



霊長類医科学研究センターの 取組と今後の展開

霊長類医科学研究センター長
保富 康宏

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 霊長類医科学研究センター

筑波医学実験用霊長類センター



霊長類医科学研究センターの沿革・概要

- 1978年 国立予防衛生研究所(現:国立感染症研究所)の
筑波支所(筑波医学実験用霊長類センター)として開設
- 1997年 国立感染症研究所に改名
- 1998年 共同利用施設開設
- 2005年 独立行政法人医薬基盤研究所の生物資源部門に移管
霊長類医科学研究センターに名称変更
- 2015年 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所に改組

国立感染症研究所におけるウイルス生ワクチン（ポリオ、おたふく風邪、風疹、麻疹）の国家検定に使用する良質なカニクイザルを自家繁殖、供給する施設として開設。

その後、霊長類研究資源の開発、保存、品質管理および供給を行い、霊長類を用いた創薬や新規治療に関わる研究、医療技術の開発、疾患モデルの作成を実施している。

霊長類医科学研究センターのサル(1)

カニクイザル(*Cynomolgus* Monkey、*Macaca fascicularis*)



霊長目オナガザル科の旧世界ザル
・インドシナ半島からインドネシア,
フィリピンにかけて分布

TPRCのカニクイザル

- ・インドネシア産
- ・フィリピン産
- ・マレーシア産
- ・交雑種

産地・遺伝的バックグラウンドを把握

多目的高資質力ニクイザル

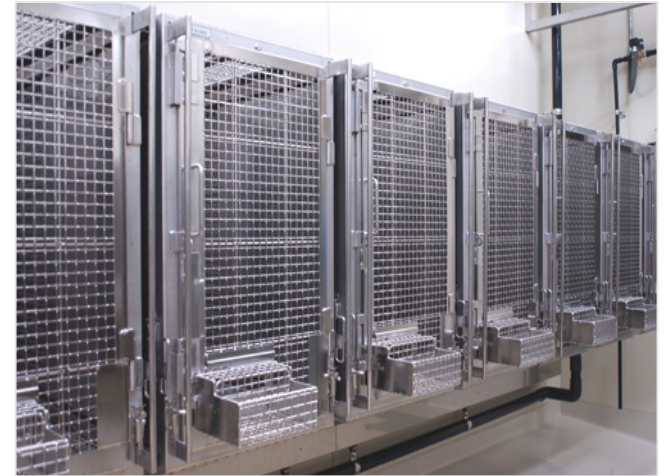
繁殖用コロニー1部屋に100頭収容

キーワード

SPF
年齢
家系
履歴
生理的指標

妊娠ザル
胎児
高齢ザル

品質管理技術
情報整備



帝王切開



人工保育



サル飼育管理

0歳から40歳以上の約1,600頭のカニクイザル
年間約200頭のサルを生産



健康観察：

日々の健康状態を観察し、1頭ごとにデータベースで管理。

清掃：

飼育ケージ及び飼育室の床は水洗いし、床に消毒薬を散布し清掃。

給餌：

1日の給餌は原則、青果（リンゴ100g）、固型飼料（70g）。

飼育環境：

飼育室は室温 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、照明7時～19時の12時間照明で管理。

手術室

クラス清浄度1000



MRI室



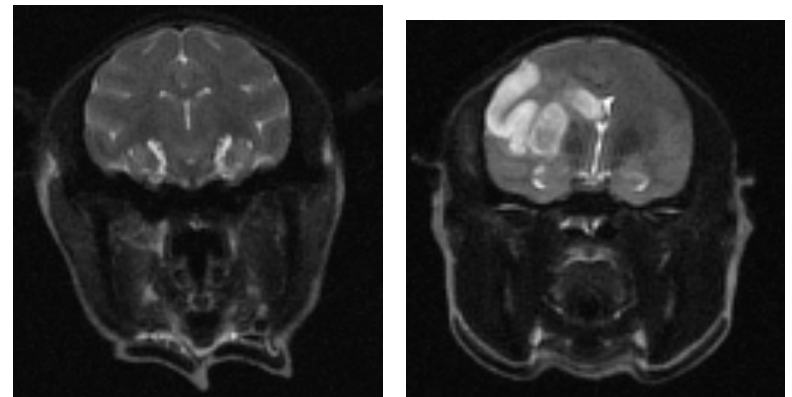
3TMRI装置



撮像中の生態モニター



専属のオペレーターによる撮像



カニクイザル脳T2強調画像(梗塞前後)

感染症実験施設



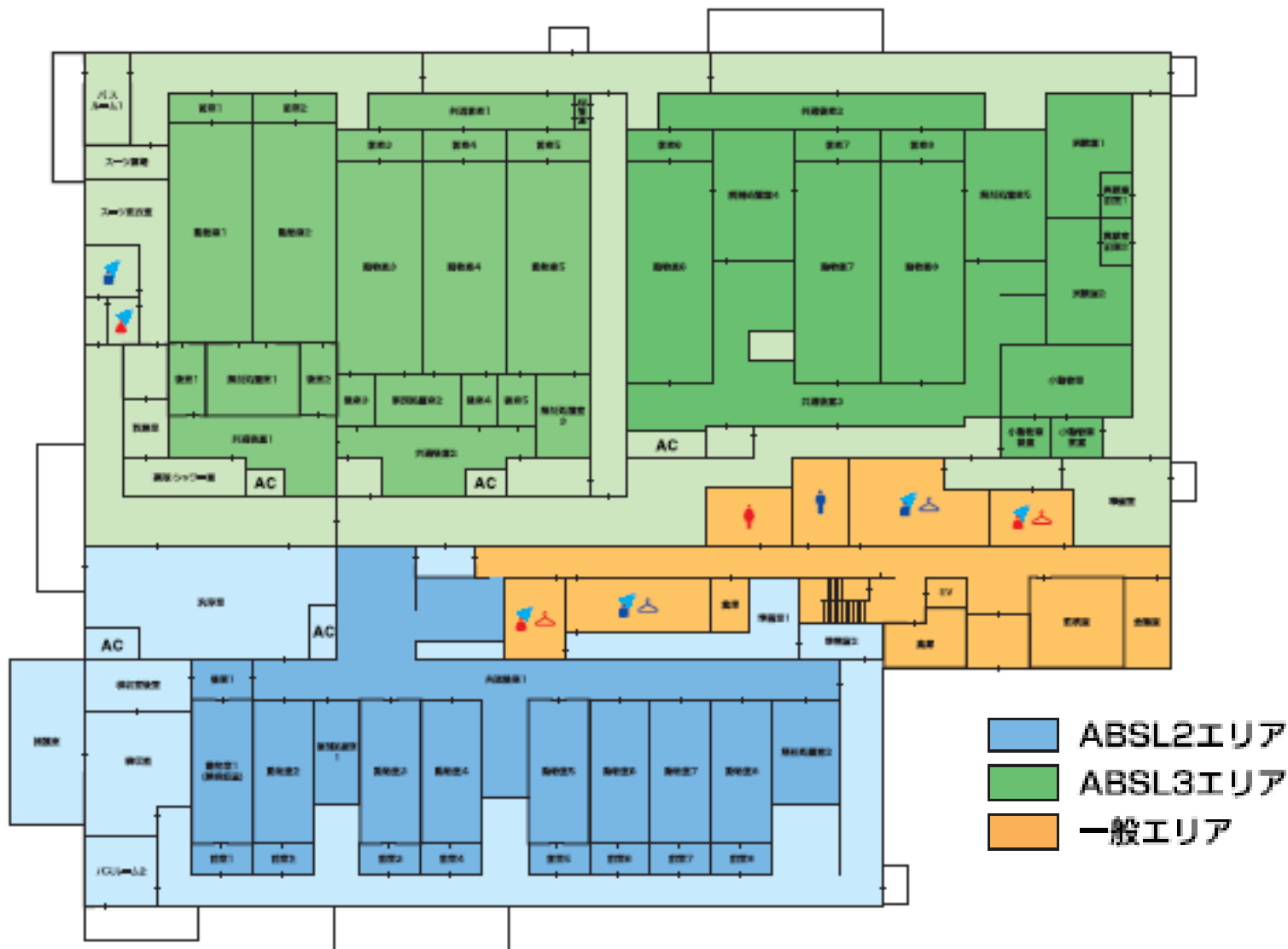
Architecture area : 3,754.27m²

Total floor area : 12,131.50m²

ABSL2 : 160 monkeys

ABSL3 : 160 monkeys, 50 Cages for small animals

感染症実験施設（新棟）



空気感染対応P3管理区域

超高気密扉



P3動物飼育室



陰圧アイソレータ&飼育ケージ



スーツタイプ防護服
(薬液シャワー室)



動物処置室



薬液シャワー室



Infectious disease facilities

Architecture area : 3,754.27 m²

Total floor area : 12,131.50 m²

ABSL2 : 160 monkeys

ABSL3 : 160 monkeys, 50 Cages for small animals



ABSL3 Room



Isolator & Special Cage



Biohazard Suits



霊長類医科学研究センターの サル疾患モデル

霊長類医科学研究センターのカニクイザル

カニクイザル



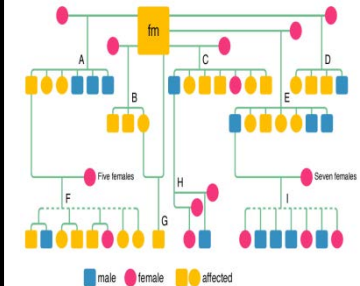
ヒトに最も近縁な実験動物
寿命が長い
ワクチン国家検定に利用
約1,700頭のコロニー
約500頭の実験用飼育
胎齢の把握が可能

微生物学的統御

麻疹、サルエイズ、サルT細胞白血病、B、サル水痘、サルD型レトロウイルス、サイトメガロウイルス、フォーミーウイルス、EBウイルス、赤痢菌、結核菌、サルモネラ、蠕虫・・・

SPFサルの生産・供給

遺伝学的統御



厳密な家系管理

発生初期から過齢性疾患までの幅広い研究に対応したカニクイザルコロニー



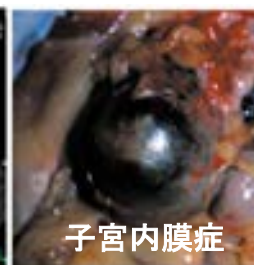
胎齢33日



遺伝性
網膜黄斑変性



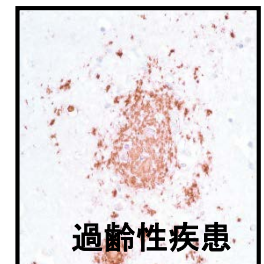
心疾患



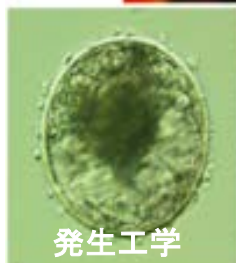
子宮内膜症



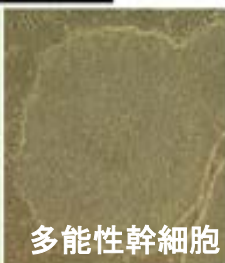
感染症研究



過齢性疾患



発生工学



多能性幹細胞



心理・行動研究



糖尿病



高脂血症



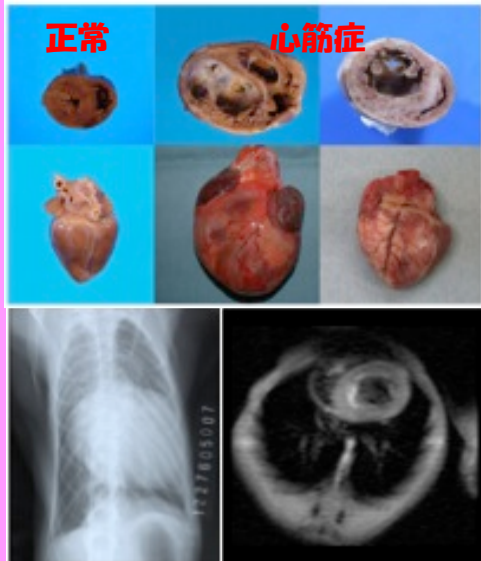
パーキンソン病誘発



老齢個体

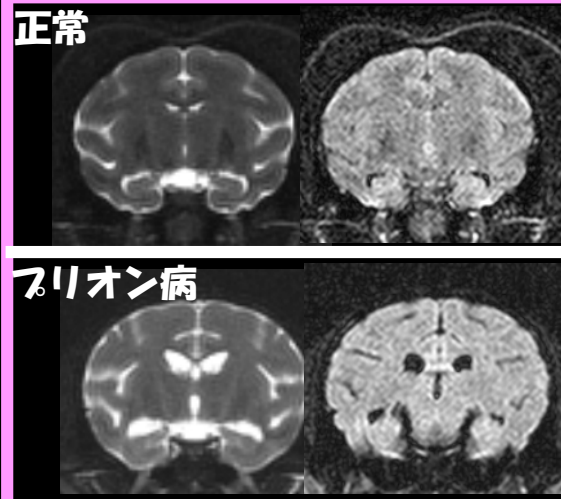
難病モデルカニクイザル

医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターは30年以上にわたりカニクイザルを家系を維持しながら、繁殖・育成を行ってきた世界で唯一の霊長類センターである。これらのサルは感染病原体も保持しておらず、世界で最もクリーンなカニクイザルとして知られている。霊長類センターではこれらのカニクイザルから独自の家系性の自然発症難病モデルおよび実験的誘発難病モデルサルを用いて難病研究を行っている。



拡張型心筋症

世界で唯一の拡張型心筋症を発症するカニクイザル家系を維持、繁殖し研究している。



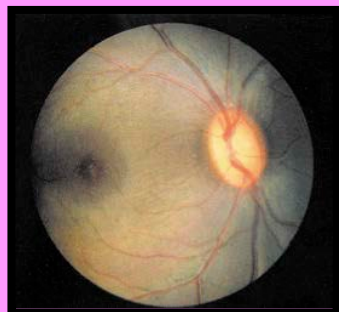
プリオン病

カニクイザルでの本疾患の樹立に成功し、早期診断や発病初期変化を研究している。



原発性高脂血漿

発病家系を維持、繁殖し、治療薬や関連疾患の研究を行っている。



加齢黄班変性

発病家系を維持、繁殖しており、常に数十頭の発症カニクイザルを飼育し、診断機所の解析、治療薬の試験を行っている。



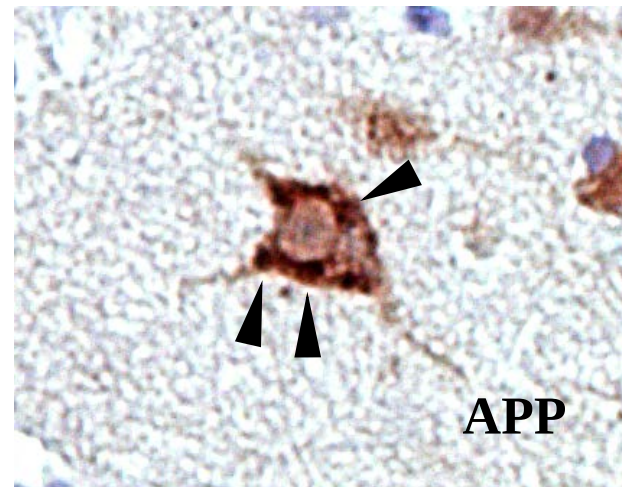
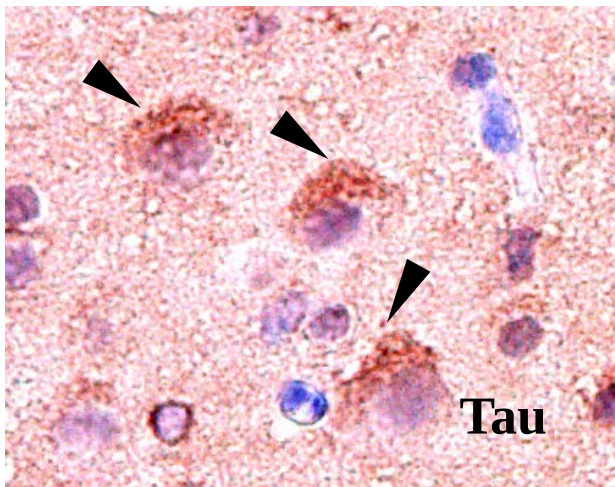
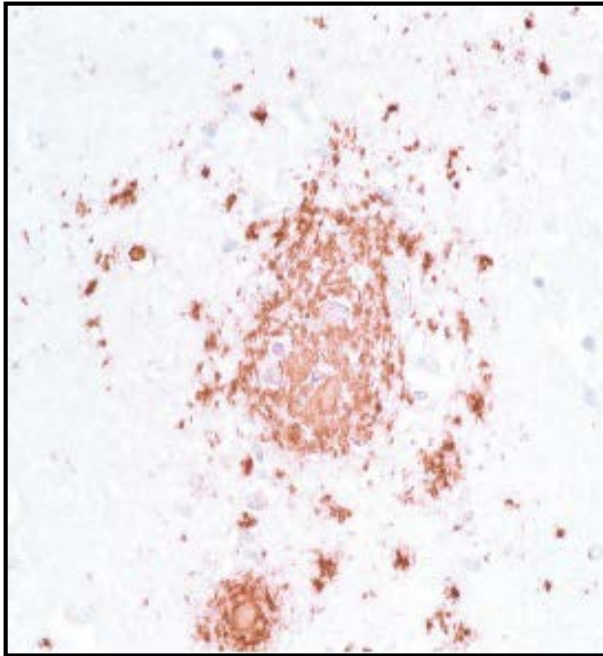
パーキンソン病

カニクイザルでの本疾患の樹立に成功。遺伝子治療の効果を検討している。

Aging Farm



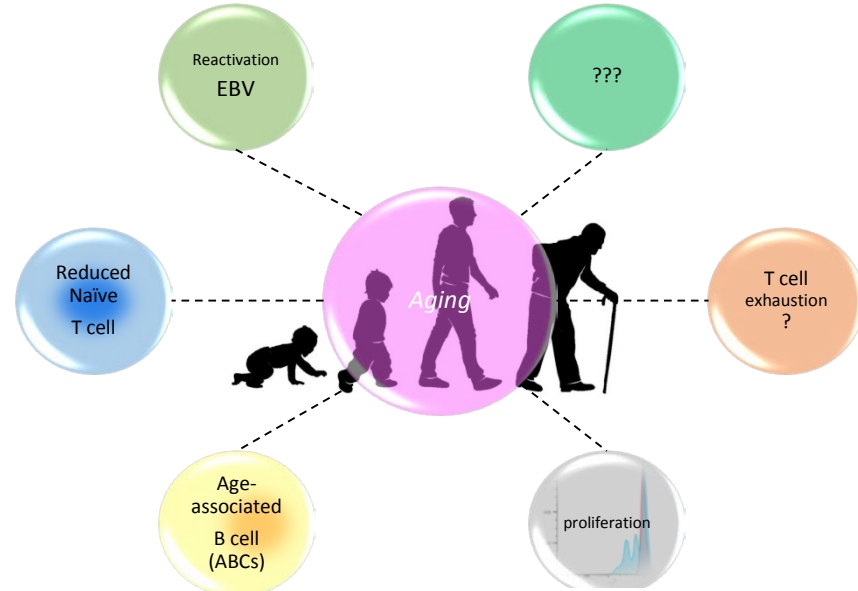
- Aging Farm -
Alzheimer disease



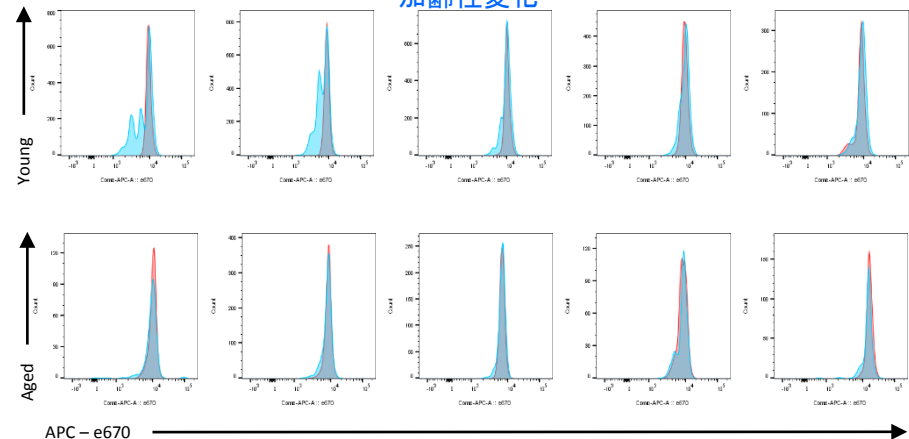
カニクイザルにおけるEpstein-Barr virus の不完全制御 - 加齢による免疫反応の変化 -

加齢は生体の免疫反応の低下と破綻によって引き起こすと考えられる用意あった。加齢に伴いにワクチンに接種による効果も低下する。Epstein-Barr virus (EBV) 世界中で90%の人が感染している慢性感染ウイルスである。EBV感染症は通常では無症候群である。しかしながら、免疫低下により活性化することが知られている。本課題では世界中で唯一存在するカニクイザルAging Farmを用いてヒトに近い霊長類において加齢と免疫反応の関係をEBVを標的に検討した。

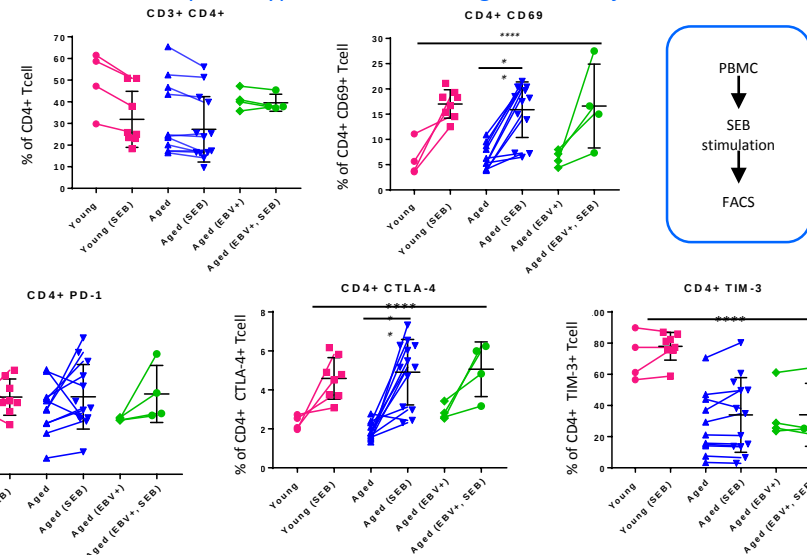
代謝的变化(機能低下)は免疫不全を誘導しているのか？



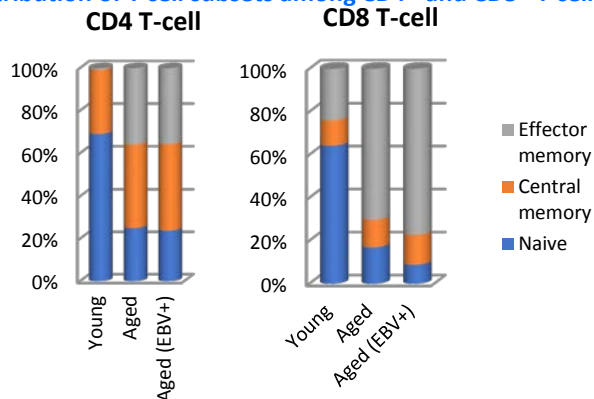
CD4 T-cells (Th cells) anti-CD3 and CD28 刺激 (TCR) 刺激における加齢性変化



