

連載講座

ヒトを知るモデル動物としてのゼブラフィッシュ-8

ゼブラフィッシュにおける 社会的闘争行動の制御と脳の左右差

岡本 仁

Key words : 社会的闘争, 手綱核, 脚間核, ゼブラフィッシュ, 脳の左右差

要約 2匹のゼブラフィッシュの間での社会的な支配や服従を求める2者対立の戦いにおいて、背側手綱核から脚間核への2つの経路は、勝つか負けるかを促進する拮抗的な役割を果たす。これらの経路は、経験や空腹などの魚の内部状態の影響を受けて動的に変化し、回避的刺激や社会的闘争に対処するための最適な行動の選択に寄与している。更に、自己中心的(idiothetic)注意に基づく勝者としての振る舞いと、他者指向的(allothetic)注意による敗者の振る舞いを協調して制御する統合的スイッチボードとして機能している可能性がある。また、ゼブラフィッシュの手綱核の著明な構造的左右差は、攻撃と防御における右眼と左眼の使い分けとも関連する可能性が高い。

すべての脊椎動物は、より大きい縄張りやよりよい生殖パートナーなどをめぐって同種同士で闘う。このような社会的闘争は、相手の抹殺によってではなく、戦いの当事者のどちらかが降参して、当事者同士がお互いの優劣関係を受け入れたときに終息する¹⁾。これまで、このような社会的闘争の終息がどのように制御されているのかは、全くわかっていなかった。

2匹のオスのゼブラフィッシュを24時間個別に飼ったのち、同じ水槽に移すと、両者は一定の手順で体の大きさを強調する威嚇行動を行ったのちに、相手の側面へ噛みつき攻撃を始める。攻撃は数分で終了し、勝者と敗者が決まる。勝者は水槽の中央の大部分を占拠し活発に泳ぐが、敗者は

水槽の辺縁部でじっとしている。一度勝敗が決まると、両者の関係は固定化する(図1)。また、敗者は新しい相手と対戦しても、大方負け続ける。逆に、勝者は新しい相手に対しても勝ち続ける²⁾。

手綱核はすべての脊椎動物で、間脳の最背側部に両側性に存在し、脳の情動系神経核群(いわゆる大脳辺縁系の一部を含む)から入力を受けて、中脳と後脳の境界部に接する腹側正中線上に1つだけ存在する脚間核や、様々なモノアミン神経細胞を含む神経核(腹側被蓋野や縫線核)への出力を中継する^{3,4)}。筆者らはゼブラフィッシュを使ったこれまでの研究から、脳の手綱核から脚間核へとつながる隣接し合った2つの神経回路が、動物種を越えてこの過程に深く関わっているという手がかりを得ている。ゼブラフィッシュの背側手綱核は、外側と内側の亜核に分かれており、外側亜核は脚間核の背側半分に、内側亜核は脚間核の腹側半分に選択的に投射する^{5,6)}(図2)。更に、背側手綱核の外側亜核が投射する背側脚間核は、恐怖応答における本能的行動の中枢である背側被蓋野に投射し、内側亜核が投射する腹側脚間核は、セロトニン神経細胞を含み戦略的行動プログラムの成立に関わる縫線核に投射する^{7,8)}。

筆者らはまず、2匹の野生型ゼブラフィッシュを闘争させた直後に、勝者と敗者から脳を取り出し、手綱核、脚間核、背側被蓋野を含む矢状断の

Regulation of social conflict and left-right asymmetry of the brain in zebrafish

Okamoto Hitoshi : 理化学研究所脳神経科学研究センター意思決定回路動態研究チーム(〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1)

0370-9531/02/¥500/論文/JCOPY

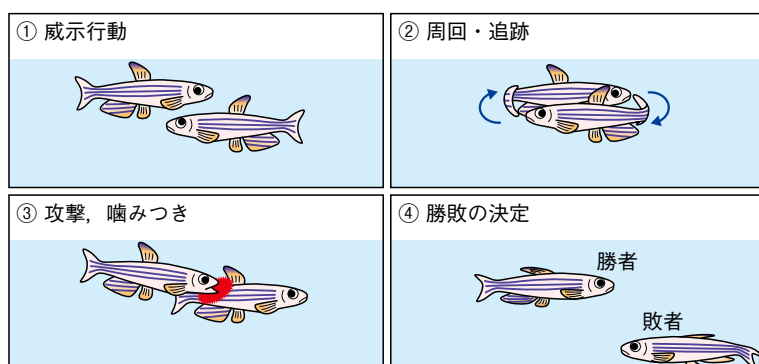


図 1 2 匹のゼブラフィッシュによる社会的上下関係をめぐる闘争の様式

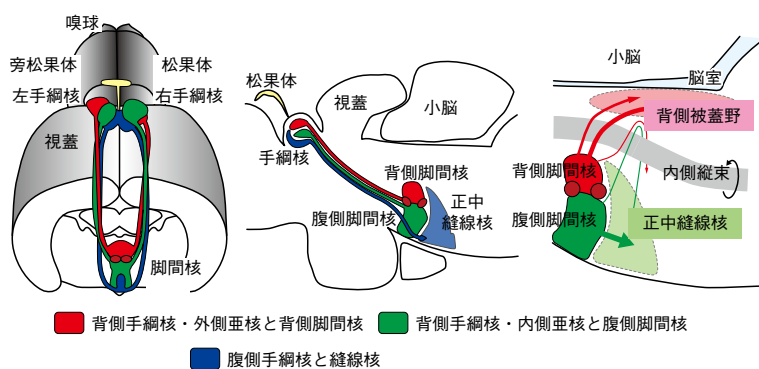


図 2 勝者 (赤色) と敗者 (緑色) で活性化される 2 つの手網核・脚間核経路

急性スライスを作製し、細胞内カルシウム濃度表示薬 (Oregon Green® BAPTA) を浸透させたのち、手網核の電気刺激によって、興奮がどのように伝達するのかを調べた (図 3)。この結果は、勝者では、背側手網核・外側亜核→背側脚間核→背側縫線核→背側被蓋野 (中心灰白質など) の神経経路が、敗者では、背側手網核・内側亜核→腹側脚間核→正中縫線核の神経経路が、優位に働いていることを示した。このように、脚間核は勝敗によって、手網核からの入力を異なる脳部位へと伝播させるスイッチボードとして働いている可能性が示された⁹⁾。

I 飢餓による勝者の経路の増強

空腹状態にある動物は、食料を得ることに対するモチベーションが上昇していると考えられる。実際、6 日間絶食させた魚と餌を与えた魚をペアにして闘わせたところ、絶食させた魚の勝率が高

くなることを発見した。更に、絶食させた魚は勝負を諦めず、相手に対して降参しにくくなった。餌を与えた魚と絶食させた魚の興奮伝播パターンを調べた結果、絶食させた魚では、実際の闘争を行う前から、勝者として振る舞うための手網核-脚間核経路の興奮伝播が增強されていることが明らかになった。更に、絶食させた魚では、視床下部のオレキシン神経細胞が活性化され、脚間核細胞に作用し、この細胞で発現する AMPA 型グルタミン酸受容体の mRNA の成熟過程で、特定のエクソンが優先的に含まれるようにスプライシングが起こることによって、開口時間が長い AMPA 型受容体の発現が促進される。このために、絶食させた魚では、闘争で勝者として振る舞う神経回路の興奮が增強することによって、相手に対して降参せず勝負を諦めにくい状態になると考えられた¹⁰⁾ (図 4)。

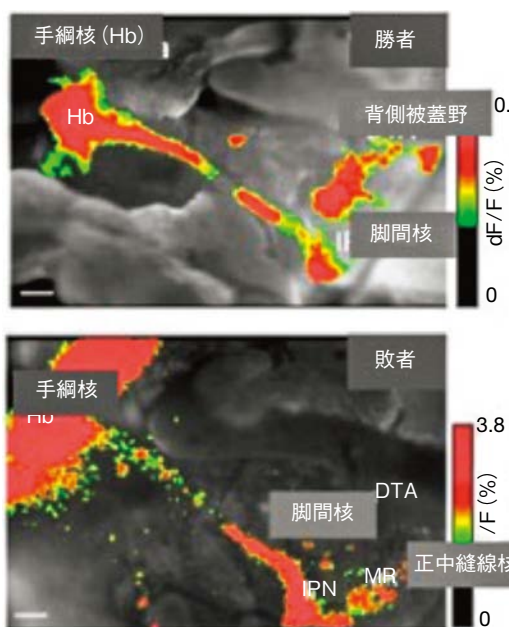


図 3 勝者と敗者のゼブラフィッシュの脳における手網核からの神経興奮伝達の可視化

II 意外な発見から明らかになった勝者の経路の多面的機能

筆者らは、ゼブラフィッシュ成魚のための十字迷路実験系を新たに作製した。魚は4つのarmのどれかから出発する(図5A)。餌を得るためには、交差点で2つの規則のいずれかに従って、どちらに曲がるかを決めなければならない。規則1では、ゴールの色にかかわらず常に同じ方向に曲がる(例えば左)(図5B左)。規則2では、右側左側にかかわらず、常に同じ色のゴールに向かって曲がる(例えば青)(図5B右)。魚が一方の規則に従って正しい意思決定ができるようになると、突然別の規則を適用しても、魚は新しい規則に従って行動できるようになる。この規則変更を繰り返すと、正常のゼブラフィッシュは素早く規則変更に対応できるようになる(図5C上)。ところが、背側手網核・外側亜核(勝者の回路)を不活化した魚では、ゴール色依存性規則を修得できるが、曲がる向き依存性の規則は、何度繰り返しても修得できなかった¹¹⁾(図5C下)。

以上の結果から、背側手網核から脚間核に至る2つの経路には多面的機能があることが明らかに

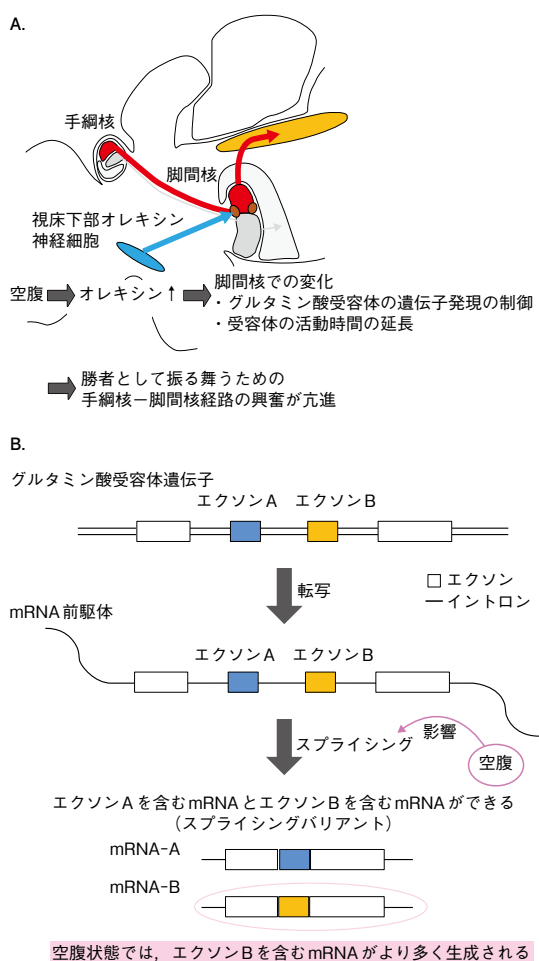


図 4 空腹状態で、脚間核へのオレキシン入力が勝者の回路を増強するしくみ

- A. 関与する神経回路
B. オレキシンの作用によって腹側脚間核の神経細胞内で起こるグルタミン酸受容体の選択的スプライシング

なってきた。勝者が敗者に攻撃を加えようとする場合、敗者の側面を正確に攻撃するために、自分の体をどれだけ曲げるべきかを予測し、固有知覚(内受容感覚)と比較し、誤差を計算することで将来の攻撃の精度を上げると考えられる(図6A)。一方、敗者は勝者から逃れ続けるため、勝者の現在位置から将来の位置を予測し、自分に危害を加えられる可能性を予測する必要がある(図6B)。この意味で、勝者は内受容感覚に注意し、敗者は外受容感覚に注意していると言える。

筆者らは、これらの経路に関して、次のような仮説を持つに至っている。すなわち、勝者の回路

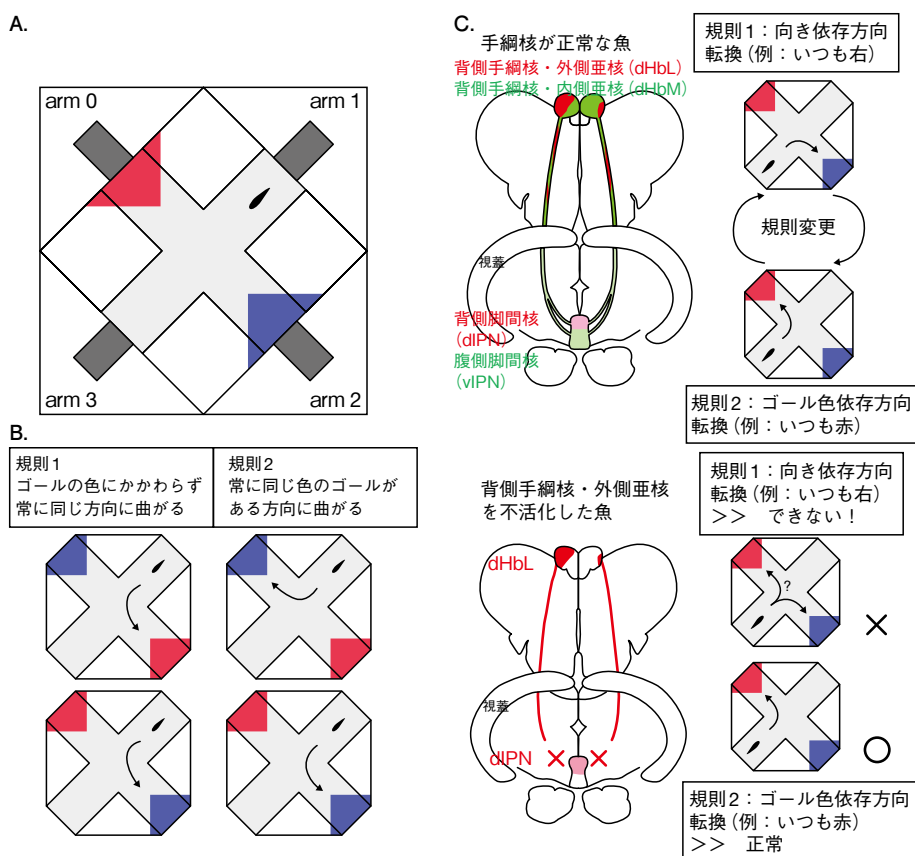


図 5 2種類の規則に従った十字迷路学習

正常な魚は向き依存性とゴール色依存性の2種類の規則を学習できる (A, B) が、勝者の回路が不活化された魚は、向き依存性方向転換学習能が欠損している (C)。

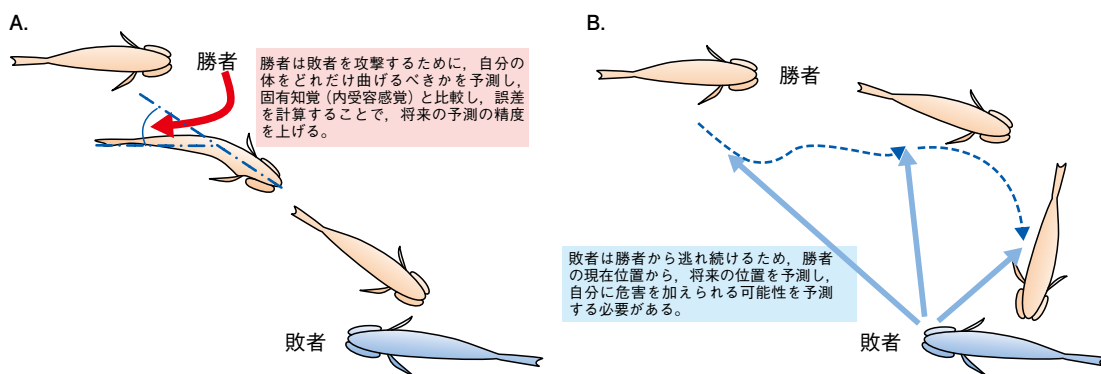


図 6 勝者と敗者の魚は、闘争において何を予測しているのか

の活性化によって、周囲への関心よりも自分自身の状態 (例：向き) に注目するようになり、勝者がいわば唯我独尊に振る舞うようになる。一方、敗者の回路の活性化では、逆に相手 (勝者) や周囲に注意するようになる (図 7)。背側手綱核から

