

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの
基盤高度化に関する研究

平成15～17年度 総合研究報告書
平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 寺尾 恵 治
独立行政法人 医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター

平成18年(2006)3月

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総合研究報告書（平成15～17年度）

医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの 基盤高度化に関する研究班

区分	氏名	所 属	職名
班長	寺尾 恵治	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	センター長
		医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	センター長
班員	向井 鏑三郎 平成15、16年度	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	室長
	藤本 浩二	社団法人・予防衛生協会	主席研究員
	吉田 高志	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	室長
		医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	研究リーダー
	明里 宏文	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	主任研
		医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	研究リーダー
	山海 直	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	主任研
		医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	主任研
	下澤 律浩	国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター	研究員
		医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	研究員
揚山 直英 平成17年度	医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター	研究員	
小倉 淳郎 平成15、16年度	理化学研究所・バイオリソースセンター	室長	
数藤 由美子 平成17年度	日本赤十字社・中央血液研究所	研究員	
吉川 泰弘	東京大学農学生命科学研究科	教授	

厚生労働科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの
基盤高度化に関する研究

平成15～17年度 総合研究報告書

主任研究者 寺尾 恵 治

独立行政法人 医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター

平成18(2006)年3月

目次

- I. 総合研究報告書（平成15～17年度）・・・・・・・・・・ 1
 医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの基盤高度化に関する研究
 班長 寺尾 恵治（医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター長）

- II. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・ 5

I. 総合研究報告書

医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの 基盤高度化に関する研究

主任研究者 寺尾恵治 医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター長

研究要旨

次世代の医科学研究に資する実験用霊長類リソースを個体レベルから遺伝子レベルまで総合的に整備、維持、供給するシステムを構築することを目的として、効率的に研究を行い以下の結果を得た。

- 1) 個体レベルのリソース整備では、全繁殖コロニーから HBV、SVV、SIV、STLV のウイルスの排除に成功するとともに、SRV/D ウイルス陰性のパイロットコロニーを確立した。
- 2) 胚、配偶子レベルのリソース整備では、精子の凍結保存法を確立するとともに、胚の体外操作に必須の過排卵処置、卵回収、体外受精、受精卵培養の条件検討を行った。
- 3) 細胞レベルのリソース整備では、Herpesvirus saimiri を用いて広範な霊長類不死化細胞ライブラリーの整備をおこない、チンパンジーからオマキザルまで 10 種、31 株の不死化 T 細胞株を樹立した。
- 4) 遺伝子レベルのリソース整備では、500 家系 1500 頭の核 DNA ライブラリー、カニクイザルの BAC ライブラリー、マイクロサテライトマーカーを整備した。
- 5) 疾患モデル・基盤技術開発では、循環器疾患、脳神経疾患、骨粗鬆症をとりあげ、磁気共鳴画像（MRI）検査、超音波検査、X 線検査を用いた画像診断技術を開発した。

分担研究者

向井 鏡三郎（平成 15、16 年度）
国立感染症研究所
筑波霊長類センター・室長
藤本 浩二
予防衛生協会・主席研究員
吉田 高志
医薬基盤研究所
霊長類センター・研究リーダー
山海 直
医薬基盤研究所
霊長類センター・主任研究員
下澤 律浩
医薬基盤研究所
霊長類センター・研究員
明里 宏文

医薬基盤研究所
霊長類センター・研究リーダー
小倉 淳郎（平成 15、16 年度）
理研バイオリソースセンター・室長
数藤 由美子（平成 17 年度）
日赤中央血液研究所・研究員
揚山 直英（平成 17 年度）
医薬基盤研究所・研究員
吉川 泰弘
東京大学農学生命科学研究科・教授

A. 研究目的

21 世紀の重要な厚生労働科学研究として、脳・神経科学、長寿科学、新興再興感染症制圧、遺伝子治療、再生医療、ゲノム創薬などが注目されているが、これらの先端技

術の開発研究および有用性・安全性評価では優れた動物モデルの開発が不可欠である。なかでも、サル類は解剖、生理、代謝、免疫などのシステムがヒトと類似していることから、最も有用なモデル動物とみなされている。一方、分子生物学の進展により複雑な生体反応を細胞レベル、タンパクレベル、遺伝子レベルで解析することが可能になりつつある。特にポストゲノムプロジェクトとされる研究領域では、これら分子レベルの情報を基にした新しいアプローチが必要であるが、サル類では分子レベルでの解析基盤技術並びにリソースの整備が遅れている。本研究では、21世紀の医科学研究用リソースとしてのカニクイザルの基盤高度化を目的として、個体レベル、細胞レベル、遺伝子レベルでの汎用性の高いリソースの整備と質的向上を目的とする。

B. 研究方法

主として国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター（現：独立行政法人医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター）で維持されている繁殖育成群のカニクイザルを用いて実験を行った。一部の実験については、京都大学霊長類研究所で維持されている霊長類からの抹消血を用いた。また、基礎技術の開発に関してはマウスを用いた技術開発をおこなった。画像診断技術の開発は、筑波霊長類センターで定期的実施している定期健康診断時に集中的に行った。

上記の実験のうちサルの個体レベルでの動物実験は国立感染症研究所・動物実験委員会により審査・承認された後実施した。また、動物の取り扱いにあたっては、筑波医学実験用霊長類センター諸内規、作業方式に従って動物に与える苦痛の軽減と排除に努めた。実験の具体的方法については分担研究者の報告書に詳述する。

C. 研究結果および考察

1) 個体レベルのリソース整備：

繁殖育成コロニーの微生物学的清浄度を血清学的にモニタリングした結果、HBV、SVV、SIV、STLVの4種のウイルスについてはすべての個体が抗体陰性であり、当該

ウイルスについてSPF状態が維持されていることが確認できた。一方、離乳時に25%であったEBV感染率は年齢に伴い増加し、10歳以上では全頭が抗体陽性であった。同様にSFVの抗体陽性率は3歳齢までは10%以下であったが、4-9歳で30%、10歳以上で80%と増加した。これに対し、CMVの陽性率はいずれの年齢群でもきわめて低かった。SRV/D陰性個体を隔離して確立したSRV-SPFパイロットコロニーにおけるEBV、SFV、CMVの抗体陽性率には人工保育群と実母保育群で著しい差が認められ、SPF化における早期離乳と隔離飼育の有効性が実証された。繁殖コロニーのカニクイザルから分離したSRV/D株のgag領域の塩基配列は既知のSRV/D株と79.3-81.2%程度の相同性を示すことから、新しいSRV/Dであることが判明した。SRV/D筑波株のgag領域を特異的に検出するプライマーを開発し、血漿、唾液からのSRV/Dゲノムの高感度検出系を開発した。これにより、血漿、唾液からのSRV/Dゲノムの検出が可能となり、感染経路の特定や、非感染個体の抽出が可能となった。

2) 胚、配偶子、細胞レベルでのリソース整備：

マウスを用いてサルでの核移植クローン技術開発に資する基盤的技術として、成体幹細胞および生殖細胞を核移植ドナー細胞として体細胞移植を行った。G0細胞である造血系細胞は高率に2-cellに発生したが、その後の発生低下が顕著であった。一方、胎齢10.5日のマウス始原生殖細胞をドナー細胞とした核移植クローンで産児を得ることに初めて成功し、ドナー細胞選択の方向性を明らかにした。アフリカミドリザルから採取した成熟卵の一部について顕微受精を行い3個の拡張胚盤胞を得た。胚盤胞から内部細胞塊を単離し、フィーダー細胞上で継代培養したところ、霊長類のES細胞に類似した扁平なコロニーが形成され、これまで報告のないアフリカミドリザルのES細胞樹立の可能性が示唆された。グリセリンに溶解したFSHによる卵胞発育誘起により、ミドリザルおよびカニクイザルから回収された成熟卵の割合はそれぞれ30%と

40%と本法により比較的高率に良好な卵が回収されることが判明した。新規技術の開発では小型実験動物を用いたモデル研究が有効であり、核移植クローンに用いるドナー細胞の選択に関わるマウスの知見はサルへの応用が可能である。効率的にサル類の成熟卵を回収する技術が確立されたことにより、今後はこれらの技術を融合して、効率的で安定した体外受精、体外培養技術の確立をめざす。

mitogen で活性化した末梢単核球に Herpesvirus saimiri (HVS) を感染させることにより、1 ヶ月程度で不死化細胞が樹立でき、培養一年後も安定した増殖を示した。HVS で不死化した細胞株の表面マーカーを解析したところ、細胞株はいずれも CD3 陽性 T リンパ球であり、活性化マーカーや共刺激分子を強く発現していた。カニクイザルと同様な方法でチンパンジー (2 株)、アカゲザル (6 株)、プタオザル (3 株)、マーモセット (3 株)、タマリン (2 種、5 株)、ヨザル (2 株)、フサオマキザル (3 株) の 10 種 31 株の細胞株の樹立に成功した。異なったサル種で細胞レベルのリソースが整備されれば、樹立細胞株を用いたサル種の選択が可能となり、実験に使用する個体数を最小とすべきという国際的合意と合致する。

3) 遺伝子レベルでのリソース整備：

霊長類センターの繁殖育成コロニーのカニクイザルで家系の明らかな第二、三世代約 100 頭から核 DNA を抽出し、DNA バンクとして凍結保存した。カニクイザルの全ゲノムを 4 倍カバーする BAC ライブラリーを作成するとともに、カニクイザルで多型性を示す 66 のマイクロサテライトマーカーを確立した。これにより、SNPs 解析等カニクイザル集団を対象とした遺伝子レベルの解析に資するリソース整備体制がほぼ整備された。

4) 基盤技術開発：

繁殖育成コロニーの生理学的モニタリング技術として、肥満度測定法を開発した。これにより肥満の程度を数値化することが可能となり、飼育管理技術の適性を判定する基準が確立されるとともに、肥満及び

肥満に伴う成人病モデルの抽出が可能となった。汎用性の高い基盤技術として、脳梗塞モデルの作成技術を開発した。ローズベンガルを静脈内注射し、光ファイバーで光照射した部位に梗塞巣が生じた。梗塞巣中心部にはニューロンは存在せず、TUNEL 陽性のアポトーシスを生じている細胞が多数検出された。アポトーシスを起こしている細胞は梗塞巣周辺部にも存在した。また、脳障害の生体応答の一つであるミクログリアの活性化も顕著で、特に BrdU 陽性の活性化型ミクログリアの出現が特徴的であった。血管性痴呆症は高齢化社会にとって重要な疾患であることから、優れた虚血モデルの開発が望まれていた。光感受性色素と局所照射が可能な光ファイバーを用いて、脳内の任意の部位に安定した虚血を作成する技術の開発は、脳梗塞の治療・予防法の開発のみならず、サルを用いて小動物では不可能な脳の高次機能に関する研究を推進することが可能となる。

E. 結論（成果の活用、提供）

個体レベルでのリソース整備に係わる研究は、実験用霊長類の微生物学的清浄度の向上をめざしたものであり、本研究班の成果は今後サル類を用いた遺伝子治療、再生医療、移植医療などの前臨床試験において必須となるレトロウイルスフリーの SPF ザルの供給体制の確立に向けて有用な知見である。SRV/D の高感度検出系を用いて確立した SPF パイロットコロニーの維持に係わる各種モニタリングシステムや導入個体の選抜法を検討することにより、HBV、SVV、SIV、STLV、SRV/D に加え、EBV や CMV などのヘルペスウイルスフリーのサルの供給を可能とする体制が整備されつつある。

胚、配偶子、細胞レベルのリソース整備における発生工学技術の開発は、遺伝子改変ザル作出に関わる基盤技術の開発だけでなく、胚・配偶子レベルでの遺伝子保存も可能とする。新規技術の開発では小型実験動物を用いたモデル研究が有効であり、核移植クローンに用いるドナー細胞の選択に関わるマウスの知見はサルへの応用が可能である。効率的にサル類の成熟卵を回収する技術が確立されたことにより、今後は

これらの技術を融合して、効率的で安定した体外受精、体外培養技術の確立をめざす。

各種サル類由来細胞株の樹立は細胞バンクとして、供給体制の整備をすすめてゆく予定である。

遺伝子レベルの基盤的リソースはほぼ整備できた。今後は家系解析に必須の核 DNA の整備を引き続き継続し、家系性疾患ザルの遺伝解析や SNIPs を利用した疾患感受性の解析などのモデル研究に供給を予定している。

汎用性の高い基盤技術として、肥満度測定技術と脳梗塞モデル作成技術を開発した。虚血モデルの開発と平行して記憶などの高

次脳機能および行動異常を評価するシステムも開発中であり、カニクイザルの虚血モデルをヒトの脳血管性痴呆の病態解析、予防、治療法開発に応用するために、虚血に伴う高次脳機能の変化を詳細に検討してゆく必要がある。

F. 研究発表

別紙一覧

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Ageyama N, Hanazono Y, Shibata H, Ono F, Ogawa H, Nagashima T, Ueda Y, Yoshikawa Y, Hasegawa M, Ozawa K, Terao K.	Prevention of Immune Responses to Human Erythropoietin in Cynomolgus Monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>).	J Vet Med Sci	-in press-		2006
Nonaka K, Fukuda S, Aoki K, Yoshida T, Iida H, Ohya K:	Regional distribution in cortical bone mineral density measured by pQCT can predict the alteration in mineral property at the tibial diaphysis of cynomolgus monkey.	Bone	38	265-272	2006
Ageyama N, Hanazono Y, Shibata H, Ono F, Ogawa H, Nagashima T, Ueda Y, Yoshikawa Y, Hasegawa M, Ozawa K, Terao K.	Safe And Efficient Collection of Cytokine- Mobilized Peripheral Blood Cells From Cynomolgus Monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>) with Human Newborn-Equivalent Body Weights.	Exp Anim	54	421-428	2005
Kimura N, Yanagisawa K, Terao K, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y. Neuropathol	Age-related changes of intracellular Abeta in cynomolgus monkey brains.	Appl Neurobiol.	1	170-80	2005
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
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 the Tsukuba Primate Center,	Japan. Microbes Infect.	7	126-131	2005
Kimura N, Yanagisawa K, Terao K, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y.	Age-related changes of intracellular Abeta in cynomolgus monkey brains.	Neuropathol Appl Neurobiol.	31	170-180.	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Koie H, Ageyama N, Ono F, Kanayama k, Sakai T, Sankai T.	Echocardiographic diagnosis of muscular ventricular septal defect in a cynomolgus monkey (<i>Macaca fascicularis</i>).	Contemporary Topics In laboratory animal science.	44	26-28	2005
Kwon, J., Mochida, K., Wang, W. L., 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. <i>Biol.</i>	Reprod	73	29-35	2005
Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Mochida K, Hatori M, Okada H, Takeiri S, Shimozawa N, Nagashima H, Sankai T, Ogura A.	Differential development of rabbit embryos following microinsemination with sperm and spermatids.	Mol Reprod Dev	72	411-417	2005
Ogonuki, N., Inoue, K., Miki, H., Okada, H., Takeiri, S., Shimozawa, N., Nagashima, H., Sankai, T., Ogura, A.	development of rabbit embryos following microinsemination with sperm and spermatids.	Mol. Reprod. Dev.	72	411-417	2005
Okada H, Ito M, Hirose Y, Uda A, Terao K, Yoshida T, Sankai T.	Buffalo Rat Liver Cells Produce Factors that Support Preimplantation Development of Mouse Embryos Cultured In Vitro.	Comp Med	55	61-66	2005
Okada, H., Hirose, H., Periyasamy, M., Ito, M., Sankai, T.	Characterization of an immortalized oviduct cell established from the cynomolgus (<i>Macaca fascicularis</i>).	J. Med. Primatol.	34	67-72	2005
Takano J, Narita T, Tachibana H, Shimizu T, Komatsubara H, Terao K, Fujimoto K.	<i>Entamoeba histolytica</i> and <i>Entamoeba dispar</i> infections in cynomolgus monkeys imported into Japan for research.	Parasitol Res	97	255-257	2005
Uda A, Tanabayashi K, Fujita O, Hotta A, Terao K, Yamada A.	Identification of the MHC class I B locus in cynomolgus monkeys.	Immunogenetics.	57	189-197	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Umeda S, Ayyagari R, Allikmets R, Suzuki MT, Karoukis AJ, Ambasadhan R, Zernant J, Okamoto H, Ono F, Terao K, Mizota A, Yoshikawa Y, Tanaka Y, Iwata T.	Early-Onset Macular Degeneration with Drusen in a Cynomolgus Monkey (<i>Macaca fascicularis</i>) Pedigree: Exclusion of 13 Candidate Genes and Loci.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	46	683-691	2005
Umeda S, Suzuki MT, Okamoto H, Ono F, Mizota A, Terao K, Yoshikawa Y, Tanaka Y, Iwata T.	Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (<i>Macaca fascicularis</i>).	FASEB J.	38941	Epub	2005
Yoshida T.	Using long-tailed macaques (<i>Macaca fascicularis</i>) as a model for osteoporosis study.	Nat. Hist. J. Chulalongkorn Univ.	1	79-83	2005
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	355-64.	2005
揚山直英、花園豊.	三輪血液病学（第4部。特殊な血液検査と正常値。XIII 動物血の正常値）	文光堂		2031-2038	2005
Miki H, Inoue K, Kohda T, Honda A, Ogonuki N, Yuzuriha M, Mise N, Matsui Y, Baba T, Abe K, Ishino F, Ogura A	Birth of mice produced by germ cell nuclear transfer	Genesis	41	81-86	2005
Fulka J Jr, Miyashita N, Nagai T and Ogura A	Do cloned mammals skip a reprogramming step?	Nat Biotechnol	22	25-26	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
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
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
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
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
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
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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Miki H, Inoue K, Ogonuki N, Mochida K, Nagashima H, Baba T, Ogura A	Cytoplasmic asters are required for progression past the first cell cycle in cloned mouse embryos	Biol. Reprod	71	2022-2028	2004
Kanatsu-Shinohara M, Inoue M, Lee J, Yoshimoto M, Ogonuki N, Miki H, Baba S, Kato T, Kazuki Y, Toyokuni S, Oshimura M, Heike T, Nakahata T, Ishino F, Ogura A, Shinohara T	Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis	Cell	119	1001-1012	2004
Chuma S, Kanatsu-Shinohara M, Inoue M, Ogonuki N, Miki H, Toyokuni S, Hoshikawa M, Nakatsuji N, Ogura A, Shinohara T	Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells following transplantation into postnatal mouse testis	Development	132	117-122	2004
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	Repro Med Biol	3	245-251	2004
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
Miyamoto S, Shen Y, Nakamura S, Sankai T, Machida T, Yoshida T	Synthesis and release of steroid in intestines from cynomolgus monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>)	Zoological Sci	21	639-648	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
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	Journal of Neuroscience	24	4894-902	2004
Kimura N, Nakamura Si, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y.	Presenilin-2 in Cynomolgus Monkey Brain: Investigation of Age-Related Changes.	Primates	45	167-75	2004
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	339-46	2004
Miki H, Lee J, Inoue K, Ogonuki N, Noguchi Y, Mochida K, Kohda T, Nagashima H, Ishino F and Ogura A.	Microinsemination with first-wave round spermatids from immature male mouse	J Reprod Dev	50	131-137	2004
Kimura N, Tanemura K, Nakamura S, Takashima A, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y	Age-related changes of Alzheimer's disease-associated proteins in cynomolgus monkey brains	Biochem Biophys Res Commun	310	303-311	2003
Ageyama N, Kimikawa M, Eguchi K, Ono F, Shibata H, Yoshikawa Y, Terao K.	Modification of the leukapheresis procedure for use in rhesus monkeys (Macaca mulata).	J Clin Apheresis	18	26-31	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Asano T, Ageyama N, Takeuchi K, Momoeda M, Kitano Y, Sasaki K, Ueda Y, Suzuki Y, Kondo Y, Torii R, Hasegawa M, Ookawara S, Harii K, Terao K, Ozawa K, Hanazono Y.	Engraftment and tumor formation after allogeneic in utero transplantation of primate embryonic stem cells.	Transplantation.	76	1061-1067	2003
Fujita M, Yoshida A, Sakurai A, Tatsuki J, Ueno F, Akari H and Adachi	Newtype of puzzle-task finger maze learning in <i>Macaca fascicularis</i>	Int J Primatol	24	261-270	2003
Inoue K, Ogonuki N, Mochida K, Yyamamoto Y, Takano K, Kohda T, Ishino F and Ogura A	Effects of donor cell type and genotype on the efficiency of mouse somatic cell clonings	Biol Reprod.	69	1394-1400	2003
Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S and Shinohara T	Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germline stem cells	Biol Reprod.	69	612-616	2003
Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S, and Shinohara T	Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved male germline stem cells	Human Reprod.	18	2660-2667	2003
Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S, Kogjshi T, Honjo T and Shinohara T	Allogeneic offspring produced by male germ line stem cell transplantation into infertile mouse testis	Biol Reprod.	68	167-173	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Kimura N, Tanemura K, Nakamura S, Takashima A, Ono F, Sakakibara I, Ishii Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y.	"Age-related changes of Alzheimer's disease-associated proteins in cynomolgus monkey brains."	Biochem Biophys Res Commun	310	303-11	2003
Kirii Y, Inoue T, Yoshino K, Kayagaki N, Yagita H, Okumura K, Shibata H, Yoshikawa Y, Terao K.	Molecular cloning, functional characterization, and enzyme- linked immunosorbent assay of cynomolgus monkey Fas ligand.	J Immunol Methods.	278	201-209	2003
Lee WW, Nam KH, Terao K, Akari H, Yoshikawa Y.	Age-related increase of peripheral CD4+ CD8+ double-positive T lymphocytes in cynomolgus monkeys: longitudinal study in relation to thymic involution.	Immunology.	109	217-225	2003
Lee WW, Nam KH, Terao K, Yoshikawa Y.	Possible role of genetic factor(s) on age-related increase of peripheral CD4+CD8+ double positive T cells in cynomolgus monkeys.	Exp Anim.	52	309-316	2003
Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, Hasegawa M.	New selective amplifier genes containing c-Mpl for hematopoietic cell expansion.	Biochem Biophys Res Commun.	303	170-176	2003
Ogonuki N, Mochida K, Inoue K, Matsuda J, Yamamoto Y, Takano K and Ogura A.	Fertilization of oocytes and birth of normal pups following intracytoplasmic injection with spermatids in mastomys (<i>Praomys coucha</i>).	Biol Reprod.	68	1821- 1827	2003
Ogonuki N, Tsuchiya H, Hirose Y, Okada H, Ogura A and Sankai T.	Pregnancy by the tubal transfer of embryos developed after injection of round spermatids into oocyte cytoplasm of the cynomolgus monkey (<i>Macaca fascicularis</i>)	Hum Reprod.	18	1273- 1280	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻名	ページ	出版年
Ogura A, Ogonuki N, Inoue K and Mochida K.	New microinsemination techniques for laboratory animals	Theriogenology	59	87-94	2003
Okada H, Hirose Y, Ito M and Sankai T.	Aspiration method to collect epithelial cells from mouse, rat and monkey oviducts	Comp Top Lab Anim Sci	42	46-51	2003
Shibata H, Hanazono Y, Ageyama N, Nagashima T, Ueda Y, Hasegawa M, Ozawa K, Yoshikawa Y, Terao K.	Collection and analysis of hematopoietic progenitor cells from cynomolgus macaques (<i>Macaca fascicularis</i>): Assessment of cross-reacting monoclonal antibodies.	Am J Primatol	61	3-12	2003
Shimizu Y, Suzuki J, Terao K, Ishida T.	In vitro aging of macaque adherent cells: similar pattern of cellular aging between human and macaque.	Mech Ageing Dev.	124	237-244	2003
Suzuki MT, Terao K, Yoshikawa Y.	Familial early onset macular degeneration in cynomolgus monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>).	Primates.	44	291-294	2003
Tsuchida J, Kawasaki K, Sankai T, Kubo N, Terao K, Koyama T, Makino J and Yoshikawa Y	Newtype of puzzle-task finger maze learning in <i>Macaca fascicularis</i>	Int J Primatol	24	261-270	2003
Uda A, Tanabayashi K, Mukai R, Terao K, Yamada A.	Identification of an amino acid responsible for the CD3 polymorphism in cynomolgus monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>).	J Med Primatol.	32	105-110	2003
Watanabe K, Watanabe R, Shioda A, Mizoguchi K, Sugimoto T, Terao K.	Investigation of the mechanism of drug-induced autoimmune hemolytic anemia in cynomolgus monkeys elicited by a repeated-dose of a humanized monoclonal antibody drug.	J Toxicol Sci.	28	123-138	2003