

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 加藤陽子

歌鳥のオスは「歌」と呼ばれる発声を求愛に用いる。オスは手本となる歌（父親の歌）を聞き覚え、発声学習によって歌を獲得する。歌鳥の脳内には歌を学習し、歌うための神経回路があり、歌を学習する時期にこの神経回路が成熟していくことが知られている。また、発達時に外的なストレスを受けると、歌の学習精度が低下することが報告されている。したがって成長後の歌は、オスの学習期における発達状態の良さを反映すると考えられる。このためメスにとって、歌を指標としてオスを選ぶことはより発達状態の良いオスを選ぶことにつながると考えられる。一方でメスは発達期に父親の歌を聞き覚え、自種の歌に対する選好を獲得することが報告されている。

ジュウシマツはオスのみが求愛のために歌を歌う。歌には無音区間で区切られた複数の音要素が含まれる。音要素にはいつも同じ順序で歌われる系列（チャンク）があり、歌はこのチャンクが複数の遷移パターンで歌われる構造を持っている。ジュウシマツの歌には個体によって音要素の違いと、それらの組み合わせである系列の違いがみられる。先行研究より、メスに複雑な歌を提示するとより活発に繁殖準備行動を行うことが報告されている。また、複雑な歌と単純な歌を選択させると、メスは個体によって異なる選好を示すことも報告されている。本研究では、ジュウシマツのメスがオスの求愛歌にみられる音要素と系列の違いを聞き分け、えり好みを行っているのかを、行動実験（第2章）と聴覚領域における即初期遺伝子 ZENK を用いた実験（第3章）によって検討した。

本論文の第2章では、オペラント選択実験を用いて歌選好を検討した。二つの歌それぞれに対して一つずつ反応キーが関連付けられ、キーへ反応することによって歌刺激が提示された。歌鳥はほかの報酬の対提示なしに、歌を聞くためにキーに対して反応を行うようになった。実験1では刺激として発達初期に聞いた父親の歌と新奇な歌を提示した。これによりメスが求愛歌の要素の違いによって選好を示すか、また親近な歌と新奇な歌のどちらを好むのかを検討した。実験2では父親の歌とその音要素の系列を逆順に入れ替えた歌を提示し、音要素の系列の違いに対して選好を示すかどうかを検討した。父親の歌とその逆順序歌の違いを認識するのであれば、系列に対して選好がみられると予測された。結果、実験1では全ての被験体が新奇な歌よりも父親歌に対して多く反応した。よって、メスは音要素の違いを聞き分け、父親の歌に対して選好を示した。実験2では、父歌とその逆順序歌に対する反応数に有意差はみられず、メスの系列の違いに対する選好は検出されなかった。

本論文の第3章では、即初期遺伝子 ZENK の発現を通して、メスの聴覚領域において系列の違いが処理されているのかを検討した。歌鳥の聴覚領域 NCM・CMM は歌の記憶に関わり、メスの選好においても重要であるこ

とが示唆されている。聴覚領域では歌の提示によって即初期遺伝子 ZENK が発現するが、この発現は、同じ歌を繰り返し提示することで減少する事が報告されて、馴化を反映している。馴化が起こった後に、異なる歌を提示すると、ZENK は再び誘導され、脱馴化を示す。

本実験では、メスに父親の歌を繰り返し提示したのちに、引き続いて異なる刺激を提示し、聴覚領域における ZENK 発現を計測した。実験には3群を用いた。実験群 (F/S 群 $n = 7$) では、父親の歌を繰り返し提示し、馴化を起こさせた後で、系列をランダムに並び替えた歌を提示した。対照群として父親の歌を提示し続ける群 (F/F 群 $n = 7$) と、父親歌の後に新奇な歌を提示する群 (F/C 群 $n = 7$) を用いた。先行研究から、F/F 群では父親の歌に馴化し、ZENK の発現が減少すること、F/C 群では脱馴化により ZENK が誘導されることが予測された。シャッフル歌を提示した F/S 群で ZENK が発現するのであれば、系列の違うシャッフル歌は父親の歌と異なる歌であると処理されていると考えられた。反対に、ZENK 発現が減少するのであれば、聴覚領域 NCM・CMM は系列の違いを処理していないことが予測された。

in situ hybridization 法によって ZENK を可視化し顕微鏡写真を撮影した。発現量は画像解析ソフトによって定量化した。結果、NCM、CMM の両領域においてシャッフル歌を聞いた F/S 群の ZENK 発現は、父親の歌を聞いた F/F 群と同程度であり、新奇な歌を聞いた F/C 群よりも有意に少なかった。よってメスの聴覚領域 NCM・CMM では系列の違いによらず、同一な音要素かどうかを基準として処理が行われていることが示唆された。

これらの結果をふまえて第4章では、総合考察を行った。ジュウシマツの求愛歌には音要素と系列の二つの側面で個体差があり、系列の複雑さはオスの発達状態の状態を示す報告があることから、メスは系列の複雑さを聞き分け、選好を持つことが予測された。行動実験の実験1から、メスは音要素の違いを聞き分け、選好を示すことが判ったが、実験2では、メスの系列に対する選好は検出されなかった。サンプル数の問題や、実験に使用した個体の履歴の統制が十分でなかったことから、今回の実験のみからは、予測したような系列への選好があるかどうかについて、結論は下せない。即初期遺伝子 ZENK の発現を指標にした研究では、聴覚領域 NCM・CMM はランダムに系列を入れ替えた父親の歌 (シャッフル歌) に対して、正常な父親の歌と同じような反応を示した。この領域では系列の違いを処理せず、同じ音要素であれば同じ歌であると処理していることが示唆された。一方で、音要素の違いに対しては ZENK の発現が誘導された。これらより、聴覚領域 NCM・CMM は音要素の違いに基づいた処理を行っていることが示唆された。行動実験と即初期遺伝子発現の結果を総合すると、従来、報告の無かった音要素の違いに基づく歌の選好性が示された。

本研究は、ジュウシマツのメスが求愛歌をどのように弁別しているかを、行動実験と即初期遺伝子の両面から検討した統合的な研究であり、個体数は多いとは言えないが、非常にスケールの大きな研究である。結果からは、先行研究が見落としてきた音要素の重要性が浮かび上がり、発見的価値も大きい。今後は、実験条件を改善しつつ、さらなる発展が期待できる。

これらの成果により、本論文は、東京大学総合文化研究科課程博士 (学術) の学位請求論文として合格であると、審査委員が全員一致で判定した。