

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26830009

研究課題名(和文) 鱗食性シクリッドの右利き・左利きの神経制御に関する構成要素と仕組み

研究課題名(英文) Component and mechanism of lefty/right in the scale-eating cichlid fish

研究代表者

竹内 勇一 (Takeuchi, Yuichi)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・助教

研究者番号：40508884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：タンガニイカ湖に生息する鱗食魚は左右非対称な口部形態をもち、捕食行動において顕著な左右性を示すことで知られる。本研究では、その神経制御機構を明らかにすることを目的として、捕食行動と後脳・マウスナー細胞の関係性、捕食行動の左右性が発達上どのように獲得されるのかを調べた。最初期遺伝子の発現検出から、捕食行動時にマウスナー細胞が活動していることが示された。また、野外で様々な大きさの鱗食魚の胃内容物と口部形態を解析した結果、鱗食開始期に襲撃方向はランダムであるが、体の成長とともに口部形態の左右差と対応する方向に偏ることが分かった。

研究成果の概要(英文)：The scale-eating cichlid *Perissodus microlepis* with asymmetric mouth exhibit extreme behavioral laterality in predation: each adult robs scales from its prey fishes' left or right flanks according to the direction in which its mouth is skewed. To clarify the neuronal mechanisms of behavioral laterality in predation, I examined the expression analysis of immediate early gene (*Arc*) after predation, and stomach contents and lower jaw-bone asymmetry of various-sized *P. microlepis* (22<SL<115mm) sampled in Lake Tanganyika. *Arc* signal was localized to the soma and dendrites Mauthner cells of *P. microlepis*. As the fish acquired scale-eating (45mm<SL), attack side preference was gradually strengthened, as was mouth asymmetry. These findings suggest that behavioral laterality in scale-eating is controlled by the Mauthner cell in hindbrain and established in association with body development.

研究分野：神経行動学

キーワード：左右性 捕食被食関係 発達 学習 種内二型 タンガニイカ湖

### 1. 研究開始当初の背景

アフリカ東部に位置するタンガニカ湖のシクリッド科魚類は、爆発的な種分化をとげて、その生態や食性は著しく細分化されている。獲物となる魚の鱗をはぎ取って食べる鱗食魚 (*Perissodus microlepis*) は、捕食行動において顕著な左右性を示す(図1)。私はこの運動を詳細に解析し、左右性行動の成分とキネティクスをあきらかにした (Takeuchi et al. 2012)。

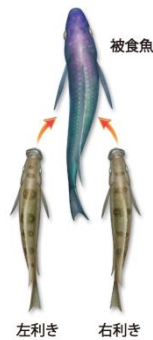


図1. 鱗食魚の利きと捕食行動の関係。口部形態と襲撃方向に、明確な対応関係がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、行動の左右性の神経基盤を研究するモデルとして、タンガニカ湖の鱗食性シクリッド科魚類 *Perissodus microlepis* における捕食行動とマウスナー (M) 細胞を中心とする視蓋-網様体脊髄路系の関係を取り上げた。具体的には、以下の4項目について体系的に研究を行った。(1)捕食行動におけるM細胞系の果たす役割を明確にするため、M細胞の捕食行動中のM細胞の活動を調べた。(2)捕食行動における視覚系の重要性を検討するため、利き眼について調べた。(3)M細胞系の左右性の進化を明らかにするため、近縁なシクリッド種間でM細胞系の細胞形態を比較した。(4)左右性の発達過程を明らかにするため、稚魚~若魚期における捕食行動の左右性の強さと時間的変化を調べた。

### 3. 研究の方法

(1)捕食行動中のM細胞を含む網様体脊髄路ニューロン群の活動および左右差を明らかにするため、初期応答遺伝子 (*Arc*) の発現解析を行った。(2)捕食行動の左右性における視覚の重要性を理解することを目的として、視覚が使えない暗条件で捕食行動をビデオカメラで記録し、明条件と比較した。また、鱗食行動を正確に行うために特化した利き眼の存在を検討するために、片眼にメタノールを注入してレンズを白濁させて視覚入力を欠損させた魚で、捕食行動実験を行い、その影響を調べた。(3)鱗食行動において最も著しい左右差を示す胸の屈曲運動を駆動する後脳のマウスナー(M)細胞を逆行性染色し、形態を種間で比較した。(4)口部形態の左右非対称性を計測するためには、口部から取り出した下顎骨をアリザリンレッド溶液で染色し、デジタルマイクロスコープ

を使って、左右の下顎骨の高さ(歯骨から後関節骨までの距離)を計測した。捕食行動の左右性の発達を明らかにするために、タンガニカ湖で採集された鱗食魚の稚魚・若魚を対象に、鱗食魚の胃に残る被食魚の鱗の形状を計測し、生前の捕食行動の左右性を推定した。

### 4. 研究成果

#### (1)捕食行動とマウスナー細胞の関係

鱗食魚の捕食時の屈曲運動は、後脳に左右一对のマウスナー(M)細胞で駆動される逃避行動に酷似するため、捕食時の屈曲にM細胞回路が働くと示唆されている(図2)。今回、神経活動依存的に発現する初期応答遺伝子の *Arc* タンパク値を指標に、捕食行動におけるM細胞回路の寄与を検討した。免疫組織学的解析から、捕食後のM細胞内の *Arc* 値は、無処理の対照群に比べて有意に上昇していた(図3)。また、M細胞の腹側樹状突起で強い発現が見られたことから、これは視覚入力による神経活動と考えられた。



図2. 鱗食魚の鱗食行動(左利き)と逃避行動の屈曲運動。屈曲の動作や運動力学的特徴がほぼ一致している (Takeuchi et al. 2012)。

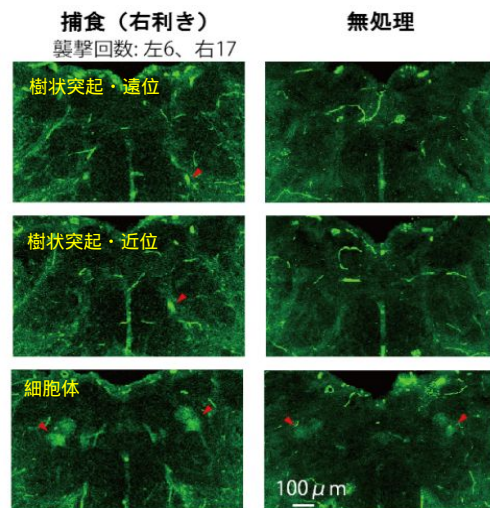


図3. 捕食後とコントロールのM細胞における *Arc* 発現。捕食した鱗食魚のM細胞は *Arc* タンパクの発現量が大きく向上していた(赤矢頭)。

#### (2)視覚情報操作による左右性行動の制御機構の解明

鱗食魚の捕食行動の左右性における視覚情報の役割を明らかにすることを目的とした。鱗食魚の片眼又は両眼にメタノールを注射して視力を喪失させた。視力を喪失させた鱗食魚の捕食行動を高速度ビデオカメラ(500 フレーム/秒)とハイビジョンビデオカメラ(30 フレーム/秒)で1時間撮影し、その

映像から利き側への襲撃率(利き側への襲撃回数/被食魚後方からの襲撃回数)や胴の屈曲角速度を算出した。

片眼の視力を喪失した鱗食魚でも積極的に被食魚(キンギョ)を襲い、喪失前と同程度の襲撃頻度であったが、両眼の視力を喪失させた個体では、襲撃はほとんど見られなかった。利き眼と想定される側の眼(右利きの左眼、左利きの右眼)の視力を喪失させた場合、利き側からの襲撃率が大きく減少した。それに対して、非利き側と想定される眼の視力を喪失させても、捕食行動とその左右性に大きな変化はみられなかった(図4)。

今回、利き側の眼の視力を奪っても鱗食魚は離れた位置から被食魚を捉えて追跡を開始できるが、被食魚に接近して利き側に「回り込み」、一瞬身体を止めてS字状に「構え」、素早い「屈曲」を行うには利き側の眼の視力が必要であることを明らかにした。すなわち、利き側の眼に依存した一連の精巧な捕食プログラムが構築されていると考えられる。

#### 襲撃方向の偏りは利き側の視覚依存性である

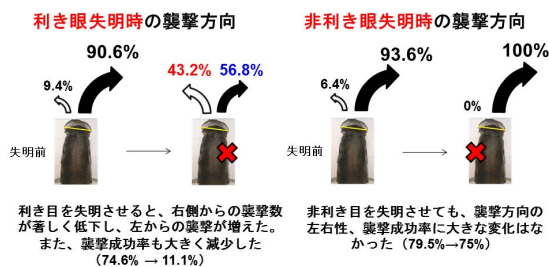


図4. 片眼喪失による襲撃方向の変化. 利き眼の視覚を失わせると、襲撃方向の偏りが著しく低下した。

#### (3) 左右性の進化

*P. microlepis*の鱗食行動は、(1)被食魚への接近、(2)回り込み、(3)構え、(4)攻撃における胴の屈曲、(5)捻り、の5つの過程から成り立つが、もっとも迅速な胴の屈曲は、サカナの逃避運動の胴の屈曲と同じ運動キネティクスを持つことから、逃避運動を駆動する後脳のマウスナー(M)細胞が、鱗食行動における胴の屈曲にも関与する可能性が示唆されている(Takeuchi et al., 2012)。それが正しければ、食性の違うシクリッドの間で形態的な差異が見出されるかもしれない。そこで、鱗食魚のM細胞の樹状突起・細胞体・軸索の形態を精査し、食性の異なるシクリッド2種(藻類食: *Tropheus moorii*, ベントス食: *Cyphotilapia frontosa*)のM細胞と比較した(図5)。その結果、鱗食魚の腹側樹状突起の長さは、3種の中で最も長かった。M細胞の腹側樹状突起は視覚情報を、側方樹状突起は聴覚情報を受け取ることから、以上の樹状突起の形状の差は、鱗食魚がより視覚に依存した生態を持つことを反映していると考えられる。左右差に関しては、現在検討中である。

