

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 4日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23653220

研究課題名（和文） マウス超音波歌をモデルとした発声時系列制御の機構解明

 研究課題名（英文） Ultra-sonic songs in mice:
functional analysis of vocal control mechanisms

研究代表者

岡ノ谷 一夫（OKANOYA KAZUO）

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：30211121

研究成果の概要（和文）：雄マウスの超音波求愛歌を対象とし、発声時系列制御が聴覚フィードバックおよび動機付けとどう関連するのかを研究した。通常マウスおよび遺伝子改変マウスを用いて聴覚と発声の関連を調べ、また、扁桃体の損傷によって歌に生ずる変化を調べた。結果、カドヘリン6ノックアウトマウスにおいて歌の周波数が高くなるが、聴覚には変化は生じていなかった。また、扁桃体の損傷により求愛歌のうち複雑な歌要素が欠落することがわかった。

研究成果の概要（英文）：We studied the mechanisms of vocal production in ultra-sonic songs in male mice in relation to auditory feedback and motivation. We measured the relationship between vocal production and auditory sensitivity in normal and genetically modified mice. We also lesioned amygdala to see the effects in song production. In cadherin-6 knockout mice, the pitch increased in mating songs but there were no changes in auditory sensitivity. In amygdala lesioned mice complex elements were disappeared.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：マウス、求愛歌、聴覚、発声、性行動、扁桃体

1. 研究開始当初の背景

B6 野生型オスマウスが超音波帯域で複雑な歌要素からなる求愛の歌をうたうことが2005年に発見され、発声学習の哺乳類モデルとして注目された。しかし私たちは2010年に、異なる歌をうたう系統間で仔を入れ替える実験を行い、歌の構造は学習的要因よりも遺伝的要因が強く影響することを明らかにした。この発見により、マウスの歌は発声の時系列制御を遺伝的レベルで研究する上で

有用なモデルとなることが判明した。

2. 研究の目的

本研究は遺伝子操作や脳部位損傷などの手法を用いて、発声の時系列制御の解明を目指す。

(1) 脳で発現する遺伝子を改変したさまざまな系統のマウスについて発声の分析と聴覚測定を行い、求愛歌の時系列制御モデルを

作る。

(2) B6 野生型マウスに脳の局所損傷や薬物投与を行い、発声制御に関与する脳領域、神経回路を同定するとともに、モデルの妥当性を検討する。

3. 研究の方法

(1) 発声の制御に関わると予想される遺伝子を操作したマウスや、その構造に変異のあるマウスの系統を集めた。集めた系統について求愛歌を超音波録音装置により録音し、音響分析・時系列解析を行った。また、歌の周波数構成とマウスの聴覚特性との対応関係を、聴性誘発電位を測定して検討した。

(2) 野生型マウスを対象に発声に関与すると予想される脳領域の局所損傷実験を行い、音響分析・時系列解析を行った。特定した脳領域から求愛歌における発声制御回路を明確にした。

4. 研究成果

(1) 遺伝子改変・変異マウスにおける発声制御

他研究機関と協力体制を築き、遺伝子改変マウス（カドヘリン6 ノックアウトマウス、Cad6K0）やメラトニン合成能を持つマウス（メラトニン合成マウス、メラトニン前駆体合成マウス）を入手した。

Cad6K0 マウス入手後、その発声の音響学的特性を調べた。その結果、Cad6K0 マウスのアイソレーションコールや求愛歌は野生型マウスに比べて優位に高い周波数帯域の発声であることがわかった（図1、2）。また、Cad6K0 マウスはアイソレーションコールと求愛歌においてそれぞれ異なる歌構造を持つことが明らかとなった。しかし、これらの

周波数帯域の違いや発声レパートリーの違いはオス同士の攻撃行動時の発声においては観察されなかった。したがって、Cad6K0 マウスの発声異常は単なる発声器官周囲の障害ではないことが示された。この成果はすでに国際的学術誌に受理・掲載されている（Nakagawa, Matsunaga & Okanoya, 2012）。しかし、聴覚障害を持つマウスで発声のピッチが高くなる知見があるため、Cad6K0 マウスでも聴覚障害が疑われる。そこで脳幹聴性誘発電位を測定することで、Cad6K0 マウスの聴覚特性を検討する必要がある。現在までのところ、脳幹聴性誘発電位の手法を確立し、Cad6K0 マウスが野生型マウスと同様な聴覚特性を持つことを示唆するデータが得られている。

