

平成 21年 5月 11日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006-2008

課題番号：18370027

研究課題名 (和文) 昆虫の学習における報酬系と罰系の役割の解明

研究課題名 (英文) Roles of reward system and punishment system in insect learning

研究代表者

水波 誠 (MIZUNAMI MAKOTO)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号：30174030

研究成果の概要：本研究では、コオロギの嗅覚および視覚学習において、ドーパミン作動性ニューロンが罰情報を伝え、オクトパミン作動性ニューロンが報酬情報を伝えるのみならず、それらのニューロンの正常な活動が、記憶の読み出しにも必須であることを薬理的な解析により明らかにした。この現象を説明するために、新規学習モデル「水波-宇ノ木モデル」を提案し、2次条件づけを用いた行動薬理的解析により、モデルを検証した。さらにコオロギにおいて一般に罰記憶は報酬記憶より減衰しやすいことを明らかにし、これがヒトを含む動物の記憶に共通する性質であるとの仮説を提案した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2007年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2008年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	13,400,000	4,020,000	17,420,000

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：学習、行動、脳、報酬系、罰系、昆虫

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 研究代表者は、コオロギにオクトパミン受容体の阻害剤を投与すると、匂いと報酬(水)との連合学習が阻害されるが、匂いと罰(塩水)との連合学習は正常であることを発見した。一方、ドーパミン受容体の阻害剤を投与すると、匂いと報酬との連合学習が阻害されるが、罰との連合学習は正常であった。この発見は、嗅覚の条件付けにおいて、ドーパミン作動性ニューロンが罰情報を伝え、オクトパミン作動性ニューロンが報酬情報を伝えることを示唆している。

(2) これらの結果から、昆虫の脳には様々

な種類の学習に共通して働く「報酬系」や「罰系」と呼べる神経システムが存在する、という仮説が浮かび上がってきた。これは、報酬系や罰系という概念は高等脊椎動物のみに適用できるとする通説を大きく覆すものである。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、昆虫の脳には、様々な種類の学習においてその連合過程に共通して働く「報酬系」や「罰系」と呼べる神経システムが存在する、という研究代表者の仮説を実験的に検証することである。

(2) さらに、様々な学習課題とこれらの神経システムの薬理的な阻害とを組み合わせ、昆虫の学習の基本メカニズムに迫る。

### 3. 研究の方法

(1) 材料：研究にはフタホシコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) を用いた。

(2) 薬理：オクトパミン受容体阻害剤 (エピナスチン、ミアンセリン) およびドーパミン受容体阻害剤 (クロルプロマジン、スピペロン、ミアンセリンなど) を血中投与し、学習 (記憶の獲得) および記憶の読み出しに与える影響について調べた。

(2) 学習実験：学習訓練では、視覚的なパターン (模様)、匂いまたは色の条件刺激 (conditioning stimulus, CS) と水 (報酬) または塩水 (罰) の無条件刺激 (unconditioned stimulus, US) を対提示した。コオロギは、実験の前に3日間絶水させ、水への欲求を高めさせた。嗜好性テストを訓練前と訓練後に行い、その結果を比較し学習訓練の効果を評価した。

### 4. 研究成果

(1) 視覚的なパターン (模様) と報酬や罰との連合学習におけるオクトパミン作動性ニューロンおよびドーパミン作動性ニューロンの役割について、行動薬理的に調べた。オクトパミンおよびドーパミン受容体阻害剤を血中投与したコオロギに、視覚的なパターン (模様) を水 (報酬) または塩水 (罰) と連合させる条件付け訓練を行った。訓練の1時間前と1時間後にパターン選択テストを行い、条件付けが成立しているかを調べた。その結果、パターン学習においても、オクトパミン受容体阻害剤は報酬条件付けを阻害するが罰条件付けには影響を与えないこと、またドーパミン受容体阻害剤は罰条件付けを阻害するが、報酬条件付けには影響を与えないことが分かった。

(2) 色の学習にもオクトパミン作動性の報酬系、ドーパミン作動性の罰系が関わることを、行動薬理実験により明らかにした。これは、昆虫の学習における報酬系、罰系の役割の普遍性を示す証拠となる発見である。

