

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06341

研究課題名(和文) 学習による出力行動を環境適応的に変化させる作動原理の解明

研究課題名(英文) Studies on the adaptive behavioral strategies associated with animal learning and memory

研究代表者

井上 武 (INOUE, Takeshi)

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：40391867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：動物が環境変化に応じて適応的に行動を変化させることは生存戦略に重要であるが、その機構の大部分は不明であった。本研究では、行動様式を環境適応的に変化させる機構について、プラナリアをモデルとして解明することを目的とした。脳と末梢神経系との相互作用に着目して解析を行った結果、末梢の咽頭神経系が個体の摂食行動を決定していることを明らかにした。また、環境水中のカルシウムイオン濃度が匂い感受性に作用することも明らかにした。本研究の成果は、これまで脳から末梢に一方的に指令を送っていたと考えられてきたが、反対に末梢の感覚器や神経細胞が主体となって個体行動を決定する機構の発見を示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物行動における環境適応性の複雑な作動原理については大部分が不明である。本研究では、環境変化に伴ってプラナリアが出力行動を適応的に選択する現象に着目し、その機構を非常に単純な原理として理解しようとする点が独創的であり、学術的に意義深い。また、水生生物であるプラナリアの行動様式の機構に関する研究は、SDGsの「産業と技術革新の基盤をつくろう」および「海の豊かさを守ろう」という目標に貢献する。

研究成果の概要(英文)：Even subtle changes in environmental factors can significantly impact animal behavior, affecting interspecies interactions and ultimately impacting the ecosystem. However, the ways in which animals with complex behaviors, governed by neural processes, adapt to environmental changes remain largely unknown. The freshwater planarian, *Dugesia japonica*, which responds keenly to environmental cues. Planarians are thus ideal subjects for exploring how environmental changes influence specific animal behaviors. Our study reveals that signals from the peripheral pharyngeal nervous system to the brain, along with the sensitivity of chemosensory neurons directly modulated by environmental chemical factors, critically influence individual feeding behaviors related to growth and survival. These findings highlight the central role of the peripheral nervous system in regulating individual planarian behavior.

研究分野：行動生理学

キーワード：環境適応 環境応答 環境変化 行動生理 腸-脳軸 定量行動 プラナリア

## 1. 研究開始当初の背景

### **(1) プラナリアは環境に応じて出力行動を選択する**

プラナリアは、光、温度、臭いなどの環境刺激に対する顕著な環境応答行動を示す。報告者らは、プラナリアを用いて、さまざまな環境応答行動を制御する神経基盤や複数の環境刺激における意思決定機構を解明してきた(Inoue *et al*, *J Neurosci*, 2014; Shimoyama *et al*, *Zoolog Sci*, 2016)。また、プラナリアが餌の匂い刺激と光刺激の組み合わせによって連合学習するかどうかを調べた研究では、プラナリアは光に対して通常忌避行動を示すが、連合学習後には光への反応が忌避(負の走光性)から誘因(正の走光性)へと走光性行動が逆転して連合学習によって行動様式を適応的に変化させることを見いだした(Inoue *et al*, *Zoological Lett*, 2015)。ところがその研究過程で、給餌後の満腹時や咽頭切除(嗅覚は正常だが餌を食べられない)個体に学習させても行動様式の変化が起きないことを発見した。この現象は適応的であり自明のように思われたが、行動様式の変化の有無を生み出す機構については全く不明であった。

### **(2) 環境因子が行動に影響する**

プラナリアを研究室で環境条件を一定にして飼育していても、さまざまな季節性の変化をみせる。例えば、夏期には個体の増殖速度が速く、冬季には遅くなることが経験的に知られていた。その原因として飼育水の溶存酸素量や消毒剤である塩素イオン(カルキ)濃度などが推察されたが、それらの季節的な変化とプラナリアの増殖速度との間に相関関係は認められなかった。そこで、夏期および冬季の飼育水を保存しておき、それぞれの飼育水で飼育された個体を同時に用いて、匂い刺激に対する定位行動および光刺激に対する応答行動を測定したところ、夏期に採集した飼育水で飼育されたプラナリアの方が匂い定位行動および光応答行動のいずれも、冬季の飼育水で飼育されたプラナリアよりも高い活性を見せた。これらの結果は、飼育水中の酸素や塩素とは異なる因子が行動に影響している可能性を示唆していたが、何の因子がどのように影響しているかについては、全く不明であった。

