昆虫のフェロモン受容と匂い識別の分子・神経基盤

櫻井 健志¹, 関 洋一¹, 西岡 孝明², 神崎 亮平¹

要旨

昆虫は自然界に存在する様々な匂いを識別するとともに、種特異的なフェロモンを鋭敏かつ特異的に検出することができる。このような嗅覚情報は触角上の嗅覚受容体にある嗅覚受容細胞上で発現する嗅覚受容体およびフェロモン受容体により受容される。触角で受容された情報は、嗅覚系一次中枢である触角葉で処理され、上位中枢である前大脳(キノコ体, 前大脳側部)に伝達され、さらなる処理をうけ最終的に特定の行動を引き起こす。近年、昆虫の嗅覚受容体および性フェロモン受容体の単離と解析から、一般臭の受容、識別機構やフェロモンの特異的かつ高感度な受容機構が受容体レベルでわかってきた。さらに、嗅覚受容細胞からの情報が触角葉でコード化され、前大脳でデコードされる機構も明らかになりつつある。昆虫の嗅覚情報の受容・識別機構を理解することは、動物の神経系が複雑な外界の情報を処理し、環境に適応した行動を起こす仕組みの理解につながるだろう。

1. はじめに

生物は外界からの様々な刺激を適切に認識し、それらの情報に対し適切な行動や生理的な変化を起こすことにより個体の生存および種の維持を果たしている。これらの情報は視覚、聴覚、触覚、味覚そして嗅覚のいわゆる五感に大別される。最近、アロマテラピーなど生活の質のための重要性が再認識されているものの、これらのなかで嗅覚は人間においては軽視されがちな感覚である。しかし、多くの動物において嗅覚は餌や天敵または配偶相手を見つけだすために必要とされる主要な感覚である。

昆虫の嗅覚は多くの動物の中でも特によく発達しており、配偶行動の際の異性間、集団ないし社会生活における個体間の交信、さらには産卵、摂食の際の寄主選択行動など、昆虫の生命活動に重要な役割を果たしている。

匂いは餌や植物などから発する一般的な匂い(一般臭)と種特異的なフェロモンに大別される。フェロモンとは動物の体内で生産され、体外へ分泌され同種の他個体に特有の行動や生理的な変化を引き起こす物質である¹⁾。これらの匂いは主に頭部に付属する一対の触角により受容される。触角上には感覚子と呼ばれる多数の突起状の感覚器が存在しており、匂いは嗅覚感覚子と呼ばれるクチクラ上に多数の微小な穴(嗅孔)をもつ多孔性感覚子により受容される²⁾。嗅覚感覚子の基部には複数の嗅覚受容細胞があり、匂い受容部位である樹状突起を感覚子内腔へ、軸索を触角葉とよば

れる嗅覚情報処理の一次中枢へ伸ばしている。感覚子内腔はリンパ液(感覚子リンパ)で満たされているため、揮発性で水に溶けにくいフェロモンや匂い分子は、感覚子リンパ中に高濃度で存在するフェロモン結合タンパク質(PBP)または匂い結合タンパク質と結合することで可溶化され、樹状突起膜上に発現する嗅覚受容体へと移行すると考えられている^{3, 4)}。匂い分子が嗅覚受容体に結合すると、Gタンパク質を介した二次伝達物質レベルの上昇が起こり⁵⁾、それにより脱分極が引き起こされる。一方、感覚子リンパには、感覚子エステラーゼなどの匂い分解酵素も含まれ、匂い分子が長くとどまって何度も受容体と反応することのないよう、匂い分子を分解する働きを持つ⁶⁾。以上の過程から、嗅覚受容細胞の脱分極によって発生した活動電位は、嗅覚系一次中枢である触角葉へ伝達される。

このような経路で匂いは受容され、最終的に匂いに特定の行動を引き起こす。しかし、匂いの受容特性を決定する受容体タンパク質の実体が明らかにされず、最近まで、嗅覚受容器での受容機構や識別機構はよくわかっていなかった。また二次中枢である前大脳側部には、明確なニューロパイル構造がみられないことから触角葉からの投射領域を同定することは困難で、触角葉で処理された情報がどのように高次中枢で表現されるかわかっていなかった。本稿では、まず嗅覚受容体、性フェロモン受容体の同定から明らかにされてきた、触角から触角葉にかけての匂いの受容および識別機構を受容体の解析を中心に解説する。さらに、嗅覚情報の脳内処理機構の最近の知見をカイコガ性フェロモン脳内処理経路に関する筆者らの研究と触角葉での処理機構を中心に紹介する。なお本稿では、成虫の嗅覚系に焦点を絞って解説する。

2. 昆虫の嗅覚受容器

昆虫は一般臭とフェロモンを受容する2種類の嗅覚受容器を備えている。一般臭の受容器は特異性が低く、さまざまな匂い物質に応答を示す。また、匂い応答スペクトルは受容器同士で一部重複するのが普通である。それに対して、フェロモン受容器は特異性が高く、リガンドと受容細胞は1対1で対応している。一般臭の受容器はゴキブリやミツバチでよく調べられており、応答スペクトルによりいくつかのタイプに分類される⁷⁾。キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*: 以下ショウジョウバエと略)の嗅覚器は触角第3節と小腮髭であり、それぞれ1,200個と120個の嗅覚受容細胞が存在している。小腮髭の嗅受容

¹Takeshi Sakurai, Yoichi Seki, Ryohei Kanzaki, 東京大学大学院情報理工学系研究科知能機械情報学専攻(〒153-8904 東京都目黒区駒場4-6-1 東京大学先端科学技術研究センター)

²Takaaki Nishioka, 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻(〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町) 連絡先, 神崎亮平 Tel 03-5452-5195 ; e-mail kanzaki@i.u-tokyo.ac.jp

細胞は匂い応答スペクトルの違いから6タイプに分類される。これらの受容細胞は、2つの異なるタイプの受容細胞同士でステレオタイプ化されたペアを作り1本の感覚子に入っており、3つの機能的タイプの感覚子を構成している⁸⁾。また、触角の錘状感覚子では18タイプの嗅受容細胞が、同様にステレオタイプ化された組み合わせで感覚子に配置されているが、4つのタイプの受容細胞を含む感覚子が1種類あるため、全部で8つの機能的タイプの感覚子を構成する^{9, 10)}。受容細胞は応答スペクトルだけでなく、同じ匂いに対する興奮性、抑制性の反応モードや、反応のキネティクスもタイプにより異なり、多様な匂い応答特性を示す。

一般臭に対し、フェロモン受容器の特徴は高感度と特異性にある。カイコガ(*Bombyx mori*)は1959年に初めて性フェロモンの化学構造が同定された種であり¹¹⁾、フェロモン受容系のモデルとして多くの知見が蓄積されている。カイコガでは、オスの毛状感覚子が性フェロモンの特異的な受容器である。カイコガの性フェロモンは主成分であるボンピコール(bombykol) [(*E,Z*)-10,12-hexadecadien-1-ol]と副成分であるボンピカル(bombykal) [(*E,Z*)-10,12-hexadecadien-1-al]から構成されている^{11, 12)}。オスカイコガはボンピコールのみで完全な配偶行動が解発される。一方、ボンピカルはボンピコールによるオスの羽ばたき行動を抑制する。オスカイコガの毛状感覚子には、ボンピコールとボンピカルに高感度かつ特異的に電気的応答を示すフェロモン受容細胞が対になって入っており¹²⁾、これらの細胞はわずか1分子のフェロモンに対し興奮するといわれるが、他の化合物へはほとんど応答を示さない¹³⁾。

このような嗅覚受容細胞の異なる匂い応答特性が匂い識別の細胞レベルの基盤を形成している。では、嗅覚受容細胞の匂い応答特性を生む分子基盤はどのようなものであろうか? 次項では、ここ数年の嗅覚受容体遺伝子の単離と解析から明らかになりつつある匂い識別の分子基盤について紹介する。

3. 昆虫嗅覚受容体遺伝子の発見

1991年、BuckとAxelにより嗅覚受容体遺伝子がラットで始めて単離され、これがGタンパク質共役型受容体(GPCR)ファミリーに属することが示された¹⁴⁾。その後、魚類やセンチュウの嗅覚受容体遺伝子が単離されたが、いずれもGPCRファミリーに属していた^{15, 16)}。昆虫においても、匂いや性フェロモン受容後にGタンパク質を介した二次伝達物質であるイノシトールトリリン酸(IP₃)が急速かつ一過性の上昇を示すこと^{17, 18)}、嗅覚受容細胞の樹状突起膜上にIP₃により開くイオンチャネルが存在すること^{19, 20)}、ショウジョウバエのホスホリパーゼC欠損変異体の匂い応答が減少することなどから²¹⁾、嗅覚受容体はGPCRであると推測されていた。1999年、ショウジョウバエのゲノム解析から新規GPCRをコードする遺伝子を探査することで初めて昆虫の嗅覚受容体候補遺伝子ファミリーDOr(*Drosophila odorant receptor*)が同定された²²⁻²⁴⁾。2000年にショウジョウバエの全ゲノム配列が解読され、DOrファミリーは、60遺伝子から構成されており、2遺伝子が選択的スプライシングを受け、62の受容体タンパク質をコードすることが示された^{25, 26)}。そのうち42が成虫の嗅覚受容器官で発現していることが確認されており、個々の遺伝子は一部の嗅覚受容細胞で特異的に発現してい

る^{25, 26)}。DOrの推定アミノ酸配列には膜貫通領域と推定される7つの疎水性領域があり、脊椎動物やセンチュウの嗅覚受容体と同様にGPCRファミリーに属すると考えられる。しかし、既知のGPCRのアミノ酸配列との間に保存性はなく、昆虫独自の嗅覚受容体ファミリーを形成している。現在までに、ハマダラカ²⁷⁻²⁹⁾、オオタバコガ^{30, 31)}、カイコガ^{32, 33)}で嗅覚受容体遺伝子が報告されているが、種間の多様性は非常に高く相同遺伝子がほとんどみられない。このことは、昆虫が種ごとに大きく異なる環境での生活に特化していることを反映しているかもしれない。

4. 嗅覚受容体の匂い応答特性

DOrの匂い受容能はOr43aの解析により最初に示された。遺伝子操作により、Or43aを過剰発現したショウジョウバエ触角では、野生型の触角と比較し、ベンズアルデヒドと構造の類似した芳香族化合物に対する電気的応答が増大する³⁴⁾。同時に、Or43aを発現させたアフリカメツガエル卵母細胞においても同様の匂い選択性が確認され³⁵⁾、嗅覚受容体として機能することが実証された。その後、Carlsonのグループの一連の研究により、触角における嗅覚受容体の匂い応答特性が網羅的に解析されている。まず彼らは、Or22a/bの欠損変異体では、本来Or22a/bを発現する受容細胞が匂いへ応答しなくなることを示した³⁶⁾。つづいて、それらの受容細胞に様々な嗅覚受容体を発現させ匂いに対する電気的応答を測定することで、触角で発現する32のうち24の嗅覚受容体のリガンド特異性を決定した^{36, 37)}。その結果、1つの嗅覚受容体は複数の匂い物質を受容し、1つの匂い物質は複数の受容体を活性化することが明らかになった³⁷⁾。また、個々の受容体を強制発現した受容細胞の匂い応答特性と24タイプに分類された野生型の受容細胞の匂い応答特性の比較から、多くの受容体について受容細胞のタイプとの対応付けがなされている。ショウジョウバエでは、原則として、個々の嗅覚受容細胞は1種類の嗅覚受容体と、例外的にほとんど全ての嗅覚受容細胞で発現するOr83bの2種類の受容体を発現している²⁵⁾。後で詳しく述べるが、Or83bは直接に匂いを受容する機能を持たないことが示唆されており、個々の受容細胞の匂い応答特性は細胞特異的な受容体に依存している。これらの受容体遺伝子の上流配列をプロモーターに利用した遺伝子組換えハエの解析により、同じ受容体を発現している受容細胞は、触角葉を構成する43個の糸球体の1つへ収束して投射していることが示された^{25, 38)}。これらの結果から、昆虫の一般臭の受容情報は、脊椎動物と同様に³⁹⁾触角葉の糸球体活性化パターンとの組み合わせで表現されると考えられる。これまでに各嗅覚受容体を発現する受容細胞の糸球体投射パターンの網羅的同定が行なわれ、嗅覚受容体・嗅覚受容細胞・糸球体の対応付けはほぼ完了しており^{40, 41)}、触角から触角葉にかけての匂い識別機構の全貌が明らかにされつつある。

5. 性フェロモン受容体遺伝子の単離

このように嗅覚受容体遺伝子の単離、遺伝子操作を利用した解析によりショウジョウバエでは一般臭の匂い情報が活性化する嗅覚受容体、そして糸球体の組み合わせで表現されていることがわかってきた。一方で、フェロモン受容・識別の分子機構は、その後も特異的な受容体の単離・同定が

なされず不明であった。性フェロモンは野外において低密度で生息している同種の異性を誘引するために利用されており、その受容体は同種の性フェロモンを高感度かつ高選択的に認識する必要がある。そのため、性フェロモンとその受容体は1対1に対応づけられていると推測される。ショウジョウバエでは味覚受容体 Gr68a が配偶行動に関与するとの報告がある⁴²⁾。しかし、ショウジョウバエの配偶行動は嗅覚、味覚、聴覚、視覚といった様々な感覚により制御されていると考えられ、Gr68a 発現細胞を遺伝的に除去したショウジョウバエも成功率は下がるものの交尾にいたる。また、ショウジョウバエには高感度で作用する揮発性の性フェロモンの知見はなく、高感度なフェロモン受容に関する研究はほとんどなされていない。一方で、カイコガの配偶行動の成否はオスによるボンピコールの高感度かつ特異的な受容に完全に依存しており、このような単純な性フェロモン系を持つカイコガは、フェロモン受容機構を明らかにするため最適であると考えた。

カイコガの性フェロモン受容器はオスの触角にあり、メスは自らの放出する性フェロモンに反応しない。そこで筆者らは、オス触角 cDNA ライブラリーについて differential screening を行い、オス触角で特異的もしくは多量に発現する遺伝子を単離することで性フェロモン受容体遺伝子を得ることができると考えた。この方法で得られた cDNA クローンの1つは、GPCR をコードすると予測され、既知の昆虫嗅覚受容体遺伝子とアミノ酸配列に類似性を示した。このクローンをカイコガ学名にちなんで BmOR1 (*Bombyx mori* olfactory receptor 1) と名づけた。BmOR1 は8つのエキソンと7つのイントロンからなる構造をしており、9870bp のゲノム DNA にコードされていた。ゲノム配列の解析から、BmOR1 は性染色体である Z 染色体に座するシングルコピー遺伝子であることが明らかになった。カイコガの性染色体はオスが ZZ ホモ接合、メスが ZW ヘテロ接合である⁴³⁾。カイコガでは Z 染色体上の遺伝子発現に遺伝子量補正が起こらないことから、Z 染色体上にはオスで特に重要な機能を持つ遺伝子が座することが提唱されている^{44, 45)}。

BmOR1 が性フェロモン受容体遺伝子であれば、オス成虫の触角で特異的に発現するはずである。BmOR1 は卵や幼虫での発現はみられず、羽化4日前の蛹から成虫期をつうじてオス触角で特異的に発現していた(図1A)。さらに、フェロモン受容細胞を囲む支持細胞で発現する PBP^{46, 47)} との2重標識 *in situ* hybridization から、BmOR1 は PBP 発現細胞に囲まれたフェロモン受容細胞で特異的に発現していることが明らかになった(図1B)。これらの結果は BmOR1 がカイコガにおける性フェロモン受容体であることを強く示唆するものであった。後は BmOR1 が実際に性フェロモンを受容することを実証する必要があった。

6. 性フェロモン受容体の機能解析

BmOR1 がボンピコールの受容体であることを証明するためにアフリカツメガエル卵母細胞において発現させ、ボンピコールへの電氣的応答を測定した。BmOR1 とカイコガ触角からクローニングした G_q サブユニット (BmG_q) を共発現した卵母細胞はボンピコールに対して、Ca²⁺ 依存性 Cl⁻ チャネル電流による濃度依存的な電氣的応答を示したが(図3A)、ボンピコールやカイコガ触角が電氣的応

答を示すことが知られている41種の一般的な匂い物質⁴⁸⁾ に対して応答せず、BmOR1 の高いリガンド特異性が示された。また BmOR1 のボンピコールの応答には BmG_q の共発現が必要だった。すなわち BmOR1 はボンピコールを特異的に受容し BmG_q を介したシグナル伝達系を活性化することが示された。

BmOR1 は唯一のボンピコール受容体なのだろうか？この疑問に答えるべく、カイコゲノムプロジェクトの成果を利用して、BmOR1 と既知の昆虫嗅覚受容体配列をもとにカイコゲノム中に29個の嗅覚受容体様配列を見出した。それらのうち4遺伝子はオス特異的もしくは優位に発現していたが、BmOR1 以外に卵母細胞発現系でボンピコールへ応答する受容体は無かった。

BmOR1 が性フェロモン受容体であると結論づけるにはカイコガ触角においてもボンピコールの特異的な受容体として機能することを検証する必要がある。そこで、BmOR1 を発現せず、他の匂い受容要素を持っていると考えられるカイコガメスの触角を発現系に用いた。組換えバキュロウイルス感染により BmOR1 を発現したメス触角は、ボンピ

図1

図1 BmOR1の遺伝子発現パターン A. RT-PCR による BmOR1 の遺伝子発現パターンの解析。(上) BmOR1 はオス触角のみで発現している。BmOR2 は雌雄の触角で同程度に発現している。(下) BmOR1 は羽化4日前から成虫期を通じて発現しており、PBP と類似したパターンを示す。actin はポジティブコントロールとして使用した。

B. オス触角パラフィン切片に対する、BmOR1 と PBP の2重標識 *in situ* hybridization。BmOR1 陽性細胞(赤)は PBP 陽性細胞(緑)に囲まれている。スケールバー：50 μ m。(文献32より引用)

コールに対し電氣的応答を示した一方で、ボンピコールに対しては全く応答を示さなかった(図2)。この結果は本来決してボンピコールに反応しないメス触角に BmOR1を導入することで、オス触角におけるボンピコールへの特異的な応答を再現できたことを示している。

以上の実験結果から、BmOR1がカイコガ触角におけるボンピコールの特異的受容体、すなわち性フェロモン受容体であると結論した³²⁾。フェロモンの化学構造が決定されてから半世紀後に、初めてその受容体が同定されたことになる。

7. 高感度フェロモン受容機構

前述の研究から性フェロモン受容の「特異性」については再現することができた。しかし、性フェロモン受容のもう一方の特徴である「高感度」という点に関して説明するには十分ではなかった。すなわちアフリカツメガエル卵母細胞で発現させた BmOR1のボンピコールに対する閾値は 10 μ M であり、ショウジョウバエ嗅覚受容体の匂いに対する閾値とあまりかわらなかった。その後の研究から、高感度な受容の鍵となるのは Or83b ファミリーにあることが Nakagawa らにより示された³³⁾。Or83b ファミリーの遺伝子は、1)ほとんど全ての嗅覚受容細胞で発現している、2)昆虫種間を通して高度に保存されている、という2つの特徴を持っている^{25, 49)}。Or83b をノックアウトしたショウジョウバエでは、共発現している通常の嗅覚受容体の、匂い受容部位である樹状突起への局在がみられなくなり、ほとんど全ての匂いに対する生理応答と行動がみられなくなる⁵⁰⁾。このことから、Or83b は特定の匂いを受容するのではなく、昆虫の嗅覚受容全般に必須な特別な役割を果たす受容体であると推測されている。

カイコガの Or83b 相同遺伝子である BmOR2は、BmOR1発現細胞を含む多くの嗅覚受容細胞で発現している。さらに、BmOR1と BmOR2を共発現させたアフリカツメガエル卵母細胞は、BmOR1の膜画分における発現量が増大し、単独で発現させた場合と比較し、ボンピコールへの応答の閾値が30 nM と感度が数百倍になることが示された(図3B)。この応答閾値はショウジョウバエの一般臭の嗅覚受容体 Or47a を Or83b と共発現させたときのリガンド応答閾値の数倍低く、オスカイコガ触角によるボンピコールの「高感度」な受容が BmOR1によることを示している³³⁾。

興味深いことに、BmOR2を共発現した卵母細胞の応答は、BmG_q を介したときの Ca²⁺ 依存性 Cl⁻ 電流ではなく、非選択性陽イオンチャネル電流に由来することが示されている(図3A)。卵母細胞では、GPCR の活性化による非選択性陽イオンチャネル電流は、これまで報告がない。この現象は性フェロモン受容体のみならず、Or47a を Or83b と共発現させた卵母細胞の一般臭に対する応答でも発生するため、昆虫の嗅覚受容体一般に共通する機構であると考えられる。HEK293細胞による研究から Or83b は嗅覚受容体とヘテロ 2 量体を形成することが報告されている⁵¹⁾。また、Benton らは、ショウジョウバエ嗅覚受容細胞で、Or83b は通常の嗅覚受容体を小胞体から匂い受容部位である樹状突起膜に局在させるとともに、Or83b 自体も嗅覚受容体と複合体を形成して樹状突起膜に存在することを示した⁵²⁾。さらに同論文で、既知の GPCR はい

図2

図2 BmOR1組換えウイルス感染メス触角のボンピコール応答 A. BmOR1組換えバキュロウイルス(HyBmOR1)のボンピコール、ボンピカルに対するEAG(electro-antennogram)応答。HyBmOR1感染メス触角はボンピコールに特異的に電氣的応答を示すが、野生型ウイルス感染メス触角(HyNPV)はボンピコールに全く電氣的応答を示さない。B. HyBmOR1感染メス触角のボンピコールへの応答の定量的解析。HyBmOR1感染メス触角のボンピコール(1)、ボンピカル(2)、1% DMSO(3)、HyNPV感染メス触角のボンピコール(4)へのEAG応答。HyBmOR1のボンピコールへの応答は残りの3つに対して有意に異なる。(文献32より引用)

ずれも N 末端が細胞外にあるのに対し、Or83b や Or43a の N 末端が細胞内に存在することが示唆された。in vivo での検証が待たれるが、これらのことから、昆虫の嗅覚受容体は既知の GPCR の枠にあてはまらない機構でシグナルを伝達するのかもしれない。すなわち、Or83b ファミリー受容体は通常の嗅覚受容体とヘテロ 2 量体を形成し、複合体が受容体として機能することによって G タンパク質を介さない経路で嗅覚受容細胞を興奮させている可能性がある(図3C)。他種昆虫の Or83b ファミリー受容体の発現により、Or83b ノックアウトハエの匂い応答が回復す

図 3

図3 アフリカツメガエル卵母細胞発現系での BmOR1のボンピコールへの電氣的応答 A. ボンピコール(bombykol)刺激によるアフリカツメガエル卵母細胞の電流波形。BmOR1と BmG α q を共発現した細胞(左)と BmOR1と BmOR2を共発現した細胞(右)では異なる電流に由来する波形がみられる。LPA: リソホスファチジン酸。B. BmOR1と BmOR2を共発現した卵母細胞のボンピコールに対する濃度依存的応答と濃度依存曲線。C. 昆虫のフェロモン, 嗅覚受容機構のモデル。フェロモンや匂いの受容体と BmOR2を含む Or83b ファミリー受容体がヘテロ 2量体を形成することで, 刺激を受容すると非選択的陽イオン電流が発生し, シグナルが伝達される。(文献33より許可を得て転載)

ることから, Or83b の嗅覚受容における機能は昆虫全般で保存されていると考えられる³³⁾。

8. ボンピコール受容体の同定

ところで, 前述したように, カイコゲノム中には BmOR1以外に 4 つのオス特異的もしくは優位に発現する嗅覚受容体遺伝子が存在する(BmOR3-6)。これらのうち, オスカイコガ触角で BmOR3は BmOR1と隣接した細胞で発現しており, BmOR3と BmOR2を共発現したアフリカツメガエル卵母細胞はボンピコールに高感度かつ特異的に応答する(図 4)。すなわち, BmOR1と BmOR3はフェロモン受容感覚子に含まれる一対の受容細胞で相互排他的に発現しており, それぞれボンピコールとボンピコールの特異的な受容体として機能する。このことは, フェロモン受容感覚子内の一対の受容細胞の一方がボンピコールに, 他

方がボンピコールに特異的に応答するという電気生理学的知見を分子レベルで明らかにしたもので, 高選択的なフェロモンの識別が受容体タンパク質レベルでなされることを示している。BmOR1と BmOR3は約40%のアミノ酸が一致し, 昆虫嗅覚受容体の中では比較的保存性が高い。しかしながら, 両者のアミノ酸配列間に保存されている明確なモチーフはなく, 性フェロモン認識の特異性がどのように受容体タンパク質にコードされているかは, 今後に残された興味深い課題である。

昆虫嗅覚受容体の分子系統樹において, BmOR1と BmOR3は他のオスカイコガ特異的な受容体とクラスターを形成する。このクラスターには, オオタバコガのオス特異的に発現する性フェロモン受容体候補遺伝子も含まれるが³¹⁾, ショウジョウバエやハマダラカ嗅覚受容体は 1 つも含まれない(図 5)。すなわち, BmOR1を含むクラスター

図 4

図 4 BmOR1,3のリガンド特異性と発現パターン

A. カイコガ性フェロモン受容体のリガンド特異性。BmOR2と共発現した BmOR1, 3はそれぞれボンピコール(bombykol)とボンピカル(bombykal)に特異的に応答を示す。C₁₆-OH: hexadecanol

B. 2重標識 *in situ* hybridization による BmOR1, 3のカイコガオス触角での発現パターンの解析。BmOR1と BmOR3は性フェロモン受容感覚子内の一対の受容細胞で相互排他的に発現する。スケールバー: 20 μ m

C. オス毛状感覚子における BmOR1, BmOR3, PBP遺伝子発現パターンの模式図。BmOR1はボンピコール受容細胞で BmOR3はボンピカル受容細胞で特異的に発現していると考えられる。(文献33より許可を得て転載)

はガ類の昆虫が性フェロモンを利用した配偶行動を進化させる過程で特殊化した嗅覚受容体ファミリーであると推測される。性フェロモンは種を維持する機構の1つであり、性フェロモンと受容体の進化は性的隔離を引き起こし新たな

図5

図5 昆虫嗅覚受容体の分子系統樹 キイロショウジョウバエ, ハマダラカ, オオタバコガ, カイコガの嗅覚・性フェロモン受容体を含む。

な種への分化の原動力の要因になったと考えられる。様々な種の性フェロモン受容体を同定し、性フェロモンの化学構造とそれに対する受容体のアミノ酸配列の類似性を種の類縁関係と比較することで、地球上の動物種の7割を占めるまで発展してきた昆虫の種分化に関する手掛かりが得られると期待される。

ここまで述べてきたように、触角から触角葉にかけての性フェロモンや匂い受容機構が明らかになってきた。では、触角葉に入力された匂い情報はどのような処理を経て、高次中枢へ出力されるのだろうか? 次項以下では、一般臭とフェロモン情報の脳内処理機構の知見を紹介する。

9. 嗅覚系一次・二次中枢における匂い表現

嗅覚受容細胞の軸索末端は嗅覚系一次中枢である触角葉へと投射し、局所神経、投射神経から複雑な相互シナプスを形成する⁵⁴⁾。各神経の数は、嗅覚受容細胞が1万から10万個、局所神経は300から750個、投射神経は200から1,000個である。各神経の数から考えると、触角神経の情報は、触角葉を通して約1/100に収斂している⁵⁴⁾。昆虫の糸球体構造はラット(〜3,000)などと比較したときに数が少なく(ショウジョウバエ, 43; ミツバチ, 166; カイコガ, 60)、個体間で同定可能であり、嗅覚情報処理システムを研究するうえでのよいモデルである(図6)⁵⁴⁾。また、ガ類やゴキブリ類などは顕著な性的二形を示し、オスの触角葉にはフェロモン情報処理に特化した大糸球体または大糸球体複合体とよばれる糸球体がある。一般臭の情報を処理する糸球体は常糸球体と呼ばれる(図6)。

触角葉で処理された情報は投射神経により二次中枢であるキノコ体と前大脳側部へと運ばれる。キノコ体は多数のケニオン細胞という内在性の細胞により構成され、傘部で触角葉投射神経からの入力を受ける。記憶学習に重要な領域であり、嗅覚情報をはじめ、視覚情報や触覚情報などの異種感覚情報が収斂する領域である。一方、前大脳側部は明瞭なニューロパイル構造を持たず、記憶を伴わない匂いの認識や行動の発現などに関するとされるが、詳細は明らかでない。以下の項では、最初に触角葉から前大脳に

たるフェロモン情報処理機構について、次に一般臭情報処理機構について概説する。

10. 触角葉におけるフェロモン情報処理

大系球体は大きさや位置などから容易に同定可能な特徴的な系球体であること、フェロモンの化学構造が解明され刺激物質として利用できることなどから、触角葉における性フェロモンの情報処理についてガ類でよく研究されてきた⁵⁵⁾。大系球体はフェロモン受容細胞からの投射を受け、複数のサブコンパートメント構造から構成されることが多くのガ類で組織学的に確かめられている⁵⁴⁾。カイコガでは、大系球体はキュムラス、トロイド、ホースシューという3つのサブコンパートメントから構成される(図6)。筆者らは、オスカイコガで大系球体から高次中枢へと情報を伝達する投射神経に対し、細胞内記録および染色法を用いて、形態的な同定とフェロモン主成分(bombykol)、フェロモン副成分(bombykal)および両成分の混合(blend)に対する生理応答の計測を行なった⁵⁶⁾。その結果では、大系球体投射神経は形態的に4つのタイプに分類される。キュムラス、トロイド、ホースシューの各サブコンパートメントに限定して樹状突起を伸ばすものと、キュムラス、トロイド両コンパートメントに分枝を持つものである。それぞれのタイプの投射神経の応答特性は、トロイド投射神経はボンピコールおよび両成分の混合に、キュムラス投射神経、ホースシュー投射神経はボンピカルおよび両成分の混合に、そしてキュムラス&トロイド投射神経はボンピコール、ボンピカルおよび両成分の混合に興奮応答を示した(図7)。これらの結果から、各サブコンパートメントがフェロモン構成成分の情報処理と対応していることがわかった(図7)。

図6

図6 触角葉系球体構造 オスカイコガの触角葉は、大系球体(MGC)と常系球体(G)から構成される。大系球体はさらに3つのサブコンパートメント；キュムラス(C)、トロイド(T)、ホースシュー(H)に分かれる。

A. 触角葉コンフォーカルスライス画像。

B. 触角葉系球体構造の3次元再構成像。正面像。

C-E. 大系球体サブコンパートメント3次元再構成像。

裏面像(C)。側面像(D)。背面像(E)。

スケールバー：100 μ m。

すなわち、主成分のボンピコールはトロイド、副成分のボンピカルはキュムラスとホースシューで処理される(図7)。なお、筆者らは最近、遺伝子組換えカイコガの解析から、BmOR1発現細胞とBmOR3発現細胞がそれぞれ、トロイドとキュムラスに選択的に投射することを見出している(櫻井,神崎ら,未発表)。ガ類の多くでフェロモンの構成成分の数と同じかまたは少ない数の複数のサブコンパートメント構造が見つかった。カイコガでみられたようなフェロモン構成成分と大系球体のサブコンパートメントとの対応関係は、タバコスズメガをはじめとする他種のガ類でもみられる⁵⁵⁾。これは複数成分より構成されるフェロモン情報が、サブコンパートメントの組み合わせによって正確に識別される機構が大系球体内にあることを示している。

カイコガでは、触角葉と上位中枢は主に3つの経路(IACT(内側触角脳経路)、MACT(中側触角脳経路)、OACT(外側触角脳経路))で連絡される(図7)。大系球体サブコンパートメントにおいて、空間的に分離したフェロモン構成成分の情報は、これらの経路を介して上位中枢に伝達される。キュムラス、トロイド、ホースシューの各サブコンパートメントに入力を持つそれぞれの投射神経(キュムラス、トロイド、ホースシュー投射神経)は触角葉から前大脳への主要な経路であるIACTを通り、前大脳のキノコ体傘部と前大脳側部へ投射している(図7)。一方、複数のサブコンパートメントに入力を持つ投射神経(キュムラス&トロイド投射神経)は、キノコ体を介さないMACTまたはOACTという別経路を通り前大脳側部のみへ投射していた(図7)。では上位中枢である前大脳でこれらの情報はいかに表現されているのであろうか？次項では、前大脳での投射マップについて解説する。

11. 前大脳におけるフェロモン情報の投射マップ

フェロモン情報の前大脳における情報経路については、筆者らがその詳細を明らかにした⁵⁷⁾。細胞内染色による単一神経の染色結果から、大系球体投射神経がキノコ体傘部と前大脳側部に投射部位を持つことは明らかである。しかし、特徴的なニューロパイル構造を示さない前大脳側部において、各投射神経の投射領域を詳細に解析することは困難な作業であった。

筆者らは、神経間の情報伝達因子として機能することが昆虫の脳内でも報告されている一酸化窒素(NO)の標的細胞をcGMP抗体染色により特定する研究から、驚くべきことに、フェロモン主成分の処理領域であるトロイドに入力を持つ投射神経が選択的にマーキングされることを見出した(図8)。これにより、前大脳側部におけるトロイド投射神経の投射領域(Δ ILPC (前方前大脳側部デルタ領域); 以後略してデルタ領域)を同定した(図8)。さらに筆者らは、cGMP抗体染色と、大系球体サブコンパートメントからの投射神経または常系球体からの投射神経を同一標本において2重染色し、デルタ領域と単一投射神経の投射領域の比較を行なった。この結果、大系球体投射神経および常系球体投射神経の前大脳における投射領域を明確に同定した(図9,10)。すなわち、他の大系球体投射神経の投射もデルタ領域にみられること、デルタ領域においてフェロモンの主成分と副成分の情報を伝達する投射神経の投射領域が側方領域で重複し、内側領域は主成分の情報の独立が

図7

図7 大系球体投射神経の形態および匂い応答特性 大系球体のサブコンポーネント構造はフェロモン構成成分と対応関係がある。大系球体投射神経のうちホースシュー投射神経を除く、3つのタイプの投射神経の形態と匂い応答特性。(ホースシュー投射神経の匂い応答特性はキュムラス投射神経と同様の特性を示した。)

上段：各投射神経の全体像。コンフォーカル像。中段：各投射神経の投射経路。下段：各投射神経の control(無臭空気), bombykol, bombykal, blend(bombykol:bombykal=9:1), hexanol(植物臭)に対する匂い応答。

A. キュムラス投射神経。ボンピカルと blend に興奮性応答を示す。

B. トロイド投射神経。ボンピコールと blend に興奮性応答を示す。

C. キュムラス & トロイド投射神経。ボンピコール、ボンピカルおよび blend に興奮性応答を示す。

C: キュムラス, H: ホースシュー, IACT: 内側触角脳経路, MACT: 中側触角脳経路, OACT: 外側触角脳経路, T: トロイド

スケールバー：100 μm。

図8

図8 cGMP免疫染色像 NO誘導cGMP免疫染色により、トロイドに入力をもつ投射神経群が特異的に染色されることがわかり、前大脳においてΔILPCという領域を形成する。IACT(内側触角脳経路)を通る神経群はトロイド投射神経によるものである。MACT(中側触角脳経路)、OACT(外側触角脳経路)を通る神経群はキヌラス&トロイド投射神経によるものである可能性が強く示唆される。

A. 前大脳におけるcGMP免疫染色像。
B. 触角葉におけるcGMP免疫染色像。
C. 前大脳における投射領域を示す3次元再構成像。
D. 模式図。IACT: 内側触角脳経路, MACT: 中側触角脳経路, OACT: 外側触角脳経路
スケールバー: 100 μm。

保持されていること、かつデルタ領域は一般臭の情報の投射領域(側角)とはまったく異なることを明らかにした(図9,10)。

また、もう1つの投射領域であるキノコ体においても、フェロモン主成分の情報を伝達する投射神経ではその内部にほとんど投射が見られないのに対して、一般臭やフェロモン副成分の情報を伝達する投射神経は、キノコ体傘部の広領域に投射することが示された(図9,10)。カイコガでは、フェロモン主成分であるボンピコールのみで、配偶行動が完全に解発されることから、キノコ体よりも前大脳側部のデルタ領域がその情報処理に重要であると考えられる。

以上のことから、カイコガのフェロモン情報処理系に関しては、嗅覚受容体レベルから触角葉を経て前大脳にいたる経路について、フェロモン情報の主成分、副成分それぞれの情報経路の詳細が明らかになった(図10)。

12. 一般臭のコーディング機構

一般臭の嗅覚受容細胞の軸索末端は常系球体へと投射している。一般臭情報処理系では多様な匂いの情報をコーディングするため、ラベルドライン的なフェロモン情報処理に比べて、より複雑な機構を用いていることが推察される。本項では、おもに触角葉における一般臭のコーディング機構に関して概説する。

12-1. 空間パターンコーディング

前述したように、1つの嗅覚受容体は複数の匂い物質により活性化され、また1つの匂い物質は複数の嗅覚受容体を活性化させる。このような匂い物質と嗅覚受容体の多対多

の関係は、多様な系球体活性化パターンを生み出す。ショウジョウバエで示された嗅覚受容体と系球体との対応関係は、匂いの情報が一般臭受容体の広い応答スペクトルの性質を反映して、複数の系球体の空間パターンで表現されることが示唆される。匂いの情報が空間的な系球体の活性化パターンで表現されることは、イメージング計測の結果により示されている。ショウジョウバエで遺伝子組換えを利用し、カルシウムやpH感受性蛍光タンパク質を触角葉構成神経に導入し、匂い刺激によって生じる蛍光変化を計測した結果では、嗅覚受容細胞と投射神経の匂い応答スペクトルに大きな違いはなく、嗅覚受容細胞から投射神経への情報処理過程で情報の修飾はほとんどないことが示唆されている^{58,59)}。しかし、ミツバチで嗅覚受容細胞と投射神経の応答をカルシウムイメージングで比較した結果によれば、嗅覚受容細胞から投射神経に至る過程で、応答する系球体の集約の起こることが示された。この結果から空間パターンの情報修飾機構として、視覚系などでもみられる側抑制と類似の機構が示唆されている⁶⁰⁾。すなわち、匂い物質により複数の系球体がさまざまな強度で活性化されると考えられるが、このような系球体間の応答強度の差が側抑制により強調され、匂いのコントラスト強調がおくるというのである。この機構の中心的な役割を果たすのが、抑制性の神経伝達物質をもつ局所介在神経であると考えられている。

12-2. 時空間パターンコーディング

匂いの情報が空間的に表現されることは前述した通りであるが、さらにこの空間パターンが時間的にもダイナミックに変化することが示されている。投射神経の発火パター

図9

図9 投射神経の前大脳投射領域の比較 cGMP 抗体染色と単一投射神経染色を同一標本で行ない、cGMP 免疫染色により標識される Δ ILPC 領域を指標に投射領域を比較した。

- A. トロイド投射神経。 Δ ILPC の全域へと投射する。
 B. キュムラス投射神経。 Δ ILPC の側方側へ投射する。
 C. 常系球体投射神経。 Δ ILPC とは重複のない側角(LH)へと投射する。

IACT: 内側触角脳経路

スケールバー: 100 μ m。

図10

図10 触角葉から前大脳への投射マップまとめ フェロモンの主成分(ボンピコールの情報)は、ボンピコール受容細胞特異的に発現する BmOR1により受容され、大系球体のトロイド(T)を介し、キノコ体の一部と前大脳側部の Δ ILPC 全域へと投射する。フェロモンの副成分(ボンピカールの情報)はボンピカール受容細胞特異的に発現する BmOR3により受容され、大系球体のキュムラス(C)とホースシュー(H)を介し、キノコ体の広領域と前大脳側部の Δ ILPC の側方側へと投射する。一般臭の情報は未同定の一般臭嗅覚受容体(BmORx)により受容された後、常系球体を介し、キノコ体の全域と前大脳側部の LH(側角)へと投射する。また、キュムラスとトロイドに入力をもつ投射神経は、別経路を介し、前大脳側部の Δ ILPC 側方へと両成分の情報を投射している可能性が示された。

ンを、より高い時間分解能をもつ細胞内記録やマルチ電極による細胞外記録で計測を行なったとき、常系球体からの投射神経は、大系球体投射神経で見られるような一過性の興奮性応答とその後に続く抑制応答といった単純な発火パターンでなく、興奮、抑制を含む複雑な時間パターン (slow temporal pattern という) を示すことが報告されている⁶¹⁾。これらの機構は特に Laurent らにより詳しく研究され、匂いの情報は多数の投射神経の集団の空間情報およびダイナミックな発火パターン (時間情報) にコード化される機構が示唆されている (時空間パターンコーディング)。彼らの説によるとコーディングには2つの重要な概念がある。1つはコーディングの空間を拡張するための投射神経集団間の発火パターンの decorrelation で、もう1つはキノコ体でのデコーディング機構に関係する oscillation と sparsening である⁶²⁾。

decorrelation

各投射神経は匂い特異的に興奮・抑制を含む複雑な時間パターン (slow temporal pattern) を示し、また同じ匂いに対しても投射神経間でこのパターンは異なる。ここで、ある匂いは多数のあるいはすべての投射神経の発火パターンの情報にコード化されていると考えた時、各投射神経を1つの次元とし、 n 個の投射神経の発火パターンから n 次元の空間を作ると、ある時間におけるある匂いの情報は n 次元空間上の1点で表される (図11A)。経時的には空間上に軌跡 (trajectory) を描くことになり、主成分分析や局所的線形埋め込みによる非線形次元圧縮などの多変量解析法を用いて分析した結果、異なる匂いは刺激開始とともに異なる軌跡 (trajectory) を通り、刺激終了後またもとの位置へ戻ることが示された (図11B)⁶³⁾。この n 次元の空間を匂いのコーディング空間としたとき、各投射神経の発火パターンの相関が低いほどコーディングの空間は広がることになり、匂い識別にとって有利となる。実際の計測の結果、刺激の受容後100-300ms ほどで各投射神経の発火パターンの相関が著しく減少することが示された (decorrelation)⁶²⁻⁶⁴⁾。また匂いの濃度の違いも、投射神経の発火頻度の増減ではなく、投射神経集団の発火パターンによりコード化される機構が示唆されている。その結果では、匂いの濃度の違いによって個々の投射神経の発火パターンは変化するが、コーディング空間内では近似した trajectory (manifold と表現される) を通ることが示された (図11)⁶³⁾。すなわち、匂いの濃度が変化しても、匂いの質の情報はコーディング空間内では保持される機構が示された。

ある匂いに対し、投射神経が系球体ごとに異なる時空間的な発火パターンを示すことは最近カイコガでも詳細な分析結果が我々のグループによって示された (並木ら、未発表)。また、ショウジョウバエで投射神経の匂い刺激に対する応答をホールセルパッチクランプ法により計測した結果でも、投射神経での匂い応答スペクトルは嗅覚受容細胞に比べむしろ広がり、匂いの情報は複数の投射神経により集団的にコード化される機構が支持されている⁶⁵⁾。

oscillation & sparsening

匂い刺激期間中にキノコ体の傘部より LFP (local field potential: 局所場電位) で20-30Hz の振動応答 (oscillation) が計測される。これは、投射神経集団間での同期的なスパ

図11

図11 decorrelation と sparsening によるコーディング概念図と trajectory による匂い表現 A. 嗅覚受容細胞により系球体の活性化パターンとして入力された匂い情報は、触角葉において時空間パターンとして表現され、経時的に重複が減少していく decorrelation によりコードされる。このパターンは振動 (oscillation) 周期により、膨大な数のうちのほんの少数のケニオン細胞の活動にデコードされる (sparsening representation)。それぞれの球は、刺激空間においては化学物質の組み合わせを表し、表現空間においては時空間パターンによる匂い表現を表す。

B. 投射神経集団により表現される軌跡 (trajectory)

ab. 110個の投射神経の3つの匂い (オクタノール (oct), ヘキサノール (hex), グラニオール (ger)), 5つの濃度 (0.01, 0.05, 0.1, 1) に対する応答を局所的線形埋め込み (Locally Linear Embedding: LLE) による非線形次元圧縮によって3次元空間に射影し、経時的な過程を trajectory で表した図。異なる3種の匂い情報は異なる trajectory を描く。同じ質の匂いのなかで濃度の違いに対し、trajectory は近似した manifold を形成する。c. ヘキサノール (hex) の異なる濃度に対する trajectory。 (Elsevier から許可を得て文献63 fig5より引用)

イク発火によるものである。LFP と触角葉局所介在神経や投射神経の活動とを比較したところ、同期的に発火する投射神経集団の組み合わせが経時的に変化することが示唆された⁶⁶⁾。またこの oscillation は触角葉における GABA_A 受容体を介した局所介在神経と投射神経の相互抑制回路により形成されることが示されている⁶⁷⁾。キノコ体のケニオ

ン細胞は触角葉投射神経からの入力を受け、記憶学習に重要な働きをされると考えられている。サバクバッタでは投射神経860に対しケニオン細胞は約50,000である。1つの投射神経は粒状構造の軸索末端で約600のケニオン細胞に接続していることが電子顕微鏡観察の結果から示唆されている⁶⁸⁾。よって1つのケニオン細胞は約10-20の投射神経から入力を受けていると予想される。ケニオン細胞からの細胞内または細胞外記録の結果によると、ケニオン細胞は自発発火のレベルが非常に低く(~ 0.005 - 0.025 Hz)、また匂い刺激に対しても、特異的な匂いに少数の発火(~ 2 spikes)しか示さないことがわかった⁶⁹⁾。すなわち、ある匂いの情報は50,000という膨大な数のケニオン細胞のうちの少数の細胞によりデコードされる機構が提唱されている(sparsening)(図11)。この sparsening の機構がキノコ体のような記憶学習に関与する領域においてみられることは多くの利点がある。例えば記憶の貯蔵に際して少数のシナプスを修飾するだけでよい、パターンマッチングに際して少数の要素を比較するだけでよい、パターン連想に際して同様に少数の要素の比較で容易に異なる属性(例えば形、色、質感、匂い、identity や category など)を連想させることができるなどである。ケニオン細胞は発火しにくい性質をもっており、発火には投射神経の同期的発火を検出すること(coincidence detector)が必要である。そのために oscillation のサイクルが重要な働きをしていると考えられる(図11)。振動応答の機能的意義については、ミツバチで行動実験によって示されている⁷⁰⁾。その結果では、振動応答の発生を GABA_A 受容体の阻害剤であるピクロトキシンにより阻害すると、構造の類似した匂いを識別できなくなることが示されている。

13. コーディングを巡る議論とフェロモン・一般臭情報処理

以上嗅覚系一次・二次中枢におけるフェロモン情報処理と一般臭情報処理について概説した。触角葉内でのネットワークにより、匂いの情報が修飾され投射神経によりコード化される過程については、異なる昆虫種を用いてそれぞれの結果が提出されており、コーディングの機構については、必ずしも統一された見解を得ていない。特に、同期的な発火や集団でのコーディングが重要な意味を持つことは共通の見解であるが、LFPなどで計測される振動応答が匂い識別の神経基盤になっているかについては、昆虫種によって意見がわかれている⁷¹⁾。また、Laurent らが用いているサバクバッタの触角葉は約1,000個の微小系球体より構成される特殊な構造であるが、他種の昆虫と異なるコーディング機構をもつ可能性も議論されている。

フェロモン情報処理系と一般臭情報処理系との関係についても議論がある。フェロモン系は特異的受容体とラベルドライ的な情報処理によって特徴づけられているが、昆虫種によっては一般臭の受容器も、実際には特定の匂い物質に対してかなり高感度な受容を行なっている可能性もある⁷²⁾。実際に、常系球体に入力を持つ投射神経でも特異的なチューニング特性を持つものが報告されている⁷³⁾。フェロモン系でも大系球体サブコンパートメント間または同一コンパートメントの投射神経同士での発火の同期がみられ、このことは一般臭での情報処理と共通している⁷⁴⁾。これらのことから、両者の情報処理システムは明確に区別するべ

きではないとする見方も提唱されている⁷⁵⁾。

中枢における一般臭の匂い識別機構に関する研究は、嗅球における研究も含めまだ未解明の部分が大きい。フェロモン系は進化的には一般臭情報処理系から派生してきたと考えられ、筆者らが解明してきた嗅覚受容体から前大脳にいたる詳細な経路は、比較対照のうえで嗅覚情報処理の1つのモデルになると考えられる。

14. おわりに

以上、昆虫のフェロモン、匂い受容と識別機構に関する最近の知見を概説した。ショウジョウバエ嗅覚受容体の機能解析から、昆虫の末梢での一般臭の匂い識別は、匂いにより活性化する受容体、そして嗅覚系一次中枢である触角葉を構成する多数の系球体の組み合わせによる機構がはたらいっていることが明らかになった。脊椎動物でも、同様の機構が独立して進化してきたことを考えると、組み合わせによる匂い識別は、匂いという無数のリガンドを限られた遺伝情報により受容、識別するのに最適化された方法なのだろう。一方、カイコガの性フェロモン受容体の機能解析から、フェロモンの鋭敏かつ特異的な受容が、受容体レベルで行なわれることが明らかになった。このような嗅覚、フェロモン受容体の機能は、これらの受容体と複合体を形成し、膜移行を促進する Or83b ファミリーの機能に依存している。それでは、同じファミリーに属する嗅覚受容体とフェロモン受容体の間にある、応答感度とリガンド特異性の差異はどのように生み出されているのだろうか？究極的には、受容体タンパク質の結晶構造解析を行なうことでタンパク質レベルのリガンド認識機構が明らかにされるだろう。そのような研究は昆虫の匂い受容機構の解明のみならず、受容体のリガンド認識機構に立脚したドラッグデザインを可能にし、匂いを利用した新しい昆虫の行動管理方法の開発につながる事が期待される。

本稿の後半部では、触角で受容、識別されたフェロモンや匂いの情報の脳内処理機構についてフェロモン情報処理系と一般臭情報処理系のコーディングの例を紹介した。本稿では割愛したが、筆者らのグループはこれまでにフェロモン受容により解発されるフェロモン源定位行動の運動指令情報の形成過程についても詳しく調べてきた⁷⁶⁾。プログラム化された行動の指令情報形成には、側副葉と呼ばれる脳内の前運動中枢が重要な領域であると考えられ、左右の側副葉をつなぐ両側性神経や運動指令を司る下行性介在神経の役割について明らかにしている。本稿で紹介した前大脳のフェロモン中枢であるデルタ領域から側副葉までの経路はまだ明らかでないが、両者は直接または、少数の神経を介して接続しているとみられ、近い将来、入力から行動発現にいたるフェロモン情報処理過程の全貌が解明されるだろう。ある行動に対し、複数の階層を介して形成される脳内情報経路がこのように詳細に解明される例は初めてである。フェロモン情報処理経路の解明により、感覚統合や液性情報による行動修飾機構など、高次の情報処理についての研究への展開が期待される。また、一般臭のコーディング機構は、嗅覚受容体による識別・受容機構がわかった今、きわめて魅力あるホットな研究分野になってきた。嗅球と触角葉の機能構造的な共通性が示唆されていることも重要であり、両システムにおける結果を比較検討することも必要である。

糸球体とコーディングの機構に関して、ショウジョウバエでは嗅覚受容細胞の匂い応答特性と糸球体との対応が解明されつつあり、嗅覚研究におけるショウジョウバエの勢いは凄まじい。この要因の1つは容易に遺伝子操作ができることにあるだろう。しかし、ショウジョウバエは神経細胞のサイズが小さく、電気生理的手法の適用に限界があるのも事実である。最近、カイコガで GAL4/UAS による外来遺伝子の発現系が確立され、これまでショウジョウバエの独壇場であった遺伝子操作を利用した解析が可能になっている⁷⁷⁾。筆者らは、電気生理、イメージング、組織学的手法が確立しているカイコガに、新たに分子遺伝学的手法を取り入れ、分子、単一神経、神経ネットワーク、そして行動レベルを網羅的かつ縦断的に解析することで、匂い情報の入力から行動出力までをシステムティックに理解することを目指している。このような研究は、嗅覚のみならず、刻一刻と多様に化する環境の情報を取得し、それに対して適応的な行動を起こすことを可能にしている、動物の脳における情報処理機構を明らかにする手がかりを与えるだろう。今後の研究の展開に期待していただきたい。

謝 辞

カイコガ性フェロモン受容体の単離・同定は東京大学の東原和成助教授、仲川喬雄博士(現ロッキンフェラー大学)および京都工芸繊維大学の森肇教授、遠藤泰久教授、農業生物資源研究所の安河内祐二博士との共同研究による成果である。また、カイコガ大糸球体投射神経の前大脳における投射領域の同定は、北海道大学の青沼仁志助教授との共同研究による成果である。深く御礼申し上げる。

文 献

- 1) Karlson, P. & Lüscher, M.: *Nature* 183, 55-56 (1959)
- 2) Schneider, D.: *Annu. Rev. Entmol.* 9, 103-122 (1964)
- 3) Kaissling, K.-E.: *Chem. Senses* 26, 125-150 (2001)
- 4) Leal, W.S.: *Top. Curr. Chem.* 240, 1-36 (2005)
- 5) Krieger, J. & Breer, H.: *Science* 286, 720-72 (1999)
- 6) Ishida, Y. & Leal, W.S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 14075-14079 (2005)
- 7) 横張文男: *昆虫の脳を探索*(富永佳也編), pp81-109, 共立出版社(1995)
- 8) de Bruyne, M., Clyne, P.J. & Carlson, J.R.: *J. Neurosci.* 19, 4520-4532 (1999)
- 9) de Bruyne, M., Foster, K. & Carlson, J.R.: *Neuron* 30, 537-552 (2001)
- 10) Elmore, T., Ignell, R., Carlson, J.R. & Smith, D.P.: *J. Neurosci.* 23, 9906-9912 (2003)
- 11) Butenandt, V.A., Beckmann, R., Stamm, D. & Hecker, E.: *Z. Naturforschg* 14b, 283-284 (1959)
- 12) Kaissling, K.-E., Kasang, G., Bestmann, H.J., Stransky, W. & Vostrowsky, O.: *Naturwissenschaften* 65, 382-384 (1978)
- 13) Schneider, D.: *Science* 163, 1031-1037 (1969)
- 14) Buck, L. & Axel, R.: *Cell* 65, 175-187 (1991)

- 15) Ngai, J., Dowling, M.M., Buck, L., Axel, R. & Chess, A.: *Cell* 72, 657-666 (1993)
- 16) Troemel, E.R., Chou, J.H., Dwyer, N.D., Colbert, H.T. & Bargmann, C.I.: *Cell* 83, 207-218 (1995)
- 17) Breer, H., Boekhoff, I. & Tareilus, E.: *Nature* 345, 65-68 (1990)
- 18) Boekhoff, I., Seifert, E., Goggerle, S., Lindemann, M., Krüger, B.-W. & Breer, H.: *Insect Biochem. Molec. Biol.* 23, 757-762 (1993)
- 19) Stengl, M.: *J. Exp. Biol.* 178, 125-147 (1993)
- 20) Stengl, M.: *J. Comp. Physiol.* 174, 187-194 (1994)
- 21) Riesgo-Escovar, J., Raha, D. & Carlson, J.R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 2864-2868 (1995)
- 22) Clyne, P.J., Warr, C.G., Freeman, M.R., Lessing, D., Kim, J. & Carlson, J.R.: *Neuron* 22, 327-338 (1999)
- 23) Vosshall, L.B., Amrein, H., Morozov, P.S., Rzhetsky, A. & Axel, R.: *Cell* 96, 725-736 (1999)
- 24) Gao, Q. & Chess, A.: *Genomics* 60, 31-39 (1999)
- 25) Vosshall, L.B., Wong, A.A. & Axel, R.: *Cell* 102, 147-159 (2000)
- 26) Vosshall, L.B.: *Chem. Senses* 26, 207-213 (2001)
- 27) Fox, A.N., Pitts, R.J., Robertson, H.M., Carlson, J.R. & Zwiebel, L.J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 14693-14697 (2001)
- 28) Fox, A.N., Pitts, R.J. & Zwiebel, L.J.: *Chem. Senses* 27, 453-459 (2002)
- 29) Hill, C.A., Fox, A.N., Pitts, R.J., Kent, L.B., Tan, P.L., Chrystal, M.A., Cravchik, A., Collins, F.H., Robertson, H.M. & Zwiebel, L.J.: *Science* 298, 176-178 (2002)
- 30) Krieger, J., Raming, K., Dewer, Y.M.E., Bette, S., Conzelmann, S. & Breer, H.: *Eur. J. Neurosci.* 16, 619-628 (2002)
- 31) Krieger, J., Grosse-Wilde, E., Gohl, T., Dewer, Y.M.E., Raming, K. & Breer, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 11845-11850 (2004)
- 32) Sakurai, T., Nakagawa, T., Mitsuno, H., Mori, H., Endo, Y., Tanoue, S., Yasukochi, Y., Touhara, K. & Nishioka, T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 16653-16658 (2004)
- 33) Nakagawa, T., Sakurai, T., Nishioka, T. & Touhara, K.: *Science* 307, 1638-1642 (2005)
- 34) Störtkuhl, K.F. & Kettler, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 9381-9385 (2001)
- 35) Wetzel, C.H., Behrendt, H.-J., Gisselmann, G., Störtkuhl, K.F., Hovemann, B. & Hatt, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 9377-9380 (2001)
- 36) Dobritsa, A.A., van der Goes van Naters, W., Warr, C.G., Steinbrecht, R.A. & Carlson, J.R.: *Neuron* 37, 827-841 (2003)
- 37) Hallem, E.A., Ho, M.G. & Carlson, J.R.: *Cell* 117, 965-979 (2004)
- 38) Gao, Q., Yuan, B. & Chess, A.: *Nat. Neurosci.* 3, 780-785 (2000)
- 39) Buck, L.B.: *Cell* S116, S117-119 (2004)

- 40) Couto, A., Alenius, M. & Dickson, B.J.: *Curr. Biol.* 15, 1535-1547 (2005)
- 41) Fishilevich, E. & Vosshall, L.B.: *Curr. Biol.* 15, 1548-1553 (2005)
- 42) Bray, S. & Amrein, H.: *Neuron* 39, 1019-1029 (2003)
- 43) Hashimoto, H.: *Jap. J. Genet.* 8, 245-258 (1933)
- 44) Suzuki, M.G., Shimada, T. & Kobayashi, M.: *Heredity* 81, 170-179 (1998)
- 45) Koike, Y., Mita, K., Suzuki, M.G., Maeda, S., Abe, H., Osoegawa, K. deJong, P.J. & Shimada, T.: *Mol. Genet. Genomics* 269, 137-149 (2003)
- 46) Maida, R., Steinbrecht, R.A., Ziegelberger, G. & Pelosi, P.: *Insect Biochem. Molec. Biol.* 23, 243-253 (1993)
- 47) Steinbrecht, R.A., Laue, M. & Ziegelberger, G.: *Cell. Tissue Res.* 282, 203-217 (1995)
- 48) Topazzini, A., Mazza, M. & Pelosi, P.: *J. Insect. Physiol.* 36, 619-624 (1990)
- 49) Krieger, J., Klink, O., Mohl, C. & Breer, H.: *J. Comp. Physiol. A* 189, 519-526 (2003)
- 50) Larsson, M.C., Domingos, A.I., Jones, W.D., Chiappe, M.E., Amrein, H. & Vosshall, L.B.: *Neuron* 43, 703-714 (2004)
- 51) Neuhaus, E.M., Gisselmann, G., Zhang, W., Dooley, R., Störtkuhl, K. & Hatt, H.: *Nat. Neurosci.* 8, 15-17 (2005)
- 52) Benton, R., Sachse, S., Michnick, S.W. & Vosshall, L.B.: *PLoS Biol.* 4, e20 (2006)
- 53) Jones, W.D., Nguyen, T.A., Kloss, B., Lee, K.J. & Vosshall, L.B.: *Curr. Biol.* 15, R119-121 (2005)
- 54) Anton, S., Homberg, U.: *Antennal lobe structure*. In: Hansson BS, editor: *Insect Olfaction*. Berlin: Springer. p 97-124 (1999)
- 55) Hansson, B.S., Christensen, T.A.: *Functional characteristics of the antennal lobe*. In: Hansson BS, editor: *Insect Olfaction*. Berlin: Springer. p 125-161. (1999)
- 56) Kanzaki, R., Soo, K., Seki, Y. & Wada, S.: *Chem Senses* 28, 113-130 (2003)
- 57) Seki, Y., Aonuma, H. & Kanzaki, R.: *J Comp Neurol* 481, 340-351 (2005)
- 58) Wang, J.W., Wong, A.M., Flores, J., Vosshall, L.B. & Axel, R.: *Cell* 112, 271-282 (2003)
- 59) Ng, M., Roorda, R.D., Lima, S.Q., Zemelman, B.V., Morcillo, P. & Miesenböck, G.: *Neuron* 36, 463-474 (2002)
- 60) Sachse, S. & Galizia, C.G.: *J Neurophysiol* 87, 1106-1117 (2002)
- 61) Laurent, G., Wehr, M. & Davidowitz, H.: *J Neurosci* 16, 3837-3847 (1996)
- 62) Laurent, G.: *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 884-895 (2002)
- 63) Stopfer, M., Jayaraman, V. & Laurent, G.: *Neuron* 11, 991-1004 (2003)
- 64) Mazor, O. & Laurent, G.: *Neuron* 23, 661-73 (2005)
- 65) Wilson, R.I., Turner, G.C. & Laurent, G.: *Science* 303, 366-370 (2004)
- 66) Wehr, M. & Laurent, G.: *Nature* 384, 162-166 (1996)
- 67) MacLeod, K. & Laurent, G.: *Science* 274, 976-979 (1996).
- 68) Leitch, B. & Laurent, G.: *J. Comp. Neurol.* 372, 487-514 (1996)
- 69) Perez-Orive, J., Mazor, O., Turner, G.C., Cassenaer, S., Wilson, R.I. & Laurent, G.: *Science* 297, 359-65 (2002)
- 70) Stopfer, M., Bhagavan, S., Smith, B.H. & Laurent, G.: *Nature* 390, 70-74 (1997)
- 71) Christensen, T.A., Lei, H. & Hildebrand, J.G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 11076-11081 (2003)
- 72) Shields, V.D.C. & Hildebrand, J.G.: *J Comp Physiol* 186:1135-1151 (2001)
- 73) Reisenman, C.E., Christensen, T.A. & Hildebrand, J.G.: *J. Neurosci.* 25, 8017-8026 (2005)
- 74) Lei, H., Christensen, T.A. & Hildebrand, J.G.: *Nat Neurosci* 5, 557-565 (2002)
- 75) Christensen, T.A. & Hildebrand, J.G.: *Curr. Opin. Neurobiol.* 12, 393-399 (2002)
- 76) 神崎亮平ほか：もうひとつの脳～微小脳の研究入門 (山口恒夫, 富永佳也, 桑澤清明共編), pp.23-54, 培風館, (2005)
- 77) Imamura, M., Nakai, J., Inoue, S., Quan, G.X., Kanda, T. & Tamura, T.: *Genetics* 165, 1329-1340 (2003)

Abstract

Molecular and Neural Bases of Pheromone Perception and Odorant Discrimination in Insects

Takeshi Sakurai¹, Yoichi Seki¹, Takaaki Nishioka² and Ryohei Kanzaki¹

1: Department of Mechano-Informatics, Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo. 2: Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University.

Keywords; pheromone, olfaction, odorant receptor, pheromone receptor, *Bombyx mori*, antennal lobe, protocerebrum, macroglomerular complex, glomerulus, olfactory discrimination

Insects have ability to discriminate a wide diversity of odorants in the natural environment as well as to detect species-specific pheromones with high sensitivity and specificity. Olfactory signals are mediated by odorant or pheromone receptors expressed in olfactory receptor neurons in the olfactory sensilla of antennae. The signals are transmitted to the first olfactory processing center, the antennal lobe (AL), then, further processed at higher centers (mushroom body and lateral protocerebrum) to elicit specific behavior in animals. In recent years, remarkable progress has been made in our knowledge of molecular

mechanisms underlying odor discrimination and pheromone perception, mainly due to the identification of odorant and sex pheromone receptor genes in insects. At the same time, extensive studies in the AL have provided many insights into neural basis of

odor discrimination in the insect brain. Understanding how insects detect and discriminate the olfactory information will tell us how nervous systems process the complicated environmental information, and ultimately translate it into meaningful behaviors.