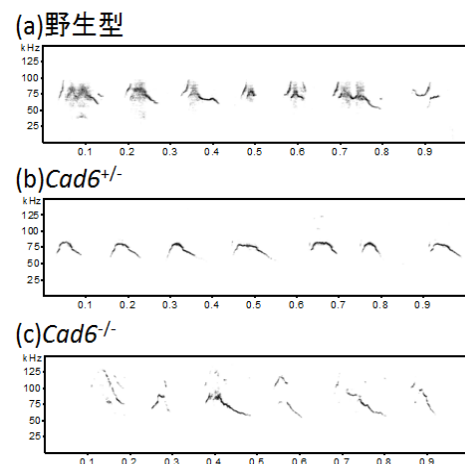


図1 B6 野生型マウス (a) とカドヘリンヘテロノックアウトマウス (b)、カドヘリンホモノックアウトマウス (c) の求愛歌

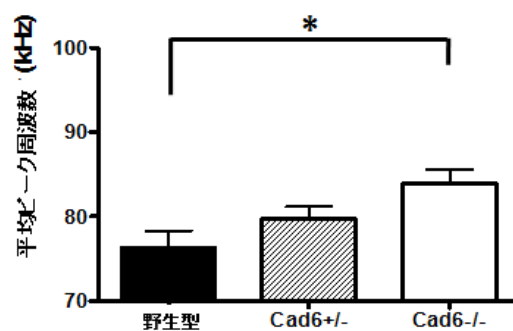


図2 平均ピーク周波数

この成果からカドヘリン6はマウスの超音波帯域の発声制御において重要な役割を持つことが示され、ヒトの発話制御と遺伝的障害について検討するための貴重な知見となるだろう。また、マウスの遺伝的レベルの発声制御研究はヒトの発話における分子基盤解明のための重要な手法となるだろう。今後はエレクトロポレーションやウイルスベクターを使ったノックダウンなどの手法を用いて、歌に関連する脳領域や神経回路の同定を行っていく予定である。

さらに現在は、遺伝子改変マウスのみではなく、野生型マウスとは異なるホルモン合成能をもったメラトニン合成マウス、メラトニン前駆体合成マウスを入手し、その発声の特徴と聴覚との対応関係について検討を続けている。この研究から、マウスの発声制御に関わる内分泌系の役割解明を目指す。

(2) 辺縁系の損傷によるマウスの歌の変性

マウスの求愛歌が動機づけによりどのように制御されているのかを知るため、野生型B6マウスを用いて、扁桃体損傷の影響を調べた。損傷後の求愛歌において、複雑な構造を持った歌要素が脱落し、単純な歌要素が多くの割合を占めた(図3)。

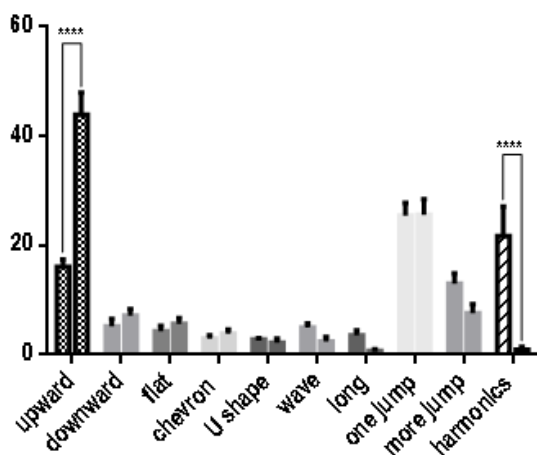


図3 扁桃体損傷したマウスの各発声レパートリーの手術前後の割合変化(求愛歌)

扁桃体全体を損傷したマウスは野生型マウスと同様に匂い嗅ぎ行動や追跡行動を行うものの、マウント行動などの交尾行動には至らないケースが多かった。複雑な歌要素はマウント行動時に多く出現することから、交尾行動に対する動機づけの変化によって複雑な歌要素の減少につながったと推測される。これに対し、単純な歌要素は匂い嗅ぎ行動や追跡行動など初期の求愛行動時に多く観察される。扁桃体損傷マウスは不安様行動が非常に少なく、探索的行動を多く示す。そのため、求愛時の行動においてもメスに対する探索行動への動機付け変化により、探索行動とともに単純な歌要素が増加したと考えられる。

本研究はマウスの求愛時の発声が動機づけによって変化することを示した。さらにそのような発声制御には扁桃体を経由する二つもしくはそれ以上の発声制御経路が存在し、生得的な歌構造を修飾することが示唆された。

このような哺乳類の音声コミュニケーションにおける神経制御の研究は、ヒトの発話の神経制御の解明やコミュニケーション障害において有用なモデルとなるだろう。マウスの発声制御における神経基盤を確立するため、今後はより詳細な行動学的・神経学的研究を行う必要がある。現在は、扁桃体の主な出力核を損傷することにより、上述の結果がどのような経路で制御されているのかを検討している。また、自由行動下における神経活動を電気生理的手法により計測し、実際の発声制御を実時間で観測することを計画している。

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2件) 査読有

- 1) Matsumoto, YK., Okanoya, K., & Seki, Y. (2012). Effects of amygdala lesions on male mouse ultrasonic vocalizations and copulatory behaviour. *Neuroreport*, **23(11)**, 676-680. DOI:10.1097/WNR.0b013e3283557eea
- 2) Nakagawa, R., Matsunaga, E., & Okanoya K. (2012). Defects in ultrasonic vocalization of cadherin-6 knockout mice. *PLoS One*, **7(11)**:e49233. doi:10.1371/journal.pone.0049233.

[学会発表] (計4件)

- 1) 松本結、関義正、岡ノ谷一夫. 「C57BL/6マウスの求愛歌に及ぼす扁桃体損傷の効果」. 日本動物心理学会第72回大会、2012/5/12-13、西宮市、兵庫.
- 2) 結城笙子、松本結、関義正、岡ノ谷一夫. 「オペラント学習の進捗指標としてのラット超音波発声」. 日本動物心理学会第72回大会、2012/5/12-13、西宮市、兵庫.
- 3) Yui Matsumoto, Kazuo Okanoya, Yoshimasa Seki. "Amygdala lesion affects ultrasonic courtship vocalization in male mice". Workshop on Mouse Ultrasonic Communication. Paris, France, 2012/4/13-17,
- 4) 仲川涼子、松永英治、岡ノ谷一夫. 「マウスの発声行動におけるカドヘリン6の役割」. *Animal2011*、2011/9/8-11、東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡ノ谷 一夫 (OKANOYA KAZUO)
東京大学・大学院総合文化研究科・教授
研究者番号：30211121

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし