

平成 30 年 6 月 17 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18362

研究課題名(和文) ショウジョウバエ求愛行動をモデルにした馴化調節を担う神経機構の解明

研究課題名(英文) Neural mechanisms regulating the habituation levels in the fly brain

研究代表者

森本 菜央 (Morimoto, Nao)

名古屋大学・創薬科学研究科・助教

研究者番号：30762249

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)：動物は無益・無害な刺激に長時間、暴露されると、刺激への反応を低下させる。これが馴化(慣れ)である。しかし、刺激が有益・有害である場合、動物は繰り返される刺激に应答し続けなければならない。このような、刺激への価値判断に応じて、馴化レベルが調節される神経メカニズムはほとんど未解明であった。本研究ではショウジョウバエの求愛行動において申請者が独自に確立した系をモデルとし、価値判断システムにより馴化レベルが調節される神経細胞群の一部を同定することに成功した。

研究成果の概要(英文)：Animals decrease response to stimuli when they are exposed to the useless stimuli for a long time. This is habituation. However, as the stimuli are valuable, animals have to respond to them. Such neural mechanisms of regulating the habituation levels depending on the stimulus relevance are unknown. In this study, using fruit fly's typical auditory behavior related to courtship behavior, I identified subset of neurons which are contributed to the neural mechanisms of regulating the habituation levels depending on the relevance.

研究分野：神経行動学

キーワード：ショウジョウバエ 聴覚 慣れ

1. 研究開始当初の背景

聴覚は環境の変化をいち早く察知するための重要な手段である。環境変化による新奇な音に精度良く応答するため、動物は繰り返される無益・無害な音を、背景として次第に無視するようになる。これが聴覚馴化である。ところが、音刺激が動物にとって有益・有害である場合は、この馴化が起こりにくい。このような刺激の種類やその文脈に依存した馴化レベルの調節は、その刺激の価値が情報処理出力をフィードバック制御するような神経回路を基盤とすると考えられる。このような神経回路は、刺激の価値判断結果により活動性を変える一連の神経細胞群が担うと予想できるが、その神経細胞・神経回路の実体や、その馴化調節機構は未解明である。

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*、以下、ショウジョウバエと略記する) は小規模な脳を持ち、定型的な行動を行うことから、神経行動学の優れたモデル生物の一つである。これまでの研究で、ショウジョウバエは、求愛時に「求愛歌」とも呼ばれる羽音を用いた聴覚コミュニケーションを行うことが知られてきた。本研究では、羽音依存的に誘導される特異的な聴覚応答行動に着目した一連の解析から得られた、「ショウジョウバエの音刺激に対する応答が馴化の特性に従い、またその馴化には状況依存的な調節機構が存在する」という知見を基盤とし、その神経基盤を明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

本研究ではショウジョウバエの求愛行動において本研究者が独自に確立した系をモデルとし、まず、1) 聴覚応答行動の時系列での減少に貢献する神経機構を解明することにより、馴化の神経基盤の解明を目指した。さらに、2) 価値判断システムにより馴化レベルが調節されるような神経細胞群を単一細胞レベルで同定し、その調節機構と動作原理の解明を目的とした。

3. 研究の方法

ショウジョウバエのオスは、求愛歌の羽音刺激依存的に、求愛行動を活性化させることが知られている。オスの集団に求愛歌を聞かせると、直ちに、他個体を追い、互いに鎖状 (Chain) に連なる Chain 行動と呼ばれる聴覚行動を示す。一方で、数十分スケールの求愛歌刺激により、増加した聴覚行動量は徐々に減少していく。本研究者のこれまでの解析により、数十分スケールの応答行動量の減少が馴化の特性に従うことが示唆されていた。さらに、求愛歌刺激と同時にメスを提示することで、この馴化による応答行動量の減少が抑制された。この発見に基づき、本研究では、求愛歌依存的に誘導されるオスの Chain 行動は、音情報の「価値判断」システムの出力結果であると考え、この系を用いて、価値判断システムを司る神経機構の解明を目指す。

まず、数十分スケールの時系列データである Chain 行動量変化を比較・解析するために、行動減少のモデル化を行う。これにより、異なる変異体間において、時系列データとしての Chain 行動量の変化を比較することが可能にする。

さらに、分子遺伝学を組み合わせ、どの神経回路が馴化の調節に貢献するのかを明らかにする。特に、神経活動の調節に関与するような、神経調節物質に着目し、まずは、これらの受容体を RNAi することで、どの神経調節物質が行動の調節に貢献するのかを明らかにする。その上で、神経回路機構を明らかにするための、単一ニューロンレベルで、どのニューロンが行動量を調節するのかを、ニューロンの活動性を促進・抑制した変異体を用いて、Chain 行動量を調べることで明らかにする。

4. 研究成果

馴化を解析するため、数十分スケールの音刺激を行い、ショウジョウバエの聴覚応答行動を定量解析した。近年、研究協力者により独自に開発された Chain プログラムを用いることで、数十分スケールの行動実験であっても、ハイスループットな解析が可能になった (図 1)。

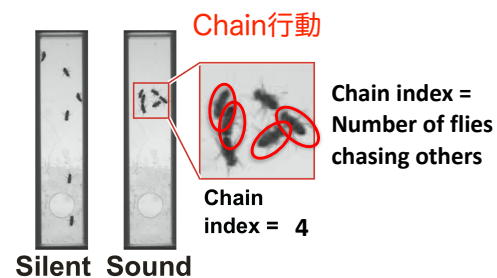


図1 オスの Chain 行動
求愛歌あるいは人工求愛歌によりただちに、オスに特有の Chain 行動が誘導される。他個体を追いかけるオスの数を数えることで聴覚応答行動を定量している。
(Yoon et al., 2013より改変)

この解析により、音刺激により直ちに誘導された聴覚応答行動が刺激時間依存的に減少することを明らかにした。その一方で、音刺激のパターンを変化させると、応答行動量も変化し、減少が直ちに抑制された (Yoon et al., 2013)。つまり、数十分スケールで繰り返される刺激に対して、ショウジョウバエの聴覚応答が低下する一方で、新奇の音刺激パターンへの応答性は保持していることを示唆する。このように、本研究、および、研究協力者らのグループは、行動減少が馴化の特性に従うことを明らかにした。さらに、このように、時系列で変化する行動量を制御する神経基盤を明らかにするために、まずは、行動減少の数理モデル化を試みた。その結果、聴覚行動減少は少なくとも2つの指数関数的減衰 (早い減衰と遅い減衰) の足し合わせで説明できることが明らかになった (森本、投稿

準備中)。このことは、聴覚行動減少に少なくとも2つ神経基盤が並列に関与していることを示唆する(図2)。

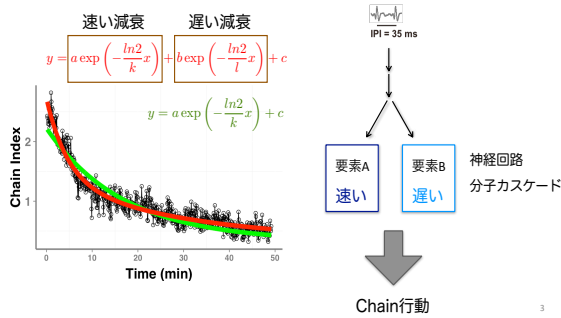


図2 Chain 行動量の減少は二つの減衰関数の足し合せて説明できる。

これらの減衰に関与するメカニズムを検討したところ、早い減衰の減衰スピードはアセチルコリン作動性ニューロンにおけるアデニル酸リクラーゼ *rutabaga* が制御していること、遅い減衰の減衰スピードは、刺激の Duty Cycle が関与していることが明らかになった。このモデル化により、このような時系列データの変異体間における比較、解析が可能になり、行動量の調節に関与する遺伝子を変異体スクリーニングで得ることが可能になった。

次に、価値判断システムに関与する神経基盤を明らかにするために、神経調節物質に着目し、各神経調節物質の受容体ノックダウンショウジョウバエを用いて、聴覚応答行動を調べ、スクリーニングを行った。その結果、セロトニン受容体の一つのサブタイプのノックダウンを行った時に、応答行動量に変化が見られた。これにより、セロトニン作動性ニューロンが応答行動の調節に関与していることが示唆された(森本、未発表)。そこで、次に、複数存在するセロトニン作動性ニューロンク

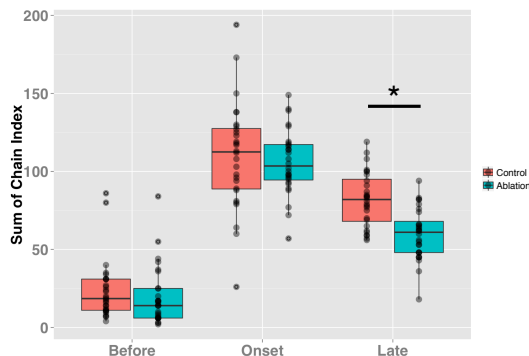


図3 セロトニンクラスターを阻害した時の1分間のChain 行動量の合計

Before は音刺激前、Onset は音刺激直後、Late は音刺激5分後における、1分間のChain 行動量の合計を示す。Before、Onset では阻害群はControl と比較して、変化がないが、Late において阻害群のChain 行動量がControl よりも減少した。

ラスターのうち、求愛行動への関与が示唆されているクラスターを阻害したところ、音刺激により直ちに誘導される聴覚行動量は野生型と同程度であったにも関わらず、その後、行動量の減少が早く起こった(図3)。このことは、このセロトニン作動性ニューロンクラスターが、馴化レベルを調節する可能性を強く示唆する。今後は、このセロトニン作動性ニューロンが、どの聴覚ニューロンの応答性を変化させることで、状況依存的な応答行動の調節に関与しているのかを詳細に検討する予定である。

本研究により、馴化レベルの調節に関与する神経回路を、単一ニューロンクラスターレベルで明らかにすることに成功した。

本研究内容は、投稿準備中あるいは未発表ではあるが、未発表データも今後、論文投稿予定である。

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 0 件)
投稿準備中

[学会発表] (計 7 件)

1. 森本菜央、平野恭敬、上川内あづさ、小坂田文隆「ショウジョウバエにおける新規神経回路標識法の開発、第10回分子高次機能研究会、山形(日本)、2017年
2. Nao Morimoto, Fumitaka Osakada, Azusa Kamikouchi 「Neural mechanisms regulating the "habituation" level in the fly brain」、The 5th Neural Circuits Joint Workshop、Nagoya, Japan、2017年
3. Nao Morimoto, Yoshinori Hirano, Fumitaka Osakada, Azusa Kamikouchi、「Development and application of the novel labeling method in the fly brain」、The 4th Neural Circuits Joint Workshop、Nagoya, Japan、2016年
4. Nao Morimoto and Azusa Kamikouchi、「Plasticity in the auditory behavior of the fruit fly」、The 12th Japanese Drosophila Research Conference、東京(日本)、2016年
5. 森本菜央、小坂田文隆、平野恭敬、上川内あづさ「ショウジョウバエにおける新規の神経回路標識法の開発」第9回分子高次機能研究会、豊橋(日本)、2016年
6. 大橋拓郎、米山祐輔、石川由希、森本菜央、上川内あづさ「ショウジョウバエの種特異的な求愛歌選択性の進化の神経基盤」第18回日本進化学会、東京(日本)、2016年
7. Nao Morimoto and Azusa Kamikouchi、「Plasticity in the auditory behavior of

fruit flies」、Association for Research in
Otolaryngology、San Diego, USA、2016
年

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本菜央 (MORIMOTO, Nao)
名古屋大学・大学院創薬科学研究科・助教
研究者番号：30762249

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

上川内あづさ (KAMIKOUCHI, Azusa)
名古屋大学・大学院理学研究科・教授

小坂田文隆 (OSAKADA, Fumitaka)
名古屋大学・大学院創薬科学研究科・准教
授