

テニー（幼形成熟）の傾向があります。ここに乳歯の萌出とか、初潮とか、いろいろなマーカーがとってあります。若いときは、カニクイザルの年齢に約5倍の係数をかければ、だいたいヒトの年齢になります。しかし、中年から初老を迎えるころ、閉経あるいは老人斑の現れるころは、ヒトで50歳ぐらい、カニクイザルではちょうど20歳ぐらいで、ここまで行くと、係数は約2.0ないし2.5という格好になります。すなわち、発育初期は係数が4から5を適用し、初老期からの老化過程ではだいたいヒトの2.5倍のスピードで老化が進むというのが、基本的なプログラムになるかと思えます。

こうした全頭の背景データのほかに、先ほど骨量の加齢変化で説明しましたように、1,400頭の中から55頭のエイジング・ファームを厚生科学研究費で維持してもらっています。これらは経時的に個体別縦断調査を進めています。こうした個体群では雄雌、それぞれ年齢に応じていろいろな疾病が起きてきます。特に雌では、子宮内膜症や、先ほど述べたような、20歳齢を過ぎての肥満、あるいは糖尿病といったケースが目立ってきます。こういう背景の中から疾患モデルを選ぶ、あるいは正常のコントロールと比較して研究を進めるというようなことをしております。

次のスライド④をお願いします。最初に研究戦略を述べたわけですが、実際に研究を進めるに当たって、研究資源（リサーチ・リソース）というものが大事です。研究資源なしには実験が進みません。ここにはいくつか研究資源として大事な項目を挙げてあります。様々な年齢から成る個体群（エイジング・ファーム）と、先ほど示したような正常老

スライド④

霊長類を用いた老人病モデルのための 研究資源（リサーチ・リソース）

エイジング・ファームとデータベースの確立

正常老化と加齢変化、縦断的追跡調査（家系、病歴など）

遺伝子研究のためのカニクイザル完全長cDNAライブラリー

脳（部位別）、肝、腎、皮膚、肺、生殖器等

連鎖解析のための染色体地図

マイクロサテライトマーカー、ヒトとのシンテニーマップ作成

評価のためのデバイス開発

自動行動解析装置、指迷路試験装置、血管内視鏡など


化、加齢変化、あるいは縦断的追跡調査結果の集積といったようなデータベースが必要で
す。また、遺伝子研究のために、臓器・組織別のカンクイザルの完全長cDNAライブラリ
ーを、東大医科研の菅野先生、感染研の橋本先生たちとの共同研究で作成し、いろいろ
なことに利用しようということにしております。また、遺伝解析には連鎖解析のための染色
体地図が必要ですが、カンクイザルではまだできていません。岡山大の国枝先生がマイク
ロサテライトマーカーを用いて、ヒトとの染色体シンテニー・マップを作成するというよ
うな、時間のかかる基盤研究もやっています。また認知機能評価、行動解析のためのいろ
いろな装置の開発も行っています。こういうデバイスを開発しつつ研究を進めるという
方針でやっています。今日は、抄録に書きました研究のうち、網膜黄斑変性症と脳の老人
斑の2つについて、研究成果の概略を紹介したいと思います。

次のスライド⑤をお願いします。サル類とヒトは昼行性で、夜行性の齧歯類とは情報処
理の特性が違っています。特に視覚情報処理に大脳皮質の1/3を占める動物のため、情
報の入り口である網膜をかなり酷使します。このためか、ヒトでは特に焦点を合わせる黄
斑部は、かなりの頻度で加齢とともに変性を起こすことがわかってきております。現在、
原因不明で治療もないということで、かなり深刻な状況です。加齢性黄斑変性（AMD）
は、白内障、緑内障の治療法がかなり進んだこともあって、欧米先進国では成人の失明原
因の第1位になっております。米国では老人の感覚器疾患の最重要課題として、ナショナ
ル・プロジェクトがスタートしたそうです。先ほど言いましたように、黄斑変性症では網

スライド⑤

加齢黄斑変性

Age-Related Macular Degeneration (AMD)



- 欧米先進国では成人失明原因の第1位。
アメリカ : 年間20万人の新患者、総患者数1000万人
80歳で20%、70歳で10%、60歳で5%の罹患率。
イギリス : 新規失明の半数
- 我が国でも糖尿病網膜症につぐ失明原因第2位となっている。
生活様式の欧米化、診断基準の確立とともに急激に増加。
- 決定的な治療法はなく、発生機序も不明。

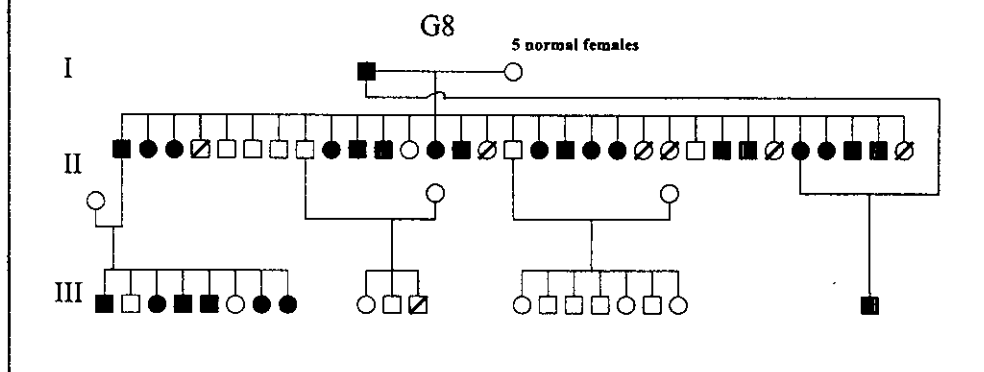
膜の焦点をあわせるところに変性が起きるものですから、周辺はそこそこ見えるけれども、一番肝心の焦点を合わせたところ（像の中央部）が歪むとか、ぼけるとか、あるいは見えないという格好になります。日本でも加齢性黄斑変性症は増加しております。病理組織学的には黄斑部（網膜で一番視細胞の濃密なところ）にドルーゼンと呼ばれる、非定型な浸出物が沈着するタイプがもっとも典型的です。まだ有効な治療法もありませんし、原因も不明ということで、ヒトの疾患モデルとしてカニクイザルで研究を進めています。実際の黄斑変性がどんなものかという、後のスライドに出てきますが、眼底像で淡黄色に円く見えるのが視神経乳頭です。その脇のちょっと暗く見えるところが黄斑部です。この部分に極く小さい白斑が見られます。数個から数10個の場合や、融合して大きな白斑になるものもあります。

次のスライド⑥をお願いします。数年前に筑波霊長類センターで、カニクイザルのコロニーに、この加齢性の黄斑変性（ヒトと同じように起こるもの）の他に、若齢で起こる遺伝性の黄斑変性家系が見つかりました。サル類の黄斑変性家系は世界でも珍しく、繁殖コロニー内で家系として確立されているものは、現在世界中でもこの家系以外にはありません。非常に貴重なもので、米国の研究者からも注目されていますし。近々、米国との国際共同研究が始まる予定です。カニクイザルの黄斑変性は遺伝性、加齢性のどちらも形態学的にはドルーゼンを呈します。筑波霊長類センターで見つかった家系は、1匹の雄に若年性の黄斑変性が出たということで、正常の雌5匹と交配してF1で遺伝的発現様式を検討

スライド⑥

遺伝性黄斑変性家系

クイザルにはヒトと同様、加齢性網膜黄斑変性症がある。
 加齢性の他に、遺伝性黄斑変性家系が確認された。
 （常染色体上の単一優性遺伝様式）
 遺伝性黄斑変性家系の個体では、網膜特異的にカタラーゼ、
 グルタチオン・パーオキシダーゼ活性が正常に1/2以下。

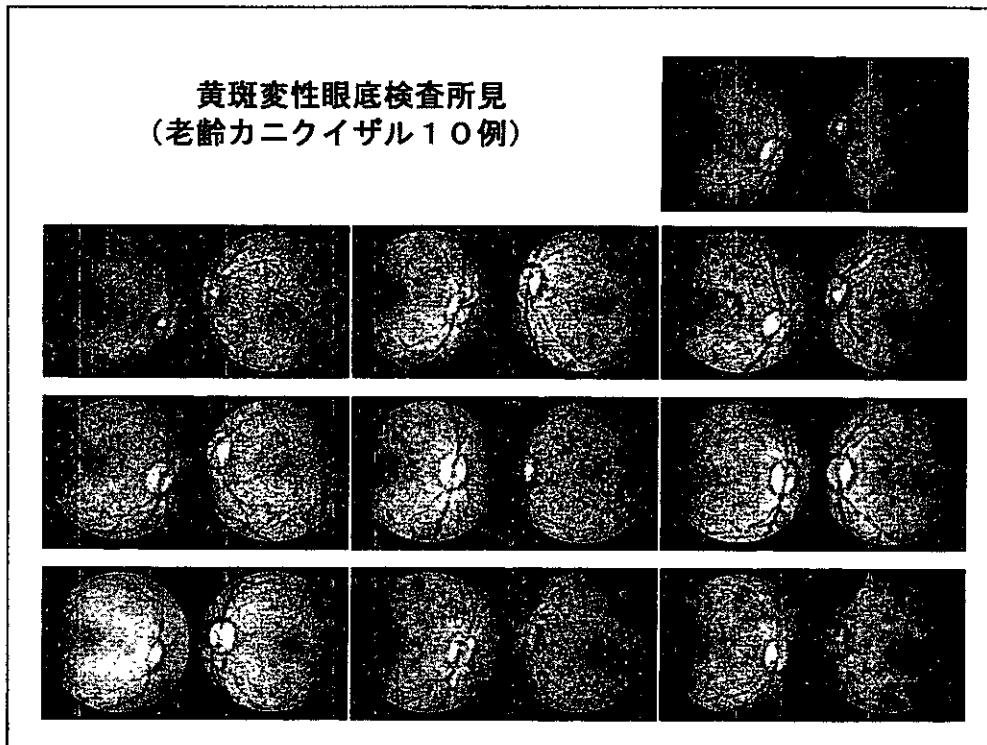


しました。その結果、雄雌にかかわらず、ほぼ1対1で出ることが明らかになりました。それは2代目の検定でもいえますし、あるいは戻し交配をしても明らかでした。従って、常染色体上の優性の単一遺伝子であろうということになったわけです。順天堂の金井先生たちとの共同研究で、この家系のカニクイザル網膜で何が違うのだろうかということで生化学的に解析しました。その結果、他の臓器では、この家系と正常の家系でほとんど差はないのですが、網膜だけではカタラーゼの活性が半分以下になっていました。また、同じような酸化ストレスの処理系で、グルタチオン・パーオキシダーゼの発現量もやはり半分以下でした。それにもかかわらず、スーパーオキシド・ディスムターゼの発現は影響を受けていませんでした。またヒトのほうが遺伝子解析は進んでいるので、ヒトの遺伝子情報を利用してカニクイザル黄斑変性遺伝子の連鎖解析をはじめました。ヒトのカタラーゼは第11染色体の上に乗っていることが、既にわかっています。それで、マイクロサテライトマーカーでマップをつくりながら、マカカ属サルの染色体とヒト染色体とのシンテニー・マップをつくって、連鎖解析を行うということをしてきたわけです。連鎖解析の結果からいうと、11番目の染色体上のカタラーゼ遺伝子は、この家系との連鎖はみられませんでした。従って、黄斑変性個体の網膜のカタラーゼ低下は、原因というより、結果と考えられます。その後第10番染色体、9番、7番、2番染色体とどれも連鎖はみられず、今一番候補になっているのは第1番染色体の中央部にあるD1Sの2770です。マイクロサテライトマーカーにロッドスコアの高いものがある、筑波霊長類センターで見つかった黄斑変性の家系の責任遺伝子が第1染色体上にあるかもしれないという可能性がでてきました。しかし、マウスのように近交系動物もないし、染色体地図を作りながら解析を進めているので、遺伝子を絞りこむには、まだまだ時間がかかりそうです。

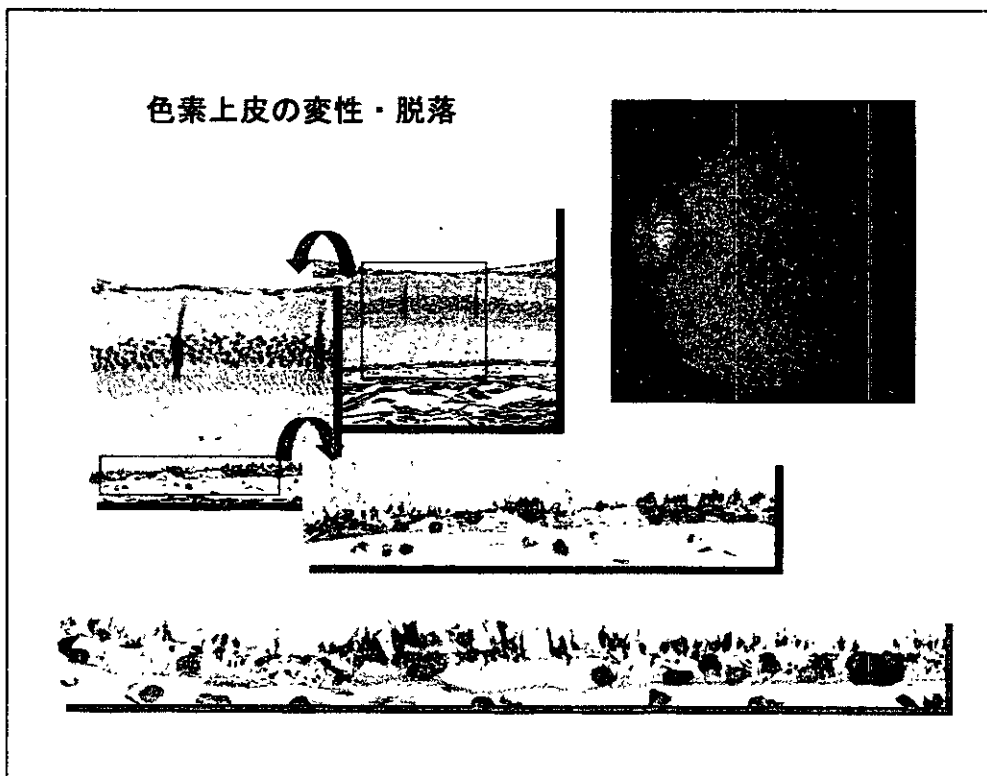
次のスライド⑦をお願いします。もう1つの加齢性黄斑変性症ですけれども、筑波霊長類センターが保有しているカニクイザルは、総数1,400頭ほどで、老齢のサルがそんなにたくさんいません。この症例群はフィリピンのカニクイザル繁殖施設由来の材料です。筑波霊長類センターの10倍ぐらい、1万頭を優に超すカニクイザル・コロニーを持っています。昨年3月に獣医眼科の専門家と採材に行ってきました。この施設では15歳以上繁殖コロニーを引退したカニクイザルが200頭以上飼育されています。ここに示したように、小さな斑点が多い個体と、黄斑の中央部に融合した大きな白斑を持つ個体など、非常に多様性のあるパターンがありました。このときは、10例の加齢性網膜黄斑変性症の眼球を採材し、解析しました。片側は病理組織検索に、もう一方の眼球は遺伝子解析や生化学検査に用いました。

次のスライド⑧をお願いします。病理組織学的に検索するとフィリピンの加齢性黄斑変性症のカニクイザルには2つのタイプがあるということがわかりました。1つは、網膜の色素上皮そのものが空胞変性を起こして脱落してしまうタイプです。この個体でほとんどは空胞変性タイプで、辺縁部に小型のドルーゼンが見られました。この個体の特徴は何といても、空胞変性による色素上皮の脱落と思われます。日本ではヒトでこのタイプの報

スライド⑦



スライド⑧



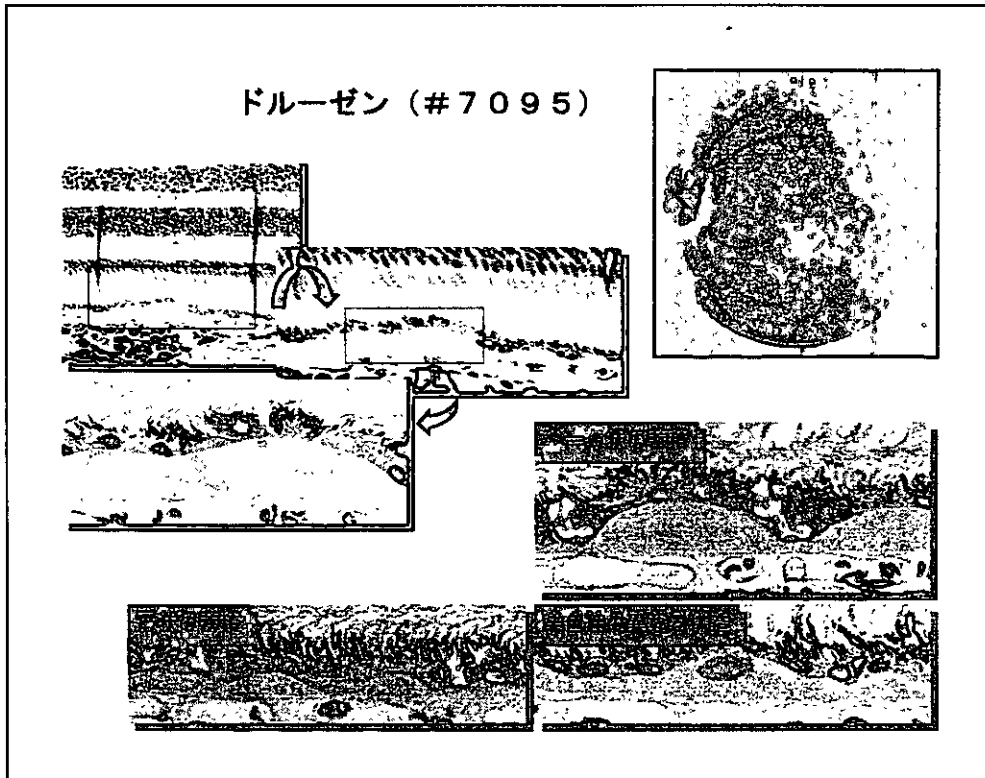
告がないので、アメリカの眼科学会でヒトで類似の症例があるかどうかということをお願い合せているところです。

次のスライド⑨、⑩をお願いします。もう1つは典型的なドルーゼンで、この症例です。#7095ですけれども、至るところにドルーゼンがあって、色素上皮を層状に盛り上げている部分、あるいはドーム状に盛り上げている部分、あるいはドーム状の中に、さらに染色性の異なる構造があるといったような、非常に多様なドルーゼンのパターンを示しております。カニクイザルのドルーゼンにも、ヒトの症例と同様、多くの補体関連蛋白が沈着していることが明らかになりました。そこで、網膜に発現している主な遺伝子のDNAチップを使って、正常の老化した目と、ドルーゼンのある眼球のDNAチップでの遺伝子発現の上昇と減退を検索しています。多くの遺伝子に上昇、あるいは減少が見られており、今後、1つずつ網羅的に責任遺伝子になり得るかどうかなどということを追っていかねばならないわけです。もう1つの追い方は、ヒトの黄斑変性症で既に、家系性責任遺伝子として5つが同定されています。カニクイザルでも同様の遺伝子疾患があるか否かというものです。その中の1つで、長鎖脂肪酸のエロンゲーション・ファクターであるEL4 VL4 遺伝子がヒトの家系性黄斑変性症の責任遺伝子になっています。そこで、カニクイザルのEL4 VL4 遺伝子を取り、核酸配列を決めてアミノ酸配列を比較し、その発現を検索しました。長鎖脂肪酸のエロンゲーションを起こす酵素の分布は、非常に組織特異的で、網膜が一番発現しています。ほかに胸腺と皮膚、脳で少し発現していましたが、ほかの臓器ではほとんど発現していません。実際、網膜組織中でも、視細胞（コーンとロッドの光受容体細胞）のところだけで発現するという非常に特殊な遺伝子です。この遺伝子の例を示したのは、筑波霊長類センターの正常カニクイザル個体群、あるいはフィリピンの正常なカニクイザル個体群、黄斑変性個体群を含めて、遺伝子解析したのですが、先ほどフィリピンから採材してきた眼球のうちドルーゼンの異常に多かった個体だけが、この遺伝子の遺伝子置換とアミノ酸の変異があるということがわかりました。まだ単なる遺伝子多型をみているのかもしれませんが、しかし、ひょっとしたらこの遺伝子が責任かもしれないというので、今フィリピンに問い合わせ、2頭この子供がいるということなので、それを追っているわけです。いずれ、フィリピンの加齢サル群での、この遺伝子変異の浸透性と加齢性黄斑変性の関連について解析する必要があります。

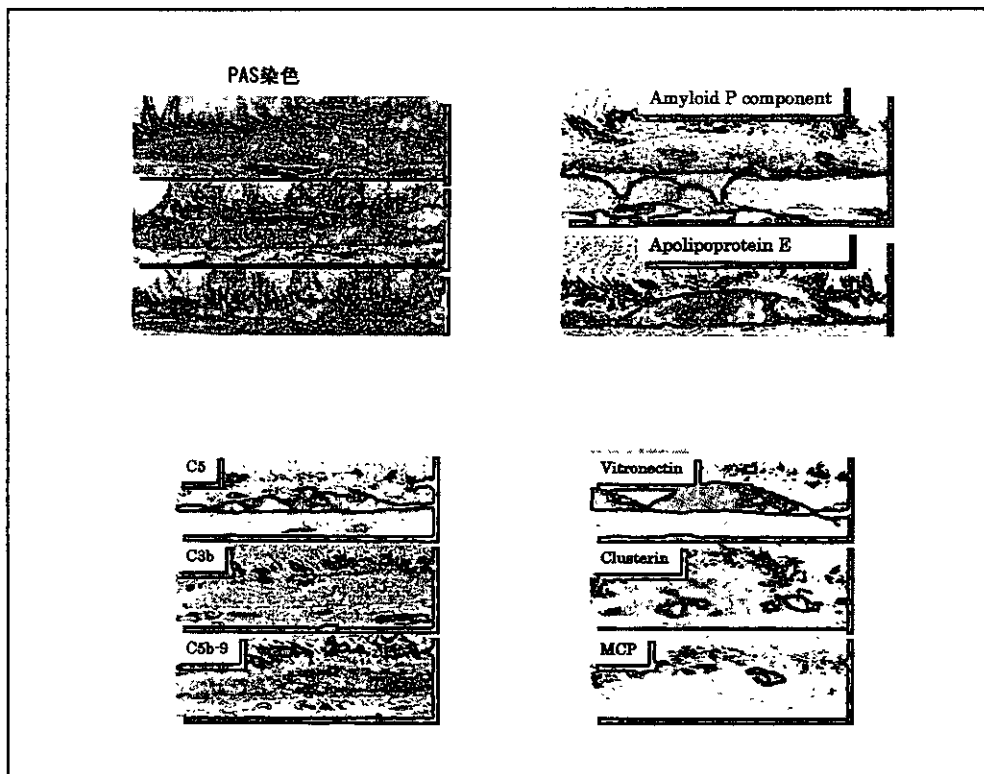
今後の進め方としては、1つは、筑波霊長類センターの家系性黄斑変性のコロニーを拡大して、遺伝子を同定する作業、それから、フィリピンの老齢カニクイザル等に関しては、ヒトの家系で言われるところの加齢性の黄斑変性症と同じような遺伝病モデルになるかどうかということを追ってゆきたいと考えております。原因遺伝子と黄斑変性の機構が判れば、このモデルを使って、再生医療や遺伝子治療などの先端医療法を試みることが出来ます。

次のスライド⑪をお願いします。それではここから話を変えて、もう1つ、ネズミで起こらないでサル類とヒトで起こる脳の中に出てくる老人斑について研究成果を報告します。

スライド⑨



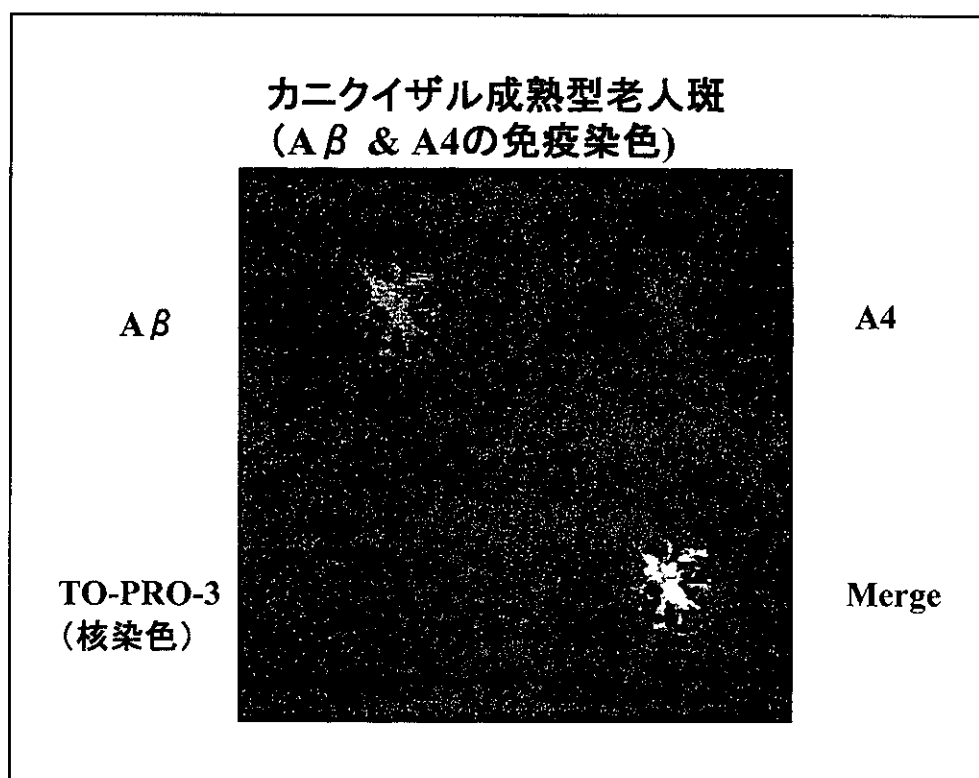
スライド⑩



サル類以外でも、動物ではイヌあるいはネコ、クマ、ラクダ等で老人斑が見られます。しかし、未熟型と言われる瀰漫型のディフューズ・プラーク (diffuse plaque) と、成熟型老人斑と言われるプリミティブ (primitive) あるいはクラシカル・プラーク (classical plaque) の老人斑、3つがそろって出てくるのはサル類とヒトだけということで、サルを使って研究を進めているわけです。家族性アルツハイマー病を含めて老人斑の危険因子としては、有名なAβと、アポリポ蛋白Eと、最近家族性のアルツハイマー病で一番頻度の多いプレセニン-1 (PS-1) という3つの蛋白が危険因子として知られています。ヒトでは、これらの蛋白異常の老人斑形成に果たす役割を中心に研究がされているわけですが、その3つの蛋白について、カニクイザルでの研究を紹介したいと思います。

さて、実際にどのくらいの年齢からサル類の脳に老人斑ができるのだろうかということを調べてみますと、先ほどヒトとカニクイザルの相対年齢のところで述べましたように (スライド3) 20歳齢以下では老人斑は出ません。だいたい20歳齢以上になって老人斑が出てきます。これはアカゲザルでも同様です。また22、23歳齢を過ぎると、老人斑のほかに脳の血管アミロイド症が起こってきます。それでは、老人斑はサル類の脳の一体どこにできるのかということですが、側頭葉を中心に老人斑が出てくるという傾向があります。外から見た図を描きますと、だいたい上側頭回、あるいは加齢が進んできますと、側頭葉全体 (上側頭回あるいは中側頭回)、それから前頭葉の月状溝を挟んだ脳回、この辺に出てきます。しかしヒトのアルツハイマー病でよく冒される海馬にはできません。また米国の宇野先

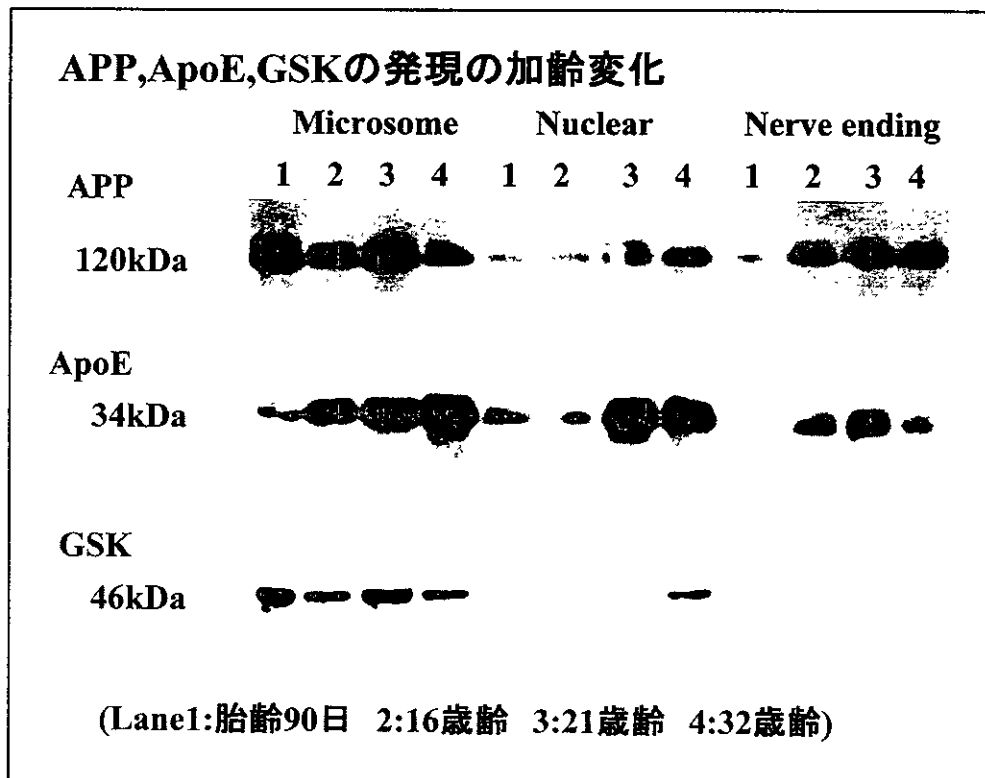
スライド⑪



生らの調査では老齡アカゲザルでは前頭葉の下前頭回と側頭葉に出ることが多いようです。一方、イヌは比較的若齡から老人斑の出やすい動物で、早いものでは5歳齡くらいから出てきて、10歳を過ぎると半分以上のイヌは老人斑を持つことが報告されています。また、老人斑はほとんどすべてが瀰漫型で、前頭葉に分布します。成熟型老人斑は加齡が進んだ個体でまれに見られる程度です。他方、カニクイザルの場合は側頭葉を非常に好みますが、後で述べるように、未成熟な瀰漫型老人斑というような出方をしないで、初めから成熟型老人斑が出てくるというヒトと多少違う傾向があります。ネコは、老人斑の出にくい動物で19歳齡とか20歳になってもほとんど出ないで、わずかに瀰漫型老人斑もどきのものが脳の中にぼつぼつと認められるだけです。このように高等哺乳動物ではイヌが比較的早期に老人斑を形成するのに対し、ヒトやサル類は中間型、ネコは晩発型、げっ歯類は老人斑をつくらぬ動物種です。こうした違いがなににより生ずるかは、非常に興味あるテーマです。

このスライド⑫は、老人斑の主成分であるA β のもとになるAPP (アミロイド β ・プリカーサー・プロテイン)、695個のアミノ酸から成っておりますけれども、これが、胎児から32歳齡まで、細胞内のどの部位で発現しているか、ウエスタン・プロット法で調べたものです。脳の部位は、大脳皮質と基底核、海馬、扁桃核などを比較して、細胞の各分画を分離して、どこで発現しているか、また加齡に伴って発現がどうなるだろうかということを見たわけです。APP,ApoE,GSKともに主としてER (粗面小胞体) を含むミクロゾームに

スライド⑫



多い傾向があります。加齢が進むと、核分画にふえてくるというのが特徴です。脳の部位による違いはほとんど見られませんでした。老人斑のコアになるAβは、正常の場合でも神経セクレターゼのα、β、γという酵素があって、APPから切り出されます。セクレターゼでプロセッシングを受けたAβがどういう分布をするかということ、やはりミクロゾームと核分画、神経終末に多く見られます。また加齢に伴って核分画に蓄積してくるということが明らかになりました。同じ傾向はPS-1 蛋白についても見られます。特にPS-1 のC末端は、Aβの分布と非常によく似た変動を示しました。すなわち、ミクロゾームでは胎生期からずっと出ていますけれども、やはり加齢に伴って核分画に非常に強い蓄積が起こると同時に、PS-1 のN末端と違って、神経終末に非常に多く出現してくることがわかりました。

Aβと並んで、老人斑の危険因子と言われているApoEですが、老人斑とアポEの関連をみますと、Aβ40が多い毛細血管、あるいは成熟型老人斑にはApoEが非常によく沈着しております。しかし、Aβ42・43から成る瀰漫型老人斑には、成熟型老人斑ほどアポEが強く沈着するという事は起こりません。遺伝子解析をするとサル類はヒトでもっとも危険と言われるApoE4・E4のホモ・接合体です。これから考えると、系統発生的にはE4/E4が主で、ヒトに分化してからE2やE3が出来たと考えられます。長寿になったヒトでは、E2やE3の遺伝子型のほうが有利であろうかと思われまます。

次のスライド⑬をお願いします。前に述べましたように、老人斑のコア蛋白はAPPから

スライド⑬

カニクイザル老人斑の特性

	カニクイザル			ヒト(AZD)
	DP	PP/CP	CAA/CAP	PP/CP
Aβ	43	43・40	43・40	43・40
ApoE	±	++	++	+++
アストログリア	-	++	+	++
ミクログリア	-	±	-	+++
PS-1				
C末端	-	+	-	++
N末端	-	-	-	-

DP:瀰漫型、PP/CP:成熟型、CAA/CAP:脳血管アミロイド、AZD:アルツハイマー脳、PS-1:プレセニリン-1

A β が40あるいは42、43個のアミノ酸として切り出され、疎水性の β シートを持った重合体（ポリマー）として蓄積するわけです。しかし、C末端を全部持っている42・43と、C末端のアミノ酸がさらに削れたA β 40という2つの分子種から成るということがわかっております。脳の連続切片を用いて、それぞれの分子種を認識する、モノクローナル抗体で免疫染色すると、先ほど述べましたようにA β 40は成熟型老人斑、あるいは脳の毛細血管アミロイドに非常に強く沈着します。それに対してA β 42・43というフルサイズのは、血管よりも、成熟型老人斑、あるいは瀰漫型老人斑によく染まります。ヒトの場合は、瀰漫型老人斑が若いときは多くて、年寄りになると成熟型が多くなるものですから、A β の42・43が最初に沈着を起こして、その後成熟してくるとA β 40が沈着するというふうに言われております。しかし、カニクイザルの場合は、どちらかという、未熟型老人斑から成熟型になるよりも、成熟型のほうが先に出てくるケースが多いようです。セクレターゼやシャペロンとして働く蛋白、あるいは重合に関連するApoE蛋白などにヒトとカニクイザルの間で違いがあるのかもしれない。

既に述べましたように、各種高等動物の中ではサル類の老人斑がヒトのそれに一番似ているわけですが、必ずしもヒトと同じというわけにはいきません。例えば老人斑ができる、周りにグリアの反応が強く起こるのですけれども、ヒトの場合は、アストログリアと同時にミクログリアが非常によく反応してきます。しかし、カニクイザルの場合は、必死で探せば老人斑の中に数個のミクログリアがありますけれども、その反応が非常に弱いという点で異なっています。またヒトと比べて、成熟型老人斑と毛細血管のアミロイド症がいつも隣接して出てくるとか、あるいは、若い個体にヒトのように瀰漫型老人斑が多いという傾向は必ずしもないとか、ミクログリアの反応がほとんどないというような、ヒトと似て非なる部分があります。この違いがA β そのものによるのか、あるいは、ここから述べるApoEとかPS-1を介した違いであるのか、その辺がこれから問題になってくるころです。

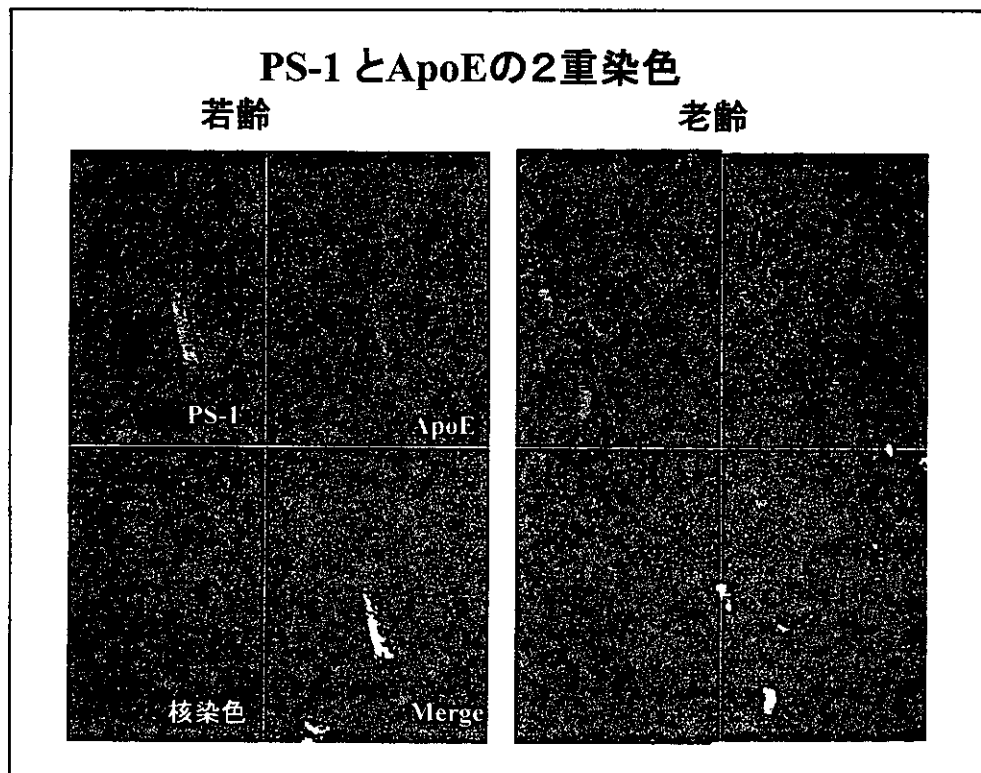
次のスライド⑭をお願いします。ウエスタン・プロット法による細胞分画で明らかにされたApoEとPS-1が本当に細胞内で一緒にいるのかということを検索するために、それぞれの抗体でA β とApoEを二重染色して共焦点顕微鏡で見たものです。どちらの蛋白もヒトの報告と同様に神経細胞内で合成されること、幼若動物の神経細胞では細胞質内に顆粒状に分布している（ERに沿っていると思われる）のに対し、老齢カニクイザルの神経細胞内では核膜に沿って、偏って分布していることが認められます。これらは先に述べたウエスタン・プロット法による生化学検査結果とよく一致します。ApoEが問題になったのは、ヒトにはE2、E3、E4という3つの多型があって、E4が老人斑形成の危険因子になるわけです。疫学的にはE4遺伝子をホモで持つと、A β の沈着が100%起きる。E4/E2、あるいはE4/E3というようなヘテロ接合体だと、そのリスクは3分の1くらいになる。E4を持たないE2のホモ接合体とかE3のホモ接合体、E2/E3のヘテロ接合体の場合は10分の1に下がるというふうに言われております。それで、いろいろな産地、フィリピン

とか、インドネシアとか、マレーシアとか、あるいは老人斑が多発しているサルの家系を調べたのですが、カニクイザルの場合はヒトと違って多型がなく、ほかの個体も調べましたが、先ほど述べたように、皆E4 / E4 のホモ接合体であるという結論でした。それがサルの老人斑の出現にどういう影響を与えているかというのは、現在のところはわかっておりませんが、in vitroの初代神経細胞培養系にAβを加えると、早めにApoEの発現が上がってくるのは、ひょっとしたらカニクイザルの特徴かと思います。

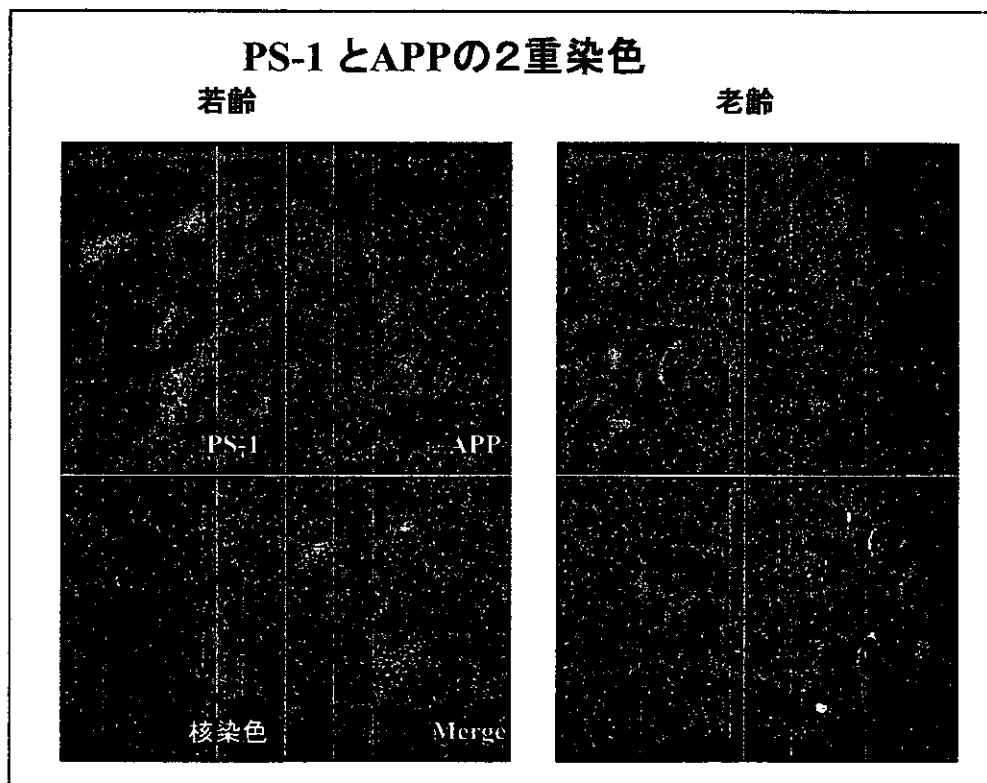
次のスライド⑮、⑯をお願いします。3番目の危険因子はプレセニリンです。これはPS-1とPS-2とありますけれども、老人斑、あるいは家族性のアルツハイマー病に絡んでくるのは、もっぱらPS-1蛋白です。これは小胞体に8回のターンで埋まっている糖蛋白です。6回目と7回目のターンのところで蛋白分解酵素により切断され、N末端とC末端に分かれて分布するということが言われております。

それでN末端特異的な抗体とC末端を認識する抗体で脳のどういう部位が染まるかということ調べました。大脳皮質の6層の細胞ですけれども、N末端のほうは、だいたい大型の錐体細胞が強く染まって、ほかの細胞はそれほど強く染まらない。それに対してC末端は、どの細胞層も染まってきますし、ニューロピルも胎児のときからよく染まります。しかし、PS-1のN末端は大型の神経細胞だけしか染まらないのかというと、そうではなくて、加齢が進むとC末端と同じようにどの細胞でも染まるようになってきます。実際に細胞内の分布が加齢にともない、どう変化するかということですが、正常のAPPとPS-

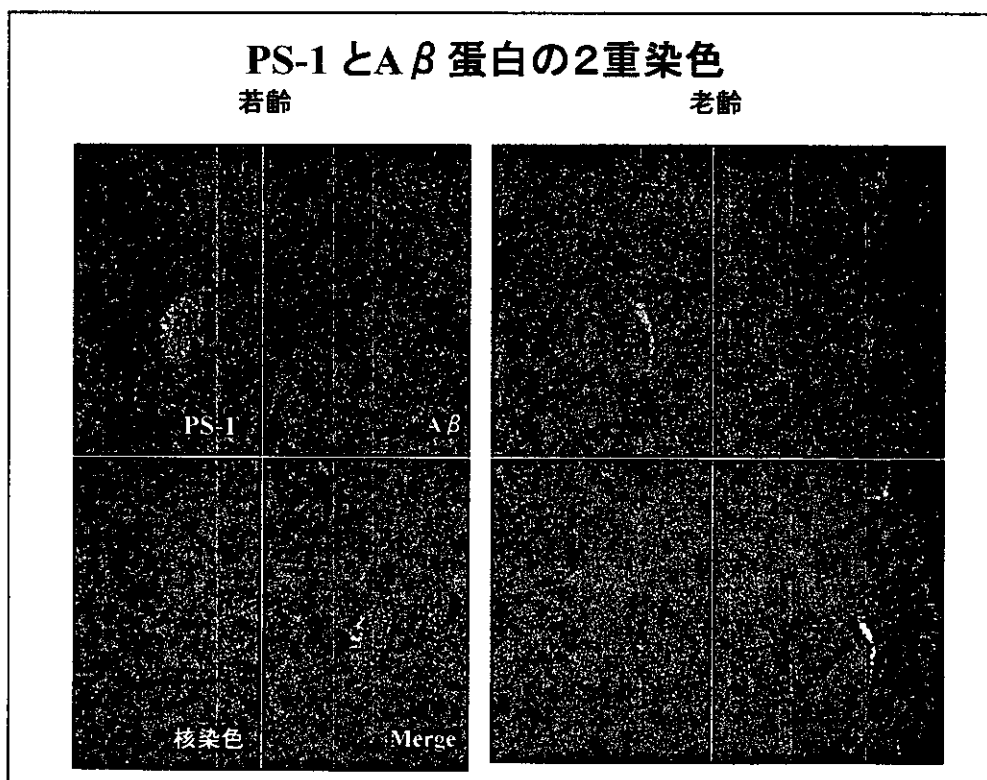
スライド⑮



スライド⑮



スライド⑯



1のC末端の抗体で二重染色をしてみます。そうすると、若齢カニクイザルの神経細胞胞体では、だいたい小胞体に相当すると思われる部分に、顆粒状に非常に瀰漫性に分布しております。またPS-1のあるところはAPPがあるという格好で、その分布はほとんど一致しております(図のmergeの部分)。また老齢(32歳)になるとどうということになるかというと、ウエスタン・プロット法で核分画に出てきたのは、細胞内分布では核の中というよりも、核に隣接した核膜に直接つながっている小胞体だろうと思いますけれども、核の周辺部にPS-1の分布が偏在し、同時にAPPの存在が一致して認められます。同様のことはPS-1とA β の関係についてもいえます。

実際に老人斑にどう絡んでくるかということを見ますと、A β で染まる成熟老人斑でも、PS-1のN末端は全く染まりません。しかし、神経終末を含めて発現の多かったC末端ですけれども、これは老人斑に一致して沈着が起こってきております。このようにPS-1のN末端は瀰漫型・成熟型いずれの老人斑とも関連しない。一方C末端は瀰漫型老人斑には沈着しないが、成熟型老人斑には沈着することが明らかになりました(スライド⑬)。

本研究班ではin vivoの脳の検索以外にも、先ほど少し説明しましたが、カニクイザルの大脳皮質の初代培養系をつくっております。これは、胎生期80日齢が凍結保存に一番耐えて回収率がいいということがわかりました。グリアとニューロンを一緒に培養しますから、下層にグリアがはって、上にニューロンが乗っかる格好で突起を出す。グリアの上にシナプスを介した神経回路をつくるのですけれども、これが出来ると、バラバラに発火していたニューロンが同期性のオシレーションを始めるということがわかっております。現在、これにA β を加えて、シナプスがどうなるのか、今問題になったPS-1、ApoE、GSKの発現がどういうふうになるのかということを追っております。

次のスライド⑭をお願いします。最初のところでちょっと述べましたが、サル類がボケた場合に、それをいかに評価するかが問題です。そこでサル類の認知機能を評価するための装置をいくつか開発しました。その中で、サルの自動行動解析装置と指迷路試験は比較的有効な系です。これは今、ダイオキシンのサルの知能発達に及ぼす影響を評価する検査にも使っているのですけれども、こういう透明な箱をつくりまして、ここにリングを置くわけです。サルはリングが好きですから、好奇心が強いので、ここから指を入れてリングを取る。こっちに持っていくとリングは食べられません。ここに落ちておしまいという格好になります。反対側に動かしていくと食べられるということがわかって、これをクリアすると、今度は戦略が反対で、こっちに持っていくと食べられません。我慢して逆方向に持ってきて落として、下の段に移す。こういうステップを2段、3段、4段と繰り返して、学習能力・応用能力を見ようということです。ちなみに、人間の子供は、3歳にならないとこのテストは合格になりません。サル類は早熟なものですから、1歳を過ぎると結構成功するわけです。そこで20歳を過ぎたカニクイザルでどうなるのかということをチェックをしているわけです。想像されるとおり、一番下の段は割合早くクリアするのですけれども、2段目は反対方向へと戦略を変えなければならぬので、クリアするのにトライアル

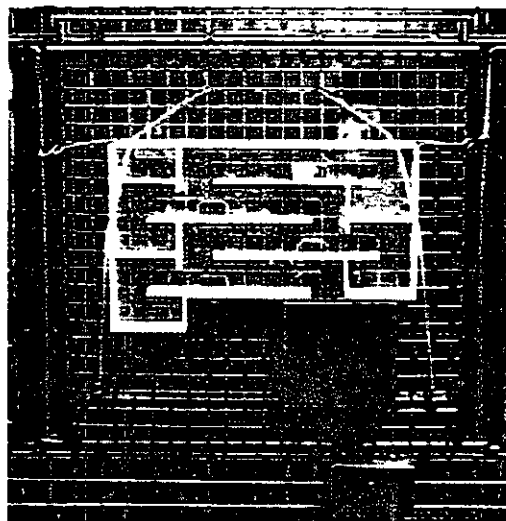
数が非常に多くなります。1日2回セッション（1セッションは15回）をやって、14回以上連続で成功しないと次の段に上げてもらえない。3段でもとに戻って、4段はその反対になるけれども、3、4段目はかなり早く、だいたい1カ月くらいでこのステップをクリアしていきます。そのときの、失敗例の中身はどうだったかということの分析をするわけですが、現在、30歳齢手前のサルでも、まだこの試験で特に知能低下を示したという個体はありません。それから、1回これを覚えると、半年、1年たっても、あっという間に理解してしまいます。サルは本当にボケるのだろうか、という不安を持ちつつ検査をしております。近く、実験的に認知機能を低下させてディバスの有効性を評価する予定です。

また本研究班では、非常に息の長い研究も進めています。老人斑が非常に若くて出た個体の家系と26歳齢になってもほとんど老人斑の出なかった家系を選抜し、その子供たちが20歳齢以上に達すると老人斑が出るか出ないかが明らかになります。そこで次の選抜をかけようということで、私が筑波霊長類センター長のときに始めました。現在、次の次のセンター長になりますけれども、その次のセンター長のころには多少選抜が進むかと思えます。おそらく40～50年という期間の研究にならざるを得ません。この手の研究が日本で受け入れられるかどうかは、はなはだ心配です。

次のスライド⑱をお願いします。これが最後ですが、マウスと違ってサルの場合、あの手この手でいろいろ複雑系を攻めなければならないことが特徴です。また、研究

スライド⑱

Pre-evaluation of Finger maze test to infant monkeys
(Finger maze test for TCDD treated monkeys)



スライド⑩

結語

- ・研究は資源(リサーチ・リソース)があって初めて成り立つ。
- ・老人病の研究は時間のかかる研究であり、新しいパラダイムが必須。
- ・研究基盤の確立にはヒトと金と時間が必要。
- ・エイジング・ファームには長期計画が必要。
- ・モデルの有効利用にはアジア繁殖施設を含めた、国際資源利用計画が必要。

は研究資源(リサーチリソース)という手品のタネがあって初めて成り立つものです。それから、研究基盤となるデータベースの作成は非常に地味で、そのわりに金と人と時間がかかるということを訴えたいわけです。エイジング・ファームは55頭を維持していますけれども、これを維持するための長期生産計画が必要です。疾患モデルの有効性利用という点を考えると、現在、中国は数万頭のブリーディング・ファームを育てています。フィリピンの繁殖施設と共同研究をするだけでも、いろいろな老化モデルの自然発生例が見つかります。日本に限らず、サル類のアジア・ファームというようなグローバルな視点で研究を展開していくべきだろうということで研究班を運営しております。

以上です。スライドありがとうございました。

特集 実験動物の福祉

動物実験と福祉

吉川 泰弘

東京大学大学院農学生命科学研究科

21世紀に求められるもの

20世紀における科学技術の進歩は人類に多くの知識と物質的豊かさをもたらしたが、他方で地球規模の環境破壊や環境汚染を引き起こし、また科学万能の物質文明はヒトの精神的活動を軽視する傾向を助長してしまった。21世紀、人類は大急ぎで20世紀に解決できなかった多くの問題に立ち向かわざるを得ない。自然科学の領域でこのような問題のブレークスルーをはかるには、「生物としてのヒト」という原点に立ち帰り、その存在を深く探究しなおす必要がある。それには多くの生物種との複眼的比較がキーとなる。

また、21世紀は「生命科学の世紀」であるとも言われる。20世紀の自然科学のプラス面・マイナス面を含め生命科学が今世紀の科学の中心になるだろうと多くのヒトが考えているからである。これは単に行き詰まりつつある物理・化学、先端技術あるいはIT産業に代わって、バイオ産業が中心になるかも知れないといった表面的なものではない。生命科学のスタンディングポイントが20世紀に隆盛を極めた科学のような単純主義や人間中心主義ではなく、生物としてのヒトの意味をもとめ、生命の多様性と共存の哲学を展開する学問であるかもしれないという期待を担っているからである。

自然科学の分野においても、本質的にヒトはヒトが何者か？ヒトをヒトたらしめているものは何

か？ヒトはどこから来てどこに行くのか？を知りたいのである。いま流行の網羅的ビックサイエンスが、その解答を出す可能性は、あまり高くないと思われる。我々が生命科学のための情報を得る研究対象は、我々自身と、多くの生物種とくに我々に近縁な高等動物種が主なものとなるであろう。大腸菌の時代はすでに終わったといえる。比較生物学と複雑情報の処理法が、これからの生命科学の基本的戦術になる。動物まるごとから情報を得るための実験は今後、さらに一層その重要性を増すであろう。

動物実験はどのように進むか

ヒトがヒト以外の動物から、ヒトの代替としてヒトに有用な情報を得るために、実験用に開発してきた動物が実験動物である。動物を使用する実験は試験管の中の実験と異なり、本質的に複雑系のサイエンスである。動物実験におけるヒトと動物の関係は、動物に実験というバイアスを加えて、得られた動物の反応 (R) をヒトに外挿しようというものである。動物の反応には遺伝的に規定される反応として種を越えて共通する反応 (C)、用いる動物に特有の種差 (S)、同じ動物種の中でも遺伝的に支配される個体差 (G) がある。この他に飼育や実験環境の影響 (E)、および実験ごとの実験誤差や技術的誤差 (T) の総和として表される。これは、しばしば以下の式で示される。

$$R=aC+bS+cG+dE+eT$$

一般に3つ以上の独立要素が変動する系は、数学的にカオスとなり、計算結果は得られるが、その予測は不可能であることが証明され、20世紀数学の最大発見とまで言われている。こうした状況で、実験結果を外挿(Extrapolation)することは、難しい問題である。しばしば動物実験では種差などを承知の上で、動物の実験結果を他の動物や人に当てはめることがある。また部分的類似性のみ注目し、後は捨象して外挿する方法を取ることもある。しかし、一番簡単な方法は、ヒトに近い動物ほどヒトへの外挿が容易であるために、動物実験に霊長類などを用いる方法が用いられる。霊長類を動物実験に使うことの是非については、後で論じる。

動物実験は明らかに20世紀後半の生化学の飛躍的進歩と、分子生物学・分子遺伝学による新規技術の開発で非常に大きな影響を受けた。科学がゲノムサイエンスのようなビックサイエンス時代へ移行したことにより、発生工学技術と合体して、それまで自然発生的あるいは誘発されたミュータント動物を選抜してモデルに利用していたものが、目的とした遺伝子を改変した動物として利用できるようになった。いわゆるリバーズ・ジェネティクスである。ポストゲノムプロジェクトの1つであるサチュレイテッド・ミュータジェネシスによる網羅的なミュータント動物の解析は今後の1つの方向性を指し示している。

一方、単純系で解決できる問題はこれまで以上に短時間で解決されることになったため、残された問題はヒトの疾病や環境問題を含めて複雑化したものが多くなった。長寿科学、持続感染症、加齢、発ガン研究、内分泌攪乱化学物質や環境汚染など、この傾向はさらに強まるであろうから、要求される動物モデルも、複雑系に應えるものになる可能性が高い。これは単純系を組み合わせるか、

自然発生と選抜に戻るか、あるいは別の方法が開発されるかわからない。いずれにせよフォワード・ジェネティクスによる解析が見直される必要があるであろう。

さらに、創薬科学のオーダーメイド処方(SNP：一塩基多型)に代表されるように、先端医療がマスから個別性、多様性に向かう方向が模索されている。チンパンジーのようにヒトにもっとも近縁な動物種を、ヒトのバリエーションの最大ふれ幅と考え、ゲノム科学に利用しようというような考え方も提案されている。従来の実験動物とは違う考えで、情報提供の対象となる新しい動物種が組み込まれる可能性もある。種々のメカニズムの解明に、生物の共通性・類似性から普遍化するこれまでの方法から、反対に多様性・個別性からルールを引き出す可能性が模索されるのではないか？いずれにせよ、新しい技術で比較生物学を行なう方法が開発されることになるであろう。

動物実験の基礎となる倫理、実験の正当性は

動物実験では前述の科学性の他に倫理性を合わせ持つ必要がある。現在は動物実験に限らず、多くの分野で科学と倫理が対立している様に見える。例えば顕微受精、クローン動物(人間)、遺伝子診断(治療)、遺伝子組換え動植物、脳死移植など、例をあげればきりが無いほどである。科学と倫理はいつも対立するものであろうか。自然科学がその客観性と普遍性を手に入れるために、中立性を柱とし、いかなる価値観や価値概念からも自由であるべきだとする基本姿勢は、中世の宗教からの独立や、オカルト主義からの弊害を避けるには有効であった。しかし、ほぼ3世紀をへて、必要以上の市民権を獲得した現代では、もう一度倫理学や社会学と向き合わなければならないほど、社会に対する影響力が大きなものになってしまっている。

動物倫理という観点では、20世紀の西洋では動物に対する思想の変遷は動物を可愛がり・保護すべき対象として、人間を上位において手をさしのべる動物愛護や保護の立場から、動物権利へとその姿勢を変化させてきた。とくに動物権利を主張する人々は動物実験廃止運動を進めている。これは動物も人と同様生きる権利がある。従って人は動物の権利を守る義務がある。だから人のために動物を実験に供するのは人種差別や性差別と同様に、「種の差別」であると言っている。

現在は動物ウェルビーイング (animal wellbeing) という権利と愛護の両者の中間的考え方が主流を占めている。これは動物実験の必要性を認めた上で、福祉や権利という概念は人間社会における規範であり、権利には責任も伴うし、これを動物に適用させるには無理がある。従って愛護と権利の中間的対応をとろうというものである。具体的にはケージサイズ、飼育環境改善、複数頭飼育、動物行動学、動物心理学、生態学からのアセスメントを通じて、できる限り人道的な対応を考えようというものである。

一体、動物実験の思想の正当性はどこにあるのであろうか？すでに述べたように動物実験は本来ヒトのためにあるものである。ヒトが立案し、ヒトが恩恵を受けるようになっている。研究や開発はヒトの持つ特性であり、権利であるという主張がある。また実験用に繁殖された動物を使用して、ヒトのために役立てることは、家畜にたいする肉食権利と同じであるという主張もある。あるいは妥協的に動物実験はヒトのためでもあるが動物のためにもなるという主張もなされる。確かにヒトの医薬品の多く、医療技術の多くは動物の治療にも使われ、こういう側面もあるが、本来ヒトのためであり、動物への還元は副次的なものである。こうした主張で納得するヒトは少ない。

ヒトのためとはいえ、動物の命を犠牲にするこ

とは、生命倫理からみて善とはいえない。

定性的な絶対的倫理観で動物実験を論じると、生物の生命を犠牲にする事は悪であるという結論に落ち着く。従って、動物実験を正当化する生命倫理は医学のように定量的な相対的倫理観を導入する必要がある。すなわち恩恵に浴する側の生物（ヒトあるいは動物）の利益の大きさ（A）と実験動物の受ける苦痛度の大きさ（B）の相対関係で正当化されるというものである。

この考えに基づいて Russel と Burch の 3R の提唱がなされている。すなわち利益（A）を大きく、被害（B）は少なくすることが実験を正当化することになる。具体的には情報量を多く、動物以外からも情報を得ること（replacement）、動物使用数は少なく（reduction）、精度は高く、ノイズは小さく、苦痛は低く（refinement）ということである。これらを保証するために実験審査と監視のシステムを導入することになっている。

動物とヒトのかかわりの多様性および動物の多様性

動物は我々同様に生命ある存在であり、苦痛を知覚する生物である。従って単純にものとして扱うのではなく、十全な環境で、思いやりをもって接するべきであるという精神は重要である。しかし、人と動物の関係は単純ではない。絶滅種の保護が必要な野生動物から、人との関係の深い愛護動物や伴侶動物、また人が利用を目的に生産する産業動物や実験動物など多様性がある。こうした多様性を無視して、単眼的に対応を求めることは実状に合わないし、種々の問題を生むことになる。ヒトを含めた動物の多様性という生物学的現実とヒトと動物の関係の多様性という社会科学的現実をふまえたうえで、動物実験がヒトの健康と福祉、科学の進展のために必要であるというスタンスで、3Rの提言を遵守する必要がある。

また、上述したように個々の動物実験の正当性は実験の社会的ニーズ、計画の現実性、成果が得られる可能性の高さなどと、実験に用いられる動物種の神経系の発達度、実験を行なう際に動物に与える肉体的痛み、精神的苦痛の軽重を相対評価して、判断すべきであり、ゼロ・サムの定性的判断や、固定した基準を設けて単純化することはさ

けたほうがよいと思う。単純に外国方式を真似るのでなく、自分たちの頭で考えるべきである。

実際、神経系は非常に系統発生上の違いが大きいの。いろいろな動物の脳構造を比較すると、例えば哺乳類のような新皮質のかなり発達した動物と、鳥類、魚類のような線伏体むき出しの動物、あるいは神経系の末端が大きくなったアラタ体や

表1 動物実験の正当性評価基準 (例)

実験の意義 (分子)	苦痛の大きさ (分母)		
	小	中	大
低い	不可	不可	不可
中程度	可	可	不可
高い	可	可	可

動物実験の正当性=得られる利益 (A) /実験動物が受ける不利益 (B)
 正当性=分子：実験の社会的ニーズと意義、動物実験デザインの洗練さ、研究成果の得られる可能性の高さ、研究グループの実力など/
 分母：使用する動物の種類、数、苦痛の種類、強さ、長さなど

表2 動物実験の苦痛カテゴリー (例)

	脊椎動物以外	爬虫類、両生類	鳥類	霊長類以外の哺乳類	サル類	類人猿
苦痛、不快を与えない瞬間的苦痛、不快感 安楽殺 (I)	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ 不可
短時間の軽、中等度の痛み 適切な輸送(II)	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	可逆的侵襲 ○
回避不能な苦痛 長期拘束、不可逆的侵襲 (III)	○	○	○	○	○	不可
激しい苦痛処置 無麻酔処置 反復苦痛処置 (IV)	○	苦痛軽減法の採用、代替法の検討必須			不可?	不可