

## 《巻頭言》

### 霊長類共同利用施設を取り巻く状況について

Circumstances surrounding our new facility for collaborative studies using non-human primates.

山田章雄

この4月に筑波の地に赴くことになった折りに、吉川前センター長から引き継いだ最も大きな課題は霊長類共同利用施設の運営を軌道に乗せることであった。ところが順風満帆かのように思われたこの施設の船出は思わぬ荒波に飲み込まれることになってしまった。この施設の詳細については本号に長先生が書いているのでここでは省略するが、この半年間の動きを紹介したい。

感染研は共同利用施設の整備に必要だとして情報センター(仮称)の運営費とあわせて概略10億円の増を来年度予算として厚生省に概算要求。しかし厚生省からは財政構造改革会議の報告を受け来年度は一般予算10%カットとともに新規要求は原則認めない方針である旨が伝えられた。感染研首脳部は村山に計画していたエイズセンターの建築をはじめとする重点項目の大幅な見直しを迫られることになった。共同利用施設関連の予算に関しては厚生科学課で別途考慮するとの内容が伝えられ、感染研からの要求からは外されることになった。

本年6月3日の閣議において橋本内閣は政府与党財政構造改革会議「財政構造改革の推進方策」に沿って2003年度までに財政

赤字対GDP比3%、赤字国際発行ゼロの達成を目指し一切の聖域なしで歳出の改革と縮減を進めることを決定した。この法案は今国会を通過した。これに加え、小泉厚相の2月の衆院予算委員会での発言を受け厚生省は同省所管の公益法人への補助金、委託費については平成10年度一率1/2に削減するとの方針を打出した。不幸中の幸いと言おうか協会への委託費は国の施設(厚生省組織規定に基づく施設)の管理運営委託業務であるということから1/2削減は取り敢えず免れたものの事業内容を見直し大幅な合理化を図ることと言う条件がつけられた。また財政構造改革会議報告に従い前年比10%削減は避けられないものとなった。更に西暦2000年までの集中改革期間には毎年前年比10%以上の削減が為されることは必至と予想され、当センターの運営費はかつてない危機的状況に直面することを強いられることになった。これらの状況の変化に大きく影響され平成10年度に予算化を期待していたものは悉く斥けられてしまうこととなった。

法人への委託費削減への対応策を協議するために厚生科学課、感染研、予防衛生協会の3者で何回か会合がもたれたがもたれたが、これまでのところ有効な打開策は見いだされていない。一方、共同利用施設は10月9日に引き渡し完了し、本格的な稼働を待つばかりとなった。しかしこの施設には建設時に認められたサル飼育ケージ、X線照射装置やRI実験施設等は整備されているものの前述のように基本的な実験設

備の整備と上記先端機器のオペレーターの配置等を行われていない。一方この施設の運営費(光熱水料費等)は今年度から予算化されているので早急に供用を開始する必要がある。こういった状況を踏まえ、更に厚生科学課が招集した「霊長類共同利用施設に関するワーキンググループ」のまとめ(平成9年1月24日)に従い霊長類共同利用施設企画運営委員会(仮称)での討議を期待したが、この委員会の設置そのものに関する意見の調整が難航し、最終的にはワーキンググループの提唱する厚生省所管の研究所の代表者による運営委員会ではなく、厚生科学課、感染研、協会の三者からなる委員会を設置することとなり、この委員会が実質的に共同利用施設の在り方を決定することになる。

年末になり大手金融機関の倒産が相次ぎ、これまでの日本型の経済、社会の抜本的な見直しの必要性が議論されている。我々も委託費削減と言う事態に真剣に対応しなければならぬ時が目前に迫っている。取り敢えず経費削減を極力行いこの難局を乗りきる予定であるが、抜本的な対策を講じなければ少々の経費削減努力などは焼け石に水であることも自明である。一方、行政改革の行方次第でどのようになるか明確ではないが、平成12年に予定されている厚生省試験研究機関の再編との兼ね合いも視野に入れつつ、共同利用施設の運営とも合わせて当センターの将来計画を早急に打ち立ててゆく必要があろう。

## 《検査情報》

### PCR法による赤痢アメーバ検査

Examination on *Entamoeba histolytica* by polymerase chain reaction (PCR)

小林理恵子

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獣共通感染症である。当センターにおいてもカニクイザルとミドリザルが赤痢アメーバを保有していることはすでに報告した(TPC NEWS: 10巻1号, 1991)。

またこれらセンター内のサルから分離された赤痢アメーバは isozyme パターンによる zymodeme 分析法ならびにモノクローナル抗体を用いた検査では非病原型に分離される事がわかっている(TPC NEWS: 13巻1号, 1994)。

一方、本年1月、WHO/全アメリカ保健機構/UNESCO: アメーバ症専門家会議において、最近報告が相次いでいる病原型赤痢アメーバと非病原型赤痢アメーバについてこれらを別種と認定して、病原型赤痢アメーバを従来名 *E. histolytica*, それ以外の赤痢アメーバを *E. dispar* とした。また *E. histolytica* の感染が確認されたものを赤痢アメーバ症といることを確認した。

我々はこの結果を受けて、これまで実施してきた zymodeme 分析法、モノクローナル抗体法に加え、検査方法がより簡便なPCR法による、*E. histolytica* と *E. dispar* の分別検出法を日常検査に導入する目的で、当センターのカニクイザルについて調査を

行った。*E. histolytica* と *E. dispar* ではシストおよび栄養体の形態的判別はできないことから、いずれの方法で2種を区別する手段を備えておく必要がある。

## 方法

PCR 方法は、橘氏ら(J. Infect. Dis. 164, 825-6, 1991)の方法に従った。

カニクイザルの新鮮便を Robinson 培地で3日間培養後、ふ化したアメーバの栄養体を Percoll(ファルマシア)を用いて遠心法で分離した。分離した栄養体は生理食塩液で洗浄後 PCR 検査まで -30℃ で保存した。PCR は Takara, Single-Tube PCR Kit を用いた。PCR の条件は 94℃ 20 分の後、熱変性 94℃ 15 秒、アニリング 53℃ 15 秒、伸長反応 72℃ 30 秒、反応サイクルは40回とした。PCR 産物はアガロース電気泳動後、エチジウムブロマイド染色を施し UV 照射下で特異バンドの有無を確認した

糞便中のアメーバシストはトリクローム染色後、顕微鏡下で検出した。

## 結果

### まとめ

当センター内カニクイザルでは *E. dispar* のみが検出され、赤痢アメーバ症の原因となる *E. histolytica* は検出されなかった。この結果は、zymodeme 分析の結果と一致した。

今回の試験の結果 PCR 法による検査は、適切なプライマーを使用すれば *E.*

*histolytica* と *E. dispar* の判別は可能であることがわかった。

当センター内カニクイザルでは *E. dispar* のみが検出され、赤痢アメーバ症の原因となる *E. histolytica* は検出されなかった。この結果は zymodeme 分析の結果と一致した。

zymodeme 分析法では、判定までに時間を要すること、操作が煩雑であることなどの問題点があったが、今回使用した PCR キットを利用すれば日常検査での多検体処理が可能であることがわかった。今後、PCR 法で、糞便から直接判定できる検査法が確立できるか検討してゆきたい。

*E. dispar* については、専門家会議でも指摘しているように、病原性について未だ不明の点が残されている。我々は、サルでの *E. dispar* 感染による発症は経験したことがない。しかし、実験動物として使用する際にどのような影響があるかは不明であるので、充分注意する必要があるのではないだろうか。

## 《症例報告》

### カニクイザルの子宮内膜症

#### Endometriosis in a cynomolgus monkey

#### 榊原一兵

子宮内膜症(endometriosis)とは子宮内膜と同様の組織が本来の場所から離れ、異所性に存在または増生するために生じる病態とされている。発生部位によって本疾病を分類した場合、それが子宮体部筋層内に発生する場合を内性子宮内膜症または腺筋症

(adenomyosis) とそれ以外に発生する外性子宮内膜症とに大別される。

当センターのカニクイザルには両者ともに見られる。不妊婦人の 10 ないし 20%が子宮内膜症がその原因であるとする報告があるがサル類において妊娠との関係は不明である。今回報告する症例では本疾患が直腸の腸閉塞をひきおこし、それが死因となった。

**症例:**野生由来カニクイザル(推定 18 才以上)。18 年間に 6 回妊娠し 4 頭は正常出産、2 頭は帝王切開。月経周期は約 28 日で持続は 5 日間。不正出血が 2 回観察された。

**臨床的症状:**結腸内に多量のガスと糞便が貯留。開腹手術がなされた。

**解剖所見:**子宮漿膜面背側に大きさ約 3cm のシストがあり、直腸と癒着し閉塞していた。シスト内には褐色の液体が貯留していた。

**組織学的所見:**子宮漿膜面に大きなシストが形成されている(図 1)。内膜の上皮細胞は子宮内膜と類似で、円形の核を持ち、立方形で、一層あるいは重層で、繊毛を持つ細胞もみられる(図 2)。間質は豊富である。間質には黄褐色の色素顆粒を貪食したマクロファージが散見される。大シストの壁内に形成された子宮内膜の巣状異所性増殖部では細胞は乳頭状に増殖し、腔内には滲出液が貯留している。

## 症例報告欄 を担当して

創刊いらいほぼ毎号記載してきた症例報告は今回をもって終了することになりました。開所いらい助手を勤めてくれた歴代 5 人の協会女性職員とで解剖したサル頭数は 2000 頭を越えています。野生ザルを輸入していた頃は輸送の不幸際も関係して、多数が死亡、朝から晩まで解剖に明け暮れた日もありました。また当時は肺や腸の感染症で大部分が死亡していましたが、最近の死亡ザルの傾向は感染症、腫瘍、代謝病などと、多様化してきました。

特に印象に残っているのは東南アジアから輸入したカニクイザルの一頭です。検疫期間中に死亡し、それが組織検査で典型的肺結核、しかも人型であることが判明しました。このサルは検収時のツベルクリンテストが陽性でなかったから驚きました。もしこのサルが死亡することなく繁殖コロニーに入っていたらと思うとぞっとします。最近、病院での院内感染が社会問題になっているように、当センターでもおそらく“院内”感染例が出たことでしょう。また報告例の中には当センターの飼育管理方式の改善を示唆している例もありました。たとえばクル病(骨軟化症)や糖尿病です。人間社会ではクル病(骨軟化症)はもう過去の病気だそうで私達も滅多にみない病気です。いっぽう筑波のコロニーでは昨年、私達が霊長類学会に発表しただけでも 10 例を越えています。千数百規模のコロニーでは異常に多い発病率と言えます。しかも発症例す

べてが当センター産ですからこれは当然、飼料中のビタミンの含量や紫外線量あるいは別の原因があるはずです。また糖尿病に関しても過食で肥満状態となりしかも限られた空間であるケージ内で運動量も十分でなく長期間飼育されていればそれが発症に加担していると考えてもなんら無理はないでしょう。「なにか人間社会を見る思いがする」などと言っておれません。早く対策をたてるべきでしょう。クル病も糖尿病も発症予備群がいっぱいいるのですから。

いまさら改めて言うまでもなく、当センターの大きな目的のひとつにサルを健康に飼育繁殖させるということがあります。しかし本来ジャングルで豊富な動植物を食べ、サンサンと降り注ぐ南国の太陽を浴びて、仲間たちと自由にとびはねていたサルたちを(世界でも類をみない大規模飼育繁殖システム)で飼うわけですから、これ自体、壮大な実験と言うべきでしょう。したがってクル病や糖尿病に限らず、我々の飼育システムがサルに与える影響、それが肉体的なものであれ精神的なものであれ、まだまだ未知のことが多く、病理を担当する立場から言えばたかだか開所いらい 20 年くらいではまだシステムが完成したとはとても言えません。「道なかば」といった感じがします。精神的な原因が関与する症例については「症例報告」のなかでとりあげることができませんでした。いずれ報告したかったものの一つが咬傷(症)です。交配時に相手をかみ殺したり、まだ本来ならば本能的にかばう立場にある母ザルが自分の仔ザル

をかみ殺すケースが少なからずあります。強力な牙が頭蓋骨を破壊し脳にまでいたる場合や、頰部の血管を破り失血死させたり、傷がもとで化膿性疾患を併発し死亡する場合など様々なかたちをとります。これらは自然界でもあることかもしれませんが、サルにとって人工的な環境が精神的にかなり影響しているのではないかと私は考えています。今後、動物心理学者の協力を求めて研究すべきテーマの一つと思われます。

さて最後に解剖をしていて恐怖感を味わった経験について書いておきます。それはサルのバリセラウイルスが流行した時でした。詳細は特集号に書かれていますので省略しますが、まさに小説「アウトブレイク」の世界でした。原因不明で次々と死亡するなどの死体にも全身の皮下織、天然腔などに不気味な出血が見られました。バイオハザードのなんたるかも知らない当時の助手をしてくれたパートのおばさんでさえその様を見て少し離れた柱の陰からただ怖そうに見ているだけでした。今にして思えば、人間にとって最も危険な病原体、P4 レベルの感染症でなかったことは本当に幸運だったと思います。P4 レベルの病原体をマスクとゴム手袋だけに頼って解剖するのはまるで大和魂と竹槍で戦闘機にたち向かうようなものですから。

あの時センター長を通じて、目黒庁舎の感染症の専門家に協力を求めることになりました。K 部長はわざわざ筑波まで足を運び、診断から治療までの確で迅速なアドバイスを下さいました。抗ウイルス剤による治療

や種々の対策ができなかったなら、コロナは壊滅的な状態になっていたかも知れません。いつまでも感謝の気持ちを忘れてはならないでしょう。さらに飼育管理あるいはバイオハザード面からも、サル類にはなにか潜んでいるかわからないという怖さを決して忘れてはならないと思います。

## 《臨床ノート》

### 臨床からの研究支援

#### Research support from clinical science

#### 小野文子

これまで TPC の使命は主にサル類の繁殖・育成とそれにかかわる研究であったが、TPC に新たに建設された共同利用施設では、サル類を使用しての遺伝子治療研究、長寿科学研究、高次脳神経研究等が行なわれることになっている。そこで、これまで動物の健康管理をしてきた私達としても、これら共同利用施設で行なわれる研究を支えていくため、種々なる研究に対応した技術を蓄積していかなければならないと考えている。

#### 1. 遺伝子治療研究における動物管理について

米国 NIH の Donahue, R. E. 博士は、サル類をモデルにした遺伝子治療研究の第一人者で、これまでサル類の骨髄幹細胞の純化、増幅、造血幹細胞への遺伝子導入、導入遺伝子の生体内での発現効率等の研究を行われていた。1997 年 9 月科学技術庁の招聘に

より来日された際、日本におけるサル類を用いた遺伝子治療研究を立ち上げるための実験施設の設計指導およびサル類を用いた骨髄移植手術の技術指導を受けた。その時、NIH における研究の現場を見る必要がある事を強く進められ、1997 年 2 月に NIH の National Heart, Lung, and Blood Institute の Hematology Branch にある 6 つのセクションの 1 つを訪問し、ここでさらに、サルを用いた遺伝子治療研究のための技術を習得することができた。

遺伝子治療研究に使用する動物は、レトロウイルスベクターを使用すること、そしてコバルト照射等による激しい免疫抑制処置を行うことから動物管理で細心の注意を払う必要があるのが微生物コントロールである。5 Research Court Facility (NIH のサルを用いた in vivo の遺伝子治療研究のほとんどはここで行われている)に導入されるサル類は SIV, SRV/D, STLV-1 等レトロウイルスフリーであることが要求されている。そこでこうしたサル類を入手する時には民間業者で検疫をし、その後 Poolsville にある NIH Animal Center 内の Primate Unit の施設で再度検疫をし、さらにこの施設内の検疫室で 3 度目の検疫を行った後研究に使用されていた。また、そこでの飼育管理方式は現在 TPC で採用しているウエット方式ではなくて、完全ドライ方式を採用していた。その理由は、ウエット方式により、湿度の上昇、水滴の飛散により病原体を拡散させる危険性が大きいためである。

免疫抑制処置を受けた動物は ICU ユニッ

トに移され、感染防御や全身状態維持のため IVH ラインより点滴が開始された。抗生物質の投与も同ラインよりプログラム輸液装置により定時に投与が行われていた。また、1 回の手術により骨の多数の部位に損傷を与えるため、術後の疼痛管理も十分におこなわれていた。毎日、麻酔下で体温測定、聴診、採血、採便を行い血液、細菌検査が実施され異常が認められた場合はマニュアルに従い適応した薬剤の投与がおこなわれていた。この施設に設置されていた ICU ユニットはサルへの病原体の暴露を厳しく防御するために前面解放式陽圧アイソレーターを使用していた。共同利用施設では、検討した結果、どんなに動物の SPF 化を進めたとしても基本的に未知の病原体を保有している可能性、そして免疫抑制をかけたとき潜伏感染が顕在化し、ヒトへも感染する可能性があるかもしれないと考え、ICU システムでは、ICU 室自体をクリーンに保つために入室口にはエアシャワーを設け、室内をクラス 1000 のクリーン度とし、閉鎖式の ICU アイソレーターを設置した。また先月、東京大学医科学研究所の無菌病棟における骨髄移植後の無菌管理システムの見学をさせていただいた。そして解放型無菌病棟システムや看護体制について説明を受けた。今後は、NIH や東大等の ICU 管理システムを参考に共同利用施設における ICU 管理体制を確立していきたいと考えている。

## 2.麻酔管理

これまで、TPC における使用麻酔薬は塩酸ケタミンであり、これによりほとんどの処置をおこなってきた。また、脳波測定、骨量測定等 30 分程度の短時間における完全な不動化が必要な場合はキシラジンと塩酸ケタミンの混合麻酔を使用していた。しかし、今後共同利用施設における様々な手術処置等に対応していく必要があり、また安全で効果的な麻酔技術を習得しておくことは、実験動物に対する疼痛管理やストレス除去において動物愛護の観点からも必須であると考えられる。そこでおそまきながら、約 1 年前よりイソフルランによる吸入麻酔について検討を行い、これまで、血液透析、眼球へのレーザー照射(緑内障モデルの作製)、リンパ球アッセイのための成分採血及自家輸血、アデノウイルスベクターの脳内接種等の実験に使用してきた。前投薬として硫酸アトロピン(0.05mg/kg;SC)と導入には塩酸ケタミン(7.5mg/kg; IM)を用い経口気管内挿管の後、純酸素—イソフルランで麻酔を維持した。挿管に用いる気管チューブは成体雄 6kg 前後で 4~4.5Fr、雌 3~5kg で 3~3.5Fr を用いた。麻酔維持濃度は 0.5~1%で吸入麻酔中は血中酸素分圧(SPO<sub>2</sub>)、心電図(EEG)、心拍数(HR)、血圧(BP)、体温(BT)のモニターを行い、基本的に血管確保のため術中は点滴を行った(図)。

カニクイザルにおけるイソフルラン麻酔モニターの結果について報告する。SpO<sub>2</sub> はほぼ 98%以上で維持されたが、動物の体位の変換時、気管チューブの位置が深く入り過ぎ、急激に低下し 70%までに至る場合

があった。体温は術中体温維持のため温水環流マットを使用しているが、麻酔開始時38 前後から経過時間にもない35 前後まで低下していった。心拍数は個体により異なるが導入時160~140/min で導入後20 分~50 分後には経過時間にもない減少していった。100~80/min 以下になった場合は麻酔濃度の調節によりそれより低下しないよう維持していった。血圧は麻酔維持中の平均収縮期血圧81.1mmHg(SD;18.16, n=10), 拡張期血圧39.8mmHg(SD; 16.38, n=10)でケタラール麻酔下での収縮期血圧91.3mmHg(SD; 26.79, n=89), 拡張期血圧52.2mmHg(SD;20.02, n=89)と比較しやや低い値を示していた(麻酔中の手術,処置の影響も含まれる)。同一個体において2週間おきに90分~120分間のイソフルランによる吸入麻酔を繰り返した個体について血液生化学検査をおこなったところ麻酔4回目(GOT 25 IU/l, GPT 23 IU/l)では異常は認められなかったが8回目GOT 31 IU/l, GPT 59 IU/lとやや上昇を認めた。これがイソフルランの影響であるかどうかについては今後、症例数を増やし検討をおこなっていききたい。1997年2月に予防衛生協会セミナーでも麻酔をテーマに取り上げ講演をしていただき、この時の内容も参考に、さらに各状況に応じた適切な麻酔方法の確立を行っていききたい。また、周術期、実験中の疼痛管理についても十分に行えるよう検討していききたい。動物、特にサル類においては痛みを我々に悟られないように威嚇行動をとったりと、彼等の苦痛を正確に認識するこ

とが非常に困難であるが、この苦痛を可能な限り排除することは動物愛護的観点からはもちろん、ストレスを軽減することにより正確な研究成果を得れるものと思われる。そのためには疼痛管理方法の確立とともに、研究者が動物実験をおこなっていくうえでモラルの認識を得たいと考える。

### 《特集: これからの TPC》

#### サル類の発生工学的研究 - 現状と今後の課題 -

#### Developmental biotechnology in primates

山海 直

#### はじめに

「発生工学 (developmental biotechnology)」とは新繁殖学辞典(文永堂)によると『胚培養および胚移植の技術を基盤として生まれた新しいバイオテクノロジーの一分野で、哺乳動物の初期胚に対しなんらかの実験的操作を加えて発生の過程を改変し、それによって発生の仕組みを明らかにするとともに、新しい有用動物の作出を目指す研究領域である(以下、略)』と説明されている。ヒツジのドリーで話題になったクローン動物やキメラ動物、トランスジェニック動物などの作出に関わる分野である。本分野の研究の目的は、動物の生産性、抗病性の向上、ヒトの疾患モデルとなる新しい実験動物の作出など広範におよぶ。さらに、このような目的で開発された新しい技術は、絶滅に瀕している希少動物の保護、あるいはヒト不妊症の治療法として広

く応用できる可能性を持っている。

これらの研究はマウス、ハムスターなどの小型実験動物を用いて急速に発展してきた。家畜においてもその技術開発は精力的に取り組まれている。またヒトにおいてもこれらの技術開発が進み、不妊症治療の一手段として実用段階にある。

一方、サル類においては、小型実験動物、家畜あるいはヒトと比較して基礎的データの蓄積が未だ十分ではない。他の動物種で得られたデータを一般化し、試行錯誤を繰り返しながらサル類に適用していくことが多い。多少、時間はかかるがより多くのサル類の基礎的データを得ることが重要である。これらの情報を基にして基盤技術を確立していくことが今後の展開を大きく左右するものと思われる。筆者のグループでは、主としてカニクイザルを用いて基礎的検討を行っている。その内容は、精液の採取、卵胞発育誘起、卵子の採取、体外受精、顕微授精、卵子の培養、精子および卵子の保存、胚移植などの基盤技術の開発研究とサル類における受精、発生機序の解明を目指した研究である。前述のとおり発生工学は「胚培養および胚移植の技術を基盤として生まれた新しいバイオテクノロジー」であるから、我々が行っている研究は「発生工学につながる基盤技術の開発研究」とでも言ったほうが正しいのかも知れない。

本稿では、我々の研究成果をまじえてサル類における本分野の研究の現状を紹介し、その問題点と今後の課題について述べたい。

#### 精子の in vitro 特性

サル類精子を用いて研究を行うとき、精子を採取するところから検討を始めなければならない。サル類の精子採取には、射出精子を採取する方法と精巣上部尾部から精子を採取する方法がある。射出精子の採取法には、交配後の膣から回収する方法、人工膣法、用手法、電気刺激法などが知られているが、供試するサル種および研究目的を考慮したうえで採取法を選択すべきである。我々はカニクイザル精子の採取のために直腸電気刺激法を採用している。本法は、実験者の慣れと供試するサルに対し多少の訓練は必要であるが、ほとんどのオスから精液が採取できる可能性をもった方法である。得られる精液量は微量であるが、体外受精、顕微授精などの実験には十分量の精子が得られる。また、死亡個体や精巣上部を摘出する機会がある個体からは精巣上部尾部精子を採取している。まず精巣上部尾部のみを分離し medium 中で細切して、medium 中に浮遊した精子を回収する。この方法を用いることで多量の精子を回収することができる。精巣上部の摘出から精子採取までの時間は短いほど活性良好な精子が回収できるが、我々はミネラルオイル中に精巣上部を浸し、5 で 24 時間保存したのちに活性良好な精子を回収することに成功している。本実験はマウスで基礎的知見を得たのちにニホンザルで応用しており、回収精子が受精能を有していることを体外受精により確認している。

いずれの実験においてもサル精子に適し

た medium が必要となっている。研究者によって用いる medium は異なっているが、我々は TYH medium を基本として使用している。サル精子の in vitro 培養系での特徴の一つとして、hyperactivation(過活性化運動)を誘起するためにカフェイン、dBc-AMP の添加が必須であるということがあげられる。このことはアカゲザル精子を用いた研究で報告され、我々はカニクイザル、ニホンザル、アフリカミドリザルにおいても同様の結果を得ている。この hyperactivation を誘起するにはカニクイザルでは 6—8 時間の培養が必要であり、この精子を用いた体外受精実験により受精が確認されている。また、電子顕微鏡により精子先体の膜変化が同様の時間帯に生じていることが観察された(図 1)。ところが、アフリカミドリザルではカニクイザルの場合よりも短い時間で hyperactivation が誘起され、4—6 時間の培養精子で体外受精に成功している。

精子性状が動物種によって異なっていることは周知のとおりであるが、このように、サル類のなかでも種によって、あるいは in vitro での環境条件によって得られる成績がかわってくる。

#### 精子の凍結保存と融解後の精子特性

サル類精子の凍結保存は、ごく限られたサル種で検討されているにすぎない。我々は、カニクイザル精子の凍結のため TTE 希釈液(Tes, Tris, Egg yolk を基本組成としたもの)を開発し、凍結条件を詳細に検討した。その結果、TTE 希釈液と耐凍剤としての

glycerol を組み合わせることにより、凍結融解後、活性良好な精子を回収することに成功している。これらの精子の特性を知る目的で、強塩溶液に保存したサル卵の透明帯への精子進入試験を行った。強塩溶液に保存した透明帯は、受精能獲得(capacitation)精子のみの進入を許すことが知られている。本実験の結果、培養 2 時間目の凍結融解精子で透明帯への進入を認めた。もちろん非凍結精子は 2 時間の培養では透明帯侵入は認められない。また、経時間的に凍結融解精子による体外受精を行ったところ、非凍結精子では全く受精が認められない 2 時間の前培養精子で受精が確認された。このことから、我々が開発した方法で凍結融解した精子は、受精能獲得あるいは先体反応(acrosome reaction)様の変化が生じていることが強く示唆された。また、電子顕微鏡による観察でこれらの成績と一致する像が得られている(図 1)。都合よく解釈すると凍結融解という過程を経ることで先体反応が促進され体外受精などの受精実験を行うときの前培養時間の短縮が可能になったわけである。しかし、人工授精などにより精子を in vivo に戻す場合、凍結融解精子は運動性を維持している時間が短縮されており、また先体反応のタイミングが大きくズレていると考えられ、決して適した精子とはいえない。

この精子凍結法はカニクイザル精子を用いて開発されたものであるが、全く同じ方法でニホンザル、アフリカミドリザル、アカハラタマリンという他種サル類精子の凍

結を試みた。カニクイザルと同じマカカ属であるニホンザル精子ではカニクイザル精子と同様の成績が得られている。本法はマカカ属サル類すべての精子に適応できる可能性がある。しかし、アフリカミドリザル精子では融解後、活性良好精子はほとんど回収されず、またアカハラタマリン精子では多少の運動性を維持していたもののカニクイザル、ニホンザルのそれと比較するとかなり劣るものであった。この成績は、サル種によって精子の性質、少なくとも耐凍性は異なっていることを示している。何か耐凍能に影響を及ぼしているのか、この説明は容易ではないが、夢の凍結保存後、サル類精子すべてに共通に使える保存液を開発するためには必須の課題かもしれない。もっとも、そのブレークスルーが可能になればすべての動物種の精子に共通の凍結保存法を開発することもできるかも知れない。

近年、顕微授精が様々な動物種で試みられるようになりサル類での研究も例外ではない。我々もカニクイザルの顕微授精を試みているが、本法を用いる場合、精子の運動性は問題にならない。すなわち運動性を維持した凍結保存は意味をもたないという考え方も成り立つ。しかし、より自然に近い状態を *in vitro* で再現すること、あるいは人工授精などを行うためには、運動性を維持した精子が必要となる。研究の目的をはっきりさせることが重要であるが、我々は運動性を維持した精子を回収することにこだわりを持っているということを言い添えておく。

### 卵子の採取と未成熟卵の成熟培養

カニクイザルを中心としてサル類精子について述べてきたが、精子以上に取扱いが困難であり、また個体作出のために欠かすことができないのが卵である。通常、哺乳動物における卵の採取は、外部からホルモン投与を行い、多数の卵胞発育を誘起したのちに行う。サル類における卵胞発育誘起には eCG(equine chorionic gonadotropin)、FSH(follicle-stimulating hormone)あるいは hMG(human menopausal gonadotropin)製剤が用いられているが、我々はカニクイザルにおいてきわめて反応性が優れている eCG を採用している。月経初発日から数えて 3 ~ 14 日の間に計 8 回の投与を行い、多い個体では 100 個以上の卵胞を発育せることに成功している(図 2)。カニクイザルでは 1 回の性周期中に発育する卵胞は 1 個であることを考えると、この数がいかに多いかわかる。また eCG 処理後、性周期 15 日目に hCG(human chorionic gonadotropin)を投与しその翌日に卵胞から成熟卵を回収している。この方法は、卵胞発育を誘起することだけを目的としたとき、非常に優れた方法であると言えるが、発育卵胞数に個体差がある、hCG 投与後経過を観察していても排卵が誘起されない、回収できる卵の質にバラツキがある、など問題点も残されている。回収卵を用いた実験の成績にも最も影響があると考えられるのが卵の質の問題である。製剤の選択、投与時期などの検討により卵の質的向上が期待されることがいくつかの

報告から伺われる。

また、我々は卵巣摘出が可能な個体、実験やなんらかの事故で死亡した個体からは、性周期を考慮せず卵巣を摘出して卵胞卵を回収している。このときに回収される卵の状態は、死亡から卵回収までの経過時間が長くなるほど悪くなってしまふ。精子の場合と比べて卵は回収までの時間の影響を受けやすいため注意しなければならない。また得られる卵はGV(germinal vesicle)期にあるため、体外培養により成熟される技術が要求される。我々は、カニクイザルGV期卵の成熟培養を可能にし、体外成熟卵の体外受精に成功している(図3)。我々の成績は、24~72時間の間に成熟卵が確認されるというものであり、ある一定の時間帯に卵成熟を認めるものではないという点でまだ実用的ではない。近年、アカゲザル卵の成熟培養についての優れた成績が報告されており、本実験系が卵を確保するための有効な手段になるものと確信している。

#### 受精卵の作出と体外操作

受精卵を獲得する方法としては、in vivoで受精した卵を回収することが最も基礎となる技術である。しかし、対象動物がサルとなると話はちがってくる。我々は、前述のスケジュールでホルモン投与したメスザルをオスと同居させ、その後、生体位卵管灌流を試みた。卵管を上向性に灌流することで複数の卵を回収したが、その卵は空胞化変性を呈していた。また、ホルモン投与により発育した卵胞の多くは排卵すること

なく血様る胞となってしまふことを観察している。現在のところ本法により受精卵は得られていない。また、通常の性周期内で排卵した卵を回収することは可能と思われるが、その場合、1個の受精卵しか回収できない。多数のin vivo受精卵しか回収できない。多数のin vivo受精卵を回収するためには、ホルモン処理条件についてさらに検討を重ねなければならない。このようにin vivoでの現象をコントロールすることは困難であるが、in vivo実験から得られる情報はきわめて重要であると考えている。受精卵作出、胚移植などを計画するとき、in vitro実験の基本となる考え方は、in vivoでの受精、卵発育、着床などの生殖現象の時間経過やその時々々の環境などについての情報を基に成り立っているからである。

in vitroで受精卵を作出する方法としては、二つの技術が知られている。最も一般的なものが体外受精である。サル類の体外受精は、アカゲザルが中心となって技術開発が行われ、現在では数種のサル類で成功している。我々は、カニクイザルにおいて凍結精子による体外受精にはじめて成功している(図2)。また、1997年ニホンザル、アフリカミドリザルの体外受精について報告しているが、それぞれのサル種ではじめての報告である。また、アカハラタマリンにおいても体外受精を試みたが、今のところ受精卵は得られていない。このとき用いた精子は、安楽殺ザルの精巣上体から採取したものであり、凍結保存したのち前培養を施し媒精に使用した。卵は、やはり安

楽殺ザルから摘出した卵巣から回収したもので、体外成熟培養により第1極体の放出が確認された卵のみを実験に供した。媒精後、前核形成は観察されなかったが、精子、卵とも採取から受精の判定までにいくつかの過程を経ており、なぜ、受精しなかったか、明確な答えを出すには各過程での詳細な検討が必要である。体外受精に成功しなかった一例を示したが、対象動物がサルとなると実験材料が豊富なわけではなく、十分な例数で検討を重ねることが困難な場合も多い。そのため各段階での実験結果を正確に判定できる経験とひとつひとつの実験をていねいに積み重ねていくことが、サル類で実験を行うときはとくに重要になってくる。

受精卵作出のための第2の方法として、卵に顕微操作を加える顕微授精が広く試みられるようになってきた。我々もカニクイザル精子による顕微授精に成功しており、種々の条件さえ整えば体外受精よりも高率に受精卵が得られる技術になり得るものと期待している。今のところその受精率は低率であるが、顕微操作技術の向上と顕微操作時の環境条件の確立を目指して検討を続けている。また、マウスを用いた精細胞の顕微授精により産児が得られることが報告され、受精に関わる生物学が大きく展開してきた。自然界では起こり得ない受精の形ではあるが精細胞および精細胞に関する多くの新知見が得られるものと思われる。この技術はヒトの不妊治療にも応用され、すでに産児が得られている。我々は精細胞の

顕微授精はサル類においても有用な技術になり得るものと考え検討を開始したが、卵の活性化、注入後の前核形成、核の融合、その後の発生など検索しなければならない課題は多い。精細胞の顕微注入による受精卵作出技術の確立は、オス遺伝子資源の保存を精細胞レベルで行うことを可能にし、また新しい手法による遺伝子操作の可能性を拡大するものである。現在、精巣を得る機会があるときには、精巣上体精子の保存とともに精細胞の凍結保存を試みている。

### 胚移植

胚移植は、体外にある受精卵から個体を作出するために必須の技術である。よって、効率よく確実に産児を得るための移植技術を確立することは、本分野の研究の最も基本的で重要な課題といえる。サル類の胚移植は、1984年にアカゲザル、ヒヒではじめて成功している。ヒトでの成功から6年後のことである。我々も、カニクイザルの体外受精卵の移植を試みているが、まだ妊娠例を得ていない。受精卵に問題がない場合、最も重要なことは移植卵のステージとレシピエントザルの性周期を同期化することである。しかし、家畜などで試みられているようにホルモン製剤で性周期をコントロールするためには、あまりに基礎データが少ない。我々は、月経周期が比較的規則的なサルをレシピエント候補とし、移植卵のステージにあったレシピエントザルを選抜する戦略をとっている。もちろん、受精卵を凍結保存しておけばレシピエントザルの月

経周期のタイミングにあわせて卵を融解して移植することが可能である。いずれにしてもレシピエントザルを選抜するためには、性周期、とくに排卵時期を正確に把握しなければならない。我々は、排卵前後に性ステロイドホルモン値が大きく変動することを実際に確認し、その結果を根拠としてレシピエント候補ザルのホルモン動態から排卵日の推測を行っている。しかし、そのホルモン測定は、排卵が予測される日の前後数日間の連日の作業となるため、測定は簡便かつ迅速にできるということが条件となる。近年、ホルモン測定の技術は急速に進展し、EIAにより高感度でしかも短時間での測定が可能となった。我々は、種特異性がないステロイドホルモンである E2 の測定により排卵日を推測している。また、やはりステロイドホルモンである progesterone の測定により機能黄体の存在を測定している。さらに、ヒト用に開発されたキットを用いてサルのペプチドホルモンである FSH, LH の測定も可能であることを見だし必要に応じて利用している。このように、簡便な方法でサルの排卵日を確実に推測できるようになり、今後、胚移植による産児が得られること、しかも高率な個体作出が可能になることが期待される。

移植技術について追記しておくが、一般的には、ヒトや家畜では非外科的に子宮へ卵は移植されている。レシピエント個体への浸襲を考えたとき、非外科的に施行することは胚移植技術を確立するためのひとつの条件かも知れない。しかし、カニクイザ

ルでは子宮頸管のサイズ、構造上の問題でチューブを子宮まで通すことが困難であるということを経験している。我々はカニクイザルのサイズに合わせた膣開口器、子宮頸管拡張棒などを作成したが、それらを使用したとしても子宮への胚移植は容易ではない。現段階では開腹手術を施し、4-cell ステージまでの卵の卵管に移植するのが最も可能性のある方法であると考えている。

### おわりに

前述のようにサル類において発生工学的基盤技術を確立することの意義は大きい。しかし、サル類におけるこの種の技術は、研究者によって適宜工夫されているのが現状であり、またサル種ごとに研究を進めていかなければならないことは大きな問題である。しかし、本分野の研究は米国を中心として大きく展開しており、多くの研究成果が報告されるようになってきた。着実に基礎データは蓄積されており、今後、すべてのサル種に共通の基盤技術が確立されること、そしてサル類の発生工学的研究が発展していくことを確信している。

内容にかたよりがあり、説明も不十分であったことは筆者も認識している。本稿で紹介した我々の研究成果の一部は下記の論文で報告しているので、詳細についてはそれらを参考にさせていただきたい。

稿を終えるにあたり、ご指導いただいた TPC 内外の諸先生方に感謝いたします。また、少しでも多くの先生方にサル類の発生工学的研究に興味を持っていただき、これ

らの研究が大きく展開していくことを希望します。なお、精子の電子顕微鏡写真は共同研究者の岡田詔子先生(東邦大・助教授)が撮影したものであり、また、現在 TPC では協力研究員の土屋英明君、研究生の越後貫成美君(筑波大・院生)が本分野の研究に取り組んでいることを記します。

#### 参考文献

- 1) Sankai, T., et al.: J. Reprod. Fertil., 101  
273, 1994
- 2) Sankai, T., et al.: Lab. Anim. Sci., 47:  
58, 1997
- 3) Sankai, T., et al.: Am. J. Primatol., 43  
43, 1997
- 4) Sankai, T., et al.: J. Mamm. Ova Res., 14:  
205, 1997
- 5) Ogonuki, N., et al.; Jap J. Fertil. Steril.,  
42: 136, 1997
- 6) Ogonuki, N., et al.; In Adv. Comp.  
Endocrinol., Eds.: Kawashima, S. and  
Kikuyama S., Monduzzi Editore S. p. A.,  
Italy, 883, 1997
- 7) Sankai, T., et al.; J. Fertil. Implan. (in  
press)

#### 《特集: これからの TPC》

**TPC における心理・行動研究の越し方行く  
未**

**Past, present and future of behavioral and  
psychological study in the TPC**

**行動解析グループ: 川崎勝義, 小山高正,  
寺尾恵治**

#### はじめに

TPC における心理・行動研究は、本庄重男初代センター長が大阪大学のサル行動研究グループが行っていた研究成果に並々ならぬ関心を持っていたことに始まったといえよう。当時の大阪大学・人間科学部・比較行動論研究室では、前田嘉明、糸魚川直祐らの指導のもとに、野生ニホンザルのフィールドでの行動研究と平行して実験室での隔離飼育が幼体ニホンザルの発達、行動におよぼす影響を解析する研究が継続して行われていた。本庄は、サル類の室内繁殖育成を柱にした高品質の実験用霊長類の永続的供給体制の確立を最優先課題として、筑波霊長類センターの基盤づくりに心を砕いていたが、他の小型実験動物とは異なり、サル類では正常な性行動、哺育行動動物を獲得させるためには「行動学的統御」とも呼ぶべき育成方式の確立が必須であることを直感していた。本庄は正常な行動を示す育成ザルを育てるためには、大阪大学で行われている研究成果から学ぶべきことが多いと判断し、大阪大学のグループを TPC に積極的に受け入れてきた。時間の経過とともに筑波大学や日本女子大学からも卒業生が参加するようになり、阪大グループを中心としてカニクイザルの母子関係の研究が本格化した。引き続き TPC における心理・行動研究は、ストレスの神経・内分泌・免疫学的研究や老齢ザルの心理・行動学的研究に発展していった。

2代目の吉川泰弘センター長の赴任に伴い、行動研究はコンピュータを用いた自動行動解析システムの開発という大型プロジェクトや長寿科学研究プロジェクトでの老齢ザルの高次脳機能解析が本格化していった。さらに、今年度この延長線に「脳神経系」「長寿」「遺伝子治療」を柱とする「厚生省霊長類共同利用施設」が完成、稼動することになり、育成ザルの行動特性から細々と開始された研究が、高次神経機能、遺伝子治療の評価、老齢ザルの脳機能解析といった21世紀の厚生科学研究を支える研究基盤として霊長類をモデルとした研究を行う体制が整ってきた。

TPCnewsの中断を一つの機会として、これまでのTPCにおける行動研究の流れをまとめ、過去、現在、未来と時代を追って概覧してゆくことにする。

**過去(1980年～1993年):夢のまた夢(ボランティア&テンポラリー)**

### **第1期: 室内繁殖ザルの行動特性と繁殖育成**

#### **1-a: 育成ザルの性行動, 哺育行動の正常化**

初期の心理・行動研究は南 徹弘(東京女子大学, 現大阪大学)と2名の東女大卒業生による「TPCの室内環境における野生由来ザルと育成ザルとの比較研究」から始まった。これは、成熟育成ザルのなかに正常な性行動や子育て(哺育行動)ができない個体がみとめられたことによる。南と後に加

わった小山高正(川村学園女子大, 現日本女子大)の指導の下に筑波大学の卒業生(古川, 鈴木(富), 鈴木(淑))の3名が3年間にわたって観察を継続した。この一連の継続研究の結果は当時大阪大学博士過程の学生であった中道正之(現大阪大学)に受け継がれ、TPCの育成ザルと野生ザルとの性行動, 哺育行動の比較実験の結果が原著論文として報告されている。

#### **1-b: 実験的アプローチの模索**

根ヶ山光一(大阪大学, 現早稲田大学)は、母子関係に実験的手法を取り入れ、母ザルが視覚や嗅覚を手がかりにして子ザルを認知しているのか否か、さらに、妊娠期のホルモン動態が妊娠雌ザルに母性行動を誘発させるか否かを実験的に解析するアプローチを試みた。また、日本女子大の卒業生2名(大矢, 船山)は、小山の指導の下で母子ザル間で発せられる音声を相互に認識可能かどうかの実験を行った。もう1名の日本女子大卒業生(木村)は年齢が異なった個体で新奇物に対する反応が変化するかどうかを、ケージ内に玩具を入れる実験を考案して行った。これは後述する新奇刺激提示実験の原型となった。

これらの実験は、何人かのTPC職員がボランティア的に協力して行ったが、実験当事者が恒常的にTPCに常駐して解析するという環境を確立することはできず、提案された実験を実験当事者が短期間筑波に滞在して実施するという継続性に乏しいものであった。

## **第 2 期:システムとしての行動研究の萌芽 (半常駐的実験体制の確立)**

### **2-a:現場からの声を研究に**

センターでは開設当初から阪大や米国で行われていた隔離飼育研究の結果を基に、離乳後の子ザルの単独飼育をさせ、4 ないし 6 頭をグループとする育成方式を採用していた。しかしながら、実母から離乳(隔離)して集団飼育を開始した直後に原因不明の下痢が多発することが育成現場で問題となっていた。この原因として母子分離に起因する心因性的下痢の発生が考えられたことから、育児経験の豊富な保母ザルを導入したところ、下痢の発生が劇的に減少した。この試みには小山を中心とする行動グループが側面から支援し、保母ザル導入と子ザルの行動との関連が調査された。その結果、保母ザルを導入した群ではストレスに起因すると思われる抑鬱行動の生起率も激減することが判明した。

この事実は、離乳という一連の繁殖育成作業が、母子分離と未知の他個体との出会わせが連続するという、子ザルにとって著しいストレス負荷の手続きであることを示している。現場からの声を受けて行動グループが実証した結果は、保母ザル導入という新しい育成方式の確立につながると同時に、ワシントン大でストレスと免疫の研究を終えて帰国した寺尾恵治(現感染研究室長)がその後 TPC で小山とともに取り組んだ「ストレスと免疫」研究において最も有効なストレス負荷モデルとして取り上げられ

た。

離乳後の保母ザル導入実験を行っている時期に、リスザルでの離乳ストレス軽減法として離乳訓練の実施が提案された。子ザルに少しずつ母子分離を経験させ、離乳ストレスの軽減を図ろうという戦略である。そこで、4 週間かけて母ザルとの別居期間を徐々に増やしてゆく方法を考え、免疫機能の変化とコルチゾルレベルとで訓練の効果をモニターした。その結果、期待に反して離乳訓練を行った子ザルでは訓練期間中コルチゾルレベルは高値を維持し、免疫学的マーカーの一つである NK 活性は低下したままであった。このことから、母子分離を繰り返す離乳訓練はむしろストレスを増強させる結果となる可能性が高く、直接分離による離乳が現実的であることが判明した。リスザルの群飼育開始に伴うストレス軽減を目的とした訓練でも同様な結果が得られ、飼育環境下における心理的、社会的ストレス軽減を目的とした馴化もしくは訓練は成立しがたいことが判った。

### **2-b: 実験的アプローチの継続(仮説の検証)**

21 世紀は脳科学と長寿科学の世紀といわれているが、いずれの研究領域においても優れたモデル系の開発がその正否を決定する。繁殖群からからリタイアした 20 歳以上の老齢ザルは、ヒトの老化研究における有用なモデルであることが指摘されていたが、有用なデータは得られていないのが現実であった。特に老齢ザルの高次脳機能(記憶、認知、弁別)については、具体的なアプ

ローチの方法すら確立されていなかった。

筑波大基礎医学系の東海林は小山と共同で開発したタッチパネルを用い、老齡ザルの好奇心を探るというユニークな研究に挑み、タッチパネルとパソコンを組み合わせた画像提示で高次脳機能の解析が可能であることを実証し、後述の自動行動解析システムの開発への萌芽を示した。

また、科技庁の米国学生夏期招聘プログラムのサマーインスティテュートで来日したハーバード大のナンシー嬢は山海直(現感染研主任研究官)と共同で、交配システムの一つである隔日交配方式における雄ザルの交配相手である雌ザル選択の要因を内分泌学的、行動学的に解析した。

## 現在(1994~1997)夢が現実(常駐解析グループ)の誕生

### a: コンピュータによる自動行動解析システムの開発

二代目センター長の吉川は東大医科研時代に行動異常マウスの研究を通じて、従来の「専門家の手作業による動物行動解析」の限界を感じていた。コンピュータによる情報処理機能の飛躍的な発達を背景として、小型コンピュータによる動画情報処理を基本にした「自動行動解析システム」の開発に並々ならぬ意欲を持っていた。彼の夢を実現させるべく、1993年に科学技術庁の公募による省際基礎研究(試行型)に「霊長類行動のマルチメディア情報処理とニュー・ロ

ンピュータによる解析システムの開発」が採択された。このプロジェクトに筑波大学・心理学教室・博士課程在籍中であった川崎勝義(現感染研協力研究員)がプロジェクトコーディネーターとして参加することになり、ここに初めて常駐の行動解析担当研究者を得ることができた。

今振り返ると、このプロジェクトはコンピュータの情報処理能力との競争でもあった。その意味では画期的というよりも当時はむしろ無謀とも思える試みであったが、時代を先取りした研究の一部を具体化させた。具体的成果としては、いくつかの有効な画像解析ソフトが開発できたこと、基本となるサル(ゴリラ)の行動の自動識別が一定レベルで可能となったことがあげられる。このプロジェクトは、純粋な行動研究とは異なって、そのツールの開発といった色彩が強い。背景や文脈といったことが問題となる行動というよりは、その場における独立した運動を対象としたもので、それを画像処理というある種の測定方法によって客観的なデータとして扱えるようにするという意義があった。この研究の応用として、パーキンソン病の重症度診断や運動障害マウスの障害診断などの評価も可能となりつつある。

### b: 老齡ザルの高次脳機能解析

老齡ザルを対象とした脳・神経系解析では、脳の構造学的変化の知見が先行した。東大獣医病理の大学院生であった中村伸一郎(現当大実験動物)が死後剖検により老齡ザル脳内に局所的なアミロイド、老人斑の

沈着が見られることを明らかにした。老齡ザルの個体により沈着の度合いが異なることから、老人斑の出現と高次脳機能(記憶, 認知)との間になんらかの関連がある可能性が指摘され、老齡ザルの高次脳機能の評価を最優先で行うべきとの要望が強くなっていった。しかしながら、ヒトと異なりサルで高次脳機能の評価を行うためには、長時間にわたる根気強い試行錯誤が必要になるだけに、目的意識を持った専従の研究者の確保が最大の課題であった。正規職員としての研究者確保の要求は繰り返していたが、はなから無理な注文であった。

プロジェクトコーディネーターとして科学庁のプロジェクトに参加した川崎が、プロジェクト終了後長寿科学財団の流動研究員としてとどまったことがこの研究をスタートさせる一つのきっかけとなった。筑波大の牧野研から土田(現京大霊長研修士)が日本女子大の小山研から久保が常駐研究生として TPC で初めて行う本格的な学習実験に参画してくれた。久保はサルの学習装置として一般的なウイスコンシン汎用検査装置(WGTA)を用いた記憶実験を、土田は簡便で大量データを取ることができる新しい学習課題実験としての指迷路実験を担当して、これまで未開拓の分野である老齡ザルの高次脳機能解析に切り込んでいった。川崎を中心とした体制が整ったところで、新たに三井、藤原の 2 人の卒論生が筑波大・心理から戦列に参加し、三井は空白の 10 時間といわれた深夜分娩後の保育行動を、藤原は改良型指迷路装置を用いた解析

法の確立に挑戦した。

### 未来(さらなる発展を)

21 世紀のフロンティア研究となる「脳神経」「長寿」「遺伝子研究」を柱にした「厚生省・霊長類共同利用施設」が 1997 年 10 月に TPC の敷地内にオープンした。感染研・筑波霊長類センターで育成行動、交尾行動、保育行動の統御を目的として始まった TPC の行動研究は、20 年を経て共同利用施設で実施される脳神経機能評価、長寿研究での高次脳機能解析、神経疾患を対象とした遺伝子治療の有効性評価と多方面での応用が要求される段階に来ている。いずれの分野においても、これまで未経験の心理・行動学的アプローチが必須となる。心理・行動研究の成否は一に研究者の資質と卓抜たるアイデアにかかっている。芽吹き始めた行動グループが大輪の花を咲かすためには、常駐研究者の確保と恒常的な支援が不可欠である。共同利用施設という舞台を得た行動グループの将来に期待したい。

### 《特集:これからの TPC》

#### SPF カニクイザルコロニーの確立をめざして

Establishing an SPF colony of cynomolgus monkeys

高阪精夫, 成田豊子, 向井録三郎

#### はじめに

我が国では、1960年代になって医学、生物学的研究に実験用動物として多くのサル類が用いられるようになった。しかしそれらのサル類は野生由来であったため、近代的な実験動物としての3条件である遺伝制御、疾病制御及び環境制御を満たすものでなかった。

そこで、1978年に近代的な実験動物としてのカニクイザルを人工条件下で繁殖、育成することを主目的に筑波医学実験用霊長類センターが設立された。そして、東南アジア(フィリピン、マレーシア、インドネシア)から輸入した野生由来カニクイザルを主体とした繁殖コロニーが作られた。

その際、野生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可能性が大きく、これらの感染症の中にはサル類とヒトとの共通の感染症、すなわち人獣共通感染症やサル類相互間でひろがり、サル類に多大な被害を与える感染症もあるので、実験動物として障害となる病原体を極力排除してSPF動物とすることが要望された。

ところで、サル類においてはマウスやラットのように無菌動物を最初に作出して、それからSPF動物を作出して行くということは不可能に近い。そこで、サル類でのSPF動物の作出は指定された病原体の薬剤による排除または感染ザルの隔離、淘汰といった手段を用いて行うこととした。

そして、SPF化の対象とした病原体は、野生ザルを主体に繁殖コロニーを設立した1978年から1982年にかけては、(1)サル類

とヒトとの共通感染症のうちサル類からヒトへ感染し、重篤または致命的な害を与えることが判明しているもの、同時に、ヒトからサル類へ感染し多大な被害を与えるもの、(2)国立感染症研究所(元国立予防衛生研究所)で行う研究、検定に障害となるものといった観点から選ばれた。(1)については、Bウイルス、赤痢菌、サルモネラ、結核菌、(2)については、麻疹ウイルス、内部寄生虫を対象とした。

1983年以降は新たな輸入野生ザルを繁殖コロニーに導入することを中止し繁殖・育成作業が行われていたが、1989年から1990年にかけてサル水痘様ヘルペスウイルス感染症の流行がみられたので繁殖コロニーに、本ウイルスを新たにSPF化の対象とした。

また、1990年頃からはエイズの研究や免疫抑制を必要とする研究のためにレトロウイルス(STLV-I、SIV、SRV/Dなど)の感染のないカニクイザルの要望が増加したので、現在は、これらのウイルスのSPF化に力を注いでいる。

今回は、当センターのカニクイザルコロニーにおけるSPFの現状と、現在、行っているレトロウイルスのSPF化について述べる。

## I. SPFの現状

### A. ウイルス

(1) Bウイルス:ヒトにとって非常に危険なウイルスである。輸入野生ザルからウイ

ルスの感染のないサルを選抜し、それらのサルで繁殖コロニーを作ることが理にかなっているが、輸入ザルの多くが本ウイルスに感染していたので、やむをえず、B ウイルスに感染ザルも含めて繁殖コロニーを作った。そして、そこで生まれた仔ザルを約3か月後に離乳させ、B ウイルス抗体陽性ザルから離乳して飼育するという繁殖・育成システムを採用したところ、B ウイルス抗体フリーの育成ザルから得られ、それらで育成コロニーを作った。また、最近、繁殖コロニーからもB ウイルス抗体陽性ザルをすべて排除、隔離し、B ウイルス抗体フリーのコロニーとした。なお、B ウイルスのSPF化より繁殖生産を優先したこと、また、最近まで、B ウイルスの危険性から本ウイルスを用いた抗体検査ができず、共通抗原を持つ単純ヘルペスウイルスを用いてB ウイルスの感染を推測していたことなどの理由で、完全なるB ウイルス抗体フリーのコロニーを作るのに約17年間を費やした。

(2) 麻疹ウイルス:国立感染症研究所で行う麻疹ウイルスの研究やワクチンの検定には麻疹ウイルスの感染のないサルが必要である。カニクイザルは本ウイルスに高い感受性を示す。もしも、新輸入群のなかに本ウイルスを排泄するものが1頭でもいると、その群はすべてが感染し、輸入後3-6週で麻疹抗体陽性となった。したがって、9週間の検疫期間を経たサルの中にはもはや麻疹ウイルスを排泄するものがないと考え、検疫終了時の抗体が陰性のサルも、陽

性のサルも共に繁殖コロニーに導入した。その結果、生産された育成ザルはすべてが抗体陰性であった。現在、これらのサルからなる繁殖・育成コロニーが維持されている。

(3) サル水痘様ヘルペスウイルス:本ウイルスはヒトへの病原性はないが、パタスモンキー、アフリカミドリザル、マカカ属サルへの感染は致死的である。当センターでは1989年に本ウイルス感染症が発生するまで、このウイルスについては注意を払っていなかった。その理由は、カニクイザルの繁殖コロニーを設立後、11年も経過しながら、一度も本症の発生がみられなかったからである。本症の流行終息後、抗体を保有しているもの、すなわち、本ウイルスに潜在感染しているサルをすべて繁殖・育成コロニーから排除する方針で、徹底した抗体調査と排除を繰り返し、1996年までにその作業は終了した。

## B. 細菌

(1) 赤痢菌:検疫期間中に赤痢感染ザルを摘発し、抗生物質で完全に除菌した。そして、赤痢菌の感染がないことが確認されたサルで繁殖コロニーを作った結果、繁殖コロニーからも、育成コロニーからも一度も赤痢菌は検出されず、維持されている。

(2) サルモネラ:検疫期間中にサルモネラの感染がなことが確認されたサルで繁殖コロニーを作った結果、繁殖コロニーからも、育成コロニーからも一度もサルモネラは検出されず、維持されている。

(3) 結核菌:検疫期間中、オールドツベルクリンを用いたツベルクリン試験を実施し、結核菌の感染のないことを確認して繁殖コロニーに導入した。その結果、繁殖コロニーにも、育成コロニーにも結核症の発生は1例もみられず、維持されている。

### C. 寄生虫

#### (1) 内部寄生虫

a) 原虫類:野生輸入ザルには人獣共通原虫症の原因となる赤痢アメーバやランブル鞭毛虫などが感染していたが、これらの原虫類を排除することは困難であるといわれていたので、衛生的な飼育環境下で自然に消失することを期待して、無処置のまま繁殖コロニーに投入した。その結果、残念ながら、繁殖コロニーからも育成コロニーからもこれらの原虫類を排除することはできなかった。

なお、近年、行った小規模の調査では、これらのコロニーのサルから検出された赤痢アメーバはヒトに対して病原性のない株であった。今後はヒトにも感染する原虫類に注目し、排除していきたい。

b) 蠕虫類:野生輸入ザルに対しては、検疫期間中と繁殖コロニーに導入後に駆虫剤、サイアベンダゾールを3クール投与した。また、繁殖コロニーでの駆虫剤の投与時期と同時期に、育成コロニーのサルに対しても同駆虫剤を1~2クール投与した。その結果、野生由来ザルからは蠕虫類の感染はみられなくなった。しかし、育成ザルでは糞線虫の感染がみられることがあったので、

その都度、サイアベンダゾールやイベルメクチンを投与している。最近では糞線虫、感染サルもほとんどみられなくなったので、早い時期に、蠕虫類フリーのコロニーとすることができると思われる。

(2) 外部寄生虫:しらみ等外部寄生虫の駆除にはバイエル社製のネグホンを用いている。輸入時にはすべてのサルをこの薬剤で薬浴させた。また、しらみやしらみの卵が検出されたときには、その都度、薬浴させた。なお、しらみの卵が検出されたときには卵が付着している体毛を剪毛後、薬浴させた。このような作業をくり返し行ってきたところ、現在では、しらみの寄生がみられていない。今後も注意深く観察を続けていきたい。

### .レトロウイルスのSPF化について

当センターのカニクイザルコロニーにおけるレトロウイルス科に属するウイルスのSPF化の試みは1984年頃から始められた。これらウイルスのSPF化の初期には、オンコウイルス亜科に属するサルT細胞指向性ウイルスI型(STLV-I)とレンチウイルス亜科に属するサル免疫不全ウイルス(SIV)を対象とした。そこで、まず手始めにカニクイザル繁殖・育成コロニーにおけるSTLV-IとSIVの感染状況を知るため、抗体調査を実施した、その結果STLV-Iについてみると、輸入野生ザルには比較的高率に陽性例が認められたが、育成ザルではほとんどが陰性であった(表1)。したがって、

本ウイルスはまれにしか垂直感染しないことが推測された。また、SIV についてみると、輸入野生ザル、育成ザルともその陽性率は非常に低率であった。したがってこれらのウイルスに関し離乳時から定期的に検査を繰り返すことにより、抗体陰性個体が得られることが明らかになった。

ところで、オンコウイルス亜科に属するレトロウイルス/D 型(SRV/D)は、カニクイザルと同じマカカ属サルであるアカゲザルに致死的に感染することが知られている。そこでエイズの研究や免疫抑制を必要とする研究にアカゲザルを用いる米国においては、マカカ属サルコロニーにおける本ウイルスの SPF 化が既に行われている。近年、当センターでもカニクイザルを用いた同様の研究が増加してきたので、カニクイザル繁殖・育成コロニーにおける SRV/D の SPF 化を 1996 年末から開始した。

今回、SPF 化 2 年目の現在、SRV/D フリーコロニー作出がどの程度進行したかを報告する。

従来の抗体検査は SRV/D-type2 を抗原として IFA で行ってきたが、この方法では、非特異反応が多く、判定が困難な個体もあることから、本調査に当たっては WB 法 (TPC NEWS, 1996, Vol.15 No.2)による抗体検査も併用した。また、ウイルス検出法としては PCR 法 (TPC NEWS, 1997, Vol.16 No.1)を導入して行った。

当センターのカニクイザルコロニーおよび最近我が国に輸入されたマカカ属サル類における SRV/D 抗体保有状況を表 2 に示し

た。8 カ月から 11 カ月齢の離乳時の仔ザルでは、29%の抗体保有率であった。その後、その抗体保有率は加齢とともに上昇し、5 歳齢以上では雌雄ともに 70%の保有率であった。一方、当センターが繁殖コロニーに導入した東南アジア産の輸入野生カニクイザルの抗体保有率は 13%であった。また、1995 年から 1996 年にかけて我が国に輸入されたマカカ属のサルの抗体保有率は 14%であった。当センターでは離乳後から性成熟を迎えるまで、数頭ごとに同一ケージで飼育を行っているので、SRV/D 抗体陽性率が 1 歳齢から 5 歳齢の育成期に上昇する傾向が見られたことは、同一ケージ内のサル相互間で高頻度に水平感染が起きていることを示唆している。また、離乳時すでに 29%の抗体陽性率がある事は、母子間での垂直感染の可能性がある事を示している。一方、輸入サルでの抗体保有状況についてみると、1979 年から 1988 年に当センターへ輸入された野生由来カニクイザルでは、TPC の繁殖カニクイザルに比べて陽性率は非常に低いこと、また、最近輸入されたマカカ属サル類は、人工繁殖サルであるにもかかわらず、TPC カニクイザルコロニーよりも陽性率が低いことから、TPC での飼育管理、飼育環境等に検討を加える必要があると思われる。

つぎに、アカゲザルでは SRV/D に感染しても抗体産生が認められない個体が存在するという報告があるので、カニクイザルの末梢血リンパ球を、Raji 細胞と混合培養後その DNA を用い、PCR 法にて SRV/D 遺伝

子断片の検出を行った。その成績と抗体保有状況を表3に示した。その結果、抗体陽性サル27頭中4頭から、また判定保留のサル12頭中4頭からウイルスが分離された。しかし、陰性9頭のサルからは分離されなかった。抗体検査で判定保留とされたサルから、高率にウイルスが分離された事は、抗体検査だけでSRV/D感染サルを確認することは不十分であることを示している。また、SRV/D感染ザルを確認するには1回の抗体検査とウイルス分離検査では不十分であると思われる。なお今回、抗体陰性のサルからはウイルスは分離出来なかったが、SRV/Dフリーのコロニーを作出していく上では、抗体産生を伴わないウイルスキャリアーサルの排除が重要であるので、定期的に抗体検査とウイルス分離を進める必要があると考えられる。

ところで、8~11ヵ月齢の離乳時の仔ザルにおける抗体保有率は低率であったことから、離乳前に抗体検査とウイルス検出を試み、SRV/D未感染ザルを選別し、隔離飼育をし、かつ定期的に抗体検査とウイルス検出を繰り返すという方法を採用したところ、小規模ながら、SRV/Dコロニーを作出することができた。表4に当センターで実施しているSRV/Dフリーコロニー作出手順を示した。すなわち、コロニー全体のスクリーニング検査には、はじめIFA検査を実施した。その後陰性ザルについてはWB法で抗体が陰性である事を確認し隔離した。これら隔離飼育されたサルについては、末梢血リンパ球からのウイルス分離をPCR法

で検査した。その後、1ヵ月目にもう一度WB法で抗体検査を実施した。現在も定期的に抗体検査とウイルス検出を試みている。

以上、SRV/Dフリーコロニーの作出は、まだ開始されたばかりでその規模は小さく、しかも離乳ザルという非常に若いサルから出発しなければコロニーを作出することができないというむずかしさがある。数年後にこれらのサルが繁殖可能になる時期までには、さらに本ウイルスのSPF化に必要な検査法や飼育環境・飼育管理を改善、確立していきたい。

## おわりに

以上、SPF化の対象としたウイルスについては、現在、カニクイザルの繁殖・育成コロニーにおいてその作業が進められているレトロウイルスに関するものを除いて、すべてSPFとすることができたと思われる。

細菌についても対象としたものはすべてSPFとすることができたと思われる。しかし、繁殖コロニーの設立当初にはその情報が少なく、SPF化の対象としなかった*Campylobacter jejuni*や*C.fetus subsp. fetus*が現在の繁殖・育成コロニーのサルには比較的高率に感染している。これらの菌種はヒトのカンピロバクター症の原因菌であり、また、*Campylobacter jejuni*は仔ザルの下痢症の原因菌のひとつであると考えられているので、繁殖・育成コロニーから排除して行きたい。

寄生虫については、前述したように、ヒ

トにも感染する原虫類とくに注目し排除して行きたい。

今後も、サル類を使用した実験は多様化して行くことが予想され、そして、それらの実験目的にあった微生物の制御が益々要求されるであろう。我々は過去 20 年の間に蓄積した各種感染症に関する疫学データを基に、どのような要求にも答えられるよう努力していきたい。

### 〈セミナー報告〉

#### 予衛生協会セミナー'98 報

Overview of the Seminar '98 by the Corporation for Production and Research of Laboratory Primates (CPRLP)

藤本浩二

平成 10 年 2 月 13 日(金)、つくば市にある科学技術庁研究交流センターにおいて第 4 回予衛生協会セミナー'98 を開催した。

現在、厚生省においては 100 年ぶりに伝染病予防法の改正を準備中であり、併せて当該法に関連した狂犬病予防法(狂犬病に係る輸出入検疫対象動物の追加)や検疫法(検疫の対象となる疾病の見直し)についても一部改正を行い、今まで規制の対象外であったサル類についてもこれらの法令で規制することを予定している。

そこで今回のセミナーでは、この問題をテーマとして取り上げ衛生行政、研究者および実験動物技術者等の関係者に対し、サル類の人獣共通感染症についての講演と、法改正に当たりサル類の検疫の必要性を報

告した公衆衛生審議会伝染病予防部会・基本問題小委員会委員による講演、さらにこれらの委員会報告を実際に法律に盛り込む立場の厚生省保健医療局担当官からも、法改正の経過等について講演をいただいた。

第 1 部の人獣共通感染症についての講演では、山内一也予衛生協会理事、倉田毅国立感染研感染病理部長の両先生に B ウイルス病、狂犬病、サル天然痘、エボラ出血熱、マールブルグ病など、サル類に係わる新興再興 - 人獣共通感染症についてお話をいただき、さらに高阪精夫予衛生協会技術顧問から、筑波霊長類センターで見られたサル水痘症、細菌赤痢症等の症例報告とその治療、またサル類取扱いに際しての安全対策についてお話をいただいた。

第 2 部ではサル類に係る検疫の必要性を報告した公衆衛生審議会伝染病予防部会・基本問題小委員会委員 内田幸憲神戸検疫所長に、小委員会で調査したサル類の輸入状況あるいは諸外国でのサル類の検疫に係わる資料の提示をいただき、小委員会での討議内容についてもお話いただいた。

さらに厚生省保健医療局結核感染症課情報管理官 梅田勝氏から小委員会報告が実際の法律にどのような形で盛り込まれる予定であるかについて感染症予防法(仮称)とこれに関連する法律の現時点での改正案要綱を示していただき、説明をいただいた。

長年サル類の実験使用に携わって来た技術者、研究者が望んでいたサル類の検疫が法規制されそうな時期となったが、この法制化を期に、検疫基準、危機対応策といっ

た具体的安全対策が計られることを希望したい。

最後に、本企画に多大な御助言をいただきました、山内一也予防衛生協会理事、吉川泰弘東大教授に感謝いたします。また当初 100 名のセミナーの参加者を予定していましたが、当日は 145 名の参加を頂きスタッフ一同感謝しております。

本セミナーについては、参加者から寄せられたアンケート等を参考に、今後も活動を続けてゆきたいと考えています。御意見等は時々協会までお寄せ頂けると幸いです。

#### 《施設紹介》

#### 厚生省共同利用施設の建築を終えて

Joint use facility for research with nonhuman primates

長 文昭

平成 7 年の補正予算において表記の建設が実行された。筑波医学実験用霊長類センター(以後センター)の敷地内に建設されたこの施設は、センターで繁殖育成されたサル類を広く厚生省傘下の試験研究機関、国立高度専門医療センター等で働く研究者が利用することを目的とする施設である。これまでサル類を自らの試験研究に使用する希望はあっても、サル類の飼育施設や実験施設がない、適切な飼育管理技術者がいないなどの理由から実施できなかった試験研究を進めようとするものである。

施設の概要を記述する前に、筆者の立場を明らかにしておきたい。筆者は実験用サル類をどのようにして健康的に管理するか、いかにして健康なサル類を試験研究者に供給し、適切な飼育管理をするかといった、いわば供給者側に立った仕事をこれまで業務としている。それ故に、in vivo 施設である 1 階の各室については今後の管理、利用法にたいする具体的イメージがあるため、紙面を多く使って記述させていただく。

今回の共同利用施設の設計・建設にあたっては、既設のセンターでこの 20 年間に得られた貴重な経験をもとに、そこから生ずる幾つかの試みも併せて遂行できたことに加え、既設のセンターの設立目的と異なる点で、大層貴重な経験を積ませていただいた。特に、生体の各種機能測定の内り方をより具体的にする検査・測定室のデザイン、いくつもの専門的研究分野を背景にした各々の研究室の形、こうした検査・測定室と実験室を結ぶ情報網の整備などに関しては多くの内外の研究者、技術者の方々にご協力をいただいた。

施設の設計は、遺伝子治療、脳神経機能および加齢の 3 分野の試験研究を可能な限り実施出来る施設とすべく考えられた。延べ床面積は 3,110 m<sup>2</sup>である。1 階は動物飼育管理室をはじめ、生体の各種試験・検査室、観察室から構成される in vivo 施設である。2 階は動物由来材料を用いての試験研究室、いわゆる in vitro 施設と、共同利用研究員室、飼育技術員控室からなる。この他 2 階には

機械室(510 m<sup>2</sup>)、屋上施設と付属設備棟(260 m<sup>2</sup>)が設けられている。

個々の説明に入る前に、施設全体に関する説明から記述したい。電気、水、ガスといった光熱水量の使用量は施設に取り付けた元メーターにより、既設センターのそれとは別個に算出できるようにした。使用蒸気量、サル汚水処理経費はこれまでの使用量から比例配分により算出可能であると推測した。電話は既設センターの交換機を利用した。空気調和1階動物系は24時間稼動を、2階実験室は日中8時間系として稼動すると同時に個別の冷暖房の稼動を可能にした。24時間稼動の動物系では廊下の空気圧を0mm/H<sub>2</sub>Oとし、前室・後室のそれは-1mm/H<sub>2</sub>O、飼育室のそれは-2mm/H<sub>2</sub>Oと差圧をとり、動物区画からの空気の流出を防いでいる。1階で作業をする全ての職員には、作業の安全と迅速処理のために従来の経験を活かし無線装置を準備した。この装置の一部として各室、廊下の天井には19cmのアンテナが設置されている。ここで使用する無線の周波数は既設センターのそれとは異なっている。また、共同研究員には施設内専用のポケットベルが用意されている。

動物飼育室を除く全ての室には情報コンセント(モジュラー・ジャック受け)があり、情報センター(後術)、NIH-netを介してインターネットに接続可能である。動物飼育室(No.1および2)の前室には2階にある飼育技術員控室との間に、動物の毎日の健康状態観察結果を送信する専用の情報コンセン

トを設けた。既設センターから当施設へは連絡通路を経て、階段を昇り、施設2階の入り口に到達することになる。3m幅の階段には身障者用階段昇降機も設けられた。

施設の外觀は写真1に見るとおりである。施設に就業する職員および共同利用研究員は平面図(図1)に示された玄関にて予め登録済みの指紋と照合することにより扉が開錠され入館する。外来者は既設センターの正面玄関受付にて登録承認証を受け取り、連絡通路を利用して施設2階入り口から登録承認証により入館する。

さて、1階のin vivo区域へは、登録した指紋と再び照合することによってのみ入ることができる。これは、原則として、動物に休養をとらせるため午後6時以降の入域を避けるためである。一方、2階については、24時間開放を前提として設計した、小動物室、行動監察室へ通じる北側廊下へは着衣の交換は不要である。サル類飼育区域へはシャワー室にて着衣交換後、動物域中廊下へ出る。

【シャワー室、洗濯室】男性用、女性用のシャワー室にはそれぞれ上下2段のパスボックスが廊下面壁に取り付けられている。上段は洗濯済みの動物区着用衣類で、動物室に入域する人のために準備されている。下段には着用済みの衣類を収納する。パスボックスはシャワー室内側と動物域中廊下側に扉を具備している。廊下を挟んで洗濯室がある。洗濯室では下段から取り出した

着用済みの作業衣類等をオートクレーブ滅菌し、洗濯から乾燥への一環作業が行える。

【行動観察区域】ここには使用目的の異なる3室がある。個別ケージ内での個体行動を観察するための北側廊下の突き当たりにある行動観察区域の行動観察用個別飼育室には6ケージが置かれている。ケージ前面から1.5m離れて70%遮光の鏡窓ガラスがあり、動物からは鏡窓ガラスの背景に居る観察者は見えず、サル自身とケージが鏡に映って見えるはずである。鏡窓ガラスの効果을上げるために、観察室には動物室用と観察室用の調光器を付けた。鏡窓の背面は観察室となっていて、シャワー室に入らず北側廊下を通して立ち入ることができる。観察者は鏡窓ガラスの効果によって観察者を意識しない動物の行動を観察できるように作られた。

一部の共同利用研究員は、動物の行動を研究員室で観察したり、録画したり、インターネットによる動画を遠隔地に送ったりする事を希望するであろうことも想定し、ITVカメラを設けた。さらに研究員によっては、特別な目的指向のITVカメラや特殊な観察機材を持ち込むことも考慮して、50mm径の空配管を研究員室との間に設けた。

観察者は観察結果をパソコンにより情報センター(後術)をはじめ、どこへでも転送可能な情報コンセント(光ケーブル回線)を利用できる。

次の室は群行動観察のための群飼育室(6

×3m)である。数頭から10頭程度の群を想定して作られた。観察は前述の個別飼育室の観察室から続く、同一の鏡窓ガラスを通して行う。動物室は床から2mの高さのところに金網天井を取り付けてあり、「床排水装置」と「逃げ込み捕獲ケージ」が設けてある。この室へは毎日清掃・給餌作業を行うために技術員が入る。入室する技術員の視界から逃避しようとする動物の性質を利用し、逃避場所を設け、併せてそこに捕獲機能を持たせた。高さ50cm、奥行き41cm、長さ3.2mの「逃げ込み捕獲ケージ」は内部で31cm毎の10区画に分けることが出来、その区画毎に挟体装置と扉が付けてある。

3つ目の区画はTASK室である。ケージ内の1頭サルと対面正座した観察者が互いに見えない大きさの板壁を境とするセッティングを可能にする5×3mの小室である。勿論この部屋にも情報コンセント、空配管があり、対面するサルの記憶や学習の程度についてデータを情報センターに送ることが可能である。

【手術室(写真2)と手術準備室】手術室と手術準備室は清浄空気(クラス10,000)供給区域であるため廊下からの入室時にはエアシャワーを通過する。準備室には被手術動物の術前処置や術者の手指の洗浄の他、被手術動物の手術前、手術中の血液等の一般検査の実施や一般健康状態の最終検査に必要な場所を確保した。手術室は遺伝子治療手術を想定し、ドナーとレシピエントの手術が同時に進行できるように、手術台、無

影灯，酸素，ヴァキューム等すべてを2組設けた。手術中の様子が見学者にも十分理解され，あるいは術者がアドバイスを受けることができるように，ITV カメラを手術台上部天井に，無線装置用のアンテナを同室内に配置した。これらの室では専用アース付の医療用電源コンセント(赤色)を設けた。通常の漏電ブレーカーが15mAの電流を感知し作動するのに比べて，医療用電源コンセントは2mAの微弱電流に感知する。これは次項のICU室等とともに多くの医療用測定機器の利用が予定されている当施設にとって必須のものとして設けた。

【ICU室と回復室】遺伝子治療手術を終えた動物が種々の感染を引き起こさないように，また術後処置の環境も考慮し，ICU室内にアイソレーターを3台設けた。ICU室もまた清浄空気(クラス10,000)供給区域であるから，室へ出入りの際はエアシャワーを通過することが義務づけられる。ICU室内のアイソレーターで十分な回復が認められた動物や，軽度の外科手術後の動物は隣室の回復室に移され管理される。9台の個別飼育ケージが用意された回復室には4台のITVカメラが天井に設けてあり，管理担当者と臨床獣医師のそれぞれが，離れた場所で観察できる。

【生体機能測定室】ICU室，回復室と共通の前室に面した生体機能測定室では正常な動物はもちろん，術前あるいは回復途上の動物について，超音波測定装置，骨密度測

定装置などを用いて生体機能測定を行う予定である。

【解剖室，病理標本固定室】当センターの病理担当者の考案により作製された解剖台1台と，複数の術者または助手により実施可能な大型の解剖台の1台が設置されている。採取された組織，臓器の切り出し，測定，固定液への投入などの処理作業をおこなう台はその上部を吸引フードと一体とし，隣室の病理標本固定室へのパスボックスのあるコーナーに設けられている。病理標本固定室は，固定液の交換作業，組織標本作成前の整理保存をすところである。組織標本作成作業は当室と同じ位置にある二階の病理標本作成室で進められる。病理標本固定室と同標本作成室の間には標本の搬送専用の小型エレベーター(ダムウェイター)が設けられている。

【レントゲン室】X線透視室には透視用のレントゲン装置(SIEMENS社製SIREMOBIL 2000-2)が置かれている。撮影済みのフィルムは斜め奥にある暗室(2.4×3.6m)で自動現像装置により速やかに，かつ確実に処理できる。X線透視室の隣りは照射レントゲン装置(パンタック社製HF-420型)が設置されたX線照射室である。周囲の壁と天井の鉄筋コンクリートの厚みは通常の2倍を越える。特に被照射動物の保定台には12mmに鉛板を敷きこんで床下へのX線の透過を防いだが，更なる安全装置として建物点検用地下ピット(高さ2m)内の

照射室に当たる部分にはフェンスを巡らして(写真3),立ち入り禁止として事故防止に配慮した。また,同室にはコントロール室との間に医用テレメーターのためのアンテナを設け,同配線済みである。

【脳神経機能測定室】南側廊下から入った前室(3.5×4m)は,大小2つの実験室に通じる。これらの実験室では脳内や中枢神経の各所に発生する生体内の微小電流を測定することが主目的である。大小両実験室はともに四方壁,天井,床に鋼板を壁内に張り巡らして,外界からの電波の進入を防いでいる。シールド性能は150kHz~30MHz:60dB以上の電界減衰,遮音性能は500Hzにて20dB以上の減衰が設計上保証されている。大実験室(3.7×8m)は細胞レベルの神経電位の測定を可能にするため,振動除振台が配置されている。動物体の長時間にわたる不動を確保するために,また,定期的あるいは機械的に投与される麻酔薬の効果を動物体に安全に発現させるために,酸素とヴァキュームのラインも設けられている。小実験室(3.5×3.7m)は二重の扉で防音防光設備も施されている。

【人工哺育室】前室には,左手に調乳コーナーを,右手に哺育ケージの洗浄流しを設けてある。その奥3.7×5.5mが人工哺育室である。今後必要になる電源コンセント,酸素,ヴァキュームが壁に等間隔で取り付けられている。ヒト用の人工哺育器2台の設置を想定している。人工保育器1台には

サル新生仔哺育用アクリル製ケージが4~8個セットすることが可能である。通気孔の開けられたアクリル製ケージには新生仔一頭ずつを収容する。新生仔は4~6週齢で保育器から保育ケージ(W50×D40×H40cm)に移されて管理される。

【動物飼育室(写真4)】36ケージと40ケージを収容する2室(動物室No.1および2)はこの2室に共通の後室につながる。独立した前室をもつ28ケージと31ケージを収容する2室(動物室No.3および4, No.5および6, No.7および8)もそれぞれに共通の後室につながる。このタイプの飼育室6室とやや大きめの前述の2室と併せて,全8室のケージ収容数の合計は253台である。ケージは壁に設けたレールに引っかける。ケージ床下面から飼育室床面は81cmである。即ち,ケージは飼育室の左右の両壁面に向かい合って一列に並ぶ。ケージ前面から垂線を降ろした床から壁までの約90cmの間に2cm下がるから勾配を取っている。この勾配は清掃時に汚物が無用にケージ前方に流れ出さないためのものである。

飼育室床はケージ列の左右に勾配を取っていない。いずれのケージ列も左右方向どちらかの端の床に動物の排泄物,飼料残渣を流す直径40cmのステンレス製円形水洗器を設けてある。ゴム製水切りにより排泄物,飼料残渣は,水洗器に集められ水栓レバーを押し下げて一気に流される。この円形水洗器は,当施設建設にあたり考案,製作,施工したもので,試行により極く良好

な結果がえられている。

また、飼育室床、特にケージ下の汚物を受け、流す部分に段差を設けていないのは、ケージ取り外しの際に使用するリフター付カート(昇降装置付台車)の挿入を考慮したためである。飼育室の中央には消毒薬散布装置を設けてある。動物用飲料水の給水装置としてはケージ引っ掛け用のレールを利用してケージ後方に給水口を取り付けた。飲料水としての逆浸透(Reverse Osmosis)濾過水(以下 R.O.水)は市水をもとに作られた後、次亜塩素酸ソーダを 0.2ppm として通水し、タイマーにより管内 R.O 水の排出洗浄を高圧にして自動的に行える装置を設けた。洗浄回数の初期設定は 6 時間間隔の一日 4 回である。

【飼育ケージ】動物の福祉に配慮して設計製作されたステンレス製のケージの大きさは、W50×D80×H80cm、重量は 42kg である。すべてのケージの両側面には前方への引き戸(有効開口部 W36×H74cm)が付けてある。右側面の引き戸は板戸、左の戸は網戸とした。試験研究に使われる前の動物は、この引き戸を開けることにより互いに行き来ができ、動物福祉の観点からサル同志スキップをしあえることを条件とした。

【洗浄室】高圧滅菌器、地流しと軽量鉄骨棚が 6.4×5.4m の室内に配置されている。高圧滅菌器の管体有効寸法は飼育ケージが 2 台納まる W1×H1×D1.2m である。地流しは飼育ケージ 1 台が浸漬するに十分な縦

横 1m、床上 30cm の立ち上がり、深さ 1.2m の桝である。これには給湯栓と水栓が設けられ、時には消毒薬液を満たすことも可能である。さらに天井には、床から 42kg のケージをつり上げ、地流し上に移動後、桝内に降ろす機械装置であるレール付チェーンブロックを設けてある。軽量鉄骨棚には全ケージの 1 割に当たる 20 数台の予備ケージが収容されている。

予備電源盤は壁面に取り付けられている。三相 200V、225A の容量を持つこの電源は、例えば壊れたケージの部分的修理を行うのに必要な溶接機を使用するのに充分である。

【RI(ラジオアイソトープ)実験区】実験区は専用の階段をつけて 1、2 階に分かれている。1、2 階間の RI ラベル物質をはじめ物品の搬送専用として小型エレベーター(ダムウェイター)を設けている。1 階にはフード内個別ケージ飼育室(写真 5)と手術処置室、廃棄物作業室、貯蔵室等を設け、外部への廃棄物搬出に備え、インターロック式の搬出用室を設けてある。

RI 実験区内のフード内個別ケージ飼育室へは前述の動物飼育室 8 室の扉の並ぶ南側廊下から前室・汚染検査室を通して入る。そこでは履き物の交換、専用作業前衣、ゴム手袋、腕カバー等々の装着が、今後、実行上で検討されねばならない。作業終了時にはこの場所において法に従って汚染検査を実施する。シャワーを浴びる必要の生じた場合には左手にシャワーが用意されている。

6×8mのフード内個別ケージ飼育室では、個々に行う採便採尿等の作業を容易にするために作製されたキャスター付架台にケージを載せる。フード内にはケージを2台ずつ配置し、全12台のフードに24台のケージが納められている。フードの大きさはW1.2×D1.2×H2.5mで、前面は上下2枚に分けた透明アクリル板で閉めてある。2枚のアクリル板は上方に引き上げると重なって収納され、全面開放となる。飼育室の天井から供給される新鮮空気は、最下部のアクリル板に開けた直径4cmの10孔からフード内に吸引されて、フード毎に排気ダンパーの調節によって均等な風量として通過し、排気される。その後、排気空気は一本の排気管になり、高性能フィルターおよびチャコールフィルターを装填したRI用特殊チャンパーに入り、濾過後排気される。飼育室内には飼育ケージを1台ずつ浸漬、洗浄するために、縦横1m×2m、床上1mの立ち上がり、深さ1.2mの地流しが用意されている。地流しの上部には前述の洗浄室と同様、ケージを柵内に降ろす機械装置であるレール付チェーンブロックが設けられている。その先に、手術処置室の見える大きなガラス固定窓がある。固定窓に接して動物や物品を受け渡すパスボックスが設けられている。専用階段を2階へ上がったところは、二階廊下からRI実験区に入ったところ、即ち、汚染検査室である。その奥には、RI貯蔵室と測定室に繋がるRI実験室がある。このRI実験室には化学実験用のチャンパーとBタイプの安全キャビネットがあり、

続いて1階と結ぶ小型エレベーター(ダムウェイター)が設けられている。

【機材庫】レントゲン室と廊下をはさんで対面するように設けられた機材庫は、廊下の長さ10m、奥行き1.5mの細長い区域で、内部を3等分し木製の棚を準備した。この機材庫の設置は、飼育機材の予備品、消毒薬の備蓄、試験研究資材の一部を収納することを目的としている。

【MRI室】装置の導入は次年度以降に持ち越された。同装置設置の承認が得られていることから、室のみを先行して設けた。室の大きさは、各種の装置パンフレットの中から妥当な能力と判断された機種の仮選定をもとに6.4×7.4mとし、必要な熱源等の供給設備を行った。

2階(図2)の廊下は建物中央に、東西に走る1本だけである。廊下を挟んで北側に、【RNA実験室】を抱えた【DNA実験室】、エアシャワーを通って入る【遺伝子治療実験室】、【フローサイトメトリー測定室】を抱えた【蛋白・細胞化学実験室】と、【ミクロトーム作業室】と【凍結切片作成作業室】を抱えた【病理実験室】が並んでいる。これらの実験・作業室は廊下から7.4mの奥行きをもって建築されている。建築上このスパンと呼ぶ柱間の加え、北側には幅3m、ほぼ建物の東西の長さに近い長さ30mの、窓のある空間を設け【共同利用研究員室】とした。窓側から2mの間に机と戸棚を置いた升状の空間を研究員1人の区域とする。

この細長い空間の床は、電算室やOA機器室用のフリーアクセス・フロアーとし、どの部分からでも電源と情報コンセント、空配管からのケーブルが取り出せる。実験室の固定窓との間に残された幅1m、長さ33mの空間は、研究員用の通路と考えている。研究員1人あたりの専有区域とこの通路は狭小であることは否めないが、全体面積の制限された範囲での配置は、こうせざるを得なかった。研究員には棟内専用のポケットベル10台が準備されている。

廊下の南側には、【RI実験区】、【低温恒温室】、【実験器材洗浄室】、オイルミスト発生のために独立排気を設けた【遠心機室】を奥に【中央機器室】、【予備室】、【湯沸かし室】、【男性用・女性用トイレ】、機械室出入口、【ミーティングルーム】、【飼育技術員控室】があり、廊下の東詰めに既設センターとの連絡通路への出入口がある。廊下の天井の両縁、両側壁との接点には、ピクチャー・レールを設けた。試験研究の成果を示すパネルや最寄りの実験室を紹介するパネルを製作し、ピクチャー・レールに吊り下げて展示するなど、使い方を工夫することでかなり有効な道具となることが期待される。

【設備棟】当初、屋外設計であった設備関係の機械類を屋内設計に変更した棟である。棟内は3分割されている。棟内に入ると、いずれの区画の床も60cm下げて作られている。東側に自家発電機室があるが、既設センターのそれと比べて非常にコンパクト

で小型化され、この20年間の技術革新の大きさに驚かされる。125馬力エンジンによる発電量は100KVA、200V、50Hzである。中央には6,600Vで受電した電気を低圧にする変電・蓄電設備室がある。

西側はRI排水槽施設である。排水の貯留槽2槽と希釈槽1槽がある。既設センターのRI排水槽は地下にコンクリート水槽を造ったものであるが、施行規則等により、地上に槽を設置することになった。これは、万が一の漏水も大事に至る前に対応がとれることを意味し、大変望ましいことと思っ

ている。  
建設省筑波管理事務所による当共同利用施設の建設工事は平成9年10月9日の引き渡しをもって終了した。この時点において建築備品として備えられた器機は、電気、ガス、給排水管の繋ぎ込み工事を必要とする滅菌装置、製氷器、実験台、安全キャビネット、動物ケージ、アイソレーター手術台、除振台、X線透視装置、X線照射装置等である。今は、まだ施設の稼働に向けて備品の購入、設置などハード面で沢山の作業が残されている。さらにソフト面では、運営、管理などの様々な準備が厚生省と感染研の担当者との間で行われているが、一日も早く試験研究者に利用されることが望まれる。

追記:平成8年度の補正予算により情報センター宿泊棟600㎡の建設が決定した。これを受けて平成9年度中に建設が完了すべく、目下建設中である。全容が明らかとな

っているのでここに報告しておく。

【情報センター宿泊棟】本棟は2つの部分から成っている。情報センター部分と宿泊部分である。情報センターは情報関連の3室(41 m<sup>2</sup>, 22 m<sup>2</sup>, 25.5 m<sup>2</sup>, いずれもフリーアクセスフロアー), とセミナー室(47 m<sup>2</sup>)からなる。これらのどの部屋も共同利用研究員に24時間開放され, データの処理, 文献の検索, 情報ネットの管理に使えるように計画されている。利用許可と同時に発行されるカード錠により, 棟内, 情報関連3室のうち2室および宿泊室に立ち入ることができ, 同時に, そこでの利用が許される。

宿泊部分は3×7mの単身者用居室に1×3mのバルコニーがついている。1階には5室, 2階には6室とランドリーがある。各室に情報コンセントが用意される。デスク付コンセントと冷蔵庫は終日通電するが, 他の電力の主スイッチの入切は出入り用のカード錠と連動している。

#### 建設の経緯と謝辞:

吉川泰弘氏(現東京大学教授)のセンター長在職中外部の人も加わって所内で検討を重ねたRRB(Research Resource Bank)のアイデアの一部が, 氏の奔走により, この度遂に実現した。氏からは, 本庄重男初代センター長とともに既設センター(昭和53年, 1978年竣工)の平面図原設計, 建築窓口を経験した小生に対し任命があり, 今回も建築窓口を務めた。当施設の建設中に吉川氏は転出され, 山田章雄現(第3代)センター

長が竣工をみると同時に施設の運営管理の大任を負われることとなった。この間, 戸山庁舎総務部の諸兄姉にお世話になった。

また, 当センターでも大勢の諸君にお手伝い頂いた。1階手術室, ICU室, レントゲン室, 各種機能検査室の設備設計では小野文子君に負うところが多い。RI実験区は吉田高志君に, DNA/RNA実験室は森一泰君に, 遺伝子治療実験室は山海直君に, 蛋白・細胞化学実験室/フローサイトメトリー室は寺尾恵治君に, 解剖(一階)病理関係室は榊原一兵君に, 中央機器室/洗浄室は向井鎌三郎君に, 情報通信関係は川崎勝義君に, 飼育室・サルケージなどは飼育技術員の鈴木通弘君, 大藤浩美君, 冷岡昭雄君, 成田勇人君, 羽成光二君, 浜野政章君, 小松崎克彦君, 小野孝浩君, 小川浩美君, 梁田雄作君, 高野一郎君, 大山篤史君他に, それぞれ貴重なアイデアや意見を出して頂いた。ここに名前を挙げて感謝申し上げる。