

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：32639

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23770078

研究課題名(和文) 社会性昆虫の繁殖制御に関わる神経・内分泌機構の進化的研究

研究課題名(英文) Evolutional study on neuroendocrine system for regulating reproduction in social insects

研究代表者

佐々木 謙 (Sasaki, Ken)

玉川大学・農学部・准教授

研究者番号：40387353

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：真社会性ハチ類の繁殖制御機構を比較研究するために、生殖腺刺激ホルモンの候補であるドーパミンを調節する要因について調査した。高次真社会性種であるセイヨウミツバチにおいて、雌ではドーパミンが卵巣発達や交尾飛行を促進し、ドーパミンの前駆物質であるチロシンを多く含む餌(特にローヤルゼリー)が脳内ドーパミン量を上昇させることが分かった。一方、雄ではドーパミンが交尾飛行を活性化させ、幼若ホルモンが脳内のドーパミン量や受容体遺伝子発現量を上昇させることが明らかになった。ミツバチ雄の幼若ホルモンによるドーパミン調節機構は、低次真社会性マルハナバチ類や単独性ハナバチ類の雌雄にも保存されていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To compare the regulation systems of reproduction in eusocial hymenopterans, factors regulating the brain levels of dopamine, as a candidate of gonadotropin, were investigated. In honey bees as a highly eusocial species, dopamine promoted the ovarian development and mating flight behaviors in females and enhanced in the brain levels by food containing richly tyrosine (a precursor of dopamine), especially royal jelly. In male honey bees, on the other hand, dopamine promoted mating flight and enhanced in the brain levels and its receptor gene expression by juvenile hormone. The dopamine regulation system by juvenile hormone could be shared by both sexes in primitively eusocial species (bumble bees) and solitary species (carpenter bees).

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：ドーパミン ハナバチ類 カースト 繁殖制御 生体アミン 受容体 合成酵素

1. 研究開始当初の背景

社会性ハチ類では、メスが産卵を専門的に行う女王と育児、巣の防衛、採餌等を行う不妊のワーカーに分化する。このようなメスの繁殖分業は巣の成長や繁殖の高効率化を実現するために進化した性質であると考えられている。非繁殖個体であるワーカーは、外的環境や個体間相互作用によって繁殖個体に転換することができ、その行動や生理において高い可塑性をもつ。社会性ハチ類は自身あるいは他個体に対する繁殖制御機構を獲得したことにより、繁殖分業を実現できるようになったと考えられ、その繁殖制御機構の解明は社会生物学や比較生理学を含む進化生物学上の重要な課題である。

社会性ハチ類では、生体アミンの一つであるドーパミンが繁殖促進作用を示す。研究代表者は以前からミツバチ類やアシナガバチ類を用いて、脳内ドーパミン量と卵巣発達や繁殖行動の発現との相関、ドーパミンによる卵巣発達の促進作用などを実験的に検証してきた。これらの研究を進めるにつれて、脳内ドーパミン量を調節する生理的要因(血中ホルモンや他の生体アミン)や環境要因(女王フェロモンや個体間順位行動、栄養摂取の偏り)が、社会性進化の程度によって異なる可能性を検討するようになった。低次真社会性種であるアシナガバチ類では、血中ホルモンである幼若ホルモン(JH)やドーパミンが卵巣発達や繁殖行動の発現に関与することが、断片的に解明されている。またこれらの種では、女王フェロモンによるワーカーの繁殖抑制は不十分で、個体間順位行動でワーカーの繁殖を抑制している。一方、高次真社会性種であるミツバチ類では、JHはワーカー間の分業を決定するホルモンとしてはたらき、ドーパミンのみがメスの生殖腺刺激ホルモンとして作用する。しかし、ドーパミンがどのような生理的機構によって制御されているかは、雌雄ともに明らかになっていない。

