#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号: 32612

研究種目: 基盤研究(B)(一般)

研究期間: 2018~2021

課題番号: 18H01104

研究課題名(和文)魚類脳と空間認知:大規模回遊の神経基盤

研究課題名(英文)Fish brain and spatial cognition: neural basis of large scale migration

#### 研究代表者

渡辺 茂 (Watanabe, Shigeru)

慶應義塾大学・文学部(三田)・名誉教授

研究者番号:30051907

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文): ニホンウナギの空間認知を調べる為に、モリス型迷路と類似した装置を開発し、ウナギの空間学習を初めて実験的に明らかにした。次にこの学習が迷路外の視覚手がかりを利用したものであること、大脳損傷が学習した空間記憶を障害するという知見を得た。嗅覚損傷、視覚損傷による遊泳運動の障害も分析した。ウナギ脳の外部形態を調べるための指標を開発し、他の魚種と比較してその特異性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義 ウナギは日本人の好む食材であり、我々は古くからこれを賞味してきた。しかし、近年になってウナギ資源の減 少が大きな問題になってきた。この問題の解決にはウナギの行動の基盤研究が必須であるが、従来水産学の枠組 みで研究がなされており、個体レベルでの実験的研究は行われてこなかった。本研究はウナギの空間行動の初め ての実験心理学的研究である。またウナギ脳の研究もこれまで手をつけられなかった領域である。本研究は直接 ウナギ保全を目的としたものではないが、その為の基盤的情報を提供するものである。

研究成果の概要(英文): Morris maze-like apparatus was invented to study spatial learning in Japanese eels. The eels showed spatial learning in this apparatus. They used extra-maze visual cues for their learning. The telencephalic lesions impaired the learning. Their swimming behavior was also impaired by damages to the olfactory organ or visual organ. To examine gross anatomy of the eel's brain, a new index of the brain size was invented and features of the eel brain was clarified using this index.

研究分野: 実験心理学

キーワード: ウナギ 空間認知 学習 大脳 視覚

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等に ついては、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

#### 1.研究開始当初の背景

研究代表者は鳥類、哺乳類で多くの空間認知に関する研究を行っており、モリス型迷路に対応するようなキンギョ用の装置も開発している。脳手術についても脳定位固定装置及び麻酔装置を魚類用に改良している。しかし、ウナギについての研究は本研究が初めてである。日本学術会議の海洋生物学の公開シンポジウムでウナギ回遊の専門家である研究分担者(健康上の理由で途中から不参加)とウナギ研究の可能性について話し合ったのが本研究の発端であり、実験心理学と水産学という今までにない異分野の協力が実現した。

#### 2.研究の目的

近年回遊行動が解明されつつあるウナギを用い、1)空間認知能力を厳密な実験条件の統御が可能な実験室で解明する。2)脳損傷実験を行い、空間学習に関係する脳部位を突き止める。3)脳領域の体積を調べ、他魚種と比較することによりウナギ脳の特異性を明らかにする。4)河川滞留時のウナギ(黄ウナギ)と降河時のウナギ(銀ウナギ)の脳を比較し、大回遊準備の為の脳の変化を調べる。脳同時に、自然に近い実験池での空間行動を調べ、実験室でのデータを比較検討する。これらにより、行動実験、脳損傷実験、脳計測から統合的にウナギ空間認知の神経基盤を解明する。

#### 3.研究の方法

#### (1)行動実験1:実験系の確立

装置は直径100センチの円形プールで、その中に内径1.5センチ、長さ24センチの塩化ビニールのパイプが4本置かれている。ウナギはこの4本のうち特定の位置の1本の中に潜り込むことができる。訓練は1日1回だけで、開いているパイプにたどり着けば、そこで10分間休むことができる。この訓練を連続する4日間で3回以上正解したら学習ができたと見做す。統制群のウナギでは開いているパイプの位置は毎日変えられる。

## (2)行動実験2:迷路外手がかりと迷路内手がかりの分離

行動実験 1 と同様だが、開いているパイプには厚みのある三角形(迷路内手がかり)をつけて、ウナギが三角形を手がかりにした学習もできるようにした。ウナギは三角を手がかりにしても、三角を無視して空間の位置(迷路外手がかり)を手がかりにして学習しても、この課題の学習ができる。テストでは三角形を別の位置のパイプにつける。もし、迷路内手がかりで学習をしていれば、ウナギは新しく三角をつけられたパイプを選ぶはずだが、迷路外手がかりを学習していれば、もともとあった位置の三角のないパイプを選ぶはずである。

# (3)脳損傷実験

行動実験1の方法を用いて空間学習を行った。学習基準を満たした個体はすぐに脳損傷手術を受ける個体と、擬損傷を受けて、学習が維持されることを確認後、脳損傷を受ける個体に分けられる。損傷は熱凝固による大脳の大規模損傷と通電による小規模損傷の両方を行なった。 実験終了後、過麻酔下で灌流固定を行い、凍結切片を作成し、ウナギ脳地図上に損傷を再構成し、Image-Jを用いて損傷の量的評価を行なった。

# (4) ウナギ脳の測定

ウナギ脳を背面(Dorsal)から撮像した写真と側面(lateral)から撮像した写真から ImageJ を用いて全体、および各部分の面積を測定し、

 $D*L Index = (Doral mm^2) x (Lateral mm^2)$ 

を求めた。この指標の妥当性を検討するために脳重との相関を求めた。さららに嗅球、大脳、視蓋、小脳の指標を脳全体の指標で割って脳のプロフィールを計算した。比較のため、マハゼでも脳のプロフィールを計算し、さらに主成分分析(PCA)を行って、ウナギ脳の特徴を調べた。

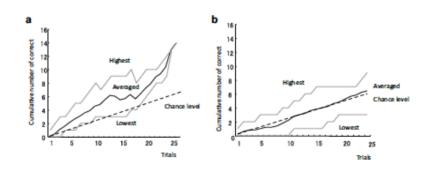
# (5) 黄ウナギと銀ウナギの脳の比較

黄ウナギと銀ウナギ各 10 個体を用いて脳の外部形態の比較を行った。

### 4.研究成果

## (1)行動実験1

実験群は学習できたが(a)、統制群(b)は学習ができなかった。水槽を回転させても学習は維持されるが、部屋を暗くすると学習が維持できない。このことはウナギが水槽の外の視覚的空間的手掛かり(迷路外手がかり)を使ってパイプの位置を認知していたことを示す。

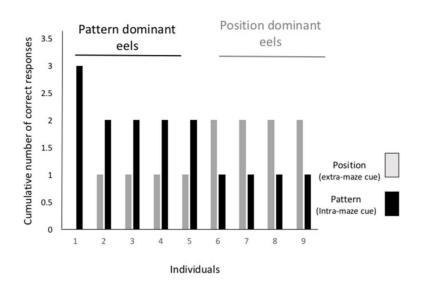


学習曲線:縦軸は累積正答数。横軸は試行数

#### (2)行動実験2

行動実験1と同様に訓練したウナギは全個体ともこの課題を学習した。テストの結果、9個体中1個体だけ一貫して迷路内手がかりを選んだが、他の4個体は迷路内手がかりを2回、迷路

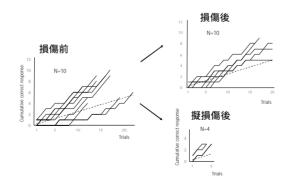
外手がかりを1回、残りの4個体は逆に迷路外を2回、迷路内を1回選んでいる。ウナギはある位置にあり、且つ三角のついたパイプ(連言あるいはAND)という学習ではなく、ある位置にあるか、又は三角のあるパイプ(選言あるいはOR)という学習をしていたことになる。



手がかり分離テスト:縦軸は正答数、横軸は個体。黒は迷路内手がかり、灰色は迷路外迷路外手がかりの選択を示す。

# (3)損傷実験

ウナギは平均 15.9 試行 (11-22 試行)で空間課題を学習した。擬損傷個体が学習を維持したのに対し、大脳損傷を受けた個体では6個体は再学習ができず、平均すると 17.2 試行を要した。 損傷直後の成績、再学習までの正答数を指標としても大脳損傷後は空間認知に障害が見られた。 これらのことから、大脳損傷はウナギ空間学習の維持、再学習を阻害することがわかった。



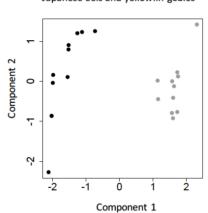
大脳損傷の効果:擬損傷は学習を維持するが、損傷は空間学習を著しく障害する。

魚類外套は背内側部(DM), 背外側部(DL)及び背中心部(DC)に分かれる。このうち、DL はその背側部(DLd)と腹側部(DLv)に分けられる。いくつかの研究は DLv が哺乳類海馬に相当するこ

とを示唆している。線形モデルを使って損傷部位の効果を検討すると、DM と DL では効果が異なることが示された。DM には視覚情報を含めて、感覚情報が送られる。ここから DLv への情報の経路は明らかになっていないが、中脳からの視覚情報は DM に送られ、そこから DLv に送られて空間学習が形成されることが推定される。

## (4)ウナギ脳の測定

D\*L index と脳重の相関係数はウナギで 0.94,マハゼで 0.82 であり、両者に有位な差はなかった。このことはこの指標に妥当性と信頼性があることを示めす。脳プロフィールを比較するとウナギでは嗅球と大脳が大きく、マハゼでは視蓋が大きかった。PCA で両者の脳を二次元で表示すると明らかに 2 つのクラスターが認められ、脳プロフィールが異なることが示唆された。



Japanese eels and yellowfin gobies

主成分分析:灰色がウナギ、黒がマハゼ

#### (5)黄ウナギと銀ウナギ

各部位ごとに D\*L index の相対値を比較すると嗅球で差があり、降河に際して嗅覚が重要な役割を果たすことが示唆された。PCA の結果、黄ウナギと銀ウナギは重複する個体があるもののクラスターとして分けられるので、同種の中で個体の成長段階によって脳プロフィールが異なることが考えられる。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 3件)

〔雑誌論文〕 計4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 3件)	
1.著者名	4 . 巻
Watanabe,S., Shinozuka,K.,	23
2.論文標題	5.発行年
Spatial learning in Japanese eels (Anguilla japonica)	2019年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Animal Cognition	233-236
Allimatic Cognition	230-200
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	
10.1007/s10071-019-01320-y	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1 . 著者名	4 . 巻
Watanabe, S.	418
2.論文標題	5 . 発行年
Impairments of spatial learning by telencephalic lesions in Japanese eels (Anguilla japonica).	2022年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Behavioral Brain Research	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)	本芸の右無
掲載編文のDUI(デンタルオフシェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2021.113626	査読の有無 有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1 . 著者名	4 . 巻
Watanabe,S.	11
2.論文標題	5.発行年
Spatial Learning in Japanese Eels Using Extra- and Intra-Maze Cues	2020年
3.雑誌名	6.最初と最後の頁
Frontiers in Psychology	-
掲載論文のDOI(デジタルオプジェクト識別子)	査読の有無
10.3389/fpsyg.2020.01350	有
オープンアクセス	国際共著
オープンアクセスとしている(また、その予定である)	-
1 . 著者名	4 . 巻
渡辺茂	19
2.論文標題	5 . 発行年
黄ウナギと銀ウナギの脳外部形態の比較	2021年
3 . 雑誌名	6.最初と最後の頁
東アジア鰻学会ニュースレター	4
	****
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
	***
オープンアクセス	国際共著
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	-

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)
1.発表者名 渡辺茂
版起入
2 . 発表標題
Spatial learning in Japanese eels
海馬と高次脳機能学会
2019年
1 改主文·7
1 . 発表者名 渡辺茂・篠塚一貴
2.発表標題
ウナギの空間認知
3.学会等名
東アジア鰻学会(国際学会)
4.発表年
2019年
渡邊俊・増永人志・濱田将吾・加畑幸哉・七里泰斗・芹澤健太・市川光太郎・三田村啓理・荒井修亮・塚本勝巳
2 . 発表標題 実験池におけるニホンウナギの行動解析
2.発表標題 実験池におけるニホンウナギの行動解析
実験池におけるニホンウナギの行動解析 3.学会等名
実験池における二ホンウナギの行動解析
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3. 学会等名 日本魚類学会年会  4. 発表年
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名
実験池におけるニホンウナギの行動解析         3.学会等名         日本魚類学会年会         4.発表年         2018年
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名
実験池における二ホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム:ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム:ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム: ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー  3 . 学会等名 東アジア鰻学会(国際学会)
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム: ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー  3 . 学会等名 東アジア鰻学会(国際学会)  4 . 発表年
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム: ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー  3 . 学会等名 東アジア鰻学会(国際学会)
実験池におけるニホンウナギの行動解析  3 . 学会等名 日本魚類学会年会  4 . 発表年 2018年  1 . 発表者名 渡辺茂・山本直之・萩尾華子・篠塚一貴・渡辺俊・市川光太郎・ 三田村啓理・黒木真里  2 . 発表標題 シンポジウム: ウナギへの挑戦、ウナギでの挑戦ーラボからフィールドまでー  3 . 学会等名 東アジア鰻学会(国際学会)  4 . 発表年

〔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
	塚本 勝巳	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任教授	
研究分担者	(Tsukamoto Katsumi)		
	(10090474)	(12601)	

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
---------	---------