Tolerant T-cell phenotypes are favored in geriatric subjects



Distribution of T cell subsets among CD4+ and CD8+ T cells



加齢に伴いメモリー細胞はエフェクターメモリー細胞にシフトする。老齢カニクイザルにおいてはCD69ならびにCTLA-4 発現CD4+ T細胞は刺激によって増加するが、Tim-3 の発現は低下し、多くの免疫学的分子の変化が認められる。加齢は免疫反応と免疫寛容の微妙なバランスを破壊していることが認められた。

Obesity Group



Obesity Group Selection

- Weight: more than 5 kg Ave. 3-3.5 kg
- Blood exam: Glu (>80 mg/dl), T-CHO (>150 mg/dl), or TG (>100 mg/dl)

Hyperlipidemia

- T-CHO (>150 mg/dl) or TG (>100 mg/dl)

Diabetes Mellitus

- Glu (>90 mg/dl)
- HbA1c (>6 %), weight loss?

- Familial Progress of Diseases -

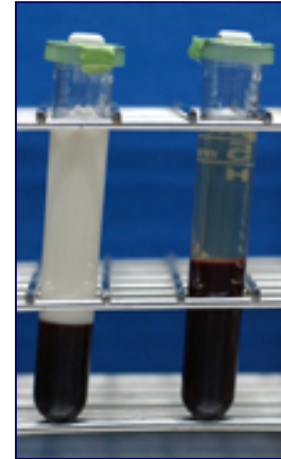
Hyperlipidemia and Diabetes



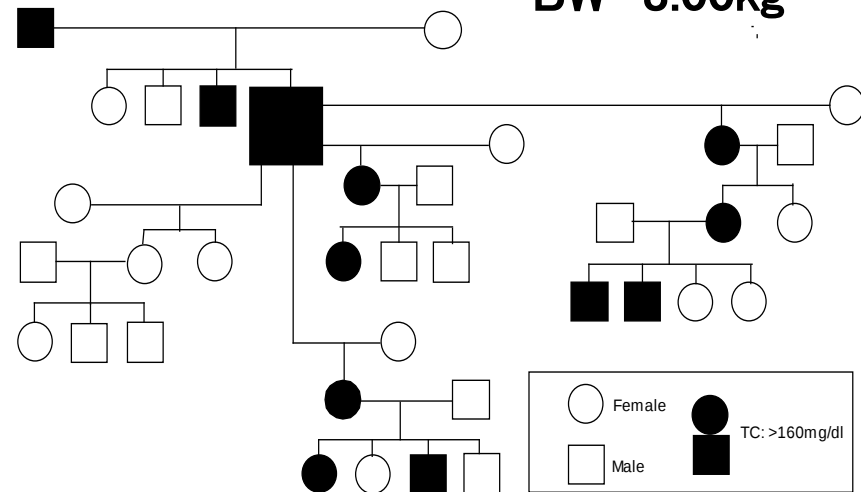
18 ys
BW 2.36kg



17 ys
BW 3.56kg



16 ys
BW 8.00kg



SPF Cynomolgus monkey colony at TPRC
(approx. 1700 monkeys)

Obesity Group

Weight: 90
More than 5 kg (Ave. 3-3.5 kg)

Hyperlipidemia: 26

2

2

6

Diabetes Mellitus: 10

加齢・代謝疾患に伴う免疫機能低下の解析

生涯にわたる健康維持や疾患に関係する生体の変化を知ることの重要性は周知であるが、これらの知見を得ることは、食生活や居住地域、活動等が多様なヒトにおいて検討することは極めて困難である。また、高齢者および代謝疾患患者では季節性インフルエンザにより重症化、重篤な合併症を引き起こすリスクが高く積極的なワクチン接種が推奨されているが、一方で、ワクチン接種後の免疫誘導の低下が問題となっている。そこで、当センターの巨大カニクイザルコロニーを用いて、感染症高リスク群における効果的な免疫応答の誘導を目指し、Aged Groupおよび糖尿病カニクイザルにインフルエンザワクチンを投与し、免疫応答の解析を行い、その差異を検討した。

Grouping of CMs at TPRC

Cynomolgus monkey colony at TPRC
(approx. 1700 monkeys)

Obesity Group



Weight: 90

More than 5 kg (Ave. 3-3.5 kg)

Hyperlipidemia: 26

HighGlu/DM: 10

7

10

2

3

2

6

2

2

>20 years: approx.100



Aged Group



Regimen and Subject

Trivalent Flu Vaccine
15 ug ea./CM

Sampling

Sampling

Sampling

Pre/0w

2w

4w

6w

16w

Influenza seasonal vaccine: HA antigen 15ug each by subcutaneous injection

【A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1) pdm09】

【B/Phuket /3073/2013 (Yamagata lineage)】

【A/Hong Kong/4801/2014 (X-263) (H3N2)】

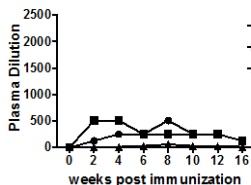
【B/Texas/2/2013 (Victoria lineage)】

ExNo.	Age	M/F	GLU (mg/dl)	T-CHO (mg/dl)	TG (mg/dl)	HbA1c	Weight
#001	26	M	38	84	72	3.7	6.70
#002	25	M	41	111	76	3.5	3.68
#003	23	M	39	43	33	3.3	4.39
#004	14	M	34	76	17	3	4.25
#005	12	F	31	97	29	2.8	3.87
#006	10	M	55	50	36	3.4	4.73
#007	14	F	274	118	186	13	2.19
#008	17	F	230	130	160	10.6	3.00

Immune response to Flu Vaccine

anti-HA IgG titer

Elderly



Young

#001

#002

#003

#004

#005

#006

#007

#008

#009

#010

#011

#012

#013

#014

#015

#016

#017

#018

#019

#020

#021

#022

#023

#024

#025

#026

#027

#028

#029

#030

#031

#032

#033

#034

#035

#036

#037

#038

#039

#040

#041

#042

#043

#044

#045

#046

#047

#048

#049

#050

#051

#052

#053

#054

#055

#056

#057

#058

#059

#060

#061

#062

#063

#064

#065

#066

#067

#068

#069

#070

#071

#072

#073

#074

#075

#076

#077

#078

#079

#080

#081

#082

#083

#084

#085

#086

#087

#088

#089

#090

#091

#092

#093

#094

#095

#096

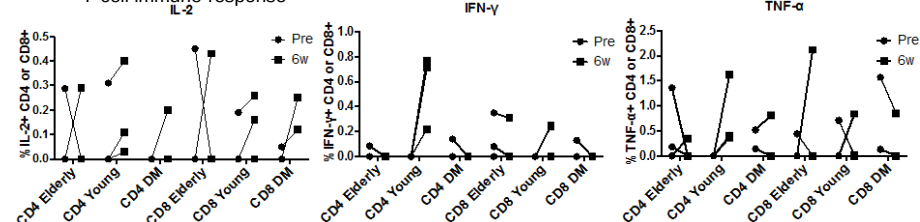
#097

#098

#099

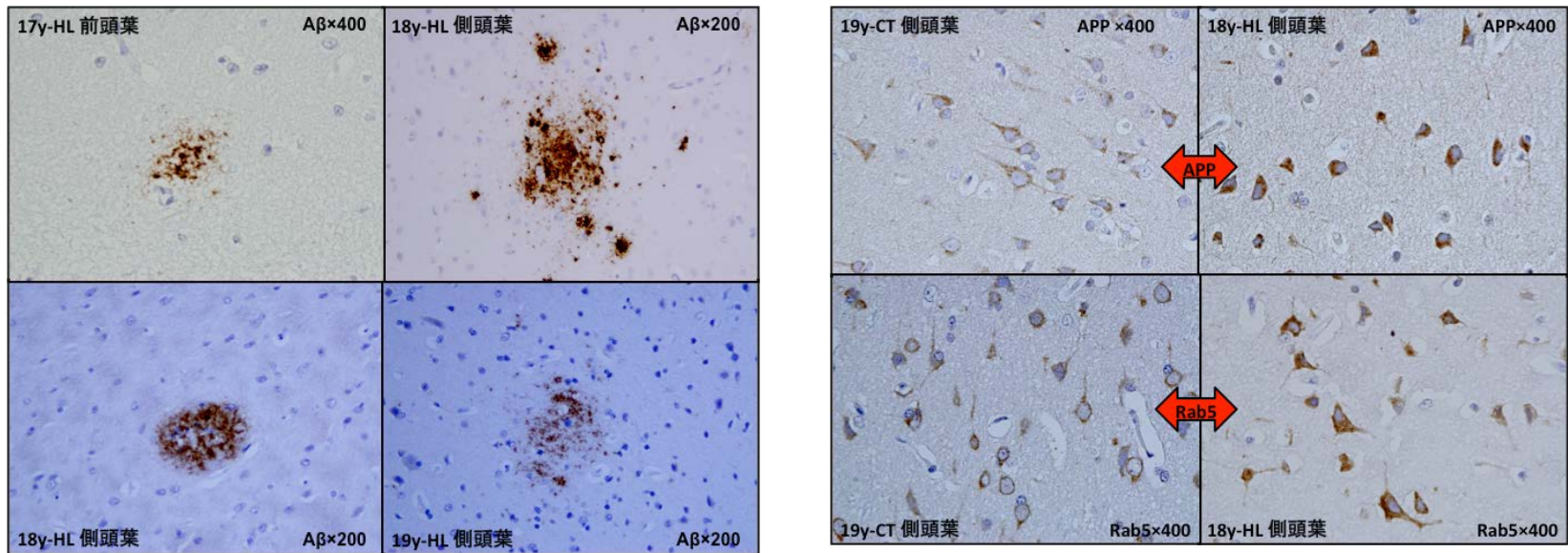
#100

T-cell immune response



巨大カニクイザルコロニーより、Aged group, Obesity groupを選定し整備した。インフルエンザワクチン接種後、HA抗原に対する液性・細胞性免疫応答を解析したところ、Young群に比べ、Elderly群では低く、DM群ではその年齢にも関わらず、顕著に低かった。加齢および糖尿病に伴うワクチン接種後の免疫誘導能の低下が観察された。

Life style-related Diseases in humans



RESEARCH ARTICLE

Diabetes Mellitus Accelerates A β Pathology in Brain Accompanied by Enhanced GA β Generation in Nonhuman Primates

Sachi Okabayashi^{1,2}, Nobuhiro Shimozawa¹, Yasuhiro Yasutomi¹,
Katsuhiko Yanagisawa³, Nobuyuki Kimura^{1,3*}

PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0117362 February 12, 2015

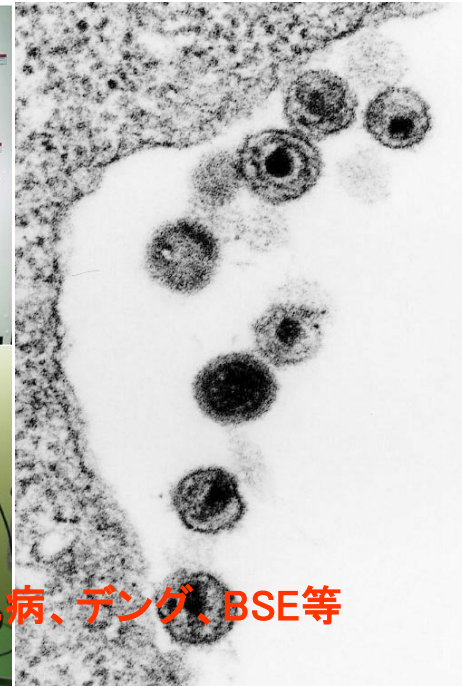
霊長類医科学研究センター感染症研究

感染症に対する研究・開発を世界で唯一サル生産から一貫して対応

P2・P3レベル感染症研究



感染症研究特殊設備



30年以上かけて作製された高品質ザル、整備された施設、機器、人員などにより厚労行政を支える研究が遂行されている。

・エイズ、マラリア、C型肝炎、ハンセン氏病、デング、BSE等
・ワクチン、治療薬の開発

供給

世界で唯一の繁殖育成系



高品質カニクイザル

清浄なSPFサルの生産→感染症・医科学研究への貢献

個別繁殖・飼育→妊娠時期が明確な個体の研究利用

ブリーディング履歴の保証→疾患原因の解明に寄与

産地国の遺伝的背景を維持→産地により病原菌感受性に違い

エイジングファームの維持→長寿科学研究への貢献

HTLV-1感染カニクイザルモデルの確立

ヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-1)感染は、一部の感染者に成人T細胞白血病(ATL)、痙性脊髄麻痺 (HAM/TSP)を引き起こすことが知られているが、その発症メカニズムについては未だ不明な点が多く、予防法も確立されていない。本研究では、HTLV-1感染疾患の病態解析および予防法の開発を目指し、その基盤となるHTLV-1感染カニクイザルの確立を試みた。

Infection Regimen



Infection HTLV-1+ cell : IV

0w

2w

4w

6w...

Expt. 1 (#001, #002)

Infection I (0w)

ATL-056i 2x10⁷ cells/monkey
ATL-0401x10⁷ cells/monkey

Infection II (4w)

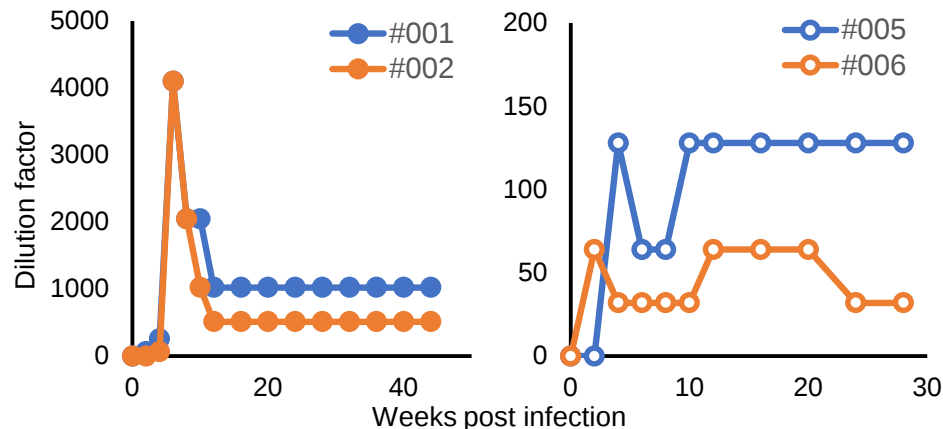
ATL-0401x10⁸ cells/monkey

Expt. 2 (#005, #006)

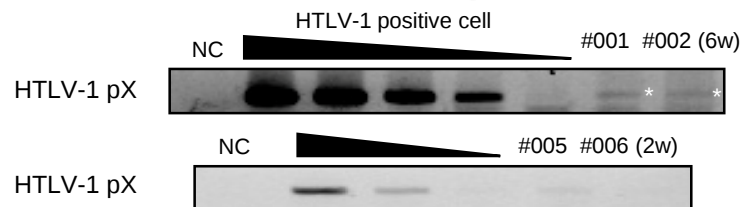
Infection I (0w)

ATL-0401x10⁸ cells/monkey (#005)
ATL-056i 1x10⁸ cells/monkey (#006)

Determination of anti-HTLV-1 Abs in plasma

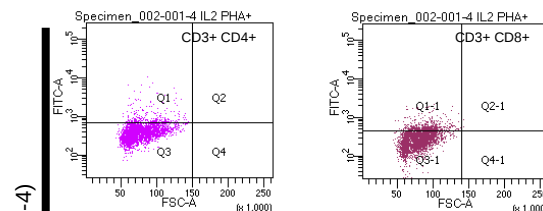


Detection of HTLV-1 provirus

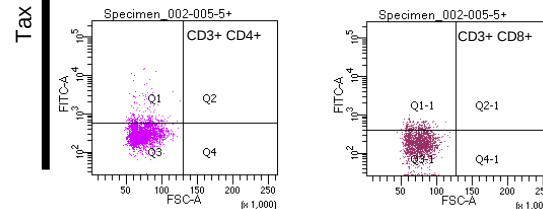


Detection of HTLV-1 Tax-expressing cells

#001 16w : PHA, IL-2



#005 4w : IL-2, IL-4



ATL患者由来HTLV-1感染細胞(ATL-040. ATL-056i)を接種したカニクイザルより、抗HTLV-1抗体、プロウイルスDNA、ウイルスタンパク質発現細胞が検出された。

ATL患者由来HTLV-1感染細胞を用いることで、100%の確率でHTLV-1感染が認められ、HTLV-1感染カニクイザルが確立された。

ヒトにおける結核

人類の30%が結核菌に感染 (WHO report 2009)



- ・5～10%が感染後2年以内に結核発症 (大半が非発症) (Jereb J et al., Tuberc Lung Dis 2003)
- ・一生のうち再活性化 (治癒後再発含) 10% (Verver S et al., Int J Epidemiol 2004)
- ・結核患者接触者: 20～30%が感染・非発症、1%が発症 (WHO report 2009、Marks SM et al., Am.J.Respir.Crit.Care Med 2000)

カニクイザル結核モデル

- ・～45%カニクイザルは感染・非発症 (Capuano SV et al., Infect Immun 2003, Lin PL et al., Infect Immun 2009)
- ・TNF抗体の投与でLatencyから発症へ (Lin PL et al., Arthritis Rheum 2010)
- ・再活性化もあり (Flynn AL et al., J Immunol 2014)
- ・詳細な解析が進行中 (Lin PL et al., Nature Med 2013)
- ・Phase IIまでのヒト臨床試験では霊長類試験を同時に行うことが必須。

唯一・最良の結核モデル

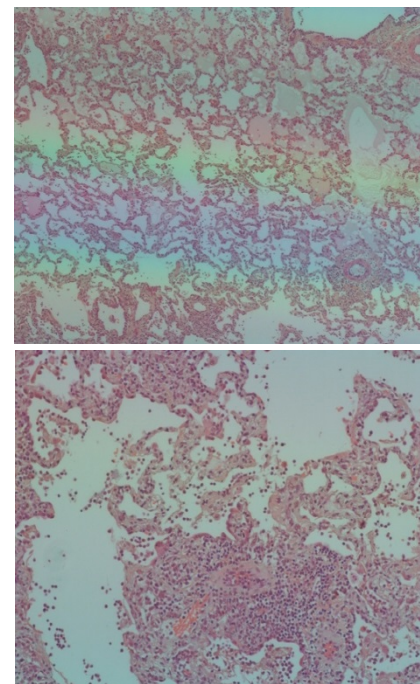
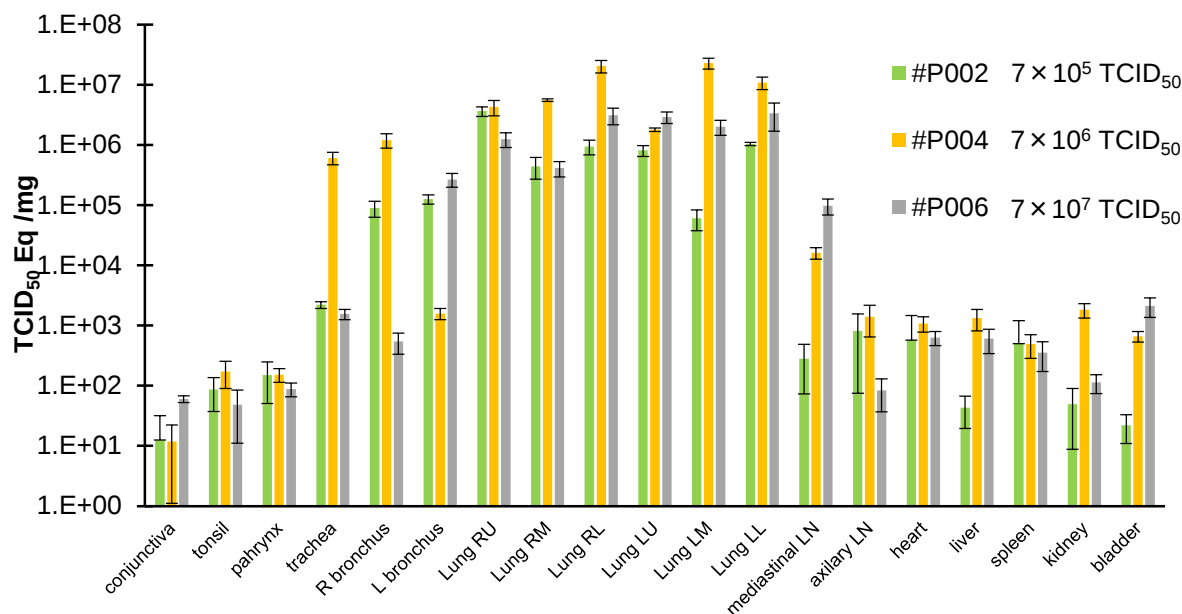


カニクイザルを用いたMERS(中東呼吸器症候群) コロナウイルス感染モデル作製

MERSコロナウイルス(MERS-CoV)のワクチン・治療薬等の開発を目的としてカニクイザルを用いた感染動物モデルを検討した。

実験で使用するウイルスは、臨床材料や培養株では無く、リバーシジェネティック法で全ウイルスゲノムをBACベクターに組み込んだ分子クローンDNAを用いた。分子クローンDNAを細胞株にトランスフェクションし、培養上清中に産生されたウイルスをカニクイザルに接種し、1週間後の各組織中でのウイルス量測定と病理解析を行った。

組織中ウイルス量及び肺病理解析結果



HE染色像

- ・BACクローンDNAから作製したMERS-CoVを用いて、カニクイザルでの実験感染が確認された。
- ・qPCRの結果では、肺を中心として各組織中からMERS-CoVの遺伝子が検出された。
- ・病理解析の結果では、間質性肺炎像とびまん性滲出性病変が確認された。

ウイルス性肝炎対策研究

ヒトB型肝炎ウイルス(HBV)およびヒトC型肝炎ウイルス(HCV)は我が国を含め世界中に感染者が存在する疾患である。両ウイルスは持続感染を示す慢性感染症である。HBVはワクチンが存在しているにも関わらず、わが国では感染者は増加しており、HCVはワクチンも存在していない。感染者に対する治療は現在のところ全ての感染者に有効なものはなく、治療薬に無反応の感染者が多く存在する。また、両ウイルスでは適切な動物モデルが存在しないために治療薬の開発が困難であった。



Tupai (tree shrew):HCVに感染し、ヒトと同じように肝がんの発症も認められる。新生児ではHBVにも感染することが知られている。

ヒトHBVウイルス血漿を示す患者から、ヒト肝細胞移植Scidマウスを用いてウイルス分離、HBV分子クローンの作製に成功。HBV、HCV感染モデルを樹立中である。

