

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09750

研究課題名（和文）聴覚時間情報処理に関する大脳聴覚野機能の解明

研究課題名（英文）Auditory cortex functions related to auditory temporal information processing

研究代表者

高橋 邦行（Takahashi, Kuniyuki）

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：40452057

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）：音の構成要素のうち、言葉の聞き取りに最も大切と思われる音の時間的変化について研究した。GCaMP6fノックインB6マウスを対象とし、左右大脳聴覚野をシンクロして同時に測定できるin vivoイメージング装置を用い、光学的イメージングを行なった。音のエンベロープの変化をつけるために、刺激音には最も基本的な音である純音を用い、音の立ち上がり（Rise ramp）を0.1msから100msまで変化させた。その結果、大脳聴覚野の2つのサブ領域に、音のRise rampの変化に伴って反応部位が変化するRise ramp mapが存在することを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

言葉の聞き取りに最も重要な要素である音の時間的変化の認識について、大脳聴覚野でどのように処理されているかを研究した。本研究結果により、音の時間的変化は細かな音の変化ではなく、ある程度パターン化して大脳聴覚野において認識されていることがわかった。本結果は、ヒトがどのように言葉を認識しているかを理解できるだけでなく、新たな補聴、聴覚リハビリテーションへと貢献できるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the temporal changes in the components of sound that are most important for speech perception, using optical imaging in GCaMP6f knock-in B6 mice. To change the sound envelope, pure tones, the most basic sound, were used as the stimulus sound, and the rise time (rise ramp) was varied from 0.1 ms to 100 ms. As a result, we found that there was a rise ramp map in two subregions of the auditory cortex, in which the response sites changed as the rise ramp time changed

研究分野：医師薬学

キーワード：大脳聴覚野 マウス イメージング 時間情報処理

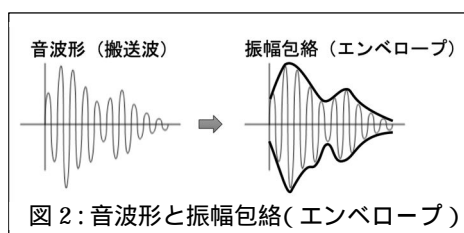
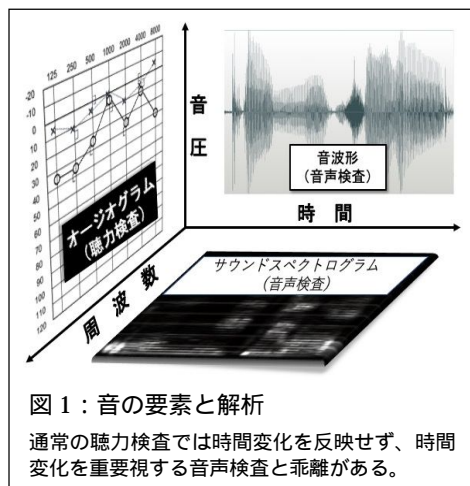
1. 研究開始当初の背景

音の構成要素のうち、言葉の聞き取り（語音認知）には音の時間情報処理が最も大切である。実際、耳鼻咽喉科で行われる純音聴力検査結果（オーディオグラム）で同程度の難聴でも語音認知に個々で差があるのは、時間情報処理が正確に評価されていないためである。これまでの聴覚心理学的研究から、音の時間情報処理は蝸牛で行うことはできず、大脳聴覚野を中心とした聴覚中枢が大きな役割を担っていることがわかっている。マウスのような動物でもヒトと同様の音声コミュニケーション、音声信号処理が行われているとされていることから、大脳聴覚野における音の時間情報処理機能は、種を超えて備わる普遍的なものと考えられる。我々はこれまでマウス大脳聴覚野機能を光学的イメージングで捉え、音の周波数、可塑的变化という点から研究してきた。そこで本研究では、音の時間情報処理という新たな視点から大脳聴覚野機能を解明することで、語音認知のメカニズムの解明とともに、新たな補聴、聴覚リハビリテーションプログラムの開発へ応用できると考えた。

2. 研究の目的

我々が日常感知している音は、音波の振幅の数（周波数）、振幅の大きさ（音圧）で表現される。オーディオグラムは、周波数と音圧の2つの要素で表現されるが、音声分析検査では時間変化に伴う音圧変化（音波形）や、周波数構成変化（サウンドスペクトログラム）が重要視される（図1）。実際にオーディオグラムだけでは表現できない語音認知が不良な例が存在することは、臨床で行われる聴力検査が時間変化を反映できていないためと考えている。

