

学位論文題名

Studies on Neurohormonal Control of Behavioral
Motivation in Insect

(神経ホルモンによる昆虫行動の動機づけ調節に関する研究)

学位論文内容の要旨

同じ環境におかれ、同じ刺激にさらされた動物は、いつも同じ行動を示すとは限らない。行動は、神経系の働きによって発現するが、神経系の状態が変われば発現する行動も変化する。このような神経系の状態はホルモンによって調節される。ホルモンは、神経系に直接作用して、ある行動を引き起こす状態をつくり出す(動機づけ)。こうしてホルモンは行動の調節や切り換えに深く関わっている。

昆虫は、脊椎動物や他の無脊椎動物よりもはるかに幅広くホルモンによる行動の調節を行っている。彼らが、脊椎動物に比べて桁違いに少ない神経しか持ち合わせていないにもかかわらず、脊椎動物に劣らず多くの行動のレパートリーを持って環境の変化に適応しているのはこの理由によると考えられる。

本研究では、昆虫の行動の動機づけのしくみを明らかにするために、まず配偶行動の発現の行動学的な解析を試みた。その結果、配偶行動とそれ以外の個体維持行動をホルモンによって切り換える計時機構が存在することがわかった。この液性調節の様式とホルモンの実体を明らかにするために、神経生化学的な解析方法を開発した。この解析方法を用いて中枢神経系におけるホルモンの分布を調べた結果、中枢内の2種類の生体アミンが神経ホルモンとして、配偶行動の動機づけを調節していることが明らかとなった。最後にその調節様式について考察した。

第1章： 昆虫の配偶行動は、いくつかの行動要素の連なりからなり、個体の内部

状態と外部条件によって要素間の遷移過程が決まる。クロコオロギ (*Gryllus bimaculatus*) の雄は、交尾の前に必ず求愛発音行動 (Courtship stridulation: CS) を行い、交尾を完了してから数分後、精包準備行動 (Spermatophore protrusion: SP) を行う。SP後、雄は約1時間まったくCSを行わず、その間、配偶行動を示さない (Post-spermatophore protrusion silence: PSPS)。また、雄がCSを出すためには、雌がリリースとして必要であるが、雄がCS発現に動機づけられるためには、それに先行するPSPSの経時が必要である。すなわち、コオロギの雄は、SPで駆動される計時機構を持ち、その on-off によって配偶行動とそれ以外の行動を切り換えている。動作時間 (PSPS) が約1時間であることから、この行動の切り換えは、神経系が液性因子による動機づけを受けていることを示している。

第2章: 生体アミンは、脊椎、無脊椎を問わず広く動物の中枢内に存在する情報伝達物質である。ことに昆虫では、生体アミンが神経ホルモンとして、彼らの主要な生理過程の調節に深くかかわっていることが知られている。生体アミンが神経系の動機づけに果たす役割を知るためには、それらの中枢や体液中における分布とともに、前駆物質や代謝産物の分布も同時に知る必要がある。

生体アミンに選択性の高い電気化学検出法を、迅速で高い分離能の得られる高速液体クロマトグラフィーと組み合わせること (HPLC-ECD) により、高感度で一斉分析のできる系を開発した。逆相クロマトグラフィーに ion-pair 法を導入し、さらに有機溶媒によるイオン化の抑制をも加えて分離の最適化を図った。その結果、ドーパミン、エピネフリン、ノルエピネフリン、セロトニン等の代表的な生体アミンに加え、昆虫の主要な神経作用物質であるオクトパミン、さらにはそれらの前駆物質と代謝産物を含む19種の物質の一斉分析が可能な系を開発した。これまで高感度検出が困難とされてきたオクトパミンについても、picomole 単位まで検出可能となり、コオロギ1個体の脳 (約1mg) で、十分な生体アミンの定量結果が得られた。本法は、昆虫のみならず、脊椎動物も含めた広範な動物の中枢や体液中の生体アミンとその関連物質の高感度一斉分析にきわめて有用である。

第3章: 計時機構を駆動するSPは、腹部第5神経節の支配を受け、CSは中胸神経節の支配下にある。2章において開発したHPLC-ECDによる一斉分析法を

用いて、それぞれの中樞神経節の生体アミン、その前駆物質、代謝産物の分布を調べ、液性環境の違いの検出を試みた。どの神経節にも、昆虫の主要な生体アミンであるセロトニンや、オクトパミン、ドーパミンが、前駆物質および代謝産物とともに含まれていた。脳では、セロトニンが最も多く分布し、次にオクトパミンが続くのに対し、他の中樞では、オクトパミンが最も多く分布し、これにセロトニンが続く。各中樞は、バッタやゴキブリで報告されているように、それぞれ組織特異的な生体アミンの分布様式を示す。セロトニン、オクトパミン、ドーパミンが何れの中樞にも高濃度で、しかも組織特異的に存在することは、これらの生体アミンが、昆虫の中樞において神経系の動作環境として重要なはたらきを担っていることを示している。

第4章： 求愛発音を始めたコオロギ（CSコオロギ）と精包準備を行ったコオロギ（SPコオロギ）の中樞や体液の抽出物をSPコオロギに注入し、配偶行動発現までの時間（PSPS）を調べた。SPコオロギの体液と脳の抽出物はPSPSを有意に延長するのに対し、CSコオロギの体液と中胸神経節の抽出物はPSPSを縮める。これらPSPSに影響を与える分画の推定分子量は、ともに100—200 daltonsである。低分子の各種神経作用物質をコオロギに注入した結果、セロトニンがPSPSを延長するのに対し、オクトパミンは逆に縮めることがわかった。

以上の結果から、コオロギの配偶行動は2種類の神経ホルモンによって動機づけられていることがわかった。一つは、CSコオロギの中胸神経節内にあり、配偶行動の発現を促進し、もう一つは、SPコオロギの脳内にあり、非配偶行動の発現を促進する。何れも、配偶行動の進行にともない、中樞内で合成され、体液中に放出されている。オクトパミンとセロトニンが最も有力な候補物質である。

昆虫は、成虫になると多くの時間を繁殖行動に費やすが、個体維持のためにも適当な時間を確保しなければならない。コオロギは、この計時機構によって、配偶行動と個体維持行動の効率的な切り換えを行っている。

本研究では、神経ホルモンによる神経系の調節を証拠立て、外界の状況と体内状態との協調下で行動が発現される機構を明らかにした。中樞内で見つかった多くの神経ホルモンは、昆虫の多様な行動発現を解明する手がかりとなるであろう。

学位論文審査の要旨

主査	教授	久田	光彦
副査	教授	山本	正
副査	教授	堀	浩
副査	教授	片桐	千明
副査	教授	馬渡	駿介
副査	教授	下澤	楯夫 (電子科学研究所)

学位論文題名

Studies on Neurohormonal Control of Behavioral Motivation in Insect

(神経ホルモンによる昆虫行動の動機づけ調節に関する研究)

動物は、行動によって環境の変化に対応している。しかし、動物は、同一の刺激に対していつも同じ行動を示すとは限らない。外界の刺激が行動を引き起こすためには、その行動の基盤である神経系があらかじめある特定の状態（動機づけ）になっている必要がある。ホルモンは、神経系をとりまく環境を調節することにより、動機づけや行動の切り換えに深く関わっている。動機づけのしくみを明らかにするためには、神経系がホルモンによってどのように調節されているかを知る必要がある。神経系をとりまく環境条件、即ち、中枢内のホルモンの分布は、主に組織化学および生化学的な手法によって調べられてきたが、定量が困難であり、一度に一つの物質しか調べられないため、動機づけ調節の解明に結びつく証拠を得るのが困難であった。申請者は、中枢内の主要な神経ホルモンである生体アミンに的を絞り、高感度で、同時に複数の物質の分析の出来る神経生化学的手法を開発することにより、この問題を解決した。本論文では、この新しい手法のもとで、コオロギの中枢内の2種類の生体アミンが、神経ホルモンとして配偶行動の動機づけを調節していることを明らかにしている。

第1章では、コオロギの配偶行動を構成する各要素の発現条件について述べている。コオロギの雄は、精包準備行動 (Spermatophore protrusion: SP) の後、約1時間まったく求愛発音行動 (Courtship stridulation: CS) を行わない。この間 (Post

-spermatophore protrusion silence: P S P S)、雄は配偶行動以外の個体維持行動を示すことから、コオロギの雄は、SPで駆動される計時機構を持ち、その on-off によって配偶行動とそれ以外の行動を切り換えていることが明らかになった。動作時間(P S P S)が約1時間であることから、この行動の切り換えは、神経系が液性因子による動機づけを受けていることを示している。

第2章では、昆虫の主要な神経ホルモンである生体アミンを高感度で、しかも同時に一斉分析のできる手法(HPLC-ECD)の開発について述べている。この手法により、ドーパミン、エピネフリン、ノルエピネフリン、セロトニン等の代表的な生体アミンに加え、昆虫の主要な神経作用物質であるオクトパミン、さらにはそれらの前駆物質と代謝産物を含む19種の物質の一斉分析が可能となった。本法は、昆虫のみならず、脊椎動物も含めた広範な動物の中樞や体液中の生体アミンとその関連物質の高感度一斉分析にきわめて有用である。

第3章では、2章において開発したHPLC-ECDによる一斉分析法を用いて、それぞれの中樞神経節の生体アミン、その前駆物質、代謝産物の分布を調べ、液性環境の違いについて述べている。どの神経節にも、昆虫の主要な生体アミンであるセロトニンや、オクトパミン、ドーパミンが、前駆物質および代謝産物とともに含まれていた。セロトニン、オクトパミン、ドーパミンが何れの中樞にも高濃度で、しかも組織特異的に存在することを示すことによって、これらの生体アミンが、昆虫の中樞において神経系の動作環境として重要なはたらきを担っていることを明らかにした。

第4章では、コオロギの中樞や体液中の液性因子の存在とその効果について述べている。中樞や体液の抽出物をコオロギに注入し、配偶行動発現までの時間(P S P S)を調べた結果、配偶行動の発現を促進するものと、逆に抑制するものの2つの液性因子の存在が明らかになった。これらP S P Sに影響を与える分画の推定分子量は、ともに100-200 daltonsであった。低分子の各種神経作用物質をコオロギに注入した結果、セロトニンがP S P Sを延長するのに対し、オクトパミンは逆に縮めることがわかった。以上の結果から、コオロギの配偶行動は2種類の神経ホルモンによって動機づけられていることが明らかになった。何れも、配偶行動の進行にともない、中樞内で合成され、体液中に放出されており、オクトパミンとセロトニンが最も有力な候補物質であることを示している。

申請者は、行動学と神経生化学を融合させて、神経ホルモンによる神経系の調節を証拠立て、外界の状況と体内状態との協調下で行動が発現される機構を明らかにした。このことは、行動の発現を神経系を中心に説明してきた神経行動学に寄与するところ大である。また、参考論文4編は、査読つき国際誌に掲載され高い評価を受けている。よって審査員一同は申請者が博士(理学)の学位に十分な資格ありと認めた。