

《新任挨拶》

霊長類センターに期待する

Message from the director-general of NIH
Japan

国立予防衛生研究所所長 徳永 徹

爽やかな秋風が心地良く吹いています。
TPC ニュースの編集委員から、国立予防衛生研究所(以下、予研)の新所長として、筑波医学実験用霊長類センターに期待することを書くように要請がありました。予研所長として私は先ず、霊長類センターの創立以来その発展のため尽力された本庄重男初代所長、1 年足らずではあったが難しい時期に任を全うされた菅原孝雄前センター長をはじめ、センターの予研職員、予防衛生協会職員、その他の業務職員の方々のこれまでの御努力に対し、深甚な謝意を表したいと思います。また厚生省や大蔵省の行政当局、協会理事の方々、外来研究員、学界、民間の関係者の方々の御尽力や御援助に対しても、厚く御礼申し上げます。

現在世界は、東西ドイツの統一に象徴されるように、歴史の大きな転換期の只中にあります。44 年の歴史を持つ予研も、組織再編や新庁舎への移転を控えて、新しい時代へと踏み出そうとしていますが、霊長類センターもまた、大きな転機に立っていると言うべきでしょう。

予研の戸山庁舎には、国立医療・病院管理研究所と国立健康・栄養研究所も入ることになっておりさらに隣接する国立病院・医療センターと提携して、大きな保健医療研究区域

を形成することになります。3 研究所で行われる研究は、遺伝子レベルから人の生活習慣や行動のレベルに及ぶわけで、健康増進や疾病の予防治療を人の全体像において総合的に促える方向を特色の一つとすると考えられます。このような条件下で、実験用サル類に対する新しいニーズが生まれることは、必定でしょう。

一方村山地区には、同時に予研の生物製剤試験研究センターが作られる予定で、ここではこれまで同様、ワクチン等の安全性を保証するため、サル類の重要性は一層重みを加えることでしょう。こうして予研の戸山 村山、筑波のトライアングル体制は愈々大切な意義をもつことになります。

霊長類センターで繁殖育成されるサル類は、予研以外でも、老化や高次神経機能の研究、あるいは新薬の開発研究など、多方面で需要が多いようです。霊長類センターで育成されるサル類は、野生サルと異なる種々の利点をもっているからであります。このような状態を踏まえて厚生省に設置された「実験用動物供給体制調査検討委員会」は実験用霊長類の安定した供給体制等の在り方について、近く報告書を提出すると聞いています。私共としては、予研における国家検定や感染症研究等のためのサル類を今後も確保する必要がありますが、それだけでなく、法令や財政上の問題等の条件が整えば、動物福祉の観点からも霊長類センターで蓄積された繁殖育成の技術を、より広く医学の発展のために役立てたいと望んでいます。そのため緊急に解決を要する問題が少なからずありますが、しかし焦ら

ず忍耐強く、一つ一つ諸条件の整備を進めてゆかねばなりません。

このような時期に、センターは若く有能な吉川泰弘センター長を迎えました。7代目の庶務課長,4代目の事務局長も就任しました。これらの人々を支えて、センターのすべての人々が一体となって懸案を解決し,21世紀へ向けて前進してほしいと思います。望みは高く、足元は一步一步、ということでしょう。こうした地道な努力を、私も予研の所長として共に推進したいと思います。霊長類センターに対する国民の支援の輪も、今後一層広がってゆくものと信じます。

《新任挨拶》

センター長に就任して

Message of TPC's new director

吉川泰弘

筑波医学実験用霊長類センター(TPC)が昭和53年(1978年)に設置されてから、すでに13年になります。国際的な野生動物保護・希少動物の種の保存に関する活動の高まり、医学研究用に使用されるサル類の微生物学的・遺伝学的制御を含めた高品質化への要求、国立研究機関への安定供給体制の確立などに応えるために、世界でも類をみない大規模屋内繁殖システムが開始されたわけです。TPCは基本的に育成ザルを種ザルに組み込む自己完結型繁殖方式を取ることで、上記3つのニーズに同時に応えるという新しい戦略をとりました。従ってTPCの経験そのものが総大な実験であり、各段階では試行錯誤的に対応

するという戦術がもっとも現実的なものであったと思われます。13年を経た現在、野生ザルが全集団の10%以下という状況になり、初期の計画が着実に進行すると同時に、育成ザルの繁殖資質低下の問題、屋内繁殖システムでの潜伏ウィルス封じ込めの問題、育成ザルを主体とした長期再生産のための動的平衡状態を確立していくための問題など、新しい問題が生じています。

一方、医学領域では、高齢化社会を迎えて、従来あまり深刻でなかった老年性痴呆症、パーキンソン病のような神経疾患や、老年性感染症、日和見感染症などが重大な問題となりつつあります。また複雑化する社会構造に伴い増加傾向にある自閉症、心身症、うつ病などの精神神経疾患に対する対応も迫られています。さらにエイズ、スローウィルス病のような難治性疾患も制圧されなければなりません。このような疾病の原因究明、診断・治療薬の開発、あるいは予防には、ヒトの疾患モデルが必要であり、特にヒトに最も近縁なサル類での疾患モデルの開発・研究が要望されています。

1990年3月、初代のセンター長であった本庄重男先生が定年退官され、その後体液性免疫部の菅原孝雄部長がセンター長に併人されました。1991年1月より小生が新しいセンター長として着任し、TPCのいわば第一期を背負うことになりました。

TPCについてこれまでの経緯を振り返ってみると、TPCの設立にあたり、発令された、1978年の厚生省組織規程では、第92条以下で筑波に国立予防衛生研究所(予研)支所を置くこと、

その業務として「医学実験用霊長類の検査・繁殖及び育成，並びにこれらに関する研究に関することを司る」と規定されています。またこれらの業務を行うために 10 余名の予研職員と社団法人予防衛生協会の職員等が当てられました。これらのスタッフで輸入カニクイザルの検疫・健康管理，繁殖・育成のノウハウを蓄積しつつ，それらをマニュアル化することからスタートして，次第に屋内大規模繁殖システムを確立してきました。これまでの業務は主として国家検定の対象である生ワクチンの安全性を確認するために使用される高品質サル種の繁殖・供給であり，これは将来においても必要なものであります。

一方前述したように医学分野での疾患が変遷して来たのに従い，医学的に付加価値をもつ実験用霊長類の内容が，微生物学的・遺伝学的に統御された高品質サル種という一義的なものから，ヒトの疾患モデルとなるミュータント系のサル(単純に繁殖効率だけから考えれば落ちこぼれに相当するサル)あるいは老齢ザル，感染症モデルザルといった多様性をもつものになってきました。現時点でも，またおそらく将来にわたっても，これらの広義の医学実験用霊長類の研究や，健康管理・繁殖・系統維持を行っていく機関は TPC を中核にする以外にないと思われます。TPC が将来真の中核になるには，少なくとも研究活動のレベルアップ，マンパワーの補充，施設・設備の拡張が必要であると思います。

他方国内での実験用霊長類をめぐる問題の動きをみると，医学実験用霊長類のための国立供給・研究センター設置構造が絶えず

続いているといえます。1986 年発足した学識者からなる「実験用霊長類の資源開発検討委員会」，1989 年科学技術会議の「科学技術振興基盤の整備に関する指針について」の答申，さらに，1989 年発足した民間の「実験用霊長類事業準備委員会」，1991 年の厚生省「実験用動物供給体制調査検討委員会」の答申においても基本的に実験用霊長類の供給・研究センターの必要性が指摘されています。

TPC が単なる育成ザルの供給センターでなく，医学実験用霊長類の研究・供給センターになるためには，上述したように，研究活動のレベルアップが必要であります。同時に，供給センターとしても独自性をもつ必要があると思います。マウスの実験動物化の推移をみても，コンベンショナルマウス，SPF マウス，近交系マウス，ミュータント系マウス，疾患モデルマウスとニーズにより供給マウスの内容が変わって来ています。医学領域での主要な疾患の変化に伴い，医学実験用霊長類も前に述べたように，単なる育成ザルから，微生物学的に統御された SPF サル，ミュータント系サル，疾患モデルサルのようにニーズが多様化されて行くと思います。海外に野生ザルの育成施設をもった企業が成立して来ている現在，TPC の供給するサルは，将来を先取りしたサルである必要があると思います。従って感染症を含めた疾患モデル系の開発と，またそのために必要な遺伝子資源の保存・発生工学的手法の開発などに力を入れる必要があると思います。

1 つの研究プロジェクトが平均 3 ヶ年でその成果をもとめられる現在の自然科学の社会

の中で、上述したように集団の1世代交代に10年余を要する霊長類の研究は、短期的な研究と同時に10年、20年といった長期的展望に立った戦略、視野の必要な研究分野であると思います。その意味で第1期を踏みだそうとするTPCが、霊長類から出来るだけ多くの情報を吸収し、社会医療、疾病制圧に役立つ厚生科学を推測する1つの柱として、またユニークな国立研究機関として、発展するよう先輩諸兄の御指導、御協力を願う次第です。

《特集・育成カニクイザル》

妊娠率・哺育率

Pregnancy rate and successful nursing rate

長 文昭

1978年に当センターが設立されると同時に、東南アジア(マレーシア、フィリピン、インドネシア)より野生カニクイザルを導入し、継続世代繁殖(自家自給システム)の確立を試み始めた。当時は「継続的世代繁殖」を標榜している霊長類センターは、当センター以外になかった。以来、野生サル資源の保護と良質な医学実験用サルの供給のためには、上記システムの完成が必須のものであると考え、さまざまな方向から観察データを収集分析し、工夫検討を重ねている。

野生由来の両親から当センターで出生した第1世代(1st Filial Generation: F1)のカニクイザルは、十分な成熟年齢に達するとともに、逐次、繁殖コロニーに導入され繁殖活動に組み込まれていった。最初のF1個体の繁

殖コロニーへの導入は、1983年であった。それ以降、野生由来動物から育成動物への世代の交代は着々と進み、1990年12月末における繁殖コロニーに占める育成動物の割合は、77%に達した。近い将来に世代交代は完了し、繁殖コロニーから野生由来カニクイザルは姿を消し、コロニーの清浄度も一層向上するものと期待される。しかし、野生由来の動物と育成動物とでは、繁殖成績にいくつかの違いがあり、完全な継続世代繁殖を完成させるためには、これから克服しなければならないいくつかの課題もまた存在する。ここでは、育成動物の繁殖成績を見直して、それらの特性を明らかにし、育成ザルに見合った繁殖システム確立のための一助としたい。

当センターの飼育方式は、野生・育成を問わず個別ケージ飼育を原則とする。毎朝、すべての個体の健康状態を観察するとともに、雌ザルについてはケージ下の汚物受け上で月経血の有無を調査する。続けて2回の月経周期の確認された雌ザルは、続く第3周期の排卵期、即ち交配適期に雄ザルと72時間の同居をする。1対1交配方式である。

その後、雌ザルは、再び個別飼育となり、交配後4週目に妊娠診断を受ける。妊娠中の雌ザルは4週毎に健康診断を受けるとともに、超音波画像診断装置により胎仔の発育状態も観察・記録される。妊娠155日齢からは毎日胎仔の胎位検査がおこなわれ、逆子の場合は胎位変換を施し死産率の軽減を図っている。カニクイザルの妊娠期間は、 165 ± 7 日(平均値 $\pm$ 標準偏差)である。分娩日には出生仔登録のための検査(仔ザルの状態、性別

等)をおこなうとともに母ザルの哺育状況を調べ、哺育行動に問題がある場合には、仔ザルを里仔哺育あるいは人工哺育にする等の対応をとっている。

では本題にはいり、当センターで出産数を母ザルの野生・育成別に年次をおって見ることにする(図 1)。1978 年から 1990 年までの 13 年間に野生ザルからは 2435 例の妊娠が得られた。他方、育成ザルからは 1981 年以来 619 例であり、現在のところ野生ザルの妊娠数が育成のそれを大幅に上まわっている。しかし、今後は野生ザルのあらたな妊娠例の増加はそれほど考えられない。さらに育成ザルの妊娠数を年次数を年次毎に見ると、1988 年には年間 100 例を越え、翌年には育成ザルが野生ザルを上まわり、関係は逆転した。今後、この差は広がる一方であろうと考えられる。

1 対 1 交配方式による妊娠率を表 1 に示す。ある個体が、当センターで妊娠するために必要な交配個体の逆数が産次別に示されている。野生ザルが当センターで初めて妊娠するためには平均 2.5 回($0.4=1/2.5$)の交配が必要であるのに対し、育成ザルが妊娠するためには 6.9 回($0.14=1/6.9$)の交配が必要である。雌雄同居後のメス育成ザルの膣スミアを観察しても精子が見られない場合もあり、また雌雄の同居中の行動観察によって交尾行動が成立していないことが確認された例もある。このように正常な交尾行動、換言すれば正常な個体間関係が成立しにくい、という事は、雌雄の育成ザルの育成の仕方に問題があることを示唆している。現在、当センターでは

育成方式の改善について試行錯誤しながら検討を加えている。しかし、2~4 産次の妊娠率は野生ザルのそれと変わらないが、むしろ上まわった成績が得られている。このことから、初産時の妊娠率の改善が要望される。

他方、分娩状況には野生・育成のあいだに大きな差は認められなかった(表 2)。いずれの動物であっても 80%前後の正産率であり、流・死産も 13%程度認められた。当センター以外の施設から報告されている流・死産率より、当センターの流・死産率が低いのは、先に述べたように当センターでは妊娠末期の胎位検査と逆子の場合の胎位変換をおこなっているためであろう。それでは、カニクイザルの「子育て」の状況はどうであろうか(表 3)。ここでも産次別に野生ザルと育成ザルの哺育率を示している。野生ザルの正産数 2033 例のうち、1973 例つまり 97.0%は、母ザルが仔ザルの世話を良くした。哺育不良の 3.0%の原因は、母ザルの肥満、種々の原因による難産、等の理由による体調不良によるものである。他方、育成ザルでは正産の総数 539 例中 71.0%が哺育良好と判断されたものの、初産次にかぎった場合、哺育良好はわずかに 62.2%でしかなかった。第 2 産次以後 85%前後に向上するが、それでも野生ザルには到底およばない。哺育良好と判断された育成母ザルでも、初産次には、時々仔ザルを逆さまに抱いたり、一生懸命に仔ザルを抱きかかえるあまり仔ザルの口もとが母ザルの乳首の位置より高すぎて乳首に吸いつけない、といった哺育技術面での未熟さを示す個体が含まれていることも事実である。しかし、

産次がすすむにつれてそのような行動は観察されなくなってくる。

育成ザルの初産次の哺育能の良否には、母ザルの年齢、妊娠期間、新生仔の性別、体重等とは関係しないことも明らかになっている。そこで、初産をなるべく若いうちに迎えさせ、第2産次以降の正産効率の向上につなげることが重要であると結論できる。これまでの当センターでの育成ザルの初産次の平均年齢は6歳であった。そこで、できるだけ若いうちに、具体的に3.5歳齢になった雌と5歳齢になった雄とを積極的に交配に登用したいと考えている。またこれまでの1対1交配法に加えて、隔日交配法、群交配法、長期同居交配法等のいくつかの交配法を考えて実施していく。

今後、育成ザルの個体の性格・条件、飼育室特にケージ・器材等の利用状況、飼育技術員の労働・作業量といった繁殖を取り巻く要因を考慮しつつ、各種交配方式の有機的かつ有効的な運用を図り、育成ザルの妊娠率・哺育率の向上を実現していきたい。

《特集・育成力ニクイザル》

育成力ニクイザルの子育て

Mother-infant interactions

大阪大学人間科学部 中道正之

1. はじめに

野外で生まれ、おとなになってから捕獲された力ニクイザルであるならば、個別飼育されていても、メスもオスも相手を拒否することなく交尾を行い、メスの妊娠に結び付く。

そして、メスは出産した子ザルに対して十分な養育行動を行う〔2〕。しかし、このような野生由来の母ザルから生まれ、育成下で成長した個体になると、必ずしも全ての個体が繁殖に関わる行動を適切に行なうとは限らない。育成個体では、オスはメスに対して交尾姿勢である馬乗り行動をしない、メスは四本立ちになってオスを迎える姿勢を示さない、さらに、オスとの接触を怖がるなどの、交尾に対して、拒否的な行動を示す。また、出産した子ザルに対して、抱く、授乳する、毛づくろいする等の母性行動を全くしないメスもいる。しかし、これらのことは、行動的には極端な例である。事実、筑波霊長類センター(TPC)では、最初の育成メスザル(F1)の64.1%の個体が、2産、3産そして、4産以降になるとそれぞれ82.1%、89.4%、85.7%の個体の子ザルを育てることができる〔1〕。従って、そのような育成の母ザルの子育てが野生由来の母ザルの子育てと異なる点があるのか、また、育成の母ザルでも初産と経産で養育行動に相違があるのか、さらに、F2、F3と世代を経るにともなって、母ザルの行動は変容するのか、等々の行動学的側面からの興味が生じる。以下では、育成母ザル(F1)と野生由来母ザルの子育てを比較しながら、育成母ザルの子育ての問題点を検討する。

2. 育成母ザルの子育てと野生由来母ザルの子育ての比較

観察対象となった野生由来母ザルは、5年間以上TPCで個別飼育されており、その間に子育てを経験している。育成の母ザルは成体

になるまで概ね同年齢の個体と一緒に育成され、成体になってから個別飼育に移され、そして、オスとの交配により妊娠、出産した個体である。野生由来、育成のどちらのグループも子ザルを出産した個体を被験体とした。子ザルの生後 2 週目、4 週目、と 2 週毎に、生後 14 週目までを横断的に、各週 10 ペアづつ観察した(但し、育成の母子ペアについては生後 4、6、8 週目はそれぞれ、6、6、8 ペアである)。育成の母ザルの約 65%は経産、残りの 35%は初産であった。

母ザルが両手、または片手で自分の腹部にひっついて子ザルを被う「抱く(Held)」という行動は、育成の母ザルよりも、野生由来の母ザルに有意に多くみられた(図 1)。子ザルが母ザルの腹部にしがみついて、乳首を口に含み、母乳を飲む際に、母ザルの抱く行動を必ずしも必要としない。にもかかわらず、野生由来の母ザルはこの行動を比較的頻繁に行っている。そして、時には、母ザルから離れようとする子ザルの動きを制限するかのようになり、子ザルの胸を抱きしめることも見かけられる。一方、育成母ザルでは、自分の腹部に接して母乳を飲んだり、眠っている子ザルを抱かないで、両手でケージ前面の網をつかむなどをして、胸をやや開いたような姿勢を取っていることが相対的に多い。従って、子ザルが母ザルから離れようとするならば、母ザルから制限を受けることが比較的少なくなると思われる。母ザルから子ザルへの毛づくろいは、両グループの間に量的にも、質的にも差はなかった。

図 2 は、子ザルと母ザルのそれぞれの 1 頭

胸長以上の動きを伴う位置移動(Locomotion)の生起率を示している。育成母ザルの子ザルも、野生由来母ザルの子ザルも成長に伴って、活発に動き回っているのが図から読み取れる。そして、後者よりも前者で値が有意に高かった。野生由来の母ザルは、子ザルの生後 14 週齢を通して、概ね 5%の生起率を、一方、育成の母ザルは 10%から 20%の生起率を示した。母ザルの動きはこのような量的な差異だけでなく、質的な差異も認められた。野生由来の母ザルがケージの床の上を比較的ゆっくりと歩くのに対して、育成の母ザルの動きは急に始まり、あわただしい印象を与える。ぐるぐる回るといった常同的な動きも、育成の母ザルでは記録されている。そして、育成母ザルも急に動き始めたりする。このように育成母ザルの動きと連関して、子ザルが動くために、位置移動の生起率が、野生由来の母ザルの子ザルよりも有意に高くなったと考えられる。

母子が身体接触している状態から、子ザルもまたは母ザルの動きによって、身体接触が終了すること、つまり母子間の分離(Break contact)の回数が図 3 に示してある。子ザルの動きによる分離は、子ザルの成長にともなって増加したが、母ザルの動きによる分離は、子ザルの成長に関係なく、低い値のままであった。しかし、野生由来母ザルに比べて、育成母ザルはこの行動を有意に多く示した。これは、野生由来母ザルに比べて、育成の母ザルが位置移動を伴う活発な動きをより頻繁にしていたためと考えられる。母子間の分離に見られたこのような傾向は、母子間の再接触

(母子が離れている状態から身体接触すること)でも、確認された。

子ザルは、生後2ヵ月目に入ると、母ザルからにらむ、つかむ、はらう、咬む等々の攻撃的な行動(Maternal aggression)を受けるようになった(図4)。しかし、野生由来母ザルに比べて、育成母ザルではこのような子ザルに対する攻撃的な行動がやや少なかった。比較的狭いケージの中で、母子だけで飼育されていると、子ザルが母ザルの背や頭にとびのったり、頭の上に座って母ザルの口や鼻などを摘んだりひっぱったりする。また座っている母ザルに接するようにして、その回りをぐるぐると何度も回ることがある。これは、野外集団や飼育集団事態ではほとんど見られない行動である。比較的乏しい物理的、社会的環境の中で、子ザルが母ザルを対象として、遊びに関わっているものと考えられる。この行動は子ザルの成長に伴って増加したが、2つのグループの間に有意差はなかった。上述の母ザルから子ザルへの攻撃的行動の約70%は、子ザルによる遊びの関わりによって引き起こされている。通常は、母ザルは遊びに関わる子ザルに対して、避けるようなことをしないで、座った状態を保つことが多い。しかし、時折、攻撃的に対応する。すなわち、子ザルが同じように、母ザルに遊びに関わっていても、育成の母ザルに比べて、野生由来の母ザルが攻撃的な行動で対応することが相対的に多いと言うわけである。

これらの結果は、野生由来母ザルに比べて、育成の母ザルは子ザルへの働きかけが少なく、子ザルからの働きかけに対する反応性もやや

低いということを示唆している。従って、育成の母ザルの子育ては野生由来の母ザルの子育てに比べて、やや淡泊という印象を与えるかも知れない。このようなグループ間の差異は、野生由来母ザルがすべて経産であるのに対して、育成母ザルの35%が初産であったことに起因しているかもしれない。マカ属の初産の母ザルは子ザルに対して、極めて密接に関わったり、逆に、関わりが不十分であることが報告されている。そこで、育成の母ザルを初産と経産に分けて分析したが、今のところ統計的に有意な差は見いだせないでいる。従って、出産直後に子ザルを拒絶しなかった育成母ザルは、初産や経産などの産歴に関係なく、その後も十分な養育行動を示すと考えられる。出産当初には初産の母ザルが子ザルを強く抱きすぎたり、逆さまに抱くなどして、子ザルが乳首を口に含めないようにしてしまうことがある。このような稚拙な抱き方は、出産後比較的短い期間で見られなくなる。筆者は生後2週目から観察を開始しているので、このような不適切な子ザルへの対応はほとんど記録されず、また、分析した種々の行動において、産歴の違いによる相違は認められなかったと思われる。

3. まとめ

TPCでは、一般的な健康管理等のために子ザルの体重測定や保定検診が定期的に行われている。このために、子ザルは母ザルからの短時間の分離を経験する。このような人の介入が母ザルの子育てや子ザルの行動発達に悪い影響を与えないことが望まれる。このよう

な飼育環境において、野生由来の母ザルは出産した子ザルをほとんど拒絶せずに十分な養育行動を示す〔2〕。一方、育成の初産母ザルの35.9%が、2産目以降の育成の母ザルでは10%から20%弱の個体が出産直後から子ザルを拒絶する。しかし、残りの約70%の育成母ザルは子ザルに対して十分な養育行動を示している。従って、子育てを行う育成母ザルだけに限定するならば、育成母ザルの子育ては野生由来の母ザルの子育てに比べて、比較的淡白という印象を与える。しかし、子ザルが健康に成長している限り、このような子育てのスタイルが必ずしも不適切な行動変容とは言えないであろう。今後の課題は、世代を経るに従って、子育ての様相が如何に変容していくのかを明らかにすることである。そして、出産直後から子育てを拒絶するメスを如何にして減らすかも重要な課題である。これは、成長になってからだけでなく、子供の時の飼育環境も検討材料に加えるべきであろう。

文献

〔1〕 長 文昭(1990). 繁殖用育成種ザルの哺育能について,TPC NEWS, Vol.9, No.2, p.4.

〔2〕 Nakamichi, M., F. Cho, & T. Minami, (1990). Motherinfant interactions of wild-born, individually-caged cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) during the first 14 weeks of infant life. *Primates*, 213-224.

目で見える現場

《特集・育成カニクイザル》

目で見える現場

第2カニクイザル棟

Report from the animal room for the young
cynomolgus monkeys

羽成光二

今回「目で見える現場」で第2カニクイザル棟をみなさんに御案内いたします。私は第2カニクイザル棟を担当して7年目の羽成です。

TPCは御承知のことと思いますが、第1カニクイザル棟(繁殖棟)、第2カニクイザル棟(育成棟)、第3カニクイザル棟(実験棟)、第4棟(隔離棟)、第5棟ミドリザル区、リスザル区、タマリン区、そして検疫区と5つのブロックに分かれています。第2カニクイザル棟の役目は、第1カニクイザル棟で出生し、離乳した仔ザルを群飼育し、雌では3歳半以上、雄では5歳以上まで飼育する所でヒト社会でいえば幼稚園から大学までといったところでしょうか。その後、次期種ザルや国家検定用として使用されます。

それでは、これからこの道の突き当りの手前を左に曲がったTPC附属つくば幼稚園から順にみなさんを御案内致します。

「桜の花びら舞う季節」TPC附属つくば幼稚園でも入園のシーズンを迎えました。とは言ってもカニクイザルは通年繁殖しますのでTPCでは1年を通して、入園は毎週行っています。入園(離乳)の条件は、体重700g以上、哺育日齢90日齢以上、乳歯が第1小臼歯まで萌出し、自ら餌を摂取するのが観察されたものにその資格が与えられるわけです。

今日も第1カニクイザル棟担当の鴻野さん、

小野君，小松崎君，小川君に手を引かれた仔ザル達が入ってきました。母ザルから分けられた仔ザル達は皆一様に緊張と不安の色が隠せないようです。この時期(入園後1ヶ月間位)の仔ザル達はそういったことから下痢や体重減少，食欲不振などによるものが多くあり，その対応策の1つとしてここでは保母哺育を紹介致します。

これは母ザルから分けられた仔ザル達のストレスを少しでも軽減できればと考えられた方法で離乳された仔ザル4頭を同居し，その中に保母の役目をしてもらう哺育経験のある成熟雌ザルを同居させる方法です。仔ザル達はしっかり保母ザルに寄り添ったり，餌を仲良く食べたりしています。それでもたまに言うことを聞かない場合は叱られたりすることもあります。これもどこかヒトの社会と似たところがありますね。

保母ザルとの同居期間は入園してから1ヶ月までで，その後仔ザル達は自らいろいろな遊びを覚えたりして成長していくようです。幼稚園は入園してから3~6ヶ月までで，このころは体重も1.2kgから1.5kgと出生時の約4~5倍位に成長しています。

さて，それでは次の見学地のTPC附属つくば小学校へと場所を移動したいと思います。ここはヒト社会と同様に小学校，中学校，高校の期間が最も長くTPCのカニクイザルでは性成熟年齢になる3歳半から5歳位までここに席を置くのです。ところで，この小学校に入学する前までにまず，個体識別のためのイターイ大腿部内側入墨があるのです。とはいっても安心して下さい。その時にはしっか

り麻酔をしますから。

それからここで皆さんに御紹介します。自称，入墨を入れさせたら日本一といっている清水さんです。彼はこの道13年のキャリアを持つベテランで，すでにカニクイザルの入墨は千頭近くこなしています。内側部に入れられた6文字の数字はバランス良く，その大きさは誰が見ても一目瞭然といったところです。

まあ，清水さんへのヨイショはこの位にしまして次の御案内をしたいと思います。

小学校に入学した仔ザル達は餌をよく食べ，活発に動き回りますが，この頃から一つの大きな問題が起こります。それは，4頭同居している中で起こるケンカです。附属の学校なのでできるだけ入園時から同じ仔ザル同士で飼育しているのですが，勢力争いと言うよりはまだふざけて身体の小さいものや，ちょっと気の弱いものを虐めているといった感じです。

このように，虐められて落ちこぼれた仔ザル達は落ちこぼれたもの同士また次の群をセツトして飼育を続けます。とは言ってもヒト社会ではちょっと虐められたからといってもまた次の学校に転校という訳にはなかなかいかないのです，幸か不幸かサル社会の方が意外に生活しやすい面もあるのではないのでしょうか。

やがて中学生ほどになったサル達(2歳から2歳半)は進学組，就職組に分けられ飼育されます。進学組は入学試験準備にとりかかり始め，繁殖に必要な知識を勉強するのです。また就職組は，仕事に適しているかどうか体重測定，血液検査，寄生虫検査，ツベルクリン

反応，ウィルス抗体調査，外部検査等の健康診断を受け，合格したものは麻疹のワクチンや，風疹ワクチン，ポリオワクチン等の国家検定のために集団就職していく訳です。ちょうどこの教室では明朝，始発のバスに乗り込むサル達が，先生代り，またある時には親代りとなっていていろいろと面倒を見てくれた大藤さん，清水さんから旅行中の注意事項と，これからお世話になる施設の説明を，右手にリング，そして左手に夏ミカンを持ち，旅行用のケージの中でその話をよく聞いているようです。この時の集団就職組は48頭，就職先は予研村山分室，みんながんばってきてください！ところで，進学組としてTPC附属つくば中学校に残ったサル達はその後も順調な成長をして勉学に励み高校入学を迎えました。

この頃のサル達は小学生時代のケンカとはまたちょっと違った問題が起こります。身体も一段と大きくなり雄では生殖器の発達も見られます。そういったことから群の中では群のリーダーを決める争いとかが起こって前日までなんの問題もなかったサル達が一夜にして瀕死の重傷を負い倒れていたり，また中には死亡しているものさえありました。それに，以前から身体が小さく弱いサルが脱肛(直腸脱)を起こして手術をしなければならなくなったり，餌を食べられず倒れていたり，多種多様です。

ところで，以前このTPCニュースで紹介があった群飼育中での妊娠「不良女子高校生」もこの頃です。勉学に励むことは大変結構なことですが，中にはこんな勉強をするサルもいたりして，飼育を担当する我々には毎日が

苦勞の連続といったところです。

さて，それではいよいよ見学も終盤に入り，これからみなさんを最終見学地のTPC附属つくば大学，そして社会へ出てからのサル達の活躍ぶりを御案内したいと思います。

サル達は立派な体格に成長し，雌ザルは月経観察が容易に出来るように群から分けられ，個別飼育となり，また雄ザルも繁殖用として群から分けられます。雄ザルは繁殖用に使われる前に，その雄ザルに繁殖能力があるかどうか一定期間(約6ヵ月位)同居訓練と言ったものを受けなければなりません。これは体格も外部生殖器も立派なアダルトザルでも交尾の仕方を知らなかったり雌ザルをケガさせてしまったりする雄ザルでは先々繁殖にはちょっと適さないからです。ヒトでこの頃社会問題になっている，新婚旅行から無事空港についたとたん，「バイバイ」にならないためにそれを前もってテストするわけです。方法は，雌雄それぞれ1頭ずつ6ヵ月間常時同居させておき，毎月1回妊娠診断，体重測定を行っていくものです。先ほど「不良女子高校生」ということで群飼育中での妊娠が問題の1つにあると紹介しましたが，問題と言うよりはこのような面から考えると意外にも群飼育中に妊娠させてしまうような雄ザルは大変重要で，卒業式に総代を務めるような優秀雄ザルといっても過言ではありません。

1つ紹介を忘れましたが，体格的にも立派な大人になった雄ザル達は，また立派な鋭い犬歯を持っています。そのなかには長いもので30～35mm位になるものもあって，サルにとっても，また我々飼育技術員にとっても大

変危険です。このようなサルを同居交配訓練または実際に交配に使う前にその長い犬歯をヒトの歯の治療法に習ってカットします。いままで行った犬歯カットは有に数百頭を越えていると思います。

同居交配により交尾能力が認められた雄ザル、また妊娠し得る体格に成長した雌ザルはいよいよ TPC 附属学校の全過程を終了し晴れて社会へと旅立ちます。

TPC は交配にラインのローテーション・システムを導入しています。これは1頭の雄ザルと10頭の雌ザルを1つのラインとしてそのライン内での交配を行い、これから生まれた次世代のサルは別のラインの雄ザルと交配させるもので、近交係数を上昇させない目的で、この交配方法を行っています。そのため、卒業したラインのサルのそのほとんどが第1棟へ移動され第1線での繁殖活動をしませんが、残された一部のライン外のサルについては隔日1対1交配を行い、第2棟で繁殖活動を行います。第2棟での月平均妊娠数は5~6頭で常時20頭前後の妊娠ザルを確保しています。ところで、今回第2棟を皆さんに御案内してきた中でいくつかの問題点を紹介してきました。小学生、高校生時代のケンカ、また弱いサルの脱肛等がありましたが最後にいま1番問題となっている人工哺育を紹介します。第2棟で分娩する動物は、すべて TPC で育成された個体で、かつ、ほとんどが初産です。これらの母ザルのうちで出生時に仔ザルの世話を良くする(哺育良好)ものと、哺育不良のものとの割合は約半々です。その理由としてこれらの母ザル自身がその母親ザルから哺育さ

れた期間が出生してからわずか半年足らずなのでやむを得ないところです。人工哺育は出生時にその母ザルに哺育能力が欠けていて新生仔をうまく抱かなかったり、新生仔にケガをさせてしまうような母ザルから新生仔を分けて人工哺育を行うものです。与えるミルクは9時,11時,13時,16時の1日4回です。通常の母ザル哺育に比べて離乳できる体重までの日数は少し長いようですが、ほとんどが順調に成長しています。これまで最高11頭の人工哺育を一度に行ってきたことがあります。それにかかる時間は1回のミルク当り約1時間でその作業量は大変なものでした。

ところで、出産を何度か繰り返すと、母ザルに少しずつ哺育能力が出てきて哺育するようになるという事も最近解ってきました。我々は、このような体験でわずかな望みを託しています。従って人工哺育を出さない飼育方式の確立がこれから先の大きな課題になることと考えます。

さて、これまで第2棟をヒトの附属学校に例えて皆さんに御案内してきましたがいかがだったでしょうか。

離乳から交配用種ザルになるまでの約4年間をちょっと駆け足での紹介になってしまいましたが御理解頂けましたでしょうか。

「羽成君、5室まで来て下さい。」

いまちょっと無線連絡が入ったのでそれでは、第2棟の御案内をこの辺で終りにしたいと思います。

《特集・育成力ニクイザル》

育成力ニクイザルにおける病原微生物の感

染状況

Natural Infections with Various Pathogenic Agents in Laboratory-Bred Cynomolgus Monkeys

1. ウィルス

Viruses

成田豊子

向井録三郎

早いもので、本ニュースが発行されて 10 年が過ぎようとしています。その間私達ウィルス担当者は、検査情報、研究手帳等で TPC サルコロニー内の各種ウィルスの検査結果を紹介してきました。TPC も創立 13 年を迎え、繁殖群コロニーも野生由来種ザルから、育成 F1, F2 種ザルへと世代を交代しています。それに伴い各種ウィルスに対する検査成績も、野生由来ザル版から育成ザル版へと更新され、新しいデータも、かなり蓄積されました。

当センターの目指したウィルス汚染の極力少ないカニクイザルが、繁殖育成できたかどうか、いくつかのウィルスを取りあげ、これらに対する抗体保有状況を野生由来ザルと比較しながら見てみようと思います。

まず始めは、設立以来特に注目されたパラミクソウィルス群の 1 つである麻疹ウィルスのいないコロニーを作出できたことである。表 1 は、1979 年から 1987 年の輸入野生カニクイザルと、TPC 産の(1990 年調査)育成ザルにおける、麻疹ウィルス抗体を赤血球凝集抑制試験(HI)法で測定した結果である。野生由来ザルの輸入時の平均保有率は 45%であった

が、輸入後 9 週目には 80%以上に上昇した。しかし育成ザル 1518 頭はすべて陰性である。麻疹ウィルスの自然感染は、ヒトとサル類のみに見られる。サル類は、麻疹ウィルスに高い感受性を示すため、野生輸入サル類から麻疹ウィルスに汚染されていないサルを入手する事は、非常に困難である。従って、TPC の育成ザルコロニーすべての個体が本ウィルスに対する抗体が陰性で保持されている事は、今後もワクチンの国家検定用、それに関連する研究用の実験動物として、増々期待されるであろう。

第 2 のウィルスは、*Herpes virus simiae* (B ウィルス)である。マカク属のサル類が保有している B ウィルスは、ヒトの単純性疱疹ウィルス(HSV-1)と共通抗原を有している事が知られている。ヒトが感染すると極めて危険とされるため、サル類の B ウィルス抗体の有無を把握しておく事は必須である。しかし P4 施設の使用ができない我国において、B ウィルスを取扱う事は不可能である。そこで我々はヒトの HSV-1 抗原を用いて、補体結合試験(CF)法で抗体価を測定している。

表 2 は、1979 年から 1987 年の輸入時および輸入後 9 週目そして、育成ザル(1990 年調査)の抗体保有状況を示した。全体的に見ると、輸入時、9 週目の抗体保有率約 50%である。一方、育成ザルのそれは、わずか 3%である。また酵素抗体法を用いて測定の感度を上げる事により、野生由来 CF 抗体陰性ザルの約 60%が、更に抗体陽性である事が解った〔1〕。育成ザルも同様に測定したが、それはまちがいに陰性であった。つまり野生由来ザルは、

約 80%が HSV-1 抗体陽性である事が、最近の検査結果で判明した。その上の抗 HSV-1 抗体陽性ザルは、ほとんどが B ウイルス感染に起因する抗体であると考えられている〔2, 3〕。

育成ザルの 3%の陽性例は、TPC では、例外的に試みている、繁殖群・飼育ザルである。通常の飼育システムで離乳をした個体は、HSV-1 抗体陰性のまま成長する。しかし群飼育の様に大型ケージ内で何世代もの親仔で同居した場合に限り野生由来抗体陽性ザルから、育成ザルへの本ウイルス感染が、接触等によりくり返しケージ内で起こっているものと思われる。従って HSV-1 つまり B ウイルス抗体のないサルを、確実に育てるには、抗体陽性ザルとの接触を最低限にして、抗体陰性仔ザルだけを同居させることである。

麻疹ウイルスと同様にこの B ウイルスについても、育成コロニー内から排除できたウイルスといえよう。

他のヘルペスウイルスについては、サルサイトメガロウイルス(SA-6)、Cyno-EBV の検索も、間接蛍光抗体法(IFA)により行った。サイトメガロウイルス(CMV)に関しては、潜伏感染していた本ウイルスが、免疫抑制剤投与等によって活性化され、大きな影響を個体に及ぼしてしまう事が知られている。本ニュース〔3〕に、SA-6 ウイルスに対する抗体保有率に関する成績が記載されているが、野生由来ザルが 100%陽性である事は仕方ないにしても、育成ザルにおいても図 1 の通り全体で見ると約 85%が陽性であり加齢と共に、抗体保有率は 100%に上昇してしまう。

又、Cyno-EBV に対する抗体保有率も図 2

に示す様に、SA-6 ウイルスと同様な傾向を示している〔5〕。

CMV や EBV のいない育成ザルを確保するには、現在の TPC の繁殖飼育システムでは、非常に困難である事が解った。しかし 1 昨年のサル水痘様ヘルペスウイルスの流行で、飼育管理作業の停止のため、離乳をせずに母ザルと長期同居(7 ヶ月令から 1 才 8 ヶ月令)をさせた例があった。(表 3)。その結果、2 才例位であってもまだ、これらのウイルスに対する抗体陰性ザルが数多くいる事が解った。従って CMV や EBV をしばしば、母ザルから伝播された仔ザルが、離乳後同居している他の抗体陰性ザルに対して簡単に、感染源になり得るものと思われる。

これらの結果は、TPC では主に水平感染が両ウイルスの汚染の原因となっている事を示唆しており、CMV や EBV のいないカニクイザルを作出するための展望が開けて来たと言えよう。

本誌前号〔6〕の特集号で脚光を浴びたサル水痘様ヘルペスウイルス(TSVV)もヘルペスウイルス(TSVV)の 1 つである。流行終息後における分離ウイルスを抗原とした IFA 法での第 1 次疫学調査も、ほぼ終了した。TPC の第 1 棟から第 3 棟までの、野生由来ザルと育成由来ザルでの検査結果は、表 4 に示した通りである。また表 5 には、野生由来ザルの輸入時における抗体保有率を産地別に分けて示した。流行のあった第 1 棟では、野生、育成共に 13%の保有率であった。これら陽性例の流行前の血清でも数%がすでに抗体を持っていた事も明らかになった。第 2 棟の育成ザルは

すべて陰性であったが，第 3 棟の育成ザル 1 頭が陽性であった。このサルは予研獣疫部・分室産であり，当センターに移動した直後の血清(1979 年)は，すでに陽性であった。

しかし IFA 法では，感度の点で検出不可能な個体もいる事等からも，本ウィルスに潜伏感染している個体を把握し，本ウィルスのいないコロニーを作出する事が，私達の今後の課題の 1 つであろう。前述したように，輸入時すでに抗体をもっていた野生ザルも数例いた事等も，本ウィルスの感染源を解明する 1 つの手がかりになるであろう。

最後に，レトロウィルス属である STLV-I 及び SIV 抗体の疫学調査(IFA 法)の結果を紹介する。カニクイザルでは，ミドリザルと比べ野生，育成を問わずこれらのウィルス汚染の少ない事が明らかとなった〔7〕。

STLV-I に関しては，表 6 に示した様に 1989 年の調査では，野生由来で 10%，育成ザルでは 1%にも満たない抗体保有である。又，SIV に関しては，1990 年の調査では，野生 0.8%，育成 0.1%という極めて低い抗体保有率であった。これらの結果をミドリザルと比較するとかなり低率である。

カニクイザルにおいては，レトロウィルス関連の感受性は，ミドリザルのそれに比して弱いものなのかもしれない。

私達がウィルスを担当して 10 数年が過ぎてしまいました。野生由来ザルを実験動物として，用いている事は，本当に危険な事です。折角の実験が得体の知れない野生由来ザルを用いた事で，不成功に終わった例も数多く経験している研究者もいる事と思います。本誌〔8〕

特別寄稿，大滝先生の例もその 1 例と言えるでしょう。

創立以来私達は，パラミクソウィルスグループや，ヘルペスウィルスの汚染の極力少ない，育成カニクイザルを作出し，精度の高い，高品質ザルを科学的実験に使用して欲しいと考えて参りました。

その結果，育成カニクイザルでは，麻疹，SV5(詳細は触れていませんが)，ヘルペス B，SA-6，Cyno-EBV，サル水痘様ヘルペス，STLV-I，SIV 等の汚染のない個体作出が成功しつつあることが明らかになりました。臓器移植や免疫抑制剤の研究，各種ワクチンの検定等に必要基礎研究で，TPC の育成ザルが有用性を発揮してくれる事を期待しながらこの稿を終わりにします。

文献

- 〔1〕 藤本，成田ら
第 7 回日本霊長類学会 予稿衆 P.31.
- 〔2〕 篠川 旦(1983)
TPC NEWS., Vol.2, No.2.
- 〔3〕 Sasagawa A. Suzuki M. Narita T and et al,
(1986) Exp. Anim., 35, 59-63
- 〔4〕 小林 理恵子(1988)
TPC NEWS, Vol.7, No.2
- 〔5〕 Fujimoto K., Honjo S. (1991)
J. Med. Primatol., 20: 42-45
- 〔6〕 高阪，向井ら(1990)
TPC NEWS, Vol.9, No.2
- 〔7〕 篠川 旦(1987)
TPC NEWS, Vol. 6, No.1
- 〔8〕 大滝 サチ(1984)

2. 細菌

Bacteria

鴻野あや子

高阪精夫

当センターでは、東南アジア(フィリピン、マレーシア、インドネシア)から輸入した野生カニクイザルをもとに現在のカニクイザル繁殖コロニーを設立した。周知のように、野生ザル類にはいろいろな病原細菌が感染している。それらのうち、サル類の健康管理およびヒトへも感染するという観点から、赤痢菌、サルモネラ、カンピロバクターといった腸内病原細菌および結核菌の感染は重視しなければならない。今回は、赤痢菌、サルモネラ、カンピロバクターおよび結核菌の感染状況を新輸入野生ザルと当センターの育成ザルとでくらべてみたので報告する。

1) 赤痢菌、サルモネラおよびカンピロバクター

表 1 に 1979 年から 1987 年の 9 年間に、当センターに輸入された野生ザルと 1986 年から 1990 年に検査した育成ザルにおける腸内病原細菌の分離成績を示した。まず、赤痢菌についてみると、輸入野生ザルからの赤痢菌分離率は 10.2%であったが、育成ザルからは 1 株の赤痢菌も分離されなかった。野生ザルから分離された赤痢菌の血清型は 8 種で、そのうち *Shigella flexneri* 2a, *S. sonnei*、未公認の赤痢菌血清型 1621-54 が多く分離された。つ

ぎに、サルモネラについてみると、輸入野生ザルからの分離率は 2.5%であったが、検査したすべての育成ザルは陰性であった。野生ザルから分離されたサルモネラの血清型は 8 種で、そのうち *Salmonella weltevreden*, *S. typhimurium* が多く分離された。また、カンピロバクターについてみると、輸入野生ザルからの分離率は 36.3%であった。一方、育成ザルの分離率は 26%で、年齢別では、年齢の低いものほど検出率が高いという傾向があった。分離されたカンピロバクターの菌種をみると(表 2)、*Campylobacter jejuni*, *C. coli*, Nalidixic acid resistant thermophilic *Campylobacter* (NARTC), *C. fetus* subsp. *fetus* の順に分離された。育成ザルからは *C. jejuni* と *C. fetus* subsp. *fetus* がほぼ同率に分離された。これらカンピロバクター感染と下痢症との関係を知るため、6 日間以上下痢が続いたサルについて本菌の分離を試みた。表 3 に示したように、全体の検出率は 48.1%と非常に高率であった。育成ザルの年齢別では、年齢の低いものほど検出率が高いという傾向があった。分離菌種は *C. jejuni* と *C. fetus* subsp. *fetus* の 2 菌種で、後者の方が多く分離された。

2) 結核

当センターのサル類における結核症の診断はツベルクリン試験、血液学的検査、病理組織学的検査および結核菌の分離・同定検査によって行っている。1979 年から 1987 年までに輸入した野生カニクイザル 2,484 頭の調査では、1987 年にインドネシアから輸入されたサル 1 頭にのみ人型結核による結核症がみら

れた。一方、育成ザルでは現在まで結核菌の感染はみられていない。

以上、当センターの育成カニクイザルには輸入野生カニクイザルとは異なり赤痢菌、サルモネラおよび結核菌の感染がないということは、これら3者の感染のしないことが確認された野生輸入ザルで繁殖コロニーが作られ、この繁殖コロニーや育成コロニーのサルは新輸入野生ザル類からは完全に隔離され、かつ衛生的に飼育管理されていることによると言える。しかし、カンピロバクター感染は輸入野生ザルと同様に育成ザルでもみられている。その理由は、繁殖コロニーを作った時点では、サル類におけるカンピロバクター感染についての情報が少なかったため、本菌についてはほとんど注意を払っていなかった。そのため、本菌に分離調査を行わないままに輸入野生ザルを繁殖コロニーに加えてしまった。その結果、これらの菌陽性ザルから他の繁殖ザルや、育成ザルに本菌が伝播したものと思われる。カンピロバクターのサル類に対する病原性はまだ十分に解明されていないが、人畜共通伝染病という観点からもサル類のコロニーから排除して行きたい。

3. 寄生虫

Parasites

高阪精夫

周知の如く、野生のサル類には多くの種類の寄生虫が多数感染している。一般的にみて、これらサル類に感染する大部分の寄生虫はサル類に対して重篤な病気を起こさないと考え

られる。しかし、寄生虫の感染が実験成績を混乱させたり、ヒトにも感染するものがあるので実験動物としてのサル類からは是非とも排除しなければならないと考えている。

サル類に感染する寄生虫の中には人工の環境下で自然に消失するものがあるが、普通、寄生虫の駆除には駆虫薬が用いられている。当センターでは、しらみ等外部寄生虫に対してはパイエル社製のネグホンを、蠕虫類に対してはサイアベンダゾールを用いている。しかし、原虫類に対する投薬は行っていない。

今回は、当センターにおける新輸入野生カニクイザル、輸入後4年以上飼育された野生由来ザルおよび野生由来ザルをもとに設立された繁殖コロニーで生産された0才齢以上のサル(以下育成ザル)における寄生虫の感染状況を報告する。

まず、表1に、1979年から1986年までにマレーシア、フィリピンおよびインドネシアから新たに輸入されたカニクイザルについて行った駆虫薬サイアベンダゾール投与前の蠕虫類および原虫類(*Entamoeba* 属のみ)の糞便検査成績を示した。蠕虫類の虫卵(虫体も含む)検出率は全体的には17.3%であった。原産国別では、インドネシア産からの検出率がマレーシア産、フィリピン産のそれらより高率であった。検出された虫種では *Strongyloides* sp. が一番多かった。その他、*Oesophagostomum* sp., *Stretopharagus* sp., *Trichuris trichiura*, *Bertiella* sp. などが検出された。また、*Entamoeba histolytica* を含む *Entamoeba* 属の検出率は全体的には58.5%であった。原産国別では、蠕虫類の検出率とは逆に、インドネ

シア産からの検出率がマレーシア産，フィリピン産のそれらより低率であった。

つぎに，予研・寄生虫部の小山 力・前部長らの御協力により，1985 年 5 月から 1986 年 3 月にかけて，輸入後 4 年以上飼育された野生由来ザルおよび 0 才齢以上の育成ザルについて行った蠕虫類，消化管および血液寄生性原虫類の検査成績を表 2 に示した。なお，これら野生由来ザルに対しては輸入時から今回の検査までの間に，3 クール，サイアベンダゾールを投与した。育成ザルに対しては 1～2 クール，同駆虫薬を投与した。

原虫類についてみると，糞便からは野生由来ザル，育成ザルからともに，*Entamoeba histolytica* およびその近似種，*E. coli*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba buetschlii* および *Chilomastix mesnili* が検出された。また，*Giardia lamblia* が育成ザルにのみ検出された。また，野生由来ザルと育成ザルとの検出率をくらべてみると，*E. coli* と *I. buetschlii* の検出率はほぼ同じであったが，*E. histolytica* およびその近似種 *E. nana* および *C. mesnili* では，育成ザルの方が野生由来ザルより低率であった。血液からは *Plasmodium* sp. が検出されたが，その検出率は育成ザルの方が野生由来ザルより低率であった。蠕虫類では，育成ザルの 1 頭のみ *Strongyloides fuelleborni* が検出された以外，すべて陰性であった。

以上，当センターの育成ザルには蠕虫卵に感染がほとんどみられなかったということは，蠕虫類に対する駆虫薬サイアベンダゾールの投与が非常に有効であったこと，また，衛生的な飼育管理がなされていることに起因する

と言える。しかし，原虫類に対しては何ら投薬を行っていないので，育成ザルでも高率に原虫類に感染していたものと思われる。

今後は，これらの原虫類の駆除法について検討して行きたい。

血液・血清

《特集・育成カニクイザル》

血液・血清生化学値

Hematological and Serum Biochemical Values

吉田高志

野生由来成熟個体での血液・血清生化学測定値のサル種ごとの特性については，すでに多くの報告がされている。しかし，動物の年齢，成長にともなうそれら測定値の変化については，ほとんど報告されていない。若齢個体と成熟個体とで，それらの測定値を比較した報告が，アカゲザル，ブタオザル，ヒヒあるいはミドリザルでわずかにある程度にすぎない。他方，当センターでは，誕生日の明確な年齢の異なる多数のカニクイザルを保持している。その利点を生かし，これらの動物から得られた測定値を，個体の年齢に従ってプロットすることにより，かなりの程度に動物の成長変化を知ることが可能である。そして，そのようにして得られた資料は，当然のことながら，動物を適切に管理し健全に育成してゆくために必須のものである。このような観点から，我々は，育成カニクイザルの血液・血清生化学値の成長にともなう変化について調査することにした〔1〕。

1. 血液学的測定値

1 歳齢の仔ザルの時期、3 歳齢の性成熟前後の時期、そして 10 歳齢以上の成熟しきった時期の測定値を表に示した(表 1)。ほとんどの測定項目で、動物の年齢にともなって測定値が変化していることは明らかである。

赤血球数(RBC)は、年齢にともない(正確には 5 歳齢ごろを境として)減少する。一方、ヘモグロビン濃度(HB)は、年齢とともに増加し、赤血球の大きさ(MCV)も 3 歳齢をすぎたところから大きくなる。しかし、ヘマトクリット値(Ht)には、年齢にともなう顕著な変化は認められない。すなわち、カニクイザルの場合、性成熟に達した 5 歳齢ごろを境として、赤血球 1 個あたりの容積が増加するとともに、赤血球あたりの HB 含量が増加し、赤血球数の減少を代償しているものと判断される。動物の性成熟によって、赤血球の性質が、それまでの若齢型から変化するようである。この赤血球の性質の生理的意義について明らかにする必要があるが、ヒトでもそのような研究は、未だなされていないようである。

他方、白血球数(WBC)については、顕著な変化は認められなかった。

2. 血清生科学的測定値

それでは、血清生化学値の年齢にともなう変化について見ることにする(表 2)。もっとも顕著な変化は、アルカリ性フォスファターゼ活性(ALP)の減少である。この減少は、雄よりも雌の方が 1 年ほど早く始まり、早く完了する。雌雄とも 7 歳ごろには安定した低い値を呈する。この ALP の推移は、カニクイザルの体重の推移とよく対応しており、血清 ALP

が個体の骨成長を反映しているという一般的な知見と一致している。ヒトの小児の血清 ALP は 10~30 程度であるとされている。しかし、カニクイザル仔ザルでは、ヒトに較べて約 2 倍の高値を呈している。カニクイザルの成長速度が、ヒトよりも相対的に速いことを意味しているのかも知れない。ちなみに、カニクイザルよりも小型の南米原産のリスザル仔ザルでは、200~250 という高値を呈している。

血清タンパク関係では、総タンパク濃度(TP)が年齢にともなう有意に増加する。しかし、アルブミン濃度(ALB)には顕著な変化はみられないために、結果的にアルブミン・グロブリン比(A/G)は年齢とともに減少する。

脂質関係の項目は、10 歳齢以上の高齢群でおおむね高値を呈するようになる(PL, HDLCHO, TCHO, TG)。このことは、成長過程を終えたカニクイザル達にとって、当センターでの飼育環境が、過剰栄養をもたらす肥満へと導いていることを示しているのかも知れない。今後、サル達の飼育条件を、一層適切なものにする為の努力が必要である。

3. 野生と育成

ところで、表 1 にも表 2 にも比較上、野生由来の動物の測定値を掲げた。しかし、いまままで野生由来動物の測定値について言及しなかった。これまで見てきたように、これらの測定値は動物の年齢にともなう変化するのが大部分を占めている。ところが、野生由来の動物の正確な年齢は不明である。従って育成と野生由来の動物の血液・血清生化学値

を比較しようとする場合、通常は、性成熟に達した育成動物を選んで一群とし、比較することになるだろう。しかし、それではせっかくの育成動物の年齢という情報を損てしてしまうことになる。さらに、性成熟以降の育成動物の年齢差も無視してしまう。そこで、そのようなことを避けてデータ解析をおこなうことにした。方法としては多変量解析を採用し、そのうちの正準判別分析法の適用をおこなった〔2〕。

解析法の詳細は省略し、結論だけを述べる。1歳齢から12歳齢以上までの育成群9群と野生由来群の血清生化学値の測定を15項目(表2で示した項目)でおこなった。それらの測定値に正準判別分析法を適用し、15次元の情報をふたつの合成変量(Z_1 , Z_2)に要約した訳である。育成の各年齢群と野生由来群とを Z_1 — Z_2 平面上に配置した(図1, 図2)。図であきらかなように、雌雄とも育成群はその年齢に従って Z_1 軸上を正から負に配列され、雄では7~8歳齢以上の群、雌では5歳齢以上の群がほぼ同じの Z_1 の値を示している。 Z_1 によって、育成力ニクイザルの血清生化学値に見られる成長にともなう変化を抽出しているものと判断される。他方、推定年齢で10歳齢以上である野生由来群の Z_1 の値が育成の雄7~8歳齢以上、雌6歳齢以上の群の Z_1 とほぼ同じ値をしめしたことは、妥当な結果であろう。他方、 Z_2 の値は育成のそれらの値が正であるのに対し、野生由来群は負となって、明らかに異なる位置を占めた。育成群と野生由来群での血清生化学値のちがいを Z_2 の値によって検出した訳である。 Z_2 に係る固有ベクトル

の係数の大きさから、野生由来群は育成群にくらべてALBやA/Gが小さく、TP, TCHO等の値が大きいことが期待された。項目毎の検討でも雌雄とも野生由来群のA/Gが育成群に較べて有意に小さかった。野生由来動物では、当センターの人工環境下での飼育生活を経てさえも血清グロブリンの高値が観察された訳であり、これらの動物の野生生活の時期の栄養条件や感染性疾患への罹患等が、血清中に記憶されているのであろう。

当センターの清浄な環境で育てられた育成動物の血液・血清性状の成長変化とともに、成長後の育成動物の血清性状の野生由来の動物のそれとは異なっていることを、併せて紹介した。

文献

- 〔1〕 吉田高志・鈴木絹江・長 文昭・本庄重男(1986). 実験用力ニクイザルの成長にともなう血液学的および血清生化学的測定値の変化. 実験動物, 35, 329-338.
- 〔2〕 吉田高志・長 文昭・本庄重男(1986). 多変量解析法による野生由来力ニクイザルと実験室内育成サルとの血液性状の比較, 成長, 25, 197-199.
- 〔3〕 Yoshida, T., Katsuta, A., and Cho F. (1989). Reference values of hematological serum biochemical and hormonal examinations in female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) of feral origin. Exp. Animals., 38, 259-262.

〔4〕 Yoshida T., Cho, F., and Goto, N. (1991). Change of relationship between body measurements and serum biochemical values in growing cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Am. J. Primatol. (in press).

《特集・育成カニクイザル》

内分泌機能

Endocrinological characteristics

吉田高志

年齢の明確なサル類を用いて、年齢と内分泌機能との関係、すなわち内分泌機能の加齢変化を解析した報告はほとんど無い。しかし、育成カニクイザルのすこやかな成長を保障し、性成熟後の繁殖活動を成功させるためにも、それらと関連の深い内分泌学的研究が必要とされよう。

1. 性成熟

まず、図1を見ていただきたい。これはオス育成カニクイザルの血清テストステロン(雄性ホルモン)濃度と年齢との関係を示している。テストステロンは精巣で合成・分泌され性成熟のよい指標になる。1歳齢から3歳齢にかけて低値を呈しているが、3歳齢を過ぎて、4歳齢では明らかに高値を示す個体が現れてくる。そこで、カニクイザルでは3.5歳齢ごろに性成熟を開始するものと判断される。しかし、テストステロン濃度の個体差は大きい。図中右欄外に示したように野生由来成熟個体でも $6.8 \pm 8.2 \text{ ng/ml}$ (平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。

メスの場合、性成熟に達すると性周期(月経周期)を繰り返すようになる。この時に、初めての性器出血(初潮)が確認できれば性成熟に達したものと判断できる。カニクイザルの初潮は、約2.5歳齢で現れる。また排卵後の卵胞は黄体となって黄体ホルモン(プロゲステロン)を分泌する。血中のプロゲステロンが高値を示すようになると、排卵性の周期を呈しているものと判断される。そこで育成カニクイザルの血清プロゲステロン濃度を測定した(図2)。2歳齢ごろまで未だ基礎値(約 10 ng/ml)を呈しているが、3歳齢をすぎたころから高値を示す個体が現れている。このことから、メス・カニクイザルの性成熟は2.5歳ごろにあるものと推定される〔2〕。

2. 血中成長ホルモン濃度

ところで、最近になってカニクイザルの成長ホルモン(Growth Hormone: GH)の測定ができるようになった(未発表)。そこで育成カニクイザルの血中GH濃度を測定したのが図3である。血中GH濃度は睡眠や食事、あるいは運動などの影響を受け易いために、採血時の個体の状態によって測定値の差は大きい。もちろん採血時の条件はなるべく一定に保っている。しかし、雌雄とも120ヶ月齢以上の個体では高値を呈する個体は全く認められず、すべてが測定下限(0.4 ng/ml)ギリギリかそれともそれ以下であった。しかし、メスでは60ヶ月(240週)齢未満、オスでは100ヶ月(400週)齢未満の動物のなかには高値を呈する個体を認めることができる。

オスのテストステロンの場合も、またこのGHの場合も同じであるが、血中のこれらの

ホルモン濃度は同一個体内でおおきく変動している。そのために、低値を呈している個体も、採血を繰り返せば高値が得られるものと考えられる。他方、120 ヶ月齢以上の GH 濃度のように何頭を測っても低値しか得られない場合、同一個体内でも GH 濃度の大きな変動は無く低値を維持しているものと推定される。とはいえ、「育成力ニクイザルの体重変化」(42 頁)のところで図示されているように、雌雄ともに体重の増加率の大きな時期に、血中 GH 濃度の高値が観察されている。カニクイザルの成長と血中 GH 濃度との相関は高いと言えよう。

3. 下垂体—甲状腺系

ところで、我々はカニクイザルの内分泌系の成長変化を下垂体—甲状腺系に注目して解析を加えた〔1〕。これは、甲状腺ホルモン(トリヨードチロニン: T_3 , チロキシン: T_4) が骨格筋、心臓、肝臓などでの酵素消費量や二酸化炭素排出量を増加させ、基礎代謝率を上昇させる作用があるからである。若齢動物では甲状腺ホルモンによってタンパク合成の促進、ひいては成長が促進される。

甲状腺からの甲状腺ホルモン (Thyrotropin=Thyroid Stimulating Hormone: TSH) によって調節されている。TSH の分泌は間脳の視床下部からの TSH 放出ホルモン (TSH Releasing Hormone: TRH) によって調節される。すなわち下垂体—甲状腺系を解析することは、神経—内分泌系の成長変化について解析することになる。

まず、1 歳齢から約 20 歳齢の育成力ニクイザルを用いて血中ホルモン濃度の測定をおこ

なった。(図 4)。オスでは 3 種のホルモンとも年齢とともに減少した。メスでは TSH をのぞいて年齢とともに減少したが T_4 は 19 歳齢群で増加傾向が認められた。ヒトの場合では、これらのホルモンの血中濃度の成長変化についてははっきりしていない。これは、血液といえども健康な、しかも若齢から高齢にいたる多数の人々から採取することが困難なことによるのであろう。育成力ニクイザルをモデルにして確実な情報を収集する必要がある。

次に、下垂体—甲状腺のホルモン分泌能の成長変化を調べるために、3 歳から 16 歳までのメスカニクイザルに TRH の投与をおこなった(図 5)。TRH 投与後の血中ホルモン濃度の変化を 3 歳齢群と比較した。TRH 投与による下垂体からの TSH の分泌は、明らかに若齢群よりも高齢群(16 歳齢)で顕著である。しかし、TSH の増加によって促進される甲状腺からの T_3 分泌は、16 歳齢群ではむしろ抑制されている。そして T_4 の分泌は、10 歳齢群でもっとも促進された。甲状腺から分泌される甲状腺ホルモンの大部分は T_4 であるので、ホルモン分泌能の成長変化が血中 T_4 濃度の変化により顕著にあらわれたのであろう。カニクイザルの場合、甲状腺のホルモン分泌能は 10 歳を頂点にしてすみやかに低下してゆくものと判断される。

ヒトの場合、TRH 投与による下垂体からの TRH 分泌は、年齢とともに減少するとされている。しかし、これらの報告は、20—40 歳齢群と 70—90 歳齢群の 2 群での比較であったり、あるいは 29—39、40—59、60—79 歳齢群の 3 群間の比較である。成長過程を含めた詳細な

検討がヒトでも要望される。他方、カニクイザルの 16 歳齢がヒトの何歳に相当するのかも重要な問題である。16 歳齢以上のカニクイザルで TSH 分泌能の低下が認められるならば、そのような動物がヒトの下垂体—甲状腺系の加齢変化の実験モデルになり得る訳である。しかし、当センターといえども 16 歳齢以上の多数の育成カニクイザルを実験の対象とすることは困難である。

とはいえ、カニクイザルの 10 歳齢を頂点とする甲状腺ホルモン分泌機能の低下が、個体の老化現象をもたらしているのかも知れない。今後の研究に期待したい。

文献

〔1〕Yoshida, T., Sato, M., Ohtoh K., Cho, F., and Honjo, S. (1989). Effects of aging on the *in vivo* release of thyrotropin(TSH), triiodothyronine, and tyroxine induced by TSH-releasing hormone in the cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Endocrinology*, 124, 1287-1293.

〔2〕吉田高志(1990). 室内繁殖・育成されたカニクイザルの成長. 成長 29, 75-118.

《特集・育成カニクイザル》

免疫研究における育成カニクイザルの有用性

Laboratory-bred monkeys in immune studies

寺尾恵治・藤本浩二

免疫学はその名の示すように、“疫を免れる”体の仕組みを明らかにすることを目的として始まった科学である。ここ四半世紀での免疫学の発展は著しく、今日では、これまで“疫”の大半を占めていた感染微生物に対する宿主抵抗性の機序が解明されようとしているだけでなく、免疫系が関与する種々の生物現象の機構が分子レベルで明らかにされつつある。それだけに、複雑な免疫系を解析するためには、特異性の高い試薬や巧妙な実験系の確立が必須の条件となってきた。サル類をヒトの免疫機能解析のモデルとして使用する場合においても、供試動物の質の問題は避けて通れなくなってきている。今回与えられたテーマは「育成ザルと野生由来ザルとの免疫機能の比較」というものであるが、ここでは、今日の免疫学領域における育成カニクイザルの利点を、年齢が明らかであること、微生物の潜在感染が少ないこと、家系調査が可能であること、の3点に分けて、各々でこれまでに得られているデータを紹介したい。

1. カニクイザルの免疫系の加齢変化:

免疫学領域の研究に育成ザルを供試動物とする利点のひとつに、年齢が明らかであるということがある。サル類における免疫系の初期発達と加齢変化を検討するためには、年齢の明らかな育成サルが必須となる。我々は、体液性免疫機能を反映しているとみられる血清中の免疫グロブリン量を指標として、抗体産生能の初期発達と加齢変化を0歳齢から25歳齢までの育成ザルを対象として検討してき

た。図 1 は IgG, IgA, IgM の 3 種の免疫グロブリンの加齢変化を示したものである。IgA および IgM は 0 日齢の個体ではほとんど検出されないが、以後血中レベルは成長に伴い増加し、4~6 歳ではほぼ成体のレベルに達する。一方、IgG は出生直後の仔ザルでの成体の 70~80%のレベルで検出される。これらの IgG は生後 3 ヶ月前後まで急激に減少するが、以後は成長に伴い増加し、4~6 歳で成体レベルに達する。このことから、出生直後の新生仔血清中に存在する IgG は経胎盤で母ザルから移行する移行抗体と判断される。

血清中の免疫グロブリンは種々の抗原に反応して産生された得異抗体の総和と見なされる。これらの特異抗体産生能の加齢変化を把握する目的で、ABO 型血液型に関わる抗 A, 抗 B 抗体価の変化を調査した。図 2 にその結果を示すが、抗 A, 抗 B 抗体ともに生後成長に伴い抗体価は上昇するが、4~5 歳齢をピークに以後は低下する。6 歳以後の抗体価の低下は加齢に伴う抗体産生能の低下により生じたものと解される。これら抗 A, 抗 B 抗体の大部分は IgM 抗体であるが、図 1 に示す結果では、血清中の IgM 抗体の総量は 15 歳齢以上の個体でも低下していない。血清中の免疫グロブリンを構成する個々の特異抗体の産生能は老化に伴って低下するとすれば、抗体の総量が低下しない図 1 の結果と矛盾する。紙面の都合で詳細は略すが、これまでの調査結果で 20 歳以上の老齢ザルでは、抗 SSDNA や抗リウマチ因子抗体等の自己抗体産生能が昂進していることが明らかになっている。老齢ザルでは抗原特異的な抗原産生能が低下す

る一方で、自己抗体が産生されることにより免疫グロブリンの総量が低下してないのかも知れない。年齢の明らかなサルを用いることにより、免疫系の初期発達のみならず老化に伴う変化も解析できることを示す例である。

2. 微生物の潜在感染による影響:

免疫学領域に限らず、野生由来ザルを実験に供する場合に問題となることは、なんらかの微生物の潜在感染により実験結果が影響を受けることである。我々は、京大・霊長研、国立公衆衛生院と共同で、サルのスギ花粉症モデルに関する研究を進めている。研究の発端は野生のニホンザルの中にヒトのスギ花粉症に酷似した症状を示す個体が何例か発見されたことであつた。花粉症のヒトの血清中にはスギ花粉に対する特異的な IgE 抗体が検出される。そこで、これらのニホンザルの花粉症を確定診断するために、血清中のスギ花粉に対する抗体特異的な IgE 抗体の検出を行うことになった。IgE 抗体の検出には酵素蛍光抗体法を用いることにしたが、この方法では非特異反応を排除するために、陽性と陰性とを区別するための陰性対照血清が必要となる。陰性対照血清の提供サルとしては、スギ花粉に全く感作されていないサル - 杉が存在しない棲息地のサル - が最適であるということになり、杉の無いインドネシア産のカニクイザルの検収時の血清について検討を開始した。その結果、調査した 30 頭のインドネシア産カニクイザルでは 3 頭で非特異反応と思われる偽陽性反応が認められたが、他

の 27 頭ではスギ花粉に対する抗原特異的な IgE 抗体はすべて陰性であった。しかしながら、同時に測定した血清中の総 IgE 量は驚くほど高く、野生由来ニホンザルが 800 前後の値(蛍光単位—詳細略:相対値で比較して頂きたい)を示すのに対し、インドネシア産カニクイザルでは 30 例の平均が 1260 と高いレベルであった。一方、TPC で育成された育成ザルの IgE 量は 20 例の平均で 264 と野生由来サルの 1/6 の値であった。IgE 抗体は寄生虫感染の結果生じたものと推測された。事実、TPC 導入時に駆虫され、個別ケージ内で長期間飼育された野生由来サルでは IgE レベルが低下している。過去の病歴が免疫反応に影響を与える一つの例として紹介した。

3.家系調査による白血球表面抗原の解析:

白血球の血液型とされている主要組織適合性抗原(MHC)は、免疫細胞の細胞表面抗原として存在し、細胞間相互作用に重要な役割を果たしている。移植免疫や腫瘍免疫の領域では試験管内で機能の異なる細胞を混合し、その反応の結果から体内での反応機序を解明する方法が利用される。目的によれば、同一の MHC をもつ細胞同士での反応が必要な場合も生じて来る。MHC は多型性が著しく、非血縁の 2 個体が同一の MHC である確率はきわめて低い。MHC 遺伝子には母親と父親から由来した 2 組があり、もし 2 組の遺伝子が同一の個体(ホモ接合体)が得られれば、MHC が関与する実験 MHC そのものを解析する場合に有用な材料となる。問題はいかにして

MHC がホモ接合体のカニクイザルを得ることができるかである。MHC を構成する抗原の一つであるクラス II 抗原は、リンパ球混合培養(MLC)で検出できる。これは異なる 2 個体のリンパ球を試験管内で混合培養すると、異なった MHC を識別して幼若化反応を引き起こすというリンパ球の反応性を利用するものである。図 3 左に示すように、通常非血縁の父母の MHC はそれぞれ(A/B)(C/D)のヘテロ接合体であるから、仔ザルがホモである可能性はきわめて低い。一方、図 3 に示すように、血縁関係のある雌雄では、一組の MHC が共通である可能性があり、この場合 1/4 の確率でホモ個体が得られる。そこで、TPC で維持しているカニクイザルの家系のうち半兄弟同士または父娘の交配で生まれた仔ザルについて MHC がホモか否かを調査した。図右に示すように、もし仔ザルの MHC がホモ(A/A)であれば、父母が共通に持っている A 遺伝子をホモでもっていることになり、父→仔、母→仔の反応は生じない。一方、父親と母親は仔ザルとは異なる B および C 遺伝子をもつから仔→父、仔→母、父母間の MLC 反応は生じる。このようにして、家系内の個体で MLC をくりかえせば、MHC ホモ接合体の個体がスクリーニングできる。表 1 はその一例をしめしたものであるが、家系 A では父、母、仔のいずれの組合せにおいても、MLC の反応性を示す S1(Stimulation Index: 自己細胞を刺激細胞とした場合の MLC 反応性を 1 とした場合の反応性)は 3 以上であり、父→仔、母→仔の MLC が成立している。このことから、この仔ザルは MHC ホモではないと診断

される。一方、家系 B では、父母間では MLC 反応が生じるが、父→仔および母→仔の MLC 反応の S1 はいずれも 1 前後で、自己細胞を刺激細胞とした場合の反応性と変わらない。家系 B の仔ザルは父娘交配で生まれた仔ザルであり、この調査結果から MHC 遺伝子がホモ接合体の個体である可能性が高いと判断される。この方式により現在までに MHC ホモ接合体の可能性のあるカニクイザルを 3 頭見出し出している。親子関係の明らかな家系を多数保持することは、遺伝学研究には必須の条件であるが、免疫学領域で有用な個体を作成・選抜する場合にも、継代繁殖により得られた育成サルが有用であることを示す好例として紹介した。

《特集・育成カニクイザル》

成長に伴う眼底像の変化

Normal findings in ocular fundi of cynomolgus monkeys aged from 0 day to 20 years

鈴木通弘

ここでは、カニクイザルの 0～20 歳齢における各齢の標準眼底像について紹介する。

動物は筑波医学実験用霊長類センターで繁殖・育成された 0 日齢から 20 歳齢のカニクイザルで、視診その他により健康と判断された、計 1,151 頭を対象とした。育成ザルの年齢別標準像を求めた各齢の構成は Table-1 のごとく、0 歳齢 307 頭、1 歳齢 269 頭、2 歳齢 351 頭、3 歳齢 77 頭、4～5 歳齢 64 頭、6～10 歳齢 55 頭、11～15 歳齢 23 頭、16～20 歳齢 5

頭である。

飼育環境は、室温 25 ± 2 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、全新鮮空気を供給し、換気回数 10 回/時、照明時間 14 時間/日に設定された屋内の清浄環境である。飼料は、よく洗浄されたリンゴおよびミカンを午前に各 100g、サル用固形飼料(オリエンタル酵母 K.K.製 AS 型)を午後に 100g 給与し、水は水道水の自由摂取とした。飼育方法としては出生日から母ザルによる哺育とし、約 15 週齢で離乳した。以後、3、4 歳齢までは、ひとつのケージに同一齢の個体を複数同居させる群飼育方式をとり、3、4 歳齢以後は個別飼育とした。

眼底観察および撮影は、まず、観察 20 分ほどにトロピカミド、塩酸フェニレフリン(ミドリリン P、参天製薬製)を動物の両眼に滴下し、散瞳後、塩酸ケタミン(ケタラール 50、三共製)で全身麻酔し、携帯用眼底カメラ(RC—II、興和製)により行った。但し、7 日齢以上の動物の大部分は無麻酔下で観察・撮影した。フィルムは普通撮影時は国産カラーフィルム(Fujichrome ASA 100、富士フィルム製)を用いた。

1) 標準眼底所見

イ) 0 日齢より 13 週齢にいたる各齢での所見

0 日齢: 眼底色調は円板をふくめ淡紅色調を呈し、黄斑は明瞭ではない。網膜上皮層の色素沈着不十分、全面的に脈絡膜血管が透過・観察される。円板付近の網膜動脈血柱経は静脈に比較しほぼ 1/3 程度、動脈は淡紅色調、静脈は暗紅色調を呈する。円板より分布する静脈は大きく上下に 2 分される。同じく動脈は静脈に伴って一部は黄斑上下側を走行

し、弓状に長く湾曲する。また、かなりの例に網膜出血が記録される。

3 日齢:眼底色調は 0 日齢と同じく淡紅色調を呈し黄斑はわずかに暗調となり周囲と判別し得る。

7 日齢:眼底は淡紅色調、一部の個体は部位により緑青色を呈する。黄斑は 3 日齢時に比し、さらに暗調となる。

14 日齢:眼底は 7 日齢と同様で、神経繊維の走行明瞭。網膜面の挿入光線反射が記録される。黄斑は中心窩とも同一色彩で区分し得ず暗調である。

4 週齢:眼底は全般に緑青色調、部位により淡紅色調となる。円板は生氣ある橙色。黄斑は暗調。眼底反射は 14 日齢より一層明瞭に認められる。

6 週齢:眼底は緑青色調。黄斑は明瞭。眼底反射は一見ビニール模様で強く認められる。

13 週齢:眼底は緑青色調から一部の個体において灰青色調を見せ、かつ金属調を呈する。網膜面の挿入光線反射は 6 週齢より強くなる。動脈血中径は静脈のそののほぼ $\frac{2}{3}$ 程度となる。

Table-2 に 0 日齢から 90 日齢にいたる各齢の特徴を要約した。

ウ)6 ヶ月齢より 20 歳齢にいたる各齢での所見

1 歳齢:眼底色調は光輝ある緑青色を呈し、部分的に褐色も呈する。ほとんど成体の眼底像に近く、黄斑中心窩の観察は容易となる。血管の走行は観察期間中ほとんど変化をみない。

3 歳齢:眼底色調は灰青色から褐色となり、

反射は 1 歳齢よりやや鈍くなる。中心窩、黄斑ともに明瞭である。血管の白鞘化は 3 ヶ月齢の観察動脈から、次いで静脈においても記録される。

7 歳齢:眼底色調は、おちついた暗調となり、光線反射も、より減弱する。中心窩、黄斑ともに明瞭、血管の反射線は一部に限局してみられる。

15 歳齢:眼底色調は暗褐色であり、若齢像では観察された神経繊維のビニール模様光線反射もはやみられない。中心窩は明瞭。円板周囲の色素沈着は明瞭、一部にコーヌス様像がみられる。

20 歳齢:眼底色調はさらに暗褐色調で光線反射は殆どみられない。一部に脈絡膜血管が透過観察された。中心窩、黄斑ともに明瞭。円板周囲に強膜輪様像がみられる。

Table-3 に 6 ヶ月齢から 20 歳齢にいたる各齢の特徴をまとめて示した。

2) 新生仔期の網膜出血

自然分娩による出生例 96 頭中 66 頭において網膜出血が認められた(Table-4)。出血形態は点状、線状およびしみ状であり、各例において 1 眼底につき 1 ケ所から 10 数ケ所認められた。これらの出血像は 3 から 14 日齢で自然に消失し、1 週間で消失した例が最も多く記録された。蛍光眼底撮影により、本出血位置は網膜層であり、撮影時既に出血は停止していたことが確認された。なおこれら網膜出血の発現と母ザルの産次回数、仔ザルの性や出生時体重との間には有意な関係は認められない。次に Table 4 に示した如く帝王切開 36 例での本症出現率は 27% で自然分娩仔における

それ(69%)より有意に低く、かつ出血の度合も小規模であった。

3) 硝子体動脈遺残

出生時の硝子体動脈遺残の有無に関し、45頭につき観察し、うち17頭はその消退時期確認のため、日齢を追って観察を続行した。観察は出生日より週2回、3~4日間隔で行い、硝子体動脈を確認し得ない日が2回連続するまで実施した。

観察カニクイザル45頭の全例に、硝子体動脈遺残像が確認された。すなわち、血管は眼球後極部円板中央から硝子体を通過し、水晶体に到着していた。Fig.1に硝子体動脈遺残像の消退時期を示した。この遺残像は21~45日齢まで、平均27日齢までに消失した。

サル類において新生仔期をふくむ年齢別に多数の動物をもちいて眼底所見をみた報告としては、我々のカニクイザルに関する報告があるに過ぎないが、少数例のアカゲザルでの報告も参考にすることができる。そして、アカゲザル眼底像の年齢における特徴、すなわち、眼底色調の変化像、黄斑不明時期(0~3日齢)の像および、眼底反対の像などは、我々が観察したカニクイザルでの所見と類似しており、2種の *Macaca* 属ザルはこの点においても近縁であることが示された。

新生仔期の網膜出血については、1日齢のアカゲザル15頭中4頭においても観察されている。さらにヒトにおいても、この時期に網膜出血例が認められ、その発現率は30%であり、原因のひとつに分娩時の頭部圧迫があげられている。加えて本症の発現は、帝王切開児に少なく、吸引分娩児で多いとの報告があ

る。我々のカニクイザル例においても、帝王切開分娩仔での網膜出血の発現率は自然分娩仔でのそれに比し半分で、出血の程度も軽くなっている。このことから、分娩時産道での新生仔頭部への圧迫が網膜出血の原因のひとつであると推察される。とは言え、帝王切開例においてもなお27%の率で小規模ながら網膜出血が認められる事実は、分娩時の産道における頭部圧迫以外にも原因があることを示唆する。しかし、これらの出血はほぼ1週齢で自然に消失することから、この時期においてはとくに注意すべき異常現象として取り扱う必要はないものと判断される。

また、先天異常のひとつとされる硝子体動脈遺残はイヌその他の家畜やアカゲザルにおいて報告されているが、一般に、胎生期もしくは出生後の早期に消退することが知られている。サル類における硝子体動脈遺残については、16頭の胎齢85日齢から生後3週齢のベニガオザル及びカニクイザルの眼球組織を観察し、出生後3~4週齢において消退するとの報告がある。一方、検眼鏡検査では、1日齢のアカゲザル4頭において、硝子体動脈遺残は認められないとの報告と、健康な1日齢のアカゲザル15頭を観察し、全例に硝子体動脈遺残を認め、さらに、その消退時期は2~3週齢時であるとの報告がある。今回のカニクイザルの観察では0日齢全例で硝子体動脈遺残を確認し、21~45日齢までに消退することを明らかにした。この消退時期については、私どものカニクイザルと従来の報告のアカゲザルとの間に若干の差がみられるが今後例数をふやし、種差の有無について十分に検討す

る必要があろう。アカゲザルと同様、カニクイザルの出生時に認められた本現象は、先天異常もしくはその他の原因によるものではなく、正常な現象と結論される。

文献

〔1〕 鈴木通弘・成田勇人・長 文昭・本庄重男(1983). 実験用カニクイザルの眼底像 —0 日齢より 19 歳齢にいたる各齢での所見—. 比較眼科, 2, 21—26.

〔2〕 鈴木通弘・成田勇人・田中吉春・長 文昭・福井正信(1984). 実験用カニクイザルの眼底像 —新生仔期および乳仔期における所見—. 実験動物, 33, 173—180.

〔3〕 鈴木通弘・成田勇人・長 文昭・福井正信(1984). カニクイザル新生仔における硝子体動脈遺残とその消退時期, 実験動物, 33, 233—235.

《海外ニュース》

“老化への理解”

Research Focus—Understanding Aging
Wisconsin Regional Primate Research Center,
「Center Line」より

最近アメリカでは年配の人々の間で、加齢の過程(今後私たちはどのようにして歳をとっていくのか)とか老人問題(年をとっていく過程でどのような問題が生じるのか、といったこと)にますます関心がもたれるようになりました。ところが、これまでに、とくにこの

20 年ほどの間に、加齢に関する研究が数多くおこなわれているにもかかわらず、加齢そのものの基本的な調節や、加齢にともなって発生する疾病の基本的調整に関しては、まだまだ研究すべきことが多く残されているのが現状です。

加齢に関する多くの点は、ヒトより動物で効果的に、しばしばより直接的に研究できます。なかでもアカゲザルは、多くの面、つまり解剖学的・生理学的・内分泌学的、さらには認識能力や行動の面でもヒトに似ており、加齢の研究にとってとくに有効で価値があります。

ウィスコンシン霊長類センターのアカゲザルの群れはそうした加齢の研究にぴったりの群れであるといえます。このセンターには現在 1,000 頭を越す個体が飼育されていますが、その多くは同センターで生まれ、それまでに受けた治療や実験の記録はもちろん、出生日も明らかな個体で、この管理され保護された実験室内環境下にある霊長類センターでは 30 年以上生存することが可能です。実際のこの群れでは 100 頭が 20 歳以上で、“老齢”ザルのグループとしてはおそらく世界最大のものでしょう。これら 100 頭の老齢個体のうち約半数の飼育管理には、アカゲザルにおける加齢に関する基本的研究用として国立老人研究所(National Institute on Aging)から援助を受けています。その結果、すでに生殖内分泌学や腫瘍発生(注 1)および老人性代謝機能不全についての重要な情報やデータが得られています。またこれらの動物に関する横断的かつ疫学的な研究からは、加齢および、これまで一般に

言われている加齢の過程を変えるかも知れない介入物を調べる長期実験の基礎が得られています。加齢にともなって発生する変化のうちいくつかは、肉体的年齢を示す信頼のおける指標あるいは「biomarker」になります。げっ歯類や、霊長類以外のその他の動物で研究した結果によると、毎日のカロリー摂取量を少し減らすことによって加齢による肉体的変化の速度をおとすことが可能となり、実際にその動物の寿命がのびています。だが、霊長類の場合にそうしたカロリー制限が加齢の基礎のプロセスや寿命に影響を与えるかどうかは、まだ判っていません。

現在ウィスコンシン霊長類センターでは Joseph Kemnitz 博士と William Ershler 教授その他が、アカゲザルについてカロリーの制限によって加齢の速度がおちるかどうかを研究しています。この研究は昨年開始され、30 頭のおとなのオスについて調べられています。まずそれらのサルの基礎的なデータを得たうえで、半数の個体には徐々に餌の量を減らしていきます。つまり、ふだん摂取している注意深く管理され、バランスよく配合された餌の量の 70 パーセントになるまで減らしていくのです。この 30 パーセントのカロリー減で、栄養的には充分でありながら余分のカロリーだけを減らすことになります。こうした給餌をしながら、カロリー制限個体と非制限個体について 6 か月ごとにいろいろな測定がおこなわれています。

現在、さまざまな分野の研究者がチームを組み、それらの個体の免疫機能と視力(注 2)はもとより、体? と四肢のバランス、熱量消

費、インシュリン量と血糖調節についての評価をしているところです。この研究計画作成にはウィスコンシン大学マディソン校生物統計センターの Ellen Roecker 博士が協力し、得られたデータの管理と分析を担当しています。これらのアカゲザルについて、今の時点ではまだ、カロリーを制限することによって加齢の速度が落ちたかどうかをいうのは早急すぎます。制限された個体は非制限個体にくらべ体重が少なく、からだの脂肪も少ないのですが、どの個体も健康状態がきわめて良好で、少なくともあと 20 年は生存すると期待できます。その間、加齢による変化の指標を継続して繰り返し調べることにより、カロリー制限が、加齢にもとまって発生する疾病にどのような影響をおよぼすかが必ずや解明されるにちがいありません。

注 1:同センターでは、1972 年以前に 10 年にわたって 1400 頭以上のアカゲザルを解剖しているが、それによると自然発生腫瘍は 9 例しかみつかっておらず、それもいずれもが悪性のものでない。ところが、宇野秀夫教授らがこの老齢個体グループにある種の癌が高率に発生したことを論文にまとめているように、最近の 10 年間では、老齢個体(20 歳以上)176 例中 39 例に各種の癌が発見されている。その種類と例数はつぎのとおりである。乳腺癌 6 例、皮膚癌 3 例、直腸癌 19 例、子宮癌 2 例のほか、口腔内粘膜、脾臓、腎臓、卵巣、甲状腺などに発生した癌であるが、もっとも多かったのは結腸癌の 19 例であった。ヒトで最も多いのは肺癌で、つぎに多いのが結

腸癌であるが、サル類では肺癌はごくまれにしか発生せず、直腸癌が、それもとくに老齢個体に一般的にみられる。過去 20 年間、当研究所のアカゲザルは殆ど屋内ケージで飼育され、餌は市販の固形飼料(ビスケット状)にリンゴ、オレンジ、バナナといった果物を加えたシンプルなもので、環境の点でも餌の点でも、いわゆる癌誘発因子にはほとんどさらされていないのに年をとると癌、特に結腸癌が発生しやすいことを指摘している。老齢個体に発生する癌を研究することによって、将来発癌に関する実験、とくに食事内容と加齢に焦点をあてた研究にとって重要な Biological basis が得られることだろう。

注 2:40 歳以上で大部分のヒトの目は近く小さな物体を見るとき、「調節する」こと、あるいは焦点をあわせることが困難になる。こうした焦点調節能力減退(老眼)にたいし、これまでは、目のレンズが加齢とともに弾力性を失うために、レンズの形を変えることができず、近いところに焦点をあわせることができなくなるからだと説明されてきた。

ところがウィスコンシン大学マディソン校の研究グループ(代表 Paul Kaufman 教授)は、老眼の発生を毛様体筋で説明している。この筋肉はレンズの形を変えるはたらきをする筋肉である。ウィスコンシン霊長類センターでは老齢のアカゲザルをつかった目の実験がおこなわれ、その結果、老齢個体では、毛様体筋が硬くなり、焦点をあわせる際にレンズが正常に膨らんだり薄くなったりしなくなっていることが明かになった。代表のカウフマン博士は、毛様体筋が年齢とともに萎縮し、結

果的に筋肉の働きを抑制しているのではないかとしている。カウフマン教授が得た結果は、老眼にはやはり眼鏡が一番よいということを示唆している。彼らの研究で得られた結果以上に重要なのは、緑内障をはじめとする主要な眼病問題にとっての意味だろう。現在緑内障の原因は完全に解明されていない。しかしカウフマン教授の研究によっていくつかの手がかりが得られるかもしれない。ふつう眼圧は透明な液体が目の前面で湧出したり、排出したりすることによって調節されている。この液体は毛様体筋によって目の中の「ふるい」を通じて押し出される。もし、この「ふるい」が詰まると、その結果として圧力が高くなり、視神経が損傷を受ける。カウフマン博士は、老齢ザルや年をとったヒトに見られるような劣化した毛様体筋はその液体とともに顕微鏡でしか見えない壊死組織片を押しだしにくくなり、その結果「ふるい」が詰まり、緑内障になるとしている。

(文中の数値は WRPRC の宇野秀夫教授により補正された。)

(訳文:長 文昭)

《学友会講演要旨》

発生工学の現状と課題

The present state and problem in developmental biotechnology

東京農業大学生物産業学部教授

石島芳郎

分子生物学や微生物遺伝学などの研究展開

により開花したいわゆるバイオテクノロジーは、微生物や植物分野では組み換え DNA や組織培養に代表されるように、今や実用段階に入ったといっても過言ではない。一方、実験動物や家畜など哺乳動物を扱う分野では、遺伝子操作を人為的に行うのが極めて困難なため、現在、配偶子操作を中心に種々の可能性が検討されている段階にある。このため、実験動物や家畜を扱う分野でのバイオテクノロジー技術は、主として配偶子操作を行う技術を広義に扱っており、通常、これを「発生工学」と呼んでいる。

ここでは、主な発生工学の技術の現状を紹介し参考に資したい。

1) 一卵生多子の作出

胚の分離・切断で一卵性双子やそれ以上の多子が作出できれば、受精卵移植において貴重な胚が有効利用できるうえ、遺伝形質の同じ子を研究に供試できるなどの利点がある。こうした理由から一卵性多子作出はとくに単胎動物で注目された。そのさきがけは、Willadsen (1979) がヒツジの 2 細胞期胚を微細なガラス針で切断し、得られた分離割球をいったんヒツジの卵管内で培養し、胚盤胞で取り出して本移植する方法で、ヒツジの一卵性双子の作出に成功したのに端を発している。その後、この方法は、2 細胞期～桑実期胚を切断・分離した場合の方法として、ヒツジばかりか、ヤギ、ウシ、ウマなどの一卵性双子作出に応用された。

一方、初期の Willadsen の方法は、一時的にせよ生体内培養が必要なため、これをはぶく方法として、発育の進んだ後期桑実期や胚盤

胞期杯を、微細なガラス針あるいは鋭利な刃で 2 つに切断した後、すぐに移植する方法が開発され、これによっても、ヒツジ、ヤギ、ウシの一卵性双子の生産に成功し、現在ではこの方法がウシに応用されている。初期胚の分離法は、さらに、4～8 細胞期胚を 4 分離して、三つ子や四つ子作出も検討されたが、実用の域には達しなかった。

分離胚のみによる多子は双子が限度のため、後に分離した割球を除核未受精卵あるいは単為発生卵と接合させる方法や、分離した割球の核を除核した未受精卵に挿入あるいは融合させるいわゆる核移植法での多子作出(後述)が検討されている。これらの方法は産子になることはわかっているが、現状では多子生産にはつながっていない。

2) キメラ動物の作出

キメラ動物は、2 つ以上の異なった個体の遺伝子をもつ複合個体(動物)のことをいい、ふつう人工的には 2 個体あるいはそれ以上の胚を集合させて作出する。こうしたキメラは、マウスでは 30 年前に成功しているが、家畜では 10 年ほど遅れて作出されている(表 1)。それでも、発生工学的手法の満足すべき成功例としては、このキメラは早いほうである。とくに注目に値するのは Fehilly(1984)らおよび Polzin(1987)らのヒツジとヤギのキメラである(図 1)。といってもキメラの作出率は高くない。

家畜のキメラ作出法は、大きく分けると、別々の個体から採取した 4 または 8 細胞期胚の透明帯をはずし、胚同士または割球同士を接合させ体外培養で胚盤胞まで発育させた胚

を移植する方法(集合法)と、胚盤胞の内細胞塊を分離し、その割球の一部または1つをマイクロピペットで扱い、別個体の胚盤胞の中に注入してキメラ胚を作り移植する方法(注入法)との2つの方法がとられてきた。後者の方法は、実験動物とくにマウスでは割球のかわりにテラトーマや他の奇形腫細胞を胚盤胞に注入する方法も用いられている。

キメラ作出法には、上記とは別に2細胞期動物胚の1割球の核を除去し、そこに別の胚の核を移植する方法がマウスで検討され、近年高い成績を収めている。

3)クローン動物の作出

クローン動物とは、遺伝的にまったく同一の個体を作り出すことで、簡単にいえば同一個体の分身をつくることである。植物なら挿し木をするだけでも分身は作れるが、哺乳動物ではこれが難問中の難問である。ようは、成体の細胞の核を何らかの方法で発生させて新たな個体を作ればよいので、原理としては簡単であるが、現在この成体の核を発生させることは哺乳動物ではできない。

現状で、哺乳動物の核から個体発生させられるのは、初期胚の核だけである。したがって現在のクローン動物は、主に8~16細胞期胚から分離した割球の核を、除核した未受精卵あるいは前核期卵に移植するいわゆる核移植が主流に行われている(図2)。この方法ですでに、マウスをはじめ、ウシ、ヒツジ、ウサギなどで産子の作出に成功している(表2)。

仮の話であるが、16細胞期胚の核から再構築した胚を16細胞期に達したとき再び核移植すると265個、さらに、3回くりかえせば

4240個の胚盤胞がたった一つの胚から作出されることになり、膨大な数の子(クローン)が一つの胚から生産できる理屈になる。現実には、マウスでもまだ3つ子程度しか成功していないが、一卵性多子作出法として期待がもたれる方法である。

4)遺伝子導入動物の作出

ふつうこの技術は外来性遺伝子導入とか、組み換えDNA技術といわれている。通常、単離した特定の遺伝子や合成遺伝子を前核期卵の前核に注入し、その卵を培養後に借り腹に移植して子供にし、その細胞の中で導入遺伝子を発現させようとするもので、うまく導入した遺伝子が組み込まれたものをトランスジェニック(Tg)動物と呼んでいる。すでに述べたキメラ動物も一種Tg動物になる。もし外来性遺伝子を容易に導入できれば、従来長い年月かけて成し遂げていた家畜改良が、それこそたった一代で達成できる理屈になるので畜産分野では願ってもない技術である。家畜ではこの研究が1985年頃から活発になっているが、最近になってやっとメタロチオネインと成長ホルモンの合成遺伝子でTgブタの作出に成功した報告がみられるようになった(表3)。しかし、その導入率は0.1~0.5%(注入卵1000個に対してTgブタ1~5頭)と極めて低い状況にある。実験動物のマウスではこのTg動物の作出は活発で、低率ながら種々のTgマウスが作出されている。

5)むすび

以上のように、4つの項目に限って、畜産学の立場から現状を述べてきたが、最先端技術と騒がれるほど「発生工学」は進んでおら

ず、今後に期待される部分が多い。

今回は、専門外のためサル類についてはいっさい現状にふれなかったが、分離胚による一卵性双子技術、核移植によるクローン動物(一卵性多子)技術は、遺伝的に均一な材料を得る手段、生産効率をあげる手段として応用する価値のある方法であり、また Tg 動物は疾患モデルの作出にも有用なので、今後サル類でも研究の発展を期待したい。

《特集・育成カニクイザル》

発生工学的研究における有用性

—ホルモン投与に対する反応性からの考察—

Usefulness in the study of reproduction

山海 直:協力研究員(HS 財団)

藤崎正美:元, 協力研究員(HS 財団)

現, ㈱ほくさん

当センターでは、サル類の発生工学的技術の開発として体外受精、胚移植などの研究に取り組んでいる。医薬、生物分野における実験用霊長類の重要性についてここで特筆すべくもないが、そこで利用されるべきクリーンな育成ザルの計画生産と特殊形質をもつ疾患モデルザルの開発、維持にとって、この分野の研究は今後益々期待されるものである。

発生工学的研究に関わる種々の検討のなかで、供試するカニクイザルが育成ザルか、野生由来ザルかで成績に差が生じることをしばしば経験している。本研究の目的は育成ザルと野生由来ザルの差を検討したものではないために、成績の差が統計的に有意なものかは

解らないが、ここでは私たちの経験を紹介するとともにその原因について考えてみたい。

発生工学的研究を遂行するにあたり、メス側の最初の課題は多数の卵子を獲得することである。本来ならばメスカニクイザルは一回の性周期で1個の卵胞しか发育せず、1個の卵子しか排卵しない。しかし、人為的にホルモン処理することで、多数の卵胞を发育させることができ、一度に多数の卵子を獲得することができるのである。当センターでは、カニクイザルの性周期にあわせて PMSG(妊馬血清性性腺刺激ホルモン)と hCG(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン)を投与することで多数の卵子を採取することに成功している。その发育卵胞数、採取された卵子の正常性、投与するホルモンに対する抗体の産生など多くの検討課題が残されているが、とりあえず多数の卵子を採取するという技術は確立されている。

このホルモン投与に対する卵巢の反応性が育成ザルと野生由来ザルであきらかに違っている。ホルモン処理後の採卵時における发育卵胞数(mean ± SD)は育成ザルで 47.8 ± 31.1 個(n=23)であるのに対して野生由来ザルでは 16.9 ± 6.7 個(n=8)である。また、採取卵子数については、育成ザルで 22.3 ± 13.8 個(n=19)、野生由来ザルで 10.5 ± 6.4 個(n=8)である。育成ザルでは大きなバラツキはあるものの、ホルモン投与に対して確実に卵巢は反応していたが、野生由来ザルの場合卵胞发育がまったくなく実験を中止するということがあった。このようにホルモン投与に対する卵巢の反応性は、育成ザルがきわめて良好であるといえ

る。

ホルモン投与と併行して行った血中エストラジオール値のモニタリングにおいて、野生由来ザルでは育成ザルに見られるような正常レベルを格段に上回る血中ホルモン値の上昇が認められなかった。ただし、低いながらも血中ホルモン値は育成ザルで見られる変化と同様の変化を示していた。このことは、ホルモンに対する卵巣の反応性が低下しているためであると考えたと説明しやすい。

野生由来ザルでホルモン投与に対する反応性がわるい原因として、まず考えられることは年齢である。他の動物種を用いた研究では、高齢動物の生殖能力が劣ることが知られており、最近では経済的な考慮、あるいは内因性ホルモンを無視できるという観点から、性成熟もしていない幼若動物から採卵する検討が進められている。サル類はきわめて貴重な動物であるため、採卵のために安楽殺することはなく、年齢に関係なく有効利用しなければならない。このためにも、採卵供試個体の有効利用を図るうえで、サル類における年齢とホルモン感受性、卵子の正常性などの関係は、今後も検討を続けていくべき課題であり、採卵効率の最も良い時期と方法を見いだすことが必要であろう。老化研究という観点からも、サル類における生殖生理、発生工学分野の研究は、是非とも推進せねばならない。供試した野生由来ザルの年齢が明確ではないため、年齢だけがホルモン投与に対する反応性に違いをもたらした原因であるという確信はないが、もっとも正統な考え方であろう。

本法では採卵前の13日間に計9回のホルモ

ン投与を行っているが、このことが強いストレスになっている可能性が与えられる。

ホルモン投与によるストレスによって、内因性のホルモン動態に何らかの影響を及ぼし、ホルモン処理後の月経周期、繁殖能力の回帰に影響していることも考えられる。供試験後の月経の回帰について調査したところ、育成ザルではホルモン処理直前の月経から数えて100日目までに91.3%の個体に月経を認めたのに対し、野生由来ザルでは62.5%にすぎなかった。投与ストレスを考えた場合、生まれたときからヒトと接触して発育した育成ザルの方が、野生由来ザルに比べてストレスをうける度合は少ないものと考えられる。このようなストレスが外因性のホルモンによる卵胞発育誘起に影響を及ぼしているとは考えにくいですが、供試個体に対する悪影響を最小限にとどめる意味からも、育成ザルを利用すべきであるといえる。

発生工学的研究における育成ザルの有用性について、ホルモン投与に対する反応の違いという一例をもとに紹介した。今後、実験動物としてのサル類の開発に伴い、育成ザルを中心とした繁殖システムの確立は必須条件である。育成ザルを用いた本分野の研究が、育成ザルの繁殖能力に関する様々な問題を解決する一助となり、各種モデルザルの開発につながっていくものと確信している。

《特集・育成カニクイザル》

ワクチン検定における有用性(1)病理学の立場から

TPC's lab-bred monkeys in vaccine safty

tests (1)

—Pathological findings—

国立予防衛生研究所生物製剤管理部

茅野文利

サルが、ヒトに最も近縁の動物であることはよく知られており、感染実験においても同様のことがある。ヒトに使われる生ワクチンで、ポリオ・麻疹・ムンプス等のウィルスはサルにも感受性がある、サルは実験動物や検定用動物となっている。私は、ポリオ・麻疹・ムンプスウィルスの感染実験や同ワクチンの検定に従事してきて、病理学的立場から多数のサルを見てきた。

使用したサルは、野生ザルが多く、筑波で飼育したサルは少ない。従って野生ザルを基本にして、育成ザルの特徴に触れてみたい。

一般論として、育成ザルは実験動物化している。即ち、生年月日が明らかであり、出生地、両親ともに認知されたものである。この点、野生ザルは不詳のまま、あるいは、推定推測の域を出ない。更に重要なことは、SPF動物であることである。就中、麻疹ウィルスと寄生虫感染がない。

病理学的観点から、麻疹ウィルス感染実験と同生ワクチン検定所見を述べる。麻疹ウィルス感染があると、リンパ節、胸腺等に Warthin-Finkeldey 型巨細胞が出現し、巨細胞数とワクチンの弱毒化は関連する。従って、巨細胞の出現は検定をする上で重要な指標となる。寄生虫感染があると、リンパ節に異物型巨細胞が出ることがある。この巨細胞との鑑別は、形態学的には困難である。また、麻

疹ウィルス抗体が陽性であると、感染が成立せず、巨細胞も出現しない。野生ザルには、抗体陽性のものが多い。検定には、育成ザルが欠かせない。

次に、ポリオウィルス感染実験と同生ワクチン検定所見を述べる。同ウィルスは、腸管が体内感染侵入門戸である。これに係る実験をした際、野生ザルの腸管には、疑双口吸虫・腸結節虫等の寄生虫が多数見られた。これらの寄生虫は、稀に中枢神経系に侵入し肉芽腫を作る。肉芽腫の周辺には好酸球の浸潤があり、ポリオウィルスの感染巣とは区別することができる。検定では、試験ワクチン摂取サル群と同数の標準ワクチン摂取サル群が置かれる。標準ワクチンには、同一ロットが検定ごとに使われるので、使用されたサルの50%に麻痺または脊髄に障害を起こすウィルス量(LID₅₀)を求めると、各検定に使われたサル群のポリオウィルスに対する感受性を知ることができる。感受性は、サル出生地による地域差があり、フィリピン産が最も高い結果が得られている。育成ザルは一回のデータしか整理されていないが、そのデータではこれまでに使われたサル群の中間的値を示している(図1)。

最後に、ムンプス・風疹生ワクチンの検定にサルが使われているが、野生ザルとの比較を指摘できる所見を得ていないのでここでは触れない。

《特集・育成カニクイザル》

ワクチン検定における有用性(2)検定に使用して

TPC's lab-bred monkeys in vaccine safety tests (2)

国立予防衛生研究所麻疹ウィルス部

小船富美男

育成ザルを用いた麻疹ウィルス・ワクチンの検定について思い当たることを記してみた。

生ウィルスワクチンの検定とサル

生物学的製剤、特に生ウィルスワクチンは生きた病原体そのものであり毒力復帰、非特異病原体の混入、弱毒超過等の多くの不安定要素を包含している。これは一般製剤には観られない生物製剤の宿命的特質と言える。

生物製剤の安全性と有効性を保証する検定はその試験の多くを動物試験に依存し、サルはその中でも最も重要な弱毒確認や神経毒力試験に用いられている。ところが動物試験は動物の系統、年齢、栄養状態、感染の有無など様々な要因に影響される。その意味で信頼性の高い検定の遂行に一定品質を具備したサルは不可欠である。

ある出来事

インドネシア産の野生カニクイザルを用いて麻疹ワクチンの検定を行なった。既に十数年も前の話だ。観察期間が終了して病理結果が報告された。小脳に巨細胞が多数観察され、視床部、脳橋の実質内には出血壊死巣とリンパ球の著明な浸潤が出現した。スワーこれは一大事だ!ワクチンに因る病変であれば当然「不適」である。早速、追試と脳各部から2,000枚以上のクリオスタット切片を作成してウィルス抗原を検索した。しかし、抗原は陰性、

分離も陰性であった。最終的に広東住血線虫の脳脊髄感染による組織病変であることが判明し、一見落着となった。が、この間約一ヵ月、他の研究は手に付かなかった。この原因が野生サルの使用にあった事は言うまでもない。

野生サルの問題点

それでは野生ザルにはどのような問題点があるのだろうか。

1. 個体の経歴が不明であり遺伝的環境的に全くコントロールされておらず、品質が不均一である。

2. 人畜共通伝染病に感染している可能性がある。特にヒトに致命的なBウィルス、他にマールブルグやエボラのウィルスの感染。また、赤痢、結核、類鼻疽などの細菌性疾患。アスペルギルス、クリプトコッカス、ヒストプラズマなどに因る真菌症。アメーバ赤痢(原虫)、擬双口吸虫、条虫(真珠様結節)、胃虫、腸結節虫、舌虫などの寄生虫感染等々サルは実に多くの宿主になる。サルの取り扱いに細心の注意が必要である。

3. 麻疹抗体陰性サルの入手が困難である。麻疹の自然感染で検疫期間中に麻疹抗体が陽性になる。その都度再輸入、再々輸入を要する。従って麻疹ワクチンの検定を予定通りに消化することが難しい。

4. 東南アジア諸国政府の野生サルの輸出禁止措置によるサルの供給に途が絶たれつつある。

今は昔

筑波霊長類センター(TPC)の設立はこれら諸問題の解決に威力を発揮した。遺伝的統御方式による繁殖・育成システムにより均一な高品位カニクイザルの計画的生産と供給体制が確立された。以降、当部における検定は繁殖または育成カニクイザルを用いて行われている。その結果、試験成績のバラツキは減少し、検定の信頼性が高まった。と同時にサルからの感染症に怯えながらの検定作業から開放された。これは検定従事者として何よりも有り難いことである。さらに安定供給の確立により検定用野生ザルを再々輸入する心配も過去のものとなりつつあり、検定検査を計画的に消化する事が可能になった。野生ザルを用いた検定を想う時、「今は昔」の感がある。

TPC とユーザーは確固たるポリシーの下に円滑かつ精度の高い検定の遂行のため、高品位カニクイザルの供給体制の維持と発展に今後とも協力しなければならないと考える。

《特集・育成カニクイザル》

ワクチン検定における有用性(3)

使用しての所感

TPC's lab-bred monkeys in vaccine safety tests (3)

国立予防衛生研究所腸内ウイルス部

有田峰生

腸内ウイルス部では、ポリオワクチンの検定を担当している関係で、毎年かなりの数のカニクイザルを使用している。その中大部分はポリオワクチンウィルスの神経毒力試験に用いられる。

さて「育成サルを使用して」ということは、「野生サルを使用した場合として」という意味が当然のこととして含まれている。ポリオウィルスに感受性のある動物は若干例外的なものを除くと、サルに限られているといつてよくサルはポリオウィルスの神経毒力試験になくてはならないものとなっている。

検定には、神経毒力試験の他に、腎組織培養を用いるのでそのためにもかなりのサルを使用している。また比較的最近までポリオ検定に野生サルを用いて来たので、野生ザルを用いた場合と比較して育成ザルを用いた場合の利点や不利な点が実際のデータに基づいて示す事が出来るにちがいないと思われても当然のことである。ところがよく考えて見ると野生ザルといっても産地、年令、体重その他の性状で、かなりの差があり、育成サルとどういう点でちがうのかといわれても答えるのは意外にむづかしいものである。一方ポリオの検定には多数のサルを用いるものの、テストに用いるウィルスの型、lot など毎年ちがったものであり、厳密な意味で育成ザルと野生ザルを比較する都合のよいデータがあるわけではないのである。またポリオウィルスを用いて野生ザルと育成ザルを比べるための実験などといっても意味のないことであるし、そのようなことをしたこともない。というわけで、「育成ザルを使用してどうだったか」といわれても、その答えは、用いたサルの外見とか、健康状態とかについての主観的な印象になってしまうのである。

昨年と今年で、参照2型ポリオワクチン候補選定の神経毒力試験と、2型ポリオワクチ

ン中間段階の検定に、200 頭近くの育成カニクイザルを使用した。寺尾さんに「今度のサルは、良いサルでしょう」と云われ、育成サルの品質に対する自信が感じられたが、その通りポリオの検定に適した年令、体重でかなりそろった素晴らしい健康ザルであった。ポリオの神経毒力試験の話になるが、これはポリオウィルスの神経毒力を決める一種の定量試験であって単に迷入ウィルスの検出を目的とする動物試験と異なり、多数のサルを必要とし、しかもウィルスに対する感受性と均質性が要求される。勿論のこと、SPF であることも望まれる。今の所、育成サルといっても、遺伝学的に均質なものではないが、年令その他について分った性状のものを使えるというのが何よりの利点である。最近では、ポリオウィルスの性状も遺伝子のレベルで詳細に調べられ、それに応じて検定に、実験にと一層均質な試験目的に応じたサルが要求されるようになって来ている。この要求に答えられるのはやはり育成サルしかいない。カニクイザルの育成は、なかなか難しいものだそうであるが、ポリオウィルスの試験には、やはりカニクイザルが適している。そのうち、検定に用いられたような良いサルを実験の方にも使わせて頂けるようになればと期待している。

《特集・育成カニクイザル》

形態学的成長の特性

Morphological characteristics of growth

清水利行

私達は、当センターにおいてカニクイザル

の育成を担当しています。すなわち、当センターで生まれたカニクイザルを順調に成長させることを担当しているわけです。しかし、カニクイザルの順調な成長とは果してどのようなものなのでしょうか。育成カニクイザルの年齢変化については、血清生化学値やホルモンなどの内分泌系、そして一番指標とされることの多い体重などが調べられています。しかし、私にとってはなにか大切なものを忘れているような気がしてならなかったのです。そんな所に、鈴木樹理氏(当時、東大農学部大学院生)がカニクイザルの形態学的な調査に当センターを訪れられたのです。鈴木さんは、カニクイザルの骨格の成長に関心を持ち、身体の中の部位がどの年齢でどのような成長をするのかを、生体計測の手法を用いて研究しようとされていました。このことが、今まで当センターに欠けているものでないかと気が付いたのです。幸いにも私が鈴木さんの助手のようなことをしながら、その手法を学ぶことができました。しかし、鈴木さんは京都大学霊長類研究所に就職のため、1 年弱で当センターを離れることになりました。そこで、私はその跡を引き継ぐことになりました。生体計測はマルチン氏人体計測法に基づいておこなうものです。さっそく生体計測器を購入しました。まず、最初におこなったのは、私の計測にどのくらいの信頼性があるかという調査です。同じ個体を 10 回位計測しその測定値のバラツキをみました。その結果、部位によって違いはあるものの、私の計測したデータは十分に信頼できるものと確証が得られました。そこで、カニクイザルの乳幼仔期の形

態学的成長の特性について調査を開始しました〔1〕。データの解析には農林省家畜衛生試験場におられた後藤信男先生(現・神戸大学農学部教授)の御指導をいただきました。その後、出生直後から9歳齢まで、つまり、カニクイザルの身体が完全に形成されるまでの形態学的成長特性の解明を目的に調査を開始しました〔2〕。では、果してカニクイザルが形態学的にどんな成長の特性を持っているのでしょうか。

カニクイザルの出生から乳幼仔期、すなわち母子分離(離乳)までの時期である12週齢までの成長はどのようになっているのでしょうか。それでは、生体計測値を見ます。まず気付くことは、この期間に、体幹部である骨盤幅、肩峰幅、前胴長などは約1.3倍に増加するのに対し、頭部および身体の末端部(手長、足長)などは1.2倍程度しか増加しないことです。ところが、頭部でありながら形態学顔高は約1.4倍と計測を行った項目の中では最大の増加率を示しています。このことは、顔面が前方方向へ顕著に成長していることを意味しています。この成長の特性がカニクイザル(*Cynomolgus monkey*・犬のような顔のサル)と名前の付いた由来かも知れません。ところで、このように身体の各部の成長速度を比較するということは相対成長(アロメトリー)の立場からの解析をおこなうということです。そこで、改めて乳幼仔カニクイザルの成長を解析するために、多変量アロメトリー法を適用してみました。この方法は測定値を対数に変換し分散・共分散行列を出発とする主成分分析をおこない、PC1の固有ベクトル(平均比

成長率)を求めます。そして、ここでは最大頭幅を基準として平均比相対成長係数(α)を求めました(図1)。その結果、最大頭幅に対する相対成長速度は雌雄共に体幹部において速く、手足等では遅いということが明かとなりました。このことは、相対的に体幹部からみて遠い部分は近い部位に比較して離乳期以前に成長がかなり進んでいることを意味します。ヒトにおける従来の知見と一致するようです。すなわち、カニクイザルの仔ザルは出生直後から母ザルにしっかりと抱きつかなくてはなりません。このような行動上の必要性によって、身体の末端に位置する手、足等が胎仔期にある程度成長して生まれて来るものと推察されます。

それでは、カニクイザルの成長の完了すると思われる9歳齢までの成長特性はどのようになっているのでしょうか。ここでの解析は測定値に相関行列を出発とする主成分分析法を適用しておこないました。その結果、第1主成分(PC1)は主に身体の大きさに関わる因子、第2主成分(PC2)は主に身体のプロポーシオンに係わる因子であることが判明しました。そのPC1、PC2を平面上に表したのが図2(雄)、図3(雌)になります。その図からわかるように雄のPC1の値は5歳齢以降あまり変化していません。雄の身体の大きさは5歳齢ぐらいでもう変化しなくなる訳です。一方、雌でのPC1の値は3歳齢ぐらいでほぼ一定になります。雌では身体の大きさは3歳齢ぐらいで変化しなくなると判断されます。乳幼仔期の成長特性についてはもう述べましたので、ここでは1歳齢以降のカニクイザルの性差に注目して

述べたいと思います。それは PC2 によって検出することができました。雌雄とも 1 歳齢から 3 歳齢までは PC2 の値は負から正になっています。PC2 に係わる固有ベクトルの係数の値から判断してこの時期は雌雄共に四肢の成長が体幹部に比べて優成長をしているといえます。雄は 3.5 歳齢(性成熟)に達したあと、5 歳齢以降も顕著に肩峰幅及び四肢の長さを増して、雄の体型が完成されるのです。また、雌を見ると 2.5 歳齢(性成熟)頃から PC2 は再び負の値をとるようになります。すなわち、体幹部が四肢に比べて優成長を呈するようになる訳です。四肢と体幹部との成長の様相の違いが雌雄の体型における性差になって現れるのです。簡単に言いますと、性成熟後の雄は体幹部に比べ四肢が長く、肩幅の張った“ガッチリ”した体型になり、雌は体幹部に比べ四肢が短く比較的“フックラ”とした体型になります。この様な所はヒトとよく似ているのではないのでしょうか？

以上、簡単にではありますがカニクイザルの形態学的成長の特性について述べました。この様な調査および解析をおこなってきましたが、これらの成績は、まだ当センターの飼育管理の現場、すなわち、肥満ザルの発生予防や痩せザルの検出などに応用するには至っていないのが現状です。今後は簡略的な形で飼育管理の現場で形態学的成長を含めたカニクイザルの成長指標を作りあげていきたいと思っています。

文献

〔1〕清水利行・小野孝浩・吉田高志・長 文

昭・後藤信男(1988). 乳幼仔期カニクイザルの形態学的成長への多変量解析法の適用, 実験動物, 37, 145—151.

〔2〕清水利行・吉田高志・長 文昭・後藤信男(1991). カニクイザルの形態学的成長の解析, 実験動物, 40, 215—221.

《特集・育成カニクイザル》

体重の成長に伴う変化

Body weight change

大藤浩美

当センターで出生した個体は体重管理の面から見て、新生仔期、離乳直後、群飼育期、成長期に大別され、各時期によって体重の測定頻度も異なっている。

新生仔期の測定は、センター発足当初には離乳まで毎週行っていた。しかし、この時期の成長率は、出生時体重に関わりなくほぼ一定であることが判明した〔1〕。そこで出生時体重とその後の成長率から個体の体重管理を行う方法を考案し、正常な成長を呈している個体は体重測定の回数を減らしている。しかし成長の劣る個体では毎週の保定検診による観察と体重測定をし、手厚く管理している。

出生後 20 週齢頃に、仔ザルの体重、歯牙萌出、固形飼料を食べているかどうか、母ザルから離れて独立した行動をとっているか、等を指標に離乳(母仔分離)を行う。この時期に下痢を起こして体調を崩す個体が多い。そこで離乳後 5 週間は 2 回/週、その後は 6, 7, 8, 10, 12 週目に保定検診と体重測定をしている。

従来、離乳は 2 頭を 1 ペアとして行ってい

た。そして出生後 36～39 週齢頃に 2～3 ペアを一緒にして群飼育をした。しかし体重が 1Kg を越えるような個体を一度に出会わせると優勢なペアが劣勢な個体を傷つけることも生じた。そこで最近では他の個体をあまり傷つけることができない離乳時期から 4 頭で同居する方法がとられ、負傷する個体も減少した〔2〕。

群飼育は 3 年間とし、3 ヶ月に 1 回体重測定を行っている。成体になってからは、雌は交配、妊娠診断、分娩、授乳中、離乳時に測定し、繁殖活動を休止している個体は 3 ヶ月に 1 度は測定するようにしている。また雄個体は 6 ヶ月に 1 度は測定するように努力している。

このような管理方式と体重成長の様子は数年前に筆者らが報告した〔3〕。しかし当時少なかった 400 週齢以降のデータも充実してきたので改めて紹介したい(図 1 下段)。

なお性差を比較する上で雌の妊娠中及び授乳中の体重は除いてある。例数はセンター産 F1～F5 約 3100 頭で得られた 500 週齢までの約 12 万件である。

出生時の平均体重(M)と標準偏差(S.D.)は雄 $351 \pm 59\text{g}$ 、雌 $325 \pm 53\text{g}$ で、雄がやや重く、この関係はその後とも維持される。雌雄とも 160 週齢位までは同じ様な曲線を描き成長してゆくが、その後雌はだらだらと値が増加するのに対し、雄は急激な増加を示す。500 週齢時の値は雌 3.8Kg、雄 6.3Kg でほぼ一定の値を呈するようになる。

次に体重成長の個体差を示す変動係数($100 \times \text{SD}/\text{M}$)を見てみる(図 1 上段)。出生時は雌雄

共に約 17%であったものが 20 週齢頃には 12～13%台まで下がる。母ザルに哺育されている時の仔ザルの体重の個体差は大きかったが離乳と共に小さなものになるように思われる。週齢をおうごとに個体間のバラツキは少しずつ大きくなるが、ここでも約 200 週齢頃に性差がはっきりしてくる。雄では性成熟に伴う体重成長の加速現象が認められ、早めに性成熟に達した個体と遅れた個体が 400 週齢頃まで混在するために、個体差は大きな値を示すものと判断される。300 週齢頃に変動係数は最大値を示し約 36%であった。一方雌では性成熟に伴う成長の加速現象は認められず、体重の個体差が雄の場合のように極端に増加する時期はない。しかしその値はじりじりと大きくなり 400 週齢頃には雄よりも大きな値となる。これは妊娠、分娩を重ねる結果、分娩後の体重が妊娠前のそれに戻る個体と戻りにくい個体、あるいは仔を産まない為に体重が比較的小さいまま維持される個体などが出てくるために個体差が大きくなるものと思われる。

育成力ニクイザルの平均体重はこのような推移します。しかし、育成ザルの中には極端な肥満を呈し、糖尿病などを併発する個体も認められます。力ニクイザルにとって、適正な体重とはどのくらいなのか、又適正体重を維持させるためにはどのような飼育管理をすべきなのか、まだまだわからない点も多くありますが、これからも良質な実験用カニクイザルを生産して行くために多方面から努力を重ねたいと思っている。

文献

〔1〕 吉田高志・後藤幸江・羽成光二・清水利行・中島雅子・長文昭・本庄重男(1982). 乳仔期カニクイザル(*Macaca fascicularis*)の個成長の管理. 成長, 21, 12—19.

〔2〕 羽成光二・小松崎克彦・小川浩美・長文昭・本庄重男(1987). 幼仔期カニクイザルの離乳後における飼育管理方法の改良. 実験動物, 36, 281—284.

〔3〕 大藤浩美・鈴木通弘・大久保文雄・鴻野操・清水利行・成田勇人・羽成光二・小松崎克彦・小野孝浩・小川浩美・吉田高志・長文昭(1986). 大規模繁殖システムでのカニクイザルの体重成長. 成長, 25, 195—197.

《実習生メモ》

カニクイザルの新奇物体に対する反応 —年齢による反応の違い—

Age related difference in response to novel objects

日本女子大学

木村弥須子

《目的》人間にとって「遊び」や「おもちゃ」はなくてはならないものであり、「遊び」という行動は、人間以外の哺乳動物にも現れます。人間を対象とした研究によって、「遊び」と「おもちゃ」の必要性は広く認められるようになりましたが、最近ではケージ飼育でストレスのたまった動物に対しても、「おもちゃ」が有効に働くことが明らかになって

きました。そこで今回の実験では、動物に対して「おもちゃ」がどのように影響を与えるのかを知る研究として、新奇物体を呈示した時の動物の反応を観察し、年齢差を比較することを目的としました。また、好奇心の程度の差が、学習能力に反映されるか否かの実験も行いました。被験動物としてサルを選んだのは霊長類が人類に最も近い知能的な哺乳類であり、新奇物体に対する操作的な反応を期待したからです。

《実験》1.被検体

カニクイザル メスの4歳を7頭,15歳を4頭

2.実験の方法

実験 1)新奇物体に対する反応の観察

被検体に新奇物体を呈示し、新奇物体に対する直接的、間接的な反応を観察する、用いた物体は、直径7cmのテニスボールと、木製で直径2cm、長さ30cmの丸棒、アルミ製で直径7cm、高さ12cmの空き缶。物体は黄の蛍光色で統一した。連結ケージの仕切りを閉じ、片方のケージに新奇物体、もう一方に被験体を入れ、仕切りを開けて物体を呈示する。観察時間は物体呈示から20分間で、27項目の行動を5秒間隔で記述する。

実験 2)タッチパネルを用いた好奇心の実験

ある条件(刺激)で画面に取り付けられたタッチパネルを押すと、報酬(音や絵)が与えられるように設定された装置を用いた。このオペラント条件付けによる強化学習で、刺激に対する反応を被験体に学習させた。後、リズム音と動画のみを報酬として反応を引き出すことが出来るかを調べることにする。

《結果》4歳と15歳では行動生起頻度の総数に差は無く、約6行動項目に年齢差が見られました。その中でも手操作、注視行動、常同行動は最も大きな差の見られた行動です(図参照)。4歳のサルでは物体への手操作が見られず、行動のほとんどが注視でした。一方、15歳のサルでは手操作が見られ、しかも被験体全部が第1回目の物体呈示以後は、手操作を行わないという特徴的な行動パターンを示しました。15歳では常同行動も多く、年齢による反応パターンの違いが明らかになりました。

タッチパネルの実験では、オペラント学習が

成立せず、有意な結果が得られませんでした。

《考察》一般に、哺乳動物では若い個体の方が好奇心欲求が高く、よく遊ぶであろうと考えられており、4歳の若いサルは喜んで新奇物体の探索を始め、遊ぶはずでした。しかし、今回の実験結果は、必ずしもそうではないことを示唆したように思います。つまり、好奇心という内的動機づけの結果起こる遊び、またはその基盤となる探索行動は、複雑な反応の形で表れてくるのではないかということです。例えば、4歳ザルは注視行動が多いが、手操作が少ないという結果について考えると、新奇物体に対する好奇心より、恐れの方が勝った結果の行動であると言えるでしょう。そして、4歳の方が好奇心が長く保たれることは、注視行動の継続時間が長いことからわかります。

このように、サルの新奇物体に対する行動

の表われた方には、環境のような外的な要因と好奇心に代表される内的な要因が大きく影響を与えており、内的な要因と、外的な要因が働きあって行動が形作られていることが、今回の観察からも窺い知ることができます。

《おわりに》比較心理学の分野では、霊長類を使った研究が多く、霊長類の行動観察を卒業論文のテーマにしたいというのが、第一の動機でした。そのために、新奇物体呈示の実験を思いついたのは、人間臭いことをサルにやらせてみたいという単純な気持ちがあったからだと思います。更に、おもちゃの存在がその有効性を引き出すとすれば、ケージで隔離されて育ったサルに見られがちな異常行動の軽減につながるかもしれないと考えたこともこの実験を行った理由の一つです。しかし、実際に新奇物体の呈示をサルに試みて感じたことは、「物」で「遊ぶ」事に関して、サルは人間とは全く異なった行動パターンを持つのではないかということです。もっとはっきり言ってしまうと、今回、サルが見せた物体に対する反応はどう見ても「遊び」には見えませんでした。実験で使ったサルは知的能力では人間の子供に匹敵するでしょう。ならば、なぜサルは遊ばなかったのか。そして人間はどうして遊ぶのでしょうか。「遊び」に対する疑問は広がるばかりです。稚拙とはいえ、今回の実験を成し終えたことは私の大きな自信につながりました。今後、研究者として生きていってみたいと踏ん切りをつけさせてくれたのはセンターでの経験だったと思います。皆様、本当にありがとうございました。

《実習生メモ》

短期分離が母および子に及ぼす影響

Influence of short period separation on both mother and infant cynomolgus monkeys

日本女子大学

船山 聖，大矢純子

目的 離乳前後の母子を3日間分離し，分離が母子間の愛着形成に及ぼす影響をみる。また分離中の条件を変え，それによって母子関係への影響や分離中の行動に差異が生じるかどうか検討する。

方法 実験開始時において17～21週令のカニクイザルの子とその母4ペアを用いた。分離中の条件に関しては2種類の操作を行った。1つは，母子を同室内に向かい合わせて置き，互いに姿が見え，声も聞こえる状態にする同室分離と，母ザルを別室に運び，完全に分離してしまう別室分離である。もう1つは子ザルを1つのケージに1頭ずつ入れる別室分離と，2頭一緒にする同居分離という操作である。この2つの操作を組み合わせ，結局，同室別居，同室同居，別室別居，別室同居，という4つの条件で実験を行ったことになる。1つの実験は分離前後1日ずつを含めた5日間を単位とし2ペアの母子を用いた。よって1ペアの母子は2回実験を受けたことになる。行動観察は1日に2回15分間ずつ行い，分離中の子ザルに関してはwoo-calling(母親を求めてホーと鳴いたり，泣き叫ぶ行動)を直接観察によって記録した。行動の記録にはビデオを用いた。母子の行動は，予め定めた行動項目毎に1回15分間の観察中に合計何

秒間生記したかをビデオから算出し，分析を行った。またwoo-callingは1回の観察時間を15秒毎に区切り，その15秒間に1回以上聞かれた場合，1と数え，分析した。

結果と考察 子ザルが離乳期であり，かつ3日間という極めて短期の分離であったが，分離が母子の密着を強めたことがわかった(図1)。母ザルが移動させられると，子ザルからホーという鳴き声が多く聞かれ，運動と遊びの活発さが減退し，じっと動かず座っているのがよくみられた。分離は子ザルにとっては大変な不安を与えるが，隔離飼育ザルに見られるような，うずくまって体を抱き締めたり体を揺すったりする常同行動のようなものはみられなかった。母ザルは子ザルと離されると絶えずケージ内を歩き回り，牛のような声を漏らした。母子の出合わせでは両者のためらいや拒絶は全くみられず，大変親密な様子が観察された。また母ザルや子ザルの鳴き声も聞かれなくなった。子ザルはたいいてい分離前より多くの時間を母ザルの近くで過ごし，母ザルから離れて過ごす時間が減った。また分離中の条件による影響の違いに関しては，子ザルの悲嘆を表す鳴き声などから，母子が同室内にいるほうが母子共に悲嘆が少なく，また分離後の母子関係においても分離不安が少ないことが検証された(図2)。また同じく，分離中子ザルは仲間という方が悲嘆が少なく，分離後の母子関係からは，仲間と同居することは子ザルが離乳期であることもあって離乳を促進する作用があり，それが母子関係に反映していることがわかった。

