

## 遺伝子情報分野

竹中 修・景山 節・中村 伸・浅岡一雄

### 研究概要

#### A) DNA分析による霊長類の系統解析

竹中 修・川本咲江<sup>1)</sup>・リナ・H・ステイジ<sup>2)</sup>

ミトコンドリアDNAには進化速度を異にする領域があり、群内の個体差の検出から種間系統関係まで、対象の霊長類のどの側面を解析するかにより使い分けることが可能である。チトクロームb遺伝子の解析によるスラウエシマカク7種間の系統関係の解析を進めている。また94、95年度の海外学術調査による中部スラウエシのトンケアナとヘッキの雑種形成地帯の計7群の試料について、PCR増幅一本鎖DNA調製法を併用による塩基配列決定比較を開始した。

またこの研究の一環として進化系統部門の毛利、平井氏とインドネシア、カリマンタン島の調査を行った。アジアで種分化の著しいテナガザルとアジア全域に生息するブタオザルの試料を得、分析を開始した。

#### B) 霊長類Y染色体DNAの進化

金 照洙<sup>3)</sup>・竹中 修

高等霊長類特にホミノイドの各種はその繁殖構造に差異があり、性的二型、造精能力も様々である。そこでY染色体DNAに注目し分析を行ってきた。TSPY(Y染色体上精巣特異タンパク質)遺伝子についてニホンザルのcDNAの構造を決定した。報告されているヒトの配列と比較した結果このタンパク質は内部に塩基性アミノ酸に富む領域を含み転写に関わるDNA結合タンパク質であると推測した。

#### C) アスバラギン酸プロテアーゼの構造・機能・進化

景山 節

新世界ザルの代表としてワタボウシタマリンを選び胃からペプシノゲンを抽出精製した。A、C成分が各1分子種づつ得られ、複数分子種が存在するニホンザルなどのマカク類、あるいはヒトに比べて単純な組成であった。両成分ともcDNAから全塩基配列を決定し、分子系統樹を構築した。タマリンの分岐年代はヒト、ニホンザルの分岐年

代より2倍ぐらい前に遡り、新旧世界ザルと類人猿の系統関係の概略を描くことができた。

回虫カテプシンEインヒビターの生体での利用を目的として酵母、大腸菌での発現実験を継続した。

#### D) 霊長類の止血、免疫機構

中村 伸

霊長類の生存に不可欠な生体防御系である止血(血液凝固反応)免疫(IgE産生応答)機構に関する研究を進めている。

血液凝固反応系の開始因子である組織因子(Tissue Factor, TF)について、単球での $\gamma$ 鎖と共役した受容体機能を担うことを明らかにし、TFが細胞機能の調節にも関わることを示した。また、LPS投与による実験的炎症応答において、肝臓や肺の末梢血管内で、活性化された好中球がTFを発現する新知見を得、この好中球TFが炎症初期の凝固亢進に関与することが示唆された。

IgE産生異常が要因となるスギ花粉アレルギーに関するbiomedicalな研究の一環として、肥満細胞や好塩基球表面のIgE受容体に対するヒト型化抗体を作成し、IgE受容体に対する阻害作用を検討した。この抗体は、ニホンザルのIgE受容体にも強く結合し、好塩基球での抗原特異的ヒスタミン遊離を顕著に抑制した。また、ニホンザルを用い、この抗体のFab処理による抗原性と血中動態への影響なども検討した。

#### E) 霊長類特異酵素の解析

浅岡一雄

ニホンザルとヒトによる抗マラリア薬クロロキンの代謝酵素を比較検索し霊長類の特異性を解析した。代謝物は高速液体クロマトグラフィーで分離定量し酵素活性を測定した。サル肝臓の小器官においてミクロゾームに高い比活性と収率が認められた。サル肝臓の酵素活性は $K_m$ 、 $V_{max}$ および $C_f$ において雌雄に差は無く、ヒト酵素に比較して高い反応性を示し有意差が認められた。

- 1) 技術補佐員
- 2) 日本学術振興会論博研究生
- 3) 大学院生

論文

-英文-

- 1) Kim, H.-S. & Takenaka, O. (1996) A comparison of TSPY genes from Y-chromosomal DNA of great apes and humans: Sequence, evolution and phylogeny. *Am. J. Phys. Anthropol.* 100:301-309.
- 2) Kim, H.-S., Hirai, H. & Takenaka, O. (1996) Molecular features of the TSPY gene of gibbons and Old World monkeys. *Chrom. Res.* 4:1-7.
- 3) Tanaka, T., Matsui, M., & Takenaka, O. (1996) Phylogenetic relationships of Japanese brown frogs (*Rana*: Ranidae) assessed by mitochondrial cytochrome  $\beta$  gene sequences. *Biochem. Sys. Ecol.* 24:299-307.
- 4) Hashimoto, C., Furuichi, T., & Takenaka, O. (1996) Matrilineal kin relationship and social behavior of wild Bonobo (*Pan paniscus*): Sequencing the D-loop region of mitochondrial DNA. *Primates* 37:305-318.
- 5) Ayabe, T., Park, S.-K., Takenaka, H., Sumida, M., Uesugi, S., Takenaka, O., & Hamada, M. (1996) Catalytic roles of lysines (K9, K27, K31) in the N-terminal domain in human Adenylate kinase by random site directed mutagenesis. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 40:897-906.
- 6) Sugimura, T., Kato, F., Mimatsu, K., Takenaka, O., & Iwata, H. (1996) Experimental chemonucleolysis with Chondroitinase ABC in monkeys. *Spine* 21:161-165.
- 7) Kageyama, T., Yonezawa, S., Ichinose, M., Miki, K., & Moriyama, A. (1996) Potential sites for processing of the human invariant chain by cathepsins D and E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 223:549-553.
- 8) Kageyama, T., Moriyama, A., Kato, T., Sano, M. & Yonezawa, S. (1996) Determination of cathepsins D and E in various tissues and cells of rat, monkey, and man by the assay with  $\beta$ -endorphin and substance P as substrates. *Zool. Sci.* 13:693-698.
- 9) Matsunaga, T., Iwawaki, Y., Watanabe, K., Yamamoto, I., Kageyama, T. & Yoshimura, H. (1996) Microsomal aldehyde oxygenase (MALDO): purification and characterization of a cytochrome P-450 isozyme responsible for oxidation of 9-anthraldehyde to 9-anthracenecarboxylic acid in monkey liver. *J. Biochem.* 119:617-625.
- 10) Yahagi, N., Ichinose, M., Matsushima, M., Matsubara, Y., Miki, K., Kurokawa, K., Fukamachi, H., Tashiro, K., Shiokawa, K., Kageyama, T., Takahashi, T., Inoue, H. & Takahashi, K. (1996) Complementary DNA cloning and sequencing of rat enteropeptidase and tissue distribution of its mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219:806-812.
- 11) Matsubara, Y., Ichinose, M., Tatematsu, M., Ichinose, M., Oka, M., Yahagi, N., Kurokawa, K., Kageyama, T., Miki, K., & Fukamachi, H. (1996) Stage-specific elevated expression of the genes for hepatocyte growth factor, keratinocyte growth factor, and their receptors during the morphogenesis and differentiation of rat stomach mucosa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 222:669-677.
- 12) Narimatsu, S., Gotoh, M., Masubuchi, Y., Horie, T., Ohmori, S., Kitada, M., Kageyama, T., Asaoka, K., Yamamoto, Y. & Suzuki, T. (1996) Stereoselectivity in bunitrolol 4-hydroxylation in liver microsomes from marmosets and Japanese monkeys. *Biol. Pharm. Bull.* 19:1429-1433.
- 13) Tanji, M., Yakabe, E., Kageyama, T., & Takahashi, K. (1996) The primary structure of the major pepsinogen from the gastric mucosa of tuna stomach. *J. Biochem.* 120:647-656.

- 14) Higure, A., Okamoto, K., Hirata, K., Todoroki, H., Nagafuchi, Y., Takeda, S., Katoh, H., Itoh, H., Ohsato, K. & Nakamura, S. (1996) Macrophages and neutrophils infiltrating into the liver are responsible for tissue factor expression in a rabbit model of acute obstructive cholangitis. *Thromb. Haemost.* 75:791-795.
- 15) Masuda, M., Nakamura, S., Murakami, T., Komiyama, Y. & Takahashi, H. (1996) Association of tissue factor with a  $\gamma$  chain homodimer of the IgE receptor type I in cultured human monocytes, *Eur. J. Immunol.* 26:2529-2532.
- 16) Watanabe, R., Murata, M., Takayama, N., Tokuhira, M., Kizaki, M., Okamoto, S., Kawai, Y., Watanabe, K., Murakami, H., Kikuchi, M., Nakamura, S. & Ikeda, Y. (1997) Long-term follow-up of hemostatic molecular markers during remission induction therapy with all-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia, *Thromb. Haemost.* 77:641-645.

#### 総説

##### -和文-

- 1) 中村 伸 (1996) 単球での組織因子発現とその生体内機能. *血液・腫瘍科* 33 : 273-283.
- 2) 小口 淳, 中村 伸 (1996) 凝固機序, 組織因子とDIC. *医薬の門* 36 : 174-178.

#### 報告・その他

##### -和文-

- 1) 橋本千絵, 竹中 修, 古市剛史 (1996) ミトコンドリアDNAの塩基配列によるピグミーチンパンジーの血縁解析. *DNA多型* 4:141-146.
- 2) 中村 伸 (1996) 組織因子. *臨床検査* 40 : 131-134.

#### 学会発表等

##### -英文-

- 1) Takenaka, O. (1996) Non-human primate as animal models for human disease. The 2nd International Symposium of Biomedical Laboratory Sciences (Nov. 1996, Pusan)
- 2) Harihara, S., Shimizu, K., Hashimoto, T., Varavudhi, P. & Takenaka, O. (1996) The DNA polymorphisms in the  $\beta$ -globin gene cluster of *M. fascicularis* from Thailand. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.8.
- 3) Kim, H.-S., Hirai, H., & Takenaka, O. (1996) Molecular features in TSPY gene of gibbons and Old World monkeys. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.9.
- 4) Tanaka, T., & Takenaka, O. (1996) Phylogenetic relationship of the genus *Macaca* inferred from the DNA sequence. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.10.
- 5) Inoue-Murayama, M., Takenaka, O., Terao, T. & Murayama, Y. (1996) Origin and divergence of a human personality related gene in non-human primates. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts, p.11.
- 6) Takenaka, A. & Takenaka, O. (1996) Distribution of a novel processed gene P117 in the Macaques. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts, p.12.
- 7) Suzuki, H., Kawamoto, Y., & Takenaka, O. (1996) Phylogenetic relationships among the 19 species of genus *Macaca* based on restriction site variations in rDNA spacers. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts, p.18.
- 8) Soltis, J.M., Mitsunaga, F., Shimizu, K., Nozaki, M., Yanagihara, Y., Roura, X.D. & Takenaka, O. (1996) Female mate choice in mating in a Japanese macaque group. *Intl. Symp. Evol. Asi. Prim.* (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.15.

- 9) Takenaka, O., Kawamoto, Y., Setyadjl, R. H., Suryobroto, B. & Harihara, S.(1996) The Sulawesi macaques - Molecular approach. Intl. Symp. Evol. Asi. Prim. (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.51.
- 10) Takenaka, O., Setyadjl, R., Suryobroto, B., Watanabe, T., Watanabe, K., Kawamoto, Y., Hamada, Y. & Gotoh, S. (1996) Origin and evolution of the Sulawesi macaques: sequence mitochondrial DNA. XVIth Congr. Intl. Primatol. Soc. (Aug. 1996, Madison, USA) Abstracts no.486.
- 11) Takenaka, A., & Takenaka, O. (1996) Processed P117 gene in primates. XVIth Congr. Intl. Primatol. Soc. (Aug. 1996, Madison, USA) Abstracts no.487.
- 12) Tanaka, T. & Takenaka, O. (1996) Molecular phylogeny of the genus *Macaca*. XVIth Congr. Intl. Primatol. Soc. (Aug. 1996, Madison, USA) Abstracts no.736.
- 13) Kageyama, T. (1996) Molecular evolution of Asian macaque pepsinogens. Intl. Symp. Evol. Asi. Prim. (Aug. 1996, Inuyama) Abstracts p.7.
- 14) Nakamura, S., Higure, A., Todoroki, H., Imamura, T. & Ohsato, K. (1996) A new function of neutrophils: Their tissue factor expression to activate blood coagulation, the 26th Congress of the International Society of Haematology.
- 15) Soejima, H., Ogawa, H., Suefuji, H., Nishiyama, K., Misumi, K. & Nakamura, S. (1996) Effect of enalapril on tissue factor (TF) and free tissue factor pathway inhibitor (TFPI) in patients with acute myocardial infarction, the 69th American Heart Association Scientific Sessions.
- 16) Matsumoto, Y., Kawal, Y., Murata, M., Handa, M., Nakamura, S. & Ikeda, Y. (1996) Shear stress augments thrombomodulin expression and attenuates TNF $\alpha$ -induced tissue factor expression in cultured endothelial cells, the 3rd International Zimmerman Conference.
- 17) Watanabe, R., Murata, M., Tagayama, N., Tokuhira, M., Yokoyama, K., Moriki, T., Kikuchi, M., Nakamura, S. & Ikeda, Y. (1996): Long-term follow-up of hemostatic molecular markers during therapy with all-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia, the 38th Annual Meeting of the American Society of Hematology.

-和文-

- 1) 川本 芳、竹中 修、渡邊邦夫、濱田稔、後藤 俊二、渡邊 毅、Bambang Suryobroto (1996) *M.tonkeana*と*M.hecki*の雑種地域に関する集団遺伝学的研究. 第12回日本霊長類学会. 霊長類研究 12:257
- 2) 井上一村山美穂、竹中 修、大澤秀行、村山裕一 (1996) Personality遺伝子の起源. 第12回日本霊長類学会. 霊長類研究 12:258
- 3) 後藤俊二、竹中 修、渡邊邦夫、濱田 稔、川本芳、渡邊 毅、Bambang Suryobroto, Dondin Sajuthi (1996) スラウェシマカクの寄生虫叢の特徴及びその血液性状. 第12回日本霊長類学会. 霊長類研究 12:300.
- 4) 竹中晃子、竹中 修 (1996) 霊長類に見いだされたプロセスト遺伝子P117. 第50回日本人類学会. (1996年10月佐賀) アブストラクト集 p.65.
- 5) 景山 節・米澤 敏・森山昭彦 (1996) カテプシンD、Eの切断特異性とインヴァリアント鎖のプロセッシング. 第69回日本生化学会(1996年8月, 札幌). 生化学 68:768.
- 6) 景山 節(1995) 回虫のカテプシンEインヒビターのクローニングと酵母での発現. 第67回日本動物学会 (1996年9月, 札幌) Zool. Sci. 13(suppl.): 52.
- 7) 香川英生、野村昌作、福原資郎、小宮山豊、宗像真知子、高橋伯夫、神窪勇一、中村 伸、松田保、加藤久雄 (1996) DIC患者における血漿free TFPIと血管内皮細胞由来 small vasicle上TFとの関係. 第58回日本血液学会、Int.J.Hematol. 63(Suppl.1):292(#753).

- 8) 中村 伸、日暮愛一郎、大里敬一 (1996) Tissue Factor発現細胞としての顆粒球の新機能. 第58回日本血液学会、Int.J.Hematol. 63(Suppl.1): 295 (#760).
- 9) 平島 豊、中村 伸、遠藤俊郎、栗本昌紀、高久 晃 (1996) SAH後のCSF中組織因子とthrombin-antithrombin III complex濃度: SAHの重症度と予後の関係. 第55回日本脳神経外科学会.
- 10) 前田義久、相馬正幸、松浦一郎、笠倉新兵、中村 伸 (1995) 白血病におけるTFの解析. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 356(#3).
- 11) 日暮愛一郎、轟木秀一、岡本好司、永渕幸寿、成田成彰、伊藤英明、大里敬一、中村 伸 (1996) 切除肝組織におけるtissue factor発現の検討. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 356 (# 4) .
- 12) 小宮山豊、宗像真知子、香川英生、村上 卓、楢田 緑、野村昌作、中村 伸、福原資郎、高橋伯夫 (1995) 組織因子希釈プロトロンビン時間の意義と臨床検体への応用. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 357 (# 5) .
- 13) 島田逸人、相馬正幸、前田義久、松浦一郎、笠倉新兵、中村 伸、加藤久雄 (1995) 妊娠時におけるtissue factor (TF), tissue factor pathway inhibitor (TFPI) の変動. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 360 (# 11) .
- 14) 平島 豊、中村 伸、遠藤俊郎、桑山直也、成瀬優知、高久 晃 (1996) クモ膜下出血患者内頸動脈血中のPAF、サイトカイン、組織因子の変化. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 427 (#145).
- 15) 轟木秀一、日暮愛一郎、岡本好司、伊藤英明、大里敬一、中村 伸 (1996) ウサギ胆管炎モデルにおける臓器障害に対するDEGR-VIIaの効果. 第19回日本止血血栓学会、血栓止血誌 7: 428 (# 148) .
- 16) 浅岡一雄 (1996) 抗マラリア薬クロロキンの酵素的分解. 平成 8 年度日本薬学会東海支部例会 (静岡), ファルマシア 32:1558.
- 17) 小林直子、小野聡、筒井通雄、浅岡一雄、成松鎮雄 (1996) サル肝上清画分による Propranolol 活性代謝物 4-

Hydroxypropranololの硫酸抱合反応における立体選択性—ヒト肝癌由来HepG2細胞との比較—. 第11回年会日本薬物動態学会 (金沢) .

## ニホンザル野外観察施設

大沢秀行 (施設長・兼) ・東 滋  
渡辺邦夫・足沢貞成<sup>1)</sup>

本施設の運営は上記3教官のほか、森 明雄・鈴木 晃・山極寿一によって進められた。平成元年度の各ステーションの状況は次の通りである。

### 1. 幸島観察所

幸島の群れは昭和23年以來の蓄積された資料をもとに、野外観察施設の中では独自の位置を占めている。主群のボスである老齡のノソ (29才) は、今年も健在でなおその地位を保っており、長寿記録を塗り替えつつある。昨年冬は、渡り鳥のツグミやヒヨドリなどが記録的に少なかったらしく、全島的に木の実がずっと豊富であった。その影響であろうか、17頭 (内2は双子、1死産) の出産があった。特筆すべきことは、1972年に餌を減らして以來、1才以下の子持ちメスによる連年出産は全く見られなかったのが、今年に限って3例もあったことである。その後、11頭が死亡して新生児は6頭が残るだけであるが、自然条件が群れの繁殖に及ぼす影響の大きさをみせつけられた1年であった。なお双子の出産は、幸島では2例目である。また連年出産のチガヤの子が、生後5日ほどで子供をなくしたばかりのユズに誘拐され、そのままになってしまう事件もあった。なおチガヤの子はその後、3~4ヶ月で死亡している。主群とマキグループの間での、オスの交代があいかわらず頻繁に起こっており、2~3年前とは大幅に顔ぶれが交代した。平成9年3月の時点での島内の個体数はマキグループ12頭を含め90頭である。

天然記念物である幸島のサルを守るため、文化庁の指導の下「幸島猿生息地保護対策検討委員会」が定期的集まりをもち、「天然記念物『幸島サル生息地』保存管理計画書」を作成した。その基礎資料を得るために、昆虫や植物相などより総合的な調査が進められた。その結果、1970頃と比べると植生の変化がかなり大きかったことが分かつ