

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月15日現在

機関番号：12702

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2012

課題番号：21247009

研究課題名（和文） 微小脳における色知覚機構とその進化

研究課題名（英文） Mechanism and evolution of color vision in microbrain systems

研究代表者

蟻川 謙太郎 (Arikawa Kentaro)

総合研究大学院大学・先導科学研究科・教授

研究者番号：20167232

研究成果の概要（和文）：

色覚の基盤にある神経機構について、チョウ類の色覚系を対象にして実験的研究を行った。種をこえた比較研究から、（1）視細胞分光感度には往々にして顕著な性差があること、（2）個眼の階層構造の程度は多様であることが分った。アゲハ類での解析からは、（3）蜜源に着地する際にはターゲットと背景のつくるエッジが重要で、そのエッジは明度コントラストで知覚していること、（4）単一個眼に由来する視細胞同士が視葉板で抑制的に結合しているらしいことが分った。

研究成果の概要（英文）：

We studied neural basis of color vision using butterflies as the model system. Comparative studies revealed that (1) the photoreceptor spectral sensitivities are often sexually dimorphic, and (2) the degree of rhabdom tiering is quite diverse among species. The analysis of *Papilio* visual system revealed that (3) foraging *Papilio* detect the target edge using brightness contrast upon landing, and that (4) the interphotoreceptor connections may be inhibitory.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	11,000,000	3,300,000	14,300,000
2010年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2011年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2012年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
年度			
総計	34,700,000	10,410,000	45,110,000

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

チョウ類色覚系は、とくにアゲハ (*Papilio*

*xuthus*) で詳細に研究されている。複眼視細胞の特徴を、図1にまとめた。

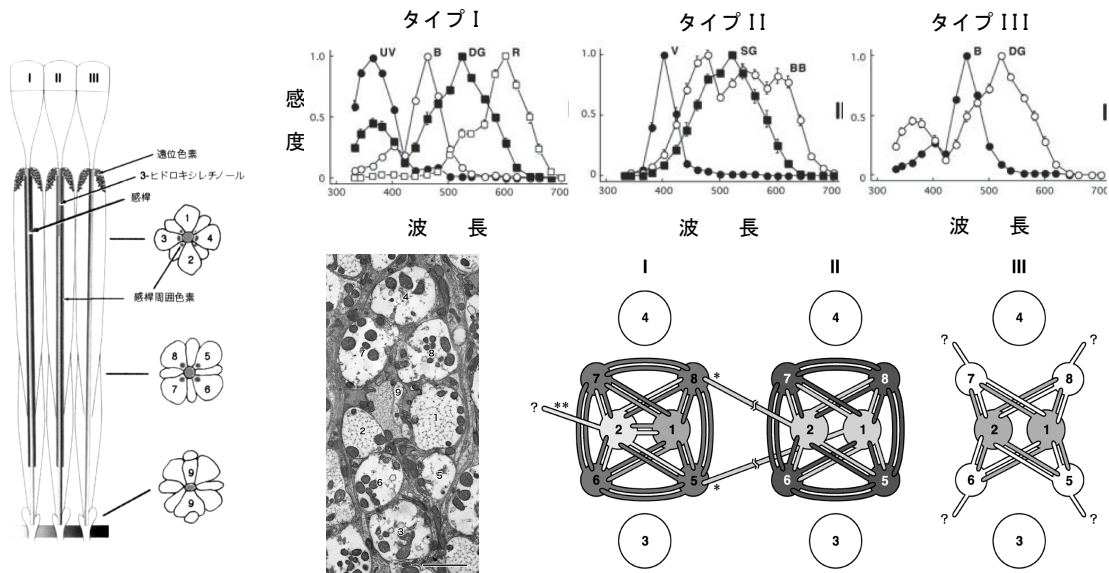


図1：研究開始当初の背景。

左) アゲハ個眼の構造。一つの個眼には9個の視細胞があり、4つが遠位側で、4つが近位側で感桿（光受容部位）を作る。感桿周囲の色素などによって、個眼は3つのタイプに分かれる。右上) 3タイプの個眼には分光感度の異なる視細胞が、決まった組合わせで含まれる。右下) アゲハ視葉板カートリッジの電子顕微鏡写真と、各個眼タイプにおける視細胞1～9の間に観察されたシナプス様構造による結合パターン。個眼遠位側にある視細胞3と4は、どのタイプの個眼でも、他の視細胞と結合していない。

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、遠位側と近位側に明瞭に分かれた二層構造の感桿を形成している。

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には3種（紫、緑、広帯域）、タイプ3には2種（青、緑）の視細胞が含まれる。

視細胞の軸索は視覚中枢へと伸びる。第1次視覚中枢である視葉板では、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。カートリッジ内ではさらに、視細胞同士も多くのシナプス様結合で接しており、そのパターンも個眼タイプ特異的である。

視細胞間結合のパターンから、視細胞の機能的分化が示唆されている。すなわち、他の視細胞とは結合せずに独立に太い軸索をもつ視細胞3と4は動き知覚や空間分解能に、また互いに結合する視細胞は、色覚に関係しているらしい。

## 2. 研究の目的

アゲハ複眼で見つかったさまざまな特徴のうち、色覚にとって本当に重要なものは何

か。この疑問に答えるためには、近縁の他種における比較研究が必須である。このため、本研究では何種かのチョウ類で複眼の細胞構成、オプシン分子の同定と局在、視細胞分光感度の測定を行った。

視葉板のカートリッジ構造から示唆される視細胞“分業体制”の実体を探るため、求蜜行動時の着地行動に着目した行動実験を行った。また、他の昆虫では見つかっていない非常にユニークな特徴である視細胞間結合について、この機能を明らかにするために、神経解剖学的・生理学的実験を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 複眼細胞構成の比較解析

比較対象として、モンキチョウ、ヒメシロチョウ（以上シロチョウ科）、ウスバシロチョウ、キシタアゲハ（以上アゲハチョウ科）を用いた。保護種であるキシタアゲハは台湾との共同研究として使用許可をとり、国立台湾大学で実験した。

いずれも、光学顕微鏡、電子顕微鏡レベルの組織学、オプシン mRNA の同定と複眼内局在、視細胞膜電位の細胞内記録法の定法で、複眼の細胞構成を解明した。

### (2) 行動実験

ある色の円板で蜜を吸うように訓練したアゲハを、実験室内に設置したケージ（80 x 50 x 40 cm）の中に放し、床面に置いた色円板に対する吸蜜行動を指標に、視覚による円板の認識機構を調べた。色円板と背景の明るさを何段階かに変化させ、明度コントラストを

厳密にコントロールした。

### (3) アゲハ視葉板神経回路の機構解析

光学顕微鏡レベルの免疫組織化学の手法で、アゲハ視葉における神経伝達物質候補の分布を、細胞レベルで調べた。視葉板にガラス微小電極を刺入、視細胞末端および視覚二次ニューロン (LMC) の反応を調べた。

## 4. 研究成果

### (1) 複眼細胞構成の性差

モンキチョウ (*Colias erate*) の複眼には、他の種と同様、3タイプの個眼がランダムに分布している。一つの個眼には9個の視細胞が含まれる。非常に小さな基底視細胞を除く8個の視細胞について、♂♀のすべての個眼タイプで分光感度を調べた。結果、♂♀で青受容細胞の一部と赤受容細胞に明瞭な性差があることが分かった (図2)。

視物質オプシンを調べたところ、紫外型1つ、青型3つ、超波長型1つの計4つが見つかり、その複眼内分布には性差が無かった。一方、感桿周囲の赤色素の色と、蛍光色素が存在する個眼タイプには性差があった。すなわち、タイプ2個眼の赤色素の色がメスで薄いこと、蛍光色素は♂ではタイプ1個眼にあるのに対し、♀ではタイプ2個眼にあることが分かった。分光感度の性差は、色フィルターとして機能しているこれらの色素の吸収スペクトルで説明することができた。

### (2) 個眼重層構造の進化

原始的な形質を多く残すとされるウスバシロチョウ (*Parnassius glacialis*, アゲハチョウ科) の複眼細胞構成とおブシン分布を詳細に調べた。個眼は明瞭な重層構造を示し、個眼の近位層には分光感度の異なる視細胞が豊富に存在していた。一方、遠位層の視細胞3と4は、これまで調べられたチョウ類ではすべて緑受容細胞だったが、ウスバシロチョウでは赤受容細胞が混在していた。ウスバシロチョウの個眼構造を、ショウジョウバエ、ミツバチ、他のチョウ類と比較し、個眼重層構造の進化について論じた (図3)。

### (3) 吸蜜行動時のエッジ検出機構

ある色の円板で蜜を得ることを学習したアゲハは、円板を探索して発見し、着地しようとする。円板と背景の明度コントラストが十分であるときは着地して蜜を吸おうとするが、明度コントラストが十分でない円板に接近はするものの実際に着地することはできないことが分かった (図4)。明度コントラストの受容には、色覚と同じく、紫外・青・緑・赤の受容細胞が関与しているらしい。

### (4) アゲハ視覚中枢の神経伝達物質

アゲハ視覚中枢のニューロンに発現する神経伝達物質を探索するため、ヒスタミン、セロトニン、チラミン、GABA に対する抗体

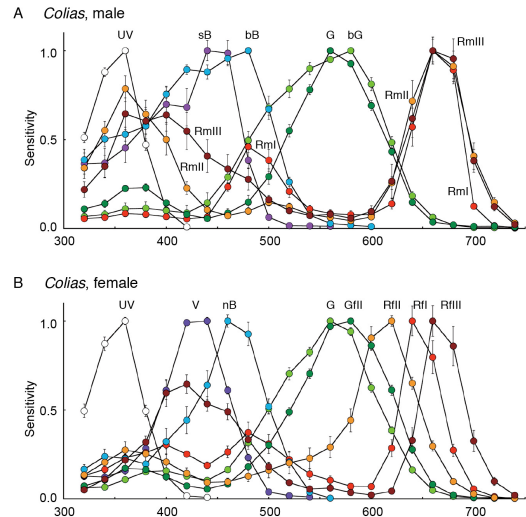


図2: モンキチョウ複眼視細胞の分光感度。♂ (上) と ♀ (下) で著しい違いがある。

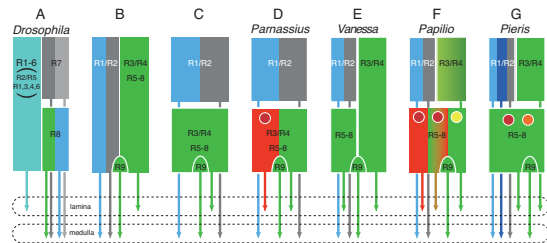


図3: 昆虫個眼の重層構造の多様性。左から、ショウジョウバエ、単層の個眼、二層の個眼、ウスバシロチョウ、アカタテハ、アゲハ、モンシロチョウ。

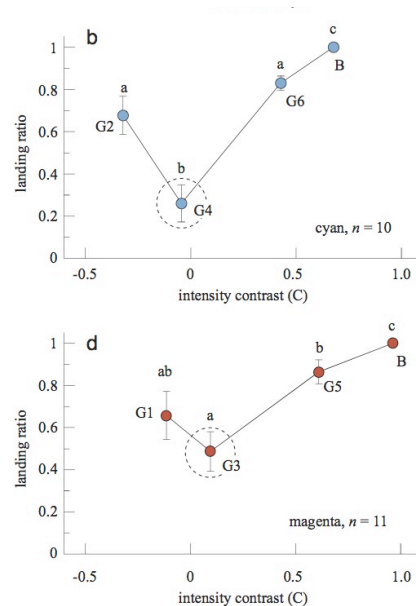


図4: 青 (上) または赤を学習させたアゲハ (下) の異なる明度コントラストでの円板訪問率。横軸は物理的明度コントラスト。コントラストが0に近い所で、円板への訪問率が極小になる。コントラストが+のときは背景より円板が明るく、-のとき、円板が暗い。

