

研究概要報告書

(1/3)

研究題目	発声学習期特異的に脳内で発現する遺伝子群の探索:ソングバードを用いた先導的研究	報告書作成者	和多 和宏
研究従事者	和多 和宏		
研究目的	<p>「なぜ子供は簡単に言葉を学べるのか？なぜ大人にはそれが難しいのか？」昨今、外国語習得に多大な関心が向けられている。母国語以外の様々な言語を自由に話せれば、多くの情報を効率よく得られることは容易に想像できる。日常生活において英語教材や英会話学校の宣伝を目にしない日はない。しかし、実際にそれを実行に移すことは決して容易でない。このことは多くの人々が実際に体験することである。大人になっても適切な教育を受けさえすれば外国語を習得できるのか？もしできるならば、何が重要な要素なのか？そもそも言語習得において、幼児期と成人との間で何が違うのか？このような疑問を多くの人が抱くが、脳神経科学は未だに十分な答えを用意できていない。</p> <p>ヒトの言語の習得と鳴禽類 songbird (ソングバード)の囀り行動の間には、高い共通性がある。いずれの場合でも、個体発達の過程で学習適応期(臨界期)に他個体から音声パターンを習得する。聞き取った音を、まず第一に鋳型として脳内に記憶する。次に実際に声を出して、聴覚を介したフィードバックにより自分の音声を修正していく。これを繰り返すことによって、徐々に記憶した音声パターンへ近づいていくのである(説明書 図 1)。つまり、自ら「声を出す」という能動的発声が、言語学習(特に発声学習)において非常に重要な意味を持つのである。「声を出す」という行動そのものは幼児も大人も同じように見えるかもしれない。しかし、臨界期の中にある幼児の発声と、臨界期を過ぎた大人の発声では、発声学習に果たす役割が大きく異なるのである。本研究ではソングバードを用いて、学習期とその後とで、発声によって脳内で誘発される遺伝子を解析する。分子生物学的手法を駆使して、発声学習の遺伝子基盤を解明することが、本研究の大きな目標である。</p> <p>本研究では、発声学習の学習臨界期中に、発声行動によって脳内に発現誘導される遺伝子群を、網羅的に探索する。ヒトを含めた哺乳類と鳥類では、脳の基本的な構造は共通性が高い。遺伝子レベルでも神経回路レベルでも、多くの相同性が保存されている。特に、細胞レベルで見えた場合、神経活動によって引き起こされる遺伝子発現の分子メカニズムは非常に似ていると考えられている。ソングバードをモデル動物として得られた知見は、ヒトの言語習得における脳内分子基盤の理解へと、直接に還元できる。この研究により発声学習に関わる遺伝子群を抽出できる。発達時期(学習臨界期)に特異的な発現、特定の脳部位に特異的な発現、行動(発声行動)に特異的な発現など、を解析することを通して、(1) 遺伝子発現の多段階制御機構を解明し、(2) 今後、個体レベルの遺伝子操作によって発声学習における遺伝子の役割を明らかにすることができる。このような遺伝子発現の多段階制御が、脳内で繰り広げられることで、発達段階特異的な動物行動・学習が可能になっていると考えられている。ヒト言語獲得に関わる遺伝子群の脳内発現制御メカニズムの理解へ向けて、動物モデルを用いた先導的研究として本研究を提案し、今後の研究へと発展させていく。</p>		

研究内容

ヒトのように「学習による音声発声の獲得(発声学習)」を行う動物は、現在知られている範囲では、7群に限られる。すなわち、ヒト、捕鯨類、コウモリ類、アフリカゾウ、オウム/インコ類、ハチドリ類、そして鳴禽類(ソングバード)である。これに対して、実験動物として広く用いられているマウス、ラット、サルといった動物種は生得的な発声しか行わない。つまり、ソングバードは、「発声の学習と生成の機構」を研究する上で、非常に有力な動物モデルである。実験室内で飼育・繁殖可能で、分子生物学的手法を用いた遺伝子解析が可能な、唯一の動物モデルである。本研究で用いる Zebra finch(日本名キンカチョウ)は、囀り学習・生成行動に特化した神経回路を脳内にもっている。これをソングシステム(説明書 図2)という。囀りを常時自動録音する装置を用いれば、その学習臨界期間の発声パターンの変化を厳格に可視化できる。これにより、発声行動に伴う物質的变化を、時間と空間のパラメータに沿って定量的に解析することが可能である。

本研究では、音声学習をしている発達過程の若鳥(孵化後 35-45 日)と、囀り音声学習を終えた成鳥(孵化後 120-150 日)の 2 グループを対象とする。囀り行動を自動録音しながら脳組織のサンプリングを行い、*in-situ* hybridization 法(メッセンジャーRNA 量を脳組織上で検出する方法)を用いて、発声学習の臨界期に特異的な発現を示す遺伝子群を探索する。その探索には候補遺伝子として、申請者がこれまでに発見してきた成鳥脳で囀り行動によって誘導される遺伝子群を中心と、データベース解析・検索をもとにした遺伝子群を合わせ、総計 40 個にのぼる候補遺伝子群の発現誘導変化を今回の研究では検討した。この網羅的探索によって、どのような機能をもつ遺伝子が、発声学習適応期の発声によって発現誘導されるか明らかにし、ソングシステムのどの神経核に特異的な発現がみられるかも検証することができた。実際に、機能的に多岐にわたる遺伝子群が発達に伴い発現が大きく変化していることが明らかにすることができた。

さらに本年 2008 年には、Zebra finch ゲノムプロジェクトの第一期の配列情報が公開される。これにより提供されるゲノム DNA 配列情報と、本研究より得られたデータを統合することにより、発声学習の臨界期だけに特異的に発現する遺伝子群の同定から、ゲノム DNA 上の発現制御部位の推測の一助となる重要な情報を蓄積することにもつながる。

<p>研究のポイント</p>	<p><u>[発声行動依存性]+[神経回路特異性]+[学習臨界期間限定性]</u>を兼ね備えた発声学習臨界期関連遺伝子群の同定</p> <p>言語習得、及び囀り学習を含む発声学習の分子基盤理解に向け、次の3点の多段階発現制御を受けている遺伝子群に着目した。つまり、感覚運動学習である発声学習が、自ら「声を出す」という能動的行為によってはじめて成立する点 [(i)行動依存性]。発声学習に関わる脳内特異的神経回路において、形態的可塑性の変化を必要とする点 [(ii)神経回路特異性]。発声学習が、臨界期という個体発達において時期限定イベントである点 [(iii) 学習臨界期間限定性]である。これまでに、発声行動によって細胞間結合の組み換えに関わる遺伝子をはじめ、多様な遺伝子群が発現誘導されることを明らかにしてきた(Wada <i>et al.</i> PNAS 2006)。本研究では、これらの遺伝子群の中で、発声学習に重要な脳神経回路部位[Anterior vocal pathway]特異的に発現変化を示すものや、学習臨界期間「中」と「後」とで発現誘導率が異なる遺伝子群の検証を行った。</p>
<p>研究結果</p>	<p>本研究では、囀り学習臨界期時期特異性に着目し、音声学習をしている発達過程の zebra finch 若鳥(孵化後 35-45 日)と、囀り音声学習を終えた成鳥(孵化後 120-150 日)の2グループを比較した。また、囀り行動を自動録音し、囀り行動の直後の脳をサンプリングすることで行動依存性を示す遺伝子発現変化を、<i>in-situ hybridization</i> 法を用いて検証した。この2群に対して、脳内の発声学習・生成に関与する神経核で発現差を示す遺伝子群を探索した。その結果、アンカータンパク質と知られる Arc(activity-regulated cytoskeleton-associated protein)や神経修飾因子である enkephalin をはじめ、新たに転写因子、発現調節因子、細胞骨格関連遺伝子等、予想外の多岐にわたる遺伝子群が学習臨界期の中と後でさえずり行動によって異なる発現差を示した(説明書 図 3)。また、その発現変化を細胞レベルで観察した場合、多くが囀り学習・生成行動に特化した神経回路の特異的細胞(Arc の場合は、RA における nXII 神経核に投射する神経細胞(説明書 図 4))に若鳥時の発声行動をするときのみ遺伝子発現の誘導がかかることを明らかにできた。</p>
<p>今後の課題</p>	<p>本研究において、音声学習をしている発達過程の若鳥と、囀り音声学習を終えた成鳥の2グループ間で、さえずり行動によって脳内の発声学習・生成に関与する神経核で発現差を示す遺伝子群を明らかにできた。発声行動依存性、神経回路特異性、そして学習臨界期間限定性を兼ね備えた遺伝子群の同定ができたことになる。これを踏まえてこれらの遺伝子の発現制御が、学習臨界期間中の発声学習の程度に依存するものなのか(Learning critical-period dependent)であるか、発達日齢依存的な差(Age dependent)であるか、さらに明らかにしていきたいと考えている。そのためにさらに、Isolation (社会性隔離条件) 鋳型パターンの欠損の誘導、Deafening (聴覚除去条件) 感覚フィードバック障害 Devocalization(無声化条件)運動出力障害といった、学習阻害・学習環境改変動物を利用した第二段階スクリーニングを行う必要がある。また、今回同定した遺伝子群の生体内における脳内機能を検証することも重要である。この目的のためにウイルス発現系による遺伝子改変(遺伝子過剰発現、及び発現阻害)動物を作成し、発声学習・生成にどのような表現型を示すか興味深い。</p>

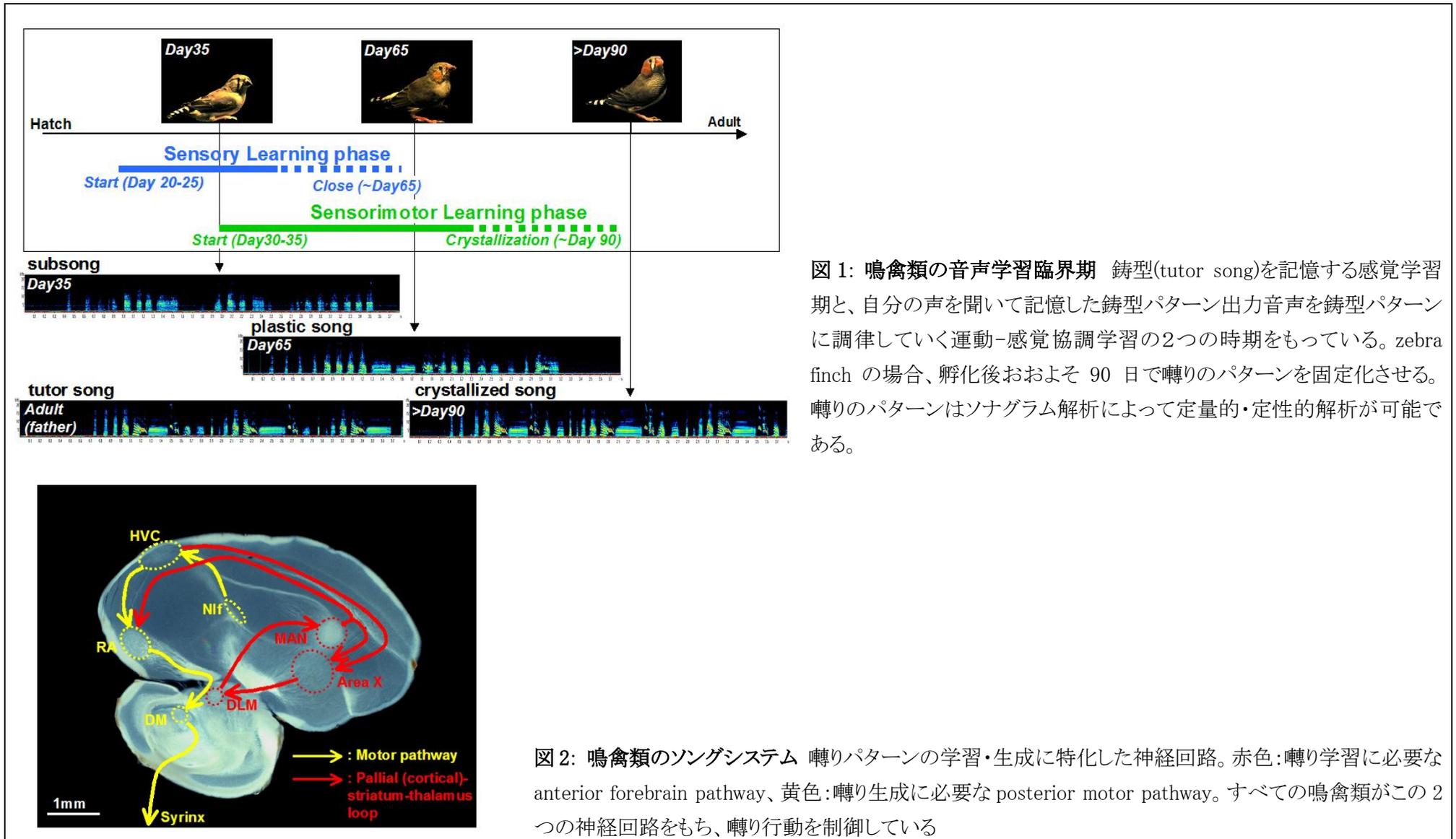


図 1: 鳴禽類の音声学習臨界期 鋳型(tutor song)を記憶する感覚学習期と、自分の声を聞いて記憶した鋳型パターン出力音声を鋳型パターンに調律していく運動-感覚協調学習の2つの時期をもっている。zebra finch の場合、孵化後おおよそ 90 日で囀りのパターンを固定化させる。囀りのパターンはソナグラム解析によって定量的・定性的解析が可能である。

図 2: 鳴禽類のソングシステム 囀りパターンの学習・生成に特化した神経回路。赤色:囀り学習に必要な anterior forebrain pathway、黄色:囀り生成に必要な posterior motor pathway。すべての鳴禽類がこの2つの神経回路をもち、囀り行動を制御している

(注:フローチャート図, ブロック図, 構成図, 写真, データ表, グラフ等 研究内容の補足説明にご使用下さい。)

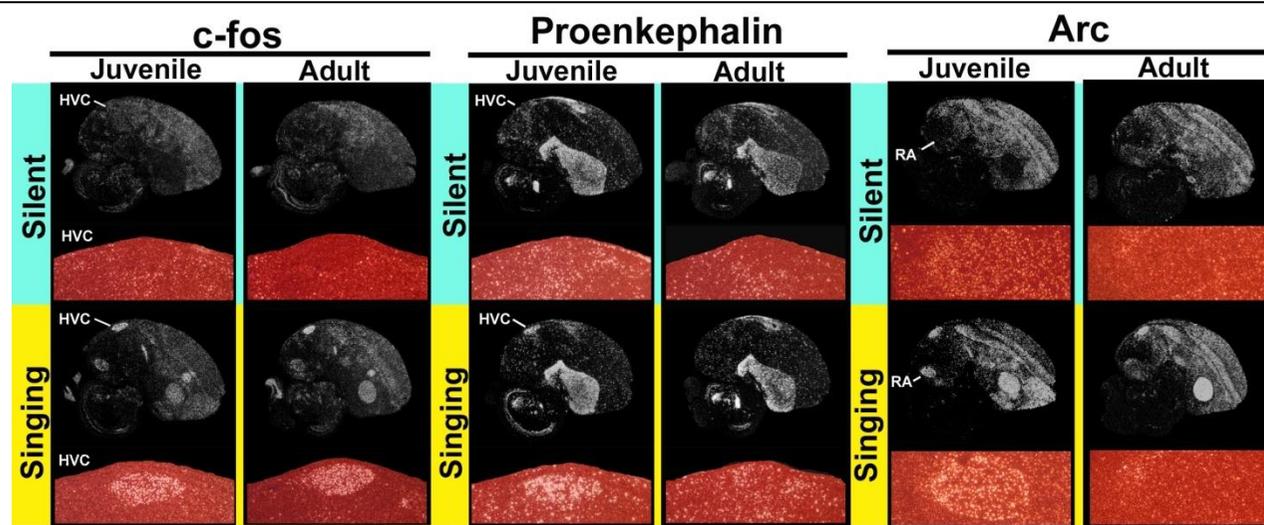


図 3: 学習臨界期間中(juvenile)と後 (adult)とで、囀り行動で発現誘導率が異なる遺伝子群の例 (白色がメッセンジャーRNA):Proenkephalin と Arc は学習臨界期間中で囀り発声行動が起こったときのみ発現誘導される。c-fos は囀り行動で誘導されるが臨界期間中・後でも差は見られぬ。

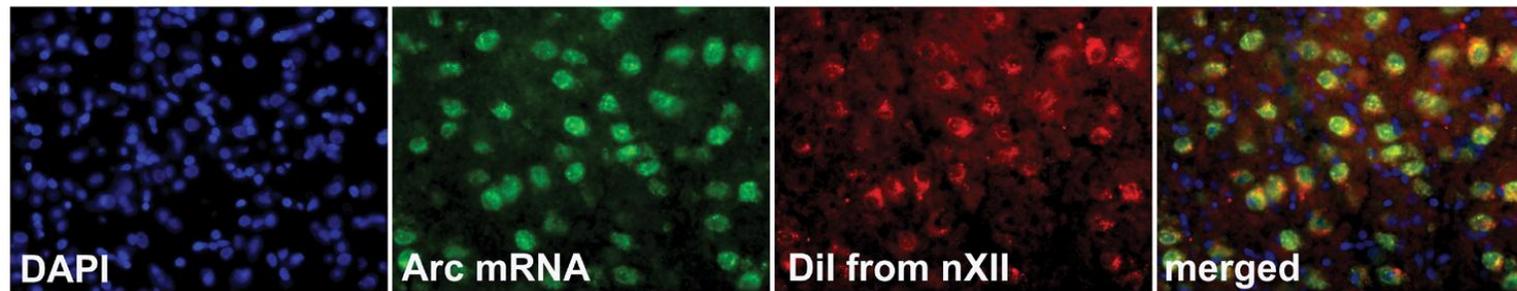


図 5: Arc メッセンジャーRNA の細胞特異的発現: 囀り行動による学習臨界期特異的発現が、舌下神経核(nXII)に投射している神経細胞だけで見られる。DAPI はすべての細胞の核を染める。