

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

関西実験動物研究会
第100回記念大会

平成20年12月 29号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

100th
Anniversary

Kansai
Laboratory
Animal
Research
Association

関西実験動物研究会 第100回記念大会

日時 平成20年12月5日(金) 場所 聖護院御殿荘(京都市)

<http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/kansai/kansai.html>

動物実験 ～過去・現在・未来～

関西実験動物研究会のあゆみ ▶ 芹川 忠夫(京都大学)

動物実験と法規準 ▶ 黒澤 努(大阪大学)

遺伝育種 ▶ 庫本 高志(京都大学)

微生物感染症 ▶ 池 郁生(理研BRC)

環境 ▶ 朱宮 正剛

疾患モデル ▶ 岩倉 洋一郎(東京大学)

創薬 ▶ 小高 裕之、竹内 浩二(武田薬品工業)

特別講演

モデル動物の開発と脳研究
中西 重忠
(大阪バイオサイエンス研究所長)

一般演題 | 会員の研究発表と自由発表、維持会員の展示を募集します。
応募締切:平成20年10月17日

参加費 | 3,000円(会員は無料です)

懇親会 | 例年のごとく、忘年会を兼ねた懇親会を行います。
会費:6,000円 申込締切:平成20年11月28日

お問い合わせ | 関西実験動物研究会事務局
Tel:075-753-4489 Fax:075-753-4409
E-mail:kansaijim@anim.med.kyoto-u.ac.jp.

目 次

<第100回記念大会（平成20年12月5日）>

テーマ：動物実験～過去・現在・未来～

1. 関西実験動物研究会のあゆみ
芹川 忠夫（京都大学） 11
2. 動物実験と法規準
黒澤 努（大阪大学） 38
3. 遺伝育種
庫本 高志（京都大学） 44
4. 微生物感染症
池 郁生（理研BRC） 51
5. 環境
朱宮 正剛（環境研） 59
6. 疾患モデル
岩倉洋一郎（東京大学） 62
7. 糖尿病モデル動物を用いた創薬
竹内 浩二、小高 裕之（武田薬品工業） 65

<特別講演>

モデル動物の開発と脳研究

- 中西 重忠（大阪バイオサイエンス研究所長） 75

<地方関連団体>

- 東海実験動物研究会 79
北海道実験動物研究会 81

<評議員寄稿>

1. 小実験動物における全身麻酔の変遷
倉林 譲（森ノ宮医療大学）、井上 政昭（(株)スカイネット）、
夏目 克彦（夏目製作所） 83
2. 関西実験動物研究会と私と未来
横井 伯英（神戸大学） 89

3. 温故知新—マウス、ラットの状態観察について— 内海健二郎、牧野 進 ((株)ケー・エー・シー)	92
4. 関西実験動物研究会100回の歴史と傍流を行く—会員の研究歴 塩見 雅志 (神戸大学)	94

<関西実験動物研究会第100回記念大会 ポスター発表>

46題	97
-----------	----

カテゴリーA：会員の研究発表

<遺伝・ゲノム>

1. マウスのマラリア原虫感染抵抗性遺伝子座の解析 ○大野民生・空閑雅子・曾田智大・丸川高弘	97
(名大院・医・支援センター・実験動物)	
2. 1型糖尿病修飾遺伝子座の解析 ○横井伯英、田辺幸子、清野 進	98
(神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学)	
3. LEXF/FXLEリコンビナント近交系を用いたキンドリング感受性座 位の同定 ○岡島涼子 ¹ 、庫本高志 ¹ 、Voigt Birger ¹ 、外尾亮治 ² 、笹 征史 ³ 、 芹川忠夫 ¹	99
(¹ 京大院・医・附属動物実験施設、 ² (財)動物繁殖研究所、 ³ 渚病院)	
4. ダンボラットの形態解析と遺伝解析 ○矢ヶ崎佳代子、庫本高志 (京大院・医・附属動物実験施設)	100
5. ラット <i>Arp3</i> 、 <i>Abcg5</i> 、 <i>Srebf1</i> 遺伝子の機能多型ジェノタイプピング ○中西 聡、芹川忠夫、庫本高志 (京大院・医・動物実験施設)	101
6. RT1領域解析のためのSSLPマーカーセットの開発とゲノムプロファイル ○高木弓枝 ^{1,2} 、庫本高志 ¹ 、鶴見東志子 ¹ 、中西 聡 ¹ 、真下知士 ¹ 、 増井則夫 ² 、芹川忠夫 ¹	102
(¹ 京大院・医・附属動物実験施設、 ² 日本エスエルシー(株)品質 管理部)	
7. Mouse Hepatitis Virusの遺伝子解析 ○小谷祐子 ¹ 、田島 優 ¹ 、愛原勝巳 ¹ 、河崎愛子 ¹ 、藪内かおり ¹ 、 河合澄子 ¹ 、高木康博 ¹ 、Benjamin Seery ¹ 、塩谷恭子 ² 、岡本 明 ¹ 、 鍵山壮一郎 ¹ 、黒澤 努 ¹	103

(¹大阪大学医学部附属動物実験施設、²国立循環器病センター動物実験室)

8. 放医研で維持されているマウス系統の遺伝学的モニタリングシステムのためのチャートの作成および胚凍結と組み合わせた今後の展開

○上野 渉¹、海野あゆみ²、大久保喬司²、飯名瑞希²、新妻大介²、伊藤正人²、伊田大貴²、宮沢正光²、藤井功輔²、川原 隼²、早尾辰雄¹、西川 哲¹ …………… 104

(¹放射線医学総合研究所 基盤技術センター研究基盤技術部 実験動物開発・管理課、²(株)サイエンス・サービス)

<モデル動物>

9. Establishment of DMN-induced liver cirrhosis model in NOD/SCID mouse for evaluation of the efficacy and safety of human mesenchymal stem cells

○Byeong-Cheol KANG, Jeong-Whan CHE, Seung-Hyeok Seok, and Kook-Hyun LEE …………… 105

(College of Medicine, Seoul National University and Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital)

10. Fe-NTA誘発酸化ストレスモデルを用いた抗酸化作用の評価における投与方法の重要性について

○飛田康孝、岡本 均、安場正子、松岡信男 …………… 106
(株式会社ケー・エー・シー)

11. Kyoto Apc Deltaラットを用いた大腸腫瘍誘発試験

○吉見一人¹、真下知士¹、滝澤明子¹、加藤めぐみ²、平林真澄²、芹川忠夫¹、庫本高志¹ …………… 107

(¹京大院・医・動物実験施設、²生理学研究所・行動代謝分子解析センター)

12. 気道内への直接曝露による喘息モデル作成の確立

○今田竜一¹、高橋義博¹、山下祐介¹、宇都宮慎治¹、大坪靖治¹、治田俊志²、久野彰文²、和泉博之¹、中村隆広¹、洲加本孝幸¹ …… 108

(株式会社新日本科学安全性研究所¹)、Translational Research株式会社²)

13. Infection with *Pneumocystis carinii* in rat
 ○Kaori YABUUCHI, Masaru TAJIMA, Yuko KOTANI,
 Katsumi AIHARA, Aiko KAWASAKI, Shiro KANEKO,
 Yasuhiro TAKAGI, Sumiko KAWAI, Akira OKAMOTO,
 Soichiro KAGIYAMA, Benjamin Seery and Tsutomu KUROSAWA … 109
 (Institute of Experimental Animal Sciences, Osaka University Medical
 School, Japan)
14. ラットENUミュータントアーカイブ：LGI1標的遺伝子のスクリーニング
 ○石田紗恵子¹、真下知士¹、滝澤明子¹、国広弥生¹、青砥利裕²、
 上田正次²、池田昭夫³、高橋良輔³、芹川忠夫¹ …………… 110
 (¹京大院・医・動物実験施設、²フェニックスバイオ、³京大院・
 医・臨床神経学)

<病態解析>

15. 横紋筋肉腫モデルマウスに発症する悪液質関連遺伝子の解析
 ○鈴木 昇、齋藤浩充 (三重大生命セ・動物機能ゲノミクス) …………… 111
16. 電位依存性Ca²⁺チャンネル α 1A蛋白質ノックダウン及び脳の領
 域特異的ノックアウトマウスの解析
 ○齋藤浩充、鈴木 昇 (三重大生命セ・動物機能ゲノミクス) …………… 112
17. 発癌モデルマウスの生体腫瘍に対するX線CT装置による解析可能
 性の検討
 ○¹西 泰明、²齋藤浩充、²鈴木 昇 …………… 113
 (¹三重大生命セ・放射線化学、²三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)
18. *Helicobacter pylori*感染症におけるサイトカインの役割
 ○喜多正和、澤井直樹、塩見 聡、山本俊郎、今西二郎 …………… 114
 (京府医大院医学研究科 免疫・微生物学)
19. セルロース欠乏飼料と喫煙曝露がC57BL/6マウスの腸内環境と栄養
 状態に及ぼす影響
 ○西井康恵¹、久保 薫²、友田恒一³、吉川雅則³、朝原 崇⁴、
 野本康二⁴、木村 弘³ …………… 115
 (¹畿央大学・健康科学部、奈良医大・²動物実験施設、³第二内科、
⁴ヤクルト中央研究所)

20. 欠神発作脳波自動判定システムにより抽出されたpre-clinical波の発
作リズムの変動
○坪田裕司¹、都丸千夏²、飯島一憲³、大和田恭子² …………… 116
(¹大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部生理学、
²群馬工業高等専門学校物質工学科、³東京大学工学部電子工学科)
21. *dmy*ラットのミエリン崩壊におけるグリア細胞の役割
○狗巻和男、井澤武史、山手丈至、小谷猛夫、桑村 充 …………… 117
(大阪府立大学・獣医病理学教室)
22. 小脳虫部欠損(CVD)ラットの小脳異形成の病理発生における*Unc5h3*
と*Netrin1*の役割
○貝塚理恵、井澤武史、山手丈至、小谷猛夫、桑村 充 …………… 118
(大阪府立大学・獣医病理学教室)
23. カニクイザルにおける視覚機能検査
○杉本潤一郎、杉本恭平、津田裕一、堀口浩資、久世 博 …………… 119
(株)ボゾリサーチセンター)
24. カニクイザルを用いたホルター心電図による薬剤誘発性QT延長お
よび不整脈の評価
○和田 聰¹、熊野 篤¹、大鷲壮一¹、谷川常博¹、小倉宏之¹、
深澤清久¹、大竹誠司¹、安東賢太郎¹、飯田晶敏² …………… 120
(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所、²大阪分室)

<病理・形態>

25. *Tlk*あるいは*qc*遺伝子を有するラット胎児の形態学的な特徴
○勝亦芳裕¹、小川順子¹、浅野裕三¹、庫本高志²、芹川忠夫² …………… 121
(株)ボゾリサーチセンター、²京大院・医・附属動物実験施設)
26. 日本白色種ウサギの胎児にみられた雄起因の生殖器奇形
○山本 大¹、谷栄之介¹、佐藤順子²、小松原芳樹¹、佐々木淳¹、
宮崎智成¹、星野信人¹、松浦郁夫¹、飯田晶敏³ …………… 122
(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所、²静岡分室、³大
阪分室)
27. 老齡カニクイザルの神経原線維変化と老人斑
○中村紳一郎¹、木村展之³、西村正樹²、鳥居隆三¹、寺尾恵治³ …………… 123
(滋賀医科大学¹動物生命科学研究所センター、²分子神経科学研究

センター、³独立行政法人医薬基盤研霊長類医科学研究センター)

<生殖・胚保存>

28. 体外受精を用いたマウス計画生産への取り組み
○大竹 聰、矢野英樹、人見修司、近藤麻衣、藤川卓也 …………… 124
(株オリエンタルバイオサービス 南山城研究所)
29. 胚移植由来ネフローゼマウス (ICGNマウス) 産仔の病態解析
○内尾こずえ¹、澤田京子¹、國枝孝典¹、眞鍋 昇² …………… 125
(¹医薬基盤研・生物資源部、²東大院・農学生命科学)
30. メンスの観察からよむカニクイザル雌性周期の回転状況および生殖器の形態的特徴
○佐藤順子、大竹誠司、佐々木豊、飯田晶敏、土谷 稔 …………… 126
(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)
31. カニクイザル連続微量投与による卵巣刺激法の検討
○岩谷千鶴、山崎樹里、岡原純子、土屋英明、鳥居隆三 …………… 127
(滋賀医科大学・動物生命科学研究センター)
32. クライオトップを用いたカニクイザル顕微授精胚の凍結保存および凍結胚由来産子の獲得
○山崎樹里、岡原純子、岩谷千鶴、土屋英明、鳥居隆三 …………… 128
(滋賀医科大学 動物生命科学研究センター)

<バイオリソース>

33. NBRP-Ratの「過去」「現在」「未来」
○芹川忠夫、真下知士、Voigt Birger、滝澤明子、岡島涼子、
前泊直樹、中西 聡、山崎賢一、庫本高志 …………… 129
(京大院・医・附属動物実験施設)
34. 医薬基盤研究所 実験動物研究資源バンクの活動紹介
○松田潤一郎、小浦美奈子、野口洋子、中村和臣、鈴木 治 …………… 130
(独)医薬基盤研究所・実験動物開発研究室)

35. 医薬基盤研究所で系統維持している各種齧歯類（スナネズミ、マ
ストミス、シリアンハムスターの特性
○小浦美奈子¹、金井孝夫²、中村和臣¹、野口洋子¹、鈴木 治¹、
松田潤一郎¹ 131
(¹(独)医薬基盤研究所 実験動物開発研究室、²東京女子医科大学
実験動物中央施設)
36. *Phodopus*属ハムスターの実験動物化
ーモデル動物候補としての突然変異収集ー
○和田あづみ¹、大川 清¹、都築政起² 132
(¹東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、²広島大学・大学院
生物圏科学)

カテゴリーB：会員の自由発表

37. 「養鼠玉(ようそたま)のかけはし」にみる日本人とネズミ
○庫本高志（京都大・医・動物実験施設） 133
38. WHHL, WHHLMUウサギ開発の歴史
○塩見雅志、山田悟士、小林 努、平山信恵、伊藤 隆 134
(神戸大学 医学部 附属動物実験施設)
39. 実験動物学と「動物実験学」
○西川 哲 135
(独立行政法人放射線医学総合研究所基盤技術センター研究基盤
技術部実験動物開発・管理課)

カテゴリーC：維持会員のパネル展示

40. 人にやさしく 菌にきびしく スーパー次亜水
○熊藤健太（清水実験材料株式会社） 137
41. 実験動物用器材のガンマ線滅菌について
○長嶋和浩（日本照射サービス(株)） 138
42. 株式会社 ビオスタ会社概要
○高橋尚士（(株)ビオスタ） 139
43. 癌研究のためのマウスおよびラットモデルの有用性
○橋本貴生、多賀谷奈美、畑 和也、若林利明 140
(株式会社サンプラネット支援サービス本部BMR部)

44. 組換えBACテクノロジーを利用した『セミ・ノックアウトラット』 の開発	
○塩田 明、上田正次	141
(株式会社フェニックスバイオ 宇都宮事業所)	
45. カニクイザルを用いた骨代謝試験の紹介 —OVXモデルと骨折モデルを中心として—	
○関あずさ、高島俊行	142
(ハムリー株式会社 国際事業部)	
46. クラウン系ミニブタの特徴	
○金剛仙太郎 ¹ 、岩永健裕 ¹ 、土井 淳 ¹ 、新村由佳里 ² 、鳥取潤一 ¹ ...	143
(¹ ジャパンファーム クラウン研究所、 ² ジャパンファーム 品質 保証部)	

テーマ：動物実験～過去・現在・未来～

1. 関西実験動物研究会のあゆみ
芹川 忠夫（京都大学）
2. 動物実験と法規準
黒澤 努（大阪大学）
3. 遺伝育種
庫本 高志（京都大学）
4. 微生物感染症
池 郁生（理研BRC）
5. 環境
朱宮 正剛（環境研）
6. 疾患モデル
岩倉洋一郎（東京大学）
7. 糖尿病モデル動物を用いた創薬
竹内 浩二、小高 裕之（武田薬品工業）

関西実験動物研究会のあゆみ

会長 芹川 忠夫

(京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

第100回の記念大会を迎えられたこと、会員の皆様と共にお慶び申し上げます。これを機会に、「動物実験～過去・現在・未来～」のテーマを掲げ、各分野の過去・現在・未来を総括するシンポジウムを企画しました。私は、序として、「関西実験動物研究会のあゆみ」を纏めることに致します。

はじめ

関西実験動物研究会は、初代会長の山田淳三先生のお考えとそれを支援する人達の力によって設立されました。山田先生は昭和48年に京都大学医学部附属動物実験施設の助教授として赴任され、昭和52年から京都大学において「実験動物セミナー」を始められ、昭和55年には「関西実験動物集談会」へと広げられました。そして、この土壌をさらに拡大して実りのあるものとすべく、昭和55年（1980年）に「関西実験動物研究会」が設立されました（図1参照）。設立趣意書には、「その目的は、今までより以上に強い組織基盤を確立し、専門を異にする会員相互の連絡を緊密にし、従来以上に交流を促進することによって、学際的な性格の強いこの領域を、より高度な科学水準へ高揚させることにあります。さしあたっては、事務局の設置と年4回の学術発表、機関誌の発行、国内外のニュース速報および会員相互の情報交換などを企画しております。」と記述されています。発起人名簿63名（表1参照）には、当時、関西圏において実験動物あるいは動物実験に深く関心を持たれていた大学や企業の諸氏が名を連ねられています。

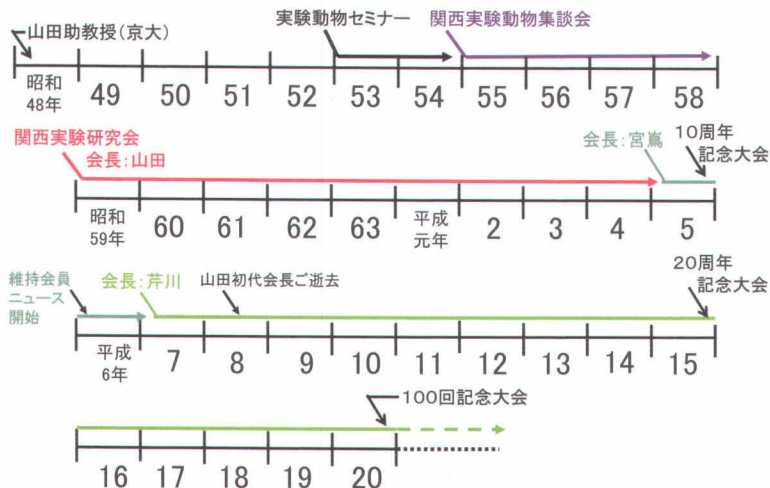


図1 関西実験動物研究会のあゆみ

表 1 関西実験動物研究会 発起人名簿 (63名)

氏名	当時の所属	氏名	当時の所属	氏名	当時の所属
飯田 晶俊	大日本製薬	高木 貞明	静動協 京都営業所	堀内 貞治	大阪府立大学・農学部
入谷 明	京都大学・農学部	高島 俊行	藤沢薬品工業	牧野 進	塩野義製薬・油日
内海健二郎	大日本製薬	谷村 孝	近畿大学・医学部	松下 宏	和歌山県立医科大学
海野 隆	鐘紡	辰巳 照	日本商事	松林 清明	京都大学・豊長類センター
江角 吉造	日本シェーリング研究所	武田 篤彦	大阪府放射線中央研究所	増田 恭造	日本クレア
及川 弘	塩野義製薬	竹岡 成	滋賀医大	翠川 修	京都大学・医学部
岡庭 梓	田辺製薬	辻 繁勝	和歌山県立医科大学	宮脇 宏彰	武田薬品工業
加納晴三郎	国立衛生試 大阪支所	蝶良 義彦	奈良県立医科大学	村上 宏	神戸大学・医学部
川俣 順一	大阪大学・微生物病研究所	東条 英明	富山医薬大	森 純一	大阪府立大学・農学部
小嶋 明広	田辺製薬	鳥居 隆三	滋賀医科大学	森井 外吉	関西医大
米田 友彦	武田薬品工業	中川 八朗	大阪大学・蛋白研究所	森岡 宏至	大阪府立大学・農学部
笹川 祐成	近畿大学・医学部	新谷 聡	国立循環器病センター	山崎 恒義	日本タバコガイギー
佐々木 弘	日本チャールズリバー	二階堂浩子	金沢大学・医学部	山田 淳三	京都大学・医学部
佐藤 良夫	大阪大学・歯学部	丹羽 皓二	京都大学・農学部	山中 久	田辺製薬
塩見 俊朗	三重大学・医学部	能勢 尚志	鐘紡	家森 幸男	鳥根医科大学
志村圭志郎	三重大学・医学部	野沢 謙	京都大学・豊長類センター	山之内孝尚	大阪大学・微生物病研究所
城 勝哉	兵庫医科大学	早川純一郎	金沢大学・医学部	吉田 耕一	大日本製薬
新谷 茂	武田薬品工業	林 幸之	塩野義製薬・油日	吉田 康久	大阪医大
鈴木 秀作	鳥根医科大学	橋本 喜信	科研製薬	吉田 幸雄	京都府立医大
芹川 忠夫	京都大学・医学部	藤村 一	京都薬科大学	渡辺 信夫	藤沢薬品工業
高折 修二	京都大学・医学部	古河 恵一	近畿大学・医学部	渡辺 嘉雄	神戸大学・医学部

運営について

3年毎に役員人事が行われ、会長と幹事（庶務・会計担当、集会担当、会報担当）が評議員から選出されて、年4回（3月、6月、9月、12月）の学術集会の開催と関西実験動物研究会報（年報）が発刊されました。事務局は、当初から京都大学医学部（現医学研究科）附属動物実験施設に置かれていました。学術集会（研究会）の企画は、会員からの要望を踏まえて主に集会担当があたってきました。開催場所は、京都（楽友会館、京大会館、京都市教育文化センター、芝蘭会館別館、京都市国際交流会館、みやこメッセ）、大阪（銀杏会館、大阪大学コンベンションセンター、大阪大学講義棟、大阪大学工業会館、国立循環器病センター、大阪科学技術センター、千里ライフサイエンスセンター、大阪府立大学学術交流会館、大阪医科大学別館、三和化学研究所大阪メディカルホール、武田薬品工業吹田研修所、大阪大学工業会館、大阪大学講義棟）、神戸（神緑会館、臨床研究情報センター）、奈良（猿沢荘）、大津（琵琶湖ホテル、おおみ荘）を巡りました（図2参照）。後に、ホームページを開設して、本研究会の学術集会の記録や情報発信に役立てました。



図2 関西実験動物研究会の学術集会同会場

学術集会の内容について

関西実験動物研究会の学術集会における話題は、図3に示したように分類できます。まず、「研究」、「試験」、「教育」、「動物実験規制」、「海外情報」に大別され、「研究」については、実験動物そのものに焦点を当てた研究（ここでは「実験動物学研究」としました）と、実験動物を利用して生命原理を探究する研究、ヒト疾患の研究あるいは家畜改良の研究など「実験動物ユーザーの研究」の2つに分けられます。そして、「実験動物学研究」については、「実験動物の研究」と「動物実験法の研究」に区分することができ、前者は「実験動物の開発・解析研究」と「実験動物の品質向上研究」に区分できます。しかし、個々の演者の研究に関する講演を、「実験動物学研究」と「実験動物ユーザーの研究」のいずれかに分類することができないことが多く、後者のなかにも「実験動物学研究」として扱われるべき内容が多くありました。「試験」には、医薬品等の効果評価試験や安全性試験法の改良、提案、情報提供などが含まれます。本研究会には、製薬企業や試験研究機関に属されている方が多くおられることから、これに関する多くのテーマが取り上げられました。「教育」については、主に大学の学生に対する実験動物学教育が取り上げられました。「動物実験規制」については、動物実験を実施している機関において関心が高いため、これをテーマにした学術集会（研究会）には、多くの参加者がありました。「海外情報」については、留学先から帰国された会員があれば、留学先での動物実験に係る実体験を披露してもらいました。また、外国からの来客にも、タイミングが会えば講師をお願いしてきました。年4回の学術集会のうち、毎年、12月には会員の発表が組み込まれました（資料2「関西実験動物研究会会員研究発表記録」参照）。会員の活性化や学生や若手の研究者の発表トレーニングの場として、有効であったと思います。第2代宮嶋会長の下で、平成5年12月の第40回研究会が10周年の記念大会として開催され、特別講演（会長講演）：ICH-2における安全性試験及びトキシコキネティックスの動向、関西実験動物研究会10周年によせて（信州実験動物研究会、東海実験動物研究会、岡山実験動物研究会からの各代表者）、関西実験動物研究会10周年のあゆみ（山田淳三初代会長）と題する講演会が持たれました。そして、「維持会員ニュース」が第81回の研究会から始まりました（資料3「関西実験動物研究会維持会員ニュース」参照）。これは、学術的な内容を重視あるいは加味しながら維持会員の事業や商品などを紹介して頂くもので、維持会員と会員の貴重な情報交換の場となっています。平成17年3月から芹川が第3代の会長をお引き受けしています。新規役員はこれまでの方針を引き継いで会務を進めるにあたり、以後の各学術集会に常にテーマ名を付けることにしました。これにより、企画者の意図を講演者と参加者に伝えて纏まりのある学術集会にしたいと考えたからです。平成15年12月の第80回研究会が20周年の記念大会として開催され、「動物実験の明日を考える」と題す

る記念フォーラムにおいて、動物実験と実験動物施設が抱える明日への問題点（池田卓也）、ポストゲノム時代と産官学連携時代における実験動物学（北田一博）、国際的実験動物、動物実験の法規制の趨勢そして国立大学の独立行政法人化（黒澤努）という重要なテーマについて論ぜられ、特別講演には「重点先端分野（BT, IT, NT）の融合という名の研究推進（鳥居宏次）」、並びに、特別シンポジウム「実験動物の大いなる活用：プラナリアに再生の秘密を学ぶ（阿形清和）、生命医科学における脊椎動物モデルとしてのメダカ（古谷一清木誠）、滑らかな運動制御のための脳による情報処理（河野憲二）」がもたれました。各研究会のテーマ、演題、講演者名については、関西実験動物研究会開催記録（資料1）を、また、図4には、第38回（平成5年6月）からの会員と非会員に分けた参加者数を示しています。100名以上の参加があったのは、第38回「腎症候性出血熱（HFRS）の汚染対策」、第39回「実験動物の臨床検査」、第40回「10周年記念大会」、第44回「免疫毒性」、第49回「適切な実験動物の飼育管理と動物実験の管理」、第50回「ハンタウィルス感染症と動物実験：腎症候性出血熱をめぐる最近の話題」、第69回「実験動物の微生物モニタリング項目に

関する最近の動向」、第75回「組換え動物の利用と規制」、第80回「20周年記念大会」、第88回「実験動物関連法に係る対処と展望」、第93回「実験動物関連法に係る対処と展望」です。参加者数は、講演者を除いて、会員が平均55名（最大83名、最小31名）、非会員が26名（最大74名、最小7名）で、合計参加数は平均81名（最大126名、最小39名）でした。テーマによっては、会員のみならず非会員の参加も多くあり、中には関西圏を越えて集まって頂きました。

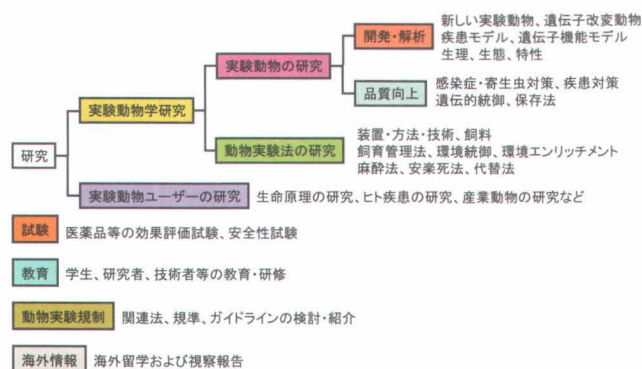


図3 関西実験動物研究会の学術集会における話題の分類

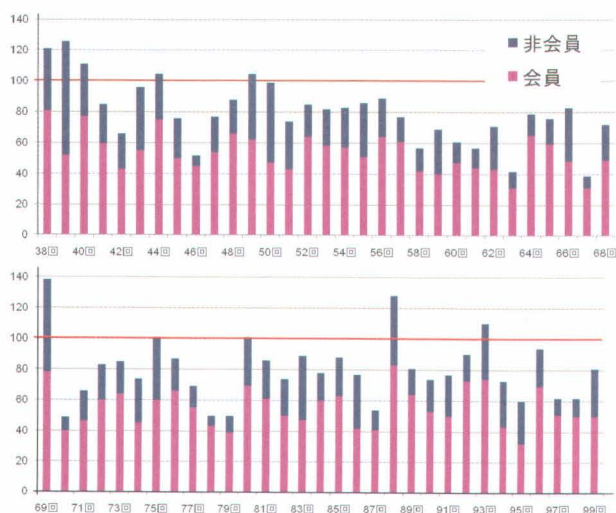


図4 関西実験動物研究会の学術集会参加者数

未来について

関西実験動物研究会の未来を考えるためには、実験動物学の領域について考察することが必要です。図5に示したように、実験動物学は、「異分野連携総合応用科学」の一つと位置付けると判りよいと思います。このような応用科学の領域にあっては、それぞれの個々の分野における研究と実務の執行だけでなく、関連情報の収集と交換を密に行うことが必要で、それを基にして全体が有効に作動すると思えます。関西実験動物研究会は、この点を重要視して、年4回の学術集会を継続して25年間開催してきたものと再認識しています。実験動物を用いる研究や試験は、生命科学や医療の発展などに欠くことはできない方法論でありますので、100回を超えて、関西実験動物研究会の活動が求められると思えます。

気掛かりな点は、会員数の推移です(図6参照)。維持会員数は最近やや上昇の傾向がある位で安定していますが、個人会員数は平成10年から14年にかけて減数しています。これは、この頃から開始した会費未納者の督促作業や実験動物関係ポストの変動あるいは減少とそれに伴う会員の異動と関係しているように思われます。会員の皆様方には、個人の年会費3,000円で年4回の有意義な学術集会に無料で参加でき、会報まで届くという「関西実験動物研究会」を積極的に関係者に紹介して頂き、会員数を増やすことにもご協力をお願いしたいと思います。現役員は残り2年の任期を残していますので、まずは責務を全うしたいと思います。引き続き宜しくお願い申し上げます。

謝辞

稿を終えるに当たり、本研究会の基盤を創られた故山田淳三先生、第2代宮畠宏彰会長、そして、助言と支援をして頂いてきた評議員、ならびに、会務に熱心に携

実験動物を

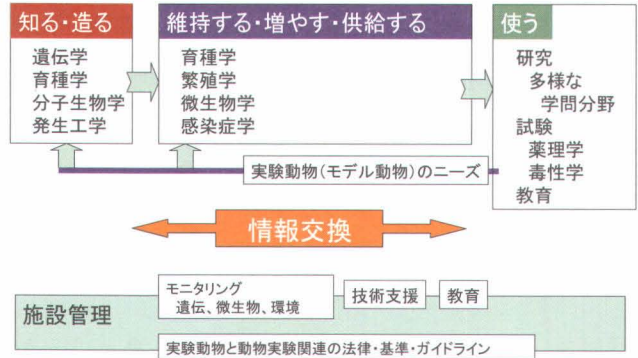


図5 実験動物学は異分野連携総合応用科学

(会員数)

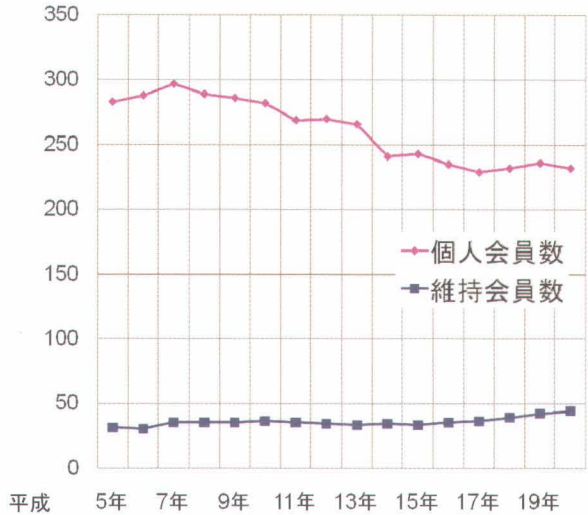


図6 関西実験動物研究会会員の推移

わって頂いた歴代の幹事、監査の皆様方（資料4「関西実験動物研究会歴代会長・幹事・監査名簿」参照）、会場を引受けて頂いた機関、特に高頻度に会場を提供し準備して頂いた黒澤努先生をはじめ大阪大学の関係者、京都大学の関係者には厚く御礼を申し上げます。維持会員の皆様方には本研究会をご支援下さりありがとうございました。最後になりますが、阿部敏男集会幹事長、山本好男編集委員長、喜多正和庶務・会計担当幹事、庫本高志庶務・会計担当幹事、そして、山口千佳子事務局員には、誠心誠意会務を担って頂いたこと、会員を代表して御礼申し上げます。

資料

- 1 関西実験動物研究会 研究会開催記録
- 2 関西実験動物研究会 会員研究発表記録
- 3 関西実験動物研究会 維持会員ニュース
- 4 関西実験動物研究会 歴代会長・幹事・監事名簿

資料1 関西実験動物研究会 研究会開催記録

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第1回	S59. 3.16 京大会館	学術講演会 関西実験動物研究会の発足にあたって	川俣順一	日本実験動物学会 理事長
		腸のフアブリキウス囊を冒すガンポ口病の功罪	堀内貞治	大阪府立大・農
		生殖試験における行動発達検査の諸問題	谷村 孝	近畿大・医
第2回	S59. 7.13 京大会館	シンポジウム 老化促進モデルマウス (SAM) について		
		SAM の開発とその意義	竹田俊男	京大・結核研
		SAM に見られる形態学的変化について	竹下修史ら	京大・結核研
		SAM に沈着するアミロイド蛋白 (A S sam) 諸特性	樋口京一ら	京大・結核研
		SAM における皮膚結合組織の加齢変化	樋口佳代子ら	京大・結核研
		SAM にみられる骨格系の加齢変化	松下 睦ら	京大・結核研
SAM における老化制御-その1つの試み-	河野篤子ら	京大・結核研		
第3回	S59. 10.18 京大会館	学術講演会 Bacterial Translocation in immune-deficient hosts experiment	Rodney D. Berg	米国レイジアナ州立大
第4回	S59. 12.18 京都教育文化センター	学術講演会 Current trend for degradation of animal experiment	G. J. R. Hovell	ICLAS Secretary General
第5回	S60. 3.15 京大楽友会館	会員研究発表13題		
第6回	S60. 6.14 京大楽友会館	学術講演会 G L P の査察を行って	堀内茂友	国立衛生試験所
第7回	S60. 9.20 京大楽友会館	学術講演会 マウスのゲノム中に組み込まれたヒト遺伝子の発現	清水 章	京大・医
		—ヒト免疫関係系遺伝子を中心に— ヒトアミラーゼ遺伝子を中心に	石崎寛治	京大・放生研
第8回	S60.12.13 京都教育文化センター	会員研究発表13題		
第9回	S61. 3.7 京大楽友会館	シンポジウム 実験動物における人畜共通寄生虫症		
		はじめに	吉田幸雄	京都府立医大
		トキソプラズマ及びマラリア	松本芳嗣	京都府立医大
		赤痢アメーバ及びその他の消化管内寄生虫	吉川尚男	京都府立医大
		ニューモチスチス・カリニ	塩田恒三	京都府立医大
		犬猫蛔虫の幼虫移行	及川 弘	塩野義製薬
鞭虫及び糸状虫	山田 稔	京都府立医大		
総合討論とまとめ	吉田幸雄	京都府立医大		
第10回	S61. 7.3 京大会館	学術講演会 癌原性試験の現状と問題点	林 裕造	国立衛生試験所
第11回	S61. 10.3 京大会館	シンポジウム 哺乳動物卵及び胚取扱いに関する最近の進歩		
		初期胚のmicromanipulation	入谷 明	京大・農
		哺乳動物卵細胞の成熟培養	細井美彦	京大・農
卵子と胚の凍結保存	内海恭三	京大・農		
第12回	S61.12.12 大津おおみ荘	会員研究発表11題		
第13回	S62. 3.14 京都教育文化センター	講演会 ハルピン医科大学における実験動物事情	柳 英侠	ハルピン医大
		中国実験動物の現況	中村信議	生物化学開発
第14回	S62. 6.12 大阪科学技術センター	学術講演会 移植免疫、癌免疫の制御へのアプローチ		
		がん免疫療法の新しい動向 ア口抗原の経門脈投与による抗ア口免疫応答の寛容誘導と移植免疫への応用	濱岡利之 藤原大美	阪大・医・癌研 阪大・医

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第15回	S62. 9.12 京大会館	講演会		
		実験動物における腎臓の毒性病理 欧米におけるGLPの実施状況について	宮脇宏彰 柴生田正樹	武田薬品工業 武田薬品工業
第16回	S62. 12.4 京大会館	特別講演		
		動物細胞による生理活性物質の合成 会員研究発表14題	河本 馨	東大・農
第17回	S63. 3.11 京大薬友会館	講演会		
		自然発症肝炎・肝癌ラット肝における GST 分子種の発現現象 自然発症てんかんラットの作出とその応用	松本耕三 芹川忠夫	徳島大・医 京大・医
臨時研究会	S63. 7.7 京大会館	英国における実験動物技術師の現況と動物実験	Peter M. Scobie	英国サリー大
第18回	S63. 6.24 三和化学研究所大 メディカルホール	講演会		
		東大獣医学科における実験動物学教育・研究の現状と展望 北海道大学獣医学部実験動物学講座における教育と研究の将来	土井邦雄 林 正信	東大・農 北大・獣医
第19回	S63. 9.30 京大会館	講演会		
		大阪府立大学農学部における実験動物学教育の現状と実験動物学講座 実験動物ケアと全国共同利用施設動物実験研究教育訓練センター構想	森岡宏至 黒澤 努	大阪府大・農 阪大・医
第20回	S63.12.9 京大薬友会館	会員研究発表11題		
第21回	H1. 3.3 三和化学研究所大 メディカルホール	講演会		
		毒性試験における統計解析 癌原性試験における統計解析	吉村 功 菅野 純	名古屋大・工 東京医歯大
第22回	H1. 6.23 京大会館	講演会		
		霊長類におけるATLーおよびAIDSー関連ウイルス 日本ザルの集団構造の遺伝学的解析	速水正憲 野澤 謙	京大・ウイルス研 京大・霊長類研
第23回	H1. 9.22 阪大工業会館	講演会		
		臓器移植研究における動物実験について ステロイド応答機構と実験動物	門田守人 佐藤文三	阪大・医 阪大・医
第24回	H1. 12.2 京都市国際交流会	特別講演		
		Developmental regulation of human globin genes in transgenic mice 会員研究発表6題	R. Behringer	米国ペンシルベニア大・獣医
第25回	H2. 3.9 芝蘭会館	講演会		
		ヨーロッパの実験動物施設を巡って 唾液腺涙腺炎ウイルス (SDAV) の繁殖障害	山中 久 内海健二郎	ラビトン研究所 大日本製薬
第26回	H2. 6.8 大阪科学技術センター	講演会		
		ラットに自然発生した腎性骨異栄養症 (Renal osteodystrophy) の病態 自己免疫疾患モデルマウス MRL に関する遺伝、育種学的研究- lpr 遺伝子発現に及ぼす Yaa 遺伝子の影響 -	飯田晶敏 宮脇茂樹	大日本製薬 日本新薬
第27回	H2. 9.29 大阪府立大学 学術交流会館	講演会		
		輸入カニクイザルにおけるエボラウイルス感染 遺伝性の形態形成異常を示すニホンウズラー一耳房 (ET)および喉房 (TT)系統についてー	山内一也 都筑政記	東大・医科研 大阪府大・農
		WHHL rabbit の開発と現況	渡部嘉雄	神戸大・医
第28回	H2. 12.14 京都教育文化センター	特別講演		
		実験動物の環境統御 会員研究発表13題	山内忠平	鹿児島大・医
第29回	H3. 3.9 阪大微研	講演会		
		生殖細胞の分化 ラット血液のレオロジー	西宗義武 志賀 健	阪大・微研 阪大・医
第30回	H3. 6.14 京大薬友会館	講演会		
		ヒマラヤ高地でのニホンザルの生理的諸事象 ニホンザルの生殖生理学的特性と室内人工繁殖の試み	松林清明 鳥居隆三	京大・霊長類研 滋賀医大

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第31回	H3. 9.27 京大会館	講演会		
		マスト細胞欠損動物 私の研究と実験動物	北村幸彦 野村大成	阪大・医 阪大・医
第32回	H3.12.6 京大会館	特別講演		
		ジャクソン研究所について 会員研究発表14題	小泉 勤	福井医科大
第33回	H4. 3.6 阪大医学部講義棟	講演会		
		発生毒性試験における in vitro 試験法とその意義について イヌ・ネコ寄生虫卵による環境汚染について	塩田浩平 及川 弘	京大・医 塩野義製薬
第34回	H4. 6.5 京大会館	講演会 Gene Therapy : Prospects and Progress	Edward H. Schuchman	米国マウントシナイ 医科大学
第35回	H4. 10.9 千里ライフサイエ スセンタービル	講演会		
		毒性試験における臨床検査正常値－製薬協が行った アンケート調査から－ GCP と医療倫理	海野 隆 須原郁雄	鐘紡 武田薬品
		毒性試験における国際的ハーモニゼーション - ICHの めざす効果	菊池康基	製薬協・基礎研究部
第36回	H4.12.4 京大薬友会館	講演会 実験動物のZoonosis 会員研究発表19題	上田雄幹	岐阜大・農
第37回	H5. 3.5 京大会館	講演会 ラットにおける生化学的遺伝子座の開発から染色体 地図の作成まで	山田淳三	京大・医
第38回	H5. 6.18 千里ライフサイエ スセンタービル	講演会		
		腎症候性出血熱 (HFRS) の汚染対策 HFRS 抗体陽性ラットの摘発事例 動物実験とHFRS	芹川忠夫 西宗義武	京大・医 阪大・微研
第39回	H5. 9.17 阪大医学部講義棟	講演会		
		実験動物の臨床検査 毒性試験における臨床検査の意義 実験動物臨床検査の問題点	降矢 強 米澤秀利	国立衛生試験所 小野薬品
		毒性試験臨床検査の国際ハーモニゼーション	野村 護	第一製薬安全研
第40回	H5. 12.11 京大会館	創立10周年記念大会		
		特別講演(会長講演) ICH-2における安全性試験及びトキシコキネ ティックスの動向	宮嘉宏彰	武田薬品工業
		関西実験動物研究会 10周年によせて	松本清司	信州実験動物研究会
		関西実験動物研究会 10周年によせて	織田 統	東海実験動物研究会
		関西実験動物研究会 10周年によせて	佐藤勝紀	岡山実験動物研究会
		関西実験動物研究会 10周年のあゆみ 会員研究発表14題	山田淳三	京大・医
第41回	H6. 3.4 阪大医学部講義棟	講演会		
		疾患モデル動物の病態に及ぼす飼料の影響 高血圧モデルラット(SHRSP)の病態に対する 食餌成分の影響	大原忠雄	塩野義製薬
		II型糖尿病モデル動物Wistar fattyラットの 病態に対する食餌成分の影響	池田 衛	武田薬品工業
		糖尿病モデルラット(WBN/Kob)の病態に 及ぼす飼料の影響	西村正彦	浜松医大
第42回	H6. 6.17 京大薬友会館	講演会		
		感染症 実験動物学領域でのカリニ肺炎研究とヒト臨床医学 への応用	北田一博	京大・医
		エキノコックスの生物学 - 包虫症の研究と実験動物の 関わり	岡本宗裕	阪大・医
		実験動物とエルシニア	杉山芳宏	筑波大
第43回	H6. 9.30 武田薬品工業吹田	講演会 免疫毒性 免疫毒性－免疫学から免疫毒性学へ－ 免疫毒性の現状	西条武俊 牧 栄二	武田薬品工業 ヤンセン協和

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第44回	H6. 12.2 京大会館	特別講演 遺伝子ノックアウトマウスを利用したT細胞の発生と機能の解析 動物実験をめぐる法的規制-廃棄物処理を中心に-	糸原重美	京大・ウイルス研
		会員研究発表12題	海野 隆	鐘紡
第45回	H7.3.10 国立循環器病センター	講演会 アガロースマイクロカプセル化ラ氏島のイヌ同種移植への適用	田代 秀夫	国立循環器病センター
		肺高血圧症に対する実験治療	川口 章	国立循環器病センター
		会長講演 実験動物における比較動物学	宮島宏彰	新日本科学
第46回	H7.6.16 京大会館	講演会 医療の発展における実験用イヌの貢献	芹川忠夫	京大・医
		医療の発展における実験用イヌの貢献	井上寛治	京大・医
		新しい医療器具の開発 - イノウエバルーンカテーテルおよび経管的人工血管移植術	中村達雄	京大・生体医工研
		臨床用人工臓器開発における動物実験による評価 - 人工気管・人工食道の開発		
第47回	H7.9.22 阪大銀杏会館	講演会 ICH-3 に向けて医薬品の安全性試験をめぐる最新の話題	白井敏仁	ヤンセン協和
		癌原生試験をめぐる諸問題 非臨床試験と臨床試験のタイミング	馬屋原 宏	武田薬品工業
第48回	H7.12.8 京大楽友会館	特別講演 プリオン病の動物実験	毛利資郎	九州大・医
		疾患モデル動物からヒト疾患へ - 遺伝性腎癌ラット (Eker rat) とヒト結節性硬化症の接点を求めて -	樋野興夫	癌研
		会員研究発表11題		
第49回	H8.3.8 阪大コンベンションセンター	講演会 適切な実験動物の飼育管理と動物実験の管理	斎藤 徹	日本獣医畜産大
		実験動物の繁殖行動と飼育管理 動物実験の管理とサル感染症	吉川泰弘	国立予防衛生研究所
第50回	H8.6.28 阪大銀杏会館	講演会 ハンタウイルス感染症と動物実験：腎症候性出血熱をめぐる最近の話題		
		ハンタウイルス感染症とHPSの現状	倉田 毅	国立予防衛生研究所
		動物実験施設におけるハンタウイルス抗体保持ラットとその対策	芹川忠夫	京大・医
		実験的低抗体価ラットとその感染性	室前嘉代子	阪大・微生物病研
		PCR法によるハンタウイルスRNAの検出	伊勢川裕二	阪大・微生物病研
		ハンタウイルス感染の血清診断法の現状	有川二郎	北大・医
まとめ	山西弘一	阪大・医		
第51回	H8.9.20 阪大医学部講義棟	講演会 代替法をめぐる最近の話題		
		医薬品毒性試験における代替法導入の現状	橋本正晴	藤沢薬品工業
		化粧品原料における眼粘膜刺激性試験代替法のバリデーション		
1) バリデーションの開始にあたって	金子豊蔵	国立衛生試験所		
2) その全体計画と結果	柿島 博	鐘紡		
第52回	H8.12.6 京大会館	特別講演 疾患モデル動物を用いた高血圧・循環器病遺伝子の研究	檜垣貴男	阪大・医
		新しい循環調節ペプチド：アドレノメデュリンとPAMP	寒川賢治	国立循環器病センター
		会員研究発表15題		
第53回	H9.3.7 京大会館	講演会 臨床から動物実験そして臨床へ		
		肥満遺伝子産物（レプチン）と受容体の分子機構 - Genetics から臨床応用へ -	小川佳宏	京大・医
		血圧制御研究からの発展 - 遺伝子から表現型へ：表現型から遺伝子へ -	深水昭吉	筑波大

