

別紙 4

| | | | | |
|------|---|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 甲 | 第 | 号 |
|------|---|---|---|---|

主 論 文 の 要 旨

論文題目 ヨトウガ蛹休眠の内分泌調節機構の解析
氏 名 山田信人

論 文 内 容 の 要 旨

昆虫は地球上で最も繁栄している生物種である。その理由の一つとして生息地の環境に適応するために多様な進化を遂げてきたことが挙げられる。生育に適さない季節を低代謝状態で乗り越える「休眠」も適応の結果の一つである。冬期の休眠は一般的に日長変化によって誘導され、休眠個体は一定期間の低温経験によって覚醒し、温度が上昇すると発生を再開する。この過程には様々なホルモンが関与する。蛹休眠では蛹化後に前胸腺の活性が低下してエクジステロイド分泌が停止することで休眠が始まり、前胸腺の活性が再活性化してエクジステロイドの分泌が再開すると休眠は終結し成虫発生が始まる。しかし、休眠において前胸腺の活性を調節する機構については長い間明らかになっていなかった。近年、ヨトウガの休眠蛹では蛹化直後に前胸腺刺激ホルモン(PPTH)の分泌が停止する結果、前胸腺の活性が低下してエクジステロイドの分泌が停止することが当研究グループによって示された。しかし、休眠から覚醒して成虫発生が開始する時に前胸腺を活性化させるメカニズムは不明であった。

本研究では、休眠後には PPTH の分泌が再開し、それが引き金となってエクジステロイドの分泌が活発化して成虫発生が進むことを示した。始めに、ヨトウガの休眠蛹に対して除脳と脳移植を行い、休眠後の成虫発生に脳から分泌されるホルモンが必要であることを示した。次に、脳抽出物を用いた注射実験等によって、そのホルモンが PPTH であることを明らかにした。さらに、血中 PPTH 濃度を測定し、休眠後の成虫発生時にはエクジステロイドの分泌に先駆けて PPTH が分泌されていることを示した。休眠後の成虫発生時に分泌される PPTH は非休眠の蛹化後と比べるとわずかではあるが、前胸腺の PPTH 感受性が非常に高いため、前胸腺を活性化するには十分であることを示した。

また、休眠に入った蛹の前胸腺の活性を低く保つためにミオサプレシンという神経ペプチドが働いていることを明らかにした。休眠開始後の蛹前胸腺は *in vitro* では

PTTH に応答するが *in vivo* では応答しないことから、休眠蛹では前胸腺の外部から働いて前胸腺の PTTH 応答性を抑制する機構が存在する可能性が示唆された。そこで、前胸腺を中枢神経系(CNS)と共培養したところ、PTTH に対する応答性が抑制された。CNS の部分除去実験により前胸腺抑制因子がミオサプレシンである可能性が示唆されたことから、前胸腺の培養に PTTH とミオサプレシンを加えたところ、前胸腺の PTTH に対する応答性が抑制された。さらに、前胸腺と CNS の共培養に PTTH と抗ミオサプレシン抗体を加えたところ、CNS による前胸腺抑制効果が消失した。これらの結果より、休眠蛹の前胸腺の PTTH に対する応答性はミオサプレシンにより抑制されていることが示された。

次に、ヨトウガ休眠蛹が低温経験により徐々に覚醒する期間における内分泌変化を調べた。血中エクジステロイド濃度を経時的に測定したところ、低温開始後すぐに数倍に上昇し、低温後期にさらに上昇していた。前胸腺活性を *in vitro* 培養系を使って測定し、その変化を調べると、低温期間の中期に上昇することが明らかとなった。あらかじめ除脳しておくと同胸腺活性の上昇は起きないことから、低温下での前胸腺活性の上昇に脳が関わっていることがわかった。血中 PTTH 濃度は休眠期を通して検出限界以下であった。低温期間後期には脳内の PTTH 遺伝子や PTTH 含量に変化が生じることから、この時期には少量ながら PTTH 分泌が始まることが示唆された。前胸腺の PTTH 応答性は低温期間後期に上昇していた。低温下での前胸腺の活性上昇と PTTH 応答性の上昇はともに PTTH による刺激の結果であると推定された。

最後に、休眠準備期に焦点を当てた研究を行った。初めにヨトウガでは 5 齢から 6 齢の間に感知した光周期によって休眠が誘導されることを明らかにした。次に、6 齢幼虫の体重変化を調べ、非休眠予定幼虫より休眠予定幼虫の方が成長は遅いが最大体重が上回ることを示した。代謝や成長の調節にはインスリン様ペプチド(ILP)が関与すると考えられたため、ヨトウガの ILP 遺伝子をクローニングし、摂食期の遺伝子発現解析を行った。その結果、休眠予定幼虫では非休眠予定幼虫より ILP 遺伝子の発現が低いことが明らかとなった。