

サル的大脑皮質における口腔内触覚と味覚情報処理機構の解析

小川 尚・伊藤真一(熊大・医)

これまで我々は急性実験でマカクザル的大脑皮質味覚野は前頭弁蓋内側に限局して存在することを明かにしている。味覚は本来飲食に伴う感覚であって動物が能動的に摂食・飲水する時の神経活動を調べることが望ましいがそれは急性実験では不可能である。本研究では無麻酔のサルに種々の味溶液を飲ませた時の味覚ニューロンや口腔触ニューロンの活動を調べた。味刺激を手掛りとした標準的なタスクは知られていないので、サルをチェアに座らせ、実験者の与える味溶液を飲ませるだけの行動条件にした。

ニホンザルを2頭用いた。口中に飲み口を入れ水と四基本味(0.15M食塩, 0.8Mショ糖, 0.01N塩酸, 0.0005M塩酸キニーネ)とを与えた。実験時以外では水を与えないことにより嫌いな溶液もよく飲ませることができた。味の好悪は飲み方のパターンで判断でき、その様子はビデオに収めた。数十秒ごとに味液や水を0.5mlずつ与えながら味覚野附近からニューロン活動をサンプルし、刺激や行動に関係する活動を多数記録した。主なニューロン活動のパターンは次のようなものである。1) 液の種類によらない短潜時で一過性の応答。あるニューロンでは舌上に受容野を見出した(解応答)。2) 吸う行動に同期した活動変化。3) 液の種類によらない長い潜時の応答(嚙下や咽頭に関係か)。4) 比較的長潜時の tonic な活動。味溶液の種類によって全く応答が異なり水で消失する(味応答)。

以上、慢性条件で動物が四基本味を摂取すること、急性実験におけると同様に触・味応答が分離できることなどが明らかになった。これは今後慢性実験で味覚ニューロンの性質を調べていく上で重要な手掛りとなる。ニューロンの感覚生理学的諸特性を調べることは慢性実験では困難なので、急性実験で明らかになった諸種ニューロンが、溶液摂取行動時にどのような活動を生じるか、に重点をおいて今後研究を継続する予定である。

サル的大脑におけるプロテインキナーゼの機能と生理的役割

高橋 進(名大・理)

霊長類脳は、他動物にくらべ著しい発達がみられる。脳のはたらきを理解するうえでその情報伝達の機構解析は必須のことである。最近、情報伝達に関する種々の蛋白質がリン酸化-脱リン酸化により細胞内での役割が調節されていることが明らかにされて来ている。この反応に関与するのは、プロテインキナーゼおよびホスホプロテインホスファターゼである。ホスファターゼについては、現在あまりよくわかっていないが、プロテインキナーゼについてはかなりよくわかってきている。プロテインキナーゼには、その特異的作用因子により、CAMP-依存性(A-キナーゼ)、cGMP-依存性(G-キナーゼ)、Ca²⁺依存性(カルモデュリン依存性-C-キナーゼ)などのプロテインキナーゼが知られている。また蛋白中のチロシン残基を特異的にリン酸化するチロシンキナーゼの存在も知られる。多くの動物において、脳内には特にCa²⁺-依存性プロテインキナーゼ活性が高いことはよく知られている。我々はこれまで種々の材料を用いてプロテインキナーゼの生体内基質の解析にとりくんできたが、今回サル大脑を用いてプロテインキナーゼおよび生体内基質の解析にあたった。サル大脑の可溶性分画のDEAEセルローズ・クロマトグラフィーにより、A-キナーゼ、C-キナーゼと思われるプロテインキナーゼ活性が同定できた。顆粒分画の分析は行わなかった。また可溶性分画には、分子量15K~250Kの範囲にいくつかの生体内基質が存在する。酸による加水分解後リン酸化されたアミノ酸の分析を行ったところ主にリン酸は、セリン残基にとりこまれていた。これらのうちの多くは両酵素に共通の基質と思われる。G-キナーゼは検出できなかった。このうちC-キナーゼとその特異的な基質の精製を試みたが成功していない。

霊長類中枢神経皮質構築のモノクローナル抗体による解析

藤田 忍(群大・医)

中枢神経系のなかでも最も高度な情報処理を担

うと考えられる大脳皮質において、多様なニューロン種がいかなる構築様式に従って配置され結線しているのか、またその構築様式が異なる機能を管む皮質各部位においてどのように変奏しているのかを明らかにすることは重要な課題である。そのためには各ニューロン種を区別できることが前提となるが、我々はハイブリドーマ抗体技術によってそのようなモノクローナル抗体のセットを得ることを目的として本研究に着手した。

ニホンザル大脳視覚野より調製したホモジネートでマウスを免疫し、その感作脾臓細胞とミエローマ細胞とを常法により融合させ、分割培養を行った。各培養上清は、視覚野、体性感覚野、および小脳の固定凍結切片に対して間接蛍光抗体法によりスクリーニングを行い、ニューロンのサブタイプ、脳部位、もしくは皮質各層によって結合の異なる抗体を検索した。8回の融合実験を行い421検体をスクリーニングし、次例を含む14個の抗体についてハイブリドーマ細胞株を確立した。

抗体 371G7 と 372G8 はサル小脳において分子層と顆粒層グロメルリ、ラット脊髄においては灰白質においてのみ顆粒状の染色がみられシナプスの分布と一致する。神経繊維が強く染まるものも得られたが(375G12, 376A2, 376B2)小脳平行繊維は染まらず、ニューロフィラメント関連抗原の可能性が考えられる。抗体 373C12 ではサル小脳はほとんど染色されないが視覚野で分子層の深部が他層より強く染まる。オリゴデンドロサイト(352E3, 353D4)およびアストロサイト(354A12)のマーカーとなりうる抗体も得られた。これらの他に脳内で血管壁のマーカー抗体も得られた。

今後これらの抗体の特異性を確立するとともに、さらに皮質構築の解析に有用な抗体を検索することが必要と考えられる。

課 題 16

霊長類における血液型物質の遺伝進化的研究

古川 研・小森正久・中島たみ子・宮崎生子(群大・医)

赤血球の ABO 式血液型の表現型をヒトの変異型に準じ最も弱い Ael, Bel (el: elution), これより強い Aw, Bw (w: weak) とすると、原猿類には Bw, AelBw, 新世界ザルには Bw, AelBw, AelBel, 旧世界ザルには Bel, Bw, Ael と O 型が分布していた。また、類人猿は、ヒトの A₁ と A₂ の中間に当たる A_{int}, B_{int}, A_{int} B_{int} (int: intermediate) の強さであった。一方、血清中の A 及び B 型合成酵素は血球抗原の微弱な原猿及び新・旧世界ザルでも、ヒトの O 型血球を A や B 型に変換させる活性を有し、強さはヒトの亜型乃至中間型に相当していた。ヒトの A₁ と A₂ 型では A 合成酵素の特異性が異っているが、血球抗原の強いチンパンジーでは至適 pH がヒトの A₁ 型に近く、血球抗原の弱いカニクイザルは A₂ 型に近くヒトと同様特異性が異っていた。また、消化器系臓器の水溶性 A B H 抗原は、赤血球抗原が微弱な原猿類や新・旧世界ザルにもヒトの分泌型に近い型活性が認められた。従って、ABO 式血液型抗原は消化器系臓器に早い時期に発現し、類人猿に至って赤血球への発達が顕著に現われてきている。また消化管粘膜の Lewis 抗原は今回調べた原猿類には検出出来なかったが、新世界ザルでは弱く、旧世界ザルでは特に小腸においてヒトと同様の強い発現が認められた。また Le^a, Le^b が共存し、Le^a 活性の方が強いものがあつた。Lewis 抗原は赤血球と粘膜に平行して発現していることがわかつた。昨年度報告した MN, Lewis, P 式血液型以外のヒト血液型抗原を血球の吸収試験と吸着解離試験で調べた。Rh 式血液型は、類人猿以前のサルでは確認出来ず、テナガザル、オランウータン、チンパンジーでは c と D 抗原を持っているが C, E, e 抗原を欠いていた。この場合ヒトでは対立遺伝子の E が e 抗原の少なくともどちらかを持っているので、この結果はヒトの Rh 抗原の一部が発現しているといえる。Kell 抗原の k, Kidd 抗原の Jk^a は調べたすべての新・旧世界ザルと類人猿に分布しており、Duffy 抗原の Fy^b は旧世界ザルと類人猿に、Lutheran 抗原の Lu^b は類人猿の一部に発現が認められ、それぞれの系列の対立遺伝子の一方が存在していることが確認された。