

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25710001

研究課題名(和文) ショウジョウバエ音識別システムのトポロジー構造と情報処理ダイナミクスの包括解明

研究課題名(英文) Exploring the dynamics and structure of the auditory system in fruit flies

研究代表者

上川内 あづさ (Kamikouchi, Azusa)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00525264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、音情報の識別を担う神経回路機構を理解する目的で、本申請者が独自に実験モデルとして基盤整備を行ったショウジョウバエ聴覚系を用いた研究を進展させ、脳において同種交信音の識別を担うことが予想される脳内部の聴覚神経回路の同定と機能解明を行った。その結果、世界で初めて、情報の流れる向き情報も加味した、ショウジョウバエ二次聴覚神経回路地図を構築することができた。この結果は、動物一般の聴覚システムの理解を進める上で、基礎的な知見を提供しており、聴覚情報処理研究に多大なインパクトをもたらした。

研究成果の概要(英文)：To explore the neural mechanism how the brain discriminates acoustic information, we have been using the fruit fly as an excellent model animal. To further develop the research of the auditory system using fruit flies, we mapped the auditory neural circuit in the fly brain at the single-cell level. By doing so we established a comprehensive map of the central auditory neural circuits, which would serve a basic knowledge to analyze the mechanism of auditory information processing in the brain in general.

研究分野：neuroscience

キーワード：聴覚情報処理

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含めた多くの動物は、コミュニケーション手段として音を利用する。それらの音の多くは種に固有のパターンを持つため、その成立には、受け取った音から同種由来の音を識別・抽出する神経機構が必要である。実際、ヒトやサルなどの霊長類において、同種の音声信号に選択的に応答を示す脳領域が同定されている。また鳥類や昆虫も、同種の音に選択的に応答し、行動を起こす。では、どのような神経回路の情報処理がどのように組み合わせられた結果、種に固有の音を識別できるのだろうか？脳における同種交信音の識別は、音を構成する要素の特徴を時系列に沿って解析する多様な音選別フィルター、といった機能モジュール群が有機的に組み合わせられて達成されると考えられる。しかし、各々の機能モジュールの性質とその神経回路実体、ならびに機能モジュール群の組み合わせが形成するネットワークトポロジーといった静的な性質や、そこから生じる情報処理のダイナミズムといった動的なプロセスの包括的な理解は未だ達成されていない。

2. 研究の目的

本研究者が独自に実験モデルとして基盤整備を行ったショウジョウバエ聴覚系を用いた研究をさらに発展させて、脳において同種交信音の識別を可能にする神経基盤を解明する。行動遺伝学、分子遺伝学、神経解剖学、神経生理学、神経遮断技術、光/熱遺伝学を融合させることで、音情報処理システムの内部構造の推定とその実験的検証を行う。内部構造の実体を構成する機能モジュール群を実際の神経回路として同定し、それら機能モジュール群それぞれの性質、形成する回路トポロジーや互いの階層構造、情報処理様式、ならびに多様な内的・外的摂動によるシステムの揺らぎを解明することで、音識別システムの動作原理とその動的な振る舞いを包括的に理解する。

3. 研究の方法

音識別がどのような特性を持つ音選別フィルターの組み合わせで成立するかを推定する目的で、音要素を体系的に改変した人工音を用いて大規模な聴覚行動解析を行う。また分子遺伝学を組み入れた神経解剖学により、聴覚神経回路を構成する神経細胞群の同定、構成するネットワークトポロジーおよびその階層構造の解明も進める。まずはこれら解析によりシステムの内部構造の推定と全体構造の把握を行い、音識別システムを特定の回路構造を持つ機能モジュールの組み合わせとして理解する。次は各機能モジュールについて、カルシウムイメージングを用いた応答特性の解析、特異的な機能阻害などにより人為的活性化を起こした個体の聴覚行動変化の詳細解析を進め、推定した音選別フィルターを実際の神経回路と対応づける。さらに、

