

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26290003

研究課題名(和文) 小型魚類の社会脳の脳機能地図の作製

研究課題名(英文) Functional mapping of fish social brain

研究代表者

竹内 秀明 (Takeuchi, Hideaki)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：00376534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：メダカの三者関係(オス、オス、メス)において、「オスがライバルオスよりもメスから近い位置を維持するように、ライバルオスとメスとの間に割り込む」という形で配偶者防衛を示すことを発見した。メダカ変異体を用いた行動実験の結果、バソトシンシステムが配偶者防衛においてライバルオスに勝つために必要であることを示した(PLoS Genetics 2015)。さらに配偶者防衛行動は、ライバルオスの性行動を妨害するだけでなく「ライバルオスを記憶できないようにすることで、自らが配偶相手として選ばれる確率を上昇させる」という意義も存在することが示唆できた(Frontiers in Zoology, 2016)。

研究成果の概要(英文)：Male medaka fish in a triad relationship (two males and one female) hold a position between the rival male and a female (mate-guarding), which results in improvement of mating success. Behavioral analysis of mutant males revealed that vasotocin system is required for dominance in mate-guarding (PLoS Genetics 2015). Our study also suggested mate-guarding behavior has an effect on visual familiarity and female mate preference. Previously we found that female medaka prefer to mate with visually-familiarized males (Science 2014). We showed that mate-guarding behaviors blocked visual familiarization of a female with the rival in a triad relationship, suggesting that female mate preference for familiar mates may help ascertain social dominance in males (Frontiers in Zoology, 2016).

研究分野：神経科学

キーワード：硬骨魚類 神経ペプチド 社会行動 ゲノム編集 配偶者選択 個体認知

## 1. 研究開始当初の背景

メダカのメスは「長時間そばにいたオス」と「見知らぬオス」と一緒になると、メスは両者を区別して、前者の求愛を積極的に受け入れる (*Science* 2014)。このことからメダカは異性を記憶して目で見分ける個体認知能力を持っており、その個体認知能力に基づいて性的パートナーを選択すると考えられる。しかしながら、メダカのメスが「そばにいたオス」を記憶して性的パートナーとして選択する適応的意義は不明であった。またメダカのオスがメスを巡ってどのような競争をするのか解析されたことがなかった。

## 2. 研究の目的

- (1)メダカのオス同士がメスを巡りどのような競争をするのかを解明する (*PLoS Genetics* 2015)。
- (2) (1)の行動に必要な分子神経機構を解明する (*PLoS Genetics* 2015)。
- (3)メダカのメスが「見つけたオス」を性的パートナーとして選択する適応的意義を探る (*Front. Zool.* 2016)。
- (4)生育ステージ (幼魚から成魚)、性差、魚種を問わずに視覚的な社会認知能力を定量化する行動実験系を確立する。 (*Zool. Sci.* 2016)。

## 3. 研究の方法

### (1) オスの配偶者防衛行動の行動解析

小型水槽の中にメダカを3匹 (オス, オス, メス) いれると、オス間で競争が生じて、優位オスが「ライバルオスよりもメスから近い位置を維持するように、ライバルオスとメスとの間に割り込む」という形で配偶者防衛を示すことを見出した。次に割り込み状態にある頻度 (以下「割り込み頻度」) を三者の相対座標から算出することで、当該行動の強さを定量化する行動実験手法を確立した (*PLoS Genetics* 2015)。

### (2) オスの配偶者防衛行動の分子神経機構の解明

メダカの配偶者防衛に関与する分子を探索する目的で、薬物投与と実験を行ったところ、バソトシン受容体阻害剤を投与したオスの割り込み頻度が低下した。次にメダカのバソトシン、バソトシン受容体 (V1a1, V1a2) をコードする遺伝子を欠損した変異体を TILLING 法と遺伝子編集法 (TALEN 法) で作出し、これらの遺伝子が配偶者防衛に関与するか検定した (*PLoS Genetics* 2015)。

### (3) 配偶者防衛行動の適応的意義

メダカのオスはメスの排卵期以外にも配偶者防衛行動を示す。そこで、メダカのオスはメスとライバルオスとの間に割り込むことで、メスがライバルオスを記憶すること

を阻害しているという仮説を検証した (*Front Zool.* 2016)。

## (4) 同種個体への近づき行動を定量する行動実験系の確立

### 動実験系の確立

直径の異なる二つの円形透明水槽を同心円状に配置し、外側と内側に魚を一匹ずつ入れた。2個体の距離の経時変化を記録した結果、この条件では「内側の魚」が「外側の魚」に壁越しに近接する行動を示すことを見出した (*Zool. Sci.* 2016)。この方法を用いて、幼魚と成魚の同種への近づき行動を比較したり、メダカのメスが「長時間そばにいたオス」に対して積極的に接近行動を示すかについて検証した

