

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K13371

研究課題名（和文）情動表出としての雄マウス超音波発声を制御する分子神経基盤

研究課題名（英文）Molecular and neural basis for ultrasonic vocalizations as the emotional expression in male mice

研究代表者

菅野 康太 (Kanno, Kouta)

鹿児島大学・法文教育学域法文学系・准教授

研究者番号：80722470

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：マウスの音声コミュニケーションは、病態モデルの遺伝子改変マウスなどでも解析がなされ、近年注目されている。それにも関わらず、神経メカニズムが不明であるどころか、各発声内容に含まれる「意味」も不明瞭なまま用いられてきた。本研究では、雄マウスの超音波求愛発声が、強い情動表出として生じていることを示した。また、超音波発声は、社会的文脈によって変動するもので、単に新規の環境や個体への興味や注意として表出されるものではないことも示した。さらに、超音波発声を高精度に解析するプログラムを開発し、発声時にリアルタイムで神経活動の解析をする実験系を構築するなど、齧歯類超音波発声の実験・解析技術が確立された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウス超音波発声の発声内容に含まれる「意味」が不明瞭なまま研究に用いられてきたことは、上述の通りである。本研究、もしくは申請者は、これまでに一貫して発声とその内容が示す生物学的意義を研究してきた。このことにより、各病態モデルマウスにおいて、齧歯類超音波発声がどのようなモデルとして有用であるか、議論が可能になっていくと期待している。さらに、高精度な実験・解析手法が蓄積されたことにより、動物実験心理学や神経科学分野の研究者に広く技術を提供することにもつながる。また、本研究は、感情表現にも繋がる情動の表出とそのメカニズムを探るもので、そのような基礎研究の進展に貢献する意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：Vocal communication in mice has attracted numerous research interests in recent years, as it has been analyzed in genetically modified mouse models of disease. Nevertheless, the neural mechanisms are still unclear, and the "meaning" (biological significance) of each vocalization remains unclear. In this study, we showed that ultrasonic courtship vocalizations in male mice occur as a strong emotional expression. In addition, we showed that ultrasonic vocalizations vary depending on social contexts and are not simply expressed as interest in or attention to novel environments or individuals. Besides, we developed a program to analyze ultrasonic vocalizations with high accuracy and established an experimental system to analyze neural activities in real-time during vocalization, thus establishing experimental and analytical techniques for rodent ultrasonic vocalizations.

研究分野：齧歯類社会行動、音声コミュニケーション、行動神経科学

キーワード：音声コミュニケーション 超音波発声 マウス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マウスの音声コミュニケーションは、病態モデルの遺伝子改変マウスなどでも解析がなされ、近年注目されている。それにも関わらず、神経メカニズムが不明であるどころか、各発声内容に含まれる「意味」も不明瞭なまま用いられてきた。しかし、申請者は、個体の性的動機づけの強さに応じて発声回数が増加するとともに、発声内容も複雑化することを見出している。このことは、個体差として観察されるだけでなく、個体内変動としても観察される。つまり、同一個体でもその時々で発声パターンが変化する。申請者はこれまでに、発声の多い個体では脳内報酬系である中脳腹側被蓋野のドーパミン神経が活性化していることを組織学的に確認し、その際、音節が複雑化することを観察している。

2. 研究の目的

(1) 超音波発声の観察と同期した神経活動の操作を可能にする実験系の構築

発声が生じた際に、ドーパミン神経の活動を光遺伝学的に操作し、そのときマウス超音波発声に変化することを観察することで、ドーパミン神経の活動に伴う情動状態の表出であることを示すことを本研究の目的の1つとしている。

(2) 超音波発声を支える分子神経基盤の探索

超音波発声は、雄から雌への発声以外にも、仔が母から離れた際の発声や、雌から雌への発声など、いくつかの文脈が知られている。それら発声は、雄から雌への発声とはその動因が異なると予想されるが、求愛発声ほどはそこに含まれる意味が明瞭に示されてはいない。また、雄マウスの音声と雌マウスの音声の間で、音響的・行動学的な違いがわからないとする報告が2010年代にあったが、しかしこのことが、雄-雌間の発声と雌-雌間の発声の動因が同様であることを示すわけではない。言葉による質問紙調査を出来ない対象に対しては、文脈の違いによる行動の変化、個体差と対応した行動の特徴、各行動と関係する生体分子の発現や生理指標を対応づけることで、メカニズムの推測が可能となる。そこで、このような目的を達成可能な実験系を求め、観察を行う文脈の操作や、病態モデルマウスを用いた発声の各種観察を行うことで、発声に含まれる意義とメカニズムを探索する。

3. 研究の方法

(1) 超音波発声の観察と同期した神経活動の操作を可能にする実験系の構築

申請者らが所有する超音波観察システムは、超音波と動画を同期記録することが可能となっている。そのシステムに対し、光遺伝学での神経活動操作をする実験系を加え、操作のタイミングを同期記録するための接続を行い、実験の記録を可能とする。

(2) 超音波発声を支える分子神経基盤の探索

目的を達成するため、以下の研究を行った

- ① 効率的な超音波解析を可能にする自動解析システムの構築
- ② 社会的文脈を変化させた際の発声の変化
- ③ 病態モデルマウスを用いた解析

4. 研究成果

(1) 超音波発声の観察と同期した神経活動の操作を可能にする実験系の構築

光ファイバーの脳への挿入により、光遺伝学的操作を可能にする装置一式(Doric Lens 社)を導入した。この装置と超音波録音系の接続で問題となったのが、機材間の電圧制御系の違いであった。実験計測機器とオーディオ機器の一般的な仕様の違い(DCかACか)を解消し、接続・同期記録を可能とするために、クロックジェネレータをさらに導入した。その際、光ファイバーを用いて可能となるその他の手法(ファイバーフォトメトリーなど)も今後可

能とするような拡張性も鑑み、配線と制御系統を構築した。これにより、超音波を測定しながら脳機能を解析・計測することが可能となった。しかし、この実験系の構築に時間を要したことにより、仮説検証それ自体を進めることが出来なかった。この検証は、引き続き別の形で進めていくものとする。

(2) 超音波発声を支える分子神経基盤の探索

① 効率的な超音波解析を可能にする自動解析システムの構築

様々な文脈での解析を可能にするため、バックグラウンドノイズに強い自動解析プログラムを共同研究で開発し、公開した (Tachibana et al., 2020 業績参照)。マウスの社会行動を観察するためには、ホームケージに他個体を導入することで観察が必要な場合が多い。その際、ホームケージの床敷や個体同士の接触が音声解析を妨げるノイズとなるが、我々のシステムはこのノイズを問題としない。申請者の知る限り、非常にノイズに強く、正確に音節を特定して記録できる比類ないシステムである。この開発により、解析の時間コストが低減し、長時間録音の解析など、多様な研究への対応が可能となった。

② 社会的文脈を変化させた際の発声の変化

雌同士の発声は、見知った個体よりも新規個体に対する発声の方が多いということは知られていたが、それ以上のことは未だに不明であった。また、雄では、見知った雌と新規雌個体のどちらに多く発声を示すのか、調べられていなかった。そこで、先行研究では数分間だけ対面したことがある個体を用いていたところを、雌雄の対象個体で共にパートナーとなる雌と 1 週間同居させたのちに、パートナーと新規個体、どちらに発声が多いかを調べた。その結果、雌では先行研究と同様に新規個体を提示した際に発声が多かったが、雄ではパートナーに対して発声が多かった。これにより、雄の求愛発声は、性的動機づけの表出ではあるが (Kanno and Kikusui 2018 業績参照)、個体認識によってその量が調節される (単に新規雌に対する興味の強さが表出されたわけではない) ということが分かった (Sasaki et al., 2020 業績参照)。

③ 病態モデルマウスを用いた解析

【a】雄マウスの求愛発声に関して、ナルコレプシー様の脱力発作であるカタプレキシーとの関連を示した (Kuwaki and Kanno 2021 業績参照)。カタプレキシーは、快情動が惹起された際に起こることがヒトと動物で知られているが、カタプレキシーを頻発するオレキシン神経欠損雄マウスにおいて、雌に対しての求愛発声の多さとカタプレキシーの頻度が連動することを発見した。これにより、雄マウス求愛発声が、このモデルマウスでカタプレキシーを生じさせるほどに、強い情動の表出であることが示された。また、オレキシンの欠損は、求愛発声には影響をしないということも、同時に分かったことになる。

【b】マウスの発声は、近年、言語発達の遅れやコミュニケーションに障害が見られる自閉スペクトラム障害 (ASD) のモデルマウスに用いる解析としても注目されている。セロトニン神経系に作用する抗鬱薬である SSRI の妊娠期投薬が子の ASD リスクとして報告されている。そこで、マウスを用いて母親経由の SSRI 飲水投与を行った。その結果、妊娠期と授乳期の長期投与と、授乳期のみでの投与をした際に、仔マウスの超音波発声が低下した。成長後にセロトニン神経の数を中脳背側縫線核で調べたところ、発声が低下した群で減少していることがわかった。このように、ドーパミン神経系と同様に、モノアミン神経系であるセロトニンの関与が示唆された (投稿準備中)。その他、ASD 関連遺伝子として知られる *Auts2* 遺伝子の改変マウスでも音声解析を行い、野生型マウスとの違いを報告しており (Hori et al, 2020 業績参照)、超音波発声の解析を病態モデルマウスに用いる有用性を示すことが出来た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hori Kei, ..., Kanno Kouta, ..., Hoshino Mikio (著者25人中14番目)	4. 巻 23
2. 論文標題 AUTS2 Regulation of Synapses for Proper Synaptic Inputs and Social Communication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101183	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki Eri, Tomita Yui, Kanno Kouta	4. 巻 7
2. 論文標題 Sex differences in vocalizations to familiar or unfamiliar females in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.201529	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kuwaki Tomoyuki, Kanno Kouta	4. 巻 4
2. 論文標題 Sexual excitation induces courtship ultrasonic vocalizations and cataplexy-like behavior in orexin neuron-ablated male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01696-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tachibana Ryosuke O., Kanno Kouta, Okabe Shota, Kobayashi Kohta I., Okanoya Kazuo	4. 巻 15
2. 論文標題 USVSEG: A robust method for segmentation of ultrasonic vocalizations in rodents	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0228907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanno Kouta, Kikusui Takefumi	4. 巻 35
2. 論文標題 Effect of Sociosexual Experience and Aging on Number of Courtship Ultrasonic Vocalizations in Male Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 208 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs170175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 菅野康太	4. 巻 57
2. 論文標題 生物学的視点から見る絆形成の行動科学・心理学：動物,ロボット,想像上の他者	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 行動科学	6. 最初と最後の頁 41 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Ziguo Lan, Kouta Kanno
2. 発表標題 Effects of prenatal and/or postnatal SSRI exposure on vocal behavior in mice
3. 学会等名 日本動物心理学会第80回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 マウスの音声コミュニケーション
3. 学会等名 第72回 日本自律神経学会総会 シンポジウム6「自律神経研究へアプローチする新しい方法論」(招待講演)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 動物心理学におけるマウス超音波発声の今後の可能性
3. 学会等名 日本動物心理学会第79回大会 自由集会「動物行動実験・解析手法の展開」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kouta Kanno
2. 発表標題 Individual differences of courtship ultrasonic vocalizations in male mice
3. 学会等名 生物音響学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 指定討論
3. 学会等名 日本心理学会第82回大会シンポジウム「動物を人の心のモデルとすることの意義」（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 個性を生物学で記述したいけどできるだろうか
3. 学会等名 日仏哲学会プレイヴェント企画「見果てぬ哲学」 第二部「来るべき哲学：提言と討論」（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 情動表出としてのマウス超音波発声およびその個体差
3. 学会等名 日本神経科学大会第41回大会シンポジウム「個性と身体表現の創発に関わる神経機構」(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅野康太
2. 発表標題 マウス音声コミュニケーションの個体差に表現される生物学的意義
3. 学会等名 日本赤ちゃん学会2018 第18回学術集会 自主企画ラウンドテーブル「コミュニケーション発達における多様性と共通性 発達期における情報授受成立の兆し」
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

菅野研究室HP https://cannonolab.com
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------