

からこの節目となる年は最大のピークに当たる1953年、2度目のピークに当たる1960年及び急速に面積が減少し始める1970年であった。

3) 1940年～1990年の50年間の林道の開設距離の推移からピークは1945年と1972年であった。1945年に幅員2.5m以上の車道が全体の約5割あり、1.8m～2.2mの木馬道が約4割あった。幅員が3m以上の自動車道が林道としてつくられ始めたのは1955年からで、その距離が増加するのは1957年からであった。1965年からは山村地域の振興など多目的な林道がつくられ始めた。そのピークが1972年である。その後は減少傾向を示している。このころから林道の舗装工事や改良工事の予算が増加しており、林道は従来の奥地未開発林の開発が主目的ではなくなっている。

4) 全国のニホンザルの捕獲数は1950年から1960年までは100頭前後の捕獲数で推移するが、その後は増加傾向を示し、1975年には1288頭となる。1950年代は森林伐採と造林が大量に続き、1960年がピークとなる。その後、これらの面積は減少する。しかし、この年以後捕獲数が増加傾向を示すことは、森林の伐採と造林がニホンザルの生息環境に大きな質的变化をもたらしたと考えられる。

自由: 14

脈管系における内皮細胞性調節

臼井八郎・倉橋和義・目片文夫¹
(京都大放射性同位元素総合センター・
薬理, ¹霊長研・生理)

私達はこれまで、摘出日本サル脳動脈においてアセチルコリンにより惹起される内皮細胞依存性収縮(EDC)は、ムスカリン受容体拮抗薬、cyclooxygenase阻害薬 aspirinならびにトロンボキサンA₂(TXA₂)合成酵素阻害薬 OKY-046, TXA₂拮抗薬 ONO-3708により抑制されることを見出した。これらのことから、私達はアセチルコリンによるEDCは内皮細胞ムスカリン受容体活性化にともなう、内皮細胞由来のTXA₂様物質の遊離によるであろうことを報告してきた。また、サル脳動脈におけるヒスタミンによる弛緩反応が、内皮細胞除去により減弱すること、この内皮細胞を介する弛緩反応がヒスタミンH₁-受容体遮断薬により消失することから、H₁-受容体を介する内皮細胞由来弛緩物質の遊離によるで

あろうことを報告した。このヒスタミンによるEDRはアスピリン処置により抑制されなかったが、NO合成酵素阻害剤NMMA処置により抑制されたことより、ヒスタミンによるEDRには内皮細胞由来のNOの関与が示唆された。一方、日本サル腸骨静脈におけるセロトニン投与により一過性収縮反応が惹起され、その収縮は内皮細胞依存性収縮であること、およびサル脳動脈と同様cyclooxygenaseの代謝産物の遊離によるであろうことを明らかにしてきた。サル腸骨静脈におけるセロトニンによるEDCに対してOKY-046およびONO-3708は影響しなかった。

以上の結果から、①サル脳動脈におけるヒスタミンによるEDRはNOの遊離によるであろうこと、②サル脳動脈のAChによるEDCがTXA₂様物質の遊離によることとは異なり、サル腸骨静脈におけるセロトニンのEDCはcyclooxygenase代謝産物でもTXA₂以外の血管収縮物質の遊離によるであろうことが示唆された。

自由: 15

ヒト神経芽細胞腫の抗原はサルの神経系に存在するか?

石田 貴文(東京大・理)

神経芽細胞腫は神経外胚葉に由来する悪性腫瘍である。本研究では、日本で分離・樹立されたNB-1株を用いた。NB-1は、サイクリックAMPによって増殖が抑制され神経細胞様に変化する。本年度は、このNB-1細胞に対する単クローン抗体を作製すること、ニホンザル脳より摘出・分離した細胞を*in vitro*の系で培養維持するための条件設定をすること、の2点をおこなった。

(1) NB-1に対する単クローン抗体の作製

8週齢のBalb/cメスマウスにNB-1細胞抽出物を免疫(腹腔内)した。マウス血中にNB-1に対する抗体が確認された後、ブースターを1回かけ脾臓を摘出、その脾細胞とMOPC由来ミエローマとをポリエチレングリコール存在下で融合し、ハイブリドーマを作った。分離されたハイブリドーマクローンの産生する抗体の有無・特異性に関しては、蛍光抗体法・ELISA法・ウェスタンブロット法を用いて検索した。

約300のハイブリドーマが得られ、そのうち4株が以後の検索に用いられた。抗体のサブクラス

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