Flies on film

ハエの行動監視システム

Lizzie Buchen

Nature Vol. 462(562-564)/ 3 December 2009

ハエの行動解明に自動スクリーニング法を取り入れるユニークな共同研究が行われている。今後、機械でヒトの行動を観察する方法にも変革が訪れるかもしれない。

その映像には、ショウジョウバエの喧嘩^{けんか}が映っていた。喧嘩はまるで大したことがなく、2匹のショウジョウバエが何分の1秒間か接触しただけに見えた。しかし再生速度を20分の1に落とすと、鮮やかで豪快なプロレス技が映し出された。生物学者のDavid Andersonは、コンピューターで再生したこの粗い画質のモノクロビデオを、「ハエのルチャリブレ（メキシカンスタイルのプロレスリング）」とよんでいる。

1匹の雄バエが後肢で立ち上がって、隣のハエの背中をつかむやいなや、後ろに宙返りして相手を空中に放り投げる。この過程で、投げたハエ自身は2回も宙返りする。放り投げられたハエは、なすすべなく羽ばたきをしながら床に落ちて跳ね返り、その後正しい姿勢に戻って離れる（このビデオは、go.nature.com/o8sRLsで閲覧可。撮影は、ドイツのヴュルツブルク大学のMartin Heisenberg）。こうした「投げ技」は、Andersonがカリフォルニア工科大学（Caltech）で研究しているハエの数十種類の行動様式の1つにすぎない。

「我々は自分たちの住む世界全体について、全くわかっていないのです」と話す

のは、Andersonの共同研究者で、同じくCaltechに所属するPietro Peronaである。彼は、比較的最近になって、ショウジョウバエの世界に足を踏み入れた。これまで、コンピューターを使った視覚研究を行っており、20年間にわたってヒトの複雑な行動様式を検知・解明できる装置の開発を試みてきた。壮大な目標だが、彼はAndersonや行動神経科学者のMichael Dickinsonという同志を思いがけなく得ることができた。3人は2005年ごろから、ショウジョウバエの神経系の操作が容易にでき、攻撃や求愛といった複雑な社会行動を自動的に探知・追跡できるツールを作り出すために、共同研究を行っている。彼らは、ハエの行動の神経的基盤を解明したいと考えているのだ。このことは、ヒトの行動様式を解明することにつながる可能性もある。

2009年、共同研究チームは神経系の容易な操作と自動的に社会行動の探知・追跡が可能な2つのシステムを開発して報告した^{1,2}。Andersonは、現在それらを使って、行動を支配する遺伝子や神経回路を解明するために、何千系統もの変

異ショウジョウバエをスクリーニングしているところである。また、Dickinsonは大規模集団内でのハエの社会的動態を調べているが、これを実験室内で行うのはこれまでほぼ不可能だった。

「これは一筋縄ではいかない問題です」と、カナダにあるトロント大学ミシサガ校の神経遺伝学者Joel Levineはいう。彼は2009年11月から、これらの新しいソフトウェア・プログラムの1つである「Ctrax」を用いている。「私はこれまで長きにわたって、たくさんの人材を採用して、この種のソフトウェアを作ろうとしてきました。しかし誰一人として成功した者はいませんでした」。

こうして開発されたプログラムは自由に利用できるもので、世界中のショウジョウバエ研究者が新技術を使って、それぞれ思いどおりの方向に研究を進め始めている。Peronaも、ハエを通じて、ヒトの行動様式を解明できる機械装置の構築という自身の目標に少しずつ近づいている。

このようなツールは、ハエの行動研究という分野、なかでも裏方的な仕事をしている学生や技官、ポスドクにとってありが

E. HOOPER

たい存在になるだろう。彼らはビデオ映像をひとコマごとに見て、飛びかかりの数をすべて記録し、すべての追いかぐいし回し行動の時間を計り、羽による威嚇をすべて分類し、そしてこれらを繰り返し行っているからだ。

