Hematological and Serum Biochemical Effects of Nursing on the Mother in Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*)

Takashi YOSHIDA, Keiko OHTOH*, and Fumiaki CHO

*Tsukuba Primate Center for Medical Science, The National Institute of Health, 1 Hachimandai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305 and *The Corporation for Production and Research of Laboratory Primates, 1 Hachimandai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305, Japan*

(Received 6 April 1992/ Accepted 3 July 1992)

The effects of nursing on maternal hematological and serum biochemical values were analyzed in cynomolgus monkeys reared in indoor cages at Tsukuba Primate Center. In our breeding system, infants are usually separated from their mothers at the age of 121 to 180 days. Mother monkeys of such infants were studied hematologically and biochemically (Group B), as were mother monkeys who happened to have nursed their infants past 181 days after parturition (Group A). During the period with their infants, mother monkeys in the latter group showed lower white blood cell counts (WBC) and higher red blood cell counts (RBC), hematocrit values (Ht) and blood urea nitrogen concentrations (BUN) than the mother monkeys who had been separated from their infants. Also, serum calcium concentrations (Ca) were decreased with prolonged nursing periods, indicating that lactation by the mother monkey probably continues even for a period from 181 days to about one year after parturition if she nurses her infant. Lactation during this period may accelerate hematogenesis and protein metabolism in the mother monkey. — KEY WORDS: cynomolgus monkey, hematology, lactation, serum biochemistry

カニクイザルでの哺育が母体の血液学のおよび 血清生化学的測定値に及ぼす影響

吉田 高志・大籐 圭子*・長 文昭

国立予防衛生研究所筑波医学実験用霊長類センター
*社団法人予防衛生協会

筑波医学実験用霊長類センターでは、実験動物としてのサル類の飼育・繁殖・育成をおこなっている。当センターで誕生した子カニクイザルは、実母による哺育をおこなうことを原則とし、子ザルが4ないし5ヵ月齢頃になると、子ザルの体重や歯牙萌出状況、固型飼料の摂取状況、あるいは母ザルと離れての独立行動の有無を指標として、離乳（母子分離）をおこなっている [5]。この間の、子ザルとの同居が母ザルの生理状態に及ぼす影響

については、ほとんど研究がされていない。我々は、サル類の生理状態を把握するために、血液学のおよび血清生化学的測定値（以下血液・血清生化学値と略す）を指標として用いてきた [18-20]。乳牛では、乳生産の観点から、泌乳中の母体の生理状態の管理、特に栄養管理の重要性が指摘されている [11]。ヒトでは、産褥・授乳期の婦人の栄養指導の必要性もいわれている [3]。しかし、泌乳あるいは母子の同居による影響を、血液・血清生

Table 1. Numbers of animals examined

Group ¹⁾	Days after parturition					
	0-60	61-120	121-180	181-240	241-300	301-365
A	15	14	31	33	36	21
B	—	—	10	34	24	13

¹⁾ Group A : Numbers of mother monkeys kept with their infants (prolonged nursing group). Group B : Infants separated from their mothers at the age of 121 to 180 days. Numbers of mother monkeys separated from their infants are shown.

Table 2. Analytical methods and abbreviations

Item	(Abbreviation)	Method
White blood cell count	(WBC)	Microcell counter method
Red blood cell count	(RBC)	Microcell counter method
Hemoglobin concentration	(Hb)	Cyanomethemoglobin method
Hematocrit value	(Ht)	Microcell counter method
Mean corpuscular volume	(MCV)	Microcell counter method
Mean corpuscular hemoglobin	(MCH)	Microcell counter method
Mean corpuscular hemoglobin concentration	(MCHC)	Microcell counter method
Platelet count	(PLT)	Microcell counter method
White blood small cell ratio	(W-SCR)	Microcell counter method
White blood large cell ratio	(W-LCR)	Microcell counter method
White blood small cell count	(W-SCC)	Microcell counter method
White blood large cell count	(W-LCC)	Microcell counter method
Red blood cell distribution width	(RDW-SD)	Microcell counter method
Platelet distribution width	(PDW)	Microcell counter method
Mean platelet volume	(MPV)	Microcell counter method
Total protein concentration	(TP)	Biuret reaction
Albumin concentration	(Alb)	BCG method
Albumin-globulin ratio	(A/G)	Calculated from TP and Alb
Blood urea nitrogen concentration	(BUN)	Urea-indophenol method
Glucose concentration	(Glu)	Enzymatic method
Total cholesterol concentration	(TChol)	Enzymatic method
Triglyceride concentration	(TG)	Enzymatic method
Alkaline phosphatase activity	(ALP)	Kind-King's method
Calcium concentration	(Ca)	o-Cresolphthalein complex

