

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

昭和63年 6 月 4 号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

< 第 1 2 回 研 究 会 >

会員の研究発表	1
---------------	---

< 第 1 3 回 研 究 会 >

講 演 会

1. 「 ハルピン医科大学における実験動物事情」	
柳 英 俠 (ハルピン医大)	12
2. 「中国実験動物の現況」	
中 村 信 義 (生物科学開発)	18
中村信義氏講演要約	24

< 第 1 4 回 研 究 会 >

学 術 講 演 会

「移植免疫、癌免疫の制御へのアプローチ」

1. がん免疫療法の新しい動向	
濱 岡 利 之 (大阪大学医学部 癌研)	29
2. アロ抗原の経門脈投与による抗アロ免疫応答の寛容誘導と 移植免疫への応用	
藤 原 大 美 (大阪大学医学部 癌研)	35

< そ の 他 >

関西実験動物研究会だより	43
総会・ 評議員会議事概要	43
会員の動き	44
書 評	45

編 集 後 記

＜第 1 2 回研究会＞

会員の研究発表

日 時： 昭和61年12月12日（金）

場 所： 大津市警察会館おおみ荘

1. ラット涙液蛋白の2遺伝的多型
2. ラットAngiotensinogen遺伝子のRFLP
3. Waardenburg症候群モデルネコおよびイヌ：眼および耳の組織学的観察
4. 遺伝性高脂血症ラットの長期飼育
5. SDラットにみられた赤白血病
6. F344ラットの精巣間細胞腫の発生に及ぼすテストステロン、エストロゲンおよびLH-RHアナログの長期投与の影響
7. ラットを用いての振動反応方式による自発運動量の測定および特徴
8. ハムスターのアルコール嗜好性について
9. ネコの電気射精法による精液の性状（予報）
10. 授精卵移植によるPasteurella pneumotropicaの除去
11. 動物実験施設の実験環境保全の問題点——施設運営20年の経験を通じて

1 ラット涙液蛋白の2遺伝的多型

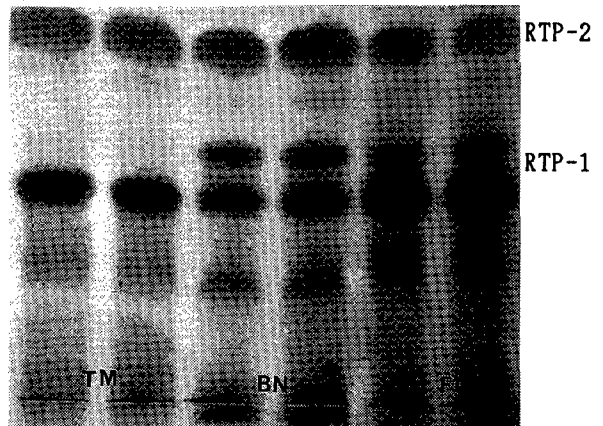
近藤 靖、浜田 修一、芹川 忠夫、山田 淳三（京大・医・動物施設）

ヒトやマウスの涙液蛋白中に遺伝的多型のあることが報告されている。我々はこれらの涙液蛋白検出法を応用して、ラットの涙液蛋白を電気泳動したところ、2つの遺伝的多型（Rtp-1, Rtp-2）を見出した。

ラットは京大・医学部・動物施設で維持されているACI, BN, DONRYU, IS, K:W, LEW SHR, TM, WAGおよびWMの10系統を用いた。涙液は0.1%塩酸ピロカルピン約1mlをラットに皮下投与した後、漏出してくるものを採取した。採取された涙液は生理食塩液で2から4倍に希釈して、これを泳動用試料とした。電気泳動は1.4% agarose gelを支持体として、barbital buffer system (pH8.6)を用い、4mA、4°C、1hr.の条件で行なった。染色はCoomassie brilliant blue G-250で行なった。

R t p - 1 : 写真で示したように、陽極側中域に2本のbandを持つ系統（RTP-1A型）と1本のみbandを持つ系統（RTP-1B型）に分けられ、この系統分布はMup-1の系統分布と完全に一致していた。BN(A型)とTM(B型)のF₁はすべて2本band（AB型あるいはA型）を示した。[(BN×TM)×TM] backcross progenyでは1:1に分離し、Mup-1と強くlinkしており、組換えは1例も認められなかった。また、抗MUP-1血清を用いた免疫固定法により、A型の陽極側のbandのみとB型の1本bandは検出された。以上の結果から、この蛋白は Rtp-1^aとRtp-1^bの2つの共優性対立遺伝子に支配され、これらは常染色体上の一遺伝子座に存在することが推定された。また、RTP-1はMUP-1と一部共通抗原を持つ蛋白であるが、Mup-1遺伝子の変更された産物、あるいは別の遺伝子産物かは検索中である。

R t p - 2 : 10の近交系ラットのうち9系統は最も陽極側に太い1本のbandを示したが（RTP-2A型）、SHRのみこのbandを欠いていた（RTP-2B型）。(SHR × ACI) F₁はすべてbandは検出され、[(SHR×ACI)×SHR] backcross progenyでは、ほぼ1:1に分離していた。このことからRtp-2はRtp-2^aとRtp-2^bの2つの対立遺伝子を持ち、Rtp-2^aがRtp-2^bに対して優性の単純なメンデル遺伝することが推定された。同じ backcross progenyを用いた linkage testの結果、Rtp-2はC(LG I)とゆるくlinkしている可能性が示唆された。



Zymogram of rat tear proteins

2 ラットAngiotensinogen遺伝子のRFLP

○森政之、芹川忠夫、山田淳三、(京大・医・動物実験施設)

近年、制限酵素で切断したヒト核DNAを、ラジオアイソトープでラベルしたある特定の遺伝子のcDNAでハイブリダイズして、RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism : 制限酵素断片長の多型) を求める研究が進み、これまでに150以上の多型が見付けられている。このRFLPは、実験動物ではまだ殆ど研究されていない。今回、ラットAngiotensinogen遺伝子のcDNAを用いてラットにおけるRFLPを検索し、新しい遺伝マーカーとしての有用性を検討した。材料と方法：動物は、京都大学医学部附属動物実験施設で維持されているACI,BN,IS,LEW,SHR,TM,W,WAG,WKSの9系統の近交系ラットを使用した。各近交系ラットの脾臓よりDNAを抽出精製し、その10 μ gを制限酵素で切断した。制限酵素は、BamHI,EcoRI,Hind III,Kpn I,Pst Iを使用した。切断したDNAをアガロースゲル電気泳動した後、サザン・トランスファー法により、DNAをナイロンフィルターに移した。その後、ニックトランスレーション法により³²PラベルされたラットAngiotensinogenのcDNAをプローブとしてハイブリダイゼーションを行った。このcDNAは、京都大学医学部附属免疫研究施設の中西教授から分与して頂いた。その後、オートラジオグラフィーにより、DNAフラグメントの位置を検出した。結果：得られた結果を下の表に示した。考察：今回の実験では、9系統の近交系ラット間に、使用した5種類の制限酵素 (BamHI,EcoRI,Hind III,KpnI,PstI)の内、3種類の制限酵素(EcoRI,Hind III,PstI)についてRFLPを検出することができた。今回検出されたRFLPは、ラットの遺伝マーカーとして有用であると思われる。今後、生化学的標識遺伝子との連鎖と、in situ ハイブリダイゼーションによるこの遺伝子の染色体への当てはめについての検索を進めたい。また、他のcDNAと制限酵素とを用いることにより、多くのRFLPが見付き、ラットの遺伝学がさらに発展することが期待される。

Table. RFLP of angiotensinogen gene in 9 inbred strains
(unit : kb)

	ACI	BN	IS	LEW	SHR	TM	W	WAG	WKS
BamHI	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7	3.7 2.5 1.7
EcoRI	19.0	19.0	19.0	14.5	14.5	19.0	19.0	19.0	19.0
HindIII	19.5	18.5	18.5	17.5	18.5	21.5	19.5	21.5	21.5
KpnI	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0	ND	ND	27.0	ND
PstI	2.5 1.9 1.0 0.6	2.7 1.9 1.0 0.6	2.5 1.9 1.0 0.6	2.5 1.9 1.0 0.6	2.5 1.9 1.0 0.6	2.5 1.9 1.0 0.6	2.7 1.9 1.0 0.6	2.5 1.9 1.0 0.6	2.7 1.9 1.0 0.6

3 Waardenburg 症候群モデルネコおよびイヌ：眼および耳の組

織学的観察

片山泰人、*水川公直、森 昭胤（岡山大・医・脳研機能生化、*第1解剖）

秋定 健、折田洋造（川崎医大・耳鼻咽喉科）

Waardenburg 症候群は、単一遺伝子による常染色体優性遺伝で、内眼角部と涙点の側方偏位・鼻根部の過発達・両側眉毛の過発達（合流）・前頭部の白髪・先天性高度難聴（聾）および虹彩異色症（色素欠損）の症状を特徴とする疾患である。この遺伝子の浸透率が高いが完全ではなく、その表現度は低く、本遺伝子は第9染色体上に存在している。本症候群の症状を示すネコやイヌの存在が知られており、その遺伝様式はヒトと同様の常染色体優性遺伝で、全身白毛・前頭部の黒色毛・先天性高度難聴（聾）・虹彩異色症・斜視・嗅覚減退等の症状を特徴としている。本症候群の症状を示す聾のネコおよびイヌの眼並びに耳の組織学的観察を行った。

【方法】聴覚検査（ABR）により聾であることを確認した動物をペントバルビタール麻酔下に大動脈より3%グルタルアルデヒドで灌流固定を行い、左右の中耳、内耳および眼を摘出し、2%オスミウム酸で再固定し、組織標本作製した。

【結果と考察】眼の組織学的観察：（ネコ）眼の虹彩および脈絡膜を電子顕微鏡を用いて観察した結果、虹彩異色症側に色素顆粒およびタペータムの欠損が認められた。正常眼側では、タペータムの量は少なく、色素顆粒の形態も異常を示し、量も少なかった。他の組織には何ら異常を認めなかった。（イヌ）眼の脈絡膜を電子顕微鏡を用いて観察し、ネコと同様の結果を得た。

耳の組織学的観察：外耳、鼓膜、内耳（耳小骨・平衡斑・膨大部稜）などを観察した結果、何ら異常を認めなかった。内耳迷路の観察で、組織全体の萎縮、コルチ器の感音組織である内・外有毛細胞の欠損、蝸牛神経繊維の部分欠損などの異常を認めた。イヌでは蓋膜表面上にカルシウムの沈着を認めたが、ネコでは認めなかった。このことは内耳崩壊に種差の存在することを示唆している。

ネコやイヌのタペータムの主成分は亜鉛であり、メラニン形成に必須の金属でもある。亜鉛欠乏は嗅覚減退を引き起こすことも知られており、本疾患に亜鉛に関係する代謝異常が存在するのかもしれない。脈絡膜の色素顆粒とタペータムの欠損と内耳の組織崩壊との関係については不明であるが、本症候群の発症機構を考える上で重要な知見であると考えられる。

4 遺伝性高脂血症ラットの長期飼育

武下政一, 和田 功, 湊 良雄, 今泉和則, 須磨正人, 広原太七

南出伸司, 小嶋明廣, 岡庭 梓 (田辺製菓・安全性研究所)

遺伝性高脂血症ラット (THLR) は普通飼料給餌下で高脂血症を呈する近交系ラットである (藤波ら, 第18回日本実験動物学会発表)。なお本系統は無アルブミンラットとして知られている長瀬らの NAR と由来を同じくする。われわれは THLR 系ラットを長期飼育し, その死亡および体重推移, 臨床検査所見ならびに病理学的所見を SD 系ラットのそれらと比較した。

THLR 系ラットは自家繁殖で16代継代した動物を, 対照の SD 系ラットは静岡県実験動物農業共同組合より6週齢で購入した動物を用い, これらの動物をバリアーシステムの環境下で個別飼育し飼料 (CE-2) と水を自由に摂取させた。これらの動物のうち24カ月齢剖検予定群として THLR 系ラットおよび SD 系ラットの雌雄各20匹を宛て死亡および体重推移を観察し, そのうち生存例10匹について臨床検査および病理組織学的検査を実施した。さらに2, 6, 12 および18カ月齢の雌雄各10匹を途中殺処分し, 臨床検査および病理学的検査を実施した。

死亡は SD 系ラットでは雄9/20例, 雌6/20例, THLR 系では雄1/20例 8/20例であった。THLR 系ラットの死亡原因は下垂体腫瘍, 白血病などで, これらは THLR の死因として特徴的と考えられるものではなかった。体重推移は雄では全期間を通じて SD 系ラットと THLR 系ラットの間に差は認められなかったが, 雌では25週齢まで THLR 系ラットが SD 系ラットを上回りそれ以降は SD 系ラットが THLR 系ラットを上回った。

臨床検査では全観察期間を通じ雌雄の THLR 系ラットのアルブミン値は低値を示したが, 総蛋白量では SD 系ラットのそれとの間に差を認めなかった。全観察期間を通じ雌雄の THLR 系ラットの総コレステロール値, トリグリセライド値, リン脂質値は高値を示し, これらの値は加齢に伴って増加あるいは増加傾向を示した。

病理検査では THLR に特徴的な非腫瘍性的変化として, 腎臓のボウマン嚢上皮の立方化が雄では2カ月齢から認められ, その頻度は加齢に伴って増加し, 24カ月齢では殆ど全例に認めたが, 雌では24カ月齢の少数例に認めたにすぎなかった。さらに24カ月齢では糸球体および尿細管の硬化性的変化が雌雄に認められたが, 慢性腎症は SD 系ラットに比して軽度であった。24カ月齢の殆どの例の網膜に萎縮が認められ, その近傍の眼底動脈の内膜は肥厚を呈していた。その他に腎臓, 肺, 腸間膜の小血管および冠状動脈の内膜の肥厚が24カ月齢の THLR 系ラットに認められた。腫瘍性的病変としては副腎髓質の過形成あるいは褐色細胞腫が高い頻度で THLR 系ラットに認められた。

5 SDラットにみられた赤白血病

林 新茂, 野々山 孝, 八神 健一¹⁾, 浦野 徹²⁾, 宮脇 宏彰
(武田薬品・中研,¹⁾筑波大,²⁾熊本大・医)

赤白血病 Erythroleukemia (EL) は赤芽球系細胞および顆粒球系細胞の異常増殖に基づく造血器系腫瘍のひとつでマウス, ネコ, ヒトでは稀にみられるが, ラットにおける自然発生例の報告はない。我々は16週齢の雌SDラットに自然発生白血病を認め, 光顕, 電顕および免疫酵素組織化学的手法を用いて病理学的に検討した。

動物は10週齢 (平均体重180g) 時に静動協から購入し閉鎖環境下, 無処置飼育した20例中の1例で, 入手6週後 (16週齢) に著しい消瘦 (体重197g) と腹囲膨満ならびに軽度の貧血を示したため殺処分した。

剖検では脾臓および肝臓は高度に腫大し, 全身のリンパ節も腫大していた。また少量の黄色粘稠な腹水の貯留がみられた。血液検査では, 赤血球数 $4590000/\mu\text{L}$, 白血球数 $37200/\mu\text{L}$, ヘマトクリット値43%であった。

末梢血液の塗抹・ギムザ染色標本では, 大小不同の赤血球の外, 大型の円形ないし卵円型の核をもち, 細胞質が強い塩基性を示す赤芽球系細胞と大型のやや不整形の核をもち, 核小体および細胞質が比較的明るい顆粒球系細胞が多数みられた。これら腫瘍細胞はしばしば有糸分裂像を示した。

光顕的には腫瘍細胞はいずれも異型性の高い大きな核とわずかな細胞質からなり末梢血中, 骨髄, 脾臓, 肝臓およびリンパ節への浸潤増殖がとくに著しく, このためこれらの組織では本来の構造はほぼ完全に崩壊した。さらに腫瘍細胞は肺および腎臓の間質ならびに周辺脂肪組織にも軽度に浸潤し, ときに骨髄巨核球を混じていた。

電顕的には赤芽球系細胞はクロマチンに富む円形核をもち極めて豊富なりボゾームを特徴とし, 少数の細胞内小器官が集塊をなすものもみられた。一方, 顆粒球系細胞は核・細胞質比が大きく核小体が明瞭でクロマチンに乏しい類円形核を有し, 比較的豊富なりボゾームとわずかな細胞内小器官をもつ骨髄芽球様細胞が主で, これらの細胞には中心体, アウエル小体がみられるものもあった。また陥凹した大型の核をもち, 細胞質内に一次顆粒を有する前骨髄球様細胞もみられた。

免疫酵素組織化学的にはこれら腫瘍細胞の一部は抗ラットヘモグロビン抗体陽性を示し, とくに末梢血中に強かった。また, ごく一部はベルオキシダーゼ染色陽性であった。なお, いずれの腫瘍細胞もリンパ球に対する抗体には陰性であった。

以上の成績は, マウス, ネコなどのEL例に形態学的および免疫酵素組織化学的に極めて類似することから, 本症例はラットにおける自然発生ELであることが明らかとなった。

6 F344ラットの精巣間細胞腫の発生に及ぼすテストステロン、

エストロゲンおよびLHRHアナログの長期投与の影響

茶谷 文雄, 野々山 孝, 須藤 勝一, 宮脇 宏彰 (武田薬品・中研)

Fischer344ラットは加齢により高率に精巣間細胞腫が自然発生する。この腫瘍の発生に対するLHの関与をみるために、我々はF344ラットにテストステロン (T), エストラジオール 17β (E), およびLHRHアナログ (LA) を長期間投与して、ネガティブフィードバック系あるいは逆説的効果を介した低LH状態を作出し、精巣間細胞腫の発生に及ぼす影響について検討した。

〔材料および方法〕精巣間細胞腫の発生していない60週齢のF344/Jcl ラットを以下の4群 (1群8～9匹) に分け、88週齢で剖検した。1) Tを1cmの長さに充填したシリコンチューブ2本 (数か月間持続的にTを放出する) を背部皮下に埋めこむ群, 2) E (5mm×1本) を同様の方法で埋めこむ群, 3) LA (Leuprolideの徐放製剤, 5mg/kg) を4週間ごとに皮下投与する群, 4) 空チューブのみを埋めこむ対照群。これらの動物は剖検時に精巣を肉眼的に精査し、ホルマリン固定後、HE染色を行って組織学的に腫瘍の有無を検索した。

〔結果〕T, EおよびLAを28週間投与すると、血中LHレベルは対照群の $1/3 \sim 1/7$ に低下し、腫瘍の発生は肉眼的にも組織学的にも認められなかった (腫瘍発生率0%)。一方、対照群では全例に両側性に間細胞腫が発生し (腫瘍発生率100%)、多くの例で腫瘍が精巣の体積の半分以上を占めていた。

〔考察〕テストステロン、エストロゲンおよびLHRHアナログを長期持続投与して血中LHを低下させると腫瘍の発生が抑制されることから、F344ラットにおける精巣間細胞腫の発生にはLHが必要と推察される。

7 ラットを用いた振動反応方式による自発運動量の測定および特徴

○浅野 裕三、有行 史男、岡庭 梓（田辺製薬・安全研）

生殖試験における次世代の機能および行動の発達に関する検査法を確立する目的の一環として、今回我々は振動反応方式による自発運動量(SMA)測定装置の有用性および2系統(KBL:Wistar, Slc:SD)雄ラットのSMAの特徴について検討した。

材料と方法：装置を構成する4台の測定機間の感度を比較するために、3週齢のSD系ラット4匹を用い、24時間ごとに測定機を変えながら16日間連続してSMAを測定した。薬物(methamphetamine, MAP; apomorphine, APO)の急性効果はMAPの0.1~1 mg/kgを16週齢のSD系ラットに腹腔内投与して投与後180分間のSMAと、APOの0.01~1 mg/kgを8週齢のSD系ラットに皮下投与して投与後15から90分間のSMAにより検討した。本装置とAnimexによる測定感度を比較するために、両装置を用いてAPOの1~2mg/kgを7週齢のSD系ラットに皮下投与して、投与後15から60分間のSMAを測定した。2系統ラットのSMAは3~20週齢に各24時間測定した。

結果：4台の測定機間の比較では、ラット間および測定機間には有意な差がなかったので、4台の測定機の検出度は同等と判断された。薬物の急性効果ではMAPの0.3mg/kgに増加傾向を、MAPとAPOの1mg/kgに増加を示したが、APOの0.05~0.2mg/kgに減少を認めた。本装置とAnimexによる測定感度の比較ではAPO投与後15~45分と15~75分のSMAを用量群ごとに統計解析すると、対照群には有意差はなかったが、APO群ではいずれの時間・用量とも本装置がAnimexに比べ有意に増加した。なお、APO投与後の症状ではlicking、sniffingおよびbitingなどの常同行動を用量依存的に認めた。3~20週齢における両系統ラットのSMAの発達では、探索量は各週齢とも30~60分間持続する傾向を示した。また、24時間のSMAは3~11週齢間に経時的な増加を認めたが、11~20週齢間に差はなかった。SMAの日内変動では4週齢以降に暗期のSMAが増加するリズムを認めた。両系統間の比較では探索量はSD系の方が、24時間のSMAはWistar系の方が大である傾向を示した。

考察と結語：本装置は薬物の急性効果において、固有のSMA反応パターンを示したことから、本装置の有用性が確認された。また、本装置は水平と上下運動を一括して測定できるため、APO投与によって出現した常同行動をAnimexより数量的に把握しやすい特徴を明らかにした。生殖試験における次世代のSMAの測定は、探索行動に当たる測定後60分間のSMAを除くこと、SMAの増加する暗期を測定時間に含むことおよび24時間のSMAがプラトーとなる11~20週齢間に測定することが、ラットの安定したSMAを測定する条件であろうと考えられた。また、Wistar系とSD系ラットのSMAに系統差が認められたので、SMAの成績を評価するには使用動物の系統にも充分配慮する必要があるであろうと考えられた。

8 ハムスターのアルコール嗜好性について

山 本 好 男 (滋賀医大・法医学)

動物の自発摂取のよるアルコール醗酵状態あるいは依存状態を作出することを目的に、種々の動物のアルコール嗜好性を検討してきた。そのなかでシリアンハムスターは高濃度のアルコールに対し高い嗜好性を示し、アルコール摂取量も多大に興味深い動物である。今回は市販のハムスターを用いて、アルコール嗜好性について検討を加えた。

方法：供試動物はシリアンハムスターの成熟雌雄で、飼育環境は、温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、人工照明（12L：12D）とした。1）アルコール嗜好性の測定：雌雄各10匹のハムスターを金属ゲージ内に個別に収容し、水とアルコール水溶液を動物が自由に選択的に飲用できるように飲み口を設定した。1週間の馴化後2週間毎日定時に飲量を測定した。2）グルコース嗜好性：10%アルコールの代わりに等カロリー溶液として14.4%のグルコース水溶液を与え1）同様測定した。3）アルコール濃度を10%～50%（v/v）まで10%単位で増加させ、水とアルコール各濃度溶液の飲料を測定した。比較として等カロリーのグルコース濃度を14.4～72%に調整し、水とグルコース各濃度溶液を与えその飲量を測定した。4）雄性ハムスターを用いて、アルコール水溶液、グルコース水溶液及び水の三者を動物が自由選択的に飲用できるようにケージに設定し、アルコール濃度を10%～50%の5段階とし、各アルコール濃度に対応する等カロリーのグルコース水溶液、水の三者を動物に与え各々の飲量を測定した。

結果：1）ゴールデンハムスターのアルコール嗜好性は、雄性は $90.8 \pm 5.5\%$ 、雌性は $92.1 \pm 4.9\%$ と非常に高い値であり、1日当たりのアルコール摂取量は雌雄とも約 $7.8/\text{kg bw}$ であった。2）グルコース濃度溶液の嗜好性は、雄性 $62.9 \pm 9.1\%$ 、雌性 $67.4 \pm 8.8\%$ でアルコール嗜好性より低値であった。3）アルコール濃度を10、20、30、40、及び50%と変化させた際のアルコール嗜好性は各々90.0、87.7、83.2、50.5、及び43.1%であった。40%及び50%アルコール水溶液で嗜好性が急激に低下する傾向が見られた。一方、グルコースでは、濃度を14.4、28.8、43.2、57.6及び72.8%グルコース水溶液に最も高い嗜好性を示し、濃度が上昇するにつれて嗜好性の低下が認められた。4）各濃度アルコール水溶液、等カロリー溶液及び水の三者を自由選択的に自発摂取させた結果、アルコール水溶液の飲量は10%及び20%溶液で最も多量で以下濃度が増すにつれて減少し、グルコース溶液の飲量は、各濃度ともアルコールおよびグルコースの濃度が高くなるにつれて増加し、とくにアルコール濃度40%及び50%水溶液で著明であった。

9 ネコの電気射精法による精液の性状（予報）

○三日月幸治, 藤井金也, 及川弘, 林幸之(塩野義・油日)菅原七郎(東北大農)

我々は、さきにネコの精液採取法として人工腔法および電気射精法について検討し、後者が有利であることを確認した。雄ネコの精液性状は、雌ネコの発情期に依存して変動するとされており、オーストラリアでは非繁殖期は繁殖期に比べて精液量精子数ともに低いことが報告されている。今回我々は、電気射精法を用いて、日本では所謂非繁殖期とされる9-11月の雄ネコの精液性状についてしらべ、これが雄の繁殖性の選択に有用であるかについて検討した。

材料と方法： 電気刺激装置を作成した。100V電源に接続し、電圧調整器で所定量（2-8V）に調整した。ネコは塩酸ケタミンで麻酔を施したのち、グリセリンを塗布した電極棒をネコの直腸内に約9cm挿入し、2-5Vを1分間断続的に（1秒間通電、1秒間休止）6-8Vを2分間断続的に（2秒間通電、2秒間休止）刺激し、5分間休止後再び同様に刺激して精液を採取した。精液量と精子数を測定し、活力奇形等を観察した。

対象としたネコは、捕獲導入後3ヶ月以内（捕獲ネコ）と捕獲導入後1年以上飼育したネコであった。また同一ネコを1週間間隔で連続的に採取した場合についてもしらべた。

結果： 捕獲ネコでは精子の認められたものは、27頭中19頭（70%）で、その一頭あたりの精液量は、 $0.103 \pm 0.085 \text{ ml}$ ($m \pm SD$)（変動係数83%）、総精子数は、 $25.9 \pm 26.4 \times 10^6$ （106%）であった。飼育ネコでは精子の認められたものは、10頭中8頭（80%）で、精液量は、 $0.102 \pm 0.105 \text{ ml}$ （103%）、総精子数 $13.5 \pm 10.1 \times 10^6$ （74%）であった。両者とも、精液量、総精子数とも変動係数が高く個体差が大きい。精子数の多い個体は、活力などからみても繁殖能力があると推測された。同一個体について一週毎に連続的に採取した場合は、変動の高い個体あるいは低い個体が認められ一定の傾向が見られるものはなかった。

考察： 捕獲直後のネコと導入後1年以上飼育したネコで精液量と精子数に大差はみられず、活力からみると両者とも繁殖能力を有すると推測された。ただ一部に精液量、精子数などからみて繁殖性に疑問のある個体があった。

10 受精卵移植による*Pasteurella pneumotropica*の除去

塚原清志、橋本世津子、国本喜久子、三日月勝見、高橋恵子、

牧野 進、林 幸之（塩野義製薬・油日ラボラトリーズ）

我々はこれまでマウス・ラットのSPF化に子宮切断法を用いてきた。しかし、作出したSPFコロニーにおいて昭和53年*Pasteurella pneumotropica*の汚染が確認された。子宮内汚染率の高いことが*P. pneumotropica*汚染の原因と考えられたので、生産・原種部門では個別の手術用isolatorを考案し子宮切断術の前後に*P. pneumotropica*の検索を加えることにより*P. pneumotropica*の除去を行ってきた。しかし、育成部門はSPF動物室に40系統以上ものマウスを維持しており、上述の方法では多大の時間を必要とすることから今回受精卵移植法を用いてみた。

SPF動物室は5室からなり2室が*P. pneumotropica*陽性のマウス飼育室、2室がラット飼育室で*P. pneumotropica*陰性であった。このことから*P. pneumotropica*の伝播力が強くないものと考えられたので、以下のような手順で実験を行なった。SPF動物室の1室を消毒後*P. pneumotropica*陰性のマウス集団を搬入し受精卵移植用Recipientとして用いた。PMSG・hCGで過排卵誘起をしたDonor動物の卵管および子宮を妊娠4日目に取り出してMedium中（Penicillin 1000IU/ml、streptomycin 50 μ /mlを含む）に移しRecipient動物室に搬入した。Mediumで卵管および子宮を洗い流すことにより採取した受精卵は新しいMediumで1～2回洗浄後、偽妊娠3日目のRecipient子宮角に移植した。Recipient動物室における*P. pneumotropica*の検索は糞便をサンプルとして2週間間隔で行った。受精卵はDonor動物の*P. pneumotropica*汚染に関し無選択に採取したにもかかわらず、延べ305回の移植で汚染例は1例も認められなかった。

受精卵移植法は子宮切断法に比べ少人数で行い得ること、任意の時間帯に短時間で行い得ること等の長所を有することから、SPF動物の作出法の1つとして有用な方法と考えられた。

< 第 13 回 研究会 >

講 演 会

1. ハルビン医科大学における実験動物事情

柳 英 俠 (リュウ・エイキョウ: Liu Ying Xia)

(ハルビン医科大学 講師)

2. 中国実験動物の現況

中 村 信 義 (生物科学開発)

日 時 : 昭和62年3月14日(土)

場 所 : 京都教育文化センター

1. ハルビン医科大学における実験動物事情

ハルビン医科大学 柳 英 俠

司会: ただいまから研究会を開催いたします。なお本日は会長の山田先生が所用でちょっと座をはずされますので、私、及川でございますが急きょ司会を務めさせていただきます。

今日は演題が2つございますが、最初に『ハルビン医科大学における実験動物事情』という題で柳 英俠先生にご講演をお願いいたします。

柳 英俠先生のご略歴をご紹介します。1943年ハルビンでお生れになり、1967年ハルビン医科大学を卒業されました。1967年から79年にわたって黒竜江省の癌研究所の講師として、また臨床医師として活躍されました。その後1959年から、現在のハルビン医科大学実験動物センターの講師となられ、実験動物学を担当しておられます。昨年の6月から今年の6月まで慶応義塾大学医学部の訪問研究員として、ご研鑽になられております。

今日はお忙しいところ、我々のためにご講演いただくことになりました。柳先生は日本語が上手なんですけれど、通訳として次にご講演下さる中村先生がいらっしゃいますので、ご遠慮なくご発言いただきたいと思います。では、柳先生よろしく願いいたします。(拍手)

柳 英俠: 皆さん、こんにちは。私は柳でございます。ただ今から中国の実験動物事情について述べさせていただきます。

1960年以来、世界の先進国では実験動物学が、飛躍的に発展しています。ただし中国は政治動乱が長期的に続いて、科学技術と国民経済に悪い影響をもたらしました。例えば文化大革命

の時、多くの研究者は『我国は実験動物を発展させなければならない。今、外国の実験動物学は飛躍的に発展しているが、我が国実験動物の状態はだめだ!!』と考えていましたが、その考え方には『反動的学術権威』という罪名がつけられました。したがって、その当時、実験動物学の発展する可能性はほとんどありませんでした。文化大革命の時、中国の基調としては、ほとんど鎖国の状態になりました。

1976年、皆さんよくご存知の4人組が、極左労組を批判したので、科学技術領域においても、中国の研究者は、頻繁に外国の研究者と交流を始めました。実験動物については、実験に使われる動物のさまざまな因子が、厳格に統御されなければならないことが解りました。

したがって、医学・生物学の研究において、正確な成績を収め実験成績の再現性を保証するために、中国の研究者の間に、実験動物技術を発展させようという声が高まっています。これをきっかけに、中華人民共和国衛生部は、中国実験動物技術開発センターを整備しました。そして各地に実験動物センターが、次々と設立されています。

日本は中国の隣国です。長い歴史を通して両国は互いに強い影響を及ぼしあっています。実験動物学も例外ではありません。近年以来、日本に勉強に行く中国の研究者が多勢いますし、中国で実験動物に関する講義を行う日本の学者も少なくありません。中国実験動物技術開発センター主任の徐振国も、自ら日本で実験動物学を学んだことを皆さんよくご存知でしょう。

中国の実験動物学の教育は、田嶋嘉雄先生その他の共著による『実験動物学概論』を主な教科書とし、実験動物関係者でこの本を勉強しない人はほとんどおりません。日本で研究した中国の研究者が帰国する時、実験動物の種動物を持ち帰ることがしばしばあります。現在、日本から中国に伝えられた実験動物の多くは、近交系、クローズドコロニーなどの繁殖方法で維持されています。実験動物の領域でみると、日本は中国の先生と言っても過言ではないと思います。

衛生部は、今後重要な研究テーマにおいては、一定基準に合格した実験動物を使わなければ、その研究結果を認めないという文書を公布しました。そして衛生部が指定したグループによって、それぞれの実験動物施設に飼育されている実験動物をモニタリングし、合格しなければ、その動物を使うことができません。そのため各実験動物施設は、実験動物の遺伝、微生物、環境などの統御および実験動物関係者の教育を強めています。

私は、去年の6月30日に日本に来ましたので、最近の中国国内の状況をあまり知りませんが、実験動物学会は今年の4月に成立するそうです。ところが中国は発展途上の国ですから、先進的な施設を多く設置することは、容易なことではありません。現在、日本よりはるかに遅れているのが実状です。前島先生は、中国に行かれたことがあります。先生の話によると、今の中国の

実験動物の状態は、日本の60年代の状態ぐらいとのこと。日本でも、最初からうまく行ったわけではないと思いますので、皆様にも中国実験動物の実態が想像できると思います。

次に私の勤務しているハルビン医科大学について述べさせていただきます。ハルビン医科大学は、ハルビンの都市からやや離れた学府路（ガクフウロ）にあります。学府路は広くて長い大通りで、多くの大学があることで有名です。学府路をバスで30分くらい南へ行くと平房区（ピンファンシュ、中国読み）があります。平房区は昔の関東軍731部隊のあった場所で、そこで何千人かが残酷に殺されて、今もそのあとは展示館として残っています。

ハルビン医科大学は、1953年に成立しました。建物は中国古建の趣をもっています。大きな校庭に緑と花がいっぱいです。ハルビン医科大学は、5年制です。基礎医学部、予防医学部、医療学部、外国語医学部などがあります。付属部門としては、第1病院、第2病院、癌センター、地方病研究所などを含んでいます。大学の教授、助教授、講師の中には、アメリカ、ソビエト、日本、ドイツ、イギリス、カナダなどの国に留学したものが多いです。

ハルビン医科大学は、日本との関係が一番深い大学と言ってよいようです。先輩の教師の中には、日本の教育を受けた人が多く、昔は日本人の教師がいたこともあります。また日本には、ハルビン医科大学同窓会のメンバーもいます。毎年ハルビン医科大学に講演にくる日本人の学者が多勢おり、ハルビン医科大学の研究者もたえず日本に研修に行きます。例えば北海道の小林先生、阪大微研の加藤先生、愛知県癌センターの西塚先生は、ハルビン医科大学の有名な友人です。もちろんこのたびの勉強を通して、私の恩師の前島先生も、我が大学の友人になりました。

1953年、学校が誕生したときに、動物舎が創立されました。動物舎は、 $10,000\text{m}^2$ ぐらいの敷地を占めていますが、何回も改築をして、建築面積は $2,500\text{m}^2$ ぐらいです。そこで、マウス、ラット、モルモット、ウザギ、ヒツジ、ニワトリ、イヌ、カエル、サルなどの実験動物が飼育されています。

1984年に、その動物舎が実験動物センターに変わりました。センター長は助教授が担当しています。他に大学を卒業したものが4人おり、中等学校を卒業したものが2人います。飼育管理者の12人は、皆試験をしてから任用されたものです。獣医出身のものは3人います。センターに飼育している実験動物の多くは、学生実習用の訓練用の動物ですが、研究に使う動物は皆、近交系、クローズドコロニーのSPF動物です。ただし無菌動物はまだいません。

1986年、古い動物舎を基地として、新しい $2,500\text{m}^2$ の実験動物施設を建てる予定ですが、古い動物舎も残されることになります。学生実習用の動物がたくさん必要だからです。それに中国は広く、交通も不便ですので、遠いところから動物を導入することはかなり困難です。

そこでハルビン医科大学の実験動物は自給自足を原則として、外部から買うことはほとんどありません。研究用の動物は、必要性によって外部から購入する場合があります。また、今年から学生に実験動物の授業を始める予定です。

学術活動として、1986年に黒竜江省実験動物研究会が成立しました。また黒竜江省、吉林省、遼寧省の3省が互いに相談して、1年に1回学術活動を行います。さて、私が、実験動物という専門を研究するのは、この分野が新しいし、それに自分自身興味をもっているからです。

1985年、WHOの試験をパスして、去年6月30日に来日しました。中国を離れるまで、大学の実験動物センターの仕事に忙しくて、中国国内の実験動物状況はまだ調べていませんので、詳しく紹介はできません。中国全国の実験動物の状況は、中村先生に話していただきます。私は、日本に来てから、特に前島先生の親切的な指導によって得るところが多いです。おかげでいたるところを見学でき、百聞一見にしかずといった気持ちです。現在の日本の実験動物のレベルは、本当にすばらしい感じがします。今後、皆様のご指導、ご支援をいただければ幸いです。最後に、関西各地を見学することができ、皆様にいろいろお世話になったことにお礼を申し上げます。ありがとうございました。（拍手）

司会： どうもありがとうございました。今のお話あるいはその他のことについて、何かご質問がありましたらお願いいたします。

質問： それでは、一つ質問させていただきます。今、我国では反動物実験運動すなわち動物実験に反対する運動というのが起ってきまして、我々は、非常に頭を痛めているわけですが、中国ではそういうことがすでに起った事例があるか、あるいは今後、起こる可能性があるかどうかまず一点お聞きます。つづいて、今我国のイヌの実験は、ほとんど野犬を使って行われています。野犬というのは、かつてペットだった動物ですので、ここに非常に批判が多いわけです。そうしますとイヌの実験を何か他の動物に振り変えねばいけないわけで、私自身はブタが適当ではなかろうかと考えています。中国にはいろんな種類のブタがいるわけで、ブタの実験動物化といった動きが、中国に今あるのかどうか教えて下さい。

柳： ただいまの質問は、実験動物の福祉の問題のようです。中国の実験動物は、まだ初級の状態だと思いますが、実験動物の福祉については、中国実験動物開発センターの文書、法規についての文書も公布しました。けれどもこれを重視している人はまだ少ないですし、世の中の人

『実験動物とは何か』という概念がまだわかりません。したがって動物実験はどう行うべきかと、実験動物の福祉についてはまだ考えていないのが実状だと思います。

ブタの実験動物化については、ブタは実験動物としてあまり使われていない状態です。

質問： 今のご質問で、イヌについてのご意見があったんですが、イヌはどんな使われ方をしているのか、あるいはどのくらい使われているのかについてはどうですか。

柳： 学生実験のイヌは、毎年たくさん使います。イヌの供給、どこから導入するかを説明いたします。中国では都市でイヌを飼うことが許されていませんが、田舎では自由に飼っても大丈夫です。したがってハルビン医科大学は、田舎からイヌを買ってきて飼育管理している状態です。

質問： 今話された都市でイヌを飼えないという理由は何ですか。都市の美観、美しさを保つためですか。

柳： 環境衛生のためです。中国は日本とちょっと違ってまして、ペットの動物はほとんどいません。農家の人は番犬として飼っていますので、田舎にはたくさんイヌがいます。

質問： 都市にはイヌもいませんが、ネコもいませんね。北京とか上海とかハルビンには、ネコがいませんでしたね。

回答（中村信義）： 都市の中では、一般に環境衛生とかいろいろ規制がありまして、外に出してはいけません。家庭の中で飼うことは、特別の許可を受ければ飼ってもよろしい。ただしその家から外に出しますと、すぐ捕まえて処分してしまう。そういうことでネコもイヌも非常に少ないんですけど、ペットとして飼っている家庭もあります。

実験用の野犬ですが、これは農村で番犬として飼っているイヌでして、いわゆる日本でいう野良犬というのはありません。だいたい農村で農民が飼っているイヌを買い上げているといった状況です。

質問： 微生物学的モニタリングをしておられるとうかがいましたが、どういう項目についてやっておられますか。日本と同じですか。

柳： 中国の実験動物の状態は、初期ですから実験動物施設ごとの微生物のコントロールはまだだめです。中国実験動物技術開発センターが、定期的に各実験動物施設のいくつかのグループを検査して、合格、不合格のラベルを貼っている状態です。

質問： サルの使用状況と、どういうふうに捕まえてくるのかについて説明して下さい。

柳： ハルビン医科大学では、1984年に私が実験動物施設に入った当時、サルは一匹もいませんでした。サルは珍しい動物ですから、ある教授の研究テーマで必要になった時に、わざわざ南の方から買って使います。

質問： 普通には使っていないのですか。

柳： 普通、使わないです。ハルビン医科大学に学生用のサルはほとんどいません。

質問： たくさん使っている大学もありますか。

柳： ないようです。

質問： 中国以外のサル、アメリカとかアフリカのサル、外国からのサルはいないのですか。

柳： 外国のサルは、あまり見たことがありません。

司会： 他にご質問ございませんが。それでは柳先生、どうもありがとうございました。

柳： 皆さん、ありがとうございました。（拍手）

2. 中国実験動物の現況

生物科学開発 中村信義

司会： 引き続きまして『中国実験動物の現況』と題しまして、生物科学開発の中村信義先生にご講演をお願いいたします。中村先生は、ご存知の方も多いと思いますが、以前は日本クレア、実中研におられまして、その当時から世界の実験動物の事情、特に中国についてお詳しいと常々うかがっております。

生物科学開発を作られまして、特に中国との交流に力をおいてご活躍なさっております。この機会に今までのいろんなお話をうかがいたいとお呼びしましたところ、こころよくお引き受けいただきました。最初に、中村先生からご自身の自己紹介から始めていただきたいと思います。どうぞよろしくをお願いいたします。

中村： ただいまご紹介にあずかりました中村と申します。私は1931年に中国の大連というところで生まれまして、それからずっと終戦後まで中国に残りました。その後昭和30年に帰国して、武田薬品、実中研、クレアというふうになんと実験動物のことをやってまいりました。1983年に中国との実験動物関係の交流を重点的にやるために、クレアをやめまして現在にいたっております。

まず最初に、だいたいの中国の地理的なことをご理解いただきたいと思います。中国は日本に比べると非常に広い、だいたい日本の24倍の面積をもっています。私は旅大、大連で生まれて、戦後山東半島に技術抑留されまして、中国の国家が新しく成立した後、再度学校へ行かしまして、西安医科大学で医学を学びました。

その当時から実験動物関係のことには興味をもっていたんですが、日本に帰ってから、一貫して実験動物をやるようになったんです。中国との実験動物の交流に自分としては力を入れていきたいと考えまして現在、むこうとのいろんな関係の仕事をやっているわけです。

中国の実験動物は、先ほど柳先生からお話がありましたが、文化大革命によって、これは実験動物に限らず、いろんな研究所の破壊というものがあまして、私が1979年に再度中国を訪問したときは、実験動物というものはほとんど壊滅状態ということがわかりました。図1は現在の中国政府組織ですが、中国国务院（日本の内閣に相当）の中に国家科学技術委員会（日本の科学技術庁）があり、日本の農林水産省、通産省、それと厚生省に相当する各部があります。主に実験動物を使っているのは、衛生部とか化学工学部だとか農牧漁業部などです。

1983年以前は、それぞれの部（省）が直接こういった研究所を管轄していました。実験動

物はあらゆる基礎医学、医学、薬学などの面で非常に重要であるということを、国としても重要視しまして、国家科学技術委員会が実験動物を総轄して管理するということになりました。

1983年の9月、雲南省で全国の実験動物工作者会議というものを開きまして、国として実験動物を大々的に取り上げるという方針が決まったわけです。現在、国家科学技術委員会の中に実験動物科学開発センターというものがありまして、その主任が先ほど話に出ました徐振国先生です。昨年この実験動物科学開発センターは、もう一つの組織が拡大されまして、この委員会の中に生物工程センターいわゆるバイオテクノロジーセンターというものが新しくできまして、実験動物も、その組織の中に包含されることになりました。

実験動物のこれからの方針として、いわゆる中国の国家クラスの状態が直轄するセンターを全国に4カ所設置することにしました。一つは北京実験動物センターで、これは小動物とかモデル動物の繁殖・供給センターにする。現在名称としての組織はありますが、まだ実体はできておりません。

次に天津実験動物センター、これも小動物とか飼料の製造、供給をするもので、現在すでにいくつか施設ができておりまして、マウス、ラットの繁殖、供給を行っております。

次に上海実験動物研究センター、これは昨年の6月から新しい施設を建設し始めまして、現在建設中です。ここはウサギ、イヌ、サルなどの中動物の維持、繁殖、供給を重点的に行うセンターです。

それから霊長類センター、これは雲南省の西双版纳（シーサンパンナ）にありまして、ここが一番早くスタートしました。1982年ここで全国の実験動物工作者の会議をやって以来、建設が始まりまして、現在すでにアカゲザルがだいたい年間800から1200頭繁殖をしていると聞いております。一昨年の冬ですか、日本からも霊長類の視察団を派遣して、北京、上海、広東、雲南を視察しまして、その視察報告は薬業事報に詳しく載っております。

今までは国の直轄センターということですが、その他に地方の実験動物センター、これには衛生部、厚生省とか農林省とかそういった各省の重点センターを省ごとに作るものと、地域毎のセンターで、これは東北地区、河北、河東の地域に、地域性のセンターを作ろうというものです。これらの地域毎のセンターは、先に述べた国家クラスのセンターから、いわゆる種を導入して繁殖し、その地域に供給するというふうな構想です。

それから3番目に業種毎のセンターですね。これは製薬会社とか化学工業とか畜産、そういった日本で言いますと企業毎のセンターを作ろうという構想です。地方センターについては、衛生部（厚生省）の地方センターが、最近ぞくぞくと作られるようになっています。

その他に重点テーマを指定した研究機関があります。これには教育情報センターとして江蘇農學院があり、ここでは毎年全国から研習生を収容しまして、半年あるいは1年間の教育を行っております。一昨年、鹿児島大学の山内先生がここを訪れて、講演をしております。私も年に1回はここに行ってお話をしたりしております。

それから上海第一医学院、ここは現在上海医科大学となっていますが、中動物特にイヌを主体としたテーマをもって研究をしております。中国医学科学院これは小動物、マウス、ラット、無菌動物、SPFといった小動物を主体とした研究機関に指定されておまして北京にございます。

中国でも1980年代に入りまして、実験動物の組織が各地方毎にできつつありまして、その間にいろんな集会を行っております。1984年の4月には上海で、中国科学院の実験動物工作者会議があました。中国科学院というのは、ちょっと日本ではみあたらない組織でして、国家いわゆる内閣の統轄、下部ということではなく、全く独立した研究機関で、これはあらゆる分野にわたっております。物理、化学、医学、そういったあらゆる分野の科学研究を行うところで、全国には全部で150くらいのこの科学院の研究所がございます。そこで実験動物を担当している人達を集めた会議を行っております。

1982年の11月、全国の実験動物工作者会議の時以来、国家が実験動物を管轄するようになり、1983年の2月には、国家科学技術委員会の主催する全国の実験動物会議が行われております。83年の秋には、この会議で示された方向に基づいて衛生部（厚生省）の実験動物工作者会議が長春で行われました。この時には私も出席させていただきました。1983年の6月には、同じく長春で東北3省、いわゆる旧満州ですね。吉林省、黒龍江省、遼寧省この3省の実験動物工作者会議が行われております。

実験動物に関連した地方的な活動としては、いわゆる配合飼料工場と提携して実験動物の固型飼料を開発していくものがあり、現在上海市内ではこの配合飼料工場が固型飼料を製造して各研究機関に供給している段階になっております。それから機械工場と提携して器材の開発、製造を行うもの、これも上海が主体になってやっております。もちろん北京とかいろんな地方でもやっておりますが、まず最初にこれを手がけたのが上海でございます。

それから北京あるいは上海における無菌動物技術の開発、これは1981年に上海の生物製品研究所のチンテンバイさんが、実中研に来て無菌動物技術を修得して上海に帰って、それを独自の方法で始めたということです。北京でも中国医学科学院が、同様に国産のアイソレーター、国産のフィルターを使つての無菌動物技術を開発しております。

上海では1979年から実験動物に関する雑誌を毎月1回発行しております。中国で実験動物

に関連する専門雑誌というのは、上海が始めてであり、現在でもここにしかありません。実験動物の研究開発あるいはそういった論文の発表は、それぞれ微生物学会誌とか衛生学会誌とかそういった学会誌に発表しているのが現状でございます。

1984年に三井石油化学と国家科学技術委員長が提携しまして、TPXを使ったプラスチックケージを開発し、またこの金型とか材料は全部日本から導入して、TPXケージを蘇州で作っております。

中国の関連学会は、全国的な学会はまだできておりません。今年4月に全国の実験動物学会を設立するというのはこびになって、現在準備中だと聞いております。しかし地方では、それぞれの学会ができておりまして、一番早かったのがやはり上海の畜牧獣医学会の中に実験動物グループというものがありまして、1979年から活動しております。それから東北の吉林省では1982年に実験動物学会を作りました。1983年には北京、甘粛省といったところで学会を作っております。その他いわゆる広東などでも、このようなグループができていると聞いております。

文化大革命が終結して、中国国内の状況が安定してくるにつれて、実験動物の発展をめざして、日本へ視察に来たり、あるいは研修をしたり、また日本以外の外国へ、視察、研修に行くことが活発に行われるようになりました。柳先生もそうですが、1981年から日本には数多くの実験動物研修者が来て勉強しております。日本以外ではとくにアメリカが多いんですが、現在アメリカには各地方、各大学研究所から実験動物の研修に約20-30名は常時派遣されております。

それから、日本あるいはその他の外国から技術者を中国によんで、技術交流をしたり、研修、指導を行ったりすることも活発になってきました。中国国内でも、江蘇農学院では、毎年だいたい50-60名の研修者を集めて、半年あるいは1年の研修を行っております。

1979年、私が中国に行った時の主なマウスの系統は昆明（コンメイ）種でして、これは一昔前の日本におけるDDに相当するマウスです。これはインドからスイスマウスを導入して検定用に使っています。現在中国で一番多く使われているのがこの昆明種というマウスです。C3HとかC57、それにICRも日本から導入されて現在、北京、上海でも維持されております。ただ中国独自で作られた系統としてシンバク一号、これは天津医学院で開発された白血病の多発系統です。それから61号これは四川医学院の開発したもので、やはり白血病多発系統として使われております。現在、日本の実中研あるいはアメリカのNIHからいろんな近交系を導入して、いわゆる系統の統一化ということが計られております。

ラットは主にウイスターラットで、これが90%が使われております。その他テンカンラットというのがございました。ラットとかマウスを飼育する建物は、だいたい鉄筋コンクリートで壁は、レンガ作りです。日本の動物舎のような内廊下ではなくて、廊下が外側にある、いわゆるベランダ的な廊下になっております。普通大量に繁殖するところは別として、近交系の維持とかそういった少量のマウス、ラットの繁殖の場合は小部屋になっており、だいたい20m² くらいの面積です。

1970年代80年代の前半は、マウスの飼育ケージとして素焼きの壺を使っておりまして、だいたい平均1腹10匹くらい哺育させても非常にうまく哺育できるということです。この壺の中に雄雌一匹づつ入れまして、いわゆる追かけ妊娠とかそういう方法で繁殖しておりまして、離乳後はブリキの箱に入れて、30匹から50匹ぐらいで育成をするということです。壺は特に実験動物用として作ったものではありません。街で売っている壺を買ってきて使ってみると結果的に良かったので、マウスの飼育繁殖用として作り始めたということです。

ウサギはチンチラ、日本白色、ニュージーランドホワイトの3種類ありまして、架台はコンクリート製です。野外でただ屋根を作っただけの場所で繁殖、飼育をしております。北京など冬は零下10-15℃という寒い時期となりますが、寒い時期にはムシロをたらして換気をするということをやっておりますが、暖房はしておりません。架台にはワイパー式のものもありますが、ただモーターが悪くて騒音がものすごいです。

中国には霊長類の資源というのは非常に多くありまして、特にアカゲザルは豊富にあります。アカゲザルの分布は、チベットから甘粛省、湖北省、それから揚子江に沿った地帯、浙江省、福建省こういったところにわりと広い領域に生息しております。先ほど言いました雲南の霊長類センターといいますのは、ビルマとの国境の近くにあります。

昨年日本モンキーセンターが中国から借りたキンシコウですが、これは非常に珍しいサルなんです。これは貴州とか四川省一帯に非常に少数が生息しております。現在、捕獲禁止になっており、もちろん中国から外国に出すということは絶対許されないということです。

その他にベニガオザルが湖南省、四川省の一部に生息しております。テナガザルは、いろんなテナガザルの種類がありますが、だいたい雲南省一帯に生息しております。台湾ザルは、台湾にしか生息しておりません。

上海の実験動物センターのサルの繁殖場は、3階建のアパート形式です。1973年頃から日本に中国のアカゲザルを入れてもう10何年になりますが、だいたい400頭近くが日本に入っております。その半数がここで作られたサルです。その他雲南省とか福建省で捕獲あるいは繁殖

したものも日本に入っておりますが大半はここで作られたサルです。

上海医科大学は、重点テーマ研究機関としてイヌをテーマにとりあげています。中国にはイヌいわゆる雑犬はいますが、世界的に使われているビーグル犬がいないということで、1983年に私の方とこの医科大学との提携でアメリカからビーグルを導入して、ここで繁殖をしております。現在ここで生産したイヌを少数ですけど日本に入れて、薬理用のビーグルとして使っていただいております。ここのビーグル犬は、育成中または外部に供給する前にケージに収容していわゆるケージ飼育に慣らして外に出すという方法を採用しています。

中国の場合は、まだまだ各研究機関で動物を自家繁殖し、飼料も自家配合しておりまして、固型飼料もペレットマシーンを使って、それぞれの研究機関独自の配合で作っているという現状です。

次に動物器材の方になりますが、中国では器材の調達が非常にむずかしく、そういった専門の工場がないということで、上海では実験動物のグループが上海郊外にある工場と話し合いまして、実験動物設備・器材商を作り、上海一帯の施設に資材を納めております。ウサギの水洗架台とかオートクレーブも、ここの工場で作っております。

プラスチックのケージも作られるようになり、現在大きな研究所では、先ほど紹介しました素焼きの壺は、ほとんど使われなくなりまして、ポリプロピレン、TPXのケージがだんだん普及してきております。

上海とか蘇州あたりに実験動物の器材を作る工場ができてまして、一昨年の10月に北京において全国の実験動物器材展が開催されました。日本からも何社かがこれに参加しておりますが、その時には中国全国から40いくつかのメーカーが一同に会して、互いに技術の研鑽をしています。年々器材も良くなっております。

以上、簡単に7～8年前と現在の中国についてお話しましたが、中国の場合日本と違いまして、国がこうと決めたら非常に早く進んで行くわけで、私も8年前と現在では雲泥の差があると考えております。これから2～3年後にはもっともっと発展しているだろうし、各地に新しい施設ができているものと考えております。おおざっぱに話しましたが、一応私の話を終らせていただきます。

司会： どうもありがとうございました。（拍手）

附： 中国実験動物の現況要約

中国の実験動物科学の発展は、1979年頃から第一歩を踏み出したと言える。

1960年代に始まった10年余に亘る文化大革命によって、中国の科学文化は徹底的な破壊を受けたのである。

私は、1946年から1955年まで新中国で中国の人々と共に働き、医科大学に学んだ者として1979年3月、24年ぶりに中国を再訪し私の業務分野である当時の中国の実験動物の現状を観察したが、漸く正常に回復した世情の中で一部の実験動物に情熱を傾ける人々の手で緩慢ながら整備されつつあることを感じとった。

実験動物科学と言う分野一つをとってみても、中国の国土は広く、その発展の道は決して容易な事ではないと感じてはいたが、時々刻々と変化する会社環境への対応は、感心させられる事が多かった。

譬えば、空調設備等当時（現在も殆どがそうであるが）あるべくもなく、冬期のスチーム暖房以外は成り行きであった。しかし、マウス飼育室では素焼きの壺を使い室温度の急激な変化を緩和する工夫 写真1 をし立派な繁殖成績を挙げている事などから窺がえる。

日本と中国の実験動物に関する交流は、1979年3月、実中研、日本クレアの訪中交流から始まったといえる。この視察交流により翌年（1980年春）中国衛生部の代表五名を日本に招き、日本の現状を視察すると共に日本実験動物学会に参加した。更に1981年秋には、日本実験動物機材協議会の主催による訪中視察交流が実現し、中国の関係機関との交流を深めた。

これらの事が契機となり、中国各地で地域性の実験動物学会が設立（上海、吉林省、甘肅省、北京等）され、活発な活動が始められるようになってきた。

1982年にはいって、中国政府も実験動物の重要性を認め、1982年9月中国国家科学技術委員会（略称国家科委）は、衛生部、農牧漁業部、科学院の技術者五名をアメリカ、日本に派遣視察し中国実験動物の将来採るべき方向の参考とした。

この視察を基礎として、国家科委は1982年11月、雲南省西双版纳において全国実験動物工作者会議を招集し、今後の方針を打ち出した。

この会議で、全中国の実験動物科学に関連する組織を調整し取りまとめる行政機関として国家科委が当たり以下の事を行なうことが決められた。

1)、* 各業種及び地方の発展の為に布石並びにその進歩の度合いを調整する。

* 国家級（国家科委直轄）実験動物センターの設置

- * 関連法規の制定
- * 実験動物施設建設の審査
- * 実験動物の品質標準の認可
- * 外国との協力関係の調整

2)、* 総体的な組織機構として次の三つに区分する。

1. 国家級実験動物センター
2. 業種毎実験動物センター
3. 地域毎実験動物センター

そして、国家科委の実行組織として中国実験動物科学技術開発中心 (CLASTDC)が設立され具体的な業務を行なうこととなった。国家級センターは、北京 (SPF小動物、SPFニワトリ)、上海 (SPF小動物、モルモット、ウサギ、イヌ、マーモセット)、雲南省西双版纳 (アカゲザルを主体とした霊長類の維持、繁殖、中国原産霊長類の実験動物化) の3ヶ所が指定された。

西双版纳霊長類中心は、1983年より建設を開始し、1986年現在約800頭のアカゲザルが人工繁殖されている。中国におけるアカゲザルの人工繁殖は、中国科学院上海実験動物中心が1976年から始めており **写真2**、次いで浙江省で1981年より開始している。

北京実験動物研究中心は、まだ具体的な活動は行なっていない。上海実験動物研究中心は、1986年春より施設の建設を開始し、本年秋完成の予定である。

この外、重点的研究センターとして、江蘇農学院 (江蘇省楊州市) が情報教育センター、上海医科大学 (上海市) が中動物 (イヌ)、中国医学科学院 (北京市) が小動物の研究センターとしてそれぞれ指定され研究開発活動を行なっている。

中国における実験動物組織機構を (図1, 2) に示す。

1982年11月の第一回全国実験動物工作者会議以降、各地での活動は益々活発となり、1983年2月には第二回全国会議、1983年6月に東北三省 (黒竜江、吉林、遼寧) 実験動物会議、1983年9月衛生部全国会議、1984年4月中国科学院全国会議、1985年10月第三回全国実験動物会議並びに国際実験動物器材展示会、更には、本年4月には、中国実験動物学会設立総会が開かれる予定である。

一方、実験動物飼育機材の開発製造も活発化し、1982年頃よりプラスチックケージ (主としてPP) **写真3** が始め、従来の壺に取って替って来つつある。金属ケージ、ラック等の製造 **写真4** 供給は、上海、蘇州を中心として発展し、現在全国で三十数機関 (メーカー) が競争している。

実験動物用固型飼料は、当初小型ペレットマシンを使って各機関毎に処方し自家製造使用していたが、1984年頃から畜産配合飼料工場等が医科大学、研究機関の指導の下で大量生産供給を行なうようになった（上海）。

動物においても、自家維持、繁殖、使用の体制から専業の繁殖場から供給をうけて使用する所が増加している、中でも上海地区では郊外の農家が共同して月産2,000～3,000の規模で全国に出荷している。

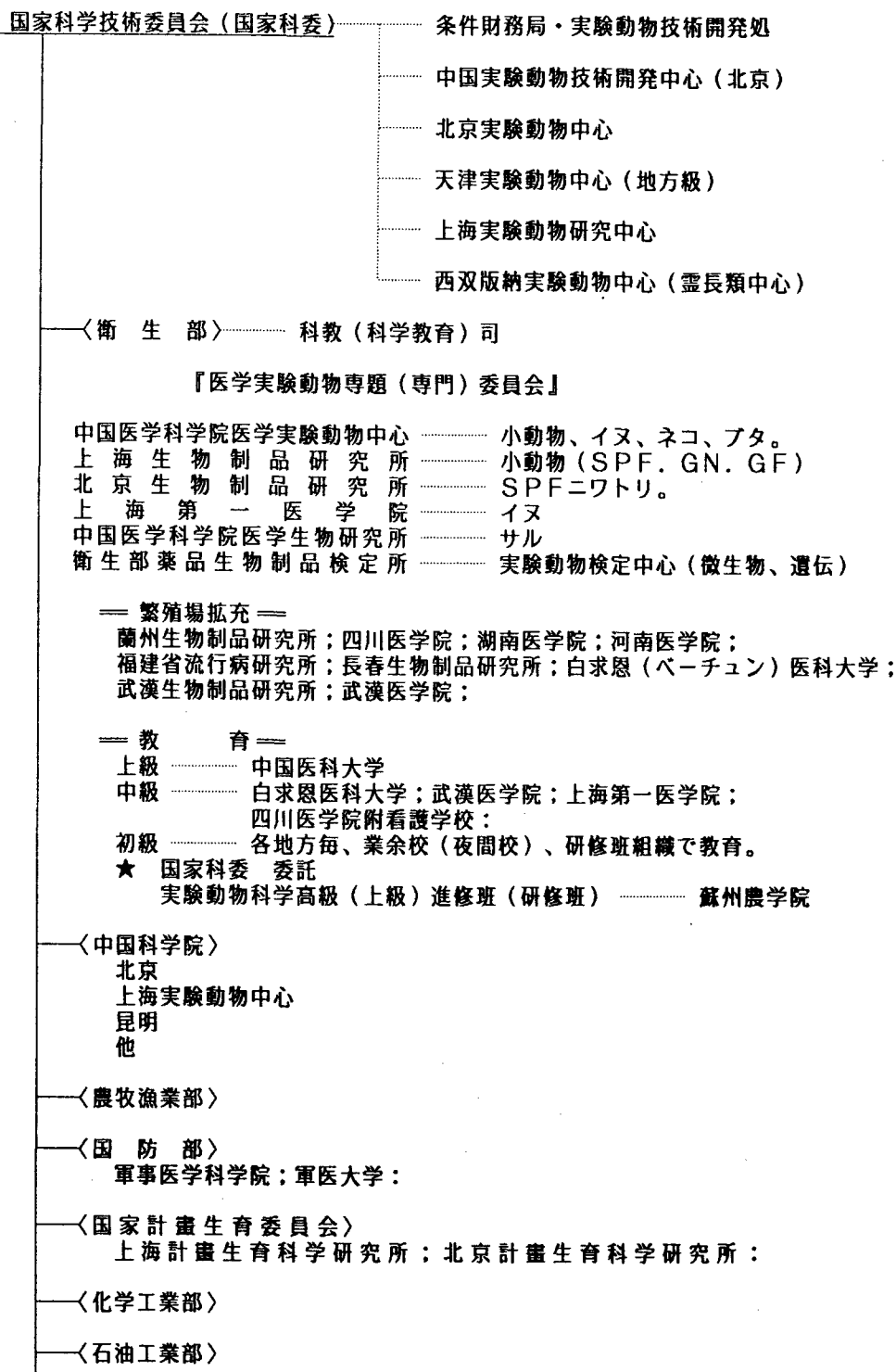
このように、中国では社会化と言われる所謂商業的な分業生産販売の傾向が見られ、それにつれて各メーカーの競争も激化しつつある。

実験動物の品質規格の統一は、実験動物の発展、近代化の重要な要素であるが、中国の場合もマウス、ラットの系統統一が一つの課題となっている。現在中国で最も多く使われている系統、種はマウスは昆明種といわれる1950年代インドから導入したスイス系マウスである。その他C3H、C57BL、DBA/2等が普遍的に使用されている。ラットはWistarが殆ど占めている。ウサギはチンチラ、NZW、日本白色種等である。

中国医学科学院、中国科学院、上海生物製品研究所等が中心となって、アメリカNIH、日本等から主要系統を導入育成し全国に広めよう意図している。又、微生物的品質の向上の為に、上海生物製品研究所、中国医学科学院において、ビニールアイソレータを開発し、無菌動物化からSPF化を進めている。SPF動物の繁殖はこれまで行なわれてなく、1982年に国連の援助による中国初のBARRIER SYSTEM 施設が化学工業部化工研究院（沈陽市）に建設されたがまだ稼動していない。中国化学院上海実験動物中心は、1984年より3階建延2,400m²の小動物BARRIER 施設を建設、1986年6月完成、内部設備等の準備を経て1987年6月より稼動する予定である。

中国の社会体制から、国家が重要と認め施策としてこれを取り上げた時、経済的にも体制的にも重点的に力を入れる為、その発展のスピードは加速的速やかに進められる。

1982年に国がスローガンを掲げ、まだ5年弱であるがその発展は見るべきものがある。中国全体を見ると1960年代の日本の状況に等しいが、一部には日本の現状と変わらない部分もある。現状の中国の実験動物への力の入れ方から見ると、建築技術の向上、設備機器、器具の性能向上につれ、遠からず日本の現状に接近することは間違いない。



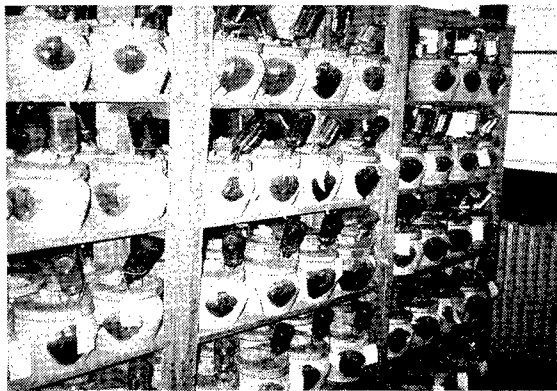


写真 1

写真 2

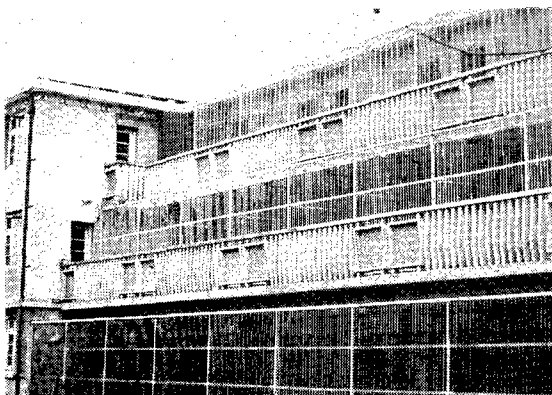
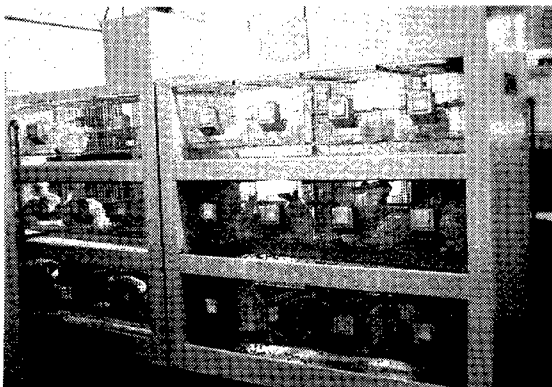


写真 3

写真 4



＜第 14 回研究会＞

学 術 講 演 会

「移植免疫、癌免疫の制御へのアプローチ」

1. がん免疫療法の新しい動向

大阪大学医学部 癌研 腫瘍発生学部門 濱 岡 利 之

2. アロ抗原の経門脈投与による抗アロ免疫応答の寛容誘導と移植免疫への応用

大阪大学医学部 癌研 腫瘍発生学部門 藤 原 大 美

日時： 昭和62年6月12日（金）

場所： 大阪科学技術センター

1. がん免疫療法の新しい動向

大阪大学医学部 癌研 腫瘍発生学部門 濱 岡 利 之

は じ め に

近年、実験動物腫瘍系で腫瘍特異免疫の存在が確認され、抗腫瘍性を発揮する種々のエフェクター細胞活性の誘導における免疫担当細胞間相互作用や、介在する各種リンフォカインの存在が明らかにされてきたがこれを将来、実際の腫瘍特異免疫療法にいかにつ結びつけていくかは、今後の癌研究が志向する一つの重要な研究課題である。

われわれはこれまで抗腫瘍免疫応答におけるリンフォカイン等が関与するT-T細胞間相互作用を詳しく解析し、その知見に基づき自家腫瘍の完全退縮をきたす腫瘍特異免疫誘導増強の原理やその実験事実を提出してきた¹⁻⁵⁾。すなわち、マウスに同系の可移植性腫瘍細胞を移植し担癌状態とした時、あらかじめ人工抗原決定基であるTrinitrophenyl (TNP) ハプテン基に反応性を有するヘルパーT細胞を宿主内に誘導しておいた後、増殖しつつある腫瘍塊内にTrinitrochlorobenzene (TNCB) をオリーブ油に溶解させ注入し、in situ で腫瘍細胞をハプテン化すると、腫瘍に対する特異的な免疫低抗性の誘導が増強され、高頻度に腫瘍の退縮が認められた。この現象とわれわれがこれまで報告してきたTNP基反応性ヘルパーT細胞と腫瘍抗原に特異的なエフェクターT細胞の間でT-T細胞間相互作用が惹起され、抗腫瘍エフェクターT細胞の生成が増強され、致死量の腫瘍細胞の攻撃接種に耐えうるin vivo 免疫能が獲得されるという実験結果とを考えると、その機構として担癌状態で宿主内で増強された腫瘍特異免疫機能の発現結果であると解釈される。ちなみにこのような腫瘍退縮マウスでは強い免疫低抗性が誘導されていることは、退縮マウ

スへの再攻撃接種に全例が耐えうることから、この事実が確認された。この原理はさらに自家癌の系にも応用することができた。すなわちメテルコラントレン誘発腫瘍をもったマウスに上記のハプテンの腫瘍塊内への注入というプロトコルを導入して治療を試みると、かなりの頻度の個体で腫瘍の退縮を認めることができた³⁾。この事実は腫瘍特異免疫療法の今後の発展に大きな期待を抱かせるものである。

本研究はこのようなT-T細胞間相互作用による腫瘍特異免疫誘導法をさらに発展させ、ヒトで将来実際に応用可能なBCG交叉反応性MDPハプテンを用い、これに対するヘルパーT細胞を誘導し、さらにこのMDPヘルパーT細胞活性を利用した腫瘍特異免疫療法のモデルを作成することを目的とした。

I. BCG交叉反応性MDPハプテン誘導体の開発

臨床的にBCGあるいはBCG関連物質は免疫アジュバント作用や、Biological Response Modifier (BRM)としての作用を示し、また、抗腫瘍活性をもしばしば示すことは以前から注目を集めている。またこれらの物質を担癌患者に実際に投与すると、ツベルクリン反応が陰転化していた者でも陽転化することも知られている。われわれはこのことに関連して、図1にその模式図を示しているように、BCGそのものあるいはBCG細胞壁をも含めて、BCG関連物質で免疫療法を行ったあとで出現するような、BCG構成成分に対して反応するT細胞の中で、BCGの細胞壁骨格の一部である muramyl dipeptide (MDP) -derivativeに対して反応性のヘルパーT細胞ができるであろうことを予測し、一連のMDP誘導体をスクリーニングし、あたかもTNPハプテンにおけるTNCBのごとく容易にMDP基が腫瘍細胞表面に結合しうる dicarboxyimide エステル化合物を合成した⁶⁾。すなわち、その原理はBCG免疫の結果生じる一連のBCG関連物質に反応性を示すT細胞群の中で、MDP基を結合させた腫瘍細胞に反応するものがないか、もしあるとすればどのようなMDPの関連構造物であれば、その反応性が最も強く検出されるかに焦点を合わせて解析をすすめた。

図2に今までにスクリーニングを終えた一連のMDP化合物を示しているが、その結果BCGに交叉反応性を示すL4-MDP(図3)を見出し、このハプテンを用いて抗腫瘍免疫の特異的増強を誘導し、以下に述べる腫瘍特異免疫療法のモデルに有効に利用しうることを明らかにした⁷⁾。

II. L4-MDPハプテンを用いた固形腫瘍の特異免疫療法モデルの確立

まず、L4-MDPハプテンを用いた固形腫瘍の in situ hapten modification による腫瘍

特異免疫療法樹立の可能性について検討した。すなわち、C3H/He マウスおよび同系腫瘍 X5563 骨髄腫を用いて、あらかじめ BCG に感作されたマウスに 10^6 個の腫瘍細胞を背部皮内に移植し、腫瘍が直径 7~10mm に達した 7 日目に腫瘍塊内に図 3 に示した活性エステル体の L4-MDP を注入した。

結果を図に示すごとく、BCG 非感作群では L4-MDP ハプテンの注入によって腫瘍の増殖に有為な変化が認められなかったが、BCG 感作群においては、半数の固体に腫瘍の退縮および完全治癒を認めることができた。結果は示していないが、このように腫瘍が退縮したマウスでは強い X5563 腫瘍特異免疫が保持されていることが、腫瘍の再攻撃接種後の腫瘍抵抗性の発現によって証明することができた。

これら一連の実験結果の中で特に重要で特記すべきことは、上記抗腫瘍効果を誘導するためには宿主が腫瘍特異的免疫応答能を有する必要性があることが証明されたことである。すなわち BCG 感作後 X5563 腫瘍細胞 ($10,000R$ X線照射) の静脈内移入で、X5563 特異的免疫寛容を誘導したマウスでは、腫瘍移植後腫瘍塊内に L4-MDP ハプテンを注入しても、1 例も腫瘍の退縮を認めることができず、全例が腫瘍死したのが事実である。この結果は腫瘍退縮機構における特異免疫の関与を直接的に証明しえたものと考えられる。また、この結果は、上記のプロトコールでみられる腫瘍の退縮機構に BCG 感作 T 細胞群の抗 MD 反応によるいわゆる bystander 腫瘍増殖抑制機構の存在を否定しないまでも、完全な腫瘍退縮に至る過程には腫瘍特異免疫の関与が必須であることを証明しえたものとして評価されるとともに、この方法の固形自家癌への有用性が示唆される。

Ⅲ. L4-MDP ハプテンを用いた腫瘍特異免疫療法による腫瘍転移形成阻止モデル

次に腫瘍の外科的切除のみでは転移巣の増殖により死亡するマウス腫瘍モデルを確立し⁸⁻⁹⁾、このモデルにおいて L4-MDP を用いた特異免疫の増強による腫瘍転移形成阻止効果を検討した。すなわち、C3H/He マウス由来の X5563 骨髄腫瘍では、 10^6 個の腫瘍細胞を同系マウス背部皮内に移植し、9 日ないし 10 日目に腫瘍切除を行っても約 90% の頻度でマウスが転移腫瘍の増殖によりやがて死亡する。この系を用いてあらかじめ BCG に感作された C3H/He マウスに、上記のごとく腫瘍移植および 10 日目に腫瘍切除を行い、手術直後より 5 日間隔で計 3 回、マイトマイシン C で増殖性を消失させた X5563 腫瘍細胞に L4-MDP を結合させた L4-MDP 修飾 X5563 細胞を 10^7 個腹腔内免疫した。その結果、L4-MDP 修飾 X5563 で免疫操作を行った群では、転移巣の増殖が有意に抑制され、著明な生存率の向上が認められた。この

場合、L4-MDPを結合していないX5563治療群に比較しても、L4-MDP修飾X5563治療群では、はるかに有意な転移形成阻止効果を示した。また、L4-MDP修飾X5563治療群で転移形成が阻止され生存したマウスに、X5563または、C3H/He 由来のMH134腹水肝癌を攻撃接種したところ、X5563の増殖は完全に抑えられたが、MH134は非免疫マウスと同様の増殖性を示し、X5563特異的な強力な免疫が誘導されていることが明らかとなった。このようにBCG交叉反応性L4-MDP修飾X5563による術後免疫により、明らかな腫瘍転移形成抑制効果が認められた事実は、今後このような実験動物モデルにおける腫瘍特異免疫療法がヒト腫瘍における転移阻止に利用することができるという可能性を支持するものと思われる。

IV. L4-MDPハプテンによるマウス慢性白血病モデルを用いた特異免疫療法

次にBALB/c マウスおよび同系慢性B白血病細胞 BCL_1 を用いて、白血病モデルにおけるL4-MDPハプテンによる腫瘍特異免疫の増強による白血病治療効果を検討した。

まずL4-MDPハプテンを用いた抗腫瘍免疫の増強誘導が、流血中でも増殖を続ける白血病腫瘍系においても作動しうるものか否かを検討した。すなわち、BCG感作または非感作マウスに、L4-MDP結合性白血病細胞(L4-MDP- BCL_1)または非修飾 BCL_1 細胞をそれぞれ10,000R X線照射後 10^7 個、総計5回1週間隔で免疫後、 10^5 個の BCL_1 生細胞を静脈内に攻撃接種した。その結果BCG感作後L4-MDP- BCL_1 を免疫した群においてのみ抗腫瘍効果の誘導を認め、本腫瘍系においてもL4-MDPハプテンを用いた抗腫瘍免疫誘導の増強が可能であることが明らかになった。

そこで図4に示すように、BCG感作マウスに 10^4 個の BCL_1 生細胞を静脈内移入し、 BCL_1 白血病細胞移入後1週後から1週毎にL4-MDP- BCL_1 またはハプテン非修飾の BCL_1 細胞をそれぞれ10,000R X線照射を行って計5回免疫し、白血病発症の阻止効果を検討した。ちなみにここで用いている BCL_1 生細胞は1個の白血病細胞が同系マウスに移入されても、移入動物は100%の頻度で白血病の発症が認められ、移入細胞数の多少にかかわらずその経過が慢性に推移し数か月で全例が死亡することが分っている。このような系に、図5に示したごとく、L4-MDPを結合させない形で BCL_1 細胞を免疫しても、7週後にはほぼ全例に白血病が発現し死亡していくのに対し、L4-MDP- BCL_1 細胞の免疫群では、図5に示すごとく約90%以上の個体において21週以上にわたり白血病の発症をまったく認めなかった¹⁰⁾。

以上の結果もL4-MDPハプテンを用いた腫瘍免疫の特異的誘導増強効果が、播種型の腫瘍である白血病の治療モデルにおいても有効であることを示すとともに、将来このモデルの白血病治療への応用の可能性を示唆している。

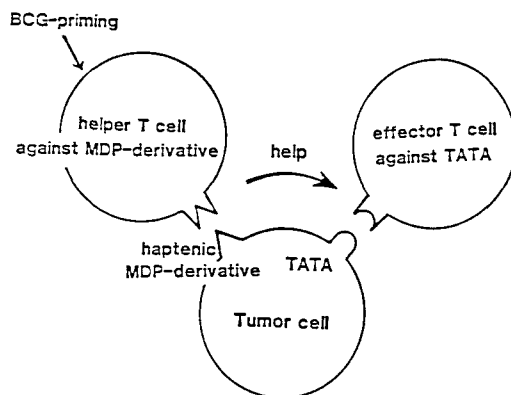
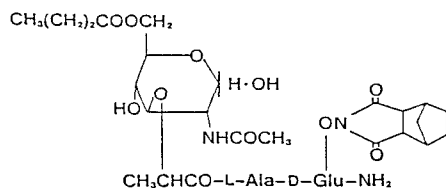


図1 BCG交叉反応性を示すMDP誘導体を用いたT-T細胞間相互作用による抗腫瘍免疫増強の模式図

Group	Structure	Variation	Designation
A		$R: \begin{cases} H \\ CH_3(CH_2)_2CO \\ CH_3(CH_2)_4CO \\ CH_3(CH_2)_6CO \end{cases}$	MDP-ONS (MDP) L4-MDP L6-MDP L8-MDP
B		$X: \begin{cases} MeAla \\ Val \end{cases}$	L4-MDP (MeAla) L4-MDP (Val)
C		$X: \begin{cases} Ala \\ MeAla \\ Val \end{cases}$	MTP MTP (MeAla) MTP (Val)
D		$R: \begin{cases} H \\ CH_3(CH_2)_2 \end{cases}$	L4-MTP L4-MTP-L4

図2 これまでにスクリーニングを行ったBCG交叉反応性を示す可能性のあるMDP関連ハプテン



6-O-Butyryl-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine-N-hydroxy-5-norbornene-2,3-dicarboxyimidyl ester

図3 BCG交叉反応性を有するL4-MDPの化学構造

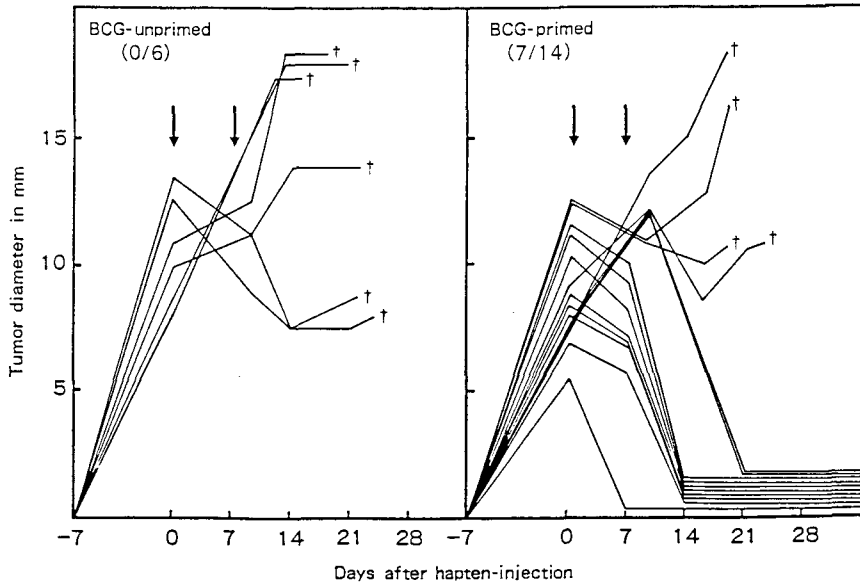


図4 L4-MDPハプテンの腫瘍塊内注入による
BCG免疫マウスでの腫瘍退縮

↓ : L4-MDPハプテン注入

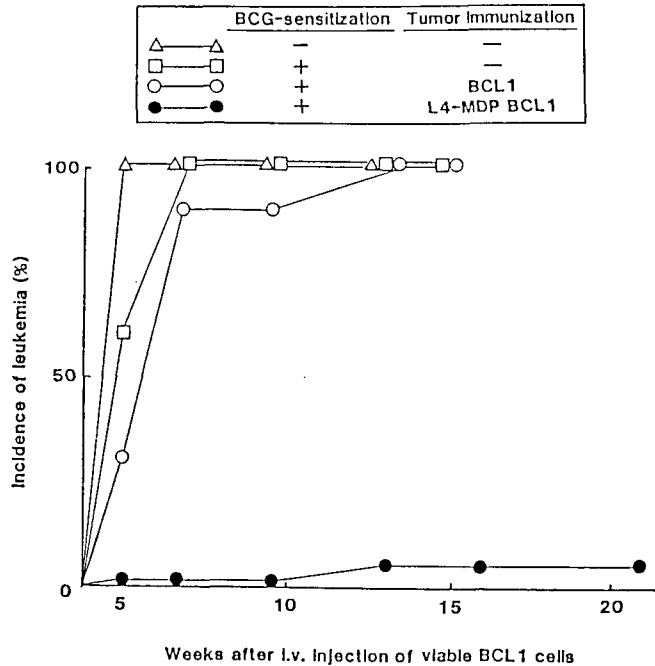


図5 L4-MDPハプテンを用いたマウスB細胞白血病の特異免疫療法
白血病の診断はBCL₁ 腫瘍細胞に対する抗イデオタイプ抗体を
用いて行うとともに末梢血白血病細胞が10,000/■³以上に達
した時点を白血病の発症時期と定めた。

2. アロ抗原の経門脈投与による抗アロ免疫応答の寛容誘導と移植免疫への応用

大阪大学医学部 癌研 腫瘍発生学部門 藤原大 美

I. はじめに

移植前輸血の移植腎生着に及ぼす有効性は、1973年の Opelz の報告以来多数の報告がみられる。しかしながら、その機構解析のモデルとして、マウスに異系（アロ）脾細胞を静脈内投与した実験系では、投与したアロ抗原に特異的な免疫寛容が導入される場合と逆に免疫が誘導されるという相反する実験結果があり、アロ抗原の静脈内投与による寛容導入への効果はいまだ確定的なものではない。この点、アロ抗原に対する免疫寛容を再現性よく誘導する実験系の確立は、臨床応用（臓器移植）に対してはもとより免疫寛容導入の機構解析に貢献するところ大である。

最近我々は肝移植が臓器移植の中で生着率がよいこと、又種々の抗原が経口的に或は門脈内に投与された時、抗原特異的な免疫寛容が誘導されやすい現象等を考慮に入れ異系（アロ）脾細胞を門脈内に移入することにより、アロ抗原特異的遅延型過敏症（DTH）反応の寛容を誘導出来ることを明らかにした。更にこのような知見の移植免疫への応用、即ちアロ抗原の門脈内移入というアプローチが実際のアロ移植片の生着延長に貢献可能かどうかについて検討した。

II. 実験材料及び方法

動物；6～8週令のBALB/c, C3H/He, 及びC57BL/6マウスを用いた。

アロ抗原の経門脈前感作；エーテル麻酔開腹下で0.1 mlの脾細胞浮遊液を門脈内に注射した。

アロ抗原に対する免疫；アロ抗原の経門脈前感作後12日目にアロ脾細胞（ 1×10^7 ）をBALB/c マウスの皮下に投与することで誘導した（図-1）。

遅延型過敏症（DTH）反応（足趾反応）；免疫マウスの後肢足趾に 1×10^7 個の免疫に用いたアロ脾細胞を惹起注射し、24時間後の足趾の腫脹を測定することにより行った。

キラーT細胞応答；免疫マウスの脾細胞をin vitro で免疫アロ抗原で再刺激し、5日後の培養細胞の細胞傷害能を ^{51}Cr release法にて測定した。

抗体産生；免疫マウスの血清中の抗アロ抗体価を補体依存性細胞傷害テストにより求めた。

Ⅲ. 研究結果

- (1) 10^7 個の C3H/He 脾細胞を BALB/c に静脈内投与すると、皮下投与と同程度の強い抗 C3H DTH 反応が誘導された。一方同じアロ脾細胞を門脈内に投与したところ DTH 反応は誘導されないのみならず、その後引き続き皮下投与による適切な免疫操作を施しても DTH 反応は誘導されず、アロ抗原の経門脈感作はアロ抗原に対する DTH 反応を寛容に導く事が明らかとなった (図-2)。
- (2) この免疫寛容の誘導に必要とされるアロ脾細胞の量及び経門脈感作後の寛容の持続期間を検討したところ $10^4 \sim 10^8$ 個の脾細胞によって (図-3)、1ヶ月以上持続する (表-1) 安定した寛容が誘導されることがわかった。
- (3) C3H/He 脾細胞を経門脈投与した BALB/c マウスに C3H/He の代わりに C57BL/6 脾細胞を皮下免疫したところ、C57BL/6 に対する DTH 反応の誘導に何らかの抑制効果を示さない事から、経門脈投与によって誘導される免疫寛容はアロ抗原特異的である事が明らかになった (図-4)。
- (4) 次に経門脈感作がアロ抗原に対するキラー T 細胞応答及び抗体産生に如何なる影響を与えるかについて解析した。その結果、経門脈感作マウス脾細胞及び血清中に各々キラー T 細胞の priming とアロ抗体の産生を認め、DTH 反応の動態との解離が明らかとなった。以上の結果より、DTH を指標にした場合、アロ脾細胞の門脈内投与により、静脈内投与に比しはるかに強くかつ再現性の高いアロ抗原特異的免疫寛容が誘導された。DTH 反応とキラー T 細胞応答、抗体産生との間に免疫寛容誘導性に関する解離現象がみられたが、我々は更に門脈内感作 cyclophosphamide (cy) を投与することによる alloreactivity の消去を検討した。
- (5) C3H/He 脾細胞 BALB/c マウス門脈内に移入すると、抗 C3H/He 特異的 DTH 反応誘導の著明な抑制がみられる。一方、抗 C3H/He 抗体産生と CTL 生成は抑制されないで、DTH 反応のみ抑制された BALB/c マウスは C3H/He 由来の X5563 腫瘍の拒絶が出来る。しかしながら C3H/He 脾細胞門脈内移入後、Cyclophosphamide (Cy) を投与すると X5563 腫瘍の拒絶が出来なくなる事がわかった (図-5)。

- (6) Cyの投与量、投与時間について検討したところ、50mg/kg体重(1mg/mouse)の投与で、異系腫瘍の生着を容認させること(図-6)又、C3H/He細胞の門脈内投与後2日目にCyを投与すると最も効果的であること(図-7)が明らかとなった。
- (7) アロ抗原の門脈内投与+Cy注射の組合せによる異系腫瘍の生着容認が門脈内移入されたアロ抗原に特異的かどうかをみる為、C3H/He脾細胞の門脈内移入+Cy投与後のBALB/cマウスに異系腫瘍X5563又はEL4を移植したところ、EL4は拒絶されたがX5563腫瘍は生着し、BALB/cマウスを全例死に至らしめた。この結果、前述のcombined treatmentによって誘導される免疫抑制は門脈内移入アロ抗原に特異的であることが明らかとなった(図-8)。
- (8) C3H/He細胞門脈移入+Cy投与後、移植されるX5563腫瘍細胞数を検討したところ、 2.5×10^6 個以上のX5563腫瘍の移植ではほぼ100%の致死増殖をみた。最も重要な知見はC3H/He細胞の門脈内移入+Cy投与(Pv+Cy)とC3H/He細胞の静脈移入+Cy投与(iv+Cy)におけるX5563異系腫瘍の生着抑制能における差であった。即ち、 2.5×10^6 個のX5563腫瘍の移植に対し、Pv+Cy群のBALB/cマウスは腫瘍の生着増殖を容認したのに対し、iv+Cy群のBALB/cマウスにおいては全く腫瘍の生育が認められず、門脈内アロ抗原の感作法はCyの投与と組み合わせられた時、最も有効な移植免疫能の抑制法であることが明らかとなった(図-9)。

IV. 考 察

Donor-specific transfusion (DST)+免疫抑制剤の投与による移植免疫能の抑制法が臨床的にも効果をあげている。今回の研究でDSTに相当するアロ抗原の静脈内移入+Cy投与に比し、門脈内移入+Cy投与法がはるかに強い移植免疫能の抑制法である事が明らかとなった。この方法で誘導される免疫寛容の詳細な細胞性及び分子機構の解析とともに臓器移植への応用について、更に検討を加えている。

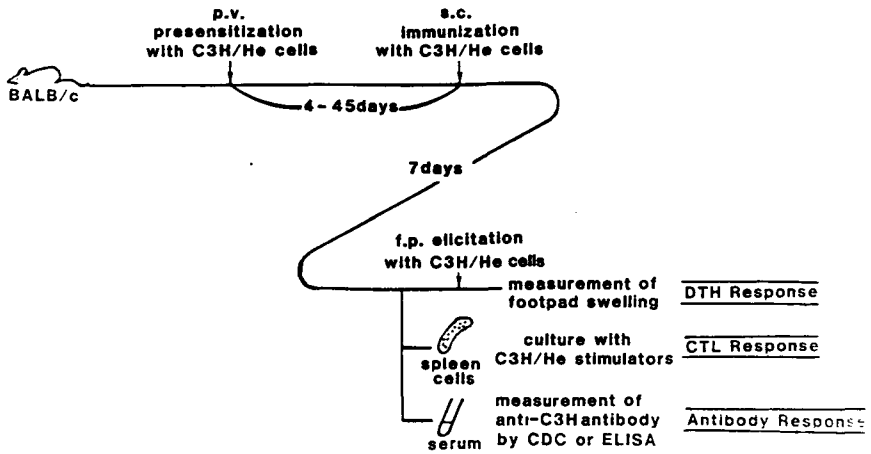
☒ 1

Materials & Methods

Recipient mice : BALB/c ♀

Immunizing antigen: C3H/He spleen cells

Experimental design:



☒ 2

Effect of cell dose of p.v. presensitization on tolerance induction

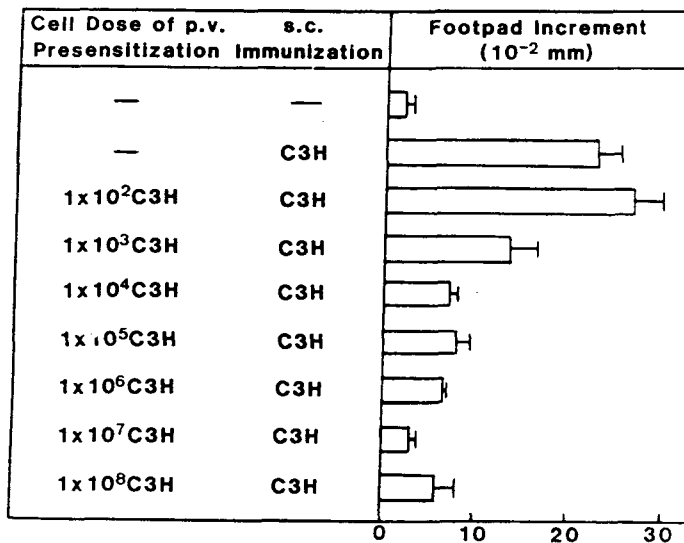


图 3

Suppression of the Capacity of DTH Reactivity
by Injection of Allogeneic Cells via p.v. Route

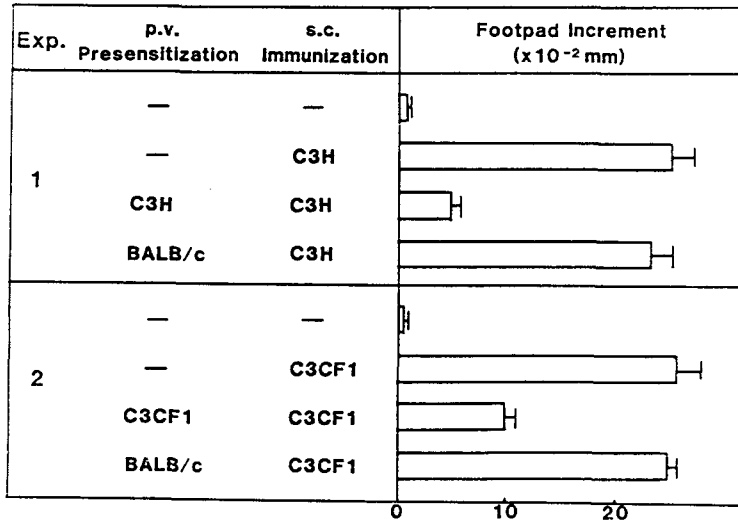


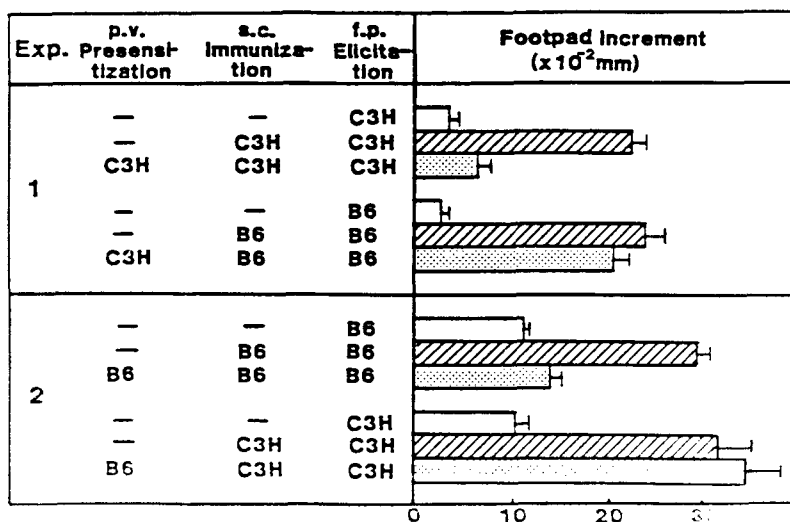
表 1

Time Course of Tolerance Induction

p.v. Presensitization	s.c. Immunization	Footpad Increment(x 10 ⁻² mm)				
		Days between p.v. & s.c. treatment				
		4	8	15	25	45
—	—	3.3	9.0	6.0	9.0	5.7
—	C3H	36.0	34.7	32.0	20.0	23.0
C3H	C3H	9.7	13.0	14.7	7.0	7.0
BALB/c	C3H	23.3	27.0	31.0	21.0	25.0

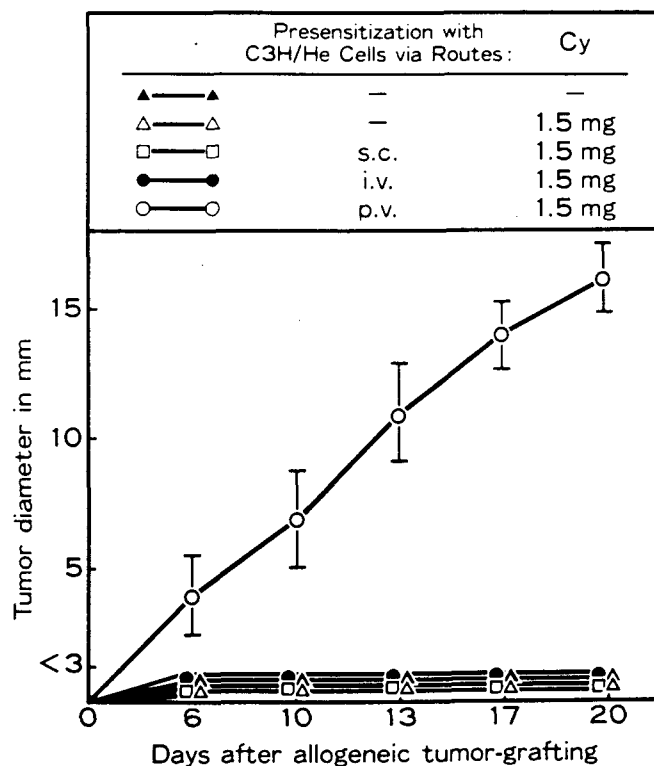
☒ 4

**Specificity of Suppression Induced by p.v. Presensitization
(Direct Challenging System)**



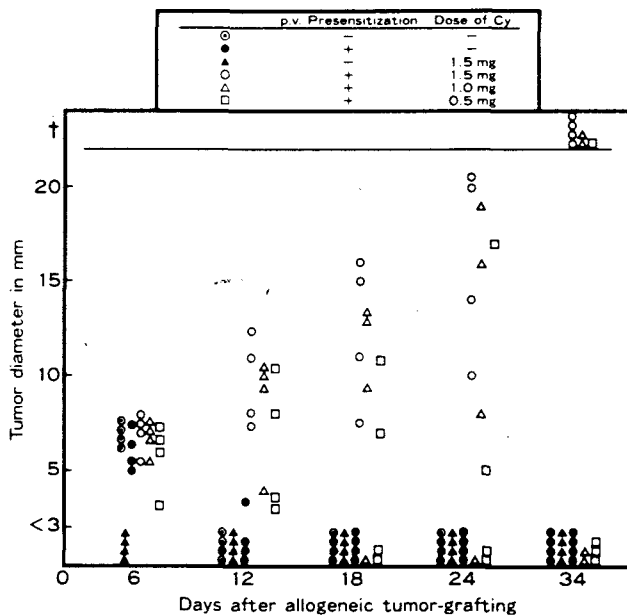
☒ 5

Comparison of the alloreactivity-abrogating effect between s.c., i.v. and p.v. presensitization prior to Cy-inoculation



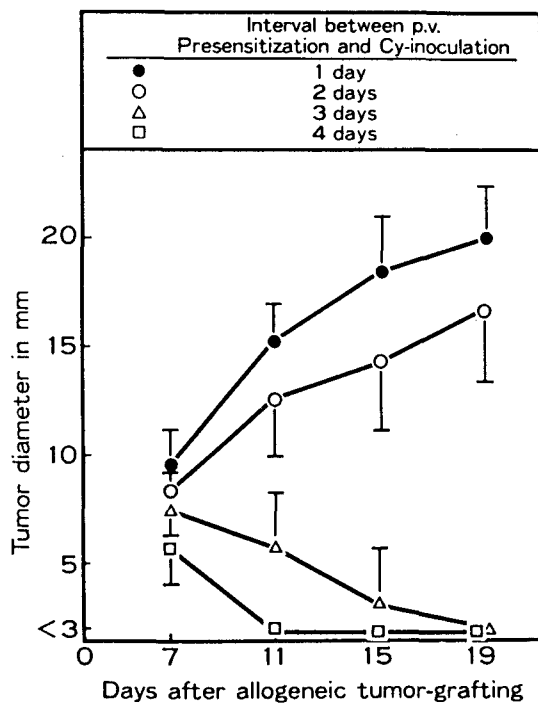
6

Abrogation of potentials to reject allogeneic tumor cells is dependent on dose of Cy inoculated after p.v. presensitization of allogeneic cells



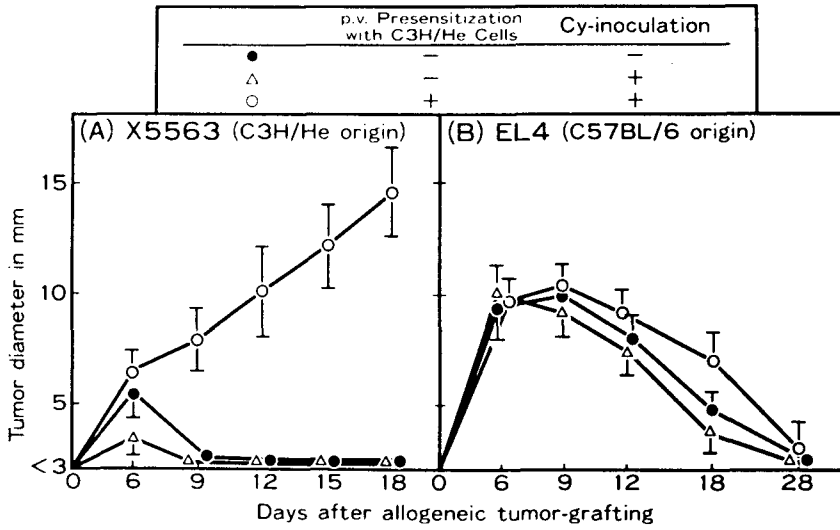
7

Interval between p.v. presensitization and Cy-inoculation is critical for abrogation of alloreactivity



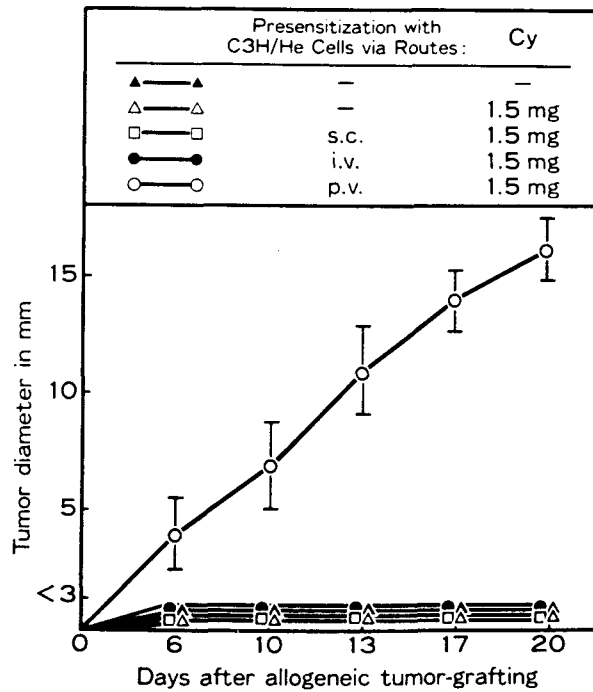
8

Specificity of alloreactive capacity abrogated by the combined treatment with p.v. presensitization of allogeneic cells plus Cy-inoculation



9

Comparison of the alloreactivity-abrogating effect between s.c., i.v. and p.v. presensitization prior to Cy-inoculation



<その他>

関西実験動物研究会だより

総会・評議員会議事概要

1) 第5回 総会 概要 (昭和63年3月11日 於 京大楽友会館)

- (1) 昭和62年度 事業報告 (含 会誌発行) が行われた。
- (2) 昭和62年度 決算が報告された。
- (3) 昭和63年度 事業計画が報告され承認された。
- (4) 昭和63年度 予算が報告され承認された。
- (5) 新たに後藤信男氏が評議員に選出されたことが承認された。

2) 第6回 評議員会議事概要 (昭和63年3月11日 於 京大楽友会館)

出席：山田、海野、及川、武田、笹川、牧野、新谷、内海、芹川、志村、佐藤、
森岡、黒澤、増岡、後藤 (15名)

1. 議事

(1) 昭和62年度 事業報告

黒澤幹事 (集会) 及び新谷幹事 (編集) よりそれぞれ昭和62年度事業報告が行われた。

(2) 昭和62年度 決算報告

芹川幹事 (会計) より昭和62年度決算が報告され、監事の監査の結果適正であった事が報告された。

(3) 役員の改選について

山田会長より新たに後藤信男氏を評議員に追加選出したい旨発表があり、承認された。

(4) 昭和63年度 事業計画案について

黒澤幹事より第17回、第18回、第19回、及び第20回の研究会について計画案が提出され、承認された。新谷幹事より本年度会誌の発行を2回 (4月及び10月) 予定していることが報告され、承認された。

(5) 昭和63年度 予算案について

芹川幹事より昭和63年度予算案について説明が行われ、承認された。

会員の動き

☆ 入会者 ☆

安部 保雄	静動協 京都営業所
岡野 英男	静動協 京都営業所
後藤 信男	神戸大学 農学部
林 新茂	武田薬品 中央研究所
坪田 裕司	和歌山県立医大 第2生理学
小西 喬郎	塩野義製薬 油日ラボラトリーズ
金子 秀樹	オリエンタル酵母 大阪営業所
萬野 賢児	摂南大学薬物安全科学研究所
橋本 岩雄	フナイ 薬品工業所 総合研究所
竹下 修史	フナイ 薬品工業所 総合研究所
香山 一之	大鵬薬品工業(株) 安全性研究所
水野 信哉	武田薬品 薬剤安全性研究所
戸田 昇	滋賀医科大学薬理学教室
中川 真佐志	オリエンタル酵母工業(株)
奥田 敏明	和研製薬安全性研究所

☆ 退会者 ☆

吉岡 修	サントリー(株)生物医学研究所
塩見 俊朗	三重県衛生研究所
長谷川 通規	扶桑薬品工業(株)

昭和63年3月31日 現在

書 評

「性の根源に関する書」

実験動物の領域に関係する者は、育種・繁殖に係わる場合は勿論のこと、単に生物実験を行う場合にも、それが生理学の実験であろうと、生化学の実験であろうと、常に“性”あるいは“性差”のことを念頭におき仕事を進める必要がある。このようにわれわれは“性”に対して無関心であってはならず、性に関しての基本的理解はわれわれにとって必須のものとなっている。にも拘わらず、われわれの“性の根源”に対する理解は果たして“われわれ自身の中で明確に確立されたものとなっているであろうか？”今回、この欄では“性の根源”について記述された本のうち、際立って対照的なものを挙げて紹介し、読者の参考に加するとともに諸賢の一考を促してみたい。

①W. ヴィックラー & U. ザイプト著「男と女——性の進化史——」日高敏隆監修、
福井康雄、中嶋康裕訳、（昭和61年）、産業図書、¥1,800、—

②樋渡宏一著「ゾウリムシの性と遺伝」、（昭和57年）、東京大学出版会、¥900、—
樋渡宏一著「性の源をさぐる——ゾウリムシの世界——」（昭和61年）、岩波新書、
¥480、—

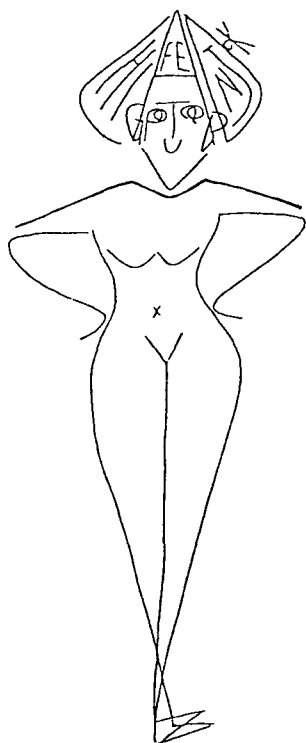
①の著者は生物の性は男と女、♂と♀の2種類の性に限られ、3つ以上の性はあり得ない。

「もし地上の生命がもう一度最初からやり直したとしても、ふたたび同じ特徴と差異が現れるであろう」（2つの性に限られてしまう）という主張を進化論を基調として、いろいろな生物種の例を挙げながら論理的に帰納している。

②では、ゾウリムシの接合・核交換・受精について詳しく述べ、ゾウリムシは同一系統（同一接合型）の中では原則として接合が起こらず、細胞分裂によって増殖するが、600～700回分裂すると遂には死滅してしまう。途中で系統（接合型）の異なるゾウリムシ（いわば異性のゾウリムシ）と接合し、核交換・受精をすれば新たな分裂をくり返すことができる。なかでもミドリゾウリムシにはこのような接合型が4種類あるいは8種類存在する。すなわち、接合・核交換・受精はゾウリムシの繁殖には必須でありこれは性の原型であって、とくにミドリゾウリムシの場合には性が4つあるいは8つもある。

すなわち、①では「性は♂、♀の2種類に限定される」というのに対し、②では「性の種類は4種類も8種類もある」ことが記されている。読者諸氏はこれを如何に受けとめ、理解するのか、諸賢の一考の材料として上記①、②を紹介した。

なお、①の議論の展開・進め方の基本的出発点としての「性の定義についての仮定」のところに問題があるかと思われ、論旨の進め方にもかなり独善的なところがあるように見受けられるが、一方、いろいろな動物種における性の様々な態様について具体的引用例を豊富に挙げている点は非常に参考となり、興味深いものがある。 (中山 亮)



Ms. Betty



Mr. Alpha

Mr. Alpha & Ms. Betty, each composed of every one alphabetical letter from A to Z. (by R. Nakayama, June 1, 1988)

編集後記

この稿を書き始めたところに「中国修学旅行の列車衝突」のニュースが入ってきた。多くの犠牲者を伴う大惨事となって、痛ましかぎりである。あらゆる分野で近代化を急いでいる中国であるが、その政策のひずみが露呈した観がある。

柳 英侠先生は、ご講演の中で「中国実験動物は初級の段階」と何度も口にされたが、この分野の着実な発展を祈らずにはおられない。中村信義先生は、数十枚のカラースライドを用いて、中国のさまざまな実験動物の現場をご紹介下さったが、スライド部分は誌上に載せることができず、まことに残念である。一部重複したが、テープより起こした文章と先生よりいただいた原稿の両方を掲載させていただいた。

「移植免疫と癌免疫」に関するご講演において、濱岡利之先生と藤原大美先生には、免疫学の最先端をいく研究を解説していただいた。誌上再録はできなかったが、濱岡先生には、医学研究における実験動物の意義を含め、将来の実験動物のあり方について示唆に富んだお話をうかがえたことを記して、感謝申し上げたい。

本誌の発行もようやく軌道に乗ってきた。編集委員一同、今年こそ年2回の発行を目ざしておりますので、ご支援下さいますようお願い申し上げます。

— S. N. 記 —

昭和63年 6 月 28 日 印 刷
昭和63年 6 月 30 日 発 行

編集兼発行者 山 田 淳 三
発 行 所 関西実験動物研究会
〒606 京都市左京区吉田近衛町
京都大学医学部附属動物実験施設
印 刷 所 関西ナショナル印刷株式会社
〒532 大阪市淀川区十三本町 3-4-23