(3) さらに、嗅覚学習と視覚パターン学習の両方において、学習の1日後の記憶読み出しテストの30分前にオクトパミンまたはドーパミン受容体阻害剤を投与し、これらの阻害が記憶の読み出しに影響するかを調べた。オクトパミン受容体阻害剤は報酬記憶の読み出し阻害したが、罰記憶の読み出しには影響を与えなかった。またドーパミン受容体阻害剤は、罰記憶の読み出しを阻害したが、報酬記憶の読み出しには影響を与えなかった。これらの結果は、オクトパミン作動性ニューロンおよびドーパミン作動性ニュー

ロンがそれぞれ報酬記憶および罰記憶の読み出しに関わる事を初めて明らかにしたものである。

(4) この現象を説明するため、新たな学習モデル (水波—宇ノ木モデル) を提案した。具体的には、条件付けにより、脳内の匂いの情報を表現するニューロンと報酬や罰の情報を表現するニューロンとの間にシナプス接続が形成され、その経路の活性化が、記憶の読み出しには必須であるというモデルである。

(5) このモデルを2次条件付け (second-order conditioning) という学習法を用いて検証した。2次条件付けとは、1つの条件刺激 (CS1) と US との対提示の後に、もう1つの条件刺激 (CS2) と CS1 を対提示すると、CS1 に対しても条件付け効果が見られるというものである。もし水波—宇ノ木モデルが正しいならば、2次条件付けの第一段階においてオクトパミンやドーパミン受容体を阻害しても、2次条件付けは成立することが予想された。そこで、匂いを CS1、視覚的な模様を CS2 とする2次条件付け法を開発し、薬理実験による解析を行ったところ、モデルを支持する結果が得られた。このモデルは、昆虫の古典的条件づけにおいて、外界の出来事の「内部モデル」が形成されることを初めて示唆するものであった。

(6) さらに、報酬学習と罰学習では記憶のダイナミクスが異なるのかについて調べた。その結果、匂い学習、視覚的な模様の学習、色の学習の全てにおいて、罰記憶は報酬記憶より成立しやすいが減衰も早いことが分かった。この違いは、報酬系と罰系の伝達物質の作用の違い、すなわち、オクトパミン受容体とドーパミン受容体の活性化に続く生化学的な過程のダイナミクスの違いに起因することが示唆された。ヒトを含めた種々の動物の学習についての詳細な文献的検討の結果、この発見は、昆虫のみならず、ヒトを含めた哺乳類にも当てはまるという仮説を提案した。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計10件)

1 Nakatani Y, Matsumoto Y, Mori Y, Hirashima D, Nishino H, and Arikawa K, Mizunami M. Why the carrot is more effective than the stick: different dynamics of punishment memory and reward memory and its possible biological basis. *Neurobiol. Learn. Mem.* In press (2009). 査読有

2 Nishino H, Nishikawa M, Mizunami M, and Yokohari F. Functional and topographic segregation of glomeruli revealed by local staining of antennal

sensory neurons in the honeybee *Apis mellifera*. *J. Comp. Neurol.* 515: 161-180. (2009). 査読有

3 Takahashi T., Hamada A., Miyawaki K., Matsumoto Y., Mito T., Noji S. and Mizunami M. Systemic RNA interference for the study of learning and memory in an insect. *J. Neurosci. Methods.* 179: 9-15. (2009). 査読有

4 Watanabe H., Sato C., Kuramochi T., Nishino H. and Mizunami M. Salivary conditioning with antennal gustatory unconditioned stimulus in an insect. *Neurobiol. Learn. Mem.* 90: 245-254 (2008). 査読有

5 Yamagata N., Nishino H. and Mizunami M. Neural pathways for the processing of alarm pheromone in the ant brain. *J. Comp. Neurol.* 505: 424-442 (2007). 査読有

6 Watanabe H. and Mizunami M. Pavlov's cockroach: classical conditioning of salivation in an insect. *PLoS ONE* 6:e529 (2007). 査読有

7 Nishino H. and Mizunami M. Both circumferential and longitudinal position of sensilla on an insect antennae influence afferent terminal location in glomeruli. *NeuroReport* 18:1765-1769 (2007). 査読有

