

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00414

研究課題名(和文) ミツバチ脳のリバースエンジニアリング：ダンスコミュニケーションの神経機構

研究課題名(英文) Reverse-Engineering of honey bee brain: Neural mechanisms of dance communication

研究代表者

池野 英利 (Ikeno, Hidetoshi)

兵庫県立大学・環境人間学部・教授

研究者番号：80176114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ミツバチのダンスコミュニケーションに使用されている空気の振動刺激を受容、処理する神経構造及び処理機構を実際の生理、形態実験データに基づき解析を進めた。触角からの投射を受けている介在ニューロン群を探索し、その形態に関する数理モデルを構築・評価及び電気的応答特性の比較手法を確立した。これらの結果に基づき、振動刺激の時間長の検出において抑制性ニューロンDL-Int1が重要な働きを果たしていることを予測した。さらに採餌パチにおけるこのニューロンの形態及び電気的応答特性が、羽化直後の八手機能に比べて、神経回路の応答を強化するように適応していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミツバチのダンスコミュニケーションは、記号的な情報表現を用いた生物の情報伝達手法であり、昆虫の小さな脳がこのような高度な機能をどのように実現しているのかは生物学の大きな謎である。これまで情報の送信者であるダンスパチについては多くの研究がなされてきたが、受信者であるフォロワーについてはあまり注目されて来なかった。本研究では、このフォロワーに着目し、脳内において情報がどのように伝達、処理されているかの解明を進め、その神経回路構造を提案することができた。また、この処理に関連するニューロンの形態、応答特性の解析方法を確立することができた。この方法は、様々な神経系の解析に適応可能なものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have analyzed the structure and mechanisms of the neural circuit that receives and processes the airborne vibration stimulus used in dance communication of honeybee based on the physiological and morphological experimental data. We identified interneurons receiving projections from antennae. Then we constructed and evaluated mathematical models for their morphologies, and established a method for comparing electrical responses. Based on these works, we predicted that the inhibitory interneuron DL-Int1 plays an important role in detecting the duration of vibration stimuli. Furthermore, it was clarified that the morphological and electrical response characteristics of the neuron in forgers are adapted to enhance the response of neural circuit as compared the bee immediately after emergence.

研究分野：ニューロインフォマティクス

キーワード：ミツバチ ダンスコミュニケーション 振動刺激情報 ニューロン形態 神経回路モデル

## 1. 研究開始当初の背景

ミツバチのダンスコミュニケーションは、記号的な情報表現を用いた生物の情報伝達手法であり、昆虫の小さな脳がこのような高度な機能をどのように実現しているのかは生物学の大きな謎とされてきた。これまで情報の送信者であるダンスバチについては、行動実験を中心に多くの研究がなされてきた。しかしながら、受信者であるフォロワーについては、その行動が明確でなく、しかも脳内における処理であることからあまり研究が進められて来ておらず、このコミュニケーションの実態は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまで研究が十分になされていないが、ダンスコミュニケーション成立の鍵となるフォロワーに着目し、フォロワーの脳内においてダンス情報がどのように伝達、処理されているかについて、その神経回路機構の解明を目指して研究を行った。

## 3. 研究の方法

ミツバチの頭部及び触角を固定した状態で触角にキャピラリーに挿入した。キャピラリーを通じて振動刺激を与え、脳の背側葉を中心にこの刺激に対して応答が見られる介在ニューロンを探索し、その電氣的応答を細胞内計測法により測定した。応答計測後には蛍光色素を注入し、脳内における細胞の位置を特定すると共に、脳を摘出、組織固定後、共焦点顕微鏡レーザー走査型蛍光顕微鏡により3次元形態画像データ取得した。

これら生理学的、形態学的実験手法によって得られた実験データをベースにニューロインフォマティクスに基づく数理解析手法による解析を実施した。

## 4. 研究成果

ミツバチ触角への振動情報処理に関連するニューロンの樹状突起、軸索の分枝状態や応答様式に基づき、介在ニューロン間のシナプス結合を予測し、振動刺激を処理する一次中枢である局所神経回路を推定した(図1, 図2, Ai et al., 2017)。

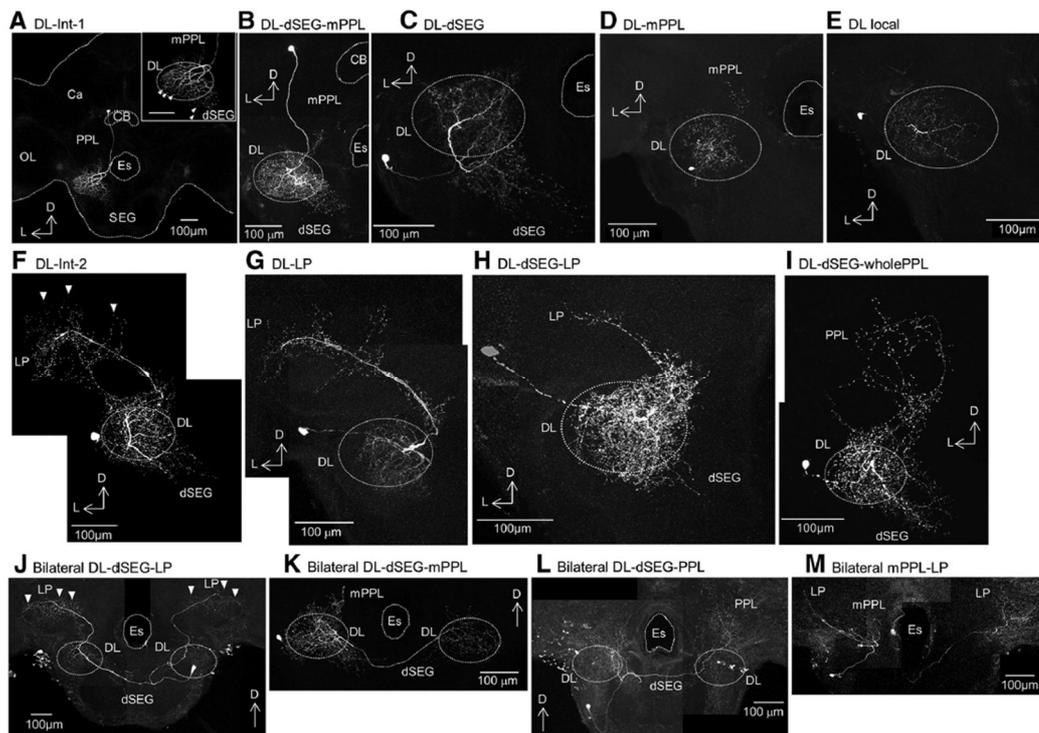


図1 振動情報処理に関与するニューロン、主に背側葉(DL)に分枝する介在ニューロンが振動刺激に対して応答がみられた(Ai et al., 2017)

