

B-6 霊長類における神経栄養因子の精神機能発達に与える影響

那波宏之, 外山英和, 難波寿明 (新潟大・脳研・分子神経生物), 水野誠 所内対応者: 中村克樹

統合失調症の発症原因のひとつとして、胎児や新生児期における末梢性サイトカインによる脳発達障害が想定されている。新生仔マウスの皮下に神経栄養性サイトカインである上皮成長因子 (EGF) やニューレグリン1などを投与することで、認知行動異常が成熟後に誘発されることが知られている。しかし、この仮説がヒトを含む霊長類にも適用できるか、疑問も多い。そこで成長の早い霊長類であるマーモセットを用い、本仮説の霊長類での検証を試みた。特にマーモセットは社会行動性の高い霊長類であり、社会行動が傷害される統合失調症を評価するには、理想的な実験動物と考えた。本年度は、昨年度に貴研究所にて実施した新生児マーモセットへの EGF の投与動物の経過観察を継続するとともに、妊娠マーモセット母体へ EGF の投与試験を実施した。

妊娠中のマーモセット母体は2匹を採用して投与を行った。この用量は、事前の成長マーモセットへの EGF 投与による影響評価試験により決定されたプロトコールに従った。このプロトコールによると一過性の嘔吐は発生するが、体重増加もあり、行動もすぐ正常化する。マーモセット胎児において母子間の Urero-Placental Barrier (UPB) が完成する妊娠中期までを標的時期とした。一匹のマーモセット母体には、妊娠9~11週で EGF 投与、もう母体では妊娠12~14週を目安に、0.3mg/kg 体重で1日1回、隔日皮下投与 (計5回投与) を実施した。出産時期も正常で、新生児の体重も正常であった。特に新生児の行動等に異常は見られなかったが、出生直後に上下顎各々に乳切歯が4本 (第1切歯2本、第2切歯2本)、計8本生えており、EGF 投与の反応の象徴である歯出芽の促進現象が観察された。このことは、母体から UPB を透過して EGF が胎児に移行したことを意味する。今後、成長を待つ行動指標の定量化を行い、EGF と認知行動発達の関連を検証したい。

B-7 マーモセット脳におけるシナプス可塑性関連蛋白ドレブリンの免疫組織化学的解析

白尾智明, 児島伸彦, 梶田裕貴 (群馬大学・院・医) 所内対応者: 中村克樹

ドレブリンは樹状突起スパインに局在するアクチン線維結合タンパク質であり、シナプスの可塑性にとって重要な働きをしている。本研究は、マーモセットを用いてドレブリンの高次脳機能における働きの解明を目指し、マーモセット脳内のドレブリンの分布を免疫組織化学染色で解析した。雌のマーモセット3匹を深麻酔後、ホルマリン溶液で灌流固定し脳を取り出した。浸漬固定後、スクロース溶液へ置換した。凍結後、冠状断で12 μ m の凍結切片を作成し、抗ドレブリン抗体、抗シナプトフィジン抗体、抗ダブルコルチン抗体を用い、DAB により免疫組織化学染色を行った。マウスではドレブリンの局在が認められない内側中隔において、マーモセットではドレブリンの強い染色が見られた。通常はドレブリンが濃染する領域はシナプスマーカーであるシナプトフィジンあるいは幼若神経細胞のマーカーであるダブルコルチンが濃染するが、この内側中核においてはこれらのマーカーは濃染しなかった。一方、他のニューロピル領域ではドレブリンとシナプトフィジンの濃染部位は一致し、また、脳室下帯部における移動中の神経前駆細胞はドレブリンとダブルコルチンが濃染していた。

B-8 抗うつ薬によるマーモセット海馬歯状回顆粒細胞の脱成熟効果

大平耕司 (藤田保衛大・総医研・システム医), 萩原英雄, 昌子浩孝, 上野友生 (藤田保衛大・総医研) 所内対応者: 中村克樹

我々は、統合失調症や双極性気分障害など精神疾患様の行動異常を示す多数系統のマウスにおいて未成熟海馬歯状回 (iDG) が生じていることを見出している。一方、野生型マウスに対して、抗うつ薬の慢性投与や脳電撃ショックを処置すると、iDG が生じることが分かった。すなわち、iDG の誘導がうつ病に対する治療効果であるという新しい仮説が示唆される。iDG の人工的な正常化と誘導が実現できれば、統合失調症、双極性気分障害、うつ病などの精神疾患の治療法に結びつくことが期待できる。本研究では、抗うつ薬による iDG の誘導について、マーモセットに抗うつ薬の一つであるフルオキセチンの放出ペレット (3 mg/kg/day, 60 day-release) を皮下に埋め込み、その前後4週間に凶形弁別課題、逆転学習課題、活動量測定を実施し、その後脳を固定し組織学的解析を行った。その結果、学習課題や活動量に大きな変化は観察されなかったが、歯状回において未成熟顆粒細胞のマーカーである Doublecortin が増加していることが明らかとなった。この結果は、霊長類でも iDG を誘導できることを示唆している。今後、iDG 化による行動変化について解析を進めていきたい。

B-9 ニホンザルのアメーバ感染に関する疫学研究

橘裕司 (東海大・医), 小林正規 (慶応大・医), 柳哲雄 (長崎大・熱研) 所内対応者: 平井啓久

最近、赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) とは異なる病原アメーバ *E. nuttalli* が、サル類から見つかった。本研究の目的はニホンザルにおける腸管寄生アメーバの感染実態を明らかにすることである。

宮崎県串間市の幸島において、野生ニホンザルの糞便32検体を採取した。直接鏡検では、糞線虫卵、鞭虫卵、胃虫卵、腸結節虫卵、R型仔虫が検出されたが、アメーバシストは検出されなかった。そこで、糞便から DNA を抽出し、赤痢アメーバ、*E. dispar*, *E. nuttalli*, *E. chattoni*, 大腸アメーバ (*E. coli*) について PCR 法による検出を試みた。その結果、*E. chattoni* が26検体 (81%) において陽性となった。しかし、その他の4種類のアメーバは全く検出されなかった。また、糞便検体について、田辺千葉培地によるアメーバの分離培養を試みたが、すべて陰性であった。

これまでの他地域における調査でも *E. chattoni* 感染は高率に認められたが、他種のアメーバも同時に検出されることが多く、地域による感染アメーバ種の違いが確認された。なお、採便に関しては、幸島観察所の鈴木氏と冠地氏の協力をいただいた。