

機関番号：10101

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570066

研究課題名 (和文) 匂い位置検出ニューロンの活動動態の解明

研究課題名 (英文) Morphological and physiological properties of neurons that code information about odor location

研究代表者

西野 浩史 (NISHINO HIROSHI)

北海道大学・電子科学研究所・助教

研究者番号：80332477

研究成果の概要 (和文)：

匂いが嗅覚器のどこに当たっているのかを検出する神経基盤について解剖学、生理学的手法を用いて精査した。その結果、1) ゴキブリの嗅覚求心繊維は触角内の細胞の位置に応じて糸球体中で組織化されているが、この組織化は幼虫期を通じて徐々に発達する、2) 介在ニューロンの中には触角の特定領域の匂い刺激にのみ感受性を持つものがある、3) メスにも性フェロモンを特異的に処理する糸球体が存在するが、求心繊維の組織化の程度はオスよりも低く、出力するニューロン数も少ないことが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：

The neural mechanism to detect locations of odors on antennae was investigated in American cockroaches. In sex pheromone-receptive glomeruli of males, topographic segregation of olfactory afferents based on their peripheral soma locations in the antenna is progressively more prominent towards later larval stages. Intracellular recording and stainings revealed that several pheromone-sensitive projection neurons had local receptive fields along the antenna. In contrast, the neural substrate to detect pheromone locations was poorly developed in the pheromone emitter, females.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

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：昆虫、嗅覚、細胞内記録、触角葉

## 1. 研究開始当初の背景

嗅覚受容体の発見以来、嗅覚情報処理についての研究は目覚ましい発展をとげている。マウスやショウジョウバエなどのモデル動物を用いた分子遺伝学的研究からは、1) 嗅受容細胞には1種類の受容体だけが発現する、2) 同種の受容体を発現する受容細胞の軸索は特定の糸球体に収束する、という動物間共通の“ドグマ”が明らかとなっている (Ressler et al., 1994; Vosshall et al., 2000)。これらの知見は一次嗅覚中枢が匂いの種類に依存して組織化されていることを示すもので、嗅質依存的組織化 (chemotopic organization) と呼ばれる。この発見を契機として、環境中に無数に存在する匂いを識別・記憶するしくみについての研究が様々な動物を用いて行われている。しかし、匂いの位置や方向を検出する神経基盤についての研究は皆無に等しい。この背景には、匂いは定まった空間構造を持たず、時々刻々とその分布が変化するため、位置検出に寄与する組織学的基盤を持つ必要がないという根強い考え方があった。

ところが、視覚的手がかりの乏しい夜間に行動する動物において、交尾相手や食べ物への正確な定位は死活問題である。近年の研究からは、空間中の匂いは連続的な濃度勾配をもって分布するわけではなく、不連続な匂いのたなびき (プルーム) として存在することが明らかとなっている (Murlis et al., 2000)。プルームは高濃度の匂い物質の塊 (フィラメント; サイズ: 数 mm 以上) によって構成され、このフィラメントは匂い源に近づくほど増加する (Koehl, 2006)。したがって、動物は匂いの濃度変化ではなく、匂いフィラメントが嗅覚器にヒットした位置とその頻度を匂い源定位への手がかりとしていることが強く示唆される (Cardé and Willis, 2008)。この匂い源定位能を究極にまで高めた動物が昆虫である (ファーブル昆虫記第3巻)。

ファーブルをも驚嘆させた匂い源定位を司る神経基盤は何であろうか? 私は嗅覚システムの深い理解には嗅覚処理の最初期段階、すなわち嗅覚求心繊維の一次嗅覚中枢への詳細な投射パターンを理解することが重要と考え、かねてより地道な組織学的研究を進めてきた。その結果、1) オスのワモンゴキブリの触角全域に分布している約5万個の性フェロモン受容細胞の軸索は一次嗅覚中枢 (触角葉) 中で最大の糸球体 (大糸球体) に収束するが、この軸索終末は細胞体の3次元的位置

