

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700317

研究課題名(和文) 音声コミュニケーションを司る神経基盤の解明～臨界期とその分子の実体を探る

研究課題名(英文) Study of the neural basis of vocal communications by molecular biological approaches for critical period.

研究代表者

加藤 真樹 (Kato, Masaki)

北海道大学・創成研究機構・特任助教

研究者番号：80345016

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：ジュウシマツのオスの幼鳥に隔離飼育やジアゼパム処理を行うことによって歌学習臨界期を変化させることができたが、HVCにおける可塑性関連遺伝子の発現パターンには変化がなかった。そこで、cDNAマイクロアレイを用いてこれらの臨界期操作を行った個体のHVCにおける遺伝子発現解析を行ったところ、いくつかの遺伝子の発現量に変化が認められた。また、コモンマーモセットの脳における言語関連遺伝子の発現パターンを調べたところ、聴覚・視覚・運動制御に関する領域で発現が重なっていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We confirmed that the diazepam administration or social isolation affected the critical period for song learning in Bengalese finches, but the expression patterns of plasticity-related genes in the HVC were not changed. On the other hand, candidate genes related to the critical period for song learning were found in the Bengalese finch brain by using cDNA microarray. We found the language-related genes displayed overlapping expression patterns in the ocular, auditory, and motor systems in the common marmoset brain.

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 マイクロアレイ ジュウシマツ 遺伝子発現 言語 鳴禽類 さえずり

## 1. 研究開始当初の背景

申請者はヒト言語の生物学的基盤を探るモデル動物として、鳴禽類であるジュウシマツを用いた解析を行ってきた。ジュウシマツのオスはメスに対して求愛の歌をうたい、その歌は父親から学ぶことが知られている。歌学習には父親の歌を聞いて学ぶ時期（感覚学習期）と、その後実際にうたってみて、記憶にある歌の鋳型との照合を行う時期（感覚運動学習期）がある。感覚学習期を過ぎると新しい歌を学ぶことができなくなることから、歌学習には臨界期の存在が示唆されている。これはヒト幼児の発達における母語の獲得に臨界期の存在が示唆されているのと良く似ている。

鳴禽類の脳には歌の学習や発声に必要な神経核が複数存在し、それらの神経核が歌学習と発声に必要な歌制御回路を形成している。申請者は歌神経核の一つで、感覚学習経路にも運動学習経路にも属する歌神経核（HVC）における遺伝子発現解析を自作のジュウシマツ cDNA マイクロアレイを用いて行い、HVC で強く発現する遺伝子群、HVC で発現が低い遺伝子群を同定した。それらの遺伝子の発達における発現動態を調べたところ、HVC における可塑性関連分子（CaM キナーゼ II サブユニット：CaMKIIa）の発現が発達を追って減少していることを見出した。CaMKIIa は記憶・学習に重要な長期増強（LTP）に必須の分子であり、シナプス可塑性を担う主要分子として知られている。一方で、GABA 作動性の抑制性介在神経のマーカー遺伝子（Parvalbumin）の発現が発達を追って増加することも見出した。GABA 作動性の介在神経は GABA を神経伝達物質として放出し、シナプスを形成している神経細胞の興奮を抑制する。これまでにマウスの眼優位性の臨界期と GABA による抑制機序との関連が報告されており、歌学習臨界期に

においても抑制性神経細胞が重要な機能を持つ可能性も考えられる。これらの遺伝子の発現動態と、歌学習の臨界期の時期が一致していることから、音声学習の臨界期にはこれらの遺伝子が関与している可能性が示唆される。鳴禽類の脳は哺乳類の脳と異なり皮質 6 層構造ではなく核構造であることから、解剖学的にヒトの脳と比較することが難しい。そこで本研究では小型霊長類のコモンマーモセットを解剖学的モデルとして用いる。コモンマーモセットは様々な音声を用いてコミュニケーションをはかることが知られている。また、脳は霊長類特有の形態を有しており、ヒト脳との比較が容易である。音声学習能についてはまだ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。実際に、人工哺育により数カ月間隔離飼育された後に集団に戻されたマーモセットは、同腹の通常飼育個体と比較すると幼児期の発声を成体になっても発するなど、文脈と発声の対応関係に違いが観察される（加藤私見）。これは発声の種類と意味との対応を学習している可能性と共に、その臨界期の存在が示唆される。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かと確信している。

## 2. 研究の目的

1) ジュウシマツの歌学習臨界期を人為的に操作することにより、可塑性関連分子 CaMKIIa と抑制性神経のマーカーである Parvalbumin の発現パターンへの影響を検討する。隔離飼育によって臨界期が伸びるという現象が報告されていることから、

隔離飼育個体における CaMKIIa の発現パターンを調べ、感覚学習期と CaMKIIa の関連を明らかにする。同様に、CaMKIIa および抑制性介在神経の作用を人為的に操作し、歌学習への影響を検討する。発達段階の発現パターンから、HVC の可塑性は 60 日齢前後を境に急激に低下し、外部からの新たな歌の情報が入力されても学習は行われなると考えられる。そこで、CaMKIIa を標的とする CaM キナーゼ II 阻害剤を感覚学習期の HVC に局所投与し、歌学習への影響を検討する。また、臨界期直前のヒナにジアゼパムを投与し、抑制性神経の伝達物質である GABA に対する受容体の感受性を増強させることにより、歌学習にどのような影響がでるのか、また CaMKIIa の発現にも影響を与えるのかについて検討を行う。

