

平成22年8月24日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20770052
 研究課題名（和文）昆虫体表フェロモンの知覚機構と一酸化窒素シグナル系が及ぼす効果
 研究課題名（英文） Role of the nitric oxide signal in the information processing pathway of the insect cuticular pheromone.
 研究代表者
 佐倉 緑（SAKURA MIDORI）
 北海道大学・電子科学研究所・博士研究員
 研究者番号：60421989

研究成果の概要（和文）：コオロギを用い、体表物質によって引き起こされるオス同士の闘争行動の発現に触角からの入力に関与することを明らかとした。また、脳内の一酸化窒素(NO)とオクトパミン(OA)シグナルの阻害により、敗者の攻撃行動の回復がそれぞれ促進、抑制されることがわかった。触角への体表物質の刺激により脳内でNOが増加すること、NOにより脳内のOA量が減少することから、体表物質－NO－OAというシグナル経路が脳内に存在すると結論づけられた。

研究成果の概要（英文）：Male crickets *Gryllus bimaculatus* show intensive aggressive behaviors when they come across another male and start to fight each other. After the fight, the subordinate does not fight any more in his second encounter with other males, but shows escape behavior from the opponent. In this study, we aimed to clarify the neuronal mechanism underlying the aggressive behavior elicited by the cuticular substances. First, we found that the antennal input was crucial to exhibit aggressive and avoidance behavior correctly. Next, pharmacological studies showed that the nitric oxide signal suppressed aggressiveness whereas the octopamine signal enhanced. We concluded that nitric oxide and octopamine concertedly worked in the brain and controlled the aggressiveness of the male crickets.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
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：昆虫・フェロモン・一酸化窒素・闘争行動・触角・オクトパミン

1. 研究開始当初の背景

昆虫にとってフェロモンは非常に重要な個体間コミュニケーション手段である。昆虫のフェロモン情報処理機構に関するこれま

での研究は、交尾行動に関わる性フェロモンに着目したものが多く、ガ、ゴキブリなどではオスの触角葉（一次嗅覚中枢）において、メスが分泌する性フェロモンに反応する感覚

ニューロンが特定の糸球体(大糸球体)に終末し、食べ物の匂いなどの一般臭とは異なる経路で処理されることが知られている。一方、性フェロモン以外のフェロモン物質(非性フェロモン)の情報処理機構に関しては、まだ未解明な部分が多い。近年、アリの道しるべフェロモンや警報フェロモンが触角葉内の特定の糸球体で処理されていることが示唆され、一般の匂い情報処理との関連が議論されている。これらの研究は社会性昆虫に関するものが多く、非社会性昆虫を扱った研究はショウジョウバエなどごく限られた種に関するものだけである。しかし、非性フェロモンの利用は、昆虫の進化の過程において獲得されたコミュニケーション手段の一つであり、その情報処理機構を明らかにするためには、社会性昆虫と非社会性昆虫の比較が重要である。そこで本研究では非社会性昆虫のコオロギを材料として、非性フェロモンの一つと考えられている、オス個体同士の闘争行動を引き起こす体表物質の情報処理機構を生理学的に調べることを目指した。

2. 研究の目的

コオロギのオスは他のオス個体に出会うと互いに攻撃行動を発現し闘争を始め、メス個体に出会うと交尾行動を発現する。これらの攻撃行動や交尾行動は、相手の体表物質を触角で検知することによって発現するフェロモン行動の一種であると考えられているが、その実体はまだ明らかとなっていない。本研究では、まず攻撃行動を引き起こす体表物質成分の同定とその情報処理経路を生理学的に明らかにすることを目的とした。

また、オスコオロギの攻撃行動は事前の経験によって大きく変化することが知られている。すなわち、一度闘争に負けた個体はその後しばらくの間攻撃行動の代わりに逃避行動を示すようになる。また、この敗者の行動切り替えには脳内の一酸化窒素(NO)シグナル系が深く関わっていることが示唆されている。そこで、薬理学及び電気生理学的実験を用いて、体表物質の情報処理および攻撃行動発現に関わる神経回路において、NOがどのような役割を果たしているのかを解明することを最終目的とした。

3. 研究の方法

(1) 攻撃行動に関わる感覚入力の解明

これまでの研究から、コオロギの闘争行動発現には触角からの化学感覚入力が必要であると考えられていたが、その詳細については明らかにされていなかった。そこでまず、触角をはじめとする種々の感覚情報の遮断が攻撃行動に及ぼす影響を調べることから着手する。触角や大顎肢の切除による化学感

覚や機械感覚情報の遮断、暗黒条件による視覚情報の遮断を組み合わせた時の闘争行動を解析することにより、それぞれの感覚モダリティが闘争行動に果たす役割を明らかにする。

(2) 攻撃行動を引き起こす体表物質の同定と情報処理経路の解明

オスコオロギの体表物質の成分の生化学的分析とそれぞれの成分に対する行動を観察する生物検定により、攻撃行動を誘起する成分を決定する。さらに、その成分を用いて触角上の感覚子および嗅覚の一次中枢である触角葉のニューロンに対する電気生理学的実験を行う。これにより、攻撃行動誘起成分に反応する感覚子および一次ニューロンを同定し、脳内の体表物質の情報処理に関わる神経回路を明らかにする。

(3) NOの作用の薬理的検証

これまでの研究により、NOシグナルを阻害すると敗者の攻撃から逃避への行動切替えが抑制されることが知られていた。このことは、攻撃行動を誘起する体表物質の情報処理経路においてNOが何らかの役割を果たしていることを示唆している。そこで、(1)で調査した神経回路におけるNOの効果を明らかにするため、NOシグナル系に関係すると考えられる体表物質応答ニューロンに対して、NO阻害、促進などの薬理的操作を行ない、ニューロンの反応特性がどのように変化するかを調べる。

また、種々のNO関連薬物を用いた行動薬理学的実験を行い、攻撃行動におけるNOの修飾効果を詳細に調べる。これらの結果を総合的に考察することによって、コオロギの体表物質情報処理機構におけるNOの効果の全体像を理解する。

4. 研究成果

(1) 攻撃行動における触角入力の役割

種々の感覚情報の遮断を組み合わせた際の闘争行動を観察した結果、触角切除した個体同士では闘争が成立しないが、触角切除個体と正常個体の闘争は成立することがわかった。つまり、触角からの入力は相手に闘争をしかける際、すなわち闘争相手の認識に不可欠であることが明らかとなった。触覚切除個体と正常個体の闘争行動は大顎肢切除や暗黒条件には影響されないことから、触角切除個体は相手からの攻撃を体表面の機械感覚として認識し、攻撃行動を発現すると考えられた。さらに、触角切除個体においては、敗者の行動切り替えが阻害されることから、コオロギの攻撃行動の発現には触角からの入力を介する経路と介さない経路の少なく

とも2種類の回路があり、そのうち触角を介する経路が事前の勝敗の経験によって制御を受けることが示唆された(図1)。

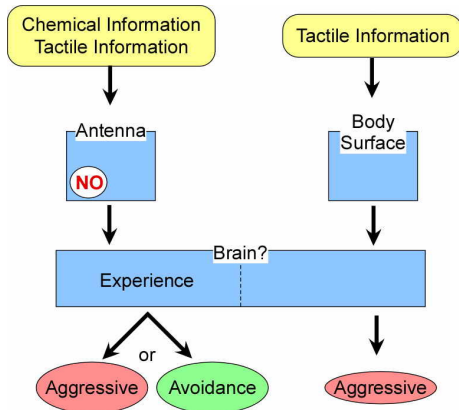


図1 攻撃行動発現に関わる感覚入力の模式図

(2) 攻撃行動誘起成分の同定

これまで、種々のコオロギにおいて体表物質を用いたコミュニケーションによって雌雄の識別がなされていると予測されていたが、体表物質の成分に関する詳細な分析はなされてこなかった。今回、共同研究者との協力により、攻撃行動を引き起こすオス個体の体表物質の化学分析を行い、オスの体表炭化水素のうちオレフィン物質が攻撃行動の発現に関与することを明らかとした。さらに、これらの物質の分子構造を決定し、人工的に合成した単体を使った行動解析を行なった。当初予定していたよりも体表物質の構造決定と合成に時間がかかったため、計画していた体表物質の情報処理経路解明のための電気生理学的実験は実行できなかったが、物質の合成までは終了しており、今後の電気生理学実験への応用が十分に期待できる。

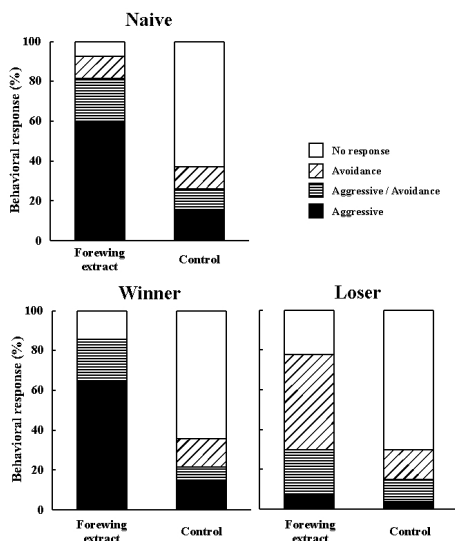


図2 闘争前後の翅抽出物に対する行動

また、オスの前翅の抽出物を用いた行動解析を行い、闘争の敗者がその前後で翅抽出物

に対する反応を攻撃から逃避へと切替えることが明らかとなった(図2)。このことは(1)で示唆された触角を介する経路が経験によって制御されるという仮説を裏付ける結果である。

(3) NOシグナルが攻撃行動に及ぼす効果

次に、攻撃行動の発現とNOシグナル系との関わりを調べるため、闘争行動の前後にNO合成阻害剤を頭部に投与する行動薬理学実験を行った。その結果、闘争行動時におけるNOの合成阻害により敗者の攻撃行動の回復が早まることが示唆された(図3上)。攻撃行動におけるNOの関与は、これまでに脊椎動物を含む多くの動物によって報告されている。オスコオロギの闘争行動は攻撃行動と闘争経験に基づく行動切替えにおけるNOの役割を解明するモデル系としての有用性が期待される。

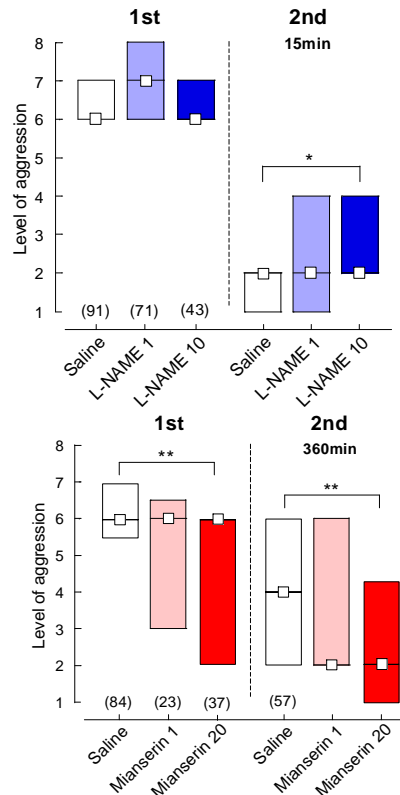


図3 NOおよびOAの阻害が闘争行動に及ぼす効果

また、これまでの研究により、コオロギにおいてオクトパミン(OA)が攻撃行動の動機付けに関与することが示唆されていた。脳内のOAシグナルを拮抗剤によって阻害すると、個体の攻撃性は低くなり、OAはNOと反する効果を持つことがわかる(図3下)。そこで今回、NOとOAとの関わりを明らかにするため、NOおよびOA関連薬剤を同時に用いる行動薬理学実験を行った。その結果、NOとOAを同時に阻害することにより互いの影響が相殺されることが示された。このことから、脳内でNOとOAのシグナルが連携して

