総説

ショウジョウバエの音と重力の受容システムの解明

上川内あづさ 東京薬科大学・生命科学部

伊藤 啓 東京大学・分子細胞生物学研究所

The human ability to sense gravity and sounds relies on specialized vestibular and auditory organs, respectively, in our inner ear. In the fly, the ability to hear has been ascribed to the antenna, whereas the gravity sensor had remained unidentified. We found that the fly has implemented both sensory modalities into a single system, the Johnston's organ, which houses specialized clusters of mechanosensory neurons. Each cluster monitors specific movements of the antenna and feeds into distinct neural pathways that are reminiscent of the vestibular and auditory pathways, respectively, in our brain.

Hearing / Gravity sense / Fruit fly / Sensory system / Brain

1. ショウジョウバエの「耳」内部の感覚神経群

空気の振動として伝わる音と、物体にかかる重力の向きを、私たち哺乳類は耳で受容する。内耳には音を検知する蝸牛器官と、直線加速度や重力を検知する耳石器官という別々の感覚器が存在し、脳の延髄から橋にかけて広がる蝸牛核と前庭核とよばれる1次感覚中枢に、それぞれ情報を送っている。哺乳類と同様に、昆虫においても音の検知は環境状況の認知や個体間のコミュニケーションに、重力の検知は姿勢制御に大きな役割を果たす。たとえばショウジョウバエのオスは、メスに対して「求愛歌」とよばれる羽音を用いた求愛行動を行う。この羽音は種ごとに特異的な時間パターンをもち、この音を聞くと雌雄ともに配偶行動が選択的に促進される¹⁾。このことからショウジョウバエの脳では、求愛歌という特定の音を背景雑音から選別してその音パターンを抽出し、価値判断を行った上で特定の行動に結びつける、という情報処理が行われていると予想できる。

セミやコオロギなどの「鳴く」昆虫は、哺乳類や鳥類と同じように「鼓膜」で音を受容するが、ハエや蚊、ミツバチなどでは代わりに触角が音受容器として機能し、空気の振動を検知している²⁾。羽毛状に広がった触角先端部が空気の振動を捉え、その動きが触角第三節を、第二節との関節を支点として回転振動させる

(図1a)³⁾。この触角振動の最適周波数はショウジョウバエでは約200-300ヘルツであり、同じ種の個体が出す羽音に共振するように調節されている⁴⁾。触角第二節の内部には「ジョンストン器官」とよばれる、多数の張力検知細胞（ジョンストン神経、ショウジョウバエでは左右の触角にそれぞれ約480個）が密集した構造がある。これらの感覚神経は繊毛を第三節の基部に伸ばし、音によって生じた触角第三節の振動を電気信号に変換する。したがって、ジョンストン器官は私たちの「内耳」に相当する器官であり、ジョンストン神経は「有毛細胞」に相当する細胞だといえる。

ショウジョウバエの視覚系や嗅覚系は比較的高次の神経回路まで同定され、回路機能の研究も進んでいる⁵⁾⁻⁸⁾。しかし聴覚系は、ジョンストン神経からの軸索が脳の下部に投射して1次感覚中枢を作ることにはわかっていたものの、その内部構造はまったく不明だった。そこで筆者らはまず、ジョンストン神経の全投射パターンの網羅的解析に着手した。ショウジョウバエは他の実験動物では不可能なさまざまな分子遺伝学的実験技術が揃っており、任意の遺伝子の発現を特定の細胞で誘導することができる^{9), 10)}。筆者らは約4,000種類のGAL4発現誘導系統から、すべてのジョンストン神経や、その一部のみで選択的に発現を誘導する系統群を選出し、クラゲ蛍光タンパク質GFPを発現させて細胞の構造を可視化することで、単一細胞レベルで

Analysis of the *Drosophila* Gravity- and Sound-sensing SystemsAzusa KAMIKOUCHI¹ and Kei ITO²¹School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences²Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo

図 1
ハエの「耳」から始まる神経回路^{3), 12)}. (a) ショウジョウバエの「耳」. 上図: ショウジョウバエは、頭部前方に触角をもつ (矢印・帝京平成大学の平郁子博士より図版提供). 下図: 触角第三節は長軸 (点線) を中心に回転振動し、その基部に接続されたジョンストン神経に張力を与える. (b) ショウジョウバエのおもな脳領域. (c) ジョンストン神経が投射する領域 A-E. 「耳」の特定の部位に細胞体をもつ感覚細胞群 A-E が (挿図・側方像) 脳の対応する領域にそれぞれ投射する. (d) 各領域に投射する単一神経 (矢印). 点線は脳の正中線.