2. 研究の目的

ドーパミンは社会性ハチ類で生殖腺刺激ホルモンの候補として挙げられ、社会性進化の程度により脳内ドーパミン量を調節する機構が雌雄や種間で異なる可能性が示唆されている。そこで、本研究では、社会性進化の程度の異なる複数のハチ種において、脳内ドーパミン量を調節する生理的・環境要因を特定し、繁殖制御機構の違いを比較する。さらに、ハチ類における繁殖分業の進化をドーパミン調節機構の変遷という観点から捉え、繁殖制御機構の進化モデルを提案する。

3. 研究の方法

本研究では、高次真社会性種(セイヨウミツバチ)、低次真社会性種(クロマルハナバチ)

チ)、単独性種(キムネクマバチ)のハナバチ類3種を用いて、脳内ドーパミン量を調節する生理的要因と環境要因を調査した。

脳内ドーパミンを制御する生理的要因の一つとして幼若ホルモン(JH)を候補に考え、JHとドーパミンの両物質による生殖腺刺激ホルモンとしての作用やJHによる脳内ドーパミン量への影響について、3種間で比較した。さらに、JHアナログ処理による脳内でのドーパミン受容体遺伝子やドーパミン合成酵素遺伝子の発現を定量し、JHによるドーパミン関連遺伝子への影響も調査した。

脳内ドーパミンに影響を与える環境要因として、巣内の環境変化による栄養摂取の違いを候補に考え、異なる栄養物質や巣内の餌を経口摂取させることによりドーパミン量への影響を調査した。

4. 研究成果

(1) セイヨウミツバチ雌の脳内ドーパミン調節機構

セイヨウミツバチの女王とワーカー間で脳内ドーパミン量、およびドーパミン前駆物質(DOPA)や代謝物質(*N*-acetyldopamine)量を定量し比較したところ、3物質において女王で有意に脳内量が多かった(図1-2)。また、血中ドーパミン量においても女王で有意に多かった。DOPA脱炭酸酵素(DDC)活性をカーブ間で比較したところ、両者で差がなく、女王では脳組織以外の組織(大顎腺や唾液腺、卵巣)での酵素活性は検出できなかった。また、脳内のDDCやチロシン水酸化酵素(TH)の遺伝子発現をqRT-PCR法により定量したところ、カーブ間での有意な違いは検出できなかった。一方、DDCの基質であるDOPAを無女王群ワーカーに経口摂取させたところ、濃度依存的に脳内ドーパミン量が高く、DDCの基質濃度が脳内ドーパミン量に大きく影響することが分かった。

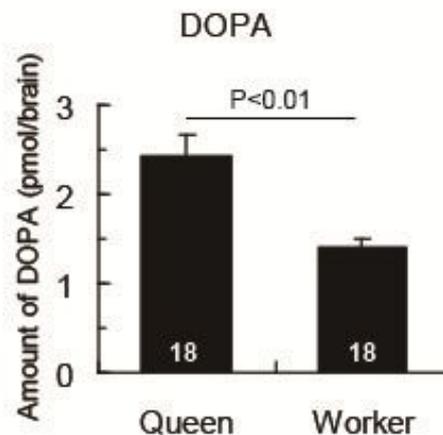


図1 脳内DOPA量のカーブ差

(Sasaki et al., 2012, *Gen. Comp. Endocrinol.*, vol. 178, p46-53 より)

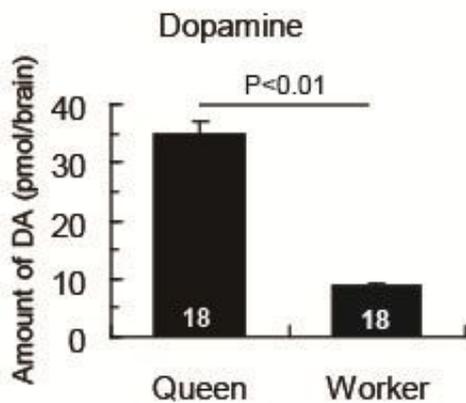


図2 脳内ドーパミン量のカーブ差 (Sasaki et al., 2012, *Gen. Comp. Endocrinol.*, vol. 178, p46-53 より)

次に DOPA の前駆物質であるチロシンが、ローヤルゼリー中に多く含まれることに着目し、チロシンを無女王群ワーカーに経口摂取させたところ、脳内ドーパミンが上昇した。ローヤルゼリー、ハチミツ、ショ糖水を経口摂取させた場合、ローヤルゼリーにおいてのみ、脳内ドーパミン量が有意に高かった。また、チロシン経口摂取は、巣からの外出を抑制し、卵巣発達を促進させた。

以上のように、セイヨウミツバチの雌では、脳内ドーパミン量が合成酵素活性の変化ではなく、基質の影響を受け、特にローヤルゼリー由来のチロシン摂取により上昇する可能性が示唆された。この機構は女王や産卵ワーカーのローヤルゼリー摂取や産卵個体化の際の行動変化や卵巣発達促進を矛盾なく説明できるものである。

(2) セイヨウミツバチオスの脳内ドーパミン調節機構

セイヨウミツバチの雄において、性成熟に伴うドーパミン関連物質の脳内量を調査した。生殖腺の発達に伴って脳内のドーパミン前駆物質 (DOPA) 量は減少し、ドーパミンや代謝物質 (NADA と NE) は増加した。性成熟前のオスに幼若ホルモン類似物質 (メソプレン) 処理を施したところ、脳内ドーパミン量は増加し、特定のドーパミン受容体遺伝子 (*Amdop1*) の発現が上昇した (図3)。ドーパミン受容体の発現はドーパミン受容体アゴニストで上昇せず、アンタゴニストで阻害されなかったことから、幼若ホルモン反応系を介したものであることが示唆された (図3)。脳内のドーパミン合成系酵素 (TH と DDC) 遺伝子の発現量は日齢に依存して増加したが、メソプレン処理による発現量への影響は検出できなかった。この結果については、今後追試する必要がある。

以上のように、セイヨウミツバチの雄では、幼若ホルモンによる脳内ドーパミン量とその反応系の制御が確認され、幼若ホルモン濃

度の低い繁殖雌 (女王・産卵ワーカー) のドーパミン制御機構とは大きく異なることが示唆された。

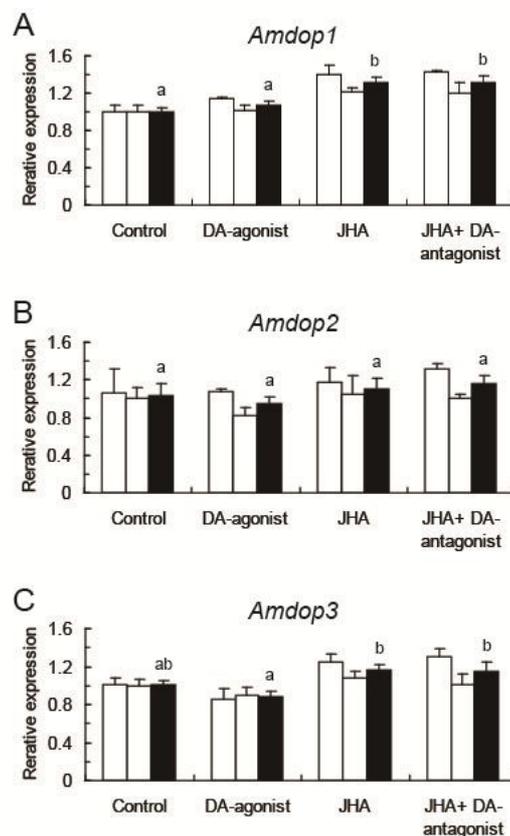


図3 雄のドーパミン系ドラッグや幼若ホルモン類似物質によるドーパミン受容体遺伝子発現量への影響

(Sasaki et al., 2012, *Insect Mol. Biol.*, vol. 21, p502-509 より)