### **(3) 行動様式を変化させるしくみの共通原理と課題**

上述の結果は、体内外の環境情報の変化に伴って行動様式を臨機応変に変化させることで、動物は環境に適応していることを示唆している。一般に、行動様式の変化は脳の神経活動による取捨選択と全身への指令によって制御されていると考えられている。しかし、これを実現するにはエネルギーを多量に要するため、特に低温下で活動する変温動物や単純な動物では説明できない。また、さまざまな動物は進化過程で共通祖先から派生したと考えられていることから、動物間で共通原理を保存していると考えられている。すなわち、脳の神経活動とは別に、これまで知られていない機構によって行動様式の変化が調節されていることが示唆される。

プラナリアは、進化の最初に集中神経系を獲得した動物に近く、現存する動物の中で原型に非常に近い集中神経系をもっていると考えられている。そのため、動物の行動様式を決定する神経機構の基本原理を探るのに理想的な動物種である。

## 2. 研究の目的

本研究では、プラナリアを用いて、内外の環境情報がどのようにして個体の行動戦略を決定しているかを明らかにすることを目的とする。本研究課題の目的を達成するためには、末梢神経系と脳との間にある相互作用と環境因子の変化と行動変化を明らかにすることがカギとなるため、具体的には、以下の2点について主に遂行することとした。

### **(1) 摂食行動の開始と停止を制御する腸管神経系と脳の相互作用における神経基盤の解明**

### **(2) 摂食行動に影響する環境水中の因子の同定**

## 3. 研究の方法

本研究では、まず摂食行動を定量するために、摂食行動および摂食量における行動解析法を確立した。次いで、これらの定量的行動解析法および遺伝的背景が均一であるクローン系統のプラナリアを用いて、腸管神経系と脳の相互作用を解析するとともに環境水を人為的に変化させた場合における摂食行動への影響を調べた。また、行動に影響をもたらす環境水中の因子を同定するために、既知の塩を混合して作成される人工飼育水(金谷水)および人工海水を用いた。さらに、神経活動を制御するタンパク質をコードする遺伝子を RNAi 法による遺伝子操作によって神経活動を部位特異的にかく乱した個体を作成した上で、その個体における腸管神経系と脳の相互作用や環境水の変化に伴う行動様式を解析した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 腸管神経系が個体の摂食行動を意思決定している

プラナリアの脳や感覚器官は、他の動物と同様に頭部に集中しているが、摂食器官である口および咽頭は、他の動物とは異なり頭部から離れた胴部中央に存在している。そのため、プラナリアの摂食行動はとてもユニークである。まず、個体が餌に近づいた後（匂い定位行動）、咽頭を体外に出して（咽頭突出）、餌を取り込む（摂取）。そして、満腹になると咽頭を体内に収納して餌から離れる（満腹・摂食停止）。報告者らの過去の研究成果から、脳が、個体の餌への定位行動を制御していることは明らかになっていたが（Inoue *et al*, *Zoological Lett*, 2015）、胴部にある咽頭の摂食時の運動制御については不明であった。そこで、脳がどのようにして胴部にある咽頭に正確な餌の場所を認識させているかについて解析を行った。そのためにまず、咽頭を個体から取り出して餌への反応を観察したところ、体から取り出された咽頭は単独で、適切な餌を認識して定位するなど、自律的に運動することを発見した（図 1A）。さらに、咽頭のオクトパミン神経細胞が感覚-運動制御していることも突き止めることができた。加えて、咽頭の神経系が個体の摂食行動にどのように機能しているかを調べたところ、脳のオクトパミン神経細胞やドーパミン神経細胞は個体の摂食行動（匂い定位行動・咽頭突出・摂取）には関係なく、咽頭のオクトパミン神経細胞またはドーパミン神経細胞が個体の摂食行動のそれぞれ開始または停止に必要であることを発見した（図 1B）。これらの結果から、咽頭が感覚-運動制御の自律性を獲得したことで、咽頭の神経系から脳へ指令を送る経路が確立され個体の行動を制御可能にしたことが示唆された。以上の結果は、*Science Advances* 誌に発表した（Miyamoto *et al*, *Sci Adv*, 2020）。

