

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25540123

研究課題名(和文)感情の可視化

研究課題名(英文)Visualization of emotion by behavioral analysis

研究代表者

細川 浩(Hosokawa, Hiroshi)

京都大学・情報学研究科・講師

研究者番号：90359779

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：それぞれの感情に特有な行動特徴を明らかにすることを目的として、小動物および小型魚類の行動解析システムをハードウェア、ソフトウェアの両面から構築し、特定の条件下における特徴的な行動の抽出を行った。情動に関与する神経伝達経路を薬剤及び遺伝学的に変化させた動物を用いて通常動物と比較することにより感情特有の行動の抽出を行った。得られた行動特徴をテスト動物に対してロボットあるいは画像として提示し、実際の動物に対する応答と比較することにより行動特徴の評価を行った。

研究成果の概要(英文)：To clarify the emotional-specific behavioral characteristics, behavioral analysis system for small animals and small fishes were created and behavior were characterized. Emotional dependent behavioral changes were observed and analyzed by using drug treated or genetic modified animals. Calculated emotional specific behavioral characteristics were evaluated by image or robot presentation to wildtype animals.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 行動遺伝学

1. 研究開始当初の背景

感情や情動といった脳の状態は外部から観測することはできない。そのため動物の行動は脳により決定され、生成された感情により行動が調節されると考えられている。感情、情緒、情動などの脳の状態の変化は特有の行動変化を引き起こし、その一部は反射的で先天的に決定されていると考えられている。行動を規定する脳の状態を解析するために動物の行動の定義づけとそれを用いた脳の行動調節のモデル化が必要であると考えられた。

従来の研究では、遺伝子組換え動物などを用いた動物実験による生物学的なアプローチが用いられてきた。しかし、動物の行動変化の個体差が大きいこと、行動変化が観察者による特徴に依存していることなどから定量化を行うことが困難であった。そこで、PCを使用した行動解析システムを用いて行動の定量的な評価を行い、また得られた行動特徴を動物にたいして提示すること行動特徴を評価することができれば、感情に応じた特徴的な行動変化を同定することができれば、定量的な行動特徴量から脳内状態を推定することが可能になると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、動物を用いて感情による行動変化の定量化を行い、行動特徴を抽出することを目的とした。そのためにまず自動化した行動取得システムを構築する。そして取得した行動データを解析することにより、行動特徴量の取得を計算機で行う。この際、情動にお応じた特徴を取得するため、情動が変化するとわかっている薬剤あるいは、遺伝子改変動物を用いて野生型の行動と比べることで同定をしていく。

得られたデータを計算機的に分析することで情動に応じた行動特徴を取得する。得られた行動特徴の検証については、得られた行動特徴量を動物の相互作用を利用して検証を行う。得られた行動特徴からモデルを作製し、ロボットを用いて作製した行動モデル表現させてロボットと動物の相互作用を解析することで、行動を調節しているモデルの作製を試みることを目的とした。具体的には以下の三点を目的とした。(1)情動の行動道特徴量の抽出 (2)遺伝子改変動物を用いた情動のモデル化 (3)ロボットとの相互作用を用いたモデルの検証 以上の3点について研究をすすめて得られた知見を統合することで感情という脳内での表現を視覚化し定量化を

行うことを目指す。

3. 研究の方法

動物の行動解析システムの構築、得られた行動特徴からの行動モデルの作成、ロボットを用いたモデルの提示システムを構築し、得られた提示による応答を解析することで行動モデルの検証を行う。以下の方法を用いて解析を行う。

(1)行動解析を行うために行動解析システムの構築を行う。行動測定用のアリーナを複数作製し、効率よく行動データを取得するためのソフトウェアを作製する。開発したシステムの感度を検証するためにすでに行動変化を起こすと報告されている薬剤を動物に投与して行動変化を取得できることを確認する。

(2)すでに特定の情動行動に異常を示す遺伝子組換え動物を用いることで、情動の行動特徴の取得を行う。とくに不安、攻撃性、注意に注目しながら野生型の行動データと比較することで情動に依存した行動特徴量の抽出を行う。得られたデータをもとに、情動に依存した行動モデルを作出する。

(3)得られた特徴を再現し視覚提示することで、実際の情動行動を示す動物と対峙したときと同様の行動を示すかどうかを評価し行動特徴の抽出を行い評価を行う。行動の提示はマウスの場合はマイクロマウス、小型魚類の場合は画像の提示を行う。実際の動物に対峙したときとモデルに対峙したときの違いがある場合は、モデルの再構築を行い、再度提示を行う。このステップによってどのような行動が情動を伝えているのかを明らかにすることができる。

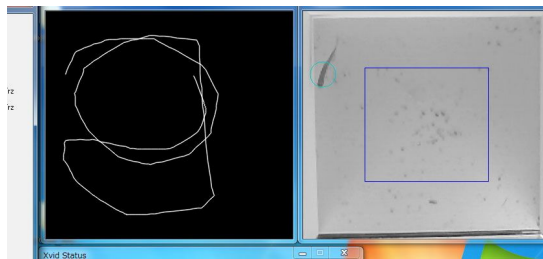
4. 研究成果

(1)行動実験のキャプチャシステムの構築を行った。構築したキャプチャシステムは行動変化を起こすことが知られている薬剤を投与した動物を用いて、同様の行動変化が検出できるかどうかを調べることで調整した。マウスを用いて予備実験を行い行動特徴量の抽出を行った。

(2)マイクロマウスを制御して実際のマウスと相互作用させるシステムを構築し、予備実験をおこなった。野生型マウス同士の動物の相互作用を解析し、マイクロマウスと野生型

マウスとの相互作用と比較した結果、異なる行動を示したことを確認できた。

(3)すでに情動行動に異常をもつノックアウトマウスを用いて情動による行動特徴を取得する予定であったが、準備がうまくできず断念した、そこで予備実験で用いた遺伝子組換えマウスを用いての解析を進める予定であったがマウスの交配が上手く進まないため、マウスの解析は断念せざるを得なかった。そこで行動解析システムに変更を加えて同時に小型魚類を用いた行動実験システムの構築を行った。作製した行動解析システムを用いて小型魚類の情動による行動変化を取得するため、情動を変化させる種々の薬剤で処理した群と比較することで行動解析システムの評価を行い開発を行った。



図：作製した行動解析システムでゼブラフィッシュをトラッキングする様子

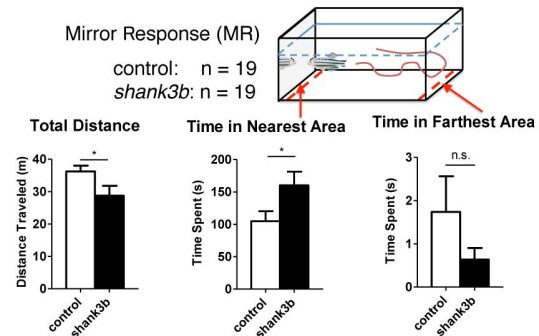
(4)行動解析システムの構築の過程で情動に影響を及ぼすセロトニン経路の解析を行い、セロトニン再取り込み阻害剤であるフルオキセチンの効果について6種類の行動試験を行い行動変化の検討を行った。フルオキセチン投与によって、より潜水行動の減少、暗いところへの嗜好性の上昇、攻撃性の増加が観測された。このことから行動解析システムは十分に感度をもつと判断した。



図：フルオキセチンの行動に与える影響の一例-フルオキセチンのダイビング行動への影響 左:コントロール群 右:フルオキセチン処理群 フルオキセチン処理によって上層での遊泳が起ることが確認できる。

(5)入手あるいはTALEN法、CRISPR/CAS9法を用いて特定の遺伝子の破壊を行い行動異常を引き起こす魚類を作製し行動特徴の取得

を行った。オープンフィールド、ダイビング、明暗箱選択、空間学習、注意、社会性相互作用を含む種々の行動実験パラダイムにおける行動変化の抽出を行い、得られた座標データを解析することで、行動特徴量を得た。Shank3およびNLGN1の変異体を用いて行動解析システムを用いて解析を行った。Shank3変異系統では、暗いところへの嗜好性の増加、攻撃性の増加、新規個体への接近の増加が観測された。NLGN1変異系統では潜水行動の減少、攻撃性の増加が起ることを見出した。



図：shank3変異系統の行動の一例：攻撃性の評価 上：行動解析系の全体図、左、総移動距離、中：鏡付近の滞在時間、右：鏡と反対側の滞在時間 鏡に向かって攻撃する習性を利用して攻撃性の評価を行った。野生型に比べ変異体系統では鏡周囲での滞在時間の有意な増加が認められたことから攻撃性とshank3が関連することが示唆された。

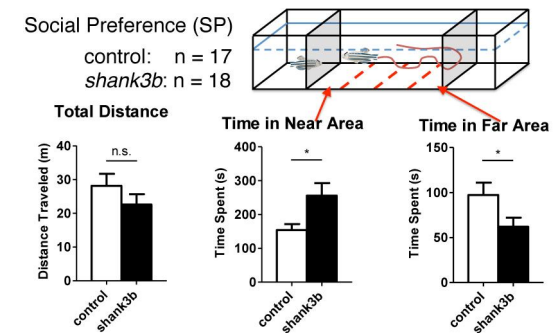


図 shank3変異系統の行動の一例：社会性の評価 上：行動解析系の全体図、左、総移動距離、中：魚がいる付近の滞在時間、右：魚がいない付近の滞在時間 社会性の評価を行った。野生型に比べ変異体系統では他の魚周囲での滞在時間の有意な増加が認められたことから社会性とshank3が関連することが示唆された。

(6)次に得られた行動特徴を視覚提示を行うシステムを構築した。水槽にモニタを用い

て画像を提示するシステムを作成した。作製したシステムで個体同士を対峙させた場合、個体のビデオを見せた場合、個体の行動データからの再構成画像を見せた場合での行動比較を行った。野生型を用いた場合、野生型の画像を提示した場合と再構成画像を提示した場合での差は見られなかった。攻撃性の変化が見られる遺伝子変異群および薬剤投与群の場合、実際に提示したときと同様の行動変化が観測できた。

(7)得られた行動データを計算機を用いて共通項を解析することを試みたが、行動のバリエーションが多いが用意した行動データが少なかったため、特徴的なモデルを作製することはできなかった。勘弁な行動実験系を用いることによる大量のデータが必要となると思われる。

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 5 件)

Ansai S, Hosokawa H, Maegawa S, Kinoshita M. Behav Brain Res. 2016 Apr 15;303:126-36. doi: 10.1016/j.bbr.2016.01.050. Epub 2016 Jan 25. Chronic fluoxetine treatment induces anxiolytic responses and altered social behaviors in medaka, *Oryzias latipes*.

Yajima T, Sato T, Hosokawa H, Kondo T, Saito M, Shimauchi H, Ichikawa H. Distribution of transient receptor potential melastatin-8-containing nerve fibers in rat oral and craniofacial structures. Ann Anat. 2015 Sep;201:1-5. doi: 10.1016/j.aanat.2015.04.003. Epub 2015 Apr 25.

Mori N, Kurata M, Yamazaki H, Hosokawa H, Nadamoto T, Inoue K, Fushiki T. Intragastric administration of allyl isothiocyanate reduces hyperglycemia in intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) by enhancing blood glucose consumption in mice. Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2013;59(1):56-63.

Kagami H, Akutsu T, Maegawa S, Hosokawa H, Nacher JC., Determining Associations between Human Diseases and non-coding RNAs with Critical Roles in Network Control., Sci Rep. 2015 Oct 13;5:14577.

Aoyama Y, Moriya N, Tanaka S, Taniguchi T, Hosokawa H, Maegawa S. A Novel Method for

Rearing Zebrafish by Using Freshwater Rotifers (*Brachionus calyciflorus*). Zebrafish. 2015 Aug;12(4):288-95.

〔学会発表〕(計 1 件)

Maegawa S, Ansai S, Aoyama Y, Kinoshita M, Hosokawa H. Direct production of maternal-zygotic mutants with CRISPR/Cas system. 11th International Conference on zebrafish Development and Genetics, June 2014, Madison, Wisconsin, USA

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

細川浩 (HOSOKAWA, Hiroshi)
京都大学・大学院情報学研究科 / 知能情報学
専攻・脳情報学分野・講師
研究者番号：90359779

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：