

の上昇なども認められ、心機能の低下と関連すると考えられる所見を得ることができた。一方、疾患個体における心臓超音波検査においては正常個体と比べて明らかな心室壁の肥厚や心室内腔の狭窄、これらに伴う流出路狭窄と急速乱流が認められた。さらに、超音波画像検査においてヒトで報告されている左室緻密障害に非常に類似した画像所見を示す個体が正常個体の中で確認された。既報ではニホンザルにおいて加齢とともに心臓間質、心外膜下、血管周囲などにおいて繊維性結合織が増加することが示唆されており、本個体はニホンザルにおいてみられる加齢性繊維化との関連性が示唆された。

これらのことから、ニホンザルにおいてもヒトや他種のマカクと同様に循環器疾患が発生し、加齢性にも増加することが示唆された。また、他種マカクなどではみられていない緻密化障害などがみられることが確認され、ヒト医学研究におけるモデル動物としての有用性が示唆された。

2018-A-31 動物園のチンパンジーにおける口腔内状態の調査

生江信孝（日立市かみね動物園）、桃井保子、齋藤渉（鶴見大学）、秋葉悠希、大栗靖代、正藤陽久、飯田伸弥（日立市かみね動物園）、齋藤高、齋藤香里（たかいそ海岸歯科） 所内対応者：宮部貴子

H30年度には、日立市かみね動物園において、無麻酔下での口腔内検査をおこなった。飼育担当者がチンパンジーに大きく口を開けるよう指示し、歯科医師である桃井および齋藤が、観察・写真撮影をおこなった。

1個体（マツコ）について、上下門歯重度齲蝕、歯冠欠落、歯石などが認められたため、優先的に麻酔・検査をおこなうこととなった。検査ではX線にて歯根部の状況を確認し、状況によっては抜歯も含めて適切な治療をおこなうこととした。麻酔下での検査の詳細な打ち合わせをおこなった。令和元年度に麻酔下での検査・治療をおこなう予定である。

2018-A-32 チンパンジーを対象としたアイ・トラッキングによる記憶・心の理論・視線認知についての比較認知研究

狩野文浩（京都大・高等研・熊本サルクチュアリ） 所内対応者：友永雅己

赤外線式のリモート式テーブル設置型のアイ・トラッカーで、チンパンジーを対象に、ビデオを見せたときの眼球運動を測定した。

チンパンジーの教示シグナルに対する理解を調べた前年度の成果が発表された（Kano, F., Moore, R., Krupenye, C., Hirata, S., Tomonaga, M., & Call, J. 2018, *Animal Cognition*）。

今年度は、トリック目隠し課題を行った。この課題では、報告者の先行研究に倣って、動画の中に主役とその敵役が登場する。主役が取ろうとしている物を敵役が奪おうとする。主役が目隠しの後ろに隠れたときに敵役が物を持ち去ってしまう。その後、主役がもどってきて何か探しているそぶりを見せる。このとき、先行研究では、類人猿は主役の行動を予測して、主役が最後に物を見た場所を注視した。本研究では、性質の異なる2種類の目隠しを用意することで、類人猿がその性質に応じて予測を調節できるか調べた。目隠しには本物と、実は透けて見えるものがあり、動画の中では（遠目からは）同じに見える。類人猿の個体ごとに、動画を見せる前に異なる種類の目隠しを体験させておく。二条件で役者の行動はまったく同じであるから、類人猿が本物の目隠しを経験した後に主役の誤信念に基づく予測、トリック目隠しを経験した後にそうでない予測をすれば「行動ルール」仮説は成り立たない。

実際にそのような結果が得られ、現在成果をまとめている。

2018-A-33 脳性麻痺チンパンジーへの発達支援と養育環境整備

竹下秀子（追手門学院大・心理）、山田信宏（高知県のいち動物公園・飼育）、高塩純一（びわこ学園医療福祉センター草津・リハビリテーション）、櫻庭陽子（京都市動物園生き物・学び・研究） 所内対応者：林美里

対象個体の17週齢より、姿勢運動発達評価と認知発達検査課題等への行動反応の観察による認知発達評価を実施してきた。姿勢運動の顕著な左右機能差が持続するなか、58週齢からは理学療法士・作業療法士による療育を組織し、環境との相互作用から知覚・行動・認知の発達を支援するという考えを基に定期的なセラピーの実施、日常養育中のかかわりを強化してきた。チンパンジー舎内外の環境エンリッチメントの継続的取り組みにより、2018年度には行動の多様性、安定性がさらに改善した。「四足」移動では背筋が水平になるほどに腰が上がり前進できるようになった。座位では姿勢の転換や移動運動へのさまざまなタイミングにおいて右足首の「返し（背屈）」がそれまで以上に頻繁に見られるようになった（図参照）。蹲踞の座位では臀部が接地していない場面も増え、ペットボトルフィーダーを「振る」運動が巧遅になり、効率よい摂食が可能となっている。さらに二足立位（つかまり立ち）も改善し、全体として右後肢が身体支持役割を果たす機会が多くなってきた。左側機能が増強されるとともに右側機能の改善を得た。関連専門職種の連携による養育者支援や養育環境の整備が障がいの固定化の防止や軽減につながる可能性が明らかになりつつある。

B. 一般研究

2018-B-1 細胞種特異的遺伝子発現・エピジェネティクスと精神疾患モデルにおけるその異常

佐々木哲也（筑波大・医学医療・生命医科） 所内対応者：今井啓雄

霊長類の脳皮質は機能分化が進んでおり、複数の「領野」に区分される。その神経回路は、生後発達期に大

規模な再編成がなされて機能的領野が形成される。霊長類の神経回路発達過程にニューロン、グリア細胞が果たす役割を詳細に検討するために、細胞種特異的な遺伝子発現解析、エピジェネティクス解析を計画し、本年度は個体の共同利用によりアカゲザル2頭の脳組織を採材した。現在、凍結組織からの効率の良い細胞分離法を模索するため、凍結方法・細胞分散法をげっ歯類の脳を用いて検討している。

2018-B-2 外側膝状体から頭頂視覚連合皮質への直接視覚入力回路の形態学的研究

中村浩幸（岐阜大・医・高次神経形態） 所内対応者：脇田真清

視覚情報（構造・色・動き・奥行き）は、外側膝状体から後頭葉視覚皮質を経由して側頭葉・頭頂葉連合野皮質に至る神経回路網において処理される。これらの異なるモダリティ視覚情報は、異なる視覚連合野において並列処理された後、統合され単一の視覚対象として認識される。この視覚情報の統合には、異なる連合野皮質における同期した活動が必要と考えられる。外側膝状体層間細胞（konio cells 小顆粒細胞）は側頭葉・頭頂葉皮質（V4野・MT野）へ投射し、視覚連合野における同期した皮質活動を生成する神経回路に関与していると考えられる。本研究では外側膝状体層間細胞から頭頂葉と側頭葉の視覚野（V3A野とV4野）への投射様式を比較検討する目的で、同一個体のV3A野とV4野にそれぞれ異なる神経トレーサーを微量注入した。MRI画像から三次元再構築画像を作製して（左図）脳表面の脳溝の走行からトレーサー注入微小ガラスピペットの刺入部位を決定し、V3A野にBiotinylated Dextran Amine (BDA 10,000)とFastblueを、V4野にDiamidino Yellowを微量注入した。環流固定後、脳を取り出し（右図）、凍結連続切片を作製した。V3A野投射神経細胞は外側膝状体層間層のS層およびK1-4層に分布していた。V4野投射神経細胞の分布ならびに二重標識細胞の有無を検討中である。

2018-B-3 ヒト特異的転移因子による脳関連遺伝子の発現調節機構の進化

鈴木俊介、鈴木絵美子（信州大・農） 所内対応者：今村公紀

CDK5RAP2遺伝子の発現が脳の発達時に実際にヒトと近縁霊長類で異なるかを確認するため、ヒト、チンパンジー、ニホンザルのiPS細胞を用いてニューロスフェア誘導法による神経誘導実験を行い、CDK5RAP2の発現量の変化をリアルタイムPCRを用いて解析した。興味深いことに、ヒトiPS細胞においては神経誘導に伴ってCDK5RAP2の発現上昇がみられたが、チンパンジーおよびニホンザルiPS細胞においてはCDK5RAP2の発現上昇は起こらなかった。この結果は、ヒト特異的にCDK5RAP2のエンハンサーとして働くゲノム機能が獲得された可能性を示唆している。

2018-B-4 東北および四国地方に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生虫症および感染症に関する疫学調査

浅川満彦（酪農学園大・獣医・獣医保健看護・獣医寄生虫病学ユニット/兼 同大・院・獣医学・野生動物医学）、萩原克郎（酪農学園大・獣医・ウイルス） 所内対応者：岡本宗裕

例年のように東北および四国地方の行政機関との調整により、有害捕獲の死亡個体由来の消化管および臓器サンプルが送付され、申請代表者が施設担当となる酪農学園大学野生動物医学センター(WAMC)に保存され、寄生蠕虫類の検査とウイルスの採集が行われた。これに加え、2018年には国立科学博物館(つくば市)にて、回顧的な調査が可能なサンプル調査を実施した。大変残念ながら、検査に使用出来るサル類の標本の保存は確認できなかったが、他の施設には保管されているものと期待されるので、このような標本調査を実施したい。2018年刊行論文としては、①秋葉悠希ら：飼育類人猿の糞便による寄生虫保有状況の検査とコルチゾール値測定事例、野動医誌, 23: 27-31。②近本翔太ら：釧路市動物園飼育および同園内生息の哺乳類から得られた寄生虫標本の概要(続報)。北獣会誌, 62: 530-533。両論文とも飼育類人猿における寄生虫保有状況とその疾病または公衆衛生に論じたもので、本共同研究の実績としては重要な位置付けになった。なお、本報告書に添付したのは②論文で掲載されたものである。2018年における学会報告としては：長濱理生子ら：ホルマリン液で固定・保存されたハヌマンラングール(*Semnopithecus schistaceus*)の糞便を用いた消化管内寄生虫検査。第24回日本野生動物医学学会大会、大阪府立大学、8月31日~9月3日。この研究は貴研究所・Huffman先生とその指導院生との共同で行ったものであった。糞便検査では新鮮な材料を使うことが多いが、検査時にウイルスや細菌などの作業員への感染リスクが付き纏う。本手法はホルマリンで殺菌した材料でもクリアな寄生虫保有結果が得たことを立証、今後の本共同研究にも応用可能な有益なものであった。

2018-B-5 野生ニホンザルおよび同所に生息する野生動物の果実利用時期と採食頻度

白石俊明、澤田研太(立山カルデラ砂防博物館) 所内対応者：辻大和

富山県立山地域の山地帯で、野生ニホンザルおよび同所に生息する野生動物の果実利用状況を調査した。調査は、自生する果実生産樹種5樹種(オオヤマザクラ、アケビ、マタタビ、サルナシ、ヤマブドウ)、10個体にのべ17台の自動撮影カメラを設置して果実食性動物の採食行動を記録し、訪問する動物種、利用時期、訪問頻度、一回の訪問あたりの採食量を評価した。

オオヤマザクラは5月31日~6月7日にツキノワグマ、ハクビシン、ヒヨドリ、カケス、ヤマガラ、シジュウカラ、種不明の鳥類が訪れ、果実を採食した。採食量はいずれも不明だった。アケビは、10月10日~10月16日にニホンザル、ネズミ科の一種、種不明の小型哺乳類、ヒヨドリが訪れ、ニホンザルとヒヨドリは果実を採食し、

採食量はニホンザルが1分間で最大5個/頭、ヒヨドリは不明(1個未満/羽)だった。

マタタビは、10月14日～10月22日にニホンザル、ホオジロ、種不明の鳥類が訪れ、ニホンザルは果実を採食し、採食量は1分間で最大5個/頭だった。サルナシは、種不明の鳥類が訪れ、哺乳類の確認はなかった。ヤマブドウは、10月14日～10月28日にニホンザル、ツキノワグマ、イノシシ、カモシカ、種不明の小型哺乳類が訪れ、いずれも果実採食の確認はなかった。

この他、果実消失後ではあるがアケビを訪れるヤマネを確認した。ヤマネは、富山県レッドリスト準絶滅危惧で富山県内での生息情報は少なく、貴重な記録となった。

2018-B-6 野生ニホンザルにおける分派の意図性の判別基準と要因の検討

風張喜子(宮城のサル調査会) 所内対応者:辻大和

ニホンザルは、メンバーがひとまとまりで暮らす凝集性の高い群れを作る。これまでの研究によって、各個体が周囲の個体の動向を把握し自分の行動を調節することで、互いの近接が保たれていることが示唆されている。その一方で、群れの個体が一時的に2つ以上の集団に分かれて行動する分派も、季節や群れによっては頻繁に見られる。通常は互いに近接しあうようにふるまうニホンザルがなぜ分派するのか、明らかになっていることは少ない。本研究では分派の直接観察を通じてその要因を検討することを目的とし、宮城県石巻市金華山島の野生ニホンザルを観察した。分派が起こった場合はいずれかの集団を追跡し、他方の集団の動向を見ているがそれに同調せずに分派が始まったか否かによって、追跡集団にとって意図的および非意図的な分派を判別した。意図的分派のうち、他方の移動に追従しなかった事例では分派開始後しばらくそれまでの活動を継続する傾向が見られた。他方を待たずに移動を続けた事例では、食物パッチに到着した時に初めて移動の停止が見られた。移動の目的と考えられるこれらの食物は、限られた場所でしか得られない食物であることが多く、その利用に関する個体の選択の結果、分派が行われた可能性がある。今後は観察例を蓄積し、分派の始まり方以外でも意図的・非意図的分派を判別可能か、また非意図的分派の要因についても検討したい。

2018-B-7 金華山のニホンザルにおけるグルーミングの熱心さの検証と互恵性のかかわり

疋田研一郎(京都大・理) 所内対応者:辻大和

本研究は、宮城県金華山島の野生ニホンザルを対象に、従来観察されてきた毛づくろい時間のみならず、その単位時間当たりの作業量や集中力を含めて総合的に分析することによって、高順位個体への毛づくろいで、低順位個体がアピールする戦術をとっているのかを検討することを目的に行われた。まず、ヒトにおいて集中力の指標になるといわれている瞬きの頻度がニホンザルにおいても同様の指標になりうるのか調べた。その結果、休息中に比べて細密な視覚情報を用いる毛づくろい中は瞬きが抑制されていた。また、ヒトと同様に集中すべき出来事の切れ目に付随して瞬きが生じやすいことが明らかになった。よって、こうした出来事の切れ目に同期するものを除いた瞬きの頻度が集中力の指標になることが示唆された。この新たな指標とその他の毛づくろい指標が順位関係によって変化するか調べたところ、高順位個体に対する毛づくろいでは、低順位個体に対する毛づくろいと比べて集中力は変わらないにもかかわらず、シラミ卵の除去に先立って起こる単位時間当たりの体毛のかき分け頻度が高くなることが明らかになった。よって、ニホンザルは高順位個体に対して自分の毛づくろいにかける熱心さをアピールする戦術を用いることが示唆された。

2018-B-8 豪雪地に生息するニホンザルの樹皮・冬芽食が植物群集に及ぼす影響

江成広斗(山形大・農) 所内対応者:辻大和

ニホンザルは霊長類の中でも顕著な広食性である。しかし、雪という物理的要因により、冬季に利用可能な餌資源に限られる豪雪帯に生息するニホンザルは、その樹皮・冬芽食を通して直接的・間接的に植物個体に及ぼす影響は無視できない可能性がある(たとえば、Enari & Sakamaki 2010. Int. J. Primatol. 31:904-919)。そこで、本研究は、豪雪地において、ニホンザルの樹皮・冬芽食の累積効果が、その地域の植物群集組成に及ぼす影響を評価することを目的とした。この評価は、2008年から白神山地に設置しているニホンザルの採食頻度評価のモニタリングサイトにおいて実施し、累積的な採食圧が異なる森林パッチ(5段階に分類)ごとに、毎木調査を行い、植物群集組成を調査した。10m 方形区の毎木調査は44か所で実施した。結果は現在解析中であり、累積的な採食圧がもたらす影響を、樹木種の多様度や樹木形態などの観点から明らかにする予定である。なお、上記とは別に実施している個々の採食木のモニタリングによる枯死率や補償成長評価の結果とあわせて、論文として当該研究結果をまとめる予定である。

2018-B-9 霊長類の各種の組織の加齢変化

東超(奈良県立医科大・医・第一解剖) 所内対応者:大石高生

喉頭の軟骨の組成変化は呼吸に影響を与える可能性がある。加齢に伴う喉頭の輪状軟骨のミネラル蓄積の特徴を明らかにするために、サルの輪状軟骨の元素含量の加齢変化を調べた。用いたサルはアカゲザル8頭、ニホンザル1頭、カニクイザル3頭、年齢は1月から27歳、雄雌は雄7頭と雌5頭である。サルより輪状軟骨を採取し、硝酸と過塩素酸を加えて、加熱して灰化し、元素含量を高周波プラズマ発光分析装置(ICPS-7510、島津製)で分析し、次のような結果が得られた。①サルの輪状軟骨のカルシウムと燐の平均含量はそれぞれ18.94mg/gと

10.03mg/gであった。カルシウムと燐の蓄積が生じやすい軟骨であることが分かった。②サルの輪状軟骨のカルシウムと燐の含量は年齢とともに有意に増加した。③サルの輪状軟骨のカルシウム含量は7歳以上になると顕著に増加した。さらに、カルシウム含量が10 mg/gを超えたサルはすべて7歳以上でした。この結果からサルの輪状軟骨において一定年齢を超えると石灰化が始まることが分かった。④カルシウム、燐、マグネシウム元素間に非常に高い有意相関が認められ、カルシウム、燐、マグネシウムが輪状軟骨に同時に蓄積されることを示している。

2018-B-10 前後肢遠位部運動器の系統発生を形態学的に解析する

荒川高光 (神戸大・院・保健学)、江村健児 (姫路獨協大) 所内対応者: 平崎鋭矢
学会発表

江村健児、荒川高光. リスザルとクモザルにおける浅指屈筋の形態について.
第124回日本解剖学会総会・全国学術集会.

共同利用研究で貸与を受けたリスザルとクモザルの液浸標本を用いて、前腕屈筋群、特に浅指屈筋の起始・停止、支配神経パターンを解析した。リスザルの浅指屈筋は上腕骨の内側上顆から起始し、クモザルの浅指屈筋では第2指と第5指への停止腱を出す筋腹の大部分が尺骨骨幹部から起始し、第3指、第4指への停止腱を出す筋腹は内側上顆から起始した。クモザル浅指屈筋は、最も橈側の腱である第2指への停止腱が尺骨起始の筋腹から出るという形態を示した。リスザル・クモザルとも浅指屈筋の4本の停止腱はそれぞれ第2指～第5指の中節骨に停止した。このように浅指屈筋の起始・停止には種による違いが見られたが、神経支配のパターンには一定の共通性が見られた。これらの成果は上記学会で発表し、現在論文の執筆・投稿に向けて準備中である。次年度はチンパンジーなど他の種を対象を広げていき、さらに下腿筋の解析も進めていく予定である。

2018-B-11 種特異的ノンコーディング RNA によるほ乳類脳神経機能分化

今村拓也 (九州大・医・応用幹細胞) 所内対応者: 今村公紀

本課題は、ほ乳類脳のエピゲノム形成に関わる non-coding RNA (ncRNA) 制御メカニズムとその種間多様性を明らかにすることを目的としている。本年度は、チンパンジー iPS 細胞からの in vitro 神経幹細胞・分化細胞誘導実験系の利用 (ニューロスフィア法および脳オルガノイド培養法) による神経幹細胞動態解析を進めた。ニューロスフィア法については、霊長研・今村公紀助教と共同で解析を進め、iPS 細胞から神経幹細胞が樹立する1週間における RNA 発現動態を詳細化することで、分化に重要な分子カスケードを絞り込むこと成功した。また、脳オルガノイド培養法については、培養後の次世代シーケンサー解析用サンプル調整プロトコル確立し、シングルセル RNA-seq からの ncRNA 情報を深化して得るパイプラインを固めた。これにより、複雑な細胞構成に由来するノイズを減らし、精度をより向上させた実験を進行するための準備が整った。

2018-B-12 霊長類におけるエピゲノム進化の解明

一柳健司、平田真由、一柳朋子 (名古屋大・院・生命農学) 所内対応者: 今村公紀

今村助教が樹立されたキク、マリ、ケニー由来の iPS 細胞と理化学研究所から入手したヒト iPS 細胞を本研究室にて同条件で培養し、mRNA-seq を行ったところ、両種のトランスクリプトームはほぼ変わらないことを明らかにした。前年度、公表されたヒト iPS 細胞 mRNA-seq データを用いた時は LTR7 レトロトランスポソンの発現に差が見られたが、同条件培養下では違いがなかった。その後、ChIP-seq を行って、H3K4me3 と H3K27me3 のゲノム分布を調べているが、残念ながら未だ信頼に足るデータを得るには至っていない。

先行研究 (Marchette et al. Nature 2013) で、Pwll2 遺伝子の発現量が種間で異なり、それが原因で piRNA 産生量が異なり、L1 レトロトランスポソンの転移活性に違いがあることが報告されていたので、それぞれの iPS 細胞を用いて small RNA-seq を行い、piRNA 産生量を比較した。その結果、チンパンジー特異的なレトロトランスポソンである PERV を除けば、種間での piRNA 発現量差は確認できず、piRNA も種間差が小さいことを明らかにした。

ChIP-seq の解析を待たねばならないが、現時点での研究結果はヒトとチンパンジーの iPS 細胞が質的に非常に近いことを示しており、リプログラミングの度合いが似ていて、比較可能であると考えられる。今後は、これらの iPS 細胞を神経細胞や筋細胞に分化させることで、分化過程におけるトランスクリプトームやエピゲノムの変化に種間でどのような違いがあるのかを明らかにしたい。

2018-B-13 下北半島脇野沢の野生ニホンザル群の個体群動態

松岡史朗、中山裕理 (下北半島サル調査会) 所内対応者: 古市剛史

1987年5頭の群れとして確認された下北半島南西部の87群は、指数的に増加し、2013年4月に43頭(87A群)と22頭(87B群)の2群に分裂した。分裂6年目の2018年度の出産率は、87A群47%、87B群は27%、赤ん坊の死亡率は87A群では11%(1/9)、87B群では0%であった。87B群の出産率が低いのは昨年、86%であったためと考えられる。分裂前(1984~2011年)分裂後(2013年以降)の群の増加率、出産率、0~3歳の死亡率、遊動距離を比較してみたが、今年度も、れも変化は見られなかった。87A群は昨年度66頭が今年度は70頭と増加

した。87B 群はフルカウントができなかった。87A 群では、2 歳、3 歳、5 歳、6 歳、7 歳、10 歳のオス、8 歳メスが群れから消失した。オスの 6 頭は、群れから出て行ったか、死亡したかは不明である。8 歳メスは死亡したと考えられる。現在と同様の高い出産率、低い死亡率が続いた場合、87A 群は、2,3 年で 2013 年の分裂した頭数に達する。今年度も、3 日程度のサブグループリングが観察された。遊動面積は、ほぼ昨年度と同じであった。

2018-B-14 異種間移植によるマーマセット受精卵の効率的作成方法の開発研究

笹岡俊邦、藤澤信義、小田佳奈子、宮本純(新潟大・脳研・動物資源)、崎村建司、中務胞、夏目里恵(新潟大・脳研・細胞神経) 所内対応者：中村克樹

<目的>近年ゲノム編集技術の発展により比較的容易に遺伝子改変が様々な動物で行えるようになってきた。しかし、実際に遺伝子改変モデルマーマセットを作出するためには多くの受精卵の獲得が必須である。また、体外受精のため、精子の保存法の確立も望まれている。そこで私たちは、霊長研の中村克樹教授から分与して頂いた、安楽死されたマーマセットの卵巣および精巣上体を持ちいてマーマセット卵子および受精卵を効率的に作出することと精子の凍結保存法の確立を行った。

<方法>マーマセット卵巣の異種間移植(1)マーマセット卵巣を細切した。移植しない場合は液体窒素にて凍結保存した。(2)免疫不全マウスの卵巣を切除後、左右の腎被膜下に卵巣片を移植した。凍結保存した卵巣は融解後に使用した。(3)移植から 10 日以降、卵巣刺激ホルモン(FSH)を 9 日間毎日または 2 日毎に投与した。(4)FSH の投与開始から 9 日後に左右腎臓を採材した。(5)卵巣から採卵できた卵子を 26 時間培養した。(6)培養後 MII 期となった卵子を顕微授精した。

卵黄糖液による精子の凍結保存(1)輸送後の精巣上体尾部を卵黄糖液内にて細切した。(2)精子懸濁液を作製し、室温から 4℃まで 2 時間かけて冷却した。(3)精子懸濁液と同量の耐凍剤入り保存液を添加した。(4)プラスチックストローに封入後、液体窒素液面上に静置し凍結した。

<結果>冷蔵輸送後および凍結融解後のマーマセット卵巣は腎被膜下に生着し、GV 期の卵子を得ることが出来た。GV 期の卵子は成熟培養後、MII 期に進み、顕微授精後、前核期受精卵まで発生させることが出来た。

冷蔵輸送後の精巣上体尾部より運動性を有する精子を回収することができ、それら精子の凍結保存を行った。

2018-B-15 ヒトの高次認知機能の分子基盤解明を目指した比較オミックス研究

郷康広(自然科学研究機構・生命創成探究センター) 所内対応者：大石高生

1. ヒト精神疾患・高次認知機能解明のための霊長類モデル動物の開発

ヒトの高次認知機能やその破綻として現われる精神・神経疾患の本質的な理解のために、マカクザルおよびマーマセットを対象としたマルチオミックス解析を実施することで霊長類モデル動物の開発を行った。具体的には、マカクザル 831 個体、マーマセット 1328 個体を対象に、精神・神経疾患関連候補遺伝子を標的とした配列解析を行い、遺伝子機能喪失変異を自然発症的に持つ個体の同定を行った。また、神経変性疾患である多系統萎縮症や先天的代謝異常症であるライソゾーム症様の表現型を呈するマカクザルを対象とした集団ゲノム解析を行い、原因遺伝子を明らかにした。さらに、精神・神経疾患の脳内分子動態を明らかにするための脳内遺伝子発現マップ作製のために、マカクザル発達脳発現解析、およびマーマセットを用いたマクロレベルとマイクロレベルの全脳遺伝子発現動態解析を行った。また、国立精神神経センターとの共同研究として薬理学的自閉症モデルマーマセットの脳における遺伝子発現動態変化解析を行い、自閉症の分子動態解明に向けたトランスレータブル研究を推進した。

2. 比較オミックス解析による「ヒト化」分子基盤の解明

ヒト化の最大の特徴のひとつである脳の形態進化・機能進化の分子基盤の解明のために、ヒトと非ヒト霊長類であるチンパンジー・ゴリラ・テナガザルの死後脳を用いた網羅的発現解析を行った。その結果、ヒト特異的な発現変化を示す遺伝子はチンパンジーのそれに比べて顕著に増加しており、その半数以上は、ヒト海馬のニューロンやアストロサイトにおいて生じていることを明らかにし、結果を論文として公表した(霊長研共同利用への謝辞あり)。

2018-B-16 チンパンジー iPS 細胞からの始原生殖細胞分化誘導とその機能評価

小林俊寛、平林真澄(生理研・遺伝子改変動物作製室)、正木英樹(東大・医科研) 所内対応者：今村公紀

精子・卵子といったすべての生殖細胞は、発生のごく初期に生じる始原生殖細胞を起源とする。始原生殖細胞の発生過程、さらにはその配偶子形成過程を理解することは、不妊の原因や、生殖細胞を起源とする癌の発症機序を明らかにするうえで重要である。そこで本研究では倫理的に扱いが困難なヒト生殖細胞のモデルとして、最近縁の霊長類であるチンパンジーにおいて、iPS 細胞を用いて、始原生殖細胞の分化誘導し、その成熟化を施す系、あるいは配偶子形成能を評価することのできる系の確立を目指してきた。まず、所内対応者の今村公紀先生よからチンパンジー iPS 細胞(Kiku, および Kenny 由来)を分与いただき、それらの生殖細胞特異的に発現が認められる NANOS3 遺伝子座に tdTomato をノックインしたレポーター細胞株を樹立した。NANOS3-tdTomato の発現を指標に、始原生殖細胞の分化誘導系を最適化したところ、高効率に始原生殖細胞を分化誘導できる系が確立できた。免疫染色による解析から、チンパンジー iPS 細胞から誘導された始原生殖細胞は、ヒトにおいて生殖細胞分化に必要な SOX17, BLIMP1, TFAP2C、あるいは多能性マーカーである NANOG, OCT4 を高発現して

おり、一方で多能性マーカーである SOX2 を発現していないことが判った。この発現パターンはヒトの始原生殖細胞と同様であり、本研究で確立した分化誘導系がヒト生殖細胞発生の理解に向け、よりモデルになると考えられる。

2018-B-17 ニホンザルの遊び終了時におけるコミュニケーション

清家多慧（京都大・院・理） 所内対応者：辻大和

ニホンザルの遊びにおいて、「遊びはもう終わりである」ということを相手に示すような行動はないのかということ明らかにするため、遊び終了時の行動の分析を行った。宮城県の金華山島のニホンザル 1~4 歳の個体を対象として 6 月から 7 月にビデオを用いたデータ収集を行い、合計 135 バウト、154 分の遊びの動画が得られた。「取っ組み合い遊び」を起点とすると、遊びの終了時には一方の個体が相手から走って離れる場合、歩いて離れる場合、双方が近接のまま静止する場合の 3 パターンが存在したが、それぞれの行動に着目すると、その後の個体間交渉には異なる傾向が見られた。取っ組み合い遊びの最中に、①走って相手から離れると追いかけて遊びへの移行になり遊びが終了しにくい、②歩いて相手から離れるとその後誘い掛けが起こらず遊びが終了しやすい、③双方が近接状態のまま静止するとその後誘い掛けが起こりやすいため結果的に遊びが終了しにくい。また、敵対的な意味合いが強いと考えられる威嚇や悲鳴、グリメイスは、必ずしも遊びを終了させることにはつながっていなかった。これらの結果から、相手から「歩いて離れる」という行動が他の行動に比べ、高い確率で遊びの終了につながるということが示された。このことは、「歩いて離れる」という行動はありふれた行動であるが、それが遊びの最中に急に出現すると、遊び終了のシグナルとして機能する可能性を示唆している。

2018-B-18 マーモセットの精巣細胞の増殖・分化メカニズムの解明

篠原隆司、篠原美都、森本裕子、渡邊哲史、森圭史（京都大学） 所内対応者：中村克樹

マーモセットの遺伝子改変については非常に効率が悪く問題となっている。本研究の目的は、この問題を解決するために、マーモセットの培養精子幹細胞（Germline Stem Cell）の確立を目指す。

今年度は適当なサンプルが入手できなかつたため、他から得たサンプルで系の確立を目指した。

2018-B-19 マカクにおける繁殖季節性に起因する骨量増減と骨リモデリングのメカニズム

松尾光一、森川誠（慶應大・医・細胞組織学）、山海直（医薬基盤・健康・栄養研究所・霊長類医科学研究センター）、Suchinda Malaivijitnond（Chulalongkorn 大学・理） 所内対応者：濱田穰

性ホルモンが骨代謝に大きな影響を及ぼすことはよく知られている。ニホンザルが季節繁殖性を示し、繁殖期と非繁殖期に性ホルモンの増減を毎年繰り返していることも知られている。しかし、毎年繰り返されるホルモンの増減によって、ニホンザルの骨密度や骨構造がどのように変化しているのかということには知られていない。

さらし骨を用いて得られた橈骨のマイクロ CT データにより、骨梁の構造を解析した（図：橈骨の CT データ解析例）。死亡日と年齢をもとに、季節変化や加齢変化を調べたところ、これまで解析してきた大腿骨と同じく、特に比較的若い世代の橈骨においても、骨量などのパラメータが季節性変動を示した。大腿骨における骨量の季節性変動が、橈骨においても再現性が見られたことで、さらし骨について、季節性変動があるという仮説に確証が得られた。

2018 年 8 月 21-22 日および 2019 年 1 月 17-18 日に、京都大学霊長類研究所内で飼育されているオスのニホンザル生体 8 頭を用いて、ヘリカル CT による生体橈骨の骨密度解析と採血を行った。血清を用いて、テストステロンおよび 25 ヒドロキシビタミン D の濃度測定を行った。

耳小骨や大腿骨、橈骨のさらし骨の解析結果によれば、オスのニホンザルにおいて、大腿骨と橈骨の骨量には季節性変動が存在すると結論づけられる。一方、可能であればより高い解像度の CT を用いて、同一個体（生体）で経時的变化を追究し、さらし骨による結果と合致するかどうかを検討する必要がある。

2018-B-20 霊長類由来 ex vivo 培養系を用いた消化管細胞機能の解析

岩槻健、中嶋ちえみ、稲葉明彦、中安亜希（農大・農・食安健） 所内対応者：今井啓雄

昨年度に引き続き、ニホンザルとアカゲザルより消化管および味蕾オルガノイドの作製を行い、栄養素や呈味物質を用いたカルシウムアッセイ系の構築を目指した。

消化管オルガノイドはマトリゲル中に球体として存在するため、内腔側にアクセスするためには細い針等で球体内部に栄養素を注入するか、オルガノイドを平面培養し内腔側を露出させる必要があった。我々は後者の方法の検討を進めた。まず、マトリゲルの濃度を 100% から徐々に低下させたところ、30% から 0% のマトリゲル濃度にて培養することでオルガノイドは培養皿の底に沈み接着することが分かった。培養皿底面をガラス面に変えても、約半分のオルガノイドはガラス面に接着していた。そこで、ガラス面に接着させた細胞を固定し、タイトジャンクションのマーカーである ZO-1 にて染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、頂端-基底膜という極性が形成されていることが確認された。つまり、オルガノイドが開裂し上皮細胞の性質を保った状態で接着させることに成功した。今後は、オルガノイドを上記の方法で培養皿底面に吸着させ、呈味物質を用いたカルシウムアッセイを行う予定である。

2018-B-21 霊長類歯牙の象牙質成長線に関する比較解剖学

小野龍太郎(京都府立医大・歯科口腔科学)、八木田和弘(京都府立医大・統合生理学)、金村成智、山本俊郎(京都府立医大・歯科口腔科学) 所内対応者：平崎鋭矢

象牙質(歯の構造的主体)の脱灰標本では、“成長線”と呼ばれる木の年輪のような層状構造が観察され、1日毎に1本ずつ形成されると理解されている。我々は、これまでにマウスを用いた研究で、歯の種類によっては成長線の形成周期が必ずしも24時間ではない可能性を見出している。象牙質はリモデリングを受けないため、形成期間中の様々な生理的変化が地層のように重なって記録され、半永久的に保存される。そのため、成長線は直接観察が困難な稀少動物種における生活史の解明、食性や生活環境の把握などに役立つツールとなる可能性がある。さらには化石種に応用することで、古生物学への貢献も期待できる。本研究では、成長線の霊長類研究領域における有用性について検討するとともに、その形成メカニズムの解明を目指す。

今年度の研究では、生年月日と死亡年月日が判明しているニホンザル下顎骨の骨格標本を用いて歯の萌出状態を網羅的に記録した。その中で、特徴的な歯列像を示す4つのライフステージ(6ヶ月,2歳,4歳,6歳)に着目し、各群より雄性4個体を抽出した。現在、抜去した第一大(乳)臼歯を用いて、脱灰標本を作製中である。先行実験で行った1検体(6歳)では、象牙質に加えてセメント質においても明瞭な成長線の観察に成功している(画像参照)。今後は、成長線の年齢による経時変化や乳歯・永久歯間での違いについて比較解剖学的な検討を行う予定である。

2018-B-22 異種生体環境を用いたチンパンジーiPS細胞からの臓器作製

中内啓光、正木英樹(東京大・医科学) 所内対応者：今井啓雄

本年度は提供を受けたチンパンジー末梢血細胞からiPS細胞を作製し、以下の研究を行った。

a) チンパンジーナイーブ型iPS細胞の開発

現時点で最も有望なナイーブ型への変換方法であるchemical resettingをチンパンジーiPS細胞に適用した。一過性にはナイーブ様の細胞が出現するものの、維持培養することができなかった。いずれかの分化シグナルの阻害が必要であると考えており、引き続き取り組んでいきたい。

b) チンパンジープライム型iPS細胞からの異種間キメラ動物作製

前年度の段階でチンパンジープライム型iPS細胞に抗アポトーシス因子であるBCL2を発現させたところ、マウス胚において最長で9.5dpcまでの移植細胞の寄与が認められることを確認していた。キメラ個体を組織学的に検証したところ、移植されたチンパンジー細胞が宿主胚の組織に統合されていないことが示唆された(添付資料図1)。そこで、各発生段階におけるチンパンジー細胞のキメリズムとキメラ率を測定し、どの段階で問題が起きているかを検証したところ、発生の進行に伴いキメラ率、キメリズムともに急速に低下することがわかった(図2)。これ以上のキメラ率向上にはドナーあるいはホストの遺伝的な改変が必要であると予想している。ブタ胚とのキメラではより進んだ発生段階までドナー細胞が生存していたことも示唆的である(図3)。どのような改変が必要かは現在検討中である。

b)の結果については現在論文をまとめており、2019年中の発表を予定している。

2018-B-23 観察学習による警告色の進化プロセスに関する実験的研究

持田浩治(慶応義塾大学)、川津一隆(東北大・生命科学) 所内対応者：香田啓貴

本研究は、個体の直接的な学習経験(個体学習)だけでなく、他者の行動をモデルとした観察学習が、まずさや危険さと関連した目立つ体色(警告色)を創出・維持する、という仮説の妥当性を、理論と実証の両面から検証することを目的としたものである。前年度は、ニホンザルが、ヘビの危険さと目立つ色刺激(赤黒縞模様)とを連合させる、警告的観察学習が可能であることを明らかにした。そこで今年度は、学習する刺激を弱体化させ(茶黒縞模様)、警告的観察学習が成立するかを検討した。学習実験には、前年度に引き続き、ニホンザルがヘビ模型を警戒する学習用ビデオとウィスコンシン型汎用テスト装置を用いた。また、赤~茶色系とは色相の異なる、目立つ色刺激として、緑色のヘビ型模型も実験刺激として導入した。実験結果は、全ての被験個体が、茶黒縞模様や緑色のヘビ型模型を回避する、警告的観察学習ができないことを明らかにした。つまり、直接的な個体学習なしに警告的観察学習が成立するためには、危険さと連合できる色刺激に、刺激の強度だけでなく、何らかの色相の偏り(バイアス)が存在することを示唆する。

2018-B-24 吸啜窩の発達的变化の種間比較

齋藤慈子(上智大・総合人間科学・心理)、新宅勇太(日本モンキーセンター・学術部) 所内対応者：西村剛

母乳育児が推奨される中、現代の母親にとって断乳・離乳の時期は大きな問題となっている。ヒトという霊長類がいつまで授乳をする生物なのかに関して、多くの客観的な情報が提供されることで、離乳や断乳の時期について示唆が得られると考えられる。ヒト乳児の口蓋には、線維質で構成された副歯槽堤により形作られる、吸啜窩というくぼみが存在する。乳児はこの吸啜窩に乳首を引き込み固定することで、安定した吸啜を行うことができる。この吸啜窩は発達とともに消失するとされるが、吸啜窩の消失という形態発達が離乳という機能発達に関

与している可能性がある。この仮説が正しいとすれば、吸啜窩の消失の時期から、離乳時期についての情報が得られる。本研究では、この仮説を検証するために、吸啜窩の消失と離乳との関連を、ヒト以外の霊長類で確認することを目的とした。

霊長類研究所所蔵のニホンザルの上顎骨標本 38 個体分（生後 0.1～154.3 週齢）を組み立て、口蓋を 3D スキャナーで撮像、解析した。その結果、ヒトで定義される吸啜窩と同様のくぼみは、ニホンザル乳児個体では確認されなかった。上顎の形状から、ニホンザルでは、特別なくぼみを発達させることなく、乳首を固定、安定した吸啜を行うことができる可能性が示唆された。この結果から、ヒトにおける上顎形態の変化が、吸啜窩を進化させたという仮説が新たに提起された。

2018-B-25 コモンマーモセットにおける空間認知

佐藤暢哉（関西学院大・文・総合心理）、林朋広（関西学院大・院・文） 所内対応者：中村克樹

本研究は、コモンマーモセットの空間認知能力について検討することを目的として、齧歯類を対象とした実験で広く用いられている空間学習課題・空間記憶課題を、マーモセットを対象として実施できるような実験パラダイムの開発を目指した。その第一段階として、本年度はマーモセット用の飼育ケージ内に設置可能な放射状迷路を作製した。実際にケージ内に放射状迷路を設置し、マーモセットに迷路内を探索させる予備実験を実施してみたが、いくつかの装置の不具合が発見された。今後は、不具合の修正はもちろんのこと、装置の改良を試み、実際にマーモセットを対象にいくつかの空間認知課題を実施したいと考えている。

2018-B-26 霊長類における神経栄養因子の精神機能発達に与える影響

那波宏之（新潟大・脳研） 所内対応者：中村克樹

ヒトの精神疾患の多くは難治性であり、根治治療法が無い場合も多い。これまで長年、げっ歯類モデルを用いてそのメカニズムや治療法が探索されてきたものの、ヒト霊長類とげっ歯類間の高次脳機能は予想以上に大きく、妥当性の高い霊長類モデルの樹立が待ち望まれている。本研究者は、統合失調症の最有力な仮説である「サイトカイン炎症性仮説」に基づき、霊長類研究所との共同利用研究課題として、げっ歯類でのモデルで実績のある上皮成長因子 EGF を用い、霊長類（マーモセットおよびアカゲザル）の新生児に皮下投与を行い、精神疾患のモデル化を試みてきた。これまでにマーモセット新生児 4 頭への EGF 投与を実施した。内マーモセット 2 頭が、3 年経過したのちに活動量の上昇・アイコンタクトの頻度低下・逆転学習課題等の成績低下を示した。本年度は EGF 投与されたマーモセットのビデオによる行動観察を継続するとともに、マーモセットのミスマッチネガティブイーターなどの脳波測定に向けた電極開発、測定技法の標準化を行った。今後、本格的に正弦波やマーモセットの鳴き声などと用いたミスマッチネガティブイーター等の事象関連電位計測の計画を進める予定である。また行動異常が現れたアカゲザルについては、ヒトや同種他個体に対する行動異常を定量化する方法を検討したものの、再現性の高い客観指標の取得には至っていない。アカゲザルモデルについても、その認知行動変化を定量化すべく、継続的に試行を重ねたい。

2018-B-27 サル類における聴覚事象関連電位の記録

伊藤浩介（新潟大・脳研） 所内対応者：中村克樹

これまで継続して来た共同利用・共同研究により、マカクザルの頭皮上脳波記録の方法論はほぼ完成し、質の安定した聴覚事象関連電位の記録が可能となってきた。一方、マーモセットの脳波記録では、①頭部面積が小さく電極の設置が難しいことや、②頭皮の皮脂の多さによる電極インピーダンスの増大などの問題が明らかになった。これらの要因により、電極設置に時間がかかり、電極数を増やせず、脳波記録が安定しないなどの問題が生じていた。そこで、昨年度より継続して、これらの問題の解決を目的とした技術開発を行ってきた。2017 年度は主として電極のデザインを見直し、今年度（2018 年）は電極の設置について、これまでにないまったく新しい発想の方法を考案した。これにより、電極設置の迅速化（従来より 75%の時間短縮）、電極の高密度化（7 mm の電極間距離で設置可能）、脳波記録の質の安定化が達成された。なお、この新しい電極設置方法は、特許化の可能性を検討するために新潟大学の発明委員会に届出を行っており、ここでの詳細な記載は控える。

2018-B-28 霊長類におけるヒトの皮膚の表現型の特性について

荒川那海、颯田葉子、寺井洋平（総研大・先導研） 所内対応者：今井啓雄

個体が外界と接する皮膚でのヒト特異的形質は、ヒトという種が外部環境に適応する際に重要な意味を持っていたと考えられる。本研究では最初にヒトの皮膚は表皮と真皮が厚く、これら 2 層を結合する表皮基底膜が波型であることを示した。次に RNA 発現量解析(RNA-seq)を行い、基底膜や弾性線維の構成成分をコードする遺伝子(COL18A1, LAMB2, CD151, BGN)が類人猿(チンパンジー、ゴリラ、オランウータン)に比べヒトの皮膚で有意に高く発現していることを明らかにした。これらの発現量増加はヒトの皮膚での基底膜の波型や弾性線維の増加に繋がる可能性がある。それらの特徴は表皮・真皮の厚みと共に皮膚の強度を増し、ヒトで減少した体毛の代わりに外部の物理的な刺激から体内部を保護していると考えられた。ヒト特異的発現を示した各遺伝子について、その発現調節領域を配列の保存性とヒストン修飾の情報から推定した。それらの領域中のヒト特異的置換(各遺伝子につき 2～10 置換)がヒト特異的な遺伝子発現を生み出すと推定された。今後これらの候補置換が実際にヒト特

異的遺伝子発現を生み出しているのか、皮膚培養細胞を用いたプロモーターアッセイとゲノム編集による発現比較により検証していく。

2018-B-29 金華山島のサルの個体数変動に関する研究

伊沢紘生 (NGO 宮城のサル調査会)、宇野壮春、関健太郎、三木清雅、高岡裕大(東北野生動物保護管理センター)、関澤麻伊沙(総合研究大学院大・先端科学・生命共生体進化学)、涌井麻友子((株)生態計画研究所南アルプス生態邑) 所内対応者：古市剛史

申請時の本研究の目的は5つで、その結果は以下の通りである。①個体数に関する一斉調査は申請通り2回、秋と冬に実施した。結果は秋が251頭、冬が268頭だった。なお、秋の調査では1群で数え落としがあり、群れ外オス(非追随オス)の発見も不十分だった。②群れごとのアカンボウの出生数と死亡(消失)数は、春の調査を上記2回の一斉調査に加えて実施。出生数は6群で計10頭と今年度はきわめて少なく、死亡(消失)数は0頭、1年以内の死亡率は0.0%だった。③家系図と④食物リスト作成は群れごとの担当者が随時実施した。⑤遊動域の変更(拡大)は個体数が増加したA群とB群でかなり顕著に見られた。また6群間の比較生態・社会学的調査は分派行動とオスの一生に関する調査を重点的に実施した。

以上のほかに研究の目的には記載していないが、島に自生するオニグルミ(*Juglans mandshurica*)について、成熟木の本数と分布と10年間の増減および幼木・若木の島内での分布と種子散布者の特定、クルミの実(核果)を食べるサルとヒメネズミ(*Apodemus arrensteus*)の関係等について他地域と比較しながら総合的な調査を実施した。そして、その結果を宮城のサル調査会の機関紙「宮城県のニホンザル」第31号で公表した。

2018-B-30 マカクザルマーカースモーションキャプチャーソフトウェアの開発

松本惇平 (富山大・院・医)、柴田智広, Rollyn Labuguen, Blanco Negrete Salvador, Bardeloza Dean Karlo Delos Reyes (九工大・院・生命体工学) 所内対応者：井上謙一

最新の機械学習アルゴリズム(深層学習など)を用いて、任意の画像および映像内のマカクザルの姿勢(主要関節や目鼻の位置)を推定するソフトウェア(図)を開発するために、1)霊長類研究所の放飼場等で飼育されているサルの日常の様子を撮影し、2)得られた画像・映像データをもとに教師データを作成し、3)教師データをもとに機械学習アルゴリズムを実行し、未学習のサル画像の姿勢推定を行った。その結果、単一の個体が写った画像においては、良好な精度で姿勢推定することができた。現在、本結果の論文投稿を準備中である。次年度以降も引き続き画像・映像データの収集とソフトウェアの改良を行っていく。

本研究で開発中のソフトウェアは、姿勢や動作の解析から、運動機能や情動、行動意図、社会行動を客観的・定量的に評価することを可能にし、種々の脳機能の研究や野外生態調査、サルの健康管理など多くの分野への貢献が期待される。

2018-B-31 Transposable element derived Mirco RNA analysis in various primate tissues.

Heui-Soo Kim, Hee-Eun Lee (Pusan National University) 所内対応者：今井啓雄

Hearing is one of important skill in evolutionary studies. According to Clark et al. 2003, there were six hearing related genes (Table 1) and we chose EYA1 gene to select its target microRNA (miRNA) which is miR-195-5p. Pink box is showing where miR-195-5p is located among EYA1 gene, and miR-195-5p is one of the miRNA that targets EYA1 gene. RNA hybrid and alignment was proceeded (Fig.3) for miR-195-5p and EYA1 gene. The lower MFE value means binding between the gene and miRNA is stronger. Figure 4 is showing the conservation of miR-195 among various species. miR-195-5p is well conserved in primates, cow, dog and rat. Additionally, one of important factor, transcription factor binding sites (TFBS) near miR-195 was analyzed. Table 2 is showing the list of TFBSs near miR-195. The relative expression analysis of miR-195-5p and EYA1 gene was proceeded by quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR). The result shows that in eastern chimpanzee, kidney showed highest expression in miR-195-5p, on the other hand, kidney showed lowest expression in EYA1 gene. The result of Western chimpanzee shows that kidney and ovary is one of the lowest expressed tissue for miR-195-5p, on the other hand, EYA1 gene expression was very high in ovary. Usually, miRNA inhibits the expression of target gene, and the expression pattern between miRNA and its target gene is contrary to each other. According to qPCR data, co-transfection in primate celllines might provide the better understanding between EYA1 and miR-195-5p.

2018-B-32 多雪地生態系においてニホンザルが支える機能の評価～ニホンザルと食肉目の種子散布プロセスの比較から～

豊川春香 (山形大・院・農学) 所内対応者：辻大和

熱帯地域において森林開発や乱獲に伴う大型果実食者の減少が生態系機能の低下に直結することが知られているが、そのほかの気候帯においてはほとんど着目されてこなかった。本研究では、特に研究例の少ない多雪地生態系を対象に、ニホンザルと中型食肉目各種が起点となる種子の一次・二次散布特性を比較することで、ニホンザルが持つ森林の多種共存を支える固有の機能の特定を試みた。結果、Chao2法(Chao1987)により推定した一

次散布種子の種数はニホンザル(35.5種)で、中型食肉目(23.0種)と比べて多く、散布種子量も多かった。二次散布においては、誘引された糞虫の個体数はニホンザル糞の方が多く、優れた埋土能力をもつセンチコガネ科の誘引効果も高いことから、多様な種子が土壌へ埋め込まれる可能性があった。また、中型食肉目の糞にも糞虫は誘引され、二次散布が発生することが確認できた。種子捕食者においては、1日当たりの捕食頻度がニホンザル糞0.03回、食肉目糞0.11回とニホンザル糞の方が捕食される可能性が低く、糞虫の個体数や出現時間の速さから捕食者が訪れる前に種子が埋め込まれている可能性が示唆された。よって、ニホンザルは種子散布から埋土まで優れた機能を持ち、埋土種子供給者として生態系レジリエンスの向上に貢献することが期待される。

2018-B-33 サル脊髄損傷モデルを用いた軸索再生阻害因子とその抗体による神経回路修復に関する研究

山下俊英、貴島晴彦(大阪大・院・医)、山下智子(関西医科大・附属生命) 所内対応者:高田昌彦

これまで、霊長類モデルを用いて、軸索再生阻害因子と脊髄損傷後の神経回路網再形成による運動機能再建に焦点をあて研究を行ってきた。その結果、阻害因子のひとつである Repulsive guidance molecule-a (RGMa)が脊髄損傷後損傷周囲部に増加することを突き止め、その責任細胞のひとつに免疫細胞の一種であるミクログリア/マクrophageを同定することができた。さらに、RGMaの作用を阻害する薬物を用いて脊髄損傷後の機能回復過程および神経回路網形成の有無を検討した。その結果、RGMa作用を阻害した群(RGMa群)は、コントロール群(薬物投与なし)に比べ、運動機能、特に巧緻運動の回復が顕著にみられた。神経回路網形成については、順行性トレーサーでラベルされた皮質脊髄路の軸索枝の一部は、自然回復に伴って脊髄損傷部を越え、直接手や指の筋肉を制御する運動ニューロンへ結合していることが分かった。このような神経軸索枝は、RGMa群においてより多く観察された。次に、脊髄損傷部を越えた神経軸索枝が直接運動機能の回復に寄与しているか否かを、電気生理学手法と神経活動阻害実験を併用して確認した。その結果、直接運動機能の回復に寄与していることが明らかとなった。これらの結果から、脊髄損傷後の運動機能回復を促進させる治療法としてRGMaを分子ターゲットとした方法が有用であると考えられる。

2018-B-34 コモンマーモセットにおける食物アレルギーの診断と管理法の開発

村田幸久、中村達朗(東京大・院・農学生命科学) 所内対応者:宮部貴子

昨年度に引き続き、正常便のマーモセット2個体、Marmoset Wasting Syndrome (MWS)が疑われたマーモセット2個体から尿を採取し、排泄された脂質濃度の網羅的な測定(リピドーム解析)を行った。昨年度の測定分とあわせ、正常個体3個体、MWS疑いの個体3個体のデータを解析した。141種類の脂質代謝物を測定した結果、48種類がMWSが疑われた個体で2倍以上に濃度が上昇していた。今後これらの病態マーカーとしての応用の可能性や、それぞれの病態生理活性についての検討を進めていきたい。

2018-B-35 Variation of Gene Encoding Receptor of PTC bitter taste compound in Leaf-Eating Monkeys

Laurentia Henrieta Permita Sari Purba (Bogor Agricultural University) 所内対応者:今井啓雄

Leaf-eating monkeys (Subfamily Colobines) are unique among primates because their diet mostly consisted of leaves that perceptually tasted bitter to human. We confirmed that Asian colobines (*Trachypithecus* sp., *Presbytis* sp. and *Nasalis* sp.) were all less sensitive to PTC compared with macaque both in behavioral detection and cell assay. In addition we found four Asian colobine specific amino acid mutations (V44I, Q93E, I148F, and R330K) that revealed in comparison with human, chimpanzee and macaque TAS2R38 receptors.

By calcium imaging, we measured the responses of cell expressing mutant TAS2R38 of macaque mimicking colobine and confirmed that double-, triple- and quadruple- site mutations are less sensitive to PTC compare to the wild type.

Last year, we did behavioral experiment in African colobines (*C. angolensis* and *C. guereza*) in parallel with functional assay. The sensitivity of TAS2R38 of African colobine are variable compare to their Asian relatives. In cellular level, all TAS2R38 of African colobines were showed lower sensitivity to PTC compare to the TAS2R38 of Japanese macaque. Based on amino acid comparison of their TAS2R38 to the macaque and Asian colobines, we found some amino acid mutations specific in the TAS2R38 of African colobines. Thus, we predict that low sensitivity of the African colobine monkeys are partially caused by those mutations. In addition, we also functionally characterized the TAS2R14 of macaque and colobines. TAS2R14 receptors of macaques and colobines showed no response to several known bitter ligands that activate human TAS2R14 such as aristolochic acid, flufenamic acid and caffeine. There are no amino acid differences in the known binding site positions of TAS2R14, thus we predict that the difference in sensitivity between the TAS2R14 of human and old world monkeys caused by amino acid deletion in human lineage. On the other hand, since we used the difference expression vector (pEAK10) for preparing the TAS2R14 of macaque and colobines than previously done in human TAS2R14 (pcDNA5.1), the no response might be caused by the failure of expression of the receptors in the cell membrane.

2018-B-36 ムコ多糖症自然発症霊長類モデルに関する総合的研究

伊藤孝司(徳島大・院・医歯薬学研)、北川裕之(神戸薬科大・生化学)、西岡宗一郎(徳島大・院・医歯薬学研) 所内対応者:大石高生

霊長類研究所で飼育中の若桜群ニホンザルの中で、特徴的な顔貌、四肢や体幹の形態異常が見いだされた複数の血縁個体由来の剖検及び生検耳介組織を対象に、その抽出液における複数のリソソーム酵素活性を測定した結果、 α -L-イブロンダーゼ(IDUA)が特異的に欠損していることが判明した。ムコ多糖症 I 型 (MPS1)は、IDUA 遺伝子の劣性変異が原因で、酵素活性とその生体内基質であるヘパラン硫酸やデルマタン硫酸の、骨、関節、心臓、皮膚または脳などにおける過剰蓄積、または尿中への排泄及び全身症状を伴う先天性代謝異常症 (ライソゾーム病の一種) であるが、同家系ニホンザルでは、IDUA 遺伝子に 1 塩基置換に基づくミスセンス変異が同定され、世界初で自然発症ムコ多糖症サルが発見に至った。また徳島大が開発した、ヒト IDUA 遺伝子を絹糸腺で高発現する組換えカイコの繭から IDUA を精製し、組織内への取り込みに必要な末端マンノース 6-リン酸 (M6P) 含有合成糖鎖を人工的に付加する糖鎖工学技術を確立した。MPS1 患者に対し臨床応用されている酵素補充療法を、発症前期の若齢サル個体に適用するための技術的基盤を構築した。

2018-B-37 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 (日獣大・獣医)、中西せつ子 (NPO どうぶつたちの病院) 所内対応者：鈴木樹理

本研究グループでは、2008 年から福島県ニホンザル特定鳥獣保護管理計画にもとづき福島市で個体数調整のために捕獲された野生個体の死体提供を受け、妊娠率の推定や遺伝子解析などを行ってきた。福島市にはおよそ 20 群、2000 頭の野生群が生息しているが、2011 年の福島第 1 原子力発電所の爆発により放射能で被曝した。

そこで、2012 年度に放射性セシウムの蓄積状況と血液性状の関係を調査し、血球数やヘモグロビン濃度などの低下を明らかにし、また被ばく後に胎仔の成長遅滞が起こっていることも明らかにしてきた。

今年度は、引き続き被ばく状況をモニタリングし、コホート解析で生まれ年による造血機能への影響の違いを分析した。その結果、2011 年以前に出生していた個体では、被ばく後 2~3 年程度は骨髓細胞比率の低下がみられたが、成長とともに回復する傾向があった。一方、2011 年以降に出生した個体では、成長とともに回復しない個体が多かった。したがって、今後は生まれ年による影響の違いを考慮して比較検討する必要があると考えられた。

なお、将来における中長期的な影響評価を可能にするため、採取した臓器及び遺伝子等の標本保存を行った。

2018-B-38 霊長類神経系の解析とヒト疾患解析への応用

井上治久 (京都大 iPS 細胞)、沖田圭介、今村恵子、近藤孝之、江波貴子、月田香代子、大貫菜里 (京都大・CiRA) 所内対応者：今村公紀

ヒト特有の高次機能をもたらす分子機構とその破綻こそがアルツハイマー病等の神経変性疾患の原因であるという仮説のもとに、チンパンジーとヒトの iPS 細胞由来神経細胞の比較解析を目的としている。ヒト iPS 細胞およびチンパンジー iPS 細胞から神経細胞を分化誘導し、免疫染色による神経細胞マーカーの解析と平面微小電極アレイ計測システム (MED64-Basic、Alpha Med Scientific) を用いた神経活動の評価を行った。ヒト iPS 細胞由来神経細胞およびチンパンジー iPS 細胞由来神経細胞の両者において、薬剤応答性を含む機能的な神経ネットワークが形成されていることが示された。これらの比較解析により霊長類神経系の機能解明とヒト疾患解析への応用に有用である可能性が考えられた。

2018-B-39 ニホンザルとアカゲザルにおける新規ストレスマーカーの探索とストレス反応性の比較研究

横田伸一 (東京大・医科研) 所内対応者：鈴木樹理

本研究の目的は、ニホンザルとアカゲザルにおいて簡便に測定できるストレスバイオマーカーを見出し、それぞれのサル種におけるストレス反応性の特徴をバイオマーカーの観点から明らかにすることである。平成 30 年度は、比較的軽度で短時間の身体的・心理的要因を含むストレス反応について評価するため、獣医師が採血動作を模してサルの腕を保持するという一連の動作 (挟体を引いた状態で 2 分間) を行った直後に麻酔をし、30 分経過後の血液中および唾液中のコルチゾール、アミラーゼ、免疫グロブリン A (IgA) の濃度について、プレ値 (ストレス負荷無しで 2 日前の同時刻に採材) との比較検討を行った。その結果、血液中でも唾液中でもコルチゾール、アミラーゼ、IgA のストレス負荷による変化はいずれも認められず、短時間の挟体保定や獣医師 (実験実施者) の接触などの手技的な影響は無視できることが示唆された。昨年度は、サルをホームケージから他室の個別ケージに一時的に移動させるというストレス負荷により、アカゲザルの唾液中でのみアミラーゼと IgA の濃度が有意に減少することを明らかにしている。本検討により、昨年度の検討結果の信頼性を高めることができた。本課題の検討結果については、現在、論文投稿の準備中である。

2018-B-40 アフリカ中新世霊長類化石の形態学的研究

國松豊 (龍谷大・経営) 所内対応者：平崎鋭矢

本研究では、東アフリカのケニヤ共和国北部にある中新世中期及び後期の化石産地 (ナカリ、ナチョラ、サンブルヒルズ) から日本隊の長年の野外調査によって収集された化石標本を対象に、主に霊長類化石の分析と記載を目的としている。これらの化石は、すべて、ケニヤ国立博物館に保管されている。2018 年度は、8 月から 9 月にかけて、中新世後期の化石産地であるケニヤ北部のナカリ地域において、化石収集を目的とする野外調査に参加し、霊長類を含む脊椎動物化石を新たに採集した。2019 年 3 月に、再度ケニヤに渡航し、ナイロビにあるケニ

ヤ国立博物館において、上記の化石産地に由来する類人猿・旧世界ザル化石の整理・分析を続行した。国内においては、霊長類研究所の現生霊長類骨格標本及び化石模型を利用し、ケニアの霊長類化石の記載を進めた。今年度は、特に、中新世中期のナチョラピテクスの側頭骨の研究の成果を公表する事に努めた。他の多くの哺乳類同様、霊長類一般において側頭骨岩様部には、脳の一部が入り込む弓下窩と呼ばれるくぼみが存在するが、現生大型類人猿ではこのくぼみが消失するという派生形質が見られる。化石に残りにくい部位であるため、化石類人猿での報告例は少ないが、ナチョラピテクスでは現生大型類人猿のように弓下窩が消失していた。一方で、これまでに知られているナチョラピテクスの体肢骨標本からは、ナチョラピテクスはまだ現生類人猿のように懸垂型のロコモーションには適応しておらず、樹上性四足歩行型であることがわかっている。仮に弓下窩の消失が現生大型類人猿との共有派生形質とすれば、現生類人猿に見られる懸垂型ロコモーション適応は複数の系統で独立に進化したのではないかという考えを支持するものである。

2018-B-41 マカカ属サルにおける扁桃体への皮質下視覚経路の神経解剖学的同定

藤田一郎、稲垣未来男（大阪大学・院・生命機能） 所内対応者：高田昌彦

恐怖や威嚇の表情、あるいは有害生物の存在といった潜在的な危険情報の視覚的な検出に、大脳皮質視覚経路だけでなく皮質下視覚経路も関わると考えられている。しかし、霊長類において皮質下視覚経路を支持する解剖学的な証拠は乏しい。そこで危険情報の処理に関わる扁桃体へ経シナプス性に輸送される逆行性ウィルストレーサーを注入し、入力経路を順番に辿ることで、皮質下視覚経路の解明を目指した。今年度はアカゲザル1頭において、経シナプス性逆行性輸送トレーサーの注入実験を行い、生存期間1.5日の後に標本切片を作成した。標本切片を観察した結果、皮質下視覚経路を構成すると考えられてきた視床枕および上丘において、扁桃体を始点として逆行性に標識された神経細胞が実際に存在することを確認した。視床枕では多くの神経細胞が標識された一方で、上丘では少数の神経細胞だけが標識されていた。生存期間1.5日では、トレーサーは最大でも2シナプスだけしか超えないことから、この結果は上丘→視床枕→扁桃体へと至る皮質下視覚経路の存在を強く示唆する。次年度以降はより定量的な解析を進めるとともに、個体数を増やして再現性があるかどうかを確認する予定である。

2018-B-42 Multi-Dimensional Analysis of the Limbic Vocal Tic Network and its Modulation via Voltammetry Controlled High-Frequency Deep Brain Stimulation of the Nucleus Accumbens

Kevin William McCairn (RIKEN Center for Brain Science), Kendall Lee (Mayo Clinic), Taihei Ninomiya (National Institute of Physiological Sciences) 所内対応者：高田昌彦

これまで MPTP 投与によって作製したパーキンソン病 (PD) サルモデルから、安静時およびボタン押し課題遂行中における大脳皮質、大脳基底核、小脳から神経活動 (主に局所電場電位) の多領域多点同時記録を実施した。その結果、PD サルモデルの小脳からベータ波の過活動を検出し、更に cross-frequency coupling 解析により、運動遂行時における大脳皮質 (特に一次運動野) との間の phase amplitude coupling が大脳基底核よりもむしろ小脳で顕著であることが明らかにした。具体的な結果は次のとおりである。(1) 時系列に基づいて、大脳基底核の淡蒼球と一次運動野との間の cross-frequency coupling を解析したところ、健常時やチックモデルではベータ帯域における phase amplitude coupling が運動遂行時に強く検出されるのに対して、PD モデルでは同様の coupling 現象がほとんど消失していた。(2) 同様に、小脳 (主に小脳皮質) と一次運動野との間の cross-frequency coupling を解析したところ、上記 (1) の結果と異なり、健常時やチックモデルにおいて運動遂行時にみとめられるベータ帯域での phase amplitude coupling が、PD モデルにおいても検出された。

これらの結果は、PD の病態発現における小脳の関与を示唆しており、これにより、cross-frequency coupling に関する実験データに基づいて神経ネットワークの数理モデルを構築し、発振・同期の機能的意義を明らかにできるだけでなく、DBS による治療効果の検討をとおして、神経活動への介入による発振制御とその臨床応用に関する新たな知見を得ることができると考える。現在、サル2頭分のデータをまとめており、可及的速やかに原著論文を作成する予定である。

2018-B-43 一卵性多子ニホンザルの作製試験

外丸祐介、信清麻子、畠山照彦（広島大・技術センター） 所内対応者：岡本宗裕

本課題は、動物実験に有用な一卵性多子ニホンザルの作製を目指すもので、これまでに生殖工学基盤技術の検討を進めることで「卵巣刺激→体外受精→受精卵移植」により産子を得るための再現性の高い技術を確認してきた。また、一卵性多子の獲得手段として受精卵分離技術の応用に取り組み、二分離した体外受精卵から単子ではあるが健常産子の獲得に成功している。これらの技術の基盤の下で、今年度は一卵性双仔の獲得に向けて移植試験を実施したが、産子を得ることはできなかった (次年度も移植試験を継続予定)。この一方で、ニホンザル受精卵の冷蔵保存について検討した。移植試験の際には受精卵のステージとレシピエント雌の性周期を同調させる必要があるが、マウス・ラット等の小型実験動物と異なり、サル類ではレシピエントの確保が容易ではない。この対策として、短期間の時間調整を想定した冷蔵保存試験を実施した結果、20%ウシ胎子血清を添加した PBI 液を用いることで、4-6°C で4日間の保存後にも高い生存性が得られることが確認できた。冷蔵保存は長期的な保存には不適であるが、超低温保存では生じる凍結・ガラス化や融解時のダメージを回避できることから、数日程度

の時間調整には有効であると考えられた。

2018-B-44 プロテオミクス解析によるニホンザル授乳状況の推定

薦谷匠（海洋研究開発機構・生物地球化学研究）、Matthew Collins・Enrico Cappellini（コペンハーゲン大・デンマーク自然史博物館）、大河内直彦（海洋研究開発機構・生物地球化学研究） 所内対応者：宮部貴子

本研究では、霊長類の離乳年齢を正確に推定する方法を開発するため、新たな乳摂取の指標として、完全には消化されずに糞中に排出される乳由来タンパク質に注目した。霊長類研究所に飼育されている授乳・離乳状況既知のニホンザル（*Macaca fuscata*）より糞試料を得た。0歳児（授乳中）、2歳児（離乳後）、オトナそれぞれから、2-5個を分析に供した。質量分析計を利用して試料中に存在するタンパク質を網羅的に同定する最先端のプロテオミクス分析を利用した。

分析の結果、乳に特異的に含まれるタンパク質（カゼインやラクトアルブミン）は授乳されている0歳児の糞中のみから検出された。授乳されなかった0歳児の糞からは、乳に特異的なタンパク質は検出されなかった。ほかの体液にも含まれるが乳に特に豊富に存在するタンパク質（リゾチーム、免疫グロブリンJ鎖）については、0歳児で検出ペプチド数が大きかった。

離乳過程が進行した際、どこまで乳タンパク質が検出可能であるかを検証する必要があるが、糞のプロテオミクス分析により、個体の授乳・離乳状況を推定できる可能性が示された。また、本手法は野生個体に対しても適用可能である。

2018-B-45 マカク乳歯歯髄幹細胞を用いた歯髄再生への応用

筒井健夫、小林朋子、鳥居大祐（日本歯科大・生命歯・薬理学） 所内対応者：鈴木樹理

平成30年度はニホンザル3例に対して、採取した乳歯歯髄細胞を培養し三次元構築体を形成後に同一個体の乳歯へ移植を行い、永久歯の萌出時期を考慮し、約3ヶ月後に抜歯による採取を行った。また、前記3例を含めたニホンザル5例に対して、以前に三次元構築体を移植した乳歯を永久歯の萌出時期を考慮し、抜歯による採取を行った。細胞採取対象乳歯および抜歯対象歯は、採取処置前後においてエックス線撮影により対象歯、その周囲組織と後続永久歯の状態の確認を行った。細胞採取対象乳歯と乳歯細胞移植、および抜歯による後続永久歯への障害は観察されなかった。抜歯対象歯は、乳犬歯および第2乳臼歯であり、歯冠側1/3程度の歯髄除去処置を行い移植した。移植後の歯髄貼付薬として水酸化カルシウム水性ペーストのカルシペクス®IIを用いた結果、移植歯の歯髄内に硬組織形成がエックス線撮影およびマイクロCTにより観察された。またマイクロCTを用いた硬度解析の結果より、象牙質以上の硬度を示したため現在内容物について解析を進めている。平成30年度の移植時には、歯髄貼付薬として生体親和性の高いMineral Trioxide Aggregate (ProRoot®MTA)を使用し、抜歯により採取された乳歯をマイクロCTを用いて解析を進めている。

2018-B-46 高知県室戸市におけるニホンザルが利用する食物資源の解析

寺山佳奈（高知大・院・黒潮） 所内対応者：辻大和

高知県室戸市に生息するニホンザルは農作物被害をもたらすことが知られているが、ニホンザルの採食物に関する研究はない。直接観察が困難な野生動物の食性調査として、一般に糞や胃内容物を用いた調査がなされている。申請者らは、ニホンザルの主要な農作物が多く存在する夏期において高知県室戸市に生息するニホンザル加害群の採食物の特徴を明らかにする事を本研究の目的とした。高知県室戸市で有害鳥獣として駆除されたニホンザル9個体（オス7個体、メス2個体）を対象とし、胃内容物を葉や農作物、昆虫などの11項目に分類した。ポイントフレーム法によってカウントする格子点の総数は1000点とし、各項目の占有率を求めた。出現回数の多かった項目は9個体中8個体から出現した葉と果実であり、次いで昆虫が6個体から出現した。占有率は葉が38.7%と最も高く、次いで果実が33%、農作物が16.6%であった。採食が確認された果実は、ヤマモモやビワ、タブノキなど調査地に多く見られる果実類であった。農作物ではイネの採食が確認され、昆虫ではアリやコガネムシが出現した。

上記の内容を、日本生態学会大66回大会（神戸）にてポスター発表を行なった。

提出画像は（画像1：出現した採食物の平均占有率と出現率、画像2：各採食物の占有率、画像3：出現した採食物のリスト、画像4：出現した採食物の写真）

2018-B-47 飼育下サル類の疾患に関する病理学的研究

平田暁大（岐阜大・研社機構・科学研究基盤センター・動物実験）、柳井徳磨、酒井洋樹（岐阜大・応生・共同獣医・獣医病理） 所内対応者：宮部貴子

飼育下でサル類に発生する疾患およびその病態を把握するため、霊長類研究所で死亡あるいは安楽殺したサル類を病理学的に解析していた。平成29年度中に10頭（コモンマーモセット4頭、ニホンザル4頭、ボンネットモンキー1頭、チンパンジー1頭、オマキザル1頭）の病理学的解析を行った。さらに、同研究所の獣医師と臨床病理検討会（CPC, Clinico-pathological conference）を開催し、病理学的解析結果を治療データ、臨床検査データ（血液検査、レントゲン検査、CT検査、MRI検査等）と照合し、症例の総合的な解析を行った。

【論文発表】

肝臓原発の神経内分泌癌のニホンザルの症例について論文発表した (Hirata A et al., J. Med. Primatol., 48(2), 137-40, 2019)。サル類において、肝臓の神経内分泌腫瘍はヒヒにおいて報告されているのみで、マカクでは初めての報告である。詳細な血液検査データと病理解析結果を提示した貴重な報告であり、サル類の臨床診断技術の向上に資すると考えられる。

【研究会での発表】

第 27 回サル疾病ワークショップ (2018 年 7 月開催) にて下記の症例について発表した。全て代表研究者と霊長類研究所の教員・技術職員との共同発表である。

- ニホンザルの喉頭リンパ腫
- ニホンザルの肝臓神経内分泌癌
- ニホンザルの口腔扁平上皮癌
- チンパンジーのくも膜下出血
- ボンネットモンキーの 2 型糖尿病

2018-B-48 霊長類の脊柱構造に関する進化形態学的研究

中務真人、芳賀恒太、小林諭史、小嶋匠、富澤佑真 (京都大・理) 所内対応者：西村剛

ヒトと類人猿の運動器官進化研究において、脊柱の形態進化は大きな関心を集めているが、脊柱の形態特徴には、機能的、進化的意味の立証が不十分なものが見られる。この計画では、腰椎横突起の位置が脊柱の腹側陥入の程度を反映するか、腰椎横突起の位置が固有背筋の相対的なサイズと関係するかを検証する。

2018 年度に類人猿 (チンパンジー、ゴリラ、オランウータン、テナガザル) 15 個体、旧世界ザル (カニクイザル、ニホンザル、マントヒヒ) 12 個体の CT データを収集し 2 断面で予備分析を行った。椎骨式の変異が存在する種間で比較を行うため、相同性が高いと考えられる第 1 腰椎、下部腰椎として最後から 2 あるいは 3 つ目の腰椎を選び、その頭側面を計測面とした。

その結果、オナガザル上科と類人猿の下位腰椎レベルで類人猿の固有背筋サイズが小さい傾向が見られたが、第 1 腰椎ではその傾向がみられなかった。また、類人猿とヒトを比較すると、ヒトの固有背筋サイズが大きい傾向が見られたが、第 1 腰椎ではその傾向はみられなかった。オナガザル上科とヒトを比較すると、前者が後者より大きな固有背筋をもつ傾向はみられなかった。これらの結果は、対象とした霊長類において、各々のロコモーション様式に適応して固有背筋が発達する部位が異なることを示唆した。また、腰椎横突起の位置と固有背筋サイズの関係を見たときに、ヒトを除いた下位の腰椎では、横突起はより腹側にあるほど固有背筋が大きいという傾向が認められたが、上位の腰椎ではそのような傾向は見られなかった。これは、横突起の位置が固有背筋サイズに支配されるとする意見に否定的な結果であった。今後、資料数を増やすとともに、頭側から尾側への連続的な変化の検出を行う。

2018-B-49 霊長類下肢の筋構成と支配神経パターン

時田幸之輔 (埼玉医大・保健・理学療法) 所内対応者：平崎鋭矢

チンパンジー 2 側、リスザル 2 側、ニホンザル 2 側について大腿二頭筋(Bf)の構成とその支配神経を観察した。チンパンジー Bf の長頭 (Lg) は坐骨結節、短頭(Br)は大腿骨体後面遠位から起始し、腓骨頭、外側下腿筋膜に停止した。Lg には坐骨神経(Ish)脛骨神経部(Ti)からの枝(RT)が分布した。Br には総腓骨神経部(F)からの枝 (RF) が分布した。リスザル、ニホンザル Bf には Lg と Br の区別がなかった。リスザル Bf の起始停止は坐骨結節-腸脛靭帯、腓骨頭、外側下腿筋膜であった。この筋には、起始部付近に RT が分布し、筋腹遠位部 2/3 付近に RF が進入した。ニホンザル Bf は坐骨結節から腸脛靭帯、膝関節付近へ走行する筋束 (Bf-1) と坐骨結節から腓骨頭、外側下腿筋膜へ走行する筋束 (Bf-2) の 2 部に分かれた。この筋には、RT と RF が進入した。RT には、Bf-1 へ進入する枝 (RT-1) と Bf-2 へ進入する枝 (RT-2) があった。RF は Bf 遠位から進入していた。RT は筋に分布していたが、RF は筋を貫き皮神経となっていた。RT は仙骨神経叢の L6-S1 の腹側成分に由来し Ti 本幹より腹側から分枝していた。RF は L5 の中間成分で上殿神経 (Gi) より腹側から分枝していた。

2018-B-50 The relationship between gut size and torso anatomy

Jeanelle Uy (University of Wisconsin-Madison) 所内対応者：宮部貴子

The gut (gastrointestinal tract) is a unique example of a visceral structure that is thought to have driven changes to postcranial dimensions. A longstanding assumption within paleoanthropology is that the torso skeleton, particularly the ribcage and pelvis, reflects organ size; however, no data exists in the literature that directly links soft tissue (guts) to hard tissue (bones). The purpose of this project is to determine if gut size is related to torso morphology. We will test if the bony anatomy of the ribcage and pelvis is related to gut size in anthropoids. Thoracic measurements were obtained from *Homo*, *Hylobates*, *Pan*, *Pongo*, *Gorilla*, *Macaca*, and *Cebus* skeletons. Existing whole abdomen scans from humans (n=89) were obtained from my institution (UW-Madison) and existing scans of *Cebus* (n=8) were obtained from KUPRI. We found that *Homo* has unique thorax form and gut form that is distinguished from other nonhuman primates, but the

nonhuman primates in our study overlapped in both thorax form and gut size. We also found male humans tend to have gut volumes that are correlated with pelvic variables, but we do not find any relationships between the pelvis and gut volume in females. There is a small but significant correlation between caudal thorax breadth and gut volume in humans. We did not find any relationship between gut volume, caudal thorax size, and body size in *Cebus*. Variability in gut volume within *Homo sapiens* and *Cebus* is high and equivalent. Variability in gut volume that cannot be explained by body size is higher in females than in males in *Homo sapiens*. In conclusion, the human ribcage, gut, and pelvis have complex relationships with each other; human females differ in their relationship with the torso skeleton and gut size possibly due to spatial demands of gestation or metabolic demands of gestation and lactation.

2018-B-51 CTを用いたニホンザルの頭蓋底と眼窩を通過する血流、及び頭部静脈血還流路に関する研究

澤野啓一（神奈川歯科大・法医学災害医療歯科学）、田上秀一（久留米大・医・放射線医学） 所内対応者：濱田穰

従来、ヒトを含む真猿類の頭部血管系の走行（経路、口径変化、湾曲の程度等）はほぼ同一であるとみなされてきた。その様な先入観も災いして、実際には詳細には調べられては来なかった。筆者は主に白骨頭蓋底の調査の過程で、Foramen jugulare (FJ)の形状が、ヒトと、ヒト以外のAnthropoidea とでは大きく異なることを確認していた。Sinus sigmoideus (SSG)から Vena jugularis interna (VJI)への流れは、当然 FJ の形状に制約される（あるいは、還流静脈の形状が FJ の形状に反映される）訳であるから、その実情を明らかにする為に、血管造影 CT 撮影に拠って、生きた状態でのニホンザルの脳還流静脈路の研究を行った。同時に並行して、それに対応する部分のヒトの形状に関する研究も行った。頭蓋を肉眼水平面に置いた状態で比較すると、ニホンザルの FJ は斜めになだらかに傾斜して開口する形状である。これは他のAnthropoidea とほぼ同様の形状であった。それに対してヒトでは、Squama occipitalis の下壁が、下方に膨隆していることと、他の真猿類では FJ の前端に相当する部分が、ヒトでは FJ が垂直化することに拠って FJ の上端に成っていることの為に、SSG から VJI への還流静脈路は一旦上行した後、急角度で屈曲して下方に向っている。他方、ニホンザルの脳静脈還流路は、FJ の形状から予測された通り、斜めになだらかに傾斜して流れる形式であり、ヒトの場合との違いが鮮明に成った。このようなヒトとヒト以外の真猿類との違いは、頸動脈管と頸動脈の場合と、あたかも並行関係に有るように見える。ヒトの FJ の形状と SSG から VJI への還流静脈路の特異性が、ヒトに於ける脳と脳頭蓋底の後方と下方への膨隆の結果として生じた受動的なものに留まるのか、あるいは更に何らかの機能的役割が付与されたものであるのかについては、今後の研究課題である。ニホンザルの脳静脈路がヒトと異なる他の部位についてもこれから明らかにする。

2018-B-52 STLV 自然感染ニホンザルの抗ウイルス T 細胞免疫

神奈木真理、長谷川温彦、永野佳子、Ganbaatar Undrakh（東京医科歯科大・院・免疫治療学） 所内対応者：明里宏文

サル T リンパ球向性ウイルス (STLV) はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) の近縁ウイルスであり、ニホンザルに高率に自然感染している。ヒトでは、HTLV-1 感染者の一部が成人 T 細胞白血病 (ATL) を発症するが、これらの個体では、HTLV-1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 応答が低く、この CTL 応答を強化することには治療的意義があることは、これまでの我々の研究により明らかになってきている。本研究では、STLV 自然感染ニホンザルにおける免疫応答がヒト HTLV-1 感染と近似したモデルと成り得るかどうかを見極め、CTL を活性化させる免疫療法が感染細胞を減少させる効果を個体レベルで検証することを目的としている。抗原特異的 T 細胞応答は MHC に拘束されるため、平成 29 年度に個体毎の STLV 特異的 CTL 応答の解析系を確立し、平成 29~30 年度に詳細な解析を行った結果、STLV 自然感染ニホンザル 6 頭中 4 頭が高応答、1 頭が低応答、1 頭は不明であった。低応答を示した個体ではプロウイルス DNA 陽性細胞率(PVL)が高く且つウイルス制御能が低かった。これは ATL 患者や一部の HTLV-1 キャリアに近似する結果である。この結果については平成 30 年度の日本癌学会ならびに HTLV-1 学会において口頭発表を行った。さらに、低応答性個体に対する免疫接種実験に着手した。今後、低応答性の個体を複数選出し免疫療法の効果の検証を行う予定である。

2018-B-53 ヒト動脈硬化症のアカゲザルモデル作出のための基礎研究

日比野久美子（名古屋文理大・短大・食物栄養）、竹中晃子（名古屋文理大・名誉教授） 所内対応者：鈴木樹理・田中洋之

日本人の動脈硬化症を引き起こす高コレステロール(Ch)血症は厚生労働省において今なお難病に指定され、原因不明が 4 割もある。LDL 受容体遺伝子 (LDLR) のエクソン 3 に Cys82(61)Tyr 変異を持つインド由来アカゲザル 7 頭に 0.1%および 0.3% Ch 含有食の投与実験を行った結果、2 頭が 12 週でヒトの難病に匹敵する高い動脈硬化指数(LDL/HDL>3.5)5.8 を示した。これら 2 頭を含むヘテロ接合体 3 頭の全ゲノム解析をタカラバイオに依頼して行った。高 Ch 血症を引き起こす可能性のある 16 遺伝子についてエクソン、スプライシング部位、プロモーター領域について検討し、2 頭に共通する変異が 5 遺伝子のエクソン 6 座位に新たに見出されたので、残るヘテロ接合体 5 個体（すでに死亡している元になった#1304 を含む）と正常個体 4 頭について、これら 6 座位の変異の有無を調べた。それぞれのプライマーを設定し PCR 法で増幅し、増幅産物を ABI キャピラリー電気泳動法により塩基配列を決定した。高 Ch 血症を示した 2 頭にあった LDLR のさらなる変異 Ile598(577)Val (ATC→GTC) は

この家系の他の個体もホモ接合体で有しており、LDL 結合領域に近い変異であったが、難病レベルの LDL 値を示す原因とはならなかった。LDL を細胞内に取り込む際に必要な LDLRAP1 には Asn102Ser(AAC→AGC)変異がこの 2 頭にヘテロ接合体として共通にあったが家系内にもヘテロ、ホモ接合体がおり多型であった。ヒトの高 Ch 血症を調べる際にオックスフォードジーンテクノロジー社でさらに検討される PCSK9、APOB、APOE、LIPA、STAP1 には 2 頭のみ共通する変異はなく、現在、NCBI、LOVD などのデータベースを参考に他の遺伝子についてさらに解析を進めている。また、今年度得られた結果に基づき、来年度は LDL 受容体の活性測定を計画している。

2018-B-54 飼育下のニホンザルおよびアカゲザルにおける *Bartonella quintana* の分布状況とその遺伝子系統

佐藤真伍、渡邊明音、西岡絵夢、福留祐香（日本大・獣医公衆衛生学） 所内対応者：岡本宗裕

Bartonella quintana は人に発熱や回帰性の菌血症を引き起こす原因菌で、重症化すると心内膜炎や細菌性血管腫を引き起こす。ヒトに特異的に寄生するコロモジラミが *B. quintana* のベクターで、衛生環境と *B. quintana* の流行は密接に関係している。第一次・二次世界大戦時に *B. quintana* 感染は兵士の間に流行し、その後終息したものの、現在では都市部に生活する一部のホームレスにおいて本菌の感染が確認されている。近年、中国の霊長類研究施設内で飼育されているアカゲザルやカニクイザルも本菌を保有していることが明らかとなっている。さらに、日本の野生ニホンザルも *B. quintana* を保菌していることが我々の研究によって明らかとなっている。

以上のような背景から、京都大学 霊長類研究所内で飼育されている *Macaca* 属のサルを対象に、本菌の分布状況を継続的に検討することとした。平成 28 年度の本共同利用・共同研究（課題# 2016-D-21）では、和歌山県由来の椿群のニホンザル 1 頭から *B. quintana* が分離され、Multi-locus sequence typing (MLST) により ST22 に型別された。さらに、平成 29 年度の研究（課題# 2017-B-28）では、大阪府由来の箕面群のニホンザル 2 頭からも *B. quintana* が分離された。

平成 30 年度の研究（課題# 2018-B-54）では、箕面群の分離株の遺伝子性状について、MLST により解析した。その結果、いずれの株も野生ニホンザルや椿群のニホンザルから分離された株と同一の ST22 に型別された。さらに、椿群のサル 1 頭からも新たに *B. quintana* が分離された。*B. quintana* を保菌していた計 4 頭のサルは、いずれも過去に野外から導入した個体であることから、今後、感染ザルにおける本菌の持続感染期間についても詳細に検討していく必要があると考えられた。

2018-B-55 サル造血免疫機能の解析とサル免疫不全ウイルス感染モデルマウスの樹立

岡田誠治、刈谷龍昇（熊本大学）、俣野哲朗（国立感染症研究所） 所内対応者：中村克樹

本研究の目的は、ニホンザルの造血・免疫系を解析し、その特徴を明らかにすること、その結果を基にニホンザルの造血免疫系を構築したマウスモデルとエイズモデルを構築することである。

本年は、新たなサンプルを得ることができなかったため、昨年度までのサンプルを用いて引き続き効率の良い移植系の確立を目指し研究を進めた。

2018-B-56 マカク属サルの形態的・環境的因子から、歯周病発症を解明する

加藤彰子（愛院大・歯・口腔解剖）、近藤信太郎（日大松戸・歯・解剖） 所内対応者：平崎鋭矢

歯周病は歯周組織に起こる慢性の炎症性疾患であり日本の成人の約 80% が歯周病に罹患している。現在、歯周病は生活習慣病の一つと考えられており、病態・病因の解明は解決すべき重要な課題である。顎口腔機能は、その個体が生活する環境や食性に伴い長い時間をかけて適応、変化する。これら顎口腔領域の形態が歯周病の進行とどのように関わっているかを調査することが本研究の目的である。具体的には、マカクザルの頭蓋骨を用いて歯科用コーンビーム CT およびマイクロ CT 撮影を行い、歯槽骨の吸収程度を評価して顎口腔系の解剖学的形態との関連性を調べる。本研究により歯周病に関わる顎口腔領域の形態因子と各マカクザルの住む環境因子との関係性を明らかにすることで、歯周病の病因解明の一助とする。2018 年度はアカゲザルおよびニホンザル合計 45 個体の観察および CT 撮像を行った。これらを通してマカク属の異なる種間で歯周病の発症パターンに相違があることと、歯冠咬合面の咬耗度に相違があることを示すデータを蓄積している。2019 年度はさらにデータ解析を進め、マカクザルの歯槽骨吸収の特徴についてまとめを行いたいと考えている。

2018-B-57 代謝プロファイルテストを用いた野外飼育ニホンザルの飼養管理評価

高須正規（岐阜大・応生・獣医） 所内対応者：岡本宗裕

家畜の飼養管理で一般的に用いられている代謝プロファイルテストをニホンザルに応用し、飼育環境の違いがニホンザルの QOL に与える影響を評価できるか否かを明らかにした。

異なるグループケージで飼育されているニホンザル 2 群（A 群・B 群）に対して、代謝プロファイルテストを行った。A 群は 5-6 歳のオス 5 頭、B 群は同 4 頭で形成されていた。A 群のケージ（A ケージ）は、格子面が多く、風よけスペースとしてサルが入れる小さなボックスが設けられていた。一方、B 群のケージ（B ケージ）は、サルが十分に動けるスペースを有する副室（水飲みあり）が設けられていた。

両群の定期的な体重測定時（5 月、7 月、9 月、11 月、1 月、3 月）に橈側皮静脈より血液を採取した。採取した血液を用い、CBC ならびに血液生化学検査を行った。その結果、冬季において A 群のヘマトクリット値が上

昇ることが示された。

冬季にA群のヘマトクリット値が高かったことは、Aケージの給水場所が風よけスペースの外にあるため、サルがスペースから出ようとせず、積極的に飲水をしなかった可能性が考えられた。一方、Bケージは副室内に水のみがあるため、冬季であっても飲水量が減少しなかったと考えられた。

これらのことから、代謝プロファイルテストは、ニホンザルのQOL評価に応用できると考えられた。また、AケージよりもBケージで飼育することでニホンザルのQOLを高められることが示唆された。

2018-B-58 Positional, dimorphic and obstetric influences on pelvic shape in primates

Lia Betti, Todd C. Rae (University of Roehampton) 所内対応者：平崎鋭矢

Our proposal was to develop a test of the relative importance of locomotion, habitual posture, and obstetric-related selective pressures in shaping the pelvis and birth canal in humans and other primate species. Adaptation for bipedalism in our lineage led to a shorter and more compact pelvis with a narrower pelvic canal, while increased encephalisation meant a larger neonatal head and the need for a more spacious birth passage, leading to an evolutionary conflict (“obstetrical dilemma”) and a tight fit between the size of the newborn and the size of the birth canal. Recent biomechanical studies, however, contradict the assumption that a wider pelvis would reduce locomotor efficiency, suggesting that other factors might be constraining the size of the human birth canal. The new comparative analysis we have proposed is designed to address the importance of locomotion, posture and obstetric requirements in shaping the pelvis across primate species, using an improved and innovative methodology. We plan to use 3D landmarks and semilandmarks derived from virtual 3D reconstructions based on CT scans of articulated pelvises to achieve a high-definition representation of the shape of the pelvis and birth canal in a variety of catarrhine and strepsirrhine species.

To do so, we sought funds from the Kyoto University Cooperative Research Program to begin pilot work and to obtain the necessary additional funding. As travel to the PRI was not possible immediately, we purchased some of the essential reference works necessary to derive the locomotor and postural and other behavioural data with the funds that were provided. In addition, we purchased large hard drives required to store the huge digital files that result from the full-body CT scans required for the project. Using these tools, we began to put together a database using previously obtained scans of cadaveric material of male and female chimpanzees (genus *Pan*) from the KUPRI Digital Morphology Museum, to compare with *Homo sapiens* which we were able to obtain from the Visible Human Project. A small preliminary analysis was performed by manually segmenting the scans Avizo ver. 8. The resulting data were analysed (Procrustes fit, PCA of superimposed landmarks projected in Euclidean space) using Morphologika (O’Higgins and Jones, 1999). The plot of the first two PCs (Fig. 2) shows that the sexes are differentiated in a similar way in these species, suggesting that sexual shape dimorphism is captured effectively by the landmark configuration and is present in both species.

These encouraging preliminary results indicate that the methodology is sound and that the study stands a very good chance of producing substantial outcomes. We have used this pilot study as a basis for applying for additional funds, and have already secured a grant totalling £8,950 (¥1,308,101) over two years from the Great Britain Sasakawa Foundation, and we are awaiting news of a Leakey Foundation application for \$19,277 (¥2,153,364).

Fig. 1. PC1 (horizontal axis) and PC2 (vertical) of pelvis landmarks (red = *Pan*, blue = *Homo*, diamond = females, cross = males), showing similar sex shape dimorphism in human and chimpanzee pelvises.

2018-B-59 視覚刺激の好みに対するホルモンの影響

倉岡康治(関西医科大・医・生理学)、稲瀬正彦(近畿大・医・生理学) 所内対応者：中村克樹

霊長類は他個体に関する視覚情報に興味を示す。また、動物の社会行動においてはテストステロンやオキシトシンが重要な役割を果たすことが知られているため、上記のホルモンがニホンザルの社会的視覚刺激の好みにもどう影響するかを行動実験で調べることを目的としている。

本実験では、飼育ケージ内でのサルの自発的な行動によりデータを得る実験環境を構築している。霊長類研究所飼育室において、飼育ケージにタブレット型コンピューターを取り付け、複数の他個体画像を提示する。サルがある画像に興味を示して触れれば、その画像をより長く提示し、別の画像に興味を示さず触れることが無ければ、その画像は少しの時間の後に消えるようにプログラムする。この課題で各視覚刺激に対するサルの興味を調べ、社会性ホルモンと知られるオキシトシンを投与した後、その興味がどのように変化するかを調べる。

本年度は、麻酔下で被験体の鼻よりオキシトシンを投与した。1時間後に覚醒を確認してから他個体画像に触れる回数を計測し、オキシトシン投与前のそれと比較した。その結果、オキシトシンを投与することにより、他個体画像に触れる回数が減った。特に他個体画像提示後30分程はほとんど画像に触れることがなかった。これは他個体画像への興味低下というよりも、まだ麻酔の影響が残っていることが推測される。今後は麻酔からより時間をおいて計測を開始するか、麻酔をしない状態でのオキシトシン投与を検討する必要がある。

2018-B-60 霊長類における概日時計と脳高次機能との関連

清水貴美子、深田吉孝(東京大・理) 所内対応者：今井啓雄

我々はこれまで、齧歯類を用いて海馬依存性の長期記憶形成効率に概日変動があることを見出し、SCOP という分子が概日時計と記憶を結びつける鍵因子であることを示してきた (Shimizu et al. Nat Commun 2016)。本研究では、ヒトにより近い脳構造・回路を持つサルを用いて、SCOP を介した概日時計と記憶との関係を明らかにすることを目的とする。

ニホンザル 6 頭を用いて、苦い水と普通の水をそれぞれ飲み口の色が異なる 2 つのボトルにいれ、水の味と飲み口の色との連合学習による記憶効率の時刻依存性について実験をおこなった。各個体あたり、朝/昼/夕の何れかに試験をおこない、学習から 24 時間後にテストを行う。ボトルをセットしてから最初の一口目が正解（普通の水）だった場合にポイントを加算する方式で、6 頭の記憶テスト結果を評価したところ、昼に有意に記憶効率が高いという結果が得られた。さらに、昼の記憶効率の高さに SCOP が関わっているかどうかを確かめるために、6 頭のうちの 2 頭の海馬に SCOP shRNA 発現レンチウイルスまたはコントロールレンチウイルスを投与し、昼の時刻の記憶効率を測定した。コントロールレンチウイルスを投与したサルは、何も投与していないサルの昼の時刻と同程度の記憶効率を示したが、SCOP shRNA 発現レンチウイルスを投与したサルは、著しく記憶効率が低下していた。このテストは各個体につき 5 回おこない、一定の傾向が見られたと判断し、次年度は論文投稿準備と補強データのための実験を行う予定である。

2018-B-61 マカク属における精液凍結保存方法の改善と人工授精技術開発

柳川洋二郎、永野昌志、鳥居佳子(北大・獣医)、黒澤拓斗(畜大・共同獣医) 所内対応者：岡本宗裕

ニホンザルにおいては人工授精(AI)による妊娠率は低く、特に凍結精液を用いた AI による産子獲得例がない。そのため、精液の凍結保存法改善とともに、メスの卵胞動態を把握したうえで AI プログラムの開発が必要である。

ニホンザルの精液凍結については、ドライアイス上 (-80°C) で 0.5ml ストローを凍結した場合に運動性が高かったが -80°C では凍結乾燥などにより長期保存が見込めないため、最終的には液体窒素中で保存する必要がある。そのためにドライアイス上で凍結を実施した後、液体窒素内に保存するまでの工程を検討した。0.5ml ストローに封入しドライアイス上で凍結した精液を液体窒素液面上 4cm または 9cm に静置し温度を下げたのち、液体窒素中に投入した。37°C 湯湯中でストローを融解した後の精子運動性は液面上 4cm のほうが高かったが、液体窒素中に投入することで運動性が顕著に低下していた。

また、効率のかつ計画的に AI を実施するため雌ニホンザルの発情同期化を試みた。21 日間合成プロジェステロン剤 (Altrenogest を 0.44mg/kg/日) をリングにまぶし雌 20 頭に経口投与したところ、投与終了後 4 日目に 13 頭、5 日目に 5 頭、6 日目に 2 頭と 3 日間のうちにすべての個体において月経出血が確認された。同じであった。

2018-B-62 The comparative biomechanics of the primate hand.

William Irvin Sellers (University of Manchester) 所内対応者：平崎鋭矢

This project forms part of our ongoing research into the biomechanics of primates. In the last year we added a new modality to our experimental protocol and measured the pressures acting on the substrate due to the grip the monkey was using. This was combined with our now standard approach of using markerless motion capture to record the kinematics of the fingers during grip. We have improved our methodology in this respect by changing the camera positions and improving the precision of the calibration objects. It is always challenging to incorporate extra information in an experiment and in particular there are difficulties with synchronising the different data streams and spatially aligning the data. We performed a large number of trials on two experimental monkeys due to the requirement for the animal to place his hand cleanly onto the centre of a relatively small pressure sensing mat whilst being filmed with our eight camera setup. Vertical climbing in particular is difficult experimentally because it is almost impossible to get a good view of the experiment and this is something that we are planning to improve upon this coming year. Even so we have reasonable coverage for two tasks: vertical climbing and horizontal walking on 50 mm poles. The challenge is now one of data analysis. The pressure data is in cylindrical coordinates due to being wrapped around the pole and we will need to produce a customised analytical workflow to accommodate this. However we are confident that the combination of techniques will allow us to isolate the contributions due to the individual fingers and other parts of the hand during locomotion which has important implications in terms of the form-function relationship, and will make an important contribution to primate biomechanics. We have presented the initial data at both the European Society for the Study of Human Evolution and the Anthropological Society of Nippon and will be preparing a manuscript for publication this year.

2018-B-63 自律的に歩容遷移を行うマカク四足歩行モデルの開発

長谷和徳、吉田真(首都大・システムデザイン) 所内対応者：平崎鋭矢

本研究では、従来より開発を進めていた関節動態や神経系の運動制御機構などを考慮したマカク類の四足歩行のコンピュータ・シミュレーションモデルに加えて、組み立て式小型ロボットを用いてマカク類の身体力学系を模擬した実機モデルを新たに作成し、実環境におけるロボット四足歩行を実現することで、コンピュータ上のシミュレーション結果を検証し、それらを通して霊長類進化過程における身体運動と力学環境の影響の理解を目指

した。

四足歩行ロボットはサーボモータの性能などを考慮すると、実寸で作製することは困難であったため、相似則に従って相似比 0.65 となるように身体寸法を定めた。全身で 20 関節自由度を有し、各関節にサーボモータを組み込み、先行研究で開発したシミュレーションモデルの歩行時の各関節角度に追従するように各サーボモータを制御した。また、制御回路中の消費電力を測定し、これより歩行のエネルギー効率を求められるようにした。実験では身体の重心位置を前方/後方に変化させ、それぞれについて歩容を前方交叉型と後方交叉型に変更し、歩行のエネルギー効率を調べた。サーボモータの出力限界の問題などをさらに検討し、実機モデル・コンピュータモデル・実際のマカクとの運動の比較検討を今後進める。

2018-B-64 複合ワクチネーションによる SIV の感染防御効果の解析

三浦智行、阪脇廣美 (京都大・ウイルス・再生医科学) 所内対応者：明里宏文

我々は、エイズの原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) の感染モデルとしてサル免疫不全ウイルス (SIV) や、それらの組換えウイルスであるサル/ヒト免疫不全ウイルス (SHIV) のアカゲザルへの感染動態と免疫応答について長年研究してきた。一方、SIV 遺伝子を発現する BCG ベクターとワクシニアウイルスベクターを組み合わせて免疫することにより、SIV の感染防御効果が得られることを示唆する予備の結果を得た。平成 30 年度は、これまでのワクチンを更に改良して細胞性免疫誘導効果が高くなるように工夫したワクチンを作製すると共に、ワクチン評価実験に適した遺伝的背景をもつアカゲザル 3 頭を選定し、ワクチン接種実験を開始した。平成 31/令和元年度に攻撃接種実験を行い感染防御効果を調べる予定である。また、新規に開発した攻撃接種用 SHIV として、臨床分離株と同等レベルの中和抵抗性を有する CCR5 親和性 SHIV-MK38C 株の感染実験を継続解析し、ワクチン評価モデルとしての基礎データを蓄積した。

2018-B-65 ニホンザル二足・四足歩行運動の運動学的・生体力学的解析

萩原直道 (慶應義塾大)、大石元治 (麻布大)、PINA Marta (京都大) 所内対応者：平崎鋭矢

本研究では、ヒト的な直立二足歩行の獲得を妨げる四足性霊長類の運動学的・生体力学的制約要因がどこにあるのかを明らかにするために、ニホンザル四足歩行の運動学的・生体力学的解析を行い、二足歩行と対比することを通して、ニホンザルが二足歩行を獲得する上での促進要因・制約要因を明らかにすることを目的としている。

本年は、ニホンザルに鉛が入ったチョッキを着用させることで身体重心位置を頭側にシフトさせたときの、ニホンザル四足歩行の接地パターンを、トレッドミルを用いて比較・分析した。その結果、分析したすべての個体・速度条件において観察されるわけではないが、diagonal sequence から lateral sequence に接地パターンを変化させる傾向が高まることが観察された。霊長類の四足歩行は、通常 diagonal sequence を採用するのに対して、多くの他のほ乳類は lateral sequence を採用する。この違いを説明する仮説として、重心位置の違いが提案されているが、本研究により、身体重心位置が接地パターンに変化を及ぼしうることが示唆された。

また、ニホンザルの屍体標本から、歩行に関係する主要な筋の速筋線維と遅筋線維の割合を組織学的手法によって求める研究を継続した。

2018-B-66 Genetic characterization of bitter taste receptors in Sulawesi macaques

Kanthi Arum Widayati (Bogor Agricultural University), Yohey Terai (The Graduate University of Advanced Studies) 所内対応者：今井啓雄

Sulawesi Macaques are unique because they are distributed allopatrically with restricted parapatry in the Sulawesi island. While they showed considerable morphological variation among themselves despite that they inhabit relatively small total area, there is no data about their phenotypes that involved in perceiving environmental signals, such as bitter perception. The purpose of this research aims to characterize one of the best-studied bitter taste receptors TAS2R38 in four species of Sulawesi macaques, *Macaca nigra*, *M. tonkeana*, *M. hecki* and *M. nigrescens*. TAS2R38 mediates the perception of the bitterness of phenylthiocarbamide (PTC). So far we found there are polymorphisms in behavior response between four species, where all individuals of *Macaca hecki* are sensitive to PTC while a few individuals of *M. tonkeana*, *M. nigra* and *M. nigrescens* are not sensitive to PTC. The genetic bases of PTC non-sensitive phenotype are different in each species. By direct sequence and functional assay, we confirmed that pseudogenization were caused in PTC non-sensitive in *M. nigra* and *M. nigrescens*, while nonsynonymous amino acid substitutions were responsible for PTC-non-sensitivity in *M. tonkeana*. The mechanism of PTC-non-sensitivity in *M. tonkeana* was similar with human. In human, PTC-non-sensitive phenotype was inversely correlated with sensitivity to bitterness of *Antidesma bunius* fruit. Thus, we expect that PTC-non-sensitive TAS2R38s in *M. tonkeana* are responsible to detect another bitter ligand molecules. More over, we found that one the PTC-non-sensitive haplotype in *M. tonkeana* is shared with *M. nemestrina*. This information will help new findings of receptor binding sites and speciation of Sulawesi macaques.

2018-B-67 Genomic Evolution of Sulawesi Macaques

Bambang Suryobroto (Bogor Agricultural University) 所内対応者：今井啓雄

Sulawesi macaques consist of seven species of genus *Macaca* that allopatrically and endemically in Sulawesi Island,

Central Indonesia. Because Sulawesi Island lays beyond the easternmost boundary of Oriental zoogeographical realm, their ancestor(s) should cross the Wallace Line waterways to reach the Island. The mode of speciation between the seven species is inferred to be speciation with gene flow. In the present research we determined the exonic sequences of two individuals each of all the seven species; that is *M. nigra*, *M. nigrescens*, *M. hecki*, *M. tonkeana*, *M. maurus*, *M. ochreata* and *M. brunnescens*. Taking *M. nemestrina* as outgroup and using the neighbor-joining method of clustering, the data from all synonymous sites of the exome shows that they are monophyletic and the tree topology reflects the geographical distribution of the seven species. The northern species consists of *M. hecki*, *M. nigrescens* and *M. nigra*; the southern species consists of *M. maurus*, *M. tonkeana*, *M. ochreata* and *M. brunnescens*. The calculated length of differentiation is very small so we think that soon after the ancestor migrated to Sulawesi Island they diverged into the seven species. From result of FY 2017, we found that *M. hecki* and *M. tonkeana* had been split at about 50000 generations ago; by assuming generation time of 6.5 year, it coincided with the peak of interglacial period at 325000 years ago (ya). By detecting single nucleotide polymorphism (SNP) within the exons, there is excess of rare variants that indicates an ancient bottleneck event from 387 kya to 345 kya. The event occurred when earth was entering glacial period within which sea surface temperature declined by about 2 to 4 degC and sea levels went down to about -40 to -100 m from present levels.

2018-B-68 大型類人猿の前腕における回内-回外運動機構の機能形態学的解析

大石元治 (麻布大・獣医)、萩原直道 (慶應大・理工) 所内対応者: 江木直子

樹上性ロコモーションや、手の器用さと関連が深い運動の一つに、前腕の回内-回外運動がある。この運動は円回内筋などの前肢筋により橈骨が尺骨を軸にして“回転”する。本研究では未固定の前肢の標本を用いて、前腕骨格の回内-回外運動を再現しながら CT 撮影することにより、回内時と回外時の橈骨と尺骨の相対的な位置関係を観察した。本年度は、チンパンジー1 個体の前腕の CT 撮影を行うことができた。最大回内時、最大回外時の CT データから三次元再構築を行った (図)。得られた三次元骨格モデル上にランドマークを設定して、これらの座標を用いて、前腕の回内-回外運動の可動域を算出した。結果、チンパンジーの回内-回外運動の可動域は約 160 度を示し、Sarmiento (2002)の過去の報告とほぼ一致していた。今後は種数、標本数を増やすとともに、大型類人猿間の定量的や、回外域・回内域の比較を行なっていきたい。

2018-B-69 三次元運動解析を見据えたシロテテナガザルの身体モデルの作成

後藤遼佑 (大阪大院・人間科学) 所内対応者: 平崎鋭矢

本年度は三個体のシロテテナガザル標本の全身の CT 撮像のみを行なった。

当初の計画は、シロテテナガザルの三次元的に解析することを目的として、シロテテナガザルの各種ロコモーションにおける身体セグメントの位置データに対して CT データを重ね合わせる計画であった。従来の運動解析手法では、身体ランドマークの位置を三次元的に計測した場合であっても、解析の段階で矢状面、冠状面、水平面に投影され、最終的には二次元データへと情報量が削減されていたが、この分析により三次元的な運動解析を実現する計画であった。

しかしながら、現時点においては、運動データに対する CT データの重ね合わせは完了しなかった。三個体のシロテテナガザルの CT 撮像は完了したため、今後も継続して解析を行い計画を遂行する。

2018-B-70 ニホンザルが豪雪山岳地域を生き抜く上での温泉活用と戦略

柏木健司 (富山大・院・理工学) 所内対応者: 高井正成

黒部峡谷支流の黒薙川沿いには、河床から温泉が所々で湧出し、その周囲の河床礫は温泉沈殿物で被覆されている。岩盤に掘られた人工トンネルは、湯を送る引湯管トンネルとして活用されている。2016 年 11 月 8 日、河床礫を舐めるニホンザルがビデオに記録され、温泉沈殿物からミネラルを摂取していたと判断した。2017 年 4 月 4 日、引湯管トンネル内でニホンザルの老齢個体の死体を採集した。前年冬季にトンネルに入り死亡した個体と判断した。上記事例を基に研究に着手したものの、十分な成果は得られず、研究手法も合わせ今後の課題となった。

- ・黒薙川河床からの温泉の湧出が十分でなく、2018 年度の観察記録は皆無であった。
 - ・引湯管トンネル内に温湿度ロガーを設置し、気象観測を実施中である。自動撮影カメラは、湿気と湯気のため、設置していない。
 - ・2017 年 12 月 26 日、黒薙川対岸の人工トンネル付近の岩盤に、体を寄り寄せるニホンザルが記録された。温泉により温まる岩盤で、暖を取っていたと判断した。この地点で、2018 年に自動撮影カメラの観察を試みたものの、出水でカメラが水没するなど、データ取得は難しい。なお、昨 12 月より設置中である。
- 4 月以降にデータ回収を予定している。

2018-B-71 色盲サルの皮質応答計測

鯉田孝和、野村健人、三宅修平 (豊橋技術科学大学) 所内対応者: 今井啓雄

霊長類研究所で維持飼育されている 2 色覚サル (色盲サルとよぶ) を利用し、ニューロン活動を計測すること

でS錐体(青黄)色選択性を持つ細胞の比率が3色型と異なるかを確かめる実験を行う。実験は麻酔下で手術中に行う。

本年度は実験に先立って、霊長研の手術室内で神経活動を計測するための装置の整備を行った。手術室に備え付けられていたアースは性能に難があったが、追加で設置するのは困難であった。そこでアース無しでの計測を行うためにAC100V電源を必要としない直流バッテリー駆動型のアンプシステム(INTAN)を導入した。これにより電源由来のハムノイズは生じなくなる。さらに電極をファラデーケージで囲い、近傍から100V電源を十分に離すことで、スパイク応答を記録するのに十分な20 μ V程度の背景ノイズレベルが達成できた。視覚刺激提示と計測システムはノートパソコン2台で構成されるためコンパクトであり、運搬も容易である。繰り返し実験を行うにあたって、実験前後での片付けとセットアップが容易であることも確かめた。次年度は引き続いて、動物を対象とした記録実験を行う予定である。

また本実験に先立って、色盲サルおよび色盲遺伝子のキャリア個体を用いた色覚行動実験の論文執筆を進めた。論文はi-Perceptionにacceptされた。

2018-B-72 サル雌性生殖器官由来幹細胞の分離とその機能解析の試み

保坂善真、割田克彦(鳥取大・農・獣医解剖) 所内対応者:岡本宗裕

実験3年度目は、実験初年度と同様、月経血由来細胞から、細胞性状の解析を解析し、組織細胞への分化を試みる計画であった。月経血は4日間にわたる採取で、のべ6頭、11回の採取を行った。

月経血は採取後速やかに、5%抗生物質/抗菌剤(以下抗生剤)入りのメディウム(MEM alpha)中で2回、洗浄と遠心分離を繰り返し、さらに3%抗生剤入りの培養メディウム中で4 $^{\circ}$ C一晩静置してから、プラスチックプレート上に播種し、細胞はその多くがプレート面に生着した。細胞の増殖を試みるために、FBS濃度を5%、抗生剤を3%に維持して増殖を試みたが、ほとんど増殖せず、すぐに死滅するか、大きく多角形に広がってプレート面に張り付き、増殖性が失われていた。一方、一般的な細胞の培養条件である抗生剤の濃度を1%以下にすると、培地に細菌やカビが発生し、実験を進めることが困難であった。

材料の月経血は、陰部にスポイトを挿入して採取するため、材料への細菌やカビなどの混入は不可避である。比較的高濃度の抗生剤の入るメディウムによる月経血の洗浄によって、実験初年度よりも培地のコンタミネーションの割合は減少した。その一方で、上述したような細胞への影響(培養早期での死滅、形態の変化)が見られるようになり、これらの一部は、抗生剤による影響と考えられた。月経血より細胞を採取し、細胞を安定的に増殖させて分化に至らせることは困難であった。

2018-B-73 成人を対象とした単語認知に関する脳波研究

澤田玲子(特定非営利活動法人 神経発達症研究推進機構) 所内対応者:正高信男

先行研究から、表記されるフォントによって、文字から得られる印象が変わったり、表記方法によって単語の記憶成績に影響があったりすることが知られている。また、ヒトの手によって生成された手書き文字とコンピュータ等によって生成された印字では、文字の処理機構に違いがあることが報告されている。しかし、手書き文字・印字という表記の違いによって生み出される単語に対する主観・意味認識の違い、またその心理メカニズムはわかっていない。これを明らかにするために、本研究では、表記の違いが単語に対する主観にどのような影響を与えるか、また主観の違いを生み出す神経基盤はどのようなものかを明らかにすることを目指している。本年度は、手書き文字・印字で表記された単語を呈示し、単語によって喚起される感情や単語に対して感じる自己関連性について、その程度を9件法で評価してもらった。その結果、印字に比べて、手書き文字で表記されたときに強く感情が喚起されることが示された。また、ポジティブ感情を喚起する単語では、印字に比べて手書き文字で表記されたとき、高く自己関連性を感じることもわかった。このように手書き文字・印字といった表記の違いが、単語に対する主観に影響を及ぼすことが確認された。今後、このような差異をもたらす神経基盤を明らかにすることを目指す。

2018-B-74 野生ニホンザルの個体数抑制技術の開発

東村博子、上野山賀久(名古屋大・院・生命農学)、松田二子、真方文絵、迫野貴大(東京大・院・農生命) 所内対応者:鈴木樹理

雄ニホンザルにニューロキニンB受容体(NK3R)拮抗剤を投与し、血中薬剤濃度の変化を検討するとともに、血中テストステロン濃度および精巣の組織学的変化を指標としてその繁殖抑制効果を検証した。繁殖期の雄ニホンザル2個体(実験個体)にNK3R拮抗剤SB223412の粉末を充填したシリコンチューブを、1個体(対照個体)に同形状の空のチューブを皮下インプラントした。インプラントは71日間維持し、その後摘出した。

インプラント前に1回、インプラント後から2週間は2日に1回、その後1週間に1回、チューブ摘出時に1回、計16回の採血(1mL/回)を行った。血漿を分離し、血漿中薬剤濃度をLC/MS、血漿中テストステロン濃度をEIAにて解析した。その結果、血漿中薬剤濃度は実験個体においてチューブ移植後2日目から21日にかけて増加し、血漿中テストステロン濃度は56日目以降において実験個体が対照個体より低い傾向が見られた。

また、インプラント前に1回、その後2週間に1回、チューブ摘出時に1回、計6回の陰嚢の体積測定および精

巢組織生検(2mm角/回)を行った。精巣組織はブアン固定後に薄切しHE染色を行った後、光学顕微鏡で観察した。その結果、陰嚢体積、精巣組織像および各精細管の精子形成ステージに実験個体と対照個体との顕著な差異は見られなかった。

2018-B-75 ヤクシマザルにおける個体間の社会関係が抱擁行動の方向性に与える影響

田伏良幸(京都大・理・人類進化論) 所内対応者: 半谷吾郎

今回屋久島でヤクシマザルの Umi-A 群を対象に社会関係と抱擁行動の方向性について調査した結果、ヤクシマザルは2個体間で行われる抱擁行動は7パターン見つかり、先行研究よりも多様なパターンで抱擁行動をしていることが明らかとなった。年齢区分を分けてみると、未成熟個体(コドモ・アカンボウ)の方が成熟個体(オトナ・ワカモノ)よりも正面同士で行われることが多くみられた。未成熟個体の抱擁行動の相手は母親やきょうだいなどの同一家系の個体と同年齢個体が全体の73%を占めた。未成熟個体が正面同士以外のパターンになる場合は、未成熟個体ではなく、成熟個体の側が主体的になって正面以外の向きから抱きついてきた。また、成熟個体は、未成熟個体よりも抱擁行動の方向のパターンが多様になることが明らかとなった。これらのことから、抱擁行動の向きは成長に伴って多様になっていく可能性が示唆される。オトナになると、社会関係に応じて抱擁行動の向きのパターンを変えるようになるのかもしれない。この研究結果は、『ヤクシマザルの抱擁行動—成熟個体と未成熟個体の比較—』というタイトルで、修士論文としてまとめた。

2018-B-76 ヤクシマザルの頬袋散布種子の二次散布と糞虫相調査

松原幹(中京大学) 所内対応者: 辻大和

3月にヤクシマザルが採食し、頬袋散布したバリバリノキの種子を拾い集め、シカ除けカゴやネズミ除けカゴ、虫除けカゴ内に安置し、種子の消失率と種子食のために訪問する動物の調査をおこなった。4月中旬現在、カメラトラップ5台が稼働中で、月末に撮影データを回収し、1ヶ月後の種子残存率や発芽率を確認する。実験区設置から半年後の2019年度9月に実験区内の種子残存率と発芽率を確認する予定である。糞虫相調査として、ヤクシマザルの糞を使った昆虫トラップを5か所に1週間設置し、ヤクシマルリセンチョコガネ2匹を採集した。3月中旬から下旬にかけての春の糞虫出現状況についての報告は屋久島西部林道では本研究が初めてで、糞虫の活動開始時期は3月中旬以降と推測された。

2018-B-77 飼育下霊長類における採食エンリッチメントの分析と検討

落合知美(武庫女・バイオ研)、川出比香里(宇部市ときわ動物園) 所内対応者: 林美里

動物は、その生息地で得られる食べ物の種類や量、分布などに合わせ、形態や生態を適応させ、進化してきた。そのため動物の種ごとに、餌となる食べ物や採食回数、採食方法などは異なる。しかし動物園での給餌は1日1~数回であり、餌の種類は人間社会の中で手に入る食べ物の中から選ばれている。特に霊長類においては、「サル=バナナ」のイメージが強いためか、バナナなどの果実を中心とした餌が与えられることが多い。そこで本研究では、動物園で飼育するシシオザル(*Macaca silenus*)とトクモンキー(*Macaca sinica*)を対象に、餌の改善(糖質を抑え、繊維質を高めるなど)を中心とした採食エンリッチメントを実施し、その評価を試みた。

採食エンリッチメントを実施する前は、シシオザルでは日常的な下痢、痩身、毛並みの悪さが、トクモンキーでは給餌時の個体間の争いと各個体の体重差が観察されていた。そこで給餌回数を増やすとともに、餌の内容の検討をおこなった。餌は、果物を段階的に野菜に変えるなどして、細かい試行錯誤を繰り返して、最終的には果物を野菜で置き換え、野菜も根菜類から葉物野菜を増やし、ペレットを変更(サル用ペレットからリーフイーター用ペレットに変更)した。これらの変更で改善が感じられたため、体重の変動や観察記録、写真などの記録から、定量的な評価を試みた。

その結果、極端に体重差が見られたオトナオス2個体の体重の偏りが少なくなった。また、嗜好性の高い餌を減らすことで餌をめぐる闘争が減少し、採食時間が延長した。糞便の状態が良くなり、毛並みも良くなった。これらの結果について、学会発表をおこない、たくさんのアドバイスを受けることができた。今後、より科学的な分析をおこなうとともに、野生での行動や生態についてより詳しい情報を集め、論文にまとめていく予定である。

2018-B-78 ニホンザル絶滅危惧個体群を広域管理するために必要な遺伝情報の検討

森光由樹(兵庫県立大・自然環境研/森林動物研究センター) 所内対応者: 田中洋之

兵庫県内のニホンザルの地域個体群は、美方、城崎、大河内・生野、船越山、篠山の5つに分けられている。最も絶滅が危惧されている美方地域個体群として美方A群とB群の2群が生息していた。しかし美方A群が2017年夏、鳥取県八頭町へ長距離移動した。(直線距離で最大37km移動した)。その後、この群れは捕獲されたため絶滅した(森光ほか2018)。現在、美方地域個体群としては、美方B群のみが生息している。2018年のカウント調査では、12頭の生息が認められた。そのうち成獣メスは、3頭であった。成獣メスの頭数を指標にレスリー行列モデルによるモンテカルロシミュレーション(坂田・鈴木2003)を用いて絶滅確率を計算したところ、20年後の美方B群の絶滅確率は34%まで上昇した。近畿地方北部から中国地方北部(兵庫県北部から、鳥取、島根県東部まで)は、ニホンザルの分布情報はなく、保全すべき地域個体群の抽出が重要である。成獣メス3頭の群れの遺伝的多様性のモニタリングを引き続き行いながら、広域管理にかんする情報の整理と管理手法の策定が緊

急の課題となっている。

2018-B-79 霊長類における絶滅危惧種の保全技術の確立

佐々木えりか、井上貴史、黒滝陽子、石淵智子、高橋司（実験動物中央研） 所内対応者：中村克樹
本研究では対象個体1頭で実施した。9回の採血を行い(表1) 血漿プロゲステロン濃度と、一部エストラジオール濃度の測定を実施した。7月にプロゲステロン値の動きがないために妊娠を疑い、妊娠診断エコーを実施したところ、7月30日に妊娠が確定した(図1)。子宮を還流して胚を採取することができなくなったため、採卵手術は一旦中止して経過観察をおこなった。12月4日に流産を確認して、12月10日より採血を開始した。数少ない採血の中で、排卵シグナルを検出したかったため、血漿中のプロゲステロンとエストラジオールを測定してタマリンの性周期を管理した。エストラジオールの値が上昇したため妊娠を疑い腹部エコーを行ったところ、再度12月27日に妊娠が確認された。1月8日に腹部エコーを行ったところ流産が確認され、採血を再開した。経時的な採血の結果から、過去にタマリンの黄体期では最高40 μ g/mlの血漿プロゲステロン濃度が確認されていたが、対象個体では最高で30.1 μ g/mlのプロゲステロン濃度しか確認できなかった。したがって、対象個体は老齢のため黄体期が維持されずに流産してしまう可能性が示唆された。黄体期が不明な状態の排卵予測は難しかったが、排卵を予測して1月24日に対象個体の採卵を実施した。その結果タマリン胚は得られなかったが、子宮灌流にて得られたタマリンの子宮内膜を初代培養して(図3)その後凍結保存した。その後、対象個体の体重がピーク時に比べて(図4)減少してしまったため(404g)、採血、採卵を中止することとし、本研究期間が終了した。本研究を通して、タマリンの受精卵もコモンマーモセットと同様に非侵襲的に得る事が可能であることが示され、今後、稀少種である新世界ザルの遺伝資源の保全に有用であることが示された。

2018-B-80 口腔における感覚受容機構の解明

城戸瑞穂、西山めぐみ、曹愛琳(佐賀大・医) 所内対応者：今井啓雄
口腔は鋭敏な器官である。適切な口腔感覚は、哺乳類において哺乳・摂食・情報交換など多様な行動の基盤となっている。しかし、その機構についての理解はまだ限られたものである。私たちは、(狭義の)味覚とされる甘味・塩味・酸味・苦味・うまみ以外の口腔内の感覚、とくに、温度感覚や唐辛子や胡椒などのスパイスなどのへ感覚、触圧感覚などの機構の解明を目指し、こうした広義の味覚とされる感覚の分子基盤として、TRPチャンネル(transient receptor potential channel)を想定し研究を進めてきた。そして、口腔粘膜上皮に、温度および機械受容への関与が報告されているTRPチャンネルが機能的に発現していることをラット、マウスおよびヒトを対象に明らかにしている。そして、マウス、ラット、ヒトの間で、発現しているTRPチャンネルや、発現の量に多様性があることが分かった。そこで、ヒトにより近いサルにおける発現および機能的側面を調べ、これまでに得た結果と比較することで、口腔感覚の理解を深めることを目的とし、温度感受性及び機械刺激感受性チャンネルのタンパクレベルの発現解析を行った。
深麻酔下で生理食塩水により脱血し、4%パラホルム含有リン酸緩衝液にて灌流固定を施した動物から口腔粘膜を採取し4%パラホルム含有リン酸緩衝液にて浸漬固定した。その後、固定液をショ糖リン酸緩衝液にて置き換えた後、凍結切片を作製し、免疫組織学的染色を施した。特異的抗体の条件を検討したところ、一部特異的と思われる染色様式が認められたが、非特異反応との十分な分別には到らなかった。今後切片の処理法を検討することで良い結果に繋がりたいと考えている。

2018-B-81 コモンマーモセットにおける表情解析手法の確立

牟田佳那子(東京大・院・農)、太田裕貴、岡野ジェイムス洋尚(慈恵大・院・医)、外丸祐介、信清麻子(広島大・実験動物施設) 所内対応者：宮部貴子
申請者らはコモンマーモセットの疼痛に関連した表情の解析を実施しており、昨年度は表情筋の解剖学的調査と実際の表情変化の解析を行った。表情筋の解剖学的調査に関して、当初死亡個体を解剖し表情筋の走行を確認する予定であったが、極めて薄く複雑に走行している表情筋の解剖には熟練した技術を要し、少ない個体数での詳細な解析は困難と判断した。このため予定を変更し、磁気共鳴画像装置(MRI)を用いて筋繊維の拡散テンソル画像(DTI)を描出することで筋走行の描出を試みた。DTIは水分子の拡散度と拡散方向を計測し、神経細胞の走行の描出に用いられる技術である。申請者らは死亡個体の頭部を撮像し表情筋の走行画像を得た(図1)。実際の表情変化解析に関して、幾何学的形態測定学の手法を用いて表情の変化を調査した。開腹手術を受ける個体を対象に、手術直前および術後1日目の顔面の正面画像に48個のランドマークを設置(図2)、術前と術後でこれらの位置の違いを統計学的に検討した。その結果、耳元と口元に有意な変化を認めた(図3)。これらはラットや猫といった他の動物種と類似した結果であった。いずれの解析においても昨年度中には十分な個体数が確保できなかったため、継続して解析を進める予定である。

2018-B-82 Absorption and bioavailability of gum's compounds used by marmoset in field and laboratory conditions

Leonardo Cesar de Oliveira Melo, Maria Adelia, Anisio Francisco (Federal Rural of Pernambuco University) 所内対応者：今井啓雄

The marmosets (*Callithrix* spp.) are an obligate gum eater (exudativore). Their morphological, physiological, behavioral

and genetic traits are extremely adapted to gum foraging and feeding. However, marmosets in captive colonies have not been fed with gum resources enough (i.e., fruit-based diet, like other primates). Recent effort of animal welfare and environmental enrichment in captive colonies including Japan Monkey Centre (JMC) has changed the diet menu to “natural” repertoire using Arabic gum (*Acacia senegal*, Fabaceae), which is easily available in the food supply. Arabic gum led to positive improvements of the marmoset behavior and health. However, Arabic gum is native to Sub-Saharan Africa, where is not a natural habitat of marmosets, that is, south America. In this study, we aim to replicate the more natural diet condition in captive marmosets. Adult captive common marmosets (*C. jacchus*) in JMC have everyday eaten 3 g dried Arabic gum. We selected two Brazilian gum species “barauna” (*Schinopsis brasiliensis*, Anacardiaceae) “angico” (*Anadenanthera peregrina*, Fabaceae) and fed 2 JMC common marmosets with these gum species. We recorded their feeding behavior using video camera and collected feces for microbiome analysis. We first supplied barauna for 7 days, put interval (basically Arabic gum) for 14 days, then supplied angico for 7 days, and finally reverted Arabic gum feeding. One marmoset eventually accepted both barauna and angico, but another did not all the gum. Food choice tests also supported gum species and individual difference of diet preference. In conjunction with further analysis of behavior recoding, we are going to analyze microbiome fluctuation related to the supplied gum change because gum is a major recourse of fiber digested by gut bacteria. These results will be an important reference to improve captive marmoset welfare.

2018-B-83 サルフォーミーウイルスから見るニホンザルの種分化分析

宮沢孝幸、金村優香、橋本暁、小出りえ、北尾晃一（京都大・ウイルス再生研） 所内対応者：岡本宗裕

本研究課題「サルフォーミーウイルスから見るニホンザルの種分化分析」では、日本全国に棲息するニホンザルから非病原性レトロウイルスである SFV(サルフォーミーウイルス)を網羅的に分離し、ウイルス遺伝子の多様性を調べる目的で行った。各地に棲息するニホンザル等の口腔内スワブより SFV の遺伝子をポリメラーゼ連鎖反応により増幅し、遺伝子解析を行った。その結果、ニホンザル由来の SFV はアカゲザル由来の SFV と特に近縁であるが、独自の配列をもっていることが新たに分かった。

また、本研究課題の目的であるウイルス遺伝子配列の多様性を調査する一環として、SFV の long terminal repeat (LTR)と呼ばれる繰り返し配列についての調査も行った。SFV の LTR は同ウイルスの他の遺伝子に比べ保存性が低い事が知られている。ニホンザル由来の SFV の LTR の独自性を調べるため、SFV に持続感染している細胞の RNA を抽出し、次世代シーケンシング解析を行った。その結果、ニホンザル由来の SFV に感染している細胞では特有のマイクロ RNA が発現していることが解析により判明した。以上のことから、本研究課題によりニホンザル由来の SFV がもつ多様性についての理解が一層深まった。

2018-B-84 肉眼解剖学に基づく霊長類腹鋸筋の機能とその系統発達

緑川沙織、時田幸之輔（埼玉医大・保健・理学療法） 所内対応者：平崎鋭矢

ヒト肩帯筋の形態的特徴を明らかにすることを目的とし、チンパンジーとリスザルの腹鋸筋(SV)、肩甲筋(LS)、菱形筋(Rh)の筋形態と支配神経を調査した。これら3筋は、肩甲骨内側縁に停止する筋である。SV はチンパンジー、リスザルとも上位10肋骨程より起始していた。SV 支配神経はチンパンジーで C5-7、リスザルで C6,7 であった。LS はチンパンジーで C1-4 横突起、リスザルで C1-5,6 横突起より起始していた。支配神経は、チンパンジーで C3,4、リスザルで C4,5 であった。Rh は、チンパンジー・リスザルとも C5-Th4 棘突起より起始するほか、リスザルでは後頭骨より起始する筋束がみられた。支配神経は C4,5 が分布し、リスザル後頭骨起始部には C3 が分布していた。チンパンジーSV・LS・Rh は、筋形態・支配神経ともヒトと類似しており、類人猿に共通した形態であることが示唆される。一方リスザルは、各筋の支配神経分節がヒト・チンパンジーと異なるほか、Rh 後頭骨起始部を持つ点が異なる。Rh 後頭骨起始部を持つ種は、カニクイザル・マーモセット・ブタ胎仔等があり、四足歩行を移動様式とする種に共通した形態である可能性が示唆された。

2018-B-85 霊長類の運動適応と胸郭-前肢帯配置

加賀谷美幸（金沢医科大） 所内対応者：濱田穰

肩甲骨は胸骨に関節する鎖骨とのみ関節し、胸郭の表面に配されており、その配置は、前肢の可動性に影響しうる。本年度は、所内のテナガザル生体および大型類人猿ネットワーク(GAIN)により利用機会を得たチンパンジー冷凍標本を背臥位にて CT 撮影し、過年度までに撮影した他種と前肢帯骨格の位置を比較した。ニホンザルやヒヒの胸骨頸切痕は頸椎と胸椎の境界レベル付近にあるが、テナガザルとクモザルではより尾側にあり、およそ第3-4胸椎レベルであった。チンパンジーやオマキザルは中間的であった。胸骨の位置がより尾側にあると頭部と胸部の間で鎖骨や肩甲骨上腕関節がとりうる範囲を大きくでき、前肢の可動域を拡大すると考えられる。チンパンジー標本を三次元座標計測したところ、前方への前肢最大挙上位では肩甲棘が体の長軸に平行になるほどに肩峰が内側かつ背側に移動し、鎖骨は胸鎖関節からほぼまっすぐ背側に向かって肩峰に達し、肩甲骨関節窩が頭側に向けられていた。これに対応する肢位での肩甲棘角度は、テナガザル冷凍標本ではチンパンジーと同様に 170 度程度、ニホンザルやヒヒ、オマキザル、クモザルではおよそ 140~160 度の範囲であった。

2018-B-86 霊長類一口腔内細菌叢の共進化の自然史

矢野航(朝日大・歯) 所内対応者：早川卓志

国内外霊長類の唾液を採取し DNA 抽出後、次世代シーケンサーによる口腔内細菌叢検索を行い宿主生態との関連を探索した。以下の結果を得て学会発表等を行った。

1. 日本モンキーセンター飼育のレッサースローロリスの歯周病関連口腔細菌叢の検索
JMC で飼育されているレッサースローロリスのべ6頭から、口腔内外の湿性試料を採取し霊長研所蔵の次世代シーケンサー(MiSeq, Illumina)を用いて細菌叢を比較した。レッサーロリスの口腔細菌叢から歯周病に関連すると思われる新規株を検出した(図 1)。本研究結果は現在投稿準備中である。
2. ウガンダ共和国カリンズ森林で同所的に生息する霊長類の口腔細菌比較
ウガンダ共和国カリンズ森林保護区に同所的に生息する 5 種の霊長類の食物残渣付着唾液から DNA 抽出し次世代シーケンサー(MiSeq, Illumina)を用いて細菌叢を比較した。細菌叢全体ではチンパンジーが多種と大きく異なるパターンを示し、残りの 4 種も類縁だがそれぞれ異なるパターンを示した(図 2)。本研究の結果は 2018 年度に日本霊長類学会(東京)、歯科基礎医学会(博多)で発表した。

2018-B-87 アカゲザル iPS 細胞の免疫細胞への分化

金子新(京都大・iPS 細胞)、塩田達雄・中山英美(大阪大・微生物)、三浦智行(京都大・ウイルス)、入口翔一(京都大・iPS 細胞) 所内対応者：明里宏文

前年度までに報告していたアカゲザル由来 iPS 細胞ならびに同 iPS 細胞の血液分化能を検証するために、T 細胞分化能に加えてマクロファージ分化能を *in vitro* で検討した。iPS 細胞から誘導されたマクロファージは FACS 解析で CD11b(+) \cdot CD14(+) \cdot CD68(+) \cdot CD86(+) \cdot CD163(-)であることから M1 タイプのマクロファージであると考えられた。実際、これらの iPS 細胞由来マクロファージを大腸菌 particle と共培養すると大腸菌 particle を貪食した。また HIV/SIV の感染受容体でもある CD4 に加えて CCR5 \cdot CXCR4 の発現も認められ、実際にこれらのマクロファージは一時的に SIV に感染しウイルス産生を認めたため、同アカゲザル iPS 細胞から誘導した造血幹細胞に由来する免疫細胞は SIV 感染ならびに感染防御モデルを構築する材料として十分な性質を持つことを確認した。

引き続き、感染防御能の付与を目的としたゲノム編集実験にも取り組んだ。アカゲザル iPS 細胞のゲノム編集は非常に効率が悪いが、条件検討を繰り返しゲノム編集の効率が改善した。今回我々は SIV 感染の副受容体の一つと考えられている CCR5 をターゲットにした CCR5 ノックアウト iPS 細胞を作成している。今後、CCR5 ノックアウト iPS 細胞から誘導したマクロファージに SIV 感染抵抗性が生じるか否かを *in vitro* および *in vivo* で評価する予定としている。

2018-B-88 マーモセット疾患モデルを用いた神経回路障害ならびに分子病態の解析および治療法の開発

岡澤均、陳西貴、田川一彦、藤田慶大(東京医科歯科大) 所内対応者：中村克樹

マーモセットの神経疾患モデルをウイルスベクターを用いて作出し、神経回路の変性や病態解明、さらには治療法の開発を目指す研究である。東京医科歯科大学で4頭のマーモセットに空間記憶課題を訓練し、ウイルスベクターを注入する前のデータを取得した。霊長類研究所では、すでに4頭の訓練と事前のデータ取得を終えている。今後、ウイルスベクターを注入し、疾患モデルを作出して、神経回路や認知機能の変化を明らかにする。

2018-B-89 Taxonomic Efficacy of the Macaque Skeleton

Brittany Kenyon, Noreen von Cramon-Taubadel, Stephen Lycett(University at Buffalo) 所内対応者：伊藤毅

The purpose of my project is to determine whether or not skeletal variations aid in taxonomic assessment of primates and to what extent these variations can determine species-level taxonomy. Secondly, I am exploring if these variations are most likely caused by diet, locomotion, or climate. To do this, I am collecting 3D scans of skeletal elements of several species of macaques, given that macaques have the widest geographic range of any primate aside from humans and wide behavioral differences between species.

Final analysis will not be complete until May 2020, though preliminary analysis suggests that the scapula and os coxa may be better taxonomic indicators than previously thought. In a MDS (multidimensional scaling) test based on Procrustes matrices, the scapula is actually the best taxonomic indicator, which is surprising since previous research has shown that the cranium best indicates taxonomy. Further analysis will elucidate these findings and aid in explaining what is driving these morphological differences between species. An even number of males and females are being tested, and it does appear that the female os coxa predicts taxonomy better than the male os coxa, which will also be explored in further testing.

2018-B-90 ニホンザルのコドモにおける家系順位に反する優劣交渉の要因

熊谷美樹(京都大・院・理) 所内対応者：半谷吾郎

ニホンザルは母系で順位を継承するが、まれにコドモ同士で家系順位に反する優劣交渉が観察される。本研究は、このような交渉を逆交渉と定義し、量的な解析からその要因を明らかにすることを目的とした。宮崎県幸島

に生息するニホンザル餌付け群のコドモを対象に、餌撒き時の優劣交渉を観察した。そして GLMM 解析にて個体間関係が逆交渉に及ぼす影響について調べた。すると、逆交渉には劣位な家系の個体が優位な家系の個体より体重が重いことが影響していた (表 1)。また、多重比較の結果、交渉した 2 個体のうちオスが劣位な家系のペアは、メスが劣位な家系のペアより逆交渉が起りやすく、さらに劣位な家系の個体がメスのとき、相手がオスの場合より相手がメスの場合に逆交渉になりやすいことが分かった (表 2)。次に、参加個体が起こす優劣行動にはどのような要因が効いているのか調べた。すると敗者の悲鳴は、勝者がより重いほど生起していた (表 3)。体重の軽い個体はより重い個体と相対したときに、さらに体の大きな第三者の援助を要請するべく悲鳴をあげるのかもしれない。また、悲鳴はメスがオスに負けるとき、メスに負けるときより多く発せられており (表 4)、メスはオスと 1 対 1 で戦うことを避けている可能性が考えられる。優劣交渉の形成には敗者側による劣位的なふるまいが貢献しているようである。本研究の結果から、その他要因の効果を統制した上でも体の大きな個体とオスが逆交渉の成立において有利であるという新たな知見を得ることができた。

2018-B-91 霊長類後肢骨格の可動性

佐々木基樹 (帯畜大・畜産) 所内対応者: 平崎鋭矢

これまでにニシローランドゴリラ 3 個体、オランウータン 2 個体、チンパンジー 4 個体の後肢の CT 画像解析をおこない、第一趾の可動状況を観察してきた。第一趾を最大限伸展させた状態で CT 画像撮影をおこない、得られた CT 断層画像データを三次元立体構築して第一中足骨と第二中足骨がなす平面上におけるそれら中足骨のなす角度をソフト上で解析した結果、平均でオランウータン約 104 度、ニシローランドゴリラ約 73 度、そしてチンパンジーで約 52 度であった。今回、類人猿以外の霊長類であるニホンザルの第一趾の可動状況を観察して、第一中足骨と第二中足骨がなす平面上のなす角度を計測した。計測の結果、ニホンザルの第一中足骨と第二中足骨がなす角度は約 47 度で、これまで計測した類人猿の値よりも小さかった。今後、検体数を増やすことで精度を上げ、さらに、他の類人猿 (テナガザルやボノボ) を含む多くの種の霊長類の後肢の解析をおこなうことで、観察された中手骨間の角度の違いを考察していきたい。

2018-B-92 マーモセット幼若精細管のマウスへの移植後の精細胞発生の観察

小倉淳郎、越後貫成美 (理研バイオリソース研究センター) 所内対応者: 中村克樹

最近我々は、顕微授精技術を用いることにより、マーモセット体内で自然発生した生後 11 ヶ月齢の未成熟精子 (伸長精子細胞) から産仔を獲得した。そこで本研究では、さらに早期に顕微授精を行う可能性を検討するために、性成熟の早いマウスへ新生仔マーモセット未成熟精細管を移植し、精原細胞から精子・精子細胞発生が加速するかどうかを確認する。昨年度 (2017-B-30)、4 ヶ月齢雄マーモセットの片側精巣を採取し、去勢 NSG マウスの腎皮膜下に移植を行った。今年度、移植から約 3 ヶ月後に組織を回収して組織学的観察を行った結果、初期円形精子細胞までの発生を確認した。生体下での円形精子細胞の出現は 10-11 ヶ月なので、異種移植を行うことにより 3-4 ヶ月ほど精子発生が加速した結果が得られた。

C. 随時募集研究

2018-C-1 サルの脅威刺激検出に関する研究

川合伸幸、邱カチン (名古屋大・院・情報学) 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は生得的なものか経験によるものか長年議論が続けられてきた。我々は、ヘビ恐怖の生得性は認識されていることを示すために視覚探索課題を用いて、ヒト幼児や (ヘビを見たことのない) サルがヘビの写真のほかの動物の写真よりもすばやく検出することをあきらかにし、ヒトやサルが生得的にヘビに敏感であることを示した。しかし、どの程度まで早くヘビを認識できるかは不明であった。そこで、ニホンザルがヘビを他の動物より早く見つけられるかを視覚探索課題において、短時間で刺激にマスクする実験を行い検討した。その結果、少なくとも 2 頭のサルは 0.1 秒の提示時間であっても 9 枚の動物の写真の中から孤立項目であるヘビの写真を正しく検出した。そしてその成績はクモの検出精度よりも高かった (なお、1 頭は実験継続中であり、1 頭は反応時間を測定できるまで訓練ができなかった)。これらの結果は、サルはわずか 100 ms でヘビをできることを示しており、ヘビ検出理論を指示するものである。

2018-C-2 次世代心臓分子画像診断法の開発

樋口隆弘、平野満、能勢直子、塩谷恭子 (国立循環器病研究センター) 所内対応者: 中村克樹

アカゲザル 5 頭を用いて、F18 標識のノルエピネフリントランスポーターをターゲットにした新規 PET トレーサー候補 2 種類の分布及び心臓での動態を検討した。同トレーサの体内分布は、ラット、ラビット、ミニブタでも検討していたが、種による分布、特異度に差が大きく、今後のヒトでの臨床応用に際して非常に有益な情報が得られた。

2018-C-3 福島原発災害による野生ニホンザル胎仔の放射線被ばく影響

土屋萌 (日本獣医生命科学大学) 所内対応者: 鈴木樹理

2011 年 3 月 11 日に起きた福島第一原発事故に伴い、周辺に生息する野生ニホンザルはヒト以外の野生霊長類