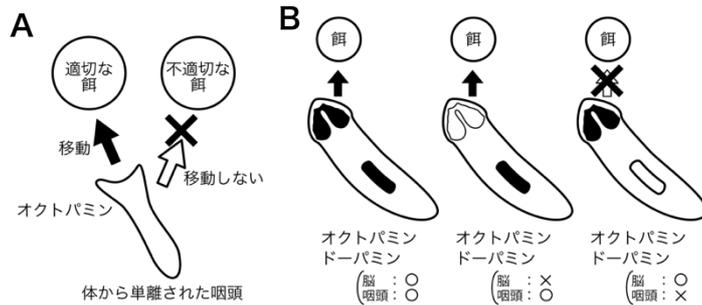


図 1. (A) 体から分離された咽頭の餌に対する匂い定位行動。咽頭単独でも適切な餌を選択して定位する。(B) オクトパミン・ドーパミン神経細胞は脳と咽頭に存在するが、脳のオクトパミン・ドーパミン神経細胞を機能阻害しても個体の摂食行動は正常。しかし、咽頭のオクトパミン・ドーパミン神経細胞を機能阻害すると個体の摂食行動は阻害される。

腸から脳へのコミュニケーション経路は、腸-脳軸と呼ばれ近年急速に注目を集めている。これまで腸-脳軸は、内臓知覚としての機能は分かっていたが、本研究によって腸-脳軸を基盤とする環境適応的に個体行動を調節する新たな機構の存在が示唆された。

##### (2) 環境水のカルシウムイオン濃度が個体の摂食行動を駆動する

まず、人工飼育水（金谷水）を基本として、そこからカルシウムイオン、カリウムイオン、ナトリウムイオンを除いた飼育水を作成し、イオン組成の違いが増殖や個体数に影響するかを長期的に解析した。その結果、カルシウムイオンを含まない飼育水では増殖が著しく低下していた。また、上述の飼育水における摂食行動について解析したところ、カルシウムイオンがない飼育水で飼育された個体は、匂い定位行動および摂食量が低下することが分かり、摂食量の低下が個体数の低下を引き起こしたことを見いだした。次に、同じ組成の飼育水中で飼育した個体を用いて、異なるイオン組成の環境水中で摂食行動を解析したところ、カルシウムイオンがない環境水中では匂い定位行動および摂食量が低下し、反対に、カルシウムイオン濃度を増加させた環境水中での試験では、匂い定位行動および摂食量がカルシウムイオン濃度依存的に増加した。これらの結果は、長期の飼育による生体機能や恒常性の変化ではなく、環境水中のイオンが摂食行動に直接的に影響していることを示唆していた。さらに、環境水中のカルシウムイオン濃度が、脳の神経細胞ではなく、体表に分布する化学感覚神経細胞の活性化状態を左右することを突き止めた（図 2）。加えて、日本の河川や湖におけるカルシウムイオン濃度とプラナリアの生息数との関係を調べたところ、相関関係が認められた。これらの結果は、かつてカルシウムイオンが豊富な環境に生息していた種の生態的および歴史的起源と密接に関係している可能性を示している。以上の結果は、*Zoological Letter* 誌に発表した（Mori *et al*, *Zoological Lett*, 2019）。

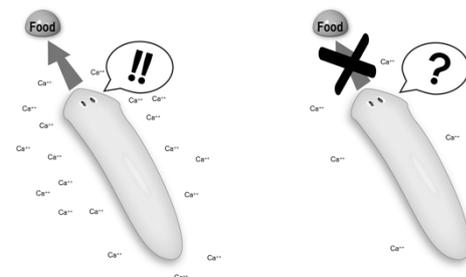


図 2. 環境水中のカルシウムイオン濃度依存的に化学受容器の感受性が向上し摂食行動が亢進する。

環境因子と行動との関係については大部分が不明であったが、本研究によって環境因子が感覚器官の感受性に影響することによって行動様式を決定するという新たな機構が示された。

### (3) まとめ

これまで、動物の環境適応には脳をはじめとした中枢神経系が中心的な働きをしていると考えられてきた。しかし本研究の成果は、末梢神経系や感覚器が脳に対して指令を送ることで個体の行動を制御し環境に対して適応行動をとることを示すものである。

