

Japanese Society for Laboratory Animal Resources

LABIO 21



公益社団法人
日本実験動物協会

Tel. 03-5215-2231 Fax. 03-5215-2232
<http://www.nichidokyo.or.jp/> E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【特集】

「ゲノム編集と実験動物」

【私の研究】

「カイコの実験動物としての有用性」



～Every Step of the Way.～

皆様の医薬品研究開発のあらゆる場面で
われわれCharles Riverは貢献してまいります



プロダクトおよびサービス

遺伝子改変動物の作製

実験用動物

手術・処置動物の作製

受託飼育・繁殖サービス

受託微生物モニタリング

受託試験サービス (国内外)

バイオ医薬品サービス

生体試料

動物実験関連器材

日本チャールス・リバー株式会社

本社 〒222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6イノテックビル11F
TEL.045-474-9340 FAX.045-474-9341



絵 石井 朗

イラストレーター

1984年よりイラストレーター及川正通氏のスタジオに所属し、エアブラシによるイラストの作成。2000~2012年まで及川スタジオの依頼でコンピューター作画での情報誌(びあ)表紙の制作に携わる。2012年以降は、これ迄に蓄積したコンピューター技術を用いて、イラスト以外にもアニメーション・音楽制作など範囲を拡げて活動している。

エアアイ・イラスト・コンプ社 代表

巻頭言

新年のご挨拶(務台衛) _____ 4

故 池田卓也氏との出会いとお別れ(鍵山直子) _____ 5

特集 ゲノム編集と実験動物

総説(真下知土) _____ 6

先天性免疫不全マウスセットの作出(佐藤賢哉、佐々木えりか) _____ 10

トピックス

MHCハプロタイプの明らかなカニクイザルコロニーの確立を目指して

(中村紳一郎、土屋英明) _____ 15

私の研究

カイコの実験動物としての有用性(関水和久) _____ 19

海外散歩

中国 2016 華南実験動物科学国際シンポジウム

in 広州(小野悦郎) _____ 24

イギリス 初めての海外、ロンドン ―感慨と感嘆の日々―(中沖貴宏) _____ 27

連載シリーズ 実験動物産業に貢献した人々(24) _____ 31

ラボテック

実験動物の陸上輸送について(渡辺康、天野瑛美子) _____ 33

海外文献情報 _____ 37

活動紹介

関西実験動物研究会の活動について(喜多正和) _____ 39

一般社団法人を設立する日本実験動物技術者協会(坂本雄二) _____ 40

日本実験動物学会の動き _____ 41

日本実験動物技術者協会の動き _____ 41

日動協の通信教育と各種研修会のご案内 _____ 42

平成28年度実験動物技術者資格認定試験結果 _____ 44

協会だより _____ 45

KAZE _____ 46

Göttingen Minipigs™

Global Standard



利点

- ・豊富なBackground dataが検索可能
- ・遺伝管理 ①小型 ②大人しい性格 ③白色皮膚
- ・Technical & Scientific support



オリエンタル酵母グループは研究者様をTotalサポートいたします

- ◀器材▶ 飼育ケージ・経口投与器具・保定器具
 ▶実験動物用飼料▶ ミニブタ用飼料、特別注文飼料、ドライフルーツ
 ▶生体材料▶ 血液・皮膚・臓器
 ▶ミニブタ受託試験▶ ◀ミニブタ受託飼育▶ ◀トレーニングサービス▶



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部

〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10

TEL : 03-3968-1192 / FAX : 03-3968-4863

URL : <http://www.oyc-bio.jp>



新年のご挨拶

公益社団法人日本実験動物協会

副会長 務台 衛

新年あけましておめでとうございます。皆さま2017年を心安らかに迎えられたでしょうか。

振り返れば昨年色々な出来事がありました。国内においては、熊本や鳥取の地震あるいは東日本を襲った台風等の天災がありました。被災された地域の皆さまには、復興が順調に進むことを願ってやみません。一方、世界では、各地でのテロ、英国のEU離脱問題や米国の大統領選挙の結末から経済グローバル化への反発や社会階層の分断が生じていることを改めて思い知らされ、それらが国際社会の共通価値観である民主、平等、自由、平和を脅かしていることを強く感じさせられました。

一方、サイエンスの方面では、大隅良典東京工業大学栄誉教授がオートファジーに関する先駆的な研究でノーベル医学生理学賞を授賞されました。ここ数年、日本の研究者が科学分野のノーベル賞を授賞することは稀なことではなくなり、日本の科学分野の充実ぶりが評価されていることを喜ばしく思いました。一方、大隅教授がインタビュー等で繰り返し仰っていた基礎研究の重要性と現在の研究環境の危機感については、日本の強みとして尊重し守るべき社会基盤で

ある基礎科学の重要性を改めて考えさせられるものでした。大隅先生のご業績は酵母を研究対象としたものですが、オートファジー機構については哺乳類に至る生物全般が有するシステムであることが明らかになっており、一連のオートファジーに関する研究成果が新薬等の形で疾病治療に活かされることが期待されます。

日本は世界の中でも新薬を創出できる限られた国のひとつです。この基盤に国民の教育水準の高さ、医療水準の高さ、医学生物学領域の基礎研究の充実があることは間違いのないでしょう。それに加え、高い品質レベルで実験動物の安定供給がなされていることも重要な要因であると思います。特に、基礎研究から臨床応用研究への橋渡しであるトランスレーショナル研究において、仮説や理論の実証あるいは安全性の確認のために実験動物を用いた研究が大きな役割を果たしてきました。

それでは今後、将棋や囲碁で自己学習システムを備えた最新ソフトウェアがプロ棋士に打ち勝ち、自動車の運転自動化の達成も間近な状況で、従来型の試験研究はどうなるでしょうか。私見に過ぎませんが、コンピュータ

による学習や予測技術の進展により実験動物を用いる試験研究が廃れることはないと考えています。なぜなら、コンピュータが自己学習やシミュレーションをするためのファクトを提供するのはあくまで人間が企画立案した実験成績であり、新たなファクトがない限り新発見や理論の実証は成しえないと思われるからです。もちろん、新興感染症や希少疾患等に対する新薬への期待は依然大きく、一方で医療経済面から新薬創出の効率性が一層求められていることから、効率的にファクトを創出するためにIT技術への期待は大きいものがあります。動物実験の3Rsの観点から考えるとreplacementやreductionの手段としてITによる予測技術は益々進展するでしょうし、IT技術がrefinementの向上に活用される場面も増えそうです。

社会情勢の変化や科学技術の進展に伴い実験動物に関わる課題は多岐にわたりますが、関係する皆さまの協力の下で着実に克服していくこと、並びに2017年が皆さまにとって充実した年となることをお祈り申し上げて年頭の挨拶とさせていただきます。



故 池田卓也氏との出会いとお別れ

公益財団法人実験動物中央研究所 理事
公益社団法人日本実験動物協会 動物福祉委員会 委員
鍵山 直子

多国籍製薬会社に勤務していた頃である。2000年を少し過ぎ、次の動物愛護管理法の見直しが話題になり始めた。わが国の法令には3R原則が謳われていなかった。日本は動物実験に野放図の国、アウトローの国だと海外の株主や愛護団体から非難された。次の法改正では、何としても3Rを明文化しなければならない。そのためには、日々のロビー活動が必要になる。一刻も早くつくばを辞し、東京に戻らなければならなかった。そこで上司を説得し、B社の内部監査をしていた池田さんをスカウトして、動物管理責任者の職位を彼に託した。私が所属していたG社の実験動物学は、アカデミアを含めても世界のトップクラスにあったから、G社への転職は彼のキャリアを高めるはずである。2005年、動物愛護管理法への3Rの明文化を見届け、彼と連名で日本の法的枠組みを世界に紹介するとともに、彼の教育にも力を入れた (Kagiyama N, Ikeda T, Nomura T: 2006. Japanese guidelines and regulations for scientific and ethical animal experimentation. *In: Stevenson C S et al. ed. In vivo models of inflammation. Volume 1. 2nd ed.,*

pp187-191. Birkhauser Verlag)。

その後、池田さんの講演を拝聴する機会を得た。その頃には、彼は、実験動物学を習熟していた。動物実験の適正化を語るなかで、「日本は遅れている、欧米ではかくかく、だから日本でもしかじか」、といった論調を聞いて愕然とした。直ちに、「日本の法的枠組みの意図するところ (科学者による自主規制) を精査し、欧米と比べた長所・短所をしっかりと分析してください。そのうえで、欧米から学ぶべきところを考察してください。」とアドバイスした。また、「機関管理に欠けているところがあれば改善提案をお願いします。それは、制度の批判とは別の話です。」とも申し上げた。彼はよく理解して、講演スライドやスピーチを修正してくれた。この時、自分の後継者は彼しかいないことを悟り、すべてを彼に託すことに決めた。

その矢先である。G社のつくば研究所が閉鎖されるとの一報が飛び込んできた。彼は残務整理に献身していた。私は彼に対して誠実であらねばならない。そこで、彼を身近な職場に迎えようと考えたが、彼自身の意志でそれは果たせなかった。それでも、日動協の動物福祉委員会

の担当理事と委員長との二人三脚は崩れなかった。実験動物生産者のボトムアップは軌道に乗り、調査・評価委員会との連携もますます充実していった。だが、日動協の創立30周年を目前に、彼の口から、あつてはならない告知を聞かされた。そして、記念誌の委員会報告の執筆が彼との終の仕事になってしまった (「実験動物福祉委員会のこれまでの取り組み」. 日本実験動物協会 30周年記念誌 p38-41, 2015)。

今となっては、ひたすらご冥福を祈るばかりであるが、ここに記しておきたいことがある。彼の奮闘のおかげで、日本の優れた点が欧米からも理解されるようになった。日本をアウトローと決めつける欧米人は、もはやいない。だがそれに反して、自国を“ガラパゴス”と形容する日本人が少なからずいるから不思議である。このことは、何とも悲しく、悔しく、池田さんには顔向けができない。課題は、社会的理解に向けての知恵と行動、そして、われわれの体質改善なのかもしれない。

池田さん、どうか、あなたが生きた国を見守ってください。合掌

特集

ゲノム編集と実験動物



総説

大阪大学大学院 医学系研究科 附属動物実験施設
大阪大学大学院 医学系研究科 共同研附属ゲノム編集センター
准教授 真下 知士

1. はじめに

ゲノム編集により、実験動物学が大きく変貌している。ゲノム編集ツールであるZFN(zinc-finger nuclease)、TALEN(transcription activator effector-like nuclease)、CRISPR-Cas9(clustered regularly interspaced short palindromic repeat / CRISPR-associated protein 9)により、実験動物のゲノムDNAを簡単に改変することができるようになった為である。この技術により、遺伝子のmRNA発現調整やエピジェネティックな改変も可能である。これまで遺伝子改変は、ES細胞が利用できるマウスでしかできなかったが、ゲノム編集技術によりラットやウサギ、サルなどの実験動物でも遺伝子改変が可能となった¹⁻³。マウスにおいても、より簡単、短時間で、特別な技術を必要とせずに、ノックアウトマウスを作ることができる。例えば、動物の受精卵にDNAを導入する`マイクロインジェクション`の代わりに、`エレクトロポレーション`で簡単に遺伝子改変動物を作製することができるようになった^{4,5}。

本総説では、これまでゲノム編集が開発されてきた歴史と、実験動物におけるゲノム編集の利用、

今後、ゲノム編集技術によって実験動物がどのようになっていくかなどを展望する。このような新しい技術の登場に合わせて、平成28年4月から日本ゲノム編集学会(<http://jsgedit.jp/>)も発足した。本号から始まる`ゲノム編集と実験動物`の特集においては、マウス、ラット、ウサギ、マーモセットなど、さまざまな実験動物において最先端のゲノム編集技術を利用している若手研究者に紹介してもらおう。これからゲノム編集を始める研究者や技術者、ゲノム編集動物を利用している多くの方々に、最先端のホットな話題を提供する。

ゲノム編集の登場

ゲノム編集は、1996年に人工の制限酵素としてZFNが報告されたことから始まる⁶。2000年に入り、この人工制限酵素ZFNが細胞や動植物のゲノムDNAを切断することがわかると、新しい遺伝子改変技術として利用されるようになった。日本国内では、2010年にZFNを用いたラット、ウニ、シロイヌナズナ、ブタでの遺伝子破壊を示したのがはじまりである⁷⁻¹⁰。ZFNは、もともと二本鎖DNAに結合するタンパク質として知られていた

ジンクフィンガーと、DNAを切断する酵素のFok Iヌクレアーゼを結合させた人工タンパク質である。2009年、ZFNに代わる新しいDNA結合タンパク質として、植物病原菌キサントモナス属が持つTALEタンパク質が発見され、翌年にはTALEとFok Iヌクレアーゼを組み合わせたTALENによるゲノム編集が報告された¹¹。しかしながら、ZFNやTALENは自分で作製するのが難しかったため、2012年にCRISPR-Cas9が登場すると、その利用が一気に広がった。

2012年、シャルパンティエ(Emmanuelle Charpentier)とダウドナ(Jennifer Doudna)らは、人工的に合成された一本鎖のガイドRNA(gRNA)が標的配列を認識し、レンサ球菌由来のCas9を誘導して、任意のDNA配列を切断できることを報告した¹²。これはCRISPR-Cas9システムがZFNやTALENと同様に、自由なゲノム編集ができることを初めて実験的に示したものである。ZFNやTALENと異なり、DNA結合ドメインとヌクレアーゼドメインを人工的に結合する必要がないため、簡単にゲノム編集を行うことができる。また、異なるDNA配列を認識する複数のgRNAを同時に導入することで、複数の遺伝子を同時にノックアウトすることもできる。CRISPR-Cas9システムのメリットは、非常に簡便に、かつ高い切断効率で、ゲノム編集が可能な点にある。これまでES細胞により1~2年かけて遺伝子改変動物の作製が行われていたが、ZFNやTALENを利用することで4カ月程度に、さらにCRISPR-Cas9システムにより1、2カ月程度で、遺伝子改変動物を作製できるようになった。また、ゲノム編集技術は標的遺伝子の改変以外にも、標的遺伝子の発現制御、標的遺伝子の

エピゲノム修飾、GFP等の蛍光レポーターによる標的遺伝子の可視化、などにも利用されている。

ゲノム編集による遺伝子改変動物の作製

遺伝子の機能を個体レベルで調べるためには、実験動物で遺伝子进行操作する必要がある。また、ヒトの病気の遺伝子を実験動物で操作することで、ヒト疾患モデル動物を作製することも可能である。これまで、遺伝子を導入したトランスジェニックマウスや、ES細胞により遺伝子を破壊したノックアウトマウスなどがたくさん作製されてきた。ノックアウトだけでなく、遺伝子を挿入したり置換したりするノックインマウス、脳や肝臓などのある組織だけで遺伝子をノックアウトするコンディショナルノックアウトマウスなどは、実験動物において遺伝子機能を解析するために必要不可欠となっている。

マウスは、体が小さく飼育スペースを有効に使える哺乳類であり、多くの研究者は、実験動物としてマウスを利用している。一方、ラットは、マウスの10倍程度の体の大きさで、血液や細胞のようなサンプルが多く採れ、いろいろな実験処置や外科的処置がやりやすい。学習能力が高く、記憶・行動実験等にもよく利用される。マウスやラットは血液中の脂質代謝がヒトと異なるため、ウサギが高脂血症や動脈硬化のモデルとして利用されている。ヒト脳の大脳皮質の構造、あるいは記憶や感情といった脳の詳細な機能を研究しようとする場合は、サルがモデル動物として利用される。これらマウス以外のモデル動物では、ES細胞による遺伝子改変技術が利用できなかったため、実験処置モデルやトランスジェニック動物の作製は可能であったが、ノックアウトなどの

遺伝子改変動物の作製は、不可能であった。

ゲノム編集技術を用いることで、ES細胞を使わずに哺乳動物の受精卵で目的の遺伝子の組換えが可能になった。これは、切断されたDNAを修復する過程で、受精卵の中で高効率に塩基の挿入、欠失、あるいは相同組換えが起こるためである。トランスジェニック動物の作製の時と同じように、ゲノム編集によってDNAの組換えを起こした受精卵を、母親の体に戻すことで、マウスに限らず色々な動物の遺伝子改変を行うことができる。実際にゲノム編集技術の登場により、ラット、ハムスター、ウサギ、ブタ、ヤギ、ウシ、マーモセットやカニクイザルなど、マウス以外の実験動物で、次々と遺伝子改変が報告されている。

実験動物の今後の展望

2003年、ヒトゲノムの全塩基配列を解読する「ヒトゲノム計画」の完了が報告され、引き続きマウス、ラット、ウサギ、サルなどの哺乳動物のゲノムも次々と解読された。ヒトや哺乳動物のゲノム解読が終わると、約2~3万個ある遺伝子それぞれが体の中でどのように働いているかに、注目が集まった。さらに、非コードRNAや遺伝子転写調節領域(エンハンサー)など、働きがわからないゲノム領域が存在することもわかってきた。「ヒトゲノムを読む」計画の開始から25周年を迎えて、研究者は次に、ヒトゲノムを全て人工合成して、ヒト遺伝子や細胞、生物までも作製するという「ヒトゲノムを書く」プロジェクトを立ち上げようとしている¹³。これはいわばヒトゲノム計画の第二段階であるが、ゲノム編集技術を活用すれば動物にヒトゲノムを書くことができる。これを「ヒト化動物」と言

うが、ゲノムの理解から利用へステップアップするなかで、ヒト化動物に寄せられる期待は大きい。

我々も、現在このヒト化動物の作製を行っている。ヒト化動物は、次の二つに分けられる。1)ゲノム編集技術により、ヒトのゲノム領域、遺伝子、あるいはヒト疾患の元になる遺伝子変異などを哺乳動物に組み換えることで、ヒト遺伝子を持った動物を作製する。2)ヒト細胞や組織、臓器そのものを哺乳動物、特に拒絶反応のない免疫不全動物に移植することで、ヒト細胞、組織を持った動物を作製する。前者1)のヒト化動物では、ヒト病気の変異遺伝子の影響を成長した動物の体の中で調べることができる。また、マウスやラットが持つておらずヒト特有の遺伝子や代謝経路などを、ヒト化動物で調べられることもできる。筆者らは、免疫に関係するラットの*Sirpa* 遺伝子をノックアウトした上で、ヒト*SIRPA* 遺伝子をノックインしたヒト化動物の作製に成功している¹⁴。これにより、ラットとヒトでは免疫の働きが異なるため難しかったヒトの免疫を、ラットで調べることができるようになった。後者2)のヒト化動物は、哺乳動物の体内でヒト細胞、臓器を使った実験ができるため、ヒト生理機能やヒト病態特性を動物の体で調べることができる。既に、ヒト化動物として優れた免疫不全マウスが作製されており、血液サンプルを採取したり、iPS細胞由来の組織を移植したりする目的で利用されている¹⁵。また創薬、非臨床試験、再生医療研究などにとっても、なくてはならないモデル動物になっている。

ゲノム編集が登場して、特に、CRISPR-Cas9システムが利用されるようになり、生命科学や実験動物における考え方が大きく変わった。動物での遺伝子改変に、種の壁は無くなり、あらゆる人が簡単

に利用できる技術になった。2015年、ヒト受精卵におけるゲノム編集が中国から報告された。ゲノム編集がヒト遺伝子治療にとって重要な技術であることは間違いのないことだが、倫理や安全性、人々の十分な理解のもとにゲノム編集研究が進められるべきである。安全性をしっかりと見極めるためにも、様々な哺乳動物での受精卵をモデルとして、ゲノム編集を行っていく必要がある。これまではES細胞によって作製された遺伝子改変マウスによって、ヒトの病態や遺伝子の機能が調べられてきたが、今後は様々な実験動物において調べることが可能である。例えば、ヒト毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子*ATM*のノックアウトマウスでは、ヒトのような明らかな小脳失調が現れないが、我々が作製した*Atm*ノックアウトラットは、小脳性運動失調を呈することもわかった(Quek *et al. Hum Mol Genet, in press*)。このように、これまではマウスでしか見られなかった病態や表現型が、マウス以外の実験動物でも確認できるようになり、よりヒトの病態に近いモデル動物が開発されている。今後、さまざまな実験モデル動物を用いた基礎臨床医学研究、創薬、再生医療研究などのさらなる発展に期待している。

日本ゲノム編集学会の発足

2016年4月、一般社団法人日本ゲノム編集学会が設立された(<http://jsgedit.jp>) (図)。広島大学の山本卓教授が会長となり、日本国内のゲノム編集に関わる研究者が集い、様々な動物や細胞、植物などで、この技術を利用した新規開発、応用研究についての議論が行われている。学会では、若手研究者やこの技術を始めたばかりの技術者に、実験プロトコルの提供や技術講習会なども行っている。

また、ゲノム編集に関わる倫理的課題、遺伝子組換えに関する規制等についての議論を行う委員会なども発足している。学会設立後、会員数は既に200名(11月末時点)、賛助会員となるゲノム編集関連企業も20社を超え、ゲノム編集に関する産学連携の活動も活発になっている。日本ゲノム編集学会の第1回キックオフ大会が広島国際会議場で9月に行われたが、300人を超える若手研究者や企業研究者が集まって、盛大に行われた。第2回大会は2017年6月28日から30日まで大阪の千里ライフサイエンスセンターで開催されることが決定している(<http://www2.med.osaka-u.ac.jp/gerdc/jsge2017/>) (図)。大会では、細胞、植物、動物におけるゲノム編集研究に加えて、産業利用やゲノム編集医療など最先端の研究発表、情報交換が行われる。また、教育実習委員会や倫理規制委員会によるミニシンポジウム、外国からの著名な研究者も参加するEnglishセッションなどが開催される予定である。

また、平成28年から科学研究費助成事業「新学術領域研究『学術研究支援基盤形成』」として、国内研究者に対してゲノム編集を用いた先端モデル動物の作製支援事業も始まっている(<http://model.umin.jp>) (図)。国内の科研費を獲得した研究者を対象に、マウス・ラットでの遺伝子破壊(コンベンショナル/コンディショナル)、挿入、置換、点変異導入、トランスジェニックなどの遺伝子改変を支援している。植物においては、平成26年から戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)の「次世代農水産創造技術」として、ゲノム編集を利用した研究開発が進められている(<http://www8.cao.go.jp/cstp/gaiyo/sip>)。



図 日本ゲノム編集学会ホームページ、<http://jsgedit.jp/> (左上)、日本ゲノム編集学会第2回大会 <http://www2.med.osaka-u.ac.jp/gerdc/jsge2017/> (左下)、先端モデル動物支援プラットフォーム <http://model.umin.jp/about/mouse.html> (右)

おわりに

ゲノム編集により、*in vitro*や培養細胞、微生物から植物、動物において、DNA配列を効率的に改変することが可能になった。ZFN、TALEN、CRISPR-Cas9などに代表される部位特異的ヌクレアーゼは、標的とする二本鎖DNAを切断して、種々なタイプの変異(欠失や挿入、染色体転座、SNP改変、遺伝子挿入など)を加えることができる。これまで遺伝子改変が困難であった生物にも利用ができ、生命科学研究を大きく転換させる次世代のバイオテクノロジーとして注目されている。ゲノム編集は、基礎生命科学研究から応用科学研究、再生医療や未来医療研究などの医療分野において、既に必要不可欠な技術になっている。

参考文献

- 1) 編集/真下 知士,山本 卓:All About ゲノム編集 (実験医学増刊号)、羊土社、Vol.34 No.20、2016
- 2) 編集/山本 卓:ゲノム編集入門-ZFN・TALEN・CRISPR-Cas9、裳華房、2016
- 3) 編集/城石 俊彦,真下 知士:進化するゲノム編集技術、エヌティーエス、2015
- 4) Kaneko, T. & Mashimo, T. Simple Genome Editing of Rodent Intact Embryos by Electroporation. *PLoS One* 10, e0142755 (2015).
- 5) Kaneko, T., Sakuma, T., Yamamoto, T. & Mashimo, T. Simple knockout by electroporation of engineered endonucleases into intact rat embryos. *Sci Rep* 4, 6382 (2014).
- 6) Kim, Y.G., Cha, J. & Chandrasegaran, S. Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 1156-1160 (1996).
- 7) Mashimo, T. *et al.* Generation of knockout rats with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using zinc-finger nucleases. *PLoS One* 5, e8870 (2010).
- 8) Ochiai, H. *et al.* Targeted mutagenesis in the sea urchin embryo using zinc-finger nucleases. *Genes Cells* 15, 875-885 (2010).
- 9) Osakabe, K., Osakabe, Y. & Toki, S. Site-directed mutagenesis in Arabidopsis using custom-designed zinc finger nucleases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 12034-12039 (2010).
- 10) Watanabe, M. *et al.* Knockout of exogenous EGFP gene in porcine somatic cells using zinc-finger nucleases. *Biochem Biophys Res Commun* 402, 14-18 (2010).
- 11) Christian, M. *et al.* Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases. *Genetics* 186, 757-761 (2010).
- 12) Jinek, M. *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337, 816-821 (2012).
- 13) Boeke, J.D. *et al.* GENOME ENGINEERING. The Genome Project-Write. *Science* 353, 126-127 (2016).
- 14) Yoshimi, K. *et al.* ssODN-mediated knock-in with CRISPR-Cas for large genomic regions in zygotes. *Nat Commun* 7, 10431 (2016).
- 15) Mashimo, T. *et al.* Generation and characterization of severe combined immunodeficiency rats. *Cell Rep* 2, 685-694 (2012).

先天性免疫不全マーモセットの作出

公益財団法人実験動物中央研究所
佐藤 賢哉、佐々木 えりか

はじめに

非ヒト霊長類の実験動物は遺伝学的にヒトと近縁であることから、ヒトの疾患や生理学を理解するためのモデル動物として有用であり、また近年の脳科学研究や再生医療の目覚ましい発展に伴い、前臨床モデル動物として注目されている。新世界ザルに属するコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*: マーモセ

ット)は、ブラジル北東部を原産とする小型の霊長類であり、ハンドリングの容易さという利点があるだけではなく、繁殖面においては性成熟が早く(1~1.5歳)、一度の出産で多仔(2~4匹)を獲得可能という点で有用性が高い。実験動物中央研究所(実中研)では30年以上の長きに渡り、クローズドコロニー

としてマーモセットが維持されており、2009年には世界初のトランスジェニックマーモセットの作出¹を報告するなど、世界に先駆けた研究活動を進めている。本稿では実中研において2016年に研究論文の発表に至ったゲノム編集技術を用いた免疫不全マーモセットの作出について記載する²。

霊長類におけるゲノム編集の実例と課題

特定遺伝子のノックアウトやノックインを広い生物種で実現可能としたゲノム編集技術は、ES細胞を介さずに胚内で直接標的遺伝子を改変することが可能であるため、個体作出までの時間を大幅に短縮することができるが、一方で、標的とする遺伝子が不均一に改変される「モザイク」個体が生まれる可能性が高い。世代時間が短いげっ歯類などでは、戻し交配を行うことで比較的短期間のうちに目的とする全身性の遺伝子改変個体を得る

ことが可能であるが、霊長類では次世代個体の獲得に長期間を要することから、モザイクを回避することは霊長類でのゲノム編集において非常に重要なことである。我々の発表以前には中国のNiuらにより最新のゲノム編集技術であるCRISPR/Cas9システムを用いた遺伝子改変霊長類の作出が報告されたが、作出個体の標的遺伝子の解析では、同一組織サンプル内に野生型と改変型の遺伝子配列が混在するモザイクが確認され表現型が認

められておらず³、また、同じく中国のLiuらにより報告されたTALENを用いた遺伝子改変霊長類の作出においても表現型の確認には至っていなかった⁴。これにより、長い寿命を持つ霊長類でのゲノム編集では、如何に効率的にファウンダー個体で表現型を示す個体を作るかという点が実験を行う上で重要と言える。

ゲノム編集ツールの新規評価法の確立

我々は、モザイク個体の作出を防ぐために、ゲノム編集ツール評価法の確立に多くの時間を割き実験を進めた。実験に用いたゲノム編集ツールは初期型のZinc-finger Nuclease (ZFN) の「HiFi-ZFN」、ZFN構造中のFokIが改良されゲ

ノム改変活性が強化された「eHiFi-ZFN」⁵、広島大学によって開発された高活性型のTranscription Activator-Like Effector Nuclease (TALEN) である「Platinum TALEN」^{6,7}の計3種類であった。

まず *in vitro* の評価系ではマーモ

セット線維芽細胞にゲノム編集ツールをコードしたプラスミドを導入し、3日間の培養後にゲノムの回収を行い、遺伝子改変を可視的に検出可能なCEL-1アッセイを実施することで、遺伝子改変効率をスクリーニングした(図1)。次のステ

ップでは *in vivo* の評価系として、マーマセット胚を用いた2つの検討を実施した。まずはゲノム編集ツールをコードするプラスミドから mRNA を合成し、これを胚に注入することで胚発生への影響を見るとともに、胚全体をサンプルとした CEL-1 アッセイを実施し、どのような割合で遺伝子改変個体が得られるかを予想した。もう一方はさらなる検討として、注入胚を8細胞期まで発生させたのちに割球を単離し、それぞれの割球で CEL-1 アッセイを実施することで、同一胚内での遺伝子改変の均質性の評価、すなわちモザイクの予測を行った(図1)。以上の検討により、使用するゲノム編集ツールの遺伝子改変個体獲得率やモザイクの発生をあらかじめ予測することが

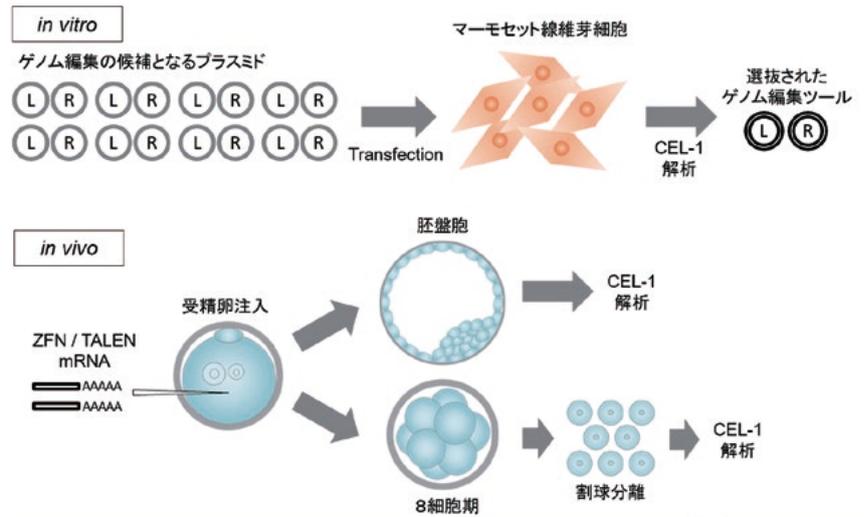


図1. ゲノム編集ツールの活性評価
ゲノム編集ツールは、一次スクリーニングでマーマセット線維芽細胞を用いた活性評価(上段)によりゲノム改変活性の高いものを選択し、次いでマーマセット胚を用いた遺伝子改変個体獲得率とモザイクの予測(下段)を行なうことにより、最もノックアウト個体作製効率が高いと考えられるものが選択される。

可能となった。

標的遺伝子

我々は、マーマセット胚を対象としたゲノム編集による Interleukin 2 receptor common gamma chain (*IL2RG*) のノックアウトを目指した。*IL2RG* は X 連鎖性重症免疫不全症 (X-SCID) の責任遺伝子であり、実験動物学的にはラット⁸やブタ⁹においてゲノム編集による *IL2RG* ノックアウト (*IL2RG*-KO) 動物の作出

が報告されているが、霊長類ではこれまでに報告がなかった。このため、*IL2RG*-KO マーマセットの作出は、ヒトに近い疾患モデルとしての免疫不全症研究への貢献はもとより、再生医療分野で重要となる安全性試験において、異種細胞移植モデルとしての役割も担えるとの着想に至り研究を開始した。また、免疫

関連遺伝子を標的とすることは、遺伝子改変の成否(すなわち表現型の有無)を血液検査で容易に確認することができ、さらに *IL2RG* は X 染色体上の遺伝子であることから、雄性胚でのゲノム編集の成功率が高まるという点も標的遺伝子の選定の要因となった。

個体の作出

我々はまず、HiFi-ZFNを用いた実験を行なった。*in vivo* の評価では、HiFi-ZFN注入胚のうち後期胚まで達した胚の33.3% (1/3) で *IL2RG* の改変が認められ、さらに遺伝子改変が認められた8細胞期胚の割球を対象とした評価では37.5% (3/8) の割合で *IL2RG* が改変された。これはモザイクの可能性は否定できないが、3匹に1匹は遺伝子改変個体が獲得できるという解釈になるが、当時はHiFi-ZFNが唯一のゲ

ノム編集ツールであったことと、割球レベルでの遺伝子改変率から変異型 *IL2RG* は次世代へ十分伝達可能であると我々は判断し個体作出を行った。この結果、12匹の産仔のうち1匹が *IL2RG* 遺伝子改変個体として獲得された(表1)。この個体は出生6日目で死亡したことから、剖検および遺伝子解析を実施した。剖検の結果、X-SCID に特有の胸腺の委縮は確認されなかった。全身の組織ゲノムを対象とした遺伝子

解析では、事前のモザイクの予測とは異なり、すべての組織で21bpの欠損を持つ変異型 *IL2RG* の存在が確認されたが、血球成分を豊富に含む組織では正常型 *IL2RG* が僅かに検出された。マーマセットは複数仔を妊娠するとそれぞれの個体の胎盤が融合し、血液キメラとなる特有の妊娠形式を持つ。実際に、今回HiFi-ZFN由来の *IL2RG* 遺伝子改変個体は野生型個体との同腹仔として得られたことから、この

血液キメラが原因となり、胸腺の所見などの表現型を変化させた可能性があると我々は考察した。こ

れにより、以降の実験においては1匹の仮親に1つのゲノム編集ツール注入胚を移植する方針で実験を

行った。

表1. 個体作出結果

ゲノム編集ツール	受精卵への注入数	仮親に移植した胚の数(%)	レシピエント個体数	妊娠個体数(%)	産仔数	免疫不全マーマーモセット数(%)
HiFi-ZFN	131	95(72.5)	46	10(21.7)	♂11, ♀1	♂1(8.2)
eHiFi-ZFN	58	42(72.4)	38	5(13.2)	♂2, ♀3	♂1, ♀3(80.0)
Platinum TALEN	61	42(68.9)	29	4(13.8)	♂4	♂4(100)

その後、eHiFi-ZFNおよびPlatinum TALENが新たに開発され、これらのゲノム編集ツールを用いた検討を行なった。*in vivo*の評価では、eHiFi-ZFNおよびPlatinum TALEN注入胚のうち後期胚まで達した胚では、それぞれ40%(2/5)、78%(7/9)でIL2RG遺伝子の改変が

確認され、遺伝子改変が認められた8細胞期胚ではいずれも全ての割球で変異型IL2RGを持つという事が示された。これにより、これらのゲノム編集ツールを用いればモザイクの無いIL2RG-KO個体すなわち免疫不全マーマーモセットを高効率で作出可能であると判断し個体作出を

行った。この結果、eHiFi-ZFNを用いた実験群では5匹の産仔のうち4匹、Platinum TALENを用いた実験群では4匹の産仔のすべてがIL2RG-KO個体となり、事前の検討結果とほぼ一致する個体作出結果が得られた(表1)。

幼若期の表現型

IL2RG-KO個体は免疫不全という表現型を示すことから、母体の産道での微生物感染を避ける目的で、仮親の出産予定日の直前に帝王切開を実施することで獲得した。帝王切開の際には仔由来の組織である胎盤がほぼ完全な状態で獲得できることから、我々は胎盤から臍帯血を採取し、これをFACS解析することで表現型の解析を行った。この結果、eHiFi-ZFNで作出されたヘテロ接合体以外のIL2RG-KO個体では、T細胞、NK細胞の著減が認められたが、B細胞は野生型と同程度の割合であった(図2)。このリンパ球の存在比は、ヒトのX-SCIDでのリンパ球の存在比と類似していた¹⁰。また、飼育初期に死亡した個体における剖検では、X-SCIDで特徴的な所見である肉眼的な胸腺の委縮が確認された¹⁰。

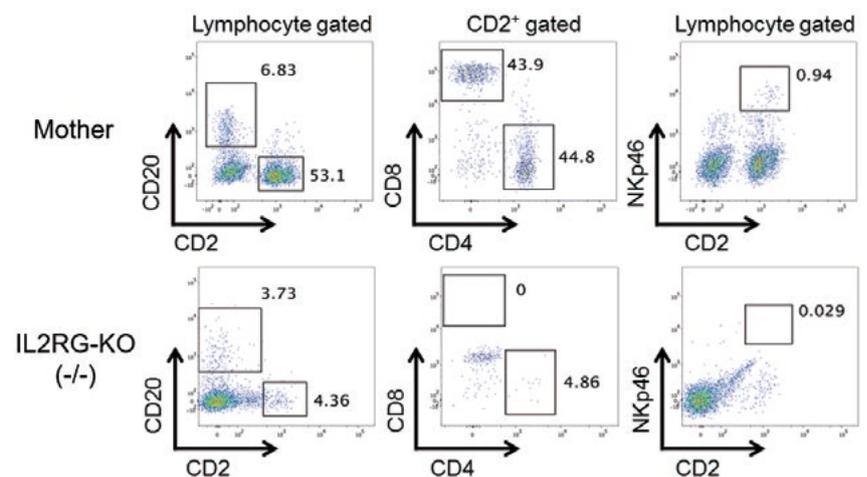


図2. 臍帯血のFACS解析
得られた産仔の臍帯血のFACS解析。上段は仮親の末梢血、下段はIL2RG-KO個体の臍帯血の解析結果であり、IL2RG-KOでは、B細胞は正常数存在するが、T細胞とNK細胞は欠失していることが示された。(CD20陽性：B細胞、CD2, 4, 8陽性：T細胞、NKp46陽性：NK細胞)

若年期から成体期の表現型

eHiFi-ZFNおよびPlatinum TALENによって獲得されたIL2RG-KO個体のうち3匹については、クリーン環境下での飼育により半年以上の長期飼育に成功した。このうち定期的な採血が可能な体格となった2匹について、末梢血を対象としたFACS解析を実施した。この結果、これらの個体では幼齢期の結果とは逆転したT細胞の増殖とB細胞の減少が確認された(図3A)。なお、NK細胞については、臍帯血での解析結果と同様であった(図3A)。このT細胞の後天的な出現については、まず、胎盤を介した母体からの流入を疑い、仮親と仔の間での親子鑑定を実施したがこ

の可能性は否定された。次に、このT細胞が変異型IL2RGの形質を有する、すなわち仔自身に由来するものであるかを評価するために、IL2RG遺伝子が構成するT細胞表面レセプターの細胞内シグナル伝達に参与するSTAT5を対象とした細胞機能解析を実施した。この結果、IL2RG-KO個体由来のT細胞ではIL-7での刺激によるSTAT5のリン酸化が認められなかったことから、後天的に出現したT細胞はIL2RG-KO個体に由来するものであることが示唆された(図3B)。また、T細胞の出現時期については、若齢期のIL2RG-KO個体での末梢血のFACS解析の結果、少なくとも

生後3カ月の時点で見られるという事も判明した。なお、このような後天的なT細胞の増殖については、一部のヒトのX-SCID患者においても同様の報告がされている¹¹⁻¹³。B細胞に関しては、血清IgG量をウェスタンブロッティングにより評価した結果、加齢個体においてFACS解析の結果を支持するようなIgGの著減が確認された(図3C)。また、血球数計算とFACS解析結果を基に末梢血の評価を行った結果、野生型に比べて、IL2RG-KO個体ではリンパ球数が50%以上減少しているということが判明した(図3D)。

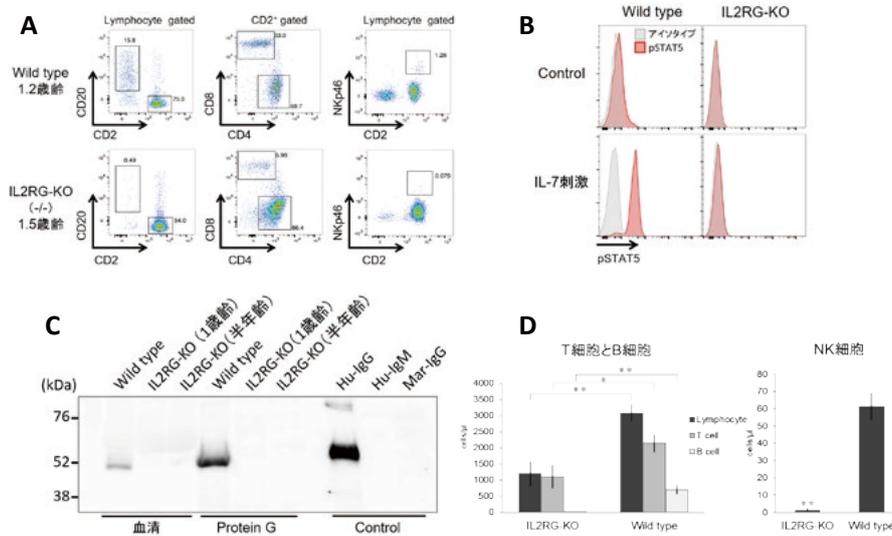


図3. 長期飼育に成功したIL2RG-KO個体の表現型解析

A: 末梢血のFACS解析。3ヶ月齢以降のIL2RG-KO個体では、B細胞の著減とT細胞の増加が認められた。B: 細胞内シグナル伝達解析。IL2RG-KO由来のリンパ球ではIL-7の刺激によるSTAT5のリン酸化が認められず、正常な機能を持たないことが示された。C: ウェスタンブロッティングによる血清IgGの解析。IL2RG-KO由来のサンプルでは、Protein Gにより血清IgGを濃縮しても検出感度以下となることが示された。Hu-IgG: 精製ヒトIgG 0.05μg、Hu-IgM: 精製ヒトIgM 0.05μg、Mar-IgG: マーマーセット血清からアルブミンとIgGを除去したサンプル。D: 細胞絶対数測定。血球数計算とFACS解析より末梢血中のリンパ球数を算出したもの。*p<0.05, **p<0.01。

おわりに

本研究ではゲノム編集ツールの活性評価法を新たに確立することで、ファウンダー世代において表現型を示す遺伝子改変個体を高効率で作出することに成功した。この評価法は長い世代時間を持つ霊長類で有用な方法となるだけでなく、他の生物種にもこれが適用されれば、ゲノム編集に失敗した「ハズレ個体」

の削減にも繋がることから、動物実験の理念である3R「Replacement(代替)」「Reduction(削減)」「Refinement(改善)」に大きく貢献すると考えられる。我々の研究において作出された免疫不全マーマーセットは今後、ヒトに近い新たな疾患モデルとして臨床研究への貢献が期待されるだけでなく、再生医療分野における安

全性評価の移植モデルとしての貢献も期待される。

現在のゲノム編集技術は、標的遺伝子のノックアウトに関しては多くの成果が得られているが、標的遺伝子を目的の遺伝子配列へ確実に変更するノックイン技術に関しては、まだまだ精度を上げるための技術開発が必要である。

今回の我々の霊長類におけるゲノム編集技術の成功は、ヒト胚におけるゲノム編集の是非の議論にも及んだが、我々の目的は疾患モデル動物を創り出し、生体に対する新たな医療法の開発を目指すものであり、ヒト胚でのゲノム編集に見られ

るような病気を発症しない生体を生み出すためのゲノム編集とは全く異なるものである。また、今後はこのような胚へのゲノム編集により、安易に遺伝子の多様性を放棄することについても、生物学進化にどのような影響を与えるのかを十分に

考慮していく必要があると思われる。そのためヒト胚へのゲノム編集の臨床応用に関しては、まだまだ今後の十分な議論と技術開発が必要と考える。

参考文献

- Sasaki, E. et al. (2009). Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 459, 523-527.
- Sato, K. et al. (2016). Generation of a Nonhuman Primate Model of Severe Combined Immunodeficiency Using Highly Efficient Genome Editing. *Cell Stem Cell* 19, 127-138.
- Niu, Y. et al. (2014). Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell* 156, 836-843.
- Liu, Z. et al. (2014). Generation of a monkey with MECP2 mutations by TALEN-based gene targeting. *Neurosci Bull* 30, 381-386.
- Doyon, Y. et al. (2011). Enhancing zinc-finger-nuclease activity with improved obligate heterodimeric architectures. *Nat Methods* 8, 74-79.
- Sakuma, T. et al. (2013). Efficient TALEN construction and evaluation methods for human cell and animal applications. *Genes Cells* 18, 315-326.
- Sakuma, T. et al. (2013). Repeating pattern of non-RVD variations in DNA-binding modules enhances TALEN activity. *Scientific reports* 3, 3379.
- Mashimo, T. et al. (2010). Generation of knockout rats with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using zinc-finger nucleases. *PLoS One* 5, e8870.
- Suzuki, S. et al. (2012). Il2rg gene-targeted severe combined immunodeficiency pigs. *Cell Stem Cell* 10, 753-758.
- Noguchi, M. et al. (1993) Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* 73, 147-157
- de Saint-Basile, G. et al. (1992). Genetic study of a new X-linked recessive immunodeficiency syndrome. *J Clin Invest* 89, 861-866.
- DiSanto, J.P. et al. (1994). Defective human interleukin 2 receptor gamma chain in an atypical X chromosome-linked severe combined immunodeficiency with peripheral T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 9466-9470.
- Gray, P.E. et al. (2015). A novel intronic splice site deletion of the IL-2 receptor common gamma chain results in expression of a dysfunctional protein and T-cell-positive X-linked Severe combined immunodeficiency. *Int J Immunogenet* 42, 11-14.

時代の先端を目指す研究者へのサポート

ベトナム・中国産 カニクイザル
中国・米国産 アカゲザル

Hannover Wistar Rat
RccHan™ : WIST

CRP.VAビーグル
CRP交雑犬
CRPハウンド

◎預り飼育 ◎非GLP受託試験 ◎各種実験動物 ◎実験動物器具器材

JLA 株式会社 日本医科学動物資材研究所

〒179-0074 東京都練馬区春日町6丁目10番40号
TEL. 03(3990)3303 FAX. 03(3998)2243
URL: <http://www.jla-net.com/> E-Mail: nikagaku@jla-net.com

MHCハプロタイプの 明らかなカニクイザルコロニーの 確立を目指して

滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
中村 紳一郎、土屋 英明

はじめに

カニクイザルは現在、東南アジア諸国および中国から輸入され、日本の多くの機関で種々の医科学用試験に用いられている。カニクイザルを用いる試験には大きく2つの方向性があり、一方は安全性試験のように実験個体の遺伝的多様性は容認されるもの、他方は基礎研究のように遺伝的多様性が容認されない、例えばげっ歯類に近いような試験が望まれるものがある。私たちが所属するような大学では、後者を要望する研究者が多い。

ご存じの通り、実験動物学の原則の中に確実な実験動物の必要条件として、①環境統御、②微生物学的統御、③遺伝的統御があげられる。①、②はハードウェアの充実化、適切な施設運用などで、比較的容易に達成できる。しかし③は兄妹交配を繰り返すことが必要となるため、基本的にはげっ歯類に限定された条件となってしまう。すなわちサル類では、世代交代に要する時間、奇形等の発生の可能性の高さなどから、げっ歯類と同じ方法での整備方法は不可能である。しかしヒトとの共通性が高く、結果の外挿がしやすいことから、条件は満たされないなが

らもサル類はこれまで「実験動物」のカテゴリーに入れ、用いられてきたのが実情である。

動物実験を簡単に現すと、投与物質や施術に対する生体反応を見ることがある。種々の生体反応の中で重要な一つが免疫反応、その応答の起点を担うのが主要組織適合性抗原複合体遺伝子(MHC)である。マウスの近交系では世代を重ねる近親交配でMHCを含めた遺伝子が均一化されるため、個体差の少ない免疫反応が期待できると共に、同系統由来の細胞移植が可能となる。一方で近親交配が困難な他の動物種でも、このMHCだけを均一化すれば「遺伝的統御」が達成され、げっ歯類のような免疫反応や細胞移植の実験が可能になるのではないか、というアイデアがでてきた。そこで大規模な個体数の遺伝子解析から特定のハプロタイプを選択し、同じハプロタイプを持つもの同士を交配することでMHCが均一化された個体群を得るといった戦略がとられたのがブタである。実際、産子の多いこともあり、MHCが明らかなクラウン系ミニブタが確立されている(Sahara H 2010)。

しかし産子が少ないサル類では

ブタと同じような展開は期待できない。本項では、実験動物としての「遺伝的統御」に対して欠点ばかりのサル類で、どのようにMHCハプロタイプが明らかなコロニーを形成していこうとしているのか、取り組みについて紹介する。

MHCの遺伝子検索

実はサル類では、MHCハプロタイプの遺伝的検索は、かなり以前から行われている。エイズの病態がMHCハプロタイプの違いによって免疫反応が異なる(Gao X 2001)、という知見を受けてサル類でのエイズモデルとして頻繁に利用されていたアカゲザルのMHCについて調べられるようになった(Tanaka-Takahashi Y 2007)。こういった研究の中で「細胞移植実験などへの応用が可能」(Li W 2012)、という言及もあるが、特定のMHCハプロタイプのサルを繁殖させて、広く実験応用できる「実験動物」としての実現化に関しては、大きな動きがなかったのが実情だ。欧米で、そしてエイズ研究に多く使われているアカゲザルは、生産場所によっては季節繁殖となり産子数の減少に影響するだけでなく、生産施設もカニクイザル施

設より少ないことから、遺伝統御された「実験動物」化は困難と思われるれていたのかもしれない。

一方でES細胞、そしてiPS細胞の発見による再生医療の熱も帯び始めてきた中、最も医科学実験に汎用されているサル種、カニクイザルのMHC解析が、再生医療の橋渡しの研究のために必要だろうという議論が生じた。実際、ヒトiPS細胞ストックプロジェクトではMHCを明らかにした上でストックし、どんなMHCハプロタイプの患者がレシピエントとなっても、対応可能な体制を取るようになっている(<https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/stock.html>)。そのサロゲートとしての試験研究が可能になるよう、私たちのMHCハプロタイプの明らかなカニクイザルコロニーの確立に関わる作業が始まった。

最初は遺伝子の絞り込みが必要である。原産国の多くの生産施設では、主にハーレム形式で効率的に産子を得る手法をとっている。すなわち使用されたオスの種類が多いほど、オス由来のアリルは多様となり、結果として産子のハプロタイプの多様性も広がることが予測される。そこで、各生産国のカニクイザルMHCハプロタイプの多様性を調べたところ、フィリピン産が最も多様性が少なかった(Blancher A 2014, Kita YF 2009, Watanabe A 2007)(図1)。またフィリピン産には非常に少数ではあるが、MHCのアリルが相同の個体も見つかった。地元で聞いた話だと、フィリピンにあったいくつかの生産施設のアルファ Maleが、すべ

移植免疫に関わるMHCはヒトと同じようなバラエティが存在 主要組織適合遺伝子複合体(MHC)

移植成立の必要条件

→移植細胞MHCと受容個体MHC一方のアリルが一致(後述)

ヒトHLAを元にした タイピング

Mafa-A1
Mafa-B
Mafa-DRA
Mafa-DRB
Msat_DP
Msat_DQ
Msat_DR
Msat_B
Msat_A

を選抜

	アリル計	ベトナム	インドネシア	フィリピン
Mafa-A1	40	26	23	12
Mafa-B	22	17	-	12
Mafa-DRA	134配列	84	60	35
Mafa-DRB	76	34	32	13
Msat_DP	17	13	15	11
Msat_DQ	13	11	12	7
Msat_DR	19	13	15	10
Msat_B	7	5	7	5
Msat_A	7	7	5	3

MHC領域内に設定したマイクロサテライトマーカー

バラエティが少ない方が、MHCアリル一致個体の選び出しが容易

図1

てミンダナオ島の限られた集団に由来することが要因のようだ。

産子数の少なさをカバーするのは、世界でも数少ないサル類の顕微授精-胚移植法が実施可能な、当施設の技術である。特定のMHCハプロタイプのフィリピン産メスカニクイザルから卵子を得、やはりMHCハプロタイプの明らかな精子を顕微授精し、レシピエントサルへ移植する。同時に複数の受精卵が得られるので、時期が適切な複数のレシピエントがいれば同時に複数の産子が得られるし、移植しない受精卵は凍結保存し、適当な時期に改めて移植をすることも可能である。このような形でMHCハプロタイプが予測された産子を効率よく繁殖しているところである。

繁殖資源の獲得

ただし上記の遺伝子調査を行ったときの個体数で、特定のMHCハプロタイプを持つ産子を増やす

ことは困難である。この先は目的のMHCハプロタイプを持つフィリピン産カニクイザルを、恣意的に導入しなければ繁殖の大元となる卵子が得られない。メスの場合は卵子を得るため個体そのものを輸入するしかないが、オスの場合は個体を輸入できなければ、現地で精液採取し、日本へ移送する、といった方法も可能である。これを実現するためには、先ずフィリピンへ行って生産施設にいるほぼすべての個体から採血し、遺伝子解析の後、目的の遺伝子を有する個体を積極的に輸入する必要がある。目的の遺伝子を持っているオスザルが輸入できない場合は、再び現地へ精液採取の方法を教授し、私たちが滞在している間に採取できればいいが、できなかった場合は現地スタッフに採取トレーニングを継続してもらおう。実際、精液採取のトレーニングのために繰り返し訪問を行っている。

実はこういった現地で材料を得ることが、非常に困難な作業なのである。まず生産施設には材料採取に必要な資材がない。試薬や遠心機、サンプルチューブに梱包用のケース、精液採取用の電気刺激装置などは予めこちらから送付する必要がある。そして現地への移動も大変だ。施設はフィリピンのミンドロ島にある。早朝に滋賀を発ち、午前のマニラ行きの飛行機に乗り、ルソン島内を車で移動。ミンドロ島へはフェリーに乗り(図2)、ミンドロ島内で車に数時間揺られ、日付も変わりそうな頃ようやく現地へ到着する。生産施設はこのような熱帯の森林を切り開いた場所である(図3)。翌日、現地スタッフと打ち合わせを行い、数日間かけて採血、精液採取などを行い、梱包する(図4)。当然、生体由来の材料であってもワシントン条約(CITES)に基づく手続きが必要である。手続きが完了するまで現地でサンプルは保管され、すべて完了すると日本へ発送され、遺伝子解析が行われる。

その後、目的のMHCハプロタイプを持つ個体が見つかったら、その個体を輸入する手続きに入る。しかし生産施設は日本とだけ取引をしているわけでないので、せっかく遺伝子検査をしても、場合によっては目的の個体が手続きの間に他国機関への販売対象になってしまうのが、確保の難しい点である。とまれ輸入可能な目的個体はフィリピンでの約30日の輸出検査後、空輸され、着地空港から本学へ陸送され、当施設の輸入検査検



図2



図3

査施設で約30日間の輸入検査検査後、ようやく実験個体として利用が可能になる。

問題点

しかしこのカニクイザルコロニーの整備には2つの大きな問題があり、ここ2年間フィリピンからの輸入が行われていない。私たちは現存のフィリピン産サルで細々と繁殖を続けているが、いつ手持ちの資源が枯渇してもおかしくない状態である。

一つの問題は、諸般の事情からサル類をはじめ中大実験動物の空輸が困難になり、特にフィリピンからのカニクイザル空輸は完全に止まったことである。二つ目は時期を近くして、フィリピンの生産施設にて、エボラウイルス・レストン株の発生が疑われたため、フィリピンからの輸入だけが部分的に停止されたことである。いずれも解決のためには行政と関連機関の力が必要である。ただ、アカデミアの私たちには力の及ばないところが多い。本誌あるいは日本実験動物協会の支持母体である国内実験動物生産の各機関のご尽力、ご協力をいただき、行政等を動かしていただきたい。私たちはこのサルコロニーの充実化が医科学の発展



図4

のため、いかに重要であることか、またそのための繁殖母群の枯渇が吃緊の問題であることを訴え続けたいと考えている。

これから・・・

現在、MHCハプロタイプの明らかなカニクイザルを利用するための各機関の環境が整っているわけではないため、年間の供給数は一桁代である。従って現状は、国の研究費を原資とした利益を望まない形で成り立っている。一方、これからiPS細胞を用いる再生医療は劇的に発展すると予測され、サル類を用いた橋渡し研究は臨床応用のために不可欠と思われる。そういった研究利用のリクエストが増えた時、アカデミアがベースとなっている現生産体制では十分な供給が不可能と思われる。もう一点、空輸、エボラ・レストンの問題が生じ、海外に生産拠があることのリスクを考慮すると、国内生産拠点という視野も必要かも

しれない。ただサル類の国内生産にチャレンジした機関のお話を聞く限り、国内産は経済的にペイできないとのことだった。ナショナルバイオリソースのような国家プロジェクトを動かす、ベンチャーを興すなど、何らかのこれまでとは異なる資本形態が必要と思われる。これらについては、やはり国内実験動物生産の各機関のお知恵を拜借したい。

最後に、フィリピン生産施設での材料採取、CITES等には株式会社イナリサーチの多大な協力をいただいたことに深謝する。本研究の一部は独立行政法人科学技術振興機構(JST) A-STEPシーズ顕在化研究による同社と本学との協働で実施されたことをお断りしておく。

参考文献

Blancher A, Aarnink A, Yamada Y, Tanaka K, Yamanaka H, Shiina T. Study of MHC class II region polymorphism in the Filipino cynomolgus macaque population. Immunogenetics. 2014 Apr;66(4):219-30.

Gao X, Nelson GW, Karacki P, Martin MP, Phair J, Kaslow R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, O'Brien SJ, Carrington M. Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. N Engl J Med. 2001 May 31;344(22):1668-75.

Kita YF, Hosomichi K, Kohara S, Itoh Y, Ogasawara K, Tsuchiya H, Torii R, Inoko H, Blancher A, Kulski JK, Shiina T. MHC class I A loci polymorphism and diversity in three Southeast Asian populations of cynomolgus macaque. Immunogenetics. 2009 Sep;61(9):635-48.

Li W, Wang T, Ling F, Zhao H, Wei L, Zhuo M, Du H, Wang X. Identification of MhcMafa-DRB alleles in a cohort of cynomolgus macaques of Vietnamese origin. Am J Primatol. 2012 Oct;74(10):958-66.

Sahara H, Shimizu A, Setoyama K, Oku M, Okumi M, Nishimura H, Oriyanhan W, Tasaki M, Scalea J, Wada H, Bando T, Date H, Yamada K. Beneficial effects of perioperative low-dose inhaled carbon monoxide on pulmonary allograft survival in MHC-inbred CLAWN miniature swine. Transplantation. 2010 Dec 27;90(12):1336-43.

Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, Matano T, Mori K, Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A. Reference strand-mediated conformation analysis-based typing of multiple alleles in the rhesus macaque MHC class I Mamu-A and Mamu-B loci. Electrophoresis. 2007 Mar;28(6):918-24.

Watanabe A, Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K, Yanagiya K, Kita YF, Kimura T, Soeda E, Torii R, Ogasawara K, Kulski JK, Inoko H. A BAC-based contig map of the cynomolgus macaque (Macaca fascicularis) major histocompatibility complex genomic region. Genomics. 2007 Mar;89(3):402-12.

私たちは「実験動物技術者集団」です。

We are Technologist of Laboratory Animals.

みなさまの開発・研究のためのパートナーとして、医療や科学の明るい未来のお手伝いを致します。

- 実験動物総合受託事業
- 技術者派遣事業
- 職業紹介事業



本社 〒160-0022 東京都新宿区新宿5丁目18番14号 新宿北西ビル7階 TEL 03-6457-3751 FAX 03-6457-3752
 西日本事業部 〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田1丁目11番4-1100号 大阪駅前第四ビル11階10号室 TEL 06-4799-9820 FAX 06-4799-9011
 九州事業部 〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神5丁目5番8号 福桜ビル5階 TEL 092-753-6697 FAX 092-753-6698

【一般労働者派遣事業（般）13-080297】
 【有料職業紹介事業 13-コ-080309】

 株式会社 アニマルケア
 www.animal-care.co.jp

●お気軽にお問い合わせください

 0120-011419

私の研究

カイコの実験動物としての有用性

帝京大学 医真菌研究センター 教授
株式会社ゲノム創薬研究所 顧問
関水 和久

緒言

私は、カイコの新たな実験動物としての有用性を読者諸兄に理解していただきたいと思い、本稿を執筆することとした。カイコは、姿、形がヒトとは随分違っているが、薬の効き方という観点からすれば、驚くほどヒトとの共通性がある。カイコを新しい実験動物として見直し、医薬品の探索に役立てようというのが私の狙いである。

ヒトにあってカイコにない、生物としての機能は、意外に限られている。カイコの血液は、ヒトの赤い血液とは違い、淡黄色透明で、赤血球がない。体細胞への酸素の供給は、発達した気管によっている。さらに、カイコの血液には、ヒトの免疫で重要な抗体が存在していない。カイコには、抗体の遺伝子が存在していないのである。したがって、カイコには抗体による獲得免疫機構が存在しない。しかしながら、カイコには自然免疫と呼ばれる免疫系が発達しており、自らの体内に侵入してきた病原体を異物として識別し、排除する。最近の自然免疫に関わるToll受容体の発見は、カイコと同じ昆虫であるショウジョウバエを用いた研究によりなされた。さらに、カイコのような無脊椎動物には骨がない。そのため、骨粗しょう症の研究をカイコで行うことは難しい。しかしながら、その他ほとんどのヒトの臓器について、例えば脳や神経系、筋肉、

消化管、肝臓、腎臓など、カイコにも類似の機能を担う臓器や器官が存在しているのである。

ヒトの臓器が果たす機能を有する臓器がカイコにもある、ということは、ヒトが苦しむ様々な病気のモデルを、カイコで作ることができることを意味している。後述するように、実際に私たちは、感染症や糖尿病などの疾患モデルをカイコで構築し、それに対する医薬品の治療効果が哺乳動物での結果と色々な点で一致することを見出し、報告している。

従来、医薬品の治療効果を評価するモデル動物としては、マウスやラットなどの哺乳動物が使われてきた。しかしながら、医薬品開発のために多数の哺乳動物を犠牲にすることは、コストばかりでなく、動物愛護の観点からも、問題にされるようになった。私は、カイコを、哺乳動物を使う前の探索段階で使用し、犠牲にせねばならない哺乳動物の数を減らす創薬手法を「カイコ創薬」として提案したい。

(1) 実験動物としてのカイコ

1-1 カイコに対する血液内注射法の確立

カイコを医薬品の治療効果を評価するための実験動物として使用する

にあたって、病原性細菌や治療薬を、カイコの血液内に注射する方法の確立が必要であった。実際には、この段階で1年以上の時間を費やしてしまった。

エサを与えたカイコでは、腸管内に取り込まれた食べ物は、ペリトロフィックメンブレンと呼ばれる、透明なキチン膜の袋に入っており、それを断頭したカイコの体内から、ピンセットで取り出すことが容易にできる。この時、体腔側には、腸管がそのまま残っている。この方法を用いて、カイコに注射した赤インクの存在部位を観察すると、ほとんどの場合、赤インクはペリトロフィックメンブレン内に見出され、血液が存在する体腔側には見出されなかったのである。

試行錯誤を繰り返した結果、背中側からツベルクリンシリンジで、内側の腸管に傷をつけないよう注意して注射すると(図1)、注



図1. カイコの血液内注射
ツベルクリンシリンジを用いて、サンプルをカイコの背中側の皮下に、腸管を傷つけないように注射すると、血液内注射が成立する。

射直後に体全体に赤インクが広がるのが分かった。この時、腸管内容物を取り出しても、赤インクは全く見出されなかった。このカイコへの血液内注射方法の確立は、その後の研究展開において、鍵となるものであった。

1-2 カイコの細菌感染モデル

長い間、ヒトを含む哺乳動物に感染する病原性細菌の病原性を、カイコのような無脊椎動物を用いて研究することはできない、とされてきた。歴代の細菌学者は、モルモットなどの哺乳動物を実験動物として選び、カイコを用いた病原性の研究は全くと言って良いほど行われなかったのである。私たちは、ヒトの病原性細菌である黄色ブドウ球菌をカイコの血液内に注射すると、カイコが感染死することを見出した(図2)。カイコの体内で、黄色ブドウ球菌は指数的に増殖したのである。黄色ブドウ球菌、緑膿菌、コレラ菌などのほとんどのヒトに病原性を示す細菌は、カイコを殺傷する。これに対して、病原性がないとされている、大腸菌のK株や、パン酵母を注射してもカイコは殺傷されない。これらの結果は、カイコの系を用いて、ヒトに対する病原性細菌の病原性を評価できることを示唆している。

さらに私たちは、黄色ブドウ球菌の病原性発現機構の解明を目指し、研究を行った。黄色ブドウ球菌は、日和見感染症の原因菌であり、敗血症という大変重篤な病気を引き起こす。最近、MRSAと呼ばれる多剤耐性の黄色ブドウ球菌

生理食塩水注射

黄色ブドウ球菌注射



図2. カイコ感染モデル Kaito *et al.*, Microb Pathog. (2002)
黄色ブドウ球菌の生菌をカイコの血液内に注射すると、2日以内にカイコは死亡する。死亡したカイコの黒色化は、体液内で起こるメラニン化反応の結果である。

による院内感染が、医療現場における深刻な問題となっている。この菌は、様々な毒素を放出することが知られているが、この菌がヒトの体内で病原性を発揮するメカニズムについての詳細な理解はなされていなかった。

私たちは、カイコの感染モデルを用いて、黄色ブドウ球菌の病原性に必要な遺伝子の同定を試みた。黄色ブドウ球菌の機能未知遺伝子の中で、他の病原性細菌にも共通した遺伝子を選び出し、それらの遺伝子欠失株を作成し、カイコの血液内に注射した。その結果、野生株に比べ、病原性が低下した3つの株を得ることができた。それぞれの株で欠失させた遺伝子に対して、私たちはそれぞれ、*cvfA*, *cvfB*, 及び、*cvfC*と命名した。

cvfA, *cvfB*, 及び、*cvfC* 遺伝子の欠失株のLD₅₀値は、マウスにおいても野生株に比べて高い値を示した。この結果は、これらの遺伝子欠失株の病原性は、カイコばかりでなく、マウスにおいても低下していることを示している。した

がって、カイコは哺乳動物に対する病原性を理解するための実験動物となることが分かったのである。

cvfA, *cvfB*, 及び、*cvfC* 遺伝子の欠失株では、溶血毒素やヌクレアーゼ、プロテアーゼのような細胞外毒素の産生量が低下していた。したがって、これらの遺伝子は、細胞外毒素の産生に必要な遺伝子である。私たちは、これらの遺伝子の産物が、黄色ブドウ球菌が宿主内の環境を認識し、病原性を発動する上に、制御因子として働いている可能性を考えている。

遺伝子を欠失させた変異株の病原性をカイコで検討することにより、私たちは機能未知とされていた幾つかの遺伝子が黄色ブドウ球菌の病原性に必要であることを明らかにした。この研究手法は、他の病原性細菌にも適用可能な、病原性発現機構の理解に役立つと期待される。

1-3 薬物の腸管吸収のアッセイ系

先に述べたように、ペリトロフィックメンブレンを除いたカイコの体内には、腸管が残っている。私

たちは、この腸管を用いて、薬物の吸収を検討できないかと考えた。

腸管を丁寧に取り出せば、チューブ状となっている。その両端を糸で縛れば、袋状となり、腸管内部の物質が血液側に輸送される過程を観察することができる。摘出した腸管の一方を糸で縛り、中に薬液を注入し、さらに糸で縛って袋状にし、適当なバッファの中に入れて投入すれば、薬の腸管透過系が完成する。適当な方法で外液中の薬の濃度を測定すれば、薬の透過速度を求めることができる。

抗生物質のような医薬品が経口投与で治療効果を示すか否かを決める鍵は、腸管吸収性の有無にある。ヒトの臨床において、クロラムフェニコールは経口で治療効果を示すが、バンコマイシンは治療効果を示さない。これは、前者は腸管から吸収されるが、後者はされないことに起因している。私たちは、これらの抗生物質の腸管吸収性の有無が、カイコにおいても見られるか否かを検討した。その結果、試験管内での摘出腸管を用いた透過系において、クロラムフェニコールは透過するが、バンコマイシンは透過しないことが判明した。さらに、これらの抗生物質を生きたカイコの腸管内に注射し、血液への出現の有無を調べた。その結果、クロラムフェニコールは血液内に現れるが、バンコマイシンは現れないという結果が得られた。すなわち、試験管内でも、また生きたカイコにおいても、それぞれの抗生物質の腸管透過性の有無は、カイコとヒトで一致して

いるのである。

次に私たちは、これらの抗生物質の経口投与による治療効果の有無を調べた。クロラムフェニコール及びテトラサイクリンは、ヒトにおいて経口投与で治療効果を示す。一方、バンコマイシンやカナマイシンは、腸管から吸収されず、経口では治療効果を示さない。カイコの黄色ブドウ球菌感染モデルでのこれらの抗生物質の治療効果を、血液内注射*i.v.*、腸管内注射*i.m.*及び、エサへの混入*p.o.*により検討した。いずれの抗生物質も、血液内注射では治療効果を示した。クロラムフェニコールとテトラサイクリンは、腸管内注射、エサへの混入のいずれにおいても治療効果を示したが、バンコマイシンとカナマイシンは、腸管内注射及びエサへの混入いずれの場合も治療効果を示さなかった。この結果は、ヒトにおける医薬品の経口投与での治療効果の有無が、カイコでも一致して見られることを意味している。

1-4 薬物の代謝試験

代謝は、医薬品の治療効果の有無を決定づける重要な要素である。私たちは、カイコを用いて、ヒト臨床での医薬品の治療効果の有無を予測するためには、カイコにおける薬物代謝を理解することが重要であると考え、以下の研究を行った。

エトキシマリンは、哺乳動物における薬物代謝を理解する上で、モデル化合物として利用される。哺乳動物においてこの化合物は、肝臓においてチトクローム

P450により触媒される脱エトキシ化反応を受け、さらに硫酸抱合あるいは、グルクロン酸抱合を受け、尿中に排泄される。すなわち、チトクロームP450による第一相の代謝と、抱合酵素による第二相の代謝を受け、水溶性が高い物質に変換されて排泄される。私たちは、エトキシマリンを注射後のカイコの血液の分析により、これら第一相及び第二相の代謝反応がカイコにおいても起きていることを見出した。カイコでは、抱合はグルコースとの結合反応であった。したがって、詳細では違いがあるものの、より水溶性が高い物質へと変換され、排泄される薬物代謝の過程の大筋は、ヒトとカイコで共通しているのである。薬物の代謝がカイコとヒトで共通しているという点は、薬物の体内動態が二つの動物で共通していることを意味しており、ヒトでの治療効果の有無をカイコで予測することが可能であることを示唆している。

1-5 毒性試験

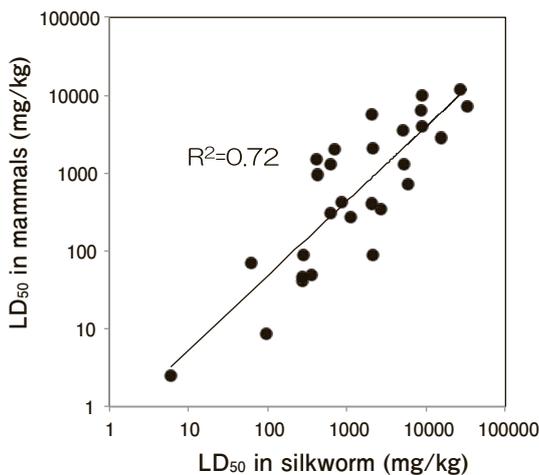
近年、医薬品や化粧品に含まれる化合物の毒性試験で哺乳動物を犠牲にすることについては強い制限がかけられるようになってきている。そのため、無脊椎動物を使った試験法の確立が喫緊の課題となっている。吸収や代謝などの、薬物の体内動態に影響を与える要因が、カイコとヒトで共通しているという結果は、医薬品の治療効果ばかりでなく、毒性においても、両者で共通した結果を得ることができることを示唆している。

私たちは、OECDがモデル動物における毒性試験を推奨している化合物について、カイコにおけるLD₅₀値を求め、マウスやラットでの値と比較した。その結果、図3に示すように両者の相関性が立証された。私たちは、カイコを用いた毒性試験を、哺乳動物による試験の前段階として取り入れることにより、犠牲にせねばならない哺乳動物の数を減らすことができると考えている。

(2) カイコ病態モデルを用いた治療薬の探索

2-1 感染モデルによる抗菌治療薬の探索

先に述べた、カイコの細菌感染モデルの特長は、抗生剤の治療効果を評価できる点である。感染により死亡するカイコの半数を生存させる量をED₅₀として求め、マウスでの値と比較すると、異なる抗生物質について、よく一致していることが分かった(図4)。この



Usui K et. al. *Drug discoveries & therapeutics*, 10, 57-61 (2016)

図3. 毒性試験

OECDがモデル動物の毒性試験の検定に推奨する化合物について、カイコに対するLD₅₀とマウスやラットに対するLD₅₀の相関の有無を調べた。

結果は、マウスを使わずとも、カイコを使って、抗生剤の治療効果の有無を予測することができることを意味している。

私たちは、このカイコの感染・治療系を用いて、治療効果のある新規抗生物質の発見を目指した(図5)。日本全国から土壌を収集し、1万4千個以上の菌液から2700個以上の黄色ブドウ球菌に対して抗菌活性を示すサンプルを選別し、さらに、カイコの感染モデルで治療効果を示す23個を絞り込み、精製して構造を決定した。その中に、新規の構造を有する、ライソシンEを見出すことに成功したのである。

バンコマイシンは、MRSA感染症の治療薬として臨床で使われている抗生物質である。試験管内での抗菌活性に必要なライソシンEの濃度(MIC値)は、バンコマイシンよりも大きかった。しかしながら、マウスの黄色ブドウ球菌の感染モデルにおける、治療に必要な

量ED₅₀値は、バンコマイシンよりも小さい値を示した。この結果は、ライソシンEが非常に良好な体内動態を示す抗生物質であることを意味している。また、ライソシンEのマウスに対する急性毒性は、400mg/Kg以上でも現れず、毒性が弱いことも示唆された。

2-2 糖尿病モデル

カイコが糖尿病になる、と聞いてびっくりさ

れる読者がおられることと思う。最初に述べたように、カイコも血液を有しており、血糖値の維持は、カイコ個体の健康を維持する上で重要である。カイコにブドウ糖を含む餌を与えると、30分以内に血糖値の上昇が見られる(図6)。血糖値が上昇したカイコは、成長阻害を引き起こす。すなわち、血糖値の上昇は、カイコにとって有害である。

私たちは、血糖値が上昇したカイコに、ヒトのインシュリンを注射すると、血糖値が低下することを見出した。カイコには、ボンビキシンというインシュリンに似た構造を有するホルモンが存在する。これまで、ボンビキシンのカイコの血糖値維持における役割は不明であったが、血糖値降下作用があると考えられる。

ヒトのインシュリンがカイコに対して血糖値降下作用を示すという結果は、カイコにもヒトと同じインシュリン経路が存在していることを示唆している。実際に私たちは、組織培養したカイコの脂肪体を用いて、脂肪体細胞がインシュリンに反応して、哺乳動物で見られる、Aktタンパク質のリン酸化反応を引き起こすことを見出している。カイコの高血糖モデルは、糖尿病治療に有効な、血糖値降下作用物質を探索する上で有用であると期待される。

結語

以上私は、カイコを用いて、感染モデルや高血糖モデルを構築し、医薬品の治療効果を評価することが可能であることを述べてき

抗生物質	ED ₅₀ (mg/kg · animal)	
	カイコ幼虫	マウス
テイコプラニン	0.3	0.1
バンコマイシン	0.3	1
ミノサイクリン	4	1
フロモキシフ	0.2	0.3
リネゾリド	9	4

図4. カイコ感染モデルを用いた抗生物質の治療効果の評価
臨床で使われている抗生物質について、カイコ及びマウスの感染モデルでの治療有効量 ED₅₀ を比較した。

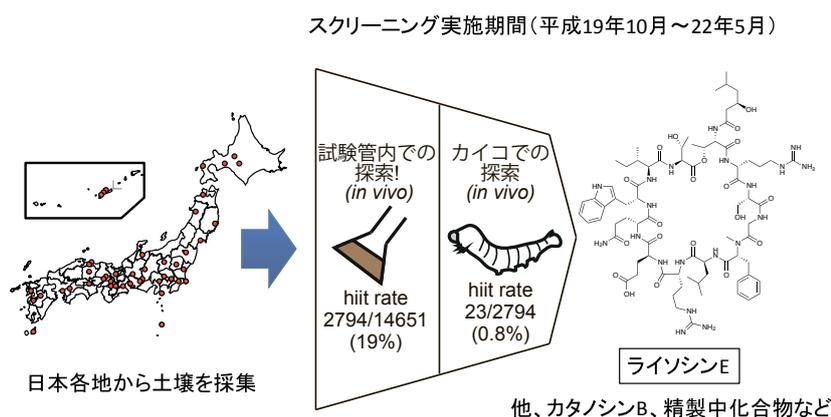
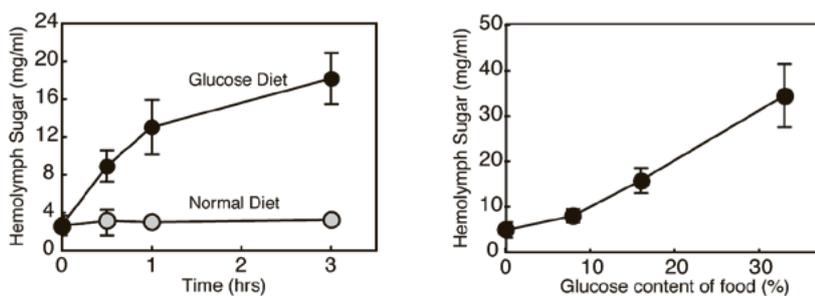


図5. 天然物からのスクリーニング
土壌細菌の培養上清中の抗菌活性測定を1次スクリーニング、カイコでの治療効果検定を2次スクリーニングとして実施し、治療活性のある抗生物質ライソシンEを得た。ライソシンEは構造新規の環状リポペプチドである。



→ 給餌時間と餌の糖の含量を調節することでカイコ幼虫を高血糖状態にすることができる。

図6. 餌へのブドウ糖の添加によるカイコの血糖値の上昇
カイコに高濃度(10%)のブドウ糖を含む餌を与えると、血糖値の上昇が見られる(左図)。血糖値上昇効果は、餌中のブドウ糖濃度に依存している(右図)。

た。従来、医薬品の評価動物としては、マウスやラットなどの哺乳動物が使われてきた。しかしながら、哺乳動物を多く実験に使うことは、コストの問題ばかりでなく、動物愛護の視点からの問題が指摘

されており、医薬品開発を阻害する要因になっている。私は、カイコを代替実験動物として、医薬品開発において、哺乳動物を使う前の段階で利用することを「カイコ創薬」として提唱したいと思う。

それにより、犠牲にせねばならない哺乳動物の数を激減させることが可能になる。私は、「カイコ創薬」の発展により、病気で苦しむ患者さんに治療効果のある医薬品が届くよう、切に願っている。

謝辞

本研究は、東京大学大学院薬学系研究科並びに帝京大学医真菌研究センターにおいて、多くの研究者の協力を得て実施された。研究室の学生諸君、スタッフ、並びに、産学連携に共同研究者として参加して下さった株式会社ゲノム創薬研究所の皆さんに、心から御礼申し上げる。

文献

- (1) Kaito C., Akimitsu N., Watanabe H., Sekimizu K., *Microb Pathog.* 32, 183-190 (2002).
- (2) Kaito C., Kurokawa K., Matsumoto Y., Terao Y., Kawabata S., Hamada S., Sekimizu K., *Mol Microbiol.* 56, 934-944 (2005).
- (3) Hamamoto H., Kurokawa K., Kaito C., Kamura K., Manitra Razanajatovo I., Kusuhara H., Santa T., Sekimizu K., *Antimicrob Agents Chemother.* 48, 774-779 (2004).
- (4) Hamamoto H., Tonoike A., Narushima K., Horie R., Sekimizu K., *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 149, 334-339 (2009).
- (5) Usui K., Nishida S., Sugita T., Ueki T., Matsumoto Y., Okumura H., Sekimizu K., *Drug discoveries & therapeutics.* 10, 57-61 (2016).
- (6) Hamamoto H., Urai M., Ishii K., Yasukawa J., Paudel A., Murai M., Kaji T., Kuranaga T., Hamase K., Katsu T., Su J., Adachi T., Uchida R., Tomoda H., Yamada M., Souma M., Kurihara H., Inoue M., Sekimizu K., *Nature chemical biology.* 11, 127-133 (2015).
- (7) Matsumoto Y., Sumiya E., Sugita T., Sekimizu K., *PLoS One.* 6, e18292 (2011).



2016華南実験動物科学 国際シンポジウム in 広州

九州大学大学院 実験動物学分野 教授
九州実験動物研究会 海外交流委員長
小野 悦郎

2016年8月21～23日に広州において「2016華南実験動物科学国際シンポジウム」が開催され、九州実験動物研究会海外交流委員長として参加いたしましたので、そのシンポジウムのご報告と広州について紹介いたします。

◎広州白雲国際空港にて

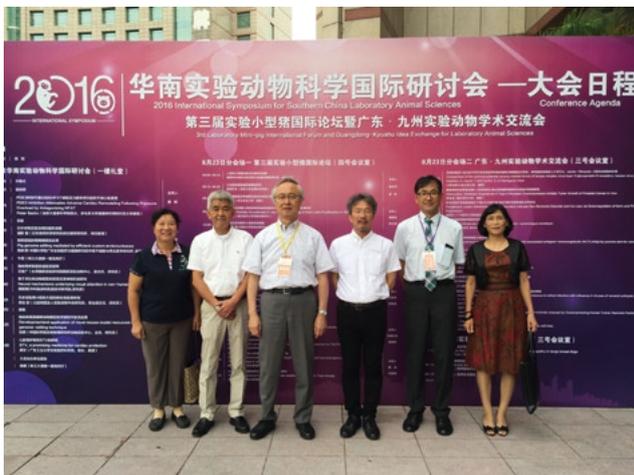
広州へは羽田から直行便で5時間弱です。8月21日午後1時頃に無事に広州白雲国際空港に到着しましたが、到着ロビーに出ると天気が急変し強烈なスコールと

なっていました。迎えに来ていただいた肇慶創薬生物科技有限公司の劉艶薇先生と供に、約1時間後に到着予定の日本実験動物学会理事長で自然科学研究機構生理学研究特任教授の浦野徹先生と実験動物中央研究所の高倉彰先生をお待ちすることになりました。しかしながら、お二人の先生は一向に現れず、空港内のレストランで只管お待ちすることになりました。後で分かったことですが、強烈なスコールによる悪天候のため、お二人の乗った航空

機は広州白雲国際空港に着陸できず、広州から飛行機で1時間程のところにある厦門国際空港に一旦着陸し、その後広州に戻ったとのことで、約5時間後、漸くお二人にお会いすることができました。

◎2016華南実験動物科学国際シンポジウムについて

2016華南実験動物科学国際シンポジウムは、広東省実験動物学会の黄勳理事長と中国実験動物学会ミニブタ専門委員会の顧为





望教授が中心となって企画された国際シンポジウムで、広州市の珠江賓館で開催されました。22日には、中国内外の専門家による講演があり、日本からは、浦野先生が「日本における動物実験関連の規制に関する最新情報」、高倉先生は「日本でのマウス・ラットに関する微生物モニタリング体制」について、ご講演されました。その他、カナダから2題、台湾から1題および中国から3題の講演がありました。23日は、2つの会場に分かれ、第3回実験ミニブダ国際会議及び広東・九州実験動物学術交流会が行われました。

シンポジウムに関する中国での記事は、http://www.lascn.com/Category_1891/Index.aspxをご参照ください。

◎広東・九州実験動物学術交流会

会場の珠江賓館は、元々中国軍関係の宿泊施設ということで立派な建物でした。また、隣接して軍の施設もあり、軍人がランニングする姿も見受けられました。個人的には、同時に行われていたミニブダ国際会議に興味がありま

したが、今回は、広東省実験動物学会と九州実験動物研究会との学術交流会ということで、広東・九州実験動物学術交流会に参加し、研究発表をさせていただきました。予め選ばれた演題の口頭発表とポスターによる発表がなされました。

九州実験動物研究会からは、私のように(株)新日本科学の和泉先生が口頭発表されました。参加者の多くは、若手研究者や学生で、非常に熱心で質疑応答に積極的に参加していたのが印象に残っています。

◎学術交流協定について

広東省実験動物学会と九州実験動物研究会の間には、学術交流協定が締結されており、第1回学術交流会が平成14年に佐賀市で開催されています。その当時の経緯につきましては、浦野先生がLABIO 21, No. 11, 12-15, 2003に掲載されています。私が九州大学に赴任したのが、平成19年でしたので、活発に交流がなされていた当時のことは全く知らずに、平成23年から海外交流委員長を仰せ

つかって、九州実験動物研究会総会の案内だけを毎年、事務的に広東実験動物学会に送付していました。転機は昨年で、それまで総会案内の中国語への翻訳をお願いしていました劉先生に、広東実験動物学会に学術交流の継続について意見をお伺いしてもらったところ、継続を強く希望するとの回答があり、昨年の福岡での九州実験動物研究会総会に願望教授たちが参加されました。そして、今年も、九州実験動物研究会が広州を訪問することになりました。今後は、隔年の相互訪問を通じて、技術交流や共同研究等に発展していくことが期待されます。既に、来年の鹿児島での九州実験動物研究会総会への広東省実験動物学会関係者の参加が予定されており、受入準備が着々と進んでいます。

◎施設見学

私にとって、広州市は最初の中国でしたが、想像していた中国とは違った印象を受けました。広東省の省都で人口1300万弱の中国第3の大都市で、華南地域全体の

経済、文化、教育、交通などの中心都市です。嘗ての広州をご存知の浦野先生には、ここ数十年の発展は目を見張るものがあるそうです。特に、中心部の高層ビル街には圧倒される程の威圧感まであり、今後益々発展する予感がいたしました。因に、福岡市とは姉妹都市となっております。

当初、施設見学は2カ所予定されていましたが、初日の悪天候によるハプニングにより、黄先生が所長を務める広東省実験動物監測所の見学は出来ませんでした。しかし、そこには大規模な新施設が完成しており、更に隣接する敷地内にもう一棟建設する予定と伺い、中国の経済力に圧倒されました。帰国する日の午前中には、

広東省実験動物センターを見学させていただきました。このセンターでは、実験動物や飼料の生産、供給の他、研究も行っていました。何れの施設も浦野先生が知る嘗ての施設とは雲泥の差があったようです。驚くことに、このセンターも全面移転で新施設が建設される予定とのことでした。新施設建設には、センター長の唐小江先生曰く、資金、人材、スポンサーもあり、全く問題がないとのことでした。

最後になってしまいましたが、今回の広東・九州実験動物学術交



流会の実現に向けて多大なご尽力をいただきました肇慶創業生物科技有限公司の劉艶薇先生に心から感謝いたします。

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー



実験動物飼育管理事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <http://www.kacnet.co.jp/>

イギリス 海外散歩



初めての海外、 ロンドンー感慨と感嘆の日々ー

三協ラボサービス株式会社

中沖 貴宏

2016年9月3日～7日 イギリスのロンドンにおいてERS (European Respiratory Society) international congress 2016 (欧州呼吸器学会議 国際会議2016) = 略称:ERS2016が開催され、出席してきました。

ERSとはSEPCR (1966年設立) とSEP (1981年設立)を前身に1990年にロンドンで設立された呼吸器分野に関する国際組織の一つです。今年の学会で26回目を迎えました。

私が学会にまともに出席するのは初めて(以前に一度、日本実験動物学会のスタッフとしてお手伝い)で、それも海外と言うことで当初はためらいがありまし

た。しかし、せっかく頂戴した機会であり、勤務先の研究のポスターディスカッションが行われること、出席することにより実施している業務の今後にも活用でき、自身のスキルアップにつなげるためにも非常にプラスになるのではないかという考えで参加するに至りました。

イギリスと言えば昨今EUからの離脱問題で世間の注目を集めている国です。海外を初めて経験する私としてはただでさえ不安であるのに加え身の安全などと別の不安もよぎりましたが、事前に情報収集を行っておけば何とかなるだろうと思い、まずは無事に入国審査を受けてホテルまで

たどり着くことを最優先に心の準備をしました。

約12時間のフライトはほぼ定刻で空港に到着、第一関門の入国審査は思っていたよりあっさり通過できました。まずは一安心です。時刻も17時ごろなので、ホテルに直行することとなり、ヒースローエクスプレスでパディントン駅(写真①)まで行き、地下鉄(TUBEとも言います)から次の鉄道へ乗り継ぐ計画でホテルまでと描いていました。ヒースローエクスプレスは快適で、キャリーバック専用置場もあり行程15分ほど、パディントンはターミナル駅なので駅舎も大きく人も多い場所、地下鉄までは案内に従って



写真①パディントン駅



写真② DLR



写真③会場入口にて (筆者)



写真④タワーブリッジで歓迎

進むのですが、途中の通路は狭く階段のみ、大きいキャリーバックでは苦労しました。ようやく改札に着くもトラブル発生、たどり着いた改札口に並ぶ券売機は小銭かクレジットカード(イギリスではクレジットカード社会なので普通に対応しているようです)のみ対応でした。あいにく手持ちのポンドが札のみで、クレジットカードでチャレンジするもICチップがないカードだったので購入できず、結果、近くのコンビニエンスストアにて小銭を得るべく買い物、釣銭の小銭では切符が買えないことが判明し再度買い物、と言ったドタバタで、んー、良い経験なのか、失敗経験なのか、初海外では起こりがちなことをしてしまい、同行者には大変迷惑をかけました。ようやく目的地までの切符を購入し、何とか無事にホテルにたどりつき一安心。夕食を済ませ翌日の為に支度。しかしはかどらず、そして眠れない、時差ぼけなのかと思いながらの就寝となりました。

翌朝、同行者と学会の会場へ出発。ホテルから学会が開催されるExCel London (エクセル展覧会



写真⑤ビックベンと国会議事堂

センター)へはDLR (Docklands Light Railway 写真②)というロンドン東部を走る鉄道を利用しました。日本で言うところの東京を走る「ゆりかもめ」に車輪がついたシステムで、普段は無人運転です。また駅には改札が無く駅員もいません。と言っても車内でたまに乗務員がチケット確認の巡回をしてくるので切符は入手します。そして今回のように学会のようなイベントがあるときや混雑時は駅員や乗務員が配置されるようです。最寄りのカスタムハウス駅では臨時駅員が案内をしてくれました。また駅前にそびえたつ会場へは連絡通路で直結していて、歩道の床面に「ERS」の会場案内シートが非常にわかりやすかったです。

ここでExCel London (写真③)の説明を、テムズ川沿いにある大型のコンベンションセンターで様々な催しが行われ、2012年のロンドン五輪ではボクシング、フェンシング、柔道、卓球、テコンドー、重量挙げ、レスリングなどの競技が行われたそうです。中央のコンコースには食事処が満載でレストラン、カフェ、コンビニ、など20店舗以上が出店していました。

さて、会場に入り(写真④)無事



写真⑥ロンドンアイ

にバーコードリーダーによる登録を済ませ(事前登録をしていたのにチケットが日本に届かないトラブルがありました…よくあるそうです)、次にオイスターカードという鉄道用のICカードを手配していたので交換しに行きました。係員から「30ポンド分入金されている」との丁寧な説明をしていたようですがよく理解できず「イエス、サンキュー」でその場を去り後で理解。とりあえず一安心となりました。

夕方行われるレセプション(歓迎パーティー)まで時間があるので皆で観光することにしました。観光は時間の限りがあったので二階建てのオープントップバスで市内観光。テムズ川沿いを走りビックベン(写真⑤)、ウエストミンスター寺院、ロンドンアイ(写真⑥)、トラファルガー広場、ピカデリーサーカス、などバスの二階からの眺めは良くひと時の癒しとなりました。しかし、市内の道は狭く、昼過ぎからは休日で道路が封鎖され道沿いは観光客でいっぱい。とうとう渋滞となり雨模様、すぐにやみましたが仕方なく途中下車。遅い昼食をとるためピカデリーサーカス付近に行きレストランにてパスタを食べました。その後スーパーで買い物、滞

在期間中の水を確保。次の観光を話し合ったものの途中で道に迷ったことで時間が迫ってきてしまい学会会場へ戻りました。今度の地下鉄はオイスターカード(ICカード)があるのでスムーズに乗車できました。

レセプション(歓迎会)では出迎えにミュージカルが始まり、映像で「映画007」のジェームズボンドに扮し颯爽と登場した大会長が開会の挨拶、その後王室の来賓?(どなたか不明でした)が見えられて、再度ミュージカルへ…、数分毎の演目はオリバー、マイフェアレディー、メリーポピンズ(写真⑦)、マンマミーアなどを鑑賞しました。

学会への経験がほとんどない私としては新鮮に感じながら面白い趣向だなと感心しました。そのあとはフード&ドリンクが出され十分お腹が満たされました。

2日目からは学会に本格的に参加。学会の本番である同行者の発表は最終日になっており、ひとまず個別行動となりました。当然ながら英語漬けのため、プログラムを読み解くのに時間を要しながら気になる演題へと向かいました。とはいえ実験動物飼育管理や実験補助を主とする身分としてはわからないことだらけ、始めは日本人のポスターセッション(写

真⑧)を見て歩くことから、その後メーカーブースをうろつくことの繰り返しでした。途中アンケートの依頼をうかつにも応じてしまい四苦八苦。学習が必要なことは分かっていたはいましたが改めてホテルでの予習を決意しました。日がたつごとに周囲の環境には慣れてきて(英語は話せませんし会話もままならないですが)、ERSアプリを入手し会場内では専用Wi-Fiも使えたので辞書アプリで単語を調べながら日常業務と関連性があると思われる実験動物のポスターセッションやオーラルプレゼンテーションが行われるセッションブースに入り、演題の内容をスライドとともに聴いて回りました。しかし最後まで各演題の内容までは理解できず、単語とスライドを追いかけることで各セッションを終えることとなりました。それでも何か得るものがあるであろうと会場を終始歩き回り、どのような内容の発表なのか演題を見てきたことで十分堪能できました。

また、会場の設営やシステムを見ることでもなるほどと関心を持つこともありました。メーカーブースではコーヒーや紅茶を配布し、参加者は飲物を片手に各セッションを回っていたこと。交通機関との連携(ICカードの発行、

駅内での案内)、事前登録していたのでレジストレーション(登録)ブースではバーコードリーダー対応でスムーズに登録でき、ERSアプリの利用、タブレットでのアンケート、コンパクトなプログラムと会場図といったデジタルからアナログまでの活用は素晴らしいものだと思います。

多くの参加者は当然ですが医療従事者です。演題を読むだけでも実に呼吸器分野に関する様々な研究成果が世界各国から発表されたことは理解できました。実験動物との関連性もさることながら、呼吸器というものがどれだけ医療分野に広くかかわっているか、上気道、気管、気管支の疾患や慢性閉塞性肺疾患(COPD)、がん、喘息(小児喘息)、タバコの害、睡眠時無呼吸症候群など、考えてみれば多くの症状が肺などの呼吸器に関係しているのだなと感じました。

学会中に少し息抜きと言う事で、時間を調整してグリニッジ天文台へ向かいました。夕刻でしたので(とは言っても時期的に十分明るいですが)曇り空ではあるものの限られた時間ということで、下調べ通りの近道に行くためカティーサーク駅からほどなく帆船「カティーサーク」(昔、ティークリッパーとして紅茶を運搬し



写真⑦レセプション(ミュージカル)



写真⑧ポスターセッション風景



写真⑨グリニッジ天文台から眼下を望む

た貨物船)の傍らを通り、観光案内所、旧王立海軍大学の敷地内から国立海事博物館の外観を見つづグリニッジパークへ最後は天文台まで丘を登り到着。無事子午線を確認し振り返ると眼下には公園からテムズ川そしてウォーターフロントのカナリーワフを望むことができました(写真⑨)。忙しい動きでしたがほっと一息つくことができました。地元レストランで夕食をとり、カナリーワフへ移動、運河沿いのバーで一杯をいただき最後のロンドンの夜となりました。

最終日は同行者の研究発表が2題。私もオーサーとして名を連ねていただいております、朝一から始まるポスターディスカッションでしたがやや緊張した面持ちで聴き入りました。何とか順調に進

み、午後過ぎには終了(写真⑩)。早々に空港に向かい余裕をもって空港に到着、無事帰国の途につきました。

動物実験と医療は密接な関係があるものであり、学会に参加したことで飼育管理業務とはまた異なる視野を得ることができたと感じました。今後の業務にもつなげるため、今与えられている業務に励むこと、まだまだ現状で満足せず経験を積み重ねること、それを次の世代(若い人たち)に今持っている知識と技術をどのように伝えていくか、一つでも何か受け渡せたらと思います。海外の学会での語学力の不足による不安、初めて海外に行くことへの不安、等々行く前はありましたが、今は出席できた事をありがたく思います。



写真⑩コロッセオで…

最後ではありますが、実施した業務の成果を発表するために、ご厚意により学会への同席の機会を与えていただきました日本大学薬学部の木澤靖夫教授にこの場を借りて感謝の挨拶をさせていただきます。ありがとうございました。

殺菌

環境にやさしいオゾンのおかげで

オゾンガスくん蒸装置
HZ-100



オゾン水生成機
OW-20Z



オゾン発生装置を用いた飼育室や実験室などのクリーンアップ(物理洗浄、殺菌、脱臭)からオゾン機材の販売まで承ります。

販売

- 実験用動物 ● 関連商品 ● 実験動物輸送

飼育受託

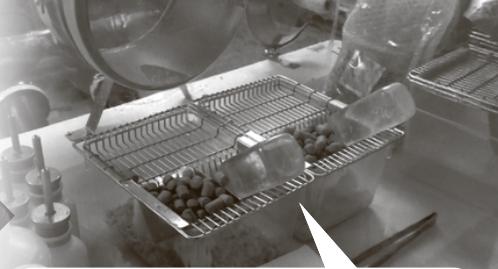
- 実験動物全般の飼育管理業務(オープンシステム・バリアシステム・アイソレータシステム等)
- 飼育施設環境管理(洗浄業務から各種環境測定まで)
- 実験支援・代行
- 各第三者認証への対応

技術受託

- 遺伝子組換え動物の維持・繁殖
- 無菌動物の作出・維持
- 実験受託(非GLP)
- 施設クリーンアップ

無菌

ビニールアイソレータ飼育で



取扱い実験動物

TsI: C57BL/6Ncr (GF)

TsI: BALB/cCr (GF)

TsI: ICR (GF)

無菌マウスの作出と維持・繁殖・供給をお受けします。飼育環境は月1回の無菌検査を実施し、安心です。また、ノトバイオト実験受託や無菌マウスの受託試験・器官採取も承ります。

三協ラボサービス株式会社
SANKYO LABO SERVICE CORPORATION, INC.

本社 東京都江戸川区西一之江2-13-16
本社営業部 TEL.03-3656-5559 FAX.03-3656-5599
skl-tokyo@sankyolabo.co.jp

北陸営業所 TEL.076-425-8021 FAX.076-491-1107
skl-hokuriku@sankyolabo.co.jp

札幌営業所 TEL.011-881-9131 FAX.011-883-1176
skl-sapporo@sankyolabo.co.jp

つくばラボ TEL.029-829-3555 FAX.029-862-5555
skl-tsukuba_labo@sankyolabo.co.jp

www.sankyolabo.co.jp

実験動物産業に貢献した人々(24)

村岡敬之

MURAOKA Takayuki (1925年～)

最終学歴：1949年3月九州大学
農学部畜産学科卒業

職歴：1949年4月～1952年7月
岡山県岡山種畜場在職

1952年8月～1979年4月農林水産省(以下、農水省)在職。その間、鶏関係種畜牧場(4か所)にて種鶏(産卵、肉用)の育種改良事業に従事。

なお、1973年8月から2年間OTCA(現JICA)から鶏病予防センタープロジェクトの技術協力のため専門家チーフとしてシリア・アラブ共和国(シリアンハムスターの原産国)に派遣される。着任早々第4次中東戦争に遭遇したが、幸い3週間で終戦を体験。

1979年4月岡崎種畜牧場長を最後に農水省を退官後、(社)日本養鶏協会(養鶏関係全国中央団体、以下日鶏協)常務理事に就任。1984年5月に退職。同10月には(社)日本実験動物協会(以下、日動協)設立準備のため、(株)チャネルサイエンス本社の一隅を借りて設立準備を開始した。またその間、動物繁殖研究所上松嘉男理事長ほか5名の実験動物専門家から成る設立準備会による諸準備活動に奔走した。1985年1月に日本実験動物協同組合と事務所の賃貸契約を締

結し同所で業務を開始した。そして同年2月には「日動協」が創立し、3月に農水省所管で斯界初の社団法人として認可され常務理事(兼事務局長)に選出された。

主要実務：協会発足当初は当然何も無く、先ず筆記用具類から整えなければならなかった。パソコン時代の到来にはまだほど遠く事務機器としては複写機のみであった。会議資料や会報等の事務局作成の各種原稿は全て手書きによっていた。但し、外部への案内文、会報などは全て印刷のうえ発送していた。数年後からは実動協のパソコンを随時借用できるようになり大いに事務効率を上げることができありがたかった。事務局体制は事務局長、参与(男性)、事務員(女性)の3名で発足し、事業の進展に伴い事務量が増大した際にはアルバイトの雇用で対応した。諸事務の始めは会則、諸規定の策定で関係団体(中央畜産会、日鶏協、実中研)からの資料を参考に原案の作成であった。常務理事は事務局長と表裏一体であり、初代、2代目会長、副会長、専務理事並びに各専門委員会委員長各位のご指導ご協力のもと事務局員と共に無事その任務を全うできたことは

望外の喜びであった。協会実務が円滑に推移できたことは偏に日鶏協での経験が大いに役立ったことは歪めない。諸事業の推進、拡大に当たっては畜産振興事業団から基金2億円、並びに(社)地方競馬全国協からの補助金の助成金によるところが特筆された。1995年には設立10周年記念式典が盛大に挙行され「日動協10年のあゆみ」を記念品として配布した。これを機に後進に途を譲ることとし1997年5月に退職した。図らずも幸い2015年6月に挙行された設立30周年記念式典に招待の榮に浴し正に感無量の想いであった。

最後に貴協会の益々の発展を祈念してやまない。

なお、村岡敬之氏は1995年11月、勲5等雙光旭日章を受章の榮に浴した。現在は91歳とご高齢ながら矍鑠と交流活動、音楽鑑賞などを楽しみ生活されておられる。

(新関治男 記)

宮本伸昭

MIYAMOTO Nobuaki (1936 ~)

昭和12年広島県生まれ、36年広島大学水畜産学部(現生物生産学部)卒業。農林省畜産局に採用され、畜産の生産・流通・加工販売行政に携った。49年に経済企画庁、58年には農用地開発公団に出向した。62年に農林水産技術会議に配置替えとなり、平成4年3月に家畜改良センター十勝牧場長を最後に退官した。

日本実験動物協会には平成15年7月、常務理事・事務局長として奉職し18年5月に退職するまで3年弱勤務した。当時の協会は創立20年近く経過し実験動物に係わる中央団体として確固たる実績があったが、職員は皆、高齢少人数、事務室など施設は全て借用で都内各地に分散し老朽狭小、事務局体制が極めて脆弱で改善の必要性を痛感していた。その矢先、事務局に関武浩氏を迎え強力なスタッフのもと、先ず事務体制の改善を検討した。対策案は総務会に諮り、順次実行に移した。事務室のリホーム(2部屋を1フロアーに)、常設会議室の借り上げ、全職員に電算機の貸与、実験・研修施設の整備・統合、分散保管の実験機材・薬品類は福島研修施設に統合保管等を実践し、省力化・利便性・経費節

減に大きく寄与した。17年5月には創立20周年記念行事が盛大に挙行された。なお、事務所本体は長期構想で畜産局の基金助成をベースに所有を目的に「事務所建設積立金」を新設し、「特別会計」扱いとしたが、これが後年の事務所取得に繋がった。一方、就任前後から協会は新たなニーズに対応すべく各種事業が活動期に入った。内外の動物福祉に係わる関心の高まりを背景に、実験動物福祉専門委員会(鍵山委員長)は福祉対策を拡充、「指針」等の制定、更に実験動物にかかる自主規制と第三者的評価の可能性を探るため各企業の調査の方法が検討され、16年10月から「実験動物生産施設模擬訪問調査」を実施し、事業者には助言・指導も行った。同年には実験動物福祉調査・評価委員会(八神委員長)が設置され、調査・認定システムの整備が行われたが、多くの会員は必要性を感じても第三者評価に不安があり、必ずしも賛成ではなかった。何度も委員として模擬調査や評価に参加し、事務局長として個別会員を説得し、会員等の集会に参加し幾度も趣旨説明を行った。何分素人で苦労も多かったが、鍵山委員長のやる気に圧

倒され益々意欲的に働けた。本調査のお陰で動愛法の「保管管理基準」の改正では自主規制の方針を貫くことが出来た。また、教育・認定専門委員会(大和田委員長)では教本の改定作業を開始し、16年6月『実験動物の技術と応用(入門編・実践編)』の大改正が行われ刊行された。ご多忙の中、委員長、そして鍵山委員が可能な限り新見の取載と分かりやすさを目標に、寸暇を惜しんでの作業には頭が下がる思いであった。そして、より高度の技術者の養成を図るため、17年から「指導員」制度も新設され、資格認定試験や指導員研修会にも携わった。更に、大学サイドからの要請で「大学特認制」が新設されるなど、教育制度の拡充をみた。また、17年には海外の先進情報の収集に鑑み、AALASの技術者認定制度の調査や交流を行い、以後重要な教育事業の継続課題となった。

なお、宮本氏は21年春、公共に功勞の理由により「瑞宝小綬章」の受章の榮に浴した。

(新聞 治男 記)

実験動物の陸上輸送について

有限会社葛生運送

渡辺 康、天野 瑛美子

はじめに

実験動物の飼養や保管に関しまして、動物愛護の観点から様々な基準や指針が設けられ、更に改正が行われてきております。

各施設では、それらの基準を遵守し、また、動物を管理している方はそれを適正に取り扱われ運用されています。

このような環境の中、私たち動物を輸送する者においても、実際に動物実験に携わっている方々と同じように、動物福祉の精神を理解した取扱いをすることが求められています。輸送車両は施設の一部であるという認識も必要です。そのためには教育も必要ですし、経験の中から品質も高めなくてはなりません。

もはや、動物輸送はただの搬送ではなく、移動する動物施設なのです。

そこで私たちには何ができるのでしょうか。

葛生運送は、実験動物の輸送におけるスペシャリストを目指しております。

平成7年に設立し(創業は昭和58年)、約21年運送会社としての実績がございます。元々、温度管理が必要な保冷(温調)輸送に特化していたことで、ある方から動物搬送のご依頼をいただき、それがきっかけで現在に至っております。

しかし、後述しますが、当初は空調や換気、設定の温度、消毒、給水給餌からケージの置き方に至るまで、全くと言って良いほど知識も経験も不足し、失敗を繰り返してきました。

そのような問題が発生するたびに、専門の諸先生や獣医師の方々に相談して様々なアドバイスをいただきました。それにより、少しずつではありますが、動物福祉に則った取扱いや極力動物にストレスを与えない輸送を身に付けることができてきました。

運行管理と整備管理

ここ数年、ドライバーの過労や高齢者による重大事故が多発して大きな社会問題となっております。国土交通省では、事業用自動車の運行の安全を確保するために、運行管理制度というものを制定しています。

運送事業者は必ず、管理者を選任し、『運転者の勤務時間等の適正管理』、『点呼による運転者の健康状態把握』、『運転者に対する指導監督』を行わなければなりません。

整備管理者は、日常の点検や整備を徹底し、ドライバーや点検者への指導または監督を行います。これにより事故の防止や環境の保全を図り、ドライバーがより安全でより良い輸送を実施できるよう取り組むことに努めています。

それらを法的に制度化したものが整備管理制度です。

一方、動物輸送においても、管理責任者を定めており、その役割はきわめて重要です。

たとえば、全陸送なのか一部空輸を使うのかといった輸送経路の選定から、動物の種類や大きさ・体重・遺伝子改変の有無・微生物グレードなど、様々な条件を考慮した上で、車両の種類・ケージ・柵を選択し、どのドライバーが適任か選定を行います。

温度管理と空調について

動物の種類や年齢によって管理時の温度は異なりますが、設定温度に対して±3℃の範囲での輸送を基準としております。

万が一温度が逸脱した場合には下記の対処法を採るよう、社員教育を行っております。

- ①緊急連絡網に沿って担当者に報告する。
- ②空調機メーカーに問い合わせて状況を伝え、応急措置が可能か判断してもらう(365日終日対応)。
- ③大幅な逸脱の場合は荷台を開けて動物の様子を確認する。
- ④状況によって荷主または顧客へ連絡する。
- ⑤修理不能な場合は代替車をチャーターし対応する。

また、ハード面においては、温度マッピングによる荷台の調査を行うことや、定期的に温度記録計(データロガー)を専門機関に校正してもらい、常に正しい温度測定ができるようにしています。

一方、空調に関しては、換気扇にフィルターを取り付けて塵埃や菌の侵入を防ぐことや、ベンチレーターを使用して荷台の換気を行うことも重要です。

温度マッピングの例

今回は、2016年11月17日の20:00から18日9:00に行った荷台温度のマッピング調査についてご紹介します(図1)。

- ① 設定温度は20℃
- ② 測定時間は約12時間
- ③ 測定日の天気は晴れ
- ④ 測定場所は千葉県成田市内
- ⑤ 測定期間の成田市内の最低気温は3.6℃、最高気温は11.9℃
- ⑥ 測定車両は1t空調車
- ⑦ ロガーはUPR社の「なんつい」を使用
- ⑧ 設置は4か所(フロント上部・フロント下部・リア上部・リア下部)
- ⑨ 20分ごとの温度データを記録する設定
- ⑩ グラフでは、20℃±3℃の17℃に下限、23℃に上限のラインを設定

今回の調査結果

- I フロントの下が15.9℃から17.4℃と、常時設定温度より3~4℃低く逸脱する時間帯がありました。
- II 同じ庫内でも、時間帯によっては最大5℃近い温度差がありました。
- III 最も温度差が大きかったのは

3:53頃で、5.1℃の差がありました。

IV リア上部が18.9℃~20.7℃で最も安定していました。

V 外気の最低気温が3.6℃と比較的低いにもかかわらず、庫内の温度はほぼ20℃近辺で安定していました。

原因

- a) 外気を取り入れる吸気口が車両右前方のやや高い位置にあるため前方の温度が低くなります。
- b) 空調機から出る風が直接当たる後方上部の温度が最も高くなります。

対策

・外気と設定温度の差が大きい場合、輸送する動物の数量も考慮し、FANの吸気口の隙間を調節することによってある程度抑制できると考えます。

このように、季節や車両毎に様々なデータを採り、輸送される動物に対し快適な温度で、極力ストレスを与えないようにすることも重要なのです。

輸送全般

車両は空調設備の備わった動物専用車を使用し、万が一、輸送箱から動物が逃走しても車外に逸走しないようにネズミ返しを設置してあれば安心です(図2)。

カーテンは、荷台に虫が入り込むのを防ぐ効果と、荷台を開けた際に庫内の温度が急激に変化することを防ぐ効果があります(図3)。

輸送用ケージや荷台の柵につきましては、動物福祉の観点からみても最も気を使わなければならない要素のひとつです。

葛生運送では、『IATA』や

『ILAR』などの基準を参考にし、十分なスペースを確保すること、輸送計画に沿って、なるべく短い時間で安全に輸送を行うことで、出来るだけ動物にストレスを与えないよう心がけています。

また、一方で取り卸しの際にはそれぞれの動物に適応した装備で取り扱いを行います(図4)。

たとえば、マウスやラットを取り扱うときは、マスクとゴム手袋を装着し、ブタやビーグル犬の場合はこれに加え、ディスクのつなぎと消毒済の長靴も必要となります。更にサルを扱う時は、ゴーグルもしくはスプラッシュガードも使用して作業を行います。

それ以外の点では、滅菌された床敷を使用することで庫内を清潔に保つことや、動物の足や爪を保護してあげる効果があります。

長距離輸送の際は、動物に与えるストレスも大きいため、より安全運転を心掛け、途中で必要に応じて適量の給水給餌を行う事も忘れてはならない大切なことです。

清掃消毒

様々な病原体や家畜伝染病から動物を守るために車両やケージ等は常に清潔な状態にしておかななくてはなりません。

そのために、動物輸送後は必ず洗浄と消毒を行います。荷台の洗浄は柵や簀子を外して、水できれいに洗い流した後、中性洗剤などを使い荷台の上方からデッキブラシで擦り、希釈した消毒液で噴霧器を使って消毒します。その後、再度水で洗い流してからふき取ります。空調の部分はフィルターを取り外し洗浄しますが、定期的な交換も必要です。

～ 温度マッピング調査 ～

測定開始 2016/11/17 20:00
 測定終了 2016/11/18 8:00
 測定場所 成田市内
 測定車両 車番×××× 1t空調車
 設定温度 +20℃
 天 候 晴れ

成田市の気温 (℃)

時間	温度	時間	温度
20:00	11.9	3:00	6.3
21:00	10.6	4:00	5.3
22:00	9.0	5:00	5.1
23:00	8.4	6:00	3.6
0:00	8.0	7:00	5.3
1:00	7.3	8:00	7.2
2:00	6.9	9:00	10.0

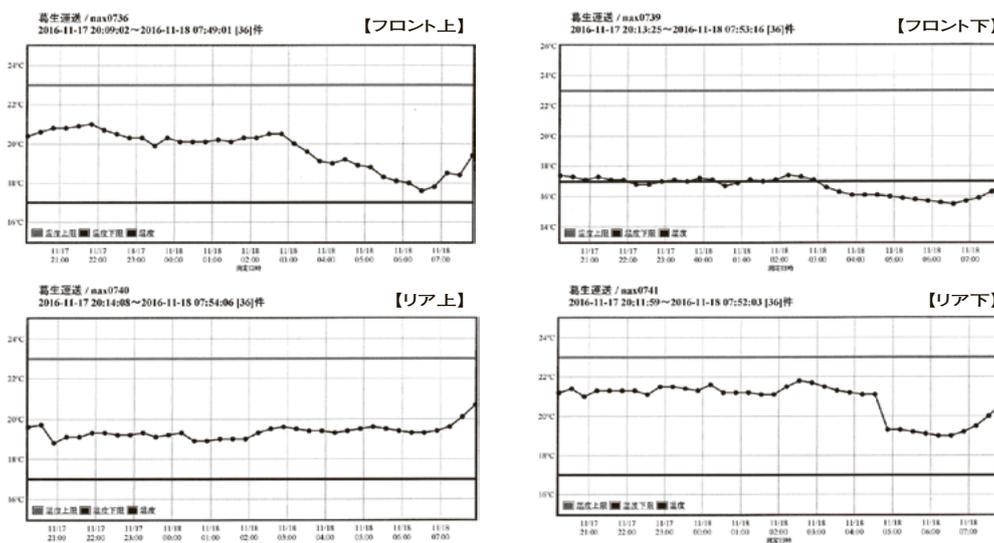


図1

消毒液は動物の種類や用途によって様々ですが、逆性石けん、ヨード剤や次亜塩素酸などの塩素系を一般的に使っています(図5)。

ケージや簀子などは、高圧洗浄機などを使い、洗い残しの無いように隅々まで洗って十分に消毒をします。(図6)。

教育

品質の向上において、欠かせないのが人材育成の強化です。

特に動物輸送においては、運転の技術や動物を思いやる気持ちを持つことはもちろんのこと、判断力や適応力・応用力も求められます。

どんなに細心の注意を払っていても、動物の逃走や死亡事故が起きてしまうことはあります。万全の態勢で輸送に臨んでも、

動物を何ごともない状態で目的地まで届けるとするのは、実は難しいことなのです。

たとえば、私たちが安全運転を心掛けていても、やむを得ずブレーキをかけなければならない時があります。

また、動物に与えるストレスをできる限り軽減させるために、マンホールのフタの段差・凹凸・落下物などの道路上の障害は極力避けて運転しますが、どうしてもそれらの障害を踏まなければならない場合もあります。



図2

こういった場合に生じる衝撃や振動によって輸送箱のフタが外れてしまうことや、完全に開いてしまうということが起こり得るばかりか、マウス逃走のきっかけとなってしまうかもしれません。

特に紙製の輸送箱についてはテープでしっかり固定しなければ輸送中に分解してしまうリスクがあります。プラスチック輸送箱についても、フィルター部分を塞がないように蓋と容器の部分を幅広テープでしっかり固定されているか確認が必要です。



図3

もしも、テープによる輸送箱の固定や補強がされていない時には応急的ではありますが、それらの作業を行う事が出来るよう弊社の動物輸送車には幅広の透明テープが常備されています。

また、輸送前に箱の状態を確認し、安全で確実な動物輸送を実施することができるよう常に弊社ス

タッフには心がけさせています。

些細なことかもしれませんが、小さなきっかけから大きな事故を引き起こさないよう、未然に防ぐことが大切です。

あらゆるリスクを想定し、それに順応できる人材をつくりあげていきたいです。

計・輸送箱などのいわゆるハード面と、知識・技術・手順から教育までのソフト面とのバランスは重要で、どちらに偏っていてもしっかりとした動物輸送は成り立ちません。

葛生運送では、更なる品質の向上を目指し、動物愛護に関する基準や、その他の法規制を遵守しながら、まだまだ微力ではありますが、医学や生命科学の発展に貢献できれば、幸甚に存じます。

終わりに

本稿にてご紹介させていただいた、空調車両や空調設備・温度記録



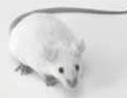
図4



図5



図6



貴重なデータを保持した実験動物を安全・確実・清潔に全国へお届けします。

お客様の多彩なニーズにお応えできる車両をご用意

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1 t 保冷車 (空調車) 9 台 | 4 t 保冷車エアサス (空調車) 1 台 |
| 2 t 保冷車 (うち空調車 3 台) 4 台 | 4 t 保冷車エアサス PG (空調車) 2 台 |
| 3 t 保冷車 PG (空調車) 3 台 | 4 t 保冷車 (温調車) 1 台 |
| | 4 t 保冷車 (空調車) 2 台 |



カーテン・フィルタ・ネズミ返し

積載室の温度管理や虫を防ぐためのカーテン、大気中の砂・ほこり・カビ・菌等の不純物を防ぐためのフィルタ、積載室の動物 (遺伝子改変動物) の逃亡防止のためにネズミ返しの設置をしています。



マウス・ラット輸送箱
滅菌した輸送箱を事前にお届け致します。

サル輸送ケージ
特定外来生物の飼養等の許可を受けているケージをご用意しております。

バタ用荷台柵
ケージに入らないバタ・遺伝子改変バタに対応致します。



最大 1 億円の車両保険

保冷装置、温度調節機などの破損、故障の際に運送中のものが壊れたり、死んでしまった場合は補償になります。万が一動物輸送中に冷蔵機が故障した場合の対処は菱重コールドチェーンの全国のロードサービスで 24 時間 365 日対応します。

Kuzuu Vector Science Inc.
~Sicuis imperium transportation of ago bestia pro medical~
有限会社葛生運送 メディカルバイオ・アニマル輸送部

千葉県成田市新田 280-1
TEL 0476-73-2403
FAX 0476-73-2419

葛生運送

<http://www.kuzuu.transport.com>
info@kuzuu.transport.com



海外文献情報

東京大学大学院 農学生命科学研究科 実験動物学研究室
教授 久和 茂

まだ11月だというのに、東京で雪が降っている。11月での降雪は54年ぶりらしい。私たちはとかく人間の尺度でものごとを判断しがちで、これも「気候変動」の影響かと思ってしまう。しかし、長い地球の歴史に較べると54年などはほんの一瞬に過ぎず、「変動」ということばを使うこと自体が不適切かもしれない。ただ、一方で気候変動にどのように立ち向かっていくかということ(ジオ・エンジニアリング)を真剣に考えている人もいる。多様な人間が存在し、多様な考えがあり、それが面白くもあり、また人類の存続にも役立っているのかもしれない。余談はこれくらいにして、本題に入ろう。

Lab Anim (NY) 誌は50ページ程のコンパクトな雑誌であるが、内容はかなり濃い。特集記事も面白いものが多い。とくに毎号掲載されるコラムが素晴らしい。今回は最新の動物実験科学の成果を紹介している“NEWSFRONTS”から題材を拾い、動物実験の最前線の成果を皆さんと共有したい。

まず、吃音症モデルマウスに関する報告から紹介しよう [Mutant mouse model stutters in squeakes. Lab Anim (NY), 45, 195, 2016]。吃音症は話すときに

一瞬ことばが途切れ、その直後に同じフレーズを何度も繰り返すのが特徴である。「どもり」の方が理解しやすいかもしれないが、「どもり」は差別用語にあたり、近年は公の場では使われないようである。吃音症モデルマウスとはどんなものかと思っていたら、何といわゆるノックインマウスだという。ヒトの吃音症の原因として、リソソーム酵素関連遺伝子 *Gnptab* の突然変異が関連していることが報告されており、ワシントン大学(ミズーリ州)の Terra Barnes らと NIH の研究グループは、マウスの *Gnptab* 遺伝子をヒトの突然変異遺伝子で置き換えたらしい。さて、どのようにしてマウスの「どもり」を調べるのだろうか。ちょっと想定外だったが、新生子マウスのアイソレーション・コール(新生子が母親から離れた時に発する超音波)が「どもる」のだそうである。ノックインマウスの新生子のアイソレーション・コールは野生型に比べ、頻度が少なく、無音の時間が長いそうである。また、同じ音の繰り返しもみられるそうである。このマウスは常時、発声が異常なわけではなく、この点もヒトの吃音症と同じである。ヒトの吃音症の発生機序はまだ十分に理解されておらず、このマ

ウスは原因究明に役立つことが期待されている(原著 *Curr. Biol.* 26:1009-18, 2016)。

次は、いわゆる「衛生仮説」に関する論文の紹介である [Helminths help hype the hygiene hypothesis. Lab Anim (NY), 45, 197, 2016]。衛生仮説についてはご存じの方も多いと思うが、ヒトはもともと不衛生な環境で進化してきた動物で、寄生虫が体内にいることによって生理的バランスが取れるのに、現代の先進国では生活環境が過度に衛生的なためヒトが寄生虫を持っておらず、そのために本来の生理的バランスが破綻し、そのことがアレルギー疾患などの多発の原因となっているという説である。ニューヨーク大学の Ken Cadwell らは炎症性腸疾患 (IBD) モデルマウスと *Trichuris muris* (*T. muris*) という線虫を用いて、一見非科学的に思えるこの仮説に興味深い科学的証拠を提供した。彼らが使ったモデル動物は *Nod2*^{-/-} マウスで、ヒトのクローン病と同様に、小腸の粘液を分泌する杯細胞が少ない。それに関連して、このマウスの腸内細菌叢では IBD のリスク要因である *Bacteroides vulgatus* が優勢である。衛生仮説を検証するために、彼らは *Nod2*^{-/-} マウス

に *T. muris* を感染させ、そしてこのモデルマウスの腸内細菌叢が変わることを見出した。つまり、*T. muris* 感染マウスではIBDのリスク要因である *Bacteroides* 属菌が減少し、*Clostridium* 属菌が優勢となった。寄生虫の感染により、腸内細菌叢が変わり、そのことがIBDのリスクを低下させるという図式が描ける。「風が吹けば桶屋が儲かる」よりはずっと単純で、説得性もありそうだ(原著 *Science* 352:608-12, 2016)。

上記の論文は人間の生活環境がクリーン過ぎるというものがあったが、実験動物であるマウスの生活環境(つまり、飼育環境)がクリーンなもの時と場合によっては問題ではないかという報告もある[Dirty mice might make better models. *Lab Anim* (NY), 45, 198]。SPFマウスはバリアシステム内で飼育され、病原微生物に曝露されることがない。しかしながら、人間はバリアシステム内で生活しているわけではなく、常にいろいろな微生物に曝露され、それによって免疫系が日常的に活性化されている。このような差異がありながら、SPFマウスを用いて、一般のヒトの免疫反応を検証することは本当に適切なのだろうか。改めて問われれば「なるほど」と思うが、これまで検証されたことはなかった。ミズーリ大学の Stephen Jameson と David Masopust らは、成人と赤ちゃん(以上、ヒト)、SPFマウス、野生のマウス、ペットショップのマウス(以上、マウス)の免疫系について比較した。その結果、成人と異な

り、SPFマウスでは分化成熟したエフェクターT細胞や粘膜でのT細胞が少なかった(ヒトの赤ちゃんも同じ)。それに対して、同じマウスでも野生のものや衛生的なコントロールがなされていないペットショップのものは、成人と同様に成熟分化したエフェクターT細胞が多数認められた。さらに、SPFマウスをペットショップ由来マウスと同居させると、元SPFマウスの免疫系は成人の免疫系に近い構成に変わった(つまり、分化成熟したエフェクターT細胞が増えた)。著者らはヒトのワクチンに関する研究などを行う際には、SPFマウスよりもむしろ成人に近い免疫系をもつペットショップマウスのような動物の方が適しているかもしれないとコメントしているようだ。実験動物関係者はSPFマウスが優れていると思いがちだが、それも時と場合によるということらしい。ただ、実験の再現性はどのようにして保証するのだろうか・・・(原著 *Nature* 532:512-6, 2016)。

肥満は多くの人の関心事である。筆者もその当事者であり、家族から毎日のように痩せることを勧められているが、困ったことに本人はどこか他人事のようにしか思っていないようだ。さて、昔からダイエットには食事と運動が大事といわれているが、食事を改善することと運動することは何か違いがあるのだろうか? ミズーリ大学の Vicki Vieira-Potter らのグループは肥満ラットを用いて、このテーマについて検討している[Comparing diet

and exercise. *Lab Anim* (NY), 45, 246]。彼女らは4週齢、雄のOP-CDラットを3つのグループに分け、食餌と運動について異なる実験処置を行った。つまり、第1群はとくに運動はさせず、餌を自由に摂取させた(Sed群; ぐうたら生活者?)。第2群は自由に運動させ、かつ餌を自由に摂取させた(Ex群; 何事もアクティブにこなす人?)。第3群はとくに運動はさせず、Ex群と同体重になるように食餌制限した(WM群; ダイエットだけで痩せようとする人?)。数ヶ月間この実験を続け、彼女らは以下のような結果を得た。まず、Ex群とWM群はSed群に比べ、体重が軽く、白色脂肪重量が少なく、エネルギー消費が高く、また脂肪組織や大動脈の炎症の程度が軽微であった。しかし、Ex群とWM群との間にも少し違いがみられた。つまり、Ex群ではインスリン感受性が高く、脂肪酸の酸化も亢進していた。また、腸内細菌叢にも違いがみられ、それがEx群とWM群の相違と相関しているようだった。ラットでの結果がヒトにそのまま外挿できるかどうか分からないが、座って仕事をする人が多い人にとっても、やはり「運動は大事」ということか。明日から運動をしようかな・・・(原著 *Med. Sci. Sports Exerc.* 48:1688-98, 2016)。



関西実験動物研究会の 活動について

関西実験動物研究会
会長 喜多 正和

沿革

関西実験動物研究会は、故山田淳三京都大学名誉教授の呼びかけとその考えを支援する人達のご尽力で、昭和59年（1984年）3月16日に「関西地区において実験動物学ならびに関係諸科学の発達を図る事」を目的として発足しました。しかし、その前身は昭和53年6月まで遡り、「実験動物セミナー」から「関西実験動物集談会」へと発展し、現在の「関西実験動物研究会」となっています。初代会長の山田淳三（京都大学）から、第二代会長の宮罵宏彰（当時武田薬品工業（株））、第三代会長の芹川忠夫（京都大学名誉教授）、第四代会長の喜多正和（京都府立医科大学）へと引き継がれ、研究分野の枠を超え、実験動物と動物実験に関心のある方々の集まりの場、また知識と情報の交換の場として研究・業務の発展と科学の進展に寄与すべく活動が継続され、平成28年現在、創立32周年を迎えます。

運営ならびに活動の骨子

役員として評議員、幹事（庶務・会計、集会、会誌の各担当）および監事が構成され、3年毎に役員人事が行われ、歴代の会長のリーダーシップのもと、幹事が中心となって①学術集会（研究会）の開催、②会誌の発行、③関係諸機関・諸学会との情報交換・連絡、④会員相互の連絡、⑤その他必要と認められる事業の運営がなされています。

会員

平成28年11月現在の会員数は、個人会員188名、維持会員37団体であり、大学関係、公立研究機関、製薬企業ならびに実験動物関連企業等々、様々な領域の皆様からご参加をいただいています。

学術集会（研究会）

学術集会（研究会）は、毎年4回（3月、6月、9月、12月）、京都・大阪・周辺関西圏で開催されています。

3月の研究会には評議員会、総会、特別講演、6月、9月の研究会には講演会またはシンポジウム、また12月の研究会には会員の発表と特別講演、さらに例年多数の会員が参加する忘年会をかねた懇親会が企画され、会員相互の密な情報交換の場が提供されています。学術集会は昭和59年の第1回研究会から数えて、今年12月の学術集会で第132回を迎えました。これらの研究会では、実験動物、動物実験並びにその周辺領域のアカデミックあるいは実用的な内容が選定され、テーマとして取り上げられています。また、これまでに創立10周年記念大会（第40回研究会）、創立20周年記念大会（第80回研究会）、創立30周年記念大会（第120回研究会）をはじめ、平成20年には第100回研究会（創立25周年記念大会）が開催され、今年9月には、日本実験動物技術者協会関西支部との合同大会（第131回研究会）が初めて開催されています。

会誌およびホームページ

記録集として会誌「関西実験動物研究会会報」が当該年度の集大成版として年1回発行され、研究会の講演・発表内容、評議員会、総会、幹事会等の開催記録や会務が掲載されています。また、会員はじめ関係諸機関・諸学会との情報交換・連絡として、ホームページが開設され、各研究会の案内JALASメーリングリストなどを通して会員以外にも通知されています（<http://www.klara.umin.ne.jp/>）。

このように関西実験動物研究会は全国に会員を有し、非常に活発に活動しておりますので、まだ参加されていない研究者の皆様のご参加をお待ちしております。

（本稿は下記の参考資料をもとに改変したものです。）

参考資料

- 1) 芹川忠夫: 関西実験動物研究会会報, 平成20年12月, 29号, 11～37.
- 2) 阿部敏男: 関西実験動物研究会会報, 平成26年12月, 36号, 13～33.

一般社団法人を設立する日本実験動物技術者協会

日本実験動物技術者協会 理事長 坂本 雄二

昭和41年(1966年)に実験動物技術者懇談会という団体名にて産声を上げた当協会は昭和50年(1975年)に現在の日本実験動物技術者協会へと改称改組され、全国8支部と本部での運営体制にて地域の隅々まで根差した活動を続け、現在は7支部と本部での運営体制にて今年、平成28年(2016年)に設立50周年を迎えました。

この記念すべき年の第50回川越大会での総会において当協会法人化へ向けての“定款案”を上げ承認を頂きました。

私が当協会の運営のお手伝いをさせて頂き始めたのは第4代理事長であられた高橋久英氏の頃であります。

所属する関西支部の幹事をと、お声掛け頂いたのがきっかけですが、その時には既に“協会を法人化へ!”のスローガンは掲げられていたと記憶しております。

それから既に25年近くの年月が経過し、一般社団法人の設立は、協会活動年数の約半分、四半世紀近くの期間に渡り、“いつかは法人化”を唱えてきた本協会の悲願でもありました。

この間に時代は経過し、世の中の価値観、我々が実験動物に接して仕事をする環境も大きく変わってまいりました。

これは当協会が目指す法人化の目的も自ずと変わってきた事を意味していると考えます。

当初は“技術者の地位向上”が唯一無二といっても過言ではない大きな目的と掲げられていたと記憶します。

勿論、現在も基本的にそれは根底にはあるのですが、我々は関係する諸団体の皆様との連携や自分たちの活動を通して地位向上を目指していくための土壌、環境を整えてきたという自負はあります。

また、実験動物を飼育管理し、動物実験を行う事を生業としている我々の仕事場には動物実験倫理、実験動物福祉への配慮と実践が強く求められて来ております。

我々実験動物技術者は実験動物への接点が一番多いといっても過言ではありません。

これは表現を変えれば実験動物の状態が一番知っているとも言えます。

この技術者が動物実験での実験操作の場において、また実験前後を含めた動物の飼育管理の場において、研究者、獣医学的ケアに携わる方々との連携にて、一つのチームとしてそれらの取り組みの実践を行う時、我々技術者は物言わぬ実験動物達の通訳としての役割を果たす事が出来ると確信しています。

以上のような背景を踏まえたとき、我々の目的は法人化する事で地位向上を得るのではなく、実験動物技術に関わる実験動物学・生物学・医学・薬学等の学術的発展及び社会貢献に寄与するため、

知識の習得・技術の研鑽をもって、実験動物技術者の資質の向上を図ることにあると考えます。

そのために社会的信用のある氏素性の明確な一つの学術団体として自立し、自らの発言もし、関連諸団体の皆様との相互理解に基づく強固な連携のもとに、活動をして行く事を目的として協会の法人化をすることが必要であると考えました。

このように長きにわたって悲願としておりました協会法人化は、平成14年から平成20年にかけて行なわれた公益法人制度に関する制度改革以前には種々の理由からそのハードルは極めて高いものであり志は持ちつつも実行に向けたアクションが取れない状況もありました。しかし、制度改革に伴い具体的なアクションが取れる環境が整った事から先々代、第6代理事長である小原徹氏の任期中に着手をし、第7代理事長の井上吉浩氏が本格的な作業を担われ現在に至っております。

現在、最終的な法人登記に向けた作業を行っており、準備が整いましたら「一般社団法人日本実験動物技術者協会」という団体名にて登記を行い、活動の実態を移行させていただきます。

これからも関係諸団体の皆様のご理解とご支援を頂きながら、共に活動を続けて行きたいと思っております。

どうかよろしくごお願い申し上げます。

日本実験動物学会の動き

第8回実験動物管理者等研修会

日 時:平成29年2月27日(月)、28日(火)
場 所:東京大学山上会館大会議室
参加費:4,000円(会員)、5,000円(非会員である維持会員団体職員)、6,000円(非会員)
定 員:100名
その他:受講者には資料を配布、受講修了証を発行
主 催:公益社団法人日本実験動物学会
後 援:環境省、厚生労働省、農林水産省、文部科学省 他
プログラム、参加申し込み等の詳細は本学会ホームページ<http://jalas.jp/meeting/seminar.html>をご覧ください

第64回日本実験動物学会総会

テーマ:ライフサイエンスが復興を促進する
大会長:大和田一雄(一般財団法人ふくしま医療機器産業推進機構)
会 期:平成29年5月25日(木)~27日(土)
場 所:ビッグパレットふくしま
〒963-0115 福島県郡山市南2丁目52番地
お問合せ:第64回日本実験動物学会総会事務局
〒164-0003 中野区東中野4-27-37(株)アドスリー
TEL:03-5925-2840 FAX:03-5925-2913
e-mail:jalas64@adthree.net
プログラム、参加申し込み等の詳細は第64回大会ホームページ<http://sympo.adthree.net/jalas64/>をご覧ください。

日本実験動物技術者協会の動き

「第51回日本実験動物技術者協会総会 2017山形大会」

会 期:2017(平成29)年10月12日(木)~10月14日(土)
会 場:山形テルサ(山形県山形市双葉町1-2-3)
大会事務局:〒990-9585 山形市飯田西2-2-2
山形大学医学部メディカル・サイエンス推進研究所
動物実験センター内
TEL:023-628-5485 FAX:023-628-5489
大会HP:<https://www.adthree.com/jaeat2017/>

「技術者・これからの50年に向けて」をテーマに、本協会が一般社団法人として新たに刻むこれからの50年に向けて、現在の基本技術を整理し、これからやるべきことを考える大会にしたいと考えております。特別講演、教育講演、シンポジウム、一般演題、器材展示等に加え、実験動物・動物実験の活性化を目指した企画や関連業者のPRセッションも予定しております。(大会長 伊藤 恒賢)

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
平成28年度総会第42回懇話会	2017年3月18日(土)	北とびあべガサスホール(東京都北区)	一般演題 シンポジウム「動物福祉の実践～技術者が説く実験計画書～」

詳細は関東支部ホームページ(<http://www.jaeat-kanto.jp/>)を参照ください。

東海北陸支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第14回技術交流会	平成29年1月下旬または2月上旬	京都大学霊長類研究所(愛知県犬山市)	講演会および施設見学(内容については現在検討中)

詳細は東海北陸支部ホームページ(<http://www.jaeat-tokaihorikuru.org/>)を参照ください。

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
平成28年度実験用ブタの取り扱い手技(入門)講習会	平成29年1月28日(土)・29日(日)	岡山大学(岡山市北区)	近年注目を集めている実験用ブタの取り扱い、実験手技について、実験動物技術者として実践で役立つ技術を学ぶ。
関西支部設立50周年記念大会(平成28年度支部総会)	平成29年4月22日(土)・23日(日)	大阪・神戸付近で調整中	「関西支部の50年、そして未来へ 一繋(つな)ぐ・紡(つむ)ぐ・創(つく)る」

詳細は関西支部ホームページ(<http://www.jaeat-kansai.org/>)を参照ください。

詳細は、日本実験動物技術者協会ホームページ(<http://jaeat.org/>)を参照下さい。

日動協の通信教育と各種研修会のご案内

日動協は、2級、1級の実験動物技術者資格の取得を目指す方そして実験動物の取扱い初心者を対象として、通信教育と各種技術研修会を行っています。

●技術者資格の取得を目指す方

2級資格取得には、学科試験(必須と選択の計2科目)と実技試験(学科で選択した1科目)に合格する必要があります。

1級資格取得には、学科試験(必須2科目と選択2科目)と実技試験(必須と選択の計2科目)に合格する必要があります。

●2級技術者資格の取得を目指す方

通信教育とスクーリング

2級認定試験合格を目標とし、学科試験(→通信教育)と実技試験(→スクーリング)に対応しています。全く経験のない初心者でも受けることができる内容です。

特にスクーリングは、実際の実技試験と同様の内容で、事前準備として最適です。スクーリングの最後に行われる修了試験の合格者には以降2年間有効な実技試験免除の特典*があります。

*免除の特典は、その年度に2級の実技試験で「マウス・ラット・その他のげっ歯類(ハムスター類、スナネズミ)」の科目を選択した通信教育受講者に限り適用される。

実技研修会(ウサギ、サル類、ブタ)

2級の実技試験合格を目標として、ウサギ、サル類、ブタの動物種についての実技試験に対応しています。実際の実技試験と同様の内容で、実技試験の事前準備として最適です。

ウサギ、サル類の実技研修会は2級実技試験受験者が、ブタの実技研修会は2級実技試験受験者の他、関連業務に携わる方であればどなたでも受講できます。

●1級技術者資格の取得を目指す方

白河研修

1級認定試験合格を目標とし、学科試験と実技試験(必須科目)に対応しています。研修(月～金曜日)の翌日に同じ施設で、全国各地でも行われる学科試験を実施します。毎年、白河研修受講者は比較的高い割合で合格しています。

研修最終日の修了実技試験合格者には以降2年間有効な実技試験(必須科目)免除の特典*があります。

なお、実技試験免除対象となるマウス(実技必須科目)取扱いの経験がない方は、事前準備として「実験動物基本実技研修会(2級水準、1級水準)」を受けることをお勧めします。

*免除の特典は、当該年度の学科試験に合格しその年度に行われる実技試験の受験者に限り適用される。

実技研修会(ウサギ、サル類、ブタ)

1級の実技試験合格を目標として、ウサギ、サル類、ブタの動物種についての実技試験に対応しています。実際の実技試験と同様の内容で、実技試験の事前準備として最適です。

ウサギ、サル類の実技研修会は1級実技試験受験者が、ブタの実技研修会は1級実技試験受験者の他、関連業務に携わる方であればどなたでも受講できます。

●将来技術者資格の取得を目指す方、会社で久々に実験動物を扱う方

日常の管理研修会

新入社員、営業職などで実験動物に全く触れたことがないなどの初心者向けの研修で、マウス、ラットの基本的な取扱い(一般状態の観察、体重測定、ケージ交換他)を1日間で習得できます。関連業務に携わる方であればどなたでも受講できます。

実験動物基本実技研修会(2級水準)

「日常の管理研修会」でマウスの取扱いを学んだが、一歩進んで検査方法や手術手技等を学びたい方を対象とし、基本的な実技(2級水準)の習得が目標です。通信教育のスクーリングと並行して行いますが、実技試験免除の特典はありません。関連業務に携わる方であればどなたでも受講できます。

実験動物基本実技研修会(1級水準)

入社以来ブタばかり担当しているなどでマウスの取扱い経験がなく、白河研修会の修了実技試験(マウス)を受ける予定の方を対象とし、不安なく修了実技試験を受けられることが目標です。なお、白河研修会受講者以外の方も受講できます。

●実験動物施設の微生物学的衛生管理を担当する方

微生物モニタリング技術研修会

高品質な実験動物の生産には微生物モニタリングが不可欠になっています。この微生物モニタリング検査の初心者あるいは検査技術の向上を目指す方を対象とした実技主体の研修です。実技講師は国際的な機関であるICLASモニタリングセンターの職員で、研修後のつながりを作ることでもできます

通信教育、各研修とも、詳しくは日動協のホームページでご確認ください。

日動協の通信教育と各種研修会一覧

名称	目的	内容	受講対象者	特典	開催期日 (H28年度)	申込締切 (H28年度)	開催場所	定員 (名)	受講料 (消費税込み)
日常の 管理研修会	初心者の 入門	マウス、ラットの 取扱い実技の 実習(2級水準)	制限なし		6月25日(土) 全日	5月31日 (火)	日獣大	50	21,600円 (会員)～ 32,400円 (一般)
実験動物基本 実技研修会 (2級水準) *H29年度新規	2級実技 試験準備	マウス、ラット等の 動物実験基本 実技の実習 (2級水準)	制限なし		スクーリング と同じ日	未定	日獣大	20	21,600円 (会員)～ 32,400円 (一般) (予定)
実験動物基本 実技研修会 (1級水準)	・1級実技試験 (必須科目) 準備 ・白河研修の 修了実技 試験準備	マウスの動物 実験基本実技の 実習(1級水準)	制限なし (白河研修 受講者優先)		8月27日(土) 午後～ 28日(日) 全日	6月30日 (木)	日獣大	20	21,600円 (会員)～ 32,400円 (一般)
微生物 モニタリング 技術研修会	モニタリング 検査技術の 向上	材料採取～ 検査、判定までの 実技実習	制限なし		7月1日(金) 全日～ 2日(土)全日	5月27日 (金)	実中研	30	32,400円 (会員)～ 43,200円 (一般)
実験動物 高度技術者 養成研修会 (白河研修)	1級試験 (学科、実技) 準備	・学科試験用の 講義 ・実技試験 (必須科目)の実習 ・修了実技試験 (必須科目)	1級試験 受験者	1級実技試験 (必須科目) の免除 *修了実技 試験合格が 条件	9月12日(月) ～16日(金)	6月10日 (月)	家畜改良 センター	50	75,600円 (会員)～ 86,400円 (一般)
通信教育	2級学科 試験準備	学科試験に即した 問題の添削	制限なし		3月～7月	2月28日 (金)		100	30,240円
スクーリング (通信教育と セット)	2級実技 試験準備	マウス、ラット等の 動物実験基本 実技の実習 (2級水準)、 実技修了試験	通信教育 受講者	2級実技 試験免除 *実技修了 試験合格が 条件	8月27日(土) 午後～ 28日(日) 全日	対象者に 直接連絡	・日獣大 ・京都府立 医大	100	16,200円
ウサギ実技 研修会	2級、1級 実技試験 (選択科目) 準備	ウサギの動物実験 基本実技の実習 (2級、1級水準)	2級、1級 実技試験 受験者		10月29日 (土)午後～ 30日(日) 全日	対象者に 直接連絡	日獣大	30	21,600円
サル類実技 研修会	2級、1級 実技試験 (選択科目) 準備	サル類の動物実験 基本実技の実習 (2級、1級水準)	2級、1級 実技試験 受験者		10月29日 (土)全日	対象者に 直接連絡	日獣大	30	16,200円
ブタ実技 研修会	2級、1級 実技試験 (選択科目) 準備	ブタの動物実験 基本実技の実習	制限なし		10月29日 (土)午後～ 30日(日) 全日	10月13日 (木)	日獣大	12	21,600円 (2級、1級 受験者、 正会員)～ 32,400円 (一般)

日獣大: 日本獣医生命科学大学、東京都武蔵野市

京都府立医大: 京都府立医科大学、京都市上京区

実中研: (公財) 実験動物中央研究所、神奈川県川崎市

家畜改良センター: (独) 家畜改良センター中央畜産研修施設、福島県白河市

・開催期日、申込締切はH28年度の日程(終了済み)で、29年度は未定です。

・詳細は日動協のHPで必ずご確認ください。

平成28年度（第32回）実験動物技術者資格認定試験結果

平成28年度(第32回)実験動物技術者資格認定試験は、2級学科試験を8月21日(日)、1級学科試験を9月17日(土)に実施、また、実技試験は2級を11月26日(土)、1級を11月27日(日)に実施しました。その結果が判明したので報告します。

2級技術者試験（欠席者を除く）

区分	高校	専門学校	大学（一般扱）	一般	合計
学科受験者	80	59	63	315	517
学科合格者	34	40	56	276	406
学科合格率（%）	42.5	67.8	88.9	87.6	78.5

実技受験者	32	39	63	229	363
実技合格者	28	38	62	226	354
実技合格率（%）	87.5	97.4	98.4	98.7	97.5

備考：その他、過年度学科又は実技合格者7名、通信教育スクーリング修了試験合格者53名を含め、総合合格者数は394名である。

1級技術者試験（欠席者を除く）

区分	白河研修生	一般	大学・専門	学科免除者	合計
学科受験者	46	84	110	—	240
学科合格者	37	46	68	—	151
学科合格率（%）	80.4	54.8	61.8	—	62.9

実技受験者	37	45	58	69	209
実技合格者	28	22	40	42	132
実技合格率（%）	75.7	48.9	67	60.9	63.2

備考：①一級学科試験に合格した者のみが実技試験受験者となる。

②学科免除者とは過年度(過去2年)に学科試験に合格した者である。

1級・2級実験動物技術者試験の優秀者の発表について

平成28年度の実験動物技術者試験で優秀な成績を取めた方を表彰いたします。

成績優秀者は次のとおりです(学科試験および実技試験の総合評価に基づく)。

実験動物2級技術者試験優秀者（高校）

名前	高等学校名
1 下山 祐理子	静岡県立田方農業高校
2 永野 美咲	愛知県立安城農林高校
3 唐澤 紗波	長野県上伊那農業高校
4 日名地 華奈	愛知県立安城農林高校
5 岩崎 汐音	静岡県立田方農業高校

実験動物2級技術者試験優秀者（専門学校）

名前	専門学校名
1 長谷部 のどか	湘央生命科学技術専門学校
2 白石 彩香	湘央生命科学技術専門学校
3 星 知菜	北海道ハイテクノロジー専門学校
4 小池 円	湘央生命科学技術専門学校
5 西富 友彦	東京バイオテクノロジー専門学校

実験動物2級技術者試験優秀者（一般）

名前	所属
1 上田 洗平	(一財)残留農薬研究所
2 中川 優貴	清水実験材料(株)
3 佐藤 綾香	日本エスエルシー(株)
4 横山 尚子	清水実験材料(株)
4 笹田 衣子	(株)テクノプロ

名前	所属
6 相澤 聖也	ライオン(株)
7 川北 美奈子	京都大学ウイルス・再生医学研究所
8 南 友美	(株)文教コーポレーション
8 高木 幸恵	(株)池田模範堂
8 小澤 直可	帝人ファーマ(株)

実験動物1級技術者試験優秀者（大学）

名前	大学名
1 菅谷 友美	長浜バイオ大学
2 久保 静花	神戸大学
3 内藤 加奈絵	京都産業大学

実験動物1級技術者試験優秀者（一般）

名前	所属
1 針谷 円	(一財)阪大微生物病研究会
2 近藤 伸行	(株)武田ラビックス
3 根本 稔真	大塚製薬(株)徳島研究所

協会だより

1. 委員会等活動状況

委員会名等	開催日	協議内容及び決定事項・場所
第2回試験採点・合否判定小委員会	28.10.4	実験動物1級技術者学科試験の採点・判定他
第2回教育・認定委員会	28.10.4	教育セミナーフォーラムについて他
第2回情報委員会	28.10.5	「LABIO21」No.67の企画
第2回実験動物福祉調査・評価委員会	28.10.19	福祉調査報告と調査概要書内容の検討他
サル類実技研修会	28.10.29	日本獣医生命科学大学
ウサギ・ブタ実技研修会	28.10.29～30	日本獣医生命科学大学
第2回総務会	28.10.31	平成29年度予算作成方針他
実験動物2級技術者実技試験	28.11.26	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物1級技術者実技試験	28.11.27	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
第3回モニタリング技術委員会	28.11.30	検疫・検収に関する手順書(実験動物の感染症対策に関する教材)原案の検討他
通信教育小委員会	28.12.7	平成29年の通信教育の取り組みについて
第3回試験採点・合否判定小委員会	28.12.13	実験動物1級、2級技術者実技試験の採点、合否判定
第3回教育・認定委員会	28.12.13	実験動物1級、2級技術者試験の結果他
第3回情報委員会	28.12.19	「LABIO21」No.68の企画

2. 行事予定

行事	開催日	備考
教育セミナーフォーラム2017(東京)	29.2.18	東京大学弥生講堂
第12回実験動物技術指導員研修会	29.2.19	日本獣医生命科学大学
教育セミナーフォーラム2017(京都)	29.3.11	京都府立医科大学

3. 関連団体行事

◆ 第64回日本実験動物学会総会

日 時：平成29年5月25日(木)～27日(土)
場 所：ビックパレットふくしま(福島県郡山市)
大会長：大和田一雄(一般財団法人ふくしま医療機器産業推進機構)
詳 細：<http://sympo.adthree.net/jalas64/>

◆ 第51回日本実験動物技術者協会総会

日 時：平成29年10月12日(木)～14日(土)
場 所：山形テルサ(山形県山形市)
大会長：伊藤恒賢

お詫び

「LABIO21」No.66の13頁、「2013年度版AVMA安楽死に関するガイドラインの概要」を執筆いただいた鈴木真先生の所属に誤記載がありましたのでお詫びし、以下に訂正させていただきます。

誤：「沖縄科学技術大学院大学 実験動物支援セクション」

正：「沖縄科学技術大学院大学 実験動物セクション」

今回のイラスト

オオマシコ（大猿子）。

冬鳥として主に東日本に飛来する。

大きさは約17cm。繁殖地はシベリアの亜寒帯。



KAZE

現在の正月の起源を調べてみた。太陽暦を採用した明治5年からで、旧暦(太陰太陽暦)の冬至から11日目に当たる。鎖国時代出島のオランダ商館長が日本のお正月のお祝いを真似て、太陽暦の1月1日、出島で働く日本人をオランダ料理でもてなした「オランダ正月」が起源である。招待客は出島勤めの長崎奉行役人、出島の監視役乙名、通詞や出入りの職人等で文政年間(1818～1829年)の「長崎名勝図絵」に料理の数々が記録されている。オランダ正月を広めた通詞、吉雄耕牛は江戸番大通詞として参府に付き添い、またあのターヘルアナム「解体新書」の序文を書いた外科医でもあり、西洋医学に精通する蘭学の大家と評された。八代将軍吉宗が殖産興業策としてオランダ商館に洋馬を発注できたのは商館の大通詞今村源右衛門英生が輸入翻訳実務に苦勞した結果であった。輸入馬と一緒に来日した乗馬師ケイゼルと英生、そして耕牛の父、通詞吉雄藤三郎が奇遇にも洋馬と共に江戸に出府したのである。まだ獣医学の曙を知らない日本で、ケイゼルが持参した馬療書、薬方書の翻訳について専門用語の訳出の苦心は並大抵でなかったが英生はこれを「西説伯楽必携」として完成させた。あの玄白等が訳出公刊した「解体新書」に先立つこと半世紀も前のことである。彼はまた吉雄家の通詞としての力量を育んだ恩師でもあった。以前、ケンペルの来日時に師事した英生の語学力は豊富なケンペルからの知識の吸収と行動を共にし培われた信頼関係に裏打ちされたものだった。帰国後ケンペルが著わした「日本誌」は東洋に憧れる人々のバイブルになったと言う。「正月」の起源捜しが洋学史になってしまったようだ。そういえば、ニイニゼミの学名はケンペルに献名された *Platypleura kaempferi*(FABRICIUS 1794) で彼の「日本誌」には「コゼミ」の名前で記載されている。

〔新関 治男〕

STAFF

情報委員会

担当理事	日柳 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
〃	大和田一雄	KAZUO OHWADA
〃	川本 英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
〃	新関 治男	HARUO NIIZEKI
〃	林 直木	NAOKI HAYASHI
〃	山縣 永督	EISUKE YAMAGATA
事務局	武石 悟郎	GORO TAKEISHI
〃	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO
〃	畔上 二郎	JIRO AZEGAMI

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

**Supporting Your Dream Of Innovation
For Life Science**

Japan SLC, Inc.

「優しい暮らし」のために

日本エスエルシーは動物愛護の精神を尊び
大切な研究テーマにあった実験動物を提供してまいります。



日本エス エル シー株式会社
— <http://www.jslc.co.jp> —



小さな生命から 大きな未来へ

Small players in a better future.

「小さな生命が未来をつなぐ」をモットーに
大きな未来へ踏み出す新たな可能性と技術の開発に取り組んでいます。



For the future.

New possibilities

新たな可能性

New discoveries

新たな発見

New development

新たな開発



 **日本クレア株式会社**

<http://www.CLEA-Japan.com>



登録商標を持つマウス・ラットの生産