

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23657055

研究課題名(和文) プロトコル・スワッピングによる動物心理の包括的理解

研究課題名(英文) Multi-protocol analysis for comprehensive understanding of animal psychology

研究代表者

江島 亜樹 (Ejima, Aki)

東京大学・農学生命科学研究科・講師

研究者番号：00548571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトを含む多くの動物では脳内のモノアミン神経伝達物質が「快」「不快」などの情動を決定している事が知られている。本研究では、ショウジョウバエオスの求愛行動制御機構を足がかりとして、動物の気分(情動)変化を脳内モノアミン量の変化をパラメーターとして表現する事を目標に行われた。

昆虫の主要モノアミンであるドーパミン、セロトニン、オクトパミン生合成に関わる遺伝子、各受容体の遺伝子の突然変異体の行動解析を行ったところ、複数の変異体において求愛率の低下が見られる事が確認され、その中でも一過的な作動剤投与によりオスの求愛行動を即効的に上昇させる神経伝達物質の同定に成功した。

研究成果の概要(英文)：In many animals including human, monoamine neurotransmitters are known to play important roles for emotional changes. In this study, using *Drosophila* male courtship behavior as a model system, we performed comprehensive behavioral analysis to reveal relationship between functions of neurotransmitter monoamines and animals' psychology. By behavioral analysis of mutant males in which amine synthesis and/or amine receptors, we found that impaired function of primary monoamines in insects, dopamine, serotonin and octopamine resulted into reduced courtship motivation. Among them, acute change of one neurotransmitter was critical for temporal control of behavior.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・動物生理・行動

キーワード：行動生理

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む多くの動物では脳内のモノアミン神経伝達物質が「快」「不快」などの情動を決定している事が知られており、その生理機構は、うつ病などの精神疾患の治療薬ターゲットとしても注目されている。本研究では、体内のモノアミンレベルによってオスの求愛意欲がどのように決定されているのか生理学的解析を行う。

キイロショウジョウバエのオスは求愛した相手メスが交尾を受け入れないと、徐々にそのメスへの興味を失い低い求愛率を示すようになる (Siegel & Hall 1979)。この経験に基づく行動変化は求愛学習と呼ばれ、キイロショウジョウバエにおける記憶学習機構の主な実験プロトコルの一つとして広く用いられて来た。応募者は、求愛学習においてオスは不愉快な経験 (交尾の不成立) を相手メスのフェロモン組成と連合わせ、フェロモン特異的な求愛率の低下を示す事を発見した (Ejima et al. 2005)。さらに、外部嗅覚器官である触角を除去したオスはこの求愛学習のフェロモン特異的な示さなくなる事から、フェロモン情報が嗅覚系において処理されている事を明らかにした。キイロショウジョウバエの嗅覚受容体神経 (嗅神経) は一次中枢領域である触角葉にその軸索を伸ばしている。触角葉は局所介在神経、投射神経の他にもモノアミン分泌神経の投射を受けており、ここで嗅覚情報の最初の制御・修飾が行われているとされている (図1)。

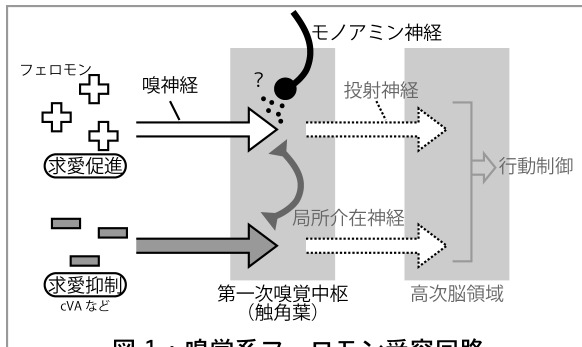


図1: 嗅覚系フェロモン受容回路

2. 研究の目的

キイロショウジョウバエを含む多くの昆虫ではドーパミン、セロトニン、オクトパミンなどのモノアミンが、闘争、忌避、覚醒と睡眠、交尾など様々な行動決定に関与している事が知られている。特に、2003年、ショ糖による報酬学習および電気ショックを用いた忌避学習の実験系から、キイロショウジョウバエの「快」「不快」が脳内のオクトパミンとドーパミン量によって決定されている事が示唆されており (Schwaerzel et al. 2003) キイロショウジョウバエの気分や情動をモノアミンの種類と量で再現する事が可能である事が示された。しかし、この論文を含め、モノアミンの行動制御機構に関する

これまでの研究は、主にモノアミンの生成に関与する遺伝子やモノアミン受容体遺伝子の突然変異体、もしくは、モノアミン分泌神経の活性を恒常的に阻害した広範な機能低下の影響を解析したものであった。そこで、本研究では、脳内の特定の部位におけるモノアミン情報伝達・修飾機能を局所的に解析するため、キイロショウジョウバエの遺伝子強制系を用いて一部の神経グループ特異的に神経活性マーカーを発現させ、リアルタイムイメージングを行う。後頭部に観察窓を開けた生きた動物に各モノアミン作動剤もしくは拮抗剤を投与し、匂い刺激への応答パターンの変化を解析する事により、脳内に分泌されたモノアミンが実際にどのように感覚情報を修飾し、行動決定を制御しているのか明らかにする。行動学の分野でも多く用いられているモデル動物であるキイロショウジョウバエの情動生理機構を明らかにする事で、神経行動学実験の基盤を広く提供すると期待される。

3. 研究の方法

オスの求愛意欲は脳内モノアミンのシグナル量減少によってどのように影響を受けるのか、昆虫の主要モノアミンであるドーパミン、セロトニン、オクトパミン生合成に関わる遺伝子、各受容体の遺伝子の突然変異体の行動解析を行う。ただし、通常の遺伝子突然変異体では、発生を通じてシグナル量の低下が起こるため、恒常性維持機構による補完を受け行動レベルでは変異の影響が観察されない可能性がある。そこで、次に、各モノアミンの拮抗剤もしくは作動剤をショ糖液に加えて動物に給餌する事により、脳内モノアミン量を一時的に変化させ、求愛意欲への即効的な影響を調べる。さらに、モノアミン量の下がった突然変異体に作動剤を与え、変異体の表現型が回復するかどうか調べる事によってモノアミンの作用を確認する。また、キイロショウジョウバエの GAL4/GAL80/UAS 強制発現系を用い、脳の特定領域において成虫期に限ってモノアミン生合成や受容体発

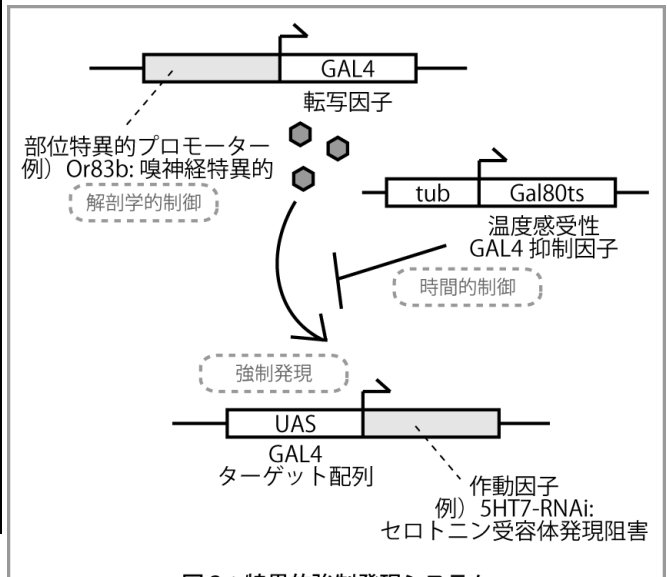


図3: 特異的強制発現システム

現を阻害し(例:図3)体内モノアミンレベルの増減による行動への影響を観察する。キロショウジョウバエの嗅神経は嗅覚系一次中枢領域である触角葉の特定領域に軸索を伸ばし糸球体構造を作っている。近年、キロショウジョウバエにおいて性フェロモンに応答する2つの嗅神経グループが同定された(van der Goes van Naters & Carlson 2007)。1つはハエの匂い全般に反応する求愛促進グループで、もう1つはオスフェロモン特異的に反応し、求愛意欲を低下させる求愛抑制グループである。求愛行動はこの2つの回路のシグナルのバランスによって決定されると考えられている(図1)。触角葉は動物の「気分」を左右するモノアミン分泌神経の投射を受けていることから、求愛学習における不成功な求愛活動がオスの気分を降下させ、それにより嗅覚系におけるフェロモン感受性を低下させている可能性がある。そこで、触角葉におけるモノアミンの役割を直接的に調べるため、神経活性マーカーである synaptotagmin もしくは GCaMP 遺伝子 (Miesenböck 1998, Nakai 2001) を用いた in vivo リアルタイムイメージングを行う(図2)。

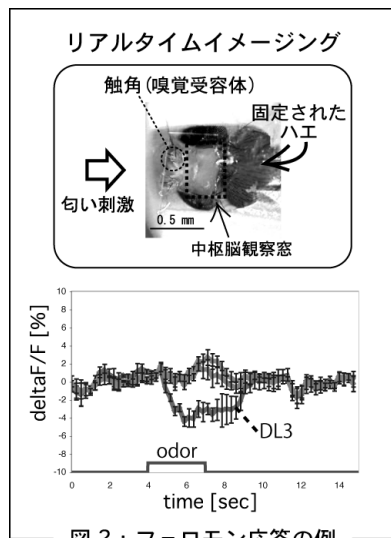


図2: フェロモン応答の例

4. 研究成果

オスの求愛意欲は脳内モノアミンのシグナル量減少によってどのように影響を受けるのか、昆虫の主要モノアミンであるドーパミン、セロトニン、オクトパミン生合成に関わる遺伝子、各受容体の遺伝子の突然変異体の行動解析を行ったところ、複数の変異体において求愛率の低下が見られる事が確認された。ただし、通常の遺伝子突然変異帯では発生を通じてシグナル量の低下もしくは増強が起こるため、恒常性維持機構による補完を受け行動レベルでは変異の影響が観察されない可能性があるため、次に、各モノアミンの拮抗剤もしくは作動剤をショ糖液に加えて動物の給餌する事により、脳内モノアミン量を一時的に変化させ、求愛意欲への即効的

な影響を確認したところ、先に関与が指摘されたモノアミンのうちの一つがオスの求愛意欲を上昇させる事を確認した。

さらに、モノアミン量の下がった突然変異体に作動剤を与え、変異体の表現型が回復するかどうか調べる事によってモノアミンの作用が確かなものである事を多重に検定する事に成功した。

当初の予定通り包括的変異体スクリーニングにより複数の変異体の抽出に成功した。そこで関与が示唆された脳内モノアミンについて、作動剤・阻害剤の一時的添加によっても同様の行動変化が生じる事が確認され、また変異体の表現型回復にも寄与した事から、得られた知見は確かなものであり、脳内モノアミンであるドーパミンの増減がオスの求愛意欲の増減と相関を持つという新しい知見を見いだした。これをもとに、ドーパミンがオスのフェロモン感受性を制御しているという可能性について研究を進めていたが、2012年8月、ウィーンの研究グループにより同様の内容の論文が発表され (Keleman, Nature 2012) さらにドーパミンがハエの逃避行動に関与するという報告 (Liu, Nature 2012) がなされ、ハエ情動の存在を探るといふ本研究のテーマの有効性が立証される一方、より精度が高く綿密な結果を求められる状況になっている事から、行動決定に関与が示唆された脳内モノアミンについて、リアルタイムイメージングにより神経応答の直接的解析を進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 4件)

Tanaka NK, Suzuki E, Dye L, Ejima A, and Stopfer M. (2012) Dye-Fills Reveal Additional Olfactory Tracts in the Protocerebrum of Wild-Type *Drosophila*. *Journal of Comparative Neurology*. 520(18):4131-4140. 査読あり

Ejima A. (2012) Neuroscience: Lessons from heartbreak. *Nature* 489(7414): 38-9. 査読なし review article

Ejima A, Griffith LC. (2011) Assay for courtship suppression in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Protocols*: doi: 10.1101/pdb.prot5575. 査読あり

Slawson JB, Kuklin EA, Ejima A, Mukherjee K, Ostrovsky L, Griffith LC. (2011) Central regulation of locomotor behavior of *Drosophila melanogaster* depends on a CASK isoform containing CaMK-like and L27 domains. *Genetics* 187(1):171-184. 査読あり

〔学会発表〕(計 2 件)

江島亜樹、感覚入力によって段階的に制御されるショウジョウバエ生殖行動、第 7 回 Motor Control 研究会、2013 年 9 月 5 日、東京

江島亜樹、オスの求愛を環境適応的に制御する嗅覚系アセチルコリン入力：ハエを用いた心理学、第 4 回分子高次機能研究会：昆虫脳という小宇宙、2011 年 8 月 26 日、阿蘇

〔その他〕

ホームページ等

ホームページ等

公開授業：失恋の思い出：ショウジョウバエから学ぶ フェロモンと記憶の関係、九州大学、エクセレント・スチューデント・イン・サイエンス育成プロジェクト、2012 年 10 月 20 日

ワークショップオーガナイザー（共同オーガナイザー：九州大学石原健）：意思決定のヒラメキ：定量的行動解析と蛍光イメージングで探る情報処理の神経基盤、日本分子生物学会、2012 年 12 月 13 日、福岡

学会主催（大会長）：第五回分子高次機能研究会～高次機能を生み出すエコプロセッサ～、2012 年 8 月 27～29 日、大津

6 . 研究組織

(1)研究代表者

江島 亜樹 (EJIMA, Aki)

東京大学・農学生命科学研究科・講師

研究者番号：00548571