本研究はプラナリアをモデルとした解析であるが、これらの現象はプラナリアに限ったことではない。近年、マウスの腸管の神経細胞から脳に直接投射する神経回路が同定された (Han *et al*, *Cell*, 2018; Kaelberer *et al*, *Science*, 2018)。腸と脳が密接にコミュニケーションをとっていることは古くから知られていたし、そのコミュニケーションには内分泌ホルモンや免疫系の液性因子を介したいわゆる「無線」システムが主な役割を担っているとされてきた。しかし、腸-脳神経回路の発見や本研究の成果は、慢性的に作用する無線型に加えて、急性的に作用する「有線型」の役割の新規性と重要性を示すものである。すなわち、本研究で明らかとなった例は、ヒトやその他のさまざまな動物種における末梢神経系から中枢神経系への指令を介した環境適応のしくみを明らかにするきっかけとなり、今後のさらなる進展が期待される。

#### <引用文献>

Miyamoto, M., Hattori, M., Hosoda, K., Sawamoto, M., Motoishi, M., Hayashi, T., Inoue, T.\* and Umesono, Y.\*: The pharyngeal nervous system orchestrates feeding behavior in planarians. *Sci. Adv.* 6: eaaz0882, 2020

Mori, M., Narahashi, M., Hayashi, T., Ishida, M., Kumagai, N., Sato, Y., Bagherzadeh, R., Agata, K. and Inoue, T.\*: Calcium ions in the aquatic environment drive planarians to food. *Zoological Lett.* 5: 31, 2019

Han, W., Tellez, L. A., Perkins, M. H., Perez, I. O., Qu, T., Ferreira, J., Ferreira, T. L., Quinn, D., Liu, Z. W., Gao, X. B., Kaelberer, M. M., Bohorquez, D. V., Shammah-Lagnado, S. J., de Lartigue, G. and de Araujo, I. E.: A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell* 175: 665-678 e623, 2018

Kaelberer, M. M., Buchanan, K. L., Klein, M. E., Barth, B. B., Montoya, M. M., Shen, X. and Bohorquez, D. V.: A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* 361, 1219, 2018

Shimoyama, S., Inoue, T., Kashima, M. and Agata, K.: Multiple neuropeptide-coding genes involved in planarian pharynx extension. *Zoolog. Sci.* 33: 311-319, 2016

Inoue, T.\*, Hoshino, H., Yamashita, T., Shimoyama, S. and Agata, K.: Planarian shows decision-making behavior in response to multiple stimuli by integrative brain function. *Zoological Lett.* 1: 7, 2015

Inoue, T.\*, Yamashita, T. and Agata, K.: Thermosensory signaling by TRPM is processed by brain serotonergic neurons to produce planarian thermotaxis. *J. Neurosci.* 34: 15701-15714, 2014

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hijioka, M. Ikemoto, Y. Fukao, K. Inoue, T. Kobayakawa, T. Nishimura, K. Takata, K. Agata, K. Kitamura, Y.	4. 巻 46
2. 論文標題 MEK/ERK Signaling Regulates Reconstitution of the Dopaminergic Nerve Circuit in the Planarian <i>Dugesia japonica</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurochem Res	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11064-020-03226-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto, M. Hattori, M., Hosoda, K., Sawamoto, M., Motoishi, M., Hayashi, T., Inoue, T., Umesono, Y.	4. 巻 6
2. 論文標題 The pharyngeal nervous system orchestrates feeding behavior in planarians	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Adv	6. 最初と最後の頁 eaaz0882
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aaz0882	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 -

1. 著者名 Sonpho, E., Wootthichairangsan, C., Ishida, M., Inoue, T., Agata, K., Maleehuan, A., Charngkaew, K., Chomanee, N., Moonsom, S., Wongtrakoongate, P., Chairoungdua, A., Ounjai, P.	4. 巻 37
2. 論文標題 ECM-body: A cell-free 3D biomimetic scaffold derived from intact planarian body	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zool Sci	6. 最初と最後の頁 zs190135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs190135	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 該当する

1. 著者名 Mori, M., Narahashi, M., Hayashi, T., Ishida, M., Kumagai, N., Sato, Y., Bagherzadeh, R., Agata, K., Inoue, T.	4. 巻 5
2. 論文標題 Calcium ions in the aquatic environment drive planarians to food	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Lett	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40851-019-0147-x	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 -

