

第17回運営評議会

霊長類医科学研究センター・保富康宏

- 医科学研究用霊長類リソースの生産、供給、開発
- 霊長類を用いた医科学研究
- 共同利用施設の運営

霊長類医科学研究センターのミッション

我が国唯一の医学実験用霊長類センターとして霊長類を用いた個体レベルから遺伝子レベルまでの医科学研究を推進し、さらに霊長類研究リソースを総合的に整備・維持・供給するシステムを構築することにより、創薬・医科学研究に貢献する。

高品質医科学研究用霊長類

多目的/高品質サルの供給

- ・SPF以上にクリーンかつ年齢、履歴、家系、検査値などの個体情報が明らかなサルの供給
- ・妊娠ザル、胎児、高齢ザルなど特殊なサルの供給

技術と情報の提供

- ・繁殖育成技術
- ・高品質化技術
- ・個体情報データベース

霊長類を用いた医科学研究

自然発症疾患モデル開発

- ・網膜黄斑変性症、高脂血症などの家族性(遺伝性)疾患モデル
- ・アルツハイマー病、子宮内膜症、心疾患、などの疾患モデル

実験誘発疾患モデル開発

- ・感染症、循環器疾患等

基盤技術開発

- ・幹細胞研究、生殖工学技術等



動物福祉への配慮



高品質の医科学研究用霊長類の 繁殖、育成、品質管理、供給

カニクイザルの繁殖・育成と高品質化
多目的/高品質サルの供給



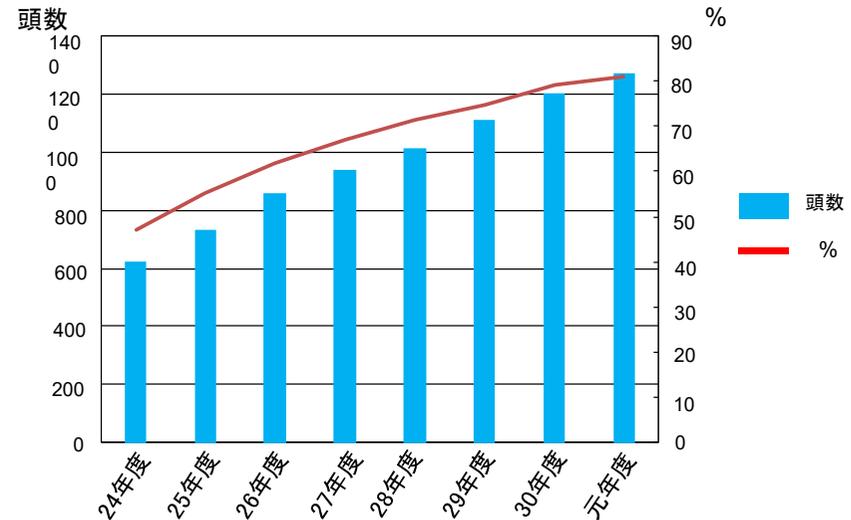
高品質カニクイザルの生産 —特にSRV/D排除によるSPF化—

SPF個体数の推移

25年度	26年度	27年度	28年度	29年度	30年度	元年度
732頭	852頭	939頭	1013頭	1109頭	1205頭	1271頭

SPFおよびSRV抗体陽性ザルの産仔
離乳した仔ザル199頭中全てがSRV
ゲノム&抗体共に陰性（SPF）で
あった。この199頭中122頭がSPF両
親からの出生であり、残り77頭は
SRV抗体陽性母ザルからの出生で
あった。

SPF個体数およびその割合の推移



- ・ 繁殖棟内のSPFサルの割合は、19年度で14.0%であったが、元年度には81.0%に達した。

各年度別のカニクイザル生産頭数およびサル類供給頭数

	区分	26年度	27年度	28年度	29年度	30年度	元年度
生産頭数		181	180	210	219	214	219
供給頭数	正常ザル	94	195	189	187	143	201
	特殊ザル*	23	3	8	24	15	4
	計	117	198	197	211	158	205

* 特殊ザル：妊娠個体、胎児、高齢、新生児、黄斑変性、心疾患、糖尿病など

霊長類を用いた医学科学研究による 疾患モデル開発・整備、基盤技術開発、 病態解析

霊長類を用いた医学科学研究

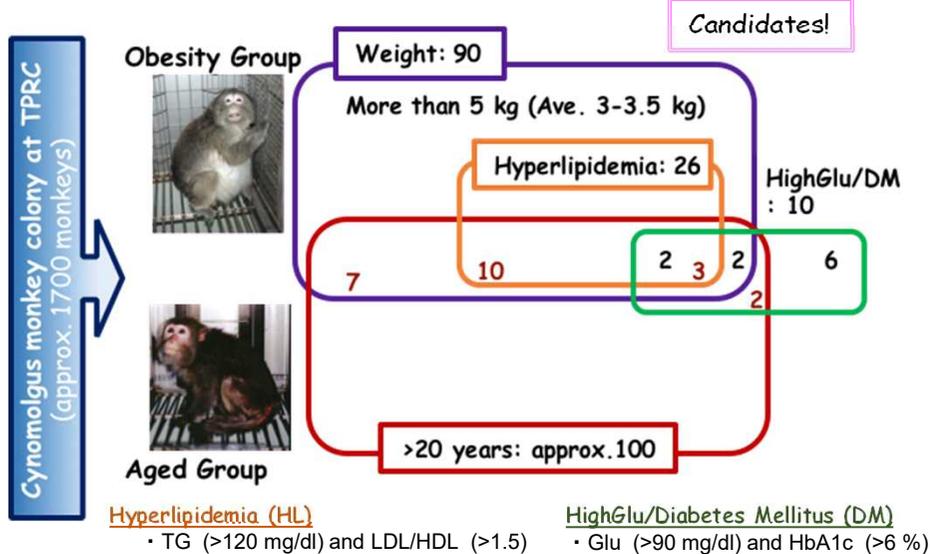
疾患モデル開発
疾患の病態解析
基盤技術開発



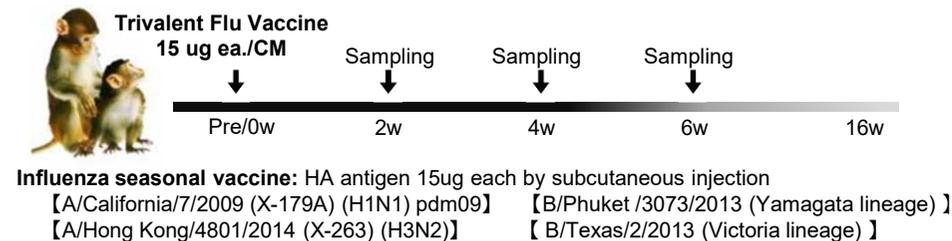
加齢・代謝性疾患に伴う免疫機能低下の解析

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、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。加齢や代謝性疾患に伴う免疫機能低下の解析は、健康長寿社会実現のため極めて重要である。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および代謝性疾患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。

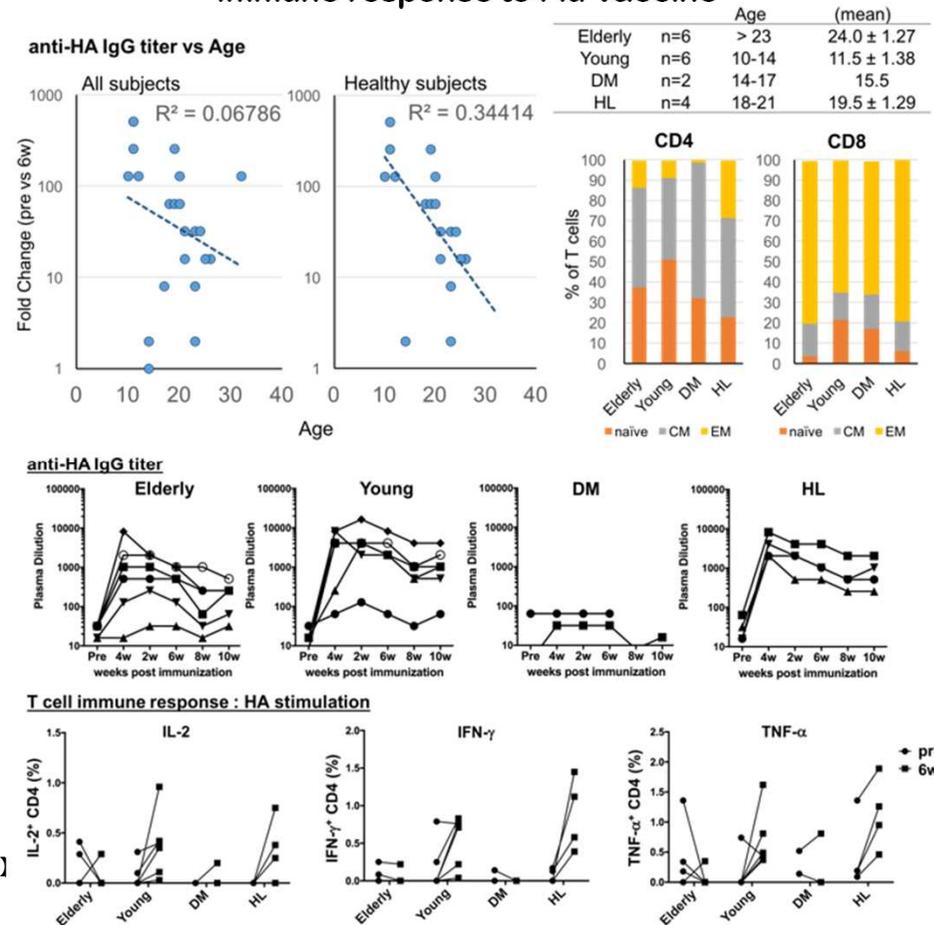
Grouping of CMs at TPRC



Regimen



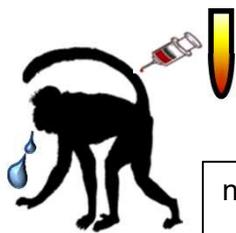
Immune response to Flu Vaccine



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に誘導された抗体価を解析したところ、Young群に比べElderly群では低く、抗体価と年齢での逆相関を示した。また、DM群ではその年齢にも関わらず、顕著に低かったが、HL群では観察されなかった。Elderly群およびDM群において同様の免疫反応の低下がインフルエンザウイルス特異的T細胞においても観察された。

加齢に伴うヘルペスウイルス感染症に対する免疫老化の解析

ヘルペスウイルスの多くは不顕性感染として持続的に潜伏感染する。しかし、ストレスや免疫抑制といった様々な要因により回帰発症することがあり、時に重篤な日和見感染症をもたらす。その要因の一つとして、加齢に伴う免疫機能低下・免疫老化が考えられている。そこで本研究では、加齢に伴う免疫機能の低下がヘルペスウイルス感染症に与える影響を明らかにするため、Epstein-Barr virus (EBV) を対象とし、カニクイザルを用いて解析を行った。



Subjects: Animals

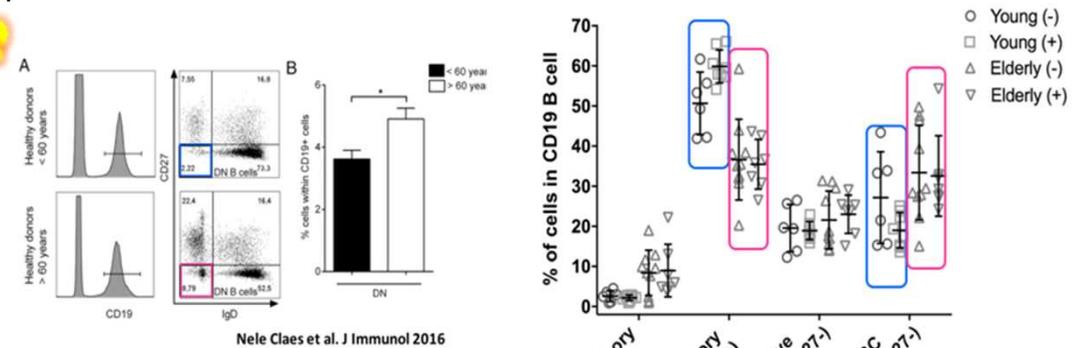
Determination of Cyno-EBV infection

- Blood; antibody testing
- Saliva; EBV detection by PCR

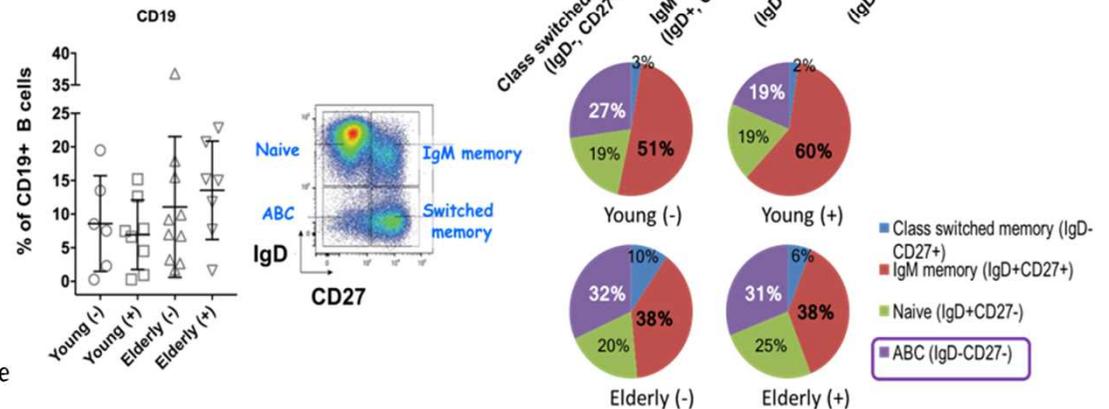
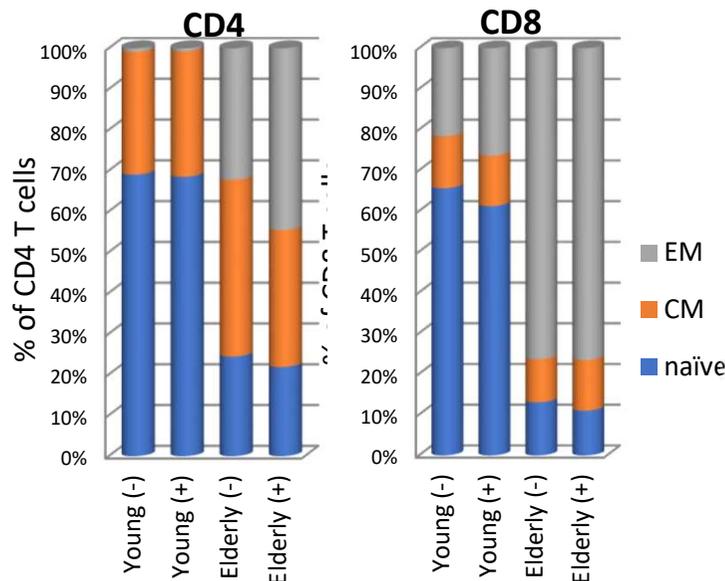
n = 31

Young 4-6y [EBV (-)] = 6
 Young 4-6y [EBV (+)] = 8
 Elderly 24-26y [salivaEBV (-)] = 10
 Elderly 24-26y [salivaEBV (+)] = 7

Distribution of B cell subsets and the ratio of Age-associated B cells



Distribution of T cell subsets



唾液中にEBVウイルスを排出している高齢カニクイザルを見出した。加齢に伴う免疫細胞の分布の変化を解析したところ、ヒトで報告されているT細胞におけるナイーブ細胞の減少・エフェクター細胞の増加、Age-associated B cellの増加が観察された。

アジュバント抗原組み込み弱毒エイズウイルスの霊長類を用いた評価

研究目的

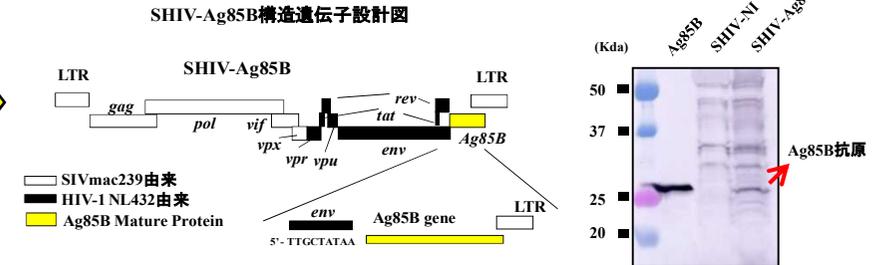
・Ag85B発現弱毒エイズウイルス(SHIV-Ag85B)を構築し、強毒株SHIV89.6Pに対する防御効果を検討した

抗酸菌分泌抗原; Antigen85B (Ag85B)

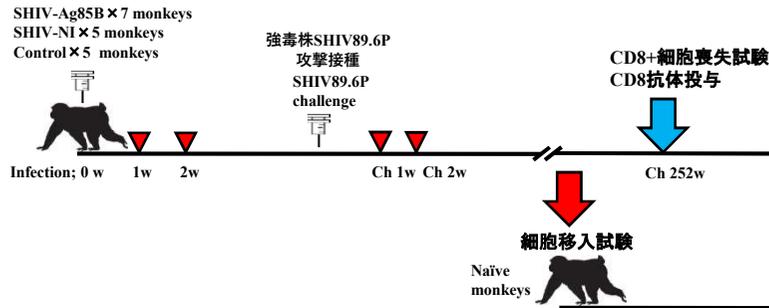
- 抗酸菌が分泌する主要な蛋白(325aa)
- 結核菌に対し、ワクチン効果 (*Vaccine* 2014)
- マウス喘息モデルに対する治療効果. (*PLoS One* 2014)
- HIVDNAワクチンのTh1指向性アジュバント効果 (*J.Immunol.* 2005)
- アトピー性皮膚炎の治療効果. (*Arch. Dermatol. Res.*2008)

アジュバント発現弱毒ウイルス作製

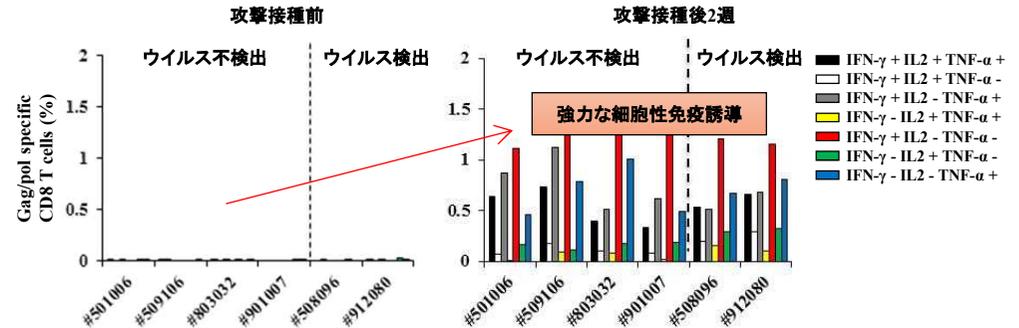
Ag85B発現弱毒エイズウイルス作製(SHIV-Ag85B)



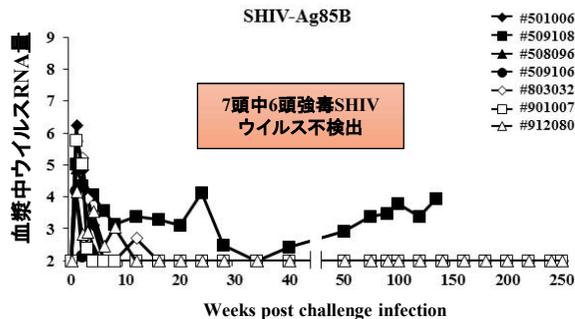
実験スケジュール



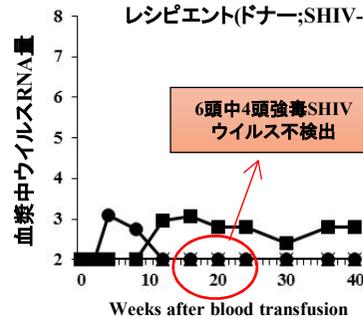
強毒株SHIVを制御した6頭における攻撃接種後の細胞性免疫(マルチサイトカイン産生細胞)の解析



SHIV-Ag85B接種サルにおける強毒株SHIV89.6P攻撃接種試験

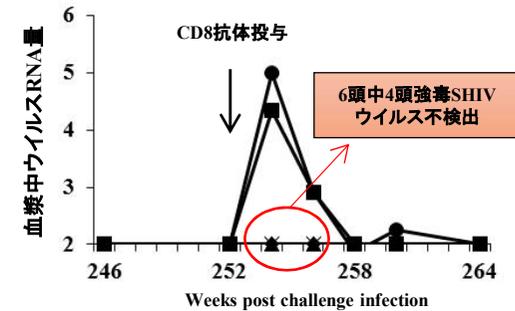


Naïveサルを用いた細胞移入試験 (レシピエント(ドナー;SHIV-Ag85B接種サル))



SHIV-Ag85B接種サル6頭中4頭で、強毒株SHIVのウイルス量を完全に抑える。

SHIV-Ag85B接種サルにおけるCD8+細胞喪失後の強毒株SHIVウイルス量



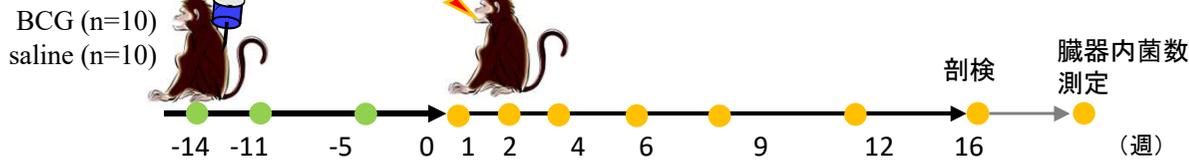
SHIV-Ag85B接種サルは強毒株SHIVを排除することを明らかにした(投稿中; okamura et al)

BCGの効果が認められるカニクイサル結核感染モデルの樹立

カニクイサルを用いた結核感染モデルの作製と病態の評価法を確立する。その作製された診断基準を用いて、BCGの予防効果を検討するとともにBCGの作用機序を免疫学的に解析した。

BCG (皮下投与) 2x10⁶ CFU/0.1 mL
結核菌感染 (経気道投与) 40 CFU

* 昨年度の結果から至適感染量を40 CFU/頭とした。



- 臨床診断 (CT検査, 体重, 体温, 等)
- PBMC・BAL細胞回収 (免疫応答確認、保存用)
- 臨床診断 (CT検査, 体重, 体温, 等)
- 血液検査 (赤血球沈降速度, 血球算定, C反応性蛋白等)

図1 BCG効果試験のサル結核実験スケジュール

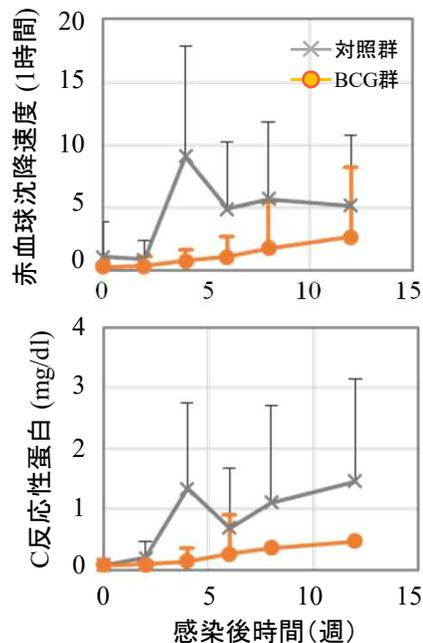


図3 血液検査によるBCGの効果試験

炎症の指標となる赤血球沈降速度(上)と反応性蛋白(下)がBCG群で優位に抑えられていた。

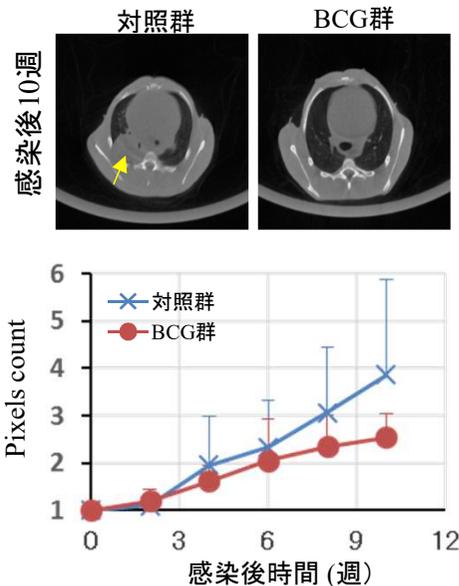


図4 CT検査によるBCGの効果試験

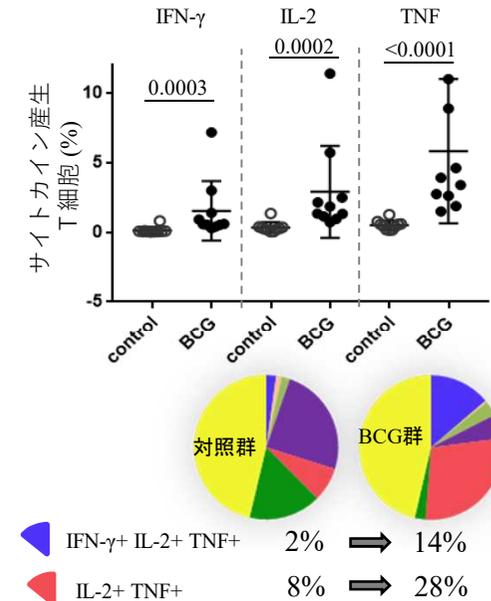


図2 BCG投与による免疫応答誘導

PPD反応性のサイトカイン産生をFACSで確認(上)。BCG投与によりIFN-γ/IL-2/TNF or IL-2/TNF産生T細胞が増加していた(下)。

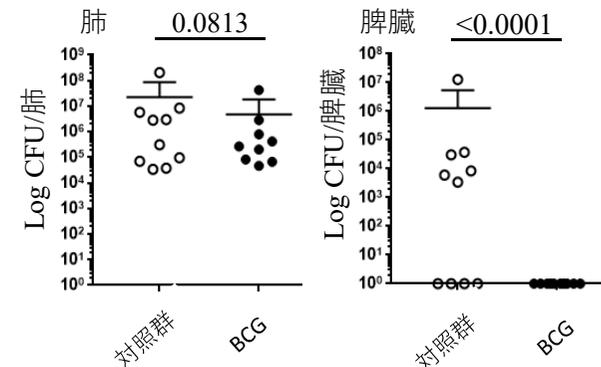


図5 臓器内菌数測定によるBCGの効果試験

エイズウイルス/結核共感染サルモデルの確立の検討

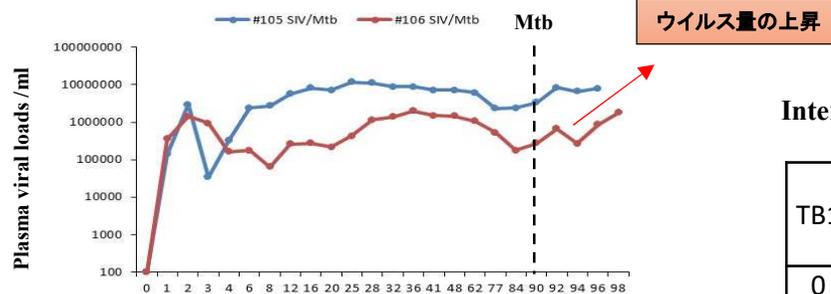
結核は HIV 感染症患者の主要な死因の一つである。そのため、HIV結核患者の病態を再現できる動物モデルは、診断や治療の研究開発に有用であると考えられる。本研究はエイズ感染サルに結核菌の接種を行い、エイズ・結核共感染モデルの確立を目指す。

実験スケジュール

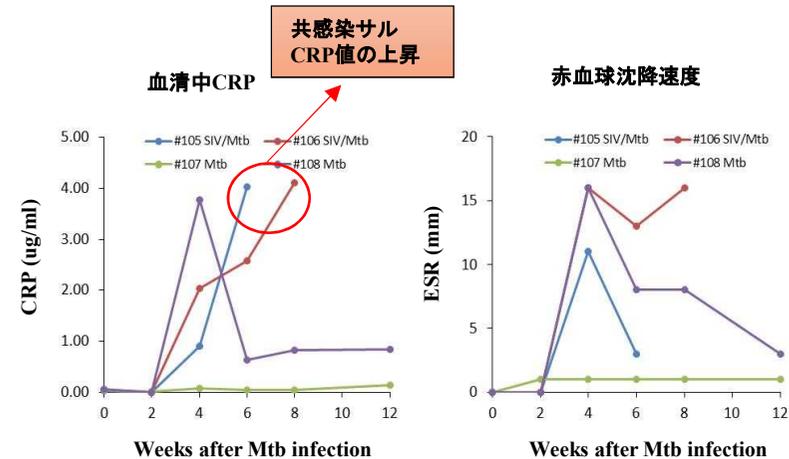
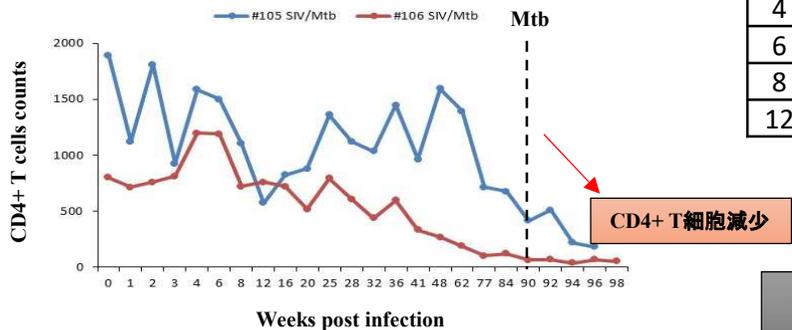


SIV感染サルにおけるMtb共感染後のウイルス量・CD4+T細胞

A. ウイルス量



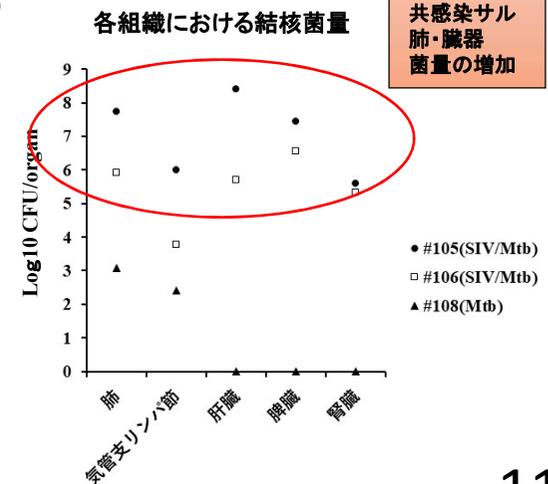
B. CD4+ T細胞数



Interferon-gamma release assays (IGRA) TB1; CD4

TB1	#105 ; SIV/Mtb	#106 ; SIV/Mtb	#107 ; Mtb	#108 ; Mtb
0	0.082	0.077	0.069	0.083
2	0.092	0.081	0.084	0.088
4	0.849	0.244	0.913	3.106
6	1.011	0.174	0.474	2.127
8	-	0.223	0.458	1.989
12	-	-	0.33	2.031

#106共感染サル IGRA低値



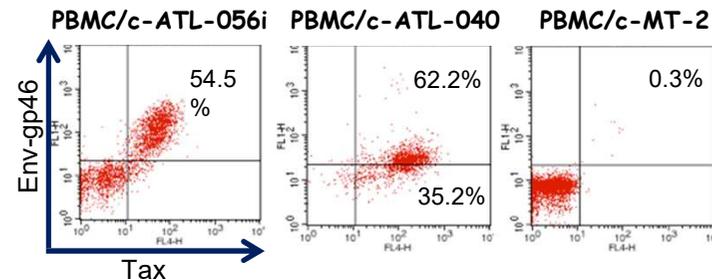
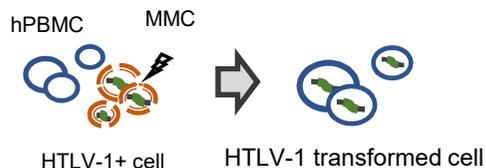
サルエイズ/結核共感染サルモデルを確立した

HTLV-1感染カニクイザルモデルの確立

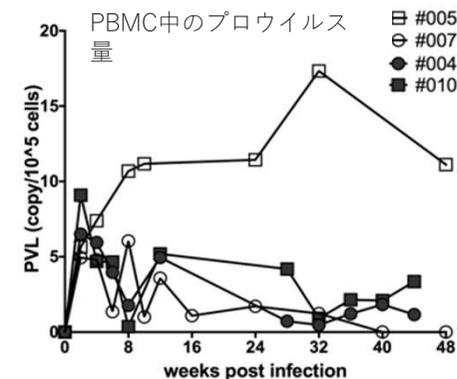
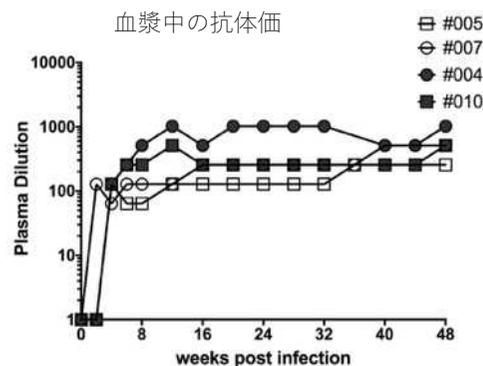
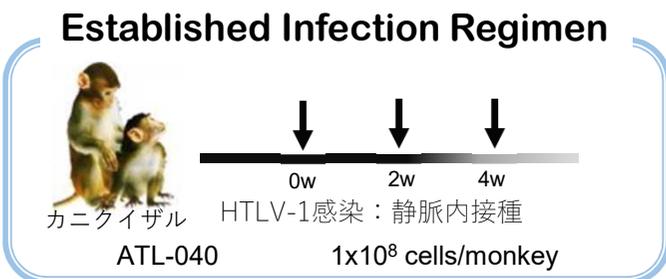
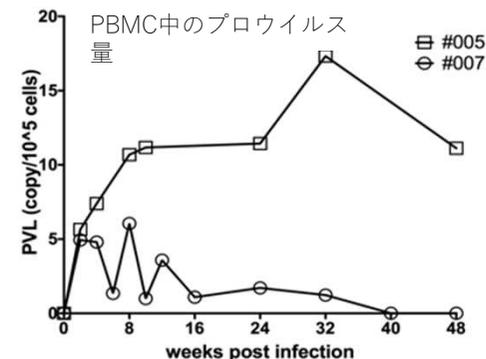
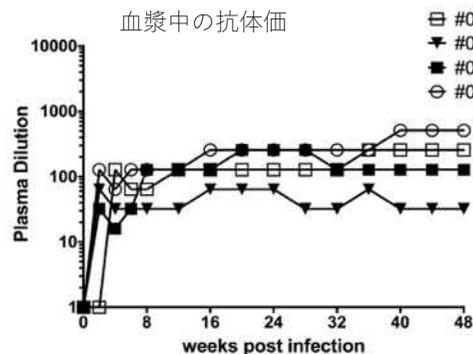
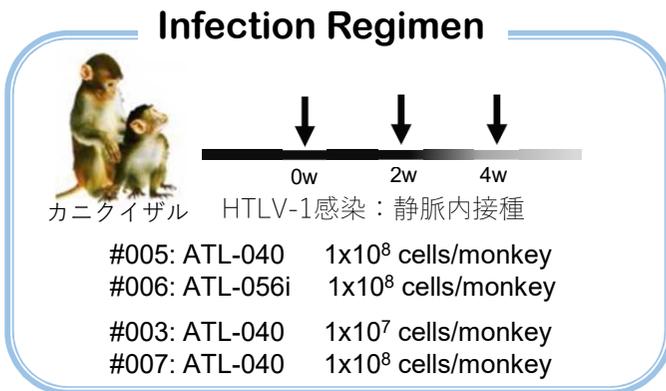
ヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-1)感染は、一部の感染者に成人T細胞白血病(ATL)、瘻性脊髄麻痺 (HAM/TSP)を引き起こすことが知られているが、その発症メカニズムについては未だ不明な点が多く、予防法も確立されていない。本研究では、HTLV-1感染疾患の病態解析および予防法の開発を目指し、その基盤となるHTLV-1感染カニクイザルの確立を試みた。

In vitroにおいて高い形質転換能を持つ新規HTLV-1産生細胞の探索

Cell line	Origin
ATL-056i	IL-2 dependent T cell
ATL-040	IL-2 independent B cell
MT-2	HTLV-1 transformed T cell



In vitroにおいて高い形質転換能を持つ新規HTLV-1産生細胞の静脈内接種によるHTLV-1感染カニクイザルの検討



ATL-040細胞の静脈内接種により100%HTLV-1感染カニクイザルモデルの作製が可能

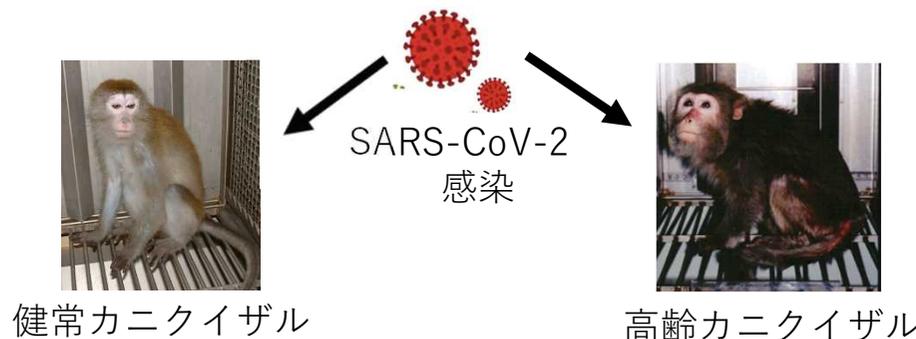
COVID-19カニクイザルモデルの作製

COVID-19パンデミック：早急な治療薬・予防薬の開発が求められる



評価系：ヒトへの外挿性の高い有用な動物モデルが必要

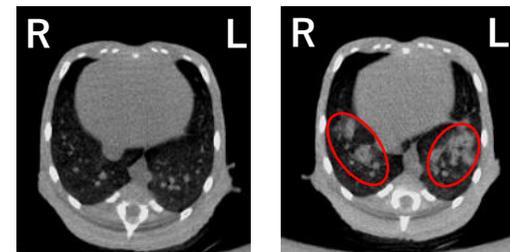
1. SARS-CoV-2感染カニクイザルモデルの作製



SARS-CoV-2感染カニクイザル胸部CT撮影像

感染前

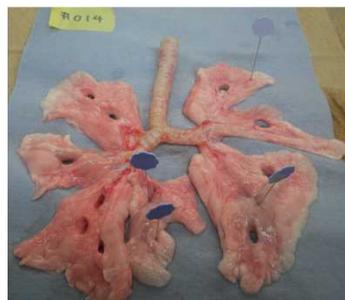
感染5日目



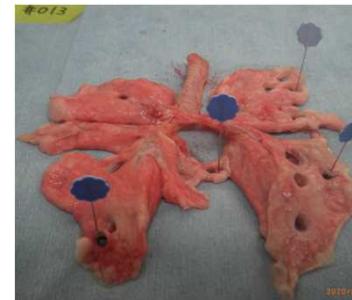
予備試験にてSARS-CoV-2感染により健康カニクイザルに肺炎を誘導することを確認

高齢者は重症化リスクが高い

・重症化高リスクモデルとして高齢カニクイザルを用いて検討



	#014 Day7	TCID50 ml/mg
1	less than	120
2		474,667
3		508,571
4		non



	#013 Day14	TCID50 ml/mg
1		non
2		non
3		non
4		non

共同利用施設運営

医薬基盤研究所研究員以外のセンターの利用

霊長類医科学研究センター 共同利用施設 運営

平成31年度	共同利用施設利用申請数	継続・変更申請数	新規申請数	計
	医科学実験施設：	7	7	14
	感染症実験施設：	5	3	8
	(BSL2)：	(2)	(2)	
	(BSL3)：	(3)	(1)	
	計：	12	10	22

平成31年度	共同利用施設利用採択数	継続・変更採択数	新規採択数	計
	医科学実験施設：	7	7	14
	感染症実験施設：	5	2	7
	(BSL2)：	(2)	(1)	
	(BSL3)：	(3)	(1)	
	計：	12	9	21

採択率	継続・変更申請	新規申請	計
医科学実験施設:	100%	100%	100%
感染症実験施設:	100%	66.7%	87.5%
計:	100%	90%	95.5%

令和元年度サル類実験施設における所外研究者研究課題数およびサル類使用頭数の実績

提供先	カニクイザル		その他のサル類		計	
	研究課題数	頭数	研究課題数	頭数	研究課題数	頭数
医科学実験施設	14	117			14	117
民間企業等との共同研究	4	81			4	81
所外研究者	10	36			10	36
高度感染症実験施設(P2)	1	3	2	32	3	35
民間企業等との共同研究						
所外研究者	1	3	2	32	3	35
高度感染症実験施設(P3)	1	11	1	16	2	27
民間企業等との共同研究						
所外研究者	1	11	1	16	2	27
計	16	131	3	48	19	179

令和元年度における実験用サル類管理頭数

飼育施設	区分	カニクイザル	ミドリザル	アカゲザル	タマリン	マーモセット	計
第一棟	繁殖・育成	527					繁殖・育成 1583
第二棟	繁殖・育成	426					
第七棟	繁殖・育成	582					
第三棟	育成	35	3	9	1		研究 298
	一般実験	47					
高度感染症実験施設(P2)	感染実験	53		19		9	
高度感染症実験施設(P3)	感染実験	47		15			
医科学実験施設	一般実験	108					
計		1825	3	43	1	9	

数値は全て3月末時点