

《巻頭随想》

あゆみ

Message from the chief director of the
Corporation for Production and Research
of Laboratory Primates (CPRLP)

社団法人 予防衛生協会

理事長 松浦十四郎

‘光陰矢の如し’とはよく言ったもの、私共の協会が発足し、はや16年余が経過しました。正式名称は、社団法人 予防衛生協会(昭和53年3月30日厚生省収衛第95)でその設立趣旨である、『医学・生物学の動物実験とくにサル類を活用しての基礎医学分野での実験は欠くことのできない貴重なものとして広汎に活用されている。一方、種々な要因により野生サルは急激に減少してきており、国際自然保護連盟の提唱により野生サル類の輸出入規制の国際条約が政府に勧告され、今後はサル類の輸入は困難な見通しになるようなので国においては、ワクチンの国家検定用・各種薬事試験用等として必要な処から野生サルを輸入し、我国で繁殖・育成するいわゆる自給自足体制が検討され、ここ筑波に医学実験用霊長類センターを設立、その業務の一部を協会が受託し国の研究業務に貢献するとともに業務を通じて取得したサル類についての知識・技術を広く社会に供給することにより広く各界の予防衛生に関する研究業務の向上に寄与しようとするものであります。』を目標とし、試行錯誤を繰り返しながら国家検定用生産コロニーとして、現在1700頭余のサルを室内飼育しております。

さいわい、国の指導と技術者自身のたゆまざる努力により飼育部門では職員全員が実験動物技師一級或いは二級の資格を取得し、獣医師と共に野生サルの輸入検疫・育成健康管理・繁殖育成・データー解析に活躍しています。とくに、筑波で生まれたサルについては個々の管理記録を出生時からコンピューター管理のもとに保存し、後日の実験時に有効に活用しています。

一方、検査部門においても技術者が履修した経験をいかし、一体となって霊長類の新しい検査手技の開発を国の指導のもと研鑽し、細菌・寄生虫・原虫・ウイルス等霊長類特異感染症検査記録を作成し、さきの成長記録と共に霊長類情報として活用しております。

また、最近は自分達の技術習得も一段落した処から社会に役立つ新しい仕事をと皆で検討してみた結果、これまでアメリカに検査を依頼してきた各種特異病原体検査を日本国内で出来るようにしようと考えました。例えばBウイルス検査の場合を見ても検査に必要なウイルス抗原の調整にはバイオハザードクラス4の施設が必要な処から国内では生産体制が組めず、日本のサルの使用者は必要な都度アメリカに検査依頼をしてきました。

そこで、アメリカの Microbiological Associates 社(MA社)と、どうしたらわが国内で検査が出来るかを相談した処、当協会の提案に興味を示して呉れ、また、当協会の設立趣旨と目的をも十分に理解して頂くことができ、ここに日本の検査機関として当該法人が認められ種々の条件が付されはしたがライセンス契約を結ぶ事ができました。

もとより、当該協会は認可法人であるところから、事業活動上まさに設立趣旨を逸脱せずに予防衛生の向上に役立つには、サル類が有する特異疾病の伝播の防止と研究者の安全と健康を守る仕事こそが相応しいのではと、早速に受託検査体制を組み皆様と共に歩むべく、社団法人の組織として賛助会員の入会をお願いいたしましたところ快くご入会を賜わり厚く御礼を申し上げます。これからは一層奮励努力し霊長類情報を或いは検査技術講習会を持つなどして少しでも会員にお手伝いし還元できる体制をと努力して参りたいと考え、さきに、「検査のしおり」「受託検査のしおり」等を送付いたしました処であります。

当然の事ながら、サル類が保有する病原体を予め把握する事により、サル類の管理方法や研究試験の使用目的を選択する事ができます。もしこれらの諸検査を無視した場合には実験中の動物に加えられる実験処理による抵抗力の減少が原因となり、内在するウイルス・その他の病原体を再活性化させる事も十分に考えられ、実験関係者の安全を保つ上に大きな問題が生じます。

いずれにせよ一つの目的を完成させるには、ある期間と経費、研究者等の労力が必要ですので、実験目的にあった動物の活用は正確な実験結果を得るためにも研究者の安全を守るためにも、あるいは、経済的な危険を回避することが出来る大切な事柄ではないでしょうか。私も行政に関係して職業上多少の知識は有している積もりでしたが、こうして新しい業務と取り組んでみますと未知な部分や未解決な問題が多く、なにかひとつでも社会に、

皆さまに還元できたならばと念じております。

私ども TPC で繁殖し飼育しているサルは、野生を F0 代目とするならば、既に 5 代目を数え各種ウイルス感染もなくなっており、実験動物としてのすぐれた適性を有しているとのデータが得られている処から、国家検定目的以外の目的にも有効利用を公私を問わず活用を計るべく調整を進めております。特に、老齢ザル・高脂血症ザル・糖尿病ザル等の疾病が診断をされたサルは貴重な疾患モデル資源になると考えます。すでに、一部には共同研究として、サル類エイズ感染実験にも取り組んで成果を挙げているなどしており、また、長寿社会を迎えた今日、長寿研究モデルとしてもセンターが保有する老齢ザルのさらなる活用が望まれており、共同利用研究センター構想も検討すべき時を迎えてきております。発足以来つねにたゆまざる努力を積み重ねてまいりました。さらなるご指導と、貴重な自然の資源である霊長類等を大切にすべく、研究者との共生をお願いいたし巻頭の挨拶いたします。

サル類の胚・卵子・精子・血清の保存方法 およびモニタリング技術開発等に関する研究 プロジェクト(略名:RRB 霊長類班)発足

発生工学的手法を用いた、サル類生殖細胞の操作技術の開発研究を行うための研究班が発足した。

サル類はヒトにきわめて類似している実験動物であり、疾患モデルの開発とサル類由来の研究資源のモニタリング、保存、維持システムを確立することは、厚生科学の主要な課

題である。その実現化のためには、発生工学的手法を用いた基盤技術の開発と確立が必須となる。本研究班では、厚生科学研究に用いられるサル類を対象とし、卵子、精子などの採取とその体外操作技術の開発を試み、また、研究資源の保存および保存材料のモニタリング技術の確立を目指す。さらに胚移植などによる産児作出までの安定した技術確立することを目的としている。以下の項目についての検討を予定している。

1) 過排卵誘起 2) 卵子採取 3) 未成熟卵の成熟培養 4) 未成熟卵の凍結保存 5) 精子採取 6) 精子の前培養 7) 人工授精 8) 精子の凍結保存 9) 精子の常温保存 10) 体外受精 11) 顕微授精 12) 胚の発育培養 13) 胚の凍結保存 14) 胚移植 15) 遺伝子導入サル類の作出 16) 雄生殖細胞の体外培養 17) ES 細胞, EG 細胞等の樹立 18) 微生物学的モニタリング 19) SPF サル類の作出

数年後には、本研究班で得られた成果をもとにサル類のための RRB(Research Resource Bank)構想が進められる予定である。なお、本研究班は吉川泰弘(TPC)が代表となり、TPC から他 4 名、TPC 外部の研究機関から 6 名が班員として参加している。また、オブザーバーとして十数名の先生方にご協力いただけることになっている。

(文責:山海 直)

《繁殖育成情報》

リスザル(*Saimiri sciureus*)の繁殖成績

Breeding of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) under indoor-caged conditions from 1981 to 1994

長 文昭, 浜野政章, 大藤浩美

リスザルは中南米原産の小型サルである(表紙参照)。それらは試験研究に古くから利用され、1940 年代にはすでに繁殖コロニーが作られたという報告さえある。1960 年代に入ると心臓血管系、代謝系の実験に使われ始めるなど、リスザルは Biomedical Research に有用なサル種として極めて長い期間利用されてきた。今日では利用分野の広がり、利用者の増加と研究精度の高度化を背景に、他のサル種と同様に質の高いリスザルの供給が要求されている。言うまでもなく、試験研究の利用にかなった質の高い動物の供給は繁殖育成を実施することにより可能である。また、繁殖育成の実施は野生ザルの保護に貢献することにもなる。

当センターでは、リスザルの飼育繁殖を目的として 1980 年 2 月、1981 年 4 月と 1982 年 11 月の 3 回に分け、原産地より輸送され米国にて係留されていた個体を輸入した。検疫を終了したこれら 3 群の個体の合計は雄 9 頭、雌 49 頭である。雄の中にはまだ精巣の小さい個体が、雌では膣の未開孔の個体が確認された。これら未成熟個体については育成飼育を続け、後年繁殖用種ザルとして活用した。

検疫を終了したリスザルはおよそ 3 か月間、原則として個別に健康観察の後、雄 1 頭に対して雌 1~6 頭の群飼育を開始した。飼育室は

温度 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、照明時間 14 時間を維持した。飼料は午前(リンゴ、柑橘類、バナナ)、ゆでたウズラ卵と午後(固形飼料(オリエンタル酵母株式会社製、AS)を給与した。個別飼育に用いたケージサイズは $43\text{ cm} \times 60\text{ cm} \times 60\text{ cm}$ (間口 $\times$ 奥行 $\times$ 高)で、左右の壁に直径 25 mmの塩化ビニール製のパイプを渡し、止まり木とした。群飼育に用いたケージは、個別飼育ケージを上下に重ねてユニット($43 \times 60 \times 120$)とし、それらの側面を合わせて間口を 2 倍にしたケージ($80 \times 60 \times 120$)や、間口を 3 倍($129 \times 60 \times 120$)、4 倍にしたものである。それら各種サイズのケージは飼育室壁に掛け、排泄物および飼料残滓は傾斜をとって洗浄を容易にした床面に落下させた。

1981 年繁殖期から 1994 年繁殖期までの 14 年間の繁殖成績について報告する。これら雌ザルの【妊娠数とその結果】について表 1 に示した。この間に作出した妊娠数は野生雌 185 例、その結果は流産死 36 例(19.5%)、正産(正常出産)149 例(80.5%)であった。育成雌での作出妊娠数は 106 例、流産死 17 例(16.0%)、正産 89 例(84.0%)である。【年度別妊娠数】(流産、死産、正産の年度別発生数)は図 1 の通りである。野生雌のそれらは 1984～1988 年の間に毎年 23～30 例を示し、育成雌のそれらは 1985 年～1994 年にかけて年々増加している。これらの【月別発生数】は図 2 に示す通りである。野生雌にみられた正産の最多発生は 5 月で、以後の発生は減数しながら 10 月まで観察された。育成雌のそれは、6 月を最多発生月として 4 月から 9 月の間に

観察された。野生雌での【入荷より分娩までの飼育期間、分娩回数(産次)、産次間隔】は表 2 に示してある。検疫を終了し、観察期間を経て最も早期に分娩に至った個体は、入荷から 11 か月であった。32 例の平均では入荷後 30 か月である。分娩回数では 9 回を記録する個体がいた。産次間隔の算出に当たっては流産例を除外した。交尾は流産の直後にも観察され、野生雌において 2 例で年間 2 度の妊娠が得られた。流産に次ぐ 2 度目の妊娠はともに正常出産・正常哺育であった。一方、育成雌ザルの【産次別平均年齢】は、表 3 に挙げた。初産年齢の平均は 55.9 か月齢、すなわち、4 歳 8 ヶ月齢である。6 産から 8 産の 2 例および 9 産の 1 例は 2 頭の同一個体である。死産例の中には初産次に双生仔を娩出した 1 例が含まれている。その個体は 1992 年 4 月 17 日と 18 日の 2 日にわたり 2 仔を出産したが、母ザル自身も死亡した。【哺育状況】は表 1 の右側欄に示すように、野生母ザル 149 例中 145 例(97.3%)に正常な哺育行動が認められた。野生雌ザルにみられた哺育拒否は 4 例でいずれの新生仔も人工哺育中に死亡した。一方、育成雌ザルでは正産 89 例中 29 例(32.6%)に哺育行動が認められ、残る 60 例(67.4%)では哺育を拒否した。哺育を拒否された新生仔は原則として人工哺育により育成された。

【人工哺育の発生数、その理由と結果】を表 4 に示す。人工哺育は、分娩直後の母ザルの死亡により人工哺育を余儀なくされたものが 2 例、新生仔に胸部陥凹という身体的異常が認められたため母ザルから分離し人工哺育を開始した例があった。なお、難産のための疲

労困態から哺育行動が認められず人工哺育を開始したものの母ザルの回復顕著で4日後に新生仔を正常に哺育しはじめた例が2例あった。育成雌ザル(新生仔はF2 および F3)での哺育拒否は1986年から1993年の間に52例であった。これら新生仔のうち29例(55.8%)が人工哺育によって生育し、離乳された。哺育拒否された新生仔F2には、低体重個体と事故により身体的に不自由となった個体がある。

以上の繁殖成績をまとめてみると、図1に示すように野生雌ザルの出産は1984年から1988年まで、ほぼ平衡状態で続いており、もし交配を意図的に停止しなければどこまで出産が継続できるか、換言すればリスザルの出産年齢は何歳齢(推定)位まであるいは何産次位まで期待できるのかを探ることができたかも知れない。次に、育成雌ザルの哺育状況は野生雌のそれに比べかなりの問題があると認識せざるを得ない。計38頭の育成雌によるこれらの成績を個別の哺育状況としてみると、特定の個体に哺育状況の良否が偏っている訳ではない。当面、継続世代繁殖を成功へ導く鍵は哺育拒否の解消にあると言えよう。それは妊娠末期の適切な個体管理に続いて、良好と思われる出産環境を整備することにあると思われる。例えば、新生仔は自らの体温維持能力が極端に低いため、新生仔の体温低下を防ぐ具体策を考えることも一つであろう。

《検査情報》

酵素免疫吸着法(EIA)による抗 B ウイルス抗体検査

Detection of B virus antibody by

enzyme-linked immunosorbent assay (EIA)

成田豊子, 藤本浩二

マカカ属サルを自然宿主とするBウイルス(*Herpesvirus simiae*)は、ヒトの単純ヘルペス1型ウイルス(HSV-1)と同様、初感染後神経節等に潜伏感染し、その後老化やストレス等による宿主免疫機構の低下に伴い活性化が起こりウイルスの再増殖に到ると考えられている。

サル類のBウイルス感染を血清学的に診断するためには感度と特異性の高いBウイルス抗体の検出法が必要となる。我々は、これまでBウイルス抗体検出に当っては、Bウイルスと共通抗原を有するHSV-1を用いた補体結合試験(CF)や酵素免疫吸着法(EIA)を実施してきた。しかしBウイルスとHSV-1の抗原性の違いや測定法の感度、さらに生体内での抗体価の経時的変動などが原因して一時点の抗体価の検査では、感染個体を抗体陰性と判定してしまう事があった。特に検疫時の判定ミスは重要であり、より精度の高い検査法の実施が求められていた。今回、社団法人予防衛生協会では米国 Microbiological Associate Inc. (MA 社)から不活化 B ウイルス抗原を入手することが可能になり、これを用いたBウイルス抗体測定のためのEIAによる測定系を作成し、従来の検査法での成績と比較検討したので紹介する。

抗体の測定は96穴のEIAプレートを用い間接法で行った(図1)。不活化Bウイルス抗原及び対照として非感染Vero細胞抗原(以下正常細胞抗原)を3,000倍に希釈し、4℃で18時

間プレートに固相化した。第 2 抗体はパーオキシターゼ標識抗マカカ IgG 抗体の 10,000 倍希釈液を用い、基質として OPD を加えその発色を 492nm で測定した。

図 2 に B ウイルス抗体陽性のカニクイザル血清の希釈に伴う吸光度の変化を示す。正常細胞抗原に対する OD 値(●—●)は血清希釈 100 倍以上で 0.2 以下まで下った。抗体陽性限界はウイルス抗原と正常細胞抗原に対する OD 値の差(ΔOD)が 0.3 以上を示す最終希釈倍数と決め、図に示した血清では抗体価は 6,400 倍と判定された。またグラフから分かるように B ウイルス抗原に対する反応(●—●)では OD2.5 から OD0.5 の間では血清希釈に伴い OD 値がほぼ一定の割合で降下することがわかる。そこで実際のルーチンの検査では、抗体価は最終血清希釈倍数による表示ではなく、100 倍希釈血清での ΔOD 値で半定量表示する事とした。

図 3 に MA 社製不活化 B ウイルス抗原と精製 HSV-1 抗原、そして以前研究用として入手した不活化粗精製 B ウイルス抗原に対する 5 頭のアカゲザル血清の反応の比較を示す。MA 社 B ウイルス抗原は 3,000 倍で、HSV-1 抗原は 1,000 倍希釈で、粗精製 B ウイルス抗原は 100 倍希釈で使用し、血清は 100 倍希釈で用いた。OD 値は ΔOD を示している。MA 社製 B ウイルス抗原での OD 値は 5 頭とも 0.5 以上で抗体陽性と判定されたが、HSV-1 での OD 値は MA 社 B ウイルス抗原で得られた OD 値より低く、#20 のサルの場合は抗体陰性と判定されてしまう。また粗精製 B ウイルス抗原での OD 値は、5 頭とも 0.3 以下であり抗

体陰性と判定された。

さらに B ウイルスと HSV-1 抗原での検査成績を 62 例のカニクイザルと比較すると(図 4)、従来の HSV-1 抗原を用いた検査では 31 頭が抗体陰性と判定されたが MA 社製 B ウイルス抗原を用いた検査ではこれらの 31 頭中 15 頭が抗体陽性と判定された。

次に今回作成した測定系で 361 頭の輸入サルの血清を検査した成績を実測値(ΔOD)分布で示す(図 5)。サル種はカニクイザルとアカゲザルである。抗体陰性($\Delta OD < 0.3$)個体は殆どが OD 値 0.2 以下であったが、OD 値 0.3 に近い値のものもわずかにみられ、時期をずらしての再検査が必要と思われた。陽性個体($\Delta OD > 0.3$)の OD 値には頻度の偏りは見られずほぼ一様に分布していた。

冒頭に述べた様にサル血清中の B ウイルス抗体もヒトでの HSV-1 抗体と同様にウイルスの活性化の時期にあわせてその抗体価が変動すると思われる。図 6 に示したグラフは筑波霊長類センターで出生、育成された雄カニクイザルについて B ウイルス抗体価の変動を経時的に調べることができた貴重な一例である。このサルは 1990 年から B ウイルス抗体陽性サルと同じケージ内で飼育された結果、1991 年に抗体が陽性となった。抗体価上昇時の前後でウイルスの再活性化が起きていると考えられるが、ウイルスの分離は行っていないためこの点の検討は今後の課題としたい。

以上、米国 MA 社製不活化 B ウイルス抗原を用いたマカカ属サルの B ウイルス抗体の測定について述べた。この方法によってこれまで見逃してきた B ウイルス感染サルをより確

実に検出できるようになったと思う。今後の課題はBウイルスそのものの分離・検出という事になるが、周知のようにバイオハザードクラス4に分類されるBウイルスを取り扱うことができる高度安全実験施設は我国にはない。そこで、それに変わる方法として遺伝子診断法の利用を考えている。また抗体検出に用いるウイルス抗原についても遺伝子工学的に合成した蛋白の利用を検討している。

《施設紹介》

P3 実験施設

P3-Laboratory

高阪精夫

「国立予防衛生研究所病原体等安全管理規程」では、レベル3の病原体は「ヒトに感染すると重篤な疾病を起こすが、他の個体への伝播の可能性は低いもの」と定義されており、これらの病原体の取り扱いレベル3(P3)の実験施設で行わなければならないと定められている。

ところで、現在、周知のようにエイズの世界的な流行は深刻な問題である。そこで、レンチウイルスとサル類の感染実験系を用いてエイズの病態の解明、予防・治療法の開発を行うことを主な目的として、当センターにP3実験施設が設置された。

P3 実験施設は既存の検疫棟の一部を改築したものである。図1に示したように、本施設はP3レベル動物実験のための2室とP3レベル細胞培養実験のための2室を中心に構成されている。本施設の出入口は一カ所で、登

録された者のみが磁気カードを用いてその扉を開閉できる。

本施設内では、空気が常に外部から実験室内に流れるようになっている。すなわち、本施設外部と廊下、実験室前室・後室、実験室との間の空気圧の差はそれぞれ-2, -4, -6mmHg となっている。万一、実験室の圧力差に異常が発生したときには、陰圧保障回路が作動し、実験室内の陰圧は保障されている。また、停電に備えて、陰圧保障回路の電源には自家発電自動切り替え回路が使用されている。

実験室から外部に出る排気は1層の高性能フィルターを通して、また、実験室内のサル類を実験飼育するサル用陰圧アイソレーター(図2)および病原体を取り扱う安全キャビネットから外部に出る排気は2層の高性能フィルターを通して除菌した後、排出されている(図3)。なお、本施設への給気も1層の高性能フィルターを通して除菌されている。

そして、これらP3実験施設の運転状況は常時、中央監視室で監視されている。

サル用陰圧アイソレーターは全体で53台設置されている。サル飼育時の糞便、食物の残滓等および死体は大型両面オートクレーブで滅菌後、施設外に搬出され、焼却されている。また、実験室で使用した防護衣や実験器具・機材等は小型オートクレーブで滅菌後、施設外に搬出されている。さらに、実験終了後、手洗用等に使用した水道水は各実験室前室に設置された消毒層で薬剤による消毒後、当センターの廃棄物処理施設に送られている。

当センターのP3実験施設の運営は「国立

予防衛生研究所筑波医学実験用霊長類センター病原体等管理区域安全運営規則」および「筑波医学実験用霊長類センター指定実験室安全操作指針」に基づいて行われている。

《臨床ノート》

高血圧

Hypertension

小野文子

高齢化社会を迎えようとしている現在、高血圧は成人病疾患の中でも特に適切な管理と治療をせまられており、その病態解析は重要な課題と考えられています。高血圧は複数の病因遺伝子により規定された遺伝的素因に環境因子の負荷が加わり発症する多因子疾患と考えられ、その遺伝子的解析や発症機序を解明するにあたり重要となってくるのが高血圧モデル動物です。現在、最も研究の進められているモデル動物としては SHR, SHRSP, Lyon 高血圧ラット, Dahl 食塩感受性高血圧ラットがあげられます。また近年、R/A(レニン-アンギオテンシン)遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスの作成も試みられています。しかし、最終目的となるヒトの高血圧遺伝子座の確定や環境因子負荷状態における病態解析、予防、治療試験を行っていくうえで霊長類モデルの確立も望まれています。

今回は、高齢カニクイザルを中心として測定した血圧について報告します。当センターでは育成 20 歳齢以上、野生由来ザル 15 年飼育以上を高齡カニクイザルとして、疾患モデルのため管理しています。今回用いた測定方

法は、オシロメトリック法による非観血的測定法です。測定はケタラル麻酔下にて側位に横臥させ、右上腕部での測定を行いました。ケタラル麻酔の血圧への影響は、末梢血管抵抗に大きな影響を与えないことから軽度上昇を認める程度と考えられています。カニクイザルにおいても座位に保定し無麻酔からケタラル導入後、覚醒までの 45 分間、経時的に測定を行った結果、有為な変動は認められませんでした。10 歳齢以下の個体 12 頭の平均収縮期血圧 $97.6(\pm 12.8)\text{mmHg}$ 、拡張期血圧 $50.1(\pm 7.4)\text{mmHg}$ 、10—20 歳齢 34 頭でそれぞれ $106.2(\pm 11.6)\text{mmHg}$ 、 $58.4(\pm 7.0)\text{mmHg}$ 、20 歳齢以上 34 頭で $103.9(\pm 15.4)\text{mmHg}$ 、 $59.1(\pm 10.0)\text{mmHg}$ という結果で、10 歳齢を超えるとやや血圧高値を示す個体が認められてきますが、高齢群との有為な差は認められませんでした。ヒトにおける高血圧の定義は WHO(世界保健機構)では、血圧 $130—89\text{mmHg}$ 以下を正常血圧、 $160—90\text{mmHg}$ 以上を高血圧、そして両者の中間の血圧を境界域高血圧として考えられており、今回測定した 80 頭中その基準で高血圧に分類される個体は 1 例のみでした。この個体は 1970 年入荷の野生雌(推定 29 歳齢)で過肥(体重 7kg)、高トリグリセライド(294mg/dl)、高コレステロール(214mg/dl)血症が認められ、ヒトにおいてはこれらの病態および、糖尿病が動脈硬化、高血圧の危険因子として重要と考えられています。前回の TPC ニュースでも報告しましたが、当センターのカニクイザルは加齢に伴い高脂血症、糖尿病の発症が認められていますが、重症例においても血管病変

がほとんど認められていません。今回の血圧の結果もこの1例を除いては、これらの因子との有為な相関が得られませんでした。

今後、霊長類における高血圧モデル動物を開発するためには、サルにおける遺伝的解析、エンセドリンやアンギオテンシンII受容体等の生理的活性の解析とともに、他のリスクファクターの負荷など(食塩等；現在の飼料では0.16g/day/headの給餌量となっています)による研究が必要であると思われます。

《研究手帳》

AIDS ウイルスとマクロファージ

AIDS virus and macrophage

森 一泰

The human immunodeficiency virus (HIV) は the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS, エイズ)の原因ウイルスと考えられている。サルから分離された HIV に近縁の SIV (simian immuno-deficiency virus)を rhesus monkey (アカゲザル)に実験感染することにより AIDS を起こすことも HIV と AIDS の因果関係を証明する重要な証拠のひとつである。¹⁾。動物モデルは治療薬、ワクチンの研究開発において重要な役割をすることは言うまでもないが、発症のメカニズムを研究するうえでも重要である。AIDS 研究には未だに解き明かされていない重要な幾つかの問題がある。10年とも言われている長い未発症期間、ウイルスはどのように宿主のなかに潜んでいるのか。その後、どのようにして、何をきっかけに AIDS ウイルスは免疫系を破壊していくのか。

ひとつの答えはウイルスに対する免疫系の働きに関する研究が解きあかすことができるであろう。もうひとつの答えは、ウイルスがどこで、どのように増殖しているのかという問いを解くことから導かれるであろう。AIDS ウイルスの主な標的細胞は CD4 陽性 T 細胞とマクロファージである²⁾。CD4 陽性 T 細胞の減少が免疫系の破壊につながっていることはすでに明らかだが、単純にウイルス感染によっておこるのではないようである³⁾。それでは、マクロファージへのウイルス感染は何を宿主に引き起こすのか、またウイルスの増殖においてマクロファージがどういう役割があるのか、残念ながら、我々はまだこれらの問題に対する十分な答えを出していない。ここでは、私が Harvard Medical School, New England Regional Primate Research Center (NERPRC)で Dr. Desrosiers のもとで行った SIV の研究を中心に AIDS ウイルスとマクロファージに関するこれらの問いに対する我々の結果、残されている問題、これからの取り組み方について述べる。

AIDS ウイルスはレンチウイルス属に含まれる

AIDS ウイルスは生物学的性質、病原性、遺伝子の構成、相同性からレンチウイルス属に含まれる³⁾。HIV はヒトから、SIV はアフリカのサル類から約 10 年程前に発見、分離されたが、歴史を逆上ると 1904 年に equine infectious anemia virus (EIAV, 馬伝染性貧血症ウイルス)がウマから最初に発見され、特に

日本で研究が行なわれた。現在までにヒツジから visna virus , ヤギから caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV), ウシから bovine immunodeficiency virus (BIV), ネコから feline immunodeficiency virus (FIV)が見つっている。レンチウイルスの共通する性質を上げると、まず宿主に対する病原性又は疾患として、発病までの長期間の無発症の感染期間、免疫機能障害を伴う脳神経系疾患、関節炎、自己免疫疾患などがあり、AIDS と酷似している。主な標的細胞はヒト、サル、ウシ、ネコのウイルスでは T 細胞とマクロファージ系細胞が、ウマ、ヒツジ、ヤギのウイルスでは主にマクロファージ系細胞にウイルスが検出される。

最近の HIV 研究のトピックスのひとつも、HIV とマクロファージの関係から見つかった。一般にレトロウイルスの遺伝子の複製は細胞の核内で行われる。しかしマクロファージはすでに分化しているために細胞分裂を行わない。そのため、HIV はマクロファージの中で感染増殖をするための、ウイルス複製中間体の核膜通過に必要な特別の機構を持つ事がわかった⁴⁾。さらに、AIDS ウイルスには今だに機能が未解明の遺伝子(nef, vpr, vif, vpu, vpx)が存在し、精力的に研究されているがそのうちのいくつかは他のレンチウイルスも共通に持ち、マクロファージ感染増殖に必要ではないかと考えられている。このようにウイルス学の観点からも今後のマクロファージを用いた AIDS 研究の発展が期待される。

SIV の組織マクロファージ感染と AIDS 関

連疾患

SIV はニューイングランド霊長類センターのアカゲザルから最初に分離され、現在、筑波霊長類センターを含め世界中で AIDS 研究に使われているが、Dr. Desrosiers の研究室では SIV の DNA クローンの DNA トランスフェクションによりウイルスを調製し感染実験に用いている。単一のウイルスが接種されるため感染動物の中で起こる遺伝子の変異、あるいは突然変異を導入することによる遺伝子機能の研究が容易に行えるからである。我々は代表的な分子クローンウイルス SIVmac239 を用い以降の研究を行った。

SIVmac239 は *in vitro* の肺マクロファージ培養では非常に低い増殖を示す。SIVmac239 は感染実験により約 40% のアカゲザルに半年以内に、3 年以内に残りの 60% に AIDS を発症させる⁵⁾。SIVmac239 により AIDS を発症した 5 頭のサルのリンパ節、肺、脳の病変部、マクロファージの SIV 感染の有無、さらに末梢血中から分離されたウイルスのマクロファージ増殖性を調べた⁶⁾。結果を表 1 に示す。いずれのサルも典型的な AIDS の症状を示した。サイトメガロウイルス感染、胸腺萎縮、リンパ節の枯渇または濾胞過形成、瘦衰、小腸結腸炎など。ところが 2 頭のサル(316—85, 132—87)では他の 3 頭とは異なり SIV 性の脳炎または肺炎を併発していた。それに対して、3 頭のサルでは明らかな組織マクロファージの SIV 感染、それに伴う病変は見られなかった。さらに、マクロファージ感染が明らかな 2 頭のサルから分離されたウイルスは感染前

の SIVmac239 と異なり肺マクロファージ培養で高い増殖を示した。現在さらに約 20 例の結果が判明しているが、SIVmac239 感染では、約 40% のサルで組織マクロファージ感染とそのために関連疾患が発生し、その場合ウイルスは高いマクロファージ感染増殖性を獲得していた。残りの 60% では AIDS が発病したが明らかなマクロファージ感染は見られずウイルスのマクロファージ感染性に変化はなかった。このように、これらの結果は組織マクロファージ感染と関連疾患の関係を明らかにしたが、AIDS の発症における SIV のマクロファージ感染の役割については未解決であった。

SIV のマクロファージ感染増殖を決定する遺伝子

約 40% のサルにおいて SIVmac239 は高いマクロファージ感染増殖性を獲得した変異ウイルスに変化した⁷⁾が、それではウイルスのどの遺伝子が原因しているのだろうか。変異ウイルスは死亡直前の 316—85 の肺マクロファージから分離された。変異ウイルスは SIVmac239 に比べて数 100 倍の増殖を示した⁷⁾ (図 1)。変異ウイルスの DNA は PCR 法により感染細胞から調整し、SIVmac239 との種々の chimera (キメラウイルス) が作られた。これらのウイルスのマクロファージでの増殖性からマクロファージ感染増殖を決定する DNA 領域が決定された。図 2 に示されるように env 遺伝子を含む DNA 領域が重要であることが分かった。DNA 塩基配列を調べたところ 9 個のアミノ酸変異が見つかり、そのうち

の 4 個のアミノ酸変異がマクロファージでの増殖性を決定することが突然変異体形成実験によりわかった。図 3 に 4 個のアミノ酸変異を示すが、興味深いことに現在までに調べられた 3 例の SIVmac239 由来のマクロファージ高感染増殖性変異ウイルスすべてに同じ 3 個の変異のが SU に存在することが明らかになった。

SIVmac239 はマクロファージに感染するがウイルス産生が低く抑えられている

HIV-1 においてもマクロファージ感染増殖を決定する遺伝子に関する研究が行われ、同様に env 遺伝子が支配することが報告された²⁾。同時に SIV との相違も指摘された。SIV の env 蛋白は HIV-1 のそれと共通の構造をしているが、HIV-1 においては V3 と呼ばれる領域が特にマクロファージ感染増殖に重要であり、V3 の変化はウイルスの細胞内への移行を決定することが報告された。それに対し、SIV では対応する領域にはアミノ酸変異はなく、HIV-1 とは対照的に、V3 以外の領域の重要性が明らかになった。しかし、この矛盾もその後の研究から解決されつつある。まず SIV の研究からは、SIVmac239 の低い増殖性がウイルスのマクロファージ内への移行に問題があるためではないこと⁸⁾、ウイルス産生は起きていることが明らかになった。また、高増殖性の変異ウイルスの V3 と対応する領域に突然変異を導入したところ、HIV-1 と同様なマクロファージ内への移行に障害を持つウイルスに変化した⁹⁾。HIV-1 の研究からは、V3

以外の領域についてもマクロファージでの増殖に必要なという、いくつかの報告が発表された^{10) 11)}。さらに、SIVmac239 と変異ウイルスの関係と相似する例も報告された。つまり、マクロファージ感染増殖性の弱いウイルスが感染初期に、マクロファージ感染増殖性の高いウイルスが感染後期に同一感染者から分離され、しかもその変化はウイルスのマクロファージ内への移行の違いによらなかった¹²⁾。

AIDS におけるマクロファージ感染の重要性

SIV の例で述べたように、マクロファージ感染が AIDS に関連する様々な疾患の原因になっていることは明らかであるが、それでは、「どこにウイルスは約 10 年もの長い間潜んでいるのか」という AIDS の解明において最も重要な問題の一つに、果たしてマクロファージ感染は関係しているのだろうか。我々はこの問題をサルを用いた動物モデルの実験により解こうとしている。ひとつのアプローチは SIVmac239 の肺マクロファージ培養での増殖のしくみを明らかにすることである。SIVmac239 のマクロファージ内での静かな複製機構はこのウイルスの *in vivo* での強い病原性に必須なのかもしれない。

もうひとつの方法は *in vivo* での解析である。病原性をなくしたウイルス(SIVmac239 の nef 欠損株)を利用し、ウイルスの重要な感染組織、細胞を見つけること、それに対する免疫のしくみを解明することである。現在、唯一有効

性があると考えられているワクチンは nef 遺伝子を欠損させた SIVmac239 である。nef 遺伝子の機能を解きあかすことはこれらの問題の解決に大きな役割を果たすのではないかと思われる。

参考文献

- 1) Desrosiers, R.C. 1990. Annu. Rev. Immunol. 8: 557-578.
- 2) Collman, R. and Nathanson N. 1992. Seminars in Virol. 3: 185-202.
- 3) Levy, J.A. 1993. Microbiol. Rev. 57: 183-289.
- 4) Bukrinsky, M.L. et al. 1993. Nature (London) 365: 666-669.
- 5) Kestler, H. et al. 1990. Science 248: 1109-1112.
- 6) Desrosiers, R.C. et al. 1991. Am. J. Pathol. 139: 29-35.
- 7) Mori, K. et al. 1992. J. Virol. 66: 2067-2075.
- 8) Mori, K. et al. 1993. J. Virol. 67: 2807-2814.
- 9) Kirchhoff, F. et al. 1994. J. Virol. 68: 3682-3692.
- 10) Groenink, M. et al. 1993. Science 260: 1513-1516.
- 11) Koito, A. et al. 1994. J. Virol. 68: 2253-2259.
- 12) Connor, R.I. and Ho D.D. 1994. J. Virol. 68: 4400-4408.

《技術開発》

発生工学用器具の開発

Instrument for the embryo technology

小野孝浩

私たちはカニクイザルやミドリザルを用いて子宮内人工授精，胚移植，腔内粘液採取といった発生工学的基盤技術を確立しようとしています。そのためには，まずこれら中型サルに適応する器具・器材(ことに雌ザル生殖器のサイズにあったもの)が必要であり，以下に紹介するような腔開口器，腔・子宮頸管拡張棒等を作成しました。腔開口器はプラスチック製円筒型(内心棒と外筒からなり，内心棒と外筒を組み合わせて腔内に挿入し，内心棒を引き抜く)と，金属製くちばし型(人用鼻鏡をもとにサルの腔サイズにあわせ改造)の2種類を作りました。腔・子宮頸管拡張棒は金属製で直径は3mm から12mm のものまで5種類の太さで，先端は鈍く丸めました。まず腔用拡張棒(図1)で腔をおし広げ，腔を柔軟にしておき，次に開口器(図2・3)を差し込み，腔の奥部を覗いて子宮頸管入口を探し，子宮頸管拡張棒を子宮まで挿入し子宮頸管の通路を確保し，金属管(ボンデ)を導き入れることにより子宮内へ精子を注入することが可能になりました(図4)。とはいっても実際は子宮頸管部はきわめて複雑な構造をしているため(図5)，拡張棒を通すのは容易でなく，まだ課題が残されている現状です。またこれらの器具は死亡胎仔搔爬などにも応用しています。

今後はこの技術を習得し，さらに実用的な器具・器材の開発を進めていきたいと考えます。

《飼育の現場から》

育成カニクイザルにみられた発育不全ザル

The cynomolgus monkeys with growth disorder

羽成光二

実験動物における疾患モデルの開発，研究は重要です。サル類においても，当施設において糖尿病，高脂血症，網膜変性症，白内障等の疾患モデルの報告がなされています。今回は自然界ではまず見る事できないと思える発育不全ザルについて紹介いたします。

図1は9歳齢の雌の発育不全ザルと同年齢の正常な発育を示したサルです。この様に発育不良ザルは四肢及び体幹部の成長不良が認められ，また数例の個体において頸部から腰部までの弯曲が認められました。このような発育不全の雌では性成熟年齢の3歳半を過ぎても月経出血は認められません。また雄についても精巣の大きさが性成熟となる約5歳齢を過ぎても正常発育個体の約1/8位までしか大きくなりません。すなわち正常個体の精巣の横径×縦径が20×30mmであるのに対し，発育不全ザルのそれは10×15mm位です。

図2はカニクイザル雌雄の平均体重の変化と発育不全ザルの代表的な個体の体重の変化を示したものです。発育不全の雄は出生時体重及び離乳後数カ月までの体重変化には正常なサルと差はありませんでした。1歳半を過ぎた頃から体重増加を示さなくなり，以後，このような横ばいが続いていきます。雌も雄と同様に出生時及び離乳後数カ月の体重変化に

は正常な発育を示したサルと差は認められませんでした。雄と同様に1歳半、体重1.5kgを過ぎたところで増加を示さなくなりました。これまでに死産も含め約3200頭の新生仔を作出してきました。このなかで育成過程において発育不全となるサルが雄9頭、雌11頭の合わせて20頭認められています。また、少数の雄ザルの子孫に本症が数例づつ観察されていたことから、本症の発生に遺伝的な関与も考えられると思います。一方、これらの個体は体格が小さいため次世代の仔ザルを得る事ができていませんが、出生仔数の約1%にこうした個体が出現している事から、当施設のように毎年200～300頭のサルを生産しているところであれば、常時10～20頭の小集団を維持する事は可能と考えられます。

〈学会報告〉

第15回国際霊長類学会報告

Report on the 15th Congress of the
International Primatological Society (IPS)
in Bali

藤本浩二

1994年8月3日から8月8日の6日間インドネシア、バリ島で開催された第15回国際霊長類学会に出席した。

今回の学会は当初参加の予定ではなかったが、当協会で行った受託検査のデータが発表されること、また今年始めから野生サルの輸出が禁止されたため現地サル繁殖施設からの育成サルの輸出が本格化しその状況が報告されることが分かったため、急きょ現地登録で

参加した。そんな理由で学会参加の日程も中4日間のみとなってしまう全てのプログラムには参加出来なかったのが、印象のみ記録して報告とする。

学会はバリ島クタ地区にある2つのホテルの会議場を利用して行われた。発表は実験動物関係と生態関係でだいたい二つのホテルに振り分けられていた。学会事務局発表によると出席者は46か国511人で、日本からはアメリカ、インドネシアに次いで60名の参加者が登録されていた。日程の関係で参加出来なかったが、オープニングとフェアエルパーティーには同伴者も含まれかなりの人数が集まったと聞いた。

私が出席できたセッションは、米国地域霊長類センターの国際協力、免疫とウイルス、獣医学研究、サル類のヒトの健康に対する寄与、捕獲繁殖、サル生息国でのサル繁殖とその質、霊長類の実験使用、についてであったが、これらのセッションの中でサル類の実験使用に関係が深く、かつ内容について直接発表者の話を聞く事が出来たものをいくつか紹介したい。

“米国地域霊長類センターの国際協力”のシンポジウムは、全体として、米国NIH、NCRR (National Center for Research Resources) 部門内での地域霊長類センターの役割と国際協力の実績報告、さらには全般的な霊長類を用いた医学研究の現況報告が中心であり特に目新しい印象は無かった。しかしこのシンポジウムにはNCRRから担当官が出席し霊長類を用いた医学研究に対し国として期待すること、また研究を支えるために

NCCR は全予算の 15%を当てることなどを発表し、米国の霊長類医学研究に対する支援体制の強さが印象づけられた。

国際協力関係では、ワシントン大学霊長類センターは長年インドネシア・ボゴール大学と協力関係にあり、インドネシア国内のサル類の生息調査、テンジル島でのカニクイザルの人工島繁殖などを進めてきたが、ボゴール大学霊長類センターの設立を期に技術指導、共同研究、留学生受け入れなど相互利益につながるさらなる国際協力の推進を提案した。ワシントン大学霊長類センターは旧ソ連のスフミ霊長類センターとの研究協力でも良く知られており、国際協力の進め方としてはよい手本である。

“免疫とウイルス”のセッションではテキサス、Southwest Foundation for Biomedical Research から、米国 NIH の計画による B ウイルスフリーコロニー作成に当たり 3000 頭の抗 B ウイルス抗体陰性サルを選抜したが、後の再検査でその 2.5%が抗体陽性に転化していた事が報告された。原因としては抗体価の周期的な変化による、初期の抗体検出ミス进行を考察していた。技術的な改良も必要であるが、B ウイルスに限らず持続感染状態のウイルスを抗体のみで検査する場合には起こり得る問題であり、特に検疫時の一時点の検査などでは気を付けなくてはならない事である。

またボゴール大学霊長類センターから、インドネシア国内の野生カニクイザルとブタオザルで 2 型サルレトロウイルス抗体保有率はそれぞれ 13.59%と 25.24%である事が報告され、今後サル関連ウイルス研究をボゴール大

学霊長類センターがワシントン大学との共同で進める計画が示された。

“獣医学研究”の発表で最も印象に残ったのはウイスコンシン霊長類センターの宇野先生による 20 歳以上の 248 頭の飼育アカゲザルにみられた加齢性疾患についての発表であった。これらの老齢サルでは剖検時に、肺気腫、冠状動脈硬化、がん、関節炎、アミロイド斑が高率に見られ、また脳には鉄あるいはβ-アミロイドの沈着、さらに MRI 検査では梗塞を多部位に検出していた。アカゲザルでは 20 歳～25 歳で加齢性疾患が現れ、多くは 20 歳～30 歳で死亡し、また最大寿命は 37 歳であったと報告された。繁殖育成サルは一生を通じほぼ同じ室内環境で、同じ飼料をあたえられて成長するため、このような環境で起こる加齢性疾患はヒトに比べ各個体の素因に起因する率が高く加齢性疾患の研究に有用である。筑波霊長類センターでは、老齢ザルの例数が少なくこのような加齢性疾患はあまり報告されていない。宇野先生の発表の後に送られた会場からの拍手は大変に大きかった。

“サル類の人工繁殖”に関わるシンポジウムでは、本年始めから実施された野生サルの輸出禁止に対応するため整備されてきた現地繁殖施設について発表があり、フィリピン、モーリシャスでのカニクイザルでのケージ内繁殖育成システム、中国のアカゲザル繁殖施設、インドネシアのボゴール大学とワシントン霊長類センター共同による島繁殖について説明があった。このうち、フィリピンとモーリシャスについては施設紹介に加え各種検査データが示され医学研究用サルとして十分な

質を備えていると感じた。またこれら二つの繁殖場は民間設立の施設であり今後サル供給事業の拡大が見込まれる。今後、島繁殖あるいは中国産サルの特性が明らかになると思われ、ケージ内人工繁殖サルとの比較が必要である。

特殊サルの繁殖実験としては、ワシントン大学で AIDS 研究、臓器移植研究の目的でブタオザルの近交化を計画し、兄妹交配、父仔交配を行ったが流産、先天異常、成長不良が多く計画の難しさが示された。ブタオザルは HIV に対する感受性が他のマカカ属サルより高い事が知られており、さらに遺伝的に感受性の高い系統が選抜されることはモデル動物開発に重要な事である。

以上印象に残った発表をいくつか報告したが、当然な事に霊長類学会は生態、分類、自然保護、サルの実験使用と非常に広い分野のテーマを含んでいる。だいたい私はサル類の医学実験使用についてのセッションを中心に参加してしまうが、他の分野の研究成果が有ってこそ我々の様なユーザーサイドの研究分野が成り立っている事をいつも感じる。たとえば、野生サルの生態調査とそれに続く資源保護活動が引き金になって医学研究用サルの現地繁殖供給体制の整備が進められ、また実際の人工繁殖に当たってはサル類の遺伝、繁殖、心理行動といった広い研究成果が繁殖コロニーの世代抗体と繁殖効率の維持のために必須になる。さらにサル類の実験使用に当たっての倫理問題の議論に至っては直接に実験者に関わる項目である。そんな訳で、国際霊長類学会は一見散漫に見える学会では有るが

私にはそれなりに面白い集まりの時間である。

最後に、今回の学会はバリ島というリゾート地で開催され、会場やホテルなど設備も充実しており、また私自身としても懐かしい場所ではあったが、沢山の楽しそうな日本人観光客を見ると、やはり家族連れのレジャーで来る場所だなという気が少しした。

今回の第 16 回国際霊長類学会は米国ウィスコンシン大学で開催される予定である。

《学会報告》

国際エイズ会議に参加して

Report on the Tenth International Conference on AIDS

協力研究員(エイズ予防財団) 明里宏文

1980 年 代 初 頭 , HIV(Human Immunodeficiency Virus; ヒト免疫不全ウイルス)が AIDS の原因ウイルスであることが知られて以来 10 数年が過ぎ、その間欧米諸国やアフリカ大陸において大流行するのみでなくアジア諸国、特にタイやインドにおいてこの 2, 3 年爆発的な流行が認められている。日本においても現在 HIV 感染者数は数万人存在するといわれており、今後、欧米や他のアジア、アフリカ諸国の様な流行が危惧されている。

これまで世界中の研究者らによって次々と新発見がなされてきた。しかし現在のところ、何ら有効な治療法やワクチンが開発されていない。このような状況の中、国際的に AIDS に関する研究成果について議論や意見交換を行なう場として国際エイズ会議が 1984 年より開催され、本年度で第 10 回となる。

今年は、8月7日から12日まで6日間にわたって横浜で開催された。海浜にある会議場一帯は近代的な建築技術の粋を集めたようなビルが立ち並び、かと思うと夕方には歓迎の盆踊会など催されていて、日本らしい新旧混交の風であった。会議期間中、交通の便としてシャトルバスが運行し、また多数のボランティアの方々が各種の案内や会議の運営、進行に当たって下さり、何ら不便を感じることはなかった。

会議のプログラム内容は基礎研究、臨床・治療、疫学・予防、社会・教育といった多岐にわたったものであり、口頭発表が2280題、ポスターセッション2760題、さらに特別講演やラウンドテーブルセッションなどなど、プログラムと抄録集で厚さ5センチの本になるぐらいの非常に大規模な会議であった。これほどの演題数をこなすためであろうが、10余りの会場で同時に口頭発表が進行し、さらにポスターセッションも平行して行なわれるというハードスケジュールであった。そのため複数のホールで興味ある演題が同時進行していたりして、猫の手も借りたいほどであった。また、日本で行なわれる国際会議ということで、やはり英語に不安のある人(ほとんど日本人、筆者も含む)が多いと思われるが、日本語への同時通訳サービスもあって感心した。

さて発表の内容について。これほどの演題数なので聞くことの出来たのは限られているが、とりあえず印象に残った点について紹介したい。まず、非常に多くの研究グループがさまざまな抗エイズ薬の開発を試みていること。抗エイズ薬と一言で言っても、逆転写酵

素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、リボザイムなどから漢方薬に至るまでさまざまであり(このたぐいの演題だけで数百はある!)、これ程の発表があると、一つや二つくらいは本当に効きそうなものもあるのではないかという気がしてくるが、実際のところはそう簡単には行かないものらしい。現時点ではin vitro段階での研究がほとんどであり、サルなどの動物モデルを用いた感染・発症防御実験などはこれからといったところである。今後、我々の所でもこういった研究が中心になるであろう(実際いくつかの治療薬における抗ウイルス活性については研究が進められている)。もっとも、このような研究によってある程度有効な治療薬が開発されても、実際市販される時の価格はかなりの金額になるだろう(例えば現在認可されているAZTやDDIの場合)。一般治療薬でさえ事欠くような貧困地域における現実を考慮することより現実的に使用可能な(つまり安価な)方法が必要であろう。そうした観点からすれば、大量に供給可能なワクチンの開発が急務と考えられる。これまで、不活化ウイルスやエンベロープ蛋白であるgp120がワクチン候補として研究されてきたが、残念ながらそれ程効果が認められたものは今のところない。最近、さまざまなベクターや、リボソームを用いたリコンビナントワクチンが持続的な免疫誘導に有効ではないかと考えられている。今回の会議でも、アメリカニューイングランド霊長類センターのグループから、リコンビナントBCG接種によりアカゲサルにSIVを認識するCTLを長期にわたって誘導したという報告があった。さらに、今

はやりの遺伝子療法に関するものでは、gp120 を組み込んだレトロウイルスベクターを、直接サルやマウスに接種したところ CTL の誘導が認められ、さらにこのベクターを HIV 感染者のボランティアに接種して、発症防御能について検討しているそうである。この研究段階で、感染者に直接このような治療研究を行なうことができるということには非常に驚かされた(まず日本では不可能)が、やはりそれだけアメリカにおける AIDS の問題が、深刻で切羽詰まったものであるということであろう。この点、まだ日本では対岸の火事といったところが見受けられる。マスコミ(特にテレビ)にしても、一時的にこれでもかと言うほど AIDS 特集番組をやったかと思えば、まるで AIDS 患者などいなくなったのかと感じられるほど全く静かになってしまう。このあたりは、興味本位のスクandal番組といい勝負であり、もう少し真剣にマスメディアとしての責任や義務に取り組めないものかと考えさせられてしまう。

閑話休題。ともあれ、このレトロウイルスベクターによる臨床試験では、AIDS 発症のパラメーターである血中ウイルス量や p27 抗原量が低値を示す傾向があるそうで、今後の経過を興味深く見守りたい。

一方、基礎研究に関する発表では、HIV の調節遺伝子、特に nef 遺伝子の機能に関する報告が興味深かった。nef 蛋白は、最近の報告では SIV(Simian Immunodeficiency Virus; サル免疫不全ウイルス)の AIDS 発症に必要であるとされ、また、in vitro では CD4 の発現を調節しているといわれている。オレゴン霊長類

センターのグループは、脳由来ミクログリア細胞における SIV の増殖が、nef 遺伝子のある特定のアミノ酸によって規定されていることを見出した。このことは、AIDS 脳症が nef 蛋白によって引き起こされている可能性を示唆するもので、このような神経向性ウイルスが in vivo において実際に病原性を持つのか、今後の報告が待たれるところである。

ところで、この会議期間中、多数の諸先生方やかつての研究者仲間たちと休憩や食事ついでに議論することができ、非常に有意義な時を過ごすことができた。こういったところも研究会議のもう一つの楽しみである(時としてこちらが主となることもあるが)。案外、発表を聞いているときよりも、こうして研究の四方山話しに花を咲かせているときの方がふと面白い研究のヒントが浮かんで来たりする。こうして、日々の研究でともすれば忘れがちになる『やる気』を取り戻して、また今日も一日実験に明け暮れるのである。

《実習生メモ》

ウイルスにふれて

A comment from a trainee

結城幸一

私は会社からの派遣という形で TPC の実習生になりました。当時私は、コラーゲンというタンパク質の、医学、細胞生物学への応用という研究をしていました。コラーゲンというのは、動物のからだのタンパク質のうち約 3 分の 1 を占めるもので、現在まで 10 以上の種類が発見されています。その中でも多

いものはタイプⅠからⅤまでです。数年前から化粧品の中に保湿成分として配合されていますので、名前はみなさんよくご存知かと思います。化粧品に含まれているものは、ほとんどがタイプⅠコラーゲンです。コラーゲンは、低温で0.5%ぐらいの酸性溶液だと無色透明の液体ですが、フィルム状にしたり、スポンジ状にしたりいろいろな形状にすることが出来ます。私は、このタイプⅠコラーゲンを使って主に細胞培養用の支持体の開発をしていました。

そんな私がTPCにきた理由は、実際にウイルスを扱いながら、ウイルスについての知識を身につけ、製品のウイルス混入否定検査の結果を理解できるようになるためでした。会社での仕事のほかにTPCでの実習ということでしたので、週2日ぐらいしか来所することが出来ず、来所した際はバタバタと実験をして帰るという生活で、予研の先生がたには大変ご迷惑だったかも知れません。謹んでお詫び申し上げます。以下に私がおこなったこと、気付いたことについて述べたいと思います。

ウイルスの定性定量試験としては、蛍光抗体法、逆転写酵素活性測定、ドットイムノアッセイ、CPE観察、ブラックアッセイ等をおこないました。このなかではドットイムノアッセイは、特別な器具を必要とせず、すぐに実施できる方法であり、会社においてもさっそく取り入れさせて頂きました。さらにエイズ感染サル末梢血リンパ球からのDNAの抽出、PCRによる増幅、電気泳動による目的遺伝子断片の検出をおこないました。この操

作により、末梢血からのDNAの抽出方法及び、PCR法について習得させて頂きました。PCRにおいては、反応時間、温度、回数及び、反応液中のプライマーの濃度を変える事等により産物が量、質共に変わるため、目的にあった条件設定が大事であることを学びました。

また動物室にも入れてもらいました。これまで会社ではウイルス等の病原体を扱っていなかったため、クリーンルームという外の物を中へ入れてはならないという部屋でした。しかしTPCの場合は、病原体というものを扱っているため、外の物を中に入れないだけでなく、中の物を外へ出さないという厳重なシステムになっていることを教わり、そのシステムの管理、維持は大変であろうと思いました。

私は会社の仕事の関係上、多くて週2日少ないときは1ヵ月来れないような事もありました。そのため、まとまったテーマを持つことが出来ませんでした。しかし私は実際にウイルスを扱い、ウイルスについて学び、またサルという動物を飼育している現場に触れることが出来、非常に有意義な経験をすることが出来たと思います。お忙しい中ご指導頂いた向井先生はじめ霊長類センターの方々に、厚く御礼申し上げます。

霊長類フォーラム便り

From the Primate Forum

パソコン通信を使った「霊長類フォーラム」の会員数は10月10日現在で70名を越え、再構成された会議室もすっかり見慣れたものになって来ました。

書き込みは前とくらべて格段に盛んになった……とは言えませんが、内容的にはより多様になってきています。タイムリーな話題、例えば新聞に載った、「野生チンパンジーが薬効のある植物を知っている可能性がある」という記事に触発され、最近読んだ面白かった本の話とか、日頃疑問に思っている事、教えて欲しい事などが交信されています。

「Primate-Talk」からのニュースもほぼ定期的に掲載されるようになり、翻訳の為の時間的ずれが多少はあるものの、霊長類をめぐる世界のホットな情報、話題が提供されています。

それでは、「霊長類フォーラム」をまだ御存じない皆様のために、第 1 会議室、【Primate-Talk: PT】から、内容の例として、記事を 2, 3 紹介致します(一部省略、要約有り)。

1. ネットワークで資料収集

(米国では学生の学習活動にもネットワークが浸透しているようで、中には自分の論文のためのアンケートをとる人もいます。フォーラム有効利用のサンプルです。)

研究者の皆様

私たちは霊長類を捕食する動物についてのアンケートをできるだけ多くの霊長類学者と捕食研究者のご協力のもと、実施したいと思っています。また、アンケートから集められた情報は、博士論文の一部とさせていただきます。

アンケートには手短でけっこうですので、

お早めにご記入いただき、郵便もしくは e-mail で早速ご返送いただければ幸いです。

また、霊長類が捕食されるという事に関して、捕食者の種に関する、糞のサンプルが巢の残骸で、フィールドリサーチから得られ、分析されたものがないかと探しています。もしお持ちの方がいれば、訪問して、霊長類の痕跡について分析させていただきたいと存じます。

2. 霊長類の人間への性的、性別反応

質問:

霊長類の人間への性的・性別的反応に興味があります。科学的データであるかエピソードであるかを問いません。私はしばしば飼育者から、飼育者の性別によって、飼育されている霊長類が違う態度をとることを聞いています。この件に関して、確実なデータがあるでしょうか?

回答:

a:私の経験では、オスの macaque は私にたいして攻撃的であり、女性の同僚にたいしてやさしい。その逆も正しいとおもう。

b:1980—81 年, わたしは Alto グループのヒヒを(Alto's Group of savanna baboons)調査していました。その時 Kojak というオスが入ってきました。最初彼は、他のヒヒや人間と大きく距離をとっていましたが、次第に周りのヒヒを威嚇するようになり、人間もその対象となりました。その際に、男性の観察者のみが威嚇の対象となりました。女性は決して威嚇されませんでした。その場にいた人間の肌の色、髪の毛の長さなどはまちまちで、それだ

けの外見では性別を判断することができずとおもえました。これはまだエピソードの範疇でしょうが、Kojak は何かの方法で我々の性別を認識していました。

c:人間に育てられたメスのゴリラは時々、オスのゴリラに関心を持たず、男性の飼育者に関心を寄せます。それはゴリラとしては社会的心理的に異常な行動でしょう。飼育者が二人組みでいくとき、一人で行くときとゴリラの対応が違うので、証明しにくいのですが。

d:子供のゴリラはあまり性別に関心があるようには見えません。Tom Struhsakerの体験によるとあるグループの silverbacked gorilla は、白い長い鬚と、白髪 of 彼を見て、他のグループの silverbacked gorilla だとおもったとのこと。ゴリラは人間の性差に時として興味があるようです。

e:反対意見

「Macques が人間の性を認識して行動するように見えるというのは、先入観に基づいた推測であると思います。」等々その他にも、多数の意見が寄せられました。

3. “Cynomolgus” の語源は?

質問:

Macaca fascicularis は cynomolgus とも crab-eating macaque ともいわれますが、cynomolgus の由来は何なんでしょうか。

回答:

a:なぜ crab-eating macaques が cynos というわれるのか確信がないのですが、cyno という接頭辞については「犬に関係がある」とか「犬

に似ている」という意味であることは知っています。

b:関連するギリシャ語の意味は下記の通りです。

Greek “kuon” (stem “kun-“)= a dog; also bitch (including in the sameslang sense as in English, plus a sense of “immodesty”), a courageous person (i.e. like a good hunting-dog); a knucklebone used for dice; the dog-star, Sirius; a short nail; a foreskin.

Greek “molgos” = a sack made of ox-hide (牛の皮の袋) [Liddell & Scott's Greek Lexicon]

4. タマリンは遊びますか?

質問:

どなたか質問に教えてください。タマリンは遊びますか。資料研究や L. rosalia で飼育されているものを観察した結果では、子供が一頭いましたが、遊んでいるようにはおもえませんでした。なにかタマリンの遊び行動として記録され、カテゴライズされているものがありますか。

回答:

a: L. rosalia の平野でしばしばタマリンが遊んでいるのを観察しました。遊びは大体 15 分から 20 分ぐらい続き、通常数匹の若いタマリンが交じっています。そしてそれ程頻繁ではないですが、alpha male (ボスザル?) が交じっています。私の記憶では、alpha female はほとんど遊んでいなかったようにおもいます。遊びは通常午後遅く、竹の枯れ葉が厚く敷き詰められた空き地で見られました。また

lianas や蔓草のある少し狭い場所でも遊んでいました。

b:飼育されている赤腹タマリン(*Saguinus labiatus*)は手におえないほどの遊びをしぼしぼします。マーモセット(*Callithrix geoffroyi*)もそうですが、どんな種類の callitrichid でも、遊ばないということがあるとすれば驚きです。

下記の文献を参照してください。

Caine and O'Boyle, "Cage design and forms of play in red-bellied tamarins," *Zoo Biology*, 1992, 11: 215-220

(翻訳:田村)