

《随想》

センター長の仕事

Message of the TPC's director

吉川泰弘

筑波医学実験用霊長類センター(TPC)のセンター長に着任してから、1年が過ぎてしまった。自分自身の手で実験を行う時間がほとんど無くなってしまったが、実験センスを失わないためには、形が違って実験を自分の手で進めていく必要があることを痛感している。今年は、なるべく自分の時間を作っていくつもりである。

この1年を振り返ってみると、これまでの研究室でのライフスタイルに較べて、多くの点で根本的に変わらざるを得なかった。

第一は、センター長としてTPCの将来に対する重責を背負う覚悟を決めることであった。実験室内での実験の失敗は、本人の推察力のなさが原因であり、個人としての責任で解決がつくが、医学実験用霊長類の研究をメインテーマとしている研究所がTPC以外にない現実を考えると、TPCの研究機能が発展するか衰退するかは、日本における霊長類医学の研究が進むか衰退するかに直接関わる問題であるということ、またその責任はセンター長とTPCのメンバーにかかっているということ、この1年次第に強く感じるようになってきた。責任に押し潰されないためには、長期的展望を持って着実に進む以外にない。ここ2、3年は、いろいろな可能性を模索しつつ将来の路線を明確にしていく必要があると考えている。

第二は、これまでの実験室の生活は自分のテーマについて仮説を立て、実験を行い、デ

ータを解析し、問題点を整理したあと、新しく生まれた問題点に対して新しい仮説を立て、次のステップを繰り返すという基本的にはループ構造から成り立っていた。

他方、センター長の仕事は、自分の打った手や考えた戦略が、他から打たれた別の戦術や判断により影響を受けること、一度なされた事に関しては再び同じ状況設定をすることが不可能に近いという点では社会科学的であり、その進み方はループ構造ではなくいわば尺取り虫型であると言える。尺取り虫が枝から落ちないためには、正確な偏見のない情報の収集、根回しという人と人との円滑な関係の維持と、相手の立場に立って物を考えると言う社会科学的客観性が必要であることを痛感した。

第三は、自然科学というこれまでの温床の見直しの必要性である。これまでアブリアリに自分の存在基盤となっていた自然科学そのものを相対化する視点を教えられた事である。これには動物実験に反対する人々、反対ではないが規制が必要であると考えている人々、また自然科学の進歩そのものに対する危惧と反対を表明している人々の存在を身をもって経験したこと、いろいろ話し合う機会を得たことが大きく働いている。

二年目の今年は、これらを踏まえて、一歩ずつ前進して行きたいと考えている。

《特集 ミドリザル》

ミドリザルにおける病原微生物の感染状況

Natural infections with various pathogenic agents

1. 細菌

Bacteria

鴻野あや子，高阪精夫

当センターでは，1979 年から 81 年までにケニアから輸入した野生ミドリザルをもとに現在のミドリザル繁殖コロニーを設立した。野生のミドリザルも他の野生のサル類と同様にいろいろな病原細菌に感染している。今回は，輸入野生ザルと当センターで生産されたサル(以下育成ザル)における赤痢菌，カンピロバクターおよび結核菌の感染状況について報告する。

1) 赤痢菌およびカンピロバクター

まず，赤痢菌についてみると 1979 年から 1981 年までに輸入した野生ザルの検疫期間中の調査では，全体的には 65 頭中 4 頭(6.2%)から本菌が分離された(表 1)。分離菌型は *Shigella flexneri* 3b が 2 株，*S. flexneri* 4a が 2 株であった。これら菌陽性ザルには抗生物質を投与し，除菌を行った。その後，これらの野生ザルをもとに繁殖コロニーを作ったが，まだこれらのサルの中に保菌ザルが存在し，これらのサルが感染源となって 1982 年の 10 月までに，散発的な細菌性赤痢の発生がみられた。すなわち，この間に野生由来ザルでは 21 頭，育成ザルでは 17 頭から赤痢菌が分離された。分離菌種は，*S. flexneri* Y が 34 株，*S. flexneri* 4a が 4 株であった。そこで全頭に抗生物質を投与すると同時に他の飼育室へ移動した。その結果，1983 年の野生由来ザル 1 頭からの *S. flexneri* Y 分離を最後に 1987 年まで，野生由

来ザル，育成ザルからともに赤痢菌は 1 株も分離されなかった。

つぎに，カンピロバクターについてみると輸入後 8～10 年間飼育された野生由来ザル 37 頭と育成ザル 109 頭の計 146 頭について菌分離を試みたところすべてのサルが本菌陰性であった。そこで，これらのサルの過去における *Campylobacter jejuni* の感染の有無を血清学的に明らかにするため，ELISA によって IgG 抗体の調査を試みた。その結果，野生由来ザルについてみると，検疫期間中ではすべての個体(36 頭)の抗体が陽性であったが，輸入後 8～10 年目のサル(37 頭)では約 27%が陰性であった。一方，育成ザル(109 頭)では，すべてが陰性であった。

2) 結核

当センターの結核症の診断はツベルクリン試験を中心に血液学的検査，病理組織学的検査および菌の分離・同定検査によって行っている。現在までに自然斃死したミドリザルでは，結核症と診断されたサルは 1 例もなかった。しかし，1989 年ごろから野生由来ザルおよび育成ザルに，ツベルクリン試験が疑陽性と判定されるサルが見られるようになった。そこで我々は，現在これらツベルクリン擬陽性ザルと結核菌を含む抗酸菌感染の実態を明らかにするためツベルクリン疑陽性反応と血中抗体価，リンパ球幼若化反応，抗酸菌分離との関係について検討中である。

以上のように現在，当センターのミドリザル繁殖・育成コロニーは赤痢菌，カンピロバクターの感染がない状態で維持されていると思われる。しかし，結核菌の感染については

今だに問題点を残しているので今後、早急に解決して行きたい。

2. ウイルス

Virus

成田豊子，向井録三郎

ミドリザルには，ヒトのエイズウイルスと同科に属するレトロウイルスの存在が認められている。当センターのミドリザルも，STLV-I や SIV を保有していた事等から，それらの研究分野で著しく注目され実験用霊長類としてウイルス学的研究に用いられた。又，麻疹抗体測定のための HI 試験には，不可欠の血球提供ザルとしても高い有用性を持っている。そして 1960 年代にはウイルス分離用培養細胞作製のための原材料として，その腎臓は大層貴重である事が認められた。TPC NEWS でも，上記の STLV-I や SIV に関する調査等の結果については，すでに紹介している。しかしミドリザルコロニーの他の各種ウイルス感染状況全般については，本誌ではとり挙げられていない。今回は，ミドリザルにおける野生由来ザルの入荷時，またそれらを長期飼育した長期飼育したサルおよび育成ザルで，どの程度ウイルス汚染があるのかに関して，抗体保有調査をもとに報告する。野生由来ザルの血清は，1979 年～1981 年の入荷時採取したもの，長期飼育された野生由来ザルと育成ザルは，1990 年の定期検査時に採取したものである。(SV-5 は 1986 年，SA-6 は 1987 年採取血清を用いた。)

用いたウイルスは，麻疹(HI 法)，HSV-1(CF

法)，SV-5(HI 法)，SA-6，TSVV，DHV，STLV-I，SIV(以上 IFA 法)の 8 種類である。ミドリザルもアジア産マカク属サル類と同様に麻疹ウイルスに高い感受性をもっている。表に示した様に野生由来ザルは，約 20%の本ウイルスに対する抗体保有率であるが，育成ザルはすべて陰性である。野生のマカク属サル類が通常保有している *Herpes virus simiae* (B ウイルス)は，ヒトの単純性疱疹ウイルス(HSV-1)と共通抗原を有しているため，我々は HSV-1 抗原を用いて B ウイルス抗体の有無を測定している。同様に，SA-8(野生ミドリザルが通常保有しているヘルペスウイルス)と HSV-1 は，共通抗原性を有しているのでミドリザルのヘルペスウイルス(SA-8)に対する抗体検査も，HSV-1 を用いて行っている。今後は，HSV-1 と SA-8 との共通抗原性の相互関係について，検討していきたい。続いて，SA-6(サルサイトメガロウイルス)は，ミドリザルより分離されたウイルスである。SA-6 に対する抗体保有状況は，育成ザルにおいても高率であった。このことは，当センターの繁殖育成方式では，サイトメガロウイルスは，同じヘルペスウイルスに属する SA-8 に比して除去され難いことを意味している。

またミドリザルもある種のサル水痘様ヘルペスウイルスに高い感受性がある事が，すでに報告されている。1968 年，1973 年にパタスモンキーとミドリザルのコロニーで Delta herpes virus (DHV)の大流行が米国の Delta primate center で発生している。そこで当センターのカニクイザルコロニーに於ける本症発生とミドリザルとの因果関係の有無を調べる

ため、当センターのミドリザルコロニー全頭について TSVV と DHV に対する抗体調査を行った。その結果両ウイルスに対する抗体はすべて陰性であったので、カニクイザル水痘様ヘルペスウイルスの流行原因はミドリザルではないことが解明された。

STLV-I は、本誌 Vol.4, No.2 の報告後、育成ザルにもわずかながら感染している事が認められた。しかし SIV に関しては本誌 Vol.6, No.1 での成績と同様、育成ザルに於いても約 10%の保有率を示している。ミドリザル SIV には HIV のような病原性は認められていないが、今後も本ウイルスに対する抗体の有無に関して注目して行きたい。

以上が現在の当センターのミドリザルコロニーでのウイルス汚染状況である。SA-6 とレトロウイルス以外は、育成ザルですべて抗体は陰性であった。最近では、ポリオウイルスに対するワクチンの検定にも、ミドリザルを用いて検定を試みようとしている。ミドリザルもカニクイザル同様貴重な実験用霊長類である。従って我々は今後もウイルス汚染の極力少ないミドリザルコロニー作出を目指し、ミドリザルが多くの分野で活躍できるよう努力して行くつもりである。

3. 寄生虫

Parasites

高阪精夫

野生ミドリザルにも他の野生のサル類と同様に、多くの種類の寄生虫が感染している。したがって、野生由来のミドリザルを実験動

物として使用する場合にも、これら寄生虫を是非とも排除しなければならないと考えている。

今回は、当センターにおける新輸入野生ミドリザル、輸入後 3 年以上飼育された野生由来ザルおよび野生ザルをもとに設立された繁殖コロニーで生産されたサル(以下育成ザル)における寄生虫の感染状況を報告する。なお、当センターでは、前にも本誌で述べたように、積極的に寄生虫を駆除するため、しらみ等外部寄生虫に対してはバイエル社製のネグボン、蠕虫類に対してはサイアベンダゾールといった駆虫薬を用いている。しかし、原虫類に対する投薬は行っていない。

まず、表 1 に、1979 年から 1981 年までにケニアから新たに輸入されたミドリ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。蠕虫類の虫卵検出率は 28.1%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., *Trichuris trichiura*, *Bertiella* 様虫卵などが検出された。また、*Entamoeba histolytica* を含む *Entamoeba* 属の検出率は 54.7%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 4 月、輸入後 3 年以上飼育された野生由来ザルおよび 1 才以上の育成ザルについて行った内部寄生虫の検査成績を表 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、育成ザルに対しては多くのサルに 1 クール、サイアベンダゾールを

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* および *Iodamoeba buetschlii* が検出された。また、*Giardia lamblia* が育成ザルのみに検出された。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. histolytica* およびその近似種、*E. nana* および *I. buetschlii* 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が、*E. coli* の検出率は育成ザルの方が野生由来ザルより高率であった。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、野生由来ザルの 1 頭のみ *Dicrocoelium sp.* 卵が検出された以外、すべて陰性であった。また、その後の抽出個体を対象とした検査では、蠕虫類はすべて陰性であったが、原虫類は高率に感染していた。

以上の成績は、当センターのカニクイザルでの成績(TPC NEWS, 10 巻, 1 号, 1991)とほぼ同様であった。今後は、カニクイザルと同様に、原虫類の駆除法について検討して行きたい。

《目で見る現場》

ミドリザル

Report from the African green monkey colony 冷岡昭雄

1991 年 12 月、待望の F3 ミドリザルが誕生した。母親の 2 つの乳首を同時にほおばりながら、一生懸命にミルクを飲んでいる新生仔、

その仔ザルの背中に両手を回してしっかり抱きよせる母親。その姿は、飼育を担当している者にとっては、なんとほほえましい光景かと日々思う。なぜなら、外部からまったく隔離された人工飼育環境化の中で生まれ育った動物が、さらに、子孫を生み育てている。この事実は、我々がいただく一抹の不安を見事にふき消してくれる。と同時に日々、検討して重ねた経験が生かされ、自信となつてかえってくる。今回は、ミドリザルの特集号なので、今までミドリザルで経験した飼育管理についての思い出を述べてゆきたい。

’79, ’80, ’81 年の 3 回に分けてセンターに入荷した野生由来の動物は、1 次検疫として 4 週間は観察と掃除そして給餌のみとし動物に直接触れることは避けてきました。この期間中に死亡してしまった動物については、解剖せずに焼却処分としました。ミドリザルで報告されているマールブルグ病等の人間にも危険な感染症を考慮した結果です。この頃の思い出は、カニクイザルとは違って身体をよく上下に動かす、あまり声はださず静かである、飼育ケージをほとんど汚すことはなく、きれい好きな動物、という印象でした。また、この 1 次検疫期間が終えようとしている時、下痢などで衰弱している動物がいて、我々はこの期間が早くすぎてほしい、治療し、元気になってもらいたいと思ったものでした。4 週間たったところで、やっと検収作業が行われました。はじめてミドリザルに触れる事が出来ます。検収作業はカニクイザルと同様におこないました。ひき続き、6 週間の 2 次検疫を実施します。この 1, 2 次の検疫期間中に死

亡してしまった動物は、36 頭中 3 頭でした。検疫期間を終了して、検査に合格した動物は繁殖棟へと移動します。この時期に注意したことは、移動のストレスや飼育環境の変化などで、今まで不顕性であった赤痢が発現したり、それが他の動物に伝染したりすることです。検疫棟とは違って繁殖棟でおこる感染症は、なかなか駆除がむずかしく、また、多くの労力を必要とします。この点は、カニクイザルでも同じ経験をしました。あんなに治療したり、また何回も採便して検査した結果は陰性だったのに、と嘆いたものでした。

そして、繁殖棟に移してから 3~5 ヶ月間経過したところに、繁殖を開始しました。交配の方法は、カニクイザルと同様に排卵時期に雌雄を 3 日間同居させるものです。しかし、ミドリザルの場合は、月経出血の量が少なく、通常の観察では出血を見逃してしまったり、月経出血がまったく認められない動物もありました。その結果、不規則な月経周期しか繰り返していないと判断されてしまいます。そこで、湿らせた綿棒を、雌の膈内に挿入して、出血の有無を確認する、ということをおこないました。そうしてみると、大部分の動物で規則的な月経周期を繰り返している事が判明しました。ミドリザルの月経周期の長さは 32 ± 3 日であり、カニクイザルのそれ(29 ± 4 日)よりやや長いようです。この方法で 30 頭近くの動物を毎日実施したのでは大変です。そこで、新たな交配方法を考えてみました。その方法とは、隔日 1 対 1 交配方式でした。すなわち、3 連結ケージの中央に雄ザル、左右のケージには雌ザルをいれて 1 日おきに交互に

雄ザルと同居する方式です。同居期間は最長 14 週間としました。この交配方式によりミドリザルの室内繁殖は、飛躍的に進みました。なにしろ、交配した大部分の動物は、同居開始後 10 週前後で妊娠したと判定できたのです。今でも F1 ミドリザルの室内繁殖の基本となっています。また、少数ですが、月経出血量が比較的多く、毎日の観察によって規則的な月経周期を描いていると確認された動物については、3 日間交配方式を行います。交配後 5 週目には子宮触診法で妊娠の有無の確認が可能です。妊娠期間は、平均 163 ± 3 日とカニクイザルとほぼ同じ期間であることも判明しました。

次に、仔ザルの育成過程について述べます。仔ザルの出生時体重は、雄で平均 365 ± 45 g、雌は 325 ± 40 g でカニクイザルの新生仔とほぼ同じ大きさです。この時に注意しなければならない点は、性別判定です。雌ザルの外部生殖器の一部は、ちょうど雄の陰茎のような形をしており、性別を間違えてしまう事があります。また、カニクイザルと比べミドリザルの新生仔は、0 日齢からよく動きだし母親から離れてしまうことがあり、哺育不良ではないかと判断しがちです。ですが、飼育担当者がケージに近づくとも母親は、よく抱いてくれます。平均 3 ヶ月間の哺育期間を経たのち母仔分離(離乳)とします。離乳後は、個別ケージに 2 頭で飼育しています。この時に注意する事は、母親から分離された為と思われる心理的なストレスで、体重が減少する点です。そこで、離乳後 1 ヶ月間は、週に 2 回の体重測定や保定検診をおこなって仔ザルの健康に

注意しています。その後さらに、3 ヶ月間の同居を重ねたのちに、2~8 頭で群飼育を開始します。ここでも注意が必要です。同居開始後すぐに、仲間同士のケンカでケガをする動物が発生したり、また、餌が食べられずに、体重減少する動物が起こりがちです。群の社会構造が安定するまで注意がかかせません。4 歳齢と成った時点で、個別ケージに 1 頭で飼育しています。ミドリザルの性成熟年齢は、雄で 5 歳齢、雌では 4 歳齢であると判断しています。この頃に、雌雄ともに顔面が、それまでの淡い色調から黒色へと変化します。また、雄では陰のうが、肌色から青空色へと急変します。この頃になるとよく自慰行為を観察できます。そこで研究材料として、なんとかその精液を採取できないものか、と考えた事が用指法での精液採取法の開発にたどりつきました(1)。今では、簡単に精液の採取が可能となっています。さらに、現在では発生工学へとつながっています。毎朝の観察のおかげです。また、カニクイザルのグループが開発した胎仔の胎位変換による死産の防止策をミドリザルでも行っています。骨盤位(逆子)から頭位(正常位)への胎仔の変換は、2~7 分で可能です。この技術の応用で現在まで、かなりの数の死産を回避する事ができました。さらに、ミドリザルの場合はほぼ 100%近くの母親が、新生仔を抱いて育ててくれます。そのおかげで人工哺育を行うことはほとんどありません。この点では大変助かっています。臨床面で注意しているのは、低タンパク・低カルシウム血症の動物です。血液凝固時間が延長している動物がいて採血後には、止血し

た事を十分に確認しています。まれに内出血を起こし、ひどい時には貧血状態になってしまいます。対策として 5 年前からこれらの動物にビタミン D3 を投与していますが、なかなか改善しません。ビタミン D3 を投与する以前に、すでに 6 年以上室内繁殖飼育していることと、年齢もすでに 15 歳以上となってしまう現在の現では、改善する事はむずかしいのかも知れません。1 つの明るい兆しとして、ビタミン D3 を投与した母親から生まれた新生仔の体重成長率は、非投与群の仔ザルより明らかに優っています。今後は、全頭のミドリザルにビタミン D3 の投与を開始する予定です。次に、急性胃拡張症候群による死亡です。この病気で死亡した動物を発見した時は、はっと驚きます。鼻、耳そして肛門等の天然孔から出血を認め、全身の皮膚には出血斑とガスが溜り、ボンボンとなった状態で倒れています。その様相はあたかも死後 2~3 日に見えてしまいます。きのうまで、あんなに元気だったのに、1 晩でこんなひどい死にかたをして、さぞ苦しんだろう、少しでも兆候がわかれば治療していたのに、また、せっかくここまで元気に育てあげてきたのに、と動物の死体処理を行いながらつくづく思ったものです。すでに、この症例で 11 頭が死亡してしまいました。この症状での死亡の共通点は、夜間に発生していることと、ある家系から生まれた動物で多く発症している点です。1 つの対策として、発症しそうな家系から生まれた動物については、通常の給餌方法を逆にしました。午前中に固形飼料を給餌して、早めに消化してもらい、我々の目の届かない夜

間でのガスの発生を防ぐこと、もし、発症した場合にも、午後の早いうちになんらかの対応が取れるかも知れない、この2つが狙いです。ここ2年ほどは、この症例が認められていません。

我々は、ミドリザルの室内繁殖および継続世代繁殖について検討をかさねてきました。38頭の野生由来のミドリザルで始まった室内繁殖も、現在では150頭規模となりました。飼育室の空きケージも、1,2個の状態となり収容能力も、ほぼ限界の状態になりました。掃除をしているおじさんも大変です。2年後にはポリオ検定用として、年間12頭の育成ミドリザルが利用されることが決まりました。さらに、エイズ研究用や発生工学等の利用もあります。これら、国家検定用や各種の研究にミドリザルが利用できるように、現在は、飼育室内の基盤整備をさらに進めているこの頃です。

文献

[1]冷岡昭雄・長 文昭(1990). 用指法での精液採取と得られた精液の性状について、実験動物, 39(1), 121-124

《特集・ミドリザル》

ミドリザルの繁殖

Breeding African green monkeys

繁殖

Breeding

長 文昭, 冷岡昭雄

TPCではミドリザルを1979年から1981年までの間に、3回に分けて輸入し、当センターで検疫した雌36頭、雄9頭で繁殖を開始しました。ミドリザルの月経の観察報告はこれまでに決して多いとは言えません。いずれの報告でも、月経血量が少ないため月経血有無の判定はvaginal swabbingあるいはsmearによっています。月経周期を確認することは1対1,3日間交配方式の繁殖にとって不可欠であります。私どもの観察によれば、初交配以前に36頭中30頭に肉眼により月経血が観察されています。ところが、これら36頭のうち月経周期にもとづく1対1,3日間交配方式により入荷後初めて妊娠し得たのは、延べ29回の交配の結果、わずかに3頭であります(表1—a)。残る33頭の初妊娠は月経周期とは無関係に実施した隔日同居交配方式によるものであります(表1—b)。しかし、当センターで1度妊娠・分娩を経験した個体は、次第に規則性のある月経周期を発現するようになり、その結果として、1対1,3日間交配方式の実施が容易となり、それによる妊娠数が隔日交配方式による妊娠数を上回るようになったのです。しかし、2産次後も規則的月経周期が確認されず、そのため隔日同居交配方式を適用せざるを得なかった個体もいました。私どもの考案した16週間を一期の限度とする隔日交配方式による妊娠例の62.5%に当たる30/48例は交配開始後第10週までに作出されています(図1)。第10週ではそれらは推定妊娠5週齢として判定されていることから、交配開始後5~10週間で、つまりおそくとも2回目の排卵時には妊娠したと判断出来、その効率は

大変良いと考えられます。一方で 16 週間同居の後、分離後 5 週即ち 21 週後に 4 例の妊娠が診断されていることも見過ごすことは出来ません。

繁殖成績の概略は表 1—c にまとめました。死産率 3.7%は非常に低値ではありますが、流産率 14.0%と合算した胎仔損出率は 17.7%と無視出来ない高率となります。今後は流産率を低減させることが大きな課題の一つであります。

育成 F1 ミドリザルの繁殖については、未だ充分なデータ量は得られていないのですが、私どもは雄で 5 歳齢、雌で 4 歳齢となった時点から繁殖を開始しています。はじめに、月経血発現状況を表 2 に示しました。通常の肉眼観察では、17 頭中 3 頭は規則的な月経周期の発現が観察でき、残りの 14 頭は、不規則な月経周期であると判定しました。潜血反応試験を用いた観察では、12 頭中 11 頭に、規則的な月経周期を観察でき、残り 1 頭は不規則な月経周期であると判定しました。通常の観察で得られた月経周期の平均は 33.4 ± 7.1 日であります。一方、潜血反応試験を用いた観察では 31.4 ± 4.1 日と若干短くなりました。12 頭の初潮年齢は、早い個体で 2 歳 3 ヶ月齢、遅い個体で 3 歳 4 ヶ月齢であり、平均は、2 歳 8 ヶ月齢でありました。

交配方法については、2 つの方式を適用しました。規則的な月経周期を描いた個体については野生種ザル同様 1 対 1、3 日間交配方式を適用しました。8 頭の雌を用いて、延べ 25 回の交配を繰り返した結果、3 頭の妊娠例を得ました。延べ交配数当りの妊娠率は

12%(3/25)、実交配数当りの妊娠率は 38%(3/8)と低率でありました。他方、不規則な月経周期を観察した個体には長期間同居交配(雄 1:雌 1)を適用しました。長期間同居交配での妊娠率は、延べ交配数当りの妊娠率 70%、実交配数当りの妊娠率 92%と高率でありました。

長期同居交配での妊娠状況を表 3 に示します。雄ザルは初回の長期間同居交配で 19 頭中 8 頭が同居した雌ザルを妊娠させました。雌ザルについては、24 頭中 18 頭が妊娠しました。次に、初回の長期同居交配で雌ザルを妊娠させ得なかった雄ザルは第 2 回目で別の雌ザルと同居させたところ、11 頭中 4 頭が雌ザルを妊娠させました。残り 7 頭の雄ザルは、2 年間の長期同居交配で妊娠させることができませんでした。一方初回の長期同居交配で妊娠しなかった雌ザルについては、初回とは別の雄ザルと同居させたところ、6 頭中 4 頭が妊娠しました。

長期同居交配において雌ザルを妊娠させた雄ザル 8 頭について、妊娠作出までに要した期間をまとめてみました。初回の長期間同居交配では、4 ヶ月間から 11 ヶ月間で、同居した雌ザルを妊娠させる事ができました。この平均は、5.4 ヶ月間でありました。同じく 2 回の同居では平均 4.3 ヶ月、3 回のそれは平均 3.2 ヶ月間、4 回目のそれは 2 例のみで、各々 3 ヶ間と 2 ヶ月間の同居期間で同居した雌ザルを妊娠させる事ができました。段々と経験を積んで良い種雄となっていることが伺われます。雌側の分析も必要ですが、紙面の都合で割愛します。

これまでに 25 例の出産を取り扱いました。

その内訳は、正常出産が 24 例、流産が 1 例です。この 24 例すべてが、哺育良好でありました。育成 F1 カニクイザルの初産時の哺育率が 62%であることと比べ、大変興味あることです。現在哺育中の 5 例を除いて、19 例は既に離乳しました。

育成 F1 ミドリザルの諸データについては今後さらに例数を増やして詳細な分析をしたいと思います。

体外受精

In vitro fertilization of the African green monkey

協力研究員(ヒューマンサイエンス財団)

山海 直

サル類の体外受精は、約 200 種あるサルのうち、リスザル、ヒヒ、カニクイザル、アカゲザル、チンパンジーの 5 種類で成功しているにすぎない。発生工学手法は、すべてのサル種に共通のものではなく、それぞれの種に適した方法を開発することが肝要である。近年、TPC では、カニクイザルに加えてミドリザルの発生工学的研究に取り組んでいる。現在のところ、体外受精に供試したミドリザルは 2 例と少なく試行錯誤を繰り返している段階であるが、受精を確認することができたので、本実験に関わる若干の成績を紹介する。

1. 体外受精のための精子前培養条件

精子の採取は、カニクイザルの場合、直腸電気刺激法が用いられているが、この方法は煩雑で採取できる精液量もけっして満足でき

るものではない。それに対してミドリザル精子は、個体によっては用手法によりきわめて容易に採取できる。採取した精子は、パーコール洗浄したのち、TYH medium を基礎とした培養液を用いて培養し、生存、活性などの精子の一般性状検査、先体反応、過活性化運動(ハイパーアクチベーション)について検討した。その結果、TYH medium にカフェイン、DBc-AMP を添加したもので培養したとき、カニクイザルでは約 8 時間、ミドリザルでは約 4 時間で過活性化運動精子の出現がピークとなり生存(運動精子)率も良好であることが明らかとなり、体外受精のための前培養時間を確定した。

2. 卵胞卵採取のための卵胞発育誘起

卵胞発育誘起のためのホルモン投与は、性周期にあわせて行うため、メンスを確認する必要がある。しかし、ミドリザルは、カニクイザルと違ってメンス時の出血量が少なくケージ下のパット上の出血痕では正確なメンス出現を確認できない。そのため、連日、全身麻酔下で腔内に綿棒を挿入し、付着した血液を確認することでメンス初発日を調査した。その日を第 1 日として数えて第 3~14 日目に計 8 回の PMSG(妊馬血清性腺刺激ホルモン)を投与した。さらに、15 日目に hCG (ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン)を投与し、その約 28 時間後に開腹手術して、卵巣サイズを測定したのち卵胞卵を採取した。供試 2 例の結果は、表 1 に示すとおりである。卵巣サイズ、発育卵胞数、回収卵子数は、カニクイザルに同じ処理を施したときと同程度あるいはそれ以上の良好な成績であり、投与したホルモンにき

わめてよく反応していた。ただし、得られた卵子には、卵丘細胞のついていない裸化卵子が多数含まれ、それらを含むすべての卵子が第1極体を放出していた。

3. 体外受精

精子は、カフェインと DBc-AMP を添加した TYH medium で 4~6 時間培養したものを用いた。媒精は、カフェインおよび BSA 添加 Whitten's medium のドロップ中で行った。その結果は、表 2 に示すとおりである。裸化卵子、裸化卵子を卵丘細胞で覆ったもの、卵丘細胞につつまれた卵子の 3 群に分けたが、いずれにおいても受精および分割を認めた。しかし、受精卵には異常受精である多精子受精が多く確認され、体外培養では 8 cell stage 以前で発育は停止した。

4. 胚移植

月経周期の第 14 および 15 日目にあたる 2 頭のレシピエントに前核期および 8 cell stage の卵子を移植した。しかし、いずれも妊娠には至らなかった。

以上のように、ミドリザルは体外受精に成功した 6 番目のサル種となったが多くの課題が残された。採取した卵子は、すべてが第 1 極体を放出しており、多数の裸化卵子が含まれていたこと、さらに多くの多精子受精を認めたことから、卵子の過熟が強く疑われた。また、胚移植に用いたレシピエントはメスを指標として選抜したため、卵子との同期化がズレている可能性は否定できない。現在、これらのことを考慮して検討を続けている。

本研究は、ミドリザルにおける発生工学的技術の確立のための一助となり、さらに実験

用ミドリザルの開発、発生工学手法を応用した様々な研究に貢献できるものと確信している。

血液型とその利用

Blood groups as a genetic marker for management of African green monkey breeding colony at TPC

寺尾恵治

一時期、血液型による性格判断がブームになった。この場合の血液型はどういう訳か ABO 型血液型に限定した話だったように記憶している。ヒトには ABO 型以外に 200 近い血液型があるが、これらの血液型で性格判断をするという話は聞いたことがない。ABO 型が今世紀初頭に最初に発見され、日本人には馴染み深い血液型であることがブームを支えたのだろう(実際、米国では自分の ABO 型を知らないヒトが多いのに驚いた経験がある)。サル類にも ABO 型血液型が存在することが報告されたのは、ヒトに遅れることなく 20 年で、研究の歴史も古い。面白いことに、類人猿ではヒトと同様に赤血球に ABO 型物質(抗原)が存在するが、旧世界ザルや新世界ザルでは唾液などの体液中に分泌型の抗原が存在するが、赤血球には ABO 抗原が存在しない。この問題は霊長類における ABO 型血液型の系統発生を考えるうえで大変興味深い話題であるが、ここでは紙面の都合で他の機会に譲る。旧世界ザルに属するミドリザルでも ABO 抗原は体液中にのみ検出される。

生物集団の遺伝的な特徴を比較する手段と

して、親から子へ遺伝する形質を調べ、特定の形質を持つ個体がどのくらいの頻度で集団の中に存在するかを比較する方法が用いられる。調査可能な遺伝子を標識遺伝子と呼ぶが、血液型はヒトだけではなくサル類の集団の遺伝的変異性を調査する標識遺伝子として広く利用されてきた。ミドリザルの野生集団についても ABO 型が精力的に調査された時期があった。ところが、A、B、AB 型は見つかるが、どうしても O 型が見つからない(現在でも O 型ミドリザルを発見したという報告はない)。これには研究者も困った。遺伝様式がヒトと同じであれば、A、B、O の 3 対立遺伝子説で解析すればよいが、O 型が見つからなければ A、B の 2 対立遺伝子説を採用しなければならない。苦肉の策として、集団遺伝学的手法で計算した期待値(理論値)と実際の調査結果(実測値)との適合性を、2 対立遺伝子説と 3 対立遺伝子説とで比較し、3 対立遺伝子説で計算した期待値の方がより実測値との適合度が高いことから、"O 型が存在しない"にもかかわらず、ミドリザルには O 遺伝子が存在すると結論している。ミドリザルに限らず、旧世界ザルでは O 型の出現頻度が低く、野外調査の解析では O 遺伝子の存否が常に問題とされてきた。TPC のミドリザルコロニーにも O 型の個体は存在しないが、我々には親子関係の明らかな個体で血液型の遺伝様式が調査できるという利点がある。表 1 に示すように、親子で ABO 型を調査した結果、A 型と AB 型の両親から B 型の仔ザルが、B 型と AB 型から A 型の仔ザルが生まれている。これは AO、BO の遺伝子型を想定しなければ説明がつかない。

この調査により初めて、ミドリザルら O 遺伝子が存在することが実証された。

これまで、ミドリザルの血液型に関する報告は ABO 型に限られていたが、我々は、赤血球の相互免疫により同種血球凝集抗体を作製し、この抗体で判定されるミドリザル固有 M 型血液型を発見した。これには、M 抗原陽性の M 型と陰性の m 型の 2 つの表現型がある。表 2 は、TPC に導入された野生由来ミドリザル集団を入荷年別に 3 群に分け、各々で ABO 型と M 型の出現頻度を比較したものである。1979 年と 1981 年の集団は米国経由で、1980 年の集団は英国経由で入荷した集団だが、2 つの血液型の頻度に米国経由群と英国経由群とで差が認められる。この調査結果を基に、3 群のミドリザル野生由来個体を(1979+1981)群と 1980 群との 2 群に分け、群内での交配を行ってきた。その結果、F1 における 2 種類の血液型の遺伝子頻度は、F0 のそれと極めて近似していることが実証され、遺伝的変異性の異なる 2 つのミドリザル集団が確立できる可能性が示された。実験用ミドリザルの繁殖方式を確立するにあたって、導入集団の遺伝的変異性の調査に血液型が標識遺伝子として利用できた例である。

《特集・ミドリザル》

成長変化

Age-related changes in African green monkeys

体重

Body weight changes

冷岡昭雄

一般に動物の成長は個々の動物を連続的に観察した調査をもとに解析するのが最適であると言えます。しかし、寿命が長く室内飼育の例が少ないサル類では、このような事は極めて難しく、これまでにキイロヒヒやチンパンジーで、その体重成長を縦断的に調査した報告があるのみです。TPC のカニクイザルでも検討をおこなっているものの、ミドリザルでの調査の方が個成長の解析としては、先行して進められています。(1, 2)。一定の条件下で動物を長期間観察できるようになった時、生物学的特性を解析する目的の一環としてミドリザルの体重に着目して個成長の解析を試みました。

解析は、5 種類の成長モデル式(Brody, Logistic, Gompertz, Bertalanffy, および Richards)の適用によっておこない、実測値とモデル式との適合度は、決定係数(R^2)の値で検討しました。

雌ザルの体重成長を図 1 に示します。体重の平均値と標準偏差値は、出生時には $330 \pm 15\text{g}$ 、離乳時には $660 \pm 30\text{g}$ 、1 歳齢では、 $1.41 \pm 0.07\text{kg}$ でした。2 歳齢では、 $2.07 \pm 0.11\text{kg}$ であり、2 歳 6 ヶ月齢頃から体重増加率は、以前と比べて減少しました。3 歳齢では $2.46 \pm 0.18\text{kg}$ 、4 歳齢では、 $2.71 \pm 0.33\text{kg}$ であり以後は一定の値を保ちました。次に、この体重成長の実測値に成長モデル式を当てはめて、その適合性を検討しました。適用したモデル式は表 1 に示し、そして、それぞれの式のパラメーターすなわち、成熟値、成熟速度、変曲点の位置(y 座標)も示しています。その結果、

雌ザルについては、全測定期間を通して最も適合したのは、Gompertz 式でした。Gompertz 式によって表される、成長速度が大きいものほど初潮発現時期も早く、さらに、初潮発現時期が早いほど変曲点も早く出現する傾向がありました。

雄ザルについて検討した結果を示します。体重の平均値と標準偏差値を図 2 に示しています。出生時には $360 \pm 25\text{g}$ 、離乳時には $698 \pm 33\text{g}$ 、1 歳齢では $1.55 \pm 0.8\text{kg}$ でした。2 歳 3 ヶ月齢頃から体重増加率は、以前より減少しました。しかし、2 歳 10 ヶ月齢を超えるとことから再び急激な増加率を示し 4 歳齢では、 $4.40 \pm 0.23\text{kg}$ 、5 歳齢では、 $4.54 \pm 0.23\text{kg}$ であり 5 歳齢でほぼ一定の値を保ちました。この体重変化に成長のモデル式を当てはめて検討しました。雄の場合、全測定期間を通して適合したモデル式は Gompertz 式と Logistic 式でした。しかし、決定係数がいかにも大であった Gompertz 式から求めた体重の推定値と実測値は、対実測値の最大 40%でした。そこで、体重増加率が減少したり増加を示した 2 歳 10 ヶ月齢で測定値を 2 期に分けることを試みました。出生から 2 歳 10 ヶ月齢までの体重成長に最も適合したのは、Gompertz 式であり、Gompertz 式から算出される変曲点の位置は仔ザルの離乳時期でした。2 歳 10 ヶ月齢から 6 歳齢までの体重成長に最も適合したのは、Logistic 式であり、Logistic 式から算出される変曲点の位置は 4 歳齢頃でした。以上のように我々は、長期間にわたりミドリザルの体重測定を実施し、人工飼育環境下での体重成長特性を明かにすることができたと考えていま

す。

文献

- 〔1〕 冷岡昭雄・吉田高志・長 文昭・後藤信男(1989). メスミドリザルの個成長の解析—性成熟と体重との関係—, 実験動物, 38(3), 239-244.
- 〔2〕 冷岡昭雄・吉田高志・長 文昭・後藤信男(1990). オスミドリザルの体重成長の特性と性成熟, 実験動物, 39(3), 345-352.

眼底像

新生仔期および乳仔期における所見

Ophthalmoscopic observations in ocular fundi of laboratory-bred neonatal and infant African green monkeys

鈴木通弘

実験用ミドリザルの眼底像について, 特に変化の著しい成長期, つまり, 新生仔期および乳仔期における観察結果を紹介する。

動物は屋内の清浄環境下で娩出後母ザルにより哺育の0日齢から90日齢のミドリザルで, 視診, 触診により健康と判断された53頭(雄30頭, 雌23頭)を用いた。眼底の観察と撮影は, 動物にまず, トロピカミド・塩酸フェニレフリンを滴下し散瞳後, 塩酸ケタミンによる全身麻酔下で, 携帯用眼底カメラ(興和RC-II)により行った。フィルムは, 国産カラーフィルム(フジクローム, ASA100)を用いた。

0日齢から90日齢にいたる各齢での眼底像の特徴は Table - 1 のようにカニクイザルにお

けるものとほぼ同様であった。これらの個体のうち, 自然分娩による出生個体30頭中6頭(20%)において, 0日齢の観察で1個体から10数個の点状, 線状もしくはしみ状の眼底出血像が観察された(図1)。この発現率はカニクイザルのそれ(66頭/96頭, 69%)よりも低率である。なお, これらの出血像は約1週間後には自然に消失した。また, 硝子体動脈遺残はカニクイザルと同様に0日齢の観察ミドリザル31頭の全例に認められた。このうち, 10頭の新生仔を0日齢より週2回宛, 追跡観察した結果, 21~31日において全例消失が観察された(図2)。これもカニクイザルにおける観察結果とほぼ同様であった。

前号ではカニクイザルの0日齢から20歳齢までの眼底像の変化を紹介したが, 今回のミドリザルでは新生仔期から乳仔期における所見の提示にとどまった。この期間のミドリザルは, 新生仔期眼底出血の発現率ではカニクイザルに比べ低率を示したが, その他の点ではほぼ同様であった。ミドリザルの乳仔期以降の所見がカニクイザルと異なるか否かについての今後の観察に待ちたい。

免疫機能

Immunological study of African green monkeys

藤本浩二

アフリカ産のミドリザルはSTLV-I, SIVといった免疫担当細胞を標的とするレトロウイルスの自然宿主であることが明らかとなり,

その免疫学的特性の解析が待たれている。センターではこれまでに、ミドリザルでの免疫学的研究・検査に必須となるミドリザル免疫グロブリン(Ig)に対する抗血清を作製をし、さらに、これらの抗血清を利用した Ig の定量系あるいはウイルスその他いくつかの抗原に対する抗体測定系を確立した。

ミドリザル IgG, IgA, IgM の精製と特異抗血清の作製

ミドリザルの IgG, IgA, IgM は血清から分離した。方法としては従来からの塩析, イオン交換クロマト, ゲル濾過法に加え, ミドリザル Ig と交差反応性を持つ抗ヒト IgG, IgA, IgM 抗体を利用したアフィニティークロマトグラフィーも有効であった。抗血清はウサギで作製したが, 特異抗血清を得るにはさらに, 抗 IgA 血清では臍帯血清蛋白による吸収, また抗 IgM 血清ではゲル濾過での IgM 分画以外の血清蛋白での吸収操作が必要であった。作製した抗血清の Ig クラス特異性は免疫電気泳動で確認した。(図 1) また, 抗血清の種特異性をヒト, カニクイザル, リスザル血清を用いたオクタロニーテストと定量沈降反応試験で調べた。図 2 に示すように, 各抗血清とミドリザル血清と沈降線はヒト, カニクイザルおよびリスザル血清との沈降線に対し一方向のスパークを形成する。また IgG について, ミドリザルとカニクイザル, ヒト, リスザルの間でその抗原類似度を比較すると, それぞれ 82%, 47%, 14% となり, 系統学的にミドリザルとの距離が大きくなるに従い, ミドリザル IgG との抗原類似度も低くなることが判る。以上の結果は, ミドリザルを用いた免疫研究におい

て, 種特異抗血清の使用が重要であることを示した。

Ig レベルの測定

ミドリザルの血清中の IgG, IgA, IgM レベルは特異抗血清を用いた SRID 法, ELISA 法で測定できる。表 1 にいくつかの年齢群における血中の Ig レベルを示す。0 日齢新生仔の IgG レベルは平均で 14mg/ml であった。IgG レベルは 1 ヶ月齢で 5.2mg/ml に低下し, その後は加齢と共に上昇して 2 歳齢で 16.2mg/ml に達した。IgA は出生時には検出されないが, そのレベルは加齢に伴いゆるやかに上昇し 2 歳齢で 2.5mg/ml のピーク値に達した。IgM は全ての 0 日齢新生仔血中に検出され, そのレベルは 6 ヶ月齢以後はほぼ一定値を示した。以上の結果から, 新生仔血中の IgG は母ザル由来の移行抗体であること, また加齢に伴う血中 IgG, IgA, IgM レベルの上昇は 2 歳齢までに完了することが判る。

IgG の経胎盤移行

真猿類の胎盤は形態学的にはヒトと同じ血絨毛胎盤であり, これらのサル種ではヒトと同様に経胎盤性に母ザルの IgG 抗体が胎仔に移行すると考えられている。ミドリザルにおいても, IgG の経胎盤移行は, 出生後, 仔ザル血清中の IgG レベルが一過性に低下することから推察された。さらに, ヒトにおいては, 0 日齢新生児の IgG レベルは母親の約 150% に達し, 胎盤による IgG の能動輸送が考えられる。この点をミドリザルさらにカニクイザル, リスザルについて調べてみると, 0 日齢仔と母ザルの IgG レベルの百分比の平均はそれぞれ, 70%, 85%, 50% となった。(図 3)。この

結果は、IgG の能動輸送という点では、ミドリザルを含めサル類ではヒトに比べいく分劣っていること、また系統学的にヒトからの距離が大きくなるに従いその移行の度合いが低くなる傾向にあることも示している。

以上、センターでのミドリザルを用いた免疫研究の一部を紹介した。先にも述べたように、ミドリザルは免疫系に関するレトロウイルスの自然宿主であることが調べられており、今後、これらのウイルスに対する感染免疫も含め、免疫学的特性の解析が期待される。

《特集 ミドリザル・話題》

ミドリザルはエイズの夢を見るか

Do African green monkeys dream of AIDS-1992?

村山裕一

はじめに

おそらく霊長類学で最も魅力的でかつ最もいがかわしい研究テーマは進化に関するものである。そこでは完全な正当性をさしおいて、必然性と独創性が求められる。今回ミドリザルが霊長類進化の過程でたどったかも知れない一つの可能性を紹介したいと思う。それはエイズ克服の道筋である。

CD4 が先かウイルスが先か

ヒト免疫不全ウイルスはヘルパーT 細胞上の CD4 と呼ばれる分子を介して感染する。このウイルスは免疫系の根幹を破壊し、宿主 DNA に自らのコピーを埋めこむという強力無比な自己防衛力と自己存続性を持つ。あまりに過激な手段を用いるがゆえにウイルスは最終的に宿主と共に死滅する。野生ミドリザ

ルが HIV 類似ウイルス、SIV に高率に感染していることがわかっている。しかしながら、発症の兆候を示すサルは今までに知られていない。これらの事実と、ミドリザルリンパ球や胸腺細胞の解析を通して得られた断片的実験結果をもとにして話を進めたい。

ミドリザルに学べるか

はるか昔、オナガザルはアフリカ大陸で大規模な適応放散を行ない、さまざまな環境に適応していった。現存する *Cercopithecus* 属は 20 種におよび、その多様性は、体色や染色体数の変異などからうかがい知ることができる。その進化過程で当然生存の危機に直面したサルもいたはずである。その要因の候補のひとつが SIV である。SIV もかつては病原性をもっており、感染したら最後、宿主を滅ぼしてしまったと考えよう。多くの種や亜種を生み出す一方で、あるサル種は SIV によって死滅したかも知れない。

しかしながら、SIV の蔓延によって全てのサルが亡びたわけではなかった。絶滅の危機にひんしてウイルスに対抗しえる機構を確立したサルが現われたのだ。そのサルは細胞表面上から CD4 分子、すなわちウイルスレセプターを隠蔽するという現代免疫学が予想し得なかった方法を用いたのである。ミドリザル末梢リンパ球の解析の結果、ヘルパーT 細胞は CD4 陽性であるが抗原刺激後、CD4 陰性となることが明らかになった。すなわちメモリーヘルパーT 細胞は CD4 陰性となり末梢を循環すると考えられる。

HIV は感染時にはごく少数のヘルパーT 細

胞(ヒトヘルパーT 細胞では CD4 分子は刺激後も発現したままである)にとりつくだけであるが、長期にわたってウイルス増殖と細胞感染を繰り返しているうちに、徐々にではあるが確実にヘルパーT 細胞が死滅していく。これがエイズの種々の免疫不全疾患を引き起こす原因である。

ところがミドリザルでは事情が違う。なぜならウイルスが感染する前に、あるいは感染してからヘルパーT 細胞にとりつく前に、当然ヘルパーT 細胞は外来抗原に接しているはずであり、そのような刺激を受けたヘルパーT 細胞は表面からすでに CD4 分子を失っていると考えられるからである。メモリーヘルパーT 細胞は SIV 感染を免れる。このためにミドリザルは免疫不全状態には陥らない。抗ウイルス剤やワクチンなどがエイズ治療に試みられているが、ウイルスの変わり身の早さに対抗できないでいる。ミドリザルは感染ターゲットであるリンパ球自体を変化させるという方法で SIV 感染を克服したのではないだろうか。

もちろん、CD4 分子は HIV や SIV のレセプターとして機能するために生みだされたものではない。CD4 分子は MHC(主要組織適合性複合体)クラス 分子と結合することによって末梢 T 細胞の抗原認識機構に深くかかわるものであり、また胸腺では T 細胞の産生過程にも関係していると考えられている。ここでは免疫学に深入りすることはやめておくが、とにかく胸腺は、種々の抗原を認識する T 細胞群(T 細胞レパトリー)を分化・増殖させ、かつ自己細胞とは反応しない T 細胞を選択す

る場である。

ミドリザル胸腺細胞を調べたところ、成熟しつつある細胞中に CD4 細胞になるべき細胞がほとんど存在しないということが分かった。これは CD4 分子、MHC クラス 分子、T 細胞レセプター間の相互作用の結果がヒトとは全く異なっていることを示唆している。ミドリザルの T 細胞レパトリーの解明が胸腺でみられた現象を説明すると共に、おそらくミドリザルの進化を解く鍵になると考えている。すなわちミドリザルの T 細胞レセプター遺伝子の多様性は限られたものであり、あるいは非常に片寄ったものであり、CD4 分子に依存する T 細胞を生みだせない可能性がある。もしそうならば、CD4 消失は免疫反応にとって不利にはならないだろう。この特定の T 細胞レセプターのレパトリーを持った繁殖集団からミドリザルは由来しているのではないだろうか。その集団は単なるボトルネック効果に起因するものなのか、あるいは何らかの選択圧による結果なのか?いまのところ SIV による選択がはたらいたと考えている。SIV 感染と CD4 消失が無関係であるとはとても考えられない。

競争か共存か

アフリカミドリザルは SIV によって亡びなかった。しかしウイルスを駆逐することもできなかった。そうではなくミドリザルはウイルスと共存する道を選んだのだ。ウイルスは宿主を死滅させることなく世代を経て受け継がれ、選択圧から自由になることによって急速に変異を蓄積していくだろう。ミドリザル

が SIV を内包することによって自らを変遷させたのと同様に、SIV もかつての SIV ではないのだ。ミドリザルは遙か天空を仰ぎ、SIV で仲間達が亡び去った遠い過去を思い出しているのかも知れない。しかし彼等にとって SIV はもはや脅威ではないのだ。

《特集ミドリザル》

TPC での問題点

Problems in TPC's African green monkey colony.

血液・血清生化学検査から見た「TPC」のミドリザル

Vitamin D₃ deficiency in African green monkeys at TPC?

吉田高志

TPC で飼育されているサル種のなかで、ミドリザル以外のものの血液・血清性状値(参考値)は、すべて論文として公表されている。しかし、ミドリザルでのそれはほとんど無い。ここではその訳を述べながら、「TPC」のミドリザルについて考えてみたい。

TPC には、1979 年から 3 年にわたって野生由来雌雄 52 頭が導入された。入荷時および 9 週間目の検疫終了時での血液・血清生化学検査では、特別な異常は見られなかった。また年一回の定期検査でも確たる異常は見られなかった。しかし、測定していて気付いたことは、例えば血清総蛋白量などで、極端に低値を呈する個体が散見されることである(図 1, 上・中段)。しかし、ミドリザルはこんなもの

だろうと、見逃されたままであった。図上段でも中段でもそうだが、このような(負の)非対称分布をしている場合、平均値と標準偏差(S.D.)を求めても意味が無い。「ミドリザルの参考値は、どうやって作ろうかな」という状態で日々が過ぎていった。この間、ミドリザルの繁殖は順調にすすみ毎年 20 頭前後の仔ザルが生まれていた。しかし、ミドリザルの飼育・管理を担当している冷岡さんが、このころ「ヘンナ動物がいるんだけど」と相談にきた。ヘンナ動物の呈しているヘンナ所見とは、1)尾部関節の運動不全、2)妊娠母体での歯齦粘膜・眼瞼の腫脹、3)育成仔ザルでの骨の形成異常・歪曲、4)低体重仔の出生、などである。彼の熱意に負けて、いままでの測定値の再整理を始めた。驚いたことに、時を同じくして現われた血清低蛋白個体の頻出である(図 1, 下段)。比較の対象が無いために動物種は異なるけれども、無理矢理にカニクイザルと較べたところ、低カルシウム血症を始めとする血清無機イオン濃度の異常が軒並みに疑われた(図 2-4)。そして、妊娠・分娩を繰り返している個体で調べてみると、血清 Ca 濃度と総蛋白濃度とは、明らかに連動している(図 5)。また、カニクイザルに較べて、血液凝固時間(APTT)も延長していた。TPC のミドリザルに何らかの栄養学的欠乏を疑った。まず手始めに、歯齦粘膜の腫脹からビタミン C の欠乏を考えて投与をおこなったが、無効。それでは、と Ca 投与をしてみたが経験の無い我々の試みは、Ca ショックによる数頭の死亡をもたらしたただけであった。そこで改めて、長期戦を覚悟してのビタミン D₃ の投与を開始し

た。数年間にわたる投与を継続している。ビタミン D₃ の投与は、血液・血清性状値の改善にまでは到っていない。相変らず、いくつかの測定項目で、本来ならば正規分布をするはずのところを、負の非対称分布を呈している。しかし、投与されている母ザルから生まれた仔ザルの体重成長は、明らかに改善されている。現段階では、「TPC」のミドリザルがビタミン D₃ 欠乏症であるとは断言できないが、今後さらに詳細な検討を加え、改善を計ったうえで、血液・血清性状値をマトメて行きたい。

ところで、ケニア国立霊長類センターで、現地で捕獲されて飼育されている成熟ミドリザルの血清を入手し調べたことがある。この場合も、ケニアでの人工飼育環境下に導入されてからの経過年数に従って、血清 Ca 濃度および総蛋白量は、有意に減少していることが明らかになった。ミドリザルの人工飼育条件の確立ならびに実験動物化は、今なを、その途上にあると言えよう。

ミドリザルの育成中に最も障害となる疾病

—急性胃拡張症候群，いわゆるガスザル—

Acute gastric dilatation syndrome

榊原一兵

私達のミドリザルの繁殖コロニーで発生する致死的な疾病の中で最も重要な疾病は急性胃拡張症候群，俗にガスザルと呼ばれる病気です。ちなみに当センターでは 151 頭のミドリザルを繁殖させその間に 18 頭が死亡しましたが、その死因の 61%(11/18)がこの病気で死亡しています。

コロニーのミドリザル達は飼料はもちろんのことその飼育管理も同じようにされていますがその中で散発的にしかも臨床的に何んの前ぶれもなく夜間突然発症し、翌朝、無残な死体で発見されます。症例が少いのですが過去の例では発症したサルの年令は比較的若くすべて 5 才以下です。また 11 月から 2 月の間、発症例はありません。

解剖時に必ずみられる主要な共通的な所見は次のとおりです。胃内に多量のガスと食物が貯留し、体表から打診すると鼓音が聴取されます。また皮膚を圧するプツプツといった感じの捻発音を発します。皮膚にメスを入れますとプシューという音とともに発酵臭の少しあるガスがぬけあたかも風船がしばむような有様です。皮下の結合組織には粟の実大の気泡が無数に存在しています。皮膚や骨格筋には微細なものからピンポン球大の不整形、暗赤色の出血巣がびまん性に認められます。また腹腔内臓器の死後変化は他の病気で死亡し死後に後経過時間がほぼ同じサルに比べ著しく亢進しています。

その他たまたま観察される病変として眼球や肛門の突出、鼻腔、肛門、眼房水内、それに心筋に出血が認められます。そしてまれに胃破裂がみられます。組織学的に観察すると胃の死後変化は顕著で、肝臓、腎臓、そして肺臓にうっ血がみられます。また皮膚、骨格筋、および心筋に出血が観察されます。骨格筋や皮下の結合組織中にグラム染色で陽性に染る短桿菌が認められますがその近辺の組織に炎症像はほとんどありません。

さてこの病気はセンターのサルでは、カニ

クイザルとミドリザルにその発症例がみられるのですが、ミドリザルでの発生状況に興味ある特徴があります。それは付図に示しますように、ある家系に集中して発生していることです。当センターでは9頭の雄にそれぞれ2から5頭の雌ザルを配し9家系を構成しています。そして総数151頭の仔ザルを繁殖しましたが、そのうち11頭が本疾病で死亡しました。その11頭中9頭が家系A、2頭が家系Bで発生しています。カニクイザルでの本疾病の発生例をみますと全く偶発的な感じなのですが、当センター産のミドリザルでの発生状況をみると、なにか”ガスザル体質”とでもいうべき遺伝的な問題を含んでいるような気さえしてきます。

ヒトでは*Clostridium*属の菌が創傷より感染し、ガス発生を主徴とする疾病をひき起こすことは、すでによく知られています。ガスザルの場合も*Clostridium*が原因菌だとする報告もありますが、当センターではこの菌が症例から分離されたことは皆無です。病巣から好気性培養では*Staphylococcus*、*Micrococcus*、*Streptococcus*、*Enterococcus*属、嫌気性培養では*Lactobacillus*、*Veillonella*、*Propionibacterium*属の菌が分離されています。中でも消化管内の常在菌である*Lactobacillus* sp. が胃内はいうに及ばず、皮下組織をはじめとして消化管以外の臓器で高率に分離されています。この事実からこの菌がガス産生の主役を演じていると考察されます。そして胃内でガスを発生させた菌がなんらかのルートによって全身の皮下組織へ播種され、二次的にその場所でガスを産生するものと推察しています。そしてまた

普通に生活しているサルが突然発症するためにはなんらかの誘因があるものと思われます。

当センターの発症例11頭中4頭は、発症前日に麻酔下あるいは無麻酔下で採血や捕獲されており、別の3頭は発症前各々6、18、33日前に咬傷を受けていました。この病気の原因菌や発生機序について現在、明確ではありません。ただ私は、ふだん非病原性で消化管内に常在する細菌がなんらかの誘因、(たとえば麻酔もその一因かもしれません)によって異常に増菌するのではないかと考察しています。

《実習生メモ》

1. 実習生活をふりかっ

My days at TPC

茨城大学大学院農学研究科 天野江美

早いもので、私が初めてTPCに来た日から2年近くが過ぎました。実習生としては9ヶ月在籍しただけですが、その以前から実験をさせていただいておりましたので、実質的には大学院の期間のほとんどをこちらで過ごさせていただいたことになります。

そもそも私とTPCとの出会いは、私の指導教官であった中井先生と寺尾先生が大学の同窓生であったことがきっかけでした。私の修論のテーマであるリスザルIgGに対するモノクローナル抗体の作製も寺尾先生からのお話で、是非にと私の方からお願いしてTPCでお世話になることが決まったわけです。それ以降藤本先生、寺尾先生の御指導のもとに、TPCと大学の間を行ったり来たりして実験を

行い、実用性があるとは言い難いもののいくつかのクローンを取ることができました。また、様々な種類のサル血清との交差反応性の検討の結果も併せ、無事修論を書き終えることができました。

私達学生にとって国の研究機関というのはいささか敷居が高く感じられるものなのですが、TPC が外部の者に対し非常に協力的であり、霊長類に関し全くの素人である私のような学生でさえ快く迎え入れて下さったことには驚きました。と同時に大変嬉しく思いました。恵まれた環境の中で実験をさせていただいた上に、多くの方々から暖かい支援を受けたことは、私にとって大きな励みとなりました。大学の研究室に居ただけでは得られない貴重な時間を過ごさせていただいたと思っています。本当にありがとうございました。

本来ならば具体的な実験データを報告申し上げるべきなのですがあえてそれは省き、簡単に実習生活の感想を述べさせていただきました。最後になりますが、このような機会を与えて下さったTPCの皆様にお礼を申し上げますとともに、TPC のさらなる発展と皆様の益々のご活躍をお祈り申し上げます。

2. ふれあい

Friendship

韓伊ナリサ? チ 朴 商雨

韓国ソウル出身。獣医師。仕事は安全性研究所の動物実験。現在、信州の山奥で美しい(?)妻と2人の子供と仲良く一緒に暮らしています。

さて、3ヶ月も家族と離れてTPCで実習を行ったのは、実は(企業秘密?) 新年から当社でもおサル様の実験を取り入れることになったからです。実習の目的は、実験用サルの飼育管理全般および基本的な実験手技を習得するという目的でありましたが、実習の内容も幅広く、とても充実したものでした。

最初の1ヶ月間は、掃除と給餌、2ヶ月目から午前は飼育室内作業、午後は2階の検査室実習で、本当にあっという間に終わってしまいました。

たった3ヶ月の実習でおサル様の取り扱いができるとは思いませんが、今回の実習で非常に多くのことを得ることができました。

初めてのおサル様の感触はとても感動的なものでしたが、TPCの職員の方々とのふれあいは、いつまでも忘れられないもっと素晴らしいものでした。

実習は終わりましたが、お互いの友情は永遠に続くものと信じております。3ヶ月間大変お世話になりました。本当にありがとうございました。