

氏名	鈴木 研太
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記号番号	博理工甲第 856 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Birdsong and stress hormone: neural and evolutionary mechanisms (鳥の歌とストレスホルモン：神経機序と進化機構)
論文審査委員	委員長 教授 小林 哲也 委員 教授 坂井 貴文 委員 准教授 足立 明人 委員 准教授 塚原 伸治 委員 教授 岡ノ谷一夫（東京大学）

## 論文の内容の要旨

発声学習とは、感覚運動学習によって聴いた音声パターンを獲得し、練習することによって、正しく発声できるようにすることであるが、これはヒト、コウモリ、鯨類、そして鳥類（オウム、ハチドリ、鳴禽類）のみが可能な能力である。この発声学習によって、ヒトは言語を習得し、小鳥はさえずりを学習している。鳴禽類の歌システムについては、非常に多くの研究がおこなわれており、脳内の歌に関わる神経核が同定され、その機能の多くが解明されてきている。このため、発声学習のメカニズムやヒトの言語進化機構について明らかにする為に、鳥の歌は非常に有用なモデルとなる。

多くの歌鳥において、オスは求愛と縄張り防衛のために歌をうたう。メスはより複雑な歌を好むことが報告されており、これまでの多くの証拠により、鳥の歌は配偶者選択において、オスの質を表わす指標になっていると考えられている。歌鳥はヒナの特定の時期に父親の歌を聴き、それを鋳型として、練習を重ねることによって歌を学習する。歌とそれを支える歌神経システムの発達は、発達時期の成育状態に左右され、発達時期におけるストレスやストレスホルモンとして知られるコルチコステロンの投与によって、歌の複雑さと歌の神経核の大きさが減少することが明らかとなっている。したがって、鳥の歌は、オスの発達時期の成育コンディションを反映する指標と考えられている。しかしながら、ストレス状態がどのようにして歌の形質に影響を及ぼすのか、その神経および分子メカニズムは不明である。

そこで、本研究では、コルチコステロンの作用と歌の発達の関連性を探るため、ジュウシマツの幼鳥と成鳥を用いて、コルチコステロンの受容体であるグルココルチコイド受容体(GR)とミネラルコルチコイド受容体(MR)の脳内における発現部位を *in situ* ハイブリダイゼーション法により調べた。その結果、GR と MR はジュウシマツの幼鳥と成鳥において、発声の制御に関係する部位である高次発声制御中枢(HVC)、運動野(RA)、舌下神経核(nXIIts)、発声の学習に関係する部位である大脳基底核(Area X)、視床核(DLM)、帯状皮質(LMAN)などの多くの歌神経核で発現していることが明らかとなった。したがって、歌神経核におけるコルチコステロイド受容体の発現が、成育コンディションに応じて、歌神経系と歌形質の発達の調節に関与することが示唆された。GR は歌神経核のみならず脳に広く発現が見られたが、一方で MR は歌神経

系に関連する部位において特異的に強い発現が確認された。これまで、げっ歯類の研究により、高いレベルのコルチコステロンは GR を介して、神経の発達を抑制し、低いレベルのコルチコステロンは MR を介して、神経の発達を促進することが報告されている。歌鳥の歌神経の発達も同様の機構によって調節されている可能性が考えられる。神経細胞の新生が活発に見られる歌神経核の HVC と Area X では、MR が GR よりも多く発現していることから、神経の新生に MR が大きく関与するものと考えられる。

ジュウシマツは複雑な歌をうたうことが知られており、その歌には有限状態文法と呼ばれる文法構造が存在することが確認されている。ジュウシマツは、野生種であるコシジロキンパラから家禽化されることによって作られた家禽種である。コシジロキンパラの歌は非常に単純であることから、ジュウシマツは家禽化によって文法構造を持つ複雑な歌を進化させたと考えられている。しかしながら、複雑な歌を進化させるメカニズムは明らかとなっていない。野生環境では、捕食者の存在や不安定な餌環境、感染の機会などの自然選択圧が存在するが、飼育環境下ではそのような自然から受ける選択圧は存在しない。したがって、環境ストレスからの解放と人為的にコントロールされた環境（いつも餌が存在し、安全）への適応が、コルチコステロンレベルを減少させ、歌の複雑さを増加させた可能性が考えられる。歌神経核にコルチコステロンの受容体が確認されたことから、歌の複雑さの進化にコルチコステロンが直接的に関与する可能性は高い。

そこで、歌の複雑さの進化とコルチコステロンレベルとの関係を調べるために、歌の複雑な家禽種のジュウシマツと歌が単純な野生種のコシジロキンパラのコルチコステロンレベルを比較した。通常、ホルモンの測定には採血した血液を用いるが、採血のためのハンドリングは、ストレス反応を引き起こし、コルチコステロンレベルを増加させてしまう。また、歌鳥のような小さな動物では、連続的なサンプリングを行うことが難しい。そこで、非侵襲的な方法により、糞中のコルチコステロンを測定することを検討した。このため糞中のコルチコステロンが正しく測定できるかを、希釈平行性、抽出効率を調べることによって確認した。さらに ACTH 刺激試験を行い強制的にコルチコステロンの分泌を促すことが、糞中のコルチコステロンレベルに与える影響について検討した。これらの結果、糞からの抽出物はコルチコステロンの標品と良好な希釈平行性を示し、抽出効率も高いことが確かめられた。また、ACTH の投与により 2 時間後に糞中のコルチコステロンレベルがピークに達することが明らかとなった。したがって、歌鳥において、糞中のコルチコステロンの測定は、非侵襲的にコルチコステロンのベースラインレベルを測定するために有効であることが証明された。本法を用いて糞中のコルチコステロンレベルを測定した結果、ジュウシマツは、コシジロキンパラよりも有意に日中のコルチコステロンレベルが低いことが明らかとなった。ジュウシマツは家禽化によって、野生環境における自然淘汰圧から解放されることでコルチコステロンレベルを低下させたと考えられる。

本研究により、①歌神経核にコルチコステロンの受容体 (GR と MR) が発現していること、さらに、②家禽化によって複雑な歌を進化させたと考えられるジュウシマツは、低いコルチコステロンレベルを保っていることが明らかとなった。したがって、低いレベルのコルチコステロンは、MR を介して、歌神経系の発達を促進させ、複雑な歌の獲得に大きく寄与している可能性が示された。これらの結果は、発声学習とヒトの言語の進化の生物学的基盤を解明する上で非常に重要であると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

当学位審査委員会は、平成24年2月8日（水）16時30分より理学部3号館2階11番教室において公開で発表会を開催した。審査結果の概要は以下の通りである。

鳴禽類のオスは発声学習によってさえずり（歌）を習得し、これを求愛と縄張り防衛に用いている。メスはオスの歌の形質によって配偶者を選択し、複雑な歌をうたうオスほど、メスから好まれる。この歌の形質は、成育時の影響を受け、発達時期のストレスやストレスホルモン（コルチコステロン）の投与により、歌の複雑さと歌の制御に関わる神経核の大きさが減少する。しかしながら、環境の変化がいかに関与に影響を及ぼし、さらに歌の進化へ関与するのか、その神経機序と進化機構については明らかにされていない。本論文は、歌の形質の調節への関与が示唆されているコルチコステロンに着目し、コルチコステロンの歌神経系への作用機序と、複雑な歌の進化への関与について解析を行った成果について論じている。

第1章では、序章として、鳥の歌とそれを支える歌神経系の発達、進化について述べている。オスにおける歌神経核の形成や活性化はテストステロンなどの性ステロイドホルモンの作用によって促進される。このため、テストステロンが歌の形質の調節にも関与すると考えられたが、先行研究により、テストステロンレベルと歌の形質が正の相関を示すことは無かった。したがって、その他の証拠から、歌の形質の調節においてはコルチコステロンが特に重要であり、その歌神経系への作用や、歌の進化への関与について明らかにする必要があると論じている。

第2章では、ストレスホルモンが鳥の歌の形質に及ぼす影響の神経機序について論じている。コルチコステロンの作用と歌の発達の関連性を探るため、ジュウシマツの幼鳥と成鳥を用いて、コルチコステロンの受容体であるグルココルチコイド受容体（GR）とミネラルコルチコイド受容体（MR）の脳内における発現部位を *in situ* ハイブリダイゼーション法により検討した。その結果、GRとMRは、高次発声制御中枢（HVC）、運動野（RA）、舌下神経核（nXIIts）などの発声に関わる歌神経核と、大脳基底核（Area X）、視床核（DLM）、帯状皮質（LMAN）などの発声学習に関わる歌神経核で発現していることが明らかとなった。GRは歌神経核のみならず脳で広い発現が確認されたが、MRは歌神経系に関連する神経核において強い特異的な発現が観察された。げっ歯類で行われた先行研究により、高いレベルのコルチコステロンはGRを介して、神経の発達を抑制し、低いレベルのコルチコステロンはMRを介して、神経の発達を促進することが報告されている。歌鳥の歌神経系の発達も同様の機構によって調節されているものと推測される。これらの結果から、歌神経核におけるコルチコステロイド受容体の発現が、成育コンディションに応じて、歌神経系と歌の形質の発達を調節することに大きく関与すると結論づけている。

第3章では、ジュウシマツの複雑な歌の進化メカニズムについて論じている。ジュウシマツは野生種であるコシジロキンパラから家禽化によって作り出された。野生種の歌は非常に単純であることから、ジュウシマツの複雑な歌は家禽化によって進化したと考えられる。しかしながら、その進化メカニズムは明らかとなっていない。家禽化により、動物は野生下で受ける環境ストレスが低減し、餌を容易に得ることが可能となる。これは、コルチコステロンレベルを減少させ、歌の複雑さを増加させた可能性が考えられる。そこで、歌の複雑さの進化とコルチコステロンレベルの関係を調べるために、ジュウシマツとその野生種であるコシジロキンパラのコルチコステロンレベルを測定した。このためには、ストレスを与えることなく連続的に測定で

きる系が必要となる。そこで、糞中のコルチコステロンを測定することとした。希釈平行性試験、抽出効率の測定、副腎皮質刺激ホルモンによる刺激試験等によって、用いた測定系が正しく糞中のコルチコステロンレベルを測定できることを検証した。測定の結果、平常時、ジュウシマツの日中のコルチコステロンレベルは、コシジロキンパラよりも有意に低いことが確かめられた。これらの結果から、ジュウシマツは家禽化によって、野生環境における自然淘汰圧から解放されることでコルチコステロンレベルを低下させ、MR を介して歌神経系の発達を促進し、複雑な歌を獲得してきたと推測している。

第4章では、本研究成果を総括している。本研究により、歌神経系にコルチコイド受容体の発現が確認され、コルチコステロンは歌神経核の受容体を介して、歌の発達や維持に関与することが示された。さらに家禽化により環境ストレスから解放されたことで、ジュウシマツは低いコルチコステロンレベルを保ち、その結果、歌神経核を大きく発達させ、歌を複雑に進化させたと推測される。過酷な環境における高いコルチコステロンレベルは、GR に作用することで、生存に直接必要な部位の発達を優先して促進し、一方で、豊かな環境においては、低いレベルのコルチコステロンがMR を介して脳の発達を促し、歌システムをはじめとする認知機能や繁殖能力を向上させる。このように、コルチコステロンとその受容体（GR と MR）は、鳥の置かれた状況に適応した戦略において重要な役割を果たすと考えられ、これらの役割を今後さらに詳しく調べることが重要であると結論づけている。

以上、本論文では、歌の形質の調節への関与が示唆されているコルチコステロンに着目し、歌神経系への作用機序と複雑な歌の進化機構について解析を進めた結果を述べている。これらの研究成果は、鳴禽類における歌神経システムの発達調節機構に加え、歌の進化の内分泌制御機構、さらには、発声学習とヒトの言語進化の生物学的基盤の解明に大きく貢献するものと考えられる。なお、鈴木氏は、本論文の一部を査読付きの国際学術専門誌に第一著者として1編、関連論文として5編発表している。また、本論文の内容の一部が評価され、第34回鳥類内分泌研究会若手研究奨励賞を、さらに、平成21年度笹川科学研究奨励賞を受賞したことを付記しておく。これらの成果から、本学位審査委員会は、本学位論文を博士（理学）の学位を授与するに値すると判断し、学位論文審査を「合格」と判定した。