

計画 3-3

心理的、社会的ストレスが霊長類の免疫機能に及ぼす影響解析

寺尾恵治（国立感染研・筑波霊長類センター）

これまでにカニクイザルで母子分離などのストレス負荷後に末梢血中にU5抗原陽性のBリンパ球（U5+/B）が増加することを明らかにしている。寒冷刺激などの生理的ストレスを負荷したヒトでも同様にU5+/B細胞の増加が見られることから、U5+/B細胞がストレス関連リンパ球である可能性を考え解析を進めてきた。一方、今回偶然にミドリザル由来の細胞株COS細胞がU5抗原を発現していることを見いだした。COS細胞におけるU5抗原の発現は、細胞密度が増加すると発現の増強が認められたことから、U5抗原が細胞接触や増殖制御に関わる重要な分子である可能性が考えられた。そこで次に、COS細胞に発現しているU5抗原をコードする遺伝子の単離を目的として、U5抗原の発現がピークに達した時期のCOS細胞からcDNAライブラリーを作成した。約1万クローンのライブラリーを発現プラスミッドに組み込み、これをCHO細胞にトランスフェクトした。トランスフェクトしたCHO細胞を抗U5抗体で染色し、U5抗原を発現しているCHO細胞のクローニングを試みた。これまで3回クローニングを行ったが、最終的にU5を発現しているCHO細胞は単離できなかった。この理由として、IgMタイプのU5抗体が非特異的反応を示すことが考えられ、現在U5抗体の変換領域遺伝子を組み込んだファージ型抗体の作成を試みている。

計画 3-4

視床下部電気活動を指標としたストレス評価系の確立

西原 真杉，森 裕司，武内ゆかり（東京大・院農学生命科学）

視床下部に存在する性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）パルスジェネレーターは、パルス状の黄体形成ホルモン（LH）分泌を調節して生殖機能を制御している。本研究は GnRH パルスジェネレーターの電気活動を指標としたストレス評価系を確立することにより、ストレスによる生殖機能抑制機序の解明を目指している。本年度は昨年度に引き続き、視床下部に電極を留置した卵巣除去ニホンザルを用いて、パルス状 LH 分泌と同調して上昇する多ニューロン発射活動（MUA）を記録するシステムの確立を目指した。まず、脳定位固定装置と X 線による脳室造影像を用いて、視床下部に電極を留置する術式を確立した。MUA の記録はモンキーチェアにサルを固定して行った。また、頸静脈留置カニューレによる連続頻回採血（10 分間隔）を MUA の記録と同時に行い、LH パルスを同定した。その結果、約 50 分に一度の頻度で規則的に上昇する視床下部神経活動（MUA ボレー）が記録できた。LH パルスのピークは MUA ボレーの直後に観察され、LH パルスと MUA ボレーの一対一の対応関係が明らかであった。以上本研究により、ニホンザルにおいてパルス状 LH 分泌に同期する視床下部電気活動を記録するシステムが確立できた。MUA ボレー頻度の変化を指標とすることにより、霊長類の生殖機能を抑制する各種ストレスの中枢作用を直接かつリアルタイムにモニターできる実験系を得たことは意義深い。