

機関番号：32612

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21700294

研究課題名（和文） 音声学習臨界期の神経基盤の解明～鳴禽類と小型霊長類の比較から

研究課題名（英文） Study of the neural basis of the critical period for vocal learning by comparison between Bengalese finch and common marmoset

研究代表者

加藤 真樹（KATO MASAKI）

慶應義塾大学・社会学研究科・助教

研究者番号：80345016

研究成果の概要（和文）：

ジュウシマツのヒナを歌刺激から隔離して飼育することで通常よりも歌学習臨界期を延長させることができた。ジュウシマツ cDNA マイクロアレイを用いて隔離飼育個体と通常発達個体の遺伝子発現比較を行ったところ、異なる発現パターンを示す遺伝子を同定することができた。ジュウシマツの歌制御神経核で特異的な発現パターンをしめす可塑性関連遺伝子はコモンマーモセットの脳においても領域特異的な発現パターンを示していた。

研究成果の概要（英文）：

We confirmed that the social isolation caused elongation of the critical period for song learning in Bengalese finch. We could find the candidate genes related to the critical period for song learning in the Bengalese finch brain by comparison between socially isolated juvenile and normal rearing juvenile by using cDNA microarray. The expression patterns of some plasticity-related genes in the common marmoset brain were similar to that of Bengalese finch brain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・認知科学

キーワード：音声学習臨界期・ジュウシマツ・コモンマーモセット・神経科学・CaM キナーゼ

1. 研究開始当初の背景

言語はヒトのみが持つコミュニケーションの方法であり、幼児は発達に伴って自然に母語を獲得していく。しかし大人になってから新たな言語を習得するのは難しい。発達段

階の脳で分子・細胞レベルのダイナミックな変化が起きていることは想像に難くないが、その変化をヒトの脳を用いて調べるのはほぼ不可能である。これまで言語の神経基盤を理解する為のモデルとして、ヒト同様に音声

学習能を持つ数少ない動物種である鳴禽類の歌学習が用いられてきた。鳴禽類の幼鳥が特定の時期に父親のさえずり(歌)を聞いて記憶し(感覚学習)、自分の発声と記憶にある歌を照合する事で誤差を修正し、父親の歌に似せていく過程(感覚運動学習)はヒト幼児の言語発達に良く似ている(Brainard & Doupe, 2002)。鳴禽類の脳には歌学習・発声を司る複数の神経核からなる歌制御系回路が存在し、発声を制御する発声経路と歌学習を司る迂回投射経路からなる。その中でもHVCと呼ばれる神経核は両経路に関与し、さらに聴覚系からの入力を受けていることから、機能的にヒト言語野に相当する感覚運動統合領域として歌学習の重要な機能を担っていると考えられる。申請者はこれまでに約四千種類の遺伝子を搭載したジウシマツcDNA マイクロアレイを開発し、HVCの遺伝子発現プロファイルを行った。その結果、CaMKIIa(神経回路可塑性関連タンパク)の発現レベルがHVCで顕著に低いことを見出した。発達を追って発現を確認したところ、感覚学習期に相当する日齢ではCaMKIIaの発現が確認されたが、感覚学習期が終わる60日齢を過ぎると急激な発現量の低下が確認された。CaMKIIaのノックアウトマウスでは、個体レベルでは記憶学習障害、細胞レベルでは長期増強の障害が認められることから、学習の基礎過程に重要な長期増強に必須な分子と考えられている(Wayman et al., 2008)。これらの知見からHVCで発現しているCaMKIIaが感覚学習期を司る分子の実体である可能性が十分考えられる。音声学習能を持ち、感覚学習に臨界期が存在する共通点を考慮すると、分子レベルでも鳴禽類とヒトで共通のメカニズムが存在する可能性が高い。鳴禽類の脳は機能的に哺乳類との高い相関性が指摘されるが(Jarvis et al., 2005)、解

剖学的にはヒトの脳は層構造なのに対し、鳥類の脳は核構造であり、ヒトとの対応が難しい。コモンマーモセットは、ヒトと同じ霊長類でありながらラット程度の体サイズと繁殖率の高さから、ヒト疾患モデルなど臨床研究の実験動物として最近注目されている。音声レパートリーが多く、複雑な音声コミュニケーションを用いてその社会性を維持している(Pistorio AL, et al., 2006)。音声学習能の有無については明らかになっていないが、発達段階で発声の種類や状況と発声の対応が変化することから、音声に関する何らかの可塑性は持ち合わせていると考えられる。申請者はその多様な音声コミュニケーションに着目し、ヒトの近縁種のモデル動物という視点で本研究に用いる。鳴禽類で得られた知見をコモンマーモセットで検証することで、ヒト言語の神経基盤に迫ることができると確信している。

2. 研究の目的

本研究では、言語を司る分子基盤を解明するために、機能的ヒト脳モデルとして音声学習能を持つ鳴禽類を用い、解剖学的ヒト脳モデルとして多様な音声コミュニケーションと発達した聴覚野を持つ小型霊長類コモンマーモセットを用いて研究を行う。申請者はこれまでの研究で、機能的にヒト言語野に相当する鳴禽類の神経核(HVC)で、記憶・学習に重要な役割を担うCa²⁺/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼII(CaMKII)のサブユニット(CaMKIIa)の発現レベルが感覚学習期の終了を境に急激に減少することを見出した(Kato et al. in prep)。鳴禽類の音声学習にはヒトの言語発達同様に感覚学習の臨界期の存在が知られており、CaMKIIaが感覚学習の分子の実体であることが示唆される。本研究では、鳴禽類の音声の

感覚学習における CaMKIIa の機能を明らかにすることを目的とし、さらに、CaMKIIa やこれまでに鳴禽類で得られている知見と感覚学習との関係性がコモンマーモセットに保存されているか検討する。

3. 研究の方法

(1) 隔離飼育による臨界期の延長と CaMKIIa との関連

生まれてから一度も他のオスの歌を聴かせずに隔離飼育を行うと、成鳥オスと一緒に飼育されたヒナに比べて臨界期（感覚学習期）が延長することが知られている（Eales, 1985）。CaMKIIa が臨界期の分子の実体であれば、臨界期の延長に伴って発現期間が伸びるはずである。隔離飼育個体の各発達段階における CaMKIIa の発現パターンを確認し、通常飼育に比べて CaMKIIa の発現低下のタイミングが遅くなっていれば、臨界期と CaMKIIa の発現レベルに相関があると示唆される。

(2) 感覚学習期のヒナへの CaMKII 阻害剤の投与

CaMKIIa の歌学習への関与を検討するため、各発達段階の HVC に直接 CaM キナーゼ II 阻害剤を注入し、歌学習への影響を検討する。感覚学習期に 2 羽のチューターの歌を聴くと、それぞれの歌の一部を組み込んだ歌をうたうようになることが知られている（Eales, 1985）。この現象を利用し、以下の実験を行う。チューター A と 60 日齢（感覚学習期）まで飼育したヒナの脳に CaM キナーゼ II 阻害剤または溶媒のみを HVC に注入する。その間、チューター A とは異なる歌をうたうオス（チューター B）と一緒に飼育し、投薬終了後はチューターから隔離して飼育を行う。投薬終了後から 24 時間録音を開始し、歌が固定化するまで録音を行う。すべての録音が終了した時点で灌流固定を行い、カニューラの位置の

同定および遺伝子発現の確認を行う。CaMKIIa が感覚学習の分子の実体とすると、感覚学習期に CaM キナーゼ II 阻害剤を注入した場合にのみ歌学習の阻害が起こると期待される。

(3) 感覚学習期関連遺伝子の網羅的探索

上記 1)、2) の実験終了後 HVC を摘出し、申請者が開発したジュウシマツ cDNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行う。各実験のデータを比較し、感覚学習期特異的遺伝子、CaMKIIa の下流に位置する遺伝子を特定する。また、CaMKIIa の阻害実験がうまく進まなかった場合、この遺伝子発現解析により、CaMKIIa 以外の候補遺伝子を得ることができる。

(4) 遺伝子発現パターンによるマーモセットの脳地図作成

これまでに申請者がマイクロアレイ解析により明らかにしたジュウシマツの歌制御系特異的な種々の遺伝子（CaMKIIa を含む）について、マーモセットの脳内でどのような発現パターンを示すか確認する。解剖学的な差異に比べ、細胞レベル、遺伝子レベルの比較では鳥類と霊長類では差がないと考えられるので、ジュウシマツの歌制御系に発現している遺伝子が霊長類の聴覚領域や言語野相当部位でも同様の組み合わせで領域特異的に発現している可能性が期待される。さらに発達段階における遺伝子発現変動についても検討する。

4. 研究成果

本研究では、言語を司る神経基盤を解明するために、機能的ヒト脳モデルとして音声学習をもつ鳴禽類を用い、解剖学的ヒト脳モデルとして小型霊長類コモンマーモセットを

用いて研究を行った。ジュウシマツの脳の歌制御神経核において、歌学習臨界期の終了を境にシナプス可塑性の分子基盤の一つである CaMK2A の発現量が低下することから、CaMK2A が歌学習臨界期の分子実体の一つであると仮定して以下の実験を行った。

(1) 隔離飼育による臨界期操作：生後すぐに他個体から隔離して飼育を行うと臨界期が延長することが知られている。そこでジュウシマツでも隔離飼育を行ったところ、通常飼育下では臨界期が終了している 80 日齢においてもチューターの歌を習得できることが確認できた。

(2) CaM キナーゼ阻害剤による臨界期操作：臨界期中の幼若個体の脳に CaM キナーゼ阻害剤を埋め込み、歌学習への影響を検討した。歌学習が終了する 120 日齢の歌を録音し、チューターの歌との類似性の解析と脳内の阻害剤埋め込み部位の確認を行っている。

(3) 感覚学習期関連遺伝子の網羅的探索：臨界期特異的な発現動態を示す遺伝子を同定するため、cDNA マイクロアレイを用いて、通常飼育個体と隔離飼育個体の各発達段階の脳の遺伝子発現プロファイルを比較した。その結果、通常飼育と隔離飼育で異なる発現パターンを示す遺伝子を複数同定することができた。

(4) 遺伝子発現パターンによるマーモセットの脳地図作成：ジュウシマツの歌制御神経核で発現している遺伝子を中心にそのマーモセットホモログのクローニングを行い、十数種類の遺伝子のクローニングに成功した。これらの遺伝子がマーモセットの脳でどのような発現パターンを示すかについて in situ ハイブリダイゼーション法を用いて解析した。その結果、ジュウシマツの歌神経核で相補的な発現パターンを示す複数の可塑性関連分子がマーモセットの大脳において

も相補的な発現パターンを示していた。現在、各発達段階のマーモセット脳における遺伝子発現解析を行っている。

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3件)

Kato, M., & Okanoya, K. (2010) Molecular characterization of the song control nucleus HVC in Bengalese finch brain, *Brain Research* 1360, 56-76. 査読有り

Kato, M., & Okanoya, K. (2010) The integration of comparative cognitive science and genomics, *The Japanese Journal of Animal Psychology* 60, 9-17. 査読有り

Kato, Y., Kato, M., Hasegawa, T., & Okanoya, K. (2010) Song memory in female birds: neuronal activation suggests phonological coding, *Neuroreport* 21, 404-409. 査読有り

[学会発表](計3件)

加藤真樹、渡辺茂、入来篤史、岡ノ谷一夫(2010年9月4日)コモンマーモセット脳における言語関連遺伝子の発現解析. 第33回日本神経科学大会(Neuro2010)、神戸国際展示場

加藤真樹、渡辺茂、岡ノ谷一夫(2010年1月26日)コモンマーモセット脳における言語関連遺伝子の発現解析. 第6回慶應義塾先端科学技術シンポジウム/第4回人間知性研究センターシンポジウム「こころを生み出す神経基盤の解明」慶應義塾大学

Kato, M., Okanoya, K. (2009/10/4) "Gene Expression changes during song development in the Songbird Brain" 39th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2009) USA Chicago

〔図書〕(計 1件)

西川淳、高橋美樹、加藤真樹、岡ノ谷一夫
(2010)言語起源研究のためのモデル動物：
ジュウシマツ 生体の科学 61, 30-40. 医学
書院

〔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

加藤 真樹 (KATO MASAKI)
慶應義塾大学・社会学研究科・助教
研究者番号：80345016

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：