

緑川沙織(埼玉医大・院医) 所内対応者：平崎鋭矢

腕神経叢における内側上腕皮神経(Cbm)はヒトを含む一部の類人猿にのみ存在するとされている(相山, 1968). 代表研究者は、この特徴に着目し調査を行ってきた。マカク属など四足歩行を移動様式とする霊長類では Cbm が存在しないため、このような Cbm の特徴には霊長類間の運動様式の変化に伴う胸郭と肩甲骨の位置関係の変化が関与すると考えている(緑川, 2012)。

そこで、ヒトと同じく狭鼻下目に属し腕渡りを行うチンパンジー、広鼻下目に属し腕渡りと類似した移動様式をとるクモザルを借用し肉眼解剖学的に調査を行った。

その結果、チンパンジー、クモザルとも、Th1 前枝の背側または C8,Th1 で構成される内側神経束の背側より分岐し上腕後面に分布する皮枝が観察された。この皮枝は、ヒト Cbm と同様の特徴を持つことから、チンパンジー、クモザルにおいても Cbm が存在するといえる。クモザルは広鼻下目に属するため、系統差が Cbm の出現に関与する要因ではないことがわかる。

そこで、Cbm が存在するものに共通の特徴を考えると、Cbm が存在するものは腕渡り移動を行い、Cbm が存在しないものは四足移動を行うという特徴があげられる。このことから、Cbm は腕渡りを行う霊長類に存在することが示唆される。

以上の成果は、第 31 回日本霊長類学会大会にて報告予定である。

B-84 ニホンザルにおける上殿動脈と分岐神経の位置関係

姉帯飛高 ((医)和会・日高の里) 所内対応者：平崎鋭矢

代表研究者はヒトとニホンザルを用い、上殿動脈(SGA)が仙骨神経叢を貫く位置の多様性を調査してきた。ヒトでは SGA 貫通位置と分岐神経(FN; 大腿神経、閉鎖神経、腰仙骨神経幹への枝に分岐)の位置関係を基に整理を行い、SGA は FN を基準に 3 つの経路を通ること、また基準となる FN 起始分節が変異に富むことにより、SGA 貫通位置が多様化することが明らかとなった(姉帯他, 2013)。そこで今回ニホンザル 7 体 14 側を対象に、SGA と FN の位置関係を詳細に観察した。

ニホンザル SGA は、TypeA) FN 起始分節から 2 分節尾側の神経根を貫く例; 8 側、TypeB) 2 分節尾側の神経根下縁を通る例; 2 側、TypeC) 3 分節尾側の神経根を貫く例; 4 側の 3 通りが観察された。また FN 起始分節は変異に富み、FN の頭尾側へのズレに伴う SGA 貫通位置の頭尾側へのズレも観察された。

ニホンザル SGA は FN を基準に 3 つの経路を通り、FN 起始分節の変異に伴い多様化していた。よって SGA 貫通位置の多様性について、FN との位置関係を基にヒトと同様に理解・整理できる可能性がある。

B-87 マダガスカル産稀少原猿類の遺伝子判定による血統管理法の確立

宗近功 (一般財団法人 進化生物学研究所) 所内対応者：田中洋之

国内で飼育されているキツネザル 2 種(*Eulemur macaco macaco*, *Varecia variegata*) を対象に、マイクロサテライト遺伝子座位の分析結果に基づく正確な血統管理法の確立を目的として本研究を進めている。

本年は、市川市立市川動物園の賛同を得て、クロキツネザル 3 頭(♂1/♀2)及び エリマキキツネザル 7 頭 (♂5/♀2)の遺伝子型判定を進めた。また、2011-2014 年の間に産まれたクロキツネザル(進化生物学研究所の♂3、長崎バイオパークの♂3 頭及び♀5 頭)についてもマイクロサテライトの分析を行った。

今年度の成果としては、エリマキキツネザルにおいて、新たに購入した 5 遺伝子座のプライマーとともに、一度に 4 遺伝子座を増幅するマルチプレックス PCR 法の条件設定を行い、その結果、3 回の PCR で 12 遺伝子座を分析する系を確立出来たことである。一方、クロキツネザルについては、既に確立したマルチプレックス法で 10 遺伝子座の分析を進めた。今後、この手法で 2 種のキツネザルの遺伝子型判定を継続し、新たに生まれた個体の親子判定を進めながら、国内の動物園飼育機関の全個体の遺伝子型を決定したい。

(3) 一般グループ研究

C-1 ニホンザルの月経周期における卵巣動態の解明と人工授精技術の開発

柳川洋二郎、永野昌志(北大・院・獣医)、杉本幸介、杉山ちさと、大谷彬(北大・獣医)、高江洲昇(札幌円山動物園)

所内対応者：岡本宗裕

ニホンザルにおいて凍結精子を用いた人工授精(AI)による妊娠例は無く、産子獲得には精子採取・凍結法の改善とともに、メスの卵巣動態把握と精液注入技術の開発が必要である。

のべ 18 頭のオスにのうち 12 頭において、電気射精後にカテーテルを尿道内に挿入することにより液状精液を採取できた。Tes-Tris Egg-yolk 液を基礎とした凍結保存液を使用する場合、凍結融解後の精子運動性指数(SMI)はグリセリンを含む 2 次希釈液を冷却後に添加した場合 $1.9 \pm 2.1(0-4.4)$ であったのに対し、冷却前に添加した場合は $3.2 \pm 4.7(0-13.8)$ であったため、2 次希釈液は冷却前に実施する方が良いと推察される。しかし、いずれの方法においても SMI の減少は 2 次希釈液添加時に顕著であったため、グリセリンに代わる凍害防止剤の検討が必要であると考えられた。

一方、メス 3 頭(経産 1 頭、未経産 2 頭)を用いて、AI 時の造影剤の子宮内注入試験を行った。経口ゾンデの先端を子宮頸管内に挿入し、外子宮口をプランジャーで塞ぐ方法により、経産個体でのみ造影剤が子宮内に注入できた。さらに同経産個体において月経から 10 日目に子宮内注入による AI を行ったが妊娠には至らなかった。

C-2 北限のサルにおける保全医学的研究

近江俊徳、土田修一、石井奈穂美、羽山伸一、名切幸枝(日獣大・獣医)、中西せつ子(NPO 法人どうぶつたちの病院)

所内対応者：川本芳

青森県下北半島のニホンザル(北限のサル)は、国の天然記念物に指定され、1991年の環境省版レッドリストでは「保護に留意すべき地域個体群」として記載された貴重な生物である。その一方で、個体数の回復とともに農作物被害や人家侵入被害などが多発しており、現在個体数調整(青森県第3次特定鳥獣保護管理計画)のため捕殺が行われている。本研究では北限のサルの個体群管理に役立つ保全医学的研究遂行のため、標本収集を通年で実施した。その結果、平成26年度は243個体を収集し、当該研究遂行の貴重な試料基盤を構築した。また、遺伝的多様性を把握するため、4座位全てを決定した下北ニホンザル(n=42)Y-STR型から構成されるハプロタイプを解析し、福島ニホンザル(n=164)と比較した。その結果、遺伝的多様度(ハプロタイプ数)は下北集団が0.739(8)、福島集団が0.798(9)と大きな差は認められず、福島集団と同程度の多様性が維持されていた。その一方でハプロタイプの種類は大きく異なり、遺伝子構成に違いが認められた(図)。また、下北集団内では北部と南部の地域でハプロタイプ頻度に違いが認められた。今後解析数を増やすとともに解析地域区分を検討し詳細に分析する必要がある。

C-3 福島市に生息する野生ニホンザルの放射能被曝影響調査

羽山伸一、石井奈穂美、名切幸枝、加藤卓也(日獣大・野生動物)、中西せつ子(NPO 法人どうぶつたちの病院)、近江俊徳(日獣大・獣医保健看護) 所内対応者：川本芳

[目的]2011年3月に発生した東日本大震災による福島第1原子力発電所の爆発により、福島県に生息するニホンザル(以下、サル)が放射性物質に被曝した。そこで、福島市のサルを対象として、被曝による健康影響を明らかにすることを目的として、福島県ニホンザル特定鳥獣保護管理計画による個体数調整で捕殺された個体を解剖検査し、妊娠率、筋肉中セシウム測定、臓器及び遺伝子等の標本保存を行った。また、2012年度から本共同利用研究の一環として実施してきた血液検査の結果(Ochiai et al, 2014)で血球数の減少が観測されたため、今年度も血液検査を継続した。

[材料・方法]2014年度は124頭を回収し、解剖した。妊娠率は、Hayama et al(2012)の方法にしたがって推定した。筋肉中放射性セシウム濃度の測定は、解剖時に筋肉を1kg程度採取し、公定法に従って蓄積量を測定した。

[結果と考察] 保存している臓器や血液等は現在、分析中である。筋肉中放射性セシウム濃度は、2013年の春以降から500Bq/kg前後を推移し、漸減傾向にあるが、越冬期に濃度が上昇する現象以外に個体により高い値を示すものが観測された。これらの個体の捕獲時期と京都大学等が大気降下物中に高濃度の放射性セシウムを観測した時期がほぼ一致したことから(図)、現在でも原発からの放射性物質の放出が続いていると推察された。また、妊娠率は2013-14年妊娠期と2014-15年妊娠期を合算し、37.5%(6/16)と推定された。妊娠率の観測は2008-09年妊娠期から継続しており、これまでは50%前後で推移してきたが、これに比べてやや低い結果となった。

C-4 霊長類生殖細胞における小分子RNAの解析

塩見春彦(慶応義塾大・医)、塩見美喜子、關菜央美(東京大・院・理)、平野孝昌、齋藤都暁、岩崎由香(慶応義塾大・医) 所内対応者：今井啓雄

我々の研究室では、マーモセットPIWIタンパク質の一つであるPIWIL1(MARWI)が精巣において精母細胞及び精細胞で発現することを見出した。さらに、MARWI結合piRNAの解析を進め、遺伝子間領域及びトランスポゾン、さらにはtRNAより多くのpiRNAが生じることを見出した。また、これらのpiRNAの大半が(80%以上)がゲノムの特定の領域(piRNAクラスターと呼ばれる)に由来することを見出した。さらに、piRNAクラスターには偽遺伝子の挿入が見られ、それら偽遺伝子に由来するpiRNAが発現していることを確認した。これらの偽遺伝子由来piRNAは機能的な親遺伝子配列と相補的であり(つまり、アンチセンスpiRNA)、したがって、この発見はMARWI結合piRNAが精巣において幾つかのタンパク質をコードする遺伝子の発現制御に関与していることを示唆する(Hirano et al, RNA, 2014)。一方、マウスには存在しないPIWIであるPIWIL3に対する抗体を用い、ヒト及びマーモセットを用いて発現解析を行った。その結果、PIWIL3は精巣では発現がみられない一方で、卵巣における卵胞形成後の卵細胞において発現することを明らかにした。

C-5 マカクにおける繁殖季節性と運動のおよぼす骨格加齢への影響

松尾光一(慶應大・医)、山海直(医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター)、Suchinda Malaivijitnond(チュラコーン大)、森川誠(慶應大・医)、Sarocho Suthon(チュラコーン大) 所内対応者：濱田穰

季節繁殖性をもつ霊長類(ニホンザル)において、骨密度が季節に応じて変化するかどうかの解析を行った。まず、哺乳動物個体において最小の骨であり、鼓膜から蝸牛へ音を伝える役割を担う耳小骨(ツチ骨、キヌタ骨、アブミ骨)と、対照的に最大の骨であり、体重を支え運動を担う長管骨である大腿骨の2種のさらし骨を解析対象とした。これらの骨をメス69個体、オス52個体のさらし骨標本から選別した。この時、アブミ骨は採取可能な個体が非常に少数であったため、後の解析では除外した。選別した骨を、マイクロCTを用いて、ツチ骨とキヌタ骨はそれぞれの全体を10µm/pixelの解像度で、大腿骨は遠位端を120µm/pixelの解像度で撮影し、骨量や骨密度を定量した。性別や死亡時の年齢、日付を基に解析を行ったところ、オスでは季節によって骨密度に変化が見られた。次に、オスの生体ニホンザル14頭を用いて、橈骨遠位端の骨密度を年2回、繁殖期と非繁殖期にpQCTを用いて定量し、このうち、8頭の血中テストステロン濃度を測定した。その結果、骨密度の変化量が季節によって増減する時期が見出され、血中テストステロン濃度も骨密度変化と類似したパターンを示した。これらの成果は第33回日本骨代謝学会学術集会(2015年7月)で発表予定である。

C-6 サルエイズモデルにおける中和抗体の誘導過程の解明

桑田岳夫(熊本大・エイズ学研究センター)、侯野哲朗(国立感染症研・エイズ研究センター)、三浦智行(京大・ウイルス研

究センター) 所内対応者: 明里宏文

近年、サブタイプを超えた多くの HIV-1 株に有効な中和抗体として、BNAb(broadly-reactive neutralizing antibody)が HIV-1 感染患者から分離されてきた。BNAb を誘導するワクチンを開発できれば HIV-1 感染の阻止に非常に有効であるが、その誘導メカニズムはよく分かっていない。申請者らは、HIV-1 感染のモデルである SIV 感染サルから BNAb である B404 を分離し、SIVsmH635FC 感染サルでは B404 類似抗体が高率に誘導されていることを示した。本研究ではこの B404 類似抗体に注目し、BNAb の誘導メカニズムを解明するために、新たにアカゲザル 6 頭に SIVsmH635FC 株を接種して、血液とリンパ節の採材を行った。まず、SIVsmH635FC 株のアカゲザルにおける増殖動態に大きく影響する TRIM5α 遺伝子ハプロタイプを決定し、感染実験に使用する 3 種類のハプロタイプを持つ個体、各 2 頭、計 6 頭を選別した。ウイルス感染後、血液を経時的に採取し、リンパ節生検を 3, 6 週に行った。今後、抗体の分離と解析を行い、BNAb の誘導メカニズムを解明していく予定である。

C-7 拡散スペクトラム MRI を用いた霊長類の神経回路構造の比較研究

岡野栄之(慶應大・医)、岡野ジェイムズ洋尚(慈恵医科大・医)、疋島啓吾、酒井朋子(慶應大・医)

所内対応者: 濱田穰

ヒトの脳の進化的基盤を本質的に理解するためには、ヒト固有の脳構造が、どのような系統発生過程を経て現れるのかを明らかにすることが必要不可欠である。近年、マーモセットを対象とした高磁場 MRI 研究で確立した拡散スペクトラム MRI(DSI)法が確立されたが、他の霊長類では現在に至るまで撮像・解析に関する技術開発は行われていなかった。

そこで、本研究では、さまざまな霊長類の脳標本を対象に神経線維構造投射マップを取得することを目指し、新規の MRI 撮像パルスシーケンスの設計・開発を行った。9.4 テスラの小動物用高磁場 MRI 装置(慈恵医科大学保有)を実装し、ヨザルおよびシロテテナガザルの脳標本(日本モンキーセンター所蔵)を対象に、動作テストを行った。この結果、高精度の MRI 画像(解像度 150 マイクロミリメートル)を取得できることを確認したことから、設計・開発を達成したと言える。これに伴い、撮像専用の脳標本容器の開発も行った。

今後、本研究で確立した技術的基盤をチンパンジー、ヒヒ、ニホンザル等の霊長類の脳標本に展開し、画像化・データベース化を行うことで、霊長類脳の内部構造の系統発生過程を明らかにすることが可能となる。現在、収集した脳画像を基に、最新の計算解剖学的手法を用いて、各霊長類脳の神経線維構造の 3 次元再構築を試みている。画像解析が完了次第、すみやかに学会発表・論文投稿を行う予定である。

C-8 野生ニホンザルの個体数抑制技術の開発

前多敬一郎(東大・院・農学生命)・東村博子、大蔵聡、上野山賀久、松田二子(名大・院生命農学)

所内対応者: 鈴木樹理

本研究は、平成 25 年農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業シーズ創出ステージ「新規な繁殖中枢制御剤開発による家畜繁殖技術と野生害獣個体抑制技術の革新」の一環として、Neurokinin B 受容体(NK3R)拮抗剤を用いた新たな野生ニホンザルの個体数抑制技術の開発の基盤となる知見を得ることを目的とした。ニホンザル雄 3 頭を用いて、繁殖(交尾)期に NK3R 拮抗剤(SB223412)をバナナに充填し、10 mg/kg になるように単回経口投与した。薬剤投与直前に 1 回、薬剤投与の 3、6、12、24、36、48 および 60 時間後に上腕静脈から採血を行い、LC-MS により血中 SB223412 濃度を、酵素免疫測定法により血中テストステロン濃度を測定した。その結果、血中 SB223412 濃度は投与後 3 あるいは 6 時間で高く、投与後 6 あるいは 12 時間には減少し始め、60 時間後には投与前と同レベルにまで低下した。また、血中テストステロン濃度は、3 個体中 2 個体で薬剤投与後 3 時間において投与前に比べ減少する傾向がみられた。このことから NK3 受容体拮抗剤の経口投与は、雄ニホンザルにおいて性腺機能抑制効果を持つことが示唆された。

(4) 随時募集研究

D-1 サルの脅威刺激検出に関する研究

川合伸幸(名古屋大・院・情報科学) 所内対応者: 香田啓貴

ヒトがヘビやクモに対して恐怖を感じるのには生得的なものか経験によるのか長年議論が続けられてきた。しかし今では現在は、ヘビ恐怖の生得性は認識されているが、クモ恐怖の生得的は議論がわかる。ヒト乳児ではクモ様の凶形に敏感に反応するようだが、成人では再現できない。そこで毒グモがいない地域に生息するニホンザルを対象に、視覚探索課題においてクモをほかの動物よりもすばやく検出するかを検討した。まず 3 頭のサルに基本的な視覚探索課題を訓練した。3×3 と 2×2 の色片のマトリクスから 1 つだけ色が異なる孤立項目を選択させた。この訓練ののちに、ヘビの写真と危険でない動物(コアラ)で視覚探索課題を実施した。この課題で安定して反応できるようになれば(90%以上の正答率が 3 日以上連続する)、反応時間を測定したところ、3 頭ともヘビを見つけるまでの時間のほうが早く、以前の結果を追試した。それに続いて、クモとコアラで視覚探索課題を実施した。1 頭がこの課題で安定した成績を示し、反応時間のデータを得た。その結果、クモを見つける時間とコアラを見つける時間で有意な差はみられなかった。このことはサルはクモに対する優先的な視覚情報処理を行わないことを示唆する。ただし、残る 2 頭は現在、データを取得中で結論を下すにはもう少し早く実験を続ける必要がある。

D-2 ニホンザルを対象とした高解像度 CNV スクリーニング解析

尾崎紀夫、Aleksic Branko、久島周(名古屋大・院・医・精神医学) 所内対応者: 今井啓雄

自閉スペクトラム症、統合失調症の発症に強く関与する稀なゲノムコピー数変異(copy number variant; CNV)が多数同定