

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成5年5月 12号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

巻頭言 関西実験動物研究会10周年を迎えて 宮 嶋 宏 彰（武田薬品工業株式会社）	1
---	---

<第29回研究会>

学術講演会

1. ミュータントマウスを用いた精細胞分化の解析 西 宗 義 武（大阪大学微生物病研究所）	3
2. 赤血球の連鎖形成と γ -グロブリン 志 賀 健（大阪大学医学部）	9

<第30回研究会>

講演会

1. ヒマラヤ高地でのニホンザルの生理的諸事象 松 林 清 明（京都大学霊長類研究所）	17
2. ニホンザルの生殖生理学的特性と室内人工繁殖の試み 鳥 居 隆 三（滋賀医科大学医学部）	26

<そ の 他>

関西実験動物研究会だより	46
--------------------	----

会報（バックナンバー）頒布のお知らせ	49
--------------------------	----

編集後記

巻 頭 言

関西実験動物研究会10周年を迎えて

会 長 宮 崎 宏 彰

1984年に当時の京都大学 山田淳三助教授を会長として、関西実験動物研究会が発足してから本年で10周年を迎えます。その間、37回の学術集会と11号に及ぶ会誌の発行があり、現在会員数約 300名、維持団体31社に達しました。関西実験動物研究会の前身である関西実験動物集談会にも身を置いた一人として誠に感慨深いものがあります。

このような今日の発展は言うまでもなく、京都大学名誉教授 山田淳三先生の御指導と御尽力によるものでありますが、その間山田先生を囲む多くの会員の方々の積極的な御協力がありました。見方をかえれば、このような発展は実験動物を扱う多方面の方々が、自分の研究内容と研究方法を発展させるために、お互いに切磋琢磨する場を切望していた結果であると思います。

現在の実験動物学界は40年ほど前に故 安東洪次先生(元 東大教授)及び故 田嶋嘉雄先生(元 東大名誉教授)が実験動物の近代化を旗印にして御活躍された頃と比較して明確な目標や使命感がなく、活力が失われ、求心力がなくなったとされています。果たしてそうでしょうか、実験動物学は医学・薬学・生物学・獣医学等既存の多くの学問領域を包括する総合科学であり、極めて広範かつ学際的色彩の濃い学問であります。であるが故にまだまだ解決しなければならない問題が山積しております。動物種差やヒトへの外挿一つとってみても殆ど未解決といっても過言ではありません。疾患モデル動物にしてもまだまだ作出しなければならない対象疾患が数多く存在しています。

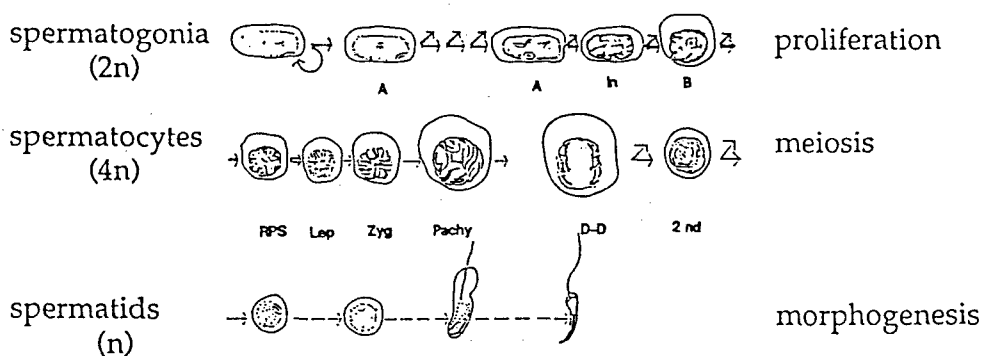
実験動物学がこのように学際的学問であるからこそ、医学・薬学・生物学・獣医学等広範な分野に於けるそれぞれ立派な研究者が多数おられる関西地域にこの研究会が存在している意義があります。

今一度原点に立ち帰って、実験動物を使用する側、生産する側、それらを支援する側、更には使用される実験動物それ自身の立場になって、何が問題でどう対処しなければならないかを具体的に一つ一つ考えてみたいと思います。

今回、図らずも山田先生の後任として会長に選出され、とまどいと共に責任の重大さを痛感しております。非力である上に、毒性畑しか知らない者が、どれ程のことが出来るか一抹の不安があります。山田先生にはとても及ぶべくもありませんが、会員の皆様方の御支援と御協力を得て研究会の一層の発展のために精一杯邁進していきたいと思っておりますので、どうかよろしくお願い申し上げます。

精細胞分化(spermatogenesis)は幹細胞であるA型精原細胞(spermatogonium)の増殖・分化に始まり減数分裂過程の精母細胞(spermatocyte)を経て haploidの精子細胞(spermatid)がさらに特異的な形態変化を伴い、spermを産生する一連のプロセスであり(図1)、この分化過程において、各生殖細胞の構成成分が様々な変化を示すことはすでによく知られており、分化段階に特異的に発現される遺伝子及びその産物の解析は、生殖細胞の分化メカニズムを理解する上で重要である。この様に複雑な過程を解析する時、有効な手段となるのがミュータントを用いた遺伝的解析である。

図 1 . Testicular germ cell differentiation

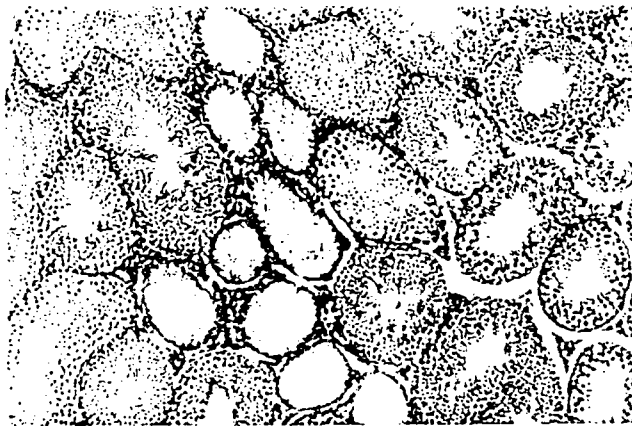


精子形成に障害を引き起こすマウスの優性突然変異であるW, S1は、ホモ接合体では始原生殖細胞(PGCs)の移動及び増殖が完全に障害されるため生殖細胞を欠損し、不妊となる①。これらのヘテロ接合体(W/+, S1/+)の精巣では、野生型(+/+)マウスと比較して、組織的には全く変わらなく精子形成が行われているが、精巣重量の低下がみられる。又これらの変異は造血系細胞、皮膚色素細胞、肥満細胞のそれぞれの幹細胞の分化に多面的な障害を引き起こすことが知られている。さらにW遺伝子は第5染色体上に、S1遺伝子は第10染色体上に位置し、造血系細胞分化の系では in vivoの移植実験および in vitroの共生培養実験等により、W変異は幹細胞自身に欠陥があり、

S1変異は幹細胞の分化が起こる組織の微小環境を構成している細胞に欠陥があることがわかっている。

W遺伝子座に変異をもつホモ接合体は、通常生殖細胞を欠くが、fertile dominant spotting (W^f) マウスでは、例外的に生殖能力は正常であることが報告されている②。 W^f/W^f の精巣重量は+/+と比較してやや低い値を示すものの、大部分の個体が6-8週齢で正常な生殖能力をもち、体重および精巣上体、前立腺、精嚢腺等の器官重量にも差は見られない。しかし W^f/W^f の精巣を組織学的に検索すると、大部分の精細管では異常は認められず、正常な精細胞の分化・精子形成を行っているが、+/+と異なり精細胞を含まない精細管が存在する(図2)。

図 2 .



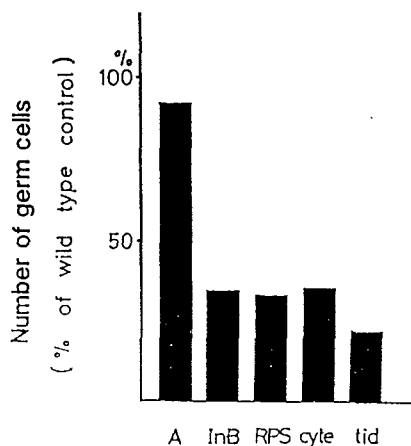
これらの精細管は未分化な精原細胞も含んでおらず、セルトリ細胞のみで構成されている。 光顕レベルではこれらセルトリ細胞には異常は認められず、ほとんどの精巣で同一組織切片上に1-10%の割合で出現し、齢に応じてその頻度は変わることがない。 これらの精細胞を欠損している精細管を連続切片で追跡すると、1本の連続した管であることが確認される。 しかし、欠損部位と正常部位とが1本の精細管の中で交互に現れることはなく、また欠損部位の長さを測定すると、長短様々のものがみられ、精巣の成長に伴って若干長い欠損部位が現れる傾向があるものの、欠損精細管の最短長は齢でほぼ変わらず、700 μ mであった。 さらに出生後24時間以内のgonocyteの数は、 W^f/W^f では+/+の約半数しか存在せず、この精細胞欠損部位は後天的に形成されるのではなく、出生直後もしくはそれ以前における gonocyteあるいはPGCの欠損によるものと考えられ、約10個の幹細胞が占める場の大きさに相当する。 これらの観察は W^f 変異遺伝子は精原細胞の精子形成には少なくとも重大な影響は与えていないが、PGCの精細管内への移動・増殖あるいは

は gonocyteから精原細胞への増殖・分化に関与する事を示唆している③。

W, S1 遺伝子変異の大部分のホモ接合体では、胎生期から生後早期に死亡し、生存した個体でも生殖細胞を欠損している。又ヘテロ接合体では、一見正常な精細胞分化が行われ妊孕性も保たれている。しかし、人工停留精巣一回復手術を行う事により、新たにA型精原細胞から再開する精細胞分化を観察する事が可能であり、この再生的精細胞分化の系では通常見られない微妙な変化をとらえる事が出来る。そこでヘテロ個体を用いるとこれらの遺伝子変異の影響を調べる事が出来る。即ち人工停留精巣一回復手術は、腹腔内に精巣を固定し停留精巣の状態にすることにより、分化した精細胞が消失し、未分化なA型精原細胞のみ残存し、これを再び陰嚢内に戻すとA型精原細胞の再分化が始まり、最終的には受精能を有する精子の産生がみられる④。

W, S1 マウスのヘテロ個体は、一部精巣や精巣上体重量に若干の低下がみられるものの、野生型マウスと変わらない生殖能力が確認され、精巣の組織像も正常な精子形成を示している。停留精巣におけるA型精原細胞の数とその増殖能について、mitotic indexとDNA合成期の細胞の割合を示す labelling indexを指標として調べると、野生型とW, S1 遺伝子のヘテロ変異マウスの間には、A型精原細胞の数及びその増殖能には有意な違いは認められなかった。さらに男性ホルモンの標的器官である前立腺、精嚢腺重量から、これらヘテロ変異個体では、正常でも又可逆的停留精巣状態でも野生型と差異が見られず、内分泌的にも異常が見られない。

図 3 . Retardation of regenerative differentiation of cryptorchid testes in mutant mice



停留精巣の回復手術後経時的に観察を行うと、W, S1変異は共にA型精原細胞からIn-B型精原細胞への分化にヘテロ変異の影響がみられ、更に減数分裂にも障害が現れる事が明らかとなった⑤⑥(図3)。またS1^d/+, W^v/+変異では、更に精原細胞の維持にも障害を及ぼすため、回復手術後の精細胞分化が強く阻害され、停留精巣手術が不可逆的变化をひき起こす事が分かった⑦⑧。

生殖細胞、肥満細胞、赤血球、色素細胞が増殖・分化するためには、これらの細胞自身あるいは前駆細胞が正常のW遺伝子を発現していることと、これらの細胞の増殖・分化を支持する微小環境が、正常のS1遺伝子を発現していることが必要であると考えられる。W遺伝子産物のc-kit分子はレセプター型チロシンキナーゼであり⑨、PDGFやM-CSFのレセプターと構造が類似し、一つのファミリーを形成している。又肥満細胞の増殖を指標にして、c-kit分子のリガンド遺伝子がクローン化され、S1遺伝子がそれをコードしていることが明らかにされた⑩。W, S1遺伝子のホモ接合体変異で見られるように、このレセプター・リガンド機能のいずれが欠損してもPGCやgonocyteの段階で障害が現れ、生殖細胞欠損となる。又その機能障害が弱いと考えられるW^f/W^fの場合でも、部分的欠損を生ずる。又ヘテロ接合体では、著明な生殖細胞に及ぼす影響はみられず妊孕性を保っている。しかし、停留精巣一回復術における精細胞の再生分化の系で調べると、ヘテロ接合体の欠陥が浮き彫りにされ、A型精原細胞からの分化及び減数分裂の過程にこれらの遺伝子産物が重要な役割を演じている事が明らかになった。さらに未分化精細胞の維持にもこの情報伝達系が関与している可能性が考えられる。この様に成熟精巣における精子形成にもまたc-kit分子とそのリガンド(SLF)が必須の役割を担っていると考えられる。

精巣においてこのリガンドを産生している細胞を明らかにすることは、生殖細胞の増殖・分化におけるc-kit分子の役割を十分に理解するために重要である。精巣では精原細胞から精子細胞に至るまで常にセルトリ細胞と接触しており、セルトリ細胞が生殖細胞の微小環境を構成している可能性が高い。そこでこれらの遺伝子の突然変異マウスを用いて、セルトリ細胞におけるこのリガンドの産生について調べたところ、+/+およびW^v/W^vマウス由来のセルトリ細胞では、このリガンド(SLF)がその細胞表面上に存在し、S1^d/S1^dマウス由来のセルトリ細胞では欠損していた。即ち、c-kit分子は生殖細胞の側に、またそのリガンドはセルトリ細胞の側に表現されており、いずれが欠損しても同様の表現型を現わし、精細胞の分化が障害される事が明らかになった⑪。

この様に不妊を引き起こすミュータントマウスを用いる事によって、複雑な精細胞の

年各々の遺伝子のクローニングが成功した事から、急激に分子レベルでの理解が進行しつつある。その他様々な不妊を引き起こす精子形成過程に関連したミュータントマウスが分離されているが⑫⑬、これらをうまく利用する事によって、複雑且つ難解な精細胞分化・精子形成メカニズムの理解が進展するものと期待される。

参考文献

1. Russell, E.S. (1979) Hereditary anemias of the mouse: A review for genetics. Adv. Genet. 20:357-459.
2. Guenet, J-L., Marchal, G., Milon, G., Tambourin, P. and Wendling, F. (1979) Fertile dominant spotting in the house mouse. A new allele at the W locus. J. Hered. 70:9-12.
3. Koshimizu, U., Watanabe, D., Tajima, Y. and Nishimune, Y. (1992) Effect of W (c-kit) gene mutation on gametogenesis in male mice: agametic tubular segment in W^f/W^f testes. Development 114:861-867.
4. Nishimune, Y., Aizawa, S. and Komatsu, T. (1978) Testicular germ cell differentiation in vivo. Fertil. Steril. 29:95-102
5. Nishimune, Y., Haneji, T. and Kitamura, Y. (1980) The effects of Steel mutation on testicular germ cell differentiation. J. Cell. Physiol. 105: 137-141.
6. Sawada, K., Sakamaki, K. and Nishimune, Y. (1991) Effect of the W mutation, for white belly spot, on testicular germ cell differentiation in mice. J. Reprod. Fert. 93:287-294.
7. Tajima, Y., Sakamaki, K., Watanabe, D., Koshimizu, U., Matsuzawa, T. and Nishimune, Y. (1991) Steel-Dickie (Sl^d) mutation affects both maintenance and differentiation of testicular germ cells. J. Reprod. Fertil. 91:441-449.

8. Koshimizu, U., Sawada, K., Tajima, Y., Watanabe, D. and Nishimune, Y. (1991) White-spotting mutations affect the regenerative differentiation of testicular germ cells: Demonstration by experimental cryptorchidism and its surgical reversal. Biol. Reprod. 45:642-648.
9. Chabot, B., Stephenson, D.A., Chapman, V.M., Besmer, P. and Bernstein, A. (1988) The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. Nature 335:88-89.
10. Zsebo, K.M., Williams, D.A., Geisseler, E.N., Broudy, V.C., Martin, F.H., Atkin, H.L., Hsu, R.Y., Birkett, N.C., Okino, K.H., Murdock, D.C., Jacobsen, F.W., Langley, K.E., Smith, K.A., Takeishi, T., Cattaneach, B.M., Galli, S.J. and Suggs, S.V. (1990) Stem cell factor is encoded at the Sl locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. Cell 63:213-224.
11. Tajima, Y., Onoue, H., Kitamura, Y and Nishimune, Y. (1992) Biologically active kit ligand growth factor is produced by mouse Sertoli cells and is defective in Sl^d mutant mice. Development 113:1031-1035.
12. Handel, M.A. (1987) Genetic Control of Spermatogenesis in Mice. p.1-61. Spermatogenesis Genetic Aspects ed. by W.Henning Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo.
13. Wesley, G.B., Terrie, L.C-B., Kathryn, L.S., Stephen, H.L. and Thomas H.R. (1988) Juvenile spermatogonial depletion (jsd): A genetic defect of germ cell proliferation of male mice. Biol. Reprod. 38:899-908

赤血球の連銭形成と γ -グロブリン

元・大阪大学医学部動物実験施設長

(生理学第一講座)

志賀 健

はじめに

血漿蛋白中の γ -グロブリン分画は感染防御の主役IgGが主成分である。われわれ正常人の血漿蛋白をセルロース・アセート膜電気泳動により調べるとその15%前後が γ -グロブリン分画である。正常ラットなどを無菌状態で飼育すると γ -グロブリン分画は減少し、市販SPFラットでは全血漿蛋白の2%程度と少ない。 γ -グロブリン含量は次のように血液の流動性と密接に関係している。

生体の毛細血管を顕微鏡で覗いていると、低流速のとき流れている赤血球同士が塊をつくって停滞する場合がある。これが泥流(スラッジ、sludge)と呼ばれる現象で、その原因は赤血球の連銭化である。連銭とは赤血球と赤血球との間に可逆的結合ができて、偏平円盤状の赤血球が円筒状に連なる現象(図1)を意味する。

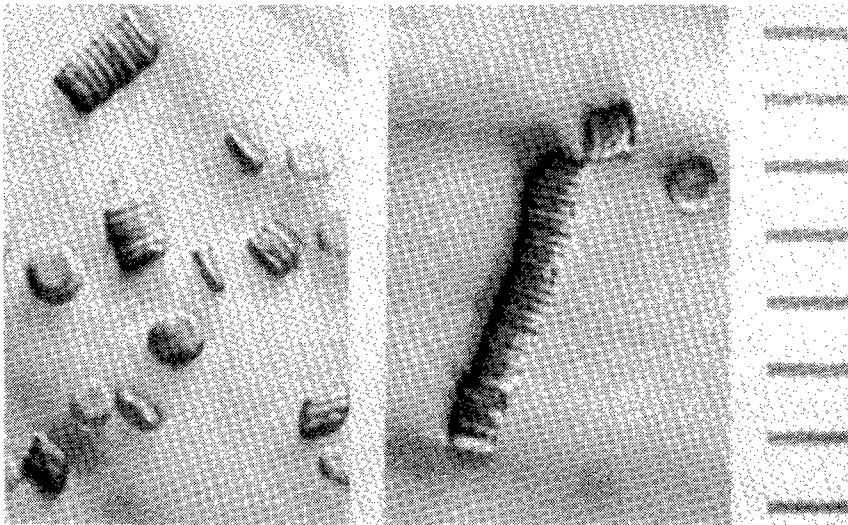


図1 ラット赤血球の連銭(フラッシュ写真)

(左)連銭形成初期、(右)同 終期

自己血漿中で低速流動中の赤血球は互いに衝突し、面一面間に結合をつくって集合し、短い連銭を作る(左図)。さらに、これらが集合して長い連銭に成長する(右図)。ただし、血漿中の γ -グロブリン量が多いときは右図のような一次元の棒状集合とならないで、短い連銭が縁-縁または縁-面結合により大きな三次元集塊をつくる。なお、流速を高めズリ応力を大きくすると連銭は離解する、連銭は可逆的な集合であり不可逆な凝集ではない。

連銭を作り易い血液は低ズリ速度領域における粘度が高く、流速が低下すると毛細血管領域では目詰りの原因となる。 γ -グロブリンが増量すると、連銭形成速度は促進され、血液の流動性が低下し、赤血球沈降速度（「血沈」値）も上昇させる。従って、末梢循環障害の発生について、連銭形成は重要因子である。

私達は連銭形成メカニズムを解明するため、円錐－平板粘度計と顕微鏡を組合せ[1]、血液または血球サスペンションに一樣なズリ応力を与え、層流中の赤血球の挙動を直接観測する装置に画像処理技術を加え、一応満足できる装置を作り上げた[2]。次に、連銭形成速度測定と生化学的方法とを組み合わせる系統的な実験を行い、連銭化のメカニズムを定量的に研究した。以下、次の順に述べる：

- A. 連銭形成速度の測定
- B. 連銭形成速度の支配要因
- C. γ -グロブリンによる連銭形成促進

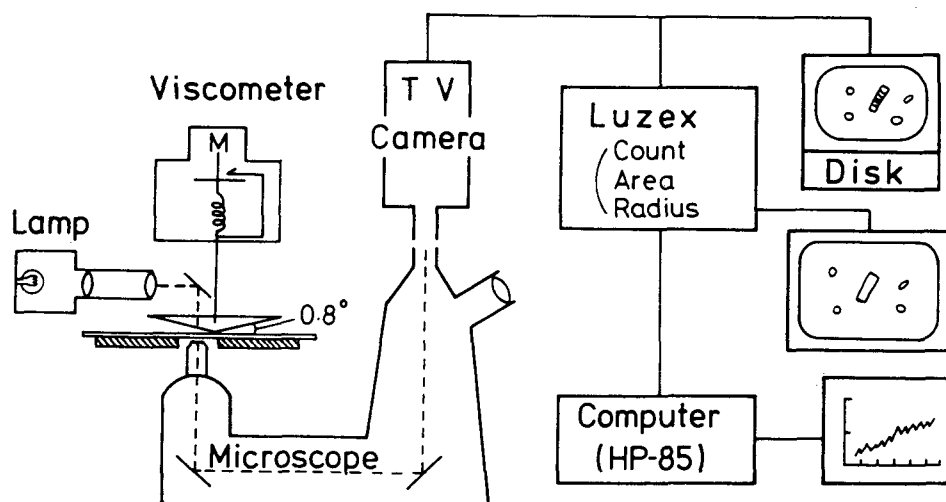


図2 測定装置

倒立顕微鏡のステージ上に円錐－平板粘度計を固定し、画像を粒子自動解析装置により解析する。円錐をゆっくり回転させるとき、円錐－平板間に注入した赤血球浮遊液には均一なズリ応力がかかる。赤血球の連銭成長速度は「粒子の投影面積／全粒子数」の増加速度として表現できる。図では省略したが、ステージ上には恒温装置を付加してある。

A. 連銭形成速度の測定[2]

(1) 装置(図2): 赤血球と希釈血漿を混ぜて層流中で一定ズリ応力を与えると連銭ができて成長する。流動する粒子(個々の赤血球、連銭)の顕微鏡TV画像を粒子解析装置を利用して、粒子の数と投影面積を連続計測させる。単位時間中の粒子1個当りの投影面積増加を算出すると、粒子の一次元成長(すなわち連銭成長)の速度が得られる。

(2) 反応速度論[3]に基いて適当なパラメーターをあたえて計算機実験をすると、実測の連銭形成とほぼ一致する計算結果が得られた[4]。したがって、集合形成速度は「連銭形成期の投影面積/数の増加($\mu\text{m}^2/\text{min}$)」で表すことができる。「1視野当りの粒子数」を単一赤血球(モノマー)と連銭(ポリマー)に分け写真上で時間経過を計測すると、実測と理論計算がよく一致した。尚、「1連銭に含まれる赤血球数」の分布は、反応初期にはPoisson分布をとり、末期には Gauss 分布となると理論的に予測されていたが、この事も反応経過中の写真から確認できた。

B. 連銭形成の支配要因

(1) 連銭形成に関与する力: 連銭における赤血球間の結合について結合力と離解力のバランスをChien & Jan[5] は定性的に次のようにまとめた;

①面間に入り込んだ多数の巨大高分子物質により結合する、例えば血漿蛋白、人工高分子が面間に入って架橋する。

②赤血球表面の負電荷は面間に静電反発力をあたえる: 特に膜表面糖鎖のシアル酸が重要である。

③面と面とが平行にある間隔で接合し接合面積を最大にするため膜が変形する事が重要であり、膜変形に対する抵抗が大きいと接合できない。

④強いズリ応力を与えると連銭は離解する。

(2) 連銭形成速度の変動因子

私達のごく希薄な赤血球サスペンションについて、(a)赤血球側の性質を人工的に広範に変化させ、或は(b)溶液側の組成を系統的に変化させ、これら全てを生化学的に定量した上で連銭形成速度に対する諸要因の影響を解析した。

a. 結合サイト

高分子化合物が赤血球の面間に入って架橋することについて、(a)多糖類dextranのように特定の結合サイトが考えられないものでは、面間に絶縁体が入り込んで静電反発力を低

下させる、一方(b)蛋白の場合、私達はかなり構造特異的なサイトがあつて面に結合する、と考えている；以下、研究結果を要約する。

①血漿IgGによる連銭形成はIgG断片(FaまたはFc)により抑制される、多発性骨髓腫タンパクによるものも同様である[6]。②Fibrinogenによる連銭化はalbuminやpolyglutamateにより抑制されるが、低分子dextranでは抑制されない；高分子dextranによる連銭化は低分子dextranで抑制されるが、polypeptideでは抑制されない；つまり多糖類と蛋白では結合機構が異なる[7,8]。③IgG分子の修飾により連銭形成促進の程度が大きく変わる[9]。④Fibrinogenを逐次水解して、各断片について調べるとA α 鎖(のアミノ酸残基207-303)が連銭形成に対し最も重要であつた[10]。⑤赤血球表面の蛋白も重要である(次項)。

b. 表面荷電

①赤血球表面のシアル酸は酵素により水解でき、この負電荷を除去すると集合が起こり易いことが知られている。私達はFibrinogen架橋とシアル酸量、及び赤血球の細胞電気泳動度との関係を詳細にしらべ、これらと連銭形成速度との関係を定量的に解析した[11]。

②続いて、赤血球表面蛋白を酵素的に水解し、蛋白表面の糖鎖を除去し、Band 3蛋白(負イオン輸送系)を水解しその上の糖鎖(ABO血液型に関係する)を外しても、Glycophorin Aを切断してその上の糖鎖(MN型)を外しても、連銭形成速度が増加する。この場合、シアル酸はまだ半分ほど残っているが、シアル酸の殆ど全部をneuraminidaseで外した場合より連銭化は促進している[12]。

③赤血球2量体で面間の重なり面積が変わる場合、膜のslidingとrollingと2つの機構の内、多分rollingが起こっているだろうという[13]。赤血球表面と血漿蛋白との結合サイトにはこの種の糖蛋白が関与している可能性が高いとすると、膜表面の結合サイトがある程度は膜表面を移動できる事になる。

c. 膜の変形能

赤血球膜の裏打ち構造蛋白スペクトリンを重合させると連銭化が抑制される。赤血球膜をdiamideで酸化し、-S-S-重合の程度を膜蛋白のSDS電気泳動により定量した結果、スペクトリンを3%程度重合させると連銭化の阻害が起こつた[14]。

d. 温度とpH [15,16]

①pH 5.5-8.5の範囲ではpHの高いほど速度は高い；高pHでは若干脱水して赤血球の偏平化がおこり、低pHでは若干膨潤して球状化するのが主因である。

②連銭形成速度は30-40度Cではほぼ一定だが、30度から18度迄は温度低下につれて速度は

低下する、15度以下5度まで低下するとき速度は急増し3次元集塊が増す。

③たとえば、局所体温の低下により血液の低温化・酸性化が起こっても、15度Cまでなら連銭化の促進は起こらないと考えられる。

e. 赤血球の老化の影響[17,18]

赤血球は体内循環中に老化する、老化した赤血球では連銭形成速度の促進が認められた。私達の観測した現象は次の2つである。①ラットにヒトのrecombinant Erythropoietinを投与して若い赤血球を増加させると、連銭形成速度は低下した[17]。②ヒト赤血球を老・若2分画をとって比較すると、老化赤血球の方が連銭化の速度が早かった[18]。この現象の解釈は複雑なので[19]、考察はここでは省略する。

C. 実験の再現性と血漿γ-グロブリン含量

連銭に関する実験の再現性を確認するための研究から、実験動物をクリーンに飼育する事の重要性が浮かび上がる。

①連銭形成速度の”正常値”を知るため健康男子11名について調べた(表1)。いずれも自己血漿中で起こった連銭形成である(平均値±標準偏差で示した)。個人差を示す変動係数(標準偏差/平均値)は17%であった(表1右欄)[2]。

表1 連銭形成速度と赤血球指数および血漿蛋白の分画

		SPFラット (n=6)	健康男子 (n=11)
連銭形成速度($\mu\text{m}^2/\text{min}$)		4.2 ± 0.7	5.2 ± 0.9
赤血球			
MCV	(μm^3)	57.2 ± 1.8	90.3 ± 3.1
MCH	(pg)	20.5 ± 0.6	30.6 ± 1.1
MCHC	(g/dl)	35.8 ± 0.5	34.0 ± 0.5
血漿			
総蛋白量(g/dl)		5.0 ± 0.1	7.2 ± 0.6
蛋白組成(%)			
アルブミン		54.4 ± 1.8	58.6 ± 3.8
α_1 -分画		19.0 ± 1.7	4.1 ± 1.0
α_2 -分画		4.5 ± 0.8	6.6 ± 1.4
β -分画		15.1 ± 0.7	10.1 ± 1.1
γ -分画		1.7 ± 0.1	10.7 ± 2.2
ϕ -分画		5.1 ± 0.5	9.7 ± 2.9

ラット体重(g)274.0±4.0(n=6)。血漿蛋白分画はセルロース・アセテート膜電気泳動法。連銭形成速度の個体間変動係数はラット(n=6)もヒト(n=11)も17%である。

②同様に、SPFラット赤血球の自己血漿中の連銭形成速度を見ると、同じく変動係数17%のデータを得るためにはサンプル数は6匹でよいことが判る(表1左欄)[4]。これはヒトのFibrinogen(φ-分画)量とγ-globulin量の個体間変動が、ラットの変動に比して、はるかに大きい事が原因である。

③いま一つ、ラットの連銭はSPF動物では図1右の様に赤血球が20個30個と一次的に連なる。しかし、感染したラット(病原体不明の”風邪ひき”?)ではγ-globulinが増加し、三次元的な集塊をつくる(短い連銭が縁-縁・縁一面で結合して”かたまり”となる)。ヒトの場合も、自己血漿にIgGを添加するとその量に応じて速やかに三次元集塊をつくる。多発性骨髄腫では特にこの傾向がつよい。

この様に連銭化が速く大集塊を作り易い場合、その血液は末梢循環中の低流速領域で高粘度となり、微小循環ではヘモレオロジー実験の再現性が悪い。また、このようなラットでは末梢循環・微小循環の実験結果も不安定となるだろう。さらにこの予言を延長すると、血液の流れている臓器についての生理実験にも問題があるだろう。購入時にはSPF動物であっても、ある期間飼育する場合は時々血清γ-グロブリンを測定した方がよい、これは血液レオロジー専門家としての私の意見である。

おわりに

赤血球連銭形成速度の測定法の概略と私達の装置によって定量化できた種々の現象とそのメカニズムについてを述べた。最後に、γ-グロブリンによる連銭化促進に注目し、実験動物のクリーンな飼育によりγ-グロブリン量を増加させない様に要請した。

[謝辞：共著者の愛媛大学医学部・第2生理の前田信治教授ほか多数の新・旧教室員に感謝します。]

文献

- 1) Schmid-Schoenbein, H., Gaehtgens, P. und Hirsch, H.: Eine neue Methode zur Untersuchung der rheologischen Eigenschaften von Erythrozyten Aggregation. Pfluegers Arch., 297, 107-114, 1967.
- 2) Shiga, T., Imaizumi, K., Harada, N. and Sekiya, M.: Kinetics of rouleaux formation using TV image analyzer. I. Human erythrocytes. Am. J. Physiol., 245, H252-H258, 1983.