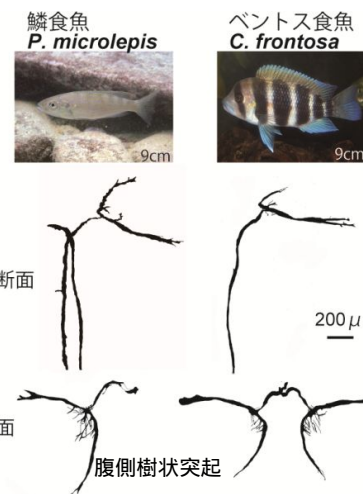


図5. 鱗食魚とベントス食魚のM細胞形態. 近縁ながら、樹状突起の広がり方には種間差が見出される。

#### (4) 左右性の発達

##### 口部形態の左右差の発達

鱗食魚の口部形態の左右差の頻度分布は、幼魚~若魚~成魚を通して二山分布で表現され、鱗食になる前からすでに口部形態の左右差が現れていることが明らかになった。野外では、体長45mm以上になると鱗を摂食ようになる(Nshombo et al., 1986)。下顎骨の左右性指数の絶対値は発達に伴って大きくなるだけでなく、分散値も大きくなっていった(図6)。口部形態の左右差が個体ごとに大きくなる原因には、一方向からの襲撃の繰り返しによる可塑的变化も含まれることが考えられる。

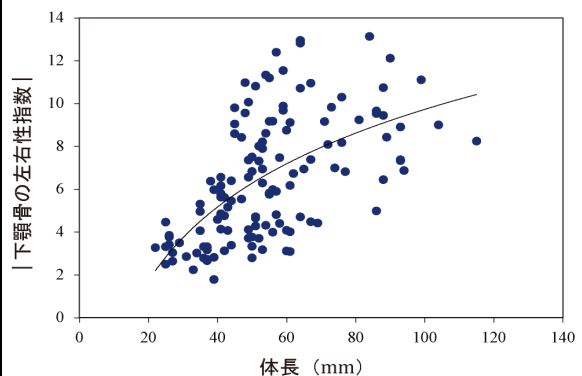


図6. 体長と下顎骨の左右性指数の絶対値との関係. 実線は近似曲線を示す. 下顎骨の左右差は、体長とともに大きくなっていった。

##### 捕食行動の左右性の発達

シクリッド科魚類の側線鱗は、形状が左右の胴で鏡像対称になっている(Hori 1993)ため、摂食した鱗の形状から左右の襲撃方向を割り出し、捕食行動の左右性を推定できる。この手法の妥当性は、野外で鱗食魚に襲撃される藻類食魚 *Tropheus moorii* と肉食魚 *Cyphotilapia frontosa* のサンプルから側線鱗を計測して確認された。鱗食魚の胃から得

られた側線鱗の解析から、成魚では、右側に口が曲がって開く左利き個体はほぼ左体側の鱗のみを、左に向かって口の開く右利き個体はほぼ右体側の鱗のみを摂食していることが示された(図7)。一方、体長の小さな幼魚の胃内容には逆体側の鱗も含まれており、被食魚の左右両方向から襲っていたことを示している。したがって、成長に伴い顎形態と合致する体側の鱗を摂食した割合が高くなることから、捕食行動の左右性は発達に伴って強化されると解釈される。ランダムな方向の襲撃から利き側に特化した襲撃にシフトすることは、捕食成功の向上につながり、このポジティブフィードバックによって左右性が顕現化されていくと考えられる。

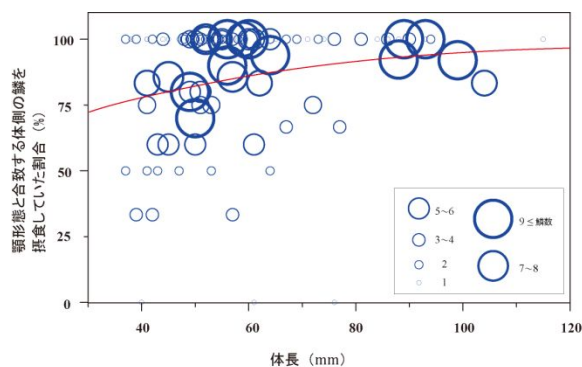


図7. 体長と顎形態と合致する体側の鱗を摂食していた比率の関係。実線は一般化線形混合モデル解析から求められた近似曲線を示す。捕食行動の左右性は、体長に伴って顕著になっていた。

#### 左右二型の維持機構

鱗食魚が摂食した鱗の数は、体長と下顎骨の左右性指数の両者と正の相関関係があった。体の大きな鱗食魚が小さな鱗食魚よりも、摂食鱗数が多いのは当然であるが、同じ体長でもより顕著な口部形態の左右差をもつ鱗食魚の方が、左右差の小さな鱗食魚よりも多く鱗を摂食していた(図8)。これは顕著な左右差のある口部形態をもつ鱗食魚の方が、高い捕食成功を達成していることを示し、鱗食魚の口部形態の左右差が適応的であることを初めて定量的に実証した。このように極端なタイプが生き残る淘汰を「分断淘汰(disruptive selection)」といい、種内多型の維持に大きな役割を果たすと考えられている(Rueffler et al. 2006)。鱗食魚における口部形態の左右差は、まさに分断淘汰により維持されているのだろう。

以上より、鱗食魚の口部形態の左右差は内定要因(遺伝)によって発現すること、捕食行動の左右性は発達とともに獲得されることが明らかとなった。形態と捕食行動の左右性が極端に偏れば、効率的に鱗を得られる事ができることを実証した。また、下顎骨の左

右差の発達には、鱗食経験による外的要因の寄与も示唆された。

本研究の成果(4)は、PLoS ONE (Takeuchi et al. 2016: 雑誌論文1)に発表し、新聞報道やアメリカ自然科学雑誌 Natural history magazine でも紹介された。

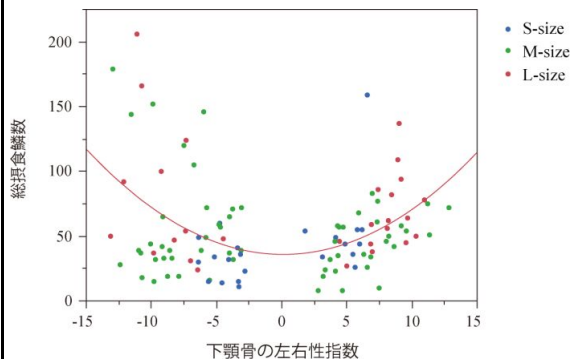


図8. 下顎骨の左右差とその個体が摂食していた鱗の数の関係。どの体長クラスも、形態的非対称性がより大きな個体の方が、小さな個体よりも多くの鱗を摂食していた。

#### 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 1 件)

Takeuchi Y, Hori M, Tada S, Oda Y. Acquisition of Lateralized Predation Behavior Associated with Development of Mouth Asymmetry in a Lake Tanganyika Scale-Eating Cichlid Fish. *PLoS ONE*. 2016 Jan 25;11(1):e0147476. doi: 10.1371/journal.pone.0147476. 2016. (査読有)

[学会発表](計 5 件)

竹内勇一、北野潤、石川麻乃、小田洋一 RNA-Seq による鱗食魚の利きの発現に関わる脳内遺伝子の探索 第 63 回日本生態学会(仙台)ポスター 2016.3.24

竹内勇一、小田洋一 鱗食魚における捕食行動の左右性の確立に関わる内的・外的要因 第 86 回日本動物学会(新潟)ポスター 2015.9.18

竹内勇一、堀道雄、多田真也、小田洋一 鱗食魚における捕食行動の左右性の獲得~野外調査と行動実験による検証~ 第 38 回日本神経科学学会(神戸)ポスター 2015.7.30

竹内勇一、堀道雄、小田洋一 鱗食シクリッドの非対称な捕食行動と顎形態の発達 第 37 回日本神経科学学会(横浜)ポスター 2014.9.12

Takeuchi Y, Hori M, Oda Y. Increased behavioral laterality and mouth morphology with development in Lake Tanganyika scale-eating cichlid fish. 11th International congress of Neuroethology. Sapporo, Japan. Poster.

2014.7.31

〔図書〕(計 2 件)

竹内勇一 他、クバプロ社、ブレインサイエンス・レビュー2015 「右利きと左利きの脳内制御機構」 p165-189. (2015)

竹内勇一 他、講談社、もっと！科学の宝箱 「利き手は進化の証！？」 p131-138. (2014)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/anat/index.html>

新聞報道

朝日新聞(2016年1月24日朝刊,27面)  
「魚、進化の実験室」

6. 研究組織

(1)研究代表者

竹内 勇一 (TAKEUCHI Yuichi)  
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・  
助教

研究者番号：40508884

(2)研究分担者

なし

研究者番号：

(3)連携研究者

なし