カイコは環境温度をどのように ライフスパン調節に利用するか

胚休眠システムの観点から

柳沼利信, 新美輝幸, 森部頼子, 森田明広*

昆虫の休眠は、いかに不良環境の到来を早く予知し、いかにその環境に耐え得るかを目的として獲得されてきた高次機能である。しかしまた、この休眠システムは、環境条件に応じて胚、幼虫、蛹、成虫の各期間をいかにバランスよく維持するかというシステムでもあり、ライフスパン(life-span)調節に関わる高次機能を含む。本稿では、カイコの胚休眠システムから、環境温度を利用したライフスパン調節を考える。

2000年12月のサイエンスに、“Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*”という論文が掲載された⁽¹⁾。Krebs回路の中間代謝物を輸送する膜タンパク質のキイロショウジョウバエにおける相同体遺伝子発現を阻害すると、この成虫のライフスパン(life-span)が2倍に延びるという内容である。このことから、Roginaらはライフスパンの拡張にはカロリー制限が重要であることを示唆している。ただ妙なことは、幼虫期間には影響がみられないこと、一対の染色体の片側の発現阻害のみが効果を示すことである。

How Do Silkworms Utilize the Information of Environmental Temperatures to Regulate Their Life-span?: From the viewpoint of embryonic diapause system
Toshinobu YAGINUMA, Teruyuki NIIMI, Yoriko MORIBE, Akihiro MORITA, 名古屋大学大学院生命農学研究科, *現三重大学医学部

いずれにしても、最近の線虫などの実験結果からも、エネルギー代謝を低く保つことがライフスパンの伸展に繋がると考えられてきている^(2,3)。代謝の低下という言葉から、即座に思い浮かぶのが、昆虫の休眠である。

図1 ■カイコ休眠卵における酸素消費量の変動⁽⁴⁾

市販の交雑種から休眠卵を得た。○：休眠状態を維持させるため、産下後から継続的に25°Cに保護した卵の酸素消費量(25°Cで測定)、●：休眠から覚醒させるため、産下後2日から5°C冷蔵した卵の酸素消費量(5°Cで測定)、▽：一定期間5°Cで冷蔵し、25°Cに戻した直後の酸素消費量(25°Cで測定)。5°C冷蔵から25°Cに戻し、酸素消費量が回復したことが休眠覚醒を示す。

図 2 ■ カイコ胚の発育段階表 (25°C保護)⁽⁶⁾

7が休眠胚のステージを示す。非休眠卵の場合には継続して発育が進行し、9.5日後に幼虫が孵化する。

なお本稿では、寿命という言葉から各々が連想する概念を敢えて避けるために、単なる生命維持期間という即物的な表現として“ライフスパン”という用語を使用する。

カイコ卵は低エネルギー状態で約1年間のライフスパンを確保する

昆虫休眠中の代謝低下は、きわめて低い酸素消費量によって示される。カイコ (*Bombyx mori*) の卵休眠の酸素消費量は $10 \mu\text{l}/\text{時間}/\text{g}$ 重量以下である(図1)⁽⁴⁾。体重 50 kg の人間に換算すると、1時間当たりわずか 0.5 l 以下の酸素しか利用していないことになる。睡眠中の 50 kg の人間の場合、1時間当たりの酸素消費量は 12.5 l 前後であることを考えると、いかに少ない量であるかがわかる⁽⁶⁾。この状態で、カイコ卵は 25°C で 300 日間にわたって生存する。休眠しない場合の卵期間は 25°C で約 10 日間である(図2)。市販の品種でみると、幼虫、蛹ならびに成虫期間全体で約 45 日間であるから、一生の 6 倍以上を卵休眠状態で過ごすことになる。眠ったままライフスパンが 6 倍にも延びたからといって、人間にとって何の意味があるかという見方もあるだろう。だが人間の場合、眠ったままだからといって、6 倍もライフスパンが延びるとはとても考えられない。そこにはそれなりの仕組みがあるはずである。昆虫の休眠現象を従来のように不良環境の克服という面からでなく、ライフスパン調節の面から捉えてみることも興味深いものと考えられる。以下、特に一般的な昆虫休眠ではなく、カイコの胚休眠に限って解説することとする。

カイコの胚発育と胚休眠

まずカイコの発育について、いくつか説明をしなければ

ならない。カイコの成虫は口器などの退化によって餌を採らない。したがって、成虫になるということは、交尾し、次世代を残すことのみを意味する。また、卵巣の発育は蛹期に著しく進行し完成する。成虫への羽化直後直ちに交尾を開始し、雌は産卵する。その後の雌雄成虫は死を待つばかりである(成虫期間は 25°C で 7~10 日間程度である)。

交尾後に産下された卵では精子の進入が開始され、 25°C 下で約 2 時間後に精核と卵核の合体(受精)が起こる。その後、約 1 時間間隔で核分裂が同調的に 10 回繰り返される。卵周縁部に前方から順に後方にかけて核が到達し、細胞膜を獲得して細胞性胞胚 (cellular blastoderm) となる(図2-3)。卵内部に残った核は卵黄細胞の核となる。卵の腹側の細胞は分裂を続け、ダルマに似た形態からダルマ期と呼ばれる胚帯 (germ band) が形

図 3 ■ G_1 期, S 期, G_2/M 期にあるカイコ胚細胞核の割合⁽⁶⁾

産下後 24 時間および 84 時間の卵から胚を解剖摘出し、胚細胞核を染色した後、フローサイトメトリー法により細胞周期の各ステージを決定した。一度に 5~10 万個の核を測定した。産下後 84 時間では、胚細胞のほとんどが G_2 期にある。しかも、この時期には分裂像は観察されないことから、 G_2 期で分裂は停止していることが示された。胚の数字は図2のステージを示す。

Thr-Asp-Met-Lys-Asp-Glu-Ser-Asp-Arg-Gly-Ala-His-
Ser-Glu-Arg-Gly-Ala-Leu-Trp-Phe-Gly-Pro-Arg-LeuNH₂

図 4 ■ 休眠ホルモンの構造

C末端のアミド化が生物活性に必須である。活性のために必要とされる最低限の構造は PRL-a であり、新規ペプチドホルモンとして FXPRL-a ファミリーが提唱されている。

成され(産下後 24 時間, 図 2-5), 卵全体を被う漿液膜細胞(serosal cells)および卵黄細胞が完成する。その後, 休眠性卵では胚細胞分裂活性が低下し, 中胚葉分節直後の囊胚期に細胞分裂が停止し, 休眠に入る。漿液膜細胞数が 500~600 個, 胚細胞の数が 12,000~15,000 個となった時期である(図 2-7)。フローサイトメトリー法を用いた胚細胞核の各ステージの調査結果から, 休眠胚の細胞は G₂ 期で分裂を停止していることが明らかになっている(図 3)⁽⁶⁾。

母親の休眠ホルモンが胚のライフスパンを決める

この胚期での休眠は, 休眠ホルモン(diapause hormone; DH)と呼ばれる 24 個のアミノ酸(C末端がアミド化)(図 4)からなる神経ペプチドホルモンによって誘導される⁽⁷⁾。雌蛹の食道下神経節(subesophageal ganglion; SG)が DH を合成し, 血液中に放出する。この DH が卵黄形成(vitellogenesis)の盛んな時期の卵巣に作用し, この卵巣から生じた卵が休眠を開始する。蛹化直後に人為的に SG を摘出すると体内の DH 量が減少し, 卵巣が有意量の DH に曝されないため, 産下された卵は非休眠となる。この場合には胚発育が継続し, 幼虫は 10 日後に殻を破って孵化してくる(図 2)。

それでは, 卵母細胞への DH の作用はどこまで明らかになっているのだろうか。少なくとも, 炭水化物代謝系に関する影響は詳細に調査されている。まず, DH が作用することで, 卵巣内のトレハラーゼ(trehalase)遺伝子や数種の遺伝子が活性化される。増加した mRNA 量に応じてタンパク質量が増し, 卵巣内のトレハラーゼ活性が上昇して, 血糖トレハロース(trehalose)をグルコースとして卵母細胞内に取り入れ, 卵内のグリコーゲン量を増加させる。このグリコーゲンが, 休眠期には多価アルコールの素として利用される⁽⁷⁾。

