

で30年近い年月が経過している。当初はマカク属サル類の代用として捉えられていたため、マカクとの生理学的、遺伝学的な差異を探索して利用の是非を議論することに終始した感がある。しかし2009年に佐々木(実中研)等が、繁殖能力に優れたマーモセットの利点を活かしたTGマーモセットの継代に成功し、科学雑誌「nature」(28May2009)に掲載されたことがエポックとなり、生殖・発生工学的分野での需要とともに高次脳機能研究への使用が加速し現在に至っている(図-1)。

一般に実験用霊長類(特にマカク属サル類)の飼育技術は、先人の経験から紆余曲折を経て現在のようなスタンダードが出来上がったといえる。その点マーモセット類の飼育は歴史も浅く、その作業に携わる人員や機関が少数であったために、それらの機関が開発した飼育方法がそのままマーモセット類の飼育技術のスタンダードになったと考えられる。しかしこれらは黎明期における状況であり、現在では動物福祉や使用目的によって求められる技術も多様化してきているのが現状である。

国立精神・神経医療研究センター霊長類研究施設(以下NCNP)では、2006年からマーモセットの飼育・繁殖を開始し、以来外部からの供給を受けることなく自家生産した動物を用いて研究を継続している。今回はこうしたNCNPにおけるマーモセットの飼育管理、繁殖及び動物実験手技を紹介する。

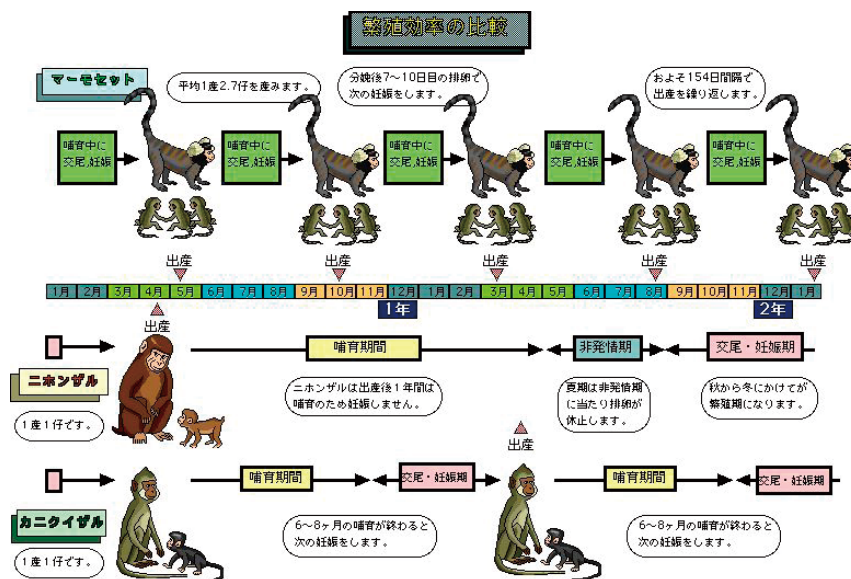


図-1. マーモセットとマカクの繁殖効率の比較

### 飼育

NCNP マーモセットの飼育環境は、温度 $28.0 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ を維持している。

照明は12時間明暗(7:00点灯19:00消灯)、空調はヘパフィルターを介したオールフレッシュエアを供給し、換気回数は18~20回/時である。飼育管理では、動物飼育室の清掃は水洗方式で1回/日で毎日行い、給餌は昼と夕方2回/日を毎日行っている。給餌飼料は日本クレア社製「マーモセット用固型飼料 CMS-1M」を主食として与え、この他に補助食としてCMS-1Mを水で練った「練りエサ」やCMS-1Mを原料としたパン等を給餌している。また体調の悪い個体や、産後や育児中の母獣には蒸かしイモ、食パン、ヒト用離乳食「バナナプリン」、「ニンジンポテト」(キューピー株式会社製)等を適宜与えている。飼育ケージは大型(W 400 × D 850 × H 1600mm)、中型(W 500 × D 600 × H 800mm)、小型(W 300 ×

D 500 × H 600mm)の3種類を用途に応じて使用している。大型ケージは繁殖母群で使用し、2~3産分の産仔と両親が同居可能である。中型ケージは複数頭飼育に用いており、新規ペアの飼育や出産・育児もこれで行っている。実験に用いる個体は、通常個別飼育(単独飼育)のため小型ケージで飼育することが多い。

### 繁殖

繁殖は雌雄同居(ペア飼育)での通年繁殖を行っており、生産の主体となる「繁殖母群」と次期繁殖用ペアを確立するための新規ペア群とで構成されている。マーモセットの性周期は26~30日で、季節性のない周年繁殖である。また分娩後7日~14日の間(10日目前後が最も多い)に排卵が起こるため、ペア飼育をすることで「追いかけて妊娠」が可能となる。妊娠期間は145~148日であり、追いかけて妊娠をした場合分娩から次の分娩の間隔は155日~158日となり、優良な繁殖ペアではこの間

	NCNP年間分娩件数					計
	2015	2016	2017	2018	2019	
1仔	4	14	3	10	11	42
2仔	7	22	17	25	42	113
3仔～	16	36	40	44	57	193
計	27	72	60	79	110	348

総分娩件数 (2015～2019)

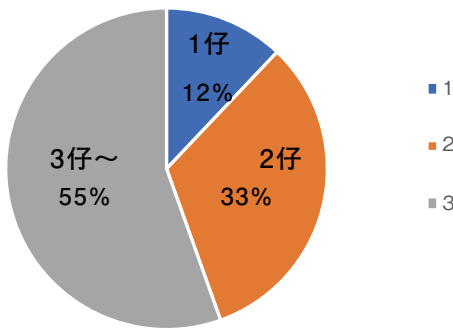


表-1. NCNPにおける年間分娩件数と産仔数の比率

隔で妊娠・出産を繰り返すことになる。産仔数は一般に2仔産と言われているが、NCNPでは出産の約60%が3仔産である(表-1)。繁殖に用いる年齢は、雌雄共に1歳齢以上であるが、メスの排卵、オスの精子形成は生後7か月頃から認められる。しかし体重が300gを超えるのは、平均して12か月齢以降であるため、繁殖への使用を1歳以上としている。母群で生まれた仔は育児を学習させるため、1歳を過ぎても両親と同居させていることもある。

### 飼育繁殖技術について

NCNPの飼育と繁殖の概要は、上述した通りである。飼育に関しては、設定した環境と設置した機材の維持管理、飼料に関しては材料の衛生管理を遂行することで、その目的は達成できる。繁殖に関しては、3仔産むのも、追いかけて妊娠するのも、マーモセットの能力である。ではここにどのような技

術が求められるのであろうか。動物の飼育管理や繁殖・生産の現場で最も重要なことは飼育動物の健康維持であり、それをより効率的に行うための試行錯誤から生まれた手法が飼育繁殖技術と考える。従って飼育環境や飼料の設定は、経験的に確立された技術と云える。しかし、より効率的な動物飼育は常に求められるべきであり、その発想の種は日常の動物管理作業の中にあると考える。

### 動物実験技術

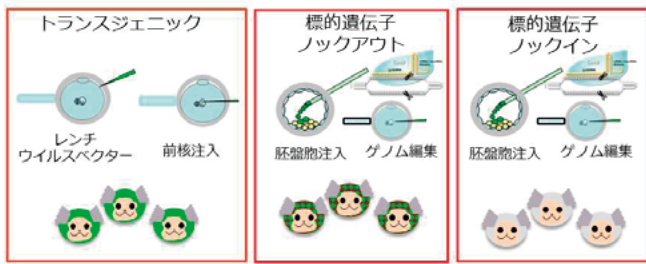
動物実験には様々な分野があり、多種多様な実験スタイルが存在するのは周知のことである。NCNPにおいては、当然のことながら研究対象部位は脳である。しかしここで言う動物実験技術は、専門的な部位に対する施術や処置ではない。専門的な実験処置を施す場に、対象動物を安全に遅滞なく提供することと、実験処置終了後に安全に事故なく術後管



Fig-1. NCNPマーモセット繁殖飼育室

理を施すスキルを動物実験技術と定義する。具体的には外科的処置とその術後管理、採血、投与(静脈、筋肉、皮下、腹腔、経口、経鼻等)である。また実験による処置(施術)部位の保護や防護は、術後管理上の重要な手技と言える。サル類の特徴である手指の器用さはマーモセットも例外ではなく、術創を自ら破壊する行為は頻繁に発生する。そのため術創保護にはテーピングやエリザベスカラー等を用いて対応するが、個体ごとに反応が異なるためその手法も臨機応変な対処が求められる。特にマーモセットでは殆どの場合において、こうした処置行為を無麻酔下で実施する。このため最も重要なのが動物の保定である。実験個体の施術部位は、頭部、腹部、背部あるいは四肢など様々である。従って術後管理においては、施術部位に配慮した動物保定が必要とされ、教科書的な保定方法だけでは対応できない場合が多い。今回は採血、投与といった一般的な実験手技に加え、技術者とマーモセットの知恵比べとも云える術後管理についても幾つかの事例を紹介する予定であった。

遺伝子改変動物技術と種類



トランスジェニック：外来性遺伝子を人為的に導入して過剰発現させることで表現型を得る

標的遺伝子ノックアウト：内因性の標的遺伝子を破壊して遺伝子機能を喪失させることで表現型を得る

標的遺伝子ノックイン：内因性の標的遺伝子の特異的部位に特定の遺伝子を導入することにより遺伝子発現の制御機構を解析する

引用文献

1. Chan AW, Chong KY, Martinovich C, Simerly C, Schatten G. Transgenic monkeys produced by retroviral gene transfer into mature oocytes. *Science*. 2001;291(5502):309-312.
2. Wolfgang MJ, Eisele SG, Browne MA, et al. Rhesus monkey placental transgene expression after lentiviral gene transfer into preimplantation embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(19):10728-10732.
3. Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature*. 2009;459(7246):523-527.
4. Sato K, Oiwa R, Kumita W, et al. Generation of a Nonhuman Primate Model of Severe Combined Immunodeficiency Using Highly Efficient Genome Editing. *Cell Stem Cell*. 2016;19(1):127-138.

4. 精神疾患治療薬の研究開発における非ヒト霊長類の有用性

■池田 和仁

大日本住友製薬株式会社

リサーチディビジョン

基盤技術研究ユニット

高次脳機能研究担当フェロー

新薬開発費は年々増大し、さらに統合失調症やうつ病といった精神疾患の領域においては画期的新薬の登場もなく、多くの製薬メーカーが同分野の縮小・撤退を行ってきた。臨床入りした開発化合物が最終的に承認される確率は精神疾患の分野が最も低く6.2%であり、さらに疾患への効果が問われる第2相試験において成功確率は34%であるが、50%に上げるだけで約400億円の経費削減が見込まれることから、非臨床試験で如何に臨床試験での薬効の予測を高めるかが死活問題となる。そのため、1)適切な動物モデルの作製、2)臨床と非臨床をつなぐトランスレーショナル研究手法の探索、3)ヒト細胞(iPS, ES)評価系の構築、

4)パスウェイ解析・システムバイオロジーの利用、5)ビックデータの活用(コフォート研究)が検討し始められている。我々は1)、2)について探求し、精神疾患との関連が強い前頭前皮質の発達した非ヒト霊長類を用いた疾患モデルの作製、さらに臨床へのトランスレーショナル性の高い研究手法の開発を試みてきた。

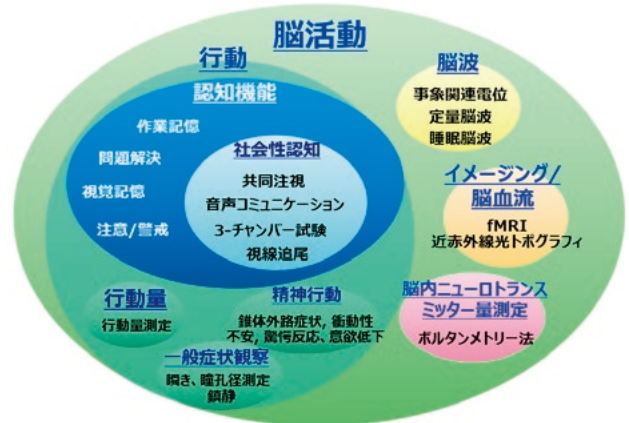
一方、精神疾患の本質を理解するため、各精神疾患をさらに層別化する必要性が唱えられ始めている。例えば米国のNIMH (National Institute of Mental Health)では症状別にドメインを分類し、例えば快の感情、不快の感情、認知機能などを遺伝子-分子-細胞-神経回路-生理-行動の各ユニットで解析を行うことで精神疾患の本質に迫ることを試みるプログラム:RDoC (Research Domain Criteria)が開始され、日本神経精神薬理学会においては、バイオマーカーを用いて各精神疾患の層別化を試みる

ワーキンググループが立ち上げられた。我々もマーモセットとマカクサルを用いて、臨床試験と同一あるいは同じパラダイムに基づいた認知行動試験、あるいは臨床への外挿性の高い脳波解析等を取り入れ、RDoCのドメインに準じたNHP研究体制を整備中である。

非臨床研究では大きく2つの段階があり、1つ目は pharmacokinetics、すなわち薬剤がターゲットにどう作用するかを、血中濃度、ターゲットへの占有率、アクション(活性・不活性化)を検証する段階であり、2つ目は pharmacodynamics、すなわち投薬した個体全体の病理生理学的作用を検証する段階である。具体的には、 pharmacokinetics においては PET, fMRI などのイメージングが中心となり、投薬の影響定量化する脳波解析(qEEG: quantitative electroencephalography)も重要なツールとなる。そして

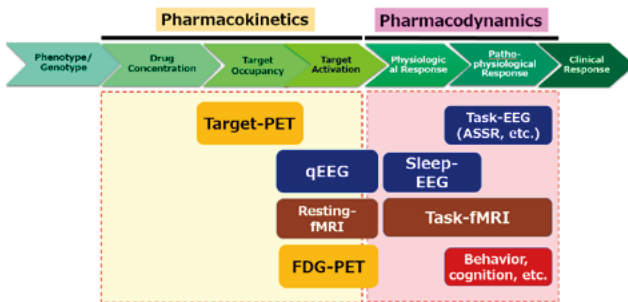


- **脳構造の優位性**
  - ・ 精神疾患と関連性が高い前頭前皮質が発達しているため、妥当性の高い病態モデルの構築が可能。
  - ・ 精度の高い脳領域情報を得るため、ヒトへの外挿性の高い解析が可能 (fMRI, ERP)
- **認知機能の優位性**
  - ・ CANTAB (Cambridge Neuropsychological Test Automates Battery) などの臨床的認知機能評価バッテリーと同一、あるいは類似した評価が可能。
- **視覚機能の優位性**
  - ・ Eye tracking装置を用いた心理学的要素を絡めた視線解析を実施可能。
- **生体リズムに関する優位性**
  - ・ げっ歯類は夜行性であるのに対し、NHPはヒトと同じ昼行性であり、自律神経活動評価が可能。
  - ・ げっ歯類が多相性睡眠であるのに対し、NHPはヒトと同じ単相性睡眠であるため、ヒトへの外挿性の高い解析が可能。
- **社会性に関する優位性**
  - ・ マーモセットの音声コミュニケーション解析によって、社会性評価が可能
  - ・ マーモセットは互恵性を有することから、社会性評価が可能



①精神疾患領域におけるNHP (non-human primate) 研究の必要性

②NHPを対象にした薬理試験方法



③臨床試験における各ステージと評価試験法

pharmacodynamicsでは脳波解析の貢献度は大きくなり、sleep

EEG、タスクや刺激による脳波への影響を検査する様々な事象

関連電位(ERP:evoked related potential)があり、さらに認知バッテリー、視線解析をはじめとして様々な行動解析が挙げられる。本講演では、これらを整備したNHPの評価系の一部を紹介したい。

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

バイオサイエンス  
トータルサポート企業として  
生命科学の発展に  
大きく貢献する  
株式会社ケー・エー・シー

動物実験総合支援

研究用試験薬供給

バイオサイエンストータルサポート  
を通じて健康社会に貢献

受託試験

動物実験総合支援事業・  
受託試験事業・研究用  
試薬提供事業の  
3つの柱で製薬会社や  
大学等研究機関の  
ニーズにお応えしています。

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <https://www.kacnet.co.jp/>