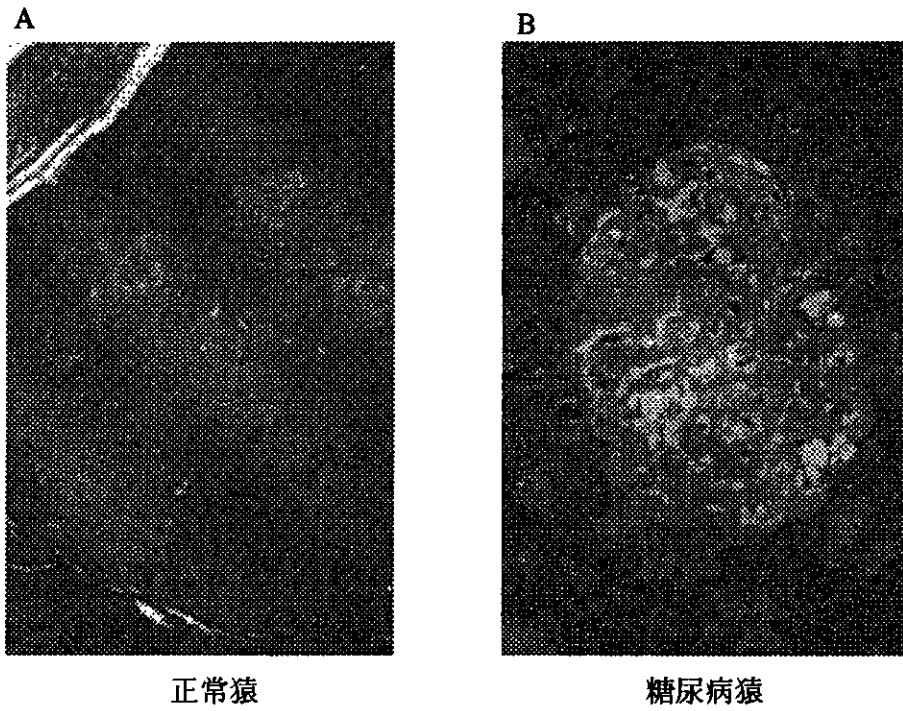


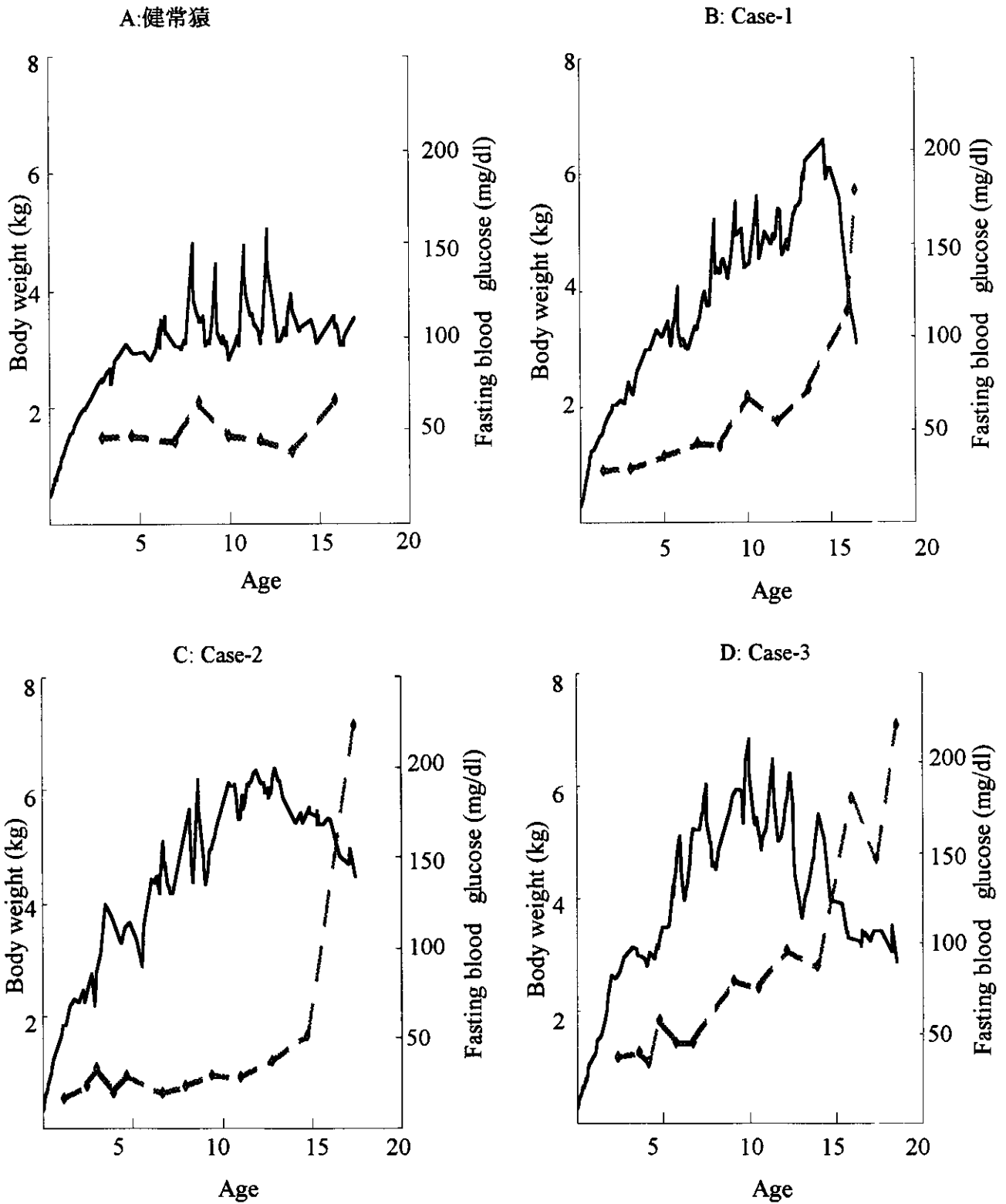
図3



健常猿(A)と糖尿病猿(B)の膵島の組織写真(H-E染色)。糖尿病猿の膵島には、アミロイド変性が認められる。

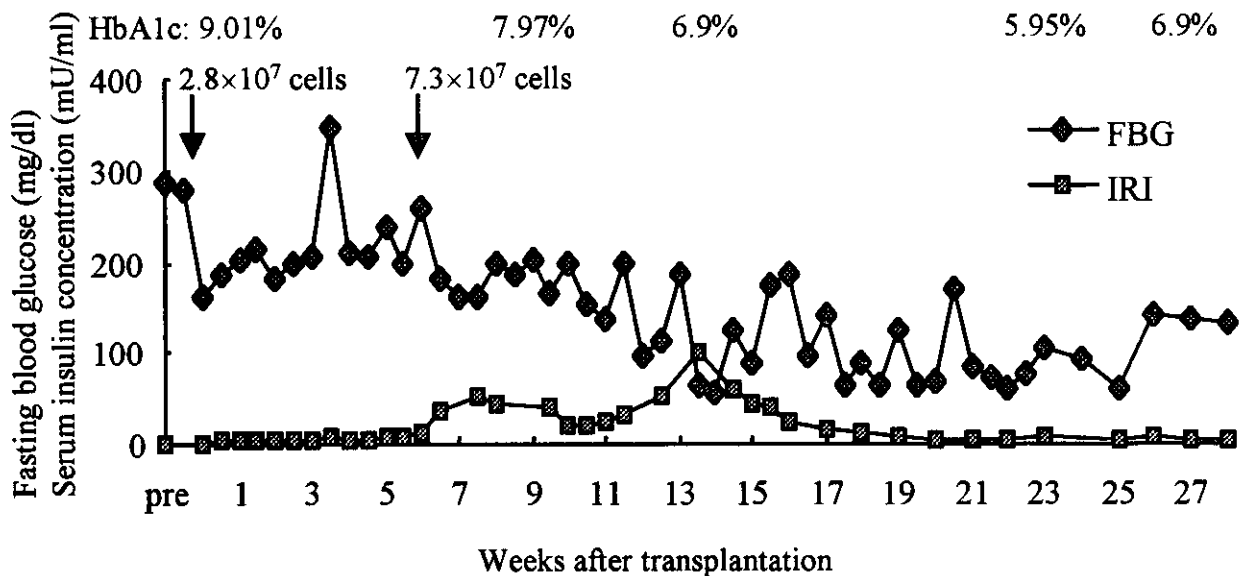
図4

— Body weight
- - Fasting blood glucose



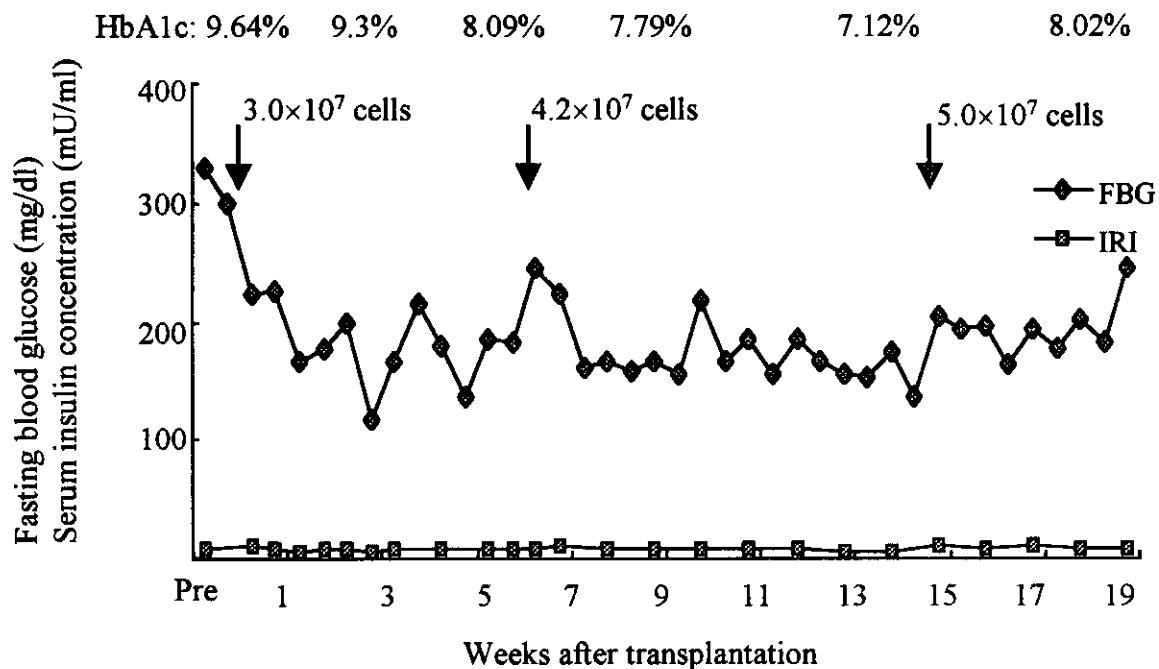
健常 (A) および今回移植に用いた糖尿病猿 (B, C, D) の体重および空腹時血糖 (FBG) の推移を示す。A: 健常猿 B: Case-1 C: Case-2 D: Case-3

図5



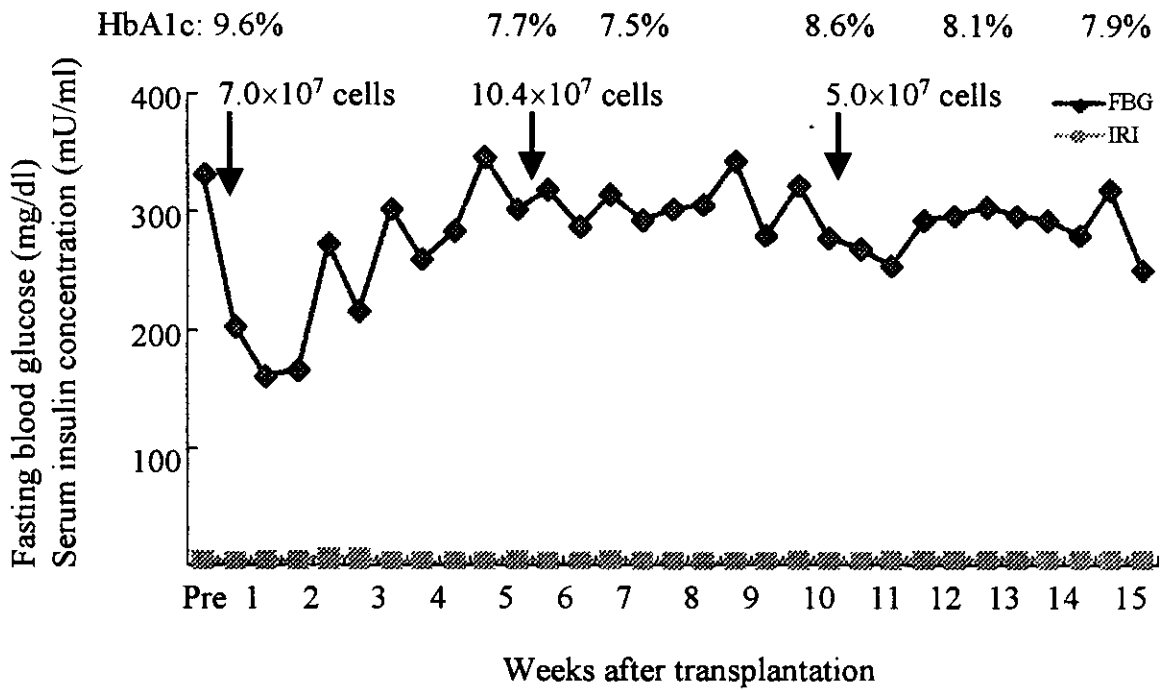
Case-1の移植後のFBGおよびインスリン濃度の変動を示す。矢印は、移植した時期を示す。

図6



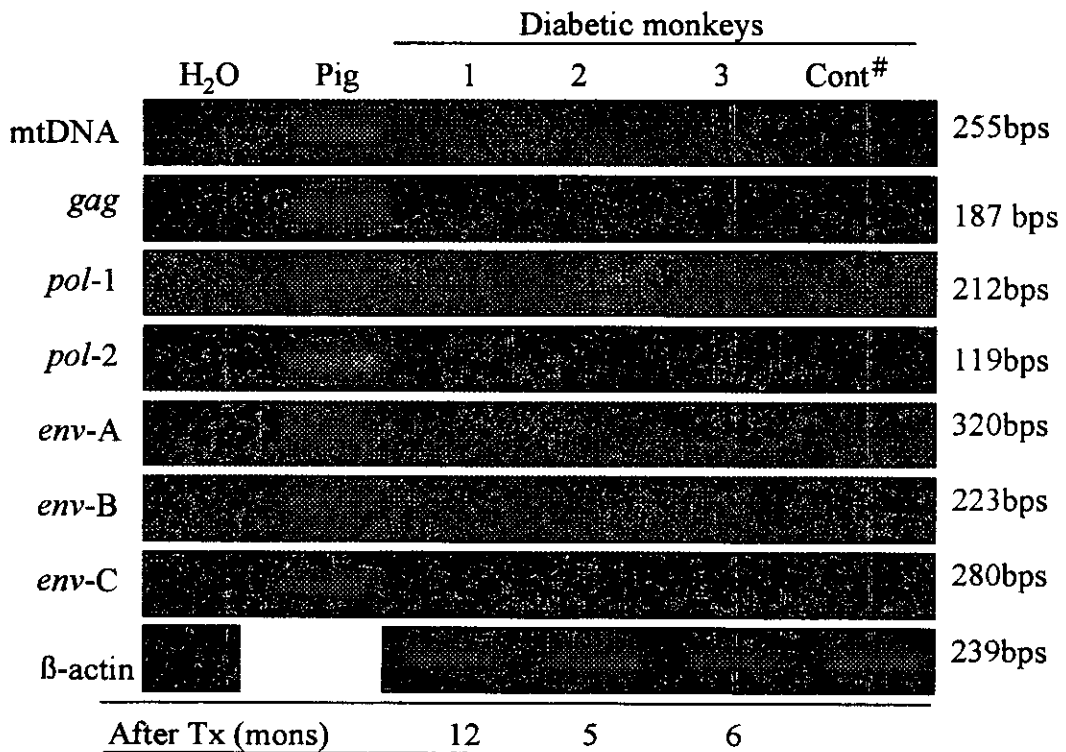
Case-2の移植後のFBGおよびインスリン濃度の変動を示す。矢印は、移植した時期を示す。

図7



Case-3の移植後のFBGおよびインスリン濃度の変動を示す。矢印は、移植した時期を示す。

図8



Bio-AEP移植後の自然発症糖尿病猿の末梢血単核球 (PBMC) における PERV DNAと porcine mtDNA の発現の有無。いずれの症例においても、感染およびマイクロキメリズムは認められなかった。After Tx: 移植後、Cont#: 自然発症糖尿病でBio-AEPを移植していない猿

カニクイザルにおける血中レプチン濃度と年齢、体重および体脂肪率との関係

国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センター

吉田高志

研究要旨

生活習慣病の原因の一つとして注目される肥満の解明を図る目的で、霊長類センターの成熟カニクイザルを対象として、脂肪代謝とその調節機構について、脂肪組織で合成され血流に放出されるサイトカインであるレプチンに注目して解析を行った。その結果、性成熟が完了した動物(メスでは 5 歳齢以上、オスでは 9 歳齢以上)では、二波長 X 線密度測定装置で測定した体脂肪率と血中レプチン濃度とが正に相関し、レプチン濃度と肥満との密接な関係が実証された。しかし、それより若い個体では、体脂肪率と係わり無く、レプチン濃度は年齢と負の相関が認められた。すなわち性成熟前後で、血中レプチン濃度の生理学的な意味が異なって来ることが明らかになった。今後、この意味の違いについて詳細な検討を加える事が要望される。

A. 研究目的

我々は、ヒトの代謝性疾患の実験モデルとしてカニクイザルを対象とし解析を加えてきた。特に脂肪代謝においては、ラット、イヌ、ウサギ等は、ヒトとはかなり異なる様相を呈していることが知られており、カニクイザルがヒトのモデルとして適しているものと判断される。ところで、糖尿病や高血圧症、動脈硬化症等の生活習慣病は、多くの場合、肥満が発症の引きがねとなっている。我々の調査によると、霊長類センターの繁殖用の雌カニクイザルであっても 6 歳齢を過ぎる頃から徐々に肥満個体が発生し始め、9 歳齢ごろには全体の 10%程度を占めるようになり、その後は年齢とともに増加し、16 歳齢頃には肥満個体が過半数を占めるようになることが明らかとなった (Chen et al., 2000)。

ところで肥満関連ホルモンであるレプチンは、脂肪組織で合成・分泌され、視床下部摂食中枢のレプチン受容体と結合し、食欲を抑制する作用があることはよく知られている。そこでこのように肥満個体が現われやすいカニクイザルを対象としてレプチンについて検討を加える事にした。

B. 研究方法

対象動物は 1 歳齢から 30 歳齢以上にわたる雌雄のカニクイザルである。ヒト用のラジオイムノアッセイキット (LIN, PL-84K) を用いてカニクイザル血中レプチン濃度の測定を行なった。体脂肪率の測定は、二波長 X 線密度測定装置 (DPX- α , Lunar 社製) によって、成田ら (1994) の方法にしたがっておこなった。測定値の解析には単回帰分析法を採用した。

C. 研究結果

カニクイザルの年齢と体重との関係を図 1 に示した。雌雄とも 1 歳齢から順調に体重は増加するものの、メスでは 5 歳齢以上、オスでは 9 歳齢以上で体重の個体差は急増し、その傾向は 20 歳以上でも継続した。体重と血中レプチン濃度との関係を図 2 に示した。メスでは体重が 2 K g 以下、オスでは 5 K g 以下の個体で血中レプチン濃度が揃って低値を呈しているものの、それ以上の体重の個体とレプチン濃度との間に明確な関係を認める事はできなかった。他方、年齢と血中レプチン濃度との関係を見ると(図 3)、カニクイザルで性成熟の完了する時期であるメスで 5 歳齢、オスでは 9 歳齢頃を境にして、それ以下では低値を呈し、それ以上では高値を呈する個体が現われる事がわかった。そこでその年齢データを二分割し、その年齢以下の個体(若齢群)では、体重とレプチン濃度との関係を、その年齢以上の個体(高齢群)では体脂肪率とレプチン濃度との関係を解析した。若齢群では雌雄とも血中レプチン濃度は体重と統計学的に有意に逆相関した(図 4)。他方、高齢群においては、レプチン濃度は体脂肪率と統計学的に有意に正の相関を示した(図 5)。

D. 考察

肥満関連ホルモンであるレプチンは、脂肪組織で合成・分泌され、視床下部にある摂食中枢のレプチン受容体と結合し、食慾を抑制する作用があることはよく知られている。すなわち末梢の肥満情報を中枢に伝達し、体脂肪量を一定に保つフィードバックループを形成しているわけである。血中

のレプチンの一義的な役割はこのような中枢を經由した食慾の抑制による肥満の回避に有ると考えられてきた。しかし、最近の研究によって、レプチンのその他の機能、例えば性成熟との係わりや、骨量等との係わりについても報告され始めている。しかしそれらの研究の多くはラット・マウス等を用いたものであり、代謝系がヒトに類似しているサル類を用いた研究が要望される。他方、米国等からはアカゲザルを対象とした研究が報告されているが、アカゲザルは周知の通り季節繁殖性のサルであり、肝機能を始めとする代謝系が周年変動をしている事が考えられる。そこでヒトと同じ通年繁殖を行っているサルとしてカニクイザルを対象として検討を加える事にした。

雌雄ともに年齢が増加するほどに、体重の個体差も増加し、加齢性の肥満個体が現われている事は確実である。メスでは体脂肪率の測定によって体重が 4.0 K g 以上の個体を肥満個体とすることができる(田中ら、1995)が、オスではこのような基準はいまだ作られてはいない。とはいえ、雌雄とも体重が重くなるほど血中レプチン濃度が増加するわけでもない。

ところで、雌雄とも性成熟が完了すると思われるメスの 4 歳齢、オスの 9 歳齢から突然に血中レプチン濃度の高値を呈する個体が現われるようになった。これは、この年齢を境として生理学的意味が異なってくる可能性が示唆される。そこでデータを二分割にして解析を試みたわけである。

高齢群では血中レプチン濃度は明らかに体脂肪率と正の相関が認められた。これは従来の知見と一致し、肥満個体でレプチンが多量に合成・分泌され食慾の抑制が計ら

れているものと推測される結果である。ところが若齢群では年齢と負の相関が認められた。この時期のレプチンの作用については不明である。しかしレプチンと春機発動の開始・性成熟・脳の発育・骨量等との係わりについても言及されている事と考え合わせて、カニクイザルで認められた性成熟の完了に至るまでの血中レプチン濃度の減少の意味について詳細な調査が求められる。

E. 結論

カニクイザルを実験モデルとして性成熟の完了に伴う肥満個体の出現とそれに連動すると思われる血中レプチン濃度の増加が確認された。さらに性成熟の完了前に認められる、成長に伴う血中レプチン濃度の減少が認められた。後者の現象の意味について詳細な調査が求められる。

F. 引用文献

Yang Chen, Hiromi Ohtoh and Takashi Yoshida : Middle Age Onset of Obesity in Laboratory-reared Female Cynomolgus Monkeys, *J. Growth*, 39, 53-58, 2000.

成田勇人・大久保文雄・吉田高志・長文昭・吉川泰弘：カニクイザルの骨量・軟部組織量の生体計測、*実験動物*、43、261-265、1994.

G. 研究発表

1. 論文発表

Yong Chen, Hiromi Ogawa, Hayato Narita, Keiko Ohtoh, Takashi Yoshida and Yasuhiro

Yoshikawa, Ratio of Leptin to Adiponectin as an Obesity Index of Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*), *Exp. Anim.* (in press)

Yong Chen, Fumiko Ono, Takashi Yoshida and Yasuhiro Yoshikawa, Relationship Between Body Weight and Hematological and Serum Biochemical Parameters in Female Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*), *Exp. Anim.* 51,125-131,2002.

吉田高志：サルとヒトとの成長様式の比較、*心理学評論* 45、272-287、2002.

2. 学会発表

陳 楊、小野文子、吉田高志、吉川泰弘：カニクイザルにおける血中レプチン濃度と年齢、体重および性別の関係、第49回日本実験動物学会総会、2002年5月、名古屋。
陳 楊、成田勇人、小野文子、吉田高志、吉川泰弘：カニクイザルで脂肪細胞由来サイトカインと肥満との関係、第18回日本霊長類学会大会、2002年7月、東京。

宮本幸子、山海 直、町田武生、吉田高志：雌雄のカニクイザルの糞便中テストステロン様物質の検出、第18回日本霊長類学会大会、2002年7月、東京。

吉田高志：糞便中の性ステロイドホルモンの簡易測定とその応用、シンポジウム「霊長類の生殖生物学：ラボからフィールドまで」、第18回日本霊長類学会大会、2002年7月、東京。

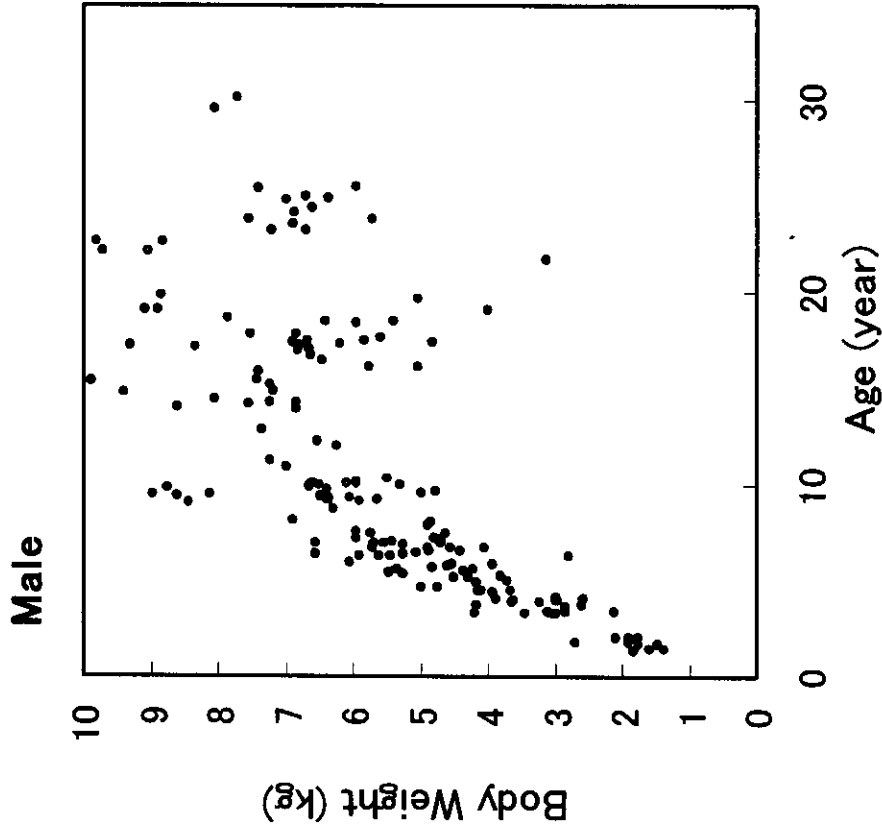
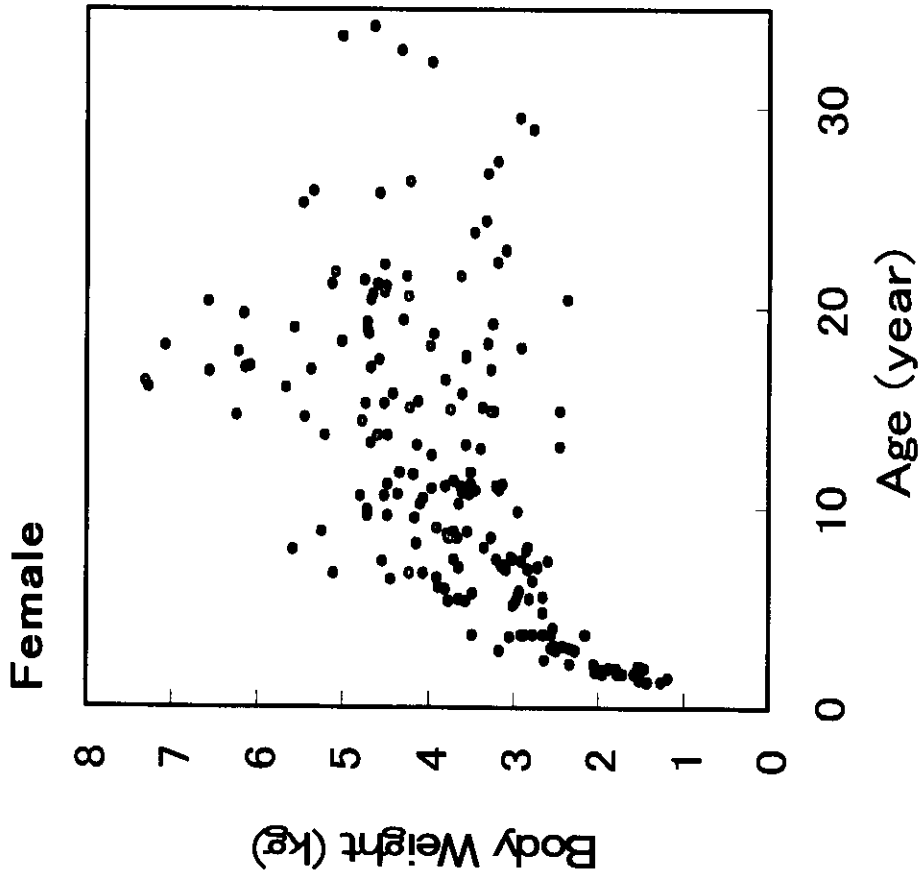


図1 カニクイザルの年齢と体重

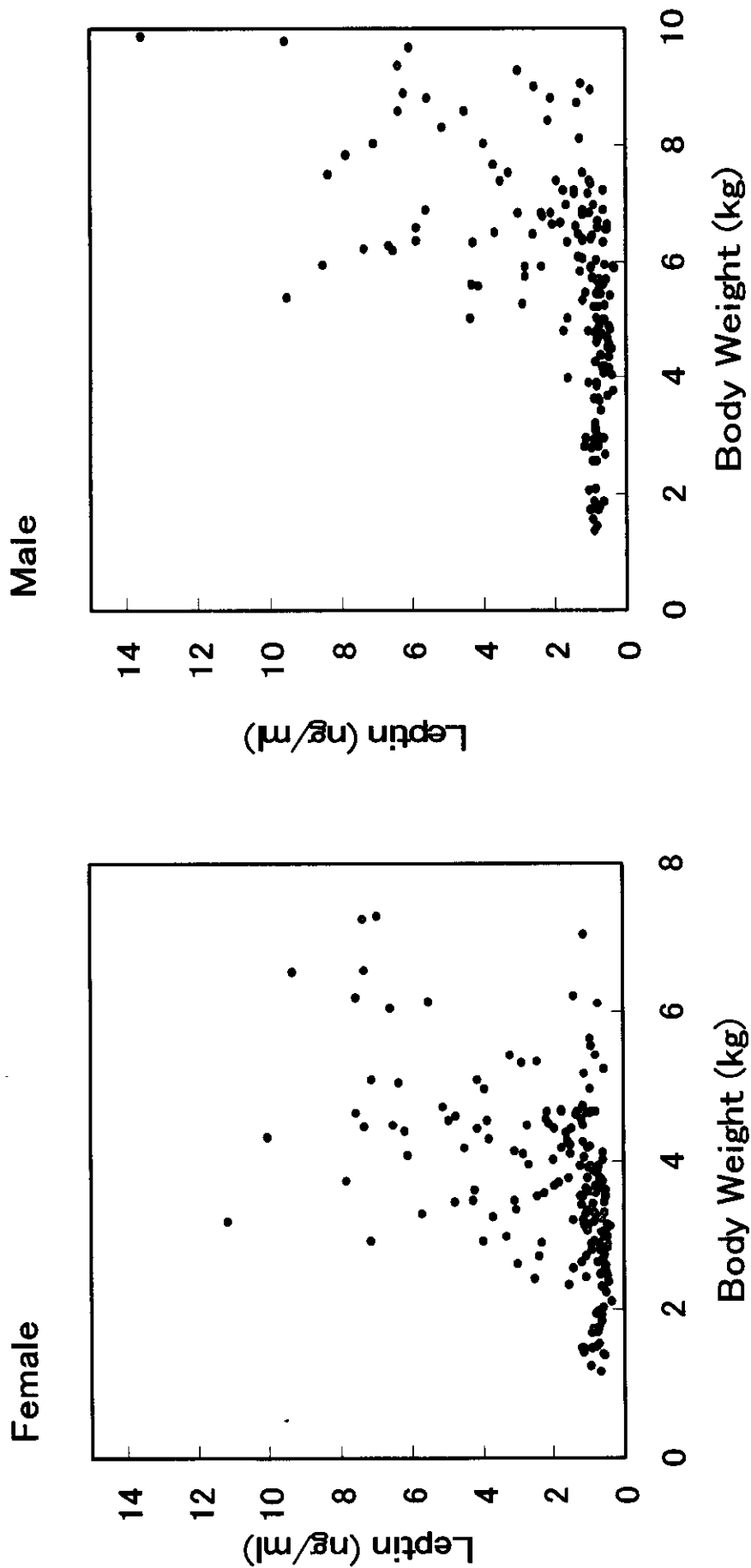
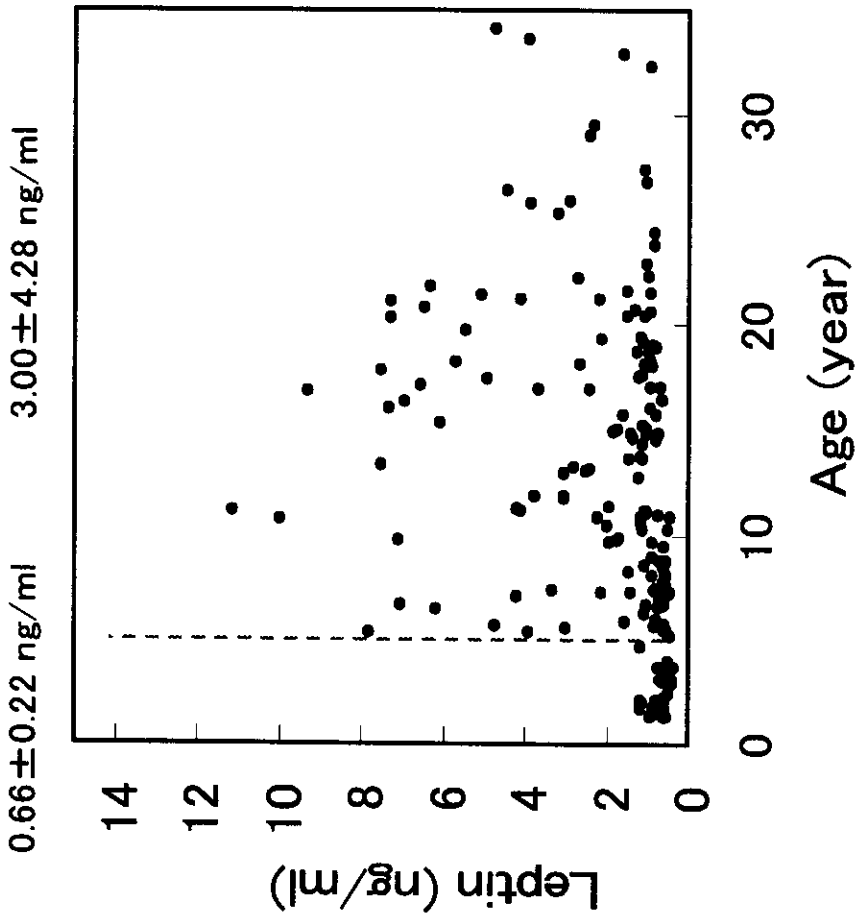


図2 カニクイザルの体重と血中レプチン濃度

Female



Male

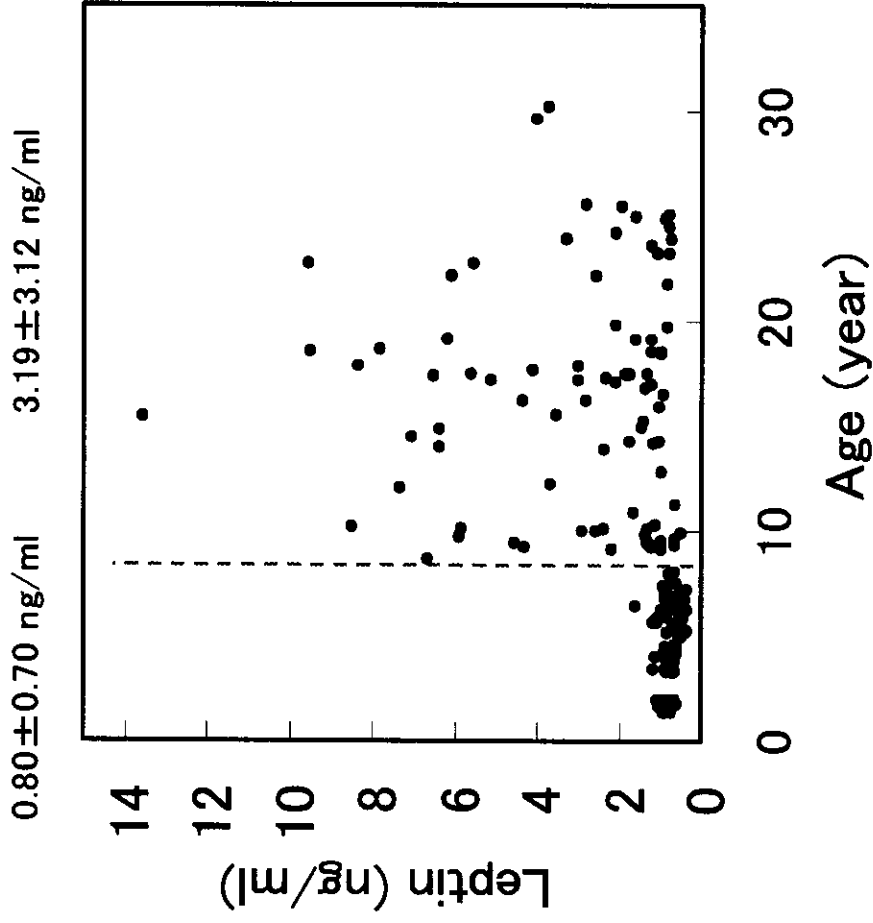


図3 カニクイザルの年齢と血中レプチン濃度

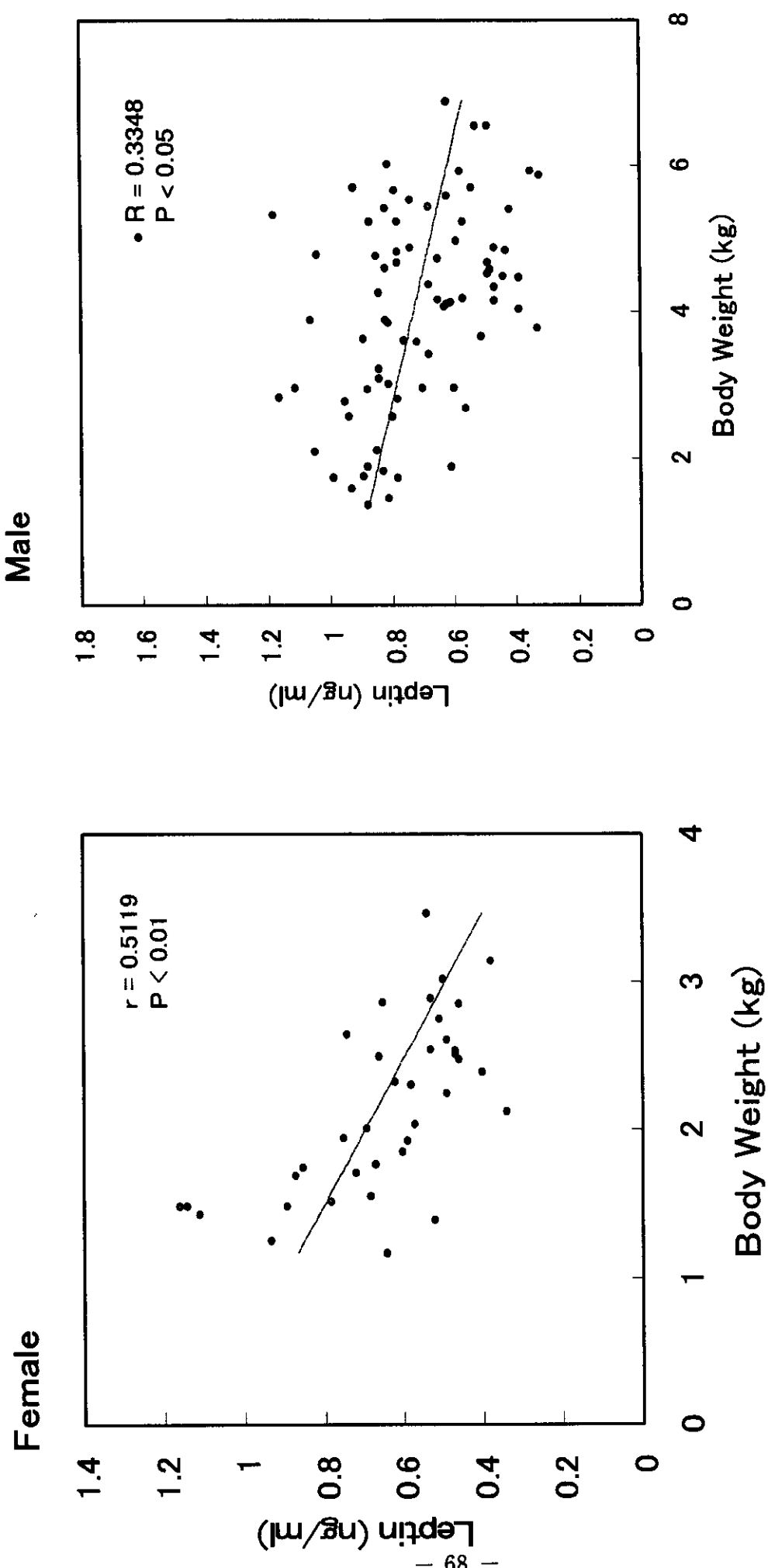
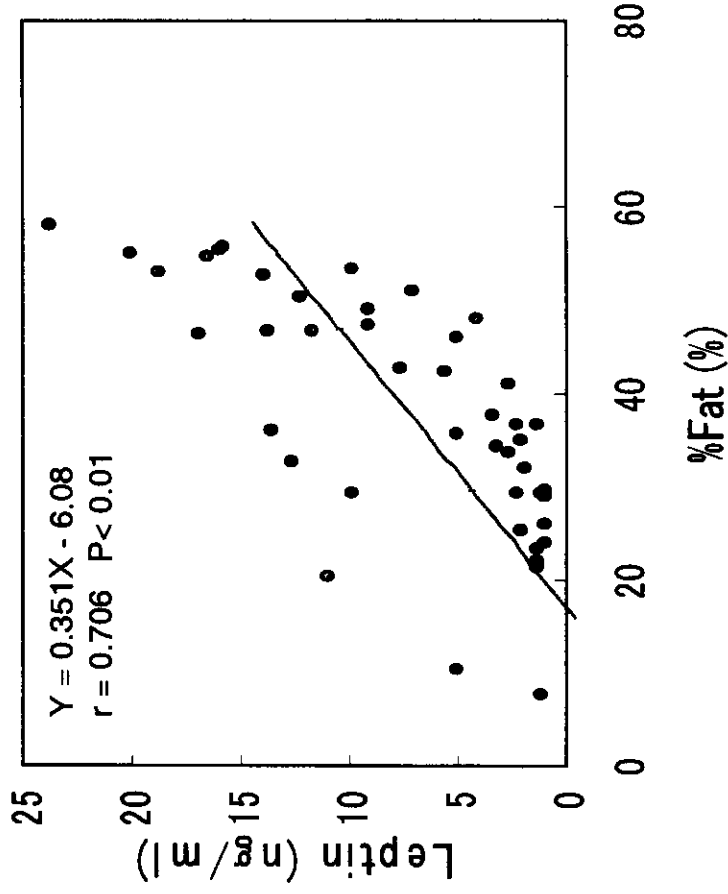


図4 5歳以下の雌、9歳以下の雄の体重とレプチン濃度

Female



Male

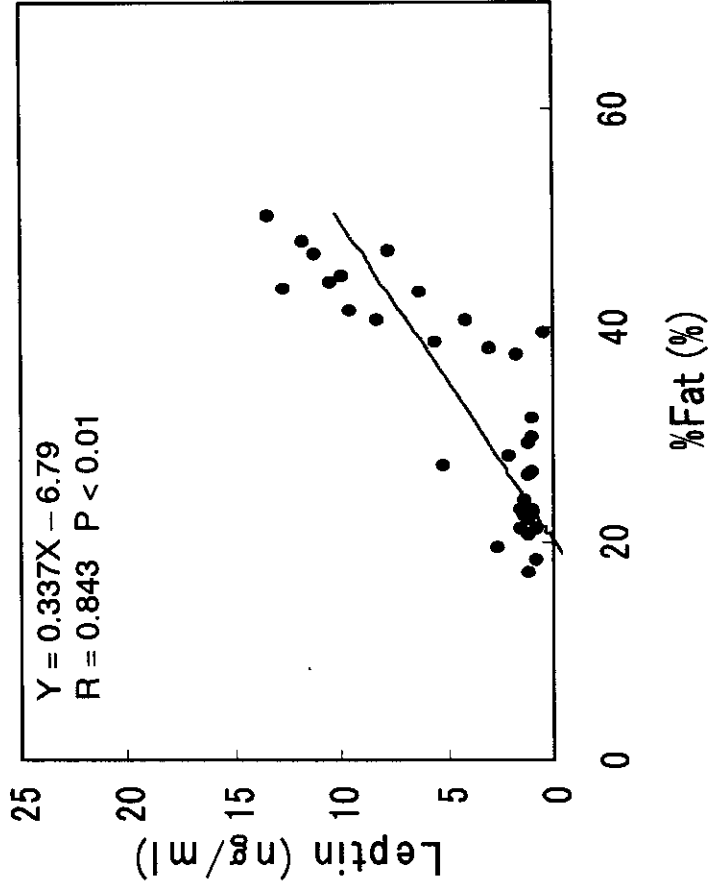


図5 カニクイザルの%Fatと血中レプチン濃度

20020220

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

Cryopreservation and primary culture of cerebral neurons from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*).

Negishi T, Ishii Y, Kawamura S, Kuroda Y, Yoshikawa Y.
Neurosci Lett. 2002 Aug 2;328(1):21-4.

Cryopreservation of brain tissue for primary culture.

Negishi T, Ishii Y, Kawamura S, Kuroda Y, Yoshikawa Y.
Exp Anim. 2002 Jul;51(4):383-90.

The effect of probucol on atherosclerosis in streptozotocin-induced diabetic-hyperlipidemic APA hamsters in different stages of atherosclerosis.

Horiuchi K, Takatori A, Inenaga T, Ohta E, Yamanouchi J, Kawamura S, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y.
Exp Anim. 2002 Oct;51(5):457-64.

Analysis of cDNA coding MHC class II beta chain of the chimpanzee (*Pan troglodytes*).

Hatta Y, Kanai T, Matsumoto Y, Kyuwa S, Hayasaka I, Yoshikawa Y.
Exp Anim. 2002 Apr;51(2):133-42.

Cynomolgus monkey testicular cDNAs for discovery of novel human genes in the human genome sequence.

Osada N, Hida M, Kusuda J, Tanuma R, Hirata M, Suto Y, Hirai M, Terao K, Sugano S, Hashimoto K.
BMC Genomics. 2002 Dec 23;3(1):36.

Variation of variable number of tandem repeat sequences in the 3'-untranslated region of primate dopamine transporter genes that affects reporter gene expression.

Inoue-Murayama M, Adachi S, Mishima N, Mitani H, Takenaka O, Terao K, Hayasaka I, Ito S, Murayama Y.

Neurosci Lett. 2002 Dec 16;334(3):206-10.

Primary replication of a recombinant Sendai virus vector in macaques.

Kano M, Matano T, Kato A, Nakamura H, Takeda A, Suzaki Y, Ami Y, Terao K, Nagai Y.

J Gen Virol. 2002 Jun;83(Pt 6):1377-86.

Increase in dephosphorylation of the heavy neurofilament subunit in the monkey chronic glaucoma model.

Kashiwagi K, Ou B, Nakamura S, Tanaka Y, Suzuki M, Tsukahara S.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003 Jan;44(1):154-9.

Age-related telomere length dynamics in peripheral blood mononuclear cells of healthy cynomolgus monkeys measured by Flow FISH.

Lee WW, Nam KH, Terao K, Yoshikawa Y.

Immunology. 2002 Apr;105(4):458-65.

Simple method for assaying serum oxytocin and changes of serum oxytocin level during parturition in cynomolgus monkeys.

Kawasaki K, Mitsui Y, Ono T, Ogawa H, Takano I, Sankai T, Terao K.

Exp Anim. 2002 Apr;51(2):181-5.

Circadian rhythm in circulating CD16-positive natural killer (NK) cells in macaque monkeys, implication of plasma cortisol levels.

Terao K, Suzuki J, Ohkura S.

Primates. 2002 Oct;43(4):329-38.

Molecular evolution of IgG subclass among nonhuman primates: implication of differences in antigenic determinants among Apes.

Asada Y, Kawamoto Y, Shotake T, Terao K

Primates. 2002 Oct;43(4):343-9.

Baseline and stress levels of cortisol in conscious and unrestrained Japanese macaques (*Macaca fuscata*).

Suzuki J, Ohkura S, Terao K.

J Med Primatol. 2002 Dec;31(6):340-4.

Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesizing enzymes.

Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F, Shen Y, Wang L, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, Ozawa K.

Hum Gene Ther. 2002 Feb 10;13(3):345-54.

Comparison between isopropyl unoprostone and latanoprost by prostaglandin E(2)induction, affinity to prostaglandin transporter, and intraocular metabolism.

Kashiwagi K, Kanai N, Tsuchida T, Suzuki M, Iizuka Y, Tanaka Y, Tsukahara S.

Exp Eye Res. 2002 Jan;74(1):41-9.

Effects of isopropyl unoprostone and latanoprost on melanogenesis in mouse epidermal melanocytes.

Kashiwagi K, Tsukamoto K, Suzuki M, Tsukahara S.

J Glaucoma. 2002 Feb;11(1):57-64.

Prediction of unidentified human genes on the basis of sequence similarity to novel cDNAs from cynomolgus monkey brain.

Osada N, Hida M, Kusuda J, Tanuma R, Hirata M, Hirai M, Terao K, Suzuki Y, Sugano S, Hashimoto K.

Genome Biol. 2002;3(1):RESEARCH0006. Epub 2001 Dec 19.

Effect of the extracellular matrix on pancreatic endocrine cell function and its biocompatibility in dogs.

Edamura K, Ohgawara H, Nasu K, Iwami Y, Sato A, Ishikawa S, Matsuki N, Ono K, Ogawa H, Sasaki N.

Cell Transplant. 2001;10(4-5):493-8.

Xenotransplantation of porcine pancreatic endocrine cells to total pancreatectomized dogs.

Edamura K, Itakura S, Nasu K, Iwami Y, Ogawa H, Sasaki N, Ohgawara H. J Vet Med Sci. 2003 May;65(5):549-56.

Changes in mRNA expression in mouse postnatal cochlea by differential display method.

Kamiya K, Kikkawa Y, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y.

Exp Anim. 2002 Oct;51(5):431-5.

The effects of diabetes with hyperlipidemia on P450 expression in APA hamster livers.

Takatori A, Akahori M, Kawamura S, Itagaki S, Yoshikawa Y.

J Biochem Mol Toxicol. 2002;16(4):174-81.

Relationship between body weight and hematological and serum biochemical parameters in female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*).

Chen Y, Ono F, Yoshida T, Yoshikawa Y.

Exp Anim. 2002 Apr;51(2):125-31.

Expression of lipoprotein receptors in the aortic walls of diabetic APA hamsters.

Yamanouchi J, Takatori A, Nishida E, Kawamura S, Yoshikawa Y.
Exp Anim. 2002 Jan;51(1):33-41.

D-galactosamine induced hepatocyte apoptosis is inhibited in vivo and in cell culture by a calcium calmodulin antagonist, chlorpromazine, and a calcium channel blocker, verapamil.

Tsutsui S, Itagaki S, Kawamura S, Harada K, Karaki H, Doi K, Yoshikawa Y.
Exp Anim. 2003 Jan;52(1):43-52.

「生命科学」はどこに向かうのか

吉川泰弘

第三文明. Page36-39(2003.03)

生命科学と実験動物

吉川泰弘

学術の動向. Page31-34(2002.09)

2. 霊長類を用いた老人病モデルの研究

(座長) (財) 東京都老人総合研究所名誉所長 木幡 陽

(演者) 東京大学大学院農学生命科学研究科教授 吉川 泰弘

吉川 スライド①をお願いします。私どもの研究班は、霊長類を用いて老人病のモデルの開発と、それを使った治療薬の効果、あるいは新規治療法の開発研究を行っています。ここに示しましたのは研究班の基本戦略です。一言で言うと、マウスでできるものはマウスでやってもらう、ヒトの重要な老人病のうちマウスでできないもの、あるいはできにくいものをサルで研究しようということです。

モデルとしては大きく2つあります。1つは、自然発生するサル類の老人病モデルを使う。これにも2つありまして、ヒトの疾患と非常に病態がよく似ていて、そのまま結果の外挿が可能で、メカニズムを調べられるものと、動物種差があってヒトとは相違してしまう、逆に言えば、その種差の違いを利用してブレイクスルーをねらうという方法があります。こういう自然発生の老人病モデルとして、今日紹介する網膜黄斑変性症、あるいは老人斑、骨粗鬆症、II型糖尿病といったものを研究しております。もう1つは、実験モデルを作成して、それを使って新規治療法の開発・評価をしようということで、緑内障、高脂

スライド①

霊長類を用いた老人病モデルの研究

**基本戦略：マウスで出来るモデルはマウスにまかせる
ヒトの重要な老人病でマウスで出来ないもの
(できにくいもの) をサル類で研究する**

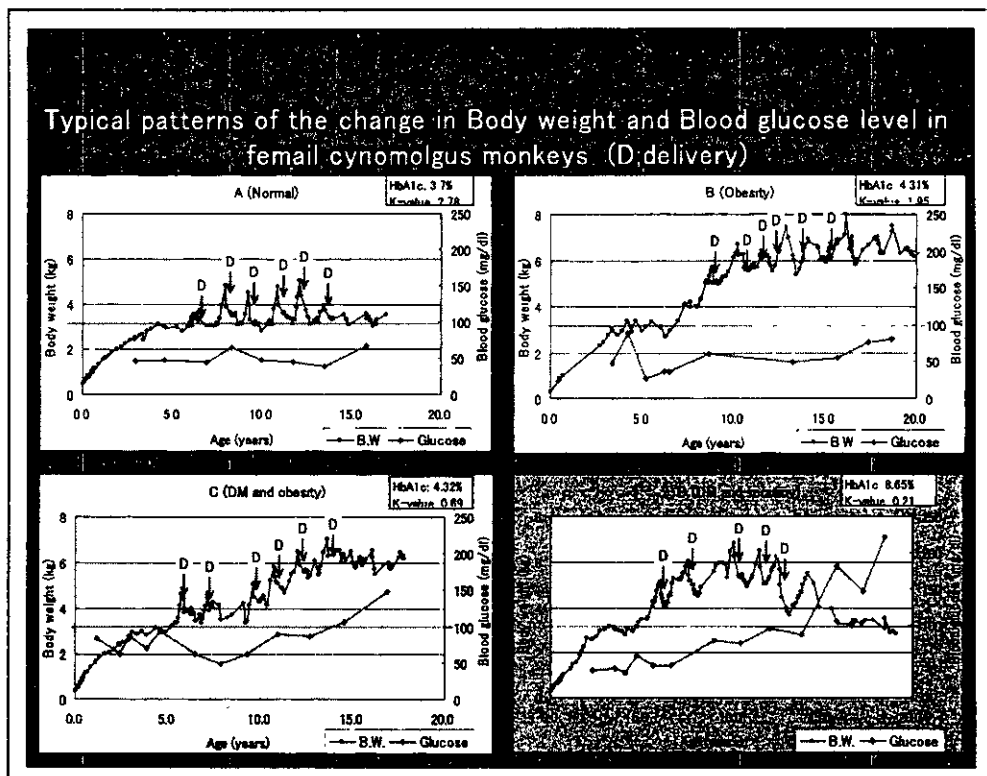
- 1、自然発生するサル類の老人病モデルの評価
 - ・外挿が可能なモデル (病態モデルとして類似性が重要)
 - ・種差 (ヒトとの相違) を利用したブレイクスルー
網膜黄斑変性症、老人斑 (痴呆症)、骨粗鬆症、II型糖尿病等
- 2、実験モデル系の作成と新規治療法の評価
緑内障、高脂血症・動脈硬化症、骨粗鬆症、パーキンソン病、
関節リウマチ等

血症、動脈硬化症、骨粗鬆症、パーキンソン病、あるいは関節リウマチのモデルといったものを作って研究をしております。

次のスライド②をお願いします。最初に何枚かのスライドを使って、マウスとサル類を用いた研究の進め方の違いを簡単に例をあげて紹介します。例えば肥満と糖尿病の関係をサルで追跡しますと、普通カニクイザルでは、雌の体重はだいたい3.5kgから4kg弱です。体重変化の途中で1つのピークが出ているのは、妊娠、出産して体重が変化したためです。だいたい5kgを超えることはありません。血糖値も正常です。このケースは普通のサクセスフル・エイジングというか、正常にうまく老化していったケースです（左上）。他方、第2のケースは肥満が成熟期から起こってきて、しかし血糖値は上がらないタイプです（右上）。第3は肥満に伴って血糖値が上がり、糖尿病を発病するというタイプです（左下）。第4は一番典型的で、多数見られる症例です。肥満が進行して、血糖値が上昇し、II型糖尿病を発病する。すると、一気に体重が下がって削瘦するタイプです（右下）。こういう違い、多型性がカニクイザルの群の中にあるということを前提に、研究を進めていかなければならないわけです。

もう1つ例を挙げます。サル類でも本当に閉経後の骨粗鬆症（骨量減少）が起こるだろうかという研究です。15歳齢前後の、最大骨量期を過ぎた成熟カニクイザルで卵巣摘出すれば、低カルシウム食にしなくても、エストロジェンの欠乏により、骨量が減るということは実験モデルとして確かめています。この点はマウス、ラットやイヌなどと違います。

スライド②



骨代謝にエストロジェンの影響が非常に強い傾向があります。しかし、本当に自然状態で閉経後、そういうふうになるだろうかということエイジング・ファームの50頭の集団で追ったわけです。2年間にわたって、同一個体の骨量を追跡調査したものです。だいたいカニクイザルでは10歳齢がピーク・ボーン・マス（最大骨量）ですから、そこまでは骨量がふえる個体が多いのですけれども、その後、平衡に達し、妊娠・出産・泌乳では10%くらい骨量が減少します。離乳後回復しますが、20歳前後で骨量はかなり個体差が出来ます。25歳齢を過ぎると、骨量が半年間で低下し、2年間以下の間にどんどんと低下していきます。こういう個体群について、生理がどうであったかということ、個体別に記録をして生理の周期を見ますと、先ほどの0014という個体は、1999年、26歳のときに閉経をしたらろうという結論になりました。この結果、閉経後2年間足らずの間に骨量が確かに低下することが確かめられました。マウスであれば一生かかる2年間で、やっとこれだけのデータしか得られないということが、またサル類で研究を進めることの難しいところなのです。

前置きはこのくらいにして、実際に老化の研究をしていくときに、基礎データというものはどうしても背景として必要になります。このスライド③はヒトとカニクイザルの加齢を相対比較したものです。縦軸はカニクイザル、横軸はヒトです。ヒトとカニクイザルの加齢変化を、いろいろな成長あるいは加齢のマーカーでプロットしたものです。カニクイザルはヒトに比べ、特に若齢期は非常に早熟です。ヒトは霊長類の中でも群を抜いてネオ

スライド③

