

課題	応募	採択
計画研究	33件 (113名)	33件 (113名)
一般研究	92件 (224名)	92件 (224名)
随時募集研究	28件 (63名)	28件 (63名)
研究会	3件 (3名)	3件 (3名)
合計	156件 (403名)	156件 (403名)

※上記は拠点運営協議会（平成 30 年 3 月 26 日）以降に採択された随時募集研究の件数も含む。

## 2. 研究成果

### A. 計画研究

#### 2018-A-1 判断を可能にする神経ネットワークの解明

宇賀貴紀、三枝岳志、熊野弘紀（山梨大学・医学部・統合生理学）、須田悠紀（玉川大学・脳科学研究所） 所内対応者：高田昌彦

判断形成の神経メカニズムの理解には知覚判断、特にランダムドットの動きの方向を答える運動方向弁別課題を用いた研究が大きな役割を果たしてきた。運動方向を判断する際、大脳皮質中側頭（MT）野が動きの知覚に必要な感覚情報を提供していることは明らかであるが、MT野の情報がどこに伝達され、判断が作られているのかは未解明である。眼球運動を最終出力とする判断を司る脳領域として、大脳皮質外側頭頂間（LIP）野、前頭眼野（FEF）、上丘(SC)などが想定されており、これらの領野で判断関連活動が計測されている。しかし、LIP野を不活性化しても判断に影響はせず、判断関連活動と判断との因果関係が未解決な重要問題として捉えられている。本研究では、化学遺伝学的手法を用い、MT野からのどの出力経路が判断に必須であるかを調べることにより、判断を可能にする神経ネットワークを明らかにすることを目指す。今年度はサル2頭に運動方向弁別課題を訓練し、うち1頭ではMT野を同定し、hM4Di遺伝子を搭載したウイルスベクターを打つ準備を行った。

#### 2018-A-2 FUS抑制マーモセットモデルにおける高次脳機能解析

石垣診祐、遠藤邦幸（名古屋大・院医） 所内対応者：中村克樹

ヒトのFTLD患者で確率逆転学習において特異的な所見が存在したことから、これに類する高次脳機能行動バッテリーの開発を霊長類研究所で行い、実際のモデルを用いた研究を名古屋大学医学研究科で実施するために、マーモセットの飼育を開始し、マーモセットの飼育室内で実施した。具体的にはマーモセットの飼育ケージの前面扉に認知実験装置を装着し、マーモセットに画面をタッチさせることで実験を行った。マーモセットに1対の視覚刺激を提示して、その1つをタッチすると報酬が与えられる。他方にタッチすると誤反応となる。この図形弁別課題を学習させた後、逆転学習課題を実施し、実際に学習が成立することを確認した。また名古屋大学において尾状核特異的にFUSを抑制するためにmarmoset FUSに対するshRNAを発現するAAVをstereotaxicにinjectionした（4頭）、同様にcontrol shRNAをinjectionする実験を4頭に対して行った。今後はFUS抑制による確率逆転学習への影響を経時的に評価していく。

#### 2018-A-3 遺伝子導入法による大脳基底核疾患の病態に関する研究

南部篤、畑中伸彦、知見聡美、佐野裕美、長谷川拓、瀬瀬大輔、若林正浩、Woranan Wongmassang、Zlata Polyakova（自然科学研究機構・生理学研究所・生体システム） 所内対応者：高田昌彦

パーキンソン病の病態を明らかにするため、ドーパミン作動性神経細胞に選択的に働く神経毒であるMPTP（1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine）をニホンザルに投与し、パーキンソン病モデルサルを作製した。覚醒下のサルにおいて、淡蒼球外節および内節の上肢支配領域を同定し、複数のニューロンから神経活動の同時記録を行って相互相関を調べたところ、正常サルにおいては、ほとんどの淡蒼球ニューロンが相互相関を示さずに独立に発火していたが、パーキンソン病モデルでは、多くの淡蒼球ニューロン間で活動の相互相関がみられ、b帯域の共振が生じていることがわかった。記録を行いながらL-dopaを投与し、症状が改善された時に記録を行ってみると、淡蒼球ニューロン間で観察された活動の相互相関とb帯域の共振がほとんど消失していた。これらのことから、淡蒼球ニューロンの同期活動やb帯域の共振が、パーキンソン病の症状発現に寄与していることが示唆された。

#### 2018-A-4 ウイルスベクターを利用した神経回路操作技術による霊長類脳機能の解明

小林和人、菅原正晃、加藤成樹（福島県立医科大）、渡辺雅彦、山崎美和子、内ヶ島基政、今野幸太郎（北海道大） 所内対応者：高田昌彦

東傍核に由来する視床線条体路の運動機能における役割を明らかにするために、マーモセットの東傍核線条体路の選択的除去の誘導を試みた。イムノトキシン細胞標的のための遺伝子として、インターロイキン-2受容体αサブユニット(IL-2Ra)をコードし、融合糖タンパク質E型(FuG-E)を用いてシュードタイプ化したNeuRetベクターを作成し、これをマーモセットの線条体内に注入した。その後、東傍核にイムノトキシンあるいはコン

トロールとしてPBSを注入した。視床線条体路を欠損する動物の行動学的評価として、採餌タスクを用いて運動機能の解析を行った結果、イムノトキシン投与群で学習の獲得の低下が認められた。今後、例数を追加し、運動機能における本経路の役割を確認する必要がある。

逆行性導入に関わる新規の融合糖タンパク質機能を評価するために、FuG-E型糖タンパク質の変異体を用いて作成したウイルスベクターをマカクザル脳内に注入し、従来のFuG-E型ベクターの効率と比較検討した。FuG-E変異体については、N末端より440番目のアミノ酸が遺伝子導入効率に重要なため、この位置のアミノ酸置換を導入した変異体を作成し、その活性をマウス脳内への遺伝子導入によって解析した結果、440番目のアミノ酸をグルタミン酸に変異させた場合、マウス脳内では最も高い遺伝子導入効率を得られることを明らかにした。コノウイルスベクターによる脳内への導入を組織学的に解析した。今後、遺伝子の導入された細胞数をカウントし、その効率について詳細に分析する計画である。

#### 2018-A-5 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、梅田達也、工藤もゑ子、窪田慎治、戸松彩花（国立精神神経医療研究センター）、内田直輝（電気通信大）、種田久美子（国立精神神経医療研究センター） 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。

本年度は新たなウイルスベクターの開発を継続して行なった。また、国立精神・神経医療研究センターにおいて、霊長類研究所から供給を受けたAAVベクターの機能評価をマーモセットを対象に行う研究を終了し、学会発表を行った。

#### 2018-A-6 マカクザル前頭極の多シナプス性ネットワークの解明

石田裕昭、西村幸男（都医学研） 所内対応者：高田昌彦

前頭極（Brodmann Area 10; BA10）は前頭前野の最前部に位置する霊長類に固有の脳領野であり、行動制御のための高次認知機能に関わる可能性が示唆されてきた。

本年度は、マカクザルBA10を標的として逆行性神経トレーシング法を用い、BA10に対して投射する皮質領野を明らかにする目的で実施した。まずBA10に対しコンベンショナル逆行性神経トレーサー（Fast blue; FB）を注入し、BA10へ直接投射する皮質領野を調べた。さらに逆行性越シナプス性神経トレーサー（狂犬病ウイルス）をBA10へ注入し、2次シナプス以内にBA10へ投射する皮質領野を調べた。

FBラベルを解析した結果、①前頭葉では背外側前頭前野（areas 9d/8d, 46d, 8b-FEF, 12/45）、腹内側前頭前野（areas 11, 13, 14, 25, 32, 24, 前部島皮質）、②側頭葉では側頭極、上側頭回、STS上壁領野（area STP）、③後頭・頭頂葉では後部帯状回（areas 23, 31）、脳梁膨大部（areas 29, 30）にラベルが認められた。BA10はこれらの領野から直接投射を受けている。

狂犬病ウイルスを用いてFBでは分からなかった2次ニューロンラベルを解析したところ、2つシナプスを経てBA10に投射する領域は聴覚野（AL野; anterolateral belt area）、TE野、嗅内皮質、海馬傍皮質であった。

本研究は、BA10が背側経路（背側前頭前野—後部帯状皮質）と腹側経路（内側・腹側前頭前野—側頭葉）に加え、2次シナプスを経て海馬傍回領野群から投射を受けていることを明らかにした。今後は、BA10の皮質間ネットワークとB10—大脳基底核ループ回路の解析を進め、BA10の高次認知機能について明らかにしていきたい。

#### 2018-A-7 霊長類の皮質—基底核—視床ループの形態学的解析

藤山文乃、苅部冬紀、平井康治、緒方久実子、東山哲也、角野風子（同志社大学） 所内対応者：高田昌彦

大脳皮質—大脳基底核—視床ループは行為選択や随意運動実行に関与している。げっ歯類の線条体背外側部はこのうち運動機能と関わりが深い部位とされ、大脳皮質の一次運動野・二次運動野や、運動視床であるVA/VL核から興奮性シナプス入力を受ける。本年はまずげっ歯類で、大脳皮質二次運動野からの興奮性入と、VA/VL核からの興奮性入力とが線条体内のどの領域に投射し、また、パルブアルブミンニューロンの樹状突起のどの位置に入力されるかを形態学的に解明した（添付画像ファイル：Nakano, Karube et al., 2018; Fujiyama et al., 2019）。また、尾側線条体の一部の領域において、D1Rおよびtyrosine hydroxylaseの染色性が弱く、D2Rの染色性が強い領域（D1R-poor zone）を発見し、2018年の米国神経科学学会で報告した。この領域は、マウスおよびラットの両方で確認しており、現在は所内対応者の高田昌彦教授にご提供いただいたマーモセットを用いた実験を進めている。

#### 2018-A-8 霊長類脳的全細胞イメージングと神経回路の全脳解析

橋本均（大阪大・薬）、中澤敬信（大阪大・歯）、笠井淳司、勢力薫（大阪大・薬） 所内対応者：高田昌彦

## 学会発表

Hitoshi Hashimoto, Kaoru Seiriki, Atsushi Kasai, Takanobu Nakazawa, Ken-ichi Inoue, Masahiko Takada. High-resolution imaging of primate brains using FAST.(2018年7月31日) 国際ワークショップ「遺伝子導入技術の利用による霊長類脳機能操作とイメージング」(量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所)

勢力薫、笠井淳司、丹生光咲、田沼将人、五十嵐久人、中澤敬信、山口瞬、井上謙一、高田昌彦、橋本均 高精細全脳イメージング技術 FAST の開発と精神疾患モデルマウスの病態解析—脳全体を対象とした仮説フリーな病態・薬物治療機序の組織学的解析— (2018年10月13日) 第68回日本薬学会近畿支部会 (姫路獨協大学)

霊長類脳の詳細な全脳神経回路の情報を得るため、本年度は、高田研で作成された細胞種特異的に神経細胞を高効率に標識するアデノ随伴ウイルスを感染させた脳を、高速高精細な全脳イメージングシステム FAST を用いて、単一細胞レベルで観察した。それらの画像データから、全脳レベルの投射パターンを得ることに成功している。今後は霊長類脳の詳細な神経回路解析を達成するための画像データ処理法の開発等を実施する予定である。

## 2018-A-9 Analysis of mitochondrial sequences for species identification and evolutionary study of slow loris (genus *Nycticebus*)

Wirdateti (Research Center for Biology, Bogor, Indonesia) 所内対応者：田中洋之

In Indonesia three species of the five existed species of genus *Nycticebus* are found in three major islands of Indonesian archipelagos, *N. coucang* (Sunda loris) in Sumatra; *N. menagensis* (Borneo loris) in Borneo; and *N. javanicus* (Javan slow loris), the endemic species to the island of Java. They are listed in the IUCN Red List as critically endangered, and the Javan slow loris has now been included on a list of the “World’s Top 25 Most Endangered Primates” a fourth time [Mittermeier et al., 2008–2010, 2010–2012, 2012–2014]. Illegal harvesting and trade are the major forces behind the population declines of wild slow lorises in Indonesia. The problem arises during confiscations. We often found these animals were found dead, very young or unhealthy, making it difficult to distinguish the species based on morphology. For this reason, it is necessary to develop a reliable DNA marker to identify the species of slow loris.

In the Cooperative Research Program 2018, I examined the 16S ribosomal RNA (rRNA) of mitochondrial DNA (mtDNA). This study aims to understand the degree of genetic variation between the species and among local populations within the species, to aid future conservation efforts. These results will be valuable as a supportive data in the release and reintroduction of *Nycticebus* species to the wild without disturbing the gene pool of local populations. This study can also be used for further studies of slow loris evolution in Asia.

From 42 samples examined in this study, we obtained 36 sequence data of 16S rRNA with the length of 1640 bp nucleotides for three species: *N. menagensis*, *N. javanicus*, and *N. coucang*. We found 12 haplotypes from 24 *N. coucang* individuals, whereas in *N. javanicus* there are four haplotypes from 10 individuals. Only one individual was examined for *N. menagensis*. For phylogenetic analysis, 35 samples were used because one of the samples from Sumatra (*N. coucang*, No. 42) showing a strange sequence was excluded. The data analysis was conducted using the MEGA 6.0 program. The results of the phylogenetic analysis showed that 2 samples from the specimens identified as *N. menagensis* species (N. men 21, N. men 27) were included in the cluster of *N. coucang*, and the N. men 23 samples were in the *N. javanicus* cluster, while one sample was *N. javanicus* (N. jav1) was considered as *N. coucang*. The nucleotide differences between species were around 55–81 nucleotides between *N. coucang* and *N. javanicus*, around 70–94 nucleotides between *N. javanicus* and *N. menagensis*, and round 38 nucleotides between *N. coucang* and *N. menagensis*. From this study, I conclude that 16S rRNA gene could be used as genetic marker for identification of species in genus *Nycticebus*, especially for three species of Indonesia. However, we need more information for other mtDNA region as to genetic variations between and within species of slow loris.

## 2018-A-10 マカクザル外側手綱核の神経連絡

松本正幸、山田洋 (筑波大・医学医療) 憚夢曦 (筑波大・人間総合科学) 所内対応者：高田昌彦

嫌悪的な事象(報酬の消失や罰刺激の出現)を避けることは、動物の生存にとって必須である。研究代表者と所内対応者、協力研究者らの研究グループは、マカクザルを用いた電気生理実験により、外側手綱核と呼ばれる神経核がこのような回避行動の制御に関わる神経シグナルを伝達していることを明らかにしてきた(Kawai et al., Neuron, 2015; Kawai et al., Cerebral Cortex, 2018)。このような外側手綱核の回避行動に対する役割をさらに神経回路レベルで理解するためには、外側手綱核が他の脳領域とどのような神経連絡を持ち、そのシグナルがどの領域に伝達されているのか、またどの領域を起源とするのか知る必要がある。しかし、外側手綱核の神経連絡を調べた解剖学的な研究の多くはげっ歯類を対象にしたものであり、霊長類を対象とした研究はほとんどおこなわれていない。

2018年度は、1頭のフサオマキザルの外側手綱核に神経トレーサーを注入し、霊長類の外側手綱核が他の脳領域とどのような神経連絡を持つのかを明らかにしようと試みた。神経トレーサーの注入をおこない、現在は解析を進めているところである。2019年度以降、動物の頭数を増やし、データの信頼性を高める予定である。

### 2018-A-12 Conservation genetics of Myanmar's macaques: a phylogeographical approach

Aye Mi San (University of Yangon)、Phyu Pyar Tin (Mawlamyine University) 所内対応者：田中洋之

The country of Myanmar is part of the important role in rhesus macaque's distribution range from Afghanistans to the East China Sea, and their phylogeographic study. In 2017 and 2018, we conducted field surveys in Central Myanmar (6 locations), Northern Myanmar (3 locations) and North-western Myanmar (4 locations) where we collected non-invasive samples such as feces and hair samples from macaques. These genetics resources were brought to the Primate Research Institute (PRI), Kyoto University by the permission of "Ministry of Natural Resources and Environmental Conservation, Forest Department of Myanmar". We extracted mtDNA and amplified the target D-loop region (1.2kb) from 13 known locations of rhesus macaques from Myanmar. The results showed that at least two clusters of rhesus macaque (*Macaca mulatta*) were observed in Myanmar. The northern clade has highly genetic distance (0.072 to 0.085) from Central and North-western clade. Between these two clusters may have different histories, ancient geographic or ecological barriers such as Chindwin River, Ayeyarwady River, mountain ranges, valleys and different climate to prevent gene flows between two clusters. To characterize the phylogeographic position in their distribution range, D-loop sequenced of eight rhesus macaques from Primate Research Institute (5 samples from India and 3 samples from China) and aligned with Myanmar rhesus. These results suggested that Myanmar Northern clade rhesus macaque is clustered in the Indian 1 haplogroup and Central and North-western clade is clustered in Indian 2 haplogroup. Based on our findings, we suggested that Myanmar origin rhesus macaques might be genetically suited for biomedical research similar as Indian origin rhesus macaque. For these reasons, we would like to extend our project to conduct the other parts of Myanmar (Kayah and Mon States) in 2019. The results outcomes from the 2017-18 findings were presented at "Myanmar Biodiversity and Wildlife Conservation" workshop funded by Norwegian Environment Agency dated on 27th- 28th November 2018. The title "Phylogenetic Study of Rhesus Macaque: Advance in Myanmar's Primatology and Effort to Conservation" was presented by Dr Aye Mi San and Dr Hiroyuki Tanaka.

### 2018-A-13 行動制御における皮質下領域の機能解析

田中真樹、竹谷隆司、鈴木智貴、亀田将史(北大・院・医) 所内対応者：高田昌彦

分子ツールをニホンザルに適用した複数の実験を進め、大脳視床経路や小脳外側部の機能を探ることを目的に研究を進めてきた。H30年度は視床-大脳間の情報処理を明らかにするため、大脳視床路を光遺伝学的に抑制することを試みた。前年度までに行った実験では、途中で光刺激に対する反応性が低下し、実験後の細胞脱落を認めたが、ベクター接種後数か月であれば遺伝子発現がみられることを予備実験で確認していただいた。京大から新たにウイルスベクターを提供していただき、H30年4月に北大で補足視野に遺伝子導入を行い、5月から約3か月にわたって視床の光刺激実験を行った。弱い反応を示すニューロンを記録することができていたが、8月頃より体調が悪くなることが時折あり、9月上旬の地震による2日間の停電後にサルの体調が悪化したので灌流した。京大で免疫組織学的検討を行っていただいたところ、大脳・視床とも良好に遺伝子発現がみられた。ただし、その間に遺伝子導入をしていない個体で予備実験を行ったところ、光刺激の影響がみられるニューロンが記録されたため、現在、対照実験でえられたデータと合わせ、解析を進めている。

### 2018-A-14 イメージングと脳活動制御の融合技術開発

南本敬史、永井裕司、小山佳、堀由紀子、藤本淳(量子科学技術研究開発機構) 所内対応者：高田昌彦

本研究課題において、独自の技術である DREADD 受容体の生体 PET イメージング法と所内対応者である高田らが有する霊長類のウイルスベクター開発技術を組み合わせることで、マカクサルの特定神経回路をターゲットとした化学遺伝学的操作の実現可能性を飛躍的に高めること目指した。H30年度は脳移行性が高くかつ DREADD に親和性の高い化合物として独自に見出した DCZ(特許出願)の有効性について検証を進めた。DCZ は clozapine と異なり低濃度では DREADD 以外の受容体に結合・作用せず、また体内で代謝をほとんど受けないことがわかった。DCZ は極少量で脳内局所に発現させた興奮性 DREADD(hM3Dq)を CNO の 1/100 の低い濃度で活性化させるとともに、DCZ を放射性ラベルした[11C]DCZ は DREADD の脳内発現を画像化する PET リガンドとしても有用で、高感度に hM4Di/hM3Dq の発現を定量するとともに、陽性神経細胞の軸索終末に発現した DREADDs も鋭敏に捉えることに成功した。さらに hM4Di を局所脳部位に発現するサルの行動を DCZ の微量投与で操作可能であることを示した。(Nagai ら under review)。この成果は複数の論文に発表するとともに、化合物 DCZ の情報を共有するにより、DREADD によるサル脳回路操作を広く展開する。

### 2018-A-15 Effect of the fragmentation on genetic diversity of macaque populations in Central Vietnam

Nguyen Van Minh (Hue University) 所内対応者：田中洋之

Due to the diverse habitat environments, Vietnam harbors a high diversity of nonhuman primates with as many as 25 species. Five species of macaques (*Macaca fascicularis*, *M. mulatta*, *M. leonina*, *M. arctoides*, and *M. assamensis*) are recognized in our country. However, most of the nonhuman primates in Vietnam are threatened by illegal hunting for foods and medicine, and habitat degradation by human activities. In Central Vietnam, I have been investigating local

distribution of macaques and slow loris, and reported about the distribution pattern of them in habitats that were fragmented by plantations of beneficial agricultural products (rubber, coffee, peppers, Acacia, pines, etc.) (Minh et al, 2012; 2013; 2014). We found that population size of those species was small, and that conflict between monkeys and humans and over-hunting were serious problems. However, effect of habitat degradation and human activities on genetic diversity of nonhuman primate populations has not been evaluated so far in Central Vietnam. In this research project, I used fecal samples that I collected during the field survey of macaque distribution conducted in 2012-2017.

From September 18th to September 27th, 2019, DNA extraction, PCR products, and mtDNA sequencing of 17 individuals of *M. arctoides* were done at Dr. Tanaka's laboratory in PRI, Kyoto University. The results of analyses showed that D-loop sequences of 17 individuals of this species were obtained.

In the next time, we will carry out phylogenetic and population genetic analyses using some software to clarify the genetic relationship among local populations of this species living in fragmented habitats.

To have these D-loop sequence data, I would like to thank Dr. Hiroyuki Tanaka and PRI, Kyoto University for their kind support.

### 2018-A-16 Fish Eating behavior : A comparative study of Long-tailed Macaques and Japanese Macaque

Islamul Hadi (University of Mataram) 所内対応者：辻大和

I conducted field data collection of free-ranging Japanese macaques in Koshima Island of Miyazaki during 22-27 May 2018. The observation including field observation of the macaques and interview persons who may know the information of Koshima macaques. During field observation, I could only spend two days observation in Odomari beach, beach-site where fish-eating behavior reported previously, because of the unsupported weather condition. I found no individuals of the Japanese macaques who visited the beach site of Koshima Island exhibited fish-eating behavior. Base on the interview, the macaques eat fishes occasionally when the death fishes harbouring to the beach site. The fishes were discarded fishes from anglers who fishing nearby the island. Compared to those found in long-tailed macaques in Pangandaran of Indonesia, fish-eating behavior may have become the same mode as the way to fulfill the nutritional requirements. Both species, long-tailed and Japanese macaques, were obtain the fishes by passive fishing mode, the fishes were death-discarded fishes or stolen from human fish-storages. Pangandaran long-tailed macaques may have exhibited fish-eating behavior than those of Japanese macaques in Koshima more frequently and more individuals those exhibited the behavior. It may because of the sources of fishes in Pangandaran more available than those in Koshima. The long-tailed macaque also more frequent to expose to fishes because of the eastcoast site of Pangandaran were actively to have been occupied by human to harbour the fishing vessel, sorted and transfered the fishes to the fish seller.

