

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06733

研究課題名(和文) キイロショウジョウバエの嗅覚系脳神経の求愛行動における機能の研究

研究課題名(英文) Functional analyses of olfactory neurons in sexual behavior in *Drosophila melanogaster*

研究代表者

田中 暢明 (Tanaka, Nobuaki)

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：20517924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：キイロショウジョウバエの雄の求愛行動は定型的で、多感覚情報を統合しつつ、複数の行動要素を決められた順に発現することで交尾に至る。我々は、lateral antennal lobe tract projection neuron 4 (IPN4) と呼ばれる神経が、雌の発する揮発性物質に応答し、またその応答が、雌の非揮発性フェロモンの受容にともなって抑制されることを明らかにした。さらに、行動実験から、IPN4が多感覚入力AND-gateとして働くことで、雄が非揮発性フェロモンを受容するための行動を経てから、求愛歌を奏でることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物が様々な局面で、決められた行動要素を決められた順に発現することはよく知られている。しかし、反射を除いて、そうした定型的な行動パターンを生じさせる神経機構はほとんど明らかになっていない。我々は、ショウジョウバエの雄の求愛行動をモデルに研究を行い、雄が雌に脚で接触して非揮発性フェロモンを受容した後に、求愛歌を奏でる順序を発現するための神経機構を解明した。今後、同様の神経機構が、様々な動物種に行動を定型的に発現させるために用いられているか検討がなされることであろう。

研究成果の概要(英文)：Animals perform a series of actions in a fixed order during ritualistic innate behaviors. We found that the sexually dimorphic lateral antennal lobe tract projection neuron 4 (IPN4) in male *Drosophila melanogaster* mediates the expression of a fixed behavioral action pattern at the beginning of the courtship ritual, in which a male taps a female body and then extends a wing unilaterally to produce a courtship song.

研究分野：神経生物学

キーワード：多感覚情報統合 フェロモン 求愛行動 エファプス 定型的行動 ショウジョウバエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

昆虫を始めとして、複数の行動要素からなる定型的行動パターンを示す動物は多い。たとえば、キイロショウジョウバエの雄の求愛行動では、雄はまず雌に定位した後、前脚で雌に触れ (tapping) 片翅を伸展して振動させ (片翅伸展) 雌の交尾器をなめるような行動を示し、最終的に交尾に至る。雄は、このように各行動要素を決められた順に発現していくことで、求愛相手から形態・色情報やフェロモン情報などの感覚刺激を順に受容し、そうした情報を統合することで求愛相手が同種の雌であることを確認する。

近年、キイロショウジョウバエの雄に求愛行動を引き起こす感覚刺激 (たとえばフェロモン刺激) や、その刺激を受容する感覚神経の同定が進み、その情報が伝えられる脳内領域も明らかになってきた (Auer and Benton, 2016)。また、性決定因子である *fruitless* 遺伝子を発現する P1 神経群を興奮させると、雌がいなくても一連の求愛行動を示すことから、P1 神経群が一連の求愛行動発現のトリガーになることが報告された (Kohatsu et al., 2011)。しかしながら、感覚刺激情報を P1 神経群に伝える神経は、味覚系の一部の神経 (Clowney et al., 2015) に関して報告があるだけで、求愛中の視覚情報や嗅覚情報などがどのように P1 神経群に伝えられているのかは完全に明らかになったわけではない。そのため、求愛行動中に受ける様々な感覚刺激によって、各行動要素が決められた順に発現するための脳内神経機構も未解明であった。

