

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05833

研究課題名(和文) 魚類の発育に伴って社会性はいつ発現し、どのように発達するのか？

研究課題名(英文) When and how does medaka juveniles develop schooling behavior?

研究代表者

加川 尚 (KAGAWA, Nao)

近畿大学・理工学部・准教授

研究者番号：80351568

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)：メダカ稚魚の発育に伴う群れ形成行動の開始期の特定と、隔離飼育が群れ形成行動に及ぼす影響を調べた。群れ形成行動は、孵化後2週齢から開始し、4-8週齢にかけて増大した。1-2週齢まで群れから隔離した稚魚では、群れ形成行動が減少した。神経ペプチドのAVTの全脳における発現量は、2週齢で増加を開始し、その後12週齢までに成魚と同レベルに増加した。隔離個体では脳の腹側視索前野領域におけるAVT発現量が減少する傾向にあった。AVT遺伝子欠損メダカは2週齢でも群れ形成行動をとらず、野生型と比べて行動開始期が遅延した。以上より、AVTは稚魚発生の早い時期における群れ形成行動の発現に重要であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の発育に伴う社会性行動の発達に関する研究は、哺乳類では多いが、魚類では未だ充分ではない。本研究で得られた成果は、魚類において、1)発生の早い段階で社会性行動が発達すること、2)複数個体と発育することが社会性行動の発達に重要であること、3)神経ペプチドであるAVTが発育に伴う社会性行動の発現・発達に関与すること、などを明らかにしたものであり、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、水産有用種の適切な飼育条件検討等に有用な基礎的知見を提供しうるものであり、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)：Here, we determined when medaka juveniles display schooling behavior during the developmental stages after hatching. We also studied whether social isolated juvenile changes schooling behavior and whether social isolation affects the expression of neuropeptide hormone (AVT).

Juveniles exhibited schooling behavior at 2 weeks post-hatch (wph). After then, schooling behavior was increased until 8 wph. AVT expression was increased at 2 wph, and then, an increase of AVT expression was found until 12 wph. Schooling behavior in a juvenile isolated from 1 wph to 2 wph was decreased when isolated fish was introduced to grouped conspecifics. In isolated fish, AVT expression was slightly decreased. In the Avt gene knock-out medaka, the juveniles did not exhibit schooling behavior at 2 wph.

This study indicates that social interaction among juveniles is necessary for behavioral development in medaka fish. It also suggests that AVT are associated with behavioral development.

研究分野：魚類行動生理学

キーワード：社会性の発現 群れ形成行動 成長 神経ペプチド メダカ

## 1. 研究開始当初の背景

### (1)動物の発育に伴う社会性行動の発現と発育環境が及ぼす影響

動物個体の群れ行動をはじめとする社会性行動は、その動物個体群の存続に極めて重要な生命活動である。多くの哺乳類では発育過程において社会性が発現する時期が存在するとともに、個体関係などの環境が社会性の発達に重要であることが国内外の多くの研究により示されている。一方、魚類では、成魚における社会性行動は数多く報告されているが、ふ化稚魚から成魚へと発生・発育する過程で社会性行動がいつ頃発現するか調べた研究は未だない。多くの魚種は同種の複数個体で社会を形成して生息する社会性動物であり、発生・発育過程で社会性が発現する時期や、それに及ぼす生育環境の影響が十分に予想される。

### (2)魚類の発生・発育に伴う社会性の発現と神経ペプチドとの関連性

神経ペプチドホルモンであるアルギニンバソトシン(AVT)は、脊椎動物間で広く保存されており、成体の社会性行動の調節に深く関与することが、魚類から哺乳類に至る多くの種で報告されている。メダカにおいても成魚の個体間競争における攻撃や逃避行動の調節に関与することがわかっている。また、メダカ脳内のAVTニューロンは胚発生の段階で脳に出現し、稚魚期において異なる複数の脳領域でニューロン数が発生に伴って増加することがわかっている。これらの事実は、個体の発育に伴って社会性行動調節機構が構築される上でAVTが何らかの役割を果たす可能性を示唆している。しかし、AVTが個体の社会性の発現・発達に関与するかは、魚類を含む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

(1)メダカ社会性行動の一つである群れ形成行動が、ふ化後の発生・発育過程で、いつ発現するかを明らかにする。また、稚魚期における隔離条件下での発育が群れ形成行動に及ぼす影響を明らかにする。

(2)稚魚の発生・発育に伴う群れ形成行動の発現に脳内AVTが関与するかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1)メダカ稚魚を用いた行動試験による群れ形成開始期の特定

すでに確立したメダカ成魚の群れ行動解析法を基盤として、ふ化後各齢の稚魚を用いて他個体群への接近行動を指標とした群れ形成行動試験を実施した。行動試験には、ふ化後3日齢から12週齢の稚幼魚を個体に用いた。供試個体は行動試験まで同齢の複数個体と同一水槽で飼育した。行動試験では、供試個体1個体を入れた試験水槽、同齢の個体3個体を入れたディスプレイ水槽、個体を入れていない空水槽を準備した。次に、試験水槽をディスプレイ水槽と空水槽で挟むように隣接させ、供試個体がいずれの水槽を選好するかを、滞在時間と接触回数を指標として計測し、これらのデータをもとに群れ形成行動指数を算出し、比較した。