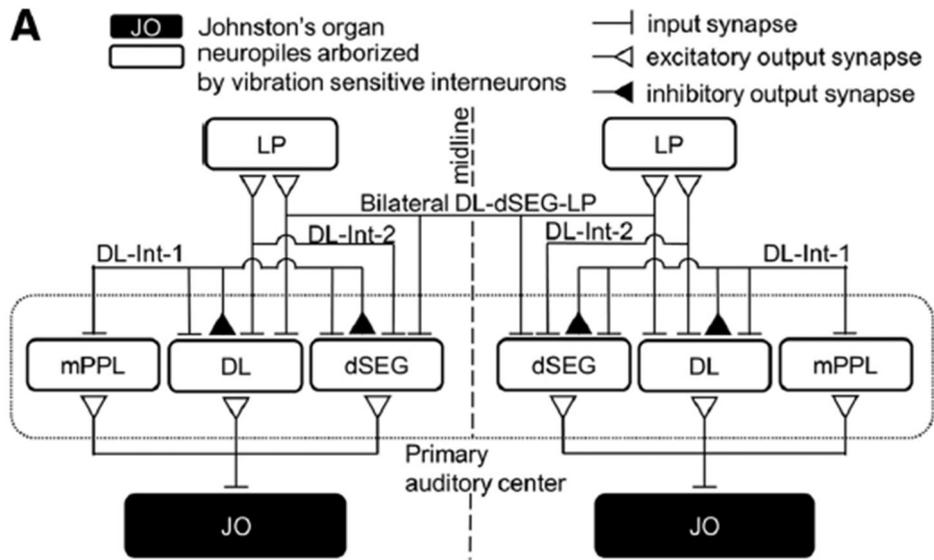


図 2 振動情報処理の神経回路予想図、介在ニューロンの分枝状態、応答様式に基づき予測した(Ai et al., 2017)

一方、介在ニューロンの 3 次元形態については、我々が独自に開発した自動セグメンテーションソフトウェアと手動による修正を組み合わせたモデル構築手法を新たに提案し、この方法により振動刺激処理に関わる神経回路において重要な働きをしていると思われる抑制性介在ニューロン DL-Int-1 の形態モデルを構築した(図 3, Ikeno et al., 2018)。

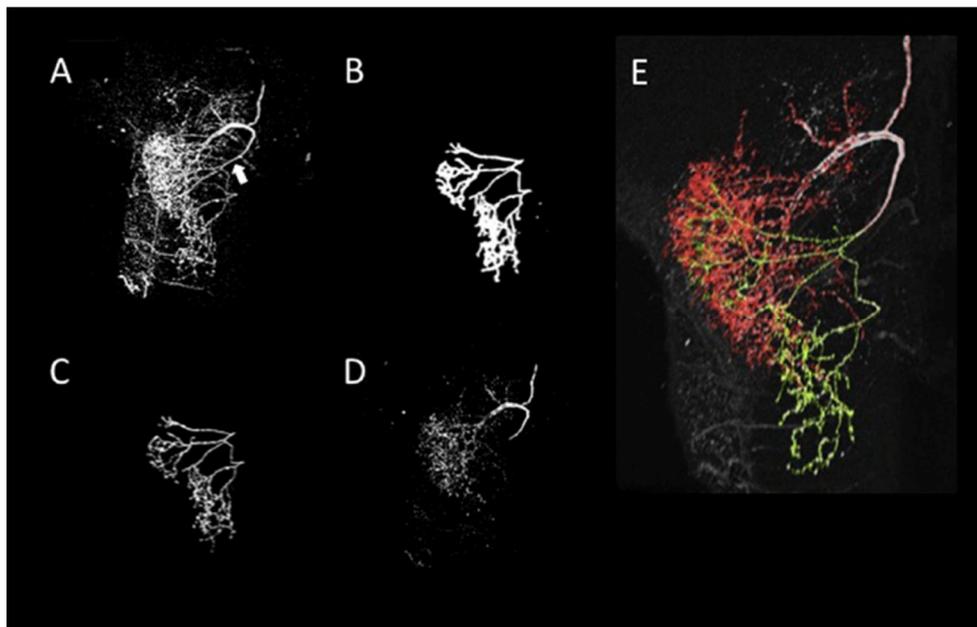


図 3 複雑な形態のニューロンのモデル構築法、A DL-Int-1 の神経線維の 2 次元投影画像、B A の矢印の部分において分離し、腹側の神経線維の形態を抽出するためのマスク画像、C マスク画像をつかった画像演算と自動抽出プログラムによって得られた腹側の神経線維、D 画像演算によって得られた背側の神経線維画像、E 赤は背側の神経線維、緑は腹側の神経線維の抽出結果、これらを連結することにより全体の分枝状態をモデル化した(Ikeno et al., 2018)

DL-Int-1 については、GABA 免疫染色により抑制性シナプスを持つことが明らかになり、振動情報を処理している神経回路において、刺激時間長を規定する重要なエレメントであることがわかった。同様の神経回路は、他の昆虫の脳にも見られことから、抑制性ニューロンを介した刺激時間長を始めとする時間特性に関する情報の抽出機構は、昆虫の脳における共通のメカニズムである可能性が示唆された (図 4, Ai et al., 2018)。

さらに、DL-Int-1 がダンスコミュニケーションに重要な役割を果たしているとなると、実際にダンス情報を使って採餌にでかけている採餌バチとまだダンス情報を聞き取る必要のない羽化直後のバチでは特性が異なるのではないかという仮説が生まれた。この仮説の検証にあたっては、実験データから構築された形態モデルの形態の違いを比較、評価する新しいアルゴリズム Reg-MaxS を提案し (Kumaraswamy et al., 2018) DL-Int-1 について形態の比較を行った (図 5)。

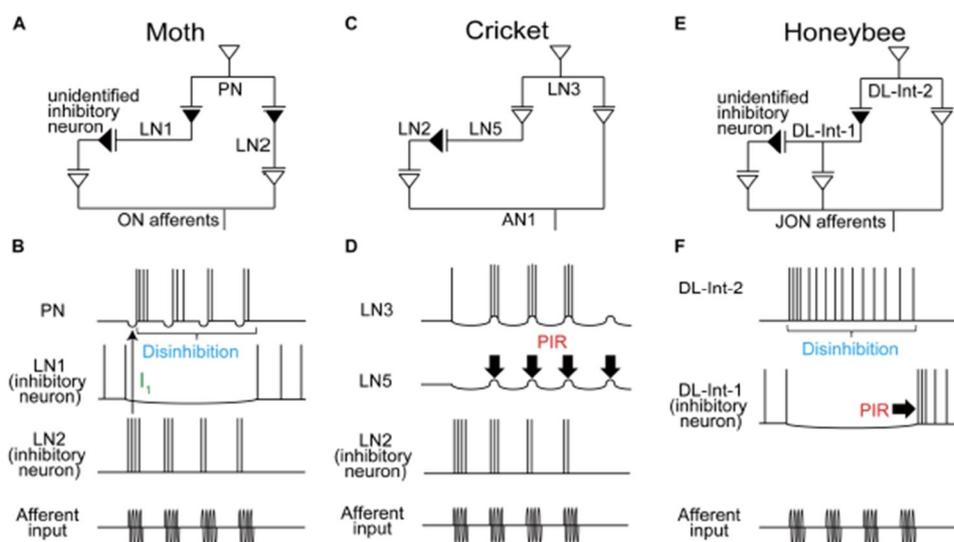


図 4 抑制性介在ニューロンを介した刺激の時間構造を処理する神経回路、A, B ガのフェロモン情報処理回路とその応答、C, D コオロギの音情報処理回路とその応答、E, F ミツバチの振動情報処理回路とその応答 (Ai et al., 2018)

