

23. 筑波医学実験用霊長類センター

センター長 寺尾恵治

概要

平成 14 年度末に着工したケージサイズを拡大するための既存飼育施設および P3 施設の改修工事と新棟建設が本年度末に完了した。センターの核となる繁殖育成集団を収容する施設の改修であり、新棟建設と改修工事を同時並行で行うためには、限られた収容スペースに千頭以上のサルを頻回に移動させねばならず、工事期間中のセンター職員およびサルの負担は大きかった。二年間にわたる工事が大過なく完了したのは、緻密な回避計画と関係者の臨機応変の対応によるものであり、村山分室を含め関係者の努力に深く感謝する。既存の第一、第二、第三棟に加え 600 頭の収容能力を持つ新棟（第七棟）が完成したことにより、懸案であった繁殖育成システムの多様化が可能となった。今後は、それぞれの飼育棟の特徴を生かした新しい管理システムを構築してゆく必要がある。

大型新棟の完成は光の部分であるが、度重なる移動の影響で繁殖成績が低下したのが陰の部分である。ここ数年妊娠率の低下が問題となっていたが、工事による影響も重なり年間生産数は 197 頭にとどまった。高品質の実験用サルの生産・供給はセンターの最も重要な業務であり、改修なった新しい革袋にどのようなシステムを入れるかが緊急の課題である。改修工事という悪条件にもかかわらず、実験用霊長類の繁殖・育成・品質管理・供給に関わる業務は遅滞なく実施され、感染研に 98 頭、共同利用施設に 69 頭の計 167 頭の育成カニクイザルを供給した。昨年度から霊長類研究リソースの開発・維持に対して厚生労働科研費による支援が開始され、個体レベルから遺伝子レベルまでの階層の異なる新規の霊長類リソースの開発と若年性網膜黄斑変性家系の維持を継続することができた。

サル類の疾患モデルの開発はリソース整備と並ぶ重要な業務であり、今年度も基盤的研究費、事業費、厚生労働科学研究費補助金、ヒューマンサイエンス財団、文部

科学省科学研究費等の支援を受けて実施された。共同利用施設では、遺伝子治療、再生医療、長寿科学、脳科学研究、移植医療、新規医薬品開発、医療技術開発など運営委員会で承認された計 30 件の実験が予防衛生協会の技術支援を受けて進展した。

昭和 53 年に国立予防衛生研究所の筑波支所として開設された霊長類センターは、発足後 27 年を経過し、年産 250 頭の生産能力を有する繁殖コロニーに加えて感染症実験施設（P2、P3）と共同利用施設の二つの特殊実験施設を併設する我が国では数少ない総合的な霊長類医学科学研究施設となった。整備されたセンターのリソースと施設とを広く国内の研究者に開放し、感染症研究のみならず創薬研究や医療技術の開発研究を促進するために、平成 17 年 4 月 1 日より大阪府茨木市に新設される独立行政法人・医薬基盤研究所（基盤研）の生物資源部門に移行させる。感染研で実施されるワクチン国家検定への育成ザル供給を目的として設立されたセンターは、基盤研移行に伴い実験用霊長類の供給と活用を両輪として、感染症研究から医学研究へと守備範囲を広げることになる。センター創設以来 27 年間にわたりセンターの運営に尽力頂いた国立感染症研究所ならびに厚生労働省の関係者各位のご理解、ご支援に心から感謝するとともに、基盤研移行後も変わらぬご支援、ご協力をお願いする。

人事面では、平成 16 年 4 月 1 日付けで木村展之が、10 月 1 日付けで揚山直英が検査健康管理室研究員として採用され就任した。平成 17 年 3 月 31 日に向井録三郎検査健康管理室長が定年退官された。繁殖育成コロニーの微生物学的モニタリングによる育成ザルの健康管理と感染症実験施設の運営への献身的な努力に敬意を表し、今後のご活躍をお祈りする。

業績

・実験用サル類の病原学的研究

1. レトロウイルスに関する研究

(1) サルレトロウイルス(SRV/D)感染の感染様式に関する研究

下痢などの SRV/D 感染症の症状を示すカニクイザルについて、血漿、唾液、尿、糞便を採取し、SRV/D の分離培養と RT-nested PCR 法によるウイルスゲノムの検出を行った。5 頭すべての体液・排泄物中にウイルスゲノムを検出した。また、感染性 SRV/D もすべての体液・排泄物から回収出来た。37 で 24 時間保温後の感染力価は、1/8 程度低下したが感染性は残存していた。また、母胎内感染仔ザル 1 頭は、生後の発育も正常で無症候であったが、すべての体液中にウイルスが検出され、このようなサルや排泄物が、当センターコロニーにおける感染源になっていると思われる。〔原 正幸、菊池俊彦、小野文子*、佐多徹太郎**、高野淳一郎*、藤本浩二*、寺尾恵治、向井録三郎(*社団法人・予防衛生協会、**感染病理部)〕

(2) 霊長類免疫不全ウイルス Vif 蛋白の分子機構に関する研究

HIV-1 Vif はウイルス感染性保持に重要な役割を示す。ところが Vif を過剰発現すると、それに相関してウイルス粒子内 Vif (V-Vif) も増加し、結果としてウイルスの感染性が顕著に低下する。この作用は Vif N 末端側領域により規定されていたことから、一連の Vif 欠失変異体を作成し詳細な解析を行った。その結果、10-13 アミノ酸残基の欠失変異により感染性抑制作用が顕著に低下することが明らかとなった。これらの知見は Vif 新規機能の生理的意義の解明や、上記 Vif 作用を応用したウイルス粒子成熟過程の新規制御法開発に有用であると考えられた。〔李永仲、明里宏文〕

(3) SIV 複製及び宿主免疫回避に関わるウイルス側・宿主側因子の作用機構に関する研究

Nef 蛋白はウイルス感染細胞における MHC-I 発現を抑制することにより、CTL による抗原認識からの回避を可能とする。本研究では、HIV および SIV 由来 Nef 蛋白に共通する MHC-I 発現制御機構を解明するための基盤として、HIV 由来 Nef 蛋白において同機能に寄与するアミノ酸残基の特定を試みた。その結果、HIV/SIV 間で保存性の高い N 末端側 Val16 および Met20 が MHC-I

発現制御を規定しており、その前後に存在する Arg-rich motif は本機能に直接関与していないことが示唆された。本研究成果は、Nef による宿主免疫回避のメカニズムを解明するための重要な知見であると考えられた。〔飯島沙幸、李永仲、明里宏文〕

2. C 型肝炎のサル病態モデル開発

これまでの研究により、GBV-B の感染性分子クローンより作成したウイルス RNA をタマリンへ接種することによりウイルス血症を伴う急性肝炎を呈することが確認された。その免疫応答について解析するため、大腸菌発現により精製したウイルスコア蛋白を用いて抗コア抗体検出用 ELISA システムを構築した。これを用いて GBV-B 感染タマリンについて経時的な抗体価測定を行ったところ、血中ウイルス量及び ALT レベルが低下する感染約 8 週前後に急激な抗体価の上昇が認められた。その後、血中ウイルスが検出限界以下になるにつれ、抗体価が低下した。以上のことは液性免疫のウイルス制御における意義を示唆するものと考えられた。ところで、感染後 1 年以上が経過したタマリンにおいて、血中ウイルス RNA はリアルタイム PCR 法で検出されないにもかかわらず、抗コア抗体価は有意なレベルを維持していた。このことは、GBV-B がタマリン個体内で潜伏感染している可能性を示唆するものであり今後の解析が待たれるところである。〔飯島沙幸、李永仲、明里宏文〕

3. アルツハイマー病に関する研究

(1) カニクイザル脳組織を用いた加齢性神経変性疾患に関する検索：カニクイザル脳組織を用いた細胞内アミロイド (A) の加齢性変化

アルツハイマー病 (AD) 患者脳では老人斑構成蛋白アミロイド (A) の神経細胞内への蓄積が見られることが報告されている。そこで様々な年齢のカニクイザル脳組織を用いて細胞内 A の加齢に伴う局在および細胞内蓄積量の変化を検索したところ、若齢個体における細胞内 A の免疫染色に世界で初めて成功した。このことから、若齢期からすでに細胞内 A が存在していることが明らかになり、我々が確立した免疫組織化学的手法は、今後の細胞内 A 研究に非常に有用な実験手技となることが期待される。生化学的検索からは、加齢に伴い産生

A 分子種の変化が確認され、細胞内 A が加齢とともに神経終末分画において蓄積することが明らかになった。
〔木村展之〕

(2) in vitro におけるアミロイド (A β) の神経系細胞に与える影響：ラットおよびカニクイザル胎仔大脳皮質初代培養系における A β の影響と種差比較

過去の A β に関する in vitro 実験は高濃度 A β 添加による短期実験がほとんどであり、加齢性疾患であるアルツハイマー病 (AD) 態を再現しているとは言いがたい。そこで我々は低濃度 A β による神経系細胞への長期的影響をラットおよびカニクイザル由来大脳皮質初代培養系を用いて検索した。その結果、低濃度 A β の長期暴露によって惹起された反応は神経細胞の障害ではなくアストログリア (AG) による ApoE および GFAP 蛋白の発現上昇であり、AD 進行初期では AG の反応が非常に重要な役割を担っていることが示唆された。また AG における ApoE 産生経路に種差が見られたことから、ヒトに近縁なカニクイザル由来の培養系を用いることは、今後の AD 研究に非常に有用であると考えられる。〔木村展之〕

・実験用サル類の臨床病理学的研究

1. サル類を用いた心疾患に関する研究

(1) カニクイザルを用いた虚血性心疾患モデルの構築
全身吸入麻酔下のカニクイザルにおいて正中開胸を行い左冠動脈前下降枝を結紮し、心筋梗塞部位を作成した。サルにはあらかじめ CV ラインを留置し、モニター電極の埋め込みを行い術後管理に備えた。心筋梗塞作製後はモニター管理と尿量測定などを行い、鎮痛剤、強心剤、利尿剤投与などの必要な処置を適宜施した。その後超音波診断、血圧測定、血中心筋逸脱酵素の濃度測定などを行い、安定して心筋梗塞病態が維持出来ていることを確認した。これまでに本モデルを利用して、虚血心筋に対する自己造血幹細胞移植治療の効果を確認しており、今後もさらに細胞療法における有効性、安全性試験に大きく寄与するものと思われる。
〔揚山直英、柴田宏昭、寺尾恵治〕

(2) カニクイザルにおける心疾患

我々はこれまでに 20 歳以上の老齢個体を含めたカニ

クイザル 126 頭、アフリカミドリザル 36 頭を対象として心機能検査を行ってきた。検査の結果、アフリカミドリザルでは拡張型もしくは肥大型心筋症が疑われる個体が 11 頭検出された。カニクイザルにおいては心室中隔欠損症、右室二腔症、弁膜症、心内膜炎および重度心不全症状を伴う拡張型心筋症を疑う個体を検出した。また、臨床症状を伴わない弁口の逆流を認める個体も検出され、20 歳以上の老齢個体においては半数以上に何らかの心機能障害を認めた。今後さらなる横断的調査、また重度な心疾患においては縦断的調査を行い心臓病態機序の解明、新規治療法開発研究に寄与したいと考える。

〔揚山直英、鯉江 洋、小野文子*、山海 直 (*予防衛生協会)〕

2. サル類における MRI 検査

サル類における高磁場 MRI 撮像条件の確立を試みた。撮像条件の適正化を行いカニクイザル頭部 T₁、T₂、プロトン強調画像、3D 画像に加え拡散強調画像 (diffusion weighted image) 組織灌流画像 (perfusion weighted image) の撮像条件を確立した。さらに ECG trigger 法を用い、多動臓器である心臓の撮像を可能とした。また、血中滞在時間の長い造影剤のボース投与により心筋の組織灌流画像の撮像条件も確立した。これらの撮像プロトコルを用いることによりカニクイザルにおいて心疾患をはじめとした様々な疾患の病態解析が可能になると考えられる。

〔揚山直英、成田勇人*、小野文子*、寺尾恵治 (*予防衛生協会)〕

3. カニクイザルにおける赤血球動態

カニクイザルの赤血球動態について調査した。生理学的には、加齢に伴い、RBC、HGB、HCT、MCV 値について増加する傾向が認められた。疾患との関連では多くの症例で貧血を併発していることが明らかとなった。しかし、貧血の重篤度と性別、加齢との因果関係は見られず、疾患による複合的な要因により貧血を併発していることが示唆された。一方で原因疾患を特定できない貧血は半数近くに認められ、このような症例では SRV 感染率が高く、貧血と SRV 感染との関連性が示唆された。

〔斎藤 直之*、大藤 圭子*、高野 淳一朗*、原 正幸、岡

林 佐知*、片貝 祐子*、向井 隼三郎、小野 文子*、寺尾 恵治 (*予防衛生協会)

4. カニクイザルを用いた BSE プリオン感染モデルの開発

カニクイザルに BSE 発症ウシ脳乳剤を接種し、経時的に血液や脳脊髄液等の採材、神経生理学的及び行動学的解析を行っている。接種 16 ヶ月目で脳内接種群に成長の遅延傾向が認められた。また非律動運動では眼振、搔痒感が認められ、皮質脳波で高振幅徐波が多発する傾向が観察された。サルにおける発症は 3 ~ 5 年と報告されていることから継続して検索していく。BSE 感染モデルサル作出は、vCJD 発症機序の解明および、早期診断によるヒト相互間における移植等医原性感染のリスク排除に有用と考えられる。

〔小野 文子*、寺尾 直美、冷岡 昭雄*、大山 篤史*、寺尾 恵治 (*予防衛生協会)〕

5. カニクイザルの脳 MRI 画像解析

3 ~ 33 歳カニクイザルの脳 MRI 撮像を行い、加齢に伴う変化について解析した。脳の解剖学的形態の比較については 30 歳雄カニクイザルで側脳室の顕著な拡大が確認されるなど画像診断学的にも有意な所見が得られた。更に、灰白質容積・白質容積において有意な加齢性容積減少等が見られた。老人病に代表される異常化のメカニズムを明らかにするために、画像診断を用いた評価方法を樹立することは必須であり、各年齢動物の画像データベース構築を引き続き進めていく計画である。

〔成田 勇人*、斎藤 直之*、揚山直英、小松崎克彦*、小川浩美*、岡林 佐知*、片貝 祐子*、小野 文子*、寺尾 恵治 (*予防衛生協会)〕

6. 脳梗塞モデルの作成

脳梗塞治療法の開発には脳の構造と機能がヒトと類似した霊長類モデルは不可欠である。マイクロカテーテルを用いた中脳大動脈閉塞による梗塞モデル作成を試みた。明らかな臨床症状と MRI による梗塞像が確認されたが、障害の程度が著しかったことから、梗塞時間を調節することによって、治療研究の評価に適切なモデル系を作出することが重要と考えられる。一方、MRI による梗塞の

評価については脳損傷の広がりを非侵襲的、経時的に描出でき、非常に有用な手段であることが示された。

〔小野文子*、成田勇人*、斎藤 直之*、小松崎克彦*、小川浩美*、片貝祐子*、間瀬光人**、吉川泰弘***、寺尾恵治 (*予防衛生協会、**名古屋市大、***東大)〕

・霊長類の研究リソース開発に関する研究

1. カニクイザルのマイクロサテライトマーカーの整備
カニクイザルのマイクロサテライトマーカーを整備するために、148 のゲノム全体のヒト用プライマーを用いて、20 の無関係なカニクイザルゲノム DNA を鋳型にしてヒトのマイクロサテライトマーカーが使えるか検討を行った。その結果、少なくとも 106 (72%) のプライマーがカニクイザル DNA 配列でも増幅し、さらに 66 (45%) のプライマーが多型性を持つ産物を増幅できる事を確認できた。これらのマーカーの多型数は 2 ~ 10 であり、その平均値は 5.28 であった。また、この多型マーカーはメンデルの遺伝法則に準拠していることを確認した。今後、このデータを基礎として、カニクイザルゲノムの連鎖地図の作成を目指していく。

〔菊池俊彦、寺尾恵治〕

2. カニクイザル繁殖コロニーにおける EBV、CMV、SFV の SPF 化に関する研究

母ザル哺育および人工哺育由来の離乳仔ザルについて EBV、CMV、SFV 感染状況を調査し、SPF 化の検討を行った。人工哺育由来の仔ザルは EBV、CMV、SFV 全てにおいて、母ザル哺育由来の仔ザルに比べ低い感染率であった。特に EBV については母ザル哺育仔ザルでの感染率が 56%であったのに対し、人工哺育由来の仔ザルは全て陰性であり、人工哺育の有効性が明らかとなった。今後、人工哺育サルを活用して、高率にこれら 3 種のウイルスをコロニーから排除できる可能性が示された。

〔成田豊子*、高野淳一朗*、羽成光二*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治 (*予防衛生協会)〕

3. SRV/D の SPF 化における人工哺育利用の有効性に関する研究

カニクイザル繁殖群における SRV/D の感染率を、離乳時から 24 歳齢まで 5 つの年齢群に分け、RT-PCR に

よるウイルス RNA ゲノム検出と WB により調査した。また離乳時における人工哺育と母ザル哺育由来についても比較を行った。陽性率は年齢とともに上昇し、5 歳齢で 90%以上であった。一方、ゲノムの検出率は全ての年齢群において差は無く、離乳時の比較でも差はなかった。離乳時期を早めても SRV/D の排除には有効でなかった。この結果、経胎盤感染が推測され、現在妊娠ザルとその胎仔あるいは新生仔の感染状況を調査している。

[高野淳一朗*、成田豊子*、羽成光二*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治 (* 予防衛生協会)]

4. カニクイザルの人工哺育

カニクイザル繁殖群では、野生ザル由来から F1 世代への移行に伴い、人工哺育の必要性が増加している。ミルクは 1 日 4 回与え、8 週齢まで保温性の高い発泡スチロール箱とパネルヒーターを用いた。それ以降は 2 分割に仕切れるアクリル製哺育箱に移し、同居させた。人工哺育は 6 ヶ月齢もしくは体重 800 g で終了した。この結果、人工哺育期間の死亡率は 1990 年の 40%から、2003 年には 10%以下に減少した。体重成長は離乳時で母ザル哺育の仔ザルと差が無く、死亡率も減少したため今回の人工哺育方法はカニクイザルに適していると判断した。

[羽成光二*、新井千尋*、後藤五十六*、藤本浩二*、吉田高志、寺尾恵治 (* 予防衛生協会)]

5. 縦断的調査によるカニクイザルでの閉経後の骨量減少

年齢の異なる多数の個体を対象として横断的手法による骨密度の減少を調査しても、老齢個体では個体差が大きく実証は困難である。そこで、霊長類医学実験施設のエイジングファームの動物の腰椎骨ならびに全身骨の測定を行なった。2000 年 5 月より約半年の間隔で反復測定を行なった。個体毎に測定値をプロットしたところ、23 歳齢以上の一部の個体で全身骨量並びに腰椎骨量の減少傾向が認められた。カニクイザルの 23 歳齢頃は閉経時期に相当する。今後も可能な限り観察を継続し自然発症性の閉経後骨粗鬆症の実験モデルとしたい。

[小松崎克彦*、羽鳥真功、藤田志歩、吉田高志 (* 予防衛生協会)]

. 生殖生理および発生工学的研究

1. 年齢によるカニクイザルの排卵時期の比較

カニクイザルを若齢 (6~10 歳) と高齢 (15~21 歳) の 2 群に分けた。排卵時期は血中エストラジオール-17β (E2) のピーク値から急激に低下する間に起きたものと推定され、両群を比較した。若齢群で排卵は月経初発日から第 12-13 日と第 13-14 日に高率に認められた。高齢群では第 11-12 日、第 12-13 日、第 13-14 日で同様に見られ、排卵率は若齢群よりも低かった。第 14-18 日では、高齢群でより多く排卵が認められた。高齢群において排卵する時期の幅が若齢群よりも大きく、高齢個体の排卵は、若齢個体よりもバラツキを生じやすいことが明らかとなった。

[下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、吉田高志、山海 直]

2. カニクイザルの体細胞核移植卵作出の試み

ホルモン処理により卵胞発育を誘起したカニクイザルから未受精卵を採取した。卵の核を除いたあと、卵丘細胞あるいは皮膚細胞を卵細胞質に注入した。その後、活性化処理を行い核について観察した。また、得られた卵は 37 度、5% CO₂、5% O₂ 環境で培養した。その結果、低率ではあるが発生を開始する卵を認めた。

[山海 直、下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、小倉淳郎*、井上貴美子*、越後貫成美*、三木浩美*、吉田高志、寺尾恵治 (* 理研)]

3. 妊娠カニクイザルの卵巣から採取した未成熟卵子の体外成熟培養

実験殺妊娠カニクイザルの卵巣から成熟卵子と同等サイズの卵子の体外成熟培養を検討した。卵子は、卵丘細胞の付着程度の良いものから A 区、B 区および C 区に分けた。24 時間後に成熟卵は、それぞれ 18%、20% および 17% であった。培養を継続した未成熟卵は、48 時間目で、積算してそれぞれ 45%、30% および 25%、ならびに 72 時間目で 50%、30% および 29% であり、A 区において成熟率が高い傾向にあった。未成熟卵子の体外成熟において卵丘細胞の必要性と成熟時間にバラツキが生じることが示された。

[下澤律浩、岡田浩典、羽鳥真功、吉田高志、山海 直]

4. アフリカミドリザル精子の凍結保存

マカカ属サル類精子の凍結保存に有効な TTE 溶液を用いた方法でオナガザル属のアフリカミドリザルの精子を凍結すると運動性を失うが、凍結前処理を短時間で実施する変法を用いることにより融解直後に良好な運動性を示す精子がみられることを確認している。今回、さらに凍害保護剤と平衡時間について検討を進めた。その結果、LN₂ 気相中で瞬間的に凍結した場合、凍害保護剤を用いなくても運動性を保った精子が回収でき、このとき凍害保護剤の有無による大きな差は認められないことが明らかとなった。

[岡田浩典、下澤律浩、羽鳥真功、山海 直]

5. 顕微鏡下細胞培養システムで培養した細胞の長期間デジタル連続撮影装置を用いた動画による観察

STO 細胞およびカニクイザル胎児線維芽細胞の増殖動態並びにウサギ受精卵卵割の長期間観察を行った。培養には顕微鏡下で温度と CO₂ 濃度の制御システムを用い、コンピューターで自動制御されたデジタルカメラによる高画質で長期間の連続撮影を行った。その結果、胎児線維芽細胞で共通の分裂様式が見られ、その中でいくつかの種特異的な現象も認めた。また、ウサギ受精卵の発生の全行程の観察が可能となった。本システムで長期の培養観察が可能であり、さらに、新知見が得られる可能性が示された。

[羽鳥真功、岡田浩典、下澤律浩、山海 直]

6. カニクイザル ES 細胞におけるテラトーマ形成能

他機関から分与されたカニクイザル ES 細胞である CMK6GFP の培養およびその正常性をテラトーマ形成により検討した。コラゲナーゼによる継代を 3-4 日毎に行ったところ、継代初期は分与時と同様に扁平なコロニー形状を示した。この CMK6GFP を継代時に浮遊培養させたところ、胚様体が形成され、その初期分化能を認めた。さらに、多分化能を確認するために、免疫不全マウスに CMK6GFP を移植し、2-3 ヶ月後に形成された腫瘍を調べたところ、三胚葉に由来する組織が認められた。分与初期のサル ES 細胞は正常な多分化能を保持していることが確認できた。

[下澤律浩、中村紳一郎*、寺尾恵治 (*日獣大)]

7. カニクイザル ES 細胞における発現タンパク質の解析

カニクイザル ES 細胞で高発現しているタンパク質を解析するためにウェスタンブロット法を応用した PowerBlot 解析 (BD Biosciences) を用いて分化初期の胚様体との比較を行った。コラゲナーゼ処理した ES 細胞コロニーを回収し、PBS 洗浄後-80 に保存した。また、胚様体は浮遊培養から 2-3 週間後に回収し、PBS 洗浄後-80 に保存した。これら二つを解析したところ、初期分化細胞である胚様体と比べて ES 細胞で 5 倍以上および 1/5 以下の発現を示したタンパク質が 9 種類および 15 種類確認できた。これらのタンパク質は初期分化あるいは未分化性と何らかの関連があるものと考えられる。

[下澤律浩、寺尾恵治]

発表業績一覧

. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Kimura N, Negishi T, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y: Astroglial responses against Abeta initially occur in cerebral primary cortical cultures: species differences between rat and cynomolgus monkey. *Neurosci Res* 49: 339-346, 2004.

2) Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, Michikawa M, Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lemere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K: A seed for Alzheimer amyloid in the brain. *J Neurosci* 24, 4894-4902: 2004.

3) Kimura N, Nakamura S, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y: Presenilin-2 in the cynomolgus monkey brain: investigation of age-related changes. *Primates* 45: 167-175, 2004.

4) Nguyen KL, Llano M, Akari M, Miyagi M, Poeschla EM, Strebel K, Bour S: Codon optimization of the HIV-1 vif and vif genes stabilizes their messenger RNA and allows for highly efficient Rev-independent expression. *Virology*, 319: 163-175, 2004.

5) Akari H, Fujita M, Kao S, Khan MA, Shehu-Xhilaga M, Adachi A, Strebel K: High level expression of Human

- immunodeficiency virus type 1 Vif inhibits viral infectivity by modulating proteolytic processing of Gag precursor at the p2/NC processing site. *J Biol Chem* 279: 12355-12362, 2004.
- 6) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, Yamada A: Detection of Fourteen Alleles Derived from MHC Class I A Locus in Cynomolgus Monkeys. *Immunogenetics* 56: 155-163, 2004.
- 7) Fujita M, Akari H, Sakurai A, Yoshida A, Chiba T, Tanaka K, Strebel K, Adachi A: Expression of the HIV-1 accessory protein Vif is controlled uniquely to be low and optimal by proteasome-degradation. *Microb Infect* 6: 791-798, 2004.
- 8) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. *J Gene Med*, 6: 22-31, 2004.
- 9) Sato Y, Koketsu D, Ageyama N, Ono F, Miyamoto Y, Hisatsune T. Successful Retrograde Transport of Fluorescent Latex Nanospheres in the Cerebral Cortex of the Macaque Monkey. *Exp Anim*, 53:383-386, 2004.
- 10) Ueda K, Hanazono Y, Shibata H, Ageyama N, Ueda Y, Ogata S, Tabata T, Nagashima T, Takatoku M, Kume A, Ikehara S, Taniwaki M, Terao K, Hasegawa M, Ozawa K. High-Level In Vivo Gene Marking After Gene-Modified Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation Without Marrow Conditioning in Nonhuman Primates. *Mol Ther*, 10: 469-477, 2004.
- 11) Ueda K, Hanazono Y, Ageyama N, Shibata H, Ogata S, Ueda Y, Tabata T, Ikehara S, Taniwaki M, Hasegawa M, Terao K, Ozawa K. Intra-bone marrow transplantation of hematopoietic stem cells in non-human primates: long-term engraftment without conditioning. *Gene Ther Regulation*, 2: 207-218, 2004.
- 12) Miyamoto S, Chen Y, Nakamura S, Sankai T, Machida T, Yoshida T: Synthesis and release of steroids in intestines from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Zoolog. Sci.*, 21: 639-648, 2004.
- 13) Okada H, Hirose Y, Manonmani P, Ito M, Sankai T: Zona-froast method for separating mouse eggs from other cells. *Exp. Anim*, 53: 355-359, 2004.
- 14) Manonmani P, Okada H, Ogonuki N, Uda A, Ogura A, Yoshida T, Sankai T: Fertilization and preimplantation development of mouse oocytes after prolonged incubation with caffeine. *Reprod Med Biol.*, 3: 245-251, 2004.
- 15) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. *J Gene Med*. 6:22-31, 2004.
- 16) Uda A, Tanabayashi K, Mukai R, Terao K, Yamada A. Detection of CD3epsilon polymorphism in cynomolgus monkeys by a method based on RFLP. *J Med Primatol*. 33:34-37, 2004.
- 17) Mimuro J, Mizukami H, Ono F, Madoiwa S, Terao K, Yoshioka A, Ozawa K, Sakata Y. Specific detection of human coagulation factor IX in cynomolgus macaques. *J Thromb Haemost*. 2:275-280. 2004.
- 18) Asano T, Hanazono Y, Sasaki K, Ueda Y, Hasegawa M, Ageyama N, Terao K, Kitano Y, Momoeda M, Ozawa K, Harii K. Allogeneic transplantation of genetically modified primate embryonic stem cells. *Wound Repair Regen*. 12:A16, 2004.
- 19) Hayashi H, Kimura N, Yamaguchi H, Hasegawa K, Yokoseki T, Shibata M, Yamamoto N, Michikawa M, Yoshikawa Y, Terao K, Matsuzaki K, Lemere CA, Selkoe DJ, Naiki H, Yanagisawa K. A seed for Alzheimer amyloid in the brain. *J Neurosci*. 24:4894-4902, 2004.
- 20) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, Yamada A, Detection of 14 alleles derived from the MHC class I A locus in cynomolgus monkeys. *Immunogenetics*. 56:155-163, 2004.
- 21) Yoshioka T, Ageyama N, Shibata H, Yasu T, Misawa Y, Takeuchi K, Matsui K, Yamamoto K, Terao K, Shimada K, Ikeda U, Ozawa K, Hanazono Y. Repair of Infarcted Myocardium Mediated by Transplanted Bone Marrow-Derived CD34+Stem Cells in A Nonhuman Primate Model. *Stem Cells* 23: 355-364, 2005.
- 22) Hara M, Sata T, Kikuchi T, Nakajima N, Uda A, Fujimoto K, Baba T, Mukai R: Isolation and characterization of a new simian retrovirus type D subtype from monkeys at Tsukuba

Primate Center, Japan. *Microb. Infect.*, 7: 126-131, 2005

23) Hara M, Kikuchi T, Ono F, Takano J, Ageyama N, Fujimoto K, Terao K, Baba T, Mukai R: Survey of captive cynomolgus macaque colonies for SRV/D infection using polymerase chain reaction assays. *Comp. Med.*, 55: 145-149, 2005

24) Okada H, Hirose Y, Manonmani P, Ito M, Sankai T: Characterization of an immortalized oviduct cell established from the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.*, in press.

25) Okada H, Ito M, Hirose Y, Yoshida T, Sankai T: Buffalo rat liver cells produce proteins that support the preimplantation development of mouse embryos cultured in vitro. *Comp. Med.*, in press.

26) Kwon J, Mochida K, Wang YL, Sekiguchi S, Sankai T, Aoki S, Ogura A, Yoshikawa Y, Wada K: Ubiquitin C-terminal hydrolase L-1 is essential for the early apoptotic wave of germinal cells and for sperm quality control during spermatogenesis. *Biol. Reprod.*, in press.

27) Koie H, Ageyama N, Ono F, Kanayama K, Sakai T, Sankai T: Echocardiographic diagnosis of muscular ventricular septal defect in a cynomolgus monkey. *Contemporary topics*, in press.

2 . 和文発表

1) 寺尾恵治、小山高正、鈴木樹里、実験用霊長類の心理的ストレスを評価する免疫学的指標と飼育環境のエンリッチメント評価。実験動物技術、39: 97-104, 2004.

. 学会発表

1 . 国際学会

1) Kimura N, Ishii Y, Suzaki S, Negishi T, Kyuwa S, Yoshikawa Y, Terao K.: Amyloid beta induces expression of LGI3 in rat astrocytes. The 7th International Conference AD/PD 2005. Sorrento, Italy, Mar 8-14, 2004

2) Akari H, Fujita M, Kao S, Khan MA, Shehu-Xhilaga M, Lee YJ, Adachi A, Strebel K: High level-expression of HIV-1 Vif inhibits viral infectivity by modulating proteolytic processing of the Gag precursor at the p2/NC processing site. Cold Spring Harbor Meeting on Retroviruses. New York,

USA. May 25-30, 2004

3) Fujimoto K : Experimental Use of Non-Human Primates in Japan. The First Congress of AFLAS (The Asian Federation of Laboratory Animal Science Associations), May 2004, Nagasaki

4) Ueda K, Ueda Y, Hanazonno Y, Shibata H, Ageyama N, Nagashima T, Tabata T, Kume A, Ikehara S, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M. Efficient In Vivo Gene Marking of Hematopoietic Cells without Marrow Conditioning in Nonhuman Primates. 7 th Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy. Minnesota, USA. June 2-6, 2004.

5) Kimura N, Tanemura K, Nakamura S, Takashima A, Yanagisawa K, Terao K, Ono F, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa S.: Age-Related Changes of Senile Plaque-associated proteins in Cynomolgus Monkey Brains. The 9th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders. Philadelphia, USA, July 16-23, 2004

6) Okada A, Shimosawa N, Baba S, Yokofujita J, Murakami K, Igarashi H, Nimori S, Sankai T, Kuroda M: Effect of magnetic fields on mammalian spermatozoa 16 th international Congress of the FAA (International federation of association of anatomists) Anatomical Science 2004 from gene to body. Kyoto, Japan. August, 2004

7) Sato Y, Ageyama N, Ito H, Aizawa K, Yokoyama C, Terao K, Yoshikawa Y, Miyamoto Y, Hisatsune T. Induction of targeted cerebral ischemia in macaque monkeys. Society for Neuroscience 34th Annual Meeting. San Diego, USA. October 10 23-27, 2004

8) Shimosawa N, Okada H, Hatori M, Yoshida T, Sankai T: Collection of mature oocytes and the intracytoplasmic sperm injection in the African green monkey (*Cercopithecus aethiops*) and cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). 11th International Workshop of Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

9) Okada H, Hatori M, Shimosawa N, Sankai T: Development of the cryopreservation method of spermatozoa in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) and African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) –Comparison of cynomolgus monkey and African green monkey freeze-thawed spermatozoa –. 11th International Workshop of

Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

10) Hatori M, Okada H, Shimozawa N, Ebisawa T, Sankai T: Development of the new cell culture system under a microscope and observation of the cells by the animation built using a digital photography equipment. 11th International Workshop of Primate Diseases, December 2004, Tsukuba.

11) Kikuchi T, Terao K: Establishment of microsatellite marker in *Cynomolgus* monkey. 11th International Workshop of Primate Diseases (Tsukuba) December, 2004.

12) Ageyama N, Koie H, Ono F, Kanayama K, Sakai T, Sankai T. Diagnosis of Cardiovascular System in African Green Monkey (*Cercopithecus aethiops*). 10 th International Workshop of Primate Diseases. Tsukuba, Japan. December 9-10, 2004.

13) Koie H, Ageyama N, Ono F, Sato T, Sakai T, Kanayama K, Sankai T. Echocardiography of Cardiovascular Disorders in a *Cynomolgus* Monkey (*Macaca fascicularis*). 10 th International Workshop of Primate Diseases. Tsukuba, Japan. December 9-10, 2004.

14) Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Mochida K, Hirose Y, Okada H, Shimozawa N, Takeiri S, Nagashima H, Sankai T, Ogura A: Differential development of rabbit embryos following microinsemination using sperm and spermatids. 31st Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Copenhagen. January 2005.

2. 国内学会

1) 揚山直英、鯉江 洋、小野文子、山海 直：室内繁殖カニクイザルコロニーでの循環器疾患に関する大規模スクリーニング。第 137 回日本獣医学会学術集会(神奈川) 2004 年 4 月

2) 鯉江 洋、揚山直英、小野文子、佐藤常男、酒井健夫、金山喜一、山海 直：心エコー図で見られたサル類の心疾患。第 137 回日本獣医学会学術集会 (神奈川) 2004 年 4 月

3) 海老澤崇史、揚山直英、小野文子、神田忠仁、西村亮平、豊岡照彦：サル類を用いた研究に期待すること-重症心不全の遺伝子治療の開発戦略-。第 137 回日本獣医学会学術集会 (神奈川) 2004 年 4 月

4) 揚山直英、鯉江 洋、小野文子、山海 直：室内繁殖

カニクイザルコロニーでの循環器疾患に関する大規模スクリーニング シンポジウム：サル類における循環器疾患モデル 第 137 回日本獣医学会 (藤沢) 2004 年 4 月

5) 鯉江 洋、揚山直英、小野文子、佐藤常男、酒井健夫、金山喜一、山海 直：心エコー図で見られたサル類の心疾患シンポジウム：サル類における循環器疾患モデル 第 137 回日本獣医学会 (藤沢) 2004 年 4 月

6) 原正幸、小野文子、菊池俊彦、高野淳一郎、成田豊子、藤本浩二、馬場忠、寺尾恵治、向井謙三郎：霊長類センターのカニクイザルコロニーにおける SRV/D の疫学調査、第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

7) 下澤律浩、広瀬良宏、岡田浩典、吉田高志、山海 直：アフリカミドリザルおよびカニクイザルにおけるグリセリン溶媒を用いた FSH による卵胞発育誘起の試み 第 45 回日本哺乳動物卵子学会 (大津市) 2004 年 5 月

8) 冷岡昭雄、吉田高志：サル類の飼育・繁殖現場から生まれる最新医療研究 シンポジウム カニクイザル室内繁殖コロニーの現状と工夫、および問題点 第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

9) 下澤律浩、広瀬良宏、岡田浩典、吉田高志、山海 直：アフリカミドリザルにおける顕微授精に関する検討 第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

10) 岡田浩典、広瀬良宏、下澤律浩、伊藤雅夫、山海 直：アフリカミドリザルの ES 細胞樹立の試み 第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

11) 高野淳一郎、成田豊子、橘裕司、清水利行、小松原博文、寺尾恵治、藤本浩二：輸入カニクイザルからの赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) の分離 第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

12) 寺尾恵治、サルをモデルとした神経・免疫・内分泌相関の解析 心理的、社会的ストレスと免疫機能 シンポジウム II、ストレス研究最前線 各種ストレス環境における生体反応、第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

13) 寺尾恵治、再生医療技術のトランスレーショナルと実験用サル類、シンポジウム「サル類の飼育・繁殖現場から生まれる最新医療研究」、第 51 回日本実験動物学会 (長崎) 2004 年 5 月

14) 下澤律浩、岡田浩典、冷岡昭雄、吉田高志、山海 直：年齢によるカニクイザルの排卵時期の比較 第 20 回日

本霊長類学会（犬山）2004年7月

15)岡田浩典、下澤律浩、山海 直：アフリカミドリザルおよびカニクイザル精子の凍結保存 第20回日本霊長類学会（犬山）2004年7月

16)土田順子、吉田高志、小野孝浩、山海 直：室内繁殖コロニーで育成されたカニクイザルの哺育態度に関する統計学的解析 第20回日本霊長類学会（犬山）2004年7月

17)成田豊子、高野淳一郎、小野文子、藤本浩二、寺尾恵治：筑波医学実験用霊長類センター（TPC）カニクイザル繁殖コロニーにおけるEBV、CMV、SFVの感染状況調査とSPF化に関する研究 第20回日本霊長類学会（犬山）2004年7月

18)寺尾恵治、河野陽子、古屋優子、坂庭操、カニクイザルの老化に伴う抗核抗体出現時期の検討。第20回日本霊長類学会（犬山）2004年7月

19)花園豊、吉岡徹、揚山直英、柴田宏昭、安隆則、山本啓二、寺尾恵治、島田和幸、池田宇一、小澤敬也：虚血性心疾患に対する骨髄幹細胞移植治療のメカニズム。第66回日本血液学会総会（京都）2004年9月

20)揚山直英、鯉江 洋、金山喜一、酒井健夫、小野文子、山海 直：アフリカミドリザルにおける心機能検査。第138回日本獣医学会学術集会（北海道）2004年9月

21)木村展之、柳澤勝彦、寺尾恵治、小野文子、榊原一兵、石井寿幸、久和茂、吉川泰弘：Age-Related Changes of Senile Plaque-associated proteins in Cynomolgus Monkey Brains. 第23回日本痴呆学会（東京）2004年10月

22)飯島沙幸、石井孝司、李永仲、岩田奈織子、八木慎太郎、山口健次郎、榎昇、吉崎佐矢香、町田早苗、木村展之、鈴木哲朗、佐多徹太郎、宮村達男、明里宏文：C型肝炎のサル病態モデル開発。第52回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004年11月

23)中山大介、徳永恵一、清永康平、三隅将吾、高宗暢暁、向井隼三郎、橋 囿臣、梅田 衛、柴田英昭、庄司省三：CCR5-CXCR4 キメラ環状抗原により得られた種々の単クローン抗体のCross-clade HIV-1 感染防御。第52回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004年11月

24)李 永仲、飯島沙幸、明里宏文：HIV-1 Vif 蛋白による Gag p2/NC プロセッシング制御に関する解析。第18

回日本エイズ学会学術集会（静岡）2004年12月

25)徳永恵一、中山大介、清永康平、三隅将吾、高宗暢暁、向井隼三郎、橋 囿臣、梅田 衛、柴田英昭、庄司省三：HIV-1 coreceptor に元づいたキメラ環状抗原免疫カニクイザル抗血清による種々clade 由来の R5X4 HIV-1 への多様な感染阻害。第18回日本エイズ学会学術集会（静岡）2004年12月

26)土屋英明、中川佳子、岡田浩典、下澤律浩、高田達之、鳥居隆三、桑名 貴、山海 直：カニクイザル始原生殖細胞の検出と培養の試み 第84回関西実験動物研究会（京都）2004年12月

27)前田るい、寛山 隆、須藤和寛、三原田賢一、山海 直、小倉淳郎、中村幸夫 マウス核移植 ES 細胞の造血細胞への分化能 第27回日本分子生物学会（神戸）2004年12月

28)柴田宏昭、佐々木京子、揚山直英、北野良博、林 聡、田中裕次郎、寺尾恵治、花園 豊：サル ES 細胞を用いた同種移植実験：テラトーマ形成リスクの軽減の試み。日本再生医療学会（大阪）2005年3月

招聘講演

1)揚山直英：サル類輸入検疫の実際と健康管理に関する臨床例。滋賀医科大学 動物生命科学センター（RCALS）第50回記念特別セミナー（滋賀）2004年5月

2)寺尾恵治、サル類の免疫系の初期発達と加齢変化、イナリサーチ創業30周年記念学術講演会（大阪）2004年7月

3)藤本浩二、カニクイザルコロニーの微生物学的モニタリング、イナリサーチ創業30周年記念学術講演（大坂）2004年7月

4)寺尾恵治、カニクイザルをモデルとした末梢 T 細胞の加齢変化、シンポジウム「老化のバイオロジー（1）：実験動物のヒト老化モデルとしての有用性と限界、そして新たな挑戦」第19回老化促進モデルマウス（SAM）研究協議会（守口）2004年7月

5)寺尾恵治、サルをモデルとした神経・内分泌・免疫相関の解析 心理的、社会的ストレスと免疫機能、第68回日本心理学会ワークショップ「ストレスにおける神経系、内分泌系、免疫系のクロストーク（2）脳・免疫相

関、新たなストレスモデルの提唱（大阪）2004年9月

6) 寺尾恵治、霊長類を用いたトランスレーショナル・
リサーチの現状と将来（独法・医薬基盤研究所における
霊長類センターの役割）、動物衛生研究所、第626回水
曜会（筑波）2004年12月

7) 寺尾恵治、再生医療など新規医療技術の光と陰 - ES
細胞を用いた再生医療戦略を例として - 、第7回生殖工
学研究会、2005年シンポジウム（東京）2005年3月