

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18802

研究課題名(和文) 先天性発声の制御機構の多階層的理解

研究課題名(英文) Multi-level understanding of innate vocalization

研究代表者

新村 毅 (Shimmura, Tsuyoshi)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50707023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題の目的は、ニワトリのCrowingをモデルとして、先天性発声の制御機構を多階層的に理解することである。集団レベルにおいては、祖先種である赤色野鶏を用いて、Crowingが体内時計および社会的順位によって制御されていることを明らかにした。遺伝子発現レベルにおいては、鳴く個体および鳴かない個体の脳内中枢を用いてRNA-seqを実施し、それをインフォマティクスにより解析することで、発声のモチベーションを制御する遺伝子の候補を抽出した。ゲノムレベルにおいては、発声のパターンを支配している分子基盤を明らかにするため、正常あるいは特殊な発声を示すニワトリ品種の発声およびDNA血液を収集した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research project is to understand the control mechanism of innate vocalization at multi-level by using rooster crowing "Cock-a-doodle-doo" as a model. At group level, we revealed that crowing is controlled by the circadian clock and social rank in the Red jungle fowls, ancestral species of chicken. At gene expression level, we performed RNA-seq using the intracerebral centers of individual showing and not showing crowing, and analyzed it using informatics to extract candidate genes that control motivation of vocalization. At genome level, in order to clarify the molecular basis that regulates the pattern of vocalization, we recorded crowing from various chickens showing normal or unique vocalization and also collected blood for extracting DNA.

研究分野：システム行動生物学

キーワード：行動 発声 社会 順位 RNA-seq GWAS 鶏 リズム

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトなどの哺乳類に留まらず、鳥類から魚類に至るまで、多くの動物は、音声を用いてコミュニケーションを行っている。そのため、発声の破綻は、その個体が生存する上で重大な損害をもたらす、ヒトにおいても発声障害は大きな社会的問題となっている。動物行動学者であるコンラート・ローレンツらがノーベル賞を受賞した1973年以降、動物の多様な発声は多くの研究者を魅了し続け、基本的な性質の理解が進んだ。しかしながら、これまで、その分子機構については明らかにされてこなかった。

## 2. 研究の目的

動物の中では、ヒト・クジラ・鳴禽類(Song birds)は例外的に発声を学習することができるものの、イヌの「ワンワン」やカエルの「ゲコゲコ」のように、ほとんどの動物は学習をしなくとも種特有な発声形態を獲得することができる。この生まれながらに備わる発声能力のことを先天的発声と言うが、マウスを含め、この先天的発声の分子メカニズムはいかなる生物においても明らかにされていない。申請者は、ニワトリの「コケッコウ」(以下Crowingと記す)が先天的発声を理解する上で極めて有用なモデルであることを見出し、その制御機構の基盤を構築した。本研究課題では、その研究成果に基づき、集団レベル、遺伝子発現レベル、ゲノムレベルの各階層におけるメカニズムを明らかにし、先天的発声の制御機構の全容を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

・集団レベル：ショウジョウバエやマウスの周期的な活動は、時計遺伝子を同定するための表現型となっており、その背後にある分子メカニズムも良く研究されている。しかしながら、興味深いことに、自然環境下で活動リズムを調べると、実験室での結果に基づいて立てられた概日行動に関するいくつかの重要な仮設が、自然環境下では裏付けられない。これまでに、家畜化されたニワトリを用いた先行研究において、実験室環境下では、雄鶏が朝を告げるタイミングは、概日時計によって制御されていることを明らかにしていた。しかしながら、そのことが自然環境下でも観察されるかどうかはわかっていなかったため、赤色野鶏を用いて実験室下および半野外条件下におけるCrowingのリズムを観察した。

・遺伝子発現レベル：先天的発声のモチベーションを制御している遺伝子を同定するため、Crowingを示す個体・示さない個体の脳内中枢を用いて、RNA-seqを実施し、得られ

るデータを、バイオインフォマティクスを用いて解析した。

・ゲノムレベル：先天的発声のパターンを制御している分子基盤を明らかにするため、発声のパターンが異なるニワトリ品種を探索し、DNA抽出のための血液サンプリングを実施する共に、全ゲノムデータを用いた集団遺伝学的解析手法を確立することとした。

## 4. 研究成果

・集団レベル：赤色野鶏を用い、まず、家畜化されたニワトリと同様の発声のリズムが、実験室環境下の赤色野鶏においても観察されることを確認した。すなわち、明暗条件下においては点灯前から予知的に鳴き始め、恒薄明条件下では24時間より短い周期で自由継続するという結果を得た。続いて、半自然環境下である動物園での観察から、鳴く回数が季節的に変動するものの、いずれの季節においても日の出の時刻より前から予知的に鳴き始めることがわかった。以上のことから、赤色野鶏が朝を告げる時刻も体内時計によって制御されていることが示唆された。(Ito et al. Animal Science Journal 2017)

・遺伝子発現レベル：Crowingはテストステロン依存的行動であり、雄鶏はCrowingを示す一方で雌鶏は示さないこと、また、ヒヨコでもテストステロンの慢性投与によりCrowing様の発声を示すことを確認した。RNA-seqにより、これらのCrowingを示す個体と示さない個体で共通して発現変動している遺伝子を抽出した。また、in situ hybridizationにより時空間的な遺伝子発現解析を実施したところ、同定した遺伝子が脳内中枢において発現変動していることを確認した。さらに、同定した遺伝子を特異的に発現増加させる脳室内投与を行ったところ、先天的発声が増加することが明らかになった。

・ゲノムレベル：発声のパターンが特殊なニワトリ品種を探索し、それらのニワトリが維持されている現地において発声の記録を行う共に、音声解析ソフトを用いて可視化および定量化を行った。それと同時に、DNA抽出のための血液のサンプリングも実施した。さらに、スウェーデン・ウプサラ大学のリーフ・アンダーソンらと共に、ニワトリの全ゲノム情報(Re-sequence)を用いた集団遺伝学的解析方法を実施し、スーパーコンピューターを用いてコマンドラインにより解析する手法を確立した。

## 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 9 件)

Shimmura T, Nakayama T, Shinomiya A, Yoshimura T\*. Seasonal changes in color perception. *General and Comparative Endocrinology* 260, 171-174 (2018). 査読有り.

Shimmura T, Maekawa N, Hirahara S, Tanaka T, Appleby MC. Development of furnished cages re-using conventional cages for laying hens: behaviour, physical condition and productivity. *Animal Science Journal* 89, 498-504 (2018). doi: 10.1111/asj.12955. 査読有り.

多田慎吾, 新村毅. 応用動物行動学における統計解析の進展 後編: 一般化線形モデル. *Animal Behaviour and Management* 53, 117-126 (2017). 査読有り.

多田慎吾, 新村毅. 応用動物行動学における統計解析の進展 前編: 一般線形モデル. *Animal Behaviour and Management* 53, 105-116 (2017). 査読有り.

Shimmura T, Nakayama T, Shinomiya A, Fukamachi S, Yasugi M, Watanabe E, Shimo T, Senga T, Nishimura T, Tanaka M, Kamei Y, Naruse K, Yoshimura T\*. Dynamic plasticity in the phototransduction pathway regulates seasonal changes in color perception. *Nature Communications* 8 (Article number: 412), 1-7 (2017). doi:10.1038/s41467-017-00432-8. 査読有り.

Ito S, Hori S, Hirose M, Iwahara M, Yatsushiro A, Matsumoto A, Tanaka M, Okamoto C, Yayou K, Shimmura T. Involvement of circadian clock in crowing of red jungle fowls (*Gallus gallus*). *Animal Science Journal* 88, 691-695 (2017). DOI: 10.1111/asj.12677. 査読有り.

新村毅, 吉村崇. なぜ動物は種特有の鳴き方ができるのか? ニワトリの「コケッコー」を用いた先天的発声の研究. *実験医学* 34 (4; 2016 年 3 月号), 618-621 (2016). 査読有り.

Shimmura T, Maruyama Y, Hujino S, Kamimura E, Uetake K, Tanaka T. Persistent effect of broody hens on behaviour of chickens. *Animal Science Journal* 86, 214-220 (2015). doi: 10.1111/asj.12253. 査読有り.

Shimmura T, Ohashi S, Yoshimura T. The highest-ranking rooster has priority to announce the break of dawn. *Scientific Reports* 5 (Article number: 11683), 1-9 (2015). doi:

10.1038/srep11683. Nature Publishing Group (NPG) の注目の論文に選定されると同時に、NPG から世界各国の報道機関にプレスリリースする論文として選定、Top 100 read Scientific Reports article in 2015 に選出、Top read Scientific Reports article in Japan、国内メディア: TV3 社 (フジテレビ, 日本テレビ (Zip! なーるほどマスカレッジ), NHK (おはよう日本)), 新聞掲載 3 社 (読売新聞, 中日新聞, 毎日新聞), Web 掲載多数 (Yahoo! JAPAN など); 海外メディア: アメリカ, フランス, スペイン, 中国など). 査読有り.

〔学会発表〕(計 14 件)

新村毅. 鳥類の発声の分子制御機構の解明に向けて. 第 41 回鳥類内分泌研究会. 東京農工大学農学部 (東京都府中市). 2017 年 12 月 17 日. (招待講演)

新村毅. 集団遺伝学を用いた行動の分子基盤の解明の試み: 攻撃行動と先天的発声を例に. 広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センター 第 20 回 JAB 特別セミナー. 広島大学生物生産学部 (広島県東広島市) 2017 年 10 月 25 日. (招待講演)

新村毅, 中山友哉, 四宮愛, 深町昌司, 八杉公基, 渡辺英治, 下貴行, 千賀琢未, 西村俊哉, 田中実, 亀井保博, 成瀬清, 〇吉村崇. メダカの体色と色覚の季節適応. 日本動物学会第 88 回大会シンポジウム「動物の体色と環境適応」. 富山県民会館 (富山) 2017 年 9 月 21-23 日. (招待講演)

新村毅. 共喰いの分子基盤の解明に向けて. 第 3 回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会. 岡崎コンファレンスセンター (愛知県岡崎市) 2017 年 8 月 25-26 日. (招待講演)

Shimmura T. Toward multi-level understanding of animal behaviour. IMBIM-IGP Genomics Seminar. Uppsala University, Uppsala, Sweden. 16th June 2017. (Invited lecture)

新村毅. 鳥類の先天的発声の仕組み. 広島大学日本鶏資源開発プロジェクト研究センター 第 17 回 JAB 特別セミナー. 広島大学生物生産学部 (広島県東広島市). 2016 年 11 月 28 日. (招待講演)

新村毅, 吉村崇. メダカにおける季節変化への適応機構. 第 23 回日本時間生物学学会学術大会シンポジウム「動物の多様なりズムとその応用」. 名古屋大学 (愛知県名古屋市). 2016 年 11 月 12-13 日. (招待講演)

新村毅. 先天的発声の分子制御. 2016 年度行動遺伝学研究会「個体の繋がり」の分

子進化研究」. 国立遺伝学研究所 (静岡県三島市). 2016年10月13日. (招待講演)

新村毅. 生命科学分野における動物福祉研究の進展と提案. 動物福祉研究会第1回シンポジウム. TKP品川カンファレンスセンター (東京都港区). 2016年9月28日. (招待講演)

新村毅. 動物の行動の多階層的理解ニワトリの発声をモデルとして. 畜産学会若手企画サマーカーンプ「アニマルサイエンス若手研究者の胎動」. 基礎生物学研究所 (愛知県岡崎市). 2016年9月22-23日. (招待講演)

Yoshimura T, Ota W, Shimmura T, Nakane Y. Functional analysis of deep brain photopigment OPN5 in vertebrates. 11th International Symposium on Avian Endocrinology (ISAE2016). White Oaks Conference Resort, Niagara-on-the-Lake, Canada. 11-14th October 2016. (Invited lecture)

Shimmura T, Yoshimura T. Timing of rooster crowing is under the control of circadian clock and social rank. 11th International Symposium on Avian Endocrinology (ISAE2016). White Oaks Conference Resort, Niagara-on-the-Lake, Canada. 11-14th October 2016. (Invited lecture)

Shimmura T. Development of enriched housing systems for farm animals: Welfare and productivity. 31th International Congress of Psychology (ICP2016), pp936. Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan. July 24-29th 2016. (Invited lecture)

新村毅. 先天的発声の制御機構. 第2回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会. 岡崎コンファレンスセンター (愛知県岡崎市). 2015年8月18-19日 (招待講演)

〔図書〕(計3件)

Shinomiya A, Shimmura T, Nishiwaki-Ohkawa T, Yoshimura T. Regulation of seasonal reproduction by hypothalamic activation of thyroid hormone. Thyroid Hormone in Brain and Brain Cells (Flamant F, Bernal J, Koibuchi N eds.), pp87-93. Frontiers Media SA (2018). ISBN: 978-2-88919-702-6

新村毅, 吉村崇. 鳥類の光周性とホルモン. ホルモンから見た生命現象と進化シリーズII「発生・変態・リズム-時-」(天野勝文・田川正朋編), pp. 175-188. 裳華房 (2016).

Shimmura T, Shinomiya A, Yoshimura T. Universality and diversity in the

mechanism of vertebrate seasonal reproduction. Circadian Clocks (Honma KI, Honma S eds.), pp. 85-93. Aschoff and Homma Memorial Foundation (2015).

〔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  
個人ホームページ (researchmap):  
<http://researchmap.jp/shimmura/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

新村毅 (SHIMMURA, tsuyoshi)  
東京農工大学大学院農学研究院・准教授  
研究者番号: 50707023

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

吉村崇 (YOSHIMURA, takashi)  
名古屋大学 ITbM 研究所・教授  
研究者番号: 40291413