を反映して、糸球体中で組織化されている (Nishino and Mizunami, 2006)、2) 一般臭を処理する嗅覚求心繊維は細胞体の基部、末梢の位置に応じて常糸球体中で二次元的に組織化されている (Nishino and Mizunami, 2007)、ことがわかった。以下、これを”位置マップ”と呼ぶ。その位置マップは体表機械受容細胞の軸索の位置依存的組織化 (somatotopic organization) を想起させる精緻なものである (Newland, 1991; Nishino et al. 2005)。この先行知見をふまえ、以下の研究を企画した。

## 2. 研究の目的

触角葉中に形成される嗅覚求心繊維の位置マップの機能的意味を多面的に明らかにすることを目的とする。具体的には求心繊維の位置マップが発生過程でどのように形成され、介在ニューロンによってどう利用されるのか、位置マップに雌雄差や種差が存在するのかどうかについて明らかにする。

## 3. 研究の方法

主たる方法は1. 複数の蛍光色素 (ルシファーイエロー、アレクサハイドラザイド) を用いた触角神経や中枢への色素注入、2. 細胞内記録・染色法に集約される。状況に応じて1, 2を組み合わせ使用した。生理実験の常として超絶技巧的なプレパレーション作成技術が必要であったが、誌面の都合で詳細を割愛する。1, 2の方法によって染色された脳は固定・脱水・透徹後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。光学切片のデータは形態解析ソフトウェア (Amira ver. 3.1) に取り込み、三次元立体構築、体積計算を行った。2によって得られた電気生理データは Spike 2 に取り込み、詳細な解析を行った。

## 4. 研究成果

- (1) ワモンゴキブリ雌雄成虫の触角葉中の全嗅覚糸球体の同定に成功した (Watanabe et al., 2010)。個々の嗅覚糸球体は特定の匂い物質を処理するための機能モジュールとして働いている。全糸球体数は雌雄同数 (205 個) であった。通常匂いを処理する常糸球体の

体積には雌雄で有意差がみられなかったが、性フェロモン処理に寄与する大糸球体において顕著な性的二形がみられた。また、全糸球体は求心繊維の支配パターンをもとに10のグループに分けられること、さらに個々の糸球体は位置や形状をもとに正確に同定できることを発見した。これらの知見は今後匂い情報処理の雌雄差、特定の匂いの情報処理について明らかにしていく上で役立つことが期待される。

- (2) 性フェロモン処理に寄与する糸球体の後胚発生パターンを解明した(Nishino et al., 2009; 2010)。雄の触角葉には隣接する2個の大糸球体があり、各々は異なる性フェロモン成分を処理する。ゴキブリは孵化後、10回の脱皮を経て成虫になる。成長とともに触角内の嗅受容細胞数は増加し、糸球体の体積も増加する。各ステージの幼虫の糸球体に投射する求心線維の体積や投射パターンを調べた。その結果、孵化直後の1齢幼虫にも成虫と同数の糸球体が存在していること、2個の大糸球体の成長の経時変化はそれぞれ大きく異なっていること、求心線維に見られる細胞体位置依存的組織化は高齢幼虫になるほど顕著になること、雌の相同糸球体においては中齢幼虫以降の成長率が低いこと、雄の1/30程度の体積に留まること、を明らかにした。
- (3) 性フェロモン処理糸球体にみられる位置マップが実際に介在ニューロンによって利用されていることを明らかにした(Nishino et al., 2011)。中枢への局所的な色素注入によって、常糸球体から出力する介在ニューロンは糸球体全域に樹状突起を持つ1本のニューロンのみであるのに対し、性フェロモン処理糸球体から出力するニューロンが糸球体全域に樹状突起を持つ1本の大きなニューロンと糸球体の異なる領域に樹状突起を持つ5〜7本の小さなニューロンからなることをつきとめた。さらに、小さなニューロンの樹状突起の分布と求心繊維の投射パターンには強い相関があり、触角の長軸方向の受容野を分割して処理していることを明らかにした。
- (4) 性フェロモンの出し手であるメスにもミニチュア版の性フェロモン検出システムが備

わっていることを明らかにした(Nishino et al. 2011)。オスの大糸球体と相同の位置にある糸球体から出力する介在ニューロンについて精査したところ、触角全域に受容野を持つ1本のニューロンと触角の一部に受容野を持つ1〜2本の小さなニューロンからなることをつきとめた。触角全域に受容野を持つニューロンは一般的な匂い(食べ物の匂いなど)には応答せず、性フェロモンに対してのみ興奮性の応答を示すが、その応答強度はオスよりも弱かった。これらの結果はメスも性フェロモンを検出できるが、その行動に与える影響はオスほど顕著ではないことを示している。本研究結果はプレスリリースされ、害虫防除に繋がる発見として地方新聞に掲載された。

- (5) 完全変態昆虫であるミツバチの嗅受容細胞の軸索が触角内の基部/末梢の二次元的位置に応じ、糸球体中の異なる領域に投射する傾向があることを明らかにした(Nishino et al., 2009)。また、温度・湿度感覚子の軸索が触角葉の最も背側にある8個の糸球体群に収束することを発見した。ゴキブリの温度・湿度受容糸球体も触角葉の相同位置にあるため、温度・湿度情報処理システムが昆虫の進化の過程で良く保存されていることが示唆された。また、私が開発した触角神経の差分染色法が糸球体の機能的クラスターの弁別に極めて有効であることも示された。

#### 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12件)

- 1) Nishino H., Iwasaki M. and Mizunami M. : Pheromone detection by a pheromone emitter: a small, sex pheromone-specific processing system in the female American cockroach, *Chemical senses* 36: 261-270 (2011) 査読有
- 2) Watanabe H., Matsumoto C.S., Nishino H. and Mizunami M. : Critical roles of mecaminine-sensitive mushroom body neurons in insect olfactory learning. *Neurobiology of learning and memory* 95: 1-13 (2011) 査読有
- 3) Watanabe H., Nishino H., Nishikawa M.,

- Mizunami M. and Yokohari F. : Complete mapping of glomeruli based on sensory nerve branching pattern in the primary olfactory center of the cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of Comparative Neurology* 518: 3907-3930 (2010) 査読有
- 4) Mizunami M., Yamagata N and **Nishino H.** : Alarm pheromone processing in the ant brain: an evolutionary perspective. *Frontiers in Neuroscienc* 4: Article 28 (1-9) (2010) 査読有
- 5) Nakanishi A., **Nishino H.**, Watanabe H., Yokohari F. and Nishikawa M. : Sex-specific antennal sensory system in the ant *Camponotus japonicus*: glomerular organizations of antennal lobes. *Journal of Comparative Neurology* 518: 2186-2201 (2010) 査読有
- 6) **Nishino H.**, Yoritsune A. and Mizunami M. : Postembryonic development of sexually dimorphic glomeruli and related interneurons in the cockroach *Periplaneta americana*. *Neuroscience Letters*, 469: 60-64 (2010) 査読有
- 7) Nakanishi A., **Nishino H.**, Watanabe H., Yokohari F. and Nishikawa M. : Sex-specific antennal sensory system in the ant *Camponotus japonicus*: structure and distribution of sensilla on the flagellum. *Cell and Tissue Research* 338: 79-97 (2009) 査読有
- 8) Nakatani Y., Matsumoto Y., Mori Y., Hirashima D., **Nishino H.**, Arikawa K and Mizunami M. Why the carrot is more effective than the stick: different dynamics of punishment memory and reward memory and its possible biological basis. *Neurobiology of Learning and Memory* 92: 370-380 (2009) 査読有
- 9) **Nishino H.**, Yoritsune A. and Mizunami M. Different growth patterns of two adjacent glomeruli responsible for sex-pheromone processing during postembryonic development of the cockroach *Periplaneta americana*. *Neuroscience Letters* 462: 219-224 (2009) 査読有
- 10) **Nishino H.**, Nishikawa M., Mizunami M. and Yokohari F. : Functional and topographic segregation of glomeruli revealed by local staining of antennal sensory neurons in the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Neurology* 515: 161-180 (2009) 査読有
- 11) Watanabe H., **Nishino H.** and Mizunami M. : The salivary conditioning with antennal gustatory unconditioned stimulus in an insect. *Neurobiology of Learning and Memory* 90 : 245-254 (2008) 査読有
- 12) **西野 浩史** : 「昆虫が「死んだふり」をするわけーコオロギに学ぶ擬死行動の機能としくみ」、*Biophilia*、アドスリー、4(3) : 16-21 (2008) 査読有
- [学会発表] (計 22 件)
- 1) 高梨 琢磨、深谷 緑、**西野 浩史** : 振動に対するマツノマダラカミキリの行動反応と受容器としての弦音器官、日本動物学会第 81 回大会 (2010 年 9 月 25 日)、東京大学教養部 (東京都)
- 2) Watanabe H., **Nishino H.**, Nishikawa M. and Yokohari F. : Dual pathways to process general odors in the cockroach brain, 9th International Congress of Neuroethology, Salamanca (August 3, 2010), Spain
- 3) **西野 浩史**、岩崎 正純 : 性フェロモンの出し手も性フェロモンを検出できる、日本比較生理生化学会第 32 回大会 (2010 年 7 月 19 日)、九州産業大学 (福岡市)
- 4) 渡邊 英博、**西野 浩史**、西川 道子、横張 文男 : ワモンゴキブリにおける触角感覚子依存的な嗅覚糸球体構成、日本比較生理生化学会第 32 回大会 (2010 年 7 月 17 日)、九州産業大学 (福岡市)
- 5) 深谷 緑、**西野 浩史**、高梨 琢磨 : マツノマダラカミキリの触角「迎え打ち」反応における視覚情報と振動情報の協力作用、日本応用動物昆虫学会第 54 回大会 (2010 年 3 月 28 日)、千葉大学・西千葉キャンパス (千葉県)
- 6) 高梨 琢磨、深谷 緑、久保島 吉貴、石田 厚、神崎 菜摘、中野 亮、小池 卓二、**西野 浩史** : 振動に対するマツノマダラカミキリの反応性及びマツの「自己」振動の特性、日本応用動物

- 昆虫学会第 54 回大会 (2010 年 3 月 28 日)、千葉大学・西千葉キャンパス (千葉県)
- 7) Nakanishi A, **Nishino H**, Watanabe H, Yokohari F, Nishikawa M.: Sex-specific antennal sensilla of the carpenter ant *Camponotus japonicus*. Memorial symposium for the 25th international prize for biology of sensing celebrating Dr. Winslow R. Briggs (December 2, 2009), Shiran Kaikan, Kyoto University
  - 8) **西野 浩史**, 頼経 篤史: 不完全変態昆虫の嗅覚経路にみられる性的二形の形成機構、日本比較生理生化学会第 31 回大会 CompBio12009 (2009 年 10 月 23 日)、千里ライフサイエンスセンター (大阪府)
  - 9) 渡邊 英博, **西野 浩史**, 西川 道子, 横張 文男: ゴキブリ嗅覚情報処理過程における触角葉局所介在ニューロンの役割、日本比較生理生化学会第 31 回大会 CompBio12009 (2009 年 10 月 23 日)、千里ライフサイエンスセンター (大阪府)
  - 10) 中西 あき, **西野 浩史**, 渡邊 英博, 横張 文男, 西川 道子: クロオオアリ触角感覚系における雌特異性、日本比較生理生化学会第 31 回大会 CompBio12009 (2009 年 10 月 23 日)、千里ライフサイエンスセンター (大阪府)
  - 11) 中西 あき, **西野 浩史**, 渡邊 英博, 横張 文男, 西川 道子: クロオオアリ触角における雌特異的感覚子、日本動物学会第 80 回大会 (2009 年 9 月 19 日)、静岡グランシップ (静岡県)
  - 12) 中西 あき, **西野 浩史**, 渡邊 英博, 横張 文男, 西川 道子: クロオオアリ触角葉における雌特異的糸球体群、日本動物学会第 80 回大会 (2009 年 9 月 19 日)、静岡グランシップ (静岡県)
  - 13) **西野 浩史**, 頼経 篤史, 岩崎 正純: 昆虫の嗅覚糸球体はダイナミックな発生過程をたどる、日本動物学会第 80 回大会 (2009 年 9 月 17 日)、静岡グランシップ (静岡県)
  - 14) 渡邊 英博, **西野 浩史**, 西川 道子, 横張 文男: ワモンゴキブリ嗅覚投射ニューロンの時空間的情報処理、日本動物学会第 80 回大会 (2009 年 9 月 17 日)、静岡グランシップ (静岡県)
  - 15) 中西 あき, **西野 浩史**, 渡邊 英博, 横張 文男, 西川 道子: クロオオアリ触角の性的二形と鞭節感覚子、第 6 2 回日本動物学会九州支部大会 (2009 年 5 月 23 日)、宮崎大学 (宮崎県)
  - 16) 渡邊 英博, **西野 浩史**, 西川 道子, 横張 文男: ワモンゴキブリ触角葉における糸球体構成、第 62 回動物学会九州支部大会 (2009 年 5 月 23 日)、宮崎大学 (宮崎県)
  - 17) 高梨琢磨, 中牟田潔, Skals Neils, **西野 浩史**: マツノマダラカミキリの振動反応性とその受容器としての腿節内弦音器官、第 53 回応用動物昆虫学会 (2009 年 3 月 29 日)、北海道大学 (札幌市)
  - 18) Watanabe, H., **Nishino H.**, Nishikawa M., Yokohari, F.: Analysis of the neural processing of thermo and hygrosensory signal in the insect brain, Australian Neuroscience Society 29th Annual Meeting (January 28, 2009), Canberra (Australia)
  - 19) 渡邊 英博, **西野 浩史**, 横張 文男: ワモンゴキブリ前脳における湿度情報処理の神経生理学的解析、日本動物学会第 79 回大会 (2008 年 9 月 7 日)、福岡大学 (福岡市)
  - 20) **西野 浩史**, 岩崎正純: ゴキブリ嗅覚投射ニューロンの形態学的解析、日本動物学会第 79 回大会 (2008 年 9 月 5 日)、福岡大学 (福岡市)
  - 21) **西野 浩史**, 西川 道子, 横張 文男: ミツバチ触角葉糸球体の機能マッピング、日本比較生理生化学会第 30 回大会 (2008 年 7 月 21 日)、北海道大学 (札幌市)
  - 22) **Nishino H.**: Topographic organization of olfactory afferents: insights into evolution of olfactory sensory system, International Seminar: Evolutionary Studies in Behavioral Neuroscience (June 25, 2008), Syonan-international Center (Hayama)

