

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Morphology and immunohistochemistry of brain of oval squid (*Sepioteuthis lessoniana*)

アオリイカの脳の状態学および免疫組織学的研究

Among invertebrates, cephalopods have one of the most well-organized nervous systems. Coleoid cephalopods, including squid, cuttlefish, and octopus, possess the largest and most complex brain in the invertebrates and show remarkable behavioral abilities similar to vertebrates. These remarkable behaviors are reflected in aspects of the well-developed brain. Because of these characters of cephalopod brain, I targeted them to study the involvement between complex behaviors and the brain. The oval squid, *Sepioteuthis lessoniana* is a coleoid cephalopod and form well-structured schools. From formation of school and body pattern abilities changing very quickly for interspecific and intraspecific communication, I assumed that *S. lessoniana* show social interactions. However, little is known about how this brain develops and the neuronal system involved the higher brain functions, such as learning ability or sociality or cognition, in *S. lessoniana*. To reveal the functional neural system, I focused on one of the major inhibitory neurotransmitters in the CNS,  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). GABA is highly conserved in evolution among invertebrates, suggesting the involvement in various higher functions in the brain of *Sepia officinalis* and *Octopus vulgaris*. I first reviewed studies of cephalopod brain (Chapter I). Based on this review, I first investigated the development of the brain of captive oval squid *Sepioteuthis lessoniana* during the post-hatching phase (Chapter II). The effects of results of this chapter are discussed in this study in relation to the onset of squid behaviors during post-hatching. The vertical lobe, superior frontal lobe, and anterior subesophageal mass drastically increase in relative volume as the squid grows. In contrast, the middle subesophageal mass and posterior subesophageal mass did not increase in volume. The database on neurotransmitter distribution during central nervous system development of cephalopod mollusks is still scarce. In Chapter III, I focused the distribution of neurotransmitter in the cephalopod brain and described distribution of GABAergic elements using glutamic acid decarboxylase (GAD), which is a marker protein of GABA neurons, immunoreactivity within the brain of *S. lessoniana*. GABAergic signalings were abundant and widely distributed throughout the brain of the adult *S. lessoniana*. These are detected in the lobes that are major integrative centers contributing to information processing and controlling movements in particular. In Chapter IV, I described ontogeny of GAD immunoreactivity within the brain of *S. lessoniana*. I found the remarkable change in the distribution of GABAergic elements during growth. In Chapter V, I investigated the relationship between brain morphology among 5 species of cephalopod living in Okinawajima islands. I found they have a brain adapted their own life styles. For the first time I described the brain of *S. lessoniana* focused on a neurochemical basis not only the structure. This study is pioneering work and the findings of this study will be important to understand the complex behavior of *S. lessoniana*.

氏 名 小林 しおり

2014年2月14日

琉球大学大学院  
理工学研究科長 殿

論文審査委員

主査 氏名 池田 譲  
副査 氏名 日高 道雄  
副査 氏名 竹村 明洋  
副査 氏名 高山 千利



### 学位（博士）論文審査及び最終試験の終了報告書

学位（博士）の申請に対し、学位論文の審査及び最終試験を終了したので、下記のとおり報告します。

記

申請者	専攻名 海洋環境学 氏名 小林しおり 学籍番号 098602A
指導教員名	池田 譲
成績評価	学位論文 <input checked="" type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格 最終試験 <input checked="" type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格
論文題目	Morphology and immunohistochemistry of brain of oval squid (アオリイカの脳の形態学および免疫組織学的研究)
審査要旨（2000字以内） 頭足類は軟体動物門に属する海洋動物であり、日本をはじめとする多くの国々において主要な水産物として人間生活に深く関わっている。また、頭足類はヒトに酷似するレンズ眼や脊椎動物並みに発達した巨大脳をもち、これらを基盤として学習・記憶などの高次脳機能を示すことが知られている。一方で、行動を司る器官の脳については、マダコやヨーロッパコウイカなど限られた種についての解剖学的知見や、電気生理学を用いた神経科学的知見があるものの、多くの頭足類については脳の発達過程や行動制御との関係は未知のままであり、頭足類脳の体	

## 審査要旨

系的な理解には至っていない。

このような背景のもと、本研究は沖縄島近海に生息する熱帯性頭足類を対象として、脳の形態と行動との関連について探ることを主眼に、長期にわたる飼育実験と脳形態の組織学的観察により、脳の発達と神経回路の形成過程について詳細な観察を行っている。はじめに、沖縄島近海から採集した5種の熱帯性頭足類 (*Callistoctopus aspilosomatis*, オオマルモンダコ、ミミイカ、トラフコウイカ、アオリイカ) の卵を研究室内で孵化させ、孵化個体の脳形態について種間比較を試みている。これにより、孵化時点での相対的な脳の大きさと脳を構成する脳葉の大きさには、個々の種の生活型や行動様式を反映した種間変異が見られることを明らかにしている。さらに、機能的な群れをつくる社会性の発達したアオリイカを主対象として、長期飼育実験に基づき、脳の発達過程を追跡している。これにより、本種の脳では、運動を制御する脳領域は孵化時に既に発達しているのに対し、記憶・学習などの高次脳機能を制御する脳領域は孵化後から顕著に発達することなど、行動発達と連関した脳の発達過程を明らかにしている。そしてさらに、アオリイカ脳の神経回路の発達を調べるべく、神経伝達物質の $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) に注目し、その合成に関わるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) を指標とした免疫組織化学的観察を試みている。これにより、GAD が高次脳機能を司る脳領域で特異的に発現し、脳内での神経回路を形成して行く様子を明らかにしている。これらの成果は、未だに知見の少ない頭足類の脳の発達過程を、長期人工飼育という希少な手法に則り、解剖学分野の先端手法も適用して明らかにしたものであり、海洋生物学、動物行動学、脳科学といった諸分野に大きく貢献するものである。

学位論文の一部は二編の論文 (英文) として、何れも申請者が第一著者となって査読付学術雑誌に公表済みである。

申請学位論文を各審査員が校閲した後、学位論文審査会を開いて内容を検討し、審査会の全会一致で申請学位論文の成績は「合格」に値すると判断した。

平成26年2月13日午前9時より理系複合棟202教室にて、学位論文の内容に関する最終試験を申請学位論文の主査、副査同席のもと、パワーポイントによる40分間の口頭発表とそれに続く20分間の質疑応答により公開で実施した。口頭発表の内容は明瞭であり、それに続く質問に対しても申請者は適切かつ十分な回答をしていた。

平成26年2月13日午前10時より理系複合棟203教室にて、論文審査会を開き、学位論文の成績、最終試験の成績について総合的に検討し、論文審査会は全会一致で最終試験の成績を「合格」、申請学位 (博士) 論文を「合格」と判定した。