのところ不明である。Takeda ら⁸¹⁾ は休眠卵産生と非休眠卵蛹での脳および食道下神経節での抗ドーパミン抗体陽性のドーパミン細胞の数や染色性を比較したが、とくに差はないと報告している。

GABA と昆虫の神経分泌細胞との係わりについては、ゴキブリの腹部末端神経節の神経分泌細胞に GABA レセプターが存在することが報告されている⁵⁾。また、Truman⁸⁴⁾ はピクロトキシンがサク蚕の羽化行動を解発すると報告している。GABA 以外で昆虫ホルモンの分泌制御での神経伝達物質の関

与については、カイコの PTH 分泌制御におけるアセチルコリン(ムスカリン性アセチルコリンレセプター)⁵⁴⁾、バッタ (*Locusta migratoria*) の脂質動員ホルモンでのオクトパミン⁵²⁾ の 2 例が報告されている。

6. 休眠ホルモンの構造

休眠ホルモンの実体を化学的に明らかにしようとした Hasegawa (1957)²¹⁾ の試み以来、さまざま紆余曲折をへて^{22, 30-32, 38, 69, 70)}、名古屋大学の山下興亜氏らのグループによって分子生物学的手法でもって最終的にその構造が決定された⁵⁷⁾。このホルモンの分子種は BomDH-I[19-Trp] と命名され、その構造は TDMKDESDRGAHSERGA LWFGPRL-NH₂ で 24 個のアミノ酸からなり、C 末端がアמיד形のペプチドであるとされた。この C 末端部分は他の神経ペプチドホルモンである PBAN や、バッタやゴキブリの後腸や卵管の収縮を刺激する筋収縮神経ペプチド(myotopin) と共通のシークエンスを所有することが判明した。

しかもこの休眠ホルモン(DH)をコードしている cDNA のシークエンスの解析から、この cDNA は休眠ホルモン以外に PBAN と C 末端に FXP(R/k)L-NH₂ を持つ 3 種のペプチドをコードしていることが判明した(図 4)。昆虫のニューロペプチドの機能的進化を考える上でも重要なこの発見は^{47, 48)}、名大山下氏らのグループ⁵⁶⁾ と東大鈴木昭憲氏らのグループ⁹⁴⁾ によってほぼ同時に発表された。さらに休眠ホルモン遺伝子に関する研究から、休眠ホルモン遺伝子は、5 個のイントロンと 6 個のエクソンによって構成されていること、休眠ホルモンは第 1 及び第 2 エクソンに、PBAN は第 4、第 5 エクソンにコードされていることが明かとなった⁸⁹⁾。即ち無脊椎動

Met				Stop			
SP (23)	DH (24)	(44)	I (7)	II (17)	PBAN (33)	III (8)	(22)

図 4 休眠ホルモン(DH)をコードする cDNA シークエンスから類推される前駆体ペプチドのアミノ酸配列⁹³⁾ 括弧内はアミノ酸の個数を表す。SP(シグナルペプチド)、DH(休眠ホルモン): TDMKDESDRGAHSERGA LWFGPRL, PBAN(フェロモン合成活性化ペプチド): LSEDMPATPADQEMYQPDPEEMESRTRYFSPRL, I ~ III (FXPR/KL-amide 型ペプチド): I (IIFTPKL), II (SVAKPQTHESLEFIPRL), III (TMSFSPRL)。Nagasawa⁴⁸⁾ の図を改変して表した。

図5 カイコにおける休眠ホルモンの分泌制御機構の模式的概要 左半分は休眠卵産下予定蛹(休眠卵蛹)における、右半分に非休眠卵産下予定蛹(非休眠卵蛹)における休眠ホルモンの分泌機構を示す。休眠ホルモンは、食道下神経節の腹側後方に位置する一対の神経分泌細胞(PNSC)で合成され、囲食道神経索—脳—NCC3を経て側心体(アラタ体)に輸送される。休眠卵蛹では脳からの抑制がなく、休眠ホルモンが分泌される。一方、非休眠卵蛹では前大脳部からのGABA性抑制制御によりホルモン分泌が抑えられている。

物のいくつかのニューロペプチドにみられる1遺伝子同族ペプチドコーディング型であることが判明した⁴⁹⁾。

またDHのmRNAは食道下神経節の6対12個の細胞で発現していることが観察された⁵⁵⁾。休眠ホルモンの構造が明かになって、分子レベルでの研究が進展し、温度環境とDH mRNAの発現との相関や、酵素(トレハラーゼ)誘導機能などについての報告がなされている^{74, 90)}。今後は、このペプチドホルモンがプライマリー作用として、実際にどのようにしてカイコの卵休眠(胚発生停止)を引き起こすのかという、最も本質的な問題へのアプローチが期待される。

7. 休眠ホルモン活性の分布

KaiとKawai³³⁾は、休眠卵や休眠卵産下予定蛹の卵巣の有機溶媒抽出液をさらにTritonX-100処理して得た粗抽出画分が、休眠卵誘導活性を持つと報告した。非休眠卵蛹の卵巣にはこの活性は見いだせないとし、蛋白結合型になって卵に取り込まれた休眠ホルモンが卵発生抑制と休眠維持に働くと議論している。DHが実際、休眠卵に取り込まれて作用しているかどうか興味もたれるが、これに関してい

まだ報告はない。

カイコ以外の昆虫の神経節や組織、あるいはその粗抽出物が休眠卵誘導活性を持つことが知られている。例えば、バッタ(*Locusta migratoria*)の側心体、アラタ体や食道下神経節が、休眠卵誘導活性を持ち、この活性を持つ物質は脳から輸送されることを示唆する報告がある⁸⁰⁾。またゴキブリ(*Periplaneta americana*)の脳、側心体、アラタ体、食道下神経節及び胸部神経節も同様の活性を持つ⁷⁵⁾。マイマイガ(*Lymantria dispar*)、クスサン(*Dictyoploca japonica*)、サクサン(*Antheraea pernyi*)やテンサン(*Antheraea yamamai*)などの野蚕の食道下神経節を非休眠卵産生カイコに移植すると休眠卵が生ずると報告されている^{11, 19)}。また他の鱗翅目昆虫ではアワヨトウ(*Leucania separata*)の脳—側心体—アラタ体連合やヒゲナガガの一種(*Phalaenoides glycinae*)の食道下神経節も、休眠卵誘導活性を持つと報告されている^{1, 50)}。もっともこれらの活性がDHそのものにもとづくのかどうかは厳密な生化学的研究が必要とされる^{39, 46)}。

8. まとめ

1951年のFukudaとHasegawaの報告以来、ほぼ半世紀がたとうとしている。この間になされた様々の研究報告や結果を総合して、カイコの休眠ホルモンの分泌制御機構は、次の様に考えることができる(図5)。カイコの休眠ホルモンは、食道下神経節の腹側後方に位置する一対の神経分泌細胞で合成され、囲食道神経索—脳—NCC3神経を経て側心体—アラタ体—回帰神経複合体に輸送される。休眠卵産下予定蛹では休眠ホルモンが、これらの神経血液器官から体液中に放出され、発達中の卵巣に作用する。その結果、母蛾によって産みつけられた卵は休眠卵となる。前大脳部には、GABA作動性ニューロンを介した神経機構が存在し、休眠卵産下予定蛹ではこの神経機構が作動しないが、非休眠卵産下予定蛹では作動し、休眠ホルモン分泌細胞の分泌活動を抑制している。

カイコの生活史そのものを制御する重要なホルモンが、どうして脳ではなくて食道下神経節で合成されるようになったのかは、今のところ不明である。食道下神経節の主要な機能は口器(大顎、小顎、下唇)および、その付近の筋肉の神経支配とされているが³¹⁾ 脳の神経分泌機能を補完するためにもともと分業化が行われていたか、あるいは別の生理的機能を果たしているニューロペプチドが化性(休眠性)を決定する機構に転用された可能性が考えられる。これについては、FXPR/KL-NH₂型ニューロペプチドの機能的進化に関する研究や各種昆虫におけるPNSCの比較組織研究が、何らかのヒントを与えてくれるかもしれない³¹⁾。

