

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：32427

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18566

研究課題名(和文) 鳴禽の脳可塑性を制御する内分泌機構の解明

研究課題名(英文) Endocrine mechanisms define brain plasticity in songbirds

研究代表者

鈴木 研太 (Suzuki, Kenta)

日本医療科学大学・保健医療学部・助教

研究者番号：60548965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：鳴禽類はヒナの時期に歌の学習を行うが、カナリアなどの一部の鳴禽は、成鳥になってからも脳の可塑的变化を伴い毎年歌を学び直すことが可能である。このメカニズムを明らかにするために鳴禽の歌神経系をモデルとして研究を行った。継続的な録音によりカナリアの歌行動の季節変化とハシボソガラスのヒナの歌様行動の詳細が明らかになった。脳の可塑性に関わると考えられるストレス関連遺伝子群の歌神経核での発現が確認された。各種ホルモンの血中濃度を測定した結果、ストレスホルモンは歌の再学習の前後に違いは見られなかった。アンドロゲンには大きな変化がみられ、歌神経核の神経新生を促進するDHEAが再学習の時期に大きく高まっていた。

研究成果の概要(英文)：Generally, songbirds learn songs as juveniles. Some songbirds such as canary, however, are able to learn songs every year and display brain plasticity even in adulthood. In order to investigate brain plasticity, we studied the song system of songbirds as a model. Continuous recording revealed seasonal changes in song behavior in canary, while offering insights into the song-like behavior of carrion crow. Environment and stress factors probably influence brain plasticity, primarily, through stress-related genes. Stress-related gene expression was confirmed in the song nuclei. An analysis of the concentrations of various hormones in the blood did not reveal differences in stress hormone concentration before and after song re-learning. We, however, noted changes in androgen levels. The levels of dehydroepiandrosterone, which is involved in promoting neurogenesis of the song nucleus, also increased during song re-learning.

研究分野：分子行動神経学

キーワード：鳴禽 脳可塑性 内分泌 歌神経 カナリア ジュウシマツ ハシボソガラス 歌学習

1. 研究開始当初の背景

動物が生まれた時には脳は未成熟な状態であるが、環境や経験に基づいて、形態や機能を変化させながら、うまく環境に適応できるように発達していく。発達時期にはこうした脳の可塑的变化が生じやすい臨界期が存在し、ヒトの言語や鳴禽の歌は、この時期に獲得される。臨界期を過ぎると鳴禽の歌学習は完了し、それ以上の歌の変化は起こらなくなる。しかし、鳴禽の一部は、成鳥になっても脳神経の形態と機能を大きく変化させる脳の可塑性を有している。例えば、カナリアは、毎年秋から春にかけて新たに歌を学びなおし、繁殖に備えるが、この時に歌の制御と学習に関わる神経核（歌神経核）が肥大化する。繁殖期を終えると歌をうたわなくなり、歌神経核は収縮する。

このような歌神経核の形態変化は、日照時間の変化に伴って増加する性ホルモンの作用によって生じるものと考えられている (Nottebohm, Science 1981)。しかし、同様に季節繁殖をする鳥において、日長の変化に伴って性ホルモンの増加が生じても、成鳥の歌は変化せず、歌の再学習が起こらないものも多く存在する。また、季節によって大きさの変わる歌神経核 HVC、RA には性ホルモンの受容体が多く存在するが、同じく季節変化を示す歌神経核 AreaX には、性ホルモンの受容体は存在せず (Gahr and Metzendorf, Brain Res. Bull. 1997)。歌神経系の可塑性を制御するメカニズムは未だ明らかとなっていない。

ウズラを用いた研究によって、季節繁殖を司るメカニズムが明らかにされている。日長が長くなると、下垂体隆起葉で甲状腺刺激ホルモン (TSH) が合成され、視床下部内側基底部の 2 型脱ヨウ素酵素 (DIO2) の発現を介して、局所的に甲状腺ホルモンが低活性型のサイロキシン (T4) から活性型のトリヨードサイロニン (T3) に変換されて、脳の形態変化を引き起こし、その影響によって精巢の発達が促進されることが明らかとなっている (Yoshimura et al., Nature 2003; Nakao et al., Nature 2008)。また、ヒヨコの発達時期にも脳内の DIO2 の発現が上昇し、T4 が T3 に変換され、T3 の作用によってヒヨコの刷り込み学習の臨界期が開始されるという報告がある (Yamaguchi et al., Nature Communications 2012)。したがって、発達脳および成体脳のどちらにおいても、甲状腺ホルモンが鳴禽の歌神経の可塑性に関与する可能性は高いと考えられる。

また、環境の季節変化は、通常、日の長さ (日長) のみならず、気温、降水量、食料の量などの様々な変化を伴う。こうした変化への適応には、エネルギー代謝やストレス反応の調節が重要な役割を果たすと考えられ、これらを調節するストレス関連ホルモンが歌神経の可塑的变化に関与すると考えられる。申請者は、コルチコステロンの受容体が歌神

経系に発現していることを世界で初めて明らかにした (Suzuki et al., Neuroscience 2011)。さらに、成体において新たに神経細胞が生まれる歌神経核では、ミネラルコルチコイド受容体 (MR) の発現がグルココルチコイド受容体 (GR) の発現よりも高いことがわかった。MR は GR よりもコルチコステロンに対する親和性が高く、適量のコルチコステロンは MR を介して神経の機能や発達を促進し、コルチコステロン量が多くなると GR を介して神経の機能や発達を抑制すると考えられる。したがって、それぞれの歌神経核における 2 種類の受容体のバランスの違いが、可塑性の違いを生じさせると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、季節性繁殖を行う鳴禽のカナリア、カラス類と季節を問わず繁殖を行う鳴禽のジュウシマツなどをモデルとして、性ホルモン、甲状腺ホルモンとストレス関連ホルモンなどの内分泌ホルモンに着目し、これらのホルモンが成体における脳の可塑性をどのように制御しているのかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 自然の光周期条件においてカナリア、カラス類、コシジロキンパラ、ジュウシマツの飼育を行う。

(2) 季節毎に血液を採取し、ホルモンの血中濃度の測定を行う。

(3) 定期的に音声の録音を行い、歌行動の数、歌の音響特性の解析を行う。カラス類についてはそもそも歌をうたうのかどうかを調べる。

(4) 季節毎に脳、視床下部、下垂体、網膜、副腎、甲状腺、生殖腺の組織採取を行い、生殖腺については生殖腺重量を測定する。

(5) 血中ホルモン、歌行動、生殖腺重量、歌神経核の形態等の関連性について調べる。

(6) 季節繁殖に関わると考えられる遺伝子群の mRNA の塩基配列を決定し、Insitu ハイブリダイゼーション法を用いて、歌神経核における発現を確認する。

(7) リアルタイム PCR 法によって各季節における候補遺伝子群の各組織における発現量の違いについて比較を行う。

4. 研究成果

(1) 自然の光周期条件において研究期間の 2 年間にわたってカナリアの飼育を行い、継続的に歌の録音を行い、季節毎の歌行動の量と音響特性の変化の詳細を明らかにした。8 月、9 月はほとんどのカナリアが歌行動を

止めており、その後は個体によって歌いはじめる時期は異なっていた。4月、5月にはほとんどのカナリアが歌行動を行っていた。季節に応じて、音響特性の変化が観察された。

(2) ハシボソガラスについては、これまで歌行動に関する報告はなかったが、ヒナの時期に継続して録音を行った結果、歌のような行動が観察され、音声解析によりその特徴が明らかとなった。他の鳴禽類のサブソングに該当するような音声が確認されたことから、ハシボソガラスも歌をうたうことが示された。しかしながら、野生個体において歌行動は観察されていないことから、その機能等については不明である。今後、より細かな生態の観察によって、カラス類における歌様行動の機能を明らかにしたいと考えている。

(3) カナリアについて、歌をうたっている季節の4月、歌をやめている季節の9月、翌年の歌をうたっている季節の5月に体重の測定、スティックテストによる攻撃性の測定、血液の採取を行い、脳、視床下部、下垂体、網膜、甲状腺、副腎、精巣、肝臓の組織の採取を行った。精巣、肝臓についてはそのサイズと重量を測定した。その結果、季節による体重と攻撃性に有意な違いは見られなかった。生殖腺のサイズ、重量については、歌をうたっている季節は、歌をうたっていない季節よりも有意に大きく、重かった。

(4) 歌をうたっている季節と歌をやめている季節の各種血中ホルモン濃度を液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化-タンデム質量分析(LC-ESI-MS/MS)により測定した結果、ストレスホルモン(コルチコステロン)の濃度に有意な違いは見られなかった。アンドロゲン(テストステロンおよびデヒドロテストステロン)については、歌をうたっている季節は有意に血中濃度が高かった。また、歌神経核の神経新生を促すことが明らかとなっているデヒドロエピアンドロステロンの濃度が、歌をうたっている季節に大きく高まっていることが明らかとなった。さらに甲状腺ホルモンについても解析を進めているところである。

(5) 脳の可塑的変化のメカニズムのひとつとして、エネルギー代謝やストレス反応の調節が重要な役割を果たすと考え、ストレス関連遺伝子群の発現をIn situハイブリダイゼーション法を用いて調べた結果、歌神経核における発現が確認された。また、関連する遺伝子についてcDNAクローニングを行い、塩基配列を決定した。引き続き、季節の違いによる候補遺伝子群の発現の比較を行うためにリアルタイムPCRによる解析を進めているところである。

<引用文献>

- Nottebohm, F. (1981). A brain for all seasons: cyclical anatomical changes in song control nuclei of the canary brain. *Science*, 214(4527), 1368-1370.
- Gahr, M., & Metzdorf, R. (1997). Distribution and dynamics in the expression of androgen and estrogen receptors in vocal control systems of songbirds. *Brain research bulletin*, 44(4), 509-517.
- Yoshimura, T., Yasuo, S., Watanabe, M., Iigo, M., Yamamura, T., Hirunagi, K., & Ebihara, S. (2003). Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature*, 426(6963), 178-181.
- Nakao, N., Ono, H., Yamamura, T., Anraku, T., Takagi, T., Higashi, K., ... & Kasukawa, T. (2008). Thyrotrophin in the pars tuberalis triggers photoperiodic response. *Nature*, 452(7185), 317-322.
- Yamaguchi, H., Kobayashi, Y., Kobayashi, R., Takashima, Y., Hashidzume, A., & Harada, A. (2012). Photoswitchable gel assembly based on molecular recognition. *Nature communications*, 3, 603.
- Suzuki, K., Matsunaga, E., Kobayashi, T., & Okanoya, K. (2011). Expression patterns of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in Bengalese finch (*Lonchura striata* var. *domestica*) brain suggest a relationship between stress hormones and song-system development. *Neuroscience*, 194, 72-83.

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)

Olga Feher, Iva Ljubicic, Kenta Suzuki, Kazuo Okanoya, Ofer Tchernichovski. Statistical learning in songbirds: from self-tutoring to song culture. *Philosophical Transactions of the Royal society B: Biological Sciences*, 査読有, 372, 20160053. 2016. DOI. 10.1098/rstb.2016.0053

Kazutoshi Sasahara, Ofer Thenichovski, Miki Takahasi, Kenta Suzuki, Kazuo Okanoya. A rhythm landscape approach to the developmental dynamics of bird song. *Journal of the Royal Society Interface*, 査読有, 12:20150802, 1-9.

2015. DOI. 10.1098/rsif.2015.0802

〔学会発表〕(計 11 件)

鈴木研太. いきいきサイエンス～脳科学から考える脳とこころの健康～. いきいき大学もろやま, 2017.2.17, 毛呂山町中央公民館, 埼玉.

鈴木研太. 鳥類の脳・遺伝子研究から科学教育、地域社会活動へ - 基礎研究から教育・地域活動への応用を目指して. 第 5 回保健医療科学研究発表会, 2016.10.23, 日本医療科学大学, 埼玉.

鈴木研太. 脳とこころのサイエンス in 越生～ハイキングが脳を変える!? 越生町健康長寿講座, 2016.7.30, 越生町中央公民館, 埼玉.

鈴木研太. 脳とこころのサイエンス PART2～コミュニケーションと脳の健康. 鳩山町地域包括支援センター, 保健センター共催 認知症地域支援推進員設置事業・認知症予防講演会, 2016.7.23, 鳩山町ふれあいセンター, 埼玉.

鈴木研太. 脳とこころのサイエンス～認知症予防に向けて. 鳩山町地域見守り支援ネットワーク代表者会議, 基調講演, 2016.6.29, 鳩山町役場, 埼玉.

鈴木研太. 脳とこころのサイエンス～脳はだまされやすい!? ポジティブ思考で認知症を防ぐ! 鳩山町地域包括支援センター, 保健センター共催 平成 27 年度認知症予防講演会, 2016.3.26, 鳩山町ふれあいセンター, 埼玉.

鈴木研太. 脳とこころのサイエンス「脳は若返る」～動物研究の視点から考える脳の健康～. 第 8 回ヘルシエイジング学会学術集会, 2016.2.28, 持田製薬グループホール, 東京.

鈴木研太, 水原誠子, 小林哲也, 岡ノ谷一夫. 家禽種ジュウシマツと野生種コシジロキンパラにおける産卵、卵形質、卵中コルチコステロンレベルの比較. 第 39 回鳥類内分泌研究会, 2015.11.21-22, 兵庫県立コウノトリの郷公園, 豊岡.

鈴木研太, 木村美紀. 脳とこころのサイエンス-脳は若返る!? 日本医療科学大学一般公開講座, 2015.9.26, 日本医療科学大学, 埼玉.

大谷民雄, 鈴木研太, 小川博. カナリア (*Serinus canaria*) の選抜における轉りに関する研究. 日本家禽学会 2015 年

度秋季大会, 2015.9.9-10, 酪農学園大学, 江別.

Olga Feher, Kenny Smith, Iva Ljubicic, Kenta Suzuki, Kazuo Okanoya, Ofer Tchernichovski. Self-training in zebra finches reveals genetically and enviromantally determined aspects of song. Interdisciplinary Advances in Statistical Learning, 2015.6.25-27, Donostia-San Sebastian, Spain.

〔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

鈴木 研太 (SUZUKI Kenta)
日本医療科学大学・保健医療学部・助教
研究者番号: 60548965

(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

大谷 民雄 (OOTANI Tamio)
進化生物学研究所