

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25650119

研究課題名(和文) 昆虫における機械感覚器から湿度感覚器への進化に関する神経生物学的研究

研究課題名(英文) Neurobiological study on evolution of hygroreceptors from mechanoreceptors in insects

研究代表者

横張 文男 (YOKOHARI, Fumio)

福岡大学・理学部・教授

研究者番号：20117287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「昆虫における機械感覚器から湿度感覚器への進化過程」を調べるため、原始昆虫である無翅昆虫マダラシミを研究材料に用いた。触角を走査型電子顕微鏡で検索し、有翅昆虫の湿度温度感覚子に酷似した外部形態をもつ感覚子を見つけた。触角の湿度変化に対する電気的応答を測定して得た応答曲線は有翅昆虫の場合と同じだった。触角神経が投射する中大脳を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、中大脳には4つの領域があり、その1つである触角葉は多数の系球体から構成され、後方背側の系球体群はバナナ状の特異的な形態をもち、有翅昆虫の場合との比較からこの系球体群が湿度情報や温度情報の処理に関わっている可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate evolution processes of hygroreceptors from mechanoreceptors in insects, we examined antenna and deutocerebrum of an apterygote firebrat (*Thermobia domestica*) and we found the followings. There are the sensilla which are morphologically closely resemble the hygro- and thermoreceptive sensilla of pterygota such as a cockroach and a honeybee. The electrophysiological responses of antennae to humidity change are also very similar to those of the pterygota. Furthermore, the deutocerebrum which antennal nerves project are divided into 4 areas and one of them is an antennal lobe in which many glomeruli are present. Some glomeruli which locate at a poster-dorsal area have a special outer shape like a banana. These morphological features are similar to those of hygro- and thermoreceptive glomeruli of the pterygota. These results suggest that apterygotes have already have the hygroreceptors and the nervous system for their information process similar to those of pterygota.

研究分野：動物生理学

キーワード：無翅昆虫 原始昆虫 マダラシミ 湿度受容 電気生理学 中大脳 触角 湿度温度感覚子

## 1. 研究開始当初の背景

有翅昆虫の湿度感覚については、我々が精力的に研究を進め、受容器から脳内投射までの基本的特徴を明らかにしてきた。その結果、湿度感受器は相対湿度を適刺激とし、湿度-機械変換機構という特異な受容初期過程があり、受容ニューロンは機械受容ニューロンを起源としていることや、湿度情報は脳内では嗅覚情報処理系に組み込まれて処理されていること等を明らかにしてきた (Yokohari 1999 総説)。しかし、機械感受器から湿度感受器が進化過程のどの時期に分化してきたかや、触角からの機械感覚情報は嗅覚情報とは別な場所 (背側葉) 処理されているにも関わらず、どのような経過を経て湿度情報が触角葉で処理されるようになったか等は全く不明だった。

## 2. 研究の目的

昆虫の湿度感覚系は、機械感覚系と嗅覚系の丁度中間に位置しており、昆虫の感覚受容機構や脳内での感覚情報処理機構の進化史的経緯を解析する上で非常に良いモデル系となると考えた。本研究は、昆虫の系統樹の最下位に位置する無翅昆虫マダラシミを実験材料として、触角-脳感覚情報系を、おもに電気生理学・形態学・神経解剖学的手法を用いて調べ、上記の進化史的な諸問題の解明を目的として開始した。

## 3. 研究の方法

おもに形態学・神経解剖学・電気生理学・手法を用いて調べた。

(1)触角感覚子を走査型電子顕微鏡で観察し、感覚子の外部形態の特徴をもとに分類した。

(2)有翅昆虫と同様に無翅昆虫でも触角神経は中大脳に投射しているため、触角の基部断端から蛍光染料を取り込ませ、共焦点走査型レーザー顕微鏡を用いて中大脳の光学切片を得て、画像処理ソフトを用いてこれを基にその立体構造を再構築した。

(3)触角に有翅昆虫の湿度温度感覚子と酷似した感覚子があることが初年度の研究で確認できたので、触角電図 (EAG) 法を用いて、湿度変化に対する応答を調べ、その刺激応答曲線を得た。

## 4. 研究成果

### (1)湿度感覚子の検索

マダラシミの触角には6種類の感覚子が存在し、棘状感覚子・棘状感覚子・棘状感覚子・葉状感覚子・錐状感覚子・錐状感覚子と命名した。また、4個体の触角について分布する感覚子を触角全体から4~5カ所を選んで10節ずつ各感覚子の分布数を数え、触角全体での各感覚子の分布数と分布様式の推定数を出した。

感覚子全体で分布数が最も多かった感覚子は棘状感覚子で、他の5種類の感覚子は棘状感覚子に比べると分布数が非常に少なかった。棘状感覚子は各節に2つの円周上に並んで分布し、他の感覚子は棘状感覚子の列よりもわずかに遠位側に分布していた。感覚子の外部形態からそれぞれの感覚子の機能を推定した。棘状感覚子は機械的刺激を受容すると推定された。棘状感覚子は機械刺激のみを受容すると推定された。棘状感覚子は機械のみ又は機械刺激と味刺激を受容すると推定された。葉状感覚子は匂いを受容すると推定された。錐状感覚子は匂いを受容すると推定した。

錐状感覚子は、クチクラ装置の長さが2~3 $\mu\text{m}$ 、平均2.7 $\mu\text{m}$ の感覚子である。この感覚子では、基部には直径が平均3.1 $\mu\text{m}$ のソケットがあり、ソケットとクチクラ装置の間には広い間隙がある。鞭節の感覚子の中では最も短いクチクラ装置をもつ感覚子で、ソケットの内側におさまっているように見える。クチクラ装置の中間部から先端付近までは、その表面には不規則な凸凹があるが、嗅孔のような構造は見られなかった。棘状感覚子の分布場所よりも遠位側で、棘状感覚子やなどと横並びに分布している。錐状感覚子も、どの節に必ず存在するとは限らず、不規則に存在していた。分布数を数えた結果、1節あたりの分布数は1~2本程度だった。これらの形態学的特徴を有翅昆虫で湿度温度感覚子として同定されている感覚子の形態学的特徴と比較して、錐状感覚子は温度および湿度を受容する感覚であると推定した。

(2)湿度温度情報処理に関わる触角葉系球体の推定

順行性染色法を用いて、マダラシミの脳内ニューロパイル構造と触角葉系球体構成を、共焦点走査型レーザー顕微鏡を用いて観察し、画像ソフトを用いてその立体構造を再構築した。マダラシミの触角神経は食道下神経節、中大脳、前大脳の腹側領域に終末を持つ感覚細胞群と胸部神経節へと直接下降する感覚細胞群に分類できた。マダラシミの中大脳は近縁類のイシノミ同様に、触角葉 (Antennal lobe: AL)、背側葉 (Dorsal lobe: DL)、Ventral deutocerebral lobe (VL)、Lobus glomerulus (LG) の4つの領域に分けられることが明らかになった。触角神経の順行性染色より触角葉、背側葉、Ventral deutocerebral lobe では触角感覚細胞からの神経入力があることが分かったが、Lobus glomerulus は触角からの投射は確認できなかった。マダラシミの触角葉は多数の系球体から構成され、これらの系球体群は感覚神経の走行や系球体の形状により3つのグループに分けることができた。前方腹側で見られた系球体グループは、他の2つのグループと比べると形がはっきりとしていた。前方から後方にかけて広く分布していたグループでは、系球体同士の境目は曖昧だったが

糸球体がブドウの房状に分布していることが観察できた。また、この糸球体グループに関して性的二形を示す糸球体が見られ、雄で肥大化していた。この糸球体は性フェロモン情報処理に関わっていると考えられる。

3つ目のグループは、後方背側で見られ、バナナ状の特異的な形態の糸球体から構成されていた。この形状と分布場所などの特徴は有翅昆虫の湿度・温度受容ニューロンが投射する糸球体群とよく似ており、マダラシミでもこの糸球体群は湿度・温度情報処理に関わっていると推定した。Mißbacha et al.(2011)は、イシノミでは中大脳の腹側中大脳神経叢と呼ばれる部分で湿度・温度が処理されるとの推定を述べているが、本研究の結果では、マダラシミの中大脳の構造はイシノミの場合と比較的良く似ていたが、有翅昆虫であるワモンゴキブリで湿度温度感覚子に内包される受容細胞の軸索が終末する糸球体と似た形状のものが触角葉にあり、Mißbacha et al.(2011)の推定とは異なっていた。

### (3)湿度刺激に対する電氣的応答

湿刺激の持続時間とEAG応答の波形との関係を調べた。雌雄とも刺激開始直後は電位が急速に陽極側に変化し、引き続いて緩慢に陽極側に振れ、約10秒未満で最大電位を示した。その後は次第に電位が減衰した。刺激終了と同時に電位はゆっくりと刺激前の電位に戻った。乾刺激に対する応答では、湿刺激をした場合とは電位変化の上下が鏡像関係になり、他の特徴は湿刺激した場合とほぼ同じだった。この関係はワモンゴキブリのEAGとほとんど同じであった。

湿受容については、湿度0%r.h.状態から高湿度刺激をし、乾受容については湿度100%r.h.状態から低湿度刺激をして、それぞれ応答曲線を得た。その結果、雌雄で湿受容・乾受容のどちらも湿度の差が大きいほど応答の大きさも大きくなり、これもワモンゴキブリのEAG応答と同じだった。

### (4) (その他) 行動実験の結果

マダラシミを20%r.h.~90%r.h.に湿度調整をした個別の飼育ケースに入れ、その生存期間を調べた。その結果、20%r.h.の調湿した場合は雌雄ともに約3週間生存し、90%r.h.に調湿した場合には約5週間生存した。更に雌では40%r.h.から80%r.h.の環境では21週間以上の生存が確認された。本実験により、マダラシミは中湿度域での生存期間が低湿度・高湿度域よりも生存期間が長くなることがわかった。

マダラシミの湿度嗜好性を調べるため、一定期間絶水状態にしたマダラシミを湿度勾配観察箱に入れ、一定時間ごとに各湿度領域に分布する個体数を数え、各湿度領域別の滞在率を求めた。その結果、雌雄ともに絶水期間が短いほど湿度の低い領域での滞在率が高く、絶水期間が長くなると高湿・中湿領域

での滞在率が高くなった。しかし絶水した個体でも高湿領域に1日程度滞在すると一部の個体は中湿域を選ぶようになった。本実験により、マダラシミは絶水期間を長くすると当初は高湿度を好み、時間が経過すると中湿度を好むものがあることがわかった。

### (5)結論と今後計画

本研究では湿度感覚器が機械感覚器から分化してくる過程を明らかにすることを目指したが、昆虫のうちで最も下等な無翅昆虫を材料に調べたにもかかわらず、湿度感覚器は既に無翅昆虫でも有翅昆虫と同程度に発達しており、その基本的な特徴は同じだった。しかしながら湿度受容ニューロンが投射するマダラシミの中大脳触角葉は、有翅昆虫とは異なる部分が多く、脳内での情報処理には違いがあることが示唆された。

研究助成期間は過ぎたが、今後の研究として、受容ニューロンからインパルス応答を記録し、個々の細胞(ニューロン)レベルでの応答特性を明らかにし、合わせて受容ニューロンから染色してその投射先である触角葉糸球体を同定したい。

### 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8件)

Mizunami M, Nishino H Yokohari F (2016) Status of and future research on thermosensory Processing. *Front. Physiol.* 7:150. doi:

10.3389/fphys.2016.00150 *Frontiers in Physiology*. 4/25/2016, p1-5. 5p. 査読あり

Inoue T A., Ito T, Hagiya H, Hata T, Asaoka K, Yokohari F, Niihara K (2015) K<sup>+</sup> Excretion: The other purpose for puddling behavior in Japanese *Papilio* butterflies. *PLoS ONE* 10(5): e0126632.

doi:10.1371/journal.pone.0126632 査読あり

Nishino H, Watanabe H, Kamimura I, , Yokohari F, M Mizunami (2015) Coarse topographic organization of pheromone-sensitive afferents from different antennal surfaces in the American cockroach. *Neuroscience Letters*. 595(19) 35-40

doi:10.1016/j.neulet.2015.04.006 査読あり

Carle T, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F (2014) Antennal

development in the praying mantis (*Tenodera aridifolia*) highlights multitudinous processes in hemimetabolous insect species. PLoS ONE 9(6): e98324.

doi:10.1371/journal.pone.0098324 査読あり

Watanabe H, Shimohigashi M, Yokohari F (2014)

Serotonin-immunoreactive sensory neurons in the antenna of the cockroach *Periplaneta americana*. The Journal of Comparative Neurology 522:414–434 doi 10.1002/cne.23419 査読あり

Carle T, Toh Y, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F (2014) The antennal sensilla of the praying mantis *Tenodera aridifolia*: A new flagellar partition based on the antennal macro-, micro- and ultrastructures.

Arthropod Structure & Development 43 103-116 doi:10.1016/j.asd.2013.10.005 査読あり

渡邊英博 (2013) ワモンゴキブリの末梢から高次中枢までの嗅覚情報処理機構比較生理生化学 30, 89-105. 査読なし

Carle T, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F (2014) Antennal development in the praying mantis (*Tenodera aridifolia*) highlights multitudinous processes in hemimetabolous insect species. PLoS ONE 9(6): e98324. 査読あり doi:10.1371/journal.pone.0098324

〔学会発表〕(計 22 件)  
学会発表

Watanabe H, Koike Y, Nishino H, Yokohari F: Postembryonic increment pattern of sex pheromone-receptive sensor neurons in the cockroach antennae. CompBiol 2015, 2015年12月 11-13日、広島市(広島県)

Carle T, Ryuhei U, Yokohari F: Evolutionary relationship of the size of neural structures between the visual and olfactory systems. CompBiol 2015, 2015年12月11-13日、広島市(広島県)

Haraguchi T, Watanabe H, Yokohari F: Morphological features and their diversities of brain structures among hymenopteran insects. CompBiol 2015,

2015年12月11-13日、広島市(広島県)  
渡邊英博、西野浩史、藤義博、横張文男、高梨琢磨: マツノマダラカミキリ弦音器官がもつセロトニン免疫陽性の細胞内微細構造。日本動物学会全国大会、2015年 9月17-19日、新潟市(新潟県)

原口貴寛、渡邊英博、横張文男: 膜翅目有剣類昆虫の脳構造の比較解析。日本動物学会九州支部大会、2015年5月23-24日、福岡市(福岡県)

Carle T, Yamawaki Y, Watanabe H Yokohari F: Sensory systems of appendices in praying mantis (*Tenodera aridifolia*). 日本動物学会九州支部大会、2015年5月23-24日、福岡市(福岡県)

原口貴寛、渡邊英博、横張文男: 膜翅目昆虫の脳構造の特徴とその多様性。日本応用動物昆虫学会大会、2015年3月 26-28日、山形市(山形県)

山下貴志, Thomas Carle, 山脇兆史、渡邊英博、横張文男: オオカマキリ錐状感覚子の嗅覚細胞の応答。日本動物学会全国大会、2014年9月11-13日、仙台市(宮城県)

平田圭、渡邊英博、横張文男: 社会性昆虫クロオオアリの巣仲間識別に関わる触角感覚子の嗅覚応答。日本動物学会全国大会、2014年9月11-13日、仙台市(宮城県)

原口貴寛、渡邊英博、横張文男: 社会性および非社会性の膜翅目昆虫の脳構造の比較解析。日本動物学会全国大会、2014年9月11-13日、仙台市(宮城県)  
渡邊英博、城戸翔、道久愛美、横張文男: 原始昆虫マダラシミの脳構造解析。日本動物学会全国大会、2014年9月11-13日、仙台市(宮城県)

棕本清吾、渡邊英博、横張文男: 嗅覚投射ニューロンの嗅応答特性と投射パターンの解析。日本動物学会全国大会、2014年9月11-13日、仙台市(宮城県)  
Watanabe H, Nishino H, Yokohari F: Olfaction and Taste II: Temporal activity patterns of two different types of projection neurons revealed by simultaneous intracellular recordings in the cockroach. International Congress of Neuroethology 2014年7月 28日~8月2日、札幌市(北海道)

原口貴寛、渡邊英博、横張文男: 膜翅目類昆虫の脳構造の進化過程の解析。日本

動物学会九州支部大会、2014年5月24-25日、那覇市（沖縄県）  
棕本清吾、渡邊英博、横張文男：ワモンゴキブリ二次嗅覚ニューロンの匂い刺激応答と形態解析。日本動物学会九州支部大会、2014年5月24-25日、那覇市（沖縄県）

平田圭、Thomas Carle、渡邊英博、横張文男：社会性昆虫クロオオアリの仲間認識に関わる触角感覚子の嗅応答の特徴。日本動物学会九州支部大会、2014年5月24-25日、那覇市（沖縄県）  
渡邊英博、横張文男：ワモンゴキブリ二次ニューロンからの同時細胞内記録。日本動物学会全国大会、2013年9月26-28日、岡山市（岡山県）

Watanabe H, Shimohigashi M, Yokohari F: Serotonin-immunoreactive sensory neurons in the antenna of the cockroach. 日本比較生理生化学会全国大会、2013年7月13-15日、姫路市（兵庫県）

Carle T, Toh Y, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F.: The antennal sensilla of the praying mantis *Tenodera aridifolia*. 日本比較生理生化学会全国大会、2013年7月13-15日、姫路市（兵庫県）

Carle T, Toh Y, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F.: The antennal sensilla of the praying mantis *Tenodera aridifolia*. 日本比較生理生化学会全国大会、2013年7月13-15日、姫路市（兵庫県）

21 Yokohari F.: On hygro- and thermoreception of insects. 日本比較生理生化学会全国大会、2013年7月13-15日、姫路市（兵庫県）(学会賞受賞講演)

22 Carle T., Watanabe H., Yamawaki Y., Yokohari F.: Mantis olfaction – A new methodology highlights the antennal developments and its dimorphism in pray mantis (*Tenodera aridifolia*). 日本動物学会九州支部・九州沖縄植物学会・日本生体学会九州地区会 合同学会大会、2013年5月18・19日、熊本市（熊本県）

〔図書〕(計0件)

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

(個人のホームページはありません)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

横張 文男 (YOKOHARI, Fumio)

福岡大学・理学部地球圏科学科・教授

研究者番号：20117287

### (2)研究分担者

渡邊 英博 (WATANABE, Hidehiro)

福岡大学・理学部地球圏科学科・助教

研究者番号：90535139