

**中国由来の実験用カニクイザル
の生物学的特性に関する研究**

劉 艶 薇

2007 年

目 次

緒 論	1
第 1 章 輸入検疫成績	6
緒 言	7
材料と方法	8
実験成績	12
考 察	16
小 括	21
第 2 章 麻疹ウイルス感染事例	27
緒 言	28
材料と方法	30
実験成績	33
考 察	35
小 括	38
第 3 章 臨床血液学的特性	42
緒 言	43
材料と方法	45
実験成績	47
考 察	49

小 括	51
第4章 中国とインドネシア由来カニクイザルの比較	59
緒 言	60
材料と方法	62
実験成績	66
考 察	68
小 括	71
統 括	77
総合考察	80
謝 辞	85
参考文献	86

緒 論

霊長類学は、このところわずか 30～40 年という短期間のあいだに急激に発達し、自然科学の全分野のなかで最も魅力的で、しかも最も重要な部門の 1 つとなっている。動物学者や生物学者ばかりでなく、心理学者、生理学者、生化学者、さらに興味深いことには人類学者までがこの学問に魅せられ、霊長類学に参加する研究者の数は増加の一途をたどっている。長いあいだ、動物学者は解剖学上の非常に大きな類似性からヒトを霊長類に組み入れてきた。生化学の分野における発展はこの分類のしかたを裏づけ、細胞や血液や脳などにおいてもヒトとヒト以外の霊長類には類似性があり、その類似度は近縁度に比例することが明らかになっている。

霊長類が医学実験に使用された最初の報告は、19 世紀に狂犬病ワクチンを開発したフランスのパスツール (Lois Pasteur) による狂犬病ウイルスがサルを通過するとイヌに対する病原性を失ったというものである。20 世紀に入ると、サルがヒトと解剖学的もしくは生理学的によく似ていることから、医学研究に多く用いられるようになった。1925 年、ドイツのヴォルフガングケーラーにより創設されたカナリー島の類人猿研究所、同年、ソ連医学アカデミーによりグルジア共和国スプミにサル類の研究所が創設され、欧州におけるサル類を

用いた研究が本格的に開始した。また、米国における実験用霊長類施設の設立はイェール大学のヤーキスが 1930 年にロックフェラー財団の援助で心理学研究のためのヤーキス霊長類生物学研究所を設立したのを皮切りに、米国国立衛生研究所の傘下に 7 つの地域霊長類研究センターが 1965 年前後に相次いで設立された。日本において、霊長類を用いた医学研究の体制が確立したきっかけは、1950 年代の国立予防衛生研究所におけるポリオワクチンの検定である。カニクイザル (*Macaca fascicularis*) を用いたポリオワクチンの検定が行われ、国内にワクチンが普及すると小児麻痺症者は激減した。サル類のうち、医科学研究用に用いられるのは約 30 種程度で、カニクイザルが最も多く用いられる。分類学的には霊長目、真猿類 (亜目)、狭鼻類、オナガザル科、マカカ属に属する。

カニクイザルは、東南アジア各地の熱帯雨林に広く生息しているマカカ属のサルで、同属のなかでは体型が最小で性質も比較的温和なため、世界で年間 20,000 頭以上が医学生物学研究において実験利用されている。この実験に利用されているカニクイザルは、中国固有の野生種ではないが、中国が国内利用ならびに国外輸出のための人工繁殖種集団として、主にベトナムから、最近はカンボジアからも移入し、現在では年間約 13,000 頭が国内外に繁殖供給されている〔58〕。

日本の実験用サル類の年間使用数は 6,000 ~ 7,000 頭で、ニホンザルを除くすべてのサル類を輸入に頼っており、その 8 割はカニクイザルで〔63〕、現在、

日本が実験のために利用しているカニクイザルの 3/4 は中国由来である。

サル類の輸入および実験使用にあたっては、既知の人獣共通感染症はもとより、熱帯雨林に潜む未知の新興感染症の防御に細心の注意が必要である。1967年にドイツとユーゴスラビアでアフリカ由来ミドリザルに同時発生した当時は未知感染症であったマールブルグ病〔20〕や、1989年にフィリピンから米国へ輸入されたカニクイザルに発生した新しいタイプのエボラ様サルフィロウィルス病〔64〕の経験から、各国の法律は、サル類の輸入に際して厳しい検疫制度を定めている。

日本のサル類の検疫は、1978年以来、輸出側と輸入側の両方の業者による自主検疫に依存してきたが、1998年の「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」の制定によって、2000年からすべての輸入サル類に30日以上法定検疫が義務づけられた〔33〕。2005年7月以降、試験研究または展示用のサル類以外のペット用サル類などの輸入は禁止とされた。

通常の動物検疫業務では、外部からの病原体侵入を防ぐ目的で、動物を一定期間隔離し、臨床観察、病原体培養、抗体検出、顕微鏡検査、その他の手段によって動物が健康であることを確認することが求められているが、実験用動物の検疫の現場では、さらに、到着した動物の状態、行動、生死、頭数、性別、年齢等を確認し記録するいわゆる検収作業や、試験研究に必要な基礎資料の収集、実験環境への順化飼育も同時に進められる。

日本で使用される実験用カニクイザルの 3/4 は中国由来であるにもかかわらず

ず，その微生物学的清浄度については明らかにされていない．本論文の第 1 章では，2002 年の 1 年間に中国から輸入した 3,148 頭のすべてのカニクイザルを対象に実施した 35 日間の検疫を行い，中国における実験用カニクイザルの健康状態，すなわち微生物学的な清浄度を検討した．

麻疹ウイルスの感染症は一般に「はしか」と呼ばれて，現在の日本の一定年齢層の抗体陰性者に広がり，大きな社会問題となっている．抗体陰性者が発症すると，下痢，中耳炎，肺炎，脳炎等の合併症を起こし，死亡率 15%，後遺症発生率 25%という，ヒトにとって深刻な病気の一つである〔29〕．

一方，サル類における麻疹ウイルス感染は，多くの場合，不顕性に経過し，抗体検出によってはじめて確認できる〔59〕．しかし，サル類に人為的に感染させれば，皮膚の発疹，顔面浮腫，紅斑を伴う結膜水腫等の共通した症状を示すことが報告されている〔34〕．

麻疹ウイルスの自然感染による発症は殆どみられないが，2001 年に 2,700 頭のカニクイザルを検疫し，5 頭の麻疹ウイルス発症例を観察した．サル類における麻疹ウイルスの自然感染による発症は極めて珍しく，その報告はみられない．第 2 章では自然発症例の病態について検討した．

適正な動物実験を実施するためには，実験計画の立案ならびに実験結果の解析に必要な実験用動物の種々の特性，つまり到着した動物の状態，生死，頭数，雄雌，年齢等の確認と記録（いわゆる検収），飼育ならびに実験環境への順化，さらに，実験利用に必要な生理学的，臨床学的基礎データなどバックグラウンド

データに関する情報が必要である。

第3章では、検疫と同時に実施された臨床血液学的、血清生化学的検査成績について検討した。

本来は中国に生息していなかったにもかかわらず、現在の中国で繁殖、供給されているカニクイザルと中国以外のアジア諸国で捕獲されて日本へ実験用として供給されているカニクイザルの身体サイズ、臨床血液学的、血清生化学的検査、さらに、遺伝的解析については行われていない。第4章では中国とインドネシア由来のカニクイザルを用いて、身体サイズ、臨床血液学的および血清生化学的性状、血液よりミトコンドリアDNA(mtDNA)を抽出し、PCR-RFLP増幅方法で、由来地域が異なる塩基配列を検討した。

第 1 章

輸入檢疫成績

緒 言

1998年の「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」の制定によって、2000年からすべての輸入サル類に30日以上法定検疫が義務づけられた。また、サル類を介してエボラ出血熱およびマールブルグ病が日本に侵入することの未然を防ぐため、サル類の輸入についてはエボラ出血熱およびマールブルグ病が発生している地域からの輸入を禁止されている。さらに、輸出国と輸出検疫要領および輸出検疫施設の衛生条件など、具体的要求を協議し、調印されている。

中国で輸出検疫を了えて日本に空輸され、成田空港または関西空港の動物検疫官の立入り検査に合格した実験用カニクイザルについて、危険な海外感染症を日本に持ち込まないために、農林水産大臣の指定を受けて鹿児島本店敷地内に設けられた輸入検疫施設において、著者は35日間の検疫を実施している。

本章は、現在の中国が繁殖して日本へ輸出しているカニクイザルの微生物学的な清浄度を明らかにするために、2002年の1年間に中国由来の3~7歳のカニクイザル3,148頭を対象に連続臨床観察、ならびに、検疫3日目および/または32日目あるいは35日目における病原細菌、ウイルス、寄生虫の検査を行った。

材 料 と 方 法

供試動物：

中国において人工繁殖され，SNBL が 2002 年中に輸入した雄 1,584 頭，雌 1,564 頭，計 3,148 頭のカニクイザルの全頭を検査対象とした．

輸入個体の主な繁殖地は中国広西省内の 6 か所の繁殖施設で，入荷時期と各時期の入荷頭数は 1 年間を通してほぼ均一に分散している．輸出前の中国側検疫施設で記録された体重は 2.5 ~ 6.0 kg，SNBL 到着時の年齢は 3 ~ 7 歳，外傷，削瘦，下痢，行動等に関する外見上の異常は認められなかった．

なお，中国における繁殖方法は，半解放式の鉄筋建築物にて飼育し，雄 1 頭：雌 8 頭のハーレム方式で交配，自然分娩，母乳哺育させ，4 ~ 6 月齢で離乳，以後は群方式で育成している．一般に，中国の飼育施設に冷暖房設備はない．

飼育条件：

SNBL 検疫施設内は完全陰圧型の微生物バリア区域で，入退室時には更衣とエアシャワー浴および滅菌長靴，帽子，マスク，手袋の装着が必須で，温度 26 ± 2 ，湿度 $50 \pm 10\%$ ，人工照明にて 12 時間明・12 時間暗(6 ~ 18 時点灯)，換気 15 回/1 時間に調節されている．飼育には，挟体装置付の 74 (横) × 61 (深) × 77 (高) cm のステンレス・スチール金棒製の個別収容ケージを用いた．

飲水は，水道法水質基準に適合した SNBL 自社用水を自由摂取させた．

飼料は，市販サル用固形飼料（Taklad Global 25% Protein Primate Diet:Harlan Sprague Dawley, USA）を，体重に関係なく 1 頭あたり 1 日 110 g（12 g ペレット×9 個）を給与した．

また，ケージ，架台，飼育室の床は毎日 1 回，水道水にて洗浄した．

一般状態の観察：

午前と午後の 1 日 2 回，外貌，行動，外傷，摂餌量，発咳，発疹，皮下出血，嘔吐，鼻汁漏出，流涎，排便異常等について，ケージ外から観察した．検疫 3 日目および 32 日目（検疫終了前）には，5%塩酸ケタミン水溶液（富士ケミカル工業，埼玉）0.1ml/kg 体重の大腿筋肉内注射による麻酔下で，熱感，皮下出血斑，表在リンパ節腫張，腹部膨満，口内炎，結膜炎，発咳，下痢，血便，鼻汁，骨折，外傷，尾の欠落等について 1 頭ずつ診察した．同時に，電子天秤（HP-40K：A&K，東京）にて体重を測定した．

細菌学的検査：

検疫 3 日目および 32 日目に全個体から滅菌綿棒を用いて新鮮糞便を採取し，DHL カンテン平板（日水製薬株）に塗沫し，37℃ 18～24 時間培養した．発育コロニーの形態および色調によりサルモネラ属菌と赤痢菌を判別した．疑わしいコロニーは，白金線を用いて TSI カンテン半高層斜面培地（日水製薬株），

東京)に接種し上記と同様の条件で鑑別培養した。さらに疑わしい場合は、市販の腸内細菌同定キット(IDキット EB-20:ニッスイ)を用い菌種を同定した。結核感染については、ツベルクリン(化学及び血清療法研究所,熊本)約0.1ml(=1,500T.U.)を眼瞼皮内に注射し,42,48,72時間後の発赤,腫張等にて判定した。

ウイルス学的検査:

検疫終了前の32日目または検疫終了時の35日目に,5%塩酸ケタミン麻醉下で大腿静脈より添加剤なしの注射器を用いて約1ml/個体の血液を採取,室温に20~60分静置後,3,000rpm,15分の遠心分離で得た血清を各種ウイルス抗体検査に供した。サルD型レトロウイルス(Simian retrovirus Type D, SRV/D, BioReliance, USA)およびサル水痘ヘルペスウイルス(Tsukuba simian varicella like herpes virus, SVV, BioReliance, USA)には間接蛍光抗体法,サルエイズウイルス(Simian immunodeficiency virus, SIV, BioReliance, USA)およびヘルペスBウイルス(Herpesvirus simiae, BV, BioReliance, USA)には免疫酵素抗体法を用いた。抗体検査は,すべて社団法人予防衛生協会に依頼した。

寄生虫学的検査:

検疫32日目に無作為的に選んだ475頭の新鮮落下糞便を採取した。これら

の糞便試料のうち、459 頭（雄 352，雌 107）についてトリクロム染色標本検査法を用いて赤痢アメーバを、475 頭（雄 359，雌 116）についてホルマリン・エチル沈殿法を用いて腸管内蠕虫卵をそれぞれ検査した。また、別に選んだ 427 頭（雄 304，雌 87）から採血し、血液塗沫ギムザ染色標本を顕鏡してマラリア感染の有無を検査した。

臨床血液学的検査：

検査結果の補強と考察に資するために、通常の微生物学的、寄生虫学的検査に加えて赤血球数（RBC）、白血球数（WBC）、ヘマトクリット値（HCT）、ヘモグロビン濃度（HGB）、血小板数（PLT）、平均血球血色素量（MCV）、平均赤血球容積（MCH）、平均赤血球濃度（MCHC）、平均血小板容積（MPV）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、総ビリルビン（T.Bili）、総蛋白（T.Prote）、総コレステロール（T.Chole）、ブドウ糖（Glucose）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（Creati）の 18 項目の定量を実施した。方法の詳細は第 3 章に記述した。

統計学的処理：

得られた数値は、平均値または百分率（%）で表記し、また、必要に応じてレーダー図解析法を用いて差異の有無を検討する。

実験成績

臨床観察：

毎日、午前午後の2回、ケージの外から3,148頭の全個体について一般状態を観察し記録したが、下記のように、一部の個体に食欲不振や下痢が観察されたほか、異常はみられなかった。そして、これらの異常は10日以内にすべて回復した。異常個体について、繁殖地ならびに検査（輸入）時期による違いは認められなかった。検疫3日目および32日目に、全身麻酔下で視診、聴診、触診によって口腔歯科系、筋肉骨格系、心血管系、消化器系、泌尿生殖器系などの項目について検査したが、感染症を明らかに疑う所見は認められなかった。

このように、多くの個体は一般状態に異常を示すこともなく順調に経過し、検疫32日目の体重は検疫3日目の測定と比較して、全個体平均で0.16kg増加を示した。表1-1は、検疫開始時（3日目）ならびに終了前（32日目）の体重である。検疫開始時の平均体重は、雄で3.34kg、雌で2.64kg、検疫終了前のそれらは雄で3.60kg、雌で2.80kg、検疫期間の体重平均増加率は、雄で0.26%、雌で0.16%、雄雌間ならびに繁殖地や輸入時期の違いによる差は認められなかった。

毎日すべての個体について摂餌量を観察した。給与飼料の1/3量以上を残した場合を残餌（食欲不振）と判断したところ、3,148頭中165頭（5.24%）に

食欲不振がみられ、それは検疫開始後 1 週以内に集中していた。食欲不振は 1 日のみの例、数日続いた例、間欠的な例があったが、いずれも一過性の現象であった。図 1-1 は残餌状況の纏めで、雄よりも雌に食欲不振個体が多いようであったが、繁殖地および輸入時期の違いは認められなかった。

すべての個体の排便状態を検疫の 35 日間連日観察した。3,148 頭のうち 258 頭 (8.20%) に 1 回以上の下痢がみられ、とくに検疫開始後 1 週以内に集中し、どちらかという雌に多発する傾向にあった (図 1-2)。しかし、いずれも典型的な食欲不振や脱水症状を伴わず、粘血便も観察されなかった。

1 週間以上下痢が続いた個体には、胃腸薬 (ミカタ胃腸薬: ミカタ製薬; 成分は炭酸水素ナトリウム, 天然ケイ酸アルミニウム, 乳酸菌) 0.5 g/kg 体重を経口的に連日投与した。ほとんどの個体は 3 日の連続投与で正常便に戻った。なお、下痢をみられた個体と臨床学的検査値の関連についても記述する。

微生物学および寄生虫学的検査:

検疫 3 日目および 32 日目に、糞便を対象とした DHL カンテン平板法によるサルモネラ属菌と赤痢菌の培養検出を試みたが、全例陰性であった。また、ツベルクリンによる結核検査も全例が陰性であった。輸出国の中国側の添付資料でも、これらの病原細菌の感染はフリーと記載されている。

検疫 32 日目に実施された無作為抽出の 829 頭を対象としたサル D 型レトロウイルスならびにサルエイズウイルスの抗体検査の結果は、全例が陰性であっ

た。しかし、ヘルペス B ウイルスおよびサル水痘ヘルペスウイルスに関する抗体検査結果を表 1-2 に纏めた。ヘルペス B ウイルスについては、2002 年に検査した 829 頭のうち 205 頭 (24.7%) が陽性であった。サル水痘様ヘルペスウイルス抗体は、無作為抽出 110 頭のうち 69 頭 (62.7%) が陽性であった (表 1-2)。中国由来のカニクイザルにヘルペス B ウイルスとサル水痘ヘルペスウイルスの汚染が広がっていることは否定できない。

両ウイルスの抗体陽性率を年齢別ならびに雄雌別に表 1-3、表 1-4 に示した。B ウイルス抗体陽性率は雌が雄より高い、加齢と伴に上昇する傾向を示した。また、サル水痘ヘルペスウイルス抗体陽性率は雄が高い傾向を示した。

なお、すべての中国由来カニクイザルについては、35 日の一般状態の観察期間中に、出血班、天然孔からの出血、黒色便の排泄等、これら両ウイルス感染を疑う症状は 1 例も観察されなかった。

表 1-5 に示したように、検疫 32 日目に実施された血液検査の結果、無作為抽出された 427 頭中 7 頭 (1.64%) からマラリア原虫が検出された。また、459 頭中 40 頭 (8.71%) の糞便試料で赤痢アメーバ陽性、475 頭中 15 頭 (3.15%) の糞便試料で腸管内蠕虫卵が陽性であった。繁殖地および輸入時期の影響は認められなかった。

反復下痢個体と臨床学的数値：

35 日間の検疫期間中に最低 1 回の下痢を示した 258 頭の中の 11 頭 (雄 6、

雌 5) では, 下痢が 10 ~ 12 回反復観察された。この雄 6, 雌 5 頭(下痢群) ならびにまったく下痢が認められなかった雄 1,445 頭, 雌 1,445 頭(正常群) の数値をレーダー図法で解析した結果を図 1-3, 図 1-4 に示した。雌雄もと反復下痢個体が, 共通的に血小板数(PLT)およびアルカリフォスファターゼ(ALP) に差異がみられたが, その他の臨床学的検査値には大きな差はみとめられなかった。

考 察

「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」により 2000 年から義務づけられた輸入サル類の 30 日以上法定検疫に従い、農林水産大臣の指定を受けた SNBL 鹿児島本店敷地内の隔離輸入検疫施設において、2002 年には総計 3,148 頭の中国由来カニクイザルについて 35 日間の検疫を実施した。

その結果、毎日の臨床観察において、とくに検疫開始 1 週間以内に、1 割弱の個体で一時的な食欲不振、下痢等の一般状態の悪化が観察されたが、明らかな脱水症状を示す例はなく、全例が回復した。

今回の検査対象であるカニクイザルは、実験用サル類の中では比較的温和で、しかも中国の人工環境で繁殖された個体ではあるが、それでも野性の性質を強く残している点、かつ人畜共通感染症の視点から、検疫サルに対して、全身麻酔下で体重を計測しなければならない。したがって、検疫 3 日目と 32 日目の 2 回しか体重測定は実施しなかったため、途中経過は明らかでないが、上述した毎日の臨床観察からすれば、例外的に一時的な体重減少があったとしても、大多数の個体は順調に体重増加を示していたと思われる。

サル類の輸入にあたって最大の課題は、人獣共通感染症の起因病原体の海外からの持ち込み阻止である。日本に限らないが、とくにマールブルグ病とエボ

ラ出血熱に各国は厳しい対応を採っている。日本では、この2つの感染症が陰性という相手国の保証がなければサル類の輸入を認められない。両ウイルスはきわめて危険なため、かつ他の新興感染症の侵入制御を含む、多くの国がサル類の輸入検疫制度を強化された〔8〕。また、CDC（米国疾病管理予防センター）が人への感染予防と対策に関するガイドランを発表した〔3-6〕。サル類輸入に対して、日本および米国の法律は、輸入検疫期間中の臨床観察において、発熱（38.5 あるいは 101.3F 以上）や出血斑、天然孔出血、黒色便や死亡があった際、両ウイルスの精密検査を義務づけている〔8, 33〕。本報告は中国側の輸出前検疫でも、著者らの日本側輸入検疫でも、臨床的に上記の異常状態は観察されず、両ウイルスが陰性と判断ができた。なお、サルモネラ菌、赤痢菌、結核も日中両国のデータともに陰性であった。

今回の検疫対象となったカニクイザルも、中国側の臨床観察でこの両ウイルスが陰性であるという証明書が添付されていたが、極めて確率は低いながら、その後に感染がなかったとする保証はなく、日本における30日以上の検疫義務は当然であり、重要である。35日間の検疫期間中に出血熱を疑う沈鬱、皮膚や粘膜の出血性発疹、下血、喀吐血等の観察事例がみられなかったことから、中国由来のカニクイザルにおけるマールブルグウイルスとエボラ出血熱ウイルスの感染は否定してよいと考えられる。

日本の動物検疫所は、輸入サル類の赤痢と結核についても強い姿勢を示している。また、「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」に基づ

く、赤痢と結核は獣医師の届出対象として政令指定されている。この2つの細菌は、ヒトに感染するため、衛生行政上、日本の法定伝染病として動物を介した日本持ち込みを阻止したい感染症と指定されている。

今回の3,148頭の中国由来カニクイザルでは、両感染症ともに全例が陰性であった。最近の中国のサル類においては、この2つの感染症が完全にフリーでない〔22,62〕ことから、今後もしっかりした検疫を行う必要がある。

ヘルペスBウイルス（BV）について、約26例の人感染症例が報告されたが〔7,12,13〕、日本には一例もみられていない。人への感染は致命的な脳脊髄炎を発症する場合もあり〔7,42,60〕、軽視できない人畜共通感染症である。佐藤らは、日本国立大学で研究用として飼育されているサル類は約40%（384/961）がBV抗体陽性と報告している〔52〕。中国由来カニクイザルの約1/4にヘルペスBウイルス汚染がみられた。これらのウイルスと人に感染し、重篤な症状を示すウイルスと同じウイルスであるが、疑問視されている。しかしながら、万が一ヒトが脳炎を発症した場合に高い致命率を示す〔42〕。サル類由来の人獣共通感染症が感染している可能性のある動物を取扱う場合には、厳重な感染防護や事故発生時の対策など当該施設が予め標準作業手順書に規定することが要求されている〔21〕。

また、ヘルペスBウイルス抗体陰性という条件で400頭のカニクイザルを輸入し、検疫を行った。その結果、日本側検査では約1割の個体が陽性であった。この不一致の主な原因は、バイオセーフティに関する病原体取り扱い基準によ

る違いと考えられる。日本におけるヘルペスBウイルスの検査は、予防衛生協会に委託し、抗原はBioReliance製(USA)不活化抗原を使用した。免疫酵素抗体法による検査である。中国におけるヘルペスBウイルスの検査はアカゲザル由来の抗原を使用した間接蛍光抗体法による検査である。本ウイルスはストレスなどによる陽転、あるいは輸送途中および検疫期間中に、陰性個体と陽性個体が隣ケージに飼育されていることもあるため、検疫終了後にも定期的にヘルペスBウイルス抗体の確認検査を行う必要がある。

検査した5~6割の中国由来カニクイザルにサル水痘ヘルペスウイルス抗体が検出された。このウイルスは、デルタヘルペスウイルスともよばれ、皮膚の発疹、粘膜の水疱、糜爛、顔面水腫、肺炎等を示し、一般にマカカ属等のサルでは重篤な感染症を起こす〔61〕とされているが、重篤な症状を示す個体は観察されなかった。中国のサルに汚染が広がっている可能性が考えられるが、日本の検疫施設内で感染が拡大したのか、本ウイルスの病原性について、今後検討すべき課題である。

形態学的検査による赤痢アメーバ、腸管蠕虫卵およびマラリアの検出率が、それぞれ8.71%、3.16%、1.64%であった。これらの寄生虫がサルとヒトにどれほどの病原性を発揮するかは明らかにされていない。比較的低い検出率から考え、半開放式の中国の繁殖場において生じたほとんど病原性を欠く寄生虫の偶発的汚染の結果と考えられる。

中国を含む東南アジア由来カニクイザルの病原体汚染報告〔16,31,40〕と比

べ、今回検疫した中国由来の実験用カニクイザルは比較的清浄であった。

以上のように、中国で繁殖され日本に輸出されるカニクイザルは、ヘルペス B ウイルスおよびサル水痘ヘルペスウイルスを除けば、検査した範囲で病原細菌およびウイルス汚染が認められず、一般的に清浄な状態にあると判断できる。

なお、検疫中に反復する下痢が観察された雌雄の個体における臨床学的所見は、共通的に血小板数 (PLT) およびアルカリフォスファターゼ (ALP) に差異がみられたが、PLT 値は正常値の平均 $\pm 2SD$ 範囲内(雄 359.65 ± 184.72 , 雌 361.52 ± 180.86) にあるので、正常範囲内の値と考えられた。ALP が高値を示めす個体については、下痢の原因は多様であるから断言はできないものの、頻回の下痢がもたらす食欲不振等に基づく栄養状態の悪化と考えられる。

下痢は、中国南西部の繁殖施設から鹿児島県の検疫施設までの長距離移動中の疲労や飼育環境の変化などによるストレスや生理学的変調による可能性が高く、検疫期間初期の一過性の変化であることなどから、カニクイザルの固有感染症に起因するものでないと思われる。

小 括

2002年に中国から輸入した3,148頭のカニクイザルのすべてについて一般状態の観察を35日間連続して行い、検疫3日目、32日目または35日目に細菌学的、ウイルス学的、寄生虫学的検査を実施した。

約5%の個体(雌雄両群込み)が一時的に食欲不振や軽度の下痢を示したが、多くの個体は一般状態に異常を示すこともなく順調に経過し、35日の検疫期間中に体重は平均0.21kg増加した。

マールブルグ病やエボラ出血熱の感染については、法令に基づき、輸入検疫期間中の臨床観察において、発熱(38.5あるいは101.3F以上)や出血斑、天然孔出血、黒色便や死亡など臨床的に上記な異常状態が観察されなかった。

全個体を対象とした新鮮糞便の培養検査によってサルモネラ属菌および赤痢菌は検出されず、結核感染の有無を目的としたツベルクリン反応も全例が陰性であった。無作為的に抽出した829頭の血清において、サルD型レトロウイルス抗体およびサルエイズウイルス抗体はすべて陰性であった。また、この2つの感染症を臨床的に疑う個体は1例も観察されなかった。

しかし、ヘルペスBウイルス抗体については、829頭中205頭(24.7%)が陽性で、年齢が進むほど陽性率が高くなる傾向を示していた。また、これらのウイルス抗体検査と独立に実施したサル水天痘ヘルペスウイルスに関する試

験では、134 頭中 79 頭（59.0%）が抗体陽性であった。しかし、両ウイルスに関して、特徴的な臨床症状を示す個体は 1 例も観察されなかった。

糞便を対象とした赤痢アメーバと腸管内蠕虫卵の検査および血液塗沫標本によるマラリア原虫の検査による検出率は 8.71%、3.16%、1.64%であった。

35 日間の検疫期間中、10～12 回反復下痢を示した個体においては、雌雄とも、反復下痢を観察された個体に共通でみられた臨床学的所見は、血小板数（PLT）およびアルカリフォスファターゼ（ALP）に変化がみられた。

表 1-1 検疫 3 日目および 32 日目の体重

	雄 (1,564 頭)	雌 (1,584 頭)
検疫 3 日目	3.34 ± 1.00 (1.90 - 7.23)	2.64 ± 0.49 (1.67 - 4.32)
検疫 32 日目	3.60 ± 0.95 (2.01 - 7.14)	2.80 ± 0.49 (1.70 - 4.51)
平均体重増加	0.26	0.16

kg : 平均 ± 標準偏差 (最小-最大)

表 1-2 ヘルペスBウイルスおよびサル水様ヘルペスウイルス抗体検査成績

(検査年度)	2002	2003	2004
BV 陽性	205(24.7%)	211(31.1%)	210(13.3%)
陰 性	624	467	1,365
合 計	829	678	1,575
SVV 陽性	69(62.7%)	79(59.0%)	17(48.6%)
陰 性	41	55	18
合 計	110	134	35

表 1-3 ヘルペス B ウイルス抗体検査成績

	雄	雌	合 計	3 歳	4 歳	5 歳	6 歳
陽 性	116(22.1%)	89(29.2%)	205(24.7%)	13(15.1%)	123(25.2%)	47(26.1%)	22(28.9%)
陰 性	408	216	624	73	364	133	54
検 査 数	524	305	829	86	487	180	76

表 1-4 サル水痘ヘルペスウイルス抗体検査成績
(2002 年)

	雄	雌	合 計
陽 性	69(62.7%)	10(41.7%)	79(59.0%)
陰 性	41	14	55
検 査 数	110	24	134

表 1-5 寄生虫検査成績(2002 年度)

	赤痢アメーバ	腸管内蠕虫卵	マラリア原虫
陽 性	40(8.71%)	15(3.16%)	7(1.64%)
陰 性	419	460	420
合 計	459	475	427

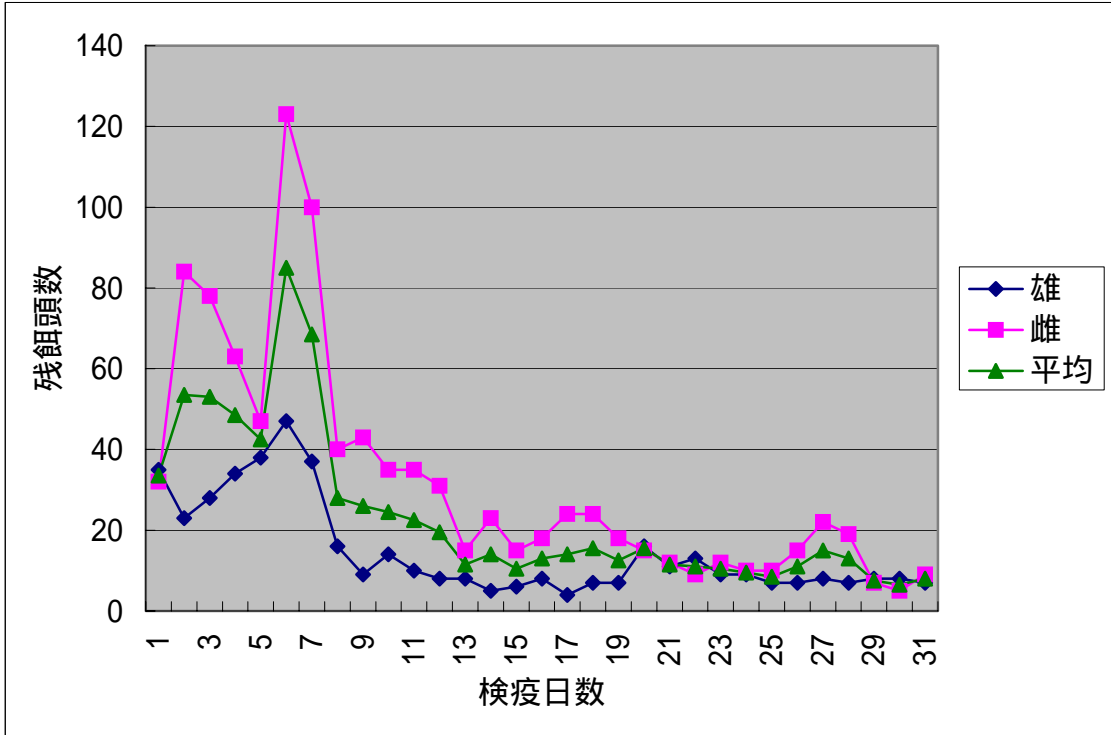


図 1-1 検疫期間中の残餌状況

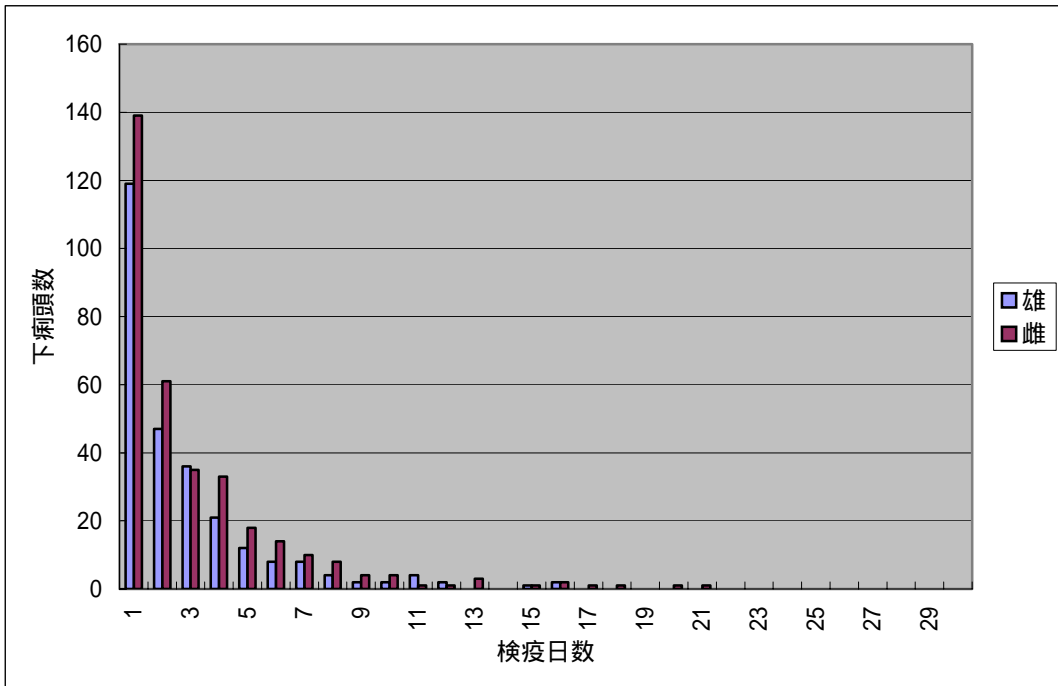


図 1-2 検疫期間中の下痢発生状況

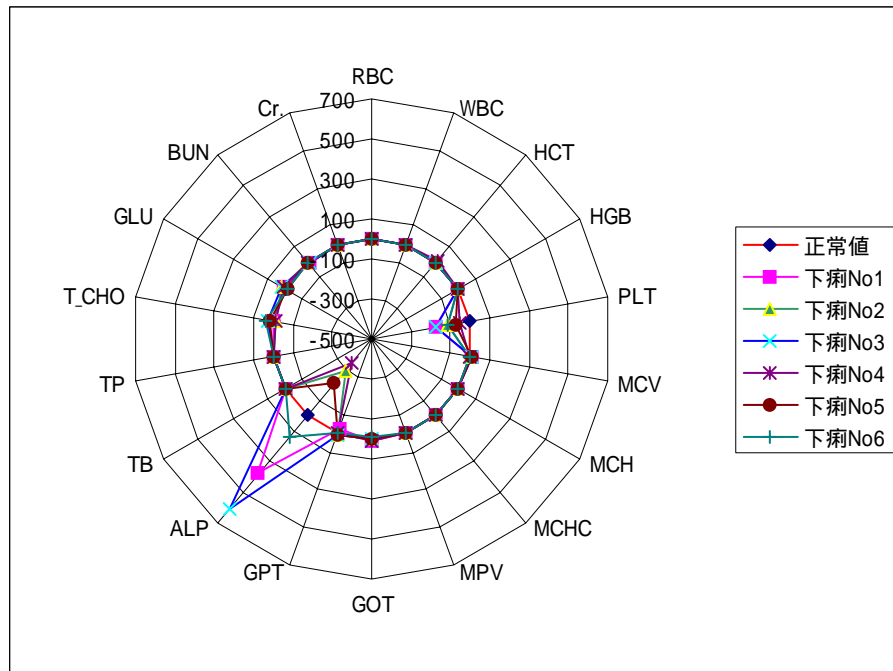


図 1-3 男性正常値および下痢個体臨床検査諸値解析

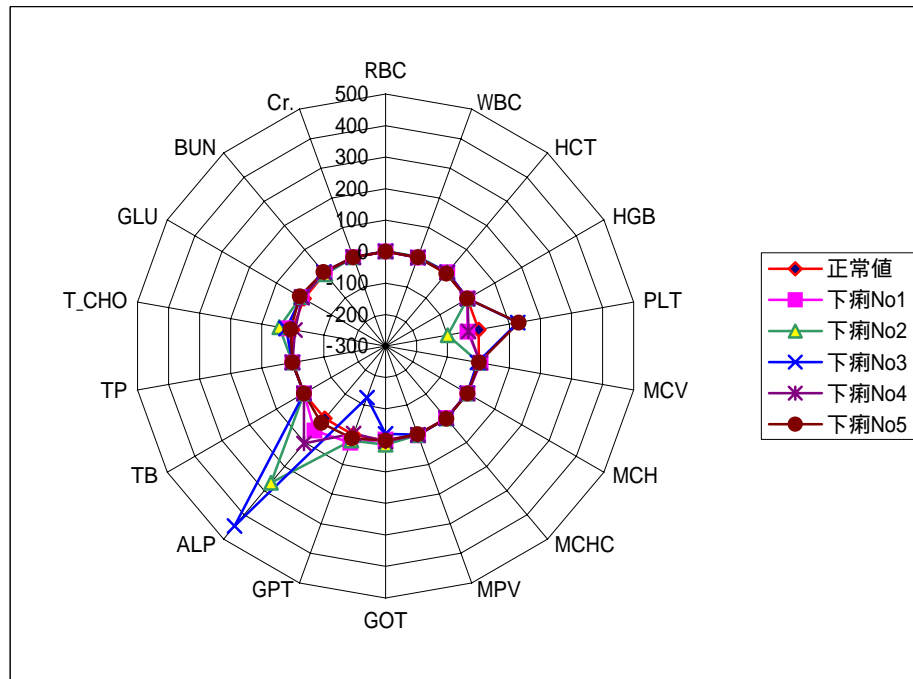


図 1-4 女性正常値および下痢個体臨床検査諸値解析

第 2 章

麻疹ウイルス感染事例

緒 言

麻疹（はしか）は麻疹ウイルスによって引き起こされる急性熱性発疹性の感染症である。麻疹ウイルスの感染様式は空気感染（飛沫核感染）、飛沫感染、接触感染と様々であり、その感染力は極めて強く、麻疹ウイルスに対する免疫を持たない、いわゆる麻疹感受性者が感染した場合、ほぼ 100%が発病し、1 度罹患すると終生免疫が獲得される。

麻疹ウイルスは基本的にはヒトを唯一の宿主とするウイルスであり、ヒト-ヒト感染以外の感染経路は通常存在しない。麻疹ウイルスはほぼ世界中に分布している。予防接種のない時代は 2~4 年ごとに春から初夏にかけて流行がみられていた。麻疹はたいへん感染力の強い病気で、潜伏期は 10 日から 12 日ですが、これより数日前よりまわりへの感染力がみられる。この感染力は発疹出現後 5 日目くらいまで続く。

麻疹に対する特異的な治療法は存在しないが、先進国においては栄養状態の改善、対症療法の発達などにより、死亡率は 0.1~0.2%にまで低下している。しかし、日本では未だ推計で 10-20 万人規模の患者発生があり、死亡例が毎年存在する。合併症率約 30%、平均入院率 40%にも示されているように、重篤な疾患であることに変わりはない。（感染研 HP）

日本では、予防接種として、「弱毒麻疹ウイルス」ふくむ「乾燥製剤生ワクチ

ン」が、麻疹のワクチンとして用いられている。

一般に、自然界のサル類において麻疹ウイルス抗体は陰性で、ヒトとの接触によってはじめて感染し、しかも多くは不顕性感染であるとされている。しかし、筑波霊長類センター（TPC）の調査によると、わが国の輸入カニクイザルのほとんどの個体が麻疹ウイルス抗体陽性であると報告されている〔36〕。

2001年に実施した中国由来のカニクイザルの検疫において、2,700頭中の5頭に全身性の発疹を示す個体を認め、うちの2頭を用いて、臨臨床的、病理学的、病理組織学的、血液学的小よび血清生化学的に検討した。

材 料 と 方 法

供試動物：

2001年に中国から日本の輸入された2,700頭のカニクイザル、隔離検疫施設において35日間の個別飼育による検疫期間中、5頭に、顔面、胸部、腹部等の被毛希薄部分に軽度の淡赤色の斑状発疹が観察され、そのうちの2頭、No1(雄、3歳3ヶ月齢、体重3.30kg)、No2(雄、3歳5ヶ月、体重3.25kg)を検討した。

飼育条件：

SNBL 検疫施設内は完全陰圧型の微生物バリア区域で、入退室時には更衣とエアシャワー浴および滅菌長靴、帽子、マスク、手袋の装着が必須で、温度 26 ± 2 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、人工照明にて12時間明・12時間暗(6~18時点灯)、換気15回/1時間に調節されている。飼育には、挟体装置付の74(横)×61(深)×77(高)cmのステンレス・スチール金棒製の個別収容ケージを用いた。

飲水は、水道法水質基準に適合したSNBL 自社用水を自由摂取させた。

飼料は、市販サル用固形飼料(Taklad Global 25% Protein Primate Diet:Harlan Sprague Dawley, USA)を、体重に関係なく1頭あたり1日110g(12gペレット×9個)を給与した。

また、ケージ、架台、飼育室の床は毎日1回、水道水にて洗浄した。

外観：

2頭を5%塩酸ケタミン水溶液（富士ケミカル工業、埼玉）0.1ml/kg 体重の
大腿筋肉内注射による麻酔下で、熱感、発疹状態、表在リンパ節腫張、口内炎、
結膜炎、発咳、心臓、肺、下痢等について診察した。

抗体検査：

5%塩酸ケタミン麻酔下で大腿静脈より添加剤なしの注射器を用いて約1
ml/個体の血液を採取、室温に20～60分静置後、3,000rpm、15分の遠心分離
で得た血清を社団法人予防衛生協会に依頼し、赤血球凝集抑制試験法（HI）に
よる麻疹ウイルス抗体を測定した。

臨床血液学的検査：

2頭を大腿静脈から添加剤なしの注射器で約5ml/個体の血液を採取した。赤
血球数（RBC）、白血球数（WBC）、ヘマトクリット値（HCT）、ヘモグロビ
ン濃度（HGB）、血小板数（PLT）、平均血球血色素量（MCV）、平均赤血球
容積（MCH）、平均赤血球濃度（MCHC）、アスパラギン酸アミノトランス
フェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフ
ォスファターゼ（ALP）、総ビリルビン（T.Bili）、総蛋白（T.Prote）、総コレス

テロール (T.Chole), ブドウ糖 (Glucose), 尿素窒素 (BUN), クレアチニン (Creati) の 17 項目の定量を実施した。方法の詳細は第 3 章に記述した。

剖検・病理組織所見：

2 頭をペントバルビタール (東京化成, 東京) の大腿静脈への過剰投与による安楽死処置後, 病理解剖を行った。さらに, 皮膚を含む, 主な臓器を採集し, 病理組織診断を実施した。

実験成績

外観：

両個体とも，顔面，胸部，腹部等の被毛希薄部分に軽度の淡赤色の斑状発疹が観察された（図 2-1, 2-2）. しかし，舌や口腔内に潰瘍はみられず，また，肛門周囲，両手や両足の内側部にとくに異常は観察されなかった．下痢等の所見もなく，触診による発熱，リンパ節その他内部臓器の腫大など，聴診による心臓や肺などの異常も認められなかった（図 2-3）.

抗体検査：

両個体とも明らかな抗体値の上昇が認められ，抗体価は，No1 で 1 : 64 ， No2 で 1 : 32 であった．

臨床血液学的検査：

血液学的検査では，表 2-1 に掲げるが，No 1 の個体では血小板数が低値を，No2 の個体では白血球数と血小板数が低値を，それぞれ示していた．その他の検査項目に異常はみられなかった．

血清生化学的検査では，特別な異常値は示されなかった（表 2-2）.

剖検・病理組織所見：

剖検所見は心臓や肺などは異常が認められなかった（図 2-3）

発疹部位の表皮の肥厚（acanthosis）が顕著で，毛包炎や表皮直下の炎症を伴い，表皮細胞内に麻疹ウイルス感染に特徴的な核内封入体が認められた（図 2-4）．リンパ節に濾胞形成はみられず，麻疹ウイルス感染に特徴的なリンパ系抑制が起こっていると推測された．その他の主要臓器に特別な病変は認められなかった．

考 察

麻疹ウイルスは、パラミクソウイルス科、モルビリウイルス属に分類される RNA ウィルスで、一度感染すれば強固な免疫が成立するけれども、抗体陰性のヒトに対する伝染力は強く、とくに 2 歳以下の乳幼児には深刻な感染症を起こす〔29〕。

一方、自然界のサル類において麻疹ウイルス抗体は陰性で、捕獲、飼育等にてヒトと接触することによってヒトから感染する〔59〕。しかも、それは一般に不顕性感染の形をとるが、実験的に感染させれば、顔面や結膜に発疹や浮腫がみられ、それらは顔面にはじまり、頸部、胸部、腹部、大腿部へと広がる〔2,17,24,35,37,38,45-47,51〕。

サル類の麻疹ウイルス不顕性感染については 1979 年にみられる〔36〕。近年の報告によれば、中国の野生アカゲザルや実験用カニクイザルにおける麻疹ウイルス抗体陽性率は 60% を越えるという〔16〕。また、筑波霊長類センター（TPC）の調査によると、日本の輸入カニクイザルのほとんどの個体が麻疹ウイルス抗体陽性であるという〔57〕。

2001 年の中国由来カニクイザルの検疫において、2,700 頭中 5 頭に全身性の発疹個体を認め、検討した 2 頭は、臨床所見、剖検所見、病理組織所見、血液学および血清生化学的ならびに血清抗体検査において麻疹と診断できた。

ただし、中国の輸出前観察記録に異常の記載はなく、日本で観察された上記症状も軽微なところから、感染初期と推定された。

病巣部から採取したDNAのPCR法による遺伝学的解析が未了であるから断言はできないが、当該麻疹ウイルスは中国の実験用サル類の繁殖関係者に由来している可能性が高く、長期間の遠距離輸送のストレスに基づく免疫機能の低下が引き金となって発症した可能性が高い。日本の法定検疫では麻疹ウイルスは検査項目に加えられていないが、著者の自社検疫においては、将来は検査項目に加えるべきと考える。

なお、白血球数と血小板数の低値は、麻疹ウイルスの標的であるリンパ組織のTリンパ球の減少に関連があると考えられる〔41〕。また、No1において白血球数減少がみられなかった理由は、No2の個体のほうが病状が進行していたため考えられる。

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」で規定される感染症の多くは、動物由来感染症（人の感染症のうち、病原体が動物に由来する感染症）であり、獣医師、動物など取扱業者などの責務規定の創設、感染症の発生の状況、動向および原因の調査のための動物などの調査規定の明示、対物措置（節足動物等も対象として含む）の対象とする疾患の拡充等、動物由来感染症対策の強化が図られたところである。

麻疹に対する特異的な治療法は存在しないため、公衆衛生学的にいえば麻疹流行、個人レベルでは麻疹ウイルスの感染・発病に対する確実に有効な予防

手段は麻疹ワクチンしかない。

日本の教育水準は高く、医療水準も分野によっては非常に発達しているが、いわゆるワクチン予防可能疾患 (Vaccine preventable diseases) として国際的に認識されている一部の感染症に対する対策は、他の先進国のみならず、数多くの途上国にも最近では大きく遅れをとっている。とくに麻疹においては、毎年乳幼児を中心とした多数の患者及びそれに伴う重症者が毎年発生しているのが現状である。近年、地域の麻疹流行に対し、現地の自治体等による積極的な調査、対策の実施が行なわれる傾向がある。

今回我々は、日本に輸入されたカニクイザルに麻疹ウイルス感染を疑う事例を報告し、今後各研究施設で麻疹を含む動物由来感染症における対策の前進に少しでも寄与できればと願っている。

小 括

2001 年の中国から輸入した実験用カニクイザルの検疫期間中に 2,700 頭中 5 頭に全身性の発疹個体を認め、麻疹ウイルス感染の疑いで、その中の 2 頭を検討した。臨床所見，剖検所見，病理組織所見，血液学的・血清生化学的検査ならびに血清抗体検査において，麻疹ウイルス感染特有の核内封入体と血清特異抗体が検出し，麻疹ウイルス感染と判断した。

白血球数と血小板数の低値は，麻疹ウイルスの標的であるリンパ組織の T リンパ球の減少に関連があると考えられる。

今回輸入検疫中に発症した原因は，長距離輸送によりストレスおよび環境因子（温湿度，水，飼料など）の変化により体力が低下し，あわせて，全身の免疫機能が低下した結果，麻疹ウイルスが顕性化したと考えられる。



