モンシロチョウの休眠誘起時における 脳—側心体系の微細構造

III. 神経分泌細胞の軸索と側心体

河 野 義 明

東京大学農学部害虫学研究室

(1971年9月22日受領)

Ultrastructure of the Brain-Corpus Cardiacum System at the Time of the Humoral Determination of Diapause in *Pieris rapae crucivora* BOISDUVAL. III. Neurosecretory Axons and Corpus Cardiacum. Yoshiaki KONO (Laboratory of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **16**: 59—66 (1972).

Axon processes of neurosecretory cells of the brain, distinguished by secretory granules with specific diameter, were investigated electron microscopically. Synapses from common neurone to neurosecretory axon were observed in the neuropile of the brain. Neurosecretory I cells and II cells in the pars intercerebralis, and neurosecretory IV cells in the dorso-lateral part of brain sent axons, through nervi corporis cardiaci I and II respectively, to the corpus cardiacum, and there they established axon terminals. Intrinsic neurosecretory cells with secretory granules with a diameter of 130—160 $m\mu$ were also observed in the corpus cardiacum. The neurosecretory axon terminals at the corpus cardiacum were filled with secretory granules of various electron densities, and many synaptic vesicles (ca. 50 $m\mu$ in diameter) also aggregated along the axon membranes. The appearance of these axon terminals, considered as for hormone release, were always observed from the prepupal to the earlier pupal stage of both diapause and non-diapause individuals. Characteristically, just after pupation of the non-diapause insect when neurosecretory materials were vigorously released, many vacuolated parts appeared in the axons of the neurosecretory II cell together with synaptic vesicles and secretory granules.

バッタ *Schistocerca gregaria* の脳間部神経分泌細胞を焼灼すると側心体神経および側心体内のパラアルデヒドフクシン好染性の神経分泌物が消失する (HIGHNAM, 1962)。また、ゴキブリ *Leucophaea maderae* (SCHARER, 1952) やクロバエ *Calliphora erythrocephala* (THOMSEN, 1952) の側心体神経を切断または糸でしばるとやはり側心体内の神経分泌物が減少し、しかも切断またはしばった神経索の脳側に神経分泌物が蓄積するという。

これらの結果から脳の神経分泌細胞でつくられた神経分泌物は側心体神経を経て側心体へ送られ、そこから体液中に放出されるのであらうと考えられてきた。

モンシロチョウの脳間部には細胞内に含まれる神経分泌果粒の大きさによって区別できる少なくとも3種の神経分泌細胞が観察され、脳側方部にも1種の神経分泌細胞が存在する。しかも、それらの細胞はそれぞれ何層も

のグリア細胞の細胞質によって囲まれており、神経分泌細胞から直接分泌物を放出しているような電子顕微鏡像は観察されていない (河野・小林, 1972)。

そこで、それぞれの細胞に含まれる神経分泌果粒の大きさを追跡の目標としながら、どの細胞からの分泌物が側心体神経—側心体を経由して放出されるかを電子顕微鏡観察によって検討した。とくに前報 (河野・小林, 1972) において、休眠決定に関係の深いことを指摘したⅡ型神経分泌細胞の軸索末端からの分泌物の放出については、休眠個体および非休眠個体の間の比較を試みた。

材料および方法

モンシロチョウ幼虫は半合成飼料 (KONO, 1970) で飼育し、前蛹後期 (蛹化前数時間) と蛹初期 (蛹化後数時間) の個体の脳—側心体—アラタ体を前報 (河野, 1971)

の方法に従って包埋し、電子顕微鏡観察を行なった。

とくに、側心体については蛹化後数時間の休眠個体（幼虫を 20°C 、10 時間照明—14 時間暗黒の光周期で飼育）と非休眠個体（ 20°C 、14 時間照明—10 時間暗黒で飼育）とを比較した。

結 果

神経分泌細胞の軸索

第 1 図 a には脳間部 II 型神経分泌細胞の細胞体から軸索へ移行する部分（軸索丘）の電子顕微鏡像を示した。この部分においても他の細胞質部分と変わらない状態で粗面小胞体や遊離リボソームが存在し、特に分泌果粒が多数集っていることはない。

