

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06442

研究課題名（和文）聴覚の大脳皮質-大脳基底核ループの機能解明

研究課題名（英文）The roles of the auditory cortex-basal ganglia loop

研究代表者

富岡 良平（Tomioka, Ryohei）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教

研究者番号：30415244

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、聴覚システムにおける大脳皮質-大脳基底核ループの役割を神経回路レベルで解明する事である。

聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループを明らかにするために、遺伝子改変マウスとアデノ随伴ウイルスを用いて、その全貌の解明を試みた。その結果、淡蒼球外節GABAニューロンが、大脳基底核の出力ニューロンである事が分かった。既存の大脳皮質-大脳基底核ループのモデルでは、淡蒼球内節ないしは黒質毛網部のGABAニューロンが大脳基底核の出力ニューロンとされていたが、聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループはこれまでにないユニークな神経ネットワークを構築している事が分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳皮質-大脳基底核ループは運動システムの理解（パーキンソン病の病態理解）に大きな貢献をしてきたが、聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループの存在は不明であった。

本課題では、遺伝子工学的アプローチを用いて、聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループの全貌を明らかにした。その神経回路は、これまでの大脳皮質-大脳基底核ループと大きく異なる事が分かった。さらに興味深い事に、恐怖行動とリンクする神経核にも出力していた。

この発見は、聴覚システムにおける情報処理などの基礎的な神経科学への貢献、聴覚過敏・幻聴から惹起される統合失調症のような病態理解に寄与すると思われる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to elucidate the role of the cortico-basal ganglia loop in the auditory system at the level of neural circuits.

We attempted to elucidate the cortico-basal ganglia loop in the auditory system by using genetically engineered mice and adeno-associated viruses in order to elucidate the whole picture. We found that GABAergic neurons in the external globus pallidus are the output neurons in the auditory cortico-basal ganglia loop. Considering that GABAergic neurons in the internal globus pallidus or substantia nigra pars reticulata were output neurons of the basal ganglia in other systems, the cortico-basal ganglia loop in the auditory system was found to construct a unique neural network that has never been seen before.

研究分野：神経生理・神経解剖

キーワード：聴覚 大脳皮質-大脳基底核ループ 淡蒼球外節 GABAニューロン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物にとって、「繰り返される音(例:風の音)」と「稀な音(例:捕食者の足音)」を区別することは、生存に関わる重要な情報処理である。脳は「稀な音」に注意を向け、必要な情報のみを解析していると考えられている。しかし、どのようにして脳が「稀な音(サリエンスな音)」だけに注意を向けるのか(選択的注意)は、未だ分かっていない。

この機能は、音を聞くだけのような知覚でも見られる。例えば、特定の音(例:ドレミのド)を繰り返し提示している際に、稀に別の音(例:ドレミのミ)を提示すると、特徴的な脳波が観測される。これはミスマッチ陰性電位と呼ばれる脳波である。ミスマッチ陰性電位では、2つの現象が起こると考えられている(Naatanen et al., 2007, Clin. Neurophysiol.)。一つは、繰り返される音に対してみられる減弱した応答(順応)である。順応は、聴覚伝導路(lemniscal pathway)で観測される事が知られている(Ayala et al., 2013, Front Neural Circuits)。もう一つは、稀な音に対してみられる応答(逸脱検出)である。逸脱検出は、聴覚野周辺(non-lemniscal pathway)で現れると報告されている(Komatsu et al., 2015, Scientific Reports; Dürschmid et al., 2016, PNAS)

これまでの研究から、「繰り返される音」に順応するメカニズムが、主なミスマッチ陰性電位のメカニズムだと考えている。その根拠は、「繰り返される音」の中での「稀な音」で起こる神経応答は、「稀な音」のみで起こるものに比べて、増大していないためである。(Khoury et al., 2015, Curr Opin Neurobiol.) 興味深い事に、ミスマッチ陰性電位は、比較的遅い反応潜時(100-200ミリ秒)で現れるという特徴が、ヒトの EEG およびマウスの聴覚ニューロンで報告されている(Chen et al., 2015, J. Neurosci.)

順応が起こるためには、どのような性質の神経回路が必要か? その神経回路は、「繰り返される音」と「稀な音」を弁別でき、比較的遅い潜時で、聴覚伝導路に影響を与えられると考えられる。ところで、申請者の予備実験から、尾側の淡蒼球外節が聴覚システムの non-lemniscal pathway に抑制性の投射をしている事が分かっていた。このことは、聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループを介しているため、音のオンセットから比較的遅い潜時で、聴覚野などに影響を与えられる可能性がある。本課題においては、淡蒼球外節の GABA ニューロンが順応しないしは逸脱検出のどちらかに関与しているという仮説を検証する事を第一の目的とした。

2. 研究の目的

動物は、音刺激のサリエンスレベルを検出している。ミスマッチ陰性電位などの知見から、聴覚野でサリエンスレベルを検出している可能性がある。しかしながら、どのような神経回路が、この検出に関与しているのかは明らかになっていなかった。大脳基底核を含めた聴覚システムの神経回路の作動原理を見出す事を目指して、具体的な研究目的を下記のように設定した。

- 1) 申請者の研究から新たに見出された聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループが、サリエンスレベル検出に関与している可能性を検証する。
- 2) 聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループを解剖学的手法で明らかにする。
- 3) 聴覚野ニューロンの繰り返し音に対する応答の変化を解析する事で、聴覚野内の神経回路の順応の作動原理を見出す。

3. 研究の方法

- 1) GAD67Cre マウスにアデノ随伴ウイルスを微量注入する事により、淡蒼球外節の GABA ニューロンにチャンネルロドプシン 2 を導入した。3 週間後、イソフルラン麻酔下で、電極を聴覚野に、

光ファイバーを淡蒼球外節に留置した。オドボール課題(0.5 オクターブ離れた2つの音を使った。片方を90%の確率で、もう片方を10%の確率で提示した)中の神経活動を細胞外記録した。青色光を照射した試行と照射しなかった試行間で、神経活動に違いがあるかを解析した。

2) 淡蒼球外節のGABAニューロンが、聴覚視床・聴覚野に投射している事は、上記1)の実験の解析で分かっていた。この神経回路が聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループの一部である事は予想できたが、その全体像は明らかでなかった。様々なウイルストランスジェニック(アデノ随伴ウイルス、偽狂犬病ウイルス)と複数の遺伝子改変マウス(GAD67GFP, GAD67Cre, VGATCre)を用いて、その解明を試みた。特に、淡蒼球外節GABAニューロン 内側膝状体周辺部へのシナプス連絡は重要な知見になると思われたため、電子顕微鏡を用いて、シナプス結合の同定を試みた。

3) トーントレイン(音は1つの純音で、100ミリ秒間提示後、400ミリ秒の無音というシーケンスを10回繰り返す)中の神経活動を解析した。サリエンスレベルの異なる音刺激(最初の音刺激はサリエンスが高いが、その後の音刺激はサリエンスが低いと考えられる)に対する聴覚野ニューロンの応答を解析した。

4. 研究成果

1) 淡蒼球外節のGABAニューロンにチャンネルロドプシン2の導入・シリコンプローブを用いた聴覚野ニューロンの細胞外記録のユニット解析は成功した。しかしながら、オプトジェネティクスによる神経活動の変調は再現性良く見られなかった。考えられる原因の一つとして、聴覚の淡蒼球外節は尾側に位置し、非常に小さく、脳表から深いため、再現性良く光ファイバーを淡蒼球外節の直上に留置することが難しかった点が挙げられる。そのため、再現性良く、光ファイバーを淡蒼球外節の直上に留置する事が難しかった。そのため、淡蒼球外節GABAニューロンの軸索を光刺激する事も試みた(軸索は、内側膝状体周辺部位と2次聴覚野(腹側部位)に主に分布しているため、それらを刺激するよう、光ファイバーを留置した)。しかしながら、これらの方法でも聴覚野ニューロンの変調はほとんど見られなかった。このため、淡蒼球外節GABAニューロンがオドボール課題中の神経活動に影響を与えるかを検討することが困難となった。

2) 聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループを解明するために、以下の解剖学的実験を行った。聴覚野から投射を受ける線条体ニューロンの軸索伸展を解析するために、順行性に越シナプス感染能力のあるAAV1-CMV-eGFP-Creを聴覚野に、AAV2-CAG-FLEX-tdTomatoを尾側の線条体に注入した。予想されたように、聴覚野から投射を受ける線条体ニューロンにtdTomatoを発現させることができた。tdTomato陽性の軸索を解析したところ、主に淡蒼球外節に分布している事が分かった。淡蒼球外節GABAニューロンの軸索伸展を解析するために、AAV2-CAG-FLEX-EGFPを尾側の淡蒼球外節に注入した。その結果、軸索が主に内側膝状体周辺部位・楔状核・黒質外側部・2次聴覚野を含む側頭連合野に分布している事が分かった。淡蒼球外節GABAニューロンは内側膝状体周辺部位に分布しているカルレチニン陽性細胞とシナプス結合をしている事を電子顕微鏡で確認した。このカルレチニン陽性細胞は扁桃核・2次聴覚野を含む側頭連合野に音情報を伝達している事が知られている事から、淡蒼球外節GABAニューロンは恐怖情報の伝達をしている可能性がある。吻側の淡蒼球外節GABAニューロンには、複数のサブpopulationし、その神経活動・神経回路が異なる事が報告されている。そのため、次に尾側の淡蒼球外節GABAニューロンのサブpopulationの探索を2つの方法(神経化学的マーカーを用いた免疫蛍

光法・逆行性トレーサーを用いた解剖学的方法)で行った。その結果、淡蒼球外節 GABA ニューロンは3つに分けられ、それぞれの投射先が異なる事が分かった。偽狂犬病ウイルスを用いて、淡蒼球外節 GABA ニューロンの入力ニューロンを調べたところ、主に線条体ニューロンであった。更に、それら入力ニューロンが発現しているマーカーを確認したところ、淡蒼球外節 GABA ニューロンは両方の経路(直接路・間接路)から入力を受けている事が分かった。

結論として、聴覚野 尾側の線条体 尾側淡蒼球外節 内側膝状体周辺部位 側頭連合野という聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループが明らかになった(図1)。このループの機能の特徴としては、このループは閉じたループというより、オープンなループである可能性が高かった。また、淡蒼球外節

GABA ニューロンの投射先(内側膝状体周辺部位・楔状核・黒質外側部)の機能から推測すると、恐怖情動に関係した情報の伝達に関わっていると考えられた。この成果は、論文にまとめて投稿中である。

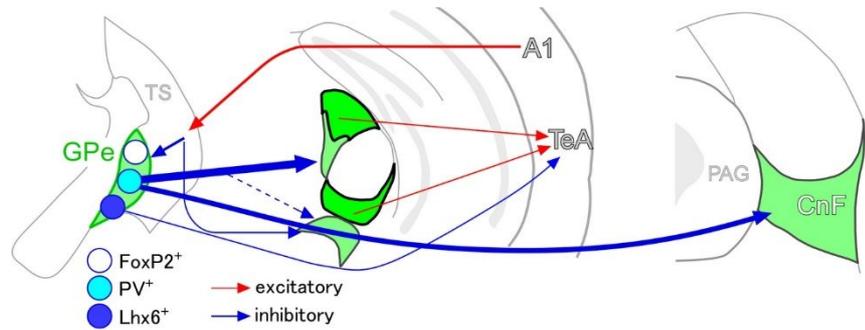


図1: 聴覚システムの大脳皮質-大脳基底核ループ
聴覚野(A1)から尾側の線条体(TS)へと投射。TSから尾側の淡蒼球外節(GPe)へと投射。GPeから内側膝状体周辺部位を経由して高次聴覚野(TeA)に投射。

3)大脳皮質聴覚野で、サリエンスレベルがどのようにエンコードされているかを検証するために、トーントレイン刺激(100ミリ秒の純音を2Hzの頻度で10回提示)を麻酔下のマウスに提示し、聴覚野ニューロンの応答を観察した。その結果、応答は大別して二つのパターンがみられた。一つは、一回目の音刺激に対して大きく応答し、その後応答が小さくなるパターン。もう一つは、一回目の音刺激に対して小さく応答し、その後応答が大きくなるパターンであった。前者のニューロンはサリエンスが高い刺激に応答しており、後者のニューロンは聴覚の順応と関係ある神経活動と考えられた。この成果は、論文にまとめてHearing Researchに掲載した。

今後、大脳基底核を含めた聴覚システムの生理学的意義を明らかにすることで、知覚の神経回路レベルでの理解が深まると期待される。さらに、聴覚システムの神経回路の不全によって引き起こされると考えられる幻聴などの病態の理解も進むと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Zhou Bo, Tomioka Ryohei, Song Wen-Jie	4. 巻 430
2. 論文標題 Temporal profiles of neuronal responses to repeated tone stimuli in the mouse primary auditory cortex	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hearing Research	6. 最初と最後の頁 108710 ~ 108710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heares.2023.108710	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomioka Ryohei, Takemoto Makoto, Song Wen-Jie	4. 巻 431
2. 論文標題 Neurochemical properties for defining subdivisions of the mouse medial geniculate body	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hearing Research	6. 最初と最後の頁 108724 ~ 108724
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heares.2023.108724	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富岡良平 周博 宋文杰
2. 発表標題 繰り返し音刺激によるマウス聴覚野ニューロンの応答
3. 学会等名 日本音響学会 聴覚研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富岡良平 周博 宋文杰
2. 発表標題 音刺激に対する聴覚野ニューロンの遅い反応
3. 学会等名 日本音響学会 聴覚研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富岡良平 周博 宋文杰
2. 発表標題 繰り返し音刺激によるマウス聴覚野ニューロンの神経応答
3. 学会等名 第72回 西日本生理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------