- 3) Oosawa, F. and Kasai, M.: A theory of linear and herical aggregation of macromolecules. *J.Mol.Biol.*, 4, 10-21, 1962.
- 4) Shiga, T., Imaizumi, K., Maeda, N. and Kon, K.: Kinetics of rouleaux formation using TV image analyzer. I. Rat erythrocytes. *Am.J.Physiol.*, 245, H259-H264, 1983.
- 5) Chien, S. and Jan, K.-J.: Red cell aggregation by macromolecules: roles of surface adsorption and electric repulsion. *J.Supramolec.Struct.*, 1, 385-409, 1973.
- 6) Imaizumi, K., Imai, A., Maruyama, T. and Shiga, T.: Inhibition of IgG, F(ab')₂- and myeloma protein-induced erythrocyte aggregation. *Clin.Hemorheol.*, 4, 431-439, 1984.
- 7) Maeda, N. and Shiga, T.: Inhibition and acceleration of erythrocyte aggregation induced by small macromolecules. *Biochim.Biophys.Acta*, 843, 128-136, 1985.
- 8) Maeda, N. and Shiga, T.: Opposite effect of albumin on the erythrocyte aggregation induced by immunoglobulin G and fibrinogen. *Biochim.Biophys.Acta*, 855, 127-135, 1986.
- 9) Maeda, N., Sekiya, M., Kameda, K. and Shiga, T.: Effect of immunoglobulin preparations on the aggregation of human erythrocytes. *Eur.J.Clin.Invest.*, 16, 184-191, 1986.
- 10) Maeda, N., Seike, M., Kume, S., Takaku, T. and Shiga, T.: Fibrinogen-induced erythrocyte aggregation: Erythrocyte-binding site in the fibrinogen molecule. *Biochim.Biophys.Acta*, 904, 81-91, 1987.
- 11) Maeda, N., Imaizumi, K., Sekiya, M. and Shiga, T.: Rheological characteristics of desialylated erythrocytes in relation to fibrinogen-induced aggregation. *Biochim.Biophys.Acta*, 776, 151-158, 1984.
- 12) Maeda, N., Seike, M., Nakajima, T., Izumida, Y., Sekiya, M. and Shiga, T.: Contribution of glycoproteins to fibrinogen-induced aggregation of erythrocytes. *Biochim.Biophys.Acta*, 1022, 72-78, 1990.
- 13) Chien, S., Feng, S.-S., Vayo, M., Sung, L.A., Usami, S. and Skalak, R.: The dynamics of shear disaggregation of red blood cells in a flow channel. *Biorheology*, 27, 135-147, 1990.
- 14) Maeda, N., Kon, K., Imaizumi, K., Sekiya, M. and Shiga, T.: Alteration of rheolo-

- gical properties of human erythrocytes by crosslinking of membrane proteins. *Biochim.Biophys.Acta*,735,104-112,1983.
- 15) Maeda,N., Seike,M., Suzuki,Y. and Shiga,T.: Effect of pH on the velocity of erythrocyte aggregation. *Biorheology*,25,25-30,1988.
- 16) Maeda,N., Seike,M. and Shiga,T.: Effect of temperature on the velocity of erythrocyte aggregation. *Biochim.Biophys.Acta*,904,319-329,1987.
- 17) Maeda,N., Kon,K., Tateishi,N., Suzuki,Y., Sekiya,M., Taniguchi,T.,Seike,M., Nakajima,T., Shiga,T., Tanaka,K. and Shinkura,H.: Rheological properties of erythrocytes in recombinant human erythropoietin-administered normal rat. *Brit.J.Haematol.*,73,105-111,1989.
- 18) Seike,M., Nakajima,T., Suzuki,Y., Maeda,N. and Shiga,T.: Acceleration of erythrocyte aggregation with in vivo aging. *Clin.Hemorheol.*,9,909-922,1989.
- 19) Shiga,T., Maeda,N. and Kon,K.: Erythrocyte Rheology. *Crit.Rev.Oncol.Hematol.*,10,9-48,1990.

はじめに

低酸素条件を主因とするヒトの高度障害については、これまでに多くの報告が出され、その生理的機序も明らかにされつつある。ところが、ヒトに近縁であり、様々な医学・生理学分野でヒトと対比されるサル類では、高度障害に関する知見はほとんど調べられていない。わずかに、筆者も参加した乗鞍山での予備的実験が1例報告されているのみである（竹中、1975）。低酸素に起因する多様な病的状態の発生のメカニズムやそれへの順応など、動物モデルを用いた実験研究は今後必然性が増大するであろうし、サルそのものを対象とした生物学的研究の立場からも、高所適応能への知見を積み上げていくことは不可欠である。短時間の低酸素環境への生理的応答は減圧実験室でも調べることはできるが、様々な制約から何週間にもわたる長期実験は困難である。そして赤血球数の変化など、数時間の急激な減圧暴露では動きをつかめないか、あるいは慢性低酸素環境下とは異なる経過を示す項目もあり得る。そこで、1990年に実施された京都大学ヒマラヤ医学々術登山隊の一部として、サルを実際に高地へ連れて行き、5000mをこす標高での生理反応を調査することにした。

材料と方法

用いたサル（ニホンザル：*Macaca fuscata fuscata*）は以下の二頭である。

個体名	性	登録番号	出生（年齢）	体重（出国時）
ム ギ	♂	長瀬1196	1988, 6(2才)	3.2kg
キュータ	♂	若桜1099	1987, 5(3才)	4.8kg

若齢のサルを対象としたため、採血量が限られることになったので、血液成分の動態と造血系・ストレス系ホルモンの測定に重点をおいて、採血量をなるべく少なくし、またサン

プリングポイントも、1)出国前、2)BC（ベースキャンプ）地点、3)ABC（前進ベースキャンプ）地点、4)帰国後、の4点とした。

日本からサルを中国へ持ち込む場合には、1ヵ月間の入国検疫が義務づけられるため、サル2頭は3月に上海へ送られた。サルの受け取りと検疫を実施したカウンターパートは、上海生理学研究所である。なお、再輸出手続きの関係で、帰路も上海経由とした。

1)サルの行程とサンプリングポイント

1990

- 3/13 大阪空港発送、上海着（出発前に霊長研でサンプリング3/12）
- 4/13 松林（清）上海着、サルと合流
- 4/14 成都へ移動
- 4/17 ラサ発、シガツェ泊
- 4/22 シガツェ発、シガール泊
- 4/24 シガール発、シシャパンマBC着（BC到着後4/27にサンプリング）
- 4/30 BC発、ABC着（ABC到着後5/2にサンプリング）
- 5/3 ABC発、BC着
- 5/5 BC発、シガツェ着
- 5/6 シガツェ発、ラサ着
- 5/8 ラサ発、成都着
- 5/10 成都発、上海着
- 5/12 上海発、大阪着 犬山へ（犬山到着後6/5、7/3にサンプリング）

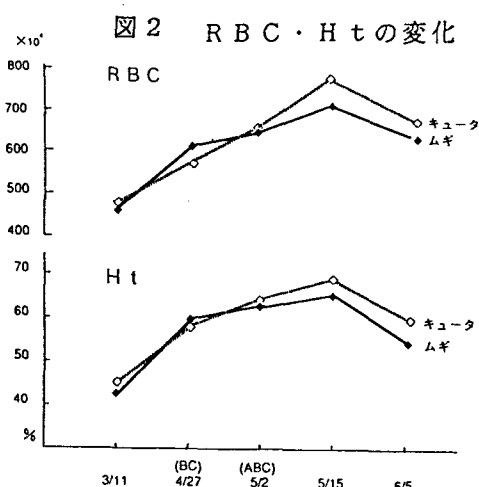
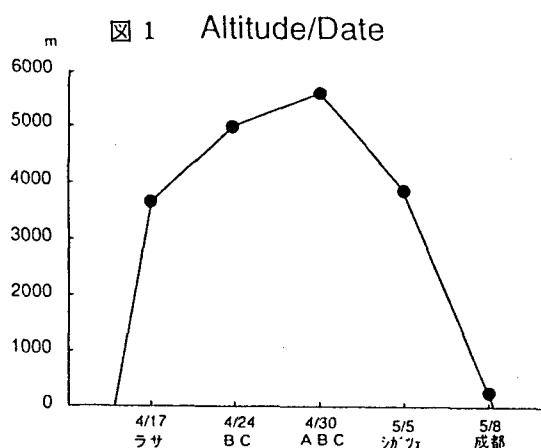
旅程に伴う高度変化を示すと図1のようになる。

4/17のラサ入り以降は、酸素分圧の低下とともに気温の低下が加わった。

サル達は、約3週間かけて、図1のような形の山にかつぎ上げられて登ってきたことになる。なお、彼らの到着最高地点は、ABCの5640mであり、ここの大気中酸素分圧は平地のおよそ2分の1である。

2)採血検査方法と検体の保存、運搬および測定

出国前と帰国後の採血は無麻酔下に橈側皮静脈より行ったが、行動中は、脳波・心電図の記録と同時にケタミンによる全身麻酔下に行った。すべてヘパリン加シリンジで採血し、目的に応じて分離した血漿は液体窒素中に凍結保存して、日本へ持ち帰った。RBC（赤血球）カウントには、簡易ポータブル光電比色計（コンプールM1000、ames）を用いた。呼気中 O_2 および CO_2 分圧の測定は三栄IH26型ガスモニターによって行った。大脳視覚誘発電位（AEP）の記録はTeacHR-30型カセットレコーダーで行い、音刺激はイヤホンを用いて両耳に与えた。各ホルモンは、ヒトのモノクローナル抗体を用いたRIA固相法で測定したので、絶対値については、サルとの交叉性の問題もあってテンポラルなものであるが、測定系には乗せられたものとみられる。心拍、呼吸数は、いずれも朝の給餌後の安静時に触診および視診により数回カウントして、平均値をとった。



結果および考察

1) 血液学的項目

RBCとHtの変化を図2に示す。出国前は400万台であったRBCは、BCでは600万前後に増加し、ABCではさらに増えた。RBCの増加は、帰国後まで続き、5/15では、ラサより平地に下りてから1週間経過しているのにまだ上昇して、キュータの値は800万に近づいている。6/5になってようやく減少に転じたがそれでもABCの値に近い。

HtもRBCとほぼ平行した成績を示し、5/15のピーク値は70%に近づいている。瀬

戸ら（ヒマラヤ学誌1:31-40, 1990）は4350m高度のムスターグアタBCでのヒト（男子）のHt値が約60%にまで上昇したことを報告しているが、今回のシシャパンマABCはこれよりさらに標高が高かったこともあり、このサルでの成績は注目される結果である。乗鞍山（2870m）でのニホンザルの実験（竹中、1975）では、RBC、Htともほとんど動いていない。ヘマトクリット値70%というのは、血液が平地の2倍近くに濃縮されていることを示し、血液の流動性に問題が生じないか懸念されるところであるが、被検体がまだ幼若齢の（2才と3才）個体であったためか、特に症状はみられなかった。いずれにせよ、サル類で報告された最高レベルで、これがサルでの限界値なのか、さらに高度を増せばどうなるのか、興味が持たれる。

エリスロポイエチンの変動とあわせて考えると、RBC、Htのこれらの急増は、血管内から血管外への水分の移動による血漿量の減少に起因する相対的变化というより、むしろ適応の一機序としての血球の産生増加に基づくものと思われる。

2)造血因子

赤血球産生ホルモンであるエリスロポイエチン（EPO）の変化は、さらに顕著であった（図3）。BC入りした時には平地の35～40倍のレベルに達し、ABCでもほぼ同値であった。RBCと異なるのは、下山後の減少が速やかだったことで、5/15には平地のレベルに戻っている。高所適応生理としてのEPO濃度の速やかで顕著な上昇は、ヒトでも前記の瀬戸らの報告で示されている。サルでは、前記の竹中らの実験が唯一の報告であるが、乗鞍でも4倍程度の増加をみせている。本調査ではEPO値のピークが過ぎてしばらく後までRBCの増加は継続したが、赤血球の生産に関わる時間および赤血球の寿命を考えると常識的な動きである。これら赤血球系の高所反応は、被検体がわずか2頭であること、年齢が低いことなどのために、ただちにニホンザル全体の特性として位置づけることは困難であるが、得られた知見の限りでは、低酸素条件下での生理機序の実験研究において、本種は好適なモデルになり得る。さらに、エサや気温などの諸条件を別にして高度だけを考えれば、ニホンザルは相当な適応能を有することがわかる。同じマカカ属でもたとえば河辺林など低湿地を好んで生息するカニクイザル（*Macaca fascicularis*）ではどうなのか、逆に、高地に住むヒヒの仲間やヒマラヤンラングールでの様態はどうかなど、興味の湧くところである。

図 3 Erythropoietine

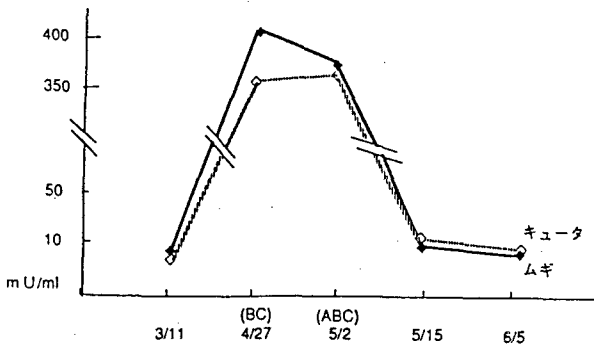
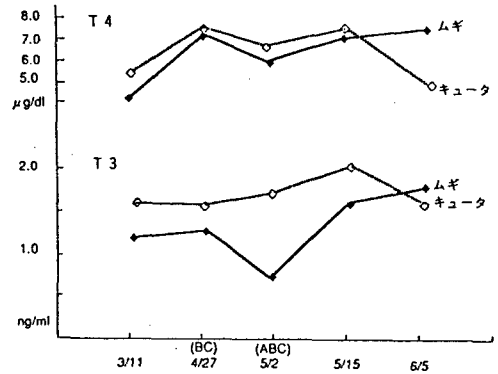


