

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16566

研究課題名(和文) 発語モデル動物の確立と発語タイミングを制御する脳内部位の解明

研究課題名(英文) Establishment of an animal model of timing production for speech and investigation of brain locations involved in the timing control

研究代表者

西村 方孝(Nishimura, Masataka)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：80613398

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々が音声で意思の伝達を行うためには、適切なタイミングで適切な音節を発しなくてはならない。本研究は、高い精度で適切なタイミングを作り出す動物モデルを確立し、その脳内機構を解明するための基礎の構築を目指した。具体的な成果としては、モルモットに最大で3つのキューを区別させ、各キューに対して異なるタイミングで応答させることができた。また、モルモットの音声コミュニケーションに匹敵する、タイミング誤差 $\pm 5\%$ で0.3秒程度のタイミングで応答させることができた。これらの成果から、適切なタイミングで適切な動作を行う実験可能なモデルが確立でき、脳が作り出す時間の研究を進める上での基礎を構築できたと言える。

研究成果の概要(英文)：Appropriate timing and enough precision of speech production is essential for our vocal communication to represent our intention. In the present research, we aimed to establish an animal model which produces appropriate timing with enough precision to investigate the brain mechanism of timing production for quick actions such as speech, by using a conventional laboratory animal, guinea pig. We succeeded to condition guinea pigs to discriminate at most three timing cues and to switch timing of response for each cue. Guinea pigs produced timing with  $\pm 5\%$  error (at minimum) for 0.3 sec timing, which is comparable to real vocal communication of guinea pig. Taken together, the animal model was successfully established and now we have a basis to study how brain produces timing to represent our intention with invasive techniques.

研究分野：脳の時間生成

キーワード：リズム コミュニケーション 双方向性 時間 精度

### 1. 研究開始当初の背景

音声を使った会話は、我々ヒトにとって重要なコミュニケーション手段の一つである。音声によるコミュニケーションを実現するためには、適切なタイミングで適切な音節を発し、言語を成立させなくてはならない。そのタイミング制御には、自らが発した前音節を聴きながら次音節を発声する機構が関与していることが、聴覚遅延フィードバック (DAF) を用いたヒトの発語実験で示唆されている (Lee, 1950; Black, 1951)。DAF 効果の発見から 60 年以上経った現在でも、哺乳類における発語のタイミング制御機構は明らかになっていない。その理由として、コミュニケーション音声に含まれる次音節のタイミング制御の存在が、哺乳類ではヒト以外で知られておらず、実験可能なモデル動物が存在していなかったことが理由の一つとして考えられる。当初本研究は、研究代表者が求愛行動中のモルモットから見出した、メスがオスの音声のインターバルと同期して音声を発する現象 (学会発表) をモデルとして、発語のタイミング制御機構の解明を目指した。

### 2. 研究の目的

脳が行うタイミング制御の機構を解明するためには、実験室で再現が可能な、実験動物がタイミングを生成・制御している状況を作り出す必要がある。そのため、本研究では当初の背景を踏まえ、モルモットの求愛行動中の音声に注目し、それをモデルとした実験系の確立を試みた。しかし、研究期間途中で、予備実験で使用していたモルモットの生産業者の廃業による生産業者の切り替え等により、音声コミュニケーションの再現率の低下があったため、より高い再現性が実現できるオペラント条件付を用いたタイミング制御モデルへの切り替えを行った。本研究では、予備実験で観測されていた音声コミュニケーションで見られる高い精度の発語タイミングに類する、誤差  $\pm 10\%$  未満のタイミング生成を行うモデル動物を確立し、脳内機構の解明を行うための礎を築くことを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 複数のキューと対応した複数のタイミングを生成させるオペラント条件付

従来の研究では、ピーク・プロシージャ (Roberts, 1981) に代表されるように、その多くで、一つのキューを使って一つの動作タイミングを生成させる課題を用いていた。その課題で観測可能な動作タイミングには、大きく 3 つの時間要素が含まれている。(a) 脳の中で生じる遅延時間 (認知から意思決定及び運動命令生成までの遅延時間)、(b) 脳が作り出したタイミング、(c) 物理的遅延時間 (動作が検知されるまでの筋肉等の機械的な遅延時間) である。発語におけるタイミン

グ制御では (a) と (c) の要素はほぼ一定になると期待され、観測されたタイミングの精度はおよそ (b) の生成精度によるものと期待されるが、動物の行動を伴う動作タイミングでは、動物の待機位置等に強く依存する (c) の影響を強く受ける。その影響は、特に、数百ミリ秒のタイミングを高い精度で生成されるときに顕在化する。そこで本研究では、2 つまたは 3 つのキューを用い、それぞれに対応したタイミングを生成させた。これにより、実験後の解析で (a) と (c) の要素を取り除いて生成されたタイミングを検討することが可能になる。

#### (2) オペラント条件付けのための実験装置と動物の動機づけ

実験にはモルモット及びラットを用いた。動物が動作タイミングを高い精度で生成する動機づけのために、動物は 1 日に 12 時間の給水制限 (絶水) を行った。報酬としての水を得るための課題は 1 日 12 時間実施し、1 試行は、動物が積極的な待機状態保持を 2 秒継続して行った場合に開始した。動物は 1 日あたり約 2,000 ~ 5,000 試行の課題を行った。1 試行の中で、タイミングを示すキュー提示後の然るべき時間に動物が初めて吐水口に触れたときのみ、約 20 ~ 60  $\mu\text{l}$  の水を報酬として提供した。1 報酬の量は動物の課題への取り組み率を基に調整した。それ以外のケースで動物が吐水口に触れた場合には、0.5 MPa の空気を内径 2.4 mm のチューブから 10 ミリ秒、動物の顔に向かって吹付けた。動物の待機状態保持の検知には赤外線光源と赤外線センサを用いた。動物が吐水口に触れたか否かは、金属製の床材と金属製の吐水口の間抵抗値の変化 (触れたら低抵抗、それ以外は高抵抗) で検知した。キューとしての音や光の提示にはリアルタイムプロセッサ (TDT RP2.1, RA16 のいずれか) を使用し、その他の制御及びキュー提示後に吐水口に触れた時間の記録には、もう一つのリアルタイムプロセッサ (RP2.1) を使用した。時間記録のためのサンプリングは 24 kHz で行い、100 マイクロ秒の精度でデータとして計算機に保存した。音のキューとして、各周波数成分のエネルギーを均一化した帯域雑音を用いた (0.5 kHz  $\pm$  0.25 オクターブ、3.4 kHz  $\pm$  0.25 オクターブ、13.5 kHz  $\pm$  0.25 オクターブ)。光のキューとして、赤色光 (ピーク波長 625 nm) と青色光 (ピーク波長 470 nm) を用いた。光のキューはモルモットにのみ用いた。

#### (3) 生成されたタイミング及び生成誤差の局所的解析

予備実験で、動物が生成するタイミングの精度は一定ではなく、数分程度で精度が大きく変化することが示唆されており、精度が高いときには単位時間あたりの試行回数が増えることが明らかになっていた。そのため、

過去 15 分以内に存在する、同一のキューに対する過去 20 試行分のデータを抽出し、そのデータから、吐水口に触れた時間の局所分布を得た。その局所分布の第 2 四分位数（中央値）を動物が生成したタイミング、第 1 四分位数と第 3 四分位数の差をタイミングの誤差と定義し、各時間における局所的なタイミング及び誤差の解析を行った。過去 15 分の間に 20 試行分のデータが存在しない場合は、局所的解析の対象外とした。

#### 4. 研究成果

##### (1) 複数のキューと対応した複数のタイミングの生成

2 つのキューと対応する 2 つのタイミングを生成させる課題では、ラットでは 1 週間程度、モルモットでは 3 週間程度で明瞭な生成タイミングの差が観測された（図 1）。

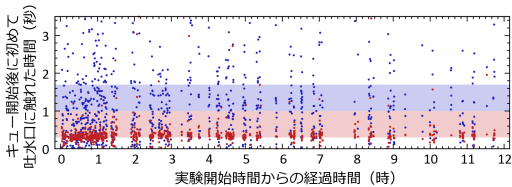


図 1. 2 つのキューを区別して異なるタイミングを生成するモルモットのある日のデータ。各ドットの色はキューの違いを表す。

モルモットでは、更に、3 つのキューと対応する 3 つのタイミングを生成させる課題を実施したが、+2~3 週間程度で 2 つのタイミングを 3 つのタイミングに増やすことができた（図 2）。

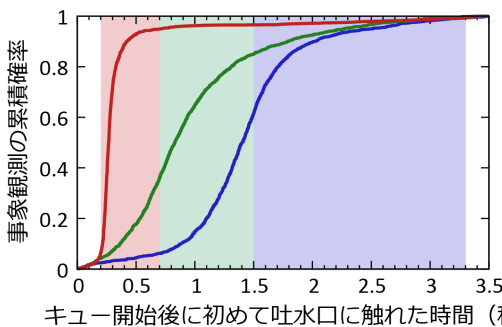


図 2. 3 つのキューを区別して異なるタイミングを生成するモルモットのある日のデータ。図 1 のような結果を元に、観測の累積確率をプロットしたもの。

##### (2) タイミング生成の誤差・精度

タイミングに依存して最小誤差は変化するものの、ラットでは誤差  $\pm 3\%$  程度で 300~400 ミリ秒程度のタイミングを生成させることに成功した（図 3）。モルモットでは誤差  $\pm 5\sim 10\%$  程度で 350 ミリ秒のタイミングを生成させることに成功した（図 4）。

本成果は、2018 年の日本神経科学大会で発表予定である。

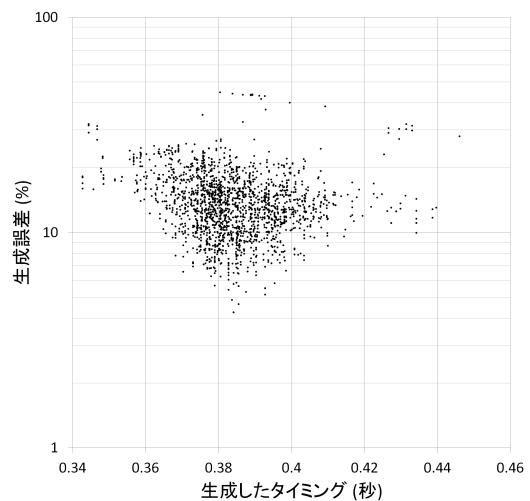


図 3. 2 つのうちの 1 つのキューの至適タイミングが 400 ミリ秒であるときの、ラットが実際に生成したタイミングと誤差の関係を局所解析したものである日の 1 日分のデータから得られた。

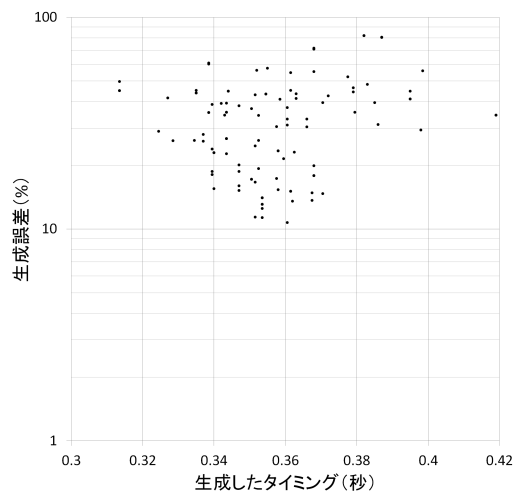


図 4. 2 つのうちの 1 つのキューの至適タイミングが 350 ミリ秒であるときの、モルモットが実際に生成したタイミングと誤差の関係を局所解析したもの。生成誤差の日毎の減少が見られなくなってから連続する 3 日分のデータから得られた。

##### (3) 生成可能なタイミングの不連続性

動物が生成したタイミングを局所的解析によって更に詳しく解析したところ、生成タイミングが離散的または階段状に変化する現象が見られた（図 5）。研究の方法(1)で記述したように、課題によって観測可能な動作タイミングには、3 つの時間要素が含まれている。そのうちの 1 つである脳が作り出したタイミングに注目するために、研究の方法(3)で記述した局所的解析を行い、2 つのキューと対応した 2 つのタイミングの差を調べたところ、その差は階段状に変化することが明らかになった。階段状の差は、タイミング生成の精度が高く、ラットの場合で生成誤差が  $\pm 7\%$  未満になっているときに顕著に見られた（図 6）。

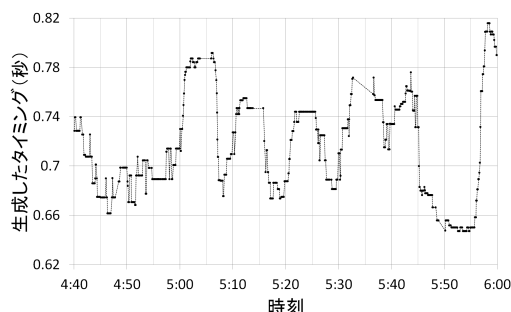


図 5. 2つのうちの1つのキューの至適タイミミングが800ミリ秒であるときの、ラットが実際に生成したタイミミングと誤差の関係を局所解析し、タイミミングの経時的な変化を示したものの。

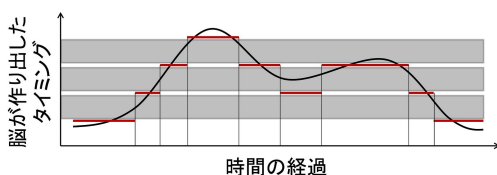


図 6. 脳が作り出したタイミミングが階段状に変化する様子を模式的に示したものの。禁則となっているタイミミングが等間隔に存在し、許容されたタイミミングしか作り出すことができない。

本研究では、求愛行動中に発するメスの音声(2音)がオスの音声(繰り返し音)のインターバルの整数倍で発せられる現象と近似した、動物の脳が作り出したタイミミングがある時間の整数倍になっていることが示唆された。脳はペースメーカーを元にして時間を作り出しているのではないかという仮説は存在するものの(Gibbon et al., 1997)、脳が作り出す時間の量子仮説の元になる直接的な証拠は現時点では報告されていない。今後、脳が作り出す時間の不連続性を明確にするための追加実験及び計算機を用いたシミュレーション実験を実施する予定である。

#### <引用文献>

Lee BS. Some effects of side-tone delay. J Acoust Soc Am. 1950;22:639-640.

Black JW. The effect of delayed sidetone upon vocal rate and intensity. J Speech Hear Disord. 1951;16:56-60.

Roberts S. Isolation of an internal clock. J Exp Psychol Anim Behav Process. 1981 Jul;7(3):242-68.

Gibbon J, Malapani C, Dale CL, Gallistel C. Toward a neurobiology of temporal cognition: advances and challenges. Curr Opin Neurobiol. 1997 Apr;7(2):170-84.

#### 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2件)

Nishimura M, Sawatari H, Takemoto M, Song WJ. Identification of the somatosensory parietal ventral area and overlap of the somatosensory and auditory cortices in mice. Neurosci Res, 査読有, 99, 2015, 55-61  
DOI: 10.1016/j.neures.2015.06.001.

Nishimura M, Takemoto M, Song WJ. Organization of auditory areas in the superior temporal gyrus of marmoset monkeys revealed by real-time optical imaging. Brain Struct Funct, 査読有, 223(4), 2018, 1599-1614  
DOI: 10.1007/s00429-017-1574-0.

[学会発表](計7件)

王馳, 西村方孝, 白見優大, 宋文杰. 時間精度が要求される動作における脳内時間生成機構の解明を目指す動物モデルの確立, 第68回西日本生理学会, 2017年10月6日, 福岡大学(福岡市)

西村方孝, 竹本誠, 宋文杰. 上側頭皮質に分布するマーモセット聴覚領野の同定, 第40回日本神経科学大会, 2017年7月20日, 幕張メッセ(千葉市)

Nishimura M, Song WJ. Impacts of Millisecond-order Onset Timing Difference of High Frequency Component in Spectrally Complex Sounds on Cortical Activity and Sensation. ARO 2017 MidWinter Meeting, 2017年2月13日, Baltimore (USA)

Wang C, Nishimura M, Song WJ. Guinea pigs can learn to change behavioral response latency to report their sensation difference to three different sounds. The 3rd Annual Meeting of the Society for Bioacoustics, 2016年12月10日, Irago Resort and Spa(愛知県)

西村方孝, 竹本誠, 宋文杰. 光計測法によるマーモセット聴覚野の領野区分. 第39回日本神経科学大会, 2016年7月22日, パシフィコ横浜(横浜市)

Nishimura M, Shiromi Y, Song WJ. Mating-Related Interactive Vocal Communication with Sub-centisecond Precision in Guinea Pigs, ARO 2016

MidWinter Meeting, 2016年2月22日,  
San Diego (USA)

Nishimura M, Song WJ. A binaural  
compensatory mechanism in the auditory  
system: enhanced cortical response to  
a sound to the ipsilateral ear in a  
stream of binaural sounds. The 2nd  
Annual Meeting of the Society for  
Bioacoustics, 2015年12月12日, Kyushu  
University (福岡市)

〔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

西村 方孝 (NISHIMURA, Masataka)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教  
研究者番号：80613398

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )