

キイロショウジョウバエの C-104 系統に みられるメラニン性腫瘍の 生存力に及ぼす影響

小須田 和彦

緒 言

ショウジョウバエ等の昆虫類の体内、特に幼虫の体内に生じる黒色あるいは褐色の顆粒は、メラニン色素が沈着しているためメラニン性腫瘍 (melanotic tumour) と総称されている。このメラニン性腫瘍形成はよく観察される現象で、ショウジョウバエを研究する者にとっては大変なじみが深い。Barigozzi (1968) は、その浸透度 (penetrance) は通常 1% 以下と非常に低いものの、実験室で維持されている各種ショウジョウバエの殆んど全ての系統にメラニン性腫瘍形成がみられると述べている。メラニン性腫瘍形成が普遍的現象であるにもかかわらず、その遺伝的研究が充分なされなかった理由は、上述の様に浸透度が大変低く、また表現の程度が強弱非常に変異に富むために、世代から世代に確実に受け継がれていくメラニン性腫瘍形成系統を確立する事が難しい点にあると考えられる。

Bridges (1916) は、キイロショウジョウバエの幼虫の体内に数個の小さな黒褐色の顆粒を生じ、それが増殖して蛹化前に死ぬ系統をはじめて記載した。それ以来、キイロショウジョウバエをはじめとするいくつかのショウジョウバエ等で、メラニン性腫瘍を形成する系統が報告されてきた (Stalk 1919; Wilson 1924; Russel 1942; Gardner and Woolf 1949; Sparrow 1974, 1978; Gateff 1978, 1982)。

メラニン性腫瘍は、一般に体腔内に付着もしくは浮遊する形で存在し、通常 1 個もしくは数個形成される。その形態は種々様々で規則性はみられず、濃い黒色あるいは褐色の物体として見られる。殆んどメラニン性腫瘍は幼虫期、特に蛹化直前の第 3 齢期に発現される。成虫期にみられるメラニン性腫瘍は、非常にその例が少ない。

メラニン性腫瘍形成は、多くの場合メラニン色素沈着を伴う血球細胞の凝集したものと考えられている (Lindsley *et al.* 1968; Salt 1970; Nappi 1973; Ho *et al.* 1982; Chen and

Lawrence 1985 ; Collins *et al.* 1986 ; Ashida and Yamazaki 1990)。血球細胞の凝集，メラニン産生は囲胞化と共に，昆虫類における非自己認識，生体防御反応の一つとみなされる。

筆者が，1986年ハンガリー，ブタペスト近郊の自然集団から見出したC-104系統は，高度な近交系統で，高頻度で雌バエの腹部にメラニン性腫瘍を形成する。これまでの研究から，C-104系統では他の一般的系統とは異なり，第3齢を含む幼虫期には全く腫瘍は形成されずに，羽化後の成虫期に形成されること，雄では腫瘍はみられず，雌だけに形成される限性性がみられること，メラニン性腫瘍は雌の腹部にある2つの貯精のうの片一方又は両方に付着，もしくは貯精のうを包囲する様に形成されるという組織特異性があること，腫瘍形成の初期段階では，メラニン性腫瘍のサイズが小さいため顕微鏡の助けがないとその形成が識別出来ないが，発達するにつれ肉眼でもその存在が外部から判る様になること（図1），雌バエの老化と共に形成頻度が高くなること，飼育温度を通常の25°Cより高温の29°Cにすると形成頻度が増大すること等が明らかにされている（Kosuda 1990, 1991, 1993, ）。以上の点が明らかにされたのは，C-104系統における浸透度が20~30%とメラニン性腫瘍としては大変高かったため，比較的効率良く研究出来たためと思われる。更にKosuda（1993）はC-104系統における腫瘍形成に関与する主要遺伝子が第2染色体に座乗する劣性遺伝子によるものであることを明らかにし，この遺伝子を *tu-91k* と命名している。

今回の研究は，C-104系統におけるメラニン性腫瘍形成が形成個体の適応度，即ち成虫期における生存力に与える影響を調べ，非自己認識，生体防御反応との関連を考えることを目的としている。

実験材料並びに方法

本研究においては，キイロショウジョウバエのメラニン性腫瘍形成突然変異系統であるC-104が使用された。C-104系統は筆者が1986年ハンガリー，ブタペスト近郊のセンテンドレにおける自然集団から抽出した系統で，成虫期の雌バエだけにメラニン性腫瘍を形成する自然突然変異系統で，第2染色体上にメラニン性腫瘍形成に関与する劣性遺伝子 *tu-91k* をホモザイガスに持つものである。

このメラニン性腫瘍は，成虫個体の老化と共に形成頻度が増加し，飼育温度が高温になると老化が促進されるため，29°Cという通常の飼育温度（25°C）より高い飼育温度の下では25°Cの下よりメラニン性腫瘍形成頻度が高くなることが報告されているので，C-104系統の雌バエが29°Cの下で5週間維持された（Kosuda, 1990）。羽化直後の雌バエがコーンミール，砂糖，エビオス入のエサの入った飼育瓶に入れられ，2~3日毎に新しい飼育瓶に移し変えるという方法で，5週間維持された。移し変える際に，死亡している雌バエは一匹ずつショウジョウバエ用リ

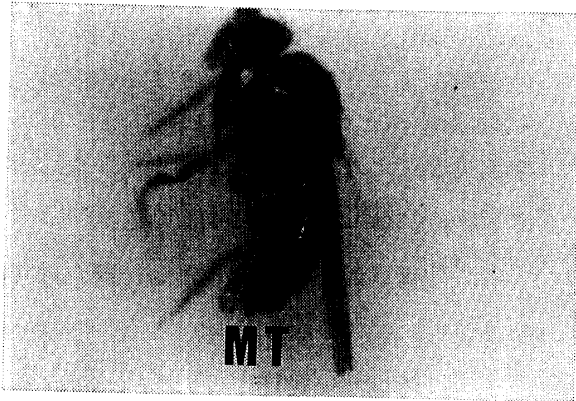


図 1 C-104系統の雌バエの腹部に形成されるメラニン性腫瘍 (MT)

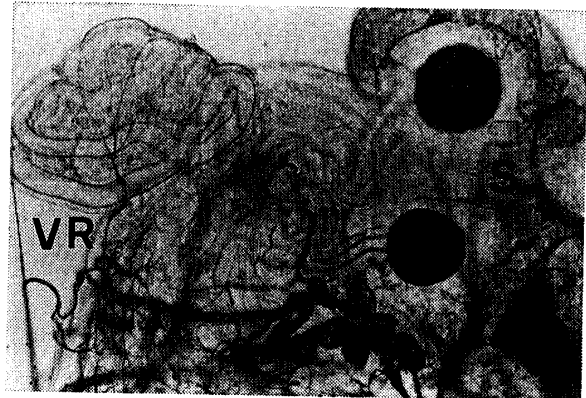


図 2 メラニン性腫瘍をもたない正常個体の腹部 (×400)
S : 貯精のう (spermathecae)
VR : 受精のう (ventral receptacle)

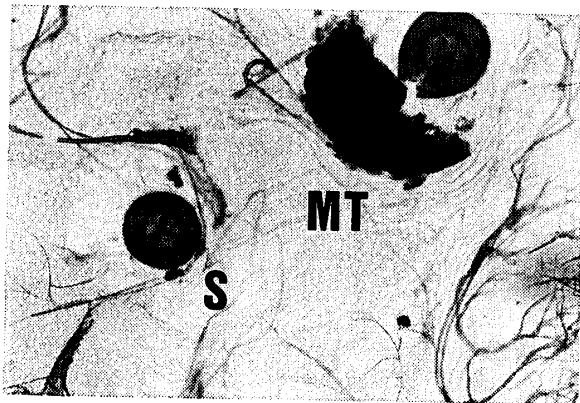


図 3 片方の貯精のうだけがメラニン性腫瘍 (MT) に包みこまれた個体 (×400)
S : 貯精のう

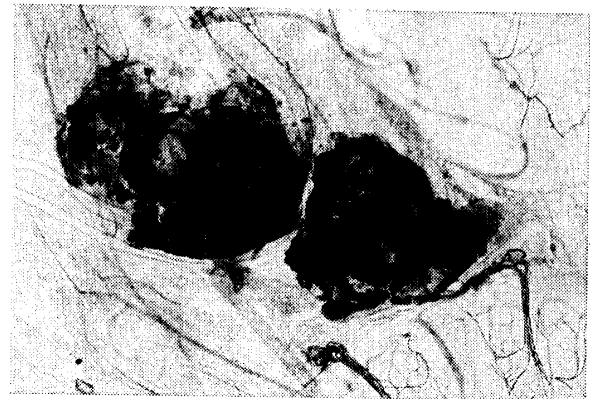


図 4 両方の貯精のう共にメラニン性腫瘍に包みこまれた個体 (×400)

ンゲル液中で解剖され、顕微鏡下で雌の生殖器官の一つである精子を貯える一対の貯精のうの近傍に、メラニン性腫瘍が形成されているかどうか調べられた。C-104系統にみられるメラニン性腫瘍は、時間が経過するにつれその大きさが増大し、その腹部における存在が外部から肉眼でも判るようになるが、その形成初期の段階では顕微鏡を用いて、雌バエの腹部を注意深く観察しなければ見出すことは難しいことが報告されている (Kosuda, 1981 図 1 ~ 図 4 参照)。同時に、生存している雌バエにおけるメラニン性腫瘍の発生頻度も同様に調べられた。こうして実験期間中の死亡個体並びに生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度が比較された。もしメラニン性腫瘍形成が、メラニン性腫瘍をもつ個体の成虫期における生存力に有害効果を及ぼすなら、死亡個体におけるメラニン性腫瘍形成の割合が生存個体におけるそれより高いことが期待される。一方、もしメラニン性腫瘍形成と成虫の生存力が無関係であれば、死亡個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度に差が見られない筈である。

結果及び考察

羽化直後から1週以内、羽化後1週より2週以内、羽化後2週より3週以内、羽化後3週より4週以内、羽化後4週より5週以内の5発生段階における死亡個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度が、それぞれ表1から表5に示されている。腫瘍形成が調べられたのは雌だけで表中の個体数は全て雌の数で示されている。

各表からはっきり判ることは、死亡個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度が明らかに生存個体

表1 羽化後1週以内に死亡した個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度

	腫瘍に包囲もしくは付着された貯精のうの数			計	比 I	比 II
	0	1	2			
	個体数(%)	個体数(%) (A)	個体数(%) (B)			
生存個体	81(100)	0(0)	0(0)	81	0	0
死亡個体	46(97.9)	1(2.1)	0(0)	47	.021	.011

比Iと比IIは個体当たりと貯精のう当たりの腫瘍形成の割合を示すもので、次式により算出される。

$$\text{比 I} = (A + B) / \text{個体数合計} \quad \text{比 II} = (A + 2B) / \text{個体数合計} \times 2$$

表2 羽化後1週後から2週以内に死亡した個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度

	腫瘍により付着もしくは包囲された貯精のうの数			計	比 I	比 II
	0	1	2			
	個体数(%)	個体数(%) (A)	個体数(%) (B)			
生存個体	90(83.3)	15(7.5)	3(2.8)	108	.166	.097
死亡個体	57(70.4)	18(22.2)	6(7.4)	81	.296	.185

表3 羽化後2週後から3週以内に死亡した個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度

	腫瘍により付着もしくは包囲された貯精のうの数			計	比 I	比 II
	0	1	2			
	個体数(%)	個体数(%) (A)	個体数(%) (B)			
生存個体	142(76.3)	34(18.3)	10(5.4)	186	.237	.145
死亡個体	105(53.0)	60(30.3)	33(16.7)	198	.470	.318

表 4 羽化後 3 週後から 4 週以内に死亡した個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度

	腫瘍に包囲もしくは付着された貯精のうの数			計	比 I	比 II
	0	1	2			
	個体数(%)	個体数(%) (A)	個体数(%) (B)			
生存個体	85(63.9)	29(21.8)	9(6.7)	133	.286	.177
死亡個体	112(49.3)	80(35.2)	35(15.4)	227	.507	.330

表 5 羽化後 4 週後から 5 週以内に死亡した個体と生存個体におけるメラニン性腫瘍形成頻度

	腫瘍に包囲もしくは付着された貯精のうの数			計	比 I	比 II
	0	1	2			
	個体数(%)	個体数(%) (A)	個体数(%) (B)			
生存個体	74(71.8)	24(23.3)	5(4.9)	103	.281	.165
死亡個体	44(49.4)	34(38.2)	11(12.3)	89	.506	.315

のそれより高いことである。統計的処理を行なう必要もないほど、死亡個体と生存個体における腫瘍形成頻度が大きく異なっている。このことは、メラニン性腫瘍形成が雌バエの生存力を著しく減少させていること、ひいては個体の適応度に影響を与えている可能性を示している。

表 1 に示されている様に、羽化直後より羽化後 1 週以内の若い雌の生存個体には全くメラニン性腫瘍形成がみられていない。このことは、Kosuda (1991) の結果と一致している。

また、羽化直後から 5 週に至るまで、メラニン性腫瘍形成頻度は、生存個体については個体当たりで 0 から 0.286 に、死亡個体についても 0.02 から 0.507 と増加している。貯精のう当たりの腫瘍形成頻度も、生存個体については 0 から 0.177、死亡個体についても、0.011 から 0.330 に増加している。即ち、死亡個体、生存個体共に時間と共に、言い換えれば老化と共にメラニン性腫瘍形成頻度が増加していることを示している。このことも Kosuda (1991) が指摘していることである。ただし羽化後 4 週より 5 週以内における腫瘍形成頻度は、生存個体、死亡個体共に個体当たりで各々 0.281、0.506 で、羽化後 3 週より 4 週以内の形成頻度、0.286、0.507 と有意な増加はみられない。このことは、腫瘍形成頻度は羽化後 4 週前後でピークに達し、死亡個体では個体当たり 0.5 程度になり、たとえ 29°C という通常の飼育温度 (25°C) より高温の下で 5 週以上寿命を延ばせたとしても、これ以上高い腫瘍形成頻度が得られないことを暗示している。そうであれば、老化と共に全ての雌個体が最終的に腫瘍を持つようにはならず、約半数の個体はメラニン性腫瘍形成には終生無関係であることが考えられる。しかしながら、29°C というキイロショウジョウバエにとっては限界に近い高温下で、5 週間以上、老化した個体を多数維持してこの点を明確

にする実験を続けることは、C-104系統をはじめ他の系統でも不可能に近い。

個々の貯精のうにおける腫瘍形成が、他の貯精のうにける腫瘍形成と無関係であるならば、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つの貯精のうだけにみられる腫瘍形成の頻度の2乗になることが期待される。表1から表5の各表に示された結果は、生存個体、死亡個体両者についてこの仮定を支持している。事実、羽化後経過時間に対する比I及び比IIの回帰係数には統計的に有意な差はみられなかった。

C-104系統におけるメラニン性腫瘍は多くの場合、貯精のうを包み込むいわゆる細胞性囲包化現象 (cellular encapsulation) がみられる (図3, 4参照)。このことから貯精のう表面に何らかの異常が起きていることを考えさせる。何故なら、メラニン性腫瘍はメラニン色素形成を伴なう血球細胞の凝集と考えられ、細胞性囲包化と共に、昆虫をはじめとする無脊椎動物における共通する代表的な非自己認識、生体防御反応であると考えられるからである (Lindsley and Grell 1968; Salt 1970; Nappi 1973; Rizki and Rizki 1974; Ho *et al.* 1882; Chen and Lawrence 1985; Collins *et al.* 1986; Ashida and Yamazaki 1990)。

無脊椎動物における代表的な非自己認識、生体防御反応であるメラニン色素形成を伴なう血球細胞の凝集の産物ともいえるメラニン性腫瘍の形成、並びに貯精のうの囲包化が全て、C-104系統でみられることから、こうした腫瘍形成個体の適応度に好ましい影響をもたらすことが期待される。しかしながら、実験結果は成虫の生存力の低下という反対の結果を示している。このことは、C-104系統では生体防御反応の結果、個体の適応度を増加させているのではなく、個体の適応度の低下を生体防御反応を通して最少に抑えていることが可能性の一つとして考えられる。

実験結果はメラニン性腫瘍形成が、雌バエの生存力を低下させることをはっきり示しているが、成虫の生存力は適応度の一成分にしかすぎないため、適応度全体に及ぼす影響は軽微なものかも知れない。適応度を構成する成分には、この成虫期における生存力の他に、幼虫期における生存力、成長速度、成虫における産卵量、交尾能力等があり、これ等の成分の方が成虫期における生存力より重要な適応度構成成分と考えられる。事実、C-104系統を実験室で維持するのにはさしたる困難はない。

また、C-104系統にみられるメラニン性腫瘍は、個体の老化と共に形成頻度が高まるため、殆んど自然選択を受けていない可能性がある。一般に生殖期のピークを過ぎた老化個体にみられる遺伝病、例えばヒトのハンチントン舞踏病、ガン、糖尿病、老眼、ハゲ頭などに関与している遺伝子は、たとえそれらが発現個体の適応度に好ましからざる影響をもっているとしても、殆んど自然淘汰の対象にならないために、集団中に高頻度で保有されることが考えられる。事実、C-104系統は自然集団から見出されたものである。したがって、老化個体における遺伝的変異そのものが、若い個体におけるそれより大きいことが期待される。実際、Kosuda (1985) はショウジョウバエの雄の交尾能力を用いてこのことを実験的に証明している。

要 約

キイロシヨウジヨウバエにみられるメラニン性腫瘍形成が個体の適応度に及ぼす影響を調べるため、腫瘍形成系統 C-104 を用いて、雌バエの生存力に関して腫瘍形成が与える影響が研究された。羽化後の雌バエを集め、老化を促進するため 29°C という通常より高い温度下に 5 週間維持し、死亡個体と生存個体の腫瘍形成頻度を時間経過と共に追跡した。この結果、各段階で生存個体に比べて死亡個体のメラニン性腫瘍形成頻度が明らかに高かった。このことはメラニン性腫瘍形成が個体の適応度に有害な効果をもつことを示している。

引用文献

- Ashida, M. and H. I. Yamazaki 1990 Biochemistry of the phenoloxidases system in insects: with special reference to its activation. In: Molting and metamorphosis (E. Ohnishi, E. and H. Ishizaki, eds.) Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin.
- 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. Campbell and R. W. Gwadz 1986 Genetic selection of a *Prasmodium*-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.
- 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.
- Lindsley, D. L. and E. H. Grell 1968 Genetic variation of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution, Washington.
- Nappi, A. J. 1973 The role of melanization in the immune reaction of larvae of *Drosophila*

- algonquin* against *Pseudeucoila bochei*. Parasitology 66:23-32.
- 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.
- Stark, M.B. and C.B. Bridges 1926 The linkage relations of a benign tumor in *Drosophila*. Genetics 9:343-362.
- Wilson, L.P. 1924 Two new hereditary tumours in *Drosophila*. Arth. Path. 17:638-647.