

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430034

研究課題名(和文) 行動に関連した神経ネットワーク；音脈分擬の基盤をなす音節間の時間間隔を脳に見る

研究課題名(英文) Cortical activation patterns in relation to tempo discrimination; representation of time interval underlying the stream segregation

研究代表者

小島 久幸 (OJIMA, HISAYUKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師(無給)

研究者番号：00104539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：音は提示される時間間隔(1)により異なる印象を与え、音響学的には1の長さにより個々の音がまとまった音脈として認識されたり、または離散する印象を与える(音脈分擬)。この1が聴覚皮質(AC)内で1)どのように表現されているかを動物を用いて調べ、更には2)動物が1を識別できるかを行動学的に明確にし、3)学習効果により、AC活動がどのように変わるかを光イメージング法で解明する。

1)約100ms長のノイズ様音節を約230msの間隔で繰り返すと、個々の音に対するAC応答性は1100ms間隔と比べ著しく低下した。2)モルモットは異なる1音を識別した。3)識別学習は繰り返しの遅い部分に対する応答性を上げた。

研究成果の概要(英文)：The tempo or rhythm is an important time-related factor for determining the sound quality. We addressed questions as to animal's perceptual abilities of tempos and cortical activation patterns to sounds with different tempos.

Guinea pigs could discriminate between sounds with repeats of a segment (100ms long) at the interval-segment interval (ISI) of 1100 ms and at the ISI of 230 (or 110) ms (short-ISI), but not between the 1100 ms ISI and the much longer ISIs. In naive animals, these repeated sounds evoked AI activation (CA) only at the early 1st-2nd/3rd segments but very little at later segments for the short-ISI, while every segment was effective in evoking CA for the 1100 ms-ISI. Conditioning animals to the 1100-ms ISI changed the responsiveness to individual sound segments. Three/four-week training made later segments effective in evoking CA for the short-ISIs, while the same training increased the magnitude of CA evoked by the later segments for the longer 1100-ms ISI sound.

研究分野：聴覚皮質/神経科学

キーワード：一次聴覚野 時間表現 細胞活動 テンポ 繰返し音 膜電位感受性色素 識別学習 モルモット

1. 研究開始当初の背景

ヒトの聴覚系には、いわゆる”カクテルパーティ効果”と言われる複数話者が話す内容を個別に分離識別する機構が備わっている。この機構は、単一音源に由来する音響特性（例えば音源位置情報、周波数、時間タイミング、リズム等）が連続性を示すことから、複数音源から由来する混ざり合った音を、これら特性に基づいて、類似するものをひとまとめにして識別する神経機構に依存する（Bregman, Auditory Scene Analysis, 題4章, 1990）。この機構は聴覚情景解析と呼ばれ、自動的に生じると一般的に考えられているが（Vliegen et al., 1999）、注意の関与も想定されている（Carlyon et al., 2003）。

近年、このような聴覚情景解析がヒト以外の動物においても行われていることが示唆されている。特に特定の音響特性に依存して音脈が分離または融合されて知覚される Stream segregation 音脈分凝といわれる情景解析が最も良く研究されている。ヒト（Bregman, 1990 ; van Noorden, 1975）、またヒト以外ではトリ、サル（Hulse et al., 1997; MacDougall-Shackleton et al., 1998; Izumi, 2002）に周波数の異なる2種の純音（高い周波数を持つA音と低い周波数を持つB音）を交互に繰り返し連続して聞かせた場合（ABA-ABA-----）、AとBの周波数差が少ない際には、一続きの音（馬の速歩のようなリズムミカルな音のように、同一の音脈あるいはまとまり ABABABABABA---）として認識される。一方その周波数差を増すとAの流れとBの流れ（A-A-A-A---とB---B---B---）の2系統に分離して聞こえることが、心理学的また動物行動学的に認められている。しかしこの分離性はAとBの時間間隔にも依存し（van Noorden, 1975, Moore and Gockel, 2012）間隔を開くと弱くなるか失われ、対応する活動が聴覚皮質に存在することがヒトのfMRI実験で示されている（Gutschalk et al., 2007）。この周波数以外の要因を手がかりにして音脈を分離することは、周波数による機構とは別の機構が情景解析に関与していることを示唆する（Grimault et al., 2002）。トリではこの時間要素に依存する音脈分凝に対応する細胞活動が報告されている（Bee and Klump, 2005, Itatani and Klump, 2011）。しかしトリが実際にどのような神経活動パターンに基づき音脈を認識しているかを明確に示す行動生理学的解析は行われていない。またトリはほ乳類とは異なる終脳構造を示す（Dugas-Ford et al., 2012）。特にほ乳類に特徴的な層構造をなす大脳皮質をほとんどもたないため、音脈分凝での聴覚皮質の寄与を十分に探求するには至っていない。従ってヒトの情景表現への大脳皮質の関与を

