

大脳基底核から島皮質への多シナプス的入力解析のために、越シナプス的逆行性トレーサーである狂犬病ウイルスベクターをマーモセットの島皮質に注入した。MRI を用いて脳画像を取得、脳アトラスを参考にして島皮質の亜領野（無顆粒性島皮質、不全顆粒性島皮質、顆粒性島皮質）を同定、それぞれ異なる蛍光タンパク（青、緑、赤）を発現する狂犬病ウイルスベクターを注入した。三次的ニューロンラベルを得るために3日間の生存期間を設けたのち、灌流固定を行い、脳を摘出した。蛍光実体顕微鏡で脳を観察し、3種類の蛍光ラベル（青、緑、赤）を確認した。脳の薄切を行い、組織標本を作製し、主に大脳基底核（線条体、視床下核、淡蒼球外節）の三次的ニューロンラベル着目してニューロンラベルを観察した。大脳基底核におけるニューロンラベルには類似性が見られたため、大脳基底核からの入力様式については島皮質全体で類似している可能性がある。当該研究の対象である島皮質は他の大脳皮質に比べ深部にあり、島皮質の亜領野への限局的な注入を成功させるためには、注入実験の方法をこれまで以上の精度でおこなう必要があることが分かったため、研究協力者とMRI画像の撮像プロトコル、注入実験の条件、麻酔方法の検討を進めた。2020年度は見直しをおこなったシステムでのトレーサー注入実験を行う予定である。

#### 2019-A-31 チンパンジーにおける健康な加齢にともなう認知的機能やモノとの相互作用の変化

原田悦子（筑波大学・人間系）、須藤智（静岡大学・大学教育センター） 所内対応者：友永雅己

今年度、チンパンジーの超高齢個体および高齢期個体における実験時の状況を観察しながら、ヒトの健康な加齢に伴う新奇なICT基盤人工物利用時に見られる特異的行動との共通性と相違性について、データの再分析などから明らかにしていく予定であったが、申請者の健康上の理由などから、具体的な研究を進めることは困難であった。ただし、議論のなかで、1) 知覚的、運動的な反応遅延、および2) 特にその影響が大きく出る「課題困難度」（課題事態に伴う負荷条件）によって課題への主体的な取り組みを放棄するなどの反応、については、おそらく共通に観察されるものと思われ、また3) 時間圧、社会的圧などの何らかの外的な認知的負荷が加算された場合にそれらの加齢の影響が大きく生じることも共通要素として存在することが強く期待されている。そうした影響とメタ認知の問題について、またその際に（活動を媒介する）「道具利用」の有無がどのような影響を与えるのか、それに関連して、方略変更が何を契機にどのように発生するかなどの問題を明らかにすべきであることが確認された。

#### 2019-A-32 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 gakuin 大学心理学部）、山田信宏（公益財団法人高知県のいち動物公園協会・飼育課）、高塩純一（社会福祉法人びわこ学園びわこ学園医療福祉センター草津・リハビリテーション課）、櫻庭陽子（京都市動物園生き物・学び・研究センター） 所内対応者：林美里

2019年度は引き続き左側機能の増強、右側機能の改善を得るとともに、全体として粗大運動から運動技巧へと運動発達の課題が拡大した。屋内飼育室の左右に張られた数本のロープをブラキエーションや「左右足底ロープ接着・左右手掌ロープ把握の二足立位移動」を駆使して移動し、高所壁際に配置された食物に到達するなど、3次元空間における全身粗大運動が、不安定な基盤からアフォードされつつ展開された。右下肢が支持機能に加えて推進機能を担う場面も見られるようになった。移動時における右半身の身体知覚の向上と、「両足底接地・やや右側に体幹を傾斜・後方への反り返りを含む座位で、左手把握のペットボトルの角度を左前腕回内などの調整によって効率的に果汁を飲む」、「塩ビ管のフィーダーを転がす試行錯誤を経て穴からペレットをとりだす」など、物とのかかわりにおける運動技巧の精緻性が向上した。姿勢運動の安定を基盤に手指の直接操作の経験が物とのかかわりにおいて蓄積され、物体の属性にそくした操作が随時発現した。次年度に向けては、引き続き3次元空間を多様な素材を利用してエンリッチメントしていくことを基本に、他者とのかかわりを絶やすことなく、身体運動的にも社会的にもプレイフルな時間を日常生活に確保する方途を探っていく。

#### 2019-A-33 芸術表現の霊長類的基盤に関する研究

齋藤亜矢（京都造形芸大・文明哲学研究所） 所内対応者：林美里

チンパンジーを対象とした対面場面における描画課題の実施が困難な状況となったため、パネルの開開口部を通して描画用の画材を受け渡すという新たな課題場面の構築をおこなった。その際、より正確に描線を記録するためにデジタルペンを導入する予定であり、共同研究者の幕内氏らとの連携により、その準備をおこなっている。

### 7.2.2. 一般研究

#### 2019-B-1 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（名古屋大学大学院生命農学研究科） 所内対応者：今村公紀

これまでに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てきた。また、small-RNA-seq の解析を行い、チンパンジー特異的なレトロトランスポゾンである 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も明らかにしてきた。

昨年度の研究結果で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、リプログラミングの度合いが似ている、比較可能であると考えられたため、これらの iPS 細胞で ChIP-seq 解析を行い、H3K4me3、H3K27me3、及び H3K27ac のゲノム分布を調べた。ヒストン修飾状態は大部分のゲノム領域で種間差がなく、トランスクリプトームの類似度と矛盾しなかった。しかし、ヒト iPS 細胞特異的 H3K27me3 のピークが神経系の発生過程で重要な遺伝子の近傍に多いことが分かり、iPS 細胞では両種共に遺伝子発現はなかったが、神経系細胞への分化時に差が生まれ、脳の機能や大きさの種間差に寄与している可能性が示唆された。転写活性化マーカーである H3K4me3 と抑制マーカーである H3K27me3 の両方が検出できる bivalent (両極性) ドメインについて、ヒト iPS 細胞特異的なドメインは、頭蓋刻形成に関わる遺伝子のエンハンサーなどが含まれていた。

さらに、ヒト特異的レトロトランスポゾンである LTR5HS は、その転移によって、蘇運輸箇所周辺にヒト特異的な H3K4me3 領域を作り出し、近傍遺伝子を活性化することを発見した。

これらの成果は現在、投稿準備中である。

#### 2019-B-2 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、土井達矢、竹内亮 (信州大・農・農学生命科学) 所内対応者：今村公紀

ヒト特異的転移因子を両アレルで欠失させたヒト iPS 細胞を神経系細胞に分化誘導した際の、ホスト遺伝子の発現動態を野生型と比較するため、当該年度においては、CRISPR/CAS9 によるゲノム編集実験に用いるガイド RNA の切断効率の検証および、これまでに用いていたプラスミドベクターを細胞にトランスフェクションする系ではなく、ガイド RNA と CAS9 タンパク質を直接トランスフェクションする方法の条件検討やゲノム編集効率の検証を行い、より効率よくゲノム編集を行うことのできる実験系を構築した。

#### 2019-B-3 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. We are currently working on the finger movements and grip pressures associated with vertical climbing in Japanese macaques. This last year we had two research goals. Firstly, we needed to improve our data collection methodology to properly capture vertical climbing. The challenge here is that very often the position of the body of the macaque obscures the view of the digits from the cameras and this reduces the amount of usable data we are able to collect in any experimental situation. This is exacerbated by the need for the hand to be placed in the centre of the pressure pad to ensure accurate data recording for the entire hand. We therefore obtained a large number of extra repeats of the basic experimental protocol to ensure reasonable coverage of our two subject animals. Secondly, for the first time, we attempted to collect a comprehensive dataset on the feet and the movements of the toes. This experiment uses exactly the same 8-camera markerless motion capture approach filming the subject animals climbing on the instrumented scaffolding pole as the hand experiments but with the positions of the cameras and pressure pad altered to allow us to record the foot. This experiment has the added difficulty that, due to the length of the digits, the degree of wrapping around the pole is very much larger than seen during the hand experiments and this makes getting a complete view of the digits extremely challenging. There was also the additional potential difficulty that the change in experimental setup required for foot observations might cause problems in terms of training the animals to perform the required actions, although in fact this caused very little delay. The hand experiments have worked well and we now have a good level of coverage there. The foot experiments should benefit from trying different camera positions (and indeed extra cameras) to cover the full movement of the pedal digits and this will be the focus of our 2020 experiments so that we have good coverage for both extremities for vertical climbing. We have presented our initial findings at both the International Congress of Vertebrate Morphology and at the Anthropological Society of Nippon and are continuing to work on data analysis in readiness for publication.

#### 2019-B-4 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 project will test 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, 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 primate species.

The data collection began with a visit to the Kyoto University Primate Research Institute (PRI) in Inuyama (23 June to 06 July 2019). During this trip, Dr Lia Betti and Dr Todd C. Rae from the University of Roehampton met with their collaborator Dr Eishi Hirasaki at the PRI, to CT-scan a series of cadavers of primates. The aim of this part of the data collection is to inform of the differential contribution of hard and soft tissue in forming the pelvic girdle and pelvic canal in primates of both sexes. We were able to scan 34 cadavers from 14 species. We aimed for at least one male and one female per species. Although the analyses of the scans will only start at the beginning of summer 2020, preliminary observations revealed unexpected differences in the contribution of soft tissue to the pelvic canal in different species and between the sexes, demonstrating that taking into consideration the soft tissue is extremely important in order to gauge the size and shape of the birth canal in primates based on skeletal remains. Some species, such as *Galago senegalensis*, show a dramatic level of sexual dimorphism: the male pelvis is fused at the pubic symphysis and soft tissue does not contribute to the pelvic canal, whereas the female pelvis is widely open at the front with a large contribution of soft tissue to enlarging the canal for the passage of the neonate. Other species, such as *Pan troglodytes*, show no sexual dimorphism in the contribution of soft tissue, with both sexes having a fused or tightly close pubic symphysis.

Data collection for the second part of the project started in London in July. The aim of this part of the project is to acquire a wider knowledge of pelvic canal variation and sexual dimorphism across primates using skeletal remains. Skeletal remains are available in larger numbers than cadavers, and we will correct for the contribution of the soft tissue in different primate groups based on the cadaveric data. Suitable specimens were selected from the Powell-Cotton and the Natural History Museum. CT-scanning started on the 2nd of November 2019 at the Royal National Orthopaedic Hospital in London (medical CT scanner), and at the University of Roehampton (PQCT machine). A total of 54 skeletal specimens have been scanned so far, belonging to 18 primate species. All scanning has now been put on hold due to the Covid-19 pandemic, but we are hoping to continue the data collection in 2021.

#### 2019-B-5 ボイストラップ法によるニホンザル探知技術の高度化

江成広斗 (山形大・農) 所内対応者：半谷吾郎

2013年度に政府が示したニホンザル加害群の半減計画を受けて、各地で本種の捕獲圧が高まっており、保護と管理のバランスを保つための個体群評価の重要性は高まっている。そこで筆者はニホンザルが発する鳴声を指標とする新たな個体群モニタリング技術「ボイストラップ法」の開発に取り組んでいる。ボイストラップ法のメリットはその検知可能範囲の広さと、検知の自動化にある。そこで、検知の完全自動化を目指し、機械学習をもちいた判別モデルを構築するために、本研究では白神山地北東部（青森県西目屋村）において7台、朝日山地北西部（山形県鶴岡市、新潟県村上市）において8台の固定型録音機（song meter SM2+もしくはSM3）を2019年5月、7月、10月に設置し、それぞれ1か月間連続録音をして各種鳴声データを回収した。回収したデータは音声スペクトログラムに変換し、主要な鳴き声に分別して、蓄積した。現在、これらのデータを学習データとして、新たな鳴声判別モデルを構築に取り組んでいる。同種の鳴声であっても、地域性や季節性が大きなものがあることが明らかとなり、そうした変化の多い鳴声については今後も継続して鳴声を収集し、モデルの判別精度を高めていく予定である。

#### 2019-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。これまでの研究で、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。一方で、群れが一時的に2つ以上の集団に分かれて行動する分派も時に見られる。通常は互いに離れない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た。宮城県金華山島の野生ニホンザルにおける過去6年間の事例を分析すると、分派集団は群れ全体の動向が把握できる状況で群れの広がりのあるところから個体が集まってできる場合と、群れ全体の動向が把握できない状況で群れの周縁部が分断されてできる場合とに分けられた。前者は群れ全体の動向を各個体が独自に把握しどちらかの集団を選択しているのに対して、後者は群れ全体の動向を把握できず近接個体の動向に頼ったために起きた非意図的分派と考えられた。今後も観察例を蓄積するとともに、事例ごとの意図性の判別・要因の検討を行う。また、秋には先行研究の報告とは異なるパターンの分派が繰り返し観察され、共同研究者とその要因の分析を進めている。

#### 2019-B-7 Transposable element derived Mirco RNA analysis in various primate tissues

Heui-Soo Kim、Hee-Eun Lee、Jennifer Im、Woo Ryung Kim(Pusan National University)

所内対応者：

今井啓雄

Transposable element (TE) is a DNA sequence that jumps around the genome to insert or delete the part of the genome is also known as transposon or jumping genes. Previous studies revealed that TEs generates new factors by cut- or copy- and -paste into the genome. MicroRNA (miRNA) is one of factor that TE generates and considerable number of miRNAs are derived from TE. MiRNA is identified as class of small non-coding RNA molecules which plays an important role as a regulator of gene expression. Numerous miRNAs are related in human cancer and hsa-miRNA-625 is well-known for oncomiR, miRNAs associated with cancer. Bioinformatics tools were used to select the best target gene with highest binding site of hsa-miRNA-625-5p in the 3' untranslated region (UTR). The relative expression of hsa-miRNA-625-5p and target gene was confirmed to examine the comparison between different number of canonical binding sites and location of miRNA binding sites designed in 3' UTR of target gene, GATAD2B. The expression of primers designed in front of 3' UTR in target gene shows higher expression than primers designed in back of 3' UTR. The luciferase assay revealed the enhancer function of hsa-miRNA-625 and 3' UTR of GATAD2B, as well as more activity increased by NF- $\kappa$ B. In this study, the bioinformatics and experimental analysis provides the data of quantity of canonical binding sites and location of miRNA binding sites affects the target gene expression and NF- $\kappa$ B increases the enhancer activity of hsa-miRNA-625-5p by sharing the binding sites in 3' UTR of GATAD2B.

