

## 天敵のオオスズメバチを高温で攻撃 ニホンミツバチの脳神経興奮を確認！！

本学理工研究域の木矢剛智 特任助教と東京大学、玉川大学の研究グループは、ニホンミツバチの働き蜂が、巣内に侵入したオオスズメバチに対して、「集団で取り囲み、発熱して蒸し殺す」という特徴的な攻撃行動（熱殺蜂球形成）をとる際、脳で高次中枢（キノコ体）の一部の神経細胞が興奮していることを発見しました。今後、動物の脳の高次中枢の働きが理解が深まるなど基礎生物学への貢献や、ニホンミツバチが天敵に対して示す効果的な防衛行動の脳機能を明らかにし、その遺伝資源としての資質を検討することで、養蜂に適した在来種の作出も期待されます。

本研究成果は、2012年3月15日午前7時（日本時間）に、米国科学誌『PLoS ONE』オンライン版で公開されます。

### ■論文タイトル

Detection of Neural Activity in the Brains of Japanese Honeybee Workers during the Formation of a 'Hot Defensive Bee Ball'

（熱殺蜂球形成時のニホンミツバチ働き蜂の脳における神経活動の検出）

### ■著者

Atsushi Ugajin, Taketoshi Kiya, Takekazu Kunieda, Masato Ono, Tadaharu Yoshida, and Takeo Kubo

※東京大学、玉川大学からも同様に発表

### PLoS ONE ウェブサイト

<http://www.plosone.org/home.action>

本件照会先： 理工研究域自然システム学系 木矢

Tel 264-6248

担 当： 角間南地区事務部総務課総務係 藤井

Tel 234-6821

広報戦略室 福田

Tel 264-5024

# ニホンミツバチの攻撃行動（熱殺蜂球形成）における脳の活動を解明 —蜂球内の高温情報は脳の高次中枢（キノコ体）で処理される—

## 発表者

宇賀神 篤（うがじん あつし：東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 博士課程 1年）

木矢 剛智（金沢大学 理工研究域 自然システム学系 特任助教）

國枝 武和（東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 助教）

小野 正人（玉川大学 大学院農学研究科 応用動物昆虫科学研究分野 教授）

吉田 忠晴（玉川大学 学術研究所 ミツバチ科学研究センター 教授：当時）

久保 健雄（東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 教授）

## 発表概要

ニホンミツバチの働き蜂は、巣内に侵入したオオスズメバチに対して、「集団で取り囲み、発熱して蒸し殺す」という特徴的な攻撃行動（熱殺蜂球形成）を示す。今回我々は神経興奮のマーカー遺伝子を用いて、熱殺蜂球を形成しているニホンミツバチの脳では、高次中枢（キノコ体）の一部の神経細胞が興奮していることを見出した。同様な神経興奮は、働き蜂を単に蜂球内と同じ高温状態に曝すことでも生じた。熱殺蜂球形成時には、脳の高次中枢で高温情報が処理されると考えられる。

## 発表内容

### 1. これまでの研究でわかっていた点

ミツバチというと一般的には「刺す」虫をイメージされると思います。しかしながら、小野らは1995年に、日本在来種のミツバチであるニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) は、天敵であるオオスズメバチ (*Vaspa mandarinia japonica*) が巣内に侵入すると、数百匹の働き蜂がスズメバチに一斉に殺到し「蜂球」と呼ばれる集団を形成し、刺すのではなく、飛翔筋を震わせ、発熱してオオスズメバチを「蒸し殺す」ことを発見しました。このとき蜂球内の温度は46~47°Cという高温になりますが、オオスズメバチの上限致死温度（約45°C）がニホンミツバチ（約49°C）に比べて若干低いため、オオスズメバチは蒸し殺されるのです<sup>(文献1)</sup>。この熱殺蜂球形成は、西欧原産のセイヨウミツバチ (*Apis mellifera ligustica*) では見られないことから、東アジアに棲息するオオスズメバチの存在という淘汰圧<sup>(注1)</sup>の元に、ニホンミツバチが独自に獲得した防衛行動と考えられてきました。

### 2. この研究が新しく明らかにしようとした点

では、この熱殺蜂球形成は脳のどのような活動により引き起こされるのでしょうか？この疑

問を解くために私たちは、「熱殺蜂球形成行動中にニホンミツバチの脳内で活動（神経興奮）している領域」を同定することを目指しました。木矢らは 2007 年にセイヨウミツバチから神経興奮のマーカー遺伝子として「初期応答遺伝子（神経興奮が起きてから一定時間後をピークとしてその神経細胞に発現誘導されます）」を同定し、*kakusei* と命名しました（麻醉から「覚醒」させたミツバチの脳から発見されたことに由来します）<sup>(文献<sup>2</sup>)</sup>。今回私たちは、ニホンミツバチの *kakusei*（以下 *Acks* と表記します）を同定し、これを神経興奮のマーカー遺伝子として利用することで、蜂球を形成しているニホンミツバチの脳の興奮領域を探しました。

### 3. この研究で得られた結果、知見

*Acks* は神経興奮が起きてから 30～60 分後に発現がピークに達します。そこで私たちは、針金の先に固定した匏のオオスズメバチをニホンミツバチの巣内に挿入し、その周りに人為的に熱殺蜂球を形成させ（図 1）、蜂球形成直後・30 分後・60 分後に蜂球の表面からニホンミツバチの働き蜂を少しずつ採集して、*Acks* が脳のどの領域で発現しているかを *in situ* ハイブリダイゼーション法<sup>(注<sup>2</sup>)</sup>により調べました。その結果、蜂球形成直後に比べ、30 分後と 60 分後の働き蜂の脳では、高次中枢であるキノコ体という領域<sup>(注<sup>3</sup>)</sup>—とりわけクラス II ケニオン細胞<sup>(注<sup>4</sup>)</sup>—で *Acks* を発現している細胞が多数検出されました（図 2）。このことから、これらの神経細胞が蜂球形成直後から約 30 分後にかけて活動したことが分かりました。

この神経興奮をもたらした原因を探るために、蜂球内でニホンミツバチの働き蜂が曝される状況として、46°C という高温と、ミツバチの警報フェロモン<sup>(注<sup>5</sup>)</sup>の成分である酢酸イソアミル（熱殺蜂球からも放出されています）への暴露をそれぞれ実験室（虫かご）内で再現し、脳での *Acks* の発現を調べました。その結果、興味深いことに、ニホンミツバチの働き蜂を蜂球の内側と同じ 46°C という高温に曝したところ、熱殺蜂球形成時とよく似た脳の領域で *Acks* の発現が検出されました。一方で、酢酸イソアミルに曝した際には、こうした *Acks* の発現は検出されませんでした。このことは、熱殺蜂球を形成しているニホンミツバチの脳では、高次中枢で高温情報が処理されていることを示唆しています。

さらにミツバチでは触角で高温が感知されますが、触角を切除したニホンミツバチの働き蜂を 46°C という高温に曝した場合には、活動するクラス II ケニオン細胞の数が約半分に減少しました。このことから、高温情報は触角とそれ以外の経路を経て高次中枢であるキノコ体へと伝達されると考えられました。

### 4. 研究の波及効果、今後の課題

今回私たちは、世界で初めて、熱殺蜂球を形成したニホンミツバチの脳で神経興奮が起きている領域を同定することに成功しました。では、高次中枢であるキノコ体で高温情報はどのように「処理」されるのでしょうか？熱殺蜂球形成では蜂球内温度が一定（46～47°C）に保

たれることが極めて重要です。1つの可能性は、今回検出された神経興奮が蜂球内の温度モニタリングに関わるというものです。蜂球内の温度が46°Cに近くなるとキノコ体が興奮し、飛翔筋の活動を抑えることで蜂球内の温度を一定に保つ仕組みがあるのかも知れません。

キノコ体が高温情報処理に関わるとの知見はこれが初めてであり、昆虫脳の高次中枢の働きを調べる上で格好の研究対象になると思われます。今後、どの神経回路を介して高温情報がキノコ体に伝達され、そこでどのような「処理」がなされ、どの神経回路を介して飛翔筋の運動制御がされて、「サーモスタット」のような温度調節が実行されるのか、解明される必要があります。

先述のように、熱殺蜂球形成行動はセイヨウミツバチではほとんど見られません。高温条件下での脳の神経活動をセイヨウミツバチと比較することで、進化の過程でニホンミツバチが独自に獲得した、熱殺蜂球形成行動を可能にする脳の仕組みが分かることも期待され、進化生物学的観点からもさらに興味深い課題を提出しています。

今後、動物の脳の高次中枢の働きの理解が深まるなど基礎生物学への貢献や、ニホンミツバチが天敵に対して示す効果的な防衛行動の脳機能を明らかにし、その遺伝資源としての資質を検討することで、養蜂に適した在来種の作出も期待されます。

### この研究成果のもととなった研究経費

本研究は一部、文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究「システム分子行動学（領域代表：本研究科生物化学専攻、飯野雄一教授）」（平成21～22年度）の公募研究課題（研究課題番号21115506、研究課題名「ミツバチの視覚情報処理を支える脳のモジュール構造の分子的構築の解析」）として実施しました。なお、共著者でいらっしやった吉田忠晴教授はかねて病氣療養中のところ、平成24年2月5日に肝臓がんのため逝去されました。謹んでご冥福をお祈り申し上げます。

### 発表雑誌

著者：

Atsushi Ugajin, Taketoshi Kiya, Takekazu Kunieda, Masato Ono, Tadaharu Yoshida, and Takeo Kubo

タイトル：

Detection of Neural Activity in the Brains of Japanese Honeybee Workers during the Formation of a ‘Hot Defensive Bee Ball’

雑誌名：

*PLoS ONE*

オンライン掲載日：

3月15日午前7時（日本時間）

## 問い合わせ先

久保健雄

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

Tel: 03-5841-4446

FAX: 03-5841-4447

email: [stkubo@biol.s.u-tokyo.ac.jp](mailto:stkubo@biol.s.u-tokyo.ac.jp)

小野正人

玉川大学 大学院農学研究科 応用動物昆虫科学研究分野

Tel: 042-739-8838

email: [ono@agr.tamagawa.ac.jp](mailto:ono@agr.tamagawa.ac.jp)

木矢剛智

金沢大学 理工研究域 自然システム学系 生物学コース

Tel: 076-264-6248

FAX: 076-264-6248

email: [kiya@staff.kanazawa-u.ac.jp](mailto:kiya@staff.kanazawa-u.ac.jp)

## 文献

- 1) Ono M, Igarashi T, Ohno E, and Sasaki M (1995) Unusual thermal defence by a honeybee against mass attack by hornets. *Nature* 377: 334-336.
- 2) Kiya T, Kunieda T, and Kubo T (2007) Increased neural activity of a mushroom body neuron subtype in the brains of forager honeybees. *PLoS ONE* 2: e371.

## 用語解説

### 注 1 淘汰圧

生物個体や形質がある環境要因の元で世代を減る毎に、その数や集団内での割合が変化することを淘汰という。淘汰圧はその要因となる環境要因のこと。

### 注 2 *In situ* ハイブリダイゼーション法

組織切片の上で、標識した相補的 RNA とのハイブリダイゼーションを起こさせることで、生体内で発現している RNA の発現領域を同定する方法。

### 注 3 キノコ体

昆虫の高次中枢。ミツバチなど一部の昆虫では特に大きく発達しており、視覚・嗅覚・味覚といった様々な感覚入力を受けると考えられている。

### 注 4 クラス II ケニオン細胞

キノコ体を構成する神経細胞（ニューロン）はケニヨン細胞と呼ばれる。ミツバチではケニヨン細胞は、細胞体が傘部の内側に集合するクラスⅠと、外側表面に集合するクラスⅡに大別される。それぞれの役割には不明な点が多い。

#### **注5 警報フェロモン**

同種の動物間で外分泌されて情報伝達に働く化学物質をフェロモンという。警報フェロモンは外敵の存在を仲間に知らせるフェロモンで、様々な社会性昆虫で知られている。

添付資料

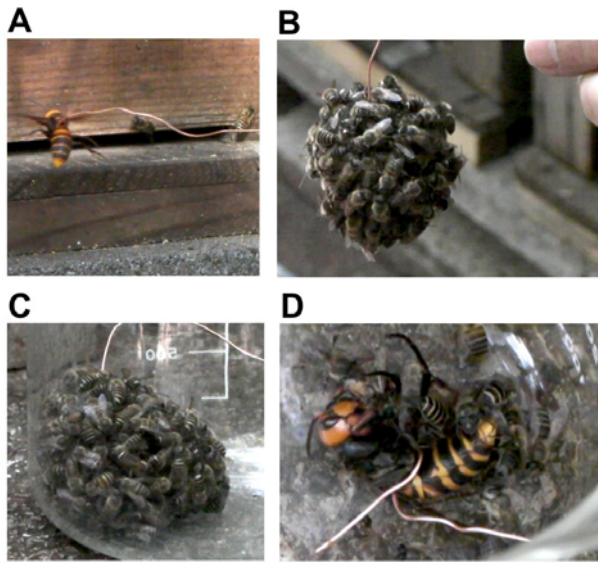


図 1：熱殺蜂球の人為的形成

通常、熱殺蜂球は巣内で形成される。今回私たちは、蜂球を形成している働き蜂を継続的に採集するため、針金の先に罔のオオスズメバチを取り付け、巣内に挿入し (A)，形成された蜂球をビーカーに隔離して (B, C)，働き蜂を採集した。蜂球中のオオスズメバチは 60 分後には死亡していた (D)。本研究の成果に基づく。

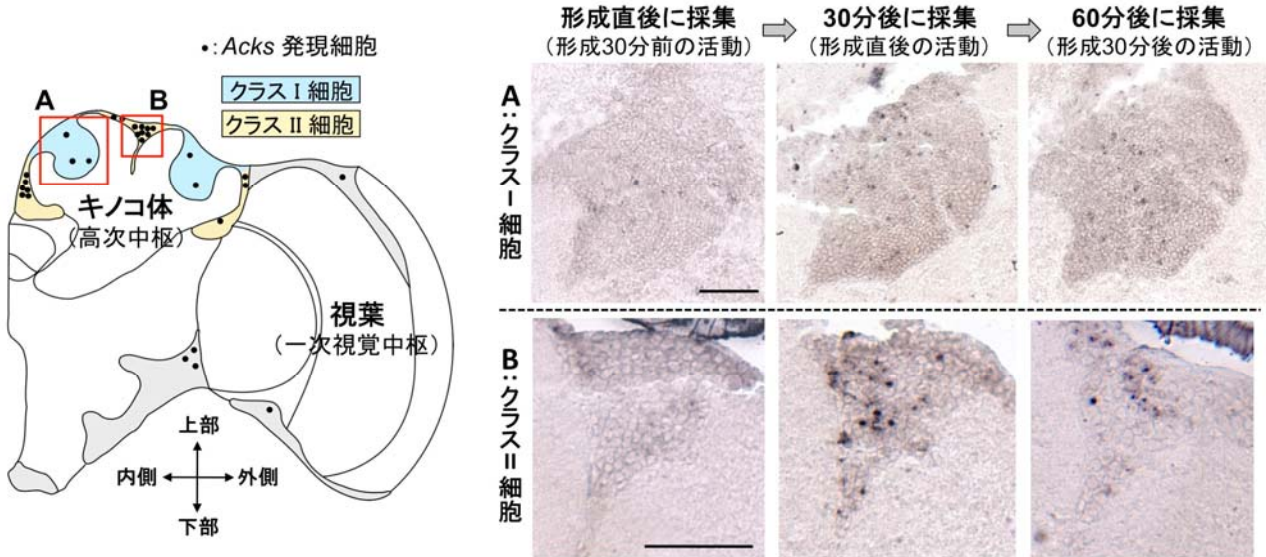


図 2：熱殺蜂球形成行動時に活動する神経細胞

(左) ニホンミツバチ右脳半球の模式図：蜂球形成 30 分後と 60 分後に採集した働き蜂で検出された *Acks* 発現細胞を、黒点で模式的に示す。(右) A と B はそれぞれ左図の赤枠内に対応する部分の *in situ* ハイブリダイゼーション法の結果。蜂球形成直後 (左列) に比べ、30 分後 (中列) と 60 分後 (右列) では *Acks* の発現を示す多数の黒い粒状のシグナルが観察された。特に下段のクラス II ケニヨン細胞でシグナルの密度が高い。バー=100  $\mu\text{m}$ 。本研究の成果に基づく。