

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500403

研究課題名(和文) 音声発達の臨界期を制御する神経メカニズムの解明

研究課題名(英文) Neuronal Mechanism of the critical period of bird song learning

研究代表者

杉山 陽子(矢崎陽子)(Yazaki-Sugiyama, Yoko)

沖縄科学技術大学院大学・臨界期の神経メカニズム研究ユニット・准教授

研究者番号：00317512

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はキンカチョウの歌学習をモデルとして用い、音声発達の臨界期の神経メカニズムを明らかにすることを目的とした。特に、この時期の聴覚経験が脳内の神経回路形成にどのような影響を与えるのか、電気生理学的手法を用いて明らかにした。その結果、終脳の聴覚関連領域になる神経細胞の一部が覚えた歌に特異的な聴覚応答を示すようになること、この特異的な聴覚応答は、聴覚関連領域のGABA抑制性伝達を阻害することにより小さくなること明らかになった。つまり幼少期の聴覚経験により、聴覚関連領域内の抑制性回路が補充されることにより親の歌に対する記憶の形成であることが考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study we have investigated how early auditory experience shapes the neuronal circuits during the zebra finch bird song learning. We recorded the auditory neuronal responses to varieties of song stimulation, before, during and after sensory song learning, and found that a subset of neurons secondary auditory cortex become to show exclusive responses to learned father songs. Moreover neurons decreased selectivity to the learned song by blocking of GABA inhibitory circuit by local injection of GABA receptor antagonist, gabazine. Those suggest early auditory experience in the developmental critical period recruits GABA inhibitory circuits in the auditory association cortex, which lead to sparse memory auditory father experience. formed in a subset of neurons.

研究分野：神経生物学

キーワード：歌学習 臨界期 経験依存的可塑性

1. 研究開始当初の背景

外国語やスポーツの習得などは幼少期の方が容易であるが、これは生後発達の特定の時期「臨界期」には感覚刺激に依存して脳内の神経回路が積極的に形成、修飾されるためと言われている。ヒトの言語発達と同様、歌を鳴くトリであるソングバードは臨界期に発声パターンである「歌」を自身の聴覚経験から学習する。「臨界期」の存在は様々な種類の動物、システムで知られているが、臨界期形成の神経メカニズムの研究はマウスの眼優位可塑性の研究が先駆的であり、その臨界期の時期は脳視覚野の GABA 抑制性細胞の成熟により決定することが明らかになっている (Hensch et al 1998, Fagiolini & Hensch 2000)。一方でキンカチョウの歌学習については臨界期の可塑性 (学習メカニズム) の研究は多くあるが、キンカチョウが臨界期にのみ歌を学習することは周知のことであるにも関わらず臨界期を制御する神経メカニズムの研究は殆どない。その中で本研究者は抑制性機構を増強すると歌学習の感覚学習期が早期に終了することを示唆し、マウスの眼優位可塑性で見られた「GABA 抑制性神経機構の発達による臨界期の時期の制御」というメカニズムが、キンカチョウの歌学習臨界期にも適用されるという考えに至り、本研究を提案した。

2. 研究の目的

本研究ではこのキンカチョウの歌学習を用いてなぜ臨界期にのみこの歌学習が可能なのか、臨界期の神経メカニズムを神経行動学的に明らかにすることを目的とする。特に、キンカチョウの歌学習においては、臨界期の「聴く」という経験がどの領域の脳内の神経回路に可塑性を与えるのか、領域に特定を行うことを行った。その際には、これまでに学習と関わる可能性が報告している、終脳の聴覚関連領域に注目した。

3. 研究の方法

(1) 父親から隔離して育てた、つまり歌を聴かずに育てたキンカチョウの雛を 55 日齢から 5 日間、父親と一緒に飼育し、歌を聴かせた。これらの雛の終脳聴覚関連領域から麻醉科で神経活動を記録し、その様々な歌刺激に対する聴覚応答を調べた。聴覚関連領域は広い範囲にまたがり、その詳細が明らかになっていないことから、多電極を用い、聴覚関連領域のどの部分で、どの様な聴覚応答が見られるのか明らかにした。

(2) さらに聴覚応答が親の歌を経験に伴って、どの様に変化するのか詳しく調べるため、聴覚関連領域に慢性電極を植え、親の歌を聴かせる前後にわたってその神経活動を記録し、聴覚応答の変化を調べた。

(3)

脳内の領域の活動の学習といった行動における役割を明らかにするため、脳内の特定の

領域の神経活動を可逆的に制御する薬理遺伝学的手法の導入を試みた。キンカチョウでは遺伝子組み換え動物がないため、ウイルスベクターを用いて、Invermectin 作動性 GluCl チャンネルの発現を試みた。

4. 研究成果

(1) 生後 55 日の雛を、5 日間、父親と一緒にケージに入れ、父親の歌を聞かせた。5 日間では雛の歌は大きく変化することなく、学習は行われてないように見えるが、その後成鳥になるまでもう一度親から隔離して育てても、最終的には親の歌に似た歌を歌うようになることが明らかになった。つまり、5 日間と言う時間は運動学習には不十分であるが、感覚学習 (聞いて記憶を形成する) には十分であることが明らかになった。

そこで、このキンカチョウの雛の終脳関連領域から多電極を用いて神経活動を記録し、様々な歌に対する聴覚応答を調べた。またコントロールとして、同じ日齢の、父親の歌を聴かせない個体からも記録を行った。その結果、聴覚関連領域の、中でも背内側部では、コントロール群の個体では父親の歌に得意的に搬送する細胞の割合は、他の歌に選択的に反応する細胞の割合とくあらないのに対し、父親の歌を聴いて覚えた個体群では父親の歌に対して、選択的に反応する神経細胞の割合が有意に多くなることが明らかになった (図 1)。

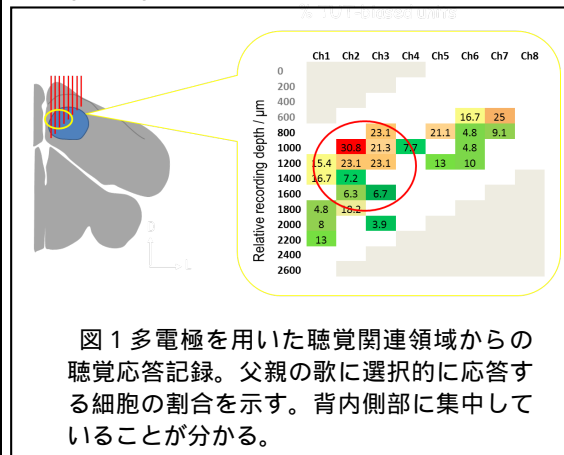


図 1 多電極を用いた聴覚関連領域からの聴覚応答記録。父親の歌に選択的に応答する細胞の割合を示す。背内側部に集中していることが分かる。

(2) この聴覚関連領域の背内側部をさらに詳しく解析するため、この領域に慢性電極を植え、親の歌を聴いて覚える前後に渡り、その聴覚応答を記録した。その結果、聴覚関連領域には少なくとも、神経活動の波形の異なる二種類の神経細胞があることが明らかになった。この二種類の神経細胞のうち一種類の細胞は、親の歌を聴く前にはどの歌刺激に対しても同様に聴覚反応を示すが、その中の一部の細胞群は親の歌を聴く経験することにより、親に歌にのみ特異的に聴覚反応を示し、自身の歌を含む他の個体の歌には反応しなくなることを明らかにした。この時、その特異性はとても高く、父親の歌にのみ反応し、他の個体の歌には自身の歌でさえ一切反

応しないことが分かった。そこでこの特異的な聴覚応答が形成される神経メカニズムを明らかにするため、この領域に GABA 抑制性受容体のアンタゴニストである Gabazine を投与し、聴覚応答の変化を調べた。Gabazine により GABA 抑制性伝達を阻害すると、それまで父親の歌に特異的な聴覚応答を示していた神経細胞が、他の歌にも聴覚応答を示すようになった。また、これまでの様々な研究から睡眠下と覚醒時では脳内の興奮・抑制バランスが異なるといわれている。そこで、睡眠下でも同様に聴覚応答を調べたところ、睡眠下では覚醒時に比べ、聴覚応答の特異性が低くなることが明らかになった。これらのことから幼少期の「親の歌を聴く」という聴覚経験が、聴覚関連領域内の神経回路に影響し、抑制性神経回路が補充されることにより、その一部の神経細胞群が覚えた親の歌に対し、特異的な聴覚応答を示すようになる、つまりこれが親の歌に対する記憶の形成であることが考えられた(図2)。

