

による機械受容チャネルの解析, またカルシウム蛍光色素を用いた機械刺激にともなう細胞内カルシウム動態を測定することができるという利点がある。

方法: 実験殺によるサルから胸部大動脈を摘出し, 滅菌生理食塩水に入れ充分に冷やす。洗浄後, クリーンベンチ内で血管軸方向に切開し血管内側に位置する内皮細胞をメス刃により剥離した。遠心分離後, ディッシュに播き培養した。培養条件を決定するために2種類の培地にて細胞増殖曲線を求めた。培地として, イーグル MEM にウシ胎児血清を20%添加したもの(ET 培地)と市販のヒト内皮細胞培地 ET-UV (三光純薬)を用いた。機械刺激法はシリコン膜上に細胞を培養し Fura 2 を用いたカルシウム蛍光顕微鏡にて測定した。結果: 分離培養後, 3・5・7・9・12日後の細胞の数をカウントしたところ ET 培地中では細胞は殆ど増殖せずむしろ減少した。一方, ET-UV 培地中では細胞の増殖は著しく7日ではほぼコンフルエントになり初期細胞数の約10倍になった。

機械刺激による細胞内カルシウム動態の解析は現在進行中である。

考察: この結果はヒトサイ帯静脈より得られた血管内皮細胞でのデータと一致する。この培養条件でサル大動脈内皮細胞を分離・継代することができた。

計画: 11-1

ニホンザルの花粉アレルギーに関する研究

—肥満細胞を中心にして—

永井博式・稲垣直樹(岐阜薬大・薬理)

ニホンザルにおける花粉症の発症機序を知る目的でアレルギー性メディエーター, 特にニューロペプチドの意義について検討を行った。すなわち, アレルギー性鼻炎の症状のうち, 鼻汁分泌亢進, くしゃみ発作および鼻閉のいずれにも肥満細胞由来のケミカルメディエーターの関与が考えられる。これまでの研究ではサブタンクス P (SP) の *in vivo* での適用により下鼻甲粘膜の腫張がみられたにもかかわらず, *in vitro* での摘出鼻粘膜標本からは SP によりヒスタミンの遊離はみられなかった。そこで, ニホンザル摘出鼻粘膜標本に SP を作用させた際に遊離するロイコトリエンなど他のメディエーターについての検討を行った。

SP によりロイコトリエン C₄ はごく微量遊離されたが, 他のメディエーターは検出されなかった。したがって, *in vivo* での粘膜浮腫は axon reflex により惹起されたものと思われた。

今後は, 鼻粘膜での神経支配あるいは単離肥満細胞の培養により, 肥満細胞の性質の確立を検討したいと考えている。

計画: 11-2

ニホンザルの花粉アレルギーに関する研究

藤本浩二(社団法人・予防衛生協会)

ヒトの各種即時型アレルギー疾患においては, IgE に対する第2の受容体である FcεRII (CD23) のB細胞やマクロファージ上での発現増加, あるいは血清中の可溶性 FcεRII (sFcεRII) レベルの上昇が調べられており, アレルギーの活動状態と FcεRII との関係が注目されている。本研究では, サル類の FcεRII 検出に当たっての基礎的検討を行った。

1. サル血清中の sFcεRII を2種類の抗ヒト FcεRII モノクローナル抗体を組み合わせ ELISA 法で測定した。測定結果はヒトが340U/ml, チンパンジー56U/ml, オランウータン124U/ml, アジルテナガザル20U/mlであった。同時に調べた旧世界サル6種, 新世界サル5種, 原猿4種では検出不能であり, 使用したモノクローナル抗体がこれらの小型サル種とは反応しないことが考えられた。

2. サルト異 EB ウイルスでトランスフォームしたカニクイサルB細胞株上での FcεRII (CD23) の発現を抗ヒト CD23モノクローナル (H107: ニチレイ) を利用して FACS で調べた。カニクイサルB細胞株にヒト由来 B-cell Growth Factor (BCGF) を加え, 48時間培養した場合最も強い CD23の発現が認められた。

今後は CD23陽性カニクイサルB細胞株を利用して, サル類の CD23に特異的に反応するモノクローナル抗体を複数作成する必要がある。

なお, 旧世界サル IgE の測定については抗ヒト IgE ポリクローナル抗体を利用したサンドイッチ ELISA で定量系が確立でき, 標準化を進めている。