

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05790

研究課題名(和文)大胆か? 慎重か?: 魚類の行動を決定する脳内分子機構の解明

研究課題名(英文) Bold or shy? Studies on neural mechanism underlying the regulation of risk-taking behavior in fish

研究代表者

加川 尚 (Kagawa, Nao)

近畿大学・理工学部・教授

研究者番号：80351568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：他個体がいると大胆な行動をとるメダカの脳内機構をドーパミン神経およびバソトシン(VT)神経に着目して調べた。大胆個体では脳の線条体領域や視索前野領域においてドーパミン合成酵素(TH1)の発現量が慎重個体よりも高かった。また、視索前野領域においてVT発現量が大胆個体で高かった。大胆個体では、線条体領域および視索前野領域においてVT受容体を発現するドーパミン神経細胞体の数が多かった一方で、視索前野領域においてドーパミン受容体を発現するVT神経細胞体はほとんどなかった。以上より、線条体領域や視索前野領域に局在するドーパミン神経によるVT受容が大胆行動時に重要である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大胆行動は動物個体群の生息域拡大や繁殖機会向上に繋がる重要な行動である。本研究により、大胆行動をとる魚類の脳の特定領域においてドーパミンが増加すること、神経ペプチドであるバソトシンをドーパミン神経が受容することがドーパミン増加に重要であることなどを明らかにし、大胆行動を調節する脳内機構とバソトシンの新規機能の解明に繋がる重要な知見を提供する点で、学術的に有意義な成果と考える。さらに、本研究で得られた成果は、魚類が忌避的環境に対抗する大胆行動を神経科学的に制御するような応用技術を開発する際に有用な基礎的知見となりうるものであり、水産増養殖への貢献という点において社会的意義のある成果と考える。

研究成果の概要(英文)：Boldness and risk-taking behaviors in fish are important traits to obtain advantages such as habitation, food resources, reproductive success, and social dominance. Here, we determined the expression of tyrosine hydroxylase1 (TH1), which is the rate-limiting enzyme in dopamine (DA) synthesis, and vasotocin (VT) in brain of bold males in medaka fish. The risk-taking behavior was observed in bold males under the condition of with a neighboring conspecific, but not in shy males under the condition of without a neighboring conspecific. We found that TH1 expression in striatum (ST) and preoptic area (PO) was higher in bold males than in shy males. VT expression in PO was higher in bold males than in shy males. Bold males showed the large number of TH1 somata co-expressing VT receptors in ST and PO, whereas few VT somata co-expressing DA receptors was detected in PO in bold males. These findings suggest that dopaminergic neurons accepting VT regulate risk-taking behavior in bold fish.

研究分野：魚類行動生理学

キーワード：大胆行動 ドーパミン バソトシン メダカ

1. 研究開始当初の背景

動物は捕食者や嫌悪環境などに忌避要因に遭遇すると、対抗する大胆行動か回避する慎重行動を選択する。このうち大胆行動は、個体や個体群の新規生息域の開拓や繁殖機会の向上に繋がることから極めて重要である。哺乳類では大胆行動をとる際に、特定の脳領域におけるドーパミン合成が活発化することが知られている。魚類においてもこのような行動選択は日常的に起こりうるが、魚類の大胆行動の調節にドーパミンがどのように機能するかは不明である。

魚類は同種の他個体と群れをなすことで忌避要因に対抗する。実際に、メダカを用いた risk-taking 行動試験においても他個体との共在が大胆行動を亢進することが実験的にも確認されている。すなわち、この行動試験では、本来メダカが好む環境と忌避する環境を被験個体に提示した際、単独時では好みの環境を選択する(慎重行動をとる)が、他個体と共にいる時では忌避する環境にも立ち向かう(大胆行動をとる)頻度が高まることが分かっている。一方、他個体との群れ形成行動の調節には神経ペプチドであるバソトシン(VT)が深く関与することが知られている。しかし、他個体と共在する条件で大胆行動をとる魚類の脳内で、ドーパミン神経とVT神経がどのように関連して行動を調節するかは、魚類に限らず脊椎動物全般において明らかにされていない。

2. 研究の目的

他個体とすることで大胆になる個体の行動調節に関わる脳内機構をドーパミン神経およびVT神経に着目して明らかにし、大胆行動の調節機構における両神経の新たな機能を解明する。具体的には、次の2点を明らかにする。