図 4 Thyroxine



3) 水・蛋白・電解質代謝あるいはストレス指標因子

図 4 に T 3、T 4 の動きを示した。これらはもちろん甲状腺機能の反映であるが、循環の亢進や水・蛋白代謝を通じて高所ストレスの指標として捉えることはできないかと期待したものである。しかしながら結果的には高度と関連したような変化は認められなかった。コルチゾールは、最後の 6/5 の値を除くと、ほぼ予想されたような動きをみせた (図 5)。BC、ABC では出発前の 1.5 倍程度の上昇があったが、帰国後 2 回目のサンプル (6/5) は、再び急上昇している。T 3、T 4 の動きは一見バラバラで解釈が困難である。強いて言う、これらホルモ濃度というのは、サンプリング時点での個体全体の生理状況の総合的な表出であって、個々のストレスへの選択的な応答を測定してはいない。高地でのサルには、低酸素という条件の他に、寒冷や初めて見る風景への畏怖、飼い主以外の人間たちの接近など、多くの複合した不快刺激がランダムに加わった。いくつかの刺激が同時にかかって増強されたり、快刺激 (飼い主に抱かれる、好物をもらうなど) と打ち消しあって軽減されたことも当然考えられる。知能が高く、心理的な背景が生理条件に及ぼす影響の強いサル類を実験対象とする時には、常に付随してくる点である。コルチゾールは、ほぼ旅程の高度に沿う変化をみせたが、5/15 の低値は、2 カ月ぶりに霊長研の見慣れたケージに戻った安堵感の反映を思わせる。規則によって帰国後 2 カ月間は検疫舎に収容されたため、ヒトとの接触が急減して 6/5 の高値につながったとも推測されるが、所詮これらはデータに合わせた解釈にすぎず、サンプル数の少ないこともあって確実なことは言えない。

図5 Cortisol

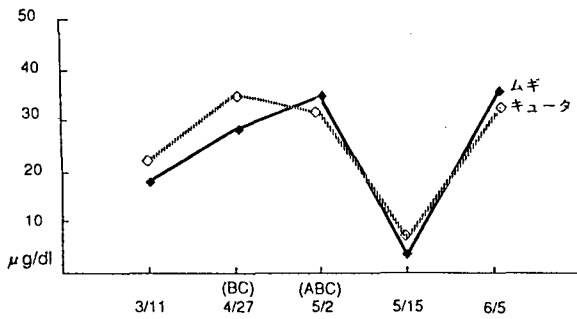
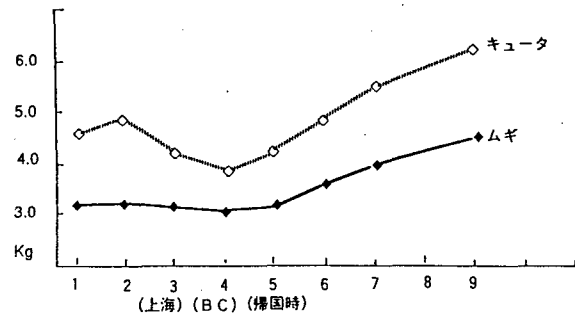


図6 Body Weight



4)その他の生理的な指標

(1)体重

3 - 5月の中国滞在期間をはさむ90年1月から9月の毎月の体重を図6に示した。3月は、前月に比べて低下しているが、これは上海に送られて異環境で孤独に過ごしていた頃の体重である。4月はBCでの値で、食欲の低下や高所障害の症状としての下痢を反映し、最も体重減少の大きい（2月に比べてキュータ20%、ムギ7%の減）月であった。平地に下りてからは食欲も回復し、帰国後は順調な増加をみせた。ニホンザルでは元来この年齢は成長途上であり、特に3才のキュータは、4才前後のいわゆるアドレッセント・スパートの先駆けとして、急な体格拡大を示す頃である。それがヒマラヤ行と一致して途中で大きな落ちこみを見せたのは、やはり大きな負担があったことを物語っている。チョモランマ・サガルマタ三国友好登山隊員の体重変化について平田らは（ヒマラヤ学誌1:119-126, 1990）、平均5%、最大20%の減少を報告している。2頭のサルは成長途上での減少であり、アダルトのサルではどの程度の減少を見せるかわからない。ヒトが短期に海外出張しても普通は体重が減るし、特にこの指標が高所ストレスに関連したものとは言い難いが、サルの場合は予断が働かないため、より素直に体調を反映する。いずれにせよ、体重はエサの摂取量、消化率、エネルギー消費量、体水分蒸散、尿量などが関与するので、本成績もそれらの総合的な収支の表れである。

図7 呼吸数・心拍数の変化

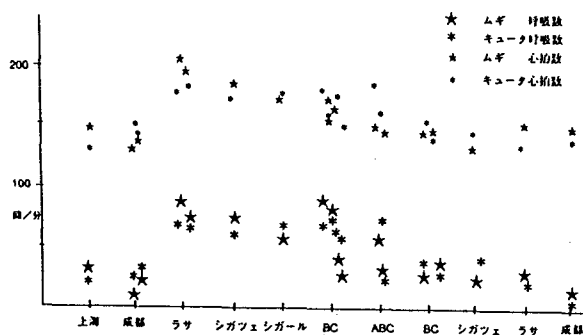
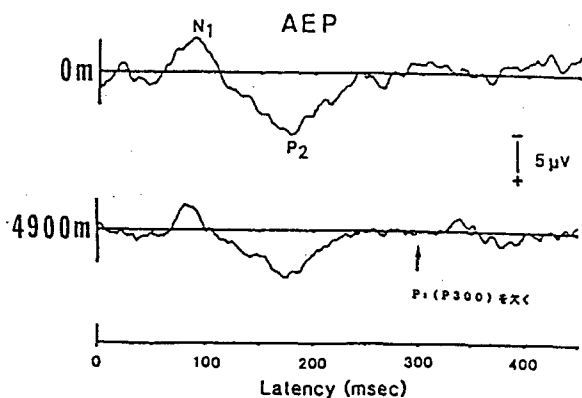


図8 大脳誘発電位



(II)呼吸数、心拍数

これらは、測定時の条件が結果に大きく影響するので、主に給餌後の安静時に4-5回測定して、平均値をその日の数値として表わした(図7)。上海・成都における140/分程度の心拍数が、ラサで約36%増加した。同様に呼吸数はラサに入ると約2.5倍(20/分→70/分)に急上昇している。乗鞍山での竹中の実験でも、脈拍は13-89%増加しているが、呼吸数は大きく変化していない。肺の換気量は呼吸数のみでは計れないので厳密な指標ではないが、一つの手がかりとしてみることはできよう。本調査では以後、シガツェ、シガールと、徐々に落ちつく傾向をみせた。ムギの呼吸数がBCで一過性に増えたが、これは寒さで風邪をひいて、39.4℃の熱を出した事によるものと思われる。心拍数と呼吸数はほぼ平行に推移したが、同じ高地でも時間の経過と共に漸減し、帰路のBC、シガツェ、ラサでは、往路に比べて呼吸数は約2分の1に、心拍数は83%に減少した。図7では詳細が明らかでないが、同一地点での測定でも日を追うごとに両値は低下している。適応の結果と思われる。

無麻酔で安静時の呼吸・心拍が適宜計測できたのは、ヒトによく慣れて直接の接触を忌避しない人工哺育サルを用いたメリットの一つである。

(A)呼気中のCO₂、O₂分圧

犬山(平地)、BC(4900m)、ABC(5500m)3地点での呼気のガス分圧は、表1に示すような成績であった。ほぼ高度に対応した低下が認められる。本データに示した呼気のガス分圧は、肺胞気のガス分圧に等しいと推定される。サルの呼気O₂分圧は、すべての高度でヒトの値にほぼ等しい。高度0mにおけるサルの呼気CO₂分圧はヒト(40mmHg)

のそれよりも高い。高度5500mにおけるサルの呼気 CO_2 分圧はヒト（22mmHg）のそれにほぼ等しい。

(二) 大脳聴覚誘発電位（AEP）

図8に、0mと4900m地点での比較例を示す。N1-P2成分が平地（0m）のコントロール値に比べてBC（4900m）では減少した。ヒトでみられるP3（P300，潜時300msec前後で現われる）は発生していない。これは麻酔下で記録したためと思われる。

表1 呼気中酸素および炭酸ガス分圧（mmHg）

高度	ムギ		キュータ	
	O_2	CO_2	O_2	CO_2
0m(犬山)	106	56	101	48
4900m(BC)	66	31	65	28
5500m(ABC)	61	22	60	18

まとめ

既述のように、ニホンザルを高所に連れて行って実験を行ったのは、乗鞍山（2870m）での竹中の例が唯一のものであり、5000mを越すヒマラヤでの試みは初めてである。

BCへ入った翌日にムギは高熱を出してダウンした。BCのテントでの最初の夜は、暖房手段を講じる余裕もなかったが、飲水瓶の中身も凍る寒さで、風邪をひいたものと思われる。キュータの方はくしゃみをしてしたが、発熱は見られなかった。ムギの症状は抗生物質、鎮痛解熱剤の投与と保温で、2日間で消失した。ABCではキュータが軽い下痢と嘔吐を示したが、半日ほどで回復した。このように、高所障害とみられる症状が軽微であったことは幸いであった。筆者の感じでは、保温にさえ配慮すれば、ニホンザルでは6000m程度の高度には順化できるのではないと思われる。ただし、ハマトクリットの上昇がきわめて大きいため、アダルトの動物では、血球除去などの処置が必要となる可能性は

ある。今回、きわめて限定されたものとはいえ、5000mクラスの高地のサルの適応の様態に関して、いくつかのまったく新しいデータを得られたことは、意義を持つものと言える。さらに綿密な実験動物学的考究のためには、今後サルの性や年齢・頭数等の点で統計学的な検討に耐えるようなデザインでの本格調査が必要となろう。

”初めてヒマラヤへ登ったサル”の記録として、今回の調査の成績を以下のようにまとめて、新しいチャレンジへの道標としたい。

(1)標高4000mを越える地点からは、EPOの急上昇と呼応してRBC、Htの大巾な増加がみられ、ヒトと同様の適応が行われる。RBC、Htの増加は、EPO減少後もしばらく持続する。

(2)ストレス指標系ホルモンは、複合するいくつかの要因によって複雑な変化を示し、低酸素ストレスのダイレクトな反映としてはつかみにくい。

(3)長期の心身のコンディションを総合的に把握するには、むしろ体重の方が適している。

(4)呼吸数、心拍数は、発熱などの発症時を除けば、高所への適応過程をよく示し、高所での日数の経過にしたがって大巾に低減する。

(5)呼気中のCO₂、O₂分圧は、高度に対応した減少を示し、ヒトの成績とほぼ等しい。

文献

1. 瀬戸嗣郎、出水明、松沢哲郎(1990)、低酸素環境下における人体の順応機序—血液学的研究、ヒマラヤ学誌 1:31-40.
2. 平田和男、斉藤惇生、増山茂(1990)、チョモランマ・サガルマタ三国友好登山隊の医療報告(1)、ヒマラヤ学誌 1: 119-126.
3. 竹中修(1975)、乗鞍山に登ったニホンザル—霊長類の高山環境への適応、モンキー 149:26-29.

ニホンザルは、アカゲザル、カニクイザルと同じく真猿類、オナガザル科のマカカ属に属し、下北半島を北限として我が国に広く生息する唯一の霊長類であって、また世界の最北端に生息するサルであることも知られている。(図-1)とくに下北半島の吹雪の中で寒さに耐え忍んでいる姿や、信州・志賀高原の地獄谷では雪の中で温泉に入っている姿などはよく知られているところである。

(図-2)ところで、アジアに生息するマカカ属サルはほとんどが熱帯から亜熱帯地方の温度のほぼ一定した、高温で食べ物も豊富な地域に生息しているのに対して、ニホンザルは四季が明瞭で温度差が30~40℃もある過酷な条件の地に生息するという点が大きく異なっている。

図1. ニホンザルの群れの分布 (竹下, 1964)

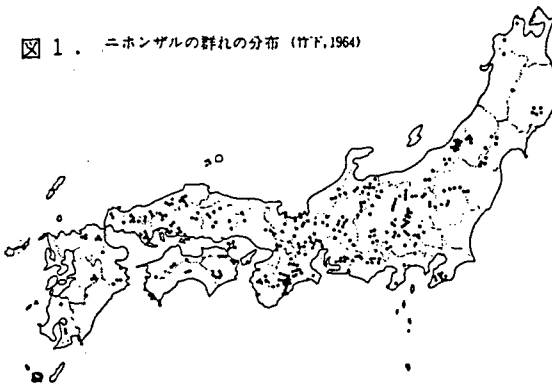
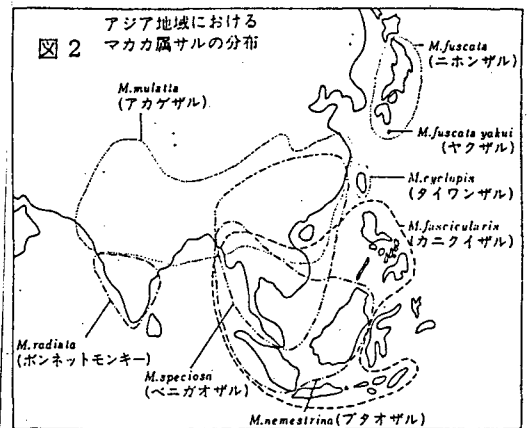


図2 アジア地域におけるマカカ属サルの分布



(図-3) これらのことに恐らく関係すると思われるが、カニクイザル等の真猿類では、一般に、出産がある時期に多いというものの、繁殖は年間を通して可能である。(図-4) これに対して、ニホンザルは地域によって多少の差はあるものの、交尾期は秋から冬にかけて、そして出産期は新緑の頃の4月から6月頃にあつて、その後、夏場にかけて非交尾期となり月経も見られなくなる。すなわち、1年の一時期のみに出産が集中することになる。

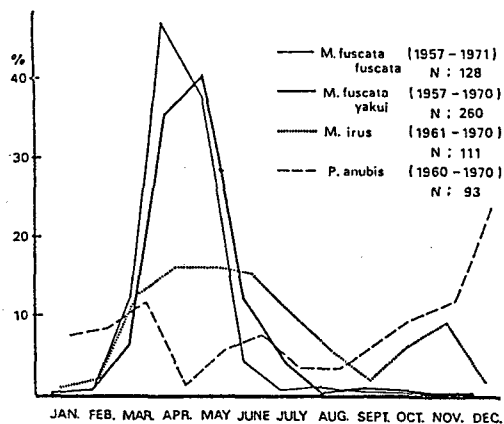


図 3 Comparison of birth seasons among various species.

