

昆虫の脳における内分泌中枢の解析

Analysis of the endocrine center in the insect brain

研究代表者 大阪市立大学大学院理学研究科生物地球系 助手 志賀向子
Research associate, Dep. of Bio- and Geosciences, Graduate School of Science,
Osaka City Univ.
Sakiko SHIGA

During reproductive diapause in the blow fly, *Protophormia terraenovae*, the corpus allatum (CA) is neurally inhibited to prevent ovarian development. This neural control affects the CA via the cardiac recurrent nerve (CRN). Nickel diffusion from the CRN revealed three kinds of neurons in the brain-subesophageal ganglion. Among them PL neurons sent their terminals to the CA. The PL neurons had their cell bodies in the pars lateralis and their fibers projected in the dorsal nonglomerular region of the protocerebrum. Extracellular recording of the CRN revealed three types of the activity pattern, regular, irregular and mix type. No significant difference in the activity pattern was detected between the diapause and non-diapause fly.

1. 研究目的

昆虫の脳に関する研究は、これまで主に行動発現における情報処理機構に目が向けられてきた。すなわち、感覚系からの情報が即座に、あるいは記憶装置を介して運動調節系に伝えられる経路である。一方、同様に感覚器からの情報は内分泌系に伝えられ生理状態の切り替えをもたらす。このとき、外の情報がどのように処理され内分泌系に伝えられるのかについては現在のところまったくわかっていない。

本研究ではルリキンバエの生殖休眠を調節する光周期と温度に対する反応を例にとり、これらの情報が内分泌系を切りかえる反応経路について解析する。ルリキンバエは夏の長日・高温条件で生殖するが秋になると短日・低温条件により生殖休眠に入る。最近、ルリキンバエが生

殖休眠に入るとアラタ体 (CA) の幼若ホルモン分泌が神経によって抑制されることが示された。そこで本研究では CA のホルモン分泌を調節している脳内ニューロンに着目し、それらの投射形態を調べた。また、これらニューロンの電気的活動を記録し、休眠、非休眠条件で飼育されたハエを比較した。

2. 研究経過

2. 1. 材料と方法

昆虫

北海道帯広で採集したルリキンバエ (*Protophormia terraenovae*) を用いた。幼虫には牛のレバーを与え、羽化後ショ糖、水、レバーを与えて飼育した。ニューロンの染色には非休眠条件 [長日 (18L6D)・高温 (25°C)] で飼育した羽化後 10 日以降の成虫を、ニューロンの電気的活動の記録には非休眠条件、休眠

条件[短日 (12L12D)・低温 (20°C)]で飼育した羽化後 5 から 15 日目の成虫を用いた。

ニューロンの染色

ハエの脳—食道下神経節 (Br-SEG)、内分泌器官を露出し (図 1)、ニッケル水溶液 (500mM NiCl₂, 1% BSA) を心臓回帰神経 (CRN) 断端、CA、脳間部 (PI) 部から注入した。数時間後ニッケルをルベアン酸で発色させ、ブアン固定した後、Br-SEG の銀増感を行った。また、細かい神経走行を調べるため、脳の細部に切込みを入れ、同様に染色した。

ニューロンの電気的活動の記録

CRN から吸引電極を用いてニューロンの電気的活動を記録した。記録後、卵巣の発達状態を調べ、休眠に入っているかどうか確認した。

2. 2. 結果と考察

内分泌器官を支配するニューロンの投射形態

ハエの Br-SEG、内分泌器官の模式図を図 1 に示す。側心体 (CC) は後脳神経節 (HG) と癒合し、アラタ体神経 (NCA) によって CA につながっていた。Br-SEG は脳の後方から出る一対の側心体神経 (NCC)、CRN を経てこれらの器官に連絡していた。

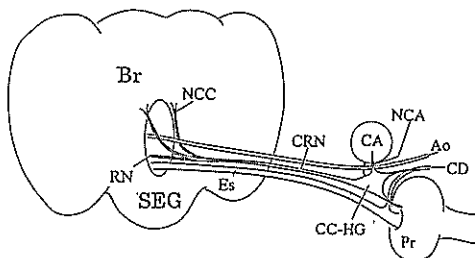


図 1 脳(Br)—食道下神経節(SEG)と内分泌器官の模式図。(内分泌器官を横から見ている。)

CRN から染色した結果、Br-SEG には 3 種類のニューロンが染色された。図 2 は右側の NCC を切断し、CRN から染色した結果を示す。PI ニューロンは脳間部に多数の細胞体を持ち、Median bundle (MB) を通って細胞体とは対側の NCC から CRN へ出ていた。これらの樹状突起は細胞体周囲にあり、食道下神経節の前方部にはバリコシティーのある細かい分枝が見られた。PL ニューロンは脳側方部に細胞体を持ち、前大脳の背側を覆うように広く分枝を伸ばしていた。PL ニューロンのうち、中央よりにある 7 対の細胞体は細胞体と同側に軸索を伸ばし、もっとも側方にある 2 対の細胞体は対側に軸索を送っていることがわかった。SEG ニューロンは食道下神経節の前方と後方に大形の細胞体を持ち PI ニューロンと同じ食道下神経節の前方に分枝していた。また、対側の NCC を通って脳から出ていた。

