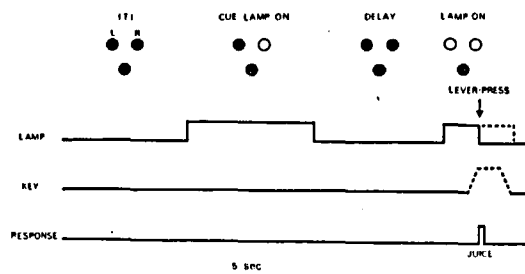


事態でも、手掛り刺激の提示や選択反応の遅延のさいに対応して変化するニューロンが同一部位から見出された(Fuster & Alexander, 1971)。

このような前頭前野背外側部が関与する事態におけるニューロン活動と学習性の運動発現の機構をより詳細に吟味するために、サル (*Macaca mulatta*, *Macaca cyclopis*) に空間的手掛り刺激にたいする遅延反応の訓練を行ない、そのさいの前頭前野背外側部のニューロン活動を測定し、サルの行動と対応させて分析を行なう実験を計画した。

サルはチェアに固定され、正面のパネルに手掛り刺激提示のために2コの白色のランプを左右6 cmの間隔で並べ、そのそれぞれ下方8 cmのところに反応用のテコを配置した。まずこのランプのいずれか(ランダム系列)が5秒間点灯し、次いで3~20秒間の遅延のあと左右のランプが同時に点灯し、“reinforcement available”となる。

このときサルが遅延前に点灯したランプと同側のテコを押せば正反応でジュース(0.3 cc)が与えられた。試行間隔は5秒とした。誤反応の場合はパネル中央の赤色の“罰”ランプが点灯し、その間試行の進行は停止した。サルは reinforcement available 時以外は手もとの“hold key”を常に押し下げていなければならない(第1図)。



第1図 用いた強化スケジュール

訓練はコンピュータ(DEC, PDP-12)を用いて行なわれ、hold keyの監視、ランプの点滅、テコ押し反応の

潜時の測定とその正誤の判定、ジュースを与えるための電磁弁の開閉、反応の記録などはFOCAL-12によって書かれたプログラムによって制御された。

訓練が規準に達すると、前頭前野背外側部に金属製の円筒を埋め込み、可動タングステン電極(約2μ)によって主溝(principal sulcus)周辺のニューロン活動をオペアンプ(自作)へ導き、シンクロスコープ(日本光電, VC-7)でモニターし、データレコーダ(Philips, ANALOG-7, 7-CH)に強化スケジュール、サルのテコ押し反応、上腕三頭筋の電位活動などに対応させて記録した。遅延反応時に活動頻度が高くなっていくニューロンと、逆に活動が低下するニューロンがいくつか見出されたが、今後の検討のためにはさらに事例数を多くする必要があると思われる。

切断脳と行動¹⁾

本吉 良治(京大・文)

大脳両半球間の相互作用が、サルの反応決定に働く機能を明らかにするために、脳梁・前交連・視交叉が切断された。反応決定の実験的場面として、光り刺激に対するレバー押し反応の反応時間の測定が選ばれた。光り刺激は偏光フィルターにより左右いずれか一方の眼のみに与えられ、サルの両腕は固定されていずれか一方の手で反応することが強制された。“用意”のシグナル、“反応”のシグナル、“フィード・バック”のシグナルを分離して与えることにより、反応時間の決定に働く各々の視覚情報の役割と、それらが与えられる眼と反応する手との関係、すなわち同側あるいは対側であることが、実験変数として操作された。

アカゲザル6匹(切断脳3匹、視交叉のみ切断2匹、正常1匹)に、“用意”および“反応”のシグナルに左右いずれの手でも安定した反応を示す段階まで訓練が与えられたのち、各実験変数が導入された。切断手術の方法の確立がくれたために、実験は現在まだ進行中である。

設定課題 6. 霊長類の生殖に関する基礎的研究

正常月経周期および妊娠時のホルモン動態——ニホンザルの胎盤蛋白ホルモン²⁾

富永 敏朗(京大・医)

はじめに

ヒト胎盤は現在のところ2種の蛋白ホルモン、すなわ

ちHuman Chorionic Gonadotropin(HCG)およびHuman Placental Lactogen (HPL)、または Human Chorionic Somatomammotropin (HCS)を生成分泌することが認められているが、サルの胎盤についても同様な蛋白ホルモン産生の可能性が考えられている。サルの場合、前者を

¹⁾ 久保田鏡・室伏靖子(いずれも京大・霊長研)との共同研究。

²⁾ 大島 清(京大・霊長研)・余語 郁夫・麻生武志・本橋享・青地秀樹・杉並洋(いずれも京大・医)との共同研究。

Monkey Chorionic Gonadotropin(MCG),後者をMonkey Placental Lactogen (MPL) と呼ぶこととする。両ホルモンのヒト妊娠における生理的意義については、前者は gonadotropic hormone, 後者は metabolic および lactogenic hormoneとして作用し、正常妊娠維持に重要な意義を有するものと考えられているが、なお不明の点が多く、その本態の詳細な究明が期待されている。

