

計画 9-2

霊長類大脳皮質のドーパミンによる
シナプス形成発達機構の解明
岡戸信男、浜田俊、首藤文洋(筑波大・基礎医)
林基治(京都大・霊長研・分子生理)

これまでに生体アミンが、一般的な、例えばグルタメイトなど生体アミン以外のシナプスの形成維持を促進する働きのあることを明らかにしてきた。大脳皮質のドーパミンに関しては、実験動物としてはサルで最も高密度に分布しており、大脳皮質のシナプス形成維持機構を理解するうえで重要であることからサルを用いて本研究を行った。生後一年のニホンザルにドーパミン D2 受容体の選択的拮抗薬であるネモナプリドを体重 1kg 当たり 1.0、0.5、0.1 mg、また対照としては生理的食塩水を連日 3 日間投与した後に、実験殺、半脳をホルマリン固定、他側をドライアイスで冷凍した。ホルマリン固定脳を燐タングステン酸法により処理し、エボン包埋後、大脳皮質全層を含む超薄切切片を作成、ホルムバル膜を張った直径 7 ミリの単孔メッシュ上に載せた。電子顕微鏡 (LEM-2000) による観察で、前および後シナプス膜肥厚が明瞭に観察でき、シナプスとして同定できた。軟膜直下の I 層表層から VI 層の白質移行部までの大脳皮質を 10 分割して、それぞれの区分から初期倍率 $\times 2000$ で写真撮影を行った。現在まで前頭前野の各部位でのシナプス密度変化を定量化している。24 野では何れの薬量でもシナプス密度の変化はなかった。しかし、46 野では 1.0 と 0.5 mg で、ほぼ同程度、対照に比べ 30% のシナプス密度の減少が確認された。

計画 9-4

斃死サル生殖器を用いた胚生産の可能性の検討

細井美彦、入谷 明(近畿大・生物理工・遺伝子工学)

近年多くのサル類が生息地を追われ、その個体数は減少の途をたどりつつある。我々は、それらの種の保護を積極的に行わねばならないと考え、生殖生理学的基礎成績を集積すると共に、室内人工周年繁殖技術の開発に取り組んできた。特に希少種は利用できる個体も限られており、遺伝子資源の効率的利用が迫られている。

近年、技術的には体外受精 (In Vitro Fertilization) を基盤とした胚の効率的利用法として、ウシでは屠殺体卵巣より回収された未成熟卵子の体外成熟・体外受精により胚生産が可能になり、ヒトでは不妊症の治療法として顕微授精により非運動精子を受精させ、受精卵を作ることが可能となっている。そこで、我々は、死体より得られる生殖器を資源として、胚の生産を試みた。

本年度は、脳サンプリング個体の精巢を得て、運搬とその後の精子のサンプリングによる生殖細胞の損傷を検討した。供試された精巢を 4℃ で 24 時間から 48 時間保存した後、回収した精子は、体外受精可能な運動性を維持していた。それを凍結した結果、融解後の運動性回復は、射出精液に比べて悪かったものの、凍結保存は可能であると考えられた。さらに、精巢を 48 時間を越えて保存し、運動能力を喪失した精子の顕微授精を試みた。その結果、受精卵を得ることができた。来年度は、さらに精巢より、未分化な精子細胞を回収し顕微授精を行う予定である。