

《巻頭言》

カラチにて

At Karachi

吉川泰弘

記録をみても最初の部分が欠落しているので、はっきりしないが、はじめて文部省の「カラチ脳炎」の国際協力研究プロジェクトで、カラチを訪れたのは確か 1985 年の事であったと思う。

1988 年からは毎年 1 ヶ月近く、最近は半月になってしまったが、11 月から 12 月に毎年決ってカラチを訪れているので、もう 7 回程滞在したことになり、カラチのベテランになって来ていると自負している。

それまでヨーロッパやアメリカしか訪問する機会がなかったので、冬の日本を出発し日本と言えば初夏に近い、旧カラチ空港にはじめて真夜中過ぎに着いた時の、異様さに対する驚きと空港から一步外に出た時の人？れ、混乱、怒号・・・は、長時間飛行機の中で過ごし、少し麻痺している頭にとっても、まるで動画でドラクロアの絵画をみているようで文字通り「カルチャーショック」であり、今でもはっきりした映像として思い出す。きっとカラチの原体験として生涯焼きついたイメージの 1 つとして残るであろう。

足かけ 10 年近く、カラチの移り行く様をみると、いろいろな点で変って来ている。第 1 に表玄関であるカラチ空港が新築され、ハードウェアと共に税関もスムーズになって、国際空港の仲間入りをした。空港のポーター、タクシードライバーの悪さは相変わらずで、黙

っているといくらでも金をふんだかれる。ただし空港内のタクシーサービスで頼むと、正規の料金でホテルまで乗せてくれるようになったのは大きな進歩である。第 2 にイエローキャブは、軒並み新車になり快適になった。しかし、ドアのない、デコボコの床の落ちそうなタクシーや、三輪車でパタパタいうリキシャー、町中をゆっくり走るロバ車(カタガリー)、ラクダ車などがほとんど無くなってみると、それはそれで寂しい気持ちにするものである。

これまでカラチで雨に逢ったことはない。まれに雲を見る事はあるが、太陽が出ると雲は飛んでしまい、毎日が決って晴天である。空気が乾燥しているので汗が出ても気にならないが、現地で皆が着ているダブダブの服(シヤルワールとカミーズ)は、着てみると蚊には刺されないし、動き易く、快適である。生活の知恵とも言うべきものであろう。ただし日本人のように、前かがみで足早に歩くとさまにならない。やはり彼らのように背筋を伸ばして、悠然と歩かなければいけない。個人的な事になるが、カラチの無秩序なカオス状態というのは、とても好きである。交通ルールはなく、先に頭を出した方が勝ちというやり方は、結果的には効率が悪いと思うが、兎に角パイタリティーにあふれており、空の青さと同様に暗い所がない。生活程度は日本に比べ低く、衛生状態も決して良いとは言えないが、下町で大人に混って働いている子供達の瞳は実に生き生きとして、たくましい。

研究費の中の出張費で宿泊するホテルであるから、観光用の 5 つ星ホテルという訳には

いかないが、ここ3-4年ホテルのボーイもフロントも人が落ち着いて顔見知りになっているのでとても気楽である。以前は1年毎に人が変ったりして、定職という感じがしなかった。最近はカラチでも職業に対する考え方が変わって来ているのかも知れない。電力事情や電話回線などは、高級ホテルと三流ホテルでは明らかな差がある。日本に確実にファックスを送るには、高級ホテルのビジネスセンターなどを利用しなければならない。しかしトレーニングウェアで夕食を食べに行ける点などは三流ホテルの良い所である。停電の方は我慢できるが、シャワーの湯が出ないのには閉口する。ホコリがものすごいので日中の仕事の後は、どうしてもシャワーを使いたくなる。滞在中に水でうめる程の湯が出た時の幸せな気持ちを1,2回でも味あわせてくれる点では、人生足ることを知るという意味で貴重な体験をさせてくれるホテルである。

カラチには“パキスタン時間”というのがあり日本人の得意とするタイトなスケジュールはほとんど意味をなさない。計画はその通りに行かない方が普通である。最後はいつもインシャーラ(神のおぼしめしのままに)という事になる。こうした異文化との差を、丸めて呑み込んで開き直ると、人々は善意に満ちており、我々の子供の頃のように自由と混沌があり、本当に楽しい。外から日常の自分を見直すことが出来る機会を持てるという点で、このプロジェクトには感謝している。

《検査情報》

サル類における病原性・非病原性赤痢アメー

バの検索

Survey of pathogenic and nonpathogenic

Entamoeba histolytica in nonhuman primates

鴻野あや子

赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)の感染に起因する赤痢アメーバ症は重要な人畜共通伝染病である。当センターにおいてもカニクイザルとミドリザルが本アメーバを保有していることはすでに知られている(TPC NEWS: 10巻, 1号, 1991, 11巻, 1号, 1992)。近年、zymodeme 分析法やモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法で、赤痢アメーバを人に対して病原性のあるものとないものに別けることが可能になった。今回、我々はこれらの方法を用いて慶応義塾大学医学部、熱帯医学・寄生虫学教室の竹内 勤教授らと共同で、当センターのカニクイザルとミドリザルにおける赤痢アメーバの汚染状況を調査したので報告する。

糞便からの赤痢アメーバの検出には直接塗抹法(生食塗抹, ヨード染色), 固定・染色法(1部の糞便についてシャウジン固定・トリクローム染色), および培養法(ロビンソン培地使用)を用いた。また、モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法で赤痢アメーバを同定した(図1)。

zymodeme 分析法は Sargeant らの方法によった。すなわち、赤痢アメーバ培養液(ロビンソン培地)から溶解物を作り、薄層澱粉ゲルを用いて電気泳動を行ない、phosphoglucosyltransferase(PGM), hexokinase(HK), malic enzyme(ME), glucosephosphate isomerase

(GPI)の4種の解糖系酵素の isozyme パターンを分析した。これらの解糖系酵素のうち PGM と HK の isozyme パターンにより病原性が非病原性をみることができる。また、ME の isozyme パターンにより赤痢アメーバであるか否かを決定することができる。さらに、GPI の isozyme パターンにより検出された赤痢アメーバの地域的な違いをみることができる。現在、これらの分析により赤痢アメーバの zymodeme は ～ の 20 種に分類されており、そのうち zymodeme , , , ? , XII , XIII, XIV, XIX, XX の 9 種が病原性 zymodeme, zymodeme , , , , , , , XV, XV , XV , XV の 11 種が非病原性 zymodeme とされている。

間接蛍光抗体法ではロビンソン培地で分離した赤痢アメーバを抗原とした。第 1 次抗体としてモノクローナル抗体を、第 2 次抗体として FITC ラベル抗マウス IgG 抗体を用いた。赤痢アメーバ検出用としてはモノクローナル抗体 3F7 を、病原性赤痢アメーバ検出用としてはモノクローナル抗体 4G6 を用いた。

まず、カニクイザルについてみると、表 1 に示したように正常な野生由来ザル(輸入後 12～24 年間飼育)では 20 頭中 15 頭(75%)から赤痢アメーバが検出された。表には示さなかったが、産地別にみても、フィリピン産では 10 頭中 6 頭、マレーシア産では 5 頭中 5 頭、インドネシア産では 5 頭中 4 頭から病原性虫が検出された。これらの分離株の zymodeme をみると zymodeme が 13 株、XIII が 1 株、X が 1 株で、いずれも非病原性に属するものであった(図 2)。また、病原性赤痢アメーバモ

ノクローナル抗体に対してはすべての株が陰性であった。

正常な育成カニクイザル(8～11 才)の、23 頭の調査ではその 12 頭(52%)から赤痢アメーバが検出された。分離株の zymodeme でもモノクローナル抗体に対する反応でもすべてが非病原性であった。さらに、下痢症を呈していたカニクイザルについても同様に調査したところ、5 頭中 2 頭から赤痢アメーバが検出されたが、これらも非病原性であった。

つぎに表 2 に、正常なミドリザルの調査成績を示した。野生由来ザル(ケニア産輸入後 12～14 年間飼育)では 10 頭中 7 頭(70%)、育成ザル(11～12 才)では 10 頭中 6 頭(60%)から赤痢アメーバが検出された。これらの赤痢アメーバの zymodeme は , , , ? , XV , XV , XV の 5 種であったが、すべて非病原性であった。また、モノクローナル抗体に対する反応もすべて陰性であった。

以上のように、当センターのカニクイザルとミドリザルでは、野生由来ザル、育成ザルとも高率に赤痢アメーバに感染していることがわかったが、これらのアメーバはすべて非病原性であった。

この結果から(1)長期間飼育中に病原性のものが排除される、(2)野生ザルには病原性赤痢アメーバの感染率が極めて低いという可能性が考えられる。今後、これらのことを踏まえて、検討を重ねて行きたい。

《症例報告》

カニクイザルのくる病

Rickets in cynomolgus monkeys

榎原一兵

くる病(骨軟化症)は骨の石灰化障害に基づく類骨の過剰形成を特徴とする一連の骨疾患である。サル類での報告例は少なく、飼育管理あるいは疾患モデルの開発という観点から興味ある症例である。

症例:当センター産、雌、3歳8ヶ月。

家系調査:異母兄弟13頭、異父兄弟2頭に発症例はない。

臨床経過:離乳後、約1年間体重の増減が少なく、その後、1才4ヶ月時を最高に減少し始めた。

化学的検査:著しい低リン(1.6mg/dl)、高アルカリフォスファターゼ(2832IU/l)値で、カルシウム(10.5mg/dl)及びその他の検査値はほぼ正常。

X線所見:大腿骨および肋骨の骨皮質は著しく薄く骨幹端が不規則である。また骨陰影の減少が観察される。大腿骨では骨幹端の盃状変形と横径の増大が認められる。

剖検所見:体格は矮? (頭尾長 29cm)、低体重、肋骨と肋骨軟骨の接合部に念珠の形成が見られ、胸郭の変形と胸椎の側弯が認められた。骨は著しく軟らかく、刀で切断される。

組織所見:肋骨と軟骨の接合部では軟骨柱状層がいちじるしく拡大し、その配列も乱れている。一部の軟骨柱は舌状にのびている。皮質骨や骨梁には類骨が面、量、幅ともに増加している。長管骨ではハーバス管周囲に多量に、また骨単位全体に類骨が観察されるところもある。石灰化前線は不明瞭である。骨梁

の部位によっては類骨縁は幅を増し、石灰化した骨の割合より多い。骨髓に繊維化像は無く、破骨細胞はみられない。また骨芽細胞は非活動性で偏平である。

以上の所見より本症例は出生後しばらくは正常に発育し2才ごろ発症したものと推察される。

くる病(骨軟化症)は活性型ビタミンDの低下、ビタミンD受容体の異状、カルシウムやリンの不足等、種々の原因によって発症することが知られている。当センターでの発症例について今後その発症原因を解明することが必要である。

