

# カニクイザルにみられる摂餌量の低下を伴わない体重減少とその改善

○高橋 一彰<sup>1</sup>, 佐藤 順子<sup>2</sup>, 山本 大<sup>1</sup>, 比毛 則夫<sup>1</sup>, 岡村 隆之<sup>1</sup>, 大竹 誠司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>株式会社LSIメディエンス 創薬支援事業本部 試験研究センター 鹿島安全性第1研究部, <sup>2</sup>株式会社LSIメディエンス 創薬支援事業本部 試験研究センター 病理研究部

## 目的

カニクイザルを用いた毒性試験において、摂餌量低下を伴わない体重減少を示す動物が稀に認められ、評価の妨げになることがある。本研究ではこのような動物について発生率と血液生化学的検査等の各種検査結果の特徴を検討した。また、当試験施設で実施している試験前ストック動物の福祉向上のための種々の施策の動物への効果を調査した。

## 方法

2011年から2018年に株式会社LSIメディエンス鹿島研究所で実施した毒性試験にて、対照群に配置されたカニクイザル (*Macaca fascicularis*, ベトナム産及び中国産) のうち、試験前に動物福祉向上の施策 (エンリッチメント用品の付与、複数飼育及びヒトとの接触機会増加) を実施の225例と、非実施の353例について、試験期間中の体重変動を比較検討した。比較に際して雌雄間差及び産地間差を考慮した。

### 【動物福祉向上の施策内容】

- ・エンリッチメント (金属製玩具、コング等) の付与
- ・副食 (金平糖, CMS-1, ドライフルーツ等) の手渡し給餌
- ・実験施設に移動前のサル収容施設のみ平日1日2回給餌  
→1回約50gを午前午後の2回に分けて給餌した。ヒトとの接触機会増加を目的とした。
- ・複数飼育本格化
- ・サル収容施設のみ給餌量を増加 (100g/日→120g/日)  
→複数飼育により一部のサルの餌が奪われて少なくなることの防止

### 【各種検査方法】

摂餌量：サル用固形試料, CMK-2 (日本クレア株式会社), 制限給餌 (100 g/日, 1回)  
毒性試験開始日から剖検前日まで毎日測定した。

体重：週1回～2回程度の頻度で電子天秤を用いて測定した。毒性試験開始時点の体重と最終日の体重の増減に着目し、体重減少率を算出した。体重減少率の区分はヒトの客観的栄養評価基準 (ODA, objective data assessment) を参考にした。

$$\text{体重減少率(\%)} = \frac{(\text{試験開始時点の体重}) - (\text{試験最終日の体重})}{(\text{試験開始時点の体重})} \times 100$$

試験期間中に10%以上の体重減少が認められた動物については、血液生化学的検査、病理学的検査等の結果の特徴の共通点を検討した。

血圧：血圧計 (BP100D, フクダM・E工業株式会社) を用い、無麻酔下で収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧及び脈拍数を測定した。

血液学的検査：CA-510あるいはXT-2000iV (シスメックス株式会社) を用いて、RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, PLT, Ret, PT, APTT, WBC, Lym, Neu, Eos, Baso, Monoを測定し、MCV, MCH, MCHCを算出した。

血液生化学的検査：TBA-2000FR (キヤノンメディカルシステムズ株式会社) を用いて、ASAT, ALAT, LDH, γGT, ALP, CK, 総ビリルビン, 尿素窒素, クレアチニン, グルコース, 総コレステロール, リン脂質, トリグリセライド, 総蛋白, カルシウム, 無機リン, ナトリウム, カリウム, クロールを測定し、Epalizer 2 (株式会社ヘレナ研究所) を用いて、蛋白分画及びA/G比を測定した。

病理学的検査：剖検後、器官・組織を採取し、重量を測定した。採取した器官・組織を10vol%リン酸緩衝ホルマリン液で固定後、HE標本を作製・鏡検した。

## 結果

### ①-1 動物福祉向上の施策実施前 対照群での体重減少率まとめ

体重減少率	ベトナム産カニクイザル			中国産カニクイザル		
	雄例数 (発現率)	雌例数 (発現率)	雌雄合計 (発現率)	雄例数 (発現率)	雌例数 (発現率)	雌雄合計 (発現率)
5%未満 (体重増加含む)	74 (90.2%)	79 (94.0%)	153 (92.2%)	89 (95.7%)	84 (89.4%)	173 (92.5%)
5%以上 7.5%未満	3 (3.7%)	3 (3.6%)	6 (3.6%)	2 (2.2%)	5 (5.3%)	7 (3.7%)
7.5%以上 10%未満	3 (3.7%)	1 (1.2%)	4 (2.4%)	0 (0.0%)	1 (1.1%)	1 (0.5%)
10%以上	2 (2.4%)	1 (1.2%)	3 (1.8%)	2 (2.2%)	4 (4.3%)	6 (3.2%)
計	82 (100.0%)	84 (100.0%)	166 (100.0%)	93 (100.0%)	94 (100.0%)	187 (100.0%)

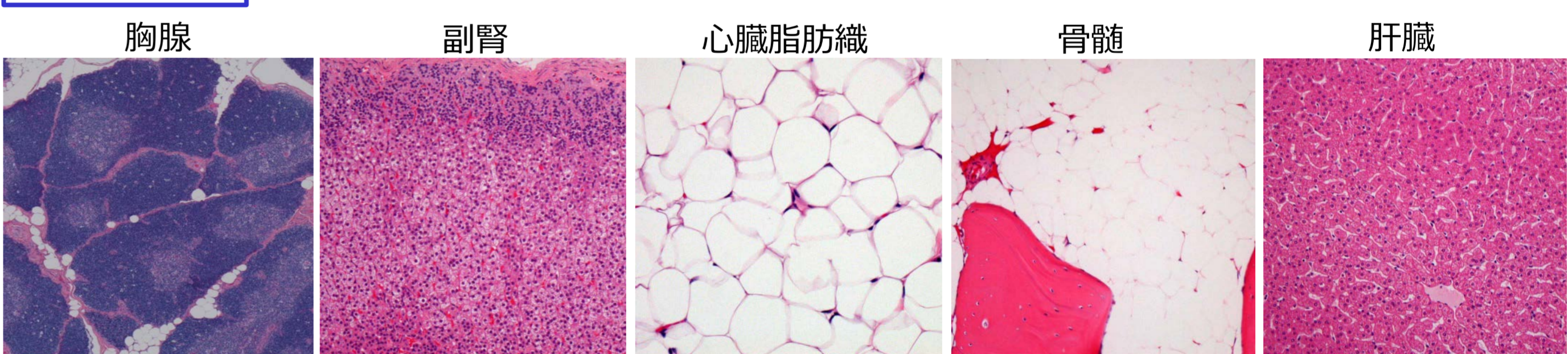
体重減少の発現率について明確な雌雄差、産地間差は認められなかった。

### ①-2 10%以上の体重減少が認められた動物の代表症例と病理組織像

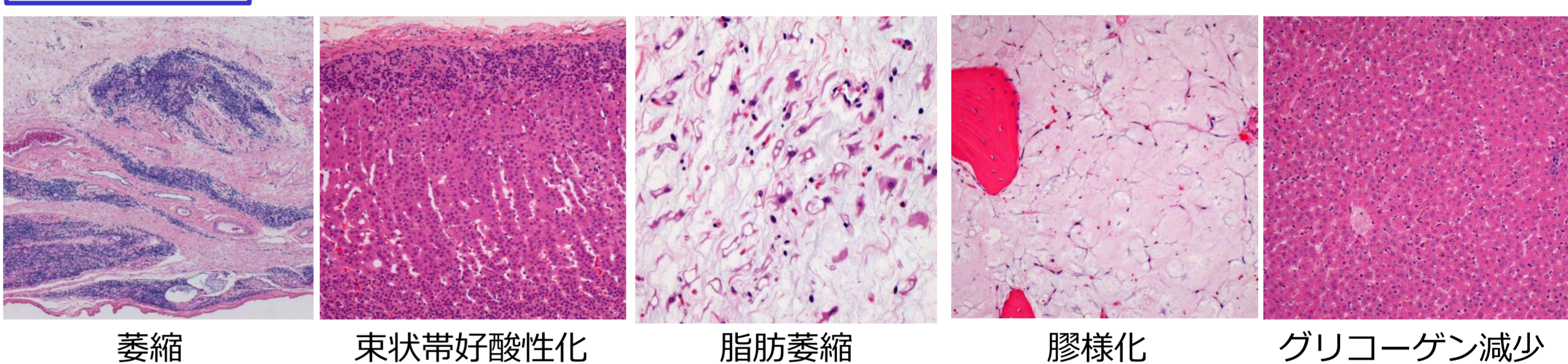
	症例1	症例2	症例3
産地/性/年齢:	ベトナム/雄/6歳	ベトナム/雄/4歳	中国/雌/4歳
体重変化:	4.5kg→4.0kg, 11.1%減少	4.3kg→3.7kg, 14.0%減少	2.8kg→2.5kg, 10.7%減少
試験内容 (飼育日数):	4週反復経口投与試験+4週回復 (66日間)	4週反復経口投与試験+回復性試験 (57日間)	4週反復経口投与試験+回復性試験 (43日間)
一般状態:	著変なし	著変なし	著変なし
摂餌量:	100 g/100 g (1日平均摂餌量/給餌量)	100 g/100 g (1日平均摂餌量/給餌量)	65.9 g/100 g (1日平均摂餌量/給餌量)
血液学的検査:	著変なし	ヘマトクリット低値 (32.2%, 基準値: 37.7-50.1%) MCV低値 (64.4 fL, 基準値: 69.3-86.5 fL)	著変なし
血液生化学的検査:	・血糖値低値 (66 mg/dL, 基準値: 53-118 mg/dL) ・ALAT高値 (178, 114U/L, 基準値: 0-132 U/L)	・血糖値低値 (49 mg/dL, 基準値: 53-118 mg/dL) ・ASAT高値 (144 U/L, 基準値: 0-80 U/L) ・ALAT高値 (370 U/L, 基準値: 0-132 U/L) ・コレステロール低値 (54 mg/dL, 基準値: 63-163 mg/dL) ・リン脂質低値 (72 mg/dL, 基準値: 107-225 mg/dL) ・カリウム濃度低値 (125 mmol/L, 基準値: 144-162 mmol/L)	・血糖値低値 (59 mg/dL, 基準値: 56-114 mg/dL)
血圧:	著変なし	投与開始前期間→投与期間中検査において、 ・拡張期血圧低下 80→52 mmHg ・収縮期血圧低下 110→76 mmHg ・平均血圧低下 93→61 mmHg	検査未実施
臓器重量:	胸腺重量低値 (0.28g, 平均: 2.38 g)	胸腺重量低値 (0.63g, 平均: 2.38 g)	胸腺重量低値 (0.28 g, 平均: 1.85 g)
剖検:	著変なし	胸腺小型	著変なし
病理組織学的検査:	・胸腺: 軽度萎縮 ・大腿骨骨髓: 膠様化 ・皮膚: 皮下脂肪ほとんどなし ・心臓: 冠動脈周囲脂肪萎縮 ・脾臓: チモゲン顆粒減少 ・盲腸に寄生虫	・胸腺, リンパ節, 唾液腺: 萎縮 ・大腿骨骨髓: 膠様化 ・胸骨骨髓: 膠様化, 造血細胞減少 ・全身脂肪 (白色・褐色): 高度萎縮 ・皮膚: 乳頭部皮膚の菲薄化, 皮下脂肪なし ・副腎: 束状帯細胞の好酸性化 ・肝細胞: グリコーゲン減少, 心臓: 中隔の心筋変性	・大腿骨骨髓: 一部膠様化 ・胸骨骨髓: 造血細胞減少

\*: 基準値は平均値±2SDを示す。

### 正常動物



### 症例2



体重減少が認められたサルでは摂餌量が減少していないにも関わらず血清グルコース濃度の低値が共通して認められた。病理組織学的検査では、栄養不良の際に観察される全身脂肪の高度萎縮や肝細胞でのグリコーゲン減少、ストレス負荷時にみられる胸腺萎縮や副腎束状帯細胞の好酸性化が認められた。

### ② 毒性試験使用前の動物への施策の成果

体重減少率	動物福祉向上の施策実施前, ベトナム産・中国産合算			動物福祉向上の施策実施後, ベトナム産・中国産合算		
	雄例数 (発現率)	雌例数 (発現率)	雌雄合計 (発現率)	雄例数 (発現率)	雌例数 (発現率)	雌雄合計 (発現率)
5%未満 (体重増加含む)	163 (93.1%)	163 (91.6%)	326 (92.4%)	107 (95.5%)	111 (98.2%)	218 (96.9%)
5%以上 7.5%未満	5 (2.9%)	8 (4.5%)	13 (3.7%)	4 (3.6%)	1 (0.9%)	5 (2.2%)
7.5%以上 10%未満	3 (1.7%)	2 (1.1%)	5 (1.4%)	1 (0.9%)	1 (0.9%)	2 (0.9%)
10%以上	4 (2.3%)	5 (2.8%)	9 (2.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
計	175 (100.0%)	178 (100.0%)	353 (100.0%)	112 (100.0%)	113 (100.0%)	225 (100.0%)

動物福祉向上の施策により、試験開始後の体重減少の発現率が改善した。

## まとめ

- 体重減少の発生率について明確な雌雄差、産地間差はない。
- 試験開始前まで異常は認められない対照群の動物であっても、一定の割合で試験開始後の実験操作等によるストレス負荷により体重減少が認められるサルが存在する。そのサルは摂餌量が減少していないにも関わらず低血糖状態になっていることが多いことから、栄養の吸収阻害あるいは代謝異常を生じていることが示唆された。
- 毒性試験開始前にヒトへの馴化や複数飼育を取り入れ、動物福祉の向上を図ることにより上記の体重減少の発現率が改善したことから、施策の有用性が確認された。