

# キイロショウジョウバエにおけるメラニン性腫瘍形成に及ぼす老化の影響

小須田 和 彦

## 1. 緒 言

Bridges (1916) が最初にキイロショウジョウバエで見出してからメラニン性腫瘍 (melanotic tumour) が体内に形成される数多くの遺伝的なメラニン性腫瘍形成系統が数種のショウジョウバエや他の昆虫類で報告されてきた (Stark 1919; Wilson 1924; Russel 1942; Gardner & Woolf 1949; Sparrow 1974)。しかしながら関与する遺伝子の染色体上の位置決定をはじめとする詳細な遺伝学的研究がなされた例は少ない (Gateff 1978, 1982; Sparrow 1978)。メラニン性腫瘍形成突然変異系統の分析が困難な理由は、その表現型が非常に変異に富む事、これらの突然変異の浸透度が一般にきわめて低い点にある。筆者が以前、ハンガリーのブタペストの自然集団で新たに見出した C-104 系統では、メラニン性腫瘍形成の浸透度がきわめて高い事が判明した (Kosuda 1990, 1991)。そのため関与する遺伝子 *tu-91 k* の染色体上の位置等を決定する事が出来た (1993)。

一般的にメラニン性腫瘍の表現度は非常に変異性に富み、浸透度が低い。また多かれ少なかれ遺伝的支配を受けている殆ど例では、メラニン性腫瘍は幼虫期、特に蛹化直前の第 3 齢幼虫期に発現する。それらは体腔内に通常個もしくは数個種々様々の不規則で濃い黒色物体として肉眼でも見られる。メラニン性腫瘍形成は、多くの場合メラニン色素が沈着した血球細胞の凝集したものであるとの見解で多くの研究者は一致している (Lindsley and Grell 1968; Nappi 1973; Ho et al. 1982; Chen and Lawrence 1985; Collins et al. 1986)。

これまでの筆者の研究により、C-104 系統ではメラニン性腫瘍は雌バエだけに形成されること、形成初期の段階では顕微鏡を用いなければその発現がわからないこと、幼虫期では発現されず、成虫だけに形成されること、雌の貯精のう近傍にのみ形成されること等が報告されている (Kosuda 1990, 1991)。また、メラニン性腫瘍は 2 つある貯精のうの片一方又は両方に付着する状態で形成される。体腔内に濃い黒色または茶色のかたまりとして形成されたメラニン性腫瘍は、発達するにつれて肉眼でもその存在が外部から判るようになる (図 1)。

今回の研究では、このメラニン性腫瘍形成に及ぼす老化及び餌育温度の影響が調べられた。

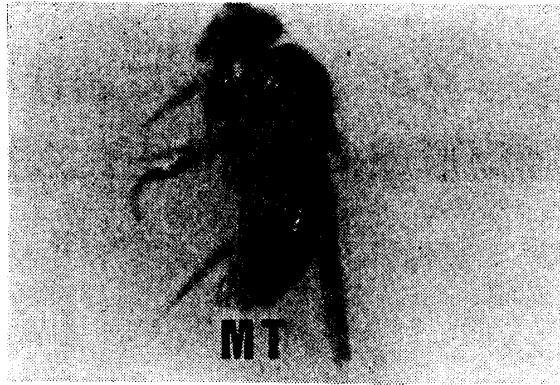


図 1 C-104系統の雌親の腹部に発生するメラニン性腫瘍 (MT)

## 2. 材料並びに方法

今回の研究に用いられたメラニン性腫瘍形成突然変異系統, C-104, は1986年ハンガリー, ブタペスト近郊のセンテンドレの自然集団から由来した高度の近交系である。腫瘍形成に及ぼす老化の影響を調べた実験 I では, C-104系統の雌バエが蛹から成虫に羽化した直後に集められ, トウモロコシ, イーストを含む通常のエサが入った飼育瓶中で維持された。これらの雌バエは老化を促進するために, 通常の飼育温度 (20~25°C) より高い 29°C 下に置かれた。これらの雌バエは 2~3 日毎に新たな飼育瓶に移し変えられた。羽化後 1, 2, 3, 4 週経過した後, 1 匹ずつショウジョウバエ用リンガー液中で解剖され, 100倍ないし400倍の倍率の下, 顕微鏡を用いて貯精のう近傍にメラニン性腫瘍が形成されているかどうか調査された。濃い黒色ないし茶色のメラニン性腫瘍が形成されているかどうか, 二つある貯精のうの両方について調べられた。