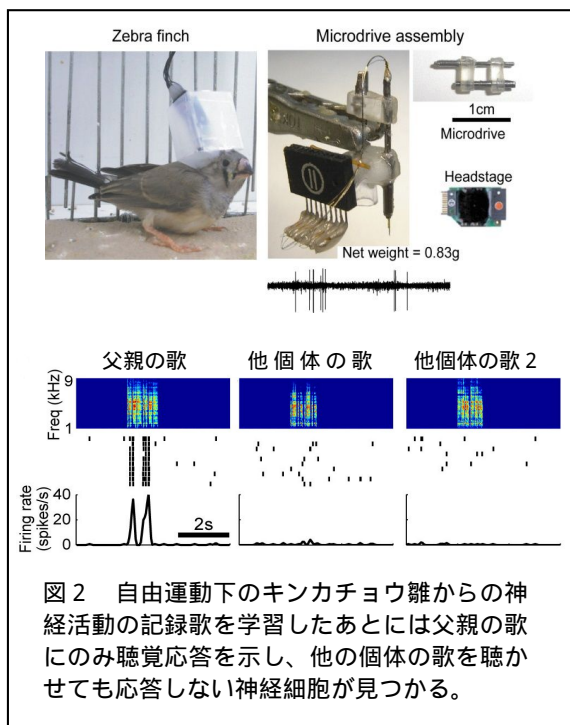


図2 自由運動下のキンカチョウ雛からの神経活動の記録歌を学習したあとには父親の歌にのみ聴覚応答を示し、他の個体の歌を聴かせても応答しない神経細胞が見つかる。

(3) さらにこの領域の神経活動を親の歌を聴いている時のみ制御し、その学習における役割を明らかにするため、ウイルスベクターを用いた薬理遺伝学的手法の確立を試みた。ウイルスベクターを用いて、Ivermectin に特異的に応答する GluCl チャンネルの α サブユニットと β サブユニットを歌の発声に関わる運動神経核である RA 核に共発現させた。この動物に Ivermectin を腹腔内投与し、RA 核の神経細胞の活動を抑制すると一部の歌の要素が歌われなくなることが明らかになった。これにより RA 核の神経細胞がどのように歌の発声を制御しているのか明らかになった。また、

ウイルスベクターを用いた薬理遺伝学的手法がキンカチョウにおいても使えることが明らかになった。

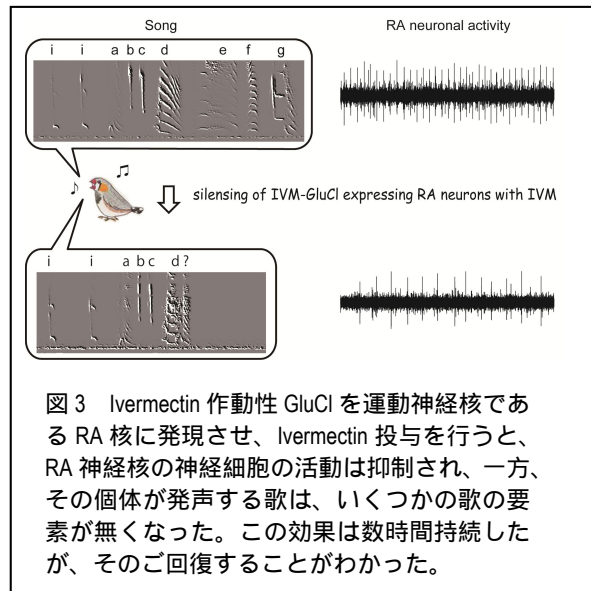


図3 Ivermectin 作動性 GluCl を運動神経核である RA 核に発現させ、Ivermectin 投与を行うと、RA 神経核の神経細胞の活動は抑制され、一方、その個体が発声する歌は、いくつかの歌の要素が無くなった。この効果は数時間持続したが、その回復することがわかった。

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 1件)

Yazaki-Sugiyama, Y., Yanagihara, S., Fuller, P.M. and Lazarus M. (2015) Acute inhibition of a cortical motor area impairs vocal control in singing zebra finches. *Eur J Neuroscience* 41:97-108

[学会発表](計 6件)

1. Flecke, C. & Yazaki-Sugiyama, Y.

Sensory memory forms in the auditory-associated cortical area in zebra finch song learning. *Neuro2013*(第36回日本神経科学大会), 2013年6月, 京都

2. Yazaki-Sugiyama, Y., Yanagihara, S., Fuller P.M. & Lazarus, M.

Syllable-to-syllable acoustic control by neuronal activity of pre-motor brain area in zebra finches revealed by reversible neuronal inhibition through virus-mediated expression of ivermectin-gated chloride channels. *The 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience*, 2013年11月, San Diego, USA

3. Shin Yanagihara & Yoko Yazaki-Sugiyama

Auditory experience shapes neural selectivity to a tutor's song in the songbird auditory cortex. *International Congress of Neuroethology*, 2014年7月, 札幌

4. Christian Flecke and Yoko Yazaki-Sugiyama

Sensory memory forms in the caudomedial nidopallium during song learning. *International Congress of Neuroethology*, 2014年7月, 札幌

5. Shin Yanagihara & Yoko Yazaki-Sugiyama

Emergence of neural selectivity for memorized birdsongs in the higher-level auditory cortex of juvenile songbird. Neuro2014 (第37回日本神経科学大会), 2014年9月, 横浜

6. Shin Yanagihara and Yoko Yazaki-Sugiyama

Emergence of neural selectivity for learned songs in the songbird auditory cortex. The 44th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2014年11月, Washington DC, USA

6 . 研究組織

(1)研究代表者

杉山(矢崎)陽子

(Yoko Yazaki-Sugiyama)

研究者番号 : 317512