研究概要報告書

研究題目	発声の聴覚フィードバック制御の神経メカニズム:キクガシラコウモリをモデルとした研究	報告書作成者	小林　耕太
研究従事者	小林　耕太		
研究目的	人間やクジラ、コウモリは極めて高度で複雑な音声コミュニケーションを行う。これらの動物は、耳が聞こえなくなると、正しく発声することが出来なくなる。しかし、どのようなメカニズムで自分の声を聞くこと(聴覚フィードバック)が発声をコントロールするかは依然、謎である。本研究の目的は、中枢神経系において聴覚情報が発声制御に統合される仕組みを明らかにすることである。吃音(日本国内のみで約 120 万人の患者が存在する)に代表される非流暢性発話の原因も聴覚フィードバック機能の障害によると考えられている。これらの病気は紀元前より記載されているが、現在でも治療は心理療法が中心となっている。その理由は病気の発生機序解明に必要となる正常な発声の神経支配および、聴覚発声統合のメカニズム自体が殆ど明らかにされていないためである。本研究を通してこれらの障害の理解および治療に必要となる基礎的な知識がえられるだろう。		

研究内容	本研究で使用するキクガシラコウモリは音声の聴覚フィードバック情報の変化に合わせて、周波数、発声持続時間、発声間隔を適応的に変化させる。すでに脳幹の結合腕傍核（Parabrachial nucleus 以下PB）がこのフィードバック制御の中枢である可能性がキクガシラコウモリ（*Rhinolophus ferrumequinum*）をモデルとした実験により示唆されている。本研究計画では、PBならびに発声器官を支配する運動神経が存在する神経核 疑核（NA）を対象として、神経活動記録およびに薬理学的操作によって、聴覚フィードバックに依存する発声パラメータの制御様式の解明を目指す。 **1. NA（疑核）における音声パラメータの制御** キクガシラコウモリはスピーカーからの擬似エコーに応答し発声周波数および発声の時間パラメータを変化させる。発声器官である声帯を制御するNA内にGABAおよびグルタミン酸作動薬および拮抗薬を局所注入し、発声パラメータを支配する部位を明らかにすると同時に、神経伝達物質によるNA内の神経の調整とそれによる行動変化との関連を明らかにする。 **2. PBニューロンは聴覚フィードバック情報の変化にどのような応答するか？** 本実験では擬似エコー音声の周波数を変化させながらのPBニューロンのシングルユニット記録を行う。現在まで予備的実験により、PBには主として聴覚応答型、Pre Motor型および聴覚発声組み合せ依存型の3種類の細胞が存在することを確認している。フィードバック音声の周波数を変化させながら、これらの細胞のがどう応答を変えるかを調べる。また神経薬理学的操作をおこなうことで、どのような伝達物質による調整を受けるかも調べる。 以上により聴覚フィードバック制御に関連してPBおよびNA内の特定部位の特定の神経活動の変化がどのような発声パラメータの変化に繋がるかが明らかになる。これにより、個々の音声パラメータの制御に関して、どのような神経回路が存在し得るか考察が可能になる。

研究のポイント	現在まで国内外の研究者により、発声が聴覚皮質および聴覚伝導路の神経核の活動に影響を与えること、聴覚刺激が複数の発声制御系の活動に影響を与えることが個別に報告されている。しかしどのような方法で、聴覚情報のどの側面が具体的に発声のどのパラメタに影響を与えるかについては依然不明のままである。先行研究の問題として以下の3つがあげられる。(1)哺乳類の一般的な鳴き声は複雑な音響構造を持つため、音声を定量的に分析するのが困難である点。(2)実験の多くでは音声を誘発するために電気刺激を使用しており、特に脳幹部の実験では記録地点が刺激地点と近くなるため電気刺激の影響が懸念される点。(3)最大の問題として、ヒトやコウモリと異なり多くの哺乳類は聴覚を剥奪されてもほぼ正常に発声することが可能である点である。すなわち聴覚フィードバックが発声に影響を与えないため、聴覚刺激を独立変数としたデータを得ることが困難であった。本研究では使用するコウモリは、単純な音響構造を持つ発声を行い、頭蓋を固定された状態でも自発的に発声を行う。よって主要な問題点を克服し聴覚発声制御のメカニズム解明を目指す。
研究結果	発声器官である声帯を支配する運動ニューロンが存在する疑核（図 1）に神経作動薬および遮断薬を局所注入することで、疑核のどの部位が発声のどのパラメータを支配しているかの同定に成功した。吻側部が GABA 作動性ニューロンにより周波数を支配し（図 2,3）、尾側部が GABA およびグルタミン酸性作動性ニューロンの働きにより発声の持続時間（図 4）をよび発声間間隔を支配する(図5)。その後、疑核に神経接続を持ち聴覚フィードバック制御の中枢であると考えられる結合腕傍核（以下 PB）より神経活動のシングルユニット記録を行った。PB には主として聴覚応答型、Pre Motor 型および聴覚発声組み合せ依存型の３種類の細胞が存在する（図 6-10）。聴覚発声組み合せ依存型のうち（全体の 10%）は発声周波数が増加するに合わせて発火頻度が増加し、GABA 作動薬（および拮抗薬）により発火頻度が変化した（図 10 左）。また PB 外側部への同様の薬理操作は発声の持続時間および発声頻度に影響を与えた。この結果は聴覚フィードバック制御において、PB 内側が NA 吻側への連絡により周波数を、PB 外側が NA 尾側への連絡により、発声の時間パラメータを制御する可能性を示す。
今後の課題	一連の研究により、PB 内側部→疑核吻側の回路が聴覚フィードバックに依存する周波数の制御に、一方で PB 外側部→疑核尾側が聴覚フィーに依存する発声の時間パラメタの調整を行うことが示唆された。さらにはその接続の様式について、薬理学的操作から、PB 内側部→疑核吻側の接続には 1 つ以上の介在ニューロンが、PB 外側部→疑核尾側については直接連絡の可能性が考えられる。今後は、実際に連結様式を記述する必要がある。複数の神経トレーサーを NA および PB に同時注入することで、連結様式の解明を目指したい。また、NA 内の部分的な活動の変化が発声のどのパラメータの変化につながるかが分かったが、これからの課題として、具体的にどのような神経回路がそれを実現しているかを解明する必要があるだろう。現在、NA の運動神経を対象に薬理操作とシングルユニット同時記録をおこなっている。

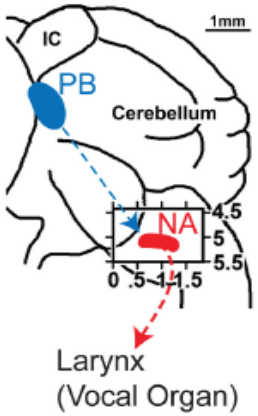

図1　PB(結合腕傍核）およびNA(疑核）の位置。矢状断面で示す。

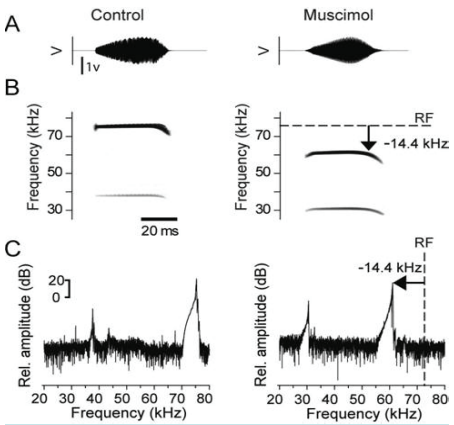

図2 Muscimol投与後の発声の変化。GABA作動性ニューロンによって発声周波数が支配されていることを示唆する。

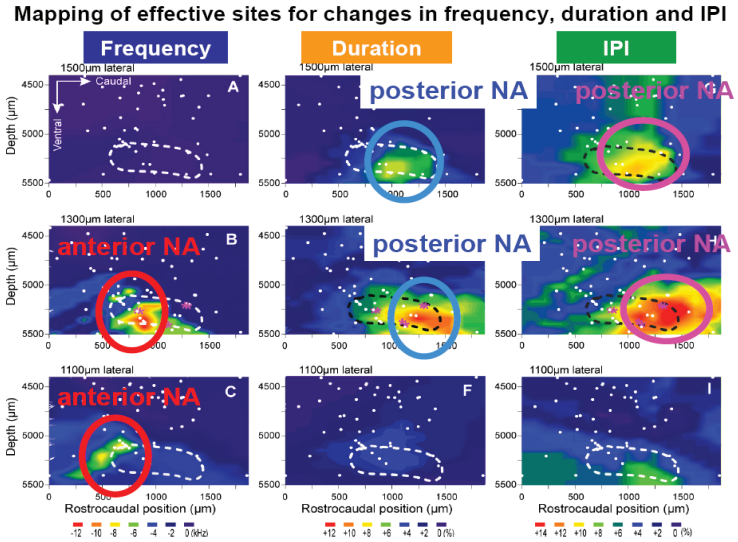

図3 Musimol投与後の発声の変化。色の変化により影響の多寡を示す。NA吻側部への投薬は周波数に、尾側部への投薬は持続時間および発声間隔に影響を与えた。部位により異なった発声パラメータが支配されていることを示す。

図４

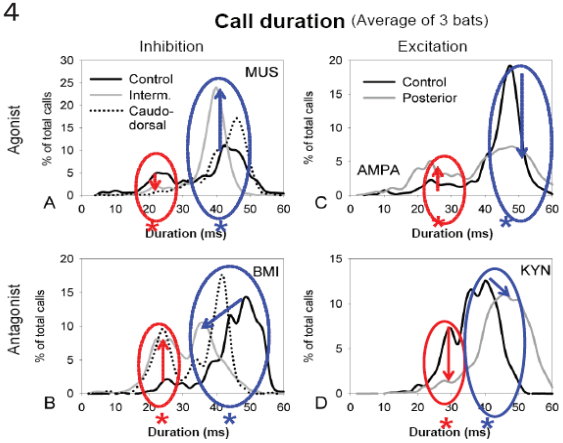

図５

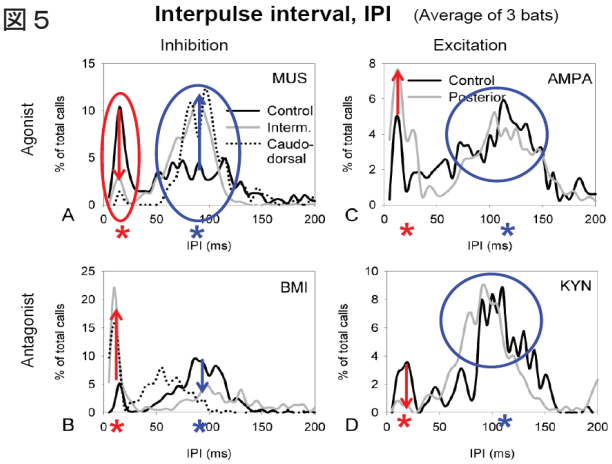

図4,5　GABAおよびグルタミン酸拮抗薬および作動薬投与による発声の持続時間（図４）ならびに発声間隔（図５ ）への影響。

GABA拮抗薬およびグルタミン酸作動薬による NA内での興奮の増加が１呼吸中に複数発声する行動（赤色）の増加を引き起こす。

一方GABA作動薬およびグルタミン酸拮抗薬による抑制は単独発声（青色）の増加を引き起こす。

Acoustic
(50%)

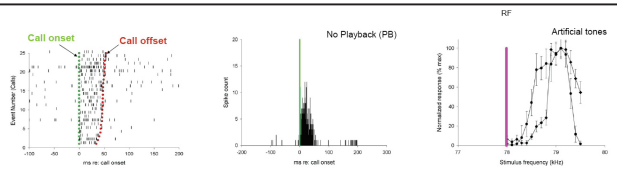

図６ 聴覚応答性ニューロンの周波数特性
聴覚フィードバック行動を引き起こす周波数に特異的に応答する。

Premotor-vocal type 1
(10%)

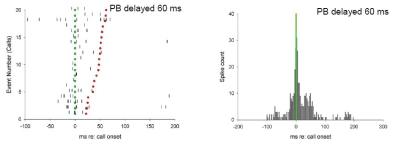

図７ Pre Motor 型type1ニューロン（左ドットラスター　右PSTH）
発声の直前および発声中にのみ発火する

Premotor-vocal type 2
(15%)

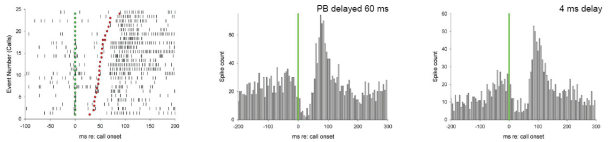

図8 Pre Moto r 型type2ニューロン（左ドットラスター、　中央右PSTH）
発声の直前および直後に発火する。発声中は活動が抑制される。

Audio-Vocal type 1
(15%)

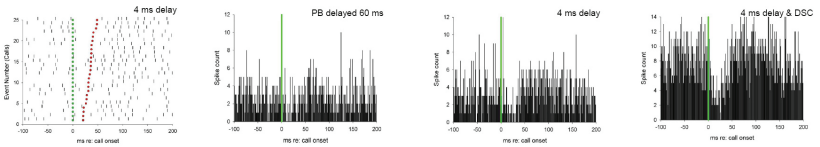

図9 Audio-Vocal型　type1ニューロン
発声の直前および発声直後に発火する。発声中は抑制される。抑制はエコーの存在によって強まる。

Audio-Vocal type 2
(10%)

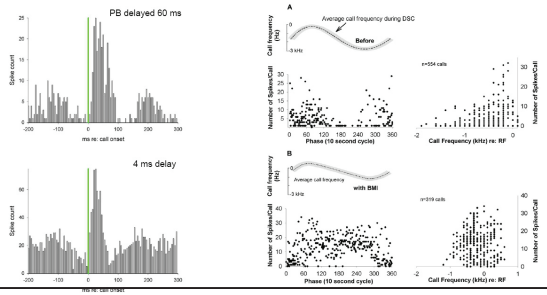

図10 Audio-Vocal型　type2ニューロン
発声中に活動が上昇し、発声の直前および音声刺激に対して抑制応答を示す（左PSTH）。右図はコウモリが聴覚フィードバック制御により行動を行っているときにニューロンからの記録および神経伝達物質拮抗薬の投与をおこなった結果。　上図（A）では発声周波数と神経発火数が正の相関を示す。下図（B）ではBMI（GABA拮抗薬）投薬により、相関が失われると同時に正常な周波数のコントロールも失われた。