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第54回	H9. 6.6 阪大銀杏会館	講演会 がん原生試験を指向する - その理論と実際 - ICH における発がん性試験ガイドラインの動向および 今後の展望：トランスジェニックマウスを用いた短期 発がん性試験法 前癌病変を指標とした中期発癌性試験	三森国敏 立松正衛	国立衛生試験所 愛知県がんセンター研
第55回	H9. 9.12 芝蘭会館	講演会 HVJ リボソーム法による生体への遺伝子導入法とその 応用 生体組織への遺伝子導入による新たな実験動物系の開発 in vivo遺伝子導入法を用いた糸球体病変の病態解析	金田安史 猪阪善隆	阪大・細胞生体工学 センター 阪大・医
第56回	H9. 12.5 阪大銀杏会館	特別講演 個体レベルでの遺伝子機能研究と動物実験 医薬品開発過程における薬物体内動態予測：実験動物 からヒトへ、試験管から個体へ 会員研究発表20題	日下部守昭 杉山雄一	理研 東大・薬
第57回	H10. 3.6 京大会館	講演会 マウスの新たな利用法を求めて マウス突然変異を利用した形態形成機構の解析 ヒト染色体導入マウスの作製とその応用	城石俊彦 押村光雄	国立遺伝学研究所 鳥取大・医
第58回	H10. 6.19 阪大コンベンショ センター	講演会 実験動物を用いた新興細菌感染症の研究と伝染病予防 法の改正 ヒトにおける Helicobacter 感染と動物モデル マウスモデルにおける腸管出血性大腸菌O157 感染の 病態解析 伝染病予防法改正に伴う動物由来感染症対応の方向性	喜多正和 喜多英二 内田幸憲	京都府立医大 京都府立医大 神戸検疫所
第59回	H10. 9.11 阪大友会館	講演会 受精機構の新たな研究展開と内分泌攪乱物質の生殖系 への影響 緑色蛍光蛋白質を組み込んだ遺伝子改変動物とその 応用 内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）が生殖へ及ぼす 影響；特に、ヒト精子形成への影響について トリフェニルスズのラットにおける生殖毒性	岡部 勝 森 千里 江馬 眞	阪大・遺伝情報実験施 設 京大・医 国立医薬品食品衛生研 究所
第60回	H10. 12.4 みやこメッセ	特別講演 臨床試験実施に関する非臨床試験データの意義 ICH Common Technical Document (CTD) Guideline on Registration of New Medical Products: Status of CTD Safety Section JVS(juvenile visceral steatosis)マウスの原因遺伝子 の探索 会員研究発表13題	内田英二 河合睦文 早川純一郎	昭和大・医 リリーリサーチラボラ トリーズジャパン 金沢大・医
第61回	H11. 3.5 京大会館	講演会 実験動物：育種繁殖領域からの新たな展開 リコンビナント・インブレット系マウスを用いた研究 サル類の医学生物学分野における利用のための人工繁 殖	西村正彦 和 秀雄	名古屋大・医 阪大・人間科学
第62回	H11. 6.11 阪大銀杏会館	講演会 生殖発生毒性試験を考える 毒性試験における精子検査の意義と方法 ヒトの先天異常研究における動物実験の意義	川島邦夫 谷村 孝	国立医薬品食品衛生研 近畿大・ライフサイエ ンス研
第63回	H11. 9.10 阪大銀杏会館	講演会 疾患モデル：ヒトとマウスの種差を越えて Genetic Engineered Mice と動脈硬化研究 糖尿病血管症へのトランスジェニックアプローチ	平野賢一 山本 博	阪大・医 金沢大・医
第64回	H11. 12.3 みやこメッセ	特別講演 疾患モデルからヒトへ - 予知・予防医学への貢献 会員研究発表17題	家森幸男	京大・人間・環境学研

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第65回	H12. 3.3 京大会館	講演会 実験動物の国際化を巡って 実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向 Informatics in Laboratory Animal Science	黒澤 努 Ken Boschert	阪大・医 米国ワシントン大
第66回	H12. 6.2 阪大銀杏会館	講演会 医薬品開発の前臨床試験における新しい動向と国際戦略を考える 医薬品の創薬・開発研究における安全性評価の新しい動向 医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方	堀井郁夫 松澤利明	日本ロッシュ 山之内製薬
第67回	H12. 9.22 阪大コンベンションセンター	講演会 高次神経機能を動物実験により解明する プログラム細胞死の人為的操作による神経疾患治療の試み アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構 哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達	三浦正幸 今泉和則 畠 義朗	阪大・医 阪大・医 阪大・医
第68回	H12. 12.1 みやこメッセ	特別講演 Pre-B リンパ腫好発系 SL/Kh マウスの遺伝学的研究 サル(カニクイザル、ニホンザル) ES 細胞株の樹立とこれからの展開 会員研究発表14題	日合 弘 鳥居隆三	京大・医 滋賀医大
第69回	H13. 3.2 京大会館	講演会 実験動物の微生物モニタリング項目に関する最近の動向 遺伝子改変動物の授受に伴う微生物感染の増加と実験への影響 実験動物を取り巻く環境の変化とICLASモニタリングセンター微生物検査項目の見直し 実験動物品質の国際標準化 AALAS Health Monitoring Committeeの動向	八神健一 高倉 彰 黒澤 努	筑波大 実験動物中央研究所 阪大・医
第70回	H13. 6.15 阪大銀杏会館	講演会 バイオメディカルサイエンスにおける遺伝子改変動物等を用いた新規アプローチの紹介 神経細胞特異的なノックアウトに必要な動物の開発 糖転移酵素遺伝子ノックアウトマウスを用いた糖鎖機能の解析 遺伝子から見た哺乳動物精子形成の特徴	鈴木 昇 浅野雅秀 野崎正美	三重大・医 金沢大・医 阪大・医
第71回	H13. 9.28 京大会館	講演会 マウス・ラットの行動解析と痴呆症の動物モデル 概日行動の分子生物学 老化促進モデルマウスの加齢依存性の行動変化とその特性 痴呆症の動物モデルを考える－脳内サイトカインとβ-アミロイド前駆物質の見地から－	海老原史樹文 宮本政臣 山本経之	名大院・生命農学研 武田薬品工業 九州大・薬
第72回	H13.12.14 みやこメッセ	特別講演 マウスの歴史と遺伝子の歴史 実験用ラットの価値 会員研究発表15題	森脇和郎 芹川忠夫	理研 京大・医
第73回	H14. 3.8 京大会館	講演会 動物を用いた発がん研究の最前線 実験動物を用いたヒト発ガン研究－遺伝子機能を共通言語として 環境発がん物質には閾値が存在するか	牛島俊和 福島昭治	国立がんセンター 大阪市大・医
第74回	H14. 6.14 阪大銀杏会館	講演会 生殖・発生研究の最前線 卵胞選択の制御機構：顆粒層細胞に特異的な新規細胞死受容体について クローンマウスの特徴と応用	眞鍋 昇 若山照彦	京大・農 理研

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第75回	H14. 9.6 阪大友会館	講演会 組換え動物の利用と規制 マウス生体への新しい遺伝子導入法	宮崎純一	阪大・医
		組換えDNA実験指針改定に伴う動物を用いる実験の取り扱い	安居院高志	名市大・医
第76回	H14. 12.6 みやこメッセ	特別講演 マウスモデルを用いた大腸癌の形成とその化学予防の研究	武藤 誠	京大・医
		会員研究発表17題		
第77回	H15. 3.7 京大会館	講演会 西ナイルウイルスの最新情報 パイオエマーゼンシーとしての米国のアルボウイルス感染症	高崎智彦	国立感染研
		西ナイルウイルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明	真下知士	京大・医
第78回	H15.6.6 大阪府立大学 学術交流会館	講演会 細菌感染症の病原因子と病態 下痢原性大腸菌の病原性—遺伝子解析から見てきたこと—	山崎伸二	大阪府立大・農
		細菌性病原因子と生体成分の相互作用—百日咳菌壊死毒の分子作用機構—	堀口安彦	阪大・微生物研
		ボツリヌス毒素に関する最近の研究動向	小崎俊司	大阪府立大・農
第79回	H15. 9.26 奈良猿沢荘	講演会 腎疾患モデルと投与採血の指針 繊維芽細胞を中心とした間質繊維化の発症機構について	岩野正之	奈良県立医大
		純系高IgA血症マウス(HIGA)の開発と病態解析	武智恵理	北野病院
		被験物質の投与と採血に関するガイドライン	中井伸子	日本新薬
第80回	H15. 12.5 みやこメッセ	創立20周年記念大会 記念フォーラム 動物実験の明日を考える 動物実験と実験動物施設が抱える明日への問題点	池田卓也	グラクソ・スミスクライン
		ポストゲノム時代と産官学連携時代における実験動物学	北田一博	北大・先端科技共同研
		国際的実験動物、動物実験の法規制の趨勢そして国立大学の独立行政法人化	黒澤 努	阪大・医
		特別講演 重点先端分野(BT,IT,NT)の融合という名の研究推進	鳥居宏次	奈良先端科学技術大
		特別シンポジウム 実験動物の大きいなる活用 プラナリアに再生の秘密を学ぶ	阿形清和	理研
		生命科学における脊椎動物モデルとしてのメダカ	古谷 清木 誠	科学技術振興財団
		滑らかな運動制御のための脳による情報処理	河野憲二	京大・医
第81回	H16.3.5 京大会館	講演会 糖尿病モデル動物の開発、解析、そして応用へ KDP ラット—1型糖尿病モデルの特性と解析	横井伯英	神戸大・医
		糖尿病モデルマウス—秋田マウスの特性	小泉昭夫	京大・医
第82回	H16. 6.25 神戸臨床研究情報センター	講演会 再生医療を支える基礎研究のトピックス E S細胞分化の試験管内誘導	西川伸一	理研
		生殖細胞系列におけるゲノムインプリンティング研究における最新のトピックス	石野史敏	東京医科歯科大
第83回	H16. 9.24 琵琶湖ホテル	講演会 非侵襲的生体内細胞追跡法、MRIによる細胞トラッキングとPETによる分子イメージング 実験動物のMRI画像—生体内移植幹細胞の無侵襲追跡を例にして	犬伏俊郎	滋賀医科大
		PETを用いる分子イメージング	古川高子	福井大・高エネルギー医学研

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第84回	H16. 12.10 みやこメッセ	特別講演		
		身体の時間を刻む時計遺伝子	岡村 均	神戸大・医
		遺伝的変異体の作成とその形態形成機構解明への応用	横山尚彦	京都府立医大
会員研究発表16題				
第85回	H17. 3.4 京大会館	講演会		
		腸内フローラについて学ぶ		
		腸内フローラと生体反応	伊藤喜久治	東大・農
		腸内フローラとToll-like receptor	竹田 潔	九大・生体防御医研
第86回	H17. 6.10 阪大銀杏会館	講演会		
		受精機構の神秘を解く		
		アンジオテンシン変換酵素(ACE)の新機能：GPIアンカー型蛋白質遊離による受精への関与	近藤 玄	京大・再生研
		精子が卵子と出会うまで	馬場 忠	筑波大
		遺伝子操作動物を通して見る受精のメカニズム	岡部 勝	阪大・微生物病研
第87回	H17. 9.2 京大会館	講演会		
		個体レベルの遺伝子操作による中枢神経系の発生と機能の解析		
		哺乳動物のneuronal identity 決定の分子機構	斎藤哲一郎	千葉大・医
		代謝型グルタミン酸受容体遺伝子操作マウスを用いた小脳の機能解析	餐場 篤	神戸大・医
第88回	H17. 12.2 みやこメッセ	特別シンポジウム		
		実験動物関連法に係る対処と展望		
		サル飼育に関連した新規法律と省令改正 とくに外来生物法と感染症法等について	鳥居隆三	滋賀医科大
		動物の輸入届出制度における実験用げっ歯類の輸入の実際	八神健一	筑波大
		実験動物と動物実験に関わる規制の最近の動向	浦野 徹	熊本大・生命資源研
会員研究発表16題				
第89回	H18. 3.3 京大会館	講演会		
		ヨーロッパからの風		
		イギリスから ~ 鼻粘膜からの神経幹細胞分離とその有用性の検討	桑村 充	大阪府立大
		ドイツから ~ 脊椎形成メカニズムの分子遺伝学研究	今井賢治	東海大・医
第90回	H18. 6.9 阪大銀杏会館	講演会		
		彩る研究拠点 - 北大阪に注目		
		国立循環器病センター研究所動物飼育施設の現状と展望	塩谷恭子	国立循環器病センター研
		基盤研実験動物開発研究室の紹介 - 特に基盤研動物資源バンクについて -	松田潤一郎	医薬基盤研究所
		各種実験動物の性腺刺激ホルモン配列比較と過排卵技術の改良	鈴木 治	医薬基盤研究所
		プロスタグランジンD合成酵素の構造と機能について	裏出良博	大阪バイオサイエンス研
第91回	H18. 9.8 京大会館	講演会		
		実験動物と特許：出願から事業化まで		
		「実験動物/リサーチツール」に関する特許上の諸問題について	宮脇茂樹	日本新薬
		実験動物に関する特許出願は、どうあるべきか？	寺西 豊	京大・医
		大規模ノックアウトマウスプロジェクトとその特許	山村研一	熊本大・発生医学研究センター
第92回	H18. 12.8 みやこメッセ	特別講演		
		ラットとラット形ロボットを用いた生物とロボットの共生に関する研究	石井裕之	早稲田大・理工
		Klotho蛋白が制御する新たな生体応答システム	鍋島陽一	京大・医
会員研究発表19題				
第93回	H19. 3.9 京大会館	講演会		
		実験動物の感染症：過去～現在～未来		
		実験動物の微生物感染症-わが国で認められた実験動物固有及びズーノチックウイルス感染症	佐藤 浩	長崎大
		実験動物におけるE型肝炎ウイルス感染の現状	山本 博	富山大
		感染症法の改正：伝染病予防法から改正感染症法までの変遷	喜多正和	京都府立医大

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第94回	H19. 6.8 大阪医科大講義棟	講演会 実験動物と薬効評価 特定保健用食品をはじめとする健康食品の研究・開発	木曾良信	サントリー
		アンジオテンシンⅡ抑制薬の新しい薬効の発見	宮崎瑞夫	大阪医科大薬理学
第95回	H19. 9.14 神戸大・神緑会館	講演会 トランスレーショナルリサーチにおけるウサギの重要性 トランスレーショナルリサーチにおけるWHHLウサギの役割ー高脂血症、動脈硬化等についてー	塩見雅志	神戸大・医
		Transgenic Rabbits for Translational Research	範 江林	山梨大・工学総合研
		凍結精子による遺伝子組換えウサギの系統保存	北島修司	佐賀大・総合分析実験センター
		実験用ウサギのSPF化と胚保存ーSPFウサギ作出の歴史、病態モデルウサギ維持生産のためにー	桑原吉史	北山ラベス
第96回	H19.12.14 みやこメッセ	特別講演 精神疾患モデル動物に必要な条件：行動をどう評価するか？	鍋島俊隆	名城大・薬
		疾患モデル動物の開発とその応用：特にてんかんモデル動物を中心に	笹 征史	広島大・医
		会員研究発表16題		
第97回	H20. 3.7 京大会館	講演会 マラリアとショウジョウバエ マウスを用いたマラリア研究の醍醐味	大野民生	名古屋大・医
		疾患モデル動物としてのショウジョウバエ	山本雅敏	京都工繊大
第98回	H20. 6.13 京大会館	講演会 われらが評議員の研究から学ぶ 遺伝解析：実験動物から家畜へ	山田宜永	京大・農
		ヒトに寄生するサナダムシーTaenia属条虫の生物学ー	岡村宗裕	鳥取大・農・獣
		生物の雄・雌が決まる仕組みとその破綻機構の解明ー性決定の分子遺伝学	星 信彦	神戸大・農
第99回	H20. 9.12. 阪大銀杏会館	講演会 動物実験の科学的・倫理的な実施とその成果 日本学術会議が提言した第3者認証とその現在ー AAALAC International の国際認証との関連でー	黒澤 努	阪大・医
		実験用ラットの価値を高める研究	芹川忠夫	京大・医
		リンパ球動態研究における動物実験の重要性	宮坂昌之	阪大・医
第100回	H20.12.5 聖護院御殿荘	特別講演 モデル動物の開発と脳研究	中西重忠	大阪バイオサイエンス研究所
		講演会 動物実験～過去・現在・未来 関西動物実験研究会のあゆみ	芹川忠夫	京大・医
		動物実験と法基準	黒澤 努	阪大・医
		遺伝育種	庫本高志	京大・医
		微生物感染症	池 郁生	理研BRC
		環境	朱宮正剛	
		疾患モデル	岩倉洋一郎	東大・医
		創薬	小高裕之ら	武田薬品工業

資料2 関西実験動物研究会 会員研究発表記録

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第5回	S60.3.15 京大楽友会館	玉田尋通ら	大阪府大・農	Clenbuterolが分娩期のラット子宮運動に及ぼす影響
		吉岡智恵子ら	大阪府大・農	各種動物の雄尿が雌マウスの性機能に及ぼす影響
		森岡宏至	大阪府大・農	In vitro におけるハムスターの排卵に関する平滑筋収縮因子
		鳥居隆三	滋賀医大	小型霊長類、マーモセット類の内分泌学的特質、とくに副腎皮質および臍内分泌
		塩見雅志ら	神戸大・医	WHHL rabbitの繁殖能力に及ぼす近交退化ならびに高脂血症の影響
		西川 哲ら	静岡協	22近交系ラット系統に於ける生化学的標識遺伝子構成の検索
		芹川忠夫ら	京大・医	LPS-E.coli 055免疫マウスにおけるM-component like IgG3の発現とその遺伝
		伊原信夫ら	関西医大	エンドトキシシヨック易発系モデル (ICR/1-系白内障ラット) における劇症型肝炎の発症
		武下政一ら	田辺製薬	ウサギの脊柱前弯症について
		湊 良雄ら	田辺製薬	ラットの自然発症性黄紋筋肉腫及び脂肪肉腫 (症例報告)
		伊東隆康ら	武田薬品	ラットの死後変化に関する病理組織学的検討
		青野皆基ら	武田薬品	頸静脈内留置カニューレを利用した多数のラットに対する長期反復静注法
		古河恵一ら	近大・医	近畿大学・医・共同研究施設実験動物室の紹介並びに利用状況について
第8回	S60.12.13 京都教育文化センター	山田淳三ら	京大・医	【(BMxTM)xTM】戻し交配ラットによるリンカーズの検索
		大野行弘ら	京大・医	Tremorラットにおける欠伸様発作
		片山泰人	岡山大・医	てんかんモデル動物としてのCBAマウス
		荒井 哲ら	大阪府大・農	外植ハムスター卵巣の排卵におけるplasmin系酵素の関与について
		岸本真弓ら	大阪府大・農	ラットの性行動-卵巣除去後Estrogen処置を行ったラットのロードシス商の日内変動
		茶谷文雄ら	武田薬品	F344ラットの精巣間細胞腫に対するテストステロン持続投与の影響
		山下浩文ら	塩野義製薬	ホルモン産生ラット下垂体腫瘍株の樹立とその特性
		高田美津子ら	阪大・医	Wistar-Furth系ラット 自然発生大腸癌
		飯田晶敏ら	大日薬・総研	高血圧自然発症ラット(SHR)の生涯飼育試験: 血圧、蛋白尿および腎・心血管系の病理組織像
		久世 博ら	田辺製薬	薬剤誘発眼疾患モデルとしての実験動物
		和田 功ら	田辺製薬	感覚器 (蝸牛、水晶体) の固定法について
		森嶋英喜ら	武田薬品	ラット、マウスおよびイヌ消化管上皮における非特異的エステラーゼ活性の局在について
		野田 勉ら	大阪市環科研	ラットの血液、血清成分および臓器重量の正規化におよぼす加齢の影響
第12回	S61.12.12. 大津おおみ荘	近藤 靖ら	京大・医	ラット涙液蛋白の2遺伝的多型
		森 政之ら	京大・医	ラットAngiotensinogen遺伝子のRFLP
		片山泰人ら	岡山大・医	Waardenburg症候群モデルネコおよびイヌ: 眼および耳の組織学的観察
		武下政一ら	田辺製薬	遺伝性高脂血症ラットの長期飼育
		林 新茂ら	武田薬品	SDラットにみられた赤白血病
		茶谷文雄ら	武田薬品	F344ラットの精巣間細胞腫の発生に及ぼすテストステロン、エストロゲンおよびLHRHアナログの長期投与の影響
		浅野裕三ら	田辺製薬	ラットを用いての振動反応方式による自発運動量の測定及び特徴
		山本好男	滋賀医大	ハムスターのアルコール嗜好性について
		三日月幸治ら	塩野義製薬	ネコの電気射精法による精液の症状
塚原清志ら	塩野義製薬	受精卵移植によるPasteurella pneumotropica の除去		
山之内孝尚ら	阪大・医	動物実験施設の実験環境保全の問題点-施設運営20年の経験を通じて		
第16回	S62.12.4 大阪科技センター	寺嶋昭夫ら	科研製薬	低栄養状態下によるラット肝への影響
		水野信哉ら	北大	可移植性肉腫を再接種されたイヌにおけるリンパ球の態度
		永江祐輔ら	日本チバガイギー	ラットの血液学的検査値に及ぼす採血方法の影響
		平沢 勉ら	塩野義製薬	実験小動物の微生物モニタリングへのELISA導入の検討
		大野周三ら	藤沢薬品	バリヤー施設での手指消毒効果
		田中丸善洋ら	武田薬品	若齢ラットに自然発生した後軀麻痺の病理学的検討

回	日時・会場	講演者	所属	演題
		坂本雄二ら	千寿製薬	遺伝性白内障マウス(cacマウス)にみられた異常症状について
		林 新茂ら	武田薬品	cacマウスにみられた自然発症リンパ腫
		永井博文ら	武田薬品	若齢ラットにみられた自然発生唾液腺腫瘍
		山村高章ら	田辺製薬	Tremorラットの生殖器病変について
		今泉和則ら	田辺製薬	ラットの真性半陰陽の一例
		小岸克美ら	京大・医	自然発症てんかんラット(SER)を用いた抗てんかん薬の評価
		東盛友紀ら	阪大医病	糖尿病発症遅延NODマウスの観察
		東條英明ら	富山医科大	ヒトAγ/β-グロビン遺伝子によるトランスジェニックマウス
第20回	S63.12.9 京大薬友会館	塚原清志ら	塩野義製薬	マウス初期胚凍結保存の実用化の検討
		神田政典ら	塩野義製薬	猫の発情誘起と人工授精に関する研究
		T.Shibukawa ら	島根医科大学	Genetical differences in blood pressure changes during pregnancy in fat rats
		茶谷文雄ら	武田薬品	hCGによるラット精巢の限局性壊死
		田中丸善洋ら	武田薬品	アラビアゴムの非経口投与によるラット肝臓及び脾臓の変化
		西田敦之ら	田辺製薬	ラットを用いてのシャトルボックス回避学習試験における至適条件の検討
		村口武彦ら	京大・医	CXB RI 系統におけるPTZ誘発けいれんの変異
		東條英明ら	富山医薬大	トランスジェニックマウスに観察された特異マウス
		坂田信幸ら	阪大・医	LECラットの飼育繁殖試験
		内海健二郎ら	大日本製薬総研	LBC細胞で増殖したラット唾液腺腺炎ウイルスの抗原性
		小嶋明廣ら	マルゴリサーチ サービス	SPFビーグル新生仔のイヌヘルペスウイルス感染症
第24回	H1.12.2 京都市国際交流 会館	北田一博ら	京大・医	医科系大学動物実験施設におけるPneumocystis carinii 汚染調査
		及川 弘ら	塩野義製薬	ネコの寄生虫について
		久世 博ら	田辺製薬	各種病態モデルラット(Tremor,ZitterおよびSER)における聴性脳幹反応(ABR)
		黒川あかねら	田辺製薬、	カフェインによって誘発された鶏胚の心血管奇形
		加藤仁五ら	藤沢薬品	食塩及び妊娠の高血圧自然発症のラットに及ぼす影響
		阿倍敬男ら	武田薬品	ラットの切歯に及ぼす薬剤の影響
第28回	H2.12.14 京都教育文化セ ンター	山村高章ら	田辺製薬	幼若ビーグルにおける視聴器の発達について
		林 新茂ら	武田薬品	Fischer344ラットにみられた鼻咽頭管腫瘍
		城塚康毅ら	武田薬品	ラット腎臓におけるα2u-globulinの免疫組織化学的研究
		新谷 聡ら	循環器センター	食餌性高脂血症を容易に発症するウサギの系統開発
		安江正明ら	京大・医	体細胞交雑法によるラット第IX, X関連群の第20,13染色体へのあてはめ
		須磨正人ら	田辺製薬	ラットおよびマウスの給水作業の検討
		大野周三ら	藤沢薬品	消毒薬中で検出されたPseudomonas sp.に関する検討
		三日月幸治ら	塩野義製薬	モルモットのBordetella bronchiseptica検査に酵素免疫測定法
		中尾博之ら	塩野義製薬	JY-2モルモットの繁殖整理に関する検討
		久保政美ら	富山医薬大	PCR法による動物胚の性別判定について
		吉岡 勝ら	武田薬品	ラットの血液学的所見に及ぼす反復採血の影響
		周参見正行ら	田辺製薬	自然発症てんかんラットの臨床化学的検討
		菱川尚樹ら	田辺製薬	自然発症てんかんラットの心機能に関する研究
第32回	H3.12.6 京大会館	芹川忠夫ら	京大・医	RAPDs(Random Amplified Polymorphic DNA Markers)のマウスとラット遺伝子マッピングへの応用
		浅野裕三ら	田辺製薬	自然性てんかん様大発作発症ラットにおける初期行動の発達について
		井上孝良ら	武田薬品	ラットにおける免疫毒性試験: Plaque forming cell (PFC)のPFC値に及ぼす影響
		三日月勝見ら	塩野義製薬	種々実験用動物のBordetella bronchiseptica検査結果
		武藤彦彦ら	塩野義製薬	ザルの犬歯抜歯術について
		鳥居隆三ら	滋賀医大	オスニホンザルの季節繁殖性とその要因について
		柴谷光治ら	田辺製薬	電子線照射滅菌飼料のラットの生殖に及ぼす影響
		神田政典ら	塩野義製薬	ネコにおける胚凍結保存の試み
		森岡宏至ら	大阪府立大・農	ラット胚発育の系統間比較
		新比恵啓志ら	田辺製薬	株化細胞との共培養によるmouse2-cell block の改善
		豊沢かおるら	大日本製薬総研	実験用カニグイザルの病理学的検討: 死亡あるいは切迫殺された17頭について
		義澤克彦ら	藤沢薬品	Crj:CD(SD)系ラットにおける脳腫瘍(神経膠細胞腫)の自然発生について
		中井伸子ら	日本新薬	マウス泌尿器症候群(MUS)の発生について
		原田多恵子ら	日本テバカイギー	白血球数測定に及ぼす強度貧血の影響

回	日時・会場	講演者	所属	演題		
第36回	H4.12.4 京大楽友会館	庫本高志ら	京大・医	FISH法によるラットPKATA (第8染色体),SYB2,GH (第10染色体) 遺伝子の物理的マッピング		
		二宮寿三ら	武田薬品	自動給水装置配管内の微生物汚染防止についての検討		
		三村哲夫ら	田辺製薬	ザル用代謝ケージの考案		
		玉野三男ら	田辺製薬	老齢F344ラットの飼育経験		
		尾崎晴茂ら	武田薬品	ラットを用いた聴覚毒性試験：WistarラットおよびF344ラットにおける聴性脳幹反応(ABR)の比較		
		福西克弘ら	鐘紡	自発運動へ及ぼす照度の影響について-散瞳剤を用いた検討-		
		鬼丸順子ら	田辺製薬	連続照明下で生じたアルビノおよび有色ラットの網膜障害		
		水内 博ら	田辺製薬	自然発症てんかんラットの血清テストステロン値について		
		長崎 徹ら	田辺製薬	ラットにおける性ホルモンレセプター-の基礎検討		
		岩知道公彦ら	武田薬品	Wistar fattyラットにおける受精卵採取の試み		
		大森吉明ら	武田薬品	老化促進モデルマウス(SAM)の受精卵採取に置ける系統差		
		大島晴子ら	大阪府大・農	過排卵処置マウスの排卵数ならびに体外培養における胚発育の系統差		
		森岡宏至ら	大阪府大・農	ラットの着床時間と胚成長の系統間比較		
		前田勝弘ら	大日本製薬総研	唾液腺涙腺炎ウイルス感染のSHR雄ラット交尾能力への影響		
		三日月勝見ら	塩野義製薬	実験用動物からのCampylobacter属菌の分離とその性状		
		第40回	H5. 12.11 京大会館	稲垣晴久ら	シオノギ油日ラボ	体毛質の電顕観察に基づくヒヒ連サルの位置づけの試み
鈴木淳也ら	藤沢薬品			実験用ビーグル犬に見られた腎性骨異常症候群の一例		
河谷善則ら	武田薬品			ホームケージによる自発運動測定法とその応用		
谷村勇治ら	武田薬品			ラット静脈内注射用装置の考案		
真下知士ら	京大・医			シークエンス特異PCRプライマーの単独利用による新しいDNAマーカーの開発		
大森吉明ら	武田薬品			SAMP8/Taマウスに発現した貧毛ミュータントについて		
遠藤 敏ら	加商ライフサイエン			フィリピンにおけるカニクイザルの繁殖		
森岡宏至ら	大阪府大・農			ラットの胎子成長に与える母親ラットの影響		
椋本末男ら	藤沢薬品			病態動物の近交系でのVitrification法による保存- SHR・SPラットの過排卵、体外受精及び凍結保存法の検討-		
平沢 勉ら	シオノギ油日			ネコ繁殖コロニーにおけるコロナウイルス感染について		
中井伸子ら	日本新薬			腫瘍細胞株の汚染状況		
堂前嘉代子ら	阪大微研			腎症候性出血熱(HFRS)の伝播-Rowett系Nude Ratについて-		
中川洋子ら	田辺製薬			SER系統のてんかん様発作非発症型におけるPhenobarbital誘起心室中隔欠損の低発現率について		
浅野裕三ら	田辺製薬			3-acetylpyridine投与ラットにおける行動発達の遅滞		
第44回	H6.12.2 京大会館			水野信哉ら	阪大・医	ネフローゼ自然発症ICGNマウスsubline中に多発した悪性リンパ腫様の腫瘍病変
				牧野奈津代ら	藤沢薬品	若齢ラットに見られた悪性神経鞘腫の一例
		長崎徹ら	田辺製薬	tremor ratにおける血中LH及びFSH濃度の測定		
		森 崇子ら	日本チバカイギー	ラット排卵数の測定方法及び卵子の卵管内の経時的移動について		
		鳥居隆三ら	滋賀医大	小型霊長類、コモンマーモセットのオスの保育行動と内分泌		
		武藤通彦ら	塩野義油日	若齢アカゲザルの保定台調教に対する順応性の評価と行動変化		
		千葉博喜ら	塩野義製薬	種々実験用動物におけるStaphylococcus属菌の検索		
		平沢 勉ら	塩野義製薬	Nested PCRによるイヌバニルポウィルスDNAの高感度検出法の確立		
		横井伯英ら	京大・医	マウスにおけるミュータント遺伝子の迅速マッピング法		
		山崎賢一ら	京大・医	近接マーカーのタイピングに基づいた選抜法によるWTC-zl/zl系統の育種		
		森本宏一ら	日本チバカイギー	ラットの真性半陰陽の1例		
飯田晶敏ら	資生堂	若齢のCrj:CD(SD)ラットにみられた耳標装着による耳介軟骨炎について				
第48回	H7.12.8 京大楽友会館	藤井 修ら	京大・医	無菌ラットをSPF飼育室に導入した際に生じた急性下痢症について		
		湯浅啓史ら	田辺製薬	胃粘膜の腸上皮化生と増殖率(MNNG誘発胃癌)の検索		

回	日時・会場	講演者	所属	演題
		大島五紀ら	塩野義製薬	老齢マウスに見られるサーカディアンリズム制御機構の加齢について
		武藤通彦ら	塩野義製薬	調教がサルに及ぼす影響について－カニクイザルにおける保定台調教の成績
		新比恵啓志ら	田辺製薬	ライン様突然変異マウスの精子凍結保存
		森岡宏至ら	大阪府大・農	ラットの新生子成長に及ぼす母体内環境の影響
		和田あづみ	大阪府大・農	大阪産野生マウスに発見された毛色突然変異
		藪中 淳ら	大阪府大・農	大阪産野生マウス由来の短尾突然変異
		毎原敏郎ら	京大・医	Pg1遺伝子座のラット第9番染色体上へのmapping
		水野信哉ら	阪大・医	ネフローゼ自然発症ICGNマウスにおける腎炎病態の自然経過
		谷内季次ら	阪大・医	ネフローゼ自然発症ICGNマウスにおける腎炎病態の化学修飾
第52回	H8. 12.6 京大大会館	増井則夫ら	日本エスエルシー	マイクロサテライト多型による近交系マウスの遺伝的モニタリングとその有用性
		和田あづみら	大阪府大・農	大阪産モロシヌスマウス由来毛色突然変異を支配する遺伝子の染色体マッピング
		雀 宗虎ら	京大・医	ラット・マウス・ヒト間の比較遺伝子地図の作成
		佐藤清美ら	京大・医	ラットゲノムマッピングへのマウスマイクロサテライトマーカーの応用
		森岡宏至ら	大阪府大・農	Dark Agoutiラットの妊娠期間・産子数・分娩時刻について
		新谷 聡ら	循環器センター	スナネズミ系統繁殖の試み
		菅 千里ら	化合物安全性研究所	ラット胎児骨格標本の個体識別法－腰部針金巻きつけ法－
		足立民子ら	田辺製薬	抗癌剤Adriamycinによる精巣障害の回復性の検討
		神田政典ら	塩野義製薬	ネコ卵胞卵子による体外受精・体外培養・胚移植
		渡辺 清ら	塩野義製薬	ビーグル犬の飼育条件に伴う赤血球の変化
		中井健史ら	塩野義製薬	カニクイザルにおけるバズル餌箱による摂餌時間の延長効果
		岳 乗飛ら	阪大・医	ネフローゼ症候群自然発症ICGNマウスにおける骨髄移植治療の試み
		喜多正和ら	京都府立医大	ウイルス性心筋炎の病態形成におけるサイトカインの役割
		長谷川治子ら	阪大・医	PCR法を用いた高感度検出法によるP.pneumotropicaの検出
		大野周三ら	藤沢テクニクス	強酸性電解水の消毒効果
第56回	H9. 12.5 阪大銀杏会館	境 陽子ら	塩野義製薬	Corynebacterium Kutscheri感染事例と血清学的診断法としてのELISAの利用性
		長谷川治子ら	阪大・医	ケージ内強制換気システムによるPasteurella pneumotropica伝播防御試験
		村口武彦ら	京大・医	遺伝子操作マウスの清浄化システムとその実績
		和田あづみら	大阪府大・農	大阪産モロシヌスマウスが保有する新たなmelanocortin 1 receptor allele; "tawny"の塩基配列
		矢木利香ら	京大・医	中枢神経系の脱髄病変を引き起こすラットdmy遺伝子の同定研究: dmy遺伝子座近傍と相同なマウスゲノム領域の特定
		北田一博ら	京大・医	ヒトESTとマウスESTのラット染色体マッピング
		川路尚徳ら	環境バイロリクス研究所	ヌード・ラインダブルミュータントマウスの病理組織学的研究
		足立民子ら	田辺製薬	WOLFラットの中中枢神経病変及びその経時的変化
		曾我正彦ら	塩野義製薬	肥満、糖尿、脂質代謝異常をともなう新規コンジェニックマウス
		堀川洋子ら	阪大・医	ネフローゼ自然発症マウス(ICGN系): ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群モデルとしての可能性
		森本純司ら	大阪医大	新たな乳癌高発症マウスと移植による転移実験モデル
		喜多正和ら	京都府立医大	ウイルス性心筋炎におけるインターフェロン-γ (IFN-γ)の役割
		桑村有規ら	田辺製薬	遺伝性小脳虫部欠損雄ラットの行動発達
		小田厚子ら	武田薬品	長期飼育B6C3F1マウスでみられた自然発生強直性痙攣について
		新谷 聡ら	循環器センター	スナネズミ系統繁殖の試み－側総頸動脈結紮法による脳梗塞発症率の検討と組織所見
		山本好男ら	滋賀医大	肝臓細胞質アラニルアミノペプチダーゼの種差について
		田畑信子ら	武田薬品	血漿中のTG安定性の検討
		森岡宏至	大阪府大・農	ベントバルビタール1回投与によるラット排卵抑制の系統差
		鳥居隆三ら	滋賀医大	霊長類の室内人工繁殖法－二ホンザルおよびカニクイザルの人工授精法－
		若狭芳男	イナリサーチ	カニクイザルにおける薬物誘発性皮膚掻き行動の観察

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第60回	H10.12.4 みやこメッセ	斎藤正信ら	大気社	TG 動物飼育用ラック「ルフテン TG」の開発
		新比恵啓志ら	田辺製薬	LIG-1 ノックアウトマウス受精卵・精子の凍結保存
		中井伸子ら	日本新薬	腫瘍細胞株の微生物汚染に関する検討
		高橋恵子ら	塩野義製薬	サルおよびヒズからの Helicobacter 属菌の分離と生物学的性状
		根縫弘子ら	塩野義製薬	定量的マイクロプレート DNA ハイブリダイゼーション法を用いた Helicobacter 属菌種の同定
		曾我正彦ら	塩野義製薬	FLS(Fatty Liver Shionogi)-ob/ob マウスの自然発生肝腫瘍
		堀川洋子ら	阪大・医	尿管間質病変における尿管結紮モデルの意義
		大坂要恵ら	資生堂	2系統のヘアレスラット、Ico:OFA-hr/hr およびHWY:Slcラットの皮膚の性状、形態に関する比較検討
		小林欣滋ら	田辺製薬	LIG-1 ノックアウトマウスの皮膚病変
		和田あづみら	大阪府大・農	大阪産野生マウスに発見された短尾突然変異遺伝子の染色体マッピング
		北田一博ら	京大・医	ラット遺伝連鎖地図の統合
		喜多正和ら	京都府立医大	老化と脳内サイトカインの発現
山本好男ら	滋賀医大	哺乳動物のビューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ		
第64回	H11.12.3 みやこメッセ	坂田太二ら	田辺 R & D サービス	ネズミ盲腸蠕虫の効果的な駆虫方法について
		余野清香ら	塩野義製薬	外部機関からの導入マウスにみられた Helicobacter 性 hepaticus 感染例と分離菌株の生物学的特
		原口心雄ら	塩野義製薬	非滅菌飼料給与ラットに認められた抗 Tyzzer 菌抗体陽性例
		和田あづみら	大阪府大・農	大阪産野生マウス由来近交系 MOL-SKID 系統の基礎特性解析
		Birger Voigt ら	京大・医	Genetic Comparison between Laboratory Rats and Japanese and German Wild Rats
		中根良文ら	京大・医	ラット・マウス・ヒト比較遺伝子地図(第4版)の作成とその評価
		村口武彦ら	京大・医	新たな神経系ミュータント qc ラットの遺伝的解析
		山田宜永ら	京大・医	OLETFラットの糖尿病発症に関わるエピスタシス効果の検出
		海野 隆ら	日本シェーリング	EFPIA/ECVAM の「適切な投与・採血法の手引き」
		原園 景ら	国立医薬品食品衛生	トリブチルスズによるラットにおける着床阻害
		河田昭彦ら	日本エスエルシー	アトピー性皮膚炎モデル、NC/Nga マウスの血中 IgE 値 - その経時的変化及び市販 IgE 測定キットの定量性の比較検討 -
		木下明美ら	阪大・医	富士ドライケムを用いて測定した血清生化学値の特徴 - 慢性腎不全自然発症マウスモデルについて -
		森田剛仁ら	鳥取大	家族性てんかんシエルディー犬の臨床的、神経生理学的および病理学的研究
		尾崎潤一郎ら	田辺製薬	イヌを用いたパターンリバーサル刺激による視覚誘発電位検査
		森本純司ら	大阪医大	マウス乳癌の多臓器転移実験モデル
堀川洋子ら	阪大・医	ネフローゼ自然発症 ICGN(nep)マウスを用いた糸球体における α -SMA 消失についての検討		
塩見雅志ら	神戸大・医	加齢による WHHL ウサギ血清コレステロールの低下のメカニズム		
第68回	H12.12.1 みやこメッセ	山崎賢一ら	京大・医	ACI/N系統に出現した新たな淡毛色ラットの解析
		前田昌也ら	大阪府大・獣医病理	新たなミュータントmv(myelin vacuolation) ラットの病態解析
		和田あづみら	大阪府大・農	大阪産野生マウス由来近交系 MMNG 系統の特性解析
		谷本憲昭ら	田辺製薬	マホガニーマウスの聴性脳幹反応における特徴
		中井伸子ら	日本新薬	実験動物施設における二酸化塩素系滅菌剤Exsporによる滅菌効果の検討
		鍵山壮一朗ら	阪大・医	ヘリコバクター汚染マウスからの細菌分離
		喜多正和ら	京都府立医大	HSV-1 感染におけるサイトカインの役割
		浜田修一ら	エスエス製薬	ラットを用いた小核試験法の検討
		佐藤雅樹ら	新日本科学	カニクイザルを用いた全身オートラジオグラフィの実践
		鈴木 昇	三重大・医	臓器特異的な遺伝子機能の人為的操作に必要な動物の開発
		森本純司ら	大阪医大	高率にリンパ節転移を起こすマウス乳癌組織ならびに細胞株
		水野信哉ら	阪大・医	HGF による慢性腎症の進展阻止効果:ネフローゼ症候群と糖尿病性腎症のモデルから浮かび上がった2つの作用点
		塩見雅志ら	神戸大・医	オリーブオイル負荷によるWHHLウサギの外因性脂質吸収能の評価
		山本好男ら	滋賀医大	ラット脳からのビューロマイシン感受性アミノペプチダーゼの単離・精製と諸性質の検討

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第72回	H13.12.14 みやこメッセ	多根井昌孝ら	ケー・エー・シー	イベルメクチン噴霧によるネズミ盲腸蠕虫駆除
		鍵山壮一朗ら	阪大・医	コンベンショナルマウスから分離した <i>Pasteurella pneumotropica</i> の性状-バイオタイプ選別用プライマーを用いて-
		山根拓也ら	滋賀医大	ウシLegumainのcDNAクローニングと免疫組織化学的研究およびそのタンパク質分解
		杜 培革ら	滋賀医大	ラット腎臓由来のTripeptidyl Peptidase I の構造と機能に関する研究
		福田綾子ら	新日本科学	カニクイザルを用いたパラフィン切片における免疫染色の試み
		飯田晶敏ら	日本エスエルシー	雌性 B6C3F1 マウスにおける骨線維化病変 fibro-osseous lesion: 卵巣摘出動物との比較
		山田悟一ら	神戸大・医	WHHL ウサギ動脈硬化血管の in vivo における反応性
		喜多正和ら	京都府立医大	微小重力がサイトカイン産生に与える影響
		Byeong-Cheol Kangら	Seoul National University Hospital	Introduction of Experimental Animal Facility in Korea
		中根良文ら	京大・医	マウス遺伝子のシーケンズホモロジーより得られた 43 個のラット遺伝子の染色体マッピング
		坪田裕司ら	和歌山県立医大	強直性および欠神様発作を示すあらたな自然発症てんかんラットWER (Wakayama Epilepsy Rat) 系統について
		徳田哲子ら	大阪府大・獣医病理	dmy ラットの病態解析 - ミエリン形成 およびオリゴデンドログリアの動態-
		松井多美子ら	大阪府大・獣医病理	qc ラットの中脳神経発生
		吉田悦子ら	国立精神・神経センター研	市販マウス胚凍結保存液/融解液キットを用いたマウス胚凍結保存の成績について
和田あづみら	名古屋大・医	大阪産野生マウス由来近交系MSKR系統の発生工学的基礎特性		
第76回	H14. 12.6 みやこメッセ	鍵山壮一朗ら	阪大・医	大規模施設でのAspicularis tetraptera 駆虫の試み
		新谷 聡	国立循環器病センター	スナネズミに感染した腸トリコモナス及び病原性アメーバの駆除
		喜多正和ら	京都府立医大	薬剤耐性 <i>H. pylori</i> 感染症に対する補完・代替療法の可能性
		西村友成ら	田辺製薬	マウスES 細胞を用いたembryotoxicity 検出法の検討
		鈴木 昇ら	三重大・医	体表に移動性ストライプを有する突然変異マウスについて
		谷本憲昭ら	田辺製薬	Deafness Kyoto (dfk) ラットの聴性脳幹反応
		木村国雄ら	科研製薬	カケンヘアレスラットの成長、繁殖特性解析と原因遺伝子の染色体マッピング
		沖本一夫ら	大日本製薬	新規遺伝性腎癌発症モデルラット (Nihon ラット) の確立とその原因遺伝子の同定
		岩崎直昭ら	大阪府大	スナネズミに関する形態観察と行動解析
		長井寛明ら	大阪府大	遺伝性白内障マウスに関する形態学的解析
		和田あづみら	慈恵会医大	Phodopus 属ハムスターから育成された近交系; PMI の特性解析 - PMIおよび別種ハムスターを用いたmtDNA部分塩基配列多型解析-
		郷間宏史ら	京大・医	アスパルトアシラーゼとアトラクチン両遺伝子のダブルミュータントマウス: 脳波と中枢神経系の病理解析
		津村秀樹ら	三重大・医	Cre/Lox システムを用いた活性化型 K-ras がん遺伝子による発癌モデルマウス
		塩見雅志ら	神戸大・医	動脈硬化による冠動脈代償性拡張の解析モデル
		Birger Voigtら	京大・医	The National Bio-Resource Project for the Rat in Japan
		庫本高志	京大・医	米国におけるラットリソースの現状について
		芹川忠夫	京大・医	「珍鼠鼠草」の鼠はマウスかラットかネズミか
		第84回	H.15 12.10 みやこメッセ	鍵山壮一朗ら
田島 優ら	阪大・医			SPFラット室のラットに見られた間質性肺炎
片岡雄介ら	大阪府大			脳虚血時のスナネズミに関する形態観察ならびに行動解析
近藤友宏ら	大阪府大			ddy系白内障マウスに関する研究: 形態観察と遺伝解析
浅野裕三ら	ボソリサーチセン			ウサギ心臓液の生理値に関する基礎的検討
飯田晶敏ら	大阪府大・農			シリアンハムスター2例にみられたRenal Dysplasia (腎形成異常)
小沢康彦ら	阪大・医			慢性腎不全モデルマウスの24時間尿解析
久保 薫ら	奈良県立医大			長期喫煙による自然発症高血圧ラットにおける循環動態の変化と脳内エンドセリンおよび末梢エンドセリン受容体の変動
伊東 隆ら	神戸大・医			ウサギ心筋の死後変化

回	日時・会場	講演者	所属	演題
		大田 聖ら	ケアリー和歌山研究所	超音波診断によるカニクイザルにおける主席卵胞直径と回収卵子の成熟率の関係
		土屋英明ら	滋賀医大	カニクイザル胎原生殖細胞の検出と培養の試み
		齋藤浩充ら	三重大・医	電位依存性Ca ²⁺ チャネル α 1A蛋白質ノックダウンによる運動失調マウス
		徳田智子ら	京大・医	Groggy ラットにおける原因遺伝子の同定と欠神様発作の発現
		真下知士ら	京大・医	ラットフェノームプロジェクト：既存系統における新たな特性の発見
		鶴見東志子ら	京大・医	NBRP-Ratで収集されたラット系統のゲノムプロファイル
		庫本高志ら	京大・医	NBRP-Rat収集系統におけるAgouti とRed-eyed dilution のプロファイル
第88回	H17. 12.2 みやこメッセ	熊藤健太ら	清水実験材料	肺マイコプラズマ汚染ラットを含むラット系統の子宮切断術による微生物的クリーニング
		田島 優ら	阪大・医	MHVの Nucleocapsid gene塩基配列解析はウイルスの由来推定に有効
		桑村有規ら	新日本科学	CVD (Cerebellar vermis defect)ラットの聴覚系の病態解析
		井澤武史ら	大阪府大	アトラクチン欠損ミュータントmvラットのグリア細胞動態
		塩見雅志ら	神戸大・医	冠動脈病変が自然発症するWHHLCA or WHHLMIウサギを用いた動脈硬化による冠動脈の拡張反応に関するメカニズムの検討
		三吉由佳里ら	ジャパンファームグループ ラウン研究所	クローン系ミニブタのSLA (Swine Leukocyte Antigen) 新ハプロタイプの同定
		中西 聡ら	京大・医	NBRP-Ratにおける遺伝子型診断システム
		直井国子ら	京大・医	ラットフェノームプロジェクト：既存ラット系統の有用性
		塩田 明ら	ワイエス研究所	組み換えゲノムクローン技術を利用したセミノックイン動物の作出
		横井伯英ら	神戸大・医	コンジェニック系統を用いたMHCとCblbによる1型糖尿病発症モデルの検証
		安井菜穂美ら	武庫川女子大	肥満・高血圧自然発症ラットSHR/NDmcr-cpにおけるDNAチップによる遺伝子発現の検討
		和田あづみら	慈恵会医大	Phodopus属ハムスター由来近交系PMIに導入した黄色被毛突然変異原因遺伝子の解析
		郷間宏史ら	京大・医	WTC deafness Kyoto (dfk)ラットの原因遺伝子同定と特性解析
		浅野裕三ら	ポソリサーチセンター	ウサギにおける流早産及び胎児の発生に及ぼす摂餌制限の影響に関する施設差
		高谷尋美ら	田辺製薬	プレチスモチランパー法を用いた非拘束ラットの呼吸機能評価に及ぼす自発運動の影響
		伊東 孝ら	阪大・医	含フッ素ウレタンプレポリマーの止血効果の検証： ウサギ頸動脈を用いたSC-625Aの効果
第92回	H18. 12.8 みやこメッセ	藤本祐二郎ら	オリエンタルバイオサービス	個別換気ケージ飼育法における微生物モニタリングの状況
		喜多正和ら	京都府立医大	Helicobacter pyloriに対する漢方薬の抗菌効果
		小沢康彦ら	阪大・医	Fast PCR法と従来のPCR法との比較—PCRの感度と必要時間の検討—
		小谷祐子ら	阪大・医	コンベンショナルマウスから検出されるMHVN蛋白遺伝子塩基配列の多様性
		市橋 優ら	田辺製薬	老齢雌ラットにおける膝インピーダンス値と膝スミア像の相関
		浅野裕三ら	ポソリサーチセンター	ウサギにおける妊娠前のジャケット装着ストレスによる毒性パラメータの影響
		喜多正和ら	京都府立医大	根尖病巣のマウスモデル作成と病態解析
		真下知士ら	京大・医	ENUミュータジェネシスによるラットリソース：新規てんかんモデルの開発
		和田あづみら	慈恵会医大	Phodopus属ハムスターに発見された優性白色被毛突然変異
		中井伸子ら	日本新薬	モルモットにおける壊血病の再来
		八木久仁子ら	大阪府大	母体5/6腎臓摘出時のラット胎子腎臓の発達に関する研究
		井澤武史ら	大阪府大	アトラクチン欠損ミュータントmvラットの病理発生： ミクログリア関連サイトカインの動態
		名部美琴ら	大阪府大	水頭症ミュータントマウスhhyの上衣細胞の形態
		滝澤明子ら	京大・医	『ラット胚・精子の超低温保存と個体復元技術マニュアル (DVD)版』の作成

回	日時・会場	講演者	所属	演題
		山崎樹里ら	滋賀医科大	カニクイザル卵子の体外成熟培養
		中西 聡ら	京大・医	口腔スワブを用いたAmp-FITA法による遺伝子改変動物のジェノタイピング
		河合澄子ら	阪大・医	慢性腎不全モデルマウスICGN/OaのPCR法を用いたゲノムタイピングと表現型での分類の比較
		横井伯英ら	神戸大・医	1型糖尿病の発症を修飾する遺伝子の解析：KDPラットとTM、KDP-Cblbコンジェニック系統を用いた交配実験による検討
		徳田雄祐ら	北大	難聴と平衡感覚障害を示すmawaruマウスにおける原因遺伝子の同定
第96回	H19. 12.14 みやこメッセ	庫本高志ら	京大・医	ラット機能多型のジェノタイピング
		蟹江祐哉ら	阪大・医	ルシフェラーゼアッセイを用いたHIKARUラットの発光の確認とフェノタイピング法の検討
		河合澄子ら	阪大・医	HIKARUラットの系統維持 - ジェノタイピングとルシフェラーゼ遺伝子解析 -
		齋藤浩充ら	三重大・医	中枢神経、神経堤細胞特異的な癌型N-Ras発現による神経線維腫症病態モデルの作製
		鶴見東志子ら	京大・医	ナトリウムチャンネルScn1a変異ラットの特性解析
		坪田祐司ら	大阪河崎リハビリテーション大学	Wavelet変換と人工ニューラルネットによる欠神発作自動判定システムを用いたWER系統 における24時間発作推移の検討
		喜多正和ら	京都府立医大	Helicobacter pylori 誘発胃炎におけるIL-17の関与
		塩見雅志ら	神戸大・医	メタボリックシンドロームを発症するWHHLMIウサギ
		久保 薫ら	奈良県立医大	慢性喫煙曝露ラットにおける血漿グレリンと体重減少の関連
		山本好男ら	滋賀医大	酸化チタンの超高速触媒反応を利用した実験動物関連廃棄物の分解処理について
		西原義人ら	ポリリサーチセンター	ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法を用いたラット血清アルカリホスファターゼ(ALP) アイソザイム分析の毒性試験への適用
		谷口雄輔ら	大阪府大	CF#1系由来遺伝性白内障マウス (CF#1/b cac Ta) の形態学的特性ならびに遺伝様式に関する研究
		横井伯英ら	神戸大・医	1型糖尿病修飾遺伝子の染色体マッピング
		和田あづみら	慈恵会医大	Phodopus campbelliに発見された黒色被毛突然変異のattractin遺伝子塩基配列には欠失領域が存在した
		岩谷千鶴ら	滋賀医大	プログラマブルインフュージョンポンプを用いたカニクイザルの卵胞発育誘起
		中村紳一郎ら	予防衛生協会	鼠径リンパ節への転移を認めたカニクイザルの子宮内膜症

資料3 関西実験動物研究会 維持会員ニュース

回	日時	会場	企業名	演題
第41回	H6. 3.4	阪大・医	大気社 日本チャールスリバー	エアーカーテン方式によるケージラック 生産業者における品質管理・・・これからの課題
第42回	H6. 6.17	京大楽友会館	夏目製作所 ケアリー	動物実験施設の自動化/省力化の可能性 実験用サルへのウィルス抗体検査の諸問題
第43回	H6. 9.30	武田薬品工業 吹田研修所	ハイゲン 日本エスエルシー	実験動物の焼却の処理について 日本エスエルシー(株)の紹介
第45回	34768	国立循環器病 センター	三菱化学安全科学研究所 日本クレア	発がんプロモーター検出試験：RDS (Replicative DNA Synthesis) 試験検討の現状 Jci 動物の生産と供給
第46回	34866	京大会館	加商 成和実験動物研究所	実験動物分野の現状と動向：一動物業者の立場から 品質保証としてのDahl/Sea ラットの生物学的特性
第47回	34964	阪大	日本農産工業バイオ事業部 新薬開発研究所	飼料による糞尿臭軽減の試み ウサギを用いた変形性関節症モデルについて - 半月板部分切除モデルおよび間接拘縮モデルの作成と評価 -
第49回	35132	阪大コンベン ションセンター	ケーエーシー 船橋農場	受託業務の効率的実施 飼料と疾患モデル動物
第51回	H8. 9.20	阪大	イナリサーチ オリエンタル酵母	サルの骨密度測定 - サル骨粗鬆症モデルにおける測定 - ラット・マウス用蛋白18%飼料 CR - LPF の開発経緯
第53回	H9. 3.7	京大会館	新日本科学	新日本科学におけるサルを用いた骨粗鬆症モデル
第54回	H9. 6.6	阪大銀杏会館	白銀興業 白井松器械	エアーカーテンの改良 小動物解剖・手術台の改良とその有用性
第55回	H9. 9.12	芝蘭会館	オリエンタルバイオサービス 大気社	遺伝子導入動物の SPF 化、胚の凍結保存および各種受託業務 実験動物室の気流制御
第57回	H10. 3.6	京大会館	実医研 ラビトン研究所	毒性病理学の分野における精巢毒性の検索方法 RBITON Research System for Future Drug
第58回	H10. 6.19	阪大コンベン ションセンター	セアック吉富	ヘリコバクター感染モデルとしてのスナネズミの有用性
第59回	H10. 9.11	阪大銀杏会館	日本クレア	動物施設および飼育機材の滅菌消毒
第61回	H11. 3.5	京大会館	日本チャールスリバー	CD(SD)IGSラットの紹介
第62回	H11. 6.11	阪大銀杏会館	日本エスエルシー	トランスジェニック・ノックアウト技術サービス
第63回	H11. 9.10	阪大銀杏会館	イナリサーチ	Transmission Pattern of B-virus Infection in Group-caged Juvenile Cynomolgus Monkeys
第65回	H12. 3.3	京大会館	日本クレア	Wistar Hannover GALAS ラットについて
第66回	H12. 6.2	阪大銀杏会館	三菱化学安全科学研究所	神経毒性物質で誘発される特徴的な機能・行動異常と病理変化との関連性
第67回	H12. 9.22	阪大コンベン ションセンター	ケアリー	弊社供給ベトナム産カニクイザルにおける Entamoeba histolytica の寄生状況- PCRを用いた診断
第69回	H13. 3.2	京大会館	新日本科学	安全性薬理におけるテレメトリー試験
第70回	H13. 6.15	阪大銀杏会館	共生	酵素クラスターによる動物実験施設での脱臭効果

回	日時	会場	企業名	演題
第71回	H13. 9.28	京大会館	ハムリー	最近の輸入サル類の検疫成績と3Dオートフィーダー（自動給餌器）について
第73回	H14. 3.8	京大会館	夏目製作所	これからの動物実験施設
第74回	H14. 6.14	阪大銀杏会館	日本エスエルシー サンブラネット	皮膚に関わる自然発症疾患モデル動物 有色モルモットの紫外線皮膚色素沈着モデル 作成方法について
第75回	H14. 9.6	阪大銀杏会館	三浦工業 ケーエーシー	蒸気滅菌におけるクリーン蒸気の必要性 弊社・技術研修所における教育カリキュラム の紹介
第78回	H15.6.6	大阪府立大学 学術交流会館	清水実験材料株式会社	動物実験施設での、スーパー次亜水による殺菌 ・消臭
第79回	H15. 9.26	奈良猿沢荘	精研	アニコン（一方向気流方式）空調システムの 開発と今後の展望
第81回	H16. 3.5	京大会館	三協ラボサービス	実験動物技術者の育成を考える
第82回	H16. 6.25	神戸臨床研究 情報センター	ワイエス研究所	遺伝子改変動物関連の支援技術開発
第83回	H16. 9.24	琵琶湖ホテル	オリエンタルバイオサービス 高塚薬品	オリエンタルバイオサービスの神戸レンタル ラボ紹介 ハイポックウォーターの消毒消臭効果とその 応用
第85回	H17. 3.4	京大会館	環境バイリス研究所	環境バイリス研究所における薬効評価試験法の 紹介-消化器系及び炎症系薬効試験モデルにつ いて
第86回	H17. 6.10	阪大銀杏会館	島津製作所	島津製作所の取り組み:分析機器から受託解析、 試薬まで
第87回	H17. 9.2	京大会館	新日本科学 ティー・ティー・エム	新日本科学中国霊長類出国検疫施設について 医療・健康産業へのポータルサイトとしての 活動～DNA保存用カードと抗菌・消臭製品～
第89回	H18. 3.3	京大会館	日本照射サービス イナリサーチ	実験動物用器材のガンマ線滅菌について 活性炭ハニカムによる脱臭システムについて
第90回	H18. 6.9	阪大銀杏会館	三和プラントエンジニアリ ング	実験動物管理システムの提案
第91回	H18. 9.8	京大会館	石川島芝浦機械	実験動物施設における殺菌・脱臭について
第93回	H19. 3.9	京大会館	エルエスジー グローブ	Tecniplast社最新型個別換気ケージシステム 再使用する床敷（アグレーブ）
第94回	H19. 6.8	大阪府立大 学術交流会館	新光電子	音叉技術と動物はかり
第95回	H19. 9.14	神戸大・神緑会 館	オリエンタル技研工業 ヴィジョンズ	最新型ディスク式個別換気ケージシステム 「イノラック」 動物実験計画書申請承認コンピューターシス テム（WEB版）のご紹介
第97回	H20. 3.7	京大会館	ハムリー	実験動物用吸入麻醉器の紹介
第99回	H20. 9.12	阪大銀杏会館	LSG	動物水分補給の新提案 - ClearH2社製Gel

資料4 関西実験動物研究会 歴代会長・幹事・監事名簿

期	会 長	庶務・会計	集 会	編 集	監 事
1期 S59~S61	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	及川 弘 (塩野義製薬)	宮脇宏彰 (武田薬品)	増田恭造 (日本クレア)
			牧野 進 (塩野義製薬)	新谷 聰 (循環器病セ)	佐々木 弘 (日本チャールズ リバー)
			鳥居隆三 (滋賀医大)	山中 久 (田辺製薬)	
2期 S62~S64	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	宮脇宏彰 (武田薬品)	増田恭造 (日本クレア)
			海野 隆 (日本シェーリング)	新谷 聰 (循環器病セ)	佐々木 弘 (日本チャールズ リバー)
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (田辺製薬)	高木貞明 (日本SLC)
			飯田晶敏 (大日本製薬)		
3期 H2~H4	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	飯田晶敏 (大日本製薬)	増田恭造 (日本クレア)
			海野 隆 (日本シェーリング)	石川尚明 (実生研)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (ラビトン研)	
				阿部敏男 (武田薬品工業) 三日月勝見 (塩野義製薬) 宮脇茂樹 (日本新薬) 山本好男 (滋賀医科大)	
4期 H5~H6	宮脇宏彰 (武田薬品工業)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	飯田晶敏 (大日本製薬)	清水英男 (清水実験材料)
			海野 隆 (日本シェーリング)	石川尚明 (藤沢薬品工業)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (ラビトン研)	
				阿部敏男 (武田薬品工業) 三日月勝見 (塩野義製薬) 宮脇茂樹 (日本新薬) 山本好男 (滋賀医科大)	
4期 H7	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医)	内海健二郎 (大日本製薬)	飯田晶敏 (資生堂)	清水英男 (清水実験材料)
			海野 隆 (鐘紡)	石川尚明 (藤沢薬品工業)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (イナリサーチ)	
				阿部敏男 (武田薬品工業) 三日月勝見 (塩野義製薬) 宮脇茂樹 (日本新薬) 山本好男 (滋賀医科大)	
5期 H8~H10	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (田辺製薬)	飯田晶敏 (資生堂)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	岡本宗裕 (阪大・医)	高木貞明 (日本SLC)
			海野 隆 (日本シェーリング)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			黒澤 努 (阪大・医)	鳥居隆三 (滋賀医大)	
			森岡宏至 (大阪府大・農)	三日月勝見 (塩野義製薬)	
森本純司 (大阪医科大)	宮脇茂樹 (日本新薬) 山中 久 (イナリサーチ) 山本好男 (滋賀医大)				

6期 H11~H13	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (田辺製薬)	飯田晶敏 (日本エスエルシー)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	岡本宗裕 (阪大・医)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (バイエル薬品)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			海野 隆 (日本オルガノン)	鳥居隆三 (滋賀医大)	
			江馬 真 (国立医薬品食品衛生研)	三日月勝見 (塩野義製薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	宮脇茂樹 (日本新薬)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山中 久 (イナリサーチ)	
			塩見雅志 (神戸大・医)	山本好男 (滋賀医大)	
			田島 優 (阪大・医)		
			前田敏宏 (大日本製薬)		
			森本純司 (大阪医科大)		
			森岡宏至 (大阪府大)		
7期 H14~H16	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (ポソリサーチセンター)	浅田 孝 (藤沢薬品工業)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	飯田昌敏 (日本エスエルシー)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (グラクソ・スミスクライン)	鳥居隆三 (滋賀医科大)	
			海野 隆 (日本オルガノン)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			江馬 真 (国立医薬品食品衛生研)	中井伸子 (日本新薬)	
			岡田利也 (大阪府大・農)	宮脇茂樹 (日本新薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (イナリサーチ)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山本好男 (滋賀医大)	
			塩見雅志 (神戸大・医)		
			田島 優 (阪大・医)		
			前田敏宏 (大日本製薬)		
			森本純司 (大阪医科大)		
8期 H17~H19	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (ポソリサーチセンター)	浅田 孝 (先端医療振興財団)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	飯田昌敏 (三菱化学)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (日本チャールズ・リバー)	鳥居隆三 (滋賀医科大)	
			海野 隆 (シンバイオ製薬)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			岡田利也 (大阪府大・農)	中井伸子 (日本新薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (イナリサーチ)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山本好男 (滋賀医大)	
			塩見雅志 (神戸大・医)		
			田島 優 (阪大・医)		
			前田敏宏 (ケーエーシー)		
			森本純司 (大阪医科大)		
			9期 H20~H22	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)
池田 卓也(日本チャールズ・リバー)	飯田晶敏 (三菱化学)	山崎章弘 (日本チャールズリバー)			
岡田 利也 (大阪府立大)	中村伸一郎 (滋賀医大)				
黒澤 努 (阪大・医)	中井伸子 (日本新薬)				
久保 薫 (奈良県立医大)					
桑村 充 (大阪府立大)					
近藤 玄(京大・再生医科研)					
塩見 雅志(神戸大・医)					
田島 優 (阪大・医)					
坪田 裕司 (大阪河崎リハビリテーション大)					
松田潤一郎 (医薬基盤研)					
森本 純司 (大阪医科大)					
山添 裕之 (住友化学)					
横井 伯英 (神戸大・医)					

動物実験 ～過去・現在・未来～
—動物実験と法規準—

黒澤 努

(大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室)

はじめに

動物実験はバイオメディカルサイエンスの発展にとって欠かすことのできない実験手段である。しかし、それには実験動物の苦痛が伴うだけでなく、最終的には殺処分を行うことから、その倫理的扱いについては世界的な議論が存在する。欧米先進国では早くから動物実験を適正に行うことに関しての一般市民の理解を得るために、法制度が整備されてきた。また現在でもその整備は続いている。しかし、我が国には、動物実験に関する世の中の考え方は、文化、歴史、生活習慣等により地域ごとに異なり、国際的な整合性を求めることに否定的な意見が存在する。しかし、これは我が国の貧弱な動物愛護体制を維持するための方便であるかもしれない。家庭動物ないし伴侶動物といわれる所謂ペットの扱いに関して、我が国国民の動物観が大きく変化してきたことから、批判を浴びるようになってきた。とりわけ実験動物は動物実験という最終的には殺処分される存在であることと、科学に対する批判が高まったことから、議論が大きくなってきている。

実験動物は科学の目的に使用されるのであるから、地域の文化、歴史などよりも科学的真実の探求が優先される存在であり、種々の動物の中でもっとも国際化が容易なものであろう。とくに科学活動が国際化した今日では、我が国独自の科学の方法などが許されるはずもなく、やがては我が国の科学、倫理的枠組みの批判へとつながることが懸念される。実際、動物実験の成果を一流雑誌に発表した際に、研究目的ないし結果とは直接関係のない実験動物の苦痛の軽減、すなわち麻酔方法の妥当性から、論文が受理されない事態が発生している。さらには実験動物が飼育されている環境に対してさえも疑問の声があがっている。

一方欧米では動物愛護の立場からの一般市民の動物実験に対する批判が高まるにつれ、各国はより精細な法制度を構築して対応している。それに対して、我が国では学問の自由の建前から、動物実験の法規制は適切でなく、科学の進展を阻害するものであるとの意見が大勢を占めている。その結果我が国における動物実験の体制、実験動物の飼育環境は欧米との格差がますます顕著となってきているように思われる。

ここに我が国の動物実験に関わる歴史を振り返り、欧米の法制との比較において、我が国の動物実験施行体制を概観してみたい。さらにそこで明らかとなる欧米と我が国の動物実験法制の違いを将来どのように整合性をつけてゆくべきかに関して論じてみたい。

日本の動物実験法制

我が国には1973年「動物の保護及び管理に関する法律」が制定される以前には、実験動物どころか通常の動物を愛護保護する法律はなかった。この法律の中で動物を科学の利用に供する場合の条文が制定され、動物愛護の枠組みの中での動物実験が法的に規定された。1980年には「実験動物の使用及び保管等に関する基準」が制定され、実験動物が法的に保護される基盤が成立した。欧米では我が国より相当早い時期から、動物実験の法的な規制ならびに実験動物の福祉についての規定が制定されていて、以降我が国は諸外国の情勢を参考に動物実験に関する法整備がなされてきた。すなわちこれらに関しては常に諸外国の後塵を拝してきたのである。

1999年には本法は「動物の愛護及び管理に関する法律」と改正されたが、動物実験に関する条文の改訂は行われなかった。しかし、5年後に法改訂の検討を行うことが議会で議決され、2005年に現行の「動物愛護法」が改正された。この改正時には日本学術会議が動物実験のあり方の提言を行い、動物実験の共通指針の策定と第三者認証制度の設立が提案された。この改訂議論の中で動物実験の共通指針の施行は、法的な規制となるため研究の自由の建前からは適当ではないが、実験動物の飼養保管は法的な規制の下で行われるべきであるとされた。このため動物実験のあり方については文科省、厚労省、農水省から別々の告示により指針が示された。現在こうした各省庁が出した告示及び日本学術会議の提言に基づいた、動物実験の体制の整備が進行中である。

とくに第三者認証制度に関しては、各省庁が別々に指針を定めたこともあってか、異なった団体による制度が構築されつつある。

第三者認証システム

国動協と公私動協は文科省傘下の大学等を中心に相互検証プログラムを構築している。厚労省系の研究所、製薬企業はHS財団による動物実験施設認証制度が中心となるものと思われる。さらに農水省傘下の実験動物生産企業ならびに飼育受託企業は日本実験動物協会が行う実験動物福祉調査制度により第三者認証を得ようとしている。それぞれの制度は種々工夫を重ね問題点を克服しようとしているようであるが、その制度の大本となるのは、実験動物愛護に関する国際認証を行ってきたAAALAC Internationalの制度である。我が国の1大学を含む7研究機関がすでにAAALAC Internationalの完全認証を得ていることから、我が国の各省庁別の第三者認証制度による認証との区別が議論されよう。しかし、AAALAC Internationalの国際認証は他に類を見ず、極めて権威が高く、また科学の国際性、ならびに当該分野の企業活動の国際化を考えると、今後も権威のある認証制度として我が国にも波及していく制度となるものと思われる。

ここでAAALAC Internationalの認証の方向性を若干解説しておく。AAALACの認証を受けようとするとき、多くの研究機関は新たな資金を準備して、実験動物施設

の飼育器具の整備に努めてきたようである。もちろん飼育器具の性能がより良いことは実験動物福祉に資することはまちがいないが、では飼育設備が立派であれば完全認証を得られるかということ、そのようなことは全くない。実際、AAALACの説明書の一部には貴重な研究費をそのような目的に使うことを戒めている部分がある。AAALACが求めるのは研究機関が実験動物福祉の推進のための自走能を持つ点であるように思われる。AAALACはまず機関の長が実験動物福祉の重大性を自覚して、適切な資金の供給、体制の整備を行うつもりがあるかを見る。続いてその実行部隊としての動物実験委員会の能力、機能、権限、実際の活動などを点検している。そのうえで適切な獣医学的管理がなされているか、とりわけ担当獣医師が機関の長の意を受けて、実験動物の痛み、苦しみを予防、治療出来る体制ができているかをみる。とくに説明の難しい個々の動物実験計画に関しての実験動物の苦痛についての判断は担当獣医師に委ねられる点を強調している。

残念ながら我が国だけでなくアジア諸国に共通して、こうしたAAALACが求める体制が貧困であるという面がある。したがって、AAALACの認証を検討するアジアの研究機関はこうしたソフトウェアの充実で苦勞することとなる。動物実験の多様性に対応した欧米の法制では、細部までを法律で規定するのではなく、最後は研究機関ならびに、そこで実験動物福祉に携わる獣医師等に関する規定が中心となっていることがこの背景にある。我が国で作られた種々の指針などを見ても書いてある字面はいかにも欧米のそれと同じように見えるが、具体的な数字を挙げない点が異なる。また、実験動物医学専門医が存在すれば、その専門医に個々の判断は委ねても適切な動物実験が施行できるような体制を整えることが出来るとしている欧米の法制度との違いが大きい。

国際的な動物実験の規制は必ずしも一様に進展しているわけではない。米国とECは法的な規制を課して律することとしているが、アジア、南米さらにはアフリカの諸国は法的規制そのものがないか、あったとしても実効が極めて乏しい制度となっている。このためこうした国々が国際的に発展しようとするときには、この動物実験の法的な枠組みが問題点となる。とりわけAAALAC Internationalのような国際組織においては、各国の法制の遵守を第1に求めるが、それが十分ではないとき、あるいは明文化されていないときには、ILARの基準など米国が主導して定めた指針の遵守を求めざるを得ない。

幸いなことに、厚労省、文科省の担当官はいずれも第3者認証というのはどのような方法で行っても良いとしていることから、各研究機関がそれぞれの研究活動の内容に合わせ適宜第3者認証を受けること自体が重要となっている。しかし、動物実験反対運動家達は現行整備されつつある我が国の第3者認証は仲間内で行われるものであり、外部の目が入っているとは思われないとすでに批判している。AAALACの施設訪問でさえ、あらかじめ訪問日は伝えられているのでその実効が疑われると批判している。これらの極端な意見は別としても、多くの社会一般の方々が第3者

認証を行う組織および担当する者の専門性を認めるようなシステムにする必要がある。また日々の動物実験すべてを第三者認証機関が確認することは不可能であるから、AAALACのように研究機関の実験動物福祉に対する自走能が備わっているかを点検するシステムは現行では最良のかつ実際的な方法になっていると思われる。

動物実験施行体制の国際的整合性の動き

そこでこうした国際組織では何らかの国際的な動物実験の平準化が必要となる。現在行われている国際的な動きにはICLASが主導しているCIOMSの指針の改定作業がある。1985年に制定された医学生物学領域の動物実験に関する国際原則指針は国際的な動物実験施行のために引用される国際的な文書であるが、制定から相当な時間が経過したことから改訂の運びとなっている。また米国では、ILARの基準はすでに13カ国語に翻訳されている実績を踏まえ、新たな改訂時には国際的な意見を踏まえて改訂することとして作業が進行中であり、2010年の出版を目指している。ILARではすでにILARの基準は米国だけの問題を扱った指針ではなく、実際的な国際標準と考えられているとしている。さらに国際獣疫事務局（OIE）は家畜の福祉綱領をすでに策定しているが、ここに実験動物福祉条項を追加する作業を行っている。この3つの国際的な文書の改訂には国際実験動物医学専門医協会（IACLAM）が協力している。とくに実験動物福祉をどのように担保するかについては実験動物福祉、愛護を旨とする専門家集団の協力は欠かせないが、獣医学を背景とした実験動物医学専門医が国際的な組織を形成し、積極的に活動している。実際OIEの実験動物福祉綱領策定WGのメンバーの約半数がIACLAMの会員である。

国際標準化機構（ISO）は医療機器の安全性試験の国際標準に動物福祉要項を制定しているが、ここにはこれまで我が国はこの文書作成にあたって相当の貢献をしている。医療機器の安全性試験に特化しているとはいえ、国際標準化機構が作成した国際標準文書に実験動物福祉の規定があること自体が重要である。

OECDは化学物質全般の安全性試験に関して実験動物福祉条項を強化している。とくにOECDは実験動物福祉を強調するというよりむしろ動物実験代替法を用いた試験系を次々と提案している。また実験動物の使用数の削減に関しては具体的な数字を上げて標準的な試験法を提案するに至っている。

こうした国際文書は我が国の行政にも直接間接的に影響を与える。カルタヘナ法による遺伝子改変動物使用規制とその制定後に起こった実験動物界の混乱をみると、国際的な文書ないし協定の威力を感じざるを得ない。すなわち、当初カルタヘナ条約が制定されたときには、この条約は環境保全のためのもので実験動物に直接関係があるとは多くの関係者は考えなかったに違いない。しかし、我が国政府が条約を批准する条件を設定して、実際に条約が発効すると、直ちにカルタヘナ法が制定されるに至った。事前の予告期間が短かったためか、あるいはそれまでの実験動物全般の管理方法が適切でなかったためか、法施行後、研究機関が法律に抵触する

ような行為を行ったとして監督官庁の文科省から嚴重注意が何度も出されるに至っている。ごく最近も遺伝子組換え実験に関して嚴重注意を受け、その後改善を約束した関西地方の某大学はマウスの組換え実験でまたも嚴重注意をされている。こうして嚴重注意を受けた研究機関はいずれもバイオメディカルサイエンスの強力な研究機関であり、嚴重注意をされないような機関はまともな研究をしていなかったのではないかとあらぬ誤解を生むほどである。

したがって、各種の国際条約および指針などに関しては制定前から注目しておくことが重要である。しかし、何が重要かと言えどどのような国際的な条約、指針にしても世界各国が遵守できると考えたから批准するのであって、あまりに理想に走りすぎて実現不可能な国際協約などはどこの国も批准はしないので自然消滅する運命にある。また制定には多数の専門家集団がかかわることから、極めて実際的なものが制定されている。我が国で国際条約に基づく実験動物にかかわる法律が制定されて混乱が起こるのは、我が国の実験動物福祉ないしは動物実験実施の体制が他の国々と違っているからであり、これらが国際整合性をもって整備されていれば、さしたる問題は生じなかったはずであるし、今後も生じないものと思われる。

我が国の動物実験法制の展望

我が国では2005年の動物愛護法改訂時に施行後5年を目途に条文の再検討を行うこととしているが、その検討時には動物愛護法もこうした国際的な動きを踏まえたものとならざるを得ない。とくに我が国で動物愛護運動、動物実験反対運動を展開する活動家のなかには所謂帰国子女が多数含まれ、ものの考え方が欧米的となっている、実験動物福祉に関しても、欧米で教育をすでに受けた方々が存在する。したがって、こうした動物実験に批判的な方々を納得させるには欧米で行われているようなものの考え方にそった戦略が必要となろう。

我が国ではいつでも、誰でも、何処でも動物実験が行え、それを律する法律が存在しない、と動物実験反対運動家が唱え、政府に法的な規制を要求している。確かに、動物実験は研究の自由の建前から法的規制に馴染まないと言いつのっても、欧米では法的に規制され、その上でも研究成果は続々と上がっているのである。さすがに我が国でも相当な税金を使うバイオメディカルサイエンスの実施に何も規制がないのでは国民が納得しないのではないかと思われる。これからは動物実験を健全に推進しようとするのであれば、欧米先進国の動物実験に関する法制を十分に研究し、それに少しでも近づけるような努力が必要である。それにつけても、すでに我が国でも法的な規制が存在するとされた実験動物飼養保管ならびに苦痛軽減に関して、とくに獣医学的な管理に関して欧米とのギャップを優先的に埋めておく必要があるものと思われる。

近未来的には動物愛護法改訂の議論が来年早々にも始まるものと思われる。その際に一体何を各人が行うべきかが問われることとなろう。私が国際実験動物医学専

門医協会の立ち上げに努力し、さらにAAALAC Internationalの活動に長年関わってきていることは大分知られてきた。その経験から、国際的な枠組みの実験動物福祉のあり方は適切な獣医学的管理に依存するという確信が生まれてきた。もちろんそれを実践するための実験動物技術の質量、人的発展も必要なことはいうまでもない。また実験動物そのものの研究も必須ではある。動物実験を行うというバイオメディカルサイエンスの枢要部分に関しては、最後は実験動物の殺処分で完結するのであるから、他の動物で同様な存在をまずお手本として社会の人々の理解を得る必要があるものと思われる。動物愛護運動の歴史を顧みれば、当初は所謂家畜、現在の産業動物の苦痛の軽減が端緒であった。そこで多くの国々ではそのための獣医学の発展を期待して物事を進めてきた。その後、所謂ペットである伴侶動物（家庭動物）が続き、その延長戦上に実験動物があるとして動物福祉を実践してきたように思われる。最低、欧米各国の現行の法制はそのように整備されてきている。とくに動物実験では産業動物以上に多様な目的で実験動物が使用されることから、あらかじめその使用に関して細部にわたる法的規制を行うこと自体が大変困難であり、逆に現在知られている事実を元に、全く新たな真実を極めようとして行われる動物実験を規制することは土台無理な話であろう。そこで大原則は法的な規制に委ねるとしても細部は専門知識を持った獣医師にまかせることとしているのではなかろうかと感ぜられる。残念ながら我が国の実験動物医学専門医がそうしたことにことごとく対応できるほどに腕が良いとは私も未だ思っていない。しかし、これから長い時間をかけてそうした専門家を育成し、その専門家が一般の人々に物事を説明するという枠組は極めて有効に働くように思われる。

いずれにせよ、我が国がバイオメディカルサイエンス分野で引き続きリーダーシップを発揮するためには、実験動物福祉の立場にたった国際的に通用する動物実験を律する枠組みの構築が必要となる。この基盤に獣医学を背景とする実験動物医学の概念を取り込むことを提唱したい。

「動物実験～過去・現在・未来～」

遺伝育種

庫本高志（京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

はじめに

関西実験動物研究会は、その前身の関西実験動物懇話会を含むと、1980年（昭和55年）から活動している。現在（2008年）までの28年間の間に、実験動物学における遺伝育種、特に遺伝学分野での学術的、技術的な発展はめざましいものがあった。代表的なものとして、1) 遺伝子改変技術の動物実験分野への応用、2) ポジショナルクローニング法の確立、3) ゲノムサイエンスの進展、があげられる。本稿では、それらを振り返り、これからの動物実験における遺伝育種を展望してみたい。

関西実験動物研究会発足以前（1910年～1980年）

動物実験における、遺伝学、育種学はいつ始まったのだろうか？

ラットにおいては、1877年から1885年にかけて、Crampeがアルビノラットとワイルドラットの交配実験を行ったという記録がある(Castle, 1947)。一方、マウスにおいては、1903年にCastleが、アルビノ形質が劣性であることを示した(Castle and Allen, 1903)。この実験は、「メンデルの遺伝法則」の再発見(1900年)をうけてなされたものである。さらに、

1909年にはジャクソン研究所のLittleとウィスター研究所のKingによって、それぞれ、マウスとラットの近交系の作製が開始された(Heston, 1972; King, 1918)。現在のDBAマウス、WKAHラットやPAラットはその子孫である。近交系の作製は、遺伝的に均一なマウス、ラットを作製するという、明確な育種目標をもってなされたものであった(Foster et al., 1981)。このようなことから、1910年には動物実験における遺伝学、育種学は始まっていたと考えて差し支えないであろう。およそ100年前のことである(図1)。

1915年にはHaldaneによってマウスで最初の連鎖(アルビノとピンクアイダイリューション)が確認された(Haldane et al., 1915)。1946年にはSnellによってコンジェニック系統が確立され、腫瘍組織適合性抗原(MHC)の発見に至った。1950年代から60年代にかけてBaileyらによってリコンビナント近交系が確立され、遺伝子のマッピングパネルとして整備された(Bailey, 1971; Morse et al., 1978)。1970年代に、実験用マウス(*Mus musculus domesticus*)の亜種マウス(*Mus spretus*, *Mus castaneus*, *Mus musculus molossinus*)が、相次いで実験室に持ち込まれ近交化された。これら亜種マウスは既存の実験用マウスと遺伝

遺伝・育種関連のおもな出来事 1980年以前

1901- 1920	近交系(1909) 連鎖地図(1915)
1921- 1940	
1941- 1960	コンジェニック(46) リコンビナント近交系(50s) SHRラット(59)
1961- 1980	遺伝子組換え技術(70s) NODマウス(74) 亜種マウス(78)

的に離れていただけでなく、交配が可能であった。そのため、マウスの遺伝子連鎖地図の作成は飛躍的に進んだ。

実は、多くの近交系の確立には育種目標があった。たとえば、マウスでは、がん感受性を指標に複数の近交系が樹立されている。がんを自然発症するような系統は、ミュータント系統であり、病態モデルとしても捉えることができる。このような考えをもとに、がん以外の病態を指標に、近交系を確立し、病態モデルとして利用することが目指された。

日本では、1963年と1974年に、SHR ラットと NOD マウス、が樹立されている。これらは、現在でも世界で最もひろく用いられているミュータント系統である。ちなみに日米の主要な実験動物生産業者のホームページをご覧いただきたい。そのいずれにも SHR と NOD は掲載されている！

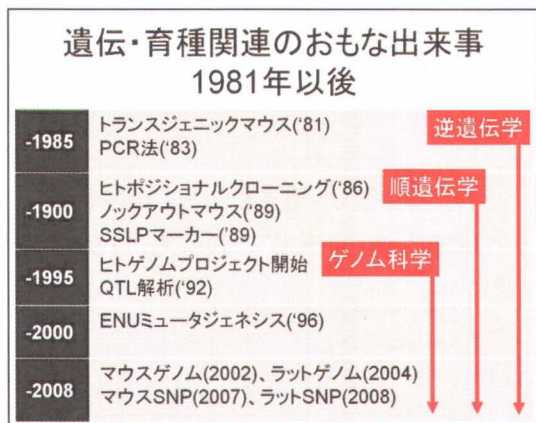
京都大学の岡本らは、Kyo:Wistar コロニーから高血圧を指標に選抜交配を繰り返すことにより SHR ラットを樹立した。SHR ラットは高血圧だけでなく、コレステロール代謝異常、インスリン抵抗性も示す。肥満遺伝子を導入したコンジェニック系統は、メタボリックシンドロームのモデルとして利用価値が高い。

塩野義製薬の牧野は、維持していた Jcl:ICR コロニーから、NOD マウスを樹立した。NOD マウスは自己免疫疾患動物であり、インスリン産生細胞が破壊されることにより、1型糖尿病を発症する。NOD マウスに重症複合免疫不全遺伝子 (*scid*) を導入したコンジェニック系統は、ヒト細胞や組織片を移植でき、ヒト化マウス作製のためのツールとして幅広く利用されている。

関西実験動物研究会発足後（1981年～2008年）

関西実験動物研究会が歩んできた28年の間に、動物実験における様々な学術的・技術的進歩があった。遺伝育種分野もその例外ではなく、以下に主要なものを3つ挙げる。

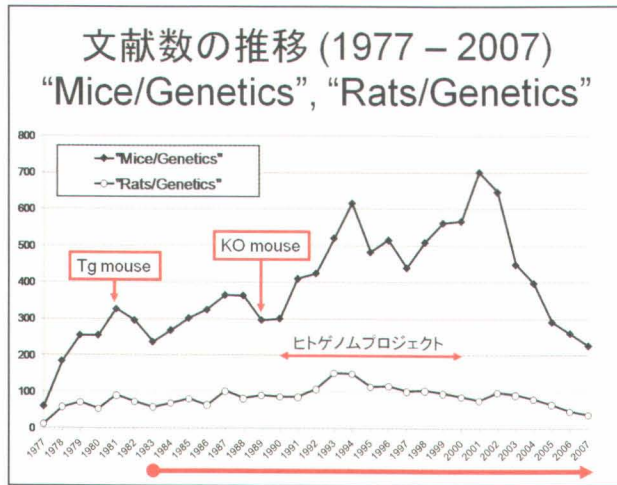
第1に、トランスジェニック動物、ノックアウトマウス作製手法の確立と、これらを用いた遺伝子機能の解析がある（逆遺伝学的アプローチ）。第2に、ポジショナルクローニング法による疾患原因遺伝子の同定手法の確立（順遺伝学的アプローチ）。そして第3に、ゲノムサイエンスの興隆である。



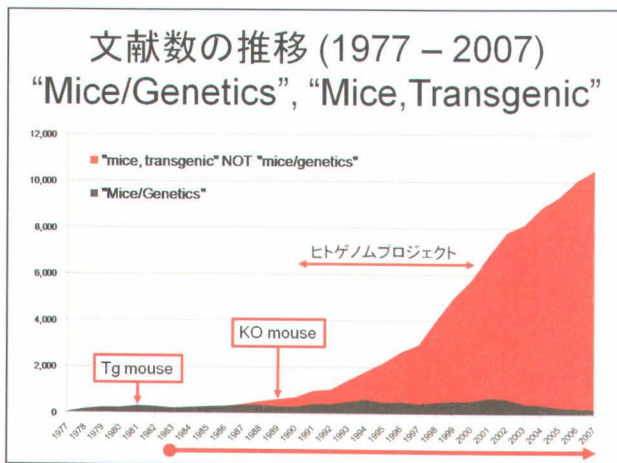
トランスジェニック、ノックアウト、逆遺伝学

懇話会発足の2年目、1981年に最初のトランスジェニックマウスが発表された(Gordon and

Ruddle, 1981)。外来遺伝子を安定的に次世代に伝達できるマウスが作製されたことは、革命的な出来事であった。遺伝子自体に変異を加えたり、発現様式を様々に変容させたマウスを作製することで、遺伝子の機能を個体レベルで解析できるようになったのである。そして、1989年にはノックアウトマウスの開発が公表されている(Capecchi, 1989)。ノックアウトマウスの作製には、組換えDNA技術に加え、マウス胚性幹細胞の培養法、相同組換え法、キメラマウスの作製法などの技術の確立が必要であった。その後、コンディショナルノックアウトマウス、ノックインマウスの作製技術が相次いで確立されている。以上のように、ある遺伝子を破壊したノックアウトマウスを作製し、観察された表現型(特に病態など)から遺伝子の機能を明らかにする手法、すなわち、「逆遺伝学」的手法は、遺伝子機能の解析に不可欠なツールとなっている。遺伝子改変マウスの利用数は年々増加し、1989年には年間数百件程度であった関連論文が、2007年には1万件を超えていることから、その影響力の大きさが窺える。



PubMed の Mesh データベースに登録されている文献のうち、マウス遺伝学(Mice/Genetics)、ラット遺伝学(Rats/Genetics)をキーワードに抽出した。Tg マウス、KO マウスが開発された年を下向き矢印で示す。ヒトゲノムプロジェクトの期間を両方向の矢印で示す。



PubMed の Mesh データベースに登録されている文献のうち、マウス遺伝学(Mice/Genetics)、マウストランスジェニック(Mice, Transgenic)をキーワードに抽出した。このキーワードはノックアウトマウスも含んでいる。Tg マウス、KO マウスが開発された年を下向き矢印で示す。ヒトゲノムプロジェクトの期間を両方向の矢印で示す。