#### 2019-B-8 東北および四国地方に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生虫および感染症に関する疫学調査

浅川満彦 (酪農大・獣・寄生虫) 所内対応者: 岡本宗裕

関東・東北地方との境界に所在する茨城県つくば市・東筑波ユートピア内のニホンザル飼育施設でニホンザルの飼育状況の視察と糞便などの採集可否について踏査した。その結果、当該施設の現状では研究協力が難しい印象を受けた。四国地方の個体については、(株) 野生動物保護管理事務所で有害捕獲されたサンプルを用い次のような 2 つの学会報告が予報された; 石島栄香, 清野紘典, 岡本宗裕, 平田晴之, 浅川満彦. 徳島産ニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生蠕虫保有状況—国内 *Macaca* 属から検出された報告と比較して. 第 25 回日本野生動物医学会大会. 山口大学, 8 月 30 日から 9 月 2 日. 石島栄香, 浅川満彦. 国内 *Macaca* 属サル類に寄生する線虫類の地理的分布—特に、最近実施した東北・四国地方での野生種と輸入サル類の調査研究から. 2019 年度日本線虫学会第 27 回大会, つくば, 9 月 11 日から 13 日. また、関東地方におけるニホンザルの寄生虫調査概要は次の総説で刊行され、今後の研究基盤情報とした; 浅川満彦, 2019. 酪農学園大学野生動物医学センター-WAMC が関わった関東および中部地方における研究活動概要. 青森自誌研, (23): 35-42. 公衆衛生学的な知見としては愛玩用のタラポアンにおける腸結節虫類の分類学的な検討をして次の論文で刊行された; Hasegawa, H., Matsuura, K., Asakawa, M. 2019: Nematodes belonging to the genus *Ternidens* (Strongyloidea: Chabertiidae) found in a talapoin *Miopithecus talapoin*, imported for sale as a pet. *Jpn. J. Vet. Parasitol.*, 18:65-71. なお、この報告はカンボジアで開催されたアジア野生動物学会 (12th International Meeting of Asian Society of Conservation Medicine (ASCM) in Phnom Penh, Cambodia, Oct., from 25 to 27) で予報された。この腸結節虫症は書籍『Parasites of Apes: An Atlas of Coproscopic Diagnostics』に記載されたが、この内容を分析し、鈴木夏海・浅川満彦. 2019. 野生動物医学会ニュースレター Zoo and Wildlife News(49)で書籍紹介した。

#### 2019-B-9 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

代謝、免疫機能、気分など、ヒトの様々な生理機能は季節の変化を示す。また、心疾患、肺がん、精神疾患などの発症率にも季節の変化が存在するが、それらの季節変化をもたらしている分子基盤は明らかにされていない。次世代シーケンサーの進歩により、様々な組織の時系列試料において全転写産物の振る舞いをゲノムワイドに明らかにできる環境が整った。我々はこれまでに季節応答の明瞭なメダカを屋外の自然条件下で飼育し、1 か月に 1 度、2 年間にわたって採材した視床下部、下垂体において、年周変動する遺伝子を約 3000 個同定することに成功している(図)。サルは進化的な距離がヒトに近く、これまでヒトの生理機能や病態の理解に必須の役割を果たしてきた。特に、ヒトの様々な生理機能や病態の季節変化の分子基盤の全容を明らかにするためには、明瞭な季節応答を示すマカクザルを用いる以外に研究手段がない。そこで本研究では、屋外の自然条件下で飼育されているマカクザルにおいて、全身の様々な組織における全転写産物の年周変動を RNA-seq 解析によって網羅的に明らかにすることを目的とした。2019 年度は 10 月、12 月、2 月に採材を計画通りに実施した。2020 年度についても 8 月まで採材を継続し、RNA-seq 解析を実施する。

#### 2019-B-10 霊長類における口唇周囲の表情筋に関する新たな知見の解明

岩永譲, 渡部功一, 喜久田翔伍, 山木宏一 (久留米大学・医), R.Shane Tubbs (Tulane University School

of Medicine) 所内対応者：平崎鋭矢

上唇切歯筋 (incisivus labii superioris:ILS) および下唇切歯筋 (incisivus labii inferioris:ILI) の走行や口輪筋との関係は人においてもほとんど記載がなく、近年筆者らがヒト屍体を用いて解剖学的研究として発表した。しかし、ヒト以外の霊長類における同筋の形態、走向、起始・停止や口輪筋との関係は過去に報告がなく、その解明により、霊長類における発声・咀嚼などの行動の解明の一助になると考えられた。そのため、本研究の目的は霊長類における同筋の形態学的特徴を明らかにすることであった。カニクイザル5体、ニホンザル1体、ヤクザル1体、チンパンジー1体の屍体頭部(中・下顔面表層のみ)の解剖を行ったところ、全ての種において、同筋は確認された。チンパンジー以外の種においてはヒトのそれと形態学的に類似していたが、チンパンジーにおいては、他の霊長類よりも発達した筋が観察された。本研究結果は論文として投稿し、Anatomical Record に採択されている。

#### 2019-B-11 ニホンザルの交尾期におけるオスの攻撃とメスの凝集性の関連の検討

山口飛翔(京大・理) 所内対応者：辻大和

霊長類では、繁殖をめぐる性的対立によってオスからメスへの攻撃が頻繁に見られる。こうした攻撃はメスにとってコストになるため、メスは対抗戦略を進化させてきたと考えられている。本研究では、宮城県の金華山島に生息するニホンザルを対象として、メスが交尾期に休息時の凝集性を高めることでオスの攻撃に対抗しているという仮説を検証することを目的として行った。本研究の結果、まずオスから攻撃されるリスクが高い日ほど、メスの休息時の凝集性が高くなることが示された。また、休息時に凝集性が高まる際にメスが第一位オスの周囲に集まる傾向があったこと、そして第一位オスと近接しているときにメスが他のオスから攻撃を受けにくくなったことから、メスが交尾期に第一位オスを「用心棒」として頼って近接した結果として、休息時の凝集性が高まっていたことが示唆された。一方で、凝集する個体数が多いほど攻撃される頻度が低下するという結果は得られなかったが、攻撃の激しさを考慮すれば、凝集すること自体がオスの攻撃への対抗になっている可能性も示された。しかし、データ数が少なく定量的な解析を行うことができなかつたため、結論を得るためには今後さらにデータを蓄積する必要がある。

#### 2019-B-12 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

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

本研究では、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をマーカースレスで推定するソフトウェアの開発を目指す。初年度である2018年度では、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、得られた画像データをもとに教師データを作成した。さらに、その教師データをもとに機械学習アルゴリズムを訓練し、単一個体が写った画像においては、良好な姿勢推定精度が得られた。二年目の2019年度は引き続き放飼場等での撮影を行うとともに、霊長類研究所の大学院生などの協力を得て、教師データ(関節位置などのラベリング)の改善を行った。これまでに、延べ約17000頭分の高品質な教師データが得られている(図A; 査読付き国際学会で発表(Labuguen et al., 2019)し、現在論文誌への投稿を準備中)。また、開発したソフトウェアを所内対応者の井上助教の所有するパーキンソン病モデルサルの動作解析へ応用し、筋固縮などのパーキンソン病の特有症状に対応する行動変化を客観的・定量的に評価することに成功した(図B)。さらに、社会行動などにおける複数の個体の動作を同時に解析することを可能とするために、作製したデータセットと深層学習を用いて複数個体の写った画像から各個体の検出を行う予備検討を行った。その結果、高い精度で個体検出が可能であることが明らかになった(図C)。今後は個体検出と各個体姿勢推定を組み合わせ、複数個体の社会行動なども解析が可能なソフトウェアの構築を目指す。

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。

#### 2019-B-13 ニホンザルの昆虫食が枯死木分解にあたる影響

栗原洋介(静岡大・農) 所内対応者：半谷吾郎

本研究の目的は、ニホンザルが枯死木分解にあたるインパクトを定量することである。本年度は、主に枯死木バイオマス評価方法の確立および屋久島海岸域における枯死木調査プロットの作成を行った。凹凸が多く不規則な形状をしている枯死木の体積を客観的に評価するために、フォトグラメトリにより3Dモデルを作成した。この手法が野外における枯死木の体積・表面積推定にも有効であることがわかった。また、屋久島・西部林道沿いに枯死木調査プロットを10箇所作成した。対象の材を複数個に分割し、一方はそのまま放置、他方はサルが破壊できないようにネットで覆った。自動撮影カメラを設置し動物の訪問を調べるとともに、定期的に材の体積を計測することで、動物の訪問と枯死木の体積減少速度の関連を調べている。前年2018年にも同様の調査プロットを予備的に10箇所設置していたが、サルはすべての

材を訪問し、そのうち 5 箇所において、そのまま放置した材がサルによって大きく破壊されていた。来年度以降は、サルの行動観察を本格的に実施するとともに、枯死木のモニタリングを継続する。

#### 2019-B-14 群間エンカウンターを通して構築されるニホンザルの群間および群内関係

半沢真帆（京都大・理） 所内対応者：半谷吾郎

ニホンザルは、群れが隣接している地域ではエンカウンターが起こる。他群との直接的交渉によるケガなどのリスクを下げるため、敵対的交渉時における群内個体間の協力は必要不可欠であるが、まだ未解明な部分が多い。また、他群への敵対性や親和性は個体により異なる。そこで本研究は、ヤクシマザル (*Macaca fuscata yakui*) において、個体ごとのエンカウンター時における他群個体との敵対的交渉および親和的交渉を詳細に記録した。結果、敵対的交渉時では、オトナオスやワカモノオスが多く参加し、突進が多く見られた。また、高順位オスと低順位オス間で連合攻撃や援助の要請が見られた。高順位オスは他のオスが参加しているところに要請を受けて攻撃に参加し、自群の参加頭数が多いほど突進する傾向にあった。一方、低順位オスは自群の高順位オスが参加する時ほど突進する傾向にあった。また、援助要請では、自群の参加頭数が少ないほど、他群の相手がオトナオスであると起こる傾向があった。他方、親和的交渉時ではワカモノオスとコドモの参加率が高く、同年齢の他群個体と社会的遊び、マウント、毛づくろいが見られた。敵対的交渉時において高順位オスと低順位オスの間で連合攻撃や援助の要請が見られたことは、平常時の群れ内の個体間関係とは異なった群内個体間のネットワークが構築されている可能性を示唆していた。また、他群への攻撃では、高順位オスは要請に応じて援助するという受動的な性質が、逆に低順位オスでは高順位オスの前で他群への敵対性を見せるという能動的な性質が認められた。しかし、攻撃の大半は肉体的接触に至らない突進であり、その生起率は自群と他群の前線の状況が影響していることから、怪我のようなリスクを回避しながらエンカウンターへの積極性をアピールしていると考えられた。他方、親和的交渉時にコドモやワカモノオスを中心とした参加が見られたことは、他群個体との交渉を通じて、その個体の社会性を高めている可能性や、将来移籍する可能性のある周辺の群れの情報収集をしていることを示唆していた。

#### 2019-B-15 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

霊長類において、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が、解剖学的な証拠は乏しい。本研究では、危険情報の処理を担う扁桃体へ越シナプス性逆行性神経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ている。昨年度のアカゲザル 1 頭目の実験に引き続き、今年度は 2 頭目の個体について実験を行って再現性を検証した。トレーサー注入後の生存期間は 2 日として、トレーサーが最大でも 2 シナプスしか越えないように実験条件を設定した。1 頭目のデータと同様に、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存在することを確認した。視床枕では多くの神経細胞が、上丘では少数の神経細胞が標識されていた。また、上丘における標識細胞の分布を調べた結果、網膜の神経節細胞から入力を受ける上丘浅層に標識細胞が存在することが分かった。網膜からの視覚情報が上丘と視床枕を経由して少ないシナプス連絡で扁桃体へと伝わることを強く示唆する結果を得た。

#### 2019-B-17 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（東京農大・応生・食安健）、稲葉明彦、中安亜希（東京農大・院・農） 所内対応者：今井啓雄

これまで、霊長類の消化管および味蕾オルガノイドの作製には成功していたが、性質が一定の安定した細胞を得ることは困難であった。それは、継代を重ねることにより増殖活性が低下することに原因があったためであった。最近になり、ヒトの消化管オルガノイド培養において新しい増殖因子の組み合わせ (IGF-1 と FGF-2) が報告されたため、我々も同様の方法で消化管および味蕾オルガノイドを培養したところ、これまで不安定だった培養系が安定化した。この改良された培養条件では、霊長類の十二指腸、空腸、盲腸、味蕾など調べた組織全てで従来の培養条件よりも細胞の増殖能が高かった。培養が安定化したため、消化管については IL-4 刺激による細胞分化誘導が生体内と同様に起きるのかを調べ、その際の遺伝子変化を RNA-Seq により調べた。また、味蕾オルガノイドについては、種々の呈味物質への反応を安定して測定できるかを検討した。

上記の結果、新しい培養条件で育てた消化管オルガノイドでは、IL-4 の誘導により brush 細胞が選択的に増殖することが免疫組織科学染色、RNA-Seq および RT-PCR にて確認された。また、味蕾オルガノイドは人工甘味料や苦味物質に対して安定的に反応することが、カルシウムアッセイによって明らかとなった。本結果は霊長類オルガノイドが ex vivo 解析系として、様々な機能アッセイに利用できることを示唆している。今後は、消化管および味蕾オルガノイドを用いて、げっ歯類にはなく霊長類に特異的な消化管反応や味反応について解析する予定である。

## 2019-B-18 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 (大阪大学) 所内対応者：高田昌彦

統合脳システム分野との共同により、サル脊髄損傷モデルを用いて軸索再生阻害因子である RGMa の抗体と TMS(経頭蓋磁気刺激)を併用した治療効果に関する一連の研究を実施し、現在、当該研究成果に関する原著論文を作成中である。

## 2019-B-19 ニホンザル歯牙の象牙質成長線に関する比較解剖

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

歯の成長線は、形成期間中に個体内で起きたライフサイクルが反映された層状構造である。そのため、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。