なお、過去にも同様の矮? 個体が散発的に発症しており(コロニー全体の1%)、遺伝的原因と環境因子の複合した影響が本症の発病に関連していると思われる。

《臨床ノート》

カニクイザルの糖尿病

Diabetes mellitus in colony-bred cynomolgus monkeys

小野文子

長寿科学研究にとって糖尿病モデルの確立、解析とそれらを用いた治療研究は重要な課題と考えられます。その一方で、当センターの臨床においても、最も大きな問題となっているため今回のテーマとしました。

糖尿病はインシュリン依存性糖尿病(IDDM)もインシュリン非依存性糖尿病(NIDDM)も、共に現在は遺伝素因を背景として起こるものと考えられています。ヒトにお

いても IDDM と NIDDM との臨床的鑑別診断基準は糖尿病研究の進歩に伴い変化していますが、IDDM は免疫異常が関与していると考えられ、その特徴は 1)若年性、2)やせ型、3)ケトーシスになりやすいことがあげられます。一方 NIDDM では膵β細胞におけるグルコース受容体欠損、代謝異常、アミロイド沈着などによると考えられておりその特徴は 1)成人型、2)肥満、3)ケトーシスになりにくいなどです。これらのことから当センターのカニクイザルは NIDDM 型に近いと考えられます。

過去 2 年間に死亡したカニクイザルのうち、高血糖、肥満、もしくは過肥後の急激な消瘦、脂肪肝など既往症のあった症例は 8 頭、10 歳以上で死亡した動物の 26%を占めています。Fig.1 は 1 歳齢以上の育成カニクイザルの各年齢における空腹時血糖値を示しています。平均は雌 52.0mg/dl(S.D. 22.7)、雄 58.3mg/dl(S.D. 24.2)でした。明らかな高血糖を示している個体はいずれも 10 歳齢以上の個体で、このうち 5 頭について糖負荷試験(IV-GTT)を行ったところ K 値は 0.8 ± 0.56 と低い値を示し糖尿病と診断されました(正常コントロール 13 頭の平均 3.48 ± 1.35)。

Fig.2 にインシュリンの治療を行っている症例の経過を示しています。治療開始後 1 年を経過し、血糖値は高めに維持されていますがトリグリセライド(TG)値は低下し、体重増加など全身状態の改善が認められています。他の糖尿病個体でもグラフに示しますように肥満に続く急激な消瘦を認めそのまま死の転帰をとる場合も多く今後環境因子の改善や早期診断と予防措置について考えていく必要が

あると思われます。そのスクリーニングの第 1 の指標はやはり血糖値ですが、Fig.2 のシャドウで示している範囲(90mg/dl~150mg/dl)の個体における糖尿病の診断は血糖値のみではその特異性が低いため確定診断をつけることができません。また、糖尿病発生については遺伝性が考えられていることから過去の解剖結果、血糖値の著しく高い個体を糖尿病として家系調査を行っていますが、複雑な交配形式やその環境因子などで現在のところ明瞭な結果を得ていません。そのためにも、今後感受性と特異性の高い糖尿病診断基準を確立する必要があります。その 1 つは病態に関連して異常値を示すと考えられる血清中の TG やコレステロール値等とのコンビネーション、また現在吉田、成田らによりカニクイザルの脂肪量と体重の関係について研究が進められており、肥満を指標としての抽出などです。そして、新たな測定法として糖尿病に関して非常に感度の高いと考えられる血中 1,5 アンヒドログルシトールのカニクイザルへの導入について現在検討中です。

《研究手帳》

カニクイザルの眼底をみる

Opthalmoscopic observations of hereditary macula degeneration in cynomolgus monkeys
鈴木通弘

京大・霊長研の杉山幸丸さんが次の様な事をどこかに書いておられた。「研究の小さなチャンスは、その気になってせっせと歩いていると、犬も歩けば棒に当たる程度には巡り

会えることができる。しかし、その小さなチャンスを大きく広げられるか否かは、その人の力量にかかっている。」

今回のチャンスを大きく広げるのはこれからだ。

何故こんなに連続して同じ異常眼底所見が観察されるのか、私には理解できないでいた。

もしかしたら、これまでも同様の異常所見があったのに、見落としていたのかもしれない。眼底所見をしている私のところに、麻酔の影響で口からよだれを垂らしているサルがカゴに入れられて次から次へと来る。今日の検査は 50 頭だが、通し番号の 13 番からここまで、ほとんど連続して黄斑部に灰白色から黄白色の非常に細かい斑点が多数認められている(図 - 1)。こんなことは、これまでになかったし、一体全体、どうしたんだろう。

カニクイザルの遺伝性黄斑変性症は定期健康診断項目の一つとしている眼底検査によって、まず特定の血縁関係があるサルの間で見つけられた。

眼底検査を私たちはコロニーのサル類の眼疾患チェックとしてだけでなく、全身疾患への臨床検査のひとつとみなして取り入れてきた。カニクイザルの眼底検査を開始した当初は基礎的なデータのなかった私たちであったが、特定の血縁関係のある一群のサルで黄斑変性例を見つけた頃には、ある程度、カニクイザルの眼底に関する知識を持つに至っていた。すなわち、カニクイザルの 0~20 歳齢における眼底像は加齢に伴い眼底色調に著しい変化を示す。新生仔期から乳仔期における変化が特に著しい。自然分娩仔では網膜出

血が高率に認められ、帝王切開では低率である。出生時には硝子体動脈遺残が全観察例に認められるが、それは 3~6 週齢までに消失すること等である(本誌 Vol.10, No1 参照)。そして、さらに、繁殖・育成コロニーにおけるカニクイザルの異常眼底所見とその発現率等も明らかにすることができた。すなわち、私たちは、0 日齢から 20 歳齢のカニクイザル及び野生由来のカニクイザル総計 2,495 頭を対象として、コロニーにおける異常眼底所見とその発現率を明らかにしたのである。週に 50 頭前後を検査するペースをくずさずに、野生由来ザルでは 1,344 頭、育成ザルでは 1,151 頭を地道にコツコツと観察する仕事だった。そして、その結果、野生由来ザルにおいては実数 279 頭延べ 388 例の、育成ザルにおいては実数 219 頭延べ 238 例の異常所見を明らかにした。これらの内、育成ザル 238 例の異常所見の年齢分布を数えたところ、0 歳齢 42 例(39 頭/307 頭, 13%)、1 歳齢 52 例(47 例/269 頭, 17%)、2 歳齢 97 例(90 頭/351 頭, 26%)、3 歳齢 13 例(12 頭/77 頭, 16%)、4~5 歳齢 11 例(9/64 頭, 14%)、6~10 歳齢 16 例(15 頭/55 頭, 27%)、11~15 歳齢 6 例(6 頭/23 頭, 26%)、16~20 歳齢 1 例(1 頭/5 頭, 20%)であった。また、野生由来ザル 338 例の異常所見の飼育年数分布は、0 年 91 例(76 頭/549 頭, 14%)、1 年 31 例(27 頭/72 頭, 38%)、2 年 32 例(26 頭/79 頭, 33%)、3 年 55 例(45 頭/143 頭, 32%)、4 年 69 例(53 頭/288 頭, 18%)、5 年 29 例(27 頭/129 頭, 21%)、6~7 年 17 例(15 頭/59 頭, 25%)、8~10 年 6 例(4 頭/11 頭, 36%)、11~15 年 8 例(6 頭/14 頭, 43%)であった。

各異常所見別に示すと、**小円板症**:円板径は標準像に比し約 1/2 倍で、育成 3 例、野生由来 5 例の両側性にみられた。**円板拡張**:円板径は標準像に比し約 2 倍であった。育成 4 例、野生由来 6 例の両側性にみられた。**有髄神経線維形成**:育成 16 例、野生由来 2 例において両側性に認められた。**動脈蛇行**:育成 87 例、野生由来 77 例、両側性で当該部の血管は一部において切断されたような所見を呈した。**静脈蛇行**:育成 1 例、野生由来 4 例において両側性にみられた。**動・静脈の蛇行**:育成 2 例で両側性に認められた。**動静脈交叉**:育成 2 例、野生由来 5 例において両側性に認められた。**銅線化動脈**:育成 20 例、野生由来 19 例に両側性に観察された。これらには銅線状から銀線状を示す個体もあった。**動脈吻合**:育成及び野生由来の各々 1 例の、片側眼に認められた。同時に試みた蛍光眼底撮影により吻合は一層明瞭に記録された。**静脈血管新生**:育成及び野生由来の各々 1 例の片側眼においてみられ、半年後の観察においても変化を示さなかった。発見時実施した蛍光眼底撮影において、血管からの色素漏出は記録されなかった。**硝子体動脈遺残**:育成 1 例の左眼に、円板から水晶体に走行する硝子体動脈が認められた。直ちに試みた蛍光眼底撮影において本遺残脈管内への血液の流入が確認された。**動脈の栓塞**:野生由来 2 例の片側眼にみられた。併せて実施した蛍光眼底撮影において本動脈血管内にも血液の流入が認められた。**網膜色素変性**:育成 1 例、野生由来 20 例において観察された。**黄斑変性**:育成 8 例、野生由来 59 例において両側性に観察された。**非中心性網膜変性**:育成 82

例、野生由来 120 例において両側性に認められた。**網脈絡膜欠損**:野生由来 2 例の片側眼にみられた。蛍光眼底撮影において当該部は暗調であった。**網膜出血**:育成 9 例、野生由来 15 例に記録された。このうち、1 例は撮影時 14 日齢であり、観察中に出血を認めた。この出血は全観察例中でもっとも著しいものの一つであったが、無処置で放置し、約 2 時間後の観察の結果、自然消失を確認した。その他の出血例は 1 から 2 ケ所で線状、軽度のもののみであった(表 1)。

サル類の飼育・繁殖コロニーにおける異常眼底所見の報告は、すでにチンパンジー、マンドリル、アカゲザル、ミドリザル、マーモセット類、タマリン類等に関してなされていた。それらの諸報告(いずれの観察例数は少ない)における異常所見の発現率は 1~10%の範囲にあるのに比し、我々のカニクイザルの調査では育成 19%、野生由来 21%と相当に高い率を示し、異常所見は 17 種に分類された。この差の原因の一つとして考えられることは、各報告者の標準所見が相互に異なる点であろう。年齢の明確な比較的小数のアカゲザルやミドリザルを用いてのこの種の観察は既に行われているが、年齢別に異常所見の発現率を明示した報告は未だなかった。私達のカニクイザルでの観察結果に関する限り、年齢と異常所見発現率との間にはとくに明確な関係は認められなかった。今後、高齢群の観察例が増した時点でこの関係について明確な結論が得られるものと期待される。

上のような観察結果を得て、しばらくしてから、冒頭に記した、黄斑変性を示す一群の

カニクイザルを発見した。原因はなんであろうか。何らかの感染であろうか。それならば、他の個体にももっと同様の異常所見がみられるはずだ。栄養学的な問題が原因しているとしても、TPC で与えられている餌は毎日おなじだ。青果としてリンゴとミカン、そしてサル用の固形飼料だし、環境条件も一定ときている。加齢に伴うものか。しかし、発現している個体の年齢は1歳齢から4歳齢である。よく判らない。動物室から出て調べてみると、これらの個体は父親が同じ兄弟、もしくは異母兄弟であることが判った。そこで、別の日にこの仔ザル達の父親と母親の眼底を観察してみた。父親には仔ザルたちと比べて程度は軽いけれども、ほとんど同じ変性所見を観察することが出来た。一方、母親の5頭の眼底は正常であった(図2)。どうしてだろう。ヒトの眼底アトラスを調べてみると、高齢者に観察される眼底所見の形態がこのカニクイザルの黄斑変性所見と類似している。しかし、カニクイザルでは1歳齢で既に発症している個体もいる。遺伝性の可能性もあるけれども……。しかし、父親とその仔ザルの大半に発現しているからと言ってもそこまで言い切るのは未だ無理だ。家族性に見られた異常眼底所見ということであろうか。

当時、サル類での遺伝性疾患モデルの開発は望まれてはいたけれど、マウスやラットのように行かないと言われていた。事実、サル類でこれまでに報告されている遺伝性の疾患はクロザルでの糖尿病の例しか見られない。それすら、家族性に発症を確認しているものであった。実験動物関係の仕事をしている友

人達は、遺伝性の疾患を持つ動物を維持していた。ある人は多指症や欠指症のラットを、ある人は糖尿病のマウスを、そして別の人は行動異常のマウスを持っていた。いや、それどころか、私の友人以外のもっと多くの人が小型実験動物での疾患モデルを確保し、保持し、そして、その動物を使用して研究を進めていた。サル類で遺伝性の疾患モデルを確立し、そのサルを使用して研究を進めることは無理なことなのだろうか。たまたま見つけた、家族性の黄斑変性例のうち、黄斑部に変性を有しているF1雄ザルと、その兄弟ではあるけれども眼底は正常なF1雄ザルを用いて交配実験を行ってみようと考えた。サルの性成熟は雌で3~4歳齢、雄では5~6歳齢までかかる。人間に比べればかなり早いかもしれないけれども、マウス、ラットやウサギ、イヌに比べたらかなりの時間を必要とする気の長い実験が始まった。ましてや、TPCの育成ザルたちは、雄ザルであれば交尾をしない個体や、雌ザルであれば雄の交尾を受け入れなかったり、仔ザルを生んでも仔を抱かなかったりする個体が結構いる。だから、性成熟には達したとしても妊娠してくれるだろうか?と心配した。しかし、“案ずるよりも産むが易”だった。雄ザル達は上手に交尾をし、雌ザルは多くの仔を作り、そして上手に抱いた。運が良かったのだろうか。いや、手前みそと言われるかもしれないが、飼育を担当しているスタッフの地道な努力の成果だと思う。その後F2仔ザル達の眼底を観察した所、実に、予想どうりの結果を私たちは手に入れる事ができた。黄斑変性所見の眼底を示すF1雄ザルの仔

ザル F2 には、やはり同様の眼底異常が観察され、眼底が正常だった F1 雄ザルの F2 仔ザルには全く眼底の異常を観察することができなかったのである。マウス、ラットであればさらに遺伝様式を確認するための実験が求められるが、カニクイザルでそこまでやるとしたら、さらに 10 年位の年月を必要とする。ともあれ、私達は遺伝性の眼底異常の疾患を持ったカニクイザルを手に入れることができたのである。

現在、私達は上述した遺伝性の黄斑変性症についての解析に多くの時間を費やしている。そして、その中で、病理組織学的には網膜色素上皮層と脈絡膜 Bruch 膜との間に無定形沈着物のあることや、生化学的には網膜のアルブミン値が高値を示すことや銅の濃度が低い事実をつきとめた。さらに、別の家系の眼球の網膜からカタラーゼが欠損している個体を見つけ、この研究に益々力が入ってきている。いずれはこれらの欠陥を生ずる遺伝子を見出すことにも務めたい。

カニクイザルで明らかになりつつある遺伝性黄斑変性症の解明はいましばらくの時間を必要とするであろう。しかし、その過程で私達が手に入れることはヒトの眼科領域の診断・治療・予防に大きく貢献するであろう。私達の夢は希望となり、希望は現実となって私達の前に姿を表した。

さあ、仕事をしよう。

《動物モデル》

- 免疫系の老化モデル -

Immune functions in aged monkeys

寺尾恵治

SF - 不老不死遺伝子:

「やっと終わった。コイから不老不死遺伝子を取りだす仕事を始めてもう 10 年が経ってしまった。ここにある 2 つの遺伝子は最後まで何をコードしている遺伝子か判らなかったものだ。このどちらかが、21 世紀始めに制定された長寿法で、長寿村という収容所に隔離されている老人達に復活のチャンスを与えてくれる長寿遺伝子に違いない。あとはこれをマウスに導入して最後の確認をすればいいだけだ。人里離れた古びた研究所の一室で、エス博士は白濁した溶液の入った 2 本の試験管を握りしめながらつぶやいた。魚類に不老不死遺伝子が存在している可能性は以前から推測されていたが、本気で不老不死遺伝子を抽出しようとした試みはなかった。今ここに、多くの先人達が探し続けてきた不老不死遺伝子が現実の物として手元にあった。これからの仕事は早かった。すでに 80 歳を超えていると思われるエス博士は、まるで熱病に冒されてでもいるように夢中で 2 つの遺伝子をマウスに遺伝子導入していった。

それから数ヶ月、コイの遺伝子を持つ 2 種類のトランスジェニックマウスが誕生した。一つの遺伝子を導入されたマウスは無毛の皮膚に錦の紋様を持ち、水に触れると口をパクパク開けて尻尾を左右にゆっくりと振る行動を見せた。が、残念ながらこのマウスは体外受精は可能だったが子宮内で胎仔が発育せず、子孫を得ることが出来なかった。一方、もう一つの遺伝子を導入されたマウスといえば、

外見は通常のマウスとまったく同じでありながら、なんと5歳齢になっても旺盛な繁殖能力を示した。マウスの寿命はとくに尽きている年齢である。エス博士の興奮は極に達していた。あの秦の始皇帝を始めとして多くの権力者が夢にみた不老不死の遺伝子をついに手にいれたのだ。この発見がいかに賞賛と尊敬をもって迎えられるか、またどれほどの財産をもたらすものか。いやいやそれ以上に、彼自身にこの遺伝子を導入することができたならば——。使いきれないほどの金と、永遠の命を何に使おうか——。不死身となった彼自身の将来に想いをはしらせている博士の傍らで、すでに50産目の出産を迎えようとしているマウスが独り言をもらした。「ああ、何ということをしてくれたのだ。この先何百年も生きて、数百世代後の子孫と交配させられるなんて真っ平ごめんだ。それに、今の生物の多様性は子孫を残して消滅するといったライフサイクルが繰り返されたこそこの遺産ではないか。私の子孫ばかりが死滅することなく増え続けていったら、あの輝かしいマウスの歴史が消滅してしまう。おい、早いとこ首でも締めて楽にしてくれないか」

Successful aging, Usual Aging, Diseaserelated Aging (老化の多様性):

高齢化社会の到来を目前にして、このところ長寿科学研究が花盛りといった感がある。しかしながら、加齢が生理的現象であるが故に、長寿研究では単一の疾患を対象としてその発症機序や治療法を開発してゆくといった従来の方法論が適用しにくいという特徴があ

る。先のSFのような寿命を規定している遺伝子の検索といった研究では長寿遺伝子の探索といった明確な目的が存在する。しかし、多くの老化研究の場合、解析対象とする老化現象は老化に伴って出現する様々な生理的、病理的变化の総合的な表現型であり、単一の目標を設定することが不可能な場合が多い。老化に伴う複合的機能低下を一刀両断に切っ捨てだけの切れ味の良い刀を我々は未だ手にしていない。前号のTPC newsで、一昨年末国で開かれたサル類をモデルとした老化研究シンポジウム参加報告を書いたが、そのなかで、ヒトの老化が成功老化(Successful)、通常老化(Usual)、病的老化(Disease-related)の3つにわけられることを紹介した。我々は、サルをモデルとした長寿(老化)研究の目的を「平穏で健やかな老後を迎えるということは具体的にどういうことなのか?そこに至るには、老化過程で何がポイントになるのか?」という点に置いて、モデル開発を行おうとしている。この観点からすれば、先の3つのカテゴリーのうち、いかにして病的老化(Disease-related, Impaired-aging)を減少させるか。逆に言えば、これら病的老化を引き起こす要因(遺伝要因、環境要因)は何かを明らかにすることが目的となる。すなわち、病的(異常)老化の発生を防止するための予防措置を確立することである。一方で、病的老化を判断するためにはどうしても通常老化や成功老化の実態 - 加齢に伴う様々な生理的变化をあらかじめ把握しておく必要がある。ここではヒトの老化過程で生じる様々な変化のうち、特に免疫系の加齢変化を解明するモデルとしてのサル類の有用性に

関し私どもの最近の研究成果を紹介したい。

老齡ザルでは免疫機能の複合的機能低下が生じる：

加齢に伴う免疫系の機能低下は、宿主の感染感受性を増加させる。また、腫瘍細胞などの悪性因子の発生を摘発排除する免疫監視機能も加齢に伴って低下する。すなわち、老化に伴う免疫系の機能低下は寿命に関わる要因の一つと考えられる。事実、老年期には感染症罹患率および悪性腫瘍の発生率が急激に増加するとともに、予後はきわめて悪いことが知られている。さらに、百歳以上の高齢者の免疫機能は予想以上に高く、長寿者は長期にわたり高レベルの免疫機能を維持できる特異集団(Successful aging)であるとの見方もある。免疫機能に限らず老化に伴う機能変化には著しい個体差が存在するという事実である。

性成熟の前後で成体レベルに達した免疫系は、壮年期を通じてほぼ一定のレベルを維持するものの、加齢とともに徐々に「緩やかな機能低下」とよばれる老化の影響がおよんでくる。前述したように、免疫機能の加齢変化が特定の免疫疾患と著しく異なっている点は、個体差の増大と免疫機能の複合的機能低下が生じることである。我々の調査でも、20歳以上の老齡カニクイザルでは、免疫系を構成する細胞群のほとんどの機能が変化している。例えば、老齡ザルでは溶血補体価の低下、T細胞機能の低下、NK活性の低下など多様な免疫機能の変化が同時に生じてくる。また、その個体差も大きい。(表1)

老齡ザルでは外来抗原特異的な抗体産生能が低下する一方で自己抗体産生能が昂進する：

老化に伴う免疫機能の変化で最も特徴的で、興味深いものは、免疫グロブリン(抗体)産生能の変化である。図1は0歳から15歳以上のカニクイザルで、ABO型血液型に関わる抗A抗体価と血清中の2種類の免疫グロブリン(IgGおよびIgM)量の加齢変化を模式的に示したものである。実線で示す抗A抗体価は4~5歳齢をピークにして以後低下しはじめ、15歳以上の個体ではピーク時の70%前後の値まで低下する。一方、破線で示すIgGおよびIgM抗体レベルは6~9歳齢でピークに達し以後は変化(低下)しない。血液型に関わる抗A、抗B抗体は自然抗体と呼ばれているが、腸内細菌などABO抗原と共通の抗原を持つ因子の抗原刺激により産成された外来抗原に特異な抗体と考えられている。図1に示す抗A抗体レベルの低下は、老化に伴い体内に侵入してくる様々な外来性感染微生物に対する抗体産生能力が低下すること示唆しており、老人では免疫応答に依存している感染抵抗性が低下していると結論できる。一方で血清中に存在する免疫グロブリンは様々な外来抗原に対して産成された特異抗体の総和と見なすことができる。とすれば、20歳以上の老齡ザルでは特異抗体の産生能が低下しているので、その総和である血清中の免疫グロブリン量も低下しているはずである。ところが、図1の結果では免疫グロブリンレベルは老齡ザルでも低下していない。これは何を意味しているのだろうか?単純に考えれば20歳以上の老齡ザル

では外来抗原に特異的な抗体産生能が低下している一方で、外来抗原以外の抗原に対する抗体産生能が昂進している可能性が考えられる。外来抗原以外の抗原として考えられるのは自己抗原である。すなわち、老齡ザルでは自己抗原に対する自己抗体産生能が昂進していることが予想される。

そこで次に、自己抗体として代表的な単鎖 (Single stranded) DNA (ssDNA)に対する抗核抗体と抗リン脂質抗体のレベルを老齡ザルと5~7 歳齡の壮年ザルとで比較してみた。図2は、老齡ザル、壮年ザルそれぞれ34頭について、ssDNA とリン脂質の一つカルジオリピン (CL)に対する抗体価を調査した結果を示したものである。図に示すように、ssDNA に対する抗核抗体価は老齡ザルでは抗体陽性個体の数およびレベルのいずれも壮年ザルに比べて高いことがわかる。先に予想したように、老齡ザルでは自己抗体産生能が昂進していると判断できる。ところが、CL に対する抗体価では老齡ザルでは壮年ザルに比べて抗体陽性個体の数、レベルとも高いが、壮年ザルとの差は抗 ssDNA 抗体に比べると顕著でない。壮年ザルのなかにも高い抗体価を示す個体が比較的多く存在し、そのレベルも高いようである。抗 CL 抗体の産成は老齡ザルに特徴的なものではないのではないのか？

老齡ザルでは壮年ザルとは異なった自己抗体が産成されている：

ヒトの代表的な自己免疫疾患である全身性ループスエリテマトーデス (SLE) の患者で

は、高レベルの抗核抗体や抗リン脂質抗体が検出されるとともに、これらの抗体の一部は通常の免疫グロブリンと異なり、酸性域に等電点をもつプラスにチャージした抗体であることが報告されている。そこで先の問題を整理するために、老齡ザルと壮年ザルとの血清中に出現する自己抗体の等電点を調べてみた。驚いたことに、図3に示すように同じ自己抗体でも老齡ザルと壮年ザルとでは性状が異なり、老齡ザルではpH5.5~6.0の酸性域に等電点をもつ抗体とpH7以上の等電点を持つ抗体との2種類の自己抗体が検出された。本来免疫系は自己以外の抗原に対して反応するようにプログラムされているものであるから、自己抗体は抗体産成細胞であるBリンパ球になんらかの異常が生じた場合に産成される。この場合、少なくとも2つのプログラムミスが生じている可能性が考えられる。ひとつは禁止クローンである自己反応Bリンパ球の活性化であり、他の一つはBリンパ球での抗体合成過程の異常である。図3の結果から、壮年ザルでは自己反応Bリンパ球の活性化だけが生じているが、老齡ザルではSLE患者と同様に自己反応Bリンパ球の活性化と抗体合成過程の異常という2つの異常が生じていると考えられる。老化に伴う抗体合成過程の異常によりプラスにチャージした自己抗体が産成されており、これらの抗体は自己抗原と反応するだけでなく、チャージにより自己細胞成分と非特異的に反応する危険性が高い。事実、抗リン脂質抗体と動脈硬化症などの疾患との関連性が注目されており、老齡ザルで出現する自己抗体が老化に伴う種々の血管・循環器

障害の発症と関連する可能性がある。今後は、老齡ザル B リンパ球での 2 つのプログラムミスの機構を明らかにするとともに、チャージの異常な抗体の実態とその血管上皮細胞への影響を解明してゆく必要がある。

以上、最近得られた成績を中心として老齡ザルの免疫機能を紹介した。個体差の増大と複合的機能変化を特徴とする老化現象の解析における動物モデルを考える場合、第 1 に寿命の長い動物種であること、第 2 に遺伝的および環境要因を考慮しつつ個体レベルでの解析を進めることが可能な動物種であることが重要な条件となってくる。この点からみれば、ヒトの 80 年にわたる“緩やかな機能低下”を的確にシミュレートできる動物種はサル類以外には見あたらない。困難ではあるが、団塊の世代に属する筆者としては「明日はわが身」の切迫した研究課題となりつつある。

冒頭の SF は昨年「先祖還り遺伝子」で有名な大野晋博士の講演で、『コイの不老不死遺伝子がクローニングされ、この遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスは 3 歳齢でなお繁殖能力を示したことが報告された』という話を聞いて思いついた。その後、オリジナル論文を探したところ、その論文は確かに昨年の Nature, Vol: 362, 411 に掲載されていた。すばらしくインパクトのある興味深い論文であるが、残念な(?) ことに発刊日は April 1st, 1993 であった。

《研究紹介》

乳腺上皮細胞の増殖および分化の調節機構細胞培養法の開発ならびにその応用

Control mechanism for growth and differentiation of mouse mammary epithelial cells in serum-free collagen-gel culture

金澤卓弥

私は、平成 5 年 4 月からエイズ予防財団のリサーチ・レジデントとして当筑波霊長類センターに派遣され、サル類をモデル動物としてエイズ関連の基礎研究をおこなっております。ここでは、自己紹介代わりに以前私が行った研究を紹介したいと思います。

はじめに

乳腺は、哺乳類にのみ存在する分泌器官であり、授乳によって新生子を養うという哺乳類特有の育児様式を成立させるために必須の役割を担う器官である。さらに、人類にとって乳腺は特別な価値を持ち、乳腺の持つ特異な機能を生活に採り入れてきた。古くから諸外国では家畜の乳汁は飲料として広く好まれており、またさまざまなタイプの乳製品が加工されている。日本でも、古代には酥や醍醐と呼ばれる乳加工食品が記録に残っており、現代では乳産物は人々の食生活にすっかり定着している。また最近では、乳腺の持つ高い蛋白質合成能力に着目し、外来遺伝子を導入して目的蛋白質を大量生産することも試みられている。さらに、ヒトをはじめイヌなどの愛玩動物では、乳腺は癌を発生しやすい器官の一つであり、医学・獣医学の上でも関わりが深い。

乳腺特有の機能を産業に利用したり、あるいは医学・獣医学上の問題を解決するために

は、乳腺の器官形成および機能発現がどのような機序で起こるかを知らなければならない。私は、主に細胞培養系を用いて、マウス乳腺上皮細胞の増殖および分化の調節機構の解明に取り組んできた。乳腺の研究の歴史は長く、さまざまな角度から検討されているが、ここでは、主に私が直接携わった分野を中心に方法論を交えて若干の解説を試みたい。

乳腺の組織構造および形態形成

解剖学的に乳腺は汗腺と同様、皮膚に直接開口する皮膚の付属腺として分類される。その細胞構築をみると、上皮細胞が管状の腺構造を形成し、その周囲を間質細胞が埋めている。乳腺上皮の発生は、胎生期に開始し、その原基は、雌雄ともに腹側表皮の一部から発生する。しかし、雌雄間ではその後の発達過程が大きく異なり、雄では出生後それ以上発育しないが、雌では年令と生殖系の状態と連動して構造および機能が変化する。殊に妊娠期は、最も劇的な変化の認められる時期である。

すなわち、妊娠前の乳腺では上皮細胞が形成する細管構造は恰も歯の落ちた樹枝状を呈するが(図 1A を参照)、妊娠中活発に分裂増殖する結果、樹枝状構造は細かく枝分かれし、さらに先端部はぶどうの房状に膨れる。また、分娩後直ちに授乳を行うために、乳腺上皮細胞は乳汁を合成・分泌する細胞へ分化することが必要であるが、分娩前は乳汁を分泌しないのである。これまでのところ、乳腺上皮細胞の増殖・分化を調節する機序について不明

な点が多く残されている。

乳腺上皮細胞の増殖および分化の内分泌学的調節

乳腺の活性化は、妊娠の成立によって乳腺以外の器官にもたらされる変化が引き金となって誘導される。その引き金の実体は、ホルモンと総称される因子群と考えられている。ホルモンは、その産生部位である内分泌器官から放出され血流を介して標的器官に運ばれることによって刺激情報を伝達することを特徴とする。動物個体を用いた実験から、これまでにいくつかのホルモンが乳腺を刺激することが示されてきた。そのなかには、下垂体前葉から分泌される成長ホルモン、プロラクチン、卵巣から分泌されるエストロゲン、プロゲステロン、副腎皮質から分泌される糖質コルチコイド、鉱質コルチコイド、および胎盤から分泌される胎盤性ラクトゲンなどが含まれる。これらのホルモンによる複雑な調節機構によって、妊娠中、乳腺上皮細胞は活発に増殖を行うが、乳汁の分泌は抑制されている。

コラーゲンゲルを用いた初代乳腺上皮細胞の培養

上記のホルモンが乳腺上皮の活動に影響をすることは、例えばこれらの内分泌器官を切除すると乳腺上皮の発育が阻害され、その阻害がこれらのホルモンを投与することにより回復することから、明らかであるが、そのホルモンが直接乳腺に作用するかどうか不明である。また上記のホルモン以外にも乳腺刺激

作用を持つホルモンの存在や細胞成長因子の関与も考えられるが、動物個体を用いた実験では、これらを証明することは難しい。そこで、乳腺から上皮細胞のみを単離しこれを培養する方法の確立が試みられた。これまで、細胞を直接培養皿の上に蒔き、血清を添加した培養液で培養する培養法、すなわち単層培養法が広く用いられてきた。しかし単層培養法は、この培養系に適応させた樹立細胞や中胚葉由来の細胞を培養することは比較的容易であるが、新鮮乳腺組織から単離した初代乳腺上皮細胞を培養するために適した方法とは言い難い。なぜなら、初代乳腺上皮細胞を単離培養すると培養開始後 1, 2 回は細胞分裂を行うものの、以後は培養液中の栄養物質、刺激因子の存在にかかわらず分裂増殖を停止し、しかも細胞は多核化してしまう。この現象は、細胞の分裂・増殖にとってこの培養環境は適当でないことを示している。ところで、乳腺内で上皮細胞は基底膜などの細胞外基質に包まれて 3 次元的構造をとっている。この事実を考慮に入れ、細胞外基質の主成分であるコラーゲンを培養基質として用いた新しい培養法が開発された。すなわち、コラーゲン培養法である。この培養系は、細胞をコラーゲンゲル中に浮遊し、細胞は増殖して 3 次元的形態形成を行うため形態形成の研究にも適している(図 1B を参照)。コラーゲンゲル培養法の導入によって、初代乳腺上皮細胞を長期間培養し、実質的な細胞増殖を引き起こすことが可能となった。また、コラーゲン培養系は、乳腺上皮細胞の分化を誘導するのに適していることが確かめられている

(図 2 を参照)。この培養系を用いれば、ホルモンの増殖促進効果を誘導できるのではないかと期待されたが、結果は期待に叶えるものではなかった。その原因として、ホルモンは直接乳腺上皮細胞を刺激しないこと、あるいは元々血清中にホルモンが含まれるために後から添加したホルモンの効果がマスクされてしまうこと、の 2 つの可能性が考えられた。そこで未知の因子を含む血清を添加する代わりに、細胞の活性を維持するために必要な既知の物質、すなわち、血清アルブミン、脂肪酸、トランスフェリン、ビタミン E、大豆トリプシンインヒビターを添加した無血清培養液を用いた。

初代乳腺上皮細胞の増殖および形態形成の調節

この無血清培養液に各種ホルモン、細胞成長因子を加えて、初代乳腺培養上皮細胞の増殖およびカゼイン合成を調べた。その結果をまとめたものを表 1 に示す。調べたホルモンのなかで、プロラクチン(Prl)、プロゲステロン(P)、活性型ビタミン D₃(VD₃)に細胞増殖促進効果が認められ、細胞数の増加と共に 3 次元的形態形成が刺激された。興味深いことに、これらホルモンによる増殖刺激は、ホルモン単独では認められず、インスリン(Ins.)あるいは 1 型インスリン様成長因子(IGF-1)や表皮成長因子(EGF)と共に添加したときのみ認められた。一方、インスリン、EGF、IGF-1 も単独では細胞数を維持するに留まり、細胞数を増加させるためにはこれらの因子同志およびホルモンによる協力を必要とした。また、細

胞の DNA 合成に対する作用は、インスリン、IGF-1、EGF と、プロラクチン、プロゲステロン、活性型ビタミン D₃ との間には相異点が認められた。すなわち、前者は、それぞれ単独で DNA 合成を刺激することができる。後者は、単独で DNA 合成を刺激することができないが、前者による DNA 合成刺激作用を増強する。つまり、これらの実験結果から、乳腺上皮細胞の増殖は、少なくとも 2 つの異なる作用機序を持つ因子群によって調節されることが明らかとなった。さらに形態形成に対する影響をみると、細管状構造の形成を誘導する因子や結節状の増殖を誘導する因子などに分かれることが判明した。これらの結果から、それぞれの因子は、単に乳腺上皮細胞の数を増加させる作用を持つばかりではなく、乳腺固有の腺構造の形成に深く関与することが考えられる。

初代乳腺上皮細胞によるカゼイン合成の調節

乳汁分泌の調節機構を明らかにするために、マウスの乳汁を集め、その中の主要成分であるカゼインに対する抗体を作製し、マウスカゼインを検出するウエスタンブロット法を開発した。この方法を用いて、無血清培養した乳腺上皮細胞のカゼイン合成を調べたところ、少なくとも 3 種類のホルモン、すなわち、プロラクチン、糖質コルチコイド(F)、インスリンを必要とすることが確かめられた。さらに、活性型ビタミン D₃、IGF-1 は増大作用を持つが、プロゲステロン、EGF は逆に抑制作用を持つことが明かとなった(表 1 を参照)。プロゲステロン、EGF は細胞増殖には促進的だが、

細胞分化には抑制的というわけである。この作用機作は、妊娠中の乳汁分泌抑制機構を説明するのに都合がよい。なぜなら、妊娠中は、卵巣の黄体によってプロゲステロンレベルが高く維持されている。また、乳腺上皮細胞の EGF に対する感受性も妊娠中には高くなっている。そのために、細胞は乳汁分泌を行なうことなく増殖を続けることができると考えられるからである。妊娠末期には、黄体機能の低下に伴い、プロゲステロンレベルが低下する。そこで分娩の誘発とともに乳汁分泌の抑制が解除され、乳汁分泌が開始し、新生子に授乳することが可能となるのである。

おわりに

上で述べたように、ホルモン・細胞成長因子は、直接乳腺上皮細胞に作用し、その増殖と分化を調節する。その他、ここでは割愛したが、乳腺の間質細胞の役割も無視できるものではない。実際、私は、間質細胞と上皮細胞を一つの培養皿の中で培養する新しい培養法を開発し、間質細胞が、上皮細胞の増殖に重要な役割を演じることを発見した。

現在、エイズウイルス感染後免疫系の機能不全が、どのような機構によって誘導されるかを解明すべく、サル類をモデル動物に用いて研究を行っている。研究を達成するためには、まず免疫系器官、特に 2 次免疫応答の場と考えられるリンパ節を構成する種々の細胞がそれぞれどのような機能を担い、それらの細胞がどのように相互作用して正常な機能を営むかを理解することが、必要である。そこで、これまで乳腺の細胞培養系の開発を通じ

て培った，細胞を扱う哲学・技術が，サル類の免疫系細胞の機能の調節機構を研究する上で大いに役立つものと確信する。

《飼育の現場》

聴性脳幹反応を利用したカニクイザルの聴覚検査

Audio test in cynomolgus monkeys using auditory brainstem response (ABR)

成田勇人

人生 80 年という高齢社会を迎えた今日の頃「老化現象」という言葉をよく耳にします。その一つに聴覚機能が若いときと比較して低下する現象があります。そこで、このことは霊長類にも言えることと思ひ、脳誘発電位検査である聴性脳幹反応 (Auditory Brainstem Response) 以下 ABR を用いて、若齢、壮年、高齢、各群のカニクイザルの加齢に伴う聴覚機能の変化について調査を開始しました。

調査対象動物は、年齢の明かな育成ザルで、若齢群として 5 歳齢のもの 8 頭、調査した耳の数(片耳を 1 耳とした)13 耳、壮年群として 9 歳から 10 歳齢のもの 5 頭で 10 耳、高齢群として 22 歳から 27 歳齢のもの 6 頭で 11 耳、合計 19 頭の 34 耳を調査しました(表 1)。

検査時には動物に麻酔処置を施しました。麻酔薬は、塩酸ケタミン(商品名:ケタラール 50, 三共株式会社)とキシラジン(商品名:セラクタール, パイエルジャパン株式会社)の混合液(2:1)を用い、0.3ml/Kg の割合で筋肉内注射しました。検査の所要時間は 1 耳、約 60 分で

した。

測定に際しては、まわりの雑音の影響を受けない様、広さ 3 メートル×2 メートルの小さな部屋を利用し、そこに大きさ 1 メートル角のシールドボックスを設置し、その中に動物を腹位保定しました。電極の取付位置は、導出電極を頭頂に、基準電極を耳翼、設置電極を鼻下、そして両耳にヘッドホンを装着しました。

クリック刺激音圧を 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 0dB と 10dB ずつ低下させ、片耳ずつ刺激し、それぞれの刺激音圧での I から V 波の各反応波の変化を観察・記録しました。

検査条件は、増幅器の感度が 10 μ V/DIV, 高域フィルタが 3KHz, 低域フィルタが 50Hz, 解析時間は 10ms, 加算回数は 2000 回, 刺激の頻度は 10Hz, 種類はクリック, 極性は交互, 幅は 0.1ms に設定しました。

90dB ~ 0dB での反応を調査した結果をまとめますと、若齢群では、40dB まで 13 耳全例で反応が認められましたが、30dB では 7 耳しか反応が認められず、20dB では全例反応が認められなくなりました。壮年群でも、40dB まで 10 耳全例で反応が認められましたが、30dB では 6 耳しか反応が認められず、20dB では全例反応が認められなくなりました。一方、高齢群では、50dB まで 11 耳全例で反応が認められましたが、40dB ですでに 6 耳しか反応が認められず、30dB で 2 耳、20dB では全例反応が認められなくなりました。

すなわち、若齢群、及び壮年群は 40dB まで全例で反応が確認できましたが、高齢群では

40dB においてすでに反応のない個体が認められ、聴覚機能に差が認められました。

同一個体で左右両耳を調査した 15 頭については、7 頭が左右の耳で同じ刺激音圧の反応が認められました。残りの 8 頭は左右の耳で刺激音圧に差が認められ、7 頭ではその差が 10dB でした。なお 1 頭は、左右耳間で 20dB の差がありました。この個体は 22 歳齢の高齢個体でした。

ABR では、刺激音圧を与えた場合、I から V 波までの波がそれぞれ出現するまでの時間、すなわち潜時を測定することが出来ます。ところで、60 歳以上の人において、I～V 波の潜時が延長すると言われております。そこで、カニクイザルにおいても高齢、壮年、若齢群で I から V 波の潜時に差があるか否かを調べてみました。

70dB 刺激時における I～V 波の潜時の平均値をそれぞれの年齢群で比較して見ますと、高齢群の I から V 波の潜時は若齢群に比べて有意に延長しておりました。

また、壮年群に比べましても I から IV 波の潜時に有意に延長していることが明らかとなりました。

今回調査した 22 歳～27 歳齢の高齢カニクイザルは、若齢、及び壮年群と比べて低い刺激音圧で反応を示さない個体が認められること、さらに I から V 波の潜時に有意な延長がみられるなど、聴覚機能に障害が出ていることが明らかとなりました。

《協会事業》

ウイルス受託検査を始めるにあたって

The Corporation for Production and Research of Laboratory Primates starts virus tests

予防衛生協会検査班 成田豊子

我が国においては、医学・生物学研究のための実験動物として、年間、約 3,500 頭のサル類(カニクイザル、アカゲザル、リスザル、マーモセットなど)が輸入されており、その数は年々増加傾向にあると言われています。この輸入サル類は、原産国の野生状態から捕獲された、いわゆる野生由来サルともう 1 つは、現地で人工的に繁殖・育成されたものです。そしていずれの場合にもこれら輸入サル類には各種の病原体(ウイルス・細菌・寄生虫等)が自然感染していることが多く私どものこれまでの検疫時検査でも、多くの感染例を検出しています。

サル類に感染している病原体は、大別するヒトと共通する人畜共通伝染病の原因となるものと、サル間のみで伝播するサル特有の病原体に分類されます。前者の病原体は霊長類を取扱う研究者の安全性の確保のために、また後者は実験動物としての霊長類を用いた各々の試験・研究結果の精度を保つためにそれぞれ目的に合った十分な検査が必須であると考えています。

社団法人・予防衛生協会は実験用霊長類に関する公衆衛生上の問題の解決をめざしておりますが、この度、国立予防衛生研究所支所・筑波医学実験用霊長類センター(以下 TPC)に対する従来からの支援委託事業と併せて、新事業として習得した技術を生かして、医学・生物学研究に関する霊長類について受託検査事

業を開始致しました。

特にウイルス検査部門では、ラボラトリー
アニマルヘルスサービス部門で実績のあるア
メリカ、メリーランド州の
MICROBIOLOGICAL ASSOCIATES INC(以下
MA 社)とのライセンス契約を結び、日本国内
では現在取扱っていない、レベル4の病原体
に分類されるウイルスの不活化抗原の入手が
可能になり、抗体検査ができるようになりました。

MA 社が国外ということと数回に亙るライ
センスの内容の検討及び契約の手続き等など
なかなか思う様に事が進まず1年間という長
い準備期間が経過してしまいました。一日も
早くこの受託検査を待ち望んでいるユーザー
の方々には御迷惑をかけた事を強く反省して
います。そしてMA社の窓口になって下さっ
た、開発部長 W. ALAN MOOR 氏の好意的な
協力を深く感謝しております。

この様な経過のもとで我々はウイルスの受
託検査を開始するにあたりどのウイルスの検
査を行う事が、無駄がなくかつ有効であるか
を、ヒトそして霊長類の立場で検討を重ねて
参りました。その結果最終的には、6つのウ
イルスを選択しましたので、その概要を簡単
に示してみました。

1.B ウイルス

マカカ属サルでは通常は潜伏感染を起こす。
しかし何らかの原因で潜伏ウイルスが活性化
し、全身症状を呈して死亡する事もある。

ヒトが本ウイルスに感染し発病すると脳・
脊髄炎症状を呈し死亡する事が多い事等から

サル及びサル由来材料を扱う者の安全のため
にもサル類のBウイルスに対する抗体の有無
を検査する事は必要である。

2.サルフィロウイルス

(サルエボラ様ウイルス)

輸入カニクイザルでの流行が米国及びイタ
リアで1989年から1992年にかけて発生し非
常に高い死亡率が報告されている。

ヒトのエボラウイルスと抗原性は酷似して
いるが、ヒトへの病原性はないと考えられて
いる。日本国内にこのウイルスを持ち込まな
いための予防策として検査が必須である。

3.サル免疫不全ウイルス(SIV)

サルエイズウイルスの原因ウイルスで実験
感染によりヒトのAIDSに類似した疾病を起
す。ヒトへの感染の報告はあるが、現在のと
ころ発病した報告はない。

4.サルレトロウイルス(SRV/D)

米国の霊長類センターで自然発症したサル
エイズ様疾患の99%はSRV/Dによるものであ
り、SIVよりも死亡率が高い。

5.麻疹ウイルス

サル類は本ウイルスに高い感受性を示す。
新世界ザルでは旧世界ザルよりも発病率・死
亡率ともに高い。また、野生サルに本ウイル
スは感染していないことから、捕獲後のサル
のウイルス汚染の指標ともなる。

6.サル水痘様ウイルス

サル類での感染力・致死率の非常に高いウイルスである。コロニーの集団感染の予防及び実験途中での再活性化の指標として本ウイルスの抗体検査は必須と考えられる。

またこの他に私どもは実際の検査に加え実験用霊長類に関する情報の国内外からの収集も行ない、感染症サーベランス情報として有効利用したいと考えています。更に、ユーザーに対しての検査結果に関する相談及び霊長類に関するあらゆる指導等もこの事業の中で考えております。

今回の受託検査をスタートさせた事は予防衛生協会及び協会職員の新たな一歩であると痛感し、設立から15年経った今日、皆様のお役に立てる協会として新鮮な感覚で歩き出したいと思います。

そして大切な実験動物を通して今後の医・薬・生物学領域の御発展を祈念しております。

追記

医学実験用動物の委託・検疫・実験動物管理委託(人材派遣)の新規事業も開始致しました。

詳細については、当協会にお問い合わせ下さい。

《学会報告》

第11回霊長類エイズ動物モデルシンポジウムに参加して

Report on “The 11th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models For AIDS”

吉川泰弘

9月20日(月曜日)“エイズシンポジウム”について(その1)

シンポジウム第1日目は、ノーベル賞授賞者で、レトロウイルスの大家でありウイスコンシン大出身者のH.テミン博士に対するデディケーションから始まった。最初のゲストスピーカーは、R. ガロ博士(NCI)であった。例によってやや早口ではあるが、切れの良い口調で、エイズ研究の全範囲に亘って、問題点の指摘と研究の戦略を紹介した。主な話題は、

1)ワクチン開発。HIV2のワクチンを例にとって、ワクチニア組換え体、サルモネラ(ネズミチフス菌)をベクターとした組換えワクチンの効果と免疫の持続について話した。いずれもウイルス中和抗体を上げるよりも細胞性免疫を上げることが重要であることを強調していた。

2)HHV7がエイズウイルスと同様にCD4細胞を標的としている。in vitroではCD4細胞にHHV7が感染すると、エイズウイルスの感染を阻止する。これはHHV7もHIVもCD4がレセプターになっているからである。現在エイズ患者でHHV7がHHV6のようにネガティブ因子として働いている証拠はないので、HHV7を使ってCD4の修飾(ダウンレギュレーションを含めて)を行い、エイズウイルスに対抗する方策を提案した。しかし、HHV7はヘルペスウイルスであり、持続感染するウイルスなので、新治療法とするのはそれ程単純ではないと思われる。

3)感染後の治療法として、ハイドロキシウレ

アでウイルスの増殖を下げる方法、アンチセンスの使用、遺伝子治療の可能性について述べた。また、HIVの感染では非感染T細胞の機能が下がることが問題であるので、low doseの免疫で細胞性免疫を特異的に誘導する方法、免疫修飾(免疫賦活)の方法などを考える必要がある。

4)カボシ肉腫は、血管内皮細胞が活性化された免疫細胞から出るインターロイキン(IL)により増殖し、紡錘細胞化したもので、カボシ肉腫の細胞株がヌードマウスに移植出来たトピックスなどを紹介した。

午前中のセッションは、ウイルスの伝播に関するものであった。エイズウイルスの伝播が性行為感染によるものであることを意識した研究が主で、経膣粘膜感染、直腸粘膜を介してウイルスが伝播するモデル、垂直感染モデル、HIV2をブタオザルに順化した研究などが紹介された。

直腸からウイルスを感染させると、静脈内にウイルスを接種した場合とくらべて、ウイルス血症、免疫反応、臨床症状など、いろいろな点で異なり、全体に軽い傾向がある。分離されるウイルスも in vivo, in vitro とともに病原性が弱い。特に low dose で直腸感染させた場合にはウイルス血症を起こさず、こうした個体は high dose のウイルスチャレンジに対して抵抗性を示す。LTR の変異をマーカーに調べると、粘膜感染時に、ウイルスが選択される可能性があるようである。これについては、経粘膜時に選択圧がかかる、腸管関連リンパ組織(GALT)に親和性をもったウイルスがいる。低病原性のもののみ粘膜から侵入出来る

などの仮説が述べられた。垂直感染に関しては、母体の状態(免疫不全状態か?自然分娩か帝王切開か?胎盤の発達度、凝固因子の減少など)が、垂直感染率に大きな影響を与えていること、また垂直感染例で母体と胎仔のウイルスを比較すると、一般に母体のウイルスの方が変異が著しく(8 - 12%)胎仔には特定のクローンが垂直感染する可能性(変異率2%)が示唆された。

さらに、胎盤由来の融合栄養細胞 syncytiotrophic 細胞)を使った in vitro の実験で SIV が増殖すること、しかし in vitro で aging した細胞では、増殖しない。これは、培養によって胎盤細胞が分化するか、ホルモンレセプターや栄養因子に対する感受性が変化してしまうためであろうと考えていた。なおこの細胞では CD4 の発現は検出限界以下である。ヒトでは融合栄養細胞で少量の CD4 の mRNA が発現しているという報告がある。

午前中のセッションで特に目を引いたのは、シアトルのグループが HIV2 をブタオザルに順化した仕事である。HIV2 EHO 株を 89 年 7 月に 2 頭のブタオザルに接種した実験からスタートし、その後 3 代継代している。CD4 の減少と、ウイルス血症をマーカーにして継代していくと、容易に順化できる。3 代目のシードウイルスを 1 TCID₅₀ 接種した場合、CD4 は 4 週で減少し、ウイルス血症は 2 週で起っている。また 10⁵TCID₅₀ 接種すると、わずか 2 週で CD4 が著しく減少を始めている。現在順化ウイルスの遺伝子解析を進めている。この結果をみる限り、HIV2 に関してはキメラウイルス(HIV/SIVキメラ)を用いなくても、単に

順化するだけで、サルで感染・発症する HIV2 を得ることが出来そうである。ブタオザルはやはり HIV, SIV に対する感受性が群を抜いて良いようである。予研でも早期にブタオザルの導入を実現すべきである。予算的な問題があるなら、実験・研究レベルでも導入する必要があると思われる。この他に、in vivo で、SIV の 2 重感染が起こるか否かを、SIVE1 15 に持続感染している個体に、SIVmac239 を再接種して調べていた。急性期の症状は示さないが再接種後、抗 239 抗体が上昇すること、SIVmac239 が分離されることから、in vivo で 2 重感染が起こることが明らかになった。

午後は、ワクチンに関するセッションであった。

不活化ワクチン、low dose(感染量以下という表現を用いていた)の感染、組換えワクチニアウイルス、BCG ベクター、コンポーネントリボゾーム、弱毒生ワクチン(静脈内、腔内接種など)の研究が報告された。

不活化ワクチンの例が最も多く報告されていた。不活化ワクチンでは、再接種した時ヒトリリンパ球で増殖した SIV は防御出来るが、サルのリンパ球で増殖した SIV では防御出来なかったという例、感染は阻止出来ないが、発病は遅らせることが出来た例が述べられた。いずれにせよ、不活化ワクチンだけでは不十分で、感染を阻止するには、組換えワクチン、コンポーネントワクチンなどとの組合せが必要のようである。

Low dose の感染では、直腸(アカゲ)あるいは経膣(チンパンジーで行っていた)感染させた場合、抗体上昇陰性、ウイルス分離陰性で

あるが、細胞性免疫を主体とする免疫が成立しており、高濃度のウイルスあるいは感染細胞で再接種しても防御出来る場合(アカゲ)と、出来ない場合(チンプ)が報告された。安定した結果を得るためには、より詳細な実験が必要となるだろう。現時点では、不活化ワクチン>組換えワクチン(ワクチニアベクター、BCG ベクターなど)>コンポーネントワクチンの順で、感染防御あるいは免疫誘導が強いという傾向が出ている。この他に、今年のトピックとしては、Nef 遺伝子を欠損させた、弱毒生ワクチンに関する報告が出て来た。詳細は 2 日目に、NERPRC のドロシア博士が行ったが、1 日目は、この弱毒ウイルスを経膣的にワクチンとして使うと免疫後、細胞性免疫も抗体も上げることができた。その後静脈と経膣的に強毒ウイルスでチャレンジしたところ、静脈接種に対しては防御出来たが、経膣感染に対しては防御出来なかったことが報告された。

ワクチン以外では、急性期の反応や脳順化 SIVmac239 の脳炎誘発能や細胞指向性に関する一般的な研究が発表された。ディナーの後、夜 8 時から 10 時までポスターセッションがあった。

9 月 21 日(火曜日)

朝方、冷たい雨が振り、風が北風になって急に冷えこんでしまった。暑かった東京にくらべると晩秋や初冬のような感じである。

今日のセッションは発病メカニズムで、午前中が宿主側からみた発病因子、午後がウイルス側からみた発病病理というように区別されていた。

午前中のセッションのハイライトは、何と
いってもニューイングランド霊長類センター
のドロシア博士の Nef 遺伝子欠損弱毒生ワク
チンに関する発表であった。最初は Nef 遺伝
子の働きを明らかにするためにクローン化ウ
イルス SIVmac239 の Nef 遺伝子を欠損させた
ウイルスを作り、その生物学的特徴を調べる
予定であった。出来たウイルスは *in vitro* の培
養で、その増殖性も、感染性も特に親株と変
化がなかったが、*in vivo* に感染すると、病原
性が全くみられなかった(CD4 細胞の減少や、
p24 の抗原血症などが起こらなかった)。2.5
年後に high dose の SIVmac251 あるいは
SIVmac239 でチャレンジしたところ、これを
防御したので、ワクチンとしての可能性を検
討しはじめた。

非常に沢山の試みをしていたが、ここでは
紹介されたいくつかを述べる。感染後の治療
を考えて、SIV 感染サルに大量の Nef 欠損ウ
イルスを接種したが、SAIDS を発症して死亡
してしまった。すなわち、期待した治療効果
はみられなかった。Nef 欠損と同じ戦略で
NRE、Vif、Vpr、Vpx あるいはこれらの欠損
の組合せウイルスを作成し、そのワクチン効
果を調べつつある。3 遺伝子欠損ウイルス(
Nef、NRE、Vpr)では、ウイルス接種後 20
週以後にならないと、感染防御効果の出ない
ような弱毒株になってしまう。また HIV-1
の 3 遺伝子欠損株(Vpr、Nef、NRE)を用
いて、チンパンジーで実験を始めている。
in vitro では、ヒトの PBMC、チンプの PBMC
でよく増殖することが明らかになっている。
この発表に対して、ワクチンの交差反応性に

関する質問、レトロウイルス弱毒生ワクチン
の安全性に関するもの、完全防御という言葉
の定義に関するもの、ワクチン効果を担って
いる免疫応答に関するものなどいろいろな質
問がなされ活発な討論が行われた。

午前中の発表で、他に興味を引いたものは、
SIV 感染後のリンパ節の変化に関するもので
ある。昨年は感染初期の変化に限られていた
が、今年は全感染経過を追ったもの、リンパ
節でのウイルスゲノム分布、定量などきめ細
かな研究がなされていた。これらの発表を要
約すると、感染初期ウイルス抗原は傍皮質あ
るいは包膜下の皮質にみられる。この時の抗
原陽性細胞は主としてマクロファージである
(ウイルス接種後 1 週間前後)。その後、抗原陽
性細胞は胚中心に特異的に集中する。この時
のウイルス保有細胞は FDC である(2 - 3 週後)。
ここまではどの個体でも、あまりバラツキは
ないが、この後、個体別に、また同一個体で
もリンパ節ごとに大きな差が出て来ることが
明らかになった。

強いて、全体の変化を統一的に述べると、
傍皮質領域での抗原陽性細胞の数はその後
徐々に減少していく。他方、胚中心のウイル
ス RNA 量は、減少してなくなるもの、一時的
に減少して増加に転じるもの、増加したまま
のものなどに別れる。

こうした時期の胚中心には、CD8 陽性細胞
が、数個づつクラスターを作って侵入する傾
向があり、これと関連する形で FDC の変性が
起こり、胚中心が萎縮して行くようである。
ウイルス RNA の性格を調べるためにセンス、
アンチセンス配列をプローブにして調べると、

ウイルス RNA はアンチセンス配列としかハイブリダイズしないことから、これらのリンパ節中のウイルス核酸はプロウイルスではなく、増殖型のウイルス RNA であると結論していた。リンパ節以外では胸腺、骨髄からもウイルス RNA が検出されるが、急性期を過ぎて陰性になる個体もある。抗体の上昇しない劇症型や AIDS 期には、胸腺、骨髄でも大量のウイルス RNA が検出される。

この他に、V β 7、V β 14 に対して、SIVsmm がスーパー抗原として働くこと、しかし SIVmac251 では、感染個体の PBMC に特に V β の発現変化がみられず、SIV がスーパー抗原として働き、アポトーシス、CD4 細胞の低下という道順の考え方は成立しないと報告していた。また MHC に拘束されない γ δ T 細胞が、SIV 感染では PBMC 中特に増加しないが、in vitro で IL2 存在下で培養すると、1~5% あったものが、20~25% というように、急激に増加することを報告していた。ただしこの生物学的意味は不明である。

前から問題にされていたことであるが、不活化ワクチンで免疫すると、ウイルス抗原以外に MHC 抗原(HLA - DR など)が入って来て、これに対する抗体が出来る。この系では、1)MHC が偶然巻き込まれるのか、ウイルス粒子に取り込まれるのかという問題と、2)こうした細胞抗原に対する抗体があると、チャレンジに対して防御が成立するという問題があり、今後のより詳細な研究が必要であるテーマである(3 日目も議論されていた)。なお午後の演題で、HLA - DR の他に β 2 ミクログロブリンなどがウイルス粒子に結合しており、こ

れらの抗体は、ウイルス中和活性があるという報告がなされた。午後のセッションで注目された発表は、アフリカミドリザル由来 SIVagm が、病原性を持っていたという発表と、児玉君の脳親和性ウイルスの指向性を決めている遺伝子に関する発表であった。

SIVagm に関する発表は 2 題あった。その内の 1 つは、4 種のアフリカミドリザルから分離されたウイルスがそれぞれ異っており、特に LTR 部分は、nFkB 相同部分が 1 個のものと、2 回繰り返しているもの、SP1 部分に余分な繰返しが入っているもの、TAR 遺伝子の重複があるものなど、様々に変化している。LTR 部分でみると HIV - 2ROD にもっとも 3 次元構造が似ている株は SIVagmSab384 株である。さらに、Gag 遺伝子部分のホモロジーを調べてみると、5'側と 3'側で、系統樹が異なることになってしまう。その結果 SIVagmSab384 株は、自然界で起ったモザイク(キメラ)ウイルスであろうと結論していた。

またミドリザルから分離された SIVagm9063 は、自然感染したミドリザル由来(SIVagm90)株をブタオザル継代(PT63)したものであるが、ブタオザルに接種すると CD4 の減少、抗原血症を起こし、やがて脳炎、AIDS を発症させる。同じウイルスをアカゲザル、ミドリザルに接種しても、CD4 の減少や抗原血症、AIDS は誘発されない。この点からみると、ブタオザルは、HIV のみならず、SIVagm に関しても非常に感受性が高いといえる。SIVagm が病原性を有することが明らかになったことから、このウイルスの病原性遺伝子に関する研究は、宿主因子の重要性が無視出

来なくなったので、より複雑にならざるを得ないだろう。

児玉君の発表は昨年の続きで、mac239の神経順化株の神経親和性を決定している遺伝子を決める仕事を精力的に進めており、興味深い成績を得ていた。要約すると、リンパ球で増殖するか、神経細胞で増殖するかに最も本質的に関連する遺伝子はgp120である(genetic determinantと呼んでいた)。しかしgp120を入れかえただけでは、SIVmac239は神経親和株(NT株)程の増殖性はなく、他に遺伝子が必要である(enhancing site)。これに対応する部分がgp41+Nef+V3である。この部分を更に細かく分けていくと、V3部分は期待と異なり、増殖にほとんど影響しない。gp41はNT株由来部分の遺伝子にすると、mac239親株のリンパ球での増殖性が低下してしまうが、逆にmac239株由来の遺伝子であっても、NT株が神経親和性を維持するには影響しないという、リンパ球と神経系細胞に対する一方的関係になる。ある種のパラミキソウイルスがリンパ球では増殖が悪く、肺のマクロファージなどで増殖出来る場合、細胞側の特定のプロテアーゼ活性がリンパ球では特異的に異なっていることが知られているので、NT株(マクロファージでよく増殖する)のgp41の変異が、この種のものに関連するかどうか、蛋白の開裂と融合活性の面から調べてみたかどうかと言っていた。

さて話を戻すと、実際に神経親和性をenhanceしていた遺伝子はNefであった。現在までNefの生物学的機能は全く知られていないので、このウイルスを用いることにより初

めて、Nefの生物学的意味が明らかになるかもしれない。Nef蛋白は核には移行しないので、核内調節因子ではなく、細胞質内で、他の蛋白と関連してウイルスの増殖性に影響を与えているはずである。

またNT株を脳内に接種すると、行動異常と脳萎縮を起こすらしい。再現性があれば、筑波と共同研究をしようということになった。

この他の午後のセッションでは、HIV-1をブタオザルに接種し、順化する試みがなされていた。in vitroでは、ブタオザル以外にアカゲザル、カニクイザルのリンパ球でもHIV-1は増殖するが、ブタオのリンパ球は、明らかに感受性が高い。in vivoの継代では、1代目に1匹だけが9ヶ月でもウイルス分離が可能であり、他の3匹は10週以内でウイルス分離は出来なくなった(リンパ節のPCRではウイルスゲノム陽性)。現在ブタオで継代中とのことであった。またHSP(熱ショック蛋白)とレンチウイルスの抗原の交差反応性、SIVの組織中でのウイルスの変異の違い(末梢血、脳では変異が少なく、脾やリンパ節では変異が多い傾向がある)をSSCPでチェックした仕事などが発表された。

9月22日(水曜日)

シンポジウム3日間は午前中で終りであった。久しぶりに青空が見え、大学キャンパスに一体となっている湖の表面も穏やかであった。自然に恵まれた佇まいは、思索や、教育・研究をする者にとって、何が必要であるかを示唆しているように思えた。

本日のテーマは、日和見感染とそのコント

ロールということであったが、特に興味を引く演題なく 2 日間で取扱えなかったものを、まとめた感じであった。ワシントン大のエド・クラーク博士が例によって、複雑すぎる細胞相互作用の分子図を紹介した。特に、今年は末梢血の樹状細胞(DC)が、in vitro での休止期 T 細胞内の SIV 増殖に必須であることを示していた。この DC は、CD3、CD8、CD14、CD16、CD20 が陰性で、CD40 が陽性であり、SIV 増殖に必要な細胞間分子(DC と T 細胞との相互作用分子)は、CD54、B7/BB1 であることを in vitro 実験で明らかにしていた。

他に、NIAID のグループから、エイズに伴って結核が増加していること、多剤耐性の結核菌が優勢になりつつあること、旧来の結核に比べて、劇症型結核(感染後数ヶ月の経過で死亡する)が出現していることを指摘していた。またエイズの治療薬として、AZT と PMEA(環状プリンヌクレオチド誘導体)の組み合わせが有効であることが紹介された。

最後に UC デービスのガードナー博士が、例の攻撃的早口で、エイズの受動免疫による治療法に関する批判をしていた。これまでの報告では、HIV チンブの系で、V3 ループに対する抗体あるいはモノクローナル抗体が有効であるという報告が 5 例、サルでの不活化 SIV で誘導した抗体が感染防御に有効な例が 5 例、無効が 2 例などとなっている。ガードナーが免疫血清で効果を調べたところほとんど効かない例、あるいは逆に早期に AIDS を起こしてしまう例が出て来てしまった。全体に、不活化抗原で免疫した動物の抗体は有効であるが、感染動物から得た抗体は無効になること、

ウイルスに対する高い中和抗体があっても必ずしも有効でないことが示された。彼の実験は常に自分のデータを大切に、事実を積み上げてくれるだけに説得力がある。今回は受動免疫の複雑さを強調していた。質疑応答の中では、前述した不活化ウイルスワクチンの際に混入する細胞分子に対する免疫応答が、防御に効果的である点について議論が活発であった。

プライメートトーク(Primate-Talk)だより

From the Primate-Talk

問い:「プライメート トーク」ってなんのことですか？

答え:アメリカ・ウィスコンシン霊長類センターが行っている、パソコン通信の E メールを使って情報を交換する世界に開かれた霊長類関係フォーラムの名前です。

TPC では、1992 年吉川センター長が代表者として加入して会員(Primate-Talker)になりました。大変に活発なフォーラムで、大体週に 2 回アクセスしていますが、霊長類関係の会議や学会予定表を始めごく個人的なメールのやりとりまでかなりの量の情報が送られて来ます。

「TPC NEWS」今月号から、それらの情報をいくつかをピックアップして要約したものを「プライメート トーク便り」としてお届けします。

1. Dr.スーザン スミス,オレゴン霊長類センターの新所長に指名される

Dr.スーザン スミスが、オレゴン霊長類センターの新所長に指名された。Dr.スーザンは、脳の研究や女性の健康問題のリーダーでピッツバーグ医科大学の生理学教室の教授です。

「生殖、ウイルス感染、脳の発達・障害の解明に、センターがより貢献できるようにと、いうことを踏まえて、センターの皆さんと一致団結して研究を続けるつもりです。」と博士は言っています。(1993年10月16日 出典:Oregon Regional Primate Center Newsletter 18(10) October 1993)

2.第17回アメリカ霊長類学会のお知らせ

第17回アメリカ霊長類学会(17th Meeting of the American Society of Primatologists)が、ワシントン霊長類研究センターとワシントン大学心理学部によって1994年7月27日 - 31日にわたって、シアトルの美しいワシントン大学キャンパスで開かれます。

また、この学会と合わせて動物行動学会も年次総会を同じワシントン大学で7月23日 - 28日にかけておこないます。(1992年11月22日 From: Larry Jacobsen WRPRC-1j/rh Printed Registration Materials より)

3.輸入サル類における結核症

1990年6月 - 1993年5月 - 米国

この報告書は米国に輸入されたサル類における結核症の調査成績および輸入サル類とこれらのサル類に接した人達の結核症の診断と防御に関する勧告について述べている。

CDC(米国疾病管理センター)は、当センターの特別許可のもとに1990年6月から1993年5月までの間に249回にわたって輸入された22,913頭のサル類(カニクイザル 20,580頭,アカゲザル 1,621頭,アフリカミドリザル 712頭)における結核菌感染状況を調査した。結核症の診断はツベルクリン反応や剖検時にみられた肉芽腫病変からの結核菌の分離、病理組織学的検査によった。全体的にみると、結核症と診断されたものは22,913頭のうち90頭(0.4%:カニクイザル 81頭,アカゲザル 9頭)であり、249回の輸入のうちの17回(7%)であった。これら17回中16回はカニクイザルの輸入であった。また、これら16回の輸入における感染率は0.8 - 80%で、平均3%であった。カニクイザルの結核菌感染率は原産国により異なり、モーリシャス産が2%(76頭/3,967頭),インドネシア産が0.04%(3/7,703),フィリピン産が0.02%(2/8,910)であった。また、感染カニクイザル81頭中76頭(94%)はモーリシャス産であった。モーリシャスからのカニクイザルの輸入では、16回中11回(69%)に感染ザルがみられた。これら11回の輸入のうち8回は1991年8月から1992年2月までのものであった。1992年5月からモーリシャスの輸出業者によって結核症の調査および根絶の努力がなされた。感染ザル90頭中69頭の多く(77%)は31日間の検疫終了後にはじめて結核症と診断された。あるサル施設の従業員が感染ザルに接した後、ツベルクリン反応が陽性となったが、結核症とはならなかった。

検疫期間中におけるサル類のツベルクリン

反応試験のための暫定ガイドライン

すべての輸入サル類に対しては検疫期間中に少なくとも 2 週間隔で、最低 3 回、ツベルクリン反応試験を行わねばならない。陽性あるいは擬陽性例がみられた輸入群のすべてのサルに対してはさらに検疫を続け、最後の陽性例を淘汰後、少なくとも 5 回ツベルクリン反応試験を受けなければならない等々・・・以下省略。(1993 年 7 月 30 日, From: Ken Borchert CDC MMWR, Vol.42, No.29, 1993 より抜粋)

霊長類センターフォーラムだより

From the TPC's Primate Forum

手探りで始めた霊長類フォーラムも半年以上たち、会員数は 50 名を越えました。現状と問題点を話し合う為に、フォーラム運営会議が 1 月 18 日、TPC で開かれました。今回は、フォーラム開始当初からいろいろ協力していただいている、エーザイ㈱の井田 聡氏にも会議に参加していただき、貴重なご意見を聞く事ができました。

そして、その翌日フォーラムを開いてみると次のようなメッセージが届いていました。

フォーラム会議に出席して

井田 聡

本日はお疲れさまでした。余計なことを、いろいろしゃべって、会議を長引かせてしまったと反省しています。しかし、どこかで、方向を修正しなければ、PRIMATE FORUM も

廃れてしまう、といった危惧を感じていました。

年末年始の休みには、少しは新たな方々がメッセージを寄せるかと思って、静かに、いや、サボっていましたが、ほとんど無かったのには、ちょっとショックでした。FORUM の運営は、やはり大変なんだなと感じています。けれども、ボランティアばかりでは何の価値もありませんから、如何に多くの人々が、ネットの中で遊べるか、楽しめるか、そして価値あるものになれるかが問われているように思います。

この多様化している社会の中では、その価値も一律では無いでしょう。SYSOP とて、アクセスしてくる人々に、同じ価値を植え付けることはできません。多様さを容認しながら、各々がネットの中を浮遊するのをサポートしなければならないことは、まともにもつかず、結構しんどいかもしれません。

データベースは価値を一律化するので、私情も入らず、冷淡に扱えますが、電子会議は、私情が入りやすく、トラブルは尽きません。FACE TO FACE の会議ですら、色々な根回しが必要とされるのに、ましてや、ニュアンスが掴み難い文章のやりとりでは、誤解が生じるのも当然です。世界が協調を必要としている時代に、会話しづらいシステムで会話を続けることは、大変貴重な体験でもあります。実験動物に対する様々な方面の方々の思いこみも、会話の乏しい誤解や、情報の不足、あるいは噂情報の過多から来ているようにも思います。

たくさんの情報が蔓延っているのに、我々

は真実に飢えているのです。そして実体験が乏しいのです。巨大化した社会構造のすべてを、自らの短い人生の中で経験することなど、不可能なことは誰でも解っているのですが、民主的な社会の名の下に、「あなたは、どう思いますか?」「これこれは、どうしたら良いのでしょうか?」と、判断が求められています。

そんな時の相談相手が、ネットの中にはたくさんいます。別に、判断してほしいと思っている訳ではありません。ただ、思考を巡らす相手を務めてもらえばよいのです。そうして、社会の人々が、独り善がりの考えからくる行動でなく、なんとなく同調し、なんとなく連携して、結果として、協調的な社会が形成されていくのではないかなと思っています。ちょっと小耳に挟んだ情報や、何とは無しに聞こえてくる他人の事情、それらが、我々の採ってしまった行動に、プラスアルファをもたらすのだと思います。最終的な意志決定の勘みたいなのは、そんな無用の用から生まれるのではないのでしょうか。

この複雑化した社会に、厳格なあるいは真実の、または類似希な、そんなもの誰が判断できると言うのでしょうか。例え、それが正しかったとしても、それはいつまで続くのですか? 行動は、本人がするとしても、みんなと一緒に考えてみよう。それがネットワークの真髓のような気がしています。それぞれの方が、何をしてくすのか。私にも解りませんが、社会は、そうした協調、あるいは同調を必要としています。厳格な手続きで縛られ過ぎた、古い社会構造の殻を脱ぎ捨て、新たな社会を築くためには、それぞれの方の同調が必要で

す。

正しいものが判ってから行動するのではなく、判らないなりに、各方面の人々が緩やかに同調すること、それが協調ある新たな社会を築く近道だと思っています。ネットは、それを導く担い手です。キリストが宗教を作っているわけではありません。神を信ずる者たちが組織を築いているのです。そして、明日を信ずる者たちは、同調を求めネットにアクセスしてきます。その繋ぎ手が、ネットを運営する者たちの役割かもしれません。

今の、急速に進歩し、急転している社会では、組織構造すら、無用の長物、社会協調の足を引っ張る根元ともなっています。ネットワーク活動は、そんな組織とは異なり、緩やかな連携を通じて、個人個人の行動や活動を支えていきます。

明日のことは判りませんが、少なくとも、今は価値ある存在に成り得るネットワーク活動のミッションとして、皆さまの活動を期待しています。

(本日の感想文でした)IDA (PAG01415)