

## サル小脳における神経活性物質の発達

(分担研究：相互作用と乳幼児の心理行動発達  
に関する基礎的研究)

林 基治\*, 大島 清\*

**要約** 胎生期4カ月, 満期及び成体期のマカク属サル小脳におけるグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD), チロシン水酸化酵素(TH), コリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)活性とP物質, ソマトスタチン量の発達過程を調べた。GAD及びTH活性は, 発達とともにほぼ平行して増加傾向を示した。一方, ChAT活性は, 胎生4カ月ですでに高値を示し, 満期産までに約2倍に増加した。満期産と成体期では, ほとんど酵素活性に差が認められなかった。これらの事実からノルアドレナリン線維の発達は, 内因性神経細胞の伝達物質である $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)の発達とほぼ同時に進行している事が考えられた。またアセチルコリンを含む苔状線維の小脳への到達は, 胎生期に完成していると考えられる。

ソマトスタチン, P物質は, 胎生4カ月で高濃度存在するが成体期では, それぞれ $\frac{1}{18}$ ,  $\frac{1}{4}$ に減少した。胎生期にこれらのペプチドが小脳に高濃度存在する事実は, これらのペプチドが小脳の発達に何らかの役割を果している事を示唆している。

**見出し語**：サル, 小脳, 神経活性物質, 発達

**研究目的** 従来, 我々はヒトに近縁のマカクサルを用いて中枢神経系の発達にともなう神経活性物質の変遷に関する研究を行ってきたが<sup>1,2)</sup> 今回小脳に注目した。小脳は, 運動制御に関与する中枢神経組織である。従って小脳内の神経活性物質の発達を明らかにする事は, 運動機能の発達を知るうえに極めて重要である。

小脳を構成する細胞は5種類あり, その内3種類は, GABAを含有している。従って, その合成酵素GADが内因性細胞の発達のマーカーとなる。一方, 小脳への入力として4種類の線維が知られており, その内, 苔状線維の発達には, ChAT, ノルアドレナリン線維の発達にはTHがよいマーカーである。なお成熟時の小脳には

神経ペプチド類がほとんど存在しない事が知られている。そこで我々は胎生期に注目し, ソマトスタチン, P物質についても調べた。

**研究方法** 胎生4カ月(3例), 胎生5.5カ月(5例), 成体(4例)のニホンザルより小脳を採取し,  $-80^{\circ}\text{C}$ に保存した。

ChAT活性はFonnumの方法<sup>3)</sup>, GAD活性はWilsonの方法<sup>4)</sup>, TH活性はKapatosの方法<sup>5)</sup>に従って測定した。P物質, ソマトスタチン量は, すでに我々が開発しているラジオイムノアッセイ法<sup>1)</sup>を用い定量した。

**結果** GAD, TH, ChATの発達

図1にGAD, TH, ChAT活性の発達を示す。GAD活性は, 胎生4カ月から満期までに約6.8倍( $g$ 組織当り)及び6.3倍( $g$ タンパク質当

\* 京都大学霊長類研究所(Primate Research Institute, Kyoto Univ.)

り)増加し、満期から成体時までで2.2倍(*g*組織当り)及び1.6倍(*g*タンパク質当り)と増加した。

TH活性は、胎生4カ月から満期までに2.6倍(*g*組織当り)及び1.9倍(*g*タンパク質当り)増加した。又、満期から成体時まで3.0倍(*g*組織当り)及び2.2倍(*g*タンパク質当り)と増加した。ChAT活性は、胎生4カ月から満期までに約2.4倍(*g*組織当り)及び2.6倍(*g*タンパク質当り)増加したが、満期と成体との間ではほとんど差が認められなかった。

#### ソマトスタチン、P物質の発達

図2にソマトスタチン、P物質量の変遷を示す。ソマトスタチンは、胎生4カ月で高濃度存在し、成体期までに $\frac{1}{18}$ (*g*組織当り)及び $\frac{1}{41}$ (*g*タンパク質当り)に減少した。P物質量は胎生4カ月から満期までに $\frac{1}{2}$ (*g*組織当り)及び $\frac{1}{3}$ (*g*タンパク質当り)となり、満期と成体時ではほとんど濃度に差は認められなかった。

#### 考察 GAD, TH, ChAT 活性の発達について

今回の結果からGAD活性は、小脳の発達とともに順次増加する事が明らかとなった。小脳内GABA作動性細胞の中で主要なものとしてプルキンエ細胞が考えられる。サルにおいてはプルキンエ細胞の樹状突起は、生後90日まで増大する事が明らかにされている。GAD活性が生後も増加していくという今回の結果は、プルキンエ細胞の樹状突起が生後も増大していくという事実を反映していると考えられる。更に、TH活性もGAD活性とほぼ平行して増加した。青斑核由来のノルアドレナリン線維は、プルキンエ細胞の樹状突起とシナプス形成している事が明らかにされている。従ってGAD活性と平行したTH活性の増加は、ノルアドレナリン線維の終末が発達とともに増加する事を反映しているものと考えられる。更にノルアドレナリンがプルキンエ細胞の樹状突起の発達に対して、栄養因子として作用している可能性も考えられる。一方、ChAT活性は胎生4カ月においてすでに満期の50%程に達しており、満期から成体期の間では、ほとんど変量しなかった。つまりサルでは、アセチルコリンを含む苔状線維の小脳への

到達は、満期までにすでに完成しているものと考えられる。

#### ソマトスタチン、P物質の発達について

成熟時の小脳には、神経ペプチド類はわずしか存在しない事が知られている。しかし、今回の我々の研究結果では、胎生4カ月においては、ソマトスタチン、P物質とも高濃度存在しており、発達とともに減少する事が観察された。以前我々は、ニワトリ胚小脳の両ペプチド量も胚発生の初期に高濃度存在し、発達とともに減少する事を見出ししている。これらのペプチドが発生初期の小脳に高濃度存在する事は、これらのペプチドが小脳内神経回路網形成に何らかの役割を果している事を示唆している。

#### 文献

- 1) Hayashi, M. and Oshima, K. : Neuropeptides in cerebral cortex of macaque monkey (*Macaca fuscata fuscata*): regional distribution and ontogeny: *Brain Res.*, 364, 360-368, 1986.
- 2) 林 基治, 大島 清: サル中枢神経系における神経活性物質の発達。昭和61年度厚生省心身障害研究報告書, 29-32。
- 3) Fonnum, F. : A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase: *J. Neurochem.*, 24, 407-409, 1975.
- 4) Wilson, S. H. et al. : Markers for gene expression in cultured cells from the nervous system, *J. Biol. Chem.*, 247, 3159-3169, 1972.
- 5) Kapatos, G. and Zigmond, M. J. ; Effect of haloperidol on dopamine synthesis and tyrosine hydroxylase in striatal synaptosomes, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 208, 468-475, 1979.
- 6) Hayashi, M. and Oshima, K. : Ontogeny of substance P, somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide in the cerebellum and cerebrum of the chick embryo, *Neurosci. Res.*, 1, 427-436, 1984.

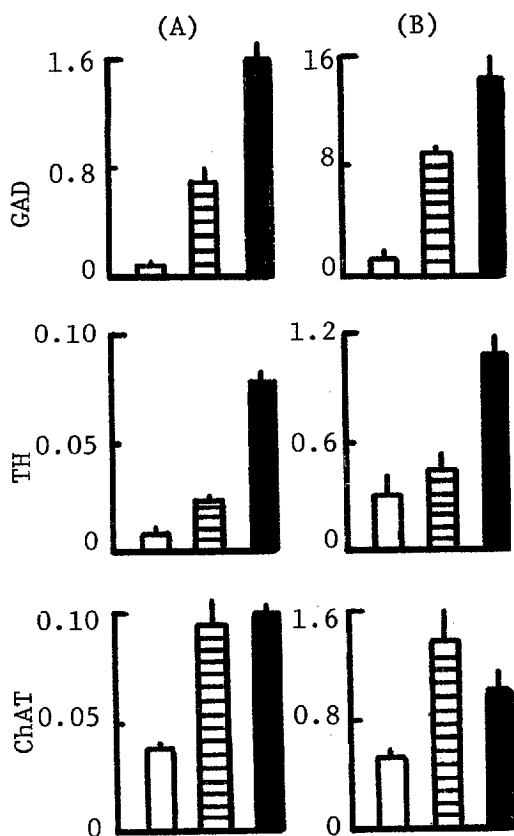


Fig. 1. The enzyme activities of GAD, TH and ChAT in cerebellum in 4-month-old embryo (□), 5.5-month-old embryo (▨) and adult (■). The values are expressed  $\mu\text{mol/g tissue/h}$  (A) and  $\mu\text{mol/g protein/h}$  (B). The numbers of samples were 3 (4-month-old-embryo), 5 (5.5-month-old embryo) and 4 (adult). The bars indicate S. E. M.

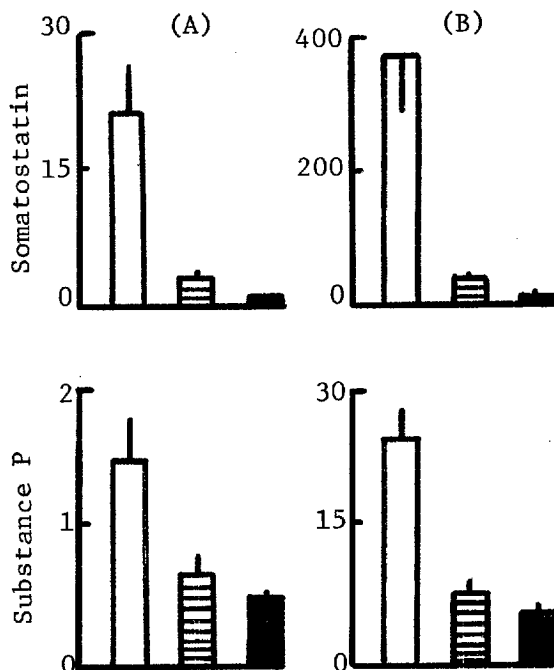


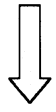
Fig. 2. The concentration of somatostatin and substance P in cerebellum in 4-month-old embryo (□), 5.5-month-old embryo (▨) and adult (■). The values are expressed pmol/g tissue (A) and pmol/g protein (B). The bars indicate S. E. M.

## Abstract

Ontogeny of glutamic acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase, choline acetyltransferase, somatostatin and substance P in monkey cerebellum.

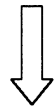
Motoharu Hayashi,\*    Kiyoshi Oshima \*

The enzyme activities of glutamic acid decarboxylase (GAD), tyrosine hydroxylase (TH) and choline acetyltransferase (ChAT) and concentration of substance P (SP) and somatostatin were determined in the cerebellum of Japanese monkey at 3 different ages, embryonic 4 months, embryonic 5.5 months (full term) and adult. Similar graded increases in the activities of GAD and TH were observed during development. In contrast, ChAT activity was relatively high at embryonic 4 months, increased about twofold between embryonic 4 months and 5.5 months, but did not change between embryonic 5.5 months and adult. These findings suggest that noradrenergic terminals develop synchronously with GABAergic interneurons. On the other hand, the innervation by ChAT-containing fibers is completed during the prenatal period. The concentrations of SP and somatostatin were high at embryonic 4 months, and decreased to, respectively, about 1/18 and 1/4 (expressed per *g* weight) in adult animals. The high level of SP and somatostatin in the embryonic period suggests that the peptides may participate in the regulation of the development of monkey cerebellum.



## 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



要約 胎生期 4 ヶ月, 満期及び成体期のマカク属サル小脳におけるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD), チロシン水酸化酵素 (TH), コリンアセチルトランスフェラーゼ (CLAT) 活性と P 物質, ソマトスタチン量の発達過程を調べた。GAD 及び TH 活性は, 発達とともにほぼ平行して増加傾向を示した。一方, ChAT 活性は, 胎生 4 ヶ月ですでに高値を示し, 満期産までに約 2 倍に増加した。満期産と成体期では, ほとんど酵素活性に差が認められなかった。これらの事実からノルアドレナリン線維の発達は, 内因性神経細胞の伝達物質である  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の発達とほぼ同時に進行している事が考えられた。またアセチルコリンを含む苔状線維の小脳への到達は, 胎生期に完成していると考えられる。

ソマトスタチン, P 物質は, 胎生 4 ヶ月で高濃度存在するが成体期では, それぞれ 1/18, 1/4 に減少した。胎生期にこれらのペプチドが小脳に高濃度存在する事実は, これらのペプチドが小脳の発達に何らかの役割を果している事を示唆している。