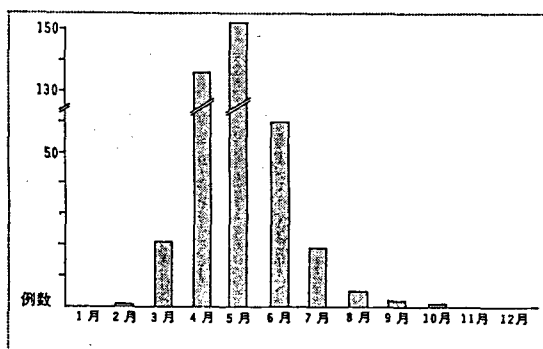


図 4 月別の出産数 (愛知県犬山野狼公園の場合)

(図-5) また出産間隔も哺育の有無や期間、離乳時期とも関係するが、野生では通常2年に1回の割合で出産がみられる。ニホンザルがこの様に1年の内の一時期にのみ交尾期そして出産期があると言うことは、逆に考えると、出産そして哺育、さらに子供の生育を容易に行うために、食べ物の多くある時期を選んでいる様にもとれる。この様にマカカ属サルの中でも、ニホンザルは交尾期と非交尾期がはっきりと分離されていると言う点が他のサル類と大きく異なる点であり、生殖生理学的にも極めて興味ある点である。私共はこの様な現象を内分泌学的観点からメスとオスの両方面からその機構について分析を試みようとしている。とくに、この非交尾期というのは、交尾が見られないと言う意味合、すなわちbehaviorの面だけでなく、交尾をしても妊娠しない、いわゆる不妊の時期でもあると言うことである。しかもこの不妊現象は、秋から冬にかけて再び完全に正常な月経周期状態に戻り、妊娠が可能になると言う可逆的なものであることが、いわゆるヒトでいう不妊症と異なっており、この機構の解明はヒトの不妊症の治療と共に避妊法への応用にもつながるものと考えられる。そこで、ここでは非交尾期の不妊の機構について、内分泌学的に検討を加え、今までに知り得た成績を紹介させて頂くが、一部は現在も進行中のものもあって、いまだ不十分なデータであり、推測の域を脱していないものも多くあることを予めお断りしておく。

これと同時に、今回は、野生動物としてのニホンザルの保護、そして医学研究における実験利用の両立を考え、室内終年繁殖を目指した人工繁殖法について一つの試みを行っているので、その現況についてもお話させて頂く。

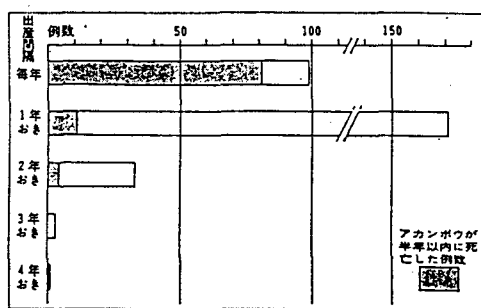


図 5 出産間隔 (愛知県犬山野猿公園の場合)

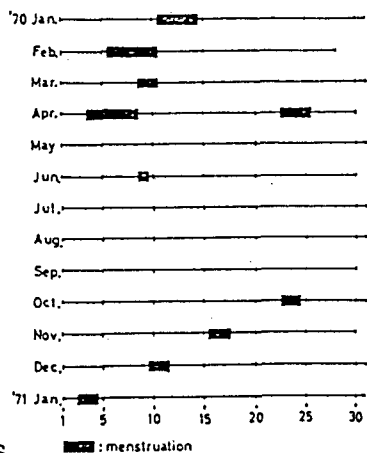


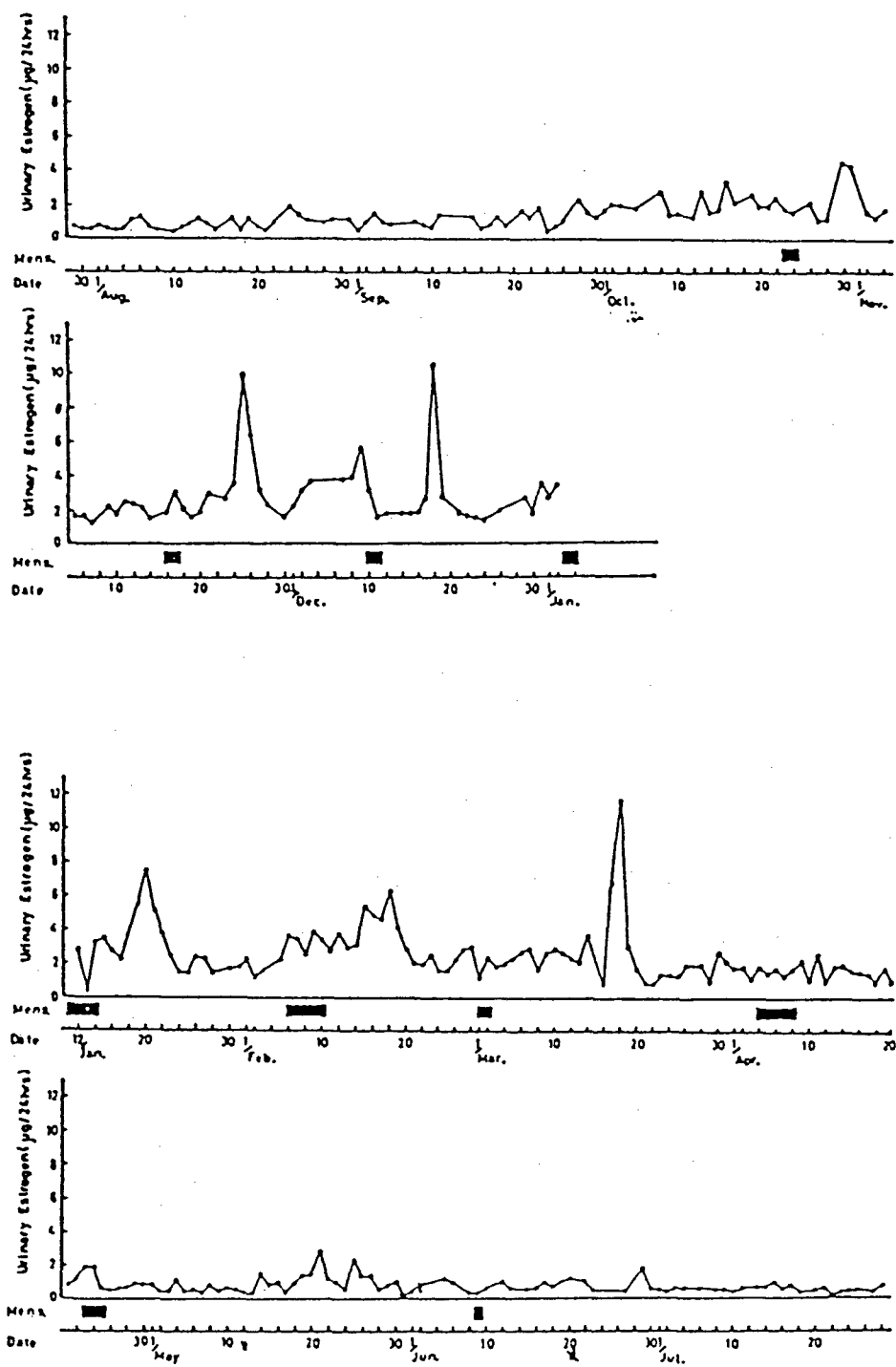
図 6

Menstrual cycles throughout one year in Japanese monkey.

(図-6) ニホンザルのメスには月経がみられることから、この月経の観察によって性周期の有無や期間を容易に確認できる(ただ、月経周期内にみられる排卵の有無は、月経の有無からだけでは判断できない)。月経の年間の頻度をみると、月経は秋から冬、そして春にみられるが、およそ28日を周期とする規則的な月経は秋から冬にみられ、その前後の時期は周期の乱れや出血の期間、出血の量等に乱れが生じてくる。とくに夏の時期には大部分の個体で無月経に陥る。この現象を尿中のEstrogen(E)を指標に年間の推移をみた大沢らの成績でみると、(図-7) 周期的な月経がみられる時期には尿中のEも規則的な増加、減少の動きがみられ、排卵を伴っていることが予想される。しかし夏季の無月経の時期には値も低くなると共にその変動が無くなってしまっている。

(図-8) これはまた別に、松林らが行った成績であるが、血中のE、P(Progesterone)何れも11月から4月頃の交尾期の時期に規則的な変化がみられるのに対して、5月頃からは、月経が無くなるとともに血中のホルモンの変動も無くなっている。これらの成績から夏の時期は無月経と共に無排卵の状態にあることが推測できる。これをより明確にする一つの方法に、腹腔鏡によって卵巢、子宮を直接観察してみる方法がある。

(写真-1) これは、6月から無月経となった個体の、8月に腹腔鏡観察を行った時の卵巢の写真である。写真にみられるように、卵巢は白っぽく小さく、表面に凹凸もなく、わずかに古い黄体が残っている程度であり、新しい卵胞の发育や黄体の形成は全く認められず、休止状態にあることが分かる。



☒ 7 Urinary total oestrogen changes in *M. fuscata fuscata*.

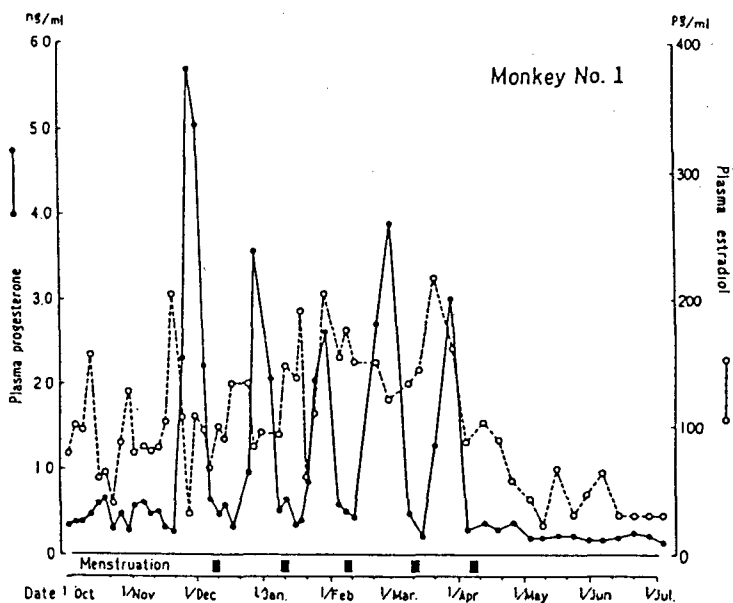
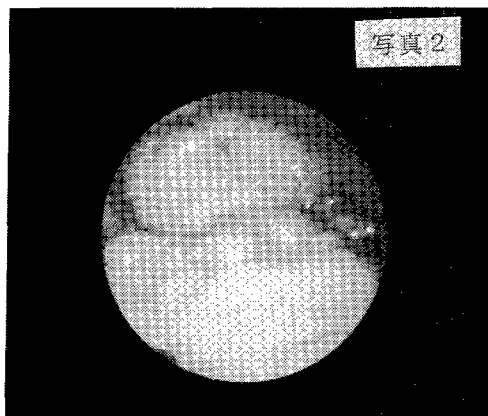
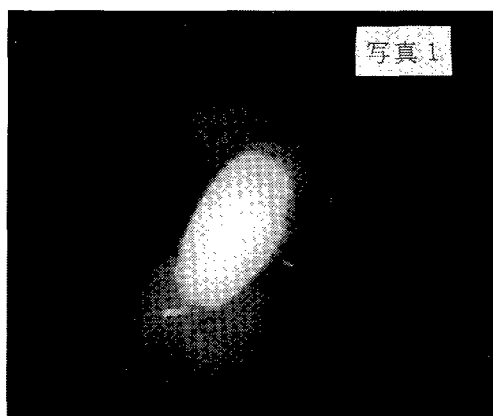
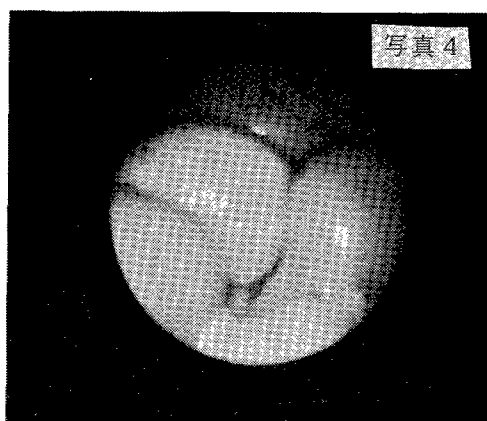
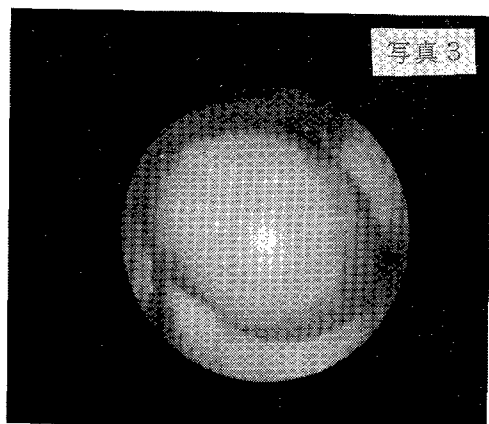


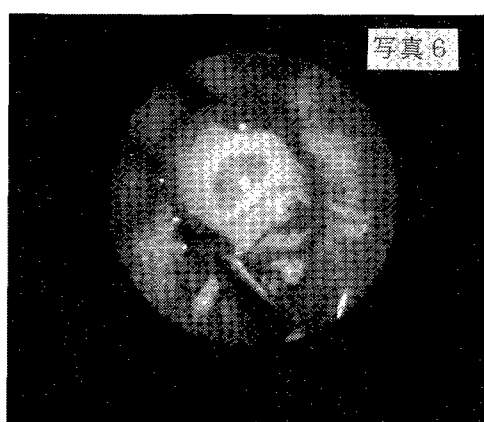
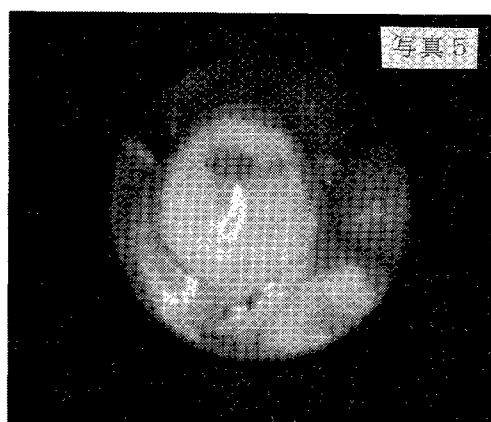
図 8 Plasma estradiol and progesterone levels and menstrual cycles in Japanese monkeys. Monkey No. 1



では、このような卵巣の休止状態はどのような機構の基に生じるのか、次に検討を加えてみた。すなわち卵巣の機能は、視床下部-下垂体の支配下にあることは衆知の所である。そこでこれらの機能を検討するために、まず、卵巣自身の機能状態をみる意味で、性腺刺激ホルモンであるPMSGを投与したところ、(写真-2) 写真-2はPMSGを投与する前の卵巣と子宮を示しているが、この様に卵巣は子宮に比べて大変小さい状態にあることが分かる。(写真-3) この様な状態に、PMSGを連日投与すると、卵巣は7~10日目には写真に見られるように卵胞が大きく発育することが分かり、腹腔鏡観察下においては、いつ排卵してもおかしくない状態にあると判断できる。(写真-4) その時の卵巣と子宮の大きさは、先の投与前に比べて、卵巣が子宮と同じ位に大きくなっている。(図-9) この時の血中ホルモン値の動態をみてみると、PMSG投与後は卵胞の発育と共にEが徐々に増加を示してい



ることが分かる。すなわち非交尾期の卵巢は、性腺刺激ホルモンによって反応できる状態にあることが分かる。しかし、このままPMSGのみを打ち続けても、腹腔鏡観察下において、卵胞の張りは徐々に無くなり、卵巢自体はむしろ小さくなって、ついに排卵には至らないことが分かった。それを裏付けるかのように、血中LHが増加していないことが、この図から読み取れる。すなわち、Eのフィードバックによっても視床下部-下垂体は十分に活性化されずLH-RHそしてLHの分泌が依然起こらないことを示している。(写真-5)そこでPMSG投与によって卵胞を発育させた後、hCGを投与したところ、排卵を誘起させることが出来た。この写真は、そのときの排卵した後を示す排卵孔を示している。この排卵孔は通常排卵後約10～12時間内ではっきりとみられる。

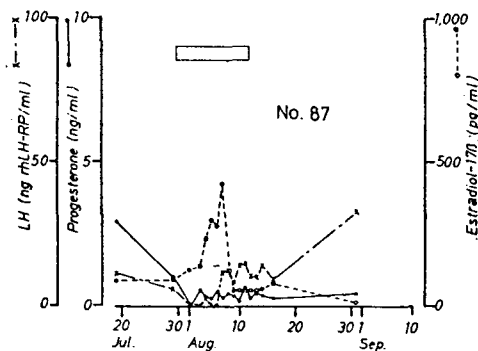


(写真-6) この写真も同じく排卵孔を示しているが、この様にいくつも排卵する例もある。

(図-10) この時の血中ホルモン値の動態をみると、hCGに切り替えたことによってEは減少を示し、代わってLH/hCGが増加し排卵に至っていることが分かる。矢印が排卵を示している。即ち、卵巢はLHの分泌があれば排卵できる機能を持っていることを示している。