化学値の測定によって把握しようとする研究は、未だなされていないようである。サル類では、わずかに、妊娠中および分娩後での血液・血清生化学値を比較し、報告されているのみであり [1, 2, 6], しかも、このような報告では、分娩後の母体の生理的な回復過程と、泌乳や母子同居による影響とが重複しているものと推測される。

ところで、当センターにおいては、1989年11月頃にカニクザルのウイルス性感染症が発生し [16], その後約半年間にわたって、動物の移動の禁止の措置がとられた。その結果、分娩してから最長のもので約1年間にわ

たって離乳がおこなわれずに子ザルと同居し続けた母ザルが現れた。このような子ザルとの長期同居をしている母ザルの血液・血清生化学値を解析することは、子ザルとの同居・授乳が母ザルの生理状態に及ぼす影響について調べるための格好のモデルとなり得るものと考えられる。そこで、厳密に実験系を組み立てての研究ではないが、それらの母子を用いて検討を加えたので報告する。なお、本研究に用いた母子の飼育されていた動物室においては、上記の感染症ウイルスの伝播は、血清学的に否定されている。

Table 3. Hematological values in female cynomolgus monkeys after parturition

Item	Group	Days after parturition					
		0-60	61-120	121-180	181-240	241-300	301-365
WBC	A	77±17	92±47	73±32	82±28	73±24	87±23
	B	—	—	99±26*	101±29*	99±31**	71±18*
RBC	A	653±44	667±97	660±100	622±79	646±83	693±69
	B	—	—	572±55*	592±72	597±72*	599±75**
Hb	A	12.3±1.0	13.2±2.0	13.0±1.7	12.1±1.3	13.0±1.5	13.4±1.9
	B	—	—	12.3±0.4	12.1±1.3	12.0±1.1*	12.3±0.9*
Ht	A	43.6±3.7	46.1±6.7	44.3±5.9	41.9±4.5	44.2±4.7	46.1±5.8
	B	—	—	38.8±1.8**	39.2±4.4*	39.5±3.9**	40.3±4.3**
MCV	A	66.8±2.8	67.8±4.4	67.4±4.4	67.6±3.9	68.7±4.9	66.4±3.2
	B	—	—	68.2±4.2	66.4±3.8	66.4±3.1*	67.5±4.3
MCH	A	18.9±1.0	19.8±1.8	19.8±1.8	19.5±1.4	20.2±1.9	19.3±1.6
	B	—	—	21.7±2.0**	20.5±1.6*	20.3±1.2	20.9±3.0
MCHC	A	28.4±1.7	29.2±1.3	29.3±1.3	28.9±1.1	29.4±1.1	29.1±1.2
	B	—	—	31.8±1.0**	30.9±1.6**	30.5±1.2**	30.8±2.9
PLT	A	43.8±13.0	36.0±10.6	40.3±10.5	37.8±9.3	36.9±8.8	39.7±6.8
	B	—	—	39.7±12.0	36.6±8.8	30.5±1.2**	30.8±2.9**
W-SCR	A	38.0±16.2	36.0±11.2	40.4±11.3	40.2±11.2	42.5±12.1	45.4±11.0
	B	—	—	46.1±8.0	41.9±14.5	42.8±13.4	50.6±10.4
W-LCR	A	62.0±16.2	64.0±11.2	59.6±11.3	59.8±11.2	57.5±12.1	54.6±11.0
	B	—	—	53.9±8.0	58.1±14.5	57.2±13.4	49.4±10.4
W-SCC	A	28±11	30±8	30±18	31±9	32±16	39±12
	B	—	—	46±16*	41±19**	41±16*	36±11
W-LCC	A	49±21	62±45	43±20	51±26	41±15	48±19
	B	—	—	52±15	59±27	57±26*	36±12*
RDW-SD	A	33.9±2.2	33.6±2.0	34.0±2.5	33.9±2.4	33.3±2.1	32.7±1.8
	B	—	—	31.8±1.0**	32.1±1.7**	32.7±2.1	32.5±2.1
PDW	A	10.2±1.4	11.1±2.3	10.5±1.8	11.5±1.9	11.5±1.8	11.3±1.7
	B	—	—	11.1±2.1	11.4±1.9	10.8±2.4	10.6±1.9
MPV	A	9.6±0.8	10.1±1.1	9.9±1.2	10.5±1.1	10.5±1.0	10.3±0.8
	B	—	—	10.3±1.3	10.3±1.1	9.9±1.3	9.9±0.9

Asterisks denote statistically significant differences between A and B (** p<0.01, * p<0.05)

材料および方法

使用動物：当センターで繁殖用種ザルとして使用されている成熟雌カニクイザル (*Macaca fascicularis*) を対象とした。それらは1989年11月以前に72時間の雌雄同居方式により妊娠したもので、1990年5月から6月の採血・測定時にはすべて正常分娩ののち、子ザルと同居中

であった。母ザルには、分娩から1週後のものから約1年後のものまでが含まれており、計150頭である (Table 1)。比較の対象としては、1989年に当センターの定期健康検査によって採血・測定された離乳後の母ザルの測定値、計81頭分を用いた。

飼育管理条件：室温は25±2℃、相対湿度は60±5%、照明は1日14時間照明10時間暗、換気回数は10回/時間である。飼料は1日あたり、午前中に柑橘類およびリン

Table 4. Serum biochemical values in female cynomolgus monkeys after parturition

Item	Group	Days after parturition					
		0-60	61-120	121-180	181-240	241-300	301-365
TP	A	8.36±0.84	9.07±0.42	8.69±0.63	8.80±0.57	8.91±0.62	8.75±0.52
	B	—	—	8.05±0.44**	8.17±0.47**	8.20±0.34**	8.00±0.32**
Alb	A	4.27±0.38	4.57±0.20	4.46±0.24	4.46±0.26	4.56±0.32	4.52±0.16
	B	—	—	4.18±0.21**	4.25±0.19**	4.23±0.17**	4.19±0.23**
A/G	A	1.05±0.10	1.01±0.08	1.06±0.10	1.03±0.08	1.05±0.11	1.07±0.10
	B	—	—	1.09±0.12	1.09±0.10*	1.06±0.09	1.10±0.11
BUN	A	15.3±3.1	16.3±3.2	17.0±3.2	20.2±5.9	16.6±3.3	15.8±3.5
	B	—	—	12.5±2.8**	13.3±2.9**	12.3±2.6**	12.9±2.8*
Glu	A	45±9	44±11	51±12	57±31	55±12	57±15
	B	—	—	58±9	51±11	54±24	49±11
TChol	A	153±34	149±36	138±25	152±38	153±28	150±28
	B	—	—	156±36*	143±24	124±27**	138±28
TG	A	91±95	59±16	69±36	68±28	62±30	62±36
	B	—	—	66±51	64±49	69±41	68±39
ALP	A	9.2±3.0	10.7±4.0	13.2±4.0	12.5±4.6	11.2±2.9	10.5±2.6
	B	—	—	13.2±3.2	11.3±4.1	9.9±3.6	7.5±2.6**
Ca	A	9.3±0.9	9.5±0.5	8.5±0.8	8.4±0.9	7.9±0.6	7.9±0.7
	B	—	—	8.8±0.8	9.0±0.7**	9.3±0.8**	9.1±0.8**

Asterisks denote statistically significant differences between A and B (** p<0.01, * p<0.05)

ゴを各 100g, 午後に市販サル用固型飼料 (AS 型, オリエンタル酵母) 約 70g を二度に分けて与えた。個別ケージの大きさは, 幅 40×縦 60×奥行き 60cm である。動物のケージ間の移動の禁止およびヨード系消毒薬による消毒の徹底等の対策を施した以外の他の飼育管理方式は既報のとおりである [4]。

採血方法: 採血にあたり, 前日午後より絶食させ, 当日の午前中に大腿静脈より採血した。採血時には, 塩酸ケタミン (ケタラルール 50, 三共) の筋肉内投与により動物を麻酔後, シリコンコートした真空採血管を用いて採血した。その一部 (2.5ml) を血球検査用としてあらかじめ EDTA-2 Na 5 mg を入れた容器に移した。血球検査は, 採血当日の午後実施した。血清生化学検査は, 血液を一晩 4℃で保存後, 2,500rpm 15 分間の遠心分離により得た血清について実施した。

測定項目および測定方法: 測定項目, その略称, および測定方法は, Table 2 に示した (以下, 表中に示した略号を用いる)。血球関係の測定は 15 項目で自動血球計数装置 (F-800, 東亜医用電子) を用いた。血清生化学的測定は 8 項目であり自動分析装置 (706, 日立) を用い, カイノス製の試薬によった。なお, A/G 比も算出した。

統計学的処理: 動物は分娩後の日数によって 60 日毎に群分けし, 各項目毎に測定値の平均値とその標準偏差 (S.D.) をとめた。分娩後 121 日以上群については, 子ザルと同居している群 (A 群) と離乳後の群 (B 群) との間で平均値の差の検定を実施した (t 検定)。

成 績

いくつかの血液学的測定項目で, 子ザルと同居中の母ザル (A 群) と, 離乳後の母ザル (B 群) との間に有意な差が検出された (Table 3)。同居中の母ザルの WBC は, 離乳後の母ザルに比べ低値を示した。しかし, 分娩後 301 日以上群で, WBC は同居中の母ザルの方が離乳後の母ザルよりも高値となり, それまでの関係が逆転した。同居中の母ザルの WBC が低値を示していた期間と一致して, 小型白血球数 (W-SCC) も低値を示していた。また RBC, Ht は離乳後の母ザルに比べて, 同居中の母ザルのほうが, 高値を呈していた。この両群の間における, Hb には顕著な差がなく, MCH や MCHC が低下している傾向が認められた。他方, 血清生化学値で両群の間に顕著な差が検出された項目として, タンパク関

連の項目をあげることができる (Table 4)。子ザルと同居中の母ザルは、分離後の母ザルに比べて、明らかに高タンパク状態 (TP, Alb) を呈していた。しかし、A/G 比については両群で大差が無いことから、同居中の母ザルでは血清グロブリン濃度も増加しているものと推測される。タンパク代謝と関係するとされている BUN も、同居中の母ザルで高値を呈していた。他方、Ca は、同居期間が長くなるにしたがって低下の傾向が認められた。しかし、母子分離後の母ザルでは、離乳直後の時期 (分娩後 121~180 日) でやや低値が観察されたものの、その後速やかに回復する傾向が認められた。

考 察

本研究は、当センターで発生したウイルス性感染症にともなう動物の移動の禁止という対策の中で、結果的に母子の同居が継続されてしまった母ザルを対象としてなされた。そして、感染の終息を確認するために、発生後約半年目におこなった検査で得られた測定値と母ザルの分娩後日数、即ち子ザルとの同居日数との関係を解析したものである。そのような事情から、子ザルと同居中の母ザルとして、150 頭のカニクイザルを使用することができたものの、各群に属する個体数は最少の 14 頭から最大の 36 頭まで約 2 倍の差となった。また、離乳後の母ザルのデータは、感染症の発生発見以前で、なるべく最近おこなわれた検査の結果を流用することになった。その為、対照群としての意味を持たせているものの、採血・測定の時期も異なり、厳密な意味での対照群とはいえない。しかし、測定時に我々がおこなっている精度管理によると、本研究で差の検出された WBC, Hb, MCV 等における変動係数 (C. V.) は 2% 以下であり、血清生化学関係では 2.6% 以下 [21] であることから、時期の違いがあるとはいえ、両測定値は比較しうるものであると判断される。

