

令和元年6月19日現在

機関番号：13904

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00234

研究課題名(和文)聴覚皮質における音の時間的構造情報の抽出機構の研究

研究課題名(英文)Temporal information processing of sounds in the guinea-pig auditory cortex

研究代表者

堀川 順生 (HORIKAWA, Junsei)

豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・シニア研究員

研究者番号：50114781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：音の認識では、音の周波数とともに音の時間的構造が重要な手掛かりである。神経系による周波数の情報処理に関しては多くが解明されているが、音の時間的構造の情報処理については未解明である。本研究の目的は、音素やモーラを構成する20～100msの間隔およびこれよりも長い100～1000msの間隔における時間的処理の神経機構について光計測と微小電極計測により調べることである。時間的に非対称な自然音(靴音)とその逆転音、および繰り返し音を用いてモルモットに条件付けを行い、動物が靴音と逆転音を識別すること、繰り返し音の時間間隔を識別すること、さらにこれらの識別に聴覚皮質が関わることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、音や音声言語の認識において重要な要因である音の時間的構造の検出に、聴覚皮質がどのように関わるかについて、動物実験を行って調べた研究である。その結果、動物も人と同様に音の時間的構造を検出すること、その検出には聴覚皮質が関わること、および、時間的構造を有する音に対する条件付け訓練により聴覚皮質ニューロンの反応特性が可塑的に変化することが明らかになった。このような研究は世界的に数が少ないこと、本研究は聴覚皮質における音の認識機構の解明に寄与するものであること、また、査読付き国際雑誌に掲載されたことから、学術的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：Temporal information of the sounds is an important cue for recognition of the sounds as well as the frequency information. However, the neuronal processing of the temporal information of sounds has not been well investigated. In this study, we aimed to investigate the neuronal processing of temporal information of sounds in the auditory cortex of guinea pigs, using an optical recording and the extracellular recording techniques. Using temporally asymmetric natural sounds (recorded footstep sounds, F) and their temporal-reversal (rF), and repetitive sounds of F with various intervals, guinea pigs were trained under the classical conditioning to these sounds with rewards. We found that guinea pigs could discriminate F from rF and the interval trained from untrained intervals. We also found that the neuronal activity of the auditory cortex was changed plastically after the training and that the change conformed to the behaviors of the guinea pigs after the training.

研究分野：聴覚生理学、神経科学、コンピュータ科学

キーワード：聴覚皮質 音の時間的構造 時間逆転音 光計測 微小電極計測 STRF(周波数時間応答野) 条件付け モルモット

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

音の認識では、音の周波数の情報と音の時間的構造の情報が重要な手掛かりである。神経系によるこれらの手がかりの処理では、周波数の情報処理に関しては多くが解明されているが、時間的構造の情報処理はあまり解明されていない。音の時間的構造に関するこれまでの研究で、振幅変調 (AM) 音や繰り返し音に対する応答特性や無音区間の検知閾が調べられている [1, 2]。聴覚神経系のレベルごとに応答が追随する変調周波数 (あるいは繰り返し頻度) は異なり、一般的に低次ほど高く (下丘: 128-256 Hz)、高次になるほど低くなる (AI: 2-10 Hz、ベルト領域: 2 Hz) [2]。これは時間分析幅が高次聴覚系になるほど長くなることを示している。無音区間の検知閾は、皮質領域に関わらず 40ms 程度である [1]。時間逆転音を用いた研究も行われている。時間逆転音は周波数成分が同じで時間構造のみが異なるため、時間的構造のみに対する応答が抽出できる。人の心理物理計測では、音声を 40-50ms 以下の区間で逆転して接続した場合には音声として聞き取れるが、これより長い区間で逆転して接続した場合には音声として聞き取れない [3]。この時間窓内ではスペクトル構造のみが重要であり、時間的構造は必要とされないこと、しかしこれを超える時間窓では時間構造が必要になることを示している。マーモセットの聴覚皮質には、種固有の鳴き声とその逆転音に対してスペクトル構造に忠実に (対称的に) 応答するニューロンと、スペクトルの時間構造に依存して非対称的に応答するニューロンがある [4]。これは、ニューロン毎に鳴き声の時間的構造が応答に影響を与える場合 (非対称的応答) と、与えない場合 (対称的応答) があることを示す。これらの研究から、聴覚皮質ではニューロンおよび皮質領域ごとに異なる時間分析窓により音のスペクトル情報と時間的情報が処理されており、人では時間的情報は 50ms 以上の分析窓により行われることが示される。