脚間核に至る2つの経路は、勝者の回路が内受容感覚へ、敗者の回路が外受容感覚へ、注意を向ける切り替えスイッチとして働く可能性が考えられる¹²⁾。

更に筆者らは、外側亜核から背側脚間核に至る

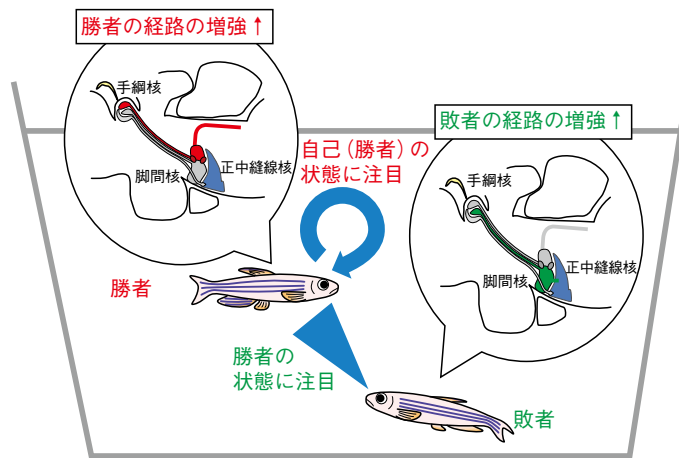


図 7 勝者と敗者の魚の注意の向きの違い
勝者は内向き，敗者は外向き

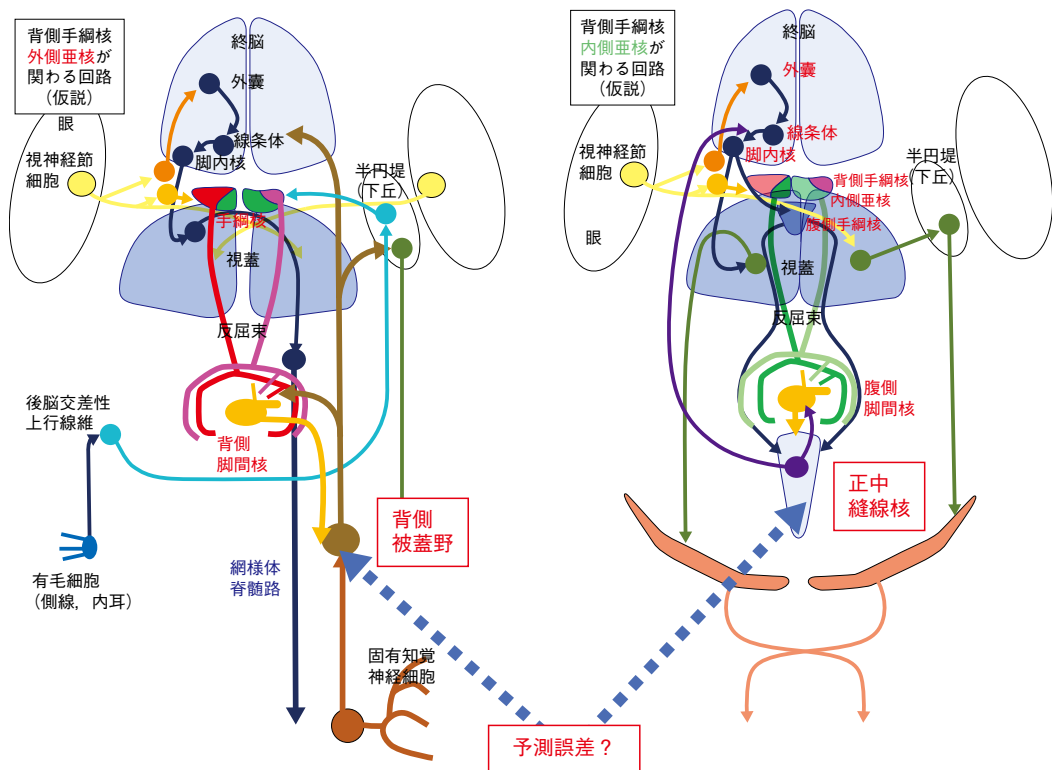


図 8 作業仮説：背側手網核の 2 つの亜核を含む全神経回路

神経回路は、与えられた規則に従って目的を達成するために、好ましい内的状態（右向きか左向きに体を向けるかなど）に関する情報を予測できるようになる学習器ではないかと考えている（図 8 左）。その出力情報は、背側被蓋野などで平衡器や固有知覚による内受容感覚からの実際の入力と

比較され、自己の内的条件に関する予測誤差が計算される。この予測誤差情報は背側脚間核にフィードバックされ、好ましい内的状態に関する予測の精度向上に使われる。同時に、動物個体はこの予測誤差が最小となるように行動を選択する。小脳による行動学習の制御は広く知られてい

るが、手綱核・脚間核神経回路は、小脳が未発達なヤツメウナギやヌタウナギといった円孔類にも存在する。その意味でこの神経回路は、脳が小脳を獲得する前に生み出された行動制御のための進化的試作品と言えるのではないだろうか。

一方、内側亜核を含む回路では、与えられた規則に従って目的を達成するために、正中縫線核が腹側手綱核からの直接入力と背側手綱核内側亜核から脚間核を介する間接入力によって、外的からの知覚情報（その色を見るか）予測誤差を計算すると推察する（図8右）。

Ⅲ 脳の構造的左右差と機能的左右差

ゼブラフィッシュの背側手綱核に関して極めて特徴的なことは、正常胚においては左の背側手綱核では外側亜核が、右の背側手綱核では内側亜核のほうが圧倒的に大きいというように、左右の手綱核で内外側の亜核のサイズ比に著しい左右非対称性がみられることである。更に、背側手綱核の内側亜核の神経細胞はすべて脚間核の腹側半分に投射し、外側亜核の神経細胞はすべて脚間核の背中側半分に投射することから、左の手綱核は大部分が脚間核の背側に、右の手綱核からは大部分が脚間核の腹側に投射することになる⁵⁾（図2）。このような手綱核の左右差は、ゼブラフィッシュだけでなく、鳥類や爬虫類でも顕著にみられることが知られている。

ヒトの脳では、右半球と左半球とが異なる機能を持っていることはよく知られている¹²⁾。魚でも、右脳と左脳とで情報処理の特性に差があることが示されている。ゼブラフィッシュは、餌なのか敵なのかかわからないような新しい物体に近づくとき、右眼を優先的に使うことが示されている^{13,14)}。片方の壁に小さい入り口が開いていて、反対側の壁の近くに餌かもしれない物体がぶら下がっているような、茶室のような部屋を用意する（図9）。ゼブラフィッシュは、入り口から入って、その物体を初めて見るときには、右眼で物体を見ながら物体に近づこうとすることがわかっている。すなわち、体の右側が物体に向くように泳ぎながら物体に近づいていく。その物体を見慣れてくると、右眼と左眼の使用頻度に差はなくなる

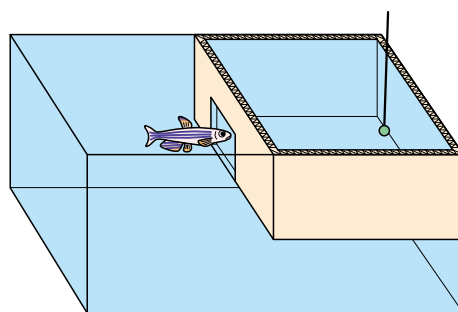


図9 魚は正体不明の物体に近づくとき、どちらの眼を使うのか？

が、物体を再び新しい模様のものに換えると、再び右眼で観察しながら近づくようになる。これらの論文^{13,14)}で著者らは、魚では、餌なのか敵なのかかわからない新規な物体を注意深く観察しながら近づく必要がある場合は、右眼から左側の脳に入る視覚経路が、このような情報処理に向いているのだらうと推察している。一方で、物体が過去に見たことがあるものかどうかを判断するような場合は、左眼が優先的に使用されることも示されている。

このような視覚情報処理系左右差は、他の動物でも報告されている。特にニワトリ（ヒヨコ）などを使った実験などの結果を考慮すると、親しさに基づく社会的な仲間の識別の認識には右半球が優位であるのに対し、左半球は同系統と異系統といった“分類に基づく”区別に特化している可能性が示唆されている。更にニワトリでは、左眼から視覚情報を受け取る右半球は、対象物や環境を表象し分析することに特化しており、右眼から視覚情報を受け取る左半球は、刺激を迅速に分析分類し、適切な行動をとるための意思決定を誘発する傾向がある¹⁵⁾。

既に述べたように、筆者らはこれまでの実験結果から、左脳優位な背側手綱核の外側亜核から始まる勝者の回路は、勝者が敗者への攻撃を行うべく内受容感覚に関する予測誤差の最小化を行うことに、右脳優位な内側亜核から始まる敗者の回路は、敗者が外受容感覚に注意し勝者の位置の予測誤差を最小化するのに利用されていると考えている。この仮説は、ニワトリやゼブラフィッシュで左半球が視覚入力に基づく適切な行動をとるため

の意思決定に関わり、右半球が外界を表象し分析することに特化しているというこれまでの実験結果とも結びつく可能性が高いのではないかと、筆者らは考えている。

実際、心臓の位置や亜手綱核の亜核の大きさにおける左右差が、約半数の個体で逆転する突然変異系統 (frequent-situs-inversus; fsi) で図 9 の行動実験を行うと、手綱核の左右非対称性が逆転している個体は、標的に近づくとき主に左眼を使うことが報告されている¹⁶⁾。

おわりに

システムとしての神経回路網の動作特性を理解しようとする場合、人為的な手法を使って、構成要員となっている細胞の活性や数を増やしたり減らしたりして、その影響をみるという手法が使われる。また、脳の機能的左右差に関しては、このような実験をしなくても、ゼブラフィッシュにおいては自然そのものが既に同様の実験を行っていても解釈することができる。ゼブラフィッシュをはじめとする魚は、群泳や縄張り争い、求愛行動など様々な社会的行動を示す。現在までに発展してきた様々な遺伝子操作技術を駆使して、ゼブラフィッシュの脳の神経回路に特異的操作を加えることによって、これらの行動の制御機構を解明する道が開けると期待している。

●文 献

- 1) Konrad Lorenz : 攻撃, 悪の自然誌, 日高敏隆, 久保和彦共訳, みすず書房, 東京, 1985
- 2) Oliveira RF, Silva JF, Simões JM : *Zebrafish*. 8 : 73-81, 2011
- 3) Okamoto H, Agetsuma M, Aizawa H : *Dev Neurobiol*. 72 : 386-394, 2012
- 4) Aizawa H, Amo R, Okamoto H : *Front Neurosci*. 5 : 138, 2011
- 5) Aizawa H, Bianco IH, Hamaoka T et al : *Curr Biol*. 15 : 238-243, 2005
- 6) Aizawa H, Goto M, Sato T, Okamoto H : *Dev Cell*. 12 : 87-98, 2007
- 7) Amo R, Aizawa H, Takahoko M et al : *J Neurosci*. 30 : 1566-1574, 2010
- 8) Amo R, Fredes F, Kinoshita M et al : *Neuron*. 84 : 1034-1048, 2014
- 9) Chou MY, Amo R, Kinoshita M et al : *Science*. 352 : 87-90, 2016
- 10) Nakajo H, Chou MY, Kinoshita M et al : *Cell Rep*. 31 : 107790, 2020
- 11) Chong BW, Islam T, Torigoe M et al : *Cell Rep*. 32 : 108143, 2020
- 12) Okamoto H, Chong BW, Nakajo H et al : *Curr Opin Neurobiol*. 68 : 36-43, 2021
- 13) Miklósi A, Andrew RJ : *Behav Brain Res*. 105 : 199-205, 1999
- 14) Miklósi A, Andrew RJ, Gasparini S : *Behav Brain Res*. 122 : 57-65, 2001
- 15) Salva OR, Regolin L, Mascalonzi E, Vallortigara G : *Comparative Cognition & Behavior Reviews*. 7 : 110-138, 2012
- 16) Barth KA, Miklosi A, Watkins J et al : *Curr Biol*. 15 : 844-850, 2005