

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 本間 悠介
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 564 号
学位授与の日付 平成 25 年 9 月 20 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Auditory cortical areas activated by slow frequency-modulated sounds in mice
(遅い周波数変調音に特異的に応答するマウス聴覚野領域)

論文審査委員 主査 長谷川 功
副査 高橋 姿
副査 澁木 克栄

博士論文の要旨

【背景と目的】 マウスの鳴き声などの自然音は、時間的に周波数が変化する周波数変調音 (FM 音) を含む。従来の研究では、毎秒 500 kHz 以上周波数が変化する速い FM 音に一次聴覚野ニューロンが選択的に応じることが判っている。しかし、マウスの鳴き声に含まれる FM 音には毎秒数 kHz から数十 kHz 程度の遅い変調成分が多いにもかかわらず、遅い FM 音に選択的に応ずる聴覚野の部位は同定されていない。本研究では、毎秒 120 kHz 以下の遅い変調速度を持つ FM 音が、マウス聴覚野のどこで特異的に検出されるのかを、脳機能イメージングによって解析した。

【方法】 5 週齢の C57BL/6N マウスを 1.65 g/kg のウレタン腹腔内投与によって麻酔し、聴覚野の神経活動を経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。聴覚野応答を引き起こす刺激音は、10 cm 前方に置いたスピーカーから 70 dB の強さで呈示した。遅い FM 音に選択的な応答を抽出するため、FM 音を重ね合わせて無限諧調音を合成し、ある時点で FM 変調方向のみを逆転した時の聴覚野のフラビン蛋白蛍光変化を記録した。FM 変調は 5~11 kHz、15~21 kHz、25~31 kHz の 3 帯域で行った。また FM 変調速度は 2 kHz/s から 120 kHz/s の範囲で変化させた。この方法で同定した遅い FM 音に特異的に応ずる聴覚野の部位が、内側膝状体のどの部位から入力を受けるのかを同定するため、まず聴覚野の部位を機能的に同定し、神経トレーサーの biotinylated dextran amine (BDA) を電気泳動的に注入し、逆行的に標識される内側膝状体ニューロンを形態学的に同定した。さらに遅い FM 音に特異的に応ずる部位にカルシウム蛍光指示薬の fura-2 AM を注入し、fura-2 で染色されるニューロンのカルシウム応答を二光子顕微鏡によって記録・解析した。

【結果】 一定の周波数を持つ通常の刺激音に対しては、一次聴覚野や前聴覚野などが応じたが、遅い FM 変調方向の逆転に対しては、むしろその背側にある ultrasonic field (UF) と dorsoposterior field (DP) の 2 領域、特に UF が特異的な活動を示した。FM 上昇音から下降音、下降音から上昇音、いずれの変化に対しても、ほぼ同じ部位が同様の応答を示した。また FM 変調帯域を 5~11kHz、15~21kHz、25~31kHz に変化させても、同様の応答を示した。FM 音の弁別は右半球でなされると考えられているので、左右の半球間で応答を比較したところ、右聴覚野が左聴覚野よりも有意に大きな活動を示した。2 kHz/s

～120 kHz/s の間で FM 変調速度を変化させて比較すると、24 kHz/s が最適な FM 変調速度であることが判った。

次に UF、DP への投射経路を確認するため、それぞれに BDA を注入したところ、UF は内側膝状体腹側核の腹側と内側膝状体背側核の腹側から、また DP は内側膝状体背側核の外背側から主に投射を受けていた。これらの部位は前聴覚野や一次聴覚野に投射する部位とは明確に異なるので、遅い FM 音の情報が独自の視床入力を介して UF、DP へ投射するものと思われる。FM 音に対するフラビン蛋白蛍光応答の潜時を詳細に解析したところ、UF では前聴覚野や一次聴覚野より有意に速く、この結果も遅い FM 音の情報が視床を介して UF に投射するという可能性を支持する。

UF ニューロンの活動を二光子カルシウムイメージングで解析したところ、FM 上昇音から下降音への変化に特異的に応ずる細胞、下降音から上昇音への変化に特異的に応ずる細胞、両者に応ずる細胞が混在していた。また上昇音から下降音への変化によく応ずる細胞は、上昇音よりも下降音に感じやすく、下降音から上昇音への変化によく応じる細胞は、下降音よりも上昇音に感じやすい傾向があった。

【考察】FM 音は様々な周波数要素を含む複雑な音であり、FM 音を提示すると、聴覚野の広い部位が活動してしまう。FM 音を特異的に検出している部位を絞り込むため、本研究では FM 音を重ね合わせた無限諧調音を作成し、変調方向を逆転したときの応答を記録した。これは変調方向の逆転の前後で各周波数帯の音エネルギーはあまり変化しないが、変調方向のみが大きく変化することを利用したものである。UF ニューロン活動の解析から、応じにくい FM 変調方向から応じやすい FM 変調方向へと変化したときにニューロンが活発に活動することが裏付けられているので、本刺激法によって特定した UF、DP の 2 領域は、遅い FM 音の情報処理において重要な役割を果たすと思われる。

本研究で UF、DP の 2 領域はそれぞれ独自の視床入力を受けることが明らかとなった。これまで UF、DP などのいわゆる聴覚野のベルト領域は、前聴覚野、一次聴覚野などのいわゆるコア領域から二次的に入力を受けると考えられてきたが、遅い FM 音などの様々な聴覚情報処理は視床以下のレベルで行われ、コア領域を介さずに直接ベルト領域に情報を投射すると思われる。

審査結果の要旨

マウスの鳴き声に含まれる 120kHz 以下の遅い変調速度の周波数変調(FM)音に対するマウス聴覚野の神経応答をフラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。一定の周波数の刺激音に対しては一次聴覚野や前聴覚野が応じたが、遅い FM 変調の極性反転に対してはそれらの背側にある ultrasonic field (UF) と dorsoposterior field (DP) の二領域で特異的活動が認められた。変調速度を変化させて応答を記録したところ、約 24 kHz/s が最適であった。遅い FM 音の検出は右半球優位に生じることが知られているが、UF・DP の応答も右優位であった。神経トレーサーを UF・DP に注入して内側膝状体からの投射経路を観察すると、腹側核から投射を受ける前聴覚野や一次聴覚野とは異なり、主に背側核から投射を受けていた。2光子顕微鏡で UF ニューロンの応答を解析したところ、どちらかの変調方向に特異的に応ずるものと、特異性を持たないものが混在していた。本研究は UF・DP の二領域が遅い FM 音の情報処理において重要な役割を果たすことを明らかにした点に、学位論文としての価値があると判定した。