## 4. 研究成果

### (1) オスの配偶者防衛行動の解析

配偶者防衛において優位なオス (割り込み頻度が高いオス) は劣位なオスと比較して子孫を残しやすいことを見出した。よってメダカの配偶者防衛 (割り込み行動) はオスの配偶成功率を上げる意義があることを示した。

### (2) オスの配偶者防衛行動の分子神経機構の解明

バソトシンやその受容体を合成できないメダカ変異体を作成した結果、三者関係 (ホモ変異体オス, ヘテロ変異オス, メス) において、ホモ変異体の割り込み頻度はヘテロ変異より低く、劣位となる傾向が得られた。よってバソトシンホルモンは配偶者防衛において優位になるために必要であることが示された。また、バソトシンホモ変異体オスがヘテロ変異オスに勝つことができない原因が、異性に対する性的動機を失ったためか、または同性に対する攻撃性を失ったためかを検証した。その結果、バソトシンホモ変異体オスはヘテロ変異オスと同程度に、同性に対する攻撃行動を示した一方で、異性に対する求愛頻度はヘテロ変異オスよりも低かった。このため、バソトシンは異性に対する性的動機を保つのに必要であり、性的動機を失ったことが、バソトシン変異体オスが配偶者防衛で勝てなくなった原因になっていると示唆される (*PLoS Genetics* 2015)。今後、バソトシン受容体を発現するニューロンの機能解析をすることで、性的動機、攻撃行動、配偶者防衛に関わるニューロン群が同定できると期待される。

### (3) 配偶者防衛行動の適応的意義

配偶者防衛行動の主な生態的意義として、ライバルオスとメスとの直接的な接触を防ぎ、ライバルオスの性行動を妨害するためと考えられていた。メダカの三者関係では「メスがライバルオスを記憶できないようにすることで、自らが性的パートナーとし

て選ばれる確率を上昇させる」という意義も存在することを実験的に示した。またメダカのメスが「見知ったオス」を配偶相手として選択する適応的意義は、オス間競争に勝利して、「そばにいたオス」を記憶し、排卵期に「そばにいたオス」を性的パートナーとして選択するためである可能性がある(*Front Zool.* 2016)。

**(4) 同種個体への近づき行動を定量する新規行動実験系の確立** 成魚メダカは異種(ゼブラフィッシュ)には近づき行動を示さなかったが、メダカ(同種)にのみ近づき行動を示した。一方、稚魚メダカはゼブラフィッシュ及びメダカの両方に近づき行動を示した。このことから、メダカと同種認知能力は成長に伴って獲得される可能性がある。さらに性成熟したメスメダカは「見知ったオス」に対する選択的な近づき行動が、放卵前に見られたが、放卵後には選択性を失った。このことから本実験系で個体認知能力やメスの性的動機を検定できることが分かった(*Zool. Sci.* 2016)。

## 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4件)査読有り

(1) The molecular basis of social competence in medaka fish. T. Okuyama, S. Yokoi †, H. Takeuchi † *Dev. Growth Differ.* in press.

(2) Ontogeny and sexual differences in swimming proximity to conspecifics in response to visual cues in medaka fish. Y. Isoe, Y. Konagaya, S. Yokoi, T. Kubo, H. Takeuchi † *Zool. Sci.* **33**, 246-254 (2016)

(3) Mate-guarding behavior enhances male reproductive success via familiarization with mating partners in medaka fish. S. Yokoi, S. Ansai, M. Kinoshita, K. Naruse, Y. Kamei, L.J. Young, T. Okuyama, H. Takeuchi †, *Front Zool.* **13**, **21** (2016)

(4) An Essential role of the arginine vasotocin system in mate-guarding behaviors in triadic relationships of medaka fish (*Oryzias latipes*) S. Yokoi, T. Okuyama, Y. Kamei, K. Naruse, Y. Taniguchi, S. Ansai, M. Kinoshita, L.J. Young, N. Takemori, T. Kubo, H. Takeuchi † *PLoS Genetics* **11** (2015), e1005009

### 【学会発表】(計10件)招待講演

(1) 竹内秀明(招待講演)メダカの恋の三角関係の神経分子基盤 OCU テニュアトラック研究集会(大阪市立大学) 2016年12月9日

(2) 竹内秀明(招待講演)メダカの三角関係(オス・オス・メス)を生み出す分子神経基盤 第6回社会神経科学研究会『社会のなりたちを支える内分泌学』(生理学研究所) 2016年11月25日