腫瘍はメラニン色素が沈着した血球細胞の凝集したものと考えられ, その後貯精のうを包みこ

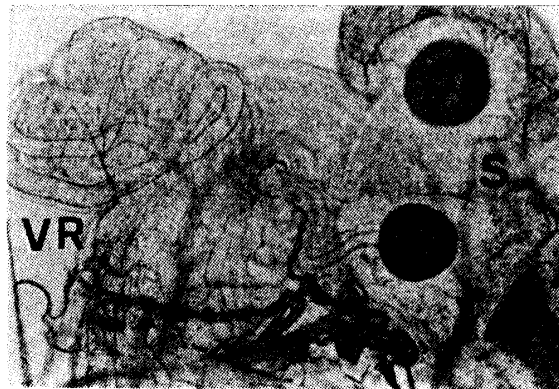


図 2 メラニン性腫瘍がみられない正常な個体の腹部

S: 貯精のう spermathecae

VR: 受精のう ventral receptacle

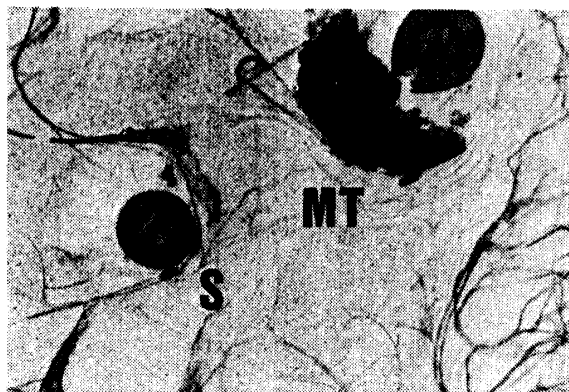


図 3 片方の貯精のうだけがメラニン性腫瘍(MT)に包みこまれた個体の腹部

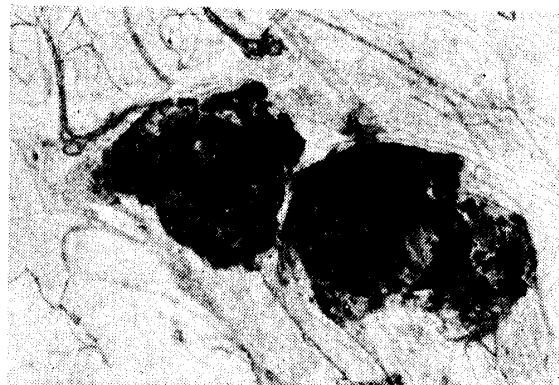


図 4 両方の貯精のう共にメラニン性腫瘍に包みこまれた個体の腹部

むものと思われる(図2~4)。C-104系統に形成される腫瘍は時として貯精のうから離れて、体液中に浮遊する状態で見出されるが、通常貯精のうに付着するか貯精のうを包囲する状態で見つかる。飼育温度の腫瘍形成に与える影響を調べた実験では、C-104系統の雌バエは25°Cで飼育維持され、羽化後3週経過した時点で腫瘍形成の有無が調査された他は、実験Iと全て同じ条件であった。

### 3. 結 果

加齢の影響を調べた実験Iの結果は表1にまとめられている。メラニン腫瘍形成の割合が雌バエが老化するにつれ増加することが示されている。表1にはっきり示されているように羽化直後の雌バエには、腫瘍は全く見出されていない。当然、幼虫や蛹の時期にも腫瘍形成は見られない。羽化後3週経過した雌バエにおける腫瘍形成頻度は個体ベースで29.1%で、この数値は他のメラニン性腫瘍形成系統と比べると、かなり高いと思われ浸透度が高いことがうかがえる。羽化後4週後のハエの調査個体数が74匹と少ないとはいえ、羽化後3週後と4週経過した雌バエの間には腫瘍形成頻度の有意な差はみられなかった。一定期間経過した後は腫瘍形成頻度が減少するかどうかを知ることは大変興味深い。もし、ピーク時を過ぎてから腫瘍形成頻度が減少するのであれば、ある種の個体がメラニン腫瘍形成からのがれることが期待される。もし発生頻度にピークがなく、時間が経過すればするほど頻度が増すのであれば、これらのハエをもっと長生きせられれば、全ての個体が究極的にメラニン性腫瘍をもつことになる。しかしながら実際には29°Cというキイロショウジョウバエにとっては限界的な飼育温度の下では、C-104系統のハエを5週以上維持することは不可能であった。これはこの系統の寿命が特に短いということを示唆するのではない。他のショウジョウバエ系統についても29°Cの下で5週以上維持するのは難しい。

