

〈巻頭随想〉

10年余の歩みと将来

……とくに研究面での一層の発展を目指して……

TPC, the past ten years and the future

本庄重男

私どものセンターは発足以来早くも10年余りの歴史を刻んだ。当初掲げた理想は、多くの関係者の努力によりかなりの部分が達成されてきたように思われる。しかし、私自身の能力不足とさまざまな客観的制約条件の故に、未達成部分や諦めてしまったこともまた数多くある。そのためか、私の内心では、過去10年余を静かに顧み、今後の道筋を熟っぽく考えてみたいとの思いが強い。あと1年数ヶ月で定年を迎える私自身がその道筋を歩むことは無いであろうが、後進の方々のために少しでも参考になればと思う。いわば早過ぎる遺言の押しつけのようなものではある。

当センターの目的は、端的に言って良質な実験用サル類を繁殖・育成すること、およびそれに関わる基礎的・技術的研究を多面的におこなうことである。当センター創設当時の予研所長福見秀雄先生は、このセンターが実験用サル類の繁殖・育成で優れた成果を挙げるだけでなく、基礎的研究面に於てもまた着実な発展を遂げるべきだ、と訓された(センター発足時の紹介パンフレットの巻頭言, 1978年5月)。また、東大医科研山内一也教授は、当センターが今後、実験用サル類の「研究」に関しても、マウス研究に関する米国のJackson研究所のような役割を果たすことを期待する旨の一文を寄せて下さった(TPC News, 5巻2号, 1986年秋)。

努力の甲斐あって私たちは幸い、良質な実験用サル類を繁殖・育成・継代して行く技術体系をほぼ確立した(Adv. Vet. Sci. &

Comp. Med., Vol. 28, pp51-80, 1984)。それは世界的にみて前例が無く、未だ後例もない方式である。そして、血液型、各種血清蛋白、リンパ球抗原、ミトコンドリアDNA等の多型性遺伝標識により家系や個体の遺伝特性を把握できる地点にまで到達した。このことは、野生生物の遺伝子資源の保全の観点からみても重要な意義を有するものと思われる。したがって今日私たちは、予算、人員、施設、制度がそれを許すならば、サルでの実験に関わる全国の医・生物学研究機関を相手に仕事を進め得る潜在能力を備えるに至ったと自負してもよいと思ふ。

一方、研究面の現況はどうであろうか。開所以来私なりに志向し職員にも求めている当センターの研究の基本方針について私は、不十分ながら既に色々な機会に述べてきたが(TPC News, 2巻2号, 3頁1983年夏: J. Med. Primatol., Vol.14, No.2, pp. 75—89, 1985; 霊長類研究, 1巻1号, 31—38頁, 1985年; TPC News 5巻2号, 3頁, 1986年秋; 実験動物36巻4号, 367—379頁, 1987年), 当センターで研究に関わる人々が折に触れ、そういった基本方針に照らして自分の研究の方向、方法や態度、位置づけについて省察を重ね、研究成果の社会への還元に努めてくれることを私は心から願っている。

ところで私たちは、センターが保持している2千頭以上ものサル総てが私たちにとっての研究対象、研究材料であり得るという、研究上誠に恵まれた立場にある。しかし、私たちの研究者数は余りにも少なく、カバーし得る学問領域も極く限られているため、それらのサルを充分活用できない恨みがある。目下のところ、他の研究機関や大学の研究者を客員研究員や協力研究員として迎え入れ協同の研究を進めている部分もあるが決して十分ではない。しかも、毎年引き続く予算削減の流れの中で、センタ

一の管理・運営の財政的基盤がゆらいでいる。この点を抜本的に改善しないと基礎研究の推進も危なくなってしまう。

一方外部では、当センターを中核とした全国的規模の実験用霊長類共同利用・供給センターの創設を求める産・官・学研究者による自主的運動が発展してきた。また、予研将来計画委員会は昨年当センターの機構改革を必要とする意見をまとめた。さらにまた、厚生科学技術会議も、実験用霊長類の確保と安定供給の体制確立の必要性を指摘した。このような情勢をみると、私たちは、センター組織・機構の根本的改革を基礎に、自らの研究者としての責務を果たす道を真剣に考究し、引き続き茨の道を前進せねばならぬことを痛感する。今、「意志あるところ道あり」の格言が私の脳裡に浮ぶ。

(1988年7月18日)

《繁殖育成情報》

屋内飼育カニクイザルの分娩時刻について

Time of deliveries in cynomolgus monkeys under laboratory conditions

長 文昭

前報「昼間の分娩について」のなかで、当センターにおけるカニクイザルの分娩時刻は大半の例で17:00～翌朝9:00の間であること、および出生仔の体毛の乾燥状態や母ザルによる体毛の手入れ状況からみて19:00～02:00の間の可能性が大きいことを記述した。その後、分娩時間帯を一層正確に把握することができたので、ここに簡単に記す。

上段に4台、下段に4台の個別サルケージを収容する架台の1.2m離れた正面に、4台のTVカメラを設置した。すなわち、1台のTVカメラが左右に配置された2台の個別サ

ルケージを映すことになる。TVカメラの置かれた飼育室から飼育管理区域外の観察室までケーブルをひき、4台のTVカメラ(#1～4)を任意に設定した時間(1～30秒)で切り替えることのできるスイッチャー(Victor, SW-108)を介して映像をVTR(Victor, Time Lapse, BR-9000)に録画した。今回は個々のサルが1分間に15秒間ずつ録画されるようVTRを作動させた。照明用に12ワットの蛍光灯を4台のカメラを納めた箱の左右の外側に1本ずつ取り付け付けた。

最近の分娩例、122例のうち89例(73%)は20:00～02:00の間に分娩した。この6時間の最多発時間帯の前後の3時間以内にそれぞれ14例(11%)および17例(14%)の分娩を観察した(図参照)。野生個体と育成個体の間には分娩時間帯の差はないように思われる。また、経産歴による分娩時刻の差については目下調査中である。11:00と14:00の昼間に観察された2例の分娩例は、育成個体であった。

今回の調査により屋内飼育カニクイザルの分娩時間帯をほぼ正確に知り得たものと考ええる。分娩の最多発時間帯が夜半の20:00～02:00間にあるということに対して、飼育現場における実際的な方策をたてることは勤務時間の関係で当面無理である。しかし、70%以上の分娩がこの時間帯に集中的に発生するのだから、事前に的確に分娩徴候を見いだせれば、出産に伴う幾つかの事故を確率高く回避する手だてをとることはできる。なお、分娩を一日の或る時間帯に限らせている生理学的、心理学的要因はそれぞれの分野の専門家にとって興味深い研究対象ではないだろうか。

《検査情報》

サルサイトメガロウイルスの抗体調査

A survey on antibody against simian cytomegalo virus (CMV) in colony-bred

最近エイズの研究や、臓器移植に関する研究が世界中で精力的に進められています。ところで潜伏感染していたサイトメガロウイルス(CMV)が免疫抑制された宿主体内で活性化し、多くの場合、間質性肺炎などの重大な結果を招くことはよく知られていることです。そしてCMVの自然感染状況・活性化の機序を明らかにすることは、私どもの実験用サルのコロニーにとっても重要な研究課題のひとつと言えます。

我々はコロニー内の汚染状況の一指標として、かつまた医学実験用サルとして供用するうえでの質的評価のために、1986年6月から1987年12月までの間に、野生由来及び育成カニクイザルについてCMVの抗体保有状況を調査したので簡単にその結果を報告します。

検査方法は間接蛍光抗体法です。検査用抗原としてサルサイトメガロウイルス(SA6)を用いました。すなわち宿主細胞BGMにSA6を接種、80%以上のCPEを確認し、それを回収して抗原スライドを作成しました。一次反応は、10倍希釈した被検血清を滴下して、37℃で30分反応させ、次いで洗浄・乾燥の後、二次反応ではFITCラベル抗サルIg-Gヒツジ血清を用いて37℃、30分とし、洗浄・乾燥の後、検鏡し判定しました。

1986年調査では、育成ザルが426/499 (85%)、野生由来サルが55/55(100%)の抗体陽性率を示しました。また1987年調査では育成ザルが587/699 (84%)、野生由来ザルが317/319 (99%)の陽性率でした。1986年時に抗体陰性だった育成サル31頭のうち17頭が1987年調査時には陽転していました。

表1に示すように、育成ザルを出生年別に見ると、1986年調査では経年的な陽性率の

上昇がうかがわれました。1987年調査でも似たような傾向がみられます。なお、'83年生まれのように、比較的陽転をまぬがれている群もあります。これらのことは、当センターの飼育環境下でも、CMVの感染は徐々に拡がって行くこと、および何らかの条件で感染をまぬがれることもあり得ることを示しています。

表2は1987年調査の月令別抗体保有状況を示します。1年3ヶ月令を境に抗体陰性のサルが減少していることが解ります。尚'86年調査についても同様でした。

以上、TPCにおけるカニクイザルのCMVの抗体保有状況に関し、1年3ヶ月令までは陽性率が低く、その後しだいに抗体保有サルが増加して5才から6才までには100%近い陽性率となることが判明しました。また10才令以上になっても、極くわずかながら抗体陰性のサルがいることも分りました。コロニー内でCMVの伝播は必ずしも一様に起きていないことが示唆されますので、感染経路についての厳密な調査が必要であると考えられます。尚、野生由来サルは、ほぼ100%抗体陽性であるので、抗体陰性のサルを得るには1才令前半の育成サルを対象とすべきだと言えます。

《特別寄稿》

ヒトの慢性関節リウマチのモデルとしてのカニクイザルコラーゲン関節炎

Type II collagen-induced arthritis in cynomolgus monkeys as an experimental model for rheumatoid arthritis in humans.

テネシー大学医学部 寺戸国昭

“ヒトの慢性関節リウマチ(RA)は何が原因で、いかなる機序で発症するのであろうか?”。これらの問題に永年取り組んできた結果我々は最近サルでコラーゲン関節炎の研究をおこなうに至った。それではなぜヒ

トのRAの研究にサルのコラーゲン関節炎の研究が必要になったのか、またこの研究がヒトRAの病因を研究するためいかに役立つのかを、今までの研究の流れを混じえ、できるだけ平易に述べてみたい。

動物の体の蛋白質の1/4はコラーゲンと呼ばれる線維性の蛋白質で構成されている。コラーゲンは一般に図1に示したような三本鎖ラセン構造をとる物理的に強固な蛋白質で結合組織の主成分として組織や臓器の形態を保つために無くてはならない蛋白である。このコラーゲンとヒトRAといかなる関係があるのだろうか。まずこの問題から述べてみたい。

RAは手、足、腰等の関節が左右対称的に侵されることを特徴とする慢性の炎症性疾患で男性に比し女性に圧倒的に多く発症し、現在は一種の自己免疫疾患と考えられている。このRAの病因についてはウイルス、バクテリア、結合組織代謝異常、物理的障害、免疫異常など種々の可能性が議論されてきたが、未だにどの説も確証が得られていない。それは、どの説をとるにしても実験的にRAとそっくりの病態を動物に起こすことができなかったためである。

一方、1965～69年にかけ、Steffen一派がヒトのRA患者の血中にコラーゲン(I型)に対する抗体が存在すると報告したことから、自己抗原としてのコラーゲンが注目されるようになった。しかし、生体を構成するコラーゲンは一種類でなく、各組織はそれぞれ異なった種類のコラーゲンにより構成されていること(現在ではI～XII型まで知られている)、しかもRAの主要病変部位である関節軟骨はI型でなくII型コラーゲンと称される三本の同一のペプチド鎖からなる特殊なコラーゲン(図1)で構成されていることから問題は混沌としてきた。

しかし、これがきっかけで多くの研究者で“コラーゲンの免疫”が研究されるように

なった。1975年～77年にかけテネシー大学のKang教授のもとで当時まだ研究生であったDavid E. TrenthamがII型コラーゲンに対する抗体を作成するためラットをウシのII型コラーゲンで免疫したところ、高頻度に多発性の関節炎が発症することを発見した。これがいわゆるtypeII collagen-induced arthritis (CIA)の始まりである。その後、各系統のマウスやラットを用いた研究の結果、CIAはヒトRAと病理組織学的特徴が似ているばかりでなく、II型コラーゲンに対する免疫応答と関節炎の発症はマウスではH-2、ラットではRT-1とその近傍の遺伝子によって支配されていることから、ヒトRAの優れたモデルと考えられた。しかし、ゲッ歯類のCIAはヒトRAのような増悪、緩解をくり返す慢性関節炎ではなく、かなり急性でしかも雌は雄に比べ関節炎の発症に抵抗性を示すことからRAのモデルとしての価値を疑う研究者も少なくない。

ヒトのRAと動物のCIAにみられる相違はヒトとゲッ歯類の種差の遠さによるものなのか、それとも両者が本質的に異なった疾患であることによるものなのかは一連の研究の本質にせまる大きな問題である。これらの問題を解決する手段として我々はヒトに近いサルに注目した。そこで、入手が容易で、しかもこれまでCIAの実験に用いられたリスザルよりもはるかにヒトに近いカニクイザルを用い、ニワトリII型コラーゲン(CII)で免疫し、関節炎の発症率、組織学的特徴ならびに自己すなわちサルのII型コラーゲン(MkII)に対する抗体の産生様式等を調べることにした。実験には10頭の雌、5頭の雄を用いた。その結果、驚いた事に雌では野生、育成を問わず10例中全例に関節炎が発症したのに対し、雄では5例中1例を除き4例はまったく関節炎を発症しなかった。また発症した1例の雄も指の小関節に一過性の浮腫がみられたに過ぎず、2週間

後には緩解した。雌における関節炎の持続期間と重症度は個体によって著しく異なり、10例中4例は重度の関節炎により食事摂取も不可能となり、2例は剖検のため屠殺、2例は全身感染症を併発して死亡した。また、10例中4例は中等度、2例は軽度の関節炎が発症し、その持続期間は短いもので1カ月、長いものでは10カ月に亘った(図2)。

図3は典型的な慢性かつ進行性の関節炎を呈した雌ザル(#3010)のCII免疫1年半後の手関節の写真で、関節破壊による典型的なアンキローシスを示している。図4は免疫9カ月後の同サルのレントゲン線像で中手指関節(MP)および近位指関節(PIP)に特に著しい関節破壊が認められた。病理組織像については関節炎発症後1カ月以内の急性期のものしか検索を終えていないが、いずれも典型的な急性炎症像を呈し、好中球の滑膜及び関節腔内への浸潤と著しい肉芽形成、その結果としての関節構造の著明な破壊が認められた。

本研究で我々が一番興味を持った問題は自己のII型コラーゲンに対する抗体の産生と関節炎発症の関係である。そこで、6カ月以上に亘り観察可能であった関節炎発症雌5頭と未発症の雄3頭につき、その抗体価の変動及びII型コラーゲン分子上の認識部位等につき調べた。その結果は非常に複雑になるので詳しいことはいずれかの機会に残し、その概略を述べてみたい。

CII免疫後のCIIおよびMkIIに対する雌の血中抗体価は1~3カ月でピークとなり、CIIに対する抗体価は6カ月後も高値を示したが、抗MkII抗体価は関節の炎症度と比例しゆっくりと低下した。一方、雄の抗CII抗体価は雌と同様またはそれ以上に高い値を示したが自己のMkIIに対する抗体価は雌の1/5~1/10程度にすぎず、関節炎発症に自己抗体の産生が重要な因子であることがうかがい知れた。それではなぜ、このよ

うな性差がみられるのであろうか。この原因として①雄と雌ではII型コラーゲン分子上の認識部位が異なっている可能性と、②CIIとMkII分子上の共通抗原に対する抗原特異的免疫抑制の誘導が雄と雌では異なっている可能性とが考えられた。

そこで、まずMkIIに対する抗体産生が特異的に抑制される可能性があるのか否かを調べるため、中等度の慢性関節炎を発症した雌2頭(#3010と#3013)に、関節炎症状が消失した初回免疫より1年半後に、また雄3頭(#1, #2および#3)には初日免疫より2カ月後にCIIをアジュバンドと共に再注射し、血中抗体価の変動とその特異性を調べた。その結果、雌雄ともCIIとCII分子の一部のフラグメントに対する著しい抗体価の上昇が認められた。一方、自己のMkIIに対する抗体価とCII分子の一部のフラグメントに対する抗体価の上昇はまったく認められなかった。すなわち、MkIIとCII分子上の共通抗原に対する抗体産生は著しく抑制され、これらの抗原に対する特異的免疫抑制が誘導されたことが推察された。

それではサルの自己抗体はII型コラーゲン分子上のどの部位を認識しているのだろうかをMkII—Sepharose affinity chromatographyで分離した抗MkII抗体を用いて調べた。その結果、自己のMkIIに対する抗体はヒト、ウシ、ラット、マウスおよびニワトリの全てのII型コラーゲンと同程度の交叉反応性を示し、図5に示したごとく、これらの異種II型コラーゲン上の共通抗原を認識していることがわかった。しかしサルの場合は近交系のDBA/1マウスとは異なり各個体がII型コラーゲン分子上の共通抗原の全てを同じように認識するのではなく、各個体によって認識する共通抗原は異なっていた。一方、CIIで免疫したサル血清中のMkIIとは交叉反応を示さない抗体はいずれのII型コラーゲンとも交叉反応性を示

さず、CII分子上の種特異的抗原決定基を認識していた。

以上のごとく、カニクイザルCIAでは自己のII型コラーゲンに対する抗体産生と関節炎の発症に明らかな性差が認められ、本モデルがRAの発症機構の解明とその治療法の開発のために有用なモデルであることが示唆された。

カニクイザルでのCIA実験の今日までの結果を略述したが、今後は、自己のII型コラーゲンに対する特異的免疫抑制の誘導にサル性の性差がどのように関与しているのか、RAにおける免疫抑制機構に遺伝的な関与があるか否か、などについて明らかにする必要があると考えている。

なお、本研究の一部はヒューマンサイエンス振興財団の受託および委託研究費の配付を受け、予研・霊長類センターおよび東京医科歯科大学との協同でおこなわれたものである。記して謝意を表する。(元 エーザイ(株)、筑波研究所勤務)

第4回日本霊長類学大会を終えて

《研究手帳》

遺伝子治療と霊長類

Gene therapy and nonhuman primates

向井録三郎

最近の遺伝子工学の発展にともない、多くの遺伝病の発症前診断が可能になって来た。同時に、遺伝病患者に正常の遺伝子を導入して病気を根本的に治療しようとする遺伝子治療が最近注目をあびつつある。この遺伝子治療は、その患者にとって最良の処置であるかどうかという判断の是非とともに、生殖細胞の遺伝子操作も含めて色々と論議の多い問題を投げかけている。今回の研究手帳では、遺伝子治療研究の現状と、サルを用いた体細胞遺伝子治療の意義と可能性について述べてみる。

(遺伝病とは)遺伝子DNA上の突然変異もしくは、染色体の数や構造の異常により生じるがそのうち親から子へ引き継がれるものを言う。よく知られている疾患として前者には、血友病や、サラセミア貧血症などがあり、後者には、ダウン症候群(蒙古症)などがある。現在までに報告され、メンデルの法則に従う遺伝病は3000種以上に及び、ヒトでは出生児の約1%が何らかの遺伝的異常を持っていると推定されている。このうち70%が常染色体性優性、25%が常染色体性劣性、4%がX染色体に伴う遺伝形式(伴性遺伝)を示し、残りの1%が染色体の数や構造の異常によるものである。この染色体異常による発病は、ほとんどの場合脳障害と発達遅滞を伴い奇形を生じる。これらに関しては、妊婦の羊水穿刺により胎児細胞の染色体が検査され、かなりの予知が出来る段階になっている。以上のカテゴリーに含まれない遺伝病として、多因子型遺伝病の存在が、Johns Hopkins大学のMckusickにより1982年に提唱された。これらは、糖尿病や、心臓マヒや発作を引き起こす心血管障害、ある種の精神分裂病などの疾患で、一卵性双生児や家系の調査で発病に遺伝的要因が含まれていることが強く示唆されるにもかかわらず家系内発症も様々で、メンデルの法則に単純には従わない疾患群である。この種の遺伝病の発症には食事などを含む環境要因の影響が大きいとされている。

(遺伝病の診断)先天性代謝異常は一般に確定、診断が下された後の治療では全く効果がない。それ故早期発見、早期治療が必要である。最近はじめられたDNA診断(遺伝子診断)では、代謝異常などが胎児で発症する前にも、病因となる変異を直接同定出来る。DNA診断法の典型的な例として、神らの開発した家族性アミロイドーシス(FAP)の例

を述べる。この病気は、アミロイドという線維状の蛋白質が臓器に少しずつたまり、中年以降に手足の神経の障害を来す常染色体性優性遺伝病であり、治療法のない難病である。FAP患者のアミロイドには血液中のプレアルブミンが関与していることが分かり、その異常を調べたところ127個のアミノ酸のうち30番目のバリンがメチオニンに変化していることが判明した。さらに患者の異型プレアルブミンの遺伝子を調べたところ、ただ1個の塩基、グアニンがアデニンに変化していた。そこで特定のDNA塩基配列を認識する制限酵素(この場合はBal IとNsi I)で患者のDNAを切断し、断片を調べることで正常人との違いを見つける診断法を確立した。また種々の難病に於いて、病気の原因やメカニズムが全く分からなくても発症前診断を行うことが可能になりつつある。このような例として有名なのがGusellaらの研究によるHuntington舞蹈病(HD)の診断である。HDもやはり常染色体優性遺伝病で成人発症を示す。この研究の基礎になったのがDNAの遺伝的多型である。集団の中に異なった形の正常な遺伝子の頻度が1%以上ある場合に遺伝的多型(ポリモルフィズム)があると言われる。このポリモルフィズムはタンパク質をコードする遺伝子DNAはもちろん、何ら遺伝子産物を産生しないDNA領域にも存在し、制限酵素でDNAを切断した時に、切れたり、切れなかったりすることにより検出でき、RELP(restriction fragment length polymorphism)と呼ばれる。RFLPはDNAの制限酵素切断断片の長さの違いを検出するので遺伝性の個体差をも検出する。Gusellaらは、HDを発症しているベネズエラの大家族メンバーのリンパ球DNAを種々の制限酵素で切断し、ランダムに選択したRFLPマーカーの中からG8というDNAプローブとHind III制限酵素の組み合わせで検出さ

れるRFLPがHDの診断に役立つことを見出した。即ちG8-Hind III RFLPには4個のタイプがあるがそのうちの1つのタイプがHD発症遺伝子と強く連鎖しているという結論である、しかしこのマーカーは疾患遺伝子そのものではないので約10%のfalse positive(偽陽性)を出す可能性がある。この他、筋ジストロフィーや、色素性網膜炎、Cystic fibrosisなどの難病に於いてこの種の方法論が取られている。

(遺伝子診断の功罪)現在、DNA診断が可能な遺伝病は100種近くあるが、FAPやHDには治療法がない。特に未発症(年中不安と同居している)の若い人が本法により確定診断された場合には、本人にそのことを告知するかどうかなどの問題が生じる。さらに、胎児期にも診断が可能になったが、この診断は中絶と遺伝病者の差別という問題を含み論議を呼び起こしている。これらの問題に関して社会的コンセンサスのない日本では、本診断の臨床応用は時期尚早であるという意見もある。しかしながら、欧米ではこの診断に基き中絶を行なっている国もある。

(遺伝子治療)3000種とも4000種とも言われる遺伝病は、現在遺伝子レベルでは治療されていない。例えば、血友病や鎌状赤血球貧血症では血液製剤の投与とか輸血などにより、またホルモン欠損症には正常人のホルモン投与で、フェニルケトン尿症には食事療法をというように、対症療法が行われている。また、他の大部分の遺伝性疾患ではこの対症療法も十分に成果を上げておらず治療法がないのが現状である。遺伝子工学の最近の発展に伴って、正常遺伝子を遺伝病の動物や細胞に導入して、欠陥を補うという発想が生まれ、これが遺伝子治療の方法論として発展して来た。以下にその基本となる技術を順を負って述べてみる。①

遺伝子導入を行う標的細胞 種々の遺伝性疾患では症状の現われる臓器や細胞種が限定されている場合が多い。例えばサラセミア貧血症では赤血球、アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症(リンパ球でアデノシンが分解されないために免疫不全症を引き起こす)におけるリンパ球という風なのである。現在のところ、遺伝子導入の標的細胞として考えられているのは骨髄細胞や皮膚細胞であるが、この理由は、これらの細胞の採取が比較的簡単ということと、自己移植技術が確立されているためである。将来的には器官培養が可能になると思われる肝臓の細胞などもその候補に上げられている。②導入法: 標的細胞への遺伝子導入法としては、リン酸カルシウム法や電氣的穿孔法などがあるが、導入効率が低いなどの問題があるので、効率よく導入するためウイルスベクターを介する方法も最近注目を浴びている。これらはレトロウイルスやワクチニアウイルスなどを基礎に不活化した組換えベクターであるが、前者の場合には、細胞内でDNAに変換され細胞の染色体に組込まれる際に位置を指定できないことや、不活化したウイルスベクターがウイルスとして再活性化する可能性が否定できないなどの問題がある。③細胞レベルでの発現量 次のステップは導入細胞における遺伝子の発現の問題である。例えば、インシュリンの遺伝子のみを細胞に導入してもまずインシュリンは合成されてこない。遺伝子の発現には構造遺伝子の他にいわゆる調節遺伝子(スイッチ)が必要で、現在入手可能なものとしては、ステロイドホルモンに感応するものや、カドミウムなどの重金属の存在下でのみ構造遺伝子を発現させるものなどがあるが、前者はその副作用、後者は金属毒作用などの問題がある。従って、現時点では常時発現(常時ON)タイプの調節遺伝子が増え用いられている。

(遺伝子治療の現状と問題点)現在マウスなどで研究されている治療法は、疾患動物の細胞に新たに正常遺伝子を導入して付け加え、欠陥または欠損遺伝子の産物を補うというものであり、異常遺伝子はそのまま残っているし、補充する遺伝子を導入する場所も特定していない。従ってこの方法が適用出来るのは劣性遺伝病の場合である。また他の方法としては、故障した遺伝子を取り除き、そっくり正常な遺伝子と取り換える試みもなされている。本法は優性遺伝病の治療にも有効であるのだが、成功率が低くまだ実用化のめどがつかない。この方法と同様の発想でSF小説に出て来たりするのが、生殖細胞を対象とした遺伝子操作で、目の色を変えたり、頭脳をよくしたり、というものである。人間を操作するという意味では、美容整形外科領域において現在既に、鼻を高くしたり、しわを取ったり、などの手術が行われているけれども、この生殖細胞を対象にした遺伝子操作は、変化した遺伝情報が子孫末代にまで伝わることになり、新しい倫理的問題を含んでいるので、これ以上の言及は避ける。米国議会やNIHの遺伝子治療に関する報告書('84, '85)によると、その影響が1代限りの体細胞を対象として操作する限りにおいて、遺伝病の症状が重大であり、遺伝子治療による効果がそれによる危険性より大きいと判断された場合のみ、従来の人体実験の規制に従って、治療を行なってもよいという結論が出された。実際3種の遺伝病に対する遺伝子治療の申請が提出され、NIHにより受理されているという。これら遺伝病と症状を以下に述べる。①Purine nucleotide phosphorylase (PNP) 欠損症: 世界中で9症例と非常に稀なものであるが、T細胞機能障害による先天性免疫不全症を発症する。②前述のADA 欠損症: 世界中で50例、T細胞

胞だけでなくB細胞の機能障害を伴う重症の複合免疫不全症を発症する。③
Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) 欠損症: いわゆる Lesch Nyhan症候群を発症し、年間200例の頻度で新しい患者が見つかる。患児は痛風と、精神薄弱や自傷行為(自ら唇や指をかみ切る)を示す悲惨な疾患である。以上の疾患はいずれも良い治療もなく、そのうち死亡するので、確かに遺伝子治療の対象疾患として適当かも知れない。また、本年7月に東京で行われた国際遺伝子治療シンポジウムで、米国NIHのCornettaらは、ヒトのADA遺伝子をレトロウイルスベクターに組換え、アカゲザルの骨髓細胞に導入し、もとのサルに自己移植し、遺伝子の発現とベクター由来のレトロウイルスの再活性化に関して調べた研究結果を報告した。彼らによると、ヒトのADA酵素発現は、4か月しか継続されなかったが、ベクター由来のレトロウイルスは、サル体内には検出出来なかったとのことである。この実験は、前臨床試験としてサル類を用いたという点で高く評価出来る。

現在、日本の、特に文部省の組換えDNA実験指針には、霊長類を用いた組換えDNA実験を規制する旨の記載があるが、この規制は早急に取りやめて頂きたい。何故ならば、我々が、人類の疾患の克服を願い、遺伝病患者にも医療技術が適用されるべきだという立場に立つならば、ハツカネズミでの研究成果を直ちにヒトで人体実験として供与するのではなく、ヒトに最も近い霊長類であるサル類を用い、その副作用の検出も含めて慎重に実験を行うべきであるからである。

(遺伝子治療のサル類への適用とその意義)

TPCに於いては、サル類の繁殖育成と共にサル類の遺伝子保存が計画交配により行

われている。また、遺伝性疾患モデル家系作出の試みも、計画交配と発生工学的技術の開発により試みられようとしている。このことは、ヒトの遺伝子治療の問題点を思い起こす時、非常に重要な意味を持つ。というのは、患者の家族の悲痛な訴えや治療法がない事実が大いに尊重され、比較的容易に人体実験が許されている欧米の医療方式では、未知の危険性を孕んでいるかも知れない新しい治療法の問題点をそのまま人体に持ち込む可能性があるからである。ここに、マウスやウサギでの基礎実験と臨床試験との間のギャップを埋める意味での繁殖育成された医学実験用霊長類の意義がある。さて、以下にTPCに於いて、遺伝子治療法の適用可能なサルの有無について、またその方法について簡単に述べてみる。人工的環境下で、長期飼育された野生由来や繁殖育成されたサルでは、急性の感染症などよりも、代謝異常や内分泌障害、さらには先天性異常を含む遺伝性疾患が発症してくる可能性が高い。実際、当センターに於いても、カニクイザルで糖尿病の症例や脂質代謝異常(TPC News 2, 8, '83)や先天代謝異常例などが認められている。これらのサルや成長の遅れたサルが、当面我々の目指している皮膚による遺伝子治療の対象となり得る。まず、このようなサルの皮膚の線維芽細胞を組織培養法で増殖させる。次には、インシュリンの遺伝子や成長ホルモンの遺伝子をサル細胞に導入し、導入遺伝子の細胞内での安定性や、ホルモンの細胞内発現や細胞外への分泌の有無をIn vitroで詳細に調査する。前述のように、導入遺伝子の発現量の調節は治療に取って非常に重要であるし、ベクターの問題もあるので、新規のものを含めて、現在まで単離されているものを用いて試行する。遺伝子の発現やその調節の最も良好であった組み合わせの遺伝子導入線維芽細胞を用いて、都立大学

吉里らの方法で人工皮膚を再構成し、ヌードマウスや元のサルに移植し、導入遺伝子の発現を調べるのと同時に治療効果を見るというのが、私どもの考えているサルへの遺伝子治療研究の計画である。一日も早く、この計画全体に取り組みたいと願っている。
(1988年11月10日)

《よその研究所》

中国駆け足旅行

生殖内分泌学研究の現状

A report on the institutes for laboratory animal science in People's Republic of China

吉田高志

1988年3月、乾いた寒さとても形容すべきなかを北京空港に降り立った。本庄所長に同行した一週間の中国駆け足旅行の始まりである。

日中科学技術協力協定に基づく野生サル類の実験動物化に関する研究という事で、北京、昆明、広州のサル類を中心とする実験動物施設訪問と共同研究の打合せ、および秋の日中共同シンポジウムの相談のための訪中である。

空港には、すでに面識のある王仁武先生(国家科学技術委員会、実験動物開発センター所長)が迎えに来てくださった。早速、ホテルでスケジュールの調整である。「翌朝は、万里の長城を見てはいかがですか。せっかく北京にいらしていたのだから」という強い勧めを振り切って、ハードスケジュールの開始である。

不列長城 非好漢 だそうだ。

1. 医学科学院医学実験動物研究所 協和医科大学医学実験動物学部

空港に近いホテルから、王 先生と北京の中心街に向った。天安門広場と通りすぎ

しばらく行くと、清朝の宮殿か、と思われる建物の前で自動車が止まった。ここが、中国でもっとも古い大学のひとつである協和医科大学である。中国でも唯一の8年制の医学部である。そこに併設された実験動物研究所は、174名の研究者で構成されている。景紹亮副教授らから研究所の紹介をうけた。実験室では、手造りの電気泳動装置で実験中の若い研究者、ガラス・シャーレに向っている細菌学の実習の女性、というように若い人たちが頑張っていた。ところで、私にとって目あての、「サル類での生殖内分泌学的研究は?」とうかがうと、「それは昆明です!」と景 副教授のひとつこと。

実験動物研究所のもうひとつの施設である繁殖施設の見学に2台の自動車に分乗して向った。途中、現在建築中の建物に寄った。完成次第、ここに移って来るとのこと。寄り道はそこまでにして、レンガ作り平屋の繁殖施設に着いた。ラット・マウス・モルモット・ウサギの繁殖を目的とする施設で、年間40万頭を中国全土に供給するという。また手造りの150台のアイソレーターによってSPFの動物も保持している。この施設も先ほどの建物が完成すればそちらに移転するとのこと。ここ数年のあいだに、この研究所も、大きく近代化することであろう。

2. 軍事医学科学院実験動物センター

有名な蘆溝橋の近くに、軍に所属する実験動物センターがある。ここの建物は完成したばかりだ。実験室には何も無い。ガラーンとした一室で、王代全所長から説明をうける。軍服姿の女性研究者もまじっている。アカゲザル、ビーグル犬などを含め約20種類の動物を保持し、それらの生産およびそれらを用いて薬理試験等を実施しているとのこと。動物の飼育施設を見学したが、王 所長がしきりに言われることは、「この設備はもう古く、もうすぐ近代的施設に

建て直すのです」とのこと、ここでも中国の近代化路線を見る思いである。日本との技術交流、TPCへの訪問をしきりに言われた。日本の平和憲法を伝え、軍事的な研究との協力はできない旨を述べたが、どのくらい伝わったか心もとない。この施設は、基礎研究をおこなっているもので、そのようなことは問題では無い、という。2〜3年前に、TPCの長 先生が北京を訪れた時には、「北京周辺にはサル類の飼育施設は無い」といわれたそうだ。軍の開放政策が我々の訪問を許したのかもしれない。

3. 国家科学技術委員会雲南霊長類センター

中華民航機で一路、南の高原都市、昆明を目ざす。「昆明は常春の都、その自然は人を惑わす」という。標高1700mである。厳寒の北京から常春の昆明では、ちがいが大きすぎる。カバンに入れた防寒衣が急に重くなった。昆明の中心地に雲南霊長類センターがあった。その建物も新築されたばかりである。実験室もガラガラ。張成桂高級工程師(所長)と会談する。「実験室もおいおい整備されるし、立派な宿泊施設もあるから、是非、日本から研究者を派遣して下さい。共同研究をしましょう」とのこと。

このセンターの本拠である西双版纳^{シハサンバンナ}の施設のビデオを見せていただく。この秋には、ここ昆明で日中の共同シンポジウムを開催する予定になっている。

4. 中国医学科学院医学生物学研究所 医学霊長類センター

朝霧のなか、自転車が悪路を登ること、約40分、標高2,000mのところに霊長類センターがある。顔なじみでセンターの主任の戸 明叉研究教授をはじめ、16名の研究スタッフ、17名の学生の歓迎をうけ、会議室

に入る。戸先生がみずからスライドを使って、このセンターの研究状況の説明をされた。現在のテーマは、1. 体外受精と胚移植、2. モノクロナル抗体の作成、3. ウイルス病の研究、そして、4. ラジオイムノアッセイ(RIA)による血中ホルモン濃度の測定である。私も、へたな英語でTPCで担当する私の研究テーマ、1. 生殖内分泌学的研究、2. 血液・血清生化学値の分析、そしてそれらの解析のための手法としての、3. 多変量解析法の適用、等について紹介した。内分泌学を専門とする私にとって、今回の訪中でもっとも関心があった事は、中国でのこの分野の研究状況の把握である。具体的には、この分野の研究遂行にあたって必須の放射性同位元素(RI)の使用状況と、その関連機器の整備状況である。

旧式の波高分析装置と並んで、Beckman社の最新の液体シンチレーション・カウンター、ガンマ・カウンターが配置されていた。RI廃液の処分について戸先生に尋ねると、「研究所の裏に処理用の池がある」とのこと。またRIAの担当の方に、廃液処分も含めて問題点を尋ねたが、当方の英語の理解力のせいもあってよくわからなかった。とはいえ、実験台の上の小器具を見ても、RIAを実施していることは確実である。あとは試薬の入手状況である。しかし、短い訪問では、そこまでは聴き出せなかった。研究者がそろっていることや、研究設備が整備されていること等から判断して、今後、サル類内分泌学研究の日中共同研究の対象機関として、この霊長類センターがもっとも適していると思われた。なによりも○先生の存在が心強い。3,000頭のサルも待っている。

5. 中国科学院昆明動物研究所

霊長類センターの隣が動物研究所である。旧知の賁昆竜氏の案内をうけた。解剖学・

細胞遺伝学あるいは昆虫学、さらに蛇毒を中心とする生化学研究等の多様な研究のなかに霊長類学の研究が位置付けられている。動物の生態・保護の研究とともに実験的研究の推進を目的とした研究である。最新の機器が豊富に備えられている。昆明での案内をしてくれた外事秘書の沈さんの話では、一般に、医学科学院所属の研究所より、科学院所属のそれの方が予算的にめぐまれている、とのことである。昆明周辺の自然を紹介する立派な博物館も設置されていた。近いうちに、不便な山の上から、昆明の中心街に移転するという。移転後の発展がたのしみである。

6. 華南瀕危動物研究所

広州から西北へ20km、途中で速度違反の罰金を支払ったりして、瀕危動物研究所に着く。7種類のサルを600種以上飼育している繁殖施設で、そのうち200頭以上が自家繁殖個体である。生殖生理学的研究のためのホルモンの測定などは、北京の中日友好医院や広州の中山医科大学との提携によっておこなっている。ここでも体外受精や胚移植などを試みているそうだ。TPCでの同様の試みについて、大いに関心を示していた。

7. 広東省順徳実験動物養殖試験場

再び広東州市街にもどるや否や、今度は南に30km、順徳実験動物養殖場である。名称のとおり実験用のアカゲザルを生産し、年間200頭ほどを輸出している、という。山の斜面にそって、100以上の大型ケージを配置し、効率的な繁殖をおこなっていた。

おわりに

以上、駆け足旅行の印象である。訪れた6研究機関のうち4つの機関が、移転予定あるいはあるいは移転直後、ということに、実

験動物としての霊長類にかかる中国側の意気込みが感じられよう。このように施設面での充実は目をみはるものがある。さらに、明治維新の若者群像をうかがわせる、中国の現代の知識欲に燃える若い研究者達の姿である。10ないし15年先の中国みるべし、という感を禁じ得ない。しかも、日中の不幸な歴史を踏まえ、真の日中友好を確立するためには、一層胸襟を開いたつきあいが必要である。戦後世代の私ではあるが、「恨にもってむくいるに、徳をもってす(周恩来)」る国を去るにあたって、胸中期するものがあつた。

《海外トピックス》

サル新種・二題

Two notes about new species of primates

①発見

6月23日発行の英国の科学雑誌「ニュー・サイエンティスト」(New Scientist)は、エディンバラ大学の動物学者マイク・ハリソン氏が、アフリカ中央部のガボンで森林調査中に新種のサルを発見したと伝えている。

このサルは、サン・テイルド・グエノン(Suntailed guenon)又は*Cercopithecus solatus*と名づけられたオナガザルで、体重はオスが約6kg、メスが約3.5kg、体毛は全体が濃い灰色で、白い首毛があり、背中はくり色をしている。名前からもわかるように、目立つ特徴は尻尾で、尾の半分から先端までが明るいオレンジ色をしている。

このサルの染色体数は、最も近い仲間の*C. lhoesti*や*C. pereussi*と同じく60本であるが細部の構造はまったく異なっており、新種であることを裏づけているという。

ガボンの限られた地域にしか生息していないらしく、その熱帯雨林も開発されつつあるという。ハリソン氏はこのサルの住む

地域が保護区になるよう望んでいる事である。

②確認

1985年、西ドイツの動物学者、ベルナール・メイエ氏とイブ・ランブル氏によって、マダガスカルで発見されたキツネザルが、今年4月に確かに新種、*Haplemur aureus*であると認められた。

世界野生動物保護基金と北カロライナ州の、デューク大学の後援を受けたチームが発見以来調査を続けていたのだが、染色体分析で確かに新種であるとされたものである。このキツネザルは、体重が約2kgで一夫一婦婚であり、その一組が15～20haのテトリを持っていて、子供は12月に生れ、独立するまでの二年間を両親と過し、新鮮な木の葉を常食としている。このサルは全く珍しいもので500頭ぐらいしかいないとされている。マダガスカル当局は、その生息地域を、野生動物保護区にする計画であるという。

—「ネイチャー」(Nature)1988年5月19日号より

目で見える現場

—定期健康診断—

「猿ドック」

Thorough physical checkups

成田豊子

成人病が話題になっている昨今の人間社会では、どの病院の掲示板にも、「人間ドック」のお知らせの貼り紙が、目につく事と思います。成人病でいちばん多いのは、動脈硬化に起因する血管系の病気です。また死亡原因の2位は、脳血管障害という様に、血管系の病気による死亡率は、極めて高率です。また、糖尿病、高脂血症、高血圧症、痛風等で悩んでいる方は、皆さんの周囲を

見渡せば、必ずといっていいくらい何人かは、いるのではないのでしょうか。

さてTPCで、サル種別、あるいは年令別そして雌雄別に、それぞれ適合した諸検査を毎日の作業に取り入れている事については、本ニュースのこの「目で見える現場」の欄で何度か紹介してきました。

当センターの重要な業務の一つとして、野生サルの入荷に伴う検疫作業がありますが、この他にも「人間ドック」ではなく「猿ドック日帰りコース」つまり一年に一度の「定期健康診断」という業務があるのです。この「定期健康診断」通称「定健」と我々が呼んでいる業務の紹介を、今回皆さんにお伝えしたいと思います。

この「定健」の歴史は古く、顧みると10年前つまり、1978年に当センターが設立されてから2年目の1979年に、サル君達の健康管理という目的で、日常的には実施していない健康項目も含めて、スタートし現在に至っているわけです。もちろんこの目的の中には、サル間での感染症の広がりを把握する事もふくまれています。

「定健」の検査項目は、ツベルクリン反応、体重測定、外部検査、歯式、口腔内の検査、血液・血清生化学検査、眼底検査、細菌、ウイルス検査等です。さあ、いよいよTPCの「猿ドック」とは、何かを求めて、見学を始めましょう。

検査日は、毎週火曜日の午前9時15分スタートです。働き手は、捕獲・麻酔・運搬係3名、ツベルクリン反応・体重測定係1名、外部検査係1名、記録係1名、採血および採血補助者各1名、そして眼底検査係1名の計9人の選抜スタッフです。この作業は、いわゆる動物飼育管理技術者と通常は白衣を着て、実験室での各検査に従事している人達とが、一緒に協力して行ないます。それは、新入荷の野生サルの検収作業に続く大規模な業務の一つと言えるでしょう。さて

今日の選抜スタッフは一体誰でしょう。楽しみです。

今日行う予定のカニクイザル飼育室に私が入って行くと、各担当者は、それぞれ必要な器材や道具を準備していました。「猿ドック」に入るサルは、あらかじめコンピューターでリストアップされたサルで、約1年前に、同じ頃「猿ドック」に入ったサル達です。ぐるっと見渡すと眠りの仕掛人の小野さんが、アドレスの入ったサル番号を見ながら、ケージの中のサルを捕獲網で取り出し、小川さんが麻酔薬をアルコール綿で消毒された大腿部めがけてブチュ。再びケージに戻され5～10分もするとサルは、もうケージの中でふらふら「あ～ねむい」ボタン。「しばらく休みま～す。」この調子で、腕のいいテクニシャンの小野さん、小川さんは、どんどんサル達を眠りにつかせるのです。眠ったサルは、清潔なプラスチックのカゴに載せられ、次のパートのツ反・体重係の藤本さんの所に、力持ちの運搬者寺尾さんによって届けられます。この時、カゴの中には自分の番号の用紙が入れられ、眠っていてもサルの名前は、一目瞭然です。

そこでまず、藤本さんが体重を記入し、次に左眼瞼にツベルクリン接種を行います。このツベルクリン反応は、結核の早期発見を目的に、旧ツベルクリン100IUを含む0.1mlを上眼瞼部に接種し、48時間後「瞼の母」ではなく「瞼の腫れ」を確認するわけです。しかし幸いな事に、「定健」開始以来腫脹を確認したサルは、いないとのこと。もし腫脹を見つけた場合は、再度接種し慎重に検討します。藤本さん曰く「俺はもう何千頭のサルにツ反をしたかな?」

きっと、ギネスブックに載れる数でしょうね。ツベルクリン接種の終わったサル君、次は僕の所ですよ!!

隣のテーブルで、呼び込みをしている

のは、外部検査係の高阪さんです。ここでは、歯式、口腔内の異常、栄養状態、外傷等を検査します。歯式については年令に見合った歯が萌出しているか否かを、また、虫歯、歯槽膿漏の有無を点検する歯医者さんのようなものです。それと犬歯の伸び具合も貴重なチェックポイントです。しかし最近老眼の傾向もでてきている獣医の高阪さんが、隣の若い成田さんに、サルの口を開けたまま応援を頼んでいる光景もチラホラ。栄養状態は、+, 土, 干, 一の4段階に分けられ、時には皮下脂肪の厚さ等も記録されます。ここでの外部検査は、日常の観察では直接動物に触れない観察であるのに比べ、一頭毎、頭から尾の先端まで触れてチェックする裸のつき合いの検査です。毎日の観察では、見落としそうな事もこのチャンスに発見され処置されます。例えば、お腹のあたりに異物を触診にて発見。後日詳細に検討後開腹手術で卵巣嚢腫であったこともあるそうです。

登場が遅くなりましたが、この選抜スタッフの中での紅2点のうちの1点、記録係のMrs小林さんを紹介します。外部検査係から無線、マイクを通して聞こえてくる検査サルの状態を、記録用紙に書き込みます。いわば患者のカルテに今日の健康状態を的確に記入する仕事は、やはり女性でなくてはネ。

ボディチェックされたサルは、今度は注射器を持った採血係の成田さんのテーブルに送られます。ここは血液検査、ウイルス検査、血液銀行のための採血をする所です。体重が1.5kg以下のサルは5ml、それ以上のサルは7mlの採血をし、そのうち1.5mlは抗凝固剤のチューブに、そして残りはそのまま血清用とします。それを手際よくシリンジを渡したりアルコール綿を差し出したりするのは、残りの紅一点Mrs鴻野さんです。採血がスムーズに行くかどうかは、このコ

ンビつまり採血者と補助者の相性でしょうね。その点今日のペアは、ゴールデンコンビです。何故なら、二人は生れ育った所が筑波の山に囲まれた同じ町なのです。こうして次々と被検サルが送られてもう50頭目です。検査も終番、1日に行う数は約50〜60頭で、大体2時間半位で終了します。

いよいよ最後の眼底検査です。サルの両眼(片方ずつ)に眼底カメラを向けパチリ。

しかしその前に一言。最初に捕獲されたサルは、その時に散瞳剤をポトリ、両眼に落され、眼底カメラに収める頃にはほどよく瞳孔が開いている様に、あらかじめ準備されています。他のパートは、週毎にスタッフが交代しますが、眼底検査だけは、鈴木さんが専門、毎週カメラのシャッターを押しています。故に蓄積データーもかなりなもの。既に3万枚以上のフィルムを持っています。まさに世界一。カニクイザルにおける、年令別標準眼底像の把握、新生仔網膜出血、硝子体動脈遺残の消退時期等は既に本誌の研究手帳で鈴木さんが紹介しています。

このように最後の検査の眼底写真を取り終えた頃、サル達はそろそろお目ざめです。そこで又、はじめの働き手、小野さん、小川さん、寺尾さん達が、サルをそれぞれの住居のケージに戻してあげ、無事「猿ドック」が終了するわけです。ですから検査の途中で覚醒しない様、仕事の流れを見ながら、捕獲・麻酔係の人達は、気を配り早からず遅からず、サルを眠らせるのです。一見単純な流れ作業の様に見えるこの「定健」は当センターの仕事を進めるために、チームプレーがいかに大切かを、つくづく教えてくれたものです。

そしてすべての検査が終了後「ごくろうさまでした」と、従事者達は次々にサル室を後にするわけです。しかし、小川さんは、サル室からまだ出ません。昼食も近いのに

どうしたのかしら？ 声をかけてみると「サル達が全部覚醒するのを見届けてから出ます」という返事が戻ってきました。

この一言に若い小川さんの責任感と、動物に対する思いやりが強く感じられました。これで午前の部は終了です。しかし引き続きお読み下さい。

そして今度は午後の検査です。

午前中に採血したうちの抗凝固剤入り血液が、研究本館2階の自動血球計算器の前に届けられ、担当の吉田さんとMrs大藤さんによって測定されます。また残りの血液も明日、Mrs大藤さんが血清を分離し、オートアナライザーを用いて血清生化学値の測定を行うシステムになっています。

血液検査の項目は、RBC, Ht, Hb, MCV, WBC, BSR, GOT, GPT, TP, ALB, BUN, GLU, T-chol, F-chol, TG, ALPの16項目です。血液検査における方法、ノーマルデーターの紹介は、本ニュースに既に記載してあるので省略致します。検査値から異常個体をチェックし、必要があれば再検査、更に詳細な検査を行っている吉田さん達です。

最初に述べた様に、もう一つの「定健」の目的は、各種病原体によるコロニー汚染をチェックすることです。未知のウイルス感染の第一段階の目安としても血液検査は、必要性が大です。

更に加えて今度は、ウイルス検査室の向井さん、Mrs小林さん、そして私の3人によって、血清を血清銀行に収納する準備、各ウイルス抗体の検査等もルーティンの一つとして行います。血清銀行は、もちろんコンピュータ化され、今までの「定健」で採血した血清は、ほとんどBankに登録、収納されています。

ウイルスの抗体検査は、麻疹、SV5、HSV(単純性疱疹ウイルス)が主で、必要に応じレトロウイルス関係の検査も行なっています。麻疹、SV5については、今までの

検査の結果、当センターで出生した育成ザルでは、すべて抗体は陰性です。またHSVは特別な飼育方法以外のつまり通常の飼育方式での育成ザルは、やはり陰性という成績を得ています。

「定健」に携わるメンバーの選抜から始まり、諸検査の結果ができあがるまでは、多くの人の協力と努力が必要であることを、充分経験させていただきました。これらの「定健」の検査結果は、まとめられ過去数年間にいろいろな学会や研究論文で報告されています。

そこでTPC創立後10年たった現在、今までの「定健」で得た経験、成績を基にして「定健」における諸検査の見直しが行なわれました。その結果、まずはじめに糞便による細菌検査(主に赤痢菌)が、すでに削除されました。

そして血液検査の16項目も、成績を多変量解析によって検討を加えた結果、現在は12項目について測定する様になり、それに伴う費用も軽減したとの事です。また、新機種の自動血球計算器導入で、今まで測定不可能であった検査項目も、今後検討したいという声も耳に入りました。

ウイルス関係では、3種のウイルスのうちSV5がすでに、検査項目から削除されていることなど、各検査で新旧の交代が見られ、将来に向かって新たな前進が望めそうです。

最後にこれらを総括してみた結果、予算的な理由もあって1年に一回の「定健」を2年に一回の「猿ドック」にしても、なんとかTPCのコロニーのサルの健康管理あるいは、病原菌の汚染状況を把握することは、可能であるという判断が、関係者の間でされています。しかし最近の予算縮減政策のあおりを受けて、サル達の健康管理体制をゆるめることは果して許されるのか、悩ましい思いも、一面で致します。

なお、アフリカミドリザル、リスザル、

タマリンについては、今まで通り1年に一回で続けて行くそうです。今回はカニクイザルの「定健」の様子を紹介してきたわけですが、カニクイザル以外のサル種についても、基本的には全くカニクイザルと同じ要領で行なわれています。しかし血液検査の測定項目の違い、あるいはウイルスの抗体検査での対象ウイルスの違いはあり、それぞれのサル種に合ったものを選んで検査しています。

本日もまた、当センターの老若男女のスタッフが、サル達に多方面で医学実験用動物としての、有用性を発揮させるため、黙々と努力している姿が印象的な取材の一日でした。

この「定健」で得られている経験やデータが、サルを実験動物として扱う人達に、少しでも役に立つ事を期待しつつ、今日の報告を閉じさせていただきます。と同時に、これだけ念入りに育てられている動物を、決して無駄に無意義な実験に使ってはもらいたくない、との思いもつのも参りました。

《実習生メモ》

飼育カニクイザルにおける生後6ヶ月間の母子関係

Changes in the interactive behavior between mother and colony-bred infant cynomolgus monkeys for six months after birth

筑波大学心理学系学生 鈴木淑子

私は、卒業論文作成のための実験やデータ分析のために、当センターで1987年の約1年もの間お世話になりました。その成果をここに報告させて頂きたいと思います。

〈目的〉飼育カニクイザルの母子を、子ザルの出生から約6ヶ月間観察し、母子の相互の行動の変容過程を明らかにすること。

〈方法〉カニクイザルの母子を、子ザル

が雄の組合わせ2組、子ザルが雌の組合せ2組、計4組を観察した。母子の行動は、予備観察によって定めた行動項目に基づき記録した。また、1ヶ月ごとに子ザルの血液の血清生化学値を測定した。

〈結果〉①個体の行動項目について

母子相互の関係を最もよく表わしていると考えられる、子ザルの2つの行動項目についてほぼ共通な変化を示した3頭のうち1頭の例(図1)と、異なる変化を示した1頭の例(図2)を取り上げる。図1から子ザルは週齢に伴って徐々に母ザルから離れていくことがわかる。図2より、この子ザルは他の子ザルより母ザルと接触している状態が長かったことがわかる。

②子ザルの行動項目の主成分分析の結果(図3)

第1主成分PC1で全体の分散の72%を説明しており、PC1にのみ子ザルの月齢に伴う変化がみられたので、各個体毎に図3に表わした。PC1はその因子負荷量から、子ザルの母ザルへの依存性を表わす主成分だと考えられる。したがって、図3より、子ザルの母ザルへの依存性は、月齢に伴って増減をくり返しながらも、全体としては低下する傾向を示すことが判る。この点で、I—22の子ザルは他の子ザルと比べると、5、6カ月齢でも依存性が低下しなかったことから、成長の遅れが示唆される。

③子ザルの血液性状と行動の正準相関分析による結果。

I—21, I—24, I—23の子ザルは、3カ月齢が最も低い値で、他の月齢ではそれより高い値を示した。しかし、I—22の子ザルだけは、3カ月齢以降正準変量の値がほとんど変化しなかった。また、このI—22は、骨の成長の指標とされるアルカリフォスファターゼが高い値であったので、生理面においても成長遅延が疑われる。

〈まとめ〉今回被験体となった母子は、第4

室で母子のみ飼育されており、子ザルが母ザル以外の個体と接触することはない。また、子ザルが動き回ると、すぐに母ザルと接触してしまう。このような環境にいるためか、被検母ザルは、自然状態で生活している母ザルが示すような子ザルを制限する行動をめったに示さなかった。このことから、子ザルは自由に、母ザルと接触したり離れたたりすることができる。したがって、そうした行動が子ザルの成長を最も端的に示す指標として、主成分分析によって抽出されたと考えられる。また、1頭の子ザルの成長の遅れを行動の主成分分析によって指摘することできた。このことは、行動的指標と生理的指標といういわば異質なデータ群を結びつけた正準相関分析によっても裏づけることができた。

最後になりましたが、このすばらしい環境での研究の機会を与えて下さって本庄先生、まるで父親のように暖かく見守って下さった長先生、いたらぬ私を直接に手とり足とり御指導下さった小山先生、吉田先生、寺尾先生、資料を調べるのに大変親切に御協力下さった大藤さん及び鈴木さんを始めとする記録室の皆さん、その他センターの皆様に対し、心からお礼申し上げます。センターで過ごした1年は、苦しかったこともありましたが、今では大変すばらしい思い出として残っております。この研究活動を通じて得たものを、今後の生活に生かしていきたいと思えます。

《症例報告》

カニクイザルの腸憩室病

Diverticulosis of the colon in a cynomolgus monkey

榊原一兵

ヒトでは腸憩室病は比較的高率に発生し、その症例報告は多いが、病理発生や成因に

については不明な部分が多い。そして、本疾病のモデル動物の開発はほとんどなされていない。サル類での自然発症例の報告はごく少数で、特にカニクイザルに関して症例報告は見当らない。いっぽう、Bookusらは、本疾病の患者がソケイヘルニアを高率に合併していたと報告している。私どもがカニクイザルで見出した症例はヘルニアを合併しており、今後、ヒトにおける本症の病理発生や成因を解明するうえで有用なモデル症例になると思われる。

症例: マレーシア産、野生由来、雄 検収時の推定年齢は5才以上。その後剖検まで8年間当センターで飼育された。その間に与えられた飼料は市販固形飼料と果物であった。飼育期間中の便性状に特記すべきことは無い。剖検時の栄養状態は良く、左側ソケイ部と下腹部にヘルニアを認めた。

病理所見: 大型の憩室が下行結腸の漿膜面に3ヶ所認められ、そのうち計測した2個の大きさは各々 $1.1 \times 0.6\text{cm}$, $0.6 \times 0.3\text{cm}$ で乳頭状を呈し、黒褐色の内容物が透視された。また腸の漿膜がわずかに数ミリ限局して隆起した微小憩室と呼称すべき病変部も散在していた。それらの憩室はいずれも腸管膜付着部とその対側部との間の漿膜面に形成されていた。またその近辺の筋層の厚さは正常もしくは著しく菲薄化していた。大型および微小憩室ともにその発生は、血管が漿膜側より内輪筋を貫く部位にみられた。憩室は粘膜筋層と一層の粘膜上皮よりなり、その上皮は圧迫萎縮していた。粘膜固有層には少数の、小円形細胞、好酸球、かつ血色素を喰食した組織球が浸潤していた。大型および微小憩室とも、憩室の頸部では筋層が消失していた。以上の所見より、本症例を仮性腸憩室病と診断した。

腸憩室病は本質的にHerniationである。この点を考慮するならば、本疾病に多発する他の部位でのヘルニアの併発はあながち偶

発的とは思われない。本症発生には、体質的あるいは年令的因子が関連しているものと推察される。

飼育室から

Sketches from animal rooms

初産・育成雌ザルの哺育

Mothering behaviors of colony-bred and primiparous female monkeys

鴻野 操

当センターでの分娩総数の半ば以上を、育成ザルの分娩が占めるようになった。今後ますます多くの育成ザルが、初めての出産を迎えることになる。育成雌ザルは、年齢も3.5才になると繁殖用として、立派に大人入りする。そして、次々と初めての体験をして行くわけである。まず出会うのが種雄であり、そこに嫁入りすると多くの場合妊娠する。やがてその育成雌ザルにとっては、初めての分娩を経験することになる。御主人と一緒に住んでいる奥さんであれば、体の調子が悪く吐き気がするとか、何かおいしい物が食べたいなどと愚痴をこぼすこともできる。しかし、妊娠した雌のサルさん達にとっては、個別ケージの中で相談相手もおらず、お腹はどんどん大きくなってゆくのだから、不安でたまらない気持ち、時には抱くかもしれない。

そして、ついに出産の時を迎える。何とかともに仔どもを抱くことのできる雌ザルもいれば、逆さまに抱いているもの、中にはケージの床に落したまま仔ザルにまったく興味を示さないものもある。私どもは、哺育の下手な母ザルには、まず、仔をきちんと胸に当てがうような介助をする。この介助を何度か繰り返すことによって、半ば以上が上手に抱くことが出来るようになる。また、仔ザルにまったく興味を示さない母ザルには、哺育教育としてベテランの哺育

中の母ザルと一緒に同居させて、抱き方を見習わせることもしている。

繁殖棟には、繁殖用の部屋以外に分娩・哺育専用の部屋を設けてある。この部屋には通常、哺育中の動物と妊娠末期の動物を入れることにしているが、初めて妊娠した個体については、妊娠早期からこの部屋に移し、分娩中や哺育中の母ザルの行動を見せるようにしている。サルはヒトと同じように視覚が発達した動物であるので、「視ることにより覚える」ことのできる動物である。だから初産のお母さんザルが、私どもの与えるような飼育条件下で分娩・育児法を学習し、無事分娩し何とか仔ザルを上手に育ててくれることを願わずにはられない。

育成雄ザルの交尾能力検査

Mating test for colony-bred male monkeys
清水利行

当センターにおいて行なわれている、国別による世代維持システムを円滑に遂行して行く上で、優秀な種雄ザルを選抜し、活動させる事が重要な問題となっている。そこで、私達は現在、下記に示すような選抜方法を行っている。

まず、繁殖可能な年齢となった候補の雄ザルを選びその個体が外観上健康である事を確認する。また、雄ザルの犬歯は雌ザルを負傷させぬよう切断しておく。その雄ザルに月経周期のきれいな未経産の育成雌ザルを月経の初発日より7日後から14日間同居させておき、同居期間中は連日雌ザルの膣スメアを採取し、精子が確認できる日まで検鏡を続ける。14日間の同居終了後、35日目に雌ザルの妊娠診断を行う。このような雌雄同居を、候補の雄ザル1頭につき、4頭の雌ザルで順次行い、その成績により選抜する。

判定の基準としては、膣スメアによる精子の有無、雌ザルの妊娠の有無、それに同居中の雌ザルへの攻撃の有無などをみている。雌ザルを妊娠させた雄ザルは繁殖用として採用する。膣スメア中に精子の確認はできたが、妊娠はさせなかった雄は候補雄ザルとして再度のテストの成績により繁殖用として採用される事がある。また、精子も検出できず、妊娠例も作出できなかった雄は繁殖用として使用されない。また、雌ザルへの攻撃性が強い個体については、できるだけ繁殖用としての使用はさけている。

以上のような基準により選抜を行っているが、まだ問題点が多いようである。もし事情が許せば、相手雌には経産歴のある雌を使用した方が、雄ザルの繁殖能力と検査という観点からみて、良いのではないかと思う。また、雌4頭より少し頭数を増し、雄ザルの交尾能力誘導のチャンスを増やすことが必要かもしれない。

現在上記の選抜により26頭の育成雄ザルをテストして、妊娠を作出できた個体は14頭(約54%)、精子のみ確認できた個体は7頭(約27%)、精子も妊娠も検出できなかった個体は5頭であった。つまり、被検育成ザルの8割は交尾能力有りと判定される。

今後、繁殖用として送り出したこれらの雄ザルの活躍により、この選抜方法の有用性は一層評価のできるものになると思われる。