

機関番号：33302

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20770059

研究課題名（和文）社会性昆虫のカーस्ट転換期に起こる神経系の再構成過程

研究課題名（英文）Neural re-construction during caste transition in social insects

研究代表者

佐々木 謙（SASAKI KEN）

金沢工業大学・バイオ・化学部・准教授

研究者番号：40387353

研究成果の概要（和文）：

社会性昆虫のカーस्ट転換期に起こる神経系の再構成過程を調査した。まず、ミツバチワーカーへのドーパミンの経口摂取により、血中や脳内へのドーパミンの取り込みとドーパミンによる卵巣発達の促進を確認した。ドーパミン受容体薬物の注入により、活動性の促進や抑制が見られた。卵巣発達に伴って中央輸卵管の半環状筋が発達した。生殖器官を司る運動ニューロンは女王と産卵個体で相同なものが確認されたが、腹部終末神経節の形態と同様にニューロンの形態も大きく異なり、部位特異的に産卵個体化することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Neural re-construction during caste transition in social insects was investigated. We first applied dopamine orally to honeybee workers, confirmed dopamine intake in hemolymph and brain, and demonstrated ovarian development by dopamine. Dopamine receptor drugs caused enhancement or inhibition of behavioral activities. Semi-circular muscles in the common oviduct developed with the ovarian development. Homologous motor neurons innervating the reproductive organ were found between queens and reproductive workers, but their morphologies were different between them, suggesting the transition of restricted organs to a reproductive individual.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：行動生理

1. 研究開始当初の背景

動物の多くは環境の変化に応じて、柔軟に行動を変え、適応的に振舞う。その中には、生育密度や栄養状態、社会環境などの違いに対して、複数の行動を同時並行的に変え、全

く別のタイプの行動様式へ転換する種がいる。このような同一種内で見られる複数の行動様式（または行動タイプ）は行動多型と呼ばれ、脊椎・無脊椎動物で数多く報告されている。

ミツバチを含む社会性昆虫にはカーストという行動多型が存在し、産卵を行う女王と子

の世話・採餌等を行うワーカーが、それぞれの行動に特殊化した神経系を持つ。ワーカーは女王不在の環境下で潜在的に産卵個体（産卵ワーカー）になることができ、その際にワーカー型の神経系は産卵ワーカー型の神経系へと転換する。この神経系のカースト転換期には、生体アミンの一種であるドーパミンやチラミンの脳内濃度が高くなり、これらの物質を長期的に経口摂取させると、卵巣発達が促進され、産卵個体化が誘導される。ドーパミンやチラミンが産卵ワーカーの行動に与える影響については、“神経系のカースト転換の過程”を調べる上で非常に重要であるが、カースト転換に伴って変化する行動の詳細な研究は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、カースト転換に伴う神経系の再構成過程の一部をニューロンレベルで解明し、モデル化することを目標にする。そのために、カースト間で違いの見られる代表的な行動に着目し、カースト転換期に起こる行動変化とそれに関わる感覚ニューロン・運動ニューロンの生理的・形態的变化を調査する。また、それらのニューロンの生理的・形態的变化とカースト転換に関わる生体アミンとの関係についても追究する。

3. 研究の方法

(1) 生体アミンの経口摂取実験系における血中・脳内アミン動態の調査

セイヨウミツバチとフタモンアシナガバチを用いて、10日間のドーパミン経口摂取を行い、脳内ドーパミン濃度と卵巣発達への影響を調べた。また、ドーパミンの短時間（2時間）の経口摂取や胸部への注入も行い、血中での拡散や脳への移動を調査した。

さらに、ドーパミンの前駆物質であるDOPAやチロシンの経口摂取も行い、代謝を考慮したドーパミンの脳への導入や卵巣発達についても調査した。

(2) カースト転換期におこる同時並行的な行動転換の調査

セイヨウミツバチを無女王群条件下にして、攻撃性の高い個体（回転する黒いモデル物体に攻撃をした個体）と低い個体を採集し、卵巣発達の程度を調査した。

(3) 生体アミン経口摂取によるカースト転換の誘導と行動転換の調査

餌の選好性がドーパミンやチラミンの経口摂取の影響を受けるかどうかを調べるために、触角および前肢ふ節の味覚感覚子によるショ糖の反応を吻伸展反射によって調べた。

歩行の活動性がドーパミンによって高められる可能性を検証するために、胸部にドーパミン受容体作動性薬物を注入し、活動性への影響を調べた。

(4) カースト転換期の味覚感覚系（口吻味覚感覚ニューロン）の感度や生理変化の調査

ワーカーの口吻味覚感覚子からチップレコーディングを行い、口吻味覚感覚ニューロンの感度を調べた。刺激液にはショ糖とフェニルチオウレアを用いた。さらに、カースト転換に伴う神経作用性アミノ酸の量的変化を調査するために、触角・前肢ふ節の神経作用性アミノ酸量をHPLC-ECD法により定量し、卵巣発達との関係を調べた。

(5) カースト転換期の生殖器官やその神経系の生理・形態変化の調査

カースト転換期における腹部終末神経節内の生体アミン量を定量し、卵巣発達との関係を調査した。また、産卵ワーカーの生殖器官を支配する運動ニューロンをバックフィル染色し、その形態を女王と比較した。さらに、産卵ワーカーの生殖器官の光学顕微鏡用切片を作成し、通常のワーカーと比較し、生殖器官（特に腔内）に存在する機械感覚ニューロンの存在を調査した。

4. 研究成果

(1) 生体アミンの経口摂取実験系における血中・脳内アミン動態

セイヨウミツバチとフタモンアシナガバチの両種において、1 mg/mlの濃度で長期間（10日間）ドーパミンを摂取させた場合に、脳内ドーパミン濃度の有意な上昇が確認され、ショ糖のみを摂取させたコントロール個体よりも卵巣発達が促進された。このことから10日間程度のドーパミン経口摂取により、産卵個体化が誘導できることが明らかになった。同じ濃度のドーパミンを4 μ l経口摂取させ、時系列的にドーパミン量を解析したところ、2時間以内の血中および脳内ドーパミン濃度の上昇は見られなかった。

セイヨウミツバチを用いてドーパミンを胸部に注入した場合は、その直後から高い濃度の血中ドーパミンが確認され、代謝物質であ

るN-アセチルドーパミン濃度も上昇した。また、血中ドーパミンの上昇とほぼ同じ時間で脳内ドーパミンが上昇したことから、血中から脳内へのドーパミンの拡散には、大きなタイムラグが無いことが分かった。

ドーパミンやチラミンの前駆物質であるチロシンを経口摂取することにより、脳内のドーパミン量やチラミン量が増加することが分かった。ドーパミン合成酵素活性が同程度の条件下で、DOPA経口摂取によりドーパミン量が上昇することから、DOPAの供給量の増加でドーパミン量が増加することが分かった。さらにチロシン摂取により、卵巣発達の促進や採餌個体化の抑制が起こった。これらのことから無女王ワーカーにおける餌からのチロシン供給量が脳内ドーパミン・チロシン量や産卵個体化に影響を与えることが示唆された。

(2) カースト転換期におこる同時並行的な行動転換

セイヨウミツバチを無女王群条件下にして、攻撃性の高い個体とそうでない個体を採集し、卵巣発達の程度を調査したところ、攻撃性の高い個体で卵巣発達が進んでいない傾向は見られたが、統計的に有意な結果は得られなかった。

(3) 生体アミン経口摂取によるカースト転換の誘導と行動転換

触角および前肢ふ節の味覚感覚子によるシヨ糖の反応を吻伸展反射によって調べたところ、ドーパミン摂取個体ではコントロール個体との有意な違いは見られなかったが、チラミン摂取個体では、触角・前肢ふ節ともに吻進展反射の頻度がコントロール個体よりも高かった。

胸部にドーパミン受容体作動性薬物を注入し、活動性への影響を調べた結果、ワーカー・女王・オスのそれぞれにおいて、アゴニストによる活動性の上昇とアンタゴニストによる活動性の低下が確認できた。

(4) カースト転換期の味覚感覚系（口吻味覚感覚ニューロン）の感度や生理変化

ワーカーの口吻味覚感覚子からシヨ糖に応答する細胞とフェニルチオウレアに応答する細胞が確認できた。シヨ糖に対する応答は、先端節と第2節の感覚毛で感度が大きく異なり、特定の感覚毛からの記録で比較する必要が出てきた。

触角・前肢ふ節の神経作用性アミノ酸量を定量したところ、ワーカーの卵巣発達に伴って、触角と前肢ふ節のタウリン量の上昇が見

られ、卵巣最大径とタウリン量との間に有意な正の相関が見られた。日齢によるタウリン量の変化を調べてみると、触角では卵巣発達が起こる10-20日にピークが見られ、ふ節では羽化直後から徐々に減少した。

(5) カースト転換期の生殖器官やその神経系の生理・形態変化

カースト転換期における腹部終末神経節の生体アミン量を定量したところ、卵巣発達に伴うオクトパミンやチラミンの量的変化は検出できなかった。この結果は個体間のばらつきに起因すると考えられるが、今後、抗体染色などによる1細胞ごとの解析も必要になると考えられる。

ワーカーの腹部終末神経節は前方の神経節と完全に分離するに対し、女王は融合する。産卵ワーカーにおいて、受精嚢を支配する運動ニューロンは細胞体のある腹部終末神経節から縦連合を経由して前方の神経節まで入力部位を伸ばしていた。女王では相同の運動ニューロンの細胞体は腹部終末神経節に位置し、融合している前方の神経節領域へ入力部位を伸ばしていた。入力部位の形態は女王の方が広い範囲で分布していた。

産卵ワーカーの生殖器官の光学顕微鏡用切片を作成し、通常ワーカーと比較したところ、卵巣の発達に伴って中央輸卵管の半環状筋の発達が確認できた。側部輸卵管や受精嚢の発達は確認できなかった。生殖器官（特に膈内）に存在する機械感覚ニューロンを調査したところ、膈弁を支配する神経終末は確認できたが、機械感覚ニューロンの存在は確認できなかった。

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10件）

①Akasaka, S., Sasaki, K., Harano, K., Nagao, T., Dopamine enhances locomotor activity for mating in male honeybees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 査読有, vol. 56, 2010, p1160-1166

②Sasaki, K., Yamasaki, K., Tsuchida, K., Nagao, T., Gonadotrophic effects of dopamine in isolated workers of the primitively eusocial wasp, *Polistes chinensis*. *Naturwissenschaften*, 査読有, vol. 96, 2009, p625-629.

③Harano, K., Sasaki, K., Nagao, T., Sasaki, M., Influence of age and juvenile hormone on

brain dopamine level in male honeybee (*Apis mellifera*): association with reproductive maturation. *Journal of Insect Physiology*, 査読有, vol. 54, 2008, p848-853.

[学会発表] (計 19 件)

- ①佐々木謙, 社会性膜翅目昆虫の繁殖制御に関わるドーパミン系の調節機構. 第58回日本生態学会自由集会, 2011年3月8日, 札幌コンベンションセンター (北海道)
- ②佐々木謙, 長尾溪, 長尾隆司, 山崎和久, 社会性ハチ・アリ類におけるドーパミンの繁殖促進作用. 第32回日本比較生理生化学会, 2010年7月19日, 九州産業大学 (福岡県)
- ③赤坂真也, 佐々木謙, 長尾隆司, 原野健一, ミツバチ雄においてドーパミンは交尾飛行を促進させる. 第54回日本応用動物昆虫学会, 2010年3月28日, 千葉大学(千葉県)
- ④佐々木謙, 山崎和久, 土田浩治, 長尾隆司, アシナガバチのワーカー産卵におけるドーパミンの役割. 第31回日本比較生理生化学会, 2009年10月23日, 千里ライフセンター (大阪府)
- ⑤原野健一, 佐々木謙, 長尾隆司, 佐々木正己, ミツバチ雄における脳内ドーパミンの日齢変化とJHとの関係. 第31回日本比較生理生化学会, 2009年10月23日, 千里ライフセンター (大阪府)
- ⑥佐々木謙, 繁殖制御の内分泌機構とその進化. 第 69 回日本昆虫学会公開シンポジウム, 2009年10月11日, 三重大学 (三重県)
- ⑦佐々木謙, 山崎和久, 土田浩治, 長尾隆司, フタモンアシナガバチの卵巣発達におけるドーパミンの役割. 第 53 回日本応用動物昆虫学会, 2009年3月28日, 北海道大学 (北海道)
- ⑧佐々木謙, 脳内物質を用いた社会行動の操作. 第 27 回日本動物行動学会大会企画シンポジウム, 2008年9月24日, 金沢大学 (石川県)
- ⑨佐々木謙, 社会性昆虫のカーフト転換における脳内アミンの役割. 第 30 回日本比較生理生化学会吉田奨励賞記念講演, 2008年7月20日, 北海道大学 (北海道)

[図書] (計 4 件)

- ①佐々木謙, 共立出版, 「動物の多様な生き方」変身: 生き残るためのモデルチェンジ (第2巻・第10章), 2009, p165-182.
- ②佐々木謙, NTS出版, 昆虫ミメティクス (下澤楯夫・針山孝彦 監修), 第2編・第4章・第15節, 「社会性昆虫のカーフト転換と脳の再構成」, 2008, p549-555.
- ③Sasaki K., NOVA Science Publishers, “Insect Physiology: New Research” (Ed.: R. P. Maes), Chapter 5, “Biogenic amines and division of reproduction in social insects”. 2008, p 185-209.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)
なし

○取得状況 (計 0 件)
なし

[その他]

ホームページ

<http://www2.kanazawa-it.ac.jp/honeybee/sasaki/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 謙 (SASAKI KEN)

金沢工業大学・バイオ・化学部・准教授

研究者番号: 40387353

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし