

熱殺蜂球でオオスズメバチを封じこめたニホンミツバチの脳内活動を解明

—蜂球を形成した働き蜂の脳の高次中枢(キノコ体)で高温情報が処理される

論文の著者

- 宇賀神 篤(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)

論文の概要

ニホンミツバチの働き蜂は、クマなどの哺乳類の攻撃に対しては、個体レベルでの刺針による防衛行動を引き起こすが、オオスズメバチの侵入に対しては、刺針を使わずに集団で一斉に包みこんで発熱して蒸し殺す(熱殺蜂球)という適応的な行動を示します。今回我々は神経興奮のマーカ―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ました。同様な神経興奮は、働き蜂を単に熱殺蜂球内と同じ高温状態に曝すことでも生じました。実験結果は、熱殺蜂球形成時において、脳の高次中枢で高温情報が処理されることを強く示唆しています。

論文の内容



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。今回我々は、蜂球を形成している働き蜂を継時的に採集するため、針金の先に罌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。ビーカー内は蜂球から発生した水蒸気で曇っている。蜂球中のオオスズメバチは 60 分後には完全に死亡していた(D)。補足写真 a(右): 熱殺蜂球内の温度モニター(47.3°Cに達している)、手のひらに載せても刺針行動は起きない。

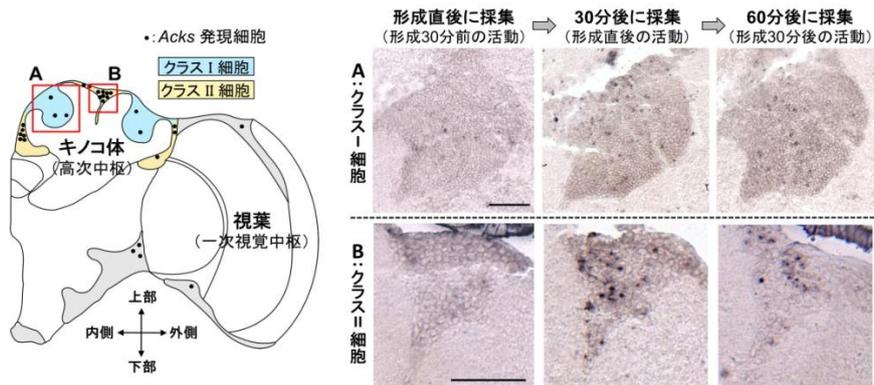


図 2: 熱殺蜂球形成行動時に活動する神経細胞

(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)では多数の Acks の発現を示す黒いシグナルが観察された。特に下段のクラス II ケニオン細胞で密度が高い。スケールバー: 100 μm

1. 研究の背景(既知の知見)

数万匹の血縁集団からなるミツバチのコロニーが、クマなどの外敵からの捕食を受けた際には、通常、働き蜂の刺針による自己犠牲的な攻撃的防衛行動が解発されます。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 (*Vespa mandarinia japonica*) の偵察蜂が集団攻撃に先だって、餌場の周辺に塗布する餌場マークフェロモン^(注1)(補足写真 b)を傍受するとその防衛モードが哺乳類モードから対オオスズメバチ特異的なものに切り替わることを指摘しました。そのオオスズメバチの偵察蜂に対して、個々の働き蜂が単独で刺針を使った排他的攻撃をすることはなく、むしろ敵を巢内に誘い込むように行動し、巢内で待ち構えた数百匹の働き蜂により「蜂球」と呼ばれる集団内に瞬間に封じ込め、刺すのではなく、発熱して「蒸し殺す」ことを発見しました(文献 1)。この飛翔筋を震わせることで発生する熱は、ハチミツ由来と考えられる糖が水と二酸化炭素に分解される際に発するもので、蜂球内の温度は 46~47°C という高温になります。ところが、蜂球内の環境下でオオスズメバチの上限致死温度(約 45°C)がニホンミツバチのそれ(約 49°C)に比べて若干低いため、オオスズメバチの方だけが蒸し殺されるのです(文献 1)。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^(注2)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。その後、この対オオスズメバチ防衛モードへの切り替わりに関係していると思われるオオスズメバチの腹部末端節腹板の van der Vecht 腺から分泌される餌場マークフェロモンの構成成分の 1 つとして、1-Methylbutyl 3-methylbutanoate (イソ吉草酸 2-ペンチル)が同定されました。このことは、捕食者の情報化学物質を被食者が傍受してカイロモン^(注3)として機能させていることを示した興味深い現象であり、行動生理学的な面からの知見は積み上げられてきました(文献 2)。しかしながら、ニホンミツバチの脳内でどのような情報処理がなされているかなど、分子生物学的側面からの詳細は不明のままでした。



補足写真 b: オオスズメバチの偵察蜂の行動 (左)ニホンミツバチの巣に近づく偵察蜂、(中央)餌場マークフェロモンを塗る偵察蜂と(右)腹部末端節腹板の van der Vecht 腺(→で示す)。中央と右の写真は、文献1(Ono *et al.* 1995)より引用

2. この研究で新規に解明しようとした点

ニホンミツバチがオオスズメバチという捕食者と同所的に生息することができた最大の理由である「熱殺蜂球」という行動形質の獲得と発現について、それが具体的に、脳のどのような活動により引き起こされるのか？この疑問の解明こそが、この研究の目的です。その解明のために私たちは、「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一遺伝子として「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)(文献3)。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一遺伝子として利用することで、熱殺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. 論文に記載された結果と新知見

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罌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^(注4)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^(注5)—とりわけクラスIIケニヨン細胞^(注6)—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^(注7)の構成成分の1つである3-Methylbutyl acetate(酢酸イソアミル)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、熱殺蜂球からも発散している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ケニヨ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考えられます。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。

セイヨウミツバチではオオスズメバチの情報化学物質をカイロモンとして機能させることができないため、ニホンミツバチで発現されるような一連の集団行動によって構成される熱殺蜂球は見られず、その捕食者の来襲に対しても、哺乳類への対応と同様に、基本的に刺針を使用した個体レベルでの防衛行動を示します。この現象は、ニホンミツバチがセイヨウミツバチには認められない、オオスズメバチを特異的に認識する嗅覚系を備えていることを強く示唆するものと言えます。一方、熱殺蜂球の成立は、蜂球内の温度がオオスズメバチの上限致死温度を越えても、ニホンミツバチのそれを越えないようにするための制御機構の進化と切り離せない関係にあります。本研究では、まさにニホンミツバチが個体レベルでの温度調節を越えて、数百匹のグループで天敵を封じ込めた蜂球内の温度を合目的に維持する発熱調節系の仕組みを解き明かす手掛かりを与えたという点で極めて重要な意味をもつものと考えています。

哺乳類のような恒温動物が個体レベルで体温の恒常性を維持するのと同じように、ミツバチは昆虫という変温動物でありながら、集団レベルでは巢内温度を幼虫の生育に適する約 34°C に正確に保持することが報告されています。しかしながら、今回の研究で明らかになったように、例えばコロニーから分断された数百匹の働き蜂だけから成る小グループになっても、対応する目的に応じた温度調節能が機能していることが明らかにされたことは極めて興味深く、今後は、今回の熱殺蜂球の枠を越えて、昆虫類の発熱調節系と脳機能との関係の解明へと展開することも期待され、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。

研究成果に関わった主な研究経費と研究環境

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。また、一部の実験は、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「記憶・学習の可塑的発達機構に関する統合的解析—行動解析、生理実験、遺伝子発現、神経回路モデルの融合—(プロジェクト番号 S0901017 研究代表者:佐々木正己)」の事業の中で実施されました。なお、共著者でいらっしやった吉田忠晴教授はかねて病気療養中のところ、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

雑誌名

PLoS ONE

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'

著者

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

オンライン掲載日

3 月 15 日午前 7 時(日本時間)

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. Ono M, Terabe H, Hori H, and Sasaki M (2003) Components of giant hornet alarm pheromone. *Nature* 424:637-638.
3. 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 餌場マークフェロモン

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。餌場マークフェロモンは他の社会性ハチ類の巣に対して集団攻撃をする習性をもつオオスズメバチにおいて、偵察蜂が発見した餌場の周辺に分泌する情報化学物質で、それを感知して集まった巣仲間により集団攻撃が開始される。1995 年小野らによって命名されたフェロモン。[↑](#)

注 2 淘汰圧

生物個体や形質がある環境要因の元で世代を経る毎に、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 3 カイロモン

生物の体内で生産され外分泌されて異種間の情報伝達に働く化学物質のうち、受信者側に有利に作用する物質。↑

注 4 *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 5 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 6 クラス II ケニヨン細胞

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 7 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。↑

研究内容の問い合わせ先：

久保健雄

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

電話： 03-5841-4446

FAX： 03-5841-4447

email： 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

電話： 042-739-8838

FAX： 042-739-8854

email： ono@agr.tamagawa.ac.jp