

《就任の挨拶》

厚生省霊長類共同利用研究センターの実現
を目指して

Message from the director-general of NIH,
Japan

Towards the future together: Establishment of
a new primate center for medical research

国立予防衛生研究所所長 山崎修道

副所長を勤めた2年間、私は幾度か筑波医学実験用霊長類センター行きを計画しながら、ついに実現できませんでした。立場上、本来ならこれは許されぬ事であると自分を責めながらも、予研創立以来最大の組織再編成と多くの地域住民の強い反対を受けながらの新庁舎への移転という事業達成の最後の山を乗り越えるために、私は徳永前所長の補佐役として全力をあげて戦った二年間でした。職員一同の協力と努力、そして予研の立場を理解し支援して下さった多くの方々のお陰で、予研は計画以来10年の歳月をかけて遂にその目的を達成することができました。今や予研は心を新たに、感染症制圧を目的とする研究の Center of Excellence の確立を目指して再出発すべき時を迎えました。このような時期に第12代予研所長を拝命し、みなさんと共に21世紀に向けて大きな一歩を踏み出すことができることをたいへんうれしく思うと同時にその責任の重大さを痛感しています。

まずはじめに長年果たせなかった筑波霊長類センターの見学から始めよう—こう決心して、まだ移ったオフィスの整理も終わ

らないうちから、去る4月19日の朝森次副所長と一緒に東京八重洲口からバスに乗りました。その日の午前中は天気がよく、筑波の山々が近づくと久しぶりに眺める美しい田園風景に感激しながら、長い間味わえなかった晴々とした心で学園都市に着きました。吉川センター長を始めとする皆さんの暖かい歓迎を受け、11人の予研職員の一人一人から親しく話を聞くことができて大変幸せな有意義な一日でした。建設中のP3実験室を見学した後、9万㎡の広大な敷地をわが家の庭のごとく嬉しそうに案内しながら熱っぽく語る長室長の説明を聞きながら、私はさわやかな大気の中に将来の霊長類センターの夢を描いて楽しみました。

筑波医学実験用霊長類センターは1978年に開設されたので今年で満15年経ちました。15年前私は村山庁舎のウイルス中央検査部にいたのですが、霊長類センター設立当時の詳しい事情は余りよく知りません。しかし霊長類センターの設立に至る経緯と開所後10年間の歩については、TPC ニュース(創立10周年特別号、1989)に掲載された関係各位の寄稿文から多くを学びました。霊長類センター創立の本来の目的は、「良質な実験用サル類を繁殖・育成する事と、それに関わる基礎的・技術的研究を多面的に行うことである」と本庄重男初代センター長が明記しておられますが、歴代の予研所長・副所長も強くそれを支持してきました。そして予研支所職員及び予防衛生協会職員、協会理事等関係者一同の大変な努力によって、今日日本においてもっとも優れ

た医学・生物学実験用サル類の繁殖育成能力を備えた研究施設となり国の内外から高く評価されるに至ったことは素晴らしいことであり、私たちみんなの大きな誇りであります。

過去 15 年間、現場の人たちは多くの困難な問題に取り組んでこられたことと思いますが、とりわけ私達の記憶に新しい大きな事件は、1988 年の会計検査院による指摘、即ち実験用サル類の繁殖育成方式の見直しを含むサル需給調整に関する改善措置要求と、翌 1989 年 11 月に突然カニクイザル繁殖コロニーにおいて起こったサル水痘様ヘルペスウイルス感染症の集団発生のことです。この二つの事件はセンターの職員のみならず予研の多くの職員にとってまったく思いがけない出来事でした。

サルの専門家にとっては、医学実験用に供し得る良質な霊長類を繁殖・育成するためには、長期的展望にたって品質保証に関わるあらゆる基礎実験を計画実行してゆくことは当然の業務であると考えてでしょうし、一方会計検査院にしてみれば、予研における当面の国家検定業務に供するカニクイザルを効率よく生産・供給する事だけを第一と考えることもまた彼らの立場からはやむを得ない気もします。繁殖基礎集団の遺伝子保存と効率的繁殖育成、即ち基礎研究業務と生産業務、この二つの側面をうまく両立させてゆくことの必要性はひとり霊長類センターのみが抱える問題ではなく、多くの行政的業務を抱える予研研究部全体に共通した問題であることは皆さんよくご

存知の通りです。私の知らない色々付随した問題や別の解釈もあったかもしれませんが、私は霊長類センターがこのような現実と厳しく対決しなければならなかったことは、結果的にはセンターの将来に大きな発展を夢見る強い刺激になったのではないかと考えています。その時以来、筑波では霊長類センターの在り方について真剣に討議し合う集会在幾度も開かれたと聞いていますし、予研のためだけでなくもっと広く利用される医学実験用霊長類センター構築の必要性が以前にも増して強く認識されるようになり、そして現在吉川泰弘センター長をリーダーとするプランニング委員会において検討中の「厚生省霊長類共同利用研究センター構想」へと発展していったのではないのでしょうか。

この厳しい行政との対応の最中に、センターはさらに追い打ちをかけられたかのように、サル水痘様ヘルペスウイルスの集団発生という自然との対決を経験しなければなりません。このときは私が担当していたウイルス中央検査部も当時の本庄センター長からウイルス学的検査の協力を依頼されたので私もこの事件のことは忘れられません。潜伏感染の突然の活性化によるこの事件も、徹底的な飼育室間の隔離と抗ヘルペス剤(BV—araU)による治療とが効をそうして、発生以来約 8 ヶ月でほぼ完全に終息したと報告されました。

私達に大きな教訓を与えてくれた二つの事件を忍耐強く解決した筑波霊長類センターは、正に雨振って地固まり、今やわが国

唯一の本格的医学実験用霊長類共同利用研究センターへと発展してゆくポテンシャルティを備えた中核を形成しつつ、峻しい道を一步一步前進しているように見えます。本年7月から予研は厚生科学課が所轄することになりますが、これは筑波の医学実験用霊長類センターにとっても組織機構の抜本的改革に着手する絶好のチャンスであると考えます。私も厚生省並びに予防衛生協会の関係各位に協力して、皆さんとともにその実現のために最善を尽くしたいと思えます。

《退任の挨拶》

ふたたび霊長類センターに期待する

Message from the former director-general of
NIH, Japan

前国立予防衛生研究所所長

国立予防衛生研究所名誉所員 徳永 徹

このTPCニュースに「霊長類センターに期待する」という一文を寄稿し、予研所長就任の挨拶としたのは、いまから2年前のことである。早いものでその2年が過ぎ、この3月末で定年退官を迎えたが、退官に際してもう一度何か寄稿せよとのことであった。

正直に言って、副所長であった3年間を含め、この5年間はずい分と多忙な毎日だった。昨年の暑い夏、第2の成田闘争を呼号し、座り込みを宣言した一部の教授や住民と話し合いの努力を続けながら、2ヶ月もかかる大移動を無事に遂行するため奔走

した日々が、ついこの間の事の様に想い出される。しかし職員をはじめ沢山の人の努力と協力によって無事移転を完了し、昨年10月に村山の生物製剤試験研究センターのオープニングを、そして本年3月26日には戸山庁舎の開所式を、関係者多数の来席を得て挙行する事ができた。予研としては積年の一大懸案を一応終了し、新しい跳躍台にたったわけで、それを見届ける事ができた私としては、ただ感謝のほかはない。

しかしこの間、裁判を含め移転問題に多くの時間を費やし、いくつもの重要案件への対応が充分できなかった。日本の予研の所長として、国際的に大いに活躍する事はおろか、東京を離れて地方へ出張する事もほとんどできなかった。予研の生物製剤試験研究センターも、エイズ研究センターも、そして霊長類センターについても、問題の解決の多くを将来に残さざるを得なかったことを、申し訳なく思う。

霊長類センターについて言えば、国民を疾病から守り人類の健康に寄与するために、霊長類を用いる研究の重要性はいよいよ増大しており霊長類センターの使命も重いものがある。しかし現実には、解決が困難な種々の問題を抱えて、予防衛生協会を含め、センターの人々がいろいろと苦勞を強いられている事実を私は良く知っている。そして一方にそれにもかかわらず、それらを乗り越えて将来の展望を開くために、センターの人々が、知恵と力を併せて日夜努力している姿も、私は見てきた。

予研と霊長類センターの関係を考えると、予研は今後ともワクチンの安全性確保や感染症の研究などに霊長類センターを必要としており、今日まで築いてきたセンターとの密接な関係をぜひ確保したいと望んでいる。しかしさらにそれに加えて、霊長類センターが将来厚生科学の広い領域で活用され、保健医療の進歩に貢献する事ができるならば、それは大いに歓迎すべき事である。現在そのために大切なことは、その具体化に必要な道筋と段どりを早急に策定すべき事である。所長としての私は、センター側の努力にたいし、理解と方向を示すにとどまったが、現在厚生省も問題の重要性を認識し、本腰をいれて努力してくれている。多くの人々が新しい発展を目指し、いま産みの苦しみを味わっていると言っているように思う。

昨年夏の話に戻るが、予研の移転の直前に私は、目黒庁舎から発行される最後の学友会報に寄稿を求められ、走り書きで一文を草した。その中に私は「艱難は忍耐を生じ、忍耐は練達を生じ、練達は希望を生ず」というロマ書の一節を引いて、汗みどろになりながら黙々と引っ越しの荷造りをする人々を励まそうとした。事実、何事もなかった平常の時代に比べ、この時期の予研職員の多くが、これまで無かった苦難の中から新しい練達を生み出しているように見えた。そしてこのことこそが、明日の予研の希望であると私は思った。

いま、霊長類センターが試練の中にある。内外の困難の中で、産みの陣痛が激しい。

しかし私は何度かセンターを訪ね、多くの練達の人々に出会った。此処でも私は大きな希望を見た。「汝、為すべし。故に、為し能う」とは西洋の哲人の言葉である。センターの人々は、必ずやこの厳しい状況に耐え、問題を一つ一つ切り拓いてゆくに違いない。予研を去るに際し、この一文を「ふたたび霊長類センターに期待する」としたのはそれを信じるからである。

《随想》

ディベロッパー

Developer

吉川泰弘

昨年暮れから筑波霊長類センター(TPC)の将来展望に関するプランを作成する委員会を開催してきた。この委員会を開催した理由の1つは TPC は過去 14 年間、実験用霊長類の繁殖供給を行って来たが、このままでは財政的にも、研究の進歩の点からも将来展望が持てないこと、第2は超高齢化社会を迎え、疾病構造が大きく変化し、厚生科学行政がこの変化に対応するため国立研究機関の研究の効率化を計り、TPC は研究支援機関としての役割を果たす必要性が明確になったこと、第3は実験用霊長類に対するニーズが、従来の高品質サルだけでなく、痴呆症、成人病、エイズなどの疾患モデルサルのような、医学的付加価値をもったサル(かつて不用サルと呼ばれた事もあった)に拡がって来たためである。

この委員会の出したマスタープランは、

こうした種々の問題を答えるために TPC を全厚生省研究機関の共同利用センターとして、繁殖、供給と医学霊長類研究の活性化・効率化をはかり、我が国唯一の医学実験用霊長類センターとしての役割を果たそうという計画である。このマスタープランを作る過程で、TPC に何が欠けていたのかが少しづつ明らかになって来た。

従来実験動物の世界はブリーダー(生産者)とユーザー(使用者)の2つのカテゴリで説明されていた。筑波の例でいえば TPC がブリーダー、予研の検定等がユーザーである。この考えは13年間続いたが、昨年の省令改正時に TPC に疾患モデル開発研究、情報の収集提供、遺伝子保存等の業務が新たに加わることによって変わった。こうした業務は必ずしもブリーダーの業務ではなく、またユーザーの仕事でもない。強いて言えばブリーダーでもユーザーでもない、ディベロッパーの役割であろう。

話を判り易くするために、2つの例を挙げる。地中からダイヤモンドの原石を掘り出す仕事はブリーダーの役割りに相当する。原石からダイヤを切り出し、様々な加工を加えてダイヤの付加価値をあげるのがディベロッパーの役割りである。出来あがったダイヤのリングやブローチをつけるのがユーザー(コンシューマー)である。もう1つ、コンピューターのチップやオペレーションシステムのための基本プログラムを作るのがブリーダーに相当する役割であり、ユーザーのニーズに答えるためにディベロッピングプラットフォーム上で様々なアプリケー

ションソフトやインターフェイスボードなどを作って、システムの付加価値を開発するのがディベロッパーである。出来上ったシステムをワープロや通信端末あるいはパソコンとして使用するのがユーザーである。実験動物の世界も、ブリーダーとユーザーという二元論的世界から、ブリーダー(ファウンダー)、ディベロッパー、ユーザー(コンシューマー)という三元論のカテゴリを用いる方が、理解しやすいのではないかと思う。いままで三元論を明確にしなかったために、ディベロッパーの役割りが曖昧なまま時に全てブリーダーの側に組み込まれたり、あるいはユーザーがディベロッパーの役割りを全面的に負っているかのように言われて来た。ディベロッパーの存在と機能を明確に位置づけ、これを積極的に育てないとシステムの発展は望めない。

さて、ディベロッパーグループの資質として必要なものは、第1にファウンダーとコンシューマーの両者からの情報の収集と提供(情報センター)、第2はコンシューマーの多様なニーズに答えるための学際性(共同利用センター)、そして第3にはリサーチとオリジナリティである(開発センター)。

今まで出された霊長類センター構想には、明確なディベロッパーの位置付けが欠けており、時にファウンダーの側から、あるいはコンシューマーの側からの要求のみが出されていた。医学霊長類の研究を推進し、サルを持っている特性を最大限生かし、動物個体からどれだけ多くの情報を得てこれ

を有効利用するかは、ディベロッパーの働きにかかっている。ここ 2, 3 年 TPC が求めて行った省令改正や、大型研究費の導入、さらに共同利用研究センター構想は、TPC がブリーダーとディベロッパーの両者の役割を果たそうという基本路線を模索し始めたことの反映である。

《繁殖育成情報》

サル の 骨 を 測 る

ーミドリザルの骨量を測るー

Measurement of bone mineral density (BMD)
in primate species employing a dual energy
X-ray absorptiometry

吉田高志

高齢化社会の到来と共に、老人性疾患に対する関心が大きくなってきた。骨粗鬆症もそのような疾患の一つである。五十歳の頃に発症した(気付かれた?)として、それ以降、10 年以上にもわたって治療・投薬される事になる。実験動物を用いての治療薬の効果・安全性についての検討も、同一個体を用いてせめて 10 年くらいは継続してやってみたい。しかし、この検討はラットではできない。寿命の面から考えると、どうしても大きな動物種に対象は限られてくる。ビーグル犬ではどうであろうか。イヌの寿命は 15 年とされている。ところで、ヒトの場合、30-40 歳代で骨量は最大値(PBM: Peak Bone Mass)となる。そしてそれ以降、骨量は減少に転じる。男女とも、0.5

-1.0%の骨量が 1 年間に減少するという。そして、女性では、閉経とともに減少速度は大きくなる。一年間に 2-3%の骨量が減少し、その状態は約 10 年間も継続するという。実験動物でも PBM の時期からあとの寿命がある程度長いほうが都合がよい。ビーグル犬ではその後の寿命が少し短すぎるのではないかな。

という訳で、サルの骨量を測ってみる気になった。TPC の繁殖群から引退し、一時はムダザルとも酷評された老齢個体に、このような有用性を見いだす事ができれば、TPC にとっても、サルにとっても、またその恩恵をこうむることのできる患者の方々にとっても、万々歳である。動物を生かしたまま骨量を測定するのは X 線骨密度測定装置 DPX- α 特型(米国。ルナー社製)である。TPC への装置の導入にあたっては、輸入元の日本電子株式会社の方々にひとかたならぬご苦勞をかけてしまった。しかし、装置を搬入したからといって、人間用の装置で、サルを測れるという保証は無い。この装置は、二波長の X 線、すなわちエネルギーが異なるために質量の差によって透過性が異なる X 線で、身体の一部を走査して画像を作る。そして、それらの X 線の透過度の差から骨量(g)を測定するとともに、対象とする骨を平面に投影して骨面積(cm^2)を求める。その結果、骨密度(g/cm^2)が求められる。これらの解析は、すべてコンピューターでおこなう。すなわちソフトウェアが重要である。人間を対象として、いくつかの仮定(経験式)を前提としてプログラムが書か

れている。体重がヒトの1割でしか無いサルに適用できないかもしれない。

まずは、ヒトでも標準的な方法とされている腰椎骨を、正面から測定することにした。雌の成熟したミドリザルを麻酔して装置に寝かせる。X線による走査が始まって、画面には何やら薄ボンヤリしたものしか現れてこない。サルでは体厚(身体の厚み)が不足しているのである。わずかに10cm程度しか無い。そこで、水を15cm程度張った水槽を腹部に重ねることにした。体厚の不足を水の厚みでおぎなおうとした訳である。こんどはうまくいった。画面に腰椎がきれいに現れてきた。だけど、どこか変だ。装置のパフレットにあった腰椎正面像とはどこか違う。そうだ、数が多い。ヒトの腰椎の数は5個である。そして肋骨と腸骨との影響を受けるおそれのある第1と第5腰椎をのぞいて、第2から第4腰椎で骨密度を測っている。ところが、ミドリザルでは、肋骨を持った骨(胸椎)が写っていない。測定部位を胸の方に移動させ、画面を明るくしたり暗くしたりして肋骨(胸椎)を捜す。そして最後に胸椎から下方に向かって腰椎を数える。7個である。ニホンザルやアカゲザルの解剖図を見ると腰椎は7個であった。迂闊にも、これまで知らなかった。ミドリザルでの骨の測定は、第3から第5腰椎で行うことに決めた。この長い腰椎の列は少し曲がっている。サルの脊椎は腹側に向って少し湾曲している。また後頭部が少し張り出している。仰向きに寝かせると自然に顔が横を向く。その結

果、腹側から見ると脊椎は顔の向いた側に曲がってしまう。そこで保定具を作った。

といっても、少し厚めの発泡スチロールの板にV字型の溝を彫ったものである。谷の角度と深さがミソである。脊椎を真っ直ぐ抱え込み、後頭部がうまく挟み込まれることが重要だ。ところで、腸骨の骨端部から始まって第2腰椎までX線が走査する時間は、7分から10分ぐらいである。この間、動物は麻酔下とはいえ、多少は動く。これではこまる。そこで、発泡スチロールの保定具にマジックテープを取り付けた。

成熟した5頭のミドリザルを用いて、それぞれ5回の測定を行った。1回の測定が終わると、マジックテープをはずし、動物を持ち上げて、再保定してから次の測定を行う。1頭毎に測定値の個体内再現性(変動係数)を調べたわけである。変動係数は、骨面積で2.6%、平均骨幅で0.9%、そして骨密度で1.9%であった。ヒトの場合には、個体内再現性は骨密度で1%以下にしようとしているようである。しかし、ヒトにくらべて骨面積も狭く、骨密度も低いミドリザルの測定では、2%程度の変動係数で、当面は満足することにした、まずは、測って見なければ。

という訳で、雄ミドリザルの骨密度を測定した。半歳齢では $0.3\text{g}/\text{cm}^2$ 程度でしかなかった骨密度は、性成熟の完了する5歳齢ごろには約 $0.7\text{g}/\text{cm}^2$ になりほぼプラトーに達する。しかし、育成ザルの10歳齢以上の群を見ていただきたい。目見当で引いた線上に集まった9個体と、その線からはず

れた骨密度の低い8個体とに区分できそうである。そして推定年齢5歳以上でTPCに入荷しておよそ13年を経過した野生由来の老齢個体も骨密度の低下傾向が認められた。現在、ミドリザルのみならずカニクイザルにおいても検討を開始した。

さらに、現在、腰椎を側面から測定する方法について開発に着手した。この方法が確立したならば、妊娠中の母体の骨密度を、胎仔の骨の影響を受けることなく、継続的に測定することが可能となる。ヒトの場合でも妊娠・哺乳中の母体の骨密度の減少速度は、閉経後のそれよりもっと大きい可能性が示唆されている。しかし、ヒトの妊娠中の母体のX線撮影は許されない。老齢個体や妊娠個体、はたまた成長過程の個体等々、サル類がヒトの実験モデルとして、ヒトでは実施できない分野で、有用性が発揮できるように、今後も、総合的に検討を加えてゆきたい。なお、以上の検討は、(社)予防衛生協会の冷岡昭雄氏との共同によっておこなったものであることを付記する。

《検査情報》

ニューモシスチス・カリニ感染調査

A survey on *Pneumocystis carinii* infection in cynomolgus monkeys and red-bellied tamarins
小林理恵子

Pneumocystis carinii (Pc) は、感染があっても通常は無害であるが、宿主が免疫不全に陥ると増殖を始め病原性を示すといわれている。最近になって、抗癌剤や免疫抑制

剤の投与、エイズウイルス感染症などでPc肺炎を発症し、重篤な結果を招くことが報告されるようになった。Pcはヒトをはじめ多くの動物に自然感染していることもすでに知られている。良質な実験動物を供給するにはこのような自然感染の状況を把握するとともに、飼育方法の改良を通じて、非感染動物の繁殖をすることが必要である。我々は現在Pc感染について東京大学医科学研究所寄生虫研究部の古田隆久博士との共同研究をすすめている。そこで今回は、TPCコロニー内の感染状況について、調査結果を紹介する。現在生存しているサルは、血清によってPc抗体保有状況を調査し、自然斃死したサルについては、肺をPc嚢子検索に供した。調査対象はカニクイザル (*Macaca fascicularis*) とアカハラタマリン (*Saguinus labiatus*) の2種類である。Pc抗体価測定は、ラットPcを抗原とし間接蛍光抗体法で実施した。Pc嚢子検索は凍結肺を10%肺乳剤としその25μlをトルイジンブルーO染色にて嚢子の検出をした。また肺組織切片は、グロコット法で染色し嚢子のスクリーニングをおこなった。結果は表に示したとおりである。

輸入直後の野生由来カニクイザルの88%がPc抗体を保有しており、育成サルも年齢に関係なくほぼ同様であることがわかった。抗体保有の点だけで考えると野生由来サルから育成サルへの感染は容易であり、TPCの飼育方式では感染率を軽減させることはできない。最初にPcに感染して獲得した抗体が長く維持されているのか、あるいは産

生した抗体は短期間に消失してしまい、その後新たに感染して産生された抗体のなかについては不明である。一方、自然斃死サル肺での Pc 嚢子検出は抗体保有率に比べかなり低率であった。10%肺乳剤および肺組織切片による Pc 嚢子検出の方法は、潜伏感染の場合存在する嚢子はごく少数であるので、一部の肺しか検査しないために見落としがちであるという問題が存在する。今後嚢子検出のための方法や採材についての検討が必要である。

アカハラタマリンでの Pc 嚢子陽性率は、際だって高いことが判明した。このことはアカハラタマリンの種特異的原因もしくは TPC コロニーの飼育方式の特殊性という二つの可能性が考えられる。そこで今後も検討を加えてゆくことが必要であると考え。最後に、アカハラタマリン (*Saguinus labiatur*)での自然感染例の報告は、これまでの文献検索では見あたらず、我々の報告が最初と思われる。

《研究手帳》

エイズの動物モデル

Animal model for AIDS research

向井鏖三郎

最近、国立予防衛生研究所・筑波医学実験用霊長類センターでサル類を用いたエイズの動物モデルの作成に成功した。今回の研究手帳では、我々が本研究に取り組むことになった経緯と現在の到達点および、今後の展望に関して述べる。

〔はじめに〕

1983 年にエイズの原因ウイルス (HIV: Human Immunodeficiency Virus)が発見されてから 10 年を経た現在、その流行は止まることを知らず、最近ではアジア・アフリカ大陸にもその流行がみられ、今や世界の脅威的感染症となってきた。現在のところ、感染者の増加を確実に抑制するような予防・治療法はなく、その制圧は非常に困難である。それは、エイズウイルスが感染すると免疫系の中樞を担う CD4 陽性リンパ球が攻撃され、リンパ球染色体に組み込まれ、持続感染細胞となり体内に残ること、ウイルス遺伝子が容易に変異し宿主の免疫防御機構から逃れることに起因する。しかしながら、エイズウイルスは本来感染力の強いウイルスではなく、血液・体液を介して感染するため、その感染経路は限られている。そのため、現時点では、感染症予防の 3 原則のなかで、基本的にその感染経路を絶つことをもってエイズ対策がおこなわれている。

このような状況の中で、エイズの病態を解明することは、その発症機構が明らかになるだけではなく、有効な予防・治療法の開発及び治療指針の開発のために重要な意味を持つ。病態に関しては、エイズに関する最も正確で詳しい情報は、患者から得られるものである。しかし、エイズ患者から入手できる情報には、自ずから限界があり、基礎研究や予防治療法の開発研究のためには、ヒトエイズに酷似する病態動物モデル

が必要である。

〔実験動物としてのサル類〕

現在までに報告されている動物モデルの中で、レンチウイルス感染により、中枢神経系機能障害をしばしば伴い、リンパ節症や免疫不全を引き起こす、いわゆるエイズの発病を確実に惹起するモデルとしては、サル類と SIV(Simian Immunodeficiency Virus)の実験感染系しか存在しない¹⁾²⁾。

エイズの動物モデルをサル類を用いて作製することには、さらに、次のような利点がある。サル類がヒトと同じ霊長類に属するため、ヒトで開発された臨床検査試薬等がそのまま使用出来る場合が多く、また、動物モデルでの臨床症状や病理像がヒトのそれと酷似しているという点である。実際、アジア産マカク属サル類からは HTLV-I と同亜科に属するサル固有の STLV-I³⁾や、HIV とペプチドレベルでも 75%以上の相同性を持つ SIV³⁾⁵⁾が分離されている。

また、サル類においては、ヒトのエイズが問題になり始めた 1982 年頃からオンコウイルス亜科の Type-D レトロウイルス(現在では SRV: Simian Retro Virus と呼ばれる)によるコロニーの汚染が問題となり、かなりの被害を受けた米国霊長類研究センターもあった。そこで、しばらくの間は、この SRV のサル類への実験感染による免疫不全動物モデルが SAIDS (Simian AIDS)と呼ばれエイズの動物モデルとして用いられていたが、1985 年の Harvard Medical school のグループによる SIV_{mac} (Simian

Immunodeficiency Virus_{mac} 株)の発見以降⁴⁾は、SAIDS はレンチウイルス亜科に属する SIV によるサル類の免疫不全症候群のことを示すようになった。

それ以降サル類で発見されたレンチウイルスとしては、前述のスーティマンガベイ由来の SIV_{smm}⁵⁾、SIV_{mne}⁶⁾(ブタオザル由来)、SIV_{agm}^{7) 8)}、SIV_{mnd}⁹⁾、があるが、SIV_{mac}/SIV_{smm}/SIV_{mne} はマカク属のアカゲザル等にエイズを引き起こすが、これら SIV の自然宿主と考えられているスーティマンガベイへの感染では非病原性であると考えられているし、SIV_{agm} と SIV_{mnd} はウイルス自体が非病原性であると考えられている。

他の動物種では、ネコでもレンチウイルス亜科に属する FIV(Feline Immunodeficiency Virus)が分離されており、この株はネコエイズの研究に用いられている。但し、HIV 感染に比して、ネコの場合には標的細胞として T、B リンパ球、マクロファージ、および他の細胞群までも含まれている傾向がみられる。同様のレンチウイルスがウシにも見つかっており、BIV(Bovine Immunodeficiency Virus)による免疫能の低下機構が同様に研究されている。

〔筑波霊長類センターにおけるレトロウイルスの研究〕

さて、我々の筑波医学実験用霊長類センターにおいても、1984 年頃から当センターで繁殖・飼育されているサル類でのレトロウイルスに対する血清疫学調査が開始された。篠川、速水、本庄らはオンコウイルス

亜科に属する HTLV-1(ヒト T 細胞性白血病ウイルス)抗原を用いて当センターのサル類血中抗体を調査したところ、カニクイザルでは約 12%の野生由来個体が、またアフリカミドリザルでは約 65%の野生由来個体が陽性であり、その抗体陽性サルのうちかなりの個体(ミドリザル: 83%, カニクイザル: 4%)の末梢リンパ球から STLV-I(Simian T Cell Lymphotropic Virus)が分離されたことから、当センターのサル類はかなり高率に本ウイルスにより汚染されていることが判明した。さらに、アフリカミドリザルでは SIV 抗体陽性のものが 87%もあり、SIV と STLV-I の両ウイルスに感染している個体は 57%にも及んでいた。STLV-I 感染個体のうち一頭が ATL(成人 T 細胞白血病)様白血病を発症するに及んで当センターでは次第にレトロウイルス感染症の研究の気運が高まっていた(本誌, 榊原, 1985, Vol.4, No1, Case Report)。さらに、速水らがアフリカミドリザルより分離された SIV_{agm} TYO1 株の全遺伝子塩基配列を決定⁸⁾したのを契機に、当センターでもサルへの感染実験によるこのウイルスの病原性の有無の検討が始まった。このウイルスの接種個体の各種検査値の変動や細胞性免疫能の変化もさほど認められず、本ウイルスは非病原性であるものと結論した¹⁰⁾。

この後の、SIV 感染実験検討会で、我々がサル類のエイズを知らないことが問題として取り上げられ、次回の SIV 感染実験からはエイズ発症系を目指そうとの合意が得られた。ちょうど、我々がサル類を用いた

エイズ発症系動物モデルを目指して実験を開始してしばらく経た 1988 年 4 月には目黒にあった国立予防衛生研究所本所でもエイズ研究センターが設置され、本格的に当センターでのエイズ動物モデル開発研究が始まった。本研究の当初の主目的は、私どものコロニーから SIV を除去するため、まず本ウイルスの病原性を把握することであった。宿主サル種の選別や、用いるサルの年齢、動物に接種するウイルス株の選択とその培養法等、試行錯誤の後、当センターに於いてもエイズの動物モデル作製に成功した。

[サルのエイズ]

I SIV_{agm} のカニクイザルとアフリカミドリザルへの感染実験

速水らにより、健康なアフリカミドリザル(抗 HTLVIII B 抗体陽性, 抗 SIV 抗体陽性)より分離され、Molt4c18 細胞で増殖させた SIV_{agm} TYO1 株⁷⁾⁸⁾を 1 頭あたり約 1×10^6 TCID₅₀ をカニクイザルとアフリカミドリザル各 3 頭へ静脈内接種した。

その結果、エイズウイルス感染初期の急性症状の一つである体表リンパ節腫大が、軽度ではあるがウイルス接種 2~8 週後にみられた。また、ウイルス接種後 20~24 週まですべての感染個体の末梢血リンパ球から高頻度で、リンパ節からは接種後 48 週で SIV_{agm} が分離された。さらに、本ウイルスに対する抗体価の上昇も接種後 2 週から 20 週までみられた(Fig1A, 1B)。しかしながら、24 週以降は抗体も消失し、また、

抹消血リンパ球のレクチンによる幼若化反応の低下も認められなかった。従って、本ウイルス株をアフリカミドリザルに接種しても、カニクイザルに接種しても、感染は成立するが発症には至らず、本ウイルスは非病原性であるものと結論した¹⁰⁾。実際、当センターのアフリカミドリザルコロニーを含めて野生感染アフリカミドリザルでのエイズ発症の報告はない。

ところが、野生で高率(87%)にエイズウイルスの感染を受けているアフリカミドリザルと SIV_{agm} の組み合わせでエイズが発症しない理由がミドリザル宿主側にあるらしいことを共同研究を行っている村山裕一博士が発見した。それは、1990 年に遡るが、共同実験者の速水教授より、IL—2 依存性のものでよいからアフリカミドリザルの CD4 リンパ球細胞株を作製してくれないだろうかという依頼から始まった。早速、FACS による細胞分画の得意な村山博士(当時、エイズ予防財団リサーチレジデントとして当センターに勤務していた)にお願いした。ところが、2 週間程後に、他のサル種と異なりアフリカミドリザルの CD4 陽性細胞株はとれないとの返事であった。結局、判ったことは、①このサル種では、末梢血、リンパ節、胸腺において、いずれも CD4 単独陽性リンパ球はなく、CD4 陽性 CD8 陽性細胞として存在しており、その他に CD8 抗原のみを持つリンパ球が主流を占めていること。②末梢血の CD4、CD8 陽性のリンパ球をコンカナバリン A を用いて幼若化すると、活性化したリンパ球では CD4 抗原が消

失し CD8 抗原のみを発現するようになるが、ヘルパー活性をもつこと。③CD4、CD8 抗原両陽性のリンパ球では SIV_{agm} の感染・増殖が起こるのに対し、ヘルパー機能を持つ活性化 CD8 単独陽性になったリンパ球ではもはや SIV_{agm} の感染が起こらないこと (Fig.2)等であった。これらのことから、このサル種では種全体が SIV の水平・垂直感染を受けても無症候性持続感染状態にとどまり、免疫不全を起こさず共存する適応戦略の進化の過程で獲得したものと、我々は考えた。この他に、マンガベイ属でも SIV との共存系が知られている。

II SIV_{mac} のアカゲザルへの感染実験

エイズ様症状を呈して死亡したアカゲザルより分離された SIV_{mac}251 株⁴⁾を 5 頭の年齢 3~5 才の雄アカゲザルに接種した。No 1, No 3, No 5 個体には継代数の少ない SIV_{mac}251 株を(約 1.5×10^4 TCID₅₀/頭)静脈内に接種した。No 4 と No 6 個体にはウイルス感染自己リンパ球(1.5×10^4 cells/頭)を接種した。接種後定期的に採血し、抗体価、抗原分離、血液生化学的解析、リンパ球サブセットなどの検索を行った。

SIV_{mac}251 株を接種したアカゲザル 5 頭のうち 3 頭 (No 5, No 3, No 1) はそれぞれ接種後 41, 48, 92 週でエイズ様衰弱を示したため安楽死させた。No 4 個体は 103 週で突然死亡(後にカリニ肺炎と判明)したが、No 6 個体は感染後 195 週でなお生存中である。5 頭のうちエイズを発症した 4 頭についてその臨床症状と病態に関して述べてみ

ると、感染初期に見られるリンパ節腫大は、ソケイリンパ節と腋下リンパ節にSIV接種後2週から16週まですべての個体で見られ、その後、感染中期では触診でわずかに触れる程度にまで縮小した。感染後期に著しい体重減少のみられたものは4例中3例、感染中期からしばしば食欲不振や下痢が見られたものの2例、感染後期に浮腫のみられたものは2例であった(Fig.3)。これら浮腫を示した2症例に関しては体重の低下が始まる約2ヶ月前から血中総タンパク質量やアルブミン値の低下が認められた。また、エイズ患者でよく見られる高マンガングロブリン血症に関してはいずれの4頭についても感染初期、中期を通して見られなかった。

エイズを発症した個体の体表部における病変(皮膚疾患等)は、第一症例の尾根部内側皮膚細菌感染症以外、特に目立った異常は認められず、突然死に至ったNo.4個体を除き3症例とも消耗性症候群であったと言える。これはウイルスを接種したサルが、野生とは異なりはるかに良い条件で飼育されている繁殖育成個体であるため、種々の病原微生物による汚染が比較的少ないためかもしれない。

また、これらのSIV接種サル末梢血リンパ球からは、ウイルスが長期にわたり繰り返し分離され(Table 1)、感染が成立し体内で増殖していることを示す。抗ウイルス抗体価に関しては、SIVmac251感染Hut78細胞のスメア標本を用いて間接蛍光抗体法にて測定した。接種後6—8週で抗体価が最高

となり、その後徐々に低下したが、特に第一症例(No.5個体)では感染後期に、その低下が顕著であった(Fig.4)。このことは、エイズの進行と共に下記に述べる細胞性免疫能だけでなく体液性免疫能も低下したものと解釈出来る。さらに、末梢リンパ球のマイトジェン応答能の低下はConAとPHAを用いた場合に体重が減少する2—3ヶ月前より顕著に認められた(Fig.5)。

フローサイトメトリーによる末梢リンパ球サブセットの解析によりCD4陽性細胞とCD8陽性細胞はウイルス感染初期には一時低下するが感染中期で増加し感染後期に再び低下する傾向があった。CD4/CD8比もウイルス感染後変動はあるものの衰弱時には感染前の値より低下していた(Fig. 6A, B)。

感染後定期的に採取されたプラズマを用いて、IL-6値を測定したところ、抗体価の上昇がみられた感染初期に血中IL-6も増加しており、感染中期では一旦接種前のレベルに戻るが感染後期、死亡直前には再び増加する事が明らかになった。このエイズ個体でのIL-6値の変動はエイズ患者の場合とよく一致している(Fig. 7)。また、血中TNF- α はSIV感染初期、接種後8週以前に一旦増加する傾向があった(No.1, No.3, No.4, No.6個体)が、No.5個体ではウイルス接種後急激にその値が低下した。感染中期では一様に接種前のTNFレベルより低下し、感染後期、死亡前に回復するが接種時レベル以下であることが分った。従って、SIV感染サルでは感染の成立後TNF- α の産生

は低下している可能性が考えられる。また、感染後期の著しい体重減少は血中 TNF- α レベルでは説明できない。というのは、上に述べたように、TNF- α レベルは感染過程を通じ、死亡前に接種時レベルにまで回復するだけであり正常範囲内での変動と考えられるからである。

さらに日和見感染に関しては、細菌(*S. aureus*)によるものが 1 症例、ウイルス(CMV)によるものが 3 症例、原虫(*P. carinii*)によるものが 3 症例に見られた。また、これらエイズ発症サル剖検時採取したリンパ系組織の病理学的所見の特徴は脾臓とリンパ節では萎縮が目立ち、組織学的にも二次濾胞は見られずにヒトのエイズ患者のリンパ系組織と酷似していた。また、脾臓、肺、腎臓、肝臓、小腸、膵臓、心臓、睾丸等に再活性化したサルメガトウイルスの感染が観察された。1 症例ではサイトメガロウイルスによる肺炎と診断出来るほどウイルス封入体が多く見られた。表 2 にはサル 4 頭の病態に関してまとめた。

〔おわりに〕

SIVmac251 実験感染サルではその 8 割が 2 年以内にエイズを発症した。

現在、種々の臨床検査項目の総合的解析により SIV 感染後のエイズ発症・死亡時期の予測が出来るかどうか、検討している。たとえ、SIV の生体内での突然変異がないと仮定しても、単一のクローン化 SIV を複数のサルに接種した場合、そのエイズ発症・死亡時期は一定とはならないであろう

と考えられる。これは、サル類がマウスのように近交系ではなく遺伝学的に純系でないことと、種々の日和見感染の原因となる微生物の除去が完全には行われていないためである。確かに、サルエイズは SIV の感染のみにより引き起こされる免疫不全症であるが、ヒトと同様に感染末期には免疫の中枢を担うリンパ節が萎縮してくるのを我々も確認している。リンパ節が崩壊していく原因が、ウイルス感染によるリンパ球やリンパ節を構成する細胞の変性によるものか、サイトカインのような液性因子の量的、質的異常により間接的に引き起こされるリンパ節構成細胞群の変性によるものかを明らかにしつつエイズの発症機構の解析を行っていく必要があると考えている。また、このエイズ動物モデル系を用い、SIV の水平・垂直感染様式の解析を行うことは、当霊長類繁殖・育成センターからサルエイズウイルスを除去するのに役立つだけでなく、ヒトのエイズ予防感染経路対策にとっても十分に参考になるであろう。今後、発症促進因子や発症遅延因子などの検索と共に、発症時期に係わる遺伝子素因などを家系調査で解析することにより、エイズの研究目的に応じたサル類での動物モデルを作成していきたいと考えている。

現在までのところ、我々のグループでのサル類への SIV の感染実験では、残念ながら中枢神経系への組織病理学的異常は認められていない。この点に関しては、今後例数を重ねるうちにエイズ脳症を併発した症例も経験できると思っている。

以上述べた研究の成果はヒトのエイズの予防・治療にとっても有益な情報を提供するであろうし、また、日本唯一の大規模室内霊長類繁殖・育成センターからサルエイズウイルスの除去を試みたい。

本研究は、フローサイトメトリーによるリンパ球の定量を行った村山裕一博士、P. carinii の確定診断をお願いした東京大学医科学研究所古田隆久博士、病理組織学的解析を行っている国立予研・エイズ研究センター佐多徹太郎博士、国立予研・病理倉田毅部長をはじめ、本庄重男博士、京都大学ウイルス研究所速水正憲教授、吉川泰弘センター長や、筑波医学実験用霊長類センターの数多くの方々のご協力を頂いた。

参考文献

- 1) Letvin N. L. et al.: Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus HTLV-III. Science 230: 71 1985
- 2) Zhang J. Y. et al. : SIV/Delta-induced immunodeficiency disease in rhesus monkeys: relation of antibody response and antigenemia. J. Infect. Dis. 158: 1277 1988
- 3) Tujimoto H. et al.: Isolation of simian retroviruses closely related to human T-cell leukemia virus by establishment of lymphoid cell lines from various nonhuman primates. Int. J. Cancer 35 377 1985
- 4) Daniel M.D. et al.: Isolation of Tcell tropic HTLV-III-like retrovirus from macaque. Science 228: 1201 1985
- 5) Murphey-Corb M. et al.: Isolation of HTLV-III-related retrovirus from macaques with simian AIDS Nature 321: 435 1986
- 6) Benveniste R.E.: Isolation of lentivirus from a macaque with lymphoma: comparison with HTLV-III/LAV and other lentiviruses. J Virol. 60 483 1986
- 7) Ohta Y. et al. : Isolation of simian immunodeficiency virus from African green monkeys and sero-epidemiologic survey of the virus in various non-human primates. Int. J. Cancer 41: 115 1988
- 8) Fukasawa M. et al. : Sequence of simian immunodeficiency virus from an African green monkey, a new member of the HIV/SIV group. Nature 333: 457 1988
- 9) Tsujimoto H. et al.: Sequencde of a novel simian immunodeficiency virus from a wild-caught African mandrill. Nature 341: 539 1989
- 10) Honjo s. et al.: Experimental infection of African green monkeys and cynomolgus monkeys with SIV_{AGM} strain isolated from a healthy African green monkey J. Med. Primatol. 19: 9 1990

《症例報告》

老齡カニクイザルの精巣

The testis of an aged cynomolgus monkey

榊原一兵

私達の霊長類センターでは、カニクイザルの大規模な室内繁殖および育成を行っている。ところがこの環境下で飼育されているサルは寿命や生殖機能の老化について、ほとんど伴っていない。その理由はこの種のサルが実験動物として繁殖育成業務が開始されてから年月がたっていないため、高齢で死亡した症例が得られなかったためである。今回報告する症例は当センターの前身である村山分室で生まれ筑波に移転したサルのなかで、最高齢の29歳8ヶ月で死亡した。そしてその一生の繁殖記録が残っている貴重な例である。このサルは愛称、太郎と言いその年齢は多分、人の80か90歳ぐらいに相当すると思われる。

症例

- 1963・1 予研村山分室で出生
- 1971・5 電気採精法により精子を確認
- 1974・8 交配、妊娠させず
- 1978・4 筑波支所に移転、種雄として交配開始、表に繁殖記録を示す
- 1992・6 糖尿病
抗ヘルペスウイルス剤
(BV-araU)投与 10mg/kg 7日間
- 1992・9 安楽殺

病理学的所見

精巣は萎縮し、褐色をおびる。精巣組織は写真に示すように、精細管の基底膜は硝子様に肥厚し、精細胞系の細胞はほとんど消失している。精子の形成はまったく認め

られない。大きな核小体を持つセルトリ(Sertoli)細胞は認められる。弾性線維染色標本では、セルトリ細胞近辺の固有膜は精細管内腔へ突出している(infolding)のが明らかである。精細管は狭窄し間質が拡張し、結合織が増加している。間質の一部には少数のリンパ球が浸潤している。萎縮した間細胞(Leydig)には黄色の顆粒(シュモール反応陽性)すなわち、リポフスチンの沈着が認められる。また免疫組織化学染色(抗テストステロン)で、間細胞と精細管基底膜が陽性に変色された。

この症例は、サル水痘様ウイルス流行時に抗ヘルペスウイルス剤を投与され、また糖尿病を併発していた。これらがどの程度造精機能に影響を与えたか正確には判らない。しかしウイルス流行時にBV-araUを投与され、その後種雄として使用されている16頭についてその繁殖記録を調べたところ配偶した雌を妊娠させており授精能力に問題はみられなかった。この事実から、投与した抗ウイルス剤の影響はほとんど無かったと判断された。また太郎の繁殖記録から、このサルは24歳(1987年)ごろからすでに造精機能が低下し始めたものと推察される。

《臨床ノート》

鼠径ヘルニア

Inguinal hernia

落久保文子

鼠径ヘルニアはカニクイザルの雄に多く

認められる疾患の一つです。現在飼育されている育成ザルで定期健康診断(定健)の対象となる1歳以上の雄570頭中20頭(3.5%)雌1076頭中5頭(0.5%)に発症しています。陰嚢部に睾丸が安定していない3歳齢までのほとんどは軟部組織の突出と還納が可逆的な場合が多く定健や通常の観察では検出できない個体にも発生している可能性がありますその出現率はさらに高値を示すものと思われます。10歳以上の雄カニクイザルで認められている9例のうち3例が過去にヘルニアの記載があり4例が最近の定健で認められた個体で腹腔内に還納できたものは1例でした。また2例はヘルニアの既往歴はなく急性症状により発見したものです。

ヒトの場合、鼠径ヘルニアは小児外科疾患の中で最も発症頻度の高い(小児の2-6%)ものでそのほとんどが胎生期の睾丸下降に伴ってのびた腹膜鞘状突起退行途中の退縮停止によって残存した嚢に腹腔内臓器が嵌頓して起こる外鼠径ヘルニアです。成人の鼠径ヘルニアでは内鼠径ヘルニア(ヘルニアサックが下腹壁動静脈の内側より突出)が12%を占めており、自然治癒の可能性はほとんどなく嵌頓の危険性が高いため手術の適応となります。

霊長類センターで臨床獣医として仕事を始めて、というより飼育見習い実習生としてやっと3週間たったばかりの頃です。的確な診断をつけることができず死に至らしめてしまった症例が鼠径ヘルニアでした。様子のおかしい個体(26歳令、雄)がいるということで連絡を受けたとき、元氣沈衰、

嘔吐が認められ、著しい脱水症状を呈していました。血液生化学検査ではBUN、血清Pの上昇を認め急性の腎不全と考え輸液療法を行いました。しかし状態の改善はみられず、剖検により鼠径ヘルニアによる腸管閉塞が原因であるとわかったものです。このとき観察記録をふりかえって見ると3日前より便がでていなかったこと、過去の保定検診でも鼠径ヘルニアの記載があったこと、また治療中に左陰嚢部の腫大には気がきさえしていたのでした。過去にも小動物の臨床ではヘルニアの症例と対応した経験はあったにもかかわらず現場での判断を誤ってしまったものです。その後、この一年間に2例、急に横臥している、また2日目元気がなく嘔吐が観察されたという報告をうけて動物を検診したところやはり高度の脱水症状を呈しており陰嚢の左右差を認めました。1例は糖尿病の既往歴がありましたが、緊急手術により鼠径輪から頭側に腹壁を切開し締約され鬱血状態となっている腸管を腹腔内に還納しヘルニア嚢および鼠径輪の縫縮を行いました。いずれも術後2日目より元氣食欲の回復が認められました。この2例では過去にヘルニアの病歴を認めず、突発的に腸管の嵌頓を伴った鼠径ヘルニアが発症したのですが、いずれも発症する数日前、採血のため麻酔をおこなっていること、そして18歳、24歳と高齢であることから腹壁の筋の萎縮や無力化が麻酔からの覚醒時になんらかの腹圧のかかる状況または腸管運動の異常により腸管の嵌頓を誘発した可能性が考えられます。今後長

寿命研究の対照としてさらに重要となってくる貴重な高齢サルにおいては特に、すでに発症している個体に関しては内臓器の嵌頓予防として修復術の適応と、また病歴のない個体に関しても麻酔覚醒時の観察にはさらなる注意が必要と思われます。

《学会報告》

プエルトリコ大学視察とエイズ霊長類モデルシンポジウムに参加して

Visit to University of Puerto Rico Medical Sciences Campus and “The 10th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS”

吉川泰弘

11月16日(月)、朝早く、今度のシンポジウムの会場になっているプエルトリコ、サンファンコンダドブラザホテルに、プエルトリコ大学動物実験施設長のカーロス・マラガさんが迎えに来てくれた。ホテルから車で約30分の大学キャンパス中央に医学部があり、動物実験区域は医学研究棟の10階と11階にあった。普通研究棟の地下階あるいは1階に動物実験区域がある建物が多いので、最上階に動物実験区域があるのには少々驚いた。免疫学教室と微生物学教室は、それぞれ同じ建物の4階と5階にあり、サルを用いたエイズモデルの研究を行っていた。建物の10階が主として通常の動物実験区域、11階がP3動物実験区域となっていた。

午前中は、微生物学教室と免疫学教室の

教授に逢って、プエルトリコ大学医学部での基礎医学研究の紹介をしてもらった。主な話題はやはりエイズであった。アメリカ本土よりもエイズ患者率が高く、またエイズに対する行政の取り組みも真剣で、基礎研究の為に施設・設備も割合に恵まれているようであった。

微生物学教室では、感染性をもたないウイルス粒子を産生する持続感染細胞株がありこのミュータントエイズウイルスを使って、ワクチンが出来ないかどうか検討していた。まだこのミュータントウイルスの分析は終わっていないが、パッケージングシーケンスに異常が起っている可能性が高いとの事であった。また免疫学教室では、エイズ患者と、SIV感染サルモデルの両者について、エイズのステージ特異的診断法の開発を行っていた。分析方法はFACSを用いるだけで、1)マイトジェン(PWM)に対する反応性、2)リンパ球ミトコンドリアの酵素活性、3)リンパ球のアポトーシスを測定する。これらのいずれもが陰性であれば、ステージ0、どれか1つが陽性であればステージI、どれか2つが陽性であれば、どの組み合わせであってもステージII、3つが陽性であればステージIIIというようにして、臨床症状、予後の追跡調査を行うと、このステージ分類でAC期からARC、AIDS期への移行を推定出来ると言っていた。

午後は動物実験の区域を見せてもらった。P3動物実験区域は、SIVのサルへの感染実験を行っており、近々HIVの感染実験をスタートさせると言っていた。サルケージは、

キュービクルタイプのアイソレーター内に4 つつつ入っていた。キュービクルの前面は上下折りたたみスライド型の扉が3 段式になっており、下から上に1/3 ずつ開けられるようになっていた。建物の構造は少しラフで、陰圧調整が完全であるようには見えなかったが、キュービクルタイプの陰圧アイソレーターは、大型で使いやすそうであり、また陰圧コントロール(-6mmH₂O)はうまくいっている様子であった。オートクレーブは超大型で扉は日本人ではちょっと動かせない様であったが、ケージがすっぽりと入ってしまうので、滅菌は容易そうであった。滅菌後のケージは洗浄室がなく、エレベーターで別の建物に移動して洗浄するといっていた。P3 区域はまだ完全には完成しておらず、現在研究室を11 階に増築中であった。

気温が高く、湿度も高い。オートクレーブを作動させた時には、空調があまり働きそうもなく、動物室が相当高温になってしまっているのではないかと思われた。また感染動物区域の通路がやや狭く、飼育には問題ないが、実験操作を行うには、狭い感じがした。補助実験区域が全くなく、検査室、細胞培養室、解剖室などがP3 区域内に整備されていないので、材料を取ってから4 階や5 階に移動しなければならず、不便で、安全性からも問題が多い印象を受けた。

4 階、5 階の実験室には、安全キャビネットが入っていたが、P3 レベルでの封じ込めにはなっていない、P2 レベルであった。病室からエイズ患者の材料も送られてくるし、

ウイルス分離も行っている様子であった。多くのエイズ患者をかかえた病院に隣接する医学部の研究棟では、サルへの感染実験区域がP3 レベルに近かった点を除けば、他はP2 レベルの研究室で実験を行っている方が多い。これはプエルトリコ大学だけでなく、アメリカの他の霊長類センターでも医学部と一緒に研究している所ではソフトウェアでカバーする面が強く、ハードウェアの封じ込めがやや弱い気がする。

第10 回霊長類エイズモデルシンポジウムは11 月17 日の夕方からレジストレーションがあり、夜にはレセプションがあった。以前に東大医科研にいて、その後ニューイングランド霊長類センターでエイズの研究をし、現在オレゴン霊長類センターに移った児玉君が来ていて、ニューイングランド霊長類センターのドロシア博士を紹介してくれた。日本からは筆者が1 人参加しただけで、日本人は児玉君と、筆者およびニューイングランド霊長類センターの森さんの3 人だけであった。

シンポジウムは11 月18 日の朝8 時から5 時まで、ホテルの会場でオーラルセッションがあった。この日は午前中が発病病理、午後がウイルスー宿主相互作用であった。発表者の持ち時間は20 分あり、どの発表も内容が豊富で驚いた。参加者は200 人前後で、席はほぼ満席であった。

発病病理のセッションでは、経粘膜感染機構、脳内感染といったエイズモデルを用いて水平感染やエイズ脳症の機構を解明しようとする試みが紹介された。しかしいず

れもヒトの症例での情報を超す程ユニークなものではなく、ヒトの報告と一致する点が強調されているように思われた。しかし SIV で骨髄が巻き込まれる点を調べた研究は、感染初期に骨髄が巻き込まれることを指摘しており、エイズウイルスの感染過程で見過ごせない点である。

午後のウイルス宿主－相互作用のセッションでは、SIV 実験のラボワーカーが 2 名 SIV に陽転した(血清抗体がウェスタンで陽性になった)という報告がなされた。会場から本当に SIV に感染したのか? HIV-2 との交差反応でない証拠はあるのか、ウイルスは分離されているのか?といった質問が出されていた。ウイルスは分離されず、免疫不全症状は出ていないということであった。

この他にマクロファージ指向性 SIV の感染様式や、SIVagm, SIVmac 中和エピトープ部位、HIV-2 と SIV の細胞障害 T 細胞誘導に対する交差反応性などの話題が提供された。

午後 7 時から夜の 10 時まではポスターセッションがあり、後で述べるように 133 題が発表された。ポスターセッションの内容は多岐にわたっており会場は人だかりがすごくて、ゆっくり質問する時間が無い程であった。朝の 8 時から夜の 10 時までほとんどの人が参加しており、そのタフさに驚いた。

11 月 19 日は、朝 8 時 30 分から 5 時 40 分までオーラルセッションがあった。会場の参加者メンバーは少し入れ換っている様

子であったが、ほぼ満席に近い状態で、午前中は分子生物学、午後は動物モデルセッションがあった。

分子生物学では、児玉君と森さんの 2 人がシンポジストとして発表していた。話題の 1 つは、神経親和性をもった SIVmac239 の核酸変異がどこにあるか、マクロファージ指向性と神経親和性との関連、エンベロープ蛋白遺伝子の変異と指向性との関連などの詳しい分析結果が報告された。

またウイルス持続感染に伴う遺伝子変異, nef 遺伝子の欠損がウイルスの弱毒化あるいは、無発症と直接関連するか? NFκB が SIVmac239 の増殖に影響を与えるか、といった問題が提出された。エイズウイルスにせよ SIV にせよ、感染してから発病までの時間が長い為に、急性感染症と違いその間に起こる変異を直接的に発病機構と結びつけるのに困難な点が多い。また in vitro での実験は比較的スマートであるが、in vivo の複雑な系での持続感染下では、in vitro でかい間見た現象がそのまま通用しないという難点があり、in vitro データをそのまま鵜呑みに出来ない。ともすると本当の病気から離れて、試験管内の遊びになってしまう危険性とむなしさを考えさせる報告もあった。

午後の動物モデルでは興味ある発表が多かった。ブタオザルの HIV-1 に対する高感受性の実験に関してはワシントン大から報告があり、会場から多くの質問があった。ポスターセッションでも 2, 3 のグループがワシントン大の追試を行っていた。全体としては、ブタオザルは確かに他のマカク属

サルよりも SIV, HIV に感受性が良いと思われる。しかしワシントン大の報告程は感受性でなく, HIV-1 の株やブタオザルの個体差が結果に大きく影響を与えるようである。この他にヒトと同様 SIV モデルでよくみられるリンパ腫に関する報告があった。

動物モデルで注目されている研究は、前述した HIV-1 の感染モデルの他に、前日発表された水平感染モデルと、この日の午後 6 時に亘って報告された垂直感染モデル、小児エイズモデルである。母ザルから新生仔ザルへの垂直感染例、新生仔への SIV, HIV の感染実験、これらの新生仔感染モデル系を用いた抗ウイルス薬の効果測定などの研究成果が報告された。これらのモデル系はいずれも系が開発されつつある状態で、細胞レベルでの垂直感染機構や、小児エイズが何故急性に進行するのか?といった基本的な問題に対する解明には、まだ時間がかかりそうであった。

夜は、バスでホテルから旧サンファン市内の Princesa Prison に移動してバンケットがあった。市長さん等の挨拶のあと、歌や演奏があり、カリブ海の民族芸能と伝統の一端を知ることが出来た。また森さんから米国の霊長類エイズモデル研究に関する多くのホットな情報を聞くことが出来た。ホテルに帰ったのは、午後 10 時過ぎであった。

11 月 20 日は、午後 8 時から 12 時 30 分まで最後のセッションがあった。このセッションはワクチン開発であり、様々な種類のワクチンが試みられていた。不活化 SIV ワクチンが経粘膜ウイルス感染を防御出来

た例、組換え SIV_{mnegp160} ワクチンの接種が部分的にウイルスチャレンジを防御した例、エンベロープ蛋白の抗体を受動免疫することで感染防御出来た例などが報告されたが、いずれも有効結果を出す目的で組まれた実験のように思われた。実際にいつ感染するか分からないエイズウイルスに対して、持続的にワクチン効果を維持することは相当難しい気がする。単に、実験的に最も有効な条件でウイルスをチャレンジし、防御効果が出た事を報告しても、現実味はないと思う。

不活化ウイルス粒子ワクチンを接種しても、長期観察では水平感染が起こってしまう例などは、事態の複雑さと深刻さを正確に伝えており、好感のもてる発表であった。この他に防御効果に果たす液性免疫と細胞性免疫の役割、ウイルス中和に β 2-ミクログロブリン, HLA クラス 2-DR 抗原などが、ウイルス抗原と結合して働く可能性などのケースが報告された。足かけ 4 日間、朝から晩までハードなスケジュールであったが、短期間に非常に多くの情報を得られた。

筆者はこの日の午後に市街を少し散歩し、翌日 11 月 21 日にサンファン、ニューヨーク経由で帰国した。1993 年のシンポジウムは 9 月に、ウイスコンシン大で開かれる予定であることが知らされた。

最後にポスターセッションの中で興味を引いたいくつかの発表についてコメントしたい。1) アフリカのグループと USA の共同でアフリカミドリザルの無発症キャリアーの機構についての研究が始められていた。

ミドリザルに SIV_{mac} を感染させると抗体は上昇するが P24 の抗原血症が起こらない点
が、発症系のマカク属サルと異なると報告
していた。2)アカゲザル SIV の系で初期
リンパ節内ウイルス分布を追っているグル
ープが 2, 3 あり、いずれもリンパ節内での
ウイルス抗原の分布は最初傍皮質のマクロ
ファージに、ついで皮質濾胞のマクロファ
ージから濾胞突起細胞(FDC)に強陽性にみ
られることが報告されていた。抗原の強さ
は、リンパ球の比ではなかった。ウイルス
の標的細胞としての FDC と、ウイルス感染
によるリンパ節内での FDC 機能障害に着
目する必要があるであろう。3)カニクイザ
ルで SIV 感染による発症モデル系が確立さ
れていた。TPC では、カニクイザルであ
れば、垂直感染、水平感染、小児エイズモ
デルのいずれにも挑戦することが出来るので、
既に確立しているアカゲザルの他に、カニ
クイザルの系を確立する必要があると思わ
れる。

《学会報告》

シンポジウム「The Aging Monkey: Behavior
and Neurobiology, Current Status and Future
Trends」参加報告

Report on the symposium, “The Aging
Monkey: Behavior and Neurobiology, Current
Status and Future Trend”

寺尾恵治

Inner Harbor, Baltimore:

昨日とは違って変わって暖かな晩秋の陽

光が降り注ぐ国道 95 号線を、車は一路
Maryland の州都 Baltimore へとひた走る。
Bethesda を発ったのが早かったせい、ヒ
ーターの効いた大型のアメリカ車の座り心
地のせい、まどろみかけている目には車
窓を流れ去る田園風景が現実を失い始めて
いた。シンポジウムは明後日の月曜日から
始まる。明日の日曜日は古都 Baltimore を歩
いてみよう。シンポ会場のホテルの位置も
確認しておかなければならないし、Johns
Hopkins 大学までの道順も確認しておきた
いものだ。それにしても、不景気といわれ
るアメリカ、特に東海岸の都市部の状態は
どうだろうか・・・。

昨年の 11 月 16, 17 の両日、米国 Baltimore
市で、「老齡ザルの行動と神経生物学」と
題するシンポジウムが開かれた。ここ数年
「日米科学協力・霊長類班」の実質的活動
は、NIH を公式訪問し、米国側の担当者
と情報交換を行うとともに米国の霊長類研
究センターを訪問して意見交換を行うのが慣
例化していたが、今年度は NIH での米国側
との意見交換に加えて、実験用霊長類に関
わる 2 つのシンポジウムに参加し、実験用
霊長類の研究の現状を把握することとなっ
た。その一つが「老齡ザルシンポジウム」
である。

シンポジウムの案内状と共に送られてき
た趣意書には次のように記されていた。

「高齢化社会の到来を目前にし、痴呆症
の増加は米国内において社会的な問題とな
りつつある。このシンポジウムでは、ヒト
の老化やアルツハイマー病のモデルとして

の老齡サル、特にアカゲザルの有用性に関する研究成果を以下の6点について討議する。

- ① 老齡ザルで認められる行動学的、神経病理学的、神経化学的变化についての知見を整理する。
- ② ヒト、サル、小型実験動物と研究対象を異にする研究者の意見交換により、老齡ザルを用いた老化研究の意義を明らかにする。
- ③ ヒトの Aging 研究のモデルとしての老齡ザルの有用性を明らかにし、モデルとしてのサルの適、不適を判断する。
- ④ データ解析の効率を高めるため、共通のデータフォーマットと収集法を討議する。
- ⑤ 老齡ザルを用いた共同実験を推進させる。
- ⑥ 老齡ザルを中枢神経系や行動の研究に使用する場合の、倫理的問題を明らかにする。

我々も、ヒトの老化研究のモデルとして老齡ザルの有用性を明らかにするため種々の調査を行ってきた。その過程で老化が生理的变化の一つであり、優れた実験系を確立しない限り有用な実験モデルの確立は困難であることを痛感していた。特に、中枢神経系の構造や機能の解析では非侵襲性の実験系だけでは限界があり、実験殺を含む種々の実験処置を行う必要があるが、限られた数の老齡ザルに特定の実験処

置を施すまでには至っていない。いくつかの項目について横断的な調査は実施できても、解析的なアプローチができないというジレンマである。「サルを用いた老化研究」でのブレークスルーを期待してのシンポジウム参加であった。

Intramural と Extramural:

別表に示すように、シンポジウムは2日間で計33の研究発表と4つの総括講演をこなすという超ハードスケジュールで行われた。Inner Harbor の Marriot Hotel の大会議場には、およそ200人の参加者があり一部は立ち見になるほどの盛会であった。日本からの参加者は私と筑波大の野口氏の2名だけであったが、老齡ザルのシンポジウムだけに Washington 霊長類センター所長の Bowden 博士を始めとして、米国霊長類センターの知人の何人かは顔を見せるものと期待して出席した。しかし、会場には Wisconsin 霊長類センターの Uno 博士と、California 霊長類センターの Roberts 博士以外に見知った顔がなく、国立霊長類センター関係者の大半が出席していないことに気付いた。この理由は Johns Hopkins 大 Cork 博士の opening remarks で明らかになったが、米国におけるプロジェクト研究の推進と予算配分の厳密さを理解する上で興味ある出来事と思われるので少し説明しておきたい。

このシンポジウムの背景には、NIA(National Institute of Aging)から援助を得たプロジェクト研究があり、シンポジウ

ムはその成果発表をかねた総括報告会であった。このプロジェクトは、Johns Hopkins 大が幹事組織となり、18 頭のアカゲザル(3～6 歳: 4 頭, 14～17 歳: 4 頭, 20～24 歳: 6 頭, 26～30 歳: 4 頭)を共同の研究対象として、複数のグループで行動学的、病理組織学的、神経生化学的解析を行うというものであった。老齡ザルにおける中枢神経系の機能(学習、認知、弁別能)と構造(脳の病理組織、生化学)の変化とを関連づけることを主目的とし、行動解析を行った後に全頭を安楽死させ、脳を分担研究者に送付して病理組織学的検索と神経生化学的解析を行った。中枢神経系の構造と機能の加齢変化を組織学的、生化学的に解析するためには、安楽死はひとつの条件である。このプロジェクトでは、同一個体で脳機能の表現型としての行動と脳の病理学的構造変化および生化学的機能変化を関連づけて考察するため、最初から安楽死を前提として、できるだけ多くの情報を収集する目的で組織されたものであった。前述した我々のジレンマは、安楽死を前提としない解析法を模索したことによるジレンマである。ヒトやラットを対象としていた研究者が集結したのもうなずける。一方、老齡ザルに関する研究の歴史やデータの蓄積は今回の参加組織よりも各地の霊長類センターの方が勝っていると思われるが、これらの組織は NIH では Extramural であり、国立老化研究所(NIA)は Intramural の組織である。このプロジェクトが NIA のサポートで行われる限り、Extramural の霊長類センターはカヤの外に

おかれる。先日訪問した NIH で、両者の関係はあまりうまくいっていない状況を聞いたせいでもあるが、会場に霊長類センターの関係者があまりにも少ないことに、NIH がサポートしている研究組織の厳密さを改めて認識した。

Successful aging:

シンポジウムでは、予講集が出されておらず、心許ないが、以下に当日作成したメモと記憶を頼りにシンポジウムの内容を要約してみる。

老齡ザルの心理・行動学的解析は主として WGTA(Wisconsin General Test Apparatus)を基本とした種々のタスク実験が紹介され、それぞれで老齡ザルの学習、認知、弁別能を解析した結果が報告された。当然のことながら、大半の研究が老齡と若齡との比較という形で行われている。

その結果、記憶、弁別能の加齢変化では、記憶能力は年齢とともに低下し、25 歳以上では視覚で認識する弁別能が低下している(Bachevalier)。自動画面呈示装置を用いた対象物の弁別試験では、老齡での正解率は若齡の 1/3 であり、正解までのトライアル回数が 2 倍かかる。さらに、Delayed response test での老齡ザルの学習能は若齡の 1/5 まで低下している(Voytko)。このように老齡ザルでの学習、弁別能の低下が報告される一方で、認知と sensory motor のタスクに対する反応性には加齢変化は認められず(Olton)、単純弁別機能にも年齢差がない(Voytko)という。一方、老齡ザルのすべて

に異常が見られるか否かについては、ヒトの老化が、Successful Aging Usual Aging Disease-related Agingの3群に分けられること(Albert)から、老化の過程が個体によって異なる可能性が示唆された。高齢ザルにおいても、行動学的解析から老齡ザルが異常老化群 (Impaired Aged) と正常老化群 (Unimpaired Aged)との2群に分けられ、弁別能は若齡群と老齡群で差があるが、老齡群を正常、異常の2群にわけると正常老化群と若齡群には差が認められず、異常老化群だけが有意に低下している(Rapp)。さらに、1年間隔で色の弁別試験を実施し記憶の保存を調査した実験では、老齡4頭のうち2頭は4年目に著しく記憶が低下したことから、老齡ザルの一部には more successfully に老化する個体があることが示された(Moss)。このように、老化に伴う個体差の増加および successful agingの概念は老齡ザルの定義とともに示唆に富むものであった。

Uno は25歳以上のアカゲザル51頭の剖検結果で、25～30歳と30歳以上で老人斑の出現に著しい差がないことから、これらの個体は successful aged であり、20～25歳で50%の個体が死亡する事実と合わせ、successful と unsuccessful aged との選択は20～25歳の時点で生じ、この年齢のサルが脳の病理学的異常を解析するのに適しているとした。これは神経細胞の cell loss が20～25歳で最高レベルとなる(Wenk)事実からも支持される。脳の病理学的変化では、Betz細胞の Axon terminal の数、長さ、ミトコン

ドリア数にはいずれも変化ないこと(Tigges)。Cortexの面積、Cortical depth、ニューロンの数には変化がないが、単位面積あたりのニューロン数には個体差が増大する(Peters)ことが報告された。Walker は脳の老化研究モデルとしての霊長類の特性を要約し、小型で寿命の短い原猿(セブス)が脳の老化研究モデルとして優れていること、60歳のチンパンジーでは重大なアミロイド沈着がない一方、25歳のリスザルでは老人斑、アミロイド沈着が認められる。さらに、リスザルは15歳以上ですでにアミロイド沈着が認められるが、この理由としてリスザルの血液-脳関門の機能が他種と異なっている可能性を指摘した。海馬の変化では、35歳のアカゲザルの海馬 CA1 領域に老人斑が認められ、CA1の細胞サイズは老齡ザルで縮小していたが、他の部位の神経細胞の数、サイズ、密度には変化がない(Rosene)という。

最も興味をもたれた行動学的異常と脳の病理学的、生化学的異常との関連については、行動解析で正常老化、異常老化と判定された各2頭の老齡ザルで一定領域の神経細胞数を計測した結果、異常老化個体で細胞サイズの増大が認められること(Amaral)、認知、弁別試験でタスクエラーの多い個体ではアミロイド沈着と異常神経細胞の出現率が高いこと(Cork)、ChAT 量は老齡ザル(26～29歳)で低下し、ChAT 量と Rosett Test の正解率との間に相関があるが、脳の部位によって ChAT 含量の年齢との相関が異なる(Gorman)ことが報告された。さらに、23

頭のアカゲザルの 12 の脳部位で種々のニューロトランスミッターを測定し、老化に伴う量的変化、老人斑出現との関連をみた報告(Wenk)では、ドーパミン含量と年齢は逆相関するが、GABA-A receptor の数は脳のどの部位においても差が無いことから、老化に伴う脳の変化は、脳の特定の部位または特定のトランスミッターに限定して出現する可能性が示めされた。

以上、シンポジウムの内容を概説したが、全体としてヒトで得られている研究結果を超える成果(ブレイクスルー)は得られていない。老化と中枢神経の構造と機能に関する研究は 21 世紀の重要課題であるが、モデルとしてのサルの現状も道なお遠しの感がある。前述したように、非侵襲的な調査はヒトで可能であり、サルでのみ可能な実験系の確立が急務である。今回シンポジウムで報告されたプロジェクトはそこを狙ったものであるが、特に行動解析の解析法に改良の余地が多いことが指摘された。「老化に伴う脳機能の異常を行動学的に判断する手法」の確立である。一方で、successful aging の概念は、この種の研究には超高齢ザルよりも、20 歳前後の middle age(Cork)が適していることを示唆していた。健やかな老化を迎えるか否かは、この時点で決まる。なにがそれを決定するのか? 個体差の増大をもたらす要因を含め、困難だが興味ある研究項目である。

2 日目の昼食後に NIH の Nakamura が動物実験反対派の動向と NIH の対応についての講演をした。この中で、サルは依然と

して最大のターゲットであること、Washington 大の申請課題開示訴訟にみられるように運動は活発であること、NIH は動物実験に対する社会の理解を求めるための啓蒙活動を継続していること、NIH に対応ホットラインを設置して、研究者の便を図る事などを報告した。演説調であったためか、会場から大きな反応は無かった。

なお、参加者にサル類の加齢、老化に関する論文リスト(1940～1992)が配付された。Aging に関する論文 695 編、病理・疾患に関する論文 313 編、寿命に関する論文 128 編が収録してある。

この Bibliography は TPC の図書室に保管されていますので、興味ある方はご連絡下さい。

《日米科学技術協力》

罪なき殺し屋達

Innocent killers

小田切敬子

私とグドール氏との最初の出会いは、“罪なき殺し屋たち(Innocent Killers)”という 1 冊の本を通じてだった。その本は、当時“野生のエルザ”や“いとしのピッパ”で好印象を得ていた、ライオンやチーターとはちがって、残骸あさりをするということで悪いイメージのあった、ハイエナやジャッカル、リカオンを生き生きと描写したものであった。

チンパンジーの研究では余りにも有名なグドール氏だが、私にとっての彼女は、全

ての動物達に愛情を惜しみなく与える事の出来る人であり、憧れのフィールドワーカーであった。

まだお乳から離れない赤ちゃんを連れて、写真家の H・バン・ラービック氏と共にサバンナを駆け廻る彼女の生活は、それがどんなに大変なものかと言う事など、想像さえ出来なかった頃の無知な私にとっては、この上もなく素敵な人生の様に思えたものだった。

彼女の姿を初めてこの目で確かめ、肉声を聞いたのは、京都賞受賞の為に来日された、数年前の東京講演のことだった。それ故、今回の日米科学協力、霊長類研究班主催による講演会での、彼女のチンパンジーに対する深い愛情表現と、動物実験反対への確固たる信念がうかがえる演説は、予想に反するものではなかった。

我々は、その時々に関心する都合に合わせて、動物達を実験動物、家畜、愛玩動物、野生動物、動物園の動物などと分類し、利用している。動物(家畜)を合理的に飼養、繁殖させ、利用・研究する学問に畜産学(Animal Science)があるが、その領域の中に家畜行動学(Applied Animal Behavior Science)という分野がある。この分野に携わる者が研究を行うにあたって、熟知しておかなければならない事柄に、家畜の福祉問題(Problems of Animal Welfare)がある。つまりアニマルウェルフェアの事である。ここでウェルフェアについて論じるつもりはないが、明確にしておかなければならない事を、恩師である三村耕先生の厳しい口調で

言うならば、“アニマルウェルフェアは、動物愛護や野生動物保護で使うアニマルライトとは、はっきりと区別しなければならない”ということである。

我々が実験に使用した動物達が、多くの情報を与えてくれた事に感謝し、そして野生の動物達とは共存出来る道を考えていく。それが、人としての道理であり義務である、と考えることは、決してグドール氏と意を異にすることではないと信じて、動物の為、人の為のサイエンスが発展することを願いたい。

筑波霊長類センターにおけるサル AIDS モデル開発研究と研究施設(P3)設置の必要性について

P3-laboratory in TPC

吉川泰弘

はじめに:

世界的な AIDS の蔓延と、その問題の深刻さは重大であり、いうまでもなく、21 世紀の人類に課せられた最大の問題の 1 つである。また日本においても、流行の兆が取り沙汰されてきている。AIDS の流行は従来の先進国型(ホモセクシュアルや血液製剤による伝播型)から途上国型(性行為感染)に様相を変えつつあり、感染の拡大は急速に進行している。そのため、AIDS 予防治療薬の開発が急がれており、このように多くの研究者を動員させたウイルス性感染症は他には類を見ない。

AIDS の病態の解明、予防・治療法の開

発には、ヒト AIDS に酷似する動物モデルが必要であるが、現在まで客観的にみて、レンチウイルス感染によりリンパ節症・免疫不全・AIDS の発病を確実に起こすモデルとしては、アカゲザル・SIV の系しか存在しない。

これまでの経緯:

筑波霊長類センターでは予研エイズ病理室、京大ウイルス研と共同で、アカゲザル-SIVmacの感染実験系を用いてヒト AIDS モデルの開発研究を行って来た。その結果 1991 年に至って AIDS 発症モデルの確立に成功した。

現在までに SIVmac 低継代歴ウイルスの接種により 5 匹中 4 匹が AIDS を発症している。また次いで行っている DNA クローン化したウイルス株では、既に 1 頭が発症した。

AIDS 発症サルは、リンパ節炎を経たのちヒトと同様の免疫不全状態となり、典型的なカリニ肺炎 1 例、全身性ニューモシスチス症 2 例、サイトメガロウイルス再活性化例 3 例、黄色ブドウ球菌膿瘍 1 例、悪性リンパ腫 2 例など、ヒトの AIDS に酷似した臨床症状を呈している。

サル-SIV 感染における研究成果:

上記した臨床例の観察の他に、ウイルス分離、ウイルス抗体の測定、CD₄、CD₈ の推移、血液生化学値の変動などの経時的基礎データを蓄積し、ヒト AIDS 症例との比較を行っている。

現在までに得られた特記すべき成果としては、

- 1) 感染の全期間を通じて、IL-6、TNF などのリンフォカインの変動を追うことが出来た。個体差は強いものの、TNF については、感染初期に上昇し、ヘルシーキャリアー期には下向し、発症前後から再び上昇する傾向がみられている。
- 2) 感染の経過に伴う、末梢血とリンパ節中の CD₄、CD₈ の変動をみると末梢血とリンパ節で CD₄/CD₈ のキネティクスは必ずしも一致しておらず、リンパ節中では、CD₄ 陽性リンパ球の比率が低くなっている傾向のあること、ヘルパー、サブプレッサーマーカーとなる分子を欠いた機能不全の CD₄ 細胞の比率が上昇する傾向がみられている。
- 3) 典型的カリニ肺炎症、およびカリニ肺炎を起こす前のサル AIDS 症例で、ニューモシスチス・カリニ(PC)の合成プライマーを用いた PCR 法により、肺以外の実質臓器にも PC ゲノムの存在することが明らかになり、肺炎以前に全身性ニューモシスチス症が進行する可能性が考えられた。またヒト PC、サル PC、マウスおよびラット PC の塩基配列が少しずつ異なっていることが明らかにされた。
- 4) SIV_{AGM} に感染しながら、ヘルシーキャリアーとして発症しないアフリカミドリザルでは末梢リンパ球の表面マーカーが、AIDS を発症するヒトや他のマカク属サル、更には他のセルコピテックス科のサルと異なり、CD₄・CD₈ ダブルポジティブ

であること。このリンパ球が活性化すると全て CD₈ のシングルポジティブリンパ球に分化し、CD₄ 分子が消失してしまうこと。CD₄ 分子の消失した活性化リンパ球には SIV_{AGM} は感染しないがこの CD₈ 陽性リンパ球はヘルパー活性を有していることが明らかになった。

このような知見は、AIDS ウイルスの伝播を防ぎ AIDS 患者をヘルシーキャリアのまま生存させる為の基本戦略を考える上で重要な成果と考えられる。

これからの戦略と課題:

基本的には AIDS に打ち勝つ方法は、a) ウイルスの伝播を防ぐあるいは伝播力を低下させる、b) AIDS ウイルス感染者を発病から守る、の 2 点に集約されると言ってもよい。a) に関しては、SIV_{mac} 接種サルについて、感染初期から発病・死亡するまで、雄であれば精液中のウイルス価を定量しその変動を徹底的に明らかにすること。雌であれば、性周期を含めて、同様に感染初期から末期までの腔粘液中のウイルス価の変動を明らかにする必要がある。また筑波霊長類センターでは、既に精液採取、人工受精、体外授精、初期胚培養などの技術を開発しているので、こうした系を用いて AIDS の性行為感染と垂直感染のメカニズムについても明らかにすることが可能である。

前述したように AIDS 感染は今や性行為によるものが主体となっており、今後この傾向は更に強まると考えられる。また生殖器は元来外皮粘膜である点を考慮すると、

エイズウイルスの予防あるいは不活化には、コラーゲンパックに抗ウイルス剤やイスコムワクチンなどを封入し、持続的に局所免疫や局所でのウイルス不活化を考える方が有効である。サル発症系を用いてこの為の基礎データを収集することが急務である。

b) に関しては、アフリカミドリザルの戦略を見ならうべきである。アフリカミドリザルの CD₄、CD₈ 遺伝子の調節領域を明らかにし、まず発症系のアカゲザルについて、ミドリザル型の CD₄、CD₈ 表現型に遺伝子治療を試みる。成功すればヒト AIDS 患者についても骨髓幹細胞を用いた遺伝子治療法を考える必要がある。

筑波霊長類センターに P3 実験室及び P3 動物実験が必要な理由:

上記したように AIDS をコントロールする為には、サルのモデル系の研究が必須であり、また強力に推進させる必要がある。

この他に、I) 現在、日本国内で SIV を用いてある程度の規模で感染実験を行えるのは、立地条件、経験、マンパワー、ウイルス学・病理学的技術からみて筑波霊長類センター以外にない。II) 地域住民との間で、P3 施設設置についての話し合いがもたれ、一応の認知を受けている。III) 予研の新しい細則では、筑波霊長類センターで感染症を含めて、サル類を用いた疾患モデルの研究・開発を行うことが所掌事務の 1 つにあげられている。IV) 将来、HIV 特異的ワクチンや治療薬の有効性、ワクチン検定を行うには HIV を用いたモデルの開発が必要である。

HIVはクラス3に分類され、実験室、動物実験室ともにP3の物理的封じ込め対応をしなければならなくなる。

以上の理由から、筑波霊長類センターに、P3実験室並びにP3動物実験・飼育室の設置要求をしました。平成4年度補正予算によりTPCに上記のP3施設が設置される事となりました。関係者のご理解と、ご協力に感謝しております。

《飼育の現場から》

ふん、フン、糞

Excrements, feces, and

大藤浩美

動物が生命を維持するためには、絶えず外界から必要な物質を取り込み、物質やエネルギーとして体内に蓄積して、不要になった老廃物を体外に排出している。排出されるものに二酸化酸素や尿があるが、それらは空調設備と排水設備が整っていればさほど問題はない。まれに尿石が沈着して排水が悪くなる事もあるが。

我々飼育担当者の悩みの種はフン、つまり“糞便”である。マウスもラットもサル類も当然ながら排便をする。サル類が他の動物種と違うのは手や尾でそれをいじる事である。成体カニクイザルが毎日排泄する10～20グラムのその物体は彼らにとっておもちゃであり道具でもある。

まずペインティングと呼ばれる塗り延ばし作業でケージや汚物受け架台を汚す。汚物受け架台上のものを尾を使って糞尿をか

き混ぜ振り回す。手で摘んで餌箱に入れたり、なかには食べるサルもいる。自動給水装置の飲み口に詰めて始終出続ける「湧き水」に改良したこともある。

以前、あるTV番組を見ていたら、動物園でアイドル歌手がチンパンジーの遊び場をスケッチしているシーンがあった。突然顔に何かを投げつけられて悲鳴をあげた「きゃーヤダァ、土投げられたァ、ペッ、ペッ」。そのストライクボールは、私の目には明らかに便に見えた。カニクイザルも糞投げが上手である。私も何度か被害に合ったが、防護衣類のおかげで汚い思いはしないですんだ。

彼らの力作であるペイントされたケージや、オブジェで賑わう汚物受け架台を湯水で洗い流しながら、ふとこんな事を考えた。

「人間の子供もしつけをしなければ似た様な事をするのだろうか?このカニクイザルをしつけてみようか」と。だがすぐにあきらめた。仔ザルだけで数百頭を抱えるTPCでは、到底ムリだ。人間で確認しようにも私の3歳になる娘は衛生的トイレの使用法を既に覚えてしまい今となっては手遅れである。ナゾだけが残った。

話を戻そう。“便”はさまざまな情報を提供してくれる。健康状態のチェックは顔色をうかがうよりも下痢や血便が出れば容易に異常を発見でき、正常な便でも細菌や寄生虫の有無が検査で判る。白っぽい便は矮小ザルの特徴だ。便いじりや性状は年齢によって違うようだ。大人になるとあまり汚さなくなり、また水分含量も少なくなり

硬い便になる傾向が感じられる。仔ザルを素手で捕獲する時に大抵の個体が脱糞するのは軟らかいせいかもしれない。便なしは生命の危険信号だ。老齢個体で数日排便がなく保定検診したら便秘と判った。肛門から指でかき出すとカチンカチンに成っていたことがあった。

我々にとって彼らの糞便はいろいろな角度から有益な情報を与えてくれる検査材料の面の方が大きいのだ。しかしながら、サル君たちよ、なめても平気と思える位にまで、毎日汗だくになって帰除している我々の姿を見ているのだから、もう少し汚すのをひかえてくれないか。不衛生な環境が病気の源となることを理解してほしい。

《実習生メモ》

SIVに取り組んで

My SIV study at TPC

岡田峰幸

早いもので、ここ霊長類センターに研究生として入所して、1年近くなろうとしています。今回まだまだ不十分ではありますが、振り返って自分にとってのまとめの意味も含めて、以下に少しばかり書かせていただくことになりました。

私のここでの主たる研究テーマは、AIDSの動物モデルとしてのサル免疫不全ウイルス(SIV)の感染系を用いての、その病態の解析であります。まだ始めということもあり、実験的には極めて基礎的な解析手段を用いた基礎技術の確立に時間をかけてきました。

まずは特異的遺伝子検出法のひとつであるサザンブロット法を用いた実験であります。

今回その材料としたものはSIVとは直接関係はありませんが、剖検時脾臓の腫大、類洞内にリンパ球様細胞が多く認められリンパ系の腫瘍である可能性の示唆された症例である。STLV 抗体陽性であるため、ウイルス遺伝子のモノクローナルな組み込みの有無により、ウイルス感染との関連を検索した。

今回の検出には、HTLV-IのLTR領域の遺伝子をPCR法により標識したプローブを用いた。脾臓組織より常法によって抽出精製したゲノムDNAを、種々の制限酵素により切断して用いてサザンハイブリダイゼーションを行って解析したが、今回のサンプルでは、モノクローナルな組み込みや特異的な反応は認められなかった。またプローブ作製に使用したプライマーを用いてPCRによる検出も試みたが、シグナルは検出されず、この検体ではウイルス関与の腫瘍化は否定された。

次は、PCR法を用いたSIV遺伝子の検出を試みた。SIVの遺伝子のひとつであるenv領域のプライマーを用いて2段階PCR(Nested PCR)をおこなった。

プラスミドにクローン化されたSIV遺伝子をテンプレートとして用いて、エチヂウムブロマイド染色による検出条件の検討を行った。一回目のPCR反応によって、反応液中に、 10^4 個のSIV遺伝子の存在する条件下までシグナルが検出でき、さらに2段

階の PCR 反応では、1 個の遺伝子のみでも特異的な反応生成物が検出できる反応条件を確立した。

このような条件下で、SIV の実験感染サルより得られた培養リンパ球の DNA をテンプレートとして PCR 反応を試みた。その結果、今回使用した 6 頭のうち、2 頭のリンパ球 DNA からウイルス遺伝子を検出することができた。しかしながら他の 4 頭からは検出できなかった。このことは実験動物への直接の応用の難しさを示している。この方法を実際に使用するにあたっては、更に詳細な条件設定をする必要がある。この後、ウイルスの体内での変異の検索等動物体内でのウイルスの動態などの研究に応用するつもりである。

さらに現在は、ウェスタンブロット法を用いて、実験感染個体でのウイルス構成蛋白にたいする抗体の動きと発症との関連について検討中である。

以上実験室での実験に加え、感染実験を通じてここでしかできない貴重な体験をする事ができた。

最後に、これらの実験についてご指導をいただいている向井先生をはじめ、当センターの諸先生方にお礼を申し上げます。

TPC での実習をふり返って

As a trainee at TPC

その 1

筑波大学医療技術短期大学 衛生技術学科
井出里美

夏休みの間の約二ヶ月間、TPC の実習生として卒業研究をさせて頂きました。私の卒業研究のテーマである“サルの乳酸脱水素酵素測定にあたっての基礎的研究”は、サルとヒトの LDH アイソザイムパターンには違いがみられるという寺尾先生のお話に興味を持ち、もともと臨床化学が好きでしたのでこちらからお願いしたのです。

寺尾先生、藤本先生、落久保先生のご指導のもとにサルの LDH に関わるいくつかの実験をさせて頂きました。材料処理に関わる実験では、血清は全血からの分離時間が遅れるに従って LDH 活性が上昇するため検体として不適当であり、分離時間による影響を受けない血漿が適していること、また保存法としては、冷蔵保存は LDH が失活しやすいため適さず、室温で無菌的に保存する、あるいは -80°C の凍結保存が良いことがわかりました。さらに、サル種による LDH 総活性、アイソザイムパターンの違いについて、妊娠しているサルと非妊娠のサルの LDH 活性の比較、臓器特異性についての実験もさせて頂きました。妊娠、非妊娠のサルの LDH 活性には有意差は認められませんでしたでしたが、異常妊娠のサルのアイソザイムパターンを調べたところ 3 検体中 2 検体にパターンの変化が認められました。これらの実験の結果より卒論を書き終えることができました。

こちらで卒業研究をさせていただくことになったときは、私達のような学生が国の機関で実験できるという幸運を喜ぶ気持ちが半分、不安と心配が半分でした。しかし

ながら、TPC の皆様がわかりやすく、丁寧に御指導して下さい、毎日楽しく実験することができました。また、実験ばかりでなく、卒論の添削やスライドの作製までお忙しい中、時間を割いていただいたことに感謝いたします。TPC という恵まれた環境の中で大学だけにいたのでは経験できない事を沢山経験させていただいたと思っています。短い期間ではありましたがお世話になりました。本当にありがとうございました。

その 2

筑波大学医療技術短期大学 衛生技術学科
山田香織

我が大学では卒業の年となる 3 年次に、一般大学でいう「卒業論文」に値する「卒業研究」という単位があります。しかし 3 年次には就職活動は無論のこと、通常の講義・実習に加え、約四ヶ月に渡る附属病院での実習、さらには臨床検査技術師免許取得のための国家試験を控え、研究と言ってもままならないのが現状であります。そのような状況の中で、何か手ごたえのあることが出来ないかと考えていた頃、免疫学の特別講義をして頂いた。筑波大学基礎医学系の羽柴先生と出会いました。羽柴先生の講義を聞き、それまでさんざん毛嫌いしていた免疫という分野に興味を持ち、私と、同学科の井出と倉内の 3 人は羽柴先生に研究のご指導をお願いしました。しかし羽柴先生ご自身の研究がお忙しくなられ、それならばとご紹介頂いたのが TPC との出合

いでした。

そのような理由で、限られた短い期間しかないため、TPC にお世話になると言ってもご迷惑になるのではと思いましたが、先生方が快く引き受けて下さり、夏休み約二ヶ月間集中と言う、いささか強硬な研究となりました。

私自身は寺尾先生のご指導のもとに、老齢カニクイザルの免疫機能、特に抗核抗体の産生能についていくつかの実験を行いました。老齢カニクイザルでは老化に伴って ABO 血液型に関わる自然抗体のレベルは低下するにも関わらず、血清中の免疫グロブリンのレベルは低下しないことから、自己抗体の産生能が昂進していることが推測されます。その自己抗体のうち特に抗核抗体に着目し 20 歳以上の老齢ザル 20 頭、5-7 歳の壮年ザル 20 頭について、抗核抗体のレベルを比較しました。最終的に、老齢ザル血清中の抗核抗体レベルは壮年ザルに比較し、有意に高レベルであるという結果が得られました。しかし、どのような実験でも同じだと思いますが、その結果に至まで一筋縄では行かず、限られた時間にとまどうことも何度かありました。そんな時、寺尾先生が叱咤激励して下さい、またがんばろうと思ったものでした。

おかげさまで、卒業研究としては十二分のものででき、私自身大変満足のいくものができ上がりました。今回の研究の最大のテーマである老化に伴う免疫機能の変化の解析は、二ヶ月という短期間では到底解明できるものではありません。しかしその一

部にでも携われたこと、またそのテーマだけに限らず、研究を行っていくことに当たっての理論を少なからずとも学べたことは、これからの私にとって、貴重な財産となったように思います。短い期間ではありましたが、いろいろと熱心にご指導下さいました、寺尾先生をはじめとする TPC の諸先生方に深く感謝致します。

その 3

筑波大学医療技術短期大学 衛生技術学科
倉内優希

私達筑波大学医療技術短大では、卒業研究として与えられる時間が非常に少なく、しかしながらその時間を TPC において充実したものにて、また多くの事を勉強させていただいた事は、本当に幸運であったと思っております。今回、向井先生をはじめ、TPC の皆様のご指導のもとに無事終了しました卒業研究について、簡単ですが、ご報告いたします。

「サル類のウイルス分離と各種検査法の比較検討」をテーマとし、サルと SIV のエイズ動物モデル系を用い、大きく分けて免疫学的検出とウイルスの生化学的検出の 2 通りを行い、比較検討する事を目的としました。まず免疫学的検出には、①培養によるウイルスの分離と同定。②抗体の検出として蛍光抗体法(IFA)と Western Blotting などがあり、ウイルスの生化学的検出には、①逆転写酵素の検出、②PCR による遺伝子の検出などがあります。逆転写酵素の検出

については、RI 使用上実際には行う事ができませんでしたが、そのほかについては時間の許す限り実習させていただく事ができました。

結果として、培養によるウイルスの分離では、SIV 感染細胞の示す、多核細胞による CPE を知ることができました。また、IFA については、特異的で簡便な検査法であっても、主観の違いにより結果に個人差が出てしまう問題点がありました。次に Western Blotting ですが、時間の関係上実際の検体を用いるところまで行けず、マーカー蛋白を使用し、原理及び手技などを実習しましたが、この実習では転写に使用する膜に対するタンパクの結合性が、タンパクの種類により異なる事を勉強しました。ウイルスの検出では、PCR について実習し、Nested PCR を行う事で、実際に 1copy の遺伝子を検出できるほど感度の良くなる事を勉強する事ができました。

最初にも述べましたが、今回は時間不足の為、当初の目的である感染個体のウイルスの増殖と抗体の推移を把握するまでに至りませんでしたが、以上の検査法について実習することができました。

この度は、TPC において少しでも研究というものに触れる事ができ、とても良い経験となりました。最後になりますが、お世話になりました TPC の皆様に深く感謝いたします。