これまでに、生年月日・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における歯の萌出状況を網羅的に記録することで、ヒトでの乳歯列期・混合歯列期・永久歯列期に該当する発育ステージを特定した。無作為に抽出した雄性 6 ヶ月・2 歳個体の第一乳臼歯、4 歳・6 歳個体の第一大臼歯より脱灰標本作製し、これまでに 2 検体(永久歯)で成長線の観察に成功している。歯の構造的主体である"象牙質"では成長線が約 15 $\mu$ m 間隔で同心円状に配列し、歯根部を覆う"セメント質"では表層に沿って約 10 $\mu$ m 間隔で平行する様子が確認できた。これらの所見は、同一の歯牙であっても硬組織の種類や部位によって発育パターンが異なる可能性を示唆するものである。今後は異なる歯種間での比較、動物種による違いなどについて比較解剖学的な検討を行う予定である。

## 2019-B-20 霊長類における前頭神経末梢枝の解剖学的研究

喜久田翔伍(久留米大・医・歯科口腔)、岩永譲(久留米大・医・肉眼臨床解剖)、楠川仁悟(久留米大・医・歯科口腔)、渡部功一(久留米大・医・肉眼臨床解剖) 所内対応者：平崎鋭矢

我々はこれまでに、ヒト新鮮凍結死体を用いて、前頭神経の眼窩内走行およびその終枝の眼窩上縁における経過を明らかにしてきた (Kikuta et al., 2019)。サルは、ヒトとの咀嚼力の違いから顔面骨に生じた応力の一部が眼窩上部の眉弓に集中することで、同部の突出が生じる。このような顔面骨形態の違いから、前頭神経末梢枝の走行に違いがでる可能性があるが、比較解剖学的資料に欠けている。本研究の目的は、霊長類眼神経末梢枝の分布および周囲構造物との関係を、眼窩内・外からの解剖により明らかにし、ヒトとの比較検討を行うことにある。本研究において、カニクイザル 5 個体の頭部固定標本を詳細に解剖した。全個体で前頭神経を認めた。眼窩内で前頭神経を同定し、総腱輪まで追求したが、眼窩内に分枝を持たず、眼窩上縁の眼窩上切痕から独立して出現していた。カニクイザルは、ヒトで分類される滑車上神経、眼窩上神経は持ち得なかった。前頭神経は顔面表面に出現後、数本に分枝し、皺眉筋および眼輪筋を貫通し、前額部の皮膚を神経支配していた。現在、ヒトとカニクイザルの解剖学的構造の違いを焦点に、本研究結果を論文執筆中である。

## 2019-B-21 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

2019 年度の共同利用・研究期間中に、ニシローランドゴリラ 1 頭の CT 画像解析を新たにおこなうことが出来た。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 画像解析をおこなってきた。趾の可動域の解析では、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た後、第一趾の可動状況を観察した。ニシローランドゴリラやチンパンジーの第一趾の第一中足骨は、上下方向に可動性を持つオランウータンとは違って足の背腹平面で可動しており、その可動域は、肉眼的にはオランウータン、ニシローランドゴリラ、そしてチンパンジーの順で大きいといった結果が得られている。また、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角度平均は、オランウータンで 104 度、ニシローランドゴリラで 73 度、そしてチンパンジーで 52 度であった。今回解析したニシローランドゴリラの第一趾の可動状況は、これまで解析したニシローランドゴリラと同様に背腹平面で可動していたが、第一中足骨と第二中足骨がなす平面上の角度は 94.4 度と、これまで計測したニシローランドゴリラの中では一番大きな値であった。その結果、ニシローランドゴリラの平均は 79 度となった。

## 2019-B-22 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

Bitter perception is mediated by G protein-coupled receptors TAS2Rs and plays an important role in avoiding the ingestion of toxins by inducing innate avoidance behavior in mammals. One of the best-studied TAS2Rs is TAS2R38, which mediates the perception of the bitterness of synthetic phenylthiocarbamide (PTC). Previous studies of TAS2R38 have suggested that geographical separation enabled the independent divergence of bitter taste perception. The functional divergence of TAS2R38 in allopatric species has not been evaluated. We characterized the function of TAS2R38 in four allopatric species of Sulawesi macaques on Sulawesi Island that lived in central and north Sulawesi. We found variation in PTC taste perception both within and across species. In most cases, TAS2R38 was sensitive to PTC, with functional divergence among species. We observed different truncated TAS2R38s that were not responsive to PTC in each species of *Macaca nigra* and *M. nigrescens* due to premature stop codons. Some variants of intact TAS2R38 with an amino acid substitution showed low sensitivity to PTC in *M. tonkeana*. Similarly, this intact TAS2R38 with PTC-low sensitivity has also been found in humans. We detected a shared haplotype in all four Sulawesi macaques, which may be the ancestral haplotype of Sulawesi macaques. In addition to shared haplotypes among Sulawesi macaques, other TAS2R38 haplotypes were species-specific. These results implied that the variation in TAS2R38 might be shaped by geographical patterns and local adaptation. For further study, we will expand our research to Southern Sulawesi. We did experimental behavior several individual of southern species and found some individual PTC-non taster in *M. maura*. We predict that some of the TAS2R38 South Sulawesi macaques will have some different genetic background compare to the North Sulawesi macaques due to geographical separation and different origin of continental plates at the time of island formation.

We published the results of Sulawesi macaques species lived in central and north Sulawesi in journal *Ecology and Evolution*.

#### 2019-B-23 Genomic Evolution of Sulawesi Macaques

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

Seven species of Sulawesi macaques (*Macaca nigra*, *M. nigrescens*, *M. hecki*, *M. tonkeana*, *M. maurus*, *M. ochreata* and *M. brunnescens*) continue attracting interest as a model of evolutionary speciation and differentiation. As macaque is a characteristic animal of Oriental zoogeographical realm, their ancestor should cross the Wallace Line between the Island and Sunda Land. We found that genetic tree based on exome sequences reflects their geographic distributions in the Island. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) extracted from the exomes show fixed differences among *M. tonkeana* and *M. hecki*; these two species had been reported to have hybrid populations in their borderland. The fixed differences were located in 129 genes including that of responsible for olfaction, detoxification, hair formation, and reproduction in female. Especially, an A to G mutation in the start codon of a detoxification gene in *M. hecki* truncates six amino acids from the full length of the protein in *M. tonkeana*. However, both short and full type of detoxification proteins possess the same enzymatic activity, though we inferred (from the function of N-terminal amino acids) the localization in the cell membrane may be different. Furthermore we found that *M. nigra* and *M. nigrescens* have the same short type as *M. hecki* while *M. maurus*, *M. ochreata* and *M. brunnescens* the same full type as *M. tonkeana*. Again, this reflects the geographical distribution because the first three species bearing the short detoxification gene distribute in northern part of the Island, and the later four species with full type in the southern part.

#### 2019-B-24 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が完成し、質の安定した聴覚事象関連電位の記録が可能となった。マーモセットの脳波記録では、主として、頭部面積が小さく電極の設置が難しいことにより、電極設置に時間がかかる、電極数を増やせない、インピーダンスが浮動し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、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(7mm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。本年度は、この新しい方法を利用することで、4頭のマーモセットから、世界で初めて、頭皮上から無侵襲で聴覚誘発電位の中潜時成分(middle latency response)と皮質成分(cortical auditory cortical potential)を記録することに成功し、英文原著論文にまとめて、投稿をした。

#### 2019-B-25 高知県室戸市における日本座宇が利用する食物資源の解析

寺山佳奈 (高知大・院) 所内対応者：辻大和

高知県室戸市佐喜浜町で捕獲されたメスの成獣1頭に発信機を装着し、農地を利用するニホンザル個体群の行動圏の変化と利用食物を明らかにすることを目的とした。発信機を利用した追跡調査の期間は、



2018年9月から2019年8月の12か月間とし、各月1日以上、日の出から日の入りまで1時間間隔でニホンザルの位置情報を求めた。位置情報をもとに最外郭法を用いて対象群の行動圏を推定した。加えて、調査地内に生息するニホンザルの採食物を調べるために、追跡調査中に確認された採食物を記録するとともに、調査地で捕殺された11個体の胃内容物を調べた。調査期間中12か月間の行動圏は10.2 km<sup>2</sup>であった。各月の行動圏については、秋期と春期に大きくなり、冬期と夏期には小さくなる傾向がみられた。行動圏が最も大きくなったのは9月の3.3 km<sup>2</sup>であり、最も小さくなったのは12月の0.5 km<sup>2</sup>であった。追跡調査中に観察されたニホンザルの採食物は、秋期や春期はハゼノキやヤマモモなどの森林内に分布するものであり、冬期や夏期は柑橘やイネなどの農作物であった。胃内容物から出現した品目は、春期にはヤマモモなどの果実が多く、夏期には農作物であるイネが多く出現した。これらのことから、本調査地に生息するニホンザルは餌資源の分布に影響を受けて行動圏を変化させている可能性が高い。

#### 2019-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(新潟大学・脳研究所) 所内対応者：中村克樹

統合失調症をはじめとする精神疾患の多くは高次脳機能の障害に由来する難治性脳疾患とされるが、多くの疑問が山積していて根治治療も確立していない。そのげっ歯類モデルは現在、100を超えるが、いずれもヒトの高次脳機能とはギャップが大きく、いずれのモデルもその妥当性を評価することが難しい。それゆえ、ヒトにより生物学的、進化的に近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6頭およびアカゲザル新生児3頭へのEGF投与を実施した。近年、本研究者は統合失調症患者のバイオマーカーと期待される神経生理学的な測定法(ミスマッチネガティブイター、注意関連事象関連電位P3a、聴性定常反応)がげっ歯類モデルでも、ヒトと同様の異常性を呈することを報告し、これらの生理指標がヒトから動物へ逆トランスレーション可能であることが判明した。このことから、本年度は、ヒトと同様に非侵襲的に健常マーモセットおよびアカゲザルから脳波を計測する方法を確立した。また、マーモセットおよびアカゲザルの疾患グループ・健常グループで20-120Hzの聴覚刺激に対する聴性定常反応を計測した。その結果、疾患グループの一部の個体では、位相の同期が低下することが明らかになった。今後、対象個体を増やして実験を継続していく。

#### 2019-B-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(ビーコン)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年度から断続的に、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ている(図)。収集した膨大な個体間インタラクションデータから、本年度は、個体の空間配置と空間移動軌跡の常時計測系の確立に成功し、深層学習を含む統計手法による個体識別および個体間インタラクション解析を定量化するための手法を予備的に開発した(Morita et al. 2019)。また、深層学習を用いた、ノンパラメトリックな個体間インタラクション解析手法も新たに開発し、それを高精度の位置測位システムにより得られたニホンザル各個体の位置情報に応用することで、個体間インタラクションの分析を実施した(Morita et al. 2020)。加えて、ビーコンを装着した5頭のニホンザルの群れを、短期的に1:4頭に分離することで、個体間インタラクションの程度をコントロールし、社会的なインタラクションの変遷過程に着目したデータの分析にも着手した。

<発表論文>

Morita T, Toyoda A, Aisu S, Kaneko A, Suda-Hashimoto N, Matsuda I, Koda H (2020) Animals exhibit consistent individual differences in their movement: A case study on location trajectories of Japanese macaques. *Ecological Informatics* 56:101057. doi: 10.1016/j.ecoinf.2020.101057 (査読有)

Morita T, Toyoda A, Aisu S, Kaneko A, Suda-Hashimoto N, Matsuda I, Koda H (2020) Non-parametric analysis of inter-individual relations using an attention-based neural network. *bioRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.25.994764> (査読なし)

<国際会議での発表>

### 2019-B-28 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・口解)、内藤宗孝(愛院大・歯・放射)、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。

2018 年度に引き続き 2019 年度は、京都大学霊長類研究所に所蔵の骨格標本のうち、年齢、性別が分かっているアカゲザル、ニホンザルの上顎歯および下顎歯が付いた頭蓋 20 数個体ずつ、合計 46 個体の CT 撮像を行い、形態観察および比較を行った。その結果、臼歯の咬合面の咬耗のパターンや、臼歯歯槽骨の吸収度が異なるという所見を得た。一方で、飼育個体は食餌や飼育環境による成長や病態への影響も考えられることから、野生個体についての調査も行う必要があると考えた。そこで、2019 年度後半は、ニホンザル野生個体群を対象に骨格標本 CT データを収集した。また、京都大学霊長類研究所 (KUPRI) The Digital Morphology Museum (DMM) データベースのニホンザル野生個体群の CT データを活用し、これらの CT 画像から、ヒトの歯周病診断に用いられる基準を適応するため上顎第一大臼歯の矢状方向および前頭方向断面画像を ImageJ(1.44, NIH, USA)を用いて作成した。2020 年度は、これらの画像をもとに歯周病組織破壊の程度を評価し、野生ニホンザルの歯周病進行度の地域差を検討する。

### 2019-B-29 視覚刺激の好みに対するホルモンの影響

倉岡康治(関西医科大学医学部生理学講座)、稲瀬正彦(近畿大学医学部生理学講座) 所内対応者：中村克樹

本研究は、社会性ホルモンであるオキシトシンがニホンザルの社会的視覚刺激の好みに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。

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した際にサルが興味を示して触れれば、その画像をより長く提示するようにプログラムする。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。

昨年度は、麻酔下の被験体に対してオキシトシンを経鼻投与することにより、他個体視覚刺激に対する好みの変化がみられるか検討したが、オキシトシンの効果よりも、麻酔の効果が強く出たと思われる結果となった。そこで本年度は、麻酔をしない状態で、ネブライザーを用いて被験体の鼻周辺にオキシトシンを噴霧し、行動変化を観察した。オキシトシン噴霧後に他個体画像に触れる回数、またはタブレット型コンピューター付属のカメラにより、他個体画像を見る回数を計測した。その結果、オキシトシン噴霧の前後で他個体画像へのアプローチの回数に明確な差を見つけることはできなかった。画像の提示回数やオキシトシン濃度について検討する必要がある。

### 2019-B-32 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さらに進めた。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。本成果は所内対応者である今村公紀・霊長類研究所・助教との共同研究の成果として Stem Cell Research 誌に報告し、霊長類研究所よりプレスリリースされた。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 情報を深化して得つつある。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。

### 2019-B-33 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

荻原直道(東京大学)、大石元治(麻布大学)、Pina Marta(京都大学) 所内対応者：平崎鋭矢

本年は、昨年に引き続き、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、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、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、鉛チョッキの着用により、diagonal sequence (DS) から lateral sequence (LS) 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 DS を採用するのに対して、多くの他のほ乳類は LS 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、身体重心位置が接地パターンに関係す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推進した。具体的には、ニホンザル（成獣）2頭を、バルビタール系麻酔薬の過剰投与により安楽殺させ、前肢帯、上腕、前腕、後肢帯、大腿、下腿の筋を骨から分離し、幅約5mm、長さ約10mmの筋組織を採材した。今後筋組織の免疫組織化学的染色(ABC法)を行うことで、遅筋の断面と全筋線維型の断面の面積を求め、筋組織全体に占める遅筋の面積の割合を算出する。

さらに、ニホンザルの下肢関節の受動弾性特性の計測を試みた。具体的には、ニホンザルの新鮮冷凍保存屍体標本1体を用いて、下肢各関節をモーターで他動的に伸展・屈曲させ、関節角度とそのとき関節まわりに受動的に作用するトルクの関係性を求めた。ニホンザル下肢関節の受動弾性特性を定量化するための下地を構築した。

#### 2019-B-34 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）、吉田早佑梨（上智大・総合人間科学・心理） 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。

昨年度、霊長類研究所所蔵のニホンザルの上顎骨標本38個体分を組み立て、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。また、今年度は、継時的にMRI撮像データのある6個体のニホンザルの、犬歯後ろと小白歯後ろの環状断面画像で、上顎頂点と左右両歯槽堤が作る角度を測定した。結果、犬歯後ろの計測では、角度は発達に伴って一貫した変化が見られなかったが、小白歯後ろの計測では、2歳頃にかけて角度が小さくなる（くぼみの高さが低くなる）傾向が見られた。このくぼみの高さが、授乳時の乳首の固定に関与している可能性がある。このように、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。

#### 2019-B-36 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（京都大学ウイルス・再生医科学研究所）、信清麻子（広島大学・自然科学研究支援開発センター・震動物実験施設）、柳川洋二郎（北海道大学大学院獣医学研究院臨床獣医科学講座繁殖学教室）

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発揮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、同遺伝子の欠損マウスを作製したところ、精子の卵管への遊走が損なわれ、妊娠異常が認められた。また、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、人工受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、またそれがポジティブに選択されることが示唆された。本申請では、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にした。今年度は、カニクイザル精巣からマカクサル SpGPI-AP 遺伝子をクローニングし、これを培養細胞に発現させた。これとすでに作製している抗ヒト SpGPI-AP モノクローナル抗体とを反応させると、そのいくつかで有意な反応が認められた。一方、ここで反応した抗体とサル精子を反応させたが、いまのところ有意な反応を示すものはなかった。今後は、より多くのモノクローナル抗体をサル精子にてスクリーニングし、以後の実験に使用可能なクローンを同定する予定である。

#### 2019-B-37 ニホンザルにおける先天性四肢奇形個体の群れ内の行動とそれに対する他者の行動変化について

大西春香(京都大・院・理) 所内対応者：半谷吾郎

ヒト以外の霊長類の障害に関する事例研究はあるが、それらは全て障害の度合いから検討し、考察している。そこで、本研究では個々の障害個体に着目し、その個体にとっての「障壁」はどのようなものか検討した。淡路島のニホンザル群で障害の度合いを評価した指標では同じ度合いの奇形で重度とされる2頭

の成体メスと1頭の健常成体メスの行動のうち、採食、攻撃、毛づくろいに着目し、2019年5月から8月にかけて観察を行い、それぞれの個体にある「障壁」の個体差を確認した。さらに、それぞれが同じ「障壁」がある場合に、どのような行動の柔軟性を示すのか、これについても個体差を検証した。これら2頭の奇形個体は、比較対象とした1頭の健常個体に比べて採食や攻撃交渉、毛づくろいの手法に様々な個体差が見られた。一方で、そうしたコストの補う行動の柔軟性にも個体差が見られた。ヒト以外の霊長類の障害がある個体の行動をできることとできないことに切り分けて個々に見て行くことは個体の行動を理解する上で非常に重要な視点であると言えるであろうということが本研究において示唆された。

#### 2019-B-38 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）、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（ニホンザル、タイワンザル、アカゲザル、コモンマーモセット、マントヒヒ、チンパンジー）を病理学的に解析した。さらに、同研究所の獣医師（教員、技術職員）と臨床病理検討会（CPC、Clinico-pathological conference）を開催し、病理学的解析結果と治療データ、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。また、稀少な症例については、国際誌に論文発表するとともに、研究会において報告した。いずれも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。

##### 【論文発表】

T-cell/Histiocyte-rich Large B-cell Lymphoma of the Larynx in a Juvenile Japanese Macaque (*Macaca fuscata*).  
Hirata A, Kaneko A, Sakai H, Nakamura S, Yanai T, Miyabe-Nishiwaki T, Suzuki J.  
J. Comp. Pathol. 169, 1-4, 2019

##### 【研究会での発表】

脳内出血を発症したニホンザルの2症例

兼子明久、平田暁大、宮部貴子、石上暁代、宮本陽子、酒井洋樹、鈴木樹理  
第28回サル疾病ワークショップ（2019年7月開催）

#### 2019-B-39 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（筑波大学 医学医療系 生命医科学域） 所内対応者：大石高生

霊長類の大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た。昨年度の共同利用研究によりアカゲザル2頭の脳組織を採材したものをを用いて、凍結組織からの効率の良い細胞分離法を模索している。シナプス再編成期の大脳皮質ミクログリアの分子生物学的特徴が解明されることを期待している。

#### 2019-B-40 再生医療応用のためマカク乳歯歯髄幹細胞の細胞特性解析

筒井健夫、鳥居大祐、深田哲也（日本歯科大・生命歯・薬理学）、那須優則、小林朋子（日本歯科大・生命歯・共同利用研究センター） 所内対応者：鈴木樹理

令和元年度はニホンザル3例について、上顎乳切歯より乳歯歯髄細胞の採取を行い初代培養を行なった。採取された乳歯歯髄細胞は、コラーゲンゲルを用いて三次元構築体を培養し、同一個体に生活歯髄切断法を応用した処置後に移植を行なった。移植された乳歯は永久歯の萌出時期を考慮し抜歯による採取を計画している。また、今回移植を行なった乳歯歯髄細胞は、初代培養後に継代培養を行い、細胞形態の観察および細胞増殖数の計測、また硬組織分化能の解析を進めている。平成30年度で移植を行なった、ニホンザル3例については移植時に歯髄貼付薬として生体親和性の高い Mineral Trioxide Aggregate (ProRoot®MTA)を使用し軟エックス線撮影およびマイクロCT解析を行なった。軟エックス線撮影像からは、歯髄内にエックス線不透過像が観察され、細胞移植後にエックス線不透過物が産生されたことが示唆された。また、マイクロCT解析より、歯髄内に硬度の異なる硬組織形成が確認された。令和2年度は組織学的検査を計画しており、細胞移植を行なったサンプルの歯髄内における歯髄組織および硬組織形成について解析を進める。

#### 2019-B-41 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・生物）、川津一隆（東北大・生命） 所内対応者：香田啓貴

本研究は、個体の直接的な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、不味さや危険

さと関連した目立つ体色を創出する、という警告色の「社会学習モデル」による進化仮説の妥当性を検証した。特に、個体学習のみで警告色の進化プロセスを説明する従来の「個体学習モデル」の問題点、類似しない警告色の存在を解消するために、学習後に獲得された行動を促す刺激の般化特性を個体／観察学習で比較した。まず、ニホンザルを対象に、ヘビ様模型の危険さと色刺激を関連付ける観察学習実験を行った。その結果、赤色ヘビ様模型の回避行動は学習できるが、より刺激の弱い茶色ヘビ様模型では学習できないことが明らかになった。次に、赤色ヘビ様模型の回避行動を観察学習した個体に、茶色ヘビ様模型を提示した。その結果、回避行動を促す刺激が、茶色まで般化していることが明らかになった。警告色の個体学習では、回避行動の般化は、刺激が強い方向（例えば茶から赤色へ）でのみ知られている。本研究で明らかにした観察学習後の弱刺激への般化の存在は、個体学習との般化特性の違いと言え、上述の類似しない警告色の存在を説明することを可能にする。

#### 2019-B-42 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・総合心理学）、林朋広（関西学院大・文・心理学領域） 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。昨年度作製した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装置の不具合を修正し、装置の改良を試みた。所内対応者の中村と実際にマーモセットを対象に実施する空間認知課題を設計した。特にエピソード様記憶の有無を調べる課題について検討した。

#### 2019-B-43 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

ヒトの皮膚は他の霊長類に比べ多くの形態的特徴があるが、それらがどのように進化してきたのか、その遺伝的基盤はあまり明らかになっていない。本研究ではこれまでに、発現量解析で検出された皮膚でのヒト特異的遺伝子発現を生み出すヒト系統での塩基置換を推定した。今年度からの研究では、それらの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を、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り解明することを目的としている。始めにプロモーターアッセイやゲノム編集に必要な各種ベクターの作成を行った。またプロモーターアッセイについては、ベクター導入効率の高い皮膚培養細胞株を選出し、その細胞株に最適なトランスフェクション試薬を選ぶことができた。ゲノム編集では書き換えるサイトの近隣の配列に二重鎖切断を導入するが、この反応の予備実験を行った。二重鎖の切断に必要な single guide RNA の合成を行い、それと Cas9 酵素を用いて in vitro 下で標的部位に二重鎖切断を入れることに成功した。今後これらの作成したベクター等を皮膚培養細胞に導入し、推定した置換サイトをヒト型と類人猿型の塩基にしたプロモーターアッセイとゲノム編集を行うことで、着目する遺伝子のヒト特異的発現を生み出す塩基置換を特定していく。

#### 2019-B-44 一卵性多子ニホンザルの作製試験

信清麻子、外丸祐介（広島大・自然センター）、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。

別種であるカニクイザルへの受精卵移植により正常なニホンザル産子を得ることに成功し、レシピエントとしての有用性が確認され、一卵性多子ニホンザルの獲得に向けた基盤が十分に築かれた状況にある。

今年度は、受精卵分離技術を用いて操作した胚を移植することで、一卵性多子の獲得を試みたところ、移植した2頭のうち1頭が妊娠に至った。惜しくも該当個体が子宮筋腫を持っていたため、流産し産子を得ることはできなかったが、「卵巣刺激→体外受精→受精卵移植」の技術の再現性の高さを確認できた。

また、移植試験をニホンザルの繁殖期（11月～2月）にあわせて設定したが、ホルモン動態を調べた結果、11頭全ての個体において、12月には排卵が確認できるような動態ではなかった。このことから、屋内飼育のニホンザルの繁殖期は、野生のニホンザルとは異なることが確認でき、移植試験の実施日の期間を絞る必要があることがわかった。加えて、効率よい移植試験の実施にむけ、他グループと連携して、プロゲステロン製剤の経口投与による性周期を同調させた個体での移植を検討した。

昨年度から行なっている、受精卵のステージをレシピエント雌の性周期を同調させる技術の一つである冷蔵保存については、昨年同様良好な結果が得られ、数日程度の時間調整には有効な技術であることが確認された。

#### 2019-B-45 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)、對馬隆介(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。

ニホンザルの精液は射出直後に凝固するが、これまでは既報に従い 37℃ で培養し液状化後、培地で希釈し凍結作業を行っていた。しかし、精液採取の際に、精液保存液に直接採取し凝固物の形成を可能な限り防止した。その後精子浮遊液を 4℃ まで約 2 時間かけて温度を下げた後グリセリン加保存液を添加してから凍結した。凍結には 0.25 もしくは 0.5ml のストローに封入し液体窒素の蒸気で凍結するか、ドライアイス上に 200  $\mu$ l の精液を滴下しペレットを作製した。どの凍結方法においても凍結直前において高活力精子が多いものは、凍結方法の違いによらず融解後の性状が良好で、最大で高活力精子が 30% と高い凍結精液を作製することができた。今後は凍結直前までに活力を低下させない方法を検討する必要である。

また、昨年の成果に基づき、10 頭の雌に 21 日間 Altrenogest を 0.44mg/kg/日の容量で経口投与し月経を同期化させ、月経開始から 11、12 および 13 日目にそれぞれ 3、4 および 3 頭に対し AI を実施したが、受胎には至らなかった。

#### 2019-B-46 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(岐阜大学) 所内対応者：岡本宗裕

野外で飼育されているニホンザルにおいて、気温などの環境変化がどのような影響を与えているのかわかっておらず、適切に飼養管理ができているか否かは判断できていない。これまでに、申請者らは、集団に対して外部要因が与える影響を評価する代謝プロファイルテストを用いて、霊長類研究所の旧タイプの野外ケージ A と新タイプの野外ケージ B で飼育されている young adult 期ニホンザルの生理学的状況を評価した。ここで、退避スペースのない旧タイプの野外ケージ A で飼育されている集団は、冬季の飲水量が低く、脱水傾向にあることが明らかになった。

2019 年度、野外ケージ A で飼育されていたニホンザルが新しいタイプの野外ケージ B に移動された。そこで、今回、代謝プロファイルテストを用いて、集団の環境変化に伴う生理学的変化を明らかにした。モニタリングの結果、B ケージに移動したニホンザルはこれまでのとおり冬季に体重減少を示すことに加え、A ケージにいた時よりも個体間の電解質の値にばらつきが少なかった。これは、B ケージが飲みやすい構造になっていることに起因していると考えられ、B ケージへの移動がサルたちの QOL を向上させた可能性が示唆された。