脳の髄質中に見られる神経分泌細胞の軸索内には分泌果粒のほかに、ミトコンドリアが常に存在し、一般の神経軸索と同様に軸索方向に多くの微小管 (microtubules) が観察される。

脳間部背面にある I 型および II 型神経分泌細胞の軸索は、それぞれの細胞に含まれる直径約 $100\text{ m}\mu$ および $210\text{--}240\text{ m}\mu$ の分泌果粒を目標に追跡した結果、たばをなして髄質中を後部下方へ伸びていることが判明した。

さらに髄質中では II 型神経分泌細胞軸索が他の神経軸索とシナプスを形成している像も観察された（第 1 図 b）。この場合、直径約 $50\text{ m}\mu$ のシナプス小胞は神経軸索側に多数見られ、神経分泌細胞側には見られないので、神経伝達は神経細胞から神経分泌細胞へと行なわれていると考えられる。

脳と側心体とを連絡する神経索はモンシロチョウの場合 2 対あり、内側の神経索（側心体神経 I）は途中で食道下神経球からの神経索と合一し側心体にはいり、外側のもの（側心体神経 II）は分枝することなく側心体にはいつている。第 2 図 a は脳の後部下方から側心体神経 I が出る部分であり、I 型と II 型の神経分泌細胞の軸索がグリア細胞に囲まれて存在することがわかる。この部位の II 型神経分泌細胞軸索には微小管の密度が異なる場合があり（第 2 図 b）、微小管の多い軸索に分泌果粒が多く観察される。

側心体神経 I の断面（第 2 図 c）を見るとやはり I 型および II 型神経分泌細胞の軸索が観察され、おのおの 2 本と 8 本存在する。これらの軸索は微小管に富んだ細胞によって囲まれ、さらに外側を neural lamella が囲んでいる。

第 1 図 a. II 型神経分泌細胞の軸索丘—軸索。b. 脳髄質内の II 型神経分泌細胞軸索。矢印は神経軸索と II 型神経分泌細胞軸索とのシナプス形成部。AX: 軸索, GC: グリア細胞, er: 小胞体, m: ミトコンドリア, sg: 分泌果粒, sv: シナプス小胞, v: 空胞, NC-AX: 神経軸索, NSC-AX: 神経分泌細胞軸索。

第2図 a. 側心体神経Ⅰが脳から出る部分。b. 側心体神経Ⅰの横断面。
c. 側心体神経Ⅰの縦断面。GGC: 巨大グリア細胞, I-AX: Ⅰ型神経分泌細胞軸索, II-AX: Ⅱ型神経分泌細胞軸索。

第3図 側心体神経Ⅱ。IV-AX: Ⅳ型神経分泌細胞軸索, NL: neural lamella, Tr: 気管。

側心体神経Ⅱ（第3図）には6—8本のⅣ型神経分泌細胞の軸索が走っており、側心体神経Ⅰの構造と同様で、毛細気管が多く neural lamella 内に分布している。

側心体の構造

側心体には神経分泌細胞の軸索や分泌果粒が密集している軸索末端が観察されるほか、一般の神経軸索も何種類が存在する（第4図a）。これらの神経軸索は食道下神経球および回帰神経から来たものと考えられる。

また、側心体には2種類の細胞が見られ、その一つはneural lamellaに密接した細胞で、脳のグリア細胞に相当するものである。他方は直径130—160 μm の分泌果粒をもつ神経分泌細胞で、光学顕微鏡観察によるパラアルデヒドフクシン好染性物質を含む細胞と考えられる。この細胞の直径は約10 μm で、脳のどの神経分泌細胞より遊離のリボソームが多く、粗面小胞体、ゴルジ体もよく発達している（第4図b）。

側心体内の神経分泌細胞の軸索は中に存在する果粒の大きさによって2種に別けられる。一方は直径200—250 μm の果粒をもつ軸索で、明らかにⅡ型神経分泌細胞の軸索と判定できる。しかし、他方は120—160 μm の果粒をもつ軸索で、果粒の大きさのみからⅣ型神経分泌細胞の軸索か、または側心体内の神経分泌細胞の軸索かは区別できない。

側心体神経が側心体へはいる部分ではもちろんⅡ型神

第4図 a. 側心体の構造。b. 側心体内に存在する神経分泌細胞。AX: 神経軸索, II-AX: II型神経分泌細胞軸索, AXT-II型神経分泌細胞軸索末端, GC: グリア細胞, NL: neural lamella, g: ゴルジ体, n: 核, sg: 分泌果粒。

経分泌細胞の軸索 (第5図a), またはIV型神経分泌細胞の軸索のみが単独に存在するが, 側心体内部では大きい分泌果粒をもつII型神経分泌細胞軸索と小さい果粒をもつ軸索とが第5図bのような状態で接していることが多い。

軸索末端には分泌果粒が充満しているが, この果粒は神経分泌細胞の細胞体や軸索中に見られる電子密度の高いものばかりではなく, 電子密度の低いものも観察される (第5図c)。

さらに, neural lamella にそった軸索末端の膜に接して電子密度の高い部分が生じ, その内側に普通の神経のシナプスで認められるシナプス小胞に酷似した直径 50—80 m μ の小胞が集っている (第5図d)。

神経分泌細胞の軸索はアラタ体の周囲にまで達していることも確認された。第6図に見るように, アラタ体の腺細胞を取りまく外層に大きい分泌果粒を含む軸索 (II型神経分泌細胞由来) と小さい分泌果粒を含む軸索 (IV型または側心体の神経分泌細胞由来) とが存在する。

休眠個体と非休眠個体との比較

脳間部II型神経分泌細胞の構造を休眠個体と非休眠個体とで比較すると, 前蛹期には顕著な差異は見られないが, 蛹化後に明らかな相違が観察された (河野・小林, 1972)。

側心体に見られる脳からの神経分泌細胞軸索および軸索末端の微細構造を比較した場合にも前蛹期には休眠個

体と非休眠個体との間に明らかな差は見られなかった。いずれの個体においてもその多くは第5図bおよびdのような電子密度の高い果粒のみが充満した軸索末端であり, その他に第7図cのように分泌果粒の内容物がぬけたものと考えられる電子透過性の果粒 (直径が電子密度の高い分泌果粒と等しい) を含んだ軸索末端も観察される。

休眠個体では蛹化後も上述のような前蛹期に見られるのと同様な軸索末端の状態が続く。しかし, 非休眠個体では蛹化直後になると神経分泌細胞の軸索内に多くの空胞化した部分が現われる。この空胞の周囲には分泌果粒が集まり, シナプス小胞, 分泌果粒の内容物のぬけた球形の膜 (第7図bの矢印) などが観察される (第7図a, b)。

考 察

モンシロチョウの脳には, 分泌果粒の大きさによって区別できる4種の神経分泌細胞が存在するが (河野・小林, 1972), 脳と側心体を結ぶ神経索の観察結果から, 脳間部背面にあるI型およびII型神経分泌細胞の軸索は側心体神経Iを通り, 側方部のIV型神経分泌細胞の軸索は側心体神経IIを通して側心体まで延びていることが確認された。しかし, 脳間部前方にあるIII型神経分泌細胞の軸索はいずれの神経索にも見られず, その分泌物は側心体以外の場所に運ばれているものと結論できる。

第5図 a. 側心体内のII型神経分泌細胞軸索。b. II型およびそれより小さい分泌果粒を含んだ神経分泌細胞軸索末端。c. II型神経分泌細胞軸索末端。d. II型神経分泌細胞軸索末端（矢印は膜にそってシナプス小胞が集まっている部分）。II-AXT: II型神経分泌細胞軸索末端, CC-AXT: 小形の分泌果粒を含む神経分泌細胞軸索末端, GC: グリア細胞, NL: neural lamella, m: ミトコンドリア, sg: 分泌果粒。

第6図 アラタ体の周囲のラメラ内に見られる神経分泌細胞軸索。II-AX: II型神経分泌細胞軸索, CC-AX: 小形の分泌果粒を含む神経分泌細胞軸索, GLC: 腺細胞, L: lamella, m: ミトコンドリア, n: 核。

第7図 a. 非休眠個体, 孵化直後のII型神経分泌細胞軸索内の空胞化した部分。b. aの拡大(矢印は分泌果粒の膜だけが残ったものと考えられる)。c. II型神経分泌細胞軸索末端の電子密度の低い分泌果粒(太い矢印は膜にそってシナプス小胞が集まっている部分)。AX: 神経軸索, II-AX: II型神経分泌細胞軸索, NL: neural lamella, m: ミトコンドリア, sg: 分泌果粒, V: 空胞。

脳間部と脳側方部にある神経分泌細胞はその周囲を巨大グリア細胞に囲まれており、この部分で他の神経との接続は認められないので(河野, 1971), 他の神経から神経分泌細胞への刺激の伝達は髄質内で観察されたシナプス部位や SCHARRER (1963) がワモンゴキブリの側心体内で観察した神経-神経分泌細胞シナプスを経て行なわれると考えられる。

側心体における神経分泌細胞の軸索末端の電子顕微鏡による観察結果から、これまでに、神経分泌物の放出については二つの考えが提出されている。第一は軸索末端に存在する分泌果粒より小型で中空の小胞(いずれの昆虫においても直径が約 $50\text{ m}\mu$ で、本論文ではこれをもシナプス小胞と呼んだが SCHARRER (1968) はこの小胞の存在する部分を Synaptoid と呼んでいる)が一般の神

経シナプスに見られるシナプス小胞と同一なものであるという考えである (KOELLE, 1961)。この考えによると、まず、この小胞から神経活性物質が放出され、その周辺が刺激される結果、分泌果粒から分泌物が放出されることになる。第二は中空の小胞は *exocytosis* によって分泌物を放出した神経分泌果粒の膜が変形したものであるという考えである (HOLMES and KNOWLES, 1960)。BUNT (1969) は甲殻類のサイナス腺からの分泌物放出が後者の方式によるものであると述べ、NORMANN (1965) および JOHNSON (1966) はクロバエ *Calliphora* の側心体で、SMITH and SMITH (1966) はナナフシ *Carausius morosus* の側心体の観察からともに、後者と似た見解を示している。

しかし、モンシロチョウの側心体の神経分泌細胞軸索末端には、先に述べたシナプス小胞以外にこれより大きい小胞が観察され、しかも、その直径が電子密度の高い分泌果粒の直径に等しいところから、この小胞が分泌物を放出した分泌果粒の殻であろうと考えられる。このことはむしろ第一の放出様式を推測させる。

また、成虫化のために必要な神経分泌 (脳ホルモン分泌) を最も盛んに行なっていると考えられる非休眠個体、蛹化直後の側心体では分泌果粒が軸索末端にできた空胞内へおし出されるような像が見られ、多量の分泌物放出はこのようにして起こるのではないかと考えられる。

以上のように、モンシロチョウの脳一側心体に存在する神経分泌系の構造はある程度明らかになったが、その機能との結び付きについては不明の点が多い。

体外に取り出したワモンゴキブリの側心体では suction electrode により側心体神経 I あるいは側心体神経 II を別個に電気刺激し、放出される神経分泌物の活性が検定されている (GERSCH *et al.*, 1970)。それによると、側心体神経 I を刺激すると nerve stimulating factor と heart accelerating factor とが放出され、側心体神経 II を刺激した場合には hyperglycaemic hormone と prothoracic gland stimulating hormone とが放出されるという。

分泌果粒とそのホルモン作用との対応は未だついていないが、この例は脳一側心体系に存在する大きさの異なる分泌果粒がそれぞれに対応するホルモン作用を有することを示唆している。そして、この分泌果粒とホルモン作用との対応付けは、過去に実験発生学的、組織学的手法によって追求され、推測の段階で留まっていた昆虫の神経分泌に関する多くの問題を解決し、今後の研究の出発点となると考えられる。

