

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：32639

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440181

研究課題名(和文) 社会性ハチ類における脳内ドーパミン制御機構の性差に関する進化的研究

研究課題名(英文) Evolutionary study on differences of dopamine regulation systems in the brain between sexes in social Hymenoptera

研究代表者

佐々木 謙 (Sasaki, Ken)

玉川大学・農学部・准教授

研究者番号：40387353

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：真社会性ハナバチ類であるセイヨウミツバチとクロマルハナバチのワーカー・女王・雄における脳内ドーパミンの動態とそれらに影響を与える要因について調査した。ミツバチではワーカー・雄ともにドーパミンによる繁殖促進作用が見られた。脳内ドーパミン量を増加させる要因は、ワーカーでは女王(あるいは女王物質)の存在とチロシン(ドーパミン前駆物質)供給であり、雄では幼若ホルモンとチロシン供給であった。マルハナバチでは、ワーカーの卵巢発達と脳内ドーパミン量に有意な正の相関が見られたが、女王では検出されなかった。ミツバチではドーパミン制御機構に性差が見られ、両種ともにドーパミンと生殖との関係にカースト差が見られた。

研究成果の概要(英文)：To clarify dopamine regulation systems in the brains in eusocial bees, dopamine dynamics and factors affecting the levels in the honey bee and the bumble bee were determined. In the honey bee, dopamine has a role in promotion of reproduction in both workers and males. Factors affecting increase of brain dopamine were a presence of a queen (or queen substances) and tyrosine (a precursor of dopamine) supply in workers, and juvenile hormone and tyrosine supply in males. In the bumble bee, a positive correlation between ovarian development and brain dopamine levels was detected in queenless workers, but not in virgin queens with developed ovaries. Thus, the differences of dopamine regulation systems between sexes were found in the honey bee, and roles of dopamine differ between the castes in both species.

研究分野：昆虫生理学

キーワード：biogenic amine bumble bee dopamine honey bee reproduction

1. 研究開始当初の背景

真社会性昆虫の特徴である繁殖分業は、他個体からの情報に基づいて自らの繁殖を調節、あるいは他個体の繁殖を操作する機構を獲得した結果、進化した性質であると考えられる。そのため、真社会性種の繁殖制御機構の解明は、真社会性の進化過程を知る上で重要であると考えられる。

セイヨウミツバチのワーカーでは、女王物質の存在が脳内ドーパミン量の上昇を抑える。したがって、女王不在の条件下ではワーカーの脳内ドーパミン量は増加し、産卵個体化を促進する。脳内ドーパミン上昇のメカニズムはいくつか考えられ、(1) 女王物質が経口で摂取され、脳内のドーパミン受容体に agonist として作用する説、(2) 女王物質が触角などの感覚器官で検出され、ドーパミン量に影響する説が提唱されている。さらに、女王不在の条件下では、ローヤルゼリーを消費する女王や幼虫がいないため、有女王条件下と比べて栄養条件が大きく異なることが予想される。ローヤルゼリーはドーパミンの前駆物質であるチロシンを含むため、女王不在の条件下では、ローヤルゼリーがワーカーへ分配され、産卵ワーカーの高い脳内ドーパミン濃度の原因となる可能性がある。

ミツバチの雄では、幼若ホルモン処理により脳内ドーパミン量が上昇し、ドーパミン受容体遺伝子の発現にも影響を与える。幼若ホルモンによるドーパミン制御機構は、低次真社会性種であるアシナガバチの雌や単独性種のクマバチの雄でも確認されており、社会性ハチ類の雌雄で共通する祖先的な機構であると考えられる。ミツバチの雄では、その祖先的な性質が保存されていると考えられる。

2. 研究の目的

真社会性ハチ類の雌雄において、ドーパミンは生殖腺発達や繁殖行動を促進する生理活性物質の一つである。高次真社会性種であるセイヨウミツバチでは、脳内ドーパミン量を制御する因子が雌雄で異なり、雌（ワーカー・女王）では女王物質が脳内ドーパミン量に影響を与えるのに対し、雄では幼若ホルモンがドーパミン量を増加させる。このドーパミン制御機構の性差は、雌の繁殖分業やワーカー間分業の進化過程で特殊化した結果であると考えられる。本研究では、高次真社会性種のミツバチと低次真社会性種のマルハナバチを用いて、脳内ドーパミン制御機構を性間、種間で比較し、“社会進化の程度に応じて、脳内ドーパミン制御機構が繁殖分業の発達した雌で特殊化した”という仮説を検証する。