#### 2019-B-47 金華山島のサルの個体数変動に関する研究

伊沢絃生(NGO 宮城のサル調査会)、宇野壮春、関健太郎、高岡裕大(合同会社東北野生動物保護管理センター)、関澤麻伊沙(総合研究大学院大学・先端科学研究科・生命共生体進化学専攻)、涌井麻友子(株式会社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 267 頭、冬が 269 頭だった。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 44 頭と今年度は多く、死亡(消失)数も 12 頭と多く、理由は不明だが 1 年以内の死亡率は 27% 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 B<sub>1</sub>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。その成果は「宮城県ニホンザル」第 32 号に“特集:金華山のサル・個と群れと”として発行した(発行は令和元年 9 月)。

以上のほかに研究目的に記載していないが、島に自生するオニグルミ(*Juglans mandshurica*)について、その実生をサルはどのように見つけどの部分を食べるかを「宮城県のニホンザル」第 33 号に“特集:金華山のサル・オニグルミの実生食い”として公表した(発行は令和 2 年 2 月)。

#### 2019-B-48 ニホンザルにおける内耳・大臼歯形態と個体群史の関係

森本直記(京大・理)、森田航(北大)、小嶋匠(京大) 所内対応者：西村剛

ニホンザル (*Macaca fuscata*) は日本に固有の霊長類であり、生息域が北から南まで幅広い緯度分布を示す点特徴的である。また、いくつかの個体群は本島とは隔離された環境(島)に生息している。これまで、ニホンザルの日本列島における個体群史は主に、分子的・遺伝学的データによって検証されてきた。一方、ニホンザルにおける形態変異は、主に寒冷(あるいは暖)地適応の観点から解釈されてきた。中立的なマーカーによる分子的・遺伝学的データとは異なり、形態学的データでは適応とは無関係な中立的プロセスの検証が難しいと考えられてきた。近年、ヒトの内耳形態の集団間変異が詳しく調べられ、内耳形態を中立的なマーカーとして用いることができるという報告がなされている。今年度は、マイクロ CT を用いて、青森、長野、滋賀、島根の各地域から 2 個体ないし 3 個体のデータを取得した。個体変異と集団

間変異を切り分けるためにも、今後データを拡充することを予定している。

#### 2019-B-49 霊長類固有背筋・脊髄神経後枝の比較解剖学

布施裕子（埼玉医大・院医・理学療法）、時田幸之輔（埼玉医大・保健・理学療法） 所内対応者：  
平崎鋭矢

脊髄神経後枝は、最長筋・腸筋を支配する外側枝と、棘筋・横突棘筋を支配する内側枝という筋枝を持つ。またそれぞれ皮下へ出現する外側皮枝・内側皮枝を持つ。内側枝の筋枝の走行や皮枝の有無は分節によって異なるだけでなく種によっても異なる。今回、横突棘筋と脊髄神経後枝内側枝の構造をニホンザルやヒト、他の哺乳類であるブタ胎仔やラットで比較した。ニホンザルの横突棘筋は第1胸椎棘突起に12本停止し、第7、8胸椎棘突起に移行するにつれ筋束数が減少した。第9胸椎棘突起より尾側にて増大した。内側枝の走行は、Th2では上下の横突起間より出た2~4本目の筋束に対し浅層から、5~11本目の筋に深層から筋枝を進入させ、最終的に皮枝となった。Th8は第8胸椎棘突起に付着する4本中1~2本目に浅層から、3本目に深層から筋枝を分岐し、皮枝は消失した。Th12では、第13胸椎棘突起に付着する筋の1本目より深層を走行し、全ての筋束に対し深層より筋枝が分岐した。ヒトの横突棘筋や内側枝の形態はニホンザルと類似していた。ブタ胎仔やラットでは、ニホンザルと異なり横突棘筋の筋束はどの分節でも2本程度だった。ラットはどの分節でも内側皮枝が確認されなかった。このような特徴がありながら、内側枝の筋枝の走行は下位胸神経より横突棘筋の1本目の筋よりも深層を走行するように変化した。

#### 2019-B-50 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（東京大学・理・生物科学） 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／夜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、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の海馬への投与を一頭ずつおこない、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ではほとんど影響が見られなかったが、SCOP shRNA発現レンチウイルスを投与したサルは、chance levelよりも著しく記憶能力が低下していた。この結果をさらに詳細に解析を行ったところ、記憶能力の低下というよりむしろ、考える気力の低下（無気力）の症状を示しているように考えられた。次年度は、この結果を論文化すべく、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。

#### 2019-B-51 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（都立大・システムデザイン）、羽賀雄海（都立大・院・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。

本年度においては、歩行速度や歩幅など統制し、歩容の変化の比較検討をしやすい歩容条件に設定して実機ロボットによる評価実験を行った。また、体幹支持のためのバネ張力に対する力学的な影響について検討し、その影響が除外できることを確認した。さらに移動仕事率のような歩行のエネルギー効率と体幹部の動きとの関連を調べるため、実機ロボットの胸部・骨盤節の動きの動画解析を行った（図1, 2）。これらより、歩幅と歩行速度に関係なく、前方交叉型歩行時では、重心位置が後方タイプの方がエネルギー効率が良く、一方、後方交叉型歩行時では重心位置が前方タイプの方がエネルギー効率が良いという結果が得られた。また、今後のさらなる実機ロボットの発展を目指し、新しいサーボモータの導入や、シミュレーションモデルの関節自由度の変更などにも取り組んだ。

#### 2019-B-52 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

今年度は外来種の起源を中心テーマとした。放し飼い施設が外房に存在したことの再発見で問題視した

カニクイザルについて、Y染色体 TSPY 遺伝子を標識に塩基配列を解読し父系起源を検討した。この結果、スダ地域のカニクイザルの関与は認められず、インドシナ地域のカニクイザルの可能性が残った。一方、房総半島に現存する外来種の母系起源を見直すため、mtDNA D ループを解読して再検討した結果では、南房総には中国江蘇省付近のアカゲザル由来の 1 タイプ、半島丘陵部のニホンザルには少なくとも 3 タイプあることが明らかになった。また、南房総のアカゲザル交雑群の新試料で Y 染色体を検査したところ、外房の交雑ニホンザルに認めている外来種由来の Y 染色体ハプロタイプ (X タイプと呼ぶ) は検出されず、外房のニホンザルでは南房総で野生化した中国からのアカゲザルとは由来の異なる外来マカクの影響が裏付けられた。しかし、インドシナ半島ではカニクイザルとアカゲザルが自然交雑した可能性があり、X タイプの起源がカニクイザルかは結論できていない。以上の結果は第 35 回日本霊長類学会と 2020 年 2 月の霊長類研究所共同利用研究会で発表した。

#### 2019-B-53 コモンマーモセットにおける消耗性症候群の診断と管理法の開発

村田幸久、中村達朗、山崎愛理沙 (東京大学・院・農学生命科学) 所内対応者：宮部貴子

正常便のマーモセットと Marmoset Wasting Syndrome (MWS) が疑われたマーモセットから尿を採取し、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。昨年度までに採取したものとあわせ、正常個体 7 個体、MWS 疑いの個体 7 個体のデータを解析した。

141 種類の脂質代謝物の濃度を測定した結果、48 種類の脂質の濃度が MWS が疑われた個体で 2 倍以上に濃度が上昇することが分かった。ヒトやマウスモデルにおいて、体内の炎症反応を反映すると報告されている脂質も複数見つかった。引き続き検討をすすめることで、MWS の病態解明を進めるとともに、対象脂質の MWS マーカーとして応用可能性についても検討していきたい。

現在これらの結果について論文にまとめ、現在投稿中である。

#### 2019-B-54 保存・輸送精子を用いた人工授精によるマーモセット系統繁殖技術の確立

神田暁史、外丸祐介 (広島大学 自然科学研究支援開発センター) 所内対応者：岡本宗裕

霊長類の実験動物であるマーモセットは国内での遺伝的交流が少なく、奇形出現や繁殖性低下などのリスクを生じるような近交化が進んでいる。健全な個体を維持するためには、他研究機関のマーモセットと意図的な遺伝子交流を行うことが必要とされるため、本課題は精子の保存・輸送法と性周期の解析による人工授精法の確立を目指す。京都大学霊長類研究所との共同研究により、昨年度は以下のような成果が得られた。

- ① 低侵襲な採血と血漿中のプロゲステロン濃度の測定による性周期の把握
- ② 長時間にわたる精子活性の維持の方法

①に関しては、低侵襲な採血法として無麻酔下のメスの尾から血液を採取し、血漿を抽出して ELISA 法でプロゲステロン濃度を測定することで、ある程度の性周期を把握することができた (図 1)。現在は排卵のタイミングを探るべく、ELISA 法で血漿中のエストラジオール濃度を測定しており、当施設で飼育するオスの精子を用いて、人工授精による妊娠が可能か検討している。

②に関しては予備実験として、当施設のオスから精子を採取し、京都大学霊長類研究所から広島大学までの輸送を想定した保存方法を検討した結果、15°C の温度で精子の活性を長時間にわたり維持できることがわかった (図 2)。実際に霊長類研究所のオスから採取した精子を同温度で低温保存し、新幹線を利用して約 4 時間かけて広島大学に輸送した結果、予備実験と同程度の割合で精子が活性を維持していることを確認できた。

以上の研究手技を基に、本年度は霊長類研究所と広島大学のマーモセットを用いて人工授精を行い、遺伝的交流を達成したいと考えている。

#### 2019-B-55 Functional characterization of bitter taste receptors in Leaf-eating Monkeys

Laurentia Henrieta Permita Sari Purba, Bambang Suryobroto, Kanthi Arum Widayati (Bogor Agricultural University), Nami Suzuki-Hashido (Chubu University) 所内対応者：今井啓雄

Bitter taste perception enables the detection of potentially toxic molecules and thus evokes avoidance behavior in vertebrates. It is mediated by bitter taste receptors, TAS2Rs. One of the best-studied TAS2R is TAS2R38. Phenylthiocarbamide (PTC) perception and TAS2R38 receptors vary across primate species, and this variation may be related to variation in dietary preferences. In particular, we previously found that the low sensitivity of TAS2R38s in Asian colobines likely evolved as an adaptation to their leaf-eating behavior. However, it remains unclear whether this low PTC sensitivity is a general characteristic of the subfamily Colobinae, a primate group that feeds predominantly on leaves. We performed genetic analyses, functional assays with mutant proteins, and



behavioral analyses to evaluate the general characteristics of TAS2R38 in colobines. We found that PTC sensitivity is lower in TAS2R38s of African colobines than in TAS2R38s of omnivorous macaques. Furthermore, two amino acids shared between Asian and African colobines were responsible for low sensitivity to PTC, suggesting that the last common ancestor of extant colobines had this phenotype. We also detected amino acid differences between TAS2R38s in Asian and African colobines, indicating that they evolved independently after the separation of these groups.

We published the results above in journal *Primates: Purba*, L.H.P.S., Widayati, K.A., Suzuki-Hashido, N., Itoigawa, A., Hayakawa, T., Nila, S., Juliandi, B., Suryobroto, B. and Imai, H., 2020. Evolution of the bitter taste receptor TAS2R38 in colobines. *Primates*, pp.1-10.

#### 2019-B-56 黒部峡谷山岳地域のニホンザル化石の形態学的解析

柏木健司 (富山大学・学研・理) 所内対応者: 高井正成

富山県は、豪雪地域におけるニホンザルの代表的な生息域の一つに挙げられ、黒部峡谷を含む県下の広い範囲で、群れの分布の広がりや消長について、これまでに情報が蓄積されている。一方、富山県産のニホンザル骨格標本は京大霊長研での収蔵は無く、富山県下の公共機関においても、収蔵情報を含め標本にたどり着くことは、申請者の経験に基づく困難な現況にある。今回、複数の関係諸機関に問い合わせたところ、一機関で冷凍状態にある数個体の轢死体の収蔵を確認し、現在、標本の受け入れを進めている。さらに今回、北陸豪雪地域におけるニホンザルの形質に関する基礎資料を得ることを目的に、白山自然保護センター所蔵の白山産の約 120 試料の大白歯を計測した。下顎 M1 の歯冠面積は、Aahara and Nishioka (2017)の白山の数値に比較して、雄雌ともに僅かに大きい値となった。また、京大霊長研収蔵試料のうち、福井県高浜と青森県下北、島根県羽須美、他数産地の標本も比較のために計測した。島根県産試料は、下顎 M1 歯冠面積と大白歯歯冠面積ともに、今回の計測標本全体の中で小さな値を示す。また、富山県の鍾乳洞産化石標本は、現生白山試料の大白歯歯冠面積の平均的な大きさである。

#### 2019-B-57 霊長類神経系の解析とヒト疾患解析への応用

井上治久 (京都大学・iPS 細胞研究所)、沖田圭介、今村恵子、近藤孝之、月田香代子、Suong Dang、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神経細胞の違いを同定するため、チンパンジーおよびヒトの iPS 細胞から作製した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 細胞から二次元培養により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を行った。また、三次元培養による脳オルガノイドの作製を行った。さらに、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、機能的な神経ネットワークが形成され、薬剤で神経伝達の制御が可能であることが示された。これらの神経細胞を用いたモデル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が有用である可能性が考えられた。

#### 2019-B-58 アフロ・アジア地域における新第三紀霊長類化石の研究

國松豊 (龍谷大・経営) 所内対応者: 平崎鋭矢

2019年度は8月~9月にかけてケニア共和国北部のナカリ地域において中新世後期の地層を対象に化石採集のための野外調査をおこない、追加の脊椎動物化石を収集した。2020年3月に再びケニアへ渡航し、ケニア国立博物館において、ナカリ地域の化石の整理をおこない、これまでに収集した霊長類化石の分析を進めた。ナカリ地域からは、中新世小型「類人猿」の一種であるニャンザピテクス類の現在知られている最後の生き残りとして、すでに上顎小白歯標本を記載・報告しているが (Kunimatsu et al., 2017)、未記載標本の中にニャンザピテクス類の大白歯がさらにいくつか含まれているようである。

アジアに関しては、2020年2月にタイ東北部ナコンラチャシマにおいて現地調査をおこない、ナコンラチャシマ郊外から出土し、東北タイ珪化木博物館に収蔵されている中新世の脊椎動物化石の整理・分析を進めた。この過程で新たにコロブス類の下顎標本を得た。同地域から出土した他の哺乳類化石に基づく、中新世後期のものと思われ、今後、この標本の分析と共産する他の哺乳類化石の分析を進めていく予定である。

#### 2019-B-59 ヒト上科を対象とする後肢筋の筋線維型の分布の比較

設楽哲弥、後藤遼佑 (大阪大学大学院人間科学研究科) 所内対応者: 平崎鋭矢

筋線維型の分布は各動物種が行う主要なロコモーション様式と関連していることが知られている。特に霊長類では後肢がロコモーションにおいて主働していることから、後肢筋の筋線維型の分布は霊長類各種のロコモーション様式への適応を反映していると考えられる。本研究では、ロコモーション様式を異にす

る三種の霊長類、テナガザル、チンパンジー、ニホンザルを対象として、後肢筋の筋線維型分布を比較することを目的とした。

本年度は染色方法の確立を目標とし、ニホンザルの薄筋をサンプル試料に用いて遅筋線維と速筋線維の染め分けを試みた。染色方法には免疫組織化学的手法を用いた。10%ホルマリン液浸保存されたニホンザル三標本左側それぞれから薄筋を摘出し、抗 fast-myosin 抗体 (Sigma, M4276, cloneMY-32) と抗 slow-myosin 抗体 (Sigma, M8421, clone NOQ7.5.4D) を用いて、所定の工程で遅筋線維と速筋線維を染色した。

その結果、ニホンザル三標本中、一標本において比較的鮮明なコントラストが見られた。また、抗 fast-myosin 抗体を用いた染色のほうが、抗 slow-myosin 抗体を用いた染色よりも鮮明なコントラストが得られることも分かった。今後はニホンザルの殿筋群とハムストリングスを優先的に染色し、解析手法の確立を目指す。

#### 2019-B-60 霊長類の脊柱構造に関する進化形態学的研究

中務真人、小林諭史、小嶋匠、富澤佑真 (京都大学) 所内対応者：西村剛

計画開始以来、霊長類研究所において、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 個体の液浸標本を CT 撮影し、腰椎の 2 レベル (第 1 腰椎側面レベルと下部腰椎側面レベル) において、再構築像から仮想的に断面を作成して、断面における固有背筋の断面積を計測した。その値を体重 (大腿骨頭径からの推定値) で正規化し種間比較した。その結果、第 1 腰椎のレベルでは、チンパンジーとマカク属の間に有意差は認められなかった。また、ヒト上科において、横突起が必ずしも固有背筋の腹側境界を示す適切な指標とはならない事が示された。一方、下位の腰椎レベルではチンパンジーの値が小さい可能性が示された。これは、従来から唱えられている類人猿における固有背筋の縮小を支持する結果であった。この傾向を厳密に検証する上で、旧世界ザルの計測値追加が必要であると判断した。霊長類、特に類人猿の脊柱構造に関する総説をまとめ、脊柱の進化を扱った書籍の一章として公刊した。

#### 2019-B-61 ニホンザルにおける母親の栄養状態と乳児の成長との関連性について

栗田博之 (大分市教委・文化財) 所内対応者：濱田穰

本研究は、母親の栄養状態と乳児成長の関連性を定量的に評価する目的で 2019 年度に開始したものである。季節性繁殖動物であるニホンザルを対象として、2 つの時期 (出産直後で、体脂肪が少ない時期である夏季 (1 回目)、および、それから約 3 か月経過後であるが未だ離乳前で、体脂肪が多い時期である秋季 (2 回目)) のそれぞれにおいて、2019 年度は一組の母親・乳児の栄養状態指標 (頭臀長、前胴長、体重、皮下脂肪厚、太もも回り、胸囲) を計測した。

その結果として、母親 (9 歳) の頭臀長、前胴長、体重、皮下脂肪厚 (背部、腹部、腸骨稜上部)、太もも回り、胸囲の 1 回目から 2 回目にかけての増分は、それぞれ -15mm、1mm、-50g、-0.6mm、-1.1mm、0mm、-6mm、4mm であり、乳児 (1 回目:71 日齢;2 回目:162 日齢) の上記項目の増分は、それぞれ 36mm、28mm、545g、0.2mm、0.2mm、0.3mm、29mm、36mm であった。

今後、標本数を増やして分析を行う計画である。

#### 2019-B-62 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 7 年目の 2019 年度の出産率は、87A 群で 44% 赤ん坊の死亡率は 8% であった。87B 群に関しては、観察日数が少なく、正確な出産率、死亡率が得られなかった。個体数は 87A 群では昨年度 70 頭が今年度は 75 頭と増加した。87B 群はフルカウントができなかった。現在 87A 群は、2013 年の分裂した頭数とほぼ等しいが今年度は観察期間中に泊まり場を異にするようなサブグーピングは観察されなかった。遊動面積は、ほぼ昨年度と同じであった。1987 年からの観察データをまとめると、33 年間で赤ん坊の死亡率は 8.5% (n=188) であった。高い死亡率を示した分裂の年度 2013 年を除くと 6.7% (n=179) となった。初産年齢は 6.3 歳 (n=32)、出産間隔は、1.7 年 (n=155) となった。連続出産の例 56 のうち赤ん坊が発情期までに死亡し翌年出産したのは 15 例であった。現在メスの死亡年齢、生涯産子数のデータも集まりつつあり、遊動面積や遊動距離、採食などの行動に費やす時間、採食に関するデータなどと共に解析すること、金華山など他地域と比較することにより下北地域の個体群増加の要因解明に迫りたいと考えている。

#### 2019-B-63 口腔におけるメカノセンサー発現の解明

城戸瑞穂、吉本怜子、西山めぐみ (佐賀大学医学部) 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・摂食・情報交換など多様な行動の基盤となっている。近年、メカノセンサーの機能解明が発展し、力学的な環境と受容との関係にも着目されている。口腔は力

学的に咀嚼など多様な刺激に常に曝されるユニークな器官であるが、その力学的な受容の機構についての理解はまだ限られたものである。そこで、私たちは、口腔内の力学センサーがどのような部位に存在をするのか、組織形態や解剖学的な部位によるどのような分布の差が認められるのかを明らかにすることを目的として、固定された組織において、メカノセンサーイオンチャネルが口腔の上皮および結合組織に発現していることを明らかにした。マウス組織において、咀嚼により大きな力が加わる咀嚼粘膜、伸展が大きい被覆粘膜、味覚等に関わる特殊粘膜で、発現様式が異なっていた。また、細胞内部の局在も異なっていることから、細胞生物学的な詳細な解析が必要と考えている。

#### 2019-B-64 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(神戸大学大学院 保健学研究科)、江村健児(姫路獨協大学) 所内対応者:平崎鋭矢  
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。また、下腿屈筋群の支配神経パターンを解析した。前腕屈筋群に関し、浅指屈筋の起始・停止には種による相違が認められたが、支配神経のパターンは、筋内分布まで調べたところ、一定の共通性が認められた。本成果は第35回日本霊長類学会大会で発表し、現在論文投稿を行い、revise中である。下腿屈筋群に関しては、ヒラメ筋と足底筋の間の支配神経パターンの近縁性を見だし、それをもとに、ヒラメ筋と足底筋の系統発生を考察し、ヒトにおいてみられるヒラメ筋の発達は、足底筋の原基を利用している可能性について提唱したい。本成果は第35回日本霊長類学会大会で発表し、最優秀ポスター発表賞を受賞した。次年度は対象部を上腕と大腿部へとつなげ、鎖骨下筋と肩甲帯の関係、尺骨神経の分岐パターン、大腿二頭筋短頭についても同様に解析を行っていきたい。

#### 2019-B-65 機械学習を適用した飼育サル集団からの個体検出・識別と社会交渉場面の自動検出

中村裕一、近藤一晃、Haefliger Adan(京都大学学術情報メディアセンター) 所内対応者:香田啓貴  
近年のセンサ技術の高精度化および機械学習の進歩に伴って、これまで多大なコストと時間のかかっていた、フィールド中の動物の個体検出および個体識別を自動化する機運が高まっている。本研究では、その一つのアプローチとして、飼育サルを対象とし、動画・静止画データからサルの個体検出、個体識別を行うための機械学習の手法の適用とそれによる自動追跡を試みる計画を企画した。しかし、一方で主体的に実施できる環境が構築できず、多くの点については具体的に実施できなかった。活動としては、それ以前に実施された内容を、学会で公表することとどまったが、これを契機としてより発展させる展開を模索したい。

<国内会議での発表>

濱地瞬, 近藤一晃, 中村裕一, 豊田有, 香田啓貴, 佐藤真一. ニホンザルの性別

・年齢推定における深層学習の推定根拠の可視化. 第47回可視化情報シンポジウム. 2019年7月25-27日, 京都

#### 2019-B-66 チンパンジー多能性幹細胞を維持する機構の解析

高島康弘(京都大・iPS細胞研究所) 所内対応者:今村公紀  
ヒト胚性幹細胞(ES細胞)はFGFとACTIVINシグナルを利用し、維持される(プライム型と呼ぶ)。一方、マウスES細胞はLIFシグナルを利用し、維持されている(ナイーブ型と呼ぶ)。人工多能性幹細胞(iPS細胞)も同様であり、ヒトはFGFとACTIVINであり、マウスはLIFシグナルであり、維持されるシグナルが異なっている。

申請者は、ヒトiPS細胞をマウスと類似した培養方法へと変更したヒトiPS細胞を樹立することに成功した。

一方、非ヒト霊長類ES/iPS細胞は、ヒト同様にFGFとACTIVINのシグナルによって維持されており、ヒトと同様のプライム型である。申請者は、ヒトと同様の方法を用いて、カニクイザル、アカゲザル、コモンマーモセットをナイーブ化する試みを行ってきたが、ヒト同様の方法では、誘導することが難しいことが分かった。

本年度はよりヒトに近縁であるチンパンジーiPS細胞の多能性に関連するシグナルを解析し、チンパンジー、ヒトを含む霊長類における相違と相似を明らかにすることを試みた。またチンパンジーiPS細胞(プライム型)をより受精卵に近いナイーブ型チンパンジーiPS細胞へとリプログラミングを行った。形態的には、プライム型からナイーブ型への移行を認めた。今後遺伝子発現の確認やより効果的なナイーブ型への移行方法を考える。

#### 2019-B-67 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

胚発生初期に生じる始原生殖細胞(Primordial germ cells: PGC)はすべての生殖系列の源である。生殖細胞

胞が生じると考えられる妊娠初期のヒト胚は倫理的・实际的に直接解析することが困難であるため、これまで多くの研究がマウスの胚を用いて進められてきた。しかしながら、近年、PGC の発生機構にはマウスとヒトで差異があることが判ってきており、よりヒトに近いモデルを用いてそのメカニズムを明らかにすることが、その理解に重要であると考えられる。そこで本研究では、ヒトに最近縁の霊長類であるチンパンジー由来の iPS 細胞を用いて、PGC が生じる過程を *in vitro* で再構築し、その成熟化、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。前年度において、所内対応者の今村公紀先生から分与いただいたチンパンジー iPS 細胞から PGC を分化誘導することに成功していた。本年度はその更なる解析として、まず RNA-seq によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、チンパンジー iPS 細胞から分化誘導された PGC は、すでに報告がなされているヒト ES/iPS 細胞由来の PGC と極めて近い遺伝子発現パターンを示すことが明らかになった。また PGC の更なる成熟化を促すため、雌マウス胎児生殖腺から回収した支持細胞と共にチンパンジー iPS 細胞由来の始原生殖細胞 PGC と共培養を行った。その結果、PGC の二ヵ月ほどの長期にわたる生存と、その一部における増殖が確認できた。今後の詳細な解析が望まれるが、成熟化が進んでいけば、発生中の胚で起こるインプリントの消去をはじめとしたエピゲノム変化も解析することが可能になる有用な実験系になると期待される。

#### 2019-B-68 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(脈管科学研究所)、田上秀一(久留米大学医学部放射線医学教室) 所内対応者：濱田穰

ニホンザル(Mff)の脳血管系は幾つかの点でヒト(現生人類,Hss)とは異なっている。A. cerebri anterior (ACA)は左右が合体して一本と成り、上行、斜め上前方に走行の後、上方から後方に強く屈曲して後方に向かう。このような ACA の走行は、Hss では極めて稀である。静脈系では多くの相違点が見いだされつつある。Hss では、V. cerebri anterior (VCA)、V. cerebri media profunda (VCMP)等からの静脈血は、外側に張り出す弧を描いて V. basalis (VBR, Rosenthal's vein) と成って V. cerebri magna (VCM, Galen's vein) → Sinus rectus (SR)と流ることが多い。しかし Mff では、VBR (Rosenthal's vein)は上行して VCM → Sinus rectus (SR)と流れるのではなく、幾分蛇行しつつも斜め後外側方向に流れ、Sinus transversus (STR)に合流している。これは経路図を描くと、大きな相違点である。Foramen jugulare (FJ)の形状に反映された Sinus sigmoideus (SSG) から Vena jugularis interna (VJI)への流れに関しては、Hss では Squama occipitalis の下壁が下方に膨隆していることと、「他の Anthropeida では FJ の前端に相当する部分」が Hss では FJ の上端と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、次いで急角度で屈曲した後下方に向かうという特殊な経路と成っている。ところが Mff では、SSG から VJI への還流静脈路は斜めになだらかに傾斜して流れる形状である。Mff の脳血管系が Hss とは異なる他の部位に関しても、今後明らかにし報告する予定である。

#### 2019-B-69 三次元運動解析を見据えたニホンザルの全身骨格データの収集

後藤遼佑、Neysa Grider-Potter(大阪大院・人間科学) 所内対応者：平崎鋭矢

本申請の問題意識は、運動計測において身体深部に位置する関節(例えば股関節など)の位置データを計測することが難しく、精密な三次元運動学的解析や動力学的解析を困難にしていることにあった。この問題は、体表面ランドマークと身体深部関節の位置関係を数的に記述することで改善させられる可能性があった。本申請では、ニホンザル標本を撮像し、体表面と深部関節のランドマーク間の位置関係を明らかにすることを目的とした。

京都大学霊長類研究所の医用 CT を使用し、ニホンザルの全身を撮像した。関節(第 12 胸椎と第 1 腰椎の椎体間関節、第 5 腰椎と仙椎の椎体間関節、肩関節、肘関節、股関節、膝関節、足関節)の三次元座標値を特定した。今後、運動解析に常用する体表面ランドマークを同定し、体表面と深部関節の位置関係を数的に記述する予定である。さらに、申請者の所属機関で収集したニホンザルの四足歩行、二足歩行、垂直木登りにおける体表面ランドマークの位置データから、身体深部関節の位置を外挿し、精密な三次元運動解析を進める。

#### 2019-B-71 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(NPO 法人市民 ZOO ネットワーク)、川出比香里(宇部市ときわ動物園) 所内対応者：林美里

2014 年から 2016 年にかけて宇部市ときわ動物園で実施したサル類の給餌内容の変更を論文としてまとめるため、飼育現場で得られた情報を整理し、科学的・定量的な評価を試みている。昨年度は、観察記録や体重変動のデータなどから、採食エンリッチメントの効果が評価できる手がかりを得た。今年度は、研究の目的や方法、条件について、情報収集をおこない、文章としてまとめる作業に着手した。具体的には、霊長類の飼育や、霊長類で実施されている枝葉給餌などの採食エンリッチメントについてまとめ、学

会で発表することで情報収集をおこなった。また、実際に研究者と協力者が集まり、データから得られた結果をより正しく表や図に表す作業をおこなった。京都大学霊長類研究所を訪問し、先行研究や野生での関係論文を検索し、収集した。今後は、まずトクモンキーの採食エンリッチメントについて、論文の体制を整えていきたい。これらについて以下の学会発表を行った。

Tomomi OCHIAI The History and Current Status of Captive Chimpanzees (*Pan troglodytes*) in Japan (2019.6.22-26) International Conference of Environmental Enrichment (Kyoto).

落合知美 国内の飼育霊長類における給餌内容と採食エンリッチメントについて(2019.7.12-14) 第35回日本霊長類学会(熊本).

落合知美, 川出比香里 飼育下霊長類における植樹と枝葉給餌(2019.11.16-17) 第22回 SAGA シンポジウム(犬山).

#### 2019-B-72 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(慶應大・医・細胞組織学)、山海直(医薬基盤・健康・栄養研究所・霊長類医学研究センター)、Suchinda Malaivijitnond(Chulalongkorn 大学・理) 所内対応者: 濱田穰

グループケージで飼育されているニホンザル(*Macaca fuscata*)の8個体について、2019年5月10日(非繁殖期)と10月15日(繁殖期)に、採血とマイクロCTによる骨密度測定を行った。血清を用いて、テストステロンと25-水酸化ビタミンDを測定した。また、マイクロCT装置(Helical CT)を用いて、生体ニホンザルの橈骨遠位の成長板(骨幹端)について、骨塩量の標準物質(ファントム)を用いて、定量的なCT撮影を行った。マイクロCTデータは、DICOM医用画像をTIF画像に変換し、画像解析ソフトウェア3DBON(ラトックシステム)で解析した。25-水酸化ビタミンDの濃度と骨量の相関が明らかになった。

生体CTデータの解像度は、さらし骨撮影時より低いので、骨梁構造の詳細な解析は、さらし骨の大腿骨や橈骨のマイクロCTの画像データで行った。死亡時の日付から、繁殖期・非繁殖期を判定した。さらし骨では生体のデータと同じ部位、すなわち橈骨遠位端について、骨梁構造の詳細な解析を行い、季節性変動が認められた。

#### 2019-B-73 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(兵庫県大・自然・環境科学研究所) 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。絶滅が危惧されている地域個体群は、美方と城崎で、2019年のカウント調査では、美方B群は17頭(成獣メス4頭)、城崎A群36頭(成獣メス10頭)の生息が認められた。2つの地域個体群の捕獲個体から血液を採取し、常染色体マイクロサテライト計16座位(Kawamoto, et al.2008)についてフラグメント分析を行い、遺伝的多様性について解析を行った。その結果、美方B群(n=10)は、He0.725、城崎A群(n=12)は、He0.702であった。2つの地域個体群は近年、捕獲や交通事故で頭数が減少している。今後、群れの遺伝的多様性が減少する可能性もある。引き続き遺伝情報をモニタリングする必要がある。近畿地方北部から中国地方北部(兵庫県北部から、鳥取県、島根県東部まで)は、ニホンザルの分布情報はなく、今後は保全すべき地域個体群として管理する必要性が求められる。

#### 2019-B-74 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

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した。前年度までに生後4~7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行った。前年度(2018-B-92)、生後4ヶ月齢マーモセット精巣移植から約3ヵ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。今年度は、より世代短縮が可能か明らかにするため、生後1日齢の個体より精巣を採取して移植したサンプルの解析を行った。移植後3ヶ月では精原細胞まで、1年では精母細胞までの発生が確認された。

#### 2019-B-75 霊長類の消化器等でのコンドロイチン硫酸の組成とコンドロイチン硫酸基転移酵素の発現解析

保坂善真(鳥取大・農・獣医解剖)、田村純一(鳥取大・農・環境化学)、割田克彦(鳥取大・農・獣医解剖) 所内対応者: 岡本宗裕

実験初年度は、2頭のニホンザルおよび2頭のアカゲザルより、消化管、泌尿器（腎臓）および呼吸器（気管）を採取し、パラフィン切片を作成の後、コンドロイチン硫酸基転移酵素である Chst12、3 および 15 の免疫染色を行った。

消化器は、いずれも粘膜上皮細胞および平滑筋で、検索した酵素の陽性反応を示した。とりわけ興味深かったのは、胃底腺で、固有層中に存在する円形の細胞全体に陽性を示した。その形から、壁細胞であると考えられた。壁細胞は固有層全体にわたって分布するが、深部よりも浅部で強い反応を示した。一方、主細胞には陽性反応を認めなかった。

一方、腎臓では、皮質では、いずれの Chst も遠位尿細管が強い陽性を示したが、近位尿細管の反応は、弱いものであった。髄質では、遠位尿細管や集合管と思われる管は陽性であったが、薄壁尿細管は陰性であった。糸球体は、血管間の基質が弱陽性であった。

呼吸器（気管）は、気管軟骨細胞および、上皮に陽性がみられた。上皮は杯細胞が陽性を示した。

今度は、細胞の詳細な同定を行うとともに、各酵素が合成するコンドロイチン硫酸の量を計測する予定である。

## 2019-B-76 ミャンマー中部の後期更新世の地層から出土したワカザル亜科遊離歯化石の3次元形態分析

河野礼子（慶應義塾大学）

所内対応者：高井正成

ミャンマー中央部サベ地域でみつかった大型オナガザル亜科の遊離歯化石について、現生種との比較を行った。まず、サベの大白歯化石6点について、霊長類研究所のマイクロCT装置によって連続撮影した。次に比較用の現生マンドリルおよびマントヒヒの大白歯についても同様にCT撮影した。現生資料は顎から大白歯を外す必要のために点数が限られ、上顎についてはマンドリル2点、マントヒヒ3点、下顎についてはマンドリル3点、マントヒヒ4点についてCT撮影が可能であった。これらの現生資料とサベの大白歯化石について比較することでサベ化石について部位を確定し、それぞれ対応する現生標本とCTデータを比較した。その結果、マントヒヒは全体にエナメル質がやや厚めであるのに対し、マンドリルではそれに比べてエナメル質が薄く、また咬頭頂が遠离心により接近しているなどの特徴がみられ、サベ標本は後者により類似する可能性が示された。比較資料数も少ないため、今回は幾何学的形態測定法の実施などには至らず、結果も予備的なものとする必要がある。今後は比較資料を増やすことでさらに分析を進める必要がある。また、ゲラダヒヒも比較に含める予定であったが、大白歯を顎から外すことができず今回は分析できなかった。今後は歯槽骨から外さずにそのままCT撮影することなども視野に入れて、比較対象を属レベルでも増やして分析していく必要があると考えられる。

## 2019-B-77 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

ヒト精神・神経疾患の霊長類モデル動物の開発のために、マカクザルとマーモセットを対象とした実験的認知ゲノミクス研究を行った。ヒト精神・神経疾患関連遺伝子（約500遺伝子）を解析対象とし、マカクザル831個体、マーモセット1,328個体を対象とした遺伝子機能喪失（Loss-of-Function:以下LoF）変異保有個体の同定を行った。その結果、マカクザルでは53遺伝子、マーモセットでは142遺伝子において、精神・神経疾患との関連性が非常に高い遺伝子において稀な（集団アリル頻度5%以下）LoF変異を持つ可能性のある個体を同定した。

ゲノム解析として、ヒト以外で未だゲノム配列未決定の霊長類種の新規ゲノム解読によるゲノム情報の整備を行った。具体的には、チンパンジーの亜種であるヒガシチンパンジー、テナガザル3種、ニホンザル、スローロリスの新規ゲノム解読、遺伝子情報の整備を行うとともに、それら大規模情報を公共データベースに登録・公開した。それらの成果の一部として、ヒトの染色体進化に関する論文を発表した（Hirai et al. 2019 Cytogenetic and Genome Research）。

トランスクリプトーム解析としては、ヒトと非ヒト霊長類の死後脳を用いた複数脳領域における比較遺伝子発現解析を行った。具体的には、一分子長鎖シーケンサーを用いたアイソフォームレベルの完全長転写産物の種間（ヒト、チンパンジー、ゴリラ）比較を行い、論文投稿準備中である。また、細胞の個性を単一細胞ごとに定量化するための技術開発を行った。数万の単一細胞の遺伝子発現情報を網羅的に取得できる技術開発を推進した。対象とする細胞種として、免疫系、神経系などを中心として、単一細胞レベルでの遺伝子発現情報を取得する実験および解析系を構築することに成功した。

## 2019-B-78 異種間移植によるマーモ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、福田七穂、小田佳奈子（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・モデル動物）

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モ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、安楽死されたマーモセット精巣上体尾部精子の凍結保存を行った。今年度は安楽死された、生後 12 日齢の卵巣の異種間移植にも着手した。

<方法>

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。

マーモセット卵巣の異種間移植(1)冷蔵輸送後の新生児(生後 12 日齢で安楽死されたマーモセット)の生殖器より卵巣を採取した(図 1)。(2)事前に左右卵巣を除去した免疫不全マウスの、左右の腎被膜下に卵巣片を移植した。(3)移植したマーモセット卵巣の機能開始を調べるため、週 2 回、免疫不全マウスの膣開口の確認を行った(図 2)。

<結果>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。新生児卵巣を移植した免疫不全マウスはまだ膣開口が認められていないが、引き続き、性周期開始を確認し、確認ができた個体には性ホルモン投与を行い、卵子採取を行う。通常、マーモセットは 1.2-1.5 歳で性成熟を迎える。マウスに移植したマーモセット新生児卵巣の機能開始時期は確認されており、今後、この共同研究を進める中で、明らかにしたい。

## 2019-B-79 Adaptive significance of cathemerality in brown lemurs (*Eulemur fulvus*) in northwestern Madagascar

Hiroki Sato, Tojotanjona Patrick Razanaparany (ASAFAS, Kyoto University) 所内対応者: 半谷吾郎

Most animals, especially those living in unpredictable and harsh environment, must develop strategies to access food for vital element and energy supply. Although *Eulemur* has less-specialized gut to digest fibre, they consumed fibrous diet during food-shortage periods. It would explain the extension of their feeding time over 24-h, so called cathemeral feeding, to increase food and energy intakes. Here, we studied how *Eulemur fulvus* organized cathemeral feeding to insure their nutrient and energy intakes. We followed two groups of *Eulemur fulvus* in a seasonal dry forest of northwestern Madagascar during nine months distributed evenly in the dry and wet seasons. We collected data on their feeding behaviour during all-day and all-night using direct observation. To evaluate fruit availability, phenology of 817 trees belonging to 26 species in two line transects were monitored twice a month. We analysed nutrient contents of food items consumed by *E. fulvus* in the lab of PRI and determined nutritional intake. The data were treated on daily basis, and nocturnal and diurnal feeding were analysed separately. We examined the effect of season on feeding time and nutrient intakes with linear mixed models (LMMs). Then, we tested the effects of nutritional intake and environmental factors on feeding time with LMMs. Feeding time and feeding time on most consumed items were successively added as dependent variables, and nutritional intake, climate, the availabilities of food and water were set as the independent variables. During daytime, *Eulemur fulvus* were frugivorous during the wet season but they predominantly spent time feeding mature leaves besides fruits during the dry season. Their feeding time increased with the water intake (from food, hereafter) and ripe fruit availability. They spent more time eating ripe fruits during cool days and such prolonged frugivory increased carbohydrate intake. Their feeding time on mature leaves increased during dry and cool days and it increased their water intake. At night, especially during the dry season, they were mainly frugivorous. Nocturnal feeding was positively predicted by carbohydrate intake and negatively associated with the humidity. The carbohydrate intake and ripe fruit availability predicted positively the time spent feeding on ripe fruits. These results suggest that *Eulemur fulvus* consumed succulent mature leaves to increase water intake during daytime probably to cope the dry condition of the dry season. Hence, the nocturnal feeding offset the energy supply at night during the dry season by shifting their diet from succulent leaves to fruit. During the wet season, as both fruits and water were available, they probably satisfied their energy requirement using daytime which would explain the marginalization of the nocturnal feeding activities. These different functions between diurnal and nocturnal feeding will explain the significance of cathemeral activities in *Eulemur*.