(3) 竹内秀明(シンポジウム主催・講演)シンポジウム名「比較生物学的観点から「社会脳」の進化的ルーツを探る」講演タイトル「メダカの個体認知を介した社会行動の神経機構」日本神経科学学会(横浜) 2016年7月22日

(4) Hideaki Takeuchi (基調講演) “Exploring the neural geography of the social brain using medaka fish” 17th Australia & New Zealand Zebrafish Meeting, Flinders, Australia, 3-6 February 2016

(5) Hideaki Takeuchi (基調講演) Exploring the neural geography of the social brain using medaka fish” 3rd Medaka Strategic Meeting, Flinders, Australia, 1-3 February 2016

(6) 竹内秀明(招待講演) 「メダカを用いた個体記憶を介した社会的意思決定機構の解明」共感性領域・自己制御精神領域合同シンポジウム・個体と社会の関係を科学する(東京) 2015年12月19日

(7) 竹内秀明(招待講演) 「個体の記憶が異性の好みを生み出す分子神経機構」比較記憶研究会(岡崎) 2015年10月8日-9日

(8) Hideaki Takeuchi (Invited Seminar) “Neural mechanism of female preference mediated by social memory” Symposium on Memory and Mind, Tohoku Forum for Creativity, Tohoku University, Sendai, Japan, September 28-29, 2015

(9) 竹内秀明(招待講演) 「メダカの恋の三角関係を生み出す分子神経機構」第23回日本行動神経内分泌研究会サテライトミーティング(仙台) 2015年9月19日-20日

(10) 竹内秀明(招待講演) 「メダカの三角関係を生み出す分子基盤」日本動物学会関東支部公開講演会「動物の行動を科学する」(東京) 2015年8月1日

### 【図書】(計6件)

(1) 奥山輝大, 竹内秀明 「社会的記憶が”異性の好み”を生み出す神経機構」生体の科学 67, 605-608 (2016)

(2) 横井佐織, 竹花祐介, 竹内秀明, 成瀬清 「メダカ学最前線 日本が育てたモデル動物メダカ」株式会社あるむ(2016)

(3) 奥山輝大, 竹内秀明 「社会的記憶が”異性の好み”を生み出す神経機構」生体の科学 67, 605-608 (2016)

(4) 横井佐織, 坂本竜哉, 坂本浩隆, 竹内秀明 「ヒメダカの三角関係(雄・雌・雄)

における勝者を決めるホルモン」海洋と生物 (2015) 221, 591-597

(5) 奥山輝大, 竹内秀明「社会脳の進化的起源の解明を目指して」生化学 (2015) 87, 605-608.

(6) 奥山輝大, 竹内秀明「異性の好みを生み出す分子と神経」現代化学 9月号 (2015), 28-31.

#### 【産業財産権】

特になし

#### 【その他】

(1) 【TV番組】ガリレオX オスの戦略・メスの戦略 性と進化の不思議 (2016)

[http://web-wac.co.jp/program/galileo\\_x/gx160724](http://web-wac.co.jp/program/galileo_x/gx160724)

(2) 【新聞記事】山陽新聞 2016年6月3日

<http://www.sanyonews.jp/article/359483>

(3) 【プレスリリース】2016年6月2日  
メスの目移りを防ぐオスメダカ ～恋敵に奪われないための二重の戦略～

[http://www.okayama-u.ac.jp/tp/release/release\\_id398.html](http://www.okayama-u.ac.jp/tp/release/release_id398.html)

(4) 【対談】リクルートライフスタイ(2015)  
竹内秀明准教授×はあちゅう メダカの“恋愛スイッチ”の解明はヒトの恋にも応用できる?

[https://www.recruit-lifestyle.co.jp/lifeshift/ls15526\\_20160210](https://www.recruit-lifestyle.co.jp/lifeshift/ls15526_20160210)

(5) 【プレスリリース】2015年2月27日  
恋敵からメスを守るオスメダカ ～三角関係を制するために必要なホルモンの発見～  
<https://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2015/08.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 秀明 (TAKEUCHI, Hideaki)

岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授  
研究者番号：00376534

(2) 研究分担者

横井 佐織 (YOKOI, Saori)

北海道大学・大学院薬学研究院・助教  
研究者番号：10772048

(3) 研究分担者

久保 健雄 (KUBO, Takeo)

東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号：10201469

(4) 連携研究者

亀井 保博 (KAMEI, Yasuhiro)

基礎生物学研究所・生物機能解析センター・特任准教授

研究者番号：70372563

(5) 研究協力者

磯江 泰子 (Isoe, Yasuko)

岡山大学・大学院自然科学研究科・助教(特別契約職員)

研究者番号：60786119