### (2)群れ形成開始期に単独隔離した稚魚の行動変化

上記(1)で特定した群れ形成開始期に一定日数間、群れから隔離して単独飼育した稚魚を準備した。これらの隔離稚魚を用いて群れと遭遇した際の群れ形成行動を調べた。

### (3)発生・発育に伴う稚魚脳内AVT mRNA発現量の変化

上記(1)で行動試験に用いた各齢の個体を用いて、全脳内におけるAVT mRNA発現量をreal-time PCR法により解析し比較した。また、脳の異なる複数領域に局在するAVTニューロン細胞体におけるAVT発現量について、AVT発現をGFPで可視化したトランスジェニック(TG)メダカの稚魚を用いて脳領域ごとに解析した。さらに、上記(2)で準備した隔離稚魚について、全脳内のAVTおよびAVT受容体のmRNA発現量を調べ、通常飼育個体と比較した。

#### (4)AVT 遺伝子欠損 (K0) メダカ稚魚における群れ形成行動開始期

2 週齢前後の発生・発育期における K0 (ホモ接合体) メダカ稚魚を用いて群れ形成行動試験を行い、野生型の行動との相違を精査した。

### 4. 研究成果

#### (1)稚魚の発生・発育段階における群れ形成開始期

行動試験の結果、10 日齢までは群れ形成行動指数は低かったが、2 週齢では群れのいるディスプレイ水槽に対する選好性を示すようになり、高い群れ形成行動指数を示した。その後、日齢の経過とともに群れ形成行動指数は徐々に上昇し、8 週齢以降では成魚と同レベルの指数を示した。これらの結果から、メダカ稚魚は 11~14 日齢に群れ形成行動をとるようになり、この時期が群れ行動を始めとする社会性行動の発現開始期であると考えられた。

#### (2)群れ形成開始期の単独隔離が稚魚の群れ選好性に及ぼす影響

ふ化後 2 週齢から遡って 1~7 日間、群れから隔離し単独で飼育した個体を用いて、群れ形成行動試験を実施した。その結果、隔離個体はディスプレイ水槽への選好性を示さなくなり、複数個体と飼育した通常個体と比べて、群れ形成行動指数が低かった。このような結果は隔離日数が長い個体ほど顕著にみられた。このことから、発育期の群れ形成行動開始期に他個体から隔離されると、他個体群と再遭遇した際に群れ形成を取りづらくなると考えられた。

#### (3)発生・発育に伴う脳内 AVT 発現変化

各齢の稚魚の全脳における AVT mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法により解析した結果、10 日齢まではほぼ一定の AVT 発現量を示したが、2 週齢で増加をはじめ、その後 8 週齢まで加齢するにつれて徐々に増加し、12 週齢で成魚と同レベルの発現を示した。このように、メダカ稚魚では群れ行動開始期とほぼ同時期に脳内 AVT 発現量も増加を開始したことから、AVT が稚魚の社会性発達に関与する可能性が示唆された。また、通常飼育した TG メダカを用いて、脳領域別に発生・発育に伴う AVT 発現変化を組織学的に調べたところ、発現量増加に脳領域特異的な違いはみられず、ほぼいずれの領域においても AVT 発現が増加することがわかった。

隔離個体の全脳における AVT と AVT 受容体の mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法により解析した結果、同齢の通常飼育個体と比べて AVT 発現量は低い傾向を示した。隔離個体の AVT 発現を脳領域別に調べた結果、特に腹側視索前野領域の発現が低いことがわかった。一方、AVT 受容体発現量は隔離個体と通常飼育個体との間に差はなかった。これらのことから、群れ形成行動発現期に隔離飼育された稚魚にみられた群れ形成行動異常に、脳内 AVT 発現が深く関連することが示唆された。

#### (4)AVT 遺伝子欠損 (K0) メダカ稚魚における群れ形成行動開始期

複数個体で通常飼育した 2 週齢前後の K0 メダカ稚魚を用いて行動試験を実施した結果、群れ形成行動指数は 2 週齢では低値を示し、3 週齢になって微増することがわかった。一方、4 週齢では野生型と同レベルの群れ形成行動指数を示した。これらのことから、AVT 遺伝子欠損によって発育の早い段階における群れ形成開始が遅延することが明らかになり、当該遺伝子が群れ行動の正常な発達に機能することが示唆された。

#### (5)研究成果のまとめ

本研究では、魚類において、1) 発生の早い段階で社会性行動が発達すること、2) 複数個体と発育することが社会性行動の発達に重要であること、3) 神経ペプチドである AVT が発育に伴う社会性行動の発現・発達に関与すること、などを明らかにした。

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 Otsuka Airi, Shimomura Kenta, Niwa Haruka, Kagawa Nao	4. 巻 96
2. 論文標題 The presence of a conspecific induces risk taking behaviour and enlargement of somata size of dopaminergic neurons in the brain of male medaka fish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Fish Biology	6. 最初と最後の頁 1014-1023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jfb.14293	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 Yuki Shimomura, Moeko Inahata, Mai Komori, Nao Kagawa	4. 巻 37
2. 論文標題 Reduction of tryptophan hydroxylase expression in the brain of medaka fish after repeated heat stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 391-398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs180135	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 Airi Otsuka, Moeko Inahata, Yuki Shimomura, Nao Kagawa	4. 巻 86
2. 論文標題 Physiological changes in response to social isolation in male medaka fish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 775-781
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12562-020-01441-1	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加川 尚
2. 発表標題 d-rRメダカの明暗選好性を利用した不安様行動試験
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加川 尚
2. 発表標題 メダカ稚魚の発育に伴う社会性行動と脳内vasotocin発現の変化
3. 学会等名 日本水産学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加川 尚
2. 発表標題 魚類の闘争行動の調節における神経ペプチドの役割
3. 学会等名 2018年度日本魚類学会50周年記念シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 一般社団法人日本魚類学会 編	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 756
3. 書名 魚類学の百科事典	

〔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
---------	---------