表 1 C-104 系統におけるメラニン性腫瘍形成に及ぼす老化の影響

羽化後の週齢	腫瘍により付着もしくは包囲された貯精のう数						合計	比 I	比 II
	0		1		2				
	n	%	n(A)	%	n(B)	%			
0	162	100.0	0	0	0	0	162	0	0
1	270	83.3	45	13.9	9	2.8 (1.9)	324	0.166	0.097
2	486	72.5	141	21.0	43	6.4 (4.4)	670	0.275	0.167
3	573	69.1	160	19.3	96	11.6 (3.7)	829	0.291 0.309	0.181 0.212
4	74	71.8	24	23.3	5	4.9 (5.4)	103	0.281	0.165

( ) 内の数字は1つの貯精のうにおけるメラニン性腫瘍の形成が他方の貯精のうにおける腫瘍形成とは独立しているという仮定の下における期待値である(本文参照)。比Iと比IIはそれぞれ個体当たり及び貯精のう当たりの腫瘍形成の割合を示すもので、それぞれ、次式により算出される。比I=(A+B)/合計, 比II=(A+2B)/(合計×2)

表 2 C-104 系統におけるメラニン性腫瘍形成に及ぼす温度の影響

飼育温度(°C)	腫瘍により付着もしくは包囲された貯精のう数						計	比 I	比 II
	0		1		2				
	n	%	n	%	n	%			
25	687	97.6	13	1.8	4	0.6	704	0.024	0.015
29	190	70.9	59	22.0	19	7.1	268	0.291	0.181

飼育温度の腫瘍形成に与える影響を調べた実験Ⅱの結果は表2に示されている。成虫期における飼育温度を上昇させると、明らかにこの系統では腫瘍形成個体が増加する。高温が成長、老化を促進し、従って生物の寿命を著しく短くすることは一般に良く知られているから、29°C下で維持された羽化後3週経過した個体は、25°C下で3週間飼育されたハエより実質的により老化していると考えられる(Lamb 1978, Lints 1989)。しかしながら、多くの研究者は高温は普通メラニン性腫瘍形成を減ずると報告している(Ghelelovitch 1968, Hartung & Tillinghast 1949, Mampell 1967, Oftedal 1951)。この点についても、C-104系統の腫瘍は他の系統のものと異なっている。

これらの結果は、老化に伴う環境要因が遺伝的要因と共にC-104における腫瘍形成に関与していることを示している。遺伝的要因が関与していることはこの形質が世代から世代へ受け継がれていること、C-104系統として確立されていることから明らかで、関与する主な遺伝子が第2染色体上に存在していることがKosuda(1993)によって報告されている。

## 4. 論 議

これまでの研究でC-104系統においてメラニン性腫瘍は、雄の成虫では形成されないことが明らかにされている (Kosuda 1990)。しかしながら、雌だけに腫瘍が形成される理由は未だ明らかではない。もしこの場合腫瘍形成におけるメラニン色素沈着を伴う血球細胞の凝集の結果であれば、C-104系統とその後の雌の貯精のう囲胞化の何らかのメラニン性腫瘍の起原として、成虫期における貯精のう表面における性的異常が起っていることが示唆される。

Hashberrger & Taylon (1968) が指摘したとおり、雌成虫の貯精のうを包み囲む腫瘍の存在は、腫瘍の起原をこの器官における異常に帰することが出来るだろう。メラニン色素沈着に伴う血球細胞による雌の貯精のうの血球細胞による囲胞化、血球細胞の凝集と血球細胞による雌の貯精のうの囲胞化は、無脊椎動物における共通な生体防御反応であると考えられる (Rizki and Rizki 1962; Salt, 1970)。