一方、ラットでは泌乳期間の延長が母体におよぼす影響について、母体構成成分の変化 [13]、摂食・摂水量の変化 [7, 14] さらに内分泌学的変化 [8, 12, 15] 等が詳細に研究されている。しかし、ヒトを含めてサル類では、そのような研究は報告されておらず、わずかに、分娩後の変化として、一部の新世界ザル [10] や旧世界ザルであるアカゲザル [1]、ブタオザル [6] そしてカニクイザル [2] で報告されているのみである。さらに、いずれの場合も、子ザルの分離の状況との関連については論じられていない。他方、哺乳期間の延長と分娩後の不妊期間との関係がアカゲザルで報告されている [17]。

しかし、カニクイザルの場合も、それ以外のマカク属サルの場合にも、我々が知りうるこれらに関する情報は、ごく限られたものでしかない。そのような現状の中で、本研究によって、得られた情報は、実験動物としてのカニクイザルを繁殖・育成するうえで有用なものであると考える。

分離後の WBC の増加の理由については不明であるが、増加した白血球は大型白血球 (W-LCC; 主に顆粒球と思われる) ではなく小型白血球 (W-SCC; 主にリンパ球と思われる) に由来するものと推測される。いずれにせよ、離乳後に一過性に増加した WBC は、半年後にはもとの値にまで低下している。当センターで通常の離乳を実施している母ザルにみられる WBC の一過性の増加が、長期間の母子の同居をおこなった母ザルで離乳後にも同じように見られるのかどうか、という点については今後、改めて検討を加えたい。

妊娠中にヒトもカニクイザルも貧血傾向を呈する [2]。しかし、カニクイザルでは、この貧血傾向は、分娩後すみやかに回復する。そして、子ザルとの同居中は、赤血球数増多の傾向を呈しているものと判断される。本研究においてもこの赤血球数増多の傾向は、子ザルの離乳によってすみやかに消失するものの子ザルとの同居が続いている期間中は維持された。さらに Ht にも増加の傾向がみられたが、Hb にはあまり変化が無く、赤血球あたりのヘモグロビン量や濃度 (MCH, MCHC) の減少を伴っていた。子ザルとの同居が続き、泌乳・乳生産が母体内で継続するために、母体の代謝活性が亢進していることが造血系に反映されているものと推測される。

また、子ザルとの同居は、母体の血清アルブミン、グロブリン濃度の増加をもたらした。アルブミンもグロブリンも乳汁の成分であり [11]、これは乳生産に関係した増加であると考えられる。さらに、BUN の増加にみられるように、子ザルと同居中の母ザルではタンパク代謝系の活性も亢進しているようである。そして、同居期間が長くなるに従って、母体血清 Ca 濃度が減少し続けた。分娩後 1 年間にわたって母体血清 Ca 濃度が減少したことは、この間、母体の乳生産・泌乳が継続していることを意味しているものと考えられる。子ザルからの母体乳首への吸乳刺激が、母体の視床下部一下垂体系を経て乳生産・泌乳の継続をもたらしているのであろう [7]。飼育下のニホンザルでも分娩後 6 ヶ月間は乳汁分泌が継続すると報告されている [9]。

とはいえ本研究によって、子ザルとの同居によって母体の乳生産・泌乳が誘発され、母体の造血系ならびにタンパク代謝の機能亢進がもたらされることが示唆され

た。このことは子ザルとの同居が継続するならば、1年間程度は持続するものの、子ザルの分離によって比較的速やかに低下するものと思われる。

要 約

カニクイザルでの小型ケージ内母子同居期間の延長が、母体の血液学および血清生化学的測定値におよぼす影響について検討を加えた。分娩後121日目から180日目までの間に母子分離（離乳）をおこなうところを、最長約1年間にわたり離乳をおこなわなかった群では、子ザルとの同居中に、白血球数の減少とともに赤血球数、ヘマトクリット値、血清タンパク量、血清尿素態窒素量の増加が見られた。また同居期間の延長にともなう血清カルシウム濃度の減少が観察された。子ザルとの同居によって母体の乳生産・泌乳、そして、造血系ならびにタンパク代謝系の機能亢進をもたらしているものと結論された。

本論文を作成するにあたって、多くの御教示と資料の提供とを戴いた、信州大学農学部教授 太田克明博士に深謝いたします。

文 献

- [1] Allen, J. R. and Ahlgren, S. A. (1986). A comparative study of the hematologic change in pregnancy in the *Macaca mulatta* monkey and the human female. *Am. J. Obst. & Gynec.*, **100**, 894-903.
- [2] Fujiwara, T., Suzuki, Y., Yoshioka, Y., and Honjo, S. (1974). Hematological changes during pregnancy and postpartum period in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Exp. Animals*, **23**, 137-146.
- [3] 橋口精範・天野和彦 (1979). 授乳婦の栄養管理. 妊娠婦栄養管理のすべて, pp. 154-164, 鈴木雅洲・坂元正一監修, 南江堂, 東京.
- [4] Honjo, S. (1985). The Japanese Tsukuba Primate Center (TPC): An outline. *J. med. Primatol.*, **14**, 75-89.
- [5] 本庄重男・長 文昭 (1977). マカカ属サル. 実験動物学 技術編, pp. 312-346, 田嶋嘉雄編集, 朝倉書店, 東京.
- [6] McMahan, M. R., Clarkson, T. B., Sackett, G. P., and Rudel, L. L. (1980). Changes in plasma lipids and lipoprotein in *Macaca nemestrina* during pregnancy and the postpartum period. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **164**, 199-206.
- [7] 太田克明 (1981). 妊娠, 泌乳動物の摂食量. 家畜繁殖誌, **27**, 19-30.
- [8] Ôta, K., Harai, Y., Unno, H., Sakauchi, S., Tomogane, H., and Yokoyama, A. (1974). Corticosterone secretion in response to suckling at various stages of normal and prolonged lactation in rats. *J. Endocr.*, **62**, 679-680.
- [9] Ôta, K., Makino, Y., Kimura, M., and Suzuki, J. (1991). Lactation in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*): Yield and composition of milk and nipple preference of young. *Primates*, **32**, 35-48.
- [10] 須崎百合子・吉田高志 (1988). タマリン属サルの血液および血清生化学値の妊娠にともなう変化. 実験動物, **37**, 303-309.
- [11] 田先威和夫 (1968). 泌乳と栄養. 泌乳, pp. 383-416, 星 久四郎・内藤元男編集, 東大出版会, 東京.
- [12] Tassanawat, T., Ôta, K., and Yokoyama, A. (1990). Changes in the responses of prolactin and corticosterone secretion to suckling at various stages of prolonged lactation in intact and ovariectomized rats. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, **36**, 88-92.
- [13] Tassanawat, T., Ôta, K., and Yokoyama, A. (1990). Changes in body composition of mother rats during normal and prolonged lactation. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, **36**, 93-98.
- [14] Tomogane, H., Ôta, K., Unno, H., and Yokoyama, A. (1976). Changes in body weight, milk production, food and water consumptions and vaginal smears in rats during prolonged lactation. *Endocrinol. Japan.*, **23**, 129-136.
- [15] Tomogane, H., Ôta, K., and Yokoyama, A. (1976). Duration of diestrous period and secretion of progesterone during prolonged lactation in the rat. *Endocrinol. Japan.*, **23**, 137-141.
- [16] TPC ニュース 特集 (1990). サル水痘様ヘルペスウイルス感染症. TPC NEWS, 9.
- [17] Wilson, M. E., Walker, M. L., Pope, N. S., and Gordon, T. P. (1988). Prolonged lactational infertility in adolescent rhesus monkeys. *Biol. Reprod.*, **38**, 163-174.
- [18] Yoshida, T. (1981). The changes of hematological and biochemical properties in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) after importation. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **34**, 239-242.
- [19] 吉田高志・鈴木絹江・長 文昭・本庄重男 (1986). 実験用カニクイザルの成長にともなう血液学および血清生化学的測定値の変化. 実験動物, **35**, 329-338.
- [20] 吉田高志・鈴木絹江・清水利行・長 文昭・本庄重男 (1986). メス・カニクイザル (*Macaca fascicularis*) の血液性状におよぼすケタミン麻酔の影響. 実験動物, **35**, 455-461.
- [21] 吉田高志 (1990). 室内繁殖・育成されたカニクイザルの成長. 成長, **29**, 75-118.