

## 時系列情報の神経回路基盤

## Neural basis of syntactic information processing

課題番号：24220009

渡邊 大 (WATANABE DAI)

京都大学・大学院医学研究科・教授



## 研究の概要

ヒトは、生後に親や周囲の人々を観察し模倣することで言語のような複雑な音声コミュニケーションの能力を獲得する。言語をはじめ社会学習を通じて獲得されるスキルは、単純な動作ではなく、複数の異なる動作が時系列規則に従って正確に発現されなければならない。ソングバードの音声学習・制御を中心に、文法規則など時系列情報の神経回路基盤を明らかにする。

研究分野：総合領域・脳神経科学・神経科学一般

キーワード：音声コミュニケーション、模倣学習、大脳-基底核、神経回路

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトは、生後に親や周囲の人々を観察し模倣することで言語のような複雑な音声コミュニケーションの能力を獲得する。このように社会学習を通じて獲得されるヒトの言語は、複数の異なる音素から構成され、その音素配列の時系列構造や規則性すなわち「文法」を理解する能力を必要とする。しかしながら、複雑な音素配列を学習する適当な哺乳類モデル動物が存在しないため、言語の獲得および認知・制御に関わる神経メカニズムの生物学的基盤について詳細は不明である。

## 2. 研究の目的

ソングバードの音声制御系（運動系）およびこれと類似した構造をもつ哺乳類の大脳-基底核に注目して、文法（時系列規則）に従うシーケンス制御・認知の神経回路機構を明らかにする。そこで、「音声制御系神経回路（運動系）における文法情報処理機構」、「聴覚系神経回路（感覚系）における文法情報抽出機構」および「ソングバードにおける新規分子遺伝学的手法の開発」の3課題を行う。

## 3. 研究の方法

自由行動下での神経活動計測技術により、音声コミュニケーションを妨げることなく単一細胞の精度で神経活動計測を行う。ファイバー顕微鏡により、従来の2光子レーザー顕微鏡では不可能な行動中の脳深部のシグナル分子動態についてイメージングを行う。以上のように独自に開発した計測手法と分子遺伝学的手法を駆使し、ソングバードの音声制御系、哺乳類モデル動物の類似の神経回路の動作原理、機能制御を明らかにする。

## 4. これまでの成果

課題1 音声制御系神経回路（運動系）における文法情報処理機構

文法情報をコードする神経活動（活動電位）パターン生成プロセスを明らかにするためには、上流からのシナプス入力を解析することが重要である。閾値以下の微弱なシナプス電位は、従来用いられてきた細胞外記録では計測不可能であり、細胞内記録により計測する必要がある。そのために小型軽量の細胞内記録技術を開発した。現在、細胞内記録と細胞外記録を組み合わせることで音声行動中の神経活動計測を進めている。

前運動野 HVC には、大別すると、皮質-線条体投射型ニューロン ( $HVC_X$ ニューロン) に加えて、1次運動野 RA への皮質-皮質型投射ニューロン ( $HVC_{RA}$ ニューロン) が存在するために、従来は  $HVC_X$ ニューロンの機能を個別に解析することが困難であった。光感受性物質を逆行性に  $HVC_X$ ニューロンに導入し、光照射により  $HVC_X$ ニューロンを選択的に破壊する技術を確認した。現在、 $HVC_X$ ニューロンの選択的破壊が音声行動に及ぼす影響を解析している。

さらに社会行動を阻害しないようにワイヤレス方式の神経活動計測技術を開発した。本技術を用いて、視床束傍核から記録を行い、社会的接触により束傍核ニューロンの神経活動が持続的に促進することが明らかとなった。束傍核は視床-線条体投射の主たる起源の一つであることから、他個体との接触による行動の切替えに視床-線条体経路が関与している可能性を示唆する。

## 課題 2. 聴覚系神経回路(感覚系)による音声シーケンス情報抽出機構

聴覚情報は、内耳で周波数毎に分解されて神経信号に変換される。これに対応して聴覚系の各階層では、周波数情報が各神経回路の位置情報に変換される「tonotopy」の性質を有し、低音から高音までそれぞれの周波数に応答する神経細胞が規則的に配列している。聴覚系 tonotopy に注目してその精緻な回路構築の分子基盤を明らかにするために、鳥類の神経回路操作を可能とするウイルスベクターの開発を行った。その結果、鳥類アデノ随伴ウイルス (A3V) ベクターが分化した神経細胞でも効率良く遺伝子導入可能であることを見出した。さらに A3V ベクターを用いて、位相差 (時間情報) 検出回路である大細胞核-層状核での細胞タイプ特異的な遺伝子発現技術の開発に成功した。

tonotopy の精緻な神経投射および周波数毎の神経機能分化に関する分子群の網羅的探索を行い、候補遺伝子の同定を行った。現在、得られた候補遺伝子について、A3V ベクターを用いて解析を進めている。

## 課題 3. 模倣学習プロセスに対する分子遺伝学的手法による解析

ソングバードは、ヒトと同様に生後発達の過程で模倣により複雑な音声を獲得する。発達期の社会的接触の程度により、音声学習の効率に変化することを明らかにするとともに、前脳での社会的接触と相関のある遺伝子群の同定を行った。現在、これらの遺伝子群の調節に関わるシグナル分子について解析を進めている。

異なるシグナル伝達経路のハブとして機能する転写因子 CREB について、レンチウイルスベクターを使ってトランスジェニック個体を作成し、その活性を操作することに成功した。CREB 転写活性を抑制したトランスジェニック群では、聴力は正常であり、生得的な音声であるコール (地鳴き) は変化しないが、ソング (さえずり) の模倣学習が障害された。以上の結果は、CREB の活性化が模倣学習に必須であることを示唆する。

レンチウイルスベクターによるトランスジェニックソングバード作成では、導入可能な遺伝子コンストラクトのサイズが限定され、マウスで実現されているような遺伝子ターゲティングも困難である。より自由度の高い分子遺伝学的操作を確立するために、始原生殖細胞の培養について条件検討を行い、2週間以上の培養に成功した。より長期間の培養条件を検討するとともに、CRISPR などゲノム編集技術による遺伝子操作を実現できるように遺伝子導入の条件検討を進める。

## 5. 今後の計画

細胞内記録による HVC および関連領域のシナプス入力計測、イメージングによる細胞内シグナル動態の解析を実施し、音声シーケンスの神経情報生成プロセスを明らかにする。また文法情報を基底核へ伝達する HVC<sub>x</sub> ニューロンの選択的破壊の音声制御・音声認識への影響を解析する。さらにソングバードの音声制御系と類似の構造をもつ哺乳類の大脳-基底核神経回路に注目して行動シーケンスの神経回路機構について解析する。Tonotopy 構築に関与する候補遺伝子群について A3V ベクターによる発現系で機能解析を進める。またトランスジェニックソングバードを用いて、社会的接触による音声学習促進の神経機構の解析を行う。

## 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Hasegawa, T., Fujimoto, H., Tashiro, K., Nonomura, M., Tsuchiya, A., and Watanabe, D. (2015) A wireless neural recording system with a precision motorized microdrive for freely behaving animals. *Sci. Rep.* **5**, 7853
2. Watakabe, A., Takaji, M., Kato, S., Kobayashi, K., Mizukami, H., Ozawa, K., Ohsawa, S., Matsui, R., Watanabe, D., and Yamamori, T. (2014) Simultaneous visualization of extrinsic and intrinsic axon collaterals in Golgi-like detail for mouse corticothalamic and corticocortical cells: a double viral infection method. *Front Neural Circuits* **8**
3. Sooksawate, T., Isa, K., Matsui, R., Kato, S., Kinoshita, M., Kobayashi, K., Watanabe, D., Kobayashi, K., and Isa, T. (2013) Viral vector-mediated selective and reversible blockade of the pathway for visual orienting in mice. *Front Neural Circuits* **7**, 162
4. Kinoshita, M., Matsui, R., Kato, S., Hasegawa, T., Kasahara, H., Isa, K., Watakabe, A., Yamamori, T., Nishimura, Y., Alstermark, B., Watanabe, D., Kobayashi, K., and Isa, T. (2012) Genetic dissection of the circuit for hand dexterity in primates. *Nature* **487**, 235–238
5. Matsui, R., Tanabe, Y., and Watanabe, D. (2012) Avian adeno-associated virus vector efficiently transduces neurons in the embryonic and post-embryonic chicken brain. *PLoS ONE* **7**, e48730

平成 25 年度 文部科学大臣表彰 (科学技術分野) 受賞

ホームページ等

研究室 : <http://www.phy.med.kyoto-u.ac.jp/>