

このように,ORM型はカニクイザルの地理的分化を考察するのに,有用な標識遺伝子である。しかも,東南アジアの出自のカニクイザルはDNAのVNTR多型に匹敵する程のhを示し,親子関係の調査にも十分利用可能な形質である。

計画: 9-3

マカカ属サルの種内, 種間変異に関する研究
—とくに糖脂質, 脂肪酸による変異の定量化—

中野 益男(帯広畜産大・生物資源化学)

動物体の脂質を構成する脂肪酸の組成は種内で化学的特徴があり, 安定して保持されていることから, 脂肪酸の構成パターンは種間の関係を解明する標識になると考えられる。これまでに, マカカ属の頭骨, 大腿骨の脂質を構成する脂肪酸組成は, 種間で特徴のあるパターンを示すことがわかった。この成績から, 脂肪酸組成のパターンをもとにして霊長類の種内, 種間の遺伝学的変異性の定量化は可能と考えられる。本年度は霊長類の胎盤脂質を構成する脂肪酸と脂質クラス, とくに糖脂質のガングリオシドとその構成脂肪酸を調べ, その化学的特徴から, 遺伝学的変異の定量化を試みた。

新世界ザルのオマキザル科リスザル8試料, ヨザル2試料とマーモセット科のコモンマーモセット3試料, 旧世界ザルのオナガザル科ニホンザル7試料, ヤクシマザル1試料, アカゲザル3試料とボンネットザル2試料, およびヒト科チンパンジー1試料を調べた。脂肪酸組成は重回帰分析により種間の変異関係の定量化を試みた。

胎盤の全脂質および糖脂質の主要な脂肪酸はパルミチン酸, ステアリン酸, オレイン酸, リノール酸, アラキドン酸であった。とくに胎盤に特徴的に見られるアラキドン酸は旧世界ザルが新世界ザルよりも高い割合で分布していて, 種間に明確な距離が観察された。脂肪酸パターンによる重回帰分析の結果, 新世界ザルと旧世界ザルとでは0.12~0.14の相間距離で変異していた。これをヘモグロビン β 鎖の分子系統樹をもとにした変異量と比較するとマカカ属内を分岐点とする旧世界ザルと新世界ザルの分岐点はよく一致していた。

ガングリオシド糖脂質はG-1, G-2, G-3, G-4, の他に4つのガングリオシド系列の糖脂質が検出された。このうち, G-1の化学構

造はNeuAc ($\alpha 2-3$) Gal ($\beta 1-4$) Glc ($\beta 1-1$) セラミドと同定された。これはヒト胎盤・肝臓から分離されたGM₃と同じ化学構造であった。新世界ザルではG-1が欠損していた。

これらの結果は, 脂肪酸パターンおよび糖脂質クラスにより種内・種間の変異を定量化できることを示唆している。

課 題 10

計画: 10-1

ニホンザルのスギ花粉症に関する研究

橋本 道子(日獣大・野生動物)

横田 明(名古屋市立東市民病院)

峰澤 満(農水省・北海道農業試験場)

ニホンザルの花粉症の存在が, これまでの研究で明らかになっている。今回ニホンザルがヒトの花粉症の実験・研究モデルと成り得るかどうかを明らかにするために, アレルギー反応に関与する末梢血の好塩基球(basophil)について, 細胞数, 細胞形態, ヒスタミン含有量, およびスギ抗原特異的ヒスタミン遊離能に関して, ヒトと比較検討した。

ヒトおよびニホンザル由来の末梢血にデキストランT2000を加え赤血球を除去。次にトリスBuffer (pH7.2) で洗浄してbasophil richな白血球サスペンションを得て, 以下の実験に用いた。

1. サイトスピンで細胞スメアをつくり May-Grue-Wald Giemsa染色後, 顕微鏡下でカウントし, 白血球中のbasophil分率を計算した。
2. 総ヒスタミン量は, 白血球サスペンションに, 過塩素酸 (final 2%) を加え煮沸後, 遊離したヒスタミンをHPLCを利用した蛍光ポストカラム法で測定した。
3. スギ花粉抗原特異的ヒスタミン遊離量は, 感作白血球資料にスギ花粉抗原を加えて, インキュベーション後遊離ヒスタミン量を前述のHPLC法で測定した。

白血球中のbasophil分率はニホンザルで0.17% ヒトでは0.32%であった。また, basophil 1細胞当たりのヒスタミン含量は, ニホンザルで1.3pg, ヒトでは2.8pgであった。この結果より, ニホンザルのbasophil分率はヒトの1/2, 更にbasophil

当たりのヒスタミン含量もヒトの1/2である事が明らかとなり、ニホンザル血液1ml当たりのヒスタミン遊離ポテンシャルは、ヒトの約1/4であることが示唆された。なお、ニホンザルbasophilの好塩基性顆粒の染色性および密度が、ヒトのそれよりも顕著に低いことが光顕レベルでも観察された。スギ抗原特異的IgE抗体で感作されたニホンザルbasophilの抗原刺激特異的なヒスタミン遊離能は、ヒトの場合と同様なdose-responseを示したが、ヒトで見られる抗原過剰でのヒスタミン遊離の低下が認められないのが特徴であった。

計画：10-2

ニホンザルの花粉アレルギーに関する研究 —肥満細胞を中心として—

永井 博弼(岐阜薬大)

ニホンザルにおける花粉症の発症機序を知る目的で皮膚、眼および鼻粘膜のin vivo、および気管のin vitroにおけるアレルギー性mediatorの反応性を抗原によるアレルギー反応と比較検討し以下の成績を得た。

① in vivoにおける抗原およびmediatorによる反応

a. 皮膚

ニホンザルの皮膚では、histamine, LTC₄およびSPにより、いずれも抗原によるアレルギー反応と同様の膨疹形成がみられた。

b. 眼結膜

ニホンザルの下眼瞼結膜では、histamine, LTC₄およびSPにより、いずれも発赤がみられ、それらの症状は抗原によるアレルギー反応の場合と類似していた。

c. 鼻粘膜

ニホンザルの鼻粘膜では、histamine, LTC₄およびSPにより、抗原によるアレルギー反応の場合と同様、いずれも下鼻甲介粘膜の腫脹がみられた。

② in vitroにおける抗原およびmediatorによる反応

a. 摘出気管筋における抗原およびアレルギー性mediatorによる収縮反応

ニホンザルの摘出気管筋における抗原によるSchultz-Dale反応では、軽微な収縮反応がみられた。また、ニホンザル気管筋は、carbachol, LT

C₄およびU-46619により収縮したが、histamine, SPおよびPAFによっては収縮しなかった。

このようなhistamineの反応性の違いがサル類に共通の性質か否かを知る目的で、ニホンザル、アカゲザルおよびワタボウシタマリソウ気管筋について検討したところ、いずれの気管筋もcarbacholによって収縮したのに対し、histamineによってワタボウシタマリソウ気管筋のみが収縮した。

b. サルおよびヒト肺および鼻粘膜切片からのhistamine遊離

ニホンザルおよびヒト感作肺切片からは、いずれも抗原によりhistamine遊離が観察された。

ニホンザルおよびヒト感作鼻粘膜からは、いずれも抗原によりhistamineが遊離した。ヒト鼻粘膜では特に副鼻腔粘膜およびpolypからのhistamine遊離が顕著であった。

ニホンザルおよびヒト肺切片からは、SPおよびCalによりhistamineが遊離したがSPによる遊離は軽度であった。

ニホンザル鼻粘膜からは、SPおよびCalともhistamineを遊離しなかったが、ヒト鼻粘膜からはSP, Calのいずれもhistamineを遊離した。

これらのことから、ニホンザルは気管筋においてhistamineに対し反応しない。しかし、皮膚、鼻粘膜、眼粘膜においてはヒトと類似の作用を示すことが明らかとなった。

計画：10-3

サル血清からのサルIgE抗体精製に関する研究

井上 栄(国立公衆衛生院)

目的 サル血清からIgE抗体を免疫化学的方法を用いて精製をおこなうことを目的として、それに用いる抗ヒトIgE抗体のサルIgE抗体に対する交差性を検討したので報告する。

材料と方法 抗ヒトIgE：2種のポリクローナル抗ヒトIgE抗体はタゴ、キャール社より、5種のモノクローナル抗ヒトIgE抗体はヤマサ、コスモバイオ、ザイメット社より購入した。

サル血清：ニホンザルおよびカニクイザルの血清を用いた。

総IgE抗体の測定：サル総IgE抗体の測定として蛍光サンドイッチELISA法を用いた。4 μg/mlの各抗ヒトIgE抗体をマイクロプレートに固相化した後、サル血清および既知量の標準ヒトIgE抗