

## 2. 研究成果

### (1) 計画研究

#### A-1 行動特性を支配するゲノム基盤と脳機能の解明

小林和人（福島医大・医） 所内対応者：高田昌彦

我々は、これまでに、高田昌彦教授との共同研究により、狂犬病ウイルス糖タンパク質（RV-G）を用いたレンチウイルスベクターを開発し、げっ歯類および霊長類の脳内において逆行性遺伝子導入が可能であることを示した。さらに、RV-Gの細胞外・膜貫通ドメインと水泡性口内炎ウイルス（VSV-G）の細胞内ドメインから構成される融合糖タンパク質B型（FuG-B）を開発し、逆行性遺伝子導入の効率を格段に向上させることに成功した。本研究では、RV-G細胞外ドメインN末端領域とVSV-G細胞外ドメインC末端領域を含み、VSV-G膜貫通・細胞内ドメインに連結した融合糖タンパク質C型（FuG-C）を作製し、新しいレンチウイルスベクターを開発した。FuG-Cベクターをサル線条体に注入し、脳内での遺伝子導入の特性と効率を検討した。ホンベクターは、黒質緻密部、大脳皮質、視床などのさまざまな脳領域への高い逆行性遺伝子導入効率を示した。また、注入部位において神経細胞とグリア細胞への遺伝子導入の効率についても解析した。FuG-Cベクターは、注入部位の少数の神経細胞に導入されるが、グリア細胞にはほとんど導入されなかった。したがって、FuG-Cベクターは、より高い逆行性遺伝子導入効率を示すとともに、注入部位のグリア細胞への遺伝子導入を減少させ、組織損傷を軽減するために有益なことが判明した。このような特性を持つベクターの開発は、経路選択的に細胞あるいは遺伝子機能を操作し、行動特性を制御する遺伝子機能や高次脳機能を解析するためのモデル作製において有益な実験系を提供する。

#### A-2 現生および化石オナガザル類における進化形態学的研究

小薮大輔（京大・博物館） 所内対応者：高井正成

オナガザル類の頭部における形態学的多様性がどのような要因のもとで進化してきたのかを理解することを目指し、機能形態学、系統学、進化生態学の観点から総合的な研究を行った。CT画像を三次元再構築し、現生オナガザル類頭骨の三次元幾何学的な定量化を進めた。また、頭部形態と食性の関係を解析するため、ウガンダ・カリンズ森林でオナガザル類4種（アカオザル、アオザル、ロエストモンキー、アビシニアコロブス）の採食物の破壊靱性の定量化を行った。収集されたデータをもとに食性と頭部の三次元形態の統計的な対応関係の抽出を進めている。

<論文>

小薮大輔. 食べることからみた哺乳類の頭骨進化⑧—霊長類. THE BONE 25 (2): 167-170 (2011) 査読有り.

<著書>

- 1) 小薮大輔. (in press) ニホンザルの形態. 「野生動物医学カラーアトラス」, 日本野生動物医学会 編, 文英堂出版.
- 2) 小薮大輔. (in press) 頭の形の進化と食べ物の堅さの関係を野外で探る. 「日本のサル学—若手研究者の最前線 (仮)」, 中川尚史, 友永雅己, 山極壽一 編, 京都通信社.

#### A-3 現生旧世界ザルにおける距骨の変異と化石への応用

鏑本武久（林原・生化研） 所内対応者：高井正成

化石霊長類の研究へ応用するため、現生霊長類における距骨サイズと歯サイズ・体重との関係を調べている。本年度は以下の二つのことを調べた。

- (1) 距骨化石からその化石霊長類の体重を推定するために、現生霊長類の距骨サイズの計測をおこなって、距骨サイズと体重との関係を検討した。その結果、「距骨の全長」を使うのが体重推定に最も適していることがわかった。この結果を応用して、ミャンマー産のアンフィピテクス科霊長類の距骨化石 NMMP-39 および NMMP-82 を体重推定した。結果は、NMMP-39 は約 2.7kg、NMMP-82 は約 5.1kg となった。
- (2) ニホンザルの大人の個体を対象に距骨・下顎第一臼歯 (m1) サイズと体重との関係を調べた。今回使用した全個体を対象とした場合、距骨サイズと体重との間に正の相関があった。しかし、雄雌を区別して別々に解析した場合は、雄雌ともに距骨サイズと体重との間に相関関係は認められなかった。m1 サイズと体重との関係、および距骨サイズと m1 サイズとの関係も同様であった。今後は、個体数および解析する歯種を増やして再度解析するとともに、さらに子どもの個体における距骨サイズと体重との関係を調べる予定である。さらに将来的には、解析対象をニホンザル以外の旧世界ザルにも広げていく予定である。

<学会発表>

鏑本武久, ほか (2011) 現生霊長類の距骨サイズの計測とボンダウンの化石霊長類の体重推定への応用. 霊長類研究, vol. 27, Supplement, p. 34. 日本霊長類学会 (2011/07/16-18, 犬山)

#### A-4 霊長類における概日時計と脳高次機能との連関

清水貴美子（東大・院・理）, 深田吉孝（東大・院・理） 所内対応者：今井啓雄

我々はこれまで、齧歯類をもちいて概日時計と記憶形成機構との関係について、分子生物学的、遺伝学的、行動

学的視点から研究を行ってきた。これまで、齧歯類を用いた実験において、海馬依存性の長期記憶形成効率に概日リズムがあることを確認し、申請者が見いだした K-Ras 制御タンパク質 SCOP (SCN circadian oscillatory protein)/PHLPP という分子が概日時計と脳高次機能を結びつける鍵因子である可能性を示す結果を得てきた (Shimizu et al. *Cell* 2007)。本研究では、ヒトにより近い脳構造・回路を持つサルを用いて、SCOP を中心に概日時計と脳高次機能との関係を明らかにすることを目的とする。齧歯類では不可能であった情動非依存性の記憶効率の日内リズム・サーカディアンリズムの解析に取り組むために、SCOP shRNA 発現ウイルスを使って部位特異的に SCOP の発現を抑制し、時計と記憶を結びつける鍵因子としての機能を評価することに着手した。効率よくサルの脳内で shRNA を発現させるため、アカゲザルの U6 pol III promoter を単離し、SCOP shRNA 発現ウイルスベクターに組み込んだ。作成した shRNA 発現プラスミドは COS7 細胞中の SCOP 量を減少する事を確認した。次年度は、この shRNA 発現レンチウイルスをサルの海馬に投与し、SCOP のノックダウンを確認するとともに記憶効率の測定を行う予定である。

#### A-5 ゲノムによる霊長類における脳機能の多様性の解明

橋本亮太 (大阪大・院・連合小児発達学研究所), 安田由華 (大阪大・院・医学系研究科・精神医学教室), 山森英長 (大阪大・院・医学系研究科・分子精神神経学) 所内対応者: 今井啓雄

統合失調症、双極性障害、うつ病などの精神疾患に関連することがすでに知られているリスク遺伝子である COMT、BDNF、DISC1 について、ヒトとサルで多型解析を行った。COMT (catechol-o-methyltransferase gene) は、ドーパミンの代謝酵素であり、COMT には機能的遺伝子多型 (Val158Met) があることが知られている。Val 多型は Met 多型と比較してドーパミンを代謝する酵素活性が高いことから、ヒトの前頭葉において Val 多型では Met 多型よりドーパミンが多く代謝され、ドーパミン量が低下することが想定される。そこで、統合失調症において障害されていることが知られている前頭葉課題である WCST を行い、Val 多型を持つと Met 多型を持つものより WCST の成績が低いことを見出した。さらに、前頭葉機能効率を fMRI にて測定し、Val 多型を持つものではその効率が悪いことを示した。最後に、遺伝子関連解析により、Val 遺伝子多型は統合失調症のリスクとなることを報告している。すなわち COMT 遺伝子の Val 多型は Met 多型と比較して COMT 酵素活性が高く、その結果、前頭葉のドーパミン量が低下し、前頭葉機能効率が悪くなり、統合失調症のリスクとなるということである。ヒト以外ではニホンザルとアカゲザルで多型解析を行った結果、ニホンザルに特異的な遺伝子多型が発見された。この変異はアミノ酸の性質を変える置換を伴うため、タンパク質の機能に影響を与えることが示唆される。

BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) は、神経発達・神経可塑性・神経保護に重要な役割を果たす代表的な神経栄養因子である。この分子は、精神疾患の中でも特に双極性障害やうつ病との関わりが深いことがよく知られている。BDNF は精神疾患との関連だけではなく、記憶を中心とする認知機能と関連することが、ヒトと動物の双方の研究から明らかにされてきた。特に BDNF の Val66Met 多型の Met 型よりも Val 型が記憶力が高く、Met 型の蛋白はシナプスへの分泌異常が認められる。サルについて多型解析を行った結果、遺伝子多型は全く認められなかった。

DISC1 (Disrupted in schizophrenia 1) はスコットランドの統合失調症やうつ病の多発家系において見出された遺伝子である。神経発達における皮質の形成や神経細胞の遊走などに関わっていることが知られている。この Ser704Cys 多型が ERK シグナルを調節する機能多型であり、脳構造の脆弱性を介してうつ病のリスクになることが示されている。サルではニホンザルにおいてエクソン 1、3、4、5、9 に特異的な遺伝子多型が見いだされた。

#### A-6 行動特性を支配するゲノム基盤と脳機能の解明

星英司 (東京都医学総合研究所・前頭葉機能プロジェクト) 所内対応者: 高田昌彦

霊長類で大きく発達した前頭連合野が目的指向的行動において中心的な役割を果たすことが示されてきている。目的試行的行動の代表例である条件付き視覚運動変換課題では、呈示された視覚物体を知覚して、それに連合された運動を選択・実行する必要がある。一見単純な行動であるが、知覚と運動を柔軟に連合するため、複数の脳システムにまたがる複雑な情報処理が要求される。この課題においては、前頭連合野のうち前頭前野腹外側部 (vIPFC) と運動前野背側部 (PMd) が必須であることが示されているが、これらの間には直接投射が存在しないことが分かっている。そこで、vIPFC と PMd の間には複数のシナプスを介した投射があるという仮説のもとに解剖学的研究を実施した。同一個体において、PMd へ逆行性トレーサーを注入し、vIPFC へ順行性トレーサーを注入したところ、前頭連合野の背側部と腹側部における複数の領域において、PMd へ投射する細胞の分布と vIPFC 細胞の神経終末の分布に重なりがあることが明らかとなった。従って、こうした介在領域を含めた前頭連合野内のネットワークが、目的指向的行動において重要な役割を果たすことが示唆された。

#### A-7 現生および考古遺跡出土ニホンザルの骨形態変異に関する研究

姉崎智子 (群馬県立自然史博物館) 所内対応者: 高井正成

ニホンザル (*Macaca fuscata*) 形態的特徴について大分県、島根県、福井県、新潟県、長野県、山梨県、神奈川県、千葉県、秋田県の現生資料と、鹿児島県、山口県、愛媛県、神奈川県、福井県、長野県、千葉県の考古資料を比較し、時空間的変異を検討した。比較に用いた項目は下顎小白歯・大白歯の頬舌径である。その結果、現生資料と考古資料にみられる地理的変異に大きな違いは、福井県を除いて認められないことが示された。また、骨格と臼歯サイズの地理的変異には異なる傾向が認められることが指摘されていることから、身体計測データと骨格、臼歯