〔図書〕（計3件）

- 1) **西野 浩史**：昆虫の擬死：無駄な抵抗はやめよう、動物の多様な生き方（全5巻）2. 動物の生き残り術：行動とそのしくみ、共立出版、2：58-77（2009）
- 2) **西野 浩史**：昆虫の擬死：多細胞センサーを介した運動抑止機構、昆虫ミメティクス～昆虫の設計に学ぶ～、NTS、分担執筆、第2編第22節：600-611（2008）
- 3) 西川 道子、**西野 浩史**：昆虫の嗅覚糸球体、昆虫ミメティクス～昆虫の設計に学ぶ～、NTS、分担執筆、第2編第9節：151-163（2008）

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：振動により害虫を防除する方法

発明者：高梨 琢磨、大村 和香子、大谷 英児、久保島 吉貴、森 輝夫、小池 卓二、**西野 浩史**

権利者：森林総合研究所、電気通信大学、北海道大学

種類：特許

番号：特願 2009-208413

出願年月日：2009年9月9日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.es.hokudai.ac.jp/labo/nishino/>

新聞報道

**西野 浩史**、岩崎正純、水波誠（2010年11月23日）雌同士恋のライバル認知？ゴキブリの神経反応解析、北海道新聞・朝刊

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西野 浩史 (NISHINO HIROSHI)

北海道大学・電子科学研究所・助教

研究者番号：80332477

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし