

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：37111

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24870029

研究課題名(和文)社会性昆虫クロオオアリを用いた巣仲間認識機構の神経科学的解析

研究課題名(英文)Neural mechanisms underlying nestmate recognition of the ant *Camponotus japonicus*

研究代表者

渡邊 英博 (WATANABE, Hidehiro)

福岡大学・理学部・助教

研究者番号：90535139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円、(間接経費) 720,000円

研究成果の概要(和文)：クロオオアリの社会形成において重要な役割を果たす、巣仲間識別の神経機構を解析した。第一に、揮発させた体表物質を手掛かりにアリが巣仲間を識別することを行動学的に発見した。この研究結果をふまえて巣仲間識別に関わる触角感覚子よりインパルス応答を記録し、内在する感覚細胞の嗅覚刺激に対する応答特性を調べた。また、巣仲間認識機構の神経基盤となる脳内領域を一次嗅覚中枢および高次嗅覚中枢で同定し、これらの領域の有無を他種の膜翅目昆虫と比較解析することにより膜翅目昆虫の社会性の進化過程について考察した。

研究成果の概要(英文)：Ants have highly elaborate pheromonal communication systems to maintain a complex society. Cuticular hydrocarbons (CHCs) found on the cuticle surface, play critical roles for nestmate recognition. It has been suggested that the ant, *Camponotus japonicus*, detects the colony-specific CHC profile by directly contacting another ant with their antennal basiconic sensilla. Here, we found that the ant can recognize nestmate by volatilized extracts derived from the cuticle surface. This result suggests that the ants recognize nestmate using olfactory cues. Therefore, we performed extracellular recordings from sensory neurons in a basiconic sensillum, and found that each sensillum responded to varied olfactory molecules. In the ants, sensory information received by basiconic sensilla is processed in specific brain regions. Finally, to reveal the brain evolution of social insects, we developed immunostainings and compared brain structures among many hymenopteran insects.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：動物生理・行動

キーワード：社会性昆虫 クロオオアリ 巣仲間識別 錐状感覚子 触角葉 糸球体 キノコ体 嗅覚

1. 研究開始当初の背景

真社会性昆虫である、クロオオアリ (*Camponotus japonicus*) は高度に発達した社会を形成する。アリの社会生活はフェロモンと呼ばれる化学物質を駆使したケミカルコミュニケーションに依存しており、なかでも体表炭化水素は巣仲間の認識に極めて重要な役割を果たすことが知られている。しかしながら、体表炭化水素の情報がアリの脳内でどのように処理されているのかはわかっていない。

(1)末梢での体表炭化水素受容について

アリの体表に存在する、10-70 種類の炭化水素の組成比に巣仲間特異性があり、これが巣仲間識別の鍵になる。体表炭化水素は触角上の錐状感覚子に内在する約 130 個の受容細胞によって接触化学感覚として受容されることが示唆されている。しかし、錐状感覚子の微細構造は嗅感覚子の構造と一致しており、体表炭化水素の受容機構にはいまだ論争がある。

(2)中枢での巣仲間情報処理について

錐状感覚子に内在する感覚細胞で受容された体表炭化水素情報は一次嗅覚中枢である触角葉の T6 系球体群で処理される。T6 系球体群から情報を出力する投射ニューロン群を解剖学的に解析した結果、高次脳中枢であるキノコ体および側角に巣仲間情報を処理する特定の領域があることが発見された。これらの中枢は社会行動を行うメスアリで特異的に観察できるため社会行動の中枢であることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究の達成目標は末梢および一次嗅覚中枢である触角葉での体表炭化水素情報処理機構の解明である。そのため、電気生理学的実験手法と解剖学的実験手法を用いた。また、他の膜翅目昆虫の巣仲間識別の神経機構と比較することにより、昆虫の社会性がどのように生じるのかを明らかにすることも大きな目的の一つである。

3. 研究の方法

(1) 嗅覚による巣仲間識別の行動学的実験

クロオオアリは体表炭化水素の組成比より、巣仲間と非巣仲間を識別する。嗅覚刺激から、体表炭化水素の巣仲間情報を受容できるかどうかを検証するため、アリの体表から体表物質を抽出した後、それを、加熱することにより、揮発させ、触角に提示することができる刺激装置を構築した。この刺激装置を用い、実際に巣仲間識別をおこなえるかどうか、攻撃行動を指標に検証した。

(2)触角錐状感覚子からの匂い応答記録

体表炭化水素を受容する触角の錐状感覚子は嗅感覚子とよく似た微細構造を持つ。そ

こで、錐状感覚子の根元に記録電極を挿入し、フェロモンを含めた多種の嗅覚刺激に対する神経応答を記録した。錐状感覚子は約 130 個の感覚細胞を内在しているため、これら感覚細胞それぞれの嗅覚応答特性を検証するために、応答ユニット分離を厳密に行う解析系を構築した。

