

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22577

研究課題名（和文）ショウジョウバエの時間認知

研究課題名（英文）Drosophila acquires seconds-scale rhythmic behavior

研究代表者

谷本 拓（Tanimoto, Hiromu）

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：70714955

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではショウジョウバエを用いて、電気ショックによる時間条件付けの実験系を確立し、秒単位の時間知覚（計時）について行動学的に解析した。その結果、ショウジョウバエが数秒間隔の時間を正確に計測し、その時間周期性に応じて逃避行動を示すことを明らかにした。こうした計時機能は脊椎動物と無脊椎動物で共通していることから、秒単位の「リズム感」は進化の早い段階で獲得した生物の機能であることが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

秒単位の時間間隔の情報や同調は、動物の行動を最適化させるための重要な手がかりとなる。秒単位の時間知覚については、無脊椎動物ではこれまでほとんど報告がなかった。本研究結果は、無脊椎モデル動物であるショウジョウバエに秒単位の時間条件付けを適応した初めての例である。今後は本研究で開発した実験系に遺伝子操作技術を組み合わせることで、時間知覚に関わる神経回路を高い解像度で明らかにすることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Detection of the temporal structure of stimuli is crucial for prediction. While perception of interval timing is relevant for immediate behavioral adaptations, it has scarcely been investigated, especially in invertebrates. Here, we examined whether the fruit fly, *Drosophila melanogaster*, can acquire rhythmic behavior in the range of seconds. To this end, we developed a novel temporal conditioning paradigm utilizing repeated electric shocks. Combined automatic behavioral annotation and time frequency analysis revealed that behavioral rhythms continued after cessation of the shocks. Furthermore, we found that aging impaired interval timing. This study thus not only demonstrates the ability of insects to acquire behavioral rhythms of a few seconds, but highlights a life-course decline of temporal coordination, which is also common in mammals.

研究分野：神経行動学

キーワード：ショウジョウバエ 時間条件付け

## 1. 研究開始当初の背景

時間の認知は、我々の生活の中で重要な脳機能である。時間認知の変調は、パーキンソン病、統合失調症、自閉症の患者などで見られ、衝動的な意思決定との関連も指摘されている。また、加齢や向精神薬なども時間認知に影響を与えることが知られており、時間を生成する機構を理解することは、脳科学の課題のひとつである。

日常生活でも、時間間隔の周期性(リズム)を正確に把握し、それに同調して筋肉を動かすことが求められる。楽器演奏に見られるミリ秒単位の正確性が必要なリズムから、睡眠・覚醒などの生理現象を制御する24時間周期の概日リズムまで多岐にわたる。なかでも、秒単位の時間間隔の情報や同調は、我々の行動を最適化させるための重要な手がかりとなる。時間間隔の重要性は動物の世界でも同じであり、例えば求愛行動の際、オスの発する歌や身振りのリズムが外れているとメスは求愛を受け入れない(Kyriacou and Hall, 1982)。

概日リズムのような長い周期の振動は遺伝子発現の変化を伴い、これまで多くの分子や神経回路が同定されてきた。また、秒単位のリズムに応じた行動についても、哺乳類をはじめとする脊椎動物では広く研究されている。その一方で、無脊椎動物における秒単位の時間知覚の例はほとんど報告されていなかった。

## 2. 研究の目的

以上の背景から、無脊椎モデル動物のショウジョウバエを用いて、時間条件付けの実験系構築を着想した。時間の知覚という複雑な機構を理解するためには、シンプルな構造を持つモデル動物の研究が有効である。ショウジョウバエは、成虫の脳でも10万個の細胞しか持たないにも関わらず、発達した学習能力や空間認知などの高次機能を備えており、本研究に適した実験動物である。

また、時間条件付けは、時間知覚を最も直接的にテストする行動課題のひとつである(Lockhart, 1966; Pavlov, 1927)。時間条件付けでは、無条件刺激(報酬もしくは罰)の提示を一定時間間隔で繰り返し、提示後の一定間隔の条件反射をテストする。刺激提示の周期に同期した条件反射の発現は、個体が計時機能を備え、時間に対して適応的に行動できることを示す(図1)。

