

はIgG₁が3例、IgMが1例、L鎖は全てκ鎖であった。それらが認識する抗原は、59KDと68KDの分子量を持つと推定された。抗原の細胞あるいは組織特異性については現在も検索を続けているが、神経芽細胞腫に特異的なものと、より広いすなわち、特異性の低いものがあるようだ。平成4年度の共同利用研究においてはこの点を調べる予定である。

(2) ニホンザル神経系の培養について

ニホンザル成獣の脳より細胞を分離、*in vitro*での長期培養を試みた。顕微鏡下での観察によると、ニューロン、グリア、線維芽細胞様の細胞が見られた。培養後約3週間程でニューロン様の細胞は見えなくなったが、GFAP陽性細胞は2カ月以上確認された。これらの培養標本と上記単クローン抗体を併せ解析を進めている。

自由：16

霊長類におけるペプチジルアルギニンティミナーゼ(PAD)とその反応産物の動態の研究

千秋達雄(東京都老人研・細胞化学)

PADは、タンパク質中のアルギニンをシトルリンに変換する酵素である。ラット下垂体においてはプロラクチン細胞に局在し、顕著な性差と性周期依存性を示す。ニホンザル下垂体では、雌雄ともPADはほとんど検出されなかったが、脳では有意な量が検出された(平成2年度共同利用研究報告)。PADの生体内機能は未だ不明であるが、筆者らの開発した微量検出法を用いて、サル脳ホモジネート中に分子量約50,000のシトルリンを含むタンパク質が見つかった。そこで本年度は、このタンパク質の同定と脳内局在部位の検討を試みた。深麻酔下で脱血殺したニホンザルの脳を切出し、氷水で急冷後、前頭前野、運動野、体性感覚野、下側頭回、視覚野、海馬、被殻、尾状核、視床、視床下部、小脳を採取し、ドライアイスで凍結した。これを冷却下に凍結粉末とし、冷時エタノールで脱脂後、SDSゲル電気泳動で分別し、ニトロセルロース膜にプロットした。膜上のタンパク質のシトルリン残基に特異的修飾反応を行ってから、修飾されたシトルリン残基に特異的に結合するウサギ抗体、ベルオキシダーゼ標識第二抗体をかけ、ルミノールを基質として化学発光法で検出を行った。この方法で検出された主要

なバンドの移動度は、グリア繊維酸性タンパク質(GFAP)のそれと一致した。そこで、同様にプロットした膜上でPADとGFAPの検出も行って3種のバンドについて脳領域間で相対強度を比較した。その結果、GFAPについては調べたどの個体でも領域間で顕著な差は見られなかったが、シトルリン含有タンパク質については前頭前野、視覚野、尾状核、視床、視床下部、小脳などで陽性バンドが見られたが、相対強度は個体間でまちまちで、必ずしもPADのバンド強度とも対応しなかった。GFAPは、試験管内でも 10^{-6} の Ca^{2+} が存在すると容易にPADによる修飾を受けるので、検出されたバンドが生体内に元からあったと断定するのは時期尚早である。今回得られた結果からは、PADが脱血殺後に起こるような生理的条件の変化があった時に活性化されて働く酵素で、その虚血条件下での細胞・組織障害との関わりが示唆された。

自由：17

霊長類の下垂体隆起葉の構造と機能の解析

太田 吉彦(静岡大・理)

ニホンザルを材料としたこれまでの研究により、腺性下垂体の隆起葉には甲状腺刺激ホルモン(TSH)及び生殖腺刺激ホルモン(GTH)免疫陽性細胞の存在することが確かめられた。本年度の研究は、TSH並びにGTH免疫陽性細胞の機能調節機構をあきらかにするため、視床下部との関連性について光学並びに電子顕微鏡レベルで解析を行った。

ニホンザルの隆起葉は神経性下垂体の基部をとりかこんで存在する上皮性の腺細胞から構成されている。免疫組織化学的検索の結果、TSH細胞はやや小型で角ばっているのに対し、GTH細胞は大型で楕円状の細胞であることが確かめられた。両細胞とも隆起葉全体に散在しているが、特に正中隆起に接する部位に比較的多くみられる。電子顕微鏡で観察した結果、隆起葉を構成する細胞の多くは細胞質内に顆粒を含まない無顆粒細胞であるが、このほかに特徴的な暗調顆粒を含む顆粒細胞が少数混在している。顆粒の形状から、平均直径170nmの小型顆粒のみを含む細胞と350nmの大型顆粒を多量に含む2型の細胞が識別された。

隆起葉と視床下部の正中隆起との間には、比較

的豊富な下垂体門脈系の毛細血管が入り込んでいる。毛細血管の走行経路を電子顕微鏡レベルで解析した結果、顆粒細胞はいずれも比較的良好に発達した血管周囲間隙をはさんで毛細血管に接しており、隆起葉の分泌細胞から分泌された作用物質が毛細血管を介して前葉に運び込まれる可能性が考えられる。しかし、隆起葉の顆粒細胞からの分泌顆粒の血管内への放出像は確認されなかった。

これら2型の細胞の分泌機能の調節には、前葉の場合と同様に視床下部の神経核由来の作用物質による液性支配が考えられる。しかし、隆起葉には神経繊維が直接入り込んでいないので、血管周囲間隙をはさんで毛細血管に接している正中隆起に終末する神経軸索内の神経作用物質に対する電子顕微鏡レベルの免疫組織化学的研究を行う必要がある。

自由：18

Macaca属の下垂体前葉の各種ホルモン産生細胞における形態的ヘテロジェニティについて

立花利公・渡邊利明（慈恵医大・第2解剖）

ニホンザルの雄3歳令2頭及び雌10歳令3頭20歳令1頭の計6頭について、その下垂体前葉の成長ホルモン産生細胞、プロラクチン産生細胞及びS-100タンパクを含有する濾胞-星状細胞を光顕免疫組織化学的方法を用いて同定し、各細胞の出現頻度およびその形態的特徴について雌雄差を検討し考察した。

抗ヒト成長ホルモン抗体に陽性の成長ホルモン産生細胞には、はっきりとした雌雄差は認められなかったが、抗ウシプロラクチン抗体に陽性のプロラクチン産生細胞は、その出現頻度で雌の方が有意に高くまた形態的にも細胞の大きさが明らかに雌が大であるという雌雄差が認められた。濾胞-星状細胞は、既報の通り抗ヒトS-100タンパク抗体に反応性はなく、抗ウシS-100タンパク抗体に反応性が認められた。雄の濾胞-星状細胞は、雌のそれに比べ数が少ないにも関わらず個々の細胞の染色性は雌の染色性よりも強かった。これは、用いた雄が雌に比べ年齢的に若い事に起因する可能性も考えられる。以上の結果をふまえ、①更に加齢した雄について検討を加える。②光顕に加え電顕免疫組織化学を用いて、上記各細胞特に濾胞-星状細胞の形態的ヘテロジェニティ並びに出現

頻度等に関しての雌雄差を明らかにしたいと考える。

自由：19

哺育ニホンザルにおける卵巣機能に関する研究

笹本修司・岸 久司・盛田雅行
（東京農工大）

一般に乳子を哺育している母親は、卵巣機能が抑制され、自動的な排卵が起こらないことが知られている。ニホンザルにおいても、子を哺育している母ザルでは繁殖季節になっても月経周期を回帰しないことが知られている。しかし、このような泌乳中のニホンザルの生殖生理については、不明の点が多く、内分泌学的にも未解明のままである。本研究においては、乳子を哺育している母ニホンザルの月経周期を調べると共に採血を行い、血中の生殖関連ホルモン濃度を測定することにより泌乳ニホンザルの生殖機能を内分泌学的に解析した。

実験には、乳子を哺育中の母ザル4頭を用いた。対照群としては、乳子を哺育していない成熟雌ザル4頭を用い、繁殖期間（9月～3月）を通じて一週間間隔で採血し、血中卵巣刺激ホルモン（FSH）、黄体形成ホルモン（LH）、エストラジオール、プロゲステロン及びインヒビン濃度を測定した。

その結果、乳子を哺育していない雌ザルでは、繁殖季節期間中に月経周期を示し、雄と交尾して妊娠したのに対し、乳子を哺育している母ザルでは、月経周期が抑制され、血中プロゲステロンは低値のまま経過した。また、血中FSH、LH、エストラジオールおよびインヒビン濃度も繁殖期間中低値で経過した。これらの結果から、泌乳中の母ニホンザルでは、下垂体から分泌される性腺刺激ホルモンとインヒビン共に低値で経過する事実が明らかとなった。血中エストラジオールとインヒビンが低値を示す事実は、母ザルの卵胞の発育が抑制されていることを示すものである。

本研究で得られた結果を考え合わせると、ニホンザルにおいても、乳子による吸乳刺激は、中枢性に作用し、視床下部からのLH放出ホルモンの分泌を抑制し、次いで下垂体からのLHとFSHの分泌を減少させ、結果として、卵巣機能が抑制され、自動的な排卵が起こらないものと解釈された。