

測定は困難であったが、妊娠したニホンザルの血清は、用量依存性の反応を示し、その用量反応曲線は、ブタリラキシンの標準品のものと平行した。

2. ニホンザルの妊娠期間中血中リラキシン濃度
5頭のニホンザルを用いて、妊娠全期間を通じて2週間間隔で採血し、上記1で設定した方法により血清中リラキシン濃度の測定を行った。

血中リラキシン濃度は、妊娠成立前は低く、妊娠20週頃に第一のピークを形成した後、いったん低下し、妊娠60週頃から再び上昇し、妊娠期間中高値を示した後、分娩と共に急激に低下した。分娩後は、低値で経過したがある程度の血中レベルを維持し、妊娠前のレベルまでは低下しなかった。以上の結果から、第一のピークを形成した時期が、絨毛性腺刺激ホルモン(mCG)の分泌時期と一致することが判明した。これらの結果を総合すると、妊娠黄体からのリラキシン分泌には、mCGが促進的に作用するものと推察された。また、サルでは、分娩時期の黄体に形態学的に賦活する像がみられることから、泌乳初期のリラキシン分泌と黄体機能との関連性が示唆された。今後は、妊娠期間中に分泌される他のホルモンの分泌変化と比較検討する予定である。

自由：28

ニホンザルの卵巣の性成熟にともなう組織学的な変化

春木 康男(東海大・医・形態)

多くの哺乳類の卵巣に多卵性卵胞が認められるが、ヒト以外の霊長類に関する記載は少ない。またヒトの多卵性卵胞は、加齢とともに減少し、正常な成人では存在しないとする報告が多い。本研究は、ニホンザルの卵巣における多卵性卵胞の、性成熟にともなう変化について検討した。

試料は京都大学霊長類研究所で飼育されていた1~6歳の計9個体から採取し、常法通り Bouin液あるいはホルマリンで固定後、パラフィン包埋した。全体または半切の卵巣を6 μ mの連続切片とし、PASまたはH-E染色後、観察した。

その結果、すべての個体から得られた卵巣に、様々な発育段階の多卵性卵胞が存在することが確認された。また卵巣内の全卵胞数に対する多卵性卵胞数の割合は、ニホンザルではヒトより高く、

また年齢による差は認められなかった。

原始卵胞では、卵母細胞の大きさは同一卵胞内の卵母細胞数に関わらず、差が認められない。一次卵胞・二次卵胞では多卵性卵胞の卵母細胞の発育は正常なもの(一卵性卵胞の卵母細胞)より遅れるが、三次卵胞になると正常なもの大きさに近づく。しかし、同一卵胞内で卵母細胞の大きさに差が認められるものも存在した。

これまで多くの研究者が、ヒトの多卵性卵胞は早い時期(新生児期)に退縮する運命にあると考えてきた。しかしここで得られたニホンザルの多卵性卵胞の観察結果は、年齢に関わらず高い頻度で多卵性卵胞が認められるという、ヒトの卵巣に関する Gougeon (1981) の報告に一致するものであった。数が多いこと、大型の三次卵胞も存在することから、ニホンザルの多卵性卵胞は、卵巣の生理的機能のうちホルモン産生等に関しては、正常な卵胞として関与しているのではないかと考えられる。ニホンザルでは多胎はまれであり、このような多卵性卵胞が排卵する可能性は低いが、排卵された複数の卵のうちの一個が受精する可能性もある。これらの点に関しては、今後の検討を必要とする。

自由：29

サルにおける銅付加IUD(子宮内避妊器具)の作用機序

石川睦男・千石一雄(旭川医大・産婦人科)

受胎調節法の一つである子宮内避妊器具(Intrauterine Contraceptive Device, IUD)は、全身の影響が少ない、特に内分泌動態に与える影響が少ない、また、可逆性を有しIUDの抜去により直ちに妊娠可能となる、長期的効果が得られる等の利点を有するために理想的な受胎調節法に近いと考えられる。これらのことから、本法はヒトでは古くから用いられ、現在では動物園動物またサルへの応用もなされている。その避妊機序については、これまで数多くの研究がなされ、受精卵の着床阻害によりおこるとされている。しかし、依然としてその詳細は明らかにされていない。本研究では、様々な形状のIUDの中で、より効果が高く、副作用が少ないとされるFD-1型の銅付加IUDを用い、その子宮内膜および受精卵に対する作用について検討を行った。

1. 子宮内膜に対する作用

銅付加IUDを装着された子宮内膜を組織学的に調べた結果、子宮内膜間質の増殖、マクロファージの増加、多核白血球の浸潤、毛細血管拡張が観察された。また、組織化学的には、内膜組織中プロスタグランディンEおよびFの増加、Mucosubstanceの増加が認められた。

2. 受精卵に対する作用

排卵後直ちに卵の回収を行うために、リアルタイムに判定が可能なELISAによる唾液中Progesterone測定法を開発し、これに基づき、卵を採取した。得られた卵を形態学的、細胞遺伝学的に検討した結果、すべての卵は未受精卵および変性卵であり、受精卵は採取できなかった。変性卵の出現頻度は約30%であった。

これらのことから、銅付加IUDが内膜への局所作用によって着床が阻害される可能性が示唆された。また、受精卵への作用については、受精卵採取ができなかったことから、可能性は否定できないものの、詳細は不明である。

自由：31

サル類における体外受精、胚培養および生殖細胞の長期保存に関する研究

山海 直 (国立予防衛生研究所・筑波医学実験用霊長類センター)

精子・卵子の凍結保存、体外受精、胚培養などは、数種のサルで成功している。マカク属ではアカゲザル、カニクイザルで報告されているが、ニホンザルでの報告は少なく、精子、卵子に関わる基礎データの蓄積が必要である。我々は、昨年度の本プロジェクト研究において、ニホンザルの凍結精子と卵胞卵を用いた体外受精に成功している。本年度は、これらの成績をさらに向上させて本技術を確立することを目的として、ニホンザル凍結融解精子についての基礎検討を行った。

1) 体外受精に関わる技術の再現性

卵子の採取、精子の採取、卵子・精子の犬山市からつくば市までの運搬、精子の凍結保存、体外受精、受精卵の発育培養について既報 (昨年度報告書) の方法で試みたところ、個体差を認めたものの本技術の再現性が確認された。

2) 凍結融解精子の性状

精巢上体精子の凍結保存において、融解後、活

性良好な精子を回収することに成功している。これらの精子を用いた体外受精においても受精を確認しているが、凍結融解精子の性状については不明な点が多い。今回、体外培養系を用いて凍結融解精子の生存性、活性、運動性などについて経時的に観察した。我々が開発したTTE希釈液を用いた方法で精子を凍結融解し、percoll洗浄した結果、生存率90%、活性+++の良好精子が回収できた。これらの精子を培養したところ、caffeineとdBc-AMPを含んだTYH mediumで培養したものは、培養30分ですでにhyperactivationを示す精子が認められた。しかし、3時間目以降、徐々に生存率、活性の低下が認められた。一方、caffeine、dBc-AMPを含まないmediumで培養した場合、長時間 (24時間以上) にわたって生存精子を確認することができたが、hyperactivationは認められなかった。今回の結果は、カニクイザルでの成績と類似するものであった。カニクイザルでは受精能獲得、先体反応などについて、詳細な成績を得ているが、ニホンザルにおいても同様の性状を有していることが強く示唆された。

自由：32

霊長類の唾液シスタチンおよびシスタチン遺伝子群の比較研究

羽賀俊明・水口 清 (東京歯科大・法歯)
竹中 修 (京都大・霊長研)

ヒトのシスタチン遺伝子 (CST) は遺伝子ファミリーを形成し、現在少なくとも7つの遺伝子座位が存在することが明らかにされており、唾液中にはこれらのうち5種の遺伝子産物が存在することが確認されている。しかし、非ヒト霊長類にこれらのどの種の遺伝子が存在し、どの遺伝子が発現されているかについては明らかにされていない。そこで、それぞれ2頭のオオガラゴ (Gc)、ミドリザル (Ca)、アカゲザル (Mm)、ニホンザル (Mfu)、マントヒヒ (Ph) の唾液及び血液、ワタボウシタマリン (So) 2頭の血液、カニクイザル (Mfa) 1頭の唾液を用いて、唾液蛋白シスタチン及びシスタチン遺伝子群の比較をおこなった。唾液蛋白シスタチンは、ヒトのシスタチンS (CST4)、SA (CST2)、SN (CST1)、D (CST5) の電気泳動パターンと比較したところ、Ca、Gcおよび1頭のMfu (若桜) はシス