

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成5年12月 13号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

< 第 31 回 研 究 会 >

講演会

1. マスト細胞欠損動物
北村 幸彦 (大阪大学医学部) ----- 1
2. 私の研究と実験動物
野村 大成 (大阪大学医学部) ----- 3

< 第 32 回 研 究 会 >

- 会員の研究発表 ----- 7

特別講演

- ジャクソン研究所について
小泉 勤 (福井医科大学医学部) ----- 22

< 第 33 回 研 究 会 >

講演会

1. 発生毒性試験における in vitro 試験法と
その意義について
塩田 浩平 (京都大学医学部) ----- 37
2. イヌ、ネコ寄生虫卵による環境汚染について
及川 弘 (塩野義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ) ----- 45

< 第 34 回 研 究 会 >

講演会

- Gene Therapy: Prospects and Progress
Edward H. Schuchman (マウント・サイナイ医科大学) ----- 58

< そ の 他 >

- 関西実験動物研究会だより ----- 59
- 会員名簿 ----- 60

マスト細胞欠損動物

大阪大学医学部病理学講座

北村 幸彦

マスト細胞は即時型アレルギー反応のエフェクター細胞として働く細胞であるが、その生理機能、特にマスト細胞が存在することにより、生体になどのような利益があるのかという点については十分に研究されていない。

我々が発見したマスト細胞欠損動物は、マスト細胞の機能をしらべるのに、すでにある程度の有用性を示したし、マスト細胞の分化過程と分化制御の研究には非常に有用であった。

まず最初に、マウスの2種類のミュータントでマスト細胞が欠損していることがみつかった。 W/W^V マウスと Sl/Sl^d マウスは、それまで、メラノサイトを欠損するため白色黒眼の外見を持つマウスとして知られていた。さらに赤血球の生産低下のために貧血し、生殖細胞を欠損するために不妊であることがわかっていたが、マスト細胞の数についてはしらべた人がいなかったのである。

W 遺伝子座と Sl 遺伝子座はまったく異なるのに、おのおののミュータントマウスが同じ症状を呈するのは不思議に感じられていたが、最近になってこの疑問は分子レベルで解決した。 W 遺伝子座は *c-kit* 癌原遺伝子と同じもので、レセプター・チロシンキナーゼの1種をコードするのに対して、 Sl 遺伝子は、そのレセプターのリガンドをコードすることがわかったのである。レセプターが悪くてもリガンドが悪くても、シグナル伝達が起こらないことは同じである。

最近我々は、白色黒眼を示すラットのミュータントについてしらべ、このミュータントラットがマスト細胞を欠損し、貧血も呈することをみつけ、原因となる遺伝子座を Ws と名づけた。 Ws/Ws ラットと正常対照ラットより、*c-kit* 遺伝子の cDNA を得て比較してみると、 Ws/Ws ラットの *c-kit* cDNA には12塩基の欠失があることがみつかった。

我々はミュータントマウスを利用して、マスト細胞の分化過程の大筋を決定したが、マウスは体も小さく、マスト細胞とよく混同される好塩基球については、しらべることができなかった。ラットに消化管寄生虫

の 1 種 *Nippostrongylus brasiliensis* を感染させると好塩基球は 100 倍以上に増加する。Ws/Ws ラットに *N. brasiliensis* を感染させることにより、マスト細胞と好塩基球の分化過程と分化制御の相違を明白にできると考えている。

私の研究と実験動物

大阪大学医学部放射線基礎医学教室
野村大成

私が動物実験を始めた頃は、大阪大学医学部にはマウス飼育室すらありませんでした。その間大きな困難がありましたが、いろいろな実験事実が分かって来ました。そのなかで実験動物に関係することを中心にお話します。1967年に卒業してすぐから動物実験を行って来ました。最初に行った実験は放射線に被爆すると子供の世代に何が起こるかでした。実験台の下に20ケージのマウスを飼育しました。そんなところでも良い実験ができました。母親に睡眠薬を投与すると子供に一才くらいで発ガンなどの障害がおきてくることを初めて証明しました。それと同様に妊娠前に放射線に被爆すると子供に障害が出るのではないかという実験をしました。少ない研究費でも良い仕事ができる一つの例を示します。米国のオークリッジ研究所、そこは原爆をつくったことで有名ですが、そこには常時30万匹のマウスがおりました。ここを参考に3万円を出して初めての動物室を作りました。親のどちらかに放射線を当て受精させ、子供への影響を調べました。とくに父親に放射線を当てて、その後交配させ、こどもを得ると、実際には2-3週間たってから交配させるのですが、一見正常に見えるマウスも良く見ると腫瘍ができていたことが分かりました。"親の因果が子に報い"といいますがそういうことが起こっていたのです。

イギリスのセラフィールドの核燃料再処理工場で最近同じことが起こっていたのではないかといわれはじめました。ここの従業員の子供、従業員は父親ですが、に白血病が多発しました。これが放射線の影響であるかが問題となったわけです。非常に少ない線量ですが父親に当たると子供の白血病の発生が6倍になり、とくに父親が被爆して6月以内にできた子供に多発すると報告され、そこに10年以上前のわたしの仕事引用されていました。線量は大分違うのですがほとんど同じ現象がマウスで起きていました。父親の精子が障害されることが原因であることもつきとめられました。この分野では動物実験の結果がヒトでも同じように起こることの最初の仕事となりました。現在この問題は裁判になっ

ていますが、私はその証人となっています。

貧しい時期にいかに安く動物実験を行うかの努力を行ってきました。その頃 WHO のフェローシップをもらいまして世界中からミュータントマウスを貰える様にしましたが、困ったことにそれを入れるところがありませんでした。そこでジャクソン研究所へ行って実際に中に入って、一緒に作業をしてみて、日本にそのコピーみたいなものを当時 300 万円で作りました。ハンドリングに関してもジャクソンと全く同じにやってみたわけです。そのおかげでいままでできなかったことがいくつかできるようになりました。

関節炎のモデルもそのひとつですが、これは欧米の研究所でもインブリードできなかった系統をインブレッドにできるような環境を作ることができたからです。また MRC のライオンから貰った系統の次の代に、アカレシア (achalasia) ができることを発見しました。これは誤嚥のためほとんど肺炎で死んでしまうのですが、ここでは死ななかったので発見できました。きれいにすることによってこうした仕事ができるのです。また妊娠の一番奇形の出やすい時期に放射線を当てる、あるいはウレタンを注射して、それに前もって活性化マクロファージを投与しておくとう奇形がきれいに消えてしまうことを発見しました。そこで前もって BCG を接種しておくとう奇形が消えてしまうのではないかと考えて実験してみました。またコンベンショナル・マウスからマクロファージを採って投与すると奇形が消えます。さらにはトリパンプルーをあらかじめマクロファージに貪食させる実験から、生きたマクロファージにこの作用があることが判明しました。当時はいろんな場所で動物を飼っていましたが、あるところでは 50 % 奇形が起こり、あるところでは全然出ないということが起こっていました。実験条件を一定にすると同じになるはずですが、個体の免疫能が関与すると思われる実験では環境も一緒にしなければならぬわけです。

新たに放射線基礎医学に移るに当たって癌研から出なければならぬだったので、古い建物に動物実験施設をつくりました。ほぼ無菌に近いバリア施設としました。ヒト以外の搬入物にはすべてオートクレーブをかけました。バリア内での作業衣からは、目だけはしかたなく出しました。当初はゴーグルをつけたのですが蒸し風呂のようになってしまいました。わずか 5000 万円でこういった施設ができるわけです。デッドスペース

が全くないケージ・ラックも用意しました。ここで可能になったスキッドマウスの実験を紹介します。

ヌードマウスを使って移植できない腫瘍をスキッドに移植してみました。通常はヘテロどうしの交配で維持しますが私の所は自信があったのでホモどうしの交配とし、4倍の効率で作りました。選んだ腫瘍はヨークサック腫瘍と精索の腫瘍セミノーマでした。これらの腫瘍を普通のスキッド、市販のヌード、近交系のヌードそしてダブルミュータントの *scid/scid nu/nu* に移植しました。スキッドではヌードで腹腔内移植ができなかったヒト腫瘍が移植できただけでなく、転移を起こすことが明らかとなりました。通常の飼育環境では肺に腫瘍が転移する前に肺炎を起こして死んでしまいますが、スキッドでの肺転移が見事に観察されました。これにより初めて腫瘍の自然転移の研究ができるようになったわけです。

また白血病治療のためには、骨髓細胞を放射線でたたいてやる必要があります。そのうえでドナーから得た骨髓細胞を移植するわけです。スキッドに放射線を当てて骨髓細胞を移植すると非常にたくさんの種類の骨髓細胞をとっておくことができることとなります。いったん生着すると細胞培養ができやすくなることもわかっています。末梢血細胞の場合には移植すると消えてしまうことが分かっています。実際にダブルミュータントにヒトの骨髓を移植するとIgGが上がり、ヒト骨髓細胞が末梢血中にもでてくるようになりました。将来 *in vitro* の系にもってゆければ、何かこのような方法で骨髓細胞が維持できるようになるかもしれないと思っています。

最初にお話しました放射線被爆の例では、膨大な数の実験の結果、マウスでの実験結果がヒトでも起こることが証明されようとしています、この際実験動物関係の方々に申し上げておきたいことがあります。この事件に関し最近 *Nature* に依頼原稿を送りましたが、ゲラにはタイトルがありませんでした。しかし出版されてみると、タイトルが *Of mice and men* となっていました。最初は間違いかと思いましたが、これはイギリスの有名な農民詩人口バート バーンズの詩の一部でありました。スタインベックもこれを題材に同名の小説を書いています。これは彼が農作業中、誤ってネズミの巣をこわしてしまったことから書いた詩ですが、これが作られた 200 年前はマウスは哺乳動物の中では一番小さい動物、す

なわち一番か弱い動物とされていて、その巢をこわしてすまない、お互いに仲間ではないかという気持ちがこめられています。そしてうまく計画したことでもたまには間違えることがあるといっています。これは原発の事件をマウスに起こることはヒトでも起こるとしてつけた題だと思っています。

また実験動物は本当にいつまでもあるものかが問題となっています。昨年 EC で実験動物を使っている人があつまって私の実験の追試について意見を交換しました。10 年前 EC で追試を計画した時は動物愛護の問題で中止になったが、今回は自らの身のみならず子孫にも起こるかもしれない事件があったため、全く反対はなかったとのことでした。今後、実験動物を使わなければならないことを明確にしておかなければならないものと思います。

*なおこの記録は大阪大学医学部附属動物実験施設の黒澤努助教授が記録テープより起こしたものです。

< 第 32 回 研 究 会 >

会員の研究発表

日時：平成 3 年 12 月 6 日（金）

場所：京大会館

1. RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA Markers) のマウスとラット遺伝子マッピングへの応用
2. 自発性てんかん様大発作発症ラットにおける初期行動の発達について
3. ラットにおける免疫毒性試験：Plaque forming cell (PFC) 法の最適条件および cyclophosphamide の PFC 値に及ぼす影響
4. 種々実験用動物の *Bordetella bronchiseptica* 検査結果
5. サルの犬歯抜歯術について
6. オスニホンザルの季節繁殖性とその要因について
7. 電子線照射滅菌飼料のラットの生殖に及ぼす影響
8. ネコにおける胚凍結保存の試み
9. ラット胚発育の系統間比較
10. 株化細胞との共培養による mouse 2-cell block の改善
11. 実験用カニクイザルの病理学的検討：死亡あるいは切迫殺された 17 頭について
12. Crj:CD (SD) 系ラットにおける脳腫瘍（神経膠細胞腫）の自然発生について
13. マウス泌尿器症候群（MUS）の発生について
14. 白血球数測定に及ぼす強度貧血の影響

RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA Markers) のマウスとラット遺伝子マッピングへの応用

芹川忠夫、Xavier Montagutelli¹, Dominique Simon-Chazottes¹, Jean-Louis Guenet¹
(京都大・医・動物実験施設、¹パスツール研・哺乳動物遺伝部)

RAPDsは、Williams ら(Nucleic Acid Res. 18:6531-6535, 1990) が考案したPCR (Polymerase Chain Reaction) を用いる新しいDNA多型検索法である。彼らは、10-mer のオリゴヌクレオチドを単独にプライマーとして用いて、種々の動植物DNAから増幅されたDNAフラグメントに多型を見いだして、特に大豆を用いる遺伝学にこれを利用した。本研究において、この方法はマウス、ラットのDNAマーカーとしても応用できることが確かめられた。(材料と方法) 10種のオリゴヌクレオチドは、以下のようにG, C含量が50-70% になるようにデザインされた(5'-ACGGTACACT-3', TGGTCACTGA, TGGTCACTGT, CGGCCACTGT, ATTGCGTCCA, TCGGTTCACCT, ACGGTACGCT, ACCGTACACC, GCGGTGCACT, ACGGCACCT)。テンプレートに用いた長鎖DNAは、11系統の近交系マウス、2系統の spretus 系、7系統のラット近交系、マウスとラット各1つの戻し交雑群、3つのRI系統から得られた。また、rat x mouse 体細胞交雑クローンから抽出精製されたDNAも利用した。PCRは、(1 min, 94°C) - (1 min, 36°C) - (2 min, 72°C) 45回のプログラムで行った。プライマーは、0.8 または 1.6 μ M、DNAは、100 ng を用いた。得られたPCR産物は、1.4% agarose 電気泳動で調べた。連鎖解析は、コンピュータ解析ソフト GENE-LINK あるいは RI manager を用いた。(結果と考察) マウスにおいては、10個のオリゴヌクレオチドの内の8個を単独あるいは2種で使用するにより、13個の多型DNAフラグメントを連鎖解析することができた。そのうちの12個は、特定の染色体上にマッピングされた。ラットにおいては、2個の多型DNAフラグメントが見いだされたが、これらと連鎖するマーカーは検出できなかった。5個のラット特異のDNAフラグメントは、体細胞交雑クローンによって、特定の染色体にそれぞれ当てはめられた。この方法は、再現性のある増幅DNAフラグメントを選択することが重要である。他の実験動物におけるDNAマーカーとしても利用することが可能であると考えられる。(T. Serikawa et al. Polymorphisms revealed by PCR with single, short sized, arbitrary primers are reliable markers for mouse and rat gene mapping. Mammalian Genome (in press))

自発性てんかん様大発作発症ラットにおける初期行動の発達について

浅野裕三, 今戸奈保子, 東口卓史(田辺製薬・安全研),
野田篤, 山本譲(畜安研), 芹川忠夫, 山田淳三(京大・医・動物実験施設)

自発性てんかん様大発作発症ラット(Grand mal Seizure Prone Rat, 以下GMSラット)は、野田ら(1990)によってCrj:Wistarラットから自発性にてんかん様の大発作を発症することを指標にして選抜育種された系統である。このてんかん様大発作は、通常3ヶ月齢から始まり、約30時間に1回の頻度で発症する。

今回、発作が全く発症しない授乳期間中のGMS雄ラットの発育(体重、眼瞼開裂)を、その起源系統であるCrj:Wistar雄ラットと比較したところ、体重推移は生後7日から21日の間にGMSラットがCrj:Wistarラットに比べ有意に抑制された。眼瞼開裂のスコアリング(0:両眼が閉じている、1:少なくとも片眼が部分的に開く、2:両眼が完全に開く)は生後14日においてGMSラット(平均 $\pm$ S.D.: 0.50 ± 0.69)がCrj:Wistarラット(1.17 ± 0.90)に比べ有意な低値を示したが、生後15日以降は両ラット間に差はみられなかった。初期行動の発達推移を両ラット間で比較したところ、正向反射の反応時間(動物を仰臥位に置いた時、伏臥位の正常姿勢にもどるまでの時間、sec)は生後11日にGMSラット(0.70 ± 0.23)がCrj:Wistarラット(0.54 ± 0.15)に比べ有意に延長し、自由落下反射の陽性率(動物の四肢を両手で保定し、空中で落下させた際に四肢で正常に着地する割合、%)は生後14日から18日の間に、GMSラット(2.6~64.1)がCrj:Wistarラット(33.3~91.7)に比べ有意な低値を示した。背地走性の反応時間(傾斜角 25° の斜面板に頭部を下に向けて置いた動物が 180° 旋回し、頭部を上に向けるまでの時間、sec)は生後11日にGMSラット(5.68 ± 2.75)がCrj:Wistarラット(7.91 ± 5.11)に比べ有意に短縮した。協調運動能の発達として、動物が2分間に回転棒(毎分10回の速度で回転する直径3.5cmの木製棒)から落下する回数ではGMSラット(9.7 ± 7.5)がCrj:Wistarラット(12.5 ± 7.9)に比べ減少する傾向を示した。

このようにGMSラットの初期行動は、調べた全ての項目にわたって遅滞しているものではなく、むしろ発達している項目もあり、授乳期間中のGMSラットの行動発達には顕著な異常はないものと結論された。

なお、5週齢のGMSラットについて中枢神経系の病理組織学的な検索を行ったが、異常は認められなかった。

ラットにおける免疫毒性試験：Plaque forming cell (PFC) 法の最適条件
およびcyclophosphamideの PFC値に及ぼす影響

○土井 孝良、中井 洋一、山本 正樹、安藤 孝夫

(武田薬品、薬剤安全性研究所)

Plaque forming cell (PFC) 法は、抗原投与後の脾臓中抗体産生細胞数を測定することにより生体の免疫機能を評価するアッセイ法であり、薬剤の免疫毒性評価に応用されている。本研究では、毒性試験に緊用されているラットにヒツジ赤血球(SRBC)を投与するPFC法の最適条件を検討し、その条件における既知の免疫毒性化合物であるcyclophosphamideの抗体産生細胞に及ぼす影響を検討した。

実験方法：1)抗体産生細胞の検出方法；0.5ml SRBCで免疫したラットより脾臓を摘出し、イーグルの最小必須培地に細胞を懸濁させた。細胞懸濁液に50% SRBCとモルモット血清を混合し、カニングガムチェンバーに入れ、37℃で1時間静置後、溶血斑（ブランク）数を計測した。2)血清の抗SRBC抗体価の測定：上記動物より得た血清を96穴マイクロタイタープレート上で2倍希釈し、モルモット血清を加えて37℃で2時間静置した。抗体価は溶血する血清の最大希釈倍数で示した。

結果および考察：SRBCの投与方法は静脈内投与が腹腔内投与よりも PFC値が高く、皮下投与ではブランクは検出されなかった。SRBCの濃度につき、0.01、0.1、1、10および25% で検討した結果、1% が最も高い PFC値を示した。SRBC投与2、3、4、5、7、9 および13日後の経日変化につき検討した結果、4日後が最も高い PFC 値を示した。以上、SRBCを用いたラットにおける PFC法は、0.5ml 1% SRBCを静脈内投与し、4日後に PFC値を測定するのが最適と考えられた。

上記の条件に従った PFC法で、cyclophosphamide(CY)の3、10、30、100、300mg/kgを単回経口投与したラット脾細胞の PFC値を測定した結果、3mg/kg以上の投与群で対照群と比較して有意な PFC値の減少がみられた。30mg/kg 群以上ではSRBCに対する血清中抗体価の上昇がみられないことから、液性免疫機能はほぼ完全に抑制されたものと考えられた。また、脾臓の重量およびcellularity を指標にした細胞毒性は、30mg/kg 以上でみられたが、10mg/kg 以下ではみられなかった。従って、細胞毒性が生じないCYの投与量で免疫毒性が発現したのと考えられた。

以上の成績から、1% SRBC 0.5ml を静脈内投与し、その4日後のラット脾細胞を用いる方法が、SRBCを用いたラットにおける PFC法として最適であり、ラットにおける免疫（液性免疫）機能に及ぼす影響をより鋭敏に評価しうると考えられる。

種々実験用動物のBordetella bronchiseptica 検査結果

○三日月勝見、境 陽子、大原眞代子、根縫弘子、高橋恵子(塩野義・油日ラボ)

Bordetella bronchiseptica (B. bronchiseptica) は、呼吸器疾患を主徴とし、ラット、モルモット、ウサギ、豚、鶏、ブタ、サルなど多種の動物に感染することが知られ、なかでもモルモット、ブタにおける被害が大きい。

我々の研究所においても本菌に対する検査を1975年頃より開始し、現在に至っている。
今回は、種々実験用動物のB. bronchiseptica検査結果について述べる。

<材料および方法>

我々の施設内で繁殖、維持しているマウス、ラット、モルモット、豚 および外部動物業者より購入したハムスター、モルモット、ウサギ、鶏、サルについて検査した。検査はマッコニー寒天培地(栄研製)または、マッコニー寒天培地を基礎培地として作製した変法マッコニー寒天培地による菌分離法および凝集反応法により実施した。

<結果および考察>

実験用動物のB. bronchiseptica検査結果は、菌分離法でマウス(0/2367)、ラット(0/1085)、ゴールデンハムスター(0/20)、ヒール(0/100)において陰性であった。また、血清診断法でもマウス(0/12784)、ラット(0/4208)、ゴールデンハムスター(0/25)で同じく陰性であったが、ヒールについては、非特異的な凝集が11例中5例に認められた。一方、モルモット(37/282)、鶏(112/244)、ウサギ(25/133)、アカイザル(23/113)については菌分離陽性であった。そのうち、モルモット、ウサギについては本菌感染陽性のものに呼吸器系の疾患を伴うものが多かった。また、分離菌の生物学的性状試験結果では由来動物による性状の差は認められなかった。

今回の検査結果よりハリスシステム内で飼育している実験動物(マウス、ラット、モルモット)については陰性結果が得られ、微生物統御の成果が確認された。一方、外部動物業者より購入しているモルモット、ウサギ、鶏、アカイザルについては陽性のものが多い傾向にあったが、モルモット、ウサギについては生産場がSPF化を実施した後の導入動物にはまったく本菌の感染は認められなくなった。また、鶏、アカイザルに関しては現在も本菌感染陽性の動物が導入されており、種々実験用動物を収容している施設においては動物飼育管理上の問題が大きいものと考えられた。

サルの犬歯抜歯術について

○武藤通彦、稲垣晴久、土屋栄一、高木英敏、山下武夫

成熟雄ザルの犬歯は、サルを取り扱う職員、サル間での闘争および自虐行動を示すサルに対して傷害の原因となり大変危険である。今回、これらの危害の程度の軽減化を目的に成熟雄サルの上顎犬歯の抜歯術を実施したのでその概要を報告する。

<材料および方法>

抜歯術は、6才以上の成熟アカゲザル17頭およびカニクイザル6頭の計23頭を対象に実施した。実施に際し薬剤として、ケタラール（5%）+セラクター（2%）1：1の麻酔剤、持続性ペニシリン製剤および止血用ゼラチンスポンジを用いた。また抜歯用に、歯科用エレベーター（直、湾）、鉗子、頭部の保定用として東大脳研型脳定位固定装置を用いた。抜歯手順は、①動物は、麻酔剤0.1ml/kgの筋注により麻酔させる。②歯科用エレベーターで歯肉を歯根から剥離する。③動物を固定装置に保定し鉗子で犬歯を挟み引き抜く。④空洞になった歯槽内に止血用ゼラチンスポンジを挿入する。同時に化膿予防の為抗生剤（ドウベン）を投与する。術後の処置として抜歯当日の給餌は中止し、翌日から通常の飼育管理を行い術部の観察は、約1か月後に行なった。一方、抜歯した犬歯についてはその諸形質を計測した。

<結果>

（1）．抜歯に要した時間は、30分程度であった。（2）．アカゲザルの2例を除き抜歯できた。（3）．術後1か月目の歯槽部は、外観的な異常は認められなかった。（4）抜歯術による摂食行動への影響は少なく、いくらか変化が認められた8頭においても抜歯後まもなく摂食は回復した。（5）．アカゲザルおよびカニクイザルの犬歯は、約4cmに対して歯根部が5割以上を占めるもので歯肉の中に隠れている部分の方が長いということが判った。

<まとめ>

鉗子で犬歯を引き抜く上で、頭部の保定は重要である。その点、今回使用した東大脳研型固定装置は、大変有効であった。エレベーターは、歯根部内約1cmぐらい押し入れ歯肉を十分剥離することが大切であり、特に犬歯と前臼歯の間は、湾曲エレベーターで両歯を分離するように深く押し込んでおくと抜歯しやすかった。抜歯後空洞になった歯槽部内に止血用ゼラチンスポンジを入れることは出血を最小限に留めることを可能にし術後の経過が良好であった。以上の点から今回行った抜歯術は、今後我々の施設においてもルーチン的な業務として積極的に進めていけるものと考えらる。

オスニホンザルの季節繁殖性とその要因について

鳥居 隆三・北川 尚美¹⁾・和 秀雄¹⁾

(滋賀医大・動物実験施設、¹⁾日獣畜大・野生動物)

ニホンザルは交尾期と非交尾期が明瞭な季節繁殖性を有しており、メスでは、非交尾期に無月経と無排卵に陥り、これは視床下部のLH-RH分泌低下によることを既に明らかにしてきた。一方、オスにおいては非交尾期に、血中T値の低下や精液量の減少など雄性機能が低下することが知られているが、その要因についてはいまだ明らかにされていない。そこで今回は、年間の雄性機能の推移を明らかにすると共に、とくに非交尾期に雄性機能を低下させる要因について検討を加えた。

(供試動物と方法) 実験に供したオスニホンザルは、当施設にて、温度 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、L/D:12/12の一定環境下で、固形飼料(20g/kg/day)とサツマイモ(50g)を与えた条件で飼育・維持していた野生由来の10才以上の成熟個体である。毎月1回、麻酔下で体重測定、精巣計測、採血および精巣生検等を行い、雄性機能の年間の推移を明らかにすると共に、交尾期の12月と非交尾期の7月に、hCG(100 u/kgx1 & 50 u/kgx3)およびLH-RH(200 $\mu\text{g/kg}$)負荷試験を実施した。なお、血中LHおよびT値の測定はRIAにて行った。

(結果および考察) 血中T値は9月から3月に高い値を示し、4月から8月には低い値を示す明瞭な季節変動がみられた。また体重および精巣のサイズも交尾期に増加し、非交尾期に減少する明かな年間変動を示した。精巣の組織においても、非交尾期には精子形成の著明な低下を示す所見が得られた。この様に、非交尾期には、明かに雄性機能が低下していることをまず確認した。

つぎに、非交尾期の雄性機能の低下の要因について検討するため、hCGおよびLH-RH負荷試験を、交尾期と非交尾期について行った。その結果、hCG負荷試験においては、血中T値の明かな増加が両時期に認められ、交尾期と非交尾期の精巣のT分泌予備能に本質的な差がないことが分かった。また、LH-RH負荷試験においても、血中LHおよびT値は交尾期、非交尾期にいずれも明かな増加が認められた。ただ、非交尾期においては、hCGおよびLH-RH負荷試験ともに非交尾期の血中T値の増加は交尾期に比べわずかに遅延がみられ、精巣の感受性の低下が推測された。これらの成績から、オスニホンザルの非交尾期における雄性機能の低下の一つの要因として、視床下部からのLH-RH分泌機能の低下が示唆された。ただ、オスの場合、年間を通じて精巣組織中に精子が確認でき、また電気刺激によって精子を含む精液の採取が可能であることから、視床下部を含む高位中枢の機能抑制はメスのように強いものではないことも推測される。いずれにしても、非交尾期の雄性機能の低下は、メスの場合と同じ機構下であり、また一定温度、湿度および照明時間においても年間変動が維持されることは大変興味深く、今後、さらに視床下部からのLH-RH分泌能の低下の機構についても検討を進めたい。

電子線照射滅菌飼料のラットの生殖に及ぼす影響

芝谷光治，子林孝司^{*}，新比恵啓志^{*}，周参見正行^{*}，有行史男^{*}，

武下政一，岡庭 梓（田辺製薬 マルコ・リサーチ・サービス，安全研^{*}）

電子線滅菌飼料の有用性を調べる目的で，親ラットの生殖機能ならびに第一世代および第二世代の発生・発育に及ぼす影響を放射線滅菌飼料と比較したので報告する。

材料および方法：オリエンタル酵母社製固形飼料(CRF1)に50KGyの電子線を照射した飼料を，親動物の入荷時から第一世代出生児の剖検時迄全ての試験期間を通じて自由摂餌させた。Crj:CD(SD)系ラットを雄5週齢，雌10週齢で購入し，雄が12週齢，雌が15週齢に達した時点で交配を行ない，得られた母動物を妊娠21日に帝王切開して第一世代胎児を観察した。また一部の母動物から第一世代出生児を得，出生児が10週齢に達した時点で血液学および血液生化学検査ならびに臓器重量測定を実施した。さらに出生児が12週齢に達した時点で交配を行ない，第一世代胎児と同様の方法で第二世代胎児を観察した。対照群には前述の固形飼料(CRF1)に50KGyの⁶⁰Co-γ線を照射した飼料を，電子線照射飼料と同期間自由摂餌させた。

成績：交配前の親動物の体重および摂餌量ならびに母動物の妊娠および哺育期間中の体重および摂餌量に両群間の差はなかった。

親動物の交尾率および妊娠率に差は認められず，さらに妊娠維持，分娩・哺育にも影響は認められなかった。

第一世代胎児においては，致死，催奇形および発育抑制の各作用を示唆する所見は得られなかった。

自然分娩させて得られた第一世代出生児の体重推移，摂餌量，精巣下降および膣開口の時期，交尾率ならびに妊娠率に両群間の差はなかった。さらに第二世代胎児の発生にも異常はみられなかった。血液学検査および血液生化学検査の各検査項目は生理的変動範囲内の値であり，さらに脳，心臓，肝臓，腎臓，精巣および子宮の臓器重量に両群間の差を認めなかった。

まとめ：電子線照射滅菌飼料と放射線照射滅菌飼料を用いて，ラットの生殖機能におよぼす影響を比較した。その結果，両飼料間に差はなく，電子線照射滅菌飼料は既存の放射線照射滅菌飼料と同様，ラットの繁殖・育成用飼料として使用可能と判断された。

ネコにおける胚凍結保存の試み

○神田政典・三日月幸治・神田恵・及川弘（塩野義製薬・油日ラボラトリーズ）

【目的】実験動物、特にマウスの胚凍結保存に関する研究の歴史は古く、現在では既に確立された技術として国内外の多くの研究機関で系統保存を目的とした Embryo Bankが作られつつある。これに対し、猫胚の凍結保存に関しては唯一 Dresserら（1988）の報告があるにすぎず、凍結融解後の胚の生存性についての詳細な報告は皆無である。そこで演者らは、まず種々の発生段階の猫胚を用いて凍結融解を行い、どの発育ステージが凍結に耐え得るかを、また凍結保護剤にグリセロール（以下 Gly）、ジメチルスルファオキシド（以下DMSO）を用い、どちらがより適当であるかを調べるため以下の実験を行った。

【材料および方法】供試動物は成熟雌猫12頭で、PMSGを初日100IU、第2・3日目に各50IUずつ投与して発情誘起を行った。PMSG初回投与日から7日目にHCG 500IUを投与したのち交配に供した。HCG投与後2～7日目に、塩酸ケタミン麻酔下で供試動物より卵管・子宮を摘出し、卵管は下向性に、子宮は上向性に灌流して胚を回収した。形態観察を行ったのち、胚を凍結保護剤の入った培養液（M2）と共に0.25mlプラスチックストローに封入後、プログラムフリーザーにより室温～-4℃迄毎分5℃、-4℃で10分間保持（この間植水）、-50℃迄毎分0.3℃、-70℃迄毎分0.5℃、-160℃迄毎分25℃で冷却後LN₂（-196℃）中で保存した。尚、凍結保護剤にはDMSO及びGlyを用い次の4実験区を設定した。（A）2段階・最終1.0M DMSOで平衡後凍結⇒融解後は平衡と逆の手順で脱DMSO。（B）3段階・最終1.5M DMSOで平衡後凍結⇒融解後は平衡と逆の手順で脱DMSO。（C）4段階・最終1.0M Glyで平衡後凍結⇒融解後は0.5M Sucroseで脱Gly。（D）4段階・最終1.0M Glyで平衡後凍結⇒融解後は平衡と逆の手順で脱Gly。尚、室温下で凍結保護剤を除去後、胚を発生用培地（TCM-199+10%FCS）に移して培養（5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂, 37℃）を継続し生存性の判定を行った。

【結果および考察】2～4細胞期胚の凍結では各実験区とも生存胚は得られなかった。収縮桑実胚の凍結では、A区：14/21（66.7%）B区：20/31（64.5%）C区：4/14（28.6%）の生存胚が得られたが、D区ではどの発生段階においても生存胚は認められなかった。また拡張胚盤胞の凍結では、A区において9/12（75.0%）の生存胚が得られた。尚、どの発育段階の胚凍結においてもDMSO区の生存率のほうがGly区のそれを上回っていた。以上のことから、猫胚の凍結保存には発生段階の進んだ収縮桑実胚～拡張胚盤胞を用いるのが、また凍結保護剤にはDMSOを用いるのがより適当であることが判明した。

次に、凍結融解により得られた生存胚の胎仔への発生能を調べるため、HCGで排卵誘起した自然発情猫3頭の子宮に拡張胚盤胞（凍結融解した収縮桑実胚を2日間培養）を各6～9ヶ移植した。その結果、3頭中1頭が受胎し（着床数2）、妊娠68日目に1仔を正常分娩した。

ラット胚発育の系統間比較

○森岡宏至・都築政起・江崎孝三郎（大阪府大・農・実験動物）

胚移植に際し、供胚側・受胚側動物の妊娠期間が異なる場合、両者の胚の発育速度や着床時期が異なるものと推察されるので、両者の妊娠期間について考慮する必要があると思われる。

今回は、妊娠期間と体重が異なる Sprague-Dawley (SD) ラットと Dark Agouti (DA) ラットの2系統のラットにおける胚の発育について調べた。

SD ラットと DA ラットの雌の20週齢の体重はそれぞれ $248 \pm 33\text{g}$ ($n=15$) と $169 \pm 8\text{g}$ ($n=15$) で、SD ラットの方が DA ラットより有意 ($P<0.001$) に重かった。SD ラットの妊娠期間は90% 以上で23日を示し、DA ラットでは80% 近くが22日を示した。生後1日齢の子の平均体重はSD ラットの雄と雌でそれぞれ 6.2g と 6.1g であったのに対し、DA ラットでは 4.8g と 4.4g で雄、雌ともSD ラットの子の方が DA ラットのそれらより有意 ($P<0.001$) に重かった。妊娠期間がSD ラットと同じ23日を示した DA ラットの1日齢の子の平均体重は、雄と雌でそれぞれ 5.5g と 5.1g を示し、ともにSD ラットより有意 ($P<0.01$) に小さかった。これらのことはSD ラットと DA ラットの胚の発育度に異なりのあることを示唆する。

そこで、同一系統間自然交配後のそれぞれの胚の発育を調べた。精子確認日を妊娠第1日とし、妊娠4日および妊娠5日の10:00h と16:00h に胚を回収した。妊娠4日の10:00h には、DA ラットでは15例中14例で胚はすでに子宮に到達していたのに対して、SD ラットでは95% においてまだ胚が卵管内に存在していた。妊娠5日の10:00h には両ラットの胚は子宮に到達していたが、胚の孵化率はDA ラットでは9%、SD ラットでは2% を示し、16:00h における孵化率はそれぞれ74% と7% で、両ラット間の胚の発育度に明らかな差が認められた。

以上の成績から、供胚側と受胚側動物の妊娠期間が異なる場合の胚移植に際しては、胚の発育差を考慮する必要があると考えられる。

株化細胞との共培養による mouse 2-cell block の改善

新比恵 啓志、仁藤 新治、子林 孝司、有行 史男（田辺製薬・安全研）

【目的】哺乳類の受精卵を体外培養すると、発生の初期段階で胚発生が停止することが知られている。すなわちラットでは2細胞期、ハムスターでは2および4細胞期、ブタでは4細胞期、ヒツジ、ウシでは8～16細胞期にそれぞれ発生が停止する。マウスでもある種の近交系間のF₁を除いて2細胞期で発生が停止する。このblockを克服し、その後の発生を促進する目的で、これまで受精卵と卵管、子宮、脾臓あるいは腎臓などの、主に初代培養細胞との共培養が試みられている。今回我々は、入手および実験室での継代維持が比較的容易で、さらに継代を重ねてもその性質が変わらない各種の株化細胞を支持細胞として用い、共培養による mouse 2-cell block の改善効果を検討した。

【材料および方法】株化細胞には、CHO-K1（チャイニーズハムスター卵巢由来）、CHL/IU（新生チャイニーズハムスター肺由来）およびHEPM（ヒト胎児口蓋間葉由来）を用いた。各細胞は共培養開始48時間前に、予め 5×10^4 個シャーレに播種した。培養液には、10%ウシ胎児血清含有ダルベッコ変法イーグル培地を用いた。受精卵は、雌雄8～12週齢のICRマウスの体外受精に由来したものをを用いた。体外受精は10%ウシ胎児血清含有HTFの微小滴培養液下で行い、媒精6時間後に株化細胞との共培養を開始した。その後24時間毎に倒立顕微鏡下で卵の形態を観察した。一方、共培養を開始する頃の株化細胞を走査型電子顕微鏡で観察した。

【結果】1細胞から2細胞への発生率には、支持細胞のない対照群を含め群間に顕著な差はなかった。4細胞への発生率は、支持細胞のない対照群が1%、CHO-K1群が44%、CHL/IU群が7%であった。しかしHEPM群では4細胞まで発生した卵は認められなかった。4細胞以降への発生率は、CHO-K1群で41%、CHL/IU群で5%であった。CHO-K1群では3%の卵が胚盤胞にまで発生した。一方、走査型電子顕微鏡による観察では、CHO-K1およびCHL/IUのみによく発達した微絨毛が観察された。さらにCHO-K1の方が細胞密度が高かった。HEPMでは細胞同士は密に接着していたが、微絨毛のような複雑な表面構造は見られなかった。

【結論】株化細胞であるCHO-K1およびCHL/IUには mouse 2-cell block の改善効果が認められた。改善率には差があり、CHO-K1が最も良かった。一方、HEPMには認められなかった。株化細胞の構造および密度に差があることが観察された。

実験用カニクイザルの病理学的検討

：死亡あるいは切迫殺された17頭について

○豊沢かおる，沖本一夫，安場正子，飯田晶敏，中村秀雄（大日本製薬㈱，開発研）

当研究所で過去13年間に購入された野生カニクイザル 590頭のうち，馴化期間中に死亡，あるいは切迫殺された17頭について病理学的に検討した。

動物はいずれも捕獲された野生の雄7頭，雌10頭で，原産地はフィリピン，マレーシア，インドネシアであった。推定年齢は2～17歳で，購入後，長期間にわたり飼育された高齢の動物が3分の1を占めていた。

上記の動物のうち5頭では，著しい体重減少および衰弱，脾臓の濾胞萎縮・壊死，軽～中等度の腸炎，および心筋・骨格筋の変性がみられ，これらの特徴はマーモセットで報告されている Wasting syndrome に類似していた。

その他，死亡あるいは衰弱の原因となる主な病変・疾患として化膿性異物性肺炎，潰瘍性口内炎，大腸炎，間質性腎炎，膀胱炎，糸状虫感染症，Fatal fasting syndrome および全身性アミロイド沈着症がそれぞれ1～2頭にみられた。