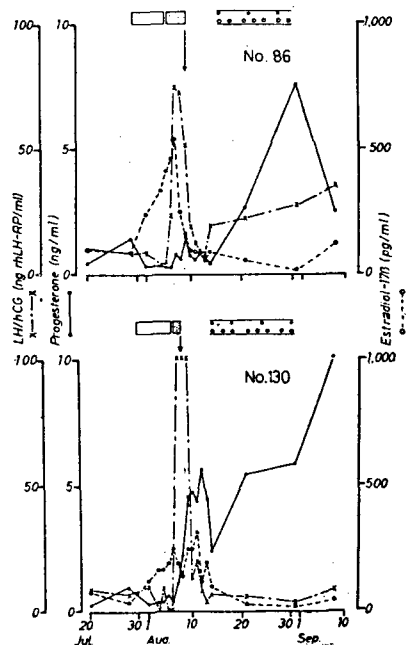
☒ 9

Serum LH, Estradiol-17 β & Progesterone Levels after PMSG Administration in Female Japanese Monkey at Non-mating Season



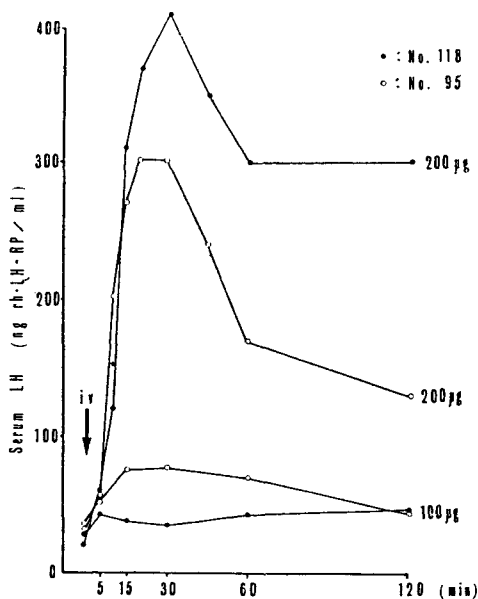
☒ 10

Serum LH/hCG Estradiol-17 β & Progesterone Levels after PMSG-hCG Administration in Female Japanese Monkeys at Non-mating Season



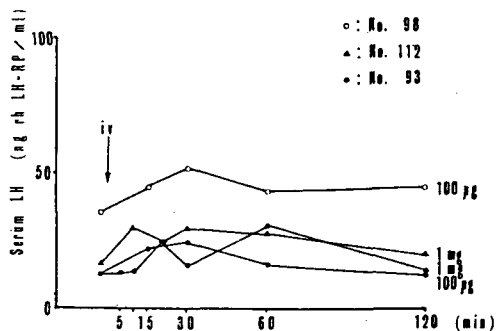
☒ 11

Serum LH Levels after LH-RH Administration in Female Japanese Monkeys at Mating Season



☒ 12

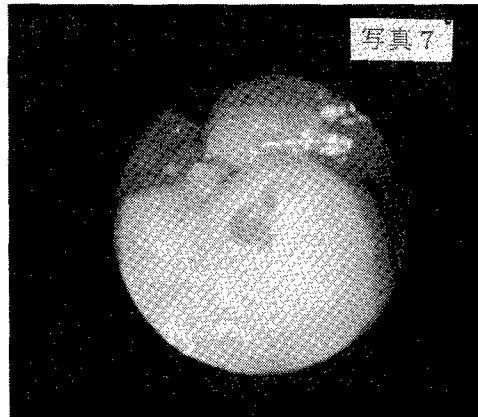
Serum LH Levels after LH-RH Administration in Female Japanese Monkeys at Non-mating Season



そこで、下垂体の機能をみるもう一つの方法として、LH-RHを単独で1回投与し、血中のLH値の推移を、交尾期の冬季と非交尾期の夏季で比較を行った。

その結果、(図-11) 交尾期の冬季においては、投与後およそ15～30分で血中LH値が明らかに増加を示していた。このことは、当然のことながら交尾期の下垂体はLH-RHに反応して下垂体からLH分泌が行える機能を持っていることを示したものと見える。

(図-12) 一方、夏季の非交尾期に同様にLH-RHを1回投与してみると、図に示したように、交尾期にLHが増加を示す量のLH-RHの投与によつては、全く反応を示さず、1mgもの大量投与によつても依然血中LH値に増加がみられず、夏場の非交尾期にはLH-RH投与のみでは下垂体は何等反応を示さないことが分かった。これらの成績は、夏季のメスニホンザルにみられる無月経と無排卵の状態は、視床下部-下垂体-卵巣系の中の視床下部-下垂体の機能が低下したことによつて生じているらしいことを示している。



(図-13) そこで次に、PMSGによつて卵巣を发育させた後、視床下部から分泌されるLH-RHの外部からの投与を試みた。その時の血中ホルモン値の動態は、PMSG投与によつて先にも示したようにEが増加を示し、その後LH-RHを投与したことによつて、血中LHが明らかに増加を示していることが分かる。

(写真-7) そして、排卵が行われたか否かを確認するため、腹腔鏡での観察を行ったところ、排卵したことを示す排卵孔が確認出来た。この写真は、その排卵孔を示しているが、非交尾期にPMSGとLH-RHを投与することによつて排卵を誘起できることが分かった。

(図-14) これらの成績をまとめてみると、非交尾期のニホンザルはPMSG投与のみでは、卵巣から分泌されたEが視床下部および下垂体を刺激してもLH分泌にまでは至らない、しかし、PMSGにLH-RHを加えることによつて、LH分泌が生じ、かつそれは排卵を起こさせることが出来るだけの量が分泌されていたことを示していた。即ち、PMSG投与のみでは卵巣から

図 1 3

Serum LH, Estradiol-17 β & Progesterone Levels after PMSG-LH-RH Administration in Female Japanese Monkeys at Non-mating Season

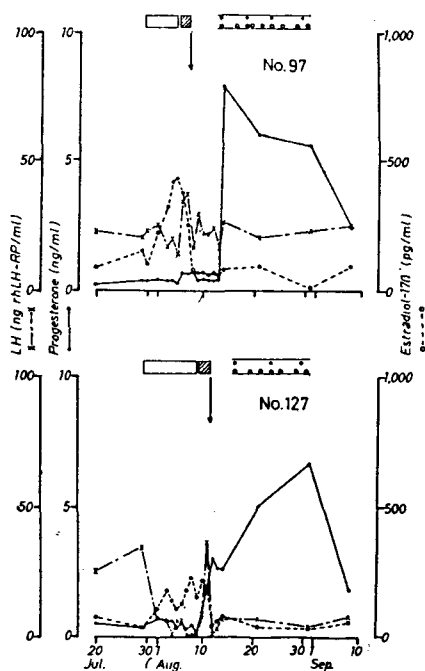
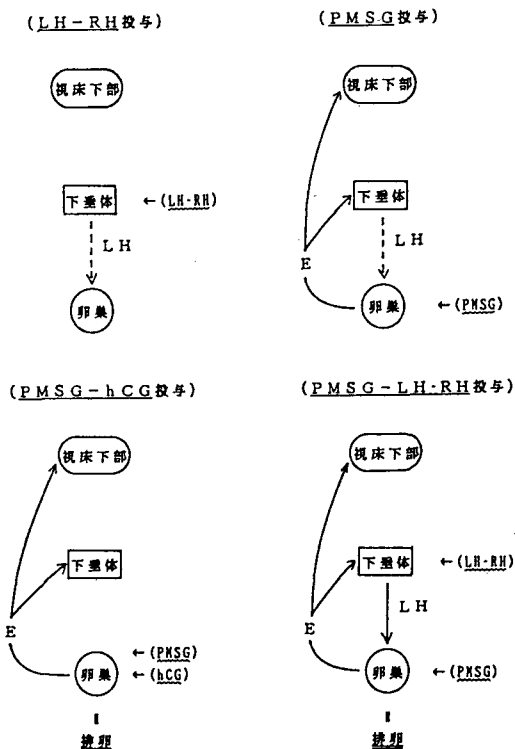


図 1 4

非交尾期のメスニホンザルの視床下部-下垂体-卵巣系

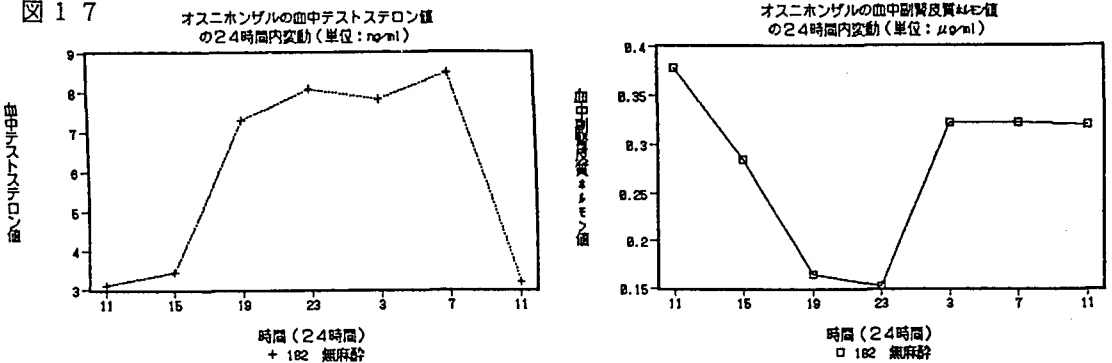


分泌されたEは下垂体に存在するレセプターと結合し下垂体を賦活化させてはいるが、視床下部からのLH-RHが分泌されなかった結果LHの分泌がみられなかったと考えられる。しかし、外部からLH-RHを投与することによってLH分泌がみられたことから、Eによって賦活化された下垂体はLHを分泌出来る状態にあったと考えられる。一方、視床下部は、Eの刺激によってもなお十分に賦活化せず、LH-RHを分泌できるまでには至らず、いまだ機能抑制状態にあることを裏付けていると考えられる。すなわち、夏季のメスニホンザルにみられる無月経と無排卵状態は、視床下部-下垂体-卵巣系の中の、視床下部の機能低下によって生じているらしいことが明らかとなった。

このような非交尾期の夏季にみられる無月経、無排卵状態は、一定の温度、湿度条件で長期飼育を行っても変化がみられないことが知られており、(図-15) この図は私共の大学で約7年余り一定の温度、湿度そして一定の照明時間の環境下で飼育していたサルの最近の月経の観察記録であるが、依然として夏季の無月経という現象には変化が生じていないことが分かる。すなわち、非交尾期のメスニホンザルにおいては、光周期、フェロモン、

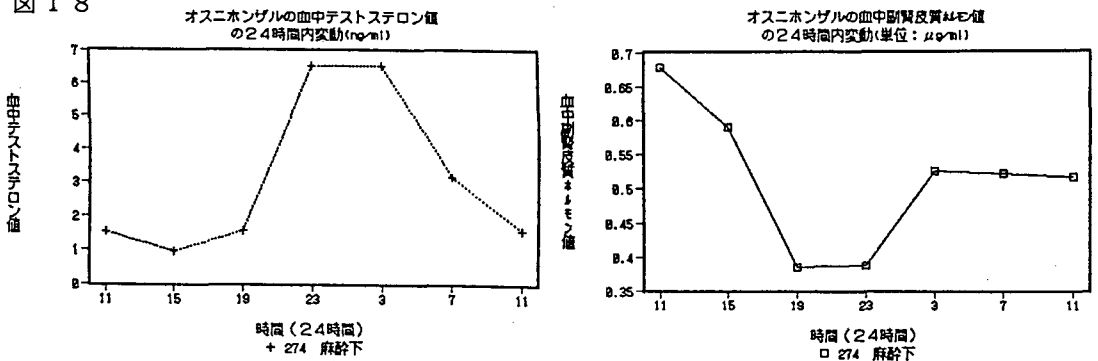
間のバラツキが極めて大きく、平均値として比較すると、年間に変動がみられないことになる。ただ、5月の淡路島でみられた2頭の高い値を除くと、4月、5月は低くなっているようにもとれる。いずれにしても、それぞれ値が高いものから低いものまで様々である。このようなバラツキは、もしかして採血時間によって生じている、言い換えれば日内変動によってこのような値のバラツキが生じていることも考えられたので、日内変動について少々検討を加えた。

図 1 7



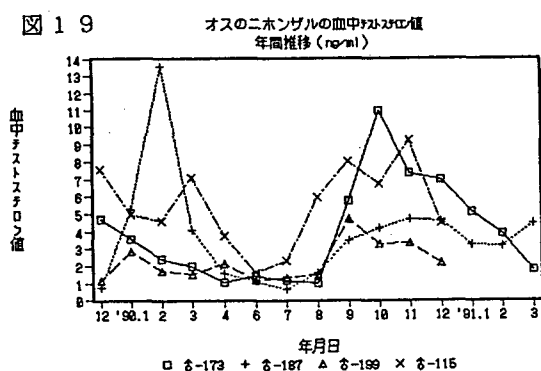
(図-1 7) これは、4 時間間隔で採血を行ったときの血中T値と副腎皮質ホルモンの24 時間内変動をみたものであるが、この個体は採血のトレーニングを行っていたもので、無麻酔下で採血したものであるが、オスニホンザルはヒトや他のマカカ属サルと同じくT値は夜間から早朝にかけて高く、活動期の日中は低い値を示すことが分かった。

図 1 8



(図-1 8) この個体は、搬入から約3カ月しか経っておらずトレーニング出来ていないことから、毎回麻酔を行って採血したものであるが、先の無麻酔下の例と同じく、T値は夜間に高く、日中は低くなり、また副腎皮質ホルモンは逆に夜間に低く日中の活動期に高くなっていた。これらの成績から、我々が採血を行う通常の日中の時間帯においては血中T値

は大きな変動は生じないことを確認した。即ち、野外の個体の血中T値のバラツキは、採血時間帯によるものではなく、恐らく個体差による結果と思われ、個体毎に追ってみる必要が生じた。しかし野外において個体を年間を通じて継続的に追ってみることは不可能に近いことから、室内飼育下の個体とのT値の比較を行う意味もあって、当大学で飼育・維持している個体について検討した。

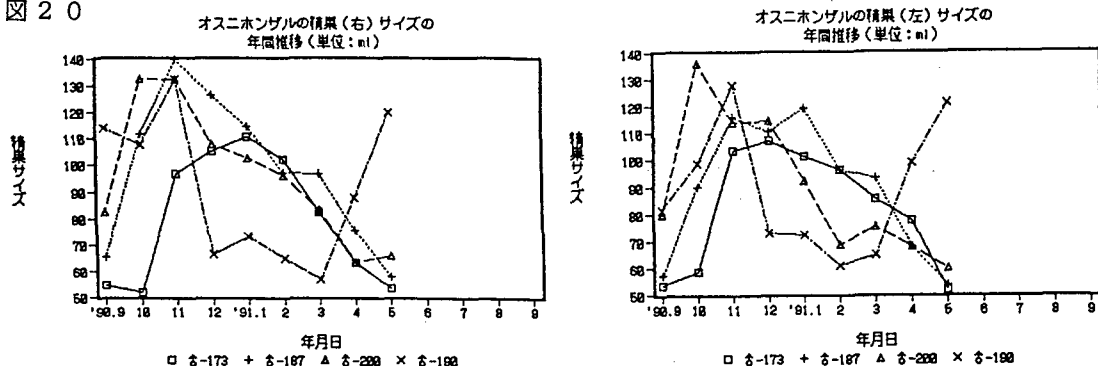


(図-19) これは同一個体について年間の推移を月毎に追ってみた成績であるが、まず言えることは、血中のT値は、個体毎にその変動は異なり、個体毎に年間の独自の変動様相を持つらしいということが分かった。これは、ある一つの時点で多くの個体を縦断的にみると個体差を見てしまうことを意味しており、とくに先のような野外での例で個体のバラツキが大きくなったように見えたのも、恐らくこの理由によるのではないかと判断できる。いずれにしても、血中のT値の年間の推移は、大きくは非交尾期の夏季の7月頃から増加を示し、9～12月頃に最高値に達した後速やかに減少するという年間変動があることを示している。しかしこの変動の様相からは、交尾期である11～1月にはすでに減少が開始されていることになり、これと交尾期をどの様に結び付けるかが問題となる。

