

## 学 位 論 文 要 旨

論文題名    ラットの聴覚皮質における合成母音に応答する領野の同定  
著     者    小川 剛  
専     攻    帝京大学大学院医学研究科博士課程    第一基礎医学専攻    脳神経科学  
所     属    生理学講座  
掲載雑誌名   帝京医学雑誌  
掲載巻号数   掲載予定  
掲 載 年    2016年

### はじめに

ラットは2つの音の順番を識別でき、ヒトの母音に対応する合成母音を識別できる。また、ラットが母音を識別するためにはホルマント周波数の比が重要であり、ヒトの母音識別の特徴とラットの母音弁別の特徴には共通点がある。そのため我々は、ラットをヒトの言語音の弁別モデルとして用いている。これまでの報告で、ラットの聴覚皮質を広範囲に破壊すると、純音や母音の構成要素である単一ホルマントからなる音の弁別能力は損なわれないが、合成母音の弁別能力は低下することが知られている。さらに聴覚皮質内で限局した破壊実験により、合成母音の弁別能力は一次聴覚野の破壊では変わらないが、その吻側部や背側部の破壊では低下することが報告されている。しかし、複数の領野から構成されるラットの聴覚皮質のうち、どの領野が合成母音の弁別に関わるかは明らかにされていない。本研究においては、合成母音などの音刺激によるラット聴覚皮質内の神経活動を調べた。また、合成母音刺激に応答した聴覚領野に電気刺激を与え、領野間の神経連絡を調べた。

### 方 法

ウレタン麻酔下にあるラットの聴覚皮質での神経活動を内因性フラビン蛍光によるイメージング法で記録した。刺激音として純音、単一ホルマント音、二つのホルマントからなる合成母音を合成し実験に用いた。これらの刺激音に対する聴覚皮質の広範囲の神経活動を定量的に解析することによって、一次聴覚野を中心とした複数の聴覚領野を決定した。そして、各聴覚領野の蛍光変化の時間経過を記録し、各聴覚領野での蛍光変化および、応答の潜時に注目した解析を行った。さらに、合成母音に応じた聴覚皮質の領野を局所的に電気刺激し、聴覚領野間の神経結合も調べた。蛍光変化の大きさについての統計学的解析はノンパラメトリック多重検定のKruskal-Wallis 検定、多重比較法のBonferroni 法を用いた。

### 結 果

純音刺激に対して、一次聴覚野がよく応答した。さらに一次聴覚野は、単一ホルマント音と合成母音にも応答した。純音刺激に加え単一ホルマント音刺激を用いて蛍光反応の時間経過を解析することで、一次聴覚野のほかに新たに前聴覚野、背側聴覚野、前背側聴覚野、後聴覚野、腹側聴覚野の5つの領野が同定された。これらの聴覚領野の応答を比較すると前聴覚野と背側聴覚野は単一ホルマント音と合成母音に特異的に応答した。音刺激に対する反応潜時を比較すると腹側聴覚野では最も潜時が長かった。合成母音に特異的に応答した前聴覚野と背側聴覚野の電気刺激により、前聴覚野を電気刺激すると背側聴覚野に応答が見られ、逆に背側聴覚野を刺激すると前聴覚野に応答が見られた。

## 考 察

これまでの多くの研究で用いられてきた純音刺激では確認できなかった聴覚領野も、ホルマント音や合成母音を用いることで決定することができた。また同定された聴覚領野に電気刺激を与えることで各聴覚領野の境界部分などをより詳細に確認することができた。この手法は今後も聴覚皮質の研究に使用できると考えられる。前聴覚野と神経連絡が強い背側聴覚野は単一ホルマント音と合成母音で顕著な反応が認められた領野である。また、前聴覚野、背側聴覚野は、破壊されると合成母音の弁別学習の障害が起きる脳部位である聴覚皮質の吻側および背側部と解剖学的にそれぞれ対応するので、本研究の結果は以前の報告を裏付けるとともに前聴覚野-背側聴覚野経路に神経連絡による相互のつながりがあり、この経路が母音弁別機能において何らかの役割を果たしている可能性が考えられた。

## 結 論

これまで合成母音に対するラット聴覚皮質全体、各聴覚領野の反応は報告がなく、本研究の結果から前聴覚野、背側聴覚野が合成母音によく応じる領野であることが初めてわかった。また今回の方法を用いて前聴覚野、背側聴覚野の同定を行うこと、各領野の神経活動を調べるのが可能となる。前聴覚野と背側聴覚野の2つの領野には相互の神経連絡が存在し、母音弁別において何らかの役割を果たしていると考えられる。

- 1 帝京医学雑誌
- 2
- 3 ラットの聴覚皮質における合成母音に応答する領野の同定
- 4
- 5 帝京大学医学部生理学講座
- 6 小川 剛
- 7
- 8 Identification of auditory fields responding to synthetic vowels in rat auditory cortex
- 9
- 10 Department of Physiology, Teikyo University School of Medicine
- 11 Go Ogawa
- 12
- 13 **Key words:** Vowels, Formant, Flavoprotein autofluorescence, Auditory cortex, Rats
- 14 キーワード: 母音、ホルマント、内因性フラビン蛍光、聴覚皮質、ラット
- 15
- 16

1 和文抄録(599/600 字)

2

3 背景・目的：

4 ラットはヒトの母音に対応する合成母音を識別できる。そのためにはヒトが母  
5 音を識別するさいと同様にホルマント周波数の比が重要であると言われてい  
6 る。ラットの聴覚皮質を破壊すると、純音弁別および、母音の構成要素である  
7 単一ホルマント音の弁別は阻害されないが、複数のホルマントからなる合成母  
8 音の弁別は阻害されると報告されている。しかし、複数の領野から構成される  
9 ラットの聴覚皮質のうち、どの領野が合成母音の弁別に関わるかは明らかにさ  
10 れていない。

11 対象・方法：

12 ラットの聴覚皮質での神経活動を内因性フラビン蛍光によるイメージング法で  
13 記録した。刺激音として純音、単一ホルマント音、合成母音のそれぞれを与え、  
14 聴覚皮質の広範囲の神経活動を定量的に解析することによって、聴覚皮質内の  
15 各領野の反応性を調べた。さらに、聴覚皮質を局所的に電気刺激し、聴覚領野  
16 相互の神経結合も調べた。

1 **結果：**

2 純音刺激に対して、一次聴覚野がよく応答し、さらに単一ホルマント音と合成  
3 母音にも応答した。この領野のほかに新たに 5 つの領野が同定された。前聴覚  
4 野と背側聴覚野は単一ホルマント音と合成母音に特異的に応答した。前聴覚野  
5 を電気刺激すると背側聴覚野に応答が見られ、逆に背側聴覚野を刺激すると前  
6 聴覚野に応答が見られた。

7 **結論：**

8 前聴覚野と背側聴覚野は聴覚皮質における合成母音応答領野であり、この 2 つ  
9 の領野には相互の神経連絡が存在し、母音弁別において何らかの役割を果たし  
10 ていると考えられる。

11

12

13

14

15

16

1 英文抄録

2

3 **Background :**

4 Rats are able to detect synthetic human vowels. F2/F1 (2<sup>nd</sup> formant / 1<sup>st</sup> formant) ratio in  
5 the vowels may play an important role in sound detection by rats as in human. Bilateral  
6 lesions of rat auditory cortex do not impair the detection of pure tone (PT) and synthetic  
7 sounds with single formant (1F), but impairs that of synthetic vowels with multiple  
8 formants. The rat auditory cortex is composed of multiple fields. Which fields in rat  
9 auditory cortex are involved in the detection of vowels remains unknown.

10 **Methods :**

11 Activity of auditory neurons in rats was studied by recording autofluorescence derived  
12 from mitochondrial flavoproteins. When PT, 1F and synthetic vowels were given as  
13 sound stimulations, the response property of auditory cortex was studied by quantitative  
14 measurement of induced autofluorescence. The auditory cortex was locally stimulated  
15 by negative-positive currents pulses to study a local connection between the fields.

16 **Results :**

1 The auditory cortex was divided into six fields, each showing characteristic responses to  
2 the sound stimulation. The primary auditory cortex (A1) responded to PT as previously  
3 reported and also to 1F and the synthetic vowels in the present study. The anterior  
4 auditory field (AAF) and the dorsal auditory field (DAF) specifically responded to 1F  
5 and the synthetic vowels. Electrical stimulation to AAF elicited fluorescence responses  
6 in DAF, and that to DAF elicited the responses in AAF. This shows a mutual  
7 connection between AAF and DAF.

#### 8 **Conclusions :**

9 AAF and DAF were found to be a vowel-specific field in the auditory cortex. Mutually  
10 connected these fields may play a role in detecting the vowels in rats.

11

12

13

14

15

16

## 1 はじめに

2 空気の振動として私たちに伝えられる音は、大きさ、高さ、音色の 3 要素か  
3 らなる。音の大きさは音の振幅に、高さは周波数に、音色はスペクトル(音に含  
4 まれる周波数成分とその強度の分布)に、それぞれ対応している<sup>1)</sup>。

5 内耳から聴覚皮質(大脳皮質聴覚野と同様の意味として本文中で用いる)に至  
6 る聴覚経路の中継核では、上位になるほどに応答する周波数の範囲は狭くなり、  
7 神経の投射が収束する下丘で最も狭くなる<sup>2)</sup>。また、音の大きさや高さの知覚は  
8 聴覚皮質に障害があっても可能である<sup>3), 4)</sup>。これらのことから音の大きさの分  
9 析、周波数分析は下丘で完成すると考えられている。

10 一方で、3 要素のなかでも音色は音のスペクトルパターンとよく対応しており、  
11 環境音<sup>5)</sup>や動物の鳴き声<sup>6-8)</sup>、ヒトの言語音や母音の聞き分けにおいて重要<sup>9), 10)</sup>  
12 な役割をしている。例えば、同じ大きさで同じ高さの 2 つの母音『/a/』、『/e/』  
13 は音色が異なる。この音色の違いは、それぞれの母音を発声する時の口腔内の  
14 構造が異なるため、生じる周波数成分の強度の分布が異なることによる<sup>11)</sup>。音  
15 色の知覚に関わる複雑なスペクトルパターンや時間変動パターンの解析などの高次  
16 の処理は主に聴覚皮質で行われていると考えられている<sup>7), 12), 13)</sup>。そのため音色

1 の違いが重要である母音の識別機構を研究するには、聴覚皮質の活動を調べる  
2 必要がある。

3 言語音はヒトのコミュニケーションにおいて重要な役割を持つ。私たちは言  
4 語音の物理的成分についてはスペクトル解析などにより明確に知ることができ  
5 る<sup>11)</sup>。言語音の重要な構成要素である母音は、声帯振動により作られた倍音構  
6 造をもつ。さらに、口腔内の構造により倍音構造の中の特定の周波数成分が増  
7 強される。後者はホルマント構造と呼ばれ、母音をスペクトル解析すると周波  
8 数の低いものから順に第1ホルマント、第2ホルマント、第3ホルマントと呼  
9 ばれるホルマント構造を認める。母音の知覚には第1ホルマントと第2ホルマ  
10 ントが特に重要であることは知られている<sup>14), 15)</sup>。しかし、倍音構造とホルマン  
11 ト構造をもつ母音が聴覚皮質内のどの聴覚領野で処理され、知覚されているか  
12 はわかっていない。

13 聴覚皮質は視床の内側膝状体腹側核から直接投射を受ける複数のコア領域  
14 と、直接投射をうけない高次の領域とに分類することができる。例えばヒトの  
15 聴覚皮質はコア領域が3つあり、その周囲を取り囲む高次の領域が複数存在し  
16 <sup>16)</sup>、言語音の知覚はコア領域ではなく周囲の高次領域で行われていると考えられ

1 ている<sup>17)</sup>。一方、ラットにおいて少なくとも一次聴覚野、前聴覚野はコア領域  
2 として考えられているが<sup>18), 19)</sup>、その他に複数存在する聴覚領域がおのおのコア  
3 領域か、高次の領域かに関する報告は少ない。

4 哺乳類における言語音、特にホルマント構造を2つ以上持つ母音型の音声に  
5 対する聴覚皮質の神経活動はラット<sup>20)</sup>、スナネズミ<sup>21), 22)</sup>などのげっ歯類、フェ  
6 レット<sup>23), 24)</sup>、ネコ<sup>6)</sup>、サル<sup>25)</sup>などで調べられている。ラットでは、合成母音に  
7 対する聴覚皮質の応答が記録されたのは、複数存在する領域の中で一次聴覚野  
8 だけであり、一次聴覚野でホルマント情報を解析していると考えられている<sup>20)</sup>。

9 ラットは、高さの異なる2種類の音の順序を弁別できる。つまり、2音の順番  
10 がA音→B音かB音→A音かを知覚し、A音→B音であれば水舐めをする、B  
11 音→A音であれば水舐めをしないという学習が可能である<sup>26)</sup>。さらにラットは  
12 ホルマント構造を複数持つ合成母音を弁別することができる<sup>27)</sup>。ラットの母音  
13 弁別には第1ホルマント周波数と第2ホルマント周波数の比が重要であること  
14 がわかっており<sup>28)</sup>、ヒトと共通性<sup>29)</sup>を持つ。したがってヒトの言語音の弁別モ  
15 デルとしてラットを用いることは妥当であろう。また中山(2006)<sup>27)</sup>らによれば、  
16 聴覚皮質を広範囲に破壊したところ、純音や単一ホルマントからなる音の弁別

1 能力は損なわれなかったが、合成母音の弁別能力は低下した。この結果から、  
2 ラットの母音知覚はヒトと同様に聴覚皮質に依存していると考えられる。さら  
3 に Kudoh(2006)<sup>30)</sup>らは聴覚皮質内で限局した破壊実験を行い、合成母音の弁別能  
4 力は一次聴覚野の破壊では変わらないが、その吻側部や背側部の破壊では低下  
5 するとしている。

6 本研究においては麻酔下ラットに純音、単一ホルマント音、2つのホルマント  
7 から成る合成母音を聞かせ、聴覚皮質内の一次聴覚野およびその周囲の領野の  
8 神経活動を調べた。神経活動の記録には内因性蛍光であるフラビン蛍光を利用  
9 したイメージング法を用いた。また、合成母音刺激に応答した聴覚領野に電気  
10 刺激を与え、領野間の神経連絡を調べた。

11

## 12 方法

13 本研究のすべての実験は帝京大学動物実験の実施に関する倫理委員会ガイド  
14 ラインに則り行い、同委員会の承認を得た（帝動倫 12-062）。

15

### 16 1. 動物、麻酔、手術：

- 1 実験動物として7~9週の雄のWistarラット(チャールズリバー社)を用いた。ウ
- 2 レタン(カルバミン酸エチル 1.5 mg/kg, i.p.)を投与し、30分後の持ち上げにより
- 3 動きがないこと、痛み刺激による逃避行動がないことにより麻酔下にあること
- 4 を確認した。麻酔が効いていない場合には適宜麻酔を追加した。持ち上げに対
- 5 する逃避行動、痛み刺激による逃避行動が消失した時点で脳浮腫予防目的で
- 6 20%マンニトール(0.01 ml/g)を腹腔内投与し、20~30分後に気道分泌物による低
- 7 酸素血症の予防目的でアトロピン(15  $\mu$ g)を皮下注射してから手術を開始した。
- 8 まず髭と頭部の体毛をハサミ、バリカンを用いて除去した。プピバカイン約2 ml
- 9 を頭皮に皮下注射し、頭皮を切開した。口鼻抑え金具と後頭部からの金属棒に
- 10 よる圧迫の二点固定を行った。この固定後から3 L/hでO<sub>2</sub>を口元に投与し、体
- 11 温は直腸温のモニター(バイオリサーチセンター BWT-100)により37 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cで
- 12 調節した。
- 13 軟部組織を小さな薬匙でこするように除去し、実体顕微鏡をもちいて低倍率
- 14 で確認しつつ左側頭筋を除去した。その後ラムダ縫合を超える位置で右頭頂骨
- 15 と固定器具とのデンタルセメントによる固定を行った。デンタルセメントが完
- 16 全に固まった所で後頭部の金属棒による固定を解除し、口鼻抑え金具と頭頂部

1 の固定の 2 点固定とした。冠状縫合、矢状縫合、ラムダ縫合に囲まれた領域で  
2 側頭骨の切痕を目印に聴覚野を露出し、その後丁寧に硬膜を除去した。乾燥を  
3 防ぐ目的で 2%のアガロース生理食塩水にて脳表面を覆った。出血がある場合は  
4 適宜止血を行ってから次の過程へ移った。手術は皮下麻酔からアガロース寒天  
5 で脳表を覆うまでおよそ 2 時間程度を要した。

6

## 7 2. 刺激音：

8 純音(pure tone, PT)、単一ホルマント音(1 つのホルマントからなるので 1F)、2  
9 つのホルマントを持つ合成母音を次のように合成し、使用した。

10 純音は倍音構造のない単一周波数成分の音である(図 1A の PT)。ホルマント  
11 は、音源である声帯音を模擬した倍音構造(200 Hz)を共鳴回路に通すことにより  
12 ホルマントの発生過程を模擬し合成した<sup>28)</sup>。単一ホルマント音はホルマント周  
13 波数が 2.2 kHz と 6.2 kHz の 2 種類の単一ホルマント音を作った。Q 値(ホルマン  
14 ト周波数/ホルマントの半分値になる幅)を 40、ピッチ周波数 200 Hz とした(図 1A  
15 の 1F、図では 6.2 kHz の 1F のみを示す)。2 つのホルマントを持つ合成母音はホ  
16 ルマントを 2 つ(2.2 kHz と 6.2 kHz)もちいて合成した。合成母音の各ホルマント

1 のホルマント周波数と Q 値は第一ホルマントが 2.2 kHz(Q = 20)、第二ホルマン  
2 トが 6.2 kHz(Q = 40)、ピッチ周波数は 200 Hz とした(図 1A の合成母音)。刺激音  
3 の大きさ(SPL)はラットの耳元で 60~65 dB とした。

4 聴覚皮質の神経活動を調べるためには、音刺激として純音 6.2 kHz、単一ホル  
5 マント音(ホルマント周波数が 2.2 kHz と 6.2 kHz の 2 種類)、合成母音(2.2 kHz, 6.2  
6 kHz)の 4 種類を用いた(図 1A)。音刺激は持続時間 0.5 秒で 1 分毎に与えるが、1  
7 試行(48 分)の中で適宜選んだ 2 種類の音を交互に 24 回ずつ与えた(図 1B)。一次  
8 聴覚野を同定するためには純音、その他の領野については純音と単一ホルマン  
9 ト音のうちで刺激効果が高い方を選択し、刺激音とした。各領野を決定後、合  
10 成母音に対する応答も調べた。

11

### 12 3. フラビンイメージング<sup>31-35)</sup> :

13 神経活動が活発になると ATP が消費される結果、ミトコンドリアの電子伝達  
14 系にあるフラビンは還元型から酸化型になる。酸化型のフラビンは青色の光に  
15 より励起され緑色の蛍光を発するので、この内因性フラビンを用いて聴覚皮質  
16 の神経活動を記録した。

1 実体顕微鏡(Leica 社 MZ16f)に搭載した冷却 CCD カメラ(ORCA-AG)、および  
2 AQUACOSMOS/Ratio システム(浜松ホトニクス)を用いた。聴覚領野を決定する  
3 実験(図 2)では他の実験より高精度に領野をみる必要があったため対物レンズ  
4 2.5 倍を使用し、音刺激、電気刺激による聴覚皮質の応答には対物レンズ 2.0 倍  
5 を使用した。励起光(450-490 nm)下で緑色蛍光(500-550 nm)を記録し、聴覚皮質  
6 のイメージング(皮質上で約 7.4×5.6 mm、ビニング後 168×128 ピクセルの領域。  
7 サンプリングと露光時間はそれぞれ 110 ms と 104 ms、サンプリング数は 80、刺  
8 激開始は 36 番目のサンプリング開始と同期)を行った(図 1C、図 2A、B)。記録  
9 された蛍光の変化( $\Delta F$ )を刺激入力直前の蛍光(F、全撮影範囲の平均の自家蛍光)  
10 で除した  $\Delta F/F$  を計算し、1 試行中で得られた 24 回の応答を平均化し、カラー画  
11 像表示した (図 2A)。また、蛍光変化( $\Delta F/F$ )を音刺激の前後で連続してグラフ  
12 化した (図 2C)。

13

#### 14 4. 聴覚皮質の蛍光変化の定量的解析

15 聴覚皮質上の領野によって蛍光の強度は異なり、それが最高値(図 2C の PT 参  
16 照)に達するまでの時間も異なる(図 2C)。そこで応答を定量的に評価するために

1 次のように行った。聴覚皮質上で各刺激に対して最も強く蛍光を示した点を、  
2 定量的に解析する領野の代表点とする。その点を中心とした Region of Interest  
3 (ROI)を設定し(図 2B、対物レンズ 2.5×使用時は 12×12 ピクセル、2.0×使用時  
4 は 10×10 ピクセル)、この ROI の蛍光変化の時間経過を記録した(図 2C)。そし  
5 て、ROI での測定値にもとづいて、各聴覚領野での蛍光変化および、応答の潜  
6 時に注目した解析を行った。

7 各聴覚領野での蛍光変化の比較には正規化した値を使用した。例えば一次聴  
8 覚野に関する蛍光変化量は、一匹の個体で得られた各領野の最高値(図 2C、6 領  
9 野(後述)から 1 つずつ合計 6 つ)を平均し、その平均値で一次聴覚野の最高値を  
10 正規化して得られるデータを複数個体から集めて平均したものとした。同様に  
11 その他の 5 領野の蛍光変化量も求めた。

12

### 13 5. 聴覚領野への電気刺激:

14 聴覚野の神経連絡を調べるために前聴覚野(AAF)と背側聴覚野(DAF)を電気刺  
15 激し、これら 2 つの領野を含む 6 つの聴覚領野(結果参照)の活動を調べた。各領  
16 野内で単一ホルマント音刺激によく応答している箇所を確認し、そこでガラス

1 管微小電極(内液、1 M NaCl; 先端直径、80  $\mu$  m)を皮質表面下 300  $\mu$  m(聴覚皮  
2 質 II/III層)まで刺入、陰性-陽性短形波の定電流刺激(100  $\mu$  sec、50~300  $\mu$  A、100  
3 Hz の頻度で 50 パルス) を加えた。刺激はその効果が刺激領野に局限していると  
4 考えられる範囲での最大強度で行った。刺激を加えた部位を含むように設定し  
5 た ROI での最高値で、その他の領野の蛍光の最高値を正規化し蛍光変化%とし  
6 て比較した。

7

## 8 6. 統計処理 :

9 聴覚皮質内の各領野における蛍光変化の大きさについての統計学的解析はノン  
10 パラメトリック多重検定である Kruskal-Wallis 検定により比較する複数群をまと  
11 めて検定を行った。その結果が  $p < 0.05$  であれば少なくとも 1 つの群は他の群と  
12 差があると考えられるので、多重比較法の Bonferroni 法を用いて各 2 群間の検定  
13 を行い、どの 2 群間に差があるかを調べた。Bonferroni 法では Mann-Whitney U test  
14 にて検定を繰り返し行う、有意水準は 0.05 を検定回数で割り、Bonferroni 調整を  
15 適用した値とした。解析には JMP pro 12.0.1(SAS Institute 社)を用いた。

16

1

2 **結果：**3 **1. 聴覚領野の決定(図 2)**

4 聴覚皮質内の各聴覚領野は研究者によって異なった名称で呼ばれているが本  
5 研究では Noda らが報告している名称<sup>36)</sup>を使用し、つぎに述べるような領野の同  
6 定を行った。

7 フラビン蛍光を用いたイメージング法で純音に対して一次聴覚野(A1)が応じ  
8 ることは知られている<sup>37)</sup>。そこで純音(6.2 kHz)を用いて A1 を決定した(図 2A)。  
9 次に単一ホルマント音(6.2 kHz)刺激によるフラビン蛍光を調べると、A1 以外に  
10 もフラビン蛍光を発する領域が見出され、聴覚皮質上で空間的に区別される部  
11 分にある、次に示す 5 領域が同定された(図 2A, B)。A1 の吻側の領野を前聴覚野  
12 (以下 AAF)、前聴覚野の腹側を前腹側聴覚野(以下 AVAF)とする。A1 の背側を  
13 背側聴覚野(以下 DAF)、A1 の尾側を後聴覚野(以下 PAF)。A1 の腹側もしくは腹  
14 側かつ尾側に位置する領域を腹側聴覚野(VAF)と決定した(図 2B)。例えば刺激開  
15 始後 0.55 秒後の一時点で確認すると(図 2B)、A1、AAF、DAF、VAF は同定され  
16 たが、PAF、AVAF では蛍光反応が少なく同定が難しかった。しかし、純音と単

1 一ホルマント音を用いた刺激による蛍光反応の時間経過を解析したところ、  
2 PAF、 AVAF を含めた 6 つの領野を同定することができた(図 2A, C、詳細は後  
3 述)。

4

## 5 2. 各音刺激による聴覚皮質の応答

### 6 1) 純音刺激による応答

7 純音刺激により A1 だけでなく、VAF でも強い蛍光反応が確認され、さらに  
8 A1 や VAF と比較すると反応の小さい領野の位置が AVAF、DAF、PAF として  
9 確認できた(図 3A の PT、図 3B、図 3C の PT)。後述する単一ホルマント音刺激  
10 で同定できた AAF に関しては、その領域を同定できるような大きさの蛍光反応  
11 は純音刺激では見られなかった(図 3B)。

12 複数のラット(n=7)で 6 つの聴覚領野の蛍光変化を比較すると、A1 は最も大き  
13 な蛍光反応を示し、AAF、DAF、PAF と比べ有意に大きな蛍光変化であった(図  
14 3C の PT、 $p < 0.05$  [Kruskal-Wallis 検定]、AAF vs A1( $p = 0.002$ )、DAF vs A1 ( $p =$   
15  $0.002$ )、PAF vs A1 ( $p = 0.002$ )、検定試行回数 15 回、有意水準 0.003)。AAF は最  
16 も小さな蛍光変化を示し、A1 だけでなく VAF と比較しても有意に小さな蛍光

1 反応であった(図 3C の PT、AAF vs VAF ( $p = 0.003$ )). この領域は後述するよう  
2 に単一ホルマント音刺激では大きな蛍光反応を示した。その他の領野間の比較  
3 では有意な結果は認められず、とくに AVAF は DAF と PAF と同じ程度の蛍光  
4 反応であった(図 3C の PT)。

5

## 6 2) 単一ホルマント音刺激による応答

7 純音刺激で認められた 5 つの領野(図 3A の PT、大きな反応の A1 と VAF、小  
8 さな反応の AVAF と DAF と PAF)に加え、AAF が単一ホルマントに応答する領  
9 野として同定された、ここでは 6.2 kHz だけでなく新たに用いた 2.2 kHz の単一  
10 ホルマント音刺激によっても同定に十分な蛍光反応が確認された(図 3A の 1F  
11 (2.2 kHz)と 1F (6.2 kHz))。6.2 kHz の単一ホルマント音に対する蛍光変化を 6 つ  
12 の聴覚領野で比較すると各領野間に統計的に有意な差はなく(図 3C-1F、 $p > 0.05$   
13 [Kruskal-Wallis 検定])、領野によって蛍光反応に差が出た純音刺激による反応(図  
14 3C の PT)とは異なる結果となった。しかし、2 種類の単一ホルマント音(2.2 kHz  
15 と 6.2 kHz)で刺激すると AAF と DAF の領域は純音刺激の場合と比べ、空間的  
16 に区別された(図 3A の PT, 1F (2.2.kHz), 1F (6.2kHz))。

1

### 2 3) 2つのホルマントからなる合成母音刺激による応答

3 合成母音に対しては、今回同定された 6 つ全ての聴覚領野で強い蛍光反応が  
4 確認された(図 3A の合成母音)。純音に対して強く反応した領域(図 3A の PT 0.77  
5 秒の蛍光像)と合成母音で強く反応した領域(図 3A の合成母音 0.77 秒の蛍光像)  
6 を比較すると、純音では蛍光変化の小さかった AAF と DAF で合成母音刺激に  
7 よって大きな蛍光変化が誘発されていることがわかった。このことは、合成母  
8 音に特異的に応じる領野があることを示す(図 3B)。合成母音刺激では A1 もかな  
9 り応答するので、蛍光変化の大きさを 6 つの聴覚領野で相互に比較すると有意  
10 差は認められなかった(図 3C の合成母音、Kruskal-Wallis 検定で有意水準を下回  
11 ったが Bonferroni 法による全ペアの検定では有意差はなかった)。

12

### 13 4) 各聴覚領野の蛍光変化の比較

14 A1 は実験で用いたどの音刺激に対してもかなり強く反応したので、A1 での  
15 合成母音に対する応答を基準にして、純音、単一ホルマント音に対する応答を  
16 評価し、各聴覚領野の音刺激に対する特徴を検討した(図 4)。その結果、合成

1 母音刺激による応答が純音刺激によるものより有意に大きかったのは AAF、  
2 DAF の 2 領野だけであった (図 4、AAF では PT vs 合成母音 ( $p = 0.002$ )、DAF  
3 では PT vs 合成母音 ( $p = 0.004$ )、検定試行回数 5 回、有意水準 0.01)。これは合  
4 成母音の知覚に AAF、DAF が関与していることを示唆する。

5

#### 6 5) 合成母音刺激における各聴覚領野の潜時の比較

7 聴覚皮質で広い領域を占めている合成母音応答領野の情報処理過程の違いを  
8 調べる目的で 6 つの聴覚領野の応答の潜時を調べた。

9 音刺激後の蛍光変化の大きさは領野によって異なるので、各領野における蛍  
10 光変化の最高値(図 2C 参照)を 1 として蛍光変化を蛍光変化強度( $\Delta F / F_{\max}$ )とし  
11 て定義し直し、その時間経過を調べた (図 5)。蛍光変化が最高値に達する付近  
12 は反応がプラトーとなるため、この時点に応答の潜時とすると誤差が増える。  
13 そこで、応答が最高値の 50%に達した時点をも潜時とした。6 つの領野の潜時(平  
14 均±SD、n=7)はそれぞれ、AAF, 228 ± 61 ms ; A1 298 ± 107 ms ; DAF 254 ±  
15 109 ms ; AVAF 252 ± 64 ms ; PAF 300 ± 114 ms ; VAF 372 ± 99 ms、となっ  
16 た(図 5)。潜時はラット毎に変動が大きかったため、6 つの領野の潜時の平均を

1 用いて正規化し、比較した。その結果、VAF の潜時は AAF、 DAF、 AVAF と  
2 比較して有意に長かった (AAF, 0.811 ; A1, 1.04 ; DAF, 0.880 ; AVAF, 0.897 ; PAF,  
3 1.05 ; VAF, 1.32、 $p < 0.05$  [Kruskal-Wallis 検定]、VAF vs AAF ( $p = 0.002$ )、VAF vs  
4 DAF ( $p = 0.002$ )、VAF vs AVAF ( $p = 0.002$ )、検定試行回数 15 回、有意水準 0.003)。

5

### 6 3. 電気刺激による聴覚皮質の応答

7 音刺激として純音、単一ホルマント音、合成母音を用いたこれまでの実験で、  
8 ラットの聴覚皮質では合成母音刺激に応じる領野は純音に応じる領野とは異な  
9 っていることがわかった。

10 また、先行研究によると純音と 1 つのホルマントの音の弁別は聴覚皮質の破  
11 壊により阻害されないが、合成母音は聴覚皮質の吻側部、背側部の破壊により  
12 阻害される<sup>30)</sup>。この研究での聴覚皮質吻側部と背側部は、それぞれ今回の実験  
13 での AAF、DAF に対応し、合成母音に応じているこの 2 つの領野は合成母音の  
14 弁別に何らかの役割を果たしていると考えられる。そこで AAF や DAF とその  
15 他の領域との機能的なつながりを調べた。そのためにまず、純音、ホルマント  
16 音の刺激を行い(図 6A)、6 つの聴覚領野を同定した(図 6A, B)。そして、AAF、

1 DAF それぞれに電気刺激を加えて、その時の各領野のフラビン蛍光反応を調べ  
2 た。

3

#### 4 1) 前聴覚野(AAF)の電気刺激による各聴覚領野の応答

5 AAF へ電気刺激を加えると、反応は刺激領野の AAF、それ以外に DAF、AVAF  
6 の3つの聴覚領野に限局しており、DAF と AVAF を明確に区別できた(図 6C-1)。  
7 蛍光変化の時間経過からも AAF、DAF、AVAF とそれ以外の領野が明確に区別  
8 できた(図 6C-2)。

9 AAF の電気刺激による蛍光変化は、AAF と隣り合う DAF、AVAF で特に強く  
10 (図 6D)A1、PAF、VAF よりも有意に大きかった (A1 vs DAF ( $p=0.002$ ), A1 vs  
11 AVAF ( $p=0.003$ ), PAF vs DAF ( $p=0.002$ ), PAF vs AVAF ( $p=0.002$ ), VAF vs DAF  
12 ( $p=0.002$ ), VAF vs AVAF ( $p=0.002$ ), 試行回数 10 回、有意水準 0.005)。A1 は  
13 AAF と隣り合うが蛍光変化は小さかった。このことから、AAF から DAF と AVAF  
14 への強い神経連絡があることが示唆された(図 6E)。

15

#### 16 2) 背側聴覚野(DAF)の電気刺激による各領野の応答

1 次に DAF に電気刺激を加えると(図 7A-1)、反応は、DAF と隣り合う AAF と  
2 PAF で他の聴覚領野よりも大きい傾向が見られたが(図 7A-2, B)、各領野を統計  
3 的に比較すると、5 つの領野の中で少なくとも 1 つの領野の蛍光変化に差がある  
4 と言えるが、2 領野毎の比較(AAF vs A1 など検定試行回数 10 回)で有意な差を認  
5 めるものはなかった(図 7B, C、Kruskal-Wallis 検定で有意水準を下回ったが  
6 Bonferroni 法による全ペアの検定では有意差はなかった)。

7

8

## 9 考察：

### 10 1. ラット聴覚皮質

11 ラットの聴覚皮質は、微小電極とイメージングによるマッピングにより領野  
12 分けされている<sup>38)</sup>。領野分けされた聴覚領野はそれぞれ、様々な音刺激に対し  
13 て特徴的な反応をする<sup>36), 39-41)</sup>。ラットにおいては内側膝状体腹側核から入力を受  
14 ける A1、AAF はコア領域として考えられている<sup>42)</sup>が、それ以外にもコア領域  
15 が複数あると考えられている<sup>43)</sup>。しかし、各領野の機能的役割については明ら  
16 かになっていない。

1 A1 のニューロンは純音刺激に対して活動することが知られており<sup>44), 45)</sup>、フラ  
2 ビン蛍光においても報告がある<sup>37)</sup>ので、本研究ではまず純音に応答する A1 を同  
3 定した (図 2)。A1 の背側には応答は A1 より小さいが純音、単一ホルマント音  
4 刺激を用いることで明確に区別できる領野があり、背側聴覚野(DAF)と同定でき  
5 た。A1 の腹側かつやや尾側には、潜時が A1 よりも長いニューロン群が分布す  
6 ると報告されている<sup>42), 46)</sup>。その領域は、本研究でも音刺激終了後も遅くまで応  
7 答が続く特徴が認められたので、この領域を腹側聴覚野(VAF)とした PAF は A1  
8 と分離できることが知られた領域<sup>38), 47)</sup>であるが、音刺激に対する蛍光変化は小  
9 さかった。AVAF はまだ報告は少ないが、AAF とは異なる領域と考えられてい  
10 る<sup>36)</sup>。本研究でも、純音刺激と単一ホルマント音刺激に対する蛍光変化が異な  
11 ることが多く、他の領域と区別することができた。

12 6つの聴覚領野の中で音刺激のみでは同定が難しい部分もあるが、領野を電気  
13 刺激し誘発される反応を手掛かりにして、これらをより確実に同定することが  
14 できることがわかった。例えば DAF の腹側と A1 の背側部分は音刺激のみでは  
15 空間的に分離することが難しい場合(図 6A, PT 0.88 秒の蛍光像では A1 と DAF  
16 の境界は不明)もある。しかし、AAF を電気刺激すると DAF に大きな蛍光変化

1 を認めることで DAF の境界をより詳細に同定分離することが可能となった。

2 本研究により、これまでの多くの研究で用いられてきた純音刺激では確認で  
3 きなかつた聴覚領野も、ホルマント音や合成母音を用いることで決定すること  
4 ができた。また同定された聴覚領野に電気刺激を与えることで各聴覚領野の境  
5 界部分などをより詳細に確認することができた。電気刺激は侵襲的な方法では  
6 あるが、この手法は今後も聴覚皮質の研究に使用できると考えられる。

7

## 8 2. 音刺激

9 純音は自然界に存在しない音であるが、単一スペクトルの音であるので、音  
10 響的な因子を特定の周波数のみに絞ることが出来る。そのため、ラットを用い  
11 た多くの聴覚の研究においてしばしば用いられている。近年でも純音刺激をお  
12 こなつた報告<sup>48)</sup>、や純音刺激とフラビン蛍光を用いた報告があり<sup>37)</sup>、純音によ  
13 る応答するニューロンが A1 において認められている<sup>44), 45)</sup>。本研究においても  
14 純音刺激により A1 にて活動が認められ、今までの報告と整合する。

15 一方、ホルマント音は複雑なスペクトル成分とホルマント構造をもつ。1つの  
16 ホルマントを持つだけでは母音としては意味を持たず、2つ以上のホルマントが

1 組み合わせあって初めて特定の母音として知覚される。言語音として用いられる  
2 母音は、多くの音響情報が含まれており、その音の成分を分析、音響情報処理  
3 するためには聴覚皮質の複数の領野を介する必要があると考えられている。ラ  
4 ットの鳴き声はヒトと同様に倍音型のスペクトルであるが、ホルマント構造は  
5 持たない<sup>49)</sup>。しかし、ヒトの母音識別の特徴とラットの母音弁別の特徴にはホ  
6 ルマントの位置関係に依存した弁別をするなどの共通点があるため<sup>29), 49)</sup>ラット  
7 モデルで母音の情報処理経路を調べることは目的にかなっている。

8 本研究での音刺激は 6.2 kHz の純音、2.2 kHz と 6.2 kHz の単一ホルマント音と  
9 2つのホルマントを組み合わせた合成母音、の4種類であった。本研究で用いた  
10 Wistar ラットの聴覚可聴域は 250~80000 Hz といわれ 8000 Hz、38000 Hz の感度  
11 が高い<sup>50)</sup>。これまでの研究でホルマント周波数 2.2 kHz と 6.2 kHz からなる合成  
12 母音を弁別できること<sup>29)</sup>がわかっているため、純音および単一ホルマント音の  
13 周波数として感度のよい 8 kHz に近い 6.2 kHz を選んだ。一方 2.2 kHz の純音を  
14 音刺激として用いると A1 に蛍光変化が認められたが蛍光変化は極めて小さい  
15 ものから 6.2 kHz の純音と同様の大きさのものまでばらつきが大きかった、この  
16 原因は週齢の違い、麻酔の深度の違いなども考えられるが不明であった(未記載)

1 データ)。

2 これまで合成母音に対する反応をラット聴覚皮質全体、各聴覚領野の反応は  
3 報告がなく、本研究の結果から AAF、DAF が合成母音によく応じる領野である  
4 ことが初めてわかった。

5

### 6 3. 聴覚領野間の神経連絡

7 本研究では聴覚皮質上で合成母音によく応じる領野(AAF, DAF)の持つ神経連  
8 絡を調べた。AAF への電気刺激で DAF、AVAF に蛍光変化が認められ、DAF 刺  
9 激で AAF、PAF に蛍光変化が認められた。一方、AAF へ刺激による A1 の蛍光  
10 変化は小さく、内側膝状体腹側核からの情報は A1、AAF にそれぞれ分離して、  
11 入力しており互いにある程度独立していると考えられる。このように AAF と神  
12 経連絡が強い DAF は単一ホルマント音と合成母音で顕著な反応が認められた領  
13 野である。また、AAF、DAF は、破壊されると合成母音の弁別学習の障害が起  
14 きる脳部位である、聴覚皮質の吻側および背側部と解剖学的にそれぞれ対応す  
15 るので、本研究の結果は以前の報告<sup>30)</sup>を裏付けるとともに AAF-DAF 経路に神  
16 経連絡による相互のつながりがあり、この経路が母音弁別機能に何らかの役割

1 を果たしている可能性が考えられた。

2 電気刺激による反応が神経興奮の順行性伝播か逆行性伝播によるものかは本

3 研究ではわからない。しかし、フラビン蛍光を用いたイメージングでは順行性

4 の興奮による蛍光変化を主に見ていると考えられる。Shibuki(2003)らは解剖学的

5 に A1 とされる脳スライスの V 層を電気刺激し、活動電位による早い電場電位と

6 シナプスを介した遅い電場電位を II/III 層から記録し、同時にこの標本のフラビ

7 ン蛍光を観察した。Ca<sup>2+</sup>を除去した溶液中で電気刺激すると、早い電場電位は

8 記録されるが遅い電位は記録されず、またフラビン蛍光も認められなくなった

9 <sup>31)</sup>。このことから、フラビン蛍光の変化は少なくとも逆行性の興奮のみを反映し

10 ているものではなく、シナプスを介する神経活動を主に反映していると考えら

11 れ、AAF-DAF 経路に神経投射とシナプスの形成があることが示唆された。

12 本研究で電気刺激を与えた聴覚皮質の II/III 層はこれまでに視覚野など他の感

13 覚皮質と比較して水平結合がより密に存在していることがわかっており、この

14 水平結合が周波数情報の統合に用いられている可能性が考えられてきた <sup>51)</sup>。合

15 成母音は複雑な音響構造をもっているため複数の聴覚領野での処理が必要とな

16 るので水平結合を必要とするであろうと考えられる。本研究では領野間の神経

- 1 連絡を確認したいという目的があり、この水平結合を用いた連絡を確認できる
- 2 可能性も考え、刺激部位としてⅡ/Ⅲ層を選択した。

3

#### 4 まとめ

- 5 本研究の結果は、これまで母音を用いた研究で注目されてこなかった AAF や
- 6 DAF が母音弁別に何らかの役割をもっている可能性を支持する結果となった。
- 7 AAF と DAF には相互の神経連絡があることが示唆された(図 8)。また今回の方
- 8 法を用いて AAF、DAF の同定を行うこと、各領野の神経活動を調べることが可
- 9 能となると考えられる。

10

11

12

13

14

15

16

1

## 2 謝辞

3 本研究を進めるにあたり聴覚研究の魅力から、手術手技、実験手技、図表の作

4 成、論文執筆まで多岐にわたるご指導と終始暖かい激励をいただきました指導

5 教授の生理学講座前教授（現客員教授）工藤雅治先生に厚く御礼申し上げます。

6 また、慶應義塾大学医学部名誉教授（本学非常勤講師）長井孝紀先生には論文執

7 筆にあたり詳細かつ丁寧なご指摘をいただき大変お世話になりました、心より

8 感謝いたします。論文の進行に際してのみに留まらず多くの的確な助言、ご配

9 慮いただきました生理学講座主任教授 桜井正樹先生に深謝申し上げます。そし

10 て、執筆にあたり大変貴重なご意見をいただきました福田諭先生、暖かい励ま

11 し、ご指導いただきました村部直之先生をはじめ、ご指導ご協力いただきまし

12 た生理学講座の皆様に感謝し重ねて御礼申し上げます。

13

14

15

16

1

## 2 文献

- 3 1) Speaks CE. 音波の性質. 荒井 隆行, 菅原 勉監訳. 音入門 聴覚・音声科  
4 学のための音響学. 東京: 海文堂出版, 2002. p.1-40.
- 5 2) Katsuki Y, Sumi T, Uchiyama H, et al. Electric responses of auditory neurons  
6 in cat to sound stimulation. J Neurophysiol 1958; 21: 569-88.
- 7 3) Dykstra AR, Koh CK, Braida LD, et al. Dissociation of detection and  
8 discrimination of pure tones following bilateral lesions of auditory cortex.  
9 PLoS One 2012; 7: e44602.
- 10 4) Tramo MJ, Shah GD, Braida LD. Functional role of auditory cortex in  
11 frequency processing and pitch perception. J Neurophysiol 2002; 87: 122-39.
- 12 5) Mcadams S. Perspectives on the contribution of timbre to musical structure.  
13 Comput. Music J. 1999; 23: 85-102.
- 14 6) 丸山 直滋. 言語音と環境音の識別機序. 日本生理学雑誌 1990.04; 52:  
15 135-46.
- 16 7) 工藤 雅治. 五感の生理 病理と臨床 聴覚野における音のスペクトル

- 1           パターンと時間パターンの弁別学習. 医学のあゆみ 2005.09; 214:  
2           1097-102.
- 3   8)   Ghazanfar AA, Turesson HK, Maier JX, et al. Vocal-tract resonances as  
4           indexical cues in rhesus monkeys. Curr Biol 2007; 17: 425-30.
- 5   9)   Town SM, Atilgan H, Wood KC, et al. The role of spectral cues in timbre  
6           discrimination by ferrets and humans. J Acoust Soc Am 2015; 137: 2870-83.
- 7   10)   Liberman AM, Cooper FS, Shankweiler DP, et al. Perception of the speech  
8           code. Psychol Rev 1967; 74: 431-61.
- 9   11)   Kent RD, Read C. 音声生成の音響理論. 荒井 隆行, 菅原 便監訳. 音声  
10           の音響分析. 東京: 海文堂出版, 1996. p.15-36.
- 11   12)   Town SM, Bizley JK. Neural and behavioral investigations into timbre  
12           perception. Front Syst Neurosci 2013; 7: 88.
- 13   13)   Jack R. 母音の知覚. 今富 摂子, 菅原 便監訳. 音声知覚の基礎. 東京:  
14           海文堂出版, 2003. p.19-29.
- 15   14)   Barney GE, Peterson HL. Control methods used in a study of vowels. J  
16           Acoust Soc Am 1952; 24: 175-84.

1

2 15) Bizley JK, Walker KM. Sensitivity and selectivity of neurons in auditory  
3 cortex to the pitch, timbre, and location of sounds. *Neuroscientist* 2010; 16:  
4 453-69.

5 16) Hackett TA. Chapter 2 - Anatomic organization of the auditory cortex.  
6 Michael J, Aminoff FB, Dick FS , editors. *Handbook of clinical neurology* :  
7 Elsevier; 2015. p.27-53.

8 17) Gutschalk A, Uppenkamp S, Riedel B, et al. Pure word deafness with auditory  
9 object agnosia after bilateral lesion of the superior temporal sulcus. *Cortex*  
10 2015; 73: 24-35.

11 18) Wallace MN, Rutkowski RG, Palmer AR. Interconnections of auditory areas  
12 in the guinea pig neocortex. *Exp Brain Res* 2002; 143: 106-19.

13 19) Tsukano H, Horie M, Bo T, et al. Delineation of a frequency-organized region  
14 isolated from the mouse primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 2015; 113:  
15 2900-20.

16 20) Honey C, Schnupp J. Neural resolution of formant frequencies in the primary

- 1 auditory cortex of rats. PLoS ONE 2015; 10: e0134078.
- 2 21) Ohl FW, Scheich H. Orderly cortical representation of vowels based  
3 on formant interaction. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94: 9440-4.
- 4 22) Schebesch G, Lingner A, Firzlaff U, et al. Perception and neural representation  
5 of size-variant human vowels in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*).  
6 Hear Res 2010; 261: 1-8.
- 7 23) Mesgarani N, David SV, Fritz JB, et al. Phoneme representation and  
8 classification in primary auditory cortex. J Acoust Soc Am 2008; 123:  
9 899-909.
- 10 24) Bizley JK, Walker KM, Silverman BW, et al. Interdependent encoding of  
11 pitch, timbre, and spatial location in auditory cortex. J Neurosci 2009; 29:  
12 2064-75.
- 13 25) Fishman YI, Micheyl C, Steinschneider M. Neural representation of concurrent  
14 vowels in macaque primary auditory cortex. eNeuro 2016; 3.
- 15 26) Kudoh M, Seki K, Shibuki K. Sound sequence discrimination learning is  
16 dependent on cholinergic inputs to the rat auditory cortex. Neurosci Res

- 1           2004; 50: 113-23.
- 2   27)   中山 遙子, 澁木 克栄, 工藤 雅治. 複雑なスペクトルパターン音のラッ  
3           ト弁別学習の聴覚野依存性. 新潟医学会雑誌 2006.02; 120: 72-80.
- 4   28)   Miller JD. Auditory-perceptual interpretation of the vowel. J Acoust Soc Am  
5           1989; 85: 2114-34.
- 6   29)   小川 剛, 西田 陽子, 福田 諭, 他. ヒトの言語音の知覚メカニズムの  
7           研究のためのラットモデル: ラットによる合成母音の弁別学習. 帝京医  
8           学雑誌 2016; 39. In press
- 9   30)   Kudoh M, Nakayama Y, Hishida R, et al. Requirement of the auditory  
10           association cortex for discrimination of vowel-like sounds in rats. Neuroreport  
11           2006; 17: 1761-6.
- 12   31)   Shibuki K, Hishida R, Murakami H, et al. Dynamic imaging of somatosensory  
13           cortical activity in the rat visualized by flavoprotein autofluorescence. The  
14           Journal of Physiology 2003; 549: 919-27.
- 15   32)   Takahashi K, Hishida R, Kubota Y, et al. Transcranial fluorescence imaging  
16           of auditory cortical plasticity regulated by acoustic environments in mice. Eur J

- 1 Neurosci 2006; 23: 1365-76.
- 2 33) Hishida R, Kamatani D, Kitaura H, et al. Functional local connections with  
3 differential activity-dependence and critical periods surrounding the primary  
4 auditory cortex in rat cerebral slices. Neuroimage 2007; 34: 679-93.
- 5 34) 西田 陽子. ヒトの母子音声コミュニケーションについての動物モデル  
6 による研究 母ラット聴覚野における仔ラット音声に選択性の増強した  
7 反応. 母性衛生 2013.07; 54: 295-302.
- 8 35) Husson TR, Issa NP. Chapter 8 - Frontiers in neuroscience functional imaging  
9 with mitochondrial flavoprotein autofluorescence: theory, practice, and  
10 applications. Frostig RD, editor. In vivo optical imaging of brain function.  
11 Boca Raton (FL) : CRC Press/Taylor & Francis Taylor & Francis Group, LLC;  
12 2009.
- 13 36) Noda T, Takahashi H. Anesthetic effects of isoflurane on the tonotopic map  
14 and neuronal population activity in the rat auditory cortex. Eur J Neurosci  
15 2015; 42: 2298-311.
- 16 37) Osanai H, Tateno T. Neural response differences in the rat primary auditory

- 1 cortex under anesthesia with ketamine versus the mixture of medetomidine,  
2 midazolam and butorphanol. *Hear Res* 2016; 339: 69-79.
- 3 38) Polley DB, Read HL, Storace DA, et al. Multiparametric auditory receptive  
4 field organization across five cortical fields in the albino rat. *J Neurophysiol*  
5 2007; 97: 3621-38.
- 6 39) Profant O, Burianova J, Syka J. The response properties of neurons in different  
7 fields of the auditory cortex in the rat. *Hear Res* 2013; 296: 51-9.
- 8 40) Rutkowski RG, Miasnikov AA, Weinberger NM. Characterisation of multiple  
9 physiological fields within the anatomical core of rat auditory cortex. *Hear Res*  
10 2003; 181: 116-30.
- 11 41) Kimura A, Donishi T, Sakoda T, et al. Auditory thalamic nuclei projections  
12 to the temporal cortex in the rat. *Neuroscience* 2003; 117: 1003-16.
- 13 42) Donishi T, Kimura A, Okamoto K, et al. "Ventral" area in the rat auditory  
14 cortex: a major auditory field connected with the dorsal division of the medial  
15 geniculate body. *Neuroscience* 2006; 141: 1553-67.
- 16 43) Storace DA, Higgins NC, Read HL. Thalamic label patterns suggest primary

- 1 and ventral auditory fields are distinct core regions. *J Comp Neurol* 2010;  
2 518: 1630-46.
- 3 44) Ohshima S, Tsukano H, Kubota Y, et al. Cortical depression in the mouse  
4 auditory cortex after sound discrimination learning. *Neuroscience Research*  
5 2010; 67: 51-8.
- 6 45) Issa JB, Haeffele BD, Agarwal A, et al. Multiscale optical Ca<sup>2+</sup> imaging of  
7 tonal organization in mouse auditory cortex. *Neuron* 2014; 83: 944-59.
- 8 46) Reimer A, Hubka P, Engel AK, et al. Fast propagating waves within the rodent  
9 auditory cortex. *Cereb Cortex* 2011; 21: 166-77.
- 10 47) Doron NN, Ledoux JE, Semple MN. Redefining the tonotopic core of rat  
11 auditory cortex: physiological evidence for a posterior field. *J Comp Neurol*  
12 2002; 453: 345-60.
- 13 48) Huang L, Bai L, Zhao Y, et al. Comparison of tonal response properties of  
14 primary auditory cortex neurons of adult rats under urethane and ketamine  
15 anesthesia. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2013; 33: 785-93.
- 16 49) 西田 陽子. ヒトの母子音声コミュニケーションについての動物モデル

- 1            による研究 仔ラット音声の分析と母仔ラットの関係. 母性衛生  
2            2013.07; 54: 286-94.
- 3 50) Kelly JB, Masterton B. Auditory sensitivity of the albino rat. J Comp Physiol  
4            Psychol 1977; 91: 930-6.
- 5 51) 工藤 雅治. 聴覚の脳生理 (特集 知覚と認知の脳メカニズム). 神  
6            経研究の進歩 2004; 48: 222-33.
- 7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16

1

2 (図表の説明)

3

4 図 1

5 音刺激とラットの聴覚皮質

6 (A)実験に用いた純音(PT)、単一ホルマント音(1F)、および合成母音のスペクト

7 ル。PT(6.2 kHz)、1F(ホルマント周波数 6.2 kHz)、合成母音(第 1 ホルマント周波

8 数 2.2 kHz、第 2 ホルマント周波数 6.2 kHz)を示す。1F と合成母音の図にある山

9 のようなスペクトルはホルマント構造において特定の周波数成分が増強される

10 結果による。

11 (B)音刺激の呈示方法。

12 2 種類の音(A, B)を 1 分毎に交互に与える。おのこの音は 0.5 秒間持続で、24

13 回与えられる。

14 (C)内因性フラビン蛍光の測定方法とラットの大脳皮質。

15 左側頭部から開頭し聴覚皮質の活動を記録した。聴覚皮質内の各領野での応答

16 の比較には 2.0 倍の対物レンズが用いられた。

1

2 **図 2**

3 ラットの聴覚皮質にある 6 つの聴覚領野の同定

4 (A)純音(PT)と単一ホルマント音(1F)を与えた時の聴覚皮質の内因性フラビン蛍  
5 光変化。C に示した時間経過の時点(①~⑥)で記録された蛍光像を、対応する番  
6 号をつけて示す。同定された領野を矢印と略号で示す。聴覚皮質は PT と 1F 刺  
7 激で異なる応答を示した。

8 (B)左図：6 つの聴覚領野(AAF, DAF, A1, PAF, VAF, AVAF)を含む聴覚皮質の 1F  
9 刺激開始後 0.55 秒の蛍光像。右図：左図と対応する実体顕微鏡像に定量解析に  
10 用いた ROI を重ねて示す。各領野の略称を図右に示す。対物レンズの倍率は 2.5  
11 倍、校正のバーを図下に示す。

12 (C)左図：PT 刺激による蛍光変化の 6 つの聴覚領野での時間経過。右図：1F 刺  
13 激による蛍光変化の 6 つの聴覚領野での時間経過。B に示す領野に設定した  
14 ROI(12×12 ピクセル)内の蛍光変化の時間経過。音刺激を加えた区間を黒のバー  
15 で示す。図の上の番号(①~⑥)は A の蛍光像と対応する。PT 刺激の場合、各領  
16 野の蛍光変化の最高値を矢印で示す。図 2A, B, C は同一個体から記録。

1

2 **図 3**

3 音刺激に対する 6 つの聴覚領野の応答

4 (A)4 種類の音刺激(PT、1F-2.2 kHz、1F-6.2 kHz、合成母音)に対する聴覚皮質の

5 蛍光変化。蛍光像が記録された時点(刺激開始後の時間)を図の下部に示す。PT

6 刺激開始後 0.77 秒の蛍光像と合成母音刺激開始後 0.77 秒の蛍光像(ともに蛍光像

7 のパネル上で黒枠をつけて示す)とを選択し、B での表示に用いた。

8 (B)2 種類の音刺激(PT と合成母音)の応答部位の重ね合わせ。A にて選択した蛍

9 光像の中で 1%以上の蛍光変化が記録されたピクセル領域を選び(PT は赤、合成

10 母音は水色で示す)、重ね合わせて得られた像。A1、AVAF、VAF では 2 種類の

11 音に応答する領域が重複するが、AAF と DAF では重複しない。

12 (C)3 種類の音刺激(PT、1F-6.2 kHz、合成母音)に対する 6 つの聴覚領野の蛍光変

13 化の比較。各領野での蛍光変化の最高値(図 2C の矢印)の平均で正規化し、記録

14 した個体(n=7)の間での平均値を示す。エラーバーは標準誤差を示す。各領野の

15 蛍光変化の大きさに統計的有意差があったものを記号(\*)で示す(検定試行回数

16 15 回、 $p < 0.003$ )。

1

2 **図 4**

3 音刺激に対する蛍光変化の聴覚野間での比較

4 3 種類の音刺激(PT、1F-6.2 kHz、合成母音刺激)に対する各聴覚領野の蛍光変化  
5 を、合成母音刺激に対する A1 での蛍光変化で正規化して示す。

6 AAF と DAF では PT と合成母音では蛍光変化に差があった。統計的有意差があ  
7 った応答を記号(†)で示す(検定試行回数 5 回、 $p < 0.01$ )

8

9 **図 5**

10 音刺激に対する潜時の聴覚野間での比較

11 音刺激開始から 1 秒間の蛍光変化。各領野の蛍光変化強度が 0.5 になる点をマー  
12 カーで示しその時点を潜時とし比較した。

13

14 **図 6**

15 前聴覚野(AAF)への電気刺激による聴覚領野の応答

16 (A, B) 純音(PT)と単一ホルマント音(1F)を与えた時の聴覚皮質の蛍光変化。

- 1 音刺激によって聴覚皮質の領野を決定した。
- 2 (C-1) 電気刺激によって誘発された聴覚皮質の応答の蛍光像。
- 3 C-2 に示した時間経過の時点(①～⑤)で記録された蛍光像を、対応する番号をつ
- 4 けて示す。②に電極を刺入した AAF の ROI とその他の ROI を示す。
- 5 (C-2) 電気刺激による蛍光変化の時間経過。図の上の番号(①～⑤)は C-1 の蛍光
- 6 像と対応する。
- 7 (D)AAF への電気刺激によって誘発された蛍光変化を聴覚領野の間で比較。
- 8 蛍光変化の強さに有意差があった領野との対応を記号(‡)で示す。その対応を
- 9 DAF との対応は薄い線、AVAF との対応は濃い線で示す。(試行回数 10 回、 $p <$
- 10 0.005)
- 11 (E)聴覚皮質での AAF と他の領野の配置と強い神経連絡。
- 12 AAF は DAF や AVAF と強く神経連絡することが考えられる。
- 13
- 14 **図 7**
- 15 背側聴覚野(DAF)への電気刺激による聴覚領野の応答
- 16 (A-1) 電気刺激によって誘発された聴覚皮質の応答の蛍光像。

- 1 A-2 に示した時間経過の時点(①～⑤)で記録された蛍光像を、対応する番号をつけて示す。②に電極を刺入した DAF の ROI とその他の ROI を示す。
- 2
- 3 (A-2) 電気刺激による蛍光変化の時間経過。
- 4 図の上の番号(①～⑤)はA-1 の蛍光像と対応する。
- 5 (B)DAF への電気刺激によって誘発された蛍光変化を聴覚領野の間で比較。
- 6 (C)聴覚皮質での DAF と他の領野の配置と予想される神経連絡。
- 7
- 8 **図 8**
- 9 聴覚皮質で合成母音弁別に関わる聴覚領域

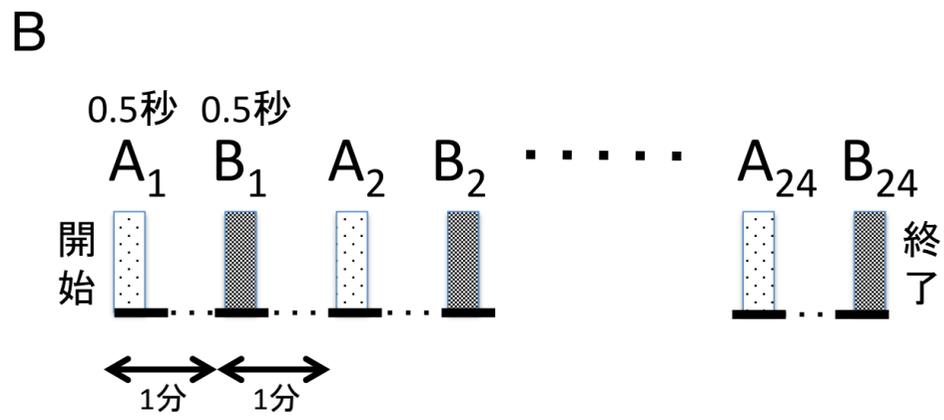
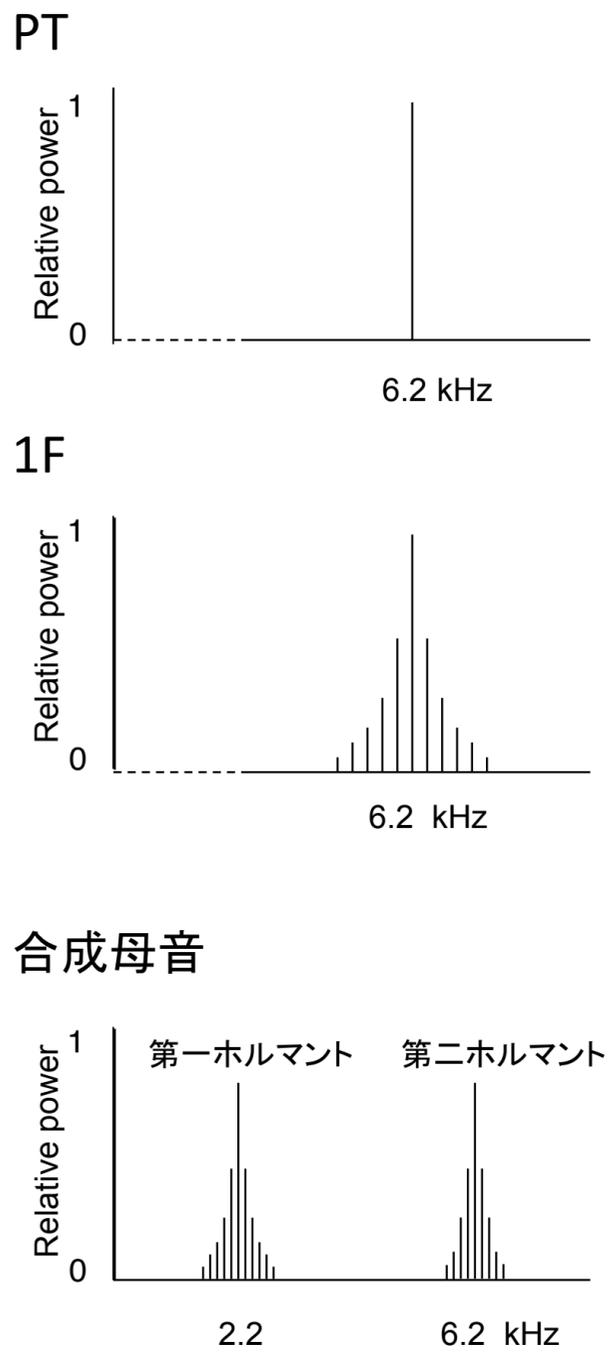
帝京医学雑誌

ラットの聴覚皮質における合成母音に応答する領野の同定

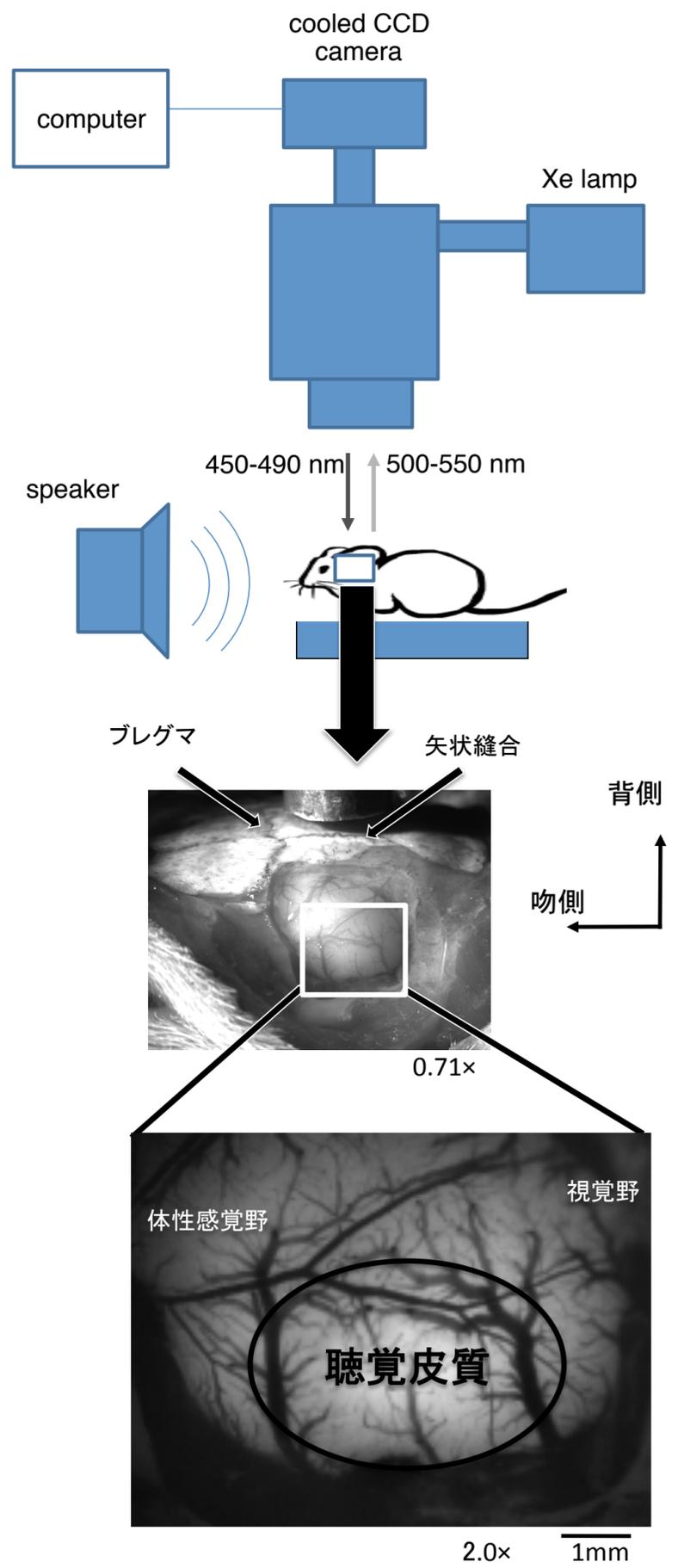
帝京大学医学部生理学講座

小川 剛

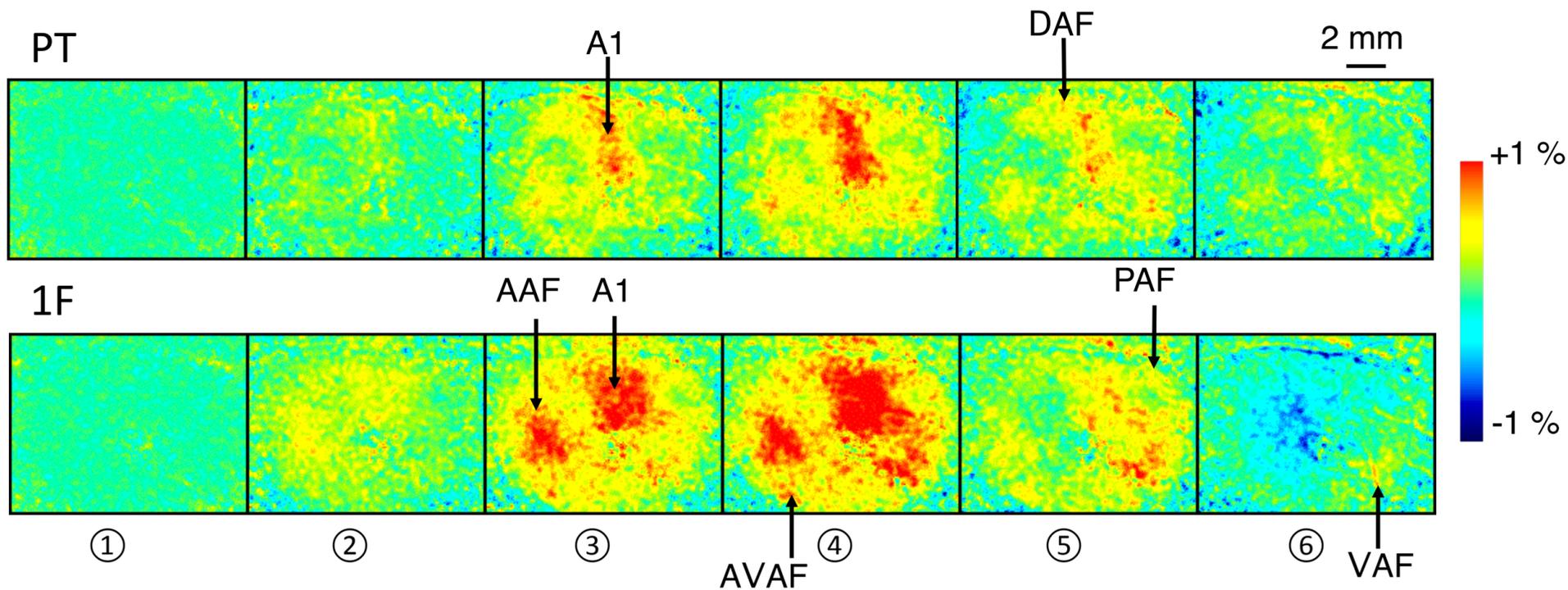
図1 A



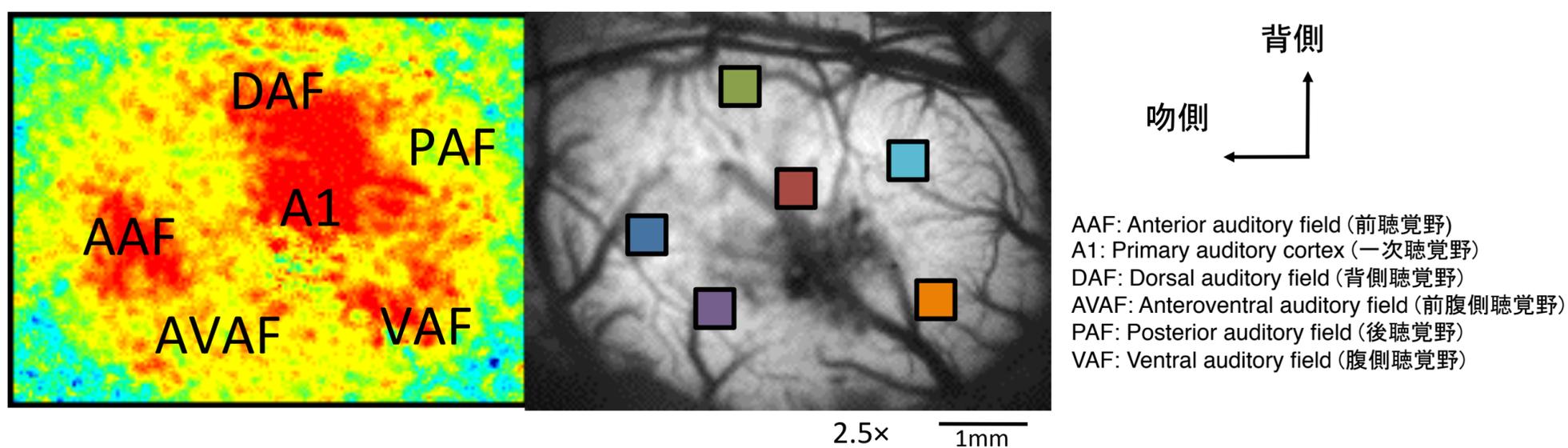
C



A



B



C

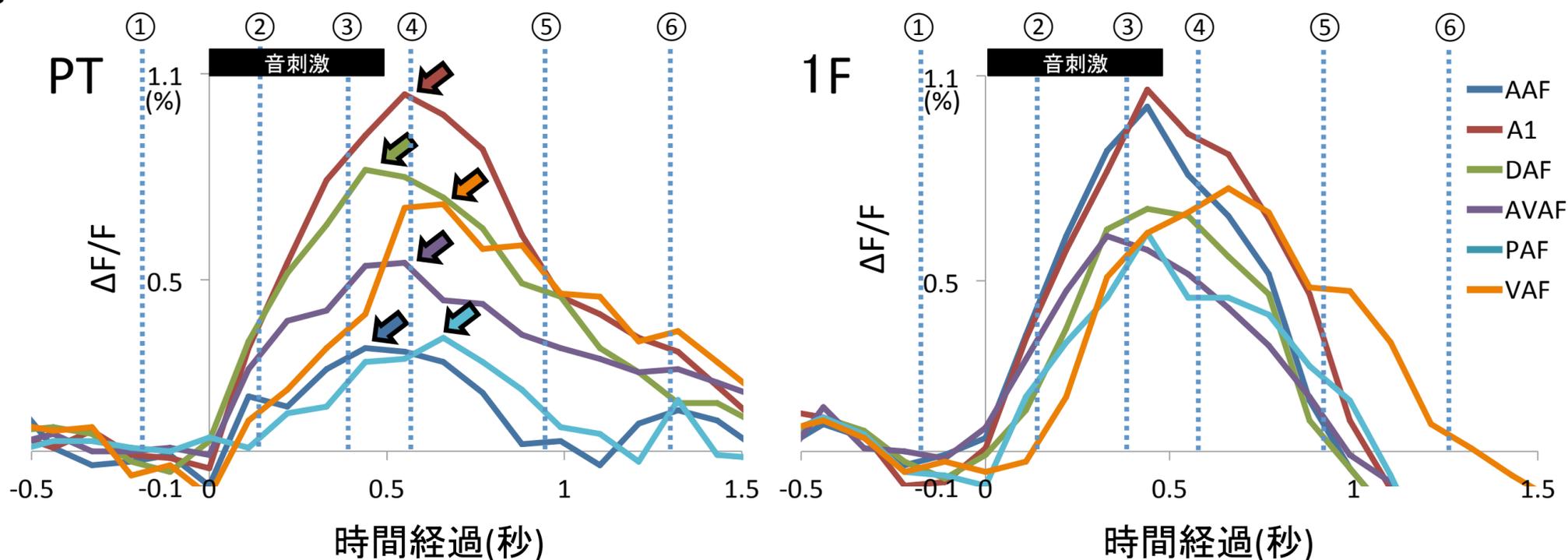


図3

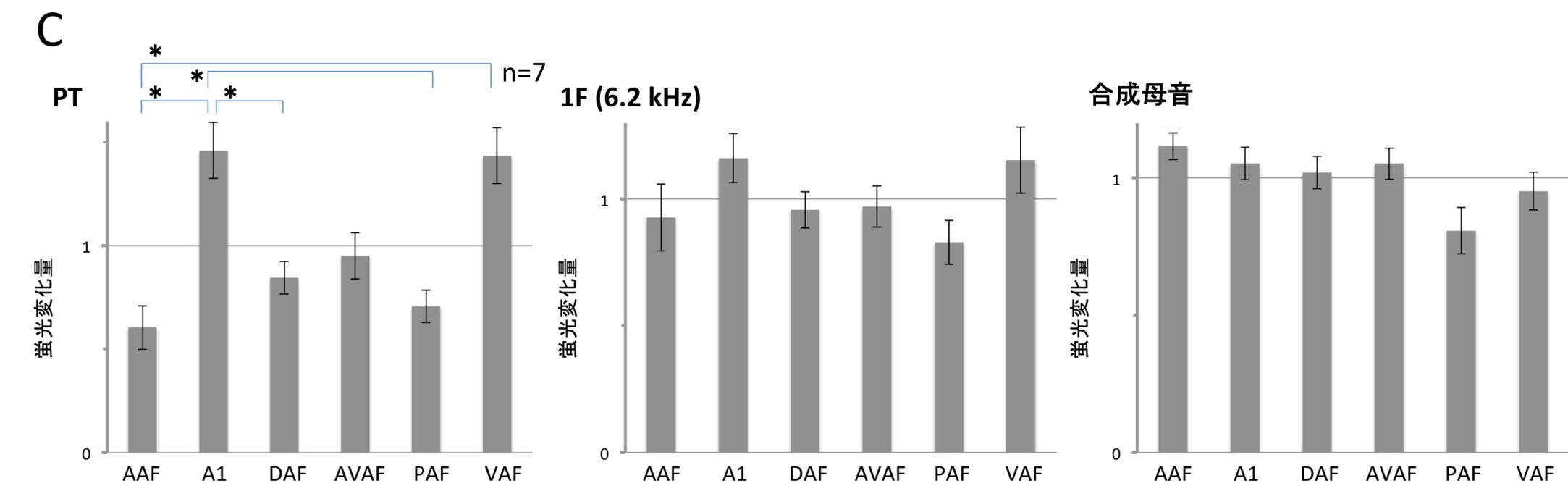
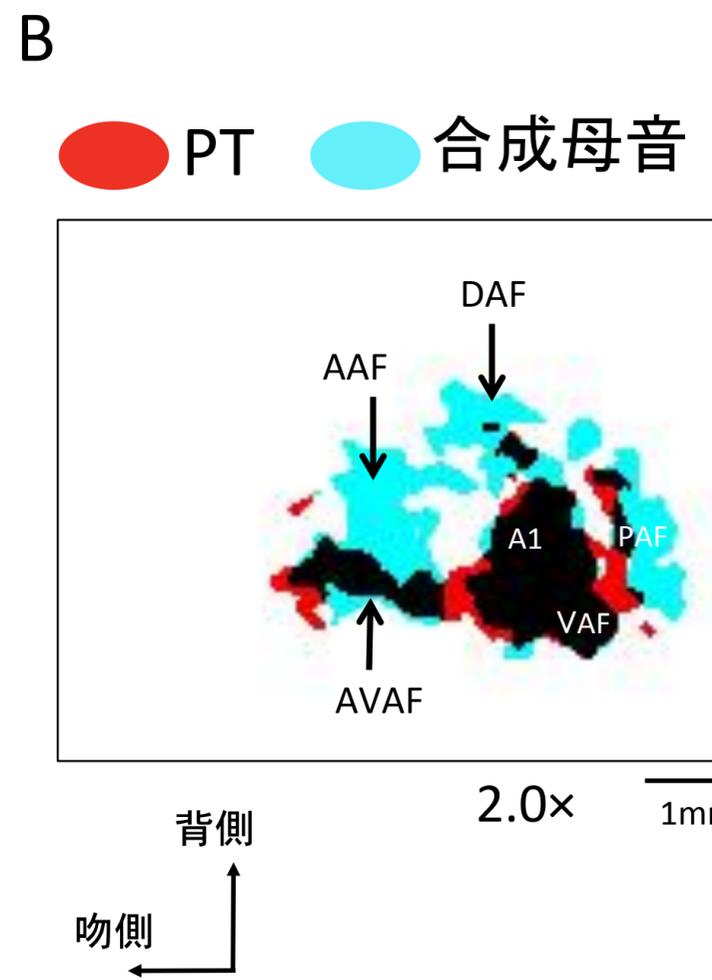
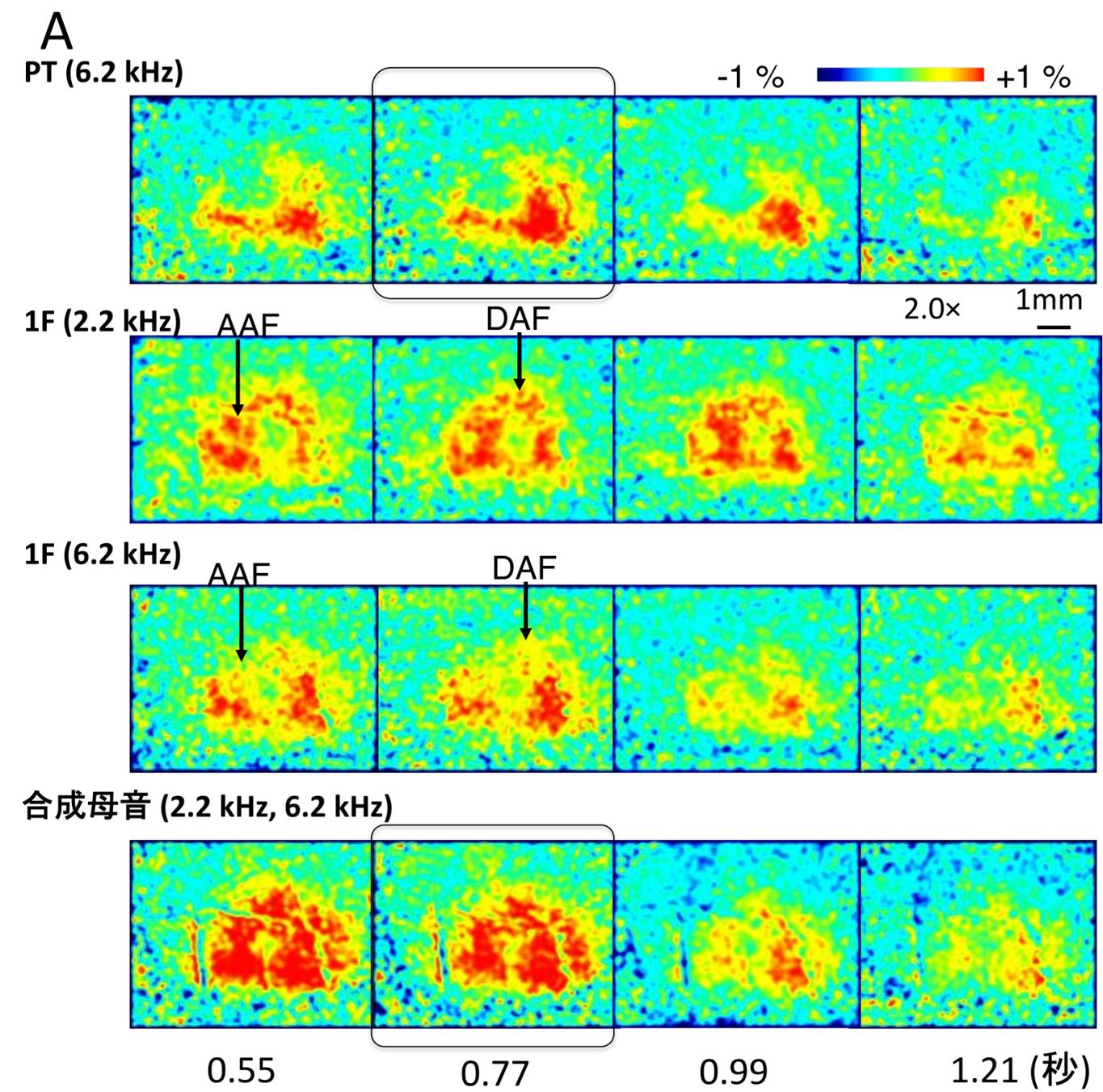


图4

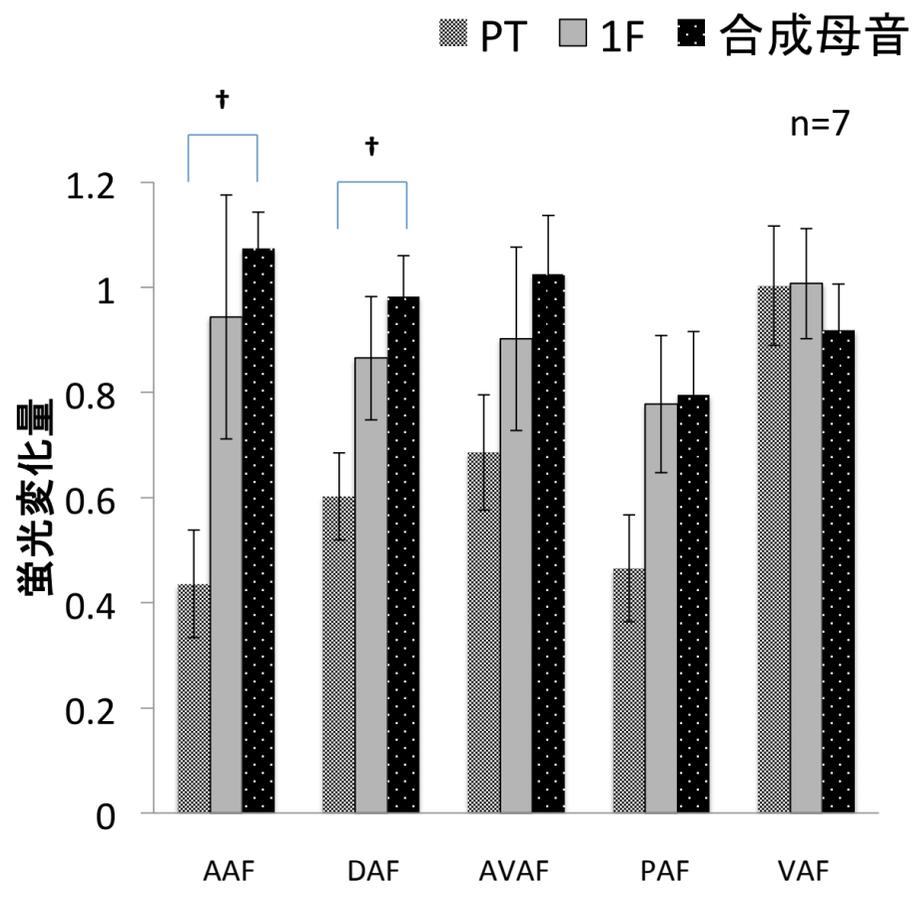


図5

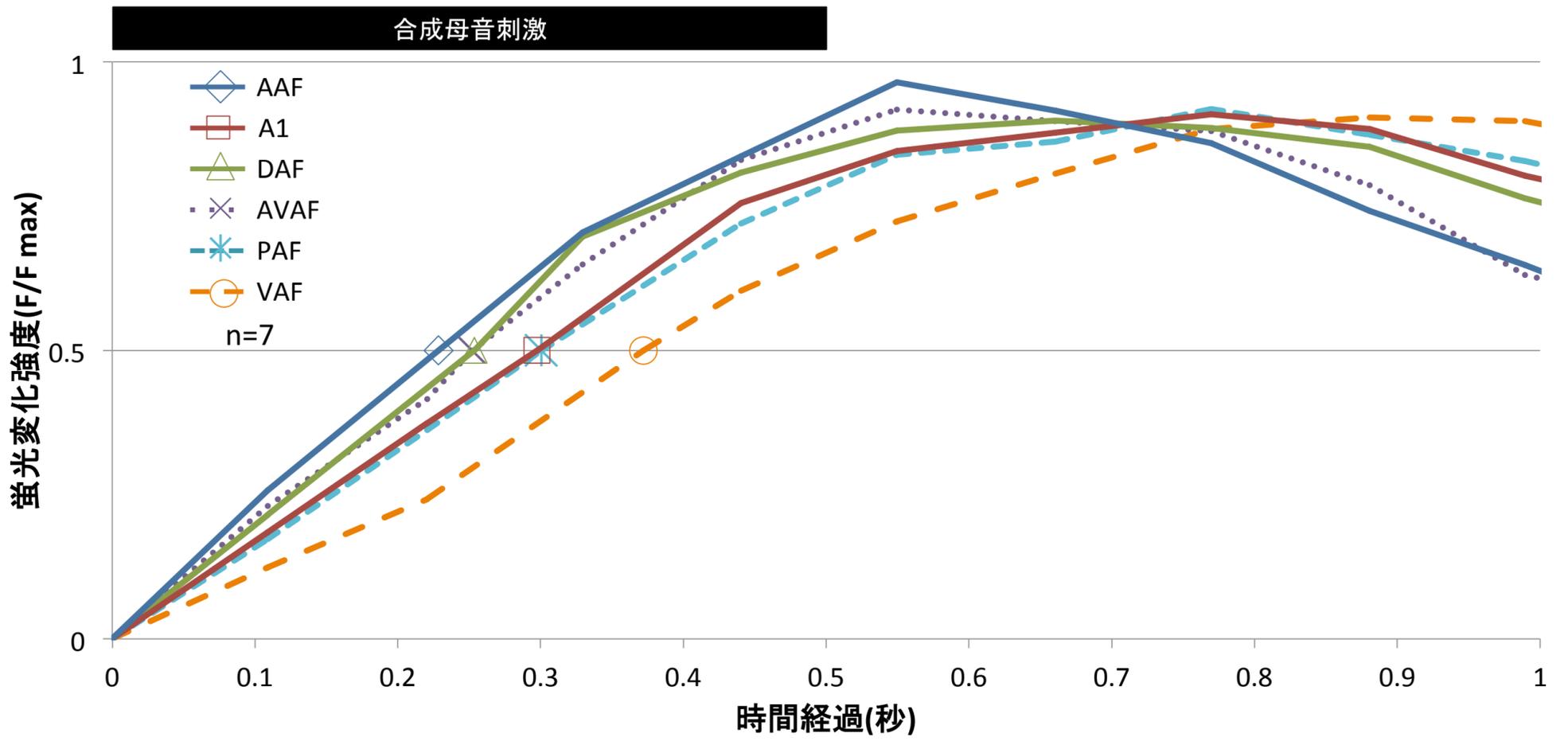


図6

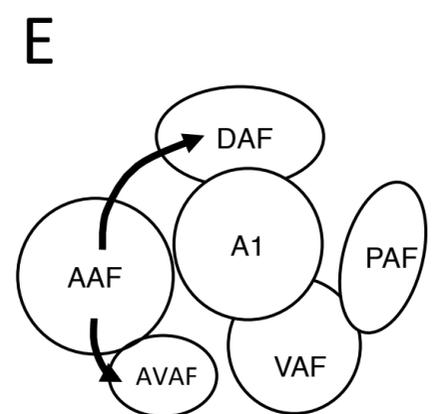
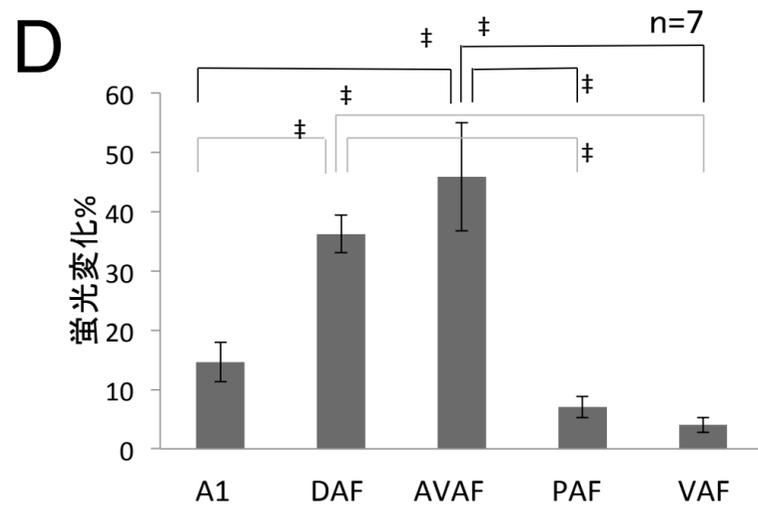
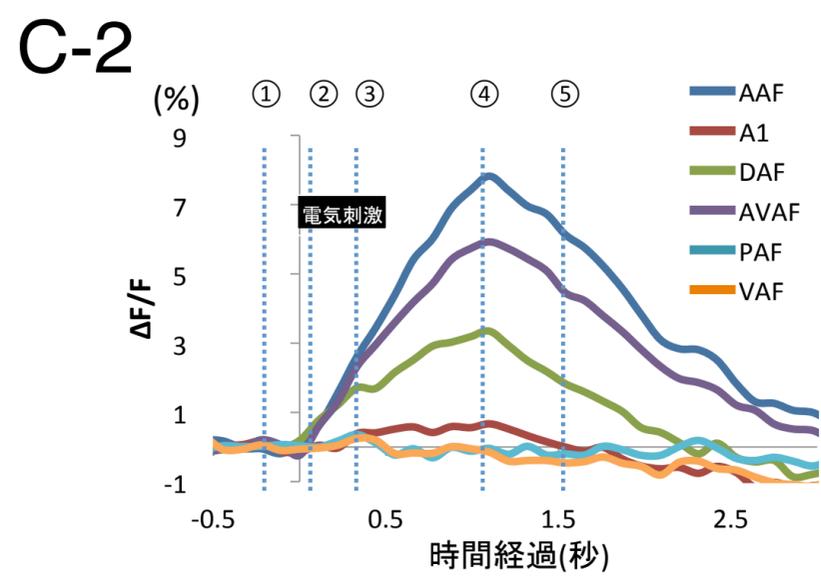
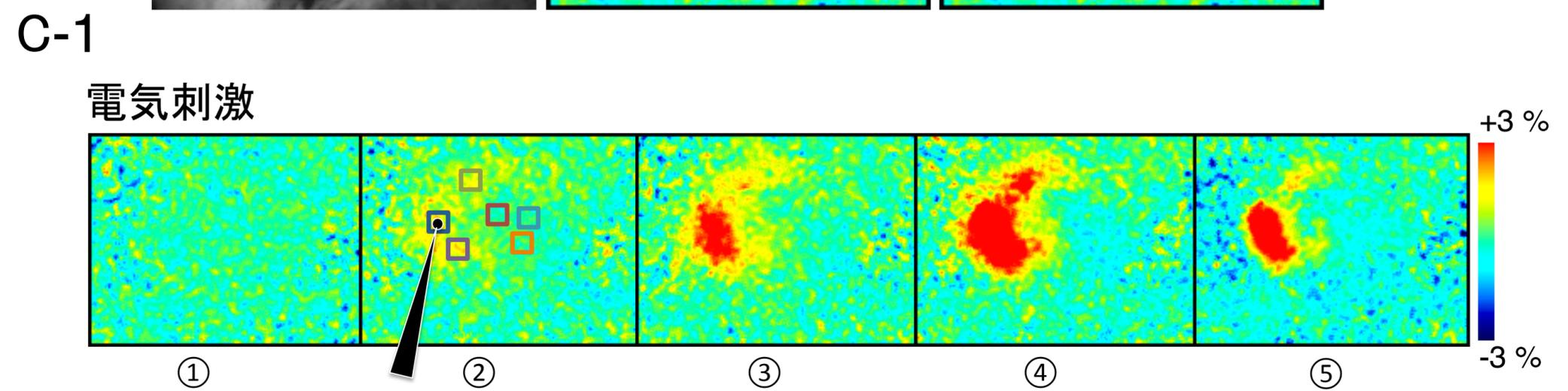
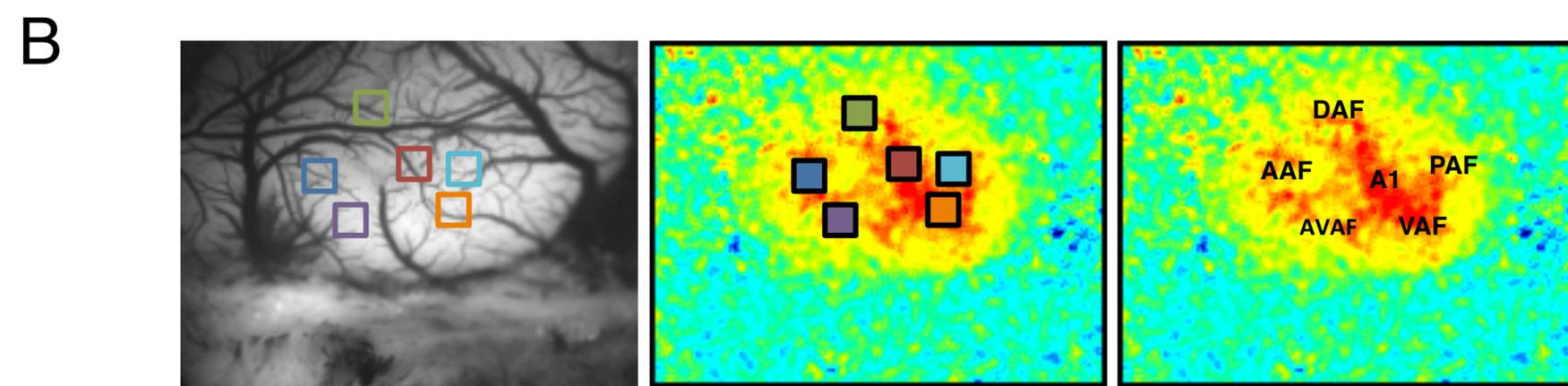
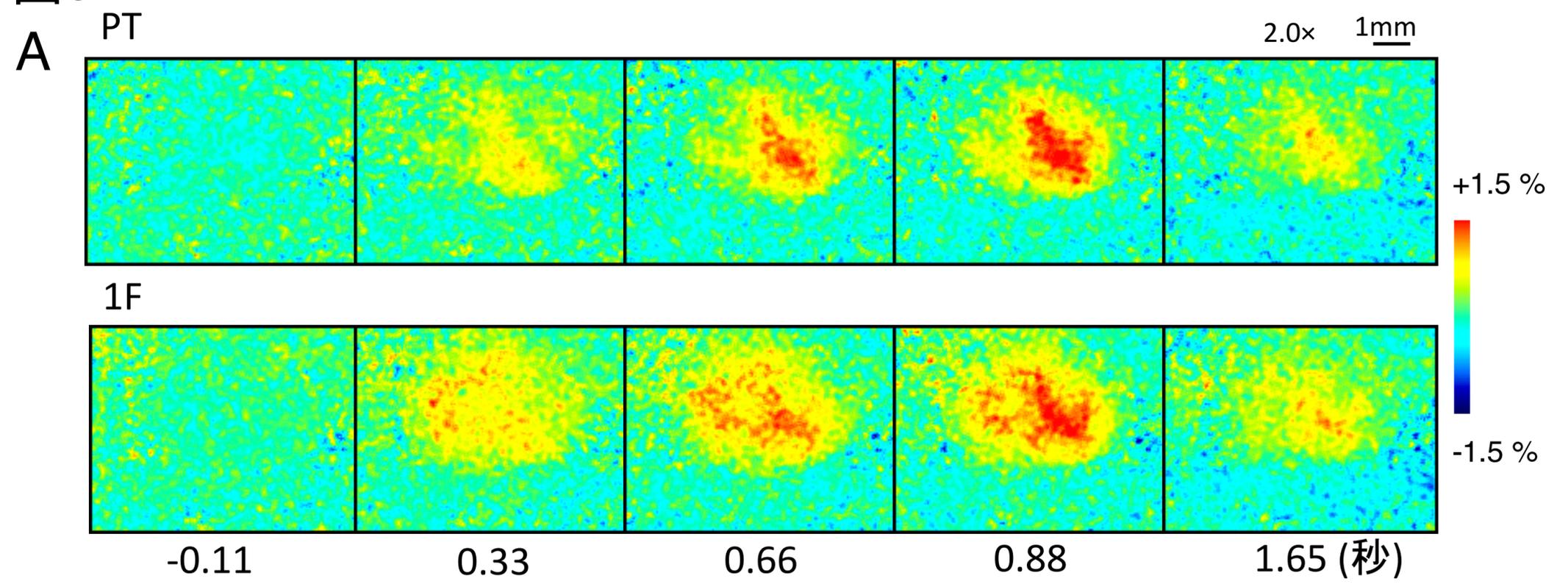
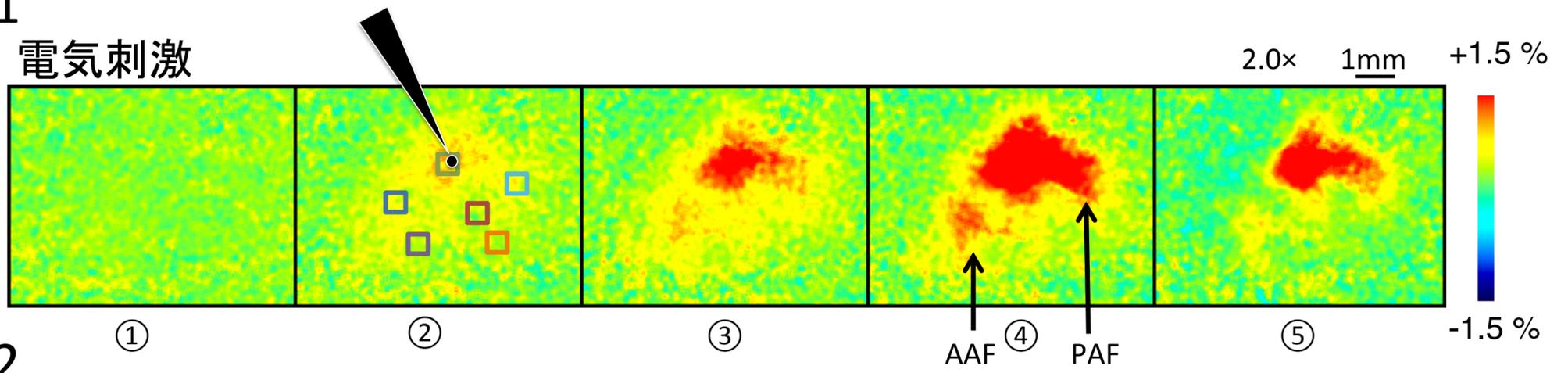


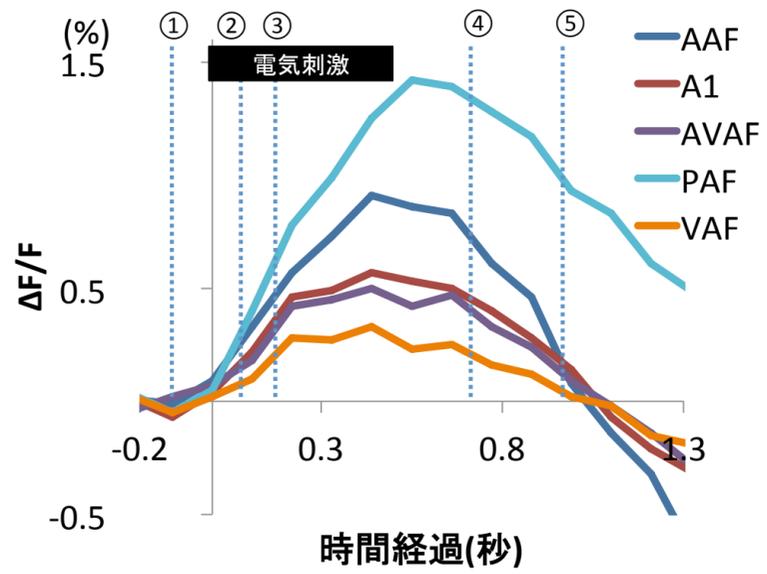
図7

A-1

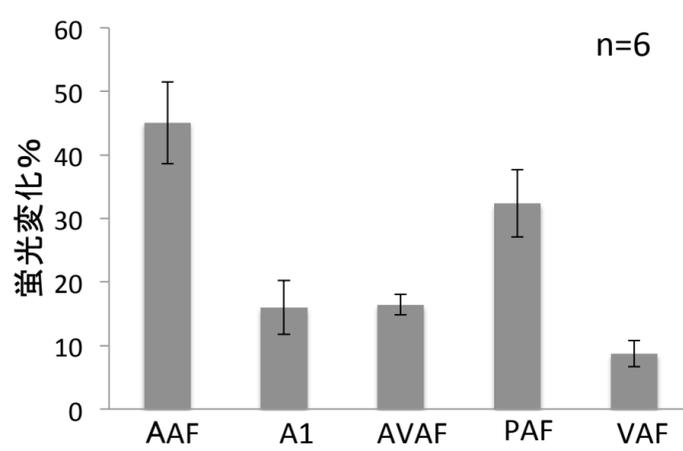
電気刺激



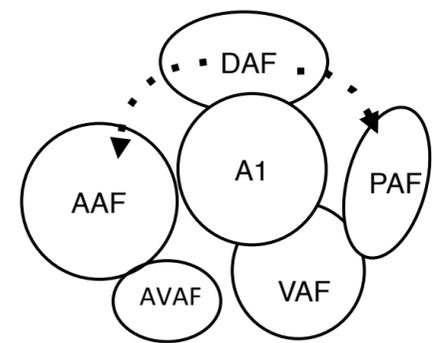
A-2

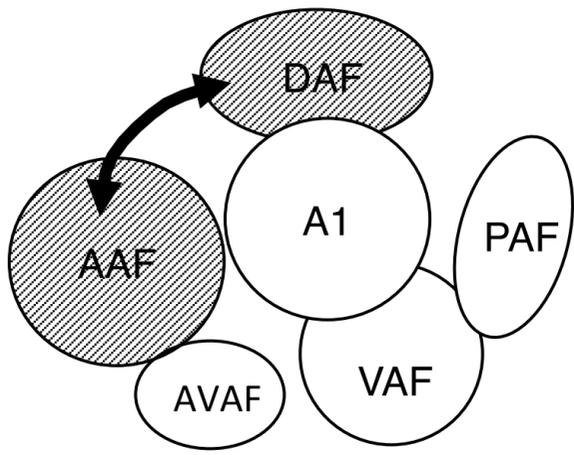


B



C





合成母音弁別に関わる領域