

Japanese Society of Laboratory Animals
LABIO 21



社団法人 日本実験動物協会

Tel. 03-3864-9730 Fax. 03-3864-0619

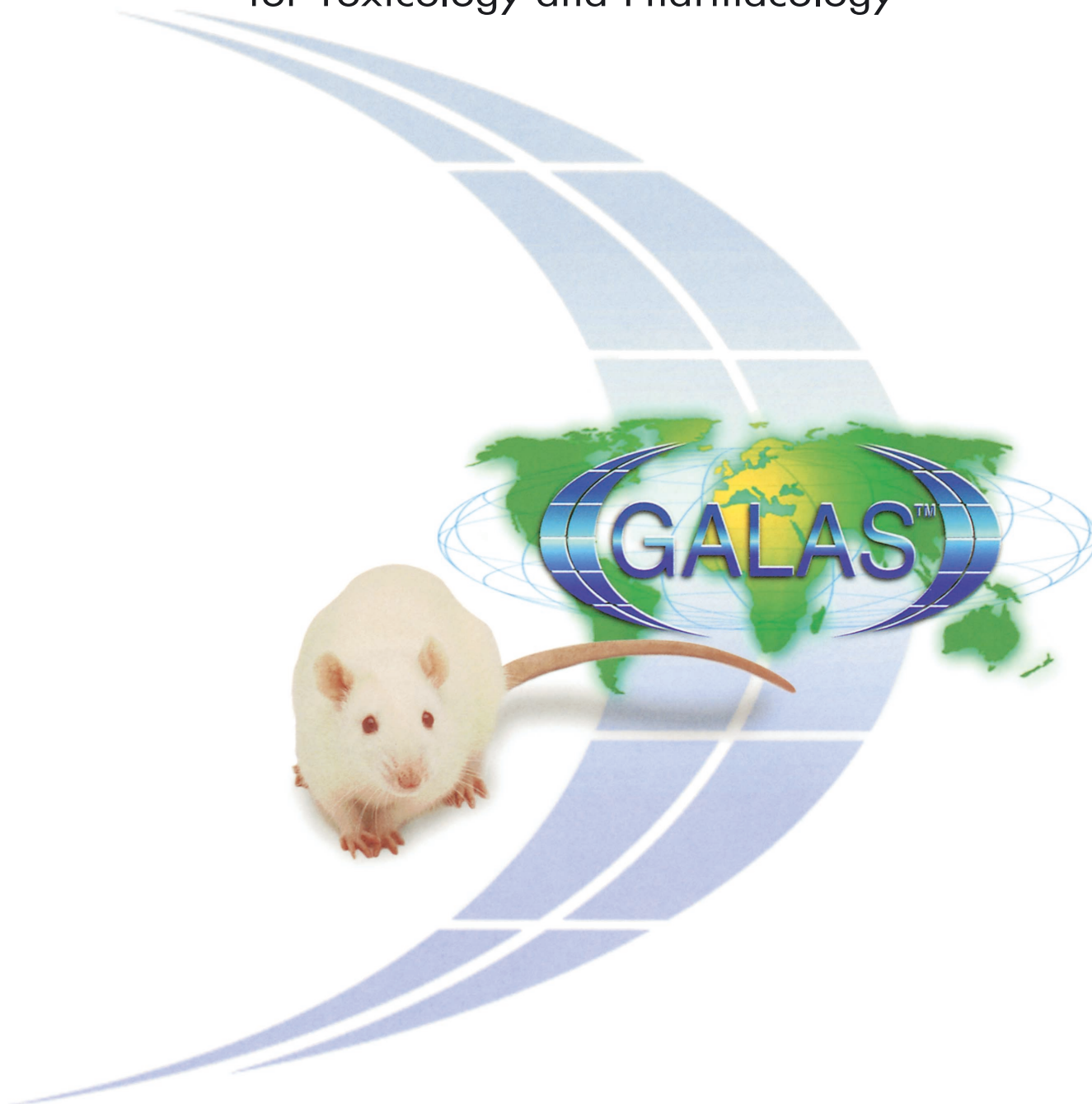
<http://group.lin.go.jp/jsla/> E-mail: jsla@group.lin.go.jp

【特集】

プリオン病の現状 マウス精子の凍結乾燥



Introducing the Internationally Harmonized
Wistar Hannover GALAS Rat
for Toxicology and Pharmacology



Taconic M&B



CLEA JAPAN, INC.

Taconic
Quality Laboratory Animals
and Services for Research

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization



KPMG REGISTRAR



JAB
QS Accreditation
R025

ISO 9001



日本クレア株式会社

TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-Japan.com>



表紙の写真説明

動物名：ニホンウズラ WE系

特徴：多くの家畜の中で、ニホンウズラは唯一我が国で家禽化された動物と言われております。WE系は1964年よりクローズドコロニーとして維持してきた集団に突然変異体として出現した白色卵殻卵（白卵）を産卵する個体をホモ化し、1971年に1系統として確立されました。近年、体外培養実験、キメラ及び遺伝子導入実験、農医薬品等の毒性試験などに幅広く用いられています。特にWE系とAWE系の交配から得られる胚及びヒナは、それらの羽色から雌雄の識別が可能のため、環境ホルモンの影響調査に関する各種試験で高く評価されています。

写真提供：日生研（株）

目次

「動愛法改正について思うこと」	4
特集	5
プリオン病の現状 - 牛海綿状脳症と変異型CJDを中心に	
特集	11
「マウス精子の凍結乾燥」	
連載記事	16
犬の皮膚疾患 ③ 「アレルギー疾患」	
ホットコーナー	23
「げっ歯類のパスツレラ症の現状と課題」	
海外散歩	27
「職場でのストレス」	30
ラボテック	33
「実験動物スunksの紹介」	
海外文献情報	37
ほんのひとりごと	39
学会の動き	40
技術者協会の動き	40
日本実験動物協同組合の動き	40
協会だより	41
実験動物一級技術師資格認定試験を受験して	42
KAZE	42

医学・薬学・理工学者向けの生命科学を中心とした情報誌

Biophilia

～生命科学の未来を考える～ **ビオフィリア**

生命科学に関するさまざまな情報の効率的な媒体として、総説、特集、連載、技術紹介、ニュース等を中心とする情報雑誌。

毎年3月・6月・9月・12月 各10日発売

定価 **1,890円** (税込)

詳しくはホームページ <http://www.biophilia.jp/> をご覧下さい。随時、内容は更新していきます。

編集委員長 前島 一淑（慶應義塾大学名誉教授）

編集委員

海野 隆（日本オルガノン株式会社主幹部員）

小林 英司（自治医科大学分子病態治療研究センター教授）

星 信彦（神戸大学農学部教授）

吉崎 理華（(株)東レリサーチセンター研究員）

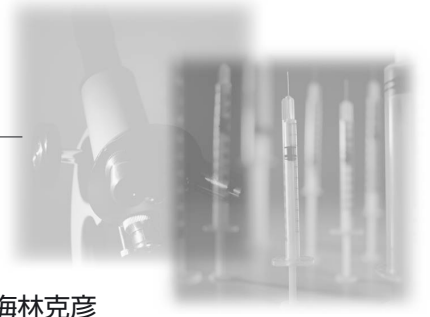
劉 陽（慶應義塾大学医学部）

株式会社アドスリー

〒164-0003 中野区東中野4-27-37

tel: 03-5925-2840 fax: 03-5925-2913 <http://www.adthree.com>

改正動物愛護管理法について



環境省自然環境局動物愛護管理室長 東海林克彦

去る6月22日に改正動物愛護管理法が公布された。平成11年の法改正と同様に、全党一致での議員立法による改正である。その改正内容は多岐に渡っている。本誌を読んでおられる方々にとって、最大の関心事であろうと推察される法改正事項は、「動物を科学上の利用に供する場合の配慮事項の充実」である。実験動物の福祉の原則等として、国際的に普及定着しているいわゆる「3Rの原則」が、改正法の第41条中に明確に規定されたのである。

この改正法第41条の持つ意味や効果、また、もたらすであろう今後の動きには、刮目すべきことが実に多い。まずは、その意味や効果である。この法改正により、動物愛護管理法の果たすべき役割に一定の整理がなされたのではないだろうか。現行法においては、「苦痛の軽減」の原則について、環境大臣はガイドラインを定めるとされている。しかし、改正法において追加された「代替法の活用」「使用数の削減」の2原則については、ガイドラインを定めるとする措置は設けられなかった。動物実験の適正化色がより強いと

考えられる「代替法の活用」「使用数の削減」の2原則についてガイドラインを定めないというのは、動物愛護管理法は、動物実験ではなく実験動物の福祉に特化した法制度であるという考え方をされた結果ではなかろうか。換言すれば、科学研究である動物実験の必要性は、動物の愛護及び管理の観点から判断されるべきものではないということが明確にされたと解することもできよう。また、3Rの原則を実行あらしめるための許認可規制が導入されなかったのは、わが国における動物実験等の適正化方策としては、行政機関による許認可指導ではなく、セルフコントロール方式がより妥当であると判断されたという意味が含まれているのかもしれない。

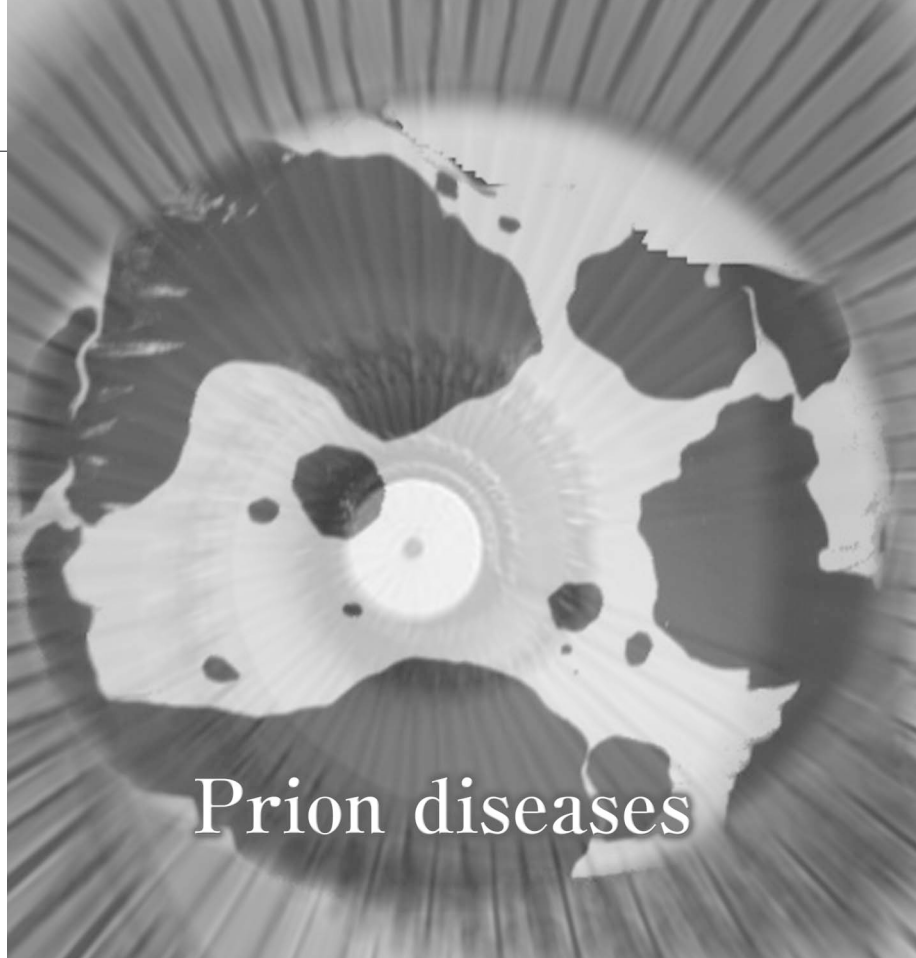
次に法改正がもたらすであろう今後の動きである。いささか直裁に過ぎるかもしれないが、3Rの原則が法制化されたことにより、日本には動物実験に関する法制が全くない国であるといった、俗に言うアウトロー批判が変質していくことが考えられる。しかし、3Rの原則が規定された今回の法改正は、決してこれですべての課題

が自動的に解決されるといったゴールではない。実は、新たなる試練の始まりではないかと考えている次第である。確かに、今回の法改正は、百家争鳴状態にあった実験動物の福祉の向上に関する考え方や意見に、一定の秩序と方向性を付与してくれた素晴らしい法改正であったと思われる。と同時に、わが国ならではの動物実験の適正化のあり方を構築していかなければならないといった、関係者が一致協力して乗り越えなければならない大きな課題を突きつけている法改正であるとも思われるのである。

現在、関係行政機関や団体等においては、法改正等を受けて、動物実験の適正化のためのガイドライン作りに着手していると聞いている。環境省においても、実験動物の飼養保管基準の改訂作業を行っているところである。わが国ならではの動物実験の適正化のあり方を模索する新たなる試練の始まりであることを肝に銘じつつ、決意も新たに実験動物の福祉の向上に向けて努力して参る所存である。今後とも、引き続き皆様のご協力を頂ければ幸いである。

特集

「プリオン病の現状―牛海綿状脳症と変異型CJDを中心に」



八谷 如美

東京医科大学医学部生理学
第二講座講師

金子 清俊

東京医科大学医学部生理学
第二講座主任教授

要旨

我が国で牛海綿状脳症（BSE）が発見されて以来、BSE並びにその人への感染型とされる変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（変異型CJD）に対する関心が高まっている。1986年、英国に端を発したBSEは、その後主に欧州大陸に感染が拡大し、現在では我が国を含め世界24カ国において総計約19万頭にのぼるBSE感染牛が確認されているが、牛から牛への感染対策の結果、その発生頭数は減少傾向にある。牛から人への感染型であ

る変異型CJDと、年間百万人当たり一人という有病率を有する自然発症型の孤発性CJDとを比較すると、様々な相違点が認められる。また、変異型CJDにおいては末梢リンパ組織から感染型プリオン蛋白質が検出されるため、人から人への感染予防を考慮する必要がある。また、最近我々が同定したアンフォルジンによる新しいプリオン病の診断、治療法の開発が期待される。

プリオン病

プリオン病は人獣共通感染症であり、プリオンと称される感染性病原体に起因すると考えられている。プリオンの本体は、正常型プリオン蛋白質 (PrP^C) を基に複製される感染型プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) であるとの説 (プリオン説) が有力である。両者のアミノ酸配列に違いは見られないが、その立体構造に大きな違いが認められ、PrP^Cに比べるとPrP^{Sc}は非常にベータ構造に富んでいる (図1)。人のプリオン病は、(1) 原因不明の孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD)、(2) ゲルストマン

症候群 (GSS)、家族性致死性不眠症 (FFI) といった遺伝歴を有する家族性、あるいは(3) 感染性に分類される (表1)。(3) の感染性のタイプには、BSE由来とされる変異型CJDをはじめ、食人習慣に伴うクールーや医療行為による医原性プリオン病 (乾燥硬膜移植

後CJD) が含まれる 1)。また、動物のプリオン病としては、牛海綿状脳症 (BSE) 以外にも、200年以上以前からその存在が知られていたヒツジのスクレイピー、北米大陸で問題となっている野生鹿のプリオン病 (CWD) などが挙げられる。

表1. 伝達性海綿状脳症 (TSE)、プリオン病

ヒト	孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) 家族性プリオン病 (CJD, GSSなど) 医原性プリオン病 (乾燥硬膜移植後など) クールー (食人習慣による) 変異型CJD (variant CJD ; vCJD)
ウシ	牛海綿状脳症 (BSE)
ヒツジ	スクレイピー
シカ	Chronic Wasting Disease (CWD)
サル、ネコ、ミンク、チータなど	



正常型プリオン蛋白質



感染型プリオン蛋白質

図1. プリオン蛋白質の立体構造

BSE

1986年、英国に端を発したBSEは、その後主に欧州大陸に感染が拡大し、現在では我が国を含め世界24カ国において総計約19万頭にのぼるBSE感染牛が確認されている（表2）。BSE診断法としては、まずエライザ法の原理に基づいた第一次検査が行われるが、その結果陽性が疑われる場合は、ウェスタンブロット法（WB法）あるいは組織検査・免疫組織化学検査法からなる確定検査が行われ、BSEかどうかの確定診断がなされる。これらの検査法は、いずれも抗プリオン蛋白質抗体を用いた抗原抗体反応を応用した検査法であるが、現状ではBSE検査に用いられる延髄かんぬき部に検出限界以上のPrP^{Sc}が沈着した場合（すなわちある一定の月齢以上）において陽性と診断できる。したがって、将来的には感染早期の潜伏期間内であっても、しかも生体牛での診断が可能となる手法の開発が望ましい。

変異型CJD

BSEの人への感染型である変異型CJDは、現在まで世界8カ国で確

表2. 国別・地域別、牛海綿状脳症 (BSE)と変異型CJD

国別・地域別	BSE頭数	変異型CJD患者数
英国	184,207	155
フランス	945	11[*3]
アイルランド	1,504	2
イタリア	124	1
オランダ	77	1
日本	17	1*
カナダ	5	1*
米国	1	1*
ポルトガル	963	0
スペイン	531	0
スイス	456	0
ドイツ	357	0
ベルギー	129	0
ポーランド	31	0
スロバキア	20	0
チェコ共和国	15	0

2005年5月現在

認されているが、その大部分は我が国の発症例を含め、英国での感染と考えられる（表2）。しかし、オランダでの発症者は、英国滞在歴等がないため、20頭にも満たないBSE感染牛しか確認されていない自国内での感染が疑われている。

現在まで確認された変異型CJD患者において、プリオン遺伝子のコドン129の遺伝子多型は、すべてがメチオニン/メチオニン（M/M）であり、メチオニン/バリリン（M/V）やバリリン/バリリン（V/V）を有する患者は後述の未

発症者を除いては認められていない。ちなみに、英国におけるM/Mの頻度は40%程度である一方、我が国のそれは90%以上となっており、変異型CJD罹患リスクを考える際に考慮すべき重要な因子となっている。

牛から牛、牛から人、人から人へのプリオン感染

BSE管理対策を考える場合には、(1) 牛から牛への感染、(2) 牛から人への感染、(3) さらには人から人への感染、の3点を考慮する必要がある（表3）。

表3. 牛海綿状脳症 (BSE)と変異型CJDのリスク評価と対策

<p>1. 牛から牛への感染</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 飼料規制 (フィードバンの徹底) ・ トレーサビリティーの確立 (耳標装着など)
<p>2. 牛から人への感染</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ BSE検査 (エライザ法、ウエスタンブロット法、免疫組織化学法) ・ 特定危険部位 (SRM)除去
<p>3. 人から人への感染 (変異型CJDのみ)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 輸血 ・ 臓器移植 ・ 内視鏡

牛から牛への感染に関しては、BSEの根絶ということになる。具体的には、(1) BSE病原性を牛が摂取しないよう飼料規制を行うこと (フィードバン)、さらには(2) 牛の履歴を完全に把握すること (トレーサビリティーの確立)の2つが主なBSE管理対策となる。今までのBSE検査の結果によると、1995-1996年、2001-2002年に我が国におけるBSE発症のピークが疑われている。それらのデータに基づく専門家の試算によると、今後さらに数十頭程度のBSE感染牛が摘発される可能性も推察されている。

牛から人への感染、つまりBSEによる変異型CJDの発症リスクを考える場合、主に3つの要因が挙げられる。第一に種の壁 (species

barrier)という安全弁の存在、第二に摂取経路、第三には摂取量である。第一の要因である種の壁とは、プリオン蛋白のアミノ酸配列が異なる程、PrP^CとPrP^{Sc}が相互作用しにくくなることを指すが、残念ながら牛と人の間の種の壁の強さに関する定量的なデータは存在しない。感染経路に関しては、脳に直接感染型プリオンを注射した場合に比べ、経口摂取の場合には感染率は低下する事が知られている。これは、感染症状の主座である脳まで到達する間に感染効率が低下するためであると推察される。最後にプリオン摂取量の問題が挙げられる。プリオンが多く蓄積する特定危険部位 (SRM) の摂取と変異型CJD発症の間の相関が示唆されている。牛から人への感染防御の手段としては、(1)

BSEによる感染牛の食物連鎖からの排除、(2) SRMの除去が挙げられる。

人から人への感染に関して、変異型CJDの扁桃や虫垂等のリンパ組織からPrP^{Sc}が証明されたとの報告が相次いでなされ、白血球を含むリンパ組織の感染性に関する警鐘が鳴らされている。最近、英国人の12,674サンプル (虫垂、扁桃腺) を検査した結果、3サンプルからプリオンが検出されたという²⁾。この確率を当てはめると、英国全体で3,800名から検出されるという推計がなされる。ただし、実際の患者数から考えると、こういったリンパ組織でプリオンが検出されても全員が変異型CJDを発症するわけではない可能性も考えられる。

さらに、変異型CJD患者由来血液の輸血後に変異型CJDを発症したという報告もなされている³⁾。さらに、非発症例ではあるが他疾患による死亡後の剖検により脾臓からPrP^{Sc}が検出されたとする報告がなされた⁴⁾。驚くべきことに、この例ではコドン129のプリオン遺伝子多型がM/V型であったという。このことから、必ずしもM/M型だけが変異型CJDのり

スクではない可能性も示唆されている。しかし、M/V型では感染しても変異型CJD発症には至らない可能性も残されており、今後の十分な検証が重要である。なお、我が国で変異型CJDが同定されたため、新たに1980年から1996年の間に1日以上又は1997年から2004年の間に6ヶ月以上の英国滞在歴がある者からの献血が禁止された。

アンフォルジンのプリオン病診断・治療法への応用

最近我々は、大変特異な性質を有する分子シャペロンであるアンフォルジンを酵母から同定した(5-7)。図2左図にアンフォルジンの電子顕微鏡写真 (Scale bar = 10 nm) を示す。大変興味深いことに、通常はタンパク質分解酵素で分解されない難溶性蛋白質 (組み換えプリオン蛋白質 (ベータフォーム)、パーキンソン病の原

因蛋白質の一種であるアルファシヌクレイン、アルツハイマー病の原因となるアミロイドベータペプチド (1-42) が、アンフォルジンと反応後には、低濃度のトリプシン (200 ng/ml) にて容易に分解されてしまう (図2右図)。尚、繊維状の構造物は、難溶性蛋白質の電子顕微鏡写真 (Scale bars = 100 nm) である。また、この性質を利用することで、こういった難溶性蛋白質の抗原提示能を大幅に改善し、ウエスタンブロット法

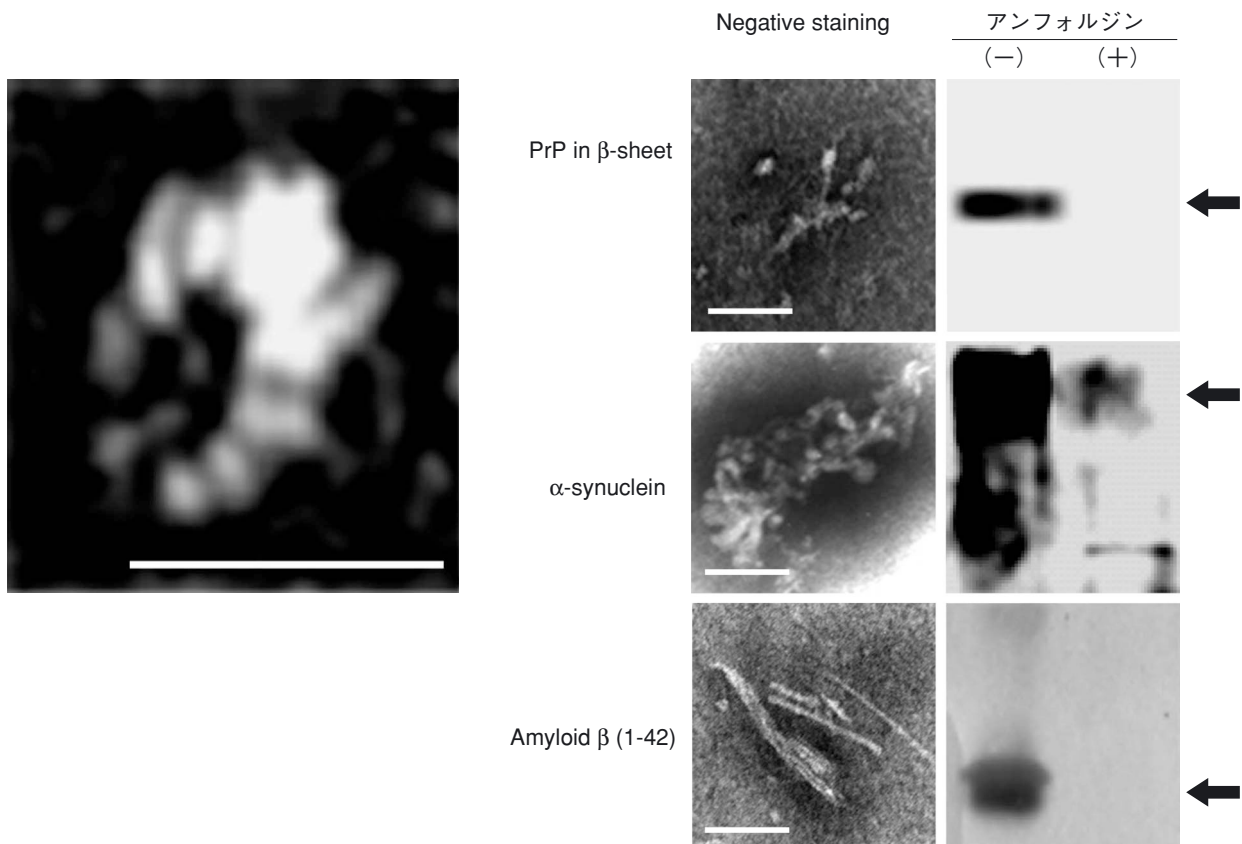


図2. プリオン蛋白質の立体構造

による検出感度を数百倍改善できる可能性を示唆するデータも得ている。今後は、こういったアンフォルジンの極めてユニークな性質を、プリオン病を中心とする蛋白質凝集病の診断・治療法に応用することを狙いたいと考えている。

参考文献

- 1) 厚生省調査研究「クロイツフェルト・ヤコブ病等に関する緊急全国調査研究班」研究報告書(班長 佐藤 猛)、1997年3月
- 2) Hilton, D. A.A. C. GhaniL. ConyersP. EdwardsL. McCardleD. RitchieM. PenneyD. HegazyJ. W. Ironside: Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. J Pathol 203: 733-9, 2004
- 3) Llewelyn, C. A.P. E. HewittR. S. KnightK. AmarS. CousensJ. MackenzieR. G. Will: Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. Lancet 363: 417-21, 2004
- 4) Peden, A. H.M. W. HeadD. RitchieJ. E. BellJ. W. Ironside: Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. Lancet 364: 527-28, 2004
- 5) Hachiya, N. S.Y. SakasegawaA. JozukaS. TsukitaK. Kaneko: Interaction of d-lactate dehydrogenase protein 2 (Dld2p) with F-actin: implication for an alternative function of Dld2p. Biochem Biophys Res Commun 319: 78-82, 2004
- 6) Hachiya, N. S.Y. SakasegawaS. H.A. JozukaS. TsukitaK. Kaneko: Oligomeric Aip2p/Dld2p forms a novel grapple-like structure and has an ATP-dependent F-actin conformation modifying activity in vitro. Biochem Biophys Res Commun 320: 1271-1276, 2004
- 7) Hachiya, N. S.Y. SakasegawaS. H.A. JozukaS. TsukitaK. Kaneko: Oligomeric Aip2p/Dld2p modifies the protein conformation of both properly-folded and misfolded substrates in vitro. Biochem Biophys Res Commun 323: 339-44, 2004

ノーサンのバイオ技術

Nosan Corporation

ノーサンが永年培った動物栄養の技術は、実験動物用飼料、昆虫用飼料に活かされ、さらにトランスジェニック動物、薬物代謝、遺伝子発現と進化しています。

研究に携わる皆様のご要望を直接うかがい、満足して頂ける商品とサービスをご提供する事が、ノーサンのモットーです。

- **NOSANの実験動物飼料**
マウス・ラット・ハムスター用
ウサギ用・モルモット用
イス用・ネコ用・サル用
- **疾患モデル動物用飼料**
- **放射線照射滅菌飼料**
- **精製・添加飼料**
- **昆虫用飼料**

NOSAN

- **NOSANの実験動物**
Cleanビーグル犬【Nosan:Beagle】販売
NIBS系ミニプタ 販売
SPFペー豚 販売
ビーグル犬の血漿・血清 販売
- **NOSANの受託業務**
実験動物のSPF化
実験動物の受託飼育(コンベンショナル・SPF)
トランスジェニック動物の作製
動物飼育室の貸出
各種動物受託試験

- **NOSANの薬物代謝業務**
プールド肝マイクロソーム・凍結肝細胞
ヒトP450分子種発現系・抗体
薬物代謝・酵素阻害・誘導試験受託
- **NOSANの遺伝子発現業務**
昆虫細胞を用いたタンパク質生産
Tg動物を用いた医薬品開発業務

NOSAN

日本農産工業株式会社

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい2-2-1 横浜ランドマークタワー46階 TEL 045 (224) 3713 FAX 045 (224) 3737
http://bio.nosan.co.jp

マウス精子の凍結乾燥

川瀬 洋介
中外医科学研究所

鈴木 宏志
帯広畜産大学 原虫病研究センター/
東京大学大学院 医学系研究科

はじめに

1980年代後半にマウスにおける遺伝子破壊や遺伝子置換技術が開発されて以来、既に3000以上の遺伝子欠損マウス系統が樹立され、さらに飽和突然変異法による大規模な遺伝子スクリーニング計画の進行によって、世界中の実験動物施設が遺伝子改変マウスによって飽和状態にある¹⁾。この問題の克服には、液体窒素を用いたマウス精子の凍結保存が積極的に利用されている。精子の凍結保存は、すでに畜産業を中心に産業応用が進んでおり、ウシの人工授精の90%以上は凍結精液により行われている。この他にウマ・ブタ・ヒツジ・ヤギなどの家畜においても優秀な雄の遺伝形質の保存と効率的な家畜生産という観点から精子の凍結保存が検討されている。また、ヒトの不妊治療の現場においても、比較的古くから精子の凍結保存技術が利用されている。しかし

ながら、精子の凍結保存の問題点としては、液体窒素中で精子を長期保存するためには絶えず液体窒素を供給する必要があるため、設備投資と維持コストが発生すること、液体窒素を安定的かつ大量に利用できる国・地域は限定されること、取り扱いに危険がともなうこと（凍傷あるいは酸欠）、また、凍結保存された精子を輸送する場合、特殊な輸送専用容器が必要となることなどがあげられる。そのため、これらの問題点を解決すべく、低コストでの長期保存や簡便な輸送のために、液体窒素を利用しない精子の保存・輸送方法として、凍結乾燥法が注目されている。

精子の凍結乾燥

凍結乾燥とは、凍結状態にある試料から水を昇華させて水分を除去するプロセスのことであり、この昇華とは、水の結晶が水（液体）に変化せずに気化して水蒸気に変わっていく現象である。凍結乾燥

プロセスは、昇華によって自由水などの大部分の水分を除去する一次乾燥期と、結合水などの残留水分を除去する二次乾燥期に分けられる。凍結乾燥機構の特徴は一次乾燥期の昇華乾燥にあり、全乾燥過程を通じて水分が試料内を液状水の状態で移動しないことにある²⁾。図1には、精子の凍結乾燥過程の1例を示している。予め-30℃に冷却した棚の上に凍結精子の入ったバイアル瓶を置いた後に、真空度を0.04mbarに設定して一次乾燥過程に入る。続く二次乾燥期の真空度は0.001mbarとし、二次乾燥期の最後にバイアル瓶を封栓してバイアル瓶内の気圧を0.001mbarに保った状態で凍結乾燥の全過程を終える。精子を室温や冷蔵庫で長期間保存することが可能となれば維持コストの削減は甚大なものとなり、さらに、封筒に凍結乾燥精子を入れて容易に輸送することが可能になる。従って、遺伝子資源の保存・輸送のために、凍結乾燥

精子の実用化が期待される
ところは大きい。

凍結乾燥精子の歴史

精子に対する凍結乾燥技術の利

用は1949年に家禽の精子で初めて
試みられた³⁾。この報告では凍結乾
燥した精子を水に戻すと50%程度
の精子が運動能を回復するとして
いるが、運動精子の受精能につい

ては全く調べられていない。その後
も精子を凍結乾燥する試みがヒト・
ウサギ・ウシで行われ^{4,5)}、1957年に
は凍結乾燥精子を用いて、12匹の
子ウサギが得られたことが報告され
ている⁵⁾。しかしながら、この結果は
他の研究者のみならず、報告者によ
っても再現性が確認できていない。
現在のところ、精子を凍結乾燥する
とその運動性は失われ、体外受精
や人工授精によって受精卵を得る
ことは不可能と考えられている。し
かし、この不動精子から受精卵を
得るために、精子を卵子に直接注
入する卵細胞質内精子注入法
(ICSI: Intracytoplasmic sperm
injection)を利用することができ
る。ICSIはヒトの不妊治療で一般

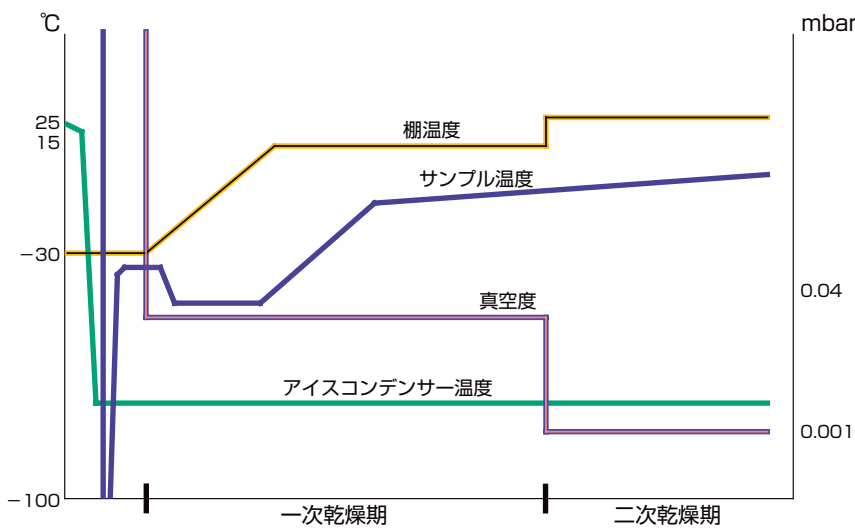


図1. 凍結乾燥プロセス

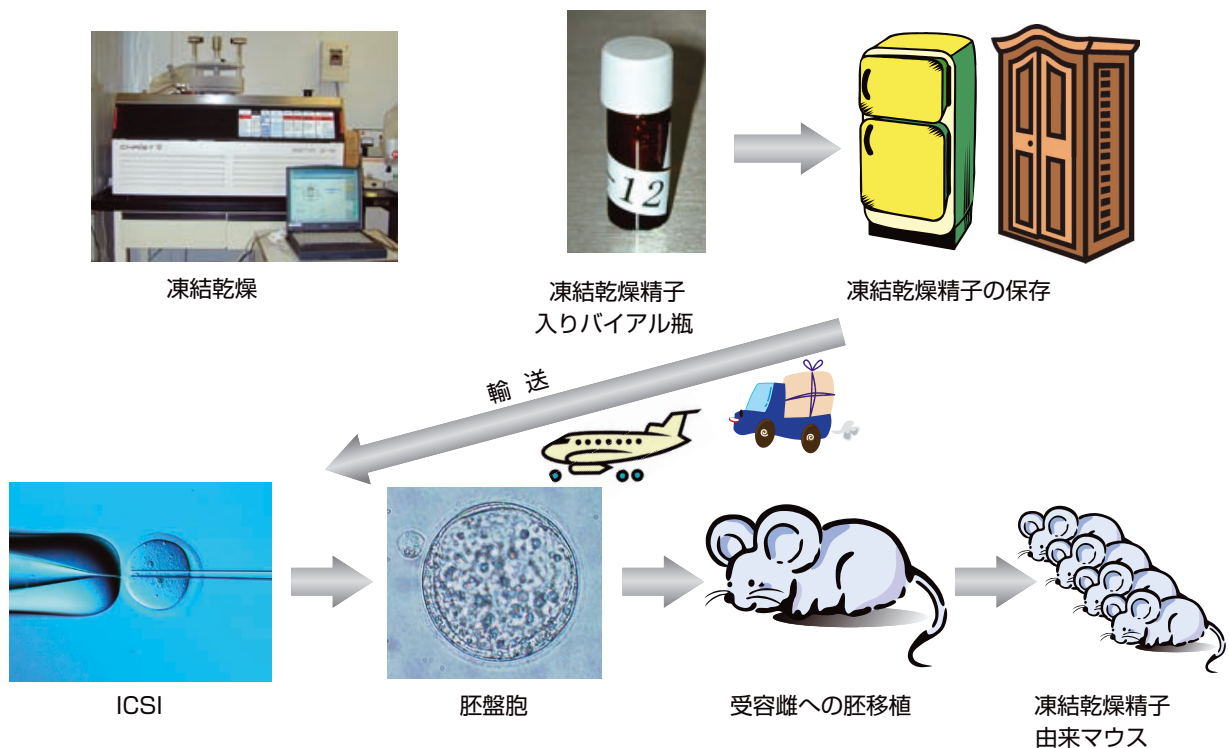


図2. 凍結乾燥精子を用いた遺伝子資源の保存と利用システム

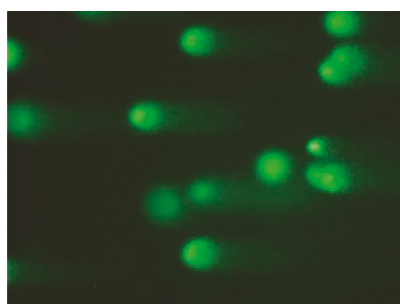
的に利用されている技術であるが、マウスのICSIについては、1995年にKimuraとYanagimachiがピエゾマイクロマニピュレーターを用いることで実用化を果たし、多くの研究室で利用されるようになった⁹⁾。さらに、1998年にWakayamaとYanagimachiが凍結乾燥したマウス精子を用いたICSIによって産子を得ることに成功して以来¹⁰⁾、EGTA Tris-HCl緩衝液を凍結乾燥溶液として用い、一次乾燥期の真空度をおよそ0.04mbarとした凍結乾燥条件が汎用されている¹¹⁾。これまでに凍結乾燥精子を用いたICSIについて検討されている動物種はハムスター¹²⁾、マウス¹⁰⁾、ウシ¹³⁾、ウサギ¹⁴⁾、ブタ¹⁵⁾、

ラット¹⁶⁾、ナイルテラピア¹⁷⁾など多岐にわたっており、実験動物のみならず、家畜においてもその応用に期待が寄せられている(図2)。

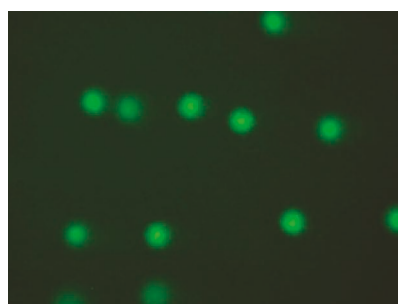
凍結乾燥精子の長期保存の可能性

遺伝子資源の保存に凍結乾燥精子を利用するためには、数年程度の保存性の保証では全く意味を成さず、数十年あるいは数百年といった長期保存の可能性の保証が重要な課題である。数世代後の研究者によって我々が凍結乾燥した精子から次世代の動物を得る試みがなされる時に、確実に次世代が得られる保証を付与しておくことは遺伝子資源を保存する者の責務であると考えられる。しかし、凍結乾燥

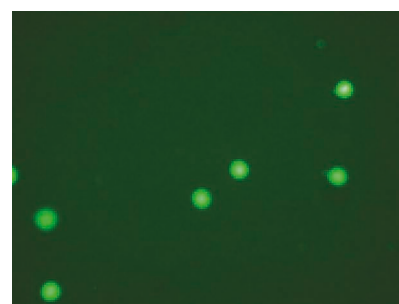
精子の数百年後の正常性を保証することは可能なであろうか？筆者らはこれまで困難と考えられていた凍結乾燥精子の長期保存の可能性の保証に対し、医薬品の安定性を速度論的に考察するのに利用されている「アレニウスプロット」を用いた加速試験を応用することによって、凍結乾燥精子の長期保存性を予測することを実現化した¹⁸⁾。加速試験とは、ある温度で長期間保存した物質の化学反応速度を短時間で予測する試験のことである。ここでは、凍結乾燥精子に0～7日間、30～50℃の温度を負荷した後に、実測した胚発生率から得られた分解速度定数をもとに、任意の温度、例えば4℃あるい



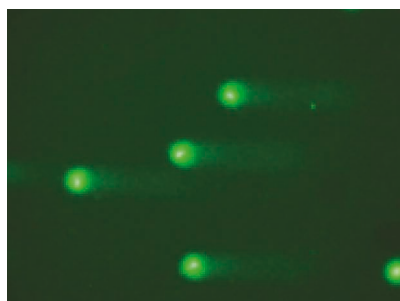
4℃、3ヶ月間保存



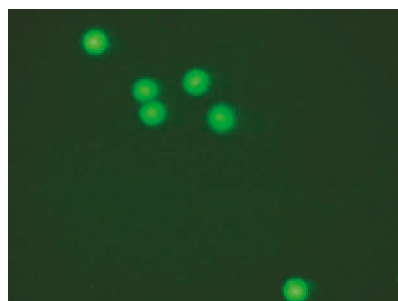
-80℃、3ヶ月間保存



新鮮精子



4℃、6ヶ月間保存



-80℃、6ヶ月間保存

DNAの損傷を示すコメットテイルが観察される(a, d)。

図3. 凍結乾燥精子のコメットアッセイ

表1. マウス凍結乾燥精子を用いた ICSI 由来胚の胚盤胞への発生率の予測値 (%)

保存期間	月				年		
	0	1	3	6	1	10	100
保存温度(°C)							
25	59.00	1.66	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	59.00	42.21	21.60	7.91	1.00	0.00	0.00
-20	59.00	58.19	56.60	54.30	49.86	10.96	0.00
-80	59.00	59.00	59.00	59.00	59.00	59.00	58.99

は-80°Cにおける分解速度定数を算出することで、各温度における凍結乾燥精子の保存期間に対するICSI後の胚の発生率を予測することを可能とした。加速試験の結果(表1)、現在汎用されている条件で凍結乾燥した精子を冷蔵庫で保存した場合、1年間保存の胚盤胞までの発生率は1%、10年以上保存すると胚盤胞は得られないとの予測値が得られた。一方、-80°Cで凍結乾燥精子を保存した場合、100年間保存しても胚盤胞までの発生率の低下はほとんどないものと予測された。さらに、実際に3ヶ月間ならびに6ヶ月間保存した凍結乾燥精子を用いた際の発生率は予測値とほぼ一致しており、アレニウスプロットを用いた加速試験を凍結乾燥精子に応用することの妥当性が示されている。また、種々の条件で保存した凍結乾燥精子のDNAの損傷程度についてコメントアッセイを用いて調べたところ、DNAの損傷を示すコメントテイルが4°Cにて3ヶ月間および

6ヶ月間保存した精子に認められた(図3. a・d)。一方、-80°Cで保存した凍結乾燥精子と凍結乾燥していない新鮮精子においてはDNAの損傷は認められなかった。4°Cにて長期間保存した凍結乾燥精子から胚盤胞を得ることが難しい原因の一つがこの精子DNAの損傷であると考えられる。以上のように、現在汎用されている凍結乾燥条件によって凍結乾燥した精子を長期間保存するためには、-80°C以下で保存する必要がある。

凍結乾燥精子の長期保存に向けて

液体窒素を用いた精子の凍結保存の代替として凍結乾燥を利用し、その特性を最大限利用するという観点からは、保存温度を比較的高い温度で長期間保存可能な凍結乾燥条件を見出すことが必須であり、これが凍結乾燥精子の実用化のための大きな課題であると言える。比較的高い温度(例えば室温)で長期間保存可能な凍結乾燥

条件の条件変更の候補として、凍結乾燥溶液の組成の変更や添加物の効果、凍結乾燥時の真空度の変更などがあげられる。中でも凍結乾燥時の昇華により大部分の水分を除去する一次乾燥期の真空度が極めて重要な条件の一つである可能性を考え、一次乾燥期の真空度と凍結乾燥精子の保存性について検討したところ、両者に極めて重要な関係があることが示唆されている。一次乾燥期の真空度を汎用されている0.04mbarから約10倍程度緩やかにしたところ、凍結乾燥直後の精子ならびに、4°C・6ヶ月間保存後の凍結乾燥精子を用いて得られた受精卵の胚盤胞までの発生率を有意に向上させることが可能であった。また、移植後の産子への発生能についても改善することができた(Kawaseら、未発表)。これは真空度を緩やかにすることで凍結乾燥過程の昇華の際、精子への障害が軽減され、精子を比較的良好な状態で凍結乾燥することができ、その結果としてICSI後の

胚発生率の向上に寄与したものと考える。このように、比較的高い温度における凍結乾燥精子の長期保存を可能とするためには、一次乾燥期の真空度が極めて重要な条件の一つであることが明らかとなっている。

凍結乾燥精子を室温で長期間保存することが可能になれば、遺伝子資源としての精子の長期保存に対するコストの大幅な削減が可能になる。また、今後さらに煩雑になると予想される遺伝子改変動物の生体での輸送に対し、凍結乾燥精子を用いることで、国内外の研究者間による遺伝子資源の移動を簡便に行うことが可能になる。つまり、凍結乾燥精子を封筒に入れて普通の郵便物と同じように世界各国に送ることができる。また、自然災害や人的災害により貴重な遺伝子資源を失うリスクを軽減するために、複数の異なった場所で遺伝子資源を保存することが推奨されているが、凍結乾燥精子を利用することで、リスク分散を低コストで実施することが可能となる凍結乾燥技術の開発が強く求められるところである。

おわりに

一般的に物質を凍結乾燥することの目的は、対象とする物質の貯蔵性および輸送性を高めることにある。この物質を遺伝子資源としての精子と考えた場合、貯蔵性の向上は遺伝子資源の長期、場合によっては半永久的な保存に寄与する。輸送性の向上は、遺伝子資源のグローバルな移動を容易にすることを意味する。凍結乾燥精子においては、貯蔵性および輸送性の一層の向上が今後の課題である。今回紹介した凍結乾燥精子の長期保存性の予測方法や凍結乾燥条件の変更による発生成績の向上は課題克服の第一歩であり、今後のさらなる検討が必要である。現状では凍結乾燥精子を水で戻してもその運動能を回復することはないが、凍結乾燥精子を用いた体外受精や人工授精によって次世代を得ることは不可能なのであろうか？カエルやカメ、コムギなどをはじめ、寒冷地に生息する動植物の中には自身の凍結を回避、あるいは積極的に凍結することで厳しい環境に適応している生物も存在する。さらに、極度の乾燥状態にも耐え得るパン酵母やシーモンキーとも呼ばれているブラインシュリンプといった生物も存在している

のが事実である。科学的な考察と実証を行い、精子に対する凍結乾燥技術の応用にブレークスルーを見出すことで遺伝子資源の保存技術の向上に寄与していきたいと考える。

参考文献

1. Knight, J. and Abbott, A. *Nature* 417, 785-786 (2002).
2. 相良泰行 凍結乾燥技術, 第一章 凍結乾燥の原理と特徴 (技術情報協会刊), 3-12 (2001).
3. Poige, C., et al. *Nature* 164, 666-667 (1949).
4. Sherman, J. K. *Fert. Steril.* 5, 357-371 (1954).
5. Yushchenko, N. P. *Proc. Lenin Acad. Agr. Sci.* 22, 37-40 (1957).
6. Bialy, G. and Smith, V. R. *J. Dairy Sci.* 40, 739-745 (1957).
7. Nei, T. and Nagase, H. *Low Temp. Sci.* 19, 107-115 (1961).
8. Singh, S. G. and Roy, D. J. *Indian J. Vet. Sci.* 37, 1-7 (1967).
9. Kimura, Y. and Yanagimachi, R. *Biol. Reprod.* 52, 709-720 (1995).
10. Wakayama, T. and Yanagimachi, R. *Nature Biotechnol.* 16, 639-641 (1998).
11. Kusakabe, H., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 13501-13506 (2001).
12. Hoshi K., et al., *Zygote* 2, 237-242 (1994).
13. Keskinetepe, L., et al., *Biol. Reprod.* 67, 409-415 (2002).
14. Liu, J., et al., *Biol. Reprod.* 70, 1776-1781 (2004).
15. Kwon, I., et al., *Biol. Reprod.* 71, 1430-1436 (2004).
16. Hirabayashi, M., et al., *Zygote* 13, 79-85 (2005).
17. Poleo, G. A., et al., *Mar. Biotechnol.* 7, 104-111 (2005).
18. Kawase, Y., et al., *Biol. Reprod.* 72, 568-573 (2005).



The skin disease of The DOG

独立行政法人理化学研究所横浜研究所
免疫アレルギー科学総合研究センター

増田 健一

近年、アレルギー性疾患の克服は国内だけでなく、世界的にみても社会的急務であると認識されてきた。しかし、これまでにアレルギーの治療において大きなパラダイムシフトは認められていない。その原因としては、アレルギーのメカニズムが十分に解明されていないことが挙げられるであろう。とくに、マウスのアレルギー反応はヒトと異なる点が多く、ヒトへの応用を考えた場合にはアレルギー反応の解明やアレルギー治療の有効性判定に実験動物として適さないことが問題である。そこで今回は、ヒトのアレルギー性疾患と類似点が多いイヌのアレルギー性疾患を紹介し、これらが今後アレルギーを解析する上で重要な疾患モデルとなる可能性を提起したい。



イヌのアレルギー性疾患

概要

イヌのアレルギー性疾患には、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、節足動物によるアレルギー、接触性皮膚炎がある。これらはすべて外来の抗原に対してアレルギー反応を獲得することによってアレルギー症状を発するものであるが、中でもアトピー性皮膚炎と食物アレルギーは症状が激しく、獣医臨床上の問題となっていることから、これまでに解明されている部分が多い。



イヌのアトピー性皮膚炎

症状

アトピー性皮膚炎の軽症あるいは急性期においては脱毛、痒みだけの症状が認められる。その場合、肛門の周囲、大腿部外側部、四肢先端部をよく舐めるという症状が認められる。また、外耳炎だけの場合もアトピー性皮膚炎の初期症状と考えられている。初期の明瞭な皮膚病変として紅斑、丘疹を確認することが可能であり、それらが慢性化すると病変部の脱毛はさらに進行するとともに、色素沈着、

苔癬化を起こして慢性皮膚炎の様相を呈する(図1)。このような慢性病変は四肢端、腋下、肘屈曲部、膝内側部、大腿部内側部、頸部腹側面に現れる。イヌのアトピー性皮膚炎は生後1歳齢から3歳齢までの比較的若齢から発症する。また、症例の中には抗原感作と同調して皮膚炎が発症するものもある。スギ花粉感作によるアトピー性皮膚炎のイヌは、スギ花粉の飛散時期にその症状が悪化する。(図1および2)¹⁾。



病態

アトピー性皮膚炎の発症機序はヒトと同様にイヌにおいても完全に解明されていない。イヌのアトピー性皮膚炎においては環境抗原（ハウスダストマイト、花粉、カビ）に対するアレルギー反応の獲得²⁾、およびそれに対する過剰な反応が皮膚に起こることによって、痒みを伴う皮膚炎症状を惹起

すると考えられており、ヒトのアトピー性皮膚炎と類似点が多い。そのため、多くのイヌのアトピー性皮膚炎の症例においては、皮内反応や抗原特異的IgE検査によって陽性反応を示す環境抗原を検出することができる。

これらアレルゲンによる感作が成立するためには、一般的にはヒトやマウスで確認されているように、樹状細胞やランゲルハンス細

胞などの抗原提示細胞による抗原の貪食と抗原情報の提示、Th2型CD4+T細胞による抗原認識が必要である。このTh2型CD4+T細胞は皮膚病変部に浸潤し、サイトカインを産生して炎症を惹起する場合（IV型過敏症）と、さらにリンパ節へ移動したTh2型CD4+T細胞がB細胞のIgEを産生促進し、産生されたIgEに感作した末梢組織の肥満細胞の脱顆粒に



図1 スギ花粉に感作が認められたアトピー性皮膚炎のイヌ。スギ花粉飛散時期の3月に皮膚炎の悪化が認められる。



図2 図1と同じ症例のスギ花粉非飛散時期の12月における臨床症状。3月に認められたような皮膚炎は改善している。



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ③

「アレルギー疾患」

よる炎症反応（I型過敏症）を引き起こす場合があるが、イヌのアトピー性皮膚炎の発症機序にはこのIV型過敏症とI型過敏症の両方の反応が関わっていると考えられている。イヌのアトピー性皮膚炎の症例において皮膚病変部はTNF- α などの各種炎症性サイトカインの発現が亢進することによって、CD4+T細胞を誘引するケモカインの一種であるThymus and activation-regulated chemokine (TARC) が産生されやすい状況が形成される⁽³⁾。TARCはTh2型CD4+T細胞を病変部位に引き寄せる役割を担っていることから、アトピー性皮膚炎の急性期皮膚病変においてこれら細胞を引き寄

せ、これらがロイコトリエンなどを放出してIV型過敏症を起こすと考えられる。

I型過敏症反応もアトピー性皮膚炎に関与している。I型過敏症の成立に必須のIgEについては、アトピー性皮膚炎のイヌにおいてハウスダストマイトやスギ花粉に対する抗原特異的血清IgE値は上昇しており、皮内反応によってそれら抗原に対して膨疹を形成することから⁽²⁾、これらの症例においては環境抗原に特異的なIgEがその病態に関わっていることを想像させる。特にスギ花粉に対するアレルギー反応を獲得し、またそれに応じた臨床症状を発症するスギ花粉に感作されたアトピー性皮膚

炎のイヌの症例は、臨床症状を伴うスギ花粉の自然感作動物モデルとして有用であることがわかってきた。スギ花粉に対してIgEの上昇を認める症例はアトピー性皮膚炎のイヌのおおよそ10%程度存在する⁽²⁾。このようなIgE値は抗原の存在時期に応じて変化する。例えば、スギ花粉に対するIgEは花粉飛散時期においては高く、非飛散時期においては低下することが知られている⁽¹⁾。IgEの上昇や皮内反応に陽性を示した症例においてはex vivoで末梢血好塩基球の抗原特異的脱顆粒も起こる⁽⁴⁾。これらはすべてI型過敏症がその発症に関わっていることを示している。

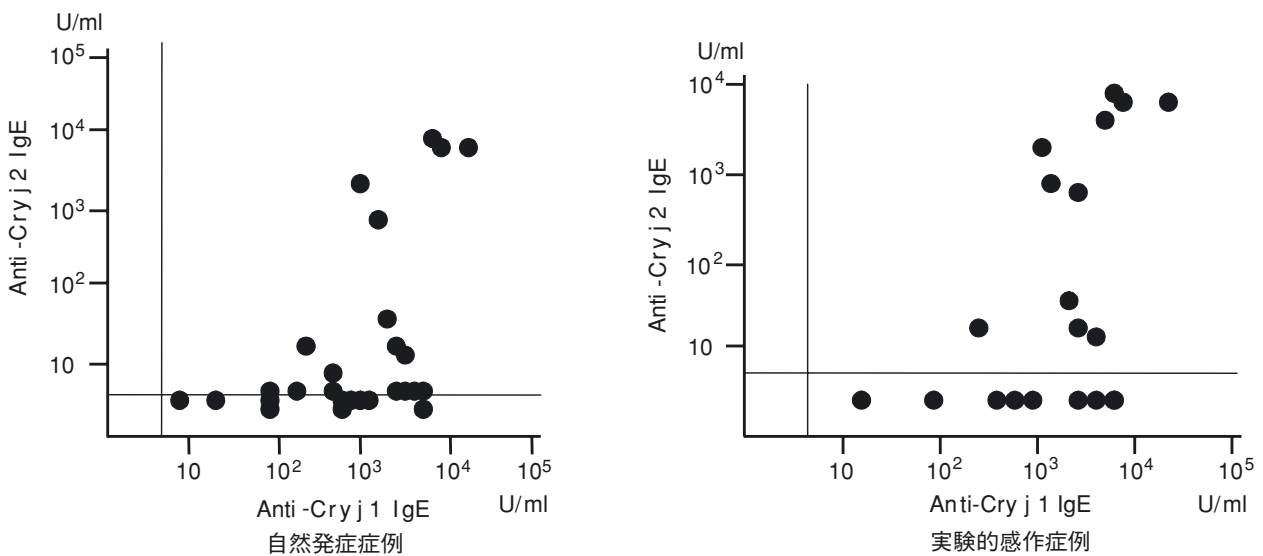


図3 スギ花粉の自然感作症例と実験的感作症例のスギ花粉主要抗原（Cry j 1 およびCry j 2）に対する抗原特異的IgEの分布。実験的感作犬においても自然感作犬と同様な割合のCry j 1 とCry j 2の感作を誘導することができた。

一方、アラムを使用することによってイヌにおいても抗原感作を誘導することができる。例えば、スギ花粉とアラムを皮下注射することによって、スギ花粉の主要抗原であるCry j 1とCry j 2の感作に関して自然発症のスギ花粉感作と類似した感作状況を誘導することができる(図3)⁽⁵⁾。スギ花粉実験的感作犬においてはT細胞エピトープもヒトと類似した部位があることがわかっており⁽⁶⁾、自然発症のアレルギー犬と同様にアレルギーの疾患モデルとして利用できると考えられる。

イヌのアトピー性皮膚炎の疾患モデルとしての有用性

スギ花粉症の動物モデルとしてこれらのイヌを用いることによって、免疫療法の有効性を検討することができる。Cry j 1にのみ感作が認められたアトピー性皮膚炎のイヌを用いてCry j 1cDNAをpCAGGSに組み込んだプラスミドを作成し⁽⁷⁾、その有効性について検討を行った。プラスミド投与は500 μ gのプラスミドを毎月1回、筋肉注射によって行い、スギ花粉飛散時期をはさむようにして1月から5月まで合計5回の投与を行った。治療を行ったイヌにおいては

スギ花粉飛散時期においてもアトピー性皮膚炎の症状の悪化は認められず、スギ花粉非飛散時期の状態を維持することが可能であった(図4)。一方、スギ花粉実験的感作犬を作成し、同様にCry j 1プラスミドの有効性について検討を行った。500 μ gのプラスミドを毎月1回、6ヶ月間筋肉内投与した結果、血清中スギ花粉特異的IgEおよびCry j 1特異的IgE値については変化を認めなかったが、皮内反応においてスギ花粉粗抗原に対する感受性を低下させた。スギ花粉抗原の気道暴露においては気道過敏性が低下すると同時に、即時型気道反応性は消失した。病理組織学的検査において、治療効果の認められたイヌでは肺組織の肥満細胞数が少ないことが認められており(図5)、このような気道におけるアレルギー反応の低下は肥満細胞数に依存していると考えられた。このことから、DNAワクチンによる治療はスギ花粉に対するアレルギー症状の発症を抑制することがわかると同時に、イヌがこのような免疫療法の効果判定に利用できることがわかった。

食物アレルギー 症状

食物アレルギーの症状は個体によってさまざまである。一般的には皮膚症状が最も多いが、消化器症状を呈するイヌもいる。また、スギ花粉とトマトの間でoral allergy syndromeが報告されている⁽⁸⁾。皮膚症状はアトピー性皮膚炎の症状とよく類似しており、症状から確定診断することは困難で、適切な食物除去試験と食物抗



図4 スギ花粉DNAワクチンにより治療中の図1と同じ症例の写真。スギ花粉飛散時期の3月においてもアトピー性皮膚炎の発症は認められなかった。



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ③

「アレルギー疾患」

原暴露試験を行って診断する。特徴的な病変としては、痒みを伴う炎症性皮膚炎が眼および口の周囲、外耳道、四肢端、背部に認められることが多い(図6)。

発症機序

食物抗原に対してアレルギー反応(I型、III型、IV型過敏症)を獲得して症状を呈すると考えられている。食物抗原の中で最も頻繁に食物アレルギーの原因として認められるものは牛肉である⁽⁹⁾。そのほか鶏卵、小麦、大豆、とうもろこしなども食物アレルギーの原因となる⁽¹⁰⁾。

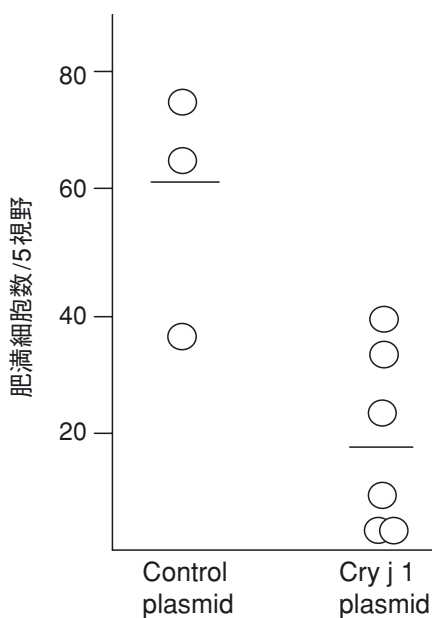


図5 スギ花粉抗原実験的感作犬におけるDNAワクチン治療後の肺肥満細胞の数。Cry j 1プラスミドによる治療を行った群では肥満細胞数が減少していた。

食物アレルギーのイヌから末梢血単核球を分離し、感作食物抗原とともに培養すると増殖反応を示す。これらリンパ球はほとんどがCD4陽性リンパ球であり、食物抗原に対してアレルギー反応を獲得している証拠となる。また、これらリンパ球は除去食を3週間以上継続することによって末梢血に認められなくなることから⁽⁹⁾、食物アレルギーの症状の発現に関連していると考えられている(図7)。イヌの食物アレルギーの症例においては食物抗原特異的IgEの上昇を認めないことも多く、それら症例の食物アレルギーの病態には主に食物抗原に対するIII型やIV型過敏症などの非IgE介在性過敏症反応、非即時型過敏症が関わっているといえる。一方、食物抗原特異的IgEの上昇を認めた症例においては末梢血中好塩基球から抗原

特異的なヒスタミン放出が認められ⁽¹¹⁾、食物抗原に対するI型過敏症反応がその病態に関わっている症例も存在する。

診断

食物アレルギーの診断には、適切な除去食のみを8週間給与した場合に臨床症状が消失することが必須である。さらに、確定診断には原因食物を特定しなければならない。原因食物の特定には除去食に各食物を加えて摂取させ、どの食物を添加したときに症状が再発するかを記録して確認する。適切な除去食としては、さまざまな処方食が場市されている。とくにジャガイモタンパクとアミノ酸からなるものや鶏レバーの加水分解物からなるものは、適応する症例が多い。ヒトと異なり、イヌの食物アレルギーにおける食物の管理は



図6 食物アレルギーのイヌの症例。強い痒みのために顔面の病変を自傷により悪化させる。

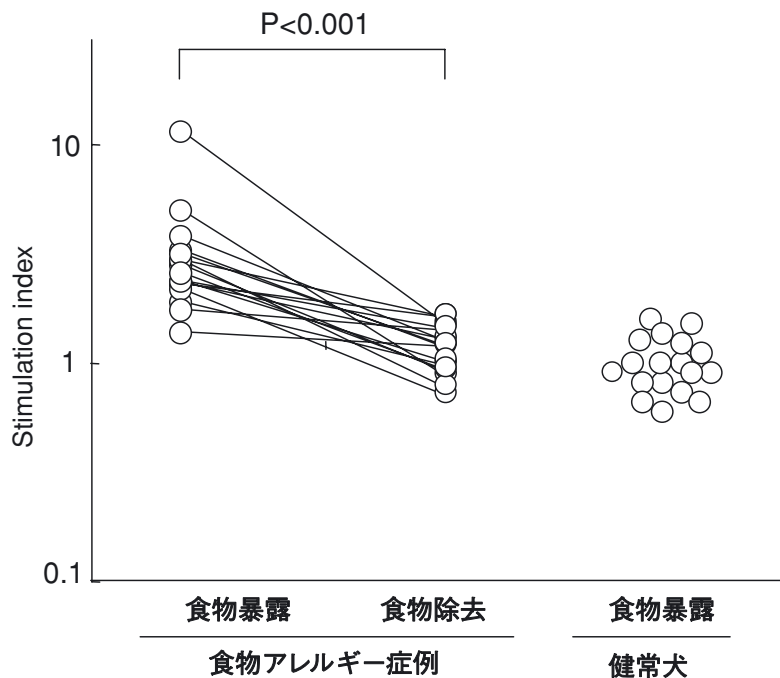


図7 イヌの食物アレルギー症例における原因食物抗原に対する末梢血リンパ球の芽球化反応。原因食物抗原を暴露するとリンパ球の芽球化反応も上昇する。

このような処方食を使用できるため、非常に簡便であり、完全な症状のコントロールが容易となる。

I型過敏症反応を検出するためIgE検査および皮内反応は食物アレルギーの確定診断に用いることはできない。IgE検査あるいは皮内反応において陽性を示す食物アレルギーのイヌの症例はおおよそ30%のみである⁽⁹⁾。このことから、イヌの食物アレルギーにおいては非即時型過敏症が関与している割合が高いと考えられる。イヌのIgE介在性の食物アレルギーの犬のコロニーが確認されており、即時型の食物アレルギーの発症機序の解明に役立つものと期待されている⁽¹⁰⁾。



イヌの食物アレルギーの疾患モデルとしての有用性

イヌの食物アレルギーは食物抗原摂取に対して症状を発現することから、食物抗原特異的IgE介在性過敏症の疾患モデルとして、免疫療法の効果判定の補助として利用されている。リステリア菌体抗原によりIgE介在性の食物アレルギー反応が低下したことがイヌにおいて報告されている⁽¹²⁾。

まとめ

イヌのアレルギー反応の中でも代表的なアトピー性皮膚炎と食物アレルギーの概要を紹介した。これらのアレルギー性疾患はヒトの

ものと非常に多くの類似点を有しており、ヒトのアレルギー疾患モデルとして有用であることが着目されている。今後、さらにイヌのアレルギー反応を解明することにより、ヒトへの応用を考えたアレルギー治療の臨床効果判定の動物モデルとして重要視されていくと考えられる。

参考文献

- 1 Masuda, K., M. Sakaguchi, S. Saito, D. J. Deboer, K. Yamashita, A. Hasegawa, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2002. Seasonal atopic dermatitis in dogs sensitive to a major allergen of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *Vet Dermatol* 13:53.
- 2 Masuda, K., M. Sakaguchi, S. Fujiwara, K. Kurata, K. Yamashita, T. Odagiri, Y. Nakao, N. Matsuki, K. Ono, T. Watari, A. Hasegawa, and H. Tsujimoto. 2000. Positive reactions to common allergens in 42 atopic dogs in Japan. *Vet Immunol Immunopathol* 73:193.
- 3 Maeda, S., S. Fujiwara, K. Omori, K. Kawano, K. Kurata, K. Masuda, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2002. Lesional expression of thymus and activation-regulated chemokine in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol* 88:79.
- 4 Masuda, K., M. Sakaguchi, S. Saito, D. J. Deboer, S. Fujiwara, K. Kurata, K. Yamashita, A. Hasegawa, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2000. In vivo and in vitro tests showing sensitization to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen in atopic dogs. *J Vet Med Sci* 62:995.



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ③

「アレルギー疾患」

5. Yamashita, K., K. Masuda, M. Sakaguchi, T. Odagiri, Y. Nakao, M. Yamaki, A. Hasegawa, Y. Matsuo, D. J. Deboer, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2000. Experimental sensitization with Japanese cedar pollen in dogs. *J Vet Med Sci* 62:1223.
6. Masuda, K., M. Sakaguchi, S. Saito, H. Yasueda, S. Iwabuchi, T. Tsukui, N. Hayashi, Y. Nakao, K. Kurata, S. Maeda, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2004. Identification of peptides containing T-cell epitopes of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen (Cry j 1) in dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 102:45.
7. Toda, M., H. Sato, Y. Takebe, Y. Taniguchi, S. Saito, S. Inouye, T. Takemori, and M. Sakaguchi. 2000. Inhibition of immunoglobulin E response to Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in mice by DNA immunization: different outcomes dependent on the plasmid DNA inoculation method. *Immunology* 99:179.
8. Fujimura, M., K. Ohmori, K. Masuda, H. Tsujimoto, and M. Sakaguchi. 2002. Oral allergy syndrome induced by tomato in a dog with Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollinosis. *J Vet Med Sci* 64:1069.
9. Ishida, R., K. Masuda, K. Kurata, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2004. Lymphocyte blastogenic responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity. *J Vet Intern Med* 18:25.
10. Jackson, H. A., M. W. Jackson, L. Coblentz, and B. Hammerberg. 2003. Evaluation of the clinical and allergen specific serum immunoglobulin E responses to oral challenge with cornstarch, corn, soy and a soy hydrolysate diet in dogs with spontaneous food allergy. *Vet Dermatol* 14:181.
11. Ishida, R., K. Masuda, M. Sakaguchi, K. Kurata, K. Ohno, and H. Tsujimoto. 2003. Antigen-specific histamine release in dogs with food hypersensitivity. *J Vet Med Sci* 65:435.
12. Frick, O. L., S. S. Teuber, B. B. Buchanan, S. Morigasaki, and D. T. Umetsu. 2005. Allergen immunotherapy with heat-killed *Listeria monocytogenes* alleviates peanut and food-induced anaphylaxis in dogs. *Allergy* 60:243.

Experimental Animals

Covance R. P, Inc 代理店 Japan Laboratory Animals, Inc.



取扱品目

各種実験動物の受託飼育
SPF・クリーン各種実験動物

輸入動物 (Covance・Harlan・Vanny) : ビーグル犬・モンゲレル犬・サル類・遺伝子操作マウス etc.

その他実験動物 獣血液・血清・臓器 床敷 飼料 飼育器具・器材

非GLPの受託試験
動物用医薬品一般販売

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

げっ歯類のパスツレラ症の現状と課題

東京医科大学動物実験センター
講師 川本 英一

はじめに

近年、遺伝子組換え動物を用いた研究が多く行われるようになり、国内外の動物実験施設間において遺伝子組換え動物の受け渡しが盛んになった結果、微生物による実験動物の感染症に新たな問題が提起されてきている。その問題の一つは、遺伝子組換えによって免疫不全の動物が多く作出されるようになり今まで病原性のない、あるいは低いと考えられていた微生物の感染により動物実験に支障

をきたしていることである。その現状は、医学における日和見病原体に起因する院内感染の問題と対比させて考えてみるとわかりやすいかもしれない(図1)。このような意味において、げっ歯類であるマウスやラットのパスツレラ症の病因である*Pasteurella pneumotropica* (Pp) は、現在わが国の実験動物で最も問題となっている微生物のひとつである。

実際、実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターの検査結果では、わが国のマウス・

ラット動物実験施設からPpは高率に検出され、特にマウス施設ではここ数年15%前後の検出率で推移している。また、メルシャンクリンテック環境検査部の検査結果においても、マウスで第3位の検出率(3.8%)、ラットで第2位の検出率(4.5%)を示している。これらの状況を反映してか、本誌の「LA-house」でも菌の病原性(OCT, 2004)および同定法(JAN, 2005)についての質問が寄せられている。

本稿では、本症において現在問

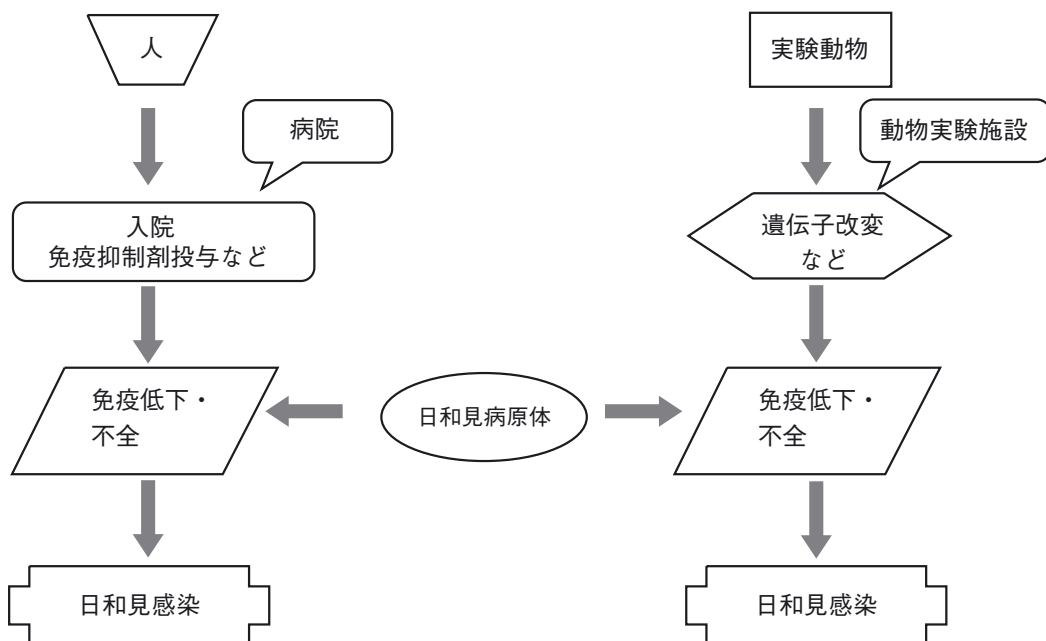


図1. 医学と実験動物学における日和見感染

題となっているPpの分類、病原性および分離・同定法を中心に本症についての現状を紹介する。また、現時点において本症にどのような課題が残されているのかについても考えてみたい。

1. 分類

細菌分類学のバイブルともいべきBergey's Manual of Systematic Bacteriologyの第2版(1巻:2001年、2巻:2005年)には、系統発生に基づく原核生物の分類が述べられている。それによれば、原核生物は真正細菌と古細菌という2つの超生物界に大別され、私たちに馴染みの菌である真正細菌は23の門から構成されている。それらは、さらに「綱」、「目」、「科」に細分され、Ppはパスツレラ科に属している。ちなみに、私たちのよく知っている“腸内細菌科”、“ビブリオ科”はパスツレラ科と近縁である。本科は約100種の菌より構成され、16S ribosomal DNAの配列より21のグループに分類される。しかし、そのうち属(genus)として確定されているものはパスツレラ属、アクシノバシラス属、ヘモフィルス属、ロネピネラ属、マンハ

イミア属、フォコエノバクター属の6つにとどまり、他はクラスター(cluster)として分類され、パスツレラ科の分類には不確定な部分が未だ多く残されており、今後の研究の蓄積が期待されている。Ppの分類も不確定で本菌はパスツレラ属には属さず、げっ歯類クラスター(Rodent cluster)に分類され、このクラスターには9菌種が含まれている(表1)。

2. 性状

Ppは非運動性、芽胞非形成、グラム陰性の短桿菌である。莢膜などの細胞表層構造は保有していないとされている。しかし、Bootら(1993)は本菌の赤血球凝集性の研究において線毛の存在を報告している。筆者らもフェリチン法を用いた電子顕微鏡観察によって細胞表層構造物を認めている。菌の細胞表層構造を明らかにすることは、病原性との関係からも今後の重要な課題であると考えられる。Ppは血液を含んだ平板培地上でよく発育し、直径3-5mmの灰白色あるいは淡黄色のコロニーを形成する。溶血性を示す株も認められるが、この菌株は別種の菌であるとの見方もある。

Ppはカタラーゼおよびオキシダーゼ陽性で、硝酸塩を還元する。ブドウ糖などの糖を発酵分解するが、ガスは産生しない。インドールとウレアーゼは陽性であるが、クエン酸は利用しない。オルニチン脱炭酸試験は陽性である。Ppは生化学的性状の違いからJawetzとHeylの2つの生物型に分けられている(表2)。また、近年、RAPD-PCR法を用いてPpを遺伝型に分類し、生物型、宿主型あるいは分離場所型を識別できることがいくつかの研究により明らかとなった。筆者らも、本菌の16S ribosomal DNAの制限酵素断片の多型解析を行い、本菌が5つのサブグループに分類されることを観察した。これらは、おもに宿主型である2つのグループに分類され、さらに、性状とほぼ一致する2つのグループにも分類されることが明らかとなった。

前述したようにPpの分類に不確定の部分が多い状況から、上に述べた性状も正確には*P. pneumotropica-complex*と呼ぶ複数の菌の性状を述べているのかもしれない。

3. 病原性

本菌が動物に感染した場合には、その動物が免疫学的に正常ならば、ほとんどが不顕性感染であることが知られている。いくつかの研究において、Ppは汚染菌で

表1. げっ歯類クラスター

• <i>P. pneumotropica</i> • <i>A. muris</i> • <i>H. influenzae-murium</i>
• Bisgaard Taxon 17 • Kunstyr 507 • Mannheim Michael A
• Kunstyr 246 • Mannheim A/5a • Forsyth A3

表2. *P. pneumotropica*の生物型

テスト項目	Jawetz型	Heyl型
ウレアーゼ	+	+
オルニチン脱炭酸試験	+	+
アラビノース	-	+
マニトール	-	-
ガラクトース	+	+
メリビオース	-	+
サリシン	-	-

あることが示されている。また、ICLASモニタリングセンターの剖検結果においても、Pp感染と肺病変等の関係は認められていない（高倉彰、2004）。しかし、気管支敗血症菌、マイコプラズマ、センダイウイルスなどの病原体との混合感染や免疫力の低下によって肺炎、皮膚膿瘍などが引き起こされる。さらに、遺伝子組み換えによって免疫不全となった動物では、重篤な肺炎例が報告されている。例えば、免疫関係の遺伝子をノックアウトされたマウスにおける死亡を伴った肺炎の発生が報告されている。筆者らは上記の知見を実験的に証明するために、*P. pneumotropica* ATCC 35149株と重度免疫不全のNOD/Shi-scidおよび免疫学的正常ICRマウスの感染実験系を開発し検討を加えた。その結果、ICRマウスでは不顕性感染にとどまるが、scidマウスでは死亡を伴う肺炎が引き起こされることが明らかとなった。すなわち、前者では、菌分離は上部気道

に限定され病変も認められず、臨床症状を呈するマウスはいなかった。いっぽう、後者では、肺からも菌が分離され肺炎病変を形成し、死亡するマウスを認めた（図2）。

4. 診断

本症の診断は菌の分離・同定によって通常行われている。すなわち、安楽死させた動物の咽喉頭あるいは気管粘液を液体培地で増菌後あるいは直接に血液やFildes消化血液を加えた寒天平板培地で培養して菌を分離・同定する。液体培地としてはBHI培地、GN培地、抗菌剤を加えたTGN培地が、平板培地としては血液寒天培地や抗

菌剤を加えたNKBT培地、クリンダマイシン加培地などがある。最近、筆者らはある感染例において、菌が口腔より高率に分離されることを観察した。このことは生きている動物から菌を分離できる可能性を示唆している。加えて、環境中からの菌の分離方法を確認することも重要な課題であると考えられる。また、採材後すぐに分離ができない場合のことを考慮して、Ppの輸送培地の開発も重要であろう（Kawamotoら、1997）。Ppの分離・同定法としては、わが国の「Ppワーキンググループ」によって推奨されている方法（Hayashimotoら、2005、高倉彰、2005）が現時点では妥当な方法であろう。そこで用いられている市販同定キットであるID test HN-20の代わりとして生物・生化学的性状検査用培地を用いてもよいだろう。最近では、16S ribosomal DNAのプライマーを用いたPCR法も報告されている。筆者らも遺伝学的同定法を検討し、16S ribosomal DNAをターゲットにするよりも機能性遺伝子

	菌分離						病変
	鼻腔	口腔	結膜	咽喉	気管	肺	肺
scid	+	+	+	+	+	+	+
ICR	+	+	+	+	-	-	-

図2. scidおよびICRマウスに対する*P. pneumotropica*の病原性

領域のほうが優れていることを示唆した。しかし、分類の項で述べたように、Ppの分類に不確定な部分が多く残されている以上、Ppの正確な同定法の確立には菌の生化学的および遺伝学的性状をさらに多くの菌株について検討していく必要がある。いっぽう、血清学的診断としては、全菌体抗原やリポオリゴ糖抗原を用いるELISA法が有用であることが報告されているが、わが国における検討はほとんどなされていない。

5. 本症への対応

実験動物におけるPpのような日和見病原体への対応は、従来からの微生物モニタリングの考え方に変更を迫るものかもしれない。従来から実施されている微生物モニタリングでは、SPF検査項目を設定し、その項目の陰性を証明し続けることが大切であるとされてきた。すなわち、SPF項目とモニタリング項目が同一であるという考え方である。しかし、Ppのように免疫学的に正常な動物にはなんら病原性を示すことはないが、免疫不全動物では臨床的な病気を起こす日和見病原体の場合には、このような考え方では対応できないように思われる。したがって、SPF項目とモニタリング項目は別と考えて対応すべきであろう(鍵山直子, 2002)(図3)。そのことが、実験動物を用いた生命科学

研究の進展に寄与し、実験動物として生まれてきた動物の福祉に貢献し、さらに、実験動物感染症学の進歩に寄与すると考えられる。

6. おわりに

以上述べてきたように、げっ歯類のパスツレラ症について知見が集積してきているとはいえ、解決しなければならない問題が山積している。特に、Ppの分類、病原性および診断についての知見のさらなる集積が急務となる。

参考資料

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd ed. Vol. 2 (Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, eds). New York:Springer (2005)
Kawamoto E et al. (1997) : J. Clin. Microbiol. 35, 1948-1951.

Hayashimoto N et al. (2005) : Exp. Anim. 54, 123-129.
高倉彰 (2004, 2005) : 「LABIO 21」 No.18,30P, No.19,31-32P
鍵山直子他 (2002) : アニテックス 14, 91-96.
川本英一 (2000) : 実験動物感染症の対応マニュアル(前島一淑 監修)、204-205、アドスリー
川本英一 (2002) : 動物の感染症 (清水悠紀臣他編)、373-374、近代出版

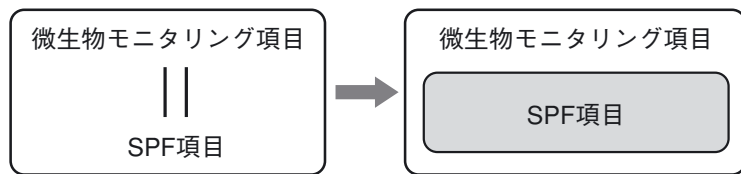


図3. 微生物モニタリング項目とSPF項目



実験動物技術者は
あなたの
研究チームの一員です

実験動物受託総合管理

実験動物飼育管理

動物実験補助全般



CHANNEL SCIENCE CO., LTD.

株式会社 チャンネルサイエンス

<http://www.channelscience.co.jp>

〒167-0052 東京都杉並区南荻窪 4-29-10
TEL03-3331-7252 FAX03-3331-7347

オーストラリア 海外散歩

楽園オーストラリア・パース

オリエンタル酵母工業株式会社
取締役 バイオ事業本部長 中川 真佐志

いざ出発の前日まで“いや、パースには直行便は飛んでいない! ”、“シドニー経由か、シンガポール経由じゃない!”とか自分でも本当に直行便なのか不安なまま成田へ向かった。22時45分発カンタス70便のカウンターのグラントはそんな私の不安を一発で払拭してくれたのだった。“はい、この便は本当の直行便で成田をたてばどこにも寄らずにパースに着きます。”と非常ににこやかに答えてくれた。無責任な友人達の入れ知恵を真に受けてかなり懐疑的な質問をしてグラントのおねえさん、ごめんなさい!

兎に角、 直行便と言っても9時間半もかかるフライト、パースについてよく勉強しなくては! これまでの私のパースに関する知識はもうリタイアしてニュージーランドに住んでいる25年来のビジネスフレンド、ケビン・ライトの生まれ故郷という事と何でも景色が良く、しかも住み易く日本から老後の暮らしを求めて行く方の多い場所という事くらい。さて、少し本を読んで勉強してみましょう!

パースはオーストラリア西部にある西オーストラリア州の州都。因みに西オーストラリア州はオーストラリア全土の3分の1を占めるオーストラリアで1番大きな州。どれくらい大きいかというと面積は日本の7倍。そのような広大な面積に200万人を少しかけるくらいの人口という事です。その内パースには134万人ほど住んでいるので州の人口の7割がパースに集中している事になります。シドニー、キャンベラとは同じオーストラリアと言っても全く反対側に位置し、インド洋に面しています。広大に広がる土地、果てしなく広がる海、その温暖な気候とのんびりした土地柄から「世界で一番住みたい都市」と言われている。うーん、これは楽しみになって来たぞ!

22時45分発という所謂夜行飛行の為、機内で夕食を赤ワインと共にエンジョイしうたた寝をしていると本当にあつと言う間に無事パース空港に着陸した。フライトもオンタイム、午前6時。時差が1時間しかない上にグッスリ眠れたから時差もなし。ようし、いいスタートが切れたぞ!

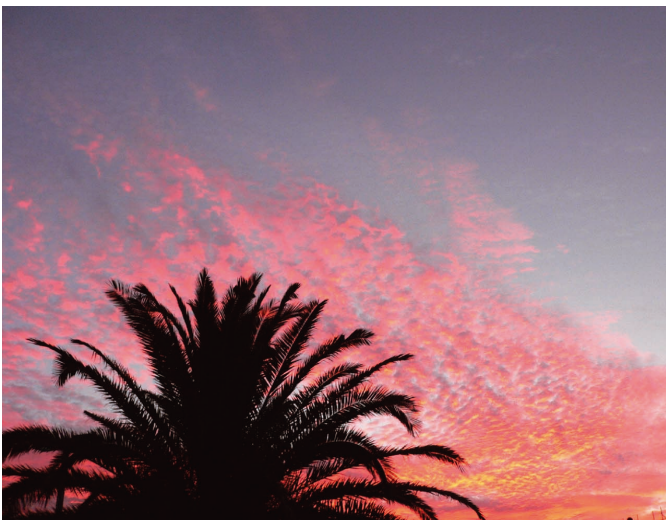
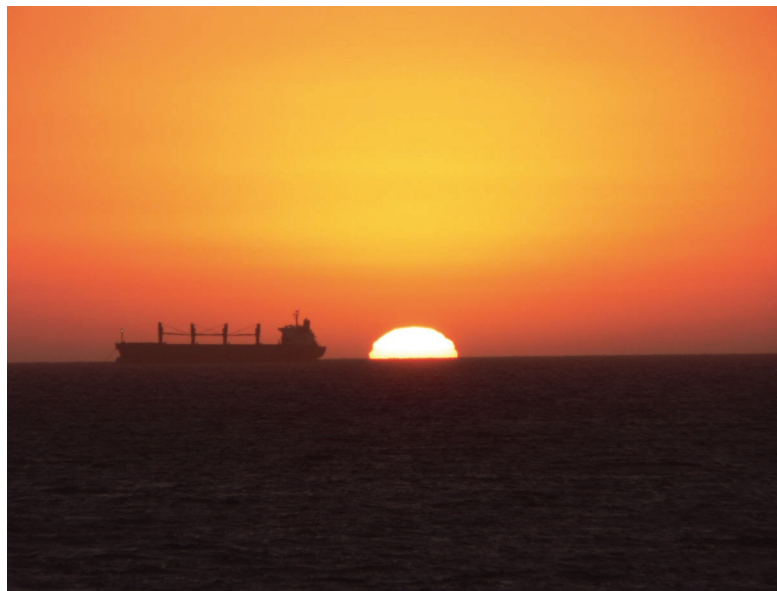
タクシーを40分程飛ばしてホテルにチェックイン。当初の予定では軽く仮眠でも思ったが青空と乾いた風に誘われてホテルの周りをウォーキングする事に決定。早朝なのにも拘らず気温は既に30度近くにはなっているが何とも風が気持ちいい。うっすらかき出す汗もドンドン乾いて行く。インド洋を眺めながら約一時間半歩き回った。この時は散歩道にあちこちある白いパネルには全く気がついてなかったが翌日驚く事実を知ることになるのであった。



この旅の本当の目的である仕事？を終えて市内を一寸ドライブ、その後オーストラリアの仕事仲間と食事。場所は手のリゾートエリアではお決まりのビーチサイドのレストラン。味はピカイチというわけではないが目の前に広がるインド洋に沈む夕陽が最高のメニュー。まずはビールやワインを飲み、アジア・オーギー料理に舌鼓を打ちながらおしゃべり開始。私から今朝のウォーキングの話をするにあの辺はポイズンスネーク（毒ヘビ）

が多いから気をつけてねと注意された。朝、散歩道にあちこちある白いパネルには“毒蛇注意！”と書いてあったそうです。うーん、自然が豊富であれば当然の事なのに都会育ちの私には一寸したカルチャーショックでした。そうこうしている内にレストランにいたお客さんが一斉に窓辺に注目、“わー、眩しすぎて目が開けられない！太陽ってこんなに大きくて綺麗なんだ！”とあちこちか

ら声が出る夕陽のワンマンショーの始まり。行き交う貨物船がそれを支えるという絵になる構図。これこそが言葉では言い表せない情景というのだろうか？ほんの数分前に感じたカルチャーショックは一瞬の内に吹き飛んで夕陽が完全に沈むまでこのレストランの最高のメニューをエンジョイした。



翌朝、 散歩道を昨日とは逆の方向へ歩いてみる。ある、ある白いパネルが20メートル間隔くらいで置いてある。“Caution! Poison Snakes had been observed in this area!” 昨日は散歩道の隅を歩いていたのに今朝からは真中をあるく一寸気弱な自分を見つけたのでした。

わずか 三日のパース滞在を終えパース空港へ向かう。私はこれまでに十数カ国以上の様々な国を訪問しているだろう。しかし、これほどこの地を離れたくない衝動を持ったのは

初めてであった。様々な自然がまだそのままに残っているこの地域、シャークベイ、モンキーマイアなどの素晴らしい海岸やバンゲル、バンゲル（バヌルル国立公園）などの自然公園も何百とあるとの事。又、先住民アボリジニの壁画のある洞窟ツアーなど長期間の休暇を取って再度この地を訪れてみたい。

幸い にもお決まりのコアラだけは見るチャンスがあった。（可愛い女性の頭の上あたりの木の枝にコアラが見えますか？）

パース との別れの時、インド洋に沈む夕陽に負けぬぐらい素晴らしい夕焼けが空一杯に広がり私の帰国を見送ってくれた。





未来の芽を育む、 伝統と信頼の技術。

動物実験に関する最先端の
研究活動をトータルに支えます。


Core Technologies
発酵、計測制御、素材加工、生体、免疫、遺伝子工学 etc.

実験動物用飼料
Certified Diet、特別注文飼料 etc.

実験動物／関連器材

- SPFローデント[日本チャールス・リバー(株)]
- SPFウサギ[北山ラベス(株):JW、NZW、DUTCH、WHHL]
- 実験用繁殖犬[北山ラベス(株):TOYOビーグル、HBD]
- 実験用飼育器材[床敷、ケージ類、給水瓶、ローデンカフェ etc.]

受託サービス
薬理薬効／安全性評価に関する受託試験、実験動物の受託飼育、
遺伝子発現、組換え蛋白、抗体作製、遺伝子改変動物 etc.



オリエンタル酵母工業株式会社
ORIENTAL YEAST CO., LTD.
バイオ事業部 ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 Phone:03-3968-1192
<http://www.oyc.co.jp>

職場でのストレス

独立行政法人産業医学総合研究所
作業条件適応研究部主任研究官
倉林 るみい

はじめに

昨今、職場でのストレスがたいへん問題になっている。企業でも大学でも、職員の心の健康に関して、関心が非常に高まっている。企業の健康管理室では、職員の心の病気が最近増えたと認識しているところも多い。皆様方のような実験動物を扱う職場でも、決して例外ではないだろう。

1. 仕事のストレスについての統計

では、仕事にストレスを感じている人は、どのくらいいるのだろうか。厚生労働省では、5年ごとに労働者健康状況調査を行っている。1997年と2002年には、全国さまざまな職種にわたる常勤10人以上の12,000事業所と、そこに勤める16,000人を対象に行なわれた。調査の中の「あなたは自分の仕事

や職業生活に関することで強い不安、悩み、ストレスになっていると感じている事柄がありますか」という設問に「ある」と答えた人の割合を示したのが図1である。2002年では97年と比べてほとんど同等あるいは若干の低下が見られるものの、82年の調査開始以来、全体の傾向としては増加しているのが明らかである。2002年では、

仕事に強い不安、悩み、ストレスを感じている人は全体で61.5%と6割を超えている。

さらに「ある」と答えた人に、その内容を選択肢の中から3つまで選んでもらったところ、2002年では「職場の人間関係」が35.1%で第一位を占め、特に女性では44.4%と他を大きく引き離していた。男性でも97年は40.6%と第一

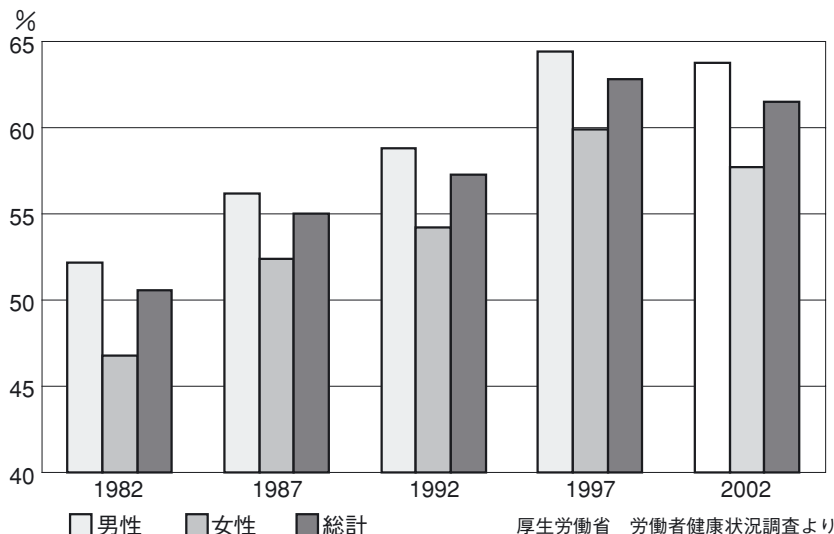


図1 仕事や職業生活に強い不安・悩み・ストレスがあると答えた者の割合

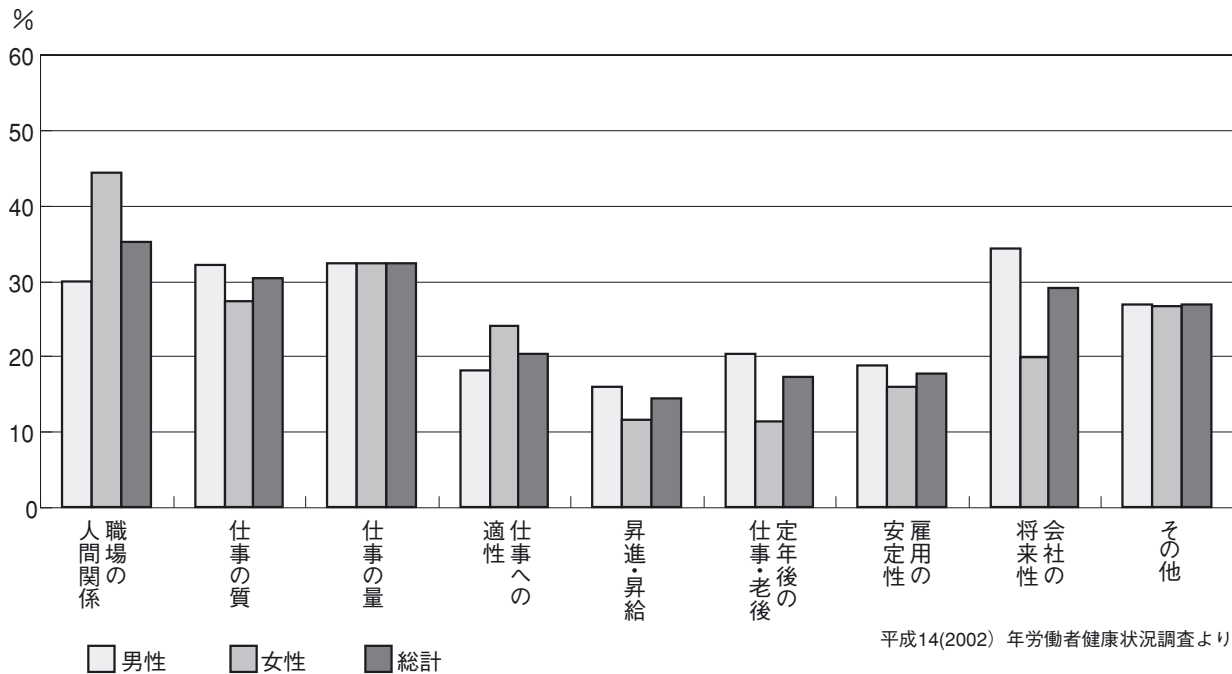


図2 仕事や職業生活における強い不安・悩み・ストレスの内容

位であったが、2002年ではその年に新しく加えられた選択肢「会社の将来性」が34.2%と第一位となった(図2)。昨今の社会情勢が如実に反映されている。

2. ストレスから心の病気へ

右手で左手をつねってみよう。つねられた左手の皮膚が盛り上がってしわになり、赤くなって痛みを感じる。このとき、つねった右手がストレッサー(ストレス源)、現れた発赤や痛みがストレス反応である。仕事のストレッサーが働く人に影響を及ぼして、さまざまなストレス反応をもたらす。この時点で発赤や痛み気づいてつねるのをやめれば、あざにならないですむ。しかしそれに気づかなかつたり、気づいても適切な対処が

できずそのまま放置すると、あざ、すなわちうつ病などの心身の病気になる可能性が高まるわけである。

仕事のストレッサーが私たちの心身にストレス反応をもたらし、対処がうまくないと病気になるというこのプロセスを、アメリカの国立産業安全保健研究所(NIOSH)による仕事のストレスモデルを簡略化して図3に示した。

3. 心の病気を引き起こさないために

第一には自分が発赤や痛みや、あざの軽い段階で気がつくこと、自分なりのストレス対処法を持っていることが大切である。

ストレス対処法としては、まず、一般にストレス解消法といわれるような、ストレス発散行動が挙げ

られる。趣味や娯楽やスポーツなどがこれに当たるが、立派な趣味など持ち合わせなくても、上手に休む、よい睡眠を取るといっただけで効果的である。さらに、ものの見方を変えるというのも有効なストレス対処法である。「動物を2匹死なせてしまった」という失敗に単に落ち込むのではなく、「2匹で済んでまだよかった」「動物には気の毒だったけれど、おかげで新たな改善点が見つかった」と、発想を変えて物事を前向きに受け止めてみることである。

第二として、もし本人が自分のストレス反応や病気の黄色信号に気づかなければ、代わりに上司など周囲が気づいてあげること、そして適切に対処することが大切である。急に遅刻や欠勤が増えたと

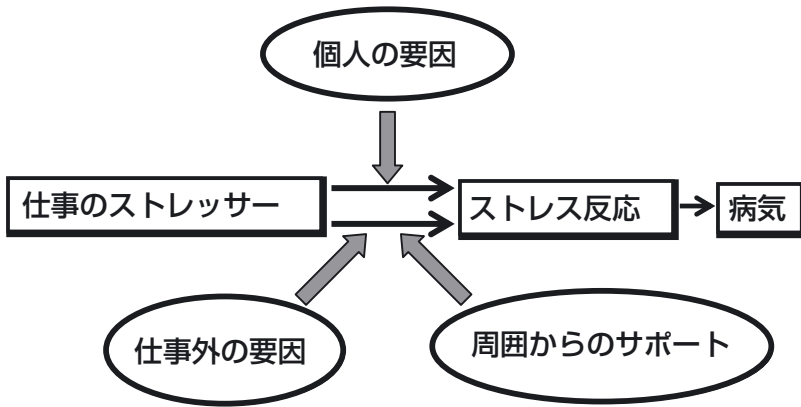


図3 NIOSHの仕事のストレスモデルの略図

か、いつも同僚を誘って昼食に出かけていたのに最近では一人では一っとしてろくにお昼も食べないなど、いつもと違う行動が見られたら心の黄色信号である。そのときは「遅刻が多いようだけれど何か心配ごとでもあるの?」「最近

顔色が冴えないようだけど・・・」など、まず周りから声をかけることが大切である。図3のNIOSHのストレスモデルでも、上司・同僚・部下など周囲からのサポートの有無が、ストレス反応や、ひいては病気に陥ってしまうかどうか

にも関係すると示唆されている。

おわりに

実験動物の作業者のストレスについては、まだほとんど何もわかっていない。窓の少ない職場の構造が与える心理的な影響もあるかもしれない。たくさんのケージを運んだり洗ったりという肉体的負荷が、心の問題以前にストレスフルかもしれない。人間関係の良し悪しはおそらくどの職場でもストレッサーとして大きく関わってくるだろう。適切なストレス対策を立てるには、職場のストレスの把握が第一歩である。

より広く、より深く、
皆様と共に歩む
アニマルケアが
総力を結集!!

研究支援事業

21世紀を迎え、アニマルケアは、永年に亘って培った実績とノウハウを「財産」に新規部門を推進しております。各部門のスペシャリストが皆様のお問い合わせをお待ちしております。お電話、もしくは弊社ホームページよりご連絡下さい。



● 受托事業本部

実験動物総合受託事業

弊社は、当事業のバイオニアとして永年に亘って事業を展開して参りました。これからは弊社の基盤事業としてコミュニケーションを大切に、適切な実験動物の飼育管理業務を遂行して、皆様の研究開発に貢献致します。



● 国際プロジェクト

アジア関連事業

弊社では、これまで中国、韓国、台湾などのアジア諸国、地域と情報交換、技術指導、人材交流、教育研修、**実験動物及び実験動物関連器材**の輸出入販売などの活動を行って参りました。21世紀はアジアの時代。これからも**近隣諸国との友好事業を推進**致します。



● NT-5プロジェクト派遣センター

技術者派遣事業

弊社では、**研究分野における技術者派遣事業**を行っております。人材確保には、本年の業務の中で培った**医薬、生命科学、食品、実験動物関連**などに独自の人脈ネットワークが強力にバックアップ。求めるスキルを持った**最適な人材**を派遣致します。



● 環境検査プロジェクト

環境検査関連事業

弊社では、感染症予防、及び衛生管理の観点から実施される、病院、食品工場、**医薬品工場**などの**環境検査**をお請け致します。**施設環境の現状把握**にお役立て下さい。



● NT-5プロジェクト紹介センター

人材紹介事業

弊社の人材紹介事業は、お客様が社員として採用をお考えになる人材を紹介致します。専門分野における**人材確保**は非常に困難であり、多くの時間と費用を費やします。**当社の人脈ネットワークを活用した人材紹介**をご利用下さい。



● クロマトレットプロジェクト

分析装置開発事業

弊社では、株式会社バイオメイトのHPLCによる血清中薬剤測定用の除タンパクシステムの開発に協力し、販売されている**カラムの製造に技術提供**しております。

 **株式会社 アニマルケア**
http://www.animal-care.co.jp/

本 社 〒164-0001 東京都中野区中野3-47-11 TEL. (03) 3384-9013 FAX. (03) 3384-9150 [一般労働者派遣事業(資)13-08-02971]
西日本営業所 〒543-0055 大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26 天王寺センターハイツ805 TEL. (06) 6772-6070 FAX. (06) 6772-6074 [有料職業紹介事業13-08-1-0309]
九州営業所 〒814-0021 福岡県福岡市早良区荒江3-11-31 シティーガーデン荒江701 TEL. (092) 831-8865 FAX. (092) 831-8867

実験動物スunksの紹介

財団法人実験動物中央研究所
動物資源開発部・動物開発2G
江袋 進

マウス、ラットなどの齧歯類は実験動物として広く使われているが、これらを用いて見いだされた事象をヒトへと外挿するにはいくつかのステップが必要である。このため、齧歯目と霊長目をつなぐ動物種の実験動物化が望まれ、様々な野生動物が研究されてきた。中でも、食虫目の動物は系統発生的には齧歯目よりも霊長目に近いとされ、一般に小型であり、飼育管理が比較的容易であったことから実験動物化が試みられた。(財) 実験動物中央研究所(実中研)では現在、食虫目トガリネズミ科、ジネズミ亜科、ジャコウネズミ属に位置するスunks(*Suncus murinus*)を生産供給している。実中研で生産しているスunks Jic:SUN系の起源となった動物は、沖縄、長崎、ジャカルタで捕獲された動物由来及びそれらの交雑動物である。1980年1月から8月にかけて名古屋大学農学部家畜育種学教室からメス17匹、オス15匹が導入され、実験動物化がなされた。スunksはマウス・ラットには見られない様々な特徴を持つが、その中でも刺激に対して嘔吐することに着目して嘔吐に関わる研究に広く利用されている。(写真1)

1. スunksの特徴

スunksの外貌は体毛が黒色で吻が突出し、目はきわめて小さい(眼球の直径が約2mm)。両側の脇

腹にはメス、オスともに1cm角の臭気腺を有し、種特有の臭いを発する。類似の臭気を発する動物にはジャコウネコ類やムスクラットが知られている。オスの精巣が腹

写真1



写真2



写真3



腔内にあるため精巣での雌雄の判別は難しい。

スunksは盲腸を欠如しており、腸管は短い。また常在する細菌叢は乏しく、病原菌の持続感染も起こり難いことが知られている。ほとんどのスunksがヘリコバクター様菌をもち、慢性胃炎が確認されている。

スunksは絶食・絶水に弱く、12時間くらい絶食すると肝臓は見る影もなくシワシワに小さくなり、脂肪肝になるが、摂食後の回復も早い。

骨髄や脾臓の両器官はともに旺盛な造血機能を有していることも知られている。近年、糖尿病のスunksも見付きり系統化されている(後述)。

トガリネズミ科の多くの種は、親子が1列に連なって歩くキャラバン行動を行う。

スunksの場合、キャラバン行動(写真2)が生後5日から観察され、通常22日齢まで出現する。

2. スunksの飼育

ケージは24×40×22cmの金網床のアルミニウム製で、釣り下げ式の飼育ラックを用いている。すべてのケージにウッドチップを入れたポリプロピレンケージ(17×24×12cm)を入れている。妊娠を確認した動物には巣材として脱脂綿を加える。これにより安定した哺育が期待される。餌は専用の固形飼料(3×5mm)を自由給餌給水させている。

飼育室内の環境は、室温が22±2℃、湿度が55±5%、全新鮮空気による換気回数は10~15回/時、照明時間は12時間サイクルで、8:00~20:00を明とし、他の時間帯を暗の条件に設定している。

微生物学的グレードはコンベンショナルであるが、おとりマウスについて3ヶ月に一度、血清学的、微生物学的、寄生虫学的検査を実施して今日現在まで感染事故等の事例は起きていない。

3. スunksの繁殖

性成熟はほぼ2ヶ月齢で成熟体重が雄50~70g、雌30~50g。妊娠期間は30日。平均産仔数3.2匹、哺育期間は、18~21日で年に4~5回の妊娠出産が可能な交尾排卵型動物である。各世代ごとに、メスをオスのケージに入れる1対1のランダム交配で、同居日を0日とした場合2日目までにほぼ交尾が行われる。その後出産・離乳まで母親のみの単独飼育を行っている。

現在、実中研で維持生産しているスunksは、嘔吐高感受性系統群のJIC:SUN-Her(High emetic response)と低感受性系統群のJIC:SUN-Ler(Low emetic response)および糖尿病モデル動物EDS(early-onset diabetes Suncus)系統の3系統である。ちなみに去年の繁殖成績は、JIC:SUN-Herでは交配数994回で出産率65.1%、平均産仔数3.6匹、離乳率89.5%、生産指数2.1匹であり、JIC:SUN-Lerは交配数87回で出産率68.9%、平均産

仔数2.9匹、離乳率79.8%、生産指数1.6匹であった。経験からすると高湿度に弱く、湿度80%を超えると離乳率の低下が著しい。

4. 実中研で維持・生産しているスunksについて

小型食虫目の実験動物としてのスunksは形態学や免疫学および各種特性も幅広く調査されてきた。その特性のひとつに、抗ガン剤を含めた種々の薬物や動揺刺激によって嘔吐するということがあげられる。

嘔吐には、薬物によるもの(抗癌剤など)、反射性嘔吐(Motion Sickness、宇宙酔い)、精神性嘔吐(ヒステリー、神経症)、食中毒や手術後及び病気によるものが知られ、様々な誘発刺激が嘔吐を引き起こしている。嘔吐は有毒物質を摂取してしまったときの防衛反応であると考えられているが、悪心・嘔吐の原因は数多く、緊急の防衛反応とは考えられない場合もある。これらの場合は、危険回避のための警告症状とみなすこともでき、「嘔吐する」という嫌悪学習により二度と原因物質を摂取したり、嘔吐を引き起こす状況に陥らないようにするためであると考えられている。

現在までに、嘔吐に関わる実験に用いられてきた動物はイヌ、ネコ、フェレットなどである。スunksはこれらの動物と異なり、単一方向の往復運動による動揺刺激のみで嘔吐すること、動揺刺激に

よって嘔吐するまでの時間が哺乳類全般の中でも最も短いことが報告されている。また、これらの動物に比べ、小型なことからスクリーニングに使用する薬物が少量で済むこと、ヒトと共通する感染症の事例がないなどの利点がある。さらに、unksの嘔吐はヒトと同様にほぼ全身を使った協調的な反射運動であり、あくびや流涎とは明確に区別できる点も有利である。(写真3)

各種動物において嘔吐発症は個体差が大きく、ほとんど遺伝的統御もされていなかったため、嘔吐機構の解明、あるいは嘔吐に関する種々の実験の障害となっていた。我々はunksを選抜交配することにより同一種内で嘔吐刺激感受性に差のある集団を育成し、有用性の高い嘔吐モデル動物として生産している。

嘔吐感受性系統群について以下

に紹介する。

(1) 嘔吐感受性系統 (JIC:SUN-HerおよびJIC:SUN-Ler)

1995年からJIC:SUN系統を基に、嘔吐誘発物質に対する反応性を指標にして嘔吐刺激感受性の異なる2系統のunksを作成することを目的に選抜交配を重ねている。嘔吐誘発物質には実験後の生育や繁殖に対する影響も少ないとされるVeratrine sulfate (副作用として嘔吐を引き起こしやすいとされる降圧剤の一つで迷走神経叢の嗅結節に作用すると考えられている薬剤)を選択した。頸背部皮下へ0.5mg/kg投与し、投与後30分間観察し、嘔吐物の中に未消化飼料が含まれた時を嘔吐と判定した。選抜交配にあたって各世代20ペア前後で維持し、仔を4匹以上離乳(平均産仔数3.5匹)できた親を選び出し、その産仔につ

いて1腹単位で嘔吐実験を行った。高感受性群JIC:SUN-Herの育成に際しては、1腹単位で75.0%以上嘔吐発症を示した産仔の中から、嘔吐したもののみを次世代の種親として使用した。低感受性群JIC:SUN-Lerの育成では最初1腹単位で50.0%以下の嘔吐発症率の産仔の中から嘔吐しなかった動物のみを次世代の種親として使用した。交配2回目以降、発症率が低下したのちは嘔吐発症率25.0%以下の産仔を用いて同様に選抜交配を繰り返し行い、現在は15世代に達した(図1)。これまでのフェレットなどの嘔吐モデル動物において個体差についての検討は全くなされていなかったが嘔吐刺激感受性の異なる2系統のunksが作出されたことは、嘔吐発現における遺伝的要素の重要性や嘔吐において特異的に発現する遺伝子の存在が示唆されるものと考えられ

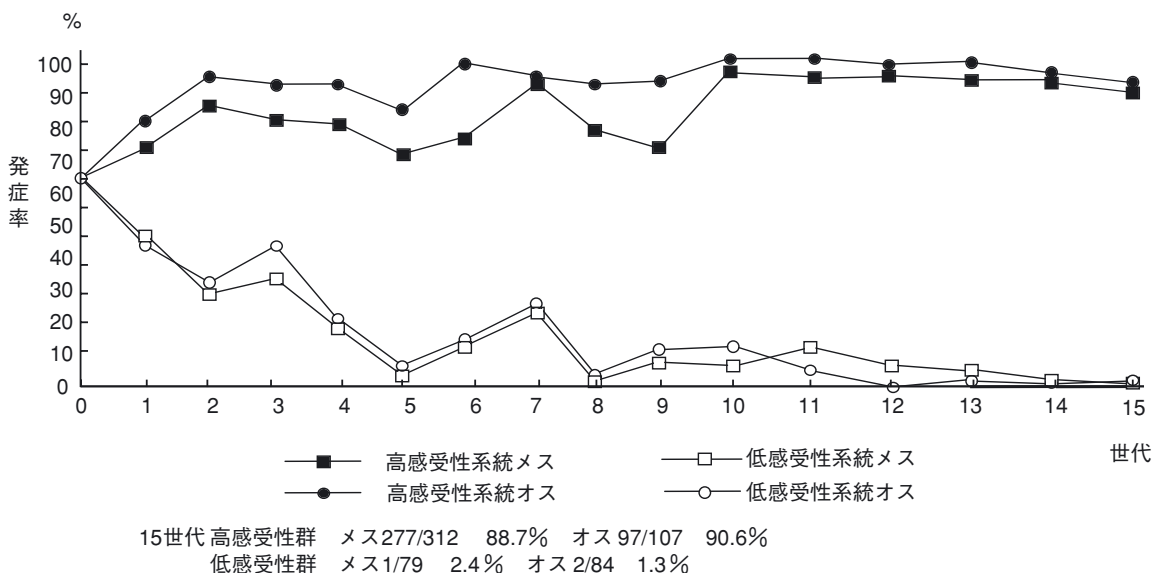


図1 ベラトリンサルフェートを指標にした選抜交配における嘔吐発症率の経世代的変化

る。

JIC:SUN-HerおよびJIC:SUN-Lerの嘔吐反応性の違いは作用機序が異なるMotion SicknessおよびCopper sulfateならびにNicotinc、Cisplatin、Pyrogallolに対しても認められ、Veratrineに対して特有(特異的)なものではない(図2)。

(2) 糖尿病モデル動物(EDS系統)

名古屋大学においてBangladesh系統から糖尿病モデル動物EDS系統が作出された。EDS系統は食虫目では唯一の自然発症糖尿病系統で、生後2か月以前より尿糖・空腹時高血糖・インスリン抵抗性・インスリン分泌不全を主徴とするインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)個体が高頻度に出現することや肥満傾向を示さないことなど、既存の齧歯目のNIDDMモデルには見られないユニークな特徴を有する新たなモデルである。また、発症個体では血中脂質濃度の

上昇に加え、白内障も観察される。

このEDS系統を2004年9月に維持生産を行う目的で名古屋大学からオス22匹、メス26匹導入をした。

【おわりに】

以上、実験動物としての小型食虫目スunksについて大まかに紹介させていただいた。スunksはマウス・ラットに比べて歴史もまだ浅く、まだまだ知られざる有用性を秘めていると思われる。現在、嘔吐モデル、糖尿病モデルとして利用されているが、嘔吐のメカニズムに関しては、糖尿病についても解明されていない部分が数多く残されている。新たな特性検索および嘔吐、糖尿病モデル動物として更なる研究が期待される動物である。

参考文献)

- 1) Matsuzaki, T., et al. 1992. Establishment of an outbred strain (Jic:SUN) in the house musk shrew, *Suncus murinus*. *Exp. Anim.* 41:167-172(in Japanese)
- 2) Ueno, S., Matsuki, N., and Saito, H., et al. 1987. *Suncus murinus*: A

new experimental model in emesis research. *Life Sci.* 41: 513-518.

- 3) Ebukuro S., et al. 2000. Selective Breeding of House Musk Shrew (*Suncus murinus*) Lines in Relation to Emesis Induced by Veratrine Sulfate. *Exp. Anim.* 50: 281-283
- 4) Uchino, M., et al. 2001. Role of Autonomic nervous system for development and suppression of motion sickness in *Suncus murinus*. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 94:46-51.
- 5) Ito, H., et al. 2002. Immunohistochemical Demonstration of c-fos protein in neurons of the medulla oblongata of the Musk Shrews (*Suncus murinus*) after Veratrine Administration. *Exp. Anim.* 51: 19-25.
- 6) Ito, H., et al. 2003. Induction of Fos protein in neurons in the medulla oblongata after motion- and X-irradiation-induced emesis in musk shrews (*Suncus murinus*). *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 107: 1-8.
- 7) Ohno, T., et al. 1998. A new spontaneous animal model of NIDDM without obesity in the musk shrew. *Life Sci.* 62: 995-1006.
- 8) 大野民雄、吉田太、並河鷹夫. 1998. 糖尿病スunks : EDS (early-onset diabetes in suncus)系統. *日本臨床.* 56 : 704 - 707

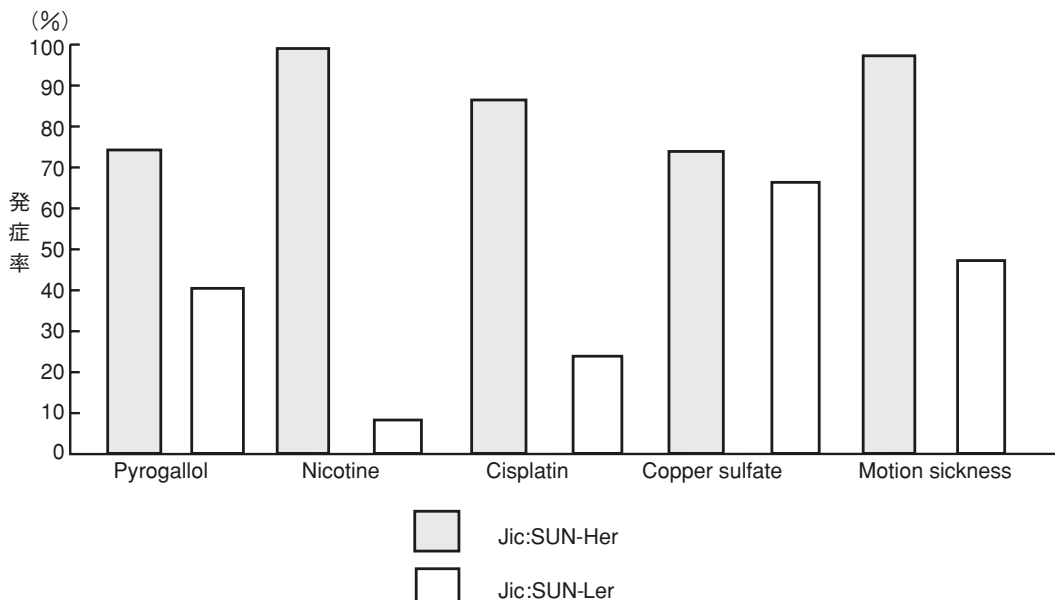


図2 Jic: SUN-Her・Lerにおける各種薬物と刺激による嘔吐発症率

翻訳22-1

Information

麻酔におけるラットの性差

長時間に及ぶラットの手術を必要とする研究には、長時間にわたる麻酔が求められ、ペントバルビタールナトリウム(PENT)がよく使われている。以前に我々が行った研究や他の研究の結果からは、ラットにおける麻酔の持続時間や麻酔補充の必要性には雌雄差があると考えられる。本研究では、Sprague-Dawleyラットの雄、雌各10匹に以下の3段階で麻酔を導入した。

5%イソフルランの短時間吸入による導入麻酔後、PENT(50mg/kg体重)の腹腔内投与、さらに同量のPENTの胃内投与を併用した。適切な麻酔深度は、指先への刺激に対する反応がないことで確認した。血漿中のPENT濃度を継続して20分毎に測定した結果、雌ラット(20.27±0.66 μg/ml)に対し、雄ラット(13.28±1.13 μg/ml)の方が平均して低濃度であり(P=0.03)、ま

た雄ラットではより急速に減少したことが明らかになった(P=0.003)。雄ラットでは体重あたりの非脂肪性組織の重量が重く、それらの非脂肪性組織に麻酔薬が分布し、また麻酔薬の代謝も速いので、これらの麻酔効果の差が生じると考えられる。このことは、麻酔の補充が雌ラットには必要ないが、雄ラットには必要であることの根拠となる。

(翻訳:前田春奈)

E. A. Zambricki and L. G. D' Alecy: Comparative Medicine. 54(1), 49-53 (2004).



keyword

キーワード:ラット、麻酔、性差、ペントバルビタールナトリウム

翻訳22-2

Information

DBA/2マウスの繁殖成績に及ぼす種々の異なるラックシステムの影響

実験動物の飼育システムは長年にわたって開発されてきた。陽圧の個別換気ケージシステムや強制換気システムのような微小環境システムは、ケージ間における相互汚染を減少させるため、ますます多くの研究者が使うようになってきた。これらのシステムが動物の健康状態に与える影響について、ケージにおける照度、相対湿度や温度、およびアンモニアや二酸化炭素濃度、その他のケージ内の要因といった面において、多くの研究がなされてきた。本研究の目的は、

種々の異なるラックシステムの効果を比較し、環境エンリッチメントがマウスの繁殖成績に及ぼす影響を理解することである。本研究には、60ペアのつがいDBA/2マウスを用いた。マウスは、エンリッチメントを入れた、あるいは入れないマクロンケージII型長形ケージに収容し、換気キャビネット、通常のオープンラック、および個別換気ケージラック(IVCラック)の3つのラックシステムで飼育した。繁殖成績は、10~40週齢の間記録した。3つのラックシステムすべてにおいて、エ

ンリッチメントを入れていない群では、繁殖の間長期間にわたり繁殖指数(産子数/雌親/週)は類似していたが、IVCラックでは、ほとんどのパラメーターの変動係数は他の2つのラックシステムより高かった。この種のエンリッチメントは、特にIVCラックにおいて産子数を減少させるようである。しかし、繁殖指数(離乳数/雌親/週)において有意な差は見られなかった。(翻訳者:黒川正樹)

P. -P. Tsai, D. Oppermann, H. D. Stelzer, M. Mähler & H. Hackbarth : Laboratory Animals. 37(1), 44-53 (2003).



keyword

キーワード:マウス、繁殖成績、個別換気ケージ、環境エンリッチメント

翻訳22-3

Information

雄の取り扱い:雄の実験用マウスによる攻撃性問題への対処

実験室環境において、雄マウス間の攻撃的相互作用が通常の域を超えてしまい、動物福祉および実験結果の信頼性の両方に悪影響を及ぼすことがある。本論文では、文献や我々自身の研究から、雄の実験用マウスの過剰な攻撃行

動への対処について概説する。これにもとづき、雄の実験用マウスの飼育管理に関する実践的な推奨案を作成した。つまり、個別飼育を避けること、ケージ交換の際に巣の場所からのおいの手がかりになるものを移すこと、環境エンリッチメン

トとして巣材を与えることが推奨される。さらに、1群の匹数は、1ケージ当り3匹が望ましい。今後、実験中の介入の頻度、持続時間、種類、激しさが攻撃性の程度に及ぼす影響をさらに研究することが望まれる。(翻訳:上田直也)

P. L. P. Van Loo, L. F. M. Van Zutphen and V. Baumans: Laboratory Animals. 37(4), 300-313 (2003).



keyword

キーワード:マウス、雄マウス、攻撃性、飼育条件、ケージ内匹数、環境エンリッチメント

翻訳22-4

Information

ペア飼育に対する個別飼育のマウスにおける高い心拍数

多くの研究により、マウスの生理機能は、長期の個別飼育により大きく変化することが示されている。しかし、ほとんどの研究において、それらの測定には人の関与や試料採取のための拘束が必要である。本研究では、埋め込み可能な通信機による無線遠隔測定法システムを用いて、個別飼育下、もしくは卵巣切除処置雌マウスとのペア飼育下における、雄マウス(NMRI)の非拘束状態での心拍数、自発運動量、および体温の測定を行った。各パラメーターのデータは、5分間隔で

連続して2日間にわたって測定した。各社会環境への順化後、数週間がたった後でさえ、自発運動量に変化はみられなかったものの、ペア飼育のマウスに比べ個別飼育のマウスでは心拍数の上昇がみられた。加えて、個別飼育マウスの体温は低い傾向がみられた。自発運動量別に比較解析を行ったところ、個別飼育のマウスは高自発運動時および低自発運動時に心拍数の上昇を示したが、中程度の自発運動時には変化がみられなかった。さらに、個別飼育のマウスは、より短

い休息を頻回にとった。これは、正常な概日リズムによる睡眠パターンの崩壊を示唆している。個別飼育マウスにおける心拍数の上昇は、必ずしもストレスの増加を示すわけではないが、不快感を示す重要な生理的指標と考えられる。実験用マウスの個別飼育が基本的な生理的パラメーターの変化をひき起こすという事実は、とくにこれらのパラメーターの変化に鋭敏な実験においては、飼育方法による変化を制御する必要性を明確にしている。

(翻訳:前田春奈)

D. Späni, M. Arras, B. König and T. Rüllicke: Laboratory Animals. **37**(1), 54-62 (2003).



keyword

キーワード: マウス、心拍数、飼育環境、個別飼育、群飼育、社会的環境、遠隔測定法

翻訳22-5

Information

麻酔および鎮静処置によるNZWウサギの特定の血漿生化学パラメーターへの影響

麻酔に対する血漿生化学パラメーターの応答を評価するために、40匹のニュージーランドホワイト(NZW)ウサギを4種類の処置群、すなわち対照群(生理食塩水1ml 静脈内投与)、フェンタニル-ドロペリドール(FD)群(thalamonal溶液0.4ml/kg 皮下投与;ドロペリドール2.5 mg/ml、フェンタニル0.05 mg/ml)、ケタミン(K)(10 mg/kg 静脈内投与)+キシラジン(X)(3 mg/kg 静脈内投与)群、ケタミン(K)(10 mg/kg 静脈内投与)+ジアゼパム(D)(2 mg/kg 静脈内投与)群に分けた(n=10)。血液サンプルは、各処置前ならびに処置後10分、30分、60分、120分、24時間の6回にわたり

耳介中心動脈から採取した。血漿中のALT、AST、ALP、GGT、BUN、クレアチニン、リン酸塩、カリウムの濃度を日立 747 自動分析機によって測定した。ケタミン+キシラジン投与群では、血漿中のALT値は10分後に11.4±0.9IU/lから20.2±1.7 IU/l、AST値は120分後に10.5±3.3 IU/lから34±2.1 IU/l、BUN濃度は60分後に17.2±0.9 mg/dlから25.8±1.8 mg/dl、クレアチニン濃度は10分後に1±0.1 mg/dlから1.6±0.2 mg/dlに増加した(P<0.05)。ケタミン+ジアゼパム投与後では、血漿中のALT値は10分後に11.4±0.9 IU/lから20.2±1.1 IU/l、AST値は10分後に11.4±

1.6 IU/lから28±3.7 IU/l、BUN濃度は10分後に15.8±0.8 mg/dlから30±1.5 mg/dl、クレアチニン濃度は120分後に1±0.08 mg/dlから2.2±0.2 mg/dlへの増加がみられた(P<0.05)。FD投与群では有意な変化はみられなかった。ケタミンとキシラジンあるいはケタミンとジアゼパムの投与は、血清中酵素や生化学パラメーターの血漿中濃度に対して選択的に影響を与えるものと考えられる。これらの結果は、処置ウサギの血液サンプルを評価する際に考慮すべきである。

(翻訳:上田直也)

A. Gonzalez Gil, J. C. Illera, G. Silvan and M. Illera: Laboratory Animals. **37**(2), 155-161 (2003).



keyword

キーワード: ウサギ、鎮静、麻酔、フェンタニル、ドロペリドール、ケタミン、キシラジン、ジアゼパム、血漿生化学パラメーター

翻訳22-6

P167組換え抗原の*Helicobacter bilis*血清診断への利用

*Helicobacter bilis*は、研究用マウスコロニーの間で蔓延している。ヘリコバクター感染の血清診断には菌体溶解物または膜抗原が使用されているが、それらは特異性を欠いており、特異的で感受性の高い抗原が必要とされている。以前に報告された組換えタンパク質(P167)を血清学的試験における*Helicobacter bilis*特異的抗原として使用することができるか否かを評価した。商業用あるいはおとりマウスから、ヘリコバクター菌属に自然感染

している76匹のマウスを同定した。感染は、盲腸内容物の培養ならびに糞便のPCRおよびPCR産物の制限酵素切断パターンにより同定、確認した。41匹のマウスが*H. bilis*に、27匹のマウスが*H. hepaticus*に単独感染していると診断され、8匹のマウスは他種のヘリコバクターに感染していた。血清は100倍希釈し、*H. bilis*膜抽出物ならびにP167遺伝子の主要免疫原性断片CおよびDに対するELISA法における反応性を評価した。感度は膜抽出物

が最も高く(76%)、一方、P167CおよびD組換えタンパク質の感度は低かった(それぞれ62%、51%)。しかし、膜抽出物の特異性は、改善された特異性をもつP167CおよびD断片(それぞれ96%、96%)と比較すると低かった(87%)。これらの結果は、*H. bilis*から作製したP167遺伝子の組換えP167CおよびD断片が、マウスにおける*H. bilis*感染の血清診断で特異性のある試薬として利用可能であることを示唆している。(翻訳:秀嶋 信)

L. V. Kendall, S. Feng, E. Hodzic, K. Freet and S. W. Barthold: Comparative Medicine. **54**(1), 44-48 (2004).



キーワード：マウス、*Helicobacter bilis*、P167組換え抗原、ELISA

Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books

「中高年健康常識を疑う」

柴田博著、講談社選書メチエ、
1,500円

筆者は臨床医である傍ら、老年学を研究し、各種の学際的プロジェクトリーダーを務めた研究者である。この人物が、老人の健康常識を疑う、と言うことで纏めたものである。

例えば、老人は痩せていた方が長寿、と言われるが、粗食では長寿で



ほんのひとりごと

ない、コレステロール値はガイドラインよりちょっと高いあたりが最も長寿、と疫学調査データを示して常識に疑問を呈している。また、“ピンピンコロリ”は、突然死で、不自然な死、生まれたときと同様順繰りに他人の手を借りてあの世に行くのが自然、と説いている。最後に、理

想の死のあり方を欧米と我が国とを比較しつつ論じている。

単なる健康常識の否定書ではなく、データに基づく長寿のあり方を説き、また終末期を迎えた際の心の持ち方を説く書でもある。

〔選：評 大島誠之助〕

「旧暦と暮らす

—スローライフの知恵ごよみ—

松村賢治著、ビジネス社、1,600円

皆さんは記憶にあるかどうか、今年の春の訪れが遅かったことを。桜の咲くのも田植えの時にも何時になく寒かったのである。

これは新暦ゆえの狂いではないのか、と思うと、妙に合点が行く。

日本人の季節感とは旧暦に基づいて出来上がっている。立春、啓蟄と言った二十四節気、節分、八十八夜などの雑節なども然り。

筆者は、建築の専門家でありながら、ある時一念発起、ヨットで世界一周をした。この旅の中、ゆったりと流れる時空を体験し、人々が潮の干満を基にした生活であることを知る。日常との落差を知ったのである。

新暦を否定するのではなく、旧暦から見た日々を知ることで、自然と遊離した慌しい生活を送る諸氏にスローライフを薦める好書である。

そう言えば、当協会の仲間にも旧暦に拘ったカレンダーを贈る方がおられる。かく言う選者も、自宅では季節感のない食材は断固拒否する偏屈である。〔選：評 大島誠之助〕

日本実験動物学会の動き

1. 維持会員懇談会関係

本年度の維持会員懇談会の日程が以下の通り決定しました。
 日時：平成17年12月9日(金) 13:00~20:00 (懇親会を含む)
 場所：後楽園会館 (<http://www.stay-korakuen.com/>)

2. 第53回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成18年5月11日(木)~13日(土)の期間、神戸国際会議場で開催される予定です。奮ってご参加下さい。詳細につきましては
 日本実験動物学会ホームページ (<http://www.cs-oto.com/53jalas/>) を参照して下さい。

日本実験動物技術者協会の動き

1. 関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
ブタ実技講習会	H17.11.5	順天堂大学医学部	シネアンギオグラフィーの実際と心血管系の解剖
第250回本部共催実験動物実技講習会専門部会	H17.11.17~11.19	慶應義塾大学医学部	実験動物の取り扱い、実験手技及び比較解剖
REG部会	H17.11.19	順天堂大学医学部	特別講演「体細胞クローン胚から胚性幹(ES)細胞株を樹立することによって得られた神経細胞核由来のクローンマウス」 教育講演「チャイニーズハムスターの生殖工学的利用に関する研究」および「REG部会の目指すもの」

(<http://members.jcom.home.ne.jp/jaeat.kanto/home.htm>)

2. 関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
徳島地方大会	H17.10.29、30	徳島シビックセンター	
第58回実験動物学習会	H17.11.19	大阪府内の大学で調整中	実技学習

(<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/iexas/zitugikyoku/kansai.htm>)

3. 東北支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
平成17年度奥羽・東北支部合同勉強会	H17.12.3	福島県立医科大学 光が丘会館	動物実験施設の管理・運営 —今、取り組んでいること—
第16回東北動物実験研究会(奥羽・東北支部共催)	H17.12.2	福島県立医科大学 光が丘会館	特別講演会：「これからの動物実験」 「国際宇宙ステーションにおける実験装置」 「改正・動物愛護管理法とこれからの動物実験」

日本実験動物協同組合の動き

①日本実験動物協同組合は7月1日に理事会を開催し、次ぎの通り三役を決定した。

理事長 日柳 政彦 (新任)
 専務理事 柏木 利秀 (新任)
 常務理事 外尾 亮治 (留任)

②カルタヘナ法等対策委員会を設置した。(社)日本実験動物協会と合同にてマニュアル作成に取組中。

協会だより

1. 専門委員会等活動状況

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
モニタリング研修会	17.7.8～9	実中研 30名参加
カルタヘナ法等対策委員会第1回、第2回、第3回、第4回委員会	17.7.5、8.4、8.22、9.5、	カルタヘナ法等対策マニュアルの作成
高校生対象実験動物二級技術師学科試験	17.8.21	認定校13校164名受験
通信教育（スクーリング）	17.9.3～4	日獣大、京都医科大
白河研修	17.9.19～23	家畜改良センター研修所49名受講

2. 行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所
各論講義	10.27～28	馬事畜産会館
実験動物一級学科、二級学科・実地試験	17.11.27(日)	日獣大、京都医科大
実験動物一級実地試験	18.3.5(日)	日獣大

(2) 関係協会団体行事

◆ 第22回日本疾患モデル学会

日 時：2005年11月24日(木)～25日(金)

会 場：群馬県伊香保温泉 福一

内 容：総会及び学術集会

◆ 第34回日本実験動物環境研究会

日 時：2005年11月26日9：30～17：00

会 場：慶応大学医学部 新教育研究棟4階 講堂3

◆ 第88回関西実験動物研究会

日 時：2005年12月2日(金)

会 場：京都市勧業館みやこメッセ

詳 細：<http://www.anim.med.kyoto-kansai/kansai.html>

◆ 第23回九州実験動物研究会総会

第25回日本実験動物技術者協会九州支部研究発表会

日 時：2005年11月19日(土)～20日(日)

会 場：鳥栖市安住・交流センター サンメッセ鳥栖

◆ 第19回日本動物実験代替法学会大会

日 時：2005年12月1日～2日

会 場：フォーラム246（伊勢原市）

大会長：田中憲穂

◆ 第23回日本免疫学会総会・学術集会

日 時：2005年12月13日～15日

会 場：パシフィコ横浜（横浜みなとみらい）

学術集会長：高津聖志

(3) 海外行事

◆ National AALAS Meeting(米国実験動物学会)

日 時：2005年11月6～10日

会 場：St. Louis

詳 細：<http://www.aalas.org>

◆ Workshop on Clony Management

日 時：2005年12月1～5日

会 場：Jackson Laboratory's Bar Harbor

◆ The 12th International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians

日 時：2005年11月16～19日

会 場：Montevideo(Uruguay)

※ 関連団体の行事については出来るだけ多くの関係者に周知したいので、行事計画が決定した場合には事務局まで御連絡下さい。

「実験動物一級技術師資格認定試験を受験して」

湘中央生命科学技術専門学校バイオ学科 花輪 俊宏

私が今回この試験を受験するきっかけとなったのは、バイオ学科の非常勤講師であり、私と同じ湘中央学園の卒業生でもある平野貢さんの「実験動物二級技術師資格認定試験を在学中に受験できる認定校なのにその学校に一級技術師がいないのは、まずいのではないか?」という一言でした。確かにその通りだとは思いましたが、自分の技術レベルでは無理だという思いが強く、なかなか受験する決心がつきませんでした。しかし、「私でよければお手伝いします。」という彼の心強い言葉に背中を押され受験を決意し、早速、実験動物高度技術者養成研修会（白河研修）への申し込みをしようとしたのですが、仕事の都合でどうしても日程が合わず断念。一時は受験を来年に先延ばしすることも考えましたが、白河研修に参加し、修了試験に合格すると

受験が免除される必須科目をあえて受験してみたいという思いもあり、試験のみでチャレンジすることとしました。これは自分でも無謀な挑戦だとは思いましたが、どうせ受験するのであれば後悔のないようにしたい、少なくとも実地試験までは進みたいという気持ちで学科試験の準備に入りました。学生さん達の二級試験受験をサポートしながらの試験準備は思った以上に厳しいものでしたが、何とか学科試験合格をいただき、念願の実地試験に進むことができました。学科試験合格後は、平野さんの指導のもと、以前にも増して一段と実技の練習に打ち込みましたが、何度も壁にあたりながら苦闘する毎日を過ごしました。その間、すでに二級試験全員合格を決めた学生さん達からの「先生が合格しなければ本当の100%ではない。」という厳しく

も温かい言葉をもらい、それをバネにしながら頑張り、実地試験当日を迎えました。当日は手が震えてマスクのヒモがうまく結べないほどに緊張しましたが、そんな中でもとても貴重な体験をさせていただきました。技術者とはどんなものか、その厳しさなど、試験を通して多くのことを試験官の先生方に教えていただいた気がしております。試験官の先生方、本当にありがとうございました。

今回、私が合格できたのは自分の力ではありません。平野さんをはじめ、多くの先生方と卒業生の皆さん、学生さん達の応援と励ましのお陰です。技術者としては今の私の技量は圧倒的に不足しているかもしれませんが、こんな私だからこそできることがあるかもしれません。それをこれから模索していきたいと思っています。



過日、国際宇宙動物実験ガイドライン作成のための会議に出席する機会があった。米国カリフォルニア州のNASA Ames Research Centerに米国、カナダ、欧州、日本の宇宙生物学、実験動物学の関係者が集まり（ロシア、中国は都合により欠席）、上記ガイドラインの草案が作成された。国際宇宙ステーションの中で、異なる国の宇宙飛行士（研究者）たちが共同して動物実験をおこなうためには、国際宇宙動物実験ガイドラインが必要であろう。

本年7月4日（米国独立記念日）には、NASAが探査機ディーブ・インパクトの子機を彗星の核に激突させ、核の内部の成分を観測し、宇宙や生命の起源を探索するという人類史上初の実験をおこない、世界中の天文ファンを興奮させた。まさに、SFの世界が現実になっていくように思われる。さて、宇宙で動物実験をおこなう場合は、だれ（どのような機関）が動物実験計画書を審査し、そして、だれがどのように実験室を査察に行くのだろうか？

（久原孝俊）

STAFF

情報専門委員会

担当理事	新関 治男	HARUO NIIZEKI
委員長	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
委員	荒巻 正樹	MASAKI ARAMAKI
〃	櫻井 康博	YASUHIRO SAKURAI
〃	日柳 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	椎橋 明広	AKIHIRO SHIIHASHI
〃	仁田 修治	SHUJI NITTA
〃	中川真佐志	MASASHI NAKAGAWA
〃	川本英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
事務局	宮本 伸昭	NOBUAKI MIYAMOTO
〃	関 武浩	TAKEHIRO SEKI

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

● LABIO 21 No.22 平成17年10月1日発行 / ● 発行所 社団法人日本実験動物協会 / ● 編集 情報専門委員会
● 住所 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2-8-10 神田永谷マンション602号室 / ● TEL 03-3864-9730 FAX 03-3864-0619
● URL <http://group.lin.go.jp/jsla/> ● E-mail jsla@group.lin.go.jp

未来に繋げる技術と信頼



SLCの実験動物

◆SPF動物

- クローズドコロニー
 - マウス Slc : ddY
 - Slc : ICR
 - Slc : SD
 - Slc : Wistar
 - Slc : Wistar/ST
 - HOS® : Donryu
 - Slc : Hartley
 - Slc : NZW
 - Slc : JW/CSK
 - Slc : Syrian
- 近交系
 - マウス BALB/c Cr Slc
 - C57BL/6 Cr Slc
 - ※ C57BL/6J
 - C3H/He Slc
 - DBA/2 Cr Slc
 - ※ A/J
 - AKR/N Slc
 - C3H/He N Slc MTV⁻
 - B10 コンジェニック
 - F344/N Slc
 - WKAH/Hkm Slc
 - BN/SsN Slc
 - LEW/SsN Slc
 - MON/Jms/Gbs Slc
- 交雑郡
 - マウス Slc : BDF₁
 - Slc : B6C3F₁
- ミュータント系
 - ヌードマウス BALB/c Slc-nu
 - KSN/Slc

◆Conventional動物

- ビーグル犬 ノーサンビーグル
- カニクイザル
- アカゲザル
- 繁殖生産ザル(奄美)

◆Clean動物

- クローズドコロニー
 - マウス Std : ddY
 - Std : Wistar
 - Std : Wistar/ST
 - HOS® : Donryu
 - Std : Hartley
 - Std : NZW
 - Std : JW/CSK
 - Std : Syrian

◆疾患モデル動物

- マウス ※ MRL/MpJ-lpr (自己免疫疾患)
- Slc : NZBWF₁ (自己免疫疾患)
- NC/Ngaマウス (皮膚炎)
- AKITAマウス (糖尿病)
- ★ HR-I (ヘアレスマウス)
- ラット WBN/Kob Slc (高血糖好発)
- DA/Slc (コラーゲン誘導関節炎)
- HWY/Slc (ヘアレスラット)
- Slc : Zucker-fa/fa (肥満)
- ★ DIS/Eis・DIR/Eis (食塩感受性高血圧症)
- ★ SHR・SHRSP・WKY (高血圧)

◆その他

- 実験動物用床敷・ソフトチップ(木)・
- ヘパークリーン(紙)

※印は受託生産動物 ★印は仕入販売動物です。

LabDiet 実験動物用飼料

PMI Nutrition International はISO9002 を取得し、信頼性の高い実験動物用飼料を製造して100年以上の実績を誇る企業です。厳選された原料と厳しい品質検査によるGLP試験に適したサーティファイド飼料をはじめ、常に高品質な製品を世界各国に提供しております。

<取扱項目>

- ◆マウス・ラット・ハムスター用 サーティファイド ローデント ダイエット 5002
- ◆旧世界ザル用 サーティファイド プライメイト ダイエット 5048
- ◆イヌ用 サーティファイド キャニン ダイエット 5007
- ◆モルモット用 サーティファイド ギニア ピッグ ダイエット 5026
- ◆ウサギ用 サーティファイド ハイ ファイバー ラビット ダイエット 5325
- ◆新世界ザル用 ニューワールド プライメイト ダイエット 5040
- ◆フェレット用 フェレット ダイエット 5L14

ホームページアドレス <http://www.labdiet.com>

SLCの受託業務内容

- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ)を用いた安全性試験(非GLP)
- サル(カニクイザル、アカゲザル)、ブタを用いた試験・検査
- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌおよびサル)を用いた経時的採血試験(血中濃度試験)
- 日本薬局方等に基づく生物学的試験
- 細胞毒性試験 ■ 特殊試験 ■ 薬効薬理試験
- 特殊動物の作製および各種試験 ■ ポリクローナル抗体の作製
- 病理組織標本作製および鏡検 ■ トランジェニック動物(マウス、ラット)の作製
- ノックアウトマウス(キメラマウス)の作製

上記 項目のお問い合わせは受託試験部まで **053-437-5348(代)**

- 外科的病態モデル動物および偽妊娠マウス・ラットの販売
- 実験動物(マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ)の子宮切断術によるSPF化および繁殖
- 実験動物(マウス、ラット)の委託生産

上記 項目のお問い合わせは各エリア営業専用電話までご連絡ください。



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市湖東町3371 番地の8
TEL(053)486-3178(代)
FAX(053)486-3156

営業専用
TEL

関東エリア(053)486-3155(代)
関西エリア(053)486-3157(代)
九州エリア(0942)41-1656(代)

わたしたちにできること

ライフサイエンスの発展に貢献する実験動物を・・・

日本チャールス・リバー株式会社は、創業時の基本理念
「科学の知識に基づいた実験動物の生産・供給」に基づき、
世界のスタンダードとなる高品質SPF/VAF実験動物を安定供給し、
ライフサイエンスの発展を応援しています(VAF: Virus Antibody Free)。

※1995年、ISO9002シリーズ認証取得。



日本チャールス・リバー株式会社

TEL.045(474)9340 FAX.045(474)9341

<http://www.crj.co.jp>