筆者らは、他の鱗翅目と同様に、カイコの脳が化性を決定する光周受容器であることを明らかにした^{3, 23, 37, 60, 64, 88)}。この光受容体はレチノイド要求性であることから、オプシン様のものである可能性が強い^{24, 63)}。環境情報は脳で受容統合され未知の生理的機構により“環境記憶”として蓄積されて、蛹の時期になって大脳部にある休眠ホルモン分泌制御部位に伝達されると考えられる。今後は、この部位の正確な同定と入力部と出力部の連結を明らかにする生理的機作についての神経生理学的研究が要求されている。

謝辞

本稿を作成するにあたり市川敏夫氏・九大理学部
の有益なる助言をいただいた。ここに深く感謝いたします。

文 献

- 1) Andrewartha, H.G., Miethke, P.M. & Wells, A.: *J. Insect Physiol.* 20: 679-701 (1974)
- 2) Benson, J.A.: *Brain Res.* 458: 65-71 (1988)
- 3) Bowen, M.F., Saunders, D.S., Bollenbacher, W.E. & Gilbert, L.I.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 5881-5884 (1984)
- 4) Breer, H. & Heilgenberg, H.: *J. Comp. Physiol.* 157: 343-354 (1985)
- 5) Buckingham, S.D., Hue, B. & Sattelle, D.B.: *J. Exp. Biol.* 186: 235-244 (1994)
- 6) Burrows, M.: *The neurobiology of an insect brain.* Oxford University Press (1996)
- 7) Copenhaver, P.F. & Truman, J.W.: *J. Comp. Neurol.* 249: 186-204 (1986)
- 8) Dubreil, V., Sinakevitch, I.G., Hue, B. & Geffard, M.: *Neuro. Res.* 19: 235-240 (1994)
- 9) Florey, E.: *Arch. Intern. Physiol.* 62: 33-53 (1954)
- 10) Fukuda, S.: *Proc. Japan Acad.* 27: 582-586 (1951)
- 11) Fukuda, S.: *Proc. Japan Acad.* 27: 672-677 (1951)
- 12) Fukuda, S.: *Annot. Zool. Japan* 25: 149-155 (1952)
- 13) Fukuda, S.: *Proc. Japan Acad.* 29: 381-364 (1953)
- 14) Fukuda, S.: *Proc. Japan Acad.* 29: 385-388 (1953)
- 15) Fukuda, S.: *Proc. Japan Acad.* 29: 389-391 (1953)
- 16) Fukuda, S. & Takeuchi, S.: *Proc. Japan Acad.* 43: 51-56 (1967)
- 17) Fukuda, S. & Takeuchi, S.: *Embryologia* 9: 333-353 (1967)
- 18) Gottlieb, D.I.: *Scientific American* 4: 50-59 (1988)