他の感覚刺激や脳内液性因子、音への慣れや神経機能を担う遺伝子の変異などの内的・外的摂動の付与に伴う応答性の変化を細胞レベル、個体レベルで解析する。

4. 研究成果

(1) 近縁種間における、音への応答行動の比較解析

大規模な聴覚行動解析を行うための、聴覚行動自動解析ソフトウェアを、本研究者は独自に開発した。これを利用して、キイロショウジョウバエ、並びに比較対象として、その姉妹種であるオナジショウジョウバエについて、聴覚行動を体系的に解析した。これらの種間では、求愛歌を構成するパルスソングにおいて、パルス音どうしの間隔がそれぞれ異なることが知られている。そこで、パルス音どうしの間隔を体系的に改変した人工音にそれぞれどのように応答するかを定量評価した。キイロショウジョウバエ、オナジショウジョウバエはそれぞれ、平均で 35 ミリ秒、55 ミリ秒のパルス間隔の求愛歌を持つ。これらを含む人工音を用いて実験を行った結果、それぞれの種は、それぞれ異なる時間パターンに選択性を示すことを発見した (図 1)。以上の結果により、それぞれの種は、種に固有な求愛歌などの交信音の識別システムを持っていることが示された。この研究成果は、どのような神経細胞群の違いにより異なる性質の音識別システムが生じているかを解明するための起点になると期待できる。

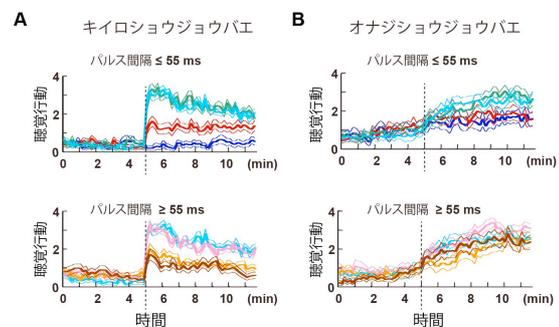


図 1 ショウジョウバエが示す聴覚行動
純音(青色)、およびパルス間隔 15 ms (赤色)、35 ms (赤色)、55 ms (水色)、75 ms (ピンク色)、95 ms (オレンジ色)、105 ms (茶色)の人工パルスソングへの応答を示す。動画撮影開始 5 分後から音刺激を開始した (点線)。

(2) 二次聴覚神経回路地図の作成

次に、このような選択性を生み出す音情報処理システムを構成する要素を大規模に同定する目的で、キイロショウジョウバエの脳内部の聴覚ニューロンの体系的な同定を進めた。アメリカ、オーストリア、日本のグループがそれぞれ所有する、合計 16,600 種類のキイロショウジョウバエ GAL4 系統の脳画像データベースから抽出した系統群を利用し

て、一次聴覚中枢に投射する脳内部の神経細胞群を網羅的に検索した。GAL4/UAS法、と呼ばれる分子遺伝学的手法を利用したモザイク解析を行うことで、それぞれの系統が標識する細胞群の中の一部の細胞のみにマーカータンパク質GFPを発現させ、神経細胞の構造を三次元画像データとして集積し、その投射パターンを解析した。その結果、キイロショウジョウバエの脳において、一次聴覚中枢と脳の他の領域を連絡する「投射神経細胞」と呼ばれる細胞群や、一次聴覚中枢どうしを連絡する「局所介在神経細胞」と呼ばれる細胞群を含めて、全44種類の二次聴覚神経細胞を同定した(図2)。これら細胞群の投射様式や、形成する神経回路構造を単一細胞レベルで詳細に解析した結果、キイロショウジョウバエの二次聴覚神経経路は、(1)左右脳の密な連絡、(2)周波数情報の保持と収斂、(3)複数の二次聴覚中枢への投射、(4)視覚や味覚などの他の種類の感覚情報との統合、といった特徴を持つことがわかった。これら複数の神経経路が、それぞれ機能モジュール群を構成し、音の時間パターンや音圧変化など、音情報を構成する様々な要素情報を処理していることが予想できる。以上の結果により、キイロショウジョウバエにおいて、音の各要素が、それぞれ別々の神経経路で情報処理されている可能性が提案できた。なお、今回同定した二次聴覚神経細胞群の三次元画像データは、イギリスのグループが運営するデータベースから公開する予定である。

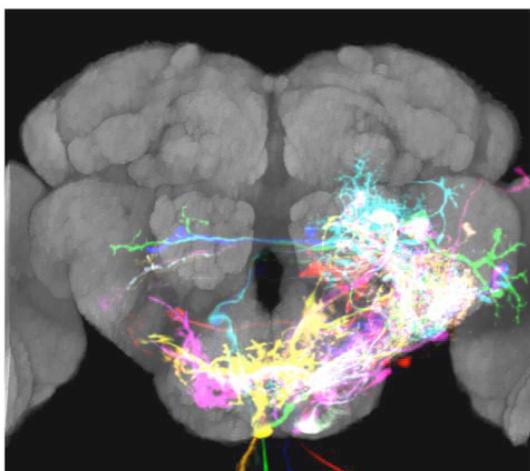


図2 キイロショウジョウバエの二次聴覚神経細胞群

今回同定した神経細胞群を、それぞれ別々の色で重ね合わせたもの。灰色はキイロショウジョウバエの脳(正面像)の外形を示す。

(3) 新しい聴感覚神経細胞群の発見
スピンドイスク型共焦点レーザー顕微鏡を利用したカルシウムイメージング装置により、高感度で脳内部の神経活動を捉える実験系の構築に成功した。これを利用して、これまでに未解明だった聴感覚ニューロンのサブグループDと呼ばれる神経細胞集団の応答

特性を解析した。その結果、サブグループD神経細胞群は、キイロショウジョウバエが発する求愛歌を構成する周波数成分(100Hz, 200Hz)を含む中域周波数に強く応答し、それよりも低い音や高い音への応答は弱まることを発見した(図3)。また、これらの細胞群は、パルスソングや触角の前方への傾きにも応答することを見出した。さらに、二次聴覚神経細胞群のカルシウムイメージングを行い、周波数特性やパルス間隔特性など、多様な応答性を見出したとともに、神経遮断技術、光/熱遺伝学を用いて特定の聴覚神経細胞の活動を操作した個体の行動解析法を確立した。以上により、ショウジョウバエ聴覚系がもつ様々な特性を、世界で初めて発見した。

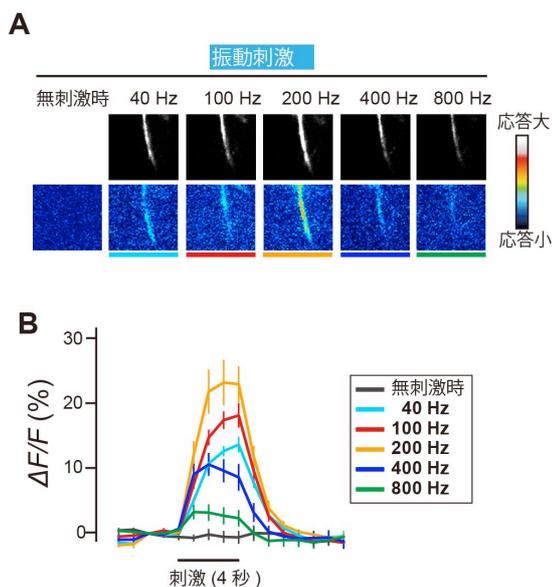


図3 サブグループD神経細胞群の応答特性 (A) GCaMP3の蛍光強度変化により、神経活動を計測した。(B) それぞれの周波数での振動刺激に対する、応答強度の時間変化。

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6件、全て査読あり)

1. Organization of projection neurons and local neurons of the primary auditory center in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Matsuo E, Seki H, Asai T, Morimoto T, Miyakawa H, Ito K, Kamikouchi A. The Journal of comparative neurology 524(6) 1099-1164. 2016年4月
2. Auditory system of fruit flies. Ishikawa Y, Kamikouchi A. Hearing research. 2015年11月
3. The Nutrient-Responsive Hormone CCHamide-2 Controls Growth by

- Regulating Insulin-like Peptides in the Brain of *Drosophila melanogaster*. Sano H, Nakamura A, Texada MJ, Truman JW, Ishimoto H, Kamikouchi A, Nibu Y, Kume K, Ida T, Kojima M. PLoS genetics 11(5) e1005209. 2015年5月
4. Identification of novel vibration- and deflection-sensitive neuronal subgroups in Johnston's organ of the fruit fly. Matsuo E, Yamada D, Ishikawa Y, Asai T, Ishimoto H, Kamikouchi A. Frontiers in physiology 5 179 2014年
 5. Selectivity and plasticity in a sound-evoked male-male interaction in *Drosophila*. Yoon J, Matsuo E, Yamada D, Mizuno H, Morimoto T, Miyakawa H, Kinoshita S, Ishimoto H, Kamikouchi A. PloS one 8 e74289 2013年
 6. Auditory neuroscience in fruit flies. Kamikouchi A. Neuroscience research 76(3) 113-118 2013年7月
- [学会発表] (計41件)
1. Eiko Matsuo, Haruyoshi Seki, Tomonori Asai, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. Auditory map in the central nervous system of *Drosophila*. 2nd Asia-Pacific Pacific Drosophila Research Conference (APDRC) ソウル H25. 5/13-16
 2. Daichi Yamada, Eiko Matsuo, Azusa Kamikouchi. Elucidation of the response characteristics of subgroup-D sensory neurons in the fruit-fly ear. 2nd Asia-Pacific Pacific Drosophila Research Conference (APDRC) ソウル H25. 5/13-16
 3. Eiko Matsuo, Haruyoshi Seki, Tomonori Asai, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. The auditory circuit in the central nervous system of *Drosophila*. Neuro2013 京都 H25. 6/20-23
 4. Daichi Yamada, Eiko Matsuo, Azusa Kamikouchi. Elucidation of the response characteristics of auditory nerve cells in the *Drosophila* brain. Neuro2013. 京都. H25. 6/20-23
 5. 上川内あづさ ショウジョウバエ聴覚行動のし好性とその分子基盤. 第六回分子高次機能研究会 軽井沢. H25. 9/17-19
 6. Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi, Daisuke Yamamoto. Neuronal Mechanisms Underlying Species Specificity of Mating Preference. 11th Japanese Drosophila Research Conference 金沢 2014.06.04
 7. Yuki ISHIKAWA, Yusuke YONEYAMA, Azusa KAMIKOUCHI. Species Specificity of Male Auditory Response in *Drosophila*. Neurofly2014. クレタ島. 2014.10.08
 8. Azusa Kamikouchi, Nao Morimoto, Hiroshi Ishimoto. The temporal pattern of pulse bursts modifies the level of suppression in a sound-evoked chaining behavior of fruit flies. 11th Japanese *Drosophila* Research Conference. 金沢 2014.06.04
 9. Natsuki Okamoto, Yuki Ishikawa, Azusa Kamikouchi. Functional analysis for the chaining behavior of the IR84a-expressing olfactory sensory neurons. 11th Japanese Drosophila Research Conference. 金沢. 2014.06.04
 10. Eiko Matsuo, Haruyoshi Seki, Tomonori Asai, Takako Morimoto, Hiroyoshi Miyakawa, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. The auditory circuit in the central nervous system of *Drosophila*. 11th Japanese Drosophila Research Conference. 金沢 .

