

研究テーマ

音声学習臨界期における脳内エピジェネティクス遺伝子発現制御機構

1. はじめに

昨今、言語学習に広い関心が向けられている。ヒトの場合、第一言語（母国語）は出生直後から聴覚性の学習が始まり、生後一年を過ぎて発声を開始するまでには母音弁別が完成する（Kuhl & Meltzoff 1982）。その後数年間にわたって語彙は爆発的に増え、構文は速やかに複雑化していく。一般的に言語発声学習には個体発達に伴う明確な学習臨界期（適応期）が存在する。しかし、その学習臨界期は幼児期の海外滞在経験や少年期以後の生活環境によって大きく影響され、外国語習得などに大きな影響を与える（DeKeyser 2000）。ヒトの言語発声学習に関わる遺伝情報の読み出しがいかに環境要因により調節されるのであろうか？

そもそも動物が、声、それも学習によって獲得された音声パターンを発声しているとき、脳の中では物質レベルで一体何がおこっているのであろうか？ これまでに我々はヒト言語学習の比較動物モデルとして、鳴禽類（ソングバード）の囀り^{さえずり}学習を分子生物学的研究に応用する研究戦略をとってきた。小鳥が囀るたびに、囀り行動に関連した脳内神経回路において、40以上にのぼる多様な遺伝子群が経時的に発現誘導される(Wada et al., 2006)。さらにこれらの遺伝子群のなかで、発声学習臨界期の時期限定的かつ脳部位特異的に発現制御を受ける遺伝子群も存在することも明らかになってきた。音声発声学習は、様々な周りの環境情報に影響を受けながら、行動依存性、神経回路（細胞）特異性、学習臨界期間限定性という多段階遺伝子発現制御の結果にはじめて成立するのではないであろうか。

この問いに本研究では、発声学習臨界期の遺伝子発現調節にエピジェネティックによる制御機構がいかに影響を与えているか検証を行う。

2. 方法

本研究では、ソングバードの発声学習を感覚運動学習及び、その学習臨界期制御機構研究の動物モデルとして、以下の3点に着目した研究を進めてきた。(i) 感覚運動学習である発声学習が、自ら「声を出す」という自発的行動によって始めて成立する点 [行動依存性]、(ii) 発声学習・生成に関わる特異的役割をもつ脳内特異的神経回路、ソングパスウェイにおいて起こる現象である点 [神経回路特異性]、(iii) 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 [時期限定性]である。特にこれら遺伝子群にエピジェネティクス関連遺伝子が存在しており、学習臨界中の発声行動によって神経活動依存的に発現誘導されることで脳内のエピジェネティクス動態に影響を与え、それにより学習臨界期制御に重要な機能をもっていると考えた。

実際には、音声発声学習をしている発達過程の zebra finch (*taeniopygia gutta*) 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 グループを対象として、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した。またプロモーター近傍のゲノム DNA メチル化状態をモニターするために、脳部位特異的 biopsy を行い、ゲノム DNA の抽出後 bisulfite sequence 法を施行した。

3. 結果

ソングバードの音声学習においてその学習臨界期中・後で実際に脳内エピジェネティクスに変化が起きているのかをまず検証するために、AMPA型グルタミン酸受容体のアンカープロテインとして知られる Arc (activity-regulated cytoskeleton-associated protein)に着目した。この遺伝子は、発声行動依存性+学習臨界期間限定性+細胞特異的発現制御を受けた遺伝子群の一つである。Arc mRNAは学習臨界期間中(juvenile)で囀り行動が起こったときのみ、ソングバードのRA神経核(発現哺乳類大脳第5層に相当)で誘導される[図1]。またRA核内ではnXII神経核へ投射する投射ニューロン限定的に制御されていることをこれまでに明らかにしてきた。

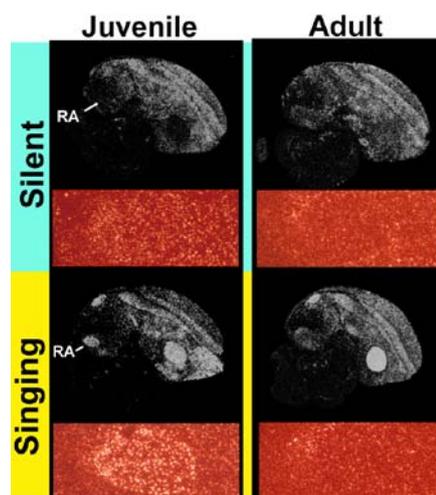


図1: 学習臨界期間中・後で、囀り行動で発現誘導率が異なる Arc 遺伝子

この多段階発現制御を受ける Arc 遺伝子のゲノム上のプロモーター近傍の DNA メチル化変化を発声学習臨界期中及び後で検証した。Arc 完全長 cDNA より推定された転写開始点から-1500~+500bp の配列中に CpG アイランドが存在したおり、RA 核では Arc 遺伝子の 5'UTR 領域において juvenile と adult でメチル化状態が大きく異なることが明らかになった[図 2 左: 白丸が非メチル化 CpG, 黒丸がメチル化 CpG]。発声学習臨界期中の juvenile ではそのメチル化状態が低く、学習臨界期後の adult においてはメチル化状態が高い[図 2 右]。このメチル化変化は学習臨界期間中・後の Arc mRNA 発現誘導率の変化と非常によく合致する。この結果は、音声発声学習といった感覚運動学習の学習臨界期にエピジェネティクス変化が起きていることを示すはじめてのデータである。また、これまでに知られている発声行動依存性+学習臨界期間限定性+細胞特異的発現といった学習臨界期中に多段階発現制御を受ける他の遺伝子群も同様に DNA メチル化といったエピジェネティクスによる発現制を受けていることを示唆する。

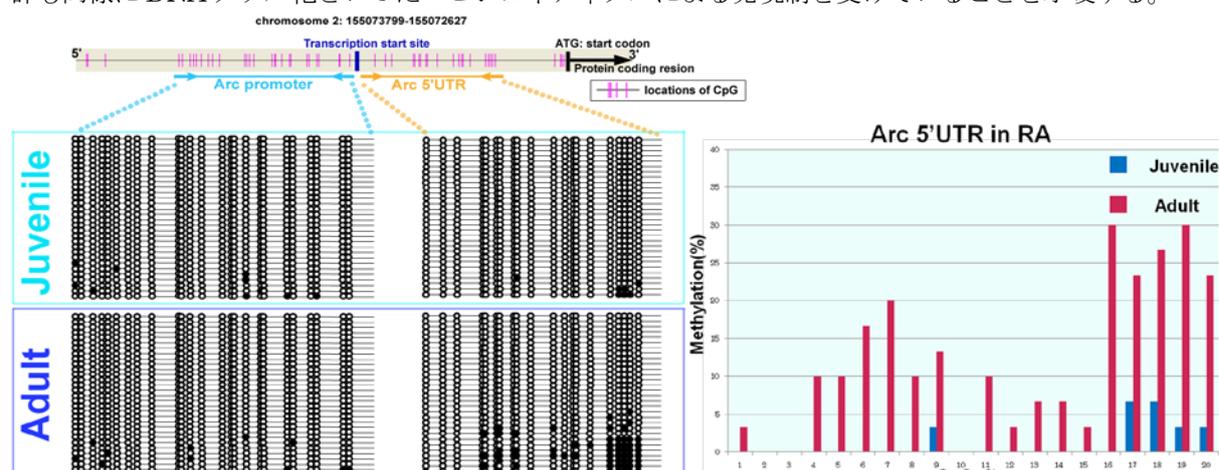


図2: 学習臨界期間中 (juvenile) と後 (adult)におけるArc プロモーター領域および 5'UTR におけるゲノム DNA メチル化状態の違い

さらに今回、発声行動による直接的な脳内エピジェネティクス発現制御の可能性を検証していくために、これまでに明らかにしてきた発声行動によって発現誘導される遺伝子群の中でエピジェネティクス関連遺伝子の探索を開始した。その結果、Gadd45b(Growth arrest and DNA-damage-inducible, beta)がソングバード脳内において発声行動による神経活動依存的に発現誘導されることが分かった。Gadd45b

は、2009年にMa et al.によって、哺乳類脳（海馬）で神経活動によって発現誘導され、DNAの脱メチル化機構に関わり、神経活動依存的なエピジェネティクス制御因子として報告された。現在、学習臨界期中の脳内発現量及び、神経活動による発現誘導率が学習臨界期間で大きく変化する結果を得てきている。また、ウイルス発現系を用いた脳内異所発現による発声学習及び学習臨界期制御への影響を検証すべく研究を進めている。

4. 考察

ヒトの言語獲得、小鳥の囀り学習といった音声発声学習は、感覚運動学習を根幹とする学習である。自ら声を出すことによって始めて成立する。ゆえに動物個体の発達に目を向けたとき、同じ動物種においても、学習臨界期（適応期）中の日々の行動は個々の動物で大きく異なる。一日のなかで多くの時間を発声行動に費やす個体もいれば、そうでない個体も存在する。そして、同じ歌のお手本を与えても、非常に上手に学習できる個体と、そうでない個体が存在し、またそれぞれの学習臨界期の長さにも個体差が存在する。

本研究では、発声行動によって発現誘導され、学習臨界期間でその発現誘導率が変わる遺伝子に着目し、その遺伝子のゲノム上のDNAメチル化状態が学習臨界期間で変化しているという結果をはじめて得た。また発声行動によって発現誘導される遺伝子群のなかで、脳内エピジェネティクス制御に直接的に関わる可能性をもつ遺伝子の存在を示唆する結果も得はじめている。発声行動という自発的行動によって刻々と変化していく脳内遺伝子発現という内部環境の制御にエピジェネティクスに関わり動物個体の行動に更に反映されることが起こりうるのかもしれない。生まれもつ遺伝的多様性と、個体発達段階における行動によるエピジェネティクス変化の両方が、行動における個体差の成立に重要な意味をもつのではないであろうか。

5. 発表論文、

Liu WC, Wada K, Nottebohm F. Variable food begging calls are harbingers of vocal learning.

PLoS ONE. 16:e5929. 2009

Horita H, Wada K, Jarvis ED Early onset of deafening-induced song deterioration and differential requirements of the pallial-basal ganglia vocal pathway

Eur J Neurosci 28:2519-2532.2008

Feenders G, Liedvogel M, Rivas M, Zapka M, Horita H, Hara E, Wada K, Mouritsen H, & Jarvis ED Molecular Mapping of Movement-Associated Areas in the Avian Brain: A Motor Theory for Vocal Learning Origin

PLoS ONE, 3:e1768. 2008

参考文献

Kuhl & Meltzoff, The bimodal perception of speech in infancy.

Science. 218(4577):1138-41, 1982

Herschkowitz N, Neurological bases of behavioral development in infancy.

Brain Dev. 22(7):411-6, 2000

Wada K, et al.,. A molecular neuroethological approach for identifying and characterizing a cascade of behaviorally regulated genes.PNAS 103:15212-15217. 2006