

## 自己評価報告書

平成23年 5月15日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2012

課題番号：20500371

研究課題名 (和文) ヒト医療研究用モデルザル供給ネットワークの構築

研究課題名 (英文) Establishing of model monkey supply network for human medical researches

研究代表者

土屋 英明 (TSUCHIYA HIDEAKI)

滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・技術専門職員

研究者番号：10378440

研究分野：実験動物学、家畜繁殖学、発生工学

科研費の分科・細目：

キーワード：カニクイザル、MHC 遺伝子、データベース、生殖細胞

1. 研究計画の概要移植拒絶を生じさせない特定集団の個体群作製は重要な意味を有している。そこで、同じ主要組織適合抗原複合体 (MHC) 遺伝子を持つサルを多数獲得すること、すなわち、MHC 遺伝子を明らかにすることによって、MHC ホモの遺伝学的統御個体を作成することである。そこで解決しなければならない問題点として個体部群の供給源である。滋賀医科大学 動物生命科学研究センター (以下当センター) においては現在約 800 頭のカニクイザルを保有しているが、国内にはその数を遙かに上回る個体数を保有する機関・企業が存在しており、これら機関と連携し MHC 抗原の検索母群の個体数を増加させることにより、更に作出の可能性を増大させることが可能となる。このネットワークを構築することにより、当センター以外の機関・企業でも **Stage1.カニクイザルにおける MHC 遺伝子に関する情報を共有することが出来る。****Stage2.遺伝的背景の明らかな個体の生殖細胞を提供することでその保存、あるいは同一形質の個体を作成することが出来る。****Stage3.作出した個体群を用いた臨床応用研究が可能となる。**

2. 研究の進捗状況

**Stage1.個体情報の共有化 (カニクイザル MHC 遺伝子データベースの構築)****1.データベースの作製**

当センターならびに協力研究施設に所属するカニクイザルの血液サンプルを採集し、繁殖個体の選抜手法を用いて塩基配列の解析を行う。採取キット、輸送セットおよび作業手順書を作製しそれぞれの施設に配備した。

**2.繁殖個体の選抜**

MHC クラス II 抗原を規定する *Mafa-DPBI*, *Mafa-DQBI* 遺伝子、MHC クラス I 抗原を規定する *Mafa-A*, *Mafa-B* 遺伝子の近傍に存在する 4 種類のマイクロサテライトマーカーの超多型領域の多型解析ならびに集団遺伝学的解析を行い、それにより得られたタイピング結果から繁殖母群 (MHC がホモあるいはヘテロで一致するドナー) の選抜を行った。

**Stage2.生殖細胞の凍結保存バンクおよび個体作出****3.生殖細胞の譲渡システム**

Stage1.において構築されるデータベースにより選抜された個体は各研究施設において飼養されているため、本システムでは生

殖細胞のみを個体から採取し、譲渡を受け当センターに移送し凍結保存、受精卵作出後凍結保存あるいは個体作出に供する。

**Stage3.個体の供給ならびに共同研究の推進**  
実用化する技術ならびに平成 21~24 年度に確立した基盤技術を利用し実際に医科学研究に即応可能な MHC ホモ個体を順次計画的に作出する。作出した個体群を順次協力研究施設へ供給するシステムを整備する。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。本課題の遂行には他の研究施設との密接なコミュニケーションが重要となり、情報の提供者へは正確な診断結果の公表が必要である。現在他機関から提供を受け、解析を終了した血液サンプルは 619 個体、現在解析中の個体は更に 830 個体である。また、解析結果から個体の分与等を既に 12 個体実施している。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究開始当初に想定した Stage 2 および 3 について MHC 個体の作出は生殖細胞の提供、輸送、利用について技術的に解決しなければならぬ問題が生じている。他機関との協調も必要となるため、確実な技術開発が必要と考えられる。一方で、遺伝子解析ならびにデータベースの構築は進んでおり、今後は情報の公開方法について検討を進める必要がある。構築したデータベースから得られる情報により、すでに Stage3 を利用した研究が別途開始されている状況で、動物の供給についても急ぎ検討を進めなければならない。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 4 件)

①Iwatani C, Yamasaki J, Tsuchiya H, Okahara J, Torii R, Study of suitable FSH dosage for ovarian stimulation for mature oocyte collection using a micro infusion pump in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), Exp. Anim. 59(3), 392, 2010. 査読有

②Kita YF, Hosomichi K, Kohara S, Itoh Y, Ogasawara K, Tsuchiya H, Torii R, Inoko H, Blancher A, Kulski JK, Shiina T. MHC class I A loci polymorphism and diversity in three Southeast Asian populations of

cynomolgus macaque. Immunogenetics. 61(9), 635-648, 2009. 査読有

③Yamasaki J, Okahara-Narita J, Iwatani C, Tsuchiya H, Torii R, Successful delivery after vitrification of cynomolgus monkey embryos using the Cryotom™, Exp Anim, 58(3), S101, 2009. 査読有

④Itoh Y, Ozaki H, Tsuchiya H, Okamoto K, Torii R, Sakoda Y, Kawaoka Y, Ogasawara K, Kida H. A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 avian influenza virus strain confers protective immunity against highly pathogenic avian influenza virus infection in cynomolgus monkey, Vaccine, 26, 562-572, 2008. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

①土屋英明、育成カニクイザル飼育システムの開発、第 44 回日本実験動物技術者協会総会、旭川 (2010/9/3-4/10)

[産業財産権]

○取得状況 (計 2 件)

名称: ガス吸引補助具

発明者: 土屋英明、鳥居隆三

権利者: 滋賀医科大学、藤原三郎

種類: 実用新案

番号: 3154649

取得年月日: 平成 21 年 8 月 5 日

国内外の別: 国内

名称: 汚物廃棄処理装置

発明者: 土屋英明、鳥居隆三

権利者: 滋賀医科大学、藤原三郎

種類: 実用新案

番号: 3154646

取得年月日: 平成 21 年 8 月 5 日

国内外の別: 国内実願 2009-5547 「ガス吸引補助具」平成 21 年 8 月 5 日 (実用新案登録番号)

○出願状況 (計 1 件)

名称: カニクイザル MHC 全遺伝子ホモ接合体を作製するためのキット及び方法

発明者: 小笠原一誠、鳥居隆三、椎名隆

権利者: 滋賀医科大学、東海大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-105956

出願年月日: 平成 22 年 4 月 30 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

<http://www.shiga-med.ac.jp/~hqanimal/>