

理工連携によるロボットを用いた 社会性昆虫の通信機構の研究

社会性昆虫ロボット研究チーム（課題番号：127003）

研究期間：平成24年7月26日～平成27年3月31日

研究代表者：藍 浩之 研究員：岩村誠人、鶴田直之、橋本浩二、横張文男

1. 背景

春から秋にかけて花から蜜や花粉を採餌するミツバチは採餌バチと呼ばれ、蜜を採集するミツバチは採蜜バチ、花粉を採集するミツバチは花粉バチと呼ばれる。これらのミツバチは、採餌から帰巢した後、巣内で尻振りダンスにより仲間に蜜源の情報を伝達することで、効率的な採餌に役立っている。Michelsenらは、ミツバチの尻振りダンスと同様の動きをするミツバチ型のロボットを作成し、ミツバチへの蜜源情報伝達を試みたが、ミツバチを蜜源へ十分リクルートすることはできなかった（Michelsen et al., 1992）。その理由は「尻振りダンスコミュニケーションの際に巣仲間はどうの行動をするのか？」「巣仲間は脳内でどのようにベクトル情報を解読するのか？」の研究が不十分であったことに起因すると思われる。尻振りダンスの際、踊り手（ダンサー）が採蜜蜂であれば蜜胃に花の匂いを含んだ蜜を入れており、ダンサーが花粉バチであれば後肢に花粉団子を付着している。これら蜜や花粉から発する花の匂いは、尻振りダンスの際、巣仲間が採餌バチを探索する手掛かりになる。

本研究では、理工連携でミツバチの通信機構の解明を目指す。理学部チームが採餌バチから生じる花の匂いと尻振りダンス時に生じる振動によって誘発されるミツバチの行動を、歩行軌跡追跡システム上で調べ、工学部チームがその結果を工学的解析手法で検証した。巣内で巣仲間は尻振りダンスと前後して行われる栄養交換を通して匂い学習が成立するので、実験では報酬と関連学習した匂いと、学習していない匂いによって誘発される歩行の違いを解析し、尻振りダンスの際の巣仲間の匂い学習が追従行動に及ぼす影響についての基礎データを取得した。

さらに本研究の最終目的である『ミツバチと自在にコミュニケーションをすることの出来るロボットを作成す

る』ためには、ミツバチがコミュニケーションの際、脳内でどのような情報処理をしているのかを明らかにすることが必要不可欠である。巣仲間は尻振りダンスコミュニケーションの際、どのような情報処理をし、ダンサーへの追従やその後の採餌行動に役立っているのだろうか？藍らは、尻振りダンスで生じる振動情報を処理する感覚ニューロンおよび脳内ニューロンの電気生理学的同定を進め、その情報経路、処理様式について詳細に調べてきた。その結果、振動受容器官であるジョンストン器官由来の感覚ニューロンの脳内投射領域の形態学的同定を行ない、ミツバチのジョンストン器官由来の感覚ニューロンが中大脳のみならず前大脳、食道下神経節にも投射し、並列情報処理回路を形成していることを明らかにした（Ai et al., 2007）。また、細胞内記録および染色法により、振動情報処理に関わる介在ニューロンを同定した（Ai et al., 2009）。しかし、これらの同定されたニューロンを含む振動応答性介在ニューロンが、花の匂い刺激に対しどのように応答するのかは未だ不明である。

一方、追従バチ（尻振りダンスを追従するハチ）は尻振りダンスの際に、蜜源へのベクトル情報を検出、解読する。これまでの研究で、蜜源への距離は、尻振りダンスにおける尻振り時間と正の相関関係にあることが分かっている（von Frisch, 1964）。尻振りダンスは体軸に対して直角方向に一定の頻度（15Hz）で腹部を振り、腹部軸が体軸に平行になるタイミングで羽ばたくため、尻振りダンサー近傍では30Hzの空気振動が生じる。また近年、追従バチは、この空気振動の振動回数を積算し、蜜源への距離を算出している行動学的証拠が得られている（Hrnecir et al., 2011）。一方、蜜源への方向情報はダンサーの体軸方向に符号化されており、追従蜂がその体軸方向を頸部器官（機械感覚器）で検出している（図1）。しかし、ミツバチの尻振りダンスに含まれるベクトル情報が脳内のどの領域で情報処理されて、解読されている

のかは不明のままである。

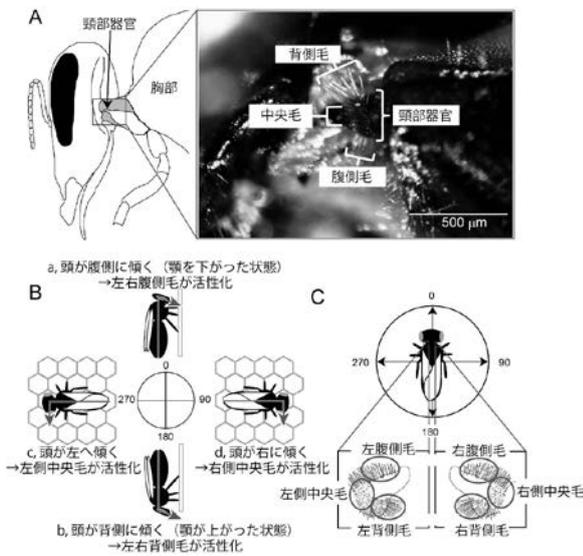


図 1. 体軸方向を検出する頭部器官

A: 頭部器官は機械感覚子（棘状感覚子）から成り、頭部の傾きを検出する。感覚子はその分布域から3つのクラスター（背側毛、中央毛、腹側毛）に区別できる。B: 垂直平面上において、体軸方向が上向きの時（a）、体軸方向が下向きの時（b）。体軸方向が水平の時（c, d）、それぞれ頭が前後左右に傾き、頭部器官の毛の押される部位が変わる。C: 左右の感覚毛が押される位置から、体軸方向が検出される。

