甲殻類の脱皮に関するホルモン

納谷 洋子*

Crustacean Hormones on Preparations for Molting.

YOKO NAYA*

The presence of a molt-inhibiting hormone (MIH) in crustaceans *versus* the molting hormone (ecdysteroids) has been biologically demonstrated, however, only a little of the chemical nature of MIH is known so far. Our attempt to isolate MIH produced in the X-organ of the eyestalks (ES) resulted in the characterization of xanthurenic acid as an ecdysone biosynthesis inhibitor (EBI). In addition, it was found that 3-hydroxy-L-kynurenine (3-OH-K) present in the X-organ of ES was also biotransformed into xanthurenic acid. The inhibitory action was shown in the cultured Y-organ-complex homogenate as well as in the crayfish by injection of 3-OH-K that revealed the delay of ecdysis. The preliminary study of ED₅₀ of the active compounds appeared to account for most of but not the full potency of ES extract. Therefore, a molt-inhibiting phenomena is probably the result of the action by the multiple factors including EBI. After the mode of inhibitory action of the recently isolated sinusgland neuropeptide is shown, the involvement of a hormone in the negative control of molting will be clarified.

1. はじめに

甲殻類(エビ, カニなど)が成長するためには, 硬い外殻を脱皮(ecdysis)しなければならない(図1. 脱皮周期の概念図)。体重が増加するという観点からは, 生活環は周期的に休止(C期)している。脱皮という定義には¹⁾, 脱皮(E期)と, その前(D期)後(A, B期)に発生する新陳代謝の変化も含まれる。古い外殻は退化して, キチン

質はN-アセチルグルコサミンにまで分解され, 数層からなる新しい外殻が合成され, 殻のカルシウムは体内に吸収されて生物によっては胃石を形成し, 鋳脚(鋳)などの筋肉は水分を失って一旦収縮し脱皮を円滑に行わしめるが, 脱皮のあとで復元する。このような脱皮のカスケード反応や, 脱皮周期を支配する生物時計が内分泌機能によって制御されていることはいうまでもないが, 分子構造のレベルで理解されているのは極めて限られた範囲にすぎない。

現象的にみると, ガザミ(*Portunus trituberculatus*)の例では, 孵化後ゾエア(zoea), メガロパ(megaropa)と呼ばれるプランクトン生活史を経て, 幼生のカニに変態し, 約13回の脱皮を繰り返す。13回の脱皮を行う頃には甲巾は13~16 cmに達し性的にも成熟して, オスは数日間の追尾行動(メスの性的分泌物支配と推定されている)により, メスの脱皮を待って交尾する。メスは精子を貯精囊に貯えたまま越冬し, 初夏の頃に数回にわたって産卵する。交尾期のメスはオスによって保護されるが, 脱皮直後のカニは脱皮しないカニによる共食いの対象になり, 水槽で飼育する時には脱皮ごとに生存数は約半数に減少する。幼生期の脱皮周期は2, 3日から数日間であるが, 成長するに従って長くなり遂には数ヶ月を超える。脱皮の終焉は明確でなく甲巾が30 cmほどの大型ガザミも知られている。硬い外殻は外敵に対する優れた防禦機構で

Fig. 1 Stages of the molt cycle designated as A-E.

* (財)サントリー生物有機科学研究所 ()

* Suntory Institute for Bioorganic Research ()

あるが、成長するために必要な脱皮は生命の危険を伴った大事業である。

2. 脱皮の“合図”物質

脱皮を支配する因子は自然条件(海温, 光量などの季節変化), 外傷などに起因した歩脚の自己切断による整理的刺激, 最も直接的には神経分泌系および内分泌系の変化である。脱皮現象は複雑で, いくつかのホルモン支配が絡み合っていると推定されている。

1905~1939年の生物学的な実験^{2,3)}によると, 眼柄の切除によって脱皮の周期(A~E期)は短縮されて未成熟のまま早期脱皮(precocious molt)が進行し, 眼柄の再移植によって短縮効果は失われ, 脱皮周期は復元される。この結果に基づいて眼柄にある脱皮抑制機能器官をXと呼び, 発想的な関連によって脱皮に関わる器官をYとした。後に, 脱皮抑制ホルモン(MIH: molt inhibiting hormone)はX器官サイナス腺複合体(X-organ-sinus gland complex)で生産され, 胸殻内にあるY器官に運ばれて, そこで生産されるエクジソン(ecdysone: 脱皮ホルモン前駆体)の分泌を制御するという概念が定着した⁴⁾。昆虫の場合と同様に, エクジソンは標的器官(主として肝臓)に運ばれて20-ヒドロキシエクジソン(20-hydroxyecdysone: 活性脱皮ホルモン)に変換されて脱皮を誘発する⁴⁾。1960年代には甲殻類のY器官は昆虫の前胸腺と相同であると述べられている。エクジステロイド(ecdysteroids, エクジソン類)の初発反応はRNAポリメラーゼIの活性化であるとされているが^{5,6)}, 複数の連鎖反応が存在することはいうまでもない。特にドーパデカルボキシラーゼの生合成の鍵を握ることが証明されている⁷⁾。

MIHの化学的研究の基礎は, *in vitro*の生物検定法の確立によって急速に進展した。即ち, 摘出したY器官の器官培養によって産生する脱皮ホルモン(エクジステロイド)の生産⁸⁾量を対照区として, 眼柄の抽出物を添加培養した場合に減少するホルモンの生産量を測定して抑制効果を判定するものである。

2.1. Y器官と脱皮ホルモン^{4,9)} Y器官は甲殻類の種類によって存在場所が異なり, 脱皮周期の時期によっても消長があるので間違った情報が多いが, エクジソンを産生する内分泌器官であることは定説になっている。一般にカニのY器官は, 胸殻内の眼孔下縁付近にある大顎外部筋(Y字筋)に接して存在する微小器官である(図2および文献4, 6の図または写真参照)。

脱皮周期の休止期(C期)にY器官を切除すると, 一連の脱皮現象(D, E, A, B期の反応)は阻まれ, 胃石(ザ

Fig. 2 Locations of X-organ and Y-organ are schematically illustrated.

リガニなど)も形成されないが, エクジステロイドを数回注射すると, 切除による障害は失われて胃石が形成され, 脱皮現象は完遂される。ちなみに, 甲殻類のエクジステロイドとしては, エクジソン(1), 20-ヒドロキシエクジソン(2), イノコステロン(3), マキステロンA(4), ポナステロン(5), 2-デオキシ-20-ヒドロキシエクジソンなどがある(図3)。

一旦脱皮D期の変化が始まると反応はカスケード的に進むので, D期以降でY器官を切除するとその効果は次の休止期(C期)に持ち越される。生物の体液中のホルモン量(エクジステロイド)は脱皮周期の時期によって変動し, D₂期ではC期の100~200倍に上昇するが, 脱皮(E期)直前のD₃₋₄期には下降する。A期には極少量になり, B期に上昇してC期に恒常状態になる。C期は最も長い期間であって, 脱皮周期の約3/4を占めている。このホルモン変動のパターンは, 培養したY器官から分泌されるエクジステロイドについても摘出母体の周期を保持している。従って, 培養によってエクジソンを分泌するのは, C期の後半に摘出したY器官だけである。

甲殻類は大多数の昆虫と同様にコレステロールを生合成しないので, 経口的に得たコレステロールを細胞膜の

Fig. 3 Crustacean ecdysteroids: (1) ecdysone, (2) 20-hydroxyecdysone, (3) inokosterone = callinecdysone A, (4) makisterone A = callinecdysone B (5) ponasterone, (6) 2-deoxy-20-hydroxyecdysone.

Fig. 5 Bioassay system for MIH/MH activity.

て、Y器官が周辺組織および体液と混在しても、そこに起因する20-ヒドロキシエクジソンを除外できるから、分析値には影響がないし器官の摘出も容易になる。結果的にはY器官近傍由来の必要な酵素と基質を含むスーブをエクジソン生産に利用することになる。検出感度ではRIA法に劣るが、抑制効果は化合物対応になり、抑制効果の検出法としては向上する。ちなみに、エクジソンのHPLCによる検出感度は3 ngであり、最適季節の生物の1 Y器官当りの平均生産量以下である(後述)。バイオアッセイシステムを図5に記す。

ギブスカッターを用いて甲殻の縁に沿って切込みを入れ甲羅をはずし、Y器官をY字筋と共にYOC(Y-organ complex)として摘出する。YOCは冷やした0.17 Mのリン酸カリウム/炭酸水素ナトリウム緩衝液、pH 7.1で表面を洗浄後、100 μ l/YOCの緩衝液の中でテフロン製ホモジナイザーによって組織を破碎する(氷冷下)。懸濁液を遠沈管に移し(1.2 ml/YOC) 5 $^{\circ}$ C以下にて遠心分離する(8,000 rpm, 20 min)。沈殿を再度同量の緩衝液に懸濁の後、遠心分離し、先の上澄液と一緒にして1 mlに付き0.2 mgのストレプトマイシンと200 IUのペニシリンを加えて等量ずつに分け(2.5 ml/YOC), 37 $^{\circ}$ Cで20時間振盪培養する。培養が完了すると夫々の培養液を凍結乾燥し、残渣をメタノールで抽出する。抽出液をセパック(SEP-Pak C 18)の短いカラムを通して5 mlのメタノールで洗浄後溶媒を濃縮し、HPLC(ERC-ODS-1161, ERMA)によって産生したエクジソンを247 nmの吸収を指標にして定量する(メタノール:アセトニトリル:水=28:10:62)。定量用内部標品として、14, 15-デヒドロ-20-ヒドロキシエクジソンを用い(20-ヒドロキシエクジソンを1%メタノール塩酸で処理して作製)、検量線をもとにして定量する($\pm 6\%$)。

YOCの均一化培養法によるエクジソン生産量は冬期には平均して5~10 ng/YOCであり、数百 ng/YOCを認めた場合もある。カニの種類はイシガニ、ブルークラブ、

ガザミ(*Charybdis japonica*, *Callinectes sapidus*, *Portunus trituberculatus*)などである。エクジソンはHPLC上の保持時間およびHPLCから分取した画分をトリメチルシリル化後、GC-MS(ガスクロマトグラフィー連結質量分析)によって同定した。

3.3. 脱皮抑制活性成分の単離 660コ(36 g)の備蓄した眼柄(ES)を1回について200 mlの0.1 M酢酸で6回加熱抽出し、15分間遠心分離する(3,000 rpm)。上澄を凍結乾燥し残渣の粉末を粗抽出物(ES-X:図5)として抑制効果を調べた。即ち先のYOCホモジネートにES-Xを加えて(ES/YOC=1:1) 37 $^{\circ}$ Cで20時間培養し、ES-Xが添加されていない対照区に比べてエクジソン生産量がどれだけ減少したかを、HPLCの面積より算出する。抑制効果は異種間でも認められ、種特異的ではなくかなり広範な甲殻類に共通であることが明らかになった。

上記のアッセイ法に従って図6のように分画を行った。660コの眼柄粗抽出物、ES-X(16 g)をセファデックスG-25で分子フルイにかけ、280 nmの吸収を指標にして7分画しそれぞれ凍結乾燥した。活性を認めた画分Vを更にG-10に導通(0.1 M酢酸)したのち、陽イオン交換樹脂(MCIゲル, CK 10 V三菱)を用いて、均一グラジェント(0.8 M酢酸/0.4~2 Mアンモニア水)溶出によって精製した。この成分は電気泳動の挙動(セルローズ, 0.4 M酢酸/0.12 Mギ酸1:1, pH 2.5)から、Soyezら¹³⁾によって報告された化合物と同一であると推定された。単離成分(700 μ g)を常法に従って、核磁気共鳴(NMR:¹H, ¹³C), 紫外線吸収(UV), 円二色性(CD)などの各種スペクトル, アミノ酸分析, 質量分析(EI-MS)などによって、3-ヒドロキシ-L-キヌレニン[図7:9]であると同定した。C₁₀H₁₂N₂O₄, $m/z=224$, 4-H 6.85 d, 5-H 6.42 dd, 6-H 7.21 d, 3'-H 3.25 dd, 3.53 dd, 2'-H 3.63 dd, NH₂ 6.71 s(DMSO)。UV(0.005 M塩酸中) 224 nm(ϵ 18,400), 266 nm(ϵ 7,600), 370 nm(ϵ 4,000); CD(0.005 M塩酸中) 231 nm($\Delta\epsilon$ +1.0), 273 nm($\Delta\epsilon$ +0.5), 370($\Delta\epsilon$ -0.2)。

Fig. 6 Isolation of "MIH" from eyestalks (*Callinectes sapidus*).

Fig. 7 Metabolic pathway of tryptophan to MIH active substances.