(1)ドーパミン神経およびVT神経の活動量や各遺伝子発現量が、大胆個体と慎重個体との間でどのように異なるかを明らかにする。

(2)大胆行動時におけるドーパミン神経とVT神経の相互連絡の有無について、それぞれの受容体遺伝子発現や軸索投射領域の変化に着目して解明する。

3. 研究の方法

(1) 大胆行動時におけるドーパミン神経およびVT神経の各遺伝子発現変化

群れで大胆行動をとる個体と単独で慎重行動をとる個体を risk-taking 行動試験によって得た。行動試験は異なる個体を用いて複数回実施し、大胆個体および慎重個体をそれぞれ50個体程度得た。各個体の脳スライスを作成し、ドーパミン神経細胞体におけるドーパミン合成酵素(TH1)遺伝子およびVT神経細胞体におけるVT遺伝子の発現量を、in situ hybridization(ISH)法を用いて脳領域別に解析した。また、ドーパミン神経とVT神経の活動活性をEgr1遺伝子の発現量を指標に解析した。これらの遺伝子発現量を大胆個体と慎重個体との間で比較し、発現量が異なる遺伝子とその発現脳領域を特定した。

(2) ドーパミン神経およびVT神経の脳内投射領域の解明

大胆個体と慎重個体の脳スライスを用いて抗TH抗体による免疫組織化学的解析を行い、ドーパミン神経の軸索投射領域を調べた。また、VT神経を緑色蛍光タンパク質(GFP)で可視化したvt-egfpトランスジェニック(TG)メダカを用いて risk-taking 行動試験を行い、得られた大胆個体と慎重個体から脳スライスを作成後、蛍光顕微鏡下で観察することでVT神経の軸索投射領域を解析した。これらの解析によって大胆個体と慎重個体との間でドーパミン神経およびVT神経の軸索投射領域の相違があるかを明らかにした。

(3) ドーパミン神経とVT神経の神経連絡の有無

ドーパミン受容体(D2R)およびVT受容体(V1aR1、V1aR2の2タイプ)の発現領域をISH法により調べた。また、抗TH抗体による免疫組織化学とV1aR1またはV1aR2に対するRNA probeを用いたISHを同時に行い、V1aR1またはV1aR2を発現するドーパミン神経細胞体の有無を調べた。同様に、TGメダカの大胆個体から得た脳スライスを用いてD2Rに対するRNA probeを用いたISHを行い、VT神経細胞体におけるD2R発現の有無を調べた。さらに、これらを共発現する

神経細胞体数を大胆個体と慎重個体で比較した。

4. 研究成果

(1) 大胆行動時におけるドーパミン神経およびVT神経の各遺伝子発現変化

TH1 遺伝子発現は脳内の広範囲に渡る領域で認められた。各脳領域の発現量を定量し、大胆個体と慎重個体の間で比較した結果、線条体に相当する領域や視索前野領域において大胆個体の方が慎重個体よりも有意に高発現することが明らかになった。なお、群れで Risk-taking 行動をとらないようにした環境下では、これらの TH1 高発現は認められなかった。さらに、TH1 はドーパミン合成経路に続くノルアドレナリン合成にも関わる酵素であるが、予備実験により当該脳領域ではノルアドレナリン合成が起きていないことを確認した。

VT 遺伝子発現は視索前野の複数領域と視床下部の特定領域で認められた。これらの各領域における発現量を比較したところ、視索前野のうちの一領域において大胆個体の方が慎重個体よりも高発現する傾向がみられた。なお、この視索前野領域は TH1 高発現がみられた視索前野領域に隣接していた。

大胆個体にみられた各脳領域の TH1 発現細胞および VT 発現細胞の Egr1 遺伝子発現量を調べた結果、いずれの領域においても高い Egr1 発現が認められた。

以上の結果から、メダカの大胆行動には脳視索前野領域のドーパミン神経や VT 神経、線条体に相当する領域のドーパミン神経が深く関与すること示された。

(2) ドーパミン神経およびVT神経の脳内投射領域の解明

大胆個体において TH1 および VT が高発現したそれぞれの神経細胞体からそれぞれの軸索がどの領域に投射するかを調べた結果、いずれのドーパミン神経および VT 神経からも、終脳、中脳および間脳の広範囲に渡って軸索を投射することが明らかになった。また、これらの軸索投射領域は慎重個体の脳においても同様に観察され、投射領域には大胆行動と慎重行動との間で大きく異なることがわかった。

(3) ドーパミン神経とVT神経の神経連絡の有無

D2R 遺伝子発現は、線条体相当領域を含む脳の広範囲に渡って認められた。しかし、上記(1)で TH1 や VT の高発現が認められた視索前野領域では、D2R 発現はほとんど確認されなかった。

V1aR1 および V1aR2 遺伝子発現は、線条体相当領域や視索前野領域を含む脳の広範囲に渡って認められ、大胆個体において TH1 や VT が高発現した視索前野領域においても発現が認められた。

そこで、V1aR1 または V1aR2 の遺伝子を発現するドーパミン神経細胞体の細胞数を計測し、大胆個体と慎重個体との間で比較した結果、V1aR2 遺伝子を共発現するドーパミン神経細胞体 (V1aR2+ドーパミン神経) は線条体相当領域および視索前野領域のいずれにおいても、大胆個体の方が慎重個体よりも多かった。一方、V1aR1 遺伝子を共発現するドーパミン神経細胞体の数はこれら 2 領域のいずれにおいても大胆個体と慎重個体との間で差がなかった。

以上の結果から、線条体相当領域や視索前野領域に局在するドーパミン神経における VT 受容が大胆行動時に機能する神経連絡として重要である可能性が示唆された。線条体の機能について魚類ではまだ知見がほとんどないが、哺乳動物では情動や意思決定などに機能することが知られている。また、視索前野領域は魚類を含む多くの脊椎動物種で、本能行動の調節を担うことが報告されている。これらの脳領域におけるドーパミンが魚類の大胆行動に伴う情動応答や本能行動亢進にどのように作用するかについては今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanaami Hanae, Yamamoto Saki, Hayashi Suzuna, Kawamoto Sumika, Makino Hiroki, Kagawa Nao	4. 巻 343
2. 論文標題 Vasotocin expression is associated with social preference development of the medaka fish	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 114355 ~ 114355
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygcen.2023.114355	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 Tamaki Takeru, Kagawa Nao, Fukushima Nobuyuki	4. 巻 568
2. 論文標題 The Japanese lamprey (<i>Lethenteron camtschaticum</i>) expresses functional lysophosphatidic acid receptors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.06.035	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 Otsuka Airi, Shimomura Yuki, Sakikubo Honoka, Miura Kensuke, Kagawa Nao	4. 巻 88
2. 論文標題 Effects of single and repeated heat stress on anxiety-like behavior and locomotor activity in medaka fish	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 45 ~ 54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12562-021-01561-2	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林涼奈、加川尚
2. 発表標題 社会的隔離個体の合流に伴うオピオイド受容体遺伝子の発現変化
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 花田美優、加川尚
2. 発表標題 メダカの社会選好性を利用した空間学習記憶の行動試験系の検討
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河本純花、加川尚
2. 発表標題 仲間の存在がメダカのRisk-taking行動と脳内Tyrosine hydroxylase遺伝子発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村聡一郎、山内優希、加川尚
2. 発表標題 様々な個体数と遭遇した際のメダカの接近行動と脳内バソトシン発現の変化
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林涼奈、加川尚
2. 発表標題 社会的隔離個体の合流に伴うオピオイド受容体遺伝子の発現変化
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 花田美優、加川尚
2. 発表標題 メダカの社会選好性を利用した空間学習記憶の行動試験系の検討
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河本純花、加川尚
2. 発表標題 仲間の存在がメダカのRisk-taking行動と脳内Tyrosine hydroxylase遺伝子発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村聡一郎、山内優希、加川尚
2. 発表標題 様々な個体数と遭遇した際のメダカの接近行動と脳内バソトシン発現の変化
3. 学会等名 第94回日本動物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田名網華衣、山本紗紀、林涼奈、河本純花、牧野大輝、加川尚
2. 発表標題 仔魚期の隔離が社会選好性と神経ペプチド発現に及ぼす影響
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤内 美紀、大塚 愛理、加川 尚
2. 発表標題 メダカ雄における社会順位がオピオイド受容体発現および不安様行動に及ぼす影響
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 牧野 大輝、藤原 明、澤山 太陽、田名網 華衣、大塚 愛理、神田 真司、岡 良隆、加川 尚
2. 発表標題 VT遺伝子欠損がメダカ仔魚における群れ形成行動の発達と脳内egr1発現に及ぼす影響
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村 聡一郎、山内 優希、加川 尚
2. 発表標題 遭遇個体群の消失がメダカ雄の遊泳行動と脳内バソトシンおよびオレキシン発現に及ぼす影響
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤内美紀、大塚愛理、加川尚
2. 発表標題 メダカ雄における社会順位がオピオイド受容体発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第92回日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 牧野 大輝、田名網 華衣、大塚 愛理、神田 真司、岡 良隆、加川 尚
2. 発表標題 VT遺伝子欠損メダカ仔魚における群れ形成行動の発達と脳内egr1発現
3. 学会等名 第92回日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王子田 芽依、加川 尚
2. 発表標題 社会的隔離がメダカの接近行動と脳内オピオイド受容体発現に及ぼす影響
3. 学会等名 2021年度日本魚類学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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