

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：12702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07485

研究課題名(和文) 香りがチョウの色嗜好性を変える“異種感覚統合のしくみと性差の解明”

研究課題名(英文) Neural mechanism underlying sexual dimorphism of integration of vision and olfaction in the innate color preference of butterflies

研究代表者

木下 充代 (Kinoshita, Michiyo)

総合研究大学院大学・先端科学研究科・准教授

研究者番号：80381664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：アゲハチョウの生まれつき好む色は、花や食草の匂いによって変わる。私は、匂いによる色嗜好性の変化がメスで顕著であることに注目し、「視覚と嗅覚の統合」とその「性的二型」の仕組みを明らかにすることを旨とした実験的研究を行った。その結果、第一次嗅覚中枢を作る約70から80個の糸球体のうち3個がメスで大きく発達していること、第一次嗅覚中枢から情報を受けるキノコ体には、大きな視覚入力が見つかった。このキノコ体に入る視覚情報には色覚と深く関わる反対色性を示す神経が多数あることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトよりも鋭い色識別能力を持つナミアゲハの色嗜好性は、植物の匂いによって変わる。この現象は非常にユニークで、ヒトが匂いによって食べ物の視覚的特徴を想起する神経機構の理解にも繋がるものである。今回発見したいくつもの反対色性神経の特性は、彼らの色知覚を表しているだけでなく、嗅覚情報と特異的に統合される情報そのものである可能性が高い。異なる感覚が脳でどのように統合されて、特定の物体の認知に至るのかは未だいずれの動物でもわかっていない。今回細胞内記録が可能になった神経群の働きは、異種感覚統合の理解において貴重な知見となることは間違いない。

研究成果の概要(英文)：Flower foraging swallowtail butterfly, *Papilio xuthus*, has innate color preference, which is blue in both sexes. This innate color preference in female butterfly changes by either flower scent or host plant odor. I focus on the mechanisms underlying the sexual dimorphism in effect of plant scent on the innate color preference and integration of vision and olfaction. Observation of the glomerular organization in the antennal lobe reveals three enlarged glomeruli in females, which dues to the sexual dimorphism of the color preference under plant odor. I carried out intracellular recordings in the neurons from the optic lobe to the mushroom body, which received both visual and olfactory information, and discovered many new types of spectral opponency that would strongly relate with their sophisticated color vision.

研究分野：神経行動学

キーワード：行動 感覚生理 視覚 嗅覚 チョウ目

## 1. 研究開始当初の背景

多くの動物が、視覚・匂い・味などの複数の異なる感覚を状況に応じて組み合わせて、正しく食べ物を選んでいる。このことは、特定の花を効率的に訪れるチョウやミツバチでも例外ではない。彼らは花の色・形・匂いに対して生得的な好みを持ち、これらの特徴を蜜や花粉の有無や質と組み合わせて学習する。

私は、優れた視覚を持つナミアゲハ(以後アゲハ)の、視覚能力・網膜の構成・視覚情報の脳内経路などを明らかにしてきた。求蜜未経験のアゲハは、オス・メスいずれも青を好むが、メスではオレンジまたはユリの精油が香る部屋では赤を、幼虫の食草であるミカンの木があると緑を選ぶ個体が増える。この色の好みへの匂いの影響は、メスにあってオスにはない。以上は、匂い情報が脳で色情報と統合されて行動に結びつく判断が変わること、嗅覚系を含む脳に性差があることを示している。

異なる感覚の統合に関わる脳領域候補のひとつは、キノコ体である。私は、アゲハのキノコ体の“傘部”には嗅覚に加え、大きな視覚入力があることを発見した(図1)。アゲハは匂いに比べ色をよく覚えるので、恐らくキノコ体は視覚と他の感覚との統合や視覚学習に関わるのだらう。しかしチョウでは、キノコ体の構成や機能についての知見は非常に限られていた。

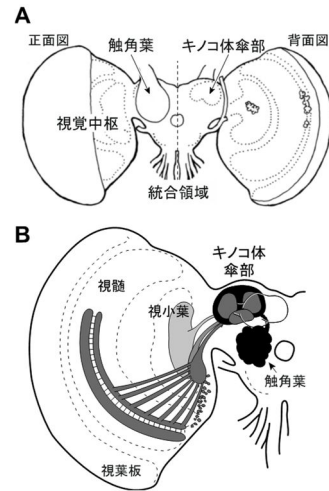


図1. A アゲハ脳の全体像 B キノコ体傘部への視覚と嗅覚の入力経路。嗅覚(黒)は傘部外側, 視覚(灰色)は傘部中心に入力する。(Kinoshita et al 2015 より)

## 2. 研究の目的

脳が異なる感覚をどのように統合するのは、脳科学の大きなテーマである。私は、本課題でアゲハチョウによる花の認知を対象に、キノコ体における色と匂いの統合と脳の雌雄差を神経行動学的に明らかにする研究基盤をつくることを目指した。具体的には、これまでほとんど研究が行われていなかったチョウの嗅覚情報処理系の性差を調べる実験系の確立を試み、さらにキノコ体傘部に入力する神経群の応答様式を明らかにすることを本課題の実施期間中の目的とした。

## 3. 研究の方法

### 嗅覚情報処理とその性差

1) 触覚に発現する匂い受容体の同定 夏型のナミアゲハの触角から全 m-RNA を抽出し、匂い受容体についてトランスクリプトーム解析を行った。

2) 触角葉の糸球体構成の性差 シナプシン抗体を用いて、雌雄の脳全体を免疫組織科学的方法で染色した。染色した脳の連続光学切片を用いて、糸球体構造を3次元的に解析した。

3) 触角葉の匂い応答 触角葉をカルシウム感受性色素で染色し、倒立蛍光顕微鏡の下で、匂いに対する応答を光学的に測定する方法の確立を試みた。刺激には、行動実験において生得的に好む色に影響を与えた柑橘類の植物体・精油(オレンジ・ユリの花)を用いた。

### キノコ体傘部に入力する神経の応答様式

視覚中枢からキノコ体に入力する神経群を対象に、細胞内記録および細胞内染色法の確立を試みた。ニューロピオチンを充填したガラス微小電極をキノコ体傘部に刺入し、単一の細胞に刺さったら白色光・分光応答・光強度反応を記録した。記録後は、ニューロピオチンを電気泳動的に注入し、組織科学実験により記録細胞を可視化その形態を光学顕微鏡下で同定した。

## 4. 研究成果

### 嗅覚情報処理とその性差

1) アゲハの触覚葉にみられる性的二型 予備実験によって得られていた触覚葉の性的二型について、発表に向け実データを得ることができた。脳全体の染色が良好であった、春型のオス4匹・メス3匹を対象に解析したところ、脳の全容積に触覚葉が占める割合は雌雄共に8%程度だった。触覚葉を構成する糸球体は雌雄ともに70-80個で、全メスの触覚葉で側方腹側に3つ、肥大した糸球体を観察できた。この3つの糸球体は、メス触覚葉の10%強に相当するのに対しオスでは5%程度だった。一方オスには触覚葉の最も背側にオス特異的糸球体があることを発見した。また、夏型の個体についても同様の解析を試みたが、脳容量が大きいためか良い染色像を得られなかった。しかし、夏型では脳全体の容積に対する触覚葉の占める割合や性的二型を示す糸球体がより発達している感を得ており、現在より良い染色像を得るための方法を探索中である。

2) 匂い受容体の同定 トランスクリプトーム解析の結果、触覚に発現する受容体の種類に雌雄差はなかった。しかし、オスに比べメスで発現量の多い受容体を2つ同定できた。

3) 触覚葉の匂い応答触覚葉 触覚葉全体をカルシウム感受性色素で染色するため、様々な方法を検討したが、常に十分な染色を得られる手法の確立にはいたらなかった。しかし、ある程度染色できた一部の個体で、匂い応答を記録し、糸球体が匂いによって違うパターンで活動することを確認した。今後は触覚葉の活動を確実に観察するのに、触覚葉からキノコ体に投射する神経特異的にカルシウム感受性色素を取り込ませる、色素注入法を試みる予定である。

### キノコ体傘部に入力する神経の応答様式

第3視覚中枢「視小葉第三層」または「視小葉のサブ領域」に樹状突起を持ち、キノコ体の傘部に終末形態を持つ神経群(図1B)から細胞内記録を取る手法を確立した。多くの記録はアゲハ特有の視小葉サブ領域からのもので、特定の波長の光に興奮性・別の波長域の光に抑制性を示すいわゆる反対色性を示した(図2)。紫外・青・緑・赤の4種類の光刺激に対する反対色性では、少なくとも4種類を同定できた。ヒトの色覚は青・緑・赤受容細胞を基盤とした3原色で、反対色性応答は2種類である。アゲハ色覚情報処理系において人より多くの反対色性応答が見つかったことは、アゲハの色覚がヒトの3色に加え紫外を含む4原色であり、その波長弁別能力も非常に鋭いことと無関係ではないだろう。また、紫外から赤の波長域まで23の単色光

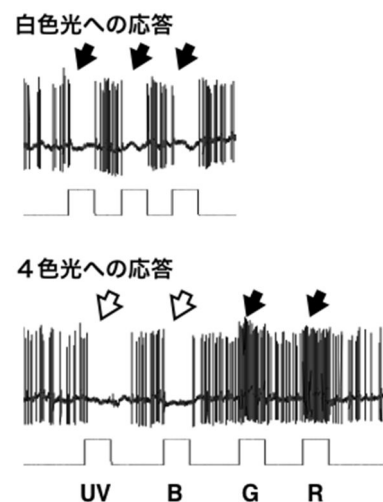


図2. 視小葉サブ領域からキノコ体に投射する単一神経の光応答例(白色光・4色光). 白色光へは、光刺激の間抑制性の応答を示した。一方、4色光では、紫外・青色光へは抑制、緑・赤色光へは興奮性という反対色性を示した。

への応答を記録したところ、光受容細胞の分光特性とは全く異なる波長域に興奮性応答の感度極大を持ち、その感度域が非常に狭い(20-40nm)ものをいくつか発見した。このような応答はこれまでサルの第四次視覚中枢でしか報告がない。記録を得た神経群はアゲハの視覚情報処理の最高次に相当すること、アゲハが波長を細かく弁別できることを考えると、この応答は視細胞のように光特性そのものを示しているより、アゲハの知覚そのものを表現している可能性が高い。また同定した神経群は、形態によって二種類あったが、現在使っている光刺激に対する応答において大きな違いなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Rusanen J, Frolov R, Weckstrom M, Kinoshita M, Arikawa K	4. 巻 221
2. 論文標題 Non-linear amplification of graded voltage signals in the first-order visual interneurons of the butterfly <i>Papilio xuthus</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	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) 10.1242/jeb.179085	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 Arikawa K, Iwanaga T, Wakakuwa M, Kinoshita M	4. 巻 11
2. 論文標題 Unique Temporal Expression of Triplicated Long-Wavelength Opsins in Developing Butterfly Eyes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	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) 10.3389/fncir.2017.00096	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 Kinoshita M, Stewart FJ, Omura H	4. 巻 39
2. 論文標題 Multisensory integration in Lepidoptera: Insights into flower-visitor interactions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BioEssays	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) 10.1002/bies.201600086	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 Nagata T, Arikawa K, Kinoshita M.	4. 巻 527
2. 論文標題 Photoreceptor projection from a four tiered retina to four distinct regions of the first optic ganglion in a jumping spider	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 1348 ~ 1361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.24584	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 Stewart FJ, Kinoshita M, Arikawa K	4. 巻 222
2. 論文標題 Monopolar motion vision in the butterfly <i>Papilio xuthus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	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) 10.1242/jeb.191957	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 Stewart FJ, Kinoshita M, Arikawa K	4. 巻 57
2. 論文標題 A novel display system reveals anisotropic polarization perception in the motion vision of the butterfly <i>Papilio xuthus</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Integrative and Comparative Biology	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) 19.1093/icb/icx070	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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 南木悠・日下石碧・寺井洋平・丑丸敦史・木下充代
2. 発表標題 花粉形態とDNAメタバーコーディングによるチョウの訪花植物の同定
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nammoku Y, Nikkeshi A, Terai Y, Ushimaru A, Kinoshita M
2. 発表標題 Flower visited by <i>Yptima</i> butterflies identified by pollen analysis
3. 学会等名 International Society for Behavioral Ecology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木下充代
2. 発表標題 アゲハはなぜ赤い花を好むのか？
3. 学会等名 日本蝶類科学学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Michiyo Kinoshita
2. 発表標題 Visual pathways in the brain of flower foraging butterfly, <i>Papilio xuthus</i>
3. 学会等名 International Conference on Invertebrate Vision（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下充代
2. 発表標題 アゲハチョウの訪花と産卵行動に置ける視覚情報とその役割
3. 学会等名 第90回 日本動物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木下充代
2. 発表標題 アゲハチョウの訪花行動に関わる視覚情報
3. 学会等名 第67回生態学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Stewart F, Kinoshita M, Arikawa K
2. 発表標題 The roles of colour and polarization contrast for motion detection in Papilio butterflies
3. 学会等名 International Conference on Invertebrate Vision (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木敦己・木下充代・向井歩・小口晃平・水波誠・蟻川謙太郎・後藤慎介・三浦徹・久保健雄
2. 発表標題 様々な昆虫種における脳キノコ体ケニヨン細胞サブタイプの探索と比較解析
3. 学会等名 第42回分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki A, Kinoshita M, Mukai A, Oguchi K, Mizunami M, Arikawa K, Goto S, Miura T, Kubo T
2. 発表標題 Comparative analysis of the number of Kenyon cell subtype in the mushroom bodies of the brain among various insect species
3. 学会等名 第41回日本比較生理生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Michiyo Kinoshita
2. 発表標題 Spectral properties of visual inputs to the mushroom body in a butterfly
3. 学会等名 第41回日本比較生理生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南木悠・日下石碧・寺井洋平・丑丸敦史・木下充代
2. 発表標題 花粉形態とDNAメタバーコーディングによるチョウの訪花植物の同定
3. 学会等名 第66回 日本生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Arikawa K, Matsushita A, Stewart F, Chen P, Illic M, Kinoshita M, Belusic G.
2. 発表標題 Color vision seen at the lamina of a butterfly Papilio xuthus
3. 学会等名 International Conference of Invertebrate Vision (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
連携研究者	尾崎 克久  (Ozaki Katsuhisa)  (60396223)	株式会社生命誌研究館・その他部局等・研究員    (94404)	