## 2019-B-80 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、富士川朋夏(東京医科歯科大・院・免疫治療学) 所内対応者: 明里宏文

本研究では、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るサル T リンパ球向性ウイルス (STLV) に自然感染したニホンザルにおける STLV 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) 応答の解析ならびに活性化を目的とした。野生のニホンザルでは個体毎に MHC が異なるため、個体別に STLV 感染細胞株を樹立しこれを抗原とする特異的 T 細胞応答の解析系を作製し解析したところ、多くの感染個体では STLV 特異的 CTL 応答が保たれていた。しかし、一部の個体ではプロウイルス DNA 量が高いにも関わらず STLV 特異的 CTL 応答が著しく低かった。これは HTLV-1 感染で生じる ATL 患者や ATL 発症リスクを

持つ HTLV-1 キャリアの特徴に酷似している。ATL 患者では HTLV-1 特異的 CTL の活性化により抗腫瘍効果が期待されていることから、STLV 特異的 CTL の低応答性を示すニホンザル個体に対する免疫活性化を目的として、同一個体由来の不活化 STLV 感染細胞を用いて免疫接種実験を実施した。その結果、顕著な STLV 特異的 CTL 応答の活性化が誘導された。これは非常に有望な結果であり、本プロジェクトは令和元年度の AMED の研究開発事業に採択された。今後個体数を増やしフォローアップを行う予定である。

#### 2019-B-81 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)、月本準、桐山慧(徳島大・院・医歯薬学研) 所内対応者:大石高生

霊長類研究所(大石、宮部、金子ら)との共同で、徳島大(伊藤ら)は、ニホンザル若桜集団の中に、リソソーム酵素  $\alpha$ -L-イブロンダー(IDUA)遺伝子における 1 塩基置換(ミスセンス潜性変異)が原因で、IDUA 活性欠損と特徴的な顔貌、四肢や体幹の形態異常を伴うムコ多糖症 I 型(MPS1)(ライソゾーム蓄積症の一種)を自然発症した個体(呼称ヨウダ)を世界初で発見し、今年度は、同変異のホモ個体(呼称ムシューダ♀20160521 生、オジーダ♀20190527 生)を同定した。神戸薬大(北川、灘中)は、ムシューダ及びオジーダの尿中に、IDUA の生体内基質であるヘパラン硫酸、デルマタン硫酸が排泄されていること、また血漿中の、 $\alpha$ -イブロン酸を含むヘパリンが増大していることを明らかにした。徳島大(伊藤、月本、桐山、篠田ら)は、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、組織細胞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、エンドグリコシダーゼ M(EndoM)または Endo-CC 変体の糖鎖転移活性を利用し、人工的に IDUA の付加糖鎖と挿げ替えたネオグライコ IDUA を創製した。さらに同研究所の今村がヨウダ耳介組織から樹立した皮膚線維芽細胞株の培養液に、ネオグライコ IDUA を投与したところ、細胞表面の M6P レセプターを介して取り込まれ、リソソームまで輸送され、欠損 IDUA 活性を治療域まで回復させることを明らかにした。今後、本ネオグライコ IDUA をムシューダの静脈内に定期継続的に投与することにより、補充治療効果が期待される。

#### 2019-B-82 大型類人猿の足部における骨格と軟部組織の関係について

大石元治(麻布大・獣医)、荻原直道(東京大・院・理) 所内対応者:平崎鋭矢

関節の可動域はその形状に加え、筋や靭帯などの軟部組織によって決定される。大型類人猿の足部の形態学的研究は骨格や筋についてのものがほとんどであり、腱や靭帯についての報告は 1 から 2 個体の報告にとどまっている。そこで、本研究は大型類人猿における足部の腱や靭帯の種類/種内バリエーションを明らかにして、足部の運動に関係する形態学的特徴を理解することを目指している。本年度は、チンパンジー、ゴリラをそれぞれ 1 個体ずつ観察する機会を得た。チンパンジーにおいては、既報の通り、底側面に長腓骨筋腱、後脛骨筋腱、底側踵立方靭帯、底側踵舟靭帯、底側立方舟靭帯、底側楔舟靭帯などが観察された(図)。しかし、後脛骨筋腱には Hepburn (1892)が報告している中間楔状骨への停止腱は認められず、Gomberg (1981)の報告に類似していた。また、底側立方舟靭帯は後脛骨筋腱の深層を横走しており、Gomberg (1985)の報告と比較して未発達であった。ゴリラについては、現在、観察を継続中である。今後は標本数を増やし、腱・靭帯の分岐や付着から分類を試みる。

#### 2019-B-83 ヤクシマザルにおける抱擁行動の至近要因と季節変化

田伏良幸(京都大・理・人類進化論研究室) 所内対応者:半谷吾郎

今年度の共同利用研究では、昨年度の共同利用研究で得られた結果も合わせてまとめた。鹿児島県屋久島町の西部海岸域で、ヤクシマザル(*Macaca fuscata yakui*)の Umi-A 群を対象に、文化行動である抱擁行動の至近要因と生起頻度の季節変化を調べた。データ取得方法は、追跡個体の半径 10m 以内で生起した抱擁行動を全生起サンプリングにより行った。その結果、交尾期よりも非交尾期(特にアカンボウがまだ小さい夏)において、抱擁行動の生起頻度が高かった。また、非交尾期の中でみても、ワカモノメスやオトナメスが特に非血縁のアカンボウを子守りしているときに、アカンボウの母親と敵対的交渉が生じ、その後抱擁行動が生じることが多かった。このことから、抱擁行動はこれまで報告されているような仲直り行動として機能していることが確認された。一方で、子守り行動という文脈での生起は、今回の調査で初めて明らかになった。ヤクシマザルは他地域に比べて、子守り行動の割合が高いことが報告されている。抱擁行動が子守り行動時に仲直りするのに機能することで、多くの子守り行動ができる機会が生まれ、高い割合での子守り行動が実現できているのかもしれない。

#### 2019-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

緑川紗織、時田幸之輔(埼玉医科大学保健医療学部理学療法学科) 所内対応者:平崎鋭矢

アカテタマリンの背側肩帯筋(腹鋸筋 SV・肩甲挙筋 LS・菱形筋 Rh)の筋形態および支配神経について調査した。アカテタマリンの SV は、第 1~8 肋骨より起始し、支配神経は C6,7 であった。LS は、C1~5 横突起より起始し、支配神経は C4,5 であった。Rh は、C4~Th4 棘突起および後頭骨より起始し、支配神経



は C4,5 であった。これらの筋形態と支配神経の分節構成は、昨年の共同利用研究(2018-B-84)にて報告したリスザルのもものと類似している。背側肩帯筋支配神経は、背側斜角筋(ScD)との位置関係にヒトと異なる特徴がみられた。ヒトでは、LS・Rh 支配神経は中斜角筋の浅層を、SV 支配神経は中斜角筋を貫く走行をとる。一方で、リスザルとアカテタマリンでは ScD は 2 層観察され、LS・Rh 支配神経は ScD の深層を、SV 支配神経は ScD2 層間を貫く走行をとっていた。ScD の形態は霊長類間でも差異があり、ヒト中斜角筋との対応関係については検討の余地がある。また Koizumi(2019)は、背側肩帯筋支配神経は脊髄神経前枝からの分岐が中斜角筋支配神経に近いことから、体幹筋に属するとしている。以上より、背側肩帯筋の形成については ScD と合わせて検討する必要がある、今後の課題としていきたい。

#### 2019-B-85 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、田中雅子（日本大学 獣医公衆衛生学研究室） 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。近年では、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た。さらに、日本の野生ニホンザルも本菌を保有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。本共同利用研究を通じて、これまでに和歌山県由来のニホンザル 1 頭（個体 ID#：TB1）、大阪府由来のニホンザル 2 頭（個体 ID#：MN51, MN57）から *B. quintana* を分離している。9 つのハウスキーピング遺伝子（塩基長 約 4,270bp）を用いた MLST 法によって分離株を解析したところ、いずれの株も野生ニホンザル由来株と同一の ST22 に型別されることが明らかとなっている。本年度には、*B. quintana* の遺伝子系統を詳細に解析するための新たな方法として、全ゲノム情報に基づく core genome MLST 法を検討した。ヒト由来 Toulouse 株、アカゲザル由来 RM-11 株およびニホンザル由来 MF1-1 株間において、Sequence identity=90.0%、Overlap=95.0%以上の相同な Locus は 1,056 個であった。これら相同な Locus から、2 株間あるいは 3 株間の比較において Sequence identity=100%を示した Locus を除外した。その結果、計 493 個の Locus が core genome MLST 法に用いる候補遺伝子として抽出された。今後、研究用ニホンザルである TB1, MN51 および MN57 由来の分離株について全ゲノム配列を決定するとともに、これら候補遺伝子の保有状況と遺伝子型別法を検討していく必要がある。

#### 2019-B-86 遺伝子改変 iPS 細胞由来造血系細胞の移植による免疫機能細胞再構築に関する研究

金子新（京都大学 iPS 細胞研究所）、塩田達雄・中山英美（大阪大学微生物研究所）、三浦智行（京都大学ウイルス研究所）、入口翔一（京都大学 iPS 細胞研究所） 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 細胞に対して、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集の系を確立した。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。最適化した CRISPR/Cas9 システムを用いて SHIV に対する感染防御能を付与する目的に SHIV の感染受容体である CCR5 をターゲットとしてアカゲザル由来 iPS 細胞のゲノム編集を行ったところ、CCR5 homo ノックアウト株を 30%と効率よく作成できた。CCR5 ノックアウト iPS 細胞株（ $\Delta$ CCR5 iPS 細胞）は元株とほぼ同様の造血前駆細胞・CD4CD8 共陽性 T 細胞・マクロファージへの分化誘導能を有していた。（図 1 にアカゲザル iPS 細胞から誘導したマクロファージがバイオパーティクルを貪食する様子を示す。）

さらに、 $\Delta$ CCR5 iPS 細胞から分化誘導したマクロファージ（ $\Delta$ CCR5 iMac）に SHIV 感染抵抗性が生じるか否かを in vitro で評価したところ、元株と比較して  $\Delta$ CCR5 iMac に対する SHIV の感染効率の低下を認めた。

今後は SHIV 感染アカゲザルに対して  $\Delta$ CCR5 iPS 細胞由来造血前駆細胞の自家移植を行うことにより、iPS 細胞由来造血前駆細胞の生着と免疫再構築の有無に加え、SHIV 感染の治療モデルとなり得るかを評価する予定である。

#### 2019-B-87 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（東京大学医科学研究所） 所内対応者：今井啓雄

本年度はチンパンジー胎仔繊維芽細胞をご提供頂き、プライム型およびナイーブ型 iPS 細胞の作製に取り組んだ。また、以前ご提供頂いたチンパンジー末梢血血球細胞から作製したプライム型 iPS 細胞のナイーブ型への変換に取り組んだ。

その結果、繊維芽細胞・血球細胞由来を問わず、プライム型 iPS 細胞からナイーブ型多能性幹細胞への変換および長期間の維持に成功した。これは昨年度までの研究をベースとした新規の培養条件により達成された。RNAseq により遺伝子発現プロファイルと比較したところ、プライム型株とナイーブ型株は大きく異なる遺伝子発現プロファイルを示すとともに、チンパンジーナイーブ型株の遺伝子発現プロファイルは

ヒトナイーブ型多能性幹細胞株と類似していることがわかった。

また、樹立されたナイーブ型株をマウス着床前胚に移植し子宮内で発生させたところ、将来的にマウス個体を形成する領域であるエピプラストへの寄与が認められた。これはプライム型株、あるいは細胞死阻害処理を施したプライム型株では見られなかった現象である。

以上の成果を以下の学術集会にて研究協力者の正木が発表した。現在論文発表の準備中である。

“THE PROGENIES OF HUMAN OR CHIMP PLURIPOTENT STEM CELLS DISTURB INTERSPECIES CHIMERA DEVELOPMENT”

International Society for Stem Cell Research annual meeting, June 28th, 2019, Los Angeles, USA

“How to make human→animal chimeras?”

日本分子生物学会年会、2019年12月4日、福岡市

### 2019-B-88 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(京都大学 ウイルス・再生医科学研究所) 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いる。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的結果を得たことから、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、ワクチン接種した後に攻撃接種実験を行った。感染防御効果を調べたところ、部分的な増殖抑制効果が認められた。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的に解析し、血中ウイルス量の推移と中和抗体産生について解析し、ワクチン評価モデルとして必要な基礎情報を蓄積した。

### 7.2.3 随時募集研究

#### 2019-C-1 Pelvic sexual dimorphism in *Macaca fuscata*: effects of clinal variation and obstetric constraints

Ilaria Brunetti(University of Zurich)、Naoki Morimoto(Kyoto University) 所内対応者：西村剛

We have CT scanned 113 skeletal adult wild-shot specimens of *Macaca fuscata*. Adult pelvic shape variation in five population of Japanese macaques (*Macaca fuscata*) is investigated as a function of sex, climate and population affiliation. Furthermore, interactions between these factors are explored. These questions are addressed by employing methods of biomedical imaging, geometric morphometrics and multivariate statistics.

The results show that population affiliation has profound effects on size and shape of both the pelvis and the birth canal, thus reflecting latitudinal variation and population history. There is no significant sexual dimorphism in pelvic size. However, moderate sexual dimorphism is present both in pelvic shape and in the shape of the birth canal. Additionally, the pelvic morphology of *M. fuscata* exhibits clinal variation associated with differing mean annual temperatures. Pelvic sexual dimorphism does not vary among populations or along climatic clines.

Overall, the results of this thesis imply that the pelvic morphology in *M. fuscata* is shaped by a multitude of biological and environmental factors. Most notably, the results provide clear evidence for climatic adaptation but only moderate pelvic sexual dimorphism of the pelvic morphology.

#### 2019-C-2 サルの脅威刺激検出に関する研究

川合伸幸(名古屋大・院・情報学) 所内対応者：香田啓貴

これまでの共同利用研究を通じて、サルはヘビを他の動物よりも早く見つけることを示して来た (Shibasaki & Kawai, 2009; Kawai & Koda, 2016, Kawai, 2019)。ヘビを見たことのないサルがヘビをすばやく検出するという事は、サルは生得的にヘビを検出する視覚システムを有していることが示唆される。しかし、ヘビのどのような視覚特性がヘビ検出にかかわっているかは、まだ明確ではない。報告者は、ヘビの色や形特定の空間周波数のパワーではなく、ヘビのウロコが重要な手がかりであることを突き止めている (Kawai & He, 2016; Kawai, 2019)。しかし、霊長類の視覚システムがヘビにだけ特徴的なウロコを手がかりにヘビを検出すべく進化したなら、逆にヘビのウロコがあればヘビ以外の動物でも早く検出されると予想される。

そこでこれまでと同様に、視覚探索課題を用いて、1) 8枚のヘビ写真から1枚のイモリ写真を検出速度と、その逆のパターンを比較すると、ヘビ1枚を検出するほうが早く、これまでと同様の結果を得た。しかし、2) 同じイモリの写真にヘビのウロコを重畳して、イモリターゲットとヘビターゲットの検出速