2. 目的

『ミツバチと自在にコミュニケーションをすることの出来るロボットを作成する』ための基礎実験として、「**巣仲間**は尻振りダンサーにどのように誘引されるのか」と「**巣仲間**は脳内で尻振りダンスの際、どのように**蜜源情報**を解読するのか？」を中心に研究を進めた。

- (1) 報酬と連合学習した匂いや尻振りダンスで生じる振動刺激によって誘発される歩行の特徴を明らかにする。
- (2) 歩行の特徴的なパターンを抽出する。
- (3) 脳内の振動、嗅覚情報統合処理経路を解明する。
- (4) 脳内のベクトル情報の感覚一次中枢を形態学的に同定し、振動応答性介在ニューロンとの空間的位置関係を解析する。

3. 方法

本研究は、(1) 歩行軌跡記録実験、(2) (1) の記録データにパターン自動分類の手法を適用した特徴解析、(3) 振動応答性介在ニューロンの細胞内記録および色素注入、(4) 感覚器官からの色素注入、3次元形態の観察および標準脳を用いた形態解析、から成る。(1) においては、ミツバチをあらかじめ吻伸展反応を用いた匂い条件

付けを施し、トラックボールを用いた歩行軌跡追跡システムでミツバチの匂いおよび振動刺激で誘発される歩行を記録する。(2) においては、フーリエ記述子を用いたミツバチの移動軌跡の記述と、スペクトラルクラスタリングを用いた移動軌跡の分類を行う。(3) において、ミツバチの脳から細胞内記録を行うと同時に、尻振りダンスで生じる振動刺激と匂い刺激を行う。(4) では、ジョンストン器官と頭部器官から蛍光色素を注入し、共焦点レーザー顕微鏡で、ベクトル情報一次中枢の解析を行う。

4. 研究成果

(1) ミツバチに花の匂い刺激を与えると歩行が誘発される。本研究では、報酬と関連づけて学習した匂い刺激により、どのような歩行が誘発されるのか（実験1）、さらにその歩行に対し音刺激はどのような影響を与えるのか（実験2）を調べた。

実験1では、匂い刺激で生じる歩行が匂い学習でどのような影響を受けるのかを調べた。条件付けの有無にかかわらずオレンジ、クローブのいずれの匂い刺激でも歩行は誘発された。そこで、あらかじめこれらの匂いで条件付けていない個体群（対照群）と吻伸展反応を用いて弁別条件付けしたが学習が成立しなかった個体群（非学習群）、弁別条件付けし、学習が成立した個体群（学習群（CS⁺群、またはCS⁻群））で、匂い刺激に対する歩行を比較した。その結果、CS⁺群は対照群、非学習群やCS⁻群に比べ、いずれの匂いでも、歩行距離とターン角度が増加した（図2C, E; 図3A, C）。これらの結果から報酬と関連づけて学習した匂い刺激は、その歩行を活性化することが示唆された。

次にそれぞれの匂いの種類、条件付けの有無で、匂い刺激で誘発される歩行が経時的にどのように変化するかを調べた。O歩行（対照群のオレンジの匂い刺激で生じる歩行）、O⁻歩行（CS⁻群のオレンジの匂い刺激で生じる歩行）、O⁰歩行（非学習群のオレンジの匂い刺激で生じる歩行）はオレンジの匂い刺激によって左右のターンを伴い、その匂い刺激中、刺激直後、刺激後で歩行様式（歩行距離、平均ターン角度）に顕著な変化は見られなかった。しかし、O⁺歩行（CS⁺群のオレンジの匂い刺激で生じる歩行）は、匂い刺激中は小さな左右ターンを繰り返し、歩行範囲、歩行距離も小さいが、刺激後に大きなターンを繰り返し、歩行範囲、歩行距離も大きくなることが分かった（図2 A, B, D, F）。一方、C歩行、C⁻歩行は、匂い刺激中と刺激後の歩行範囲、歩行距離、平均ターン角度に変化は見られず、また、C⁺歩行で刺激中に比べ、刺激後に歩行範囲の増加は見られたものの、歩行距離と平均ターン角度に変化は見られなかった（図3B, D）。これらの結果から、匂いの種類によって報酬条

件付けの歩行に対する効果が異なることを示唆された。

報酬と関連づけて学習したオレンジの匂いによって生じる左右ターンを伴う直進歩行は、匂い源付近での局所探索歩行、その匂い刺激終了後の歩行範囲、歩行距離、左右ターン角度の大きい歩行は、一旦匂いを見失った際に生じる、匂いの有る場所を探索する歩行であると考えられる。このようなオレンジの匂い刺激中と刺激後での歩行様式の切り換え機構は、クローブの匂いを用いた場合には見られなかった。歩行記録実験中に報酬と連合学習したオレンジの匂い刺激で吻伸展反応をする個体は75%であるのに対し、クローブの匂い刺激では5%であった。クローブの匂いは学習の消去が起こったため、オレンジの匂いで見られた匂い刺激中と刺激後での歩行様式の切り換え機構が生じなかったと考えられる。

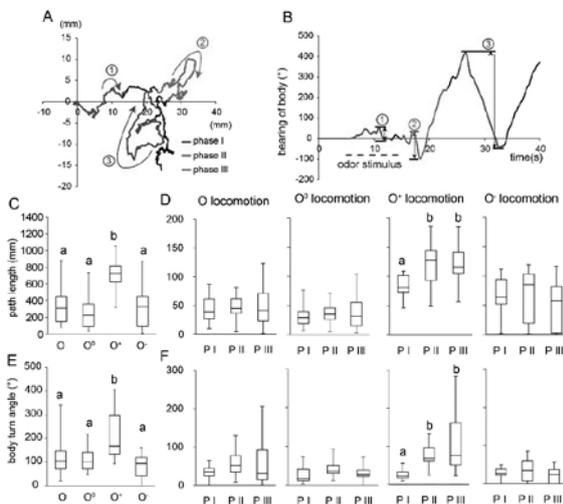


図2. オレンジの匂い刺激で誘発された歩行。

A, B: 報酬と関連づけて学習したオレンジの刺激で誘発された歩行軌跡 (A) とターン角度の経時変化 (B)。C, E: オレンジの匂い刺激で誘発された歩行に対する匂い条件付けの効果 (Cの縦軸は歩行距離、Eの縦軸はターン角度)。オレンジの匂いを報酬組み合わせ条件付けされた個体群 (O⁺) ; 条件付けしていない個体群 (O) ; 報酬と組み合わせ条件付けしたが学習できなかった個体群 (O⁰) ; 報酬と非組み合わせ条件付けした個体群 (O⁻)。D, F: 匂い刺激中 (P I)、刺激直後 (P II)、刺激後 (P III) の歩行距離 (D)、平均ターン角度 (F) の比較。

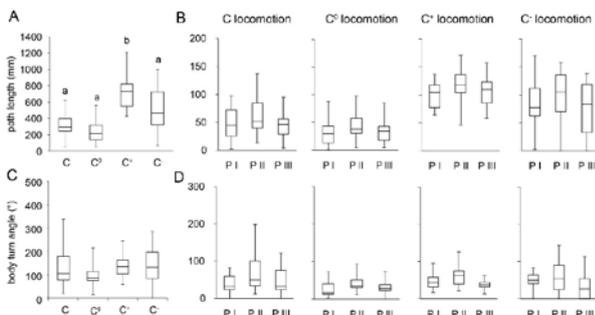


図3. クローブの匂い刺激で誘発された歩行。

A, C: クローブの匂い刺激で誘発された歩行に対する匂い条件付

けの効果 (Aの縦軸は歩行距離、Cの縦軸はターン角度)。クローブの匂いを報酬組み合わせ条件付けされた個体群 (C⁺) ; 条件付けしていない個体群 (C) ; 報酬と組み合わせ条件付けしたが学習できなかった個体群 (C⁰) ; 報酬と非組み合わせ条件付けした個体群 (C⁻)。B, D: 匂い刺激中 (P I)、刺激直後 (P II)、刺激後 (P III) の歩行距離 (B)、平均ターン角度 (D) の比較。

実験2では、オレンジの匂いを報酬と関連づけて条件付けした個体群を用い、尻振りダンス音、飛翔音、ホワイトノイズの刺激を与えた時の反応を調べた。実験では、40秒間のオレンジの匂いパルス刺激を与えて歩行を誘発し、その後半の20秒間で音なし、または音刺激を与えた。音刺激の影響は、匂い刺激前半の20秒間 (匂いフェーズ1) と、匂い刺激後半の20秒間 (匂いフェーズ2) における歩行距離、歩行範囲、平均ターン角度で比較した (図4)。匂いフェーズ2に音刺激を与えない場合は、匂いフェーズ1, 2間の歩行距離、歩行範囲の統計的な有意差はなかった (図4A, Bの音なし)。一方、匂いフェーズ2で音を与えた場合は、歩行距離において、音の種類に関わらず、オレンジの匂い刺激により誘発される歩行の距離、範囲が増加した (図4A, B)。また平均ターン角度において、匂いフェーズ2に音刺激を与えない場合は、匂いフェーズ1に比べ、匂いフェーズ2の平均ターン角度が、減少する傾向があった (図4Cの音なし)。この結果から、40秒間の匂い刺激で、ターン角度が徐々に減少することが示唆される。一方、匂いフェーズ2で、飛翔音またはホワイトノイズを提示することでその減少が見られなくなり (図4C)、尻振りダンス音の提示で逆に増加した (図4C)。結果として、音刺激は、音の種類に関わらず、歩行距離、歩行範囲、平均ターン角度を増加させた。しかし、尻振りダンスとホワイトノイズによる歩行の促進効果に顕著な違いがないことから、ダンス追従行動が尻振りダンス音により生じる可能性は否定された。

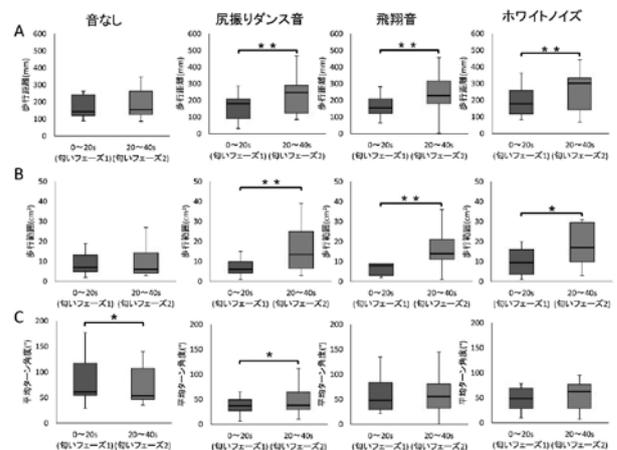


図4. 音刺激の歩行距離 (A)、歩行範囲 (B)、平均ターン角度 (C) への影響

対照群で、40秒間オレンジを与えた際の、匂いフェーズ1と匂いフェーズ2のそれぞれの20秒間で歩行距離と歩行範囲を比較すると、有意差は見られない (A, B左図)。一方、匂い刺激中に尻振り

りダンス音、飛翔音、ホワイトノイズを与えると歩行距離と歩行範囲が増加した (A, B右3つの図)。対照群で、匂いフェーズ2の平均ターン角度は、匂いフェーズ1の平均ターン角度よりも有意に小さい (C左図)。一方、匂い刺激中に音刺激を与えると、尻振りダンス音では、匂いフェーズ2の平均ターン角度は匂いフェーズ1のターン角度よりも有意に大きく、飛翔音とホワイトノイズでは、匂いフェーズ1と匂いフェーズ2の平均ターン角度に有意差がみられなくなった (C右3つの図)。

(2) まず、予備実験として、CS⁺ (O⁺とC⁺) の31軌跡 (39%) とCS⁻ (O⁻とC⁻) の48軌跡 (61%)、総計79軌跡 (100%) を用いて自動分類を試みた。ただし、(1) の実験1とは違う個体を用いている。その際、位相スペクトルによって大分類を行い、位相スペクトルによって分類されたそれぞれのグループに対して振幅スペクトルを用いて小分類を行った。分類にはスペクトラルクラスタリングを用いた。

分類によって得られたグループごとの軌跡数および割合を表1に示す。NとPは位相特性により大別されたグループ名、n と p は振幅特性により大別されたグループ名である。グループNに注目すると、NnグループにはCS⁺が多く含まれ、NpグループにはCS⁻が多く含まれるように分類されている。39%のCS⁺と61%を含む母集団から無作為に79軌跡を抽出したときに表1のNnの割合が得られる生起確率は、二項分布より

$${}_{20}C_{10} \cdot (0.39)^{10} \cdot (0.61)^{10} = 0.109$$

となり、NnがCS⁺によく対応していることがわかる。同様に、Npの割合が得られる生起確率は、

$${}_{18}C_3 \cdot (0.39)^3 \cdot (0.61)^{15} = 0.028$$

となり、NpがCS⁻によく対応していることがわかる。以上に基づく認識率は66%である。更に、NnとNpの振幅の平均値はそれぞれ42.3mmと115.8mmであった。フーリエスペクトルの振幅は移動軌跡の範囲に比例することから、CS⁺の方がCS⁻より移動範囲が狭くなるというこれまでの結果と一致した。

一方、Pグループに注目すると、CS⁺およびCS⁻との対応付けが明確に得られなかった。この原因として、実験に用いたミツバチの中には、羽化してから既に何らかの匂い学習の経験を持っていたものが含まれていたことが考えられる。あるいは、(1) に示した図2Dや図3BにおけるO⁺・O⁰とO⁺・O⁻との違い、C⁺・C⁰とC⁺・C⁻との違いに相当する情報が位相として表現された可能性があり、軌跡の客観的な特徴を抽出するうえで興味深い。

次に、羽化してから外界と接していないミツバチの(1)の実験1と同じ軌跡データを用いて実験を行った。分類結果を表2に示す。位相特性に関係なく、振幅特性に基づき、CS⁺とCS⁻が自然に分類できた。n (NnとPn) をCS⁺、p (NpとPp) をCS⁻に対応付けると、生起確率はnが 3.7×10^{-3} 、pが 6.3×10^{-4} となり、認識率は79%と

なる。このことから、フーリエ記述子の位相スペクトルCS⁺とCS⁻を区別するための客観的な特徴となることがわかる。また、NグループとPグループとの違いは、予備実験とは違う位相特徴によるものと考えられるため、その分析が今後の課題となる。今後は、ここで得られた軌跡の特徴が実際の巣箱の中での尻振りダンサーへの探索行動として見られるかどうかの検証も行う予定である。

表1. 予備実験：位相特性と振幅特性に基づき自動分類された移動軌跡の数 (割合)

位相による分類	振幅による分類	CS ⁺	CS ⁻
N	n	10 (50%)	10 (50%)
	p	3 (17%)	15 (83%)
P	n	9 (41%)	13 (59%)
	p	9 (47%)	10 (53%)

表2. 位相特性と振幅特性に基づき自動分類された羽化後ミツバチの移動軌跡の数 (割合)

位相による分類	振幅による分類	CS ⁺	CS ⁻
N	n	11 (79%)	3 (21%)
	p	2 (20%)	8 (80%)
P	n	12 (71%)	5 (29%)
	p	1 (9%)	10 (91%)

(3) ミツバチの振動受容器官 (ジョンストン器官) の一次中枢において振動、嗅覚情報処理に関わる介在ニューロンの形態学的、生理学的特徴を調べた。その結果、3つの特徴的な振動応答性介在ニューロン (DL-Int-1, DL-Int-2, PPL-D-1) の存在を明らかにした。

DL-Int-1はジョンストン器官一次中枢における局所介在ニューロンの一つである。このニューロンは背側葉・食道下神経節背側領域に密な分枝を持ち、前大脳側葉に細かい分枝を持つ (図5A, B)。前大脳側葉における分枝は少数の細かいとげ状分枝を持つのに対し、背側葉・食道下神経節背側領域における分枝はとげ状分枝のみならず、粒状構造 (おそらく前シナプス構造) を伴う分枝から成る。ジョンストン器官由来求心性繊維は背側葉・食道下神経節背側領域においてDL-Int-1に近接し走行する (図5B)。

DL-Int-1の振動および匂い刺激に対する応答様式はとても興味深い。DL-Int-1は自発活動性を持ち、振動刺激に対してon-off興奮応答を示す (図5C-a)。一方DL-Int-1は匂い刺激に対して刺激後も続く興奮応答をする (図5C-b)。DL-Int-1に脱分極性電流を加えている間に、振動刺激を与えると緊張性抑制応答を示す (図5C-c)。このことから、このニューロンの振動に対する2つの応答様式 (on-off興奮応答、緊張性抑制応答) は膜電位依存的に変換することが分かる。このようにDL-Int-1は触角への振動刺激で2つの異なる様式で応答する。一つは振動刺激の開始時と終了時の興奮性応答 (on-off E)、他方は刺激の間の緊張性抑制応答 (tonic I) である (図5C)。DL-Int-1の樹状

突起は背側葉内のジョンストン器官由来求心性軸索に近接していることから (図5A, B), このon-off Eはジョンストン器官の求心性繊維からDL-Int-1に直接興奮性シナプスを介して生じている可能性が高い。またDL-Int-1のtonic Iはジョンストン器官由来感覚繊維によって興奮した介在ニューロンからの抑制性入力を受けている可能性が高い。GABA様免疫反応性繊維が背側葉と食道下神経節内に存在することから、DL-Int-1にこれらの抑制性ニューロンがシナプス入力している可能性が示唆される。上記の2つのDL-Int-1の振動刺激に対する応答様式が、その自発発火頻度に依存して変換することから、他の感覚系からの入力がDL-Int-1の振動刺激に対する応答様式を修飾している可能性が考えられる。

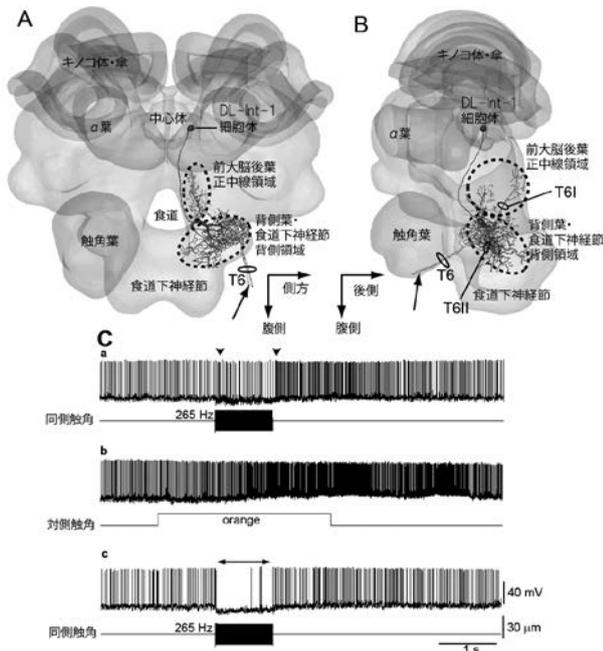


図5. DL-Int-1とジョンストン器官由来求心性繊維 (A, B内の矢印)の空間的位置関係。Aは前面像、Bは側面像。DL-Int-1は背側葉・食道下神経節背側領域に密な樹状突起をもつ。C, DL-Int-1の振動応答様式。C-a, 振動刺激により、DL-Int-1はon-off興奮応答(矢尻)をする。C-b, また反対側の触角への匂い刺激で刺激後も続く興奮性応答をする。C-c, また細胞内に脱分極性電流を流している間に振動刺激を与えると、緊張性抑制応答をする(両端矢尻)。

DL-Int-2はジョンストン器官一次中枢における出力ニューロンの一つである。このニューロンは背側葉・食道下神経節背側領域、前大脳後葉側方領域、前大脳側葉に投射する分枝を持つ(図6A, B)。このニューロンは振動刺激に対しphasic-tonicな興奮応答を示す(図6C)。応答したスパイク活動は振動刺激の振幅と頻度に依存しており(図6D)、尻振りダンス時に振動頻度である265 Hzの振動刺激で最も応答性が高い(図6E)。これらの結果からDL-Int-2は触角への振動刺激によって興奮性を入力を受ける²⁶⁾。DL-Int-2は尻振りダンスで生じる265 Hzの空気の振動に最も顕著に応答し、振動刺激の振幅に依存してスパイク頻度を上昇させる。DL-Int-2の樹状突起は背側葉内でジョン

ストン器官由来求心性軸索に近接しているため(図6B)、ジョンストン器官由来感覚ニューロンから直接興奮性入力を受けているのかもしれない。その上、DL-Int-2は前大脳側葉および前大脳後葉にシナプス構造を伴う軸索を伸ばす。前大脳側葉は嗅覚の二次中枢の一つであり、前大脳後葉は視覚の二次中枢である。DL-Int-2はジョンストン器官で受容した振動情報を嗅覚や視覚の二次中枢に伝達する役割を持つことが示唆される(図8)。

以上、神経解剖学的な結果からDL-Int-1および-2はジョンストン器官由来の求心性繊維と背側葉-食道下神経節背側領域で近接した分枝をもつことが分かった(図5と6)。詳細な観察の結果、DL-Int-1が背側葉中心領域で、DL-Int-2は背側葉前側領域で、ジョンストン器官由来求心性繊維の終末と近接していることが分かってきた²⁷⁾。DL-Int-1は尻振りダンスで生じる265 Hzの振動刺激に対してon-off-phasicな興奮応答をする²⁶⁾。一方DL-Int-2は265 Hzの振動に対し緊張性興奮応答をする。これらの形態学的、生理学的結果は、上記の2つの振動応答性介在ニューロンが、ジョンストン器官の一次中枢処理に関わるニューロンであることを強く示唆する。嗅覚一次中枢である触角葉内でも、2つの異なる機能をもつ介在ニューロン(局所介在ニューロンと出力ニューロン)が存在している。我々が注目している振動情報処理一次中枢においても2つの異なる応答性及び形態をもつ局所介在ニューロン(DL-Int-1)と出力ニューロン(DL-Int-2)が存在することは非常に興味深い。

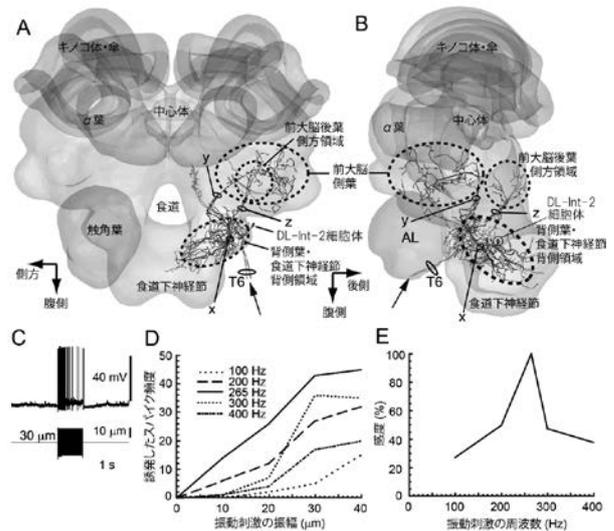


図6. DL-Int-2とジョンストン器官由来求心性繊維 (A, B内の矢印)の空間的位置関係。Aは前面像、Bは側面像。DL-Int-2は3つの主要な枝(x, y, z)をもつ。最も複雑に分岐した分枝xは、背側葉・食道下神経節背側領域に密な樹状突起をもつ。長い神経突起yは、前大脳側葉へのび、前シナプス様構造を伴う分枝終末する。最も小さな枝zは、背側葉から発出した後、前大脳後葉側方領域に前シナプス様構造を伴う分枝終末する。C, DL-Int-2の振動刺激に対するphasic-tonicな興奮応答。D, DL-Int-2は振動周波数および振動振幅に依存してスパイク頻度を変化する。E, DL-Int-2は尻振りダンスで生じる265 Hzの振動に最も感度が高い。

PPL-D-1は前大脳後葉における下行性ニューロン的一种である。このニューロンは同側前大脳後葉、対側前大脳後葉および食道下神経節に投射している(図7A, B)。このニューロンは265 Hzの振動刺激に対しては反応しないが、対側触角への匂い刺激を同時に与えると振動刺激に刺激後も続く興奮性応答を示す。PPL-D-1は前大脳後葉全体にわたって前シナプス終末構造を伴う樹状突起を伸ばすが(図7A, B)、DL-Int-1 や -2とはその分枝に重なりは見られない。一方、T6I 内を走行するジョンストン器官由来求心性繊維(図7A, B内の矢印)は、前大脳後葉腹側正中線領域内でPPL-D-1に近接している(図7A, B)。ジョンストン器官由来感覚ニューロンはPPL-D-1に直接シナプスを形成している可能性が高い。PPL-D-1は触角への振動刺激に反応しないが、匂い刺激を同時に与えると、振動刺激に対し刺激後も続く興奮性応答を示すようになる(図7C)。対側触角葉から同側の前大脳後葉に出力する嗅覚系介在ニューロンがジョンストン器官からPPL-D-1へのシナプス伝達を修飾しているのかもしれない。これらの結果から、PPL-D-1が本研究結果(1)で明らかになった匂い刺激と同時に振動刺激で生じる歩行に関わる可能性が示唆される。

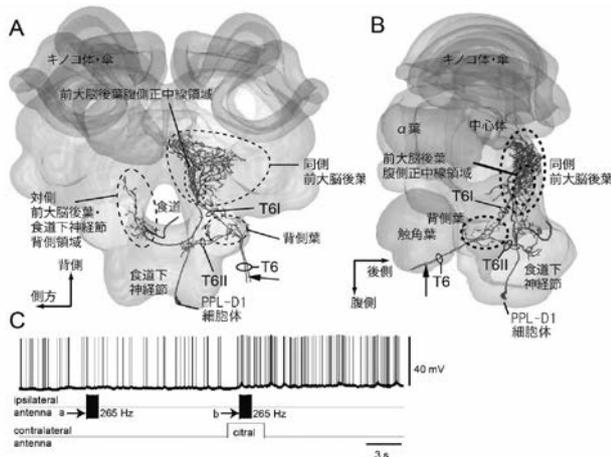


図7 振動と匂い刺激に応答する脳下降性ニューロン(PPL-D-1)。A, B: ジョンストン器官一次中枢の前大脳後葉に樹状突起をもつ。C: 振動刺激単独では応答しないが、匂い刺激中に振動刺激を与えると興奮性持続応答をする。

これまでに分かってきたミツバチのジョンストン器官で検出された機械感覚情報処理経路を図8に示す。ジョンストン器官一次中枢においてジョンストン器官由来感覚繊維から個々の振動応答性介在ニューロンへの顕著な並列経路がある。その一つは脳内の視運動反射中枢である前大脳後葉へ走行する経路である。先行研究で前大脳後葉に分枝する多くのmotion-sensitiveな介在ニューロンと下降性ニューロンが同定されてきた。T6Iを経由する求心性軸索が前大脳後葉正中線領域へのびることは、前大脳後葉正中線領域が単眼や複眼によって検出される視覚信号とジョンストン器官で検出される機械感覚情報

の統合のための領域であることを示唆する。PPL-D-1はこのような異種感覚統合中枢の一つであろう。

他の一つの経路は触角による接触感覚とともに重力感覚のための頸部感覚の求心性軸索の終末領域である背側葉・食道下神経節背側領域へ走行する経路である。それらの機械感覚は尻振りダンスに暗号化されているベクトル情報受容に関わることが示唆されてきた。またジョンストン器官および頸部器官の求心性繊維がともに背側葉—食道下神経節背側領域に投射終末することは、この領域が尻振りダンスの間に追従蜂によって受容された機械感覚信号(ダンサーとの接触感覚、ダンサーによって生じた空気振動、ダンサーのダンス時の体軸方向の重力感覚)を統合するための部位である可能性を示唆する。背側葉・食道下神経節背側領域に樹状突起をもつDL-Int-1とDL-Int-2は、振動刺激の開始時と終了時において顕著なスパイク頻度の変化を生じる。このことはこれらのニューロンが振動の時間をモニターする機能をともにつつということになる(図8のb-d)。尻振りダンスコミュニケーションの際、ダンスによって生じた空気振動の時間は、蜜源までの距離の指数の一つであることが証明されている。これらの背側葉介在ニューロンは振動信号から距離を解読するための神経回路に関係している可能性がある。このようにミツバチのジョンストン器官で検出された機械感覚情報は、一次中枢レベルで並列情報経路を形成している(前大脳後葉経路と背側葉・食道下神経節背側領域経路)。このような並列情報経路は、コロロギの聴覚系でその存在が明らかになっており、またミツバチの嗅覚系でもその存在がすでに明らかになっている。これらの研究は昆虫における嗅覚系および聴覚系において並列情報処理がシステムにおける共通の特徴であることを示唆する。

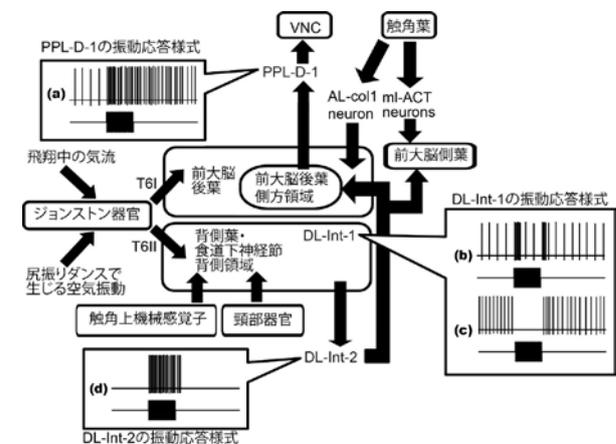


図8. ミツバチのジョンストン器官で受容された機械感覚情報経路。

(4) 尻振りダンスに符号化された距離と方向の情報の統合機構を調べるため、振動受容器官であるジョンストン器官と方向受容器官である頸部器官から色素を注入し、その一次中枢を同定した。すでに著者らの先行研究

において、ジョンストン器官由来の感覚ニューロン群は、前大脳後葉、背側葉、食道下神経節に投射することが明らかになっていった。本研究では、頸部器官由来の感覚繊維の投射が、ジョンストン器官の投射領域の一部（食道下神経節背側領域）にあり、さらに食道下神経節背側領域において、頸部器官由来の感覚繊維終末が細胞体位置に依存して組織化されていることを明らかにした。このことは、食道下神経節背側領域が、ミツバチの尻振りダンスに含まれるベクトル情報の一次処理中枢であり、この脳領域において体軸の方向を符号化する地図を形成し、距離情報との統合が行われていることを強く示唆するものである（図9）。

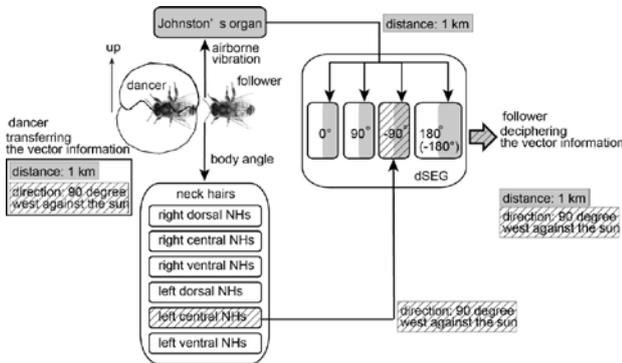


図9 ベクトル情報統合に関わる脳内経路。
追従蜂は、ジョンストン器官で空気振動を、頸部器官で体軸方向を検出し、それぞれの情報は食道下神経節背側領域で統合される。

5. 今後の発展について

理工連携により、報酬と関連学習した匂いによって生じる匂い源探索歩行の特徴が明らかとなった。この匂い源探索歩行は、尻振りダンス音を含む音で活性化することもわかった。この匂いと振動により誘発される歩行は、尻振りダンスの際に、巣仲間が尻振りダンサーを探索するための歩行と考えられる。今後は、本研究で明らかとなった尻振りダンス探索行動が、**実際の巣内で起こっているかを検証することが必要不可欠**であり、すでに実験を進めつつある。さらに神経解剖学的、生理学的研究から、脳内に、この探索歩行を指令する可能性のあるニューロンがあること、尻振りダンスの際のベクトル情報統合に関わる中枢を同定した。フリッシュは尻振りダンスの研究から、ミツバチが具象を記号で表現できることを証明し、これをダンス言語と呼んだ（1973年にノーベル医学・生理学賞受賞）。ダンス言語解読はヒトの言語解読に通じる共通のメカニズムを秘めている。ミツバチの脳は、様々な点で哺乳動物の脳高次機能を解明するためのモデル動物になりうる共通性を備えている。今後は脳内のダンス言語解読に関わる神経機構の脳内メカニズムの解明をさらに進めていく予定である。

現在、ミツバチと自在にコミュニケーションの出来るロボットは完成していないが、本研究はその礎となる行動および脳機構の解明を行うことができた。ミツバチは蜂蜜の生産のみならず、さまざまな果樹受粉のためのポリネータとして欠くことのできない益虫であるため、これら基礎研究の成果を養蜂技術の向上に役立てることで、人間社会への貢献が期待できる。さらに、ミツバチやアリのロボラスト性の高い社会組織をモデルとして、人間の社会システムのロボラスト性の評価やロボラスト性決定因子（パラメータ）の解析・抽出などの全体最適化の研究に応用できる可能性もある。また以上の過程で「虫型ロボット」や「局所情報通信+群ロボット」の要素技術の創出が期待できる。

6. 謝辞

本研究の一部は、福岡大学研究推進部の研究経費によるものである。（課題番号：127003）

7. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕

- Nishino, H, Watanabe H, Kamimura I, Yokohari F, Mizunami M : Coarse topographic organization of pheromone-sensitive afferents from different antennal surfaces in the American cockroach. *Neuroscience Letters* 595 ; 35–40, 2015.
- Inoue, TA, Tetsuo Ito T, Hagiya H, Hata T, Asaoka K, Yokohari F, Niihara K : K⁺ Excretion: The Other Purpose for Puddling Behavior in Japanese Papilio Butterflies *PLoS ONE* 10 (5) : e0126632. doi:10.1371/journal.pone.0126632, 2015
- 井手翔大, 高橋伸弥, 前田佐嘉志, 鶴田直之 : 巣箱内における複数ミツバチの同時追跡システムに関する研究, 情報処理学会, 火の国情報シンポジウム2015, 1C-2, 2015
- 河原匡宏, 井手翔大, 高橋伸弥, 鶴田直之 : 匂い刺激を受けたミツバチの移動軌跡の分類に関する研究, 電子情報通信学会信学技報, vol. 113, no. 431, PRMU2013-164, pp. 177-182, 2014.
- Rautenberg PL, Kumaraswamy A, Tejero-Cantero A, Doblender C, Norouzzian MR, Kai K, Jacobsen HA, Ai, H, Wachtler T, Ikeno H. : NeuronDepot: Keeping your colleagues in sync by combining modern cloud storage services, the local file system, and simple web applications. *Frontiers in Neuroinformatics* 01/1900; 8:55, doi: 10.3389/fninf.2014.00055, 2014.
- Ikeno, H., Akamatsu, T., Hasegawa, Y., Ai, H. : Effect of Olfactory Stimulus on the Flight Course of a

- Honeybee, *Apis mellifera*, in a Wind Tunnel. *Insects*, 5, 92-104, doi: 10.3390/insects5010092, 2014.
- Watanabe H, Shimohigashi M, Yokohari F : Serotonin-immunoreactive sensory neurons in the antenna of the cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of Comparative Neurology* 522: 414-434, 2014.
- Carle T, Toh Y, Yamawaki Y, Watanabe H, Yokohari F. : The antennal sensilla of the praying mantis *Tenodera aridifolia*: a new flagellar partition based on the antennal macro-, micro- and ultrastructures. *Arthropod Structure and Development*. 43: 103-116, 2014
- Ai, H. : Sensors and Sensory Processing for Airborne Vibrations in Silk Moths and Honeybees. *Sensors*, 13, 9344-9363, doi: 10.3390/s130709344, 2013
- Ai, H., Hagio, H. : Morphological analysis of the primary center receiving spatial information transferred by the waggle dance of honeybees. *Journal of Comparative Neurology*. 521: 2570-2584, doi: 10.1002/cne.23299, 2013.
- Watanabe, H., Ai, H., Yokohari, F. : Spatio-temporal activity patterns of odor-induced synchronized potentials revealed by voltage-sensitive dye imaging and intracellular recording in the antennal lobe in the cockroach. *Frontiers in System Neuroscience* 6, doi: 10.3389/fnsys.2012.00055, 2012.
- Watanabe, H., Haupt, S., Nishino, H., Nishikawa, M., Yokohari, F. : Sensillum-specific, topographic projection patterns of olfactory receptor neurons in the antennal lobe of the cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of Comparative Neurology* 520 (8) : 1687-1701, 2012.
- Nishikawa, M., Watanabe, H., Yokohari, F. : Higher brain centers for social tasks in worker ants, *Camponotus japonicus*. *Journal of Comparative Neurology*. 520: 1584-1598, 2012.

〔著書〕

- Ai, H., Itoh, T.: The Auditory System of the Honeybee. In “*Honeybee Neurobiology and Behaviors*. (Eds.: Eisenhardt, D., Galizia, C. G. and Giurfa, M.)” Chapter 4.3, 2nd ed. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, pp. 269-283, 2012.