

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06417

研究課題名(和文) 学習行動における進化生物学的研究

研究課題名(英文) evolution and learning

研究代表者

岡田 賢祐 (Okada, Kensuke)

岡山大学・環境生命科学学域・准教授

研究者番号：40550299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：行動の変化が神経伝達物質(生体アミン類)によって左右されることを特定した。またその変化によって、本種の行動にも大きく変化することがわかった。その行動を具体的に上げると、闘争行動、分散行動、繁殖行動と歩行活動である。これら行動形質は本種の適応度に大きく寄与するものである。また神経伝達物質は記憶と密接な関係があり、本種の学習に影響を及ぼすことが考えられる。また量的遺伝学的解析から、本種の学習行動には遺伝的な基盤があり、これら結果は専門の国際誌に掲載された。現在ではオオツノで記憶制御に関する候補遺伝子を発見しつつある。つまり探索した遺伝子の塩基配列の違いをシーケンズ解析により明らかにしている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の特色・独創性の1つは、汎用性の高さにある。学習という現象は昆虫から人間まで様々な生き物で見られる。記憶を司るメカニズムは幾分解明されており、脊椎動物と無脊椎動物の間で相同性が高く、オオツノを使った実験結果を、様々な生物に置き換えることができる。これまでに、生態学的背景が明らかでない種において、記憶・学習の至近的メカニズムの検証を目的とした研究は少なく、その反対もまた同様である。従って、生物一般に見られる学習の進化を考える上で、究極・至近的要因を突き止めることが不可欠にも関わらず、これを検証した研究はない包括的に研究を進めることで、これを可能とする優れたモデルであることを証明できた。

研究成果の概要(英文)：We identified that changes in behavior are influenced by neurotransmitters (biogenic amines). We also found that the changes in the behavior of this species are also significantly affected by the changes in the neurotransmitters. Specifically, these behaviors include fighting, dispersal, reproduction, and walking. These behavioral traits contribute significantly to the adaptability of the species. Neurotransmitters are also closely related to memory and may influence learning in this species. Quantitative genetic analyses indicate that there is a genetic basis for the learning behavior of this species, and these results have been published in specialized international journals. Currently, we are discovering candidate genes for memory regulation in the bighorn. In other words, we are clarifying the differences in the sequences of the genes we have searched for by sequencing analysis.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：進化生態学

キーワード：生態学

1. 研究開始当初の背景

生物は過去の経験を脳に記憶し、次の機会で行動を変えること、つまり学習することが分かっている。記憶・学習行動はここ 10 数年の間における重要な研究トピックの 1 つであった。マウスやキイロショウジョウバエをモデルとした分子生物学的なアプローチから、生物の記憶メカニズムに関する研究が盛んに行われた結果、至近的メカニズムに関する研究は非常に多い(例えば、神経回路の修飾や神経伝達物質の解明など)。しかし、これまでの学習・記憶に関する研究では、学習効果はその個体にどのような利益をもたらすかという視点が欠けている。その理由は、対象とした行動や形質が個体の適応度に直結しておらず、生態学的視点が全くないからである。従って、その生態学的な意義を問うことで、学習行動の進化の解明につながるのではないかと、研究代表者は考えた。

2. 研究の目的

上記したように、生物は、過去の経験を記憶し、学習する。記憶・学習の至近的なメカニズムを扱う研究は多いが、その中で学習行動と個体の利益に焦点を当てた研究はない。本研究では、他個体との接触経験を記憶できる甲虫を材料に、学習行動が個体に利益を齎すかどうか、生態学的手法を用い、明らかにする。同時に、RNA 干渉法など分子生物学的手法を駆使し、記憶を司るメカニズムを調べる。得られた結果を互いに補完し、マクロからミクロレベルの視点で学習行動の進化の解明を目指す。

3. 研究の方法

本研究で材料とするオオツノコクヌストモドキ(以下、オオツノ、図 1)では、過去の闘争経験によって行動が修飾されることがある。一般的には、前の対戦の勝者は次の対戦の勝率が高くなり、敗北経験はその逆になる。この現象は多くの分類群で観察されているが、オオツノのオスでは敗北から 4 日間、勝率が下がることがわかっている。これは敗北経験によってオスの行動が、闘争から分散行動に 4 日間スイッチするからである。なぜなら、オオツノはテリトリーを保持してライバルに駆逐し、メスと交尾をすることがわかっており、負けたオスは、その場においてもメスを得る機会はない(図 2)。戦いの失敗のコスト、ライバルのいない新しい縄張りを探すために分散する必要があるからである。敗北経験を記憶している間は戦わないので、その結果、勝率が下がると考えられている。この実験結果から、敗北経験からオスは自分を弱くと学習し、戦わないのかもしれない。この学習の効果は 4 日間であり、それを過ぎると忘れる。この 4 日という発見で、生態学、量的遺伝学や神経生理学のアプローチによる興味深い実験の計画が可能である。



図 1 オオツノコクヌストモドキのオス

またすでに記憶時間の変異を遺伝学的に操作できる。加えて、経験に基づく学習効果と適応度の関係を明らかにでき、そしてゲノム解読の終了したモデル生物の近縁種なので、学習に参与する遺伝子の探索が容易である。従って、意思決定の生態学の解明に向けて常に世界を一步リードできるという大きなメリットがある。オオツノのオスはナワバリをめぐる闘争で一度負けを経験すると 4 日間決して戦わない。5 日後から闘争本能は復活する。研究代表者はすでに数世代の間、4 日未満に他オスと対戦してしまう (= 3 日で敗北の記憶が消える) 個体の人為選抜によって、記憶時間が 24 時間も異なる系統の分離に成功しつつある。これは、本種の記憶・学習能力に遺伝的な基盤があることを意味する。

加えて、本種のオスは揮発性のフェロモンと体表の炭化水素を信号物質として用い、他個体と意思疎通を行うことが分かっている(Lane et al. 2015)。また、神経伝達物質である生体アミンが学習・記憶と関わりがあることがわかってきた。従って、闘争時の物理的なダメージと触角を介した匂い刺激、もしくは生体アミンの発現量などが、本種の学習行動のカギであると考えられる。

本研究では、すでに闘争と交尾様式、その背景となる配偶システムが明らかとなったオオツノをモデルとする。キイロショウジョウバエやマウスでは遺伝的基盤の研究が行われているが、これ



図2 オオツノコクヌストモドキのオスの戦い

異なるオオツノの系統を作成しつつ、学習・記憶に関してマウスとハエにおいてすでに作用がわかりつつある遺伝子(匂い学習：cAMP シグナルに依存する遺伝子群・闘争学習：各種アミンレセプターなど)の機能を調べ、候補となる遺伝子群を探索する。次に、探索した候補遺伝子について RNA 干渉実験で作成した個体の闘争や配偶行動を生態学的視点から観察し、オスの適応度を精査する。その結果から、候補遺伝子による学習行動への影響やそれに伴う適応度の増加を明らかにする。

4. 研究成果

最初に行動の変化が神経伝達物質(生体アミン類)によって左右されることを特定した。またその変化によって、本種の行動にも大きく変化することがわかった。その行動とは、闘争行動、分散行動、繁殖行動と歩行活動である。これら行動形質は本種の適応度に大きく寄与するものである。また神経伝達物質は記憶と密接な関係があり、本種の学習に影響を及ぼすことが考えられる。

もう少し具体的に言うと、生体アミンの1つであるオクトパミンの発現量がオスの闘争行動と求愛行動を低下させる一方で、分散行動を増加させることがわかった。このことは複数の行動様式がオクトパミン神経系によって調整されていることがわかった。私の知る限りでは、本研究は甲虫の闘争行動のアミン作用性基盤を明らかにした初めての研究である。なお、この結果は、上記した「敗北経験によってオスの行動が、闘争から分散行動に4日間スイッチする」という結果に類似しており、本種の敗北経験による学習行動はオクトパミン神経系に大きく関与するようである。

また量的遺伝学的解析から、本種の学習行動には遺伝的な基盤があり、これら結果は専門の国際誌に掲載された。繰り返しになるが、オオツノのオスはナワバリをめぐる闘争で一度負けを経験すると4日間決して戦わない。5日後から闘争本能は復活する。研究代表者は10世代の間、4日未滿に他オスと対戦してしまう(=3日で敗北の記憶が消える)個体の人為選抜によって、記憶時間が24時間も異なる系統の分離に成功した(図3)。また、この選択実験により、本種の闘争行動、分散行動、繁殖行動と歩行活動に大きく影響した。これらの形質は適応度に大きく寄与するものであり、学習行動の進化は個体の利益に大きく作用することがわかった。加えて、現在ではオオツノで記憶制御に関する候補遺伝子を探索し、発見しつつある。つまり探索した遺伝子の塩基配列の違いをシーケンス解析により明らかにしている。有意なアミノ酸配列が検出された遺伝子において、RNA干渉法を行い、記憶・学習行動に関与するか調査を行った。その結果のほとんどは、国際誌に掲載予定である。

本研究の特色・独創性の1つは、汎用性の高さにある。学習という現象は昆虫から人間まで様々な生き物で見られる。記憶を司るメカニズムは幾分解明されており、脊椎動物と無脊椎動物の間で共通性が高く、オオツノを使った実験結果を、様々な生物に置き換えることができる。これまでに、生態学的背景が明らかでない種において、記憶・学習の至近的メカニズムの検証を目的とした研究は少なく、その反対もまた同様である。従って、生物一般に見られる学習の進化を考える上で、究極・至近的要因を突き止めることが不可欠にも関わらず、これを検証した研究は非常に少ない。研究代表者は両方の視点から研究を遂行し、この生態学が抱える問題を解消したいと考えている。本研究は単に仮説を検証するだけでなく、生物学間にあるギャップを取り除くとともに、マルチレベルで生物の進化動態を明らかにするモデルケースになると位置づけられる。そして、

らモデルは生態学的な視点が欠落している。一方でオオツノは、上記のとおり、学習効果と適応度の関係が明らかであり、かつゲノム解読が終了したコクヌストモドキの近縁種である。コクヌストモドキは、RNAi の効果が確認されていることや全ゲノムの解読がされるなど、分子発生学のモデル甲虫である。従って、コクヌストモドキの遺伝子の機能解析の様々なプロトコルをオオツノに応用できる。分子発生学的研究の展開が期待でき、学習遺伝子の探索などが容易である。

本実験の大筋は、コクヌストモドキのゲノム情報や RNA 干渉実験などの遺伝子解析ツールを活用し、分子生物学的アプローチから至近メカニズムの解析を行い、解析によって得られた分子基盤が学習行動の進化にどのような関係があるかを調べることである。記憶力の

このように包括的に研究を進めることのできたので、オオツノが優れたモデルであることを証明できたとも考えられる。

予想される研究結果と意義としては、記憶・学習の遺伝基盤とその適応度に関する研究は、世界的にみても例がなく、世界をリードする研究になりうると申請書に記載した。実際に、関連業績がNatureの姉妹紙に掲載された。従って、これは研究代表者が示した研究が国際的に大きな評価を得たことを意味している。従来、学習行動は生物の適応進化を理解するための概念にもかかわらず、どのように個体や個体群に影響を及ぼすか調べた研究は極めて少ない。本研究で学習行動と適応度の関係を明らかにでき、学習行動が高次レベルの生態学に重要な役割を国内外の研究者に啓蒙できたと考えられる。

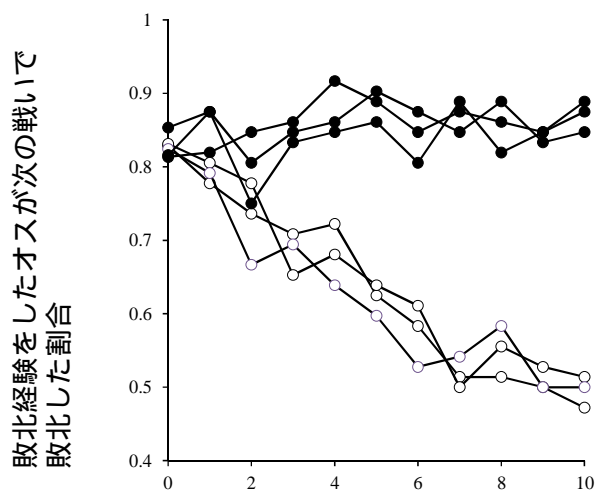


図3 敗北経験を4日以内に忘れるオスの選抜結果。は無選抜系統、は選抜系統。敗北した割合が0.5だと、敗北経験によって、次の対戦の勝率が下がり、敗北経験による行動の修飾（学習効果）がないことを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Okada Kensuke, Katsuki Masako, Sharma Manmohan D., Kiyose Katsuya, Seko Tomokazu, Okada Yasukazu, Wilson Alastair J., Hosken David J.	4. 巻 12
2. 論文標題 Natural selection increases female fitness by reversing the exaggeration of a male sexually selected trait	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-23804-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kiyose Katsuya, Katsuki Masako, Suzaki Y, Okada Kensuke	4. 巻 76
2. 論文標題 Female remating decisions and mate choice benefits in the beetle <i>Gnatocerus cornutus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00265-022-03161-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kiyose Katsuya, Katsuki Masako, Suzaki Y, Okada Kensuke, Okada Yasukazu	4. 巻 131
2. 論文標題 Octopaminergic system orchestrates combat and mating behaviors: A potential regulator of alternative male mating tactics in an armed beetle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Insect Physiology	6. 最初と最後の頁 104211 ~ 104211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinsphys.2021.104211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kiyose Katsuya, Okada Yasukazu, Katsuki Masako, Suzaki Y, Okada Kensuke	4. 巻 46
2. 論文標題 Sexually selected traits and life history traits of larger and smaller males of the horned flour beetle <i>Gnatocerus cornutus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecological Entomology	6. 最初と最後の頁 807 ~ 815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/een.13016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada K, Katsuki M, Kiyose K, Okada Y	4. 巻 74
2. 論文標題 Older males are more competitive in male fights and more aggressive towards females in the broad-horned flour beetle <i>Gnathocerus cornutus</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00265-020-2815-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kensuke Okada, Yu; Suzaki, Rikiya Sasaki, Masako Katsuki	4. 巻 154
2. 論文標題 Mating experience induces females to avoid harmful males in the beetle <i>Lasioderma serricorne</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Animal Behaviour	6. 最初と最後の頁 39-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anbehav.2019.06.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kensuke Okada, Yasukazu Okada, Sasha R. X. Dall, David J. Hosken	4. 巻 286
2. 論文標題 Loser-effect duration evolves independently of fighting ability	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc. R. Soc. B	6. 最初と最後の頁 20190582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rspb.2019.0582	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasukazu Okada, Masako Katsuki, Naoki Okamoto, Haruna Fujioka, Kensuke Okada	4. 巻 17
2. 論文標題 A specific type of insulin-like peptide regulates the conditional growth of a beetle weapon	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 e3000541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3000541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------