3. 研究の方法

(1) セイヨウミツバチにおける栄養摂取個体の脳内アミン量の測定

ローヤルゼリー中には様々な栄養物質が含まれており、アミノ酸の一種であるチロシンは生体アミン量に影響を与えると考えられる物質である。チロシンは DOPA を経てドーパミンに代謝される物質で、チロシン摂取により脳内ドーパミン量が上昇する可能性が考えられる。そこで、無女王条件下のワーカーと雄において、複数濃度のチロシンを経口摂取させ、脳内ドーパミンへの影響を調査した。さらに、無女王群ワーカーと雄において、ローヤルゼリーやハチミツを摂取させた場合の脳内チロシン量やドーパミン量を定量した。

(2) セイヨウミツバチにおける実験条件下での採餌個体化と卵巣発達の調査、餌摂取行動や餌交換行動の観察

無女王群ワーカーにおいて、チロシン摂取による卵巣発達や採餌個体化への影響を調査した。また、ローヤルゼリー摂取行動や餌交換行動も観察し、日齢に応じた行動変化を解析した。

(3) クロマルハナバチ女王における交尾後から創設初期にかけての生体アミン量の測定

交尾後 1 日後の女王、低温休眠中の女王、および創設初期の女王について、脳内・胸部神経節内、腹部終末神経節内、血中アミン量を測定した。各部位間の相関や卵巣発達についても調査した。また、未交尾女王や産卵ワーカーにおける卵巣発達と脳内アミン量との相関も調査した。

(4) クロマルハナバチ雄における成虫期の脳内アミン量の測定

成虫羽化後の脳内アミン量を測定し、性成熟との関係を調査した。

4. 研究成果

(1) セイヨウミツバチの栄養摂取による脳内ドーパミンの制御機構

雌について

無女王群ワーカーにチロシンを摂取させたところ、脳内ドーパミン量はチロシンの濃度に依存して多くなった(図 1)。ドーパミンの代謝物質である N-アセチルドーパミンやチラミンにおいても脳内量が有意に高かった。

ローヤルゼリーを摂取させた無女王群ワーカーにおいて、脳内へのチロシン取り込みが確認されたが、ハチミツの経口摂取による脳内チロシン量への影響は検出されなかった(図 2A)。ローヤルゼリー摂取個体において、脳内ドーパミン量は有意に多かった(図

2B)。このようにローヤルゼリー摂取がチロシン摂取を通して脳内ドーパミン量に増加させることが示された。

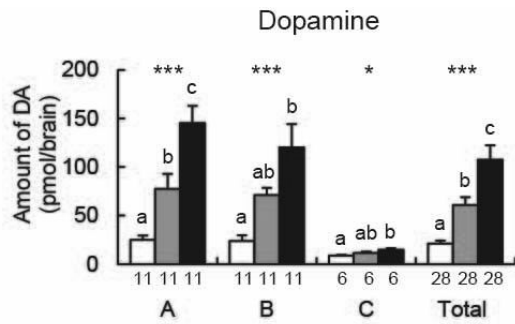


図1 チロシン経口摂取による脳内ドーパミン量への影響 (Matsuyama et al., 2015). 白: ショ糖餌, グレー: 1mg/mL チロシン餌, 黒: 2mg/mL チロシン餌

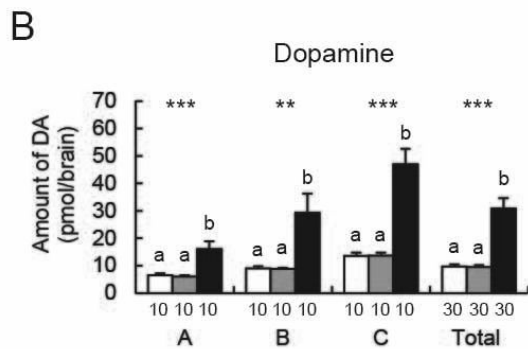
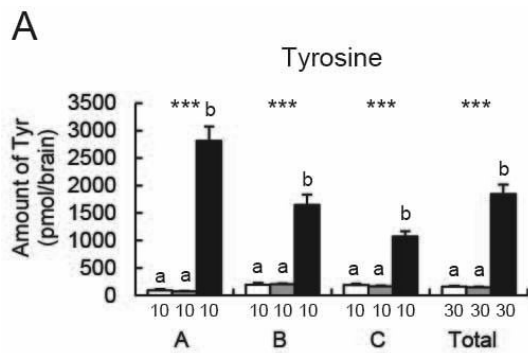


