

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15597

研究課題名（和文）魚の脳内高次視覚回路の解明と魚が飛びつく視覚刺激の探索

研究課題名（英文）Investigation of higher visual circuit of telencephalon in fish and searches for visual stimulation attractive for fish

研究代表者

萩尾 華子（HAGIO, Hanako）

名古屋大学・高等研究院（農）・特任助教

研究者番号：80848309

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）： 学术界や水産業界において魚の視覚への関心が高まっているものの、網膜から脳内にいたる視覚路が調べられた魚種は少なく、脳の高次視覚回路や視覚機能については未解明の部分が多い。そこで、本研究は魚の脳内高次視覚回路を含む脳内視覚回路の全貌を解明し、哺乳類との共通点を発見することができた。視覚機能解析は世界中で網膜や中脳にとどまっていたが、より高次の間脳や脳のニューロン応答の記録に挑戦して成功した。さらに、漁業対象魚にも適用可能な視覚刺激呈示実験系をほぼ確立することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

魚は進化の過程で視覚路が2つから1つになり独自の視覚路の進化を遂げた一方、2つの視覚路をもつ哺乳類と共通している点も多くあることがわかり新しい学術的知見が得られた。また、本研究により世界中で網膜や中脳視蓋にとどまっていた視覚機能解析をより高次の視覚機能解析を行うことを可能にし、魚の視覚機能の解明がより前進することが期待できる。確立できた漁業対象魚にも適用可能な視覚刺激呈示実験系を用いて、ニューロン応答の強い視覚刺激などを見つけ、魚に効果的な視覚刺激を反映した餌や擬餌開発による水産業界への貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）： Although the academia and the fisheries industries are getting interested in the vision of fish, visual pathways from the retina to the telencephalon have been studied only in a small number of fish species, and higher-order visual circuits and their functions in fish are unknown. We investigated the visual circuitries including the higher-order visual circuits in fish, and discovered similarities with mammals. We succeeded in challenging the analyses of visual functions, which have been limited to the retina and mesencephalon around the world, by recording higher-order diencephalic and telencephalic neuronal responses. Furthermore, we have almost established the experimental system for presenting visual stimuli that can be applied to fish for fisheries.

研究分野：魚類神経科学

キーワード：視覚 魚 ニューロン 脳 マハゼ ゼブラフィッシュ 神経回路

1. 研究開始当初の背景

魚類を含む脊椎動物は生きていく上で重要な餌や捕食者、生殖に重要な雌雄などを感覚によって認識しており、とりわけ視覚は重要である。学術領域や水産業界において魚類の視覚に関心が高いものの、魚の脳研究は断片的で理解が進んでいない。視覚を理解するためには、まず視覚情報を受け取る網膜から大脳にいたる視覚経路の解明が必要である。視覚路の知見が土台となつて、学術領域では他個体や雌雄の認知機構の解明など、水産業界では視覚を利用した漁獲方法の進歩や養殖魚の餌の摂餌効率の向上が期待できると考えている。

哺乳類では、網膜から大脳にいたる視覚路は2つ存在する。網膜から間脳外側膝状体を経て大脳一次視覚野にいたる視覚路は膝状体系と呼ばれ、形態視、立体視、運動視、色覚などに関わる。もう一方の網膜から中脳上丘、次いで間脳視床枕を経由して大脳視覚連合野にいたる視覚路は非膝状体系といい、外敵などを大まかな視覚処理で検出してより高次の視覚連合野へ迅速に情報を送るといった報告がある。鳥類、爬虫類、両生類、軟骨魚類も2つの視覚路をもつ。一方、条鰭類では、キンギョやコイのように視覚路が2つである魚もいれば、進化的に新しい棘鰭上目に属するイトウダイのように非膝状体系に相当する視覚路だけもつ魚もいる。これまでの知見と私たちの研究成果から総合的に考えると、魚はもともと視覚路が2つであったが、棘鰭上目の共通祖先で視覚路が1つ失われたという新たな説を提唱した。脊椎動物は一般に網膜から大脳にいたる視覚路を2つもつが、魚は独自の視覚路の進化を遂げたのである。

2. 研究の目的

魚の網膜から大脳にいたる視覚路についていくつか研究があるが、大脳に到達した視覚情報が大脳のどの区画と神経連絡して更なる視覚情報処理を行っているのかわかっておらず、魚の大脳高次視覚回路は不明である。そして、魚の視覚路の機能については、網膜や網膜から視覚情報を受け取る一次視覚中枢である中脳視蓋についての研究は進んでいるが、視蓋から視覚情報が送られる間脳視覚中継核や大脳の視覚応答特性についてはほとんど調べられていない。なぜ魚は進化の過程で視覚路が2つから1つになったのかに関しても全くわかっていない。

そこで本研究は、魚の大脳内高次視覚回路を含む脳内視覚回路の全貌を解明することを目的とする。そして、未解明の間脳と大脳での視覚情報処理について形態学のおよび機能的観点から明らかにする。視覚路が2つである魚と1つである魚の視覚刺激に対するニューロン活動を調べて視覚機能を比較するための視覚刺激呈示実験系の確立を目指す。受精後間もない魚のニューロン活動をリアルタイムイメージングする利点は多く重要であるが、脳が成魚と同等に発達して間脳から大脳への神経投射量が成魚と同等である週齢の魚を用いて視覚刺激に対する視覚性ニューロン活動のイメージングを行うことも極めて重要であるため、間脳から大脳への神経投射を成長段階を追って明らかにする。また、ニューロン応答の強い視覚刺激を反映した餌や擬餌開発による水産業界への貢献を目指すためには、遺伝子改変が困難な漁業対象魚にも適用可能な視覚刺激呈示実験系を確立し、魚に効果的な視覚刺激を見つけることが必要である。漁業対象魚にも適用可能な視覚刺激呈示実験系を確立することも目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験① 魚の大脳の高次視覚回路の解明

間脳視覚中継核からの視覚情報を受け取る大脳の区画に、細胞体から軸索末端へまたは軸索末端から細胞体へと運ばれる神経標識物質(トレーサー)を電気泳動的に注入し、輸送されたトレーサーを可視化し、神経連絡を調べた。これらの大脳の一次視覚領域が大脳のどの区画と連絡して更なる視覚処理を行っているのかを徹底的に調べた。

(2) 実験② 間脳視覚中継核や大脳の視覚刺激に対するニューロン活動のイメージング

大脳高次視覚回路を含む視覚回路の知見を土台にして、視覚回路の機能を調べた。まず脳が成魚と同等に発達して間脳から大脳への神経投射量が成魚と同等である週齢のゼブラフィッシュの間脳と大脳ニューロンの視覚刺激依存性活動のリアルタイムイメージングを行うため、間脳から大脳への神経投射の形成過程について成長段階を追って観察した。そして、成魚と同等の視覚回路をもつ週齢の遺伝子改変ゼブラフィッシュにさまざまな視覚刺激をモニター画面に投影して魚に呈示する視覚刺激呈示実験系の確立を目指して試行錯誤を重ねた。二光子レーザー顕微鏡を用いて、間脳や大脳の視覚性ニューロンがどの視覚刺激にどのようなパターンや強度で応答するのかを調べた。

(3) 実験③ 漁業対象魚のニューロン応答を検出する視覚刺激呈示実験系の確立

さまざまな視覚刺激をモニター画面に投影し、視覚回路を構成するニューロンがどのような視覚刺激に応答するのかを明らかにすることができる、遺伝子改変が容易でない漁業対象魚に

適用可能な視覚刺激呈示実験系の確立を目指した。視覚刺激を呈示した後に固定し、全脳切片を作製した。ニューロン活動のマーカとなる物質に対する抗体を用いた免疫組織化学を行い、どの脳部位がどのような刺激に応答したのかを調べた。

4. 研究成果

視覚路が1つだけであるマハゼの脳内視覚回路を含む視覚回路の全貌が明らかとなった。例えば、視野の位置情報が網膜から中脳視蓋、さらに間脳まで送られる、即ち空間的位置の把握に重要な「網膜部位対応性」が存在することを明らかにした(図1, Hagio et al., 2021, *JCN*.)。これは哺乳類と共通した特徴であり、魚類で初めて明らかにした。他にも視覚回路に関してこれまで知られていなかった哺乳類との共通点を5つ発見した。マハゼ以外の魚も視覚路が1つであることを明らかにして論文執筆中である。また、魚独自の視覚回路の進化を解明する上で重要な位置で出現したウナギは、複雑に絡み合った特殊な視覚路を持ち、視覚路の進化に新しい説を提示すべく責任著者として執筆中である。これらの成果について学会や一般の方々に発表した時に多数の質問があり関心を集めた。そして、マハゼの脳内視覚領域は数が多く発達しており、それらの脳領域が相互連絡をして、複雑な脳内高次視覚回路が形成されていることを明らかにした。さらに、視覚路が1つの魚の脳の神経連絡の方が視覚路が2つの魚よりも複雑で発達している傾向が示唆された。また、メダカなどの発生および神経系関連の著書を共著者または分担執筆者として、新しい結果を踏まえて執筆することができた。

フランスとの共同研究により、ゼブラフィッシュの間脳視覚性ニューロンで発現する遺伝子を特定し、間脳視覚性ニューロンにGFPを発現させた遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いて、間脳視覚性ニューロンから脳への神経投射などを共同筆頭著者論文として発表したところ(Bloch, Hagio et al., 2020, *eLife*)、大きな反響が得られた。次に、間脳から脳への神経投射の形成過程について成長段階を追って観察したところ、投射形成の開始時期と、成魚と同程度まで脳が発達して神経投射量も同等である時期を突き止めた。そして、二光子レーザー顕微鏡を用いて、成魚と同等の視覚回路をもつ遺伝子改変ゼブラフィッシュの視覚刺激に対するニューロン活動のリアルタイムイメージングを行った。試行錯誤をして実験方法を確立させ、さまざまな視覚刺激に対するより高次の間脳と脳の視覚性ニューロン応答を記録することに成功し、強く応答する視覚刺激が明らかとなった。本研究により世界中で網膜や中脳視蓋にとどまっていた視覚機能解析をより高次の間脳や大脳まで進めることができた。

また、遺伝子改変が困難な漁業対象魚にも適用可能な視覚実験系の確立を目指し、視覚刺激を与えた後固定して全脳切片を作製し、神経活動マーカに対する抗体を用いた免疫組織化学を行ったところ、視覚刺激に応答した脳部位を特定することができた。網膜からの視覚情報が送られる中脳視蓋、間脳視覚中継核、大脳視覚領域の他に、中脳視蓋と神経連絡をもつ脳領域も視覚刺激によって活性化されたことがわかった。本研究により視覚刺激を呈示してニューロン応答を検出する方法がほぼ確立した。上記を含む魚の視覚系の研究が評価され、第38回井上研究奨励賞をいただいた。

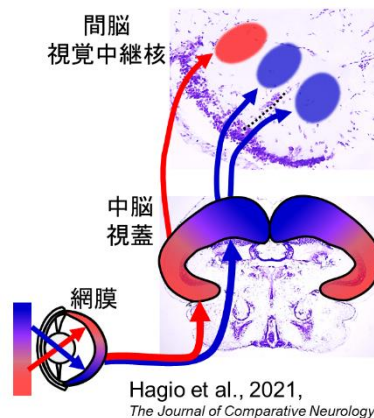


図1. 視野の位置情報を保持したまま網膜→中脳視蓋→間脳視覚中継核へ視覚情報が送られる

青色:背側視野情報; 赤色:腹側視野情報

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hagio H, Kawaguchi M, Abe H, Yamamoto N*	4. 巻 529
2. 論文標題 Afferent and efferent connections of the nucleus prethalamicus in the yellowfin goby <i>Acanthogobius flavimanus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Comparative Neurology	6. 最初と最後の頁 87-110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cne.24935	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 Bloch S, Hagio H, Thomas M, Heuze A, Hermel JM, Lasserre E, Colin I, Saka K, Affaticati P, Jenett A, Kawakami K, Yamamoto N, Yamamoto K*	4. 巻 9
2. 論文標題 Non-thalamic origin of zebrafish sensory nuclei implies convergent evolution of visual pathways in amniotes and teleosts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 1-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.54945	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 該当する

1. 著者名 Hanako H*, Yamamoto N*	4. 巻 40
2. 論文標題 Ascending visual pathways to the telencephalon in teleosts with special focus on forebrain visual centers, associated neural circuitries, and evolution	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 105-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs220089	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12件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 秋尾華子、渡邊果奈、山本直之
2. 発表標題 ニホンウナギの中樞視覚神経路 Central visual pathways in the Japanese eel <i>Anguilla japonica</i>
3. 学会等名 第92回日本動物学会オンライン米子大会、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」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋尾華子
2. 発表標題 Studies on the sensory and motor centers of fish and a new interdisciplinary collaborative research
3. 学会等名 連携型博士研究人材総合育成システム次世代研究者シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋尾華子
2. 発表標題 魚の視覚回路の進化および視覚機能の解明を目指して
3. 学会等名 令和3年度育志賞研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hagio H, Yamamoto N
2. 発表標題 Evolution of visual pathways in teleosts and topographic organization of the tectal projections to the nucleus prethalamicus
3. 学会等名 2020 J.B. Johnston Club for Evolutionary Neuroscience Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋尾華子, 山本直之
2. 発表標題 二ホンウナギの網膜から脳への視覚情報伝達経路の解明
3. 学会等名 東アジア鰻学会・第4回研究発表会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋尾華子
2. 発表標題 魚はどのような神経回路で視覚情報処理をしているのか
3. 学会等名 令和2年度育志賞研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋尾華子
2. 発表標題 魚の視覚回路の解明、そして上位レベルの視覚機能解析を可能に (Investigation of visual circuits in the brain of fish toward the elucidation of higher visual functions)
3. 学会等名 連携型博士研究人材総合育成システム 次世代研究者シンポジウム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hagio H, Yamamoto N
2. 発表標題 One ascending visual pathway to the telencephalon in the medaka, a percomorph fish
3. 学会等名 J.B. Johnston Club for Evolutionary Neuroscience Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hagio H, Yamamoto N
2. 発表標題 Projection of the diencephalic visual relay nucleus to the telencephalon and presumed higher order, visually-related intra-telencephalic fiber connections in a goby, teleost
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 萩尾華子, 山本直之
2. 発表標題 メダカの視覚上行路に見られる哺乳類との共通点
3. 学会等名 令和5年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊果奈, 山本直之, 萩尾華子
2. 発表標題 ウナギ類の視覚上行路
3. 学会等名 令和4年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 萩尾華子, 山本直之
2. 発表標題 漁業対象魚の視覚と視覚機能の進化の研究におけるモデル魚の確立を目指して
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Yamamoto N, Hagio H	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 564
3. 書名 Cerebellum-like systems in actinopterygian fishes with a special focus on the diversity of cerebellum-like system in the mesencephalon, In “Cerebellum as a CNS Hub”	

1. 著者名 Ishikawa Y, Yamamoto N, Hagio H	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 256
3. 書名 Brain Development of Medaka Fish: a New Concept of Brain Morphogenesis in Vertebrates	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>名古屋大学 研究者総覧 萩尾華子 https://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/html/100011022_ja.html YLC特任助教の萩尾華子先生が第38回井上研究奨励賞を受賞されました http://www.iar.nagoya-u.ac.jp/performance/1869/</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

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		
フランス	CNRS		