

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19450

研究課題名（和文）聴感覚細胞の自律的な周波数特性の実現機構の解明

研究課題名（英文）Exploring the mechanism of frequency tuning of auditory sensory neurons in flies

研究代表者

上川内 あづさ（Kamikouchi, Azusa）

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：00525264

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：ショウジョウバエの聴感覚細胞群は主に、異なる周波数特性を持つ2種類の集団から構成される。この周波数特性を生じさせるメカニズムを検討した。まずカルシウム依存性カリウムチャンネルが、ショウジョウバエの聴感覚細胞群で発現することを見出した。また、ショウジョウバエが示す求愛歌に対する応答性に、カルシウム依存性カリウムチャンネルの相互作用因子が関与する可能性を示した。さらに、聴感覚細胞は、3種類の変位応答性細胞のどれかとペアになって、scolopidium内部に存在することを見出した。また、聴感覚細胞は脳からの神経伝達物質を介した調節により、その応答性が制御されることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究計画では、ショウジョウバエの聴感覚細胞群が示す周波数特性の多様性が生み出される仕組みの解明を目指した。分子遺伝学を用いて、ショウジョウバエの聴感覚細胞が発現する分子や聴覚器内部での分布を解析し、カルシウム依存性カリウムチャンネルの発現や、脳由来の制御機構の存在など、ショウジョウバエの聴覚器が持つ新たな特性を見出した。以上の解析から、ショウジョウバエという、哺乳類聴覚系と異なる構造を持つ動物の聴覚系が持つ、周波数弁別機構の理解に貢献する結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：The *Drosophila* auditory sensory neurons are mainly comprised of two types of populations with different frequency characteristics. We investigated the mechanisms that shape this frequency response. First, we found that calcium-dependent potassium channels are expressed in auditory sensory neurons. We also found that the interacting factors of calcium-dependent potassium channels may be involved in the flies' response to courtship song stimuli. Furthermore, we found that auditory sensory neurons are housed inside the scolopidium in pairs with any of three types of displacement-responsive neurons. We also suggested that the response of auditory sensory neurons is regulated by neurotransmitter-mediated modulation from the brain.

研究分野：神経科学

キーワード：聴覚 周波数特性 ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

(1) 危険の察知や配偶者候補・競合相手の発する求愛歌の識別など、多くの動物は音を用いて周囲の状況を判断し、自身の生存や生殖につなげる。音信号の意味を動物が理解するためには、音の高さや時間パターンといったパラメータ情報を的確に弁別して受容する必要がある。このパラメータのうち、音の高さの弁別は様々な動物において末梢器官、すなわち聴覚器で行われる。哺乳類では、周波数弁別は主に「機械的チューニング」、すなわち聴覚細胞の繊毛や基底膜の物理的特性による周波数チューニングにより達成される。しかしカメやワニ、鳥類や魚類などでは、感覚細胞それ自体の内在的な性質により特定の周波数に強く応答する、という「電氣的チューニング」により周波数を弁別する (Fettiplace & Fuchs, 1999 など)。

(2) 聴覚研究のモデルとして近年、ショウジョウバエが使われている。ショウジョウバエの聴覚感覚細胞群は主に、異なる周波数特性を持つ2種類の集団から構成される (Kamikouchi et al, 2009)。しかし、なぜ2種類の聴覚感覚細胞群が異なる周波数特性を持つのだろうか。哺乳類聴覚系の基底膜と異なり、ショウジョウバエの聴覚感覚細胞は全てが同一の振動を受け取るため、異なる感覚細胞群における周波数応答性の違いを「機械的チューニング」で説明することは難しい。よって、ショウジョウバエの聴覚感覚細胞群が示す周波数特性の多様性は「電氣的チューニング」による可能性がある。

2. 研究の目的

本研究計画では、ショウジョウバエの聴覚感覚細胞群が示す周波数特性の多様性が「電氣的チューニング」により生み出されている可能性を探る。具体的には、分子遺伝学を用いて、カルシウム依存性カリウムチャンネル (BK チャンネル) の発現同定や機能改変個体の解析を行う。また、BK チャンネル以外の受容体を介した、応答性制御機構についても探索を進める。これにより、周波数特性の多様性が生じる機構を決定する。また、どの種類のイオンチャンネルや受容体が応答特性の調節にどのように寄与するかを検討する。以上の研究により、哺乳類聴覚系と異なる構造を持つ動物の聴覚系が持つ、周波数弁別機構の理解に貢献したい。

3. 研究の方法

聴覚細胞で固有の周波数選択性は、BK チャンネルを形成するサブユニット群 (α 、 β) の発現量と発現パターンの制御により獲得される、という脊椎動物で提案されている仮説に基づき、ショウジョウバエにおける BK チャンネルの発現抑制効果の解析を行う。ショウジョウバエの聴覚器には2種類の主要な聴覚細胞 (A, B 細胞集団) が存在し、フックと呼ばれる単一の振動体からの振動刺激に対し異なる周波数応答性を示す。これら聴覚細胞で任意の遺伝子を発現させることができる *GAL4* 系統群を用いた RNAi 発現法により、聴覚細胞において BK チャンネルやその制御因子の発現を抑制した個体を作成する。BK チャンネルを形成する Slowpoke (α サブユニット) や、その機能制御に関わる結合タンパク質の発現抑制が可能な *UAS-RNAi* 系統を用いて、分子遺伝学的手法によりそれぞれの遺伝子の発現を抑制する。この個体を用いて求愛歌への応答を解析し、音の弁別能力が変化するかを調べる。また、BK チャンネル以外にも、聴覚細胞の応答性を制御している受容体分子がある可能性がある。そこで、聴覚細胞で発現する受容体分子を探索して、その機能を探る。また、複数種類の聴覚細胞が、聴覚器でどのように組み合わせられているかも解析する。具体的には、2種類の主要な聴覚細胞 (A, B 細胞集団) と、同

じく聴覚器内部に存在する3種類の変位応答性細胞（C, D, E細胞集団）との、合計5種類の機械感覚細胞が、どの様な組み合わせで聴覚器内部の振動検知ユニットである「scolopidium」に含まれるかを、分子遺伝学的手法により調べる。

4. 研究成果

(1) BKチャネルの解析

まず、脊椎動物において聴感覚細胞の「電氣的チューニング」の分子機構を形成すると想定されているBKチャネルが、ショウジョウバエの聴覚器で発現するか否かを検討した。神経細胞を標識する抗Elav抗体と、BKチャネルをコードするslowpokeの発現を模倣した蛍光マーカータンパク質を標識する抗体を用いて、聴覚器の抗体染色を行なった。その結果、多くの聴感覚細胞で発現が確認できた。しかし、slowpokeの発現を抑制した個体では、オスの求愛歌への応答行動に顕著な障害は見られなかった。一方で、Slowpokeタンパク質と相互作用する可能性がある因子を発現抑制したところ、求愛歌への応答行動が减弱した。これらの結果により、求愛歌に対する応答性に、Slowpokeの相互作用因子が関与する可能性が示された。

(2) 振動検知ユニットscolopidiumの解析

これまでの研究により、大多数のscolopidiumには、それぞれ2個ずつの感覚細胞が含まれることが示されている。そこで、分子遺伝学的手法を用いて各感覚細胞サブグループだけを標識する、という方法により、個々のscolopidium内部に含まれる各感覚細胞サブグループの個数を決定した（図1）。その結果、個々のscolopidiumには、音に応答する聴感覚細胞は1つしか含まれないことが示唆された。この結果により、聴感覚細胞は、3種類の変位応答性細胞のどれかとペアになって、scolopidium内部に存在することが分かった（Ishikawa et al., 2019）。

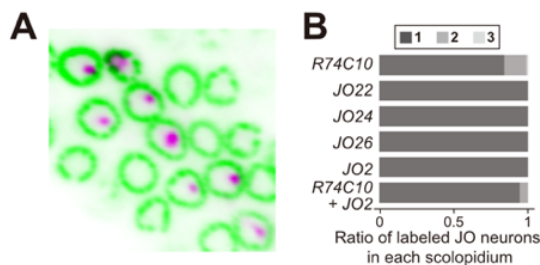


図1. ScolopidiumにおけるA細胞とB細胞の分布。(A) B細胞(紫色)が、各Scolopidium(緑色)に格納されている様子。1個以下しか格納されていない。(B) A細胞とB細胞を合わせた分布。ほぼ全ての細胞種について、各Scolopidiumに1個以下しか格納されていない。Ishikawa et al., 2019より。

(3) 聴感覚細胞の応答性を制御している受容体の検索

2種類の主要な聴感覚細胞（A, B細胞集団）が、どのような制御を受けるかを調べるため、電子顕微鏡を用いた解析を行った。その結果、解析した全ての聴感覚細胞の軸索は、脳由来のニューロンからのシナプス入力を受けることがわかった。そこで抗体染色と分子遺伝学を組み合わせた解析を行い、聴感覚細胞が受け取る神経伝達物質を同定した。さらに聴感覚細胞への、各神経伝達物質を介する入力を抑制したところ、音への応答が顕著に変化した。以上の結果から、聴感覚細胞は脳からの神経伝達物質を介した調節により、その応答性が制御されることが示唆された。異なる周波数特性を持つ聴感覚細胞がそれぞれチューニングを受けることで、周波数弁別能が制御されている可能性がある。

【文献】Fettiplace & Fuchs (1999) *Annu Rev Physiol.* 61:809; Kamikouchi et al (2009) *Nature* 458:165; Ishikawa et al (2019) *Frontiers in Physiology* 10 1552-1552.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi	4. 巻 30
2. 論文標題 A Feedforward Circuit Regulates Action Selection of Pre-mating Courtship Behavior in Female <i>Drosophila</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current biology	6. 最初と最後の頁 396, 407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.11.065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hyunsoo Kim, Mihoko Horigome, Yuki Ishikawa, Feng Li, J Scott Lauritzen, Gwyneth Card, Davi D Bock, Azusa Kamikouchi	4. 巻 24877
2. 論文標題 Wiring patterns from auditory sensory neurons to the escape and song-relay pathways in fruit flies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of comparative neurology	6. 最初と最後の頁 1, 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.24877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yuki Ishikawa, Mao Fujiwara, Junlin Wong, Akari Ura, Azusa Kamikouchi	4. 巻 10
2. 論文標題 Stereotyped Combination of Hearing and Wind/Gravity-sensing Neurons in the Johnston's Organ of <i>Drosophila</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2019.01552	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki SJ, Ohara K, Ito K, Kokubun N, Kitanishi T, Takaichi D, Yamada Y, Ikejiri Y, Hiramatsu F, Fujita K, Tanimoto Y, Yamazoe-Umemoto A, Hashimoto K, Sato K, Yoda K, Takahashi A, Ishikawa Y, Kamikouchi A, Hiryu S, Maekawa T, Kimura KD	4. 巻 13
2. 論文標題 STEFTR: A Hybrid Versatile Method for State Estimation and Feature Extraction From the Trajectory of Animal Behavior.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in neuroscience	6. 最初と最後の頁 626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2019.00626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada D, Kamikouchi A	4. 巻 71
2. 論文標題 [The Neural Mechanism for Detecting Song Rhythm].	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo	6. 最初と最後の頁 599, 609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416201322	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kudow N, Kamikouchi A, Tanimura T	4. 巻 222
2. 論文標題 Softness sensing and learning in <i>Drosophila</i> larvae.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of experimental biology	6. 最初と最後の頁 1, 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.196329	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Y, Okamoto N, Yoneyama Y, Maeda N, Kamikouchi A	4. 巻 33
2. 論文標題 A single male auditory response test to quantify auditory behavioral responses in <i>Drosophila melanogaster</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of neurogenetics	6. 最初と最後の頁 64, 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01677063.2019.1611805	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xiaodong Li, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi	4. 巻 8
2. 論文標題 Assessing experience-dependent tuning of song preference in fruit flies (<i>Drosophila melanogaster</i>)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 bio-protocol	6. 最初と最後の頁 e2932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.2932	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada D, Ishimoto H, Li X, Kohashi T, Ishikawa Y, Kamikouchi A	4. 巻 38
2. 論文標題 GABAergic local interneurons shape female fruit fly response to mating songs.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4329-4347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3644-17.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daichi Yamada, Hiroshi Ishimoto, Xiaodong Li, Tsunehiko Kohashi, Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 GABAergic local interneurons shape female fruit fly response to mating songs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.3644-17.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xiaodong Li, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi	4. 巻 7
2. 論文標題 Auditory experience controls the maturation of song discrimination and sexual response in Drosophila	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e34348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.34348.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Ishikawa, Natsuki Okamoto, Mizuki Nakamura, Hyunsoo Kim, Azusa Kamikouchi	4. 巻 11
2. 論文標題 Anatomic and physiologic heterogeneity of subgroup-A auditory sensory neurons in fruit flies	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncir.2017.000	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 11件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Nao Morimoto, Ryosuke F. Takeuchi, Ayano Ishida, Azusa Kamikouchi, Fumitaka Osakada
2. 発表標題 Serotonergic neurons modulate the temporal dynamics of the auditory response behavior induced by a courtship song in the fruit fly
3. 学会等名 Neuro 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Ishikawa, Naoki Maeda, Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Evolution of neural circuit for chemical communication in Drosophila
3. 学会等名 Neuro 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Neural mechanism for evaluating love songs in fruit flies
3. 学会等名 17th International Meeting on Invertebrate Sound and Vibration (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石川由希、前田直希、上川内あづさ
2. 発表標題 性フェロモン選好性の進化的逆転をもたらす神経基盤
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 Presynaptic regulation of auditory sensory neurons in fruit flies
3. 学会等名 第12回分子高次機能研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 ショウジョウバエの歌受容を調節する抑制性神経伝達
3. 学会等名 第92回日本生化学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高市大輔、石川由希、上川内あづさ
2. 発表標題 Combination of sensory stimuli modifies the following strategy of the courting male fly (<i>D. melanogaster</i>)
3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第41回東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大橋拓朗、石川由希、粟崎健、上川内あづさ
2. 発表標題 Search for auditory neurons that shape song selectivity in two <i>Drosophila</i> species
3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第41回東京大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Neural mechanism underlying acoustic communication in fruit flies
3. 学会等名 6th Annual Meeting of the Society for Bioacoustics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Organization of the auditory system in fruit flies
3. 学会等名 The International Congress of Neuroethology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Auditory experience controls the maturation of song discrimination in fruit flies
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Auditory sensory neurons that interact with the escape and courtship circuit in flies
3. 学会等名 The 12th Japanese Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 音経験に応じて成熟するショウジョウバエの「歌受容システム」
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 聴覚システムの構造と機能
3. 学会等名 昆虫脳コネクトーム研究の最前（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Neural mechanism of fruit flies to detect the courtship song
3. 学会等名 5th Tokyo Vector Encounter（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Li Xiaodong, Azusa Kamikouchi
2. 発表標題 Experience-dependent tuning of the auditory behavior in Drosophila
3. 学会等名 The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 求愛歌受容を担うショウジョウバエの聴覚システム
3. 学会等名 第89回日本遺伝学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Xiaodong Li, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi,
2. 発表標題 Early auditory experience shapes the auditory response in fruit flies (<i>Drosophila melanogaster</i>)
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第39回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 ショウジョウバエ聴覚系の神経解剖学
3. 学会等名 第1 2 3回日本解剖学会総会・日本学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上川内あづさ
2. 発表標題 Auditory neural circuits in the fly brain
3. 学会等名 From sender to receiver: physics and sensory ecology of hearing in insects and vertebrates（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 2. 上川内あづさ、石川由希	4. 発行年 2018年
2. 出版社 一式出版	5. 総ページ数 520
3. 書名 遺伝子から解き明かす脳の不思議な世界	

〔産業財産権〕

〔その他〕

ハエだって聞きなれた歌が好き ~ヒトの言語学習のメカニズム解明につながる可能性も~ http://www.nagoya-u.ac.jp/about-nu/public-relations/researchinfo/upload_images/20180320_sci_1.pdf わずかなリズムの違いを聞き分ける脳のしくみを発見 http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/files/topics/180417_Kamikouchi.pdf

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	河野 崇 (Kohno Takashi) (90447350)	東京大学・生産技術研究所・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------