細胞ネットワークレベルで研究するには、哺乳類動物をモデルにすることが必要と考えられる。

申請者はH22年度から受けている助成により、聴覚機能の発達したモルモット（Berryman, 1976）に音を識別させる新しい訓練法を初めて確立した（Ojima et al., 2012, 北米 ARO 学会）。そこでは動物の給餌における”競争”行動を利用し、2週間程で8種類の自然音から条件付け音を90%以上の正答率で識別できた。その際、モルモットが周波数要素のみならず時間情報を手がかりに音を識別していることが推察された（Ojima et al., 2012）。更に時間情報の識別動物群では条件づけにより聴覚皮質の局所回路が可塑的に変わり、対象群と比べその時間軸を逆転した音では活性化されにくいことを見出した（Numata et al., 2013, 北米 ARO; Horikawa and Ojima, 2017）。このことからモルモットが時間情報に基づいた音脈分凝を行える可能性と、その機構には一次聴覚野を含む聴覚皮質が関与している可能性を想定し、本実験計画を考案した。この計画により聴覚皮質の時間処理機構の解明を行う。

2. 研究の目的

類似する音程を持つ音節が連続する場合、それらはひとまとまりの音脈として知覚される。この知覚特性は脳が特定の音情報をノイズの中から抽出する際に使う戦略の一つで音脈分凝として知られる。実験心理学的には交互に繰り返提示される2種類の音節が、提示間隔と周波数差に依存して2系統の分離した流れ（音脈）かあるいは1続きの音脈のどちらか一方に知覚されてくる。本申請では、この音脈分凝を決める提示音間隔がどのように動物の脳に表現されるかを、神経活動パターンと条件行動の有無を関係づけて調べる。そのために周波数構造を変えずその時間構造のみを操作した音刺激を作成し、その基準音に条件付けた個体が、それと時間構造のみが異なる刺激音を識別するかどうかを行動学的に検証することが不可欠である。音刺激として同一音節を繰り返す反復音を用いた。この反復提示間隔を変えると周波数構造を変えずに時間構造のみを変更した刺激とすることができる（Patterson, 1994）。この行動学的実験系において、刺激音に対する条件行動の有無に対応する聴覚皮質活動を、主に集合シナプス活動を描き出す膜電位感受性色素イメージング法を用いて明らかにする。よって本研究申請では以下の研究目的を設定する。情景表現の一つである音脈分凝を引き起こす連続音を聞いた場合、分離音脈あるいは融合音脈として知覚されるかどうかは、連続音を構成する音節の周波数構成のみならず提示間隔にも強く依存する。このこと

から、時間情報による音脈分凝では周波数によるものとは異なる時間間隔の脳内表現が起これと推定される。またヒトでは注意の関与が想定されていること、および刺激音の周波数は分離と融合条件で同一でありその関与がないことを同じ皮質周波数帯での活動として検証することが可能なことから、(1) ヒト様の大脳皮質をもつほ乳類を用いて時間間隔を識別するモデル系を確立する、(2) 音脈の分離ないし統合を引き起こす刺激条件下(即ち繰り返しが遅い早い)では細胞集団の活動がどのように異なるかを明らかにする、(3) 時間間隔識別が学習により変化するか、これら3点を研究目的とする。第一段：時間間隔を識別する動物モデルの必要性

音脈分凝では連続する音の刺激提示間隔に依存して、一定の周波数構造を持つ聴覚皮質(一次聴覚や)において異なる神経ネットワークが活性化されると仮定した。このことを検証する際、単純に正常動物で皮質活動を調べたのでは、動物の識別行動が伴わない(即ち人では言語で異同を回答できるが、動物ではできない)ため、音脈分凝に関連する神経回路を見ているのかあるいは単に異なる音響特性に起因する活動の差を見ているのか判断できない。そのためにまず音提示間隔を識別するトレーニング法を確立する必要がある。このことを最初の目標とする。具体的にはヒト・動物の心理物理実験を参考にし(van Noorden, 1975; MacDougall-Shackleton et al., 1998) 標準提示間隔に動物を条件づけ、その間隔を短くしていった条件行動が起こらない識別間隔を決める実験系を確立する。その際既に確立しているモルモットによる競争の原理に基づいた訓練法(Ojima et al., 2012, Ojima and Horikawa, 2016)を利用する。

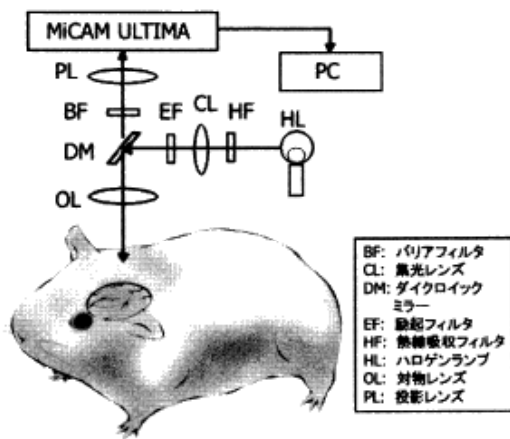


図1 光計測法の概略 動物はケタミン麻酔下で聴覚野皮質を露出してある

第二段：時空間パターンを可視化する必要性
条件行動が生じる連続音(標準間隔)とそれが生じない連続音(標準と異なる間隔)に対する神経ネットワーク活動は、皮質の広範囲な領域に分布のみならず、時間的に移動することが推定される。よって活動強度と時空間的パターンをみることのできる膜電位感受性色素光計測イメージング法(Horikawa et al, 1996; Numata et al., 2013; 図1)を用いて調べる。異なる提示間隔を持つ刺激音では周波数特性の全く同じ音節(図2を参照; 各音節は同一のノイズ様音)が繰り返されるが、その間隔(ISI)が異なる。従ってもし活動の反応に差が見られればそれは純粋に時間間隔によって生じる結果とみなせる。更に提示間隔依存性の活動差が、繰り返しによる僅かな音響特性の差による可能性を厳密に排除するために、対照実験としてNaiveな個体を用いたイメージングも行い、訓練群と対照群で比較する。

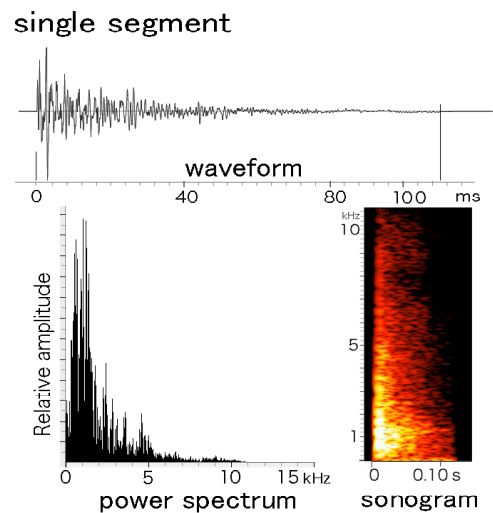


図2 刺激音を構成する音セグメント セグメントの間隔 (ISI) を変えて刺激音を作成する

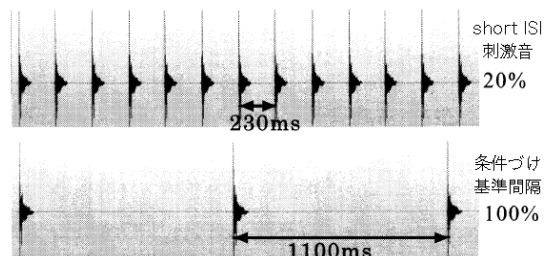


図3 音刺激 基準間隔(100%)を持つ音セグメント反復音で条件付けを行う

3. 研究の方法

(1) 刺激音作成 ヒトの音脈分凝の研究を参考に、約100ms長の単一ノイズ音節(セグメント)を提示間隔約1100msで複数回繰

り返す連続音を基準音とする。セグメントを変えず提示間隔 (ISI) を基準音の 10、20、200、300%として試験音とする (図3参照)。これらは音編集ソフト (Amadeus Pro, Haire社あるいは Audition, ADOBE 社) を用いコンピュータ上で作成する。作成音はコンピュータ出力、電力アンプ (SONY, N220)、防音室内ダイナミックスピーカー (YAMAHA, NS-10MMT) を経て動物に聞かせる。この出力系は標準騒音計 (リオン NL-62) でカリブレーションを行う。

(2) 音の提示と記録の仕方

作成した音、給餌タイミングおよび動物の基準音に対する反応行動を同時記録し、オフラインで異なる試験間隔音に対する反応行動の有無を定性的に判定する。また同時に条件反応の一つである急速頭部振り運動を赤外線センサーで検知することにより、反応行動を定量化し判定を客観的に行う。アナログ入力 4ch の DVCAM (SONY, DSR-45A) に行動計測のための刺激音、給餌タイミング信号および映像を同時記録する。

(3) 動物の訓練

① なぜモルモットか

モルモットは蝸牛インプラントには頻繁に使用されるが、機能回復の中枢神経機構の評価や音知覚の研究には訓練が難しいことから従来あまり利用されてこなかった (Petersen MR et al., 1977)。餌を強化因子としたオペラント条件づけの報告は極わずかしかない (検索 PubMed; rat x operant conditioning=9000 hits vs. guinea pig x operant conditioning=38 hits)。その原因は標準的な訓練法である 1 匹での訓練において、モルモットはほとんど動かず訓練自体が成り立たないか、応答性が極めて不安定であることによる。しかしその鋭敏な聴覚と種間コミュニケーションに多くの複雑な鳴き声を用いること、その周波数特性はヒト可聴域に入ること (Berryman, 1975; Harper, 1976)、末梢での機能、解剖学的知見の蓄積があることから、ヒト言語音の基本処理機構を研究するのに適する動物種の一つとして英国などで実験系として認められている。

② どのように訓練するか

Hartley 種、オス、体重 400-500g の SPF モルモット (三協ラボ) を使用。申請者が既に開発した、同時に複数匹が一個の餌を獲得する競争の原理に基づいた条件づけ技法を用いた (Ojima et al., 2012)。その原理は first come, first served 行動に基づき、他個体より先に条件音を感知し先に餌場に向かい、競争相手より先に食を獲得する様になる。この条件行動を音識別の規範とした。

4. 研究成果

(1) 行動実験

約 2 週間の条件音 (標準間隔音) による認識訓練で、90%以上の確率で動物は条件づけ音のみに餌取り行動を引き起こした。条件音以外の類似音には 0-10%の false positive 率を示した。この時点では 10/20% ISI の刺激音と 100%の標準 ISI 音の識別はできず、ほぼ全ての試行で 10/20% ISI の刺激音と 100%の ISI 音の両方に条件行動をした。しかしさらに 2 週間、両 ISI の識別訓練 (ISI 100%音にのみ給報酬) を継続させることにより、約 50%の確率で ISI 10/20%音に対して条件行動を抑制 (識別) するようになった。

(2) Naive 動物 (訓練無し) のノイズ様反復音に対する聴覚皮質の応答

図 3-1 に、条件音に相当する 100% ISI 基準音に対する無訓練動物の聴覚皮質 (AI, 一次聴覚野; DC, dorsal cortex) の応答を、図 3.2 には 20% ISI の刺激音に対する同一皮質での応答を示す。100% ISI 基準音では全ての音セグメントに対して応答した。しかし後述する条件付け後の 100% ISI 音に対する応答強度と比べると小さい。

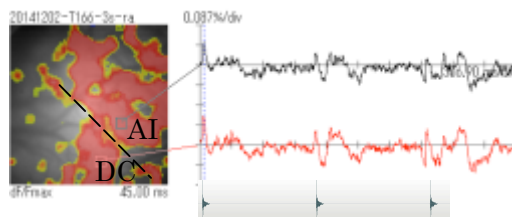


図3-1 図3-1 基準音 100% ISI に対する聴覚皮質の応答。訓練無し。左、活動マップ; 右、反応ピークチャンネルでの信号変化。AI、一次聴覚野; DC、dorsal cortex

20% ISI の波形では刺激音に対して最初の 2 個のセグメントに明瞭な応答を示したが、以降のセグメントには応答が著しく低下した。

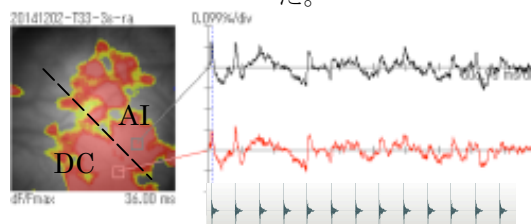


図3-2 20% ISI 刺激音による聴覚皮質応答 図3-1 と同一皮質、訓練無し。左、活動マップ; 右、指定チャンネルでの信号変化。AI、一次聴覚野; DC、dorsal cortex

(3) 条件付け動物のノイズ様反復音に対する聴覚皮質の応答

① 認識訓練後、極短期間 ISI 識別訓練を施した場合の、20%と 100% ISI に対する聴覚皮質の応答を以下に示す。

100% ISI 基準音を認識した個体に、1-2 日の短期間、20%-100%間の識別訓練を施すと100% ISI の全てのセグメントに対し、無訓練個体より良好な活動が生じた (図 3-3)。

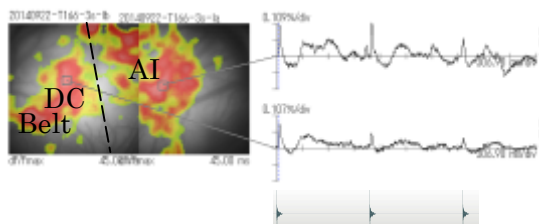


図 3-3 短期間訓練後の 100% ISI 音に対する聴覚皮質の応答 左、活動マップ; 右、ピークチャンネルでの信号変化。Belt, ベルト領野; 他の略字は図 3-1 を参照

一方 20% ISI の場合、無訓練個体に比べ最初の数セグメントへの応答は顕著化したが、それ以降は無訓練個体と同様に応答は無いか著しく弱かった (図 3-4)。

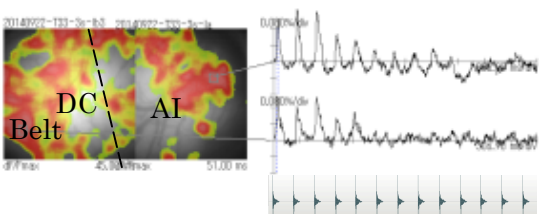


図 3-4 極短期間訓練後の 20% ISI 音に対する左聴覚皮質の応答 図 3-3 と同一皮質。左、活動マップ; 右、ピークチャンネルでの信号変化。略字は前図を参照

② 更に ISI 認識訓練を約 2 週間続けると、約半数の個体で 20% ISI 音を認識し、条件行動を起さなくなかった、(即ち刺激音を基準条件音と違うと認識して、条件行動を起さなくなかった)。その聴覚皮質の活動には大きな変化が認められた。20% ISI の刺激音では、無訓練群や極短期訓練群では音開始直後の数個のセグメントに対してのみ応答したが、訓練個体ではそれに加え、後半のセグメントにも強い活動が生じるようになった (図 3-5)。

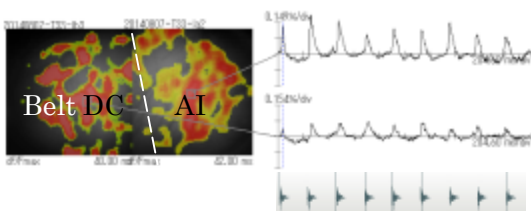


図 3-5 条件音認識訓練後、更に約 2 週間、20% ISI と条件音 (100% ISI 音) の識別訓練を行った個体の聴覚皮質応答。左、活動マップ; 右、ピークチャンネルでの信号変化。他の図と比べ時間を約 1.5 倍に引き延ばしている。略字は図 3-3 を参照

訓練期間が長いモルモットでは、音セグメントの間隔が短い場合、個々のセグメントを多数聞き取らないと ISI の違いを認識できないため、時間遅れのセグメントに対して追従して応答するようになったと考えられる。

(4) 訓練期間と応答の関係

表 1 にモルモットの条件付けの訓練期間の長さで刺激音に対する聴覚皮質活動の対応を現有するデータに基づきまとめた。ISI 識別の訓練期間の長さを、短期 (1-2 日以内)、中期 (1 週間)、長期 (2 週間以上) の 3 つに分けた。コントロールは条件付けを行っていない naive 動物である。表中の数字は計測皮質数を示す。20% ISI 刺激音の場合、コントロールおよび短期訓練の動物では、繰り返しの最初の数セグメントに反応するが、それ以降のセグメント音に対しては反応が悪い。中期および長期訓練の動物では、全てのセグメントに対して反応するようになる。また、無訓練動物では第一セグメントへの反応が最大であるのに対して、条件付け後 (短期、中期、長期) の動物では、第 2 セグメント以降に対する反応の方が第 1 セグメント反応よりも大きい。100% ISI の基準音の場合、無訓練動物では全てのセグメントに対して反応するが条件付け動物の反応よりも小さい。短期訓練動物では、無訓練同様に最初の数セグメントにのみ反応するがその後のセグメントに対しては反応が弱い。長期訓練動物では全てのセグメントに対して反応する。中期訓練動物は、短期と長期の中間の反応を示す。

	条件付け前	条件付け後		
		短期	中期	長期
刺激音	10/20% ISI	最初の2発に反応するがそれ以降悪い	最初の3発に反応するがそれ以降悪い	すべての靴音に反応
	皮質数	1	3	1
	100% ISI	すべての靴音に反応するが条件付け後に比べ小さい	すべての靴音に反応するが徐々に弱まる	すべての靴音に反応 短期に比べ後半の減少が少ない
皮質数	1	3	1	4

表 1 ISI 識別訓練期間と皮質応答の関係

(5) 今後の計画

時間を指標にした聴覚皮質の反応特性を調べる実験は少ないが、過去にはコウモリで報告されていた。いわゆる自らの発した音 (超音波) とそのエコーの時間差を検出する機構が、聴覚皮質に delay map として形成されている。コウモリ以外の動物はエコロケーションを行わないため、コウモリに見られるような delay map、また一般的に時間に関するマップは知られていない。

本研究は、先行する申請者自身の論文 (Horikawa and Ojima, eNeuro, 2017) と共に、皮質音処理に時間がどのように表現されるかを初めて明確に解明した。更なる個体数での実験を繰り返し論文としてまとめることが重要と思われる。

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 3 件)

- ① Horikawa J, Ojima H: Cortical Activation Patterns Evoked by Temporally Asymmetric Sounds and Their Modulation by Learning. eNeuro. Apr 21;4(2).2017 (doi: 10.1523/ENEURO.0241-16.2017. eCollection 2017 Mar-Apr.):査読有
- ② Kubota M, Sugimoto S, Hosokawa Y, Ojima H, Horikawa J: Auditory-visual integration in fields of the auditory cortex. Hear Res. 346:25-33. 2017. (doi: 10.1016/j.heares.2017.01.012):査読有
- ③ Ojima H, Horikawa J: Recognition of modified conditioning sounds by competitively trained guinea pigs. Front. Behav. Neurosci. 9:373.2016. (doi: 10.3389/fnbeh.2015.00373):査読有

[学会発表] (計 7 件)

- ① Hayashi K, Ojima H, Horikawa J: Changes in temporal pattern of AI activity after interval discrimination of repetitive sounds in guinea pigs. The 39th ARO Annual Midwinter Meeting, San Diego (USA), Feb. 20. 2016.
- ② Ojima H, Hayashi K, Taira M, Horikawa J: Changes in temporal activation pattern of the guinea pig's AI after interval discrimination. The 39th Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society, Pacifico Yokohama (Yokohama, Kanagawa), July 20-22, 2016.
- ③ 堀川順生, 柴田篤志, 太田諭, 杉本俊二, 小島久幸: 時間非対称の自然音とその逆転音に対するモルモット AI ニューロンの活動特性 日本音響学会聴覚研究会. 豊橋技科大 (愛知) 5月19-20日, 2016.
- ④ Horikawa J, Ojima H: Mechanisms of cortical suppression evoked by the reversed form of a damping natural sound. The 38th ARO Annual Midwinter Meeting, Baltimore (USA), Feb.21-25. 2015.
- ⑤ Ojima H: Contrast in processing of sounds played forward and reversely and leaning effects on this contrast. Colloquium-NIH Science Events. Bethesda (USA), Feb. 24, 2015. (<http://calendar.nih.gov/app/MCalWelcome.aspx>)
- ⑥ Ojima H, Ishida T, Taira M, Horikawa J: Contrast between activations evoked by forward and backward reproduction of a natural sound in the auditory cortex increases after classical conditioning. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Pacifico Yokohama (Yokohama, Kanagawa), Sept.11-13, 2014.
- ⑦ Ojima H, Tachi E, Horikawa J, Taira M: Spectral and temporal cues for recognition of non-harmonic natural sounds by guinea

pigs. The 37th ARO Annual Midwinter Meeting, San Diego (USA), Feb 22-26, 2014.

[図書] (計 4 件)

- ① 福島誠、小島久幸: 側頭連合野の聴覚情報処理. 神経研究の進歩, 医学書院 vol. 68 (no. 11), pp.1371-1378, 2016.
- ② 堀川順生, 柴田篤志, 太田諭, 杉本俊二, 小島久幸: 時間非対称の自然音とその逆転音に対するモルモット AI ニューロンの活動特性. 日本音響学会聴覚研究会資料. vol.46 (no.3), pp.141-146, 2016.
- ③ 林興輝、小島久幸、堀川順生: 音の時間間隔学習後の聴覚皮質活動の変化. 日本音響学会聴覚研究会資料 vol.45 (no.3), pp.112-115, 2015.
- ④ 小島久幸: 神経系の機能、局在からネットワークまで 18. 聴覚-ヒト聴覚皮質でのトノトピー, 文光堂 pp. 94-96, 2015.

[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 小島久幸(OJIMA, Hisayuki)
東京医科歯科大学・医歯学総合研究科
・非常勤講師

研究者番号: 00104539

(2) 研究分担者 堀川順生 (HORIKAWA, Junsei)
豊橋技術科学大学・大学院工学研究科情報知能工学・教授

研究者番号: 50114781

(3) 連携研究者 () 研究者番号

(4) 研究協力者 林 興輝 (HAYASHI Koki)
豊橋技術科学大学・大学院工学研究科情報知能工学・修士課程学生