

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21238

研究課題名（和文）聴覚野から下丘へのフィードバックが音声認知に与える影響

研究課題名（英文）The effects of feedback from the auditory cortex to the inferior colliculus on vocalization cognition

研究代表者

高橋 克匡（Takahashi, Katsumasa）

富山大学・学術研究部医学系・特命助教

研究者番号：40965795

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）： 聴覚野から下丘へ投射する神経細胞を詳細に調査するために、アデノ随伴ウイルスを用いたトレーサー実験と免疫組織化学染色をマウスに対して実施した。その結果、聴覚野では5層と6層に、下丘では中心核以外で強く反応が出ていた。また、聴覚野から下丘までの中間の脳領域として、視床の一部である脚周囲核と、聴覚伝導路の一部である外側毛帯の中間部に陽性細胞が観察された。

他個体の超音波発声（USV）に対するマウスの行動を観察したところ、居住者・侵入者テスト中に追いかけている個体のUSVを提示すると、それを認識し、音源に対して接近行動をとることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで音声認知の神経メカニズムは、末梢において単純な音に反応する広範囲に分散した神経活動を、上行性聴覚伝導路が徐々に不均一化・複雑化させるといった処理で意味を符号化していると考えられてきたが、下行性投射が音声認知に与える影響については不明であった。本研究は、聴覚野から下丘への投射を調査することで、聴覚神経回路のトップダウン制御がコミュニケーション音声認知に与える影響を行動学と電気生理学の両面から検証する最初の研究であり、本成果は聴覚情報処理障害の診断や治療・予防・（リ）ハビリテーションに関する多くの研究領域に、エビデンスに基づく新たな手がかりを提供できる。

研究成果の概要（英文）： To investigate in detail the neurons projecting from the auditory cortex (AC) to the inferior colliculus (IC), tracer experiments using adeno-associated virus and immunohistochemical staining were performed on mice. The results showed that layers 5 and 6 showed strong responses in the AC. In the IC, regions other than the central nucleus showed strong responses. Positive cells were also observed in the peripeduncular nucleus, part of the thalamus, and in the intermediate nucleus of the lateral lemniscus, part of the auditory pathway, as brain regions intermediate between the AC and the IC.

We observed the behavior of mice in response to ultrasonic vocalizations (USVs). When presented with the USV of the individual being chased during the resident-intruder test, they recognized it and took an approach behavior toward the sound source.

研究分野：行動神経科学

キーワード：マウス 聴覚野 下丘 超音波発声

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は外部から受け取る音に対して、その波長の差異から要素を取り分けて、音を意味あるものとして認識している。現在、中脳にある下丘から聴覚野に至るまでの上行性経路が音の分類に重要な役割を持つことが明らかとなっている。

(2) しかし一方で、聴覚野から下丘へのフィードバックが音声認知に与える影響については、ほとんど解明されていない。本研究は、聴覚神経回路のトップダウン制御が、得られた音情報をコミュニケーション音声として認識するために必要なのかを検証する。これらの実験から、音声認知に関わる上行性回路と下行性回路の相互作用を明らかにしたい。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、聴覚神経回路のトップダウン制御が、得られた音情報をコミュニケーション音声として認識するために必要なのかを明らかにすることである。我々は外部から受け取る音に対して、その波長の差異から要素を取り分けて、音を意味あるものとして認識している。現在、中脳にある下丘から聴覚野に至るまでの上行性経路が音の分類に重要な役割を持つことが明らかとなっている。しかし逆に、聴覚野から下丘へのフィードバックが音声認知に与える影響については、ほとんど解明されていない。本研究計画は、まずコミュニケーション音声の弁別を行動学的に検出する系を構築し、聴覚野から下丘への投射を特異的に抑制したときのコミュニケーション音声に対する神経活動の変化及び弁別能、行動の変化を計測・分析する。これらの実験から、音声認知に関わる上行性回路と下行性回路の相互作用を明らかにしたい。

3. 研究の方法

(1) まず、コミュニケーション音声弁別課題を作成する。聴覚異常が生じない CBA/J のマウスに対し、事前に録音していた他個体のコミュニケーション中の USV と、その USV の時間軸上での逆再生を異なる部屋から流し、各部屋の滞在時間やスピーカーへの接近を計測する。USV を認識できれば、逆再生ではなくコミュニケーション音声を選ぶという仮定の下、本課題を作成する。聴覚野から下丘への投射は主に下丘の背側皮質を中心に下丘全体に広がり、聴覚野の活動制御によって多くの下丘ニューロンの活動性が変化することが知られる。そこで、これらの領域に購入した多チャンネル電極を刺入し、行動課題で呈示したコミュニケーション音声とその逆再生、さらに原音と同じスペクトルのフィルタをかけたノイズの3つの条件で多数の神経細胞からユニット活動を同時に記録する。これらの音はスペクトル上同一だが時間変化に違いがあることから、音声認知に必要な、下丘に存在する時間変化検出細胞では違いを神経活動レベルで弁別可能なのである。そこで、個々の細胞のそれぞれの音に対する活動、つまり神経符号化を明らかにする。

(2) 次に、下行性投射の選択的制御によって下丘の音の符号化にどのような影響があるか調べる。retro AAV-Cre を下丘へ、AAV-DIO-ArchT を聴覚野へ注入する。この方法を用いることで、下丘に投射しているニューロンが Cre を発現し、Cre を発現する細胞でのみ ArchT が発現し、光刺激に対して神経活動が抑制される。これによって下丘への下行性投射に関与する細胞のみの活動を抑制し、上記3種類の音に対する神経符号化にどのような影響が生じるか、特にデコーダーの分類性能に対する影響を調べる。下行性投射の機能が乱によってデコーダーによる音分類機能が低下することを予測している。

(3) 最後に、電気生理で同定された下丘でコミュニケーション音声に反応している神経細胞が、実際に音声認知に関わっているか検証するため、遺伝化学的手法を用いてその活動を抑制する。retro AAV-Cre を下丘へ、AAV-DIO-hM4Di を聴覚野へ注入する。これによって下丘への下行性投射に関与する細胞のみの活動を抑制することができ、聴覚野全体を制御する場合と比べ、聴覚野の正常活動が保持されると考える。弁別課題を行い、課題開始の30分前に、デザイナー受容体にのみ作用する Compound 21 を投与することで hM4Di が活性化し、発現神経細胞が抑制される。これに伴う行動変化を観察する。

4. 研究成果

(1) マウスに対して、同系統他個体の USV がどのような影響を与えるのかを検証するため、2匹のマウスのコミュニケーション中の USV を録音した。従来通りの方法では、どちらの個体が発した USV なのかが不明であるため、Matsumoto ら (2022) が開発した USVCAM システムを使用して、複数のマイクとカメラのデータから USV の音源を推定、USV と個体を結びつけることに成功し

た。得られた USV データを各個体の行動ごとに分類し、実験で使った。対象となる雄マウスはオープンフィールドの中心に置かれ、壁の一部から USV が流れたときの行動を観察された。その結果、居住者 侵入者テスト中に追いかけている個体の USV を提示すると、その音源に対して接近行動をとることがわかり、この USV を加工したフィルターノイズや、追いかけている個体の USV には、そのような行動は観察されなかった (図 1)。

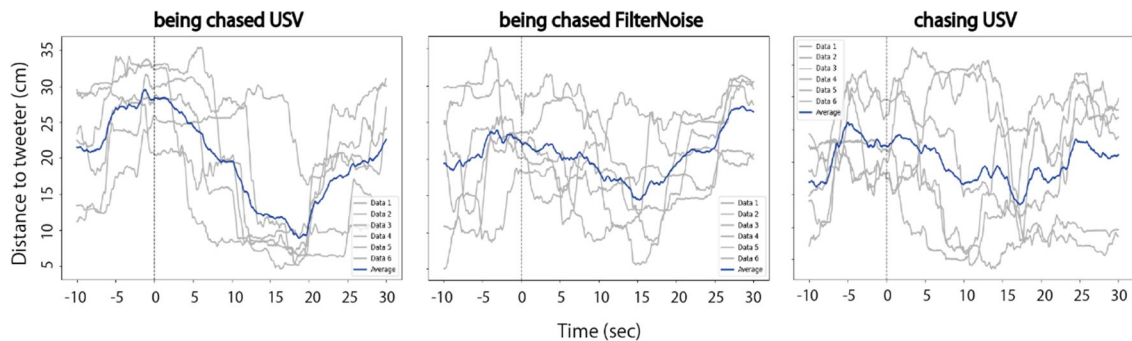


図 1. USV 提示後 30 秒間のマウスと音源までの距離

行動ごとに分類した USV に関しても、得られたシラブルの長さや複雑さといった指標で比較した。追いかけている個体の USV と追いかけている個体の USV では、シラブルの複雑さには差が見られなかったが、長さでは、追いかけている個体のシラブルが 25ms のところ、追いかけている個体のシラブルは 40ms ほどであり、違いが見られた。

(2) 聴覚野から下丘への投射について、トレーサー実験と免疫組織化学染色を行った。聴覚野の様々な領域に経シナプス性のトレーサーである AAV1-Cre GFP を注入し、下丘に逆行性 AAV DIO-mCherry と CTB を打った。これにより、聴覚野のインジェクションサイトを GFP で、下丘に投射する神経を CTB で、聴覚野から投射を受け、下丘に投射する神経細胞を mCherry で標識できた。

まず、mCherry を DAB 染色で染め、ニュートラルレッドで対比染色した。mCherry は、インジェクションサイトである聴覚野では 5 層と 6 層に、下丘では中心核以外で強く出ており、先行研究と一致する (Nathiya et al., 2021)。また、聴覚野から下丘までの中間の脳領域として、視床の一部である脚周囲核と、聴覚伝導路の一部である外側毛帯の中間部に mCherry 陽性細胞が観察された。

蛍光によって GFP や CTB、NeuN も同時に観察したところ、聴覚野から下丘への直接投射だけでなく、聴覚野から別の聴覚野の下位領域を介して下丘に情報を伝えることが示唆された。

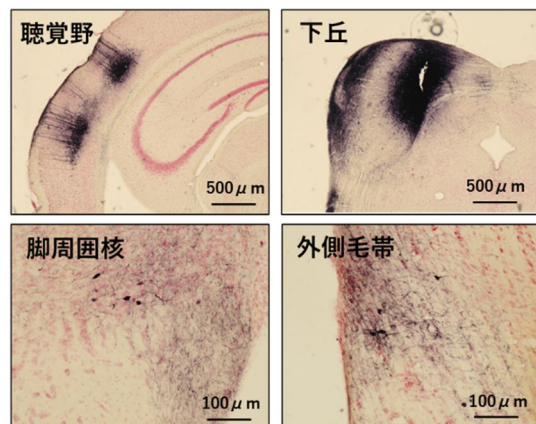


図 2 mCherry 陽性細胞が発現した領域の明視野写真

(3) USV に対する下丘の電気生理記録に関しては、装置のセットアップを完了させ、neuropixels probe を使用することで、384ch で記録することが可能となった。また、光遺伝学的手法と組み合わせるため、生理記録と光刺激と同期させる仕組みも運用可能となり、現在、下丘へ投射する聴覚野の神経細胞に ArchT を発現させて神経活動を抑制しながら、様々な USV 提示時の電気生理活動を取りつつ、解析を行っている。

<引用文献>

- Matsumoto J, Kanno K, Kato M, Nishimaru H, Setogawa T, Chinzorig C, Shibata T, Nishijo H (2022) Acoustic camera system for measuring ultrasound communication in mice. *iScience*
- Nathiya Vaithiyalingam Chandra Sekaran, Meena S Deshpande, Baher A Ibrahim, Gang Xiao, Yoshitaka Shinagawa, Daniel A Llano (2021) Patterns of Unilateral and Bilateral Projections From Layers 5 and 6 of the Auditory Cortex to the Inferior Colliculus in Mouse. *Frontiers in Systems Neuroscience*

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1．発表者名 高橋 克匡，盛田 陸，伊藤 哲史
2．発表標題 同系統マウスの超音波発声と人工音に対する雄マウスの反応行動
3．学会等名 第46回日本神経科学大会
4．発表年 2023年

1．発表者名 Katsumasa Takahashi, Tetsufumi Ito
2．発表標題 BEHAVIOR OF MALE MICE ON CONSPECIFIC ULTRASONIC VOCALIZATION PRESENTED WITH ARTIFICIAL SOUNDS
3．学会等名 11th IBRO World Congress of Neuroscience（国際学会）
4．発表年 2023年

1．発表者名 盛田 陸，高橋 克匡，長谷 一磨，宮島 拓海，伊藤 哲史
2．発表標題 コミュニケーション音声による聴性脳幹反応の特徴
3．学会等名 日本音響学会 聴覚研究会
4．発表年 2024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
---------	---------