- 19) Hasegawa, K.: *Proc. Japan Acad.* 27: 667-671 (1951)
- 20) Hasegawa, K.: *J. Fac. Agri. Tottori Univ.* 1: 83-124 (1952)
- 21) Hasegawa, K.: *Nature* 179: 1330-1301 (1957)
- 22) Hasegawa, K., Isobe, M. & Goto, T.: *Naturwiss.* 59: 364-365 (1972)
- 23) Hasegawa, Kh. & Shimizu, I.: *J. Insect Physiol.* 33: 959-966 (1987)
- 24) Hasegawa, Kh. & Shimizu, I.: *Experientia*, 44: 74-76 (1988)
- 25) Hasegawa, Kh. & Shimizu, I.: *J. Insect Physiol.* 36: 909-915 (1990)
- 26) Hodokova, M.: *J. Insect Physiol.* 23: 23-28 (1977)
- 27) Ichikawa, T.: *J. Comp. Neurol.* 340: 185-193 (1994)
- 28) Ichikawa, T., Hasegawa, Kh., Shimizu, I., Katsuno, K., Kataoka, H. & Suzuki, A.: *Zool. Sci.* 12: 703-712 (1995)
- 29) Ichikawa, T., Shiota, T., Shimizu, I. & Kataoka, H.: *Zool. Sci.* 13: 21-25 (1996)
- 30) Imai, K., Konno, T., Nakazawa, Y., Komiya, T., Isobe, M., Koga, K., Goto, T., Yaginuma, T., Sakakibara, K., Hasegawa, K. & Yamashita, O.: *Proc. Japan Acad.* 67: 98-101 (1991)
- 31) Isobe, M., Hasegawa, K. & Goto, T.: *J. Insect Physiol.* 19: 1221-1239 (1973)
- 32) Isobe, M., Hasegawa, K. & Goto, T.: *J. Insect Physiol.* 21: 1917-1920 (1975)
- 33) Kai, H. & Kawai, T.: *J. Insect Physiol.* 27: 623-627 (1981)
- 34) Kawano, T., Kataoka, H., Nagasawa, H., Isogai, A. & Suzuki, A.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 189: 221-226 (1992)
- 35) Kobayashi, M.: *Bull. Seric. Exper. Station* 15: 181-273 (1957)
- 36) Kogure, M.: *J. Fac. Agric. Kyushu Imp. Univ.* 4: 1-93 (1933)
- 37) Kono, Y.: *Appl. Entomol. Zool.* 17: 203-209 (1973)
- 38) Kubota, I., Isobe, M., Imai, K., Goto, T., Yamashita, O. & Hasegawa, K.: *Agric. Biol. Chem.* 43: 1075-1078 (1979)
- 39) Matsumoto, S., Yamashita, O., Fonagy, A., Kurihara, M., Uchiumi, K., Nagamine, T. & Mitsui, T.: *J. Insect Physiol.* 8: 847-851 (1993)
- 40) Matsuo, J., Nakayama, S. & Numata, H.: *J. Insect Physiol.* 43: 211-216 (1997)
- 41) Matsutani, K. & Sonobe, H.: *J. Insect Physiol.* 33: 279-285 (1987)
- 42) Miyazaki, S.: *J. Comp. Physiol.* 140: 43-52 (1980)
- 43) Morita, A. & Numata, H.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35: 347-355 (1997)
- 44) Morohoshi, S. & Ohkuma, T.: *J. Sericult. Sci. Jap.* 37: 274-280 (1968)
- 45) Morohoshi, S. & Oshiki, T.: *J. Insect Physiol.* 15: 167-175 (1969)
- 46) Nachman, R.J., Holman, G.M., Schoofs, L. & Yamashita, O.: *Peptides*, 14: 1043-1048 (1993)
- 47) Nagasawa, H.: *Experientia* 48: 425-430 (1992)
- 48) Nagasawa, H.: *Comp. Biochem. Physiol. (C)*. 106: 295-300 (1994)
- 49) O'Brien, M.A. & Taghert, P.H.: *Zool. Sci.* 11: 633-645 (1994)
- 50) Ogura, N. & Saito, T.: *Appl. Ent. Zool.* 8: 46-48 (1973)
- 51) Okajima, A., Kumagai, K. & Watanabe, N.: *Zool. Sci.* 6: 859-866 (1989)
- 52) Pannabecker, T. & Orchard, I.: *Mol. Cell. Endo.* 48: 153-159 (1986)
- 53) Raabe, M.: *Recent developments in insect neurohormones*, Plenum Press, (1989)
- 54) Shirai, Y., Iwasaki, T., Matsubara, F., Aizono, Y.: *J. Insect Physiol.* 40: 469-473 (1994)
- 55) Sato, Y., Ikeda, M. & Yamashita, O.: *Gen. Comp. Endocr.* 96: 27-36 (1994)
- 56) Sato, Y., Oguchi, M., Menjo, N., Imai, K., Saito, H., Ikeda, M., Isobe, M. & Yamashita, O.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 3251-3255 (1993)
- 57) Sato, Y., Nakazawa, Y., Menjo, N., Imai, K., Komiya, T., Saito, H., Shin, M., Ikeda, M., Sakakibara, K., Isobe, M. & Yamashita, O.: *Proc. Japan Acad.* 68: 75-79 (1992)
- 58) Saunders, D.S.: *Insect Clocks* (2nd edi-

- tion), Pergamon Press (1979)
- 59) Shimizu, I.: *Comp. Biochem. Physiol.* 71A : 445-447 (1982)
 - 60) Shimizu, I.: *J. Insect Physiol.* 28 : 841-846 (1982)
 - 61) 清水 勇 : *応動昆誌* 35 : 83-91 (1991)
 - 62) Shimizu, I.: *Zool. Sci.* 9 : 1271 (1992)
 - 63) Shimizu, I. & Kato, M.: *Photochem. Photobio.* 7 : 47-52 (1984)
 - 64) Shimizu, I. & Hasegawa, K.: *Physiol. Entomol.* 13 : 81-88 (1988)
 - 65) Shimizu, I., Kitabatake, S. & Kato, M.: *J. Insect Physiol.* 27 : 593-599 (1981)
 - 66) Shimizu, I., Matsui, T. & Hasegawa, K.: *Zool. Sci.* 6 : 809-812 (1989)
 - 67) Shimizu, I., Aoki, S. & Ichikawa, T.: *J. Insect Physiol.* 43 : 1101-1109 (1997)
 - 68) 島田 順 : *日蚕雑* 55 : 33-40 (1986)
 - 69) Sonobe, H.: *Develop. Growth Exp.* 16 : 147-159 (1974)
 - 70) Sonobe, H. & Ohnishi, E.: *Science* 174 : 835-838 (1971)
 - 71) Sonobe, H. & Keino, H.: *Naturwiss.* 62 : 348-349 (1975)
 - 72) Sonobe, H., Hiyama, Y. & Keino, H.: *J. Insect Physiol.* 23 : 633-637 (1977)
 - 73) Stattelle, D.B., Lummis, S.C.R., Wong, J. F.H. & Rauh, J.J.: *Neurochem. Res.* 16 : 363-374 (1991)
 - 74) Su, Z-H., Ikeda, M., Sato, Y., Imai, K., Isobe, M. & Yamashita, O.: *Biochem. Biophys. Acta.* 1218 : 366-374 (1994) (1991)
 - 75) Takeda, S.: *J. Insect Physiol.* 23 : 813-816 (1977)
 - 76) Takeda, S.: *Appl. Ent. Zool.* 12 : 80-82 (1977)
 - 77) Takeda, S. & Hasegawa, K.: *J. Insect Physiol.* 21 : 1995-2003 (1975)
 - 78) Takeda, S. & Hasegawa, K.: *J. Sericult. Sci. Jap.* 45 : 337-344 (1976)
 - 79) Takeda, S. & Ogura, N.: *J. Insect Physiol.* 22 : 941-944 (1976)
 - 80) Takeda, S. & Girardie, A.: *J. Insect Physiol.* 31 : 761-766 (1985)
 - 81) Takeda, S., Viellemainge, J., Geffard, M. & Remy, C.: *Cell Tissue Res.* 243 : 125-128 (1986)
 - 82) Tomioka, K., Agui, N. & Biollenbacher, W. E.: *Zool. Sci.* 12 : 165-173 (1995)
 - 83) Treherne, J.E., Smith, P.J.S. & Howes, E. A.: *Adv. Insect Physiol.* 21 : 35-84 (1988)
 - 84) Truman, J.W.: *J. Comp. Physiol.* 107 : 39-48 (1976)
 - 85) Tsuchida, K. & Yoshitake, N.: *J. Insect Physiol.* 29 : 755-759 (1983)
 - 86) 梅谷与七郎 : *蚕試報* 12 : 393-480 (1946)
 - 87) Waldrop, B., Christensen, T.A. & Hildebrand, J.G.: *J. Comp. Physiol.* 161 : 23-32 (1987)
 - 88) Williams, C.M. & Adkisson, P.L.: *Biol. Bull.* 127 : 511-525 (1964)
 - 89) Xu, W-H., Sato, Y., Ikeda, M. & Yamashita, O.: *Biochem. Biophys. Acta.* 1261 : 983-989 (1995)
 - 90) Xu, W-H., Sato, Y., Ikeda, M. & Yamashita, O.: *J. Biol. Chem.* 270 : 3804-3808 (1995)
 - 91) Yamashita, O.: *J. Insect Physiol.* 42 : 669-679 (1996)
 - 92) Yamashita, O. & Hasegawa, K.: *J. Insect Physiol.* 12 : 325-330 (1966)
 - 93) Yamashita, O. & Yaginuma, T.: In "Insects at low temperature" Lee R.E., Denlinger D.L (eds.) p.424-445, Chapman & Hall. New York (1991)
 - 94) Yang, J., Shimizu, Y. & Suzuki, K.: *J. Sericult. Sci. Jap.* 61 : 28-31 (1992)
 - 95) Yoshitake, N.: *J. Sericult. Sci. Jap.* 23 : 349-355 (1954)