

動物実験計画書

- 1) 実験課題名：幼児脳の発達
 - 2) 実験期間：2003年7月から2004年6月
 - 3) 実験責任者及びその所属と連絡先：脳神経情報研究部門、認知行動科学研究グループ 杉田陽一 (連絡先電話番号)
 - 4) 実験従事者及びその所属：脳神経情報研究部門、認知行動科学研究グループ 杉田陽一
[Redacted]
 - 5) 実験目的：大脳皮質の高次機能は次々に明らかにされてきたが、遺伝的に決定された神経経路(ハードウェア)で実現されているのか、それとも経験によって獲得された経路を用いているのか全く理解されていない。これを明らかにするために、実験動物を特殊な環境下で生育させた後に、行動実験で環境の効果を検討し更に単一細胞活動を記録し脳内の変化(神経細胞の応答特性の変化)を明らかにし、将来的には、回路形成に関わる環境因子および脳内の物質的な因子を同定し、育児法あるいは教育法の改善への応用を目指す。
 - 6) 実験内容：生後間もなく実験動物を親から引き離し、特殊な環境下で飼育する。短くとも1年間、顔・色彩・両眼による立体感を経験させないような視覚環境を保つ。その後に、視覚弁別課題を行わせ、幼児期の視覚環境の効果を行動科学的に明らかにする。
本年度は、昨年来飼育してきた幼少ザルの行動実験を行い、顔を見たことのないサルがどのように顔を認識しているか明らかにする。本年度において、実験動物に対しストレスを与える操作、侵襲的操作は以下の通りである。
 - ・ 光学フィルターを取り付けたゴーグルの装着(1日6時間程度、残りの時間は暗室で生育させる)
 - 7) 動物実験を必要とする理由：幼児期に特殊環境下で生育させる必要があり、また、環境の効果を検討するために、生育後に大脳皮質から単一細胞活動記録を行うため。
 - 8) 実験室：産総研つくば北センター [Redacted]
 - 9) 飼育室：産総研つくば北センター [Redacted]
 - 10) 動物種系統、性別、匹数：ニホンザル 14頭。
- 11) 使用薬品等
- (1) 有害化学物質： 使用しない。
 - (2) 抗生剤： 本年度は使用しない。
 - (3) 麻酔薬： 本年度は使用しない。
 - (4) 筋弛緩剤： 使用しない
 - (5) 微生物： 使用しない。
 - (6) その他： 特になし
- 12) 苦痛軽減法、苦痛の有無の判定法： 本年度は該当しない。
- 13) 安楽死の方法： 本年度は該当しない。
- 14) 飼育継続の場合の状況(実験継続、飼育のみかどうか等)： 10頭は昨年度より継続飼育。本年(2003年)秋までに、1歳を超えたサルに対して検疫を実施する。

2003年7月1日

承認する

動物実験委員会 委員長

山根 茂

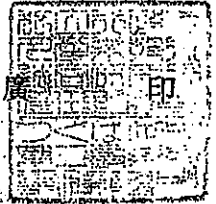


承認する ~~承認しな~~ (どちらかを消す)

意見:

つくば中央第二事業所 管理監

太田 公廣



2004年7月1日

動物実験計画書

実験課題名：「幼児脳の発達」
実験期間：2004年7月—2005年6月
実験責任者：杉田陽一

下記の動物実験計画書について、

承認する

条件：

動物実験委員会 委員長

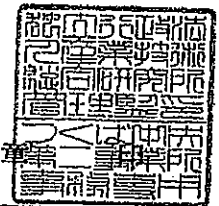
山根 茂



承認する ~~承認しない~~ (どちらかを消す)
意見：

つくば中央第二事業所 管理監

宮崎



実験計画の概要

動物実験計画書

- 1) 実験課題名：幼児脳の発達
- 2) 実験期間：2004年7月から2005年6月
- 3) 実験責任者及びその所属と連絡先：脳神経情報研究部門、認知行動科学研究グループ
杉田陽一（連絡先電話番号；029-869-1921）
- 4) 実験従事者及びその所属：
科学技術振興機構、Crest 研究員
- 5) 実験目的：特殊な視覚環境下で生育させたサルの大脳皮質から単一神経細胞の活動を記録し、幼児期の視覚環境の効果を神経科学的に明らかにする。
- 6) 実験内容：「顔や表情」などの複雑な視覚刺激あるいは「色」の弁別課題を訓練したサルの大脳皮質から単一細胞活動記録を行う。単一細胞活動記録は、覚醒下および麻酔下の双方において行う。実験動物に対しストレスを与える操作、侵襲的操作は以下の通りである。
 - ・ 摂水制限（水を報酬とした訓練を行うため、ケージ内での摂水量を制限する）
 - ・ モンキーチェアの使用（週6日以内、一日三時間以内）、ただし消毒のため週6日を越えて使用するときがある。その時は1日1時間程度。
 - ・ 訓練（まず、サルをモンキーチェアに慣らす。次に、摂水量を制限し、水分を報酬としたオペラント学習を訓練する。報酬のみでは十分に水分が得られない場合は、訓練後に不足分を与えて、少なくとも自由に飲水できる時の摂水量の80%を摂取できるようにする）（摂水量制限中の体重減少は、開始前の20%以内とする）

る。)

- ・ 頭部外科手術 (頭部固定用の金具の装着と、微小電極法による記録及び刺激用のチェンバーの装着、頭骨の一部除去。ケタラールによる導入麻酔後ネンブタールによる全身麻酔下で無菌的に行う。術後には抗生剤を投与し、感染を防ぐ)
- ・ 手術後必要に応じ鎮痛剤を投与する。
- ・ 微小電極の刺入 (サルをモンキーチェアに坐らせた状態で、覚醒時において、神経活動の記録を行う)
- ・ 麻酔下での微小電極の刺入 (麻酔非動化した状態において、神経活動の記録を行う。実験では、必要に応じて麻酔剤 (ネンブタール) をすみやかに投与できる準備をした上で、実験動物を笑気ガスで麻酔し筋弛緩剤で非動化する。脳波と心拍を常時モニターし、適切な麻酔深度 (必要ならネンブタールの注入) を保つと同時に、直腸温をモニターし適切な体温を維持した。体重の増減を観察しながら (体重の減少は20%以内とする)、7ないし10日に1度の割合で、6ないし8時間程度の実験を行う。)

- 7) 動物実験を必要とする理由: 視覚情報処理の責任部位を明らかにし、さらに、個々の神経細胞の応答特性を明らかにするためには動物実験が必要である。
- 8) 実験室: 産総研つくば北 [REDACTED]
- 9) 飼育室: 産総研つくば北 [REDACTED]
- 10) 動物種系統、性別、匹数: ニホンザル 14頭。

11) 使用薬品等

- (1) 有害化学物質: 使用しない。
- (2) 抗生剤: セファメジン、ベンジルペニシリンプロカイン、硫酸フラジオマイシン
- (3) 麻酔薬: ケタラール、ネンブタール、笑気ガス
プロカイン (抗生剤の溶液として)
- (4) 筋弛緩剤: ガラミン
- (5) 微生物: 使用しない。
- (6) その他: 鎮痛剤ブプレノルフィン=buprenorphine (Buprenex)

12) 苦痛軽減法、苦痛の有無の判定法: ケタラールで導入麻酔した後にネンブタールを投与した後に手術を行い、手術中は脳波・心拍をモニターし適切な麻酔の程度を保ち、直腸温をモニターし適切な体温維持を行う。また、非動化した実験中では、笑気ガス麻酔を行うとともに、脳波と心拍をモニターし適切な麻酔深度となるようにネンブタールを必要に応じて注入する。また、直腸温をモニターし、適切な体温 (38.5℃前後) を保つ。

13) 安楽死の方法: 過量の麻酔剤の投与。

14) 飼育継続の場合の状況 (実験継続、飼育のみかどうか等): 10頭は昨年度より継続飼育。本年 (2004年) 秋までに、1歳を超えたサルに対して検疫を実施する。

動物実験計画書

- 1) 実験課題名：幼児脳の発達
- 2) 実験期間：2005年7月1日から2008年6月30日（3年計画の1年目）
- 3) 実験責任者及びその所属と連絡先：
脳神経情報研究部門、認知行動科学研究グループ 杉田陽一（029-869-1921）
- 4) 実験従事者及びその所属：
脳神経情報研究部門、認知行動科学研究グループ 杉田陽一

5) 実験目的：大脳皮質の高次機能は次々に明らかにされてきたが、遺伝的に決定された神経経路（ハードウェア）で実現されているのか、それとも経験によって獲得された経路を用いているのか全く理解されていない。これを明らかにするために、実験動物を特殊な環境下で生育させた後に、行動実験で環境の効果を検討し更にfMRIと単一細胞活動記録を併用して脳内の変化（神経細胞の応答特性の変化）を明らかにする。

6) 実験内容：生後間もなく実験動物を特殊な環境下で飼育する。臨界期の存在および時期を検討するため、6ヶ月間から12ヶ月間、顔・色彩・動きを経験させないような視覚環境を保つ。

その後、視覚弁別課題を行わせ、幼児期の視覚環境の効果を行動科学的に明らかにする。本年度は、昨年来飼育してきた幼少ザルの行動実験とfMRIによる脳活動計測を行い、顔を見たことのないサルがどのように顔を認識しているか、色を見ることなく育ったサルが色彩をどのように知覚しているのか明らかにするとともに責任部位を同定する。実験動物に対しストレスを与える操作、侵襲的操作は以下の通りである。

- ・ 摂水制限（水を報酬とした訓練を行うため、ケージ内での摂水量を制限する）
但し、成長期のサルを用いるため、少なくとも体重が減少しないことを週に1度確認する。体重が減少しそうなときは摂水制限をはずす。
- ・ モンキーチェアの使用（一日三時間以内）
- ・ 訓練（まず、サルがモンキーチェアに自発的に座るように訓練する。次に、摂水量を制限し、水分を報酬としたオペラント学習を訓練する。報酬のみでは十分に水分が得られない場合は、訓練後に不足分を与えて、少なくとも自由に飲水できる時の摂水量の80%を摂取できるようにする）
- ・ 頭部外科手術：専用の手術室で、滅菌済み器具、滅菌済み使い捨て消耗品を使用して、また術者は滅菌ガウン、手術手袋、帽子、眼鏡をつけて無菌的に行う。
（頭部固定用の固定具の装着と、微小電極法による記録及び刺激用のチェンバーの装着、頭骨の一部除去。ケタラールによる導入麻酔後ネンブタールによる全身麻酔下で無菌的に行う。術後には抗生剤を投与し、感染を防ぐ）
- ・ 微小電極の刺入1（サルをモンキーチェアに坐らせた状態で、覚醒時において、神経活動の記録を行う）

微小電極の刺入2（麻酔非動化した状態において、神経活動の記録を行う。実験では、実験動物を、ケタラールによる導入麻酔後、笑気ガスとイソフラレンで麻酔し筋弛緩剤で非動化する。脳波と心拍を常時モニターし、適切な麻酔深度（必要ならネンブタールの注入）を保つと同時に、直腸温をモニターし適切な体温を維持する。体重の増減を観察しながら、7ないし10日に1度の割合で、6ないし8時間

程度の実験を行う。)

- ・ fMRI 計測 (麻酔非動化した状態において、脳機能活動の記録を行う。実験では、必要に応じて麻酔剤 (ネンプタール) をすみやかに投与できる準備をした上で、実験動物を笑気ガスとイソフラレンで麻酔し筋弛緩剤で非動化する。

体重の増減を観察しながら、7ないし10日に1度の割合で、2時間程度の実験を行う。) 但し、成長期のサルを用いるため、少なくとも体重が減少しないように配慮する。

体重が減少しそうなときは、体重増加が確実になるまで実験を中断する。

- 7) 動物実験を必要とする理由: 本研究の成果は、将来的に回路形成に関わる環境因子および脳内の物質的な因子を同定し、育児法あるいは教育法の改善への応用が可能になると期待できる。そのためには、ヒトに近い機能をもつサルを使用して、幼児期に特殊環境下で生育させる必要があり、また、環境の効果を検討するために、生育後に大脳皮質の活動を記録する必要がある。
- 8) 実験室: 産総研つくば北 [REDACTED]
- 9) 飼育室: 産総研つくば北 [REDACTED]
- 10) 動物種系統、性別、匹数: ニホンザル 24頭 (3年間の使用総数: 24頭、継続数: 24頭)。臨界期の時期の確認が必要になった場合には、新たに4~8頭を購入する。ニホンザル (マカク猿) の大脳皮質、特に視覚系の構造が、ヒト皮質の構造に極めて似ているため、ヒトの脳機能を推定するためには他の種に変えがたい。また、行動実験の結果を統計解析するために、1群あたり4頭以上の個体数を必要とするため。

1 1) 使用薬品等

- (1) 有害化学物質: 使用しない。
- (2) 抗生剤: ベンジルペニシリンプロカイン、硫酸フラジオマイシン、セファメジン。
- (3) 麻酔薬: ネンプタール、ケタラール、イソフラレン、笑気ガス。
- (4) 筋弛緩剤: ガラミン
- (5) 微生物: _____
- (6) その他: 特になし

1 2) 苦痛軽減法、苦痛の有無の判定法:

- ・ 外科手術: ケタラールによる導入麻酔後ネンプタールによって全身麻酔して手術を行う。耳孔には、あらかじめキシロカインゼリーを塗布する。眼球乾燥予防にテラマイシン眼軟膏を塗布する。心電図により麻酔深度をモニターし、反射的運動がないこと、苦悶の表情を示さないことを視認する。麻酔深度が浅くなりそうであると、ネンプタールの追加静注をおこなう。
- ・ fMRI 撮影時には、実験動物を笑気ガスとイソフラレンで麻酔し筋弛緩剤で非動化する。

モンキーチェアでの覚醒実験: サルが嫌がる、暴れる場合は無理に実験を進めず、実験を中止してケージに戻す。

- ・ モンキーチェアでの麻酔非動化実験: ケタラールによる導入麻酔後、笑気ガスとイソフラレンで麻酔し筋弛緩剤で非動化する。脳波と心拍を常時モニターし、適切な麻酔深度 (必要ならネンプタールの注入) を保つと同時に、直腸温をモニターし適切な体温を維持する。
- ・ 電気生理実験や薬物注入実験において、サルが疲れた様子を示したときは翌日実験しないで実験の休日を設ける。

1 3) 安楽死の方法: 本年度は該当しない。

14) 飼育継続の場合の状況(実験継続、飼育のみかどうか等) : 継続飼育の24頭は
前期より実験に使用。

15) その他: 本年(2005年)秋までに、1歳を超えたサルに対して血液検査、糞便
検査を実施する。