

論文内容の要旨

論文題目

Identification of behavioral rules underlying social learning in medaka fish using a novel data mining method

(新規なデータマイニング法を用いた メダカ集団学習における行動法則の同定)

氏名

落合崇

動物は集団を形成することで、単独時より、より適応的に行動できる場合がある。例えば、集団形成により各個体の見かけ上の学習効率が上昇する現象(集団学習: **Social learning**)が昆虫類・魚類・鳥類などのさまざまな動物種で知られている。**Social learning** が成立するためには、適応的な情報をもつ個体からもたない個体へと情報が伝搬される機構が必要であり、その例として、ミツバチのダンス言語やアリの道標フェロモンが知られている。しかし、グッピーやゴールデンシャイナーなどの魚類では、明瞭な記号的コミュニケーションや化学コミュニケーションが見られないにもかかわらず **Social learning** が観察されている。そこで本研究では、魚類を用いてその集団内で適応的な情報が伝達される新規な機構の解明を目的とした。将来的に、その機構を担う分子・神経基盤が解析できるように分子遺伝学のモデル生物であるメダカを用いた **Social learning** の研究に着手した。

(1) 集団時のほうが単独時よりも、少ない訓練回数で学習が成立する

まず、メダカ集団の報酬学習系を作成し、新規な **Social learning** のアッセイ系の確立を試みた。そのために、水槽の両側から視覚刺激と給餌を行える実験装置を作成した(図 1A)。テストと訓練は図 1B に示すように、テストと訓練が一緒になった試行を 5 分おきに 20 回連続して行った。動画提示(視覚刺激)と給餌は水槽の左右で交互に行い、左右 2 回分をテスト・訓練 1 セットと定義した。

6 匹のメダカ集団に対して訓練を行ったところ、2 セット以降、テスト期間にディスプレイへの接近が確認された。一方、

単独訓練群では 4 セット目から接近する傾向が確認された。2 セット目については、集団訓練群と単独訓練群の間で、テスト期間のディスプレイ方向への移動量の大きさに有意差が検出された(27.3mm vs -5.0mm、 $p < 0.01$ 、 t 検定)(図 1C)。なお、遊泳軌跡は Tablet PC と Image J を用いて手作業で取得した。

(2) 個体間相互作用を抽出する新規手法の確立と、個体間相互作用の誘導条件候補の抽出

(2)-1 メダカ集団は、自由遊泳時全体にはランダムに遊泳する

メダカ 6 匹集団内における全ての個体同士の遊泳方向差の頻度分布(OD 頻度分布)を、視覚刺激や報酬などの外部刺激を与えていない状態(自由遊泳時)について作成した。すると、どの区間(遊泳方向差が $0 \sim 30^\circ$ から $150 \sim 180^\circ$ までの 6 つの区間)でもその頻度は同程度になった(図 2A、B)。これは、自由遊泳時全体にはメダカはランダムな方向に遊泳していることを示している。

(2)-2 自由遊泳時において個体間相互作用が生じる条件の探索

メダカ集団の自由遊泳時において、集団内の特定の 2 個体に着目すると、一過的に同方向に遊泳する様子が観察されることもある。私は、自由遊泳時は、Schooling を誘導する条件や、反発を引き起こす条件を含んでいると考えた。仮に、各個体間に相互作用がある(ある個体に他の個体が追従する)条件について、OD 頻度分布を作成すると、区間毎の頻度に違いが生じると予想される(図 2C)。このように、OD 頻度分布の形が、自由遊泳時全体と比較して、大きく異なる条件を検索することによって、個体間相互作用を誘導する条件を検出できると考えた。そこで、自由遊泳時を様々な条件によって分割して、複数の部分集合を作成し、OD 頻度分布を作成することにした。

(2)-3 個体間相互作用の誘導条件候補の抽出

メダカの位置と速度に関係する情報から、48 個条件をリストアップした。例えば、どちらかの個体が水槽の壁から近い条件や 2 個体間の距離が近い条件などである。それぞれの条件(部分集合)について OD 頻度分布を作成し、自由遊泳時全体との違いを、相互情報量(Kullback-Leibler Divergence)を用いて定量した。違いが大きかった上位 5 つの条件の中で、個体間相互作用の存在を示唆するものとして、「相対的に高速度で遊泳する個体は、同時刻において他個体との遊泳角度が小さくなる傾向がある」というものがあった。このことから、「高速遊泳個体に、他の個体が追従する」というルールが存在する可能性を考えた。

(3) 高速遊泳する個体に他個体が追従する

「高速遊泳する個体に他の個体が追従する。」ルールの存在を示すためには、「高速遊泳する個体に、遅延して、他の個体はその個体と近い方向へ遊泳する」ことを示す必要がある。そこで、このルールを検証することにした。その結果、大きな速度で遊泳する個体に、 $1/3$ 秒の遅延($-1/3$ 秒の位相差)をもって、他の個体が追従することが示された(図 3)。

(4) 学習成立個体はディスプレイ方向へ高速遊泳する

高速遊泳個体に、他の個体が追従するというルールの存在を仮定した場合、餌情報＝動画提示という適応的

情報が集団内で伝達されるために、学習した個体が高速遊泳することで他の個体にその情報を伝えている可能性がある。具体的には、視覚刺激依存にディスプレイ方向へ高速遊泳する必要がある。そこで、学習成立個体は高速遊泳時にディスプレイ方向へ向かっているかを検定した。

解析の目的は、テスト期間(図 1B)において高速または低速で遊泳中の遊泳方向を比較した。遊泳方向はディスプレイ方向を 0 度、反対方向を 180 度とし、0~180 度の間で表すこととした。解析対象は、学習が成立していると考えられる、テスト期間 6~10 回目の集団訓練群と単独訓練群とした。

集団訓練群では、高速遊泳中は 62.6 度なのに対し、低速遊泳中では 80.3 度で、有意差が検出された(t 検定、 $p < 0.01$)。単独時も高速遊泳中は 59.6 度なのに対し、低速遊泳中は 73.3 度で、有意差が検出された(t 検定、 $p < 0.01$) (図 4)。

(5) 訓練後の自由遊泳時には Observer は他の Observer より Demonstrator を強く追従する

「高速遊泳個体に他の個体が追従する」というルールだけに従うと、間違った情報を持つ個体の影響を受けて集団全体として不利益を被る可能性がある。そこで、各個体は、適応的な情報を持つ個体を識別して追従している可能性を考えた。

これを検証するため、予め動画提示と給餌を連合学習させた個体(Demonstrator)1 匹と、学習を行っていない個体(Observer)3 匹を一緒にして、動画提示と給餌を訓練させる実験を行った。訓練後の自由遊泳時について、Observer が他の Observer よりも Demonstrator を好んで追従するか調べた。

その結果、訓練前の自由遊泳時は、Observer は高速遊泳する Demonstrator よりも他の Observer をよく追従する傾向があったが、訓練後には、Observer は他の高速遊泳する Observer より、Demonstrator をよく追従することが示された(図 5)。

本研究により、メダカでは「高速遊泳する個体に、他の個体が追従する」という行動ルールが存在することが示された。これは魚類における Social learning のメカニズムを示した最初の例である。さらに、Observer が他の Observer を追従する傾向は訓練依存に弱くなることから、他の Observer を追従しても採餌に成功しにくいことを Observer が学習した可能性がある。この現象は餌情報を集団で効率的に共有する仕組みとして興味深いが、メダカが何を指標に個体識別をしているのか、そして、餌情報をもつ個体を識別・記憶できるのかを、今後確認する必要がある。また将来的にはメダカを用いて Social learning に関わる遺伝子や神経基盤の分子遺伝学的解析が可能になると期待される。

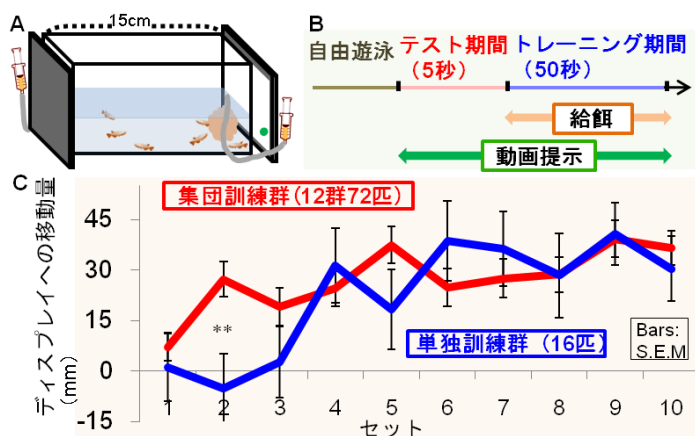


図 1

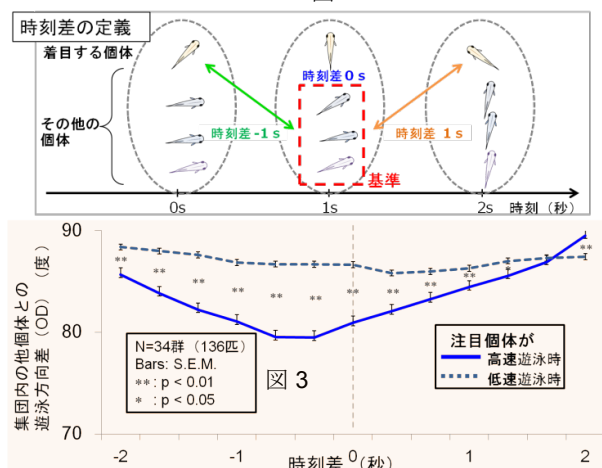


図 3

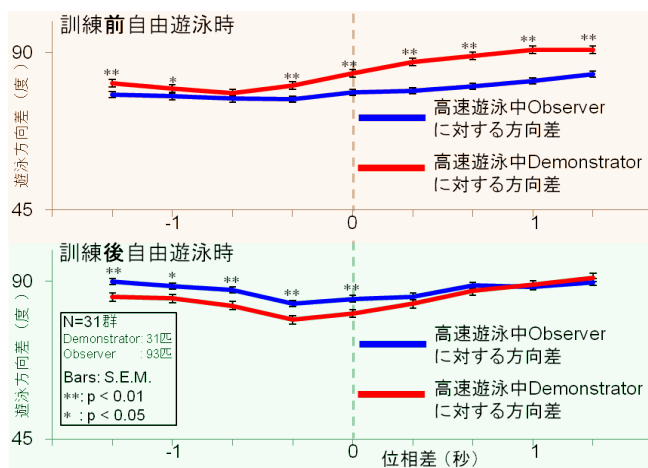


図 5

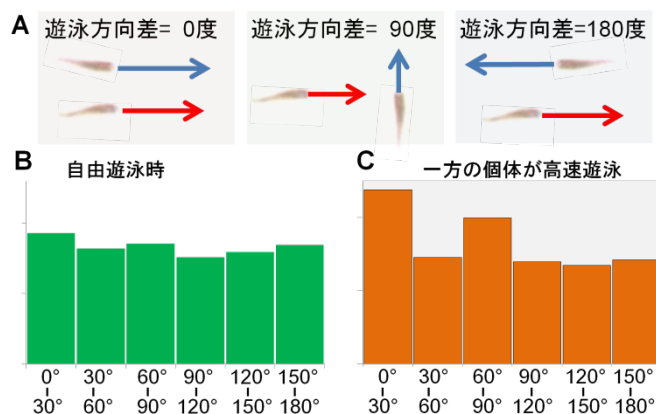


図 2

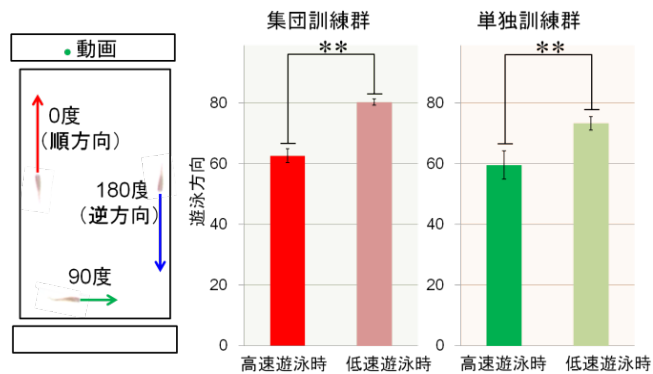


図 4

図 1 視覚記憶依存の採餌効率を測定する実験系の確立 (A) 行動実験装置 (B) 実験手順 (C) 視覚刺激依存のディスプレイ方向への移動量。単独時と集団時の比較。

図 2 OD 頻度分布

(A) 遊泳方向差 (Orientation Difference、OD) の定義

(B) 自由遊泳時全体 (C) 一方の個体が高速遊泳するとき。

図 3 ディスプレイ方向への遊泳角度の比較

(A) ディスプレイ方向の遊泳方向の定義 (B) 高速遊泳時と低速遊泳時についての、遊泳方向の比較 (集団訓練群と単独訓練群)。

図 4 高速遊泳個体／低速遊泳個体と他個体との遊泳方向差について時刻をずらした比較

太線が負の位相差で低くなっていることは、他の個体が、一定のタイムラグをもって高速遊泳個体と同方向に進む傾向があることを示唆している。破線 (低速遊泳個体) についてはそのような傾向は見られなかった。

図 5 訓練前自由遊泳時と訓練後自由遊泳時における、高速遊泳個体に対する他の個体の遊泳方向差の比較