— Note —

Measuring Bone Mineral Content and Soft Tissue Mass in Living the Cynomolgus Monkey

Hayato NARITA, Fumio OHKUBO, Takashi YOSHIDA*,
Fumiaki CHO*, and Yasuhiro YOSHIKAWA*

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

(Received 26 October 1993/Accepted 11 January 1994)

Bone mineral content and soft tissue (lean and fat) mass in living female cynomolgus monkeys were successfully measured with a dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA; DPX- α , LUNARE, USA). Measurements were performed using a restraining bed made of forming polystyrol with 5cm thickness to support the animal in a supine position. Accuracy of measurements was checked by using a dummy consisted by various combinations of lean, lard and ribs. The results confirmed that this system is able to measure each constituent exactly. The percentage of fat in the soft tissue is seemed to be better index of obesity in this primate species when compared with other obesity markers such as body weight and morphometry. —KEY WORDS: cynomolgus monkey, dual energy X-ray absorptiometry, obesity

カニクイザルの骨量・軟部組織量の生体計測

成田 勇人・大久保文雄・吉田 高志*
長 文昭*・吉川 泰弘*

社団法人予防衛生協会
*国立予防衛生研究所筑波医学実験用霊長類センター

筑波霊長類センターでは、実験用カニクイザルの継代繁殖・育成をおこなっている。SPF 動物の作出を基本にしているために、飼育は個別ケージを用いている。野生ザルおよび放飼場のサルに比べて相対的な運動量の減少と過食傾向にあるため、カニクイザルの育成をおこなうにあたって、肥満個体の出現をどのように防ぐか、ということは重要な課題のひとつである [7]。育成カニクイザルの適切な飼育管理をおこなうにあたって、我々は、これまで体重 [8] や、生体計測値 [4, 6] を成長と肥満の指標として用いてき

た。さらに、固型飼料の給餌量を制限して、その成長へおよぼす影響等について検討を加えてきた [5, 9]。しかし、カニクイザルの肥満状態を適確に把握するための指標として十分に満足されるものは、今のところ見当らない。

最近、我々は二波長X線骨密度測定装置 (DEXA) がサル類の腰椎骨の測定に有用であることを指摘した [1]。骨量を測定するためにDEXAではX線源としてX線管を用いている。他方、測定原理はDEXAと全く同じで、ただX線源として ^{153}Gd を用いる二光子

Fig. 1. Accuracy of measurements was confirmed by using dummies consisted by bovine lean, porcine ribs and lard.

密度測定装置 (DPA) もまた骨量測定などに用いられている。最近, DPA によって, 体脂肪量 [3] や軟部組織量 [2] の測定がヒトで可能であることが報告されている。そこで, カニクイザルの肥満度の指標を得るために我々は, DEXA を骨密度測定装置としてのみならず, カニクイザルの全身画像の解析装置として用い, 全身の骨量, 軟部組織量 (脂肪量・赤身肉量) の生体計測に適用することを試みると同時に, カニクイザルでの測定方法および測定値の信頼性についても併せて検討したので, ここに報告する。

供試動物: 測定に用いた個体は, 当センターで誕生した体重が約 1 kg から 7 kg の雌のカニクイザル 49 頭であり, 年齢は約 1 歳齢から 14 歳齢にわたるものである。すべて実験室内で 1 日あたり 14 時間の照明, 温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 10\%$, 換気 12 回/時で飼育した。飼料は, 午前中にリンゴ, ミカンを各 100 g, 午後にはサル用固型飼料 (オリエンタル酵母社, AS 型) を 70 g 給餌した。測定は, 塩酸ケタミン (ケタラール 50, 三共) と, キシラジン (セラクタール, バイエル) を 2:1 に混合し, その混液を 0.3ml/kg 体重で筋肉内投与し麻酔下でおこなった。

測定: 測定には DPX- α (Lunar 社製, U. S. A.) を用いた。測定にあたっては, ヒトでの測定時に使用するマットをはずし, 代りに 5 cm の厚さの発泡スチロール製の板 (W30×L150cm) を動物の下に敷いた。この板には, 着脱式の布製テープを接着し, 動物を仰向けに保定できるようにした。さらに, 動物の保

定時に, 直径約 8 cm, 長さ約 15cm の空気枕 4 個を用いて動物の身体を真すぐにさせた。

測定の信頼性: 測定の信頼性を確認するために, ウシの赤身肉 (股肉) 6 kg, ブタの脂身 1 kg および肋骨 1.7kg を用い (Fig. 1), それぞれの量を変えながら測定し, 実重量と測定値との関係を解析した。

解析: 解析は, 全身モードで小児用プログラムを用いておこなった。

本研究に用いた解析プログラムは小児用として開発されたものであり, 体重が 3 kg 以下の小動物の測定を想定したものでは無い。ヒトでの測定時に使用するウレタン製マットは, 体重 3 kg 以下のカニクイザルには適合せず, 推定体重が実体重より 20~30% 程度大きく測定されてしまう。そこで, マットをカニクイザルでの測定に合うように改良し, 厚さ 5 cm の発泡スチロール製の板を使用した。さらに, カニクイザルの全身を X 線が走査し終るまでには 15~20 分の時間を必要とするため, 測定に影響をおよぼさない空気枕と着脱式布テープによって動物を保定した。

これらの改良によって, 体重が 3 kg 以下の動物でも測定が可能か否かを検討する目的で, 赤身肉・脂身・肋骨を用いたダミーを使用した。これら 3 部分を, 適宜, 増減して測定を行なったところ実重量で約 0.5kg から 8 kg 以上の範囲で直線性が確認され, 実重量と, 測定で得られた骨量 (BMC) と軟部組織量の和を推定重量とした時の差は, 重量を測定した体重計の誤差の範囲 (数十 g) 以内にとどまった ($P <$

Fig. 2. The relationship between actual weight of dummies and estimated weight by a dual energy X-ray absorptiometry (DEXA, left) and the relationship between actual rib weight of dummies and bone mineral content (BMC) measured (right). Correlation coefficient(r) and statistical significance(p) are indicated in the figure.

Fig. 3. The relationship between actual body weight of female cynomolgus monkeys weighing 0.5kg to 7kg and estimated body weight by a DEXA. Correlation coefficient(r) and statistical significance(p) are indicated in the figure.

0.001, $r=0.999$)。さらに、ダミーに含めた肋骨の添付重量に比例した BMC の測定値の変化が、BMC 値として 25 g から 200 g の範囲で確認することができた (Fig. 2)。本研究に用いた肋骨のうち $13.6 \pm 1.5\%$ が BMC であるという成績が得られた。以上の成績から、BMC ならびに軟部組織量の本装置による測定値は、十分に信頼できるものと判断された。本検討に用いた赤身肉にも肋骨にも、脂肪が含まれている。そのために軟部組織量に占める脂肪の割合 (% Fat) の

測定値については最終的な確認はとれなかったものの、本装置を使用する、という条件で相対値として比較をおこなうことは可能であろう。さらに、実際にカニクイザルを測定し、得られた軟部組織量と BMC との和を推定体重とし、実体重との関係を見たところ、その相関は高度に有意であり、カニクイザルの体重 500 g から 7 kg まで直線関係が得られた (Fig. 3)。

カニクイザルの体重と各測定値との関係を見るために各種の関数式を適合させたところ、体重と赤身肉量

Fig. 4. The relationships between body weight and lean mass (upper panel), BMC (middle panel) and %fat ($100 \times \text{fat mass}/\text{soft tissue mass}$, lower panel) in female cynomolgus monkeys. Coefficient of determination (R^2), statistically significance (p) and upper limiting value (b) calculated are indicated in the figure.

(Lean) および体重と BMC との間には、関数式 $y = a / x + b$ が最もよく適合した。(Fig. 4, 上段および中段)。ただし、 y は測定値、 x は体重、そして a 、 b は式を適合させるためのパラメータである。適合の程度を示す決定係数 (R^2) の値は、それぞれ 0.869, 0.848 であり、0.1% の有意水準で良好な適合性が認められた。そしてそれぞれの式から算出された上限値は、Lean で 3.067kg, BMC で 209g であった。BMC および Lean は、体重が 4 kg を越えるところからプラトーに達する傾向が認められたものの、% Fat は、体重が 3.5kg 以下では 20~30% 程度しかなかったものが、体重が 3.5kg を越えたものでは、その割合を

顕著に増して、7 kg の動物では 60% にも達した。体重と % Fat との関係には、ゴンペルツ式や、ロジステック式も適合させたが、最も適合したのは三次関数 $y = ax^3 + bx^2 + cx + d$ であった (Fig. 4, 下段)。但し、 y は % Fat 値、 x は体重、 a 、 b 、 c 、 d は式を適合させるためのパラメータである。 R^2 値は 0.850 であり、統計学的に有意な回帰が認められた ($P < 0.001$)。

Lean および BMC に上限値があるとすれば、それら上限値の和を越える体重の増加は、体脂肪量の増加に由来することになり、肥満の程度を示しているものと判断される。しかし、脂肪の絶対量は、逆に肥満していなくとも体重の大きさに左右されるものである。そこで、% Fat を指標とすることにした。また、適合させた式の特長上、体重を無限に増加させたところに上限値が設定されることになるがこの値を雌カニクイザルの成熟値とみなすことは困難である。そこで、90% 値を採用すると、Lean は 2.76kg, BMC は 0.19 kg である。Lean が 2.76kg, BMC が 0.19kg の個体が 30% Fat であるとする、脂肪量は 1.2kg であり、算出された体重は 4.1kg となる。この値は Fig. 4 下段にあてはめると、ほぼ妥当な位置を占める。他方、50% Fat であると仮定すると脂肪量は Lean と同量の 2.76kg であり、体重は 5.7kg と算出される。この値も、Fig. 4 下段ではほぼ妥当な位置を占める。以上の計算にはいくつかの前提があるものの、体重がおおよそ 4 kg 以上の動物での増加分は、脂肪の蓄積量の増加に由来すると判断され、雌カニクイザルの肥満を検出しているものと言えよう。% Fat の値は雌カニクイザルの脂肪の過剰な蓄積、すなわち肥満の検出の指標として用いられる可能性を示すものである。今後、雌カニクイザルで肥満が始まる時期、あるいは肥満と妊娠・分娩との関係等について詳細な検討をおこなっていききたい。

以上のことから、DEXA を用い、測定条件をサル用に改良することで、カニクイザルの骨量・軟部組織量および % Fat の測定が可能であること、% Fat の値を用いてカニクイザルの肥満度を測定することが可能であると考えられる。

要 約

二波長 X 線画像解析装置 (DEXA, DPX- α , Lunar 社製) で小児用プログラムを用い全身モードの走査を

行うことにより雌カニクイザルの骨量・軟部組織量（赤身肉・脂肪量）の生体計測が可能であった。測定の正確性は、ウシ赤身肉、ブタ脂身および肋骨で構成したダミーを測定することにより確認した。また、軟部組織量に占める脂肪量の割合（% Fat）が、雌カニクイザルの肥満の良好な指標となり得ることが明らかになった。

本研究をおこなうにあたって、当センターへのDEXAの導入に便宜を払っていただいた、日本電子株式会社柴田安弘部長並びに同輸入販売株式会社設楽 武主任に感謝いたします。またダミーの作成にあたって御援助いただいた株式会社ミートパビリオンつくば店の皆様に深謝いたします。本原稿の作成には椎名京子さんの御協力をいただきました。

文 献

[1] 冷岡昭雄・吉田高志・長 文昭・吉川泰弘（1994）, 実験動

物, **43**, 235-241.

[2] Lands, L. C., Heigenhauser, G. J. F., Gordon, C., Jones, N. L., and Webber, C. E. (1991). *J. Appl. Physiol.*, **71**, 698-702.

[3] Pierson, R. N. Jr., Wang, J., Heymsfield, S. B., Russell-Aulet, M., Mazariegos, M., Tierner, M., Smith, R., Thornton, J. C., Kehayias, J., Weber, D. A., and Dilmanian, F. A. (1991). *Am. J. Physiol.*, **261**, E103-E108.

[4] 清水利行・小野孝浩・吉田高志・長 文昭・後藤信男（1988）, 実験動物, **37**, 145-151.

[5] 清水利行・成田勇人・大久保文雄・吉田高志・長 文昭・吉川泰弘（1994）, 実験動物, **43**, 173-180.

[6] 清水利行・吉田高志・長 文昭・後藤信男（1991）, 実験動物, **40**, 215-221.

[7] 吉田高志（1990）, 成長, **29**, 75-118.

[8] 吉田高志・後藤幸江・羽成光二・清水利行・中島雅子・長文昭・本庄重男（1982）, 成長, **21**, 12-19.

[9] 吉田高志・大藤圭子・成田勇人・大久保文雄・長 文昭・吉川泰弘（1994）, 実験動物, **43**, 199-207.