

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：82643

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26280064

研究課題名(和文)聴覚末梢および脳幹による信号抽出の生理機構：コウモリをモデルとした研究

研究課題名(英文)Physiological systems in periphery and brainstem for signal extraction: bat as a model animal

研究代表者

力丸 裕 (Riquimaroux, Hiroshi)

独立行政法人国立病院機構(東京医療センター臨床研究センター)・政策医療企画研究部・研究員

研究者番号：90260207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：コウモリ末梢で、蝸牛マイクロフォン電位と蝸牛神経由来の複合活動電位の覚醒状態での計測に成功した。

その後2種のコウモリの聴覚系脳幹(下丘)で顕微鏡内視鏡によるカルシウムイオン計測と電極による神経生理学的電気信号の同時計測に成功した。各ファイバー径である2マイクロメートルの空間分解能で、下丘内カルシウムイオンの活動状態と同じ場所に対応する電気信号がわかった。しかし、可視領域面スキャンに時間を要し、1データポイント取得に50ミリ秒必要とした。そこで、ラインスキャン計測法を開発し、1データポイント取得に132マイクロ秒という分解能を実現し、高時間分解能が必要な聴覚系研究に対応可能となった。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in recordings of the cochlear microphonics generated by hair cells in the inner ear and the compound action potentials generated by the cochlear nerve.

Then, we made successful recordings of calcium ion activity in the auditory brainstem (inferior colliculus) by a brain micro-endoscope where simultaneous measurements of optic calcium signal and electro-neurophysiological signal were made. The diameter of each optic fiber was 2-micron meters, which decided the spatial resolution. Simultaneous neural activities in different sites in the inferior colliculus were observed. At the same time electro-neurophysiological signals were recorded from the tip of the probe. However, it took about 50 milliseconds to obtain a single data point because of slowness of scanning image. Then, we modified the scanning methodology to adopt the line scanning, resulting in an amazing time resolution of 132 microseconds per data point. This time resolution is good enough for the auditory research.

研究分野：音響神経科学

 キーワード：顕微鏡内視鏡 コウモリ バイオソナー 聴覚系中枢 聴覚系末梢 下丘 蝸牛マイクロフォン電位  
複合活動電位

### 1. 研究開始当初の背景

コウモリは超音波パルス音を発し、音声が物体から反射してきたエコーを聞くことで物体の位置を知覚する。この行動をエコーロケーションと呼ぶ。コウモリが自然下でおこなうエコーロケーション行動では、パルス音を繰り返し発声し、地面や背景の藪等からのエコーと、エサとなるコンチュウからのエコーを聞き分ける必要がある。すなわち彼らは背景雑音中の信号の検知を自然行動下で絶えず行っている。また実際にはエサと地面等の障害物からのエコーは、どちらが信号で、どちらが雑音であるかは、飛翔中にエサと障害物の位置関係によって絶えず変化している。報告者らはコウモリでは、グループ飛行中であっても仲間のエコーロケーション音声から自分の音声を遠ざけることなく、むしろ逆に近づけて探索行動を行うことを見出している

[1]-[3]。彼らのパルスは100dB SPL以上の音圧レベルであるが、近年報告者らはコウモリではこのような大きな音に対しても聴覚末梢において疲労が起きない傾向があることを見出した[4]。本研究に用いるFMコウモリでは、FM音の終端周波数に高い感度を持つニューロンが中枢に多く存在することがわかっている[5]。しかし、末梢において、FM音の終端周波数に対する感度が高い仕組みが基底膜上で広い領域を占めているかどうかは、まだ不明である。対照動物のスナネズミでは、5分間の暴露でも十分なCMの減少が報告されている[6]。

### 2. 研究の目的

コウモリは自然界において飛行中のエサからのエコー(信号)と地面や樹木等からのエコー(雑音)を分離する課題に絶えず直面している。彼らのエコーロケーション行動をモデルとし、微弱な信号音をノイズから分離するための生理機構を明らかにするのが目的である。

### 3. 研究の方法

(1) アブラコウモリ(*Pipistrellus abramus*)の末梢系と中枢系による微弱信号抽出機構を覚醒状態で計測した。末梢系の評価は、蝸牛マイクオフォン電位(CM)と複合活動電位(CAP)の計測を用いた。CMとCAPの同時計測は、聴覚系脳幹で行った。比較のため一般の聴覚モデル動物であるスナネズミでもCMとCAPを比較のため計測した。

(2) 中枢の評価は、下丘における顕微脳内視鏡による細胞内のカルシウムイオン濃度のインヴィボ計測と内視鏡プローブ先端に用意した白金電極によるマルチユニット活動(MUA)と局所フィールド電位(LFP)の計測を行った。中枢の評価は、下丘における顕微脳内視鏡による細胞内のカルシウムイオン濃度のインヴィボ計測と内視鏡プローブ先端に用意した白金電極によるマルチユニッ

ト活動(MUA)と局所フィールド電位(LFP)の計測を行った。

(3) さらに、ノイズからの信号抽出機構の頑健性を確かめるために、ノイズ暴露の聴覚機構への影響をABRを用いて評価した。10-80 kHzの白色雑音(90 dB SPL)を30分間暴露した。ABRは、トーンピップを刺激として、脳幹内(脳表から3 mm)の金属電極で暴露前と暴露後に記録した。

### 4. 研究成果

(1) H26年度に、聴覚系末梢での微弱信号抽出機構を探るために、FMコウモリ的一种アブラコウモリで、有毛細胞由来のCM、蝸牛神経由来のCAPを覚醒状態で計測した結果、CAPではFMパルスの終端部分の周波数40 kHzに対する感度が高く、エコーの微弱信号を増幅する非線形的増幅機構が存在することが分かった。この機構で、飛行中の昆虫の羽ばたきを検知する感度が高くなっていると解釈できる(Onodera et al., 2014)。

(2) 同じくH26年度に、コウモリ聴覚系脳幹での音情報抽出機構を脳顕微内視鏡で解明するために、予備実験としてマウスの下丘での聴覚機能・構造計測を行った。細い光ファイバー(外径300 μm、6000本束)から成る脳顕微内視鏡をマウスの下丘に挿入し、音刺激に対する反応をカルシウム感受性色素Oregon greenの励起反応を用いて、輝度変化として記録した。この結果、ホワイトノイズ(white noise burst)やトーンバースト(tone burst)に対する反応を記録することができ、同一刺激に対して、空間的に異なった複数の箇所が同時に反応していることが分かった。また、低い周波数に反応する部位は脳表に近い背側部分で、周波数が高くなるにつれて反応する部位が腹側に移動することも分かった(Yashiro et al., 2017a)。

(3) マウスでの計測実験に基づき、H27年度はFMコウモリ的一种オオクビワコウモリ(*Eptesicus fuscus*)の下丘での脳顕微内視鏡を用いた計測を開始した。その結果、コウモリの下丘の活動の時空間的变化を計測することに成功した。各々のファイバーの径である2マイクロメートルの空間分解能で、下丘内のカルシウムイオンの活用状態を知ることができた。しかし、可視領域面をスキャンするために時間を要し、1データポイントを取得するのに50ミリ秒も必要であることが分かった(Yashiro et al., 2017b)。

(4) そこで、H28年度には時間分解能を向上させるために、ラインスキャン法を開発し、1データポイント取得に132マイクロ秒という時間分解能を達成し、聴覚系研究に対応可能となった(Yashiro et al., 2016)。

(5) ノイズ暴露の影響をABRにより評価した結果、FMコウモリでは暴露の影響を受けないという結果が得られた(Boku et al., 2015; Simmons et al., 2015)。しかし、スナネズミにおいては、僅か5分の暴露でも減少が見られ