しかし繁殖ということを単純に考えれば、むしろ精巣の大きさや精子形成の状態、精子の数や運動性等といった具体的な点の方が、重要であろうかと思われ、次にこれらの点について検討を加えてみた。

(図-20) まず、精巣のサイズの年間推移をみると、左が右側の精巣、右が左側であるが、何れも同じ傾向にあって、血中T値の増加に約1～2カ月遅れて、9月頃から増加がみられ、血中T値と時間的なズレを生じつつ同調して、T値よりもむしろ交尾期に一致した動きを示していることが分かる。さらに、精巣の組織所見の年間の推移についてみると、8月は、精細管の上皮細胞としては、精祖細胞とセルトリ細胞のみが残り、管腔内

図 2 0



には核や染色体の変性した細胞が入り交じり落ち込んでいて、精子細胞はほとんどがセルトリ細胞から離れてしまっている。また精細管と精細管の間の間質を結合組織が埋めており、精子形成過程が十分行われていない像がみられる。9月に入ると、精細管腔には変性した細胞の落ち込んだものが残っているが、多くの精細管上皮はほぼ全ての段階の精細胞を含んでおり、精子形成が活発化していることが窺われる。10月になると、精細管内には精細胞が充実してきて、精細管上皮の管腔側に規則的に並ぶ精子がみられるようになる。また精細管と精細胞の間の結合組織の割合がかなり減少している。交尾期の12月になると、精細管腔内の細胞の密度が高くなり、何れの管腔内にも精子または精子細胞が数多くみられ、精子形成が非常に盛んに行われていることが分かる。1月になると、精子形成は盛んに行われてはいるが、細胞密度は12月に比べると低くなってきており、染色体や核の変性した細胞が精細管腔内に出現し始め、間質の結合組織の割合も増加してきて、徐々に機能が低下し始めていることが分かる。3月になると、精細管は萎縮し間質の結合組織の割合もかなり増加している。また精細管上皮は管壁より剝離して管腔内に落ち込み、管壁にはセルトリ細胞と若干の精祖細胞が残っている程度で、また落ち込んだ精細胞の核は空胞化あるいは濃縮している。精子も管腔内に落ち込み散在し、一見して精子形成が低下していることがわかる。5月になると、精子形成が全く停止してくるわけではなく、いくつかの精細管では規則的に並んだ精上皮が観察される。しかし、多くの精細管には管腔内に落ち込んだ細胞が見られ、また間質の結合組織は一層増加し、萎縮した精細管と精細管の間を埋めている。この様に、組織所見からは、血中T値の増加に約1～2カ月遅れて、9月頃から精巣の大きさと一致して精子形成が活発化していることが分かる。ヒトでは精祖細胞から精子の形成にはおよそ74日の約2カ月を要することが知られていることから推測して、血中T値の変動と組織所見のズレが一応理解できる。また一方では、精子が、交

尾期、非交尾期を通して年間を通して多少の差はあっても一応は認められるということは、メスに見られたような交尾期と非交尾期がはっきりとは分離されないようであるが、今の6月頃が最も精子形成の落ち込んだ時期に当たっているようである。

図 2 1

オスニホンザルの採取精液重量の
年間推移(単位:g)

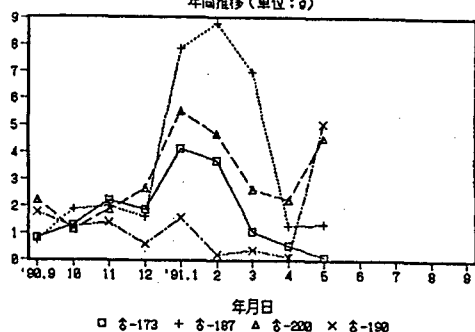
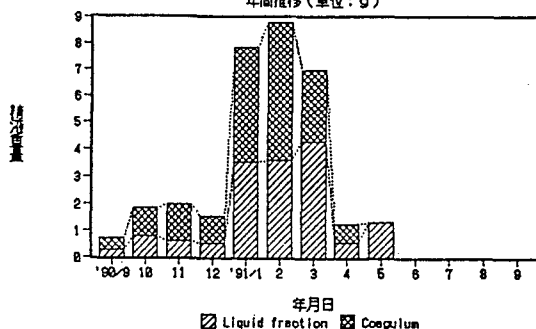


図 2 2

採取精液の液状部と固状部の重量の
年間推移(単位:g)



それでは、精液についてはどうかを次にみてみると、今回は、直腸法による電気刺激によって精液を採取したが、まず採取された精液の総重量の年間の推移を見てみると、(図-2 1) 図の様に、精液重量は精巣の大きさの増加に遅れることさらに約2カ月で精液量が多くなっている。すなわち、血中T値の変動に約3~4カ月遅れた変動の様相、すなわち、交尾期の後半である12月頃から量が増加する様相がみられ、その後4月頃からは精液量は急激に減少してきている。(図-2 2) 一方、採取された精液を、室温で約30分間静置し、液化させた後、液状部と固形部とを分離して重量の推移を同じ様に見てみると、固形部と液状部が、ほぼ半々程度で推移しているが、5月には凝固部が無くなってきている。これについてはまた後程述べることとする。

(図-2 3) また、液状成分の運動性についてみてみると、個体間のばらつきが大きく、一貫した変動パターンは無いように思われるが、ここに示した個体の様に交尾期に活性が

図 2 3

オスニホンザルの液状成分における
精子活性(単位:%)

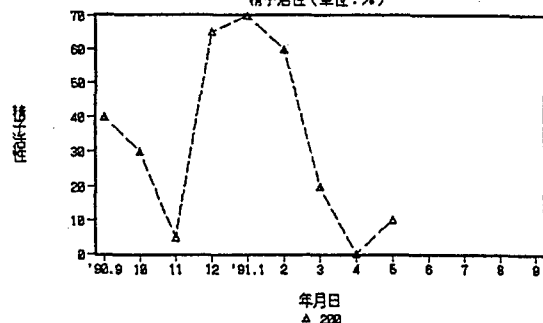
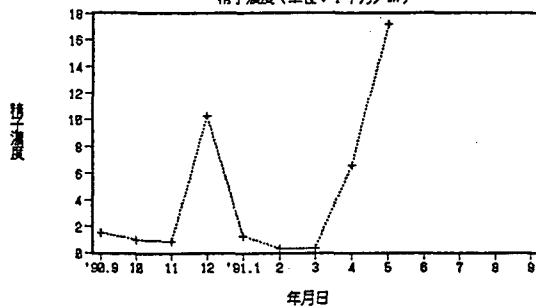
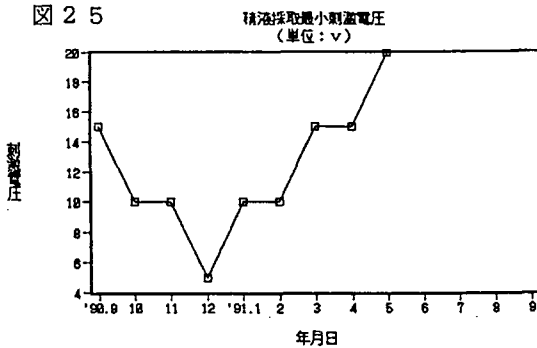


図 2 4

オスニホンザルの精液(液状成分)中の
精子濃度(単位:1千万/ml)



高くなっているものもある。また、総精子数や精子濃度については、何れも、月毎の変動が大きく明確な変動の様相はみられないが、(図-24)液状成分の精子数を見てみると先の精液重量として少なかった12月に多く、即ち濃くなって見られ、精液量の多くなっていた1月、2月はむしろ精子数が少なくなり、全体として薄くなっているようである。



(図-25) また、電気刺激による精液採取に必要な最低電圧は、10月から2月の交尾期で低くなっており、この頃には個体の感受性が増加していることを示している。

以上の成績から、オスニホンザルの生殖機能は、血中T値、精巣組織および電気刺激法による精子に関する成績からは、メスでいう交尾期に、活性が高くなり、非交尾期には、活性が低下する傾向にあるように思われる。即ち今の6月頃は恐らくオスの性機能が最も落ち込んでいる時期であろうと思われる。

また、先にも触れたが、4月頃から精液量が急激に少なくなってきたが、同時に凝固成分が減少し凝固しない個体が出てきている。このことは、精囊腺や凝固成分を含む前立腺の機能が低下してきていることも考えられ、副生殖腺の機能低下も生じている可能性がある。この前立腺の機能は、その機能をみる良い指標が現在はないことから、明らかには出来ないが、ただ、私共は精液中のポリアミンがT依存性であることに注目し、現在検討を重ねている。その成績からは、交尾期と非交尾期で差が見られており、副生殖腺の機能低下もどうやらあるらしいことが分かりつつある。しかし、最初にもお断りしたように、これらの成績は、あくまで現在進行中の成績をお示しし、いまだ1年を経過していないものもあることから、結論は差し控えさせて頂きたいが、また、今回はお示ししないがこの他の実験成績から、オスにおいてもメスと同様に視床下部のLH-RH分泌能が、冬季の交尾期に比べ夏季の非交尾期には、低下しているらしいと言う所に至ろうとしている。いずれこの実験が終了したときに改めて結論を出したい。

以上の様に、ニホンザルは交尾期、非交尾期がとくにメスで明瞭であり、オスにおいてもそれに追隨する様に季節変動がみられると言う生殖生理学的特性がある。この現象は、可逆的である点が、非常に興味が有り、メスやオスの視床下部の機能を統御するものは一体何なのか、今後さらに検討を加えたいと考えている。

以上述べたように、サル類はヒトに最も近縁な種であり、実験動物として極めて貴重な動物であることは誰しも認めるところである。ニホンザルはアカゲザルやカニクイザルと同じマカカ属サルであることから、しかも日本に生息していることから、それらに取って代われるものと考えられる。しかし、ニホンザルは実験動物として利用しようとする場合、今まで述べて来た様に季節繁殖性があり、繁殖が年間を通じて行えず、繁殖率が極めて悪いという欠点がある。また、現在のように野生からの捕獲ザルをダイレクトに実験に使用することは、たとえ合法的であっても倫理的には賛成できるものではない。さらに、ニホンザルの実験動物としての利用というものは、わが国においてタブー視されてきている様にも思われる。これに対して、私共はあえて室内終年繁殖方法の確立によるニホンザルの実験動物としての利用を考え、一つの試みを行っているのでここに紹介する。

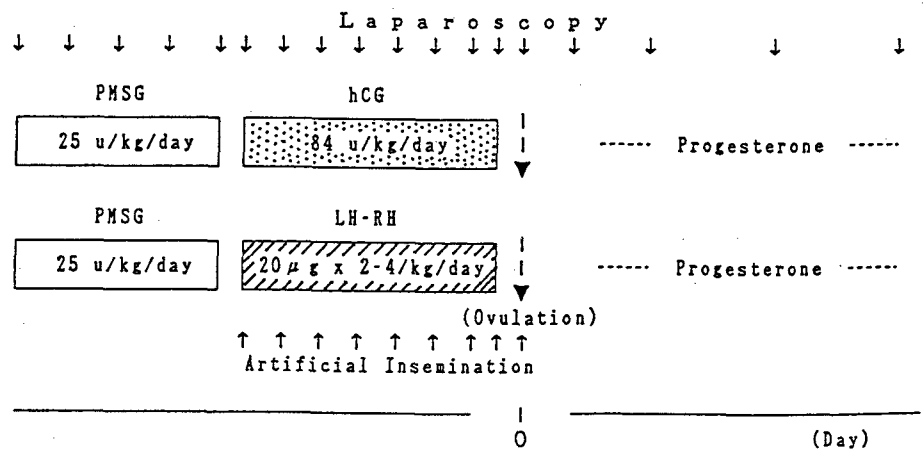


図 26 Procedure of Induced Ovulation and Artificial Insemination of Female Japanese Monkey in Non-mating Season

(図-26) 即ちその方法として、図に示したように、非交尾期の夏季に誘起排卵を行い、しかもオスの精液を経膣法によって注入する方法による人工繁殖方法である。将来は、受精卵移植も当然考えているが、その前にクリアーすべき問題点が多くあることから、今は、とりあえず、この様な方法で妊娠そして出産できる方法の確立を目指している。

すでに和は、ニホンザルにおいて、HMGとhCGあるいはPMSGとhCGの投与によって排卵を誘起できることを報告している。私共も、和との共同研究において、これらの方法を確認し、さらに加えて、PMSGとLH-RH投与によって排卵を誘起できることを先にも示した。しかし何れにせよ、人工繁殖法の問題点は、メスの側からは排卵誘起した卵が、はたして受精できるまで成熟化しているか否か、またオスの側からは経膈法によって注入するオス精液が授精能を持っているか否かが人工授精の可否を握るものと思われる。今回は、昨年夏に行った人工授精において、初めて妊娠させることにとりあえずは成功したのでここで紹介しておく。

まず、排卵誘起法そのものに関しては、メスの項でも述べたことから、ここでは省略するとして、オスの精液について少し触れておく。

電気刺激による精液採取法としては、先ほども述べた直腸法の他にペニス法がある。このペニス法は、凝固因子の混入がほとんど無いことから精液が固まりにくく、液状成分を多く採取でき、そのため運動性も直腸法に比べ良いことが知られている。しかしこの方法は、少なくとも7～10日間程度のトレーニング期間を要し、また無麻酔下で、15 kgものオスを保定しなければならないという危険性が伴う。(図-27)この方法によって得られた精液を、図に示した様な方法、すなわち精子を遠心法に依って洗浄した後、swim

図 27 人工授精に用いるオス精液の調整法

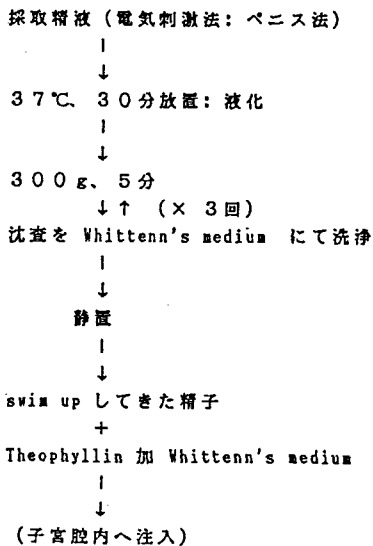
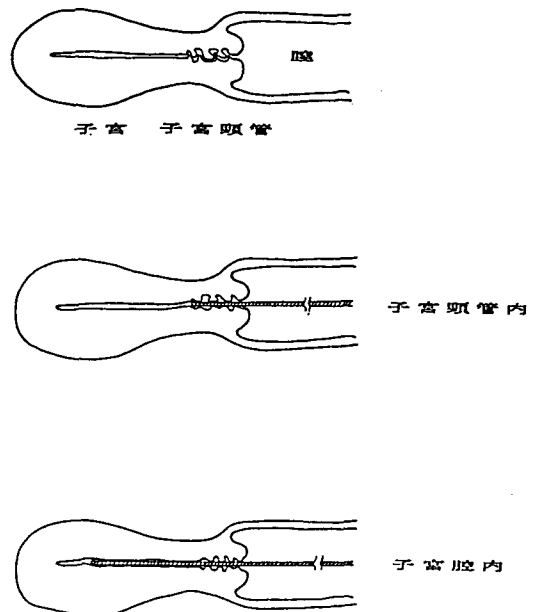