2) ジュウシマツの実験で得られた知見をコモンマーモセット脳で確認する。具体的には、CaMKIIa および Parvalbumin がマーモセット脳でどのような発現パターンを示すか発達を追って確認する。また、人工哺育個体と通常飼育個体の音声解析を行い、その違いを明らかにする。さらに、コモンマーモセットの音声学習能、および文脈依存的な発声を学ぶ臨界期の有無を検討するために完全隔離飼育を行い、通常飼育個体との行動、発声の比較を行い、最終的には脳内の遺伝子発現パターン等の変化を検討し、解剖学的な解析を行う。

### 3. 研究の方法

ジュウシマツの発達段階における歌神経核 (HVC) の CaMKIIa の発現低下と Parvalbumin の発現上昇 (介在神経の分化) が歌学習の臨界期を規定するメカニズムであると仮定し、歌学習臨界期の人為的操作を行い、これらの遺伝子の発現変動との関連を検討する。

1) 発達初期から隔離飼育を行う事で臨界期を延長させ、その際の遺伝子発現を検討する。

2) 介在神経の神経伝達物質である GABA の感受性を上げる薬剤 (ジアゼパム) を投与することで臨界期を早く閉じるように操作し、その際の遺伝子発現を通常発達個体と比較する。

3) CaMKIIa の阻害剤を臨界期終了前に歌制御神経核に埋め込み、その後 2nd tutor の歌を聞かせ、歌の変化を検証する。

4) これらの遺伝子が発達段階のマーモセットの脳、および人工哺育、隔離飼育でどのような発現パターンを示すか比較する。

### 4. 研究成果

本研究では、ヒト言語 (母語) 獲得の神経基盤を解明するために、臨界期に着目して研究を行った。機能的ヒト脳モデルとして音声学習臨界期の存在が知られる鳴禽類を用い、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実験を行った。

1) ジアゼパム投与個体における可塑性関連分子の発現解析: これまでの実験で、ジアゼパムを臨界期直前に投与することで歌学習臨界期の短縮が認められたため、歌制御神経核における可塑性関連分子の発現変化を *in situ* ハイブリダイゼーションにより検討した。その結果、着目していた遺伝子の発現に変化が認められなかったことから、ジアゼパムによる臨界期の変化と可塑性関連分子の転写制御は独立のメカニズムである可能性が示唆された。

2) CaMKIIa 阻害剤投与による歌学習への影響: CaMKIIa の歌学習への関与を検討するため、臨界期中の 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したところ、歌の学習に関してコントロ

ール個体との差が認められなかった。

3) cDNA マイクロアレイを用いた臨界期操作により変動する遺伝子群の探索：隔離飼育とジアゼパムによる臨界期の変化と、予想していた可塑性関連分子の転写レベルでの変化が一致しなかったことから、臨界期操作によって変動する遺伝子の探索を行ったところ、数十種類の遺伝子の発現変動が認められた。

4) マーモセット脳における遺伝子発現比較：発達段階のマーモセットの脳の収集を行い、可塑性関連遺伝子や言語関連遺伝子の in situ ハイブリダイゼーションを行った。言語関連遺伝子の発現パターンについては発話障害関連遺伝子と読字障害関連遺伝子の発現パターンを解析し、これらの遺伝子が聴覚経路や視覚経路、運動調節領域において重複した発現パターンを示すことを明らかにした。

#### 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)

Kato M, Okanoya K, Koike T, Sasaki E, Okano H, Watanabe S, Iriki A. Human speech- and reading-related genes display partially overlapping expression patterns in the marmoset brain. *Brain and language* 133C 26-38 (2014) 査読有

Kato Y, Kato M, Okanoya K. Sequential information of self-produced song is represented in the auditory areas in male Bengalese finches. *Neuroreport* 23 488-492 (2012) 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

Kato, M., Okanoya, K., Koike, T., Watanabe, S., Iriki, A. (2012) “Gene expression analysis of language-related genes in the common marmoset brain” The 4th Biennial Symposium on Brain and Mind Research in the Asia-Pacific (APRU\*1-BMAP 2012) August 30-31 2012, North Hall, Mita Campus, Keio University, Tokyo, Japan.

Kato, M., Okanoya, K., Koike, T.,

Watanabe, S., Iriki, A. (2012) “Gene expression analysis of language-related genes in the common marmoset brain” *Frontiers in Biomedical Researches on Marmosets as a Primate Model Organized by Japan Society for Marmoset Research (JSMR)* February 20-21 2012, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

Kato, M., Okanoya, K., Koike, T., Watanabe, S., Iriki, A. (2012) “Expression analysis of language-related genes in the common marmoset brain” *The Evolution of Language: the 9th International Conference (EVOLANG9)* March 13-16 2012, Campus Plaza Kyoto, Kyoto, Japan.

Kato, M., Okanoya, K., Watanabe, S., Iriki, A. (2011) “Gene expression analysis of language-related genes in the common marmoset brain” *41th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2011)* November 14, Walter E. Washington Convention Center, Washington, DC, USA.

〔図書〕(計 0 件)

〔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)

北海道大学・創成研究機構・特任助教  
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：