攻撃行動を制御することが示唆された。

さらに、触角への体表物質の刺激により脳内でNOの放出が起こること、NOシグナルにより脳内のOA量の変動することが明らかとなっており、コオロギの攻撃行動の制御には、体表物質-NO-OAというシグナル経路が関与すると考えられる。今後、NO誘導性cGMPとOAの2重抗体染色により両者の脳内局在を調査し、NOとOAのシグナルが脳のどの領域でリンクしているのかを明らかにすること、また、その脳領域のニューロン活動を電気生理学的に調べることによって、体表物質の情報処理および攻撃行動発現の神経機構のさらなる理解が深まるものと考えている。NOは脊椎動物を含む様々な動物種において神経修飾物質として働くことが知られているが、その作用機序に関してはまだわからない点が多い。本研究において、NOシグナルの下流でOAなどの生体アミン系が制御を受ける可能性が示された。このことは、NOの神経系での修飾効果の一端を解明する手掛かりとなると考えられる。

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3件)

① Aonuma H, Sakura M, Ota J, Asama H. Social adaptive functions in animals -learning from insect social behaviors- *Workshops/Tutorials Proceedings of the 2009 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, 10-15 (2009) 査読無.

② Ashikaga M, Sakura M, Kikuchi M, Hiraguchi T, Chiba R, Aonuma H, Ota J. Establishment of social status without individual discrimination in the cricket. *Adv. Robotics* 23: 563-578 (2009) 査読有.

③ Sakura M, Hiraguchi T, Ohkawara K, Aonuma H. The Compartment structures of the antennal lobe in the ant *Aphaenogaster smythiesi japonica*. *Acta Biol. Hung.* 59: 157-162 (2008) 査読有.

[学会発表] (計16件)

① 山崎まどか, 佐倉緑, 青沼仁志, 松山茂, 秋野順治, 山岡亮平. ついに解明!! クロコオロギ雄の喧嘩行動誘起フェロモン. 第54回日本応用動物昆虫学会大会. 2010年3月26日. 千葉大学, 千葉.

② 藤井喬, 川端邦明, 青沼仁志, 佐倉緑, 鈴木剛, 太田順, 浅間一. クロコオロギの行動選択機構のモデリングに関する研究-触角からの感覚入力感受性による群行動の変容についての考察-. 第22回自律分散システム

・シンポジウム. 2010年1月31日. 名古屋大学, 名古屋.

③ Sakura M, Kikuchi M, Aonuma H. Role of nitric oxide and octopamine in the aggressive behavior of the cricket. *The 3rd International Symposium on Mobiligence*. 2009年11月20日. 淡路夢舞台, 淡路.

④ Aonuma H, Sakura M, Ota J, Asama H. Social adaptive functions in animals -learning from insect social behaviors- The 2009 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS2009). 2009年10月11日. Hyatt Regency St.Louis Riverfront, St.Louis, USA.

⑤ 佐倉緑, 菊地美香, 青沼仁志. クロコオロギの攻撃行動発現における一酸化窒素およびオクトパミンの関与. 日本動物学会第80回大会. 2009年9月17日. 東静岡グランシップ, 静岡.

⑥ 佐倉緑, 頼経篤史, 青沼仁志. クロコオロギの攻撃行動発現における一酸化窒素シグナル系の関与. 日本動物学会第79回大会. 2008年9月5-7日. 福岡大学, 福岡.

⑦ 山崎まどか, 佐倉緑, 青沼仁志, 秋野順治, 山岡亮平. オスクロコオロギの体表物質に含まれる攻撃行動誘起成分. 日本比較生理生化学会第30回大会. 2008年7月19-21日. 北海道大学, 札幌.

⑧ Ashikaga M, Sakura M, Kikuchi M, Hiraguchi T, Chiba R, Ota J, Aonuma H. Modeling of adaptive behavior of crickets in crowd. *FENS2008*. 2008年7月12-16日. Palexpo Conference Center, Geneva, Switzerland.

[図書] (計1件)

① 佐倉緑, 他. 三共出版、身近な動物を使った実験 4 ミツバチ コオロギ スズメガ. 43-73 (2009)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐倉 緑 (SAKURA MIDORI)

北海道大学・電子科学研究所・博士研究員
研究者番号: 60421989

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし