

霊長類を含む様々な動物を対象として、糞尿を用いた内分泌動態モニタリングがおこなわれているが、これらの殆どはヒト用の抗体やキットを用いているのが現状である。しかし、近年、近縁種間においても、生殖関連ホルモンの代謝機構に違いが認められることが明らかになり、ヒトの系を類人猿やマカクザルに適用した場合、必ずしも正確に生理動態を反映しているとは言えないことが分かってきた。これらのことから、私たちは類人猿、とくにチンパンジーおよびボノボにおいて、繁殖状態の推定および性成熟度や妊娠の有無、老化の程度の推定をおこなうため、性腺および副腎皮質由来のステロイドホルモンについて、二抗体酵素免疫測定法による測定系の確立を目的として実験を行った。また、今回は、対応者がアフリカで採取した野生チンパンジーの糞および尿を使用し、現地における糞尿サンプルの至適保存条件や抽出条件を検討した。

本年度の研究で、新たにアンドロステンジオンとデヒドロエピアンドロステンジオン濃度測定系を作成することが出来た。これらに加え、これまでに開発したプロジェスチン、エストロゲン代謝産物の測定をおこなうことにより、性周期の確認、排卵の有無、早期妊娠診断、妊娠動態モニター、分娩予知や、加齢等の情報を糞尿から得ることが出来た。

また、測定値に変化を及ぼさない材料の保存、輸送法の開発に努めた。これまでに冷蔵、冷凍が不要な保存輸送方法を考案したが、さらに精度を上げるために試験を繰り返している。

E-10 霊長類の大脳皮質拡大と認知機能進化の分子機構を探る研究

松永英治, 入来篤史, 南部菜奈恵(理研 BSI・象徴概念発達) 所内対応者: 今井啓雄

これまでに我々は、マーモセットとマカクザル間での遺伝子発現比較から、マーモセットでは発現が見られないが、マカクザルでは大脳皮質 III 層を中心に発現が見られる細胞外マトリックス分子を同定している。この遺伝子は、道具使用訓練を施したマカクザルでは、対照個体に比べ脳内での発現レベルが上昇することから、霊長類脳での神経可塑性の増大に関わる可能性も考えられた。今回、この遺伝子発現が旧世界ザルだけでなく、類人猿の大脳皮質でも見られ、霊長類内での大脳皮質可塑性の進化と関連があるのかどうかを明らかにする目的で、死後チンパンジー脳を用いた定量的 RT-PCR 法と、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いた組織学的解析を試みた。定量的 RT-PCR 法を用いた解析では、我々の予想と同じく、マーモセットでは極めて低いレベルの発現しか確認されない一方で、マカクザル同様、チンパンジーの大脳皮質由来の脳組織でも目的遺伝子の発現が確認された。一方、*in situ* ハイブリダイゼーションによる発現解析は、マカクザルと同じ条件での染色を試みたものの、実験系自体がうまく動かなかった。現在、引き続き実験条件の検討を続けている。

E-11 コモンマーモセットを用いた加齢黄斑変性症に伴う網膜血管新生の発症機序の解明

原英彰, 嶋澤雅光, 中村信介, 増田智美(岐阜薬科大・薬効解析) 所内対応者: 中村克樹

我が国において、加齢黄斑変性症は中途失明原因の第 4 位を占める疾患であり、近年の急激な高齢者人口の増加や食生活の欧米化に伴い、増加の一途をたどっている。しかしながら、現在臨床応用されている抗体医薬品は硝子体内投与で行われており身体的負担が大きい。そのため新規医薬品開発が望まれているが、よりヒトに近いモデルでの検討が必要である。そこで、我々は加齢黄斑変性症に伴う網膜血管新生の発症機序の解明を目的として、コモンマーモセットを用いてレーザー誘発脈絡膜血管新生モデルの作製を試みた。

マーモセットは開眼幅に限界があり、眼底カメラ(MicronIII)を用いた眼底観察が困難であったが、開眼器を用いることで眼底観察に十分な視野を確保することができた。フルオレサイト®注射液 1 号 0.5 mL/kg 尾静脈内投与による造影後の蛍光眼底観察においては、網膜中における動脈および静脈の鮮明な画像の撮影に成功し、レーザー照射部位である黄斑部も確認できた。さらに不安定な動物支持と眼内への光量不足という問題があったが、MicronIIIに取り付けが可能なレーザー照射装置の導入によりレーザー照射に成功した。

次年度において、レーザー照射部位における血管新生を組織学的に確認し、さらにレーザー照射条件について検討を行う予定である。

E-12 遺伝子ノックダウンマーモセットの行動解析

渡我部昭哉(基礎生物学研), 高司雅史(生理研), 竹本篤史(霊長研), 尾上浩隆, 横山ちひろ(理化研 CMIS: 現 CLST) 所対応者名: 中村克樹

私たちは、霊長類における遺伝子ノックダウン実験系の確立を目指している。この研究提案では、霊長類モデルとして新世界ザルであるコモンマーモセットを用い、ウイルスベクターによる遺伝子発現抑制によって、コモンマーモセットの認知行動がどのような影響を受けるかを解析した。ウイルスベクターとしては、高度な精製が可能で毒性の低いアデノ随伴ウイルスベクター(AAV)を用いた。遺伝子の発現抑制は、培養細胞において発現抑制効果を持つことが確認された shRNA (short hairpin RNA) を、AAV に搭載することで可能にした。

コモンマーモセットの AAV 注入は、理化学研究所 CMIS(現 CLST)で行い、PET 撮像によって目的遺伝子の発現抑制を確認した。理化学研究所における AAV 注入の前後に、霊長類研究所において認知実験を行い、遺伝子ノックダウンが認知行動に及ぼす影響を同一個体で比較した。認知実験には、中村教授の開発したタッチパネル方式の行動実験装置を用いた図形弁別課題及び、逆転学習課題を中心に行った。2012 年度の本研究課題において、計 8 頭の PET データと 7 頭の行動実験データを得ることができた。