(3)免疫抗体染色法による脳内巣仲間認識経路の可視化と膜翅目昆虫間での脳構造比較

錐状感覚子で受容された体表炭化水素情報は一次嗅覚中枢である触角葉の T6 系球体群で処理される。また T6 系球体群に樹状突起を持つ触角葉出力ニューロンは高次脳中枢であるキノコ体と側角の特定の領域に出力する。これらの脳領域はクロオオアリで社会性を示す雌アリで特異的に観察できるため社会性の中枢であることが示唆されている。シナプシン抗体による脳内ニューロパイルの染色とセロトニン抗体による脳内ニューロンの染色を同時に行うことにより、これらの領域の可視化を試みた。また、この染色法を膜翅目の多種の昆虫に試みることにより、社会性の有無と脳内巣仲間認識経路の関係性や、昆虫の社会性の獲得過程を考察した。

4. 研究成果

(1)嗅覚による巣仲間識別の行動実験

クロオオアリの体表抽出物質を加熱し、揮発させることにより、体表炭化水素情報を触角に嗅覚刺激として提示することのできる刺激装置を構築した。この装置を用いて、非巣仲間の体表抽出物質を提示した場合、攻撃行動が誘発される事を行動学的に明らかにした(図 1)。この結果より、クロオオアリが嗅覚情報によっても巣仲間識別できるという事を示した。

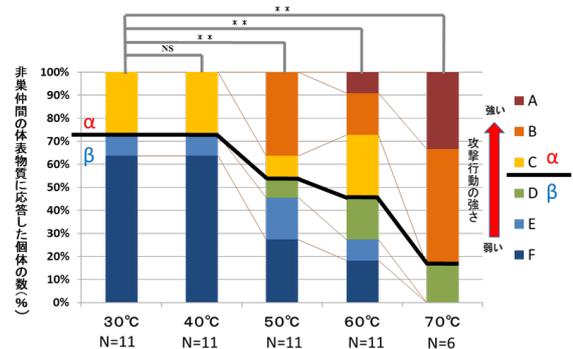


図 1 各温度域で揮発させた非巣仲間の体表物質によって誘発される攻撃行動

(2)触角錐状感覚子からの匂い応答記録

(1)の実験結果を受けて、触角の錐状感覚子から嗅覚応答を電気生理学的に記録した。その結果、錐状感覚子は多種の匂い物質に対して興奮性の応答を示すことが明らかになった(図 2)。従来、触角上の錐状感覚子は接触により巣仲間-非巣仲間の体表炭化水素情報を受容する接触化学感覚子と考えられてい

たが、嗅覚子としての機能を持つことが新たに明らかになった。錐状感覚子には約 130 個の感覚細胞が内在している。錐状感覚子の嗅覚応答をユニットの数に注目し解析してみたところ、各匂い刺激は少なくとも 10 個以上の感覚細胞が興奮応答を示すこと（図 2 下図）、匂い刺激によって応答する感覚細胞の種類が異なることが明らかになった。

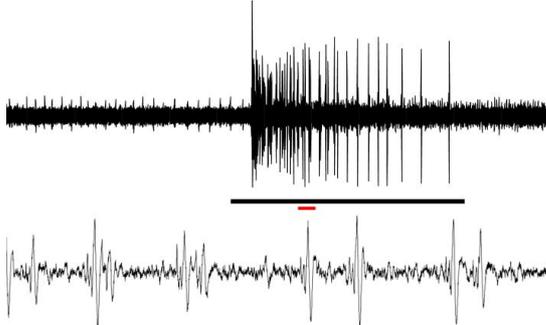


図 2 オクタナールに対する錐状感覚子の嗅覚応答

黒線は匂い刺激を表し、下図は赤いラインの部分を引き延ばしたものである。多数の応答ユニットが観察できる。

(3) 免疫抗体染色法による脳内巣仲間認識経路の解析

シナプシン-セロトニン二重免疫抗体染色法により、クロオオアリの錐状感覚子由来の情報を処理する触角葉の T6 系球体群とキノコ体の lip-1 領域の可視化に成功した。これらの領域は明瞭な性的二形を示し、社会行動を示さないクロオオアリ雄の脳では観察できなかった（図 3）。同様の観察をアリ科に近縁のスズメバチ科およびミツバチに代表されるハナバチ科の昆虫でも行った。その結果、スズメバチ科の昆虫において、触角葉にクロオオアリの T6 系球体群と相同の形態学的特徴をもつ球体群が観察できた（図 3）。しかしながら、スズメバチ科の昆虫ではこの領域は雌雄や社会性の有無に関係なく共通して観察できた。これらの昆虫ではこれらの領域は餌となる昆虫の識別に使われていることが示唆されている。これらの結果から、クロオオアリの持つ巣仲間認識機構はスズメバチ科の餌識別機構から進化していったものと考えられる。

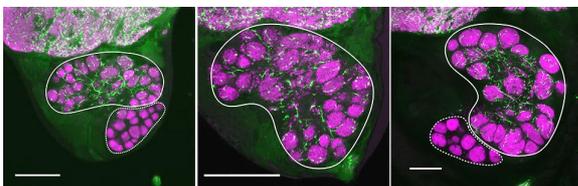


図 3 クロオオアリの働きアリ（左図）と雄アリ（中央図）、スズメバチのメス（右図）の触角葉の比較

マゼンタ色はシナプシン抗体で染色される脳内ニューロパイルを緑色はセロトニン陽性ニューロンを表す。クロオオアリではセロトニン陽性ニューロンが分布している領域（実線）が通常の嗅覚情報を処理する系球

体群であり、セロトニン陽性ニューロンが分布していない領域が巣仲間情報を処理する領域（破線）となる。スズメバチの触角葉の構造は働きアリのそれと酷似している。白線は 100 μ m を表す。

(4) 上記の実験手法の多種昆虫への応用

上記のクロオオアリで用いた実験手法は他種の昆虫の感覚系の解析でも用い、多くの実験成果を得ることが出来た。例えば、クロオオアリで確立したシナプシン-セロトニン二重免疫抗体染色の手法をもちい、ワモンゴキブリ触角内にあるセロトニン陽性の感覚細胞を発見したので論文として報告した（業績）。また、感覚系の比較として捕食昆虫であるカマキリの触角構造の解析も進めている（業績、）。

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 8 件)

全て査読有

Watanabe H, Shimohigashi M, Yokohari F. Serotonin-immunoreactive sensory neurons in the antenna of the cockroach *Periplaneta americana*. *J Comp Neurol*. 2014. 522:414-34. doi: 10.1002/cne.23419.

Carle T, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F. Features of the sexual dimorphism during the antennal development in praying mantis (*Tenodera aridifolia*), a base to understand the neural development processing? *PLoS one*. 2014. *in press*.

Carle T, Toh Y, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F. The antennal sensilla of the praying mantis *Tenodera aridifolia*: a new flagellar partition based on the antennal macro-, micro- and ultrastructures. *Arthropod Struct Dev*. 2014. 43:103-16. doi: 10.1016/j.asd.2013.10.005.

Matsumoto CS, Kuramochi T, Matsumoto Y, Watanabe H, Nishino H, Mizunami M. Participation of NO signaling in formation of long-term memory in salivary conditioning of the cockroach. *Neurosci Lett*. 2013. 541:4-8. doi: 10.1016/j.neulet.2013.01.010.

渡邊英博、ワモンゴキブリの末梢から高次中枢までの嗅覚情報処理機構、比較生理生化学、2013、30 巻、89-105 頁、<http://jscp.org/ja/archive/cobey/30/3/>

Watanabe H, Ai H, Yokohari F. Spatio-temporal activity patterns of odor-induced synchronized potentials revealed by voltage-sensitive dye imaging and intracellular recording in the

antennal lobe of the cockroach. *Front Syst Neurosci.* 2012. 25;6:55. doi: 10.3389/fnsys.2012.00055.

Watanabe H, Haupt SS, Nishino H, Nishikawa M, Yokohari F. Sensillum-specific, topographic projection patterns of olfactory receptor neurons in the antennal lobe of the cockroach *Periplaneta americana*. *J Comp Neurol.* 2012. 520:1687-701. doi: 10.1002/cne.23007.

Nishikawa M, Watanabe H, Yokohari F. Higher brain centers for social tasks in worker ants, *Camponotus japonicus*. *J Comp Neurol.* 2012. 520:1584-98. doi: 10.1002/cne.23001.

〔学会発表〕(計 4 件)

渡邊英博、横張文男、ワモンゴキブリ二次嗅覚ニューロンからの同時細胞内記録、日本動物学会第 84 回大会、2013 年 9 月 26 日、岡山

Watanabe H, Shimohigashi M, Yokohari F. Serotonin-immunoreactive sensory neurons in the antenna of the cockroach. 第 35 回日本比較生理生化学会、2013 年 7 月 13 日、姫路

渡邊英博、藍浩之、横張文男、ゴキブリ触角葉での神経集団の同期発火による匂い符号化、日本動物学会第 83 回大会、2012 年 9 月 13 日、大阪

近藤篤志、塩路幸生、渡邊英博、横張文男、クロオオアリの揮発性物質の同定と触角感覚子の応答特性、日本動物学会第 83 回大会、2012 年 9 月 13 日、大阪

〔図書〕(計 2 件)

Mizunami M, Matsumoto Y, Watanabe H, Nishino H. Olfactory and visual learning in cockroaches and crickets. *Invertebrate learning and memory* (ed. Menzel R, Benjamine PR.). 2013. 549-560. Elsevier

渡邊英博、ワモンゴキブリ、研究者が教える動物飼育 『第 2 巻 昆虫とクモの仲間』(針山孝彦・小柳光正・嬉 正勝・妹尾圭司・小泉 修・日本比較生理生化学会編集) 2012、 43-47 頁、共立出版

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

渡邊英博、ワモンゴキブリの嗅覚系、無脊椎動物脳データベース

http://invbrain.neuroinf.jp/modules/htdocs/IVBPF/Cockroach/Cockroach_antenna.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 英博 (WATANABE, Hidehiro)
福岡大学・理学部・助教
研究者番号：90535139

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：