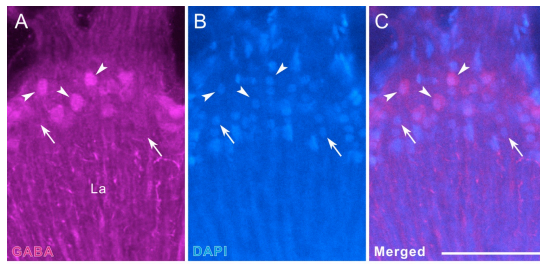


図5 : GABA 陽性の LMC は、LMC 全体の4分の1程度。A) 抗 GABA 抗体による染色、B) DAPI による核染色、C) A と B を重ねた画像。ところどころに両方で染まっている LMC の核が確認できる (矢頭)

を用いて、光学顕微鏡レベルの免疫組織化学を行った。視覚第二次ニューロン(LMC)の中に、GABA 陽性のもの(図5)とチラミン陽性のものが見つかった。これはあらゆる昆虫を通じ初めての発見で、今後、視葉板神経回路の機能を解明する上で、重要な知見である。

キシタアゲハ視細胞の分光感度を測定する過程で、多くの視細胞が、ある波長では脱分極、別の波長で過分極するという現象が見つかった。これは測定のアーチファクトである可能性が残されているが、視細胞間の抑制的相互作用を示唆するもので、今後詳細な解析が必要である。同様の反応はアゲハからも記録された。

#### 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 20 件、全て査読あり)

1. Chen PJ, Arikawa K, Yang EC (2013) Diversity of photoreceptors and spectral opponency in the compound eye of the Golden Birdwing, *Troides aeacus formosanus*. *PLoS ONE*, 印刷中
2. Ogawa Y, Kinoshita M, Stavenga DG, Arikawa K (2013) Sex-specific retinal pigmentation causes sexual dimorphic long wavelength-sensitive photoreceptors in the Eastern Pale Clouded Yellow butterfly, *Colias erate*. *Journal of Experimental Biology*, <http://jeb.biologists.org/content/early/2013/02/04/jeb.083485.short>
3. Hamanaka Y, Shibasaki H, Kinoshita M, Arikawa K (2013) Neurons innervating the lamina in the butterfly, *Papilio xuthus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 10.1007/s00359-013-0798-6, <http://link.springer.com/article/10.1007/s00359-013-0798-6>
4. Kakuta H, Matsushita A, Arikawa K, Iguchi T, Sato T (2013) Cholesterol homeostasis in the ovaries of neonatally diethylstilbestrol-treated mice. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 121:94-101, 10.1055/s-0033-1333780
5. Wilts BD, Pirih P, Arikawa K, Stavenga DG (2013) Shiny wing scales cause specular camouflage of the Angled Sunbeam butterfly, *Curetis acuta*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 印刷中, DOI: 10.1111/bij.12070,
6. Ogawa Y, Awata H, Wakakuwa M, Kinoshita M, Stavenga DG, Arikawa K (2012) Coexpression of three middle wavelength-absorbing visual pigments in sexually dimorphic photoreceptors of the butterfly *Colias erate*. *Journal of Comparative Physiology A*, 198:857-867, 10.1007/s00359-012-0756-8
7. Nagata T, Koyanagi M, Tsukamoto H, Saeki S, Isono K, Shichida Y, Tokunaga F, Kinoshita K, Arikawa K, Terakita A (2012) Depth perception from image defocus in a jumping spider. *Science*, 335:469-471, <http://www.sciencemag.org/content/335/6067/469.short>
8. Hamanaka Y, Kinoshita M, Homberg U, Arikawa K (2012) Immunocytochemical localization of amines and GABA in the optic lobe of the butterfly, *Papilio xuthus*. *PLoS ONE* 7:e41109, <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0041109>
9. Matsushita A, Awata H, Wakakuwa M, Takemura S, Arikawa K (2012) Rhabdom evolution in butterflies: insights from the uniquely tiered and heterogeneous ommatidia of the Glacial Apollo butterfly, *Parnassius glacialis*. *Proceedings of Royal Society of London B*, 279: 3482-3490, <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/279/1742/3482.short>
10. Kinoshita M, Takahashi Y, Arikawa K (2012) Simultaneous brightness contrast of foraging *Papilio* butterflies. *Proceedings of Royal Society of London B*, 279, 1911-1918, doi:10.1098/rspb.2011.2396,
11. Stavenga DG, Matsushita A, Arikawa K, Leertouwer HL, Wilts BD (2011) Glass scales on the wing of the swordtail butterfly *Graphium sarpedon* act as thin film polarizing reflectors. *Journal of Experimental Biology*, 215:657-662, <http://jeb.biologists.org/content/215/4/657.full>
12. Koshitaka H, Arikawa K, Kinoshita M (2011) Intensity contrast as a crucial cue for butterfly landing. *Journal of Comparative Physiology A*, 197: 1105-1112, 10.1007/s00359-011-0671-4



13. Stavenga DG, Arikawa K (2011) Photoreceptor spectral sensitivities of the Small White butterfly *Pieris rapae crucivora* interpreted with optical modeling. *Journal of Comparative Physiology A*, 197: 373-385, 0.1007/s00359-010-0622-5
14. Kinoshita M, Yamazato K, Arikawa K (2011) Polarization-based brightness discrimination in the foraging butterfly, *Papilio xuthus*. *Philosophical Transactions of Royal Society of London B*, 366: 688-696, <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/366/1565/688.short>
15. Wakakuwa M, Koyanagi M, Terakita A, Stavenga DG, Shichida Y, Arikawa K (2010) Evolution and mechanism of spectral tuning of blue-absorbing visual pigments in butterflies. *PLoS ONE*, 5(11): e15015. doi:10.1371/journal.pone.0015015,
16. Awata H, Matsushita A, Wakakuwa M, Arikawa K (2010) Eyes with basic dorsal and specific ventral regions in the Glacial Apollo, *Parnassius glacialis* (Papilionidae). *Journal of Experimental Biology*, 213:4023-4029, <http://jeb.biologists.org/content/213/23/4023.full>
17. Pirih P, Arikawa K, Stavenga DG (2010) An expanded set of photoreceptors in the Eastern Pale Clouded Yellow butterfly, *Colias erate*. *Journal of Comparative* 10.1007/s00359-010-0538-0
18. Nakatani Y, Matsumoto Y, Mori Y, Hirashima D, Nishino H, Arikawa K, Mizunami M (2009) 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, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S107474270900118X>
19. Arikawa K, Pirih P, Stavenga DG (2009) Rhabdom constriction enhances filtering by the red screening pigment in the eye of the Eastern Pale Clouded Yellow butterfly, *Colias erate* (Pieridae). *Journal of Experimental Biology*, 212:2057-2064, <http://jeb.biologists.org/content/212/13/2057.full>
20. Awata H, Wakakuwa M, Arikawa K (2009) Evolution of color vision in pierid butterflies: Blue opsin duplication, ommatidial heterogeneity and eye regionalization in *Colias erate*. *Journal of Comparative Physiology A*, 195:401-408,

10.1007/s00359-009-0418-7

[学会発表] (全 72 件)  
組織したシンポジウム

1. The leading edge of sensory ecology. The 34<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry, 2012 年 7 月, 葉山
2. Evolutionary Biochemistry and Physiology of Photoreception in Animals. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (ICCPB2011), 2011 年 6 月, 名古屋
3. 光感覚系の進化と多様性—仕組みと意義 日本動物学会第 81 回大会、2010 年 9 月、東京大学 東京

