

低下と共にやせが目立ち、 $B > A$ となり、その後 $A \approx B$ となった。A、CおよびB、Cに関しては、明らかに $A > C$ 、 $B > C$ の順であった。同居時のACTHの変化は、いずれの組み合わせにおいても、優位と判定された個体で一過性のピークがみられ、一方劣位と判定された個体では、抑制あるいは無反応と考えられる経過が認められた。しかしながら、同居を二日にわたり二回繰り返した場合、ACTHの反応は、優位劣位間で差がなくなり、同じように抑制あるいは無反応となった。次に、コルチゾルの反応は、ACTHの変化と平行することもあるが、又全く異なった変化を示すこともあり、相対的な関係がACTHの場合と逆転するものも認められた。

一般に、ストレス時における生理的反応は、視床下部-下垂体-副腎系を通じて生ずることが知られており、いかなる個体においても、この反応が普遍的に起こると考えられている。確かに、拘束、寒冷、電気ショックなど、種々の物理的ストレスに対する反応では、個体間に定性的な差はみられていないが、本研究において、コミュニケーションの場におけるストレス状況下で個体間に著しいストレス反応の差が認められたことは、新しい知見である。劣位サルにおける反応の抑制あるいは無反応は、視床下部あるいは下垂体での抑制的反応の存在をうかがわせ、ストレス疾患（心身症）との関連においても、今後さらに検討すべきものとする。

計画：10-5

機械刺激に対するサル血管内皮細胞の反応

成瀬 恵治

（名古屋大学医学部第二生理学教室）

サル血管内皮細胞を分離培養し、その種々の刺激に対する反応を細胞内カルシウム動態を指標として評価するとともにヒトで得られたデータと比較した。

<方法>

ヒト内皮細胞はサイ帯静脈より酵素的に分離した。サル血管内皮細胞は実験殺によるサルの胸部大動脈、腹部大動脈より剥離法にて分離し培養した。サル血管内皮細胞は昨年度報告したようにヒト内皮細胞用培地（EGM-UV、三光純薬）にて継代培養した。

細胞内カルシウム測定は定法に従い、Fura2/AMを用いた顕微測光を行った。機械刺激としては低浸透圧法を、またATPに対する反応も観察した。

<結果・考察>

低浸透圧刺激（50%）に対しては一過性の細胞内カルシウム上昇とそれに引き続く持続的な上昇がみられ、刺激を停止するとともにもとのレベルに戻ることが観察された。これはヒト血管内皮細胞で既に報告した反応と酷似しており、細胞外液カルシウムに依存性し、またガドリニウムで抑制された。細胞外にATPを投与してもヒト血管内皮細胞同様に一過性の細胞内カルシウム上昇と持続相からなる反応が得られた。これらの反応では内皮細胞採取部位による有意な差は見られなかった。

計画：11-1

リボソームRNA遺伝子の変異に基づく霊長類の系統分類

鈴木 仁（東京慈恵会医科大学・医科研）

本研究は簡便法であるリボソームDNA（rDNA）のスペーサー上の制限酵素断片長の多型性（RFLP）を指標とし、霊長類の系統分類学的類縁関係を明らかにすることを目指しており、昨年度はヒトをはじめとする大型霊長類の一群の類縁関係を解析した。本年度は形態学的に16-19種に分類されているマカク属に焦点を当てた。

rDNAのスペーサー上のRFLPの系統分類学への応用にあたり有利な点としては、（1）進化速度が早く、近縁種間の関係に適用可能、（2）ゲノム内でのコピー数が多いので、一個体から得られる情報量が多い、（3）同一交配集団内で協調進化をしているので、同一集団内での個体間変異は少ない、従って調べる個体数は少なくてもよい、（4）核ゲノムの変異を反映している、（5）方法が簡便である、などが挙げられる。

12種の制限酵素を用い、サザンブロット解析を行い、制限酵素地図を作成した。それをもとに塩基置換度を推定した。Foodenに従ってマカク属を19種に分類すると、これらは3つの大きなグループに分けることができた。（A）バーバリーマカク、（B）ブタオザル類（ブタオザルとスラウエシ島の7種）、（C）アカゲザル類（ニホンザ

ルを含む他の10種)であった。B・C間は調べた25-26個の制限酵素サイト中、3-4個の変異が認められ、A・(BC)間は5-6個であった。同一グループ内の種間では0.5-2個のサイトの変異が認められた。大型類人猿の場合ではサイトひとつの変異は50万年の分岐時間に相当したが、これをあてはめると、A・(BC)間の分岐はヒト・ゴリラの分岐と同等の時期であろうと推定された。スラウェシ島の7種のマカクはそれぞれ別々の交配集団を形成しているものと示唆されたが、分布の境界領域で交雑が起きているか否か、大陸産のブタオザル集団との関連等については今後の問題である。またニホンザルについては本土由来の個体のゲノム内のrDNAコピーの約半分で、屋久島由来の個体にはみられない、特異的なサイトの変異が認められた。この変異が亜種間のものとして再現性があるのかについては今後の課題である。

計画：11-2

ミトコンドリアDNA変異の解析によるマカク属サルの系統についての研究

針原伸二(東京大・院・理・人類)

インドネシア・スラウェシ島のマカク属サルは7種に分類され、それぞれ独自の分布域を有している。異なる2種の接する境界領域においては、雑種とみられる個体がしばしば観察されることが知られているが、今回の研究では島の北部のM.heckiとM.tonkeanaの2種が接するところで採取された試料を用いて、ミトコンドリアDNA(mtDNA)の変異を解析し、雑種形成の実態や種分化の進行などについて検討することとした。サルの血液試料は互いに数Kmの範囲にある4地点で計51頭より採取され、DNAが通常法により抽出された。抽出したDNAを10種の制限酵素、BamHI、BglII、EcoRI、EcoRV、HindIII、HpaI、PstI、PvuII、SacI、XbaIにて切断し、mtDNAの切断パターンをSouthern法にて検出し、既知のスラウェシマカクのパターン(モルフ)と比較した。

その結果、これらの個体の切断パターンには、まったく変異がなく、同一のmtDNAタイプと判定された。いずれの制限酵素のパターンも、M.tonkeanaとM.heckiどちらにもみられるもの

であったが、すべてのパターンを組み合わせたタイピングでは、4群51頭のmtDNAタイプは、これまでどのスラウェシマカクでもみられないものである。

このmtDNAタイプがどちらの種に属するものかは判断しがたいが、BglIIやXbaIのモルフや、その他の既知のmtDNAタイプとの距離などを考慮すると、M.heckiのmtDNAタイプと思われた。4群は地理的には近接した位置に分布していることもあり、母系では均一的な遺伝構成を持っていると推測された。

計画：11-3

FISH法を用いた霊長類の核型進化に関する研究および霊長類細胞株作成の試みII

田辺 秀之・水沢 博

(国立衛試・変異遺伝・細胞バンク)

平成4年度に引き続き、染色体バンディング法とFISH(Fluorescence In Situ Hybridization)法とを組み合わせることにより、ヒトと霊長類の遺伝子比較マッピングを行い、遺伝子座の位置に基づいた核型進化を考察することを目的とした。プローブDNAとしてヒト14q32.33に位置する免疫グロブリンCε1遺伝子およびヒト9q24.2-q24.1に位置するその偽遺伝子であるCε3遺伝子を用いた。Cε1遺伝子を含む免疫グロブリンCH遺伝子領域は、霊長類の進化の過程でダイナミックな重複、欠失などのDNAレベルでの再編成が生じてきたことが知られており、本研究ではこの領域の染色体レベルでの再編成の有無を7種(チンパンジー、ピグミーチンパンジー、オランウータン、シロテテナガザル、アジルテナガザル、ニホンザル、スラウェシマカク)の霊長類について調べた。PHA-MまたはCon-Aをmitogenとした全血培養法により各種霊長類の染色体標本作製し、Q分染像を写真撮影した後にFISH法を行った。撮影したQ分染像と同じ分裂像のFISHのシグナル部位とを比較した。ヒト14番および9番染色体に特異的なペインティングプローブを併用した結果、Cε1およびCε3遺伝子ともにそれぞれヒト14番および9番染色体にペインティングされる霊長類染色体領域上にマッピングされた。すなわち、これらの遺伝子座はヒトの遺伝子座と対応する位置に存在し、核型進化上、高度に保存されているこ