### 2018-A-17 意欲が運動を制御する神経基盤の解明

西村幸男、鈴木迪諒 (東京都医学総合研・脳機能再建) 所内対応者：高田昌彦

越シナプス神経トレーサー (狂犬病ウイルス) により、意欲の中核である腹側中脳からシナプス性に脊髄へ投射していることを見出した。さらに狂犬病ウイルスによって標識された腹側中脳ニューロンの一部はドーパミンニューロンであることを免疫組織化学実験によって明らかにした。これらの成果の一部を、下記に示す2本の研究発表を行った。

1) 鈴木迪諒、井上謙一、中川浩、伊佐正、高田昌彦、西村幸男. サル腹側中脳は一次運動野を介して筋出力を促進する. 2018年度次世代脳プロジェクト

2) Suzuki M, Inoue K, Nakagawa H, Takada M, Isa T, Nishimura Y. Deep brain stimulation of the ventral midbrain facilitates the output to forelimb muscles via the primary motor cortex in monkeys. The 3rd International Brain Stimulation conference.

### 2018-A-18 脳機能におよぼす腸内細菌叢の影響

福田真嗣、村上慎之介、谷川直紀、楊佳約 (慶大・先端生命研) 所内対応者：中村克樹

ヒトを含む動物の腸内には、およそ千種類で40兆個にもおよぶとされる腸内細菌が生息しており、その集団を腸内細菌叢と呼ぶ。腸内細菌叢は宿主腸管と密接に相互作用することで、複雑な腸内生態系を構築しており、宿主の生体応答に様々な影響を及ぼしていることが報告されている。近年、無菌マウスを用いた研究や抗生物質を投与したマウスを用いた研究において、腸内細菌叢が脳の実馬や扁桃体における脳由来神経栄養因子 (BDNF) の産生量に影響を与え、その結果マウスの行動に変化が現れることが報告されている (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、腸内細菌叢が宿主の脳機能、特に情動反応や記憶力に迷走神経を介して影響を及ぼす可能性が考えられる。しかし、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ることから、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った。本年度は高次脳機能評価を行うための課題訓練と、図形弁別課題およびその逆転

学習課題を訓練した。さらに、記憶機能を検討するため空間位置記憶課題も訓練した。これらのマーマセットの便を採取し、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢解析を行った。得られた腸内細菌叢情報と認知機能情報について、相関解析や多変量解析手法を用いてアプローチし、認知機能に関連する腸内細菌叢の探索を行った。その結果、認知機能の高いマーマセット個体と腸内細菌叢との間に相関関係を一部見出すことができたため、今後はより詳細な解析を実施する。

#### 2018-A-19 高等霊長類成体脳神経新生の動態と機能の in vivo 解析技術の創出

植木孝俊（名古屋市立大・医・統合解剖学）、尾内康臣（浜松医大・光先端医学教育研究セ・生体機能イメージング） 所内対応者：高田昌彦

近年、ヒトを含む哺乳動物の脳で、成長後にもニューロンの新生が継続していることが確認されている。また、大うつ病、統合失調症、認知症併発型パーキンソン病などの精神神経疾患患者の死後脳解析の結果、成体脳神経新生(adult neurogenesis)の著明な障害が観察され、成熟脳の神経新生が担う生理学的機能への関心が寄せられているところである。一方で、これまで成体脳神経新生の解析は、専らマウス、ラットなどのげっ歯類で行われ、ヒト、マカクザルなどの高等霊長類成体脳における神経幹細胞の動態解析、並びに、その生理学的機能の探究はほとんどなされていない。

本研究では、マカクザルにて成体脳神経新生動態を in vivo で描出、評価することができるポジトロン断層法(PET)による分子イメージング技術を創出する他、マカクザルで神経幹細胞を特異的に障害するためのレンチウイルスによる遺伝子発現系を確立し、サル成体脳神経新生障害モデルが呈する精神神経症状を解析することを目的とした。

まず、ラットでレンチウイルスにより神経幹細胞特異的に中性アミノ酸トランスポーター/共役因子遺伝子を発現させ、O-18F-fluoromethyltyrosine ([18F]FMT) の集積を PET で画像化した。ここでは、併せて強制水泳試験による大うつ病病態モデルラットにて、成体脳神経新生動態を PET で描出し、神経新生障害が大うつ病の病態生理に与えることを確認した。次に、レンチウイルスをラットの脳室下帯もしくは海馬歯状回に感染させ、HSV1-sr39tk 遺伝子の発現を誘導した後、ガンシクロビルを腹腔投与することにより、各 neurogenic niche の神経幹細胞を障害し、その認知、記憶などへの影響を行動学的解析により評価した。さらに、HSV1-sr39tk 発現神経幹細胞を 8-[18F]fluoropenciclovir (FPCV) により PET で描出し、その神経新生動態解析への応用の可否を検討した。

一方、30 年度では、マカクザルの神経幹細胞特異的な遺伝子発現系を構築し、その評価をマーマセットで行った。即ち、レンチウイルスを、脳定位固定装置でマーマセット成体の海馬歯状回と脳室下帯に感染させ、神経幹細胞特異的な HSV1-tk 及び EGFP の発現を観察した。さらに、ganciclovir を腹腔投与することにより、HSV1-tk 発現神経幹細胞を障害し、成体脳神経新生を著明に減衰させた。

#### 2018-A-20 サル内側前頭葉を起点とする領域間回路の解析とうつ病モデルの創出

筒井健一郎、中村晋也、吉野倫太郎、森谷叡生、小野寺麻里子、大原慎也（東北大・生命） 所内対応者：高田昌彦

京都大学霊長類研究所の高田昌彦教授および井上謙一助教とともに企画した研究計画に基づき、霊長研統合脳システム分野にてウイルスベクター等を用いた神経トレーシング実験を実施した。具体的には、マカクザルの扁桃体および側坐核に逆行性のウイルスベクターや化学トレーサーを注入し、内側前頭葉、とくに前帯状皮質において標識された神経細胞の数や分布を調べた。その結果、扁桃体や側坐核に投射する多くの神経細胞が前帯状皮質の膝周囲部に確認された。今後は、上述の結果について解析を進めるとともに、さらなる神経トレーシング実験を行う。また、これらの結果を受けて、内側前頭葉と扁桃体・側坐核を結ぶ神経経路選択的な機能障害実験に着手したい。

#### 2018-A-21 A comparative study in daily activity of colobines under captive condition

Muhammad Azhari Akbar (Bogor Agricultural University) 所内対応者：辻大和

Animal captivity is usually applied to wild animals that are held in confinement, but may also be used generally to describe the keeping of domesticated animals such as livestock or pets. This may include, for example, animals in farms, private homes, zoos and laboratories. So that in the beginning of this study, we observe wild animals to see how they lived in their natural habitat. Then we can see the changes that occur when they are in the cage. By comparing the activity of captive animals with those of wild animals, it can give an explanation how captive environment affect the fundamental ecology of animal. This would be useful for improve housing technique and enrich environment.

We study about daily activity of colobine, especially silvery lutung (*Trachypithecus cristatus*) at Gunung Padang, West Sumatra, Indonesia. We start observing lutung there from August 2018. We have collected 267 hours 10 m observation time using scan sampling method for each individual with the 10-min interval from 07.00 - 18.00. We address observing lutung's activities, moving; feeding; resting; grooming (allo-grooming and auto-grooming). We also found and recorded other activities, such as defecating, urinating, breast-feeding by nursing female, inter and intra-specific conflict, playing by juveniles, allo-mothering between nursing females and single females. We will conduct the behavioral data until about

800 hours observation time. After we conduct the observation, we will analyse their activity rhythm and age-sex differences in activity budget. We also analyse the lutung's food species and food item while feeding. We also analyse age-sex differences in diet.

#### 2018-A-22 チンパンジーの口腔内状態の調査と歯科治療法の検討

桃井保子(鶴見大・名誉教授)、齋藤渉(鶴見大・歯・保存修復)、花田信弘、今井奨、岡本公彰、宮之原真由(鶴見大・歯・探索歯学) 所内対応者：宮部貴子

2018年度では、42歳♂と52歳(推定)♂の2個体の所内チンパンジーに対して口腔内診査と歯科治療を実施した。

口腔内診査の結果、42歳♂の個体では、根尖性歯周炎と診断された下顎右側中切歯、下顎右側第一小臼歯および上顎左側中切歯の抜歯術を行った。

52歳♂の個体では、左口蓋粘膜に腫瘍を認めたため切除術を行った。病理検査の結果、尋常性疣贅と診断された。

#### 2018-A-23 ヒトとチンパンジーにおける「平均」の知覚に関する比較認知研究

伊村知子(日本女子大・人間社会・心理) 所内対応者：友永雅己

本年度は、複数の物体や風景のような複雑な視覚環境から統計的な情報を取り出すメカニズムについて明らかにするため、チンパンジー6個体を対象に絵画を用いた配色の視覚探索課題を実施した。視覚探索課題では、6つの絵画の中から1つだけ、色相の異なるものを検出させた。視覚刺激として、人物画、静物画、抽象画を8枚ずつ、合計24枚の絵画を使用した。各絵画につき、原画に近い配色とその色相を90度、180度、270度回転させた配色の画像を作成した。先行研究より、ヒトは初見の絵画でも、色相を回転させた配色に比べ、原画に近い配色を好むことが報告されている。そこで、視覚探索課題では、180度回転させた配色の中から原画に近い配色を検出する条件と、270度回転させた配色から90度回転させた配色を検出する条件で、正答率を比較した。その結果、チンパンジーは絵画の配色のような複雑な属性の違いを容易に識別することができた。さらに、人物画、静物画、抽象画のすべてのカテゴリにおいて、原画に近い配色の方が、色相を回転させた配色よりも容易に検出することが示された。今後、原画の配色が持つ色彩の統計情報の特徴について解析を進める必要がある。

#### 2018-A-24 チンパンジーにおける健康な加齢にともなう認知的機能やモノとの相互作用の変化

原田悦子(筑波大学・人間系)、須藤智(静岡大学・大学教育センター) 所内対応者：友永雅己

今年度は、チンパンジーの超高齢個体および高齢期個体における実験時の状況を観察しながら、ヒトにおける健康な加齢に伴う新奇なICT基盤人工物利用時に見られる特異的行動と類似した特性、行動が見られるか、もしそれらを共通して抽出することが可能だとしたら、どのような課題をどういった状況下で実施することが可能、必要か、その際の主たる要因は何かについて議論を行なった。知覚および運動(反応形成)についての遅延化は人とチンパンジーに共通しており、その結果としての課題達成の低下も共通しているが、同時に何らかの形でメタ認知が関与していると考えられる「少し難しい課題に対して、取り組む意欲を示さない」といった特徴も類似行動が存在することなどから、人の高齢個体によく観察される「怖がり」(なかなか最後の実行ボタンを押さずに、なんども確認をしたりする等)や方略の変更(間違いを回避するために独自の方略を取る)などを観察する課題での種×年齢群比較の可能性、ならびにそこで推測されるメタ認知的判断との関係性について検討を行なった。

#### 2018-A-25 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(九大・芸術工学)、山下友子(芝浦工業大・工・共通)、中島祥好、上田和夫(九大・芸術工学) 所内対応者：友永雅己

昨年度までの共同利用研究において録音を行った、公益財団法人日本モンキーセンターおよび霊長類研究所で飼育されている、チンパンジー、ヤクニホンザル、リスザル、タマリン、ワオキツネザルの音声データの解析を進めた。まず、録音全体からノイズの少ない霊長類音声部分のみを切り出した。続いて、様々な霊長類音声の広範囲の周波数帯域をカバーするため、従来ヒト音声解析で用いてきたケプストラム分析を用いない方法を検討した。また、各霊長類音声を持つ時間的な音響特性に着目し、ヒトの音声言語を持つリズムとどのように関わっているかを分析する手法の開発に着手した。このようにして、体の大きさ、声道形状、発声のための神経メカニズムが異なると考えられる複数種の霊長類音声を比較解析するのにふさわしい手法の確立を進めた。

#### 2018-A-26 ヒトおよびチンパンジーにおける協調行動の比較発達研究

工藤和俊(東大・院・情報学環)、三浦哲都(東大・院・総合文化) 所内対応者：服部裕子

スポーツ、ダンス、音楽は、ヒト社会における普遍的文化であり、その萌芽的行動がチンパンジーでも確認されていることから、近年ヒトにおける社会性の進化プロセスを明らかにする上での鍵となる可能性が指摘されている。これらの活動に共通する特徴として、体肢間・感覚運動・対個体間の協調が必要とされ、個人-集団にわたる階層性をもつことが挙げられる。そこで本研究では、ヒトと共通したチンパンジーの実験課題を開発し、協調行動の発達および進化のプロセスを統合的に理解することを目指す。また、人工知能技術を用いた行動解析によ

り、自然場面における協調行動の発達プロセスを定量化する。さらに、異なる階層および異なる時間スケールにわたる協調行動を数理モデル（力学系モデル）によって記述し、協調行動の学習・発達・進化プロセスを力学系の時間発展として記述することを目指す。また、協調行動の発達について、これらの協調が無意図的に生じることを確認するには、実験場面に加えて自然場面における自発的協調行動の観察を行うことが必要になる。そこで本研究では、ヒトおよびチンパンジーの自然場面映像を記録し、深層学習技術を用いて2次元映像からの体部位認識を行い、動きの定量化を試みた。

今年度は、ヒトおよびチンパンジーを対象とした体肢間協調、感覚運動協調、および個体間協調運動の時系列を解析するためのツール（窓付き脱トレンド相互相関解析）を整備するとともに、2者間の協調関係を記述する力学系モデルを構築した。加えて、四肢および体幹を含む全身映像からチンパンジーの体部位認識を行い、2次元での姿勢の定量化を行い得ることが確認された（添付写真）。

#### 2018-A-27 マーモセット脳機能研究に最適化した経路選択的操作とその基盤となる回路構造解析技術の開発

山崎美和子、今野幸太郎、内ヶ島基政（北海道大） 所内対応者：中村克樹

コモンマーモセット脳の神経化学マップ作成のための技術開発、入出力特性を特定するための技術開発、神経回路の形態学的可視化の技術開発を行うことを目的とする。今年度も引き続き4頭の脳サンプルを用いて以下の2つのテーマを推進した。

##### 1) 神経化学マップ作成のための技術開発

cDNA ライブラリを用いてリボプローブを作製する。さらに抗体作製のための抗原遺伝子をPCR法により作製する。

##### 2) 入出力を特定するための技術開発

脳組織切片を作製し、入出力特性を解析するための in situ は胆振大ゼーションおよび免疫組織化学法の最適化をはかり、組織化学による解析データを取得する。

#### 2018-A-28 触覚情報を用いたチンパンジーの個体識別および課題反応との関係分析

田中由浩、川崎雄嵩（名古屋工業大） 所内対応者：友永雅己

表情や音声、運動などには各個体の特性が含まれている。視聴覚情報に基づくものでは、顔画像や音声、歩容などによって個体識別や感情推定が行われているが、ものに触れた際の触覚情報にも個体の特性が含まれている可能性がある。例えば、タップ時の圧力や振動は画像からは読み取りづらい。このような触覚情報による個体識別や感情推定などが示せば、工学的応用だけでなく基礎科学にも活用でき、人を含む動物研究にも新しい分析を提供できる。そこで本研究では、深層学習を用いて、タップ振動によるチンパンジーの個体識別を試みた。高感度な触覚センサをタッチパネルディスプレイ背面に貼り付け、7個体のチンパンジーがディスプレイをタップする単純課題を行い、振動とタイミングを記録した。約2ヶ月間のデータに対し、学習に用いるデータ数などを変化させて深層学習による個体識別を行なった。その結果、約1ヶ月分のデータで識別率は飽和し、80-90%程度を得られた。また、識別率は個体間で差があり、過去や直前のデータを学習に用いるかでも変化した。これらは同個体での触動動作の変化を示唆する。今後、個体識別に加え、各個体の特徴や状態変化との関連性も調査したい。

#### 2018-A-29 芸術表現の霊長類的基盤に関する研究

齋藤亜矢（京都造形芸大・文明哲学研究所） 所内対応者：林美里

チンパンジーとアーティストが共同で絵画を制作する試みから、それぞれの描画表現の特徴を明らかにする研究の2年目として実施した。チンパンジーが描いた絵にアーティストが加筆する、アーティストが描いた絵にチンパンジーが加筆する、という2つの条件で、それぞれの絵の特徴や制作のプロセスを比較するものである。今年度は、チンパンジーのアイを対象に、アーティストの描いた絵に加筆するセッションを進めた。またこれまでに共同利用研究制度を利用して研究した成果を含めて「芸術の進化的起源」について考察した論文が刊行された（齋藤亜矢（2018）芸術の進化的な起源、人工知能、33（6）、754-761.）。2018年12月には、過去に霊長類研究所のチンパンジーが描いた絵を含む大型類人猿の絵画を集めた展覧会「ヒト以外のヒト科の絵画展：ARTS and APES」を京都造形芸術大学で企画・開催し、その様子を雑誌『モンキー』（2019年3月号）に執筆したほか、新聞等のメディアでもとりあげられた。

#### 2018-A-30 霊長類の循環器系加齢誘引疾患に関する研究

鯉江洋（日大・生物資源）、揚山直英（医薬基盤・健康・栄養・霊長類医科学）、中山駿矢（日大・院・獣医）  
所内対応者：宮部貴子

我々は京都大学霊長類研究所に飼育されている4歳から19歳までの11頭のニホンザル（正常個体：9頭、疾患個体：2頭）において心臓超音波検査、胸部レントゲン読影、動脈血液ガス検査ならびに血液学的検査による正常個体と疾患個体についての病態診断を実施し、加齢によって誘引される循環器関連疾患における病態学的検討を行った（図）。

血液学的検査においては、肥大型心筋症の既往をもつ個体や胸部レントゲン画像で心拡大を呈した個体などで急性の心筋傷害時に上昇するトロポニン（I, T）値の上昇を認めた。また、腎機能マーカーであるクレアチニン値



の上昇なども認められ、心機能の低下と関連すると考えられる所見を得ることができた。一方、疾患個体における心臓超音波検査においては正常個体と比べて明らかな心室壁の肥厚や心室内腔の狭窄、これらに伴う流出路狭窄と急速乱流が認められた。さらに、超音波画像検査においてヒトで報告されている左室緻密障害に非常に類似した画像所見を示す個体が正常個体の中で確認された。既報ではニホンザルにおいて加齢とともに心臓間質、心外膜下、血管周囲などにおいて繊維性結合織が増加することが示唆されており、本個体はニホンザルにおいてみられる加齢性繊維化との関連性が示唆された。

これらのことから、ニホンザルにおいてもヒトや他種のマカクと同様に循環器疾患が発生し、加齢性にも増加することが示唆された。また、他種マカクなどではみられていない緻密化障害などがみられることが確認され、ヒト医学研究におけるモデル動物としての有用性が示唆された。

#### 2018-A-31 動物園のチンパンジーにおける口腔内状態の調査

生江信孝（日立市かみね動物園）、桃井保子、齋藤渉（鶴見大学）、秋葉悠希、大栗靖代、正藤陽久、飯田伸弥（日立市かみね動物園）、齋藤高、齋藤香里（たかいそ海岸歯科） 所内対応者：宮部貴子

H30年度には、日立市かみね動物園において、無麻酔下での口腔内検査をおこなった。飼育担当者がチンパンジーに大きく口を開けるよう指示し、歯科医師である桃井および齋藤が、観察・写真撮影をおこなった。

1 個体（マツコ）について、上下門歯重度齲蝕、歯冠欠落、歯石などが認められたため、優先的に麻酔・検査をおこなうこととなった。検査ではX線にて歯根部の状況を確認し、状況によっては抜歯も含めて適切な治療をおこなうこととした。麻酔下での検査の詳細な打ち合わせをおこなった。令和元年度に麻酔下での検査・治療をおこなう予定である。

#### 2018-A-32 チンパンジーを対象としたアイ・トラッキングによる記憶・心の理論・視線認知についての比較認知研究

狩野文浩（京都大・高等研・熊本サルクチュアリ） 所内対応者：友永雅己

赤外線式のリモート式テーブル設置型のアイ・トラッカーで、チンパンジーを対象に、ビデオを見せたときの眼球運動を測定した。

チンパンジーの教示シグナルに対する理解を調べた前年度の成果が発表された（Kano, F., Moore, R., Krupenye, C., Hirata, S., Tomonaga, M., & Call, J. 2018, *Animal Cognition*）。

今年度は、トリック目隠し課題を行った。この課題では、報告者の先行研究に倣って、動画の中に主役とその敵役が登場する。主役が取ろうとしている物を敵役が奪おうとする。主役が目隠しの後ろに隠れたときに敵役が物を持ち去ってしまう。その後、主役がもどってきて何か探しているそぶりを見せる。このとき、先行研究では、類人猿は主役の行動を予測して、主役が最後に物を見た場所を注視した。本研究では、性質の異なる2種類の目隠しを用意することで、類人猿がその性質に応じて予測を調節できるか調べた。目隠しには本物と、実は透けて見えるものがあり、動画の中では（遠目からは）同じに見える。類人猿の個体ごとに、動画を見せる前に異なる種類の目隠しを体験させておく。二条件で役者の行動はまったく同じであるから、類人猿が本物の目隠しを経験した後に主役の誤信念に基づく予測、トリック目隠しを経験した後にそうでない予測をすれば「行動ルール」仮説は成り立たない。

実際にそのような結果が得られ、現在成果をまとめている。

#### 2018-A-33 脳性麻痺チンパンジーへの発達支援と養育環境整備

竹下秀子（追手門学院大・心理）、山田信宏（高知県のいち動物公園・飼育）、高塩純一（びわこ学園医療福祉センター草津・リハビリテーション）、櫻庭陽子（京都市動物園生き物・学び・研究） 所内対応者：林美里

対象個体の17週齢より、姿勢運動発達評価と認知発達検査課題等への行動反応の観察による認知発達評価を実施してきた。姿勢運動の顕著な左右機能差が持続するなか、58週齢からは理学療法士・作業療法士による療育を組織し、環境との相互作用から知覚・行動・認知の発達を支援するという考えを基に定期的なセラピーの実施、日常養育中のかかわりを強化してきた。チンパンジー舎内外の環境エンリッチメントの継続的取り組みにより、2018年度には行動の多様性、安定性がさらに改善した。「四足」移動では背筋が水平になるほどに腰が上がり前進できるようになった。座位では姿勢の転換や移動運動へのさまざまなタイミングにおいて右足首の「返し（背屈）」がそれまで以上に頻繁に見られるようになった（図参照）。蹲踞の座位では臀部が接地していない場面も増え、ペットボトルフィーダーを「振る」運動が巧遅になり、効率よい摂食が可能となっている。さらに二足立位（つかまり立ち）も改善し、全体として右後肢が身体支持役割を果たす機会が多くなってきた。左側機能が増強されるとともに右側機能の改善を得た。関連専門職種の連携による養育者支援や養育環境の整備が障がいの固定化の防止や軽減につながる可能性が明らかになりつつある。

## B. 一般研究

#### 2018-B-1 細胞種特異的遺伝子発現・エピジェネティクスと精神疾患モデルにおけるその異常

佐々木哲也（筑波大・医学医療・生命医科） 所内対応者：今井啓雄

霊長類の脳皮質は機能分化が進んでおり、複数の「領野」に区分される。その神経回路は、生後発達期に大