本研究では、新たな行動解析手法と時間条件付けの実験系を確立し、ショウジョウバエにおける秒単位の時間知覚(計時)を行動学的に解析することを目的とした。

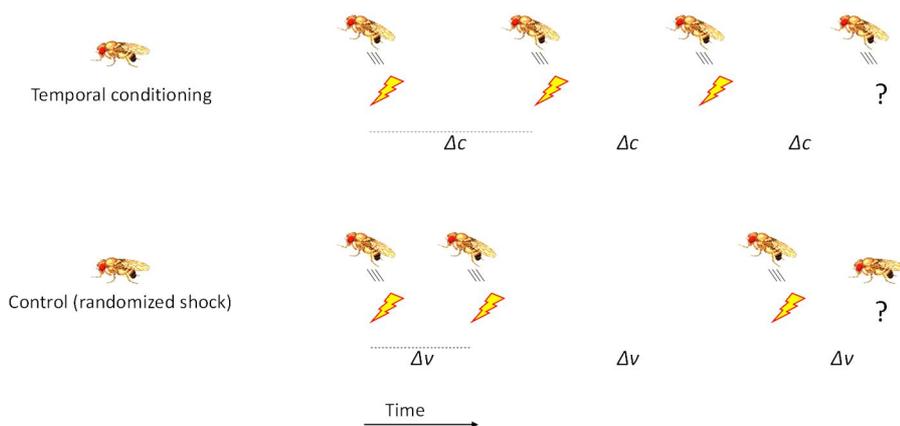


図1 電気ショックを定間隔で与えることによる時間条件付けの概念図。

( c:定間隔; v:可変間隔)

## 3. 研究の方法

本研究での時間条件付けには、刺激提示時間や強度を正確にコントロールできる電気ショックを用いた。ショウジョウバエの肢の接地部位に電気刺激を与えると、瞬時に運動量が増加する。こうした自由行動下における電気刺激に対する応答は、飛翔、横転、逃避など多様であり、その多くが非常に高速であるため、行動変化の定量が困難であった。

そこで我々は、急激な行動変化を明瞭に記録するための実験系を構築した(図2)。さらに東北大学情報科学研究科の橋本浩一教授との共同研究で新たなマシンビジョンアルゴリズムを開発し(Thoma et al., 2016; Sirigrivatanawong et al., 2017; Okuno et al., 2019)これまで困難であった飛翔や横転など、8つの異なる行動状態を自動認識することに成功した。

本研究では、この実験系と行動検出系を用いて、電気ショック提示に関する複数のパラメータを変化させ、実験条件の最適化を行った。具体的には、提示間隔、試行回数をはじめとし、電気刺激の強さ、刺激一回あたりの提示時間を検討した。ここで得られた行動データのリズム(時間の周期性)の定量には、信号処理など工学分野で用いられる時間周波数解析(ウェーブレット変換)を応用した(図2)。この周期性は、同強度の刺激を同量、不定間隔で与えたコントロール群と比較することで、電気ショック提示に伴う非特異的なものと区別可能である。

#### 4. 研究成果

上記の解析の結果、ショウジョウバエが電気ショックに応じて特定の行動要素を周期的に示すことを見出した。また、時間条件付け後に、その行動要素の周期性が持続されることが明らかとなった。例えば、電気ショック提示を2秒間隔で10回繰り返す時間条件付けを行ったところ、最後の刺激から2秒後に、刺激の提示が無いにも関わらず逃避行動が観察された(図2)。このことは、ショウジョウバエが数秒単位の時間の周期性を計測する能力を持ち、計測したリズムに応じて行動可能であることを示唆している。

さらに、時間条件付けを1週齢から4週齢までの異なる週齢群のショウジョウバエに適用したところ、1~2週齢の個体では飛翔による逃避行動が周期的に持続したのに対し、3週齢の個体では歩行の割合が高くなり、4週齢の個体では行動の周期性が見られなくなった(Ikarashi and Tanimoto, 2021)。

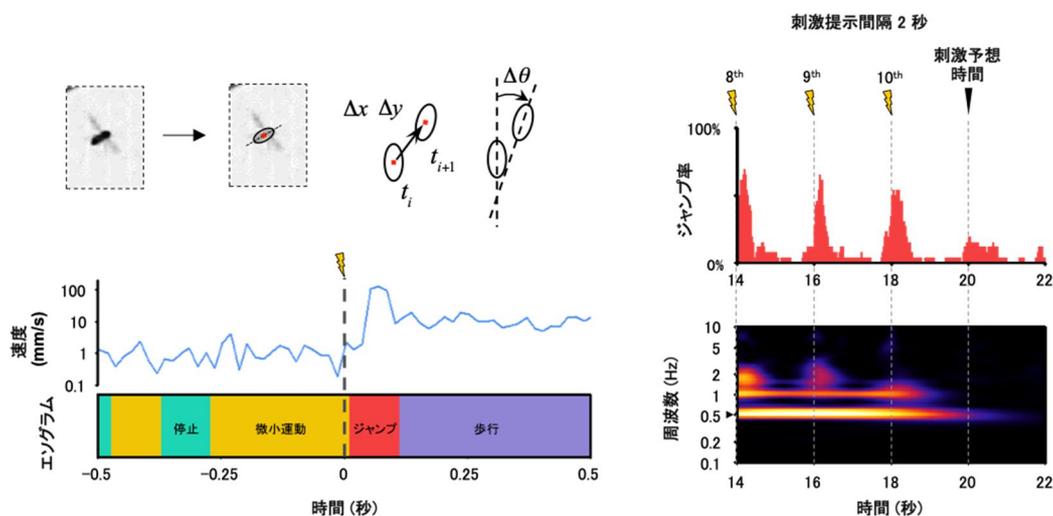


図2(左) コンピュータビジョンを用いたハエの行動分類結果。

(右) 時間条件付け後のジャンプ行動の時系列変化とその時間-周波数解析結果。

加齢と時間知覚の関連について、例えばパーキンソン病などの加齢に伴って発症率が上がる運動障害では、リズムを刻む動作が不正確になるとの報告がある(Turgeon et al., 2016)。哺乳類の脳では、秒単位の時間知覚にドーパミン神経系が重要な役割を果たしているが(Bhusi and Meck, 2005; Narayanan 2012; Soares 2016)。興味深いことに、ショウジョウバエのドーパミン神経系は電気ショック罰の情報伝達を担っており(Aso et al., 2012; Claridge-Chang et al., 2009; Schwaerzel et al., 2003)、哺乳類と同様、加齢に伴い劣化することが知られている(Riemensperger et al., 2013)。このように、老化による計時機能の低下が脊椎動物と無脊椎動物で共通していることから、数秒間隔の「リズム感」は進化の早い段階で獲得した生物の機能であることが示唆される。

#### <参考文献>

1. Kyriacou CP and Hall JC. (1982) The function of courtship song rhythms in *Drosophila*. *Anim. Behav.* 3:794-801.
2. Lockhart RA. (1966) Temporal conditioning of GSR. *J. Exp. Psychol.* 71:438-446.
3. Pavlov IP. (1927) Conditioned Reflexes: an Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex. *Oxford University Press.*
4. Thoma V, Knapek S, Arai S, Hartl M, Kohsaka H, Sirigrivatanawong P, Abe A, Hashimoto K, Tanimoto H. (2016) Functional dissociation in sweet taste receptor neurons between and within taste organs of *Drosophila*. *Nat. Commun.* 7:10678.

5. Sirigrivatanawong P, Arai S, Thoma V, Hashimoto K. (2017) Multiple *Drosophila* Tracking System with Heading Direction. *Sensors*. 17:96.
6. Okuno T, Hashimoto K, Tanimoto H. (2019) Quantification of Aggregation and Associated Brain Areas in *Drosophila melanogaster*. *IEEE Int. Conf. on Pervasive Comp. & Commun. Workshops (PerCom 2019)*. pp.759-764.
7. Ikarashi M and Tanimoto H. (2021) *Drosophila* acquires seconds-scale rhythmic behavior. *J. Exp. Biol.* 224:jeb242443.
8. Turgeon M, Lustig C, Meck WH. (2016) Cognitive aging and time perception: roles of bayesian optimization and degeneracy. *Front. Aging Neurosci.* 8:102-102.
9. Buhusi CV and Meck WH. (2005) What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing. *Nat. Rev. Neurosci.* 6:755-765.
10. Narayanan NS, Land BB, Solder JE, Deisseroth K, DiLeone RJ. (2012) Prefrontal D1 dopamine signaling is required for temporal control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109:20726-20731.
11. Soares S, Atallah BV, Paton JJ. (2016) Midbrain dopamine neurons control judgment of time. *Science*. 354:1273-1277.
12. Aso Y, Herb A, Ogueta M, Siwanowicz I, Templier T, Friedrich AB, Ito K, Scholz H, Tanimoto H. (2012) Three dopamine pathways induce aversive odor memories with different stability. *PLoS Genet.* 8:e1002768.
13. Claridge-Chang A, Roorda RD, Vrontou E, Sjulson L, Li H, Hirsh J, Miesenböck G. (2009) Writing memories with light-addressable reinforcement circuitry. *Cell*. 139:405-415.
14. Schwaerzel M, Monastirioti M, Scholz H, Friggi-Grelin F, Birman S, Heisenberg M. (2003) Dopamine and octopamine differentiate between aversive and appetitive olfactory memories in *Drosophila*. *J. Neurosci.* 23:10495-10502.
15. Riemensperger T, Issa A-R, Pech U, Coulom H, Nguyễn M-V, Cassar M, Jacquet M, Fiala A, Birman S. (2013) A single dopamine pathway underlies progressive locomotor deficits in a *Drosophila* model of parkinson disease. *Cell Rep.* 5:952-960.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ikarashi Masayoshi, Tanimoto Hiromu	4. 巻 224
2. 論文標題 Drosophila acquires seconds-scale rhythmic behavior	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/jeb.242443	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

新聞報道「ハエ老化 リズム感低下」（河北新報、2021年4月）
---------------------------------

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		
米国	Binghamton University - SUNY		