8 Unoki S., Matsumoto Y. and Mizunami M. Roles of octopaminergic and dopaminergic neurons in mediating reward and punishment signals in insect visual learning. *Eur. J. Neurosci.* 24: 2031-2038 (2006). 査読有

9 Matsumoto Y. and Mizunami M. Olfactory memory capacity of the cricket *Gryllus Bimaculatus*. *Biol. Letters* 2:608-610 (2006). 査読有

10 Nishino H. and Mizunami M. Termination profiles of insect chemosensory afferents in the antennal lobe are dependent on their origin on the flagellum. *NeuroReport* 17: 1303-1307 (2006). 査読有

[学会発表] (計 31 件)

1 山方恒宏、水波誠、Menzel Randolph, セイヨウミツバチ前脳における内側、外側嗅覚介在経路終末領域での匂い符号化様式 日本動物学会、2008年9月7日、福岡

2 羽田野愛、松本幸久、水波誠、コオロギの「習慣形成」-どれだけ訓練すれば学習行動は習慣になるのか? 日本動物学会 2008年9月5日、福岡

3 佐藤千尋、松本幸久、水波誠、ワモンゴキブリの嗅覚報酬学習におけるオクトパミ

ン受容体阻害剤の影響、日本動物学会、2008年9月5日、福岡

4 松本幸久、郭沛源、佐藤千尋、水波誠、フタホシコオロギの匂い学習・記憶とアセチルコリン受容体 日本動物学会、2008年9月5日、福岡

5 妹尾龍樹、渡邊英博、水波誠、ワモンゴキブリの学習に関わるニューロンの探索、日本動物学会、2008年9月5日、福岡

6 平島大輔、松本幸久、水波誠、フタホシコオロギにおける感覚的事前条件付けの成立 日本動物学会、2008年9月5日、福岡

7 松本幸久、水波誠、フタホシコオロギの加齢性記憶障害、日本比較生理生化学会、2008年7月21日、札幌

8 水波誠、宇ノ木佐会、森康博、平島大介、羽田野愛、松本幸久、昆虫の古典的条件付けにおける認知過程とそのモデル化、2008年7月21日、札幌

9 渡邊英博、水波誠、ゴキブリ匂い学習におけるメカミラミン感受性ケニオン細胞の役割、日本比較生理生化学会、2008年7月19日、札幌

10 Mizunami M. Is "cognitive" system involved in classical conditioning in insects as in mammals? International Seminar: Evolutionary Studies in Behavioral Neuroscience, June 25, 2008. Hayama, Japan

11 平島大介、宇ノ木佐会、松本幸久、水波誠、フタホシコオロギの視覚学習長期記憶における一酸化窒素の役割、日本神経科学学会、2008年7月11日、東京

12 Watanabe H., Mizunami M. Roles of mushroom body intrinsic neurons in olfactory conditioning revealed by local brain injection of mecamylamine in cockroach. International Seminar: Evolutionary Studies in Behavioral Neuroscience, June 25, 2008. Hayama, Japan

13 Mizunami M. Simple and Complex learning systems in insect brain. "Functional anatomy of the Arthropod Central Complex and Motor systems", June 11-14, 2008. (presentation on 12th), Janeria Farm, Virginia, USA.

14 松本幸久、高橋俊文、佐藤千尋、水波誠、フタホシコオロギの匂い学習の加齢性記憶障害、日本神経科学学会、2008年7月9日、東京

15 渡邊英博、水波誠、ワモンゴキブリを用いた唾液分泌の古典的条件づけにおける匂いCS経路の解析、日本動物学会、2007年9月22日、弘前

16 丸山彩、松本幸久、根本悠子、水波誠、フタホシコオロギの嗅覚学習における転写依存性の長期記憶、日本動物学会、2007年9月

22 日、弘前

17 根本悠子、松本幸久、丸山彩、水波誠、CAMKIIはフタホシコロギの嗅覚学習の長期記憶形成に関わる、日本動物学会、2007年9月22日、弘前

18 平島大介、宇ノ木佐会、松本幸久、水波誠、フタホシコロギの視覚学習長期記憶形成における一酸化窒素の役割、日本動物学会、2007年9月22日、弘前

19 森康博、平島大介、羽田野愛、松本幸久、水波誠、昆虫の学習における水波-宇ノ木モデルの2次条件づけを用いた検証、日本動物学会、2007年9月22日、弘前

20 水波誠、山方恒宏、アリ脳における警報フェロモン情報処理、日本動物学会、2007年9月22日、弘前

21 佐藤千尋、松本幸久、佐倉緑、渡邊英博、水波誠、ゴキブリにおける状況依存的な嗅覚学習訓練、日本神経科学学会 (Neuro2007)、2007年9月11日、横浜

22 倉持友和、渡邊英博、水波誠、ワモンゴキブリの長期記憶形成におけるNOの役割、日本神経科学学会 (Neuro2007)、2007年9月10日、横浜

23 高橋俊文、國遠尚代、浜田明日香、松本幸久、三戸太郎、野地澄晴、水波誠、Nitric oxide synthase ds RNAが長期記憶の形成を抑制する、日本神経科学学会 (Neuro2007)、2007年9月10日、横浜

24 松本幸久、Sandox J-C, Devaud J-M, 水波誠、Giurfa M. ミツバチの匂い学習の長期記憶形成に関わるシグナル分子、神経科学学会 (Neuro2007)、2007年9月10日、横浜

25 Mizunami M, Unoki S, Nakatani Y, Matsumoto Y. Oergic reward system and DAergic punishment system underlying insect visual learning. The 8th congress of the international society for Neuroethology, July 24, 2007, Vancouver, Canada.

26 Sato C, Matsumoto Y, Sakura M, Watanabe H, Mizunami M. Context-dependent learning in cockroaches. The 8th congress of the international society for Neuroethology, July 24, 2007, Vancouver, Canada.

27 Yamagata N, Szyszka P, Mizunami M, Menzel R. Parallel coding properties of odor identity and concentration in honeybee projection neuron boutons. The 8th congress of the international society for Neuroethology, July 24, 2007, Vancouver, Canada.

28 佐藤千尋、松本幸久、渡邊英博、水波誠、唾腺ニューロンの活動による昆虫の状況依存学習の観測、日本比較生理生化学会、2007年7月6日、岡山

29 松本幸久、Sandox J-C, Devaud J-M, 水

波誠、Giurfa M. ミツバチの匂い学習の長期記憶形成に関わるシグナル伝達物質、日本比較生理生化学会、2007年7月6日、岡山

30 Watanabe H, Mizunami M. Salivary conditioning in cockroaches. The 8th congress of the international society for Neuroethology, June 27, 2007, Vancouver, Canada.

31 Yamagata N, Szyszka P, Mizunami M. and Menzel R. Olfactory Coding in the Honeybee Brain II. Spatio-Temporal Patterns of Odor Responses in Projection Neuron Boutons in the Mushroom Bodies of the Honeybee. Goettingen Neurobiology Conference, 30 March, 2007, Goettingen, Germany.

〔図書〕(計5件)

1 水波誠 昆虫の学習と記憶の生物学 (分担執筆)、曾我部正博編、「動物は何を考えているのか? : 学習と記憶の比較生物学」、共立出版、(印刷中)、

2 水波誠 編集委員および分担執筆、昆虫の学習を司る報酬系と罰系 (分担執筆、pp.596-599) ; 地平線検出器としての単眼とその応用 (分担執筆、pp.669-671) ; 小さな脳、輝く知性 (監訳、pp.579-582) ; キノコ体の覚え書き : 地図からモデルへ (監訳、pp.583-595)、下澤楯夫・針山孝彦監修、「昆虫ミメティックスー昆虫の設計に学ぶ」、NTS、2008.

3 水波誠 昆虫の学習能力はどれくらい? (分担執筆)、山口恒夫編、「昆虫はスーパー脳」、技術評論社、2008, pp.73-99.

4 水波誠 探索昆虫微小脳、「(「昆虫—驚異の微小脳」の中国語版)、陳玉華訳、世茂出版 (台湾)、2008.

5 水波誠 昆虫の微小脳 : 脳進化の1つの頂点 (分担執筆)、小泉修・阿形清和編、「神経系の多様性 : その起源と進化」、培風館、2007、pp.97-132.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水波 誠 (MIZUNAMI MAKOTO)

東北大学・大学院生命科学研究所・准教授  
研究者番号 : 30174030

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし