

自に開発した血管内視鏡システムを用いて動脈硬化性病変の生体内での継時的変化を長期的に肉眼的に観察することを目的に実験を行った。

本年度は、マカカ属のニホンザルを用いてコレステロール負荷によって動脈硬化症モデルを作成する方法の確立と、血管内視鏡による血管内腔の観察法の確立および血中脂質値との比較検討を行うことを目的とした。

B. 研究方法

本実験で用いたコレステロール食は、2%コレステロールを通常飼料(オリエンタル酵母(株)、P S)に噴霧コーティングする方法により作成し、普通食と同じ20g/kg/頭/日を給餌した。また補助食としてバナナ1本とサツマイモ100gを与えた。

実験は、2%コレステロール食投与によって動脈硬化症に相応する血中脂質の変化を確認する実験1)と、その後、2%コレステロール食投与中および投与中止後の継時的血中脂質の分析と血管内動脈硬化病変の推移を観察する実験2)について検討した。

実験1)普通食と2%コレステロール食投与における血中脂質の分析

実験には成熟オス、ニホンザル10頭を、普通食投与を行う群として5頭、2%コレステロール食投与を行う群として5頭の、合計10頭をそれぞれ用いた。採血は、月に1回、塩酸ケタミン(5mg/kg)と塩酸キシラジン(1mg/kg)の筋肉内投与による麻酔後、約10mlの採血を行い、血清中の、Total cholesterol, TG (Triglyceride), HDL-cholesterol, LDL-cholesterolの脂質について分析を行った。

実験2)2%コレステロール食投与後の

継時的血中脂質の分析と血管内動脈硬化病変の推移、およびその後の普通食投与に伴う血中脂質の分析と血管内動脈硬化病変の推移

実験には成熟オス、ニホンザル5頭を用いて、2%コレステロール食投与を行い、血中脂質および血管内腔の動脈硬化病変の存在を確認後、普通食に切り替え同様の分析と観察を行った。

実験に先立ち、直径4mmのPTFE人工血管を塩酸ケタミン(5mg/kg)と塩酸キシラジン(1mg/kg)の筋肉内投与による全身麻酔下で、腸骨動脈(または腹部大動脈)に吻合し、遠位端を皮下に埋没した。血管内視鏡を用いた観察方法は、人工血管を介して血管内視鏡を内蔵したバルーン一体型カテーテルを血管内腔に挿入し、腹腔動脈、上腸管膜動脈、腎動脈起始部を観察部位として選び、目的の部位でバルーンを生理食塩水で膨張させながら、バルーン内より血管内腔の観察を行った。

なお、血管内視鏡(SS-075-035-03HFF、住友電気工業(株))は直径0.7mm、視野角70度、前方視、観察距離2-10mm、画素数は6,000の極細径スミスコープを用いた。また光源はキセノンランプを用いた。血管内視鏡を入れるためのバルーンを装着したカテーテルは独自に作成したものである。

血中脂質は、Total cholesterol, TG, HDL-cholesterol, Apolipoprotein B等の分析を行った。なお、採血は血管内腔観察の実験中に採取した。

C. 研究結果

1)2%コレステロール食投与による血中脂質の動態(図-1)

2%コレステロール食を投与した5頭

の個体では、いずれも血中コレステロール値は投与1ヶ月目頃から有意な増加が見られ、その後6ヶ月目頃までは投与前の3~4倍もの増加が見られた。これに対して、普通食を投与した5頭では実験期間中の6ヶ月の間ではほとんど変動が見られなかった。TGは、普通食および2%コレステロール食投与群、いずれも継続的には変動が見られなかった。LDL-cholesterolは普通食群では何ら変化が見られなかったのに対して、2%コレステロール食群では投与1ヶ月目から有意な増加が見られ4~5ヶ月目には前値の約4倍もの増加に至った。一方、HDL-cholesterolは、普通食群では大きな変動が見られなかったのに対して、2%コレステロール食では投与1ヶ月目から明らかな減少が見られ5~6ヶ月目には投与前値の約1/3まで低下が見られた。

2) 2%コレステロール食投与後、普通食を投与した後の血中脂質の動態(図-2&3)

2%コレステロール食投与を4~15ヶ月続けた後、普通食の投与に切り替えた5頭の個体について血中脂質の動態の分析を行った。その結果、2%コレステロール食の投与によって増加した血中Total cholesterol値は、普通食に切り替えた後、速やかに減少し、2~4ヶ月後には2%コレステロール食投与前と同程度の値にまで回復が見られた。TGでは2%コレステロール食から普通食に切り替えた後は、増加傾向にある個体と大きな変化がない個体が見られた。HDL-cholesterolは、普通食に切り替えた後は増加する傾向にあった。一方、LDL-cholesterolのアポ蛋白であるApolipoprotein Bは、普通食に変えることによって、Total cholesterolの変動と同じく、急激に減少し、2

~4ヶ月頃には2%コレステロール食投与前の値にまで回復が見られた。

血管内視鏡による血管内腔の観察は、2%コレステロール食投与前、2%コレステロール食投与後、および普通食に変えた後の変化を見るために適時観察を行った。その時の1頭の血管内腔の変化を図-3に示した。即ち、2%コレステロール食投与前は大動脈の内腔は、平滑で弾性に富んでいたが、コレステロール食投与5~7カ月後においては腎動脈、上腸間膜動脈、腹腔動脈等の主要分岐起始部、腰動脈起始部に黄白色の隆起したアテロームの発現を認めた。この時点で普通食投与に変えた結果、総コレステロール値が投与前の値にまで低下した4ヶ月目の血管内腔は、分岐起始部のアテローム像の退宿は認められず、むしろ動脈硬化性病変は周囲の大動脈壁にまでさらに進展していた。さらに8~10ヶ月後においても血管内腔は改善されていなかった。

D. 考察

2%コレステロール食を投与するに当たって、サルが食べやすい形状と硬度をもち、嗜好性に富んだ飼料の作成を行った。即ち、げっ歯類の飼料として用いられているペレット状の2%コレステロール混餌飼料は硬度と嗜好性に欠け、摂餌を全く拒否する個体が多かった。これに対して、発砲型の飼料にコレステロールを6%コーン油で溶解したものを噴霧する、いわゆるコーティング法を用いた2%コレステロール混餌飼料は、形状、硬度ともに普通食と変化がなく、2%コレステロール食に変えて約1週間後から摂餌するようになったことから嗜好性は良好と判断できた。また、この飼料はおよ

そ3ヶ月間は飼育室内の温度（23度）で保存が可能であることも確認した。この飼料を5頭の成熟オス、ニホンザルに給餌投与した結果、血中脂質は投与1～2ヶ月においてTotal cholesterolは著明に増加し、またLDL-cholesterolも著明に増加したのに対してHDL-cholesterolは明らかな低下が見られた。これら血中脂質の推移は、ヒトの動脈硬化症と同様の推移を示すことが明らかになった。

そこでこの方法を用いてさらに期間を延長するとともに、血管内視鏡による観察も加えて動脈硬化症のモデル動物としての有用性の確認を行った。

血管内腔の動脈硬化病変の有無や進行状況を把握する手段として、従来より動物を実験殺し、動脈標本を摘出した後に観察、計測する方法が採られてきている。この方法は、コレステロール食投与群とコントロール群との間で比較を行わねばならず、しかも標本を摘出することから1つの実験に1群を使用することになり、実験前後での比較が行えないいわゆるコントロールのない一度のみの観察を行うことになり、得られる実験成績の再現性も不明瞭であることから、とくに霊長類のような貴重な実験動物を用いる際には動物福祉の点からも適正を欠くと考えられる。一方、血管内腔を直視下で観察しようとする試みは古くから行われていたが、血液排除が難しく満足のいく結果は得られなかった。従来から用いられる方法の一つとして血管内腔で生理食塩水をフラッシュして血液を透明化することによって内腔を観察する方法があるが、これは過剰輸液を来たし、得られる画像は血液の混入のために一時的でありかつ不鮮明なものでしかない。今回新たに作成したバルーン法を取り入れた内腔

観察法は滅菌したカテーテル内に血管内視鏡を挿入していることから、血液による血管内視鏡の汚染を防ぐことが出来るとともに、バルーンを膨らませている間は安定した明瞭な画像が得られ、またバルーンのサイズを変えることによって、内径10mm以上の血管の観察も可能である。またバルーンを観察したい部位で適時膨らませることによって血液のない安定した視野で観察することが出来る。この方法を用いて血管内腔の観察は1～2ヶ月毎に行ったが、これは人工血管を腸骨動脈に吻合し皮下に埋没しておくことから、観察を行う度に血管を傷つけることもなく感染症の危険性も極力少なくすることが出来た。

この新しく開発した欠陥内視鏡システムを用いて、実際に2%コレステロール食およびその後の普通食投与に伴う血管内腔の継時的観察を行った。

その結果、2%コレステロール食投与前は大動脈の内腔は、平滑で弾性に富んでいたのに対して、コレステロール食を5～7ヶ月投与し、Total cholesterol値が著明に増加した4ヶ月目には腎動脈、上腸間膜動脈、腹腔動脈等の主要分岐起始部や腰動脈起始部に黄白色の隆起したアテロームを認めた。この様なアテローム形成が確実に認められた時点で2%コレステロール食から普通食投与に変えた結果、Total cholesterol値は2～4ヶ月後には2%コレステロール食投与前の値にまで低下した。一方、血管内腔のアテロームはこの普通食投与に変えた4ヶ月後においては、退宿像は認められず、むしろ動脈硬化性病変は周囲の大動脈壁にまでさらに進展しており、8～10ヶ月後においても血管内腔は改善がなされていないことを確認した。この成績は、コレス

テロールは動脈硬化の発現因子であることが確認できたとともに、病変の進展因子は他の因子も関与しているらしいことを推測させるものであった。

動脈硬化症の動物モデルに求められる条件として、ヒトの動脈硬化に似た病変がヒトと著しく異なる条件下で再現性よく作成される動物および実験条件が理想的である。即ち、1. 比較的短期間で動脈硬化病変を作成できること、2. 出来た病変がヒトの動脈硬化と形態学的にも生化学的にもにていること、3. 再現性があること、4. 動物は比較的安価で動物数が得やすいこと、5. 形態学的にも生化学的にも十分な検査が遂行し得る大きさのサンプルが得られること、そして6. 重篤なバイオハザードがないこと、などが考えられる。霊長類を用いて動脈硬化症の実験モデルを作成することは、これら条件のなかで、実際に得られた今回の成績から価格と数以外には問題点としてはないことを確認できた。とくにニホンザルは血管内視鏡を用いる本実験においても、極めて適した体躯を持ち、月単位から年体位にわたって観察を可能とする実験動物であると考えられ、今後動脈硬化症の改善薬を用いた実験、動脈硬化症を防止する薬物療法などについてさらに検討を加えたいと考える。

E. 結論

オス、ニホンザルに2%コレステロール食を投与することにより、血中脂質ではTotal cholesterol、LDL-cholesterolの増加、HDL-cholesterolの減少がみられ、血管内視鏡による血管内腔の観察から、動脈壁にアテロームの発現した動脈硬化性病変を確認できたことから、動脈硬化症モデルが作成できたと判断できた。また

コレステロール食投与を中止した後は血中Total cholesterol値が明らかに低下するのに対して、血管内腔の動脈硬化性病変は進行の停止ないしは改善されるのではなく、むしろ進展することを確認した。

F. 引用文献

- 1) Manning, P.J. & Clarkson, T.B., Development, distribution, and lipid content of diet-induced atherosclerosis lesions of rhesus monkeys, *Exp. Mol. Pathol.*, 17, 38-54, 1972.
- 2) Clarkson, T.B., Lehner, N.D.M., Wagner, W.D., Clair, R.W.St., Bond, M.G. & Bullock, B.C., A study of atherosclerosis regression in *Macaca mulatta*, I. Design of experiment and lesion induction, *Exp. Mol. Pathol.*, 30, 360-385, 1979.
- 3) Clarkson, T.B., Bond, M.G., Bullock, B.C., McLaughlin, K.J. & Sawyer, J.K., A study of atherosclerosis regression in *Macaca mulatta*, V. Changes in abdominal aorta and carotid and coronary arteries from animals with atherosclerosis induced for 38 Months and then Regressed for 24 or 48 months at plasma cholesterol concentrations of 300 or 200 mg/dl, *Exp. Mol. Pathol.*, 41, 96-118, 1984.

G. 発表論文

1. 論文発表

- 1) 池田識道、越智真一、佐々木義孝、渡辺高久、バルーン法による血管内視鏡の臨床応用、*日本心臓外科学会雑誌*、19, 6, 1192-1193, 1990.
- 2) 池田識道、鳥居隆三、血管内視鏡による動脈硬化病変の生体内継時的観察、*脈管学* (印刷中)

2. 学会発表

- 1) Ikeda, N. & Torii, R., The effect of serum cholesterol (T-chol.) on the regression of ath-

erosclerosis -Angiofiberscopic study, Proceeding of The Fourth Saratoga International Conference on Atherosclerosis, 1996.

2) Ikeda, N. & Torii, R., A new approach to the investigation of atherosclerosis in the primate model. 16th Congress of the International Primatological Society & 19th Conference of the American Society of Primatologists, 1996.

3) Ikeda, N. & Torii, R., Periodic endoluminal study of atherosclerotic change by balloon angiofiberscopy. XIXth Congress of The European Society of Cardiology, 1997.

4) Ikeda N. & Torii, R., Visual evaluation of the effect of eicosapentaenoic acid(EPA) on atherosclerosis in Japanese monkeys, 2nd International Congress on Coronary Artery Disease, 1998.

5) 池田識道、奥村悟、神吉豊、福持裕、野田信一、加藤美保子、田中信行、辻村吉紀、渡部高久、鳥居隆三、エイコサペンタエン酸の動脈硬化におよぼす効果－血管内視鏡による経時的観察と脂質分析による検討－、第39回日本脈管学会総会、1989.

図-1 ニホンザルにおけるコレステロール食投与に伴う血中脂質の推移

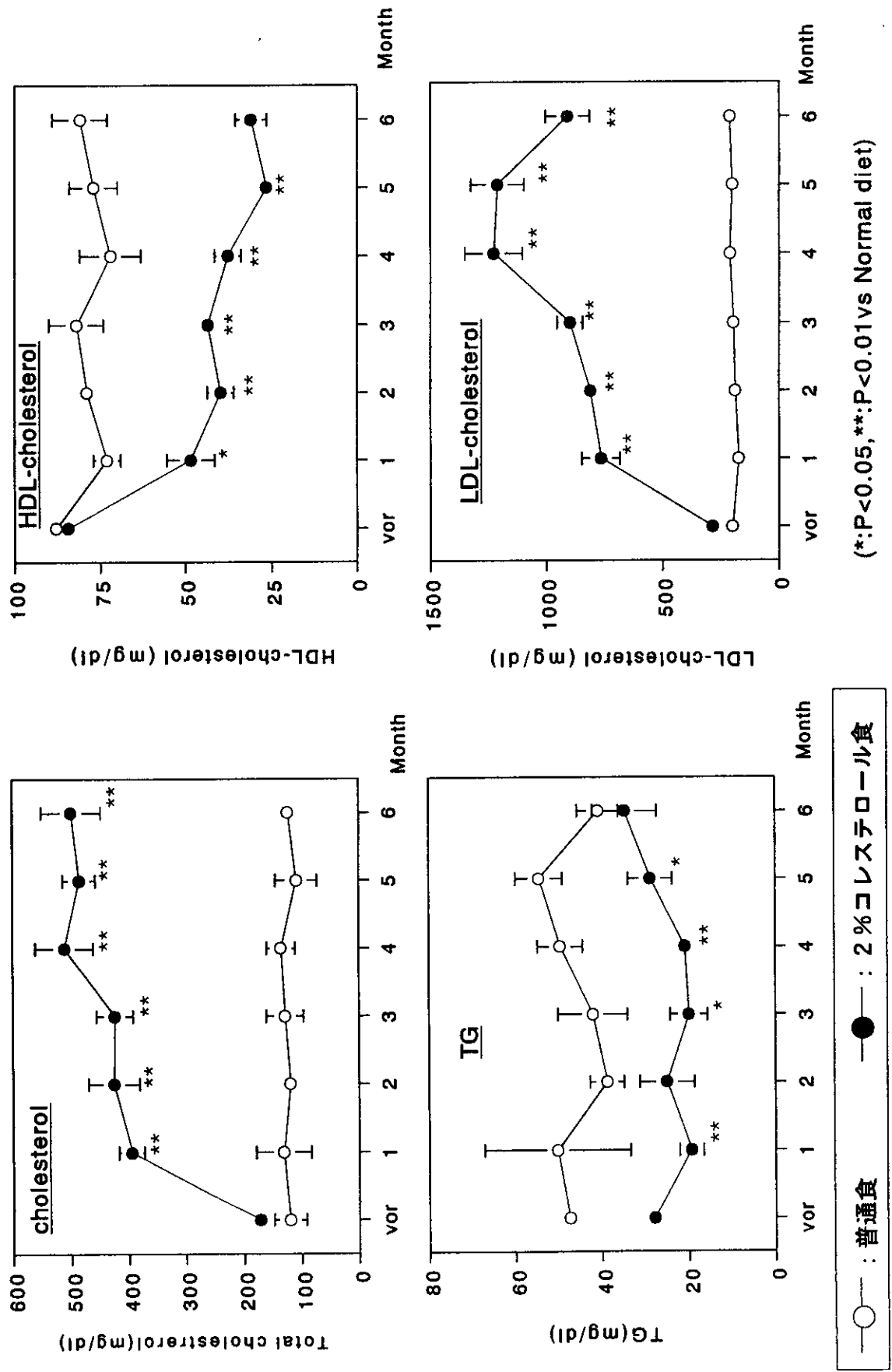


図-2 ニホンザルにおけるコレステロール食および普通食投与後の血中脂質の動態

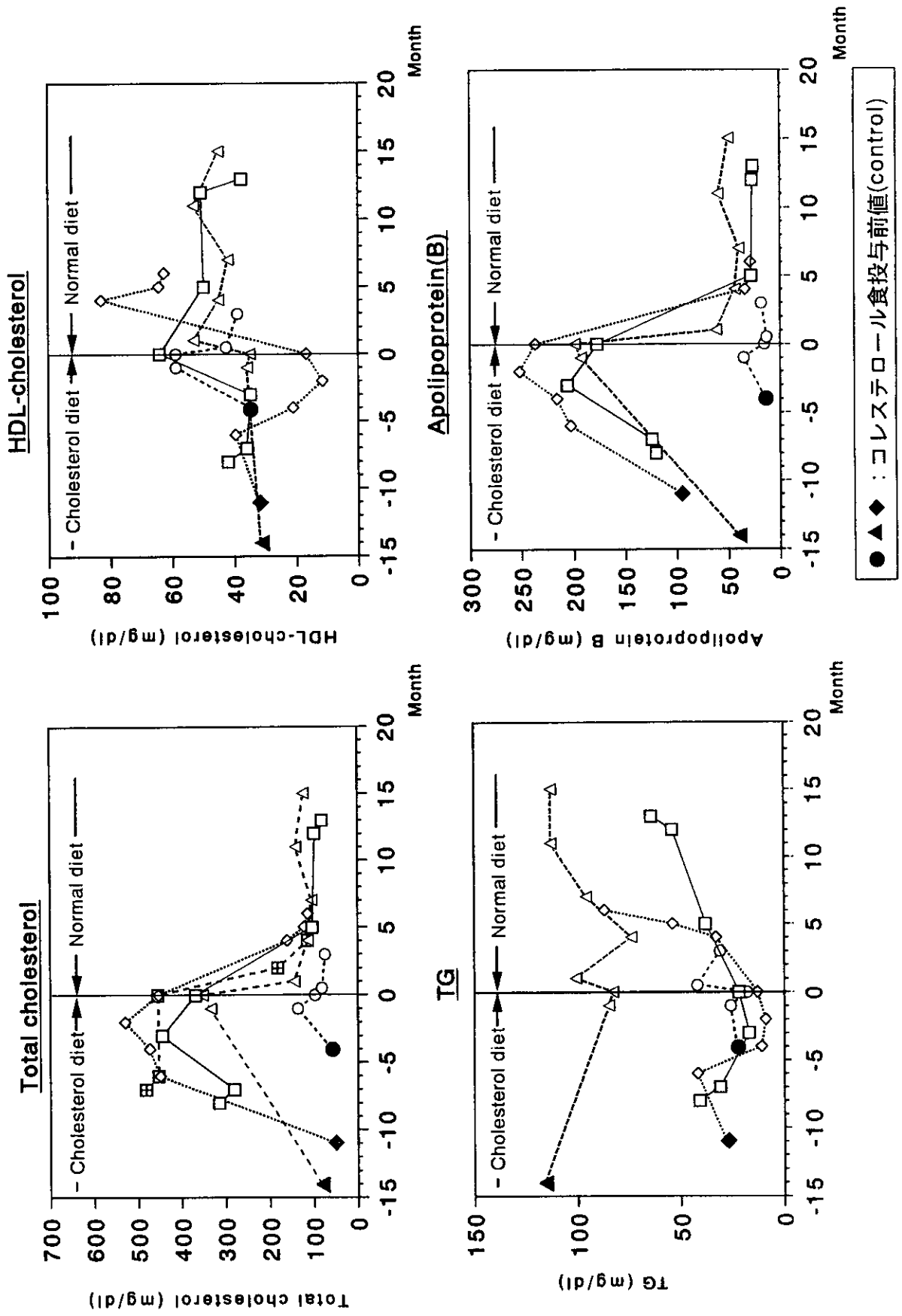
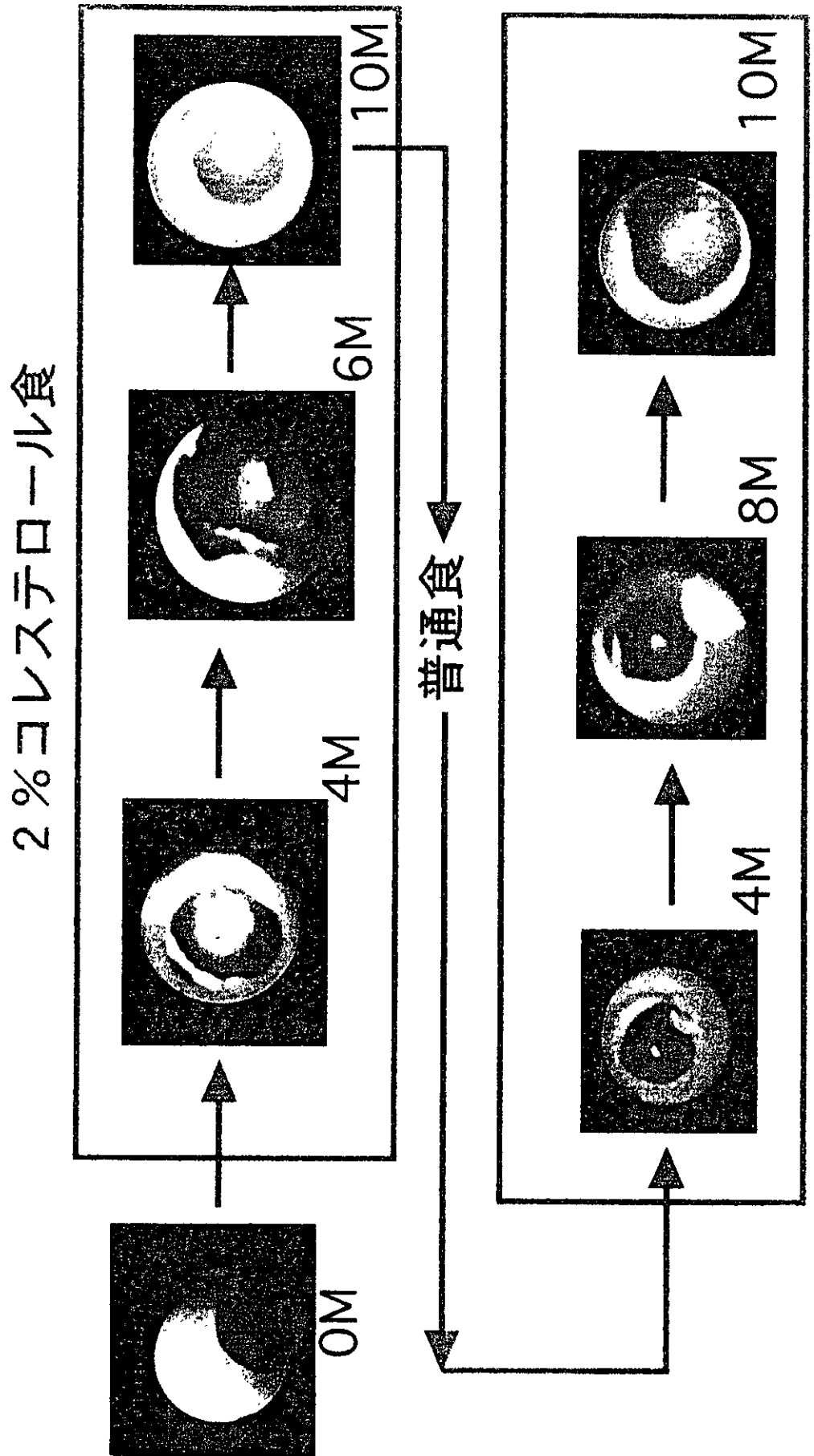


図-3 ニホンザルにおけるコレステロール食投与および普通食投与後の腹大動脈内腔像



分担研究報告書

カニクイザルにおける遺伝的連鎖地図の構築

分担研究者： 国枝哲夫 岡山大学農学部 助教授

研究要旨：

カニクイザル染色体の連鎖地図を構築し、各染色体に当てはめることにより網膜黄斑変性等の遺伝性疾患を含め、カニクイザルの種々の形質の遺伝学的解析を行うためのシステムを確立することを目的として研究を進めた。ヒトとサル類の染色体シンテニーでカニクイザルの第2, 7, 13染色体についてはそれぞれヒトの第7および第21染色体, 第14および第15染色体, 第20および第22染色体の各2染色体が融合したような形態であり, 逆にヒトの第2染色体はマカカ属サルの第9および第15染色体に分断されている。本年度はヒト第7染色体上のマイクロサテライトマーカ―と第21染色体上のマイクロサテライトマーカ―がカニクイザルにおいては連鎖していることが明らかとされたことから, カニクイザルにおいてはヒトの第7および第21染色体に対応する領域が実際に同一の染色体上に存在していることが確認された。

A. 研究目的

本研究は、カニクイザル染色体の連鎖地図を構築し、各染色体に当てはめることにより、網膜黄斑変性等の遺伝性疾患を含めたカニクイザルの種々の形質の遺伝学的解析を行うためのシステムを確立することを目的とする。具体的には上記目的のため、ヒトの特定の染色体の連鎖地図上に位置づけられているマイクロサテライト遺伝子座を検出するためのプライマーを用いて、対応するカニクイザル染色体のマイクロサテライトDNAを検出すること、これらのマイクロサテライトDNAを用いたカニクイザルの家系の連鎖解析によりカニクイザルの遺伝学的連鎖地図を構築し、ヒトとカニクイザルの染色体の対応を明らかとすることを目的とした。

マカカ属サルの染色体とヒト染色体を比較したとき、多くの染色体については1対1の

対応関係があるが、カニクイザルの第2, 7, 13染色体についてはそれぞれヒトの第7および第21染色体, 第14および第15染色体, 第20および第22染色体の各2染色体が融合したような形態であり, 逆にヒトの第2染色体はマカカ属サルの第9および第15染色体に分断されている。これらの染色体において、カニクイザルとヒトの染色体の正確な対応関係を明らかとすることは、カニクイザル染色体の遺伝学的な連鎖地図を構築する上で重要であるだけでなく、霊長類の染色体の進化的な変化について考察する上でも重要な知見を与えるものと思われる。そこで本年度は、カニクイザルの第2染色体を対象とし、ヒトのプライマーを用いて連鎖地図の構築を行うことにより、カニクイザルとヒトの染色体の正確な対応関係を明らかとすることを試みた。

さらに、これらのマイクロサテライトマーカーを用いて、カニクイザルにおける遺伝性の網膜黄斑変性の部分的な連鎖解析を行った。

B. 材料と方法

それぞれ単一の雄に由来する8家系の計175個体について、血液より常法によりDNAを抽出し、ヒト第7、21染色体、第1染色体の一部の領域上のマイクロサテライト遺伝子座用のプライマーをアイソトープラベルし、PCR法による増幅を行った。PCR反応は1.5mM MgCl₂の反応液中にてアニーリング55℃1分、伸長反応72℃2分、変性92℃15秒の条件にて行った。PCR産物を5%変性ポリアクリルアミドゲルにて1500V、4時間電気泳動の後、X線フィルムに露光し、得られたバンドについて各個体のタイピングを行った。得られた結果について、父親から子供への対立遺伝子の伝達様式に基づいて、連鎖解析を行った。

C. 結果

ヒト第1、7、21染色体上のそれぞれ5、48、12のマイクロサテライトマーカーについて、カニクイザルにおいても対応するマイクロサテライトDNAが存在し、多型性を示すか否かを検討した結果、それぞれ3、31、9のプライマーにおいて単一の断片が特異的に増幅され、そのうち2、17、5の断片にて個体間の多型性が認められた。したがって、これらのヒトマイクロサテライトマーカー用のプライマーを用いてカニクイザルの連鎖地図の構築が可能であることが明らかとなった。

上記マイクロサテライトマーカーうち、本研究に用いた家系の父親においてヘテロ接合

の状態であり、連鎖解析の有効であることが推測された。第2、7染色体上の5遺伝子座について、各個体のタイピングを行い各遺伝子座の間の組換え率をもとめた。これらの遺伝子座について、二重交叉が最少となるように各遺伝子座を配置し、単一のカニクイザル染色体の連鎖地図が確立された。連鎖地図上の各遺伝子座は配置はD21S1252-D21S1212-D7S555-D7S667-D7S495の順であった。5遺伝子座は約50cMの範囲内に分布し、隣接する各2遺伝子座間でのロッドスコアは1.9~4.5であり、距離はすべて20.0cM以内であった。

さらに、上記のヒト第7、21および第1染色体上のマイクロサテライトマーカーを用いて網膜黄斑変性の家系の連鎖解析を行ったところ、本疾患の発生とこれらマーカーの間には有為な連鎖は認められなかった。

D. 考察

染色体上でのマイクロサテライトDNAの位置は哺乳類の近縁種間で保存される傾向があり、同一のプライマーを用いることにより、互いに対応する位置に存在するマイクロサテライトDNAを検出し得ることが報告されている。本研究ではヒト第7、21染色体上のマイクロサテライト遺伝子座用のプライマーを用いることにより、カニクイザルの第2染色体上に存在すると考えられるの5遺伝子座よりなる単一の遺伝学的連鎖地図が構築された。ヒト染色体特異的プローブを用いた染色体ペインティング法により、カニクイザルの第2染色体はヒトの第7および第21染色体と対応し、両染色体が融合したような状態であることが推測されていたが、本研究の結果、ヒト第7染色体上のマイクロサテライト

マーカーと第21染色体上のマイクロサテライトマーカーがカニクイザルにおいては連鎖していることが明らかとされたことから、カニクイザルにおいてはヒトの第7および第21染色体に対応する領域が実際に同一の染色体上に存在していることが確認された。さらに、第21染色体のD21S1212と強く連鎖するD7S555, D7S667はヒト第7染色体の中央部に位置しD7S495は長腕遠位端部に位置することから、ヒト第7染色体の短腕遠位端部分はカニクイザルにおいてはヒト第7染色体の他の部分とは同一の染色体に含まれていないことが推測された。

以上の結果、本研究においてカニクイザルの第2染色体とヒトの第7および第21染色体

との正確な対応関係を明らかとされ、これら

の知見は霊長類の染色体の進化的な変化について考察する上で重要であると考えられた。

ヒトの第1染色体にはカニクイザルの疾患と類似した病態を示す、ヒトの遺伝性の網膜黄斑変性であるStargardt病の原因遺伝子が存在することが知られている。本研究ではヒト第1染色体上でのStargardt病の原因遺伝子が存在する領域のマイクロサテライトマーカーを用いて、カニクイザル網膜黄斑変性との連鎖を調べたところ、有為な連鎖は認められず、したがって上記の遺伝子がカニクイザルの網膜黄斑変性の原因である可能性は否定された。さらに、ヒトの第7および第21染色体上のマーカーとも有為な連鎖は認められず、本疾患の原因遺伝子はカニクイザルの第2染色体上には存在しないことが明らかとなった。

分担研究報告

網膜変性症モデルに関する研究

分担研究者 鈴木 通弘 社団法人 予防衛生協会

研究要旨 本研究では、サル類の眼科領域疾患モデル開発のための基礎研究として、カニクイザルの眼圧測定について6機種（シュッツ、アルコン、トノペン、パーキンス、トプコン、キーラー）の眼圧計を用いて検討した結果、シュッツ、トノペン、キーラーの3機種が使用可能であることを明らかにした。シュッツ、トノペン、キーラーで得られた眼圧値はそれぞれ 16.4 ± 3.1 (9.8-24.4)、 16.1 ± 3.9 (7.3-24.8)、 15.2 ± 4.3 (6-28)mmHgであった。また3機種で得られた値は互いに良く相関していた（トノペン VS シュッツ $R=0.771$ 、 $P=0.0001$ 、トノペン VS キーラー $R=0.590$ 、 $P=0.0001$ 、シュッツ VS キーラー $R=0.355$ 、 $P=0.0006$ ）。トノペンを用いて、1歳齢以下の個体から28歳齢までの眼圧値を調べた所、眼圧値は加齢に伴ってわずかに上昇していることが明らかとなった。

分担研究者 鈴木 通弘
社団法人 予防衛生協会

A. 研究目的

超高齢化社会を迎え、加齢に伴う眼疾患の重要性が増しつつある。特に緑内障、白内障、網膜変性症のような晩発性の疾患に関しては、現在まで良い動物モデルの開発がなされていない。こうした眼科領域疾患の原因究明、診断、治療あるいは予防には、ヒトに類似した疾患モデルが必要である。特に、網膜黄斑変性のように、ゲツ歯類では見られない、霊長類特有の疾患はヒトに最も近縁なサル類を使用しなければ解明できず、こうした疾患モデルの開発研究が切望されている。

本年度の研究では、サル類の眼科領域疾患モデル開発のための基礎研究として、カニクイザルの眼圧測定に関する基礎的研究を取り上げた。すなわち、カニクイザルの眼圧測定について6機種（シュッツ、アルコン、トノペン、パーキンス、トプコン、キーラー）の眼圧計を用いていづれの機種が使用可能かを検討するとともに加齢に伴う眼圧値の変化を明らかにした。

B. 研究方法

眼圧計は、圧入式としてシュッツ、圧平式接触タイプとしてアルコンPTG（以下、アルコンと略す）、トノペンXL（以下、トノペンと略す）、パーキンスMK-II（以下、パーキンスと略す）、圧平式非接触タイプとしてトプコンCF30（以下、トプコンと略す）、キーラーバルゼア（以下、キーラーと略す）の6機種を用いた。実験検討期間は3週間とした。

対象動物は、乳仔期から成熟期のカニクイザル雌41頭、雄12頭の計53頭である。測定に際しては、動物を塩酸ケタミンにて麻酔して行った。また、圧入式および圧平式接触式では、測定機器に応じて、眼科用表面麻酔薬（0.4%塩酸オキシブプロカイン、ベノキシール0.4%液、参天製薬）の点眼処置やフルオレスチン液での染色処置等を行った。測定は、最初に左眼、次いで右眼の順で、1眼につき4回測定し、その平均値を眼圧値とした。測定時の動物の保定は、トプコンのみが腹位、他は背位にて行った。

C. 研究結果

シェッツは、新生仔期から乳仔期のカニクイザルの眼に直径10mmあるセンサー部を圧入することができず、この時期のサルには測定が不可能であった。1歳齢前後から成体期では適用可能で、取扱習熟までの時間は短かった。

アルコンは、全年齢域で測定可能であったが、測定者の機器への習熟度により測定値にバラツキが生じた。また測定に習熟するまでの時間が長かった。

トノペンは、乳仔期から成体まで適用可能であり、取扱習熟までの時間は短かった。

パーキンスは、センサー部の直径が7mmあり、新生仔期から乳仔期のカニクイザルの眼に圧平することは不可能であった。成体ザルでの測定は可能であったが、測定者の機器への習熟度により測定値にかなりのバラツキが生じ、さらに使用に習熟するまでに時間が長かった。

トプコンは、取扱習熟までの時間は短く、乳仔への適用も可能であったが、成体ザルでは、カニクイザルの口角部が成長に伴ってイヌ科の動物の様に前面に突出してくる為、センサー部位を測定可能位置に近づけることができず、測定は結果として不可能であった。

キーラーは、各齢において測定が可能で、さらにバラツキも少なく、初心者でも短期間の練習で測定できるようになった。

以上のことから、使用可能機種としては、トノペンとキーラーが良く、次いでシェッツも良好と結論した。なお、各機種について、動物に対する有害な影響は認められなかった。

次に、シェッツ、トノペン、キーラーの3種類の使用可能機器を用いて、1歳齢から28歳齢のカニクイザル45頭、89眼での眼圧値を求めたところ、シェッツでは 16.4 ± 3.1 (9.8-24.4)、トノペンでは 16.1 ± 3.9 (7.3-24.8)、キーラーでは 15.2 ± 4.3 (6-28)mmHgの成績を得た (Table 1)。

再現性については、これら89眼の4回の測定の平均値と標準偏差から変動係数を求めた。その結果、3機種とも変動係数の値が小さく、再現性が高かった (Figs.1-3)。

また、3機種で得られた眼圧値は互いに良く相関していた (Figs.4-6)。

左右眼での相関についても、3機種何れも高い相関が得られた (Figs.7-9)。

なお、トノペンを用いて、1歳齢以下の個体から28歳齢までの眼圧値を調べた所、眼圧値は加齢に伴ってわずかに上昇していることが明かとなった

(Fig.10)。

D. 考察

動物での眼圧測定については既にいくつかの報告がある。サル類での眼圧測定についてもゴールドマン型やパーキンス型の機種を用いての報告が見られる。

今回、1990年代になって開発された眼圧測定機器も含めて、タイプの異なる6種類の眼圧計 (シェッツ、アルコン、トノペン、パーキンス、トプコン、キーラー) を用いてカニクイザルでの眼圧測定の可否や正確度について検討の結果、シェッツ、トノペン、キーラーの3機種が、取扱習熟までの時間が短く、得られた測定値のバラツキが少なく、再現性も高いので、眼圧測定に適した機種との結論を得た。また、アルコンやパーキンスについても実験期間を長くし、かつ、機器の取扱いに習熟している技術者がいれば、有用との結論が得られる可能性が残った。なお、トプコンについては、センサー部を前後に動かすことが可能な構造に改良されれば成体ザルでの測定も可能と思われた。

今回の検討にもとづき、今後上記3機種の使用によりカニクイザルの緑内障個体摘発が容易となり、緑内障疾患モデルの開発も活発になるものと期待できよう。さらに、今後、調査頭数を増やしていく中で、今回簡単にふれた眼圧値の加齢変化の内容についても、さらに詳細になると考えられる。

E. 結論

カニクイザルの眼圧測定について、6機種 (シェッツ、アルコン、トノペン、パーキンス、トプコン、キーラーバルゼア) の眼圧計を用いて検討した結果、シェッツ、トノペン、キーラーの3機種が使用可能であった。シェッツ、トノペン、キーラーで得られた眼圧値はそれぞれ 16.4 ± 3.1 (9.8-24.4)、 16.1 ± 3.9 (7.3-24.8)、 15.2 ± 4.3 (6-28)mmHgであった。また3機種で得られた値は互いに良く相関していた (トノペン VS シェッツ $R=0.771$ 、 $P=0.0001$ 、トノペン VS キーラー $R=0.590$ 、 $P=0.0001$ 、シェッツ VS キーラー $R=0.355$ 、 $P=0.0006$)。トノペンを用いて、1歳齢以下の個体から28歳齢までの眼圧値を調べた所、眼圧値は加齢に伴ってわずかに上昇していることが明かとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

① 鈴木通弘

視覚障害（網膜変性）モデル
霊長類研究 14 129-133, 1998

② Michihiro T. SUZUKI, Akio HIYAOKA,
Fumiaki CHO, Keiji TERAOKA and Shigeo
HONJO

Ophthalmoscopic Observations of Ocular Fundus
in African Green Monkeys Aged from 0 day to
15 years and Retinal Hemorrhage in Neonates
Anim. Eye Res. 17 111-118, 1998

2. 学会発表

③ 藤井敦子, 鈴木通弘, 小野文子, 吉川泰弘,
国枝哲夫

ヒトマイクロサテライト用プライマーを用いた
カニクイザルの染色体連鎖地図の構築
第45回日本実験動物学会総会 (1998年5月)
103 松本.

④ 鈴木通弘, 小野文子, 長 文昭, 吉川泰弘
カニクイザルにおける慢性腎性網膜症

病変発生前後の眼底所見
第45回日本実験動物学会総会 (1998年5月)
150 松本.

⑤ 鈴木通弘, 稲垣 覚, 田中浩二, 寺尾恵治
片側眼の網脈絡膜が萎縮していたカニクイザ

ルのICG蛍光眼底造影所見
第18回 比較眼科学会大会 (1998年8月)
麻布.

G. 知的所有権の取得状況

なし

Table 1 : Mean intraocular pressure determined by SCHIOTZ, TONO-PEN and KEELER with 45 clinically normal cynomolgus monkeys.

n	mmHg		
	SCHIOTZ	TONO-PEN	KEELER
89	16.4 ± 3.1 (9.8 - 24.4)	16.1 ± 3.9 (7.3 - 24.8)	15.2 ± 4.3 (6 - 28)

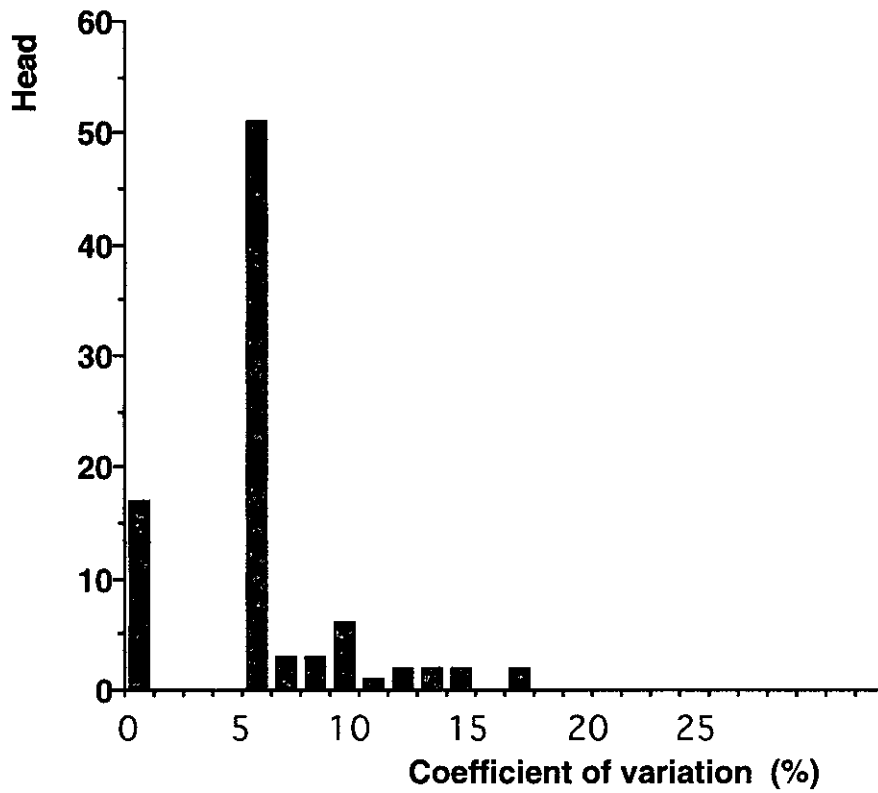


Fig. 1 : Coefficient of variation of intraocular pressure determined with schiotz.

Coefficient of variation was calculated on the results obtained from three repeated measurements with the same eye.

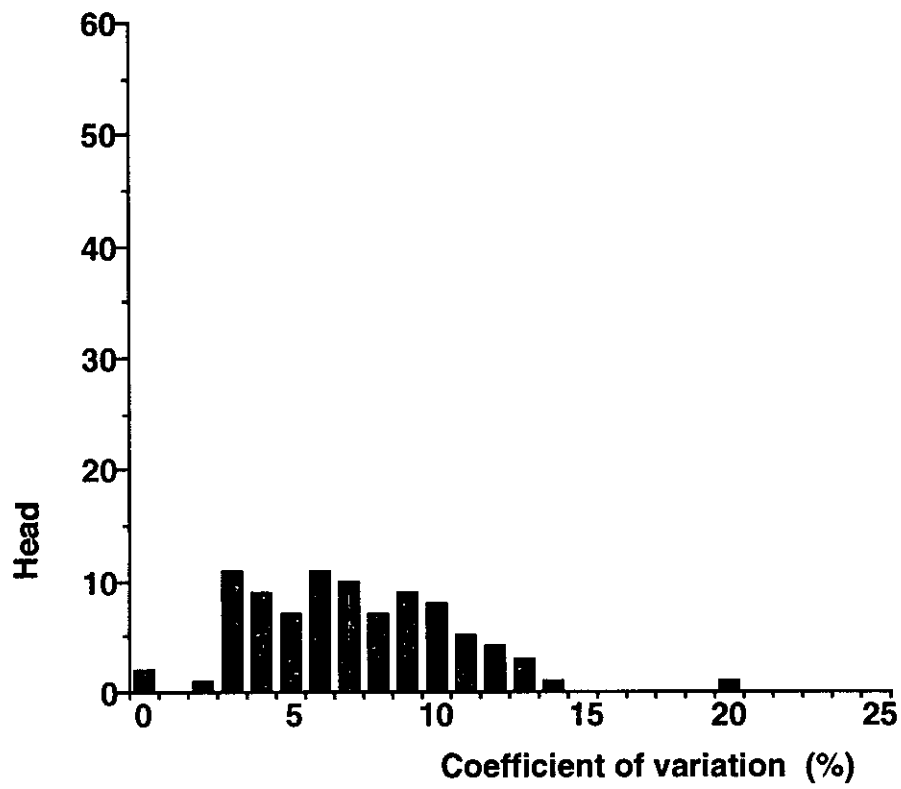


Fig 2 : Coefficient of variation of intraocular pressure determined with TONO-PEN

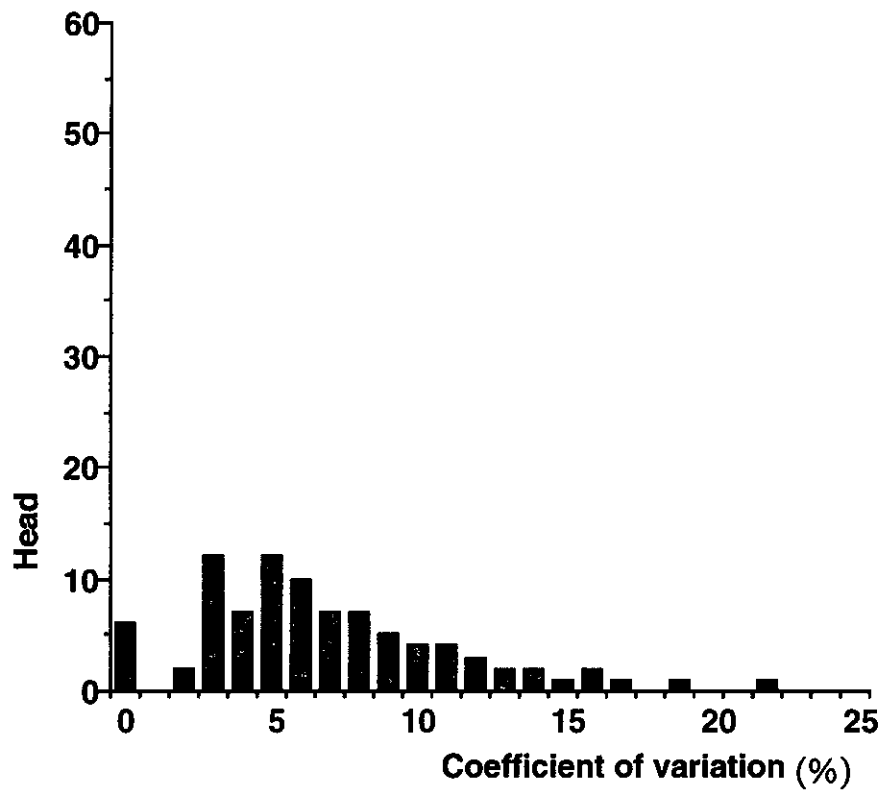


Fig. 3 : Coefficient of variation of intraocular pressure determined with Keeler.

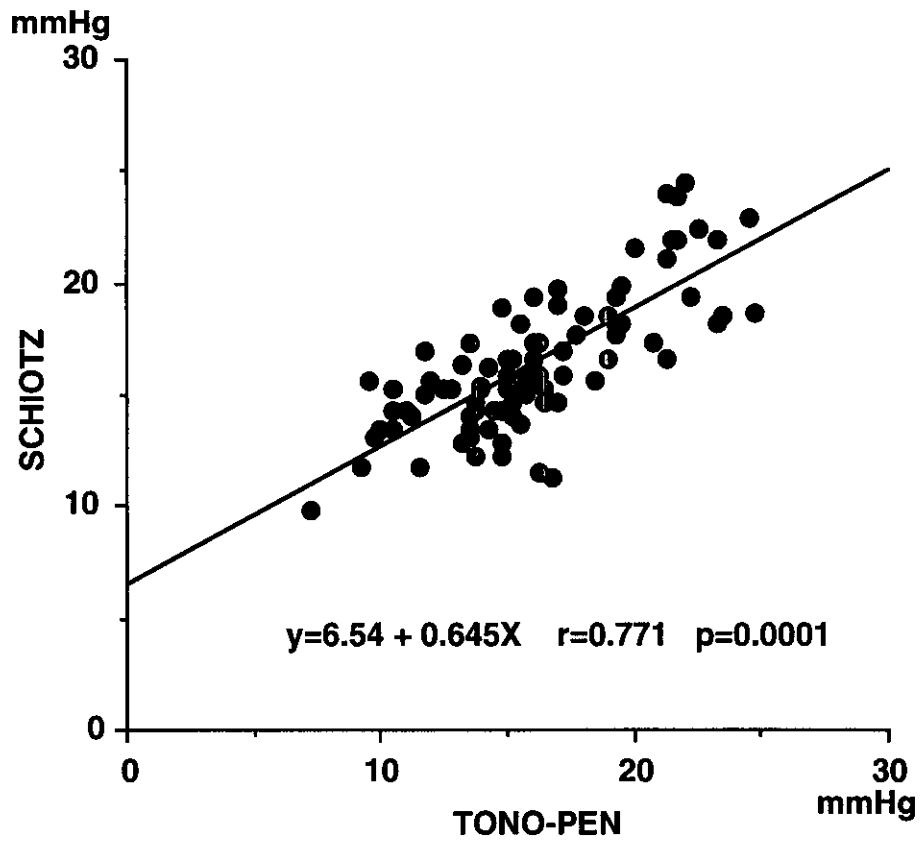


Fig. 4 : Correlation between intraocular pressures determined with TONO-PEN and SCHIOTZ.

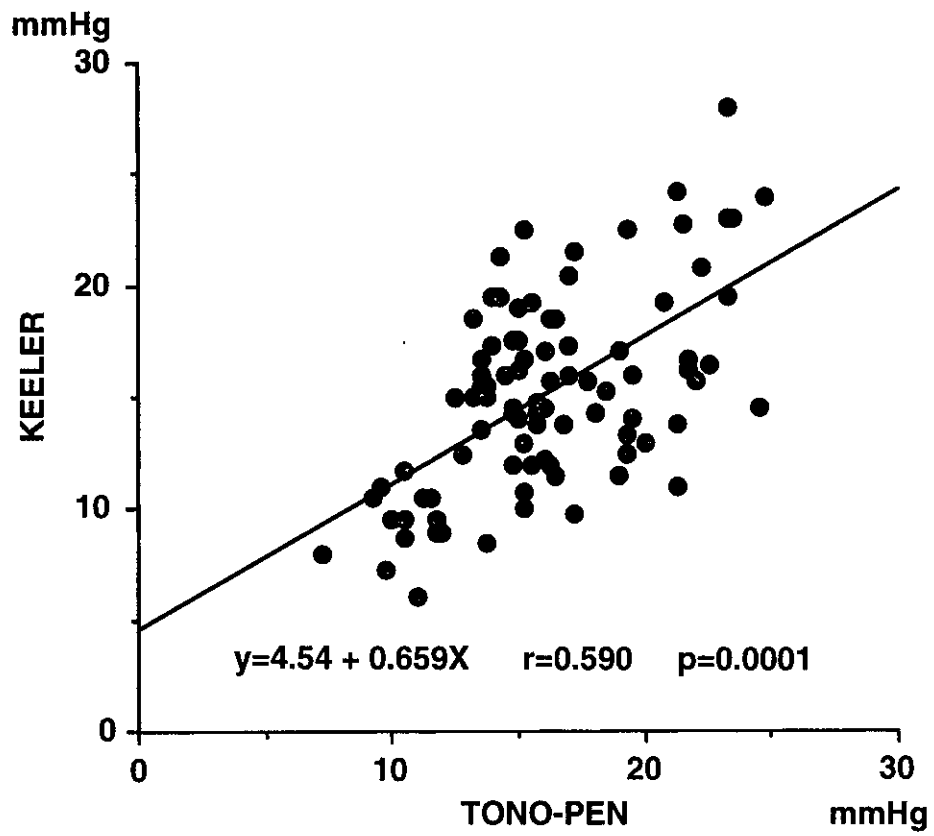


Fig. 5 : Correlation between intraocular pressures determined with TONO-PEN and KEELER