1. 著者名 Cao, P. L., Kumagai, N., Inoue, T., Agata, K., Makino, T.	4. 巻 11
2. 論文標題 JmjC domain-encoding genes are conserved in highly regenerative metazoans and are associated with planarian whole-body regeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genome Biol Evol	6. 最初と最後の頁 552-564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evz021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Inoue, T.	4. 巻 36
2. 論文標題 Adaptive strategies of animal behaviors based on spontaneous self-motions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 比較生理生化学(Comparative Physiology and Biochemistry)	6. 最初と最後の頁 166-174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3330/hikakuseiriseika.36.166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiyama, Y. Agata, K. Inoue, T.	4. 巻 1
2. 論文標題 Coordination between binocular field and spontaneous self-motion specifies the efficiency of planarians' photo-response orientation behavior	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0151-2	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 -

1. 著者名 An, Y. Kawaguchi, A. Zhao, C. Toyoda, A. Sharifi-Zarchi, A. Mousavi, S. A. Bagherzadeh, R. Inoue, T. Ogino, H. Fujiyama, A. Chitsaz, H. Baharvand, H. Agata, K.	4. 巻 4
2. 論文標題 Draft genome of Dugesia japonica provides insights into conserved regulatory elements of the brain restriction gene nou-darake in planarians	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Zoological Lett	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40851-018-0102-2	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 該当する

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 檜橋真理環、阿形 清和、井上 武
2. 発表標題 Studies on rhythmic self-motion in planarians
3. 学会等名 第27回時間生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 嶋崎 綾、井上 武、重信秀治、関井清乃、小林一也、阿形清和
2. 発表標題 無性と有性生殖で増えるプラナリア <i>Dugesia ryukyuensis</i> のゲノム決定
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 檜橋真理環、阿形 清和、井上 武
2. 発表標題 プラナリアの周期性自発的運動の解析
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Inoue, Y. Akiyama, K. Agata
2. 発表標題 Coupling of sensory architecture and spontaneous self-motion enables adaptive behaviors in planarians
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上 武
2. 発表標題 プラナリアの脳機能再生における環境刺激入力の役割
3. 学会等名 第2回再生学異分野融合研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Bagherzadeh, R. Deviatiiarov, E.a Minkina, S. Ahmad Mousavi, A. Sharifi-Zarchi, T. Inoue, O. Gusev, H. Bahrvand, K. Agata
2. 発表標題 Planarian Promoter Architecture
3. 学会等名 52nd Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Mori, M. Ishida, N. Kumagai, Y. Sato, K. Agata, T. Inoue
2. 発表標題 "Ion concentration of the breeding water affects feeding behavior in planarian <i>Dugesia japonica</i> "
3. 学会等名 2018 International Planarian Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Inoue, Y. Akiyama, K. Agata
2. 発表標題 Co-adaptation between sensory structures and spontaneous self-motion for ensuring the effectiveness of multiple behaviors
3. 学会等名 2018 International Planarian Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Inoue
2. 発表標題 Close relationship between the eye architecture and the spontaneous self-motion establishes robust photo-response orientation behavior in planarians
3. 学会等名 The International Research Symposium on Germness and Pluripotency of the Planarians in comparison with the Fly and Mouse Systems (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秋山義太郎、阿形清和、井上 武
2. 発表標題 The spontaneous self-motion preadapts for the efficiency of multiple behaviors in planarians
3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第40回神戸大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森雅斗、石田美雪、熊谷信是、佐藤勇輝、Reza Bagherzadeh、阿形清和、井上 武
2. 発表標題 Ion in the environmental water affects feeding behavior in planarian <i>Dugesia japonica</i>
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上 武
2. 発表標題 プラナリアの光応答行動のしくみ
3. 学会等名 日本動物学会中四国支部岡山県例会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森雅斗、石田美雪、熊谷信是、佐藤勇輝、Reza Bagherzadeh、阿形清和、井上 武
2. 発表標題 環境水の塩濃度がプラナリア (Dugesia japonica)の摂食行動に与える影響
3. 学会等名 日本動物学会第89回大会2018札幌大会代替研究集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 井上 武	4. 発行年 2018年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 520
3. 書名 “扁形動物と脳の再生”，遺伝子から解き明かす脳の不思議な世界. 村上安則，野村真，滋野修一 編	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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