

週齢 C57BL/6 マウスにグリオキシル酸を腹腔内連日投与するとともに、35B6 抗体を投与、結晶形成を評価した。結晶形成量は、抗体投与により容量依存性に低下した。電子顕微鏡による観察は、Control 群では放射状の結晶が尿細管細胞に取り込まれていたが、抗体投与群においては、尿細管腔内に脱落組織は認められるのみで結晶形成は認めなかった。

以上より、切断型 OPN に対する中和抗体は、結石形成マウスにおいて結晶の尿細管上皮への接着を抑制することで、結石形成を予防すると示唆された。この結果を J Bone Miner Reserch へ投稿し accept された。

B-62 サル胎仔肺低形成の子宮内回復—羊水過少による肺低形成モデル作成と成長因子解析

千葉敏雄, 佐藤洋明, 柿本隆志 (国立成育医療研究センター・臨床研究センター) 所内対応者: 鈴木樹理

本研究の目的は、胎児期の肺低形成に対し有効性が報告されている現行の子宮内外科手術 (胎児気管閉塞術) の作用機序を、誘導される組織成長因子の同定により解明することである。併せて、その組織成長因子を低形成胎児肺に局所的に作用させることで、胎児気管閉塞術の (肺再生) 効果増強ないしその代替低侵襲治療手技を確立することにある。

この外科的治療法は、いまだ臨床的に確立されていない。すなわち、この手技は現在、experimental ないし innovative therapy の範疇に入るものであり、将来の標準化を目指して十分な実験的評価を必須とする。それは、患児の救命手段としては、このような手技以外に、今後可能性のあるものが現時点では全く存在しないためである。

このモデル作成のためには、羊水の一部除去による持続的な羊水過少状態を作り出す必要がある。

一昨年度は当初計画していた手術手技の確立および成長因子を特定する実験を行う前に、慎重を期して予備実験を行った。具体的には昨年度行った基礎的実験 (超音波エコーを使って母体外から胎児胸腔内に生理的食塩水を注入) では、実験後にも妊娠が正常に継続され、正常に新生児が生まれた。その後そのこどもは正常に発育している。

今年度は継続して胎児気管閉塞術の予備実験を行った。胎児気管閉塞術には胎仔の気管閉塞のため先端にバルーンのついた胎児用の内視鏡を用いる。この内視鏡の位置は操作中に子宮内で母体・胎仔へダメージを与えないために大変重要である。

そこで我々は子宮内での内視鏡の位置を超音波画像上で目的部位へナビゲートするシステムを開発した。

このシステムと実際の術式に用いる内視鏡を使用して妊娠サルへの内視鏡位置確認の予備実験を行った。

次年度は子宮内内視鏡ナビゲーションシステム完成と気管内閉塞術の実施を予定している。

B-63 チンパンジーの口腔内状態の調査: う蝕・歯の摩耗・歯周炎・噛み合わせの評価を中心に

桃井保子, 花田信弘, 小川匠, 井川知子, 齋藤渉 (鶴見大・歯) 所内対応者: 宮部貴子

チンパンジー 11 個体 342 歯に対して歯科検診を実施した。その内う蝕歯は 16 歯、喪失歯は 3 歯であった。よって、う蝕経験歯を指す DMF 歯は 19 歯、DMF 指数は 1.45 であった。歯肉溝の深さは、342 歯中 317 歯が 4 mm 以下であった。歯周ポケット測定時に出血を認めなかったのは 6 個体、動揺歯を認めなかったのは 8 個体であった。著しいプラークの蓄積と歯石の沈着が 9 個体に認められた。また、年齢に応じて全顎的に顕著な咬耗を認めた。

う蝕歯はそのほぼ全てに破折を認めた。そのうち前歯は 11 歯であり、破折・う蝕歯は前歯部に集中している。よって、う蝕の原因は外傷に起因すると考えられる。歯肉溝の深さが 4 mm 以下である歯は全体の 92.7 % であり、そのほとんどが測定時の出血を認めなかった。深さ 4 mm の歯肉溝は健康な歯肉であると推察する。現在までに検診した個体のう蝕と歯周疾患から見る口腔健康状態は、口腔衛生に関する介入は皆無であり、プラークと歯石の多量の沈着を散見するにもかかわらず極めて良好といえることができる。この理由として、本研究所におけるチンパンジーが 100 品目を超える無加工のバランスの良い食餌を取っている事に着目している。

また、採取したプラーク内の細菌叢について DNA 解析によるピロシーケンス法を用いた結果、未知の細菌が存在する可能性が示唆され、*Streptococcus troglodytae* と命名した。

<発表概要>

チンパンジーの口腔内状態の調査: う蝕・歯の摩耗・歯周炎・噛み合わせの評価を中心に

桃井保子, 花田信弘, 小川匠, 野村義明, 今井奨, 岡本公彰, 井川知子, 齋藤渉, 宮之原真由, 笠間慎太郎, 山口貴央, 阿保備子 (鶴見大・歯), 宮部貴子, 友永雅己 (霊長研)

口演

- 1) 「チンパンジー口腔由来のミュータンスレンサ球菌様細菌に関する研究」阿保備子, ほか (鶴見大学歯学会第 73 回例会, 鶴見大学会館メインホール, 2011.6.25)
- 2) 「京都大学霊長類研究所のチンパンジーの口腔健康状態とそのうち 1 個体に対する歯科処置について」齋藤渉, 山口貴央, 桃井保子 (日本歯科保存学会 2011 年度春季学術大会 (第 134 回), 東京ベイ舞浜ホテル クラブリゾート, 2011.6.10, p.88.)
- 3) 「チンパンジー口腔由来のレンサ球菌の性状に関する研究」宮之原真由, ほか (第 60 回日本口腔衛生学会, 日本大学松戸歯学部, 2011.10.8-10, O-25) (口腔衛生学会雑誌 第 61 巻第 4 号 p.435)

ポスター

- 1) Okamoto M, et al. Pyrosequencing Analysis of Oral Flora isolated from Chimpanzees. The 45th Meeting of The Continental European Division of the International Association for Dental Research (CED-IADR), Budapest, Hungary, August 31- September 3, 2011. (No. 469) (国際歯科研究学会ヨーロッパ部会), Budapest, Hungary, August 31- September 3, 2011. <http://iadr.confex.com/iadr/ced11/webprogram/Paper151705.html>

- 2) Okamoto M, et al. Preliminary Analysis of Oral Flora isolated from Chimpanzee. XIII, International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (国際細菌学会) . 6-10 September 2011 (Sapporo, Japan).

論文

Okamoto M, et al. *Streptococcus troglodytis* sp. nov., from the Chimpanzee Oral Cavity. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Accepted 21 March 2012.

<http://ijs.sgmjournals.org/content/early/2012/03/19/ijms.0.039388-0.abstract?cited-by=yes&legid=ijms.0.039388-0v1>

(3) 一般グループ研究

C-1 間接的指標を用いた冷温帯林におけるニホンザル生息状況の推定

江成広斗 (宇都宮大・農・里山), 坂牧はるか (岩手大・連農) 所内対応者: 渡邊邦夫

ニホンザルの簡便な個体群モニタリング手法の開発を目的に、1)サル樹皮食による木本植物の樹形変化、2)サル糞を選択的に利用する糞虫の生息密度、の2つをサル生息数の間接指標としての有効性を評価した。1)の結果、これまで報告があったヤマグワ以外に、高木であるホオノキにおいても顕著な樹形変化が確認された。具体的には、シュート長の減少と、シュート本数の増加である。また、サルの選択性の高いツル性木本植物においても、明確な樹形変化は確認された。2)の結果、間接指標として対象とした *Aphodius* spp. は、外部環境 (気温等) の影響も大きく、サル生息分布・密度の経時的な変化を見る指標として利用する際は、こうした外部環境に対する十分な配慮が必要であることが考えられた。今後の課題として、1)と2)に用いた間接指標を、どのスケール (解像度) のサルモニタリング指標として利用することが合理的であるかを評価するための調査研究が必要であることが考えられた。

C-2 霊長類、視覚・味覚の GPCR 型受容体に対する赤外分光研究

神取秀樹, 片山耕大 (名工大・院工), 古谷祐詞, 木村哲就 (分子研・生命錯体) 所内対応者: 今井啓雄

ヒトを含む霊長類の網膜に存在する3種類 (赤・緑・青) の色覚視物質は試料調製が困難なため、X線結晶構造解析を含む構造生物学的解析は過去に例がなく、我々の色認識メカニズムは謎のままであった。そのような状況のもと、我々は数年前から本共同研究プロジェクトを活用して、高精度の低温赤外分光を用いた霊長類赤・緑感受性視物質の構造解析に挑戦した。ヒトガン細胞由来の培養細胞を用いて試料を調製する一方、わずかな試料でも計測可能な差スペクトル測定系を最適化することで、平成21年度に世界初となるデータを報告した (Katayama et al. 2010; NHK ニュースと35紙の新聞で紹介)。さらに平成22年度にはスペクトル度を上げることで、タンパク質内部に結合した水分子の同定に成功し、平成23年度に論文発表することができた (Katayama et al. 2012; 1紙の新聞報道)。

最初の論文によれば、赤・緑感受性視物質の構造は驚くほど類似していたが、水分子の精密測定の結果、内部結合水の水素結合環境は赤・緑感受性視物質で異なることが明らかになった。興味深いことに、観測された水分子の振動数は視物質の吸収波長と相関を示し、内部結合水が色識別のメカニズムに関わることが示唆された平成23年度には色覚視物質の変異体実験も開始することができたため、より詳細なメカニズム解析が期待される。

また平成23年度には視物質と同じG蛋白質共役型受容体である味覚受容体の構造解析を計画し、全反射赤外分光計測による測定系の構築を開始している。専門性のある研究所においても異分野融合が重視される昨今、本共同研究は物理化学/分子科学分野との理想的な異分野融合であると位置付けることができる。支援いただいている霊長研に改めて謝意を表したい。

<原著論文>

Katayama K, et al. (2012) Protein-Bound Water Molecules in Primate Red- and Green-Sensitive Visual Pigments. *Biochemistry* 51:1126-113.

C-3 ニホンザルの人工繁殖を目指した技術開発

高江洲昇 (札幌市円山動物園), 永野昌志, 北出泰之, 坂口謙一郎 (北海道大・獣医), 伊藤真輝, 石橋佑規, 朝倉卓也, 小林真也 (札幌市円山動物園) 所内対応者: 今井啓雄

札幌市円山動物園で飼育するニホンザルは、全てのオスに対して精管結紮切除処置を行い、繁殖制限を実施している。しかしながら、飼育個体の高齢化が進み、将来的な飼育群維持のため、新たな繁殖管理方法として人工繁殖を検討している。

本園飼育ニホンザルのオス4頭から精子採取を試みた。精巢上体尾部から注射針を用いて穿刺吸引し、4頭すべてから精液を採取した。4頭中3頭の精液中の精子は全て死滅しており、残る1頭では精子が確認できなかった。昨年度の同様の処置では活発な生きた精子を採取しているため、採取手技、採取時期及び採取個体について検討が必要であると考えられる。

霊長類研究所飼育ニホンザルのオス3頭からは、肛門に電極棒を挿入し、電気刺激を行う方法で精液採取を試み、うち1頭から活性のある精子を採取した。採取した精子を凍結保存し、昨年度霊長類研究所にて凍結保存した1個体分の精子と併せ融解し、凍結後の精子性状を比較したところ、昨年度に比べ、今年度採取した精子の生存率 (2010: 22%, 2011: 1.5%) 及び運動性 (2010: +++15, ++15, +10, ±10, -50 2011: +++2.5, ++2.5, +2.5, ±2.5, -90) が低い結果となった。また、融解後においてその生死に関わらず、多くの精子が先体を喪失していた (2010: 36.5%, 2011: 86%)。