図2 ローヤルゼリー経口摂取による脳内チロシン量および脳内ドーパミン量への影響 (Matsuyama et al., 2015). 白: ショ糖, グレー: ハチミツ+ショ糖, 黒: ローヤルゼリー+ショ糖

雄について

セイヨウミツバチの雄において、チロシン経口摂取による脳内ドーパミン量への影響を調べたところ、4日齢では脳内ドーパミン量に違いは見られなかったが、8日齢ではチロシン摂取個体で脳内ドーパミン量は多かった(図3A)。一方、一緒に飼育していたワーカーについては、4日齢・8日齢ともにチロシン濃度に依存して脳内ドーパミン量が多くなった(図3B)。

ローヤルゼリーを摂取させた雄において、脳内ドーパミン量は有意に多く、ワーカーと同様に栄養摂取によるドーパミン量への影響が確認された(図4)。

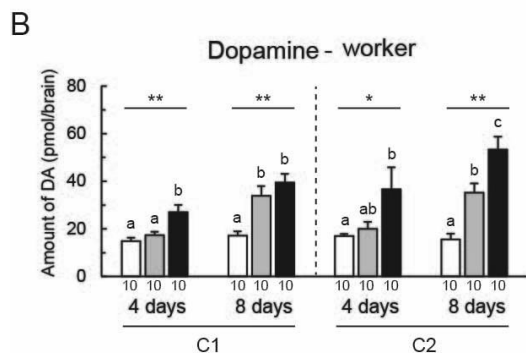
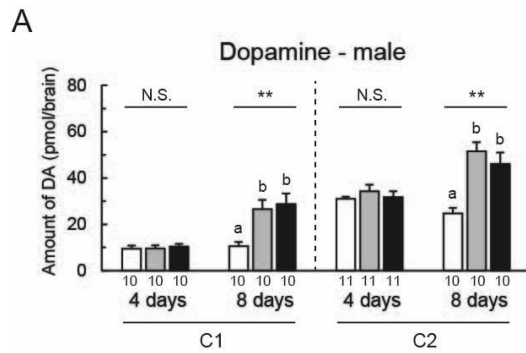


図3 雄とワーカーにおけるチロシン摂取による脳内ドーパミン量への影響 (Sasaki, 2016). 白: ショ糖餌, グレー: 1mg/mL チロシン餌, 黒: 2mg/mL チロシン餌

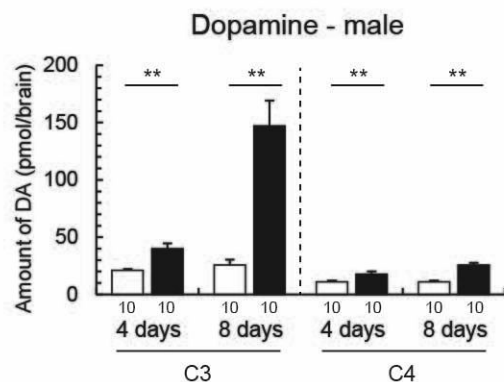


図4 雄のローヤルゼリー摂取による脳内ドーパミン量への影響 (Sasaki, 2016). 白: ショ糖, 黒: ローヤルゼリー+ショ糖

(2) セイヨウミツバチにおける実験条件下での採餌個体化と卵巣発達の調査、餌摂取行動や餌交換行動

チロシン摂取による内勤化と卵巣発達
無女王群ワーカーにおいて、チロシン経口摂取を行った個体の外勤化率を調べたところ、コントロール個体は加齢とともに外勤化が進行したのに対し、チロシン摂取個体では内勤化が維持された(図5A)。また、チロシン

摂取個体の卵巣は無女王群のコントロール個体よりも卵巣が発達していた(図5B)。このように、チロシン摂取は内勤化を維持するとともに、卵巣発達を促進することが分かった。

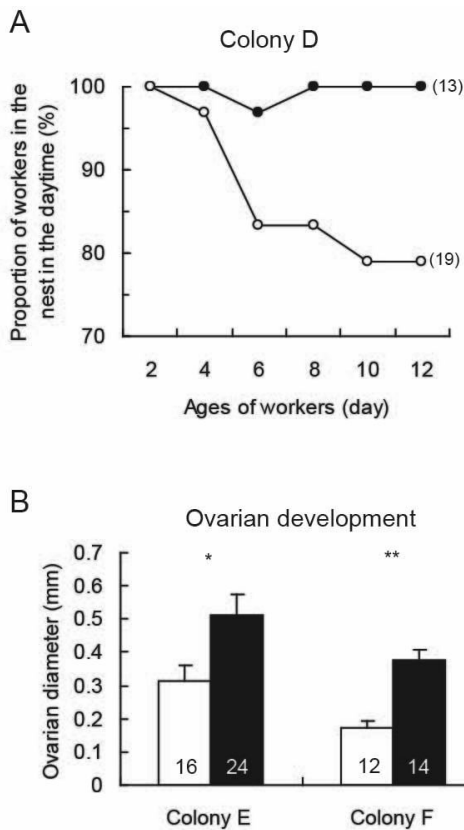


図5 チロシン摂取による内勤化と卵巣発達の促進 (Matsuyama et al., 2015). 白: ショ糖 (コントロール), 黒: チロシン

雄の餌摂取行動と餌交換行動

雄の餌摂取行動は1-3日齢では観察されず、ワーカーとの餌交換行動のみが観察された(図6)。一方、5-7日齢の雄では自身による餌摂取行動とワーカーとの餌交換行動の両方が観察された(図6)。

セイヨウミツバチにおける脳内ドーパミンの制御機構の性差

ワーカーと雄の両方で栄養摂取(特にローヤルゼリー摂取)による脳内ドーパミン量の増加が見られた。これはローヤルゼリー中のチロシンの摂取がドーパミン前駆物質の供給となり、脳内ドーパミンの増加につながったと考えられる。栄養摂取は自らの餌摂取か餌交換行動によって起こり、雄では若齢時に餌摂取を行わないため、ワーカーの餌交換行動を介してのみ、チロシン摂取が起こる。したがって、この時期の雄はワーカーとの餌交換に依存しており、ワーカーによる脳内ドーパミンの調節を受ける可能性がある。

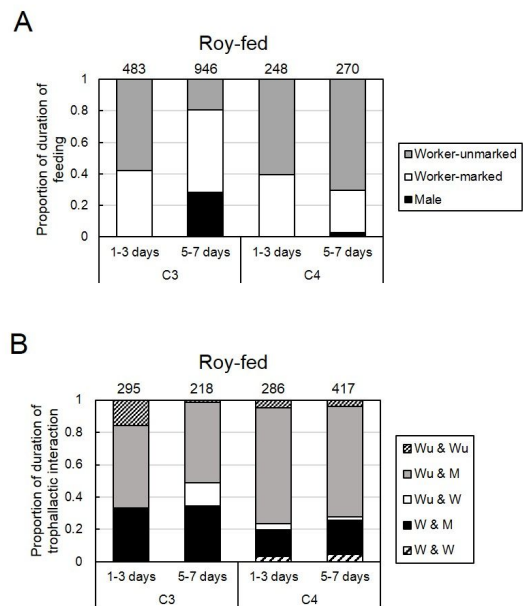


図6 雄の日齢による餌摂取行動と餌交換行動の違い (Sasaki, 2016)。

(3) クロマルハナバチ雌の繁殖におけるドーパミンの役割

女王の創設初期の脳内・胸部神経節・腹部終末神経節・血中ドーパミン量は、交尾後1日目のものよりも有意に少なかった。一方、卵巣は創設初期の個体で最も発達しており、ドーパミン量と負の関係にあった。

脳内ドーパミン量は胸部神経節内や腹部終末神経節内、血中ドーパミン量を正の相関があり、量的変化が同調していると考えられる。

未交尾女王の脳内ドーパミン量と卵巣発達との有意な相関は検出されなかったが、産卵ワーカーの脳内ドーパミン量と卵巣発達との間には有意な正の相関が検出された。

(4) クロマルハナバチ雄の繁殖におけるドーパミンの役割

雄の成虫期において日齢で大きく異なった脳内アミンはドーパミンであり、羽化後減少する傾向が見られた。繁殖に関わる行動は日齢とともに活発になる傾向が見られ、脳内ドーパミンによる性行動の制御は行われていない可能性がある。

(5) ミツバチとマルハナバチにおける脳内ドーパミンの役割のキャスト間・性間比較

セイヨウミツバチとクロマルハナバチの女王において、交尾産卵個体の脳内ドーパミン量は相対的に少なく、ドーパミンを減少させる共通の仕組みがあると考えられる。一方、産卵ワーカーが高い脳内ドーパミン量を持つという点も両種で共通しており、両種とも雌キャスト間でドーパミンの役割が異なると考えられる。

セイヨウミツバチの雄において、脳内ドー

パミンは雄の生殖器官の発達や交尾飛翔行動とリンクしているのに対し、クロマルハナバチの雄では羽化後から減少する傾向が見られ、繁殖行動や生殖器官の発達との関係が見られなかった。ミツバチ雄では幼若ホルモンによる脳内ドーパミンの増加が見られるが、マルハナバチでも同様の関係があるかどうかは確認できなかった。

栄養摂取による脳内ドーパミン量への影響はセイヨウミツバチのワーカー・雄ともに見られ、チロシン摂取を介した脳内ドーパミン量の増加は性間共通のメカニズムであると考えられる。無女王群ワーカーでは、このメカニズムが産卵個体化を促進する仕組みとして働く可能性が考えられる。

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9件)

Shimoji, H., Aonuma, H., Miura, T., Tsuji, K., Sasaki, K., Okada, Y. (2017) Queen contact and among-worker interactions dually suppress worker brain dopamine as a potential regulator of reproduction in an ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol. 71, 35, DOI: 10.1007/s00265-016-2263-3, 査読有.

Sasaki, K. (2016) Nutrition and dopamine: an intake of tyrosine in royal jelly can affect the brain levels of dopamine in male honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, vol. 87, p45-52, DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.02.003, 査読有.

Yaguchi, H., Inoue, T., Sasaki, K., Maekawa, K. (2016) Dopamine regulates termite soldier differentiation through trophallactic behaviors. *Royal Society Open Science*, vol. 3, 150574, DOI: 10.1098/rsos.150574, 査読有.

Okada, Y., Sasaki, K., Miyazaki, S., Shimoji, H., Tsuji, K., Miura, T. (2015) Social dominance and reproductive differentiation mediated by dopaminergic signaling in a queenless ant. *Journal of Experimental Biology*, vol. 218, p1091-1098, DOI: 10.1242/jeb.118414, 査読有.

Matsuyama, S., Nagao, T., Sasaki, K. (2015) Consumption of tyrosine in royal jelly increases brain levels of dopamine and tyramine and promotes transition from normal to reproductive workers in queenless honey bee colonies. *General and Comparative Endocrinology*, vol. 211, p1-8, DOI: 10.1016/j.ygcen.2014.11.005, 査読有.

[学会発表](計24件)

Sasaki, K. (2016) Regulation system of brain dopamine for reproduction in social insects. ICE 2016 XXV International Congress of Entomology, 9月30日, Orland, Florida (USA).

佐々木謙 (2016) セイヨウミツバチの栄養摂取による脳内ドーパミン量への影響. 第60回日本応用動物昆虫学会, 3月26-29日, 大阪府立大学(大阪府・堺市).

佐々木謙 (2014) ミツバチワーカーと雄のチロシン摂取による脳内ドーパミン量への影響. 第33回日本動物行動学会, 11月2-3日, 長崎大学(長崎県・長崎市).

Sasaki, K., Mastuyama, S., Nagao, T. (2014) Nutritional regulation of the brain levels of dopamine and tyramine to promote the transition from normal to reproductive workers in queenless colonies of honey bees. 11th International Congress of Neuroethology, 7月28日-8月1日, Sapporo Convention Center, (北海道・札幌市).

Sasaki, K., Matsuyama, S., Nagao, T. (2014) Regulation of brain dopamine by nutrition in female honeybees. International Congress of IUSSI 2014, 7月13-18日, Cairns Convention Center, Queensland (Australia).

[図書](計1件)

Sasaki, K. (2014) Sex differences of dopamine control systems associated with reproduction in honey bees. In "Honeybees: Foraging Behavior, Reproductive Biology and Diseases", Chapter 5, p137-152, (Ed.) Cameron Malloy, NOVA Science Publisher.

[その他]

ホームページ等

https://www.researchgate.net/profile/Ken_Sasaki
2

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 謙 (SASAKI, Ken)
玉川大学・農学部・准教授
研究者番号: 40387353