

サル胎生期発達と神経ペプチド脳内分布の変化

林 基治、大島 清(京都大学霊長類研究所生理研究部門)

1. 研究報告書

(1) 緒言

最初の二年間は、妊娠中期(120日)及び出産前(165~170日)のニホンザル胎児の聴性誘発反応の存在、ならびに子宮内に挿入した小型マイクロホンが外部より与えた音声を、高域減衰(2500ヘルツ以上カット)しながらも明瞭にとらえることを確かめてきた。なお、前年度後半から胎児脳内のVIP(Vasoactive intestinal polypeptide)の分布を調べ、妊娠120日のすべての胎児脳の部分で高濃度であったものが、胎生日数が進むにつれて減少してゆくことがわかった。更に、妊娠120日で、すでに視覚領、運動前野、聴覚領、体性感覚野などで含有量が目立って高く、胎児の感覚系の発達が、特に皮膚感覚、聴覚系に著明で、電気生理学的な実験結果を十分支持するものであることを確認した。

本年度は、VIPのほか、Somatostatinとsubstance Pについて胎生期のサルと新生児及びオトナザルの脳内の分布について検討したのでその成果を報告する。

脳内の神経ペプチドの発達については鶏豚やラットの胎外などで報告はされている。例えばP物質とかSomatostatinや β -endorphinなどについては胎生期の極く初期に、一方VIPとかcholecystokininとかbombesinなどは生後にしか認められない、といった報告がある。

(J. K. McDonald et al. J. Neurocytol., 11:881-895, 1982と、G. P. McGregor et al. Neurosci. Lett., 28:21-27, 1982)。こういった従来の研究報告によると胎生期の脳発達にともなって、それぞれの神経ペプチドは独自の発達を遂げるらしいことがわかる。サルの脳を用いる利点は、脳が大きいために、脳をかなり細

分化して分布を調べることができることである。

(2) 実験方法

4頭の成熟ニホンザルと3頭の4ヶ月胎児、5頭の5.5ヶ月胎児の脳を用いた。図1に示したように脳を12の部分に分割、各分割部分の40~50mgを400mlの2N酢酸と10分煮沸したあと4℃下で1000g30分遠心後、沈澱物を再度2N酢酸で遠心し、その上清冷凍乾燥物をRIA用の緩衝液に溶かして測定する。測定に用いたInhibition curveは図2に示した通りである。また図3、4、5は、それぞれサルの脳内のP物質及びVIP、SomatostatinのSephadix G-50によるクロマトグラフィーである。

(3) 結果

まずオトナザルのVIP、SomatostatinとP物質の脳内分布を図示すると図6のようになる。この図が示すように、各神経ペプチドは、それぞれ独自の分布を示している。また、オトナザルの分布を、それぞれの神経ペプチドについて、妊娠4ヶ月及び妊娠5.5ヶ月のサル胎児の脳内分布と比較すると図7のようになる。

(4) 考察

オトナザルの脳内の三神経ペプチドの分布がそれぞれ異なっていることが特徴である。VIPは高濃度に体性感覚野(Somatosensory cortex)に存在し、一方視覚領の濃度は極めて低い。VIPの分布について他の哺乳類のデータを調べてみると、ヒトでは前頭葉に、ブタでは後頭葉にVIPは高濃度である。しかし、両者とも体性感覚野のVIPは測られていながら比較できないのである。アカゲザルやミドリザルでは体性感覚野cortexにノルアドレナリンが多く含まれているという報告があるが、VIPが同じ部位に多いのはノルアドレナリンと何らかの関

連を持つのかも知れない。それは最近の研究 (P. Levitt et al, J. Comp-Neurol., 227:23-36, 1984)で、アカゲザルで、ノルアドレナリン系の軸索が同部位に多く、後頭葉に少ないと報告されているので、VIPとノルアドレナリンとの関係が更に密であることが予想される。マウスによる実験 (P. J. Magistretti, et al, Nature, 308:280-282, 1984)、VIPとノルアドレナリンといった二種の神経伝達物質はマウスの脳内のcyclic AMPを協同して刺激するので、この二つの神経ペプチドは脳の機能に協同的な生理作用を持つことが推論される。

Somatostatinに関しては、頭頂葉に高濃度で視覚領に低濃度だという結果であった。VIPがassociation cortexに多いということは、Somatostatinが認識とか記憶とかいった高等な脳機能と関係が深いことを示唆させる。特にSomatostatinが扁桃核に高濃度であることはヒトの報告 (P. E. Cooper et al, Brain Res, 218:219-232, 1981)とよく一致している。

P物質は、側頭葉と前頭葉に比較的高濃度に存在し運動領の濃度は低い。最高濃度は扁桃核にあるのだが、これはネズミとヒトの場合と同じ傾向である。並行して行っている実験で未発表なのだが、P物質の分布パターンはcholine acetyltransferaseの脳分布とよく似ていることは面白いと思っている。

アカゲザルの実験 (P. Rakic, Science, 183:425-427, 1974)では、視覚領の皮質ニューロンは胎生40~100日に活動を開始しているという。私たちの実験ではVIPもSomatostatinも4ヶ月の胎児の皮質で認められる。つまり、この時期には、この二つの神経ペプチドが4ヶ月ですでに皮質ニューロンを完全に張りめぐらせている

ことを証明するわけである。P物質もまたサル胎児の皮質にすでに認められる。哺乳類脳による多くの実験報告では、VIPとSomatostatinは皮質細胞体に認められ、P物質は神経線維にしか認められない。今回の実験では、三種の神経ペプチドが細胞体か線維のどちらの起源かを知ることはできない。今後の研究に託したいと思っている。興味があるのは、4ヶ月胎児に比べて5.5ヶ月胎児の脳に、何れの神経ペプチドも、はるかに多量に分布していることである。胎生日数が進むにつれてある種の神経ペプチドが減少してゆくことは他の動物でも確かめられている。例えばラットの実験では (A. Bayon, et al, Brain Res, 179:93-101, 1979) β -Endorphinは妊娠16日に最高値を示し、以後減少する。またニワトリの実験では (M. Hayashi, Neuroscience, 10:31-39, 1983) Somatostatinが最高値を示すのは胎生8日と10日である。VIPのレベルもラットでは (P. C. Emson et al, Brain Res, 177:437-444, 1979) 生後28日及び成熟時に極度に減少する。

胎生日数が増えるとともに胎児脳の神経ペプチド減少の機序は定かではないが、一般に胎生期には、末梢・中枢を問わずニューロン細胞の自然死やシナプスの消滅はごくありふれた現象なのである。例えば、オトナアカゲザルの視覚領の第II-III層の皮質内ニューロンの数は新生児のそれにくらべると驚くほど少ないという報告がある (J. O' Kusky et al, J. Comp. Neurol, 210:291-306, 1982)。私たちの実験結果が示す、神経ペプチドの漸減現象も、細胞死やシナプス消滅を反映するものと思われる。つまり良いものが選択されながら発達してゆく、というわけである。

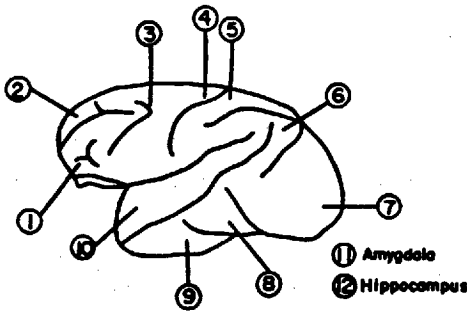


Fig 1 Cortical subdivisions dissected for neuropeptide analysis. 1, orbital prefrontal cortex; 2, dorsolateral prefrontal cortex; 3, premotor cortex; 4, precentral gyrus; 5, postcentral gyrus; 6, posterior parietal cortex; 7, occipital cortex; 8, inferior temporal gyrus, posterior; 9, inferior temporal gyrus, anterior; 10, superior temporal gyrus; 11, amygdala; and 12, hippocampus.

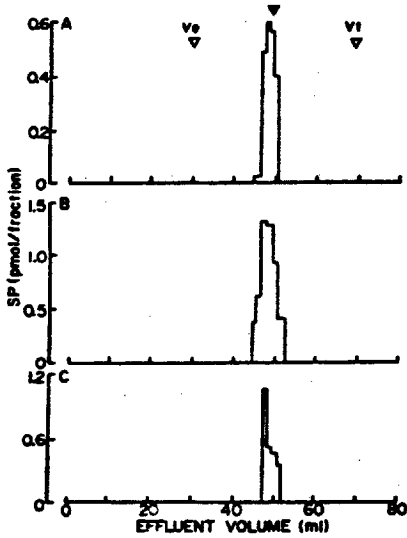


Fig 3 Sephadex G-50 superfine gel filtration chromatography of monkey brain extracts assayed for SP. The elution position of synthetic SP is indicated by a black arrow. A: extracts of cerebral cortex from 4-month-old embryo. B: extracts of cerebral cortex from 5.5-month-old embryo. C: extracts of cerebral cortex from adult. The recoveries of SP immunoreactivity from the column were: 77% for A; 64% for B; and 89% for C.

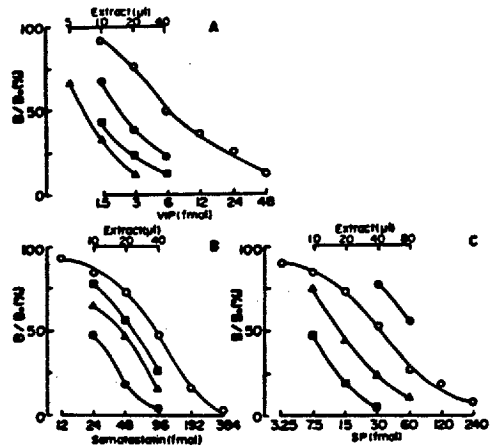


Fig 2 Inhibition curves for immunoreactive materials in monkey brain extracts in (A) VIP radioimmunoassay, (B) somatostatin radioimmunoassay, and (C) SP radioimmunoassay. O, synthetic standard peptides; ●, extracts of cerebral cortex from 4-month-old embryo; ■, extracts of cerebral cortex from 5.5-month-old embryo; ▲, extracts of cerebral cortex from adult. The ordinate B/Bo is the ratio of labelled peptide bound to the antibodies in the presence (B) and absence (Bo) of sample.

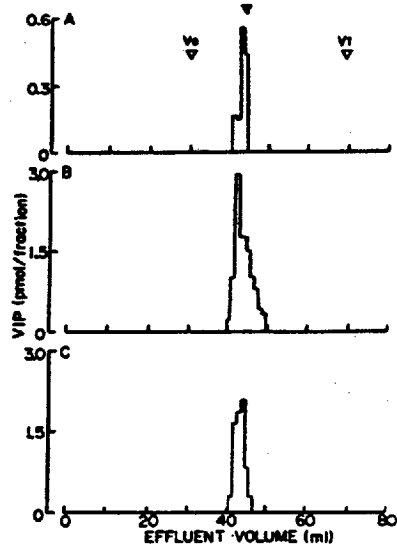


Fig 4 Sephadex G-50 superfine gel filtration chromatography of monkey brain extracts assayed for VIP. The elution positions of Vo and Vi were determined by blue dextran 2000 and CoCl₂. The elution position of synthetic VIP is indicated by a black arrow. A: extracts of cerebral cortex from 4-month-old embryo. B: extracts of cerebral cortex from 5.5-month-old embryo. C: extracts of cerebral cortex from adult. The recoveries of VIP immunoreactivity from the column were: 75% for A; 62% for B; and 71% for C.

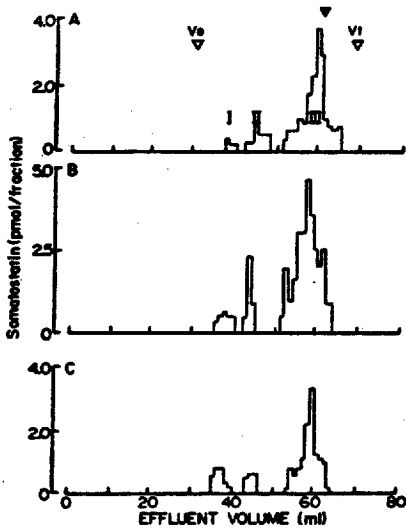


Fig 5 Sphadex G-50 superfine gel filtration chromatography of monkey brain extracts assayed for somatostatin. The elution position of synthetic somatostatin is indicated by a black arrow. A: extracts of cerebral cortex from 4-month-old embryo. B: extracts of cerebral cortex from 5.5-month-old embryo. C: extracts of cerebral cortex from adult. The recoveries of somatostatin immunoreactivity from the column were: 89% for A; 79% for B; and 62% for C.

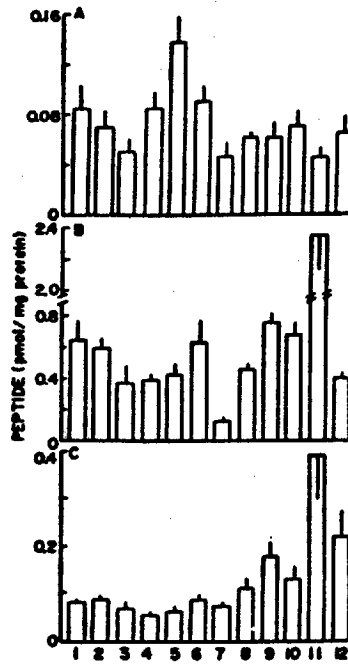


Fig 6 Specific concentrations (pmol/mg protein) of neuropeptides in various cerebral subdivisions in adult Japanese monkey. A, VIP; B, somatostatin; and C, SP. The results are expressed as the mean of the contents in 4 adult Japanese monkeys and bars indicate S.E.M. The numbers on the horizontal axis show cortical regions dissected. See legend to Fig. 5 for explanation.

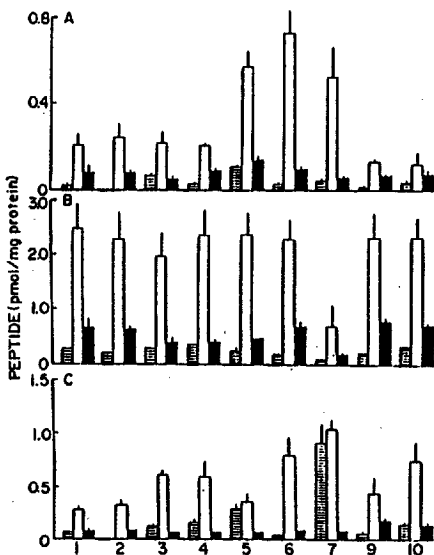
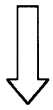


Fig 7 Specific concentrations (pmol/mg protein) of: (A) VIP; (B) somatostatin; and (C) SP in cerebral subdivisions in 4-month-old embryo (▨), 5.5-month-old embryo (□) and adult (■). The numbers of the sample were 3 (4-month-old embryo), 5 (5.5-month-old embryo) and 4 (adult). The bars indicate S.E.M. The numbers on the horizontal axis indicate cortical regions dissected. See legend to Fig. 5 for explanation.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



(1)緒言

最初の二年間は、妊娠中期(120日)及び出産前(165~170日)のニホンザル胎児の聴性誘発反応の存在、ならびに子宮内に挿入した小型マイクロホンが外部より与えた音声を、高域減衰(2500ヘルツ以上カット)しながらも明瞭にとらえることを確かめてきた。なお、前年度後半から胎児脳内のVIP(Vasoactive intestinal polypeptide)の分布を調べ、妊娠120日のすべての胎児脳の部分で高濃度であったものが、胎生日数が進むにつれて減少してゆくことがわかった。更に、妊娠120日で、すでに視覚領、運動前野、聴覚領、体性感覚野などで含有量が目立って高く、胎児の感覚系の発達が、特に皮膚感覚、聴覚系に著明で、電気生理学的な実験結果を十分支持するものであることを確認した。

本年度は、VIPのほかに、Somatostatinとsubstance Pについて胎生期のサルと新生児及びオトナザルの脳内の分布について検討したのでその成果を報告する。

脳内の神経ペプチドの発達については鶏豚やラットの胎外などで報告はされている。例えばP物質とかSomatostatinや—endorphinなどについては胎生期の極く初期に、一方VIPとかcholecystokininとかbombesinなどは生後にしか認められない、といった報告がある。

(J.K.Mcdonald et al.J.Neurocytol.11:881-895,1982と、G.P.McGregor et al:Neurosci Lett.,28:21-27,1982)。こういった従来の研究報告によると胎生期の脳発達にともなって、それぞれの神経ペプチドは独自の発達を遂げるらしいことがわかる。サルの脳を用いる利点は、脳が大きいために、脳をかなり細分化して分布を調べることができることである。