多数の血球細胞の凝集と、それらの多くの血球細胞層から成る厚い包みへの転換は、間違いなく細胞性囲胞化における最も顕著な現象である。このC-104系統における腫瘍は、tu-48系統において Ghelelovich (1959) によって報告されたように、しばしばメラニン色素の沈着した網目状のものから成り立っているように見える。メラニン色素の沈着は、一般に囲胞化に先行する。黒い色素がしばしば囲胞化の後に沈着することが起るけれども、血球の細胞凝集内部に形成されるメラニン色素が、包みこまれた物体を生理的に不活性にすること及びこの事自体は、それほど重要なことではない事は一般に受け入れられている。

1個の貯精のうにおける腫瘍形成が、他のもう一つの貯精のうにおける腫瘍形成と無関係であれば、両方の貯精のう共にメラニン性腫瘍が形成される確率は、1つだけの貯精のうにおける腫瘍形成確率の2乗になる筈である。表2に示された結果はこの仮定を支持しているように思われる。事実、雌成虫の羽化後経過時間に対する比I及び比IIの回帰係数に統計的に有意な差異はみられなかった。

C-104系統に形成されるメラニン性腫瘍は、主として老化した個体に発現されるため、殆んどもしくは全く自然選択を受けていない。これらは、一般に生殖期のピークを過ぎた老化個体に特にみられる老人病、例えばハンチントン氏舞踏病、ガン、糖尿病、老眼、ハゲ頭などに関与している遺伝子は、たとえそれらがその保因者に有害な効果をもっていたとしても、殆んど自然淘汰の対象にならないために、ヒト集団中に高頻度で保有されることが期待される。したがって、老化個体における遺伝的変異性は若い個体におけるそれよりかなり高いことが期待される (Kosuda, 1985)。

この研究に使用されたC-104系統のメラニン性腫瘍は、他の腫瘍とは多くの点で非常に異な

る。C-104の腫瘍は、幼虫期では発現されずに、成虫期にだけ形成される。他の腫瘍の多くは、顕微鏡を使用することなく見出されるが、この腫瘍はその発生初期の段階では顕微鏡を使わないと発見出来ない。また、今回の研究で明らかにされたように、飼育温度が高くなるとメラニン性腫瘍形成頻度が高まることも従来報告されたメラニン性腫瘍とは違っている。更に、他の腫瘍とは異なり、この腫瘍は器官特異性をもちもっぱら雌の貯精のう近傍だけに形成される。組織特異的腫瘍は tu-W 突然変異で、Rizki (1962) によってはじめて報告されたが、器官特異的メラニン性腫瘍は、C-104系統においてはじめて見出された。従って、この腫瘍形成は性特異的でもある。すなわち雌にだけ見られ、理由は未だわかっていないが雄では全く見られていない。

## 5. 要 約

キイロショウジョウバエにおけるメラニン性腫瘍形成に及ぼす老化と飼育温度の影響が、C-104 系統で調べられた。その結果、雌バエが老化するにつれ、腫瘍が形成される割合が高まることが明らかにされた。また、成虫期の飼育温度を 29°C という飼育限界温度に上昇させることにより腫瘍形成率が著しく高まることも示された。これらの結果は、この系統における腫瘍形成に遺伝的要因と共に、老化に伴う環境要因が関与していることを示している。器官特異的なメラニン性腫瘍形成の原因及びC-104系統の腫瘍遺伝子の自然集団中における保有について論議された。

## 引用文献

- Bridges, C. B. 1916 Non-disjunction as a proof of the chromosome theory of inheritance. *Genetics* 1: 1-52.
- Chen, C. C. and B. R. Lawrence 1985 An ultrastructural study on the encapsulation of microfilariae of *Brugia pahangi* in the haemocoel of *Anopheles quadrimaculatus*. *Int. J. Parasitol.* 70: 421-428.
- Collins, F. H., R. H. Sakai, K. D. Vernicks, D. C. Seeley, L. H. Miller, W. E. Collins, C. C. Cambell and R. W. Gwadz 1986 Genetic selection of a Pramodium-refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Science* 234: 607-610.
- Gardner, E. J. and C. M. Woolf 1949 Maternal effect involved in the inheritance of abnormal growth in the head region of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 34: 573-585.
- Gateff, E. 1978 Malignant and benign neoplasms of *Drosophila melanogaster*. In: The genetics and biology of *Drosophila*. (Ashburner, M. and T. R. F. Wright, eds.) Acad. Press, London, Vol. 2 b: 181-276.
- Gateff, E. 1982 Cancer, gene and development: the *Drosophila* case. *Adv. Cancer Res.* 37: 33-74.
- Ghelelovitch, S. 1959 Une tumeur héréditaire de la *Drosophila* (*Drosophila melanogaster* Meig). Etude histologique et discussion générale. *biol. mée.*, Paris 47: 52-97.
- Ghelelovitch, S. 1968 Melanotic tumors in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 31: 263-273.

- Hartung, E. W. and M. G. Tillinghast 1949 The nature of the pigmented sheath in *Drosophila* tumors. *Science* **109**: 565-566.
- Harshbarger, J. C. and R. I. Taylor 1968 Neoplasms in insects. *Ann. Rev. Entomol.* **13**: 159-190.
- Ho, B. C., E. Yap and M. Singh 1982 Melanization and encapsulation in *Aedes aegypti* and *Aedes togoi* in response to parasitization by a filaroid nematode (*Breinlia booliati*). *Parasitology* **85**: 567-575.
- Kosuda, K. 1985 Aging effect on male mating activity in *Drosophila melanogaster*. *Behav. Genet.* **15**: 297-303.
- Kosuda, K. 1990 Ageing and temperature effects on tumour development in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology* **36**: 121-125.
- Kosuda, K. 1991 The tumour formation in *Drosophila melanogaster* females. *Dros. Inf. Serv.* **90**: 123-124.
- Kosuda, K. 1993 Chromosomal assignment of the genetic factor, *tu-91k*, responsible for a melanotic tumour in the *Drosophila melanogaster* adult female. *Genet. Sel. Evol.* **24**: 561-565.
- Lamb, M. 1978 Ageing. In: *The genetics and biology of Drosophila*. (Ashburner, M. and T. R. F. Wright, eds.) *Acad. Press, London*, Vol. 2 b: 181-276.
- Lindsley, D. L. and E. H. Grell 1968 *Genetic variation of Drosophila melanogaster*. *Carnegie Institution, Washington*.
- Lints, F. A. 1989 The rate of living theory revised. *Gerontology* **35**: 36-57.
- Mampell, K. 1967 Genetics and environmental control of melanotic tumours in *Drosophila*. *Genetica* **37**: 449-465.
- Nappi, A. J. 1973 The role of melanization in the immune reaction of larvae of *Drosophila algonquin* against *Pseudeucoila bochei*. *Parasitology* **66**: 23-32.
- Oftendal, P. 1951 Genetics and histogenesis of a new tumour tu (2) 49 k. *Dros. Inf. Serv.* **211**: 122-123.
- Rizki, T. M. 1962 Experimental analysis of hemocyte morphology in insects. *Am. Nat.* **2**: 247-256.
- Rizki, T. M. and R. M. Rizki 1974 Basement membrane abnormalities in melanotic tumour formation in *Drosophila*. *Experientia* **30**: 543-546.
- Russell, E. S. 1942 The inheritance of tumors in *Drosophila melanogaster*, with special reference to an isogenic strain of *st sr* tumor 36 a. *Genetics* **27**: 612-618.
- Salt, G. 1970 The cellular defence reaction of insects. In: *Cambridge Monograph in Experimental Biology*, No. 16, Cambridge University press.
- Sparrow, J. C. 1974 The genetics of some second chromosome melanotic tumour mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res.* **23**: 13-21.
- Sparrow, J. C. 1978 Melanotic 'tumours'. In: *The genetics and biology of Drosophila* (Ashburner, M. and T. R. F. Wright eds.) *Acad. Press, London*, Vol. 2 b: 277-313.
- Stark, M. B. 1919 A benign tumor that is hereditary in *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **5**: 573-580.
- Wilson, L. P. 1924 Two new hereditary tumours in *Drosophila*. *Arth. Path.* **17**: 638-647.