- 2014.06.04
11. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Azusa Kamikouchi. The pattern of antennal movement is spatially represented in the brain of fruit flies. International Congress of Neuroethology. 札幌. 2014.07.29
 12. Eriko Matsuo, Daichi Yamada, Azusa Kamikouchi. A spatial representation of the pattern of antennal movement in the fruit-fly brain. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society 横浜 2014.09.12
 13. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Yuki Ishikawa, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Identification of a novel vibration and deflection center in the brain of the fruit fly. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. 横浜 . 2014.09.12
 14. Eriko Matsuo, Haruyoshi Seki, Takako Morimoto, Kei Ito, Azusa Kamikouchi. Auditory Neural Circuit in the Fly Brain. Neurofly2014. クレタ島 . 2014.10.08
 15. Daichi Yamada, Eriko Matsuo, Yuki Ishikawa, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Ca²⁺ imaging analysis of the auditory neurons in the fly brain. Neurofly2014. クレタ島. 2014.10.08
 16. Azusa Kamikouchi. Neuronal encoding of sound and gravity in the fruit fly. 2015 ARO Midwinter Meeting Baltimore 2015.02.21
 17. Azusa Kamikouchi. The organization of auditory neural circuits in the fruit-fly brain. 第 8 8 回日本薬理学会年会. 名古屋. 2015.03.20
 18. Hiroko Sano, Akira Nakamura, Michael Texada, Jim Truman, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi, Kazuhiko Kume, Takanori Ida, Masayasu Kojima. CCHamide-2 controls the synthesis and secretion in Insulin-like peptides in *Drosophila melanogaster*. The 35th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity. 宮崎. 2014.10.24
 19. Nao Morimoto, Azusa Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of the fruit fly. International Congress of Neuroethology. 札幌. 2014.07.29
 20. Xiaodong Li, Hiroshi Ishimoto, Azusa Kamikouchi. Auditory plasticity induced by long-term sound exposure in *Drosophila*. Systems Neurobiology Spring School 2015. 京都 2015.3.6
 21. 上川内あづさ. Auditory neural pathways in the fly brain. 3rd Asia-Pacific *Drosophila* Research Conference (APDRC) "Beijing, China" 2015.05.14
 22. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of fruit flies. Modulation of Neural Circuits & Behavior The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong. 2015.06.23
 23. E. Matsuo, H. Seki, T. Asai, T. Morimoto, H. Miyakawa, K. Ito, A. Kamikouchi. Auditory neural circuit in the fruit-fly brain. 第 3 8 回日本神経科学大会. 神戸. 2015.07.28
 24. H. Ishimoto, Y. Kondo, A. Kamikouchi. Central brain neurons regulate female courtship receptivity. 第 3 8 回日本

- 神経科学大会. 神戸. 2015.07.28
25. Y. Ishikawa, N. Okamoto, A. Kamikouchi. The establishment of behavioral analysis for auditory response of single fruit flies; SMART (Single Male Auditory Response Test). 第38回日本神経科学大会 神戸. 2015.07.29
 26. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of fruit flies. 第38回日本神経科学大会 神戸国際会議場 2015.07.29
 27. 上川内あづさ. ショウジョウバエを用いた聴覚神経回路の理解 第27回高遠・分子細胞生物学シンポジウム 延暦寺会館 2015.08.26
 28. 上川内あづさ. ハエにおける音脈分擬 第3回神経回路合同研究会 名古屋大学理学部. 2015.09.11
 29. 上川内あづさ. The central auditory pathways of fruit flies H27年度新学術領域研究国際シンポジウム 京都大学芝蘭会館 稲盛ホール 2015.11.06
 30. N. Morimoto, A. Kamikouchi. Plasticity in the auditory behavior of fruit flies. 2016 Association for Research in Otolaryngology MidWinter Meeting. サンディエゴ, U S A. 2016.02.20

他 11 件

〔図書〕 (計 6 件)

1. Eberl DF, Kamikouchi A, Albert JT. Auditory Transduction. In: Insect hearing (Eds: Pollack GS, Mason AC, Popper AN, Fay RR). Series: Springer Handbook of Auditory Research, Vol. 55, In press.
2. Kamikouchi A, Ishikawa Y. Hearing in *Drosophila*. In: Insect hearing (Eds: Pollack GS, Mason AC, Popper AN, Fay RR). Series: Springer Handbook of

3. 石元広志、上川内あづさ「音への応答行動を測る 求愛歌は効果あり？ ショウジョウバエの聴覚テスト：オスの求愛行動を利用した実験」In: 研究者が教える動物実験 (日本比較生理生化学会編) 2015.
4. 松尾恵倫子、上川内あづさ「重力への応答行動を測る ショウジョウバエは上に逃げる？ ショウジョウバエを使った反重力走性の測定：上方向に移動する割合を決定する」In: 研究者が教える動物実験 (日本比較生理生化学会編) 2015.
5. 動物行動の分子生物学 (新・生命科学シリーズ) 久保 健雄, 上川内 あづさ, 竹内 秀明, 奥山 輝大 裳華房 2014年7月 ISBN:4785358580
6. Methods in Neuroethological Research. Kamikouchi A, Fiala A. Springer Japan. 2013年7月 ISBN:978-4431543305

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上川内あづさ (Kamikouchi, Azusa)
名古屋大学大学院・理学研究科・教授
研究者番号：00525264