

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K14934

研究課題名(和文) 鱗食魚の右利き・左利きを支配する脳内機序の理解

研究課題名(英文) The brain mechanisms regulated righty and lefty in a scale-eating fish

研究代表者

竹内 勇一 (Takeuchi, Yuichi)

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：40508884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：左右性が顕著なタンガニイカ湖の鱗食魚について、左右性行動に関する回路素子・発達過程・遺伝基盤を調べた。生まれて初めての鱗食行動に左右差はあるのかを目的とし、固形飼料でのみ育てた幼魚を使って、捕食実験を行ったところ、鱗食初日の左右性は弱い捕食を繰り返すことで強化された。すなわち、この左右性は、鱗食経験に基づいて獲得されることが明らかになった。また、利きと脳の左右差に関する脳内遺伝子を、RNA-seqで網羅的に解析した。鱗食魚の右脳もしくは左脳に特有な発現を示す遺伝子を同定した。なかには、初期胚で左右軸決定に携わる遺伝子が含まれており、それらが成魚の脳の左右差の維持に関わると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

利き手のように体の片方を主に使う行動様式は脳内でどのように制御されるのか？左右の脳は高度に機能分化しており、その機構解明は脳科学上の重要な課題の一つである。私はタンガニイカ湖の鱗食魚を用いて、捕食時にみられる襲撃方向の利きは経験依存的な学習によって確立されるが、運動能力の左右差は生まれつき決まっていることを突き止めた。ヒトの利き手を代表として、様々な動物に広く認められるが、実はその獲得機構は、ほとんど明らかになっていなかった。鱗食魚の利きは非常に明瞭で、それを制御する入力から出力までの神経回路が想定できる。今後は、いまだ謎に包まれた「利きの脳内制御機構」の全容が解明できると考えている。

研究成果の概要(英文)：We investigated the neural elements, developmental processes, and genetic basis for laterality in the scale-eating fish, *Perissodus microlepis*, of Lake Tanganyika. Aiming at whether there is a laterality in scale-eating behavior (i.e., attack side preference) for the first time after birth, a predation experiment was carried out using naive juveniles raised only on artificial feed. The attack side preference of the first day of scale-eating was relatively weak but the strengthened by repeated predation. That is, this behavioral laterality is acquired based on the scale-eating experience. In addition, the brain genes related to the difference between lefty and righty fish and the two hemispheres were analyzed by RNA-seq. We identified a gene that is characteristic of the right or left hemisphere. Among them, genes involved in left-right axis determination in the early embryo were included, suggesting that they are involved in the maintenance of left-right difference in the adult brain.

研究分野：神経行動学

キーワード：左右性 脳の左右差 学習 捕食行動 遺伝子発現

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

左右非対称な行動や認知機能は、ヒトを含む多くの動物で認められ、それらは脳の左右性から生まれる。左右の脳は高度に機能分化しており、その機構解明は脳科学上の重要な課題の一つである (Rogers & Andrews 2002)。そのような脳の左右性は、脊椎動物で保存された特徴である (Vallortigara & Rogers 2005)。近年、視床上部、特に手綱核を中心として (Agetsuma et al., 2010)、脳の回路構造や行動に対する損傷効果が非対称な点に注目が集まり始めた。一方、行動の左右性の神経基盤の解明は、回路の複雑さや研究戦略の難しさから、ほとんど手がつけられていない。

進化の実験室として有名なアフリカ・タンガニカ湖のシクリッド科魚類は、約 1000 万年前に湖が形成されて以来急速な種分化をとげ、現在は約 200 種が記載されている (Salzburger et al. 2002)。また、その生態や食性は厳密に細分化され、きわめて多様性が高い (Coulter 1991)。最近、シクリッド科であるティラピアのゲノム情報が公開され (Brawand et al. 2014)、これまで不可能であった分子生物学的手法やゲノム解析が可能となった。シクリッド科の中で、獲物の魚の鱗をはぎ取って食べる鱗食魚 *Perissodus microlepis* は、口部形態が非対称で、捕食行動において著しい左右性を示す (Hori, *Science* 1993)。すなわち、左顎の大きな「左利き個体」は獲物の左体側を、右顎の大きな「右利き個体」は右体側の鱗を好んで狙う (図 1)。個体ごとに著しく偏った捕食行動は、それを制御する神経ネットワークの構成や細胞自体に左右非対称性の存在を強く示唆する。

私は、この鱗食魚 *Perissodus microlepis* を実験室内の水槽で高速度カメラ (毎秒 500 フレーム) を用いて記録し、左右性行動の詳細を解析したところ、捕食行動がヒトの利き手に匹敵する明確な左右性を示すことを見出し、その主要運動は後脳マウスナー (M) 細胞によって駆動されると推定した (Takeuchi et al., *PLoS ONE*, 2012)。また、個体の発達過程における左右性の獲得に関しては、タンガニカ湖で採集したさまざまな大きさの *P. microlepis* の胃内容物と下顎骨の形態を調べて、プランクトン食期から鱗食に移行直後には、すでに下顎骨には小さな左右差があるが、胃から見いだされる被食魚の鱗から、鱗食期初期には獲物の左右両方向から襲撃しており、その後発達にともなって利き側に偏ることが示唆された (Takeuchi et al., *PLoS ONE*, 2016)。本研究開始直前に、世界淡水魚園水族館「アクア・トぎふ」(研究代表・池谷幸樹館長) の協力のもと、鱗食シクリッドの実験室ベースでの繁殖に世界で初めて成功した。その結果、安定的に卵や稚魚を自前で確保できるようになり、発達過程の追跡や遺伝学的解析も可能となった。以上より、鱗食魚は左右性の制御機構を神経回路から分子基盤まで解く格好の系である。

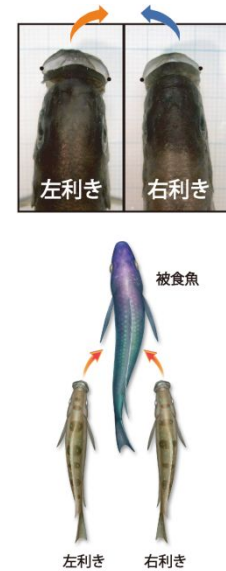


図 1. 鱗食魚の利きと捕食行動の関係。口部形態と襲撃方向に、明確な対応関係がある。

2. 研究の目的

本研究では、鱗食魚の右利き・左利きをモデルとして、行動の左右性を制御する脳領域を突き止め、その発達・進化過程、分子遺伝メカニズムを解明することを目指す。具体的には、【1】捕食行動の左右性に関与する神経回路を同定するため M 細胞系の活動性を見出し、左右性行動の利き眼の役割を調べる、【2】左右性の発達過程や獲得の臨界期を検証する、【3】M細胞系の左右性の進化プロセスを解析する、【4】利きの発現に関与する脳内遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

【1】捕食行動に関与する脳領域の同定、および神経構造と活動の左右差を神経解剖学的解析と初期応答遺伝子の発現解析から明らかにする。

【2】繁殖で得た様々な発達段階の鱗食魚で捕食実験を繰り返し、左右性の強化の臨界期を突き止める。また、片眼をメタノール注入で一過性に損傷させ、鱗食行動の左右性の獲得、その後の眼の回復が捕食行動に与える影響を調べて、左右性の可塑性を検討する。

【3】シクリッド科魚類の M細胞系の左右性の種間比較によって、左右性の神経機構の仕組みを進化的文脈から明らかにする。

【4】右利き・左利きの脳の遺伝的変異をゲノムレベルで解明するために、RNA-seq を行い、

利きと対応して左右の半脳間で有意な発現量の差を示す遺伝子群を同定する。さらに、左右差が見出された遺伝子の *in situ* hybridization を行い、より詳細に発現部位を同定し、その脳機能について検討する。

4. 研究成果

本研究では、【2】左右性の発達過程と獲得の臨界期についての検証、および【4】左右性の発現に関わる脳内遺伝子の探索について、大きな進展があった。

まず、人工繁殖で得た鱗食魚 *P. microlepis* を用いて、捕食行動の発達を実験的に解析した。孵化後から固形飼料のみで飼育した鱗食未経験の幼魚に、初めて餌魚を与えて鱗食行動を観察すると、最初は獲物を両方向から襲い、その後捕食経験を重ねると、襲撃方向は次第に発達する口部形態の左右性に対応した方向に偏ることが見いだされた(図2)。この結果は野外研究を支持する。一方、鱗食経験を与えず固形飼料のみで成長させると、捕食行動の左右性は明確に現れない。また驚くべきことに、襲撃時に見られる胸の屈曲運動は、幼魚の最初の鱗食から、口部形態と対応した方向で高い能力が発揮されることが運動解析から明らかになった。以上より、鱗食魚には生得的に捕食に有利な方向があり、鱗食経験による学習を通じてランダムであった襲撃方向が有利方向へと統一され、効率的に鱗食できるようになると考えられる (Takeuchi et al., *Scientific Reports*, 2017)。

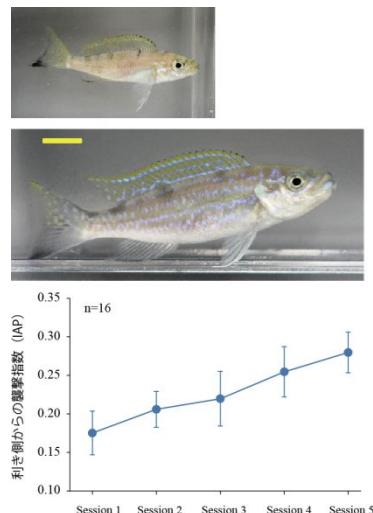


図2. 鱗食魚の幼魚と成魚. 実験回数と襲撃方向の偏りの変遷. 捕食経験とともに襲撃方向の偏りが強くなった.

次に、鱗食魚脳において利きの発現に関与する遺伝子群と脳の左右差に関わる遺伝子群のスクリーニングを試みた。すなわち、機能的に左右差が想定される脳部位3カ所(運動中枢の「後脳」、視覚中枢の「視蓋」、記憶や高次機能を担う「終脳」)の左右半脳からRNAを抽出してRNA-seqを行った。網羅的遺伝子解析の結果、左右半球の間で有意に発現量の異なる5つの遺伝子 *pkd1b*, *ntn1b*, *ansn*, *pde6g*, *rbp41* を見いだした(図3)。*pkd1b* および *ntn1b* は、それぞれ Nodal 遺伝子と Netrin 遺伝子に関係し、それらは初期胚における身体の左右非対称の形成にとって必須であることが知られている。今回の結果は、Nodal 遺伝子や Netrin 遺伝子が成魚の脳においても、左右差の維持に重要な役割を果たすことを示唆している。一方で、調べたどの脳領域においても、左利きと右利きで発現量の異なる遺伝子は検出されず、鱗食魚の利きは、脳内遺伝子の単なる左右非対称性の逆転に起因しないと考えられた (Takeuchi et al., *Comp. Biochem. Physiol. D* 2018)。

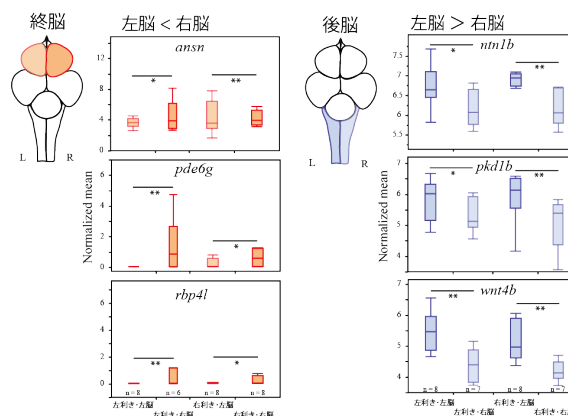


図3. RNA-seqによる右脳もしくは左脳に特化した発現を示す遺伝子. 左図は終脳、右図は後脳から抽出された遺伝子で、発現量はハウスキーピング遺伝子によって標準化した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takeuchi Yuichi, Ishikawa Asano, Oda Yoichi, Kitano Jun	4. 巻 28
2. 論文標題 Lateralized expression of left-right axis formation genes is shared by adult brains of lefty and righty scale-eating cichlids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics	6. 最初と最後の頁 99 ~ 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cbd.2018.07.002	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 Takeuchi Yuichi, Hata Hiroki, Maruyama Atsushi, Yamada Takuto, Nishikawa Takuma, Fukui Makiko, Zatha Richard, Rusuwa Bosco, Oda Yoichi	4. 巻 222
2. 論文標題 Specialized movement and laterality of fin-biting behaviour in <i>Genyochromis mento</i> in Lake Malawi	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb191676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.191676	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 Hori Michio, Nakajima Mifuyu, Hata Hiroki, Yasugi Masaki, Takahashi Satoshi, Nakae Masanori, Yamaoka Kosaku, Kohda Masanori, Kitamura Jyun-ichi, Maehata Masayoshi, Tanaka Hirokazu, Okada Norihiro, Takeuchi Yuichi	4. 巻 34
2. 論文標題 Laterality is Universal Among Fishes but Increasingly Cryptic Among Derived Groups	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 267 ~ 274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.2108/zs160196	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 Takeuchi Yuichi, Oda Yoichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Lateralized scale-eating behaviour of cichlid is acquired by learning to use the naturally stronger side	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1038/s41598-017-09342-7	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹内勇一、北野潤、石川麻乃、小田洋一
2. 発表標題 鱗食魚の右利き・左利きで共通した非対称な脳内遺伝子発現
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内勇一
2. 発表標題 鱗食性シクリッドにおける襲撃方向の選択と左右性
3. 学会等名 日本動物学会第89回札幌大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田拓人、畑啓生、丸山敦、西川巧馬、Richard Zatha、Bosco Rusuwa、福井眞生子、小田洋一、竹内勇一
2. 発表標題 マラウイ湖の鱒食い魚における捕食行動の「利き」
3. 学会等名 日本動物行動学会第37回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内勇一、石川麻乃、小田洋一、北野潤
2. 発表標題 鱗食魚における右脳/左脳に特有な発現を示す遺伝子群
3. 学会等名 第66回日本生態学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内勇一、小田洋一
2. 発表標題 鱗食性シクリッドにおける鱗食経験により獲得される捕食行動の左右性
3. 学会等名 第40回日本神経科学学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 竹内勇一、畑啓生、丸山敦、山田拓人、西川巧馬、Richard Zatha、Bosco Rusuwa、小田洋一
2. 発表標題 マラウィ湖に生息するヒレ食シクリッドの左右性
3. 学会等名 第88回日本動物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西川巧馬、丸山敦、畑啓生、Richard Zatha、Bosco Rusuwa、小田洋一、竹内勇一
2. 発表標題 魚食・鱗食・ヒレ食のシクリッド3種における口部形態の左右差の比較
3. 学会等名 第65回日本生態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内勇一、畑啓生、丸山敦、山田拓人、西川巧馬、Richard Zatha、Bosco Rusuwa、小田洋一
2. 発表標題 マラウィ湖産ヒレ食シクリッドの捕食行動の左右性
3. 学会等名 第65回日本生態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内勇一、小田洋一
2. 発表標題 鱗食性シクリッドで見られる利き獲得の学習効果には臨界期がある
3. 学会等名 第67回日本生態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内勇一、小田洋一
2. 発表標題 鱗食魚における左右性の可塑性
3. 学会等名 第90回日本動物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内勇一
2. 発表標題 左右性行動の神経基盤：組織透明化でみえた脳神経の左右差
3. 学会等名 第10回ペプチド・ホルモン研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内勇一、畑啓生、丸山敦、山田拓人、西川巧馬、Richard Zatha、Bosco Rusuwa、小田洋一
2. 発表標題 マラウィ湖産ヒレ食性シクリッド科魚類の捕食行動の特殊性と左右性
3. 学会等名 第42回日本神経科学学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内勇一
2. 発表標題 右利き・左利きの発現メカニズム
3. 学会等名 生命融合科学教育部シンポジウム「神経科学が解き明かす動物の行動：機能の変容と疾患」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内勇一
2. 発表標題 鱗食性シクリッド科魚類の「利き」の発現に関わる後天的影響
3. 学会等名 第5回北陸エビジェネティクス研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内勇一
2. 発表標題 鱗食魚の発達過程における捕食行動の左右性の獲得
3. 学会等名 第3回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 一般社団法人日本魚類学会	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	

1. 著者名 一般社団法人 日本体育学会	4. 発行年 2019年
2. 出版社 誠文堂新光社	5. 総ページ数 416
3. 書名 スポーツが得意な子に育つたのしいお話365	

1. 著者名 朝日小学生新聞	4. 発行年 2018年
2. 出版社 岩崎書店	5. 総ページ数 224
3. 書名 調べる学習子ども年鑑2018	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>鱈(ヒレ)を食べるアフリカの魚にも利きがあることを発見 https://www.u-toyama.ac.jp/education/news/2018/1219a.html</p> <p>Webニュースの抜粋(4件)。 http://scienceportal.jst.go.jp/news/newsflash_review/newsflash/2018/12/20181220_01.html</p> <p>http://scienceportal.jst.go.jp/clip/20170929_01.html</p> <p>https://academist-cf.com/journal/?p=6161</p> <p>https://www.eurekalert.org/pub_releases/2017-09/nu-is091417.php</p>
--

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
研究協力者	小田 洋一 (Oda Yoichi)		神経科学実験のサポート。

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力 者	北野 潤 (Kitano Jun)		遺伝子解析のサポート。