

自由 22

前頭極の行動抑制の研究

原 愛子 (日本福祉大・情報経営開発)

久保田 競 (京都大・霊長研・行動神経、日本福祉大・情報経営開発)

従来、前頭極(プロトマンの10野)については神経生理学的研究が行われてこなかった。しかし最近ヒトのPETの研究で、複数の前頭前野性課題を主副に分けて行うときにのみこの部分が働くことが解った(Koechlin et al. 1999)。そこで従来から研究してきた遅延反応課題とゴー・ノーゴー課題をそれぞれ主課題及び副課題とする課題をコザルに教え、どのように学習するかを調べた上で、前頭極にギャバ、ノルアドレナリン、ドーパミンの阻害剤を注入し、その課題遂行への影響を調べた。生後間もない2頭のアカゲザルに従来と同様の方法で遅延反応課題とゴー・ノーゴー課題を教えた。生後約83日で学習できた。その後ゴー・ノーゴー課題の遅延期間の間に遅延反応課題を挿入した課題を行わせた。これは生後約120日で学習できた。学習成立後、プロトマンの10野にピククリン(ギャバA阻害剤)、ファクロフェン(ギャバB阻害剤)、ヨヒンビン($\alpha 2$ アドレノセプター阻害剤)、SCH23397(ドーパミンD1阻害剤)を注入し、それぞれの課題遂行への影響を調べるとともに、誘発される多動の性質も調べた。いずれの薬品によっても、課題の成績が低下し、様々な多動が誘発された。特定の薬品によって特定の多動が誘発されることはなかった。この結果は、プロトマンの10野がゴー・ノーゴーの主課題、遅延反応の副課題からなる課題の遂行に必要であることを示している。

自由 23

霊長類小脳の生後発達における成長関連遺伝子発現の研究

大石高生¹⁾・近藤哲朗¹⁾・肥後範行^{1,2)}

1) 電子技術総合研・2) 筑波大・医

マカクの小脳は基本回路の形成が遅く、生後三ヶ月まで細胞移動が持続する。我々は新生児期と成熟期の小脳におけるGAP-43(代表的な成長関連タンパク質)の遺伝子発現を非放射性in situ ハイブリダイゼーション法で検討し、発現細胞種と分布を調べた。新生児期にも成熟期にもGAP-43 mRNA 発現細胞は顆粒細胞層と分子層で観察された。また、新生児期には外顆粒細胞層にもGAP-43 mRNA 発現細胞が観察された。外顆粒層から顆粒層に移動中の細胞に関してはGAP-43 mRNA 発現量が少なく見えるので、その理由を検討中である。さらに、成熟期の小脳虫部で小葉毎のGAP-43 mRNA 発現強度を比較したところ、第一、第九、第十小葉では残りの小葉に比べ、発現強度が強かった。小葉間に可塑性の大小の違いがあるのかもしれない。今後、可塑性に関わると考えられる他の成長関連タンパク(SCG10 など) やプロテインキナーゼC基質(MARCKS, neurogranin など) についても同様の解析を進め、その可能性を検討していく予定である。

自由 24

サル心臓自動能のイオンチャネル機序

野間昭典(京都大・医・生理)・佐藤広康(奈良医大・薬理)

本年度、利用できたサルの頭数が少ないため、ほとんどは洞房結節細胞の分離法の確立に時間を費やした。細胞分離までを当研究所でやらせて頂き、分離した細胞を我大学に持ちかえり電気生理学的実験を行なった。上大静脈、下大静脈、および右心房—心室間を結紮後、右心房内へ

カニューレを挿入して、心房内圧を上げて人工的生理液を灌流した。正常液から酵素を融解した灌流液に移行し、細胞を単離した。現在、その分離方法が確立してきたので、今後、データはサル使用頻度に大きく依存する。

このように単離した洞房結節細胞を用いて、パッチクランプ実験を行なっている。一般的な電位依存性の膜イオンチャネル電流を解析するとともに、洞房結節細胞に特徴ある電流の同定と解析を行なっている。基本的な電位依存性電流の取得には成功している。これまで、多種属の洞房結節細胞の自動能イオン電流機序を解明してきたが、動物種により電流系が異なることが判明してきた。この研究では、今のところ、まだ大きな差異は見つかっていない。

この結果は、ヒト洞房結節の自動能機構にも反映され、臨床的にも洞性不整脈を含めた疾患治療に大いに役立つことが期待される。

自由 25

アカゲザルの ICSI による人工繁殖の検討

鈴木智草 (近畿大・生物理工・発生)・細井美彦 (近畿大・生物理工・発生)・
清水慶子 (京都大・霊長研・器官調節)・入谷 明 (近畿大・生物理工・発生)

雌アカゲザルにリュ・ブリン、FSH を投与後、卵巣回収から 24 時間前に hCG 投与・非投与し、卵巣を回収した。卵巣から未成熟卵子 (Germinal Vesicle, GV) を回収し、GV 期から MI 期 (Metaphase I) を経て、MII 期 (Metaphase II) に成熟するまで培養した。GV 期から MII 期に成熟するのに、通常、卵子の回収から 40 - 48 時間を必要するとされている。hCG を投与した場合、卵子回収から 40 時間後では、MII 期 0% (0/27)、MI 期 44% (12/27)、GV 期 48% (13/27) の割合であった。その後も観察を続けたが、いずれの卵子も MII 期にはならなかったため、72 時間後まで継続培養した結果、MI 期の卵子 12 個はすべて MII 期に成熟した。それらの卵子を用いて、顕微授精を行ったが、いずれの卵子も発生しなかった。また、hCG を投与しなかった場合、40 時間成熟培養をした結果、MII 期 0% (0/11)、MI 期 9% (1/11)、GV 期 91% (10/11) であった。その後も継続培養をしたが、いずれの卵子も MII 期には成熟しなかった。本実験では、卵子の成熟培養が順調に進行しなかったが、前年度の結果では、卵子回収から 40 時間後に MII 期卵子に成熟し、顕微授精後、胚盤胞期胚まで発生したことから、成熟時間に問題はないように思われた。これは卵巣を供試する雌アカゲザルの個体差が原因であると思われた。サル卵子の体外培養については、検討していく必要があることが示唆された。

自由 27

チンパンジーのメスの性周期に伴うフェロモンの同定

林 由佳子 (京都大・食糧科学研)・松本晶子 (京都大・霊長研)

フェロモンは同種の動物の異なる個体間で交わされる化学的信号で、哺乳類の生殖に特に重要な役割を果たしている。霊長研の 4 頭のメスを対象とし、最低 1 回の発情周期を含む 40 日の期間について週 3 回、性皮 (特に膣) 付近を 30% エタノール溶液を含ませた綿棒にてふき取り、資料を凍結保存後、京都大学食糧研において資料から粘液とフェロモンを構成する臭気物質 (C2~C5 脂肪酸) 量をガスクロマトグラフィーを用いて定量した。

分析の結果、排卵期になると一部の低級脂肪酸の量が変化し、その変化が化学的信号として中枢神経系に伝達され、大脳辺縁系や視床下部の機能に影響を与えている可能性が示唆される。