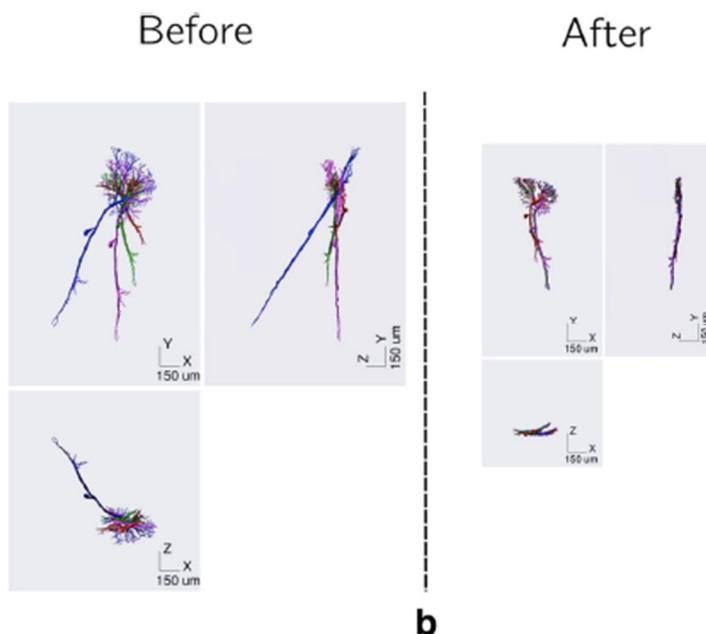


図 5 Reg-MaxS によるニューロンの形態比較のためのレジストレーション、b のラインの左はニューロン画像から構築された形態モデル、右は提案手法によって分枝の重なりが最大になるようにレジストレーションを行った結果 (Kumaraswamy et al., 2018)

その結果、羽化直後の個体に比べて採餌にでかける採餌バチにおいては、主要な樹状突起、軸索について密度の減少が見られた。さらに、電気的応答特性についても比較を行った結果、羽化直後のハチに比べて採餌バチでは、刺激提示時の活動電位発生頻度と無刺激時の発生頻度の比率が上昇していることが明らかになった(図6)。この特性変化は、神経細胞応答によってダンスの時間長をより正確に表現することにつながると考えられ、羽化後の成長あるいは巣内での経験によって神経細胞の特性が機能を高めるためへの適応的变化を反映したものと考えられる(Kumaraswamy et al., 2019)。

また、触角への振動刺激情報処理の一次中枢である背側葉に注目した標準脳の構築を進め、介在ニューロンの形態モデルを登録(レジストレーション)した。このレジストレーション結果を基に実際の細胞応答を考慮することによって、細胞間の機能的なシナプス結合を求め、振動刺激情報を処理する一次中枢の局所神経回路を明らかにしていくことが今後の課題である。図6 刺激時と無刺激時の活動電位発生頻度の比率(羽化直後のハチ(赤線)に比べて採餌バチ(青線)は応答差が大きいことがわかる)

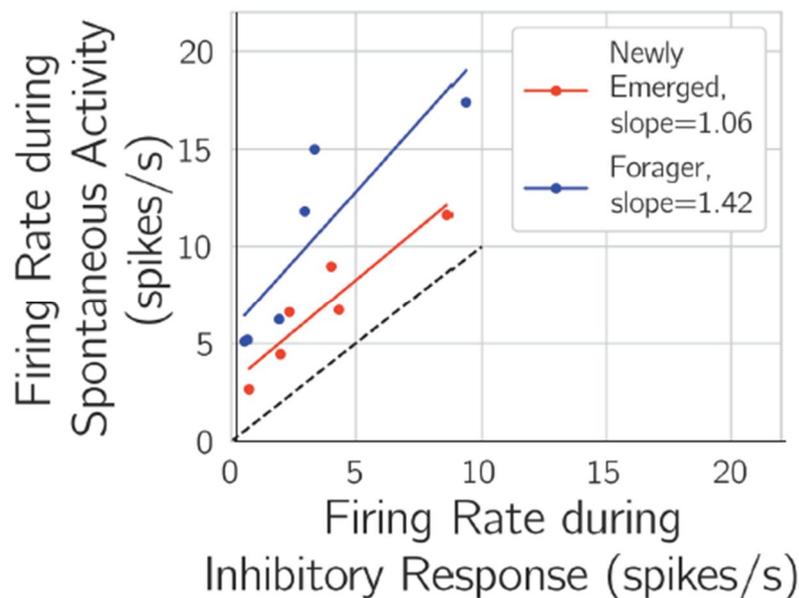


図6 刺激時と無刺激時の活動電位発生頻度の比率、羽化直後のハチ(赤線)に比べて採餌バチ(青線)は、刺激時と無刺激時の応答差が大きい(Kumaraswamy et al., 2019)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 H. Ai, A. Kumarasawamy, T. Kohashi, H. Ikeno, T. Wachtler	4. 巻 9
2. 論文標題 Inhibitory Pathways for Processing the Temporal Structure of Sensory Signals in the Insect Brain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front. Psychol.	6. 最初と最後の頁 1517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpsyg.2018.01517	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 H. Ikeno, A. Kumaraswamy, K. Kai, T. Wachtler, H. Ai	4. 巻 12
2. 論文標題 A Segmentation Scheme for Complex Neuronal Arbors and Application to Vibration Sensitive Neurons in the Honeybee Brain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front. Neuroinform.	6. 最初と最後の頁 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fninf.2018.00061	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 池野 英利、藍 浩之	4. 巻 53
2. 論文標題 ミツバチ脳のリバースエンジニアリング - ダンスコミュニケーションに関わる神経機構 -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 35-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 高橋伸弥、藍 浩之	4. 巻 62
2. 論文標題 ミツバチコロニーにおける巣内行動観察システムとコミュニケーション行動の検出	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 システム制御情報学会誌	6. 最初と最後の頁 490-495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroyuki Ai, Kazuki Kai, Ajayrama Kumaraswamy, Hidetoshi Ikeno, Thomas Wachtler	4. 巻 37(44)
2. 論文標題 Interneurons in the honeybee primary auditory center responding to waggle dance-like vibration pulses	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 10624-10635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0044-17.2017">https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0044-17.2017</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ajayrama Kumaraswamy, Kazuki Kai, Hiroyuki Ai, Hidetoshi Ikeno, Thomas Wachtler	4. 巻 19
2. 論文標題 Spatial registration of neuron morphologies based on maximization of volume overlap	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12859-018-2136-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ajayrama Kumaraswamy, Aynur Makhutov, Kazuki Kai, Hiroyuki Ai, Hidetoshi Ikeno, Thomas Wachtler	4. 巻 -
2. 論文標題 Network simulations of interneuron circuits in the honeybee primary auditory center	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 bioRxiv reprint fir	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/159533	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ai H, Okada R, Sakura M, Wachtler T, Ikeno H	4. 巻 10
2. 論文標題 Neuroethology of the Waggle Dance: How Followers Interact with the Waggle Dancer and Detect Spatial Information	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Insects	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/insects10100336	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ajayrama Kumaraswamy, Hiroyuki Ai, Kazuki Kai, Hidetoshi Ikeno, Thomas Wachtler	4. 巻 6
2. 論文標題 Adaptations during Maturation in an Identified Honeybee Interneuron Responsive to Waggle Dance Vibration Signals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0454-18.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Yuka UENOHARA, Kazuaki GOTO, Satoshi TANAKA, Ajayrama KUMARASWAMY, Thomas WACHTLER, Kazuki KAI, Hiroyuki AI, Hidetoshi IKENO
2. 発表標題 pacHSB: a standard brain for the honeybee primary auditory center
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第40回神戸大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikeno, Yuka Uenohara, Kazuaki Goto, Satoshi Tanaka, Ajayrama Kumaraswamy, Thomas Wachtler, Hiroyuki Ai
2. 発表標題 Construction of standard brain map of honeybee brain region related to vibration stimulus processing
3. 学会等名 INCF Congress Neuroinformatics 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuka UENOHARA, Kazuaki GOTO, Satoshi TANAKA, Ajayrama KUMARASWAMY, Thomas WACHTLER, Kazuki KAI, Hiroyuki AI, Hidetoshi IKENO
2. 発表標題 Construction of the honeybee standard brain for primary auditory center
3. 学会等名 AINI 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藍浩之
2. 発表標題 ミツバチのダンス言語の発達の過程 RFIDを用いた羽化後20日間の行動観察
3. 学会等名 第40回ミツバチ科学研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 2. Ai H, Takahashi S, Otsuka A, Kobayashi K, Matake T, Hashimoto K, Maeda S, Tsuruta N
2. 発表標題 How do the honeybees learn waggle dance?
3. 学会等名 International Union for the study of social insects 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ai H, Kai K, Kumaraswamy A, Ikeno H, Wachtler T
2. 発表標題 Stopwatch for measuring the wagging duration: putative encoding mechanism of distance information in the honeybee
3. 学会等名 International Union for the study of social insects 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本哲、菅原道夫、池野英利、岡田龍一
2. 発表標題 ニホンミツバチにおける女王パイピング (トゥーティング、クワッキング) の特徴および分蜂との関係
3. 学会等名 日本動物学会第88回富山大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡田龍一、池野英利、青沼仁志
2. 発表標題 ダンス追従バチは複数のダンス蜂を追従する
3. 学会等名 日本動物学会第88回富山大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 池野英利
2. 発表標題 自律分散システムとしてのミツバチ：集団を支える自律分散機構
3. 学会等名 計測自動制御学会第60回自律分散システム部会研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikeno
2. 発表標題 Development of a hypertext tutorial for construction of a standard brain
3. 学会等名 Advances in Neuroinformatics V (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Wachtler, T, Kumaraswamy, A, Kai, K., Ikeno, H., Ai, H.
2. 発表標題 Interneurons in the primary auditory center of the honeybee brain responsive to air vibration pulses as elicited during waggle dance communication
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上之原由香、藍浩之、池野英利
2. 発表標題 振動刺激受容に関するミツバチ脳領域モデルの構築
3. 学会等名 第8回ミツバチシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikeno, Ajayrama Kumaraswamy, Thomas Wachtler, Kazuki Kai, Hiroyuki Ai
2. 発表標題 Estimation of possible synaptic connections in the primary mechanosensory center of the honeybee brain
3. 学会等名 INCF Congress Neuroinformatics 2019.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidetoshi Ikeno, Ajayrama Kumaraswamy, Thomas Wachtler, Kazuki Kai, Hiroyuki Ai
2. 発表標題 Presumable synaptic connections and neural modeling of the antennal mechanosensory center of the honeybee brain
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回東京大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 池野英利、岩月知香、神崎亮平	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 12
3. 書名 昆虫の脳をつくる 第8章 脳地図作成の概要とソフトウェア	

