

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26240019

研究課題名(和文)ミラーニューロンの形成過程：トリの聴覚発声系をモデルとした学習・発達研究

研究課題名(英文)Genesis of mirror neurons: Learning and development in the songbird vocal-auditory system

研究代表者

岡ノ谷 一夫 (OKANOYA, Kazuo)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：30211121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,000,000円

研究成果の概要(和文)：模倣学習では、他者の動きを観察し、自己の動きを制御する必要がある。ミラーニューロン(MN)はこの過程で必要とされる神経細胞で、観察と実行の双方で活動する。鳥の高次発声中枢にMNがあるとされているが、それがどう形成されるのかわかっていない。私たちはジュウシマツの高次発声中枢の神経細胞の一部が脳基底核に投射すること、そしてその細胞の1/4程度が特定の歌要素を聴く際とその歌要素を発する際、いずれでも活動することを発見した。さらに、発達の過程で遺伝子発現の調整に関わる因子を阻害すると歌の学習に異常が生ずることを見いだした。以上の結果は、MNの形成過程でエピジェネティクスが作用することを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Imitative learning involves observation and execution. Mirror neurons are suggested to be utilized in this process. These neurons fire both during observation and during execution of a particular behavior. Mirror neurons are identified in songbirds but how they are formed is not known. We found that in the high vocal center of Bengalese finches, about 25% of those neurons that project to the basal ganglia are mirror neurons showing selectivity for specific song notes both during listening and during singing. We further examined reasons why not all neurons projecting from the high vocal center to the basal ganglia are mirror neurons. We inhibited factors involved in the gene expression during development and found that the manipulation disrupted normal song development. Results suggest that during the genesis of mirror neurons, epigenetics plays an important role.

研究分野：生物心理学

キーワード：ジュウシマツ 鳴禽類 歌学習 ミラーニューロン エピジェネティクス 電気生理学 発達 感覚運動学習

1. 研究開始当初の背景

ミラーニューロン(MN)とは、ある行動を自身が行っても他者が行っているのを観察しているだけでも同様に活動するニューロンのことである。1996年にRizzolattiらによってMNが発見されて以来、MNは模倣や共感など人間性の多様な局面に関わることが示唆されている。

MNの形成過程について大きく分けて3つの仮説が提案されているが、実験的な検証はほとんどない。第1に、MNは他者の意図理解に適応的だったために進化したというもの。第2に、MNは運動系と感覚系の作用の随伴性による広義の連合学習の副産物であるというもの。最後に、MNはエピジェネティックな過程により形成されるというもの。以上は対立仮説のように議論されることが多いが、適応説はMN形成の究極要因、エピジェネシス説はその発達要因、連合説は至近要因に関するものである。これらは対立仮説としてではなくむしろ相互に補完するものとして捉えられるべきである。

私は長年にわたり鳴禽類特にジュウシマツの聴覚発声系の神経行動学を研究してきた。2005年に、ジュウシマツの高次発声中枢HVCにおいて、トリがうたっているときにもそのトリに他個体の類似した歌を聴かせたときにも同様に活動するニューロンを同定した。鳥類の聴覚発声系におけるMNの第一報告を目指してデータを蓄積したが、残念ながら米国の研究グループによる報告に先を越されてしまった。その後はMNの出力を受ける神経核であるX野のニューロンが歌をうたう際にも餌強化を受ける際にも活動することを発見し、歌と情動系の関連に研究を進めた。並行して、和多和宏(北大)らと、ジュウシマツの歌の複雑さとX野におけるアンドロジェン受容体の発現に相関関係がありさらにこれがメチル化の度合いに関連していることを発見して、歌学習のエピジェネシスについての世界初の論文として発表した。こうした経緯で、MNの形成過程の詳細をトリで解明するという本研究を着想した。

2. 研究の目的

本研究計画は、トリにおいて行動と神経細胞・分子に至るMN形成のメカニズムを解明し、連合説とエピジェネティック説によってどこまで説明できるのかを検討し、また、適応説が予想するような機能をMNが担うかどうかにも考察する。

特色はトリの歌に着目したことである。MNの研究はほとんどマカクザルの手が物をつかむ動きをモデルとして進められてきたが、視覚入力観察位置による変化が非常に大きく、また、本人の手の動きの視覚像と他者のそれとは大きく異なるため、連合説を電気生理学的に検討することは困難である。発声と聴覚のMNであれば、音声信号の頑健

性により、あるトリがうたった歌はそのまわりのトリにも同様に聞こえるため、逆モデルの構成が現実的であり、電気生理学的な実験も十分可能である。

独創性として、MN形成についての具体的な仮説を持つことがある。トリのMNは大脳基底核の神経細胞にシナプスし、また大脳基底核の神経細胞はドーパミンの投射を受け、強化学習が起こっている。もしMNそのものは連合学習によって形成されたとしても、それに先立ち強化学習によりエピジェネシスが起これ、聴覚系から発声系へのインタフェイスで連合学習が進展しやすい環境が準備されるのかも知れない。このことにより、エピジェネティックな過程と連合学習が補完的に働く可能性がある。

MNはヒトの文化の基盤として喧伝されすぎたきらいがあるが、その形成メカニズムについてはほとんど何もわかっていない。本研究は、マカクザルやヒトの視覚運動MNよりはずっと単純に理解可能なトリの聴覚発声システムをモデルとしてMNの形成メカニズムを明らかにし、その知見をもってヒトのMNについてのより深い理解に貢献しようとするものである。

3. 研究の方法

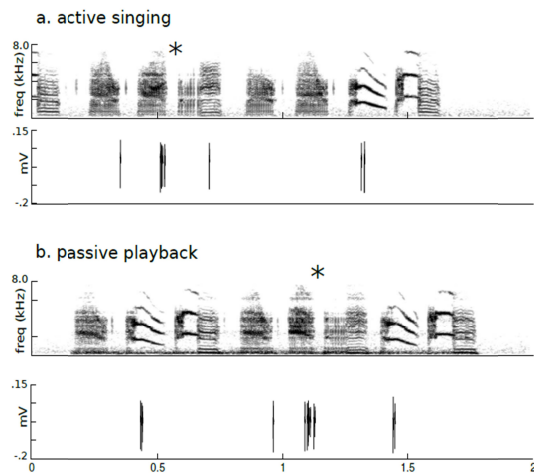
トリの頭部にマニピュレーターを装着し電極先端を高次発声中枢HVCに刺入すると、歌をうたう際に活動する神経細胞を記録することができる。トリが歌をうたっていない時に、その個体の歌を再生して聴かせ、その場合にも同じ神経細胞が活動したならば、それがトリの聴覚発声MNである。トリにとっては、自己がうたっていない時に聴こえてくる歌は他個体の歌であるから。歌をうたう際と歌を聴く際のこの神経細胞の活動から、これらがどのくらいのずれで相関を持つのか、どのような強度の相関を持つのかを調べることができる。このような実験が、トリを用いたMNの実験の基本となる。初年度は、MNを同定し記録する技術を洗練させ、効率よくデータが取れ分析できる環境を確立する。また、HVC以外の歌制御神経核でもMN様細胞を探索する。

歌学習期に生じると思われるメチル化を阻害することで、仮説の検証が進む。まず、どの薬剤で、どのくらいの薬量が適切なのかを決定しなければならない。メチル化阻害剤の1つ、パルプロ酸は皮下投与が可能なのでこれが候補になる。過去の研究を参考に、歌学習に明らかな影響が生ずる薬量を定める。

若鳥に歌を教示する際、1日おきに異なる歌を教示すると、最終的には2つの歌を混ぜ込んだ歌をうたうことが観察できる。この現象を利用し、A歌を教示する日はメチル化阻害剤、B歌を教示する日は生理食塩水を投与することで、エピジェネティックな過程は止められるが、連合学習の機会は残るといった操作が可能である。

4. 研究成果

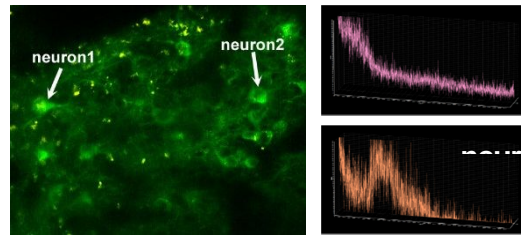
ジュウシマツを用いてミラーニューロンの形成とエピジェネティクスに関わる研究を進めてきた。これまでの研究で、ミラーニューロンはHVCからXに投射するニューロン（HVC-Xニューロン）の約半数であることがわかった。また、ミラーニューロンとして同定されたニューロンもうたっているときと同じ歌節にのみ応答するものではないことが明らかになった。結果として、典型的なミラーニューロンは、HVC-Xニューロンの1/4程度であろうと考えられる。以下の図は、本研究で実際に得られたミラーニューロンの1つである。a.b.ともに、上段が歌のソナグラム、下段が神経活動である。a.が歌をうたっている際、b.が録音された歌を聴いている際の記録である。いずれにおいても、*をつけた歌要素において、特に強い活動が示されており、このニューロンがミラーニューロンであることを示している。



HVC-Xニューロンに特異的な遺伝子操作を、アデノ随伴ウイルス AAV と Cre-Flex システムによって実現することができるようになった。AAV を X 野に注入し、HVC-Xニューロンを選択的に標識し、その活動を2光子顕微鏡によって生体内観察することができた(隣図)。現在、DREDDシステムによる人為的な神経興奮操作、またボツリヌス毒素 dTA による選択的細胞死誘導実験を継続して進めており、これらの操作により歌パターン生成に影響があるという結果を得つつある。また、学習臨界期中・後のエピジェネティクス動態の攪乱を目的として、ヒストン脱アセチル阻害剤 SAHA 投与を行った。結果、発声学習臨界期後の固定化歌には大きな変化を観察できなかったが、学習臨界期中の投与においては、正常個体では見られない音素発達を示す個体を確認した。

当初はすべてのHVC-Xニューロンがミラーニューロンであるという仮定で研究を進めてきた。しかし、それらのニューロンの3/4

はミラーニューロンではない。ミラーニュー



ロンでないHVC-Xがどのような機能を持つのが興味深い。もしくは、HVC-Xニューロンにエピジェネティクスが働いて始めてミラーニューロンとなる、という仮説も検討可能である。研究機関は終了するが、引き続きこの仮説を検討していくつもりである。

HVC-Xニューロンの分子生物学的な同定が可能になり、また、HVC-Xニューロンの1/4しかミラーニューロンがないことが明らかになったこと、さらに、エピジェネティクスの阻害により歌の発達が異常になることから、HVC-Xニューロンの一部にエピジェネティクスが働くことでミラーニューロンとして機能するという新たな仮説に到達することができた。この仮説により、ミラーニューロンになる条件・ならない条件を特定してゆくという研究展開が考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計11件)

1. Prather, J., Okanoya, K., & Bolhuis, J. J. (2017). Brains for birds and babies: Neural parallels between birdsong and speech acquisition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 印刷中
2. Beckers, G. J., Berwick, R. C., Okanoya, K., & Bolhuis, J. J. (2017). What do animals learn in artificial grammar studies?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 印刷中
3. Koumura, T., & Okanoya, K. (2016). Automatic recognition of element classes and boundaries in the birdsong with variable sequences. *PloS one*, 11(7), e0159188.
4. Shiba, S., Okanoya, K., & Tachibana, R. O. (2016). Effects of background noise on acoustic characteristics of Bengalese finch songs. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 140(6), 4039-4045.
5. Ono, S., Okanoya, K., & Seki, Y. (2016). Hierarchical emergence of sequence sensitivity in the songbird auditory forebrain. *Journal of Comparative Physiology A*, 202(3), 163-183.
6. Fujii, T. G., Ikebuchi, M., & Okanoya, K. (2016). Auditory Responses to Vocal Sounds in the Songbird Nucleus Taeniae of the Amygdala and the Adjacent

- Arcopallium. *Brain, Behavior and Evolution*, 87(4), 275-289.
7. Sasahara, K., Tchernichovski, O., Takahasi, M., Suzuki, K., & Okanoya, K. (2015). A rhythm landscape approach to the developmental dynamics of birdsong. *Journal of The Royal Society Interface*, 12(112), 20150802.
 8. Okanoya, K. (2015). Evolution of song complexity in Bengalese finches could mirror the emergence of human language. *Journal of Ornithology*, 156(1), 65-72.
 9. Ono, S., Kagawa, H., Takahasi, M., Seki, Y., & Okanoya, K. (2015). Limitations of a habituation task to demonstrate discrimination of natural signals in songbirds. *Behavioural processes*, 115, 100-108.
 10. Suzuki, K., Ikebuchi, M., Bischof, H. J., & Okanoya, K. (2014). Behavioral and neural trade-offs between song complexity and stress reaction in a wild and a domesticated finch strain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 46, 547-556.
 11. Okanoya, K. (2014). Learning, epigenetics, and computation: An extension on Fitch's proposal. Comment on 'Toward a computational framework for cognitive biology: Unifying approaches from cognitive neuroscience and comparative cognition' by W. Tecumseh Fitch. *Physics of life reviews*, 11, 389-390.

〔学会発表〕(計 7件)

1. Koumura, T., & Okanoya, K. (2016). Probabilistic syntax model of the birdsong using a simple artificial neural network with feedback of the previous sequences. 31st International Congress of Psychology, Yokohama, Japan, July 24-29.
2. Koumura, T., & Okanoya, K. (2016). Probabilistic syntax model of the birdsong-a study based on model selection. 31st International Congress of Psychology, Yokohama, Japan, July 24-29.
3. Fujii, T., Ikebuchi, M., & Okanoya, K. (2016). Auditory responses in the nucleus taeniae of the amygdala and its adjacent region in songbirds. 31st International Congress of Psychology, Yokohama, Japan, July 24-29.
4. Shiba, S., Okanoya, K., & Tachibana, R. O. (2015). Effect of noise on each song element in Bengalese finch: Change of acoustic features. The

Acoustical Society of America, fall 2015 meeting, Jacksonville, Florida, USA, November 2-6.

5. Fujii, T., Ikebuchi, M., & Okanoya, K. (2015). Neural responses to songbird vocalizations in the nucleus taeniae of the amygdala in Bengalese finches. The Acoustical Society of America, fall 2015 meeting, Jacksonville, Florida, USA, November 2-6.
6. Okanoya, K. (2014). Evolution of song complexity in Bengalese finches might mirror the emergence of human language. 26th International Ornithological Congress, Tokyo, Japan, August 18-24.
7. Takahasi, M., Okanoya, K. & Mazuka, R. (2015). Development of vocal temporal patterns in human infants and juvenile songbirds. *Behaviour* 2015, Cairns, Australia, August. 9-14.

〔図書〕(計 1件)

1. Okanoya, K. (2017). The biopsychology of birdsong: birdsong as a biological model for human language. In: J. Call (Ed.). *The APA Handbook of Comparative Psychology*, Vol. 1., pp. 539-555.

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡ノ谷 一夫 (OKANOYA, Kazuo)
 東京大学・大学院総合文化研究科・教授
 研究者番号：30211121

(2)研究分担者

和多 和宏 (WADA, Kazuhiro)
 北海道大学・理学研究院・准教授
 研究者番号：70451408

池淵 万季 (IKEBUCHI, Maki)
 国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合
 研究センター・研究員
 研究者番号：20398994