音の時間情報処理には音の振幅包絡（エンベロープ）のパターン化が重要となる。エンベロープとは、搬送波と呼ばれる基本の音波形が時間的に変動する時に、その強度の頂点を結んだ線である（図2）。自然界の音はこのエンベロープがいくつにも重なり合って構成されており、語音認知において重要なのは、エンベロープのパターンをいかに精度よく認知できるかにかかっているとされている。すなわち、本研究の目的は、語音認知の鍵となる音の時間情報処理、パターン化処理が、大脳聴覚野においてどのように行われているかを解明することを目的とした。



3. 研究の方法

(1) 両側同時光学的イメージング法

我々はこれまで行ってきたマウス大脳聴覚野機能を光学的イメージングのひとつであるフラビン蛋白蛍光イメージングを用いて研究してきた。本イメージング法はマウスの頭蓋骨越しに、脳表面に青色励起光(450-490nm)を照射し、神経細胞活動に伴い発せられる緑色蛍光(500-550nm)を捉えることで、動物に侵襲なく神経活動を可視化できる方法である。さらに我々は実体顕微鏡を横向きに2台配置、同時にシンクロさせて撮像することで、両側大脳聴覚野を同時に測定できる装置を開発した（図3）。光学的イメージングは神経活動の広がり、相互関係を見るのに有利な方法であるが、時間分解能が悪く、音の時間的変化の研究には不向きであると思われていたが、本研究で捉える音の変化は、搬送波自体の msec 単位の変化を測定するのではなく、エンベロープ抽出のような大きな時間的変化をパターンとして捉えるものであり、光学的イメージングで

も十分取れ得ることが可能である。

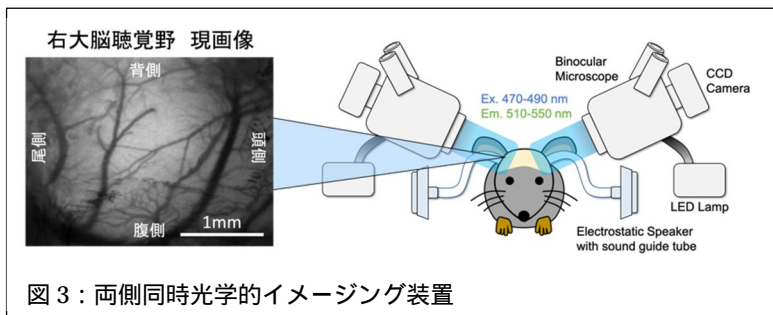


図 3：両側同時光学的イメージング装置

(2) 用いた動物と実験方法

我々はこれまで野生型 B6 マウスを用いて、神経細胞に備わるフラビンの内因性蛍光変化を捉えることで神経活動を可視化してきたが（フラビン蛋白蛍光イメージング）、カルシウム作動型蛋白である GCaMP6f ノックイン B6 マウスを用いることで、フラビン蛋白蛍光イメージングよりも約 10 倍強い蛍光を得ることができるとわかった。また GCaMP6f ノックイン B6 マウスはフラビン蛋白蛍光イメージングと同様の青色励起光を用いて、緑色蛍光を捉えることができることから、これまでの装置をそのまま用いて研究を行なった。動物はウレタン麻酔下、自発呼吸で、頭部に局所麻酔を注射した後に、頭部皮膚を切除し、頭蓋骨を露出させた。マウス頭蓋骨は湿った状態をキープすることで大脳表面が透けて見えるため、頭蓋骨を開頭することなく、イメージングを行なった。B6 マウスは加齢性難聴モデルマウスであることから、8 週以下の若年マウスを基本とし、3 ヶ月齢、6 ヶ月齢、12 ヶ月齢の加齢性変化が生じた後のマウスも用いた。

(3) 音刺激装置、用いた刺激音

音の刺激装置はマウス前方 10cm に置いたオープンスピーカーもしくは、マウス外耳道に留置した導音管から提示した。用いた音は、搬送周波数を固定した（5k, 20k, 40kHz）振幅変調音（AM 音）と共に、搬送波を一定にした純音（搬送波周波数は主に 5k, 20k, 40kHz）を用い、エンベロープの立ち上がり（Rise ramp）をさまざまに変化させた音を用いた（図 4）、音の長さは 1 秒間を基本とした。