図 2-1 顔面の淡赤色の斑状発疹



図 2-2 胸部、腹部の淡赤色の斑状発疹

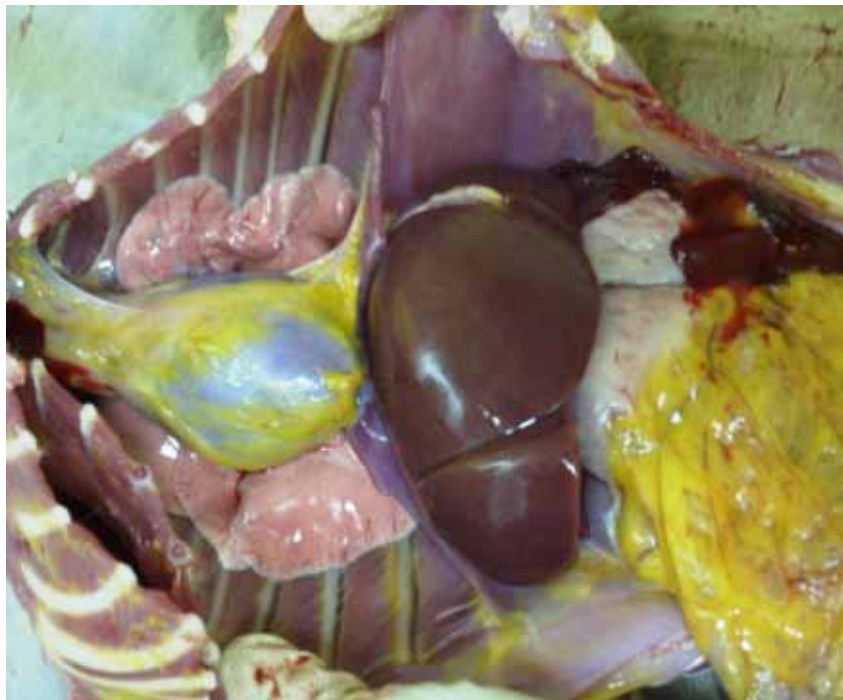


図 2-3 発疹サルの内臓

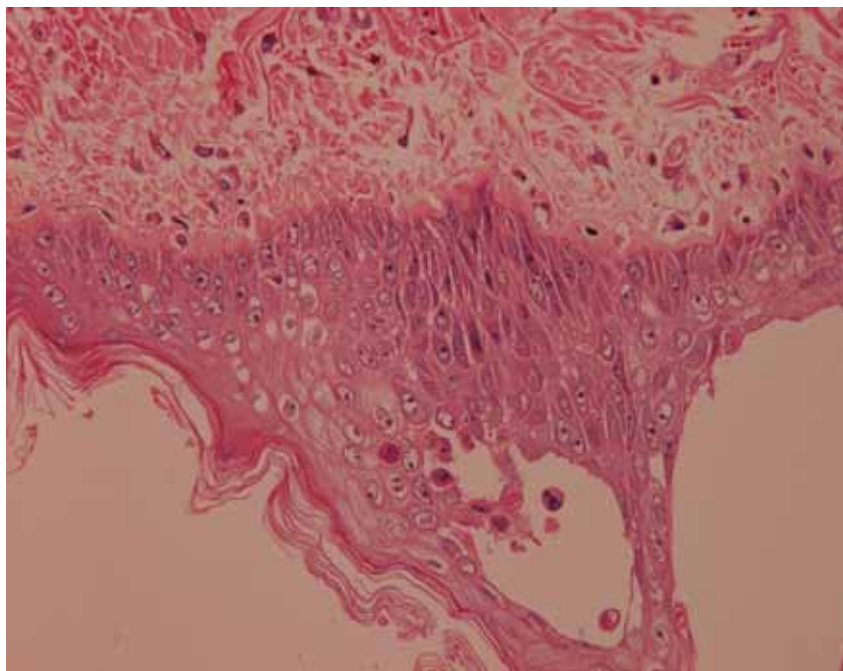


図 2-4 麻疹ウイルスの核内封入体

表 2-1 血液学的測定値

	RBC	WBC	HCT	HGB	PLT	MCV	MCH	MCHC
	(10 ⁶ /mm ³)	(10 ⁶ /mm ³)	(%)	(g/dL)	(10 ⁶ /mm ³)	(fL)	(pg)	(g/dL)
No1	5.30	10.40	39.40	11.40	16.50	74.30	21.50	28.90
No2	5.06	2.90	39.10	11.60	25.50	77.30	22.90	29.70

表 2-2 血清生化学的測定値

	AST	ALT	ALP	T.Bili.	T.Prot.	T.Chole	Glucose	BUN	Creati.
	(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(g/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
No1	34	25	518	0.23	7.20	102	59	21.40	0.62
No2	45	30	767	0.19	6.10	124	63	15.10	0.66

第 3 章

臨床血液学的特性

緒 言

生体は、外界からの影響を受けながらも恒常性を維持し、体液の諸成分は一定の変動範囲内にある。しかし、生体に異常が生じた場合、血液性状の恒常性に破綻が生じ、通常では検出されない成分の出現や構成成分に変化が生じる。安全性研究における臨床検査の目的は、尿、血液（血球）および血清（血漿）成分などの検査を行い、薬物に起因する生体の異常の有無、標的臓器の鑑別、障害の程度と発現機序、ヒトに外挿した場合の問題点などを明らかにすることである。また、臨床検査は疾病動物の臨床的な評価をしばしば補って完全なものにする。検査所見が正常であるか異常であるかによって、鑑別診断、治療モニターおよび予後判定のプロセスについての客観的な情報を得ることができる。

SNBL が 2002 年に中国から輸入し、35 日間の国内検疫を実施した 3,148 頭のカニクイザルの一般状態観察と病原体検索に関する成績を第 1 章に記述したが、第 3 章では、同じカニクイザルを対象に実施した検疫 32 日目の臨床血液学的ならびに臨床血清生化学的検査値について検討した。これらの検査は、感染症と非感染症の違いを問わずに検疫対象のカニクイザルの健康状態を推測する補助データを得る目的で実施した。

また、BV 抗体の有無と臨床検査諸値の関係についても検討した。これらの

結果を補強し，非感染症を含めて輸入サル類の健康状態をより強固に保証する根拠とすること，同時に，実験用サル類の利用者の要望に応じてこれらのデータを提供するためである．

本章では，臨床観察においてまったく異常を認められなかった雄 1,445 頭，雌 1,445 頭（以下正常群）ならびに 35 日間の検疫中に 1 回以上下痢が認められた雄 123 頭，雌 135 頭（以下下痢群）の計 3,148 頭の臨床学的検査を行った．

材 料 と 方 法

供試動物：

第 1 章と同様 ,2002 年中に中国から実験用として輸入したカニクイザルの雄 1,564 頭, 雌 1,584 頭, 計 3,148 頭の全頭を検査対象とした . また , 雄雌各 50 頭の実験未使用カニクイザルの臨床血液学的検査を , 検疫終了 2 か月 (輸入 3 か月) 後に実施した .

飼育条件：

SNBL 輸入検疫施設内は完全陰圧型の微生物バリア区域で , 飼育条件は第 1 章の実験方法の項で示したように , 厳密にコントロールされている . 検疫終了後も , 原則として検疫区域内と同じ条件の飼育環境でサル類は継続飼育されている . なお , 中国における繁殖条件については , 第 1 章の該当項目に記載されている .

血液学的検査：

検疫 32 日目に 3,148 頭のすべての個体の大腿静脈から添加剤なしの注射器で約 5 ml/個体の血液を採取した . その 1ml をバキュテナ採血管に分注して , EDTA-2K にて抗凝固処理した全血を検査試料とし , 総合血液学検査装置

(ADVIA120:Bayer Diagnostic Manufacturing)を用い,赤血球数(RBC),白血球数(WBC),ヘマトクリット値(HCT),ヘモグロビン濃度(HGB),血小板数(PLT),平均血球血色素量(MCV),平均赤血球容積(MCH),平均赤血球濃度(MCHC),平均血小板容積(MPV)を測定した。また,検疫終了後2か月において,実験未使用個体から採血し,上記と同様の検査を行った。

血清生化学的検査:

検疫32日目に3,148頭の全個体の大腿静脈から,添加剤なしの注射器で約5ml/個体の血液を採取,そのうちの4mlを室温にて20~60分静置後,3,000rpm,15分の遠心分離で得た血清を使用した。試料は,自動分析装置(JCA-BM8:日本電子)を用い,アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST),アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT),アルカリフォスファターゼ(ALP),総ビリルビン(T.Bili),総蛋白(T.Prote),総コレステロール(T.Chole),ブドウ糖(Glucose),尿素窒素(BUN),クレアチニン(Creati)について定量した。さらに検疫終了2か月後,実験未使用個体からの血清について上記と同様の検査を行った。

統計学的処理:

得られた数値は,平均値±標準偏差にて表記し,有意差検定は Student's t-test によった。

実験成績

検疫終了前である 32 日目に ,3,148 頭の全個体を対象に実施した血液学的検査成績を表 3-1 に示した .すべての項目において ,とくに異常な数値は認められなかった .

赤血球数は ,測定値の 69.32%が 1SD , 95.15 %が 2SD , 99.43%が 3SD の範囲内にあり ,正規分布をなしていると考えられた .また ,最大血球数の $6.72 \times 10^6/\text{mm}^3$ および最小血球数の $3.12 \times 10^6/\text{mm}^3$ も ,臨床的にとくに著しい異常値とは考えられなかった .繁殖地および輸入時期の違いによる数値の偏りも認められなかった .

検疫終了後も継続飼育していた実験未使用の雄雌各 50 頭について ,2 か月後 (日本到着 3 か月後)に実施した臨床血液学的検査成績を表 3-2 に示した .諸数値は ,雌雄を分けて表記した .表 3-2 から雌雄ともに 1 か月後と 3 か月後の諸数値の間には半数以上で明らかな有意差が認められた .すなわち ,臨床血液学的検査値からみて ,日本到着 1 か月後のカニクイザルは臨床的に安定していないと考えられる .

さらに ,ヘルペス B ウイルス抗体陽性と陰性の雄雌各 50 頭の臨床血液学的検査成績を抜き出して表 3-3 に示したが ,抗体の有無による諸数値の違いは認められなかった .

表 3-4 は、検疫 32 日目に全 3,148 頭を対象に実施した血清生化学的検査成績である。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼは、全測定値の 79.53% が 1SD、96.24% が 2SD、98.40% が 3SD の範囲内にあつて正規分布をなしていると考えられ、また、最大値 162.00IU/l、最小値 12.00IU/l とともに臨床的な異常を示す数値ではなかつた。また、繁殖地および輸入時期の違いによる数値の偏りも認められなかつた。

表 3-5 には、日本到着 3 か月後における実験未使用の雄、雌各 50 頭の臨床血清生化学的検査成績を、日本到着 1 か月後の同一個体の数値とともに示した。血液学的諸数値と同様に、1 か月後と 3 か月後の諸数値の間に明らかな差が認められた。また、ヘルペス B ウイルス抗体陽性および陰性の雄雌各 50 頭の臨床血液学的検査成績（表 3-6）において、抗体の有無による諸数値の相違はみられなかつた。

表 3-7 には、正常群と下痢群の臨床血液学的諸数値の平均と標準偏差値を雌雄別に示した。下痢群と正常群の間で、ほとんどの臨床血液学的諸検査値は、正常群の平均値 \pm 1SD 範囲内であつたが、血小板数、ブドウ糖値は正常群の平均値 \pm 2SD の範囲内であつた。これらの結果から下痢群の臨床血液学的諸検査値は全て正常群の平均値 \pm 2SD の範囲内であつたので、正常範囲内の値と判断した。

考 察

「感染症予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」によって義務づけられた輸入サル類の法定検疫に従い、中国から 2002 年に輸入した合計 3,148 頭のカニクイザルを検疫したところ、第 1 章に記述したように、一般状態に異常を認めず、B ウイルスとサル水痘ヘルペスウイルスおよび第 2 章で記載した麻疹ウイルスを除く、2 種類のウイルスと 3 種類の細菌の感染はすべて陰性であり、中国由来の実験用サル類は一般的に健康であると判断できた。本章に記載した臨床血液学的数値も臨床血清生化学的数値でも、これらのサル類に異常は認められなかった。

臨床学的な諸数値は、これまでに報告されている健康なカニクイザルの検査データ〔15,30,53,55,56,65,67〕と大きな違はなく、すべての項目の測定値において、平均値 $\pm 2SD$ を越える値を示した個体数の割合はいずれも 5% 以下であった。

臨床血液学的検査で極端な数値を示した個体でも、一般状態の観察などで異常はみられず、臨床的に健康と判断できた。ヘルペス B ウイルス抗体陽性および陰性個体の雌雄各 50 頭を無作為的に抜き出して臨床諸数値を比較したが、表 3-3 および表 3-6 に示したように、抗体の有無、つまり感染歴の有無による差異は認められなかった。

鈴木〔56〕によると、カニクイザルの生理値は3か月以上の同一環境での継続飼育によっではじめて安定するというが、著者らの成績でも、SNBLにおける飼育開始1か月後(検疫第32日)の臨床血液学的諸数値とその2か月後(飼育開始3か月後)のそれらに有意差が認められた。生理学的に安定した実験用動物という観点からすると、カニクイザルの検疫期間、使用までの飼育期間を十分検討すべきである。

正常群と下痢群の間で(表3-7)、下痢群の臨床血液学的諸検査値は正常群の平均値 \pm 2SD範囲内にあることから、正常範囲内の値と判断した。下痢の原因は、中国南西部の繁殖施設から鹿児島県の検疫施設までの遠距離移動中の疲労や飼育環境の変化などによるストレスや生理学的変調の結果である可能性が高く、検疫期間初期の一過性の変化であることなどから、カニクイザルの固有感染症に起因するものでないと思われる。

また、中国の繁殖地から北京空港へ、北京空港から日本の成田または関西空港へ、それらの空港からの鹿児島への輸送のため、長時間を費やしているにも関わらず、臨床血液学的、臨床血清生化学的には輸送の強い影響をカニクイザルは受けていないことが示唆された。

小 括

2002 年に中国から輸入した 3,148 頭のカニクイザルのすべてについて検疫 32 日目に臨床血液学的・血清生化学的検査を実施した。臨床血液学的諸数値は正規分布を示し、一部に平均値からやや大きく離れている例もあったが、そのような値を示す個体でも臨床的に異常とは認められなかった。

このうちの実験未使用 50 頭 (雄 25, 雌 25) について、検疫終了後 2 か月間飼育して同様の臨床血液学的検査を実施したが、検疫 32 日目の数値との間に有意差があり、35 日の検疫期間では生理学的に安定していないように思われた。なお、検疫 32 日目の抗体検査において B ウイルス陽性個体と陰性個体の臨床血液学的諸数値の間にあきらかな差は認められなかった。さらに、35 日間の検疫期間中に臨床観察においてまったく異常を認められなかった雄 1,445 頭、雌 1,445 頭 (以下正常群) ならびに 1 回以上下痢が認められた雄 123 頭、雌 135 頭 (以下下痢群) の計 3,148 頭の臨床血液学的検査値について、両性とも下痢群の臨床血液学的諸検査値は正常群の平均値 $\pm 2SD$ の範囲内であった。

表 3-1: 臨床血液学的検査値

	雌 (1,584 頭)		雄 (1,564 頭)	
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	5.17	± 0.40 (3.78 - 6.72) ¹⁾	5.38	± 0.41 (3.12 - 6.72)
WBC ($10^6/\text{mm}^3$)	11.09	± 4.55 (3.06 - 54.77)	11.49	± 4.06 (3.50 - 39.85)
HCT (%)	39.05	± 3.01 (29.00 - 51.50)	40.12	± 3.03 (22.00 - 52.80)
HGB (g/dL)	12.26	± 0.92 (8.80 - 16.00)	12.59	± 0.88 (8.90 - 16.00)
PLT ($10^6/\text{mm}^3$)	361.59	± 89.90 (100.00 - 806.00)	361.08	± 92.55 (63.00 - 770.00)
MCV (fL)	75.60	± 3.57 (65.40 - 90.50)	74.62	± 3.40 (64.30 - 86.40)
MCH (pg)	23.74	± 1.24 (19.50 - 28.90)	23.43	± 1.28 (19.20 - 32.20)
MCHC (g/dL)	31.41	± 1.07 (25.90 - 35.10)	31.42	± 1.34 (27.50 - 44.70)
MPV (fL)	8.92	± 1.50 (6.40 - 30.90)	8.85	± 1.50 (5.80 - 17.80)

1): 平均 \pm 標準偏差 (最小-最大)

表 3-2: 日本到着後1カ月と3カ月個体の臨床血液学的検査値

	雌 (50頭)			雄 (50頭)		
	1カ月	3カ月	有意差	1カ月	3カ月	有意差
RBC (10 ⁶ /mm ³)	5.01 ± 0.33 (4.19 - 5.80) ¹⁾	5.40 ± 0.32 (4.82 - 6.42)	²⁾	5.37 ± 0.31 (4.65 - 6.33)	5.46 ± 0.35 (4.68 - 6.38)	ND
WBC (10 ³ /mm ³)	11.30 ± 3.62 (4.99 - 21.13)	11.60 ± 2.73 (4.68 - 19.06)	ND ³⁾	11.60 ± 4.29 (5.01 - 31.35)	11.56 ± 2.95 (6.22 - 23.19)	ND
HCT (%)	37.34 ± 2.43 (32.90 - 41.80)	41.48 ± 2.51 (4.68 - 19.06)		40.70 ± 2.70 (34.10 - 48.00)	42.29 ± 3.09 (36.40 - 52.50)	
HGB (g/dL)	12.23 ± 0.87 (10.50 - 14.00)	13.09 ± 2.51 (38.10 - 49.60)		13.29 ± 0.85 (11.30 - 15.50)	13.41 ± 0.90 (11.70 - 16.40)	ND
PLT (10 ³ /mm ³)	393.78 ± 87.81 (182.00 - 584.00)	445.52 ± 90.69 (230.00 - 654.00)		396.18 ± 81.63 (194.00 - 573.00)	432.66 ± 85.63 (249.00 - 641.00)	
MCV (fL)	74.56 ± 3.12 (67.80 - 83.60)	76.86 ± 3.35 (69.10 - 85.90)		75.87 ± 3.31 (67.70 - 82.00)	77.49 ± 3.77 (70.90 - 87.30)	
MCH (pg)	24.43 ± 1.15 (21.40 - 26.90)	24.24 ± 1.03 (21.06 - 27.20)	ND	24.78 ± 1.02 (22.70 - 26.90)	24.58 ± 1.09 (22.30 - 26.60)	ND
MCHC (g/dL)	32.77 ± 0.91 (30.80 - 34.60)	31.57 ± 1.00 (29.70 - 33.50)		32.67 ± 0.86 (30.80 - 34.70)	31.74 ± 1.03 (29.50 - 34.00)	
Neut (10 ³ /mm ³)	5.13 ± 2.60 (1.69 - 11.43)	3.89 ± 1.45 (0.71 - 7.51)		3.21 ± 1.33 (1.21 - 6.31)	3.92 ± 1.94 (1.66 - 13.37)	
Eosino. (10 ³ /mm ³)	0.15 ± 0.17 (0.01 - 1.09)	0.16 ± 0.13 (0.01 - 0.58)	ND	0.22 ± 0.19 (0.04 - 1.08)	0.16 ± 0.13 (0.03 - 0.68)	ND
Baso (10 ³ /mm ³)	0.04 ± 0.02 (0.01 - 0.11)	0.06 ± 0.03 (0.01 - 0.14)		0.05 ± 0.05 (0.01 - 0.38)	0.05 ± 0.05 (0.01 - 0.38)	ND
Mono (10 ³ /mm ³)	0.24 ± 0.09 (0.10 - 0.51)	0.29 ± 0.13 (0.11 - 0.85)		0.26 ± 0.14 (0.10 - 0.85)	0.05 ± 0.03 (0.01 - 0.21)	
Lymph (10 ³ /mm ³)	5.48 ± 2.37 (2.28 - 11.87)	7.12 ± 2.45 (2.97 - 16.16)		7.75 ± 3.81 (3.46 - 26.85)	6.82 ± 1.50 (3.45 - 9.57)	ND
LUC (10 ³ /mm ³)	0.07 ± 0.04 (0.02 - 0.18)	0.09 ± 0.04 (0.03 - 0.20)	ND	0.11 ± 0.11 (0.02 - 0.81)	0.08 ± 0.05 (0.03 - 0.32)	ND

1): 平均 ± 標準偏差 (最小-最大) 2): t 値 5%水準で有意差 / 1%水準で有意差 3): ND 有意無し

表 3-3: ヘルペス B ウイルス陽性および陰性個体の臨床血液学的検査値

	雌			雄		
	抗体陽性 (50 頭)	抗体陰性 (50 頭)	有意差	抗体陽性 (50 頭)	抗体陰性 (50 頭)	有意差
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	5.03 ± 0.40 (4.19 - 5.87) ¹⁾	4.93 ± 0.34 (3.96 - 5.51)	ND ³⁾	5.24 ± 0.32 (4.56 - 5.80)	5.31 ± 0.35 (4.64 - 6.33)	ND
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	10.73 ± 3.12 (5.04 - 16.98)	10.01 ± 3.06 (4.04 - 19.90)	ND	10.29 ± 2.95 (5.52 - 19.39)	11.30 ± 3.76 (5.01 - 22.97)	ND
HCT (%)	37.79 ± 2.70 (32.30 - 45.20)	37.1 ± 2.38 (32.00 - 41.80)	ND	39.25 ± 2.36 (35.30 - 44.40)	39.94 ± 2.46 (32.90 - 44.60)	ND
HGB (g/dL)	12.39 ± 0.92 (10.50 - 14.70)	12.13 ± 0.73 (10.30 - 13.90)	ND	12.75 ± 0.73 (11.50 - 14.40)	13.11 ± 0.82 (11.00 - 14.90)	²⁾
PLT ($10^3/\text{mm}^3$)	402.78 ± 80.27 (182.00 - 583.00)	407.12 ± 89.90 (244.00 - 630.00)	ND	409.86 ± 104.67 (223.00 - 745.00)	395.06 ± 94.88 (234.00 - 662.00)	ND
MCV (fL)	75.21 ± 2.93 (68.10 - 81.40)	75.38 ± 3.11 (68.20 - 82.00)	ND	75.02 ± 2.91 (69.90 - 81.40)	75.23 ± 2.90 (67.70 - 80.80)	ND
MCH (pg)	24.65 ± 1.06 (22.00 - 27.00)	24.64 ± 1.05 (22.40 - 27.00)	ND	24.37 ± 0.99 (21.80 - 26.40)	24.67 ± 0.72 (23.00 - 26.20)	ND
MCHC (g/dL)	32.77 ± 0.81 (30.70 - 34.10)	32.7 ± 0.78 (31.20 - 34.50)	ND	32.50 ± 0.88 (30.80 - 34.30)	32.82 ± 0.86 (30.80 - 34.90)	ND
Neut ($10^3/\text{mm}^3$)	8.88 ± 1.16 (7.10 - 12.50)	8.48 ± 0.93 (6.80 - 10.80)	ND	8.66 ± 0.96 (6.80 - 10.80)	8.81 ± 1.27 (6.50 - 12.10)	ND
Eosino. ($10^3/\text{mm}^3$)	5.87 ± 2.77 (1.67 - 12.46)	5.62 ± 2.57 (1.79 - 15.25)	ND	3.27 ± 1.47 (1.01 - 8.52)	3.76 ± 1.69 (1.21 - 7.41)	ND
Baso ($10^3/\text{mm}^3$)	0.14 ± 0.14 (0.00 - 0.63)	0.12 ± 0.09 (0.00 - 0.46)	ND	0.18 ± 0.15 (0.01 - 0.88)	0.14 ± 0.09 (0.03 - 0.45)	ND
Mono ($10^3/\text{mm}^3$)	0.03 ± 0.01 (0.01 - 0.06)	0.03 ± 0.01 (0.01 - 0.07)	ND	0.04 ± 0.02 (0.01 - 0.11)	0.04 ± 0.02 (0.01 - 0.12)	ND
Lymph ($10^3/\text{mm}^3$)	0.26 ± 0.11 (0.09 - 0.65)	0.23 ± 0.09 (0.09 - 0.47)	ND	0.28 ± 0.12 (0.08 - 0.60)	0.26 ± 0.12 (0.10 - 0.52)	ND
LUC ($10^3/\text{mm}^3$)	4.37 ± 1.66 (2.03 - 8.61)	3.97 ± 1.61 (1.73 - 10.52)	ND	6.46 ± 2.43 (2.39 - 14.68)	7.01 ± 2.75 (2.67 - 14.82)	ND

1): 平均 ± 標準偏差 (最小-最大) 2): t 値 5%水準で有意差 3): ND 有意差無し

表 3-4: 臨床血清生化学的検査値

	雌 (1,584 頭)		雄 (1,564 頭)	
AST (IU/L)	34.15 ±	13.80(11.00 - 161.00) ¹⁾	34.17 ±	13.79(12.00 - 162.00)
ALT (IU/L)	48.23 ±	45.8(10.00 - 714.00)	39.19 ±	25.89(10.00 - 199.00)
ALP (IU/L)	651.36 ±	329.68(103.00 - 1859.00)	974.47 ±	389.05(203.00 - 1999.00)
T.Bili. (mg/dL)	0.15 ±	0.06(0.04 - 0.91)	0.13 ±	0.04(0.04 - 0.24)
T.Prote (g/dL)	7.12 ±	0.49(5.30 - 8.90)	7.15 ±	0.48(5.20 - 10.00)
T.Chole (mg/dL)	122.29 ±	24.78(39.00 - 261.00)	113.84 ±	23.88(26.00 - 214.00)
Glucose (mg/dL)	64.85 ±	13.84(26.00 - 41.70)	70.17 ±	14.25(28.00 - 161.00)
BUN (mg/dL)	22.56 ±	5.67(5.10 - 41.70)	24.58 ±	4.98(11.70 - 55.60)
Greati. (mg/dL)	0.47 ±	0.09(0.23 - 0.88)	0.55 ±	0.14(0.27 - 1.56)

1): 平均 ± 標準偏差 (最小-最大)

表 3-5: 日本到着後1カ月と3カ月個体の臨床血清生化学的検査値

	雌 (50 頭)			雄 (50 頭)		
	1カ月	3カ月	有意差	1カ月	3カ月	有意差
AST (IU/L)	31.84 ± 9.70 (16.00 - 63.00) ¹⁾	38.08 ± 13.15 (16.00 - 78.00)	²⁾	28.72 ± 11.83 (14.00 - 85.00)	38.04 ± 15.19 (23.00 - 88.00)	
ALT (IU/L)	34.50 ± 13.12 (13.00 - 77.00)	46.48 ± 18.40 (15.00 - 92.00)		32.02 ± 18.47 (15.00 - 141.00)	39.58 ± 15.54 (18.00 - 85.00)	
ALP (IU/L)	837.38 ± 291.23 (249.00 - 1538.00)	1027.58 ± 331.09 (286.00 - 1621.00)		1129.52 ± 383.78 (441.00 - 2232.00)	1249.08 ± 306.70 (485.00 - 1793.00)	ND
T.Bili. (mg/dL)	0.17 ± 0.06 (0.08 - 0.47)	0.25 ± 0.10 (0.11 - 0.82)		0.16 ± 0.05 (0.09 - 0.39)	0.21 ± 0.06 (0.12 - 0.37)	
T.Prote (g/dL)	6.70 ± 0.44 (5.40 - 8.10)	7.30 ± 0.49 (5.70 - 8.20)		6.93 ± 0.41 (6.20 - 7.80)	7.38 ± 0.38 (6.60 - 8.30)	
T.Chole (mg/dL)	126.22 ± 24.27 (78.00 - 189.00)	146.88 ± 24.15 (102.00 - 204.00)		110.08 ± 21.12 (53.00 - 156.00)	120.20 ± 22.09 (74.00 - 171.00)	
Glucose (mg/dL)	64.34 ± 12.10 (41.00 - 104.00)	76.68 ± 11.61 (55.00 - 111.00)		81.32 ± 19.99 (55.00 - 140.00)	82.16 ± 9.44 (64.00 - 109.00)	ND
BUN (mg/dL)	23.00 ± 4.22 (16.30 - 35.50)	22.28 ± 3.97 (15.10 - 32.90)	ND ³⁾	23.69 ± 3.82 (55.00 - 140.00)	24.29 ± 4.99 (14.70 - 41.30)	ND
Creati. (mg/dL)	0.55 ± 0.11 (0.33 - 0.87)	0.57 ± 0.10 (0.38 - 0.87)	ND	0.66 ± 0.11 (0.41 - 1.04)	0.72 ± 0.13 (0.52 - 1.22)	

1): 平均 ± 標準偏差 (最小-最大) 2): t 値 5%水準で有意差/ 1%水準で有意差 3): ND 有意差無し

表 3-6: ヘルペス B ウイルス陽性および陰性個体の臨床血清生化学的検査値

	雌					雄				
	抗体陽性 (50 頭)		抗体陰性 (50 頭)		有意差	抗体陽性 (50 頭)		抗体陰性 (50 頭)		有意差
AST (IU/L)	25.02 ± 7.94 (15.00 - 46.00) ¹⁾	25.48 ± 6.97 (15.00 - 43.00)	ND ³⁾	25.08 ± 7.33 (13.00 - 51.00)	29.34 ± 13.80 (9.00 - 85.00)	ND				
ALT (IU/L)	32.76 ± 13.80 (13.00 - 76.00)	35.40 ± 16.51 (10.00 - 87.00)	ND	26.98 ± 9.98 (13.00 - 61.00)	32.26 ± 12.60 (8.00 - 66.00)	2)				
ALP (IU/L)	597.6 ± 272.72 (231.00 - 1197.00)	511.74 ± 278.69 (243.00 - 1469.00)	ND	1000.04 ± 308.52 (470.00 - 1548.00)	1025.10 ± 286.07 (441.00 - 1589.00)	ND				
T.Bili. (mg/dL)	0.16 ± 0.06 (0.06 - 0.43)	0.17 ± 0.09 (0.08 - 0.61)	ND	0.15 ± 0.03 (0.10 - 0.22)	0.17 ± 0.04 (0.10 - 0.29)					
T.Prote (g/dL)	6.76 ± 0.05 (5.69 - 7.70)	6.77 ± 0.39 (5.90 - 8.00)	ND	6.69 ± 0.39 (6.100 - 7.70)	6.69 ± 0.26 (6.20 - 7.40)	ND				
T.Chole (mg/dL)	119.8 ± 24.34 (73.00 - 183.00)	118.82 ± 24.93 (69.00 - 185.00)	ND	110.38 ± 24.24 (52.00 - 190.00)	116.72 ± 24.40 (53.00 - 178.00)	ND				
Glucose (mg/dL)	63.40 ± 10.60 (45.00 - 93.00)	60.54 ± 9.95 (40.00 - 93.00)	ND	72.88 ± 11.66 (480.00 - 104.00)	76.02 ± 15.19 (56.00 - 115.00)	ND				
BUN (mg/dL)	22.40 ± 6.75 (13.70 - 55.70)	23.78 ± 4.34 (15.10 - 35.90)	ND	23.24 ± 4.08 (15.10 - 34.20)	24.79 ± 4.41 (16.30 - 37.10)	ND				
Greati. (mg/dL)	0.62 ± 0.19 (0.41 - 1.72)	0.62 ± 0.09 (0.42 - 0.92)	ND	0.67 ± 0.10 (0.46 - 0.87)	0.64 ± 0.12 (0.41 - 1.04)	ND				

1): 平均 ± 標準偏差 (最小-最大) 2): t 値 5%水準で有意差/ 1%水準で有意差 3): ND 有意差無し

表 3-7 正常群と下痢群の臨床血液学的諸数値

	雄				雌			
	正常群 (1,445 頭)		下痢群 (123 頭)		正常群 (1,445 頭)		下痢群 (135 頭)	
RBC (10 ⁶ /mm ³)	5.39 ±	0.41 ¹⁾	5.41 ±	0.45	5.17 ±	0.41	5.21 ±	0.41
WBC (10 ³ /mm ³)	11.48 ±	4.04	13.33 ±	5.75	11.17 ±	4.75	9.92 ±	3.05
HCT (%)	40.19 ±	3.02	39.13 ±	2.96	39.13 ±	3.02	38.74 ±	2.89
HGB (g/dL)	12.62 ±	0.88	12.52 ±	0.94	12.27 ±	0.93	12.30 ±	0.92
PLT (10 ³ /mm ³)	359.65 ±	92.36	397.82 ±	107.35	361.52 ±	90.43	355.98 ±	104.90
MCV (fL)	74.72 ±	3.40	72.46 ±	2.80	75.81 ±	3.60	74.38 ±	3.17
MCH (pg)	23.48 ±	1.26	23.20 ±	1.20	23.78 ±	1.26	23.64 ±	1.19
MCHC (g/dL)	31.45 ±	1.32	32.02 ±	1.15	31.38 ±	1.09	31.80 ±	0.95
MPV (fL)	8.88 ±	1.52	8.34 ±	1.43	8.95 ±	1.41	8.80 ±	1.35
AST (IU/L)	33.80 ±	12.86	36.10 ±	23.72	34.35 ±	14.25	33.61 ±	9.90
ALT (IU/L)	37.52 ±	24.90	43.66 ±	32.14	48.68 ±	47.36	39.85 ±	29.25
ALP (IU/L)	988.80 ±	389.13	876.90 ±	311.64	657.671 ±	332.73	648.29 ±	319.16
T.Bili. (mg/dL)	0.14 ±	0.04	0.12 ±	0.02	0.16 ±	0.06	0.14 ±	0.04
T.Prote (g/dL)	7.13 ±	0.47	7.07 ±	0.58	7.14 ±	0.50	6.88 ±	0.51
T.Chole (mg/dL)	114.38 ±	23.75	114.56 ±	27.76	122.71 ±	25.06	117.16 ±	21.48
Glucose (mg/dL)	70.21 ±	14.39	65.13 ±	10.62	65.11 ±	14.08	59.95 ±	10.25
BUN (mg/dL)	24.56 ±	4.97	25.23 ±	5.57	22.61 ±	5.71	19.51 ±	5.08
Creati. (mg/dL)	0.55 ±	0.15	0.50 ±	0.11	0.47 ±	0.09	0.46 ±	0.11

The test item abbreviation: JSCC.

1): mean ± SD.

第 4 章

中国とインドネシア由来

カニクイザルの比較

緒 言

近年のゲノム研究の進展に伴い、種々の生物で遺伝子の構造と機能の解明が急速に進んでいるが、ヒトの全体像を生物学的に理解する上で、ヒトと他の霊長類とを比較することは意義深い。ミトコンドリア DNA (mtDNA) 系統樹は生殖的隔離よりも、種間、亜種間の地理的隔離の程度に強く影響されることが明らかである。

野生カニクイザルに関する自然分布、生理、形態、特性などはすでに多くの研究が報告された〔1,9,10,14,18,27,39〕。また、人工飼育環境下での生物学特性や形態学的研究の報告〔48,49,53,54〕もあったが、異なる由来地に対して、研究用カニクイザルにおかる生物学的な報告は少ない。

一方、サル類におけるゲノム研究を展開するにおいて、細胞質ゲノムとして mtDNA を注目されるようになった。mtDNA には進化速度を異にする領域があり、群内の個体差の検出から種間系統関係まで、対象の霊長類のどの側面を解析するかにより使い分けることが可能であることから、疾患動物モデルなどの研究には、遺伝的な差異によって試験結果へ影響が及ぶことがある。遺伝的な背景の異なる系統の比較実験や遺伝的な変異を開発するために重要な意義をもつと思われる。インドネシア、フィリピンおよびマレーシアなど、東南アジア

地域に自然生棲しているカニクイザルにおいて mtDNA は 21 型 (Types) および 2 グループ分化という研究報告がみられる [19] が, 中国で人工的に繁殖されているカニクイザルに関する報告はない .

本研究は, 中国とインドネシア由来, 研究用として繁殖されたカニクイザルを用いて, 身体サイズ, 臨床血液学的, 血清生化学的測定値などに対して差の有無を検討し, さらに, 血液より mtDNA を抽出し, PCR-RFLP 増幅方法で, 由来地域が異なる塩基配列の差の有無を比較した .

材 料 と 方 法

供試動物：

2003 年に中国およびインドネシアから輸入し，35 日間の輸入検疫を終了した 3～5 歳，体重 2.5～4.0 kg の雄雌各および由来国各 50 頭，計 200 頭のカニクイザルを用いた．

飼育条件：

検疫施設内は完全陰圧型の微生物バリア区域で，入退室時には更衣とエアシャワー浴および滅菌長靴，帽子，マスク，手袋の装着が必須で，温度 26 ± 2 ，湿度 $50 \pm 10\%$ ，人工照明にて 12 時間明・12 時間暗（6～18 時点灯），換気 15 回/1 時間に調節されている．飼育には，挟体装置付の 74（横）×61（深）×77（高）cm のステンレス・スチール金棒製の個別収容ケージを用いた．飲水は，水道法水質基準に適合した SNBL 自家用水を自由摂取させた．飼料は，市販サル用固形飼料（Taklad Global 25% Protein Primate Diet:Harlan Sprague Dawley）を，体重に関係なく 1 頭あたり 1 日 108 g（12 g ペレット×9 個）を給与した．また，ケージ，架台，飼育室の床は毎日 1 回，水道水にて洗浄した．

生理学的諸数値計測：

両国雌雄 50 頭ずつ，計 200 頭を塩酸ケタミンの大腿筋内注射で麻酔して体重（電子天秤 HP-40K：A&K：(株)エーアンドディ）を測定し，同時に全身長（頭頂から尾先端），躯体長（頭頂から尾根部），尾長（尾根から尾先端），右前肢長（右前肢肩部から中指先端），右後肢長（仙骨から右後肢中指先端），さらに雄では電子ノギス（CD-S15C:(株)ミットヨ）にて左右の精巣の縦径と横径を計測した．

血液学的検査：

上項と同じ 計 200 頭について，塩酸ケタミン麻酔下で大腿静脈から添加剤なしの注射器で約 1ml/個体の血液を採り，バキュテイナ採血管に分注し，EDTA-2K で抗凝固処理して検査試料とした．総合血液学検査装置（ADVIA120:Bayer Diagnostic Manufacturing）を用い，赤血球数（RBC），白血球数（WBC），ヘマトクリット値（HCT），ヘモグロビン濃度（HGB），血小板数（PLT），平均赤血球容積（MCV），平均赤血球血色素量（MCH），平均赤血球血色素濃度（MCHC），平均血小板容積（MPV），好中球数（NEUT），好酸球数（Eosino.），好塩基球数（Baso.），単核球数（Mono.），リンパ球数（Lymph.），大型非染色細胞（LUC），ミエロペルオキシダーゼ活性指標（MPXI）を測定した．

血清生化学的検査：

上項と同じ 200 頭について，塩酸ケタミン麻酔下で大腿静脈から添加剤なしの注射器にて約 3ml/個体の血液を採り，室温にて 20～60 分静置後，3,000rpm，15 分の遠心分離で得た血清を使用した．試料は，自動分析装置（JCA-BM8: 日本電子）を用い，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），アルカリフォスファターゼ（ALP），総ビリルビン（T.Bili），総蛋白（T.Prote），総コレステロール（T.Chole），ブドウ糖（Glucose），尿素窒素（BUN），クレアチニン（Creati）について定量した．

mtDNA 解析：

遺伝分析には，上記 100 頭の中から無作為的に選択した両国由来の雄雌各および国別各 5 頭，計 10 頭ずつを用いた．5%塩酸ケタミンの大腿筋肉内注射麻酔下で，大腿静脈から添加剤なしの注射器で約 4ml/個体の血液を採り，バキュテイナ採血管に分注し EDTA-2K にて抗凝固処理した全血を京都大学霊長類研究所に依頼し，mtDNA を抽出し，PCR-RFLP 増幅法で mtDNA 解析を行った．

統計解析：

中国由来カニクイザルを基準として評価するため，中国のカニクイザルの各パラメータの平均と分散に基づき，インドネシアのカニクイザルのデータをそ

れぞれ標準化して平均を求め、各パラメータごとにレーダーチャートにプロットした。

実験成績

生理学的諸数値：

中国由来のカニクイザルは，インドネシアのそれよりも雌雄ともに平均体重が 0.25 kg 以上重く，また，雌雄の全身長と雄の精巢径，前肢長，後肢長，尾長の平均値は，インドネシア由来カニクイザルのほうがいずれも中国のそれらより大きかった．諸測定の前平均値に関する統計分析の結果は図 4-1 ，図 4-2 に示す通りであった．

血液学的ならびに血清生化学的諸数値：

血液学的測定果は，白血球数 (WBC)，ヘマトクリット値 (HCT)，ヘモグロビン濃度 (HGB)，血小板数 (PLT)，平均血球血色素量 (MCV)，平均赤血球容積 (MCH)，平均赤血球濃度 (MCHC)，好塩基球数 (Baso.)，リンパ球数 (Lymph.) の平均値において，インドネシア由来は中国由来のカニクイザルより雌雄ともに低かったが，赤血球数 (RBC)，好中球数 (NEUT)，好酸球数 (Eosino.)，大型非染色細胞 (LUC)，ミエロペルオキシダーゼ活性指標 (MPXI) はインドネシア由来のカニクイザルが高い傾向にあった．諸測定の前平均値に関する統計分析の結果は図 4-3 ，図 4-4 に示す通りであった．

血清生化学的検査結果，中国由来のカニクイザルと比較して，インドネシア

由来サルのアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アルカリフォスファターゼ (ALP), 総コレステロール (T.Chole), 尿素窒素 (BUN) は, 雌雄とも平均値で高い傾向にあった。雌においては, インドネシア由来カニクイザルのクレアチニン (Creati) が中国由来サルよりも高かった。各データに関する統計分析の結果を図 4-5 , 図 4-6 に示した。

mtDNA 解析 :

両国のカニクイザルの mtDNA を検索し, その部分塩基配列の比較結果を図 4-7 に示した。遺伝子は多型的で, mtDNA の塩基数において, 中国由来カニクイザル (塩基数:591 塩基) が, インドネシア由来カニクイザルより共通して 3 塩基多かった。

さらに, 20 頭の mtDNA 検索の結果を基に, U P G M A を用いてシークエンスしたところ, 図 4-8 に示すように, 標準遺伝子の距離を表す樹状図に明らかな差異がみられた。

考 察

野生カニクイザルが生息環境によって体重や身長が異なってくるとする研究報告〔1,14,50〕がある。本研究は、図 4-1, 図 4-2 を示したように、体重の平均値はインドネシア由来より中国由来のほうが雄雌とも大きいし、形態学的にインドネシア由来のほうが全般的に長かった。これは生息あるいは飼育環境への順応と考えられる。京都大学霊長類研究所の鈴木ら〔56〕は、飼育下のニホンザルの身体成長が育成環境の差異により変化するという研究結果と一致する結論と考えている。国際的に研究を用いるカニクイザルは繁殖された個体に限るという規制があることから、インドネシアは島での放飼方式で、中国は施設内での人工的でカニクイザルを繁殖、育成および提供している。島での放飼は、数十頭を一群、活動範囲が広く、群内競争、性行為および日常的に登樹も行うので、体重が負担にならないよう、かつ四肢や尾が長く、生殖器が発達するような環境に馴化したと考える。また、中国での施設内の飼育は、約 25 m²の空間で、十頭前後を一群（雄 1：雌 8~10）、競争が比較的少ない環境で飼育し、活動できる範囲が限られているため、かつ雄雌別での群単位での育成などによって、体重は比較的に重く、四肢と尾も短く、生殖器の発育は多少遅れていると考える。

また、血液学および血清生化学的検査値に対しては、インドネシア由来のカ

ニクイザルにおいて、赤血球関係の諸数値は、たとえばヘマトクリット値（HCT）やヘモグロビン濃度（HGB）が低値という記載〔32,39〕も、今回の所見と矛盾しない（図 4-3, 図 4-4）。これらの相違は、カニクイザルの生息地域の天候および食物構成形態に適応したものと考える。インドネシアでの島放飼は、一部は人工的に給与する飼料と野外で好みの食が自由に摂取されているが、中国の施設内の飼育はほとんど人工的に作った全価飼料で飼育されているので、血液学的および血清生化学的な諸検査値は多少異なることが考えられた。Yoshita ら〔66〕の異なる飼育条件によりカニクイザルの血液学的および血清生化学的の測定値に影響があるという研究結果と一致した。

中国とインドネシア由来のカニクイザルのミトコンドリア DNA の塩基配列に関する検索の結果、中国由来のサルのほうが共通的に 3 塩基多く、図 4-7 に示したように、由来を異にするカニクイザルの標準遺伝子距離は明らかに 2 極化していることを示唆している。今回の検索は、カニクイザルは個体間の遺伝子構成のばらつきが大きく、出生が異なる島々のサル間で遺伝子構成の相違が大きいとするいくつかの報告〔9,10,11,14,23,25,26,28,43,44〕と一致している。カニクイザルにおける分化と進化分布に関する研究成果から、中国のカニクイザルとインドネシアのカニクイザルは、遠く離れた生息地で独立的な世代交代が繰り返された結果、遺伝的な分化が進行したとみてよい。

カニクイザルは、由来地域により、身体サイズや血液学的および血清生化学的検

査値および遺伝子において差異がみられたことから、サル類を用いる研究に役立つ参考資料になると考えられる。遺伝的に不明確で、多くの人畜共通感染症が内在している可能性があり、他の実験動物より凶暴性があり、飼育・管理および取扱うに難しい、カニクイザルを実験動物として確立するため、研究および実験に用いる前に、十分な検疫と馴化ならびの背景の蓄積が重要である。さらに、サル類における属や種ならびに亜種間の差異に関する研究、ゲノムや遺伝子的の解析は今後の課題である。

小 括

中国とインドネシア由来，研究用として繁殖されたカニクイザルを用いて，身体サイズ，血液学及び血清生化学的に精査を行い，さらに，血液よりミトコンドリア DNA (mtDNA) を抽出し，PCR-RFLP 増幅方法で，由来地域が異なる塩基配列の差の有無を比較した．その結果，体重は中国由来のほうが雄雌とも大きく、身体サイズはインドネシア由来のほうが全般的に大きかった．血液学のおよび血清生化学的検査値にも違いがみられた．中国由来カニクイザル（塩基数:591 塩基）が，インドネシア由来カニクイザル（塩基数:588 塩基）より共通して3塩基多かった．遺伝子距離は2極化していることが明らかになった．

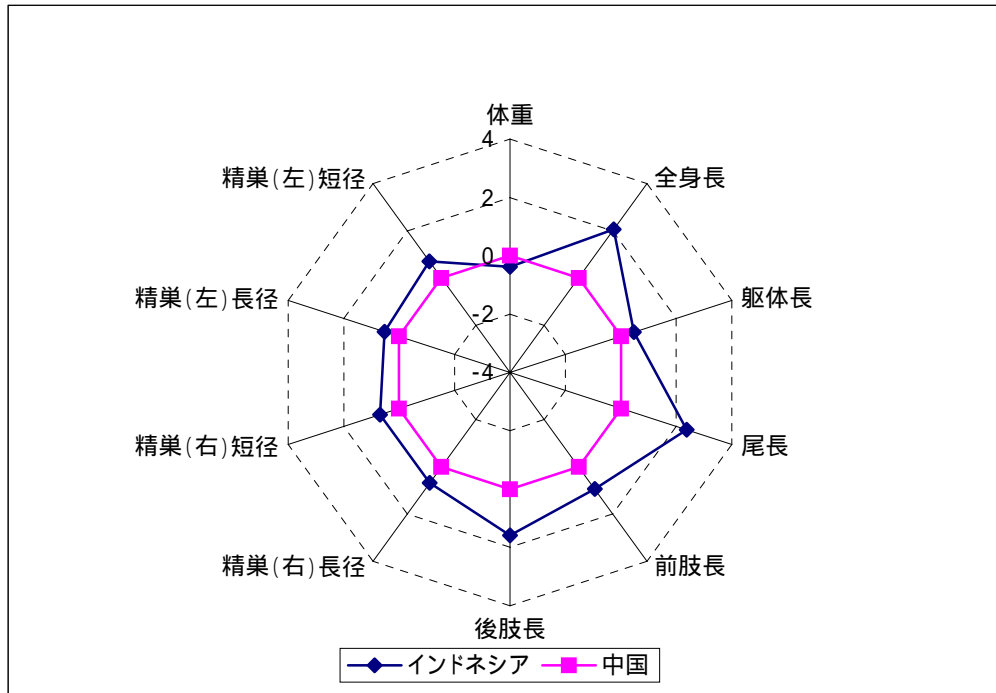


図 4-1: 雄性個体生理特性統計分析図

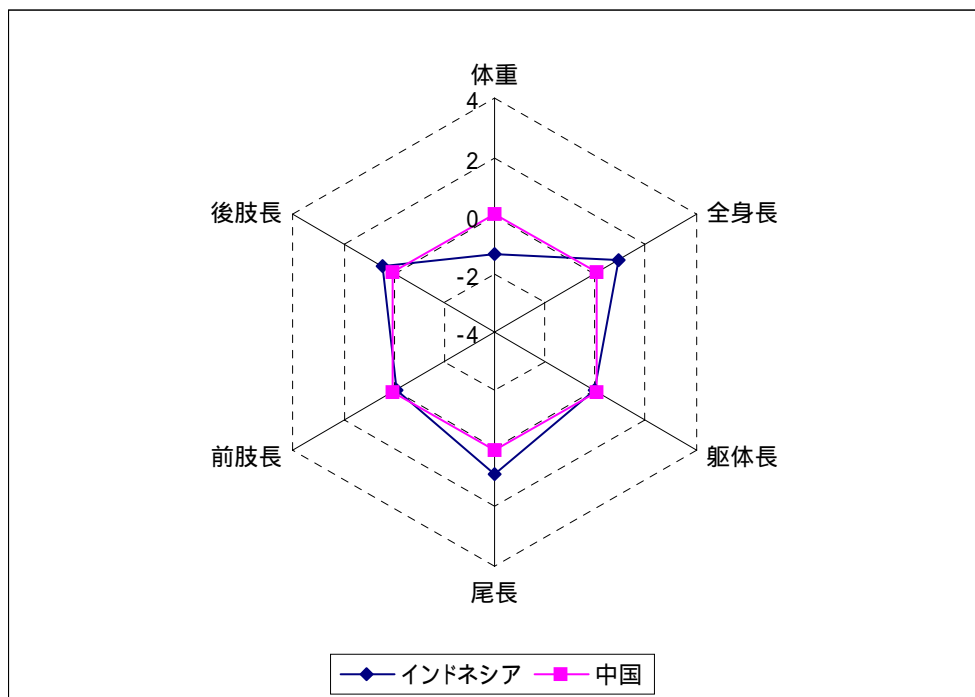


図 4-2: 雌性個体生理特性統計分析図

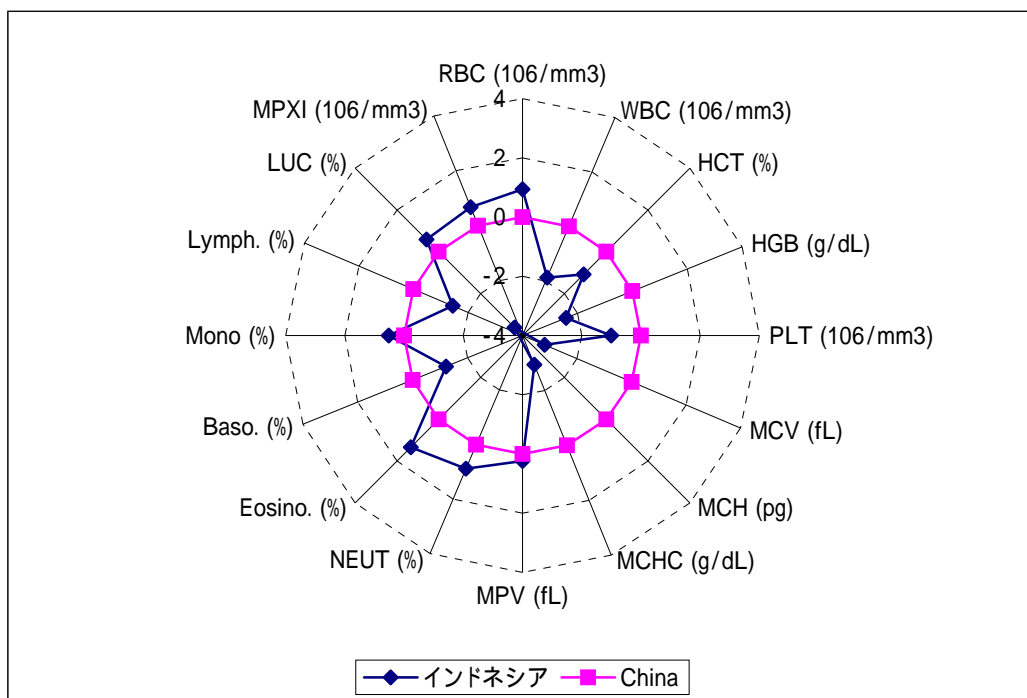


図 4-3: 男性個体血液学的諸検査値統計分析図

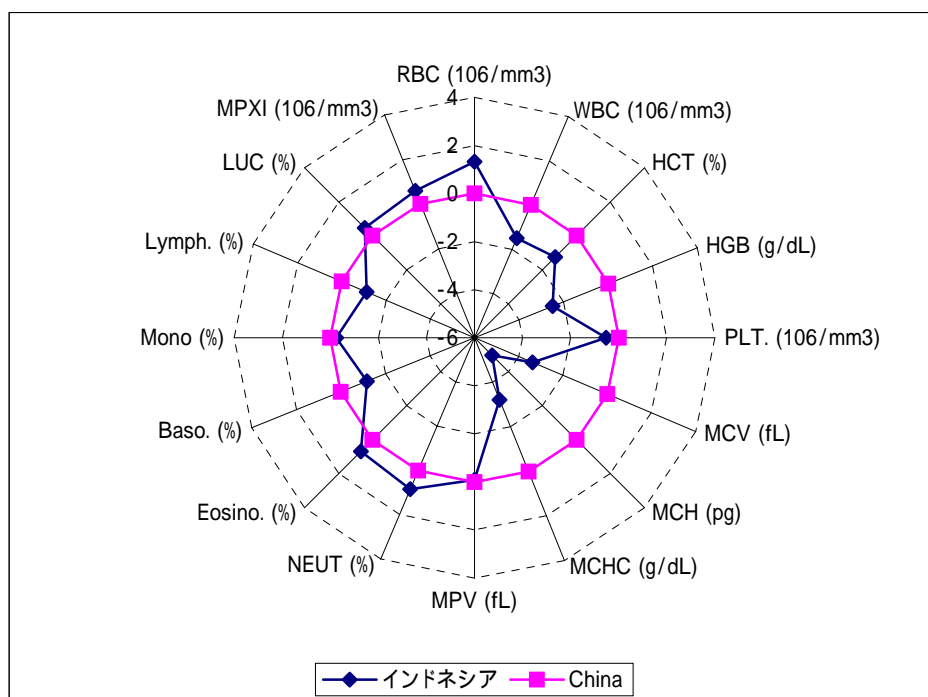


図 4-4: 女性個体血液学的諸検査値統計分析図

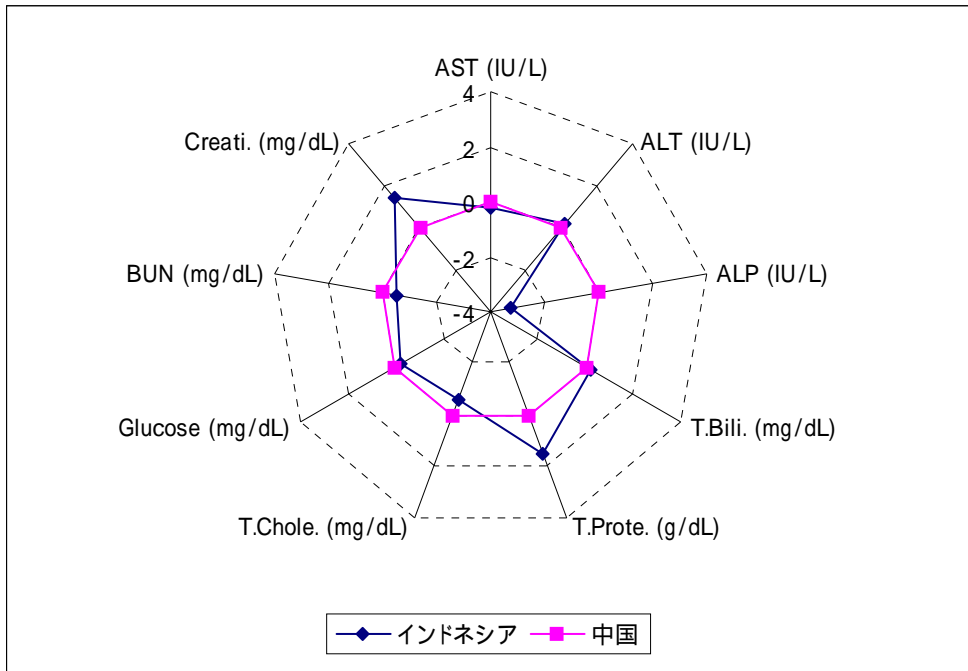


図 4-5: 男性個体血清生化学的諸検査値統計分析図

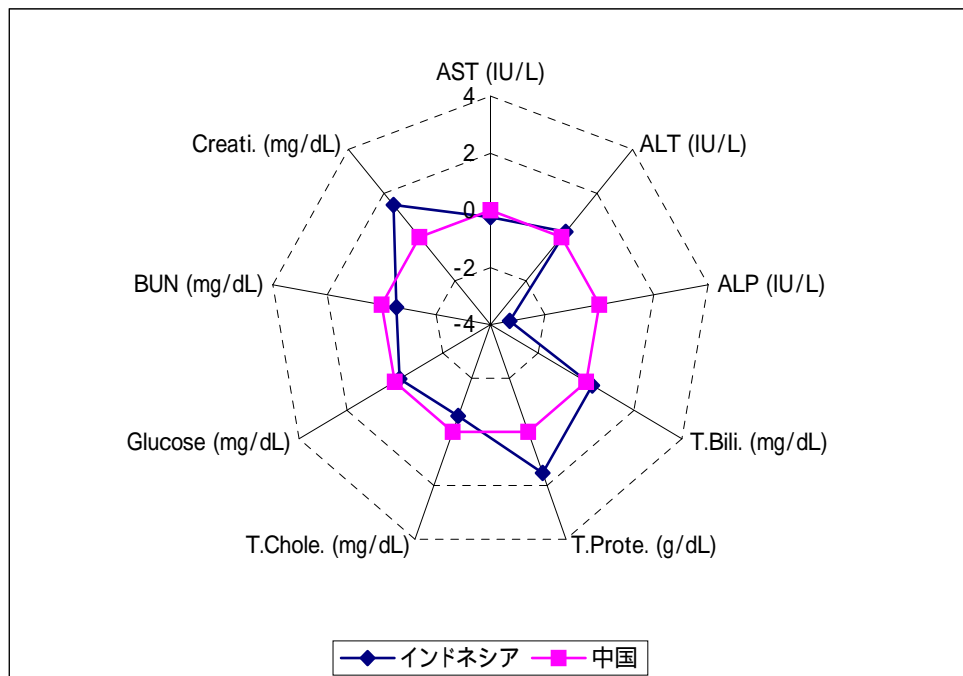


図 4-6: 女性個体血清生化学的諸検査値統計分析図

China No. 1	TCCCTAGCGGCATATCGAATGAGCCATTGAATTCATTCTGTTTCAACACACACACATCGCATCTCCGACTTTGGATTACTGCGACGGCCCTTCTCC	CA..AGCCG..TA..TGA..A..TTC..T...
China No. 2A.....C.....G.....
China No. 3A.....C.....G.....
China No. 4C..A.....C.....G.....
China No. 5CATAT..G..A.....T..C.....C.....CG.....
China No. 6C..T...G..CA.....T..C.....C.....A.....C.....
China No. 7A.....T.....A.....T..T..C.....G.....
China No. 8C.....C.....C.....C.....
China No. 9A.....T.....A.....C.....A..G.....C.....
China No.10T.....A.....T.....C.....C.....C.....
Indonesia No. 1C.....T..TCATATC.....C.....T..C..AGG..C..C.....CCAC..CC..GGTACACGTACT#AGTCTCTGACT#CA..AGCCG..TA..TGA..A..TTC..T...
Indonesia No. 2C.....A..T..TCATATC.....A.....C.....T..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CAAGCCG..CTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No. 3C.....A..T..TCATATC.....AG..C.....ATT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CA..AGCCG..CTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No. 4C.....A..T..TCATATC.....AG..C.....TT..C..AGG..C.....C.....CCACACC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CA..AGCC..CTATT..ATA..TTC.....
Indonesia No. 5C..T..A..T..TCATATC.....AG..C.....ATT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CA..AGCCGTCTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No. 6C.....A..T..TCATATC.....A.....C.....TT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CAAGCCG..CTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No. 7CT..A.....TCATATC.....C.....ATT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CA..AGCCG..CTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No. 8C.....A..T..TCATATC.....A.....C.....TT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CACAGCCG..CTATT..A..A..TTC.....G
Indonesia No. 9C..T..A..T..TCATATC.....AG..C.....ATT..C..AGG..C.....C.....CCAC..CC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#CA..AGCCGTCTATT..A..A..TTC.....
Indonesia No.10	CC...A..T..TCATATC...AGG...ATT..C..AGG...C.....CCACACC..G..CACACGTACT#AATCTCTGACT#	CA..GCCG..TA..T..A..ATTTC.....

図 4-7: ミトコンドリア DNA の部分塩基配列の比較

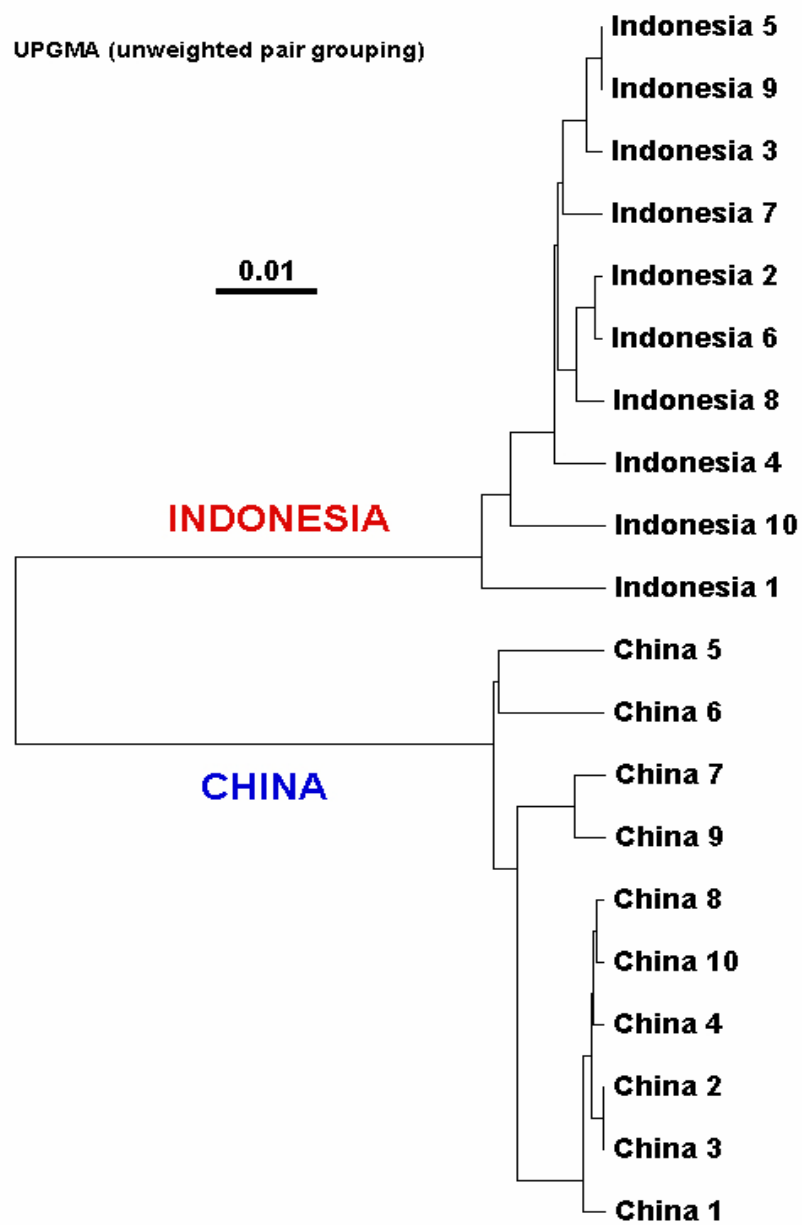


図 4-8: 標準遺伝子の距離の樹状図

総括

2002 年に中国から輸入した 3,148 頭のカニクイザルのすべてについて一般状態の観察を 35 日間連続して行い，検疫 3 日目，32 日目（あるいは検疫 35 日目）に細菌学的，ウイルス学的，寄生虫学および臨床血液学的検査などを実施した．その結果，

- 〔1〕 多くの個体は一般状態に異常を示すことなく体重は順調に増加し，マールブルグ病とエボラ出血熱の感染を疑う臨床症状を示す個体は 1 例も観察されなかった．
- 〔2〕 サルモネラ菌および赤痢菌は検出されず，結核感染も全例陰性で，サル D 型レトロウイルスおよびサルエイズウイルスも全例が陰性であった．
- 〔3〕 約 10～60%の個体（2003，2004 年の輸入個体を含む）でヘルペス B ウイルスとサル水痘ヘルペスウイルスの抗体が検出された．
- 〔4〕 低い陽性率ながら赤痢アメーバ，腸管内蠕虫卵，マラリア原虫が検出された．
- 〔5〕 上記検疫の前年，すなわち 2001 年に輸入されたカニクイザルの検疫中に，臨床的所見，病理学的検査，抗体検査などによって，2 例（おそらく検査せずに安楽死させて焼却廃棄した他の 3 例も含めて）のカニクイザルで麻疹ウイルス感染，発症が確認された．
- 〔6〕 2002 年の検疫において，中国由来カニクイザルの臨床血液学的，血清生化学的検査を実施したところ，臨床血液学的諸数値の変動幅

はやや大きかったけれども，正常範囲内であった．

- 〔7〕 研究結果から，検疫施設の飼育環境がカニクイザルの生理状態にとって適切であることを示唆していた．
- 〔8〕 中国からの長時間の輸送の影響をカニクイザルは受けていないと思われた．
- 〔9〕 実験用動物としての臨床血液学的検査の諸数値の安定を求めようとすると，32日間の順化飼育期間は短すぎるかもしれない．
- 〔10〕 中国およびインドネシア由来カニクイザルのミトコンドリアの遺伝学的分析を実施したが，中国由来はインドネシア由来のカニクイザルのミトコンドリアDNAの塩基配列には遺伝的な分岐があることが確認できた．

今後，人工飼育環境下での生物学特性や形態学的研究，さらに異なる由来地における生物学的研究を継続し，実験動物としてのカニクイザルの特性を明らかにしたい．

総合考察

本論文は、2001年から2004年にかけて中国から輸入した実験用カニクイザル（一部インドネシア由来）を対象とした検疫および生物学的特性を検索したものである。

「感染症の予防及び感染症患者に対する医療に関する法律」により2000年から義務づけられた輸入サル類の30日以上法定検疫に従い、農林水産大臣の指定を受けたSNBL鹿児島本店敷地内の輸入検疫施設において、2000年以来年間3,000頭前後の中国由来カニクイザルについて、35日間の隔離検疫を行った。

中国で繁殖され日本に輸出される実験用カニクイザルの微生物学的な清浄度が重要視される。各国が輸入サル類が介する侵入をもっとも恐れるマールブルグ病とエボラ出血熱については、中国側から陰性という健康証明書が添付されていたことと、日本における35日間の臨床観察によって、現時点では中国由来のカニクイザルは感染フリーと判断してよいと考えられる。

また、日本への輸出を目的としている中国のカニクイザル繁殖コロニーには、分離培養、ツベルクリン反応、抗体検査と臨床観察から、結核、赤痢、サルモネラ、サルエイズウイルス、サルD型レトロウイルスの汚染はないと推測できる。中国ではこれらの病原体が必ずしもフリーでないので、対日本の中国カニクイザル繁殖、輸出関係者の熱意と努力を高く評価したい。寄生虫に関して低い比率ながら陽性個体が確認されたが、これらは偶発的な汚染と思われる。

中国由来のカニクイザルにおけるヘルペス B ウイルス〔60〕, サル水痘ヘルペスウイルス〔61〕, 麻疹ウイルス〔59〕の汚染が危惧される。前 2 者については, 1~6 割の個体で年度を越えて抗体陽性が持続している。しかし, 臨床観察や臨床血液学のおよび血清生化学的な諸検査値から発症を疑う個体は認められず, すべて不顕性感染と思われた。中国の実験用カニクイザルの集団には, 病原性がさほど強くない両ウイルスが広く浸潤していることが考えられる。これら 3 種類のウイルスは日本の法定動物検疫では検疫感染症に指定されていないが, 著者は, ウイルスフリーのコロニーの確立と維持に努めたい。

麻疹ウイルス感染例は, 長年にわたって実験用サル類の検疫に関わってきた著者も初見であった。ヒトに関する医学書や数少ないサルの感染症例報告〔59〕と違わない所見であった。当該ウイルス感染は日本の法定動物検疫では問題とされていないが, 人獣共通感染症として無視出来ない病気であるから, 実験動物関係者として, なんらかの対応策を考えたい。

検疫施設での観察期間において, とくに検疫開始 1 週間以内に 1 割弱の個体で一時的な食欲不振, 下痢等の一般状態の悪化が観察されたが, 明らかな脱水症状を示す例はなく, 全例が回復している。また, 一時的な体重減少の個体もみられたが, 大多数の個体は順調に体重増加を示していた。

また, 2002 年の検疫期間中, カニクイザルに新たな感染症の発生と蔓延は観察されなかった。2001 年の麻疹ウイルス感染発生時にも発症は 5 例に止まり, 隔離検疫施設内での大流行に至らなかった。したがって, SNBL 検疫施

設の飼育環境は良好であると考えられる。

臨床血液学的諸検査の結果は、多少のバラツキがみられたものの、これまでに報告されているカニクイザルの検査データととくに違はみられなかった〔15,30,53,55,56, 65,67〕。今回の成績では、検疫飼育開始1か月後とその2か月後の臨床学的諸検査値の一部に違がみられた。これについては、カニクイザルの臨床学的検査値は3か月以上の同一環境での継続飼育によってはじめて安定するという鈴木ら〔56〕の報告もあることから、今後、実験用カニクイザルの順化期間を考えるうえで重要なデータと考える。

世界中で1年間に実験に供されるカニクイザルの数は20,000頭以上で、わが国の使用数は5,000~6,000頭で、その半数以上を中国から輸入している。多くの中国のカニクイザルはもともとはベトナム由来であるが、世界的には、実験用カニクイザルの過半数は中国、インドネシア、フィリピン、ベトナムなどから供給されている。

中国とインドネシアのカニクイザルのミトコンドリアDNAの塩基配列にあきらかに距離があることが認められた。両国のカニクイザルは、遠く離れた生息地で独立的に世代交代が繰り返された結果、遺伝的な分化が進行したとみてよい。また、両国のカニクイザルにおいて、生理学的、臨床学的な多くの計測値に差がみられ、遺伝的な分化との関係が示唆されたが、実験動物としてのカニクイザルの遺伝分析は始まったばかりで、この領域の研究を今後推進したい。ヘルペスBウイルス、サル水痘ウイルス、麻疹ウイルスの予防、除去等に関する

る方策，実験用動物として必要な基礎データのさらなる収集，遺伝的な偏りに
関する基礎研究，順化飼育期間の再検討等，解決すべき問題が山積している．
いずれも著者にとって今後の研究課題である．

謝 辞

本稿を終えるにあたり，終始御懇篤なるご指導，ご鞭撻を賜った鹿児島大学農学部 鈴木秀作教授，三角一浩教授，松本光春准教授に心から御礼申し上げます。ならびに，在任時に多大なるご指導を賜りました鹿児島大学 坂本 紘名誉教授、宮崎大学 立山 晋名誉教授に謹んで感謝の意を申し上げます。また，論文を発表にあたって，御指導を賜りました慶応義塾大学 前島一淑名誉教授 東京大学大学院生命科学研究科 吉川泰弘教授，(社)日本食品衛生協会 丸山 務先生、長崎大学先導生命科学研究支援センター 佐藤 浩教授に心より深謝いたします。さらに，ミトコンドリアDNA解析にご協力をいただいた京都大学霊長類研究所 松林清明教授，川本 芳准教授に御礼を申し上げます。

なお，本研究の遂行に多大なる御協力，御援助を賜りました(株)新日本科学 永田良一取締役社長をはじめ，宮畷宏彰先生，福崎好一郎専務，戸門洋志執行役員，和泉博之部長，加島政利部長，ならびに検疫業務担当の皆様方々に衷心感謝を申し上げます。

参 考 文 献

1. Aimi, M.,A. Bakar & J. Supriatna. Morphological Variation of the Crab-eating Macaque, *Macaca fascicularis* (Raffles, [1821]), in Indonesia. Kyoto University Overseas Research Report of Studies on Asian Non-Human Primates. Kyoto University Primate Research Institute. 1982. 2: 51-56.
2. Albrecht P, Lorenz D, Klutch MJ, Vickers JH, Ennis FA, Fatal measles infection in marmosets. Pathogenesis and prophylaxis. *Infect Immun.*1980. 27:969-978.
3. Albrecht, G.H. The Craniofacial Morphology of the Sulawesi Macaques: Multivariate Approaches to Biological Problems. *Contrib. Primatol.*1978.13:1-151.
4. Center for Disease Control and Prevention. Update: management of patients with suspected viral hemorrhagic fever – United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*; 1995. 44: 475-479.
5. Center for Disease Control. Management of patients with suspected viral hemorrhagic fever. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*; 1988. 37(Suppl 3): 1-16.

6. Chasen, F.N. A Handlist of Malaysian Mammals. Bull. Raffles Mus. 1940.15:1-209.
7. Cohen JI, Davenport DS, Stewart JA, Deitchman S, Hilliard JK, Chapman LK, Chapman LE, et al. Recommendations for prevention of and therapy for exposure to B virus (Cercopithecine herpesvirus 1). Clin Infect Dis; 2002. 35, 1191-1203.
8. DeMarcus TA, Tipple MA, Ostrowski SR. US policies for disease control among imported nonhuman primates. J Infect Dis, 1999. 179(suppl 1): S282-283.
9. Dyah P, Yoshi K. Genetic Characterization of Long-tailed Macaques (*Macaca fascicularis*) on Tabuan Island, Indonesia. Primates, 2001, April, 42(2): 141-152.
10. Dyah P, Yoshi K. Variation in Blood Proteins and Mitochondrial DNA Within and Between Local Populations of Longtail Macaques, *Macaca fascicularis* on the Island of Java, Indonesia. Primates, 1999, October, 40(4): 581-595.
11. Fooden, J, Female Genitalia and Taxonomic Relationships of *Macaca Assamensis*. Primates, 1971a.13:63-73.
12. Fooden, J, Male External Genitalia and Systematic Relationships of the Japanese Macaque (*Macaca fuscata* Blyth, 1875). Primates,

- 1971b.12:305-311.
13. Fooden, J. Systematic review of Philippine macaques (Primates, Cercopithecidae: *Macaca fascicularis* subspp.). *Fieldiana: Zoology*, n.s.1991. 64:1-44.
 14. Fooden, J. Systematic Review of Southeast Asian Longtail Macaques, *Macaca fascicularis* (Raffles, [1821]). *Fieldiana. Zoology. New Series*, 1995. No.81.
 15. Koga, T., Kanefuji, K., Nakama, K. Individual reference intervals of hematological and serum biochemical parameters in *Cynomolgus* monkeys, *Int. J. Toxicol.* 2005.24,377-385.
 16. 魏強：中国実験用サル類に関する研究と品質基準，中国実験動物学会誌，1996. 6(1),52-56.
 17. Hall WC, Kovatch RM, Herman PH, Fox JG , Pathology of measles in rhesus monkeys. *Vet Pathol* .1971.8:307-319.
 18. 濱田讓，大澤秀行，後藤俊二，川本芳，大井徹；スチンダマライビジットノン，東南アジアにおけるマカクの分布と生息実態に関する調査・研究の現状，*霊長類研究*，2005. 21: 75-84 .
 19. Harihara, S., Saitou, N., Hirai, M., Aoto, N. Differentiation of Mitochondrial DNA Types in *Macaca fascicularis*. *Primates*, 1988. 29(1): 117-127.

20. 早川隆敏・戸塚恭一・金子明・四方啓裕・増田和茂・岡部信彦：小早川隆敏編「改定感染症マニュアル」, 1999. 254-255, マイガイア, 東京.
21. Holmes GP, Chapman LE, Stewart JA, Straus SE, Hilliard JK, Davenport DS. Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infection in exposed persons;: the B Virus Working Group; Clin Infect Dis; 1995. 20, 421-439.
22. 冨毅, 劉自民：広西カニクイザルにおけるシゲラ検査・分離及び治療成績, 実験動物科学与管理, 1999. 4, 6-9.
23. Ino T, Goto N, Hoshino T, Sato H. 動物の成長と発育; 朝倉書店.東京. 1987. 1st Ed.
24. Kamahora J, Nii S, Pathological and immunological studies of monkeys infected with measles virus. Archiv Gesamte Virusforsch. 1965. 16:161-167.
25. Kawamoto. Y, My Field Study on Phylogeny of the Cynomolgus Monkey in Indonesia. TPCnews, Fall1985, Vol.4, No.2 (whole No.8) 5-8.
26. Kawamoto. Y, Nozawa K. A Population-Genetic Study of Crab-Eating Macaques (*Macaca fascicularis*) on the Island of Angaua, Palau, Micronesia. Folia Primatol 1988; 51:169-181.
27. Kawamoto, Y., Tb. M. Ischak & J. Supriatna. Gene Constitution of Crab-eating Macaque (*Macaca fascicularis*) on Lombok and Sumbawa.

- Kyoto University Overseas Research Report of Studies on Asian Non-Human Primates. Kyoto University Primate Research Institute. 1982. 2: 57-64.
28. 川本芳; マカクの種内・種間にみられる遺伝分化 . 遺伝 , 1994. 48(8) : 21-29.
29. 麻疹の現状と今後の麻疹対策について . 国立感染症研究所感染症情報センター . 2002, 12, s12,13-5e.
30. 輿水馨 : 実験動物の生物学的特性データ . 田嶋嘉雄監修 , ソフトサイエンス社 , 1989.118-120 および 180-183.
31. 鴻野あや子 , 高坂精夫 : 育成カニクイザルにおける病原微生物の感染状況 , TPC NEWS. 1991. 10(1), 16-18.
32. Kyoto University Primate Research Institute. Kyoto University Overseas Research Report of Studies on Asian Non-Human Primate. 1982. Vol.2.
33. 劉艶薇 , 宮嶋宏彰 : サル類の輸入検疫について , アニテックス . 2005. 17,218-225.
34. 劉艶薇 , 宮嶋宏彰 , 鈴木秀作 , 坂本紘 : カニクイザルでみられた麻疹ウイルス感染症 . 九州実験動物雑誌 . 2005. 21,33-36.
35. Lorenz D, Albrecht P, Susceptibility of tamarins (*Saguinus*) to measles virus. *Lab Anim Sci* .1980.30:661-665.
36. MacArthur JA, Mann PG, Oreffo V, Scott GB. Measles in monkeys: an

- epidemiological study. J Hyg(Lond). 1979. Oct; 83(2): 207-212.
37. Manning PJ, Banks KL, Lehner NDM, Naturally occurring giant cell pneumonia in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). J Am Vet Med Assoc.1968. 153:899-904.
38. Montrey RD, Huxsoll DL, Hildebrandt PK, Booth BW, Arimbalam S, An epizootic of measles in captive silvered leaf-monkeys (*Presbytis cristatus*) in Malaysia. Lab Anim Sci .1980.30:694-697.
39. Munir, W. & O. Takenaka. A Brief Report on the Hematological Values of the Crab-eating Macaques (*Macaca fascicularis*) of Belawan in North Sumatra. Kyoto University Primate Research Institute. 1982. 2: 75-78.
40. 成田豊子 ,向井録三郎:育成カニクイザルにおける病原微生物の感染状況 , TPC NEWS. 1991. 10(2), 13-15.
41. 大里外誉郎 . 医科ウイルス学.南江堂. 東京. 2000. 351-352.
42. Ostrowski SR, Leslie MJ, Parrott T, Abelt S, Piercy PE. B-virus from pet macaque monkeys: an emerging threat in the United States? Emerg Infect Dis; 1998. 117-121.
43. Perwitasari-Farajallah, D. Kawamoto, Y. Variation in Blood Proteins and Mitochondrial DNA Within and Between Local Populations of Longtail Macaques, *Macaca fascicularis* on the Island of Java, Indonesia. Primates, 1999. October 40(4): 581-595.

44. Perwitasari-Farajallah, D. Kawamoto, Y. Genetic Characterization of Long-tailed Macaques (*Macaca fascicularis*) on Tabuan Island, Indonesia. *Primates*, 2001. April 42(2): 141-152.
45. Potkay S, Ganaway JR, Rogers NG, Kinard R, An epizootic of measles in a colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Am J Vet Res.*1966. 27:331-334.
46. Scott GBD, Keymer IF, The pathology of measles in Abyssinian colobus monkeys (*Colobus guerza*): a description of an outbreak. *J Pathol.*1975.117: 229-233.
47. Sergiev PG, Ryazantseva NE, Shroil IG, The dynamics of pathological processes in experimental measles in monkeys. *Acta Virol.*1960. 4:265-273.
48. 清水利行, 吉田高志, 長文昭, 後籐信男; カニクイザルの形態学的成長特性の解析. 成長, 1986. 25 (4): 193-195.
49. Shimizu, T., Yoshida, T., Cho, F. Morphometrical Study of Physical Growth of Laboratory-bred *Cynomolgus* Monkeys Aged from Zero to 9 Years. *Exp. Anim.* 1991. 40(2): 215-221.
50. Sinclair D, In *Human Growth after Birth*, 4th Ed, Oxford: 1985. Oxford University Press.
51. Sota PJ, Deauville GA, Spontaneous simian giant cell pneumonia with

- coexistent B virus infection. Am J.Vet. Res.1964. 25:793-804.
52. Sato H, Arikawa J, Furaya M, Kitoh J, Mannen K, Nishimune Y, Ohsawa K, et al. Prevalence of herpes B virus antibody in nonhuman primates reared at the national university of Japan; Exp. Anim. 1998. 47(3), 199-202.
53. Sugimoto, Y., Hanari, H., Narita, H., Honjo, S. Normal Hematologic Values in the Cynomolgus Monkeys aged from 1 to 18 Years. Exp. Anim. 1986. 35(4): 443-447.
54. Sugimoto, Y., Hanari, H., Narita, H., Honjo, S. Changes of Hematologic Values for 11 months after Birth in the Cynomolgus Monkeys. Exp. Anim. 1986. 35(4): 449-454.
55. 鈴木絹江：サルの血液生化学検査の経験から . TPC NEWS, 1985. 4(2), 8-11.
56. Suzuki, J., Miwa, N., Kumazaki, K., ABE, M., Kamanaka, Y., Matsubayashi, N., Goto, S., Matsubayashi, K. The Influence of Rearing Conditions on the Physical Growth of Captive Japanese Macaques(Macaca fuscata). J.Vet.Med.Sci. 2001. 63(4):361-366.
57. Suzuki M, Sasagawa A, Serological survey for SV5, measles and herpes simplex infections in newlyimported cynomolgus monkeys. Jpn J Med Sci Biol. 1981 Apr; 34 (2):69-80.

58. 鈴木正一, 金龍喜: 実験用サル 2005 年度販売数についての通知, オベリス
ク, 2005.10(2),15.
59. 山本博: 麻疹. 前島一淑監修「実験動物感染症の対応マニュアル」, アドス
リー, 東京. 2000. 157.
60. 山本博: B ウイルス感染症, 実験動物感染症の対応マニュアル, 前島一淑
監修, アドスリー, 東京. 2000. 129.
61. 山本博: サル水痘様ヘルペスウイルス感染症, 実験動物感染症の対応マニ
ュアル, 前島一淑監修, アドスリー, 東京. 2000. 94.
62. 楊宇容: カニクイザルにおけるシゲラ感染状況の調査, 中国実験動物学報,
2000. 1, 32-35.
63. 吉川泰弘: 1996. 厚生科学研究費平成 8 年研究成果報告書「サル類を媒介す
る人獣共通感染症の予防に関する研究」.
64. 吉川泰弘: 人獣共通感染症としての新興・再興感染症, 1998. Vita. 1(1),
39-44.
65. Yoshida, T. The changes of hematological and biochemical properties in
cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) after importation. Jpn. J.
Med. Sci. Biol. 1981.34, 239-242.
66. Yoshita, T., Ohtoh, K., Cho, F., Goto, N. A Comparison of
Hematological and Serum Biochemical Values between Two Groups of
Female Cynomolgus Monkeys Reared under Different Conditions. Exp.

Anim. 1990. 39(1): 21-26.

67. 吉田高志，鈴木絹江，長文昭，本庄重男：実験用カニクイザルの成長にもなう血液学のおよび血清生化学的測定値の変化，実験動物誌.1986. 35(3), 239-338.