ヒトのHCG, HPLについては比較的純度の高いpreparation が得られ、体液中濃度の測定が容易に免疫学的方法によって可能であり、妊娠中の動態が明らかにされているが、サルについては純度の高い preparation もなく、その免疫学的測定法も確立されておらず、妊娠中の動態すら明らかでない。そこでわれわれはニホンザルについて MCG および MPL の詳細な研究を行ないつつあり、両ホルモンの基礎的諸性格の解明、活性検定法および測定法の確立、妊娠時の動態ならびにその生理的意義の解明を目的として鋭意検索を進めている。昭和47年度にはニホンザル満期産胎盤からの抽出・精製、測定法の検討を行なったが、その成績は以下の如くである。

実験材料・方法

京都大学霊長類研究所において満期出産した5匹のニホンザル胎盤を -20°C に凍結保存したものを用いた。

これを融解し適当な大きさに切ったものをhomogenize し (Monkey Placental Homogenate, MPH), 0.3M KCl, pH 10 液で抽出し、遠沈上清を透析し、等量の飽和硫酸液を加えて遠沈沈渣の水溶液を透析後遠沈、その上清を凍結乾燥しこれを Crude Monkey Placental Protein

Hormone (CMPPH) とした。精製は CMPPH を DEAE celluloseカラムにて0.01M Trisbuffer, pH9.0に0.05, 0.1, 0.33, 1.0M NaCl を加えて stepwise に溶出を行なった後、活性分画について Sephadex G-100 カラムにて更に精製した。

免疫学的測定法はわれわれが確立した HCG および HPL あるいは HGH の radioimmunoassay 系を用いて行なった。なお、HCG assay 系では標識 HCG の代りに HLH, 抗HCG血清の代りに抗HLH血清, HPL assay 系では標識 HPL の代りに HGH, 抗 HPL 血清の代りに抗 HGH 血清を用いる所謂 hybrid assay 系での測定を試みた。

実験成績

1. HCG, HPL および HGH との免疫学的交叉反応

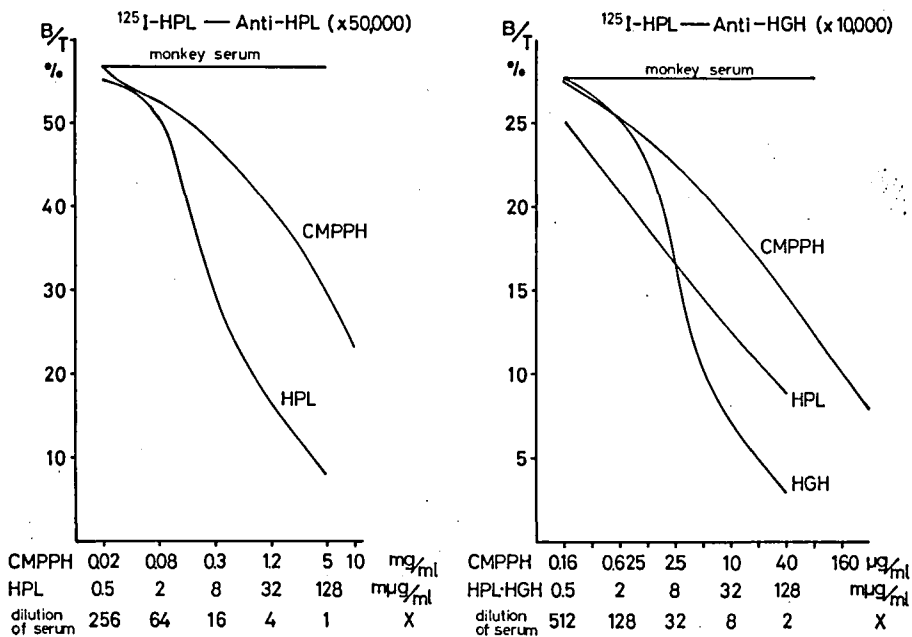
MPH および CMPPH について Ouchterlony の寒天平板二重拡散法により抗HCG血清、抗HPL血清、抗HGH血清を用いて免疫学的交叉反応を観察した。MPH, CMPPH ともに抗 HPL 血清および抗 HGH 血清と明らかな沈降線を示したが、抗 HCG 血清との間には沈降線は認められなかった。

2. HPL および HGH との交叉反応応用による MPL の免疫学的測定

CMPPH を以下の如き4種の radioimmunoassay 系を用いて倍数稀釈系列の測定を行ない、それぞれの系列における HPL および HGH の標準曲線と比較した。

a. ^{125}I -HPL——抗 HPL 血清

b. ^{125}I -HPL——抗 HGH 血清



第 1 図

c. ^{125}I -HGH—抗 HGH 血清

d. ^{125}I -HGH—抗 HPL 血清

このうち ^{125}I -HPL—抗 HPL 血清および ^{125}I -HPL—抗 HGH 血清の2系列において、測定可能な倍數稀釈曲線が得られた。第1図に示す如く ^{125}I -HPL—抗 HPL 血清 (50,000倍稀釈) 系では 0.02 mg/ml と 10 mg/ml の間の濃度で、 ^{125}I -HPL—抗 HGH 血清 (10,000倍稀釈) 系では 0.16 μg /ml から 160 μg /ml の間の濃度で、それぞれ満足すべき倍數稀釈曲線を示した。なお、両 assay 系とも非妊ニホンザル血清とは全く交叉反応を示さなかった。

3. HCG, HLH assay 系による MCG の免疫学的測定
MPH, CMPPH の倍數稀釈系列を以下の assay 系にて測定した。

a. ^{125}I -HCG—抗 HCG 血清

b. ^{125}I -HCG—抗 HLH 血清

c. ^{125}I -HLH—抗 HCG 血清

d. ^{125}I -HLH—抗 HLH 血清

しかし、いずれの系においても免疫学的交叉反応は認められなかった。

4. MPL の抽出・精製

CMPPH の DEAE cellulose カラム分析では 0.33M NaCl 分画に HPL および HGH と免疫学的交叉反応が認められた。この分画を Sephadex G-100 カラムにて分析したところ HPL とほぼ同じ分子量 (約22,000) の部分に同様な免疫活性を認めた。現在さらに精製を進めている。

まとめ

ニホンザルの満期産胎盤には、HPL および HGH と共通抗原を有する蛋白ホルモンの存在が確認された。これはヒト胎盤の HPL に対応して MPL (または MCS) と呼ぶべきものであろう。その抽出・精製および蛋白ホルモンとしての諸性格については現在鋭意検討中であるが、ほぼ HPL と同じ分子量をもつものと考えられる。なお、抗血清の作成、高純度 MPL preparation が得られていないので、MPL 独自の assay 系の確立が待たれるが、しかし HPL および HGH の radioimmunoassay 系を用いて測定することができることがわかった。その場合、所謂 hybrid assay 系によれば、かなり満足すべき感度で測定でき、少くとも妊娠中の血中 MPL の測定には十分応用できると思われる。

なお、HCG に対応する MCG については、今回行なった方法では満期胎盤からの抽出、免疫学的測定法は不成功に終り、その存在を確認し得なかった。おそらく末期胎盤には極めて少なく、妊娠初期および中期胎盤についてさらに検討を進める必要があると思われる。

ニホンザルの尿中 estrogen 分画に関する研究

安藤 昭弘 (日本モンキー・センター)

ニホンザルに関する生殖生理現象についての内分泌学的研究は、未だ余り多くは見られない。ニホンザルの尿中総 estrogen に関しては、月経周期に伴い周期的に変動を示し、その中間期において、1日ないし2日間急激な一時的増加が認められることを我々はいままでに認めている。今回はニホンザルの内分泌学的性状をより詳しく知り、更に他の種のサル、あるいはヒトとの間の内分泌学的な類似性を調べるため、ニホンザルを中心とし、比較のためにアカゲザル、ブタオザルについて尿中 estrogen 分画を測定し、それらの間の差異について比較検討を行なった。

材料および方法

実験はニホンザル、アカゲザルおよびブタオザルの成熟メスについて行なった。尿は個別ケージの受皿の上に金網を置いて、糞と尿とが混らない様にして採取した。尿中 estrogen 分画の測定は尿 3 ml を用いて行なった。すなわち、尿 3 ml を蒸留水で2倍に稀釈後塩酸を加えて加熱し、加水分解を行なった。塩酸熱水解後、エーテル抽出、炭酸緩衝液による洗浄、アルカリ抽出、更にこれを炭酸水素ナトリウムで中和し、エーテルに再抽出した後、エーテルを蒸発乾固させて estrogen 抽出物とした。estrogen 分画の分離は薄層クロマトグラフを用いて行ない、estrone, estradiol および estriol の3分画に分離した。薄層をクロロホルム：エタノール、9：1で展開後、酢酸エチルによって各分画を抽出、乾固した後、蛍光法によって測定を行なった。

結果

ニホンザルの尿中 estrogen では estrone 分画が最も多く平均 74.6%、次いで estriol 分画 14.9%、estradiol 分画 10.5% の比率となった。アカゲザルとブタオザルではそれぞれ estrone 分画は 56.0%、75.6%、estriol 分画は 26.3%、14.4%、estradiol 分画は 17.7%、10.0% となった。さらに妊娠中のニホンザルでは、妊娠100日前後で、平均して estrone 分画 73.3%、estradiol 分画 8.9%、estriol 分画 17.8% となり、非妊娠時と比率においてはほとんど差はみられなかった。

以上の様な結果をヒトについて知られている成績と比較すると、その間に大きな違いが見られる。すなわち、ヒトでは estriol 分画が主成分をなし全体の約3分の2を占めるのに対し、ニホンザルでは estrone 分画が全体の主成分をなしている。しかしながら、ニホンザルとアカゲザル、ブタオザルとの間には大きい差異は認められない。この様な点から、ヒトとニホンザル等のサルでは、