

令和 5 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19245

研究課題名(和文) 昆虫微小脳を用いた社会学習の報酬予測誤差仮説の検証

研究課題名(英文) Evaluation of error-correction learning theories for social learning in an insect

研究代表者

水波 誠 (Mizunami, Makoto)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：30174030

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：他個体の行動の観察し知識を獲得する「社会学習」は、動物界に広く見られる。本研究ではフタホシコオロギを用い、社会学習が「予測誤差仮説」によって説明できるかを検証した。コオロギが水場で他個体が水を飲むのを観察すると、水場の匂いを水と連合させて覚える嗜好性社会学習が起こる。薬理的な解析の結果、この社会学習は「2次条件付け」により起こることが分かり、「予測誤差仮説」は棄却された。一方、2次条件付け仮説は、オクトパミンニューロンが「ミラー様」の神経活動を示すことにより社会学習が起こることを示唆している。これは哺乳類の社会学習で「ミラー様神経活動」が果たす役割に類似することを示唆するもので興味深い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの動物は他個体の行動から学ぶ社会学習を示すが、その仕組みはよく分かっていない。本研究での薬理的な解析の結果、フタホシコオロギの社会学習が「2次条件付け」によって起こることが示唆された。私達が提案する2次条件付けの神経回路モデルからは、オクトパミンニューロンは自身が水を飲む時に発火するが、他個体が水を飲むのを見た時にも発火すること、その様な「ミラー様の神経活動」が社会学習をもたらすことが予測される。昆虫のニューロンが哺乳類と同様に「ミラー様神経活動」を示し社会学習を実現するという本研究での提案は、大きな注目を集めると期待される。

研究成果の概要(英文)：Social learning is found in many animals, but its mechanisms are not understood. We previously showed that a cricket that was trained to observe a conspecific staying at a drinking apparatus exhibited an increased preference for the odor of that drinking apparatus. Here we investigated a hypothesis that this learning is achieved by second-order conditioning (SOC), i.e., by associating conspecifics at a drinking bottle with water reward during group drinking in the rearing stage and then associating an odor with a conspecific in training. Injection of an octopamine receptor antagonist before training or testing impaired the learning or response to the learned odor, as we reported for SOC, thereby supporting the hypothesis. Notably, the SOC hypothesis predicts that octopamine neurons that respond to water in the group-rearing stage also respond to a conspecific in training, without the learner itself drinking water, and such mirror-like activities mediate social learning.

研究分野：神経生物学

キーワード：社会学習 予測誤差学習 2次条件付け 昆虫 オクトパミン コオロギ 報酬

1. 研究開始当初の背景

(1) 他個体の行動の観察し知識を獲得する「社会学習」は、動物界に幅広く見られる学習現象である。社会学習は、個体の直接的な経験に基づく通常の連合学習と同様、ヒトや動物の生存に大きく寄与する。しかしそのニューロン機構はほとんど分かっていない。これまで研究代表者は、学習・記憶研究の材料としてフタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)を用いた学習・記憶についての研究を遂行し、コオロギの連合学習が、哺乳類の連合学習と同様、動物が予測する報酬や罰と実際に受け取る報酬や罰の差、すなわち「予測誤差」に基づいて起こること、また脳のオクトパミンニューロンが報酬に関する「予測誤差」の情報を伝えることを見出した(文献1)。またコオロギに社会学習の高い能力があることも見出した。(文献2)

2. 研究の目的

(1) ヒトや霊長類では、社会学習が「報酬予測誤差」に基づいて起こるといふ仮説が提案されており、その実験的な検証が切望されている。本研究では、コオロギの社会学習が予測誤差仮説で説明できるかを検証することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) 社会学習訓練の方法の改良

私たちが開発した(文献2)社会学習訓練法にはいくらか問題点があり、実験効率が非常に低い。そこでまず訓練法を徹底的に改良した。新しい訓練法では、コオロギを実験群とコントロール群の2群に分けることにした。実験群では、訓練室に水が入った容器と高濃度の塩水が入った容器を置き、絶水した「デモンストレータ」コオロギに自由に探索させる。水の入った容器にはバニラの匂いを染み込ませた濾紙を、塩水が入った容器にはペパーミントの匂いが染み込んだ濾紙を入れておく。デモンストレータは水の入った容器に長時間滞在し、塩水が入った容器にはほとんど滞在しない。コントロール群では、2つの容器の両方に塩水を入れる。するとデモンストレータがどちらの容器にもほとんど滞在しない。「観察者」のコオロギを隣接する部室に入れ、網越しにデモンストレータコオロギの行動を5分間観察させる。訓練の1日後、観察者にバニラとペパーミントの匂いを提示し選択させる。実験群の観察者コオロギがコントロール群のコオロギよりもデモンストレータが水を飲んだ容器の匂いを選択すれば、他社の行動の観察により匂いが水を予測することの学習、すなわち社会学習が成立したと言える。

(2) 薬理的解析による社会学習の「2次条件付け仮説」の検証

本研究の開始時期の少し前にはコオロギの社会学習後の匂い源探索行動が「水場の匂いと水の連合」により起こることを示唆する実験結果が得られていた。匂いと水の連合を説明する最も単純な仮説に「2次条件付け」仮説がある。この仮説では、コオロギの社会学習は2段階の過程で起こる。まず第1段階の集団飼育時の集団飲水行動の際に、水(無条件刺激、US)と他個体(条件刺激、CS1)の連合が起こる。次の第2段階の社会学習訓練時に、他個体(CS1)と水(条件刺激、CS2)の連合が起こる。2つの連合が合わさって「匂い(CS2)と水(US)の連合」が成立する。また私達はコオロギの2次条件付けにおいてオクトパミンニューロンが水の情報を運び、2次条件付けを成立させること、また2次条件付け成立後の匂い源探索行動を制御する役割を果たすことを明らかにし、それらを説明できる2次条件付けの神経回路モデルを提議である(文献3)。これらの知見に基づき、社会学習の2次条件付け仮説についての薬理的解析を行った。

(3) オクトパミンニューロンの社会学習への役割の洞察

2次条件付けで核心的な役割を果たすオクトパミンニューロンが、社会学習の成立に果たす役割について考察した。

(4) 社会学習訓練時のオクトパミンニューロンの活動を捉える

社会学習時のオクトパミンニューロンの活動解析を試みた。コオロギの *egr-B* 遺伝子のプロモータ領域に黄色蛍光タンパク質遺伝子(*eYFP*)を導入した組換え系統が作成され、オクトパミン抗体との2重染色により、オクトパミンニューロンの活動解析に利用できる可能性があることが示されている(文献4)、この系統を用いて社会学習訓練時のオクトパミンニューロンの神経活動について解析した。

(5) 忌避性社会学習の神経機構の解析

死体が置かれた水場を観察したコオロギはその匂いを避ける忌避性の社会学習を示す(文献2)。そのメカニズムについて実験的に検討した。

(6) 昆虫の多個体認知の基本メカニズムについての探求

本研究により、コオロギの嗜好性および忌避性の社会学習が、非社会学習と同じメカニズムで起こることが明らかになった。しかし社会学習において無条件刺激や条件刺激となる死体や生体

個体に対するコオロギの反応は、非社会学習において無条件刺激や条件刺激に対する行動とは明らかに異なることを見出した。その違いを理解するためには、適切な実験系を選んで、昆虫の「社会認知」の問題に取り組む必要があると考えた。ゴキブリの性フェロモン受容系は昆虫の同種他個体認知の実験系として特に優れている。そこで近縁種ゴキブリ雄の性フェロモン交差反応について行動観察を行なった。

4. 研究成果

(1) 社会学習訓練の方法の改良

新しい訓練法では、以前の訓練法と比べて、短時間の実験で信頼性の高い実験データを生み出せることが分かった(文献4)。

(2) 薬理的解析による社会学習の2次条件付け仮説の検証

社会学習訓練時、及び訓練後の匂い選択テストの前にオクトパミン受容体阻害剤投与の影響を調べた。その結果は社会学習の2次条件付け仮説からの予想とよく一致した(文献5)。

(3) オクトパミンニューロンの社会学習への役割の洞察

社会学習の2次条件付け仮説が正しいとすると、脳のオクトパミンニューロンには、自身が水を飲む時に反応するのと同様に、他個体が水を飲むのを見た時にも反応するものがあるはずである。またこの「ミラー様の神経活動」が社会学習をもたらすというのが仮説からの提案である(文献5)。これらの実験的な検証が次の課題となる。

(4) 社会学習訓練時のオクトパミンニューロンの活動解析

社会学習遂行時のオクトパミンニューロンの活動の光学計測を試みたが、十分な強さの神経活動を計測することができず、本研究期間内には良い成果は得られなかった。更なる実験系の改良や良い抗体の作成などが必要であることが分かった。

(5) 忌避性社会学習の神経機構の解析

コオロギが死体のある水場の匂いを避ける忌避性社会学習について解析した結果、死体を無条件刺激、水場の匂いを条件刺激とする1次条件付けにより説明できることが分かった。この学習が「予測誤差仮説」により説明できるかについての結論は得られなかった。一方、コオロギは通常の学習では無条件刺激に対して忌避反応を示すが、死体に対しては忌避反応をほとんど示さなかった。同種他個体の死体を非生物的の無条件刺激とは異質のものと認知しているのは明らかであった。

(6) 昆虫の他個体認知の基本性質についての予備的調査

昆虫の他個体認知についての予備的調査：本研究からの次の展開を睨みつつ、ワモンゴキブリ、クロゴキブリ、トビイロゴキブリ、イエゴキブリ、コワモンゴキブリなどの近縁種ゴキブリを集め、その雌雄成虫を隔離飼育し、雌の容器から取り出した脱脂綿を同種または他種の雄個体の容器に投入した時の雄の行動応答をビデオ解析した。近縁種間では、他種の雌の脱脂綿によって雄の交尾行動が誘発される場合と、興奮して容器内を歩き回るが後尾行動の誘発までは行かない場合があった。これらの行動解析から昆虫の同種他個体の社会認知についての性質についての洞察が得られ、その一部は社会学習時のコオロギの同種多個体の認知の理解にも助けとなった。ただし本研究の結果はごく予備的なものであった。今後さらに研究を進めて、昆虫の同種他個体認知の気候についての理解を深めたい。

< 引用文献 >

- 1 Terao K, Matsumoto Y, Mizunami M (2015) Critical evidence for the prediction error theory in associative learning. *Sci. Rep.* 5:8929.
- 2 Ebina H., Mizunami M. (2020). Appetitive and aversive social learning with living and dead conspecifics in crickets. *Sci. Rep.* 10.9340.
- 3 Mizunami M., Unoki S., Mori Y., Hirashima D., Hatano A., and Matsumoto Y. (2009) Roles of octopaminergic and dopaminergic neurons in appetitive and aversive memory recall in an insect. *BMC Biology* 7:46.
- 4 Watanabe T, Ugajin A., Aonuma H. (2018). Immediate-early promoter-driven transgenic reporter system for neuroethological research in a Hemimetabolous Insect. *eNeuro* 5,0061-18.
- 5 Segi Y, Hashimoto K, Mizunami M. (2023). Octopamine neurons mediate reward signals in social learning in an insect. *iScience* 26,106612.

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 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kulkarni, A., Ewen-Campen, B., Terao, K., Matsumoto, Y., Li, Y., Watanabe, T., Kao, J. A., Parhad, S. S., Ylla, G., Mizunami, M., Extavour, C. G.	4. 巻 -
2. 論文標題 oskar acts with the transcription factor Creb to regulate long-term memory in crickets.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PNAS	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） 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 該当する
1. 著者名 Yuma Segi, Kohei Hashimoto, Mamkoto Mizunami	4. 巻 -
2. 論文標題 Octopamine neurons mediate reward signals in social learning in an insect	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	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） なし	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 -
1. 著者名 Terao Kanta, Matsumoto Yukihisa, Alvarez Beatriz, Mizunami Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Spontaneous recovery from overexpectation in an insect	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9827
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-13800-2	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 Lyu Hui, Mizunami Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Conditioned taste aversion in the cricket <i>Gryllus bimaculatus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9751
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-13500-x	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 -

1. 著者名 Tateishi Kosuke, Watanabe Takayuki, Nishino Hiroshi, Mizunami Makoto, Watanabe Hidehiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Silencing the odorant receptor co-receptor impairs olfactory reception in a sensillum-specific manner in the cockroach	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104272 ~ 104272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104272	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 -

1. 著者名 Mizunami Makoto	4. 巻 15
2. 論文標題 What Is Learned in Pavlovian Conditioning in Crickets? Revisiting the S-S and S-R Learning Theories	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 661225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2021.661225	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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Takayuki Watanabe, Hiroshi Nishino, Kosuke Tateishi, Hidehiro Watanabe, Makoto Mizunami
2. 発表標題 Transcriptomic and phylogenetic analyses for the periplanone receptor gene family in the antennae of Blattidae cockroaches.
3. 学会等名 International Conference for Blattodea Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kosuke Tateishi, Takayuki Watanabe, Mana Domae, Hiroshi Nishino, Makoto Mizunami, Hidehiro Watanabe
2. 発表標題 Functional elucidation of two sex pheromones in the American cockroach; from receptions to behaviors
3. 学会等名 International Conference for Blattodea Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takayuki Watanabe, Makoto Mizunami, Hiroshi Nishino, Hidehiro Watanabe, Kosuke Tateishi
2. 発表標題 Transcriptome analyses of chemosensory receptor genes in the antennae of cockroaches and a cricket.
3. 学会等名 Annual meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kosuke Tateishi, Takayuki Watanabe, Mana Domae, Hiroshi Nishino, Makoto Mizunami, Hidehiro Watanabe
2. 発表標題 Two distinct sex pheromone processing pathways in the American cockroach; from receptions to behaviors.
3. 学会等名 Annual meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sadniman Rahman, Makoto Mizunami
2. 発表標題 Roles of octopamine and dopamine neurons in the formation of parallel appetitive and aversive memories and their control over conditioned response in Pavlovian conditioning in the cricket <i>Gryllus bimaculatus</i>
3. 学会等名 Annual meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋本光平, 水波誠
2. 発表標題 コオロギ (<i>Gryllus bimaculatus</i>) における嫌悪性社会学習メカニズムの解明
3. 学会等名 日本動物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 立石康介, 渡邊崇之, 西野浩史, 水波誠, 渡邊英博
2. 発表標題 ワモンゴキブリの2種の性フェロモンの受容機構と行動的役割の違い
3. 学会等名 日本動物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kosuke Tateishi, Takayuki Watanabe, Hiroshi Nishino, Makoto Mizunami, Hiroyuki Ai, Hidehiro Watanabe
2. 発表標題 Functional and developmental analyses of the sex pheromone reception system in the American cockroach during the nymphal-adult transition
3. 学会等名 International Congress of Neuroethology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuma Segi, Makoto Mizunami
2. 発表標題 Pharmacological analysis of social learning in the cricket <i>Gryllus bimaculatus</i> .
3. 学会等名 日本比較生理生化学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

水波研究室ホームページ
<https://www.sci.hokudai.ac.jp/~mizunami/MICROB-2/>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------