

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（A）（一般）

研究期間：2006～2008

課題番号：18207004

研究課題名（和文） 視細胞間結合による波長情報処理と色覚

研究課題名（英文） Wavelength information processing by inter-photoreceptor connection and color vision

研究代表者

蟻川 謙太郎（ARIKAWA KENTARO）

総合研究大学院大学・葉山高等研究センター・教授

研究者番号：20167232

研究成果の概要：

色覚の基盤にある神経機構について、アゲハの色覚系を対象にして解析的実験研究を行った。アゲハ複眼には異なる分光感度をもつ6種の視細胞（紫外・紫・青・緑・赤・広帯域）があり、求蜜行動を指標にした行動学的実験の結果、アゲハはこのうちの紫と広帯域を除く4種を使って色を識別していることを突き止めた。また、視覚二次ニューロンである大単極細胞の膜電位をホールセルパッチ法で記録する方法を確立した。さらに、視葉板への色素注入に基づいて脳葉への視覚情報出力経路を少なくとも18本、同定した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	20,500,000	6,150,000	26,650,000
2007年度	8,900,000	2,670,000	11,570,000
2008年度	8,700,000	2,610,000	11,310,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	38,100,000	11,430,000	49,530,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、動物生理・行動

キーワード：神経行動学、昆虫、視覚系、分光感度、行動、複眼、色覚、視細胞

## 1. 研究開始当初の背景

目から入った光の波長情報が適切に処理されたとき、光は我々に“色”として知覚される。本研究は、この色知覚の基礎にある神経機構を細胞レベルで理解する研究の一環として位置づけられる。研究対象には色を特に重要な情報源として利用しているチョウ類、特にアゲハをモデルとして取り上げた。

アゲハ複眼には分光感度の異なる6種の

視細胞（紫外、紫、青、緑、赤、広帯域）が3タイプの個眼に分かれて分布している。個眼ひとつには9個の視細胞があり、視細胞の分光感度は個眼のタイプによって決まっている。タイプ1個眼には4種（紫外、青、緑、赤）、タイプ2個眼には3種（紫、緑、広帯域）、タイプ3個眼には2種（青、緑）の視細胞が含まれる（図1）。

視細胞の軸索は複眼から視覚中枢へと伸びる。第1次視覚中枢である視葉板では、

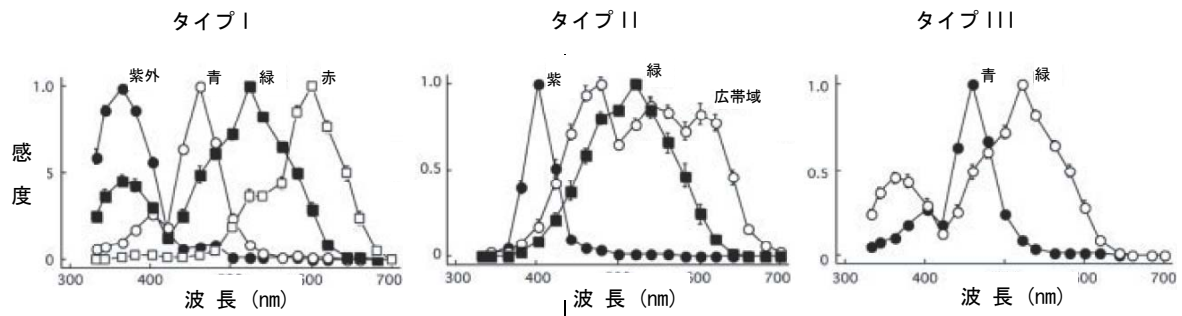


図 1. 3 タイプの個眼に含まれる視細胞の分光感度

ひとつの個眼に由来する 9 個の視細胞と数個の視覚 2 次ニューロン (Large Monopolar Cell, LMC) がカートリッジと呼ばれるモジュールを形成している。視細胞はカートリッジ内で LMC とシナプスを形成し、情報を LMC に伝達していると考えられる。シナプス結合のパターンを解明する為に、視葉板の連続切片を電子顕微鏡で丹念に観察したところ、視葉板では視細胞と LMC の結合のほかに、視細胞同士も非常に多くのシナプス様結合で接している様子が確認された。1 個眼に含まれる 9 個の視細胞のうち結合を形成する視細胞の組合せは決まっており、しかもその組合せは個眼タイプによって違いがあることも分かった。

これまで複眼に関する詳細な解析は主としてショウジョウバエやミツバチで進められて来たが、いずれの先行研究においても個眼の多様性は想定されておらず、従って、視葉板での神経回路の違いもまた全くの想定外であった。視葉板神経回路の個眼多様性は、おそらくアゲハの色覚システムと深い関係がある。本研究はこのような背景のもと、色覚の基礎にある神経メカニズムを総合的に解明することを目的に計画されたものである。

## 2. 研究の目的

視細胞間結合は、視細胞の分光感度に強く影響する筈である。もし分光感度の異なる視細胞が抑制的に結合していれば、視細胞レベルで反対色性の情報が生じている可能性もある。従って、視葉板での現象を正確に把握することは、色覚機構の解明に不可欠である。本研究ではこの点を軸に、① LMC 分光感度の解析、②色覚系入力視細胞の行動学的同定、③視葉出力経路の解剖学的同定の 3 項目について、焦点を絞った実験的研究を行なった。①は生理学、②は行動学、③は解剖学の手法による研究で、色

覚機構の実体についてバランスのよい理解を進めることを特に意識した計画である。

## 3. 研究の方法

### ① LMC 分光感度の解析

LMC は視細胞の脱分極に伴って過分極性電位を発生する。ここでは LMC にガラス微小電極を刺入する細胞内記録法と、LMC 表面に比較的太い電極を接触させるホールセルパッチ法を適用した。刺激にはキセノン光源と干渉フィルターで作った単色光を、300-700nm の範囲にわたっておよそ 20 nm 間隔で与え、光刺激によって誘発される電位応答を記録した。ホールセルパッチ法を導入することで、記録の安定性は飛躍的に増大した。

### ② 色覚系入力視細胞の行動学的同定

アゲハ複眼には、紫外・紫・青・緑・赤・広帯域の 6 種の色受容細胞 (分光感度の異なる視細胞) が存在する (図 1 参照)。このうちの視細胞が色覚系に関与しているかを、波長弁別能を行動学的に測定することによって推定した。波長弁別能の測定にあたり、まずアゲハを分光器で作った単色光の上で求蜜するように学習させ、ついで学習波長とテスト波長を並べて提示した。学習波長に向かって口吻を伸ばして蜜を吸おうとする行動を記録、アゲハが弁別できる波長差を、さまざまな学習波長で決定した。

### ③ 視葉出力経路の解剖学的同定

視葉の各所にデキストラン・ニューロビオチンの結晶を入れ、当該箇所分布する神経細胞に薬剤を取り込ませた。その後脳を振動刃マイクロトームで 30  $\mu$  に薄切してニューロビオチンを HRP で発色、神経細胞の脳における投射部位を同定した。

## 4. 研究成果

### ① LMC 分光感度の解析

光照射に対して LMC は過分極性の電位変化で応答した(図 2)。光強度が強いとき、応答開始から最大応答まで 2-5 ms 程度であった。

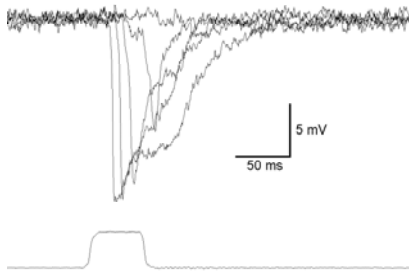


図 2. 光照射に対する 2 次ニューロン (LMC) の応答。光強度が強いのほど潜時は短い。

この反応をもとに分光感度を測定した結果、1) 広い波長域に感度を示すもの、2) 紫外以外の広い波長域に感度を示すもの、3) 紫外と青から緑の波長域に感度を示すものの 3 タイプに分けられた(図 3)。これらの感度と 3 つの個眼タイプに含まれる視細胞の分光感度とを比較した結果、上記 1) ~ 3) はそれぞれタイプ I、II、III の個眼に含まれる視細胞からそれぞれ同じ極性の入力を受けていると考えたと説明できることがわかった。

2 次ニューロンの細胞内応答を記録すると同時にニューロビオチンを注入して細胞内染色した。2 次ニューロンは形態から 4 つに分けられることが報告されている。上記 3 タイプの 2 次ニューロンの分光感度と形態を比較したところ、明確な対応は未だみられていない。細胞内にニューロビオチンを注入すると、形態は違うが同一のカートリッジに属する複数の 2 次ニューロンが

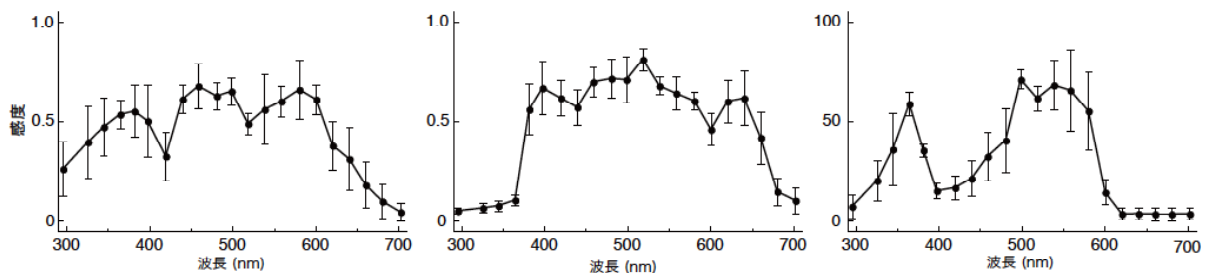


図 3. 2 次ニューロン (LMC) の分光感度。a は広い波長域に感度を示す (n=4)。b は紫外以外の広い波長域に感度を示す (n=6)。c は紫外と青から緑の波長域に感度を示す (n=4)。

染まる場合が多い。そのため、これらの 2 次ニューロンがカートリッジ内でカップリングしている可能性も考えられた。この可能性は引き続き検証している。

### ② 色覚系入力視細胞の行動学的同定

特定波長の単色光上で吸蜜するように学習させたアゲハに、学習波長とテスト波長とを同時に提示、波長識別能を広い波長範囲で測定した。その結果、430、480、560 nm 付近でアゲハはわずか 1 nm の波長差を識別できることが分った。

この結果を Noise-limited color opponency model で解析した。モデルに全てのタイプの視細胞 (紫外・紫・青・緑・赤・広帯域) を入れると、特に短波長側で実験結果と大きくずれること、紫と広帯域を除くと実験結果とうまく合ことが分った(図 4)。このことから、求蜜行動中のアゲハの色覚は、紫外・青・緑・赤の 4 色性であることが推察される。

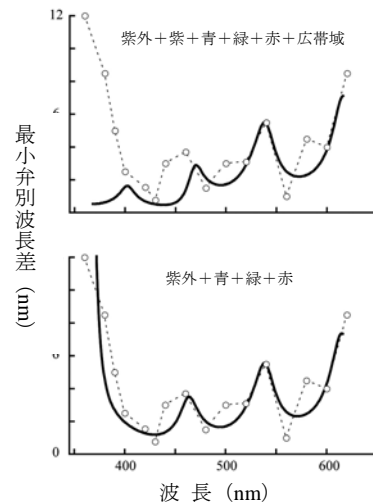


図 4. アゲハ求蜜行動の波長弁別能。6 種全てが関わっているとすると、モデル (太線) は実験結果 (点線) と合わない (上)。紫と広帯域を除くとよく合う (下)。

### ③視葉出力経路の解剖学的同定

視葉にデキストラン・ニューロビオチンを注入した結果、多くの領域に向かってあわせて 18 本の神経束が視覚情報を脳葉内に送り込んでいることが分った。とくに注目すべきはキノコ体 (MB) と前方視覚球 (AOTu) である (図 5)。

MB への視覚情報の入力には真社会性昆虫で報告があるがあるが、単独性の昆虫では初めて同定された。しかもアゲハの視覚経路は他に比べてかなり大きい。この経路は、視髄と視小葉由来である (図 3 a)。社会性昆虫では、MB 内で視覚と嗅覚情報の統合や学習が起こると考えられている。チョウ類も視覚と嗅覚情報の両方を使って訪花対象を決定するので、この領域で両方の感覚情報が統合されていると考えられる。

AOTu へもやはり、視髄と視小葉由来の神経が投射する。AOTu 神経の一部はさらに高次の中心体複合体へ伸びる。この投射様式はハエ、サバクトビバッタと同様である。中心体複合体は、異なる感覚情報が入力し、感覚の統合と運動制御に関わっている。つまり、中心体複合体へ入力する AOTu は、異なる視覚情報同士を統合する機能を担っていると考えられる。

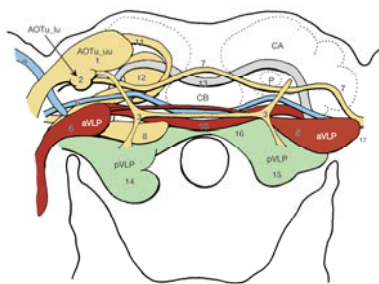


図 5. 脳内視覚情報経路. 18 の経路は視葉中の対応部位によって 5 系に分かれる。I) 視髄系 (青)、II) 視髄・視小葉板系 (緑)、III) 視髄・視小葉系 (黄)、IV) 視小葉板系 (灰)、V) 視小葉系 (赤)

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 18 件)

1. Kinoshita M, Takahashi Y, Arikawa K (2008) Simultaneous color contrast in foraging swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. *Journal of Experimental Biology*, 211:3504-3511 (査読有)
2. Stavenga DG, Arikawa K (2008) One rhodopsin per photoreceptor – Iro-C genes break the rule. *PLoS Biology*, 6:675-677. (査読有)
3. Koshitaka H, Kinoshita M, Vorobyev M, Arikawa K (2008) Tetrachromacy in a butterfly that has eight spectral classes of visual photoreceptors. *Proceedings of Royal Society of London B*, 275:947-954. (査読有)
4. Kinoshita M, Pfeiffer K, Homberg U (2007) Spectral properties of identified polarized-light sensitive interneurons in the brain of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Experimental Biology*, 210: 1350-61 (査読有)
5. Takemura S, Stavenga DG, Arikawa K (2007) Absence of butterfly eye shine and tapetum in Anthocharidini (Pieridae). *Journal of Experimental Biology*, 210:3075-3081. (査読有)
6. Stavenga DG, Arikawa K (2006) Evolution of color and vision of butterflies. *Arthropod Structure and Development*, 35:307-318 (査読有)
7. Takeuchi Y, Arikawa K, Kinoshita M (2006) Color discrimination at the spatial resolution limit in a swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. *Journal of Experimental Biology*, 209:2873-2879 (査読有)
8. Kinoshita M, Kurihara D, Tsutaya A, Arikawa K (2006) Blue and double-peaked green receptors depend on ommatidial type in the eye of the Japanese yellow swallowtail *Papilio xuthus*. *Zoological Science*, 23:199-204

(査読有)

9. Stavenga DG, Foletti S, Palasantzas G, Arikawa K (2006) Light on the moth-eye corneal nipple array of butterflies. *Proceedings of Royal Society of London B*, 273:661-667 (査読有)
10. Takemura S, Arikawa K (2006) Ommatidial type-specific inter-photoreceptor connections in the lamina of the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* *Journal of Comparative Neurology*, 494:663-672 (査読有)

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 岡村純也, 川崎雅司, 木下充代, 蟻川謙太郎: ナミアゲハ成虫視葉板における視覚二次ニューロンの分光感度. 日本動物学会第 79 回大会 2008 年 9 月, 福岡大学 福岡
2. Kinoshita M, Yamazato K, Arikawa K: Do *Papilio* butterflies see polarized light as color or brightness? International Conference on Invertebrate Vision, August 2008, Baekaskog Castle, Sweden.
3. 柴崎弘道、岡村純也、木下充代、蟻川謙太郎: ナミアゲハ視覚中枢における長視細胞の形態. 日本動物学会第 78 回大会 2007 年 9 月, 弘前大学 弘前
4. Kinoshita M, Arikawa K: Identification of the neuronal pathway of visual information in the brain of the *Papilio* butterfly. The 8th International Congress of Neuroethology, July 2007, UBC, Vancouver Canada.
5. Arikawa K, Iwanaga T, Wakakuwa M, Kinoshita M: Temporal expression pattern of opsin mRNAs in developing eye of the butterfly *Papilio xuthus*. The 8th International Congress of Neuroethology, July 2007, UBC, Vancouver Canada.
6. 柴崎弘道, 木下充代, 蟻川謙太郎: ナミアゲハ複眼における個眼間角度と視細胞受容角および空間分解能. 日本動物学会第 77 回大会 2006 年 9 月, 鳥取大学 松江

7. 岩永知幸, 若桑基博, 木下充代, 蟻川謙太郎: 蛹期のナミアゲハ個眼における視物質発現と感桿形態形成. 日本動物学会第 77 回大会 2006 年 9 月, 鳥取大学 松江
8. 若桑基博, 蟻川謙太郎: ミツバチ複眼の部域による色受容細胞分布の特異性. 日本動物学会第 77 回大会 2006 年 9 月, 鳥取大学 松江

〔図書〕(計 18 件)

1. 木下充代: 偏光を見分ける一定位行動における偏光と色の融合感覚. いろいろな動物の感覚 (江口英輔・蟻川謙太郎編) 学会出版センター, 印刷中
2. 蟻川謙太郎 (2009) 複眼という眼. 見える光, 見えない光: 動物と光のかかわり (寺北明久・蟻川謙太郎編), 共立出版, 57-77
3. 木下充代 (2009) 昆虫の見る世界. 見える光, 見えない光: 動物と光のかかわり (寺北明久・蟻川謙太郎編), 共立出版, 78-95
4. 蟻川謙太郎 (2008) 視覚と光受容. 昆虫ミメティクスハンドブック (下澤楯夫・針山孝彦編) NTS出版, 273-283
5. 蟻川謙太郎 (2008) 昆虫一次視覚中枢における波長情報処理機構—アゲハ色覚の神経行動学的研究. ブレインサイエンス・レビュー2008. 199-223.
6. 蟻川謙太郎 (2008) 昆虫に世界はどう見える? 昆虫の脳 (山口恒夫編) 技術評論社, 219-251.
7. 木下充代・蟻川謙太郎 (2007) アゲハチョウが見ている色の世界. Butterflies, 45. 日本蝶類学会, 23-30
8. 蟻川謙太郎 (2007) 視細胞の分光感度. 生物物理学ハンドブック (石渡他編) 朝倉書店, 433-435.

〔新聞報道〕(計 4 件)

1. チョウの目に迫る. 生き物とともに. 朝日新聞 2007.1.17

2. アゲハチョウの見る世界. かがく Café. 日本経済新聞 2007.8.12
3. アゲハの色覚 4原色. 日本経済新聞 2008.1.30
4. アゲハチョウ 色覚は4原色. 読売新聞 2008.2.4.

[招待講演(研究代表者分、国際会議のみ)]  
(計 21 件)

1. The color vision system in butterflies. “IBRO-ANS Advanced Neuroscience School”, January 2009, Australian National University Kioloa Campus, NSW, Australia.
2. Retinal organization and color vision in a butterfly, *Papilio xuthus*. “Symposium: Senses and Behavior. International Conference on Sensors and Sensing in Biology and Engineering”. October, 2008, Cetraro (Calabria) Italy
3. Retinal organization, color vision and evolution in butterflies “International Seminar: Evolutionary Studies in Behavioral Neuroscience”. June 2008, Shonan Village Center, Hayama, Japan
4. Color and polarization vision of a swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*. Polarization Conference: New directions in research on polarization of light. June 2006, Heron Island, Australia
5. Retinal properties underlying butterfly color vision. “Symposium: Visual ecology” The 5<sup>th</sup> International conference on the Biology of Butterflies, July 2007, Rome Italy
6. Visual system of *Papilio* butterfly. “Symposium: *Drosophila* and beyond: New dimension of insect biology” The 8<sup>th</sup> Meeting of Japan *Drosophila* Research Conference, July 2007, Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo.
7. Color vision and eye organization in butterflies. Interdisciplinary Sensory Systems Workshop “Invertebrate Color Vision” October 2006, University of

Virginia, Charlottesville, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

蟻川謙太郎 (総合研究大学院大学・葉山高等研究センター・教授)

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

木下充代 (総合研究大学院大学・葉山高等研究センター・助教)

岡村純也 (総合研究大学院大学・葉山高等研究センター・上級研究員)

### (4) 海外研究協力者

Doekele G Stavenga (オランダ・フロニンゲン大学・生物物理学部・教授)

Uwe Homberg (ドイツ・マールブルグ大学・生物学部・教授)

Masashi Kawasaki (アメリカ・バージニア大学・生物学部・教授)