1. 著者名 池野英利、岩月知香、後藤昂彦、宮本大輔、神崎亮平	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 43
3. 書名 昆虫の脳をつくる 第9章 標準脳の作成の実際	

1. 著者名 藍浩之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 12
3. 書名 動物学の百科事典 10章 動物の行動 定位～動物の“右向け右”には訳がある～	

1. 著者名 藍浩之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 印刷中
3. 書名 生き物と音の事典 ミツバチの音コミュニケーション	

1. 著者名 池野英利、岩月知香、神崎亮平	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 11
3. 書名 脳地図作成の概要とソフトウェア（昆虫の脳をつくる、第8章）	

1. 著者名 池野英利、岩月知香、後藤昴彦、宮本大輔、神崎亮平	4. 発行年 2018年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 39
3. 書名 標準脳作成の実際 (昆虫の脳を作る、第9章)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>蜜蜂が蜜源への距離を読み取る仕組みを発見  <a href="http://www.u-hyogo.ac.jp/shse/koho/prev/index.html">http://www.u-hyogo.ac.jp/shse/koho/prev/index.html</a></p> <p>NeuroMorpho.OrgデータベースへのDL-Int-1 形態モデル (SWCフォーマット) の登録 (15件)  <a href="http://neuromorpho.org/">http://neuromorpho.org/</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藍 浩之  (Ai Hiroyuki)  (20330897)	福岡大学・理学部・准教授    (37111)	