ポジショナルクローニング、順遺伝学、QTL 解析

1986 年に慢性肉芽腫症の原因遺伝子がポジショナルクローニング法により同定された (Royer-Pokora et al., 1986)。連鎖解析によって遺伝性疾患の原因遺伝子の位置 (遺伝子座) を確定し、その遺伝子座の中から原因遺伝子を探り出すというこの手法は、「順遺伝学」の手法と呼ばれ、ヒトのみならず、マウスやラットのミュータント遺伝子の同定研究に応用されている。

さらに、遺伝解析のためのマーカー遺伝子として Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) マーカーが開発された (Weber and May, 1989)。SSLP マーカーは、マイクロサテライトマーカーとも呼ばれ、PCR で簡単に検出でき、また、マルチアレル (1 つのマーカーで複数のアレルが検出できる) であるため、詳細な遺伝子地図の作成に貢献した。

詳細な遺伝子地図が作成できたことにより、量的な形質 (体重、血糖値など) についても、順遺伝学的手法による原因遺伝子同定への可能性が開かれた (Dietrich et al., 1992)。量的形質を支配する遺伝子座を Quantitative Trait Locus (QTL) と呼ぶ。QTL をマッピングするために、リコンビナント近交系、コンソミック系、アドバンスド近交系、コンジェニック系、ヘテロジェニアストックなどの特別な系統群が育種されるようになった。

ゲノムサイエンス、SNP、

ヒトゲノム完全解読を目指したヒトゲノムプロジェクトは 1990 年に開始され、2000 年にワーキングドラフト配列の公表、そして、開始から 13 年後の 2003 年に完了した (Collins et al., 2003)。その過程で、数千キロ塩基対、数百キロ塩基対のゲノムをクローニングできる技術 (Yeast Artificial Clone, Bacterial Artificial Clone)、Expressed Sequence Tag (EST) の単離、高速シーケンサーの開発などの技術的基盤が整備され、さらに、膨大なデータを処理し利用するためのバイオインフォマティクス分野が発展した。このような学術的・技術的進歩はマウス・ラットのゲノム解析に応用され、マウス、ラットともにそのゲノム配列情報が得られている (Gibbs et al., 2004; Waterston et al., 2002)。

ヒトの喘息、がん、糖尿病、心臓病などの一般的な病気に係わる遺伝子を見つけるために、遺伝多型情報の集積が求められた。そこで、2002 年に HapMap プロジェクトが開始され、様々な人種から集められた DNA を用いて一塩基多型 (SNP) 情報が集積された。2003 年と 2007 年に、それぞれフェイズ 1、フェイズ 2 のハプロタイプマップが公表され、合計で約 460 万個の遺伝マーカーが整備された。その結果、組換えのホットスポットの存在、ハプロタイプブロックの存在 (ゲノムはある程度の塊で遺伝する)、ハプロタイプの多様性は限られていること、などが判明した。つまり、あるハプロタイプ上に疾患関連遺伝子が存在していれば、そのハプロタイプ上の遺伝マーカーのタイピングによって、疾患遺伝子との相関を見つけられる可能性が示唆された (Consortium, 2005)。

マウスとラットにおいても、SNP マーカーとハプロタイプマップが整備され、ハプロタイプブロックの存在が確認されている (Frazer et al., 2007; Saar et al., 2008)。

これから（2009年以降）

QTLからQTNへ、バイオインフォマティクス

これからの研究対象は、以前にも増して、生活習慣病ともいわれる、一般的な病気（がん、高血圧、糖尿病、リウマチ、喘息、自己免疫疾患、アルコール嗜好性など）を支配するQTLの同定となるだろう。しかも、QTLの同定だけでなく、複数の候補遺伝子から原因遺伝子を単離し、責任変異（Quantitative Trait Nucleotide: QTN）の同定が求められる。

ヒトでは、SNPの集積、国際的な協力体制の構築によって大規模な家系解析や症例対照研究が可能となった。その結果、Whole Genome Association Study (WGAS)が実現され、疾患に係わる遺伝子座の同定が着々と進められている。しかし、QTNの同定に達しているものはわずかである。まれにQTNの同定まで達成している研究もあるが、たいていは、1つの遺伝子変異をリスクファクターとしてあげているに過ぎない。つまり、WGASで複数のQTLを見つけても、QTNまでたどり着くのは現状では1つのQTLについてのみである。そこで実験動物の出番となる。ヒトと同様の病態を示すモデルからQTLそしてQTNの同定へ向けた研究が進展するだろう。ここでは、ヒトの遺伝解析と同じコンセプトを採用する。つまり、SNPを利用し、大規模な交配群を作製する。ここでは、作出が容易なヘテロジェニアストックの利用が有効となるだろう。

候補遺伝子の絞り込みは、遺伝子改変動物を作製し、その表現型を解析することで達成されるであろう。QTNがヒトと同様“ありふれた多型”（common variant）である可能性は高い。実験動物であれば、コンジェニック系などによる洗練された実験系を実現し、QTNの効果を判定できる。

一方で、バイオインフォマティクスの手法を駆使し、原因遺伝子がどのような病態発症パスウェイに位置しているかを定めることができる。そのパスウェイに関与する遺伝子の中から、ヒトQTL内の遺伝子を抽出することにより、QTNが同定できる可能性がある。

“ありふれた多型”（common variant）、機能多型（functional polymorphism）

機能多型とは、遺伝子の機能に関与する多型のことを言う。遺伝子の機能が変化すると、対応する病態への感受性・抵抗性が変化することが明らかとなってきた。つまり、機能多型とは、“病態に関連する多型”とも言うことができる。この“病態に関連する多型”は、複数の系統に共有されている場合が多く“ありふれた多型”でもある（Kuramoto et al., 2008）。今後、このような「病態に関連するありふれた多型」が、QTL解析を含む順遺伝学的アプローチによってますます同定されるだろう。一見正常に見える系統もなんらかの病態関連遺伝子をもつことが判明する。従って、実験目的に合致した系統を、明確な根拠をもって選択できるようになる。

「病態に関連するありふれた多型」は、アウトブリードにも存在する。アウトブリードが真にランダムに交配されることはないので、あるアウトブリードの持つ集団としての特性は、時間の経過とともに変化する。この事実が、遺伝子レベル、表現型レベルで明らかに

されるであろう。表現型が変化する（例えば、薬剤への反応性が変わる、体重の増加量が変わるなど）ことは、動物実験の再現性に影響する。これは動物実験の根幹にかかわる問題なので、アウトブレッドの適正な維持方法や使用方法が真剣に議論されるべきであろう。

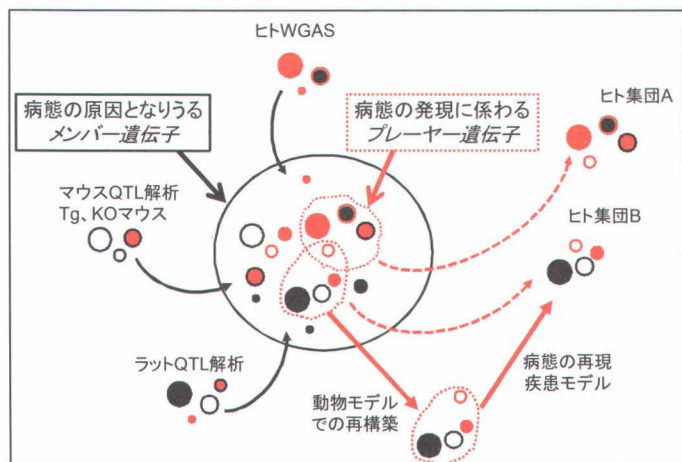
ポリジェニック？ オリゴジェニック？

QTL解析によって、特定の病態に係わる QTL が多数報告されている。例えば、マウスのインスリン依存性の糖尿病感受性遺伝子座は 40 カ所、ラットの血圧関連遺伝子座にいたっては 325 カ所！ もの座位がデータベースに登録されている。これらは、複数の交配群から得られた QTL が集積されたもので、あくまでも病態関連遺伝子であり、病態発症に関与する潜在的な能力を持つ遺伝子の数と考えることができる。

一方で、ある交配系 A では検出された QTL（ここでは QTL1 とする）が、別の交配系 B では検出されないことがしばしば観察される。その原因として以下の 2 つがあるだろう。1 つは QTL1 の効果が非常に小さいため結果が再現されなかったというもの。もう 1 つは、交配系 B での病態発症には、QTL1 とは別の QTL が必要であるというものである。

演者は後者の立場をとる。すなわち、実際に病態として発現するには、“ポリジェニック” な病態を構成する遺伝子のうち、数個が組み合わせられればよいという立場である。糖尿病や高血圧に代表される一般的な病気 (Common Disease) は、病態への潜在的な遺伝的関与という視点から見ると“ポリジェニック”であり、病態の発現という視点から見ると“オリゴジェニック”なのではないだろうか？ 現在、最高の検出感度があるとされるヒトの WGAS をもってしても、検出される QTL の数はせいぜい数カ所であり、家系や集団が違えば QTL が再現できない場合が多い。この事実は演者の考えを支持していないだろうか？

これからの動物実験の遺伝育種分野に求められることとして、“ポリジェニック”を構成するメンバー遺伝子を集積すること、それらの中から病態の発現に係わるプレーヤー遺伝子を再構築し、個体レベルで病態を確認し、遺伝子と病態との関係を明らかにすること、を挙げておく。



参考文献

- Bailey, D. W. (1971). Recombinant-inbred strains. An aid to finding identity, linkage, and function of histocompatibility and other genes. *Transplantation* *11*, 325-327.
- Capecchi, M. R. (1989). The new mouse genetics: altering the genome by gene targeting. *Trends Genet* *5*, 70-76.
- Castle, W. E. (1947). The Domestication of the Rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* *33*, 109-117.
- Castle, W. E., and Allen, G. M. (1903). *Proc Am Acad Arts Sci* *38*, 603.
- Collins, F. S., Green, E. D., Guttmacher, A. E., and Guyer, M. S. (2003). A vision for the future of genomics research. *Nature* *422*, 835-847.
- The International HapMap Consortium (2005). A haplotype map of the human genome. *Nature* *437*, 1299-1320.
- Dietrich, W., Katz, H., Lincoln, S. E., Shin, H. S., Friedman, J., Dracopoli, N. C., and Lander, E. S. (1992). A genetic map of the mouse suitable for typing intraspecific crosses. *Genetics* *131*, 423-447.
- Foster, H. L., Fox, J. G., and Small, J. D. (1981). *The Mouse in biomedical research* (New York: Academic Press).
- Frazer, K. A., Eskin, E., Kang, H. M., Bogue, M. A., Hinds, D. A., Beilharz, E. J., Gupta, R. V., Montgomery, J., Morensoni, M. M., Nilsen, G. B., *et al.* (2007). A sequence-based variation map of 8.27 million SNPs in inbred mouse strains. *Nature* *448*, 1050-1053.
- Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Metzker, M. L., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., Scherer, S., Scott, G., Steffen, D., Worley, K. C., Burch, P. E., *et al.* (2004). Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature* *428*, 493-521.
- Gordon, J. W., and Ruddle, F. H. (1981). Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. *Science* *214*, 1244-1246.
- Haldane, J. B. S., Sprunt, A. D., and Haldane, N. M. (1915). *J Genet* *5*, 133.
- Heston, W. E. (1972). Obituary. Clarence Cook Little. *Cancer Res* *32*, 1355-1356.
- King, H. D. (1918). *J Exp Zool* *26*, 1-54.
- Kuramoto, T., Nakanishi, S., and Serikawa, T. (2008). Functional polymorphisms in inbred rat strains and their allele frequencies in commercially available outbred stocks. *Physiol Genomics* *33*, 205-211.
- Morse, H. C., Cancer Research Institute (New York N.Y.), and National Institute of Allergy and Infectious Diseases (U.S.) (1978). *Origins of inbred mice : proceedings of a workshop*, Bethesda, Maryland, February 14-16, 1978 (New York: Academic Press).
- Royer-Pokora, B., Kunkel, L. M., Monaco, A. P., Goff, S. C., Newburger, P. E., Baehner, R. L., Cole, F. S., Curnutte, J. T., and Orkin, S. H. (1986). Cloning the gene for an inherited human disorder--chronic granulomatous disease--on the basis of its chromosomal location. *Nature* *322*, 32-38.
- Saar, K., Beck, A., Bihoreau, M. T., Birney, E., Brocklebank, D., Chen, Y., Cuppen, E., Demonchy, S., Dopazo, J., Flicek, P., *et al.* (2008). SNP and haplotype mapping for genetic analysis in the rat. *Nat Genet* *40*, 560-566.
- Waterston, R. H., Lindblad-Toh, K., Birney, E., Rogers, J., Abril, J. F., Agarwal, P., Agarwala, R., Ainscough, R., Alexandersson, M., An, P., *et al.* (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* *420*, 520-562.
- Weber, J. L., and May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* *44*, 388-396.

動物実験～過去・現在・未来～

微生物感染症

池 郁生 (独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室)

理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室 (理研 BRC) [1]は、研究者が作成したマウス資源の寄託・保存・提供を行う日本の中心機関の一つであり、文部科学省のナショナルバイオリソースプロジェクト[2]のマウス中核機関となっている。筆者はマウス寄託時の微生物検査、クリーニング後の SPF 検査、飼育マウスの SPF 検査 (図 1) を担当する。

微生物モニタリング検査項目(2ヶ月ごと) [清浄化確認検査も同一内容]	
必須項目	Mouse hepatitis virus (MHV), Sendai virus (HVJ), <i>M.pulmonis</i> , <i>C.piliforme</i> , Hantavirus, Ectromelia virus, Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV), <i>Salmonella</i> spp., <i>C.rodentium</i> , <i>C.kutcheri</i> , <i>P.pneumotropica</i> , CAR bacillus, <i>H.hepaticus</i> , <i>H.bilis</i> , Dermatophytes, Ectoparasites, Intestinal protozoa, Pinworms
易感染症系統用検査項目	<i>S.aureus</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>P.carinii</i> f.sp. <i>muris</i>
要求時に検査する項目	Pneumonia virus of mice (PVM), Mouse encephalomyelitis virus (TMEV), Mouse parvo virus (MPV), Mouse minute virus (MMV), Reovirus type 3 (Reo3), Mouse adenovirus (MAV), Mouse rotavirus (EDIM), Mouse cytomegalovirus (MCMV), Lactate dehydrogenase elevating virus (LDHEV)

◆ このほか、施設内の落下・付着の細菌・真菌検査を実施(年4回)

図 1. 理研 BRC における微生物モニタリング検査項目。

要求時に検査する項目とは、提供先機関が検査を希望する際、相手側費用負担で検査する項目のことで、理研 BRC で行うか、あるいは実験動物中央研究所に検査を依頼する。

日本は実験動物の感染症撲滅に非常に大きな努力を払い、主要な動物実験施設ではマウス・ラットやウサギなどの微生物モニタリングが定期的に行われ、重篤な感染症はほとんど見られなくなった。実験用マウスの微生物感染症には優れた教科書がいくつもあるが、2005 年発行の「実験動物の微生物モニタリングマニュアル」を除きほとんどの執筆が古く、新刊で入手可能なものは限られる。これは実験動物の清浄化技術、飼育技術、微生物モニタリング技術が既に確立しており、各種病原体に汚染した実験動物の存在が過去のものとなってきたからであろう。

確かに理研 BRC においても、20 年以上前に遭遇する機会があった症状の重いマウス肝炎ウイルス(MHV)、センダイウイルス、エクトロメリアウイルスなどの病原体に罹患したマウスが寄託されることはない。その一方で、症状がほとんど見られない MHV や、

Mycoplasma pulmonis (肺マイコプラズマ)、*Pasteurella pneumotropica* (肺パスツレラ)、*Helicobacter hepaticus*、*Pneumocystis carinii* f.sp. *muris* (マウスのカリニ)、消化管原虫、蟯虫といった微生物に感染している個体は見出される。

遺伝子改変マウスの多くは、遺伝子背景を均一にした上で繊細な実験に処するため、微生物感染を含めた環境要因の影響をなくして詳細な解析を行うことが求められる。そうした動物の *P.pneumotropica* や *H.hepaticus*、*Syphacia obvelata* などの感染は実験結果に多大な影響を与える。

最近では国際間のマウスの移動が増加している。海外から輸入したマウスは、日本国内でモニタされていない微生物も含め、通常日本に存在しないといわれる様々な病原体に感染している可能性がある。海外の研究機関のマウスにはパルボウイルスの感染が多く、また *Streptococcus pneumoniae* や *Encephalitozoon cuniculi* のモニタリングが行われることもある (図2)。

CRL rodent serology	
Tracking	SEN (Sendai virus), PVM (Pneumonia virus of mice), MHV, MVM (Mouse minute virus), GD-7 (TMEV), REO-3, MPUL (<i>M.pulmonis</i>)
Assessment plus	Tracking Profile + LCMV, MAD (Mouse adenovirus), ECTRO, <u>K</u> (K virus), <u>POLY</u> (Mouse polyomavirus), <u>MTLV</u> (Mouse thymic virus), MCMV (Mouse cytomegalovirus), HANT, <u>ECUN</u> (<i>Encephalitozoon cuniculi</i>), EDIM (Mouse rotavirus), CARB (CAR bacillus), <u>MNV</u> (Murine norovirus)
FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) recommendation	
<u><i>Streptococci β-haemolytic</i> (not group D)</u> <u><i>Streptococcus pneumoniae</i></u> <u><i>Streptobacillus moniliformis</i></u>	

図2. 海外で検査されているが日本では検査されていない項目。

上段の Charles River Laboratories (CRL) rodent serology では、下線病原体の検査が行われているが、日本での検査は難しい。下段の FELASA 勧告項目は、日本における検査項目として明記している研究機関はないが、呼吸器系の拭い検体の培養検査でカバーしているとも言える。

本稿では、遺伝子改変マウスや種々のミュータント、近交系マウスなどの微生物感染症管理について、現状と今後に関し日頃考えていることを率直に述べる。

1. 遺伝子改変マウスは潜在的な易感染性動物

リバースジェネティクスの象徴ともいえるノックアウトマウス (標的遺伝子欠損マウス) では、標的遺伝子の機能や生体システムへの影響は不明であることが多く、ノックア

ウトマウスを作成することによって未知あるいは推定上の表現型が見出されることを期待する。未知の表現型の中には「感染に弱い」という表現型もある。標的遺伝子が予想外に感染機構や自然免疫系・獲得免疫系に関与していることもあるので、遺伝子改変マウスは基本的に易感染性と考え、微生物管理をしっかりと行ったほうがよい。トランスジェニックマウスでも、挿入した遺伝子の染色体上の位置によって既存の遺伝子発現を破壊・阻害することもあるので、ノックアウトマウスと同様の注意が必要である。易感染性動物が病原体に暴露すると、その動物に深刻な影響が生じるだけでなく、他の動物の感染源となる。

複数の類似した機能分子が当該遺伝子群によってコードされ、単独の遺伝子を欠損させても類似機能分子の代償機構が表現型を隠すことがある。そのため、表現型に変化がない単独遺伝子欠損マウスを複数かけあわせて、ダブルノックアウトマウス、トリプルノックアウトマウスなどを作り出す手法が使われる。そのときこそ、易感染性にならないか注意が必要である。

我々は、転写因子である NF- κ B の c-Rel サブユニットならびに RelA サブユニット、そして腫瘍壊死因子 TNF α のトリプルノックアウトマウスが感染に弱いという状況を経験した[3]。各遺伝子単独ノックアウトマウスが感染に弱いという報告はなく、それゆえに複合的な遺伝子の働きが感染に重要な影響を与えることが分かった。このマウスは、*P. pneumotropica* 感染で肺に膿瘍を形成し、また *Staphylococcus aureus* 感染で肝や腎に膿瘍を作るのである。

2. 遺伝子検査の落とし穴

微生物検査には、病原体そのものを検出する方法と、病原体存在による生体の反応を調べる方法がある。遺伝子検査は細菌・真菌の培養検査や寄生虫の肉眼・顕微鏡検査と同様、前者に属し病原体の存在を調べる。後者では血清検査や血中酵素検査（乳酸脱水素酵素上昇ウイルス）が行われ、病原体存在の結果として作られた抗体や増加した酵素活性を調べる。遺伝子検査としてよく使われるのは、PCR である。特定の遺伝子領域の両端の一部を鋳型としてプライマーを設計し、両プライマーに挟まれた遺伝子領域を合成する。培養が難しい *H. hepaticus* や *H. bilis* 検査では PCR 検査が行われる。今回確認のために、実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター（実中研）、Charles River Laboratories (CRL)、University of Missouri Research Animal Diagnostic Laboratory (RADIL) の *Helicobacter* 属の検査方法を調べたが、いずれも PCR で行われている（2008 年 10 月 10 日現在）。培養で検出された *P. pneumotropica* の確定検査や *P. carinii* f.sp. *muris* の検査等にも PCR が使われる。

Helicobacter 属の PCR 検査では一般に 16S rRNA 遺伝子が検査対象になる。材料には盲腸内容物や糞便の DNA 抽出物を用いる。16S rRNA 遺伝子は細菌分類学で重要な遺伝子であり、大規模なデータベース[4]が存在していて、遺伝子配列を入力するとデータベース上で似た配列の遺伝子を持つ菌名を教えてくれる。理研 BRC の *Helicobacter* 検査を紹介す

ると、まず *Helicobacter* 属検出用の PCR を行い、陽性であった場合は、*H.hepaticus*、*H.bilis*、*H.rodentium*、*H.muridarum*、*H.typhlonius* 検出用の PCR を行う[5]。特に理研 BRC の SPF 対象病原体である *H.hepaticus* と *H.bilis* については、平行して複数のプライマセットを用いた PCR を行い、推定長の遺伝子増幅物が確認されたら、さらに当該領域 16S rRNA の遺伝子配列を決め、既報の遺伝子配列データと比較する。上記データベースおよび DDBJ の FASTA/BLAST サービスを利用して遺伝子配列の相同性検索も行う。なお抽出 DNA は濃度を測定し、すべてのサンプルで 16S rRNA のユニバーサルプライマを用いた PCR を行って 16S rRNA 領域の増幅があることを確認している。

16S rRNA の PCR 検査は慎重さが必要である。実際にシークエンスしたデータを並べ、自分の目で比較すると分かるが、16S rRNA 遺伝子配列データの菌種間差はわずかである。これはデータベース検索で得られる一致率の値だけからでは分からない。たとえ菌種間で 100%に近い値が検索データから得られたとしても、両菌種間で違いの生じている領域でどれほど塩基配列が異なっているか確認して欲しい。用いる DNA 材料が、マウス由来 DNA および腸管内に存在する莫大な数の細菌等由来の DNA の混合物であることにも意識すべきである。

3. 全頭検査は可能か（飼育形態とモニタリング）

微生物モニタリングの教科書には、モニタリング原理の説明が書かれている。モニタリングとは抽出試験であり、検査対象病原体の病原性や伝播力を元にして、統計学を基礎とした考察が行われ、通常のモニタリング検査では、飼育規模に対してどれだけの数の動物を検査すればよいか感染率と感染検出確率の対照表として書かれている。しかし、これらの考察は、母集団として同一コロニーを想定している。実際は、同じマウス飼育室に種々の系統のマウスが飼育されていることも多い。さらに、現在主流となりつつある個別換気式ケージに、このモニタリング理論は使えない。Allentown 社や Techniplast 社に、お勧めのモニタリング方式を聞いてみても答えはない。個別換気式ケージを販売している会社も微生物モニタリングの方法については頭を痛めている。理研 BRC では汚れ床敷を囲マウスケージに集め、囲マウスを定期的に検査する方法を採用している。国内・海外の提供先機関からこの囲検査方式に対してクレームが来たことはない。この方法は、理研 BRC の CV エリア（図 3）で同様に行い、有効性が認められている。

理研 BRC の CV エリアでは研究者からの寄託マウスを一時的に飼育している。フィルタートップをかぶせたケージに寄託マウスを入れ、オープンラックに並べ、ケージ交換の際に汚れ床敷を囲マウスケージに集める。CV エリアの囲マウスの定期検査では、MHV や *M.pulmonis*、*P.pneumotropica*、*H.hepaticus*、各種の消化管原虫、蟻虫、外部寄生虫が検出される。

実際に微生物モニタリングを行うとき、飼育頭数が多くなると、いかに抜き取り検査であつても必要な検査頭数が多くなり、検査労力とコストが問題となる。それに対する一つ

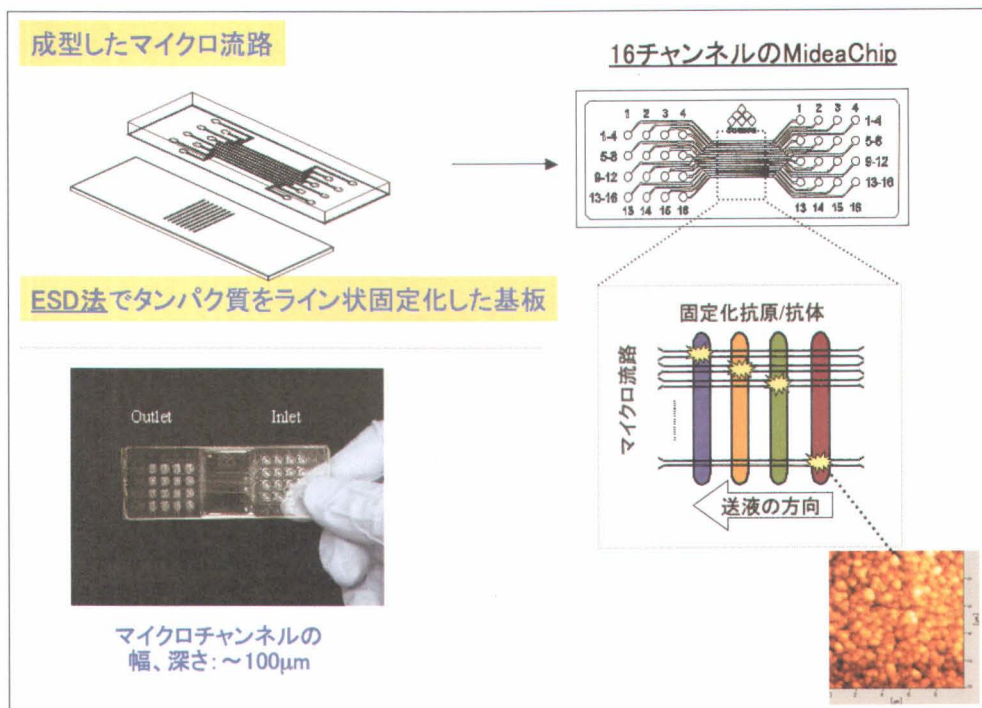


図4. マイクロ流体チップの構造. 理研 VCAD システム山形博士との共同研究
 エレクトロスプレーデポジション(ESD)法で複数種類の抗原を導電性ガラス上に幅
 1mm 以下で固定し(右下は固定抗原の走査電顕像)、垂直方向のシリコン製マイクロ
 流路(全容量 1 μ l)を載せてマイクロ流体チップとする。

た企画である。筆者は講師として、LDHEV 感染マウスの検査には血清酵素活性を調べる方法と RT-PCR を用いる方法があり、市販の酵素活性キットを使えば比較的容易に感染検査が可能であることと陽性コントロールの目的で血中 LDH 活性を誘導する方法、ならびに RT-PCR 法を講義した。

LDHEV の場合は酵素活性の上昇から感染を診断できるため、適切な情報さえあれば比較的容易に検査できる。血清検査や(RT)PCR を行う場合は、検査抗原や陽性コントロールが必要である。前書きに書いたように、日本国内で検査可能な病原体は限られている。しかし国内にそれら病原体研究者がまったくいないわけではない。筆者は 2005 年のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)感染マウス輸入の際、長崎大学医学部動物実験施設や国立感染症研究所を始めとして多くの施設・研究者の方々の協力を賜った。各検査機関や大学、研究所を含めた横の連携を築き、情報交換を行い、希望者に検査材料を提供できるような組織を作って、維持し続ける必要があると思う。特に「維持し続ける」ということが重要である。というのも、研究者の場合、扱っている病原体が研究対象から外れたり研究者の世代交代が起こったりすると、標準株や分離株などの貴重な研究材料が往々にして途絶えるからである。

5. マウスにはマウスの病原体 (感染症研究材料として)

病原体には宿主依存性があり、単独あるいは複数の種に対してのみ感染する。この機構はまだ不明な点が多い。ウイルス等の受容体の問題、病原体増殖の場としての問題、病原

体と自然免疫・獲得免疫との兼ね合い、宿主の感受性を決める遺伝形質の問題など、病原体によっては一部解明されたこと、あるいはまったく未解明のことが山積みである。

これらの研究において、マウスとマウスに自然感染する病原体の利用は様々な利点がある。すべての遺伝子について遺伝子改変マウスが作られようとしている[8]。すなわち、宿主側の遺伝解析に豊富なマウス資源を使うことができる。生体分子に対する抗体など検索ツールも充実してきている。全ゲノム配列が分かっている、感染に関するタンパク質断片のアミノ酸配列を調べれば、対応する遺伝子を推定することができる。マウスに自然感染する病原体を使うため、一部の人獣共通感染症病原体を除き、ヒトへの感染リスクは小さい。封じ込めを的確に行えば、他の飼育動物への感染も防ぐことが可能であり、感染実験に使用する封じ込め設備も多くの病原体で BSL2 である[9]。病原体検出はモニタリング技術として確立していて、文献も多い。

微生物モニタリングの対象はウイルス、細菌のほか、真菌、寄生虫まで含まれ、病原体の保存が困難なものもある。現在のモニタリング技術を基に、マウス感染症学として、まとめていければと思う。

最後に

遺伝子改変技術や生殖工学技術の発展とともに、動物実験のスタイルが変化し、それにもなつてそれら動物の微生物感染症の様相も変わってきている。新たな病原体や海外からの輸入病原体も微生物モニタリングの対象に加わり、微生物感染症に関する研究や技術開発が改めて必要となっている。日本は過去において感染症撲滅に非常に力を入れていた。その資産を受け継ぎつつ、これからも世界をリードできるような体制をとって、安心して動物実験ができる微生物環境の維持と、人類の感染症対策に貢献できるマウス感染症学の充実を実験動物関係者の協力のもとに目指して行きたい。

参考資料

- [1] <http://www.brc.riken.jp>
- [2] <http://www.nbrp.jp/index.jsp>、ナショナルバイオリソースプロジェクト
- [3] TAC-H mice are extremely susceptible to *Staphylococcus aureus*: Doi,T., Mise,S., Ike,F. 日本免疫学会学術集会、2005年12月（横浜）
- [4] <http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>、Ribosomal Database Project.
- [5] *Helicobacter* 検査における multiplex PCR 法の試用: 池 郁生、小澤雅司、岡本裕行、梶田亜矢子、吉木 淳. 日本実験動物技術者協会関東支部平成 18 年度総会・第 32 回懇話会、2007 年 2 月（代々木）
- [6] http://plaza.umin.ac.jp/JALAM/Kako_meeting/2007aki.htm
- [7] <http://www.bdj.co.jp/falcon/info/1f3pro00000t03vn.html>
- [8] Proc Natl Acad Sci. 2003 100(17): 9918-9922. など

http://www.molgen.mpg.de/~ag_ruiz/Hansen.pdf

- [9] <http://www.nih.go.jp/niid/Biosafety/kanrikitei3/kanrikitei3.pdf> (国立感染症研究所の病原体規定平成 19 年 6 月版)

動物実験～過去・現在・未来～

環 境

朱宮正剛（日本実験動物環境研究会）

1950年代、欧米と同時期にわが国独自の実験動物近代化運動が始まった。1951年に実験動物研究会が設立され、「実験用動物」とともに「環境」は最重要課題として施設、飼料、飼育管理等の整備が進められた。

実験動物施設について、近代化以前の実験動物室は、換気扇をつけた程度の部屋であった。暖房は近代化以前にも実施していたところもあったが、冷房設備は、1950年頃から設けられるようになった。最初の冷房設備は、国立衛試と予研の動物舎に設置されたといわれる。その後、施設の近代化とともに、1953年には遺伝研の、1966年には伝研（いまの医科研）の動物舎に冷暖房のできる空調設備が設置された。バリア施設は、1960年、実中研の目黒にできたのが最初であり、さらに1966年、実中研の野川にバリア施設が建設されて、SPFマウス・ラットの生産供給が開始された。その後、1960年前後から、国立・私立大学の医学部、国公私立の研究所、製薬企業、実験動物生産企業に本格的な施設が次々に建設されるようになった。

実験動物施設の建築・設備の基準案（1966）は、諸外国の実験動物施設やASHRAE（アメリカ空調学会）の基準を参考にしてつくられた。基準案では、マウス・ラットの温度の最低と最高は20～26.7℃、最適は22.2℃、湿度の最適は50%、目標値は30～80%として示された。「実験動物の環境条件は一定で、その中に動物を順化させることが必要である」といわれ、吉沢（1970）は、工学的にみた環境条件について温湿度の空調的、時間的変動幅は、1級を±0.5℃と3%、2級を±1℃と5%、3級を±2℃と10%とすることを提案した。その頃から、新設の実験動物施設の温度・湿度の変動範囲は狭い方がいいとして、厳重なコントロールがおこなわれるようになった。

その後、約10年を経て上記基準案の見直しと新しいガイドラインの策定作業がおこなわれ、「ガイドライン-実験動物施設の建築および設備-昭和58年版」（1983）が出版された。それによると、温度は20～26℃、湿度は40～60%（30%以下70%以上になってはならない）とされている（表）。

1972年から1984年までの間に、各地の動物実験施設で腎症候性出血熱が流行し、実験動物施設の衛生管理が改めて注目されるようになった。また、1957年以来実験動物関係者のアレルギー症に関する多くの報告がある。従来の乱流方式の動物室では、粉塵、空中細菌、臭気等は常時室内全体に攪拌されているので、腎症候性出血熱やアレルギーは動物室の空

調と関係する部分もある。これらの欠点を補うために一方向気流方式が開発された。本システムは、その後の遺伝子改変動物へのシフトに伴って開発された個別換気ケージシステムに発展し、少数多種動物の環境条件を整えることが可能になった。

微生物の制御からは、ビニールアイソレータ、層流ラックが開発されて、それぞれ個別の装置として疾病統御に大きな役割をはたしてきた。ケージも木製からアルミニウム、プラスチック製あるいはステンレス製などと発達してきた。ケージサイズが問題となっているが、科学的と倫理的な調和の上で総合的に検討すべきである。また動物種毎の生態的特徴を考慮して、ケージ飼育、ペン飼育、群飼育の方式を検討すべきである。

実験動物施設の建築・設備基準は基本的に 1966 年に提案された基準案と変わっていない。それは、「実験動物の環境条件は一定で、その中に動物を順化させることが必要である」とされた基本的な考えが踏襲されているからである。今もなお多くの実験動物は合目的に育成され、一定環境で維持、使用されるべき「生きた測定器」と見なされている。

主要な実験動物であるマウスは遺伝子改変動物が中心となって動物実験が展開されている。ここに収容される飼育装置は個別換気ケージシステム (IVC) が多く用いられている。飼育室の環境制御からケージ内環境制御への移行により少数多種動物の環境条件を整えることが可能になった。

わが国と欧米の間には、動物実験の Refinement の捉え方に違いがある。欧米では Refinement については、単に動物実験における「苦痛軽減」として捉えるだけでなく、実験動物の安寧 (Well-being) に悪影響を及ぼす心理的な面を含めた痛みや苦痛を緩和し、あるいは最小限にするために、実験動物の管理と使用における洗練が求められている。すなわち洗練は実験動物の Well-being を向上させ、それによって動物実験の精度を高めることをさす。

実験動物環境の Refinement に関する検討課題として以下を掲げておく。

温度・湿度制御方法の検討：山内の研究を進展させ、温度、湿度、換気および可変性の複合影響研究、動物福祉と省エネの具体的取組みが不可欠である。

飼育室内騒音に関する検討：現在の環境基準 (60dB(A)) は人の基準を採用している。マウス・ラット等の基準について可聴域外も含めて検討する必要がある。

ケージ内環境の検討：ケージ内環境を動物の Well-being と動物実験成績の安定性・再現性の面から検討し、エンリッチメント効果の実証、制御法および器材開発が必要である。

環境エンリッチメントは Refinement の一環として、当該実験動物に固有の生理、生態、習性を発揮させ、ストレスをできるだけ抑えるための手段である。適切な環境エンリッチメントにより実験動物の Well-being が確保され、動物実験の精度向上をはかる取組みが必要である。その結果として実験動物の福祉向上がはかられる。

環境モニタリング法の検討:動物の Well-being を指標とする環境モニタリング法の開発、基準化が必要である。

省エネルギー対策：地球温暖化対策として CO₂ 削減が国の施策として推進されている。高エネルギー消費施設である現状の動物実験施設をいかに省エネ化するかは緊急の課題である。

昭和 58 年版ガイドラインにおける環境条件の基準値

	マウス	ラット	ハムスター	モルモット	ウサギ	サル	ネコ	イヌ
温度	20～26℃				18～28℃			
湿度	40～60% (30%以下 70%以上になってはならない)							
換気回数	10～15 回/時							
気流速度	13～18cm/秒							
気圧	静圧差で 5mmH ₂ O 高くする (SPF バリアー区域) 静圧差で 15mmH ₂ O 高くする (アイソレーター)							
塵埃	クラス 10, 000* (動物を飼育していないバリアー区域)							
落下細菌	3 個以下** (動物を飼育していないバリアー区域) 30 個以下 (動物を飼育していない通常の区域)							
臭気	アンモニア濃度で 20ppm をこえない							
照明	150～300 ルクス (床上 40～80cm)							
騒音	60 ホンをこえない							

注) * 米国口腔宇宙局の分類によるクラス分け

** 9cm 径シャーレ 30 分開放 (血液寒天 48 時間培養)

参考資料

- 1) 山内忠平：実験動物の過去、現在、未来—環境について—。日本実験動物技術者協会 関東支部，実験動物の過去・現在・未来 20 周年記念誌。PP. 30-34, 1993.
- 2) 実験動物施設基準研究会編：ガイドライン 実験動物施設の建築および設備 昭和 58 年版。清至書院，1983.
- 3) 山内忠平：実験動物の環境と管理。出版科学，1985.
- 4) 日本建築学会編：平成 8 年版ガイドライン実験動物施設の建築および設備。アドスリー，1996.
- 5) 日本建築学会編：最新版ガイドライン実験動物施設の建築および設備。アドスリー，2007.
- 6) 山内忠平 (改訂増補)：新版実験動物の環境と管理。アドスリー，2008.

動物実験～過去・現在・未来～
疾患モデル

岩倉洋一郎

東京大学医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター

言うまでもなく、疾患モデルは人の病気のモデルとなる動物であり、忠実に病態を反映していることが望ましい。そのようなモデルは発症機構の解析に用いられるほか、治療のモデルとして、種々の治療薬の治療効果を評価するために用いることができる。本講演では関節リウマチを例として疾患モデルの過去、現在、未来について述べたい。

関節リウマチは関節病変を主徴とする全身の異常を伴った炎症性疾患で、自己免疫疾患の一つである。患者は人種にかかわらず、世界中に分布しており、人口の約1%、日本でも70万人程度の患者がいるとみられている。このような関節リウマチに対する疾患モデルを作製する方法として、大きく3つの方法がとられてきた(表1)。一つは関節リウマチが関節構成成分に対する免疫応答が原因であることに着目し、人為的に関節の主要構成成分である2型コラーゲンで免疫することによって、関節リウマチと同様の病態を引き起こすものである。ただ、この方法によっては増悪期の病態は再現できるものの、なぜ自己免疫が引き起こされるのかは知ることができない。他の方法としては、動物が偶然関節リウマチ様の病気を発症したものを選抜し、モデル化したものであり、lprマウスやSKGマウスなどがある。しかし、発症に関与する遺伝子の変異を持つ動物が偶然得られる可能性は極めて低く、このようなモデルを得ることは非常に難しい。

関節リウマチモデル	メカニズム	文献
自然発症モデル		
MRL-lpr/lpr mouse	<i>fas</i> gene mutation, autoimmunity	Hang et al. (1982)
New Zealand Black mouse	autoimmunity caused by retrovirus? SLE model	Rordorf et al. (1982)
SKG mouse	autoimmunity caused by a TCR Zap70 mutation	Sakaguchi (2000)
誘導モデル		
Type II collagen-induced arthritis	immunization with type II collagen	Trentham et al. (1977)
Adjuvant arthritis	immunization with Freund's complete adjuvant	Pearson et al. (1956)
Cell wall-induced arthritis	immunization with Streptococcal cell wall components	DeJoy et al. (1989)
Pristane-induced arthritis	immunization with pristane	Potter & Wax (1981)
Anti-type II collagen-induced arthritis	anti-type II collagen monoclonal antibodies+ LPS	Terato et al. (1995)
遺伝子操作マウスモデル		
HTLV-I transgenic mouse	cytokine induction by Tax, autoimmunity	Iwakura et al. (1991)
Human TNF- α transgenic mouse	overproduction of TNF- α	Keffer et al. (1991)
K/BxN mouse	transgenic mouse for the TCR against RNase I	Kouskoff et al. (1996)
TNF- α ^{ARE/ARE} mouse	stabilization of TNF- α mRNA	Kontoyiannis et al. (1999)
BALB/c-IL-1Ra-deficient mouse	IL-1Ra knockout mouse, excess IL-1 signaling	Horai et al. (2000)
Human IL-1 α transgenic mouse	overproduction of IL-1 α	Niki et al. (2001)
Deir-deficient mouse	overproliferation of dendritic cells	Fujikado et al. (2008)

そこで人為的に遺伝子を操作することが考えられた。1980年にGordonらはマウス受精卵に遺伝子を導入することによりトランスジェニック(Tg)マウスを作製することに初めて成功し、それまで原核生物に限られていた個体レベルでの遺伝子操作をほ乳動物において初めて可能にした。その後、ノーベル賞の受賞対象ともなったEvanseらによるES細胞の開発、CapecchiらによるES細胞における相同遺伝子組み換え法の開発があった。1989年になり、Robertsonらはこれらの技術を組み合わせて初めて遺伝子欠損(KO)マウスの作製に成功した。そのおかげで、現在では任意の遺伝子を動物個体に導入して発現させたり、あるいは逆に意図的に変異を導入することにより、発現を消失させたりすることが可能になった。このような遺伝子操作による疾患モデルの作製は、現在の疾患モデル作製の主流であると言える。

我々は成人T細胞白血病を引き起こす原因ウイルスであるHTLV-I遺伝子を導入したTgマウスを作製し、このマウスが関節リウマチによく似た関節炎を自然発症することを見だし、このウイルスに関節炎を誘導する能力のあることを初めて示した(1)。その後、疫学調査により、HTLV-Iが日本人における関節リウマチの原因の一つとなっていることは証明されており、遺伝子機能の解明から病因が解明された一つの例となっている。その後、この関節炎モデルの関節においてIL-1やTNFなどのサイトカインの発現が亢進していることがわかり、我々はこれらのサイトカインの病体形成における役割を知るためにKOマウスを作製した。偶然にも発現亢進の見られたIL-1の内在阻害分子であるIL-1 Receptor Antagonist(IL-1Ra)のKOマウスがやはり自己免疫性の関節リウマチによく似た関節炎を発症することを見いだした(2)。

HTLV-I TgマウスやIL-1Ra KOマウスはいずれも4週齢をすぎると骨破壊、細胞浸潤、滑膜増殖を伴う関節リウマチによく似た関節炎を自然発症する。いずれの場合もBALB/cA背景で発症率は高く、C57BL/6J背景では低い。いずれのマウスもリウマチ因子や2型コラーゲン、HSPに対する自己抗体価が高く、自己免疫を発症しており、骨髄細胞移植やT細胞移植により関節炎が誘導されることから自己免疫が関節炎の原因であると考えられた。ところで、HTLV-I Tgマウスの関節ではIL-1が強く発現しており、IL-1を欠損させると発症が抑制されること、また、IL-1Ra KOマウスは過剰なIL-1シグナルによって自己免疫が誘導されていると考えられることから、いずれの場合もIL-1の過剰シグナルが自己免疫の原因であることが示唆された。関節ではIL-1の他に、IL-6やTNFなどの炎症性サイトカインの発現が亢進していることがわかったが、興味深いことにはHTLV-I Tgの関節炎発症がIL-6に依存しTNFには依存しなかったのに対し、IL-1Ra KOマウスの場合には逆にIL-6には依存せず、TNFに依存することがわかった(3)。従って、見かけ上同じ病態を示す関節炎モデルでも、両者のサイトカイン依存性は全く異なっており、このことはヒトの場合にも同様のサイトカイン依存性の異なる病態があることを示唆するとともに、IL-6とTNFの作用点が全く異なることを示している。

さらに、我々はIL-17の発現が両方のモデルで亢進していることを見いだした。また、関節リウマチ患者でも発現亢進していることが報告されていたことから、IL-17 KOマウスを作製し、発症に対する影響を検討した。その結果、IL-17欠損は両方のモデルで発症を強く阻害したばかりではなく、コラーゲン誘導関節炎も強く阻害することがわかった(4)。その他、実験的自己免疫性脊髄炎の発症や接触型過敏症、遅延型過敏症、気道過敏症などのアレルギー応答も強く抑制することを見だし、IL-17が自己免疫やアレルギー応答において中心的な役割を担うエフェクター分子であることを初めて明らかにした(5, 6)。

これら2つの関節炎モデルを用いて関節における遺伝子発現を検討したところ、500以上の遺伝子の発現が両方のモデルで特異的に亢進していることがわかった。このうち、C型レクチンの一つであるDeirについて遺伝子欠損マウスを作製したところ、自己免疫が誘導され、関節や唾液腺で炎症がひきおこされることがわかった(7)。Deirは細胞質内にITIMを持つ分子であり、Deir欠損マウスでは樹状細胞の増殖亢進

と免疫感受性の亢進が認められ、この分子が樹状細胞の分化・増殖を制御していることがわかった。Dcir KO マウスではこの抑制が外れたため、免疫機能が亢進し、自己免疫になったものと考えられる。

このように関節局所で発現亢進のみられる遺伝子の系統的な遺伝子欠損マウスの作製は発症機構の解明、ひいては治療ターゲットの探索においてきわめて有用である。従って、このような遺伝子欠損マウスを系統的に作製できるようなシステムの構築は、関節リウマチの克服を目指した研究を進める上において大きな意味を持つものと考えている。同様に、他の疾患においても関与遺伝子をKOし、その遺伝子の発症における役割を明らかにすることが、新しい治療法の開発に重要な役割を果たすことが期待される。現在、KOマウスの作製は各研究者個人にまかされており、年単位の長い時間をかけて必要なマウスを整備する必要がある、明らかに研究の律速段階になっている。仮に、種々の遺伝子欠損マウスライブラリーが整備され、研究者は必要に応じてそのライブラリーの中から選んで使えるになれば、研究のスピードが格段に加速されることは疑いない。現在既に国家事業としてバイオリソースセンターの整備が行われているが、今後はさらに積極的に遺伝子改変マウスを作製し、解析するシステムを整備することが、我国の医学生物学の発展にとって重要な課題であると考えられる。

参考文献

1. Iwakura, Y., Tosu, M., Yoshida, E., Takiguchi, M., Sato, K., Kitajima, I., Nishioka, K., Yamamoto, K., Takeda, T., Hatanaka, M., Yamamoto, H., and Sekiguchi, T. Induction of inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in mice transgenic for HTLV-I. *Science*, **253**, 1026-1028 (1991).
2. Horai, R., Saijo, S., Tanioka, H., Nakae, S., Sudo, K., Okahara, A., Ikuse, T., Asano, M., and Iwakura, Y. Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. *J. Exp. Med.*, **191**, 313-320 (2000).
3. Horai, R., Nakajima, A., Habiro, K., Kotani, M., Nakae, S., Matsuki, T., Nambu, A., Saijo, S., Kotaki, H., Sudo, K., Okahara, A., Tanioka, H., Ikuse, T., Ishii, N., Schwartzberg, P. L., Abe, R., and Iwakura, Y. TNF α is crucial for the development of autoimmune arthritis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. *J. Clin. Invest.*, **14**, 1603-1611 (2004).
4. Nakae, S., Komiyama, Y., Nambu, A., Sudo, K., Iwase, M., Homma, I., Sekikawa, K., Asano, M., and Iwakura, Y. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, resulting in the suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity*, **17**, 375-387 (2002).
5. Nakae, S., Saijo, S., Horai, R., Sudo, K., Mori, S., and Iwakura, Y. IL-17 production from activated T cells is required for the spontaneous development of destructive arthritis in mice deficient in IL-1 receptor antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 5986-5990 (2003).
6. Iwakura, Y., Nakae, S., Saijo, S., and Ishigame, H. The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. *Immunological Rev.*, in press.
7. Fujikado, N., Saijo, S., Yonezawa, T., Shimamori, K., Ishii, A., Sugai, S., Kotaki, H., Sudo, K., Nose, M., and Iwakura, Y. Dcir deficiency causes development of autoimmune diseases in mice due to excess expansion of dendritic cells. *Nature Med.*, **14**, 176-180 (2008).

動物実験～過去・現在・未来～ 糖尿病モデル動物を用いた創薬

武内浩二、小高裕之 武田薬品工業株式会社 創薬第一研究所

1. はじめに

医薬品の開発においては、候補となる化合物の有効性、安全性あるいは体内動態を様々な角度から検討する非臨床試験が必要であるが、これらの試験の中で、特に有効性を的確に見極めるためにはヒトの病態への外挿性の高い病態モデル動物を用いることが重要な鍵を握る。

本稿では糖尿病モデル動物を例に取り、種々のモデル動物が確立された歴史的背景、現在用いられている代表的な糖尿病モデル動物と糖尿病治療薬開発への応用例、および今後の展望を概説する。

2. 歴史的背景

糖尿病モデルの作成に最初に成功したのは von Mering と Minkowski (1989)であり、イヌの膵臓を摘出するとヒトの糖尿病に似た症状が起こることを見出し、糖尿病は膵の異常に起因した疾病であることが初めて明らかにされた。その後、1922年には Banting と Best によるインスリンの発見と抽出の成功につながり、インスリン投与が膵を摘出したイヌや糖尿病患者に対して著効を示したことから、糖尿病はインスリン欠乏に起因することが明らかになった。1937年、Jacobs はアロキサンを投与した動物が糖尿病を発症することを見出したが、その後もアロキサと同様に膵β細胞を破壊させることによって糖尿病を発症させる作用を持つ化学物質が発見された。そのうち1963年に見出されたストレプトゾトシンは最も容易かつ再現性良く糖尿病を発症させるものとして現在でも広く用いられている。1974年、Porta らはストレプトゾトシンを新生仔期に投与することによって、インスリンの絶対的な欠乏は生じないがグルコースに対するインスリン分泌能が選択的に低下している糖尿病ラットを作成可能なことを見出した。

一方、自然発症糖尿病動物は1940年代後半以降に相次いで発見された。これらのうち比較的早期に発見された肥満 yellow(A^y)マウスや KK マウスの糖尿病症状は軽度であったが、著しい耐糖能の低下が認められた。また同時期に発見された肥満動物である Zucker fatty ラット(1960年)にも通常の飼育下では正常血糖値であるにもかかわらず著しい耐糖能の低下が認められた。ちょうどこの頃、Yalow と Berson によってインスリンのラジオイムノアッセイ法が開発され、ヒト糖尿病患者では血清インスリン値が低く、グルコースを投与しても血清インスリンがほとんど上昇しない場合と、血清インスリン値が健常人と同じかむしろ高値を示す場合があることが明らかとなった。上述の肥満型の自然発症糖尿病動物においては血中インスリンの低下は認められなかったため、これらの動物においてはインス

リンの作用障害が耐糖能低下をもたらす重要な因子と考えられるようになった。その後、マウス、ラットなどのげっ歯類を中心に数多くの自然発症糖尿病動物が発見されており、1980年代以降における分子生物学的手法の導入による解析も加わり、膨大な成果が蓄積されてきた。

3. 現状

(1) 糖尿病の分類

糖尿病はインスリンの絶対的な分泌不全を特徴とする1型糖尿病と、糖に対する膵β細胞からのインスリン分泌が特異的に低下した状態あるいは抹消組織におけるインスリン抵抗性を特徴とする2型糖尿病に大別されるが、生活習慣と密接に関係し、糖尿病患者の大多数を占めるのが後者の2型糖尿病である。2型糖尿病はインスリン分泌低下を伴う非肥満型とインスリン抵抗性を特徴とする肥満型に細分される。

このように糖尿病は多様な病態を示す疾患であり、糖尿病治療薬の薬効評価にはそれぞれの病態を反映したモデル動物を使用することが極めて重要である。特に、肥満2型糖尿病モデル動物の開発は、2型糖尿病の発症と進行過程における生理、生化学及び病理学的変化を理解する上で重要な知見を提供するだけでなく、肥満によるインスリン抵抗性の惹起とそれに伴う糖代謝異常進展の実態を明らかにし、糖尿病治療薬の開発に大きく貢献してきた。

(2) 自然発症2型糖尿病モデル動物

1) ob/ob マウス

劣性突然変異マウスとして見出され、原因遺伝子として常染色体の第6染色体にOB遺伝子が同定された。ob/obマウスではOB遺伝子105番目のアルギニンが終止コドンに置換され、正常OB遺伝子産物(レプチン)が生産されない。本マウスは肥満2型糖尿病モデルであり、著明な過食を示し生後2週間で肥満が認められ、体重は6週齢で40g、14週齢で60gに達する。過食、肥満に加えて、高血糖、高インスリン血症、血中グルカゴン高値を呈し、末梢組織と肝臓においてはインスリン抵抗性が認められる。膵臓では、膵島の肥大化、増殖能の増加、グルコース刺激に対する感受性亢進を認める。遺伝背景によって病態の発現頻度や重症度が異なるので使用の際には特徴をよく把握しておくことが重要である。

2) db/db マウス

C57BLKSマウスの劣性突然変異として見出された。レプチン受容体遺伝子のイントロン内1塩基置換により選択的スプライシング異常をきたし、レプチン非応答性の受容体が発現する。若週齢から著明な過食、肥満、高血糖、高インスリン血症、高レプチン血症およびインスリン抵抗性を示すが、10週齢以降はβ細胞数低下を伴う膵島の機能低下により血中インスリン濃度が低下し、糖尿病症状が重篤化するのが大きな特徴である。膵疲弊を伴う肥満2型糖尿病モデルとしてob/obマウスとは区別される。またob/obマウスと同様に遺伝背景によって病態の発現頻度や重症度が異なる。

3) KK 及び KKA^y マウス

KK マウスは埼玉県春日部地方で飼育されていたマウスから、糖尿病を自然発症するマウスとして分離された。KK マウスの糖尿病発症は多数の遺伝子により制御されていると考えられ、通常の飼育条件下においては高血糖の出現はまれであるが、発症した個体は耐糖能およびインスリン感受性の低下を示した。本マウスでは体重の増加と糖尿病の進展に相関を認めたことから、糖尿病をより顕在化させる目的で、マウスに肥満表現形を誘導する *A^y* 遺伝子を KK マウスに導入し、KKA^y マウスが確立された。*A^y* 遺伝子は第2染色体に位置し優性遺伝を示す *agouti* 座変異である。*A^y* 遺伝子導入マウスでは、元来皮膚のみに発現する *agouti* タンパクが異所性に発現しており、視床下部においてメラノコルチン4受容体のアンタゴニストとして作用し、摂食抑制ホルモンである α MSH の作用を阻害する結果、過食により肥満が発症すると考えられている。

KKA^y マウスは通常食飼育条件においても6週齢から肥満、高血糖、高インスリン血症及び高トリグリセリド血症を安定的に示した。KK マウスに比べて強い耐糖能悪化、インスリン感受性低下を認めるが、KK マウスに認められた先天的なインスリン感受性低下に *A^y* 遺伝子導入による過食肥満の影響が加わり、高血糖を発症すると考えられている。*ob/ob* マウスと同じ肥満2型糖尿病モデルであるが、より強い抹消組織でのインスリン抵抗性を示す。

4) Zucker fatty (ZF) および Zucker diabetic fatty (ZDF) ラット

ZF ラットはアルビノラットの13C系統と黒色ラットM系との交雑種13M系の突然変異として発見された。劣性遺伝子 *fa* (*Lep^{r^{fa}}*) をホモに持つ場合のみ肥満を呈す。レプチン受容体遺伝子のミスセンス変異(*Gln269Pro*)により、レプチンの受容体への結合能が低下し、レプチン作用が十分に発揮されない。ZF ラットは4週齢頃から肥満を認め、さらに高インスリン血症、高トリグリセリド血症を呈し、末梢及び肝におけるインスリン抵抗性も認めるが、血糖は正常域である。

ZDF ラットはZF ラットから糖尿病を呈するコロニーとして見出され、選択交配によって確立された。ZF ラットと同様に *fa* (*Lep^{r^{fa}}*) をホモに持つ場合のみ肥満及び糖尿病を発症する。ZDF ラットは、肥満に加え7週齢から明確な高血糖を示し、12週齢には血漿グルコース濃度は500 mg/dL以上に達する。血漿トリグリセリドも加齢と共に上昇を認め、その後高トリグリセリド血症が維持される。7-8週齢をピークとした高インスリン血症を呈すが、その後膵 β 細胞の機能低下に伴って血漿インスリン値の低下を認め、糖尿病症状は重篤化する。

5) Wistar fatty ラット

肥満であるが血糖は正常域であるZFラットの *fa* 遺伝子 (*Lep^{r^{fa}}*) を、耐糖能障害を有する Wistar Kyoto ラットに導入することにより確立された。雌雄ともに過食、肥満、高インスリン血症、高トリグリセリド血症を呈するが、雄性のみに血糖上昇を認め、8週齢以降に血漿グルコース濃度は300-400 mg/dLに達する。肝および末梢組織のインスリン抵抗性も雄性に強く認められる。ZDF ラットとは異なり、糖尿病進展に伴うインスリン分泌能低下は認

められず、高週齢においても高インスリン血症が維持される。

6) Goto-Kakizaki (GK)ラット

Wistar ラットから耐糖能の悪い個体を選択交配することによって確立された。インスリンの初期分泌低下による高血糖及び耐糖能悪化を認めるが、血糖は 200-300 mg/dL 程度であり病態は比較的軽度である。非肥満型の 2 型糖尿病モデルラットでありインスリン分泌メカニズムの解析に利用される。

(3)糖尿病治療薬

1)ボグリボースの開発

α グルコシダーゼ阻害薬であるボグリボースは、小腸において二糖類から単糖類への分解を抑制することにより単糖類の吸収を遅らせ、食後の急激な血糖上昇を抑制する。ボグリボースは、1 型および 2 型と問わず全ての糖尿病モデル動物に対して有効であったが、耐糖能異常および膵におけるインスリン分泌障害を特徴とする非肥満 2 型糖尿病モデルである GK ラットにおいては、血漿グルコース及びインスリン値を低下させ、GK ラットに認められる初期インスリン分泌反応低下を正常化するとともに耐糖能改善作用を示した(1)。以上の結果は、ボグリボースが日本人の糖尿病患者に多く認められる非肥満インスリン分泌不全を呈す患者に対して有効であることを示唆した。実際、現在、国内の臨床で使用されているボグリボースは、インスリン分泌能の低下によって食後過血糖を示す 2 型糖尿病患者に対して良好な治療効果を示している。

2)ピオグリタゾンの開発

インスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンは核内受容体型転写因子である PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ) の活性化により、インスリン抵抗性を示す臓器に認められるインスリン受容体以降の細胞内インスリンシグナル不全を明確に改善させる。現在、世界でも広く臨床に使用されているピオグリタゾンの創製には、肥満 2 型糖尿病モデル動物 (KKA γ マウス、Wistar fatty ラット) の確立が大きく貢献した(2)。

ピオグリタゾンは肥満 2 型糖尿病動物 (KKA γ マウス、Wistar fatty ラット) の血糖、血中脂質及び血中インスリンを用量依存性に低下させ、耐糖能障害とインスリン過分泌及びインスリン抵抗性も軽減させた。一方、正常ラットに対しては血糖低下作用を示さなかったことから、低血糖の危険性の少ないことが示唆された。また、インスリン分泌障害を持つ非肥満 2 型モデルの GK ラットでは蔗糖摂取によって糖尿病が増悪した状態で有効であったが、1 型糖尿病モデルの STZ ラットにおいては高血糖を改善しなかった (表 2)。このように、本剤の作用発現にはインスリン抵抗性の存在が必須であることが示唆された。実際、臨床においても、ピオグリタゾンは健常人の正常血糖には全く影響を与えず、インスリン抵抗性を持つ 2 型糖尿病患者に対して優れた血糖低下作用を示している。

糖尿病の成因は多様であり、糖尿病治療薬単剤で血糖コントロールを長期にわたって維持することは困難な場合も多く、その場合 2 剤併用療法が導入される。ピオグリタゾンと

他の糖尿病治療薬との併用効果も動物モデルで検証された(3,4)。

ピオグリタゾンとスルホニル尿素(SU)薬との併用効果を検討した。Wistar fatty ラットはSU薬に対して抵抗性である。そこでWistar fatty ラットにピオグリタゾンを1週間投与した後、SU薬(グリベンクラミド)の作用を経口糖負荷試験にて検討した。強いインスリン抵抗性を示すWistar fatty ラットはインスリン過分泌を示すが、ピオグリタゾンの投与はこれを改善した。ピオグリタゾン投与により末梢のインスリン感受性が亢進し、インスリン必要量が低下し、膵臓からのインスリン分泌要求量が低下したと考えられる。このようなインスリン抵抗性が改善された状態にSU薬を併用投与するとインスリン分泌促進により糖利用が亢進し耐糖能のさらなる改善を認めた。

ピオグリタゾンと α グルコシダーゼ阻害薬との併用効果もWistar fatty ラットを用いて検討されている。低用量のピオグリタゾン(1 mg/kg/日)とボグリボース(5 ppm)の併用は、Wistar fatty ラットの高血糖、血漿トリグリセリド高値を著明に改善した。また併用による明確な耐糖能改善効果も認められた。ピオグリタゾンは主として絶食高血糖を低下させ、一方、ボグリボースは食後過血糖を抑制する。両者の作用の持続によって血糖コントロール指標である糖化ヘモグロビンが有意に低下した。ボグリボース単独で見られるインスリン分泌促進作用は、ボグリボースが食後インスリン過分泌を持続的に抑制することにより膵におけるインスリン貯留が高まり、糖負荷に対する反応性が亢進した結果と考えられる。さらに、ピオグリタゾンとの併用により、標的組織のインスリン抵抗性が改善されたことによって耐糖能の改善をもたらしたと考えられる。また、ボグリボース投与群では消化器症状が認められず、併用群ではピオグリタゾン単独に比べて体重増加の抑制を認めた。単独に比べて体重増加の抑制を認めた。両薬剤の併用は、体重増加や消化器症状の出現を軽減できる点でも有用であると考えられた。

さらに、ピオグリタゾンとインスリンの併用効果を検討した。蔗糖液を摂取させることによって糖尿病を増悪させたGKラットにおいて、インスリン投与により高血糖の低下を認めたがインスリンの用量を変化させてもその程度は中程度にとどまった。一方、ピオグリタゾンの併用においてはさらなる血糖低下を認めた。また、血漿トリグリセリドの上昇も両薬剤の併用によって著明な抑制を認めた。インスリンはリポ蛋白リパーゼを活性化させ、一方ピオグリタゾンはこの作用に加えてインスリン感受性増強作用によりインスリン過分泌を抑制し、その結果、肝臓でのトリグリセリド合成低下及び血漿中トリグリセリド低下をもたらしたと考えられる。

3)アログリプチンの開発

摂食時に腸管から分泌され、インスリン分泌を増強する消化管ホルモンを「インクレチン」と呼ぶ。代表的なものにGLP-1 (glucagon-like peptide-1)及びGIP (glucose-dependent insulinotropic peptide)が知られている。GLP-1は、末梢において、膵 β 細胞でのグルコース依存的インスリン分泌促進、胃排泄の遅延、膵 α 細胞でのグルカゴン分泌抑制、膵 β 細胞の保護及び増殖促進作用を示し、中枢においては視床下部に作用して摂食抑制作用を示す。

2型糖尿病患者において、GIP によるインスリン分泌促進反応は低下しているが、GLP-1 によるインスリン分泌促進反応は保持されていることが報告されており、GLP-1 の糖尿病治療薬への応用が検討された。ところが、GLP-1 は生体内では DPP-4 (dipeptidyl peptidase-IV) によって速やかに不活性型へ変換され、ラットモデル及び糖尿病患者における検討では血糖低下作用発現に GLP-1 の持続注入を要し、糖尿病治療薬としての開発は困難であった。

近年、GLP-1 の持つ薬理作用を維持する方法として、DPP-4 を阻害することにより GLP-1 の分解を防ぐ方法が考えられた。DPP-4 は 766 アミノ酸からなる 110KDa の膜蛋白質であり、細胞表面に広く分布している。血中においても膜から切り出された形で活性型として存在している。DPP-4 はセリンプロテアーゼファミリーに属し、N 末から 2 番目のアラニンあるいはプロリンを認識して切断する。

アログリプチンは非常に強力かつ DPP-4 選択的な DPP-4 阻害薬として見出された(5)。種々の 2 型糖尿病モデルにおいて、アログリプチンの単回投与は血漿中の DPP-4 活性を強力に阻害し血漿中 GLP-1 濃度を増加させた。さらに経口糖負荷試験においてはインスリン分泌促進及び血糖低下作用を示し、糖尿病治療薬としての可能性が強く示唆された。肥満 2 型糖尿病モデルである ob/ob マウスを用いたアログリプチンの 4 週間反復投与試験においても血糖低下作用を認め、反復投与後の経口糖負荷試験においては第一相のインスリン分泌能の回復を伴う耐糖能改善作用を認めた。また、膵臓中のインスリン含量の著明な増加を認め、膵島のインスリン染色においてもインスリンの著明な増加が確認された(図 1)(6)。以上の結果から、アログリプチンは膵機能を直接改善することによって糖尿病改善作用を示すことが示唆された。GLP-1 の作用の一部に膵機能保護作用があることが報告されているが、臨床試験においてヒト膵島機能を直接観察することは不可能であることから、動物試験によるアログリプチンの膵島への作用を示した成績は、アログリプチンの薬理作用に重要な知見を提供すると共に、臨床での有効性を強く示唆するものである。

アログリプチンと他剤との併用効果も動物モデルで検証されている。膵疲弊をもたらす 2 型糖尿病モデルである db/db マウスにおいてアログリプチンとピオグリタゾンの併用効果を検討したところ、アログリプチンとピオグリタゾンの 3 週間併用投与は強力な血糖低下及び耐糖能改善作用を認めた(7)。db/db マウスでは膵機能低下に伴い膵インスリン含量の著しい低下を認めるが、併用群においては膵インスリン含量が対照正常動物と同レベルに保たれていた。以上の結果は、アログリプチンとピオグリタゾンの併用によって db/db マウスの膵機能が維持され、その結果として良好な血糖コントロールが維持されたことを示唆している。

4. 将来

本稿で紹介した代表的な自然発症糖尿病モデルを活用することにより、2 型糖尿病の末梢組織におけるインスリン抵抗性の理解が進み、膵の生化学、病理組織学的変化や遺伝子変化についても詳細な検討が行われてきた。そして、それらの知見は新規糖尿病治療薬の研

究開発に応用されている。

糖尿病の分子機構が解明されるにつれて発牛工学手法による糖尿病モデル動物も多数作成されているが、今後はそれらの解析により新規な創薬標的が見出されることが期待される。また、自然発症モデルに遺伝子組み替え技術を応用してヒトへの有効性がより精密化した新規モデル動物が確立されることも望まれる。

糖尿病、高血圧および高脂血症などの生活習慣病の諸因子に対する治療薬の当初の目標は、それぞれ血糖、血圧あるいは血中脂質を低下させることにあり、これらの目標を達成する薬剤は充足しつつある。一方、糖尿病や肥満のみならず高血圧や異常リポタンパク血症などを併発するいわゆるメタボリックシンドロームの増加は今後ますます大きな問題となることが予想され、生活習慣病の最終像である腎不全や動脈硬化症、心血管系疾患などの臓器・組織障害を明確に改善する薬剤が求められている。メタボリックシンドロームの各病態を併せ持ち、かつ臓器・組織障害の重篤化したモデル動物はこのような生活習慣病の最終症状を明確に改善する薬剤の開発に貢献するのみならず、既存の医薬品を組み合わせ用いる治療指針の確立にも大きく貢献すると期待され、早期の確立が望まれる。

文献

- (1) 高見健二,他. 薬理と治療. 1991;19(11):4457-4467.
- (2) 池田衝,他. 日薬理誌. 2001;117:335-342.
- (3) 小高裕之,他. 薬理と治療. 1997;25(2):345-353.
- (4) 小高裕之,他. 薬理と治療. 1997;25(2):355-361.
- (5) Feng,J., et al. J. Med. Chem. 2007;50:2297-2300.
- (6) Moritoh,Y.,et al. Eur. J. Pharmacol. 2008;588:325-332.
- (7) Moritoh,Y.,et al. Br. J. Pharmacol. 2008, in press.

表 1. 主要な自然発症 2 型糖尿病モデル

		名称	特徴
非肥満	ラット	GK	非近交系の Wistar ラットから耐糖能低下を指標に選抜交配して作成された。インスリン分泌能低下による空腹時高血糖及び耐糖能悪化を示す。
		マウス	
肥満	マウス	ob/ob	レプチン遺伝子異常のインスリン抵抗性モデル。過食、肥満を引き起こし高血糖、高インスリン血症を示す。
		db/db	レプチン受容体異常のインスリン抵抗性モデル。肥満、高血糖、高インスリン血症を示すが、加齢に伴いインスリン分泌能の低下を認める。
		KKA ^y	耐糖能の悪化が認められる KK マウスに A ^y 遺伝子を導入して確立されたインスリン抵抗性モデル。過食、肥満、高血糖、高インスリン血症を示す。
	ラット	Zucker fatty	劣性の fa 遺伝子に由来するレプチン受容体異常モデル。過食、肥満であるが通常は正常血糖であり、前糖尿病状態である耐糖能異常モデルとしても位置付けされる。
		Zucker diabetic fatty (ZDF)	Zucker fatty ラットの選択交配によって確立された自然発症糖尿病モデル。過食、肥満、高血糖、高インスリン血症、インスリン抵抗性を示すが、加齢に伴いインスリン分泌能の低下を認める。
Wistar fatty		耐糖能の障害が認められる Wistar kyoto ラットに Zucker fatty ラットの fa 遺伝子を導入して確立したインスリン抵抗性モデル。過食、肥満、高血糖、高インスリン血症を示す。	

表 2. 糖尿病モデル動物におけるピオグリタゾンの作用

糖尿病型	正常		1 型				2 型	
	SD ラット	STZ ラット	非肥満		肥満			
モデル動物	SD ラット	STZ ラット	GK ラット*	ZF ラット	WF ラット	KKA ^y マウス		
血糖	—	—	++	+	++	++		
インスリン	—	—	++	++	++	++		
トリグリセリド	+	—	++	++	++	++		

SD:Sprague-Dawley, STZ:streptozotocin, GK:Goto-Kakizaki, ZF:Zucker fatty, WF:Wistar fatty, ++:highly effective, +:effective, -:not effective. *:蔗糖負荷モデル (文献 2 より改変)

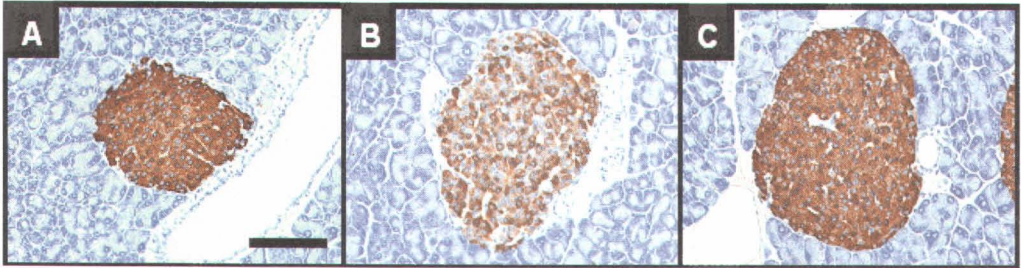


図1. アログリプチンの膵保護作用

膵島のインスリン染色像。A:対照正常マウス、B:ob/ob マウス コントロール、C:ob/ob マウス アログリプチン投与群。Bar=100 μ m. (文献6より改変)

<特別講演>

モデル動物の開発と脳研究

中西 重忠 (大阪バイオサイエンス研究所長)

脳神経系は多数の神経細胞が機能的な神経ネットワーク（神経回路）を形成し、この神経回路の中で情報が処理、統合、保持、抽出されることによって脳機能が発現される。近年多くの脳機能分子の実体が明らかにされたが、脳機能発現にかかわる情報伝達の制御というソフトの問題はなお多くが不明である。小脳神経回路は運動の制御及び運動記憶に必須の役割を果たしている。また小脳神経回路の構成はよく解析されており、神経情報の入力と出力の関係も定量的に解析出来る系である(1)。従って我々は小脳神経回路を研究対象に分子生物学の手法を組み合わせた新しいモデル動物を開発し神経回路の基本的な情報伝達と制御機構の解析を進めてきた。本会ではモデル動物の開発の重要性を議論し、運動記憶と運動制御にかかわる小脳神経回路の新しい制御機構に関する我々の研究成果を紹介する。

可逆的神経伝達阻止法(RNB法)による小脳記憶の解析

条件付瞬目反射は小脳によって支配される代表的な運動記憶である。条件刺激は苔状線維と顆粒細胞によって、一方無条件刺激は下オリーブ核と登上線維によって伝達される

(図1)。苔状線維と登上線維はプルキンエ細胞及び小脳中位核の両者に投射するために(図1)、プルキンエ細胞か或は小脳中位核のどちらが瞬目反射を始めとする小脳記憶を支配しているのかなお論争のある所である。我々は神経伝達物質の分泌を阻止する破傷風毒素をテトラサイクリン依存的、かつ細胞特異的に発現する事によってグルタミン酸神経伝達を可逆的に阻止出来る新たな方法、可逆的神経伝達阻止法(RNB法)を開発した(2)(図2)。この手法を用いて我々は顆粒細胞

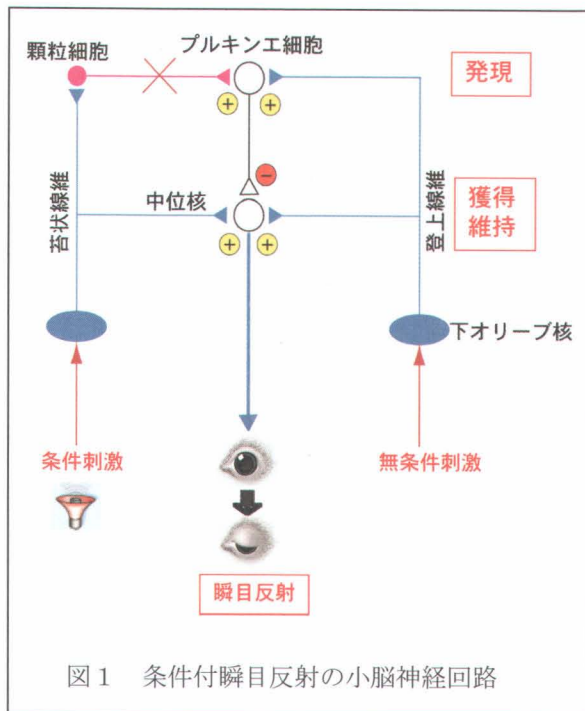
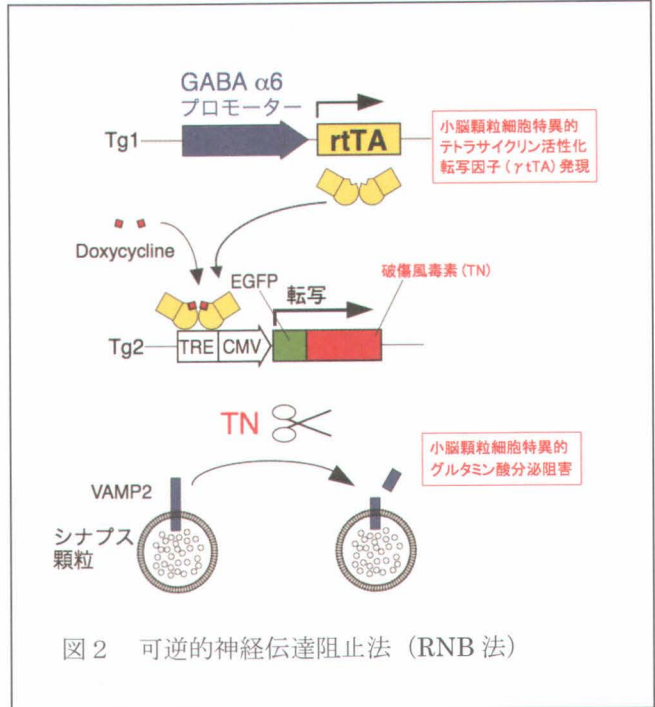


図1 条件付瞬目反射の小脳神経回路

からプルキンエ細胞へのグルタミン酸神経伝達を可逆的にかつ完全に遮断出来るモデ

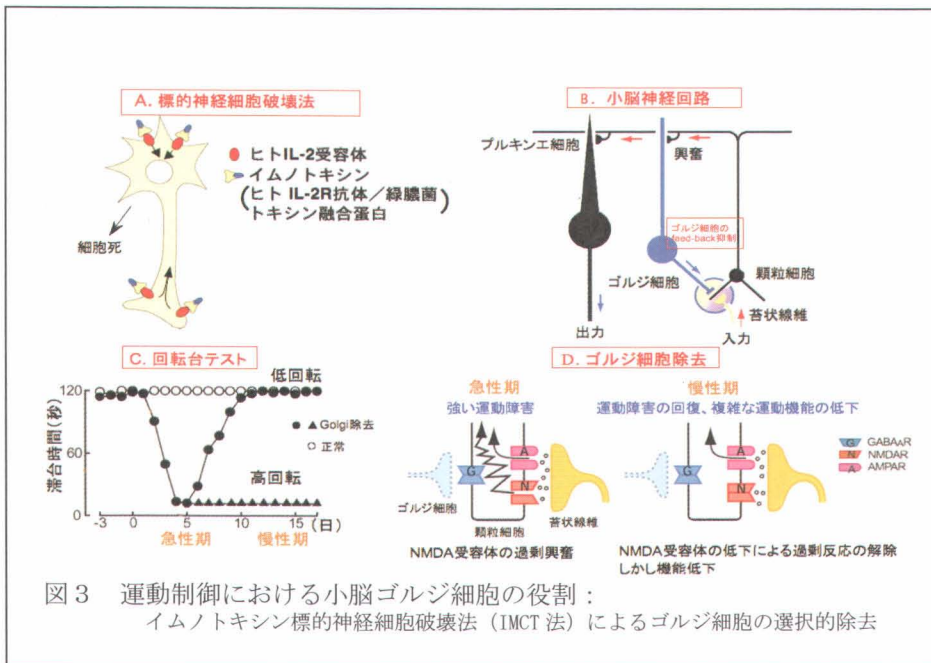
ルマウスを作製する事に成功し、本モデルマウスを用いて条件付瞬目反射の記憶の獲得、発現、維持機構を時系列を持って解析出来る系を確立した。この結果、記憶の獲得、発現、維持に関わる神経回路が分離出来る事、またプルキンエ細胞は発現に、一方小脳中位核は獲得と維持に必須の役割を果たしているという全く新しい事実を明らかにした(3) (図1)。この結果は神経伝達系において個々の神経回路がそれぞれ独自の神経可塑性を示しその統合によって脳機能が発揮されることを示すものである。



イムノトキシン標的神経細胞破壊法 (IMCT 法) による小脳運動制御機構の解析

小脳皮質の神経回路は顆粒細胞からプルキンエ細胞への神経伝達に加え、ゴルジ細胞が顆粒細胞からの入力を受け、抑制性 GABA によって feed-back 抑制を示す (図 3B)。この feed-back 抑制の生理的意義あるいは制御機構は全く不明であった。我々は神経回路の中から特定の神経細胞を *in vivo* で除去する方法、イムノトキシン標的神経細胞破壊法 (IMCT 法) を開発した(4) (図 3A)。本方法においては、ヒト IL-2 受容体を特定の神経細胞に発現するトランスジェニック・マウスを作製し、ヒト IL-2 受容体のモノクロナル抗体に細菌毒素を融合したイムノトキシンを脳内に注入する。イムノトキシンは apoptosis を起こし他の細胞に障害を与える事無く特定の神経細胞のみを除去する (図 3A)。我々は小脳神経回路の中でヒト IL-2 受容体をゴルジ細胞に特異的に発現するトランスジェニック・マウスを作製し、イムノトキシンを注入して小脳神経回路からゴルジ細胞のみを除去したマウスを作製することに成功した。ゴルジ細胞除去マウスは、ゴルジ細胞を除去した直後の急性期には強い運動障害を示し、例えば低回転の回転台にとどまることが出来ない。一方慢性期になると強い運動障害は消失する。しかし高回転の回転台にはとどまる事が出来ず、複雑な運動機能の障害が残る (図 3C)。

我々は電気生理学、光学的測定法等を駆使して、ゴルジ細胞の伝達制御機構の解析を進め、以下に述べる伝達制御の新しいメカニズムを明らかにした(4, 5) (図 3D)。即ち正常マウスにおいてはゴルジ細胞からの抑制性GABAが顆粒細胞のNMDA受容体を制御することによって複雑な運動を可能にする。一方ゴルジ細胞を除去するとGABAの抑制が消失し、NMDA受容体が過剰に反応し強い運動障害を示す。しかし慢性期になるとNMDA受容体が適応的に低下し、強い運動障害は消失する。一方この低下は複雑な運動機能の障害をもたらす。さらにAMPA受容体はゴルジ細胞除去とは関係なく活性が維持され、このAMPA受容体が単純な運動を可能にしている。以上の結果は、神経回路において特定の介在神経細胞が作用することによってグルタミン酸と抑制性のGABAが協調的に働き、この結果、運動制御、情報の処理、統合がなされていること、また急性期の脳機能障害が慢性期に部分的に回復するのは神経伝達の可塑的变化によって起こることを示すものである。



文献

1. Nakanishi, S. (2005) Synaptic mechanisms of the cerebellar cortical network. Trends Neurosci. 28:93-100.
2. Yamamoto, M., Wada, N., Kitabatake, Y., Watanabe, D., Anzai, M., Yokoyama, M., Teranishi, Y. & Nakanishi, S. (2003) Reversible suppression of glutamatergic neurotransmission of cerebellar granule cells in vivo by genetically manipulated expression of tetanus neurotoxin

- light chain. *J.Neurosci.* 23:6759-6767.
3. Wada, N., Kishimoto, Y., Watanabe, D., Kano, M., Hirano, T., Funabiki, K. & Nakanishi, S. (2007) Conditioned eyeblink learning is formed and stored without cerebellar granule cell transmission. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 104:16690-16695.
 4. Watanabe, D., Inokawa, H., Hashimoto, K., Suzuki, N., Kano, M., Shigemoto, R., Hirano, T., Toyama, K., Kaneko, S., Yokoi, M., Moriyoshi, K., Suzuki, M., Kobayashi, K., Nagatsu, T., Kreitman, R.J., Pastan, I. & Nakanishi, S. (1998) Ablation of cerebellar Golgi cells disrupts synaptic integration involving GABA inhibition and NMDA receptor activation in motor coordination. *Cell* 95:17-27.
 5. Watanabe, D. & Nakanishi, S. (2003) mGluR2 postsynaptically senses granule cell inputs at Golgi cell synapses. *Neuron* 39:821-829.

<地方関連団体>

東海実験動物研究会

北海道実験動物研究会

東海実験動物研究会

会長 三好一郎（名古屋市立大学）

住所：467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1

名古屋市立大学大学院医学研究科 実験動物研究教育センター

T E L : 052-853-8108、F A X : 052-841-6187

E-mail : ichirom@med.nagoya-cu.ac.jp

事務局 住所：501-1194 岐阜市柳戸1-1

岐阜大学生命科学総合研究支援センター動物実験分野内

T E L : 058-230-6609、F A X : 058-230-6044

E-mail : nikami@gifu-u.ac.jp

会員数 （平成20年7月1日現在）

個人会員：77名、賛助会員：6団体

活動概要

東海実験動物研究会は地方の実験動物関係の集まりとしては最も古く、故近藤恭司名古屋大学名誉教授を中心とした発起人13名により昭和40（1965）年8月14日に東海実験動物談話会（会長：近藤恭司）が発足したことを起源としています。その後、昭和60（1985）年3月10日に創立20周年を記念して、東海実験動物研究会に名称変更されました。

主たる活動は、研究会運営を担当する世話人を中心にして年2回開催している例会であります。7月の例会では、総会、特別講演、一般講演、懇親会、3月の例会では、講演会、懇親会などが開催されています。これらの例会では、実験動物に関することを中心に、それにまつわる内容を幅広く取り上げています。本研究会は、実験動物および動物実験に関わる研究・教育あるいは事業に携わる者が、その知識・技術の向上を図り、相互交流を図ること、この科学分野の進展に寄与することなどを目的としています。東海地方とその近隣に在住の方で、実験動物および動物実験に関わる業務・研究に携わる方は、是非ご参加下さい。

関西実験動物研究会へのコメント

設立25周年おめでとうございます。単なる年数の経過ではなく、会員の皆様の努力と積極的な活動を基盤に発展し続けた、非常に意義のある節目です。規

模や会員構成などの相違はございますが、私どもも貴研究会を見習って例会の開催やホームページの運営を継続し、変革と普遍性が共存する実験動物学領域および研究の発展に貢献していきたいと考えております。貴研究会の益々のご発展を祈念すると共に、今後とも宜しくお願い申し上げます。

関西実験動物研究会第 100 回記念大会によせて

北海道実験動物研究会

会長 有川 二郎

事務局長 安居院高志

この度は関西実験動物研究会が第 100 回の記念大会を開催されますことをお慶び申し上げます。第 100 回の記念大会を開催されるということは、貴研究会が長年にわたり地道な活動を続けてこられた証拠であり憧憬の至りであります。

北海道実験動物研究会 (HALAS: Hokkaido Association of Laboratory Animal Science) は今年で設立 6 年目、第 5 回の総会及び学術集会を開催したところであります。HALAS は貴研究会に比べ歴史も浅く規模も小さいのですが、負けずに活発に活動致しております。今後も貴研究会を見習い発展させていきたいと思っております。

貴研究会の益々の発展を祈念致します。

HALAS HP: <http://labani2.vetmed.hokudai.ac.jp/halas/index.html>

<評議員寄稿>

1. 小実験動物における全身麻酔の変遷
倉林 讓 (森ノ宮医療大学)、井上 政昭 (株・スカイネット)、
夏目 克彦 (夏日製作所)
2. 関西実験動物研究会と私と未来
横井 伯英 (神戸大学)
3. 温故知新—マウス、ラットの状態観察について—
内海健二郎、牧野 進 ((株)ケー・エー・シー)
4. 関西実験動物研究会100回の歴史と傍流を行く一會員の研究歴
塩見 雅志 (神戸大学)

小実験動物における全身麻酔の変遷
Transition of general anesthesia
in small laboratory animals

倉林 譲*、井上政昭**、夏目克彦***

(*森ノ宮医療大学保健医療学部鍼灸学科、**株・スカイネット社長、

***株・夏目製作所社長)

*Yuzuru Kurabayashi : Morinomiya University of Medical Science, Ph.D & VMD、

**masaaki Inoue : President of S.K.I.net INC,

***Katsuhiko Natsume : President of Natsume Co. Ltd

Summary

It is a necessity and indispensable matters of weight to the emergency on the laboratory animal welfare to use the anesthetizing technology to do the experiment research on the medicine. The animal not the exaggeration it to say cannot experiments if general anesthesia is not given when surgical treatment that has the In other words, the person who doesn't acquire the genepossibility of giving the laboratory animal the pain more than the necessity is done general anesthesia technology not the exaggeration it to say cannot conducts the animalexperiment when experimenting on the animal. Moreover, Ketamine became a drug treatment in 2007 fiscalyear. Because the calling anesthesia induction and awaking are early, it is the best to use the inhalation anesthetizing. Good the narcotic to non-ignition and exposed to radiation to leave the adjustment of the anesthetizing depth the inhalation anesthesia I want to recommend latest inhalation anesthetizing device"Narco bit".

I. 緒論

医学の実験研究を行うために麻酔技術を使用することは実験動物福祉上必要不可欠な重要事項である。実験動物に必要な以上の苦痛を与える可能性を有する外科的処置を行う場合には、全身麻酔を施さなければ動物実験ができないと言っても過言ではない。動物をとり扱うときには適正なハンドリングに注意することは勿論、同時に適正な鎮静、鎮痛ならびに麻酔を行うことが義務である。動物における苦痛排除手段は適切なる麻酔方法にあると言っても過言ではない。米国では GLP および NIH の「実験動物の管理と使用に関する指針」(1985) が整備されており、その中には麻酔技術と鎮痛について定められている。一方、わが国においては、「動物の愛護及び管理に関する法律」(平成 12 年 12 月、法律第 105 号一部改定)ならびに「実験動物の飼養及び保管ならびに苦痛軽減に関する基準」(昭和 55 年 3 月 27 日、総理府告示第 6 号)等に定められている。さらに文部省は昭和 62 年 5 月、学術国際局長通知として「大学における動物実験について」の文書を各大学長へ送付し、実験動物の福祉の重要性に関して注意を喚起した。その中に織り込まれた最重要項目

は、実験動物の苦痛排除である。特に、小実験動物の麻酔には、全身麻酔、局所麻酔、特殊な麻酔法があるが、局所麻酔および特殊な麻酔法はごく一部の麻酔法であるが、その殆どは全身麻酔によることが多い。このことは動物の行動を抑制し、非動化することができる利点があるからであるのみならず、動物の中樞（大脳脳幹部）を麻痺させ苦痛をはじめ意識レベルまで麻痺させることが出来るからである。全身麻酔には、吸入麻酔、静脈麻酔、筋肉内麻酔、腹腔内麻酔ならびに直腸麻酔等がある。大別して注射麻酔と吸入麻酔に分けられる。特にマウスやラットのような小実験動物の吸入麻酔は高精度の機器類が必要なため今まで決定的な吸入麻酔装置はこの世の中に存在しなかったが、われわれの研究グループでやっと市販できる麻酔装置が開発できた。それは夏目製作所総販売元の「ナルコビット」という人工呼吸装置付き小動物専用の吸入麻酔装置である。全身麻酔の深度調節性からすれば注射麻酔よりも安全性の高いのは吸入麻酔法であると言える。換言すれば麻酔剤吸入と共に麻酔導入が迅速に導入でき、また麻酔ガスを絶てば吸入麻酔から迅速に覚醒される引火性・爆発性のない吸入麻酔剤が開発されているイソフルレン（米国アボット社製）ならびにセボフルレン（丸石製薬製）、現在ヒトの外科手術の殆どに使用されている。麻酔導入ならびに覚醒時間が非常に速やかに麻酔深度の調節性に優れ麻酔管理上非常に便利である。注射麻酔薬の使用法と吸入麻酔薬を用いた吸入麻酔装置を開発し市販できる状況になったのでご紹介したい。麻酔法も Refinement すべき時が来ている。

II. 全身麻酔法の種類：

動物の麻酔を施す目的は、動物の睡眠状態ならびに中樞の麻痺を目的とした意識レベルの無感覚化ならびに動物体そのものの非動化が主な目的である。従って、これらの目的が得られない麻酔は、実験動物の麻酔法としては適当ではない。全身麻酔法には下記の3通りがある。

①注射麻酔：（静脈麻酔、筋肉内麻酔、皮下注射麻酔、腹腔内麻酔等）

②吸入麻酔法：（ハロタン、セボフルレン、イソフルレン等）

③浣腸麻酔：水溶性麻酔薬を湯に溶かし、浣腸法で投与して、腸粘膜より麻酔剤を吸収させて全身麻酔をほどこすもので、特殊な方法であり、一般的ではない。

従って、③を除けば大きく2大別になる。①と②ではどちらが選択されるべきか、というところと下記のような理由で②の吸入麻酔法が有利であることが分かる。

1) 注射麻酔は種類が多く、全ての適用量は各薬剤によって全て異なるので、覚えることは出来ないばかりか、体重比による薬容量の計算を間違えることもある。多すぎれば致死に至るし、少なすぎれば麻酔期に導入することができない。

2) 注射麻酔は、一度の注射により麻酔へ導入し、実験処置を行わなければならないが、吸入麻酔の場合、マスクあるいは気管内チューブを挿管し、4-5%の麻酔ガスを吸入させてゆけば、麻酔導入は必然的にでき、筋肉は弛緩し、呼吸数・脈拍数は減少し、体動は抑制され非動化され手麻酔が導入される。

3) 麻酔が覚醒してくれば、呼吸数・脈拍数が次第に増加気味になり、筋肉の弛緩状況が

なくなり、強いては体動が始まる場合は、麻酔状態が覚醒に転じたことを意味する。その場合は、注射麻酔の場合は、追加麻酔が必要になるが、その容量が動物の代謝率の相違、薬物の追加容量が決定されていないことから、麻酔状況を把握することが極めて難しい。一方、吸入麻酔の場合、麻酔状況が覚醒に転じた場合には、麻酔ガスをマスクあるいは気管内チューブを介して麻酔ガスの吸入を再開すればよろしいことになるので、麻酔深度調節は吸入麻酔の方が非常に有利であることが分かる。

*以上のような理由で麻酔方法の吸入麻酔法を採用すれば、悪戯な煩雑な麻酔技術は必要がなくなるので、これからは吸入麻酔につき述べることにする。

III.麻酔前投与の目的:

麻酔前投与の目的は、①恐怖感並びに不安を減じ、鎮静状態を作り、ストレスのない麻酔導入を助ける。②全身麻酔導入のために必要な他の麻酔薬の総量を減じ、その結果、これらの麻酔薬の不快感な副作用を減ずる。③麻酔導入を円滑にする。④麻酔覚醒を円滑にする。⑤気道を閉塞する唾液および気管内分泌の量を減ずる。⑥血管迷走神経反射(気管挿管及び外科的処置の結果として現われうる徐脈反射を遮断する。⑦術前の疼痛を減じ、術直後における疼痛を最小限にすることが目的である。しかし、外科手術等の侵害刺激が厳しい状況が予測されるのであれば、鎮痛剤が必要になる。非ステロイド系鎮痛剤である N. Suids(商品名:メタカム)等の Premedication をしておけば、かなり長時間(約12~24時間)効果を示すことになるので、術中・術後を通じて疼痛に対する管理が容易になるため心配が少なくなる。実験上非常に便利な薬物である。それと内服薬ではないので胃腸障害を受けることもなく、有効な処置ができるので、実験研究者には必要不可欠なものである。

IV.その他の麻酔前投与剤:

- ①抗コリン薬:アトロピン、グリコピロレート等。
- ②トランキライザおよび鎮静剤:フェノチアジン類:クロールプロマジン、アセプロマジン、プロマジン、ブチロフェノン類:ドロペリドール、フルアニゾン、アザペロン等。
- ③ベンゾジアゼピン類:ジアゼパム、ミダゾラム等、アドレナリン作動性トランキライザ類:キシラジン、メデトミジン等。
- ④麻薬性鎮痛剤:モルヒネ、ペチジン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、ナルブフィン、ペンタゾシン、メサドン、フェンタニール、アルフェンタニール、スフェンタニール、エトルフィン、オキシホルモン、メタカムなどがあるが必要に応じ使用する。

V. 吸入麻酔方法に必要な技術:

- ①麻酔器:各実験動物にあった機器の選択を行なう必要がある。
- ②マスクならびに気管内チューブ:麻酔ガスが有効に外部に漏れないように利用されるため、マスクや気管内チューブを使用し、心臓・肺臓等の手術を行なう場合には人工呼吸装置つき吸入麻酔器が必要となる。
- ③喉頭鏡:喉頭鏡には色々な形をしたものがあるが、舌を圧迫し、気道の確保のし易い

喉頭鏡が必要である。殆どが動物種によって選択されるものである。特にブレードの長さや先端が喉頭蓋近くに達すれば気管内挿管は行ないやすい。

④麻酔回路：自発呼吸があるときはマスク法でよい。レプレッシングバッグ、気管内チューブ、循環システム、往復システム、喉頭鏡、キシロカインスプレー、気管内挿管確認等が必要である。

⑤吸入麻酔薬：ハロタン、イソフルレン、セボフルレン、メトキシフルラン、亜酸化窒素（笑気）等最良の麻酔剤の選択を行なう。

VI. 麻酔の管理：

①術前の準備：健康検査は十分行なうことが必要である。追加実験、健康でない動物は麻酔中のアクシデントに繋がるので十分注意が必要である。

②麻酔の監視：麻酔深度の評価、呼吸器系（呼吸モニター、1回換気量と分時換気量等肺のガス交換の評価）、心血管系（心電計、血圧、体温等）、麻酔器の性能を精査する必要がある。

VII. 麻酔の問題と緊急事態：麻酔の問題や緊急事態は下記の因子とともに常に監視し、発生した時の措置が十二分に対応できるようにしておかなければならない。

①呼吸数：②1回換気量：③肺のガス交換：④血液ガス：⑤心血管系：可視粘膜での徴候：⑥抹消の体温：⑦血圧：⑧心拍数・リズムの変化：⑨体液平衡：⑩低体温：⑪嘔吐と逆流等。

VII. 開発新発売された「ナルコビット」について：

マウス・ラット等の小動物専用の吸入麻酔装置であり、人工呼吸装置の内蔵されている吸入麻酔装置である。これは近年、マウスやラットは飼育スペースが狭く飼育できる飼育管理に便利であることや動物実験の内容が遺伝子導入実験や性周期が短く世代の回転が速くなり実験の回転が速くなることなどが原因として挙げられるかもしれない。小動物用吸入麻酔装置「ナルコビット」を開発して発売されているが、世界で唯一開発された小実験動物専用の吸入麻酔装置である。2008年 AALAS に展示したところ、関心度が強く、新しい吸入麻酔装置「ナルコビット」に集中質問があり関心度の深さが伺えた。本装置の特徴は、キャリアーガスに空気を使用したこと、AC100 Vの電源さえあれば使用できること、キャリアーガスを必要最少限の低流量のガス量にマスフローコントローラーを採用して正確に定量でき流量できるようにしたこと、場合により酸素濃度を高くしたい場合にはエアポンプの吸い込み側に酸素を混合できることを可能としたこと。従来の気化器は、その殆どが灯芯型のものが使用されているが、低流量にすると精度が落ちるので、シリンジポンプにより揮発性麻酔薬を連続的に気化室へ注入し気化させる方法を採用した。麻酔薬としては、イソフルラン、セボフルラン、ハロタンの3種類の非爆発性・非引火性吸入麻酔薬を使用可能にした。また本装置の麻酔ガス濃度を変更した場合に変更された濃度へ即移行するための時間が長時間必要としたが、濃度設定の変更幅に応じた時間だけ「導入」または「覚醒」モードを挿入し応答性の改善が図られた。

麻酔用の人工呼吸器は、従来よりベローズを用いたボリュームリミット方式のものが主流になっているが、小実験動物の場合、1回換気量が極めて小さく、呼吸回数が早いという条件を鑑み、電磁弁の切り替えによる定常流式タイムサイクルプレッシャーリミット方式の人工呼吸器を組み込んだ。これにより、非常にコンパクトで使いやすい「人工呼吸器を内蔵した吸入麻酔装置」を開発することが出来た。呼吸回数は、最大900回/分まで可能であり、I/E比は、1:1、1:2、1:3の中から選択できるようになっている。また、「NARCOBIT」には、オプションとして呼吸ガスモニターが内蔵されており、酸素、炭酸ガス、各麻酔ガス（イソフルラン、セボフルラン、ハロタン）の濃度が表示されるようになっている。「NARCOBIT」においては、人工呼吸器を作動させている時においても、麻酔ガスの排気を1箇所集中するよう配管が工夫されており、これを適切な麻酔ガス処理装置に接続するとともに、マスク使用時に漏れる麻酔ガス用の吸引装置と組み合わせることにより、実験者が麻酔ガスを吸入する危険がなく、また、地球環境を守るという見地からも有効である。マウスやラットに気管挿管を行なって吸入麻酔を施すためには、麻酔導入ボックス、気管挿管台、喉頭鏡と光源、マスク等が必要になるが、「NARCOBIT」とこれらの付属品が一つのシステムとして機能するよう設計されている。また、極細径ファイバースコープを用いて、画面で確認しながら気管挿管することも可能となっている。



<参考文献>

- 1) Trevor B. Poole: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, Sixth Edition, 1-918, 1987.
- 2) J. Robert Duncan, Keith W. Prasse, Edward A. Mahaffey: Veterinary Laboratory Medicine, 1-289. 1994.
- 3) A.A. Tuffery: Laboratory Animals, 1-385. 1995.
- 4) Paul Flecknell: Laboratory Animal Anaesthesia, 1-268. 1996.
- 5) Paul A. Flecknell, Avril Waterman-Pearson: Pain Management in Animals, 1-177, 2000.
- 6) L.F.M. Van Zutphen, V. Baumans, A.C. Beynen: Principles of Laboratory Animal Science, 1-381. 2001.

- 7) Jann Hau, Gerald L. Van Hoosier Jr. :Handbook Laboratory Science second edition, Volume I. Essential Principles and Practices.1-546, 2002.
- 8) Jann Hau, Gerald L. Van Hoosier Jr. :Handbook Laboratory Science second edition, Volume II. Animal Model, 1-262, 2002.
- 9) Jann Hau, Gerald L. Van Hoosier Jr. :Handbook Laboratory Science second edition, Volume III. Animal Model, 1-300 ,2002.

関西実験動物研究会と私と未来

横井伯英（神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学）

私と関西実験動物研究会との出会いは1994年、京大農学研究科の修士課程を修了して医学研究科附属動物実験施設の芹川忠夫先生の研究室に博士課程の学生として進学したときまで遡る。芹川先生の研究室の門を叩いたのは、先生が私のことを評価していると人づてに聞き、それを嬉しく思ったことがきっかけである。直接お話したことはほとんど無かったので、修士論文や卒業論文の発表会での様子を拝見されたことと思う。その後も芹川先生からの評価を間接的に聞くことが多く、意図的にされているかどうかは不明だが、実際その方が効果的であるように感じる。

当時は、先代教授の山田淳三先生がご存命であり、研究室には留学を控えた森政之先生（現信州大）、助手として北田一博先生（現北大）、博士課程に庫本高志先生（現京大）が在籍。この他にも真下知士先生（現京大）、崔宗虎先生（現島根大）、岡本宗裕先生（現鳥取大）、桑村充先生（大阪府立大）、毎原敏郎先生（現塚口病院）、阿部敏男先生（武田ラビックス）、近藤靖先生（田辺製薬）、山添裕之先生（住友化学）、安藤洋介先生（第一三共）、増井則夫先生（日本エスエルシー）など多数の研究者が出入りし、活発に研究活動を行っていた。

山田淳三先生からは学部生の頃に実験動物学の講義を受けたが、直接指導を受けたことは無い。大変厳しい先生で他人と同じようなことをしている研究を容赦なく批判され、

「他人の真似や自己満足の研究でなく、真に重要な研究をなさい。」
というお言葉を頂いたことを覚えている。

私は博士課程に入るまで動物を扱ったことが無かったばかりか、ウェットの実験も初めてだったので、初めの1年間は週7日、朝から深夜まで動物施設で過ごし、北田、庫本両先生や施設の職員の方々に懇切丁寧に教えて頂いた。

関西実験動物研究会には毎回スライド係として借り出され、照明の消えた中で演者の先生方の「次のスライドお願いします。」という声に従ってスライド送りをしていたことを思い出す。当時は学生であり、ほとんど義務で参加していたため、研究会の経緯やその存在意義について考えることも無かったが、独特の雰囲気は記憶している。

学位研究のテーマとしては1型糖尿病モデルKDPラットの遺伝学的解析が与えられた。それまで芹川先生の研究室では糖尿病モデルを扱ったことが無く、全く未知の分野であったが、

「君はこれから研究を始めるのだから、新しいことをやった方がよい。」
ということで、KDPラットの遺伝解析に取り組むことになった。糖尿病といえは多因子疾患の代名詞であり、関連する遺伝子も複数あるだろうと思って解析を始めた。その頃はラットの遺伝マーカーが整備されていなかったため、マウスのマーカーを流用したり、データベースの配列情報から自作したりしていた。なかなか結果が出な

ったので、やはり糖尿病は難しいと感じていたが、あるとき第 11 染色体のマーカーを試したところ、強い関連を示す結果を得た。丁寧に調べてみると、全く予想していないことであったが、何とその一つの遺伝子座で糖尿病の遺伝性が説明できることがわかった。全く未知の糖尿病モデルの解析から主要な遺伝子座を見つけたこと、この遺伝子は糖尿病遺伝子の中でも非常に作用の強い遺伝子であったこと、それに芹川先生の期待に少しでも応えられたことが嬉しかった。私は慎重を期するところがあり、そのため実験も学位論文の作成も相当の時間がかかったはずだが、先生方は私の性格を批判するよりむしろ長所として認めて下さった。このような恵まれた環境の中で自分なりに成長できたのだと思う。芹川先生の研究室で過ごした 4 年間は本当に貴重な時間であり、現在の自分を形成する礎となっている。

1998 年、千葉大に新設された遺伝子病態学寄附講座（清野 進先生兼任）に赴任し、しばらく関西から離れることになった。関東には関西実験動物研究会のような実験動物学に関心のある人が集まって議論する場がなかったので、博士課程の研究でお世話になっていた KDP ラットの開発者である東京医科大学動物実験センターの^故米田嘉重郎先生の研究室に頻繁に出入りさせて頂き、色々なお話を聞かせて頂いた。

米田先生からは、

「実験動物学の分野は、あなた達若手ががんばらなくてはだめだ。」

といつも励まされた。

千葉大での研究はヒト糖尿病の遺伝素因の解析を行う一方で、清野先生のご好意により、博士課程で始めた KDP ラットの研究を行う環境が与えられたため、芹川、北田両先生のご協力を得て主要遺伝子のポジショナルクローニングを継続して行うことができた。さらに、米田先生をはじめとする東京医科大学の研究室の方々のご協力を得られたことが研究を進展させる上で非常に大きかった。清野先生は米国滞在 10 年の百戦錬磨の研究者であり、特に研究成果を論文としてまとめるタイミング、論文の書き方から論文の審査員との駆け引きに至るまでまさに膝を突き合わせて教えて頂いた。

研究に用いるラットの飼育・繁殖については千葉大の動物施設だけでは手狭だったため、星野試験動物飼育所の星野雅行社長に大変お世話になった。週に 1 回、埼玉県の星野飼育所に交配や糖尿病の確認のために訪れ、糖尿病を発症したラットが見つかった場合はその足で東京医科大学の米田先生の研究室までラットを運んで解剖するというのを 1 年近く続けた。研究成果が新聞に掲載された際には、星野社長と奥様それに先代の社長にも喜んで頂けた。

研究、特に実験動物を使用する研究は一人の力でできるものではなく、多くの方々の協力があって初めて可能であること、時間のかかる研究を最後までやり遂げる強い意志が必要なこと、時期を逸せずに論文としてまとめることが重要であることを学んだ。

2003 年、千葉大から研究室全体で神戸大に移動した。すぐに関西実験動物研究会に入会し、その後は可能な限り研究会に参加している。身近には研究内容について深く議論できる環境が無いので、特に毎年末に開催される会員の研究発表会は、会員の皆様の研究を拝聴し、また私の研究に対して様々なご意見を頂くことができる貴重な

機会として活用してきた。

研究としては、KDP ラットの研究を継続・発展すると共に新規糖尿病モデル SDT ラットの解析を開始した。研究に用いるラットの大半は神戸大の動物施設で飼育・繁殖しており、塩見雅志先生を始めとする職員の方々の行き届いたお世話を受けている。

神戸大では、初めて博士課程と修士課程の学生の研究指導をすることになり、それぞれ私がこれまでやったことのない手法による研究に取り組みさせることにした。既に論文として成果を出せたものもあるが、現在進行中のものがほとんどであり、今後の発展を期待しているところである。

研究者として関西実験動物研究会ひいては実験動物学の分野を盛り上げるには、研究成果を挙げるのが第一だと考えている。研究成果の発信、情報交換、共同研究の拠点として研究会を位置づけ、積極的に活用していくことが研究者自身のためになるだけでなく研究会の発展にも繋がるであろう。研究会の今後の益々の発展を祈念するとともに、少しでも寄与できるように努めたい。

最後に事務局の山口千佳子様には在学中から大変お世話になり、その後も研究会や京大にお邪魔した際にいつも温かく迎えて頂き、心より感謝申し上げます。

温 故 知 新

—マウス、ラットの状態観察について—

(株)ケー・エー・シー 内海健二郎、牧野 進

S P F のマウス、ラットが実験動物中央研究所で開発されたのは 1962 年である。翌年にはこれらの動物の供給が開始され、その後、S P F 動物は多くの研究施設で汎用されるようになった。現在では S P F マウス、ラットを使用するのは普通となった。

S P F 動物の開発、供給と併行して、動物室に病原微生物の侵入を阻止し、S P F 動物を維持するためのバリヤシステム (B S) の動物室も普及した。同時に、動物実験および動物飼育管理に携わるヒトについても動物室内に感染症を持ち込まないように種々工夫が施された。すなわち、顔・手指・足を薬用石鹸で洗い、消毒液で消毒したのち、滅菌した動物室専用衣・マスク・手袋を装着して業務に携わってきた。今日ではこの装束が B S 動物室だけでなく、コンベンショナル (C V) マウス、ラットの動物室においても一般化している。

最近、この装束で十分な状態観察が行えるであろうか、という疑問を抱くようになった。そこで著者らが動物実験、飼育管理に携わった 1962 年頃を思い起こしてみた。

1956 年ごろの市販のマウス、ラットはすべて C V 動物であった。当時はマウスを購入する時、体重指定しか出来なかった。参考までにその頃に市販されていたマウスの体重の推移を表 1 に示す。購入した 12g のマウス 139 匹の内、順調に体重増みられたのはわずかに 27 匹、20% という状態で、この他は体重増加のみられない不良型、停滞型、体重が減少する下降型、体重が増加したり、減少したりするジグザク型という状態であった。

表 1 市販マウスの体重の推移 (田嶋)

購入数	139 (体重: 購入時 12g)
順調型	27 (19.6%)
不良型	15 (10.8%)
停滞型	22 (15.8%)
下降型	20 (14.4%)
ジグザク型	51 (36.7%)
死亡	4 (2.9%)

このような原因として田嶋[1]は、下痢・敗血症をおこす Salmonellosis、皮膜・関節を犯し、ときに敗血症をおこす Corynebacteriosis、Streptococcosis、ウイルスでは

皮膜を犯し、ときに手脚がもげる Ectromelia virus、向肺性ウイルス等の感染症を第一義的にあげている。

現在のように SPF 動物が容易に入手できなかった時代では、著者らは病気に罹っていない動物を選別し、使用しなければならなかった。すなわち、瞳で動物を観る、耳で呼吸音を聞く、鼻で臭いを嗅ぐ、素手で動物の感触を得る、手で動物の重さを知ることというを磨かざるを得なかった。翻って、前述した専用衣、マスク、手袋を装着した現在の装束を考えてみたい。気になるのは手袋とマスクの装着である。手袋の装着は「触」の感性を鈍らせていないだろうか。医師が患者を診察する時は必ず素手で触診する。実験動物の触診も素手でしたいものである。素手だとマウスは掌に包み込み、脊椎の状態・被毛の状態・尾の状態が掌に感知でき、全身の健康状態が把握できる。つぎに気になることは、マスクの装着である。動物実験者、飼育管理者がアレルギーを吸い込まないための予防処置であるのは理解できるが、動物室の臭気の変化に気づかず、感染症による下痢を見逃す可能性がある。

現在は多くの遺伝子改変マウスが開発され使用されている。これらの動物は感染症の要因を排除するため、BS環境で飼育され、遺伝子の変化による生体の機能障害を観察し易くしているはずである。それには状態観察の「触」はとくに重要である。手袋をつけて十分な感知ができるだろうか。小さな状態変化を見落とさないようにするには、触診を重視する必要があるのではなかろうか。

ときには過去をふりかえり著者らが経験した CV マウスの選別方法を採用する勇気も必要ではなかろうかと考える。

参考文献：[1] 田嶋嘉雄 実験動物における疾病その他これらに関する諸問題
ホルモンと臨床 4 1-10 (1956)

関西実験動物研究会 100 回の歴史と傍流を行く一會員の研究歴
塩見 雅志 (神戸大学医学部 附属動物実験施設)

関西実験動物研究会が 100 回記念大会を迎える。年 4 回の講演会を 25 年間続けることは並大抵のことではない。現在は幹事の一人として名前を連ねているが、これまで支えてこられた方々のご努力に頭が下がる思いである。これを機会にこれまでのかわりを振り返ってみた。

記録を辿ってみると、1985 年 3 月 15 日に京都大学楽友会館で開催された第 5 回研究会で「WHHL rabbit の繁殖能力に及ぼす近交退化ならびに高脂血症の影響」という演題で発表していた。恩師である渡辺嘉雄前教授の後ろについて、当時ですら今にも崩れそうなほどに老朽化していた木造建築の楽友会館に入り、発表したことを覚えている。1980 年に技官として神戸大学に赴任し、最初に行った仕事であった。次の参加は、8 年後の 1993 年 12 月の第 40 回大会まで記録がない。この間、WHHL ウサギの系統開発やリポタンパク代謝に関する仕事、及び WHHL ウサギを用いたスタチンの脂質低下効果や動脈硬化抑制効果等の仕事に没頭し、すっかりご無沙汰してしまった。その御蔭で (?) 学位を取得することができ、現在があるものと勝手に思い込んでいる。1990 年に渡辺嘉雄前教授が定年退官され、その後を受けて助教授に就任した。就任早々、兵庫県からのイヌの実験用譲渡廃止の問題が発生し、神戸大学が動物実験に反対する複数のグループのターゲットになり、彼らと論戦をする破目になった。2 回目の参加は、地方自治体からの合法的なイヌの譲渡制度が確立してこの問題が一段落した後であった。故山田順三先生からお誘いを戴き、過去の不義理を帳消しにさせていただいての再入会であったと記憶している。その後も研究会への出席状況は芳しくなく、次の出席記録は 1995 年 3 月 10 日の第 45 回大会である。この年の 1 月には阪神・淡路大震災が発生し、甚大な被害を蒙った。鳥居先生や芹川先生を初め、多くの方々のご支援を戴き、予想以上に早く動物実験施設を再開することができた。施設復興の目途が立った時点で、お礼を兼ねての出席であった。その後はこのご恩に報いる意味も込めて年 2 回のペースの出席である。しかし、あまりの働きの悪さに業を煮やした幹事会の先生方の「もっと働きなさい」との命で、1999 年に幹事となった。その間はセッセと心筋梗塞好発 WHHL ウサギ (WHHLMI ウサギ) の開発に勤しんでいた時期であり、1999 年は WHHLMI ウサギをほぼ確立できた年でもあった。さすがに幹事になって以降は、12 月の会員発表会にはほぼ毎年演題を出させていただくようになった。とは言え、幸か不幸か 12 月初めに開催されていた別の学会の冬季大会がなくなったことも 12 月研究会参加の要因であった。相変わらずの不埒な会員である。こうして振り返ってみると、関西実験動物研究会への参加記録が、神戸大学の施設運営や研究経過の節目節目で関連しているようだ。

本研究会の友好的な暖かい雰囲気、マウスやラット以外を対照としている研究者、あるいは製薬会社、ブリーダー、関連器材メーカー等の會員が気楽に参加できる理由の一つであろう。歴代会長のご尽力と會員相互の信頼関係が礎となって、本研究会は

情報交換の場，勉強の場，そして親睦の場を会員に提供してくれている。25年後の200回記念大会ではすっかり世代交代しているわけだが，傍流に行くあまり貢献していない一会員であっても，天国あるいは地獄からこっそり覗いてみたいものである。

カテゴリーA：会員の研究発表

< 遺伝・ゲノム >

< モデル動物 >

< 病態解析 >

< 病理・形態 >

< 生殖・胚保存 >

< バイオリソース >

カテゴリーA：会員の研究発表

< 遺伝・ゲノム >

1. マウスのマラリア原虫感染抵抗性遺伝子座の解析
○大野民生、空閑雅子、曾田智大、丸川高弘
(名大院・医・支援センター・実験動物)
2. 1型糖尿病修飾遺伝子座の解析
○横井伯英、田辺幸子、清野 進
(神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学)
3. LEXF/FXLEリコンビナント近交系を用いたキンドリング感受性座位の同定
○岡島涼子¹、庫本高志¹、Voigt Birger¹、外尾亮治²、笹征史³、
芹川忠夫¹
(¹京大院・医・附属動物実験施設、²(財)動物繁殖研究所、³渚病院)
4. ダンボラットの形態解析と遺伝解析
○矢ヶ崎佳代子、庫本高志 (京大院・医・附属動物実験施設)
5. ラット *Arp3*、*Abcg5*、*Srebf1* 遺伝子の機能多型ジェノタイプピング
○中西 聡、芹川忠夫、庫本高志 (京大院・医・動物実験施設)
6. RT1領域解析のためのSSLPマーカーセットの開発とゲノムプロファイル
○高木弓枝^{1,2}、庫本高志¹、鶴見東志子¹、中西 聡¹、真下知士¹、
増井則夫²、芹川忠夫¹
(¹京大院・医・附属動物実験施設、²日本エスエルシー(株)品質
管理部)
7. Mouse Hepatitis Virusの遺伝子解析
○小谷祐子¹、田島 優¹、愛原勝巳¹、河崎愛子¹、藪内かおり¹、
河合澄子¹、高木康博¹、Benjamin Seery¹、塩谷恭子²、岡本 明¹、
鍵山壮一郎¹、黒澤 努¹
(¹大阪大学医学部附属動物実験施設、²国立循環器病センター動物
実験室)
8. 放医研で維持されているマウス系統の遺伝学的モニタリングシステム
のためのチャートの作成および胚凍結と組み合わせた今後の展開
○上野 渉¹、海野あゆみ²、大久保喬司²、飯名瑞希²、新妻大介²、
伊藤正人²、伊田大貴²、宮沢正光²、藤井功輔²、川原 隼²、
早尾辰雄¹、西川 哲¹
(¹放射線医学総合研究所 基盤技術センター研究基盤技術部 実験
動物開発・管理課、²(株)サイエンス・サービス)

<モデル動物>

9. Establishment of DMN-induced liver cirrhosis model in NOD/SCID mouse for evaluation of the efficacy and safety of human mesenchymal stem cells
○Byeong-Cheol KANG, Jeong-Wan CHE, Seung-Hyeok Seok, and Kook-Hyun LEE
(College of Medicine, Seoul National University and Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital)
10. Fe-NTA誘発酸化ストレスモデルを用いた抗酸化作用の評価における投与方法の重要性について
○飛田康孝、岡本 均、安場正子、松岡信男
(株式会社ケー・エー・シー)
11. Kyoto Apc Deltaラットを用いた大腸腫瘍誘発試験
○吉見一人¹、真下知士¹、滝澤明子¹、加藤めぐみ²、平林真澄²、芹川忠夫¹、庫本高志¹
(¹京大院・医・動物実験施設、²生理学研究所・行動代謝分子解析センター)
12. 気道内への直接曝露による喘息モデル作成の確立
○今田竜一¹、高橋義博¹、山下祐介¹、宇都宮慎治¹、大坪靖治¹、治田俊志²、久野彰文²、和泉博之¹、中村隆広¹、洲加本孝幸¹
(株式会社新日本科学安全性研究所¹⁾、Translational Research株式会社²⁾)
13. Infection with *Pneumocystis carinii* in rat
○Kaori YABUUCHI, Masaru TAJIMA, Yuko KOTANI, Katsumi AIHARA, Aiko KAWASAKI, Shiro KANEKO, Yasuhiro TAKAGI, Sumiko KAWAI, Akira OKAMOTO, Soichiro KAGIYAMA, Benjamin Seery and Tsutomu KUROSAWA
(Institute of Experimental Animal Sciences, Osaka University Medical School, Japan)
14. ラットENUミュータントアーカイブ：LGI1標的遺伝子のスクリーニング
○石田紗恵子¹、真下知士¹、滝澤明子¹、国広弥生¹、青砥利裕²、上田正次²、池田昭夫³、高橋良輔³、芹川忠夫¹
(¹京大院・医・動物実験施設、²フェニックスバイオ、³京大院・医・臨床神経学)

<病態解析>

15. 横紋筋肉腫モデルマウスに発症する悪液質関連遺伝子の解析
○鈴木 昇、齋藤浩充 (三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)
16. 電位依存性Ca²⁺チャンネル α 1A蛋白質ノックダウン及び脳の領域特異的ノックアウトマウスの解析
○齋藤浩充、鈴木 昇 (三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)
17. 発癌モデルマウスの生体腫瘍に対するX線CT装置による解析可能性の検討
○¹西 泰明、²齋藤浩充、²鈴木 昇
(¹三重大生命セ・放射線化学、²三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)
18. *Helicobacter pylori*感染症におけるサイトカインの役割
○喜多正和、澤井直樹、塩見 聡、山本俊郎、今西二郎
(京府医大院医学研究科 免疫・微生物学)
19. セルロース欠乏飼料と喫煙曝露がC57BL/6マウスの腸内環境と栄養状態に及ぼす影響
○西井康恵¹、久保 薫²、友田恒一³、吉川雅則³、朝原 崇⁴、野本康二⁴、木村 弘³
(¹畿央大学・健康科学部、奈良医大・²動物実験施設、³第二内科、⁴ヤクルト中央研究所)
20. 欠神発作脳波自動判定システムにより抽出されたpre-clinical波の発作リズムの変動
○坪田裕司¹、都丸千夏²、飯島一憲³、大和田恭子²
(¹大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部生理学、²群馬工業高等専門学校物質工学科、³東京大学工学部電子工学科)
21. *dmy*ラットのミエリン崩壊におけるグリア細胞の役割
○狗巻和男、井澤武史、山手丈至、小谷猛夫、桑村 充
(大阪府立大学・獣医病理学教室)
22. 小脳虫部欠損(CVD)ラットの小脳異形成の病理発生における*Unc5h3*と*Netrin1*の役割
○貝塚理恵、井澤武史、山手丈至、小谷猛夫、桑村 充
(大阪府立大学・獣医病理学教室)
23. カニクイザルにおける視覚機能検査
○杉本潤一郎、杉本恭平、津田裕一、堀口浩資、久世 博
(株)ボゾリサーチセンター)
24. カニクイザルを用いたホルター心電図による薬剤誘発性QT延長および不整脈の評価
○和田 聡¹、熊野 篤¹、大鷲壮一¹、谷川常博¹、小倉宏之¹、

深澤清久¹、大竹誠司¹、安東賢太郎¹、飯田晶敏²

(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所、²大阪分室)

<病理・形態>

25. *Tlk*あるいは*qc*遺伝子を有するラット胎児の形態学的な特徴

○勝亦芳裕¹、小川順子¹、浅野裕三¹、庫本高志²、芹川忠夫²

(¹㈱ボゾリサーチセンター、²京大院・医・附属動物実験施設)

26. 日本白色種ウサギの胎児にみられた雄起因の生殖器奇形

○山本 大¹、谷栄之介¹、佐藤順子²、小松原芳樹¹、佐々木淳¹、
宮崎智成¹、星野信人¹、松浦郁夫¹、飯田晶敏³

(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所、²静岡分室、³大阪分室)

27. 高齢カニクイザルの神経原線維変化と老人斑

○中村伸一朗¹、木村展之³、西村正樹²、鳥居隆三¹、寺尾恵治³

(滋賀医科大学¹動物生命科学研究センター、²分子神経科学研究センター、³独立行政法人医薬基盤研霊長類医科学研究センター)

<生殖・胚保存>

28. 体外受精を用いたマウス計画生産への取り組み

○大竹 聡、矢野英樹、人見修司、近藤麻衣、藤川卓也

(㈱オリエンタルバイオサービス 南山城研究所)

29. 胚移植由来ネフローゼマウス (ICGNマウス) 産仔の病態解析

○内尾こずえ¹、澤田京子¹、國枝孝典¹、眞鍋 昇²

(¹医薬基盤研・生物資源部、²東大院・農学生命科学)

30. メンスの観察からよむカニクイザル雌性周期の回転状況および生殖器の形態的特徴

○佐藤順子、大竹誠司、佐々木豊、飯田晶敏、土谷 稔

(三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所)

31. カニクイザル連続微量投与による卵巢刺激法の検討

○岩谷千鶴、山崎樹里、岡原純子、土屋英明、鳥居隆三

(滋賀医科大学・動物生命科学研究センター)

32. クライオトップを用いたカニクイザル顕微授精胚の凍結保存および凍結胚由来産子の獲得

○山崎樹里、岡原純子、岩谷千鶴、土屋英明、鳥居隆三

(滋賀医科大学 動物生命科学研究センター)

<バイオリソース>

33. NBRP-Ratの「過去」「現在」「未来」

- 芹川忠夫、真下知士、Voigt Birger、滝澤明子、岡島涼子、
前泊直樹、中西 聡、山崎賢一、庫本高志
(京大院・医・附属動物実験施設)

34. 医薬基盤研究所 実験動物研究資源バンクの活動紹介

- 松田潤一郎、小浦美奈子、野口洋子、中村和臣、鈴木 治
(独)医薬基盤研究所・実験動物開発研究室)

35. 医薬基盤研究所で系統維持している各種齧歯類 (スナネズミ、マ
ストミス、シリアンハムスターの特性

- 小浦美奈子¹、金井孝夫²、中村和臣¹、野口洋子¹、鈴木 治¹、
松田潤一郎¹

(¹独)医薬基盤研究所 実験動物開発研究室、²東京女子医科大学
実験動物中央施設)

36. *Phodopus*属ハムスターの実験動物化 –モデル動物候補としての
突然変異収集–

- 和田あづみ¹、大川 清¹、都築政起²

(¹東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、²広島大学・大学院
生物圏科学)

マウスのマラリア原虫感染抵抗性遺伝子座の解析

○大野民生、空閑雅子、曾田智大、丸川高弘
(名大院・医・支援センター・実験動物)

マウス系統間には極めて大きなネズミマラリア原虫感染抵抗性の差が存在しており、この差を規定する宿主遺伝子を同定しその機能を解明することは、マラリアの治療・予防戦略への寄与に繋がると期待される。

我々はネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* 17XL 感染に対して強い抵抗性を示す 129X1/SvJ 系統と極端な感受性を示す NC/Jic 系統の交配群を用いた連鎖解析とコンジェニックマッピングにより、感染初期(感染 5 日後)の原虫増殖に対して最も大きな抑制効果を持つ遺伝子座 *Pymr* (*Plasmodium yoelii* malaria resistance locus) が第 9 番染色体テロメア側の約 1.7Mb の領域内に存在する事を明らかにしている。今回は *Pymr* 以外の感染抵抗性遺伝子座を見出することを目的として、NC/Jic 系統の上記領域を 129X1/SvJ 系統に置換したコンジェニック系統 (NC.129X1-*Pymr*) と 129X1 系統の交配群を用いた連鎖解析を行った。その結果、第 8 番染色体の中央部に原虫の排除に関する強力な遺伝子座の存在が判明した。また、第 1 番染色体のセントロメア側には原虫の増殖抑制に関与する遺伝子が存在する可能性が示された。

一方、上述のネズミマラリア原虫 *P. yoelii* とは別のネズミマラリア原虫 *P. chabaudi* や *P. berghei* 感染においても既に複数の感染抵抗性遺伝子座が報告されている。これらの報告と今回の我々の結果を比較しながら、マウスのマラリア原虫感染抵抗性遺伝子座について考察してみる。

1 型糖尿病修飾遺伝子座の解析

○横井伯英、田辺幸子、清野 進
(神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学)

【目的】 これまで我々は 1 型糖尿病モデル **Komeda diabetes-prone (KDP)** ラットの主要遺伝子として **Cblb** を同定し、2 つの主要遺伝子 (**MHC** と **Cblb**) による発症モデルを提唱した。この発症モデルを検証するため、**KDP** ラットと同一の **MHC** を有する **TM** ラットの遺伝的背景に **KDP** ラットの **Cblb** 遺伝子座を組み込んだコンジェニック系統 (**TM.KDP-Cblb**) を作出し、1 型糖尿病を再構成することに成功したが、コンジェニック系統の発症率が低いことから、発症を修飾する遺伝子の存在が示唆された。今回、**KDP** ラットとコンジェニック系統を用いた交配実験によって 1 型糖尿病修飾遺伝子座の解析を行った。

【方法】 **KDP** ラットとコンジェニック系統を交配して **F1** ラットを、さらに **F1** 同士を交配して **F2** ラット (250 匹) を作出し、210 日齢まで糖尿病の発症の有無を観察した。さらに **F2** のうち 90 日齢以内に発症した早期発症群 90 匹と非発症群 69 匹を用いて全ゲノムスキャンを行った。

【結果】 **F1** は **KDP** ラットと同様の発症率であった (累積発症率約 80%)。 **F2** の発症率は約 70% であり、全ゲノムスキャンの結果、複数の修飾遺伝子座が同定された。また、発症日齢特異的および性別特異的に作用する遺伝子座が存在することが示唆された。

【結語】 2 つの主要遺伝子以外に 1 型糖尿病の発症を修飾する複数の遺伝子が存在することが示された。

LEXF/FXLE リコンビナント近交系を用いたキンドリング感受性座位の同定
○岡島涼子¹、庫本高志¹、Voigt Birger¹、外尾亮治²、笹征史³、芹川忠夫¹ (1京大院・医・附属動物実験施設、²(財)動物繁殖研究所、³渚病院)

実験動物において脳の特定位位に一定の電気刺激を1日1回反復して与えると、始めは行動と脳波上にわずかなてんかん様反応を示していた動物が、次第に反応の増強を示し、最終的に全身けいれんを示すようになる。この現象をキンドリングと言う。いったんキンドリングが形成された動物は、その後の電気刺激ごとに全身けいれんを示すようになり、ヒトの複雑部分発作(側頭葉てんかん)のモデルとして有用だと考えられている。

これまで、アウトブレッドラットからキンドリング易発性・抵抗性の系統が選抜育種されていることから、キンドリング感受性遺伝子座の存在が示唆されている。リコンビナント近交系(RI系統)は、多因子疾患や量的形質に関与する遺伝子座位の解析に有用である。中でも **LEXF/FXLE RI** 系統は世界最大の34ラインからなり、357個のSSLPマーカーおよび約2万個の一塩基多型による **Strain Distribution Pattern** が作成されている。そこで我々はこのRI系統を用いてキンドリング感受性遺伝子座位の同定を試みた。

RIの親系統である **LE/Stm** (n=6) と **F344/Stm** (n=10)、およびRIのうち6系統(**LEXF2B**、**6B**、**7B**、**11**、**FXLE13**、**16**、n=3~7)を用い、深麻酔下で扁桃核に電極を埋め込んだ。手術の2週間後、後発射を誘発する電気刺激強度を測定し、その翌日より一定電流の刺激を与えて発作症状を観察した。発作症状の程度は **Racine** のキンドリング獲得分類に基づいて5段階(軽度なものより **stage1~5**)に分類した。QTL解析には **MapManager QTXb20** を用いた。

stage5 が初めて出現するまでの刺激回数には親系統間で差異が見られ(**F344/Stm** 平均3.9回、**LE/Stm** 平均9.2回、 $P<0.01$)、キンドリング形成過程に差があることが確認された。QTL解析において、後発射を誘発する電流閾値、その時の後発射持続時間、および **stage5** が初めて出現するまでの刺激回数について、それぞれ複数個の座位を検出した。

ダンボラットの形態解析と遺伝解析

○矢ヶ崎佳代子、庫本高志（京大院・医・附属動物実験施設）

ダンボラットは、耳介の形態異常を示す自然発症ミュータントで、2005年、米国のファンシーラットコロニーから当施設へ導入された。耳介の形態異常は、常染色体上の単一劣性遺伝子 *dumbo* (*dum*) により支配されている。本研究では、ダンボラットの体重測定、臓器重量の測定、耳介・頭蓋骨の形態解析、並びに、*dumbo* 遺伝子の染色体マッピングを行うことを目的とした。

【材料と方法】

表現型解析には、ダンボラット F7 世代 (*dum/dum* 雄 6 頭・雌 7 頭、*dum/+* 雄 8 頭・雌 3 頭)を用いて、生後 3 週齢から 14 週齢にわたって体重測定を行なった。臓器重量の測定、耳介・頭蓋骨の形態測定は、14 週齢時に行なった。遺伝解析には、(BN×*dumbo*)F1×*dumbo* 戻し交雑子 146 頭を使用した。

【結果と考察】

体重、臓器重量、頭蓋骨の形態については、*dum/dum* と *dum/+*間で有意な差異はなかった。一方、耳介長は *dum/dum* が *dum/+*に比べ有意に小さく、耳介幅は、*dum/dum* が *dum/+*に比べ有意に大きかった。

Dum 座位はラット第 14 染色体上の 79Mb～85Mb の位置にマッピングされた。ラット-マウス-ヒト比較地図から、*Dum* 座位のマウス相同領域は、第 5 染色体上の 35Mb～37Mb 領域と第 11 染色体上の 3Mb～4Mb 領域であった。一方、ヒト相同領域は第 4 染色体短腕テロメア領域であった。

ヒト第 4 染色体短腕テロメアの染色体欠失は、Wolf-Hirschhorn 症候群 (WHS)の原因として知られている。WHS は、頭蓋・顔面の奇形 (耳介変形を含む)、精神遅滞、発育不全を主徴とする難病である。欠失の大きさはさまざまであることから、欠失部位に存在する遺伝子と WHS に見られる個々の病態との対応は明らかではない。ダンボラットの原因遺伝子を同定することは、WHS という難病の病態解明の糸口になると期待される。

ラット *Arp3*, *Abcg5*, *Srebf1* 遺伝子の機能多型ジェノタイプング

○中西 聡、芹川忠夫、庫本高志（京大院・医・動物実験施設）

遺伝子機能や疾患感受性に関与する遺伝子変異が複数のラット系統に存在する。これは「機能多型」と呼ばれているが、疾患感受性に関与する遺伝子変異の多型を強調して「病態に関連する多型」と呼ぶこともできよう。そして、我々は、この多型を考慮したラット系統の選択が重要であることを指摘した（庫本ら、第 96 回関西実験動物研究会）。今回、疾患モデルラットにおいて、以下の3つの遺伝子変異が新たに報告されたので、ラット近交系を対象として遺伝子変異の有無を調べた。

遺伝子・変異系統	アミノ酸変異など	関連疾患	文献
Actin-related protein 3 (<i>Arp3</i>)・BUF/Mna	Leu111Phe	蛋白尿症	Akiyama et al.,2007
ATP binding cassette half-transporter gene 5 (<i>Abcg5</i>)・SHR、SHRSP、WKY	Gly583Cys	フィトステロ ール血症	Scoggan et al.,2003
Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (<i>Srebf1</i>)・SHR	プロモーター領 域の 1 塩基置換	脂肪肝	Pravenec et al.,2007

【材料と方法】

NBRP-Rat で保存されている 125 系統、市販の 17 系統を用いた。上記の遺伝子変異部位を増幅するためのプライマーを作製して、それぞれの塩基配列を調べた。多型が複数の系統に発見された場合には、市販の 11 のクローズドコロニー（Wistar 系、SD 系、Long-Evans 系）について、同様に調べた。

【結果とまとめ】

蛋白尿症に関与する *Arp3* の変異は、報告されていた BUF/Mna のみに検出された。フィトステロール血症に関与する *Abcg5* の変異は、21 系統の SHR 亜系統すべてと WKY/NMna、WKY/NCrCrlj に検出されたが、クローズドコロニーには検出されなかった。脂肪肝に関与する *Srebf1* 機能多型は、75 系統(53%)で検出され、クローズドコロニーにおける変異アレル頻度は 0~100%と様々であった。「病態に関連する多型」がラット系統に存在することが新たに明らかになった。NBRP-Rat では、これらの多型情報をHPから公開する予定である。

RT1領域解析のための SSLP マーカーセットの開発とゲノムプロファイル
○高木弓枝^{1,2}、庫本高志¹、鶴見東志子¹、中西聡¹、真下知士¹、増井則夫²、芹川忠夫¹

(¹京大院・医・附属動物実験施設、²日本エスエルシー(株)品質管理部)

ラット MHC である RT1 は第 20 染色体上 (p12) の約 4Mb にわたる領域に存在し、免疫応答関連遺伝子や疾患感受性遺伝子等の 200 以上の遺伝子を含み、遺伝解析が精力的に行われてきた領域である。近年、遺伝子解析の新たなツールとして SNPs が用いられているが、RT1 領域内において informative SNPs は少なく、簡便で経済的な SSLP がなお遺伝解析の重要なツールであると考えられる。そこで我々は、新規に開発した 57 個の SSLP マーカーを含む 67 個の SSLP マーカーセットを RT1 領域内に設定し、67 ラット系統についてのゲノムプロファイルを作成した。これらのマーカーはおおよそ 50kb に 1 個の密度で、平均アレル数は 8.10 ± 3.49 、平均多型率は $71 \pm 23\%$ であり、多型性に富んだマイクロサテライトマーカーを RT1 領域全体にわたって高密度に収集することができた。さらに興味深いことに BN/SsNHsd 以外の全ての系統で PCR の増幅が見られないマーカーが存在し、系統間のゲノム配列やゲノム再構成の変動の高さが示唆された。また、系統樹を基に 11 個の SSLP マーカーハプロタイプを同定した。

簡便で精度の高い SSLP タイピングは血清学的タイピングに代わる新たな RT1 領域の遺伝解析およびその特徴づけに有用な手段であると考えられる。

Mouse Hepatitis Virus の遺伝子解析

○小谷祐子¹、田島 優¹、愛原勝巳¹、河崎愛子¹、藪内かおり¹、
河合澄子¹、高木康博¹、Benjamin Seery¹、塩谷恭子²、岡本 明¹、
鍵山壮一朗¹、黒澤 努¹

(¹大阪大学医学部附属動物実験施設、²国立循環器病センター動物実験室)

【背景・目的】 Mouse Hepatitis Virus (MHV) はマウスに強い伝染力を持ち、繁殖率の低下や実験動物に影響を及ぼす事が知られている。近年、病原体による汚染事故が多発しており、塩基配列解析が株の同定法として用いられている。MHV は変異を起こす事や、*in vitro* において株間で組換えが起こる事が報告されており、当施設にて異なる株の同時感染により、遺伝子組換えが起こる事を本研究会にて報告した。

当施設では MHV による汚染事故発生から今日まで、RT-PCR 法にて MHV 検査を行っており、MHV 陽性と判定した検体については、塩基配列の解読と系統樹解析により株の同定を行ってきた。今回はこれまでの解析結果を報告する。

【方法】 解析には、当施設由来株 24 株、他施設由来株 48 株、GenBank 登録株 18 株を用いた。RNA の抽出は QIAGEN 社の RNeasy mini kit を用い、RT-PCR の温度条件とサイクル数は、Yamada らの方法に従った。得られた PCR 産物をダイレクトシーケンス法を用いて、N gene 1,368bp の塩基配列の解読を行い、系統樹解析には遺伝子解析ソフト CLASTAL W を用いた。

【結果・考察】 系統樹解析の結果、大きく分類すると 4 系統に分かれた。270bp~500bp で特徴的な塩基配列を示しており、この部位が MHV 株のクラスターの位置付けに大きく関係していることが示唆された。

MHV 感染が確認された SPF 施設では、飼育室単位で単独クラスターを形成したが、コンベンショナル施設では同一飼育室由来株でありながら、異なるクラスターに属する例が見られた。

放医研で維持されているマウス系統の遺伝学的モニタリングシステムのためのチャートの作成および胚凍結と組み合わせた今後の展開

○上野渉¹、海野あゆみ²、大久保喬司²、飯名瑞希²、新妻大介²、伊藤正人²、伊田大貴²、宮沢正光²、藤井功輔²、川原隼²、早尾辰雄¹、西川哲¹

(¹放射線医学総合研究所 基盤技術センター研究基盤技術部 実験動物開発・管理課、²(株)サイエンス・サービス)

放射線医学総合研究所(以下、放医研)では、1960 年以来維持していた近交系マウスを 1971 年から SPF 化して微生物学的・遺伝学的モニタリングを行いながら現在、15 系統について維持・生産を行っている。微生物学的モニタリングについては放医研において行われているが、遺伝学的モニタリングについては年 1 回、(財)実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターに依頼し、行ってきた。

今後、マウス数系統の外部委託や放医研での胚凍結により系統同定を目的とした放医研独自のシステムを確立する必要性が生じたために、PCR 法による遺伝学的モニタリングシステムを確立すべく以下の点について検討した。

1) 従来、遺伝モニタリングの標準座位とされている 18 座位の近傍のマイクロサテライトマーカーによる、DNA 産物のサイズによる遺伝子型を判定し、さらに検査されていない染色体上のマイクロサテライトマーカーについてスタンダードチャートを作成した。2) 1) についてモニタリングの効率化を図るために複数のマイクロサテライトマーカーを組み合わせて PCR 法を行い、遺伝子型の判定の可否について検討した。

18 座位に相当するマイクロサテライトマーカーによるスタンダードチャートの作成は完了し、15 系統マウスの遺伝学的モニタリングシステムが確立した。さらに遺伝子改変マウス等特殊な系統についても容易に判定できるシステムの確立および胚凍結と組み合わせた今後の展開について述べる。

Establishment of DMN-induced liver cirrhosis model in NOD/SCID mouse for evaluation of the efficacy and safety of human mesenchymal stem cells

Byeong-Cheol KANG, Jeong-Wan CHE, Seung-Hyeok Seok, and Kook-Hyun LEE
College of Medicine, Seoul National University and Clinical Research Institute, Seoul
National University Hospital

Recently, many studies have suggested the potential of human mesenchymal stem cells (hMSC) to differentiate into a hepatocyte-like lineage. In this study, we tried to establish an animal model of DMN (Dimethylnitrosamine)-induced liver cirrhosis in NOD/SCID mouse for evaluation of the efficacy and safety of cell therapy such as human mesenchymal stem cells.

NOD/SCID mice were treated with DMN(1, 5, 10 mg/kg, i.p.) for 3 consecutive days/week for 5 weeks and sacrificed on the 3, 4, 5, 6 week after first DMN injection. In 10 mg/kg group, most mice were critically ill or died. In 5 mg/kg group, there were obvious clinical signs such as pale, abdominal distention, and piloerection. However, there was no difference between control group and 1 mg/kg group in clinical findings. Based on serum biochemistry for evaluation of the liver function, ALT, AST, ALP and total bilirubin in 5 mg/kg group were significantly increased and albumin was decreased compared with 1 mg/kg or control group. In histopathological findings in the liver, there were central venous necrosis, hemorrhage, and fibrillar septa formation in 5 mg/kg group at 4 week. The extracellular matrix(collagen), iron, glycogen deposition were confirmed by Masson Trichrome (MT), Prussian Blue (PB) and Periodic Acid Schiff (PAS) staining, respectively. Besides, we found degenerative changes of renal structure and splenomegaly in 5 mg/kg group.

In conclusion, we consider that treatment of DMN 5 mg/kg for 4 weeks to NOD/SCID mice can induce pertinent liver cirrhosis model and it can be useful to evaluate the efficacy and safety of cell therapy such as human mesenchymal stem cells.

Fe-NTA 誘発酸化ストレスモデルを用いた抗酸化作用の評価における投与方法の重要性について

○ 飛田康孝、岡本均、安場正子、松岡信男（株式会社ケー・エー・シー）

酸化ストレスが糖尿病や動脈硬化をはじめとするさまざまな疾患に関与しているという報告はこれまでに数多くなされており、抗酸化物質の日常的な摂取がこれら疾患の予防に有効であると考えられている。このため、これまでに様々な天然由来物質について抗酸化作用の探索が行なわれ、抗酸化作用を示す物質が数多く見出されている。

このような抗酸化物質については脂溶性や水溶性といった物性は勿論のこと、作用機序なども様々であることから、*in vivo*での抗酸化作用の評価には、評価物質の特性に合った投与方法の検討が必要である。

そこで我々は評価物質の特性と有効な投与方法の組み合わせについて調べるため、酸化ストレス誘発剤として鉄ニトリロ三酢酸（Fe-NTA）を用いたマウス酸化ストレスモデルにさまざまな抗酸化物質を混餌投与または単回強制経口投与し、血漿中過酸化脂質量をチオバルビツール酸反応物（TBARS）量として定量することで各物質の抗酸化作用を調べた。

現在までにカテキン抽出物、ビタミン E、プロブコール（高脂血症治療薬）の混餌投与および単回強制経口投与での評価を行った。この結果、カテキン抽出物では、1%の濃度で飼料に添加して 1 週間混餌投与（1000 mg/kg/day 相当）した場合よりも、500 mg/kg の用量で単回強制経口投与した場合の方が強い血漿中 TBARS 値上昇の抑制効果を示した。一方、ビタミン E やプロブコールでは、混餌投与の方が単回強制経口投与よりも強い血漿中 TBARS 値上昇の抑制効果を示した。

本発表では、さらに数種の抗酸化物のデータも含めて、物質の特性に合った適切な投与方法について考察する。

Kyoto Apc Delta ラットを用いた大腸腫瘍誘発試験

○ 吉見一人¹、真下知士¹、滝澤明子¹、加藤めぐみ²、平林真澄²、
芹川忠夫¹、庫本高志¹

(¹京大院・医・動物実験施設、²生理学研究所・行動代謝分子解析センター)

Kyoto Apc Delta (KAD) ラット (F344-*Apc*^{Kyo1588}/Kyo) は、エチルニトロソウレア誘発ラットミュータントアーカイブ (KURMA) の遺伝子変異スクリーニングと顕微授精により開発した系統で、家族性大腸腺腫症の原因遺伝子である *Apc* 遺伝子にナンセンス変異 (S2523X) を持つ。KAD ラット (ミュータントホモ型) は、大腸腫瘍を自然発症しない。そこで、KAD ラットの大腸腫瘍誘発試験を行った。また、大腸腫瘍の発生過程を、ヒト用の気管支内視鏡を用いて経時的にモニターすることを試みた。

【材料と方法】

大腸腫瘍の誘発試験には、KAD ラットと対照系統の F344/NSIc ラット、それぞれ雄 6 頭を用いた。5 週齢時にアゾキシメタン (AOM) を 20mg/kg 皮下投与した。1 週間後から、2%デキストラン硫酸 (DSS) を 1 週間飲水投与した。AOM 投与 8 週以降、肛門部から内視鏡 (オリンパス社 OTV-S7V) を挿入して大腸管腔内を観察し、腫瘍の位置と個数を記録した。AOM 投与 15 週後に安楽死処置して剖検した。

【結果と考察】

大腸腫瘍誘発試験において、KAD ラットで 100% (6/6 頭)、対照群で 83% (5/6 頭) に大腸腫瘍を検出した。剖検時の 1 頭当たりの腫瘍数は KAD ラットの方が有意に多く (9.5 ± 0.7 個 vs 1.3 ± 0.3 個、 $p < 0.001$)、腫瘍 1 個当たりの体積も KAD ラットの方が有意に大きかった (33.9 ± 9.4 mm³ vs 10.3 ± 5.6 mm³、 $p < 0.003$)。

KAD ラットの内視鏡による観察では、AOM 投与 8 週後において、すでに 1 頭当たり 3.3 ± 0.5 個の腫瘍を認め、11 週後で 5.8 ± 0.9 個、14 週後で 17.3 ± 1.8 個と、腫瘍数の増加とサイズの増大を経時的に観察することができた。

以上の結果から、KAD ラットは、大腸腫瘍の発症機構の解明、診断・治療・予防方法、抗癌剤の開発などに、有用なモデルラットになると期待される。

気道内への直接曝露による喘息モデル作成の確立

○今田竜一¹, 高橋義博¹, 山下祐介¹, 宇都宮慎治¹, 大坪靖治¹, 治田俊志², 久野彰文², 和泉博之¹, 中村隆広¹, 洲加本孝幸¹

(株式会社新日本科学安全性研究所¹), Translational Research 株式会社²)

【目的】喘息モデルの作製には、アレルゲンをカニューレ管を通して液体で投与する方法と、エアゾールとして吸入させる方法が用いられている。しかしながら液体投与の場合は、呼吸困難とそれによる低酸素症の誘発、また、エアゾール吸入の場合はその多くが気管まで到達しない等の問題がある。今回我々は前述の問題点を排除するため、Penn-Century社製のIntrapulmonary Aerosolizerをモルモット気管へ直接挿入しアレルゲンを肺へ曝露させ、喘息モデルの作製を試みたので報告する。

【方法】アレルゲンとして卵白アルブミン (ovalbumin, 以下 OVA) を用い、気道内感作用に OVA を 1 mg/mL, 気道内惹起用に 10 mg/mL を投与した。対照群には生理食塩液のみを投与した。動物は 5~6 週齢の雄性 Hartley モルモット (Slc:Hartley 日本エスエルシー株式会社) を使用し、感作は 1 日 1 回 7 日間連続で、惹起は最終感作後 12 日目にいずれも 100 μ L/body の容量で気道内へのエアゾールとして投与することによりおこなった。感作方法については、専用の投与補助器具及び保定器を用い喉頭蓋を露出させ、気管の入り口を目視にて確認し投与を実施した。検査項目としては、惹起直後から 60 分後まで、呼吸器系の異常について観察を行い、その後、肺、気管支および気道について、肉眼的および組織学的な観察を実施した。また、気管支肺胞洗浄液 (以下 BALF) を採集し、塗抹標本を作製して光学顕微鏡下で BALF 中の細胞数を測定した。

【結果】OVA 感作群では、一般状態において呼吸器系の異常 (軽度あるいは重度の呼吸困難, チアノーゼ, 運動障害等) が全例でみられた。剖検時の肉眼的観察では肺に赤色巣が 7 例でみられ、組織学的検査では気管支壁における炎症性的変化が 6 例でみられた。BALF 中の細胞数測定では、媒体対照群と比較し顆粒球およびリンパ球の有意な増加がみられた。また、能動感作時に、呼吸器系の障害と考えられる症状はみられなかった。

【結論】本研究における気道内感作および惹起にて用いた投与方法は、モルモットを用いた喘息モデルの作製方法として有用であり、なおかつ動物に対して負担が軽いものであると考えられた。

Infection with *Pneumocystis carinii* in rat

OKaori YABUUCHI, Masaru TAJIMA, Yuko KOTANI, Katsumi AIHARA, Aiko
KAWASAKI, Shiro KANEKO, Yasuhiro TAKAGI, Sumiko KAWAI, Akira
OKAMOTO, Soichiro KAGIYAMA, Benjamin Seery and Tsutomu KUROSAWA
(Institute of Experimental Animal Sciences, Osaka University Medical School, Japan)

For the last 20 years, *Pneumocystis* was recognized as organisms in the group of fungi. In the *Pneumocystis* infecting the rat, there are 2 species, *Pneumocystis carinii* (*P.c.*), and *Pneumocystis wakefieldae* (*P.w.*). These organisms were able to dwell and replicate in the lung of immunocompromised hosts and especially naive immunocompetent hosts (i.e. young mammals). *P.c.* is thought to be a specific pathogen for immunocompromised animals such as the nude rat. On *P.c.* infection, the eosinophilic alveolar exudate and foamy macrophage are evident. There are trophic forms and cystic forms in the life cycle stages.

The standard methods of detecting *Pneumocystis* are the combination of PCR and special stainings (i.e. Toluidine Blue O (TBO), Giemsa and Gomori-Grocott's methenamine silver nitrate (GMS)) of trophic forms or cystic forms. There is no single definitive method to detect both *P.c.* pathogenic power and presence in one specimen. There is a paucity of information in detecting *Pneumocystis* in rat.

In this report, we utilized the fluorescent immunochemistry (IM) to detect *P.c.* infection with commercially available antibody.

ラット ENU ミュータントアーカイブ : LGI1 標的遺伝子のスクリーニング
○石田紗恵子¹、真下知士¹、滝澤明子¹、国広弥生¹、青砥利裕²、上田正次²、池田昭夫³、高橋良輔³、芹川忠夫¹ (1京大院・医・動物実験施設、²フェニックスバイオ、³京大院・医・臨床神経学)

ラットは、マウスより体のサイズが大きく、生体試料の採取や実験処置が容易なため、医学、薬学、栄養学、行動学などの研究分野で広く利用されている。近年、我々は化学変異原 ENU (エチルニトロソウレア) を利用して、1) トランスポゾン Mu を用いた効率的なスクリーニング方法 (MuT-POWER) と、2) 顕微授精法 (ICSI) による効果的な個体復元を組み合わせることにより、ラットではこれまで不可能であった標的遺伝子変異ラットを作製することに成功した (Mashimo *et al.* Nat Genet 2008)。これまでに、ENU 投与 F344/NSIc 雄ラットを同系統の雌ラットと交配して得た G1 ラットを 5,000 頭作製し、ゲノム DNA と凍結精子をラット ENU ミュータントアーカイブ (KURMA) として保存した。本研究では、この KURMA の有用性を調べるために、LGI1 (leucine-rich glioma inactivated 1) 遺伝子を標的としてスクリーニングを実施した。

ラット LGI1 (1,674 bps, 557 AA residues) の各エクソンを増幅するため、10 個のプライマーを合成した。LGI1 は、ヒト常染色体優性外側側頭葉てんかん (ADLTE) の原因遺伝子として発見され、これまで 20 家系以上で挿入、欠失、置換変異が報告されている。KURMA 5,000 において、MuT-POWER によりスクリーニングした結果、T1261G と T1406C の 2 つの点突然変異を検出した。前者は、ヒト ADLTE 患者で最も多く遺伝子変異が見つかっている第 8 エクソンに存在し、中性・非極性ロイシンから塩基性・極性アルギニンへのミスセンス変異であった。後者は同じ第 8 エクソンにおけるサイレンス変異であった。現在、T1261G (L385R) の変異を持つ LGI1 標的遺伝子変異ラットを作製するため、ICSI により凍結保存された該当精子の個体復元を行っている。

ラット ENU ミュータントアーカイブは、ヒト疾患の原因遺伝子を標的とした遺伝子変異ラットモデルを作製するための有用なツールである。

横紋筋肉腫モデルマウスに発症する悪液質関連遺伝子の解析

○鈴木 昇、齋藤 浩充

(三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)

背景：悪液質 (cachexia、カヘキシー) は、癌や慢性疾患の経過中に起こる主として栄養失調に基づく病的な全身の衰弱状態である。これまで動物モデルを用いて、いくつかのサイトカインの過剰発現とカヘキシーの因果が報告されているが、ほとんどすべてが移植癌モデルであり、ヒト病態を忠実に反映するとは言えない。本研究では、ヒト病態により近い自家癌発症で、かつ、カヘキシーを呈するモデル動物を作製する。さらに、由来する腫瘍を材料として、腫瘍の遺伝子発現の観点からその病態の原因となる分子メカニズムの一端を明らかにする。

方法と結果：Cre/LoxP システムを応用して、任意の時期と臓器に活性型 K-Ras 遺伝子を強制発現できるマウスを作製し、大腿骨格筋に活性型 K-ras 遺伝子発現を誘導すると、p53^{+/+}と p53^{-/-}の遺伝背景においてのみ、遺伝子型が活性型 K-ras 遺伝子発現・p53^{-/-}の多形型横紋筋肉腫 (RMS) が発生する。RMS に罹患した動物は、約 2 週間で全例死亡するが、餌摂取量の減少と体重減少をともなう悪液質が主たる原因であると推察された。メチルコラントレンで誘導した RMS 担癌動物ではカヘキシーを認めないことから、活性型 K-ras 遺伝子発現・p53^{-/-}の特殊なタイプの腫瘍細胞がカヘキシーを誘発すると結論した。摘出した活性型 K-ras 遺伝子発現・p53^{-/-} RMS 腫瘍塊を材料として、造腫瘍能 (+) カヘキシー発症能 (+) 腫瘍株#3396 株、造腫瘍能 (+) カヘキシー発症能 (-) 腫瘍株#6091-3 株を樹立した。2 つの株を正常動物に移植し腫瘍を造らせた後、摘出し RNA を抽出、アジレント社のマイクロアレイを用いて、発現プロファイルを比較した。その結果、これまで報告されているカヘキシー関連サイトカインとは異なる分子種が、#3396 株特異的に複数検出された。

電位依存性Ca²⁺チャネルα1A蛋白質ノックダウン及び脳の領域特異的ノックアウトマウスの解析

○齋藤 浩充、鈴木 昇

(三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)

背景・方法 P/Q型電位依存性Ca²⁺チャネルは、脳に多く存在し、神経伝達物質の放出、神経細胞生存に関わっていると考えられている。P/Q型電位依存性Ca²⁺チャネルの分子的な実体は、チャネルポアを形成するα1サブユニットA蛋白質(CACNA1A)である。これまでに、*Cacna1a*遺伝子の自然発生変異体が、ヒト、マウス、ラットで報告されており、運動失調、癲癇、進行性の小脳変性などの多様な病態を示すことが明らかになっている。しかしながら、これらの変異体では機能の異常なチャネル蛋白が発現しており、症状が正常機能の低下によるのか、異常機能によるのか不明である。そこで、我々は、全身でCACNA1A蛋白質量が正常の60%、50%、20%、10%、0%になった一連のノックダウンマウスを作製し、チャネル機能低下の影響を解析した。加えて、20%にノックダウンした背景に、小脳プルキンエ細胞、大脳に特異的なノックアウトを導入し脳の領域と症状の関係を解析した。

結果・考察 蛋白量が正常の60%、50%の量に減少したマウスに異常は検出されなかった。20%に減少したマウスは、欠伸発作、間代発作、運動失調、進行性小脳変性の症状を示したが正常と同様に生存可能であった。10%に減少したマウスは、欠伸発作、より重度の運動失調に加え、発作性異常運動症を併発、0%になったノックアウトマウスでは症状がさらに悪化し、どちらも生後3週前後で致死であった。これらの結果から、欠伸発作、間代発作、運動失調、進行性小脳変性、発作性異常運動症は、正常機能の低下のみで発症しうること、それぞれの症状は蛋白質量の減少量に依存することが明らかとなった。20%へのノックダウンに加えて小脳プルキンエ細胞特異的なノックアウトは、発作性異常運動症の発症、運動失調の悪化が、大脳特異的なノックアウトは、多焦点性間代発作と発作性異常運動症の発症がみられた。この結果から、運動失調への小脳プルキンエ細胞の関与、癲癇発作への大脳の関与、発作性異常運動症への両方の関与が示唆された。

新に作製された一連のマウスは、P/Q型Ca²⁺チャネル及びそのシグナル経路の低下を原因とする神経疾患の解析に有用なモデル動物となると考える。

発癌モデルマウスの生体腫瘍に対する X 線 CT 装置による解析可能性の検討

○¹西 泰明、²齋藤 浩充、²鈴木 昇

(¹三重大生命セ・放射線化学、²三重大生命セ・動物機能ゲノミクス)

背景・方法：発癌モデル動物を用いて実験、解析することの利点の一つは、発癌前後の変化、発癌後の増殖といった時間軸にそった経時的変化を任意の時期に解析可能な点にある。その一方で、これまで解析には、実験動物を犠牲死させ観察することが不可欠であった。そのため、解析したいポイントを増やす場合、それにあわせて解析する実験個体数（群）を増やす必要があった。今回、肺腫瘍モデルを例として、実験動物用 3DX 線 CT 装置を用いた生体での腫瘍検出の可能性を検討することとした。

我々は、遺伝子改変により肺胞の細胞特異的に癌型 K-Ras 遺伝子を発現することで、ヒトの非小細胞癌様の肺腺腫を発症するモデルマウスを開発した。この肺腫瘍モデルは、従来の化学発癌モデルと異なり、原因遺伝子変異が明らかであり、化学物質投与による生理変化などが生じないため、よりヒトの発癌過程を再現したモデル動物として、肺癌の治療および予防法の開発に有用である。肺胞上皮細胞で癌型 K-Ras 遺伝子誘導後、6ヶ月のマウスを 3DX 線 CT 装置及び肺同期ソフトを用いて撮影した。撮影後に摘出肺の組織切片を作製し、X線CT撮影像と比較を行なった。

結果：従来の撮影方法では呼吸による変動が影響し、得られた像は不鮮明であり腫瘍の正確な同定は不可能であった。一方、呼吸同期ソフトを用いた撮影では、鮮明な撮影像が得られた。組織切片との比較から最小直径 0.3mm の腫瘍がCT画像で確認可能であった。

この結果から、本方法を用いることで生体における同一個体の同一肺腫瘍の継続観察が可能であることが示された。3DX 線 CT 装置による解析は、腫瘍に対する薬理的な効果や、腫瘍免疫の解析などにおいて、より明確で実験動物個体数の削減と、動物個体の苦痛の低減にもつながる有用な方法であると考えられる。

Helicobacter pylori 感染症におけるサイトカインの役割
○喜多正和、澤井直樹、塩見 聡、山本俊郎、今西二郎
(京府医大院医学研究科 免疫・微生物学)

【目的】 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染により発症する胃炎の病態形成におけるサイトカインの役割を検討するため、サイトカイン遺伝子欠損マウスを用いて検討した。

【方法】 *H. pylori* CPY2052 株をヘリコバクター用 Aneropack System (80% N₂、15% CO₂、5% O₂)を用い、Hp 選択培地 (栄研化学) で 37 °C、5 日間培養した。コロニーをさらに 15%FBS 含有 brain-heart infusion (BHI) 液体培地で培養後、2 X 10⁸ CFU/ml に調製し、あらかじめ 4 時間絶食させた野生型 C57BL/6 マウスおよび IFN-gamma, TNF-alpha, IL-17 遺伝子欠損 (KO) マウスに胃ゾンデを用いて 0.2ml 経口投与した。感染 1、2、3、6、12 ヶ月後にマウスを安楽死させ、胃を摘出し、長軸にそって二分割後、一方を胃内定着菌数 (胃内コロニー数) の測定に、他方は病理組織学的評価 (炎症の程度) に用いた。組織は 10%ホルマリンで固定、パラフィンで包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。炎症の程度は、鏡検にてシドニーシステムに従いスコア化を行い、評価を加えた。なお、コロニーの特異性は PCR 法にて確認した。

【結果】CPY2052 株を野生型および IFN-gammaKO, TNF-alphaKO, IL-17KO マウスに感染させ、経時的に胃粘膜の病理所見および胃内定着菌数を測定した結果、野生型マウスでは、感染 2 ヶ月後より胃粘膜および粘膜下組織に細胞浸潤をとまなう炎症像が認められたが、IFN-gammaKO および IL-17KO マウスではほとんど炎症は認められなかった。幽門部および体部における浸潤細胞は主に好中球とリンパ球であったが、IL-17KO マウスにおいては有意な好中球浸潤の抑制が認められた。さらに、IL-17KO マウス胃における MPO 活性は有意に低下していた。一方、*H. pylori* 感染後の胃内菌数を測定した結果、IL-17KO マウスの胃内菌数は野生型マウスに比べ有意に減少していたが、IFN-gammaKO マウスでは有意に増加していた。

以上の結果、*H. pylori* 感染において、IFN-gamma および IL-17 は胃炎発症に重要な役割を果たしていることが示唆された。

セルロース欠乏飼料と喫煙曝露が C57BL/6 マウスの腸内環境と栄養状態に及ぼす影響

○ 西井康恵¹、久保薫²、友田恒一³、吉川雅則³、朝原崇⁴、野本康二⁴、木村弘³

(¹畿央大学・健康科学部、奈良医大・²動物実験施設、³第二内科、⁴ヤクルト中央研究所)

食物の摂取は動物の身体や生命の維持に不可欠であり、そのバランスは健康の維持に重要である。近年、食物繊維が消化器系のみならず呼吸器系や循環器系などの種々の疾患の発症と関連することが示唆されている。また、喫煙により体重が減少することが知られているが、その機序に不明な点が多い。今回、我々は C57BL/6 マウスを用いて、セルロース欠乏飼料と喫煙曝露の栄養状態や腸内環境の変化および酸化ストレスに対する相互作用を検討した。

[方法] 12 週齢雄性 C57BL/6 マウスを AIN-93G (以下、通常食とする) あるいはセルロース除去した AIN-93G (以下、セルロース欠乏食とする) で飼育した。喫煙曝露は 20 本のロングピースを 1 日 1 回、週 5 回 (月曜日から金曜日)、16 週間に亘って行った。4 群 (①通常食/ 非喫煙、②セルロース欠乏食/ 非喫煙、③通常食 / 喫煙、④ セルロース欠乏食/ 喫煙) を構成し、酸化ストレス活性、腸内環境の変化について比較検討した。酸化ストレス活性は Oxy 吸着テスト (Diarcon 社) を用いて血漿の酸化能から評価した。腸内環境は最終喫煙曝露 24 時間後の回盲部内容物から高速液体クロマトグラフィー法を用いて、有機酸 (酢酸、プロピオン酸、酪酸、乳酸、吉草酸、コハク酸) の濃度と pH を測定して評価した。

[結果] 1) 通常食群、セルロース欠乏食群いずれも喫煙曝露により体重は有意に減少し、特に喫煙曝露開始 12 週間後からは通常食群に比してセルロース欠乏食群で更に有意な体重減少を認めた。2) 酸化ストレス活性は非喫煙群、喫煙群ともに通常食群に比してセルロース欠乏食群で有意に低下した。また、セルロース欠乏食群では喫煙群が非喫煙群に比して有意に低下した。3) 非喫煙群では通常食群に比してセルロース欠乏食群では回盲部内容物中のコハク酸および酢酸濃度が高値を示し、プロピオン酸濃度は低値を示した。喫煙群においては通常食群に比してセルロース欠乏食群ではコハク酸およびイソ吉草酸濃度が有意に高値を示し、酢酸濃度は有意な低値を認めた。

[結論] 食物繊維であるセルロースの摂取低下は腸内環境に変化をもたらし、喫煙曝露による体重減少や全身性炎症などの systemic effect を増悪させる可能性が示唆された。

欠神発作脳波自動判定システムにより抽出された pre-clinical 波の発作リズムの変動

○坪田裕司¹、都丸千夏²、飯島一憲³、大和田恭子²

(¹大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部生理学、²群馬工業高等専門学校物質工学科、³東京大学工学部電子工学科)

我々は てんかん発作の解析を効率良く進めるために、脳波を入力信号として、Wavelet 変換による発作時脳波の特徴抽出と、3 層構造で中間層24個の人工ニューラルネットによる欠神発作自動判定システムを構築した。発作判定の精度は、24 時間のラット脳波に対するヒトの判定データとの一致率で 93%である。我々は、このシステムを用いて、慢性脳波データを解析し、発作のリズムを検討し、これまでに Wakayama Epileptic Rat (WER)ラットの発作発症頻度について、暗期に高く、明期には低い発作率で推移し、ラットの活動期に欠神発作も高くなることを報告してきた(96 回関西実験動物研究会他)。今回、臨床で pre-clinical 波と呼ばれる、単発の棘徐波について解析したところ、異なるリズムを示す症例を発見したので報告する。

材料には、欠神発作と強直発作を 1 個体が同時に示すてんかんモデル動物である WER ラットの脳波記録を用いた。この系統はキンドリングを必要とせずに両発作を自然発症し、てんかん発作以外に外見繁殖等の異常を示さない特徴がある。慢性脳波記録は、自由行動下でテレメトリー法(500scan/s)により採取されたもので、上記ニューラルネットにより、1 秒間脳波における欠神発作あり、なしを判定した。各個体データにおいて 3 日間の各発作の持続時間を分析し、連続する通常の発作波と、前後に発作がなく 1 秒だけ出現する棘徐波を pre-clinical 波として、各出現頻度を解析した。

その結果、発作発症頻度について、連続波は、暗期に高く明期には低い発作率で推移するが、pre-clinical 波の時間推移において、8 個体は同じリズムで推移するが、3 個体は異なるピークを示すことを発見し、両発作波のリズムにおいて数時間から 12 時間の位相のズレを認めた。pre-clinical 波は、これまで臨床概念では発作に至らずに終わる病態の背景を示す波と考えられている。今後例数を増やした解析が必要だが 異なるリズムを示す例があることから、別の発症機序の存在が示唆された。

以上から、てんかん発作の自動解析システムにより、WER 系統の発作発現における新たな特徴が明らかとなった。今後強直発作の解析も進めていけば、てんかん発作の発症機序解明に新たな可能性をもたらす解析系となることが期待される。

*dmy*ラットのエリン崩壊におけるグリア細胞の役割

○狗巻和男, 井澤武史, 山手丈至, 小谷猛夫, 桑村 充
(大阪府立大学・獣医病理学教室)

ミエリン形成は, 種々の構成蛋白質・脂質の産生と輸送, 接着分子の発現, ミエリン形成膜と軸索との高度な相互作用を必要とする複雑な機構によって制御されており, ミエリンの形成および維持機構には不明点も多い. *dmy* (demyelination) ラットは, 後肢の運動失調を特徴とするミュータントで, そのミエリン崩壊はミエリン形成後期から成熟後に始まり, ミエリンの維持に異常があることが示唆されている. 本研究は, *dmy* ラットの病理発生を明らかにする目的で, グリア細胞の動態に注目し解析した.

4, 6, 7, 8 週齢の *dmy* ホモ型および対照ラット (ヘテロあるいは野生型) の脊髄 (胸髄) について, 抗 Iba-1 (ミクログリア/マクログファージ), NG2 (オリゴデンドロサイト前駆細胞) 抗体を用いた免疫組織化学を行い, グリア細胞の動態を解析した. また, PLP に対する RNA プローブを用いた *in situ* hybridization 法を行い, オリゴデンドロサイトの動態を調べた. さらに real-time PCR 法にて活性化グリアが発現するサイトカイン (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-6R, AIF-1) の動態を調べた.

4 週齢では, *dmy* ラットと対照ラットの間でオリゴデンドロサイトの形態および数に差異は見られなかった. 7 週齢 *dmy* ラットの腹索において, 対照ラットと比べて有意なオリゴデンドロサイトの減数が確認された. さらにオリゴデンドロサイト前駆細胞は, 背索ではどの週齢の *dmy* ラットと対照ラットの間でその形態および数に差異は見られなかったが, 腹索では対照ラットと比べて, 6, 7 週齢の *dmy* ラットで細胞数が増加し, 8 週齢では細胞数が激減した. 6, 7 週齢 *dmy* ラットにおいて, Iba-1 陽性の腫大した細胞質を有する活性化ミクログリアが多く観察された. TNF- α , IL-1 β , IL-6 の発現は, 病変形成時期と一致して発現量の増加傾向を示した.

ミエリンの崩壊時期に一致してグリア細胞の動態・形態変化及びサイトカインの発現変化が認められ, グリア細胞が直接あるいは間接的に *dmy* ラットのエリン崩壊に関与していることが示唆された.

小脳虫部欠損(CVD)ラットの脳形成の病理発生における *Unc5h3* と *Netrin1* の役割

○貝塚理恵, 井澤武史, 山手丈至, 小谷猛夫, 桑村 充

(大阪府立大学・獣医病理学教室)

小脳虫部欠損 (cerebellar vermis defect, CVD)ラットは, 小脳虫部の欠損および小脳異形成を特徴とする自然発症ミュータントである. その原因遺伝子は, 神経回路形成を司る軸索誘導因子 *Netrin1* の受容体遺伝子 *Unc5h3* であり, CVD ラットでは *Unc5h3* 発現は認められるものの, *Netrin-Unc5h3* シグナル伝達に必要な細胞内ドメインを欠くことが明らかとなっている.

本研究では, CVD ラットにおける小脳異形成の発症メカニズムを解明することを目的として, ①*in situ* hybridization 法を用い, 生後 8, 12, 20 日齢の CVD ラットの脳発達期における *Unc5h3* および *Netrin1* の発現細胞の動態を調べた. また, ②Real-time PCR 法により *Unc5h3* と *Netrin1* の mRNA 発現を経時的に比較検討した. ③12 日齢の CVD ラット小脳に対し, 抗 Calbindin(プルキンエ細胞), 抗 GFAP(バグマングリア・アストロサイト), 抗 NGFR(外顆粒細胞), 抗 RECA-1 抗体(血管)を用いた二重免疫組織化学を行い, 相互関係を評価した.

①*In situ* hybridization 解析にて, *Unc5h3* と *Netrin1* の発現は内・外顆粒層および分子層を移動中の外顆粒細胞で認められた. ②Real-time PCR 解析では, 8 日齢のホモ型ラットの *Unc5h3* mRNA 発現量に有意な減少が認められたが, 他の日齢ではホモ型とヘテロ型ラット間に発現量の差はなかった. 一方, *Netrin1* mRNA 発現量は, 調べた各日齢においてホモ型とヘテロ型ラット間に明らかな差は認められなかった. ③免疫組織化学解析により, 外顆粒細胞が異常集簇した部位にしばしば血管が認められた. また, 同部位にプルキンエ細胞・バグマングリアの突起の走行異常・消失が見られた. CVD ラットでは, *Unc5h3* の機能異常により, 外顆粒細胞の移動が障害され, 小脳の層構築が異常となることが示唆された.

カニクイザルにおける視覚機能検査

○杉本潤一郎、杉本恭平、津田裕一、堀口浩資、久世 博
株式会社ボゾリサーチセンター

眼底部にタペタム領域を持つ夜行性動物とは異なり、ヒトの視覚は適度な明るさの中で視覚機能を発揮することが可能となる。角膜及び水晶体を通過した画像は上下が反転し、眼底部の一部、つまり視細胞の1つである錐体細胞が集中している黄斑部にフォーカスを合わせている。錐体細胞の応答は視神経を経由して直線的に脳幹の外側膝状体に接続、大脳皮質の視覚野領域へと接続している。視細胞は脳から発生した神経細胞であり、視細胞及び網膜色素上皮細胞の変性によって障害を受けた視細胞は再生することなく、失明など視覚障害の大きな要因となっている。私達はヒトの視覚器及び視覚伝導路とほぼ同様の構造を持つカニクイザル (*Cynomolgus monkey*) を用いて網膜と視覚伝導路の両反応を記録し、網膜から大脳視覚野領域までの視覚機能検査を実施したので報告する。

5~7才齢の雌性カニクイザル(ベトナム産)を用いて、散瞳剤点眼による散瞳後、塩酸ケタミン 50 mg/mL+キシラジン混合(3:1、0.2 mL/kg、i.m)の麻酔下で、角膜表面麻酔及び角膜保護剤を用いてLED発光型コンタクト電極(尙メイヨー)を片眼(左眼)に「+」電極として装着、脳波用皿電極の「-」電極を前頭部に装着し、網膜電位図(以下、ERGと略)及びフラッシュ光による視覚誘発電位(以下、F-VEPと略)の共通電極とした。また、F-VEP電極として「+」電極を後頭部、接地電極を耳朶にそれぞれ設置した。完全な暗室状態とした飼育室で20分間以上の暗順応を行った後、杆体系応答[Rod Response、Maximum Response、Oscillatory Potentials(以下、OPと略)]を記録し、10分間以上の明順応後、錐体系応答(Cone Response及び30Hz Flicker Response)及びF-VEPを誘発電位装置(MEB-9102、日本光電工業㈱)にて記録した。

次に視覚障害を引き起こすとされるメタノールを1000及び1500 mg/kg(500 mg/mL濃度液を2又は3 mL/kg)の用量で、4例/群の雌性カニクイザルに1日1回、反復経口投与し、投与後3時間、投与2、3、4及び5日のERG及びF-VEPを記録した。

ERGにおいて、両群とも投与後3時間から初期変化が認められ、明らかな視覚機能障害を示唆する変化(潜時延長及び電位減少)が1000 mg/kgで投与4日、1500 mg/kgで投与3日から認められた。また、F-VEPにおいても視覚機能障害を示唆する変化(b波潜時の延長及びa-b波電位の減少)が認められたが、ERGと同時期ではなく、1000 mg/kgで投与5日、1500 mg/kgで投与4日に認められた。しかし、双眼倒像鏡オメガ200(Heine Optotechnik)を用いた眼科学検査で正常な眼底像が確認され、HE染色による病理組織学検査では網膜、視神経、脳幹及び大脳視覚野領域に変化は認められなかった。

視細胞応答に変化がみられた網膜組織及び視覚伝導路の変化を病理組織学検査で捉えることはできず、生前検査が有用な評価データとなった。

カニクイザルを用いたホルター心電図による薬剤誘発性 QT 延長および不整脈の評価

○ 和田聰¹, 熊野篤¹, 大鷲壮一¹, 谷川常博¹, 小倉宏之¹, 深澤清久¹,
大竹誠司¹, 安東賢太郎¹, 飯田晶敏²

(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所, ²大阪分室)

サルを用いた安全性試験における心電図は、一般的に動物をモンキーチェアに保定して記録される。しかし、この方法では拘束に伴う心拍数上昇が避け難く、記録時間が短いために不整脈の見落としが懸念される。今回、ホルター心電計を用いることによりこれらの問題点を解決できるものと考え、心拍数および QTc を指標にその有用性を保定式検査と比較検討した。カニクイザル 4 匹に、QT 延長作用を有する dl-Sotalol, Moxifloxacin を単回経口投与し、保定式検査では投与前、投与後 1, 2, 4, 24 時間に、ホルター検査では投与後 24 時間の連続記録を行った。得られた心電図から、投与後の心拍数および QTc (Bazzet) を算出した。また、ホルター検査については、致死性の不整脈である Torsades de pointes が発生する前に増大すると考えられている short time variability (STV) 及び long time variability (LTV) を連続する 30 心拍の QT 間隔から算出した。

保定式検査における心拍数が 180~240/分に対し、ホルター検査では心電計装着後約 2 時間で心拍数は 110~130/分に低下し、夜間にはさらに 90~100/分となった。保定式とホルター検査のいずれにおいても、両薬剤で投与による用量依存性の QTc の延長が認められた。心拍数の低下作用を有する dl-Sotalol 投与による延長は両検査とも最大 20% であり、記録法の違いによる差はほとんど認められなかった。一方、Moxifloxacin 投与による延長は、保定式検査で最大 8% にとどまったのに対し、ホルター検査では 15% であった。また、STV 及び LTV は、Moxifloxacin に比べ dl-Sotalol 投与により、より顕著に増大することが確認された。なお、Moxifloxacin による QTc 間隔延長、ならびに STV および LTV 増大は、保定式の検査を実施しなかった投与後約 12~16 時間 (夜間) にそれらのピークが認められた。ホルター心電計により、より安静時に近い状態で心電図を連続的に記録することができた。このことにより、薬物投与による QT 延長をより高感度に検出できることが確認され、保定式検査では困難な夜間の心電図の異常を検出することが可能であった。これらの結果から、安全性試験における心電図の評価には、ホルター検査が極めて有用であると結論した。

*Tlk*あるいは*qc*遺伝子を有するラット胎児の形態学的な特徴

○ 勝亦芳裕¹、小川順子¹、浅野裕三¹、庫本高志²、芹川忠夫²

(¹株ボゾリサーチセンター、²京大院・医・附属動物実験施設)

Tlk (Tail anomaly Lethal Kyoto) をヘテロで、あるいは*qc* (queue courte) 遺伝子をホモで有するラットは主に尾の異常を示す。今回、これら遺伝子を導入したラットである IS-*Tlk* (IS/T)と F344/NSlc-*qc*/+ (F/*qc*+)の雌雄ラット 12 組を交配し、妊娠 20 日に摘出された胎児の形態学的な特徴を、親ラットである IS/Kyo (IS)と F344/NSlc (F) の胎児のそれと比較した。妊娠個体については妊娠期間中、一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。胎児については外表観察後、ブアン固定による胎児標本及びアリザリン・レッド S 及びアルシアンブルーによる二重染色透明骨格標本について内臓及び骨格観察を行った。その結果、妊娠期間中、いずれの動物にも一般状態に異常はなかったが、それぞれの親ラットとの比較において体重は IS/T 群では低値、F/*qc*+群では高値で推移し、摂餌量は IS/T 及び F/*qc*+両群ともに低値で推移した。交配成績では、全例が交尾し、妊娠率は F 及び F/*qc*+両群とも 91.7%であったが、IS/T 群の妊娠率 (58.3%)は IS 群 (100%)の約 6 割で、その差は有意であった。排卵及び着床に関し IS/T 群では IS 群よりも低く、妊娠黄体数でその差は有意となった。F 群と F/*qc*+群間では妊娠黄体数、着床数及び着床率に関し差はなかった。胎生期発育に関し IS/T 群では IS 群に比べ、いずれのパラメータも低値を示し、その差は生存児数及び体重において有意であった。F 群と F/*qc*+群ではいずれのパラメータにも差はなかった。外表、内臓及び骨格の形態に関し IS/T 群及び F/*qc*+群で短尾及び屈曲尾を有する胎児の発現率が親ラット胎児よりも高かった。心室中隔欠損及び腰椎体癒合・過剰肋骨は IS 群で多発したが、その他の群では増加しなかった。

以上のように、IS 群で心室中隔欠損及び骨格異常を有する胎児数が増加したことは、興味深い所見であった。

日本白色種ウサギの胎児にみられた雄起因の生殖器奇形

○ 山本大¹，谷栄之介¹，佐藤順子²，小松原芳樹¹，佐々木淳¹，

宮崎智成¹，星野信人¹，松浦郁夫¹，飯田晶敏³

(¹株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所，²静岡分室，³大阪分室)

日本白色種ウサギ (KBL:JW) を用いた胚・胎児発生に関する複数の試験において，対照群を含む胎児に停留精巣や卵巣低形成などの生殖器の異常が観察された．当研究所では，妊娠雌の作出にあたり複数の種雄の混合精液を用いた人工授精を行っている．異常胎児を有する母体の人口受精には共通して特定の種雄の精液を含む混合精液が使われていたことから，上記の生殖器の異常はその種雄に起因したものである可能性が示唆された．

本実験では，上記試験に使用したそれぞれの種雄 (11 例) の単独精液を用いて同系統の無処置雌 (各 3～7 例) に人工授精を行い，得られた胎児の生殖器について肉眼及び病理組織学的検査から，生殖器の奇形発現と種雄との関連について検討した．また，性決定の指標となる遺伝子領域 (SRY : sex-determining region Y) の有無を各胎児肝臓由来のゲノムを用いて PCR 法にて検索した．

その結果，特定の種雄 1 例と人工授精した雌 6 例中 5 例の胎児でのみ，以下の生殖器の異常が認められた．肉眼的には停留精巣が 2 腹 2 例に，精巣低形成が 1 腹 2 例に，卵巣低形成が 2 腹 2 例で観察された．また，組織学的には精巣，精巣上部，卵巣あるいは子宮の低形成が確認された．なお，PCR の結果，生殖器の異常を示した例も含め，いずれの胎児も遺伝的性と表現型としての性は一致した．

胚・胎児発生に関する複数の試験で認められた胎児の生殖器の異常は，1 匹の種雄に起因することが明らかとなった．ただし，その奇形発現は遺伝的性の支配障害によるものではないことが示唆された．種雄起因の奇形は極めて稀であり，今後はその発現機序についてさらに詳細な検討を行う予定である．

老齡カニクイザルの神経原線維変化と老人斑

○中村紳一朗¹、木村展之³、西村正樹²、鳥居隆三¹、寺尾恵治³

滋賀医科大学¹動物生命科学研究センター、²分子神経科学研究センター

³独立行政法人医薬基盤研霊長類医科学研究センター

神経原線維変化 (NFT) は生化学的にリン酸化タウタンパク (τ) から構成される嗜銀性病変で、アルツハイマー病 (AD) だけでなく、他の神経変性疾患でも出現する。クマやヒツジなどでは神経細胞やグリア細胞に τ の陽性像が認められるが、この変化には明らかな嗜銀性が見られない。さらに AD に関連する別の病変、老人斑 (SP) に巻き込まれる τ の陽性像も認められない。我々は 6 例の老齡カニクイザル (22, 23, 24, 29, 36 歳および年齢不明) 脳を用いて、NFT を検出するためにガリアス (嗜銀) 染色、 τ に対する PHF- τ (AT-8) および τ -2 に対する免疫染色を行った。SP を検出するために amyloid β protein ($A\beta$) に対する BC05 (for $A\beta$ 42) および BA27 (for $A\beta$ 40) に対する免疫染色を行った。NFT はガリアス染色、AT-8 と τ -2 の免疫染色で、36 歳および年齢不明 2 例の、前頭および側頭葉の新皮質に検出された。これら染色のうち、AT-8 が最も多くの NFT を検出した。他の 4 例に NFT は見られなかった。SP は BC05 と BA27 で、5 例のサル (22, 24, 29, 36 歳および不明) の、前頭および側頭葉新皮質に検出され、特に 36 歳および年齢不明の同部位は高密度であった。これら 2 例の SP 高密度なエリアでは一部の SP 内の神経突起は AT8- と τ -2 陽性だった。NFT ならび τ 陽性の SP 内神経突起が見られた領域は老人斑が密発する領域と一致していた。さらに τ 陽性像はガリアス染色で、明確な嗜銀性を示す NFT であることが確認できた。カニクイザルの NFT はヒトのそれと一致した性質を持っていた。また $A\beta$ の強い沈着の延長線上に形成されるという、形成過程においても AD の病態を反映していることが推察された。

体外受精を用いたマウス計画生産への取り組み

○大竹 聰、矢野 英樹、人見 修司、近藤 麻衣、藤川 卓也

(株)オリエンタルバイオサービス 南山城研究所)

【目的】

2006 年に改正動物愛護法が施行され、「使用動物数の削減」等の配慮規定が設けられたことから、マウスの飼育や実験に携わる者の責任は大きくなりつつある。一方、遺伝子組換えマウスを用いた動物実験のニーズは高まっており、少数のマウスから多数の実験用マウスを準備するため、長い繁殖期間と労力が必要となっている。しかしながら、実験の性質上、日齢の揃った多数の産仔を求められる場合には、自然交配で対応することは困難である。弊社では、これまで培ってきた体外受精技術を応用し、少数のマウスから同一日齢のマウスを計画生産することを試み、良好な結果が得られたので、その詳細について報告する。

【材料および方法】

マウス体外受精は常法に従い、C57BL6/J 雌マウスに PMSG および hCG を投与して過剰排卵誘起処置を施し、遺伝子組換えマウスである成熟雄 1 匹を用いて体外受精を実施した。なお、体外受精に使用する雌数は予定作出マウス数に応じて必要最低限の匹数としている。体外受精の翌日に 2 細胞期胚への発生を確認した受精卵を回収し、予め準備しておいた仮腹へ移植した。これらの仮腹はビニール・アイソレーター内で、産仔を出産、哺育させた。

【結果および考察】

C57BL6/J 系統をバックグラウンドとする各区の体外受精結果から、体外受精率 72.4-83.7%、胚移植後の産仔発生率 27.3-34.5%と、安定した成績が得られた。また、予定作出数である 400 匹に対して 419 匹(実験区①)、500 匹に対して 518 匹(実験区②)、60 匹に対して 71 匹(実験区③)をそれぞれ作出した。

上記の結果から、自然交配では困難であった同一日齢のマウスを計画的かつ短期間に作出することが可能となった。今後は、体外受精法を用いた効率的なマウス作出技術を駆使して、必要匹数を迅速に対応できる体制作りを進めていければと考えている。

胚移植由来ネフローゼマウス (ICGN マウス) 産仔の病態解析

○内尾こずえ¹、澤田京子¹、國枝孝典¹、眞鍋昇²

(¹医薬基盤研・生物資源部、²東大院・農学生命科学)

近年、発生工学的手法が発展し、マウスは凍結胚保存、凍結胚の融解・移植を経て生体を安定的に得る技術が確立されている。しかしながら体外受精、胚培養および胚移植が産仔の phenotype に影響を及ぼすことが示唆されている。本研究ではネフローゼモデルマウス (ICGN マウス) を用いて、体外受精および胚移植が腎疾患に及ぼす影響を精査した。

体外受精により作製した ICGN マウス 2 細胞期胚をガラス化法 (EFS 法) にて凍結保存した。融解した胚を偽妊娠雌性 ICR マウスおよび ICGN マウス卵管に移植を行い、産仔を得た。ICR マウスから生まれた産仔を RG 群、ICGN マウスから生まれた産仔を GG 群、自然交配から得られた産仔を G 群とした。産仔は 12 週齢にて供試し、血清生化学解析 (アルブミン、BUN、クレアチニン、トリグリセライド、総コレステロール値)、病理組織化学解析、Real Time PCR 法による遺伝子発現解析を行った。

血清生化学解析の結果、GG 群および G 群に比べ RG 群は BUN・クレアチニンが高く、トリグリセライド値が低いことが分かった。また病理組織化学解析の結果より RG 群は糸球体および間質線維化が顕著であった。さらに Real Time PCR 法により G 群に比べ、RG 群および GG 群の I 型コラーゲン、TGF- β 、TNF- α mRNA 産生が亢進していた。これらの結果から、胚操作および母胎環境が産仔の腎病変進行に大きな影響を与えることが示唆された。

メンスの観察からよむカニクイザル雌性周期の回転状況
および生殖器の形態的特徴

佐藤 順子, 大竹 誠司, 佐々木 豊, 飯田 晶敏, 土谷 稔
三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

カニクイザルはサル類を代表する実験動物として広く用いられている。他の実験動物と違い、サル類の雌の性周期は人と類似しており、サル類を用いることは毒性試験における生殖器毒性を人に外挿する場合には非常に重要となる。サル類の性周期を把握するには、観察期間中におけるメンスの有無の観察が重要な手がかりとなる。今回我々は、年齢および観察期間別によるメンスの発現状況を集計し、その結果と生殖器の組織形態学的な特徴との相関を検討したので報告する。

2才8ヶ月までの動物でメンスが観察された動物は1例もいなかった。組織学的には生殖器は未成熟の像を示した。2才9ヶ月から3才までの動物では規則正しくメンスが観察された動物もいたが、少数例であり、おおくはメンスが1回は観察されたものの、それからの観察がない状態であった。このような動物の生殖器は組織学的には、卵胞期初期の像であり、卵巣には黄体も認められないものが多かった。3才以上の動物ではおおむね定期的にメンスが観察されたが、時折その間隔が大きくひらき不定期になる個体もいた。定期的にメンスが観察される動物の卵巣では複数の旧世代黄体が観察された。子宮筋層の厚さも増していた。また最終メンスからの日数と性周期別の形態像もおおむね一致し、このような動物はメンスからの日数で性周期を推測することができた。不規則なメンスの発現しかない動物では卵巣での旧世代黄体の数もわずかで、子宮の大きさも小さめであった。3才以上の動物にもメンスの見られない動物はいるが、卵巣を観察してみると古い黄体が存在していることもあった。

メンスの観察は性周期の把握に有効であるが、あくまでも人の目で観察するものであるので、出血の量や動物の行動などにより見落とされる場合もないとは限らない。組織学的に裏づけをとることでより確実に判断できるものと考えられる。

カニクイザル連続微量投与による卵巣刺激法の検討

○岩谷千鶴、山崎樹里、岡原純子、土屋英明、鳥居隆三
(滋賀医科大学・動物生命科学研究センター)

【目的】我々は、カニクイザル計画的室内繁殖を実施するため発生工学的手法を導入しており、その手法として、効率的に受精胚が得られる顕微授精を行っている。従来、性腺刺激ホルモンの9日間連日筋肉内投与によって必要となる成熟未受精卵子(MII 卵子)を採取していたが、対象動物に与えるストレスの軽減を考慮し、第96回本研究会において、ジャケット式プログラマブルインフュージョンポンプ(PIP)を用いた微量連続投与の検討を発表した。今回、ジャケット着用とトレーニングを必要とせず、動物への負担をより少なくすることを目的に、小型の埋込み式マイクロインフュージョンポンプ(iPRECIO™)を用いた微量連続投与により、卵胞発育を促し MII 卵子の採取が可能か否かの検討を行った。

【方法】成熟メスカニクイザルに GnRH (0.9mg/head) を皮下投与し、約2週間後、麻酔下で腹腔鏡により卵巣の休止状態を確認した。その後、あらかじめ9日間微量連続投与ができるようにプログラムした 44×22×10mm サイズの iPRECIO™ をカニクイザル背部皮下に埋設した。性腺刺激ホルモンは、ゴナピュール(25IU/kg)を使用した。また比較の為、従来法として同薬物を9日間連日筋肉内投与した。その後、各々10日目に hCG(400IU/kg) を筋肉内投与し40時間後に発育卵胞より採卵を行い、採取した卵子を顕微鏡下で成熟ステージごとに分類し、MII 卵子への成熟率を比較した。

【結果および考察】iPRECIO™を使用したカニクイザル36頭から採取した各ステージの平均卵子数は、MII 卵子:13、MI 卵子:7、GV 卵子:8、DG 卵子:4であり、MII 卵子の平均成熟率は41% (13/32)であった。一方、比較の為に行った従来のゴナピュール筋肉内投与個体の6頭では、同じく MII 卵子の平均成熟率は42% (13/30)であり、両者に差は認められなかった。以上の結果から、iPRECIO™による投与法は、従来法のような対象動物へ与える毎日の保定、注射針刺入による痛みやストレスも軽減され、さらに、ジャケット式 PIP より小型でジャケット着用が不要のため、動物福祉の観点からも有用であると考えられる。今後さらに、安定した iPRECIO™による卵巣刺激法の確立のため、性腺刺激ホルモンの投与量および投与期間についてより詳細に検討を行う予定である。

クライオトップを用いたカニクイザル顕微授精胚の凍結保存 および凍結胚由来産子の獲得

○山崎樹里、岡原純子、岩谷千鶴、土屋英明、鳥居隆三
(滋賀医科大学 動物生命科学研究センター)

【目的】 当センターでは微生物学的及び遺伝学的統御を行ったカニクイザルを計画的に室内で人工繁殖することを目的とし、卵巣刺激による採卵と顕微授精-胚移植(ICSI-ET)法を実施している。しかし胚移植適期のレシピエント個体が常に見いだせるとは限らず、レシピエント個体が見つかるまで受精胚を凍結保存する技術が不可欠である。現在までにストローや凍結チップを用いた緩慢凍結法やガラス化法を試みたが、いずれも融解後の生存率が悪く、移植後着床には至らなかった。今回、クライオトップを用いたカニクイザル ICSI 胚の凍結保存法を検討し胚移植を試みた結果、妊娠、出産に成功したので報告する。

【方法】 卵巣刺激により採取した第二減数分裂中期(MII)の卵子を用いて ICSI を行った。その後、4~8 細胞期(初期胚)あるいは胚盤胞期まで培養し、クライオトップを用いて胚の凍結を行った。融解後、形態的な観察により胚の生存確認を行い、生存胚を排卵 0~7 日目のレシピエント個体の卵管内に移植した。移植から約 30 日後に妊娠診断を行った。

【結果】 凍結・融解後の生存率は初期胚で 21/23 (91.3%)、胚盤胞期胚では 17/23 (73.9%)であった。また融解後の移植結果では、胚盤胞期胚の移植では妊娠は確認できなかった(0/17;0%)が、初期胚の移植で 3 頭(3/17; 17.6%)に妊娠が確認された。なお妊娠個体中 2 頭においては出産が確認され、他 1 頭は妊娠後期に前置胎盤による流産が確認された。

【考察】 今回クライオトップを用いた ICSI 胚の凍結により、初期胚および胚盤胞期胚いずれにおいても融解後に高い生存率を確認した。またカニクイザルの ICSI による凍結胚移植においては世界で初めて産子を得るに至った。今後、初期胚ではレシピエント個体の厳選等より効率の良い凍結胚由来個体の産出を、また胚盤胞期胚では妊娠効率の向上を目指し、さらに凍結胚からの ES 細胞樹立についても検討を行う予定である。

NBRP-Rat の「過去」「現在」「未来」

○芹川忠夫、真下知士、Voigt Birger、滝澤明子、岡島涼子、前泊直樹、中西聡、山崎賢一、庫本高志（京大院・医・附属動物実験施設）

ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat) は、世界最高水準のラットリソース拠点を整備することを目標として、2002年7月に始まった。京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設を中核機関として、これまでサブ機関の北海道大学創成科学共同研究機構、徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部、東京医科大学動物実験センター、実験動物中央研究所、理化学研究所バイオリソースセンター、島根大学医学部、動物繁殖研究所、日精バイリス株式会社、自治医科大学分子病態治療研究センター、自然科学研究機構生理学研究所、麻布大学獣医学部とともに、ラットリソースの体系的な収集・保存・提供事業を行ってきた。ラットリソースの利用価値を高めるために、体重、行動、血液、尿、解剖など109項目の特性検査と、357遺伝マーカーを用いたゲノム検査からなる「ラットフェノームプロジェクト」を実施し、ラット胚・精子の超低温保存技術の標準化を目的としてDVDプロトコール作製を行った。

2007年4月からは第2期NBRP-Ratとして、中核的拠点整備事業に加え、ゲノム情報等整備(H20)および基盤技術整備事業(H19-H20)を実施している。また、ラット研究者の情報交換の場としてラットリソースリサーチ研究会を開催している。これまでに、近交系、ミュータント、トランスジェニックなど530系統を超えるラット系統を収集し、ENUミュータントアーカイブも保存した。リソースの提供依頼は年々増加傾向にあり、国内外119機関、計597件を超えた。

2008年は日本でも鼠年にあたり、NBRP-Ratに関連する3編の論文がNature Genetics 5月号‘Year of the rat’に掲載された。これに合わせて刷新したホームページでは、ラット系統樹、リコンビナント近交系、BACクローン、機能多型情報なども閲覧することができる。今後もラットリソースセンターの設立を目指し、我が国独自のラットリソース研究を支援していく。

医薬基盤研究所 実験動物研究資源バンクの活動紹介

○松田潤一郎、小浦美奈子、野口洋子、中村和臣、鈴木治

((独) 医薬基盤研究所・実験動物開発研究室)

独立行政法人医薬基盤研究所（基盤研）は、厚生労働省傘下では初めての研究開発に特化した研究機関として、創薬支援を掲げ、2005年春、大阪府茨木市彩都に創設され、現在4年目を迎えている。私たちは、基盤研の生物資源部門のうち、実験小動物を担当しており、新たな疾患モデル動物の開発を行うとともに、有用な実験動物の収集、保存、系統維持、供給を行うことを目的としている。動物種としては、マウスが中心であるが、スナネズミ、マストミス、ハムスター等のユニークな齧歯類も系統維持している（マウス以外については別途紹介する）。私たちは、2006年11月に実験動物研究資源バンクを正式に立ち上げ、①マウス系統の有償分譲、②凍結胚・凍結精子の保護預かりサービス、③保護預かりのためのサポートサービス（凍結胚からの生体作出など）、④有用マウス資源の収集・保存、⑤情報発信を開始した。当バンクでは、国立予防衛生研究所時代から引き継がれてきた自然発症の貴重な疾患モデルである、EL てんかんマウスやICGN ネフローゼマウスなどを始め、遺伝子改変モデルとして、ライソゾーム病など多くの難病や、心疾患、生活習慣病、免疫疾患のモデルなど、有用なモデルマウスを保存、供給している。今回、これらの貴重なモデルマウスの利用を推進し、疾患研究、創薬研究への貢献を目指す当バンクの活動紹介を行いたい。

URL: <http://animal.nibio.go.jp/>

医薬基盤研究所で系統維持している各種齧歯類（スナネズミ、マストミス、シリアンハムスター）の特性

○ 小浦美奈子¹、金井孝夫²、中村和臣¹、野口洋子¹、鈴木 治¹、松田潤一郎¹

(¹ (独) 医薬基盤研究所 実験動物開発研究室、² 東京女子医科大学 実験動物中央施設)

独立行政法人医薬基盤研究所（基盤研）実験動物開発研究室では、疾患・創薬研究に有用な疾患モデル動物などの実験小動物の開発や、系統維持、保存、供給などを行っている。マウス以外の齧歯類についても、それぞれの特徴を生かしてさまざまな疾患研究に用いられていることから、貴重な研究資源と考え、次の3種9系統について系統維持と特性解析を行っている。

①スナネズミ (*Mongolian gerbil, Meriones unguiculatus*) : 脳梗塞、てんかん、寄生虫や細菌感染などの研究に用いられており、当研究室では、毛色変異 (MGB、黒色 ; MGW、白色)、てんかん抵抗性 (MGR) を示す3系統を維持している。

②マストミス (*Mastomys, Praomys coucha*) : ラッサ熱の病原体 (ラッサウイルス) の自然宿主である。実験動物としてのマストミスは、感染症、腫瘍、脂質代謝異常、毒性学などの研究に用いられており、多様な遺伝的変異が見られ、遺伝資源として貴重と考えられ、5系統を維持している。肝臓や腎臓に病変を示す個体が多く認められている。

③シリアンハムスター (*Syrian (golden) hamster, Mesocricetus auratus*) : 妊娠期間が約 15 日と短いなどの繁殖学的特性を示し、毒性試験、発がん試験などにも用いられている。当研究室では、白色系統 HAW を維持している。また、卵巣凍結保存法の開発を行い成功した。

以上、基盤研で維持している各種齧歯類について紹介したい。

URL: <http://animal.nibio.go.jp/>

*Phodopus*属ハムスターの実験動物化 –モデル動物候補としての突然変異収集–

○和田あづみ¹、大川 清¹、都築政起²

(¹ 東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、² 広島大学・大学院生物圏科学)

*Phodopus*属ハムスターとはユーラシア大陸北東部周辺に原産する掌・蹠が毛で覆われた小型齧歯目である。このハムスターは、1968年に国立遺伝学研究所へ導入されたと報告されているが、近交系確立や疾患モデル開発などの報告はなく、稀に動物実験に用いられる場合でも「狭義の実験動物」であるとは定義上みなしがたいままに使用されてきた。しかし、この*Phodopus*属ハムスターは1990年代に愛玩動物として流行し、日本に大量導入された。新たに導入された遺伝子プールは、既に人工的環境に馴化して良好な繁殖を行う個体群として選抜を経ており、その上、疾患モデルに流用可能な被毛色突然変異遺伝子キャリアが多く含まれていた。この新たな日本導入個体群*Phodopus*属ハムスターは、さらなる疾患モデル候補となりうる新規突然変異体の発見も期待できる優れた育種素材であると考えられ、我々はこの愛玩用*Phodopus*属ハムスターに対し「狭義の実験動物」としての基盤を整備している。

今発表においては、1994年以来、我々が収集した*Phodopus*属ハムスターの被毛色突然変異について紹介する。

1994年6月に、我々の研究室に最初に導入した*P. campbelli*は、赤眼と白地に橙色斑が入る被毛をもつ変異体であった。我々は、この導入雌雄を起源に2001年12月に近交系PMIを確立した。PMI系統を確立する過程で、導入個体のもっていた被毛色は、ホモ個体が致死でヘテロ個体が白斑被毛を示す不完全優性遺伝子と、赤眼と橙色被毛の表現型を示す劣性遺伝子の相互作用によって生じる事が判明した。

その後、市販*P. campbelli*から1995年に赤眼白色被毛、1998年に黒眼黒褐色被毛、2002年に黒眼淡色被毛ならびに有艶被毛、2003年には黒眼灰色被毛、2006年には黒眼黄色被毛を示す変異体を導入した。なお、2000年には育成中のPMI系統から長毛突然変異が分離した。また、*P. sungorus*からは、1999年に黒眼黄色被毛、2002年に黒眼白色被毛、黒眼淡色被毛、そして別の黒眼と茶色を帯びた淡色被毛を示す変異体を導入している。これらは、現在、PMI系統をレシピエントに用いたコンジェニック系統あるいは新規近交系として、遺伝子の保存を行いつつ、分子遺伝学的解析を遂行中である。

カテゴリーB：会員の自由発表

カテゴリーB：会員の自由発表

37. 「養鼠玉(ようそたま)のかけはし」にみる日本人とネズミ
○庫本高志（京都大・医・動物実験施設）
38. WHHL, WHHLMIウサギ開発の歴史
○塩見雅志、山田悟士、小林 努、平山信恵、伊藤 隆
（神戸大学 医学部 附属動物実験施設）
39. 実験動物学と「動物実験学」
○西川 哲（独立行政法人放射線医学総合研究所基盤技術センター
研究基盤技術部実験動物開発・管理課）

ようそたま
「養鼠玉のかけはし」にみる日本人とネズミ

○庫本高志（京都大・医・動物実験施設）

「養鼠玉のかけはし」は、安永4年（1775年）に大阪で発行されたネズミ飼育書の第一号である。

明和年間（1764～71）に愛玩用ネズミの飼育が上方から流行し始め、当時すでに、斑（まだら）、熊斑、鹿斑などの coat pattern 変異、玉子色、薄紫色、藤色などの coat color 変異が見つかった。

作者は不明であるが、ネズミの愛好家で、珍しいネズミを多数飼育していた。同じ趣味をもつ仲間達とサークルを作り、情報交換していたようで、自分のもつノウハウを仲間達と共有するためにこの本を出版した。子供でもわかるようにと、挿絵を効果的に用い、そこには狂歌が添えられている。愛玩ネズミの紹介、ネズミの飼育法、繁殖法から鳥家（ケージ）の作製法まで詳しく述べられている。作者は、飼い方を覚え上達すれば、自ら珍しいネズミを手に入れることができると読者を励まし、この本をそのような宝（玉）を手に入れるための“かけはし”として書いた。

思うに、われわれ日本人には、珍しいネズミを作り出すという熱意、そして、ネズミに対する暖かいまなざしが、江戸時代から脈々と受け継がれているようである。



嫁入りもいづれ鼠はくちもとに
ひげをはやしてめでたかりけり

- 翻刻に際しては、大阪学院大学准教授野口隆氏に多くのご協力をいただきました。
- 「養鼠玉のかけはし」（上下巻）は国立国会図書館の電子展示会「描かれた動物・植物江戸時代の博物誌」にて、電子資料として展示されています（<http://www.ndl.go.jp/nature/thum/004.html>）。

WHHL, WHHLMI ウサギ開発の歴史

○塩見 雅志, 山田 悟士, 小林 努, 平山 信恵, 伊藤 隆
(神戸大学 医学部 附属動物実験施設)

【ミュータントウサギの発見】 1973年, 給餌方法がウサギの血清生化学値に及ぼす影響を検討する実験で, 神戸大学の渡辺嘉雄助教授は高脂血症を示す1匹のオス日本白色種ウサギを発見した. このウサギが WHHL ウサギの起源である.

【WHHL ウサギの開発】 当時, 日本では高脂血症の重要性は認識されていなかった. 渡辺は, このミュータントウサギの高脂血症が劣性遺伝することを確認し, HLR (**H**yper**l**ipidemic **R**abbit) と命名し, 複数のラインを設定して系統開発を開始した. 1979年に系統として確立し, WHL (**W**atanabe **h**yper**l**ipidemic) ウサギと改名された. しかし, 国際誌である *Atherosclerosis* に投稿したところ, 編集者から **Watanabe heritable hyperlipidemic** とするべきであるとの指摘を受け, WHHL ウサギとなった. 当時の WHHL ウサギは, 血清コレステロール値, 中性脂肪値ともに300-600 mg/dl で, 大動脈に動脈硬化が発症し, 指関節に黄色腫が発症した. 動脈硬化を専門とする国際誌に掲載されたことを契機として, 国内外から分与の依頼が相次ぎ, 脂質代謝や動脈硬化に関する研究, 脂質低下剤等の開発に広く用いられた. Goldstein と Brown は WHHL ウサギを用いた研究でヒトのリポタンパク代謝経路を解明し, 1985年にノーベル賞を受賞した. また, 全世界で3000万人以上が服用しているスタチン(脂質低下剤)の開発(ノーベル賞候補)にも WHHL ウサギは大きく貢献した.

【WHHLMI ウサギの開発】WHHL ウサギは冠動脈の動脈硬化病変の発生が比較的軽度で, 心筋梗塞を発症しなかった. そこで, 1980年から冠動脈に動脈硬化が発症するラインを開発するために選抜交配を実施し, 1985年に冠動脈疾患が好発する WHHL ウサギ(仮称 WHHLCA)を確立した. しかし, WHHLCA においても心筋梗塞の発症率は低率であった. 1993年, 選抜交配の指標に動脈硬化病変へのマクロファージの浸潤を加えて系統開発を継続し, 1999年に心筋梗塞を自然発症する WHHLMI (**m**ycocardial **i**nfarction-prone **W**HHL) ウサギを開発した. WHHLMI ウサギの血清コレステロール値は700-1200 mg/dl に上昇し, ヒトの冠動脈病変に類似した重度の冠動脈病変が認められる. さらに, 一部の WHHLMI ウサギは内蔵脂肪の蓄積とインスリン抵抗性を示し, メタボリックシンドロームに類似した所見を示す.

【今後の発展性】現在ヒトの心血管疾患で最も注目されているのが急性冠症候群である. したがって, 冠動脈病変が破裂して閉塞性血栓を生ずる WHHLMI ウサギを開発することが次の目標である. 急性冠症候群のモデル動物を開発することによって, 世界の死因の第一位である心血管疾患の克服に貢献できると期待している.

実験動物学と「動物実験学」

西川 哲

独立行政法人 放射線医学総合研究所 基盤技術センター
研究基盤技術部 実験動物開発・管理課

今回の第100回記念大会では演題として会員の研究発表、維持会員のパネル展示の他に会員の自由発表—会員の自由な発想による発表。分野は問いません、とあります。そこで演者は標記について発表させていただきます。

演者が知る限りわが国で“実験動物学”と云う表題で成書として初めて刊行されたのは田嶋嘉雄編「実験動物学」、総論、各論、技術編の3部作：朝倉書店（1970年）であると思われる。それ以前には、奥木実著「実験動物」南山堂（1968年）、安藤洪次・田嶋嘉雄編の「動物実験法」（1956年）、小山良修著「動物実験手技」協同医書（1955年）等とさかのぼっても実験動物学とした成書は見あたらない。勿論、「動物実験学」とした書については改めて述べるまでもない。

実験動物学について猪貴義著「実験動物」養賢堂（1972年）は30年以上も前に畜産学の体系を基に分類学、育種学、繁殖学、栄養学、衛生学、管理学の6分野からの構成を提唱しており、実際にこの分類を基に実験動物学は進展して来たように考えられる。

ここで考える「動物実験学」は動物実験法をその1分野に含み、さらに法律学、政治学、歴史学、倫理学、宗教学等の分野をも包括する幅広いものであり「一般社会」との広範な接点を持つことを志向している。

発表時には「実験動物学」を構成する分野を挙げ、それぞれの分野と実験動物・動物実験の関わりを述べ会員諸兄姉のご意見、ご批判等を仰ぎたいと思います。

カテゴリーC：維持会員のパネル展示

カテゴリーC：維持会員のパネル展示

40. 人にやさしく 菌にきびしく スーパー次亜水
○熊藤健太（清水実験材料株式会社）
41. 実験動物用器材のガンマ線滅菌について
○長嶋和浩（日本照射サービス(株)）
42. 株式会社 ビオスタ会社概要
○高橋尚士（(株)ビオスタ）
43. 癌研究のためのマウスおよびラットモデルの有用性
○橋本貴生、多賀谷奈美、畑 和也、若林利明
（株式会社サンプラネット支援サービス本部BMR部）
44. 組換えBACテクノロジーを利用した『セミ・ノックアウトラット』
の開発
○塩田 明、上田正次
（株式会社フェニックスバイオ 宇都宮事業所）
45. カニクイザルを用いた骨代謝試験の紹介 ―OVXモデルと骨折
モデルを中心として―
○関あずさ、高島俊行
（ハムリー株式会社 国際事業部）
46. クラウン系ミニブタの特徴
○金剛仙太郎¹、岩永健裕¹、土井 淳¹、新村由佳里²、鳥取潤一¹
（¹ジャパンファーム クラウン研究所、²ジャパンファーム 品質
保証部）

人にやさしく 菌にきびしく スーパー次亜水

○熊藤健太（清水実験材料株式会社）

動物実験をする上で、実験動物の微生物感染を防止することは非常に重要である。実験動物の微生物感染を防止するには飼育室・実験室等の清掃・消毒及び実験器具の消毒・除菌が肝心である。

スーパー次亜水は 1)強力な除菌効果、2)低コスト、3)安全性の高さ、4)環境への優しさ、5)消臭効果という 5つの大きな特徴を持つ次世代の除菌水である。

スーパー次亜水とは次亜塩素酸ナトリウムの pH を弱酸性に調整したもので、これにより、次亜塩素酸ナトリウムの約 80 倍という強力な除菌効果を得ることに成功した。それに伴い薬品を低濃度で使うことが出来るようになったので、ランニングコストの低減を可能にした。さらにスーパー次亜水は高い分解性と低い残留性を兼ね備えている為、人体と環境のどちらに対する安全性も高い。これらの特徴を生かし、専用の噴霧器にてミクロの霧を空間中に噴霧することにより、空間消臭・空間除菌も可能である。実例としてはサル飼育施設等の消臭に抜群の効果を発揮しており、施設の汚物臭・動物臭の問題という面からもより良い実験環境作りの一助となることが出来た。

我々は、先生方にスーパー次亜水をご使用頂き、強力・安全・簡便な消毒・除菌・消臭を実現しつつ実験動物の感染事故を防止すること、またコスト削減という面からお役に立つことを目標としている。先生方の実験を陰ながらサポートさせて頂けることを願っております。

実験動物用器材のガンマ線滅菌について

○ 長嶋 和浩 （日本照射サービス(株)）

実験動物用飼料の放射線（ガンマ線・電子線）滅菌は、1960年代から長年研究・評価され、その安全性と有用性が証明されている。現在使用されている実験動物用飼料の主な滅菌線量は、SPF 動物用で30kGy、無菌動物用で50kGyである。その他、目的に応じて、6kGy、10kGy、15kGyなどの照射飼料もある。

多くの実験動物用器材にも、この放射線滅菌が適用されている。従来多用されてきたエチレンオキシドガス滅菌は、その発ガン性や急性・慢性毒性、作業員への暴露規制（安全確保）、環境への排出規制、および残留ガスや副生成物であるエチレンクロルヒドリンの毒性などの問題点が指摘され、さらに残留ガスによるアレルギーの発症などもあり、昨今、滅菌法の切り替え相談・検討が増えている。また、実験施設に設置されているオートクレーブ（高圧蒸気）滅菌器が使用されるケースも多いが、滅菌対象物に耐熱・耐水性が要求され、滅菌後の乾燥工程や滅菌時の臭気発生なども含め、ハンドリングの手軽さから放射線滅菌に切り替えるお客様も多い。

本ポスター発表では、弊社で実施している実験動物用飼料や器材の放射線滅菌について、その概要、照射実績および滅菌線量の設定方法について解説する。

株式会社 ビオスタ会社概要

高橋尚士((株)ビオスタ)

株式会社ビオスタは、神戸ポートアイランドの医療産業都市内に研究拠点を置き、アレルギー分野を中心としたお客様の研究・開発をお手伝いしております。

当社の主な事業内容は次のようです。

- 1) 動物実験用のアトピー性皮膚炎モデルマウス誘発試薬の製造および販売
- 2) ダニアレルゲンをはじめとした各種アレルゲンの製造および販売
- 3) アレルギー関連の分析および動物実験の代行業務
- 4) バイオ関連商品、日用雑貨品、農園芸用商品の企画開発・研究コンサルティング

当社は、近年、コナヒョウヒダニを原料とするアトピー性皮膚炎誘発試薬を開発し、多くの動物実験等にて比較検討を重ねその方法論を確立しました。そして、製品名を「ビオスタAD」として、販売を開始したところ、ご利用頂いた研究者から、アトピー性皮膚炎モデルマウスが作製し易いとの評価を頂いております。

その後、ダニアレルゲンを自社の実験室内に持ち込むことに抵抗がある研究機関や、動物実験施設をお持ちでない食品や化粧品メーカーの研究者向けに、当社はそのモデルマウスの作製サービスおよびそれらを実験系とする薬効薬理実験の受託を始めました。

その実験施設は、同じく神戸医療産業都市内に在る株式会社オリエンタルバイオサービス 神戸BMラボラトリーのレンタルラボを利用しています。同施設は、「個別換気ケージシステム」を導入しており、この飼育方式は一般のオープンケージと異なり、個々の閉鎖型ケージが換氣的に独立しているために当実験に適しております。また、同施設の実験室を一定期間借り切って、ビデオ撮影による長時間の搔破行動の観察もお受け致します。さらに、アレルギー関連項目の血液検査や病理標本作製および診断も承ります。

アトピー性皮膚炎誘発試薬「ビオスタAD」は、NC/Nga マウスの背部および耳介部に6回(3週間)塗布誘発することで、搔破行動を伴いアトピー性皮膚炎に類似した症状を起こします。また、誘発終了後も皮膚炎症状、搔破行動は維持し、医薬品等の薬効評価に使用しやすい研究用試薬です。本日は、当研究会の場をお借りして、「ビオスタAD」について広くご紹介申し上げます。

癌研究のためのマウスおよびラットモデルの有用性

○橋本貴生、多賀谷奈美、畑和也、若林利明
(株式会社サンプラネット支援サービス本部BMR部)

癌研究に用いる動物には、ApcMin マウスなどの自然発症動物、p53 KO や rasH2 マウス等の遺伝子改変動物、発癌物質を用いた化学発癌モデルおよび担癌モデルなど、これまでに多くのモデルが作製されてきた。しかしながら、何れをとってもヒトの癌を忠実に再現したモデルは開発されていない。このため、研究目的により使用する動物を選択する必要がある。

我々は、担癌モデルおよび化学発癌モデルの検討を行っており、実験動物としてラットおよびマウスを使用している。

本研究会では、マウスを用いた化学発癌による大腸癌モデル、ヌードラットを用いたヒト担癌モデルについて報告する。

特に、ヌードラットをレシピエントに用いることで、マウスとは異なる表現形を明らかにし、ヒトに近い薬効と毒性を示すモデルとして有用である可能性を見出した。

【試験概要】

ヌードラット (F344/NJcl-*rnu/rnu*, 日本クレア株式会社) の皮下にヒト大腸癌細胞 WiDr 細胞およびヒト胃癌細胞 MKN-74 細胞を移植し、腫瘍を形成させた後に大腸癌の標準治療薬である 5-FU (5-FU 注 250 協和) を尾静脈内に隔週投与した。投与開始直後から有意な腫瘍増大遅延効果を確認し、さらに休薬後の腫瘍増大も確認した。

ヌードマウス (CAnN.Cg-*Foxn1^{nu}/CrlCrlj*, 日本チャールス・リバー株式会社, 神奈川) に同細胞を移植し、同薬剤を投与した場合は明らかに薬効が異なり、よりヒトに近い結果が得られることを見出した。

この他にもサンプラネット支援サービス本部 BMR 部では、薬効薬理試験に研鑽を重ねた研究員や技術員が多く在籍し、各種薬効薬理試験を実施することが可能です。

今回ご紹介させて頂いた他にもいろいろな試験を実施することが可能であり、お客様の要望にもお応えしておりますので、是非お問い合わせを下さい。

組換え BAC テクノロジーを利用した『セミ・ノックアウトラット』の開発

○塩田 明、上田 正次

(株式会社フェニックスバイオ 宇都宮事業所)

ラットゲノムの BAC ライブラリー、およびファージの相同組換え機構を応用した組換え BAC テクノロジーが開発されたおかげで、200 kb ものラットゲノム DNA 配列を含む BAC クローンにトランスジーンを挿入し、BAC トランスジェニックラットを作出できるようになりました。コアプロモーターのみでなく、BAC ゲノムクローンのエンハンサー、snRNA、インシュレーターなどの遺伝子発現を制御する機能的エレメントを全て利用できるため、BAC トランスジェニックラットでは、ノックインマウスに匹敵するトランスジーン発現制御が可能になりました。コンベンショナルトランスジェニックの手法では困難であった組織特異性を要求するモデルラットの作出が、いまや BAC トランスジェニックによって短期間に実現するようになりました。

株式会社フェニックスバイオは、ノックインマウスのように正確な組織特異性の特徴から、BAC トランスジェニックラットを「セミノックインラット」と呼び、ラットモデル開発をサポートしております。本大会では、名古屋大学医学研究科准教授の近藤峰生先生と共同で開発した、ロドプシン遺伝子ドミナント・ネガティブ変異体を網膜組織に特異的に発現させた網膜色素変性症モデルラットの開発を紹介します。

我々は、ロドプシン遺伝子をコードするラット BAC クローンに、極めて病状の進行が早い優性遺伝子変異である [P347L] ロドプシン変異を導入した組換え BAC クローンを構築し、そのセミノックインラットを作出しました。網膜電位の解析の結果、このラットは生後 3 ヶ月から既に杆体細胞の光受容体の活性が低下しており、11 ヶ月でほぼ完全に消失していることが明らかになりました。

この結果から、セミノックインラットで強力なドミナント・ネガティブ変異体を組織特異的に発現させることにより、あたかもノックアウトラットのような表現型を示す、『セミノックアウトラット』を作出できることが示唆されました。

カニクイザルを用いた骨代謝試験の紹介 —OVXモデルと骨折モデルを中心として—

○ 関 あずさ、高島 俊行

(ハムリー株式会社 国際事業部)

カニクイザルの骨代謝はリモデリングでヒトと同じ骨代謝回転を示すことが知られているが、動物の活用、データの蓄積等が進んでいない。今回、高回転型骨粗鬆症モデルとしての卵巣摘出 (OVX) モデルを中心に、大腿骨骨折治癒試験の結果を示し、カニクイザルを用いた骨代謝試験の利点・活用性について報告する。

野生由来で推定 16 歳以上の動物を用いた。OVX モデル試験では、Sham 群 3 頭、OVX 群 3 頭を用いた。また、1 頭の自然閉経動物の測定値も報告する。検査は L4 ~L6 の腰椎骨密度を DXA 法 (DPX- α Luna 社) で約 4 ヶ月ごとに測定し、64 週後に骨を摘出し、pQCT 法 (XCT Research SA+ ストラテック社) で骨密度測定、MZ-500D で骨強度測定を行った。また、血清・尿の骨パラメータ値も測定した。骨折治癒試験は 17 頭に大腿骨骨折モデルを施し、11 頭に PTH (0.75 μ g/kg, 7.5 μ g/kg) を週 2 回投与し、2~4 週毎に治癒過程を X 線像で確認しながら 26 週終了後に骨を摘出し、骨強度測定および組織学的検査を行った。

OVX モデル試験：骨密度 (BMD (g/cm^2)) は、64 週後の腰椎は OVX 前を 1 とした時 (以下数字は Sham 群、OVX 群の順)、1.051 に対して 0.962 と減少していた。大腿骨頸部の BMD は、Total は 920.1 に対して 731.1、海綿骨は 569.9 に対して 258.9 と減少を認め、皮質骨は 1064.6 に対して 1079.5 であった。また、自然閉経個体は OVX モデル動物と同じ傾向を示した。その他の第 5 腰椎椎体、脛骨・橈骨・大腿骨の骨幹端部における BMD も測定し比較した。強度試験では、腰椎椎体部海綿骨の圧縮試験で破断エネルギー ($10^{-3}\text{N}\cdot\text{m}$) は 10181.66 に対して、7256.79 と減少していた。OVX により BMD 骨強度の減少を認め、自然閉経個体も骨密度は低下しており、骨粗鬆症モデルの試験において OVX モデルの活用とともに、どの部位の骨を測定すればよいかの知見を得たので報告する。

骨折治癒試験：24 週目の X 線像で肉眼的に骨折線が消失してきており、モデル作製後 6-7 ヶ月で評価を行うことが必要であった。骨強度では特記すべき差を認めなかったが、カルス部分の骨の形成・成熟度は PTH 投与で顕著に認めた。骨単位で起こっている変化はラットでは観察出来ないため、カニクイザルを使用する必要性が確認出来た。

クラウン系ミニブタの特徴

○金剛山太郎¹、岩永健裕¹、土井淳¹、新村由佳里²、鳥取潤一¹

(¹ジャパンファーム クラウン研究所、²ジャパンファーム 品質保証部)

クラウン系ミニブタ

クラウン系ミニブタは1978年からクローズドコロニーとして系統造成されている。平均体重は、6ヶ月齢で15kg、8ヶ月齢で20kg、12ヶ月齢30kgである。クラウン研究所の開所に伴い、本格的な生産が開始したが、生産頭数は毎年増加しており、開所から7年目の本年度は年間1100頭のミニブタを生産する。クラウン系ミニブタでは生まれた子豚は全て個体識別され、成長段階に応じて体重測定等の個体管理を実施している。また、健康管理記録も個体別に行なっている。2007年には子豚を母豚から無菌的に摘出し、SPF(Specific Pathogen Free)化にも着手した。

SLA解析

ブタの主要組織適合性抗原複合体Major Histocompatibility Complex(MHC)であるSwine Leukocyte Antigen (SLA)は、免疫応答に重要な役割を果たす細胞表面抗原として知られている。クラウン系ミニブタでは2003年よりSLA遺伝子解析をおこなっている。解析方法にはclass I領域のSLA-1,-2,-3遺伝子座、およびclass II領域のDRB1遺伝子座については、アリル特異的に増幅の有無を確認するPCR-SSP法、class II領域のDQB1遺伝子座については、DQB1遺伝子特異的に増幅し得られたPCR産物を、制限酵素による切断の有無で判定するPCR-RFLP法を用いている。その結果、SLA-DNAタイピング法を用いて4通りのハプロタイプを確認している。Hp-16.16はclass I領域がSLA-1*0401、SLA-2*w09an02、SLA-3*06an03、class II領域がDRB1*w11ac21、DQB1*0601というハプロタイプである。また、Hp-17.17は、16.16と相対するタイプで、class I領域はSLA-1 ND(Not Determined)、SLA-2*06an03、SLA-3*03an02、class II領域はDRB1*0801、DQB1*0501というハプロタイプである。さらに、hp-16.16とhp-17.17の交差ハプロタイプとなるhp-16.17および17.16も確認されている。

C1タイプ、C2タイプの生産と供給

クラウン系ミニブタでは、Hp-16.16をC1タイプと称し、また、Hp-16.16をC2タイプと称して商品化して供給している。C1タイプまたは、C2タイプをホモに持つ個体の生産は、C1タイプ同士、C2タイプ同士の両親を交配して生産する。SLA typeの掛け合わせから子豚のSLA typeは予測できるが、C1タイプ、C2タイプの注文があった場合は、供給前にSLAの解析を行い、各タイプをホモに持つ個体であるかを確認している。C1タイプ、C2タイプは2006年から本格的に供給を開始し、高付加価値ミニブタの主力ラインナップとして系統造成している。

系統学的特徴

クラウン系ミニブタはゲッチングン系とオーミニ系を掛け合わせたF1を起源とし、そのF1をランドレースと大ヨークシャーのF1に交雑して作出されたが、遺伝的な距離は肉用豚とは離れ、ゲッチングンミニブタと最も近い関係となっている。また、ゲッチングン系、オーミニ系、ピットマンムア系などと比較して、集団の遺伝的バラツキが小さい。

正 誤 表

関西実験動物研究会のあゆみ 会長 芹川忠夫

- ◆ 11 頁 上から 13 行目 : 関西実験動物研究会の設立年
(誤) 昭和 55 年 (1980 年) → (正) 昭和 59 年 (1984 年)
- ◆ 13 頁 下から 5 行目
(誤) 平成 17 年 → (正) 平成 7 年
- ◆ 図 1 関西実験動物研究会のあゆみ
1 段目 実験動物セミナーの開始時期表記 (誤) 53 年 →
(正) 昭和 52 年 (本文記述)
2 段目 (誤) 関西実験研究会 → (正) 関西実験動物研究会

会員研究発表： 講演者名 ならびに 演題

- ◆ 第 5 回 (S60. 3. 15) (誤) 伊東隆康ら → (正) 伊藤隆康ら
- ◆ 第 8 回 (S60. 12. 13) (誤) 森嶋英喜ら → (正) 森島英喜ら
- ◆ 第 24 回 (H1. 12. 2) (誤) 阿倍敏男ら → (正) 阿部敏男ら
- ◆ 第 36 回 (H4. 12. 4) (誤) 大森吉明ら 演題 受精卵採取に置ける
(正) 受精卵採取における

正 誤 表

関西実験動物研究会のあゆみ 会長 芹川忠夫

- ◆ 11頁 上から13行目 : 関西実験動物研究会の設立年
(誤) 昭和55年(1980年) → (正) 昭和59年(1984年)

- ◆ 13頁 下から5行目
(誤) 平成17年 → (正) 平成7年

- ◆ 図1 関西実験動物研究会のあゆみ
1段目 実験動物セミナーの開始時期表記(誤) 53年 →
(正) 昭和52年(本文記述)
2段目 (誤) 関西実験研究会 → (正) 関西実験動物研究会

会員研究発表： 講演者名 ならびに 演題

- ◆ 第5回(S60. 3. 15) (誤) 伊東隆康ら → (正) 伊藤隆康ら
- ◆ 第8回(S60. 12. 13) (誤) 森嶋英喜ら → (正) 森島英喜ら
- ◆ 第24回(H1. 12. 2) (誤) 阿倍敏男ら → (正) 阿部敏男ら
- ◆ 第36回(H4. 12. 4) (誤) 大森吉明ら 演題 受精卵採取に置ける →
(正) 受精卵採取における

平成20年12月1日 印刷
平成20年12月5日 発行

編集兼発行者 芹川 忠 夫
発行所 関西実験動物研究会
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町
京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
印刷所 プラスエー株式会社
〒525-0046 滋賀県草津市追分町376番地の10

関西実験動物研究会会報 第29号
Kansai Journal of Laboratory Animals
平成20年12月
関西実験動物研究会 第100回記念大会

第100回研究会：テーマ：動物実験～過去・現在・未来～

- 芹川 忠夫：関西実験動物研究会のあゆみ 11
黒澤 努：動物実験と法規準 38
庫本 高志：遺伝育種 44
池 郁生：微生物感染症 51
朱宮 正剛：環境 59
岩倉洋一郎：疾患モデル 62
竹内 浩二、小高 裕之：糖尿病モデル動物を用いた創薬 65

<特別講演>

- 中西 重忠：モデル動物の開発と脳研究 75

<地方関連団体>

- 東海実験動物研究会 79
北海道実験動物研究会 81

<評議員寄稿>

- 倉林 讓、井上 政昭、夏目 克彦：小実験動物における全身麻酔の変遷 83
横井 伯英：関西実験動物研究会と私と未来 89
内海健二郎、牧野 進：温故知新ーマウス、ラットの状態観察についてー 92
塩見 雅志：関西実験動物研究会100回の歴史と傍流を行く一会員の研究歴 94

<関西実験動物研究会第100回記念大会ポスター発表>

- カテゴリーA：会員の研究発表 97
カテゴリーB：会員の自由発表 133
カテゴリーC：維持会員のパネル展示 137