投射構造を解明した (図 1b-d)³⁾. ジョンストン神経は脳の「触角機械感覚野」のほぼ全域に投射すると共に、一部は IVLP (inferior ventrolateral protocerebrum) とよばれる脳の高次領域や食道下神経節にも投射する. これら 1 次中枢へ投射する神経の束は A から E の 5 つの領域に枝分かれし、個々の神経は単一の領域のみに投射する. また、特定の領域に投射するジョンストン神経の細胞体は、ジョンストン器官の中に特定のパターンで分布する. これらの解析により、ショウジョウバエの「耳」の感覚細胞と脳の 1 次中枢の間に、厳密な相関地図があることがはじめて明らかになった.

2. ハエの「耳」は音と重力を感じ分ける

嗅覚系など多くの感覚系において、1 次感覚中枢の異なる領域に投射する感覚細胞は異なる感覚機能を担うことが知られている¹¹⁾. 筆者らの研究から、ハエの「耳」からの情報を受ける 1 次感覚中枢でも、特定の感覚細胞が特定の領域に投射することが明らかになった. これらの領域は、他の感覚系で見られる活動地図と同様に、「耳」が検知する特定の種類の情報と相関をもつのだろうか?

そこで筆者らは、2 つの方法でジョンストン神経の機能の解明に挑んだ¹²⁾. まず、1 次感覚中枢の特定の領域だけに投射する特定のジョンストン神経を標識する GAL4 系統を用いて、細胞内カルシウム濃度に応じて蛍光が変化するタンパク質「カメレオン」を特定の種類の細胞だけに発現させた. 活動している神経では

図 2
感覚細胞群の応答特性¹²⁾. (a) 各細胞群の細胞体配置 (左図・紫色が各細胞群、青色がジョンストン神経の全細胞体) と、さまざまな機械刺激に対する細胞内カルシウム濃度変化 (右図・疑似カラー表示). B 細胞群は低周波の振動に選択的に反応し (上段), AB 細胞群の合計を測定した場合 (中段) は振動全般に選択的に応答した. 一方で CE 細胞群は静的変位に選択性を示した (下段). (b) B 細胞群と AB 細胞群の周波数特性.

細胞内カルシウム濃度が高まるので、これによって神経の活動を可視化できる. 音を模した振動や一定方向への静的変位 (振動を伴わない傾き) を触角先端部に加えたところ、脳の 1 次中枢の領域 A や B に投射する感覚細胞 (A 細胞群と B 細胞群) は振動に、領域 C や E に投射する感覚細胞 (C 細胞群と E 細胞群) は静的変位に、それぞれ選択的に反応した (図 2). 振動選択性を示した細胞群にさまざまな周波数の振動を与えたところ、A 細胞群と B 細胞群の合計 (AB 細胞群) では広い周波数域で応答が見られたのに対し、B 細胞群だけでは低周波数域に強い選択性を示した. このことから、B 細胞群は低周波に、A 細胞群は高周波に選択性をもつと考えられる. 一方で、CE 細胞群の静的変位への応答は方向選択性を示し、触角が後方に傾いたときにはジョンストン器官の前側にある細胞ではカルシウム濃度が低下、後側にある細胞では上昇し、触角が前方に傾いた時にはそれぞれ逆の反応が見られた. つまり、高周波や低周波の振動情報や、異なる向きの静的変位の情報は、それぞれハエの「耳」の中の異なる細胞群によって別々に受容されるのである.

ショウジョウバエの触角は音波で振動するだけでなく、重力軸に対する体の向きに応じて、自重により 1 ミクロン程度傾くと予測される. 生理学的な解析の結果から、この傾きは細胞興奮を惹き起こすのに十分であるため、静的変位感受性の細胞は重力の検知に関与している可能性がある. これを確かめるため、筆者らは次に、シナプスからの伝達物質放出を阻害する破傷風毒素をそれぞれの細胞群で特異的に発現させて神経伝達を遮断し、音や重力への行動に及ぼす影響を解析した. ショウジョウバエは、驚くと重力と反対の方

向に逃避する性質がある¹³⁾。また、雄に求愛歌を聞かせると配偶行動が活発化する¹⁾。これらの行動を指標にしてそれぞれの神経伝達を遮断した効果を解析したところ、CE細胞群の伝達を遮断すると重力への応答行動が、B細胞群を遮断すると求愛歌の音への応答行動が、それぞれ特異的に失われた(図3a, b)¹²⁾。このことから、変位感受性細胞が重力に、低周波の振動感受性細胞が音に対する行動に必要であることが示された。ハエの「耳」は私たちの耳と同じように、音だけでなく重力の情報も検知しているのである。

3. 音や重力の情報を受け取る高次神経回路の探索

以上の解析により、ショウジョウバエが音と重力を「耳」の中の別々の細胞群で検知していることや、音の周波数域や重力に対する体軸の向きといった情報が、1次中枢の異なる領域に活動地図として表現されることが明らかになった。こうした情報が、さらに脳の中でどのような中枢経路に伝わるのかを解明するため、筆者らは2次神経細胞が形成する脳内回路の解析を開始した。先ほどと同様に、音や重力の1次中枢として同定された領域にそれぞれ投射する2次神経で発現が誘導されるGAL4システムをまず選出し、それらの系統を用いて標識される神経の投射パターンを可視化して構造を解析した。その結果、音の1次中枢(領域AB)に投射する神経には、IVLPや左右脳半球の領域ABを結ぶ神経が多数見つかった(図3c)¹²⁾。IVLPにはA細胞群の一部も直接投射することから、この領域は1次聴覚中枢の一部であると同時に2次聴覚中枢としても機能し、左右の「耳」からの情報を統合していることが予想できる。一方、重力の1次中枢(領域CE)では、哺乳類の脊髄に相当する胸部神経節との連絡を担う神経線維が多く同定され、左右脳半球間や脳の高次領域へ投射する2次神経はあまり同定されなかった。このように、ハエの脳の音情報経路は左右の2次中枢を結ぶ神経回路によって特徴づけられ、一方重力情報経路は胴体部分と直接結合する神経回路によって特徴づけられることがわかった。

哺乳類においても、音と重力の情報処理を担う中枢経路の構造は、それぞれ2次中枢間の左右連絡、脊髄への出力、という特徴をもつ^{14), 15)}。ハエと哺乳類は6億年以上前に分岐した動物種であり、それぞれの耳は外見も発生過程もまったく異なるが、受け取った情報を処理する情報処理回路には意外なほどの高い類似性が発見された。

図3

音、重力、風への応答^{12), 16)}。(a) それぞれの感覚細胞群のシナプス情報伝達を遮断したハエが5回の試行のうち何回、反重力走性を示すかを調べた。CE細胞群を遮断すると有意に反応性が低下した。(b) 音刺激に依存した活動度の上昇は、B細胞群の遮断により特異的に阻害された。(c) 音の中枢経路、高次領域(IVLP)への投射ならびに脳の反対側への投射経路をもつ。(d) 風への応答。ハエにさまざまな角度(0°-180°)から風をあてた状態で脳をイメージングした。同側の触角が前方に傾くと領域C、後方に傾くと領域Eが反応した。

4. ハエの「耳」は風向きセンサーとしても機能する

ハエの触角は一定方向の風によっても定常的に傾く。したがって、風刺激には触角の変位感受性細胞が応答すると予想される。そこでハエに風をあてながら脳のカルシウム応答を調べたところ、変位感受性細胞が投射する領域CEが選択的に反応した¹⁶⁾。次に、さまざまな方向から風をあてると、風の向きによって左右の触角が傾く方向の組み合わせが変わるとともに、C細胞群の投射先(領域C)とE細胞群の投射先(領域E)が、前方・横・後方からの風向きに依存して互いに相補的に応答した(図3d)。また、細胞死を誘導するリシン毒素を発現させて変位感受性細胞を特異的に除去したハエの行動を観察したところ、風に対する静止行動が失われた。これにより、CE細胞群は風向きセンサーとしても機能することがわかった。

以上から、ハエの脳では、活動地図として風向きが符号化されていることが判明した。同じCE細胞群で検知された重力と風をハエの脳がどのように区別しているのかは、今後さらに研究を進める必要がある。

では、音受容細胞と重力・風受容細胞の違いは、どのように生じるのだろうか? 筆者らの研究から、これらの細胞群はそれぞれ特徴的な順応速度をもつことがわかった¹⁶⁾。数秒間持続する静的変位刺激を与えると、音受容細胞は刺激の開始時と終了時のみに一過性

の応答を示したのに対し、重力・風受容細胞は持続的に応答し続けた。音受容細胞と重力・風受容細胞は、静的変位にただちに順応する相動性の受容器と、順応性の低い持続性の受容器として、機能分担しているのである。さらに、ハエの「耳」における機械刺激受容体と想定されている Trp チャンネルの一種 NompC の遺伝子が、音受容細胞だけに選択的に発現していることもわかった¹²⁾。音受容細胞特有の機能は、NompC によって担われている可能性がある。

おわりに

私たち脊椎動物の脳と比べて、昆虫の脳は小さく、またその外観や内部の領野構造もかなり異なっている。しかし、脳の各所が機能領野を形成し、受け取った感覚情報をそれぞれの領野内部の神経回路で段階的に処理する、という情報処理装置としての基本的な動作様式や、感覚情報を処理する神経回路の構造には、ハエと私たちの脳との間に多くの類似点が見つかった。ハエの脳を理解することは、私たちの脳を理解することにつながるのである。