招待講演

4. チョウの視覚世界を探る、慶応義塾大学自然科学教育センター講演会。2013 年 2 月、慶応義塾大学、横浜
5. 昆虫の見る世界をさぐる～チョウ類色覚の神経行動学～ 第 94 回日本消化器内視鏡学会関東地方会特別講演。2012 年 6 月 東京
6. Exploring butterfly eyes and vision. Special seminar of the Department of Biology University of Ljubljana, June 2012, Ljubljana Slovenia
7. Butterfly color vision – the eve exploring the *Papilio* lamina. Special seminar of the Department of Physics, University of Oulu, March 2012, Oulu Finland
8. Complex eye and its tetrachromatic color vision of the butterfly *Papilio*. Entomology Special Seminar, March 2011, National Taiwan University, Taipei
9. Butterfly Color Vision -Evolution of opsins and eye regionalization. Shinshu University Special Seminar, 2011 年 1 月, 信州大学、松本
10. Butterfly color vision – Eye regionalization and opsin evolution. KVA seminar of the Swedish Royal Academy, 2010 年 10 月, Lund University, Sweden
11. The world of insects: Neuroethology of butterfly color vision. Special lecture at JSPS Summer Program 2009, 2009 年 6 月, 葉山
12. Spectral heterogeneity of ommatidia and its development in the eyes of the butterfly *Papilio xuthus*. “Visual processing in insects” May 2009, HHMI Janelia Farm Research Campus, Virginia USA.
13. The color vision system in butterflies. IBRO-ANS Advanced Neuroscience School, January 2009, Australian National

一般講演 (省略)

[図書] (全 21 件)

1. 蟻川謙太郎: 講座—色覚を考える. 臨牀消化器内科、日本メディカルセンター、印刷中
2. Imafuku M, Arikawa K: Compound eyes of dark fly. Springer, 印刷中.
3. 蟻川謙太郎: 生物の眼～複眼の構造と機能について～. 光学技術事典 朝倉書店、印刷中
4. 蟻川謙太郎: 行動生物学辞典 (分担執筆) 東京化学同人、印刷中
5. 牧野崇司、蟻川謙太郎: 視覚についての基礎知識: 本書を読みこなすために. 種生物学研究第 36 号: 生き物の眼をとおして覗く世界 (牧野、安元編) 文一総合出版、印刷中
6. 大橋一晴、牧野崇司、蟻川謙太郎: ポリネーターの眼から見た花色変化. 種生物学研究第 36 号: 生き物の眼をとおして覗く世界 (牧野、安元編) 文一総合出版、印刷中
7. 蟻川謙太郎: 昆虫に世界はどのように見えるか. 印刷中
8. Arikawa K (2012) Color sensors of butterflies. In: Barth FG, Humphrey J, Srinivasan M (eds) Frontiers in sensing – Biology and engineering, Springer, 43-55
9. 蟻川謙太郎 (2011) ルンド大学 — 動物視覚研究の新しい COE. 日本学術振興会ストックホルム研究連絡センターニューズレター, 29:6-7
10. 蟻川謙太郎 (2010) 昆虫に世界はどう見える? 月刊バイオインダストリー 27: 35-40
11. 蟻川謙太郎 (2010) チョウの色覚と紫外線. からだと光の事典, 朝倉書店, 30-33
12. 蟻川謙太郎 (2010) 紫外線を見る—昆虫の色覚. いろいろな感覚の世界—超感覚のしくみを探る (江口・蟻川編) 学会出版センター, 95-120
13. 若桑基博、蟻川謙太郎 (2010) 訪花性昆虫複眼の構造とその多様性. 設計工学, 45: 75-83
14. 蟻川謙太郎 (2009) 昆虫の光感覚. 光科学研究の最前線 2 (荒川他編) JILS, 209
15. 蟻川謙太郎 (2009) チョウに色は見えるのか? MilSil (国立科学博物館) 4: 17-19
16. 蟻川謙太郎 (2009) チョウ類における視物質重複と色覚の進化. 科学 (岩波書店) 79: 654-659
17. 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蟻川 謙太郎 (Arikawa Kentaro)  
総研大・先導研・教授  
研究者番号: 20167232

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

木下 充代 (Kinoshita Michiyo)  
総研大・先導研・助教  
研究者番号: 80381664

松下 敦子 (Matsushita Atsuko)  
総研大・先導研・助教  
研究者番号: 50450416

栗田 ひろ子 (Awata Hiroko)  
総研大・先導研・上級研究員  
研究者番号: 20432073