

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

において世界で初めて原発災害による放射線被ばくを受けた。放射線被ばくによる健康影響は数多く報告されており、胎子の小頭化や成長遅滞もその一つである。本研究では、被ばくしたサルの子世代への影響を調べるため、震災前後における胎子および新生仔の脳の病理組織像について比較した。

脳の組織標本は、2012年～2018年に捕獲された福島市のサルを用い、2012年に青森県下北半島で捕獲されたサル、2018年に福島県猪苗代町で捕獲されたサル、京都大学霊長類研究所にて採材されたサルの脳を比較対象とした。それぞれにHE染色・免疫染色・PAS染色を行った。

脳の免疫染色では、福島市のサルにおいて星状膠細胞には数珠状の構造物が顕著に見られた。破壊像は見られなかったことから、脳の成長過程で何かしらの異常が起きている可能性が示唆された。

2018-C-4 同所的に生息する旧世界ザルにおける苦味受容体機能の解明

橋戸南美、松田一希（中部大学・創発学術院） 所内対応者：今井啓雄

アフリカのキバレ国立公園に同所的に生息するオナガザル科7種を研究対象としており、本年度はアカコロブス、アビシニアコロブス、ベルベットモンキーの3種（各1個体）について約30種類の全苦味受容体遺伝子（TAS2R）の配列を決定した。アカコロブスでは5種類のTAS2Rで種特異的な偽遺伝子化が生じており、他種に比べて苦味受容体遺伝子数が少なかった。また、アカコロブスやアビシニアコロブスは、 β グルコシドの一種で毒性の高い青酸配糖体を含む葉を食べることが報告されている。そのため、 β グルコシドを受容するTAS2R16に着目して、細胞アッセイによる受容体機能解析を行った。 β グルコシドの一種であるサリシンに対するTAS2R16の反応性を調べたところ、アビシニアコロブスのTAS2R16はアカコロブスやベルベットモンキーに比べて、有意に反応性が低いことが明らかになった。他の β グルコシドの物質でも同様に反応性を調べたところ、物質によって3種間で反応性に違いがみられた。以上の結果について、第34回日本霊長類学会大会で口頭発表を行い、成果を報告した。

次年度は、同所的に生息する他の種についても同様の解析を行い、生息地を共有しながらも異なる食物レパートリーを示す背景について苦味受容体の機能差の観点から考察を深める予定である。

2018-C-5 霊長類細胞におけるDNA損傷応答・細胞老化の解析

小林純也（京都大・院・生命科学科） 所内対応者：今井啓雄

放射線をはじめ様々な環境ストレスでゲノムDNAは損傷を受けるが、正常な遺伝情報を保つ（ゲノム安定性）ために生物は損傷したDNAを修復する能力を持つ。しかし、このような修復能力は加齢により減退し、その結果、DNA損傷が蓄積し細胞老化が起これると考えられる。一方で、遺伝子は常に正確に修復・複製されると進化に必要な遺伝子の多様性がうまれないことから、修復・複製の正確度にはある程度の幅があって、ゲノム安定性と遺伝的多様性の間でバランスがとられている可能性がある。このようなDNA損傷応答能・修復能と細胞老化、ゲノム安定性・遺伝的多様性の関係を探るために、本研究ではヒトを含む霊長類繊維芽細胞でDNA損傷応答能の差異を検討することを計画し、平成28年度から共同利用・共同研究を開始した。

平成30年度研究では霊長類研究所から提供を受けた細胞のうち、アカゲザル由来正常繊維芽細胞を用い、ヒト正常繊維芽細胞と比較するとともに、SV40トランスフォーム細胞でアカゲザルと同じく旧世界ザルに由来するCOS7細胞をヒトトランスフォーム細胞と比較した。正常繊維芽細胞とトランスフォーム細胞ともにこれら種間で放射線照射後のATMキナーゼの活性化、及びDNA修復関連因子の初期応答に差異は認められなかった。一方、DNA複製阻害によって発生する複製ストレス時に活性化されるATRキナーゼについては、トポソメラーゼ阻害剤であるカンプトシン処理時にこれらキナーゼ阻害剤を用いて検討すると、この時のATRの活性化に旧世界ザル由来細胞でのみ、部分的なATM依存性が認められた。これは放射線照射時のATR活性化でも同様であった。これらの結果からヒトと旧世界ザル細胞ではATRキナーゼの活性化機構、さらには複製ストレス応答機構に違いがあることが示唆される。

2018-C-6 ニシフーロックテナガザルの新規ゲノム配列決定

辰本将司、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：今井啓雄

小型類人猿であるテナガザル類は、4属18種より構成され、形態形質（毛色多型、歌のレパートリーなど）や分子（核型）の多様性に極めて富んだ分類群であるが、大型類人猿に比べて研究の進展が遅れている。ゲノム研究においても大型類人猿のゲノムは全ての属に関してすでに参照ゲノム配列が決定されているが、テナガザル類に関しては、クロテナガザル（*Nomascus*）属の参照ゲノムしか決定されておらず、テナガザル類の進化的多様性を考慮した場合、その他のテナガザル属のゲノム配列を新規に決定する必要性は、テナガザル類の研究の進展に果たす役割として大変重要であると考えられる。本研究では、テナガザル類の中でも極めて生息数の限られているニシフーロックテナガザル（*Hoolock hoolock*）の新規全ゲノム配列を決定することを目的とする。1頭の全ゲノム配列を決定することで、過去の1万年～数百万年のフーロックテナガザルの集団動態（集団サイズの増減の変遷）や遺伝的多様性に関する情報が得られるため、テナガザル類の基礎的な研究のみならず、保全生物学にも貢献できるデータを提供することが可能となる。

新規ゲノム配列を決定するために、超長鎖（理想的には平均100kb以上）のDNAの抽出の必要があったため、霊長類研究所資料委員会保有のニシフーロックテナガザル由来の繊維芽細胞を対象とし超長鎖DNAを抽出した。

抽出した DNA から新規ゲノム解析ライブラリ作製装置 (10X Genomics 社 Chromium システム) を用いたゲノムライブラリ作製, イルミナ社 HiSeqX 型シーケンサーを用いて配列の決定を行った. 新規ゲノムのアセンブルをした結果, ゲノムのつながりの良さを示す scaffold N50 長が, それぞれ 27.9Mb という良質なゲノム配列を得ることができた.

2018-C-7 霊長類細胞における染色体反復配列領域の機能解析

加納純子 (大阪大・蛋白質研) 所内対応者: 古賀章彦

真核生物の線状染色体末端には, テロメアと呼ばれるドメインが存在しており, 生命維持のための重要な役割を果たしている. テロメアに隣接して, サブテロメアと呼ばれるドメインが存在している. しかし, サブテロメアの機能や制御について, まだ知見が少なく, 不明な点が多く残されている. 興味深いことに, 大型類人猿のチンパンジーやゴリラでは, テロメアとサブテロメアの間 Subterminal Satellite (StSat) 配列と呼ばれる長大な重複 DNA が存在しているが, ヒトには一切存在しない. StSat 配列の存在がヒトと大型類人猿の性質を分けている可能性が考えられるため, 具体的に StSat 配列が大型類人猿でどのような機能を果たしているのか, 逆にそれがヒトには存在しないことがどのような影響を与えているのかを分子レベルで明らかにすることを目指している.

まず, StSat 配列領域におけるクロマチン構造を探るため, DNA に結合しているヒストンタンパク質の翻訳後修飾の状態をクロマチン免疫沈降法によって解析したところ, H3K9 の高度なメチル化が検出されたことから, ヘテロクロマチン構造が形成されていることが示唆された. 次に, StSat 配列領域に特異的に結合するタンパク質の同定を試みた. まず, StSat 配列をもつオリゴ DNA とチンパンジー細胞の抽出液を混合し, 特異的に結合するタンパク質を質量分析によって同定したところ, RNA に関連するタンパク質が多く検出された. さらに, enChIP 法によって細胞内で StSat 領域に局在するタンパク質を同定するための実験系を確立した.

2018-C-8 マカクザルにおける母体骨盤と児頭の形態関係について

川田美風, 森本直記 (京都大・理・自然人類) 所内対応者: 西村剛

ヒトにおける出産様式の進化に関する研究は, 脳機能・歩行様式・生活史が関わる多面的な課題である. しかし, 出産進化のメカニズムにおいて鍵となる新生児と骨盤の化石記録が乏しく, 直接的な検証が極めて困難である. そのため, 現生の霊長類をモデルとした研究が不可欠である. 本共同研究では, マカクザルをモデルとし, 出産メカニズムに関する生体データを取得・解析することを目的とした. アカゲザルとニホンザルをそれぞれ 1 組ずつに対し X 線 CT 撮像を行い, 母親と胎児の 3 次元データを取得した. これまでに取得したデータに, 本年度のデータを追加して, 統計解析を行ったところ, 母親の骨盤と胎児の頭蓋の形態間に統計的に有意な相関が確認された. 現在得られた結果をもとに, 論文を執筆中である.

2018-C-9 飼育下のコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) 集団における子育てと社会関係について

中道正之 (大阪大・院・人), 大西絵奈 (大阪大・人) 所内対応者: 中村克樹

コモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) は共同繁殖種として知られており, ヒトの核家族に似た集団を形成するが, その社会関係に関しては十分に研究されていない. 本研究は飼育下のコモンマーモセットにおける子供の数と繁殖ペア間の社会関係の関係性を明らかにすることを目的とした. 6 集団 (各集団における子供の数: 0, 0, 2, 2, 3, 4 頭) の繁殖ペア計 12 頭を合計 117 時間観察し, それぞれの社会関係を毛づくろい, 追従, 性行動, 攻撃行動, 近接関係を基に議論した. 観察の際にはビデオカメラを用いて人の出入りの無い時間のみを分析した.

子供の数と繁殖ペア間の社会関係の間に緊密な関係性を認めることができなかった. サンプル数が 6 集団であったことに加え, ホルモン, 対象個体の年齢, 子供の性別等の様々な影響が考えられるために, 子供の数と繁殖ペア間の社会関係の関係性を明らかにすることは出来なかったと考えられる. しかし, ニホンザル (*Macaca fuscata*) のメスでも報告されているような高齢個体における低頻度の毛づくろいや, 妊娠ペアにのみ見られたオスからメスへの低頻度の追従など, ケーススタディとして有意な結果が得られた.

2018-C-10 霊長類における種特異的刷り込み遺伝子の確立について

中林一彦 (国立成育医療研究センター), 小林久人 (奈良県立医科大学) 所内対応者: 今井啓雄

胎盤を有する哺乳類では, ゲノムインプリンティング (刷り込み) 機構と呼ばれる, 2 本ある対立遺伝子 (アレル) のうち親の由来に応じて片方のアレルのみにエピジェネティックな修飾が施される現象が存在する. 母由来アレル特異的な DNA メチル化修飾の成立する際には卵子における転写の横断が必須であり, 近年行われた哺乳動物の卵子エピゲノム情報の比較により, 種特異的な DNA メチル化パターンの成立にはゲノム中の LTR 型レトロウイルス配列 (LTR レトロトランスポゾン) の再活性化に起因する卵子での転写が寄与したことが明らかとなった. 種特異的・系統特異的に存在する LTR レトロトランスポゾンが卵子型ゲノム刷り込みの成立に寄与することを比較発生的に証明するため, チンパンジー胎盤におけるヒト (霊長類) 特異的刷り込み遺伝子の DNA メチル化状態を, バイサルファイト・ターゲットシーケンス法により解析した. 結果, ヒトと同様の LTR 誘導型転写物のある領域では, ヒトと同様の刷り込み様の二峰性 (高メチル化と低メチル化の二極性) のメチル化パターンを示すことを明らかにした (図 1). またアカゲザルでの同様の解析結果と和わせて, 進化における LTR 挿入が霊長類特有のゲノム刷り込み成立に寄与したことを強く支持する結果となった. 研究成果は, 現在科学専門

誌に投稿中(査読中)である。

2018-C-11 霊長類ゲノム解析を通じたウイルス感染制御遺伝子の進化に関する研究

佐藤佳(東京大・医科学)、伊東潤平、三沢尚子、小柳義夫(京都大・ウイルス・再生医科学) 所内対応者：今井啓雄

本研究では、比較ゲノム・系統学的解析手法およびヒト・チンパンジーの細胞を用いた実験手法を駆使することにより、ヒトおよびチンパンジーそれぞれの系統において起こったトランスポゾンと宿主遺伝子との間での進化的軍拡競争を高解像度に描出し、両系統間において比較解析することを目的とする。具体的には、比較ゲノムおよび分子系統学的解析により、ヒト・チンパンジー分岐後に活発に増殖したトランスポゾンをゲノムから同定・抽出した。

また、以下は制度上の問題で年度内に実施できなかつたため、現在、ヒト iPS 細胞株、チンパンジー iPS 細胞株の分与のために、京都大学 iPS 研究所との MTA 締結を進めている。

2018-C-12 KL-6 抗原と生物の進化

堀益靖(広島大病院・呼吸器内科)、服部登(広島大・院・医歯薬保健・分子内科)、河野修興(広島都市学園大) 所内対応者：今井啓雄

チンパンジー肺組織標本を用いて、当教室の所有する抗 KL-6 抗体(10000 倍希釈)による免疫組織学的検討を行った。肺胞領域においては、II 型肺胞上皮と思われる丈の高い立方状細胞の一部に弱い染色が認められた。これにより、KL-6 糖鎖抗原はチンパンジー肺組織においてもヒトと同様に II 型肺胞上皮に発現していることが確認された。しかし、その染色強度はヒト健常肺と比べて弱く、また、ヒト肺胞上皮でみられるような apical membrane への局在性は確認できなかった。さらに、ヒトにおいて KL-6 糖鎖抗原が連続的に高発現することが確認されている気管支線毛上皮においても、チンパンジー肺組織では不連続で散在的な KL-6 発現が確認されたのみであった。以上の結果は、われわれがすでに行っている血清レベルでの検討とも合致するものであり、ヒトを除くチンパンジー、オランウータン等のヒト科動物においても KL-6 糖鎖抗原が発現していること、しかしその発現レベルはヒトと比べて弱いことが明らかとなった。

2018-C-13 チンパンジーを対象としたアイ・トラッキングによる社会認知研究

佐藤侑太郎(京都大・院・理)、狩野文浩(京都大・高等研究院) 所内対応者：友永雅己

本研究では、チンパンジーの社会的認知能力の解明を目的とした一連のアイ・トラッキング実験をおこなう。赤外線式アイ・トラッカーを用いて、チンパンジーがモニター上の視覚刺激を見る際の眼球運動を計測する。今年度は、音声コミュニケーションにおける異感覚間情報統合に関する研究の予備実験をおこなった。この実験では、モニター上に2つの画像を提示する。同時に、そのうちの片方と関連する同種他個体の音声を提示する。例えば、食物の画像に対してはフード・コール(チンパンジーが採食場面で発する)が対応する音声刺激となる。このとき、チンパンジーの視線が、音声刺激と対応する画像刺激にどの程度偏るかどうかを検討する。このような特定の画像への選択的注視は、音声情報によって形成される心的表象の有無を反映すると考えられる。同様の手法は、主にヒト幼児を対象に言語理解能力を調べるのに用いられており、有用であることが実証されている。本研究で得られる成果は、チンパンジーのコミュニケーション能力や、ヒト言語能力の進化を理解する上で重要である。今年度は、この研究の予備実験を実施し、実験手続きを精緻化する上で有用な知見を得ることができた。現在、得られた情報をもとに次年度の実験実施に向け準備を進めている。

2018-C-14 排泄物に含まれる繁殖制御因子の解析

山村崇(農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門 繁殖性向上ユニット) 所内対応者：鈴木樹理

ヒト以外の霊長類の排泄物に含まれる繁殖中枢を刺激する繁殖制御因子の存在を確認するために、ヒト以外の霊長類の排泄物を採取した。

ニホンザルとアカゲザル、チンパンジーの雌雄それぞれから繁殖中枢刺激因子が安定して存在していると予想される性成熟に達した個体を用いた。ニホンザル(6頭:雄3頭、雌3頭)とアカゲザル(11頭:雄7頭、雌4頭)は繁殖期に季節性を有するため、繁殖期(9~11月)・非繁殖期(8月)のそれぞれの時期に、チンパンジー(5頭:雄1頭、雌4頭)は5月に検体の採取を行った。採取した検体は、無処理の状態マイナス20~30度で冷凍し、保存した。

今後、繁殖中枢刺激因子の存在の有無を検定系を用いて行う予定である。

2018-C-15 類人猿における骨盤の耳状面前溝の性差および種差

久世濃子(科博・人類)、五十嵐由里子(日大・松戸歯) 所内対応者：西村剛

ヒトでは、骨盤の仙腸関節耳状面前下部に溝状の圧痕が見られることがあり、特に妊娠・出産した女性では、深く不規則な圧痕(妊娠出産痕)ができる。一方、未経産の女性や男性でも、耳状面前下部に浅い圧痕が見られるが、その形成要因は不明である。我々は、京都大学霊長類研究所および国内の研究機関等で標本を観察し、大型類人猿でも耳状面前下部に圧痕が見られることを発見した。30年度は2019年3月に京都大学霊長類研究所で、

GAIN 提供の 4 個体 (チンパンジー雌 2 個体、ゴリラ雄 2 個体)の骨盤を観察した。その結果、今まで観察されていた圧痕発生頻度の種間差(ゴリラで高く、オランウータンで低く、チンパンジーはその中間)を追認できた。30 年度は、ヒトと四足歩行する動物の両方で、歩行時や姿勢が変わる時(坐位から立位)に仙腸関節にわずかな「ズレ(動き)」が見られることを簡易モデルで確認することができた。これが耳状面前下部に負荷をかけ、圧痕を形成する一因となっている可能性がある。この実験観察はヒトの腰痛(仙腸関節痛)が起きるメカニズムについて研究している技術者との協力を得て行った。今後は大型類人猿の体重に関するデータを収集し、モデルやシミュレーション等を使って、耳状面前下部にかかる負荷について検証することで、圧痕の形成要因を考察し、発生頻度の種間差を報告する論文としてまとめる予定である。

2018-C-17 ニホンザルの植物由来の物質に対する分解能の検証

澤田晶子、牛田一成、土田さやか(中部大・創発) 所内対応者:半谷吾郎

植物は植食者に対する防衛戦略として化学物質を生産しており、植食性の霊長類は相当量を摂取しているものと考えられる。植物毒をはじめとする植物由来物質に対するニホンザルの分解能を実験的に明らかにするため、糞便を用いた腸内細菌の培養実験を実施した。まずは実験系を確立するため、屋久島のニホンザルの糞便を用いて予備実験を実施したところ、培地の安定性や測定手法について解決すべき問題点が見つかったため予定していた飼育個体を用いての実験までには至らず、次年度に持ち越しとなった。今後は、植物性食物の摂取頻度によって分解能が異なることが予測されるため野生個体と飼育個体の比較検証をおこなうほか、難消化性多糖を加えた培地を用いて植物由来の難消化性成分および反栄養物質の消化・分解能の測定も検討している。

2018-C-18 霊長類の比較脳解剖イメージング研究のためのデータベース・システムの開発

酒井朋子(放射線医学総合研究所) 所内対応者:濱田穰

本研究では、GAIN が提供する神戸市王子動物園のチンパンジー・ジョニーの死後脳標本を用いて、理化学研究所 脳神経科学研究センター9.4 テスラの高磁場 MRI 装置を用いて、T2 強調画像と拡散強調画像を撮像した。本研究により、従来の撮像技術では困難であった、チンパンジー脳標本の全脳レベルでの高解像度の拡散強調画像(0.5mm³)の収集に成功した。本研究成果として、招待講演一題、国際会議における発表 1 件、国内会議における発表 2 件を行った。

(招待講演)

1. 酒井朋子「最先端の計算解剖学的手法による比較霊長類脳イメージング研究」京都大学脳機能統合センター 2019/01/15, 京都大学(京都)
(国際会議における発表)
2. Sakai et al, "The Japan Monkey Centre Primates Brain Imaging Repository for comparative neuroscience: an archive of digital records including records for endangered species" Annual Meeting of the Society for Neuroscience 2018 2018/11/5, San Diego
(国内会議における発表)
3. 酒井朋子ら「最先端の計算解剖学的手法による比較霊長類脳イメージング研究の確立」第 8 回日本マーモセット研究会大会 2019/02/06, 日本橋ライフサイエンスハブ(東京)
4. 酒井朋子ら「最新のコンピューターサイエンスがもたらす霊長類脳画像データベース:サルにもヒトにもやさしい『オープンサイエンス』を目指して」第 63 回プリマーテス研究会 2019/01/26, 日本モンキーセンター(愛知)

2018-C-19 霊長類へパドナウイルスのスクリーニングおよびその受容体進化解析

渡士幸一、竹内(柴田)潤子(国立感染症研究所・ウイルス第二部) 所内対応者:明里宏文

申請者らは先行研究において、分子進化学的解析とウイルス学的実験を融合させ、HBV・へパドナウイルス受容体(NTCP)の解析を実施した。その結果、へパドナウイルスが宿主進化の選択圧となっていたことを初めて見出し、また、NTCP 上の宿主特異性を決定するアミノ酸サイト[amino acid(aa)158]を同定した。つまり、NTCP の aa158 が Glycine(158G)の時は HBV 感受性であるが、Arginine(158R)の時は HBV 非感受性であることを明らかにした(Takeuchi et al. Journal of Virology 2019)。その中で、①霊長類由来の NTCP 配列の解析が進んでいないこと、②旧世界ザル由来のへパドナウイルスが同定されていないことが、研究遂行の妨げとなっていた。本研究では、京大霊長研より譲り受けた肝臓サンプル[フクロテナガザル(n=3)、ボルネオオランウータン(n=3)、ニホンザル(n=4)、アカゲザル(n=4)]を用い、下記の通り、研究を開始した。①NTCP 配列同定:サンプルより RNA を抽出し、RT-PCR 法で NTCP 領域を増幅後、配列を同定した。その結果、フクロテナガザル、ボルネオオランウータンは 158G 型の、ニホンザル、アカゲザルは 158R 型の NTCP をもっていた。これはヒト上科は HBV 感受性 NTCP を、旧世界ザルは HBV 非感受性 NTCP をもつという過去の報告と一致した。②へパドナウイルスのスクリーニング:サンプルより DNA を抽出し、過去の文献(Drexler et al. PNAS 2013)に記載のプライマーセットを用いて first- & second- round PCR を実施し、へパドナウイルス配列の増幅を試みた。フクロテナガザル、ボルネオオランウータンは HBV 感受性 NTCP を保持していたが、へパドナウイルスは検出されなかった。現在、ニホンザル、アカゲザルのウイルススクリーニングおよび NTCP 配列の詳細な分子進化学的解析を進めている。

2018-C-20 ニホンザルにおける夜間の性行動および配偶者選択

西川真理（東京大・新領域創成科学）、持田浩治（慶応義塾大・経済）、木下こづえ（京都大・野生動物）所内対応者：半谷吾郎

ニホンザルの夜間の行動データを記録するために、暗視ビデオカメラおよび赤外線投光器を用いて育成舎の外側から撮影する方法を検討し、予備観察をおこなった。本調査はニホンザルの交尾期である 10 月から開始する予定であった。しかし、観察を実施する予定だった育成舎の近傍で井戸の掘削工事がおこなわれる時期と重なってしまい、撮影機材の設置が困難となり、データを収集することができなかった。

2018-C-21 霊長類固有背筋・脊髄神経後枝の比較解剖学

布施裕子、時田幸之輔（埼玉医大・院・医・理学療法） 所内対応者：平崎鋭矢

脊髄神経後枝は外側枝・内側枝の 2 つに分岐され、固有背筋に筋枝を分岐した後に皮神経となり、外側皮枝・内側皮枝となる。ヒトでは、一般的に内側皮枝が頸部～胸部に分布し、外側皮枝が腰背部へ分布するとされており、分節によって発達の程度が異なるとされる。今回、ニホンザルにおいて外側枝・内側枝と固有背筋の形態において観察された所見を報告する。

まず内側枝の観察では、横突起間(▲1)から出た後、皮枝と筋枝に分かれ、横突棘筋群の深層の 1~3 本の短い筋と、4 本目以降の長い筋の間を走行した。筋枝は短い筋に対して浅層より分岐(▲2、3)した後、長い筋に対して深層から進入(▲4)した。皮枝は同分節の椎骨棘突起に付着する長い筋を潜り皮下へ出現(▲5)した。内側皮枝は第 2~第 8 胸神経で確認された。第 10 胸神経からは、内側枝は 1 本目の短い筋よりも深層を走行し、筋枝も筋に対して深層より進入(▲6)するようになった。

外側枝は、最長筋と腸筋の間を通り、最長筋に対して外側(▲7)から、腸筋に対して内側(▲8)から筋枝を分岐し、最終的に皮枝(▲9)となった。外側皮枝は第 4 胸神経から第 3 腰神経で確認されたが、第 12 胸神経外側皮枝より腸筋の筋束を貫通(▲10)する形態をとった。

2018-C-22 房総半島のニホンザル交雑状況に関する保全遺伝学的研究

川本芳（日獣生科大・獣医） 所内対応者：田中洋之

房総半島では以前から在来のニホンザル群が南房総（館山市と南房総市）に定着した外来のアカゲザル（アカゲザル母群）と交雑することが分かっていた。近年になり新たにカニクイザルが交雑に関与する可能性が疑われるようになってきた。本研究は、房総半島におけるニホンザルの交雑状況を解明するために、これまで調査が十分に進まず、カニクイザルとの交雑が疑われる外房地域（勝浦市、鴨川市とその周辺）のニホンザルを対象として、既得の血液試料と新たに集めた試料を使い、DNA タイピングから交雑状況を評価し、関係する外来マカク種を特定することを目的としている。交雑判定に利用する遺伝標識は、Y 染色体の種特異的 DNA 配列である。従来の分析では Y 染色体上で多型を示す 3 つの STR 座位（DYS472, DYS569, DYS645）のアリルの組み合わせで Y 染色体タイプを分類している。外房地域の一部ではアカゲザル母群に検出されていない Y 染色体タイプ（X タイプと呼称）をもつ交雑個体が認められており、本研究ではこの由来解明を課題と考えている。2019 年 6 月から野外調査を 5 回実施した。野生群を探索し、形態観察と試料（糞および食痕物）採取を行った。この調査ではアカゲザルの形態特徴を示す個体を勝浦市西部の浜行川群と鴨川市東部の誕生寺群で観察した。一方、2019 年 3 月までに糞と食痕物から 41 試料を採取した。アメリゲニン遺伝子による性判別でこのうち 16 試料がオスと特定でき、現在 Y 染色体タイプを分析中である。さらに今回の研究では、Y 染色体 DNA の系統解析で汎用されてきた TSPY 遺伝子につき X タイプ個体の DNA 配列も分析した。ニホンザル、アカゲザル、カニクイザルの既知配列を参照した比較分析では、X タイプ個体の TSPY 遺伝子はアカゲザルおよびインドシナ半島のカニクイザルに近く、スダ地域のカニクイザルの配列とは異なるとの結果を得た。またこの比較から、判別に有効な TSPY の SNP サイトを 3 箇所特定し、調査に利用できる種判別法が考案できた。これにより非侵襲的に得た試料を使い、TSPY 遺伝子の SNP 分析で種判別を進める目処がたった。

2018-C-23 テナガザル視覚・嗅覚・味覚遺伝子レパートリーの種間相違性の解明

河村正二、蘆野龍一、松下裕香（東京大）、Amanda D. Melin (University of Calgary)、新村芳人（東京大） 所内対応者：今井啓雄

京都大学霊長類研究所に細胞株として保存されているテナガザル 3 属 3 種 6 個体 (*Hylobates agilis* 2 個体, *Hoolock hoolock* 2 個体, *Symphalangus syndactylus* 2 個体) のゲノム DNA を使い、L/M オプシン、S オプシン、嗅覚受容体、苦味受容体 (TAS2Rs)、旨味甘味受容体 (TAS1Rs)、中立対照ゲノム領域を target capture で抽出し、大規模並列 (次世代) シーケンシングによりそれらの塩基配列を決定し、これら感覚遺伝子のテナガザルにおける進化多様性を明らかにすることを目的とした。これまでに target capture のプローブを設計し、民間企業に委託して作製した。テナガザルゲノム DNA のライブラリー化を現在進めており、次年度に target capture と次世代シーケンシングを実施する。

2018-C-24 Ecological diversity of Plio-Pleistocene Palearctic cercopithecids; evidence from dental tissue.

Christos Alexandros Plastiras, Dimitris S. Kostopoulos (Aristotle University of Thessaloniki), Gildas Merceron (PALEVOPRIM, University of Poitiers) 所内対応者：西村剛

This project is focused to investigate the ecological diversity of the the cercopithecids that inhabited the Palearctic realm during Pliocene to Pleistocene. Our aim is to characterize the feeding ecology of these cercopithecids, by means of analysis of microwear textures of their dentition (Dental Microwear Textural Analysis), and the analogies of hard dental tissues, such as the enamel (3D Dental Topography). The methodologies will be applied on fossil representatives of the genera *Mesopithecus monspessulanus*, *Dolicopithecus*, *Paradolicopithecus*, *Procynocephalus*, *Macaca* and *Theropithecus*, from several fossiliferous localities of Greece, France, Bulgaria, Spain, Italy, Romania and Japan, while the collection of data will be provided by a series of scheduled visits on the hosts museums/institutions. The same methodologies will be applied in a substantial sample size of modern cercopithecids with known and different dietary habits, to serve as a base for the comparisons between taxa. So far, the collected material and data consists of fossil cercopithecids from localities of France (Seneze, Perpignan, Montpellier), Spain (Puebla de Valverde, Vallparadis, Cal Guardiola), Italy (Valdarno, Capo Figari-Sardinia), Bulgaria (Dorkovo, Tenevo), Greece (Dafnero, Dytiko, Megalo Emvolo, Vatera) and the sample of modern cercopithecids. With this cooperative research programm in Japan, we aim to acquire silicon microwear molds of a) the fossil cercopithecid from Nakatsu (*Dolichopithecus (Kanagawapithecus) leptopostorbitalis* sp. nov.; specimen number KPM-N NC005802) housed in Kanagawa prefectural Museum of Natural History (KPMNH) and b) from wild populations of modern cercopithecids focused on different species of macaques (*Macaca cyclopis*, *Macaca cyclopis*fuscata fuscata*, *Macaca fuscata fuscata*, *Macaca fuscata fuscata*mulatta*, *Macaca fuscata yakui*, *Macaca nemestrina pagensis*, *Macaca sinica*) and colobine genera (*Presbytis femoralis catemana*, *Presbytis melalophos bicolor*, *Presbytis melalophos melalophos*, *Presbytis potenzi*, *Simias concolor*, *Semnopithecus entellus*) housed in the Primate Research Institute of Kyoto University.

2018-C-25 動物の画像からの個体識別のためのパターン認識手法の開発

森裕紀（早稲田大・次世代ロボット機構）、内海力郎、佐藤琢（早稲田大・基幹理工） 所内対応者：友永雅己
チンパンジーの個体認識と個体追跡について、画像処理・画像認識技術を用いた技術の検討を行った。チンパンジーの顔からの個体認識システムは、画像データセットである ImageNet を用いて学習を行った ResNet-50 をベースとして、京大のチンパンジーのための転移学習を行い構築した。学習データは、7 個体 42 枚の画像からデータ拡張（ぼかし、ガンマ（明るさ）補正、ガウスフィルタ、コントラスト、反転・回転（60 度・270 度））を行い 1344 枚とした。ランダムに取り分けた未知データに対する認識率として、76.62%の成績となった。失敗例として、Pal、Mari、Cloe を Gon と誤認したり、Pal を Akira と誤認したりしていた。チンパンジー個体追跡システムは、Level 1（室内環境・固定カメラ・単数個体）、Level 2（室内環境・移動カメラ・単数個体）、Level 3（屋外環境・移動カメラ・単数複数）と問題の難易度を変化させて、システムの検討を行った。検出手法としては、Single Shot Multibox Detector (SSD) モデルを用いて、ImageNet から抽出したチンパンジー画像にチンパンジー領域を手作業で追加した学習データにより追加学習を行い構築した。また、追跡手法は、背景差分法による背景消去と画像処理ライブラリである OpenCV などを実装されている物体追跡手法を組み合わせ構築した。一度、SSD によりチンパンジー領域を検出してからそのチンパンジーを追跡するシステムを構築し、一定の状況下ではロバストに追跡できることを示した
今後は霊長類研究所より個体の名前入りのチンパンジーの動画像を収集してシステムの改善を図りたい。

2018-C-26 新規 GPI アンカー型タンパク質を介した精子選別機構の解明

近藤玄（京都大・ウイルス・再生）、外丸祐介（広島大・自然科学研究支援開発・震動物実験）、柳川洋二郎（北海道大・院・獣医・臨床獣医学・繁殖学） 所内対応者：岡本宗裕
精子には、数多くの GPI アンカー型タンパク質(GPI-AP)が発現しており、そのいくつかは精子の受精能獲得に深く関与している。申請者は、予備実験において、マウス精子で発現量の多い GPI-AP(SpGPI-AP と仮称) を同定し、このタンパク質に対するモノクローナル抗体を作製し、精子の FACS 解析を行なったところ、精子は二つの集団に大別された。さらにこれらをソーティングし、運動性、体外受精能、人工授精能等をしらべたところ、直進運動性や体外受精能において差異がみとめられ、これまで想像されていたが分子的根拠がなかった精子集団の不均一性とより受精しやすい集団が存在することが判明した。本研究は、当該タンパク質によって二別される精子集団の比較解析をヒトにより近いマカク属サル精子を用いて調べることを目的とする。今回ニホンザル精子を精巣上体から採取し、抗マウス SpGPI-AP モノクローナル抗体 10 クローンにて FACS 解析を行なったが、サル精子にクロスする抗体クローンは得られなかった。

2018-C-27 集団内の全個体同時追跡技術を利用した霊長類社会の研究

松田一希、豊田有（中部大学創発学術院） 所内対応者：香田啓貴
霊長類の社会構造の理解は、霊長類学における重要な中心的議題の一つである。個体関係の記述（親和性／敵対性）や順位の記述（優劣関係）、血縁関係の記述を通じて、群内の個体関係の構造を把握し、母系／父系社会などといった、社会類型を記載してきた。その一方で、それらの記載は主に研究者が直接観察し分類したり、ビデオ

オを通じて事後に解析するなどといったデータに基づくものであり、連続的な記録としての大規模データの蓄積や解析は今までなかった。本研究は、小型の位置記録装置を飼育ニホンザル集団の全個体に装着することで、高精度で大規模な連続的な位置データ情報を収集し、個体間関係の記述を、社会ネットワーク分析を通じて評価することを目的とした。2018年度は、5個体からなるニホンザル集団を研究対象として、その位置計測を、時空間精度として高精度(10cm 誤差以内、5点記録/1秒)に、かつ連続的に収集した。グループでの小型ビーコンを取り付けた首輪の装着に先立ち、個別ケージでサル1頭を対象として試験的に首輪を装着して48時間監視をし、首輪の装着による問題がサルに見られないことを確認した。その後、研究対象としたサルたちに首輪を装着し、第二放餌場前西側グループケージに放ち、各個体の時空間情報データを10日間収集した。観察中の行動について特殊な制限はなく(給餌やアクセスの制限など)、通常の飼育をした。10日間の記録後実験は、速やかにサルから首輪を外した。データ収集は成功し、各個体について数百万にのぼる正確な位置情報データを得た。現在、膨大なデータの解析、個体間ネットワークの可視化などを進めている。図は、予備的解析により可視化した対象5個体の距離データに基づいたネットワーク図。

2018-C-28 霊長類の視覚の季節変化の分子基盤の解明

吉村崇、沖村光祐(名大・院・生命農学) 所内対応者: 今井啓雄

代表研究者らは最近、メダカの眼においてトランスクリプトーム解析を行い、光受容器からその下流の情報伝達に関わる遺伝子の発現量が季節間で変化することで、光応答性や色覚が季節変化することを報告した(図)。興味深いことに、心理学の分野ではヒトの色覚が季節変動することが知られている。また冬季うつ病患者においても冬季にのみ、光感受性が低下することが網膜電位図により示されている。しかし、ヒトを含めた霊長類において眼の光応答性が季節変化を示す仕組みは解明されていない。そこで本研究では自然環境下で飼育されたニホンザルの眼における遺伝子発現をRNA-seq解析により明らかにすることを目的とした。

本研究では屋外飼育ケージで維持されているニホンザルから冬および夏に眼を採材することを計画していたが、2018年度の研究では、屋外飼育ケージで維持された個体の採材は叶わなかった。そこで2018年12月に他の研究者との多重利用により、屋内飼育されたアカゲザルのメス2個体から両眼を採取し、本研究に必要な手法に問題がないことを確認した。2019年度も引き続き共同利用を行う計画であり、屋外飼育ケージの個体の採材に向けて準備を進めている。

3. 平成30年度で終了した計画利用研究

該当なし

4. 共同利用研究会

「ニホンザルによる被害問題の現状と課題」

日時: 2018年7月12日(木) - 13日(金)

場所: 地球環境パートナーシッププラザ(GEOC)

研究会世話人: 辻大和(京大・霊長研)、江成広斗(山形大)

ここ20年、ニホンザルによる被害問題の現状把握とその対策に関する調査が各地で行われ、多くの知見が蓄積されてきた。獣害対策の支援と農村の地域資源の活用を組み合わせたサービスを行政と連携して行うという、意欲的な取り組みも始まっている。しかし、これらの成果が学術的な成果として公表される機会は少なく、基礎分野の研究者との連携は十分ではない。また、各地の取り組みの関係者同士での情報共有も十分とは言えないのが現状である。本研究会では、日本各地で活動している方々に最新の成果を紹介してもらい、基礎分野の研究者も交えて今後の協力のあり方について議論した。当日は40名の参加があり、総合討論では活発な議論が交わされた。この研究会をベースに「霊長類研究」誌に特集号を組んだ(34号2巻、35号1巻)。本研究会を嚆矢に、立場や地域の違いを超えた連携体制の強化につなげたい。

<プログラム>

7月12日(木)

13:00 - 13:40 市街地に出没するハナレオス・ハナレメスの行動特性

海老原寛・檀上理沙・清野紘典・岡野美佐夫・岸本真弓・加藤洋(野生動物保護管理事務所)

13:40 - 14:20 東北地方におけるニホンザル個体群の現状と課題

宇野壮春(東北野生動物保護管理センター)

14:20 - 14:30 休憩

14:30 - 15:10 環境省ガイドラインに基づくニホンザル個体数管理の方法論

清野紘典(野生動物保護管理事務所)