

## 《巻頭言》

### 新しい年によせて

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

1996年の新年を迎え今年こそはとさまざまな希望を胸に躍らせておられる事かと存じます。

昨年は、あの未曾有な大災害ともいうべき阪神大震災が発生し大きな被害の爪痕を残した事は記憶に新しい处でございます。自然の威力とはいえ恐ろしさに胸が詰まる思いでした。その後の復旧への槌音の報知に一日も早い生活にもどれるよう祈念いたします。

さて、毎年発行しておりますTPC ニュースも通巻 25 号を数えることができましたことを驚くとともに、ご支援を下さいます皆様の期待に添うべく努力して参ります。

そこで、今回は編集委員会から巻頭言を協会がとの指示を受け担当する事となりましたので感じたままを述べる事といたします。

災害は忘れた頃に・・・の例え阪神大震災、地下鉄サリン事件、ザイールでのエボラ出血熱の流行と続いて私たちの日常生活までも不安をかきたてる事件続きの年でした。

とくにザイールで発生したエボラ出血熱の出現は現在、霊長類の飼育管理に携わる者にとっては世界のベストセラーとなった、R・プレストンの「ホットゾーン」を読んだ後だけに大いなる関心を覚えました。かつて、ラッ

サ熱が発生した時、日本に飛来してきた航空機に患者と接触した人が乗っているとの情報から、日本で降りた乗客の追跡調査をした事がございましたが、調査の結果は幸いの事に白となりホッとした記憶が蘇ります。なにしろ、その頃の国の伝染病防疫体制はP4級の隔離収容施設がない有様でした。その後に、伝染病関係学者の指導のもと成田空港にアイソレーター付きの患者移送用防護車を、東京都の荏原病院にはP4級の隔離収容施設を整備し万全の備えをした处でございます。

そんな事も忘れようとしていた折り、二年前に当該協会の理事長をと指名された訳ですが、当施設の開所時に公衆衛生局を担当していた関係から開所式に参席し、業務の何かは承知している筈でしたが業務内容を知るほどに何をどうしたら良いのか社団法人らしくするには?社会に貢献できる業務をしなければ意味がないと言った自問自答でした。

霊長類の繁殖飼育という業務はわが国では初めての事で嘗々と19年余、今では初代から数え五代目が繁殖親となりカニクイ、ミドリリス、アカゲ等のサル約2000頭余を飼育しております。社会情勢も変化してきており、科学技術も驚くほどに進歩してきております。当センターでも当初はワクチンの検定用サルの生産を目的としてまいりましたが、最近では感染症の研究実験用サルの生産にも業務範囲を拡大し長寿科学、エイズ等人類にもっとも近い対象動物種として実験研究に利用されております。

私ども協会の業務も国立予研の支援者として参加しており、職員も自分たちの業務の意

義を感じ精進している一方、新しい事業として社会に貢献できる業務をと受託検査・受託検査等を平成五年に開始し先にご案内をいたした処でございます。受託検査は、筑波霊長類センターの「諸内規および作業方式」の検査作業に従ってそれぞれの諸検査業務を進めております。

受託検査は細菌、寄生虫、原虫、血液一般、血清生化学等の諸検査はもとよりウイルス抗体検査はBウイルス、サルエイズウイルス、サルレトロウイルス、を始め麻疹ウイルス、単純ヘルペスウイルス等を行い日本での調整が難しいウイルスについては米国 Microbiological Associates Inc. とのライセンス契約のもと実施し、検査技術水準も「MA社」と対等に情報交換も随時行うなど研究活動ができる体制が出来ております。

とくに、アフリカ・ザイールのニュース以降、動物輸入業者、動物管理者、研究者の霊長類の安全使用に関する認識が高まってきたことは、霊長類が有しているであろう感染症を事前に知ることにより動物の実験研究の方途と、一方では携わる関係者の安全が守られる喜ばしい方向に向かっている事と理解しております。

ともあれ、何かが起こらないと動き出さない体質は何処も同じで、国からも霊長類の輸入状況を調査するなど未知な課題を抱えております。なにはともあれ、被検体の感染状況を事前に知することは、実験を進める上からも適正な結果が求められる事ではと思います。

ウイルス関連の事業内容については、毎年実施しております協会の“セミナー”での折り

に譲る事として、とにかくも事前検査は定着してきております。厚生省においても人畜共通感染症の観点からサル類も何らかの指導をすべき時期に有るのではないのでしょうか。

また、かつて先輩が TPC ニュース 10 周年記念号で指摘されました協会新規事業の問題点も、国立予研のご協力により一つづつ実現しています。御陰様で職員一同も活気に満ちて、委託事業に自主事業活動にと励んでおります。

もうひとつのビッグニュースは、筑波霊長類センターに霊長類共同利用施設が新設されることです。建物の内容は、高次神経・長寿科学・遺伝子治療研究棟と研究用霊長類管理棟、及び機械棟(合計 2,700 m<sup>2</sup>)で平成九年度オープンを目途として国がいま全体の計画を検討しており早期の完成が待たれる処であります。

厚生省の試験研究機関も新時代に対処して再編されると聞いております。これを機にそれぞれの試験研究機関が、或いは官民が共同の施設として活用されるのは画期的な事であり、一層の成果が期待されるものと確信いたしております。

いずれにしてもセンターで飼育されているサル類は、既に感染症の研究実験にも活用されていることは前述しましたが、インドア方式で繁殖飼育されている当センターのサルは、サル特有の病原菌の汚染度も低い事が定期的に行う健康診断の結果で保証されています。その他にも、老齢サルの中には高脂血症、糖尿病、白内障等の貴重な病体モデルサルが散見されております。これらが、官民との新し

い研究実験のための施設として開放されることは素晴らしい事と大いに期待している処であります。

1996 年を迎えてこれらの新規事業が展開して行くにつれ、当協会もまた新しい時代へ向かって精進する事を誓い巻頭の挨拶といたします。

### 《新たな業務》

#### 筑波霊長類共同利用施設

Joint use facility for research with monkeys

吉川泰弘

#### はじめに:

平成 7 年度第 2 次補正予算により、約 27 億円の費用で筑波霊長類センター内に厚生省霊長類共同利用施設が建設されることになった。以前から構想を練っていたものであるが、現実の課題になると色々考えることが多い。我が国唯一の霊長類医学研究施設として発展させなければならない、この共同利用施設の構想の背景と、その目的をここで簡単に紹介しておきたい。

#### 1. 日米霊長類研究の違い:

日本における霊長類医学研究は存在するか?現状での答えは残念ながらノーである。何故か?米国の霊長類センターの活動と日本の霊長類研究には大きなギャップがある。京大の霊長類研究所が比較霊長類学、進化論社会学というような、人文科学あるいは理学部的側面が強いのに対し、米国の霊長類センターや筑波霊長類センターは霊長類医学研究を中

心にすえている。

米国の 7 つの主要な霊長類センターに対する NIH の評価がどの位、重いものであるかは、NIH の CMP, NCRR(Comparative Medicine Program, National Center for Research Resources)の支柱が、予算的に霊長類センターの研究活動・維持管理費であることから明らかである。サル類の生息地でない米国で霊長類医学研究が驚異的な進展をみせているのは、日本の文部省、厚生省、一部大蔵省の役割を兼ねている米国 NIH が、a)医学・薬学研究の為の研究資源の確保とその開発の重要性を認識し、充分な投資をしていること、b)研究の活性を維持するために、いずれの霊長類センターも大学と併任させ、若い世代の研究者を育てていること、c)製薬企業、大学、研究所等のエンドユーザーの意識が高く、研究資源開発の支援と、その成果の応用利用が上手なことである。日本の現状は残念ながら、上記 a), b), c)のいずれも満たされていない。

#### 2. 筑波霊長類センターの変遷:

1978 年、野生霊長類の資源保護と国家検定の為の高品質育成サル類の供給を目的として建設された筑波霊長類センターは、よくその機能を果たして来たが、医学実験用サル類の繁殖・育成、コロニー健康管理で得られたノウハウをそれ以外に生かす方向性を制限されていた。1993 年所掌事務を変更し、従来のサル類供給業務の他に、疾患モデル開発研究、遺伝資源確保、霊長類情報の収集・提供などの分野を業務に取り入れ、医学実験用サル類のブリーダー、ディベロッパー、及びエンド

ユーザーとしての役割を果たすことが可能となった。

### 3. 共同利用施設構想：

こうした経緯の下、共同利用施設構想を打ち立てることになった。その主旨は以下の通りである。21世紀我が国が超高齢化社会を迎えることは必定であり、その人口構成比は急速に高齢化に偏るため、成人病や老人病が克服すべき国民的疾患の主要課題となる。これらの病気の早期診断あるいは、予防・治療法の開発には、従来のような急性疾患をコントロールするという考え方とは別の新しいパラダイムによる医科学研究が必要となる。

次世紀に克服すべき成人病・老人病は、具体的には糖尿病・高脂血症・骨粗鬆症のような代謝病、痴呆症・パーキンソン病のような進行性神経疾患、及び難聴・網膜黄斑変性症のような感覚器障害である。こうした疾病をコントロールするには、早期診断の為の先端医療電子機器類の開発や遺伝子治療法の導入などによる新規の予防・治療法開発の為の先端医療技術の確立が必須の条件である。

こうした先端機器や新技術の基盤開発には動物を用いた疾患モデル系の作出とモデル系を用いたブレークスルーが必要である。しかし従来疾患モデルとして利用されて来たマウスやラットでは、高脂血症のリスクファクターであるアポA蛋白が遺伝的に産生されない、痴呆の原因となる老人斑形成がみられない、黒質細胞を破壊してもパーキンソン病の病態が作出出来ない、網膜黄斑部がない等と人と大きく異なっている。これらの病気のモデル

には、人に近縁で、長寿であり、代謝・神経系が人に最も類似しているサル類を利用するのがベストである。

当センターでは開設以来、世界に類例のないサルの大規模室内繁殖を行って来た。成人病・老人病の基本原因である加齢・環境・遺伝という側面からみると、当センターのサルは産地・家系を含めた遺伝的特性が全て明らかになっており、また、個体の病歴等出生以後の個別測定値のデータベースが確保されている。さらに室内個別飼育であるため環境因子が完全にコントロールされるという他のサルにはない利点を持っている。また高齢サルは今後も当センターで計画的に産生されることになっている。

こうした老齢の疾患モデルサルは共有の研究資源として厚生科学のために有効利用されるべきである。しかし実験動物としてのサルはその飼育管理が難しく、専用の施設、経験豊富な技術者及び検査員等の研究支援が必要である。従って各研究機関に小規模分散的にサルを供給するよりは、米国の霊長類センターのように長寿研究、高次神経研究、遺伝子治療研究の為の共同利用施設を当センターに設置する方が経済的である。こうした共同利用システムにより、はじめて効率的で集約的な総合プロジェクト研究が可能になる。

### おわりに：

こうして、霊長類を用いた老人病研究、高次脳神経機能・認知・行動研究、遺伝子治療研究をキーワードとするハードウェアが、従来の感染症制圧のための動物モデル研究と並

んで設立されることになった。これからの問題はソフトウェアである。米国の霊長類センターの1つに匹敵する活動を起こす為にも、いろいろな分野から多くの若い研究者の参加を期待します。

#### 《時代を支える TPC の研究》

##### —厚生省長寿科学総合研究—

#### 霊長類を用いた老人病モデルの開発に関する研究

##### III サル類における脂質代謝モデルの開発

Development of Nonhuman primate models for senile diseases

筑波大学臨床医学系内科学

松島照彦

#### 【Lp(a)研究の背景】

老化の中で、最も顕著な変化の見られるもののひとつは血管の老化、すなわち、動脈硬化である。動脈硬化の危険因子には、高脂血症、喫煙、肥満、高血圧などが知られているが、血清脂質の中でも、リポ蛋白(a)(以下、Lp(a))は、近年、動脈硬化性疾患の独立した危険因子として注目されている。Lp(a)は、低比重リポ蛋白(LDL)粒子にアポ蛋白(a)(以下、apo(a))が S-S 結合をしたリポ蛋白である。近年、spo(a)の cDNA がクローニングされ、線溶系蛋白である plasminogen と相同性が非常に高いことが報告され、plasminogen と競合しその作用を阻害する事が明らかとなり、Lp(a)の催動脈硬化作用の一因として注目されている。

Lp(a)には他のリポ蛋白分画には見られないいくつかの特徴がある。ひとつは、蛋白部

分である apo(a)に“kringle”と呼ばれる繰り返す構造の数の違いによる分子量多型が存在し、apo(a)の分子量と血清 Lp(a)濃度との間に負の相関関係があることである。apo(a)の多型は遺伝的に決定されているので、血清 Lp(a)濃度は性や年齢、食事などの影響を受けず、一生を通じて比較的一定の値を取ることが知られている。

二つ目の特徴は、Lp(a)濃度が遺伝的にある程度決定されているのにもかかわらず、いくつかの疾患において、その濃度の増加が見られることである。心筋梗塞後や手術後に一過性に血清 Lp(a)濃度の上昇が認められ、また、糖尿病や悪性腫瘍、末期腎不全における血液透析患者などにおいて健常群に比し血清 Lp(a)濃度が上昇していることが報告されているが、このような患者においては虚血性心疾患の発症率が高値であることが知られている。

三つ目の特徴は、このような明瞭なリスクファクターであるにも関わらず、通常の抗脂血薬であるクロフィブレート系薬剤、HMGCoA 還元酵素阻害剤、プロブコール等には血清 Lp(a)濃度低下作用がないことであり、ニコチン酸、蛋白同化ステロイド、およびエストロゲンにおいて血清 Lp(a)濃度低下作用が報告されているのみである。

四つ目の、このプロジェクトを計画するに至った最も重要な特徴は、Lp(a)がヒトおよび旧世界ザルにしか認められないことである。Lp(a)はヒトの培養細胞株においても多量に合成・分泌する系がないことから、Lp(a)の基礎研究は著しく立ち遅れている。Lp(a)の合成

部位は肝臓であることが肝移植の結果や mRNA の発現より明かとなっている。また、 $^{125}\text{I}$ -Lp(a)血清を用いた Lp(a)の代謝回転の検討により、血清 Lp(a)濃度は、異化ではなく合成により規定されていることも知られているが、その合成調節や異化の機構に関してはほとんど明らかになっていない。

これらのことから、我々はカニクイザル高脂血症モデルを Lp(a)の観点から研究し、その応用を試みることを目的とし、プロジェクトを開始した。まず、カニクイザルにおける血清 Lp(a)濃度測定系の開発と、カニクイザルの apo(a)に分子量多型が存在するか否かについて解析し、ついで、多数例のカニクイザルの血清 Lp(a)濃度と apo(a)の多型について解析し、ヒトとの比較を行い、また、家系内の apo(a)表現形の遺伝と血清 Lp(a)濃度との関連について解析を行った。これらの検討から、カニクイザルが、Lp(a)研究の良いモデルとなることが確認されたので、次にその応用として、カニクイザルの肝細胞初代培養法の確立を試み、急性反応性蛋白合成に影響を与えるサイトカインなどの Lp(a)合成に与える影響について検討を行った。

#### 【カニクイザルの血清 Lp(a)濃度と apo(a)多型の解析】

初期の検討において、カニクイザルの Lp(a)がヒトの Lp(a)に対する抗体と反応し、ELISA系で定量的に再現性よく測定しうることが確認できたので、716 頭のカニクイザルについて血清 Lp(a)濃度の測定を行った。血清 Lp(a)の濃度は  $55.3 \pm 22.7 \text{ mg/dl}$  (平均  $\pm$  標準偏差、以

下同じ)であり、0-140mg/dl の間に広く分布していた。これはヒトにおける血清 Lp(a)濃度  $20.2 \pm 16.9 \text{ mg/dl}$  に比し、著しく高い濃度分布であった。

それでは、サルは、動脈硬化を起こしやすいのであろうか?このことについては、昨年度までの班会議などにおいても議論してきたが、サルの剖検では、動脈硬化病変はほとんど見られない。多分、サルがヒトに比べて、寿命が短いので動脈硬化を発症する前に死亡するためであらうかとも考えられた。

次に、ウェスタンブロット法を用いて、479 頭の血清について apo(a)表現形を解析した。カニクイザルの apo(a)にはヒト同様分子量多型が存在し、少なくとも 10 種類の分子量多型が存在することが明らかとなった。サルの apo(a)にも分子量と血清 Lp(a)濃度の間に負の相関が存在することが認められたが、検討したサルに最も多かった多型は S2 型と呼ばれる型であり、ヒトで最も多い S4 型に比べ分子量が小さいものであった。すなわち、サルの Lp(a)濃度が高い理由のひとつは、高い Lp(a)濃度分布を有する apo(a)多型が多いことによると考えられた。(Fig.1)

ヒトにおいては血清 Lp(a)濃度と血清総コレステロール濃度、トリグリセリド濃度、空腹時血糖値の間には有意な相関は認められなかったが、カニクイザルでは血清総コレステロール濃度との間に弱い有意な正の相関が認められた。これは、カニクイザルの血清総コレステロール濃度はヒトよりも低いのにに対し、血清 Lp(a)濃度はカニクイザルのほうが高く、血清 Lp(a)濃度の約 30%がコレステロール

であるので、Lp(a)のコレステロールが影響してこのような相関が現れるのではないかと考えられた。

家系の明らかなカニクイザルについて分子多型を利用して apo(a)の遺伝的表現形を調べたところ、apo(a)遺伝子は co-dominant に発現することが明らかとなった。

#### 【カニクイザルを用いた Lp(a)合成の解析】

カニクイザルの血清 Lp(a)濃度、apo(a)多型を解析する系が確立され、カニクイザルが Lp(a)代謝のモデル動物となりうることが確認されたので、これを用いて、高 Lp(a)血症発症の原因解明のための研究を行うことを計画した。

ヒトにおいて、いくつかの疾患において血清 Lp(a)濃度の高値が見られることを先に述べた。我々は、中でも血液透析患者と糖尿病における Lp(a)の高値に着目し、特に、透析患者において、血漿中の炎症性サイトカインの1種である IL-6 の濃度が Lp(a)濃度と正相関することを発見していたので、IL-6 が原因として Lp(a)合成を高めているのではないかと考え、これをサルで確認することを目的として、カニクイザルの肝細胞初代培養と、IL-6 の個体静注実験を行った。

我々は、以前よりラットやモルモットの肝を用いて初代肝細胞培養を行っていたが、サルの肝細胞培養は困難であることが定説であった。ひとつには、サルの肝は結合組織が硬く、細胞を分散できないと言うのが原因と言われていた。案の定、カニクイザルの肝細胞初代培養は困難を究めた。当初、死体肝より

の細胞の回収を試みたが、凝血が始まっていたとほとんど細胞はとれなかった。次に、麻酔下で、開腹と同時に門脈カニューレーションを行ったが、細胞の回収率は悪かった。肝の消化に当たり、コラゲナーゼ液に加え、活性の強いディスパーゼ液を用い、また酵素活性を保つために肝をガーゼで覆って 37°C の生理食塩水を絶えず注ぐなどの処置をし、なんとか実験に用いる量の細胞が得られるようになった。培養中も、培地中に種々の増殖因子などを加え、細胞を維持することができるようになった。得られた培養肝細胞からは、盛んな Lp(a)分泌が観察された。

これを用い、サイトカインに対する肝細胞の Lp(a)合成分泌に対する影響を観察した。カニクイザル初代培養肝細胞におけるコントロールの Lp(a)合成量は、 $34.8 \pm 0.7 \text{ ng/mg cell protein}$  であったが、これに IL-6 を  $10.0 \text{ ng/ml}$  加えたものは  $47.2 \pm 2.1 \text{ ng/mg cell protein}$  と Lp(a)合成の亢進が見られた(Fig.2)。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  の添加においても Lp(a)合成が亢進する傾向にあった。一方、TGF- $\beta$  1 を加えたものでは Lp(a)合成能の低下が見られた。IL-6 を  $10 \text{ ng/ml}$  と TGF- $\beta$  1 を  $10 \text{ ng/ml}$  加えたものでは、control と差が見られず、IL-6 による合成の亢進が TGF- $\beta$  1 により相殺されたものと考えられた。

次に、カニクイザル 3 頭を用いて、連続 4 日間、個体への IL-6 の静注を行った。期待に反して、血清 Lp(a)レベルは多少増加する傾向にとどまった(Fig.3)。結果を見る限り、今回の実験の最大の問題点は、用いたサルの血清 Lp(a)濃度の初期値が、いずれも  $100 \text{ mg/dl}$  前後

と極めて高かった点である。もし肝の Lp(a) 合成能がほとんど上限に達していれば、IL-6 による合成亢進作用が現れにくかったのではないだろうか。今後、また例数を増やして実験を試みるつもりであるが、今度は、Lp(a)濃度初期値の低い個体を選んで用いたいと考えている。

一連の研究から、急性反応性蛋白を誘導するサイトカインがカニクイザル初代培養肝細胞において、また多分、個体においても Lp(a) 合成能に影響をおよぼすことが観察された。Apo(a)遺伝子の 5' 上流 flanking region の塩基配列には IL-6 に応答する element が存在するので、それを通じて肝細胞の Lp(a)合成が亢進したと考えられる。慢性透析患者をはじめとして、いくつかの慢性炎症、悪性腫瘍を有する患者において高 Lp(a)血症が見られるが、この一因として、IL-6 を介した Lp(a)合成の誘導があることが示唆された。

#### 【まとめ】

カニクイザルが Lp(a)代謝疾患研究の良いモデル動物として解析に応用できることが示された。IL-6 に続き、現在、糖尿病、ニコチン酸の Lp(a)合成におよぼす影響を検討しているところである。当面の目標は、インスリン、ブドウ糖やニコチン酸の Lp(a)合成に与える影響を、肝細胞の apo(a)の mRNA レベルで検討することである。今後、Lp(a)合成に及ぼす種々の因子や薬剤の与える影響を、培養細胞系を用いた遺伝子レベルでの検討、肝灌流系を用いた分泌のレベルでの検討、サル個体を用いた Lp(a)合成、代謝回転の検討を通じて

解明して行きたいと考えている。

#### 《時代を支える TPC の研究》

#### IV カニクイザルにおける糖尿病

Diabetes mellitus in cynomolgus monkeys

三共株式会社・安全性研究所

安田充也

糖尿病は世界的に激増する傾向にあり、アメリカ合衆国では 1950 年代に比較して罹患率は 3 倍に達しようとしている。特に、かつて成人型糖尿病といわれていたインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)は日本においても患者数が 500 万人を越えており、40 歳以上の罹患率は 10%に達している。NIDDM は高齢者人口の増加に伴いさらに増加の一途をたどることは必至である。しかしながら、NIDDM では血糖値が上昇し尿中に糖が出てきたとしてもこれらの変化自体はなんら本人には自覚症状としては現れない場合が多い。また、NIDDM は通常は急性の転帰をたどり死に至るような疾患ではないと考えられている。糖尿病が贅沢病などといわれ、ともするとあまり深刻に受け止められていない原因はこのような認識の不足に由来すると考えられる。しかし、糖尿病において留意しなければならない点は実は合併症であることを理解しなければならない。糖尿病合併症には網膜症、腎症、神経障害、皮膚症などが挙げられるが、たとえば成人失明の第 1 位は糖尿病網膜症であり年間 3000 人以上の糖尿病患者が視力を失っている。また、年間 6000 人を越える患者が腎障害のために人工透析を余儀なくされている。これら



のことを考えると、糖尿病は決して安易に考  
えるような疾患ではないことは明らかである。

糖尿病が局所的な疾患ではなくインスリン  
の絶対的あるいは相対的欠乏に由来する全身  
的な疾病であることを考えると、糖尿病の病  
態解明あるいは治療を目的とした研究を行う  
ためには whole body としての実験動物が必要  
となる。以前は外科的な膵臓摘出あるいはア  
ロキサンやストレプトゾトシンといった化学  
物質を動物に投与し糖尿病状態を誘発させる  
実験系が多かったが、最近では各研究機関に  
おいて見出された自然発症モデル動物が多く  
用いられるようになり、トランスジェニック  
動物の作出も盛んに行われている。これらヒ  
ト糖尿病の動物モデルとしてはゲッシ類が主  
に用いられているが、分類学上ヒトに近縁で  
あるサル類は糖代謝もヒトに類似しており、  
さらに寿命が比較的長いことから長期間にわ  
たる糖代謝の異常に基づく種々の変化を追跡  
することも可能である。このような観点から  
サル類、とくに自然発症糖尿病動物を用いた  
研究は非常に有用であると考えられる。サル  
類における糖尿病の自然発症例は原猿類のキ  
ツネザルからオマキザル、マントヒヒ、チン  
パンジーに至るまで報告されているが、なか  
でもマカカ属での症例報告が多い。ただし、  
複数の自然発症例を保有し糖尿病群として研  
究している施設としては、アメリカ合衆国の  
オレゴン霊長類研究所のクロザル・コロニー  
およびメリーランド大学医学部の肥満アカゲ  
ザル・コロニーなどごく僅かである。

#### 自然発症糖尿病カニクイザル

それでは、私達の施設において自然発症糖  
尿病カニクイザル・コロニーがどのようにし  
て見出されたかを述べたい。当施設では化合  
物の安全性試験を行っており、動物種として  
は主にカニクイザルを用いている。ほとんどの動物は入荷検疫後に試験に供されてしま  
うが一部の動物については繁殖も試みていた。  
そのような繁殖用の動物のなかで 11 歳齢の  
雄ザルの体重が持続的に減少してきたことに  
気がついた。そのサルは外観はいたって健康  
であり食欲も旺盛であった。とりあえず外貌  
検査をして聴診と腹部触診をしていた時に排  
尿がみられたことから尿検査用紙を浸したと  
ころ、尿糖の部分のみみるうちに黄色から  
深緑色に変化していった。これらの事実を考  
えあわせると当然糖尿病の疑いが出てくるこ  
とから、採血を行い血清生化学的検査を実施  
した。その結果、空腹時血糖値は 198mg/dl で  
あり同時に測定した健常動物の値 ( $73 \pm 12$ mg/dl) を遥かに越えた高値を示した。ただし、  
インスリンは  $25 \mu\text{U/ml}$  と正常範囲内 ( $31 \pm 16$   
 $\mu\text{U/ml}$ ) にあった。次に静脈内糖負荷試験  
(0.5g/kg) を実施したところ、正常動物では負荷  
後 10 分で血糖の著明な増加がみられたのち  
30 分後までには投与前値に復したのに対し、  
このサルでは増加した血糖は投与 90 分経過  
しても高値のまま推移し耐糖能の顕著な低下  
が認められた。血中インスリンについても明  
らかな分泌反応はみられなかった。そして、  
全身麻酔下で膵臓の部分摘出を行い病理組織  
学的に観察した結果、ランゲルハンス島の  $\beta$   
細胞の減少と顆粒の減少が確認された。これ  
らの結果から、このサルは自然発症性糖尿病

であり、しかもインスリンを投与しなくても生存可能であることからヒトの NIDDM に類似した病態であることが判明した。

#### 糖尿病例の子孫に対する長期観察

このような経過により私達は糖尿病カニクイザルを見出した。通常であればこのまま症例報告をして終了してしまうところであるが、このサルが偶然にも繁殖用の種雄であったことが幸運だった。つまり、カニクイザルの繁殖では雄1頭に対して雌約10頭を1単位として繁殖集団を形成しており、この糖尿病ザルは30頭の子供をもうけていたのである。もし発見したサルがメスであったら子供の数はいずれ3, 4頭であり広範なサーベイは不可能であったろう。私達は次に糖尿病ザルの子供の耐糖能を経時的に追跡した。当時生存していた子孫のうち成熟例7例について7年間にわたり定期的に糖負荷試験を行った結果、1例の雌ザルにおいて顕性糖尿病に至るまでの臨床的变化を促えることができた。その変化の過程を図1, 2に示す。同例は7歳齢からモニターを開始したが、体重は漸次増加を示し4年後(1986年)には同年齢の健康な雌ザルの平均体重( $4.7 \pm 0.73\text{kg}$ )を遥かに上回る6.3kgに達した。この時期には体形はやや肥満傾向を示していた。その後体重は横ばいを続けたのち急激な減少が認められ7年後にはついに3.0kgとなり、食欲は依然として旺盛にもかかわらず著しい消瘦が認められた。空腹時血糖値は3年目までは正常範囲内だったが4年目から顕著な増加が認められた。また、空腹時インスリン値はモニター開始時にすでに著し

い高値を示しており、その後は漸次減少を続けた。一方、糖負荷試験における指標の一つであるk値(投与された糖の血中からの消失率)は3年目より減少が始まりいわゆる耐糖能不全状態となった。5年目にはk値は前述の糖尿病例と同程度となり、この時期に尿糖の排出が認められ顕性糖尿病と診断した。次に図2を見ていただきたい。これは7年間にわたる糖負荷試験でのインスリン分泌の変化である。シャドー部分は健常動物の範囲を表している。先程述べたようにモニター1年目にすでに空腹時インスリンの高値がみられていたが、同時期(1983年)の糖負荷に対するインスリン分泌反応も正常範囲を大きく上回っていた。1984年には耐糖能は同程度であるにもかかわらずインスリン分泌はより持続的となり、その翌年にはインスリン分泌の低下、とくに初期の分泌不全が顕著になり、この時期に耐糖能の低下が始まった。その後分泌反応は漸次低下しモニター7年目の1989年には糖負荷に対するインスリン分泌反応は全く認められなくなった。これらの結果をまとめると、正常状態から糖尿病への過程においては、まずはじめにインスリン抵抗性が発現し高インスリン血症がみられる。そして、インスリン抵抗性がさらに増大し、肝臓あるいは筋肉内への糖の取り込みにより多くのインスリンを必要とするようになる。このような過剰のインスリン分泌が持続した結果、膵臓のランゲルハンス島の $\beta$ 細胞の疲弊がおこり充分な量のインスリンを産生することができなくなるがインスリン抵抗性は依然として続いているため結果的に組織への糖の取り込が減少し耐

糖能の低下がみられるようになる。そして、 $\beta$ 細胞の疲弊が進み反応性のインスリン分泌だけでなく基礎分泌量も低下するようになった結果、空腹時血糖が増加し腎臓における再吸収の限界を超えたときに尿中に糖がでてくると考えられる。

このような長期間にわたる実験を行ってみて感じたことは、サル類を疾患モデルとして活用する場合マウスあるいはラットのように膨大な数の動物を用いて実験を行うことはできないが、同一動物の経時的な変化をみることにより非常に有用な情報が得られるということである。

#### 糖尿病群と耐糖能不全群

次に、カンクイザルにおける糖代謝の変化についてより詳細に検討するため、Howard らが糖尿病コロザル・コロニーに適用した方法に準じて糖負荷試験での  $k$  値をもとに 3 つの群、すなわち正常群( $k > 2.0\%/min$ )、糖尿病群( $k < 1.0\%/min$ )、そしてこれらの中間に位置する耐糖能不全群( $2.0\%/min > k > 1.0\%/min$ )に分けた。各群の構成は正常群 40 例、耐糖能不全群 12 例ならびに糖尿病群 6 例となった。図 3 を見ていただきたい。正常群では糖負荷後、血糖値の急激な上昇が認められ、負荷 10 分後においてピークを示した後急速に減少した。一方、糖尿病群では上昇した血糖はその後極わずかな減少で推移した。また、耐糖能不全群では投与前値すなわち空腹時血糖値は正常群と差を認めなかったが投与後は正常群と糖尿病群の中間の値をとった。図 4 にインスリンの動きを示した。正常群に比較して耐糖能不全群

では投与初期には低値を示したが 60 分以降は逆に高値となった。また、糖尿病群ではインスリン分泌はほとんどみられなかった。そして、投与後 10 分間でのインスリンの増加( $\Delta IRI$ )を比較した結果、正常群、耐糖能不全群および糖尿病群ではそれぞれ  $128 \pm 10 \mu U/ml$ ,  $63 \pm 16 \mu U/ml$ ,  $14 \pm 9 \mu U/ml$  と各群間に有意な差が認められた。これらのことから、糖尿病動物はもとより、空腹時血糖値には正常動物と差を認めない耐糖能不全状態の動物においてもすでにインスリン分泌に変化がおきていることが確認された。

一方、ヒトにおいては糖尿病診断の一基準として経口糖負荷試験が一般的に用いられている。生理的にはインスリンの分泌は腸管において吸収された糖質あるいは消化管におけるホルモンを介した刺激により発現する。そこで、カンクイザルの生理的な糖代謝を調べるために餌の負荷試験を実施した。その結果、糖尿病群ではインスリン分泌はやはり認められず、正常群に比較して約 9 倍の増加が認められた。しかし、耐糖能不全群では正常群と同様な血糖の推移を示し、インスリン分泌も正常群と差を認めなかった。すなわち、耐糖能不全群はヒトの NIDDM の初期の病態と同様に、膵臓  $\beta$  細胞への直接的なグルコース刺激に対しては分泌反応の低下がみられるものの日常的な摂餌後の消化管を経由した刺激に対してはインスリン分泌能力は正常に維持されていると考えられた。

さて、糖尿病は生体におけるインスリンの絶対的あるいは相対的不足であると解釈される。ヒトの糖尿病ではインスリン分泌反応の

低下とともに分泌されたインスリンに対する標的細胞の感受性の低下が指摘されている。そこで次にインスリンに対する末梢の糖利用率について euglycemic insulin clamp 法により検討した。正常なカニクイザルの末梢糖利用率は 5.9mg/kg/min とヒトとほぼ同様な値であった。これに対して糖尿病群の糖利用率は 3.7mg/kg/min と有意な低値を示した。また、耐糖能不全群においても 5.4mg/kg/min と低下傾向がみられた。すなわち、カニクイザルにおける自然発症糖尿病の糖代謝異常ではヒトと同様にインスリン分泌不全とインスリン作用の低下という、いわゆるスタートとゴールの両方に障害があることが確認された。

現代社会では糖尿病は今後ますます増加する疾患であることは間違いないであろうし、根本的な治療法あるいは予防法が切望されている。今回、カニクイザルにおける自然発症糖尿病および前糖尿病状態と考えられる耐糖能不全に関して病態の把握を試みた結果、遺伝的要因の存在を含めヒトの糖尿病の病態と類似している点が多いことが判った。今後これらの特徴をいまいちど整理し、NIDDM の動物モデルとしてのサルの有用性をより明確にしていきたいと考える。

## 参考文献

Yasuda M., Takaoka M., Fujiwara T., Mori M. (1988): Occurrence of spontaneous diabetes mellitus in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and impaired glucose tolerance in its descendants. 17: 319-332. J. Med.

Primatol.

Yasuda M. (1990): Development of glucose intolerance and insufficient insulin response in spontaneous diabetic and borderline diabetic monkeys. pp238-241. In: Frontiers in diabetes research. Lessons from animal diabetes III (Shafir E. ed.). Smith-Gordon, London.

Howard C.F., Yasuda M., (1990): Diabetes mellitus in nonhuman primates: recent research advances and husbandry practices. 19: 609-625, J. Med. Primatol.

## 《繁殖育成情報》

### 霊長類の奇形

#### Spontaneous mulformation in monkeys

長 文昭, 小野文子

サル類の外観の奇形についての報告は決して多くない。また、1950 年代後半から 1960 年代前半にかけて世界的に発生したサリドマイド児に見る四肢奇形はサル類(主にマカカ属サル)での誘発が容易であるが、自然発生のそれはまだ報告されていない。もっとも、1960 年代を中心に、日本の各地で餌付けされていたニホンザルの新生仔に四肢の奇形が多発した事実がある。これまでの調査の結果からは、汚染源を農薬とする環境汚染であると結論づけられている。ともあれ、サル類においては、自然発生の先天性奇形が集約的に認められることはまれであろう。

かつて、マカカ属サル類とヒトでの自然発生奇形率は 0.44%~0.52%と言われていたが、

近年、総説的にまとめられた奇形率は、旧世界サルで 1.02%~1.62%、リスザルでは 6.0%と報告されている。この発生率の上昇は、以前に増して、原猿、新・旧世界サルそして類人猿にいたる調査対象となるサル種の広がりと共に併せて飼育環境下での観察や使用数の増加、限られた対象の継続的かつ詳細な観察に基づく結果であろう。

筑波医学実験用霊長類センターは他に例を見ないタイプの屋内繁殖施設として、設立以来これまでに 4,000 余の妊娠例を作出し、大半の新生仔をその出生日に詳細な外貌検査を行い、以後の管理を確実かつ容易にするために電算機への新生仔登録をシステム化し、実施している。これまでにみられた奇形としては、胸部陥凹、脊柱側湾症、水頭症(2 例)、白内障(3 例)、尿道・陰閉鎖、口蓋裂(2 例)がある。また、3 重苦の新生仔も生まれている。これは立ち直り反射が出来ないばかりか、聴力がなく、眼は見開いているものの眼球は動くこと少なく焦点は定まらず、発声は極くまれに短く、自発的嚥下が困難で、排泄も不自由であった。この“ヘレンケラー”のような新生仔は 7 ヶ月ほどで短命を終えた。

上記の口蓋裂 2 例のうちの 1 例は、1995 年 10 月 15 日に出生した新生仔で以下に、個別ファイルから転載して紹介したい。

「F1 の母ザルから出生した新生仔の先天性裂奇形である口蓋裂が認められた。母ザルは 7 産目で、これまでの 6 産はいずれも正常分娩で奇形は認められていない。症例の出生時体重は 290g で正常範囲内であった。また口蓋裂以外には口唇裂などの異常は観察されてい

ない。口蓋は正中両側性に裂開しており硬口蓋から軟口蓋にむかって拡大している。母ザルの哺育行動は良好であったが、哺乳に問題があると判断し、人工哺育とする。授乳は経口胃カテーテルにより、出生直後は 2.5ml を 1 日 4 回投与し徐々に増量し、現在 12 週齢で 1 回 40ml の投与を行っている。しかしグラフに示すように正常個体に比べて体重増加が著しく緩慢である。現在は鼻咽腔の感染や炎症も認められず全身状態は良好に生育している。今後、早期に口蓋裂修復術を行う予定である。

#### 《検査情報》

#### カニクイザルのアルカリホスファターゼアイソザイム検査

Alkaline phosphatase isozyme in cynomolgus monkeys

大藤圭子

血清中のアルカリホスファターゼ(ALP)活性は、ヒトでは骨疾患、肝・胆道疾患、悪性腫瘍や妊娠で、また骨形成が盛んな乳幼児期に増大することが知られている。ヒト血清中の ALP アイソザイムはセルロースアセテート膜電気泳動法によって、肝由来高分子 ALP(ALP<sub>1</sub>)、肝臓型(ALP<sub>2</sub>)、骨型(ALP<sub>3</sub>)、胎盤型(ALP<sub>4</sub>)、小腸型(ALP<sub>5</sub>)、免疫グロブリン結合 ALP(ALP<sub>6</sub>)の 6 種に分画することができる。ALP アイソザイム分画測定の実施によって、血清中の ALP の由来臓器が推定できることから、臨床診断上きわめて重要になっている。サルの ALP については、カニクイザルの成長にともなう総 ALP 活性値の変化が報告されて

いる(吉田ら 1986.)が、ALP アイソザイムの検査報告については見当たらない。今回、正常雌カニクイザルの血清中総 ALP および ALP アイソザイム活性値の年齢に伴う変化を調べたので報告する。また体重成長不良であったいわゆる矮小ザルについても検査をしたので報告する。

総 ALP 活性値の測定は自動分析機(オリンパス AU510)で、p-NPP 基質法によって測定した。ALP アイソザイムの分画には、セルロースアセテート膜タイタン III Iso-Vis(Helena 社製)を支持体とし、定電圧 180V、40 分で電気泳動を行った。酸素染色は、インジゴ・ブルー法の ALP アイソエンザイム試薬(Helena 社)を用い、37°C、30 分反応させた。反応を停止させた後、デンストメーター(570nm)で分画比を測定した。検査にあたっては毎回 ALP<sub>2</sub>、ALP<sub>5</sub>を含む ALP アイソエンザイムコントロール(Helena 社)を同時に泳動した。また、肝臓型(ALP<sub>2</sub>)と骨型(ALP<sub>3</sub>)の両者を明確に分画するために、Vibrio cholerae 由来のノイラミニダーゼ(ALP セパレーター, Helena 社)を血清に 1/4 量の割合で加え、混和後、室温で 10 分間反応させて用いた。ALP アイソザイムの活性値は、分画比と総 ALP 活性値から計算で求めた。

カニクイザルの年齢と血清中総 ALP 活性値との関係を図 1 に示す。白丸(○)は当センターで行った定期健康検査で外観上健康と判断された、1~28 歳齢の雌カニクイザル 54 頭の血清中総 ALP 活性値を示す。総 ALP 活性値は 7 歳齢頃までは年齢の増加に伴って低下するが、それ以後はほぼ、500IU/l 以下の低い活性値を

維持した。

カニクイザル血清中の ALP アイソザイム分画は、ヒトの ALP アイソザイム分画の分類で ALP<sub>2</sub> と ALP<sub>3</sub> の分画のみが検出された。ALP<sub>2</sub> の活性値は、いずれの年齢でも低値を示した(図 2 白丸)。ALP<sub>3</sub> は総 ALP 活性値と同様に成長とともに 7 歳齢頃まで低下し、その後は低値を維持した(図 3 白丸)。このことから、年齢に伴う総 ALP 活性値の変化は主に骨型の ALP<sub>3</sub> に起因することがわかった。雌カニクイザルの四肢骨が 5 歳 9 ヶ月齢までに、すべての骨端該の融合(骨端線の消失)が完成するという報告(福田ら 1978.)や、体重成長がほぼ 7 歳齢で止まるという報告(吉田ら 1986.)と、合致する結果であった。

図 1, 2, 3 の黒四角(■)で、7~11 歳齢の体重増加が不良であった矮小雌カニクイザル 5 頭の総 ALP 活性値と ALP アイソザイム活性値を示す。矮小ザルの血清中 ALP も ALP<sub>2</sub> と ALP<sub>3</sub> の分画のみ検出された。5 頭中 3 頭の総 ALP 活性値および ALP<sub>3</sub> 活性値は、健康なカニクイザルでは低活性値になる 7~11 歳齢でも高い値を示した。各個体の総 ALP 活性値と ALP アイソザイム活性値を見ると(図 4)、矮小ザル B と D は総 ALP 活性値と ALP<sub>3</sub> 両方の活性値が高く、骨疾患が示唆された。矮小ザル C は総 ALP 活性値が高く、かつ ALP<sub>2</sub> と ALP<sub>3</sub> 双方の活性値も高く、骨疾患及び肝疾患との関連が示唆された。A は総 ALP 活性値はやや高く、ALP<sub>3</sub> の活性値もやや高いことから、骨疾患との関連が考えられる。矮小ザル E は総 ALP 活性値および ALP アイソザイムからは、異常は認められなかった。矮小ザルでは生後

約 2 年間の体重成長が健常ザルと比較して著しく低いのが特徴であり、7～11 歳齢の健常雌ザルの体重がおおよそ 3～5Kg に達するのに対し、今回検査を行った矮小ザルは全て 2Kg 以下であった。また体格も小さいことから、骨疾患との関連を疑い ALP アイソザイムを実施した。しかし、一見して同じ経過を経た体重成長不良の矮小ザルであったが、今回の ALP アイソザイムの検査では、その異常の原因は同一ではないことがわかった。今後、由来臓器との関連や他の臨床検査結果も検討に加え診断をしてゆきたい。

#### 《飼育管理技術》

##### P3 動物実験飼育室での給水装置の検討

Water supply system in Biosafety Level 3 laboratories

小松崎克彦

筑波医学実験用霊長類センターには、SIV や SHIV 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事を主な目的として、P3 実験飼育施設が設置されている。

当センターの P3 動物実験飼育室は、排水による汚染を防ぐ事を目的としてドライ方式を採用しているため、排水設備をもたない。そのため、従来から用いられているサル用自動給水装置では動物による吸水口へのイタズラの為に水漏れが発生すると、その漏水の処理が問題となる。また、この自動給水装置では給水管内の水圧が低下した時に飲水が逆流して、動物間に相互感染の起こる可能性も考え

られる。私たちは、給水バッグ、三方コックおよび逆流防止弁からなる P3 動物飼育用の給水装置を考案した。

給水装置は 1 ケージに 1 セットずつ取り付けられるタイプである。図 1 に示したように給水配管から吸水口へ至るホース(テフロンチューブ、内径 6mm、外径 12mm)の途中に、上流から逆流防止弁(3100F2 型、Flowell 製)、三方コック(Burkle 製)、給水バッグ(クローズドタイプ・無菌採尿バッグ、容量 2000ml、三矢製)を取り付けた。給水バッグへの補水量は 1 日当たり 500～1000ml とした。そして、給水配管から給水バッグへの”補水”と、給水バッグから動物への”給水”の操作を三方コックを切り換えで行えるようにした。通常は、“給水”の状態にしておく(図 2)。なお三方コックには内側の回転部分が“L 字型”のものをを用いた(図 3)。

使用した結果、動物にイタズラされても漏れるのは給水バッグ内の水だけとなったため、多量の水漏れ事故の発生は無くなった。操作上では三方コックを用いたことにより、バッグへの補水と動物への給水の切り換え操作が容易に行えた。

ところで、三方コックの回転部の構造が“T 字型”ではなく“L 字型”のものをを用いた理由は、図 3 に示したように“T 字型”の場合、補水と給水の切り換え操作をする時に一時的ではあるが、給水口側と給水配管側が直通状態になってしまうためである。つまり、給水バッグ側の水が三方コックの上流に逆流する可能性が“L 字型”より“T 字型”のほうが大きいと考えられたからである。また、三方

コックだけでは逆流を完全に防げないと考え、さらに逆流防止弁を給水装置の最上流に取り付けた(図 4)。したがって、三方コックと逆流防止弁の二重ロック構造により給水系を通じて相互感染が防止出来ると考えられる。

以上から、本システムは P3 動物実験飼育室の給水システムとして非常に有用であると考えられる。

### 《症例報告》

#### カニクイザルの卵巣類皮嚢腫

Dermoid cyst in a cynomolgus monkey

榊原一兵

サル類の卵巣類皮嚢腫(Dermoid cyst), 奇形腫(Teratoma)の報告例は少ない。わずかにアカゲザル(Crews ら 1967; Martin ら 1970; Scott ら 1975; Prentice ら 1978)アフリカミドリザル(Baskin ら 1982)およびオランウータン(McClure1980)の報告例があるが、カニクイザルでの報告例は見あたらない。

私達は筑波医学実験用霊長類センターにおいて 17 年間医学実験用霊長類の自然発生病について病理学的な検索を行ってきたが、このたびはじめて卵巣類皮嚢腫を見出したので報告する。

**症例:**当センター産, カニクイザル 13 才, 雌。

**臨床所見:**過去 2 回正常分娩したが、それ以後 5 年間に 3 頭の種雄と 7 回交配を試みたが妊娠しなかった。臨床獣医師による定期健康検査で、腹腔内に腫瘤が触知され、摘出された。

手術前後のメンスの周期はほぼ正常であるが、その日数は正常出産した頃に比べ延長する傾向が見られた。

**肉眼所見:**嚢腫の大きさは約 4.8×4.4cm, 表面は平滑, 多胞性。嚢胞内には灰褐色に混濁した粘調性に乏しい液体が貯留。そのなかに白色の豆腐粕様物や毛髪が浮遊している。嚢胞内には直径約 1.5cm の円錐形の突起(Dermoid cyst)が 2 箇所あり、その先端部位には毛髪が生えている。

**X 線(ソフテックス)写真所見:**石灰様物の沈着と歯様突起が認められる。

**組織所見:**三胚葉組織成分が認められた。すなわち、嚢胞壁にはほぼ正常な皮膚の組織構造が見られる。嚢胞の中心に向かって角質層, 層板状角化物, 重層扁平上皮, メラニン細胞, 皮脂腺, 神経, 毛嚢, および毛髪が見られる。なお実質突起部(Dermoid plug)も上記嚢胞壁に類似した組織構造であるが、その中心部分の大部分は脂肪細胞である。表皮の有棘細胞層には細胞間橋が明瞭である。真皮層には多数の毛細血管, 毛, 毛嚢, 汗腺, 線維細胞, リンパ球, プラズマ細胞, 好酸球および石灰様物質の沈着が見られた。

卵巣類皮嚢腫は卵巣の良性腫瘍でその組織発生は germ cell 起源とされている。私達のセンターのカニクイザルの本腫瘍の発生率は 980 頭中(流・死産を除く), 1 例であった。



## 《臨床ノート》

### 若齢のカニクイザルにみられた口腔内扁平上皮癌

Squamous cell carcinoma in the oral cavity of a cynomolgus monkey

小野文子

霊長類において口腔内に認められる自然発生の悪性腫瘍の報告は少なく、新世界ザルではリスザル、キャプチンモンキーでの扁平上皮癌、また旧世界ザルではニホンザルにおける下顎のエナメル上皮腫、そしてカニクイザルの頬袋に認められた扁平上皮癌が報告されています。しかしいずれの症例も12歳齢以上の個体に発症しています。ヒトにおいても幼年期に認められる口腔内の扁平上皮癌は非常に稀です。今回報告する症例は1歳齢のカニクイザルに認められた扁平上皮癌です。

症例は1994年6月出生のF2雄カニクイザルで、生後1年目に左頬の腫脹に気づき保定検診を行いました。頬部は硬結し穿刺での吸引は不可能、また歯肉部は著しく増生し易出血性で、下顎リンパ節の腫脹も認められました(図1)。また麻酔下においての開口も困難でした。その時の血液検査でWBC( $198 \times 10^2/\text{ml}$ ), CRP(3.06mg/dl)がやや高値を示したため抗生物質の投与を行い、開口不全が観察されたので固型飼料はふやかして給餌しましたが、元氣、食欲には問題がありませんでした。発見より10日目にバイオペシーを行った結果、扁平上皮癌と診断されました。その後も腫瘍はさらに増大し眼瞼外側にも新たな腫瘤塊が認められ、レントゲン(図2)、MRI(図3)の所見

でも腫瘍は左下顎骨体部を含み、組織増生により頬骨骨折も呈していました。

この時点で当センターでは基本的に放射線療法、免疫抑制剤等による化学療法を行えないため予後不良と判断し安楽殺を考えましたが、大変貴重な症例であるため研究材料として検索を行ってもらえる施設があればと癌関連の研究部に連絡を取りました。歯学部系にはE-mailで情報をながしたところ、東京医科歯科大学歯学部矯正科で開口障害時の顎関節に興味をもたれ解剖に立ち合われることになりました。当日、直接症例を診察されたところ治療ができるのではないかと提案され、解剖は中止となりました。

発見後4ヵ月目、動物は医科歯科大学に移動し、医科歯科大学第2口腔外科の鎌田伸之先生ら、スタッフにより腫瘍郭清手術がおこなわれました。

手術はケタラール麻酔下で行われ、切開は、口腔外は顎下部正中から左顎角部下方をまわり耳前部を経て側頭部まで、口腔内は正中から左側口唇部—上顎臼後結束部—頬粘膜まで歯肉部の腫瘍を含むように行われました。また、下顎部は正中で離断し、上顎は、外耳孔前方と頬骨上顎結合の間の頬骨弓を切断し、関節頭および同部腫瘍とともに摘出・郭清されました。摘出された組織には腫瘍が左下顎犬歯部頬側歯肉、下顎枝部および頬骨弓内側に充満しており顎下部の左右リンパ節の腫大も認められ同時に摘出されました。

術後の経過は良好で一時、頬骨断端部にフィステルが形成され排膿がありましたが、下顎片側による咀嚼にも慣れ食欲も回復し3週

間目に退院，TPC に帰還しました。状態は安定し順調な経過をとるのではと期待しましたが，1 ヶ月後頬部より隆起が観察され再発が確認されました。それからの腫瘍増生は著しく腫瘍部からの自壊による出血が続く，眼窩を圧迫しているためか眼球突出も観察されました。全身状態も悪化し血液検査所見(WBC;  $684 \times 10^2/\text{ml}$ ，RBC;  $455 \times 10^4/\text{ml}$ ，CRP; 21.66mg/dl)でも著しい炎症反応と軽度の貧血，低蛋白血症が認められました(図 4)。

結局，再手術による延命は困難と判断し術後 80 日目に切迫安楽殺となりました。腫瘍は頬郭清部より再発したと思われ，側頭骨は破骨融解し眼窩に腫瘍が侵入していました。

本症例では，悪性腫瘍の増生の著しさをみせつけられ治療に至ることができませんでした。現在，摘出組織での病理，遺伝子検索をおこなっています。今後も，1500 頭のコロニーの中，様々な疾病がでてきますが，情報交換を行いながらその治療に役立て，また貴重な材料の有効利用をおこなっていく必要があると考えています。

#### 《訪問記》

MICROBIOLOGICAL ASSOCIATES(MA社)との共同事業(MA社，実験動物ヘルスサービス研究所を訪問して)

Report on the visit to Microbiological Associates, Inc

藤本浩二

1995 年 10 月半ばに米国メリーランド州ロックビルにある Microbiological Associates, Inc.

(MA 社)，ライフサイエンスセンター，実験動物ヘルスサービス研究所を訪問した。MA 社，実験動物ヘルスサービス研究所は米国で唯一サル類のウイルスから細菌，原虫，寄生虫の検査と診断のできる研究所である。最近の MA 社の事業全体の中では各種生物製剤あるいは遺伝子組み換え製剤中の迷入ウイルス検査などの *in vitro* 安全性試験部門が注目されているが，実験動物ヘルスサービス研究所でも数年前の米国内でのヒト肝臓の人移植に際しての安全性試験の実施，またエボラ，マールブルグウイルスについての民間レベル初の検査提供などサル関連部門で特に活躍が知られている。

社団法人，予防衛生協会は MA 社 1993 年 11 月から実験用サル類の健康管理の分野で共同事業を進めている。内容は日米における実験用サル類の使用と輸入サル類の検疫に関する情報交換，サル類の感染症検査の標準化，検査試薬の共同開発と相互供与などサル類の健康管理に関わる全般で共同事業を進めている。

話はさかのぼるが，MA 社との共同事業のきっかけは 1992 年のフランス，ストラスブールで行われた第 14 回国際霊長類学会であった。「医科学研究のためのサル類の保護」のシンポジウムで MA 社，実験動物ヘルスサービス研究所長であるヘルド博士の講演を聞いた後に，学会会場内の MA 社展示ブースを訪問した。ヘルド博士はもと米国 NIH の研究支援部門の局長の職にあり，予研霊長類センターが主催している「日米非エネルギー科学協力研究」の米側カウンターパートとして開設

当初の筑波霊長類センターにも来られたことがあったが、NIH 退職後 MA 社に勤められていた。MA 社の展示ブースでは MA 社が米国国内で行っているサル関連病原体検査の説明を受けたが、特に 1989 年に MA 社近くのバージニア州レストン市で起きた輸入カニクイサルのエボラ様フィロウイルス発生以後 CDC(米国防疫センター)が出したサル類輸入に対する特別許可に対応して、MA 社が USAMRIID(米国陸軍伝染病医学研究所)と協力して始めたサルフィロウイルス検査について詳しい説明を聞くことができた。この時は日本国内でも米国のサルフィロウイルス感染を原因として大手航空会社がサル輸送中止を続けていた時であり、これら検査システムを日本に導入することによりサル類を取り扱う研究者をはじめ、管理者の安全に少しでも寄与できるのではと考え始めていた。

学会から帰った後、協会内で協議した上で私は直接 MA 社に日本でのサル類の検査事業開始について協力依頼の手紙を出した。この時は筑波霊長類センターの長繁殖育成室長がヘルド博士宛に紹介状を送っていただき話が進んだいきさつがある。MA 社からの返事は好都合な事に MA 社が数年前に日本の加商株式会社(加商株式会社はサルを含め実験動物の輸入とサル類の東南アジア現地繁殖事業にも取り組んでいる企業であり、筑波霊長類センター開設当時のファウンダーカニクイザルの輸入の際にもお世話になっていた)と代理店契約を結んでおり、これ以降は加商株式会社事業部、ライフサイエンスグループの市瀬氏の協力をいただいて、MA 社、事業開発部

長のムーア氏と私共の間で 1 年間に渡る検討を重ねた。その結果 1993 年の 11 月に協会と MA 社の共同事業の契約が成立した経緯となる。前置きが長くなったが、1995 年 11 月で共同事業開始 2 年を迎えることから、直前の 10 月にこれまでの事業報告と今後の事業計画の打ち合わせを兼ねて MA 社を訪問した。

MA 社ライフサイエンスセンターはワシントン、ダレス空港から車で約 1 時間のメリーランド州ロックビル市の研究所群の中に有る。位置的にはワシントン DC の地下鉄センター駅からレッドラインで 30 分程の所である。地下鉄レッドラインのロックビル市までの沿線には FDA(米国食品薬品局)、NIH(米国保健衛生研究所)が有りまたワシントン DC には EPA(米国環境保護庁)、近くのフレデリック市のフォートデトリック基地内には USAMRIID、プールズビル市には NIH 動物センターなどロックビル市周辺には関連の国立研究機関があり、これらの研究所と MA 社の技術協力も盛んだとのことである。ダレス空港から MA 社までのハイウエーの途中にはサルエボラウイルス(エボラ・レストン株)発生の舞台となったレストン市へのアウトゲートがあり、この道路がまさにレストン市の検疫施設で出血熱死したサルの USAMRIID までの輸送路であったのではなかったかと、世界のベストセラーとなったこのエボラ発生を扱ったノンフィクション小説「ホットゾーン」の一場面を思いだした。

MA 社での会談には、MA 社側から事業開発部長ムーア氏、実験動物ヘルスサービス研究所長ヘルド博士、同シニア研究員ピーター

博士，同獣医サービス部長アレン博士，協会側から私とウイルス検査担当の成田(総括研究検査主任)が参加した。話題は私の方から筑波霊長類センターと予防衛生協会の紹介説明また最近の日本のサル輸入状況及び協会で実施したサル類の検査実績を紹介した後，新規検査項目の設定，今後の共同事業の進め方に及んだ。会談の内容は継続検討項目が多いが，その中でとくに，今回決まった項目を上げると，1996 年からウイルス血清抗体検査項目に 1)EIA 法による STLV-I の検査を新規に加える。2)タイプ D レトロウイルスの検査では従来からの IFA 法に加えウエスタンブロット法による確認試験を加える。3)エボラ関連ウイルスの検査では従来の IFA 法に加え EIA 法による検査を加えることである。STLV-I とタイプ D レトロウイルスは今年度から始まった筑波霊長類センターの AIDS 研究の為のカニクイザル SPF コロニー作成計画の排除ウイルスになっているためそれぞれ新規導入と確認検査の追加を提案した。サルコロニーの SPF 化計画は米国ではすでに 1988 年 9 月から NIH, NCRR(米国研究資源センター)の援助の基に米国内 6 ヶ所の霊長類繁殖コロニーで進められており，B ウイルスとサルレトロウイルスフリーコロニーの作出を計っており，これと同じ計画が日本でも今年度から始ることとなる。さらに今後血清診断ではタイプ D レトロウイルスに加えて B ウイルスをはじめいくつかの項目にウエスタンブロット法を導入し確認検査とする事も合意された。ウイルス検査のうちウイルス分離については，P4 レベルのウイルスと今後予想されるサル由来細胞とこ

れらを利用した生物製剤またサルを用いた遺伝子治療実験に対処するため，さらに，先に述べた SPF コロニー作成の為の検査の一部としてサルレトロウイルスを中心に遺伝子診断によるウイルス検査を導入する事とした。この他，多検体処理のための検査データのオンライン化の検討，EIA とウエスタンブロット法で使用する抗原の精製度の問題，新規検査項目での検査方法の標準化といった具体的な問題点も合意することができた。同席したアレン博士は獣医サービス部長であるが，赤痢アメーバの検査について詳しい質問があった。MA 社ではヨード染色のみでアメーバの検査をしているとのことであったが，我々はトリクローム染色法を採用しており，ヨード染色法あるいはコーン染色法ではサル類に特異なポレッキー種が判別出来ないことなどの経験を話したりして有意義な意見交換ができた。

全体の印象としては，MA 社は総合生物関連企業であり歴史的にも十分な経験を持っている。また USAMRIID, NIH など関連国立研究所に近く技術協力，情報交換の点で大変良い環境にある。特に USAMRIID の P4 施設使用提携に加え技術協力もしている様であり，高度バイオハザードに関わる研究で特に恵まれている。この 2 年間の MA 社と協会の関係を見ると，MA 社からの協力供与部分が多かった。今回の会談では今後相互に技術協力と情報提供ができるよう協会の技術開発を進めるよう確認し合ったことである。

歓談の後，車で 1 時間程のプールスビル市にある NIH の実験動物センターを訪問した。

NIH の研究費で行われる実験に用いる多種の動物が飼育されていた。この中の第 103 ビルはサル飼育棟であり 700 頭以上のサルが飼育されているという事であった。オーバーガウンと靴カバー、マスク、ずきん、ゴム手袋をつけて施設内を見学した。特に結核の持ち込みに注意を払っており、最近の健康状態、ツベルクリン検査、BCG 接種の点など質問の後に入棟できた。ここでのサルを用いた研究テーマは高齢サルのカロリー制限食の効果、HIV-2 感染実験、アルコール中毒症でのダイエットの影響、ヘモジデリン沈着症、各種行動研究と広範であった。また研究には新世界ザルも使われており建物内の何室かにタマリンが飼育されていた。また屋外エンクロージャーにアカゲザルのグループ飼育群が作られており行動研究が行われていた。

NIH の実験動物センターのサルの健康管理は MA 社が担当しているようであり、MA 社の実験室の記録簿にはプールスビル実験動物センターのサルの個体ナンバーが多く見られた。

1995 年 11 月 27 日

#### 《文献紹介》

1995 年、米国で発表された「B ウイルスに暴露されたヒトにおける感染予防と治療に関するガイドライン」について

“Guidelines for the Prevention and Treatment of B-Virus Infections in Exposed Persons”

Gray P. Holmes et al., Clinical Infectious Diseases 20: 421-439, 1995

藤本浩二

1973 年を最後に 14 年間報告が無かった B ウイルスによるヒトの感染事故が 1987 年から 1991 年にかけて新たに 8 件報告された。事故発生の原因にはサルレトロウイルスや肝炎ウイルスなどの最近の研究分野で実験に供されるサルの数が増加したこと、さらにこの 14 年間に新たな研究者や実験動物技術者がサルの研究分野に加わり B ウイルス感染に対する注意が十分払われなくなったことが考えられた。

この事態を受け米国の CDC とエモリー大学の研究班は 44 名のウイルス学者あるいはサルコロニー管理に関する専門家の意見を集め、ヒトの B ウイルス感染防止対策と感染後の処置に関するガイドラインを発表した。これまでヒトの B ウイルス感染事故の報告は 40 件以下と少なく個々の臨床経過報告も十分でないことから、レポートには統一見解が得られていない項目も含まれているが、最近のウイルス検査、脳神経系の診断技術の向上を基礎に、B ウイルス感染に対する治療方針を汚染程度に従いパターン化して示している。

B ウイルス感染予防の点では、B ウイルスに関する基礎知識の教育、血清バンクの実施、負傷記録簿作成、応急処置キットの常備と初期負傷部洗浄法の熟知、検査用材料の採取法、顧問医師の設置、さらに事故処理全般に関するマニュアルの作成、など多岐にわたっている。感染予防対策で最も重要なことは汚染事故発生後ただちに負傷部を洗浄することであり、B ウイルスが汚染部の細胞に吸着・感染するのに要する暴露後 5 分以内の十分な洗浄

が特に重要であると指摘している。

治療面では、1987 年以降では B ウイルス感染の可能性が高い場合あるいは感染が確認された場合にアシクロビル、ガンシクロビルなどの抗ウイルス剤の投与が試みられている。投与法、投与量は感染の危険度あるいは症状の程度により分類されているが、実際には MRI、CT スキャンによる臨床検査、遺伝子検査を含めた B ウイルスの分離検査、血清検査の結果を確認しながら治療を進めることが大切となる。抗ウイルス剤の予防投与が試みられているが、この処置には反対意見が有る。理由には、現在よく使用されるアシクロビル、ガンシクロビルといった抗ウイルス剤の作用は B ウイルス DNA の合成阻害であり汚染初期の B ウイルスの吸着・感染の防止には効果がない。神経症状が現れてからの投与でも治療剤効果が得られる。サル関連の負傷事故の数に対して実際の B ウイルス感染例は極めて少く、全ての負傷事故で抗ウイルス剤を予防投与するのはコストと時間の無駄になる。予防投与によって抗体産生抑制、ウイルスの一時的増殖抑制が起こり検査結果に誤りが生ずる事がある、などが挙げられている。

情報面では感染危険度の高い負傷者に対しては、B ウイルス感染発症の経過を知らせ、関連する症状が現れた場合はすぐ担当医師に連絡する勇気を持たせること、また B ウイルス感染などサル類を原因とする感染症対策に積極的に取り組んでくれる地域の医師を見つけること、さらに専門機関との連絡網を作っておくことを薦めている。

レポートには B ウイルスに関するこれまで

の発表文献、国際的な検査機関も紹介されている。サル関係者には古くからの関心事項で有った B ウイルスに関する情報の整理、またサル関連施設での感染事故防止のための SOP 作成の要点項目確認に本レポートは活用できる。

## 後記

1996 年 2 月 9 日につくば市で開催された予防衛生協会セミナー'96 に於いて、当協会理事である山内一也先生に、ガイドラインの解説と説明をしていただきました。関連の資料が作られています。必要な方はお知らせ下さい。