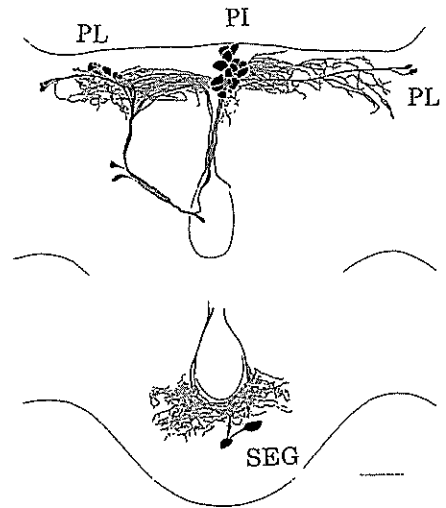


図 2 左 NCC を走行するニューロン。上：脳。下：食道下神経節。3 種類のニューロンが染色された。スケールは 100μm。

表1 CAからニッケルを注入し、染色されたニューロンの細胞体数。左、右半球ごとの数を示す。(n=14, a-n).

	left			right		
	PL-l	PL-m	PI	PI	PL-m	PL-l
a	—	2	—	—	3-5	—
b	1	2	—	—	3	—
c	2	3-5	1	1	3	—
d	—	2	—	—	2	—
e	—	—	—	—	2	—
f	—	3	—	—	3	—
g	—	2	—	—	—	—
h	—	2	—	1	2	1
i	—	—	—	—	4	—
j	—	3	—	—	—	—
k	—	2	—	—	3	—
l	—	4	—	—	—	—
m	—	2	—	—	1	1
n	—	3	—	—	2	—
max	2	5	1	1	5	1

*[PL-l]: PLニューロンの中で、細胞体が中央よりにあるもの。PL-m: PLニューロンの中で、細胞体が側方にあるもの。b, e, f, hのトレースを図3に示す。

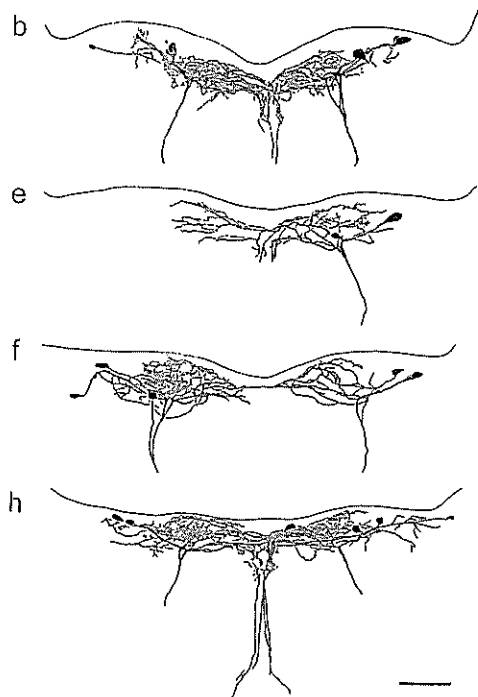


図3 CAに終末するニューロン。表1中の4例をトレースしたもの。スケールは100 μ m。

次にCAにニッケルを注入し、CAに終末するニューロンを調べた。14個体中、全てにおいてPLニューロンが染色された(表1、図3)。2個体にPIニューロンが一つ染まった。SEGニューロンはまったく染色されなかった。

PIニューロンの細胞体の部分にニッケルを注入し、PIニューロンの終末を調べた。CC-HGとCAにファイバーが観察されたが、CAの分枝は表層の小領域に限られていた。

以上より、CAにはPLニューロンと少数のPIニューロンが終末していることがわかった。また、樹状突起の位置からこれらのニューロンは主に前大脳の背側で情報を受け取っており、脳内の中心複合体や記憶中枢といわれるキノコ体とは直接連絡していないと考えられた。

CRNの電氣的活動記録

CRNにはPI、PL、SEGニューロンが走行している。これら全ての軸索をまとめて記録した。その結果、活動パターンは主に3種類に分類された。1) Regularパターン: 10-30Hzの頻度で周期的に発火している。2) Irregularパターン: 周期性はまったく見られない。3) Mixパターン: 周期的な発火とそうでないものが混在している。これら3種類のパターンの出現率に休眠成虫と非休眠成虫で有意な差は見られなかった。

3. 研究成果

本研究によりアラタ体のホルモン分泌調節にかかわるニューロンが同定された。これまでの結果と合わせ考えると、ルリキンバエの休眠中にアラタ体の活性を神経的に抑制しているものは脳側方に細胞体を持つ PL ニューロンであると考えられる。PI、SEG ニューロンは CA を直接神経支配しないが、体液を介して CA の活性調節に関与する可能性も考えられる。これらニューロンの情報入力部の解明は、さらに上流の中枢を探索する大きな手がかりとなった。また、これらニューロンの電気的活動記録システムが確立したことも今後、光周期・温度情報がどのような形で内分泌中枢に蓄積されているのかを探る上で大きな成果となった。

4. 今後の課題と発展

まず脳の微細手術によって今回同定されたニューロンの細胞体部を破壊し、これらニューロンの休眠・生殖に関する機能を明らかにする予定である。今回、電気的活動パターンを視察により比較したがこれでは休眠と非休眠ではっきりした違いは検出されなかった。そこで次に、1) 日齢を追って記録する、2) データの統計学的処理をおこなうことにより電気的活動パターンを詳細に解析する。さらに、今回同定されたニューロンの入力部に着目し、さらに上流のニューロンを探索することにより、光周期・温度情報がどのように処理され内分泌系を切りかえるのかその中枢機構の解析を進めたい。

5. 発表論文リスト

Shiga S., Toyoda I., Numata H. (1997)
Central projections of neurons
associated with the retrocerebral

complex of the adult blow fly
Protophormia terraenovae.
Comparative Physiology and
Biochemistry 14 (4) 129