図 28



upしてきた元気の良い精子を、さらにデオフィリンを加えた溶液で活性化し、同時に濃度の調整を行う。この精液を排卵誘起しようとする個体のhCGあるいはLH-RHの投与と同時に注入することになる。(図-28)この注入方法は、ラットの経口用ゾンデに少し改良を加えたものを用いているが、子宮腔内へ注入しようとする際、ニホンザルは子宮頸管部に憩室様のヒダが多くあって容易に挿入できないことを経験している。当初は、麻酔下でこの子宮頸管内に注入することによって人工授精を試み20頭近く行ったが、いずれも成功しなかった。そこで昨年よりPMSG投与開始と共に、直腸から子宮頸管部を触診しつつブージーを用いて子宮頸管部を拡張することを毎日続けることによって、無麻酔下で精液をゾンデを用いて、子宮腔内へ比較的容易に注入することが行えるようになった。この方法によって、6頭に排卵を誘起し、同時に精液を子宮腔内へ注入したところ、1例で妊娠が成立した。(図-29)これはその個体の血中ホルモン値の推移を示している。排卵

図 29

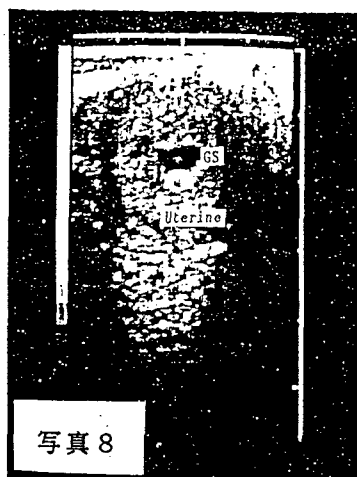
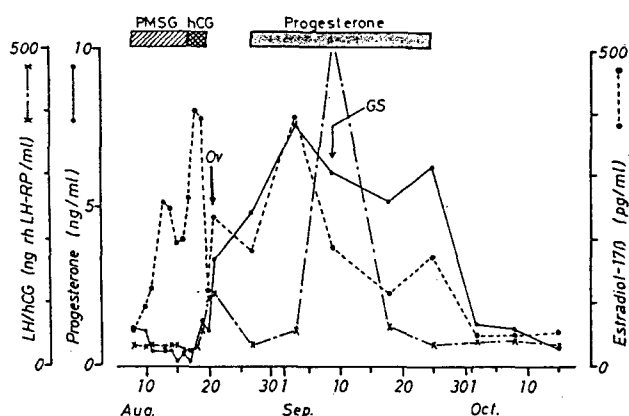


写真 8

Ultrasonography of gestational sac (GS) 19days after ovulation

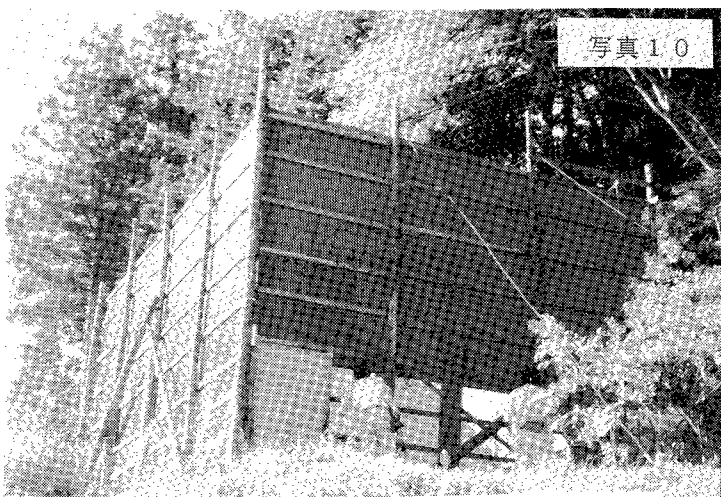
確認後は7日目より黄体機能の維持を目的にPの投与も行った。そして、排卵19日後に超音波診断装置によってGestational Sacを確認した(写真-8)。しかしその後排卵30日後にP投与を中止し、再度胎児の確認を行った結果、心拍動を確認できず、流産したものであると思われる結果となった。何れにしても、初期の妊娠が成立したことは確かであることから、このような誘起排卵によって得られる卵および、電気刺激によって採取された精子はともに授精能を持つものであることが確認された。今後、このような方法をより確実なものとするべくさらに、例数を増やしつつ検討を加えたい。この方法が確立できれば、室内にお

いて、終年繁殖も可能となり、ニホンザルの実験動物化の可能性が少しは出てくるものと考えられる。

最後に、本題とは少しはずれるかと思われるが、ニホンザルの現況を少し述べさせて頂きたい。御存知のことと思うが、ニホンザルは農作物を荒す有害鳥獣として乱獲されてきた結果、年々その数を減らしている。



（写真－9）この写真は、県内の日野町の写真であるが、この様な田畑にサルが出没して、稲を荒したり、さらに大根や、大豆、シイタケなどの作物を荒し、ひどいものでは家の中に入ってきて仏壇に備えられたお供えまで失敬するというので、農民はサルの捕獲を行



政に求めることになる。(写真-10) その捕獲の方法としては、写真に示したような大がかりな捕獲檻で数頭ないし十数頭を一度に取ってしまうものや、野犬の捕獲装置を利用するなど、さらには射殺という手段も用いられる。私共は、滋賀県内において、このような方法で有害鳥獣として捕獲されたものを、今回の様な実験に利用させて頂いているわけであるが、また一方では、ニホンザルの猿害問題にも目を向け、ニホンザルの保護を訴えるという、相矛盾する立場を取っている。しかしながら、一貫して持っている考え方は、捕獲と利用を直結させないこと、即ち、利用のために捕獲を行わないこと、さらに、商品として金銭による売買の対象にさせないことである。私共では滋賀県内で捕獲され、譲渡の申し出があったものについてのみ、捕獲許可期間の確認と飼養許可証の添付のもとに受け入れている。しかも、滋賀県以外のものは一切受け入れず、また譲渡を受けたものは県外には出さないこととしている他、近い内に滋賀県内で有害として捕獲されたものを一時的に保管する場所と人員の確保を行って、そこで先に示したような人工繁殖を行い、そこで得られた個体のみを実験に活用する方法を採ろうと、現在努力している。現時点においては、その第一歩である人工繁殖方法、そして一時保管場所の確保を行えるところまでこぎ着けてきている。今後は、これをさらに進めるため、自治体を含む行政面での理解をさらに得ようと努力しているところである。

ニホンザルは日本に唯一生息する野生の霊長類であって、ともに歩んで来た仲間であり、自然を含め一度失ったら二度と取り返せない貴重な財産であることを改めて確認して頂き、我々研究者はもっと野生動物の保護に努力を傾けるべきものと考え、より一層のご理解を頂きたいことをここに付け加えさせていただく。

〈その他〉 関西実験動物研究会だより

関西実験動物研究会会報第 11 号に掲載した第 35 回研究会以後、以下の研究会が開催された。

- 1) 第 36 回研究会 (平成 4 年 12 月 4 日 楽友会館)
会員の研究発表会 19 題
特別講演「実験動物の Zoonosis」 上田雄幹 (岐阜大学・農学部)
- 2) 第 37 回研究会 (平成 5 年 3 月 5 日 京大会館)
講演会「ラットにおける生化学的遺伝子座の開発から染色体地図の作成まで」 山田淳三 (京都大学・医学部)

総会、評議員会議事概要

- 1) 第 11 回評議員会概要 (平成 5 年 3 月 5 日 京大会館)
 1. 出席：阿部、飯田、石川、内海、海野、及川、芹川、高島、竹之下、
鳥居、新谷、二階堂、古河、牧野、増岡、松村、三日月、
宮嶋、宮脇、宮嶋、森岡、森本、山中、山本、家森、安田、
山田 (27 名)
1. 議事
 - (1) 平成 4 年度事業報告
海野幹事 (集会)、新谷幹事 (編集)、及び山田会長 (AALAS 視察) より、それぞれ平成 4 年度事業報告が行われ、承認された。
 - (2) 平成 4 年度決算報告
芹川幹事 (庶務) より平成 4 年度決算報告が行われ、又監事より監査の結果適正であったことが報告され、承認された。
 - (3) 役員の変更
 - ・山田淳三会長より京大の停年退職を期に会長を辞退したいと申し出があり、承認され、次期会長には宮嶋宏彰評議員を選出した。
 - ・増田恭造監事の辞退意向を受け、清水英男会員 (清水実験材料) に監事を依頼することが承認された。
 - ・平成 5 年度の幹事を以下のように決定した。
阿部、飯田、石川、内海、海野、岡本、黒沢、芹川、鳥居、新谷、三日月、森岡、山中、山本

(4) 平成 5 年度事業計画について

海野幹事より第 37 回、第 38 回、第 39 回及び第 40 回の研究会案が提出され、特に第 40 回は本会創立 10 周年記念大会とする計画案が提出され、承認された。宮脇幹事より本年度は会誌の発行を 2 回予定していることが計られ、承認された。

(5) 平成 5 年度予算案について

黒沢幹事より平成 5 年度予算案について説明が行われ、特に 10 周年記念大会経費として 50 万円計上した予算案が提出され、承認された。

(6) 10 周年記念大会について

山田会長より 10 周年記念大会の準備委員会委員長として宮脇新会長、委員として幹事の他に高島、牧野、小嶋、塩見、竹之下の評議員及び会員で準備委員会を結成し実行する案が提出され、承認された。

2) 第 10 回総会概要 (平成 5 年 3 月 5 日 京大会館)

(1) 平成 4 年度 事業報告(含誌発行)が行われ、承認された。

(2) 平成 4 年度 決算が報告され、監事の監査の結果適正であったことが報告され、承認された。

(3) 役員の改選

会長は山田淳三から宮脇宏彰へ、監事増田恭造から清水英男への変更が承認された。

(4) 平成 5 年度 事業計画(含 10 周年記念大会)が報告され、承認された。

(5) 平成 5 年度 予算案(含 10 周年記念大会)が報告され、承認された。

(6) 10 周年記念大会準備委員会が承認された。

《関西実験動物研究会 維持会員》 (五十音順)

(平成5年4月現在)

(株) 大塚製薬工場 鳴門研究所	722	鳴門市撫養町立岩字芥原 115
オリエンタル酵母工業(株) 大阪営業所	564	吹田市江坂町 1-12-28 大昇ビル
加商 (株)	103	東京都中央区日本橋 14-9
鐘紡 (株) 薬品安全性研究所	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90
北山ラベス (株)	615	京都市西京区西京極葛野町 28
(株) ケアリー	531	大阪市北区豊崎 4-12-1
(株) ケー・エー・シー	566	摂津市島飼本町 5-3-4
参天製薬 (株)	533	大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
塩之義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405
(株) 実医研	104	東京都中央区京橋1-6-14 YK ビル 3階
白井松器械(株)	540	大阪市中央区森ノ宮 1-19-16
(株) 新薬開発研究所 京都事務所	601-13	京都市伏見区醍醐僧尊坊町 1-47
武田薬品工業 (株) 研究開発本部 実験動物管理室	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85
田辺製薬 (株) 研究総括センター 渉外部	532	大阪市淀川区加島 3-16-89
大日本製薬 (株) 総合研究所	564	吹田市江の木町 33-94
(株) 夏目製作所	113	東京都文京区湯島 2-18-6
日本新薬 (株) 研究開発室	601	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
日本エスエルシー (株)	431-11	浜松市湖東町 3371-8
日本クレア (株) 大阪営業所	550	大阪市西区京町堀 1-13-2 藤原ビル
日本商事 (株) 医薬研究所	567	茨木市庄 2-24-3
日本チバガイギー(株)前臨床研究部安全性研究室	665	宝塚市美幸町 10-66
日本チャールス・リバー (株) 大阪営業所	550	大阪市西区西本町 1-11-7 杉野ビル
日本ベーリンガーインゲルハイム (株) 川西医薬研究所	666-01	川西市矢間高田 103
藤沢薬品工業 (株) 実験サービスセンター	532	大阪市淀川区加島 2-1-6
扶桑薬品工業 (株) 研究開発センター 学術課	536	大阪市城東区森之宮 2-3-30
(株) 船橋農場 京都営業所	607	京都市山科区御陵鴉戸町 46-6
丸石製薬 (株) 中央研究所	538	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
(株) ミドリ十字 (株) 安全性研究所	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1
(株) 美濃ラボ	503-03	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
(株) ラビトン研究所	677	西脇市中畑町 718

関西実験動物研究会会報 (バックナンバー) 頒布のお知らせ

研究会の10周年を迎えるにあたり、事務局では会報のバックナンバーを頒布することに致しました。バックナンバーの代金は、1部 1,000円ですが、送料は無料です。なお現在の在庫数は、下表の通りです。必要な方は、ハガキに必要事項を記入して、芹川幹事まで申し込んで下さい。払い込み用紙は、会報に同封して送ります。

1. 必要事項：

1) 郵便番号	4) 電話番号
2) 住所	5) 必要な号数とその部数
3) 氏名	

2. 申し込み先： 〒606-01 京都市左京区吉田近衛町
京都大学医学部附属動物実験施設 芹川忠夫

3. 申し込み期限： 平成5年7月末日

表 頒布できる予備数

	予備数
1号	81部
2号	109部
3号	175部
4号	184部
5号	205部
6号	106部
7号	66部
8号	114部
9号	20部
10号	0部

申し込みハガキ 見本

平成5年6月30日
芹川忠夫 様 関西実験動物研究会会報のバックナンバーを申し込みます。 1) 〒565 2) 大阪府吹田市藤白台5 循環器病センター 3) 動管 太郎 4) Tel. 06-833-5012 (2440) 5) 2号を1部 4号を2部 5号を1部

編集後記

関西実験動物研究会は、そろそろ10周年を迎える。この会の淵源をたどってみると、昭和52年に京都大学医学部附属動物実験施設において、開催された実験動物「セミナー」にまで遡るという。これが「集談会」となり、「研究会」へと発展してきた。これらの会を終始、率先指導してこられた山田淳三教授は、本年3月京都大学を停年退官されるにあたり、本研究会会長をも辞任された。

会報1号の巻頭言で、山田先生は『この会の会員は製薬企業に所属している人が非常に多く、この会の一つの特色と申せましょう』と述べておられる。通常競争相手とみなされる企業の方々が、本会幹事の業務を和気あいあいと協力しながら実施しておられるのを、目の当たりにして、これも山田先生の意図しておられた事であったかと、深く感じ入った次第である。

先の総会からは、武田薬品工業株式会社・薬剤安全性研究所の宮脇宏彰所長が、本会会長としてご活躍下さることとなった。会報12号(本号)の巻頭言で宮脇先生は、『今一度原点に立ち帰って、・・・具体的に一つ一つ考えてみたいと思います。』と述べ、本研究会に対する熱い志を表明しておられる。会計、集会等の幹事に多少の異動があつたものの、新会長を補佐する強力な体制で、新年度を迎え得たことを感謝したい。編集幹事のリーダーも若返りをはかり、遅れている編集・出版の作業にもアクセルが掛かる事と思う。研究会の発展と会報の充実を目指すため、会員諸氏のご協力を切に願うものである。

(S. N. 記)

平成5年5月20日 印刷
平成5年5月25日 発行

編集兼発行者 山田 淳 三
発 行 所 関西実験動物研究会
〒606 京都市左京区吉田近衛町
京都大学医学部附属動物実験施設
印 刷 所 関西ナショナル印刷株式会社
〒532 大阪市淀川区十三本町3-4-23