



# 令和 6 年度運営評議会

霊長類医科学研究センター

## ▶ 背景・社会的意義等

- 創薬における実験動物霊長類は極めて重要な位置を占める。
- 現在世界的に実験動物霊長類の供給が滞る中で、当センターではSPFカニクイザルを安定的に生産している。
- 当センターで維持されている老齢や肥満カニクイザルコロニーは世界でも類を見ない。
- 難病等の希少なモデルザルコロニーも同様に維持されている。
- 感染症をはじめ数多くの疾患モデルの樹立と解析を行っている。
- COVID-19でみられたようなパンデミックにも対応し、SCARDAにも参画している（代表1課題、分担2課題）。

## ▶ 目標・令和6年度実績・成果・課題

- センターで飼育するカニクイザルのゲノム解析を開始した。
- 繁殖飼育に関して人工繁殖システムの開発、樹立を開始した。
- 拡張型心筋症、肥大型心筋症、網膜黄斑変性症、網膜色素変性症等の疾患家系を整備した。
- カニクイザルにおける肝硬変評価法を樹立した。
- SOCSシグナルを抑制する組み換えBCGがエイズウイルス感染において著明な効果を示すことが確認された。
- Mpoxのワクチン、治療薬等の評価系を樹立した。
- エイズ治療用ワクチンのプロトコルの検証を開始した。
- SARS-CoV-2におけるワクチン評価系の樹立と解析を行った。
- HBV感染ツパイモデルで肝がん誘導に成功した。
- HTLV-1感染において感染制御をもたらす中和抗体を確認し、長期にわたり病態を制御することが示された。

## ▶ ポイント

- 高品質（SPF）の実験動物カニクイザルの繁殖、育成、及び研究への提供を行う。
- 繁殖・育成システムの効率化・簡素化を図り、カニクイザルを用いた疾患モデルの作製と病態解明、治療薬やワクチンの評価系の樹立と評価、自らによる研究・開発を進める。
- COVID-19のような緊急感染症対策基盤の構築と、成果の国際的な公表を行う。

## 各年度別のカニクイザル生産頭数及びサル類供給頭数の推移

	区分	2019	2020	2021	2022	2023	2024 (12月末)
生産頭数		<b>210</b>	<b>222</b>	<b>220</b>	<b>189</b>	<b>210</b>	<b>205</b>
供給頭数	正常ザル	196	163	154	206	170	141
	特殊ザル*	4	10	10	2	0	3
	計	<b>200</b>	<b>173</b>	<b>164</b>	<b>208</b>	<b>170</b>	<b>144</b>

\* 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

霊長類医科学研究センターの  
カニクイザルコロニー

カニクイザル  
(*Macaca fascicularis*)



- Aging Farm -



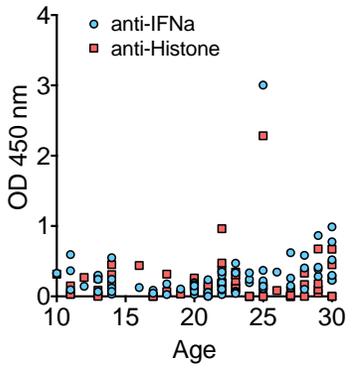
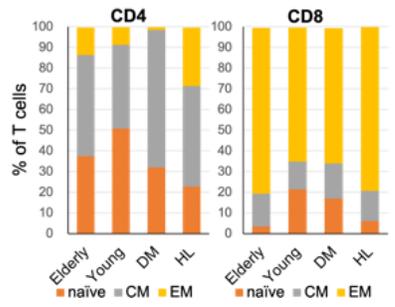
- Obesity Farm -



