

| | | | | |
|--------|------|--------|------|--------|
| 随時募集研究 | 21件 | (54名) | 21件 | (54名) |
| 合計 | 141件 | (351名) | 136件 | (342名) |

2. 研究成果

(1) 計画研究

A-1 複数骨格筋への単シナプス性発散投射構造の解剖学的同定

関和彦、大屋知徹、Sandra Puentes Martinez Milena、梅田達也(国立精神・神経セ・モデル動物)所内対応者：高田昌彦

脊髄運動ニューロンに投射する Premotor neuron は大脳皮質、脳幹、脊髄にそれぞれ偏在し、最近の申請者らの電気生理学的実験によって Premotor neuron の複数筋への機能的結合様式が筋活動の機能的モジュール(筋シナジー)を構成することが明らかになってきた。この神経解剖学的実体については全く明らかにされておらず、ヒトの運動制御の理解の発展と、運動失調に関わる筋、神経疾患の病態理解や新しい治療法の開発のためには喫緊の研究課題である。そこで本研究では上肢筋の脊髄運動ニューロンへ投射する細胞(Premotor neuron)の起始核である脊髄、赤核、大脳皮質からの発散性支配様式を解剖学的に明らかにすることによって、霊長類における巧緻性に関わる皮質脊髄路の脊髄運動ニューロンへの直接投射の機能的意義を解剖学的観点から検討する。本年度は第一に、霊長類の筋肉への注入によって、手指筋運動ニューロンへ逆行性に最も高い選択性を持って遺伝子を発現させるウィルスベクターの同定を目指した。そのために様々なマーカー遺伝子をつけた AAV 及びレンチウィルスベクターを、サルの手固有筋及び手首筋に注入し、ラベルされる脊髄ニューロンの組織学的解析を行なった。現在解析中である。また、神経終末を注入中に同定するため、電気刺激による新たな方法を開発した。一方、本研究の目的が達成した際には、当該ニューロン活動を光遺伝学的に修飾することが可能になる。そのため、末梢神経の特定の求心神経に選択的に遺伝子発現を誘導するウィルスベクターの同定とその検証のための電気生理学的実験を行なった。

A-2 運動異常症の霊長類モデルにおける脳活動異常の電気生理学的解析

磯田昌岐(関西医科大・医)、松本正幸(筑波大・医)、Kevin McCairn(韓国 Brain Research Institute)

所内対応者：高田昌彦

トゥレット症候群は、運動チックと発声チックを主徴とする運動異常疾患である。本研究では各チック症状の病態生理学的機構を明らかにするため、同疾患の霊長類モデルを薬理学的手法により作出し、大脳皮質と大脳基底核の神経活動を電気生理学的に解析した。まず、GABA-A 受容体の拮抗薬である bicuculline をマカクザルの被殻と側坐核に微量注入し、それぞれ運動チックと発声チックを誘発することに成功した。次いで、大脳皮質運動野、前部帯状皮質、被殻、側坐核より局所電場電位 local field potentials を記録し、各チック症状出現後の神経活動を比較した。その結果、運動チックの発現時には大脳皮質運動野と被殻において顕著な異常活動が記録され、発声チックの発現時には前部帯状皮質と側坐核において顕著な異常活動が記録された。本研究の実施により、トゥレット症候群の運動チックと発声チックの発現には、大脳皮質・基底核系の異なるネットワークが関与することが示唆された。

A-3 行動制御に関わる高次脳機能の解明に向けた神経ネットワークの解析

星英司(東京都医学総合研究所) 所内対応者：高田昌彦

認知的な行動制御において重要な役割を果たす霊長類の前頭葉には複数の運動関連領野がある。特異的な機能を営む複数の領野の機能連携のもと、滑らかで目的にかなった動作が達成されるが、それらの神経基盤は依然として不明である。そこで、本共同研究では、その構造的基盤を解明することを目指して実施された。シナプスを越えて逆行性に伝播する性質がある狂犬病ウイルスをトレーサーとして用いることにより、越シナプス性のネットワーク構築を解剖学的に解析した。本年度は、運動の企画と実行の過程において重要な役割を果たす高次運動野の二領域に、異なる蛍光色素を発現する狂犬病ウイルスベクターを打ち分けることを行った。数日の生存期間の後に脳標本を作製したところ、注入部位に入力を送っていると思われる脳部位に強い蛍光が観察された。これは、今回用いた狂犬病ウイルスベクターが霊長類の脳においてシナプス特異的に伝播する性質を有しており、強力なトレーシングツールとなることを示す。今後、顕微鏡下で細胞レベルの分布の解析を進めることにより、複数の運動関連領野から構成されるネットワーク構築の理解が深まることが期待される。

A-4 Phylogenetic and population genetic studies for conservation of nonhuman primates in Myanmar

Aye Mi San (Mawlamyine University, Myanmar) 所内対応者：田中洋之

Myanmar is located in the center of Continental Southeast Asia, and holds a variety of habitat environment for nonhuman primates. Hence, high diversity of nonhuman primates are described: 3 species of gibbons, 7 species of leaf monkeys, 5 species of macaques and one species of the slow loris. This research aims to see phylogenetic relationship among the local populations of Myanmar non-human primates by analyzing DNA sequences of highly variable region of mtDNA, as well as to confirm phylogenetic status of Myanmar monkeys by constructing phylogenetic trees together with DNA sequence data of monkeys from other countries. In 2014, the 1st year of the planned research "International Cooperative Research on Evolution and Conservation of Asian Primates", I conducted those examinations on the Myanmar subspecies of the long-tailed monkey (*Macaca fascicularis aurea*). To see mtDNA phylogeography, I sequenced the D-loop region for the samples collected in 11 localities and infer phylogenetic tree using approximate 560 bp of hyper variable region 1 of D-loop. The result suggested a relatively large genetic differentiation among local

populations of *M. f. aurea* in Myanmar. However, in one case transportation of monkey by humans was suspected. Next, I sequenced approximate 1470 bp of the 12S-16S region for 5 samples of *M. f. aurea* and 12 individuals representing 9 species (*M. arctoides*, *M. assamensis*, *M. fascicularis*, *M. fuscata*, *M. leonina*, *M. mulatta*, *M. nemestrina*, *M. silenus* and *M. thibetana*). All the 5 samples of *aurea*, including 3 pets and 2 fecal DNA samples from Indian Single Rock Mountain (Southern Myanmar) showed an identical sequence for this region. In the species-level phylogenetic tree, *M. f. aurea* was placed at the basal position, not forming a cluster with other subspecies of *M. fascicularis* from Laos and Sumatra. These results will be helpful to find evolutionary significant units for conservation of Myanmar's endemic subspecies of the long-tailed monkey.

A-5 認知機能と行動制御における外側手綱核の役割

松本正幸(筑波大・医)、川合隆嗣(関西学院大・院・文)、佐藤暢哉(関西学院大・文) 所内対応者：高田昌彦

外側手綱核と前部帯状皮質は罰に関連した神経シグナルを伝達する脳領域である。昨年度から引き続き、それぞれのシグナルが脳内の学習プロセスに果たす役割を検討するため、マカクザル(ニホンザルとアカゲザル)を用いた電気生理学的研究を実施した。まず、二頭のサルに逆転学習課題を訓練した。この課題では、サルに二つの選択肢を呈示し、一方を選ぶと50%の確率で報酬が得られるが、もう一方を選択しても報酬は得られない。報酬が得られる選択肢は数十試行の間固定され、その後、明示的なインストラクション無しに入れ換わる。サルは、一方を選んで報酬が得られない試行が続いたとき、もう一方に選択を切り替える必要がある。課題遂行中のサルの外側手綱核と前部帯状皮質から神経活動を記録したところ、両方の脳領域で報酬が得られなかったときに活動を上昇させる神経細胞が多数見つかった。特に、前部帯状皮質の神経活動は、現在だけではなく、過去に報酬が得られなかった情報も保持しており、サルの将来の選択行動の調節に深く関わっていた。一方、外側手綱核では選択行動に関連した神経活動は見られなかったが、前部帯状皮質よりも早いタイミングで神経活動が上昇していた。以上の結果から、まず外側手綱核で無報酬が検出され、その後、前部帯状皮質でサルの選択行動が決定されると示唆される。2頭のサルから十分なデータを得ることができたので、現在、論文投稿の準備を進めている。

A-6 霊長類における概日時計と脳高次機能との関連

清水貴美子、深田吉孝、中辻英里香(東大・院・理) 所内対応者：今井啓雄

我々はこれまで、齧歯類を用いて海馬依存性の長期記憶形成効率の概日変動を見出し、SCOP という分子が概日時計と記憶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。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 を中心とした概日時計と記憶との関係を明らかにする。

ニホンザル6頭を用いて、苦い水と普通の水をそれぞれ飲み口の色が異なるボトルにいれ、水の味と飲み口の色との連合学習を行う。さらに、記憶効率の時刻依存性を検討する。記憶測定の前段階として、水の味と飲み口の色が連合する事をサルに覚えさせるための前学習(学習/テストに用いるものとは別の目印)を1日1回3日間、同じ時刻におこなった。前学習の次に、学習とその24時間後に記憶テストをおこなう。記憶テストでは普通の水を入れた2つのボトルに学習時と同じ飲み口の色を用いる。どちらのボトルを選ぶかをビデオ観察し、記憶できているかの判断をおこなう。この方法において、時刻による記憶の変化が見られたが、1時刻につき2頭のデータしか取れていないため、更に例数を増やす予定である。各時刻6頭の記憶テストデータが揃い次第、SCOPshRNA 発現レンチウイルスをもちいた海馬特異的なSCOPの発現抑制により、記憶の時刻依存性に対するSCOPの影響を検討する。

A-7 二卵性ふたごチンパンジーの行動発達に関する比較発達研究

岸本健(聖心女子大・文)、安藤寿康(慶應義塾大・文)、多々良成紀、山田信宏、小西克也(のいち動物公園)

所内対応者：友永雅己

高知県立のいち動物公園のチンパンジー集団では、2009年に1組の二卵性の雌雄の双子が誕生し、母親による養育が現在まで継続している。チンパンジーでは母親の自然哺育によって双子が育った例はほとんどなく、母親独りで双子を養育することは困難であると考えられてきた。このため、のいち動物公園では、母親以外のメンバーも双子を世話している可能性があった。この可能性を検討するために、この双子とその母親、父親、非血縁者(すべて成体のメス)の9人を現在まで、それぞれ個体追跡法で観察しつづけている。得られたデータを解析した結果、母親以外の非血縁者が、双子を背中に乗せて移動するなどの世話行動を行っていたことが確認された。この成果はScientific Report誌に掲載され、また滋賀県立大学において開催された「子育てと子育ての比較発達文化研究会第1回フォーラム」で披露された。

2014年度に入り、双子は5歳齢となった。非血縁者による双子に対する世話行動の量は大きく減少した一方、双子たちが非血縁者を叩いた際に反撃を受けることが多くなっていることが観察より見てとれた。双子の成長とともに、非血縁者の双子に対する行動に変化が生じていることがうかがえた。

A-8 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)、安田由華、山森英長(大阪大・院・医学系) 所内対応者：今井啓雄

統合失調症、うつ病、自閉スペクトラム症などの精神神経疾患は、その原因や病態が不明である症候群であり、未だ十分な治療法が確立しておらず、病態を解明し創薬のためのモデル系を確立することが求められている。そこで、ヒトにおける脳病態ゲノム多型の発現をサルにおいて検索し、サルを用いたヒトの精神神経疾患のモデル系を作成する。

サルにおけるモデル系を創出するために必要な精神疾患のゲノム研究について、認知機能や脳神経画像などの中間表現型解析や新規の原因変異を同定するトリオ解析を行った。ゲノム研究により遺伝子が同定されるとその遺伝子改変をサルにおいて行うことができ、今まで困難であった精神疾患の動物モデルを作成することが出来ると考えられる。

中間表現型解析としては、52の認知機能表現型の全ゲノム関連解析(GWAS)を行い、グルタミン酸ネットワークや免疫

系のネットワークが関与していることを示し、上前頭回皮質体積の全ゲノム関連解析(GWAS)を行い、転写因子である EIF4G3 が関連していることを見出した。さらに、前頭葉機能に関わる COMT 遺伝子のサルにおける新規機能多型を発見し、種間による頻度の違いを見出した。

今後は、ヒトの精神疾患遺伝子異常をサル脳に導入し、トランスレーショナルに研究を進めていく予定である。

A-10 チンパンジーの口腔内状態の調査：う蝕・歯の摩耗・歯周炎・噛み合わせの評価を中心に

桃井保子、花田信弘、小川匠、野村義明、今井奨、岡本公彰、井川知子、齋藤渉、宮之原真由、菅原豊太郎(鶴見大・歯) 所内対応者：友永雅己

う蝕は人類が農耕を始め、糖および炭水化物の摂取により人類が新たに起こした疾患とも考えられ、その起源を推定することは重要と思われる (Gibbons, A., Science 2013)。我々は、チンパンジー口腔より新菌種を見つけ、*Streptococcus troglodytae* と命名した (2013, IJSEM)。この菌は系統学的にミュータンスレンサ球菌群の中で、ヒトう蝕病原菌の *S. mutans* に最も近縁であり、コンゴで捕獲された野生のチンパンジー口腔にも存在することが報告されている (PLoS One. 2013)。平成 26 年度には、病原遺伝子グルコシルトランスフェラーゼ (GTF) を含む、この細菌の全遺伝子解析が終了し、第 56 回歯科基礎医学会学術大会で報告した。更に、チンパンジー口腔細菌叢解析の結果、オオコウモリから分離された菌 (*Streptococcus dentirousetii*) も存在することを論文に発表した (Microbiol. Immunol. 2013)。次世代シーケンサーを用いるピロシーケンシング法により口腔細菌叢解析を解析した結果、う蝕、歯周疾患と関連する細菌が検出されたにも拘わらず、口腔内診査で比較的健全であることが判明し、今後の検討課題と考えられる。

また、診査により所内 1 個体 (33y, ♀) の上顎右側中切歯に外傷による歯の破折に起因した歯髄炎を認めたため、ヒト歯科治療と同様の手技で根管治療 (歯の根の治療) を行った。

A-11 小脳失調症の病態解析と霊長類モデルの開発

田中真樹、國松淳、植松明子、松山圭、鈴木智貴(北大・医) 所内対応者：高田昌彦

小脳外側部と前頭・頭頂連合野との強い解剖学的結合が明らかにされており、運動を伴わない高次脳機能への小脳の関与が示唆されている。実際、脳機能画像や神経心理学研究によって、これを支持する結果が報告されている。本共同研究では、ウイルスベクターを用いて小脳半月小葉に遺伝子導入を行うことで小脳による高次脳機能の制御機構を具体的に探るとともに、小脳変性症のモデル動物を作製してその病態生理を明らかにすることを目指している。H26 年度は霊長研でウイルスベクターの開発を進めるとともに、北大で行動課題の開発と訓練をおこなった。軌道予測課題では、一定速度で動く光点が遮蔽物の後ろから再出現する場所とタイミングを眼球運動で答えさせた。アンチサッカー課題では、事前に与えられたルールに従って視標と同側または反対側に眼球運動を行わせた。いずれの課題でも小脳外側核に課題に関連したニューロン活動が認められ、これらの課題を用いて小脳機能の評価ができることを確認した。今後は随時申請による霊長研共同利用・共同研究や、H25 年度から続けている民間助成による共同研究を通じて、霊長研の共同研究者が開発したウイルスベクターによる遺伝子導入を行う。

A-12 大脳-小脳-基底核連関の構築に関する神経解剖学的研究

南部篤、畑中伸彦、知見聡美、瀬瀬大輔、金子将也(生理研・生体システム) 所内対応者：高田昌彦

小脳および大脳基底核からの出力が、どの領域の視床に対して、どのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とし、覚醒下のサルにおいて、小脳の出力部である小脳核(CN)と大脳基底核の出力部である淡蒼球内節(GPi)に電気刺激を加えた際の、視床-大脳皮質投射ニューロンの応答様式を解析した。

視床の外側腹側核(VL)、後外側腹側核(VPL)から単一ニューロン活動を記録した。大脳皮質運動野の電気刺激に対する逆行性応答によって視床-大脳皮質投射ニューロンを同定し、CN および GPi の電気刺激に対する応答を調べた。大脳皮質に投射する視床ニューロンの多くは、数 Hz から 10 Hz 程度の低頻度の自発発火を示した。CN の単発刺激は、興奮とそれに続く抑制という 2 相性の応答を惹起した。また、50-100 Hz の連続刺激を加えると、各刺激パルスに対応する興奮と抑制が繰り返し観察された。一方、GPi の単発刺激は、単相性の抑制、あるいは抑制とそれに続く弱い興奮という 2 相性の応答を惹起した。また、50-100 Hz の連続刺激を加えると、刺激期間中に強い興奮が生じる例が多く観察された。GPi-視床投射は、GABA 作動性投射であることから、抑制は GABA によるもの、それに続く興奮はリバウンドによるものと考えられる。また、CN 刺激に応じるニューロンは視床 VL/VPL の中でより後方に、GPi 刺激に応じるニューロンはより前方に位置し、両者の重なりは殆どなかった。

A-13 霊長類に特異的なイムノトキシン神経路標的法の開発

小林和人、加藤成樹、伊原寛一郎(福島医大・医) 所内対応者：高田昌彦

霊長類の高次脳機能の基盤となる脳内メカニズムの解明とゲノム科学との融合のために、複雑な神経回路における情報処理とその調節の機構の理解が必要である。我々は、これまでに、高田教授の研究グループと共同し、高頻度な逆行性遺伝子導入を示すウイルスベクター(HiRet/NeuRet ベクター)を用いて特定の神経路を切除する遺伝子操作技術を開発した。この神経路標的法では、ヒトインターロイキン-2 受容体 α サブユニット(hIL-2R α)遺伝子を発現する NeuRet ベクターを脳に注入することにより、そこへ入力する神経路に hIL-2R α 遺伝子を発現させ、その後特定脳領域に hIL-2R α に対して選択的に作用する組換え体イムノトキシンを投与することによって、目的の神経路の選択的除去を誘導する(Inoue et al., 2012)。しかし、このイムノトキシンはサル IL-2R α に交差反応する可能性があり、標的細胞への選択性を高めるために、サル IL-2R α に反応せず、マウス IL-2R α (mIL-2R α)に選択的に作用する新たなイムノトキシン(anti-mCD25-PE38)の開発を試みた。mIL-2R α を用いて免疫化したラットより調製された 3 種類の抗体(3C7, 2E4, PC61)について、ハイブリドーマから得た遺

伝子配列に基づき VH と VL 領域を単一ペプチドとして連結し、緑膿菌体外毒素の膜貫通・触媒ドメインに融合したイムノトキシンを発大腸菌で発現させ、精製し、イムノトキシンの性能を *in vitro* の結合実験により評価した。しかし、これらのタンパク質の mL-2Ra に対する結合親和性が従来のイムノトキシンに比較して高くないことが判明した。したがって、今後は、VH と VL 領域をさらに改変し、新たなイムノトキシン分子を開発する必要がある。他のモノクローナル抗体を入手し、この領域について別の配列を利用する計画である。また、マカクザル脳内における各種融合糖タンパク質 (FuG-B2, FuG-C, FuG-E 型) のウイルスベクター導入効率を比較するために、それぞれのベクターをマカクザルの線条体に注入した。今後、各経路への導入の頻度を組織学的に解析する予定である。また、マーモセット脳内での導入効率を調べるための同様の実験を計画した。これについても、今後、注入実験を進める計画である。

A-14 チンパンジーにおける質感認知に関する比較認知科学研究

伊村知子(新潟国際情報大・情報文化) 所内対応者: 友永雅己

色覚は、熟した果実や若葉を見分けるために有利だと考えられてきたが、ヒトは野菜や果物の画像から鮮度を判断する際に、輝度分布の偏り(標準偏差、歪度)などの統計情報も利用する。しかしながら、輝度分布がヒト以外の霊長類の食物の鮮度知覚に及ぼす効果については検討されていない。そこで、本研究では、キャベツの葉の表面が劣化していく様子を撮影した 1 時間後から 32 時間後までの画像を対提示し、チンパンジー 3 個体を対象に鮮度弁別課題をおこなった。その結果、チンパンジーは、1,2,3,5,8,時間後の画像の全ての組み合わせで、カラー条件、モノクロ条件ともに鮮度の高いキャベツを選択することができた。さらに、新奇なキャベツ、ホウレンソウ、イチゴの 1 時間後と 32 時間後の画像を 6 種類ずつ用いた鮮度弁別課題をおこない、輝度の統計情報(平均、標準偏差、歪度、尖度)と成績の相関を解析したところ、3 個体中 2 個体で、輝度分布の平均、歪度と課題成績の間にそれぞれ有意な相関が見られた。以上の結果は、ヒトの鮮度判断の結果とも一致するものであり、ヒト以外の霊長類においても輝度分布の統計情報に基づく食物の鮮度知覚が可能であることが示された。

A-15 The genetic profile of Taiwanese Macaque groups

Su Hsiu-hui, Fok Hoi Ting(Institute of Wildlife Conservation, Science and Technology, National Pingtung University)

所内対応者: 川本芳

This study was aimed to investigate the genetic structure of an isolated population of Taiwanese macaques located at the mountain range in central Taiwan, in order to examine how human activities impact the gene flow. The HVR I of mtDNA was sequenced and analyzed from fecal samples of social group members as well as out-side group males collected at this site. The haplotypes (650 bp) of 3 neighboring groups (F1, F2 and F3 groups) at a highly provisioned trail were different from each other by 11, 42 and 38 bp of substitutions, respectively. However, F1 group may be the group that was original at the trail when the provisioning had not occurred. We found that the F1 haplotype was 0-3 bp different from haplotypes of other social groups inhabited in the same region. F2 and F3 groups could move to this area due to human provisioning activity, or be translocated to this area. Six adult male samples collected at the highly provisioned trail were successfully sequenced on the HVRI. Four males carried the same haplotypes carried by 2 of the 3 neighboring groups at this trail, among which 2 males transferred to neighboring groups and the other two may make a short distance dispersal in the same region. The other two males that carried different haplotypes may disperse from other regions that need to be verified in the future. The preliminary results suggested that the genetic structure of this isolated population of Taiwanese macaques may be highly impacted by human activities.

Keywords: mtDNA, provisioning, male dispersal, *Macaca cyclopis*

A-16 霊長類における音声コミュニケーションの進化および発達過程の研究

平松千尋、山下友子、上田和夫、中島祥好(九州大・芸術工学研究院・デザイン人間科学部門)、嶋田容子(同志社大・心理学研究科) 所内対応者: 友永雅己

音声コミュニケーションの進化および発達の理解に貢献することを目的として音響分析の種間比較に着手した。ヒトは複雑な音声を連続的に発することができる。これには、喉頭下降現象による声道形状の変化および、喉頭での発声(音源)と声道での調音(フィルタ)を独立に制御できるようになったことが関連すると考えられている。そこで、まずは声道での調音に着目して分析することにした。霊長類研究所のチンパンジー、日本モンキーセンターとの連携研究によりテナガザル類 3 種から音声を録音した。その後、微細に変化する音源信号をケプストラム分析により取り除き、帯域フィルタを用いて各フィルタにおけるパワー変化を量とし因子分析を行った。ヒト成人および幼児の発声から得られた因子構造と比較した結果、ヒト以外の霊長類から得た因子構造は様々となり、成人の因子構造とは異なることが明らかとなった。さらに、パワー変化の相関から得られた類似度より多次元尺度構成法を用いて各音声間の距離を可視化したところ、系統や発達段階を反映していると見られる配置となった。今後、さらに多くの種の様々な発達段階から音声を記録し、詳しく比較していく予定である。

A-17 成体脳神経新生の *in vivo* 動態解析技術の創出

植木孝俊(名市大・院・医)、尾内康臣、間賀田泰寛、小川美香子(浜松医大・メディカルフォトンクス研究セ)、岡戸晴生(都医学総合研・脳発達神経再生) 所内対応者: 高田昌彦

本研究では、最近、大鬱病等の精神疾患の早期診断・治療のための治療標的と目されている神経幹細胞の脳内動態を、マカクザルでポジトロン断層法(PET)を用いリアルタイムに描出し、成体脳神経新生を定量解析することができる *in vivo* 評価系を創出することをねらいとした。

ここでは初めに、神経幹細胞中間径線維 nestin のエンハンサー・プロモーターにて中性アミノ酸トランスポーターと、その共役因子の遺伝子を、神経幹細胞特異的に発現するレンチウイルスを調製した。それを成獣ラット海馬歯状回に感染させることにより、PET トレーサー O-¹⁸F-fluoromethyltyrosine ([¹⁸F]FMT)を神経幹細胞に集積させ、成体脳神経新生動態を、PET を用い in vivo で画像化した。哺乳動物脳で内因する神経幹細胞を in vivo で画像化する技術は、これまでに類例がなく、旧来は、死後脳組織にて免疫組織学的染色による形態学的解析を行うのみであった。次に、本研究では、マウスにて強制水泳による大鬱病病態モデルを作製した後、当該マウスの海馬歯状回にレンチウイルスを感染させ、PET で神経幹細胞障害を定量的に評価した。その結果、抑鬱症状を呈するマウスにて神経幹細胞の著明な減少が観察された。一方で、抗鬱薬 Prozac は、大鬱病病態モデルマウスにて成体脳神経新生障害を回復させ、これまでに報告された通り、神経幹細胞障害が大鬱病の病態生理に与ることが改めて示唆された。

A-18 チンパンジー母乳における生物活性因子と子供の成長との関係性

岡本早苗(マーストリヒト大)、Robin M. Bernstein、Rob Knight(コロラド大)、Carlito Lebrilla(カリフォルニア大)
所内対応者：友永雅己

本研究は現在も継続中であり、27 年度も引き続き、共同利用研究として継続希望が採択されている。本研究では 2000 年から数年に渡り思考言語分野において採取、冷凍保存されていたチンパンジーの母乳サンプルを調べることにより、ヒトとチンパンジーにおける代謝および免疫に関係する因子の比較をおこなう。またチンパンジーの授乳期間が長いことから、母乳中の因子と乳児の発達との関係性を調べる。さらに同様に採取された母子の糞尿サンプルもあわせて調べることにより、乳児の発達に伴った母子の生理学的変化を総合的に検討する。26 年度は、母乳サンプル輸出について、ワシントン条約に基づいた CITES(Convention on International Trade in Endangered Species)手続きのためチンパンジー3 個体各々の書類準備をおこなったが、個体履歴等の証明書類の完備が困難で手続きが長期化することが予想された。そのため、コロラド大学の研究協力者が来日して所内の実験室において、分析をおこなう方針に変更した。しかし、当初予定していた分析試薬の国内入手が困難であることが判明した。そこで、27 年度にはハーバード大学の研究協力者を新たに追加して、異なる分析キットを用いて母乳の分析を開始することを予定している。

A-19 遺伝子発現の生体内可視化と脳機能制御技術の確立

南本敬史(放射線医学総合研究所) 所内対応者：高田昌彦

DREADD(Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug)は化学遺伝学的手法のひとつであり、変異型ムスカリン受容体が選択的リガンド clozapine-n-oxide(CNO)により活性化されることで、発現している神経細胞を抑制(あるいは興奮)させる。我々はこれまでに DREADD 受容体の発現を生体で可視化する方法として、選択的放射性 PET リガンド [¹¹C]CLZ を見出し、DREADD の生体 PET イメージング法を開発した。この基礎技術と所内対応者である高田らがある経路選択的な遺伝子導入法などウイルスベクター開発技術を組み合わせることで、より汎用な脳内遺伝子発現の経時的かつ非侵襲的なモニタリング技術を開発し、霊長類における特定神経回路の薬物による操作技術を確立することを目的とした。

平成 26 年度は、サル線条体に局所注入したレンチウイルスベクターによる hM4Di-DREADD の発現の位置と発現レベルを生きたまま追跡可能となる PET イメージング法を確立した。また同イメージング法により、発現した DREADD を占有するのに十分な CNO 投与量を推定した。実際に推定した CNO 投与により、抑制性 DREADD(hM4Di)を両側の内側尾状核に発現させた 2 頭のマカクサルの報酬獲得行動に障害を引き起こすことが繰り返し確認できた。これらの結果は、開発したイメージング法と DREADD を用いた脳機能制御法がサル脳機能研究において非常に有効であることを示す。

A-20 霊長類における時空間的な対象関係の理解に関する比較研究

村井千寿子(玉川大) 所内対応者：友永雅己

ヒトの推論における認知バイアスのひとつである対称性バイアスについて検討した。対称性バイアスとは「A ならば B」を経験すると、おのずと逆方向の、論理的には正しくない「B ならば A」の関係を予測してしまう傾向のことで、ヒト以外の動物では報告がまれである。昨年度までの研究では、動物先行研究の手続きの問題を考慮した選好注視課題によりチンパンジーとヒト乳児を直接比較した。その結果、当該バイアスはチンパンジーには見られずヒト乳児だけに特異的に見られた。今年度の研究では、この種特異性の可能性についての更なる検討のため、選好注視課題よりも主体の能動的反応を評価できる選択的な予測注視を指標とした課題の開発を行った。具体的には、「対象 A が提示された場合、複数の刺激の中から対象 B が連動して動く」ことを経験させ、結果が提示されるよりも早い対象 B への予測注視を学習成立の証拠として視線計測装置によりオンラインで評価した。学習成立した後の対称性テストでは、「対象 B が出現したならば、どの対象が連動して動くのか」という選択問題を与え、ここでも正答刺激(この場合、対象 A)への注視を計測し、対称性バイアスに基づく反応が起きるかをみた。現在、ヒト乳児でのパイロット実験から課題を作成し終え、今後はヒト乳児とチンパンジー双方での実験実施を予定している。

A-21 脳機能におよぼす腸内細菌叢の影響

福田真嗣、福田紀子(慶大・先端生命研)、村上慎之介、石井千晴(慶大・院・メディア研究)、伊藤優太郎(慶大・総合政策)、谷垣龍哉(慶大・境情報) 所内対応者：中村克樹

ヒトを含む動物の腸内には、数百種類以上で 100 兆個もの腸内細菌が生息しており、宿主腸管と緊密に相互作用することで、宿主の生体応答に様々な影響を及ぼしていることが知られている。近年マウスを用いた研究で、腸内細菌叢が脳の海馬や扁桃体における脳由来神経栄養因子(BDNF)の産生量に大きな変動を与え、その結果マウスの行動にも変化が現れ

ることが報告された(Heijtz, et al., PNAS, 108:3047, 2011)。これは迷走神経を介した脳腸相関に起因するものであることが示唆されているため、腸内細菌叢の組成が宿主の脳機能、特に情動反応や記憶力に影響することが示唆される。しかしながら、これら情動反応や記憶力と腸内細菌叢との関係を調べるには、マウスなどのげっ歯類では限界があると考えられたことから、本研究では小型霊長類であるコモンマーモセットに着目し、高次脳機能、特に情動反応や記憶力と腸内細菌叢との関係について解析を行うことを目的とした。平成26年度は、腸内細菌叢を除去したコモンマーモセットモデルを構築するための条件検討として、4種類の抗生物質を混合した抗生物質溶液を作成し、コモンマーモセットにカテーテルを用いて3日間連続胃内投与を実施することで、腸内細菌叢が除去できることを確認した。今後は、本モデルマーモセットを用いて高次脳機能評価を行う予定である。

A-22 チンパンジーの視覚・注意の発達変化に関する比較認知研究

牛谷智一(千葉大・文学部)、後藤和宏(相模女子大・人間社会学部) 所内対応者：友永雅己

本研究は、複数要素の「まとまり」を認識する視覚情報処理過程をチンパンジーとヒトとで比較し、その共通点と相違点から視覚の進化的要因を解明するべく実施した。今年度は、2つの異なるパターンを弁別するとき、それらのパターンとは無関係の文脈を付加することで弁別が促進される効果(パターン優位性効果)の検討に重点を置き、チンパンジー3個体とヒト成人20名を被験者として、「まとまり」を認識する際に生じる創発的特徴について実験的検討を行った。文脈なし条件では顔の一部(目や口)だけを見本刺激として呈示し、文脈あり条件ではそれらの部分を部分とは別の個体の顔に配置したものを見本刺激として呈示し、比較刺激の中から見本刺激と同じものを選択することを訓練した。顔刺激には、チンパンジーとヒトの顔、それぞれ3種類を用い、それらの刺激は正立、倒立の2方向で呈示された。3個体中2個体のチンパンジーは、文脈なし条件よりも文脈あり条件で正答率が低く、この傾向は、顔の呈示方向(正立、倒立)やチンパンジーの顔、ヒトの顔に関わらず一貫していた。さらに、ヒト成人の結果もチンパンジー2個体の結果と一致していた。これらの結果から、ヒトとチンパンジーでは共通して、目や口といった特徴の弁別に対して顔文脈がパターン優位性効果を持たないことが明らかになった。

A-23 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal

MUKESH CHALISE(CENTRAL DEPARTMENT OF ZOOLOGY, TRIBHUVAN UNIVERSITY) 所内対応者：川本芳

We planned to conduct a population genetic assessment on Nepalese wildlife. We continue ecological observations and have collected fecal samples of non-human primates in Nepal for the phylogeographical study. The aim of this program is to increase geographical information to evaluate ecological and evolutionary status of rhesus and Assamese macaques and Himalayan langurs from DNA analysis. In this year's program, we increased samples of primates from Inner Tarai, Mid-hills and upper mountain regions of Nepal. We have gone through some analysis. However, still we want to cover the wider areas of Nepal where primates are observed by local collaborator.

We had used the facilities and deposited samples in a laboratory of KUPRI to do PCR, DNA sequencing and computer analysis, then could establish a protocol of the DNA analysis which is applicable to the primate populations living in Himalayan region. Using the sampling method, samples were collected from different localities in Nepal. We also set up a small facility in Kathmandu to extract DNA from collected fecal specimens in 2014. We have compared mtDNA variations of macaques and langurs in Nepal. Parts of mtDNA (16S rRNA, cyt b, non-coding region) were subjected to the sequencing by a standard procedure and phylogeographical relationship was assessed by molecular phylogenetic and population genetic analyses. Our preliminary data suggested evolutionary proximity of local populations of Himalayan langurs in the sequence comparisons. This kind of close relationship was also observed in the populations of Assamese macaques in Nepal and Bhutan.

Taxonomic status of South Asian primates is controversial for both macaques and langurs. Many of previous studies used zoo samples but available information are increasing in recent for wild populations. We hope that we can continue cooperative research to provide reliable information to test evolutionary hypotheses and to measure biological diversity of macaques and langurs in Asia. This program on Himalayan primates can be linked to corresponding programs of the planned research program which covers macaques and langurs in India and Sri Lanka.

Keywords: macaques (*M. assamensis*; *M. mulatta*), langurs (*Semnopithecus entellus*), Nepal.

A-24 Study of ecology and phylogeography of primates in Sri Lanka

Charmalie Anuradhe Dona Nahallage (University of Sri Jayawardenepura) 所内対応者：Michael A. Huffman

The evolution and phylogeny of endemic primates in Sri Lanka are not well understood due to a paucity of comparative studies of their ecology and genetics. The long-term goals of my study are to elucidate aspects of the ecology and phylogeny of the toque macaque and two species of langurs, the gray langur and the purple-face langur in Sri Lanka.

Towards this goal we collected 50 fecal samples from toque macaques (N= 11), purple face langurs (N= 3) and grey langurs (N= 36) from 14 populations across Sri Lanka. The samples were preserved in lyses buffer in the field. Samples were transported back to the laboratory at the University of Sri Jayawardenepura and the fecal DNA was extracted at the University of Sri Jayawardenepura. The successfully amplified PCR product was sequenced back in Japan at PRI.

Further analyses are currently underway. We hope evaluate their relation with haplotypes in the bonnet macaque to test evolutionary relationship between *sinica*-group macaques in Sri Lanka and India. We will observe the condition of boundary between the two haplogroups to assess evolutionary change of habitat distribution. For langurs, four subspecies are described in the purple-faced langur but the gray langur is monotypic. MtDNA diversity within and between those taxa will be at first compared using fecal DNA samples. Molecular phylogenetic and phylogeographic relationships among observed haplotypes will be analyzed to test the convergence hypothesis.

Field observations are currently being conducted, and based on the obtained results from our molecular DNA analysis we will intensify our search for the possibility of introgression or recent hybridization in candidate habitats targeted from the forthcoming

results.

A-25 Integrated studies on development and aging of cognition, physiology and morphology in Primates

Ceridwen Boel (New South Wales University) 所内対応者：濱田穰

155 個体の交雑マカク個体に関して、頭蓋・下顎骨と歯牙に見られる非計測的特徴(発生学的微細異常に注目して)の肉眼と CT による観察、および接触型 3 次元座標計測装置を用いて頭蓋骨で 66 の下顎骨で 21 のランドマーク座標値を取得し、計量的特徴の解析を行った。CT 観察によって、骨内にある歯根や形成中の歯の観察から、歯の形成異常を観察した。この中でもっとも意義ある発見は、交雑個体メスで上顎犬歯の 2 分歯根の頻度が高いことである。この特徴は、これまで低頻度でニホンザルのメスに見出されている。これに加えて骨と歯の非計測的特徴では、前上顎骨(premaxilla)に過剰縫合が出現すること、インターコニュール(interconulus と interconulid)の出現、および下顎第 3 大臼歯の咬頭数の変異が認められた。一方で、他の発生学的異常の頻度が低下することも見出され、ヘテロシス(雑種強勢)の影響も推測された。頭蓋・下顎の計量的な解析の結果から、形状特徴指標で交雑個体は明瞭なクラスターをなし、二つの親種の間にあるが、一方の種にいくらか偏る傾向が見られた。このような形態異常の出現や形状特徴が、これまでに得られている遺伝子解析による交雑度とどう関連するかについて、検討を行う。

(2) 一般個人研究

B-1 サル脊髄損傷モデルを用いた軸索再生阻害因子とその抗体による神経回路修復に関する研究

山下俊英、中川浩(大阪大・院・医)、Naig Chenais(ローザンヌ連邦工科大・院・神経科学)

所内対応者：高田昌彦

これまで、霊長類モデルを用いて、軸索再生阻害因子と脊髄損傷後の神経回路網再形成による運動機能再建に焦点をあて研究を行ってきた。その結果、阻害因子のひとつである RGMa が脊髄損傷後損傷周囲部に増加することを突き止め、その責任細胞のひとつにミクログリアを同定することができた。さらに、RGMa の作用を阻害する薬物を用いて脊髄損傷後の機能回復過程および神経回路網形成の有無を検討した。その結果、RGMa 作用を阻害した群(RGMa 群)は、コントロール群(薬物投与なし)に比べ、運動機能の回復が顕著にみられた。神経回路網形成については、大脳皮質運動野と脊髄を直接連絡する神経路である皮質脊髄路を順行性トレーサーでラベルして解析を行った。順行性トレーサーでラベルされた皮質脊髄路の軸索枝の一部は、自然回復に伴って脊髄損傷部を越え、直接手や指の筋肉を制御する運動ニューロンへ結合していることが分かった。このような神経軸索枝は、RGMa 群においてより多く観察された。次に、脊髄損傷部を越えた神経軸索枝が直接運動機能の回復に寄与しているか否かを、電気生理学手法と神経活動阻害実験を併用して確認した。その結果、直接運動機能の回復に寄与している可能性を示す結果を得ることができた。これらの結果は、今後の脊髄損傷治療に役立つ知見であると考えられる。

B-2 現生ニホンタヌキの歯および骨格における種内変異

鏑本武久(愛媛大・理・地球) 所内対応者：江木直子

化石の研究に応用するために、霊長類研究所に所蔵されている現生ニホンタヌキの歯および骨格標本の形態変異を調べたところ、一部の標本の歯に特異な形態が見られた。同様の特異な形態が化石偶蹄類でも見られており、化石哺乳類の形態変異と種の同定に関して、今回のタヌキの歯の形態のデータは重要な情報を与えることがわかった。タヌキの P3 は通常二根であるが、KUPRIZ 239 の上顎 P3 は三根である。また、タヌキの P4 は通常、近遠心方向に伸びた裂肉歯状をしているが、KUPRIZ 141 の上顎 P4 は近遠心方向にあまり伸びておらず、また頬舌方向にふくれており、三角形の咬合面観をしている。始新世偶蹄類の *Entelodon* 属の上顎 P3 は通常タヌキと同様に二根であるが、*Entelodon viensis* の唯一の上顎 P3 の標本は、KUPRIZ 239 と同様の三根の形態をしている。また、*Entelodon* 属の下顎 p4 は通常、近遠心方向に伸びて頬舌方向に薄い形態をしているが、*Entelodon trofimovi* の唯一の下顎 p4 の標本は、KUPRIZ 141 の上顎 P4 に類似した、近遠心方向に短く、頬舌方向にふくれた、三角形の咬合面観をしている。上記の *Entelodon* 属の特異な形態は、属内でその種を他の種と区別する特徴(diagnosis)の一つとなっている。したがって、今回検討した霊長類研究所の現生ニホンタヌキ標本は、上記の *Entelodon* 属内の種の diagnosis の一部が単なる異常形態である可能性を示している。

B-3 腱および骨組織の効率的再生に向けた基礎研究

佐藤毅、榎木祐一郎、林直樹(埼玉医科大・医) 所内対応者：高田昌彦

咀嚼筋腱膜過形成症は、側頭筋の腱や咬筋の腱膜などが異常に肥厚し開口制限を呈する疾患であり、2005 年に口腔外科学会で認められた新しい疾患である。本疾患の病態は、顎関節や顎骨には異常がなく両側咀嚼筋の腱または腱膜の過形成であると考えられているが、発症要因は不明である。治療法は過形成した腱・腱膜の切除である。我々は、本疾患に発現する特異的なタンパク質を同定すること、腱組織の特性を解析することを目的として本研究を立案した。サルのアキレス腱、咬筋腱膜および側頭筋腱より腱組織を採取し、一部を組織学的解析およびプロテオーム解析に供し、残りについて腱細胞の単離を行い咀嚼筋腱の特性を調べる。

今回は 2009 年 5 月 5 日生のニホンザル(♂)のアキレス腱、咬筋腱膜および側頭筋腱を採取し、1 cm³の組織をマイナス 80℃で保存、1 cm³の組織をホルマリンにて固定した。また、残りの組織から腱細胞を単離して T25 フラスコにて培養した。

B-4 野生ニホンザル絶滅危惧孤立個体群の MHC 遺伝子の解析

森光由樹(兵庫県立大・自然・環境研/森林動物研究センター) 所内対応者：川本芳

兵庫県に生息しているニホンザルの地域個体群は、それぞれに分布が孤立しており遺伝的多様性の消失及び絶滅が危惧