標準試料品^{*1}のL-体は上記に得た天然品と同程度の活性を示したが、粗抽出物(ES-X)の活性には及ばなかった。しかも、合成DL体^{*2}では活性が発現しないことから、培養(アッセイ)の途上で酵素的に変換した代謝物が抑制効果を示す本体であると予測して代謝物の抑制効果を調べた。

3.4. キサンツレン酸と抑制効果 3-ヒドロキシキヌレニン(3-OH-K) (9)はトリプトファン(10)の中間代謝物であり、更にキサンツレン酸(11)または3-ヒドロキシアンスラニル酸(12)に代謝される(図7)。代謝物を検索した結果、キサンツレン酸(XA)に強い抑制活性があることを認めたので、抽出法を変えることによって眼柄からXAを検出した。即ち、ES-Xを酢酸アンモニア水(0.17 M, 250 μ l/ES, pH 5)で抽出し、遠心分離(3,000 rpm, 15 min)し、上澄をゲル濾過(Asahipak GS 320)し酢酸アンモニア水(0.17 M)で3-OH-Kを溶出後、20 %のアセトニトリルを添加した酢酸アンモニア水(0.17 M)によってXAを溶出した。標品との添加クロマト法(HPLC)によってXAであることを同定確認した。 $C_{10}H_7NO_4$, $m/z=205$, 3-H 6.92 s, 5-H 7.28 dd, 6-H 7.35 t, 7-H 6.95 dd(NH₄OD)。

眼柄抽出物(ES-X)のED₅₀(エクジソン生産量を50 %抑制する試料量)はES-Xの約1 mgであり、1 ESから25 mgのES-Xが得られたので1 mgのES-Xは0.04 ESに相当することがわかった(図8)。ES-Xの1 mg中の3-OH-KおよびXAの含有量はそれぞれ136 ngと78 ngであり(HPLC 240 nm 検出法)、もし3-OH-KからXAへの変換が培養中に100 %進行したと仮定しても、分子量を考慮に入れるとES-Xの1 mgは203 ngのXAに相当する。XAのED₅₀は約250 ngであり、全ての活性をXAだけで説明することは出来ない。従って、抑制効果

Fig. 8 Dose response of "MIH" inhibitory effect (ES-X).

は単一成分よりはむしろ多数因子^{11,12)}が絡んだ複雑な支配下にあると推定される。

3.5. X-器官と抑制物質, 3-OH-K $\rightarrow$ XAの変換 ES-XからMIH活性物質として3-OH-KとXAを同定したが、さらにX器官-サイナス腺での存在を確認するため、眼柄を生体(8個体)から切除し、生理食塩水中で注意深く解剖して目的器官を摘出し、酢酸アンモニア水で抽出、遠心分離し、上述と同様に分析した。この場合には(季節、個体によって変動)、1器官あたり28 ngの3-OH-Kと128 ngのXAが検出され、それぞれES-Xの~1 %および~7 %に相当することが判った。以上の結果から、キサンツレン酸は眼柄のみならずX器官の内生的物質でもあることが確認できた。

一方、カニの体液をリン酸-炭酸水素ナトリウム緩衝液で抽出し、硫酸アンモニウムで処理後沈殿物を遠心分離、上澄を透析して、透析されない蛋白質画分をセファデックスG-200に導通して粗酵素(アミノトランスフェラーゼ)を得た。この粗酵素を3-OH-Kと37 $^{\circ}$ Cで3時間培養後、透析、透析液をHPLC(Asachi Pak GS 320)によって定量し、61 %がXAに変換されたことを認めた。従って3-OH-KがX器官から分泌されてY器官に輸送

*1) 梅鉢幸重教授(金沢大学)より供与。

*2) 妹尾四郎博士(当財団副理事長)より供与。

される時に体液中または YOC 付近で XA に変換されていることも有り得る。3-OH-K を YOC ホモジネートに添加培養する時にはその 90 % が失われたが、XA の増加としては認められなかった。この結果は、XA が YOC で異化作用をうけると同時にエクジソン合成の際に消費されている可能性を示唆するものである。

実際、YOC ホモジネートを用いたエクジソン合成阻害試験で、37 °C、20 時間の培養では ES-X、3-OH-K、XA、の三者は同程度の阻害効果を示したが、培養時間が短い場合 (1 時間以内) には、その間に合成されるエクジソン前駆体 (デオキシエクジソンと推定) の生産を阻害するのは ES-X と XA の両者であり、3-OH-K は同程度の阻害効果を示すのに長時間を必要とした。ED₅₀ に基づく定量的な阻害効果の相互関係は現在実験中である。