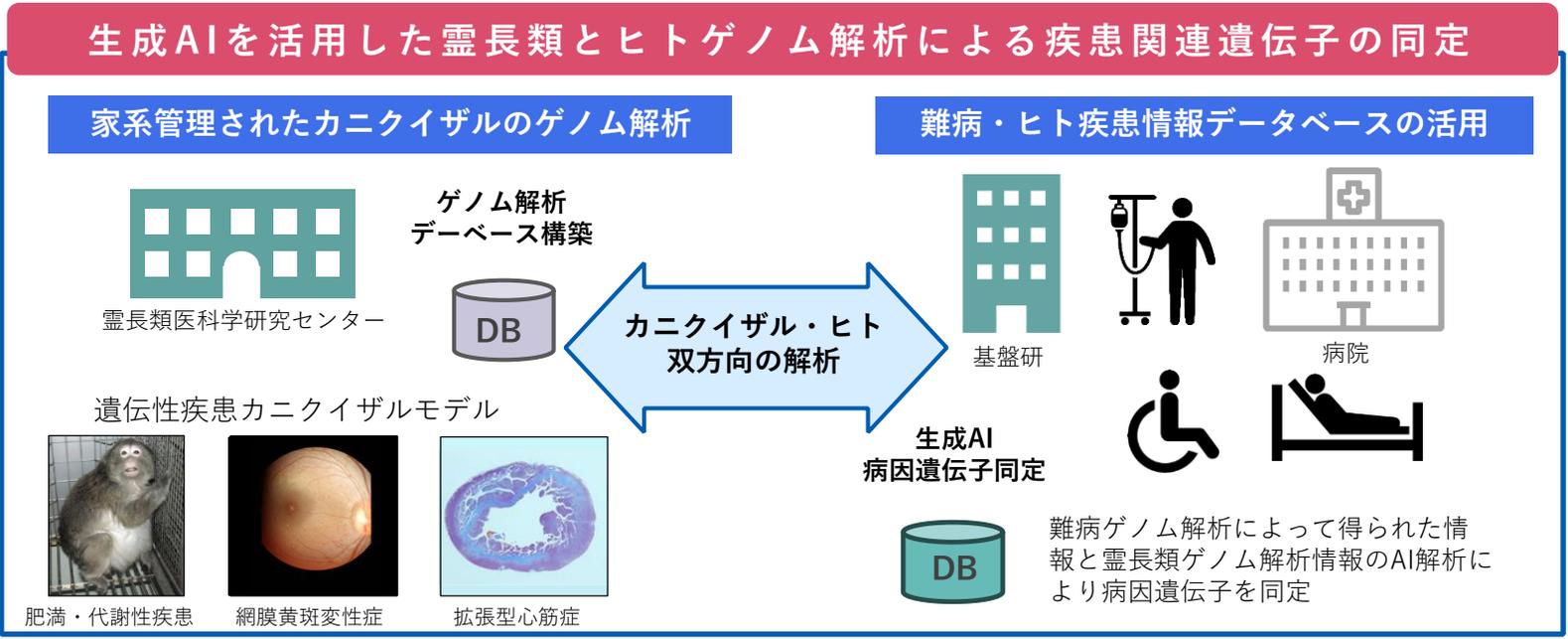
- Origin of monkeys
- From Indonesia
  - From Philippine
  - From Malaysia

加齢や代謝性疾患に伴うT細胞変化と自己抗体

	n	Age (mean)	(mean)
Elderly	6	> 23	24.0 ± 1.27
Young	6	10-14	11.5 ± 1.38
DM	2	14-17	15.5
HL	4	18-21	19.5 ± 1.29



霊長類医科学研究センターでは、完全な自家繁殖により系統・遺伝統御されたカニクイザルコロニーを有している。カニクイザルは遺伝学的にもヒトに近く、人の遺伝性疾患や生活習慣病等に類似した病気を発症し、加齢や代謝性疾患に伴う免疫機能変化や機能低下がヒトと同様に認められる。そこで、遺伝性疾患難病克服を目指し、カニクイザルとヒトの双方向のゲノム解析による病因遺伝子の同定を目的とし、疾患家系個体及び正常個体の全ゲノム解析を行う。



成体を対象とし、全ゲノム解析用に疾患家系384頭、肥満・代謝性疾患個体103頭、正常個体607頭の採血を実施した。

# カニクイザルにおける繁殖特性の解析及び人工繁殖技術の構築

霊長類センターのカニクイザル繁殖方式は、推定される排卵時期に短期間行われる雌雄1対1同居が主である。SPF個体の生産とそのコロニー拡大には効率的な妊娠の成立が必要であるが、およそ15年前には10%程度の妊娠率であった。その改善のために繁殖方式を見直し、最近3年間の妊娠率は16.9% (妊娠821頭/診断4850頭) になった。このように自然繁殖による妊娠率は決して高くはなく、その原因を調べることは効率的な繁殖コロニーの構築に必要である。さらに、特定間での次世代や遺伝性疾患の作出・維持において、低い妊娠率は大きな問題となり得る。そこで、積極的に次世代を得るための人為的な繁殖技術 (人工授精・胚移植) の確立に向けた検討も行っている。



妊娠率 = 16.9%

低い原因の調査

妊娠歴の有無に分けて調べた。  
Table 1. 繁殖特性の解析

妊娠歴	個体数	排卵 個体数(%)	交尾 個体数(%)	排卵と交尾 の一致数(%)	妊娠 個体数(%)
無	61	38(62.3)	23(37.7) <sup>a</sup>	14(23.0) <sup>c</sup>	8(13.1) <sup>e</sup>
有	12	7(58.3)	9(75.0) <sup>b</sup>	6(50.0) <sup>d</sup>	4(33.3) <sup>f</sup>

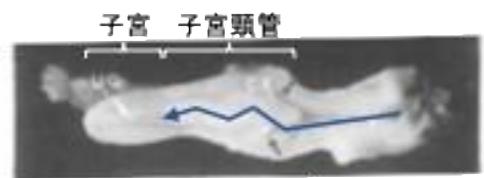
a, b; P = 0.0194 c, d; P = 0.0627 e, f; P = 0.1011

- ・妊娠歴の無個体は、有個体よりもいずれも低い。
- ・交尾の不成立が顕著
- ・繁殖を制御できていない
- ・家系根絶の可能性

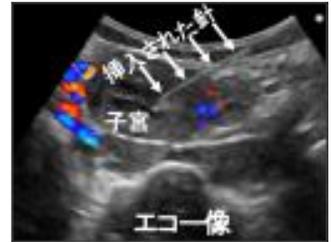
人工繁殖技術も必要

## カニクイザル人工授精技術の確立

下図のように子宮頸管は蛇行しており、経膣的な子宮への精子注入は難しい



エコー下で子宮腔内へ経腹的に穿刺して精子注入



- ・妊娠率 = 80%(4/5)
- ・極短時間で動物負担の軽減
- ・家系維持や清浄化への利用

Shimozawa et al., JAALAS, 60: 125-132. 2021.

## カニクイザルにおける効率的な人工授精技術の確立

## カニクイザル胚移植技術の検討

顕微授精による受精卵の作成



受精卵の体外培養



胚移植技術の構築

- ・従来法に変わる技術
- ・動物負担の軽減
- ・家系維持や清浄化への利用
- ・遺伝子改変個体作出への応用

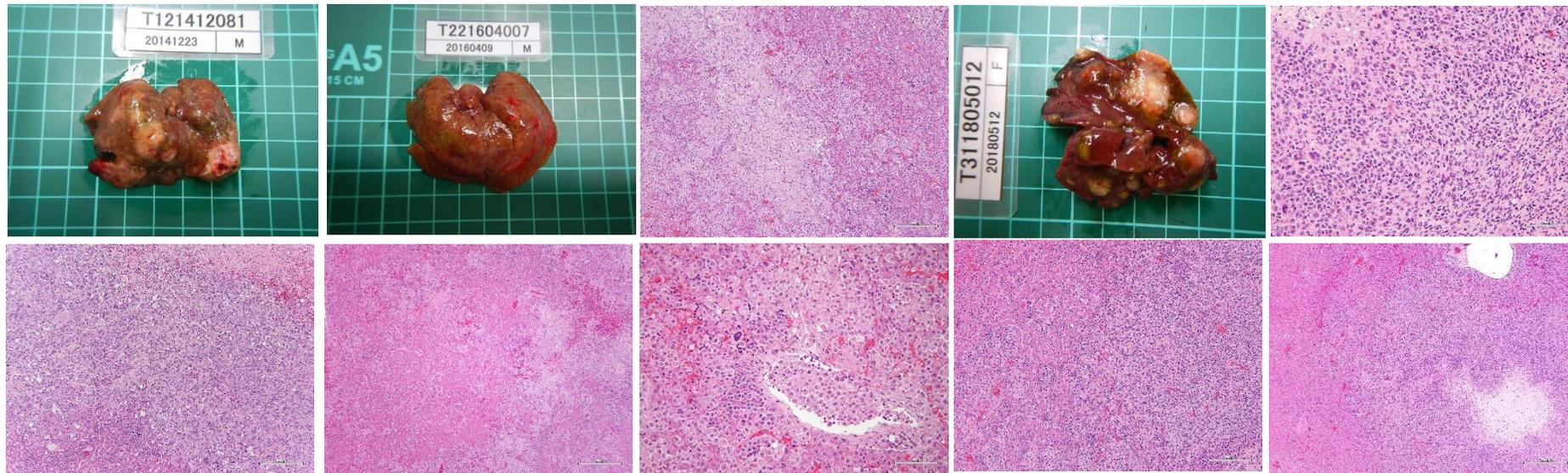
## カニクイザルにおける新しい胚移植技術の確立へ



B型肝炎ウイルス（HBV）感染モデルとしてチンパンジーが知られているが現在は実験動物として利用できない。ヒト肝臓キメラマウスを利用した実験は行われているが、獲得免疫は機能していないためHBVの病原性解析や治療効果の判定に用いることは難しい。そのため、ヒトと類人猿以外で唯一HBVに感受性のあるツパイを利用してHBV高感受性ツパイ系統の樹立を目指している。2013年に中国からオス10頭とメス20頭を輸入して自家繁殖をスタートし、現在までにF1個体101頭、F2個体45頭、F3個体50頭、F4個体9頭、F5個体9頭、F6個体8頭を離乳し、約50頭規模のコロニーを維持している。

自家繁殖した新生仔ツパイ（生後1、3日目）にHBVを接種した。雑系動物であるツパイにおいて、高精度にウイルス感受性の高いツパイ系統を選抜するために、接種するウイルスとして患者由来のキメラマウス血清及び、その血清中に50%以上の頻度で検出された配列を基にウイルスの分子クローンを作製し、F1個体とF2個体でのウイルス検出率及び各感染材料での検出率を比較した。また、現在までに数頭のF1、F2、F3個体において、肝臓に腫瘍を確認し、病理検索を行った。

HBV感染ツパイでの肝臓腫瘍の病理画像



- ・これまでにF6世代まで繁殖が進んでいるが、安定供給には不安が残る。
- ・これまでにHBV感染させたほとんどの個体で半年以上たった時点でもウイルスが検出でき、持続感染が確認できており、F1よりもF2でウイルス検出率が高いことが確認できている。
- ・肝臓腫瘍が病理解析で確認できたが、組織からのHBVゲノムの検出を試みている。

# カニクイザル肝硬変モデルにおける新たなFibroscan評価手法の検討

## 背景

● 肝硬変の新規治療法開発には、ヒトに近縁な霊長類の肝硬変モデルが必要不可欠であり、さらに非侵襲的な病態評価法が必須。  
→ヒトで普及しつつあるFibroscan検査を導入し、カニクイザル肝硬変モデルにおける有用性を評価した。

## 材料及び方法

カニクイザル5頭にチオアセトアミド (TAA) を9ヶ月間皮下投与する事により肝硬変を誘導。Fibroscan (Fig1-A)を用いて定期的にVs, LFI値の測定を行い(Fig1-B)、各種血液検査、肝生検と比較した。

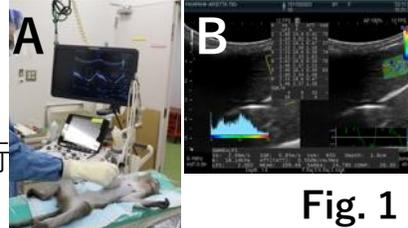
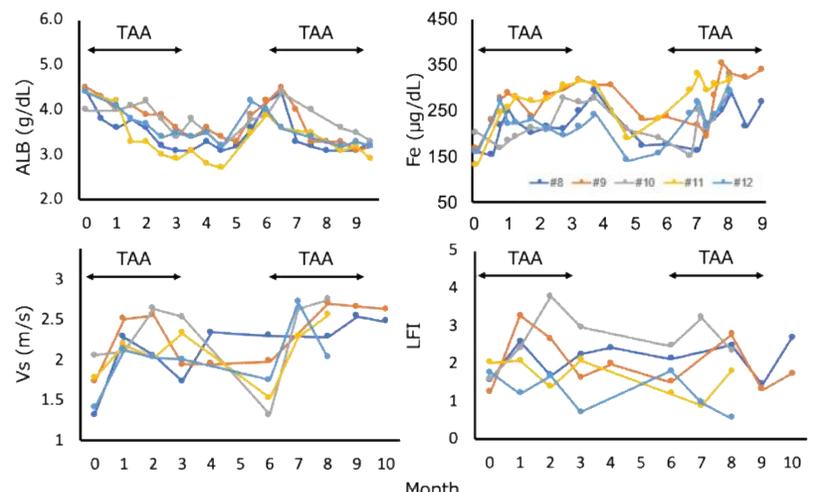
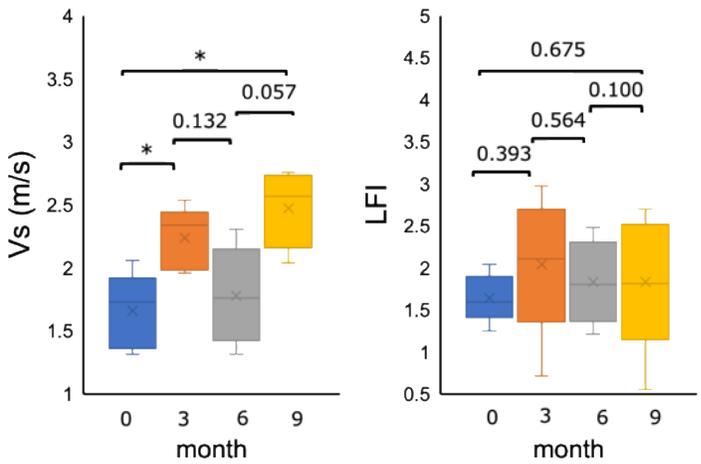


Fig. 1

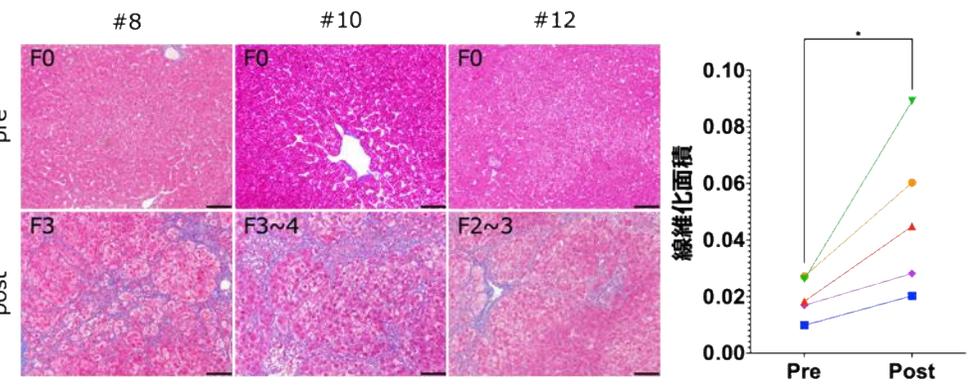
## 結果



**Fig. 2 血液検査及びFibroscanの各値推移**  
カニクイザル肝硬変モデルでは投薬期間に血中のALB低下、血清Fe等の上昇が認められ、それらと相関してFibroscanのVs, LFI値の上昇が認められた。



**Fig. 3 Fibroscan測定項目の変化**  
VS, LFI共に休薬期間を経て値が上昇した。特にVsは投薬前、休薬前に比べ最終的に有意に上昇した。\*:  $p < 0.05$



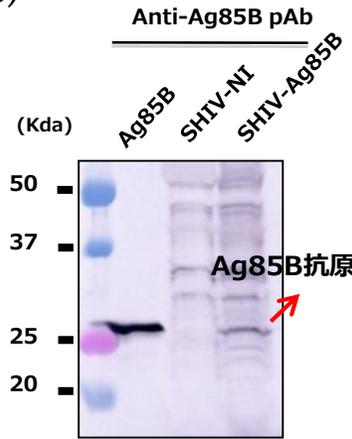
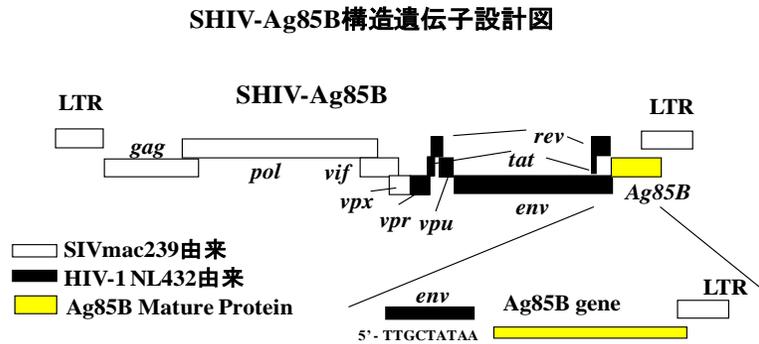
**Fig. 4 肝生検所見**  
いずれの個体でも新犬山分類F2~4に相当する肝線維化の進行が認められ、線維化面積は有意に増大した (MT stain, X100, scale bar:100 $\mu$ m, \*:  $P < 0.05$ ).

## 結論

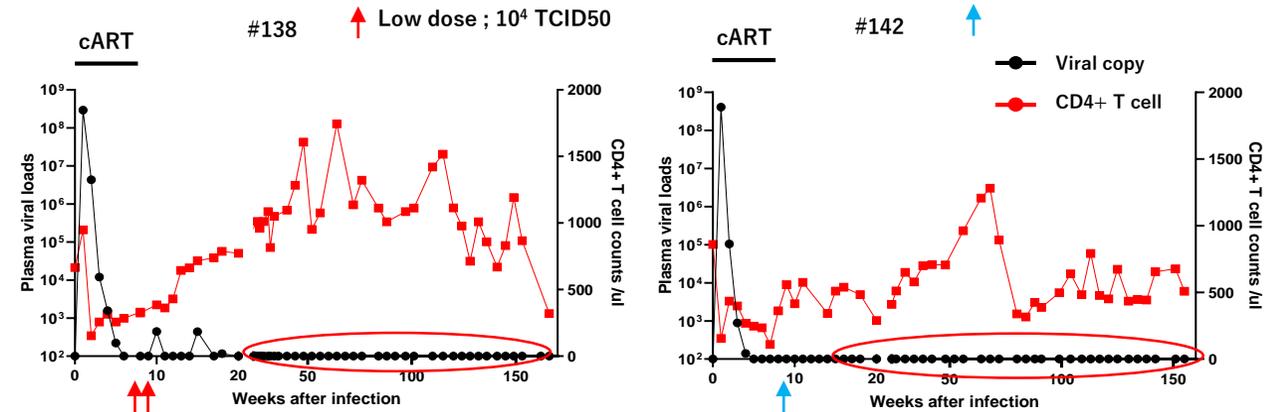
- カニクイザル肝硬変モデルでは血液検査、肝生検から肝機能の低下、病態進行が示唆された
- Fibroscan測定値の変動は血液検査や肝生検と一致し肝臓の病態を反映した
- Fibroscanはカニクイザル肝硬変モデルの評価系として有用である事が示唆された

- HIV根治を目指した新規治療法の開発を目指すため、アジュバント発現弱毒エイズワクチンを用いた抗HIV治療ワクチンの開発を検討する

## Ag85B発現弱毒エイズウイルス(SHIV-Ag85B)



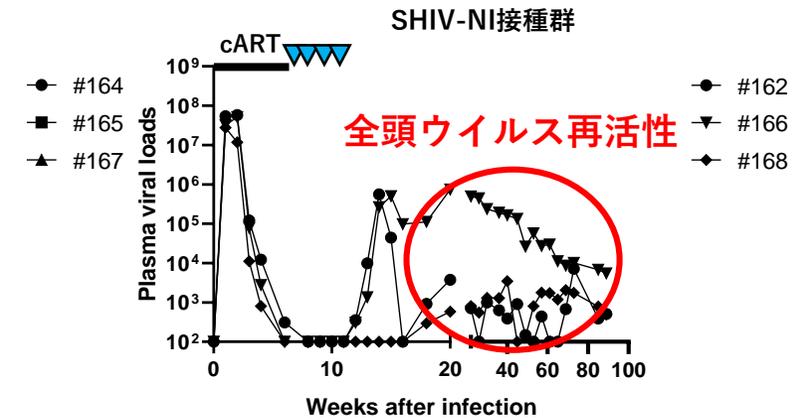
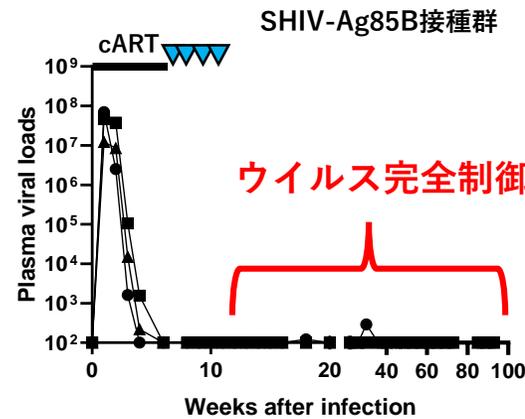
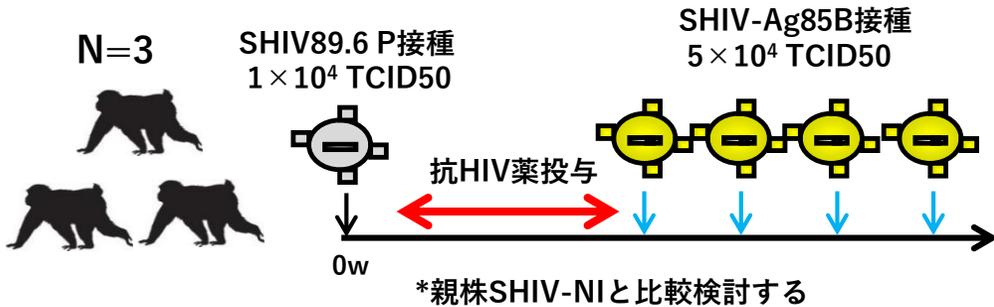
## SHIV-Ag85Bを用いた抗HIV治療効果の検討



強毒株を約3年間、完全に制御する

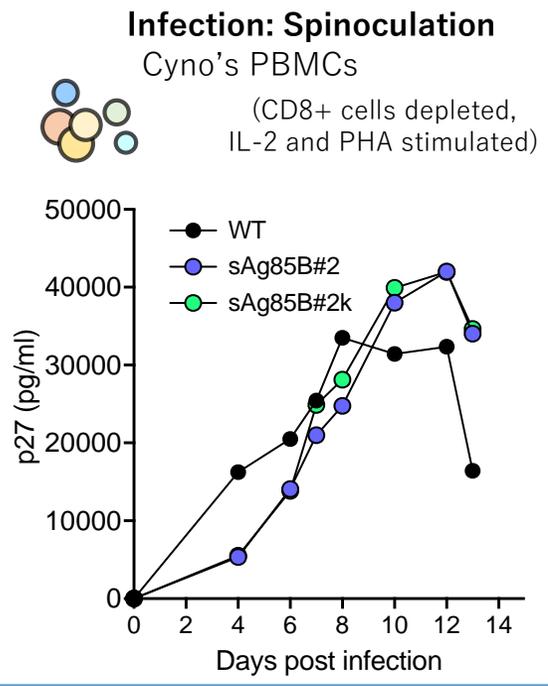
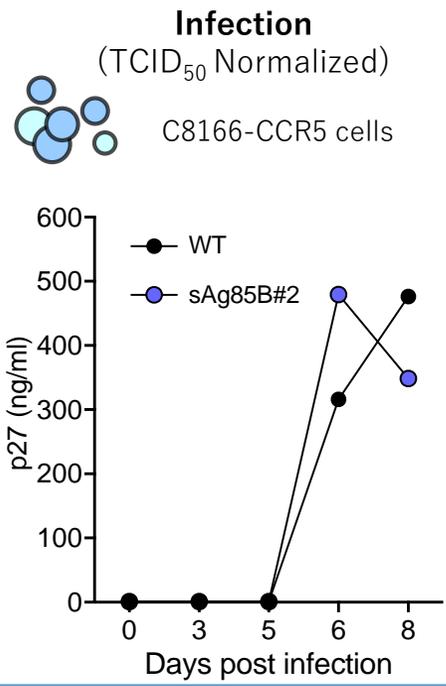
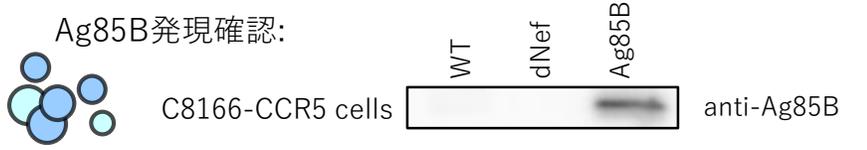
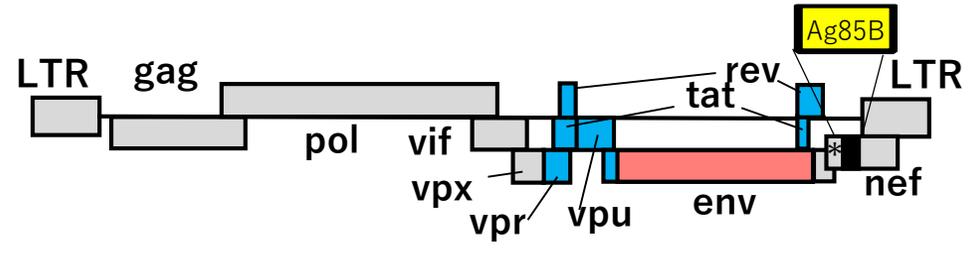
## SHIV-Ag85Bの治療プロトコルの最適化の検討

SHIV-Ag85B接種群；#164, 165, 167

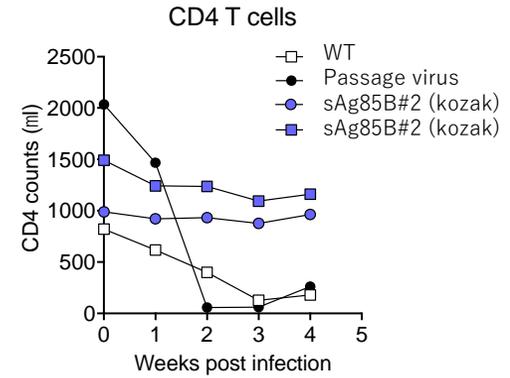
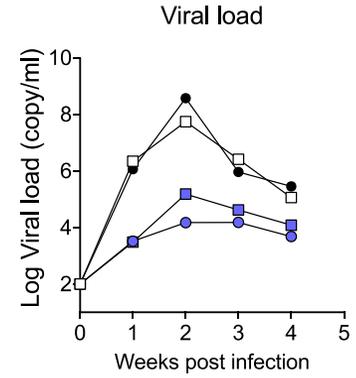


SHIV-Ag85Bを用いたHIV治療ワクチンは強毒株SHIVを長期間、完全に制御することを明らかにした

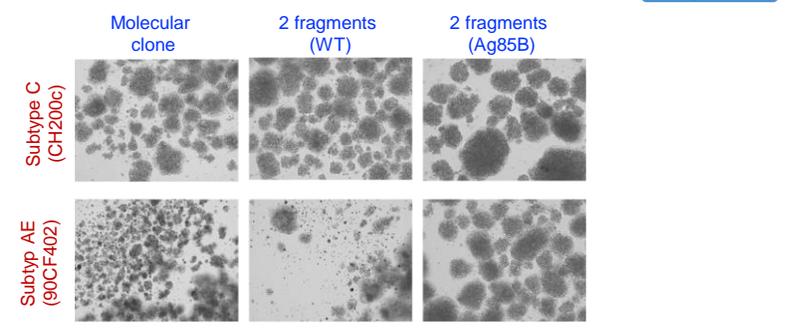
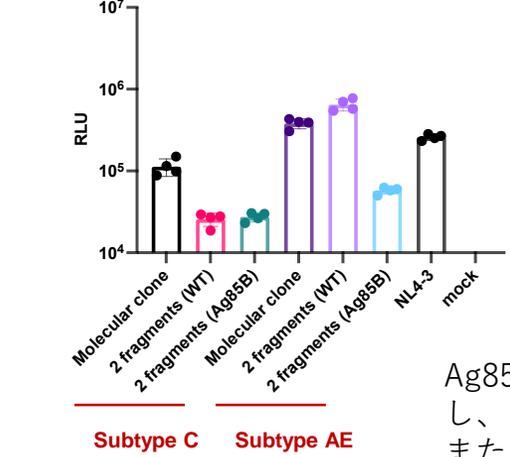
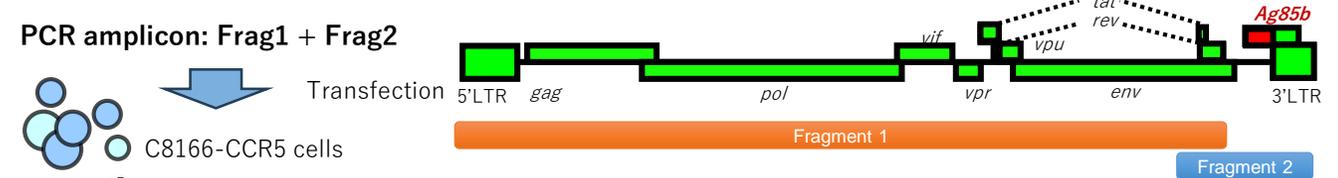
SHIV強毒株のアジュバントウイルスの作製と特性評価



SHIV強毒株のアジュバントウイルスのin vivo評価

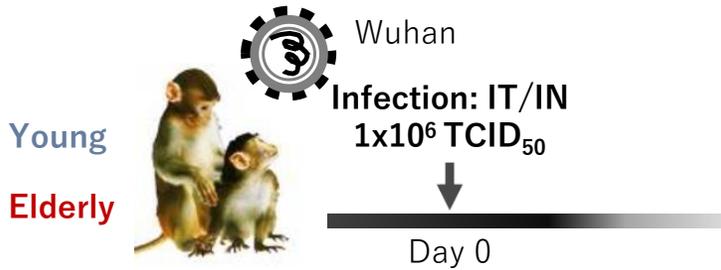


HIV-1アジュバントウイルス作製

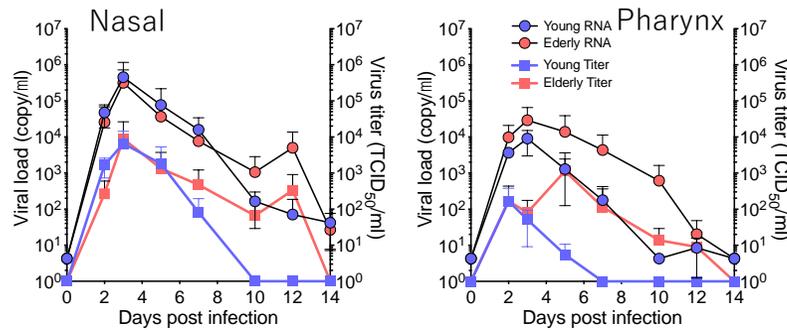


Ag85Bを発現するSHIV強毒株（アジュバントウイルス）を作製し、カニクイザルを用いて、生体内における評価を開始した。また、HIV-1アジュバントウイルスの作製にも成功し、アジュバントウイルスの特性解析を進めている。

## 若齢・高齢個体を用いた感染病態の解析と COVID-19カニクイザルモデルの確立



スワブ中のウイルス量

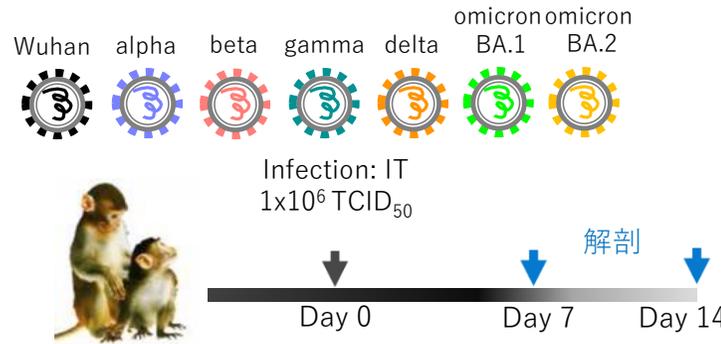


Chest CT

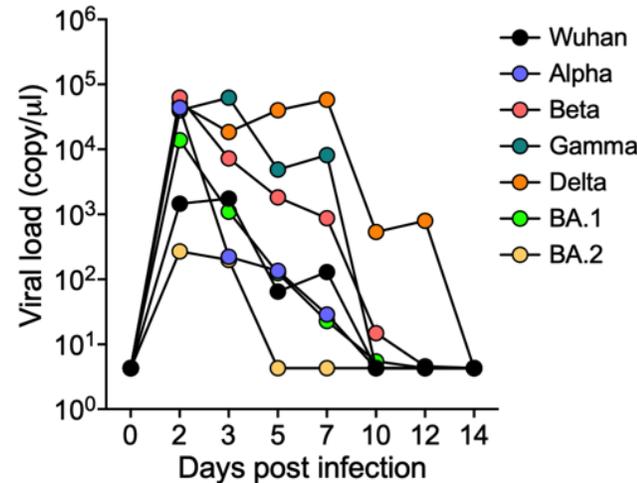


SARS-CoV-2感染カニクイザルにおいてもヒトと同様の感染病態が認められた。さらに、加齢に伴う変化も認められ、COVID-19病態を反映するモデルであることが示された。

## 各種変異株の病理・ウイルス動態の解析

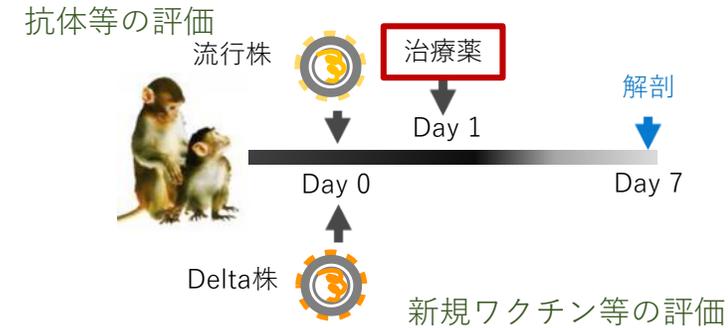


各種変異株の咽頭スワブウイルス量



変異株の病原性やその特徴について、武漢株からオミクロンBA.2までの7株をカニクイザルを用いた同一の系で比較解析により、創薬目的・出口戦略にに合わせて、最適なウイルス株を用いて評価することが可能となった。

## COVID-19カニクイザル評価モデルを用いた創薬研究



### 実施有効性評価

- 治療薬開発研究
  - 抗体
  - デコイ
- ワクチン開発研究
  - 現行mRNAワクチン
  - 弱毒生ワクチン
  - ウイルスベクターワクチン



創薬目的に沿った評価プロトコルを作成し、COVID-19カニクイザルを用いて、これまでに複数の治療薬及びワクチンの有効性を評価し、評価系として確立した。本年度は、現行mRNAワクチンと新規ウイルスベクターワクチンの有効性試験を遂行している。

### ■カニクイザルコロニーの生産 安定的な生産と高度化

- 年間の生産数を120頭以上確保
- 家系の記録
- SPFによる生産
- 家系性疾患を中心としたゲノム解析の促進
- 家系性疾患の計画的繁殖

### ■医科学研究の推進

- 疾患モデルの解析
- 疾患モデルの樹立
- カニクイザルを用いたワクチン等の作製
- カニクイザルにおけるワクチン、治療薬の評価系樹立
- カニクイザルにおけるワクチン、治療薬等の評価