(3) クロマルハナバチの脳内ドーパミン調節機構

クロマルハナバチのワーカーにおいて、無女王条件下でドーパミン経口摂取を一定期間行ったところ、脳内でのドーパミンの取り込みと代謝物質の増加が確認された。しかし、卵巣発達が予想以上に速かったため、ドーパミン摂取による卵巣発達への影響や脳内ドーパミン量と卵巣発達との相関を検出することはできなかった。今後、卵巣発達を評価する日齢を検討する必要がある。

女王においては、飼育条件下における交尾直後の女王、低温休眠中の女王、創設初期 (産卵開始後) の女王について、血中、脳内、胸部神経節内、腹部終末神経節内のドーパミン量をそれぞれ定量し比較した。その結果、交尾直後の女王の血中、脳内、胸部神経節内ドーパミン量が創設女王のそれよりも有意に多かった。これらの結果は、交尾時期のドーパミン量が産卵開始時よりも多いというセイヨウミツバチの女王の結果と類似していた。

オスにおいて、日齢に依存した脳内ドーパ

ミン量の動態、活動性と飛翔活性の日齢変化、および生殖器官の形態変化が特定できた。幼若ホルモン処理による脳内ドーパミン量への影響、卵巣発達への影響については今後残された課題である。

(4) キムネクマバチの脳内ドーパミン調節機構

キムネクマバチの雄において、繁殖なわばりを維持するための高い飛翔行動活性とドーパミンとの関係を検証した。雄へのドーパミン注入により、飛翔行動の促進や活動性の上昇が引き起こされた。次に幼若ホルモン類似物質（メソプレン）処理による脳内ドーパミン量や他の生体アミン量への影響を調査した。その結果、脳内ドーパミン量においてのみコントロール区よりも有意に高く、ミツバチのオスと同様に、幼若ホルモンによる脳内ドーパミン制御機構を備えていることが分かった。

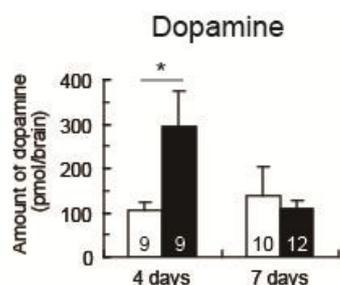


図4 キムネクマバチ雄におけるメソプレン処理による脳内ドーパミン量への影響

黒：メソプレン処理，白：コントロール

(Sasaki & Nagao, 2013, *Naturwiss.*, vol. 100, p1183-1186 より)

(5) 社会性ハナバチ類のドーパミン制御機構の変遷

高次真社会性種のミツバチにおいて、脳内ドーパミン制御機構は雌雄で異なる。生殖雌では栄養摂取（特にチロシン摂取）によるドーパミン量の上昇が行われ、幼若ホルモンはワーカーの繁殖ではなく、齢間分業を制御する生理因子として使われている可能性が高い。一方、カースト分化の見られない雄では、幼若ホルモンは脳内ドーパミン量を調節する生理因子としてはたらし、ドーパミンとともに繁殖行動を調節すると考えられる。幼若ホルモンによる脳内ドーパミン量の制御機構は単独性のキムネクマバチ雄でも確認され、ドーパミンは繁殖に関わる行動を促進した。また、マルハナバチ類やアシナガバチ類でも幼若ホルモンと脳内ドーパミンによる繁殖の制御が知られている。このように、幼若ホルモンによる脳内ドーパミンの制御と両物質による繁殖行動の促進作用は、単独性ハチ類から保存された機構であると考えられる。ミツバチのように高次な真社会性を進化させた種では、幼若ホルモンをワーカー内