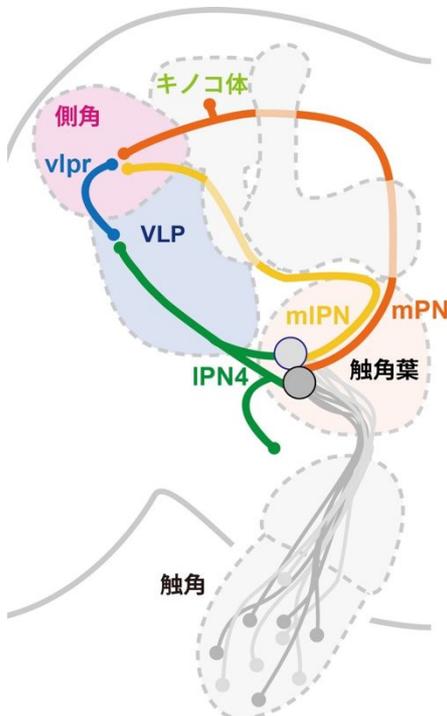


図1 ハエ臭を処理する神経回路

我々は、これまで解剖学的に同定されてきた嗅覚系神経 (Tanaka et al., 2004, 2012) のうち、ハエ臭の情報処理に関わる神経に着目することで、求愛中に各行動要素が決められた順に発現するために必須の脳内神経機構を明らかにしようと考えた。ハエ臭に応答する嗅神経 (Or47b 嗅神経と Or88a 嗅神経; van Naters and Carlson, 2007) から嗅覚系 1 次中枢 (触角葉) で情報を受ける神経には、(i) 餌臭などの一般的な匂い情報を伝える神経と同じ経路をたどって、キノコ体や側角と呼ばれる嗅覚系 2 次中枢に情報を伝える神経 (medial and mediolateral antennal lobe tract projection neuron, mPN and mIPN) と、(ii) キノコ体や側角には投射せずに、ventrolateral protocerebrum (VLP) と食道下神経節に連絡する神経 (lateral antennal lobe tract projection neuron 4, IPN4) がある (図 1; Tanaka et al., 2012)。これまでに、mPN や mIPN の機能解析は行われ、両者の神経群が協調して雄の求愛を促進していることが明らかになってい

る (Wang et al., 2014)。それに対して、IPN4 の機能は未解明であった。そこで、我々は、IPN4 に着目して、その性行動における機能を調べることにした。

また、キイロショウジョウバエの雌も、雄が求愛している間に発するフェロモンや求愛歌などの感覚入力を統合することで、雄の求愛を受け入れるかどうか決定している。しかし、雌は、雄でみられるような、複数の行動要素を決められた順に発現するような行動パターンを示さない。我々は、雌においても、求愛に関連した複数の感覚情報が統合される過程を明らかにすべく、まず光刺激が雄フェロモンに対する応答にどのような変化をもたらすかを調べた。

2. 研究の目的

本研究は、キイロショウジョウバエの性行動をモデルにして、神経系が複数種の感覚情報を統

合して、行動を発現する機構を明らかにする。特に、嗅覚系の神経の機能解析を通じて、生得的行動を構成する個々の行動要素が、決められた順に発現するために必須の脳内神経機構を解明することに主眼を置いた。

3．研究の方法

キイロショウジョウバエの豊富な遺伝学的手法を用いることで、特定の神経の機能障害や機能亢進をした際の求愛行動の変化を観察する。また、GCaMP6sを用いたカルシウム・イメージングやガラス微小電極による細胞外電位の記録を通じて、その神経の匂い刺激に対する応答を調べる。以上の方法で、特定の嗅覚系神経の求愛行動における機能を解明する。

4．研究成果

本研究では、ハエ臭の情報を受け取る IPN4 の形態を詳細に解析することから研究を開始した。興味深いことに、雄の IPN4 は、雌と比較して軸索が約 2 倍太く、投射先での分枝の数も多いことが明らかになった。さらに、IPN4 に神経活性のレポーターである GCaMP6s を発現させることで、求愛を促進するパルミトリン酸に対する匂い応答を調べたところ、興奮性の応答が嗅覚系 1 次中枢（図 1 の触角葉）では雌雄ともに観察されたのに対して、軸索終末のある VLP では雄のみ観察された。このように、IPN4 は形態的にも匂い応答でも性的 2 型を示す神経であることが明らかになった。

さらに、IPN4 は求愛を促進するパルミトリン酸に反応するにも関わらず、求愛を抑制する神経であることが行動実験から示された。TrpA1 を発現させることで雄の IPN4 の活性を人為的に亢進すると、tapping をしても、片翅伸展が起こりにくくなることが明らかになった。逆に、tetanus toxin を発現させることで、IPN4 のシナプス伝達を阻害した雄は、tapping の回数が有為に減少し、tapping をしていないのに片翅伸展をする個体が増加した。また雌の姿は見えず、接触もできない条件でも、雌臭を感じると片翅伸展をする雄個体の割合が有為に増加した。さらに、脚に tapping の過程で得られるフェロモンをつけた状態で、パルミトリン酸による匂い刺激を与えると、IPN4 の匂い応答が抑制されることがカルシウム・イメージングで明らかになった。以上の結果から、雄の IPN4 の機能は、雄が雌の匂いを感じた際に興奮して、tapping をするまで片翅伸展が発現するのを抑えることであることが示された。

以上をまとめると、キイロショウジョウバエの雄の求愛行動は定型的で、多感覚情報を統合しつつ、複数の行動要素を決められた順に発現することで交尾に至る。性的 2 型のある IPN4 は、ハエの発するパルミトリン酸に反応するが、雄の求愛行動の進行をとめる。ただし、雄が脚で雌の非揮発性フェロモンを受容すると、IPN4 は抑制され、雄が求愛歌を奏できるようになる。このように、IPN4 が多感覚入力 AND-gate として働くことで、求愛中の行動要素の順番を決定していることを明らかにすることができた。

次に、ショウジョウバエの雌の嗅神経のうち、雄が発するフェロモン (*cis*-vaccenyl acetate) に反応する Or67d 受容体を発現する嗅神経 (Or67d 嗅神経) の応答解析を行った。非常に興味深いことに、光環境の変化に応じて *cis*-vaccenyl acetate 刺激中の Or67d 嗅神経の発火頻度が変わることを発見した。Or67d 嗅神経の匂い応答は、暗条件の発火パターンと比較すると、光刺激を受けた直後は発火頻度が減少し、光刺激を受容している間から光刺激が終わる瞬間までは発火頻度が上昇することがわかった。特に、光刺激中の発火頻度の上昇には、複眼の光受容細胞が光を受容することが必須でありながら、光受容細胞のシナプス出力は必須でないことが様々な突然変異体株を用いた解析から示された。さらに研究を進めていくと、複眼の光受容細胞が光を受容することによって生じる細胞外の電位の変化によって光情報が脳に伝えられていることが

明らかになった。このような神経伝達をエファプス伝達と呼ぶが、エファプス伝達が外界環境の文脈依存的に感覚応答を変化させることを初めて報告することができた。また、この光刺激による匂い応答の変化は、光刺激が開始された時は匂いの感覚入力を抑え、光刺激がなくなった瞬間は匂いの入力を亢進させることで、ハエに光環境の変化に応じて注意をむける対象を変えさせる機能を担っているのかもしれない。

以上の結果は、2報の論文にまとめ、Journal of Neuroscience 誌に発表することができた (Tanaka et al., 2021; Ikeda et al., 2022)。どちらの論文も編集者らによって featured article に選ばれて、This Week in The Journal に詳細な解説文が掲載された (Esch, 2021 and 2022)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanaka NK, Hirao T, Chida H, Ejima A	4. 巻 41
2. 論文標題 A Sexually Dimorphic Olfactory Neuron Mediates Fixed Action Transition during Courtship Ritual in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9732-9741
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.1168-21.2021	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 Ikeda Kazuaki, Kataoka Masaki, Tanaka Nobuaki K.	4. 巻 42
2. 論文標題 Nonsynaptic Transmission Mediates Light Context-Dependent Odor Responses in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 8621 ~ 8628
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.1106-22.2022	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tanaka NK, Hirao T, Chida H, Ejima A
2. 発表標題 A sexually dimorphic olfactory neuron mediates fixed action transition during courtship ritual in <i>Drosophila melanogaster</i>
3. 学会等名 Insect Olfaction and Taste in 24 Hours Around the Globe（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kataoka M, Ikeda K, Tanaka NK
2. 発表標題 Light evoked changes in the odor response patterns of olfactory sensory neurons in <i>Drosophila melanogaster</i>
3. 学会等名 日本神経科学学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------