た。スナネズミにおいてとりわけ損傷が大きい周波数領域は聴力曲線では閾値が高いが、音声コミュニケーションに利用される 25-35 kHz の周波数領域であった(Nakayama and Riquimaroux, 2017)。

#### <引用文献>

- [1] Furusawa, Y., Hiryu, S., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2012): Convergence of reference frequencies by multiple CF-FM bats (*Rhinolophus ferrumequinum nippon*) during paired flights evaluated with onboard microphones. *J. Comp. Physiol. A*. **198**: 683-93.
- [2] Morikawa, K., Hiryu, S., Kobayashi, K. and Riquimaroux, H. (2012): Characteristics of echolocation sounds in CF-FM bats during plural flight evaluated with onboard wireless microphone system. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **42**: 643-647.
- [3] Tsuji, H., Morikawa, K., Furusawa, Y., Kobayasi, K., Hiryu, S. and Riquimaroux, H. (2013): Changes in pulse emissions of the Japanese horseshoe bat when placed in an acoustically jammed environment. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **43**: 179-182.
- [4] 朴正圭, 福島慶三, 小林耕太, Simmons, A. M., Simmons, J., 力丸 裕 (2012): ノイズ曝露後の蝸牛マイクロフォン電位. *音響学会聴覚研資料* **42**: 307-312.
- [5] Goto, K., Hiryu, S. and Riquimaroux, H. (2010): Frequency tuning and latency organization of responses in the inferior colliculus of Japanese house bat, *Pipistrellus abramus*. *J. Acoust. Soc. Am.* **128**: 1452-1459.
- [6] Fukushima, K., Kobayashi, K., Simmons, J., Simmons, A. and Riquimaroux, H. (2012): Noise-induced temporary threshold shift evaluated by cochlear microphonics in mongolian gerbil. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **42**(8): 615-620.

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Yashiro, H., Nakahara, I., Funabiki, K. and Riquimaroux, H. (2017a): Micro-endoscopic system for functional assessment of neural circuits in deep brain regions: simultaneous optical and electrical recordings of auditory responses in mouse's inferior colliculus. *Neuroscience Research* (in print). 査読あり .

Nakayama, A. and Riquimaroux, H. (2017): Sensitivity to high frequency communication sounds in the inner ear enhanced by selective attention: Preliminary findings in Mongolian gerbils. *Journal of Computational Acoustics* (in print). 査読あり .

Yashiro, H., Funabiki, K., Simmons, A., Simmons, J. and Riquimaroux, H. (2017b): Functional optical imaging from bat inferior

colliculus using a micro-endoscope. POMA-D-17-00011, *Proceedings of Meetings on Acoustics* (in print) . 査読あり .

Riquimaroux, H. (2016): Conspecific selective attention may enhance sensitivity in the inner ear for high frequency communication calls of Mongolian gerbils. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **46**(3): 177-180. 査読あり .

力丸 裕 (2016): コウモリのエコーロケーション: 微弱エコー聴取のための工夫. *超音波テクノ* **28**(3): 49-53. 査読あり .

Boku, S., Riquimaroux, H., Simmons, A. M. and Simmons, J. A. (2015): Auditory brainstem response of the Japanese house bat (*pipistrellus abramus*). *J. Acoust. Soc. Am.* **137** (3): 1063-1068. 査読あり .

Simmons, A., Boku, S., Riquimaroux, H. and Simmons, S. (2015): Auditory brainstem responses of Japanese house bats (*Pipistrellus abramus*) after exposure to broadband ultrasonic noise. *J. Acoust. Soc. Am.* **138** (4): 2430-2437. 査読あり .

力丸 裕 (2015): コウモリのエコーロケーション-弱いエコーを聴き取る極意-, *日本音響学会誌* **71**(7): 321-326. 査読あり .

Nakaoka, H., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2015): The evaluation of inner ear function of Mongolian gerbils with noise induced hearing loss: Examined by Cochlear microphonics and Compound action potentials of cochlear nerve. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **45**(3): 129-133. 査読無し .

Onodera, H., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): Cochlear microphonics and compound action potentials responding to amplitude modulated tones and repetitive clicks in Mongolian gerbil: Comparison between different recording sites, the round window and the brainstem. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **44**(4): 167-170. 査読無し .

Goto, D., Hiryu, S., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): Strategies for CF-FM bats to extract echolocation signals in the acoustically interfered environment during flight. *Trans. Tech. Comm. Psychol. Physiol. Acoust.* **44**(4): 197-202. 査読無し .

〔学会発表〕(計 29 件)

Riquimaroux, H. (2016): How echolocating bats can extract information from weak and noisy returning echoes. *Proc. the 3<sup>rd</sup> Annual Meeting of*

*the Society for Bioacoustics*: 64 (The 3rd Annual Meeting of the Society for Bioacoustics, Dec. 10-11, 2016, Irigo Sea-Park & Spa, Tahara, Aichi)

Riquimaroux, H. (2016): Significance of terminal frequency in FM sweeps for bat echolocation. *J. Acoust. Soc. Am.* **140(4)**: 2972-2973. (The 5th Joint Meeting of the Acoustical Society of America and the Acoustical Society of Japan, Nov. 28-Dec. 2, 2016, Honolulu, Hawaii, USA)

Riquimaroux, H. (2016): Echolocation systems of leaf-nosed bats in Taiwan and Iriomote island, Japan. *J. Acoust. Soc. Am.* **140(4)**: 3017. (The 5th Joint Meeting of the Acoustical Society of America and the Acoustical Society of Japan, Nov. 28-Dec. 2, 2016, Honolulu, Hawaii, USA)

Yashiro, H., Funabiki, K., Simmons, A.M., Simmons, J.A., Riquimaroux, H. (2016): Functional optical imaging from bat inferior colliculus using a micro-endoscope. *J. Acoust. Soc. Am.* **140(4)**: 3297. (The 5th Joint Meeting of the Acoustical Society of America and the Acoustical Society of Japan, Nov. 28-Dec. 2, 2016, Honolulu, Hawaii, USA)

Riquimaroux, H. (2016): Maps, bottom-up and top-down structures in the auditory system. *Proc. 2016 Autumn Meeting of the Acoustical Society of Japan*: 101 (2016 Autumn Meeting of the Acoustical Society of Japan, Sep. 14-16, 2016, Toyama Univ., Toyama).

Riquimaroux, H. (2016): Counterintuitive strategies for bats to listen to their echoes. (International Bat Research Conference 2016, July 31- Aug. 5, 2016, the Gateway Hotel, Durban, South Africa).

Riquimaroux, H. (2016): Efferent command may facilitate special frequency channel in the inner ear for vocal communication of Mongolian gerbils. *J. Acoust. Soc. Am.* **139** Pt. 2: 2002. (The 171th Meeting of the Acoustical Society of America, May 23-27, 2016, Salt Lake City, Utah, USA).

Riquimaroux, H., Yashiro, H., Simmons, A. and Simmons, J. (2016): Sensitivity and Amplitude of ABRs and LFPs in Different Species of FM Echolocating Bats. *Assoc. Res. Otolaryngol. Abstr.* **39**: 82-83 (The 39th Midwinter Research Meeting, Association for Research in Otolaryngology, Feb. 20-24, 2016, San Diego, CA, U. S. A.).

Riquimaroux, H. (2015): Basic question raised: System for our brain to listen to sounds while modifying in real-time. (Harris Science Research Institute of Doshisha University, The 3rd Research Meeting for the Second Research Section (Affective Science), December 20, 2015, Doshisha University, Kyoto).

Riquimaroux, H. (2015): Strategies for an echolocating FM bat, *Pipistrellus abramus*, to listen to weak echoes. *Soc. Am.* **138(3)** Pt. 2: 1740. (The 170th Meeting of the Acoustical Society of America, Nov. 2-6, 2015, Jacksonville, Florida, USA).

Riquimaroux, H. (2015): Attention may alter sensitivity for hearing communication sounds in the inner ear of Mongolian gerbils. (ICTCA, Oct. 11-16, 2015, Hangzhou, Zhejiang, China)

Riquimaroux, H., Onodera, H. and Matsuo, I. (2015): Active enhancement found in responses of the cochlear nerve to detect weak echoes created by the auditory periphery in Japanese house bat, *pipistrelus abramus*. *Soc. Am.* **137(4)** Pt. 2: 2251. (The 169th Meeting of the Acoustical Society of America, May 18-22, 2015, Pittsburgh, Pennsylvania, USA).

Riquimaroux, H. (2014): Topics in the field of Biomedical Engineering and Applied Neuroscience. (Shandong University invited seminar, Jan. 7, 2015, Shandong University, Jinan, Shandong Province, China).

Yashiro, H., Nakahara, I., Kobayasi, K., Funabiki, K. and Riquimaroux, H. (2014): Spatio-temporal imaging of auditory responses from deep brain area using a micro-endoscope. *Proc. SFBA & ARF2014*: 19 (SFBA & ARF2014, Dec. 13-14, 2014, Doshisha Univ. Retreat Center, Otsu, Shiga).

Nakayama, A., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): How does cochlear nonlinearity contribute to detect high frequency communication sounds in Mongolian gerbils? *Proc. SFBA & ARF2014*: 22 (SFBA & ARF2014, Dec. 13-14, 2014, Doshisha Univ. Retreat Center, Otsu, Shiga).

Onodera, H., Matsuo, I., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): Measurement of Cochlear microphonics in Japanese house bat (*Pipistrellus abramus*). *Proc. SFBA & ARF2014*: 24 (SFBA & ARF2014, Dec. 13-14, 2014, Doshisha Univ. Retreat Center, Otsu, Shiga).

Ketten, D., Shoshani, J., Arruda, J., Cramer, S., Zosuls, A., Mountain, D., Simmons, A. and

Riquimaroux, H. (2014): Extreme Hearing: Functional analyses of land and marine micro to mega ears. *Proc. SFBA & ARF2014*: 26 (SFBA & ARF2014, Dec. 13-14, 2014, Doshisha Univ. Retreat Center, Otsu, Shiga).

Goto, D., Hiryu, S., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): Modification in pulse characteristics in flying Japanese horseshoe bats during acoustically interfered conditions produced by multiple conspecifics. *Proc. SFBA & ARF2014*: 35 (SFBA & ARF2014, Dec. 13-14, 2014, Doshisha Univ. Retreat Center, Otsu, Shiga).

Yashiro, H., Nakahara, I., Kobayashi, K., Funabiki, K.I., and Riquimaroux, H. (2014): In vivo optical and electrophysiological simultaneous recordings of auditory responses in mouse's inferior colliculus using a micro-endoscope. Program No. 97.20. 2014 Neuroscience Meeting Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2014. Online. (Neuroscience 2014, Nov. 15-19, 2014, The Walter E. Washington Convention Center, Washington, DC, USA).

Matsuo, I., Onodera, H. and Riquimaroux, H. (2014): Measurements of cochlear microphonics from FM echolocating bats, Japanese house bats, *Pipistrellus abramus*. (Neuroscience 2014, Nov. 15-19, 2014, The Walter E. Washington Convention Center, Washington, DC, USA).

① Yashiro, H., Nakahara, I., Kobayashi, K., Funabiki, K.I., and Riquimaroux, H. (2014): Comparing electrical neural activities and calcium responses recorded by micro-endoscope in deep brain area of mouse. P2-396. The JNS Meeting Planner, 2014. Online. (The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2014年9月11日-13日, PACIFICO YOKOHAMA, Yokohama, Kanagawa).

② Goto, D., Tsuji, H., Morikawa, K., Furusawa, Y., Hiryu, S., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): The ways for CF-FM bats to extract their echolocation signals during flight with multiple conspecifics. (HNW2014 Satellite Meeting, July 27, 2014, Hokkaido Univ., Sapporo, Hokkaido).

③ Ketten, D., Simmons, J. and Riquimaroux, H. (2014): Inner Ear Determinants of Sensitivity in Bats and Cetaceans: Curvature and Inputs. (HNW2014 Satellite Meeting, July 27, 2014, Hokkaido Univ., Sapporo, Hokkaido).

④ Riquimaroux, H. (2014): How do echolocating bats listen to returning echoes: Recent findings. (The 2014 ICN / JSCP, July

28- Aug. 1, 2014, Sapporo Convention Center, Sapporo, Hokkaido).

⑤ Goto, D., Hiryu, S., Kobayasi, K. and Riquimaroux, H. (2014): Strategies for CF-FM bats to conduct accurate echolocation under acoustically jammed condition created by multiple conspecifics. (2014 ICN/JSCP, July 28-Aug. 1, 2014, Sapporo Convention Center, Sapporo, Hokkaido).

⑥ Yashiro, H., Nakahara, I., Kobayasi, K., Funabiki, K. and Riquimaroux, H. (2014): Optical recordings of auditory responses in deeper areas of mouse's inferior colliculus. (2014 ICN/JSCP, July 28-Aug. 1, 2014, Sapporo Convention Center, Sapporo, Hokkaido).

⑦ Ketten, D., Simmons, J. and Riquimaroux, H. (2014): Inner ear determinants of sensitivity in bats and cetaceans: curvature and inputs. (2014 ICN/JSCP, July 28-Aug. 1, 2014, Sapporo Convention Center, Sapporo, Hokkaido).

⑧ Riquimaroux, H. (2014): Characteristics of echolocation system in Japanese house bat, *Pipistrellus abramus*. *J. Acoust. Soc. Am.* **135**(4) Pt. 2: 2205-2206 (The 167th Meeting of the Acoustical Society of America, May 5-9, 2014, Providence, RI, USA).

⑨ Ketten, D., Simmons, J., Riquimaroux, H., Cramer, S. and Arruda, J. (2014): Twists and turns, in cochlear anatomy: Curvatures related to infra vs ultrasonic hearing. *J. Acoust. Soc. Am.* **135**(4) Pt. 2: 2266 (The 167th Meeting of the Acoustical Society of America, May 5-9, 2014, Providence, RI, USA).

〔図書〕(計 1件)

Hiryu, S., Mora, E. and Riquimaroux, H. (2016): Behavioral and physiological bases for Doppler shift compensation by echolocating bats. in: *Bat Bioacoustics, Springer Handbook of Auditory Research vol.,54*, M. Brock Fenton, Alan D. Grinnell, Arthur N. Popper and Richard R. Fay (eds.), Springer, New York, pp. 239-264.

〔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

力丸 裕 (RIQUIMAROUX, Hiroshi)  
独立行政法人国立病院機構 (東京医療センター臨床研究センター)・政策医療企画研究部・研究員  
研究者番号：9 0 2 6 0 2 0 7

### (2) 研究分担者

船曳 和雄 (FUNABIKI, Kazuo)  
公益財団法人先端医療振興財団・先端医療センター・上席研究員  
研究者番号：0 0 3 0 1 2 3 4

松尾 行雄 (MATSUO, Ikuo)  
東北学院大学・教養学部・教授  
研究者番号：4 0 3 2 3 1 1 7

飛龍 志津子 (HIRYU, Shizuko)  
同志社大学・生命医科学部・教授  
研究者番号：7 0 4 4 9 5 1 0

小林 耕太 (KOBAYASHI, Kota)  
同志社大学・生命医科学部・准教授  
研究者番号：4 0 5 1 2 7 3 6

### (3) 連携研究者

### (4) 研究協力者

SIMMONS, A. James  
Brown Univ., Dept. of Neuroscience,  
Professor

八代 英敬 (YASHIRO, Hidetaka)  
同志社大学・生命医科学部・博士後期課程