

Japanese Society for Laboratory Animal Resources

LABIO 21

ラビオ
No. 58
OCT. 2014



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】

実験動物を用いた行動学的解析

【トピックス】

医療分野の研究開発の新たな体制の構築に向けて

【私の研究】

ゲノム解読が解き明かす実験用マウスの起源



私たちチャールス・リバー・グループは
トータルソリューションを提供し、
人類の健康と動物福祉を考えるグローバル企業として、
医薬品などの研究開発分野に貢献してまいります。



プロダクトおよびサービス

遺伝子組み換えサービス

細胞レベルでの*in-vitro*実験

エンドトキシンサービス

各種実験用動物

手術・血清血漿サービス

実験用動物の飼育サービス

受託試験サービス

実験動物のヘルスマニタリング

前臨床および臨床試験

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
カスタマーサポートセンター 厚木飼育センター 日野飼育センター 筑波飼育センター 横浜飼育センター
モニタリングセンター 横浜SASセンター 大阪SASセンター
横浜試験サービスセンター 大阪試験サービスセンター



作品名「微光」

絵 上林喜美子

画家。

樺太生まれ、美唄市育ち。

3人の子育て後、中学以来のとなる絵筆を握る。

馬をテーマにした絵を描いたところ、ばんえい競馬馬主協会会長の目にとまり「ばんえい」を描いてよと言われ「ばんえい」を描き始める。

始めて出展した道美展で知事賞を受賞。

※今まで掲載しておりました山本画伯の絵は、今回都合により休ませて頂きます。

巻頭言

公益社団法人日本実験動物学会功労賞を受賞して 4

日本実験動物学会の功労賞を受賞して 5

特集 実験動物を用いた行動学的解析

情動、社会性行動発現の新たな分子制御メカニズム：
マウスの行動学的解析からのアプローチ 6

嗅覚による情動のコミュニケーション：匂いによる警報と安寧 10

トピックス

医療分野の研究開発の新たな体制の構築に向けて 15

私の研究

ゲノム解読が解き明かす実験用マウスの起源 19

海外散歩

ブータン 24

研究最前線

遺伝子改変ブタの開発 27

連載シリーズ 実験動物産業に貢献した人々(16) 31

連載シリーズ 特例認定校制度と専門学校教育 33

ラボテック 実験動物施設におけるオゾンの利用 34

海外技術情報 38

実験動物の年間(平成25年度)総販売数調査 40

ほんのひとりごと 43

平成26年度認定 実験動物技術指導員及び準指導員 43

学会の動き、技術者協会の動き 44

協会だより 45

ブタの実技研修会開催について 46

KAZE 46

オリエンタル酵母の特注飼料

肥満モデル作製用High Fat Diet

HFD-60



新型の成型機を導入することにより、特注飼料の成型性をアップすることが可能となりました。皆様からご要望・お問合せが多かった『脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料』を固型品にて新発売いたしました！

その他生活習慣病モデル飼料

● 各種モデル動物作製用飼料

- 肥満
- 高脂血症
- 糖尿病
- 動脈硬化
- インスリン抵抗性
- 脂肪肝
 - ・ アルコール性
 - ・ 非アルコール性

● コリン無添加飼料

- アミノ酸混合飼料
(特定のアミノ酸過剰、無添加)
- 低タンパク飼料
- 各種検体添加

※ 各種ビタミン、ミネラルの過剰・不足、その他ご希望の配合で調整いたします。



お問合せは弊社営業担当、もしくは下記までご連絡下さい。

オリエンタル酵母工業株式会社 バイオ事業本部 ライフサイエンス部
〒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> E-mail fbi@oyc.co.jp



オリエンタル酵母工業株式会社

公益社団法人日本実験動物学会功労賞を受賞して

日本エスエルシー株式会社
取締役会長 高木 博義

平成26年5月15日、札幌コンベンションセンターで開催された第61回公益社団法人日本実験動物学会総会の席に於いて、八神健一理事長様から功労賞を受賞致しました。功労賞受賞の栄誉にあたり、ご推薦くださいました須藤カツ子先生並びに当社の落合敏秋部長そして功労賞諮問委員会・理事長・各理事・評議員の皆様のご厚情に心よりお礼申し上げます。

この賞は創設期より長きに亘り学会の発展並びに実験動物科学研究に貢献された方々に贈られる賞でございます。この賞を頂きますことは大変光栄に存じます。

私は、麻布獣医科大学（現麻布大学）獣医学部を昭和41年卒業後、静岡県実験動物農業協同組合において良質な実験動物の育種および大量生産の技術の開発に取り組んできました。1960年代の日本の実験動物生産は、大半が遺伝学的にはクローズドコロニーで、かつ微生物学的にはコンベンショナルな動物でした。また、実験動物の生産、供給も始まったばかりで、品質の点では欧米の動物とは比べものにならない状況でした。そこで、品質の近代化推進の必要性を感じ、微生物学的にコントロールされたSPF動物の量産体制の確立に着手しました。SPF動物を確実に維持するためには無菌動物の

作出、維持が必要であり、その技術に関する研究・開発を行いました。中でも無菌動物に使用する経口投与器具と人工哺乳器の改良およびミルクの開発は、高品質のSPF動物の維持・生産を可能にしました。また、SPF動物に与える固型飼料開発は、私、静動協、東京大学医科学研究所実験動物繁殖研究室および船橋農場の共同研究により、高圧蒸気滅菌しても非滅菌の飼料と同等の栄養価を保つ固型飼料の実用化につなげることができました。この開発によって放射線滅菌に頼ることなくSPF動物を生産できるようになり、かつ研究者にとって使いやすい価格で提供できるようになりました。微力ながらお役に立ったのではないかと思います。

次に、昭和50年12月、文部省特定研究「免疫の基礎」免疫動物小委員会の依頼により、近交系マウス5系統（BALB/c, C3H/He, C57BL/6, A, DBA/2）のSPF化および受託生産を開始し、遺伝学的にコントロールされた動物の供給体制の確立を図りつつ、全国の免疫学研究に携わる研究者への供給を行いました。これらの事業に引き続き、CDF1およびBDF1の供給体制を整えるべく取り組みました。これら近交系マウスの供給を全国的に行なうことにより免疫学およびがん研究分

野の発展にいささかなりとも貢献できたと思っています。

私は、(公社)日本実験動物学会理事(2期)評議員(通算7期19年間)として永きにわたり学会運営に携わり、更に、財務委員会(4年)功労賞諮問委員会(2年)、定款・細則・規定等検討委員会(3年)産業技術問題WG委員会(2年)実験動物関連団体会議(4年)の委員を務めました。中でも理事在任中は学会の公益社団法人化に生産者の立場から提言を行い、このことも微力ながらお役に立てたのではないかと思います。

この賞を頂くことが出来たのは私の恩師並びに実験動物に関する師匠である田嶋嘉雄先生、今泉清先生、鈴木潔先生、藤原公策先生、中川雅郎先生、武藤健先生、降矢強先生、須藤カツ子先生方のご指導のお陰です。また、私が実験動物の開発・育種・供給および実験動物関連団体の発展に打ち込むことができたのは、家族および社員の応援のお陰です。

今回この名誉ある賞を頂きましたが、これを出発点として、もう暫く実験動物関連団体の発展の為に精進してまいりますので、いままでと変わらぬご指導・ご協力をお願いする次第です。

日本実験動物学会の功労賞を受賞して

公益財団法人実験動物中央研究所
理事 鍵山 直子

2014年5月15日、母校を仰ぐ札幌市で、日本実験動物学会功労賞受賞の栄にあずかった。表裏を問わず学会活動に貢献した会員を称える功労賞の制度は、学際的な学問領域に位置する実験動物学の発展と普及には有意義であると思う。評価いただいた会員諸兄ならびに当該年度の理事長八神健一先生に深謝申し上げる。

過去を振り返ることが苦手である。反省と悔いばかりで気が滅入ってしまう。ただ、感染症から動物福祉への専門の切り替えについてなら、今につながるので語る気が起こる。

20年前に実中研から外資系製薬企業に飛び出した。当時は感染症の専門家を自覚していた。しかし、世界には科学者の目以上に市民の目があった。動物権論者の反社会的圧力もあった。定年で復帰した国内活動の場で、このような実体験が役立った。動物愛護管理法改正では、医学研究者とタッグを組んで立法府やメディアに臨んだ。医者と獣医の組み合わせにより、科学と倫理のすそ野が広がった。

将来に向けて、実験動物福祉は何を基軸に展開すべきか。1985年のCIOMSの「医学生物学領域における動物実験に関する国際原則」が、ICLASとの協働により2012年に改訂された（鍵山直子、2014、LABIO 21 54, 10-14）。作業部会が世界の国

と地域から30編以上の動物実験に関する原則や指針を収集し、それらを参考に改訂作業を進めた。さらにICLAS理事会での重なる審議を経て、動物実験の適正化に向けた科学者コミュニティのコンセンサスが生まれた。以上の理由から、公正かつ網羅的なCIOMS-ICLASの国際原則を基軸に据えることを提案する。

国際原則は、ただ、国際条約とは異なる。批准という手続きがないので、国内法令に取り込まれることはない。すなわち、法的拘束力を有しない。よって、科学者コミュニティが独自に指針等に反映させるべく行動を起こさなければならない。

国際原則の受け皿としては日本学術会議がふさわしい。日本学術会議は日本の科学者コミュニティの代表であり、ICLASの日本代表でもある。いわく、日本学術会議はscientists out of governmentであってscientists in governmentではない。この点が総合科学技術会議とは異なる。

日本学術会議は、1980年の「動物実験ガイドラインの策定について」の勧告に始まり、動物実験の科学的・倫理的適正化に向けて、提言や報告などの意思表出を行ってきた。動物愛護管理法における3R原則の明文化、動物実験基本指針の制定、外部検証制度の導入など、結果

として立法府や行政府を動かした。

2014年6月、日本学術会議のICLAS分科会と実験動物分科会による合同会議が、「CIOMS-ICLASの国際原則に基づく動物実験の適正化と社会的理解のさらなる促進について」の議題で、改訂された国際原則を取り上げた。審議の記録は、日本学術会議のホームページに公表されている。<http://www.scj.go.jp/ja/member/iinkai/kiroku/2-140707.pdf>

私ごとであるが、フルートアンサンブルが趣味だ。20人くらいの団員で10か月ごとにコンサートを開いている。月1回のレッスンでは、「最後の小節に向かって、最初の音を出せ。他のパートが聞こえなければ、自分の音量を下げろ。」と教えられる。これによって、美しいハーモニーが生まれる。

換言すると、「落としどころを決めよ、出番以外は徹底してサポートに回れ」ということであろうか。過剰なパフォーマンスで社会を唾然とさせた科学者もいるが、行動規範からの逸脱さえなければ、芸術する心は科学技術の推力になるというのが持論だ。

実験動物を用いた行動学的解析

情動、社会性行動発現の新たな分子制御メカニズム…マウスの行動学的解析からのアプローチ



日本獣医生命科学大学 基礎獣医学部門 形態機能学分野
 助教 樺山 実幸

はじめに

気分や情動は、脳内で働く神経伝達物質「モノアミン」によって調節されます。モノアミンには、注意や衝動性に関わるノルアドレナリンや精神を安定させる働きをするセロトニンなどが含まれます。それらはモノアミノキシダーゼなどにより分解されることから、その阻害剤は、うつ病や不安障害などの治療に長年用いられてきました。またモノアミノキシダーゼの1つ「モノアミノキシダーゼA (MAO-A)」の脳内量が、不安などの情動や攻撃性などの社会性に関わる行動と関連性があると、ヒトや実験動物の研究から多く報告されています。今回我々は、ユビキチンリガーゼ RINESがMAO-A蛋白質の分解制御を行い、モノアミン量と情動、社会性行動を制御していることを発見しました(図14)¹。そこで、MAO-Aのタンパク質制御機構についての新たな分子機構と、行動学的解析を用いた情動、社会性行動発現についてご紹介します。

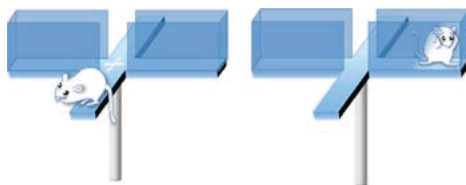


図1. 不安傾向の比較(高架式十字迷路試験)
 RINES欠損マウスは不安傾向が高い。

背景

脳には数多くの神経伝達物質が存在しており、細胞間で情報のやりとりを行っています。神経伝達物質のうち、モノアミンと呼ばれるグループにはノルアドレナリンやセロトニン、ドーパミンが含まれており、情動行動、記憶学習、ストレス反応、依存症など、広範囲の脳の機能を調節する上で重要な役割を果たしています。脳内におけるノルアドレナリンやセロトニンの量が適切に調整されることで、気分や情動が正常に保たれています。これらモノアミンを分解し、その量の調節を行っている酵素の1つが、モノアミノキシダーゼA (MAO-A)です。したがって、MAO-Aはモノアミン量の迅速で適切な調節と、それによる脳高次機能発現制御に必須であり、その破綻は様々な脳神経疾患を誘発するため、特に注目されています^{2,3}。もし、MAO-Aが過剰にノルアドレナリンやセロトニンを分解すると、うつ病や不安障害を引き起こすことが知られています。そのため、MAO-A阻害薬が、うつ病などの治療に長年使用されており、さらにPTSDやパニック障害などの不安障害の治療にも有用です^{4,6}。一方、MAO-Aは薬の標的になるだけでなく、脳内における量が社会

性や情緒に関わる行動と関連性があることが、ヒトや実験動物による研究から示されています(図4)。例えば、MAO-A量が少なくなると、ヒトではブルナー症候群のように、攻撃性が高くなり^{7,9}、マウスでは社会的な接触が低下する傾向があります^{10,11}。逆に、MAO-A量が多くなると、抑うつ、不安の傾向が高くなります¹²⁻¹⁵。このように、社会性や情動に関わる行動と関連性のあるMAO-A量ですが、そのMAO-A量を制御する分解機構については、これまで分かっていませんでした。

多くの細胞内タンパク質は、合成と分解を常に繰り返して新陳代謝をしています。中でも、主なタンパク質の分解経路として、ユビキチン-プロテアソーム蛋白質分解機構があります。この機構は、様々な細胞制御過程に関わるタンパク質を特異的に分解し、適切な量に制御する機構です^{16,17}。神経系においてもこの機構は、神経発生、シナプス可塑性および記憶学習などに関わるタンパク質量を制御し、適切な神経機能の発現に重要な役割があります^{18,19}。この機構では、E3ユビキチンリガーゼと呼ばれるタンパク質が分解の標的となるタンパク質に目印となるユビキチンを結合させ、その目印を持ったタンパク質が細胞内の分解工場の1つであるプロテアソームに運ばれて、分解されます(図3)。したがって、このシステムではE3ユビキチンリガーゼが標的タンパク質の特異的な認識とその後の分解を時間、空間的に制御するため、中心的な役割を果たします。2008年に我々は、脳に発現する小胞体膜上のタンパク質「RINES」を同定し、これが、E3ユビキチンリガーゼとしての活性を示すことを発見しました²⁰。このRINES

の役割を明らかにするため、RINES欠損マウスを作製し、研究していたところ、外見上は正常な同腹の野生型マウスとまったく同じでしたが、その行動に異常があることを見出しました。そこで、RINESの機能と行動の関係性について行動学的解析により詳しい検証を行いました。

行動学的解析とは？

動物の性格、運動機能や情動の変化(気分・怒り・恐れ・喜び・悲しみなど)さらには記憶力などを知る上で、行動学的解析が有効です。また一見しただけでは分からない、精神や神経系の疾患も行動解析で発見できることがあります。マウスにおける行動解析評価として、主に以下の項目があります^{21,22}。これらの行動解析を組み合わせることで、マウスの特徴を探っていきます。(1) 自発活動性や運動量の解析：マウスの基本的な活動量や概日リズムおよび運動能力を測定します。(2) 不安、恐怖の解析：一般的に痛みを伴わない刺激(広い場所、高い場所、明るい場所)などの新規環境にマウスを置いたときの反応を観察します。(3) 学習、記憶の解析：学習課題をいかに覚えているかを測定します。用いる学習課題によってどの脳部位、またはどのような種類の記憶に関与するのか(情動記憶、空間記憶、運動学習など)を知ることができます。(4) 社会性の解析：新規マウスに対する反応(親和性、探索性、攻撃性など)により、マウスの社会性を評価します。(5) 痛覚、嗅覚、聴覚の解析：痛み(熱や電気刺激)、匂い、音などに対する反応により測定します。

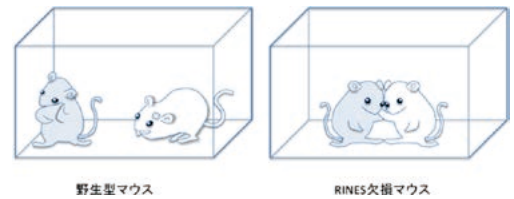


図2. 社会性の比較(居住者-侵入者試験)
RINES欠損マウスは社会的親和性が高い。

RINES欠損マウスの行動学的解析

我々は、RINES欠損マウスと野生型マウスに対して、以下のような行動解析を行い、RINES欠損マウスの行動異常について検討しました。

- 1, ホームケージアクティビティ試験：活動量と概日リズム
- 2, オープンフィールド試験：新規環境での活動性、不安様行動
- 3, 高架式十字迷路試験、明-暗箱往来試験：不安様行動
- 4, ロータロッド試験：運動機能、運動学習
- 5, 受動的回避試験：情動(恐怖)記憶、ストレス反応
- 6, 強制水泳試験：うつ、ストレス反応
- 7, ホットプレート、テイルフリック試験：痛覚
- 8, モーリス水迷路試験：空間記憶、参照記憶、作業記憶
- 9, 社会相互作用試験、居住者-侵入者試験：社会性行動、攻撃性
- 10, クッキー隠し試験：嗅覚
- 11, 聴覚反応とプレパルスインヒビションテスト：聴覚、驚愕反応

以上の行動解析の結果、RINES欠損マウスは、オープンフィールド試験や高架式十字迷路試験において、広い空間や高い場所などの新規環境に置いた時に、不安が亢進していることが分かりました(図1)。さらに、受動的回避試験や強制水泳試験において、不快感をもたらす電気刺激や強制的な水泳などのストレスに対する反応

性が、野生型に比べて低下することが分かり、情動反応に異常を示すことが明らかになりました。さらに、社会相互作用試験および居住者?侵入者試験において、今まで会ったことのないマウスと一緒にすると、野生型マウスよりも長く相手に接触（社会的な接触、親和性の増加）することが分かりました（図2）。この他、ホームケージアクティビティ試験、ロータロッド試験などでは、運動機能に異常がないことが分かりました。さらに、モーリス水迷路試験においても、参照記憶や作業記憶には異常がないことが明らかになりました。この他、痛覚、嗅覚、聴覚にも異常は確認されませんでした。

以上の結果から、RINES欠損マウスは情動および社会性行動に異常があることが分かりました。

RINESによる情動行動制御の分子機構

以上の情動異常の結果をふまえて、私達はRINES欠損マウスの脳の各部位で、安静時と不快な刺激後にモノアミン量を検討しました。その結果、不快な刺激後、ノルアドレナリンとセロトニンの両方の量が、青斑核という部位で正常マウスより低くなることが分かりました。青斑核ではMAO-Aの酵素活性が特に高いことが知られ

ていることから、青斑核のMAO-Aの定量を行った結果、青斑核でMAO-Aの酵素活性が高く、その量も増えていることが明らかになりました。一方で、MAO-AのメッセンジャーRNA量の定量には差は認められず、MAO-Aの産生が増えているわけではないことが明らかになりました。これらのことから、症状（不安症状）とは類似する。

RINES欠損マウスでは、MAO-Aの分解が低下している可能性が考えられました。

したがって私達は、実際にRINESが直接MAO-Aの分解に関与するのかどうかを検討しました。その結果、培養細胞内においてRINESは、MAO-Aに結合し、ユビキチン化とプロテアソームによるタンパク質分解を促進することが分かりました。また、RINES欠損マウスの青斑核から抽出したMAO-Aでは、ユビキチン化の程度が減少していました。以上から、RINESがMAO-Aを標的として、その分解を促進することが明らかになりました（図3）。

さらに、RINES欠損マウスに表れた行動異常がMAO-Aの変化を反映しているのかどうかを検討するために、MAO-A阻害剤をRINES欠損マウスに投与して、その影響を、情動行動異常において評価しました。その結果、RINES欠損マウスは正常マウスと異なった反応を示し、複数の検査項目で異常行動が改善しました。このことから、モノアミンオキシダーゼ

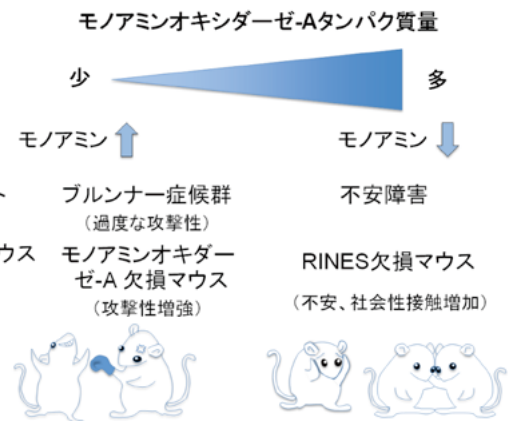


図4.モノアミンオキシダーゼ(MAO)-A量と精神疾患の関係 RINES欠損マウスの不安増強や社会的接触の増加などの行動異常は、MAO-A量が低下した際の攻撃性が高くなる症状（ブルンナー症候群など）と逆になる。一方でMAO-A過剰と関連した症状（不安症状）とは類似する。

の量的な変化が行動異常に関係していることが確認されました。

今後の展望

興味深いことにRINES欠損マウスで観察された不安の増強や社会的な接触の増加といった行動異常は、MAO-A量の低下と関連した症状（ヒトのブルンナー症候群など）と逆になっています（図4）。一方で、MAO-A過剰と関連した症状（不安症状）とは類似しています。これまで、MAO-A量の制御機構を知ることは、情動障害や社会性障害の理解のために必須であると考えられてきました。今回の発見は、MAO-A量の制御機構の新たな一面を明らかにしたものであり、情動および社会性障害の発症機構の理解に貢献できると期待しています。

さらに、MAO-A量低下で見られる攻撃性は、幼児期の虐待などにより、その症状が顕著に出ることも明らかになっているため、今後はRINES欠損マウスの若齢期における異常についても検討していく予定です。また、ヒトにおけるRINESの変異が不安または攻撃性などの社会性行動の多寡と関連があるかどうかを検討することも重

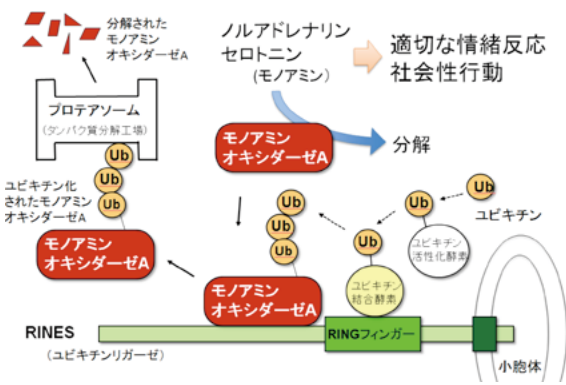


図3. RINESの働き

RINESは、モノアミンオキシダーゼ(MAO)-Aをユビキチン化し、プロテアソームでの分解を促進する。これにより、脳内モノアミン量を制御し、適切な情動行動を制御している。

要です。これらの点が解明されると、RINESを標的とした、抗不安薬などの創薬、および行為障害などの発症基盤の理解および治療においても重要な知見になると期待しています。

参考文献

- 1) Kabayama M, Sakoori K, Yamada K, Ornathanalai VG, Ota M, Morimura N, Katayama K, Murphy NP, Aruga J. Rines E3 ubiquitin ligase regulates MAO-A levels and emotional responses. *Journal of Neuroscience*. 2013;33 (32) : 12940-12953.
- 2) Shih JC, Chen K, Ridd MJ. Monoamine oxidase : from genes to behavior. *Annu Rev Neurosci* 1999;22 : 197-217.
- 3) Bortolato M, Chen K, Shih JC. Monoamine oxidase inactivation : from pathophysiology to therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60 : 1527-1533.
- 4) Ravindran LN, Stein MB. The pharmacologic treatment of anxiety disorders : a review of progress. *J Clin psychiatry* 2010;71 : 839-854.
- 5) Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Progress in neurobiology* 2003; 70 : 83-244.
- 6) Koen N, Stein DJ. Pharmacotherapy of anxiety disorders : a critical review. *Dialogues in clinical neuroscience* 2011;13 : 423-437.
- 7) Brunner HG, Nelen M, Breakefield XO, et al. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science* 1993;262 : 578-580.
- 8) Hunter P. The psycho gene. *EMBO reports* 2010; 11 : 667-669.
- 9) Brunner HG, Jansen G, Nillesen W, et al. Brief report : reverse mutation in myotonic dystrophy. *The new england journal of medicine* 1993;328 : 476-480.
- 10) Cases O, seif I, Grimsby J, et al. Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA. *Science* 1995;268 : 1763-1766.
- 11) Scott AL, Bortolato M, Chen K, et al. Novel monoamine oxidase A knock out mice with human-like spontaneous mutation. *Neuroreport* 2008;19 : 739-743.
- 12) Deckert J, Catalano M, Sygailo YV, et al. Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. *Hum Mol Genet* 1999;8 : 621-624.
- 13) Schulze TG, Muller DJ, Krauss H, et al. Association between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and major depressive disorder. *American journal of medical genetics* 2000;96 : 801-803.
- 14) Yu YW, Tsai SJ, Hong CJ, et al. Association study of a monoamine oxidase A gene promoter polymorphism with major depressive disorder and antidepressant response. *Neuropsychopharmacology : official publication of the american college of neuropsychopharmacology* 2005;30 : 1719-1723.
- 15) Samochowiec J, Hajduk A, Samochowiec A, et al. Association studies of MAO-A, COMT, and 5-HTT genes polymorphisms in patients with anxiety disorders of the phobic spectrum. *Psychiatry research* 2004;128 : 21-26.
- 16) Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 1998;67 : 425-479.
- 17) Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem* 2001;70 : 503- 533.
- 18) Lee SH, Choi JH, Lee N, et al. Synaptic protein degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science* 2008;319 : 1253-1256.
- 19) Yao I, Takagi H, Ageta H, et al. SCRAPPER- dependent ubiquitination of active zone protein RIM1 regulates synaptic vesicle release. *Cell* 2007;130 : 943-957.
- 20) Ogawa M, Mizugishi K, Ishiguro A, Koyabu Y, Imai Y, Takahashi R, Mikoshiba K, Aruga J. Rines/RNF180, a novel RING finger gene-encoded product, is a membrane-bound ubiquitin ligase. *Genes Cells* 2008;13 : 397-409.
- 21) マウス表現型解析プロトコル, 2006 (秀潤社)
- 22) マウス表現型解析, 2006 (メディカルサイエンス インターナショナル)

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



THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY

Covance Research Products Inc.

Cumberland, VA



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

実験動物を用いた行動学的解析

嗅覚による情動のコミュニケーション…匂いによる警報と安寧

東京大学 大学院農学生命科学研究科

獣医動物行動学研究室 助教 清川 泰志

はじめに

動物たちの多くは、非常に発達した嗅覚を持っていることが知られている。イヌやネコを飼ったことのある人は、外出先で他のイヌやネコを撫でると帰宅後に必ず気づかれて、匂いを嗅がれることを体験していると思う。この様に発達した嗅覚を利用することで、空港では麻薬探知犬や銃器探知犬が活躍しており、癌に由来する匂いを識別する癌探知犬の育成も試みられている。さらに近年ではラットも利用され始め、タンザニアでは地雷や結核を匂いで探知するラットが育成されたり、オランダ警察では銃器の使用を匂いで探知するラットの育成が試みられていたりしている。

発達した嗅覚をもつ動物たちは、嗅覚シグナル、その中でも特にフェロモンによってお互いの繁殖状態や縄張り、社会的順位といった様々な情報を伝達し合っていることが知られている。フェロモンとは、「ある個体から放出され、例えば明確な行動反応や成長過程の変化といった、ある特定の反応を同種の他個体に引き起こし」、「ごく微量で効果を発揮する」と定義される化学物質である¹⁾。我々の研究により、ラットは不安や安心といった情動もフェロモンによって仲間に伝えていることが明らかとなってきた。以下にその概要をご紹介します。

ラット警報フェロモン

植物から魚類、昆虫、そして我々ヒトを含めた哺乳類の多くは、ストレスに晒されると特殊な匂い(ストレス臭)を放出することが知られている。このストレス臭は

同種の他個体に様々な反応を引き起こすため、警報フェロモンと総称されるフェロモンを含んでいると考えられているが、これまで警報フェロモンに対する理解は進んでいなかった。そこでラットをモデル動物として用い、警報フェロモンの存在を検討するために以下の実験を行った。電気ショックを負荷できる実験箱を用意し、そこに警報フェロモンを放出させるために雄ラットを2頭導入した。このように、ストレス臭や警報フェロモンを放出させるために準備した雄ラットを、以後はドナーと呼ぶこととする。実験箱内でドナーに電気ショックを負荷するので、もし本当にラット警報フェロモンが存在するのであれば、この実験箱内にフェロモンが充満すると考えられる。電気ショック後ドナーを取り出し、実験箱を異なる部屋へと運んだ後、新たに別の雄ラットを導入した。このように、被験動物としてドナーから放出されたストレス臭や警報フェロモンに晒される雄ラットを、以後はレシピエントと呼ぶこととする。レシピエントにとって実験箱は新奇環境であるため、導入されこと自体がストレスとなり、体温が一過性に上昇するとともに探索行動を示すが、事前にドナーが電気ショックを受けた実験箱に導入されたレシピエントでは、これらの反応がさらに増強されることが明らかとなった。以上の結果から、ラットは電気ショックを受けると警報フェロモンを放出し、他のラットの自律機能反応と行動反応を増強することが明らかとなった²⁾。

ラット警報フェロモンに関してさらなる研究を行うに当たり一番

の問題点は、我々ヒトはラット警報フェロモンを感知できないことである。そのため、例えば目の前(鼻の前)にあるストレス臭の中に警報フェロモンが含まれているか、我々にはうかがい知ることができない。そこで以後の実験では、ストレス臭に対するレシピエントの反応を観察し、レシピエントが上述したような自律機能反応と行動反応の増強を示した場合にはストレス臭の中に警報フェロモンが存在する、と判定することとした。この様な方法を生物検定と呼ぶ。

生物検定を用いて、次に警報フェロモンの産生におけるテストステロンの役割を検討した。テストステロンとは主に睾丸から分泌される男性ホルモンの1種で、様々なフェロモンの放出能力に重要な役割を担っていることが知られているホルモンである。そこでテストステロンの役割を検討するために、主な産生器官である睾丸を取り除いた去勢ドナーを作製し、上記と同じ実験を行った。その結果、去勢ドナーから放出されたストレス臭はレシピエントの自律機能反応を増強するものの、行動反応は増強しないことが明らかとなった。しかし去勢した後にテストステロンを投与したドナーから放出されたストレス臭は、再び行動反応を増強するようになった。以上の結果より、レシピエントの行動反応を増強する警報フェロモンを放出するには、テストステロンが必要であることが明らかとなった。またこの結果は同時に、ストレス臭には2種類の警報フェロモンが含まれており、レシピエントの自律機能反応と行動反応をそれぞれ独立して増強していることを示唆した³⁾。

警報フェロモンが2種類存在するという仮説をより直接的に検証するために、それぞれのフェロモ

ンを個別に放出させることを検討した。本実験ではドナーに麻酔を施した後、その頬部や肛門周囲部の皮下に針を2本刺した。その後ドナーを実験箱内に静置し、2本の針を利用することで局部電気刺激を行い、それぞれの部位からの匂いの放出を促した。電気刺激後ドナーを取り出し、レシピエントを実験箱に導入しその反応を観察することで、実験箱内に警報フェロモンが存在するかを判定した。その結果、肛門周囲部への電気刺激に伴って放出された匂いはレシピエントの自律機能反応を、頬部への電気刺激に伴って放出された匂いはレシピエントの行動反応を、それぞれ増強することが明らかとなった⁴⁾。以上の結果より、ストレス臭には2種類の警報フェロモンが含まれており、1つは頬部よりテストステロン依存性に放出されてレシピエントの行動反応を増強するフェロモン、もう1つは肛門周囲部よりテストステロン非依存性に放出されて自律機能反応を増強するフェロモンであることが示唆された。

これら2種類の警報フェロモンを比較すると、群れの仲間に危険を知らせる必要性は雄ラットに限定されることではないため、男性ホルモンの1種であるテストステロンに依存しないフェロモン、すなわちレシピエントの自律機能反応を増強するフェロモンの方が、生物学的により重要であると考えられる。そのため、以降の研究ではこちらの警報フェロモンに着目することにした。さらなる研究を行うために、警報フェロモンを何らかの吸着剤に捕捉して、ドナーに電気ショックを与えた実験箱の外に持ち運ぶ方法を開発することとした。様々な試行錯誤の結果、あらかじめ天井に水滴を噴霧した小さな箱の中に麻酔下のドナーを

導入し、肛門周囲部へ電気刺激を負荷することにより警報フェロモンの放出を促すと、天井の水滴は警報フェロモンと同様にレシピエントの自律機能反応を増強することが明らかとなった⁵⁾。そのためこの方法によって、警報フェロモンを水中に捕捉すること可能であることが明らかとなった。

このフェロモン含有水を用いることで、実験装置に制限されることなく様々な解析を行うことが可能となった。その結果、改良型オープンフィールド試験では危険評価行動や防御行動を増加させ⁶⁾、聴覚性驚愕反射試験では驚愕反射を増強し⁷⁾、性行動試験では雄レシピエントの性行動を抑制する⁸⁾ というように、警報フェロモンはそれぞれの試験に応じた不安関連反応を引き起こすことが明らかとなった。また抗不安薬をあらかじめレシピエントに投与すると、これらのフェロモン効果は消失することも明らかとなった。以上の結果より、警報フェロモンは自律機能反応を増強するフェロモンではなく、レシピエントの不安レベルを上昇させるフェロモンであることが示唆された。そのため、当初観察された警報フェロモンによる自律機能反応の増強も、上昇した不安レベルがもたらした二次的な反応の1つであったことが示唆された。

現在も警報フェロモンに関する様々な解析を行っており、その結果フェロモンは鋤鼻器というヒトでは退化してしまった特殊な嗅覚器官によって受容された後、不安に重要な働きをしている脳内領域である分界条床核を活性化することで、レシピエントの不安レベルを上昇させる、という警報フェロモンを介した不安のコミュニケーションの概略が明らかとなってきた(図1)。

ラット安寧フェロモンと、ストレスの社会的緩衝作用

哺乳類のうち社会性の高い幾つかの動物種で、同種の他個体が存在するとストレス反応が緩和されることが知られており、この現象は社会的緩衝作用と呼ばれている。例えばヒトにおいて、イライラするような難しいコンピューターゲームを行う際他人から応援を受けると、被験者が示すストレス反応が緩和されることが報告されている。ヒト以外の動物種でも同様の現象が観察されており、例えばラットを新奇環境に導入する際に他のラットと一緒に導入したり、ヒツジを隔離する際に他のヒツジの顔写真を提示したりすると、ストレス反応が緩和されることなどが報告されている。また、ヒトでは見知らぬ他人よりも恋人の方が、またモルモットでは顔馴染みのモルモットよりつがい相手や母親の方が、より効果的であることが報告されていることから、おそらく安心感といった情動によってストレスの緩衝作用が引き起こされていると推測される。しかしこれまでのところ、現象の存

在以上の理解がなされていなかった。そこで社会性の高い実験動物であるラットをモデル動物として用い、社会的緩衝作用の解析を行うこととした。

ラットにストレスを与える方法として、恐怖条件づけモデルを用いることとした。恐怖条件づけとは、それ自体では主立った反応を引き起こさない中性刺激を、様々なストレス反応を引き起こす嫌悪的な刺激（無条件刺激）と同時に提示することを何度か繰り返すと、それ以降は中性刺激が無条件刺激と同じ反応を引き起こす条件刺激へと置換される現象である。例えばラットはブザー音（中性刺激）に対して主立った反応を示さないが、ブザー音が電気ショック（無条件刺激）と同時に何回か提示されると、それ以降はブザー音が条件刺激となり、ラットは無条件刺激である電気ショックに対して示すのと同様に様々なストレス反応を、条件刺激となったブザー音に対して示すようになる現象である。

この恐怖条件づけモデルを用いて、ストレスの社会的緩衝作用が観察可能かをまず検討した。被験

動物としてその反応を観察するために用いる雄ラットをサブジェクトと呼ぶこととし、ブザー音と電気ショックを同時に提示することでサブジェクトに恐怖条件づけを行った。翌日、サブジェクトに再び条件刺激であるブザー音を提示すると、条件づけの影響によりサブジェクトはすくみ行動をはじめとした様々なストレス反応を示した。しかしブザー音を提示される際に、以後パートナーと呼ぶこととする他の雄ラットが同じ実験箱内に居ると、ブザー音に対するストレス反応が大きく緩和された⁹⁾。そのため、恐怖条件づけモデルを用いてストレスの社会的緩衝作用が観察可能であることが明らかとなった。

次に、社会的緩衝作用を引き起こすのに必要なシグナルを検討した。パートナーが社会的緩衝作用を引き起こすためには、パートナーから発せられた何らかのシグナルがサブジェクトに受容される必要があると考えられる。そこでまず2匹間の身体的接触、すなわち触覚シグナルの重要性を検討した。条件刺激を提示する際、サブジェクトとパートナーを金網で仕切ることで2匹間の身体的接触を金網の目を通した鼻と鼻との接触のみに制限しても、ストレスの社会的緩衝作用はこれまで通り観察されることが明らかとなった。さらに、2匹間の仕切りを5cmの隙間を設けた2重の金網へと変更し、身体的接触を完全に阻止しても変わらず緩衝作用が観察されたことから、2匹間の身体的接触は社会的緩衝作用に必要なことが明らかとなった¹⁰⁾。一方で、異種動物であるモルモットを金網越しに導入した場合にはストレスの緩衝作用が観察されなかったことから、パートナーは同種である必要性が示唆された。

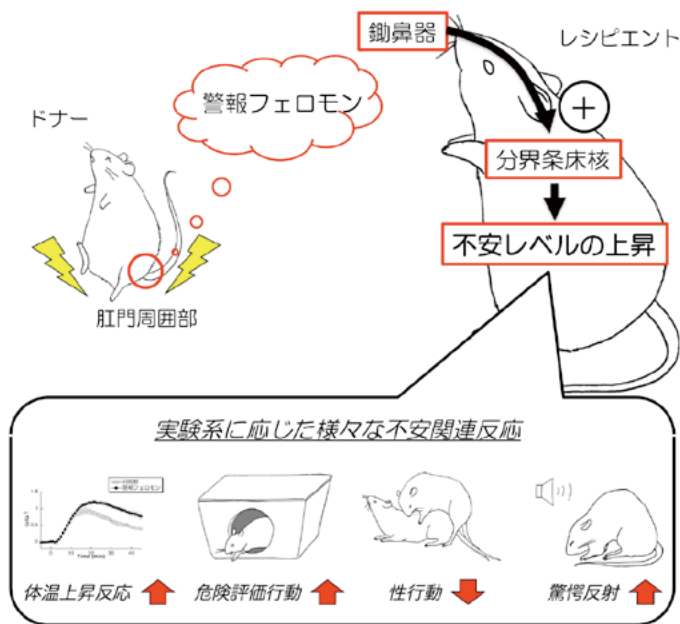


図1. 警報フェロモンを介したコミュニケーション
肛門周囲部より放出される警報フェロモンは、レシピエントの鋤鼻器で受容され、不安レベルを上昇させる。その結果、実験系に応じた様々な不安関連反応を引き起こす。

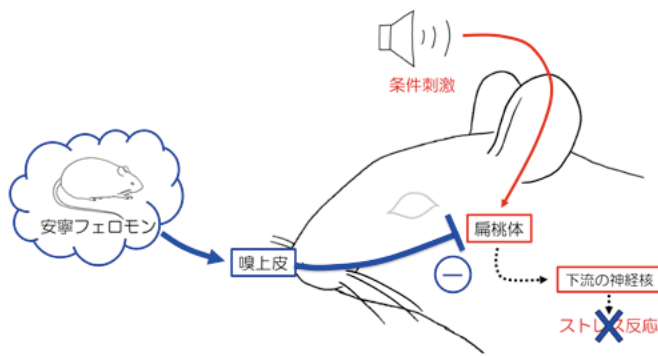


図2. 安寧フェロモンを介したコミュニケーション
同種のパートナーから放出された安寧フェロモンは、嗅上皮で受容された後扁桃体の活性化を抑制することで、ストレス反応を抑制する社会的緩衝作用を引き起こす。

2重の金網を通過可能なシグナルは視覚、聴覚および嗅覚シグナルの3つと考えられるため、まずは視覚と聴覚シグナルの重要性を検討することとした。2重の金網の中間に薄い透明なアクリル板を設置することで、視覚と聴覚シグナルを保持したまま2匹間の仕切りを強化した。その結果、ストレスの緩衝作用が観察されなくなったことから、視覚と聴覚シグナルは社会的緩衝作用を引き起こすのに十分でないことが明らかとなった。次に嗅覚シグナルの重要性を検討することとした。嗅覚系のうち、ヒトを含め動物が様々な匂いを感じる部位である嗅上皮に着目し、その機能を障害したサブジェクトを作製したところ、2重の金網越しにパートナーが居てもストレスの緩衝作用が観察されなくなった¹⁰⁾。そのため、社会的緩衝作用には嗅上皮で受容される嗅覚シグナルが重要な働きを担っていることが示唆された。また、事前にパートナーを導入しておくことでパートナー由来の嗅覚シグナルを充満させた実験箱にて試験を行うと、パートナーが居なくてもこれまでと同様のストレス緩衝作用が観察されることが明らかとなった¹¹⁾。上記の結果より、嗅上皮で受容される嗅覚シグナルが社会的緩衝作用を引き起こしていることが

明らかとなった。おそらくパートナーに対する安心感といった情動によってストレスの緩衝作用が引き起こされていることを考えると、この嗅覚シグナルには安寧フェロモンが含まれているであろう。

社会的緩衝作用に関しても様々な手法による解析を継続しており、嗅上皮で受容された安寧フェロモンが恐怖や不安に重要な働きをしている扁桃体の活性化を抑制することで、様々なストレス反応を緩和するという、安寧フェロモンを介したコミュニケーションの概略が明らかとなってきた¹²⁾ (図2)。

まとめ

このように、同種からの嗅覚シグナル、特にフェロモンは様々な情動を喚起することが明らかとなってきた。例えば、ラットはストレスを受けると警報フェロモンを肛門周囲部より放出し、近傍のラットは鋤鼻器を介してこれを受容することで不安レベルが上昇し、その結果状況に応じた様々な不安関連反応を示すことが明らかとなった。また同様に、ストレスを受けていないラットは安寧フェロモンを放出し、近傍のラットは嗅上皮でこれを受容することにより、おそらく安心感を感じ、その結果ストレス反応が緩和されることが明らかとなった。

今回はラットのフェロモンに関して紹介したが、他の動物種においても同種からの嗅覚シグナルは様々な情動を喚起し、その結果ストレス

反応に影響を与えることが考えられる。そのため様々な行動試験を行う際に、前の被験動物が実験装置内に残した嗅覚シグナルに注意を払い、全ての被験動物が匂いの面でも同じ実験装置にて試験を受けることになるよう心がけることが、試験結果のばらつきを減少させる一因になると考えられる。

参考文献

- 1) Karlson P, Luscher M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*. 1959 183 (4653) : 55-6.
- 2) Kikusui T, Takigami S, Takeuchi Y, Mori Y. Alarm pheromone enhances stress-induced hyperthermia in rats. *Physiol. Behav.* 2001 72 (1-2) : 45-50.
- 3) Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Modulatory role of testosterone in alarm pheromone release by male rats. *Horm. Behav.* 2004 45 (2) : 122-7.
- 4) Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Alarm pheromones with different functions are released from different regions of the body surface of male rats. *Chem. Senses*. 2004 29 (1) : 35-40.
- 5) Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Alarm pheromone that aggravates stress-induced hyperthermia is soluble in water. *Chem. Senses*. 2005 30 (6) : 513-9.
- 6) Kiyokawa Y, Shimozuru M, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Alarm pheromone increases defensive and risk assessment behaviors in male rats. *Physiol. Behav.* 2006 87 (2) : 383-7.
- 7) Inagaki H, Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Enhancement of the acoustic startle reflex by an alarm pheromone in male rats. *Physiol. Behav.* 2008 93 (3) : 606-11.
- 8) Kobayashi T, Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Mori Y. Pretreatment with CP-154526 blocks the modifying effects of sexual pheromone on components of sexual behavior in male, but not in female, rats. *Chem. Senses*. 2011 36 (7) : 623-32.
- 9) Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Mori Y. Two types of social buffering differentially mitigate conditioned fear responses. *Eur. J. Neurosci.* 2007 26 (12) : 3606-13.
- 10) Kiyokawa Y, Takeuchi Y, Nishihara M, Mori Y. Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Eur. J. Neurosci.* 2009 29 (4) : 777-85.
- 11) Takahashi Y, Kiyokawa Y, Kodama Y, Arata S, Takeuchi Y, Mori Y. Olfactory signals mediate social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Behav. Brain Res.* 2013 240 : 46-51.
- 12) Kiyokawa Y, Wakabayashi Y, Takeuchi Y, Mori Y. The neural pathway underlying social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Eur. J. Neurosci.* 2012 36 (10) : 3429-37.

ノーサンのバイオ技術

ノーサンは研究に携わる皆様のご要望を直接うかがい
満足していただける商品とサービスをご提供し、
研究のお手伝いを致します。

FEED

実験動物用飼料

マウス・ラット・ハムスター用
ウサギ用・モルモット用
イヌ用・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

昆虫用飼料

ADME

薬物動態関連業務

薬物代謝関連試薬販売
大腸菌発現系ヒトP450販売
ヒトP450抗体販売

日本農産工業株式会社 ライフテック部

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい 2-2-1 ランドマークタワー 46F
TEL 045-224-3740 FAX 045-224-3737
e-mail : bio@nosan.co.jp

医療分野の研究開発の 新たな体制の構築に向けて

内閣官房健康・医療戦略室 次長 菱山 豊

キーワード：健康・医療戦略推進法案、独立行政法人日本医療研究開発機構法案、健康・医療戦略推進本部、日本再興戦略、司令塔

1. はじめに

医療分野の研究開発に関する行政の体制が大きく改革されようとしている。第186回通常国会において、「健康・医療戦略推進法」（以下「推進法」）及び「独立行政法人日本医療研究開発機構法」（以下「機構法」）の2つの法律が成立した。また、平成26年度予算もその改革を前提として編成された。こうした改革に関しては、関係者は大きな関心を持っていると思われる。以下では、新しい体制の必要性や内容について論じることとしたい。

なお、本稿で述べる見解については筆者の個人のものであることをお断りしておく。また、本稿は、季刊誌バイオフィリア第9号「医療分野の研究開発の新たな体制の構築に向けて」を大幅に加筆修正したものである。

2. 背景と必要性

近年、日本においても先端的な科学技術を活用した新薬の開発に関してアカデミアが貢献している

ことが多い。例えば、自己免疫疾患の治療薬アクテムラは、中外製薬が開発した国産初の抗体医薬品であるが、大阪大学の平野俊夫教授等との産学連携によって生まれたものだ¹。成人T細胞白血病リンパ腫の治療薬であるポテリジオは、協和発酵キリンが開発した抗体医薬品であるが、上田龍三名古屋市立大学医学部教授（当時）等との産学連携によるものである²。また、肺がんの分子標的薬であるザーコリは、米の製薬企業であるファイザーが開発したもののだが、間野博行自治医科大学教授（当時）の研究成果を基にしたものである³。このように新薬開発に大学等のアカデミアが大きく関わるのは世界的な傾向である。日本におけるアカデミアの優れた成果をいかに企業につなぎ、実用化するかは大きな課題である。

平成26年1月22日に健康・医療戦略本部の下の「医療分野の研究開発に関する専門調査会」がとりまとめた報告書⁴では、次のような問題点が指摘されており、同

年7月に健康・医療戦略推進本部で決定された「医療分野研究開発推進計画」に引き継がれている。すなわち、基礎研究の分野では、優れた論文の発表にとどまり、新しい医薬品や医療機器の開発までのマネジメントに欠ける傾向があったこと、臨床研究の分野では、データ解析、知財管理、生命倫理など臨床研究や治験を支える基盤や研究費が不十分であること、産業界においては、我が国の企業は比較的に規模が小さく、リスクを許容できるだけの経営資源が相対的に乏しいことと、ベンチャー企業が育っていないこと、そして国による研究支援体制に関しては、基礎研究から前臨床試験までに軸足を置いた文部科学省、臨床試験から実用化に軸足を置いた厚生労働省、および産業活性化の視点で推進している経済産業省の間の連携が不十分であったとされている。

3. 2つの法律の概要

平成25年6月14日に閣議決定された「日本再興戦略」においては、

1 大杉義征：新薬アクテムラの誕生：国産初の抗体医薬品、岩波科学ライブラリー、2013。

2 産学官連携ジャーナル「インタビュー 愛知医科大学 教授 上田龍三氏難病ATLに向かう日本人研究者の執念」http://sangakukan.jp/journal/journal_contents/2013/01/articles/1301-02-2/1301-02-2_article.html

3 産学官連携ジャーナル「インタビュー 自治医科大学 教授 間野博行氏 がん治療新時代 新手法で原因遺伝子を特定」http://sangakukan.jp/journal/journal_contents/2013/01/articles/1301-02-1/1301-02-1_article.html

4 <http://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryou/tyousakai/pdf/houkoku.pdf>

革新的な医療技術の実用化を加速するため、医療分野の研究開発の司令塔機能を創設することなどが記されており、「健康・医療戦略推進法」及び「独立行政法人日本医療研究開発機構法」にはその趣旨が盛り込まれている。すなわち、医療分野の研究開発及び健康長寿産業の創出・活性化等について、健康・医療戦略を定め、それを推進する健康・医療戦略推進本部を設置する等により健康長寿社会の形成に資することを目的とし（推進法第1条）、基礎から実用化までの一貫した研究開発の推進とその成果の実用化により世界最高水準の医療の提供に資するとともに、健康長寿産業の創出・活性化により我が国経済の成長に資するものとなることを理念としている（推進法第2条）。

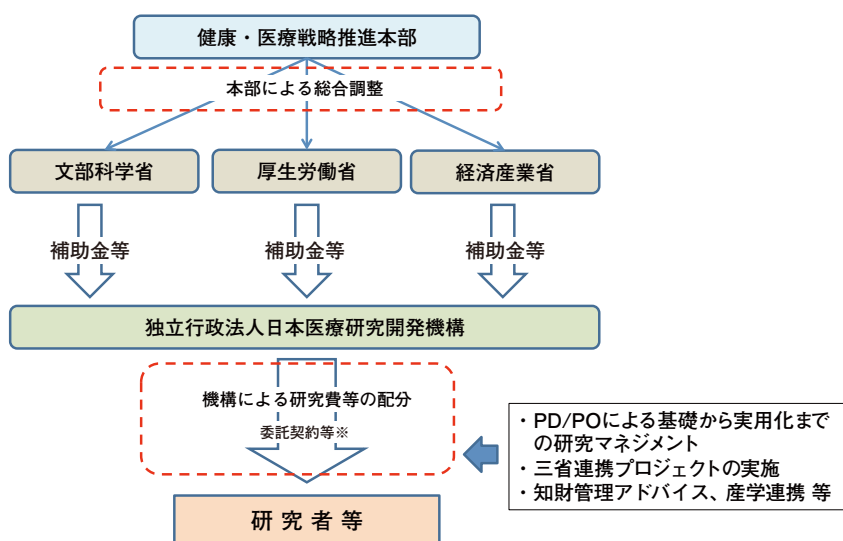
また、健康・医療政策全体の司令塔として、総理大臣を本部長、全閣僚を構成員とする健康・医療戦略推進本部を設置することとし

ている（推進法第20条～29条）。そして、医療分野の研究開発とその環境整備・成果の普及及び健康長寿社会形成に資する新たな産業活動の創出・活性化（海外展開等）とその環境整備等を内容とする「健康・医療戦略」を閣議で定めることとしている（推進法第17条）。また、医療分野の研究開発等に関する施策についての基本的な方針及び医療分野の研究開発等について政府が集中的かつ計画的に講ずべき施策等を内容とする「医療分野研究開発推進計画」を本部が定めることとしている（第18条）。さらに、これらの戦略や計画に掲げられる施策を着実に実行するため、同本部は、予算要求に当たっての留意点及び重点化すべき研究領域を明示した医療分野の研究開発関連予算等の資源配分方針を毎年定めることとしている（推進法第21条）。加えて、医療分野研究開発推進計画は日本医療研究開発機構が医療分野の研究開

発等の実施・助成において中核的な役割を担うよう作成することになっている（推進法第19条）。

次に、機構法においては、医療分野の研究開発及びその環境の整備の実施・助成等の業務を行うことを目的とする独立行政法人日本医療研究開発機構を設立することとし、その名称、目的、業務の範囲等について定められている。そして、理事長及び監事の任命並びに中期目標の策定等に当たって、本部の意見を聴くこととしている。同機構の設立は平成27年4月1日を予定している。文部科学省、厚生労働省及び経済産業省によって予算措置された大学等の研究機関に配分される研究費がこの機構に集約され、公募や研究費の配分等が行われるとともに、プログラム・ディレクタ（PD）とプログラム・オフィサー（PO）による基礎から実用化までの一貫した研究のマネジメントが行われることになっている。また、同機構は、大学等における臨床研究の支援を行うとともに、知的財産権の支援を含む産学連携の推進や国際共同研究の推進を行うことになる。従来文部科学省、厚生労働省、経済産業省、JST、NEDO、医薬基盤研究所それぞれにおいて公募から研究マネジメントまで行われていた事業については、平成27年4月以降は、機構が一元的に管理することになる（図参照）。

なお、上述の日本再興戦略などで「日本版NIH」と呼ばれ、他方で、実際に目指しているのは米



※ 機構は、研究者等との間で委託契約等を締結し、研究費等を配分

図 日本医療研究開発機構に関する研究費の流れ

表 平成26年度医療分野の研究開発に関する予算

	26年度予算 ^{注1}	25年度当初予算	対前年度増減
新独法集約化対象経費	1,215億円 (文570、厚476、経169)	1,012億円 (文447、厚402、経163)	20.08%
インハウス研究機関経費 ^{注2}	740億円 (文200、厚455、経85)	713億円 (文155、厚476、経81)	3.74%

注1 上記経費に加え、26年度においては科学技術イノベーション創造推進費(500億円)のうち、35%(175億円)を医療分野の研究開発関連の調整費として充当。

注2 文部科学省所管の理化学研究所等、厚生労働省所管のがん研究センター等、経済産業省の産業総合研究所等の研究開発法人で行われている医療に関する研究開発の運営費交付金

国のNIHとは異なるのではないかとの指摘を受けてきたが、組織の名称が法律で決められたこともあり、「日本版NIH」という用語は使われなくなっている。米国のNIHは円に換算して3兆円の予算と27の研究所を擁している。そして、27の研究所が使う予算は1割程度で、約8割は全米の大学等の基礎から応用までの医学研究を支える研究費等として配分されている。ただし、米は医学研究のためにこれだけの巨額で大きなシステムを運営してきたが、日本の方が平均寿命は長く、一人当たりの医療費は低いという点にも留意する必要があるのではないかと思われる。

4. 健康・医療戦略と医療研究開発推進計画⁵

推進法第17条に規定されている「健康・医療戦略」は、本年7月22日に閣議決定された。概要は次のとおりである。基本理念として、医療分野の研究開発における基礎的な研究開発から実用化のための研究開発までの一貫した研究開発の推進及びその成果の

円滑な実用化により世界最高水準の医療の提供に寄与すること、健康長寿社会の形成に資する産業活動の創出及びこれらの産業の海外における展開の促進その他の活性化により、海外における医療の質の向上にも寄与しつつ、我が国経済の成長に寄与することが挙げられている。そして各論として、世界最高水準の医療の提供に資する医療分野の研究開発等に関する施策、健康・医療に関する新産業創出及び国際展開の促進等に関する施策、健康・医療に関する先端的研究開発及び新産業創出に関する教育の振興・人材の確保等に関する施策、及び世界最先端の医療の実現のための医療・介護・健康に関するデジタル化・ICT化に関する施策が、具体的に書かれている。

推進法第18条に規定されている「医療研究開発推進計画」は、本年7月22日に本部決定された。同計画では、我が国の医療分野の研究開発体制における課題が提示され、その解決に向けて新たに構築される医療分野の研究開発体制において求められる

具体的な機能や重点化すべき取組が示されている。機構に期待される役割としては、優れたシーズを見出す目利き機能、臨床試験への橋渡しや産業界への導出に向けての企画をはじめとした医療に関する研究開発のマネジメント機能があげられている。また、基礎研究から実用化へ一貫して繋ぐ文科・厚労・経産省による9つの三省連携プロジェクトの実施や共通基盤の整備や利活用を進めることが規定されている。

5. アカデミアと産業界

このような新しい体制作りにともない、医療分野の研究開発に関する平成26年度予算のうち、機構に集約する一元化対象経費については、厳しい財政状況の中で1012億円から1215億円と大きく伸びることができた(表参照)。また、科学技術イノベーション創造推進費500億円のうち35%、175億円を各省連携の9つのプロジェクトの調整費として使うことまで含めると約40%の増である。

医療分野の研究開発に対してこのような予算増や機構の設立など

5 http://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryousuisin/suisin_dai2/gijisidai.html

6 松本弥生・坂田恒昭: 製薬イノベーションにおけるオープンモデル, 元橋一之編著『日本のバイオイノベーション: オープンイノベーションの進展と医薬品産業の展望』所収, 白桃書房, 2009.

7 菱山豊: ライフサイエンス政策の現在: 科学と社会をつなぐ, 勁草書房, 2010.

政策資源が厚く配分されていることについて、医療以外の分野のアカデミアや産業界が注目していることも忘れてはならないだろう。最近の政策の動向について説明する機会などでは様々な注文が出てくるが、むしろ、医療分野の関係者から新しい研究開発の体制を活用し、どのような貢献ができるかを示していただくことが大きく期待されていると思われる。

この政策はアカデミアの研究成果を患者にいち早く届けようということが主旨の一つである。大学や研究開発法人等のアカデミアにおいては、画期的な論文を出すことで終わるのではなく、実用化を進めることについても強化する必要があるし、例えば、研究者の評

価にあたっては論文だけでなく、実用化に向けた取組についてもその対象となることが求められる。

また、医薬品や医療機器の開発を実際に行うのは企業であり、産業界の積極的な参画が必要である。日本のアカデミアの特許権に対する考え方が未成熟との指摘もあるが⁶、海外の製薬企業等は日本の大学等のシーズにアプローチをしており、我が国の産業界も日本の大学等との協力を強化することが期待される。現在は世界的にも自社の研究成果にこだわらずシーズを求める傾向が強くなり、いわゆるオープンイノベーションが求められている。こうしたことの実現のため、新しく設立する独立行政法人は大きな役割

を果たすことになるだろう。

6. おわりに

以上述べてきたように、我が国の医療に関する研究開発の体制は大きく変わろうとしている。この改革は、各省の縦割りを除き、連携してその能力を発揮してもらおうとするものである。そして、我が国の大学や研究機関の能力を最大限に活用するとともに、産業界の協力を得ていくことを目指している。アカデミアの成果を実用化し、多くの人々に届けるためには、大学や公的研究機関、製薬企業や医療機器メーカーなど多くの関係者が連携することが必要である⁷。

Total Service for Experimental Animals

ライフサイエンスの研究開発に貢献する - それが私たちの仕事です

販売

selling service

実験用動物 関連商品 動物輸送 (国内・海外)

実験動物の飼育に必要な飼料から、機器・器材・設備に至るまで、販売はもとよりコンサルタントもお引き受けします

飼育受託

Breeding service

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他

一般飼育管理から遺伝子改変・無菌動物の維持繁殖、動物実験支援・代行、施設クリーンアップまで長年のノウハウと豊富な人材により、一般管理から高度技術に至る業務をお引き受けします

技術受託

Experimental service

動物の繁殖・供給、微生物クリーニング (SPF化)、動物実験受託 (非GLP)、遺伝子改変・無菌動物の作出・維持

弊社の専門スタッフにより、様々な技術受託業務をお引き受けします

本社 〒132-0023 東京都江戸川区西一之江2-13-16
[TEL] 03-3656-5559 [FAX] 03-3656-5599
[e-mail] skl-tokyo@sankyolabo.co.jp

北陸営業所 〒939-8213 富山市黒瀬115
[TEL] 076-425-8021 [FAX] 076-491-1107
[e-mail] skl-hokuriku@sankyolabo.co.jp

札幌営業所 〒004-0802 札幌市清田区里塚2条4-9-12
[TEL] 011-881-9131 [FAX] 011-883-1176
[e-mail] skl-sapporo@sankyolabo.co.jp

つくばラボ 〒300-4104 茨城県土浦市沢辺下原57-2 東筑波工業団地内
[TEL] 029-829-3555 [FAX] 029-862-5555
[e-mail] skl-tsukuba_lab@sankyolabo.co.jp



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

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

私の研究

ゲノム解読が解き明かす実験用マウスの起源

情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 系統生物研究センター
教授 城石 俊彦

はじめに

マウス(学名:*Mus musculus*)は、医学・生物学の分野で最も汎用されているモデル動物である。今日までに400を超える近交系統が樹立され、形態、生理学的特性、行動学的特性などの詳細な特性情報が整備され、それらを活かした研究が進められている。マウスを材料とした研究によりはじめて明らかになった科学史を飾る成果にも枚挙にいとまがない。全世界で日夜実験に供されているマウスは膨大な数に昇り、モデル動物としての重要性が近年ますます増大しているのは確かだが、実験用マウスの近交系統の起源とそれらのゲノムがどのように形成されてきたかについての知識は長い間欠落しており、また、あっても断片的であった。中国の「孫子の兵法」によれば、「敵を知り己を知れば百戦して殆うからず」とある。もちろん、実験動物であるマウスは敵ではないが、研究対象を熟知してこそ研究成果が極まるというのもまた真理である。今日汎用されている代表的な実験用マウスの近交系統は、米国の東海岸を中心にして20世紀初頭に育成がはじまったことが知られている。ハーバード大学のCastleやその弟子であるLittleらは、今日の生命科学でなくてはならない近交系統であるC57BL/6やDBAなどを相次いで樹立して

いった。Castleスクールが樹立した系統は、古典的近交系統と呼ばれることがある。不思議なことに、1980年代には、これらの古典的近交系統の起源が日本の愛玩用マウスであると考えられていた。その理由は、後述するように日本やヨーロッパの古い文献にある記述や、その後の遺伝的多型解析により多くの実験用マウスの近交系統のY染色体が日本産マウス亜種由来であるとする報告などに依っている。この稿では、筆者らが進めてきた日本産モロシヌス亜種由来の二つの近交系統の最新の全ゲノム解読と実験用マウス近交系統のゲノム配列との比較解析により、江戸時代に日本で育成された愛玩用マウスと西ヨーロッパ産亜種マウスとの交配子孫が実験用マウス系統の起源であることが明らかとなったことを紹介する。

ゲノム解読以前のマウス遺伝学でわかってきたこと

生物種としてのマウスが遺伝的に分化した複数の亜種から構成されることは古くから知られていたが、標準的な実験用マウス近交系統が主にどの亜種に由来するかは長い間謎であった。この問題に真正面から取り組んだのは、国立遺伝学研究所の森脇らのグループである(筆者もその一員であった)。残念ながら、このグループを長い

間率いてこられた森脇和郎先生は2013年11月に闘病中のところ亡くなられた。ここでは、森脇グループの研究を中心にして、マウスのゲノム解読以前に明らかになっていた点を整理する。森脇先生は、1970年代半ばから文字通り世界を股にかけて各地の野生マウスの収集に当たり、特に中国やロシアには自ら何度も足を運び現地の研究者とも協力して多数の野生マウスを採集した。また、ヨーロッパやアメリカ大陸の野生マウスを共同研究者から入手した。国内の野生マウスについても、ご自身で捕獲された他に多くの共同研究者がいろいろな地域で捕獲したものが集められ、徐々に国立遺伝学研究所に世界有数の野生マウスのコレクションが築かれていった。森脇グループでは、これらの野生コレクションを用いて、さまざまな角度からの遺伝解析が進められた。特筆すべきは、当時埼玉県立がんセンター研究所にいた米川博通博士との共同研究によりミトコンドリアDNAを対象とした分子進化学的な手法をマウスの系統進化学の分野に世界に先駆けて導入したことである。これにより、1990年代の中頃にはそれまで混沌としていたマウス亜種間の系統関係が次第に明らかになってきた。また、現存のマウス各亜種が祖先型から50~100万年かけて分岐したこと、

西ヨーロッパ産のドメスティカス亜種と東ヨーロッパから極東にかけてユーラシア大陸北部の広大な地域に分布するムスクルス亜種との間に大きな遺伝的距離があることなどが相次いで明らかになった。これとは別に、モロシヌス亜種として分類されている日本産野生マウスがムスクルス亜種と東南アジアに分布するカスタネウス亜種の雑種であることもわかった¹⁾。野生マウスは人が運ぶ穀物と一緒に移動する可能性が高く、この事実は日本人の起源として大陸系と南方系の二つの系譜があることを示唆するものであった。これは、現代の分子進化学が明らかにした日本人の起源と矛盾しない。

次に、汎用されている実験用マウス近交系統と野生マウスの比較研究を体系的に進めた。この結果、前者が主に西ヨーロッパに分布するドメスティカス亜種から由来すること²⁾、しかし、Y染色体をはじめ一部の遺伝子は日本産野生マウスを含むムスクルス亜種から由来することがわかった(図1)³⁾。その後、森脇グループは、アジア産野生マウスが標準的な実験用マウス近交系統から進化上大きな隔たりがあることに基づいて新しいバイオリソース(生物遺伝資源)の開発へと発展させた。具体的には、日本産野生マウスを含むアジア産野生マウスを材料にして多数の系統育成に取り組み、これにより従来の実験用マウス近交系統に見られない遺伝特性を持った多数の近交系統が樹立された。三島市内で捕獲された野生マウス由来

のMSM/Ms系統やデンマークのペットショップで発見されその後国立遺伝学研究所に導入された愛玩用マウスから樹立されたJF1/Ms系統は、それらの代表である。JF1/Ms系統については、その後の遺伝解析により、ヨーロッパで発見されたにもかかわらず、紛れもなく日本産マウス亜種由来であることが判明した⁴⁾。

古典的マウス近交系統のゲノムはモザイク構造を持つ

20世紀が21世紀に代わろうという時期に、DNAシーケンサなどを使ったゲノム配列解読技術の飛躍的發展があり、それは次世代シーケンサの開発を経て現在まで続いている。2001年にヒト全ゲノム解読の結果が報告されると、続いて2002年には、代表的なマウス近交系統であるC57BL/6Jの全ゲノム解読がなされ、マウス参照配列として報告された⁵⁾。このように、ゲノム配列情報が整備され

てくると実験用マウス系統の起源の問題に新たな光が当たるようになった。最初に、C57BL/6Jの参照配列を基準として複数の実験用マウス近交系統との間で単一塩基多型(SNP)の頻度がゲノムワイドに算出された。米国を中心とする研究グループは、任意の近交系統間でゲノムを比較して、マウスゲノムには、高頻度(10kb当たり~44 SNPs)でSNPがみられるブロックと低頻度(10kb当たり~0.5 SNPs)なブロックが明瞭に区別して存在することを見出した。さらに、高SNPブロックでの系統間の塩基置換の割合はマウス亜種間の平均的なSNP頻度に匹敵することから、実験用マウス系統のゲノムは、二つの亜種のゲノムが混じり合ったモザイク構造を持っていることが判明した⁶⁾。その後、筆者らはMSM/Ms系統から調整したゲノムDNAでBACライブラリーを構築し、各クローン末端配列を解読した。この結果、

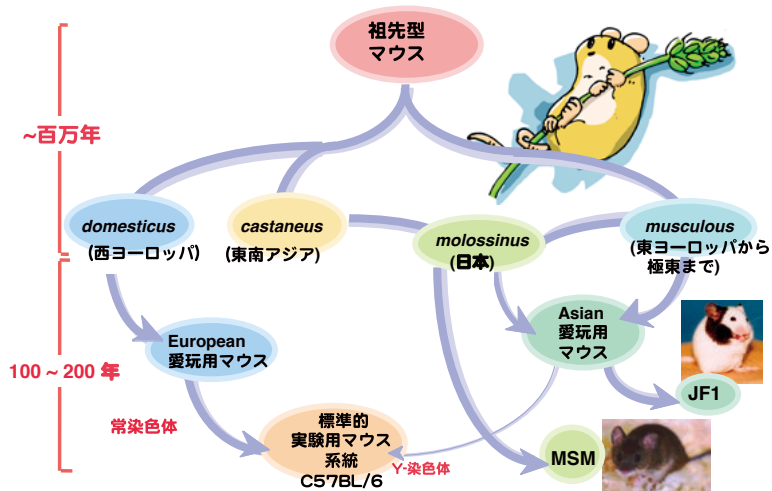


図1. 遺伝学が明らかにした実験用マウス近交系統の起源。ミトコンドリアDNAや複数の核内遺伝子のDNA多型解析により、標準的な実験用マウス近交系統(古典的系統)の起源が西ヨーロッパ産ドメスティカス亜種であることがわかった。Y染色体など一部の遺伝子は、日本産モロシヌス亜種由来である。図は参考文献3)のFig. 1を改編した。

MSM/Ms系統のゲノムのおよそ7%がC57BL/6J系統のそれと高い類似度を示すことを発見し、実験用マウス系統にアジア産マウス亜種由来のゲノムが混在することを報告した⁷⁾。その後、米国の別グループは、さらに詳細な比較ゲノム解析を行い、多くの実験用マウス近交系統では、ゲノムのおよそ90%は西ヨーロッパ産のドメスティカス亜種由来であり、残りの10%弱は日本産モロシヌス亜種由来であると報告した⁸⁾。このようにして、実験用マウス系統は、二つの亜種由来のゲノム領域を持つことが示されたのである。

日本産マウス亜種由来の近交系統の全ゲノム解読プロジェクト

マウスの比較ゲノム解析によって実験用マウス近交系統のゲノム構成のフレームが明らかになっても、どのようにして日本産モロシヌス亜種マウスのゲノムがそれらの中に持ち込まれたのか、その経緯はわからなかった。この点を明らかにし、同時に西ヨーロッパ産ドメスティカス亜種と日本産モロシヌス亜種間のゲノム多型の正確な情報をゲノムワイドに整備することを目的として、国立遺伝学研究所と理化学研究所から成る共同研究グループは、日本産モロシヌス亜種由来である二つの系統であるMSM/MsとJF1/Msの次世代シーケンサによる全ゲノム解読プロジェクトを推進した。

これらの二系統のゲノム配列データとC57BL/6Jの参照配列を比較したところ、予想どおり両系

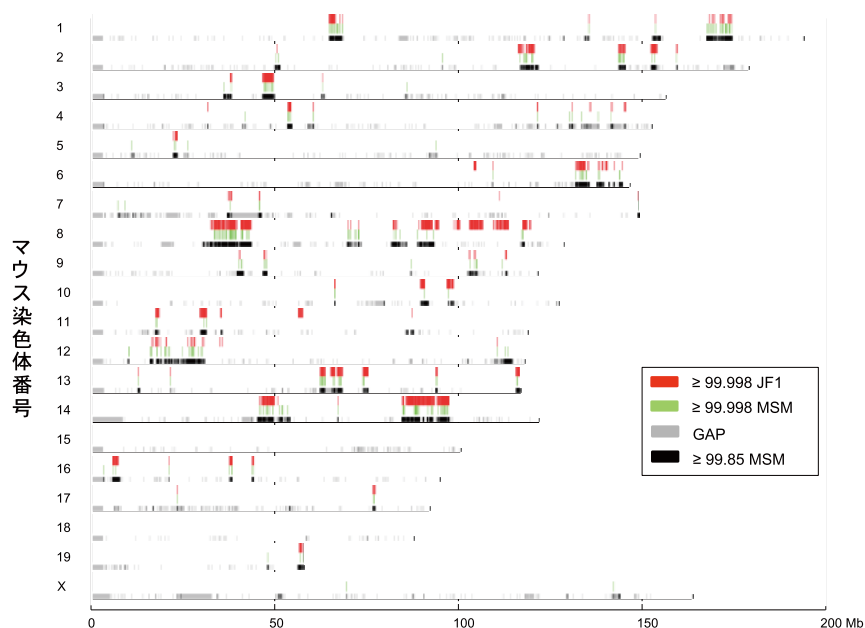


図2. C57BL/6Jのゲノム配列でMSM/Ms系統およびJF1/Ms系統のゲノム配列に類似性が著しく高いDNAブロック(100kb)の分布。日本産マウス亜種由来の二つの系統のゲノム配列と相同性が99.998%以上であるDNAブロックが多く染色体に散在している。X染色体や18番染色体などでは、そのような別亜種由来のDNAブロックが無い。図は参考文献9)のFig.3を改編した。(日動協ホームページのLABIOの欄を参照)

統ともゲノムの6~7%の領域は実験用マウス系統と高い類似度(99.85%以上)を示した(図2)⁹⁾。しかし、両者を比較すると、JF1/Msの方が明らかにC57BL/6Jとの類似度が高く、例えばJF1/MsとC57BL/6Jの間では、リピート配列を除いた塩基配列について99.998%以上の類似度で連続したゲノム領域が多数の染色体に散在することがわかった。極端な例として、第14染色体上には717kbにわたって両系統間で一つのSNPもあるいは塩基の挿入や欠失も観察されない長い領域が存在した。また、モロシヌス亜種とC57BL/6J系統の間でゲノム配列の類似度の高い領域のみを抽出し、各亜種に属する多数の野生マウス由来系統のゲノム配列を新たに決定して分子系統解析をしたところ、これら

の領域では、JF1/MsがC57BL/6J系統と最も系統関係が近いことが明らかとなった(図3)。実験用マウスとのゲノム配列の類似度が東ヨーロッパや中国あるいは韓国のムスクルス亜種由来の系統よりもJF1/Ms系統の方が有意に高いことは、実験用マウス系統中のモロシヌス亜種領域は、JF1/Msとごく類縁のマウスから由来することを示している⁹⁾。

古典的マウス近交系統の起源はJF1/Ms系統の祖先と西ヨーロッパ産ドメスティカス亜種マウスとの雑種である

1935年、京都帝国大学の動物学者で齧歯類の分類や生物地理学を研究していた徳田御稔(とくだみとし)教授は、天明7年(1787年)に大阪で出版された「珍玩鼠育草

(ちんがんそだてぐさ)」という小冊子の英訳を英国の雑誌であるJ. Heredityに発表した¹⁰⁾。この冊子には、さまざまな変異鼠（ミュータント）が記載されており、それらの多くは現在の遺伝学分野でも良く知られている変異である。この論文が英国の雑誌に掲載されて欧米の多くの研究者の目に触れたことが、実験用マウス近交系統の起源が主に日本の愛玩用マウスであるという誤解を招いた原因の一つと考えられる。興味深いことに、冊子中で「豆ぶち」と命名された小型で白黒斑模様の鼠は、現在のJF1/Msと良く似ている。実験動物学の研究者の中には、この本に記載されているのはラットでありマウスでは無いという主張もあるが、筆者らは、この本ではラットとマウスが区別されずに記載されている可能性があり、「豆ぶち」は少なくともマウスではないかと推測している。JF1/Msの白黒斑模様の毛色は、エンドセリン受容体B遺伝子 (*Ednrb*) の変異が原

因である⁴⁾。英国の古い文献によると、*Ednrb* 変異を持つマウスは、19世紀後半から20世紀初頭に“Japanese waltzing mice (日本では内半規管の変異を持つためコマのような回転を続ける性質からコマネズミと称された)”としてヨーロッパで珍重されたとある。驚くべきことに、20世紀に入ってメンデルの遺伝の法則が再発見されると、直後に日本由来のこれらのマウスと西ヨーロッパ産ドメスティカス亜種由来の愛玩用マウスとを交配して、毛色を指標形質としたメンデル遺伝法則の追試が行われたという報告がある¹¹⁾。この結果を記載した文献中の図や、その後1920年代に米国で出版された論文の“Japanese waltzing mice”の写真はJF1/Msとそっくりである¹²⁾。また、これらのマウスは英国の貿易商により日本から輸入されたという記録も残っている。以上の知見から総合的に推測すると、江戸時代の末期（19世紀中期）に日本からヨーロッパに渡っ

たJF1/Msの祖先である日本産愛玩用マウスを、英国人研究者が西ヨーロッパ産亜種由来の現地の愛玩用マウスと交配し、そこで得られた子孫が大西洋を越えて米国の東海岸に渡った。それらを起源として今日の実験用マウスを代表する古典的近交系統が育成されたと考えるのが自然である（図4）。

マウスゲノム多型と表現型多様性

MSM/Ms系統やJF1/Ms系統のゲノム配列を英国サンガー研究所が決定した17系統のマウスゲノム配列データ¹³⁾と比較したところ、C57BL/6J系統のみならず、ほとんど全ての古典的系統のゲノムに10%未満で日本産マウス亜種由来のゲノムが導入されていることがわかった⁹⁾。また、その導入部位は、古典的近交系統毎に違っており、日本産マウス亜種由来のゲノムが異なったゲノム部位に導入されていることにより全体として実験用マウス近交系統間のゲノム多型が生じていることがわ

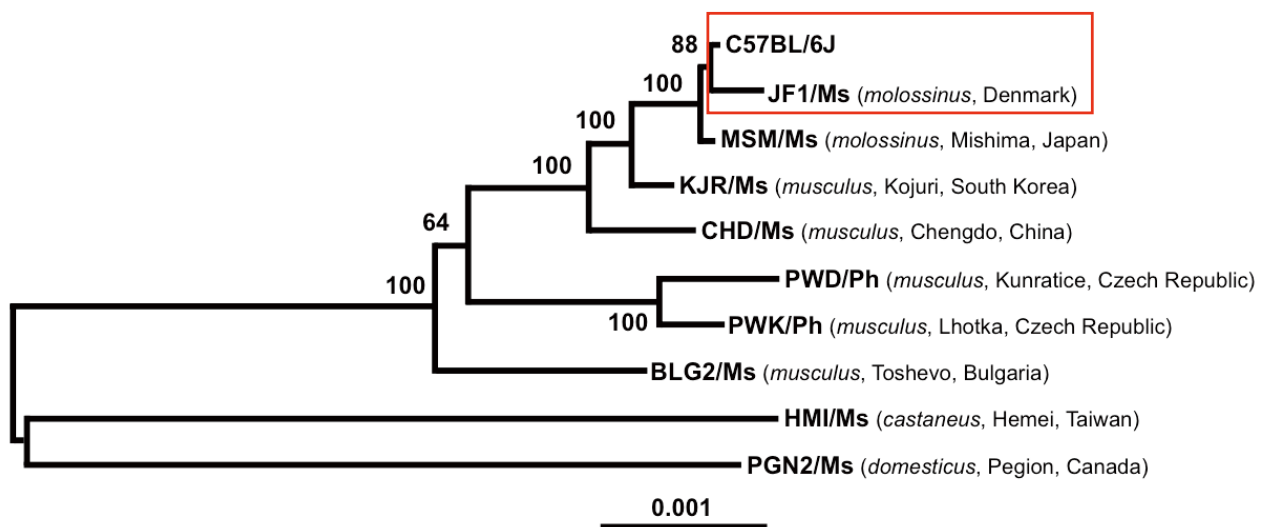


図3. C57BL/6J系統のゲノム配列において日本産マウス亜種と類似度の高いDNAブロックのみを対象とした分子系統樹。野生マウスの多様な亜種由来の近交系統のゲノム配列を新規に決定し、それらの配列データを基にNJ法で分子系統樹を構築した。これらの配列では、JF1/Msが最もC57BL/6J系統に近い配列を持っていることがわかる。図は参考文献9)のFig.2を改編した。

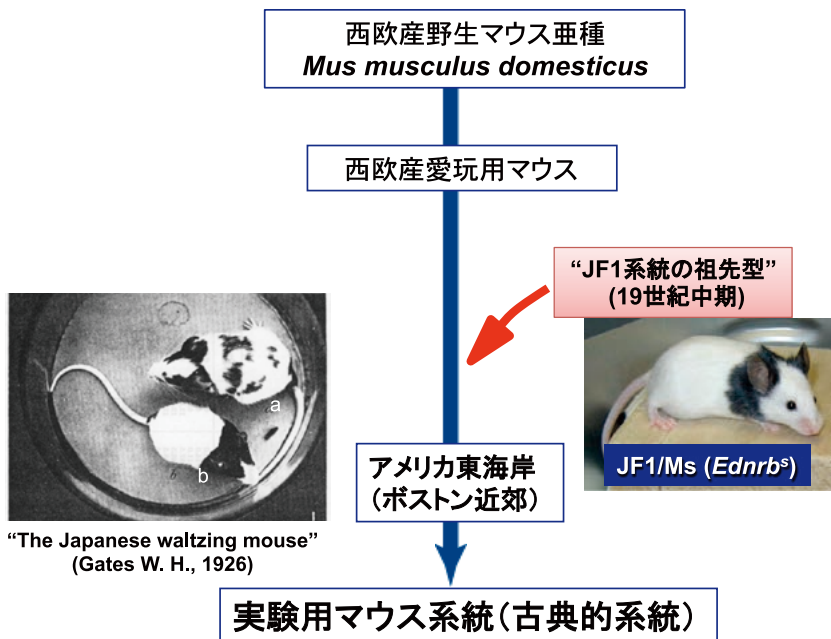


図4. ゲノム比較解析が明らかにした実験用マウス近交系統の起源。西ヨーロッパ産ドメスティカス亜種由来の愛玩用マウスと日本からヨーロッパに渡ったJF1/Ms系統の先祖の交配集団の子孫がアメリカ東海岸に運ばれ、そこで古典的なマウス近交系統が樹立された可能性が高い。JF1/Msの毛色の原因である*Ednr^b*変異は幾つかの古典的マウス近交系統に見出されている

かった。粗い推計ではあるが、古典的交配系統間のゲノム多型の～40%ほどは、日本産マウス亜種由来のゲノムに由来すると計算された。また、これらのゲノム多型は実験用マウス近交系統間の表現形質の多様性の原因となっていると考えられる。以上述べてきたように、今回の筆者らのゲノム解析は、世界で汎用されている実験用マウス近交系統の起源を明らかにすることに貢献した。また、実験用マウス系統と日本産マウス亜種由来系統の間に膨大な数のSNPsやIn/del(挿入/欠失)などのゲノム多型情報を整備することができた⁹⁾。関連するゲノム多型データは、国立遺伝学研究所のデータベース(NIG Mouse Functional Genomics Database)¹⁴⁾にアクセスすることで入手可能である。ま

た、これらは、モロシヌス亜種とドメスティカス亜種の間で見出される多様な表現型の違い¹⁵⁾の基盤になっており、得られたゲノム多型情報と表現型情報を密接にリンクすることで、ゲノムワイドな遺伝子機能解明が今後さらに加速するものと期待している。

謝辞

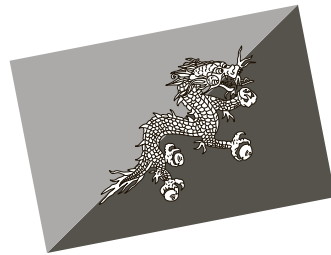
本稿で紹介した日本産マウス亜種由来の近交系統の全ゲノム解読プロジェクトは、今は亡き森脇和郎先生が積年のご努力で樹立されたマウス系統を対象に行われたものである。また、一連の研究プロジェクトは、森脇先生との長年にわたる真摯な議論を土台にして進められたことを最後に記し、ここに深甚なる謝意を表したい。

参考文献

- 1) Yonekawa, H. et al. Hybrid Origin of Japanese Mice “*Mus musculus molossinus*”: Evidence from Restriction Analysis of Mitochondrial DNA. *Mol Biol Evol* 5, 63-78, 1988.
- 2) Yonekawa H. et al. Relationship between laboratory mice and the subspecies *Mus musculus domesticus* based on restriction endonuclease cleavage patterns of mitochondrial DNA. *Japan J Genet* 55 : 289-296, 1980.
- 3) Moriwaki K. Wild mouse from a geneticist's view point. In *Genetics in wild mice : Its application to biomedical research.* (Eds. Moriwaki K. Shiroishi T. and Yonekawa H.) , Japan Sci. Soc. Press/Karger. Tokyo, 1994.
- 4) Koide T. et al. A new inbred strain JF1 established from Japanese fancy mouse carrying the classic piebald allele. *Mamm Genome* 9 : 15-19, 1998.
- 5) Mouse Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420 : 520-562, 2002.
- 6) Wade, C. M. et al. The mosaic structure of variation in the laboratory mouse genome. *Nature* 420 : 574-578, 2002.
- 7) Abe, K. et al. Contribution of Asian mouse subspecies *Mus musculus molossinus* to genomic constitution of strain C57BL/6J, as defined by BAC-end sequence-SNP analysis. *Genome Res* 14 : 2439-2447, 2004.
- 8) Yang, H. et al. Subspecific origin and haplotype diversity in the laboratory mouse. *Nat Genet* 43 : 648-655, 2011.
- 9) Takada, T. et al. The ancestor of extant Japanese fancy mice contributed to the mosaic genomes of classical inbred strains. *Genome Res* 23 : 1329-1338, 2013.
- 10) Tokuda, M. An eighteenth century Japanese guide-book on mouse breeding. *Journal of Heredity* 26 : 480-484, 1935.
- 11) Darbishire AD. Note on crossing Japanese waltzing mice with European albino races. *Biometrika* 2 : 101-104, 1902.
- 12) Gates WH. The Japanese waltzing mouse : its origin, heredity and relation to the genetic characters of other varieties of mice. In *Contributions to a Knowledge of Inheritance in Mammals*, (eds Castle WE, Feldman HW, Gates WH) , Carnegie Inst., Washington DC, 1926.
- 13) Keane, T. H. et al. Sequence variants among 17 mouse genomes : Effect on phenotypes and gene regulation. *Nature* 477 : 289-294, 2011.
- 14) NIG Mouse Genome Database. URL, <http://molossinus.lab.nig.ac.jp/msmdb/index.jsp>
- 15) Takada, T. et al. Mouse inter-subspecific consomic strains for genetic dissection of quantitative complex traits. *Genome Res* 18 : 500-508, 2008.

ブータン 海外散歩

ブータン



東京大学大学院 農学生命科学研究科 准教授 平山 和宏

はじめに

皆さんはブータンと聞いて、どんなことを思い浮かべるだろう。2011年に国賓として来日して大フィーバーとなったワンチュク国王ご夫妻。GNP（国民総生産）よりGNH（国民総幸福）を大事にするユニークな政策。ヒマラヤのふもとの山と森に囲まれた国。野鳥やターキン、ユキヒョウなどの住む豊かな自然。敬虔なチベット仏教の国。ちょっと趣味の人には切手で有名。でも正直どこにあるかよくわからないという人も多いかもしれない。ワンチュク国王ご夫妻の来日で知名度は格段に上がったが、実際に行ったことのある人はそれほど多くはないだろう。そんなブータンを訪れる機会に恵まれた。

ブータンは気軽に観光で訪れることができる国ではない。といっても、どこかの国のように外国人

の入国や自由な旅行が禁止されているわけではない。1974年までは鎖国状態であったようだが、現在では海外へも門戸を開いている。ただし、観光は貴重な外貨獲得の手段として国が一括管理しており、旅程を決め、1日あたり二百数十ドルの公定料金を支払ってビザを取得しなければ、入国することができないのだ。もちろん、そうすれば基本的に自由に国内を旅行できる。1日二百数十ドルと聞くと高額と思われるかもしれないが、この料金には税のほか宿泊や食事代、ガイド料、国内の移動を含めたツアーの料金も含まれているので、バックパッカー的な旅行を望むのであれば、非常に高価というわけでもないと思う。日程の変更などは難しいらしいが、別料金で宿泊や食事などのアップグレードや多少のわがままは聞いてくれる。

というのは、実は受け売りである。今回私は、国連のFAO（食糧農業機関）内の組織であるAPHCA（Animal Production and Health Commission for Asia and

the Pacific）とOIE（国際獣疫事務局）が共催する「REGIONAL WORKSHOP ON ZOOSES, FOOD-BORNE DISEASES AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE（人獣共通感染症、食水系感染症および抗生物質耐性菌に関する地域ワークショップ）」（写真1）に出席するために、ブータンの首都ティンブーを訪問したので、公定料金を支払うことはなく一般の観光客のようにガイドもつかなかった。

パロ空港から首都ティンブーへ

2013年9月23日、羽田空港からの夜行便でバンコクを経由し、眠い目をこすりながらブータン国営のドゥルック航空の思っていたより立派なエアバスでパロ空港に到着した。空港ビル(?)は小さいながら伝統的な建物で、ブータンに来たという気持ちを盛り上げてくれる。空港から首都ティンブーまではブータン政府の方がミニバンで送迎してくれた。移動中の車窓には水田が広がり、やがて水田は棚田から山道に換わったが、風



写真1



写真2



写真3



写真4

景は意外なほど日本人にとって違和感がない。(写真2)

ティンプーに着くと、首都だけあって小さいながらもけっこう車通りも多い賑やかな街であった。(写真3) ワークショップの会場ともなっているホテルに入ると、その日はブータン農林省長官主催でウェルカムパーティーを開いていた。各国からの参加者と歓談しながらの食事とともに、舞台上では伝統的な音楽や民族舞踊が披露された。(写真4) 後で聞くと、舞台の歌手や踊り手の多くが政府の職員の方だったとのことで、さらに驚いた。

ワークショップ

翌24日と25日はワークショップ、今回のブータン訪問の目的の「公」の部分である。地元ブータンをはじめ、インド、インドネシア、オーストラリア、韓国、カンボジア、サモア、スリランカ、タイ、パキスタン、パプアニューギニア、バングラディッシュ、フィジー、フィリピン、ベトナム、マレーシア、ミャンマー、ラオスといった数多くのアジア太平洋地域の国々からの出席者に加え、FAOやOIE、WHOの関連機関からの出席者などオランダやイタリアなどアジア以外からの参加者もいて、非常に国際色豊かな会合であった。日本からは



写真5

私以外に2名のOIE代表者の方の参加があった。ワークショップでは、参加各国における狂犬病や鳥インフルエンザなどの人獣共通感染症や口蹄疫のような家畜の疾病に関する現状や対策、国際協力のあり方に関する発表などが行われた。参加者がほとんど政府や政府の関係機関の所属で私のような大学の研究者は少なかったこともあって、自分が場違いなところにいる感覚もあったものの、非常に勉強になった。

ブータン観光へ

ワークショップは25日の午後2時頃には終了し、約半日の観光をブータン政府がアレンジしてくれた。まず、バスでしばらく山道を走ってドチュラへ。ここはティンプーから東へ向かう街道にある峠で、108も立ち並ぶチオルテン(仏舎利塔)と絶景で有名な場所だ。(写真5) あいにくの濃霧で絶景はあまり楽しめなかったが、丘にぐると並んだチオルテンは神秘的



写真7



写真6

な光景であった。向かいの丘の上には由緒ある寺(ドゥルック・ワンギヤル・ラカン)があり、こちらも参拝しようと坂道と急な階段を登る。(写真6) しかし、みな途中で息を切らして歩みが遅くなる。考えてみれば、そこは優に標高3000メートルを越す峠であった。さすがヒマラヤに抱かれた国ブータン。続いて訪れたのがクエンセル・ポダン、別名ブダ・ポイントであった。ここは「新名所」でとにかく大きくて金ピカの大仏がティンプーの街を見下ろしている。ただ「新名所」だけあって、工事中で大仏以外は何も出来上がっていない。最後に訪れたのは、タシチョ・ゾン、国王のオフィスと大僧正の部屋があるブータン政治の中心部である。(写真7) 写真右の建物に国王の執務室があり、執務中は窓が開いているそうだが、そういう時は我々一般人は近づくことができない。訪れた時はもう夕方であったので、中庭まで案内してもらうことができた。



写真8

伝統的な手法で建てられた（釘を使っていないそうだ）とても美しい建物であった。

ブータンの食事

ブータンの食事には、米を主食に野菜や肉、魚などの炒め物や煮物が並ぶ。外国人向けの食事ということもあってか、どの食事もビュッフェ形式であったが料理のバリエーションはそれほどない。タイやインドの料理にもやや似た料理であるが、やはりどこも違う独特の伝統を持った料理であった。私には十分おいしかったが、油断をしているとトウガラシがふんだんに使われているので、非常に辛い。うっかりすると炒めてあるメインの食材がトウガラシだったりして、しばらくは味がわからなくなってしまう。24日はFAO-APHCAとOIEがホストのディナー、25日はブータン農林大臣主催のディナーであった。25日のディナーには、さらに本格的な民族音楽と民族舞踊のアトラクションがあり（写真8）、ディナーの終わりには参加者全員が踊り手の指導を受けて踊りに加わった。（写真9）

街歩き

翌日は、自由時間をもらってティンプーの街に観光と土産の買い物に出た。前述したように、通

常のブータン旅行には必ずガイドが付くが、今回の訪問はその枠外なので、レンタカーを借りて観光というわけにはもちろんいかなかったが、ガイドなしで街を自由に散策することができた。さほど広い街ではないので、徒歩で十分に回れる。街外れのメモリアル・チョルテンは大きな仏塔で、平日であったにもかかわらず多くの人々が周りを一方向に何度も回って祈りをささげていた。（写真10）ティンプー川のほとりの市場サブジ・バザールは週末にはもっと賑わうそうだが、それでも野菜や果物、スパイス、干し肉や干し魚、ソーセージやチーズ（のようなもの?）からお香など、中には見たことがないようなものまでがどこまでも並んでいて、見ていて飽きない。（写真11）街には土産物売る店も多く、数十件の出店のような小さな土産物店が軒を連ねたエリアもある。タンカと呼ばれる仏画は目が飛び出るほど高価なものもあって手が伸びないが、伝統的な織物や竹細工はきれいな色合いと素朴な味わいでつつい手が出る。

雷龍の国ブータン

昼間だったこともあって、街を歩くのに心配はない。強いて言えば、街中にも野良犬（もしかしたら飼い犬なのかもしれない）が多く、ワー

クショップで狂犬病の話聞いた後だけにちょっと緊張したが、一人で街を歩いても危ないと思うようなことは全くなかった。

一体にブータンの人々は非常に人柄が良い。限られた人にしか接する機会はなかったが、皆ていねいで穏やかで、年長者を敬い、親身になってくれる。階級制度もないという。国民がGNH（国民総幸福）を本当に信じているかどうかはわからないが、幸せに暮らしていることは間違いないだろう。生活の基本に仏教があるからだろうか。ブータン人は敬虔な仏教徒で、その教えを守って暮らしているそう（教えに従って殺生を嫌うあまり、蚊もたたかないという噂）。また、多くの人が英語を話せるように、新しいものを取り入れつつも自分たちの伝統を守ろうとしている。例えば、街中の多くの人は洋服を着ているが、ワークショップに出席していた人は必ずゴ（男性）やキラ（女性）という民族衣装を着ていた。学校の制服もゴやキラのようだ。そして、自分たちの文化や習慣、マナーといった昔から続くものをとても大切にしている。日本人がとっくに忘れてしまった、古き良き何かを感じさせてもらったような思いを胸に、パロ空港を後にした。



写真9



写真10



写真11

遺伝子改変ブタの開発

日本大学 生物資源科学部 動物資源科学科
教授 大西 彰

はじめに

ブタは解剖学および生理学的にヒトとの類似性が高く、身体の大きさや雑食性の点からもげっ歯類よりも明らかにヒトに近い特徴を持つ。例えば、血漿コレステロールの分画パターン(VLDL, LDL, HDL)において、マウスがヒトと明らかに異なるパターンを示すのに対し、ブタとヒトとの類似性は極めて高い。また、循環器系のヒトとの類似性の高さは、医学分野におけるトレーニングや研究分野でのブタの利用性を高めている。皮膚の構造がヒトと極めて類似する点も、皮膚を用いた安全性試験へのブタの有効性を高めている。さらに、ヒトの治療法の外挿性の高さにおいては、ブタは小動物にはない大きな利点を有する。

このようにブタはマウスやイヌにはない特徴を持ち、実験動物としての有用性が高いにも関わらず、国内での需要は決して高くはない。欧米においては年間6万~9万頭ものブタが実験動物として利用されているのに対し、日本では調査法の違いがあるものの、わずかに2,800頭前後のブタが利用されているにすぎない。国内において実験用ブタの利用が増加しない原因は様々だが、ブタが取り扱える技術者

の絶対的な不足、実験用ブタの飼養管理技術の未確立など、実験用ブタを取り巻く環境整備の立ち遅れも大きく影響している。

国内での実験用ブタの普及を進めるのは容易ではないが、その解決の一つに、遺伝子改変により実験用ブタの付加価値を高めることが考えられる。マウスでは疾患モデルに代表される組換え体が広く利用されているが、ブタにおいても体細胞クローン技術の開発により、ジーンターゲットングを含む遺伝子改変が可能になってきた。

ここでは、遺伝子組み換え技術と体細胞クローン技術の組み合わせによる遺伝子改変ブタを紹介すると共に、最近、遺伝子改変技術として急速な進展がみられるゲノム編集に関しても言及する。

1. 遺伝子組換えブタ

1-1. 前核内注入法による遺伝子組換えブタ

従来、遺伝子組換えブタの作出は、受精卵の前核内に直接にDNAを注入する、前核内注入法が用いられてきた。1983年、メタルチオネインをプロモータとする成長ホルモン遺伝子を、マウス卵子の前核内に注入した結果、誕生したマウスで明らかな成長促進が観察された¹⁾。この

いわゆる‘スーパーマウス’の誕生は、畜産分野においても注目され、ブタを用いた同様の研究がアメリカ農務省を中心に盛んに行われた。しかし、満足できる結果は得られず、成長が促進しなかったばかりか、瘦身、胃潰瘍、無性欲などの異常が生じた²⁾。成功率に関してみると、前核内注入法による産子の誕生率は約8%、遺伝子が導入された個体の誕生率で約0.7%、実際に遺伝子が発現した個体の誕生率は約0.4%と低かった。さらに、細胞間でモザイクが生じ、組み込まれた遺伝子が必ずしも後代に伝わらない問題もあった。これらの結果から、任意の遺伝子組換えブタを得るには、前核内注入法は実用性に全く欠ける技術であった。その後マウスでは、ES (embryonic stem) 細胞が作出され、遺伝子ターゲットングによるノックアウトマウスが次々と開発され、疾患モデル開発の有力な手段の一つとなった。ブタにおいてもES細胞の作出に向けた数多くの研究がなされたが、残念ながら、実用性のあるES細胞は世界的にも得られていない。

1-2. 体細胞クローン技術による遺伝子組み換えブタ

体細胞クローンブタ^{3) 4)}の成功は、遺伝子組換えブタの開発

の大きな突破口となった。なぜなら、培養細胞の段階で遺伝子の導入や発現が確認できることから、これらの細胞を用いて核移植をした場合、組換え体の成功率が飛躍的に向上するためである。

培養細胞への遺伝子導入に用いられるベクターには、通常、ネオマイシンやピューロマイシン等の抗生物質に対する耐性遺伝子が組み込まれている。したがって、これらの薬剤を培養液に添加することにより、遺伝子が組み込まれた細胞のみが生存し選択される。しかし、遺伝子が導入されても、必ずしも発現するとは限らない。実際には、多くの細胞で遺伝子の発現は見られない。この解決策の一つに、FACS (fluorescence activated cell sorting) による発現細胞の選択があげられる。導入した遺伝子の発現が細胞表面上にある場合には、抗体等を用いて直接に細胞が選択できる。我々は、FACSにより導入遺伝子が発現

した細胞のみを選択し、核移植に用いた結果、誕生した全てのクローンブタにおいて導入遺伝子の発現が認められた。体細胞クローン技術の問題点の一つに、成功率が動物種にかかわらず低いことがあげられる。そのため、誕生した個体が確実に遺伝子組換え体であることの意義は、妊娠期間が長く単価の高い家畜においては、極めて大きい。

1-3. 体細胞クローン技術による遺伝子ノックアウトブタ

マウスでは、前述のように、ES細胞による特定の遺伝子座の改変が可能である。しかし、ブタではES細胞が作出できず、同様の手法を用いることができなかった。相同遺伝子組換えの頻度は $1/10^6 \sim 1/10^7$ と低い。 $10^6 \sim 10^7$ 個もの受精卵を用意することは不可能で、前核内注入法による遺伝子ターゲティングは全く非現実的である。一方、培養細胞の場合、例えば、10cm大のシャーレ1枚で、 10^6 個の細胞が

容易に得られる。体細胞ではES細胞よりも相同遺伝子組換えの頻度がさらに低くなるとされているが、比較的増殖速度の速い胎児由来の線維芽細胞を用いた場合には問題はない。以下、実例を紹介する。

2. 異種移植用ブタ

ブタ臓器は、大きさおよび生理学的特徴がヒトに類似することから、恒常的に不足している移植用ヒト臓器の代換え利用が考えられている。ブタ臓器をヒトへ移植した場合、ヒトが有する自然抗体と補体の働きにより、超急性拒絶反応が生じる。そこで、遺伝子改変により超急性拒絶反応を抑制するブタの開発が進められた。最初に、補体制御因子の一つであるヒト由来DAF (decay accelerating factor) を発現する遺伝子組換えブタが開発された。しかし、従来のDAF発現ブタでは、DAFの発現量はヒトの約2～3倍に過ぎず、拒絶反応の抑制にはさらなる発現の増大が求められた。我々は、遺伝子導入後、DAFを高発現する細胞を選択し核移植に用いた結果、ヒトの約30倍のDAFを発現する組換えブタの作出に成功した⁵⁾。

次に、ヒト自然抗体へ提示される代表的な異種抗原として、ブタ臓器表面に存在する糖鎖で、 α Gal (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc) 抗原が標的となった。 α Gal抗原の除去には、 α Gal抗原を発現させる酵素である α 1,3GT遺伝子のノックアウトが最適とされ、同遺伝子をノックアウトしたク

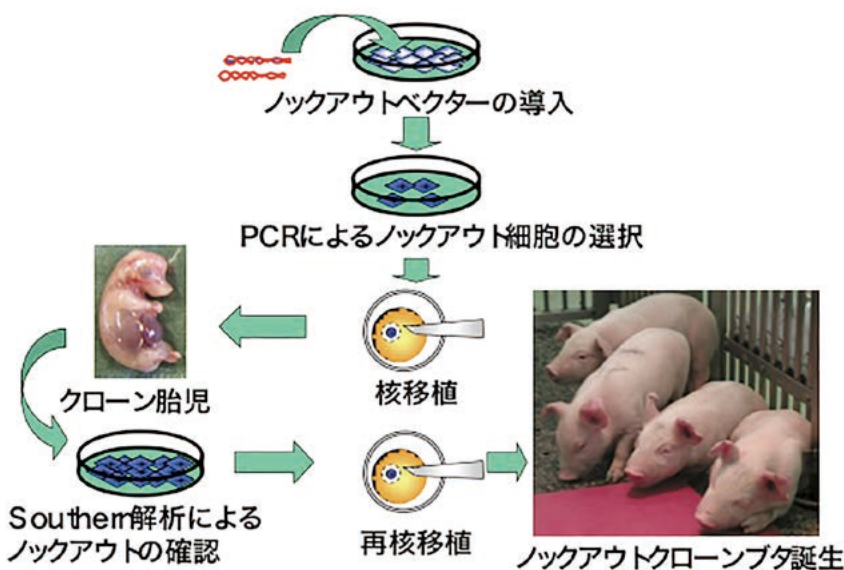


図1. ノックアウトクローンブタ作出法

ローンブタの開発が急速に展開した。熾烈な競争の結果、欧米の2つのバイオベンチャー企業が、ヘテロ^{6),7)}と引き続くホモのノックアウトブタの作出に成功した^{8),9)}。これらのブタ臓器のヒトへの移植試験の結果、期待した長期の生着は得られなかったが、異所性移植によりブタ心臓が半年間機能した報告がなされた。その後、我々も α 1,3GT 遺伝子ノックアウトクローンブタ、およびその後代となるホモノックアウトブタの作出に成功している。

3. 疾患モデルブタ

マウスによるヒト疾患の再現が困難な場合や、ヒトの治療法を直接に外挿する目的で、嚢胞性線維症¹⁰⁾ や I 型糖尿病の疾患モデルブタ¹¹⁾ が、体細胞クローン技術と遺伝子組換え技術により作出されている。ここでは、我々が開発した免疫不全ブタに関して述べる。

近年、マウスでは、ヒトの細胞や組織が移植できる免疫不全マウスが開発され、いわゆる「ヒト化マウス」の研究が急速に進展している。実際、ヒト型肝臓を60～80%保持するマウスも作られている。この「ヒト化マウス」の技術をブタへ応用した場合、ヒト型抗体やヒト型臓器などの供給が可能となる可能性がある。免疫不全のターゲットには、X染色体連鎖 $Il2rg$ (interleukin 2 receptor gamma chain) 遺伝子を選択した。同遺伝子の機能不全は、ヒトおよびマウスにおいてはX染色体連鎖重症複合型免

疫不全症 (X-SCID) を引き起こす。 $Il2rg$ ノックアウトベクターを作製し、得られたノックアウト細胞を用いて2段階の核移植を行った結果、 $Il2rg$ ノックアウトクローンブタが誕生した (図1)。引き続いて後代を得た結果、同遺伝子をホモで欠損するブタでは、胸腺が肉眼視できず、リンパ球のT細胞とNK細胞を欠失していた。B細胞は生時には存在するものの、その後消失した。抗体産生能はなく、ホモ欠損ブタはSCIDの症状となり、通常の飼育下では約2か月で死亡した。次に、これらの免疫不全ブタに同種骨髄移植を試みた結果、免疫能が回復し、3年以上を過ぎた現在も生存している¹²⁾ (図2)。

4. ゲノム編集による遺伝子改変技術

これまでの特定遺伝子座の改変は、相同遺伝子組換えを前提としていた。近年、相同遺伝子組換えに依存しない全く新しい遺伝子改変技術として、ゲノム編集の技術が開発され、急速にその利用が広がっている。今後、ブタへの応用も確実に進むことから、概要を紹介する。

4-1. 人工ヌクレアーゼによるゲノム編集

ゲノム編集技術の一つに、人工ヌクレアーゼ (人工制限酵素) により特異的に2本鎖DNAを切断し、その修復過程でのエラーを利用して遺伝子を改変する技術があげられる。

最初に開発されたのが、ZFN



図2. 骨髄移植した免疫不全ブタ

(zinc-finger nuclease) である^{13),14)}。ZFNは、ジンクフィンガーと呼ばれるDNA結合ドメインと、DNAを切断するFok Iヌクレアーゼにより構成されている。ジンクフィンガーは、1フィンガーで約3塩基を認識し、3～6個のジンクフィンガーを連結させることにより、標的DNAへの特異的な結合がなされ、引き続きFok IによりDNAが切断される。しかし、標的配列へ特異的に結合するジンクフィンガーの作製効率は低く、ベクターの構築が難しい欠点を持つ。

次に開発されたのが、ZFNの結合ドメインを、キサントモナス属細菌由来のTALE (transcription activator-like effectors) に代えたTALENである^{15),16),17)}。DNA結合部位であるTALEは、約34アミノ酸からなるモジュールが複数つなぎ合わされた構造を持ち、1つのモジュールは1塩基を認識する。そのため、4種類のモジュールの組み合わせにより標的配列に特異的に結合するドメインが構築できる。TALENの構築は、比較的簡便で成功率も高いことから、ZFNに代わり広く利用され、これまで標的遺伝子の改変が困難であった動物種や植物種におけ

るゲノム編集が多数報告されている。一方、マウスやラットでは遺伝子改変効率が低いとされ、その改良も進められている。

4-2. CRISPER/Casシステムによるゲノム編集

ZFNとTALENの登場の後、急速な利用が広がっているのが、CRISPER/Casである¹⁸⁾、¹⁹⁾。CRISPER (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) およびCas (CRISPER-associated) は、真正細菌および古細菌が持つ獲得免疫機構である。これらの細菌では、侵入した外来DNAを自身のゲノムに取り込み、免疫源を獲得する。次ぐ2度目の侵入の際、取り込んだDNAを基に短鎖RNAが作られ、標的とするDNAをCasと連携して切断する。この機構がゲノム編集に応用された。CRISPER/Casの便利な点は、ZFNやTALENのように、DNA結合ドメインと切断ドメインからなる結合タンパク質をいちいち作製する必要がない点である。標的遺伝子と相同な配列を有する短鎖RNA (guide RNA : gRNA) を作製するだけで良い。すでに、専用のクローニングベクターや発現プラスミドも販売され、CRISPER/Casの利用は爆発的に広がっている。

4-3. ゲノム編集技術の利点

これらのゲノム編集技術は、これまで相同組み換えに依存していたジーンターゲティングの技術を覆し、ES細胞が得られていない、あるいは体細胞クローン技術が確立していない動物種における遺伝子改変を可能にし

た。また、ジーンターゲティングに要する時間を大幅に短縮し、その簡便性も大きく注目されている。例えば、受精卵への注入により、ホモ欠損個体が直接に得られることは、これまでF2までの交配を要した時間が大幅に短縮されることになる。受精卵への導入に際しては、mRNAの細胞質への注入が可能な点は、意義が大きい。CRISPER/Casの場合には、gRNAおよびCas9のmRNAを卵細胞質に注入すれば良い。プラスミドのまま受精卵の前核内に注入する方法もあるが、ブタの場合には、前核を可視させるための遠心処置や、体外受精卵子における多精子侵入の頻度の高さを考慮すると、あまり推奨できない。また、前述のように、ブタの前核内注入による遺伝子組換え体の成功率は、そもそもマウスに比べて低い。培養細胞へ遺伝子導入し、改変された細胞を用いてクローンを作成する場合においても、ゲノム編集技術は応用できる。この場合、改変された細胞を選択する手段として、標的とする遺伝子座に薬剤耐性遺伝子やレポーター遺伝子を導入させる、いわゆるノックインが有効となる。

おわりに

遺伝子組換えブタの作出技術は、体細胞クローン技術により大きく進展した。ブタのゲノム編集技術に関しては、現在のところ、体細胞クローン技術と組み合わせた報告が多い²⁰⁾、²¹⁾、²²⁾、²³⁾。しかし、ゲノム編集技術を用いた場合に

は、遺伝子改変の効率にもよるが、体細胞クローン技術は必ずしも必要ではなくなるかもしれない。この革新的な技術はものすごい速さで進展し、ブタへの波及も今後ますます加速するであろう。このように、ブタの遺伝子改変技術は確実に進展し、期待するブタが得られるようになってきている。国内での実験用ブタの利用促進に結び付くことを、期待している。

参考文献

- 1) Palmiter, R.D. et al. (1982) *Nature* 300 : 611-615.
- 2) Pursel, V.G. et al. (1990) *J. Reprod. Fert. Suppl.* 40 : 235-245.
- 3) Onishi, A. et al. (2000) *Science* 289 : 1188-1190.
- 4) Polejaeva, I.A. et al. (2000) *Nature* 407 : 86-90.
- 5) Yazaki, S. et al. (2009) *Xenotransplantation* 16 : 511-521.
- 6) Lai, L. et al. (2002) *Science* 295 : 1089-1092.
- 7) Dai, Y. et al. (2002) *Nature Biotechnol.* 20 : 251-255.
- 8) Phelps, C.J. et al. (2003) *Science* 299 : 411-414.
- 9) Kolber-Simonds, D. et al. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101 : 7335-7340.
- 10) Rogers, C.S. et al. (2008) *Science* 321 : 1837-1841.
- 11) Uneyama, K. et al. (2009) *Trans. Res.* 18 : 697-706.
- 12) Suzuki, S. et al. (2012) *Cell Stem Cell.* 10 : 753-758.
- 13) Kim, Y.G. et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93 : 1156-1160.
- 14) Urnov, F.D. et al. (2010) *Nat. Rev. Genet.* 11 : 636-646.
- 15) Miller, J.C. et al. (2011) *Nat. Biotechnol.* 29 : 143-148.
- 16) Zhang, F. et al. (2011) *Nat. Biotechnol.* 29 : 149-153.
- 17) Joung, J.K. et al. (2013) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 14 : 49-55.
- 18) Cong, L. et al. (2013) *Science* 339 : 819-823.
- 19) Mali, P. et al. (2013) *Science* 339 : 823-826.
- 20) Hauschild, J. et al. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108 : 12013-12017.
- 21) Carlson, D.F. et al. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109 : 17382-17387.
- 22) Tan, W. et al. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110 : 16526-16531.
- 23) Watanebe, M. et al. (2013) *PLoS One.* 8 : e76478.

実験動物産業に貢献した人々(16)

野村家の人々

特別寄稿

戦後の混沌とした困難な時代に、実験動物の学体系を示唆し「実験動物科学」を基礎・臨床医学や業界に提案された安東洪次・田嶋嘉雄両先生の紹介から本コーナーを開始致しました。

また、実験動物の近代化運動に尽力された方々のなかで、幾多の困難に遭遇されながら実験動物の産業化に尽力された野村達次先生のご努力は「六匹のマウスから」で斯界の方々はよくご存じです。その野村先生のご貢献の背景には、野村先生を支え共に生活の中にあつて野村家の方々の尋常ではないご苦労があつたと思われまふ。

実験動物の近代化に尽力され見事に開花と発展に寄与された「野村家の人々」を後世に永く顕彰することが、その恩恵に浴している私たちの役目として、ここに改めて齊藤宗雄氏の筆をお借りして紹介する次第です。

(担当理事 日柳政彦)

日本の実験動物近代化運動は、安東洪次先生が中国から引き揚げた昭和24年から始まると言われている。しかし、これに先立つこと4年、大磯野村家の西洋館(元徳川頼倫邸南葵文庫)3階で、新しい考え方による実験動物の飼育繁殖が行われていた。これは医学部を卒業した病気療養中の野村達次先生の研究をサポートするために、三井長子(ヒサコ)様(後の野村長子夫人)が、三井化学から譲り受けた六匹のマウスを基に、野村先生の母、野村増子(松方正義公爵の孫)様が、いろいろな小鳥の飼育繁殖経験から独自の飼育繁殖方法により、実験動物マウスの生産を成功させていた(大磯マウスは市販マウスに比べ大きさ、毛並みもよく、投薬実験で全く異なった成績となる=野村先生談)。

これら動物飼育については、昭和48年5月1日朝日新聞科学欄“スナネズミ”に紹介している。また、特殊繁殖用OA-2(日本クレア製)という飼料がある。これは大磯の0、動物のAの2番目の処方、嗜好性に優れた“粟”を組成しており、小鳥に見識のある増子様のこだわりの餌である。

母増子様を手伝っていたのが、姉の野村美智子様であった。大磯の動物飼育では大活躍とのことで、昭和27年、406部隊(厚木の米軍衛生部隊)Capt.Buescherの紹介により、米国の研究所ならびに幾つかのブリーダーを5ヶ月間に亘って視察、その概要を実験動物彙報(1953年7月)に紹介した。この報告は創世期にあつた日本の実験動物界の大きな指標となった。美智子様にはマウスを売るのに毛皮のコートを着てお父様の自家用車を借りて運んだとのエピソードも伝えられている。

実験動物界においては、田嶋嘉雄先生が昭和22年満州から引揚げられ、野村先生も昭和24年伝研に復帰しており、安東先生らは、昭和26年10月日本実験動物研究会(日本実験動物学会の前身)を発足させた。大磯のマウス飼育舎は、研究会の提言を实践する場として発展してゆく。それは品質の良い実験動物の社会的供給、固形飼料・飼育容器を新しく開発してゆくために、昭和27年実験動物中央研究所とした。

実験動物中央研究所は、弟の松方亮三(母方の松方家養子)

様が、所有する西多摩郡瑞穂町の松方農場の一画にマウス月産3000匹、固形飼料月産3000トン生産供給を目指し、その代表者を松方亮三様が務めた。動物生産は岩本三男氏(元宇治化学技術者)が担当した。しかし、大磯同等の成績が得られず。安東先生の言葉(「実験動物のレベルを、もう一段引き上げることができれば、それを使う日本の医学の研究水準が確実に一段上る」六匹のマウスから原点における問いかけ)もあつて、野村先生が直接担当することになり、語り継がれている「マッチ1本での練炭着火やボイラーマン資格取得」などの創意工夫と努力により、実験動物中央研究所の基礎ともいふべき飼育技術が確立した。幸いにも406部隊とのマウス供給契約が結ばれ、研究所運営は一段落した。なお、母増子様、姉美智子様は、西多摩への移転をもって引退した。

近代化運動は、昭和31年「医学研究と動物実験法(朝倉書店)」としてまとめられた。これは動物実験法のみならず実験動物に関する研究を指し示すものであつた。

一方、実験動物中央研究所は、理事長に安東先生を迎え、常

実験動物産業に貢献した人々(16)

務理事を野村先生等が務め、昭和32年8月5日財団法人として改組した。この法人化に当たって、野村駿吉様、松方亮三様から多額の、その他の方々からも寄付を頂いた。兄の野村正吉様は、設立時から平成17年お亡くなりになるまで監査役を務められた。経常的に研究所運営は苦しく、私の総務部長当時、毎年の予算、決算の監査で、常に厳しいコメントを頂いたことを思い出す。正吉様は生涯、研究所並びに野村先生のお目付役であったように思える。

野村先生の研究を支えた長子夫人、母増子様、姉美智子様、弟亮三様、兄正吉様の協力、財団法人化に当たっての寄付、知人友人の役員等への紹介等、お父様の野村駿吉様は全体のコー

ディネータであったと思う。野村駿吉・増子夫妻は、実験動物中央研究所の基盤であり、日本の実験動物界への貢献は計り知れないものがある。

近代化運動のまとめとしての「医学研究と動物実験法(安東・田嶋編)」の“はしがき”の中に以下の謝辞が記されている。

(中略) 編者らが実験動物研究会を起こして、わが国の実験動物問題を推進した際に、第一に問題となったのは「系統のわかった良く飼育された実験動物」の供給の点であったが、その際に野村駿吉氏および同増子夫人の手で実験動物中央研究所が設置され「適当な実験動物」のわが国での最初の供給も開始されて、われわれの運動も順調な進展を

示すようになった次第である。なを、同夫妻からは、その他いろいろな理解あるいは援助を頂き、そのことがわれわれにとって大きな力となったことを誌して、われわれの深い感謝のしるしとする(中略)。

日本の実験動物近代化運動において、野村家の係わりを抜きに語るができない。ここでは“六匹のマウスから、野村・飯沼著”を参考に、野村先生を支えた方々についての紹介を試みた。良家の方々にもかかわらず、良質な実験動物を創るという真摯でひたむきな姿勢に頭を下げずにはいられない。

(齊藤 宗雄 記)

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 〒814-0021 福岡県福岡市早良区荒江3丁目11番31号 シティーガーデン荒江701号 TEL 092-831-8865 FAX 092-831-8867

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

特例認定校制度と専門学校教育

— 東京バイオテクノロジー専門学校 —

東京バイオテクノロジー専門学校 バイオテクノロジー科
教務部 高濱 康弘

本校バイオテクノロジー学科の在学生在が、実験動物技術者(2級)資格試験を最初に受験したのが平成19年、この時の受験者は2名であった。受験資格を持つ学生の割合からすると、1割にも満たない数字であった。当時は、動物を取り扱う実技的な教育はするものの、資格取得に対する意識付けが、十分とは言えないものであった。それでも、実験動物系企業への就職希望者の割合は低くはなかった。そのようなことから、実験動物技術に関する一貫した教育と職業人スキル向上を目的として、意欲的に実験動物2級技術者資格取得を推奨した結果、受験希望者数ならびに合格者数が急増した。その後、本校は実験動物を学ぶことができる学科を3年制から4年制へと移行し、資格試験受験を必須とする「動物バイオコース」として設置した。このコースは、実験動物を用いた基礎医学や細胞生物学などをはじめとする、ライフサイエンスの分野で必要不可欠な動物実験技術者育成を今まで以上に強化するとともに、生命倫理・動物福祉の観点から、業務を遂行することのできる実験動物技術者資格所有者として、様々な分野で活躍できる職業人を輩出することで社会貢献をすることを目的としている。1年次では、大学学部の専門基礎的な講義や実習を行い、理化学実験の基本的な操作技術を徹底して習得し、2年次進級時に、動物バイオコースを専攻した学生は、実験動物技術者資格試験受験

に際し、必要とされる講義科目450時間、実習・実験科目を1200時間以上受講している。3年次では、実験動物2級技術者資格試験を受験する。ここで受験に失敗した場合でも、最終学年の4年次で再度挑戦ができるというメリットがある。昨年度まで学生は、卒業までに2級資格を取得し、またこれを就職活動に活用してきた。

今年度は、1級受験資格特例認定校となったことで、3年次までの取得単位および修得してきた技術や知識に加えて、4年次で応用実験動物学を必須科目として修得し、1級受験に備えている。今年は、昨年度2級合格者の中から6名が受験する予定であり、受験に向けた特別対策講座を設けるなど、資格取得に向けたサポートも実施している。

さらに、これらの教育成果を実践するシステム、すなわち、実務経験を積むことにも力を入れている。以前は、「実験操作の課程で、動物を使用する」という教育であったが、4年制となり講義や実習の履修時間や、インターンシップ(4年制の最終学年では、卒業研究を実際の研究機関で現場研修として実験研究を行っている。)で現場の業務を体験する機会を増やした。研修先や就職した企業の就業先において、「動物を扱ったことがある」だけでなく、「実験(研究)データを取るための動物実験ができる」という能力が求められるようになり、インターンシップ先も、学生にある程度期待をして

くれるようになってきた。業界のニーズに応えるために、実験動物を取り扱うためのコースの専攻、履修科目の内容および履修時間を検討し、それを教育してくれる講師も、経験・実績ともに優れ、専門学校教育に熱心な方々を外部から来ていただいている。

専門学校最大の特徴は、実務経験量である。すなわち、業界からは即戦力としてのテクニカルなスキルと職業人としてのマインドが求められる。実験技術者として、確実な手技を提供すること、職業人としてチームや組織で仕事ができることが重要である。

本校の実験動物を担当する講師は、それぞれ現役の職業人である。資格取得のためだけでなく、実験動物技術者として求められる人間教育や日進月歩の生命科学実験の分野で、実験技術、倫理的な考え方についてのニーズや、現場で「どのように対応しなければならぬのか」を技術と知識の習得と同時に意識付けしてくださっている。

以上のことから、本校の実験動物技術者育成の特徴としては、1. コース選択制による動物実験に対する動議付け、2. 十分な履修時間、3. 資格取得に対する意識とそのサポート、4. 実験動物を取り扱う業界で働くための職業人教育、5. 即戦力となりうる実務経験、である。

専門学校では初めての「特例認定校」として受験する今年度は、より一層充実した教育を再度組み立てるスタートの年にしたいと考えている。

実験動物施設におけるオゾンの利用

株式会社 IHI 産業・ロジスティックスセクター 黒松 久

1. はじめに

製薬会社、化粧品会社、大学医学部などの実験動物施設で使われる動物は、特定の病原性微生物がないクリーンな環境で飼育されている。それら施設では、清浄度を維持するため、搬入物の消毒、定期的な部屋の燻蒸消毒が実施されている。

消毒は主に①熱による消毒、②ガスによる消毒の2つの方法がある。耐熱性の消毒対象物には、オートクレーブによる熱消毒、非耐熱性の対象物にはガス消毒といった具合である。数年前まで、ガス消毒にはエチレンオキシドガス (EOG)、ホルマリンガスが用いられてきたが、近年、特定化学物質障害予防規則が改正され、それら薬剤の使用には定期的な作業環境測定の実施、防護服の着用、作業従事者の健康診断、作業実施記録 (30年間) の保存などが義務付けられた。それら事由から、多くの施設でEOG、ホルマリンガスの使用を中止しており、それに代わる代替消毒法が検討されている。その中でもオゾンは有力な消毒方法として注目されており、最近では、大手製薬会社のGLP (Good Laboratory Practice) 施設でも採用されはじめた。図1は当社が実験動物施設に提案しているオゾン消毒装置の一例である。

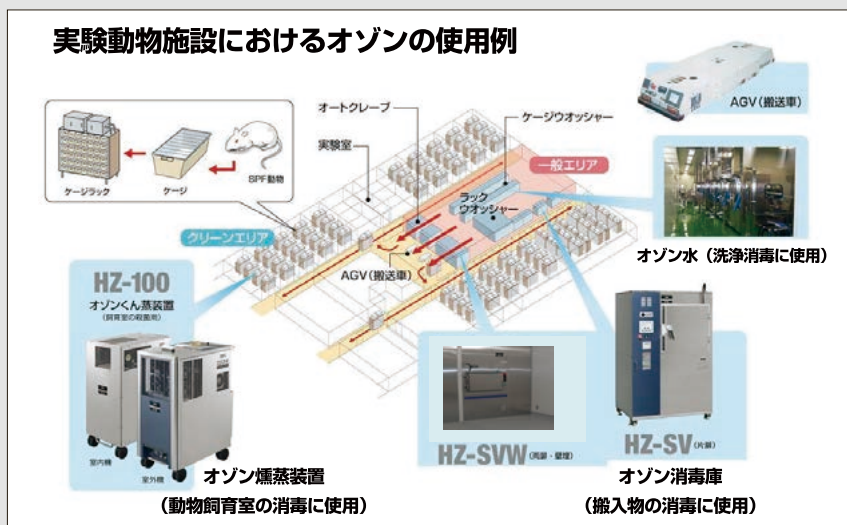


図1. 実験動物施設におけるオゾンの使用例

2. 現状の問題点とオゾンの役割

上述の通り、ホルマリンガス、エチレンオキシドガスの使用が法律で厳しく制限されたため、多くの施設で使用を中止している。図2のように、一時的な代替消毒法としてアルコールや紫

外線が用いられているが、ガス消毒に比べて効果が低い。よって、オゾンや過酸化水素水によるガス消毒で、従来効果を確保することが求められている。とりわけ、オゾンは空気中の酸素を原料に生成する為、薬剤の管

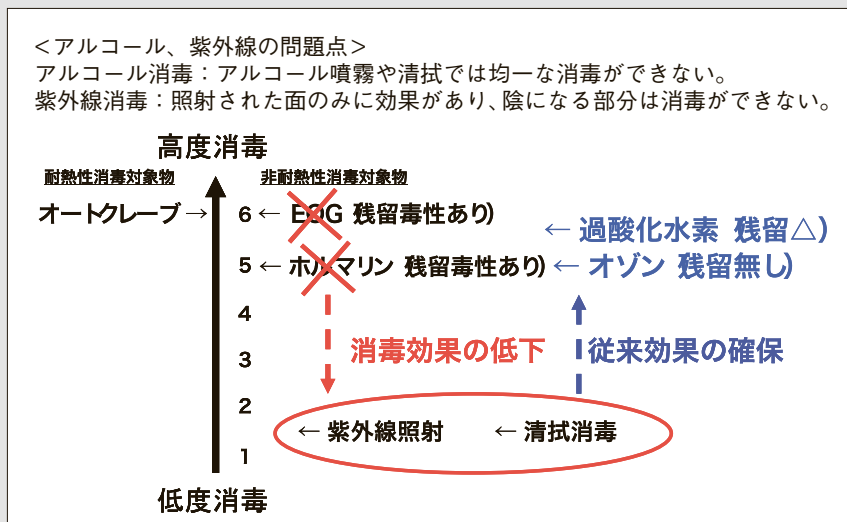


図2. 現状の問題点とオゾンの役割

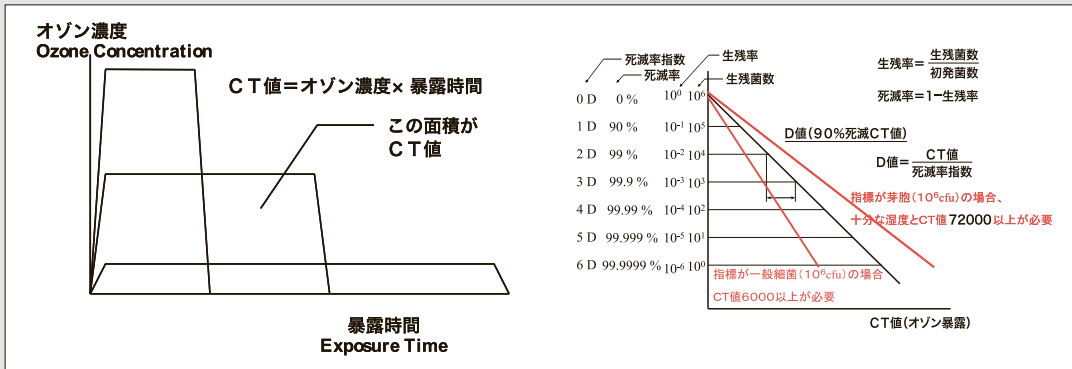


図3. CT値と生残曲線

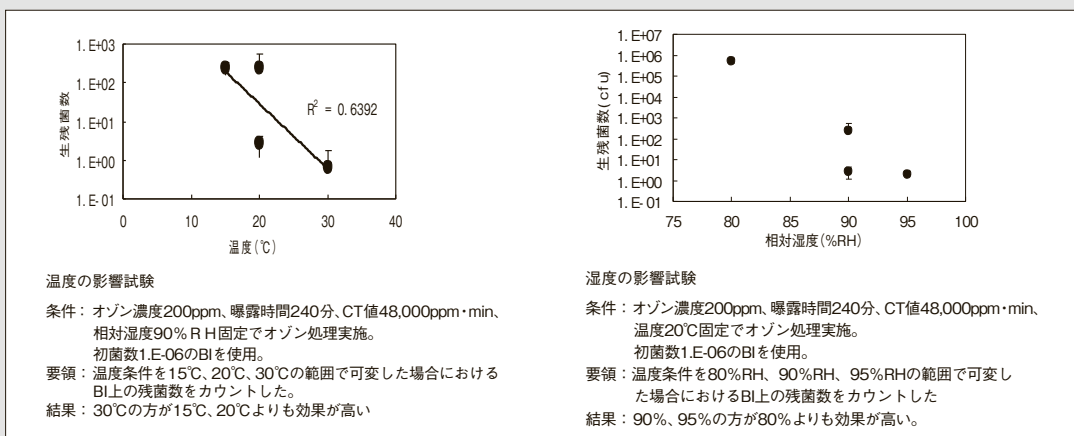


図4. オゾン消毒に対する温湿度の影響

理が必要なく、取り扱いが容易であることから、施設全体のクリーンレベルを確保していく有望な手法であると考えられる。但し、オゾンや過酸化水素水は、ホルマリンやEOGのような残留毒性がないものの、高濃度のガスは人体にも有害であり、使い方によっては消毒対象物や実験設備にダメージを与えることがある。取り扱い上の注意さえ守れば、EOG、ホルマリンガスに代わる有力な消毒法となりえるので、我々メーカーが正しい情報を発信することが重要である。

3. オゾンCT値とバリデーション管理

実験動物施設では、あらかじめ作成した作業マニュアル

(SOP)に従って一連の作業が行われ、消毒においてもバリデーション管理が徹底されている。消毒バリデーションの管理とは、指標となる芽胞菌を付着させたBI(バイオロジカルインジケータ)を対象となる部屋、消毒庫内でオゾン暴露させた後、培養して菌の発育の有無を確認。そのデータを基に日頃管理するCT値、殺菌レベルを設定する。(図3)消毒対象物によってオゾン反応速度が異なる為、濃度が変化しやすい。そのためコントロールユニットによるCT値制御は重要で、消毒環境を測定する計器(濃度計、温湿度計など)は定期的に校正する必要がある。

4. 芽胞菌に対するオゾンの消毒効果を確認

実験動物施設や医療施設などの消毒指標には芽胞菌が用いられる。芽胞菌は一般細菌などに比べ非常に抵抗力が強く、オゾンで殺滅するには一定の環境条件を整えなければならない。オゾン消毒において雰囲気温度、湿度(相対湿度)は重要な条件であり、図4はCT値を同条件下で固定して、温

度(15~30°C)、湿度(80%RH~95%RH)を可変した試験である。結果、試験を行った環境下では温湿度が高いほど芽胞菌への効果が高いことがわかった。試験に使用したのは枯草菌芽胞10⁶cfu *Bacillus atrophaeus* spores ATCC#9372(米国レーベン社製)である。

5. オゾン消毒庫(HZ-SVシリーズ)の使用例

1項にも述べた通り、動物が飼育されているクリーンルームに搬入する備品は全て消毒される。オゾン消毒庫はオートクレーブの横に併設されることが多く、オートクレーブで熱処理できない非耐熱性の物品全てがオゾン消毒対象物と考えてよい。図5

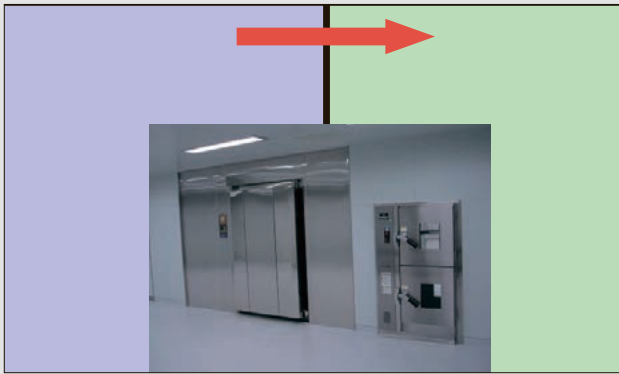


図5. パススルータイプのオゾン消毒車（写真は常圧タイプのHZシリーズ）

のようにHZ-SVシリーズはバリアの壁に埋め込むことが可能で、消毒対象物を通常エリア側から消毒庫内に入れ、消毒後はクリーンエリアで取り出す、いわゆるパスボックスとして使用することが可能である。施設の都合上、壁に埋め込むことが出来ない場合は殺菌対象物を滅菌バッグに入れて処理を行い、クリーンルーム内に搬入する。HZ-SVシリーズは温湿度管理、圧力管理、CT値制御、オゾン分解までの全工程を自動で行うため、取り扱いが容易である。

信州大学ヒト環境科学研究支援センターの協力のもと、クリーン区域内で一般に使用される器具、器材をHZ-SVでオゾン処理し、部材への影響を確認した。図6、7の写真のように、対象物の中にはオゾンの強力な酸化作用で劣化してしまう物があるので、処理前に部材の耐オゾン性を確認しておくことが重要である。写真では各種対象物をまとめて庫内に入れ処理しているが、3項でも述べた通り、部材によっては濃度が上がりづらく処理時間にバラつきが出るため、

できるだけ同じ部材、性質のものを分類し、事前に消毒作業マニュアルを作成することが望ましい。HZ-SVは減圧、常圧の処理モード選択が可能であり、不織布など中心部まで消毒したいものには減圧、ドライバーなどの工具は表面消毒で良いので常圧での処理を行う。パソコンや電卓などは減圧するとモニターが破損する恐れがあるので注意が必要である。

6. オゾン燻蒸装置 (HZ-100) による室内の消毒

動物を飼育する部屋は、動物の入れ替え時、空調の改修工事後、動物の感染事故が起こった場合などのタイミングで燻蒸消毒が行われる。従来は室内でホルマリンを加熱しガス化させたものを充満させて消毒する方法がとられてきたが、1項でも記

述したとおり法改正によるホルマリンの取り扱いが大幅に制限されたため、代替消毒法としてオゾン消毒を選択する研究機関が増えてきている。オゾンはホルマリンと比べて取り扱いが容易であり、残留毒性が無いため、動物への負担が少ない等が選定理由としてあげられている。処理時間についてもオゾン発生から分解（0.1ppm以下）まで約12時間で全ての作業が完了し、オゾン燻蒸後はすぐに動物を室内に搬入することができる。ホルマリンガスの場合、安全基準となる濃度0.1ppm以下になるには2日以上掛かるので、オゾンで処理することにより大幅な時間短縮が可能となった。

6.1. 施設クリーンアップ作業の流れ

動物飼育施設ではオゾンに限らず燻蒸消毒を行う前に部屋の壁床、飼育ラックなどを物理洗浄することが重要である。糞尿などのタンパクが付着している上から燻蒸消毒を実施しても十



図6. 消毒庫内と消毒対象物

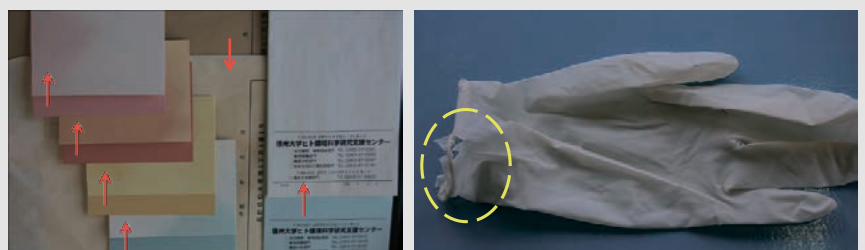


図7. オゾンによる劣化（左は脱色、右は天然ゴムの劣化）

分な効果が得られない。図8は施設クリーンアップ作業手順の一例である。

6.2. オゾン燻蒸装置 (HZ-100) の使用例

オゾン燻蒸装置 (HZ-100) は、室外機でオゾンを発生させて室内機に供給し、室内機本体のファンでオゾンを攪拌する。部屋が大きい場合や、部屋の形状が複雑な場合は拡散ユニットを持ち込んで攪拌することもある。室内機は加湿機能も備えており、室内のオゾン濃度、湿度を一定に保つ仕組みで、室内機で計測したオゾン濃度、温湿度を室外機でモニタリングすることができる。図9は、施設での消毒風景と、実際の装置である。

景と、実際の装置である。

7. 終りに

これまで病院や研究施設での消毒に常用されてきたエチレンオキシド、ホルマリンは、法改正によって取り扱いが大幅に制限され、その代替消毒法として残留毒性のないオゾン消毒が注目され始めている。これはオゾン消毒装置メーカーとして喜ばしいことであり、今後も医薬、医療などの高度消毒が求められる分野で広く認知されていくことを期待する。但し、高度消毒において指標とされる芽胞菌をオゾンで殺滅することは容易ではない。乾燥オゾンガスのみでは芽胞菌に対して殺滅効果が低

く、高濃度のオゾンとCT値に加え、高い湿度条件下での処理が極めて重要となる。この場合、消毒対象物の漂白や、天然ゴム類の劣化などには十分な注意が必要である。オゾンには長所も多いが、高い消毒効果を求めようとすると、それに伴うデメリットもある。オゾン消毒は全ての消毒法に取って代われる万能なものではないので、他の消毒法の長所を知り、オゾンの利用を適材適所に提案することで、ユーザーの信用を得ることが出来るのだと思う。オゾン消毒を推進する我々メーカーが正確なデータを蓄積し、消毒効果、オゾンの利点・問題点などの情報を正しく世に伝えることで、オゾンの持つ長所が活かされ、今後の市場拡大に繋がるのではないだろうか。

また、IHIグループでは現在、低濃度オゾンによる滅菌技術の開発に取り組んでいる。成果については追ってご報告させていただきます。

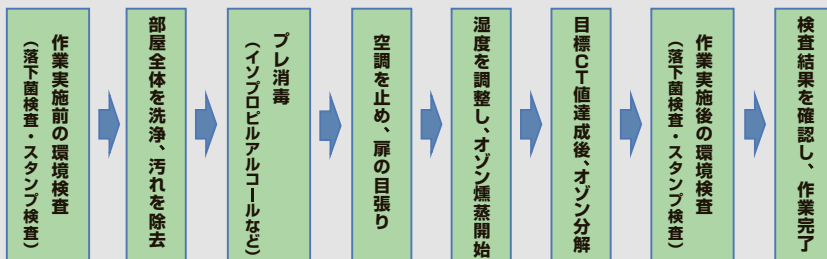


図8. 施設クリーンアップ作業手順 (例)



図9. オゾン燻蒸装置 (HZ-100)

翻訳58-1

症例報告：アカゲザル (*Macaca mulatta*) で認められた *Moraxella osloensis* による化膿性関節炎

5.5歳齢の中国由来の雌のアカゲザル (*Macaca mulatta*) の後肢両側において跛行が観察された。本個体はSPFの繁殖コロニーで群飼されており、Bウイルス、SIV、サルレトロウイルスD型、サルリンパ球毒性ウイルスが血清学的に陰性であった。本個体の既往歴として左足根で生じた多発性の関節炎及び右前肢と両手の外傷があった。加えて、本個体は左後肢脛骨遠位部の骨髄炎及び右後肢前十字靭帯の断裂を引き起こしていた。右後肢前

十字靭帯の断裂は外科的に修復されていた。身体検査による異常所見として消瘦、中度の脱水、両側後膝部に熱を帯びた腫脹が認められ、右側後膝部の方が重症であった。左側後膝部に軽度不安定性が認められ、両側後膝部に関節可動域の減少と筋萎縮が生じていた。血液学的所見では顕著な好中球増加とリンパ球減少及び中度の貧血が認められた。関節穿刺及び滑液の培養を行ったところ *Moraxella* 属様の微生物が認められた。エンロフロキサシ

ン投与を実験的に開始し、その後セファレキシんに切り替え、長期にわたって関節の腫脹と炎症を緩和できた。化膿性関節炎における *Moraxella osloensis* の確定診断は微生物を単離し、16S rDNA 領域の配列を決定することで行った。我々の知る限り、本報告はアカゲザルにおける、*Moraxella osloensis* による化膿性関節炎の初報である。(翻訳:五十嵐 哲郎)

Comp Med. 2013;63 (6) 521-527.
Wren MA, Caskey JR, Liu DX, Embers ME.



キーワード：アカゲザル、*Moraxella osloensis*、化膿性関節炎

翻訳58-2

小動物の心臓イメージングの際の造影剤投与には側部尾静脈よりも眼窩静脈叢が優れている

コンピューター断層画像法を用いた心臓の血流の確認は臨床診療において一般的な検査である。近年の技術的進歩と小動物専用スキャナーが使用可能になったことで、これらの技術を前臨床の領域全般、特にマウスの心臓病モデルに導入できるようになった。これにより、造影剤を迅速に動物の心臓へ送達させるような静脈投与の技術が必要とされるようになってきた。高濃度のヨウ素を含んだ臨床用造影剤は小動物での研究にも用いられ

ているが、高い粘性を示すために脈管系においてスムーズに輸送されないことがある。著者らは、側部尾静脈および眼窩静脈叢への注入により投与した後の造影剤がどのように輸送されるか比較して、解剖学的構造が輸送のされ方にどのように影響するか議論し、さらに急速に静注した造影剤の一時的な展開・拡散がどのように行われるか可視化した。尾静注で造影剤を投与すると、逆流により肝臓の静脈に流れてしまうために、急速静注しても

コントラストが検出できるほどはまとまって流入しない。従って、尾静注は心臓の血流の研究には適切ではない。これに対して、眼窩静脈叢へ急速注入された造影剤は迅速に心臓に向かい、心室のコントラストがよくなるので、人間の患者同様に血流の研究ができる。この結果から、尾静注のあらゆる欠点を克服しうするため、動物の心臓への造影剤送達には側部尾静脈投与よりも眼窩静脈叢内投与が優れているといえる。(翻訳:小池 明人)

Laboratory Animals 2014, 48 (2) 105-113
Socher M, Kkuntz J, Sawall S, Bartling S, Kachelrieß M.



キーワード：マウス、*in vivo*、コンピューターモデル、心臓病学、注射

翻訳58-3

心血管核磁気共鳴画像法、経胸壁心エコー図検査及び経食道心エコー図検査：ラットにおける生体内での心室機能評価法の比較

げっ歯類における心室機能の生体内での評価は経胸壁心エコー図検査 (transthoracic echocardiography: TTE) にかかなり限定されていたが、1.5T心血管核磁気共鳴画像法 (cardiac magnetic resonance: CMR) と経食道心エコー図検査 (transoesophageal echocardiography: TOE) が代替の可能性のある方法として浮上してきた。しかし、今までに、ラットでの心駆出率 (ejection fraction: EF) の測定においてこれら3つの画像診断法を体系的に調べた研究はなかった。そこで、

ラット20匹を用いて、心筋梗塞を外科的に導入した後4週間画像診断を行った。CMRには1.5T装置を用い、TTEでは9.2MHzトランスデューサーを、TOEでは10MHz心腔内エコーカテーテルをプローブとして使用した。EF測定における3つの技術間での測定値の相関性と、解析の再現性について評価した。3つの間には中程度から強い相関がみられ、CMRとTTEの間で一番強く (級内相関係数 (intraclass correlation coefficient: ICC) =0.89)、次にTOEとTTE (ICC=0.70)、CMRとTTE

(ICC=0.63) と続いた。観察者内変動と観察者間変動は、最も差が小さく、良い値が出たのがCMRで (ICCはそれぞれ0.99,0.98)、次にTTE (0.90,0.89)、TOE (0.87,0.84) であった。各々の方法はラットの心室機能の評価のために実行可能な選択肢の一つであるが、標準的なコイルとソフトウェアを使った1.5T装置でさえも、CMRの画質と再現性の高さには明白な優位性がある。(翻訳:杉浦 由季)

Laboratory Animals 2013 47 (4) 291-300. JD Richardson^{1,2}, AG Bertaso¹, L Frost¹, PJ Psaltis^{1,3}, A Carbone¹, B Koschade¹, DT Wong¹, AJ Nelson¹, S Paton², K Williams¹, S Azarisman¹, MI Worthley¹, KS Teo¹, S Gronthos², ACW Zannettino² and SG Worthley^{1,2}



キーワード：ラット、心血管核磁気共鳴画像法、経胸壁心エコー図検査、経食道心エコー図検査、左心室機能、心臓超音波検査

若齢マウスと成熟マウスに対する洗練された反復採血法の妥当性の検証

実験動物からの反復採血はある種の実験計画によっては好ましく、また研究に使用する動物数を減らすためにも望ましい。血液試料を生化学的に解析するためにはごく少量（一般的に20-40 μ L）のみ採血すればよい。若齢個体では動物の血液が少量であるため、採材量はごく微量である必要もある。さらに、行動学的研究のためには麻酔や侵襲性のある留置カニューレを

必要としない方が望ましい。我々は若齢個体と成熟個体に対する外側尾静脈からの洗練された尾部切開法による反復採血（24時間間隔で3回まで）の妥当性を検証したので報告する。ストレスホルモンであるコルチコステロンは低い基礎レベル値であったことから評価すると、本方法はストレスを殆ど与えていない。反復採血法は同じ個体から複数のタイムポイントで採材で

きるため、最終サンプル採取のために実験群のサイズを増やす必要がない。ゆえに、本方法は尾を温めるの必要がなく、麻酔を必要とせず、軽度の拘束のみを要する洗練された方法であることに加えて、実験に用いるマウスの数を減らすこともできる。（翻訳：五十嵐 哲郎）

Lab Anim. 2013 47 (4) 316-319.
Sadler AM, Bailey SJ.



キーワード：マウス、ストレス、採血法、コルチコステロン、尾静脈

ラットにおいて麻酔薬の種類、麻酔の深さ、および体温が心循環機能のパラメーターに与える影響

動物の鎮静は実験的研究においてしばしば必要となる。この論文は4種類の最もよくつかわれている麻酔薬が、ラットの心循環機能のパラメーターにどのように影響するかを示し、考察したものである。我々は体温が与える影響も同様に調べた。10週齢のSprague-Dawleyラットに対して、それぞれイソフルラン、ペンタバルビタール、ケタミン/キシラジン、チレタミン/ゾラゼパムによる麻酔を行った（各グループn = 12）。動脈圧を継続的に測定できるよう、血圧を測定できるカテーテルを右頸動脈に留置し、また心エコー検査をおこなった。他のグループと比べ、チレタミン/ゾラゼパムのグルー

プが示した心機能の値は有意に高かった。ペンタバルビタールのグループでは、心拍数は最も高かったが、一回拍出量は最も少なかった。拡張期における左心室の径は、ペンタバルビタールやチレタミン/ゾラゼパムのグループでは、イソフルランやケタミン/キシラジンのグループに比べて低かった。心室内の拡張期動脈圧は全てのグループで差がなかったが、心室内収縮期圧・収縮期動脈圧・拡張期動脈圧は、チレタミン/ゾラゼパムのグループで他のグループに比べて有意に高かった。血液動態の数値は、イソフルランやペンタバルビタール、ケタミン/キシラジンの3グループでは有意な差がみられ

なかった。体温の低下は心拍数および心拍出量に有意な影響を与えたが、血液動態のパラメーターに明白な影響はみられなかった。結論としては、研究者のやり方により種々の麻酔薬の間で心機能のパラメーターは異なってくるものの、これらの麻酔薬すべてが実験的な心臓研究において各々の役割を果たしうる。重要なのは、他の麻酔薬に比べ、チレタミン/ゾラゼパムを用いると心機能の数値および血圧が有意に上昇するという点であり、この麻酔薬処方によって鎮静されたラットから得られたデータを解釈するときには、この知見は考慮に入れるべきであろう。（翻訳：小池 明人）

Lab Anim. 2014 48 (1) 6-14.
Redfors B, Shao Y, Omerovic E.



キーワード：ラット、麻酔、心エコー検査、血液動態、イソフルラン、ケタミン/キシラジン、ペンタバルビタール、チレタミン/ゾラゼパム

マウスでの心エコー検査による心機能の評価に適切な麻酔薬処方：ケタミン、エトミデート、イソフルラン間での覚醒状態における比較

人間の病気に外挿するため、遺伝的変異のあるマウスは心臓の研究に用いられている。心エコー検査は心機能および血液動態を小動物において評価するのに不可欠なツールである。この研究の目的は、心エコー検査により心機能の評価するのに適切な方法を探るため、種々の麻酔薬処方による効果と覚醒状態を比較することにある。マウスを3日間、実験の手技に慣れさせてから、覚醒状態で検査をし、その後、100mg/kgのケタミンを腹腔内投与したあと7分間継続的に検査、あるいは10、20、30mg/kgのエトミデートを腹腔内投与したあと7分間継続的に

検査、あるいは短時間の3%イソフルランによる導入ありなしの条件で15%イソフルランを吸入させつつ7分間継続的に検査、をそれぞれ行った。実験者内、実験者間でのばらつきを評価した。また、実験者の検査のやり易さも評価した。心エコー検査により心拍数、拡張末期の左心室径、左心室内径短縮率と心拍出量を計測した。ケタミン注射の5分および7分後と、導入ありのイソフルラン吸入3、5、7分後は良好な麻酔状態を保っており、覚醒も迅速であり、心機能に影響はなかった。しかし、覚醒状態での検査は非生理的な、興奮による心臓の活動の増

大をもたらした。その他の麻酔薬は心拍数の有意な減少をもたらした。10mg/kgないし20mg/kgのエトミデートでは十分に麻酔がかからなかった。30mg/kgのエトミデートでは良好な麻酔状態になったが、心機能に影響を与え、覚醒にかかる時間も長かった。我々の結果から、ケタミン使用、および短時間の導入を行ったうえでイソフルラン使用のほうが、導入無しのイソフルラン使用、およびエトミデート使用よりも健康なマウスの心機能の評価するうえでより適切であると考えられる。（翻訳：小池 明人）

Lab Anim. 2013 47 (4) 284-290.
Lairez O1, Lonjaret L, Ruiz S, Marchal P, Franchitto N, Calise D, Fourcade O, Mialet-Perez J, Parini A, Minville V.



キーワード：ラット、心エコー検査、麻酔、ケタミン、イソフルラン、エトミデート、ばらつき

実験動物の年間（平成25年度）総販売数調査

公益社団法人日本実験動物協会

生産対策委員会

生産・販売量調査小委員会

I. はじめに

実験動物数の動向を知るには、供給者(生産者)サイドの販売状況を調査することが重要であると考え、当協会は昭和60年度(1985)の総販売数の調査を行い、以後昭和63年度(1988)、平成3年度(1991)、平成7年度(1995)、平成10年度(1998)、平成13年度(2001)、平成16年度(2004)、平成19年度(2007)及び平成22年度(2010)の調査を行ってきた。

今回も本調査の継続は更に重要であると考え、平成25年度(2013)の総販売数の調査を実施した。

本協会が実施した実験動物総販売数調査は、前回同様、当協会(日動協)の会員及び日本実験動物協同組合(実動協)の組合員並びに大学の附属動物実験施設等で実験動物を生産し供給している施設等を調査対象として、平成25年度(平成25年4月1日～平成26年3月31日)の総販売数についてアンケート方

式により実施した。

II. 調査対象

調査対象は表1及び表2に示したとおりである。今回は日動協会員(賛助会員を含む)20社、実動協組合員13社、大学動物実験施設5ヶ所、独立行政法人2ヶ所及びその他4ヶ所の計44ヶ所であり、うち43社から有効回答があった。

III. 調査結果概要

1. 前回調査との比較

平成25年度は平成22年度(前回の調査)と同様に一部の動物種を除いて減少傾向が見られる。

マウスにおいては前回の調査に比し、近交系と遺伝子改変は増えたものの、マウス全体では前回の調査に比して約24.8万匹減少(5.9%減)して396.2万匹となった。また、ラット全体では前回の調査に比し、42.7万匹減(25.9%減)の122.0万匹となっている。

モルモットは約6.1万匹(37.6%減)、ハムスター類は約3.8千匹(22.8%減)、ウサギは約3.0万匹(33.6%減)とそれぞれ減少し、それぞれ10.1万匹、1.3万匹、6.0万匹となっている。

イヌは約1.9千頭(22.7%)減少して6.4千頭となったが、ネコも数量は小さいものの117匹(17.4%)減少して554匹となった。各種動物が減少傾向にある中でブタは2,806頭で74.0%(1,193頭)の増加となった。

サル類はアンケート結果では平成25年度の販売数2,966頭で2.2%(66頭)減少したが、動物種別別輸出入検疫状況に基づく輸入検疫実績の報告では、平成25年は5,115頭でアンケート調査の数量の約1.7倍程度であった。これは使用者が直接又はアンケート先以外から輸入・仕入れして使用したサル類が相当数いることを示しているものと推察される。(表3、表4、表5、図1)

今回は大学動物実験施設5か所並びに独立行政法人2か所についてもアンケート調査を行なった。その結果、5施設において動物の配布をしていた。動物配布数量としてはマウス4,735匹(うち遺伝子改変マウス3,260匹)、ラット

表1. 平成25年度アンケート回答状況及び内容

区分	配布数(A)	回答数(B)	販売・配布	回答率(B/A)
会員・賛助会員	20	20	19	100
実動協会員	13	13	12	100
大学・独立行政法人	7	7	5	100
その他	4	3	3	75
合計	44	43	39	98

表2. アンケート調査対象の推移

	S60	S63	H3	H7	H10	H13	H16	H19	H22	H25
調査依頼数	81	87	66	65	57	52	66	52	44	44
有効回答数	64	68	52	57	54	49	64	52	44	43

564匹、ブタ79頭、シバヤギ76頭である。これら配布数量は販売数量に含めていない。

2. 平成7年を基準(100)とした変動
販売総数で見ると、各動物種とも減少傾向にある。その中でサル類は平成7年よりは増加しているが平成19年をピークに漸次減少傾向がみられる。ブタも平成10年をピークに減少傾向にあったが、平成25年には増加が認められた。また、マウスも微減しているが、遺伝子改変マウスは増加傾向を示しており、近交系およびミュータント系のマウスも比較的安定した販売数が認められる。(表6、図2)

3. 微生物統御区分で見た変動
今回も実験動物の微生物統御による区分けをコンベンショナル動物、クリーン動物及びSPF動物とした。全体として微生物統御が一

段と進み、クリーン動物の構成比率が減少して、SPF動物の構成比率が高くなっている。動物種別に見ると、マウスはコンベンショナル動物がほぼなくなり、SPF動物が98.6%を占めている。また、ラットもマウスと同様にコンベンショナル動物が0.1%、クリーン動物が1.1%と構成比率が低くなりなり、SPF動物が98.8%となっている。モルモットもSPF動物が88.1%となりSPF化が一段と進み、ハムスターは100%SPF化された。また、ウサギもコンベンショナル動物が6.4%から12.8%と増えたが、クリーン動物は61.2%から52.8%へと減り、SPF動物も32.4%から34.8%へ僅かに増えた程度で大きな変動はなかった。(表7、図3)

参考:平成16年度から平成25年度における実験動物を取り巻く状況
① 製薬会社が相次ぎ合併を行う。

(アステラス製薬、田辺三菱製薬、第一三共、協和キリン、他)
② 外資系製薬会社の研究所が相次ぎ閉鎖される(グラクソ・スミスクライン、ノバルティス、ファイザー、万有製薬)。
③ 日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控えについて(平成17年5月30日)
④ 「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」平成18年4月28日環境省告示第88号)
⑤ 「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日 農林水産省通知)
「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日 文部科学省告示第71号)
「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日 厚生労働省通知)

バイオ研究のパートナー
株式会社ケー・イー・シー

実験動物の飼育管理

研究者・技術者派遣

各種実験受託

- ◇ 遺伝子改変動物維持繁殖
- ◇ 薬理試験
- ◇ 病理標本作製
- ◇ 細胞培養
- ◇ 抗体作製

試薬提供

- ◇ 肝細胞
- ◇ ヒト肝セルラインHepaRG®
- ◇ ヒト組織・血液・皮膚
- ◇ 薬物トランスポーター

製品・受託試験

NEW ヒト脾臓β細胞セルライン
“EndoC-BH1 cells”

株式会社 ケー・イー・シー

□ 本社
〒604-8423
京都市中京区西ノ京西月光町40番地
TEL: 075-801-9311
FAX: 075-801-7688
E-mail: ac@kacnet.co.jp

□ 東京支社
〒110-0005
東京都台東区上野1丁目4-4
藤井ビル3F
TEL: 03-5807-7161
FAX: 03-5807-7163
E-mail: tokyo@kacnet.co.jp

□ 生物科学センター
〒520-3001
滋賀県栗東市東坂531-1
TEL: 077-558-3971
FAX: 077-558-3972
≪各種実験受託≫
E-mail: bseigyo@kacnet.co.jp
≪試薬提供≫
E-mail: shiyaku@kacnet.co.jp

詳しくは弊社ホームページをご覧ください

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

「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(平成18年6月1日日本学術会議)

⑥ リーマンショック(2008.9)による実体経済への波及

⑦ 東日本大震災(2011.3.11)及び計画停電

⑧ 山中教授がノーベル生理学・医学賞授賞(2012.12)

⑨ 「動物の愛護と管理に関する法律」改正(平成25年6月法律第38号)

⑩ 実験動物福祉の自主管理の推進に対して、公益社団法人日本実験動物協会、公益財団法人ヒュー

マンサイエンス振興財団、国動協・公私動協 合同検証委員会による「第三者による評価・認証制度」が始まる。

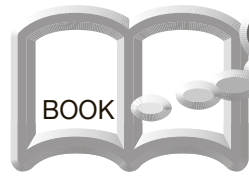
IV. 資料

1. 平成25年度実験動物販売数

表3.販売数総括表

動物種	コンベンショナル	クリーン	SPF	合計(増減、%)		参考 H22年度合計
マウス						
クローズドコロニー	0	53,643	1,557,211	1,610,854	(▼12.7)	1,844,778
近交系	0	1,965	1,805,855	1,807,820	(△0.3)	1,800,629
交雑群	0	0	123,875	123,875	(▼15.8)	147,140
ミュータント系	0	0	400,626	400,626	(▼0.1)	400,950
コンジェニック系	0	0	1,439	1,439	(▼54.4)	3,157
遺伝子改変	0	0	17,414	17,414	(△26.9)	13,721
マウス合計	0	55,608 (△41.3)	3,906,420 (▼6.3)	3,962,028	(▼5.9)	4,210,375
ラット						
クローズドコロニー	0	13,631	1,076,591	1,090,222	(▼25.4)	1,462,180
近交系	0	0	96,105	96,105	(▼37.7)	154,231
交雑群	0	0	0	0	(-)	0
ミュータント系	1,500	0	32,818	34,318	(△9.1)	31,445
ラット合計	1,500 (▼92.4)	13,631 (▼66.2)	1,205,514 (▼24.1)	1,220,645	(▼25.9)	1,647,856
モルモット	3,117 (▼0.6)	8,861 (▼73.3)	89,064 (▼29.2)	101,042	(▼37.6)	162,037
ハムスター類	0 (-)	0 (-)	13,039 (▼22.1)	13,039	(▼22.8)	16,885
その他のげっ歯類	0	0	2,081	2,081	(△7.6)	1,934
ウサギ	7,365 (△28.2)	31,597 (▼42.7)	20,841 (▼28.6)	59,803	(▼33.6)	90,104
イヌ	6,440	0	0	6,440	(▼22.7)	8,326
ネコ	237	184	133	554	(▼17.4)	671
サル類	2,966	0	0	2,966	(▼2.2)	3,032
ブタ	1,745	527	534	2,806	(△74.0)	1,613
ヤギ	36	0	0	36	(△157.1)	14
綿羊	18	0	0	18	(△28.6)	14
鳥類	2,822	0	6,779	9,601	(▼57.4)	22,524
その他の動物種						
哺乳類	268	0	0	268	(▼20.0)	335
哺乳類以外	5,776	0	0	5,776	(▼15.5)	6,837

1. 増減は前回(平成22年度)との比較。△:増 ▼:減
2. その他の動物種 I 哺乳類(スunks、フェレット)、II 哺乳類以外(両生類、魚類)
3. 鳥類においては卵72,921個を除く。



ほんのひとりごと

『もし、日本という国がなかったら』

ロジャー・パルバース著
(坂野由紀子訳)

株式会社集英社インターナショナル
1700円+税
(平成23年12月20日初版)

著者は、約半世紀日本在住の米人で、精力的に日本の文化、風土、言語の特異性などを探り、多数の文化人と親交、日本人と日本文化の独自性と優れた特質を掘り起こした人物である。本書は、その彼の集大成である。

最大の研究テーマは宮沢賢治であった。賢治の故郷・花巻で生活し、存命だった実弟を何度も訪ね、賢治の実像を求め、有識者と議論するなど賢治の研究に没頭した。彼の作品を海外へ紹介する等重ね、賢治は日本の代表的作家、賢治の心は世界遺産にも匹敵、との結論に至った。

大島渚、井上ひさし、小沢昭一、つかこうへいらとも交友、また高峰譲吉、杉原千畝、南方熊楠らを調査した。これら著名人だけでなく、市井の日本人が当たり前持つ無私の心、振る舞い、創造力さらには日本

語の素晴らしさなどにも異文化に育った独特の視点から、驚きを以て高い評価を与えている。大部分の日本人が知らない「国菌」という言葉も彼は紹介している。日本では「国歌」や「国花」同様、麴菌（アスペルギルス・オリゼイ）を国菌として定めているのである。こんな国は日本以外にはないそうだ。

図らずも、日本人自らの価値を教えてくれ、日本人に確固たる自信を与えてくれる好書である。

[選・評：大島 誠之助]

平成26年度認定 実験動物技術指導員及び準指導員

指導員認定(準指導員から指導員に認定) 6名

清水裕之	(株)武田ラビックス
吉原大輔	藤田保健衛生大学
成田卓二	(株)ボゾリサーチセンター
山本直土	長崎大学
外山治	東京ビジネスサービス(株)
大向英夫	(一財)食品薬品安全センター

指導員認定 11名

藤田順一	日本大学医学部
卯月誠	(株)ジェー・エー・シー
鈴木大介	(株)ボゾリサーチセンター
今井裕子	(株)ジェー・エー・シー
竹本滋俊	アステラスリサーチテクノロジー(株)
野崎祐次	日本エスエルシー(株)
堀真美	クミアイ化学工業(株)
長原美樹	中部大学
平川聡子	日本農薬(株)
上阪尚雄	(株)ケー・エー・シー
土橋悠	福島県立医科大学

技術準指導員認定 13名

尾崎順子	山形大学医学部
駒田孝文	千寿製薬(株)
新田静香	シオノギテクノアドバンスリサーチ(株)
山田淳士	(株)武田ラビックス
木下千江美	藤田保健衛生大学
杉本恭平	(株)ボゾリサーチセンター
原田顕範	北山ラベス(株)
上島和己	北山ラベス(株)
林貴代	日本チャールス・リバー(株)
久保田明衣	日本チャールス・リバー(株)
大竹俊男	慶應義塾大学医学部
野原正勝	日本獣医生命科学大学
白方有香	(株)ステリック再生医科学研究所

日本実験動物学会の動き

平成26年度(公社)日本実験動物学会 維持会員懇談会

日 時: 2014年11月21日(金) 13:30 ~
場 所: 中央大学 駿河台記念館(JR御茶ノ水駅より徒歩5分)
講演会: 無料
意見交換会: 5,000円/人
主 催: (公社)日本実験動物学会(企画:財務特別委員会)
後 援: 日本製薬工業協会 他

第3回実験動物科学シンポジウム

「ブタもたらす未来医療-移植・再生医学への応用をめざして-」
日 時: 2014年12月12日(金) 13:00 ~ 17:40
場 所: 山形テルサ(JR山形駅西口より徒歩3分)
参加費: 無料(当日参加は自由ですが、出来るだけ事前の参加登録をお願いします)
主 催: (公社)日本実験動物学会、東北動物実験研究会
懇親会: ホテルメトロポリタン山形(山形駅隣接)
18:00 ~ 20:00
6,000円/人(事前登録が必要です)

第4回実験動物管理者研修会

日 時: 2015年3月2日(月)、3日(火)
場 所: 国立感染症研究所第1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: 150名
その他: 受講者には資料を配布、受講修了証を発行
主 催: (公社)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

第62回日本実験動物学会総会

メインテーマ「社会に貢献する動物実験」
大会長: 喜多正和(京都市立医科大学)
日 時: 2015年5月28日(木) ~ 30日(土)
場 所: 京都テルサ

日本実験動物技術者協会の動き

第49回日本実験動物技術者協会総会のご案内

「第49回日本実験動物技術者協会総会 Shizuoka 2015」
会 期: 2015年10月9日(金) ~ 10月10日(土)
会 場: グランシップ(静岡県コンベンションアーツセンター) 静岡県静岡市駿河区池田 79-4
大会長: 前田 典彦(京都大学霊長類研究所)
副大会長: 前田 秀之(福井大学ライフサイエンス支援センター)
羽根田 千江美(藤田保健衛生大学疾患モデル教育研究センター)
大会事務局: 大山 貴之(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)

奥羽・東北支部

講習会等	期 日	場 所	テ ー マ
第25回東北動物実験研究会記念大会	12月12日(金) ~ 13日(土)	山形テルサ・アプローズ(山形市)	先端研究と動物実験-適正技術と動物実験倫理- http://sympo.adthree.net/tohoku2014/index.html 参照

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テ ー マ
動物福祉講演会	10月25日(土)	順天堂大学(東京都文京区)	「日本における実験動物倫理の再考」、「40年前の福祉と現在」、「エンリッチメントにつて」 http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照
実験動物の感染症と検査 および微生物クリーニング	10月31日(金) ~ 11月1日(土)	(公財)実験動物中央研究所(川崎市川崎区)	微生物クリーニング、微生物検査、帝王切開など http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照
イヌの取り扱いと 実験手技基礎	11月予定	慶應義塾大学信濃町キャンパス(東京都新宿区)	イヌを用いた基本的な取扱いと採血、投与などの手技、手術体験 http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照
第16回REG部会	11月8日(土)	順天堂大学(東京都文京区)	施設紹介、一般演題、特別講演、教育講演など http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照
第31回サル部会	2015年2月7日(土)	慶應義塾大学信濃町キャンパス(東京都新宿区)	「動物福祉に配慮した実験手技の実践 - Part2 -」、「実験用霊長類の輸入状況と現状」など予定 http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照
平成26年度日本実験動物技術者協会関東支部総会 第40回懇談会	2015年3月7日(土)	川崎市予定	一般演題、シンポジウム、企業協賛セミナー、支部40周年記念セッションなど http://www.jaeat-kanto.jp/ 参照

東海支部

講習会等	期 日	場 所	テ ー マ
実験動物技術講習会	11月8日(土)	名古屋市立大学(名古屋市)	小動物を用いた実技を中心とした講習会 http://www.jaeat-tokai.org/ 参照

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テ ー マ
平成26年度関西支部秋季 広島大会	11月29日(土) ~ 30日(日)	サテライトキャンパスひろしま(広島市)	新たな展開-3Rsの実践、実験動物と動物実験
平成26年度春季大会・関西支部総会	2015年3月予定	大阪の予定	未定

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。

日本実験動物技術者協会の動き

九州支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第34回九州支部研究発表会・ 第32回九州実験動物研究会 総会共同開催	10月25日(土)～ 26日(日)	宮崎観光ホテル	一般演題及び日常業務の最前線と題して、日常業務におけるちょっとした工夫点や問題点、失敗談等についての発表、特別講演、シンポジウム等の講演会を予定しています。

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。

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
技術指導員の面接審査	26.7.1	協会会議室
福祉委員会と福祉調査・評価委員会合同打合せ	26.7.4	情報公開について他
第1回教育・認定委員会	26.7.7	研修会の計画等について
感染症の診断・予防実技研修	26.7.11～12	モニタリング研修会(実験動物中央研究所)
第1回福祉調査・評価委員会	26.7.15	本年度の調査日程等について
第2回モニタリング技術委員会	26.7.18	実験動物の微生物モニタリングマニュアルの改訂について
試験問題作成小委員会	26.7.20	1級、2級技術者学科問題の作成
実験動物2級技術者学科試験	26.8.17	全国15か所
生産・販売調査小委員会	26.8.19	平成25年度実験動物の年間販売数調査について
第1回試験採点・合否判定小委員会	26.8.26	実験動物2級技術者学科試験の判定
通信教育スクーリング(東京、京都)	26.8.30～31	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物高度技術者研修会(白河研修会)	26.9.8～12	(独)家畜改良センター研修所
実験動物1級技術者学科試験	26.9.13	白河、東京、大阪 他
第1回実験動物福祉委員会	26.9.17	情報公開について他
第2回情報委員会	26.9.26	LABIO 21のNo.59の企画他
第2回試験採点・合否判定小委員会	26.9.30	実験動物1級技術者学科試験他の判定
第2回教育・認定委員会	26.9.30	技術指導員更新、教育セミナーについて他

2. 行事予定

行事	開催日	場所
モルモット・ウサギ・サル類・ブタ「実技研修会」	26.11.8～9	日本獣医生命科学大学
実験動物2級技術者実技試験	26.12.6	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	26.12.7	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
教育セミナーフォーラム2015(東京)	27.2.28	東京大学弥生講堂
技術指導員研修会	27.3.1	日本獣医生命科学大学
教育セミナーフォーラム2015(京都)	27.3.21	京都府立医科大学

3. 関係団体行事

- ◆ 日本実験動物代替法学会第27回大会
日 時：2014年12月5～7日
会 場：横浜国立大学
大会長：板垣 宏(横浜国立大学)
- ◆ 第43回日本免疫学会学術集会
日 時：2014年12月10～12日
会 場：国立京都国際会館
会 長：湊 長博(京都大学)
- ◆ 第43回東北動物実験研究会記念大会
日 時：2014年12月12～13日
会 場：山形テルサ・アプローズ
会 長：大和田 一雄(山形大学)
- ◆ 第3回実験動物科学シンポジウム
日 時：2014年12月12～13日
会 場：山形テルサ・アプローズ
主 催：日本実験動物学会
- ◆ 第62回日本実験動物学会総会
日 時：2015年5月28～30日
会 場：京都テルサ
大会長：喜多 正和(京都府立医科大学)
- ◆ 第49回日本実験動物技術者協会総会 Shizuoka 2015
日 時：2015年10月9～10日
会 場：静岡県コンベンションアーツセンター
大会長：前田 典彦(京都大学霊長類研究所)

4. 海外行事

◆ 第65回 AALAS National Meeting

日時：2014年10月19～23日
会場：San Antonio Texas
詳細：<http://www.nationalmeeting.aalas.org/>

◆ 第6回 AFLAS Congress 2014

日時：2014年10月11～12日
会場：Kuala Lumpur, Malaysia

ブタの実技研修会開催について

日動協ではマウス・ラット、モルモット、ウサギ、サル類の実技研修を開催していましたが、本年度はこれに加え、ブタの実技研修会を開催する予定です。その理由は次の通りです。

- ①実験動物1級技術者の受験者が最近増えていること
- ②実験動物販売数調査によればブタの販売頭数が増えていること
- ③ブタの研修会を開催することにより技術者を養成して欲しいとの要望があること

記

開催予定日：平成26年11月8日（土）～9日（日）
場所：日本獣医生命科学大学
参加者：12名程度（1級、2級技術者レベルを同時に実施予定）
研修内容：ハンドリング、保定、性別判定、体重測定、体温測定、心拍測定、
投与（経口、皮下、静脈内、筋肉内等）、採血（耳介静脈、前大静脈叢）、麻酔、切皮・縫合等
実習テキスト：公益社団法人日本実験動物協会教育・認定委員会発行、A4版、18頁

KAZE

当たり前のようになった酷暑もようやく一息つく気配が見えてきた。しかし今年の夏の西日本では観測史上類を觀ない豪雨による災害が相次ぎ、多くの犠牲者をだすことになってしまった。犠牲者といえばウクライナ上空でのマレーシア航空機撃墜でも多くの乗員乗客が尊い命を失った。尊い命はイラクのイスラム国による残虐行為によっても数多く失われている。またガザ地区の空爆では子供たちを含む多数の非戦闘員が犠牲となっている。実験動物をはじめとして近年では動物福祉が盛んに説かれ実践されている。3Rやファイヴフリーダムはその中心をなす考え方だ。しかしこれら世界の紛争地域での生活を強いられている人々に、これらの権利は保障されているのだろうか。6月に訪れたプノンペン、ツオルスレン虐殺博物館では人間の仕業とは思えない残虐行為のあったことを目の当たりにした。60年代に大ヒットしたボブディランの「風に吹かれて」の歌詞に「どれだけの砲弾を発射すれば、武器を永久に廃絶する気になるのか」というくだりがあるが、まさに同じ疑問が湧いてくる。この歌詞では結局答えは風に吹かれて漂っているだけだが、一陣の風が世界中の紛争を吹き飛ばしてくれる時が来ることを願うのは、現実離れしているのだろうか。この疑問の答えもまた、ただ風に吹かれているだけかもしれない。

〔山田 章雄〕

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
〃	関 武浩	TAKEHIRO SEKI
〃	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