

小鳥のさえずりと神経科学：言語発声の分子基盤の理解に向けて

和多和宏 (わだ かずひろ) wada@sci.hokudai.ac.jp

北海道大学 大学院先端生命科学研究院 先端生体制御分野

Summary:

声、それも学習によって獲得された音声パターンを発声・発話しているとき、脳の中で一体何がおこっているのでしょうか？この問いに対して、小鳥（鳴禽類 ソングバード）のさえずり行動の研究から、発声行動に伴う遺伝子発現変動の知見の集約に成功してきている。

誰に強いられるわけでもなく、自然下で自由にさえずっているように見える小鳥の脳内では、そのさえずりの度に、30 以上にのぼる多様な遺伝子群が経時的に、そして脳部位特異的にダイナミックな発現制御を受けている。本研究室では、近年急速に蓄積されつつある比較ゲノム情報・分子生物学的手法を駆使し、行動・神経回路レベルでのアナロジーから小鳥のさえずり行動からヒトの発話の分子基盤を明らかにしていこうとする研究を推し進めている。

はじめに

言語学習とその発話は人間の精神発達と社会適応にとって極めて重要な課題である。しかし、その言語習得と生成に関する神経生物学的研究は多くの未解決問題を抱えている。「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？」。誰もが日常の生活の中で疑問に思うこのような問いにさえ、我々は十分な答えを提示できるまで至っていない。

研究推進を困難にしている最大の理由は、言うまでもなくヒトとその脳を対象にせざるを得ない為である。特に生体組織をサンプルする侵害性の研究が不可避な分子生物学的アプローチにとって、ヒトの言語を直接に研究することはほとんど不可能とあってよい。他の認知脳科学上の課題であれば、マウスやサルなどの実験用哺乳類をモデル動物として用いることが可能であろう。しかしこれらの動物は、ヒトに近縁であっても学習を必要としない生得的な発声行動しかない。つまり、言語学習のモデルとして利用することができないのである。では、このままヒトの言語学習・生成のメカニズムを分子レベルで理解することを「untouchable field (触ってはならない分野)」として放棄するのか？ここに鳴禽類ソングバードを用いた研究の存在意義と将来的な可能性がある。本研究室では、ヒトの言語を理解するための研究戦略の一つとして、ソングバード研究からこれまでの研究では得られなかった知見を得るべく研究を行っている。

小鳥のさえずりとヒトの言葉

ヒトの言語習得と小鳥のさえずり学習の間には、神経行動学的に高い共通性がある。共に感覚運

動学習(Sensorimotor Learning)を根幹とする発声学習によって成立している。つまり、親を含めた他個体(tutor)から音声パターンを聞き、その聞き取った音を、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 (図 1) ¹⁾。

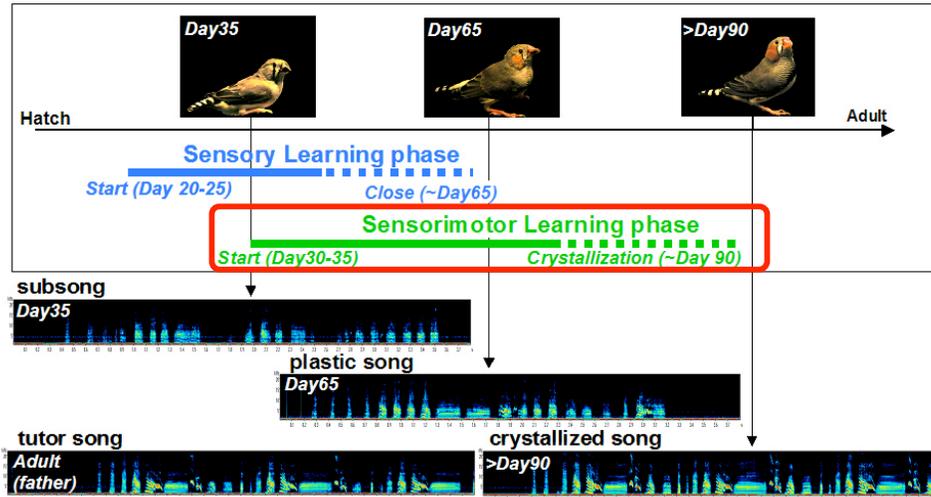


図 1 : 小鳥 (キンカチョウ zebra finch) の音声発声学習

親や他の個体のさえずりのパターン (鋳型 tutor song) を感覚学習期 (Sensory Learning phase)中に学習・記憶する。それに続いて感覚運動学習期(Sensorimotor Learning phase)がある。この間に、自ら出す声聞きながら記憶した鋳型パターンに徐々に近づけていく。下段のソナグラムで subsong から plastic song、crystallized song へと変化していくのがわかる (横軸が時間、縦軸が音の高さ Hz)。手術的に聴覚を損傷させると、記憶した鋳型パターンとは異なる雑音の多いさえずりとなる。

このような他個体から囀りの発声パターンを学ぶ、つまり音声発声学習をする能力は、実は非常に限られた動物種のみで確認されている。これまでに、進化的に独立関係にある 4 種の哺乳類 (ヒト・捕鯨類・コウモリ類・ゾウ類) と 3 種の鳥類 ²⁾ (オウム目・ハチドリ目・スズメ目鳴禽類) のみで音声発声学習能が確認されている。

そのなかでさらに、ソングバードのさえずりとヒトの言葉の間には、(i) 他個体との社会的コミュニケーションのために使用していること、(ii) 自発性学習・行動であること、(iii) 学習に最適な時期、つまり学習臨界期が存在すること、(iv) 文法構造といった、複雑な連続的な音素配列を生成すること ³⁾、といった様々な特徴的な性質を合わせもっている ⁴⁾。小鳥がさえずる目的は「求愛」と「テリトリー宣言」の 2 つの意味しかないと考えられている。その一方で、ヒトはその複雑な言語を駆使することで無限ともいえる意味をつくりだしている。この違いを考慮にいれても、これほどまでにヒト言語発声行動に類似した特性をもつ動物行動は、他種の動物では現在発見されてい

い。

小鳥と哺乳類ヒトの脳、神経回路、そして遺伝子

鳥類と哺乳類の脳がここ最近の間で、神経回路・遺伝子配列レベルで多くの相同性があることが、近年明らかになってきている^{5),6)}。さらに、小鳥の脳内には、ヒト言語野に相当する発声学習・生成に特化した神経回路が存在している⁷⁾。ソングシステム(歌回路)と呼ばれるものである(図2)。この神経回路は大きく2つに分かれ、さえずりの「学習」に重要な役割をもつ anterior vocal pathway とさえずりの「生成」に重要な役割をもつ posterior vocal pathway がある⁷⁾。

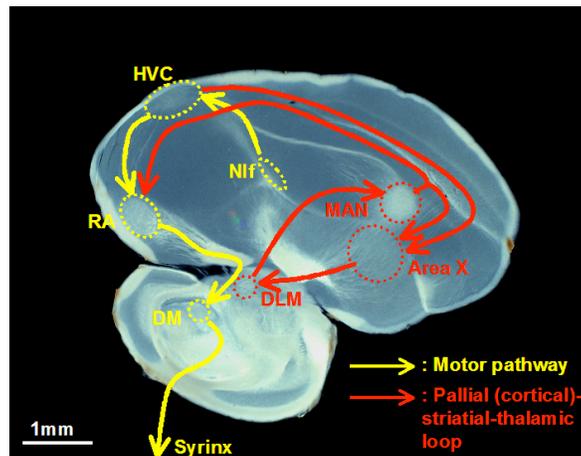


図2 ソングシステム

黄色: さえずりの生成に必要な posterior motor pathway。赤色: さえずりの学習に必要な anterior forebrain pathway。この回路は哺乳類の cortical-striatal-thalamic loop (大脳・基底核・視床回路) と相同関係がある。すべての鳴禽類がこの2つの神経回路をもち、さえずり行動を制御している。anterior forebrain pathway を幼鳥期のさえずり学習時期に破壊すると、正常なさえずりパターンを学べない。posterior motor pathway は幼鳥、成鳥期を問わず、この回路のいずれかの部分が破壊されると正常な発声ができなくなる。

このソングシステムの分子基盤を探るべく、これまで鳴禽類の一種キンカチョウから様々な遺伝子をクローニングし、DNA配列を解析、その脳内発現パターンを解析してきた。例えば、神経興奮・可塑性に重要なグルタミン酸受容体は、全サブユニットが哺乳類とまったく同じように存在し、DNA塩基配列で哺乳類と平均90%前後の相同性をもっていた。またその脳内発現解析から、グルタミン酸受容体群が音声発声学習・生成に関係する脳神経組織で、脳の他の部位とは異なる特別な発現制御を受けていることを発見した(例えばGluR1ではArea Xにおいて周りのstriatumよりも高い発現が見られる一方で、HVC, RA, MANといった神経核では低い発現を示していた)⁸⁾。これはヒト脳内の言語野でも非言語野と比べて、特異的な遺伝子群が発現制御が行われている可能性を

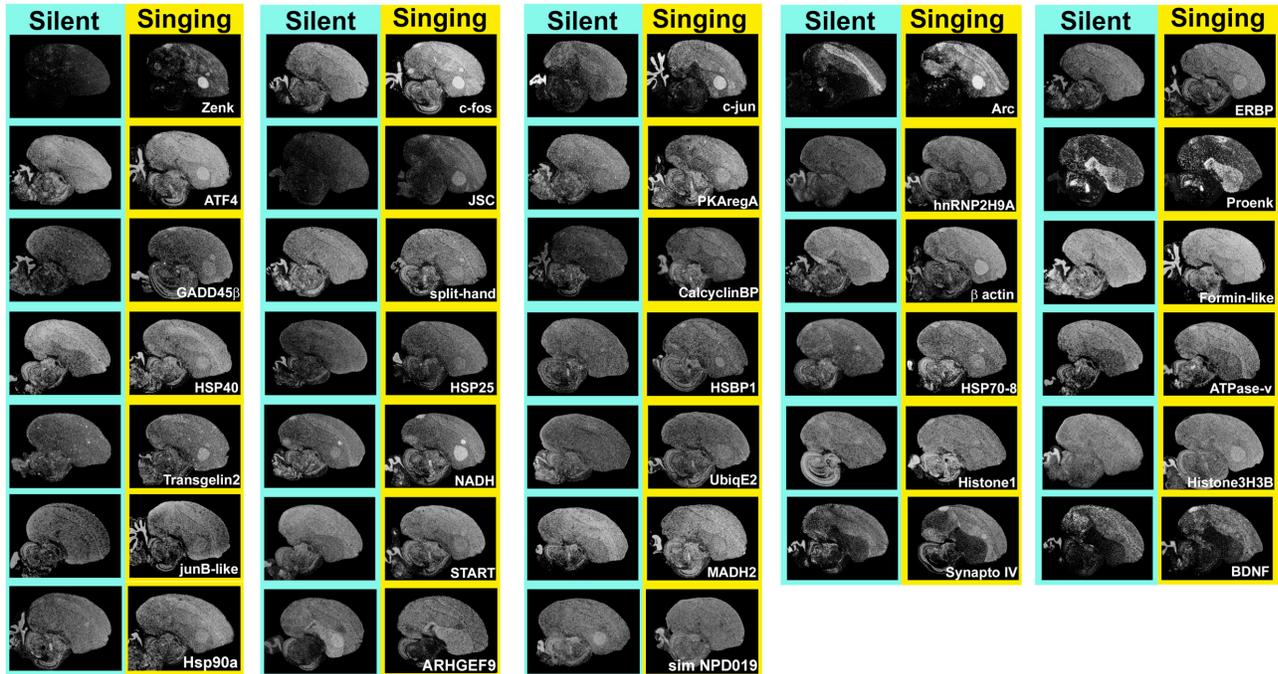
示唆する。また、学習記憶に重要な転写因子と知られるCREB (cAMP Response Element-Binding Protein)も、全長アミノ酸配列がヒトCREBに対して95%の相同性を認めた⁹⁾。線虫やショウジョウバエでは、多くの遺伝子が哺乳類に対して、アミノ酸配列で30~60%ほどの相同性を認める程度である。鳴禽類は遺伝子レベルで見ると、マウスやラットにも劣らないほどヒトと相同性をもっているといえる。しかし、ほんの数年前まで、ソングバードの分子生物学的研究には様々な問題が存在していた。まず、ゲノムDNA配列が分かっていたいなかった (現在、zebra finchゲノムシーケンスプロジェクトが進行中)。また、トランスジェニック動物を作る手立てがなかった (近年では、劇的に改良が進んでいるウイルス発現系をつかった実験系がソングバード研究に応用されている)。さらに、GenBankなどの遺伝子データベースにcDNAの情報さえ、その登録遺伝子数が30にも達していない状況が続いていた。このようななかで、これまでに筆者らは統合的な研究解析システム“Songbird functional high-throughput analysis system”を構築してきた¹⁰⁾。この研究解析システムは、ソングバード脳内に発現しているほぼすべての遺伝子を完全長cDNAライブラリー化 (理化学研究所 林崎研究室 Dr. Piero Carninciチームリーダーとの共同研究)、その完全長cDNAシーケンス情報の独自開発データベース化(<http://songbirdtranscriptome.net/>)、18,000個の完全長cDNAアレイを用いた遺伝子発現のハイスループット解析、およびそれをもとに、完全長cDNAストックを用いたウイルス発現系による脳内での遺伝子発現改変動物の行動解析から構成される。このような分子生物学的研究のマテリアル・情報基盤の整備が進んできている^{10), 11), 12)}。ヒトの言語習得・生成における脳内分子基盤の理解へ向け、鳴禽類ソングバードは十分な可能性をもつ比較モデル動物としての存在価値を築きつつある。

声を出しているとき、物質レベルで何が脳内でおこっているのか？

この問いは、筆者自身が大学院時代にソングバードを相手に研究を始めたときからのクエスションであった。この問いに対して、前述した“Songbird functional high-throughput analysis system”を用いて、小鳥の発声行動が脳に及ぼす遺伝子レベルの変化を明らかにしてきた¹⁰⁾。そこから言えることを一言いうと、「小鳥がさえずっていると、そのさえずりの度に、多くの遺伝子が、脳の細胞のなかで新たに発現誘導されている」ということである。これまでの研究で、ヒトが発話をしているとき・小鳥がさえずっているとき、言語野やソングシステムに関わる脳部位の神経細胞が興奮することが明らかにさせてきた。その神経興奮によるカルシウムイオンの神経細胞への流入によって、細胞の中では普段は、誘導がおこっていない遺伝子の誘導スイッチがオンになる。そうであるならば、一体何個くらいの遺伝子が、実際に小鳥がさえずるたびに、脳のなかで誘導されるのか？

現在実際に、実験的に確認した分だけで 33 個、推定で最低でも 100 個以上の遺伝子群が声を出すことで新たに発現誘導されることが分かった (図 3)。そして、これらの遺伝子群にはヒトにもホモログ遺伝子が存在する。それらには、転写因子(Egr1, c-fos, c-jun, ATF4 など)をはじめ、アク

チン、およびアクチン結合タンパク質といった細胞骨格・アンカータンパク質(β -actin, Trangelin2, Formin-like protein, Arc など) に関わる遺伝子群や、神経伝達物質・そのシナプス間隙への放出に関わる遺伝子群(BDNF, Proenkephalin)、シャペロンおよびその結合タンパク質 (HSP25, HSP40, HSP70-8, HSBP1 など)、免疫関連物質(JSC)も含まれていた。遺伝子機能から推測すると実に多彩な遺伝子群が発現誘導されていた。またこれらの遺伝子のいくつかはすでに、ノックアウトマウ

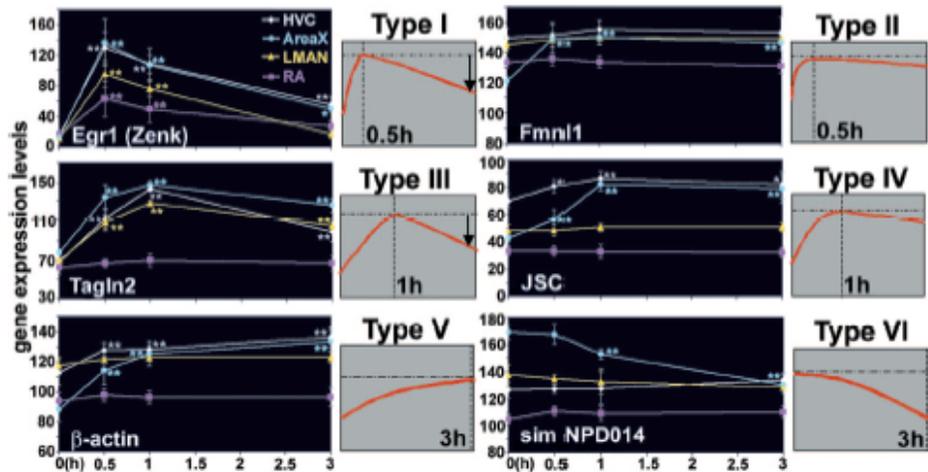


スが存在し学習・記憶形成に障害を示すことが報告されている^{13),14), 15)}。

図 3: さえずり行動 (成鳥) で発現誘導される遺伝子群

メッセンジャーRNA が白色のシグナルとして検出されている。左青色側がさえずっていない状態 (silent)、右黄色側がさえずっている状態(singing)。Zenk, ATF4, GADD45 β などは遺伝子名を表す。左右の脳イメージを比べると図 2 で述べたソングシステム内の神経核群で遺伝子の発現変動をみることができる。

また、これら発声行動によって制御される遺伝子群の脳内の経時的発現変動は、発現のピークタイムおよびその後の消失パターン(degradation speed)の組み合わせから 6 つのグループに分類できた(図 4)。これは、動物行動学的にも、また脳内分子カスケードを考える上でも興味深い現象であるといえる。同じ声を出したとしても、15 分、30 分、1 時間、3 時間とどれだけの時間その行動を発現しつづけるかによって、脳内細胞内の分子レベルでの構成が連続的に変化していくという「行動に伴う脳内分子ダイナミクス」の存在を示唆する。このさえずり行動によって発現制御されている遺伝子群が、実際の発声学習・生成行動に個体レベルでいかに関わっているのか、これから明ら



かにされる必要がある。また実際に、そのような実験・解析が進んでいるのが現状である。

図 4: さえずり行動で誘導される遺伝子群の脳内における経時的発現変動

横軸がさえずりを始めてからの時間、縦軸がメッセンジャーRNA の発現量、それぞれの色はソングシステム内の神経核 HVC, Area X, LAMN, RA を意味する。さえずり行動によって発現誘導される 33 個の遺伝子群のすべてがこの 6 パターンのいずれかに分類できることが分かった。

小鳥の脳の研究から人の脳へ

2007 年に入り、MRI (核磁気共鳴装置画像法) を用いて、生きたままの動物の脳内で遺伝子発現をみる技術の報告がなされた¹⁶⁾。これが意味することは、そう遠くない将来に、ヒトの脳でも非侵襲的に遺伝子発現をみるのが可能になることである。その際、最も重要な点は、ヒト脳内の特定部位を可視化するために、どの遺伝子を用いるのかということである。

現在、脳腫瘍摘出などの脳外科手術において言語野を傷つけない、その機能温存が重要な問題となっている。病巣を除去できても言語野が損傷されることで、患者の QOL(Quality of Life) を著しく下げてしまう。このため、術中 MRI や覚醒下手術での電気刺激や神経誘発電位による脳機能マッピングを行い、言語野を同定しながらの手術が施行されている。しかし、年齢・性別・普段使用している言語・病変による偏位等によって、個人個人の脳内言語野の広がりやが少しずつ異なる。手術中に治療と平行して摘出部位を判断していかねばならず、患者・術者共に大きな負担を負ってい

るのが現状である。

このような現在の医療診断の限界に対して、近年の技術革新と鳴禽類ソングバードで得た知見を応用していくことで、その壁をブレイクスルーできるのではないかと考えている。これまで述べてきたように、ヒト哺乳類もソングバードも神経細胞レベル、神経活動および遺伝子発現における分子カスケードには多くの共通するメカニズムが存在すると考えられる。ならば、鳥がさえずっているときにソングシステム内で誘導される遺伝子群と、ヒトが発話の際に脳内言語野で誘導される遺伝子群には共通するものが存在していると考えるのは行き過ぎた想像であろうか。ソングバードのさえずり行動でみられたダイナミックな遺伝子発現制御がヒトの言語野でも起こっているだろうし、そのような遺伝子群を用いることで正確に言語野と非言語野との境界領域を分別できるのではないかと筆者は考えている。ソングバードをモデル動物として得られた知見をヒトの言葉の発話における脳内神経基盤の理解へと直接に還元されていく時代が、もうそこに来ているように思う。

(本稿は「脳 21 2007 念 vol.10, No.4」へ寄稿したものを改編してものである。)

参考文献

- 1) Konishi M: The role of auditory feedback in the control of vocalization in the white-crowned sparrow. *Z Tierpsychol* 22:770-83, 1965
- 2) Nottebohm F: The origins of vocal learning. *Amer Natural* 106: 116-140, 1972.
- 3) Okanoya K: Sexual display as a syntactical vehicle: the evolution of syntax in birdsong and human language through sexual selection . in Wray A(ed). *The transition to language*. 46-63, Oxford university press, 2002
- 4) 小西正一: 小鳥はなぜ歌うのか 岩波書店 2000.
- 5) Reiner A et al: Revised nomenclature for avian telencephalon and some related Brainstem nuclei *J.Comp. Neurology*. 473:377-414, 2004
- 6) International chicken genome sequencing consortium: Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 432: 695-716, 2004
- 7) Nottebohm F: Central control of song in the canary. *J.Comp. Neurology*. 165: 457-86, 1976
- 8) Wada K et al: Differential expression of glutamate receptors in avian neural pathway for learned vocalization. *J.Comp.Neurology*.476: 44-64, 2004
- 9) Sakaguchi et al: Song-induced phosphorylation of cAMP response element-binding protein in the songbird brain. *J Neurosci*.19:3973-81, 1999
- 10) Wada K et al: A molecular neuroethological approach for identifying and characterizing a cascade of

- behaviorally regulated genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:15212-15217, 2006
- 11) Wade J et al: A cDNA microarray from the telencephalon of juvenile male and female zebra finches. *J Neurosci Methods*. 138:199-206, 2004
 - 12) Li X et al: Genomic resources for songbird research and their use in characterizing gene expression during brain development. *Proc Natl Acad Sci U S A*.104:6834-9, 2007
 - 13) Patterson SL et al: Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*. 16:1137-45, 1996
 - 14) Jones MW et al: A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci*.4:289-96, 2001
 - 15) Plath N et al: *Arc/Arg3.1* is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories. *Neuron*. 52:437-44, 2006
 - 16) Liu CH et al: Imaging cerebral gene transcripts in live animals. *J Neurosci*. 27:713-22, 2007