

平成21年 5月22日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19570070

研究課題名（和文） 昆虫の能動的触覚情報と自己移動情報による空間行動

研究課題名（英文） The roles of active tactile sense and egocentric locomotor information in the spatial behavior of insects

研究代表者

岡田 二郎（OKADA JIRO）

長崎大学・環境科学部・准教授

研究者番号：10284481

研究成果の概要:本研究は、昆虫の空間認知と空間行動の神経機構の解明をめざして実施され、以下の成果を得た。①小規模な閉鎖環境におけるコオロギの空間選択行動について、既知の結果に基づき、より詳細で定量的な解析結果が得られた。②自由歩行する動物から脳ニューロン活動を記録しつつ、体の位置および方向を高頻度で同時記録できる実験装置（行動-神経活動計測システム）の開発に成功した。③同システムを用いて、行動と脳ニューロンの活動様式の関係について明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：行動科学・昆虫・触覚・空間行動・空間認知

1. 研究開始当初の背景

動物が周囲の空間をいかに知り、自身をいかに目標へ導くのか、という空間認知と空間行動の問題は古くから心理学分野で扱われ、この数十年間では神経科学の場においても広く議論され続けている。動物実験による空間認知は目標への移動、すなわちナビゲーションを指標として調べられることが多い。ナビゲーションには動物が現在知覚可能なランドマークに対して定位するものと、既に獲得した空間記憶（いわゆる認知地図）をもと

に知覚可能なランドマークを手がかりにしてゴールへの経路を計算するものに大別される。

空間行動で用いられる感覚手段は様々であるが、視覚にあまり依存しないで空間行動を遂行する夜行性動物などでは、ランドマーク自体がもつ匂いや触感も重要な情報となりうる。しかし外的情報が乏しい環境下では自己の体移動の感覚情報（ここでは自己移動情報と呼ぶ）が極めて重要な意味をもつようになる。

代表者は以前より昆虫の触角（アンテナ）による能動的な触覚について、行動観察をもとにその神経機構を調べてきた。アンテナは夜行性昆虫でよく発達しており、探索歩行時にはその活発な運動が見られる。一般に触覚は手に取るような比較的小さな物体の形状やテクスチャの感覚と見なされることが多い。しかし動物は触覚を手がかりに周囲を探りながら移動することで自身が置かれた物理環境を知ることができる。すなわち能動的触覚情報と自己移動情報を時系列的に取得しながら、空間を認知する（認知地図を生成する）ことができる。

また代表者は、盲目コオロギを異なる曲率の壁で囲まれたアリーナ内に置くと、最も曲率が大きな（つまり狭い）壁周辺に滞在する時間が有意に長いことを本研究着手直前に見出した。この現象は、コオロギがアリーナ内を探索した結果、相対的に最も狭い場所を認知したことを示唆している。またこの傾向は、主要な触覚器官であるアンテナを切除後も残るため、アンテナからの情報と同時に自己移動情報の関与も考えられる。さらに円形壁面の内部に向かって開口する形状の異なる複数の小部屋（シェルター）を設けたアリーナを用いて盲目コオロギの行動を調べたところ、滞在時間とシェルターの形状の間に関連があることも分かっていた。

2. 研究の目的

上述の背景を踏まえ、夜行性昆虫であるフタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) が能動的触覚情報と自己移動情報を手がかりとして、どのような神経機構により周囲の空間を知り、いかに適切な場所へ自身をナビゲートするのか、という問題を明らかにすることを本研究の目的とした。具体的な課題とその目的を以下に示す。

(1) 空間選択行動

予備的に得られたコオロギの空間行動の結果について再検討し、人為的制御が容易で空間認知の成立が明確に確認できる実験系を確立する。昆虫がどのような物理的特徴をもつ環境において顕著な空間行動を示すのか、様々な条件下で体移動とアンテナ運動の各パラメータについて観察し、定量的な解析をおこなう。

(2) 行動-神経活動計測システム

空間行動の神経基盤を確立するためのデバイス開発をおこなう。すなわち自由歩行する動物から脳ニューロン活動を記録しつつ、体の位置および方向を同時記録できる装置（行動-神経活動計測システム）を作製する。

(3) 空間行動と脳ニューロンの関係

脳の各領域に慢性ワイヤ電極を埋め込んだ標本を作成し、新たに開発したシステムを用いて、上記(1)で示した行動実験をおこなう。これにより空間行動を司る脳領域を特定し、そこに含まれる個々のニューロンの活動様式と行動との関連付けを試みる。

3. 研究の方法

(1) 空間選択行動

不定形アリーナにおける場所選択性およびシェルター選択性の2種の実験をおこなった。不定形アリーナは、4種類の異なる曲率の壁に囲まれた閉鎖容器で、形状は同じだが絶対サイズが異なるものを5種類用意した。シェルターは、幅または奥行きサイズが異なるものを6種類用意し、これらを円形アリーナ底面に放射状に配置し、アリーナ内の動物が自由に出入りできるようにした。不定形アリーナとシェルターの実験では、動物の位置を1 Hzで一定時間(2~6時間程度)観察し、実験後に滞在分布を解析した。

(2) 行動-神経活動計測システム

サーボモータで駆動する2次元直動ガイドにCCDカメラを搭載し、ここからの画像をオンライン解析することで、動物を強拡大で自動追尾しつつ、その体位置座標と体軸方向を計測するシステムである。これらの行動パラメータはアナログ信号に変換され、出力される。2次元直動ガイドのヘッド部には、動物に装着した電極ワイヤのねじれ（動物の自発的ターンにより生じる）を能動的に補償するアクティブ・スリッピングを搭載した。

(3) 電気生理実験とデータ解析

動物を開頭し、エナメル被覆銅線からなる双極ワイヤ電極をキノコ体または中心複合体付近に挿入した。手術から回復後、行動と神経活動を2時間にわたり記録した。増幅されたニューロンのスパイク波形をアナログ信号化された行動パラメータ（体位置座標と体軸方向）とともにADコンバータを介してパソコンに記録した。得られたニューロン活動の波形データからスパイクユニットを分離し、各ニューロンの発火パターンと行動との関係を調べた。

4. 研究成果

(1) 空間選択行動

① 不定形アリーナ内の場所選択性

絶対サイズが異なる5種類の不定形アリーナについて行動実験をおこなった結果、いずれにおいてもコオロギは曲率が最も大きい（狭い）壁周辺に選択的に滞在する傾向が存

在し、壁の曲率に依存した滞在時間の有意差が認められた。図1は、5種類のうち中間的サイズのアリーナにおける結果を示す。

絶対サイズとは無関係に、相対的に最も狭い空間をコオロギが選択することは、探査の結果、自身を取り巻く閉鎖空間の構造を認知していたことを示唆する。

②シェルター選択性

用いたシェルターは正三角柱を横に寝かせた形状を呈している。今回は幅（三角柱底面の一边に相当）または奥行き（三角柱の高さに相当）のいずれかを変化させた6種類のシェルターを選択性について行動観察をおこなった。予備実験では、雌雄間で行動の差異があると予想されたため、ここでは雌雄別にデータを解析した。

奥行きを一定（100 mm）にして、幅を20～40 mmの間で変化させた場合、メスは比較的小さいサイズの小さいシェルター（幅24 mmないし20 mm）を、オスは中間サイズ（32 mm）を選択する傾向が有意に存在した。一方、幅を一定（30 mm）にして、奥行きを60～160 mmの間で変化させた場合、雌雄共に奥行きが比較的に長いシェルターに滞在する傾向が有意に存在した。とりわけ雌コオロギは、最も奥行きが長いシェルターに顕著に長時間滞在することが明らかになった（図2）。

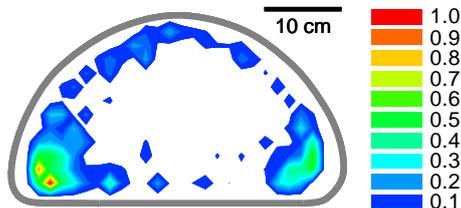


図1. 不定形アリーナにおける滞在時間の分布

曲率が異なる4種類の壁で囲まれた不定形アリーナを上から見た模式図。コオロギの滞在時間について、その空間分布の相対値をカラーコードで示した。データは40個体から得られた。

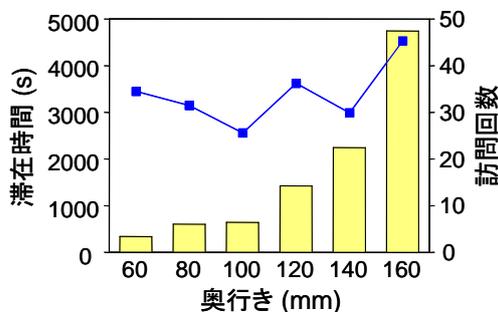


図2. シェルターの奥行きサイズと選択性

奥行きサイズが異なる6種類のシェルターの滞在時間（黄色カラム）と訪問回数（青線プロット）。データはメスの例で19個体の平均値。

(2) 行動-神経活動計測システム

中枢ニューロンのスパイクユニット活動と行動パラメータ（体位置座標と体軸方向）を同時記録することができるシステムを開発した（図3）。このシステムにより、動物を追跡しながらその行動パラメータを30 Hzで計測しつつ、1チャンネルの神経活動を最大10時間記録することが可能となった（詳細仕様は表1）。ただし当初計画したアンテナ運動の計測機能については、その演算処理負荷が大きいため断念した。

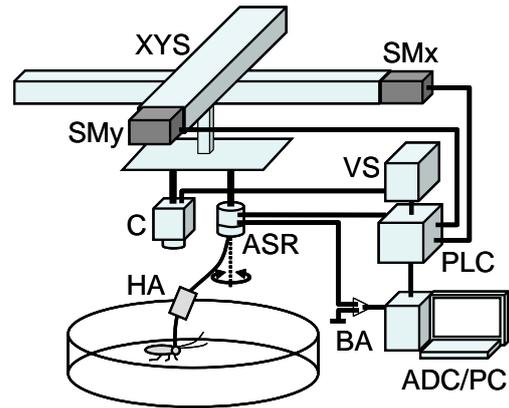


図3. 行動-神経活動計測システム概要

XYZ XY ステージ; SMx X 軸サーボモータ; SMY Y 軸サーボモータ; VS 画像センサ; C CCD カメラ; PLC プログラマブルコントローラ; ASR アクティブスリップリング; HA ヘッドアンプ; BA 生体アンプ; ADC/PC AD コンバータとデータ記録用パソコン

表1. 行動-神経活動計測システム仕様

追跡範囲	400 mm × 400 mm
行動パラメータの最大サンプリング頻度	30 Hz
最高追跡速度	90 mm/s
計測項目	動物の2次元座標
	体軸方向
	1Ch 生体信号
最大記録時間	10 時間

(3) 空間行動と脳ニューロンの関係

昆虫の脳において、学習記憶・感覚統合のほか、体移動の企画や準備との関連性が示されているキノコ体周辺、および感覚統合や体移動の調節に関わっている中心複合体周辺に記録電極を挿入した。記録に成功した全61個体のうち、行動と関連するスパイクユニットは9個体から計11個分離できた。

これらのスパイクユニットについて、体移動との関連を解析した結果、1) 歩行の開始時のみに一過的に興奮するニューロン、2) 歩行

中に持続的に興奮するニューロン、3) 歩行終了時に興奮するニューロン、4) 歩行開始時に一過的に抑制されるニューロンが存在することが明らかになった。図4は上記1)のタイプの活動様式と体移動の関係を示す例で、体移動が開始する数百ミリ秒前から発火頻度が増大した。また記録した多くのニューロンが様々な体部位表面への機械刺激に対して興奮応答を示すことを明らかにした。

以上の結果は、中心複合体およびキノコ体が感覚入力を受けつつ、適切な体移動の企画、発現、調節に関わっているという従来の仮説を支持するものであった。しかし動物の現在位置、体軸方向などの行動パラメータに依存して活動様式が変化するニューロンの発見には至らなかった。

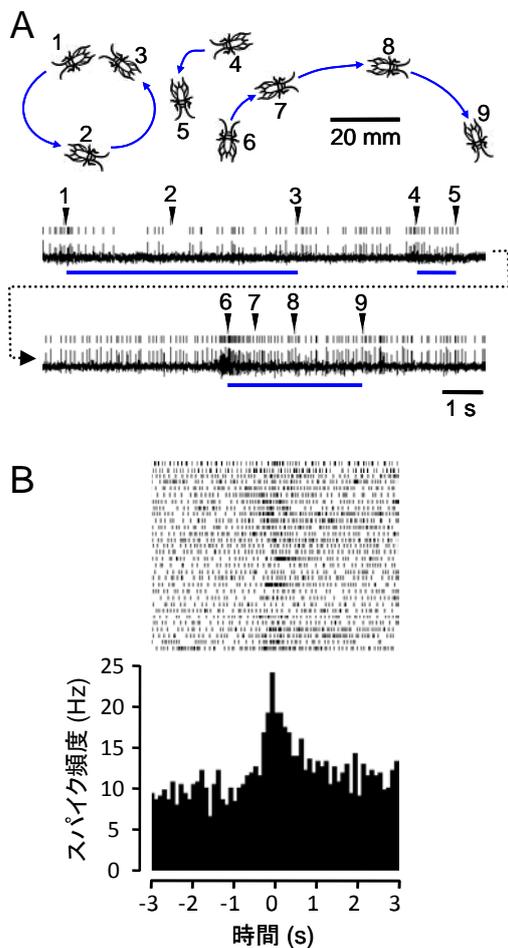


図4. 体移動と関連する脳ニューロンの一例

A 脳ニューロンから記録されたスパイク(2本の連続するトレース)と、行動パラメータから再現した動物の体移動(上)。青線は体移動が見られた期間で、トレース上の番号は、動物の行動を示すイラスト内の番号と対応する。B 歩行開始の瞬間を基準(0秒)とし、前後3秒間のスパイクの発火タイミングをラスタ表示したもの(上)、およびスパイク頻度について30試行分を加算平均したヒストグラム(下)。

(4) 総括と展望

能動的触覚情報と自己移動情報による昆虫の空間行動は、これまで類似した研究例が国内外を問わずほとんど皆無と言えるユニークな研究と位置づけられる。その神経機構を明らかにすべく、本研究では既述の3つの課題を当初設定したが、これらの総括と展望について以下に述べる。

空間選択行動については、従来の結果をもとに、より信頼性のある2つの実験系(不定形アリーナとシェルターの実験)を確立できたものと考えている。今後も継続してコオロギの空間認知と空間行動の評価系として利用していく予定である。

行動-神経活動計測システムについては、現有機器の性能上の制約により当初予定していたアンテナ計測機能を付加することができなかったが、その他の機能については十分なスペックを達成できた。ただしアンテナ計測は、より高速で演算処理が可能な画像センサーへ更新することで容易に付加できるので、近い将来能動的触覚の役割を検証することが可能になるであろう。

今回は空間行動のニューロン機能をキノコ体と中心複合体に求めた。哺乳類海馬における場所細胞のような認知地図の存在を示唆する細胞の発見には至らなかったが、触覚情報を統合しつつ、体移動の企画、準備、調節などに関わると推測されるニューロンの存在を示すことはできた。したがって今回注目した脳領域が空間行動の重要な役割を果たしている可能性は依然として高い。今後も本システムを用いて地道に実験を積み重ねると共に、実験後に電極挿入部を同定するための組織学も導入し、空間行動の神経基盤の解明をめざした研究を継続予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1件)

J. Okada, Y. Morimoto, Y. Toh (2009) Antennal motor activity induced by pilocarpine in the American cockroach. *Journal of Comparative Physiology A* 195: 351-363 (査読有)

[学会発表] (計 4件)

① 岡田二郎 「昆虫の探索行動と空間認知」長崎県生物学会年次大会(2009年1月11日、長崎市科学館)

② 甲斐加樹来、岡田二郎 「新開発の行動追尾装置を用いた昆虫の体移動と中枢ニューロン活動の解析」日本動物学会年次大会(2008年9月7日、福岡大学)

③水田省吾、岡田二郎、藤義博「小規模閉鎖空間におけるフタホシコオロギの場所選択性」日本動物学会年次大会（2007年9月22日、弘前大学）

④水田省吾、岡田二郎、藤義博「不定形アリーナにおけるフタホシコオロギの空間選択性」日本比較生理生化学会年次大会（2007年7月8日、岡山大学）

〔図書〕（計 1件）

岡田二郎（2008）昆虫ミメティックス・昆虫の設計に学ぶ：第2章8節「ゴキブリの能動的アンテナによる空間探査」エヌ・ティー・エス、pp261-268

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

○取得状況（計 0件）

〔その他〕

高等学校出張講義

「昆虫の脳と行動」2008年10月24日、長崎県立長崎北陽台高等学校

ホームページ

http://www.env.nagasaki-u.ac.jp/kyouiku/shoukai_67.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 二郎 (OKADA JIRO)
長崎大学・環境科学部・准教授
研究者番号：10284481

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

藤 義博 (TOH YOSHIHIRO)
九州大学・名誉教授

甲斐 加樹来 (KAI KAZUKI)
九州大学・大学院理学府・生物科学専攻

水田 省吾 (MIZUTA SHOGO)
九州大学・理学部・生物学科

森本 雄祐 (MORIMOTO YUSUKE)
九州大学・理学部・生物学科