筆者らは、微小電極法および電位感受性色素 (RH795) による光計測法を用いて、モルモットの聴覚皮質の神経活動パターンを計測してきた [5, 6]。またモルモットを自然音に対する条件付けを行い [7]、逆転音に対する動物の行動と聴覚皮質活動とが良く対応することを示した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、聴覚皮質における音の時間的情報の処理機構を動物実験により調べることである。音素やモーラを構成する 20 ~ 100ms の時間間隔およびこれよりも長い 100 ~ 1000ms の時間間隔の知覚における時間的情報の処理の神経機構について光計測と微小電極計測により調べる。刺激音として、時間的に非対称な自然音 (靴音) とその逆転音、および繰り返し音を用いる。動物に靴音あるいは繰り返し音に対する条件付けを行い、動物が靴音と逆転音を識別するか、および繰り返し音の時間間隔を識別するかについて検証するとともに、条件付け後の聴覚皮質の反応が可塑的に変化するかについて調べる。この目的のため次の 3 つの研究を行う。

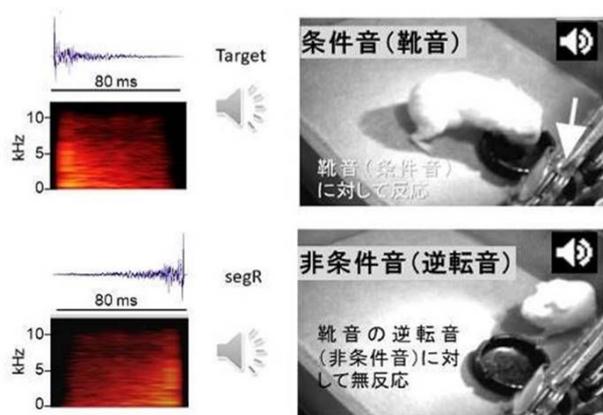
- (1) 時間的に非対称な自然音 (靴音) に対する条件付けを行った動物および条件付け無しの動物の聴覚皮質活動を光計測し、靴音と逆転音に対する非対称性活動の増減を比較し、その皮質分布を調べ、聴覚皮質のどこに時間情報処理に関わるニューロンが存在するのかを明らかにする。
- (2) 靴音およびその逆転音に対する聴覚皮質ニューロンのスパイク活動を微小電極を用いて記録し、条件付け動物と条件付けなしの動物間で応答特性の比較を行う。応答特性として応答の強度および周波数 時間応答野 (STRF) を調べ、ニューロンの時間軸方向でのフィルター特性変化の様子を解析する。
- (3) 特定の時間間隔に対して条件付けを行い、条件付け動物と条件付け無しの動物の聴覚皮質活動を光計測して比較し、聴覚皮質の可塑的变化を調べる。

### 3. 研究の方法

動物実験は豊橋技術科学大学動物実験審査会による承認 (動 26-7、動 27-3) と東京医科歯科大学動物実験委員会による承認 (no.150209A, no.0160311A) および NIH 動物実験ガイドラインに基づき実施された。

#### (1) 条件付け

モルモットの条件付けは通常 2 週間かけて行われる。条件音に対して給仕し、その他の音に対して給仕しないという報酬を用いた古典的条件付けを行う。条件付けタスクへの興味を持続させるため条件付けは 2 匹で行い、競争させた。条件音として靴音あるいはその時間逆転音を用いた。時間間隔に対す条件付けでは、最初に時間間隔 1150ms (100%) の靴音を聞かせてモルモットの餌箱に給餌する。するとこの靴音に反応



Ojima et al. 2013, 2016

図1 時間的非対称音 (靴音) に対する条件付け

し餌箱に近寄ってくるようになる。その後、時間間隔 100%の靴音で給餌し、時間間隔の狭い靴音（間隔 20%）で給餌しないという方法を用いて、時間間隔の異なる靴音を識別させるという訓練を行う。訓練期間は、短期訓練が2週間、中期訓練が3週間、長期訓練が4週間である。

## (2) 光計測および微小電極計測

聴覚皮質からの神経活動の計測には、光計測法と微小電極法を用いた。モルモットはケタラルール(40mg/kg)およびセラクタル(12.5 mg/kg)による麻酔下で、気管切開、カニューレ挿管を行い、頭部を小動物用頭部固定装置で固定した後、左側の側頭骨を除去し聴覚野を露出した。光計測では電位感受性色素 (RH795) で聴覚皮質を染色し、蛍光信号を 100x100 チャンネル CMOS カメラ (MiCAM Ultima) で 2ms/frame で撮像し、各チャンネルにおける信号強度を計測した。微小電極計測ではタングステン微小電極を一次聴皮質に垂直に刺入し、細胞外記録を行った。記録されたスパイク電位は PST ヒストグラムおよびドットラスタで表示した。靴音(F) に対する反応とその逆転音 (rF) に対する反応を比較するために、PST ヒストグラムから 50ms 間のスパイク数を計測し、選択制指数 ( $s=(F \text{ に対する反応} - rF \text{ に対する反応}) / (F \text{ に対する反応} + rF \text{ に対する反応})$ ) を求めた。またスパイク電位記録から STRF (周波数 - 時間応答野) を求めた。STRF はスパイク電位が生じたときの時間を 0 とし、その前後 -240ms から 60ms の間で作成した。

## (3) 音刺激

音刺激には、純音 (0.5-16kHz、100ms、始末端傾斜 5ms) および録音した靴音 (F) とその時間逆転音 (rF) (図 1) および rF の一部を消去した部分消去音 (図 2 上) を用いた。時間間隔に対する条件付けには F の繰り返し音を用い、時間間隔を 115 - 2300ms の間で変化させた (図 2 下)。STRF 計測用の音刺激は、125Hz-32kHz (8 オクターブ) を 96 個の周波数に分け (12 個/オクターブ) その 96 音の中からランダムに 8 音 (または 16 音) を組み合わせて複合音を作成し、これを 1 セットとした。1 セットの音の長さは、20ms (始末端傾斜 2ms) または 40ms (始末端傾斜 4ms) である。これらの複合音をランダムに 900 (または 450) セット作成し無音区間を挟まずに接続した。全体の長さは 18s (20ms x 900 または 40ms x 450) である。計測では、この音を 30 回提示した。

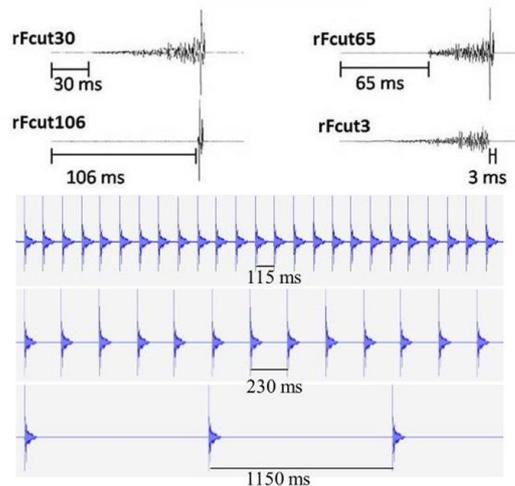


図 2 靴音の部分消去音 (上) と繰り返し音 (下)

## 4. 研究成果

### (1) 靴音に条件付けしたモルモットの行動反応

図 3 は F に条件付けした 18 匹のモルモットの F (図内では T) とその時間逆転音 rF (図内では segR) に対する行動反応を示す。15 匹が F に反応し、17 匹が rF に反応せず、モルモットが F と rF を区別していることが分かる。さらに F の最初の 17ms を逆転させた音 (ONrev) と F とは区別しない。また、F の立ち上がりの最大振幅部を消去した音 (ONcut) も F と区別しない。これらの結果から、モルモットは F とその時間逆転音 rF を聞き分けていること、また、処理の時間窓は 17~90ms の間にあり、人の音節処理の時間窓 40~50ms に近いことが示された。

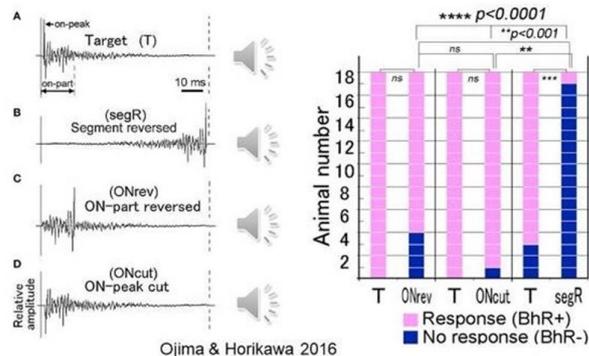


図 3 時間非対称音 (靴音) と逆転音の識別 (行動実験)

### (2) 光計測による靴音と時間逆転音に対する聴覚皮質の活動

靴音 F に条件づけしたモルモット (Trained) と条件付けしていないモルモット (Naive) の聴覚皮質の F および rF に対する活動を光計測法により計測した。図 4 に聴覚皮質の時空間的活動パターンを示す。Naive 動物では F に対する一次聴覚皮質 (A1) の活動が大きく、rF に対する A1 の活動は小さい。これに対して、Trained では F に対する A1 活動は大きい、rF に対する A1 活動はほとんど見られなくなる。さらに、Trained では A1 の腹側部に位置する VA 領域の F に対する活動が大きくなる。Trained の 12 皮質と Naive の 12 皮質の活動の統計的検定によりこれらの差は有意であることが確認されている。これらの結果は、F に対する条

件付けはAIおよびVAの活動を可塑的に変化させることを示している。

### (3) 条件付けによる AI ニューロンの STRF の変化

rFに条件付けしたモルモット(8匹)から21個のニューロンのSTRFを、条件付けしていないモルモット(コントロール25匹)から157個のニューロンのSTRFを計測した。STRFのパターンは次の7つに分類された(図5)。1. 興奮性応答のみ、2. 狭い周波数の興奮性応答+時間的抑制+狭い側抑制、3. 興奮性応答+狭い両側側抑制、4. 興奮性応答+狭い片側側抑制、5. 興奮性応答+広い(1oct以上)片側側抑制、6. 狭い2つ以上の興奮性応答+狭い側抑制、7. 興奮や抑制がクリアに見られないもの。それぞれのSTRFパターンの分布を図5右に示す。赤がコントロール、青が条件付け動物のものである。条件付け動物ではパターン2と3が見られない。またパターン1と5の割合が増加している。このことから条件付けにより狭い抑制が減少して広い抑制が増加すること、両側抑制が減少し片側抑制が増加すること、および、時間的抑制が減少することが示唆された。STRFのパターンは聴覚皮質の深さ方向に位置を変えても、STRFの興奮性応答野のパターンは大きく変わらないが、周辺の抑制は変化する傾向が見られた。また、深さによって分類1、3、4、5が観測されない場所が存在した。STRFタイプの深さ方向の分布は条件付け後で変化が認められなかった。

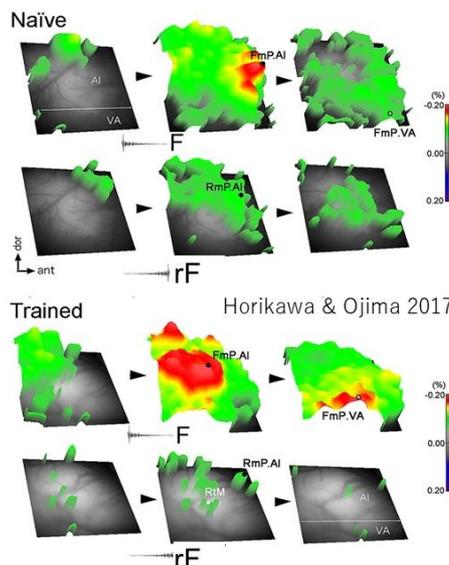


図4 光計測による靴音と逆転音に対する聴覚皮質活動

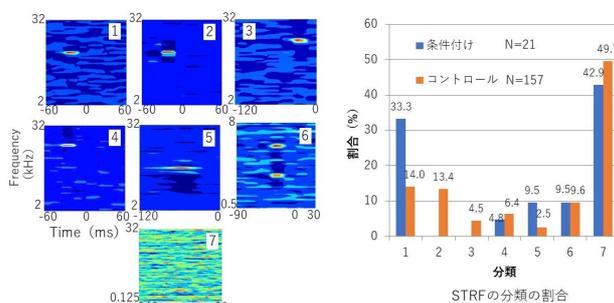


図5 STRFの分類とその割合の条件付け後の変化

### (4) 条件付けによるAIニューロンのFおよびrFに対する選択性指数の変化

コントロールモルモット(14匹)のAIから79個のニューロンのスパイク活動を、rFに条件付けしたモルモット(8匹)のAIから22個のニューロンのスパイク活動を記録した。図6にFとrFに対する反応の選択性指数の分布を示す。コントロールモルモットではFによく応答する(F>rF)ニューロンの割合が37%、rFによく応答する(F<rF)ニューロンの割合が8%であった。これに対して、条件付けモルモットではF>rFニューロンが18%、F<rFニューロンが32%となり、条件付けによってF<rFニューロンの割合が有意に増加した(Fisher's exact probability test, p<0.01)。コントロール動物のニューロンの部分消去音に対する反応では、rFで小さかった反応が先行部分を消去するに従って大きくなった。これは、rFの先行する小振幅部が後方の大振幅部に対する反応を抑制していることを示す。条件付け後にF<rFニューロンが増加したのは、条件付けによりrFの先行する小振幅部による抑制が減少し、後方の大振幅部に対する反応が抑制されなくなるニューロンが増加したためと考えられる。

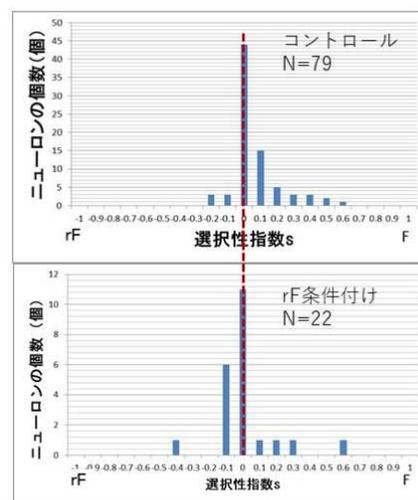


図6 FとrFに対する選択性指数sの分布

### (5) 繰り返し音の特定の時間間隔に対する条件付けによる聴覚皮質活動の光計測

行動実験から、時間間隔1150ms(この間隔を100%とする)のFの繰り返し音(T)に対して条件付けを行ったモルモットは、間隔が短い50%(575ms)、30%(345ms)、20%(30ms)の繰り返し音とTとを行動的に区別することができる、しかし、間隔が長い150%(1725ms)と200%(2300ms)の繰り返し音とTとを区別することができないということが確認された。条件付けモルモットと

条件付け無しのモルモットのAIの活動を光計測法により計測した。図7に、2、3、4週間の条件付け訓練を行った動物と条件付け訓練を行わなかった動物(未訓練)における、間隔10、20、100%の繰り返し音に対するAI活動を示す。図中のnは皮質数で、波形はn個加算したものである。靴音10%(115ms)の場合、コントロール動物では全ての音に対して追隨して反応できない。短期訓練(2週)動物はさらに追隨して反応できていない。しかし、中期(3週)および長期(4週)訓練動物では、より長く追隨して反応した。靴音20%の場合、コントロール動物では、最後まで追隨して反応する。短期訓練では、最初の数発に反応するがそれ以降の反応が減少する。中期訓練では、再び後半まで追隨する反応が見られ、長期訓練では、最後まで追隨して反応した。靴音100%の場合、コントロール、短期、中期、長期のどの場合でも、すべての靴音に反応し、訓練期間による差は見られなかった。これらの結果は、AIは長期訓練後に、10%刺激の靴音に対してより長く反応するようになり、時間間隔の狭い音をより識別するように聴覚皮質の反応特性が変化したことを示す。長期訓練後に靴音10%の反応が現れる時間間隔は、靴音100%の2発目までの時間間隔に一致しており、これはモルモットが条件付け刺激音(靴音100%)の2発目以降で給餌されるかどうかを判断しており、この時間間隔におけるAIの反応特性が上昇していることを示唆する。

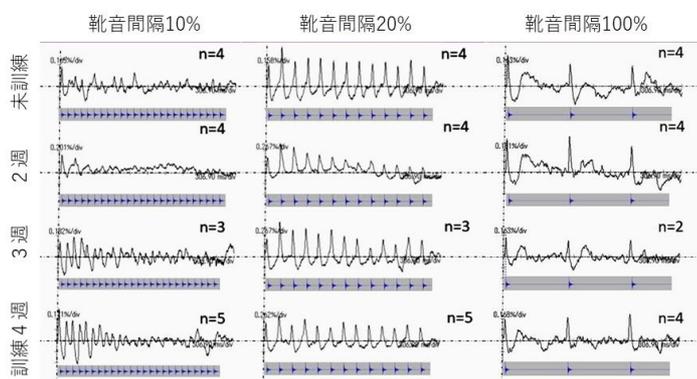


図7 靴音の繰り返し音に対する聴覚皮質応答(光計測)

#### <引用文献>

- J. J. Eggermont, Neural correlates of gap detection in primary auditory cortex mimic psychophysical, across-frequency-channel, gap-detection thresholds, *J. Neurophysiol.*, 84, 2000,1453-1463
- S. K. Scott et al., PET and fMRI studies of the neural basis of speech perception, *Speech Comm.*, 41, 2003, 23-34
- K. Saberi et al., Cognitive restoration of reversed speech, *Nature*, 398, 1999, 760
- X. Wang et al., Differential representation of species-specific primate vocalizations in the auditory cortices of marmoset and cat, *J. Neurophysiology*, 86, 2001, 2616-2620
- M. Kubota et al., Dynamic spatiotemporal inhibition in the guinea pig auditory cortex, *NeuroReport*, 17 (19), 2008, 1691-1694
- 堀川ら、ノイズ様自然音の条件付けによる聴覚皮質活動の可塑的变化、*日本音響学会聴覚研究会資料*, 42, No.8, H-2012-121, 2012, 669-672
- H. Ojima et al., Recognition of non-harmonic natural sounds by small mammals using competitive training, *PLoS ONE*, 7:e51318, 2012, Doi:10.1371

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

J. Horikawa, H. Ojima, Cortical activation patterns evoked by temporally asymmetric sounds and their modulation by learning, *eNeuro*, 査読あり, 4(2) e0241-16.2017, 1-19, DOI:http://dx.doi.org/10.1523/ENEURO.0241-16.2017

H. Ojima, J. Horikawa, Recognition of modified conditioning sounds by competitively trained guinea pigs, *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 査読あり, 9(373), 2016, 1-13, doi: 10.3389/fnbeh.2015.00373

[学会発表](計7件)

堀川順生、聴覚皮質における音の時間的側面の処理、第119回音楽情報科学・第122回音声言語情報処理合同研究会、2018、6月16-17、東京(招待講演)

Y. Hosokawa, M. Kubota, S. Sugimoto, J. Horikawa, Salicylate-induced changes of the tonotopy map in the primary auditory cortex of guinea pigs observed by optical recording, *日本生理学会*, 2018

細川浩、杉本俊二、堀川順生、サリチル酸過剰投与によるモルモット一次聴覚皮質の繰り返し音応答変化、*日本音響学会聴覚研究会*、2018

A. Shibata, S. Ohta, S. Sugimoto, H. Ojima and J. Horikawa, Analysis of temporal-information processing of sounds in the primary auditory cortex, The 3rd Annual Meeting of the Society for Bioacoustics, 2016, Dec10-11, Tahara, Japan (国際会議)

S.Ohta, N. Wakabayashi, S. Sugimoto and J. Horikawa, Distribution of neurons' spectrotemporal receptive fields along the depth axis in the primary auditory cortex, Annual Meeting of the Society for Bioacoustics, 2016, Dec10-11, Tahara, Japan (国際会議)

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、2016、5月、豊橋市

K. Hayashi, H. Ojima and J. Horikawa, Temporal pattern of AI activity changes after training to discriminate intervals of repetitive natural sounds in guinea pigs, ARO, 2016, Feb 21-25, San Diego, U.S.A. (国際会議)

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：小島久幸

ローマ字氏名：OJIMA, hisayuki

所属研究機関名：東京医科歯科大学

部局名：大学院医歯学総合研究科

職名：講師

研究者番号(8桁)：00104539

研究分担者氏名：杉本俊二

ローマ字氏名：SUGIMOTO, shunji

所属研究機関名：豊橋技術科学大学

部局名：大学院工学研究科

職名：助教

研究者番号(8桁)：50422811

研究分担者氏名：細川 浩

ローマ字氏名：HOSOKAWA, yutaka

所属研究機関名：琉球大学

部局名：大学院医学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：80181501

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。