

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	800 千円
研究代表者 : 伊藤 哲史	所属 : 学術研究部医学系	職位 : 教授
研究題目 : 脳刺激型補聴器の実現に向けた、コミュニケーション音声の脳内符号化機構の解明		

研究概要

高度難聴は言語音弁別の困難を引き起こすため QOL 低下の大きな要因である。高度難聴の治療戦略として、聴神経機能が残存する場合は人工内耳が有用である。聴神経が利用できない場合は脳の直接刺激しか方法がないのであるが、現段階では脳の直接刺激は音体験を与えることは可能な一方、言語音のような時間変化する複雑音の認知を起こすことはできていない。これは中枢聴覚伝導路における言語音の階層的情報処理及びそれによる言語音情報の符号化の機構がわかっていないからである。本研究の目的は、脳刺激型補聴器を実現するために必要な知見である言語音情報の階層的符号化の機構を神経回路の機能と形態の両面から解明することにある。

申請者はこれまでの研究から、言語音の重要な要素である音程の変化を検出する細胞が中脳の下丘に存在すること、この検出は大型の抑制性細胞と、特定の位置に存在する興奮性細胞が担っていることを明らかにした。これらの結果を踏まえ、本研究では中脳から視床をへて大脳皮質聴覚野に至る聴覚伝導路のうち、コミュニケーション音声に重要な役割を果たす経路を同定し、その神経回路を網羅的に可視化する。そして、同定したコミュニケーション音声処理領域とそれ以外の領域でのコミュニケーション音声を引き起こす神経活動の違いを調べる。これによって脳での言語音情報の階層的符号化様式を解き明かし、脳の直接刺激による脳内言語音再生技術の実現につなげる。

成果要約

頭蓋骨にヘッドポストを取り付けた覚醒マウスで、側頭骨上面の頭蓋骨を通じて音列刺激に対する経頭蓋フラビンイメージング (Shibuki et al., 2003) を行い、音刺激に反応する大脳皮質領域を同定する方法を確立した。同定した聴覚野領域に対して、2 シナプス逆行性標識法 (TRIO 法, Schwarz et al., 2015) を適用した。すなわち、同定した領域に微量 (10-30nl) の retrograde AAV-Cre を注入し、その領域に投射する、内側膝状体などの細胞に Cre リコンビナーゼを発現させ、次に、視床に大量 (0.5-1 μ l) に AAV-FLEX-TVA-oG-GFP を注入し、Cre を発現した細胞に限り GFP と rabies ウイルス感染能を付与し、2 週間後に視床に EnvA-rabies-mCherry を注入。Cre/GFP 陽性細胞はシナプス超え感染能を持つウイルスを産生し、感染細胞 (starter 細胞) は GFP と mCherry の両方、starter 細胞に入力する細胞は mCherry を発現させることに成功した。これによって、機能を同定した聴覚野のサブ領域に達する視床領域、その視床領域に入力する下丘などの領域という階層的

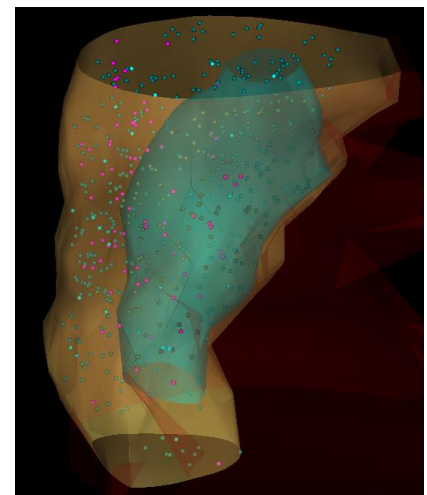


図: 特定の聴覚野領域を最終目的地としている下丘 (オレンジの領域。水色の領域は下丘中心核) の神経細胞の分布と、その細胞種を示す。ピンク: 大型抑制性細胞、水色: 小型抑制性細胞、青色: 興奮性細胞

聴覚神経回路を網羅的に可視化することに成功している。さらに、免疫染色によって下丘の細胞種を同定し、神経路ごとの細胞種の寄与の違いについても検討を行っているところである (図)。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】 雑誌論文 (*は責任著者を示す)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fujimoto H, Notsu E, Yamamoto R, Ono M, Hioki H, Takahashi M, <u>Ito T*</u>. Kv4.2-Positive Domains on Dendrites in the Mouse Medial Geniculate Body Receive Ascending Excitatory and Inhibitory Inputs Preferentially From the Inferior Colliculus. Front Neurosci (15) e740378 20210929 2. <u>Ito T*</u>, Ono M, Matsui R, Watanabe D, Ohmori H. Avian adeno-associated virus as an anterograde transsynaptic vector. J Neurosci Methods (359) e109221 20210715 <p>学会発表</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 小野宗範, <u>伊藤哲史</u>, 馬蘭蘭, 古山貴文, 加藤伸郎 内耳損傷の引き起こす下丘におけるニューロンの活動性変化 2021年6月度 聴覚研究会 (H) 2021年6月26日 2. <u>伊藤哲史</u>, 小野宗範, 松井亮介, 渡邊大, 大森治紀 新発見の順行性経シナプスウイルスベクターを用いたニワトリ聴覚上行伝導路の解析 2021年6月度 聴覚研究会 (H) 2021年6月26日 																																																	
<p>経費の 執行状況</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="336 1066 826 1115">区 分</th> <th data-bbox="831 1066 1129 1115">執行額 (円)</th> <th data-bbox="1134 1066 1458 1115">備 考</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="3" data-bbox="336 1115 1458 1164">【物品費】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1164 826 1214">少額実験消耗品類</td> <td data-bbox="831 1164 1129 1214">197,273</td> <td data-bbox="1134 1164 1458 1214" rowspan="14">支出 20,000 円以下の物品の合計</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1214 826 1263">TSA PLUS DNP (HRP) 50-150 SLIDES</td> <td data-bbox="831 1214 1129 1263">108,680</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1263 826 1312">小型回転培養機</td> <td data-bbox="831 1263 1129 1312">86,955</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1312 826 1361">Anti-HCN2 Antibody</td> <td data-bbox="831 1312 1129 1361">84,150</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1361 826 1411">anti-APC (CC-1)</td> <td data-bbox="831 1361 1129 1411">76,230</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1411 826 1460">Vybrant™ DyeCycle™ Green Stain</td> <td data-bbox="831 1411 1129 1460">57,123</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1460 826 1509">ジゴキシゲニン-11-UTP</td> <td data-bbox="831 1460 1129 1509">52,041</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1509 826 1559">マウスケージ</td> <td data-bbox="831 1509 1129 1559">49,500</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1559 826 1608">HCN2 Blocking peptide</td> <td data-bbox="831 1559 1129 1608">35,640</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1608 826 1657">SIGMAFAST™ ファストレッド TR/ナフトールタブレット</td> <td data-bbox="831 1608 1129 1657">23,859</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1657 826 1706">手指消毒剤 アルボナーズ</td> <td data-bbox="831 1657 1129 1706">22,809</td> </tr> <tr> <td colspan="3" data-bbox="336 1706 1458 1756">【旅費】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1756 826 1805">金沢医科大学</td> <td data-bbox="831 1756 1129 1805">5,740</td> </tr> <tr> <td colspan="3" data-bbox="336 1805 1458 1854">【謝金】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1854 826 1904">なし</td> <td data-bbox="831 1854 1129 1904">0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" data-bbox="336 1904 1458 1953">【その他】</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 1953 826 2002">なし</td> <td data-bbox="831 1953 1129 2002">0</td> </tr> <tr> <td data-bbox="336 2002 826 2069" style="text-align: right;">合計</td> <td data-bbox="831 2002 1129 2069" style="text-align: right;">800,000 円</td> <td data-bbox="1134 2002 1458 2069"></td> </tr> </tbody> </table>	区 分	執行額 (円)	備 考	【物品費】			少額実験消耗品類	197,273	支出 20,000 円以下の物品の合計	TSA PLUS DNP (HRP) 50-150 SLIDES	108,680	小型回転培養機	86,955	Anti-HCN2 Antibody	84,150	anti-APC (CC-1)	76,230	Vybrant™ DyeCycle™ Green Stain	57,123	ジゴキシゲニン-11-UTP	52,041	マウスケージ	49,500	HCN2 Blocking peptide	35,640	SIGMAFAST™ ファストレッド TR/ナフトールタブレット	23,859	手指消毒剤 アルボナーズ	22,809	【旅費】			金沢医科大学	5,740	【謝金】			なし	0	【その他】			なし	0	合計	800,000 円			
区 分	執行額 (円)	備 考																																																
【物品費】																																																		
少額実験消耗品類	197,273	支出 20,000 円以下の物品の合計																																																
TSA PLUS DNP (HRP) 50-150 SLIDES	108,680																																																	
小型回転培養機	86,955																																																	
Anti-HCN2 Antibody	84,150																																																	
anti-APC (CC-1)	76,230																																																	
Vybrant™ DyeCycle™ Green Stain	57,123																																																	
ジゴキシゲニン-11-UTP	52,041																																																	
マウスケージ	49,500																																																	
HCN2 Blocking peptide	35,640																																																	
SIGMAFAST™ ファストレッド TR/ナフトールタブレット	23,859																																																	
手指消毒剤 アルボナーズ	22,809																																																	
【旅費】																																																		
金沢医科大学	5,740																																																	
【謝金】																																																		
なし	0																																																	
【その他】																																																		
なし	0																																																	
合計	800,000 円																																																	