これまで、哺乳類と昆虫の間では「眼」「鼻」「口」に相当する感覚情報系の神経回路構造に類似性が指摘されてきた。今回の研究で、ハエの「耳」は異なる投射先をもつ感覚細胞群が音と重力・風を分担して受容するセンサーであり、哺乳類の蝸牛・耳石器官といった内耳システムと機能的に似ていること、さらに音と重力の情報をそれぞれ処理する中枢神経回路の構造も、哺乳類と類似していることがわかった。ハエと哺乳類というまったく異なる生物間で、音や重力を含むさまざまな感覚情報の符号化様式や処理機構が似ている可能性が高い。今回の結果は、高い時間分解能で多様なパラメータ群を扱う必要がある聴覚の情報処理や、姿勢保持のための素早い反射反応に最適化された回路の普遍的設計原理を理解するための、重要な知見になると期待される。

ショウジョウバエは脳の神経細胞数が片半球数万個と少ないが、求愛や学習記憶では高度な行動様式を示す。これを利用して、ハエの脳を構成する全神経細胞を包括的に解析し、行動を制御する脳の動作原理を理解しようという試みが近年加速している。今回紹介したように、ショウジョウバエで発達している分子遺伝学を用いた解析では、神経の解剖学的な同定とそれに

続く生理学的・行動学的解析は一体であり、新しい神経回路を同定することは、その回路の機能解析という新たな研究分野の開拓に直結する。ヒトの脳という複雑で操作しにくい系を理解するために、ハエのようなシンプルで解析しやすい系をモデルとして脳の全貌を高い解像度で理解することは、生物物理学の基本的アプローチに則った研究戦略といえるだろう。

謝 辞

本研究は稲垣秀彦学士（カリフォルニア工科大学）、M. C. Göpfert 博士と A. Fiala 博士（ゲッティンゲン大学）、萬涼子博士と D. J. Anderson 博士（カリフォルニア工科大学）との共同研究として行いました。深く感謝いたします。

文 献

- 1) Greenspan, R. J., Ferveur, J. F. (2000) *Annu. Rev. Genet.* **34**, 205-232.
- 2) Yack, J. E. (2004) *Microsc. Res. Tech.* **63**, 315-337.
- 3) Kamikouchi, A. *et al.* (2006) *J. Comp. Neurol.* **499**, 317-356.
- 4) Göpfert, M. C., Robert, D. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 5514-5519.
- 5) Otsuna, H., Ito, K. (2006) *J. Comp. Neurol.* **497**, 928-958.
- 6) Joesch, M. *et al.* (2008) *Curr. Biol.* **18**, 368-374.
- 7) Tanaka, N. K. *et al.* (2004) *Curr. Biol.* **14**, 449-457.
- 8) Wilson, R. I., Mainen, Z. F. (2006) *Annu. Rev. Neurosci.* **29**, 163-201.
- 9) Brand, A. H., Perrimon, N. (1993) *Development* **118**, 401-415.
- 10) Lai, S. L., Lee, T. (2006) *Nat. Neurosci.* **9**, 703-709.
- 11) Wilson, R. I., Mainen, Z. F. (2006) *Annu. Rev. Neurosci.* **29**, 163-201.
- 12) Kamikouchi, A., Inagaki, H. K. *et al.* (2009) *Nature* **458**, 165-171.
- 13) Bainton, R. J. *et al.* (2000) *Curr. Biol.* **10**, 187-194.
- 14) Büttner-Ennever, J. A. (1999) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **871**, 51-64.
- 15) Cant, N. B., Benson, C. G. (2003) *Brain Res. Bull.* **60**, 457-474.
- 16) Yorozu, S. *et al.* (2009) *Nature* **458**, 201-205.

上川内あづさ

上川内あづさ (かみこうち あづさ)

東京薬科大学生命科学部助教
2002年に東京大学大学院博士課程を修了。薬学博士。基礎生物学研究所、東大分子細胞生物学研究所、ケルン大学を経て、09年より現職。
連絡先: 〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1
E-mail: akamikou@ls.toyaku.ac.jp

URL: <http://www.ls.toyaku.ac.jp/Life-Science/lcn-9/KamSites/kamJP.htm>

伊藤 啓 (いとう けい)

東京大学分子細胞生物学研究所准教授
理学博士。マインツ大学、基礎生物学研究所などを
を経て、2002年より現職。

連絡先: 〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1

E-mail: itokei@iam.u-tokyo.ac.jp

URL: <http://fly.iam.u-tokyo.ac.jp/lab/>