

度で、水平方向に動かした。あらかじめ、被験体には、運動を検出したときには、レバーを押し(GO)、運動を検出しないときにはレバーを押さない(NO-GO)という訓練をした。刺激の呈示時間は2秒と4秒であった。2才のニホンザル2頭では、視角20分/周期の正弦波、呈示時間2秒、反応時間の制限が4秒の条件で、正答率75%を基準として求めた閾値は、2頭とも2.18分/秒であった。矩形波の同一条件で75%閾は、それぞれ1.5分/秒、2.0分/秒であった。速度が遅くなるにつれて、反応時間はいずれも増加した。ヒトの成人では、視角20分/周期の正弦波、呈示時間2秒、反応時間制限4秒の条件における閾値は、それぞれ3.13, 2.18, 1.59, 1.59, 0.79分/秒であった。視覚10分/周期の正弦波での75%閾は、それぞれ2.18, 1.59, 1.59, 0.79分/秒であった。ヒトの運動速度閾の平均値は2才のニホンザルの閾値よりも低い値を示した。速度が遅くなるにつれて、反応時間が増加する傾向は、2才のニホンザルの場合と同じであった。

2才のニホンザルの結果をヒトの幼児で行った結果と比較してみると、ヒト2-5才(11人)の閾値は、3.13-6.21分/秒、6-7才(6人)の閾値は、2.18-3.13分/秒で、2才のニホンザルの運動知覚閾が、ヒトの6-7才のそれと同程度であることが明らかとなった。

サル網膜における色情報抽出の神経回路の解析

大塚輝彌(生理研・神経情報)・河又邦彦(岡山大・理)

最近我々はカメ網膜の3種類の錐体視細胞に西洋ワサビパーオキシダーズの細胞内注入を行って錐体間結合を解析した。この結果、異なる色感受性を有する錐体が終足から放射状に延びる軸索突起(telodendron)を介してシナプス結合することが明らかになった。赤感受性錐体と緑感受性錐体のように異種の錐体間のシナプス結合が色情報抽出の神経機構にどのように関わっているかを明らかにするため、錐体間結合を比較解剖学的に解析する必要がある。そこでサル網膜の錐体間結合を調べることにした。

実験には溜流固定したニホンザルの眼球を剔出し、前眼部と硝子体を取除いた後、剥離網膜を作った。型通りの方法で固定・脱水した後エポキシに包埋して連続薄切切片を作製して錐体終足の微細構造を電顕下で解析した。軸索突起の発達している網膜辺縁部の錐体を主に調べた。

サルの錐体終足からは長さ2、3 μ mの軸索突起が放射状に延びていた。この軸索突起の先端は外網状層に終わり、隣接する杆体及び錐体との間にシナプス構造が見られなかった。従来、サル網膜の中心窩の錐体間にはgap結合があると報告されている。しかし、杆体と錐体が混在する辺縁部では近隣の錐体までの距離が10-18 μ mあるためtelodendronを介した錐体間結合がないことが明らかになった。また従来報告されている杆体と錐体間の結合は今回の定量的な解析では見付からず、極めて希な神経結合であろうと考えられる。

このようにサルの網膜では中心窩と辺縁部における錐体間の結合様式が異なる。下等脊椎動物で得られた錐体間結合の機能的な意味を解明するためにも、今後さらに比較解剖学的な解析を進める必要がある。

注視行動時におけるサル視床枕核のニューロン活動の解析

澤井 元(阪大・医)

視床枕(Pulvinar)は外側、内側、前部、下部の四つの亜核からなる視床最大の神経核で、系統発生的に新しく霊長類において著しい発達をみせる。しかも上丘、視蓋前域、大脳皮質の一次視覚野や視覚前野のほか頭頂連合野、側頭連合野などとの線維連絡を有することから高次視覚情報処理に密接に関与していることが示唆されるが、その詳細な生理学的機能は不明である。そこで、今回の計画研究において、視覚性の選択的注意に関する視床枕の機能を検討する為、注視行動時におけるサル視床枕核ニューロンの視覚反応性を解析した。実験にはニホンザル1頭(♀、2才)、アカゲザル1頭(♂、3才)を用いた。眼前のディスプレイ上の注視点を固視するよう予め訓練したサルをモンキーチェアに座らせ、その頭部を固定し、微小電極を用いて視床枕より細胞外単一ユニ

ット活動を記録した。ディスプレイ上に受容野を定め、種々のパターン及び色覚刺激によりその生理学的性質を調べた後、サルに以下の三条件の視覚関連課題を行わせて課題遂行時のユニット活動を解析した。(1)受容野内に呈示した視覚刺激の弁別を注視行動中に行う。(2)注視点から受容野内に呈示した視覚刺激への眼球運動(サッケード)を行ってから弁別をする。(3)注視行動中に受容野に刺激呈示をするが弁別しない(コントロール)。これまでに視覚刺激に应答を示すユニットを34個記録したが、diffuse lightのon-offに反応を示すもの、方向選択性を示すもの、注視点から弁別刺激へのサッケードに先行して発火するもの、auditoryやsomatosensory刺激によって発火頻度が増大するもの等があることが分かった。現在記録と解析を継続中である。

課題 6

霊長類大脳皮質のモノクローナル抗体による研究

藤田 忍(群大・医)

本研究の目的は、霊長類において最も発達した大脳皮質の神経構築に参与する分子、およびその解明の手がかりとなる未知分子を発見解析することである。本年度は、前年度に発見した一部の中枢ニューロンの周囲を染めるモノクローナル抗体群を集中的に研究した。抗体478の認識する抗原分子は、イムノプロット法、組織切片のコンドロイチナーゼ処理などによりプロテオグリカン様物質と考えられた。抗体478とは異なるニューロン群を染める抗体376もコンドロイチナーゼ処理により抗原が不活性化された。さらに軟骨研究のために開発された抗プロテオグリカン抗体の中に、一部の中枢ニューロンの周囲を染めるものが見出された。これらより、プロテオグリカンまたは近縁の物質が一部中枢ニューロンの周囲に存在することが明らかとなった。

さらに異なるニューロン群に結合する抗体の存在を想定し、サル脳海馬組織・ニワトリ胚組織等でマウスを免疫し、モノクローナル抗体を免疫組織化学的に検索したところ、さらに7抗体を発見

入手した。これらの抗体間の異同関係は解析中であるが、いずれもコンドロイチナーゼ処理により抗原活性が失われる。これらのことは、中枢ニューロン間の何らかの相互作用のために、多様なプロテオグリカン様分子が利用されている可能性を示唆している。

霊長類網膜の運動刺激検出機構について

田内雅規(国立身障者リハセンター研)

脊椎動物の視覚系では、動く刺激に対して非常に強く反応する機構が存在する。このような機構は網膜においてすでに認められており、我々は網膜におけるこの運動刺激検出の成立を解明するうえで、特に網膜のアセチルコリン(Ach)が重要な神経伝達物質としての役割を担っていることを明らかにしてきた。霊長類の網膜においては、Achの存在は知られているものの、その局在やAchを持つ細胞の形態については全く判っていない。従って、今回はサル網膜を用いて、Achを合成する酵素であり、コリン作動性神経細胞のマーカーであるコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)の抗体を用いてコリン作動性神経の局在を検討すると共に、他の動物ではコリン作動性神経細胞を特異的に染色することが知られている核酸染色性蛍光色素を用い、コリン作動性神経の生体染色を試みた。

麻醉下で出血直後の動物(ニホンザル)から眼球をできるだけ速やかに摘出し、4%パラフォルムアルデヒドと0.02%グルタルアルデヒドの混液中で、一昼夜4℃で固定した後、ChATの免疫組織化学に供した。一方、網膜細胞の生体染色については、摘出直後の眼球から前眼部および硝子体を取り除き眼球胚標本を作り、4',6-diamidino-2-phenyl-indole(DAPI, Sigma)を0.3mg/lの濃度で含むAmes液中加入細胞ラベルを行った。

この実験の結果、サルの網膜にはChATに対する免疫活性が内網膜に認められた。細胞体はそれぞれ内顆粒層と神経節細胞層にあり、細胞の突起は内網状層中に二つの層として存在していた。一方DAPIによる生体染色の結果、神経節細胞層内に直径が約10μm程度で規則的に配列する小さな