4. 作用機構¹⁵⁾

エクジソンの生合成に酸素添加酵素が介入するという作業仮説のもとに、モデル酵素としてチトクローム C を選んで、XA の阻害作用機構を検討した。XA の存在下ではチトクローム C の電子スピン共鳴スペクトル (ESR) は典型的な結合型 Fe(III)—O を示した ($g=2.30, 2.12, 1.88, 77\text{K}$)。この結合は NADPH-チトクローム C 還元酵素で還元されず不可逆的であった。また可視吸収スペクトルの γ -ピーク (Soret peak) でも長波長シフト ($\lambda_{\text{max}} 410 \rightarrow 415\text{ nm}$) が認められ、チトクローム C が XA と結合型に変わることが示された。XA に低濃度のチトクローム C を徐々に添加する時、動的 NMR は 3-H および 6-H が大きく低磁場シフトする。この結果から、4-OH が Fe-O 結合に関与していることが推定され、XA の互変異性体の一つがチトクローム C の鉄ポルフィリン上の第 5 配位子として不可逆的に結合して、電子伝達系の電子の流れを止めるためにエクジソン前駆体 (基質) への酸素添加が起こらないと考えられる (図 9)。同様の結合は 3-OH-K とチトクローム C との間では認められなかった。エクジソン生合成にチトクローム P₄₅₀ が関与しているかどうかは今後の研究を待たなければならないが、

上記と類似の酵素阻害剤としての作用機構が脱皮抑制の初発反応として示唆される。

一方、エクジソンの 20-位に水酸基を導入する活性を持つカニの体液に、XA を添加培養しても 20-位の水酸化は阻害されないし、昆虫¹⁶⁾を使った同様の反応でも 20-位の水酸化は阻害されなかった。20-位の水酸化に P₄₅₀ が関係していることはすでに知られているので、エクジステロイド生合成途上の水酸化反応では認識部位が異なる酵素を段階的に介しているものと推定される。カニの脱皮の D 期 (上述) 以降の時期には、“MIH” 効果が期待出来ない所以でもあろうか？

5. キサンツレン酸は MIH か？¹⁷⁾

ホルモンの定義は「特定の細胞 (内分泌細胞または一部の神経細胞) によって、生体内外の情報に応じて生産・分泌され、体液を介してその情報をほかの細胞 (標的細胞) へ伝達する物質」とされている。XA は神経節細胞である X 器官で産生されると同時に X 器官で産生された 3-OH-K の体液中または YOC での変換産物である。同じ個体を用いて脱皮関連物質 (3-OH-K、XA、エクジソン) をそれぞれ定量分析 (1 回の分析は 6 個体の平均値) して周年変動を調べた。YOC については、10 月～3 月頃のイシガニでは XA が極大値 ($\sim 300\text{ ng/YOC}$) を示すのは 11 月頃で、エクジソンが極大値 ($\sim 30\text{ ng/YOC}$) を示すのは 2 月頃であり両者の間に明確な山と谷の位相差が認められた。4 月～10 月の期間には 3-OH-K および XA の変動は極めて小さい振幅であり、累積量も少ない。イシガニはこの期間中に頻繁に脱皮を行うので脱皮周期による多様性のために平均値としては小さい変動として現れたものと思われる。一方、眼柄中の XA の変動は一年を通して小さな振幅であるが、3-OH-K の振幅には大きな山が 2 回あった。そのうち 1 回 (3 月) は YOC 中の 3-OH-K の振幅と同調しているが、他の 1 回 (9～10 月) は YOC 中の XA の増加前兆期として解釈できる。

同じカニの体液 1 ml 中に遊離型として検出される XA および 3-OH-K の量は一年を通して常に微量であり、この量的な比較からは XA は YOC において蓄積されているものと推定される (結合型の存在については不明である)。分泌の消長的な動態はホルモン様であり、しかも XA は YOC と親和性に富み、機能の発現は YOC でのみ認められる。しかしながら、XA が上述のような酵素阻害の機構で活性を発現するのであれば、終局的に脱皮を抑制したとしてもエクジソン生合成阻害物質 (EBI: Ecdysone Biosynthesis Inhibitor) として位置付けされるべきであり、3-OH-K はその前駆体である。従って MIH

Fig. 9 Interaction of XA and Cytochrome C; a possible mode of ecdysone biosynthesis inhibition.

に相当する物質が存在するか否かは将来の研究を待たなければならない。

6. *in vivo* 脱皮抑制効果¹⁷⁾

in vivo の脱皮抑制効果は、20-ヒドロキシエクジソンを注射した場合に脱皮周期上のある限定された期間(C後期)でのみ有効であることが報告されている⁴⁾。従って、脱皮を抑制する効果も脱皮の周期と密接に関係するであろうことが予測される。多数の歩脚を自己切断させるか、眼柄を切除した場合に脱皮周期が促進される知見⁴⁾を基にして、実験生物としてアメリカザリガニ(*Procambarus clarkii*)を選び、*in vivo* の脱皮抑制効果を調べた。抑制物質として3-OH-Kを使った理由はXAの生理食塩水に対する溶解度が極度に小さいためである。体長がほぼ同じアメリカザリガニ(約7cm)を10個体ずつのA、B群に分け、全ての生物の鉗脚を基節から自己切断(物理的刺戟による)させ、同時に眼柄を切除し、それを0日とした(図10)。A群を対象区としてB群の生物に毎日30 ng/0.1 ml(生理食塩水)の3-OH-Kを注射した。A群の生物は手術後5日までに3個体が死亡し、6~8日の間に7個体が脱皮したが完全に脱皮に成功して生き永らえたのは3個体であった。一方、B群では手術後2日目に1個体が死亡し、7~11日の間に9個体が脱皮し3個体が生き残った。2回目の脱皮はA群では15~17日目に、B群では19~21日目に観察された。この結果によると3-OH-Kの注射によって脱皮期間は1~3日延長した。脱皮の途中で死亡した個体の胃石はA群の4個体の平均値が169±65 mgで、B群の6個体の平均値が227±57

mgであり、B群の脱皮抑制効果は胃石の大きさからも判定された。鉗脚を自己切断させたが眼柄を除去しない生物では鉗脚の自己切断後22日までに脱皮した個体はなく、その間に死亡した4個体にも胃石の形成は見られなかった。したがって、眼柄切除によって特に死亡数が増加することはないが脱皮時に死亡する数は多い。これが眼柄の切除によって生じた生理的な障害に基づくかどうかは不明である。現象的には、眼柄切除によって促進された脱皮は3-OH-Kの注射で抑制されたことになる。なお、注射の量はアメリカザリガニ11個体のX器官から検出されたXAの平均値40ng即ち80 ng/1個体の約40%が有効と仮定して30 ng/日を採用したものであり必ずしも最適値ではない。毎日注射したのは、3-OH-Kが比較的早く代謝されるという推定に基づいている。0日に先立った抑制剤の導入なども将来考慮すべき点であり、効果を示す最適条件も検討されていないので脱皮抑制期間がどのくらいであれば効果があると言えるのか、抑制効果が眼柄切除効果のすべてを回復可能なのかどうかは将来の研究を待たねばならない。現段階では脱皮を現象的でなく、体液中のエクジソンまたは20-ヒドロキシエクジソン量の変動として把握することで、抑制効果に定量性を持たせるべく努力中である。

7. 結論と問題点

20-ヒドロキシエクジソンとMIHが甲殻類の脱皮現象に拮抗する因子であるという概念はすでに長く定着したが、脱皮現象は一連の形態的、生理的、生化学的変化を伴うので多数の因子が介在するであろうことは容易に推定される。従って、一つの生理活性物質が一つの現象を説明し得るとは限らないので、介在する全ての物質の分子構造が明らかになり、作用機構が解明されるまで結論は避けるべきだろう。

エクジステロイドは多数の甲殻類から単離され同定された；分泌量は脱皮周期の時期によって変動する；外部から導入されたエクジステロイドは脱皮現象を促進する；Y器官はエクジソンの主たる生産器官である；摘出器官を培養するとエクジソンが生産され、Y器官を摘出した生物は脱皮しないか、または脱皮が著しく遅れる；エクジステロイドの生産器官がY器官以外にもありうる；同種の生物でも環境の違いによってエクジステロイドの分泌量は大きく変化する；エクジソンは中腸腺および睾丸などで20-位の水酸化を受けて機能を発現する；

果たしてエクジステロイドは脱皮以外の事象にどれだけ関わっているのか、脱皮に終局があるのか、もし終局するならY器官が退化するのか、または分泌だけが停ま

Fig. 10 Effect of 3-OH-K injection to crayfish, *Procambarus clarkii*.

Fig. 11 Flow chart of chemicals involved in ecdysis phenomena of crustaceans.

るのか、何が分泌を支配しているのだろうか？

一方、眼柄を切除すると体液中の全カルシウム濃度が上昇し、眼柄抽出物を注射すると低下する；この因子とMIHの関係は明らかでないし、肝臓での脂質合成も眼柄の内生物質で抑制されているが、MIHとの関係では判っていない；X器官で生産される脱皮抑制物質は熱に安定で種間に共通の物質であり、MIHは摘出Y器官が生産するエクジソンの合成を抑制する：5-ヒドロキシトリプタミンまたは5-ヒドロキシトリプトファンは、MIH活性物質の分泌を増進させることが、摘出した眼柄の神経節を用いて示されている¹⁸⁾；アミノ酸残基61から成るペプチド(8)はN末端がブロックされており250 pM/l以上(最低分子量：7,200)で*in vitro*の活性が認められている¹¹⁾。この化合物は大型のX器官では約30 ng 小型の器官では7 ngが検出された；高血糖ホルモン(HGH：Hyperglycemic hormone)が多少ともエクジソン合成阻害に関係している可能性も示唆されている⁸⁾：クルマエビ(*Homarus americanus*)の*in vivo*試験によれば、活性物質は分子量約8,700のペプチドであり脱皮抑制期間の延長は対照区に比べて1~2日である¹²⁾。

著者らは、脱皮抑制現象を示す化合物としてキサントレン酸を明らかにし、エクジソン生合成阻害物質(EBI)として定義した。その作用機構として、介在する酵素に不可逆的に結合して、電子伝達機構を妨げるためにエクジソンの生合成を抑制すると推定した。*in vivo*効果を調べるために前駆体3-OH-Kを注射して対照区に比べて脱皮周期が延びる(1~3日)ことを認めた。図11には現在までの知見をもとにして、脱皮に関する化学物質を構造式で示す。

本当に特定の受容体をもつホルモンMIHは存在するのだろうか？ 神経伝達物質によって分泌が増進される化合物は何なのか？ (昭和62年12月21日受理)

文 献

- 1) D.M. Skinner, *Biol. Bull.* (Woods Hole, Mass.) 123, 635 (1962)
- 2) C. Zeleny, *J. Exp. Zool.*, 2, 1 (1905)
- 3) F.A. Brown, jr., O. Cunningham, *Biol. Bull.*, 77, 104 (1939)
- 4) D.M. Skinner, "Molting and Regeneration", pp.43-146; L.H. Kleinholz, "Biochemistry of Crustacean Hormones", pp.464-522, In *The Biology of Crustacea*, (D.E. Bliss, L.H. Mantel, eds.) Vol.9 (1985). Academic Press, New York
- 5) S. Natori, *Devel. Biol.*, 50, 395 (1976)
- 6) J.H. Nishiura, J.W. Fristrom, *Proc. N.A.S., USA*, 72, 2984 (1975)
- 7) E.G. Fragoulis, C.E. Sekeris, *Eur. J. Biochem.*, 51, 305 (1975)
- 8) E.S. Chang, B.A. Sage, J.D. O'Connor, *Gen. Comp. Endocr.*, 30, 21 (1976)
- 9) L.H. Kleinholz, R. Keller, "Endocrine Regulation in Crustacea" in *Hormones and Evolution*, Vol.1, pp.160-213 (1979) Academic Press, NY.
- 10) H. Laufer, D. Borst, F.C. Baker, C. Carrasco, M. Sinkus, C.C. Reuter, L.W. Tsai, D.A. Schooley, *Science*, 235, 202 (1987)
- 11) S.G. Webster, R. Keller, *J. Comp. Physiol. B.*, 156, 617 (1986)
- 12) E.S. Chang, M.J. Bruce, R.W. Newcomb, *Gen. Comp. Endocr.*, 65, 56 (1987)
- 13) D. Soye, L.H. Kleinholz, *ibid.*, 31, 233 (1977)
- 14) Y. Naya, K. Kishida, M. Sugiyama, M. Murata, W. Miki, M. Ohnishi, K. Nakanishi, *Experientia*, 44, 50 (1988)
- 15) 未発表データ
- 16) S.L. Smith (Bowling Green State University), 私信。
- 17) 未発表データ
- 18) M.P. Mattson, E. Spaziani, *Biol. Bull.*, 169, 246 (1985)