の分業を制御する因子として機能するようになり、幼若ホルモンによるドーパミンの制御機構は消失したと考えられる。ドーパミンの繁殖促進機能は高次真社会性種においても保存され、栄養物質を介したチロシン摂取による調節を受けるようになったと考えられる。真社会性種の雌のカースト分化が栄養代謝系のカスケードによって決定される知見を考慮すると、ドーパミンによる繁殖促進作用が栄養代謝系の作用と同時に並行で行われる可能性がある。

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12件)

K. Sasaki, T. Nagao, Juvenile hormone-dopamine systems for the promotion of flight activity in males of the large carpenter bee *Xylocopa appendiculata*. *Naturwiss.*, 査読有, 100, 2013, p1183-1186.

DOI: 10.1007/s00114-013-1116-4

R. Mezawa, S. Akasaka, T. Nagao, K. Sasaki, Neuroendocrine mechanisms underlying regulation of mating flight behaviors in male honey bees (*Apis mellifera* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 査読有, 186, 2013, p108-115.

DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.02.039

K. Sasaki, S. Akasaka, R. Mezawa, K. Shimada, K. Maekawa, Regulation of the brain dopaminergic system by juvenile hormone in honey bee males (*Apis mellifera* L.). *Insect Mol. Biol.*, 査読有, 21, 2012, p502-509.

DOI: 10.1111/j.1365-2583.2012.01153.x

K. Sasaki, S. Matsuyama, K. Harano, T. Nagao, Caste differences in dopamine-related substances and dopamine supply in the brains of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 査読有, 178, 2012, p46-53.

DOI: 10.1016/j.ygcen.2012.04.006

[学会発表](計19件)

佐々木謙・目澤龍介・松山周平・長尾隆司, ハチ目の真社会性種におけるドーパミン制御機構の変遷. 第15回日本進化学会, 2013年8月28日, 筑波大学(茨城県つくば市).

K. Sasaki, R. Mezawa, S. Akasaka, T. Nagao, Regulation of the brain

dopamine system by juvenile hormone in male honey bees. The 35th Annual Meeting of The Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry, 2013年7月13日, イーグレひめじ (兵庫県姫路市).

佐々木謙・赤坂真也・目澤龍介・嶋田敬介・前川清人, セイヨウミツバチオスの幼若ホルモンによる脳内ドーパミン系の制御. 第14回日本進化学会, 2012年8月21日, 東京都立大学(東京都八王子市).

K. Sasaki, S. Matsuyama, K. Harano, T. Nagao, Mechanisms underlying caste differences in the brain levels of dopamine-related substances in adult female honeybees. The 34th Annual Meeting of The Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry, 2012年7月6日, 総合研究大学院大学(神奈川県葉山町).

佐々木謙, 行動の発現・転換・維持に関わる生体アミン, 第56回日本応用動物昆虫学会, 2012年3月28日, 近畿大学(奈良県奈良市).

[図書](計8件)

K. Sasaki, NOVA Science Publishers, Sex differences of dopamine control systems associated with reproduction in honey bees. In: Honeybees: Foraging Behavior, Reproductive Biology and Diseases, (Ed.) C. Malloy, 2013, 16 (p137-152).

K. Harano, K. Sasaki, NOVA Science Publishers, Sexual maturation, mating strategies and the neuroendocrinology in social insects. In: Human and Animal Mating: Strategies, Gender Differences and Environmental Influences, (Eds.) M. Nakamura, T. Ito, 2013, 24 (p31-54).

K. Sasaki, NOVA Science Publishers, Regulation of reproductive states and control of sex of eggs by reproductive females in eusocial Hymenoptera, In: Social Insect: Structure, Function, Behavior, (Ed.) E. M. Stewart, 2011, 21 (p51-71).

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等
Researchmap ホームページ
<http://researchmap.jp/read0054468>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 謙 (SASAKI, Ken)
玉川大学・農学部・准教授
研究者番号: 40387353

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: