

22回日本神経科学学会(1999年7月、大阪市)。抄録集 p. 318.

- 4) 加藤啓一郎・海野俊平・三上章允・姜英男・小山哲男・松元まどか・長谷川良平(1999) 学習課題遂行中に関連したFRBニューロン活動のバースト発火。第45回中部日本生理学会(1999年10月、名古屋)。日本生理学雑誌 62(1): 54.
- 5) 納家勇治・吉田正俊・伊藤昭光・柴田愁子・伊原毅・櫻井芳雄・宮下保司(1999) 霊長類下部側頭葉の視覚記憶ニューロン: TE野、36野の比較。第22回日本神経科学大会(1999年7月、大阪)。抄録集 p. 232.
- 6) 大西暁士・小池智・井田美樹・今井啓雄・七田芳則・竹中修・花澤明俊・小松英彦・三上章允・後藤俊二・バンバン・スリョプロト・北原健二・山森哲雄(1999) マカカ属で発見された色覚遺伝子異常(色盲)のサル。第31回日本霊長類学会大会(1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15: 419.
- 7) 櫻井芳雄(1999) 記憶学習のシナプス可塑性と脳内システムの接点: 遺伝子-シナプス-ニューロン-行動をつなぐために。第22回日本神経科学大会(1999年7月、大阪)。抄録集 p. 65.
- 8) 櫻井芳雄(1999) サルによる刺激提示時間の遅延見本合わせ課題の遂行とその行動解析。第22回日本神経科学大会(1999年7月、大阪)。抄録集 p. 245.
- 9) 櫻井芳雄(1999) ワーキングメモリーでの時間コーディングを担う動的神経回路の研究。公開シンポジウム「目標達成型脳研究: 文脈主導型、認識・判断・行動機能のための動的記憶システムの研究」(1999年11月、つくば)。論文集 p. 20-21.
- 10) 櫻井芳雄(2000) 多数ニューロン活動の同時記録法: その現状と展望。第22回生理学技術研究会(2000年2月、岡崎)。抄録集 p. 12.
- 11) 海野俊平・加藤啓一郎・三上章允・姜英男・小山哲男・松元まどか・長谷川良平(1999) 学習課題遂行中のFSニューロンのバースト発火。第45回中部日本生理学会(1999年10月、名古屋)。日本生理学雑誌 62(1): 53-54.
- 12) 脇田真清(1999) 聴覚皮質損傷後の聴覚弁別

学習。第26回日本脳科学学会(1999年5月、岡山)。抄録集 p. 38.

分子生理研究部門 器官調節分野

林 基治・目片文夫・大蔵 聡・清水慶子

<研究概要>

A) 霊長類脳内生理活性物質-分布特性と発生・発達・加齢

林 基治・大平耕司¹⁾・森 琢磨¹⁾・山下大輔¹⁾・清水慶子・光永総子²⁾・伊藤麻里子³⁾

(1) 胎生期チンパンジー(死産)の前頭前野、前帯状回について脳由来神経栄養因子(BDNF)含有細胞を免疫組織化学法を用いて調べた。その結果、BDNFは2/3層と5層の一部の錐体細胞のみに観察された。また樹状突起に強い免疫活性があり、BDNFが樹状突起から分泌されている可能性が示唆された。さらにニッスル染色で前帯状回を染色したところ5層には大型のSindle細胞が観察された。本細胞はチンパンジー前頭前野やアカゲザル前帯状回には観察されなかった。従ってチンパンジーの前帯状回にSpindle細胞が存在するという性質は、胎生期にすでに内在的に決定されていることが考えられた。

(2) BDNFの受容体TrkBのサブタイプ間のBDNFによるダイマー形成の発達についてマカクサル大脳皮質を用いて解析した。その結果、胎生期ではチロシンキナーゼをもつTK+のホモダイマーのみが観察され、生後ではチロシンキナーゼを持たないTK-の発現が増加するにつれてTK-ホモダイマー、TK+TK-ヘテロダイマーが形成されることが明らかにされた。

(3) BDNFに特異的なELISA法を開発し、BDNFタンパク質のマカクサル脳内分布について調べた。その結果、BDNFは海馬、大脳皮質の前頭前野、側頭野に多く、視覚野には少なかった。またBDNF及NT-3のマカクサルの脳内におけるmRNA量の発現量を調べるために両分子に特異的なRT-PCR法を開発した。現在両mRNAの脳内分布とその発達過程を調べている。

B) 血管内皮および血管平滑筋の電氣的応答

目片文夫

神経、筋肉等の興奮性細胞の機能は彼等の細胞膜の電氣的性質に大きく依存する。膜の電氣的特性は外部から人為的に流された電流に対する膜の反応を観察することにより知ることができる。しかし、問題点は通電方法により膜の反応性が異なることにあり、これまで、電気生理学の研究分野において主要な未解決主題として残されてきた。本研究室では異なる2つの通電方法—パッチクランプ法と隔絶箱法—を用い、細胞外通電と細胞内通電に対する非分離血管内皮細胞の反応を観察し、細胞のもつ興奮性および安定性を支配する基本的機構の解明を試みている。

C) 霊長類生殖機能の中枢内調節機構

大蔵 聡

動物の性腺機能調節中枢である性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) パルスジェネレーターの活動を、視床下部に留置した慢性電極を用いて電気生理学的に記録した。卵巣除去ニホンザルにおいて、約50分に1回の頻度で規則的に上昇を繰り返す多ニューロン発射活動 (MUA) が記録でき、MUAの上昇と血中の黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌との対応が明らかとなった。

D) 低栄養による生殖機能抑制の神経内分泌機序

大蔵 聡

低栄養ストレス条件下における性腺機能抑制メカニズムを解明するため、卵巣除去ニホンザルを用い、急性のグルコースまたは脂肪酸の代謝阻害がパルス状LH分泌に及ぼす影響を検討した。パルス状のLH分泌は血糖利用阻害剤 (2-deoxy-D-glucose) の静脈投与により性ステロイドの有無に関わらず一過性に抑制された。一方、脂肪酸のβ酸化阻害剤 (2-mercaptoacetate) の静脈投与の効果は明瞭ではなかった。以上の結果より、特異的な血糖センサーにより感受された血糖利用能の低下がシグナルとなり、生殖機能を抑制することが示唆された。さらに、特異的な血糖センサーの脳内における局在を明らかにするため、膵臓型グルコキナーゼおよびグルコース担体 (II型およびIV型) の免疫組織化学的手法による検出を試みている。

E) 霊長類の生殖リズムの発現に関する研究

清水慶子・光永総子²⁾・

伊藤麻里子³⁾・林 基治

(1) ニホンザルの季節繁殖リズムの発現機構およびマカクザルの成長に伴う性腺系の変化を知るため、視床下部一下垂体—性腺系に着目し、胎生期から性成熟に達するまでの血中生殖関連ホルモン動態を調べた。また、併せて視床下部、下垂体、性腺の組織学的解析を行った。性成熟時のホルモン値上昇とともに、出生直後にホルモン値の上昇が見られ、この時期に性腺に活動があることが示唆された。

(2) 合成プロジェステロンを用いたマカクザルおよびチンパンジーの排卵抑制法を検討し、その避妊効果および性行動に与える影響について解析した。この結果、合成プロジェステロンにより排卵が抑制されること、この時、必ずしも性行動の抑制は起こらないことが明らかとなった。

(3) マカクザルおよび類人猿の尿、糞、唾液からの生殖関連ホルモン測定法を開発した。尿、糞中プロジェステロン及びエストロジェンに加え、尿中mCG、FSHの測定が可能となった。また、専用の機器を用いない妊娠診断キットを開発した。

F) 霊長類モデルにおける遺伝子研究

清水慶子・中村 伸⁴⁾・

平野 真⁵⁾・光永総子²⁾

遺伝子導入担体の安全性、有効性の評価系確率のためにマカクザルおよびマーモセットに様々なベクターを投与し、組織損傷、炎症反応、遺伝子導入タンパク質の発現性について比較検討した。

G) マカカ属サルの繁殖特性

伊藤麻里子³⁾・清水慶子・林 基治

マカクザルの性腺機能を調べるために主に性腺 (精巣および卵巣) から分泌されるインヒピンについて免疫組織化学的手法を用いて調べた。

<研究業績>

論文

—英文—

- 1) Hamada, Y., Hayakawa, S., Suzuki, J. & Ohkura, S. (1999) Adolescent growth and development in Japanese macaques (*Macaca fuscata*): Punctuated adolescent growth spurt by season. *Primates* 40: 439-452.
- 2) Hayashi, M., Mitsunaga, F., Ohira K., Shimizu K. & Yamashita, A. (1999) Development of full-length TrkB-immunoreactive structures in the hippocampal formation of macaque monkey. *Anatomy and Embryology* 199: 529-537.
- 3) Hayashi, M., Mitsunaga, F., Itoh, M., Shimizu, K. & Yamashita, A. (2000) Development of full-length TrkB-immunoreactive structures in the prefrontal and visual cortices of the macaque monkey. *Anatomy and Embryology* 201:139-147.
- 4) Higo, N., Oishi, A., Yamashita A., Matsuda, K. & Hayashi, M. (1999) Quantitative non-radioactive in situ hybridization study of GAP-43 and SCG10mRNAs in the cerebral cortex of adult and infant macaque monkeys. *Cerebral Cortex* 9:317-313.
- 5) Kishi, H., Itoh, M., Ohshima, K.-I., Wang, M.-W., Watanabe, G. & Taya, K. (1999) Regulations of gonadotropin secretion by circulating inhibin, estradiol, and progesterone in cyclic hamsters. *American Journal of Physiology* 277 (Endocrinol. Metab. 40): E876-E882.
- 6) Nishiyama, T., Tsumagari, S., Itoh, M., Kimura, J., Watanabe, G., Taya, K. & Takeishi, M. (1999) Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog. *Anatomia Histologia Embriologia* 28: 125-129.
- 7) Ohira, K., Shimizu, K. & Hayashi, M. (1999) Change of expression of full-length and truncated TrkB in the developing monkey central nervous system.

Developmental Brain Research 112: 21-29.

- 8) Ohshima, K., Kishi, H., Itoh, M., Watanabe G., Arai, K., Uehara, K., Groome, N. P. & Taya, K. (1999) Secretion of inhibin A, inhibin B and inhibin pro- α C during the oestrous cycle of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Journal of Endocrinology* 162: 451-456.
- 9) Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Ohkura, S., Tsukamura, H., Maeda, K.-I. & Foster, D.L. (2000) Central action of insulin regulates pulsatile luteinizing hormone secretion in the diabetic sheep model. *Biology of Reproduction* 62: 1256-1261.

—和文—

- 1) 平野真・光永総子・清水慶子・中村伸 (2000) 霊長類などへの遺伝子導入。BウィルスDNAワクチンの開発。遺伝子治療入門 (斉藤英彦、吉田純編)。名古屋大学出版会、pp. 18-27.
- 2) 中村伸・平野真・光永総子・清水慶子 (2000) 霊長類モデルでの遺伝子治療研究-特に遺伝子ワクチン研究を中心に-。ファルマシア 36: 127-130.

総説

—和文—

- 1) 林基治・大平耕司 (1999) 脳の発達と神経栄養因子。BRAIN MEDICAL 11(3):73-78.

報告・その他

—和文—

- 1) 大蔵聡・鈴木樹理 (2000) サル類の頸静脈カニューレーションと無麻酔・無拘束下の連続採血法。日本比較内分泌学会ニュース 96: 28-33.

1) 大学院生

2) ヒューマンサイエンス財団研究支援者

3) 技能補佐員

4) 遺伝子情報分野

5) 遺伝子情報分野 ヒューマンサイエンス財団リサーチ・レジデント

学会発表等

—英文—

- 1) Foster, D.L., Bucholtz, D.C., Nagatani, S., Tanaka, T., Ohkura, S., Thompson, R.C., Tsukamura, H. & Maeda, K.-I. (1999) Neural pathways involved in metabolic and endocrine control of pulsatile luteinizing hormone secretion during reproductive maturation and in adulthood in rats and sheep. 1999 Neuroendocrine Workshop on Energy Balance, Food Intake and Obesity (June 1999, San Diego, USA). Program and Abstracts p.39.
- 2) Hayashi, M., Shimizu, K., Itoh, M., Mitsunaga, F., Ohira, K. & Yamashita, A. (1999) BDNF-immunoreactive structures in the hippocampus of the aged monkey. The 22nd Annual Meeting of Japan Neuroscience Society (July 1999, Osaka). Neuroscience Research Supplement 23: S164.
- 3) Hayashi, M., Shimizu, K., Mitsunaga, F., Ito, M. & Yamashita, A. (1999) Development of BDNF-immunoreactive structures in the hippocampal formation of the macaque monkey. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstracts 25: 1786.
- 4) Higo, N., Oishi, T., Yamashita, A., Matsuda, K. & Hayashi, M. (1999) Expression of GAP-43 and SCG10 mRNAs in the lateral geniculate nucleus of the macaque monkey. The 22nd Annual Meeting of Japan Neuroscience Society (July 1999, Osaka). Neuroscience Research Supplement 23: S213.
- 5) Higo, N., Oishi, T., Yamashita, A., Matsuda, K. & Hayashi, M. (1999) Gene expression of myristoylated alanine-rich c-kinase substrate (MARCKS) in the brain of the macaque monkey. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstract 25: 363.
- 6) Higo, N., Oishi, T., Yamashita, A., Matsuda, K. & Hayashi, M. (2000) Expression of GAP-43 and SCG10 mRNAs in the macaque LGN. Neural mechanisms of visual perception and cognition 20 (Mar. 2000, Okazaki).
- 7) Mekata, F. (1999) The effect of field stimulation on single channel current in endothelial cells of intact rabbit aortae. General Meeting of Experimental Biology (Apr. 1999, Washington D.C., USA).
- 8) Nagatani, S., Dwight, C., Tanaka, T., Ohkura, S., Pelt, J., Bucholtz, D.C. & Foster, D.L. (1999) Insulin as a signal timing puberty in sheep. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstracts 25: 1958.
- 9) Nakamura, S., Mitsunaga, F., Shimizu, K., Hirano, M., Imamura, T., Abe, A. & Emi, N. (1999) Assessment of Gene Transfer Using a Non-Viral Liposome Vector in a Monkey Model. Gene Therapy (Nov. 1999, Washington, D.C., USA). Nature Biotechnology 17: 39.
- 10) Ohira, K. & Hayashi, M. (1999) Compartments of the Purkinje cells expressing BDNF and TrkB in the adult monkey cerebellum. The 22nd Annual Meeting of Japan Neuroscience Society (July 1999, Osaka). Neuroscience Research Supplement 23: S165.
- 11) Ohkura, S., Suzuki, J., Tsukamura, H. & Maeda, K.-I. (1999) Suppressive effect of the antimetabolic glucose analog, 2-deoxy-D-glucose, on pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized and estradiol-treated, ovariectomized Japanese macaque. The Japan Society for Comparative Endocrinology 24th Annual Meeting (July 1999, Nagoya). Proceedings of the Japan Society for Comparative Endocrinology 14: 79.
- 12) Ohkura, S., Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Tsukamura, H., Maeda, K.-I. & Foster, D.L. (1999) Central, but not

- peripheral, glucose-sensing mechanism mediates 2-deoxyglucose (2DG)-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in sheep. 1999 Neuroendocrine Workshop on Energy Balance, Food Intake and Obesity (June 1999, San Diego, USA). Program and Abstracts p. 62.
- 13) Ohkura, S., Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Tsukamura, H., Maeda, K.-I. & Foster, D.L. (1999) Hindbrain glucose-sensing mechanism mediates glucoprivic inhibition of pulsatile luteinizing hormone secretion in sheep. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstracts 25: 417.
- 14) Oishi, T., Higo, N., Yamashita, A., Matsuda, K. & Hayashi, M. (1999) Identification of functional connections from the primary motor cortex of the macaque monkey. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstracts 25: 1663.
- 15) Shimizu, K., Udono, T. & Hayashi, M. (1999) Assessment of reproductive status by using urinary hormone evaluation in great apes. SAGA2 & COE International Symposium "Evolution of the Apes and the Origin of Human Beings" (Nov. 1999, Inuyama). Abstracts p. 60.
- 16) Suzuki, J., Ohkura, S., Hamada, Y. & Hayakawa, S. (1999) Hormonal dynamics in adolescent Japanese macaque with special reference to IGF-1 and sexual steroid hormones. The Japan Society for Comparative Endocrinology 24th Annual Meeting (July 1999, Nagoya). Proceedings of the Japan Society for Comparative Endocrinology 14: 45.
- 17) Tomonaga, M., Suzuki, J., Ohkura, S., Nakamura, M. & Abe, T. (1999) Are cognitive experiments stressful works for the chimpanzee (*Pan troglodytes*)?: Relationship between performance and physiological factors during cognitive experiments. SAGA2 & COE International Symposium "Evolution of the Apes and the Origin of Human Beings" (Nov. 1999, Inuyama). Abstracts p. 71.
- 18) Tsukamura, H., Thompson, R.C., Tsukahara, S., Ohkura, S., Maekawa, F., Moriyama, R., Foster, D.L. & Maeda, K.-I. (1999) Central administration of melanin-concentrating hormone suppresses pulsatile luteinizing hormone release in the female rat. Society for Neuroscience 29th Annual Meeting (Oct. 1999, Miami Beach, USA). Abstracts 25: 1187.
- 和文—
- 1) 藤田志歩・杉浦秀樹・光永総子・清水慶子 (1999) 野生ニホンザルにおける卵巣周期のホルモンと性行動の変化。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15(3): 407.
- 2) 林基治・伊藤麻里子・清水慶子 (1999) チンパンジ-の脳皮質における神経細胞の分布とBDNF含有細胞について。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15(3):451.
- 3) 肥後範行・大石高生・山下晶子・林基治 (2000) サル外側膝状体におけるMARCKS遺伝子の発現。第77回日本生理学会大会 (2000年3月、横浜)。予稿集 p. 216.
- 4) 平野真・中村伸・岡田真紀・許禎壬・伊藤麻里子・植田昌宏・向井僚三郎・光永総子・清水慶子・恵美宣彦 (1999) Bウイルス感染症のDNA診断法とDNAワクチンの開発。第22回日本分子生理学会 (1999年12月、福岡)。講演要旨集 p. 759.
- 5) 光永総子・中村伸・清水慶子・平野真・今村隆寿・安部明弘・恵美宣彦 (1999) 霊長類を用いた遺伝子治療ベクターの評価・検討。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15(3): 455.
- 6) 森琢磨・清水慶子・林基治 (2000) 成熟マカクサル脳におけるBDNFの分布について。第77回日本生理学会大会 (2000年3月、横浜)。予稿集 p. 163.
- 7) 大蔵聡・田中知己・東村博子・Foster,

- D.L.・前多敬一郎 (1999) ヒツジにおける血糖利用阻害剤(2-deoxy-D-glucose) の肝門脈および第四脳室内投与によるパルス状LH分泌の抑制。第92回日本繁殖生物学会大会 (1999年9月、仙台)。講演要旨集 p. 127.
- 8) 大蔵聡・鈴木樹理・早川清治・濱田穰 (2000) 栄養による生殖機能の制御—飼育下ニホンザルの性成熟過程に関する縦断的研究から—。日本人類学会Auxology分科会第14回研究会 (2000年3月、東京)。
- 9) 大蔵聡・鈴木樹理・東村博子・前多敬一郎 (2000) 薬理学的血糖利用阻害によるニホンザルのパルス状LH分泌抑制。日本畜産学会第97回大会 (2000年3月、京都)。講演要旨集 p. 122.
- 10) 清水慶子・光永総子・林基治・鶴殿俊史 (1999) 尿を用いた類人猿の性周期推定法。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15(3): 452.
- 11) 友永雅己・鈴木樹理・山根到・大蔵聡 (1999) 個別飼育されたマカクザルの環境エンリッチメント(1) —遊具導入の効果の行動指標と生理指標からの評価—。日本動物心理学会第59回大会 (1999年5月、金沢)。抄録: 動物心理学研究 p. 69.
- 12) 東村博子・塚原伸治・大蔵聡・前川文彦・森山隆太郎・前多敬一郎 (1999) Melanin-concentrating hormone (MCH) の脳室内投与はパルス状黄体形成ホルモン (LH) 分泌を抑制する。第92回日本繁殖生物学会大会 (1999年9月、仙台)。講演要旨集 p. 128.
- 13) 鶴殿俊史・寺本研・早坂郁夫・光永総子・清水慶子 (1999) チンパンジーの避妊法の検討。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15(3): 453.
- 14) 渡我部昭哉・藤田宏志・小松勇介・林基治・山森哲雄 (1999) サル大脳皮質において領野特異的に発現する遺伝子の検索と解析。第22回日本分子生物学会年会 (1999年12月、福岡)。プログラム講演要旨集 p. 483.
- 15) 山根到・鈴木樹理・友永雅己・大蔵聡 (1999) 遊具導入が個別飼育アカゲザルに与える効果。第15回日本霊長類学会大会 (1999年6月、宮崎)。霊長類研究 15 (3): 442.

遺伝子情報分野

竹中 修・景山 節¹⁾・
平井啓久 (兼任、2000年1月1日付)・
中村 伸・浅岡一雄

<研究概要>

A) DNA分析による霊長類の系統解析

竹中 修・リナ・H・スティヤジ²⁾・
アナ・カリナ・ザバラグレン³⁾・
川本咲江⁴⁾・堀尾由紀子⁵⁾

ミトコンドリアDNAには進化速度を異にする領域があり、群内の個体差の検出から種間系統関係まで、対象の霊長類のどの側面を解析するかにより使い分けることが可能である。チトクローム b 遺伝子、D-loopの塩基配列比較によるスラウェシマカク7種およびブタオザル、さらにチンパンジーおよびゴリラの亜種間の系統関係の予備解析を終えた。また中部スラウェシのトンケアナとヘッキの雑種形成地帯の計7群の試料について、ミトコンドリアD-loop領域のPCR増幅一本鎖DNA調製法による塩基配列決定比較をほぼ終了し現在解析中である。また名古屋文理大学竹中晃子氏との共同研究で高脂血症のマカクについて脂質代謝の重要な因子LDLRの遺伝子の解析を行った。

B) 霊長類Y染色体DNAの進化

ユー・スンスク³⁾・竹中 修

高等霊長類特にホミノイドの各種はその繁殖構造に差異があり、性的二型、造精能力も様々である。そこでY染色体DNAに注目し分析を行ってきた。ニホンザルの発達加齢および繁殖期と非繁殖期における精巣特異発現遺伝子(mRNA)を、同一個体のバイオプシーとディファレンシャルディスプレイ法により検討している。3才と31才の個体で多くの異なる発現遺伝子を観測した。それらの塩基配列の決定を行った。

C) 霊長類の集団細胞遺伝学的研究

平井啓久・竹中 修・

Bambang Suryobroto⁶⁾・毛利俊雄⁷⁾

44本の染色体を持つテナガザル (*Iar* グループ) 6種の内の5種45個体の染色体をCバンド分染法によって解析したところ、第8染色体に3種