

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ~ 2012

課題番号：23650164

研究課題名（和文）

鱗食性シクリッドが示す左右性行動の神経基盤を行動学的・生理学的に探る

研究課題名（英文）Behavioral and physiological studies on neuronal basis for lateralized predation in scale-eating cichlid fish

研究代表者

小田 洋一（ODA YOICHI）

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：00144444

研究成果の概要（和文）：行動の左右性は、広い動物群で見られる普遍的な現象であるが、その礎となる神経機構は解明が進んでいない。我々は、タンガニイカ湖の鱗食性シクリッド科魚類 *Perissodus microlepis* が示す捕食行動の著しい左右差を詳細に解析し、運動の左右性を担う神経回路の同定を試みた。その結果、捕食時の素早い屈曲運動のキネティクスに左右差があり、その屈曲運動は後脳のマウスナー細胞で駆動される逃避運動に酷似することが見いだされた。逃避運動には左右差がないことから、鱗食行動の左右性を生む責任部位は後脳より上流の神経系にあると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Behavioral lateralization has been documented in many vertebrates, but little has been defined for the neuronal basis of it. Here, we studied scale-eating behavior in cichlids in a tank through high-speed video monitoring and quantitative assessment of behavioral laterality and kinematics. The maximum angular velocity and amplitude of body flexion were significantly larger during attacks on the preferred side compared to those on the nonpreferred side. No such lateralized movement was found in acoustically evoked flexion during the escape response, which is similar to flexion during scale eating, suggesting that the neuronal circuits controlling body flexion during scale eating may be functionally lateralized upstream of the common motor pathway.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：鱗食魚、左右性、マウスナー細胞

## 1. 研究開始当初の背景

左右非対称な行動や認知は、ヒトを含む多くの動物で認められている。一方、脳の機能や形態の左右差も古くから報告されていた。例えばヒトの場合、言語は左脳、空間認識は右脳で優位傾向があるといわれるように、左右の脳で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テーマの一つであった（Rogers & Andrews 2002）。そのよう

な脳の左右性は、魚類から哺乳類に至るま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（Choncha & Wilson 2001; Aizawa et al. 2005; Agetsuma et al., 2010）、脳の回路構造や行動に対する損傷効果が左右非対称である点に注目が集まり始めた。ところが、いわゆる「右利き」「左利き」で表現される行動の左右性を発現する神経基盤

に関しては、回路の複雑さや研究戦略の難しさから、依然としてほとんど手がつけられていなかった。

これに対して、鱗食魚で見られる獲物の鱗をはぎ取るという左右に偏った捕食行動は、鱗をはぎ取る際の素早い体の屈曲運動が、入力から出力までの基本回路構成が良く調べられている逃避行動 (Zottoli 1977; Oda et al., *Nature* 1998; Kohashi and Oda, *J. Neurosci.* 2008) や摂食運動 (Canfield & Rose 1993; Wohl & Schuster 2007) の最初の屈曲運動に酷似していることが示唆されていて、脳の左右性の神経機構を明らかにするユニークなモデルシステムを提供すると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究は、いわゆる「右利き」「左利き」と呼ばれる行動の左右性を生み出す脳の働きの左右性を理解するために、生態学的研究の蓄積のあるタンガニカ湖の鱗食性シクリッド科魚類 *Perissodus microlepis* における捕食行動を詳細に解析して、その行動のうち左右差を示す運動成分を明らかにした上で、運動の左右性を担う神経回路を検出することを目的とした。

## 3. 研究の方法

行動の左右性の神経基盤を研究するモデルとして、鱗食性シクリッド科魚類 *Perissodus microlepis* における捕食行動を対象とし、実験室内で鱗食行動を再現して詳細を解析した。神経回路としては、鱗食行動のうち顕著な左右性を示す屈曲運動に焦点をあて、それに酷似するサカナの素早い逃避運動や摂食運動を駆動することが知られている後脳のマウスナー (M) 細胞を中心に調べた。

### (1) 鱗食魚 *Perissodus microlepis* の飼育

鱗食魚の行動を実験室内で詳細に観察し、電気生理学の実験および神経回路の形態学的解析を行うために、タンガニカ湖産鱗食魚 *Perissodus microlepis* をのべ 150 匹 (体長 6~12cm) を日本に輸送し、飼育条件を検討した。

### (2) 鱗食行動の解析

鱗食行動を実験室内の水槽 (45cmx90cmx45cm) で再現した。被食魚としてはキングョ (体長 10cm) を用いた。高速度ビデオカメラ (毎秒 500 フレーム) と通常のビデオカメラ各 1 台を水槽の二方に配置して鱗食行動を撮影した。

### (3) 鱗食行動における視覚入力の寄与

捕食行動における視覚情報の必要性を調べるために、明条件と暗条件で捕食行動を観

察した。明条件では白熱球を、暗条件では 940nm にピークをもつ赤外灯を点灯させた。水槽横からハイビジョンビデオカメラで行動を 10 分間記録した。

### (4) マウスナー (M) 細胞の電気生理学的および形態学的解析

脊髄の電気刺激により M 細胞に誘発される電場電位を指標として、M 細胞を同定した。また、ニューロビオチンを用いて M 細胞を順行性染色および逆行性染色して細胞形態を詳細に観察した。

### (5) マウスナー (M) 細胞の活動指標の探索

脳内の神経活動を組織化学的に調べる手法の一つとして、神経活動に付随して発現する Immediate early genes の検出がある。鱗食魚の M 細胞の活動を計測するために Immediate early genes の *c-fos* や *egr-1*, M 細胞のマーカーとして *ChAT* のプローブをクローニングし、捕食後に *in situ hybridization* を行った。

### (6) 鱗食行動の発達

稚魚期から成魚までの鱗食魚 (体長 4cm~10cm) をタンガニカ湖で採集して、胃内容分析を行った。彼らが摂食していた鱗をデジタルマイクロスコープで撮影し、その形状を精査して捕食行動の左右性を推定した。

## 4. 研究成果

鱗食性シクリッド (*Perissodus microlepis*) を対象にして、捕食行動を計測し、神経基盤のキイとなる後脳のマウスナー (M) 細胞を同定し、鱗食行動における M 細胞の活動をモニターした。また、鱗食行動の左右性の発達を解析した。

(1) 鱗食行動の左右性：実験室内の水槽で高速度計測した典型的な鱗食行動は、①被食魚への接近、②回り込み、③構え、④胴の屈

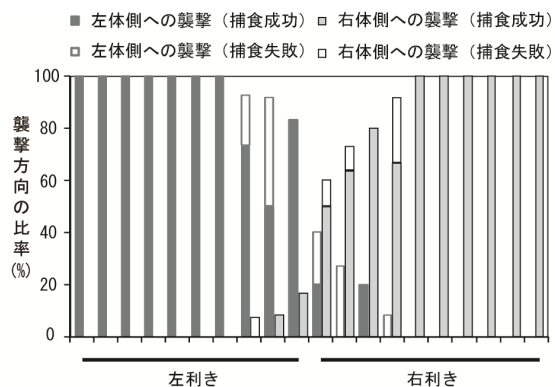


図1. 各個体の襲撃方向の比率と口部形態の左右二型との関係 (Takeuchi et al., 2012を改変)

曲、⑤捻り、の5過程で構成され、襲撃方向が左右どちらかに著しく偏っていた (図 1)。鱗にアタックする際の胴の屈曲運動は、後脳に左右 1 対存在する M 細胞によって駆動され

る逃避運動の屈曲運動に酷似する(図2)。さらに、襲撃方向が開口方向と合致する時に捕食率が高く、最大屈曲角度と最大角速度は利き側が逆側より有意に大きいというキネティクスを明らかにした(*PLoS ONE*, 2012)。

(2) 視覚入力に依存する鱗食行動：明視野と暗視野における鱗食行動を比較し、利き側への回り込みや構えおよびすばやい胴の屈曲には、視覚入力が必要な役割を果たすことを見出した。



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。

(3) 鱗食魚

のM細胞：鱗食性シクリッドのM細胞を電気生理学および形態学的に同定した。キンギョと同様に後脳背側に左右1対存在し、長さ500 $\mu$ mの大きな側方樹状突起と腹側樹状突起および太い軸索を持ち、軸索の伝導速度は毎秒100メートルを超えた。

(4) 鱗食行動におけるM細胞の活動：捕食行動に関わる後脳ニューロン群の活動および左右差を、初期応答遺伝子の発現検出から明らかにする手法を確立した。具体的には、同じ科に属するティラピアのゲノムデータベースをもとにして、鱗食シクリッドのM細胞を同定するための*ChAT*(コリン作動性ニューロンのマーカー)と、神経活動にしたがって発現する*c-fos*の計測を行うためのプローブを作成し、*in situ* hybridizationを行った結果、鱗食行動に伴って、一方のマウスナー細胞に強い発現が見られ、鱗食行動への寄与と左右差が示唆された。

(5) 鱗食行動の左右性の発達：様々な発達段階の鱗食魚(稚魚期~若魚期~成魚)をタンガニカ湖で採集して胃内容分析を行った。分析の結果、体長35mm以上の個体は専ら鱗を摂食していることを見出した。つぎに、シクリッドの側線鱗の形状を精査して、その左右差から由来する体側を判定する方法を確立した。この方法を用いて、鱗食シクリッドの胃に含まれる側線鱗の形状を計測して、シクリッドが被食魚のどちらの体側か襲撃したかという捕食行動の左右性を推定した。計測の結果、プランクトン食から鱗食に移行した直後から口部形態に合った体側由来の鱗を主に摂食していたので、捕食行動の左右性は生得的であると示唆された。さらに、鱗食に移行して間もない稚魚期から若魚期(4~7cm)では、口部形態とは逆体側の鱗を摂食していた個体も見られた。その後、体長の増

加とともに口部形態と合う体側の鱗を摂食していた比率が有意に高まっていた。したがって、捕食の経験による学習で襲撃方向がさらに偏ると推定できる。

## 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14件)

- ① Yamanaka I, Miki M, Asakawa K, Kawakami K, Oda Y, Hirata H. Glycinergic transmission and postsynaptic activation of CaMKII are required for glycine receptor clustering in vivo. *Genes to Cells*, 査読有, 18(3), 2013, 211-224
- ② Matsui S, Takeuchi Y, Hori M. Relation between morphological antisymmetry and behavioral laterality in a Poeciliid fish. *Zoological Science*. 査読有, 2013, In press
- ③ Kohashi T, Nakata N, Oda Y. Effective sensory modality activating an escape triggering neuron switches during early development in zebrafish. *J Neurosci.*, 査読有, 32(17), 2012, 5810-5820
- ④ Ota K, Aibara M, Morita M, Awata S, Hori M, Kohda M. Alternative Reproductive Tactics in the Shell-Brooding Lake Tanganyika Cichlid *Neolamprologus brevis*. *Int J Evol Biol.*, 査読有, 2012, 2012
- ⑤ Ota K, Hori M, Kohda M. Changes in reproductive life-history strategies in response to nest density in a shell-brooding cichlid, *Telmatochromis vittatus*. *Naturwissenschaften.*, 査読有, 99(1), 2012, 23-32
- ⑥ Ota K, Aibara M, Morita M, Awata S, Hori M, Kohda M. Alternative Reproductive Tactics in the Shell-Brooding Lake Tanganyika Cichlid *Neolamprologus brevis*. *Int J Evol Biol.*, 査読有, 2012, 2012
- ⑦ Ota K, Hori M, Kohda M. Testes investment along an vertical depth gradient in a herbivorous fish. *Ethology*, 査読有, 118(7), 2012, 683-693
- ⑧ Yasugi M, Hori M. Lateralized behavior in the attacks of largemouth bass on *Rhinogobius gobies* corresponding to their morphological antisymmetry. *J Exp Biol.*, 査読有, 215(14), 2012, 2390-2398
- ⑨ Lucky NS, Ihara R, Yamaoka K, Hori

- M. Behavioral laterality and morphological asymmetry in the cuttlefish, Sepialycidas. *Zoolog Sci.*, 査読有, 29(5), 2012, 286-292
- ⑩ Takahashi T, Hori M. Genetic and Morphological Evidence Implies Existence of Two Sympatric Species in *Cyathopharynx furcifer* (Teleostei: Cichlidae) from Lake Tanganyika. *Int J Evol Biol.*, 査読有, 2012, 2012
- ⑪ K Kohashi T, Nakata N, Oda Y. Effective sensory modality activating an escape triggering neuron switches during early development in zebrafish. *The Journal of Neuroscience*, 査読有, 32(17), 2012, 5810-5820
- ⑫ Takeuchi Y, Hori M., Oda Y. Lateralized kinematics of predation behavior in a Lake Tanganyika scale-eating cichlid fish. *PLoS ONE*, 査読有, 7, 2012, e29272
- ⑬ Nukazuka A, Tamaki S, Matsumoto K, Oda Y., Fujisawa H, Takagi S. A shift of the TOR Adaptor from Rictor towards Raptor by Semaphorin in *C. elegans*. *Nature Communications*, 査読有, 2, 2011, 484
- ⑭ Tanimoto M, Ota Y, Inoue M, Oda Y. Origin of inner ear hair cells: morphological and functional differentiation from ciliary cells into hair cells in zebrafish inner ear. *The Journal of Neuroscience*, 査読有, 31, 2011, 3784-3794
- [学会発表] (計 40 件)
- ① Yuichi Takeuchi, Michio Hori. Yoichi Oda. Mechanism of lateralized predation behavior in a Lake Tanganyika scale-eating cichlid fish. The 14th International Behavioral Ecology Congress, 2012/8/15, Lund University (Lund, Sweden)
- ② Yuichi Takeuchi, Takaki Watanabe, Masato Tsumuki, Yoichi Oda. 鱗食魚の捕食行動による後脳マウスナー細胞の神経活動, *Neuroscience2012*, 2012/9/19, Nagoya congress center (Nagoya)
- ③ Takashi Shimazaki, Takaki Watanabe, Yoichi Oda. ゼブラフィッシュ・マウスナー細胞の単発発火特性を構成する低閾値型カリウムチャネルの電気特性, *Neuroscience2012*, 2012/9/18, Nagoya congress center (Nagoya)
- ④ Maya Inoue, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. Critical roles of otolith size and transmission property along afferent pathway for auditory perception in larval zebrafish, *Neuroscience2012*, 2012/9/19, Nagoya congress center (Nagoya)
- ⑤ Watanabe T, Shimazaki T, and Oda Y. ゼブラフィッシュ・マウスナー細胞が特異的な発火特性を獲得する分子基盤, *Neuroscience2012*, 2012/9/20, Nagoya congress center (Nagoya)
- ⑥ Maya Inoue, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. Large-otolith-mediated mechanotransduction and afferent neural transmission in saccular pathway underlie auditory perception in larval zebrafish. *Neuroscience2012*, 2012/10/16, Ernest N. Morial Convention Center (New Orleans, USA)
- ⑦ Takaki Watanabe, Takashi Shimazaki, Yoichi Oda. The molecular basis for the developmental acquisition of the unique firing properties of the Mauthner cell in zebrafish. *Neuroscience2012*, 2012/10/16, Ernest N. Morial Convention Center (New Orleans, USA)
- ⑧ Yoichi Oda. Acquisition of the sense of hearing during development. Albert Einstein University Department of Neuroscience Seminar (招待講演) 2012/10/19, Albert Einstein University (New York, USA)
- ⑨ Yuichi Takeuchi, Michio Hori. Yoichi Oda. タンガニイカ湖産鱗食魚の捕食行動における利きの発達, *Japan Ethological Society*, 2012/11/24, Nara Women's University (Nara)
- ⑩ Yoichi Oda. Electrophysiological approaches to study brain functions in zebrafish. IBRO School of Neuroscience 2012 (招待講演), 2012/11/20, Monash University (Sunway, Malaysia)
- ⑪ Yoichi Oda. Optical approaches toward understanding neural circuits in zebrafish. IBRO School of Neuroscience 2012 (招待講演), 2012/11/20, Monash University (Sunway, Malaysia)
- ⑫ Yoichi Oda. History of my research. IBRO School of Neuroscience 2012 (招待講演), 2012/11/22, Monash University (Sunway, Malaysia)
- ⑬ Yoichi Oda. Functional architecture of zebrafish hindbrain network revealed by calcium imaging during behavior. IBRO School of Neuroscience 2012 (招待講演), 2012/11/22, Monash

- University (Sunway, Malaysia)
- ⑭ Yuichi Takeuchi, Michio Hori, Yoichi Oda. 鱗食性シクリッドが示す左右非対称な捕食行動の獲得過程. The 60th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan, 2013/3/8, Shizuoka Convention & Arts Center (Shizuoka)
- ⑮ Hiroki Hata, Masashi Tanabe, Satoshi Yamamoto, Satoshi Ookubo, Kazuhiro Toujuu, Hideaki Miyashita, Masanori Kohda, Michio Hori タンガニイカ湖のなわばり性シクリッド類の多種共存：メタゲノミックス解析を用いたシクリッド類の藻食性における特殊化と種間の多様化の解明. The 60th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan, 2013/3/8, Shizuoka Convention & Arts Center (Shizuoka)
- ⑯ Yuichi Takeuchi, Michio Hori, Yoichi Oda. Lateral difference in hunting behavior in the scale-eating cichlid fish, *Perissodus microlepis*, in Lake Tanganyika. The 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, 2011/6/3, (Nagoya)
- ⑰ Masashi Tanimoto, Yukiko Ota, Maya Inoue, Yoichi Oda. Origin of Inner Ear Hair Cells: Morphological and Functional Differentiation from Ciliary Cells into Hair Cells in Zebrafish Inner Ear. 8th IBRO World Congress of Neuroscience, 2011/7/08, (Edinburgh, UK)
- ⑱ Masashi Tanimoto, Maya Inoue, Yoichi Oda. Developmental acquisition of auditory responsiveness in zebrafish. 7th European Zebrafish Meeting, 2011/7/16, (Florence, Italia)
- ⑲ Masashi Tanimoto, Maya Inoue, Yoichi Oda. Neurophysiological basis for acquisition of auditory responsiveness in developing zebrafish. Neuro2011, 2011/9/15, (Yokohama)
- ⑳ Maya Inoue, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. A large otolith is necessary for sound detection in zebrafish macular hair cells, Neuro2011, 2011/9/15, (Yokohama)
- ㉑ Takaki Watanabe, Takashi Shimazaki, Takako Suzuki, Hiromi Hirata, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. Molecular basis for developmental acquisition of unique firing property of Mauthner cell in zebrafish. Neuro2011, 2011/9/15, (Yokohama)
- ㉒ Yuichi Takeuchi, Daisuke Neki, Michio Hori, Yoichi Oda. 鱗食魚における捕食行動の右利き・左利き, Neuro2011, 2011/9/16, (Yokohama)
- ㉓ Masashi Tanimoto, Maya Inoue, Yoichi Oda. Ciliary tether cells morphologically and functionally differentiate into the first hair cells in zebrafish inner ear. Neuroscience 2011 Society for Neuroscience, 2011/11/14, (Washington DC, USA)
- ㉔ Takaki Watanabe, Takashi Shimazaki, Takako Suzuki, Hiromi Hirata, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. Molecular basis for developmental acquisition of unique firing property of zebrafish Mauthner cell. Formation and Function of Brain Networks: From Genes to Behavior, 2012/1/12, (Nagoya)
- ㉕ Yuichi Takeuchi, Michio Hori, Yoichi Oda. Lateral bias of predation behavior in a scale-eating cichlid in Lake Tanganyika. Formation and Function of Brain Networks: From Genes to Behavior, 2012/1/12, (Nagoya)
- ㉖ Maya Inoue, Masashi Tanimoto, Yoichi Oda. Otolith size contributes to functional differentiation of otolith organs in larval zebrafish. Formation and Function of Brain Networks: From Genes to Behavior, 2012/1/12, (Nagoya)
- ㉗ Masashi Tanimoto, Maya Inoue, Takaki Watanabe, Takako Suzuki, Aoba Mishiro, Yoichi Oda. Development of Zebrafish Auditory System. Formation and Function of Brain Networks: From Genes to Behavior, 2012/1/12, (Nagoya)
- ㉘ Yuichi Takeuchi, Daisuke Neki, Michio Hori, Yoichi Oda. 鱗食シクリッドにおける視覚に依存した捕食行動の左右性, The 59th Annual Meeting of the Ecological Society of Japan, 2012/3/21, (Otsu)
- [図書] (計2件)
- ① 白尾智明 (監訳), 小田洋一他, 丸善出版株式会社, イラストレイテッド神経科学, 2013, 466
- ② 堀道雄 (監訳), 神崎護・幸田正典・曾田貞滋 (校閲責任), 京都大学学術出版会, M. Begon, J.L. Harper, C.R. Townsend 著 「生態学—個体・個体群・群集の科学」(原著第4版), 2013, 987
6. 研究組織  
 (1) 研究代表者  
 名古屋大学・大学院理学研究科・教授  
 小田 洋一 (Yoichi Oda)

研究者番号：00144444

(2)研究分担者

京都大学・大学院理学研究科・教授  
堀 道雄 (Michio Hori)

研究者番号：40112552

(3)連携研究者 なし