摘 要

脳に存在する各神経分泌細胞の分泌果粒の大きさを目標にして、その軸索を追跡した。

神経分泌細胞軸索は脳髄質内で他の神経とシナプスを形成している。そして、I 型および II 型神経分泌細胞の軸索は側心体神経 I を経て、IV 型神経分泌細胞の軸索は側心体神経 II を経てそれぞれ側心体に達し、そこに軸索末端を形成することが確認された。

軸索末端にはその膜にそって直径約 $50\text{ m}\mu$ のシナプス小胞が集まっている部分が見られ、電子密度の高い分泌果粒のほかに、電子密度は低い分泌果粒と等しい大きさの果粒が存在する。この部分が神経分泌物の放出像であろうと考えられるが、さらに、脳ホルモンが多量に分泌されている時期である非休眠個体、蛹化直後には、軸索末端近くに空胞が現われ、そこに分泌果粒、シナプス小胞が集っており、他の時期とは様式の異なる分泌物の放出も考えられる。

引用文献

- BUNT, A.H. (1969) Formation of coated and 'synaptic' vesicles within neurosecretory axon terminals of the crustacean sinus gland. *J. Ultrastructure Res.* **28**: 411~421.
- GERSCH, M., K. RICHTER, G. A. BÖHN, und J. STÜRZEBECKER (1970) Selektive Ausschüttung von Neurohormonen nach elektrischer Reizung der Corpora Cardiacia von *Periplaneta americana* in vitro. *J. Insect Physiol.* **16**: 1991~2013.
- HIGHNAM, K. C. (1962) Neurosecretory control of ovarian development in *Schistocerca gregaria*. *Q. J. microsc. Sci.* **103**: 57~72.
- HOLMES, R. L. and G. W. KNOWLES (1960) 'Synaptic vesicles' in the neurohypophysis. *Nature* **185**: 710~711.
- JOHNSON, B. (1966) Ultrastructure of probable site of release of neurosecretory materials in an insect, *Calliphora stygia* FABR. *Gen. comp. Endocr.* **6**: 99~108.
- KOELLE, G. B. (1961) A proposed dual neurohumoral role of acetylcholine: its function at the pre and post synaptic site. *Nature*. **190**: 208~211.
- KONO, Y. (1970) Photoperiodic induction of diapause in *Pieris rapae crucivora* BOISDUVAL. *Appl. Ent. Zool.* **5**: 213~224.
- 河野義明 (1971) モンシロチョウの休眠誘起時における脳一側

- 心体系の微細構造 I. 脳の一般的構造. 応動昆 **15**: 228~239.
- 河野義明・小林正彦 (1972) モンシロチョウの休眠誘起時における脳一側心体系の微細構造. II. 脳の神経分泌細胞の種類. 応動昆 **16**: 24~31.
- NORMANN, T. C. (1965) The neurosecretory system of the adult *Calliphora erythrocephala*. I. The fine structure of the corpus cardiacum with some observations on adjacent organs. *Z. Zellforsch.* **67**: 461~501.
- SCHARRER, B. (1952) Neurosecretion. XI. The effects of nerve section on the intercerebralis-cardiacum-allatum system of the insect *Leucophaea maderae*. *Biol. Bull.* **102**: 261~272.
- SCHARRER, B. (1963) Neurosecretion. XIII. The ultra-structure of the corpus cardiacum of the insect *Leucophaea maderae*. *Z. Zellforsch.* **60**: 761~796.
- SCHARRER, B. (1968) Neurosecretion. XIV. Ultrastructural study of release of neurosecretory material in blattarian insect. *Z. Zellforsch.* **89**: 1~16.
- SMITH, U. and D. S. SMITH (1966) Observations on the secretory processes in the corpus cardiacum of the stick insect, *Carausius morosus*. *J. Cell Sci.* **1**: 59~66.
- THOMSEN, E. (1952) Functional significance of the neurosecretory brain cells and corpus cardiacum in the female blowfly, *Calliphora erythrocephala* MEIG. *J. exp. Biol.* **29**: 137~172.