「ビデオの前に座ってハエの行動を手で記録していくのは、退屈でつまらない作業ですからね」と、Caltechの教職員用レストランでAndersonは、PeronaとDickinsonの2人と昼食をとりながら語った。しかも、単に時間の節約になるだけではないのだ、とPeronaが付け加える。回数を正確に数えるといっても、ハエの観察には主観が入る。「クリップボードとストップウォッチを使う方法をとっているとしましょう。Caltechには実際に、それを行っているポストドクが1人いますし、ノルウェーにも同様なポストドクが1人います」。しかし、もし観察結果が一致しなければ、答えを得ることは不可能に近くなるのだ。なぜなら「この2人のポストドクがどこかに職を得て研究室を去ったら、異なる見解が平行線をたどった状態で止まってしまう。基盤になるものがないため、その見解が事実かどうかを決して確認できなくなるからです」。

すべて監視している

Peronaは、ヒトの動きを観察して、その行動や意図を理解できる機械の開発を試みてきた。こうした能力を備えた機械は、さまざまな方面に応用できる。例としては、

機械の操縦者が眠気であうとしたときに警告を発する作業監視カメラや、空港で不審な挙動を察知して知らせる防犯カメラなどがある。

こうしたシステムを構築するには、機械視覚という分野の研究者が、ごく一般的なラベルデータのコンピューター言語を使ってプログラミングする。これにより、例えば、交差点に進入する歩行者を数千例解析し、新規の状況での歩行者の行動を識別できるアルゴリズムを作成することができる。

しかし、「不審」もしくは「危険」な挙動を識別することが目標である場合、単純で特異的な行動を対象としていてはあまり役に立たない。Peronaはこの問題に対処するため、行動を複数の構成要素に分解することを試みている。

例えば、ワインをグラスに注ぐという動作には、瓶を手でつかんで持ち上げ、グラスのところまで持って来て、瓶の口をグラスに向けて下げた後、また上げるところまで含まれる。Peronaはこうした動作の構成要素を「moveme」と名付けた³。movemeは彼のいう「行動の階層構造」の基本である。複数のmovemeが組み合わせあって、ワインを注ぐなどの1つのactionになる。そして、夕食をとるなど、時間のかかるactionが、activityといえる。しかし、彼によれば、こうした理論を検証するには、コンピューターで画像処理できるようにラベル付けしたビデオ映像のセッ

トが多数必要だというのが、こうしたビデオを用意するのは簡単なことではない。

「検証に必要な十分な量のデータは、まず得られません」とPeronaはいい、指を折って数えながらその理由を並べた。まず、本人の同意なしに録画するのは違法であり、また承諾を得るのも難しい。そして、たとえ承諾を得られたとしても、自然体の行動を撮影することは難しいのだという。「しかもヒトの観察は退屈です。パブで喧嘩が1つ見られるまで、どれくらい時間がかかるといいますか」とPeronaはいう。

Peronaは、生命科学研究から1つのヒントを見つけた。「生物学者は統合失調症のようなやっかいな問題に対処するとき、どうしますか」と彼は問いかけてきた。「彼らは、モデル生物を使うのですよ。モデル生物を使えば、体を傷つけてしまう侵襲的な実験も行うことができ、さくっと解答を得ることができるのです」。

彼は2、3年前から、Caltechの同僚たちに、彼らが研究に使っているモデル生物について尋ね始めた。ちょっとおもしろくて、しかしあまり複雑でない行動をするモデル生物を探したのである。一方Andersonは、そのころちょうど長期研究休暇から戻ってきたところだった。出向先では、ショウジョウバエがどのくらい動き回っているかを、既製ツールを用いて測定していた。

「そのツールは、まあ機能はしていましたが、洗練されたものとはいえませんでしたね」とAndersonは振り返る。

プロの戦士：ショウジョウバエの行動は大方の予想よりもずっと複雑だ。

Dickinson は、Anderson 自身が何か作り出すべきだと提案した。そこで Anderson は、ショウジョウバエの複雑な行動様式を記述することを Perona にもちかけた。Perona は非常に興味をそそられた。「私は当時、ハエというのは空中をブンブン飛び回ることぐらいしかしていないと思っていたのです」と彼は話す。

大志を抱く

Anderson は、攻撃や求愛に際して現れる特定の行動様式を自動的に検出できるプログラムが欲しいと考えた。羽による威嚇、追い回し、レスリング、交尾などを自動的に数え、時間を測るのである。彼が求めていたのは、ハエのペアを同時に多数行動させるのを可能にすることと、ひとつひとつの行動がいつどこで、どんな順序で現れるかを記録し、そのデータを吐き出してくれる機械だった。

研究歴のほとんどを空気力学と生体力学に費やしてきた Dickinson は、数十匹から数百匹の集団内でハエたちがどのように振る舞うかを解明したいと思った。これを実行するためには、ハエ 1 匹ごとの動きを追跡し記録したり、長時間にわたって同一個体のハエを追いかけたりする必要があると考えられた。これは、誰もやったことがなかった。当時、ハエを追跡できるプログラムは 2、3 あったが、それらにはいわゆるオクルージョン問題（視点が変わると、同じ対象物でもそれぞれの視点か

Pietro Perona は機械視覚システムを使ってハエを追跡している。

B. PAZ

ハエの観察：Michael Dickinson（左）と David Anderson はコンピューターの視覚プログラムを使ってハエの行動様式の解明を進めている。

B. PAZ

P. PERONA

ら見えている部分が異なること)があった。だからもし、2匹のハエが接触したり同じピクセル内に入ったりしてしまうと、実験者はハエたちの分離処理法を機械に手を入力しないとなくなってしまうのだ。

Anderson と Dickinson のどちらの要望も、Perona にとって難しい注文だった。「でも、それが共同研究のすばらしい点なんですよ。生物学者がまずほとんど不可能だろうと思っていることが、Pietro (Perona) のような別分野の研究者にとっては、実現可能な領域だったりするのです」と Anderson は話す。

Anderson のいう特殊な行動検知装置と Dickinson の望む探査・追跡装置には、さまざまなソフトウェアが必要だったが、そうした課題は意外と簡単だったようである。Perona は Kristin Branson というポスドクを Dickinson と共有しており、Anderson とは Heiko Dankert という別のポスドクを共有していた。Perona は、当初、それぞれのプログラム作成に数か月程度かかると見積もっていた。「しかしご覧のように、完成までに3年かかってしまいました。まあ、問題はありませんでしたけどね」と Perona はいう。作業時間の多くは、システムを生物学者に理解できるものにするのと、他人の管理下で

も確実に機能できるよう安定かつ堅固なものにすることに費やされた。Dickinson は、これを自動車組み立て工程にたとえて、「フェンダーや車体を取り付ける作業」とよんでいる。

一方、Dickinson は解析のために、Branson が開発したソフトウェアである Ctrax を利用できる環境を作り出そうと、いろいろ工作した。できあがったものは、サッカーボール1個が入るくらい大きい円形アリーナで、周囲には8個のハロゲンライトが取り付けられた。

内部には、羽を切られた50匹ものショウジョウバエが歩き回っている。羽を切ったのは、飛び上がって追跡システムが混乱してしまわないためである。アリーナ中央の上には1個のカメラが直接吊り下がっており、ハエの動きをとらえて、そのデータをそばのコンピューターへ伝送する。それぞれのハエがアリーナ内を探検すると、モニター上には細くて鮮やかな色の軌跡が残っていく。2、3分後、モニター画面は細い線で埋め尽くされ、まるで色とりどりの毛糸がからまった毛糸玉ようになる。

基本的に、このプログラムはハエを追跡するものにすぎない。このアイデアは、どの行動様式が興味深いものかを実験者が判断できるようにする、汎用的な追跡お

よび定量化の機械装置を作製することだった。そしてその機械に、何を探しているかだけでなく、何を探すべきなのかを学習する方法も入力することだった。

「今は、研究の最も刺激的な側面の1つ、つまり発見段階に当たります」と Dickinson はいう。Pietro は、彼らが突き止めた1つのおもしろい行動様式を説明してくれた。「ゆっくり進む1匹のハエがいて、もう1匹のハエがそれを追い越しました」と彼が指でハエたちの動きを真似しながら話した。「速いほうのハエが遅いほうのハエを追い越すとき、遅いほうのハエが止まりました。止まろうと決めたのは偶然なのかもしれません。しかし Michael (Dickinson) は実験をさらに進め、まったく同じ例をもう1つ見つけたのです。その発見により、我々は同じような経過をたどるハエどうしの出会いをすべて抽出するソフトウェアのプログラムを、すぐに作成できるのです」。研究者は直感だけで、ハエのこうした行動様式には理由があると考え、と Perona はいう。

しかし、実験者が、興味深い一連の動きや相互作用をいったん見つけたなら、仮説を立て、新しい解析によってそうした仮説を裏付ける証拠を見つけることができる。新しいデータは必要ではない。プログラムによって、ハエの個体ごとの各行動様式が定量的に記述される。こうした「エソグラム(行動目録)」によって、研究者は、例えば雌雄間や遺伝的変異をもつハエなど、ハエ個体群間の行動様式のわずかな違いを見つけ出して定量化できる。しかも、1つの個体群内の個体差、いうなればハエの「パーソナリティ」までもとらえることができる。

Dickinson の研究チームは既にこのエソグラムを使って、いくつかの新しい観察結果を得ている。例えば雄バエは物怖じせず、別のハエに歩み寄って検分し、時には互いに小突き合うこともある。しかし、雌は自分のパーソナル・スペースを必要とし、互いに会ったときや歩き回るときに

ハエの行動解析の自動化は、安全を脅かす潜在的リスクを察知する機械の開発につながるだろう。

特定のエチケット・ルールに従う。

Dickinson の研究チームは、フィールド内にコーンや障害物を置き、もっと複雑な環境内では社会的なやりとりがどう変化するかも調べ始めている。彼は、ハエがコーンの頂上に登ろうとし、お互いにほかのハエを追いかけて「お山の大将」になりたがることに気付いた。こうした新しい観察結果から、新たな仮説がいくつか導かれている。この行動は、食物供給源を見つけ出すのに有利な場所を確保するためのものだ、と Dickinson は話す。

そこから 2、300 メートル離れた実験室では、Anderson が CADABRA (Caltech Automated Drosophila Aggression-Courtship Behavioral Repertoire Analysis; カルテック・ショウジョウバエ攻撃-求愛レパートリー自動解析) という彼のプログラムを使って、既に存在が知られている行動様式を定量的に観察している。これらには、ハエが攻撃を仕掛ける際に試みるレスリングやタックル、その他もろもろの技、交尾に至るまでの羽音による求愛の「セレナーデ」やダンスなどがある。

彼は現在、あるスクリーニング法を開発中で、既にさまざまなニューロン集団を遺伝学的に活性化したり抑制したりしている。こうした選択的機能破壊によって、各行動の神経回路を細かく分析することができる。攻撃を 1 つのまとまりとしてだけでなく、この行動様式の各構成要素の頻度や、1 つの行動様式が別の行動様式につながる頻度も調べることができる。

彼の設定条件では、およそ 1 センチメートルの高さで、大きさがゴルフボールの直径ほどの 12 穴プレートのそれぞれの区画に、ハエを 1 対入れる。上にカメラが 1 台吊るされ、12 の小部屋でのハエのやりとりを同時にすべて並行してフィルムにおさめる。その後、ビデオをコマごとに再生して CADABRA にかけることで、すべての行動様式の統計データが得られる。

CADABRA のエソグラムによって、例えば飛びかかりと追い回しそれぞれの頻度

が明らかになる。加えて、追い回しの後に、飛びかかる動作がくる頻度と、異性の気を引こうとする羽の伸展動作がくる頻度がどれくらいあるのかなど、動作の移行頻度も明らかになる。「これを 1 人の人間が手動で行ったとすると、延べ 270 時間を要します。でも我々はだいたい 20 分でやてしまいました」と Anderson はいう。

「ファイト・クラブ」

Levine は、自身と Dickinson が 2009 年夏、ウッズホール海洋生物学研究所（米国マサチューセッツ州）で講義をしていたときに、Ctrax について学んだ。彼は今、集団内の個々のハエを、いっさいの妨害なしに数日間にわたって追跡できるようなシステムを作っているところだ。

「集団での動態についてわかっていることは非常に少ないですね。どの個体がどの個体と相互作用するのか。一部の個体の交尾回数が多いのはなぜか。社会的相互作用は概日リズムにどのように影響しているのか。これらは研究するのがとても難しい分野でした。しかし今、Michael (Dickinson) と、この Ctrax というソフトウェアを味方にできたことで、ついに疑問の答えを出せます」。

ロックフェラー大学（米国ニューヨーク州）の神経科学者 Leslie Vosshall は、求愛行動の研究に Ctrax を使っている。彼女が使っているのは Dickinson の研究室で設計された改良版で、ハエはプラスチック製の蓋で覆われた円盤状のアリーナ内をうろうろできるようになっている。この改良版なら、ハエは羽を切られずに動き回ることができる。求愛行動には羽によるシグナルや羽音を伴っているため、これは極めて重要な改良点である。

また、Dickinson の下にいた大学院生で、現在はハーワード・ヒューズ医学研究所ジェネリア・ファーム研究キャンパス（米国バージニア州）にいる Michael Reiser は、Ctrax の融通のよさを利用して「ハエのオリンピック」を執り行っている。変異

バエに、歩行行動に対する視覚反射から匂いの知覚まで、次々と行動テストをやらせているのだ。

Perona は、自分の研究が生物学研究で実を結び始めていることがうれしい、と話す。また Anderson や Dickinson のプロジェクトによって、Perona が切望していたラベル付けした行動ビデオ映像が得られつつある。ハエの行動様式をエソグラムにまとめることで、Perona には行動の階層構造という自身の仮説を初めて検証する機会ももたらされている。この仮説によれば、求愛のように持続的で長い activity は複数の action に分解され、それぞれの action はさらに、単純ではあるが重要な意味をもつ motion に分解されるという。Perona は、この概念が総合的な行動コンピューショナル理論の土台になってくれればと考えている。

ハエの行動が単純なおかげで、Perona は自分の概念を発展させることはできる。しかし、今のところ彼ができるのはそこまでだ。「私は、ヒトが何をやっているかを把握できる機械の構築に近づいているのでしょうか。答えはイエスでもありノーでもあります。ハエはヒトよりも行動のレパートリーがずっと単純で、無駄に時間を費やすこともありません」。ハエの行動を詳しく観察することで、その仮説を検証するもっと確かな方法を得て、ヒトのデータに立ち戻ることができるはずである。しかし、Perona の目標は「進化」しつつある。ハエの行動はやればやるほどおもしろさが増してくると彼は話す。「すべてが解明されて、私が生物学にいくらかの貢献ができていれば、いうことはありません」と彼はいう。（船田晶子 訳） ■

Lizzie Buchen は、ワシントン DC に活動拠点を置く *Nature* のインターン。

1. Dankert, H., Wang, L., Hooper, E. D., Anderson, D. J. & Perona, P. *Nature Meth.* **6**, 297-303 (2009).
2. Branson, K., Robie, A. A., Bender, J., Perona, P. & Dickinson, M. H. *Nature Meth.* **6**, 451-457 (2009).
3. Del Vecchio, D., Murray, R. M. & Perona, P. *Automatica* **39**, 2085-2098 (2003).