休眠に特異的な炭水化物代謝

カイコの休眠開始とともに, 卵内のグリコーゲンから

図 5 ■ 5°C に冷蔵されたカイコ休眠卵におけるグリコーゲン, ソルビトールおよびグリセロール量の変動⁽⁹⁾

休眠卵は産下後 2 日から連続して 250 日間 5°C に冷蔵された。……: グリコーゲン量, —: ソルビトール量, - - - : グリセロール量。グリコーゲンはグルコース等量で示した。

ソルビトールとグリセロールが合成されることは, 1958 年に茅野によって発見された⁽⁸⁾。その後の研究により, 図 5 に示すように, 休眠開始・維持・覚醒と密接に連動するのはグリコーゲン⇌ソルビトールの変換系であって, 必ずしもグリセロールは同じ運命を辿らないことや, グリセロールはグリコーゲンから由来するばかりでなく, 一部脂質グリセロールから供給されることが明らかになっている(図 6)⁽⁹⁾。それでは, なぜ休眠開始とともにこの変換が生じるのであろうか。また, 休眠開始の直接の原因は何なのであろうか。

すでにみたように, 休眠卵の酸素消費量は産下後 1 日に最大となり, その後急激に減少しきわめて低いレベルとなる(図 1)。まず, この低い酸素消費量が休眠の原因であるのか, または結果であるのかという疑問が生じてくる。岡田は, 休眠卵の卵殻を人為的に剥がしてやると胚発育が再開されることから, 卵殻または漿液膜クチクルが外部酸素を遮断することが休眠の開始の原因であると提案した^(10,11)。しかし Krause & Krause は, 休眠ステージ前の胚を培養すると, 休眠ステージで発育を停止する傾向を示すことから, 外部酸素遮断説ではなく, カイコの胚は休眠ステージで発育を停止する性質を有するという内因説を支持した^(12,13)。現在, 卵殻や漿液膜クチクルが外部酸素を遮断するという直接的な実験結果は得られていないが, この説を支持する考えが, 炭水化物代謝の面からも出ている。通常, 多価アルコールが蓄積しない非休眠卵を, 産下後 1 日に窒素ガスに曝して人為的に嫌気状態にすると, グリコーゲンが休眠卵のように減少し, ソルビトールやグリセロールが蓄積するという実験結果が出されているからである。

図 6 ■カイコの休眠卵におけるソルビトールの産生と利用に関わる代謝マップ

①グリコーゲン・ホスホリラーゼ α , ②ホスホフルクトキナーゼ, ③ピルビン酸キナーゼ, ④NADP-polyol 脱水素酵素II, ⑤酸性ホスファターゼII, ⑥NADP-polyol 脱水素酵素I, ⑦グルコース-6-リン酸脱水素酵素, ⑧ α -グリセロールリン酸脱水素酵素, ⑨酸性ホスファターゼI, ⑩NAD-ソルビトール脱水素酵素, ⑪ヘキソキナーゼ, ⑫グリコーゲン合成酵素. *NADPH, **NADH および ***ATP はペントース回路, Krebs 回路および水素シャトル(リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルまたは α -GP シャトル)から各々供給される. α -GP: α -グリセロールリン酸, DHAP: ジヒドロキシアセトンリン酸, GAP: グリセルアルデヒド-3-リン酸, PEP: ホスホエノールピルビン酸, PP: ピロリン酸, UDPG: UDP-グルコース, α -KG: 2-オキソグルタル酸, Glu: グルタミン酸. 実線はソルビトールの産生系を, 点線はソルビトールの利用系を示す.

ソルビトール蓄積のメカニズム

グリコーゲンからソルビトールが合成される際の鍵酵素は, グリコーゲン・ホスホリラーゼ α (glycogen phosphorylase α) であることが示されている⁽⁷⁾. しかも, 非休眠卵を嫌氣的にすることによってこの酵素が活性化されることも, 外部酸素遮断説が支持される所以である. ところが, 非休眠卵を産下後1日に嫌氣的ではなく, 15~5°Cの温度に冷蔵すると, 嫌氣的な場合と同じようにグリコーゲンは減少し, それに見合った形でソルビトールとグリセロールとが合成される⁽¹⁴⁾. この低温処理下では, 必ずしも嫌氣的な状態が生じているわけではない. それではなぜ, 多価アルコールが生じるのであろうか.

実は, この疑問を考える上で, もう一つの鍵酵素を考えなければならない. 休眠覚醒時にソルビトールからグリコーゲンが合成されること(図5)はすでに述べたが,

このソルビトールを利用する鍵酵素がソルビトール脱水素酵素(SDH)である(図6). この酵素は25°C保護の休眠卵には認められず, 低温による休眠覚醒時に活性化されてくる⁽¹⁵⁾. しかもその調節は, 転写レベルであることが示されている. SDH は非休眠卵では産下後2日(休眠ステージ後)から出現してくる. 非休眠卵を産下後1日から嫌氣的, もしくは15~5°Cに曝した場合には, SDH 活性は出現しないか, 出現が著しく遅れることになる. つまり, 嫌氣的であれ低温処理であれ, グリコーゲン・ホスホリラーゼ α が活性化され, グリコーゲンが減少するときに SDH 活性が出現すれば, ソルビトールは蓄積されず, SDH 活性が認められない場合には, ソルビトールは蓄積されることになる. どうも, カイコ卵ではソルビトール回路が作動しており, ソルビトールの蓄積は SDH 活性の有無によると考えられる. 以上のことを考えると, ソルビトールの蓄積・利用には, 外部酸素の利用が律速段階になることはないと考えられる⁽⁴⁾.

ソルビトール蓄積の意味は？

ソルビトール回路を利用するメリットは、SDH 反応によって生じる細胞質中の NADH の H^+ を処理する水素シャトルによってもたらされるものと考えられる。カイコ卵中には、 α -GP シャトルとリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルとが同じ程度の活性で作動している(図 6)⁽¹⁶⁾。 α -GP シャトルとリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルの活性を測定する際に、ミトコンドリア分画を用いて試験管の中で細胞質側を構築するのであるが、休眠卵からのミトコンドリア分画を用いた場合には、両活性はきわめて低い。ところが、5°C で冷蔵した休眠覚醒卵のミトコンドリア分画では、高い活性が認められる。このこともまた、休眠中の低い酸素消費量が内因的なシステムによって引き起こされていることを示唆している。 H^+ の 1 分子が細胞質側からミトコンドリア内に手渡されるときに、 α -GP シャトルによれば 2 個の ATP、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルによれば 3 個の ATP が生産される(図 6)。休眠覚醒時のソルビトールからグリコーゲンへの変換には 2 個の ATP が消費されることから、 α -GP シャトルと SDH が共役する場合には ATP の収支は 0 となる。SDH がリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルと共役する場合には、炭素源を消費せずにソルビトールと等量の ATP を獲得することができる(図 6)。このことと水分子をソルビトールの形で保存し、低温に安定な環境を提供することがソルビトール蓄積のメリットと考えられる。昨年、400~200 mM のソルビトール存在下で休眠期の胚を培養すると、発育が止まり続けることが明らかにされ、ソルビトールの発育停止剤としての積極的な意義が提案された⁽¹⁷⁾。この考え方に従えば、ソルビトールの利用を律速する SDH の発現が休眠を調節するということになる。つまり、ソルビトールの高濃度そのものが休眠を調節するという考えである。

これに対し別の提案もなされている。卵巢発育期にトレハラーゼ活性の特異的な阻害剤を蛹に投与することで、グリコーゲン量のきわめて少ない卵を作ることが可能となった^(7,18)。同時に DH を投与した場合、生じた卵はきわめて少ないソルビトールしか蓄積しないにもかかわらず、休眠卵となった。この事実、休眠の開始・維持には必ずしもソルビトールの蓄積が不可欠ではないこと、休眠開始を調節する分子機構が炭水化物代謝とは別にあることを示している。休眠期には胚細胞分裂が G_2 期で停止することから、 G_2 期から M 期への移行を調節する mitosis-promoting factor (MPF; cdc2 キナーゼ/サイクリン-B) の調節に関わる系が存在するものと

考えられる。cdc2 キナーゼやサイクリン-B の mRNA やタンパク質の発現についての研究の結果、サイクリン-B タンパク質が重要な調節点にある可能性が示唆されている⁽¹⁹⁾。

低温なしには次の発育は始まらない

いずれにしろ、DH の作用を受けた卵は受精後囊胚期に休眠に入り、内在的に休眠特異的な代謝系が確立される。25°C 保護卵では 300 日間にわたり休眠状態が続く。その後は、随時水分などの蒸発により卵は潰れ、回復不能となる。休眠を破るためには低温処理が有効であり、5°C 前後が最適である。60~90 日の 5°C 冷蔵後、25°C に保護することで胚発育は再開される。低温といっても 0°C 冷蔵はあまり効果がなく、卵はそのあたりの温度を感知することができるのであろう。

今述べた現象は、冷蔵処理卵を再び 25°C で保護した後の幼虫の孵化率から判断したものである。5°C 冷蔵処理によって休眠覚醒に至るまでの期間を、休眠間発育 (diapause development) と呼んでいる。形態的には変化が認められないが、胚発育能力の回復が認められるようになる 5°C 冷蔵中に進行する“ある生理的変化”を指す。これまでは、酸素消費量やソルビトール量の変動のような生化学的な変化が、これに当たると考えられてきた。前述のように、SDH 遺伝子の発現が開始される時期 (40~50 日間 5°C 冷蔵) が胚発育能力の回復時期と一致することから、休眠間発育の分子機構を理解する上で、SDH 遺伝子の発現が 1 つの分子マーカーになるものと考えている。つまり、5°C 処理と SDH 遺伝子の発現の間を繋ぐ分子過程が明らかになれば、休眠間発育という過程も明確になるであろう。現在、SDH の直接的な調節因子としては、核内レセプターの一つである COUP-F1/Seven-up (SVP) が考えられている⁽¹⁵⁾。SVP の mRNA およびタンパク質量が 5°C 下で増加すること、SVP が SDH 遺伝子の 5'-上流域に結合することからである。それでは、この時期以前に関わる分子過程とはどのようなものであろうか。

低温誘導性遺伝子 *Samui*

5°C 冷蔵に対して比較的早い時期に反応する遺伝子の単離を目指して、25°C 保護休眠卵と 5°C 冷蔵卵からの mRNA を用いたディファレンシャルディスプレイ法によって、*Samui* (寒い) と呼ぶ遺伝子を単離することができた⁽²⁰⁾。5°C 冷蔵 5~6 日後に *Samui* 遺伝子発現の活性

図7 ■ 5°Cに冷蔵されたカイコ休眠卵における *Samui* および *SDH* 遺伝子の mRNA 量の変動 (A) と *Samui* タンパク質の構造 (B)

休眠卵を産下後2日から連続的に5°Cに冷蔵した。それぞれの mRNA 量は相対的に表現してあるので、お互いの量的比較はできない。25°C保護卵では両 mRNA 量の増加は認められない。冷蔵20日後の卵を25°Cに戻すと、*Samui* mRNA およびタンパク質量は、25°C保護卵のレベルにまで即座に減少する。低温誘導性であることからこの遺伝子を *Samui* と命名した。

化が認められ、20日間冷蔵をピークとして再び鎮静化される(図7)。その後 *SDH* 遺伝子の活性化が始まる。*Samui* 遺伝子の活性化は0°Cでは5°Cに比較して、かなり緩慢に進行するが *SDH* 遺伝子発現は0°C下では活性化されない。

Samui タンパク質(p110)も mRNA 量の変動に類似した動きを示すが、その機能に関してはまだ明らかではない。このタンパク質は、核内移行シグナル、ssDNA 結合モチーフおよび BAG-ドメインと呼ばれる部分を含む(図7)。しかも、このドメインがヒトの silencer of death domains (SODD)/BAG-4 とよく似ている⁽²¹⁾。SODD は腫瘍壊死因子レセプタータイプ1 (tumor necrosis factor receptor type 1; TNF-R1) の細胞質側の部分と結合し、シグナルの下流伝達を遮る役割をする⁽²²⁾。一方 BAG タンパク質は、熱ショックによる細胞内変性を保護するために HSP/HSC70 の ATPase-ドメインと BAG-ドメインを介して結合し、HSP/HSC70 のシャペロンとしての機能を調節する⁽²³⁾。*Samui* タンパク質も HSP70 と結合することから、BAG ファミリーのメンバーであると考えられる⁽²⁰⁾。BAG タンパク質は

HSP70 以外のタンパク質とも結合し、多機能的に働くタンパク質と言われていることから、*Samui* タンパク質も休眠卵内の‘あるタンパク質’と結合することで、外部温度としての5°Cの情報を細胞内に伝達しているのではないかと、その後さらにいくつかの過程を経て休眠覚醒や *SDH* 遺伝子の発現へと繋がるのではないかと考えている⁽²⁰⁾。5°C冷蔵処理がどのようにして *Samui* 遺伝子発現の活性化に繋がるのか、*Samui* タンパク質の真のパートナーはどのようなタンパク質であるのか。これらの解析が急務である。

環境温度が卵期の長さを決める

以上のことから、カイコ休眠卵には外部の温度をモニターするシステムが備えられている可能性がある。25°Cを休眠維持の情報、5°Cは休眠覚醒に向けての情報、0°Cは休眠覚醒を逡巡させる情報として処理しているものと考えられる。5°C処理がある程度進行しても、再び25°Cに戻されることによって、先の5°C処理効果はキャンセルされるなど、さらに複雑なシステムも存在するであろう。本来、カイコは、これらのシステムを不良環境を回避したり、耐えるために獲得したのであろうが、外部環境の温度を感知し、どのように処理するかで、卵のライフスパンを自在に拡張することができることもまた事実である。

卵期の環境温度が休眠ホルモン分泌を決める

それでは、雌蛹期に SG から DH を血中に分泌するための調節は、どのように行なわれているのであろうか。脳が関与している実験結果が判明しているだけで、その分子機構は今のところ不明である。

カイコの休眠は基本的には遺伝的にプログラムされているが、カイコには一化性(年に1回だけ孵化すること)、二化性および多化性と呼ばれる系統がある。一化性および多化性は環境の影響を受けずに、それぞれ休眠卵および非休眠卵のみを産む系統である。多化性の雌蛹(非休眠卵産生)に、蛹化直後、一化性の雌蛹(休眠卵産生)から SG を摘出し移植すると、移植個体から生じる卵は休眠卵となる。このことから、一化性では SG から DH が分泌されるように、多化性では逆に分泌されないように厳密にプログラムされていることがわかる^(7,8)。一方、二化性系統は環境の影響を受ける。卵期間を25°C全明または15°C全暗で保護し、幼虫化させる。その後、25°Cで両者とも同様の環境で飼育を続けると蛹・蛾となり、

産下される卵は、25℃全明では休眠性卵、15℃全暗では非休眠性卵となる。つまり、脳・SGは前者ではDH分泌タイプ、後者ではDH不分泌タイプとなる。母親の卵期の形態形成時期に受けた温度条件が、次世代の休眠性を決定するというシステムである^(7,8)。

さらに興味深いことは、幼虫期間および蛹期間にもこの温度処理が出ていることである。幼虫・蛹期間まで入れると、約1週間程度休眠卵産生に運命づけられたほうの期間が長くなる。実は、このことが養蚕農家では重要なことであった。休眠卵産生タイプとして運命づけられている幼虫の期間は、非休眠タイプに比較して長い。餌をたっぷり食べるので、休眠タイプの幼虫は大きく成長する。つまり、絹糸腺がその分大きくなり、吐く絹糸長が長くなる。繭の増大イコール養蚕農家の収入が増えるということであった。また蚕種屋(カイコの卵を扱う)にとっても、大きな蛹イコール造卵数の増加を意味することから収入増という結果になり、かつての養蚕大国日本にとって、休眠タイプの品種育成は重要な意味を担っていたのである。

卵期の環境温度で幼虫・蛹期間は変化する

具体的に‘大造’という二化性の品種でこの点を改めて確認してみると、25℃全明の場合には、卵期が10日間、幼虫期26日間、蛹期8日間であり、雌蛾は100%の休眠卵を生む。15℃全暗の場合には、卵期26日間、幼虫期21日間、蛹期6日間であり、雌蛾は100%の非休眠卵を生む。幼虫・蛹期間でみると、前者は後者に比し26%ライフスパンが伸展した(図8)。最初の卵期間が異なるのは、

10℃の温度差による発育速度の違いである。ちなみにこの品種では、25℃全暗でも、結果は25℃全明と同じである。母親の卵期の温度が25℃または15℃であるかで、その後の発育が変化する。前述したように、極端な変化は次世代が休眠するかしないかであるが、母親の幼虫期および蛹期のライフスパンも変化する。次世代の休眠化はDHによって決定されるが、このような幼虫期間および蛹期間の調節も、DHによるのかどうかはまだ未解決である。卵期の後半、すなわち脳やSGが形成される時期には、25℃または15℃保護に関係なくDHがすでに合成されていることから、幼虫期間にもDHは分泌されており、DHそのものの作用である可能性もあるが、SGでのDH合成分泌を調節する脳内の上位の因子の作用も考えられる。

外部環境としての温度差がどのような分子機構によって感受され具体化されていくのかは、カイコに限らず興味深い点であり、従来から関心がもたれていたが、実験的アプローチがきわめて困難であった。現在では、このような分子が特に遺伝子発現に基づくタンパク質性因子の場合には、それらを単離する方策として、遺伝子発現差異を利用したディファレンシャルディスプレイ、PCR-セレクトサブトラクションおよびselective amplification via biotin- and restriction-mediated enrichment (SABRE) 法などが考えられる。現在これらの方法を組み合わせながら、25℃および15℃の差異の感受・伝達に関わる遺伝子、幼虫期間調節に関わる遺伝子、休眠誘導・維持に関わる遺伝子などの網羅的な単離を目指している。近い将来、これらの遺伝子について紹介できる日が来ることを待ち望んでいる。

図8 ■カイコの卵期に遭遇した温度による幼虫・蛹のライフスパンの調節

二化性の‘大造’を用いた。産下後3日から、非休眠卵を15℃全暗または25℃全明で保護したが、孵化幼虫からは同じ条件で25℃で飼育した。25℃全暗の結果は、25℃全明と同じであった。15℃全暗処理卵から生じた雌蛾は100%の非休眠卵を、25℃全明/全暗処理卵からの雌蛾は100%の休眠卵を産んだ。

謝辞：本誌への執筆の機会を与えて下さった、名古屋大学大学院生命農学研究科 前島正義教授に深謝いたします。また、いつもご支援と励ましをいただいている山下興亜 名古屋大学名誉教授（現中部大学副学長）に感謝申し上げます。

文献

- 1) B. Rogina, R.A. Reenan, S.P. Nilsen & S.L. Helfand : *Science*, **290**, 2137 (2000).
- 2) T. Cowen : *Trends Genet.*, **17**, 109 (2001).
- 3) E. Strauss : *Science*, **292**, 41 (2001).
- 4) T. Yaginuma & O. Yamashita : *J. Insect Physiol.*, **45**, 621 (1999).
- 5) 山下興亜：“眠りのバイオロジー”，Lisa 増刊，1998，p. 98.
- 6) M. Nakagaki, R. Takei, E. Nagashima & T. Yaginuma : *Roux's Arch. Dev. Biol.*, **200**, 223 (1991).
- 7) 山下興亜，新美輝幸：遺伝，**54**, 65 (2000).
- 8) 茅野春雄：“昆虫の謎を追う”，学会出版センター，2000，p. 65.
- 9) T. Yaginuma, M. Kobayashi & O. Yamashita : *J. Comp. Physiol. B*, **160**, 277 (1990).
- 10) M. Okada : *Experientia*, **27**, 658 (1971).
- 11) 岡田益吉：植物防疫，**29**, 105 (1975).
- 12) G. Krause & J. Krause : *Wilhelm Roux' Arch.*, **167**, 137 (1971).
- 13) G. Krause & J. Krause : *Wilhelm Roux' Arch.*, **171**, 121 (1972).
- 14) T. Yaginuma, M. Kobayashi & O. Yamashita : *Comp. Biochem. Physiol.*, **97B**, 485 (1990).
- 15) 柳沼利信，新美輝幸：化学と生物，**35**, 468 (1997).
- 16) T. Yaginuma & O. Yamashita : *Insect Biochem.*, **16**, 677 (1986).
- 17) Y. Horie, T. Kanda & Y. Mochida : *J. Insect Physiol.*, **46**, 1009 (2000).
- 18) N. Katagiri, O. Ando & O. Yamashita : *J. Insect Physiol.*, **44**, 1205 (1998).
- 19) M. Takahashi, H. Iwasaki, T. Niimi, O. Yamashita & T. Yaginuma : *Appl. Entomol. Zool.*, **33**, 551 (1998).
- 20) Y. Moribe, T. Niimi, O. Yamashita & T. Yaginuma : *Eur. J. Biochem.*, **268**, 3432 (2001).
- 21) J. Tschopp, F. Martinon & K. Hofmann : *Curr. Biol.*, **9**, 381 (1999).
- 22) Y. Jiang, J.D. Woronicz, W. Liu & D.V. Goeddel : *Science*, **283**, 543 (1999).
- 23) S. Takayama, Z. Xie & J.C. Reed : *J. Biol. Chem.*, **274**, 781 (1999).

プロフィール

河岸 洋和 (Hirokazu Kawagishi) 昭和31年8月30日生<略歴>昭和54年北海道大学農学部農芸化学科卒業/昭和60年同大学大学院農学研究科博士課程修了/同年静岡大学農学部助手/平成元年同助教授/11年同教授，現在にいたる。この間，平成10~11年ハーバード大学化学・化学生物学科にて文部省在外研究員<研究テーマと抱負>キノコの生体調節機能や発生のメカニズムを，生物有機化学の手法で明らかにすること<趣味>読書と飲酒

久能 均 (Hitoshi Kunoh) 昭和15年6月23日生<略歴>1970年イリノイ州立南イリノイ大学大学院 Ph.D. 取得/同年三重大学農学部助教授/1988年同大学生物資源学部教授，現在にいたる。この間，コーネル大学植物病理学科

客員准教授，ブラジリア大学細胞生物学科客員教授<研究テーマと抱負>うどんこ病菌の感染行動と宿主細胞反応の解析。植物内生放線菌を利用したバイオコントロール<趣味>旅行，読書

楠見 武徳 (Takenori Kusumi) 昭和17年11月5日生<略歴>昭和41年東京教育大学理学部化学科卒業/48年同大学大学院理学研究科博士課程修了/同年同大学助手/51年筑波大学講師/平成3年徳島大学薬学部附属医薬資源教育研究センター教授，現在にいたる<研究テーマと抱負>海洋天然物化学，NMRと絶対配置，磁場と生命現象との関係<趣味>酒

田中 啓二 (Keiji Tanaka) Vol. 36, No. 3, p. 181 参照

田中 良和 (Yoshikazu Tanaka) 昭和34年1月22日生<略歴>1981年大阪大学理学部生物学科卒業/1983年同大学大学院理学研究科生物化学専攻前期課程修了/同年サントリー(株)入社，現在にいたる。1988年理博(大阪大)<研究テーマと抱負>フラボノイド合成酵素の遺伝子取得と植物での発現<趣味>音楽鑑賞，読書

高宮建一郎 (Ken-ichiro Takamiya) 昭和18年1月4日生<略歴>昭和40年東京大学理学部生物化学科卒業/45年同大学大学院理学系研究科修了(理博)/同年九州大学理学部生物学科助手/50年同助教授/平成3年東京工業大学生命理工学部教授，現在にいたる<研究テーマと抱負>光合成器官・装置の形成，分解の機構<趣味>読書