カニクイザル17例の病理組織学的所見

性別	雄							雌									
動物番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
推定年齢	2-3	3-4	6-7	>8	9-10	>13	17	3-4	3-4	3-4	3-4	>7	>8	>8	>8	>11	>15
大脳・延髄：スフェロイド小体				+	+		+								+		
心臓：心筋の変性							+	+							+	+	+
肺：化膿性異物性肺炎 限局性肺炎	+++																+
脾臓：濾胞萎縮・壊死 寄生虫性結節（糸状虫）			++		+		++	+	++	+	++			+	+		++
口腔：潰瘍性口内炎	+++																
胃：化膿性胃炎																+	
腸管：腸炎 寄生虫性結節（腸結節虫）	+		+	+				+	++				+++		+		
肝臓：寄生虫性結節 虫嚢形成（Armillifer属舌虫） 脂肪変性 凝固壊死													+		+		+++
腎臓：間質性腎炎 寄生虫性結節（糸状虫） 脂肪変性 糸球体の硬化性変化							+++							+			+++
膀胱：膀胱炎								+++									
骨格筋：骨格筋の変性			+													+	+
アミロイド沈着（全身性）																+++	
色素沈着（全身性）				+	+	+	+						+	+	+		+

病変の程度 +：軽度，++：中等度，+++：高度

Crj:CD(SD)系ラットにおける脳腫瘍(神経膠細胞腫)の自然発生について

義澤克彦, 松本正博, 大石裕司, 藤平司郎, 中野一雄,

三好幸二, 岩波黄葵, 藤井登志之 (藤沢薬品・安全研)

ラットにおける中枢神経系腫瘍の自然発生は, 癌原性試験あるいは生涯飼育試験においても非常に稀であり, 生後1年未満の発生はあまり報告されていない。我々は, 当研究所で実施中の長期試験において, 生後1年未満のCrj:CD(SD)系ラット320例中3例に神経膠細胞腫(混合型膠腫1例, 星状膠細胞腫2例)を認めたので, その臨床経過ならびに病理像について報告する。また, SD系ラットで生後1年～1年半に好発する頭蓋内腫瘍である下垂体腫瘍3例と臨床経過を比較した。

神経膠細胞腫の症例は, 43週齢の無処置対照の雄1例(症例1, 切迫屠殺), 47週齢の去勢雄1例(症例2, 途中死亡)および43週齢の去勢雌1例(症例3, 途中死亡)の計3例である。いずれの例も, 切迫屠殺あるいは死亡の2～3週前から体重の減少(5～11%)を示した。その間, 症例1では自発運動の抑制, 全身筋肉の弛緩が, 症例3では異常摂食行動, 過敏反応が見られたが, 症例2では一般状態に何ら異常は見られなかった。剖検では, 全例において膨隆した灰白色領域が右側大脳半球に限局して認められ, 左側大脳半球を著しく圧迫していた。組織学的には, いずれの例においても, 腫瘍細胞は多形性で瀰漫性に増殖し, しばしばリボン状あるいは柵状配列を示し, 壊死領域または血管を取り囲んでいた。これらの腫瘍細胞は, その形態から星状膠細胞由来と考えられた。抗GFAP抗体による免疫染色では, 腫瘍細胞は陰性であった。加えて, 症例1では, 核周囲にHaloを有する希突起膠細胞様の腫瘍細胞の増殖領域も認められた。以上のことから, 症例1を混合型膠腫, 症例2および3を星状膠細胞腫と診断した。

同実験系での下垂体腫瘍の3症例(53週齢; 無処置対照雌1例, 途中死亡, 58週齢; 無処置対照雄1例, 切迫屠殺, 69週齢; 去勢雄1例, 切迫屠殺)では, 1～2ヵ月間で, 体重が20～50%にまで減少し, 旋回運動, 斜頸を示し, 次第に衰弱した。

下垂体腫瘍に比べると, 神経膠細胞腫の症例は, 比較的急激な経過を示して死亡あるいは瀕死状態に陥るものと思われた。

マウス泌尿器症候群(MUS)の発生について

中井伸子、小林忍、前川美津子、橘知子、道田成好、長沢久充(日本新薬 安全研)

我々は飼育室のモニター検査中にddY系雄マウスにマウス泌尿器症候群(Mouse Urological Syndrome: 以後MUSと略す)の発症を認めた。MUSは、海外では尿道閉塞性の病変を主徴とするマウスの泌尿器疾患として多数の報告があるが、国内では報告がないので、MUS発症の再現性を確認するとともに、性、系統、飼料のとの関連について検討している。

〔材料および方法〕雄7系統(ddY, CD-1, B6C3F1, BALB/c, C57BL/6, C3H/He, AKR/N)雌1系統(ddY)のSPFマウスを系統ごとに10匹を1群とし、計8群設けた。飼育は通常のバリアー内の飼育室で、マウス用ブラケットケージ(ステンレス製、日本クレア、200×230×150mm)に1ケージ当り3~4匹を収容し、飼育用MF(オリエンタル酵母)、および水道水を自由摂取させて行なった。また、飼料の比較のためにddYの雄各10匹ずつ2群を追加し、それぞれ固型の飼育用MFおよび飼育繁殖用F2(船橋農場)を与えた。実験は9週齢より開始し、一般症状観察、体重測定、剖検(死亡例および瀕死動物)、病理組織学的検査(MUSに関連すると思われる臓器)および尿検査(尿量、pH、蛋白質、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、比重、細菌数および種類のうち可能なもの、剖検時膀胱尿使用)を実施した。

〔結果および考察〕MUSの発症は、41週齢までにAKR/N、ddY(♂)、CD-1、BALB/cで認められており、特にAKR/Nでは発症率が高かった。また、ddY(♀)、C57BL/6、C3H/Heでは発症は認められておらず、B6C3F1においても本症と思われる症例があったが一過性で回復した。AKR/NではMUSは17週齢頃より発症し、その多くが25週齢までに死亡した。ddYでは、13週齢で発症した個体もあったが、21週齢以降に発症し慢性の経過を取る個体が多く、いずれの飼料群においてもMUSの発症が認められた。主な臨床症状はペニス、包皮の腫大、変形、外傷、生殖器周囲の化膿、潰瘍、膀胱の腫大等であり、急死する個体はまれであった。死亡例における剖検所見では皮膚の炎症、膀胱拡張、蛋白様栓塞物による尿道閉塞、混濁尿、水腎症等が認められた。

現在までに得られた結果より、ddYにおけるMUSの再現性が確認され、また、他の系統においても系統差があるがMUSが発症すること、雌での発症がないことが示唆された。飼料に関しては、今回比較した種類のものではMUSの発症に明確な差は認められなかった。現在、未発症例も含め剖検および尿検査、組織学的検索を実施中であり、MUSの病態について更に詳しく解析する予定である。今後、今回検討できなかった飼育方法(ケージの種類、ケージ内匹数、ケージ内環境)のMUSの発症との関連や、発症の系統差は何に起因するか等についても検討を進めて行きたいと考えている。

白血球数測定に及ぼす強度貧血の影響

原田多恵子、永江祐輔、宮本政樹

(日本チバガイギー㈱、薬剤安全性研究室)

失血性強度貧血ラット血液を自動血球計数装置(Sysmex F-800)で測定した時、白血球数の高値がみられ、夾雑物の存在を示唆する粒度分布像が得られた。そこで今回、8週齢のCrj:CD(SD)雌性ラットにフェニルヒドラジンを7.5、15あるいは30mg/kgの投与量で0、1及び3日に皮下投与し、溶血性貧血を発症させ、得た血液を用いてその原因を検討した。(1)この血液をSysmex F-800で測定した結果、赤血球数は正常時の1/2以下に、またヘマトクリット値は正常時の50%に対し、35~40%まで低下していた。平均赤血球容積は正常時の57.3flに対し、7.5、15及び30mg/kgでは各々81.0、97.6及び116.6flであった。白血球数は、正常時の $38 \times 10^2 / \mu\text{l}$ に対し、処置群ではそれぞれ、3536、3318及び $2998 \times 10^2 / \mu\text{l}$ と正常時に比べ約100倍の値が計数された。またその粒度分布は、正常時には単一のピークであるのに対し、処置群では小粒子側の谷を検出することができず、白血球以外の小さい粒子が多数混入している可能性が示唆された。また網状赤血球率は正常時の2%に対して40~75%であった。(2)貧血ラット血液を遠心分離後有核細胞を除去し、血球数を約 $800 \times 10^2 / \mu\text{l}$ に調製した血球浮遊液について、溶血剤クイックライザ®(Sysmex)処理後の血球数を測定した。その結果、7.5、15及び30mg/kgの投与量で各々11、477及び $663 \times 10^2 / \mu\text{l}$ となり、血球の残存が認められ、溶血剤に反応しない無核細胞の存在が確認された。さらに、重層遠心分離法により得た網状赤血球に溶血剤を加え、超生体染色後鏡検した結果、一部の網状赤血球は未溶血のまま存在した。(3)ラウリル硫酸ナトリウムで前処理後、溶血剤処理した検体においても、網状赤血球は溶血されず、白血球数の高値および粒度分布の異常が認められ、正確な白血球数の測定はできなかった。以上の結果から、失血性強度貧血ラットの白血球計数時に観察された夾雑物は網状赤血球であることが示唆された。

ジャクソン研究所について

小泉 勤 (福井医科大学医学部附属動物実験施設)

ジャクソン・ラボといえば実験動物関係者にはJマウスがまず思い浮かぶのではないのでしょうか。また、50万匹もの貴重なマウスが失われた1989年の火災も記憶に新しいことかと思えます。マウスの国際供給センターとしての顔が余りに売れているため、ここをマウスの生産所と誤認している方もおられるようですが、この研究所はガン研究を目的に設立され、以来、一貫してマウスを実験モデルにガンや免疫、神経など基礎医学の研究が行われています。この過程で多種多様の特性を持った近交系マウスが作出され、また多くのミュータントが発見されており、世界の研究者に供給されて来ました。したがって、ジャクソン・ラボのマウス生産施設の復旧は一研究所の問題ではなく、世界の研究者の念願でもありました。このような強いニーズの上にNIHの助成金や日本からの救援基金など、多く関係者のすばやい援助を受け、火災から2年を待たずにマウスの生産は完全に回復しております。

私は1990年4月から1年間、ジャクソン・ラボの Dr.J.H.Nadeau (今年の日本実験動物学会総会でマウスの遺伝子マッピングとアメリカの Human Genome Project についての特別講演を行っております) の研究室に滞在する機会を得ました。私が滞在していたころは、完全回復をめざして取り組んでいるところでした。ジャクソン・ラボと研究所のある Mt. Desert Island (MDI) について紹介し、ついでに Dr. Nadeau のラボで私が行った仕事 (ヒトとマウスの比較遺伝子マッピング) についても簡単に紹介させていただきます。

研究所を取り巻く豊かな自然環境

アメリカの車のナンバープレートは、その州のシンボルが描かれるようですが、メイン州では Vacationland の文字とロブスターの絵でした。研究所のあるメイン州のダウン・イーストと呼ばれるMDI近辺は、氷河によって創られた複雑な海岸線、無数の湖、それに数千もの島々からなる大変に風向明美なところで、海岸線にそって小さな村々がひっそりとたたずんでいます (図1)。ナンバープレートが示すように、夏の観光とロブスター漁はメイン州の主要産業のようです。

数千ある島々で一番大きなものがMDIで (108平方マイル)、人口は約1万人です。

バーハーバーはMDIの中心で、通年人口は4,000人ですが、夏だけの住人や保養客を加えると、6月から9月はなん倍にも膨れ上がります。島といっても本土とは橋で結ばれており、バーハーバー空港（橋近くの本土、トレントンにある）とボストンは通年、夏はニューヨークとも定期便で結ばれていますから交通は比較的便利で、人口はメイン州全体でもわずか200万程であり、しかも広大な土地に分散して住んでおりますから大きな都市といったものではなく、バーハーバーから70 Km ほどに位置する人口わずか5万のバンゴーがメイン州では第2の都市となります。人口5万といってもバンゴーはメイン州の半分ほどをカバーしておりTV局、国際空港、新聞社と一応なんでも揃っておりますが、これを不便と感ずる向きには不便かも知れません。しかしながら、日本以上の治安の良さ、独立心が強く勤勉で親切的な住民など、古き良き時代の健全さが今も生きずいっているように思われます。

現在のMDIは半分は Acadia 国立公園になり、年間400万人以上が訪れるアメリカ有数の保養地ですが、MDIは古くはインディアンの夏の居住地であり、近年はニューヨーク、ボストン、フィラデルフィアの大富豪たちの避暑地となり、バーハーバーには豪華なホテルや豪邸がひしめいていました。しかしながら、1949年に山火事に端を発した大火災がバーハーバーを襲い、豪邸は大方焼失してしまいました。この時、ジャクソン研究所も全焼しています。国立公園の土地は、かつては多くの個人の別荘地であり、国に寄贈されたものです。ロックフェラーJrは最大の貢献者で、30年ほど前に遺言で現在の公園の半分以上を占める広大な土地と50マイルにも及ぶ Carriage road（馬車道）を寄付しております（彼は、ここの維持に100人ほどを雇っていたそうです）。これで現在の海岸、山、森、原野、Carriage road からなる魅力的な公園が完成し、誰でもMDIの自然を楽しむようになりました。この公園の森に囲まれるようにしてバーハーバーの町があり、ジャクソン・ラボがあります（図2）。写真はラボの近くの Champlain Mountain からのラボとバーハーバーの全景です。ラボの右手にBeaver Dam pond と呼ばれているビーバーが小川をせき止めて造った池があります。この池は国立公園内ですが、ラボの敷地内にもビーバーが池を造って住んでいます。ラボは手前がマウス生産施設のある Morell Park であり、中央に新築された大きな洗浄・滅菌施設棟です。右手は木々に囲まれて研究棟、管理棟などがあります。フレンチマン湾に面してバーハーバーの町が木々に中に隠れて見えます。

ジャクソン研究所のこと

長々とMDIやメイン州の観光案内をしてしまいました。しかしながら、ジャクソン・ラボを語るとき、MDIの豊かな自然を抜きにすることはできません。そもそも創設者の C.C.Little (ハーバード大教授、メイン大学学長) が1929年にがん研究を目的に研究所をMDIに創ったのは、ここの自然と人に魅せられたことに加えて、すばらしい土地を提供されたからだと聞いております。60年前には数名の研究者でスタートしたラボも順調に拡大し続け、現在では雇用者は500人を越えており、この地方(ハンコック郡)では第2の規模を誇る事業所であるとの事です。

雇用者の2/3近くはマウスの生産や研究用マウスの飼育管理、洗浄滅菌などに携わる人々であります。日本では3Kで敬遠気味の動物実験施設ですが、MDIでは他に大きな産業もないこともあってか(観光、ロブスター漁、ジャクソン研究所がMDIの3大産業)、若いスタッフが揃っているように思えます。着いて早々、アルコール中毒防止のための半日のプログラムを受講しなければなりませんでした(新規採用者は必ず受講)、若い人から、中堅まで30人ほどが一緒に受講しておりました。

1980年には所員の Dr.G.Snell がマウスの組織適合抗原の研究でノーベル医学・生理学賞を授賞するなど高い評価を受け、今日では哺乳類の遺伝学分野の世界最大規模の研究所に発展しております。サービス面でもJマウスの供給に加え、ジャクソンで運営しているGBASE(マウスの遺伝子地図のデータベース)は研究者に不可欠の存在となっております。ジャクソン・ラボはバーハーバーの町から3Kmほど離れた小高い丘にあり、研究関係(研究棟、図書館、講堂、研究用のマウス飼育棟)と生産関係の建物が分散しております(図2)。そのため、1989年の火災の被害はマウス生産施設のある Morrell Park だけでした。

私が着いた時分は、火災から10カ月がたち、プレハブの飼育棟によりマウスの生産は火災前の6割程に回復しておりました。日本から寄せられた救援基金はNIHの助成金の呼び水になったとのことです。11月には洗浄・滅菌棟が完成し、消毒を前に所員に公開されましたが、生産関係の職員用カフェテリアも設置された非常に大きなものでした。ここが稼働するまでは、研究棟に隣接した洗浄・滅菌施設で飼育器具を処理しており、滅菌した器材は台車ごとビニールで覆い、何百メートルも離れた飼育室までホークリフトで運んでおりました。通常の勤務体系(朝7時半~3時)では処理能力が追いつかないため、この部門は早朝から深夜まで2交替制でフル操業を行っていました。今後、数年で恒久的な

マウス生産棟をいくつか建てるとの事でしたが、建設予定地の一つにはビーバーが営巣しているので計画を変更しなければならないなど、自然豊かなMD I ならではの悩みがあるようです。

生産施設の洗浄室が巨大でゆったりなのとは反対に、研究棟はギッシリと詰め込まれているように思われます(図3, 4)。研究室は一研究者一ラボ制であり、スタッフサイエンティストになると研究室を主催できますが、スペースはそれほど大きくはなく、ギューギューに詰まっているといえます。研究スタッフ、テクニシャンなど研究従事者は100人を越え、これにコンピューター関係や病理組織、電頭などサポートする専門スタッフが加わります。各研究室ではスタッフの少ないところは別として、多いラボではミーティングをするにも自前の場所がなく、共用の会議室を予約して使っていました。セミナー室や休息室を各研究室におかないのはスペースの有効利用であり、合理的といえば大変合理的です。しかしながら会議室も少ないためミーティングに熱が入って長引くと次のグループに追い出されたり、あるいはミーティング中のグループを追い出したりという具合です。数年以内には Goerge Senll Biomedical Laboratory (図4: Dr.Snell のノーベル賞授賞を記念して造られた) の駐車場に研究棟を増築するとの青写真ができており、これが完成すると解消されることでしょう。

スタッフサイエンティストの研究分野は遺伝、癌、免疫、神経など多岐に渡っております。夏ごろからスタッフサイエンティストを新たに募集しておりました。スタッフ候補者は研究所でのセミナーが課せられており、候補者はこれまでの研究や今後の計画を1時間ほど講演し、これに対してフロアーからの質問が飛び交います。ラボの研究財源は研究者個人の獲得するグラントに全面的に依存しており(マウス生産部門は非営利事業となっています)、将来性豊かなスタッフを採れるか否かは研究所の明日が掛かっております。セミナーは講演者だけでなく採用する側も真剣であり、いずれも大変熱の入ったセミナーで、どれを聞いても刺激的でした。冬になってもスタッフ候補者のセミナーが続いていましたので最終的に誰が選ばれたか判りませんが、ふさわしい候補者がいれば採用する方針かと思われま

す。スタッフ候補者とは別に外部講師によるセミナーもずいぶん盛んで、夏は訪問者も多いことから週2回ほどもありました。これに所内の免疫、生化学、遺伝学の関係グループによるセミナーがあり、また研究室のミーティングもあります。また、秋からは Dr.Nadeauが新たに遺伝マッピングのセミナーを主催したりと随分とにぎやかでした。

研究に加えてラボの大事な活動に教育があります。大学院生の受け入れ (University of Maine at Orono が主で、キャンパスは 100 Km ほどはなれた Orono という大学町にあります) , 夏期の学生研究生, それに遺伝学の短期集中コースが教育活動です。遺伝学の短期コース (Short Course in Medical and Experimental Genetics) は 7 月下旬から 8 月上旬の 2 週間, バーハーバーのハイシーズンに開催されます。講師陣はジャクソン・ラボとジョンズホプキンス大学の半々で、実験遺伝学と臨床遺伝学についての講義と実習を行います。これに外部講師も加わり、トピックス的なことも盛り込んでいます。コースは 2 週間と時間が限られているので朝は 8 時から始まり、午後は MD I ハイスクールや MD I 病院を会場に実習を行い、夕食後、再び研究所で講義を行うというハードスケジュールで、土曜日と同じスケジュールをこなします。このコースの講義は所員には開放されておりましたので、いくつか興味のある講義を聞きに行きました。特に臨床遺伝学の講義では特に突っ込んだ内容で活発な質疑応答が行われておりました。前年度の参加者の名簿 (参加者のプロフィール、現在の研究課題や興味のある研究分野などが記載されている) によると、8 割が MD といったところで、日常業務や研究で遺伝性疾患と取り組んでいる人々が参加者には多く、なかには大学で遺伝学を講義している人もいました。参加者の 8 割位はアメリカやカナダからですが、海外からの参加もできます。この遺伝学コースの開催は・・財団 (名前を忘れてしまいました) の援助を受けており、参加者の個人負担は記憶が確であれば 200 ドル程度でしたので (滞在費は別) , 2 週間の講義、実習の受講料としては破格の安さです。日本からだと渡航費が掛かりますので安いとは言い難いですが、関心があればジャクソン・ラボの Training & Education 部門のマネージャー (Mr. Robert Shea) にコンタクトすればよいでしょう。参加者にはある程度、遺伝学についての素養が要求されるようです。200 名の定員ですが、早めに申し込まないと一杯になるようです。

教育活動として大学生や高校生に研究体験をさせる夏期学生研究生プログラムにはかなり力を入れているようです。このプログラムは 1950 年くらいから始まっており、これはジャクソン・ラボに Highseas と呼ばれる豪邸が寄贈されたことに端を発しているようです。Highseas は 1949 年のバーハーバー大火災を逃れた数少ない豪邸であり、かつての栄光を見ることのできます。寄贈された Highseas を有効に活用するために、研究所では夏休みの学生に研究体験をさせるプログラムを始めました。Highseas を宿舍とし、スタッフサイエンティストに学生の旅費や滞在費、それに研究費のスポンサーになってもらい、2 カ月間の研究体験を行わせるというものです。毎年 20 名ほどの募集に対して数百人が

応募するほどの人気のあるプログラムようです（このプログラムへの参加者はアメリカ人に限られます）。Nadeau のラボでは昨年、一昨年ともスタンフォードとUCLAからの学生のスポンサーになっていました。このプログラムには大学生だけでなく高校生も何人か参加しておりました。これまでの参加者にガンウイルス研究でノーベル賞を得たテミンとボルチモアの2博士がありますが、学生時代のジャクソン・ラボでの体験からその後の進路を決めたということです。

研究の締めくくりとして卒論発表会ともいえる研究発表会がありました。所長をはじめほとんどの研究スタッフが出席し、セミナーとは違った和やかな雰囲気です。2ヶ月間では必ずしも研究成果が上がるわけではありませんが、研究の中身はさておき、いずれも発表が旨いのに感心いたします。後日、江崎氏（筑波大学長）の本を読んでいたら、IBMの彼のもとへ留学にきた日本人研究者も同様のことを感じ、これは子供のときからShow & Tellで鍛えられているからであろうと推察していました。私の子供もこちらの幼稚園、小学校にお世話になっていましたので週1回、Show & Tell の授業がありました。Show & Tell とは文字道理、何かを見せてそれについての話をするもので、日本の子供も仲間内では自然にやっていることですが、これを授業として取り上げ、クラス全員の前で自分の考えをキッチリと伝える訓練、人の話を聞く訓練としていところが大きな違いです。わが家の子供は英語のハンデイが大きく、親の助けが必要でしたので Show & Tell の前夜は一夜漬けの試験勉強で親子ともども対策に追われておりました。確かにこのような訓練を小さいころからずっと受ければ、プレゼンテーションは旨くなることでしょう。

他に、教育広報活動として夏のバカンス客を対象に週2回、ジャクソン研究所の研究活動の紹介やスタッフサイエンティストの話（私が聞きに行ったときは、どうしてラボで研究を行うようになったかなどの体験談でした。ジャクソン・ラボの多くの研究者はMDIが研究に、居住に最適の自然環境であると思っているようです）からなる活動をおこなっております。バカンス客の退屈凌ぎのボランティアとも言えますが、ジャクソン・ラボはマウスの研究を通じてその背後にある人を研究しているのであること、つまりジャクソン・ラボでのマウスを使った研究意義をアピールする絶好の機会でもあります。ビジターの中には親子ずれも多く、将来性豊かな子供もおりますし、また、研究所のスポンサーになってくれる人がいるかも知れません。この種の活動は地道ですが、非常に大事なように思われます。

ヒトとマウスの比較遺伝子地図

私が滞在したのは Dr.Nadeau のラボです。今年度の実験動物学会の特別講演で彼の話を聞かれた方も多いと思います。アメリカでは15年計画で30億塩基対にもおよぶ人遺伝子の全塩基配列の解読をめざした生物学分野では初めての巨大プロジェクトとされるHuman Genome Project(HGP)が進められております。日本、ヨーロッパでも遺伝子解読の研究が進められており、人の遺伝子の全塩基配列が明らかになるのは時間の問題です。が、遺伝記号を解読すれば遺伝学の問題がすべて解明できとは考えられておりません。ヒトと同じ哺乳類に属する別種動物と比較することは遺伝子の作用の解明に大きく貢献するはずで、それでHGPプロジェクトではその一貫として比較遺伝子地図が取り上げられております。

近縁種間では染色体の分染像が類似しており、マウスとラットでは50%ほど類似しており、ヒトとチンパンジーやゴリラではほとんど同じです。ヒトとマウスは共通の祖先に由来しますが、分岐して7,000万年ほど隔たりました。両種は形態、機能などいろんな面で大きく異なりますが、染色体の分染パターンも類似性が見いだし難いほどかけ離れています（もつとも、High resolution banding ではいくつかの染色体で部分的に類似している」とされている）。それまで公表されている両種の遺伝子マッピングのデータをもとに Nadeau は進化の過程で人とマウスは共通の祖先から約180回の染色体の再配列が生じて種ができたが、共通の祖先から受け継いだ染色体上の遺伝子配列が平均して8 cM の長さで全体では500 cM ほどに渡って保存されているであろうとの理論的考察による論文を1984年に同僚の Taylor と発表しております。その後いろいろな研究者によってこれを裏付けるデータが発表されつつあります。Nadeau のラボでの私の仕事は人の第13染色体の長腕部の遺伝子がマウスでは何処に保存されているについてであり、また、人の第4染色体にある Huntington 舞蹈病の近傍の遺伝子がマウスでどの様に保存されているかについても詳しく検討しました。詳細は出版あるいは今後出版されるものを参照していただくことにして、ここでは概略を述べます。

Nadeau のラボで取り組んでいる研究の一つに第14染色体にあるDisorganization(Ds)という器官形成に係わる遺伝子があります。Dsは半優性遺伝子であり様々な奇形を起しますが、ペネトランス（遺伝的浸透性）が低く（遺伝背景によってペネトランスは9~89%と異なると報告されております）、ヘテロは正常であり、ホモでは妊娠中にほとんどが死亡するため発症個体を得難く、苦勞して大学院生と取り組んでいたようです（彼は高校生の時に夏期学生プログラムでジャクソン・ラボで学び、その後の進路を決めたとのこ

とです)。私が行った時分は、学位論文の目度も付いたので新たに Ds 遺伝子のクローニングを試みておりました。しかしながら、Ds については生化学的な情報は全くありませんので、戦略は positional cloning と呼ばれているものです。Ds は第 14 染色体にありますのでマウスの第 14 染色体を持つ雑種細胞から DNA ライブラリーを作り、そこからマウス遺伝子を持つクローンを選択し、これを Probe として Ds に近いクローンを拾い、目的の遺伝子にたどり着こうとするものでした。Ds はマウス第 14 染色体で Es-10 と Tcra の間に位置しますが、Es-10 は人では第 13 染色体の長腕部に、Tcra は第 14 染色体の長腕部に相同遺伝子がマップされています。そうしますと Ds の近傍の遺伝子は人の第 13 染色体あるいは第 14 染色体のどちらかに保存されている可能性が高いと予想されます。

私の仕事の一つは人の第 13 染色体の長腕部の遺伝子がマウスで何処に保存されているかを検討したものです。これと Ds との関わりですが、もし Ds 位置する部位が人の第 13 染色体に保存されていれば、私の実験用に集めた沢山のヒト DNA クローンの中には Ds に非常に近い位置のものがありはずであり、Ds 遺伝子のクローニングに使えることになります。といいますのは、Ds のクローニングにおいて雑種細胞の Genomic Library からマウス遺伝子を持ったクローンを選ぶ過程は大変な力仕事であります。私の実験結果では人の第 13 染色体の長腕部はマウス第 14 染色体に保存されていましたが、その部位は Es-10 から Ds のある方向ではなく末端の方向でしたので、Ds のクローニングとは結び付きませんでした。

比較マッピングの方法はヒト第 13 染色体上のクローン化された多くの DNA を Probe とし、この中から人の場合と全く同一の特異性の高い条件下でクロスハイブリダイズするものを選び出します。次にチャイニーズハムスターとマウスの雑種細胞パネルでクロスハイブリダイズする相同遺伝子がマウスではどの染色体にあるかを決定し、最後に C3H/He と MOLF/Ei,あるいは B6 と M.spretus との間で RFLP を示す制限酵素を探し、C3H/He と MOLF/Ei,あるいは B6 と M.spretus との間の交配で得られた子孫マウスの DNA サンプルをつかってタイピングし、コンピュータープログラムで最も考えられる遺伝子の位置関係を計算し、マップするというものです。結果は、人の第 13 染色体の長腕部はマウスの第 14 染色体に 35 cM ほどの長さに渡って保存されており、残りの部位はマウスの第 8 染色体に保存されておりました(図 5)。

また、人の第 4 染色体の短腕部に Huntington 病の遺伝子がありますが、この部位がマウスではどこに保存されているかを検討しました(図 6)。最近では遺伝子診断は一般的で

すが、生化学レベルでの異常が不明な病気の遺伝子診断を初めて行ったのが Huntington 病です。人の Genomic Library から無作意に得たクローンDNAのうち、多型性を示すクローンをプローブとし、ベネズエラの Huntington 病の大家系から得たDNAについて連鎖を検討したところ、G8クローン (D4S10) による RFLP と Huntington 病の連鎖がみられたものです。これにより、Huntington 病の遺伝子診断が可能となりました。G8 遺伝子の染色体上の位置が明らかになれば、これを手がかりに糸を手繰って行けば Huntington 病遺伝子のクローニングができると考え取り組んでいます。その後、G8 は第4染色体の短腕の末端 (4q16.3) にあることが明らかにされ、より近くで沢山のマーカー遺伝子が見いだされております。現在では100人を越える研究者が協同して研究しております（この点が非常にユニークな点です。競争した方が遺伝子に早く到達できるとの考えもありますが、反面、競争では栄光を得る研究者は1名あるいは1研究室であり、そうするとデータの公表も慎重になり、また、リスクの多い Huntington 病の研究から撤退する研究者が多くなり、かえって研究が停滞するとも考えられています。後者の観点から、かなり早くから欧米の6つの研究室では協同研究が行われております）。

染色体上の位置が明らかになれば、この遺伝子を挟んで非常に近いマーカー遺伝子を探し出し、マーカーに挟まれた領域の物理的地図を作成し、目的遺伝子を含む領域のクローニングを行い、この中から候補遺伝子を探し出し、塩基配列の解読を行い正常な物と比較し目的遺伝子にたどり着くことができます (positional cloning)。このような戦略により現在では嚢胞性繊維症、慢性肉芽腫症など生化学レベルの異常が不明な20ほどの遺伝性疾患で原因遺伝子にたどり着くことに成功しております。しかしながら、Huntington 病では非常に早い時期にクローニングを開始し、数年前には Huntington 病遺伝子のある領域のクローニングを終え、Huntington 病遺伝子のクローニングは時間の問題だと言われていましたが、残念ながらまだ成功したとの報告はありません。Huntington 病の遺伝子クローニングは3歩進んで2歩戻るといふ難事業のようです。

マウスでは沢山のミュータントが見いだされておりますが、ミュータント遺伝子の位置する染色体領域がヒトとマウスで保存されており、ヒトの疾患遺伝子とミュータント遺伝子が相同領域にマップされている場合、同じ遺伝子の異常による疾患である可能性も考えられます。そうしますとミュータントマウスを手がかりにヒトでの解析が一気に進むことが期待できます。Huntington 病のある領域遺伝子のマウスへのマッピングはこの目的にあります。この領域はマウスと人では非常によく保存されていると言えますが、現在までの

ところ、マウスでは第5染色体上には Huntington 病に相当するような神経異常を起こす mutant の存在は報告されていません。ただ、ヒトとマウスでは同じ遺伝子が異常を起こしたとしても、種間での代謝の差など他の要因の差が関わってくることから完全に同じ病態を示すことは一般にはないとされています。Huntington 病では35歳くらいから発症する例が多ことから（若令型も報告されておりますが）、発症には暦年齢の関与があるのかも知れません。これまでマウスでは第5染色体に Huntington 病のような mutant が報告されていないのは、発症には暦年齢が係わっているのかもしれない。今後の進展が期待されます。

おわりに

バーハーバーはジャクソン・ラボのある町としてお馴染みの名前でしたが、実際に出かけようとなると何処にあるか判らず、地図にあたったところ、カナダに近い大西洋の島、それも不毛の山の島(Mt. Deaert Island)と呼ばれている島にありました。日本で言えば北海道の利尻島といったところかと厳しい自然を覚悟し、正直言ってこんな田舎に研究所を創らなくてもアメリカならいくらでもいい場所はあるだろうに．．．．．などと思ったものです。しかしながら、MDIの四季折々の自然の美しさに触れ、また、親切な住民に助けられながらMDIで暮らしてみると、C.C.Little がこの島の自然と人に魅せられて研究所を創ったことがよく理解できます。

図の説明

図1．バーハーバーのあるメイン州中央部海岸。

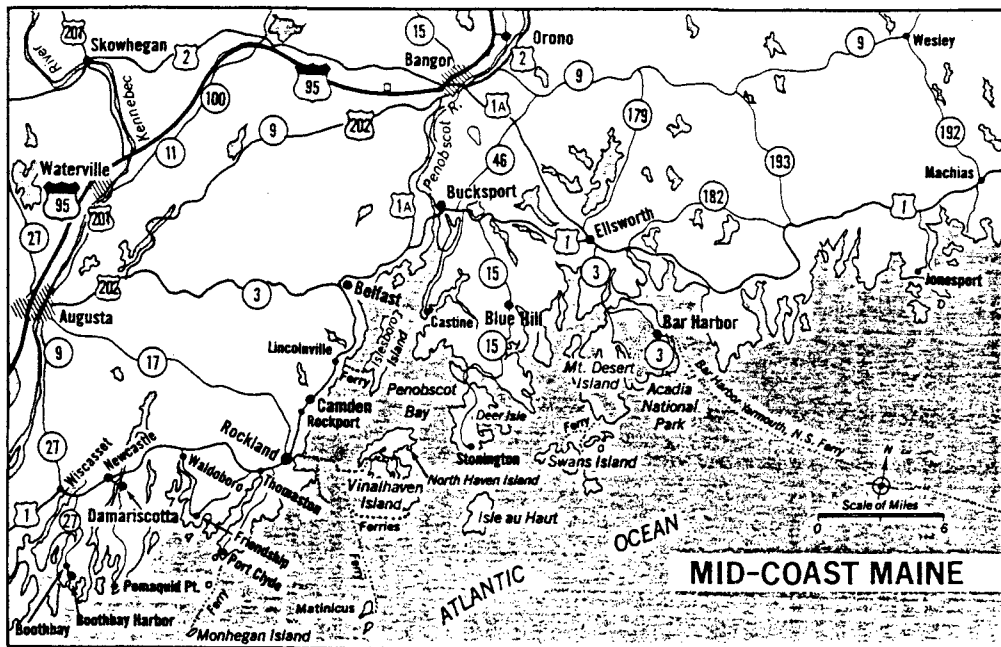
図2．Acadia 国立公園の Champlain Mountain から見たジャクソン・ラボとバーハーバーの町の全景。

図3．研究棟。正面は講堂で2階が図書館。

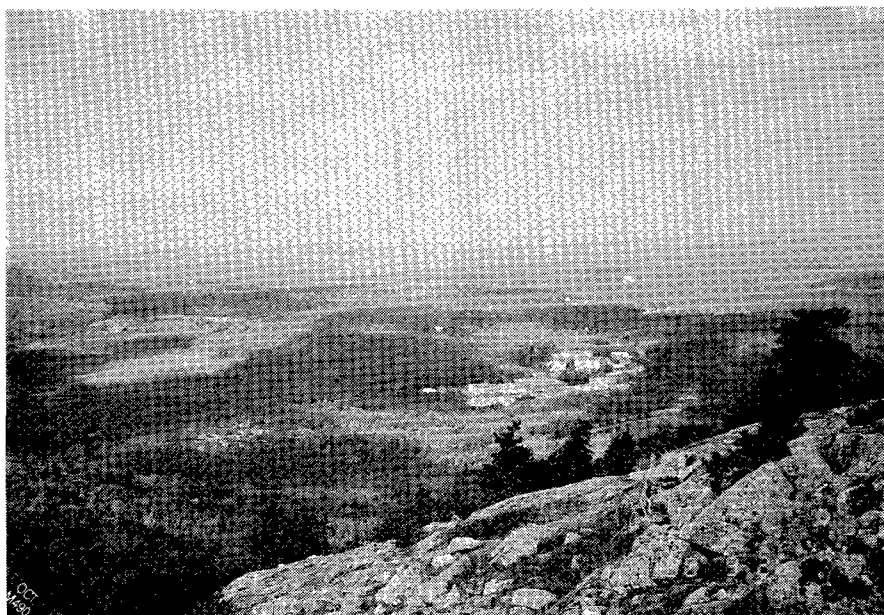
図4．George Snell Biomedical Research。ここの出入口には平日の勤務時間外（15時～7時半），と土曜，日曜はセキュリティスタッフが詰めているが，治安は非常によい。この棟の前に研究棟が増築される予定。

図5．ヒト第13染色体長腕部はマウスの第14染色体と第8染色体に保存されている。

図6．Hountington舞蹈病（HD）のある第4染色体短腕部はマウスでどの様に保存されているか。



☒ 1



☒ 2

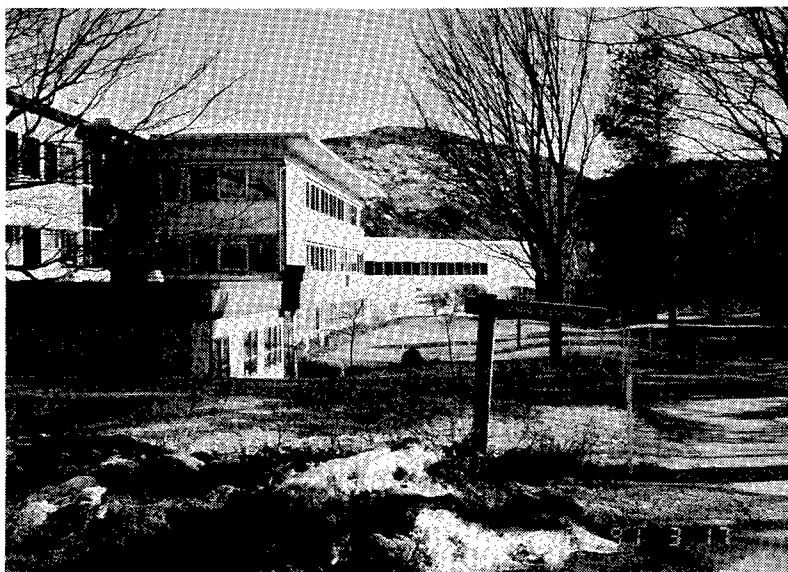


図 3

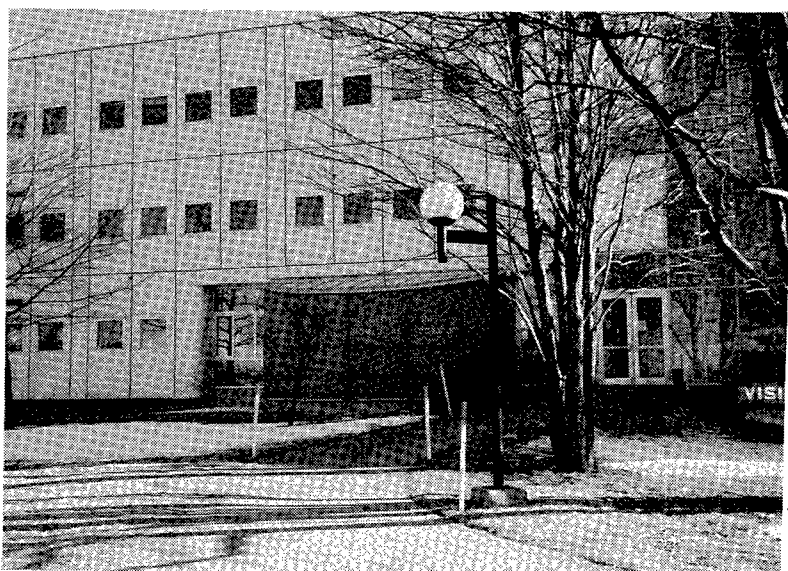
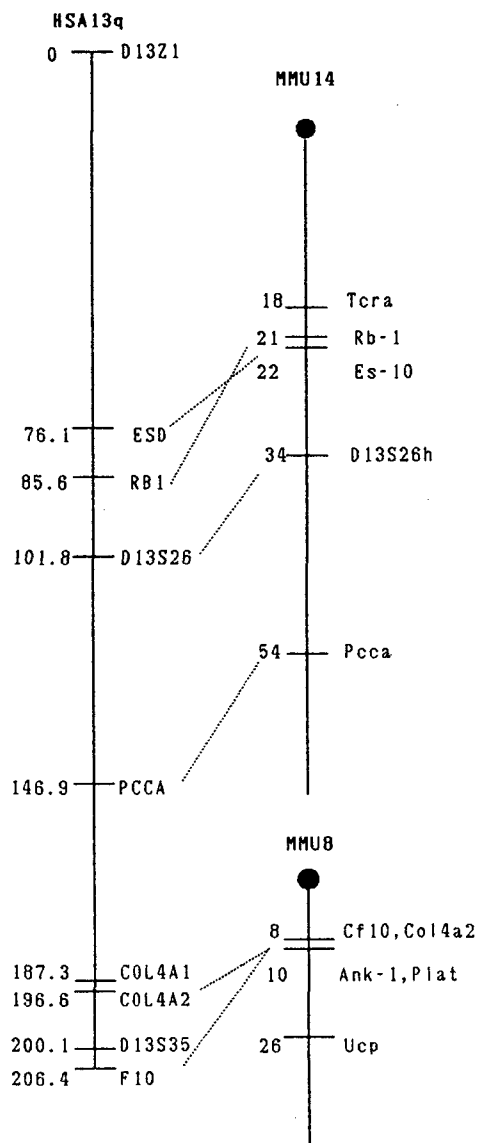


図 4



(Bowcock et al. 1989)

☒ 5

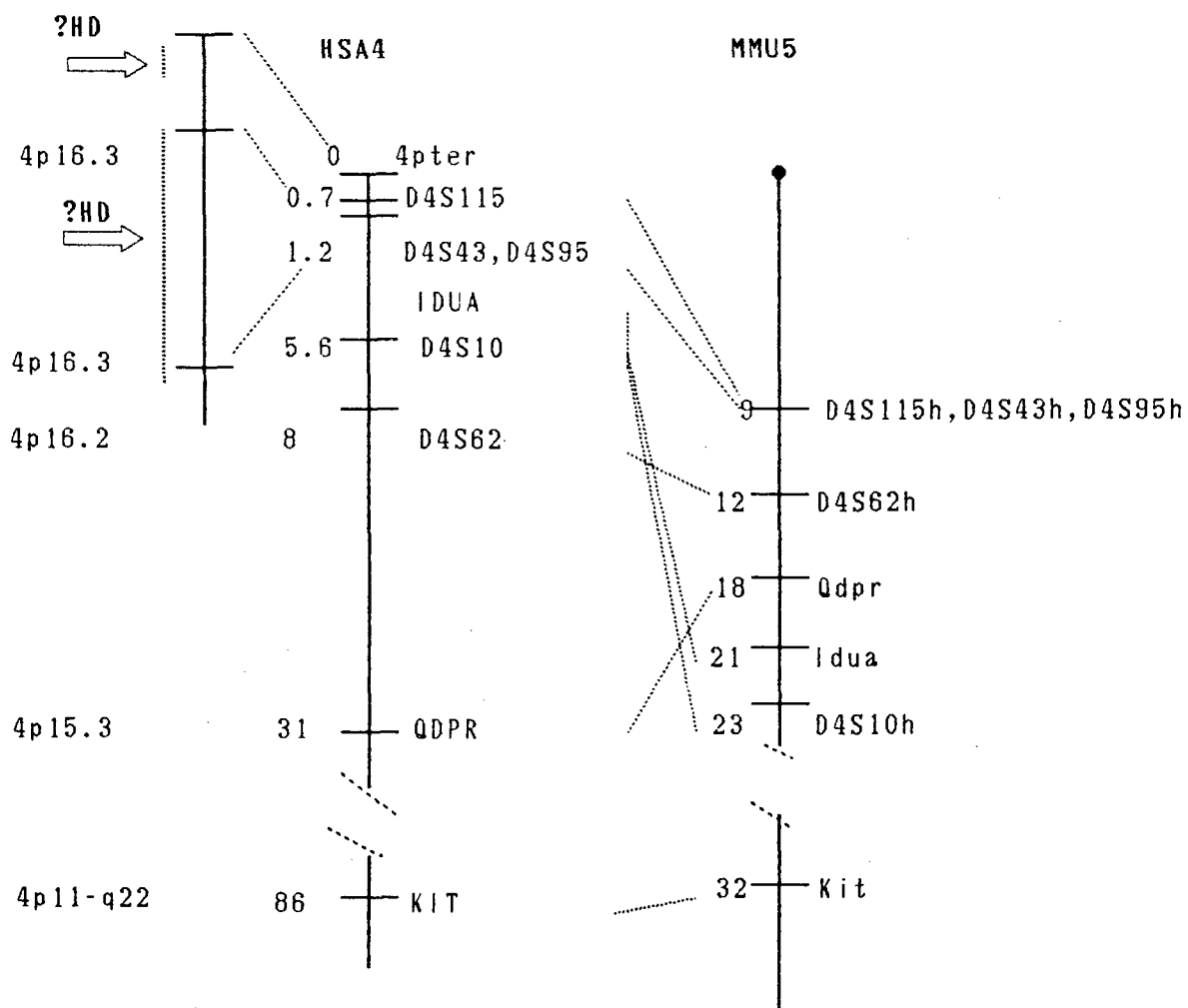


图 6

発生毒性試験における in vitro 試験法とその意義について

塩田 浩平（京都大学医学部・解剖学）

1. はじめに

環境要因のヒト胚子・胎児に対する発生毒性のリスクは、一般に、妊娠哺乳動物を用いた in vivo の発生毒性試験によって推定される。現在わが国では、新医薬品について、前臨床試験の一つとして「生殖・発生毒性試験」が課せられている。これは（１）妊娠前及び妊娠初期投与試験、（２）胎児の器官形成期投与試験（狭義の催奇形性試験に相当）、（３）周産期及び授乳期投与試験、のいわゆる３節試験から成るものであり、医薬品以外の農薬、食品添加物などについても、それぞれに催奇形性試験や繁殖試験が要求されている。

しかし、妊娠動物を用いるこれらの試験法は、多くの実験動物、人手と経費を必要とし、また長い期間が必要なため、こうした in vivo の試験を補完あるいは代替して、発生毒性スクリーニングをより簡便かつ迅速に行い得るための各種 in vitro 試験法の開発が進められてきた。また、in vitro 試験によって、in vivo の試験を軽減することができれば、動物愛護の観点からも、意義があると考えられる。

発生毒性の検出またはその解析を目的として実施される in vitro 試験法は、大別すると、哺乳類の組織や器官を用いるものと非哺乳類のそれらを用いるものに分けられ、また、培養材料によって、扱う対象が細胞、組織、器官、さらに個体と各レベルにわたっている（表１）。発生毒性試験の究極の目的がヒトでのリスクを評価することであり、また、発生毒性のうちで最も重視されるのが形態異常（奇形）であるので、in vitro 試験も何らかの形で発生現象を含んでいること、理想的に言えば、高次の形態異常を検出できることが望ましいと考えられる。各試験法の実際、および、それぞれの長所と短所については他の多くの文献を参照されたいが、目的に応じて最も適した試験法を用いるべきであることはいうまでもない。

2. in vitro 試験法の意義と利点

1) 胎児またはその組織の変化を直視下で観察できる

妊娠動物の胎内はブラックボックスであり、そこで起こっている現象は、ふつう観察できないが、in vitro では、経時的な変化を直接観察することができる。

2) 母体要因や胎盤透過などの影響を除外できる

化学物質の中には母体や胎盤内で代謝を受け、その作用が修飾されるものが少なくない。また、胎盤関門によって、物質の胎児への移行が選択的となる。in vitro 試験はこのような母体側

表 1. 発生毒性研究に用いられる in vitro 実験系の例

哺乳類胚
全胚培養（ラット、マウス、（ウサギ））
非哺乳類胚
ニワトリ胚、カエル胚（アフリカツメガエル）、メダカ胚、ショウジョウバエ胚、 ヒドラ（再生） など
哺乳類胎児器官
げっ歯類胎児の四肢・口蓋・腎臓など
初代培養細胞
マイクロマス培養（マウス肢芽間葉・ラット胚神経細胞・同肢芽細胞・ニワトリ胚 肢芽間葉など）、ニワトリ胚神経堤細胞 など
樹立株細胞
マウス卵巣腫瘍（細胞接着）、ヒト胎児口蓋間葉、神経芽細胞腫 など

の要因の影響を除外して、化学物質の胎児に対する直接作用を調べることができる。

3) 迅速に結果が得られる

in vivo 発生毒性試験は結果を得るまでに少なくとも数週間を要するが、in vitro 試験は1週間あるいはそれ以内で、一応の結果が得られるものが多い。

4) 発生の進行に関する個体差の影響を最小限にし、試験系を標準化し易い

発生現象の進行に関しては、同一胎齢の胎児の間においても、また、多胎動物では同腹児間でもかなりの変異がみられ、これが、外因の催奇形作用に対する感受性にばらつきが見られる原因の一つとなっている。in vitro 試験を行う際に、発生段階の揃った胎児材料のみを選んで用いれば、in vivo に比べてばらつきが少なく、きれいな結果が得られる。

5) 各培養体を解析の単位 (unit) にできるため、比較的少数の動物で解析が可能である

in vivo 試験では、一般に、各母体を統計学的な単位と見なすが、多くの in vitro の試験法では各培養体を独立した単位と見なすことができるので、毒性の評価や有意差の検定を、in vivo に比べて比較的少数の動物で行うことができる。

6) 外因の催奇形作用を純粹に検出できる

in vivo で胎児に異常が起った場合、それが重篤であれば胎児が胎内で死亡し、逆に軽度であ

れば一定の修復が起るので、催奇形作用がマスクされる可能性がある。in vitro 試験では、比較的短時間のうちに直接観察を行なうので、外因の催奇形作用をそのまま検出できる。

7) 化学物質とその代謝物の作用を解析的に調べることができる

化学物質が生体内で代謝を受ける場合、原体とそれ以外の代謝産物のいずれが発生毒性の原因物質であるか、不明のことが少なくない。in vitro では、母体・胎盤系の影響を除外した状態で、化学物質とその既知の代謝物を培地に加えることにより、それぞれの発生毒性を調べることができる（次項3参照）。

8) 用いる化学物質は微量でよい

in vivo の試験に比べて、被験物質が微量で済むので、高価な化学物質や入手困難な物質の節約になる。

9) ヒト及び他種動物の血清を用いた培養ができる

培地に、ヒトの血清や、薬物投与を受けた動物の血清を加えることにより、特定の血清の発生毒性や、血清による薬物代謝活性化（または不活性化）を調べることができる。

10) ヒトの細胞や組織を用いた試験が可能である

ヒトの細胞や組織に対する毒性を直接調べたい場合、十分な倫理的配慮のもとで得られたヒト材料を用いて試験を行えば、ヒトのリスクをよりの確に評価できる可能性がある。

3. in vitro 培養法を用いた発生毒性学の研究

1) 発生毒性スクリーニング

環境中に導入される莫大な数の新しい化学物質や物理的要因の発生毒性をすべて in vivo の動物実験で調べることは不可能であるため、in vitro の試験をより簡便で迅速なスクリーニング法として用いることができれば、その価値はきわめて大きいものとなる。発生毒性スクリーニング法としての in vitro 培養法の有用性に関しては、これまでに多くの研究者によって論じられ、また、validation study も数多く報告されている。多くの催奇形性化学物質を用いた研究によって、各種 in vitro 培養法における毒性発現濃度と in vivo における催奇形用量または母体血中濃度との間には、良好な対応が認められるとの報告が多い（図1）。

数十種類の化学物質を用いた validation study によると、in vivo の催奇形性をどの程度検知し得るかを表わす sensitivity と催奇形性陰性を正しく陰性として検出する specificity は、いずれも、多くの in vitro 試験法のうちで、全胚培養法が最も優れているとされる。これは、全胚培養が胎児の「個体」を用いる実験系であり、他の多くの in vitro の系に比べて肉眼的な異常を検出し易いという特長によっている。しかし、全胚培養法は、他の in vitro 試験法に比べて、手技が

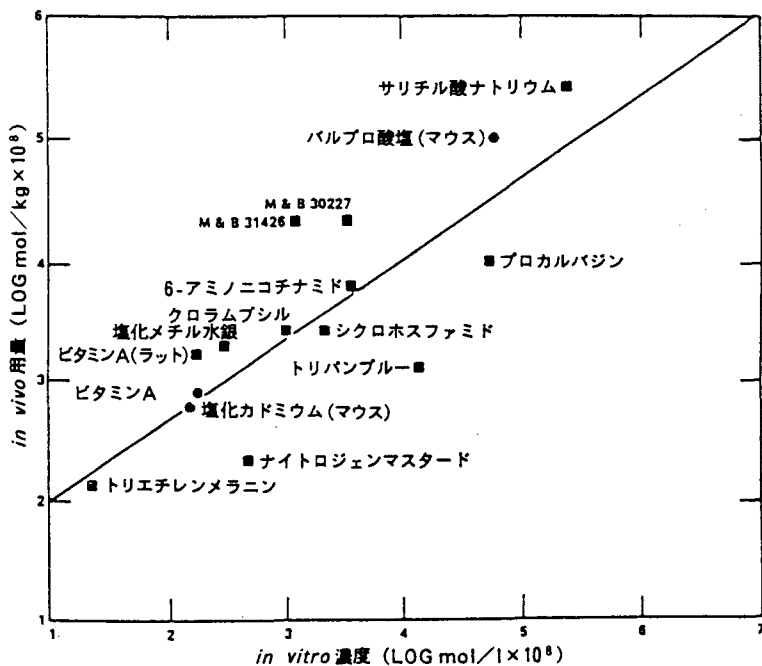


図1 *In vitro*での毒性発現濃度(横軸)と*in vivo*での催奇形用量(縦軸)との関係。両者の相関係数は0.82

簡便であるとはいえないことや、必ずしもコストや時間の節約にはならないことから、多数の外因の発生毒性スクリーニングを行うのには、全胚培養法は必ずしも適していないというのが、最近のほぼ一致した評価になっている。簡便さとすぐれた予知性という、一見矛盾した要求を共に満たすような*in vitro*試験系が、将来確立されることを望みたい。

2) *in vivo* 発生毒性試験の代替

細胞や組織を用いるシンプルな培養系は、肉眼的な奇形そのものを検出できないので、*in vivo*試験の代替法としては限界がある。胎児の個体を対象とする全胚培養法は*in vivo*発生毒性試験の代替法としての可能性が期待されたが、この培養法には、コストなどの点でそれほどの利点がないことが判明している。また、通常的全胚培養法では、口蓋裂や四肢奇形など比較的頻度が高く臨床的に重要な異常のいくつかを検出できない。更に、発生毒性の発現様式には、奇形以外に、各種の機能異常や経胎盤発癌作用などもあるが、これらの影響は*in vitro*法によっては、ふつつ検出困難である。特に、近年重視される、生後に発現する中枢神経系などの機能異常は、*in vivo*の試験によってしか調べられない。こうした理由から、現在のところ、いずれの*in vitro*培養法も*in vivo*発生毒性試験の完全な代替法として用いる可能性は小さいといえる。

3) 催奇形メカニズムの研究

(a) 催奇形性物質の同定

in vivo の発生毒性試験においては、毒物が母体-胎盤-胎児複合体に作用するため、催奇形作用が認められた場合も、それが薬物の直接作用によるものか、あるいは母体毒性に伴う二次的な影響であるのかを、区別できないことがある。また、動物の体内でいくつかの代謝産物が生じる場合は、どの代謝物が催奇形作用をもつ本体であるかが、in vivo 試験では同定できない。このような場合、当該の薬物、あるいはその代謝化合物を培地に加えることにより、それらの直接作用を in vitro で調べることができる。たとえば、Mirkes ら (1982) は、シクロホスファミドの代謝化合物 3 種を用いて全胚培養を行い、そのうちの 1 つ phosphoramidate mustard が催奇形作用をもつ物質であることを明らかにしている。

(b) 胚に対する薬物の直接作用の検索

in vivo の試験では、重篤な奇形をもつ胎児のかなりの割合が、胎生末期までに子宮内で死亡し、吸収胚としてしか認められないことがある。in vitro 培養法を用いれば、器官形成期胚に対する薬物の直接作用を直接観察することができる。また、母動物の感受性が著しく高いために一定用量以上を用いる in vivo 試験が不可能な場合も、in vitro では高濃度下でその胎児毒性を調べることができる。

(c) 催奇形化学物質の代謝活性化

1970年代後半から80年代にかけて、ある種の化学物質は、代謝活性化を受けて初めて催奇形作用を発揮することが明らかにされたが、これは in vitro 培養法を用いた研究に負うところが大きい。

in vivo で強力な催奇形作用を持つ cyclophosphamide は、その原体を全胚培養の培地に加えても、胎児に奇形を起こさない。Fantel ら (1981) は、培地に、cyclophosphamide と肝 S 9 分画およびその補酵素 (NADPH, G6P) を加えることにより、in vitro で奇形が起こることを明らかにした。その後、他の多くの薬物についても、催奇形作用発現のために、同様の代謝活性化が必要であることがわかってきている。また、代謝酵素系として、crude な S 9 分画でなく、ミクロゾームや肝細胞そのものを用いる試験系も開発されている。なお、逆に薬物代謝によって不活性化をうける (催奇形作用が減弱ないし消失する) 薬物の例としては、cytocalasin D などがある。ただし、化学物質は肝内酵素系以外の代謝系によっても代謝を受ける。procarbazine は、in vivo でラットに奇形を起こすが、in vitro では S 9 を加えても加えなくても奇形は起こらないことから、肝薬物代謝酵素系以外による代謝の関与が推定されている。

(d) 血清と胎児毒性

培地に種々の血清を加えることにより、血清の胎児毒性を *in vitro* で調べることができる。最も単純なアプローチとしては、薬物投与を受けた動物から血清を採取して、その血清の毒性を非投与動物のそれと比較することにより、血清中に催奇形作用をもつ物質が含まれるか否かを調べることができる (図2)。

糖尿病婦人からの胎児には、各種の奇形がやや高い頻度で生まれるが、Zusman ら (1989) は、I 型 (若年性) 糖尿病婦人の血清で培養したラット胎児に異常が起こることを報じている。Klein ら (1982) は、自然流産頻度の高いサルとそうでないサルの血清を用いてラットの全胚培養を行い、前者の血清が、培養ラット胚に対して、より強い毒性を示すことを明らかにした。さらに、彼らは、癌の化学療法や抗てんかん薬投与を受けた婦人の血清も、ラット胚に対して催奇形作用を持つことを認めている。

(e) その他の催奇形機序の解明

trypan blue は *in vivo* で強い催奇形作用を発揮するが、全胚培養を用いた研究の結果、この物質は卵黄囊胎盤をもつげっ歯類において、卵黄囊機能を障害することによって胎児に奇形を生じることが判明した。

催奇形物質には、特定の器官に特異的な異常を誘発するものが少なくないが、標識化合物を *in vitro* 培養系に加えたり、免疫組織化学的方法を用いることにより、その局在や組織親和性と催奇形作用との関連を解析しようとする試みもなされている。

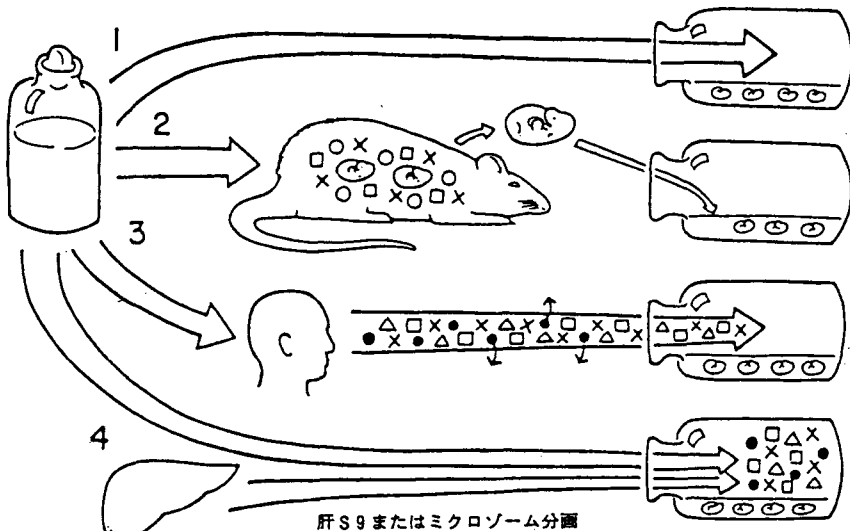


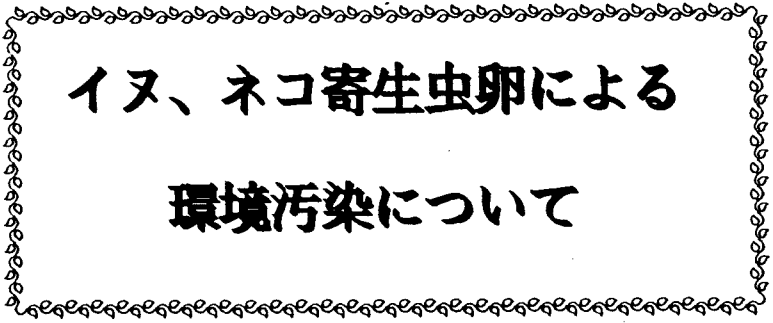
図2 哺乳類全胚培養法に種々の代謝系を組み込んだ実験法を示す模式図

4. まとめ

哺乳動物の細胞・組織、または下等動物（カエルなど）の胚を用いるシンプルな培養系は、催奇形性の一次スクリーニングの目的で用いられることが多く、その結果によって、*in vivo* の試験を行う前に医薬品の候補から除外されることもあり得る。しかし、いずれの *in vitro* の試験系も、今のところ、*in vivo* 試験の代替法としての意義はそう大きくないといわざるを得ない。しかし、*in vitro* 試験法の開発と改良が進められ、発生毒性のリスクをよりの確に検出し得るすぐれた *in vitro* 試験系が確立されれば、その利用可能性が広がることも十分期待できる。

発生毒性が、奇形など高次形態の異常を含むものであるのもので、その検出系も、細胞よりも組織、組織よりも器官、器官よりも個体のレベルを対象とするものが望ましいことはいうまでもない。その点では、ラットやマウスの胎児を *in vitro* で培養する全胚培養法が、他の系に比べてすぐれているといえるが、全胚培養は、他の *in vitro* 法に比べて、手技が複雑であること、必ずしも時間や経費の節減にはならない、という難点がある。また、全胚培養法で観察できるのは器官形成期の前半のみであり、例えば口蓋裂や四肢奇形など、比較的頻度が高く重要な奇形の検出法としては必ずしも適していない。この欠点を補う意味で、胎児の四肢原基や口蓋を *in vitro* で培養する方法が用いられる。

少なくとも今までのところ、いずれの *in vitro* 試験法も *in vivo* の発生毒性試験にとって代わり得るものではないが、*in vivo* 試験を補完して、ある程度の一次スクリーニングに用いることができ、また、催奇形機序を解析的に研究する上でその意義が大きいといえる。それぞれの方法の特長を活かして正しく利用すれば、*in vivo* では得られない重要な知見が数多く得られ、*in vitro* 試験の有用性とその範囲が更に増すものと期待される。



イヌ、ネコ寄生虫卵による 環境汚染について

塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ

及 川 弘

近年、実験動物の質が著しく向上し、量も潤沢に供給されるようになった。しかしイヌ及びネコについては、ノライヌやノラネコのような所謂来歴不詳の動物に依存する面が大きい。これらの動物は実験動物としての要件である遺伝の統御と環境の統御からみて、適切なものではない。しかし、経済上の理由などから、これら由来不詳の動物が検疫によって選抜され、使用されている。

その検疫の主眼は勿論感染症一般であるが、併せて遺伝病や代謝障害などもしらべられる。感染症ではその病原体は多数いられている。ウイルスによる感染症は主としてイヌ相互か、ネコ相互の感染に注意が払われるが、細菌、真菌、原虫、蠕虫、節足動物による感染症では、イヌ相互またはネコ相互だけでなく、イヌとネコそれにヒト間で相互に感染するものの多いことが知られている。これは人畜共通感染症といわれるものである。したがって、実験動物の衛生は勿論のこと、これを扱う飼育者と実験者の衛生も考慮して対処する必要がある。

特に寄生虫の寄生状況に関してはイヌやネコの生活環境を反映している面があり、環境汚染の程度を示す情報を提供してきた。また、寄生原虫の寄生状況については、近年エイズウイルス感染者への日和見感染による発症を考えると、イヌやネコが媒介者になる可能性があることから、特に関心が持たれるようになり、多くの調査が行われてきた。

原虫や蠕虫の寄生率に関する報告を見ると、実験用として導入された来歴不詳のイヌ、ネコについて検査されたものが多かったことから、実験動物関係者がイヌ、ネコの寄生虫の実態を知らせる情報を提供するのに重要な役割をはたしてきたといえるのである。以上のことから、本報告では、これら来歴不詳のイヌ、ネコの寄生虫の検査成績は本来の目的である実験動物としての健康管理は勿論のこと、人間の公衆衛生の観点からも重要であることを強調して、考察を加えたい。

1) これまでの経過

さきに、第9回本研究会において、京都府立医大（医動物学）吉田幸雄教授（現名誉教授）司会のもとに「実験動物における人畜共通寄生虫」と題するシンポジウムが開かれ、トキソプラズマ及びマラリア（松本芳嗣）、赤痢アメーバ及びその他の消化管内寄生虫（吉川尚男）、ニューモシスチス・カリニ（塩田恒三）、犬猫回虫の幼虫移行（及川弘）、

鞭虫及び糸状虫（山田稔）の諸テーマがとりあげられた。その際寄生虫の宿主となる実験動物の管理はもとより、人畜共通寄生虫という観点から、飼育者・実験者が動物由来の寄生虫に感染しないための知識と対策について述べられた。

第24回本研究会（1989年12月2日）において、及川弘らは「ネコの寄生虫について」の報告を行い、実験用として使用される由来不詳ネコ（ノラネコなど）の寄生虫調査結果を基に、文献値を参考に、ネコの健康はもとより、飼育者と実験者の健康を守る立場から考察を加えた。さらに寄生虫卵がネコの糞便とともに広い地域に撒布され、これが環境汚染につながっていることから、この問題はただ単に実験動物のみの問題にとどまらず、公衆衛生上の大きな問題であることも指摘した。

今回、第33回本研究会（1992年3月）では、前2回の講演内容も含めて、イヌとネコの寄生虫の感染状態が環境問題を考える上で、放置出来ない事態になっていることを説明する。なお、イヌとネコの寄生虫感染の実態は文献12）に詳細に紹介されている。

本講演でとりあげる寄生虫は原虫類、蠕虫類（吸虫類、条虫類、線虫類）、節足類で寄生性のものを指す。蠕虫類と節足類は虫卵を産生するが、原虫類は宿主の体内で増殖して、有性生殖によってオオシスト又はシスト（嚢子）を産生し、外界に撒布する。これが感染源の主体となる。蠕虫類の幼虫は宿主体内で増殖することは無いが、原虫類は増殖して栄養体を形成するというちがいがあある。栄養体が外界環境にでて感染源になる例は少ない。

従って環境汚染の主な対象となるものは蠕虫類や節足類の虫卵と原虫類のオオシストとシストである。これらのものが宿主から排出されて直ちに感染力を有するもの、感染力をもつまでに数日から数週間を要するものなどある。また寄生虫種別に寄生虫体数、産卵数、生存して排出する虫卵数に差がみられ、環境汚染の様相は種々変化に富んでいる。

2) イヌ・ネコに由来する人畜（獣）共通寄生虫

世界保健機構（WHO）と食糧農業機構（FAO）の専門家の合同会議により定められた定義によると、「ヒトと脊椎動物とのあいだに自然に移行する疾病及び感染症を人畜共通感染症（zoonosis）という」とされる。人畜共通寄生虫症（parasitic zoonosis）の病原体は原虫類、蠕虫類、節足類であり、蠕虫類には吸虫類、条虫類、線虫類が含まれる。従って通常寄生虫として扱われるものは原虫類、吸虫類、条虫類、線虫類、節足類の5種類である。

WHOとFAOの合同会議が1951年に、人畜共通寄生虫として37種をあげたが、その約

25年後には79種に増加した。その種数の変遷を表1にしめす。イヌとネコの双方かどちらかが宿主となるものの種数は原虫類で7種、吸虫類で9種、条虫類で9種、線虫類で14種となっている。

蠕虫類では以前にはイヌ、ネコ、ヒトいずれをも宿主とするものが注目されたが、近年中間宿主または待機宿主とする寄生虫が数多く知られるようになり、しかも宿主にあたえる症状が強く現れることの多いことがわかってきた。

そこで寄生虫の発育期と宿主の関係を4区分することができる。

- ① イヌ、ネコ、ヒトいずれも成虫にまで発育する、すなわちいずれも終宿主となるもの：
日本住血吸虫、肺吸虫、肝吸虫。
- ② イヌとネコでは発育期に停まり、成虫にまで発育できない（中間宿主とする）が、ヒトでは成虫にまで育つ（終宿主とする）もの： 条虫類、テニア属の数種。
- ③ イヌやネコでは成虫にまで育つ（終宿主とする）が、ヒトでは発育期にとどまる（待機宿主とする）もの： エキノコッカス（包虫）、犬回虫、猫回虫、犬糸状虫。 ヒトでは幼虫移行症となり終宿主より重篤な症状を呈することがある。
- ④ イヌ、ネコ、ヒトいずれも発育期に停まり、成虫とならないもの： アニサキス。

また、最近、ヒトの寄生虫感染で注目される点がいくつかある。すなわち、

- ① ヒトを終宿主とする蠕虫類は著しく減少した。
- ② イヌ、ネコを終宿主とする蠕虫類の幼虫による症状（幼虫移行症）が著しく増加した
- ③ 原虫類による日和見感染が著しく増加した。とくにエイズウイルス感染などによる免疫不全者に二次的に感染して、重篤な症状を呈する例が増加した。それらの原虫類はイヌとネコによって媒介される危険性が高い。
- ④ 以上のほかにも、糞線虫、多包虫、単包虫、ノミ類なども、イヌ、ネコによって媒介される例がめだってきた。

3) 幼虫移行症 —— 主に犬猫回虫症

或る寄生虫の感染型が非固有宿主に侵入した場合、宿主の防衛反応にあって殺滅されるか、排除されるのが普通である。しかしヒトを終宿主としない寄生虫のうちの、いくつかの種の幼虫は、ヒトの体内の臓器に侵入して症状をあらわすことがある。これは幼虫移行症（larval migrans）といわれる。

幼虫移行症は型別にみると皮膚型、内臓型、眼型にわけられる。虫種別では線虫類が多

いが、条虫類、吸虫類でもみられる。イヌ、ネコ由来の例を表2にしめす。

幼虫移行症は1950年に、犬回虫の幼虫が子供の眼球から発見されたことが発端となり、その後内蔵移行例など、全世界で2000例以上も報告された。眼の症状は視力減退から失明の重症まであり、内蔵にはいった場合には異食症や栄養障害等である。猫回虫による症例も何例か報告されている。

症状を示すのは極めて一部のものにすぎず、発見しにくいのが、近年の精度の高い免疫診断法によると、陽性例は平均5%程度で、ときには20%の高率の場合もあった。広島大学の1989年の検査では120例中犬回虫7例(6%)、猫回虫18例(15%)、合計25例(21%)であった。最近の特徴は猫回虫が多くなったことと、眼科からの依頼が増加したことである。その他生の牛肉や生の鶏肉を食べて感染した例もある。

これらの感染源は全てイヌ、ネコから由来するものである。イヌ、ネコに於ける回虫感染率は高く、宿主1頭当たりの寄生数は多く、しかも雌虫1隻当たりの産卵数も多い。筆者等の調査ではノラネコでの感染率は20%であった(詳しい資料は文献12参照)。したがって、人間の生活する環境である土壌が虫卵によって汚染されていることは容易に想定することができる。

4) マンソン孤虫症

マンソン裂頭条虫は主にネコの寄生虫であるが、幼虫のプレロセルコイドがヒトの体内に侵入して、腫瘍を形成して障害を引き起こす。この幼虫が成虫になることも稀にはあるが、おおくは幼虫移行症となる。病型は表2に示したような皮膚型、内蔵型、眼型以外にリンパ型もある。とくに生殖器、乳腺、脳、眼球等に腫瘤を作ると症状は重篤になる。近年わが国で報告された症例を表3にしめす。今後増加するものと思われる。

マンソン裂頭条虫のネコにおける寄生率は高く、筆者のノラネコにおける8年間の調査では平均13%、1989年には24%の高率であった。さらに本虫は産卵数が多いことから、猫回虫とともに虫卵による環境汚染源の双壁といえることができる。

5) 肺犬糸状虫症

イヌで最もおそれられる寄生虫は犬糸状虫である。これはイヌの心臓に寄生し、重篤な症状をていするばかりではなく、致死的になることから、イヌの寿命を短くしている原因の1つとされる。

わが国でも本虫の幼虫のヒトに寄生する例が1968年に報告されてから、幼虫移行症の一種として注目され、1989年までに71例を数えている。主な寄生部位は肺臓で、55例報告され、呼吸器症状を呈し、胸部レ線像で銭型陰影がみとめられる。これは肺犬糸状虫症といわれるもので、ほかに脳、皮下などの肺以外に寄生する例もあるが、終宿主であるイヌと同じく心臓に寄生した例はわずかに1例にすぎない。（表4）

近年、わが国の都市のイヌでは糸状虫症は減少したようにみえる。有効な駆虫薬の出現と、媒介者であるカの駆除の効果とみられる。しかし地方での調査結果をみると、寄生率の著しい減少は認められていない。従ってヒトに於ける発症の減少は期待できない。

6) 日和見感染

病原体といわれるものでも、通常は病原性が弱いか、健康な者には病原性を発揮できないものが、抵抗力の低下した宿主に侵入して、強い病原性を発揮する場合がある。これは日和見感染といわれるものである。近年特にエイズで注目されるようになった。エイズウイルス（HIV）に感染したヒトが免疫不全の状態になっているときに、2次的に病原体の感染をうけて重篤な症状を呈して死にいたる。この日和見感染をおこす病原体として、数種のウイルス、数種の細菌や真菌、それに数種の前虫が知られている。前虫には赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ニューモシスチス・カリニ、トキソプラズマがあげられる。これらの前虫はイヌとネコにも感染するもので、トキソプラズマをのぞいては、単独の感染では症状は強くなく、検査をすれば前虫の検出される例も多いが、殆ど見逃されていると考えられる。

7) トキソプラズマ症

トキソプラズマはヒトを含む殆ど全ての温血動物に寄生するのに、オオシストを産生しうる宿主（終宿主）はネコ科の動物だけである。家畜、ペット、実験動物のなかではネコだけである。

顕性期間に1頭のネコから排出されるオオシストの数は、筆者らの実験によれば、約1億個である。これが土中で永く生存し、感染の機会を待っている。

トキソプラズマの検出法は、ネコの場合は3つある。

- ① 糞中のオオシストを検出する。
- ② 血液、体液中の抗体か抗原を検出する。

③ 臓器、組織中の原虫（シスト、栄養体）を検出する。

ヒトとイヌなどの動物では②と③の方法による。土壌中のオオシストを検出して、環境汚染の程度をしらべることも大切である。

ヒトがトキソプラズマに感染する経路は2つの方法がある。1つは土壌中のオオシストを経口的に摂取すること。他は土壌中のオオシストから感染した食用動物の生の肉を食べたり、それに接触することによる。（図1を参照）

全世界的にみると人口の1/3 はトキソプラズマ抗体陽性とみられている。アメリカに於ける各種動物の血清中抗体保有率と食性との関係を図2にしめす。ヒツジ、ヤギ、ブタ、などの食用動物、キツネなどの野性動物で陽性率が高い。

ヒトにおける症状は脈絡網膜炎、脳水腫、小頭症などで、胎児に先天感染もおこる。ブタやイヌでも症例が多数報告されている。終宿主であるネコでは症状はむしろ軽く、待機宿主であるヒトや動物で症状の強く現れる例の多いことに注目したい。わが国ではヒトの本症が著しく低率なのは、本原虫に有効なサルファ剤と葉酸拮抗剤の合剤が細菌感染とウイルス感染のさいに繁用されているためと考えられる。外国ではエイズ患者のトキソプラズマ症が多数報告されている。

8）寄生虫による環境汚染は放置できない（むすび）

以上述べたように、近年ヒトの寄生虫で注目される現象は、ヒトを終宿主とする蠕虫類は著しく減少したのに、元来はヒトを終宿主としないが、イヌ、ネコを終宿主とする蠕虫類の幼虫によってひきおこされる、所謂幼虫移行症の増加したことである。さらにエイズ等でみられるように、原虫類の日和見感染による症状の重篤化である。これらの原虫類はいずれもイヌとネコにも感染性を有するので、ヒトへの媒介者としてイヌとネコのでの流行に注目すべきである。ヒトにおけるイヌ、ネコ由来の寄生虫（原虫、蠕虫）として重要なものを纏めて表5に示す。これらのうちニューモシスチス・カリニは空気により伝搬されるが、他の虫種では虫卵、シストが土中に撒布され、したがって土を介して感染する場合が多い。一部接触によって感染する例もある。いずれにしても、虫卵、シスト等によって土壌、空気等われられ人間の生活する環境が汚染されており、なにかの機会にヒトに感染し、さらにその一部が発症する。

その環境汚染の程度を知るには、まずイヌ、ネコにおける虫種別の寄生率、宿主1頭あたりの寄生虫体数、雌虫1隻あたりの産卵数を調べるかである。さらに虫卵、シストの土

壤中での生存率、生存期間等のデータが必要である。しかし従来の寄生虫学では、虫卵、シスト、オオシストの外界に於ける生存に関する研究は少なく、環境汚染の実態を知る資料は極めて少ない。それでも寄生率に関する報告は数多いので（文献12参照）、それらのデータから推測すれば、イヌ、ネコの寄生虫卵、シストによる環境汚染は放置できない事態と結論されよう。

- 1) Oikawa, H., Omata, Y., Kanda, M., Mikazuki, K., Yano, K. and Nakabayashi, T. (1990) : Survey on *Toxoplasma* infection in stray cats in western area of Japan during a two year period. *Jpn. J. Parasitol.*, 39, 462-467.
- 2) Oikawa, H., Mikazuki, K., Kanda, M. and Nakabayashi, T. (1991) : Prevalence of intestinal parasites with fecal examination in stray cats collected in the western area of Japan from 1983 to 1990. *Jpn. J. Parasitol.*, 40, 407-409.
- 3) Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, k., Nakabayashi, T. and Suzuki, N. (1990) : *Isospora felis* : Possible evidence for Transmission of parasites from chronically infected mother cats to kittens. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 665-666.
- 4) Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Nakabayashi, T. and Suzuki, N. (1990) : Experimental feline Toxoplasmosis : Humoral Immune responses of cats inoculated orally with *Toxoplasma gondii* cysts and oocysts. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 52, 865-867.
- 5) Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Takehara, T., Venturini, C., Saito, A. and Suzuki, N. (1991) : Enhancement of humoral immune response of *Isospora felis* infected cats after inoculation with *Toxoplasma gondii*. *J. Vet. Med. Sci.*, 53, 163-165.
- 6) Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Claveria, G. C., Takehara, T., Saito, A. and Suzuki, N. (1991) : Humoral immune response to *Isospora felis* and *Toxoplasma gondii* in cats experimentally inoculated with *Isospora felis*. *J. Vet. Med. Sci.*, 53, 1071-1073.
- 7) Shiota, T., Shimada, Y., Kurimoto, H. and Oikawa, H. (1990) : *Pneumocystis carinii* infection in corticosteroid-treated cats. *J. Parasitol.*, 76, 441-445.

- 8) 及川弘(1986) 犬猫回虫の幼虫移行、吉田幸雄他、シンポジウム「実験動物における人畜共通寄生虫」、第9回関西実験動物研究会講演、同会誌3号、8-9頁。
- 9) 及川弘、三日月幸治、神田政典、(1989): ネコの寄生虫について、第24回関西実験動物研究会講演、同会誌9号、86頁。
- 10) 及川弘、(1991): ネコの話、第6話、虫は無視できない、日動協会報、34、(平成3年5月1日号)、25-29頁。
- 11) 及川弘、(1992): 犬の話、第6話、虫の居所が変わった、日動協会報、40 (平成4年5月1日号)、20-23頁。
- 12) 及川弘、塩田恒三、(1992): イヌ ネコの寄生虫学実践入門、—— 虫卵、嚢子による環境汚染防止のための —— 山水書房、東京。

注: 筆者以外の報告に付いては、文献12) に多数紹介されているから参照されたい。

表-1 人獣（畜）共通寄生虫の種類の変遷（Joint WHO-FAO Expert Committee on Zoonoses）

発表年	種数合計	原虫類	吸虫類	条虫類	線虫類	節足類
1951	37	8	10	9	10	
1959	33	8	12	7	6	
1967	58	13 [7]	17 [7]	12 [5]	16 [7]	(11 属)
1979	79	18 [7]	19 [9]	15 [6]	27 [14]	(11 属)

[] 内はイスとネコ両方かどちらかが宿主となる種の数

表-2 幼虫移行症の症型別の部位と虫種名

移行部位	皮膚幼虫移行症	内臓幼虫移行症	眼幼虫移行症
	皮下, 皮内	肝臓, 肺臓, 腎臓, 筋肉, 脳, 脊髄	眼
移行虫種	○ブラジル鉤虫	○犬回虫	○犬回虫
	○犬鉤虫	○猫回虫	○犬糸状虫
	○犬糸状虫	○犬糸状虫	○マンソン裂頭条虫
	○顎口虫	○広東住血線虫	
	◇マンソン裂頭条虫	◇包虫	
		□肺吸虫	

○：線虫類 ◇：条虫類 □：吸虫類

表-3 我国のヒトにおけるマンソン孤虫症の例（1985年以降）

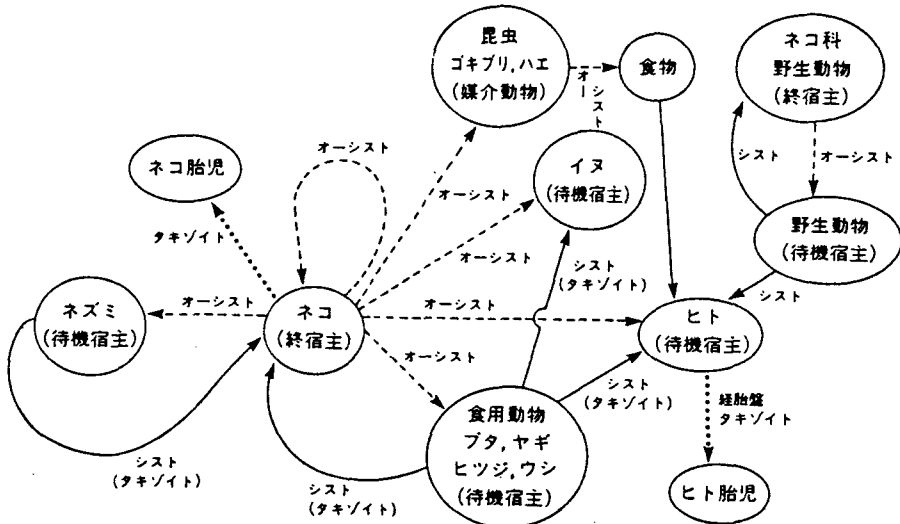
発生地	年齢	性	職業	症状	幼虫体	報告者	年
大阪	74	男	農業	胸部腫瘍	30 cm × 5 mm	島津	1985
鹿児島	62	女		左眼球腫瘍	10 cm	前田	1986
"	33	男		向反発作, 脳腫瘍	9 cm	"	"
"	42	女		腹部腫瘍	虫体検出	"	"
関西	27	男	精肉業	陰莖腫瘍	1.5 cm × 1 mm	古川	1986
佐賀	57	男	会社員	腹部腫瘍	18 cm × 1-1.5 mm	二宮	1988
長崎	46	男		発熱, 倦怠, 腫瘍	血清反応	嶋田	1989
"	43	女		咳, 胸痛, 腫瘍	虫体検出	"	"
関東	57	男		痙攣, 脳寄生	6.5 cm	古島	1989
三重	71	男	無職	左頬部皮下腫瘍	43 cm × 5 mm	安藤	1989

表-4 日本における犬糸状虫の人体寄生例

年	寄 生 部 位			計	累計
	心	肺	心肺外		
1964			1	1	1
68		1		1	2
74		2	1	3	5
75		1		1	6
76		1		1	7
77		1		1	8
78		1	1	2	10
79		2	2	4	14
80		1	3	4	18
81	1*	4	1	6	24
82		4	1	5	29
83		4	2	6	35
84		5	1	6	41
85		6	1	7	48
86		7	1	8	56
87		5	1	6	62
88		9		9	71
計	1	54	16	71	

* 成熟虫

(吉村裕之, 1989)



オーシスト (プレバテントビリオド) 20~24日 土壌・汚物(経口)環境汚染運搬
 シ ス ト (3~10日) 摂食(経口)
 タキゾイト (5~10日) 皮膚
 タキゾイト 経胎盤感染(ヒト, ネコ)

図-1 トキソプラズマの感染と伝播におけるネコ・イス・ヒト, その他の動物の関係 (及川)

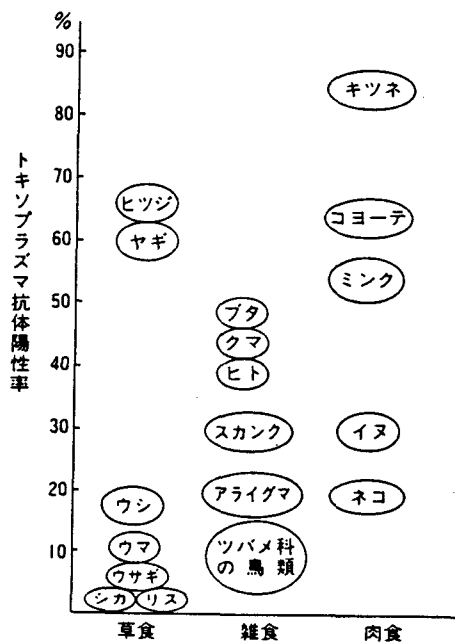


図-2 各種動物の食性とトキソプラズマ血清中抗体陽性率との関係 (Tizard, 1978)

表 5 ヒトにおけるイヌまたはネコ由来の寄生虫の感染源としての重要性

寄生虫名(感染様式)	感 染 源		ヒトの主な症状
	イヌ由来	ネコ由来	
■ ジアルジア (日和見感染)	◎	○	腸炎
■ クリプトスポリジウム (")	○	◎	腸炎
■ トキソプラズマ (")	○	◎	脳炎
■ ニューモシスチス・カリニ (")	○	○	肺炎
■ 赤痢アメーバ (")	○	○	腸炎
★ 犬 回 虫 (幼虫移行症)	◎	(▽)	眼・内臓疾患
★ 猫 回 虫 (")	(▽)	◎	内臓疾患
★ 糞 線 虫 (終宿主)	◎	○	腸炎
★ 犬糸状虫 (幼虫移行症)	◎	○	肺・臓器疾患
☆ マンソン裂頭条虫 (")	○	◎	皮膚症
☆ 多・単胞虫 (中間宿主)	◎	○	腫瘍

■：原虫類 ★：線虫類 ☆：条虫類 ◎：最重要 ○：重要 (▽)：希

Gene Therapy : Prospects and Progress

Edward H. Schuchman, Ph.D.

Mount Sinai School of Medicine, New York, NY

講演内容要約：

遺伝子治療に関する概論講義であった。

現在ヒトに適用できるテクノロジーとしては、目的とする遺伝子を組み込んだウイルス（ベクター：遺伝子操作によって病原性を取り除いている）を患者由来の培養細胞に感染させ、その感染細胞を患者へもどす（移植する）方法が確立されている。そのほか、直接患部へ注射したり、吸入したりする方法もある。

利用できるベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルスなどがある。レトロウイルスは、ほとんどの細胞に感染すること、安定した遺伝子の組み込みが起こること、8-10Kbの大きさの遺伝子を組み込めることなどの理由で最も利用価値が高い。神経系の疾患が対象となる場合には、単純ヘルペスウイルスが有効である。培養下にベクターを感染させる細胞としては、骨髄細胞と肝細胞が代表例である。アデノシン・デアミネース欠損による重症複合免疫不全(SCID)の場合には、骨髄細胞が遺伝子治療の対象となる。

肝臓の代謝性疾患の場合には、遺伝子を組み込んで正常化した肝細胞を肝門脈あるいは脾臓へ注射する。すると、これらの移植された細胞由来の正常細胞が、肝の5～25%を占めるようになる。5～25%という数値は、代謝異常を矯正するに十分なものである。また、癌組織に浸潤しているリンパ球に、例えば、TNF 遺伝子を組み込むことも癌の遺伝子治療として期待できる。

このような遺伝子治療のテクノロジーは、DDS としても利用できるものである。特に、蛋白やペプチドのように抗原性が問題となる薬剤の DDS として有用な手段となる可能性がある。

なお、米国では現在、2 例の遺伝子治療（SCID、悪性メラノーマ）が NIH で進行中である。

〔文責：宮脇茂樹〕

＜その他＞

関西実験動物研究会だより

関西実験動物研究会会報第12号に掲載した第37回研究会以後、以下の研究会が開催された。

- 1) 第38回研究会（平成5年6月18日 千里ライフサイエンスセンター）

講演会

1. HFRS抗体陽性ラットの摘発事例
芹川 忠夫（京都大学医学部・動物実験施設）

2. 動物実験とHFRS
西宗 義武（大阪大学・微生物病研究所）

- 2) 第39回研究会（平成5年9月17日 大阪大学医学部）

講演会：実験動物の臨床検査

1. 毒性試験における臨床検査の意義
降矢 強（国立衛試毒性部）
2. 実験動物臨床検査の問題点
米澤 秀利（小野薬品福井安研）
3. 毒性試験臨床検査の国際ハーモナイゼーション
野村 護（第一製薬安全研）

《会員の移動》

(平成4年11月～平成5年11月)

退会者

後藤 信男	神戸大学・農学部
川崎 浩之進	国立衛生試験場 大阪支所
米田 友彦	武田薬品工業(株)中央研究所
鈴鹿 博次	日本新薬(株)中央研究所
松下 宏	
田代 茂年	マルホ(株)彦根分室
西田 敦之	田辺製薬(株)安全性研究所
児玉 直巳	日本シェーリング(株)研究部
鈴木 靖幸	小野薬品工業(株)福井安全性研究所
千葉 胤考	
玉野 三男	田辺製薬(株)マルゴリサーチサービス
出口 隆志	協和発酵
林 敏夫	日本チバガイギー

入会者

岳 乗飛	大阪大学医学部附属動物施設
福西 克弘	鐘紡(株)薬品安全性研究所
二宮 寿三	武田薬品(株)薬剤安全研光支所
岩知道 公彦	武田薬品(株)実験動物管理室
細野 和裕	武田薬品(株)実験動物管理室
尾崎 晴茂	武田薬品(株)薬剤安全性研究所
玉野 三男	田辺製薬(株)マルゴリサーチサービス
三村 哲夫	田辺製薬(株)安全性研究所
三原 徑子	(株)ボゾリサーチセンター
水内 博	田辺製薬(株)分析化学研究所
神子田 武	武田薬品(株)実験動物管理室
小笠原 定則	日清食品(株)
杉井 学	(株)ケーエーシー 営業本部
多根井 昌孝	(株)ケーエーシー
清水 大	(株)ケーエーシー
井上 勉	(株)ケーエーシー
市川 一	加商(株)ライフサイエンスグループ
木佐 茂雄	加商(株)ライフサイエンスグループ
田畑 一樹	日本チャールスリバー(株)大阪営業所
江川 寅彦	オリエンタル酵母工業(株)
小林 忍	日本新薬(株)
久保 薫	奈良県立医科大学 動物実験施設
小泉 清	(株)ボゾリサーチセンター
東山 昇	塩野義製薬 新薬研究所
山本 利彦	沢井製薬 大阪研究所 生物研究課
稲垣 晴久	塩野義 油日ラボ 医薬実験動物
周藤 勝一	協和発酵
岩堂 俊雄	日本チバガイギー

関西実験動物研究会 (個人会員名簿)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
名誉会員	山田 淳三	573	枚方市楠葉花園町 5-3-1512	
あ	青木 純二	543	大阪市天王寺区悲田院町 8-26-903	アニマルケア
	青野 皆基	743	山口県光市光井字武田 4720	武田薬品(株)中央研究所薬剤安全性研究所
	赤羽 行武	532	大阪市淀川区西三国 1-12-4	ラボリック・サービス(株)
	秋元 博一	520-32	滋賀県甲賀郡甲西町北山台 1 丁目 18-9	
	秋山 潔	480-11	愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又	愛知医科大学附属動物実験施設
	浅野 裕三	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)薬剤安全性研究所
	東 文男	640-14	和歌山県海草郡美里町毛原宮 486	(株)紀和実験動物研究所
○◎	阿部 敏男	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業(株)実験動物管理室
	安部 保男	601	京都市南区上烏羽塔の森東向町 93	静動協 京都営業所
	荒木 宏昌	536	大阪市城東区森ノ宮 2-3-3	扶桑薬品工業(株)研究開発センター
	有行 史男	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)安全性研究所
	安藤 孝夫	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業(株)中央研究所
い	◎◎ 飯田 晶敏	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)総合研究所
	飯塚 三喜	666-01	川西市矢間字高田 103	日本ベーリンガー・インゲルハイム(株)
	池田 克己	693	出雲市塩冶町 89-1	島根難病研究所
	石井 純一	525	滋賀県大津市打出浜 8 番地 2 の 205	
○◎	石川 尚明	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)
	石川 隆司	564	吹田市江ノ木町 3 3 - 9 4	大日本製薬(株)総合研究所
	石田 貢	936	滑川市下梅沢 205-1	日本医薬品工業(株)総合研究所
	市川 一	530	大阪市北区梅田 1-2-2-800	加商(株)ライフサイエンスグループ
	伊藤 隆	562	神戸市兵庫区湊川町 10 丁目 23-1	
	伊藤 隆康	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業(株)中央研究所
	糸賀 鋭治	574	大東市大東町 6-19	
	稲垣 晴久	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	
	乾 俊秀	532	大阪市淀川区加島 3 丁目 16-89	田辺製薬(株)安全性研究所
	井上 勉	578	東大阪市加納 7 丁目 23-3-112	
	今井 章浩	665	兵庫県宝塚市中山台 1-3-14	大阪府立成人病センター研究所
	今西 るみ	666-01	川西市矢間字高田 103	日本ベーリンガー・インゲルハイム(株)
	岩井 克己	532	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シェーリング(株)
	岩知道 公彦	569	高槻市氷室 6-10-1	武田薬品(株)実験動物管理室
	岩堂 俊雄	665	宝塚市美幸町 10-66	日本チバガイギー(株)研究開発統括部
う	植木 礼子	520-30	滋賀県栗太郡栗東町小柿 526	ハノ坪ハイツ4F348
	上島 育二	580	松原市西大塚 1-3-40	藤本製薬(株)
○◎	内海 健二郎	520-30	滋賀県栗太郡栗東町東坂 91	大日本製薬(株)アニマルサイエンス 部 栗東試験場
	浦谷 衛	525	草津市西渋川 2-3-1	石原産業(株)中央研究所
○◎	海野 隆	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90	鐘紡(株)薬品安全性研究所
え	江川 寅彦	564	吹田市江坂町 1-12-28	オリエンタル酵母工業(株)
	○ 江崎 孝三郎	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部
	○ 江角 吉造	532	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シェーリング(株)
	江馬 真	540	大阪市東区法円坂 1-4-43	国立衛生試験所大阪支所
	圓入 克介	569	高槻市別所新町 2-27	
お	○ 及川 弘	525	滋賀県草津市上笠 2-1-8-1	
	大江 治	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)
	大神 弘	561	豊中市大黒町 1 丁目 1-11	大日本除虫菊(株)中央研究所
	大坪 義和	535	大阪市旭区生江 1-8-14	沢井製薬(株)大阪研究所
	大野 周三	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)研究部
	大原 忠雄	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	大森 吉明	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業(株)
	岡崎 彰亮		東京都中央区八丁堀 4-4-3	エデストロムジャパン(株)
	小笠原定則	525	草津市野路町 2247	日清食品(株)
○	岡庭 梓	562	大阪府箕面市如意谷 1-8-29	
	岡本 明	669-13	三田市テクノパーク 9-1	日本メジフィジックス(株)兵庫工場
◎	岡本 宗裕	564	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
	小川 保直	573-01	枚方市長尾峠町 45-1	摂南大学薬学部
	小木曾 敬吉	464	名古屋市中千種区自由ヶ丘 2-13-5-4	
	沖本 一夫	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)総合研究所

関西実験動物研究会 (個人会員名簿)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
	奥田 誠治	586	河内長野市松ヶ丘中町 1330-1	堺化学工業(株)医薬事業部研究開発部
	奥村 正直	462	名古屋市北区辻町字流 7-6	愛知県衛生研究所
	尾崎 晴茂	569	高槻市氷室 6-10-1	武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所
	織田 茂	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所
か	小柳津 竜樹	570	守口市文園町 1 番地	関西医科大学第 2 病理学教室
	岳 乗飛	565	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物施設
	梶山 松生	753	山口市本町 2-6-15	
	榎原 昭裕	771-01	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品(株)
	片山 泰人	700	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部分子細胞医学研究施設
	加藤 仁五	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)中央研究所
	加藤 鋭二	550	大阪市西区京町堀 1-13-2	日本クレア(株)大阪営業所
	加堂 洋一	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品(株)中央研究所
	金田 平八郎	677	西脇市中畑町 718	ラビトン研究所
	飯家 公夫	673	神戸市西区伊川谷町有瀬	神戸学院大学薬学部薬理学講座
	川合 是彰	532	大阪市淀川区加島 3-16-8	田辺製薬(株)安全性研究所
	河井 祥一郎	538	鶴見区今津中 2-2-18	丸石製薬(株)中央研究所
	川西 和夫	520-21	大津市月輪 3 丁目 5-25	科研製薬(株)製剤研究部
	○川俣 順一	665	宝塚市野上 2-2-12	
き	神田 政典	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	木佐 茂雄	530	大阪市北区梅田 1-2-2-800	加商(株)ライフサイエンスグループ
	岸本 嘉夫	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	北山 博章	615	京都市右京区西京極葛野町 28 番	北山ラベス(株)
く	木原 隆英	589	大阪府南河内郡狭山町西山 38	近畿大学医学部第一解剖学教室
	久世 博	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)安全性研究所
	国友 一朗	550	大阪市西区南堀江 1-12-2	岡崎産業(株)大阪営業所
	久保 薫	643	橿原市四条町 840	奈良県立医科大学 動物実験施設
	倉林 護	700	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部附属動物実験施設
	◎黒澤 努	564	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
こ	小泉 勤	911-11	福井県吉田郡松岡町下合月 23-3	福井医科大学動物実験施設
	小泉 清	240	神奈川県横浜市区保土ヶ谷区神戸町 4-5-206	
	甲田 彰	554	大阪市此花区春日出中 3 丁目 1-98	住友化学工業(株)生物環境化学
	神山 八郎	529-17	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲場 555	(株)環境バイリス研究所
	○小嶋 明廣	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)基礎生物研究所
	小谷 猛夫	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科獣医病理
	小西 喬郎	553	大阪市福島区鷺洲 5-12-4	塩野義製薬研究開発調整室
	小林 嘉代	589	大阪府狭山市大野東 377-2	近畿大学ライフサイエンス研究所
	小林 忍	601	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬(株)
	小松 正美	586	河内長野市本多町 4-31	日本製薬(株)安全性研究所
	小森 彰	607	京都市山科区四宮南河原町 14	科研製薬(株)中央研究所薬理研究部
	近藤 靖	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)安全性研究所
さ	坂本 雄二	664	伊丹市大鹿桜ヶ丘 1-1	千寿製薬(株)
	佐幸 誠一	769-26	香川県大川郡大内町三本松 567	帝國製薬(株)研究開発部
	○笹川 祐成	603	京都市北区紫野上若草町 20	
	佐々木 弘	243-02	神奈川県厚木市下古沢 795	日本チャールズリバー(株)
	佐治 久江	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町小佐治 1723	
	○佐藤 良夫	565	吹田市山田丘 1-8	大阪大学歯学部中央研究室
	佐藤 公道	606	京都市左京区吉田下阿達町	京都大学薬学部薬理学教室
	鮫島 秀暢	890	鹿児島市玉里団地 1 丁目 22-19	
	澤浦 雅人	550	大阪市西区西本町 1-11-7	日本チャールズリバー(株)
し	塩田 恒三	602	京都市上京区河原町広小路	京都府立医科大学医動物学教室
	○塩見 雅志	650	神戸市中央区楠町 7-5-1	神戸大学医学部附属動物実験施設
	柴生田 正樹	541	大阪市中央区道修町 2-3-6	武田薬品研究開発本部 監査室
	嶋川 幸三	569	高槻市氷室町 10-1	武田薬品工業(株)中央研究所
	嵐田 好文	520-31	滋賀県甲賀郡石部町東寺 1038	日本クレア(株)石部生育場
	嵐本 薫	520	大津市園山 3-1-2	東レ(株)安全性研究室
	△清水 英男	606	京都市左京区吉田下阿達町 37	清水実験材料(株)
	清水 雅良	501-62	羽島市福寿町間島 6-104	(株)日本バイオリサーチセンター羽島研
	清水 大	604	京都市中京区西の京西月光町 40	(株)ケー・エー・シー
	○志村 圭志郎	514	津市江戸橋 2-174	三重大学医学部附属動物実験施設
	下西 功	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90	鐘紡(株)薬品研究所
	周藤 勝一	755	宇部市藤曲 2548 番地	協和醗酵工業(株)安全性研究所
	○城 勝哉	663	西宮市武庫川町 1-1	兵庫医科大学解剖学教室
す	東海林 隆次郎	480-03	春日井市神鷹町 713-8	愛知県心身障害者コロニー発達障害研
	菅原 努	606	京都市左京区田中門前町 103	バスターールビル京都イメリタスクラ
	杉井 学	576	大阪府交野市森南 1-15-1	(株)ケー・エー・シー 営業本部

関西実験動物研究会 (個人会員名簿)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
	杉谷順康	743	山口県光市光井字武田 4720	武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所
	鈴木 靖郎	913	福井県坂井郡三国町新保	小野薬品工業(株)福井安全性研究所
	鈴木 秀作	890	鹿児島市宇宿町 1208-1	鹿児島大学医学部動物実験施設
	須田 浩	553	大阪市東淀川区下新庄 3-9-19	参天製薬(株)中央研究所
せ	◎ 芹川 忠夫	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
そ	○ 相馬 正志	601-13	京都市伏見区醍醐借草坊町 1-47	(株)新薬開発研究所京都事務所
た	○ 高折 修二	693	出雲市塩冶町 89-1	島根医科大学
	△ 高木 貞明	601	京都市南区上鳥羽塔森東向町 93-8	日本エス・エル・シー(株)
	○ 高島 俊行	585	豊中市新千里東町 1-4-1	(財)千里ライフサイエンス振興財団
	高田 頼一	564	摂津市三島2丁目 5-1	塩野義製薬(株)摂津工場
	高橋 哲哉	520-25	滋賀県蒲生郡竜王町鏡 1963-4	石原産業(株)中央研究所安全性研究室
	多賀谷 修	483	岐阜県羽島郡川島竹町 1	エーザイ(株)安全性研究センター
	田倉 進	550	大阪市西区西本町 1-11-7	日本チャールスリバー(株)大阪営業所
	武居 秀夫	561	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬(株)研究所神崎川分室
	竹下 崇	607	京都市山科区大宅坂ノ辻町 39	日本新薬(株)山科植物研究所
	武下 政一	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)マルゴリサーチ サービス
	武田 篤彦	606	京都市左京区田中門前町 103-5	パスツールビル5F (財)体質研究会
	○ 竹之下 洋司	649-73	和歌山県橋本市隅田町山内 514	
	竹之下 美恵	649-73	橋本市隅田町山内 514	
	竹村 公延	522-02	彦根市高宮町 2763	マルホ(株)研究所彦根分室
	田島 優	564	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属実験動物施設
	多田 憲市	910	福井県大東 1-3-12	日本新薬(株)中央研究所
	多田 輝典	220	横浜市西区北幸 1-11-20	日本農産工業(株)特品部
	辰巳 光義	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)安全性研究所
	○ 谷村 孝	589	大阪府南河内郡狭山町西山 380	近畿大学医学部第一解剖学教室
	✕ 谷本 純一	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)中央研究所安全性研究室
	多根井 昌孝	604	京都市中京区西の京西月光町 40	(株)ケー・エー・シー 営業本部
	田畑 一樹	550	大阪市西区西本町 1-11-7	日本チャールスリバー(株)大阪営業所
	玉田 尋通	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科
つ	塚原 清志	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	○ 辻 繁勝	640	和歌山県和歌山市九番丁	和歌山県立医科大学第二生理学教室
	都築 政起	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科
	○ 蝶良 義彦	661	尼崎市塚元町 1-33-21	
	坪田 裕司	640	和歌山市九番丁 9	和歌山県立医大第2生理学教室
て	寺島 幸男	426	藤枝市源助 301	科研製薬(株)中央研究所G L P 室
と	土井 安	649-73	橋本市隅田町山内 514 竹之下様方	
	堂前 嘉代子	565	吹田市山田丘 3-1	大阪大学微生物病研究所
	徳本 和弥	568	摂津市三島2丁目5番1号	塩野義製薬(株)摂津工場生物試験課
	○ 戸田 昇	520-21	大津市瀬田月輪	滋賀医科大学 薬理学研究室
	富田 喜久雄	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町相模 116-25	
な	◎ 鳥居 隆三	520-21	滋賀県大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学医学部附属動物実験施設
	中井 伸子	601	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬(株)中央研究所
	永江 祐輔	665	宝塚市美幸町 10-66	日本チバガイギー(株)医薬研究部
	中尾 博之	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	中尾 嘉考	520-30	滋賀県栗太郡栗東町目川 363-1	中尾 B.M.S.R. 研究所
	○ 中川 八郎	565	吹田市山田丘 3-2	大阪大学蛋白質研究所
	中川 和年	771-01	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品(株)
	中口 武	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業(株)中央研究所実験動物管理室
	長澤 久充	601	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬(株)中央研究所
	中島 文博	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)開発研究所安全性研究部
	中島 健博	531	大阪市大淀区豊崎 4-12-17	(株)ケアリー
	中村 公章	426	静岡県藤枝市源助 301	科研製薬(株)安全研究所
	中村 智恵美	606	京都市左京区吉田近衛町	京都大学医学部法医学教室
	中村 哲也	564	吹田市江坂町 1-12-28	オリエンタル酵母工業(株)
	中村 政美	930-01	富山市杉谷 2630	富山医科薬科大学動物実験センター
	中山 亮	660-01	川西市大和西 3-28-10	
	夏目 克彦	113	東京都文京区湯島 2-18-6	夏目製作所(株)
に	◎ 新谷 聰	565	吹田市藤白台 5-125	国立循環器病センター研究所
	○ 二階堂 浩子	920	金沢市宝町 13-1	金沢大学医学部附属動物実験施設
	西川 哲	431-31	浜松市半田町 3600	浜松医科大学 動物実験施設
	西川 健志	601	京都市南区八条下ル	日本新薬(株)中央研究所
	西田 伊久男	529-17	滋賀県甲賀郡水口町大字宇川字稲馬	環境保健生物研究センター
	西端 良治	673-14	兵庫県加東郡社町木梨	日本臓器製薬(株)生物活性科学研究所
	○ 西宗 義武	565	吹田市山田丘 3-1	大阪大学微生物病研究所
	西村 正彦	431-31	浜松市半田町 3600	浜松医科大学動物実験施設
	西村 孝義	529-17	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲場 555	(株)環境バイロス研究所

関西実験動物研究会 (個人会員名簿)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
	西山 秀志	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品(株) 薬剤安全性研究所
	二宮 寿三	743	光市島田 7-7-23	武田薬品(株) 薬剤安全研光支所
ぬ	沼沢 拓身	673-14	兵庫県加東郡社町木梨	日本臓器製薬(株)
の	○野澤 謙	467	名古屋市瑞穂区月見ヶ丘 21-2	
	野村 彰	573	枚方市星ヶ丘 4-11-20	
は	橋野 秋彦	598	大阪府泉佐野市元町 17-6	
	橋本 岩雄	573	枚方市招堤田近 3-11	メルルダウ製薬(株)
	浜田 祐二	871	福岡県築上郡吉富町小祝 955	成和実験動物研究所
	○早川純一郎	920	金沢市宝町 13-1	金沢大学医学部附属動物実験施設
	林 幸之	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	林 新茂	745	徳山市城が丘 5-3-13 パークサイド城ヶ丘 B-103	
	伴野 高彦	596	岸和田市三田町 3 7 0	新日本ラボラトリー
ひ	東 稔広	532	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シェリング(株)
	東野 浩司	532	泉佐野市住吉町 26	日本製薬(株)大阪事業所
	東山 昇	565	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬 新薬研究所
	疋田 精一	607	京都市山科区四ノ宮南河原町	科研製薬(株)中研・研究企画部
	樋ノ上 ひろみ	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株) 安全性研究所
	平川 公昭	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90	鐘紡(株) 薬品安全性研究所
	平沢 勉	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	平松 保造	573-01	大阪府枚方市長尾峠 45-1	摂南大学薬物安全科学研究所
ふ	福西 克弘	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90	鐘紡(株) 薬品安全性研究所
	藤井 登志之	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品(株) 安全性研究所
	藤井 恒雄	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品(株)
	藤島 寛	573-01	枚方市長尾峠町 45-1	摂南大学薬物安全科学研究所
	藤波 不二雄	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株) マルゴリサーチサービス
	○藤村 一	606	京都市左京区鹿ヶ谷下宮前町 9-2	
	○古河 恵一	589	大阪府南河内郡狹山町西山 380	近畿大学医学部共同研実験動物室
	古川 学	522	滋賀県彦根市日夏町 2948-1	
ほ	朴木 進	516	三重県伊勢市黒瀬町 1425	御木本製薬(株)研究開発部
	干場 純治	700	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部附属動物実験施設
	細野 和裕	569	高槻市氷室 6-10-1	武田薬品(株) 実験動物管理室
	堀 孝司	564	吹田市江坂町 1-12-28	オリエンタル酵母大阪営業所
	堀江 良一	693	出雲市塩治町 89-1	島根医科大学第2病理学教室
ま	前田 勝弘	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)研究管理部動物飼育室
	前田 敏宏	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株) 安全性研究所
	真壁 恭子	640	和歌山市九番町 27	和歌山県立医科大学 第2生理学教室
	○牧野 進	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	政本 浩二	729-64	広島県高田郡甲田町下甲立 1624	湧永製薬(株)中央研究所
	○増岡通夫	532	大阪市淀川区十三本町 2-18-85	武田薬品工業(株)中研・実験動物管理室
	増田 恭造	550	大阪市西区京町堀1-13-2 藤原ビル	日本クレア(株)大阪営業所
	町尾 久夫	615	京都市右京区西京極葛野町 28	北山ラベス(株)
	松浦 稔	569	高槻市大蔵司 2-46-2	
	松田 拓男	532	大阪市淀川区加島 2 丁目1-6	藤沢薬品工業(株)研究開発総務室
	松田 庄司	528	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲場 555	環境保険生物研究センター
	松林 清明	484	犬山市官林	京都大学霊長類研究所
	○松村 理一郎	666-01	川西市矢間字高田 103	日本ベアリングインゲルハイム(株)
	松本 耕三	770	徳島市蔵本町 3	徳島大学医学部附属動物実験施設
	萬野 賢児	573-01	枚方市長尾峠町45-1	摂南大学薬物安全科学研究所
み	○◎三日月 勝見	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	三日月 幸治	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	神子田 武	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品(株) 実験動物管理室
	水内 博	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株) 分析化学研究所
	三原 匡子	532	大阪市淀川区宮原 5-1-3 新大阪生島ビ	(株) ポゾリサーチセンター
	三村 哲夫	546	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株) 安全性研究所
	宮崎 七緒	236	横浜市西区北幸 11-20	日本農産工業
	○◎宮嶋 宏彰	569	高槻市氷室町 6-3-6	武田薬品工業(株) 中央研究所
	○宮嶋 正康	640	和歌山市九番丁 27	和歌山県立医科大学動物室
	宮本 誠	553	福島県福島 1-1-50	大阪大学医学部附属病院病理部
	○宮本 政樹	665	宝塚市美幸町 10-66	日本チバガイギー(株) 薬剤安全性研究室
	○◎宮脇 茂樹	607	京都市山科区大宅坂ノ辻町 39	日本新薬(株)山科植物研究所
む	椋本 末男	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株) 開発研究所生物工学
	村口 武彦	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
も	本山 守夫	377-09	群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸字花立 3	実医研(株)
	森 純一	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部
	森 聖	561	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	森 浩志	569	高槻市大学町 2-7	大阪医科大学実験動物センター

関西実験動物研究会 (個人会員名簿)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
	森 幸生	567	茨木市庄 2 丁目 5-1	日本商事 (株) 医薬研究所
	盛 陽子	618	大阪府三島郡島本町青葉 3-2-3-103	
	○ 森井 外吉	612	京都市伏見区桃山町丹下 2	
	◎ 森岡 宏至	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科実験動物
	森島 英喜	569	高槻市氷室町 6-10-1	武田薬品工業 (株) 中央研究所
	○ 森本 純司	569	高槻市大学町 2-7	大阪医科大学実験動物センター
や	安田 正秀	580	松原市河合 2-10-65	大阪薬科大学実験動物センター
	柳本 行雄	550	大阪市西区西本町 2-5-19	生活化学研究所
	山北 修	771-01	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品工業 (株) 研究部
	山崎 俊幸	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品 (株) 実験動物管理室
	山下 浩文	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ
	山下 武夫	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ
	山田 淳三	573	枚方市楠葉花園町 5-3-1511	
	山田 明男	543	大阪市天王寺区東上町 8-34	大阪市立環境化学研究所
	山田 嘉美	520-05	滋賀県滋賀郡志賀町八屋戸 2217-24	ピュアアムール
	山田 純子	520-05	滋賀県滋賀郡志賀町八屋戸 2217-24	ピュアアムール
	山中 照明	520-34	滋賀県甲賀町大原市場 170	大正薬品工業 (株) 研究開発部
	◎ 山中 久	677	兵庫県西脇市中畑町	(株) ラビトン研究所
	山之内 孝尚	520	大津市杉浦町 10-10	
	◎ 山本 好男	520-01	大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学法医学教室
	山本 淑子	606	京都市左京区吉田近衛町	京都大学医学部法医学教室
	山本 保信	618	大阪府三島郡島本町桜井 3-1-1	小野薬品工業 (株) 研究推進部
	山本 孝史	598		不二製油 (株) 生物化学研究所
	山元 勝一	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1450	塩野義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ
	山本 利彦	535	大阪市旭区生江 1-8-14	沢井製薬 大阪研究所 生物研究課
	○ 冢森 幸男	606	京都市左京区吉田二本松町	京都大学人間環境学部
ゆ	湯浅 啓史	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬 (株) 安全性研究所
よ	○ 吉田 幸雄	612	京都市伏見区村上町 395	京都府衛生公害研究所
	吉田 豊彦	561	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬 (株) 研究所神崎川分室
	吉田 誠	615	京都市右京区西京極葛野町 28	(株) オリエンタルバイオサービス
	吉船 伸一	567	茨木市庄 2 丁目 24-3	日本商事 (株) 医薬品研究所
	吉村 章子	532	大阪市淀川区西三国 1-12-4	ラボリック・サービス (株)
	寄本 智幸	606	京都市左京区吉田下阿達町 37	清水実験材料 (株)
わ	渡辺 信介	589	大阪府南河内郡狭山町西山 380	近畿大学ライフサイエンス研究所

《関西実験動物研究会 維持会員リスト》

(五十音順) (平成5年11月現在)

大塚製薬工場鳴門研究所	772	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115
オリエンタル酵母(株)大阪営業所	564	吹田市江坂 1-12-28 大昇ビル
加商(株)	103	東京都中央区日本橋 2-14-9
鐘紡(株)薬品安全性研究所	534	大阪市都島区友淵町 1-5-90
北山ラベス(株)	615	京都市右京区西京極葛野町 28 番地
ケアリー(株)	531	大阪市北区豊崎 4-12-1
(株)ケー・エー・シー	567	摂津市島飼本町 5-3-4
参天製薬(株)中央研究所	553	大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405
(株)実医研	377-09	群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸字花立 3303-58
白井松器械(株)	540	大阪市中央区森ノ宮中央 1-19-16
新薬開発研究所(株)関西事務所	601-13	京都市伏見区醍醐僧尊坊町 1-47-1
大日本製薬(株)総合研究所	564	吹田市江の木町 33-94
武田薬品工業研究開発本部技術総務	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85
田辺製薬(株)研究統括センター	532	大阪市淀川区加島 3-16-89
夏目製作所(株)	113	東京都文京区湯島 2-18-6
日本エスエルシー(株)	601	京都市南区上鳥羽塔ノ森東向町 93-8
日本クレア(株)	550	大阪市西区京町堀 1-13-2
日本商事(株)医薬研究所	567	茨木市庄 2-24-3
日本新薬(株)	601	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
日本チバガイギー(株)前臨床研. 薬安研	665	宝塚市美幸町 10-66
日本チャールス.リバー(株)	550	大阪市西区西本町 1-11-7
日本ベーリンガーインゲルハイム	666-01	川西市矢間字高田 103
藤沢薬品工業(株)実験 サービスセンター	532	大阪市淀川区加島 2-1-6
扶桑薬品工業(株)研究開発 センター	536	大阪市城東区森の宮 2-3-30
船橋農場(株)京都営業所	607	京都市山科区御陵鴨戸町 46-6
丸石製薬(株)中央研究所	538	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
ミドリ十字(株)安全性研究所	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1
(株)美濃ラボ	503-03	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
ラビトン研究所(株)	677	兵庫県西脇市中畑町 718

平成5年12月6日 印刷
平成5年12月10日 発行

編集兼発行者 宮 嵩 宏 彰

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