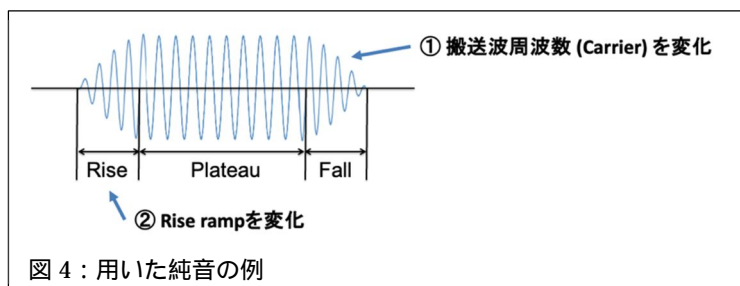


図 4：用いた純音の例

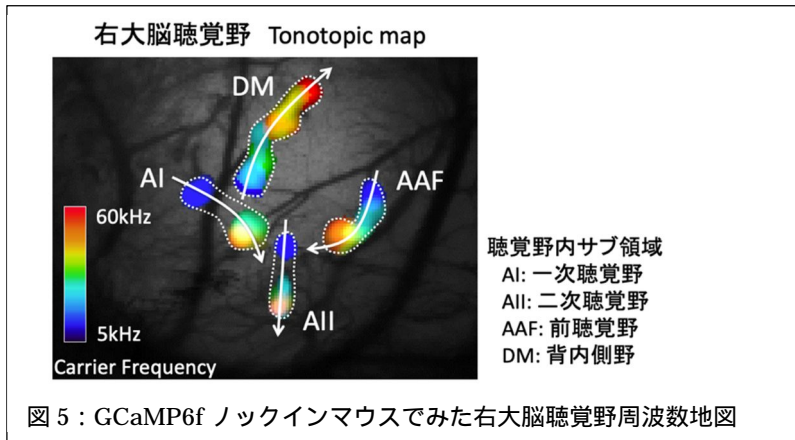
(4) イメージング画像の取得、得られたデータの解析

1 枚の画像の撮影時間は 50ms とし、刺激音が出る 2 秒前、出た 3 秒後までの蛍光変化を、左右の顕微鏡をシンクロさせて連続撮影した。音が出るタイミングより少し前より、音に対する傾向変化を撮像した。撮像した画像は音が出る前の数枚分を平均化したものを分母とし、各画像ごとの蛍光変化を分子にすることで、蛍光強度の変化を計算、疑似カラー化し、反応する部位の比較、検討を行なった。

4. 研究成果

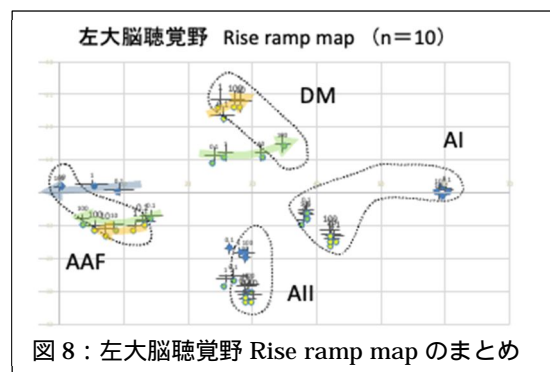
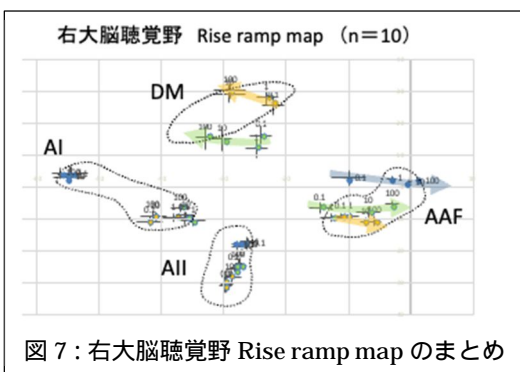
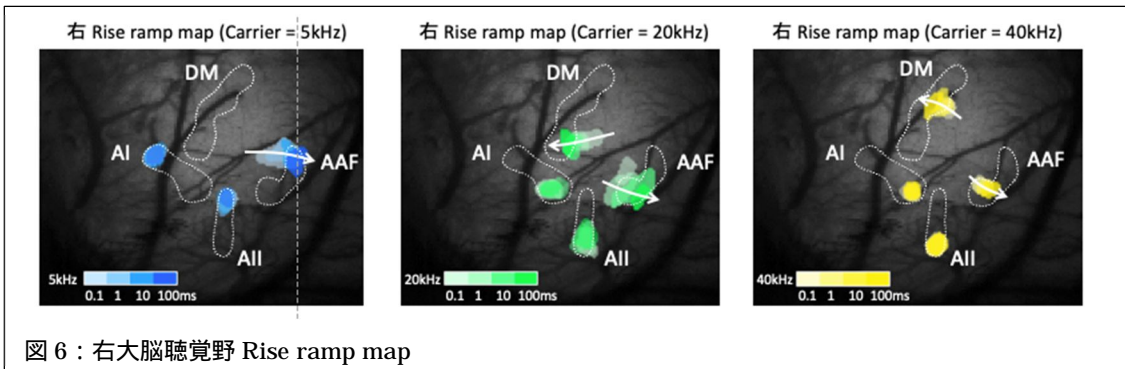
(1) 搬送波周波数の違いによる大脳聴覚野の反応部位

これまでの研究で大脳聴覚野には音の搬送波周波数の違いにより、異なった部位が反応する周波数地図（tonotopic map）があることがわかっており、我々も過去にフラビン蛋白イメージングにより tonotopic map を詳細に報告している。本研究では GCaMP6f ノックインマウスを用いることで、大脳聴覚野内の 4 つのサブ領域に tonotopic map が存在し、さらに精密な解析することができ、少し湾曲した形状を成していることがわかった（図 5）。



(2) Rise ramp の違いによる大脳聴覚野の反応部位

搬送波周波数を 5k, 20k, 40kHz とし、それぞれの音の立ち上がりの長さ (Rise ramp) を、0.1 ~ 100ms に変化させた場合のマウス大脳聴覚野の反応を測定した。その結果、大脳聴覚野サブ領域の前聴覚野 (AAF) 背内側野 (DM) で Rise ramp の違いにより、反応部位がシフト新たなマップ (Rise ramp map) が存在することがわかった (図 6)。これをマウス 10 頭でまとめたデータとして解析すると、Rise ramp map は、AAF と DM ではミラーイメージで、AAF では尾側から吻側方向に、DM ではその逆に存在することがわかった。さらに Rise ramp map は tonotopic map と直交する軸で存在し、左右の大脳聴覚野の map は対照的で、大きな違いはなかった (図 7、8)。



(3) 週齢に伴う変化 (加齢性変化)

加齢性難聴に伴う Tonotopic map、Rise ramp map の変化を見るために、3ヶ月齢、6ヶ月齢、12ヶ月齢の GCaMP6f ノックインマウスを用いて、イメージングを行なった。現在のところ、Rise ramp map において、ramp time が速い反応に変化が生じている可能性を見出しているが、今後の更なる解析が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 郭 天蕊, 山岸 達矢, 八木 千裕, 小木 学, 大島 伸介, 泉 修司, 森田 由香, 高橋 邦行, 堀井 新
2. 発表標題 マウス大脳聴覚野における音の立ち上がりマップ(Rise ramp map)の加齢性変化の解析
3. 学会等名 第33回日本耳科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋 邦行, 郭 天蕊, 山岸 達矢, 小木 学, 大島 伸介, 八木 千裕, 泉 修司, 森田 由香, 堀井 新
2. 発表標題 マウス大脳聴覚野における音の立ち上がり(Rise ramp)マップの左右別, 周波数別の解析
3. 学会等名 第33回日本耳科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋 邦行, 郭 天蕊, 山岸 達矢, 小木 学, 大島 伸介, 八木 千裕, 泉 修司, 森田 由香, 堀井 新
2. 発表標題 マウス大脳聴覚野における音の立ち上がり(Rise ramp)検出メカニズム
3. 学会等名 第68回日本聴覚医学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山岸 達矢, 大島 伸介, 泉 修司, 森田 由香, 高橋 邦行, 堀井 新
2. 発表標題 雄マウスが求愛で発する超音波発声に対する経産雌マウス聴覚野の半球優位性
3. 学会等名 第124回日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山岸 達矢, 大島 伸介, 泉 修司, 森田 由香, 高橋 邦行, 堀井 新
2. 発表標題 マウスの聴覚-視覚連想記憶形成に重要な役割を果たすクラスター型プロトカドヘリン
3. 学会等名 第122回日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------