

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成7年12月 16号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

<第43回研究会>

講演会

1. 免疫毒性－免疫学から免疫毒性学へ

西条 武俊（武田薬品工業㈱・医薬開発本部

・薬剤安全性研究所） 2

2. 医薬品開発における免疫毒性試験の現状と問題点

牧 栄二（ヤンセン協和㈱・研究開発本部

・前臨床開発部） 13

<第44回研究会>

会員の研究発表 12題 21

<第45回研究会>

講演会

1. マイクロカプセル化によるラ島移植

田代 秀夫（国立循環器病センター研究所

実験治療開発部） 35

2. 肺高血圧症に対する実験的治療

川口 章（国立循環器病センター研究所

・実験治療開発部） 44

<そ の 他>

関西実験動物研究会だより 61

評議員会・総会の議事概要 62

会員の異動 64

会員名簿（維持・個人会員） 65

編集後記

< 第 4 3 回 研 究 会 >

日時：平成 6 年 9 月 3 0 日（金）

場所：武田薬品工業㈱・吹田研修所

講演会

1．免疫毒性－免疫学から免疫毒性学へ

西条武俊（武田薬品工業㈱・医薬開発本部
・薬品安全性研究所）

2．医薬品開発における免疫毒性試験の現状と問題点

牧 栄二（ヤンセン協和㈱・研究開発本部
・前臨床開発部）

武田薬品工業（株）医薬開発本部

薬剤安全性研究所

西条武俊

1. はじめに

免疫毒性はまだ新しい領域であり、それは「医薬品や化学物質などのxenobiotics と免疫系との相互作用の結果、生体にとって望ましくない影響が引き起こされる現象」と1984年ルクセンブルクで開かれたImmunotoxicologyの国際ワークショップで定義されている。近年、本領域が注目されるようになった理由として、従来より問題となっていた抗生物質などの薬剤アレルギー、ステロイドホルモン、抗ガン剤による免疫抑制作用に加えて、最近、種々のサイトカイン、BRM(Biological Response Modifier)など免疫系に作用する薬剤が開発され、免疫異常をもたらす毒性が報告されるようになってきたことがあげられる。本稿において、免疫毒性を理解する一助とするべく、免疫学の最近の考え方と、免疫毒性に関する実験成績および文献的考察を示す。

2. 免疫学の発展

免疫(Immunity)とはラテン語の課役(munitas)から免除されるという意味の「immunitas」からきている。また、パスツールは一度かかったら二度とかからない、すなわち「二度なし(non-récidive)」と定義した。1970年ごろまでの免疫は生体防御の観点から種々の伝染病に対するワクチンが開発されてきたように、「not self (非自己)」に対するシステムとしてとらえられており、「self (自己)」に対応する免疫は先天的に禁止されていると信じられてきた。しかし、その後の免疫学の進展により、免疫応答機構が細胞レベル、分子レベルおよび遺伝子レベルで解析された。その結果、免疫とは生来「自己」を自己と認識する機構であり、その機構は「自己」の「非自己化」を監視するシステムであり、「非自己」は常に「自己」の基本的レパートリに対比して認識されると考えられるに至った。

生体は初めて出会う多くの病原体に対して「補体」という破壊機構を先天的に備えている。補体は自分自身の細胞を破壊しない。生体は、補体の不活性化分子を持っている。このように、最も単純なレベルではあるが、補体系は自己と非自己(病原菌)を識別しているといつてよい。もちろん、補体によって破壊されない病原菌は多くあり、それらに対し

ては抗体、T細胞の動員を必要とする。

ここで、免疫の「自己」「非自己」の認識に関して、興味深い報告(1)を紹介する。受精後3～4日のニワトリの卵の神経管の一部である腕神経叢に相当する部分をウズラのそれと交換すると白いニワトリに一部黒いウズラの羽根が生えたようなニワトリ(キメラ)が生まれる。このキメラは、ニワトリと同様の挙動を示し、生長するが生後3週から2ヶ月すると、まず羽根が麻痺してぶら下がり、歩行も摂餌もできなくなる。そして、全身の麻痺が進行し、衰弱し死亡する。この実験結果は、「自己」「非自己」という免疫のシステムを分かりやすく示してくれる。このニワトリは、移植・生育したウズラの細胞を初めのうちは「自己」と認識しているが、生後2週ごろよりニワトリの免疫系が発達すると「自己」の中で正常に働いていたウズラの細胞を「非自己」と認めるようになったのである。しかし、この移植の際にウズラの胸腺原基を神経管と同時にニワトリ胚に移植しておくことと拒絶反応は起こらない。胸腺が「自己」「非自己」の識別において重要な役割を演じていることはいうまでもない。以上、免疫系が「自己」「非自己」の認識の監視を担っていることを少し詳しく記述してきた。これは免疫毒性の定義にあるように医薬品、ダイオキシンなどの生体異物(xenobiotics)は本質的に「非自己」であり、これらが生体に侵入して来た時、まず免疫系の監視システムに出会い「非自己」と感知され、その排除機構が始動するとも考えられるからである。多くの場合、生体異物は無毒化され、生体から排除されるが、個体が持つ免疫反応性を司る遺伝的形質、防御能力の差によって免疫毒性が発現するようになるのではないだろうか。

3. 免疫毒性

免疫応答機構は

- ①細菌、ウイルス等に対する感染防御機構として極めて高度な多様性を獲得している。
- ②自己寛容機構を獲得している。
- ③免疫応答の制御機構を獲得している。

の3つに要約される。免疫毒性はこれらの機構を直接的あるいは間接的に障害した時に発現するものであり、薬物の免疫毒性は

- ①抗原性を発現することによって起こるアレルギー
- ②免疫系細胞、組織器官への直接的、間接的有害作用
- ③自己免疫

の3つに分けられるが、免疫毒性学の対象は②と③に関する現象を研究するものである。

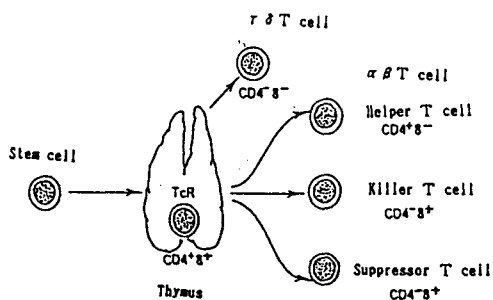


Fig. 1 Differentiation and maturation of T cell in the thymus

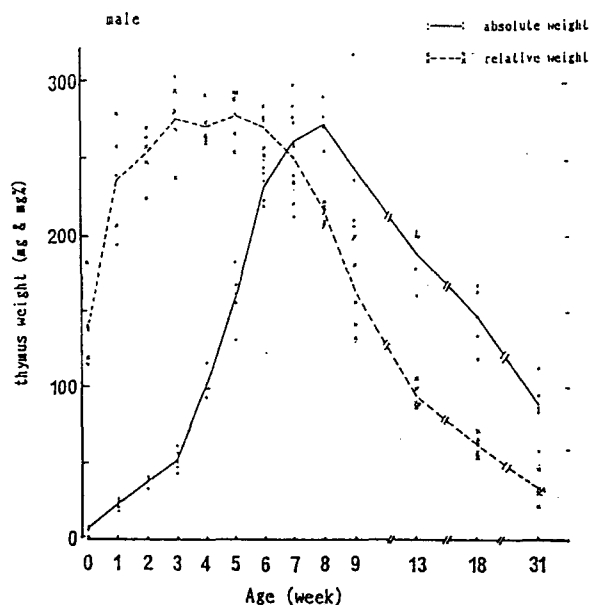


Fig. 2 Changes in absolute and relative weight of the thymus

別の表現をすれば、何らかの原因で免疫系が障害された場合、T細胞の機能の変化はどんな現象(症状)を起こすのか、抗体産生は大丈夫か、補体の活性や好中球の機能が低下したとき生体防御系は支障なく働くのだろうか等の疑問に対する答えを見出すのが免疫毒性学ともいえる。以下、免疫システムにおいて中心的役割を果たしている胸腺の免疫毒性について予備的に検討した成績と、当社で開発したヒト遺伝子組み換え型インターロイキン2 (TGP-3)の発熱作用および好酸球増多作用について述べる。

3.1 ラット胸腺毒性に関する検討

実験成績を紹介する前に胸腺について触れる。

胸腺はヒトでは十代前半で最大となり約35gに達し、性成熟後急速に小さくなり、40代で1/2、60代で1/4、80代で痕跡程度になってしまうといわれている。胸腺は骨髄と共に免疫系において中心的役割を果たしており、骨髄から送られて来た造血幹細胞は胸腺内で激しく分裂増殖し、リンパ球に分化し、T細胞として血流に入り込み、全身に循環していく (Fig. 1)。胸腺の中で増殖した細胞のすべてが免疫系に参加せず、ほんの数%がT細胞として胸腺から出ていくに過ぎず、残りの90%以上のT細胞は胸腺内で死んでいくといわれている。この胸腺内で死亡する大量のT細胞は無駄死ではなく、「自己」と「非自己」を認識し、自己免疫反応が起こらないように犠牲となっている。その自己成分に対して反応しない、すなわち「自己寛容」誘導機構にはクローン除去、アナーキーおよび抑制性T

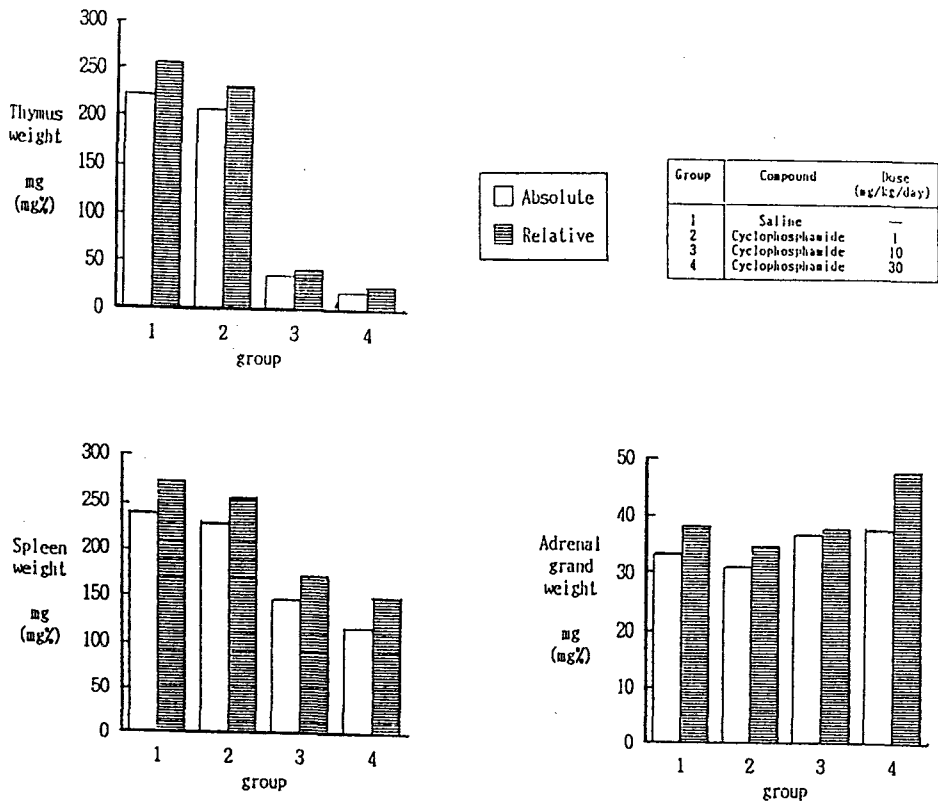


Fig. 3 Group mean organ weights of male rats treated intraperitoneally with cyclophosphamide

細胞の3つの説が提唱されているが、詳細は文献(2)を参照されたい。以下に、胸腺の免疫毒性についてラットを用いて、加齢、ストレスおよびシクロホスファミドの影響に関して検討した結果を示す。なお、これらの実験は、当初通常の毒性試験において得られる所見を免疫学的に解釈、考察するための基盤研究として行ったものであり、未完成のものもあることを付記しておく。

1) 加齢

本実験にはF344/Jclラットを使用した。これらラットの胸腺、副腎、脾臓の重量を0～31週齢の期間、経時的に測定した。胸腺重量の経時変化をFig. 2に示した。0週齢(雄性)の平均絶対重量は6.3mgであり、その後著明に増加し、8週齢で274mgとなり最高重量に達した。胸腺重量は、その後減少し、31週齢で88mgと最高時の約1/3となった。また、雌性ラットでも同様の推移を示した(成績省略)。副腎重量は雄では6週齢で平均重量で32mgに達し、以後31週まで34～38.5mgでほぼプラトーであったが、雌では6週齢で29.4mgとなり、以後徐々に増加し、31週で54mgに達した。脾臓は雄では0週齢では7mgであり、その後増加し、478mgに達した。雌では0週齢では6.1mg、32週齢では352mgとなった。

胸腺重量が8週以後低下する原因の1つとして、性腺由来のステロイドホルモンによると考えられており、性腺摘除により胸腺重量は増加する(3)。しかし、性腺摘除ラットの加齢による胸腺重量の変化は無処置ラットと同様のパターンを示すことから、他の因子も関係していると考えられている。

2) ストレス

通常の毒性試験の実施に際し、使われているいくつかの手技、操作のストレス性について、ラットの胸腺および副腎重量を指標として検討した。検討した項目は、剖検前日からの絶食、剖検時の放血、1日絶水(動物生産業者からの運搬と同様の条件)とし、その後6日間の給水、動物の飼育密度(単飼と群飼)、エリザベスカラー装着(2週間)、静脈内投与用保定器での拘束(5分/日、2週間)等の操作であった。これらのうち、絶食は胸腺および副腎重量に変化を与える強いストレッサーであったが、その他のストレスは軽いものであることが分かった。

3) シクロホスファミド

F344/Jcl(雄性、6週齢)にシクロホスファミド(Cy)、1, 10, 30mg/kgを7日間腹腔内投与し、胸腺、副腎および脾臓の重量を測定し、胸腺、脾臓、腸管膜リンパ節および骨髄の病理組織学的検査を実施した。

Cy, 10, 30mg/kg 投与により胸腺および脾臓重量が減少した(Fig. 3)。病理組織学的検査では、Cyの10および30mg/kg 群で胸腺のリンパ球減少を伴う皮質の萎縮および皮質内上皮性細胞の空胞化、脾臓のリンパ球減少を伴う濾胞の萎縮、腸管膜リンパ節のリンパ球減少を伴う濾胞の萎縮、骨髄の細胞充実性の低下が認められた。また、Cyの30mg/kg 群で脾臓の赤脾髄内巨核球の減少、腸管膜リンパ節内の髄洞内マクロファージ周囲の赤血球のロゼット形成が認められたが、このロゼット形成はマクロファージの食能低下に起因するものと考えられた。

免疫抑制剤アザチオプリンをラットに投与した場合も同様の成績が報告されている(4)。

3.2 TGP-3(ヒト遺伝子組換え型インターロイキン2)の発熱および好酸球増多作用

最近、インターフェロン α 、インターロイキン2(IL-2)等のサイトカインが医薬品として臨床使用されてきているが、本来これらのサイトカインは局所〔例えば感染では感染部位(標的臓器)〕で効果を発揮することが望ましい。従って、サイトカインのような微量で局所において作用するものを全身に投与することは、その多彩な生物作用が標的臓器外

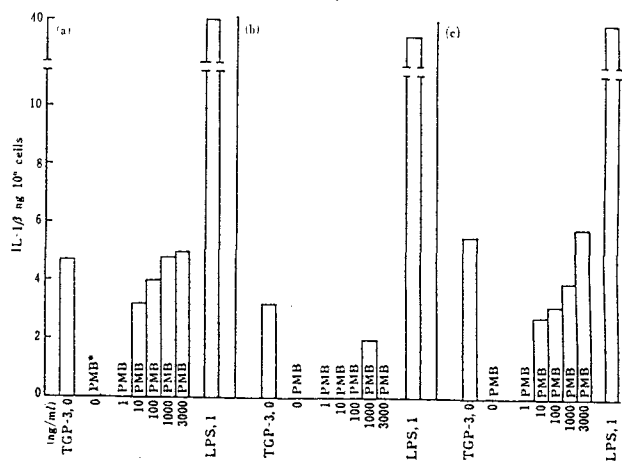


Fig. 4 Induction of IL-1 β by TGP-3 and LPS in culture of human mononuclear cells from three donors (a, b and c). Mononuclear cells (5×10^6) were incubated with TGP-3 or LPS for 24 hr at 37°C. IL-1 β was measured by a radioimmunoassay. * PMB: polymyxin B ($5 \mu\text{g/ml}$) was added to the culture. Each value represents the mean of duplicate assay.

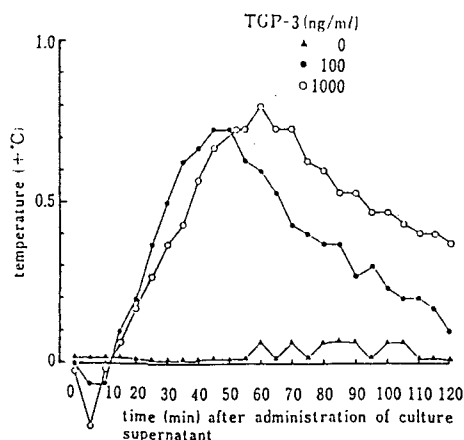


Fig. 5 Fever induced by the culture extract of human blood mononuclear cells stimulated with TGP-3. The culture extract was given intravenously at the dose of 10 ml/kg to the rabbits. The pooled culture extracts from human mononuclear cells with TGP-3, 0, 100 and 1000 ng/ml contained IL-1 β of <2.5 , 16.2 and 22.3 ng/ml, respectively. Each point represents the mean of 3 rabbits.

で望ましくない作用を引き起こす可能性を念頭に置く必要がある。以下、TGP-3 の発熱作用と好酸球増多作用について述べる。

1) 発熱作用

TGP-3 の臨床試験において、発熱がみられたことから、その機序を検討した (5)。ヒトの単核球とTGP-3 をポリミキシンB存在下で37°Cで24hr培養し、上清中の内因性発熱因子の1つ IL-1 β をラジオイムノアッセイで測定した (Fig. 4)。3例の単核球はTGP-3, 10~3000 ng/mlの添加により 2~5 ng/ 10^6 cells のIL-1 β を産生した。さらに、この上清中に内因性発熱因子 (IL-1 β)が含まれることを調べるため、TGP-3, 0, 100および1000 ng/mlと単核球との培養上清をプールし、ウサギに静脈内投与し、直腸温を測定した (Fig. 5)。その結果、体温は培養液上清の静脈内投与後約50~60分にピークを有し、内因性発熱因子の典型的な発熱パターンを示した。従って、臨床で発現した発熱は主としてIL-1 β を介することが分かった。なお、この培養上清中に、TNFの存在しないことは確認している。

2) 好酸球増多作用

IL-2の好酸球増多作用は、ラットにおけるTGP-3 の13週間腹腔内投与毒性試験 (6) で、血液学的検査 (Table 1) および骨髓学的検査 (Table 2) において観察された。この現象はIL-2がTh₁細胞を活性化し、IL-3産生を惹起し、さらにIL-3による幹細胞の好酸球母細胞

Table 1 Hematology in 13-week intraperitoneal toxicity study of recombinant human interleukin-2(TGP-3) in rats

Sex	Dose ($\mu\text{g/kg/day}$)	No. of animals	Differential leucocyte counts ($\times 10^3/\mu\text{l}$)				
			Neutrophils	Lymphocytes	Monocytes	Eosinophils	Basophils
Male	Vehicle	10	12.0 $\pm$ 7.4	43.6 $\pm$ 13.2	0.6 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.5	0.0 $\pm$ 0.0
	0.2	10	11.2 $\pm$ 5.1	46.7 $\pm$ 8.6	0.4 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0
	1.0	10	12.2 $\pm$ 7.0	50.2 $\pm$ 12.3	0.4 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 1.0	0.0 $\pm$ 0.0
	5.0	10	11.8 $\pm$ 3.9	52.2 $\pm$ 14.3	0.5 $\pm$ 0.6	4.3 $\pm$ 4.8**	0.0 $\pm$ 0.0
Female	Vehicle	10	5.2 $\pm$ 1.6	31.9 $\pm$ 6.8	0.2 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0
	0.2	10	4.8 $\pm$ 2.3	29.3 $\pm$ 7.9	0.2 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0
	1.0	10	5.1 $\pm$ 2.0	33.6 $\pm$ 8.8	0.2 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.9	0.0 $\pm$ 0.0
	5.0	10	6.0 $\pm$ 1.1	38.7 $\pm$ 12.3	0.5 $\pm$ 0.4	3.7 $\pm$ 2.2**	0.0 $\pm$ 0.0

Each value represents mean $\pm$ SD of 10 animals.

** : p < 0.01 vs vehicle group.

Table 2 Myelogram in 13-week intraperitoneal toxicity study of recombinant human interleukin-2(TGP-3) in rats

Sex	Male			
Dose ($\mu\text{g/kg/day}$)	Vehicle	0.2	1.0	5.0
No. of animals	5	5	5	5
Erythroid series (Total)	74.1 $\pm$ 12.2	77.1 $\pm$ 10.7	76.2 $\pm$ 14.4	77.8 $\pm$ 17.8
Proerythroblasts	0.4 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.3
Basophilic erythroblasts	2.3 $\pm$ 0.9	1.8 $\pm$ 0.8	1.7 $\pm$ 0.7	1.9 $\pm$ 1.0
Polychromatic erythroblasts	14.5 $\pm$ 5.5	13.8 $\pm$ 4.0	13.0 $\pm$ 6.0	13.9 $\pm$ 4.5
Orthochromatic erythroblasts	56.2 $\pm$ 7.1	60.1 $\pm$ 6.9	60.4 $\pm$ 11.1	60.8 $\pm$ 12.9
Mitotic cells of erythroid	0.7 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.8
Myeloid series (Total)	76.2 $\pm$ 13.4	77.2 $\pm$ 13.0	79.1 $\pm$ 17.8	83.3 $\pm$ 17.1
Neutrophilic series (Total)	71.0 $\pm$ 12.2	69.4 $\pm$ 10.7	69.2 $\pm$ 13.4	70.3 $\pm$ 19.3
Myeloblasts	0.1 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.4
Promyelocytes	0.5 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.3
Myelocytes	3.0 $\pm$ 1.3	2.7 $\pm$ 0.5	2.6 $\pm$ 1.4	3.0 $\pm$ 1.4
Metamyelocytes	20.6 $\pm$ 4.0	19.4 $\pm$ 3.2	19.2 $\pm$ 3.5	20.7 $\pm$ 5.4
Stab form nuclear cells	20.4 $\pm$ 4.6	21.8 $\pm$ 6.1	23.6 $\pm$ 4.1	22.1 $\pm$ 6.4
Polymorphonuclear cells	26.0 $\pm$ 4.4	24.6 $\pm$ 3.1	22.9 $\pm$ 6.0	23.7 $\pm$ 8.1
Mitotic cells of neutrophils	0.3 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.3
Eosinophils (Total)	5.3 $\pm$ 2.0	7.8 $\pm$ 2.8	10.0 $\pm$ 5.0	13.0 $\pm$ 4.3*
Basophils (Total)	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Others (Total)	78.0 $\pm$ 10.5	68.0 $\pm$ 2.5	71.8 $\pm$ 13.5	80.9 $\pm$ 22.0
Monocytes	1.9 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 1.2	1.8 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 1.0
Lymphocytes	74.1 $\pm$ 10.3	63.5 $\pm$ 3.5	67.5 $\pm$ 12.9	76.1 $\pm$ 21.9
Plasma cells	0.5 $\pm$ 0.7	0.8 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.2
Reticulum cells	0.8 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.5
Megakaryocytes	0.1 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.3	0.0 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.2
Mast cells	0.6 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.9	1.2 $\pm$ 0.7
Total of nucleated cells	228.4 $\pm$ 20.7	222.4 $\pm$ 13.8	227.2 $\pm$ 25.5	242.0 $\pm$ 37.1

Each value (No. of nucleated cells in bone marrow; $10^4/\text{mm}^2$)

represents mean $\pm$ SD of 5 animals.

* : p < 0.05 vs vehicle group.

への分化を促し、IL-5の作用により好酸球の増加をもたらす結果と推定されている(7)。

臨床ではIL-2を投与された全例に好酸球の増加はみられていないことから、何らかの刺激(薬剤、炎症)によってTh₁、Th₂細胞(ヒトでこれらのT細胞サブセットが存在することについては、議論中である)が動員された症例に本現象が起こるのではないかと。

以上、当社で検討した実験成績を示した。

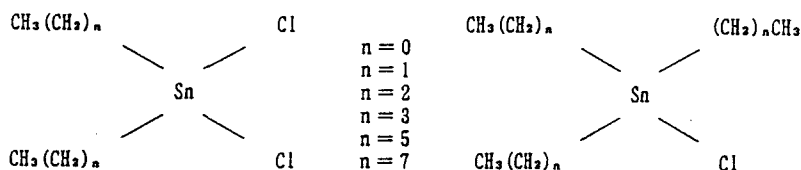


Fig. 6 The chemical structure of di-and trialkyltin chlorides
 $n = 0$ - di-trimethyltin(di)chloride (DMTC, TMTC)
 $n = 1$ - di-/triethyltin(di)chloride (DETC, TETC)
 $n = 2$ - di-n/tri-n propyltin(di)chloride (DPTC, TPTC)
 $n = 3$ - di-n/tri-n butyltin(di)chloride (DBTC, TBTC)
 $n = 5$ - di-n/tri-n hexyltin(di)chloride (DHTC, THTC)
 $n = 7$ - di-n/tri-n octyltin(di)chloride (DOTC, TOTC)

Table 3 The effects of DBTC and DOTC on various immune functions of rats

	Effect ^{a)}
<u>Cell mediated Immunity</u>	
<u>In vivo</u>	
Delayed type hypersensitivity to tuberculin	S
Allograft rejection	S
Graft versus Host reaction	S
Resistance to Lysteria monocytogenes infections	S
<u>Ex vivo</u>	
Blast transformation of thymocytes and spleen cells by PHA, Con A and PWM	S
Blast transformation of peripheral blood lymphocytes	S
Mixed leucocyte reaction (MLR)	S
<u>Humoral Immunity</u>	
<u>In vivo</u>	
Thymus-dependent Ab-synthesis to sheep red blood cells (SRBC)	S
Thymus-independent Ab-synthesis to E. coli lipopolysaccharide (LPS)	NE
<u>Ex vivo</u>	
Blast transformation of spleen cells by LPS	NE
Blast transformation of spleen cells by PWM and Salmonella typhimurium	S
Plaque formation against SRBC	S
<u>Non specific resistance</u>	
NK-activity of spleen cells to YAC-1 and W/F1 lymphoma cells	NE
Carbon clearance of macrophages	NE

a): S ; suppressive effect
 NE ; no effect

4. 医薬品以外の生体異物による免疫毒性

最近、Organotin (Fig. 6)、ダイオキシン (8) 等の化学物質も胸腺に対して有害作用を及ぼし、ひいては免疫系に毒性を示すことが問題になってきている (9)。ダイオキシンは胸腺のアポトーシスを引き起こすこと (10) が知られているが、ここでは Organotin 系化合物の免疫毒性について紹介する (11)。Organotin 系化合物は、最初ポリビニールクロライド系プラスチックの安定剤として使われ、その後、紙、木の殺菌剤として、さらにジャガイモ、サトウダイコンの殺菌剤として使われるようになった。その毒性は、まず肝毒性および胆管増殖作用が報告され、胸腺に対する毒性 (萎縮) が注目されるに至った。

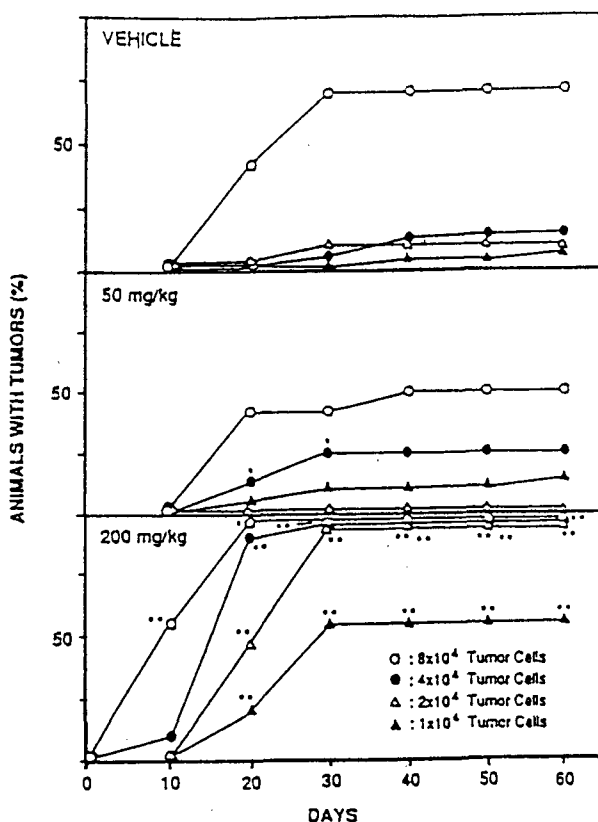


Fig. 7 Effect of cyclophosphamide on PYB6 tumour formation as a function of tumour cell challenge. Group of mice were administered a single intraperitoneal injection of saline, 50 or 200 mg/kg cyclophosphamide followed 48 hours later by subcutaneous injection of either 1×10^4 (Δ), 2×10^4 ($\triangle$), 4×10^4 ($\bullet$), 8×10^4 ($\circ$) PYB6 tumour cells. The data are presented as the percent of animals that develop palpable tumours within 60 days. Each point represents 20 mice. *: $p < 0.05$ or **: $p < 0.01$ vs vehicle treated group by Fisher's Exact test at same time point given equal numbers of tumour cells by Fisher's Exact test.

Table 3 に、これまで報告された Organotin系化合物のラットでの免疫機能に対する作用を要約した。これらの結果は、T細胞関与の免疫反応が抑制されているが、液性免疫、貪食作用あるいはナチュラルキラー細胞活性には殆ど影響を及ぼさないことが示されている。これら化合物の作用機序として、DBTCが胸腺細胞の分化のかなり早い時期($CD4^+CD8^+$ 段階)を障害していることが報告されている(12)が、その詳細は今後の研究を待たねばならない。

5. 自己免疫疾患

本稿の最初の部分で、医薬品の殆どは免疫学的には「非自己」とであると述べた。医薬品(化合物)は抗生物質のようにハプテンとして抗原性を発揮する以外に、生体成分(自己)を修飾し、「非自己」として免疫系に認識されるようになる(自己の非自己化)とそれに対する免疫反応が起こる。例えば慢性関節リウマチ、ウィルソン病あるいはシスチン尿症

治療剤として使われているD-ペニシラミンは種々の自己免疫疾患（重症筋無力症、天疱瘡、ループス様症候群、膜性腎症、シェーグレン症候群、顆粒球減少症、汎血球減少症、リンパ腺症等）を引き起こすことが知られている（13）。本化合物の抗リウマチ作用は、SH基による蛋白解離作用、コラゲナーゼ活性産生抑制、コラーゲン架橋形成抑制作用および免疫調節作用などに基づくと考えられている。D-ペニシラミンのリンパ球に対する作用としては、T細胞の増加およびB細胞の減少、ヘルパーT細胞の機能低下などが報告されている。本化合物を抗リウマチ剤として投与した場合に発症する自己免疫性疾患、例えば重症筋無力症の誘導機序について、一つの考え方として、D-ペニシラミンによってリウマチ因子が解離し、リウマチ因子（変性蛋白）-D-ペニシラミン結合体が親水性のアセチルコリン受容体のサブユニットと結合し、新しい抗原エпитープ（非自己）としてT細胞に認識されることに基づくのではないかと考えられる。重症筋無力症が発病するには、これに加えて、遺伝的素因が関与していることは十分に推測される。さらに、マウス及びラットを用いてD-ペニシラミンによる自己免疫疾患発症機序の解析も行われているが、ここでは報告を記述するにとどめる（14, 15）。

6. 発ガン

移植時に拒絶反応を抑制するため、免疫抑制剤（シクロホスファミド、シクロスポリンA等）を投与すると、日和見感染や発ガン率が増加するといわれている。Fig. 7にマウスにシクロホスファミド投与により発ガン率が増加する成績を示す（16）。シクロホスファミドの投与量に依存して、発ガン率が増加することがわかる。これはシクロホスファミド投与によりT細胞の機能が障害され、ガン細胞が「非自己」として認識されず排除されなかったことに基づくと考えられる。

以上、医薬品以外の生体異物による免疫毒性および医薬品による免疫毒性に基づく自己免疫疾患の発症および発ガン率の増加について文献的に考察した。

7. おわりに

免疫毒性ガイドラインはまだ制定されていないが、日、米、欧でアザチオプリン（4）、シクロスポリンA（17）を用いた免疫毒性研究の成果を基に、どういう指標が免疫毒性に最も感受性が高いか等の検討がなされている。また、昨年出されたFDAの“Redbook II”（Draft）にもImmunotoxicity studyの必要性が示されている。

免疫学的に「非自己」である生体異物が今後ますます多様化してくることから、免疫毒性研究のより一層の発展が期待される。

文 献

1. M.Kinutani, N.M.Le Douarin : Avian spinal cord chimeras.
1.Hatching ability and posthatching survival in homo-and heterospecific chimeras. *Dev. Biology.* 111, 243-255 (1985)
2. P. マラック, J.W.カプラー : 免疫系はどのようにして自己を認識するか.
日経サイエンス. 23 (11), 58-68 (1993)
3. H.Chiodi : The relationship between the thymus and the sexual organs.
Endocrinology. 26, 107-116 (1940)
4. 松本清司ら : アザチオプリン投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討 :
免疫毒性国際共同研究 (アザチオプリン) 分担研究報告. 108, 34-39 (1990)
5. 西条武俊, 成尾憲一 : TGP-3 (遺伝子組換え型ヒトインターロイキン 2) の発熱機序.
炎症. 9 (5), 391-395 (1989)
6. 宮脇宏彰ら : 組換え型ヒトインターロイキン 2 (TGP-3) のラットにおける13週間腹腔
内投与毒性試験. *基礎と臨床.* 23, 4079-4098 (1989)
7. R.L.Coffman et al. : The role of helper T cell products in mouse B cell
differentiation and isotype regulation.
Immunol. Rev., 102, 5-28 (1988)
8. W.F.Greenlee et al. : Evidence for direct action of 2,3,7,8-tetrachloro-
dibenzo-p-dioxin(TCDD) on thymic epithelium.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 44, 112-120 (1985)
9. M.I.Luster, G.J.Rosenthal : Chemical agents and the immune response.
Environmental Health Perspectives. 100, 219-236 (1993)
10. D.J.McConkey et al. : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin kills immature
thymocytes by Ca^{2+} -mediated endonuclease activation.
Science. 242, 256-259 (1988)
11. A.H.Penninks et al. : Organotin-induced thymus atrophy.
Thymus Update. 91, 57-79 (1991)
12. N.J.Snoeijs et al. : Differential effects of tri-n-butyltin chloride on
macromolecular synthesis and ATP levels of rat thymocyte subpopulations
obtained by centrifugal elutriation. *Int. J. Immunopharmac.*, 10, 29-37 (1988)
13. N.Nagata et al. : Specific sensitization of $Lyt-1^{+}2^{-}$ T cells to spleen
cells modified by the drug D-penicillamine or a stereoisomer.
J. Immunol., 136, 136-142 (1986)
14. U.Hutenbach et al. : Immunity to D-penicillamine : Genetic, cellular, and
chemical requirements for induction of popliteal lymph node enlargement in
the mouse. *ibid.*, 139, 411-416 (1987)
15. H.Tournade et al. : D-Penicillamine-induced autoimmunity in Brown-Norway
rats - Similarities with $HgCl_2$ -induced autoimmunity.
ibid., 144, 2985-2991 (1990)
16. M.I.Luster et al. : Risk assessment in immunotoxicology.
II. Relationship between immune and host resistance tests.
Fund. Appl.Toxicol., 21, 71-82 (1993)
17. 落合敏秋ら : シクロスポリンA投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討 :
免疫毒性国際共同研究第Ⅱ期分担研究報告. *衛生試験所報告.* 111, 91-99 (1993)

医薬品開発における免疫毒性試験の現状と問題点

牧 栄二（ヤンセン協和・研開本部）

本邦における開発医薬品の安全性については、その検討項目が GLP ガイドラインで指定されている。しかし、免疫毒性については、現在までのところガイドライン化されるには至っていない。米国ならびにヨーロッパにおいては、それぞれ米国保険環境研究所、オランダ国立衛生環境研究所が、化学物質ならびに医薬品等の環境汚染に伴うヒトにおける免疫毒性を検討するための免疫毒性試験ガイドラインを公表している（Table 1）が、医薬品の免疫毒性試験については FDA においてもガイドラインの公示を行っていない。しかし、AIDS に対する抗ウイルス剤、免疫治療剤、BRM、バイオテクノロジー医薬品、ホルモン、サイトカインなどについては免疫毒性試験の実施を推奨している。

本邦における医薬品開発における免疫毒性試験の現状を知る手だてとして、前期製薬協・基礎研究部会において実施したアンケート調査があり、その結果より本邦における免疫毒性試験の実施状況を或る程度知ることができる。本調査は、1988年11月から1991年10月の過去3年間の免疫毒性試験の実施状況について、製薬協加盟会社85社を対象に行なわれた。その結果、免疫毒性試験を実施したことがある会社は、回答を得た78社中18(23%)であった（Table 2）。

免疫毒性が検討された医薬品は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤を含む化学療法剤および抗生物質が大半を占めていた（Fig. 1）。免疫毒性試験を実施した理由として、被験物質の薬理効果、類似薬における動向および一般毒性試験の成績が挙げられている（Fig. 2）。一般毒性試験の成績で、免疫毒性と関連性有りと判断された所見は、免疫系臓器の重量変化（胸腺重量の減少、脾臓重量の増加）、免疫系組織の病理組織学的変化（脾臓および胸腺の萎縮、脾臓胚中心の発達、リンパ節への濾胞細胞の浸潤、白脾髄の変化）、骨髓検査での変化（骨髓有核細胞の低下、骨髓細胞の減少）、血液学的検査での変化（白血球数の変化）および血液生化学的検査の変化（A/G 比の上昇）であった（Fig. 3）。

免疫毒性の検索項目としては、一般毒性試験で行われている病理学的検索が最も多かった。免疫系の機能検索としては、細胞性免疫系の検索（マイトゲンに対するリンパ球幼若化反応、DTH 反応、混合リンパ球培養反応）や、液性

免疫系の検索（PFC 反応、特異抗体の産生）が多く行われている（Fig. 4）。また、本検索で使用されている動物種も、一般毒性試験で汎用されている動物種と一致していたことは、一般毒性試験が免疫毒性試験のスクリーニングとして位置づけられていることを反映しているものと考えられる（Fig. 5）。また、使用する動物種もマウスならびにラットが多かった。

免疫毒性試験を行っていない企業において、試験を実施しなかった理由は主に下記の事由に基づくものであった（Fig. 6）：

- 1) 開発中の医薬品に該当するものがない。
- 2) 免疫毒性試験に関する方法論が定まっていない。
- 3) 申請書として要求されていない。

また、免疫毒性試験の実施に関して次の意見が挙げられた：

- 1) 化学物質についての免疫毒性試験は有用であると考ええる。しかし、医薬品については一般毒性試験で免疫毒性に関する情報がかなり得られることより、特殊な医薬品についてのみ実施すべきである。
- 2) 免疫毒性試験は、一般毒性試験の中に可能な限り組み入れて、無影響量評価の対象にすべきなのか、あくまでも毒性の質的評価、メカニズム解析等のために別途実施される特殊毒性試験であって、無影響量の評価とは次元の異なるものとして捕らえるものなのか。
- 3) 先ず、免疫毒性試験法の確立とその実施基準を明確にし、各社の足並みを揃えることが必要である。
- 4) 免疫系の状態や免疫反応の強さの指標となるものは、極めて多岐にわたり、何を試験項目として選択するか難しい。

以上のごとく、本邦においては、免疫毒性試験は開発医薬品の安全性評価のために、一部の企業を除けば、殆ど実施されていない。しかし、ヒトの生命維持に関わる免疫系の関与の深さと、今後の医薬品開発における遺伝子組み替え技術の導入等を考えると、免疫毒性試験の必要性は益々高まることは必至である。本邦における安全性評価のための免疫毒性試験の実施については、既に米国ならびにヨーロッパにおいて、医薬品に限定されるものではないが、免疫毒性試験のプログラムが出来上っていることを考えると、本試験の医薬品の安全性評価への導入の時期は左程遠くないものと考ええる。

Table 1 Two different immunotoxicity testing procedure in USA and Europe

USA:

- National Toxicology Program at National Institutes of Environmental Health sciences
- 4 year development period, completed in 1988
- Two Tiers (I, II), in female B6C 3F1 mice

Europe:

- National Institute of Public Health and Environmental Hygiene in Netherlands
- 10 year development period, completed in 1987
- Two Tiers (I, II), in Wistar rats

Table 2 The number of the companies, having conducted immunotoxicity study during 3 years (Nov., '88 - Oct., '91) and the number of samples tested

	No. of companies (No. of samples)	
Medicines:	1	(6 - 10)
	14	(1 - 5)
	3	(0)
Chemical compounds:	2	(1 - 5)
	16	(0)

Eighteen of 78 companies have conducted the study.

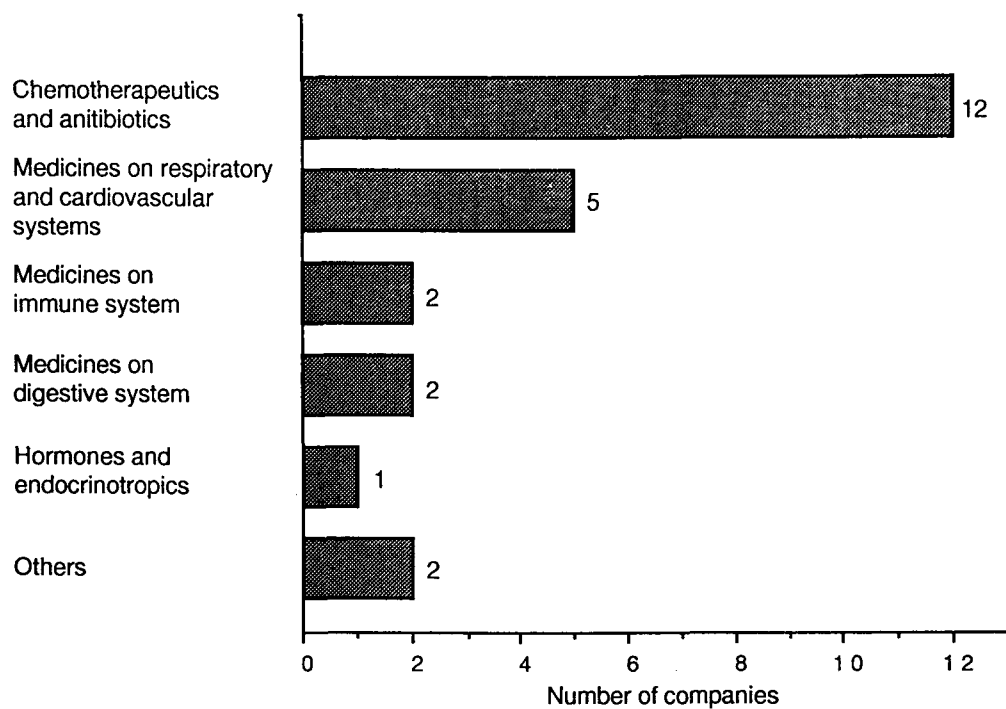


Fig. 1 The classification of medicines tested in immunotoxicity study

Sixteen companies replied. The plural answers were admitted.

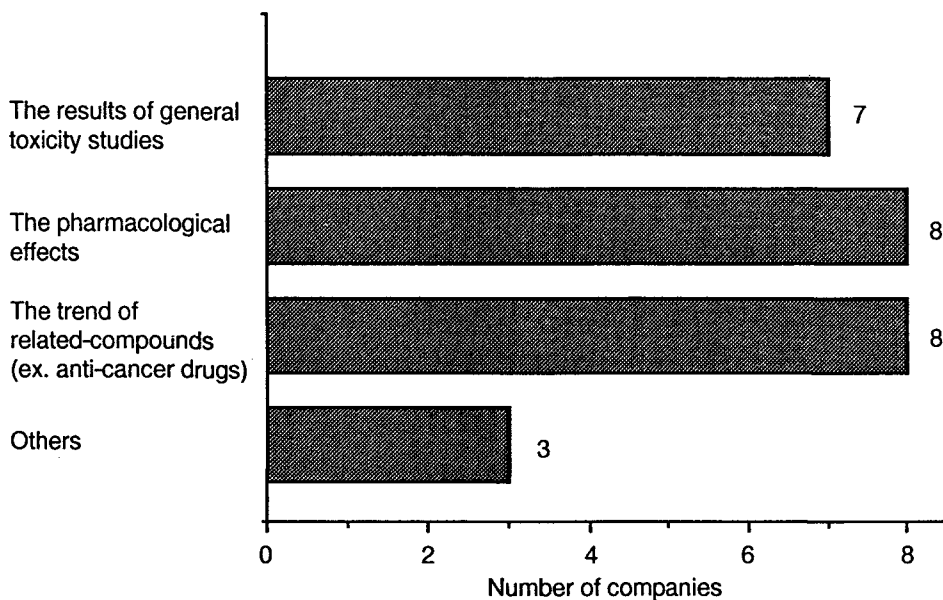


Fig. 2 The reasons why immunotoxicity study was conducted

Eighteen companies replied. The plural answers were admitted.

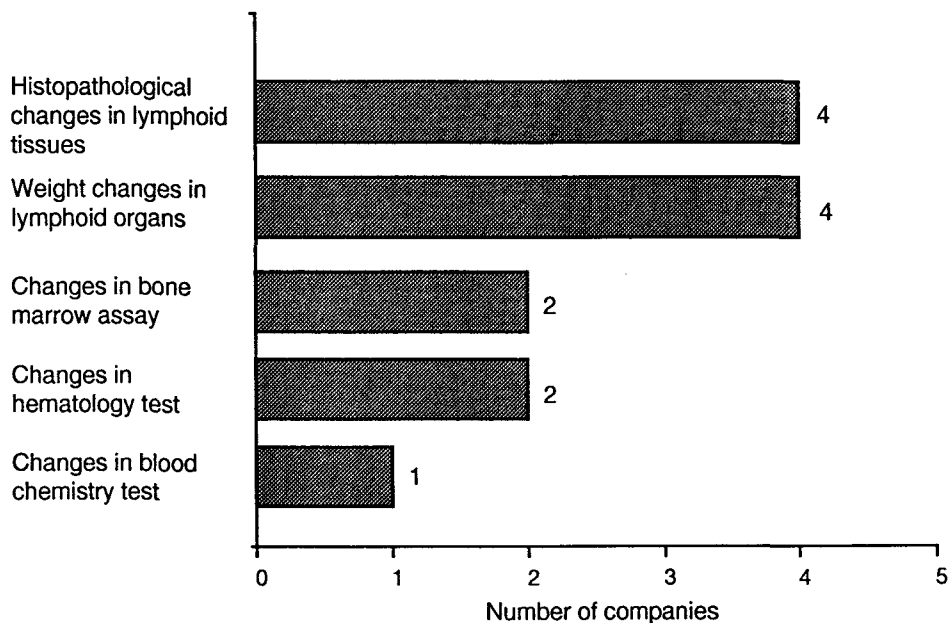


Fig. 3 The findings judged to be associated with immunotoxicity

Seven companies replied.

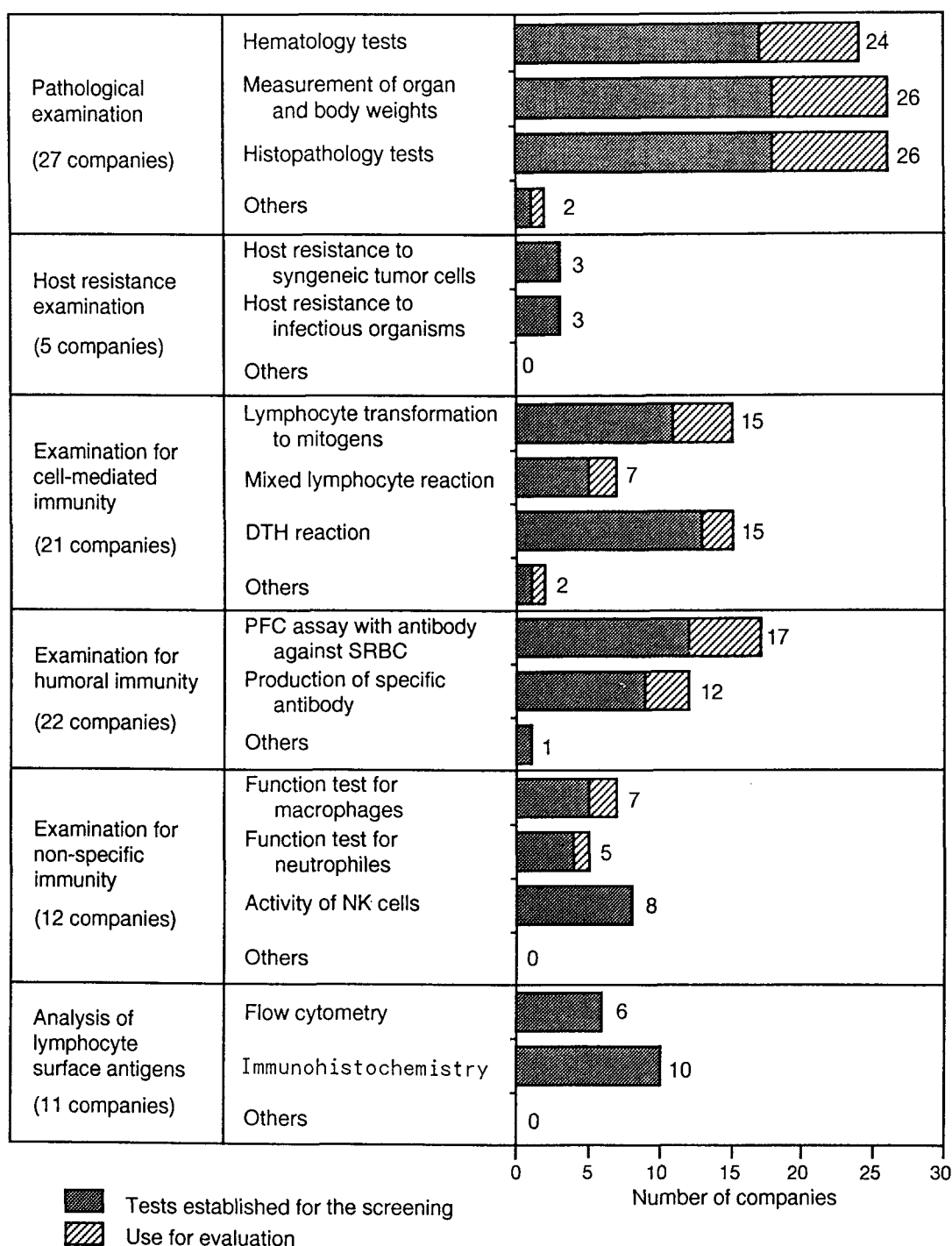


Fig. 4 Test items employed to examine immunotoxicity of medicines

Thirty-one companies replied. The plural answers were admitted.

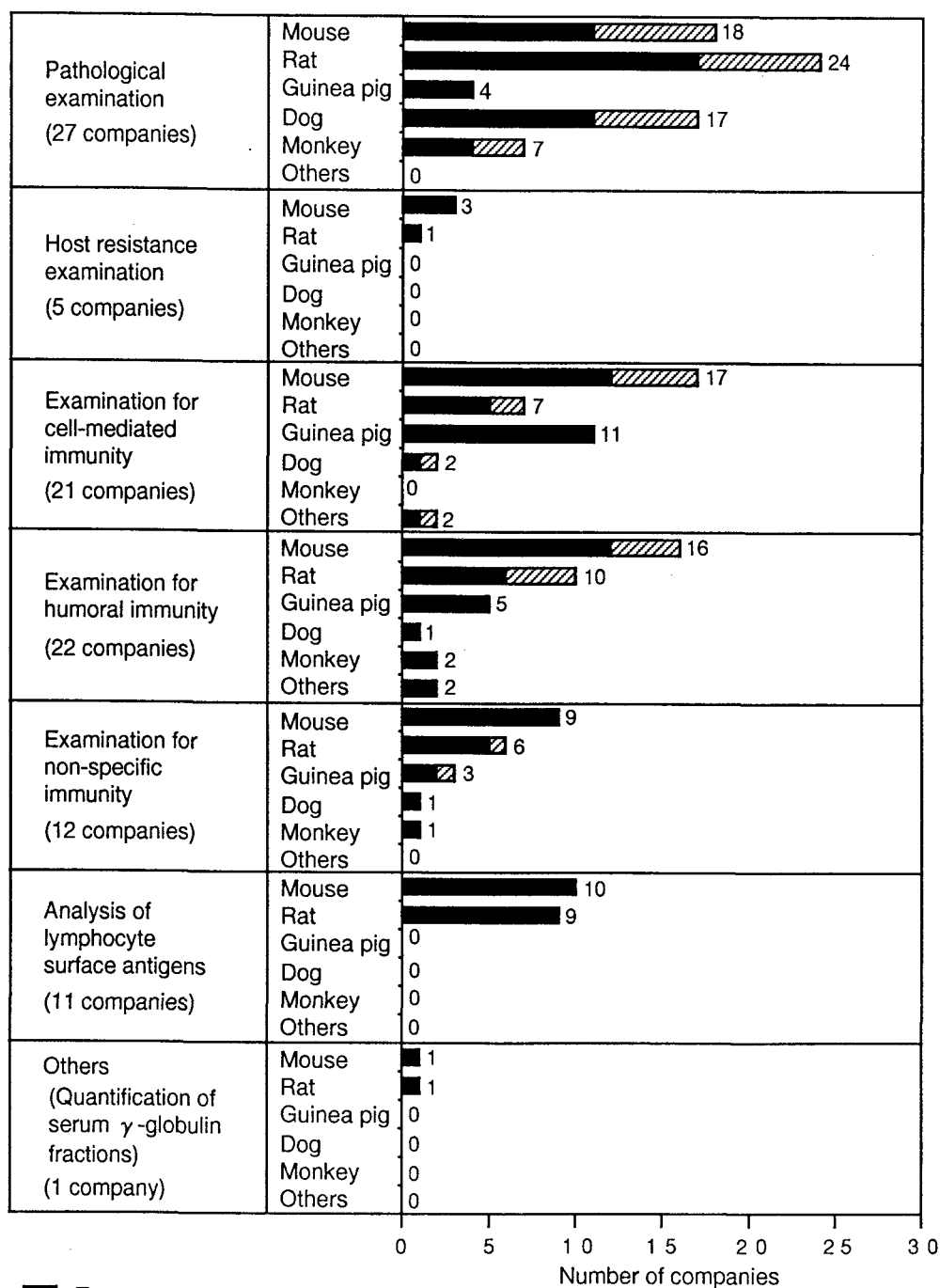


Fig. 5 Animal species used to examine immunotoxicity of medicines

Thirty-one companies replied. The plural answers were admitted.

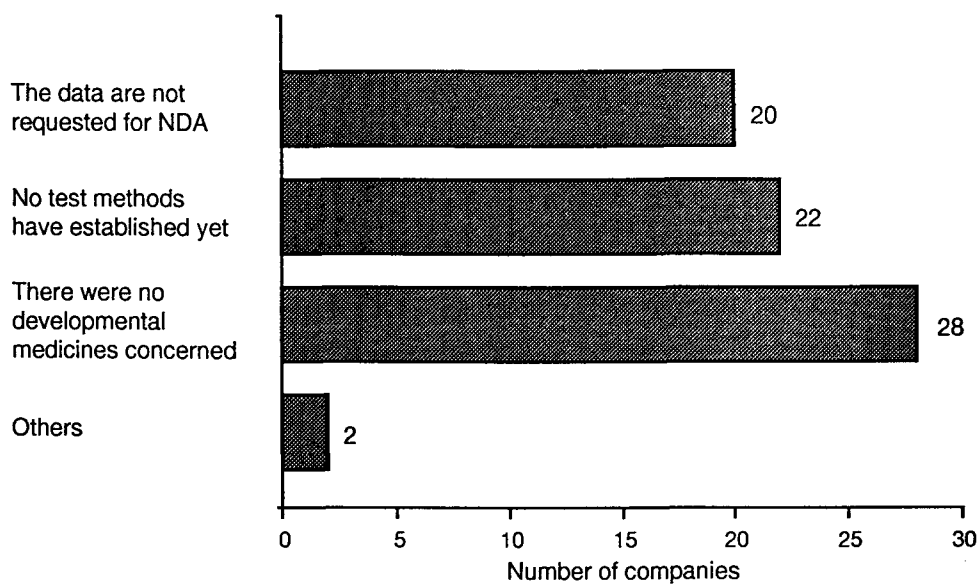


Fig. 6 The reasons why no immunotoxicity studies were conducted

Forty-three companies replied. The plural answers were admitted.

<第44回研究会>

日時：平成6年12月2日（金）

場所：京大会館

会員の研究発表

1. ネフローゼ自然発症 I C G N マウス subline 中に多発した悪性リンパ種様の
腫瘍病変
2. 若齢ラットに見られた悪性神経鞘腫の一例
3. tremor rat における血中 L H および F S H 濃度の測定
4. ラット排卵数の測定方法および卵子の卵管内の経時的移動について
5. 小型霊長類、コモンマーモセットのオスの保育行動と内分泌
6. 調教がサルに及ぼす影響について
 - － 若齢アカゲザルの保定台調教に対する順応性の評価と行動変化 －
7. 種々実験用動物における Staphylococcus 属菌の検索
8. Nested P C R によるイヌパルボウイルス D N A の高感度検出法の確立
9. マウスにおけるミュータント遺伝子の迅速マッピング法
 - － P C R -based, D N A pooling method －
10. 近接マーカーのタイピングに基づいた選抜法による W T C -zi/zi 系統の育種
11. ラットの真正半陰陽の一例
12. 若齢の Crj: CD (SD) ラットにみられた耳標装着による耳介軟骨炎について

* 当日行われた特別講演2題については、次号に掲載予定です。

1. ネフローゼ自然発症ICGNマウスsubline中に多発した悪性リンパ腫様の腫瘍病変

水野信哉，小森孝通，岡本宗裕，竹中やよい，岳乗飛，内貴正治¹⁾，黒澤 努（大阪大学医学部附属動物実験施設，¹⁾予研獣医科学部）

ICGNマウスは予研で維持されているICRコロニー中に偶然見いだされ，ネフローゼ症候群を自然発症するモデル動物である。当施設には1991年に分与され，ICRマウスとの交配によって得られた産仔からの兄妹交配によってこの系統を維持している。

最近，このsubline中に長期飼育群に脾臓，胸腺および全身諸リンパ節に著しい腫大を呈する個体が多発したので，その概要を報告する。

【発 症】

リンパ系臓器に腫瘍病変が認められたのは26-28週齢の3例ならびに48-52週齢の9例，合計12例であり，26週齢の1例を除いてすべてネフローゼ非発症個体であった。雌雄の内訳は雄2例，雌10例であった。

【臨床所見】

下顎部腫瘍が3例，著しい腹囲膨満が7例に認められた。衰弱が著しかった4例中3例は観察期間中に斃死，残り1例は切迫剖検に供した。

【血液所見】

ヘマトクリット（Ht）値を測定した6例全例に貧血（ $Ht=30.6 \pm 4.3$ ）がみられた。このうちの1例では白血球層の著しい増加が認められた。

【剖 検】

剖検した12例中全例にリンパ系臓器を中心に腫瘍病変が認められた。脾腫が10例，肝腫が3例，胸腺の腫大が6例，下顎リンパ節，腋窩リンパ節，腸骨リンパ節，腸間膜リンパ節のいずれかのリンパ節腫大が11例に認められた。その他，卵巢腫瘍および乳腺腫瘍が各1例にみられた。

【組織所見】

腫大した胸腺，リンパ節，脾臓，肝臓，卵巢では大形リンパ球様腫瘍細胞の著しい浸潤が認められた。これらの臓器では腫瘍細胞以外に好酸球浸潤および泡沫細胞の出現（starry sky appearance）が認められた。

【考 察】

今回観察されたリンパ系腫瘍としてlymphocytic lymphomaの可能性がもっとも疑われる。長期間飼育中の動物に腹囲膨満，下顎リンパ節腫大を呈する個体が現在でも観察されている。同室で飼育中の他系統には，lymphoma様腫瘍病変の発症は現在のところ確認されていない。

ネフローゼを発症するICGNマウスのsublineはリンパ腫モデルとして利用できる可能性がある。今後，本腫瘍細胞のcharacterizationを行うとともにその発生に関して白血病ウィルスの関連性を検討していきたい。

若齢ラットに見られた悪性神経鞘腫の一例

2.

牧野奈津代、義澤克彦、松本正博、鈴木淳也、大石裕司、
藤平司郎、山内研司、岩波黄葵、藤井登志之（藤沢薬品・安全性研究所）

ラットにおける頭蓋腔内の神経系腫瘍の自然発生は少なく、生後1年未満の発生はほとんど報告されていない。今回、19週齢という非常に早い時期にもかかわらず、三叉神経原発の悪性神経鞘腫が認められたので、その臨床経過ならびに病理像に関して報告する。

症 例： 4週齢で日本クレアより購入し、SPF人工環境下で飼育し、標準固型飼料(CE-2,日本クレア)と上水道水を自由摂取させていた無処置の19週齢のJcl:SD系雌ラットである。

臨床経過： 12週齢まで全く異常が見られなかったが、13週齢時より摂餌量の低下を伴う体重減少、14週齢からよろめき歩行および異常呼吸音、加えて15週齢から自発運動の抑制が観察された。その後徐々に衰弱し、19週齢時には、13週齢時304gの体重が約2分の1の148gまで減少し、消瘦したため切迫屠殺した。

剖検所見： 頭蓋腔底部の右側三叉神経を中心として5x10mmの黄色ゼリー状の腫瘍が観察された。腫瘍に被膜形成は見られず、一部では脳実質および下垂体を巻き込んでおり、右側三叉神経起始部の脳実質には出血巣が認められた。また、脾臓・胸腺・腸間膜リンパ節・肝臓に萎縮傾向が認められ、肺には暗赤色巣が多数見られた。

全身諸臓器をホルマリン固定後、HE標本により病理組織学的に検索し、腫瘍については各種免疫組織学的検索およびホルマリンからのもどし電顕観察を行った。

病理所見： 腫瘍細胞は三叉神経起始部を中心に小脳髄質、橋、延髄および下垂体前葉に浸潤、増殖し、大脳および胸部脊髄の髄膜下にまで播種していた。腫瘍細胞は卵円形から紡錘形で、クロマチンに富む小型の核を有し細胞の境界は不明瞭で、分裂像もしばしば認められた。また、腫瘍細胞に特徴的な配列パターンは乏しいものの、一部でpalisading様配列が観察された。電子顕微鏡による観察では、細胞小器官は乏しく、細長い細胞突起や基底膜様構造、一部でその入り組みや接着装置が観察された。免疫組織学的には、VimentinおよびS-100蛋白に陽性、KeratinないしGFAPに陰性で、PCNA抗体には多くの細胞が反応した。その他の臓器に腫瘍の遠隔転移は見られず、本腫瘍による燕下障害に基づいたと思われる異物性肺炎や栄養不良あるいはストレスに起因すると思われる骨髄・各リンパ器官・肝臓・子宮・皮膚の萎縮性変化が認められた。

考 察： 上記の病理所見から本腫瘍はシュワン細胞由来で、播種および比較的高い細胞増殖能を有することより悪性度の高い腫瘍と考えられ、悪性神経鞘腫と診断された。原発については腫瘍の肉眼的局在や三叉神経に沿った増殖が観察されたことなどから三叉神経と判断した。また、臨床症状でみられたよろめき歩行については、小脳および胸部脊髄への高度な浸潤、播種が原因で、異常呼吸音については、三叉神経障害によって燕下障害を惹起し、異物性肺炎を引き起こしたと思われる。それにともない、摂餌量の低下、体重減少、衰弱という経過をたどったものと考えられた。

本症例のような19週齢という若齢のSDラットについての自然発生例は、我々が調べた限りでは報告がなく、毒性試験での貴重なバックグラウンドデータになりうるものと考えられた。頭蓋腔内の腫瘍は特に腫瘍がどの位置にあるかということが臨床症状の発現に非常に重要となる。また、各週齢でどのような腫瘍が自然発生し、それぞれどのような臨床経過を示すかを把握しておく事は毒性試験の評価の際に重要であり、今後も引き続き、症例報告を積み重ね、毒性評価に役立てていきたい。

3. tremor ratにおける血中LHおよびFSH濃度の測定

長崎徹、周参見正行、山村高章、川合是彰、堀正樹（田辺製薬・安全研）、芹川忠夫（京大・医）

下垂体前葉より分泌される黄体化ホルモン(LH)や卵胞刺激ホルモン(FSH)の血中濃度を測定することは、生殖機能を診断する上で重要とされている。そこで我々は市販のRIAキットを用い、遺伝的に不妊を示すトレモアラットや去勢動物を用いその有用性を検討した。

tremor ratの雄では生後20日齢以降で精子発生に異常が発現し、成熟期においても二次分裂以降の精子形成がみられないこと、雌では生後10日齢はもとより成熟期においても、正常な卵胞発育像はほとんど認められないことが知られている。そこでLHおよびFSHの血中濃度測定に、生後5、20、45、140日目に採取した血漿を用い、アマシャム社より発売されているラット125Iアッセイシステムキットを用いて測定した。顕微鏡観察は生後38日の下垂体を、UCBバイオプロダクトより入手した抗ラットLHおよびFSH抗体を用いたストレプトアビジン法による免疫染色を行った。顕微鏡観察は生後45日目の雌について顕微鏡観察に使用したものと同一抗体を一次抗体とし、20ナノメートルのコロイド金で標識した抗体を二次抗体としたポストエンベディング法による免疫染色を行った。

その結果、tremor ratの雄では血中LH、FSH濃度ともに対照ラットと同様の血中濃度推移を示し、下垂体前葉のLH、FSH陽性細胞も対照ラットと同様の形態を示した。tremor ratの雌では、血中LH、FSH濃度が5日齢時で対照ラットと同程度であったのに対し、20日齢時では約3～4倍と高値を示し、それ以降もそのレベルを維持したままであった。また、下垂体前葉のLH、FSH陽性細胞は、対照ラットよりも大きな円形細胞として観察された。抗LHおよびFSH抗体による染色像でも対照ラットよりも大きな類円形細胞として観察されており、これら分泌細胞の形態変化は血中下垂体ホルモンレベルの変化とよく一致したものとなった。さらに本測定が病態を反映することを確認するために、卵巣摘出ラットを用い血中LHおよびFSHを測定したところ、摘出後血中ホルモン濃度は高値となり下垂体からのホルモン分泌が亢進していることが確認された。

以上のようにLHおよびFSHの測定結果は先天性の生殖器異常をもつトレモアラットの下垂体機能を的確に示しており、特に雌では下垂体ホルモン濃度は高値を示し、これはprimary hypogonadismに対するフィードバック機構によるものと考えられ、今回のように市販のキットを用いても下垂体機能を確認でき、測定結果は生殖器異常の病態を充分把握できるものと結論された。

4. ラット排卵数の測定方法および卵子の卵管内の経時的移動について

○森 崇子、前田 充則、永江 祐輔、宮本 政樹

(日本チバガイギー㈱・薬剤安全性ユニット)

〈緒言〉一般に、生殖発生毒性試験において、排卵数は黄体数あるいは着床数より推察される。今回、我々は Estrogen 生合成抑制剤のラットの排卵に及ぼす影響を検討するため、卵管中の卵子数を測定した。その結果、薬剤投与群では対照群に比べ用量依存的に卵子数が少なかった。一方、この時の対照群の平均卵子数は、当施設の過去 6 年間の生殖発生毒性試験における対照群の平均着床数に比べ低い値を示したことから、以下の点について検討した。(1) 卵管を灌流して計数された卵子数は、正確な排卵数を反映しているか。(2) 卵子は排卵後 3 日間卵管内にあると言われているが、測定日によって卵管中の卵子数に変動があるか。

〈材料・方法〉4 日性周期の Crj:CD(SD) 系雌性ラットを、同系統の雄性ラットと交配させた。交尾成立日を妊娠 0 日とし、妊娠 0 ～ 4 日に動物を屠殺後開腹し、卵巣、卵管および子宮を摘出した。注射針を卵管采に挿入して卵子を灌流後計数し、さらに子宮も灌流して卵子数を測定した。また、灌流した卵管の連続組織切片を作製し、卵管内に卵子が残存していないかどうかを確認した。

〈結果〉卵管中の卵子数は妊娠 0 日に少なく、妊娠 1 日の午後に最も多く観察され、それ以降は減少する傾向を示した。また、妊娠 0 ～ 3 日には卵子は卵管にのみ観察されたが、妊娠 4 日には一部卵管内に卵子が観察された以外、子宮内で多くの卵子がみられた。また、灌流した卵管について 10 μ m 厚の連続切片を作製したところ、卵管中に卵子は観察されず、灌流が正確に行われたことが確認された。

〈考察〉妊娠 0 日には卵管内の卵子数が少なく、妊娠 1 日の午前、午後と徐々に増加したことから、卵子間に排卵の時間的なばらつきがあるものと推察された。また、妊娠 1 日の午後の卵子数は着床数の背景値よりわずかに下回る程度であった。従って、卵管内の卵子を計数する時期として妊娠 1 日の午後が最も適切であると考えられた。妊娠 2 日および 3 日の卵子数が妊娠 1 日に比べて少ない理由として、すでに子宮に移動した少数の卵子を子宮の灌流法で確認できなかった可能性がある。

5.

小型霊長類、コモンマーモセットのオスの保育行動と
内分泌

○鳥居 隆三（滋賀医大・動物実験施設）

D.H.Abbott（Wisconsin大学・霊長類研究所）

小型の霊長類であるコモンマーモセットは、1年余りで成熟に達した後、1年に2回、1回に2～3仔を出産するなど繁殖効率が高く、また排卵周期や妊娠期のホルモン動態はヒトに類似しているなどのことから、マカカ属に代わる実験用霊長類として有用視されてきている。また、複数のメスが同居するグループでは、社会的に優位なメスには排卵が見られるが劣位のメスには排卵が見られないことが知られており、我々はこの現象が視床下部の可逆的な一時的機能抑制によって生じていることを明らかにしたが、マーモセットは社会行動を内分泌と結び付けて考えるのに興味ある動物でもある。今回は出産後、オスが子供を背中に背負う保育行動について、内分泌学的観点から父子関係を明らかにすることが出来る指標を見いだせるか否か検討を試みた。

（動物と方法）

妊娠、保育の期間にある4グループを選びその行動観察と、血中のホルモンのCortisol(F)とProlactin(PRL)の測定を行なった。同時に、尿中のCortisol(F)、Prolactin(PRL)、mCGの分析を加えた。血中のF、PRLはRIAで、また尿中のFはEIAで、PRLは高速遠心法を用いた分子篩法により濃縮した後RIAにて、各々測定した。

（結果および考察）

午前と午後の各々の15分間の行動観察から、生後約3週間目までは子供は父親の背あるいは母親の腋下部にいて、単独での行動は見られないが、その後は単独での行動の時間帯が徐々に増加することがわかった。

出産前後の血中ホルモンの変動は、Fは、オスでは出産前後に大きな変動は見られなかったが、メスでは出産直前に低下し、出産後はわずかに増加した後再び減少傾向を示した。PRLは、メスでは出産後は授乳に伴う高値が見られたが、オスでは出産後3週間目頃まで高い値を示す個体と低い値を示す個体が見られた。一方、尿中においては、Fはメスでは出産直前に明瞭な低下と、出産後の増加、その後の減少傾向が血中と同じ傾向下によりむしろ明瞭に認められた。PRLは、メスでは血中と同じく授乳期の高値が見られ、オスでは血中と同じく出産後3週間目頃まで高値を示す個体と低い値を示す個体がみられた。

この血中および尿中のPRLが高値を示した個体は、行動観察から母親の授乳時以外は子供を背中に背負っており父子関係が強かったのに対して、低値のオスは子供を背負う行動がほとんど見られず父子関係が弱いことがわかった。

以上の成績から、PRLはオスの哺育行動、とくに父子関係を窺うひとつの指標になる可能性が示されたと考える。また今回は尿の採取方法として、代謝ケージや狭い箱に強制的に入れるのではなく、点灯と同時にケージ内に入り、自然に排泄される早朝尿を採取する方法を用いたが、これによって、尿は血液試料と同等に生体機能を反映できることを確認でき、とくに行動分析には有用な材料になることも確認できた。

調教がサルに及ぼす影響について

6.

若齢アカゲザルの保定台調教に対する順応性の評価と行動変化

○武藤通彦、土屋栄一、田中洋之、中井健史、高木英敏、稲垣晴久、山下武夫

(塩野義油日・実動研)

【はじめに】

我々は、実験の処置やチェア拘束を円滑に行うためのひとつの手段として、サルがケージから保定台へ自発的に乗り移るための調教を施している。特にアカゲザルで大きな効果を得てきている。今回、そのような調教がサルに及ぼす影響を明らかにする目的で、調教適齢期（3～4才）の雄アカゲザルの保定台調教に対する順応性の評価と行動変化について検討した。

【材料と方法】

動物は体重3.56～4.46kgの6頭を用いた。実験は4週間の調教期間と6か月のフォロー期間からなり、フォロー期間では1か月間隔と2か月間隔群に分け調教を継続した。保定台調教は、①チェーンを引きサルをケージドアに引き寄せる ②サルをホームケージから出す ③調教者2名が出てきたサルを保定台上に伏せさせる ④保定台上で15秒間拘束した後、サルをケージに帰すの4つの操作からなり、これを5回繰り返して1日の調教とした。4つの調教操作への順応性はそれぞれ1～3点の得点をつけて評価し、同時に調教に要した時間も測定した。行動観察は毎回調教前に6頭連続して1分間ずつ行った。

【結果と考察】

保定台調教に対する順応性は、個体間でのバラツキはあるものの調教期間を通して増す傾向を見せ、わずかな補助だけで自発的に保定台へ乗り移ることが可能となった。それに伴って、調教に要した時間も減少した。これらのことは、サルが受けるストレスは調教が進むにつれて軽減化されていくことを思わせた。一方、行動においても調教が進むにつれて変化が表れ、特に当初、旋回運動という動きが頻繁で不安な様子を感じさせる行動を表出していた個体は、座る・伏せるという運動性の少ない行動を出現するようになり落ち着きを取り戻したように思われた。以上のことから、4週間の保定台調教は、適当な調教期間であり操作法についても問題がないと考えられた。また、調教期間終了後のフォロー期間では、1か月間隔で行った群は順応性をそのまま維持したが、2か月群は出す・伏せさせる操作に多少の困難が伴うようになった。こうした点を考慮すると調教終了後も1か月に1度程度の操作を継続することが望ましいと思われた。

7.

種々実験用動物におけるStaphylococcus属菌の検索

○千葉博喜、境 陽子、根縫弘子、大原真代子、高橋恵子、余野清香、
三日月勝見(塩野義・実動研)

Staphylococcus属菌の分類は、最近遺伝学的な性状が重要視され、非常に細分化してきた。

しかし、実験用動物におけるこれらの菌種の分布状況については明らかではない。今回、我々の施設で飼育している動物を中心にStaphylococcus属菌の検索を試みた。

<材料および方法>

1. 供試動物:マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、サル、イを中心にして検索を実施した。
2. 菌分離:菌分離用試料には各動物の鼻腔・咽喉頭のぬぐい液および糞便を用いた。菌分離用培地には変法食塩卵寒天培地(基礎培地はニッスイ製)およびスリロコックス110培地(BBL社)を使用した。
3. 分離菌の生物学的性状試験:分離菌はグラム染色による形態およびIDテスト・SP-18(ニッスイ製)による生化学性状試験を実施した。
4. 定量的DNAハイブリダイゼーション法:生物学的性状試験結果において同定不能な株についてDNAハイブリダイゼーション法を用いた。Staphylococcus属菌のうち嫌気性発育を示すS. saccharolyticusを除く27菌種の基準株をMarmurの変法によりDNAを抽出し、マイクロプレートに固定した。ハイブリダイゼーションにはビオラ標識DNAを用い、酵素溶液、発色液の順に加えて発色させ、630nmの波長で測定した。
5. コアグラセー型別:分離菌株中、コアグラセー産生陽性株のS. aureusと同定された菌株についてコアグラセー型別を実施し、型別株についてはファーシ型別を実施した。

<結果および考察>

Staphylococcus属菌の分離成績では、コンベンショナル環境下飼育のマウス、ラットともにS. aureusが分離されたがハリア環境下では皆無であり、ハリア環境下での微生物統御の成果が確認された。モルモット、ネコ、サル、イからはS. aureusを含む多菌種が分離された。また、生物学的性状試験結果により同定できなかった株についてDNAハイブリダイゼーションを行った結果では、ラット由来株がS. sciuri、モルモット由来株ではS. cohnii、イ由来株ではS. cohnii、S. xylosus、S. delphini等の菌種に、ネコ由来株ではS. felis、S. cohnii、S. simulans等と同定された。分離菌株中S. aureusと同定された菌株についてコアグラセー型別を実施した結果では、マウス、ラット由来株はⅢ型、モルモット由来株はⅡ型、ウサギおよびイ由来株はⅦ型であった。一方、ネコ由来株はⅠ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ型、サル由来株はⅢ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅶ型にそれぞれ型別できた。また、コアグラセー型別株についてファーシ型別を実施したが、両型別間には一定の相関性は認められなかった。

8. Nested PCRによるイヌパルボウイルスDNAの高感度検出法の確立

○平沢 勉、余野清香、三日月勝見（塩野義・実動研）

糞便材料よりのイヌパルボウイルス(CPV)の検出にはこれまで主にウイルス分離、HA試験、電子顕微鏡による観察といった方法が用いられてきたが、いずれも迅速性あるいは検出感度の点で問題がある。そこで、これらの欠点を補う方法として近年普及のめざましいPolymerase chain reaction(PCR)法の適用が試みられている。我々も既にPCRによるイヌパルボウイルス感染症の診断法確立に着手し、その有効性を確認している(第40回 日本実験動物学会総会)。その後PCR法の臨床検査への応用を目的として検討を続けてきたが、今回は(1)検体の処理法 (2)PCR用プライマーの改良 (3)臨床材料(イヌの糞便)への適用、の3点について報告する。

<材料および方法>

ウイルスはCPV 3株、ネコ汎白血球減少症ウイルス(FPLV)、ミンク腸炎ウイルス(MEV)、ブタパルボウイルス(PPV)、イヌアデノウイルス(CAV)各1株を用いた。検体(イヌの糞便)は、我々の施設のビーグルコロニーあるいは各地の臨床家より得られたものを用いた。検体の処理については加熱処理、アルカリ処理、フェノール処理、核酸抽出キット(IsoQuick)による処理の4法を比較した。PCR用のプライマーをCPVのNS geneおよびVP1/VP2 geneの各タイプ間で保存された領域に複数組設定して検討の後、nested PCRの系を組んだ。PCR法およびPCR産物の処理は既報の通り実施した。

<結果および考察>

正常なイヌの糞便にCPVの培養液を混入したものをを用い抽出法について検討したところ、いずれの方法も有効であった。さらに検体が未希釈でも問題のないフェノール処理およびキットによる処理をした検体についてタイトレーションした結果、どちらの処理法による場合も同様の値となった。但しキットによる方が作業が短時間で終了することから、以後糞便はキットにより処理した。NS geneおよびVP1/VP2 gene増幅用に設定したnested PCRの系(NS-PCRおよびVP-PCR)はCPV各株、FPLV、MEVのDNAを特異的に増幅した。これに対しCAV、PPVおよび外観上正常なイヌの糞便において特異的増幅は認められなかった。検出感度は、既報の系と比べ精製したウイルスのRF DNAを用いた場合NS-PCRは10倍高感度、VP-PCRは同程度、また陽性検体においてはNS-PCRは同程度～100倍高感度、VP-PCRは同程度～10倍高感度であった。各地の臨床家より寄せられたイヌの下痢便での検査成績はこれまでのところ約半数が陽性であり、依然としてCPVがイヌの下痢に広く関与しているものと考えられた。

【背景】マウスにおいては、多数(約 5,000)のマイクロサテライト(SSLP)マーカーが開発され、また亜種マウスが近交系として確立されている。それゆえ、マウスにおける新たなミュータント遺伝子を連鎖地図上に精密にマッピングすることが容易にできるようになった。しかし、従来のマッピング法では多型マーカーについて intercross progeny または backcross progeny (BCP) を各個体ごとにタイピングする必要がある、これに要する時間、労力、費用は軽視できなかった。最近、Taylor らは常染色体上の単純劣性ミュータント遺伝子を迅速にマッピングする巧妙な方法を発表した。この方法は要約すると次のようになる。1) ミュータントマウスと *Mus musculus castaneus* 由来の近交系マウス(CAST/Ei)間の intercross progeny を作出する。2) phenotype に基づいて intercross progeny をミュータントタイプとワイルドタイプに分け、それらの DNA をプールする。3) これら2つの DNA プールを template として、染色体に分散した約40個の指定した SSLP マーカーのタイピングを行う。4) 交配に用いた両系統間に多型があるマーカーにおいて、ミュータントタイプの DNA プールから増幅された PCR 産物がミュータント系統のアレルに偏ることを指標にして、ミュータント遺伝子の連鎖地図上の位置を推定する。5) 推定された領域について、intercross progeny を各個体ごとにタイピングして、詳細なマッピングを行う。【目的】我々の研究室では、全身のリンパ節とバイエル板を欠く ALY マウスの交配相手として *Mus musculus molossinus* 由来の近交系マウスである MSM を利用し、その原因遺伝子(aly)をマウス第11染色体にマッピングしたことを報告している。その際には、BCP を各個体ごとにタイピングする方法を用いた。今回、この交配系を用いて Taylor らの方法が BCP についても有効であるか否かを検討した。

【材料および方法】(ALY x MSM)F1 x ALY の交配系から作出した BCP のうち、ミュータントタイプとワイルドタイプをそれぞれ25検体ずつ用いた。まず、各個体の DNA を 20 μ g/ml の濃度に調整し、そのうち5 μ l を1%のアガロースゲルにて電気泳動した。その泳動像によって DNA 濃度を検定し、再度微調整を行い、各個体の濃度を一定にした。次いで、それら50検体から各10 μ l ずつ取り、タイプ別にプールした。タイピングには、第11染色体上の6つの SSLP マーカーと他の染色体上の2つの SSLP マーカーを用いた。PCRは全てアニーリング温度55℃、Mgイオン濃度1.5mMの一定条件にて行った。

【結果】aly から 0cM、8cM のマーカーでは、ミュータントプールの PCR 産物が ALY 系統のアレルに偏った。21、22cMではミュータントプールにも MSM 系統のアレルが現れたが、ワイルドタイプのプールと比較すると明らかに ALY アレルに偏っていた。30cM でもミュータントプールにおいて ALY アレルへの偏りが認められたが、21、22cM の場合に比べるとその偏りが弱かった。他の3つのマーカーにおいてはどちらのプールもほとんど同じバンドパターンを示した。以上の結果から、intercross progeny のみならず BCP においても本法を適用できること、またミュータント遺伝子から20cM 以内のマーカーであれば十分に連鎖を検出できることが明らかとなった。本法はマウスのミュータント遺伝子を迅速にマッピングするための有力な方法であると評価できる。

10. 近接マーカーのタイピングに基づいた選抜法による WTC-*zi/zi* 系統の育種

○山崎賢一、庫本高志、中島一男、山田昌夫、芹川忠夫（京都大、医、動物実験施設）

zitter ラット（ZI）は、振戦、触毛・被毛の屈曲および中枢神経組織の空胞形成等が認められるミュータントであり、tremor ラットとともに自然発症てんかんラット SER の親系統のひとつである。このラットは、クローズドコロニーの SD 系に由来するため、新たにコンジェニック系統の育成が望まれていた。今回、tremor ラットのコントロール動物である WTC 系統に *zi* 遺伝子を効率良く導入するため、*zi* 遺伝子の両側に位置する第3染色体上の近接 DNA マーカー *Il1b*（組み換え率：1.2%）および *Prnp*（組み換え率：0.7%）のタイピングに基づいて、*zi* 遺伝子座位における遺伝子型（*zi/+* または *+/+*）を推定しうるか否かを検討した。また、N11 世代に達した WTC-*zi/+* ラットの遺伝子プロファイルを作成し、WTC 系統のプロファイルとの比較検討を行った。【材料と方法】N11 世代の 21 匹のラットについて、尾の先端部を切断して DNA を抽出した。D2Nds3（*Il1b*）および PRNMS（*Prnp*）のプライマーを用いて PCR を行い、4% アガロースゲルで電気泳動を行った。プロファイルの作成は、N11 世代（*zi/+*）の 2 匹を第3染色体以外 48 座位、第3染色体 21 座位のマイクロサテライトマーカーについて、PCR を用いタイピングを行った。【結果】上記の方法を用いて、近接 DNA マーカーのタイピングは簡便かつ正確に行うことができ、*Il1b* および *Prnp* 両遺伝子座においてヘテロである個体を、*zi* 遺伝子座においてもヘテロ（*zi/+*）であると判定した。また、選抜個体同士を交配した結果、*zi/zi* の個体が得られ、この *zi* 遺伝子型の判定が正しかったことが示された。プロファイルの作成結果は、第3染色体以外の染色体では 48 座位のうち第8染色体 *Apoc3* を除く 47 座位において WTC 系統と一致した。また、第3染色体では *zi* 遺伝子座位から 5 cM 以内の遺伝子座位において ZI 系統と一致した。この結果は、理論値と良く一致した値であった。【結語】近接 DNA マーカー（*Il1b*・*Prnp*）を用いることにより、効率的に戻し交配を行うことが可能であることが予測される。また、遺伝子プロファイルの作成結果から、ゲノムのほとんどの領域は WTC 型になっていると判断されたので、N11 世代で兄妹交配を開始して、WTC.ZI-*zi* コンジェニック系統として維持することにした。一方、ZI 由来の領域を更に狭めるために、WTC ラットへの戻し交配を継続することも行っている。

森本宏一、小林律子、宮本政樹（日本チバガイギー、薬剤安全性ユニット）

真性半陰陽には生殖腺に卵巢組織と精巢組織を同時に含む卵精巢（Ovotestis）が両側にみられる両側性真性半陰陽（Bilateral hermaphroditism）、片方のみに卵精巢がみられる片側性真性半陰陽（Unilateral hermaphroditism）および片方が卵巢であれば他方が精巢である側半陰陽（Lateral hermaphroditism）が分類されているが、報告例数は少ない。今回我々は両側性真性半陰陽と思われる例を経験する機会を得たので報告する。

この例は生後14日齢のCrj:CD(SD)ラットで、生存中、外観上雌と判断されていた。しかし、解剖時生殖器の所見は、右卵巢部位に嚢胞、子宮部位に細い紐様の物、左卵巢部位に精巢様の物、および子宮部位に紐様の物がみられ、性別は明確にされなかった。これらの臓器は10%中性緩衝ホルマリンで固定し、組織学的検査に供した。

右側の嚢胞内の物は、輪郭は卵巢様で、組織には精細管が観察され、卵細胞が精細管内および間質の両方にあり、間質には少量のライディッヒ細胞を認めた。このようなことから右側嚢胞内の物は卵精巢であることが示唆された。この卵精巢に近接して精巢上体がみられた。左側の精巢様の物は、輪郭は精巢様で、組織は精細管の比較的多い部分と疎らな部分から成っていた。卵細胞は疎らな部分の精細管の中にあり、両方の間質に少量のライディッヒ細胞を認め、この精巢様の物もまた卵精巢であると考えられた。この卵精巢に近接して精巢上体がみられた。

以上により、この例は真性半陰陽のうち両側性真性半陰陽であると判断された。

副生殖臓器については右側の細い紐状の組織は輸精管、左側の紐状の組織は子宮であった。恥骨下には前立腺および精嚢腺と思われる未発達の小さい組織がみられた。膣はなかった。外陰部は陰茎骨および海綿体が認められ、ペニスであった。

12. 若齢のCrj:CD(SD)ラットにみられた耳標装着による耳介軟骨炎について

飯田 晶敏、北垣 雅人、諏訪 隆彦、白鳥 耕也
(資生堂(株)研究所 安全性・分析センター)

金属製耳標が装着されたラットに耳介軟骨炎が発生することはよく知られているが、若齢の動物における報告例はない。我々は若齢のラットにおいて耳介軟骨炎の発生を比較的高率にみたので、その病理組織像について報告する。

材料および方法： 動物は10種の毒性試験あるいは背景データ試験に無処置対照群として使用されたSprague-Dawley系ラット(Crj:CD, 日本チャールス・リバー(株))、雌雄合計200匹で、購入時(4週齢)に耳標を装着した。温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度40-70%のバリア・システムの飼育室において、市販の飼料(CRF-1、オリエンタル酵母(株))と水道水を与えて動物を飼育した。耳標装着後8、16および18週にエーテル麻酔下、動物を安楽死させ、左右の耳介を採取してホルマリン固定した。その後常法によりパラフィン包埋・薄切し、全例についてヘマトキシリン・エオジン染色を、また、一部の例についてトルイジン・青、エラスチカ・ワンギーソン染色、およびPCNA検出のための酵素抗体法を行って、病理組織学的に検査した。

結果および考察： 耳介軟骨炎は、耳介装着後8週群において雌雄各24例中雄4、雌3例、16週群において雌雄各76例中雄5、雌7例、さらに28週群において雌雄各36例中雄9、雌2例に出現し、総発生数は136例中雄18(13.2%)、雌12(8.8%)例であった。この発生数について雌雄差はなかった。また、殆どのラットでは病変は耳標を装着した耳介にのみみられたが、雄の8例については左右の耳介に本病変が認められた。肉眼的に耳介は肥厚・変形し、さらに硬化していた。病理組織学的には、進行性の耳介軟骨の破壊、および軟骨組織の過剰な再生を特徴とする多発性の肉芽腫性軟骨炎であった。すなわち、初期病変は軟骨組織をも含む旺盛な肉芽組織の増殖であった。続いて、炎症による耳介軟骨の破壊、さらに線維性・血管性組織の増生とこれに伴う線維性軟骨および軟骨組織の形成があり、骨化生もあった。これらの病変は耳介軟骨に限定してみられた。本病変の発生原因の一つとして耳標に含まれる金属イオンとの関連(1)が推定されている。また、同様の病変はⅡ型コラーゲン投与による誘発例(2、3)、あるいは自然発生例(4、5)においてもみられることから、免疫学的機序の関与も論じられている。

結論： 本報告では若齢ラットにおいて耳介軟骨炎が高頻度に発生したこと、また、耳標装着とは反対側の耳介にも同病変が出現したことが注目された。

参考文献： [1]. Meingassner, J. G. (1991). Lab Anim, 25, 68-78, [2]. Cremer, M. A. et al. (1981). J Exp Med, 154, 535-540, [3]. McCune, W. J. et al. (1982). Arthritis Rheum, 25, 266-273, [4]. Prier, D. J. et al. (1984). Am J Pathol, 116, 69-76 [5]. McEwen & Babsoum, N. J. (1990). Lab Anim, 24, 280-283

< 第 4 5 回 研 究 会 >

日時：平成 7 年 3 月 1 0 日（金）

場所：国立循環器病センター研究所・新館講堂

講演会

1. マイクロカプセル化によるラ島移植

田代 秀夫（国立循環器病センター研究所
・実験治療開発部）

2. 肺高血圧症に対する実験的治療

川口 章（国立循環器病センター研究所
・実験治療開発部）

3. 会長講演「実験動物における比較動物学」

宮 宏彰（新日本科学）

* 会長講演については、次号に掲載予定です。

マイクロカプセル化によるラ島移植

田代秀夫 （国立循環器病センター研究所）

1. はじめに

ハイブリッド人工臓器は、生細胞を半透膜の中に封入してから体内に移植し機能を発現させて、疾病により損なわれた臓器の補助、代用を果たすことを目的とする。生体に移植された細胞群は、半透膜を介してレシピエントの体内から、水分、電解質、栄養素の供給を受けつつ生着し、一方では、この半透膜によりレシピエントの免疫系から保護されて（免疫隔離）、長期間、機能しつづける。われわれは、ハイブリッド人工臓器の基本的構成要素としての生細胞にホルモン分泌細胞を、半透膜にはアガロースを膜素材に用いて、ハイブリッド人工脾臓、ハイブリッド上皮小体の研究をすすめてきた。

ハイブリッド人工脾臓に関する研究では、脾臓のランゲルハンス島を5%アガロースのマイクロビーズ内に封入して作成した Microencapsulated islets を糖尿病発症の動物に移植して、良好な血糖値のコントロールが得られた期間を検討してきた。小動物を用いた研究においてマウスからマウスへの同種移植では、免疫抑制剤未使用下に100日以上の上生着成績が得られ、またハムスターからマウスへの異種間の移植でも、少量の免疫抑制剤を併用することで長期間、血糖値のコントロールが可能であった。異種動物間の移植にも適用可能な膜素材の改良、開発も研究中である。一方、アガロースを用いたハイブリッド人工脾臓が、同種ラ島移植において良好な成績をおさめたことから、ヒトの臨床応用に向けた研究を昨年度より開始している。マウスよりも体重などの条件がはるかにヒトに近いと考えられるイヌを用いてマイクロカプセル化ラ島の移植実験において、イヌ脾臓より単離した大量のラ島を限られた容量のアガロース溶液に封入しマイクロカプセル化することが可能かどうか、カプセル化ラ島の *in vitro* のインスリン分泌能、イヌの脾臓内に移植したのちの *in vivo* viability および biocompatibility を検討し、アガロースを用いたハイブリッド人工脾臓の有用性を明らかにした。

2. 研究方法

イヌを実験モデルとして研究をすすめるうえで、従来の小型哺乳類を用いた研究と異なる点は、血糖正常化に必要な移植ラ島数が桁はずれに多いことである。体重1kgあたり5000個以上のラ島数が血糖値のコントロールには必要とされ、10-15kgの糖尿病犬の血糖値正常化には、一頭あたり50000-75000個以上のラ島を移植しなくてはならない。

また、イヌ、ブタ、ヒトなどの大型哺乳類は、マウス、ハムスターなどの小型動物に比べて、ラ島周囲の結合組織が脆弱なためラ島の単離がはるかに困難であり、細密な操作を要する。さらに単離した大量のラ島を限られた容量のアガロース溶液に封入しマイクロカプセル化するための封入操作、カプセル化ラ島の *in vitro* のインスリン分泌能、イヌの脾臓内に移植したのちの *in vivo* viability および biocompatibility に関し検討した。

イヌ脾臓からのラ島単離手技： 雑種成犬を全麻下に開腹する。脾臓は左右両葉に分葉し、左右両葉の移行部は主脾管の開口部のある十二指腸部に結合組織とともに固定されている。脾実質を栄養する動静脈およびその末梢枝を遊離してのち、腹側脾管より 18G カニューレを左葉、右葉に向かって 1 本ずつ挿入固定した。脾臓摘出後ただちに 4℃ ハンクス液に浸し冷却しつつ 3 本目のカニューレを左右両葉移行部の脾管から左葉方向に挿入した。3 本のカニューレよりそれぞれ 50ml の 4℃ のコラゲナーゼ溶液 (ニッタゼラチン社製 コラゲナーゼ S-1 を 6.0mg/ml の濃度でハンクス液に溶解) を用手的に注入し、脾臓を膨化させた。さらにクリーンベンチ内でステンレス製の持続注入装置 (注入圧、温度を調整可能) を用いて 4℃ 注入圧 300mmHg 約 10 分、コラゲナーゼ溶液を脾臓に注入し、その後、灌流液を 37℃ まで急速に加温してコラゲナーゼを活性化した。活性化したコラゲナーゼの消化により脾管に破綻が生じた時点で灌流を止めた。泥状になった脾臓組織を 4℃ ハンクス液 500ml (牛新生児血清を 2% 含む) の中で用手的に振盪させ、消化反応を停止する。消化物を 4℃ ハンクス液中で順に 14G, 16G, 18G の金属カニューレを接続した 10ml シリンジで吸引、放出を繰り返しつつ物理的に細片化し、サンプリングした消化組織をジチゾン液で染色して実体顕微鏡下にラ島が外分泌組織から遊離した時点で細片化操作を中止し、M199 液 (牛新生児血清を 2% 含む) に回収した。上記の方法で得られた消化脾臓組織は最終的には、M199 液に混合したのち、5x M199 を 4.3 ml, Ficoll 液 16.7 ml (比重 1.125) を含む遠心管に 4ml ずつ分注し懸濁させた。さらに 1.085, 1.075, 1.045 の比重に調製した Ficoll および M199 の混合液を 5ml ずつ重層し、1500 r.p.m. (revolution per minute: 1 分間の回転数) 25 分遠心した後、比重 1.045 / 1.075, 1.075 / 1.085 の境界面よりラ島を回収した。ラ島数の算定は、比重遠心前後のサンプルを用いて行ない、平均径 150 μ m を 1 Islet Equivalent (IE) として換算した。

アガロースマイクロカプセル化ラ島の調製： 低温ゲル化アガロース (清水食品社製 LGP-S2) の粉末を Eagle's MEM 溶液に加えて 5.0 重量% の懸濁液を調製した。121℃ に

て20分間オートクレーブしてアガロースを溶解するとともに滅菌した。40℃に保温したアガロース溶液 3ml 中にEagle's MEM溶液 0.1 mlに分散したイヌの単離ラ島 670- 9440 IEを加えて攪拌した。さらに40℃に加温した流動パラフィン約20mlを加えて混和し、アガロース溶液を流動パラフィン中へ分散させた。攪拌しながら氷冷しアガロースをゲル化させた。遠心管にハンクス液を約30ml加え、2000 r.p.m.で10分間遠心分離した。沈渣のマイクロカプセルを回収し 10%牛胎児血清を含むCMRL培地において 37℃ 5%CO₂: 95% Air の条件下で一晩培養した後、マイクロカプセル化ラ島をジチゾン液で染色し、実体顕微鏡下にマイクロカプセル化ラ島の数、大きさ、性状を観察した。

In vitro インスリン分泌能： カプセル化したイヌのラ島とカプセル化していないイヌのラ島を同数 400 IE ずつ millipore chamber 内に静置し、10% 牛胎児血清を含む Krebs solution を glucose 濃度が³、50 mg/dl, 500mg/dlに調整した灌流液を流して、溶液中に分泌されたインスリン量を測定した。灌流をはじめて最初の60分間は50mg/dl、つぎの60分間は500mg/dl、再び 50mg/dl の濃度で 60分間灌流した。

In vivo インスリン分泌能および生体適合性： カプセル化ラ島の自家移植 (auto-transplantation)を 2 頭のイヌ (体重20 kg, 22.5 kg)でおこなった。まずイヌの脾臓を全別したのち閉腹。別出脾から前述の操作によりラ島を単離、22℃ 5%CO₂下で一晩培養した (10%牛胎児血清を含むCMRL培地)。培養後マイクロカプセル化操作をおこない、37℃ 5%CO₂下でさらに一晩培養したのち、さきに脾全別を行なって糖尿病状態にしたイヌを再開腹し、脾静脈を介して逆行性に自己のマイクロカプセル化ラ島を脾臓内に自家移植した。なお少量のマイクロカプセル化ラ島を移植部位の検討を目的として大網内にも移植した。移植後は脾酵素製剤を含む食事を与えた。空腹時血糖を 300mg/dl 以下に維持するように 中間型インスリン (insulin NPH: neutral protamine hagedone)を皮下注射した。

In vivo インスリン分泌試験は自家移植後14日目におこなった。試験施行24時間前から insulin NPH の投与は中止した。イヌを再開腹、脾動静脈にそれぞれカニューレションしたのち、Glucagon 1mg を静注、脾臓内に移植されたマイクロカプセル化ラ島から内因性インスリンの分泌を刺激した。Glucagon負荷前および負荷後 1, 3, 5, 10分後に脾動静脈よりそれぞれ採血し、血清インスリン濃度を測定した。血清インスリンの測定は、double-antibody radioimmunoassay 法により行なった。負荷試験終了後、マイクロカプセル化ラ島を移植した脾臓、大網を回収し、病理組織検査および走査電子顕微鏡によりマ

イクロカプセル化ラ島の生体適合性を検索した。

3.研究成果

雑種成犬 (20kg前後)の脾臓を全剔し、脾管内コラゲナーゼ注入消化法を用いて脾外分泌組織を消化し、遊離したラ島を Ficoll 不連続密度勾配法で純化した成績を Fig.1 に示す。イヌ一頭あたりの脾臓から平均43000 IE のラ島が80%以上の純度で得られた (Pre-enc.; Pre-encapsulation)。アガロースマイクロカプセル化後のラ島数(Post-enc.; Post-encapsulation) はマイクロカプセル化の過程で失われ、回収率は平均 35.9%であった (% Recovery)。アガロースマイクロカプセルおよび封入されたイヌのラ島の直径の分布をFig.2 に示す。マイクロカプセルおよびラ島の平均直径は、それぞれ 351、116(μm)であった。ラ島が完全にアガロースマイクロカプセル内に封入される割合は、87.9 (%) であった。

In vitro インスリン分泌試験の成績を Fig.3 に示す。カプセル化したラ島とカプセル化されていない裸のラ島とを400 IE ずつ同数集め、4 例に試みた。はじめに 50mg/dl の低グルコース濃度液を60分、引き続き500mg/dl の高グルコース液を60分、さらに再び低グルコース濃度液をラ島に灌流し、ラ島からのインスリン分泌量を経時的に測定した。高グルコース液を流しはじめて5分以内にインスリン値のピーク (first phase) が現われ、カプセル化ラ島では 0.20 ± 0.31 、裸のラ島では 0.10 ± 0.11 ($\mu\text{U}/\text{IE}/\text{min}$)(mean $\pm$ SD:n=4) に達し、以後なだらかな減少を示しながら、再度、低グルコース液での灌流時には基準値に復した。カプセル化ラ島は裸のラ島に比べても、グルコース刺激に対するインスリン分泌能に遜色のないことが明らかとなった。さらに自家移植後14日のカプセル化ラ島の *in vivo* におけるインスリン分泌能と生体適合性を検討した。自家移植犬2例の *in vivo* グルカゴン負荷試験の成績を Fig.4 に示す。マイクロカプセル化ラ島は第1例には20800 (IE)個、第2例には18800 (IE)個 を脾臓内に移植した。2例ともグルカゴン刺激後1分においてすでに脾静脈血には動脈血の8~11倍の高濃度のインスリン分泌がみられ、10分後まで引き続き持続した。アガロースマイクロカプセル化ラ島は、生体の脾臓内からグルカゴン刺激に対して速やかにインスリンを脾静脈血中に分泌したことが示された。

試験終了後、カプセル化ラ島を移植した脾臓および大網を回収し、病理組織学および走査電子顕微鏡にて観察した。脾臓内に移植されたカプセル化ラ島の H-E 染色像では、ラ島はひきつづき生存中であり、カプセル周囲には Fibrosis や免疫細胞の付着はみられ

ず、周辺組織の梗塞、炎症、鬱血も観察されなかった。走査電顕像からもアガロースカプセル化ラ島は、すぐれた生体適合性を有していることが明らかとなった。

4. 考察

ハイブリッド人工膵臓は、ラ島を免疫隔離膜によってレシピエントの免疫系から保護しつつ、生理的な血糖値のコントロールを行ない糖尿病治療および合併する血管病変の増悪を予防することを目的としている。われわれが開発したアガロースマイクロカプセル化ラ島はマウスにおける同種移植実験では、長期間生着し、血糖値を正常化させることができた。さらにハイブリッド人工膵臓の技術をヒトの糖尿病治療へ応用するためには、よりヒトに近い大動物での研究をすすめる必要がある。したがって、イヌを実験動物に用いて

1) 大量のラ島を一定容量のアガロース中にマイクロカプセル化する方法

2) アガロースマイクロカプセル化ラ島の *in vitro* インスリン分泌能

3) アガロースマイクロカプセル化ラ島の *in vivo* インスリン分泌能および生体適合性について検討した。

イヌ一頭あたりのラ島単離成績は、前述したラ島分離法により平均 43000 IE、直径100-150 μm の類円形状のラ島が 80% 以上の純度で単離できるようになり、ハイブリッド人工膵臓の研究をイヌでおこなううえで支障ないレベルに達したと考えている。

上記の方法でえられた大量のラ島を 5%アガロース溶液に670-9440 IE/mlの範囲の種々の密度で封入したが、ラ島がマイクロカプセル内に完全に封入される割合に影響を与えなかった。またマイクロカプセル化前後のラ島数から算出したカプセル化操作後のラ島の回収率に関しても相関はみられなかった。現在のマイクロカプセル化技術では、約10000 IE個のラ島を1mlの5%アガロース溶液に封入可能と考えられるが、マイクロカプセル化後のラ島の目減りが著しく、早急に改善の余地がある。ひとつの要因としてアガロースマイクロカプセルを成形する際の用手的振盪により、脆弱なイヌのラ島は小細片になり失われることがあげられる。マイクロビーズ成形用のノズルを考案し、より完全かつ高収率をあげられるマイクロカプセル化技術を開発する必要がある。

マイクロカプセル化ラ島の *in vitro* でのインスリン分泌能に関しては、カプセル化ラ島はカプセル化していない裸のラ島とくらべて、グルコース負荷に対する反応時間、インスリン分泌量に関しても遜色のない成績であった。また、自家移植後のカプセル化ラ

島は *in vivo* のインスリン分泌能に関して、Glucagon 負荷試験の結果から明らかなように脾静脈内へ、すみやかなインスリン分泌が観察され、生体内においても有効に機能するものと考えられる。さらに移植後14日のマイクロカプセル化ラ島の脾臓および大網内における組織学的および電子顕微鏡による所見からもマイクロカプセル化ラ島の生着とアガロースマイクロカプセルの生体適合性がきわめて良好であり、ヒトへの臨床応用に実現可能なハイブリッド人工臓の必要条件をみたしているものと思われる。さらに、臨床応用をめざした実験段階として、イヌを用いたマイクロカプセル化ラ島の同種移植実験をすすめ、アガロースマイクロカプセルの免疫隔離能、血糖調節能を検討し長期生着例をもうける予定である。

5. まとめ

- 1) 大量のラ島を一定容量のアガロース溶液中にマイクロカプセル化する方法が可能であった。
- 2) アガロースマイクロカプセル化ラ島は良好な *in vitro* インスリン分泌能を有した。
- 3) アガロースマイクロカプセル化ラ島は移植後14日においても良好なインスリン分泌能を有し、脾臓および大網内において優れた生着能、生体適合性が明らかになった。

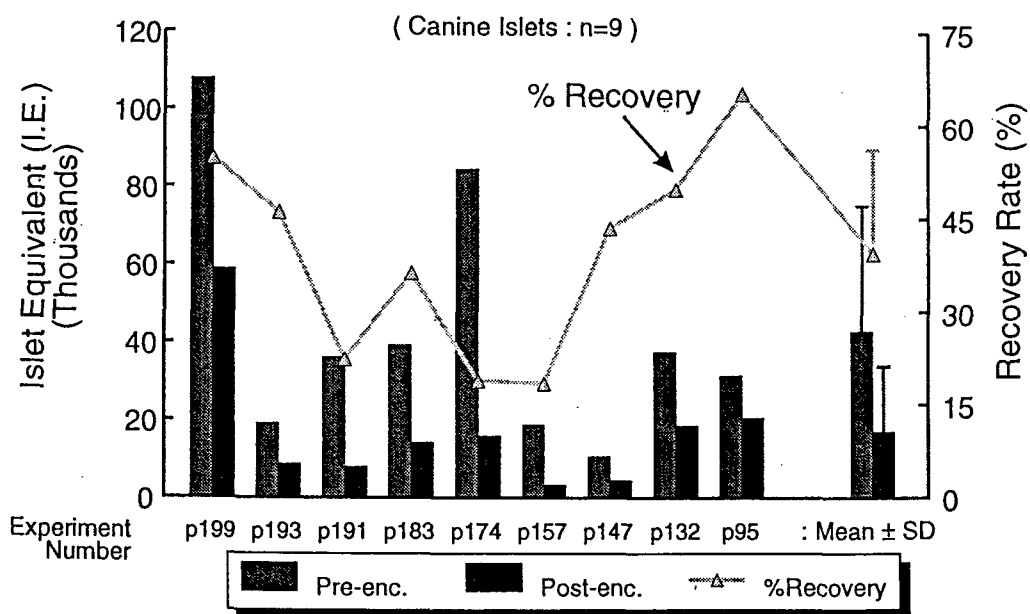


Fig.1 : Canine islets recovered after encapsulation and overnight-culture

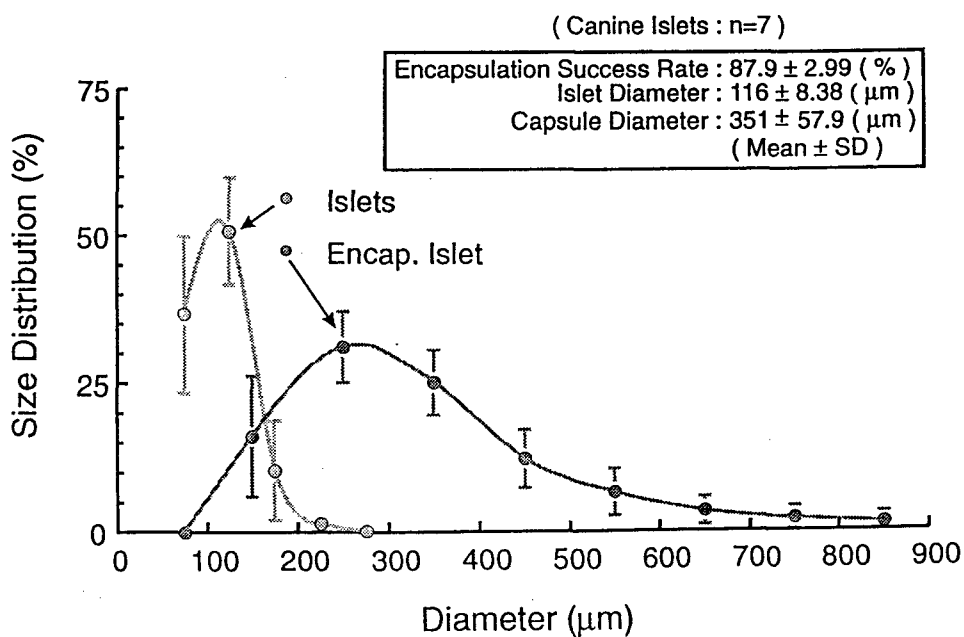
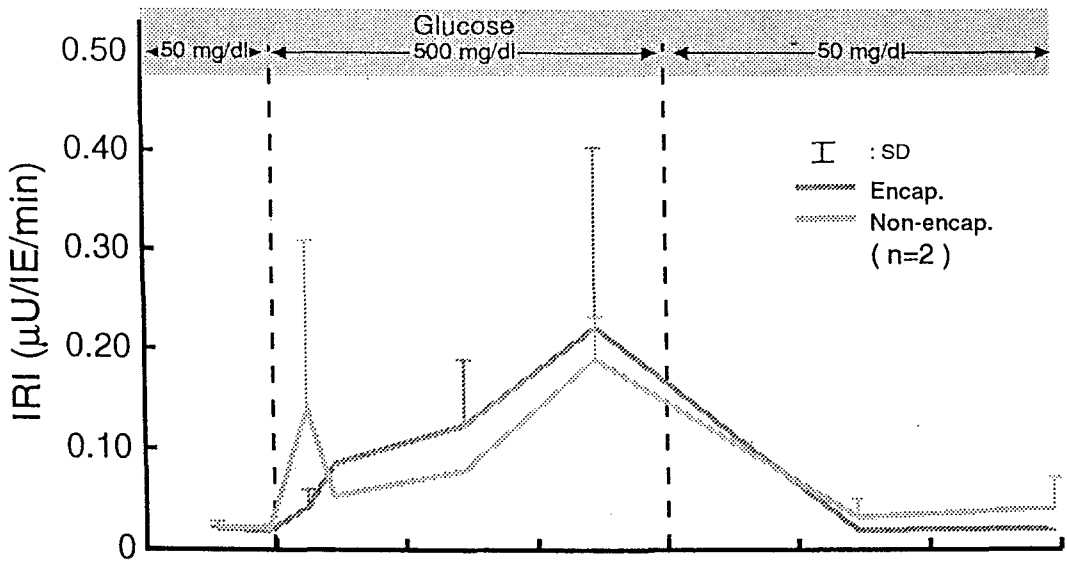


Fig.2 : Results of encapsulation of canine islets in agarose-microcapsules

Human Islets



Canine Islets

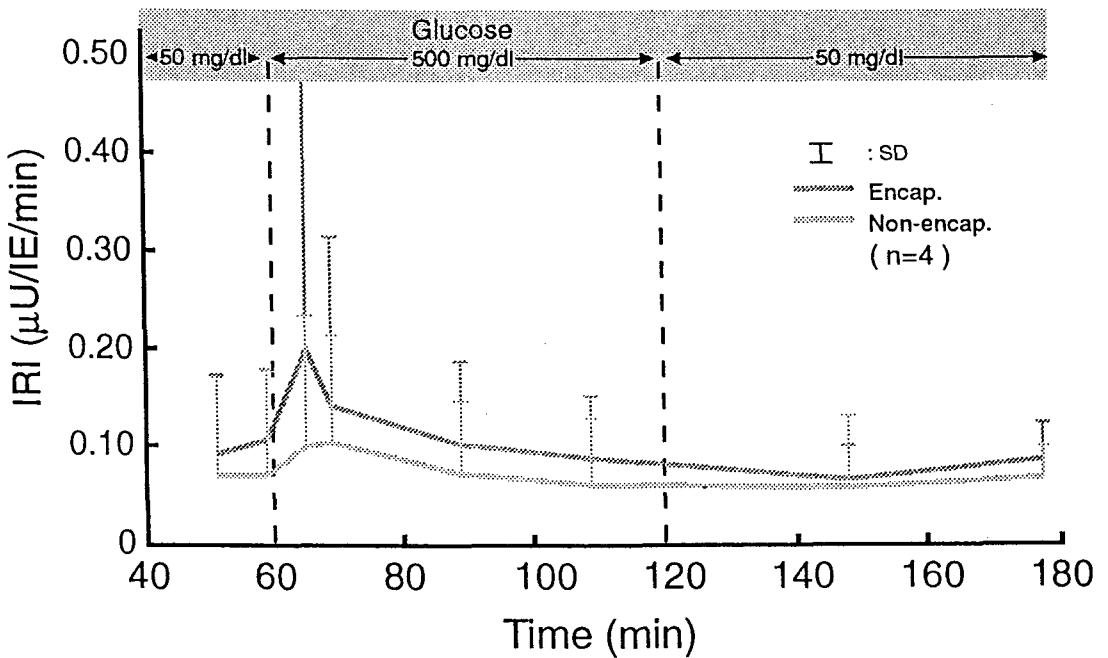


Fig.3 : Insulin secretion from islets and encapsulated islets during perfusion

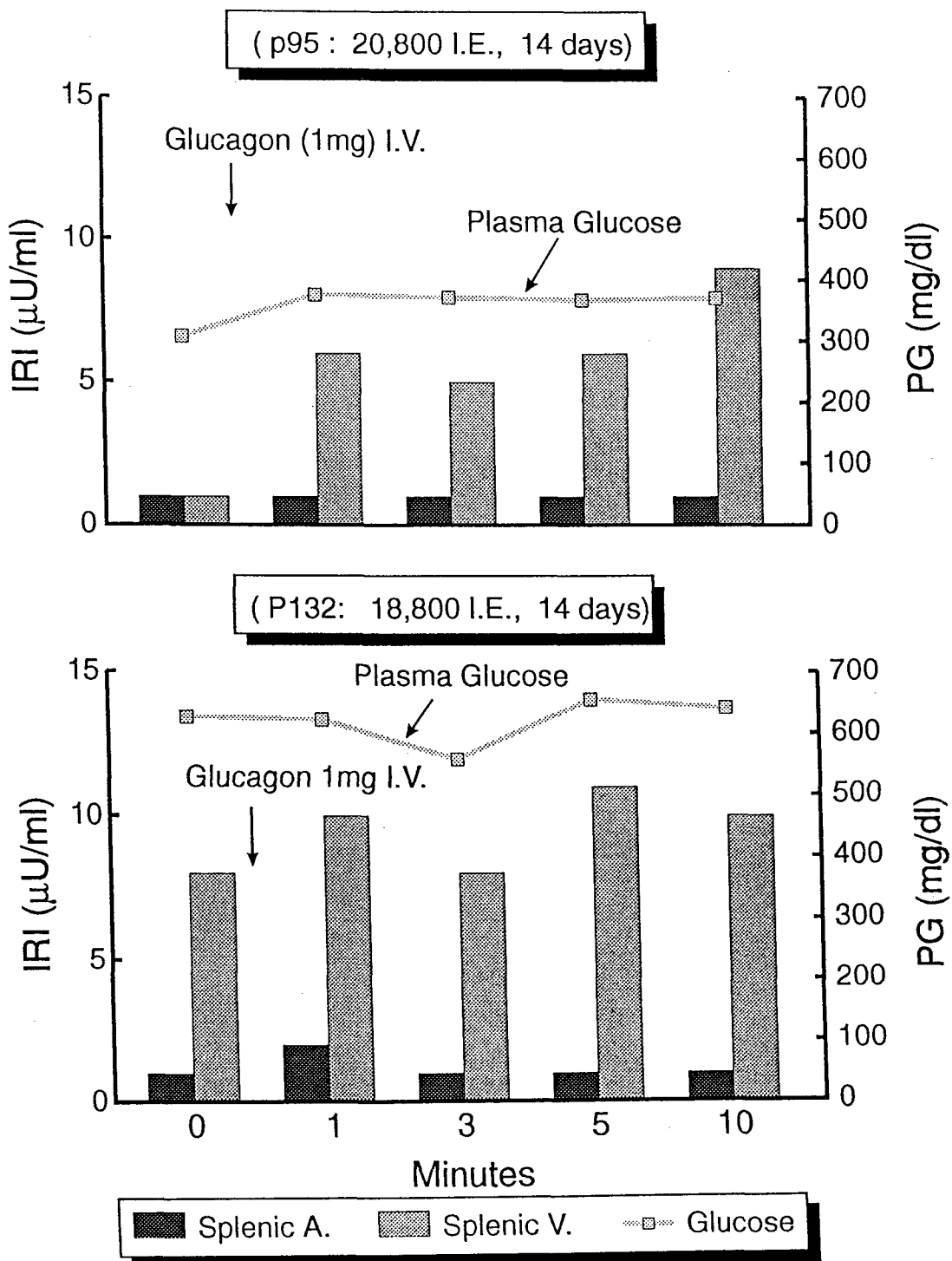


Fig.4 : Insulin secretion after auto-transplantation of encapsulated islets in spleen

肺高血圧症に対する実験的治療

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部 川口 章

【はじめに】

肺高血圧症にはごく最近まで根治的治療法がなく、血管拡張剤、酸素吸入や抗凝固療法が対症療法として行われることが多かった。根治的な外科的治療法として肺移植の可能性は古くから考えられてはいたが、気管支吻合部の合併症や感染症のため移植後退院できた臨床例はなかった(1)。肺移植そのものの成績が惨憺たるものであった上、肺高血圧症に一側の肺移植をした場合、換気は残存肺へ移動し、血流は移植肺に偏位して、換気・血流ミスマッチが生じるため患者は生存できないだろうと考えられていた。

1980年代に入ってサイクロスポリンを用いた心肺移植が先行して登場し(2)、続いて一側肺移植が始められた(3)。高度の肺高血圧症疾患には福音であったが、深刻な臓器提供者不足のため待機時間は伸び続け、移植の適応があっても待機中に死亡するものが後を絶たなかった。病的肺を正常な肺と入れ換えてしまう移植医療は確かに根治的な治療法といえるが、適応があっても治療が受けられないのでは絵に書いた餅にすぎない。しかも、臓器提供者があつてこうした肺の移植を受けられたとしても、感染症などの合併症が多く、成績は心移植と違ってまだ満足のゆくものとなっていない(4)。クオリティ・オブ・ライフ(QOL)の違いはあるものの、あらゆる適応疾患において内科的治療で待機している場合のほうが、肺移植をした場合より生存率が高いと報告されているほどで(5)、肺移植は現在でもやはり万策尽きたあとの最後の手段と言わざるを得ない。ここでは、肺高血圧症を対象として筆者らが行ってきた動物実験を通して、現在考えている実験的な治療体系を紹介する。

【動物モデル】

動物実験においてもヒトと同様に肺移植後の生存が困難で、進行性の肺高血圧症を来すモデルがないことから、肺高血圧症に対する肺移植の実験的検討はほとんどされていなかった。動物に肺高血圧を発症させるために従来から様々な方法が用いられたが、何れも効果は一時的で、生じる肺高血圧の程度も一定ではなく再現性は低かった。異物を静注して塞栓させ肺血管床を減少させる場合、少量では肺高血圧にならないし、大量ではそのまま

死亡してしまうことが多い。肺高血圧症を来たしながら生存する場合でも、しばらくすると肺動脈圧は正常化してしまう。イヌで開胸して肺動脈を絞扼しても同じように、予定したような肺高血圧症にならないか、右心不全で死んでしまうかの両極端になりやすい。

ここでは、南米に自生するクロタリア属の植物の種子に含まれるアルカロイドのモノクロタリン(6)を用いてラットに進行性の肺高血圧症を作成した。モノクロタリンをラットの皮下・腹腔・静脈内の何れかに一回投与すると、数週間後には用量依存性にほぼ例外なく肺高血圧症が生じる。投与量を80 mg/kg にすると高度の肺高血圧症のため投薬後4週間頃から死亡し始め、長期生存するものは1割に満たない(7)。以下の研究では、このモノクロタリン投与でラットに誘導される肺高血圧症を実験モデルとして用いた。

【ラットでの一側肺移植】

大型動物での一側肺移植は従来より行われているが、動物個体の組み合わせによって移植の条件がそれぞれ異なったものになってしまう。この点ラットでは近交系が確立されているため、同系移植(isograft)や異系移植(allograft)を選択することで移植の条件を任意にしかも一定に設定できる。サイズが小さいため技術的な困難さがあったが、肺動静脈の吻合にカフを用いることで、簡単に左肺移植ができるようになった(8)。この方法だと、出血はほとんどなく、血液が異物に接触することなく血管の吻合径が一定となるため肺機能の検討に適している。ラットでは右肺が左肺の2倍近くあり、肺静脈も2本あって移植が困難だったが、最近やはりカフを使って右肺も移植することが可能になった。一側肺移植のあとに対側の肺を切除したり、一側肺移植を左右に続けて行うことで肺をすべて置換すると、生存を移植肺機能に依存したラットができる。これは臨床の心肺移植や肺移植に類似しており、免疫学的検討のみならず生理学的実験にも適当な動物モデルといえる。

【運動耐容能】

移植実験にラットを用いる利点に、個体としての運動耐容能が測定できることもあげられる。呼気ガス測定機能付きの小動物用トレッドミル(図1)を用いた運動負荷試験により、安静時や運動負荷時の酸素消費量(摂取量)や耐運動能(走行速度)などが計測できる。臨床的には日常行われている検査ではあるが、動物で行うことは困難であった。これにより、薬剤投与や外科的処置の効果を単に生存率や病理検査のみならず、生理機能的な側面からも評価できるようになった(7)。とくに外科的治療が生存からQOLの改善を目指した

ものになりつつある現在、運動耐容能の経時的な変動を実験的に検討する方法として極めて有用と思われる。以下のラットにおける実験では、このラット用トレッドミルを用いて心肺運動負荷試験を繰り返し行っている。

【肺高血圧症に対する一側肺移植】

心移植や心肺移植が病的臓器を完全に切除して移植臓器で置換するのに対して、一側肺移植後は移植肺と残存した病的肺が並列に並んで機能する事になる。肺高血圧症に一側肺移植をすると、血流は移植肺に偏位して肺水腫を起こし、換気は残存肺へ偏位するため、換気・血流ミスマッチが生じて術後の生存は困難だろうと考えられていた。が、これを実証した実験はなかった。われわれは、これをラットモデルで実験的に検討してみた(8)。

モノクロタリン(40 mg/kg)を投与した2週間後に同系の正常ラットから左肺移植(isograft)を行って移植群(n=6)とし、モノクロタリン投与のみの投薬群(n=11)、無投薬・無処置の正常群(n=9)を対照群として運動耐容能、肺血行動態および組織所見を比較した。酸素消費量と運動耐容能(図2)を経時的にみると、肺移植をしない投薬群が進行性に運動耐容能を失って6週目には動けなくなってしまうのに対して、移植群では手術移植後しばらく運動耐容能は低下するものの、2週間後から運動耐容能は持ち直し、移植後4週間もすれば正常群と有意差がない程度まで回復してくる。体重増加もこれと同様の変化を示した。このとき全てのラットをマイクロスフェアー(直径25ミクロン・100万個/1ml)を静注して犠牲死させ、右室肥大の程度(図3)と左肺の血管閉塞度を比較した(図4)。移植群では移植肺の細動脈が開存していて右室肥大が解消していることがうかがわれる。投薬後6週間、移植後4週間での運動耐容能は右室肥大と緊密に逆相関しており(図5)、この実験モデルでは、右室圧負荷すなわち肺高血圧症が運動耐容能の低下の原因となっていることがわかる。中膜肥厚による肺細動脈の内腔の狭小化はモノクロタリン投与ラットに著明であったが、正常群および移植肺には見られなかった(図6)。モノクロタリン誘導性肺高血圧ラットにおける一側肺移植は、肺血流を移植肺へ移動させて肺高血圧すなわち過大な右室圧負荷を防ぎ、その結果、運動耐容能および最大酸素消費量を正常対照群に準ずる程度に保つことがわかった。

【移植肺水腫】

次に、肺高血圧症がさらに進行した場合に一側肺移植をするとどうなるかを検討するた

め、モノクロタリンを倍量(80 mg/kg)投薬したラットに、投薬4週間後と6週間後に左肺移植を行って、生存と運動耐容能を比較した(9)。投薬4週間後に肺移植したラット(4W)は先の実験と同様に運動耐容能を回復し長期間生存したが、投薬後6週間目のラット(6W)は移植手術そのものには耐えるものの、移植肺への血流を再開してしばらくすると移植肺水腫を来して例外なく死亡した(図7)。死亡したラットの移植肺の湿乾重量比は有意に低下していて含気がない反面(図8)、死亡直前に注入したマイクロスフェアのなお6割近くが移植肺に栓塞していた(図9)。血流を再開した直後で、肺水腫を来す前であれば、もっと多くの血流が移植肺に向かっていったものと推測された。投薬後4週間目に移植し、その後6週間観察したラット(4W)では、移植肺へ向かう肺血流が全体の65%で正常ラットのそれと左右逆転していた(図9)。正常群との間に酸素摂取量や動静脈血ガス分圧に大きな差がないことから、移植肺には通常の約3倍の肺血流が流れていたものと推定された。このように肺血管病変が末期的になる前の一側肺移植は有効であるが、非常に高度の閉塞病変を伴う場合、このモデルでは移植肺水腫と換気血流不均衡を起こして死亡した。臨床例でも肺高血圧症に対する一側肺移植の後は、呼吸管理など集中治療を長期間必要とするものが多く、危険性が高い。このため肺高血圧症に対しては、保存時間の短い肺を用いたり、再灌流時に工夫がなされているが、それでも術後成績は他の適応症に対する肺移植に劣ると報告されている(4)。

【残存肺の運命】

肺高血圧症に一側肺移植をすると移植肺への血流量は増加し、肺動脈圧は低下することが分かった。反面、残存肺への肺灌流血液量と灌流圧は減少することになる。肺血管床が高血圧・高流量に曝されると、アイゼンメンゲル症候群に見られるような血管閉塞性病変が生じることは周知のことである。では逆に、こうした物理的要因がなくなってしまった残存肺の血管病変はどうなるのだろうか。これまで見てきたモノクロタリン誘導性肺高血圧症に一側肺移植を行う実験で、モノクロタリン(40 mg/kg)投与2週間後に移植して4週間観察したラット(T1)とその倍量投薬した4週間後に移植して6週間フォローしたラット(T2)において、残存肺の病理学的な変化を検討した(10)。

移植をしない投薬群の肺血流分布は正常群と同じく右肺優位であったが、移植群ではいずれも逆に心拍出量のおよそ2/3が移植肺に偏っており、残存肺への血流は減少していた。投薬群に見られる顕著な右室肥大が見られないことから、肺血流が移植肺に集中すること

で右室後負荷が低く保たれていることが伺われた。肺小動脈の中膜肥厚は、モノクロタリン投与肺で非投与肺に比べ有意に高度であったが、移植群の残存右肺と投薬群の右肺の間にはいずれの場合も差は見られなかった(図10)。また、血管内膜、弾性板その他の組織所見にも差異を認めなかった。すなわちモノクロタリン誘導性肺高血圧症における一側肺移植の残存肺に及ぼす病理組織学的影響は、移植後4週および6週においても明かではなかった。

モノクロタリンで惹起される肺高血圧症はヒトの原発性肺高血圧症に類似してはいるものの、相互の関係は明かではないため、この実験結果から臨床例について何も演繹はできないが、臨床例の場合でもほとんどの症例で残存肺の機能停止や萎縮が見られている。原発性肺高血圧症に一側肺移植をした症例で残存肺の血管病変が改善したという事例はあるが、この場合は免疫抑制療法を受けている点が本実験と異なっている。ヒトにおける肺血管閉塞性病変の原因は多種多様であるから、免疫抑制療法が奏功した可能性もある。すなわち肺血管に薬物に対する反応性が残っている原発性肺高血圧症の一部の患者には免疫抑制療法が奏功する可能性が残されているのである。

【移植肺への神経支配】

臓器移植による除神経は、移植臓器とレシピエントとの情報伝達が完全に断絶することを意味し、臓器移植が臨床応用される以前から移植臓器の機能低下につながる可能性が危惧されていた。自己の心臓や肺の再移植による動物実験で、これらの臓器機能は余り障害されず生存に支障のないことがわかった。臨床的にはむしろ感染症が重要な問題となっており、その要因の一つとして求心性神経路の断絶による生体防御機構の低下が改めて注目されるに至った。肺からの求心性刺激は、一部胸髄後根神経節を経由するものの他は、ほとんどが迷走神経に分類されている(11)。このうち肺伸展受容器は、Hering-Breuer反射によって規則性のある呼吸パターンを発生し、移植肺機能を維持させるのに必要と考えられ、臨床応用前の動物実験で盛んに研究された(12-14)。心移植では遠隔期に自然に求心性神経の再生が起こることが動物実験で証明されており、最近ヒトにおいても同様の神経再生が起こっているとの報告がされている。ここでは、肺移植後の求心性神経の断絶と遠隔期における再生の自然過程を近交系ラット間の同所性左肺移植モデル(TX)で検討した(15)。対照として、左肺門郭清後のラット(ST)および正常無処置ラット(NO)を用いた。

生理学的方法として、肺内に分布するC-Fiber Receptorを刺激するカプサイシンを静注

して迷走神経を介した徐脈反射の有無を調べた。カプサイシンの静注は全てのラットで明かな徐脈を惹起したが、右肺動脈を閉塞させて全ての血流を左肺に向けた後では、正常ラットと移植後8ヶ月以降のラットにしか徐脈反応が見られなくなった(図11)。これに両側の迷走神経切除を加えるとどのラットにもカプサイシンに対する反射がなくなることから、この徐脈反射が迷走神経を介したものであることがわかった。

この後、免疫組織化学法で求心性神経に特有な神経ペプチドである Substance-P (SP) や Calcitonin-Gene Related Peptide (CGRP) の局在をみると、左肺に存在するのは正常ラットと移植後8ヶ月以降のラットのみであった。

さらに、再生した神経細胞体の局在を調べるため、移植肺に逆行性神経トレーサーを注入して、迷走神経や後根神経節を追跡したところ、迷走神経の下神経節に集中して見いだされた(図12)。これらの結果から、肺移植直後は断絶していた求心性神経は4ヶ月から8ヶ月までの間に迷走神経を介して自然に再生し機能していることが窺われた。本実験は同系移植をした点で実際の肺移植と異なっており、臨床に類似した同種移植による検討が必要である。現在、切断された迷走神経を縫合したり、神経成長因子を投与して積極的に神経再生を促進し、易感染性が改善されるか否かを検討している。

【右側心減圧の効果】

原発性肺高血圧症では、肺血管床の閉塞性病変が急激に進行するため、肺性心のため急死することが多い。これに対し右心不全を軽減する姑息的な試みは従来からあったが、根治的治療法として心肺移植が始められたため、不十分なまま顧みられなくなった。しかし、ドナー不足のため半数以上の適応患者が移植前に死亡している現在、患者を移植までのあいだ生存させておく延命法は再び臨床的な意義を持つことになった。そこで、モノクロタリンで肺高血圧症としたラットに心房間短絡を作成することが延命につながる可能性を検討した(16)。

まず、ラットにモノクロタリン(80 mg/kg)を投与し、生存と運動耐容能を観察した。死亡した時点で解剖して、心房中隔の卵円かが開存している開存群(PFO)と閉鎖している閉鎖群(CFO)に群分けした。こうして投薬後の運動耐容能(図13)と生命予後(図14)を回顧的に見ると、心房間で短絡がある開存群のほうが生存に有利のように見える。しかし、早期に死亡した動物にも解剖では見つからない機能的な短絡があった可能性は否定できないし、無かったという根拠にも乏しい。この2群間の違いは、投薬後4週

辺りから酸素消費量で明らかになっているが、これが臨床例にありがちな右心不全による逆短絡の自然発生の時期と考えられないでもない。そこで、心房間の逆短絡の効果をプロスペクティブに検討するため、投薬4週間後に機能的な心房間短絡を作成して短絡群（ASD）とし、偽手術をした対照群（SOC）と比較した。短絡群の生存率は開存群に比べ低いが、これは短絡量の多寡によるものと考えられた。すなわち、作成した機能的逆短絡が小さければ右心減圧が有効でなく、閉鎖群や対照群と選ぶところなくなり、逆に大き過ぎれば肺循環が減少して低酸素症で死亡することが想像される。従って、長期生存したラットの短絡量が至適と考えられる。進行性の肺高血圧ラットにおける心房位での逆短絡の存在は、それが解剖学的なものであれ外科的なものであれ、運動耐容能の低下は改善しないものの、安静時の代謝を保ち生存を有意に延長した。心房位での逆短絡によって右側の過負荷が避けられたためと推測される。

心房間短絡の作成は、臨床ではカテーテル法を用いて半ば非侵襲的に施行することが可能であり、移植の適応がある患者はもとより、移植の適応のない大多数の患者にも実験結果のような生命予後の改善が可能になるものと考えている。肺高血圧症に心房間の逆短絡を作成する試みは1964年に犬を用いた実験がされて以来、少なくとも17例にカテーテル法によって心房中隔穿孔が作成されたことが報告されている。このうち1例は症状が大幅に改善して職場復帰し、10例が長期生存し、3例が過大な逆短絡によると思われる低酸素血症で処置後早期に死亡している。直接の死因は、動脈血の酸素飽和度の低下による冠循環・脳循環への酸素供給の低下であると考えられる。

こうした危険を避けるため、現在は動脈間の逆短絡の効果を実験的に検討している。すなわち、肺動脈と大動脈を短絡して静脈血を肺動脈から下行大動脈へ減圧するというもので、血行動態はアイゼンメンゲル化した動脈管開存症に似ている。この場合、冠循環・脳循環に向かう血液は肺循環を経た動脈血となるため、心房中隔穿孔の術後に見られたような冠不全・脳虚血の危険はなくなる。ただ、開胸術を必要とし、胸膜癒着などを残すため後に一側肺移植を行う場合の障害になる可能性が残っている。

【終わりに】

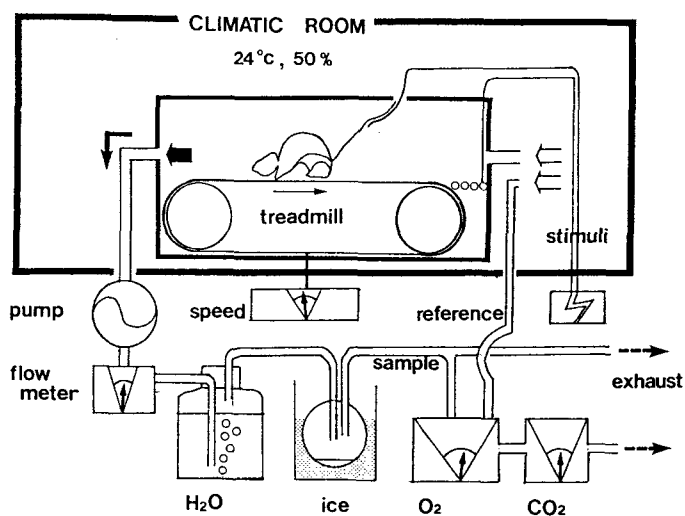
肺高血圧症に対する治療は1980年代に入って肺の移植が始まり急速に発展したが、臓器提供の不足と移植成績の不振のため未だ治療体系として確立されないでいる。ドナー不足に対しては異種移植の研究が、成績向上のために免疫抑制法の研究が続けられてはい

るが、依然、先行する心移植には及ばない。肺そのものがレシピエントと外界の狭間において機能する臓器であるため、内からは拒絶反応、外からは感染症の脅威に常時さらされている。その分、移植の困難な臓器には違いないが、そうした肺の特殊性を考慮した研究を進めることが、肺高血圧症の治療を改良し予後を改善することにつながるものと考えられる。いままでの実験結果をもとに、原因の不明な原発性肺高血圧症に対する実験的な治療体系を画いてみた(図15)。臨床上の問題を研究室に持って帰り、対策として考えた仮説や理論を動物実験で検討してきた結果である。ただ、動物で言えることが必ずしもヒトでも正しいとは限らないし、動物実験ではどうしても検討出来ない問題もある。そうした問題は、しっかりと説明して合意を得た上で、ヒトでの実験的治療で明らかにしていくほか手はない。実験治療開発部という部署の存在意義はその辺にあると考えている。

【参考文献】

1. Wildevuur CH, Benfield JR: A review of 23 human lung transplantations by 20 surgeons. *Ann Thorac Surg* 9:489-515, 1970
2. Jamieson SW, Stinson EB, Oyer PE, Shumway NE, et al: Heart-lung transplantation for irreversible pulmonary hypertension. *Ann Thorac Surg* 38:554-62, 1984
3. Fremes SE, Patterson GA, Williams WG, et al: Single lung transplantation and closure of patent ductus arteriosus for Eisenmenger's syndrome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 100:1-5,
4. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation Tenth official report-1993. *J Heart Lung Transplant* 12:541-548, 1993
5. Breen TJ, Bennett LE, Dailey PO, et al: The effect of diagnosis on survival before and after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 14:S49, 1995
6. Shubat PJ, Hubbard AK, Huxtable RJ: Dose-response relationship in intoxication by the pyrrolizidine alkaloid monocrotaline. *J Toxicol Environ Health* 28:445-460, 1989
7. Kawaguchi AT, Mizuta T, Matsuda H, et al: Single lung transplantation in rats with chemically-induced pulmonary hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg* 103:483-489, 1992

8. Mizuta T, Kawaguchi A, Nakahara K, Kawashima Y: Simplified rat lung transplantation using a cuff technique. J Thorac Cardiovasc 97:578-581,1989
9. Kawaguchi AT, Kawashima Y, Mizuta T, et al: Single lung transplantation in rats with fatal pulmonary hypertension.
J Thorac Cardiovasc Surg 104:825-829,1993
10. Kawaguchi AT, Kawashima Y, Mizuta T, et al: Monicrotaline-induced pulmonary vascular disease after contralateral lung transplantation in the rat.
J Heart Lung Transplant 12:325-329,1993
11. Karlsson JA, et al. Afferent neural pathways in cough and reflex bronchoconstriction. J Appl Physiol 65:1007-1023,1988
12. Secrist WL, et al. Nerve regeneration following lung reimplantation.
Ann Thorac Surg 4:125-132,1967
13. Eraslan S, et al. Lung replantation. J Surg Res 6:383-388,1966
14. Nigro SL, et al. Regression of the intrinsic nerves and other sequelae with reimplantation of the lung. J Thorac Cardiovasc Surg 54:815-821,1967
15. Kawaguchi AT, Ishibashi-Ueda H, Shirai M, Yamatodani Y, Yamano M, Shimouchi A, Kunieda T, Kawashima Y. Spontaneous afferent reinnervation after lung transplantation in the rat. Transplant Proc 27:568-569,1995
16. Kawaguchi AT, Kawashima Y, Ishibashi-Ueda H, et al: Right-to-left interatrial shunt in rats with progressive pulmonary hypertension.
J Thorac Cardiovasc Surg 103:483-489,1993



【図表】

図1 ラット用トレッドミル (文献7より引用)

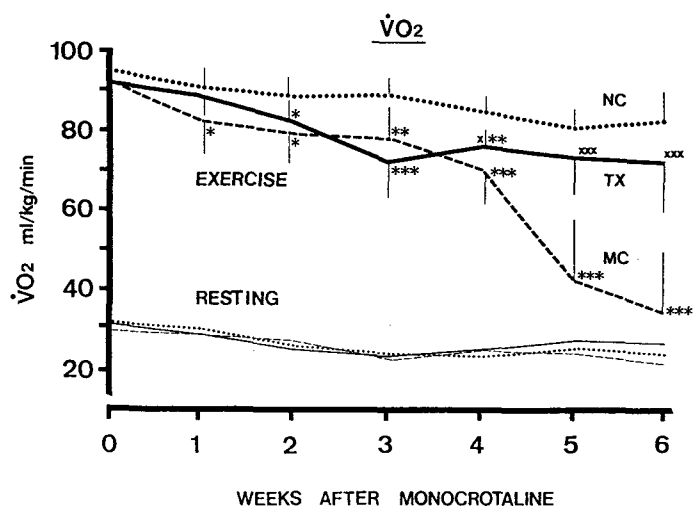


図2 モノクロタリン投与ラットの運動耐容能

モノクロタリン(40 mg/kg)投与の2週間後に左一側肺移植をしたラット(TX、太実線)、モノクロタリン(40 mg/kg)投与のみの投薬群(MC、太破線)および無投薬・無処置の正常群(NC、細破線)における、運動負荷時(Exercise)および安静時(Resting)の酸素消費量の経時的変化(文献7より引用)

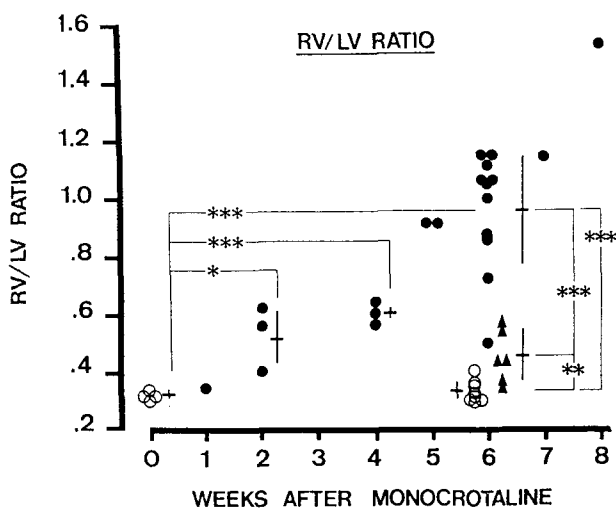


図3 モノクロタリン投与ラットの右室肥大の進行

モノクロタリン(40 mg/kg)投与後の右室自由壁と左自由壁+心室中隔の重量比(RV/LV)の変化を示す。投薬のみの投薬群(黒丸)では右室肥大が進行するのに対し、2週間後に左一側肺移植をしたラット(三角)は無投薬・無処置の正常群(白丸)に近く右室肥大の所見はない。(文献7より引用)

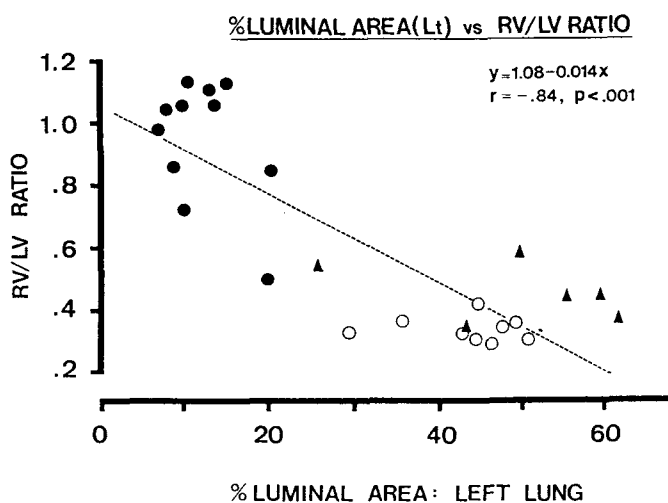


図4 モノクロタリン投与ラットの右室肥大と肺血流比

モノクロタリン(40 mg/kg)投与の2週間後に左一側肺移植をしたラット(三角)、投薬のみの投薬群(黒丸)および無投薬・無処置の正常群(白丸)における、RV/LV重量比と左肺の管腔率(細動脈断面積に対する内腔の割合)を示す。左肺の細動脈の内腔が開存している正常群や移植群では、RV/LV重量比が小さくなっている。(文献7より引用)

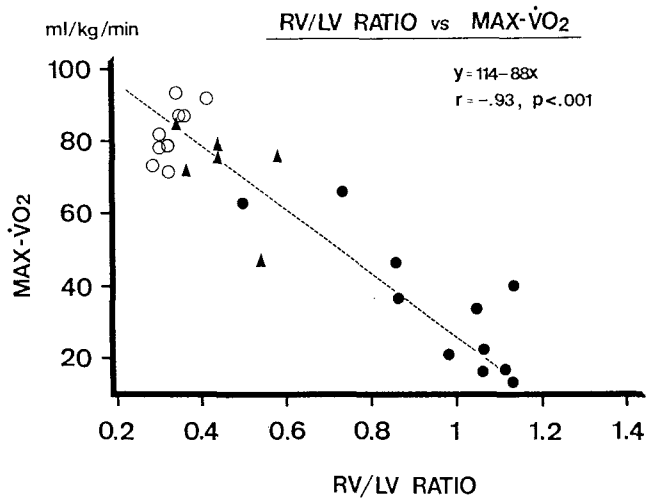


図5 モノクロタリン投与ラットの右室肥大と酸素消費量

モノクロタリン(40 mg/kg)投与の2週間後に左一側肺移植をしたラット(三角)、投薬のみの投薬群(黒丸)および無投薬・無処置の正常群(白丸)における、RV/LV重量比と最大酸素消費量の関係 (文献7より引用)

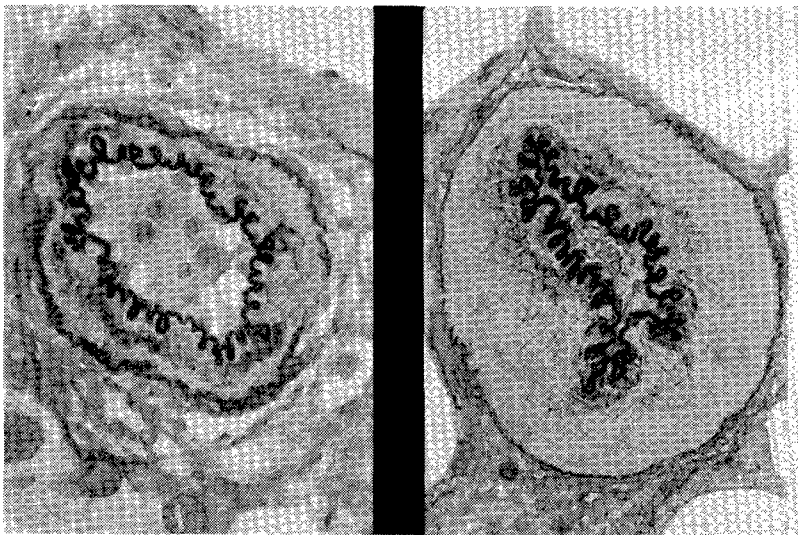


図6 左右肺動脈組織所見

モノクロタリン(40 mg/kg)投与の2週間後に左一側肺移植をしたラットの術後4週間後の肺血管組織所見。右の残存肺では中膜の肥厚が著明であるが、左の移植肺は正常である。

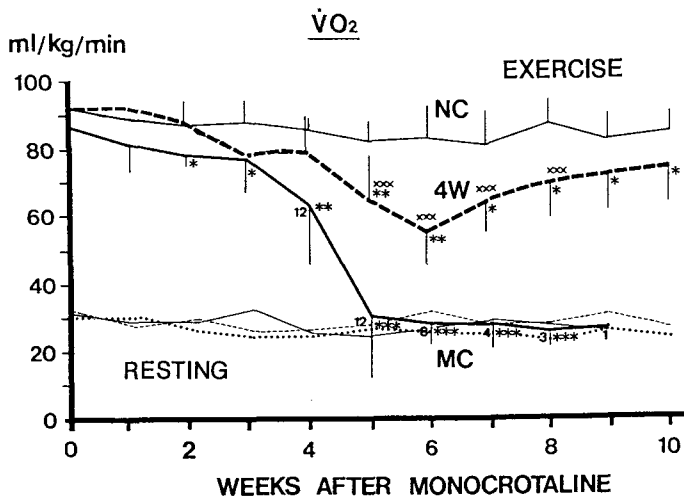


図7 モノクロタリン投与ラットの運動耐容能

モノクロタリン (80 mg/kg) 投与の4週間後に左一側肺移植をしたラット (4W、太破線)、6週間後に移植したラット (6W、細破線)、投薬のみの投薬群 (MC、太実線) および無投薬・無処置の正常群 (NC、細実線) における運動負荷時 (Exercise) および安静時 (Resting) の酸素消費量の変化。(文献9より引用)



図8 ラットの移植肺水腫

モノクロタリン (80 mg/kg) 投与の6週間後に左一側肺移植をした。ラットは血流再開後しばらくして死亡した。移植肺の断面は、充血していて全く含気がない。

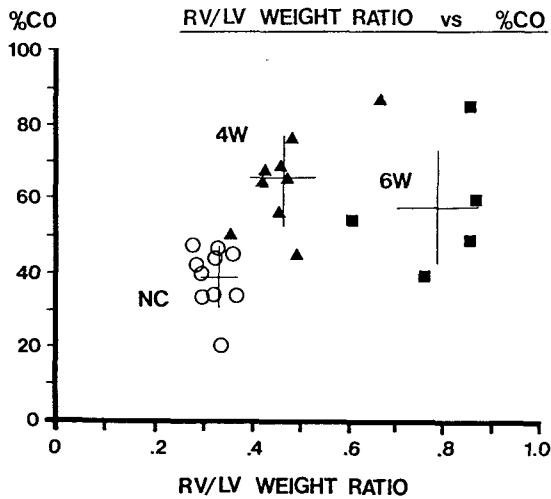


図9 モノクロタリン投与ラットのRV/LV重量比と肺血流量の関係

モノクロタリン(80 mg/kg)投与の4週間後に左一側肺移植をしたラット(4W、三角)、6週間後に移植したラット(6W、四角)および無投薬・無処置の正常群(NC、白丸)における、RV/LV重量比と肺血流比の関係を示す。(文献9より引用)

Rt %Media vs Lt %Media

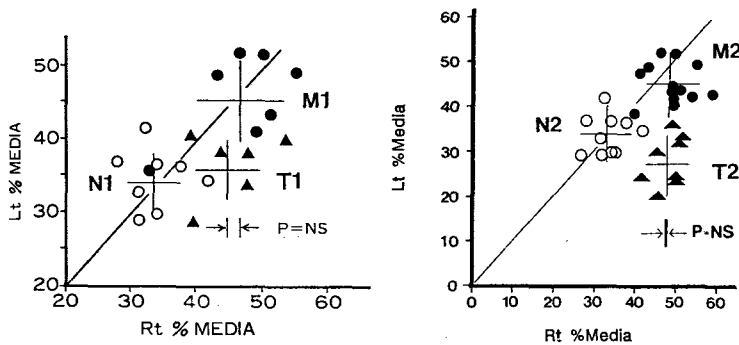


図10 肺血管中膜肥厚度の比較

肺組織検査から左右の肺小動脈の中膜の肥厚度を梶田らの用いた血管中膜/血管半径の比(%Media)として求め、以下の各群間で比較した。モノクロタリン40mg/kgおよび80mg/kg投与し、それぞれ2週(T1)および4週間後(T2)に左肺移植を行う移植群(三角)、同量のモノクロタリン投与のみを受けたそれぞれM1群、M2群(黒丸)、無投薬・無処置のN1、N2群(白丸)である。モノクロタリンを投薬された右肺の細動脈の中膜の肥厚度は左肺移植の有無に関わらず変化がなかった。(文献10より引用)

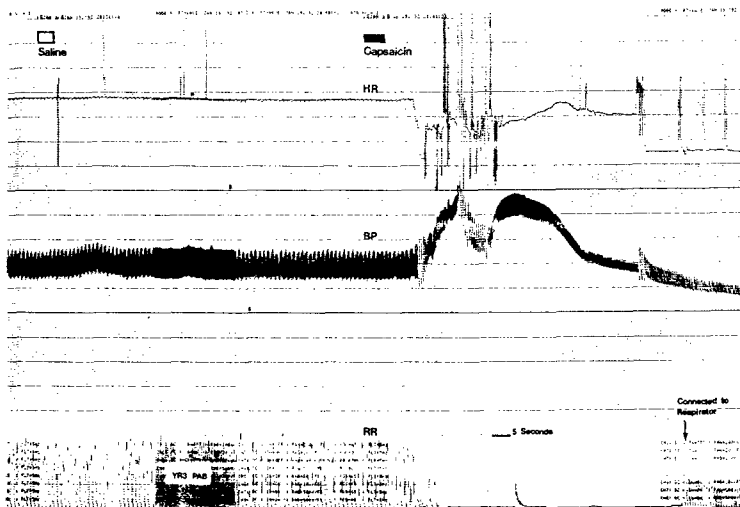


図11 カプサイシン静注に対する心拍数、血圧および呼吸数の変化

左肺移植後1年を経過したラットにおいて右肺動脈を閉塞した後、生理的食塩水を静注した場合（Saline）とカプサイシン（Capsaicin）を投与した場合の心拍数（HR）、血圧（BP）と呼吸数（RR）を示す。

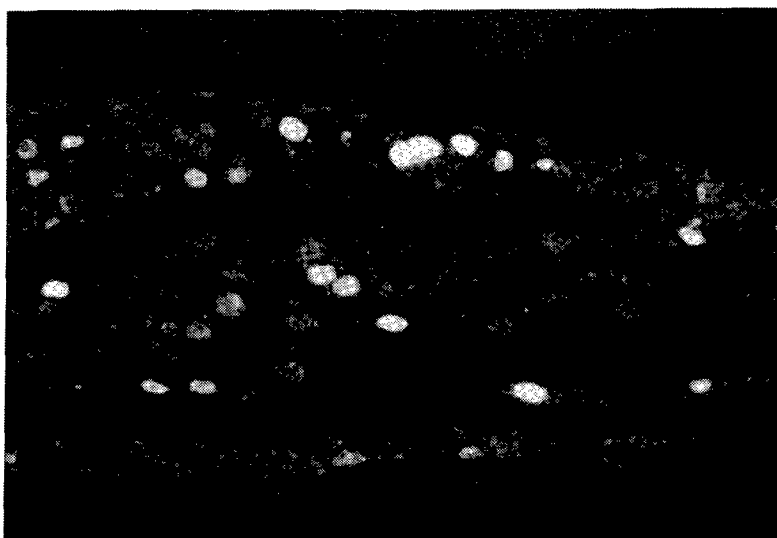


図12 逆行性神経トレーサー（Fluoro-Gold）

左肺移植後8カ月を経過したラットの移植肺に逆行性神経トレーサー（Fluoro-Gold）を注入すると、3日後には迷走神経下神経節に逆行性神経トレーサーが同定された。

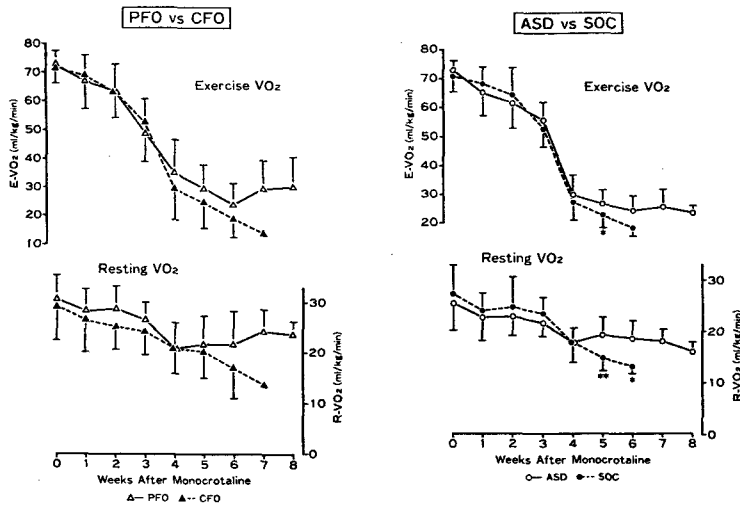


図13 CFO群とPFO群、およびASD群とSOC群の酸素消費量の変化

モノクロタリン投与後の運動負荷時と安静時の酸素消費量の変化を、PFO群とCFO群（左）およびASD群とSOC群（右）で比較した。運動負荷時の酸素消費量はすべての群で低下するが、心房レベルで逆短絡のある群（PFO、ASD）では、安静時の酸素消費量が4週以後は一定に保たれそれ以上低下しない。（文献16より引用）

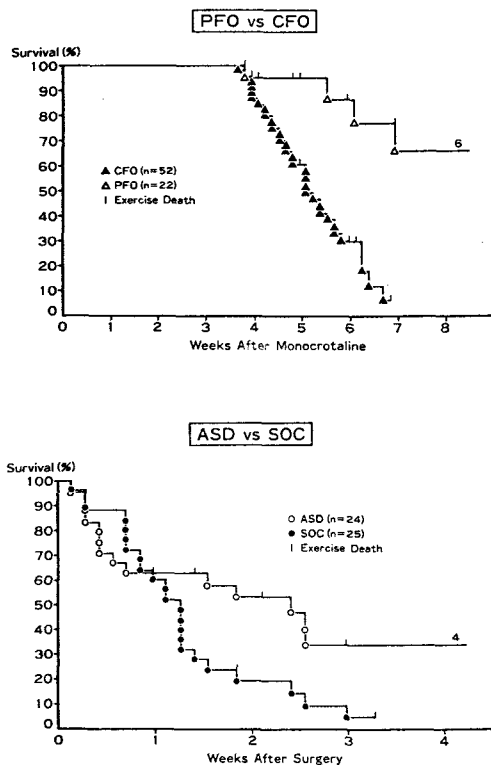


図14 CFO群とPFO群、および
ASD群とSOC群間の生存率の比較

モノクロタリン投与後のPFO群とCFO群間の自然予後（図上）とモノクロタリン投与4週間後に手術をしたASD群とSOC群間の生存率（図下）を比較した。心房レベルで短絡のある群（PFO、ASD）は、短絡の無い群（CFO、SOC）に比べ予後が改善されている。（文献16より引用）

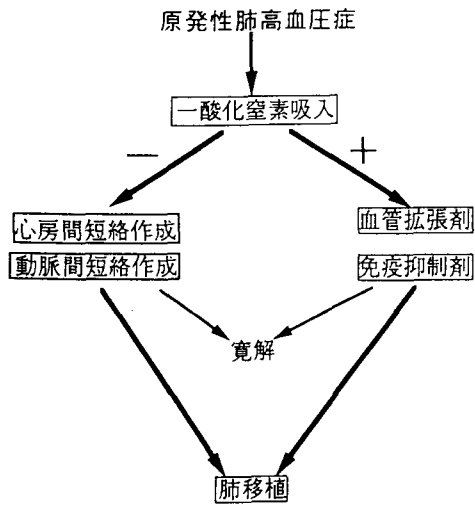


図15 原発性肺高血圧症の実験的治療体系

現在考えている実験的な治療体系を図示した。

＜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15号に掲載された第44回研究会以後、以下の研究会が開催された。

1) 第45回研究会（平成7年3月10日 於 国立循環器病センター）

＜講演会＞

1. 「アガロースマイクロカプセル化ラ氏島のイヌ同種移植への適用」
田代秀夫（国立循環器病センター・実験治療開発部）
2. 「肺高血圧症に対する実験治療」
川口 章（国立循環器病センター・実験治療開発部）
3. 会長講演「実験動物における比較動物学」
宮嶋宏彰（（株）新日本科学）

＜維持会員ニュース＞

1. 三菱化学安全科学研究所：「発がんプロモーター 検出試験: RDS
(Replicative DNA Synthesis) 試験検討の現状」
2. 日本クレア：「Jc1 動物の生産と供給」

2) 第46回研究会（平成7年6月16日 於 京大会館）

＜講演会＞

1. 「医療の発展における実験用イヌの貢献」
芹川 忠夫（京都大学医学部附属動物実験施設）
2. 「新しい医療器具の開発－イノウエバルーンカテーテル及び経管的人工血管移植術」 井上 寛治（京都大学・第三内科）
3. 「臨床用人工臓器開発における動物実験による評価－人工気管・人工食道の開発」 中村 達雄（京都大学生体医療工学研究センター・生理系人工臓器学領域）

＜維持会員ニュース＞

1. 加商（株）：「実験動物分野の現状と動向: 一動物業者の立場から」
2. （株）成和実験動物研究所：
「品質保証としての Dahl/Sea ラットの生物学的特性」

3) 第47回研究会（平成7年9月22日於大阪大学）

＜講演会＞

1. 「癌原性試験をめぐる諸問題」
臼井 敏仁（ヤンセン協和（株）研究開発本部）

2. 「非臨床試験と臨床試験のタイミング」

馬屋原 宏（武田薬品工業（株）医薬開発本部薬剤
安全性研究所）

<維持会員ニュース>

1. 日本農産工業（株）バイオ事業部：「飼料による糞尿臭軽減の試み」
2. （株）新薬開発研究所：「ウサギを用いた変形性関節症モデルについて
－半月板部分切除モデルおよび関節拘縮モデルの作成と評価－」

評議員会、総会の議事概要

1) 第 13 回評議員会の概要

（平成 7 年 3 月 10 日 於 国立循環器病センター）

1. 出席：阿部、飯田、石川、内海、海野、及川、岡庭、岡本、黒澤、塩見、志村、
芹川、相馬、高島、谷村、螺良、鳥居、新谷、西宗、古河、増岡、松村、
三日月、宮脇、宮脇、森井、森岡、森本、安田、山中、山本博、
山本好男（32 名）

2. 議事

(1) 役員の異動

新任：北田一博氏（京都大学医学部附属動物実験施設）が評議員及び幹事
（庶務、会計担当）に推薦され、選出された。

退任：中川 八郎評議員より退任の届け出があり、受理された。

会長：宮脇宏彰氏より、自己都合による退任の申し出があり、残任1年間の
後任会長として芹川忠夫氏が選出された。

(2) 平成 6 年度事業報告

海野幹事（集会）より平成 6 年度事業報告が行なわれ、承認された。また、
AALAS の参加状況について紹介された。

(3) 機関誌発行報告

宮脇幹事（編集）より第 14 号（平成 6 年 7 月）会報の発行について報告
があった。

(4) 平成 6 年度決算報告

芹川幹事（庶務）より平成 6 年度収支決算報告が行なわれ、また、幹事よ
り監査の結果適正であったことが報告され、承認された。

(5) 平成 7 年度事業計画案

海野幹事（集会）より次回、第 46 回研究会（6 月）の内容について報告さ
れた。また、宮脇幹事（編集）より会報の発行を 3 回予定していることが報
告された。

(6) 平成 7 年度予算案

芹川幹事（庶務）より平成 7 年度予算案の説明が行なわれ、事務局経費と
して人件費 35 万円を計上するとの案が説明され、承認された。

2) 第 12 回総会概要（平成 7 年 3 月 10 日 於 国立循環器病センター）

(1) 役員の変動

新評議員として北田一博氏の選出と、中川八郎評議員の退任について評議員会からの報告があり、それぞれ承認された。

(2) 平成 6 年度事業報告（機関誌発行）が行なわれ、承認された。また、AALAS ツアーに関する報告が行なわれた。

(3) 平成 6 年度決算の報告が行なわれ、監事から監査の結果、適正であったことが報告され、承認された。

(4) 平成 7 年度事業計画案が報告され、承認された。

(5) 平成 7 年度予算案（事務局経費に人件費 35 万円を計上）が説明され、承認された。

(6) 宮脇会長より退任の挨拶があった。

(7) 評議員会において芹川評議員が前会長の残任期間（1 年間）における後任会長に選出されたことが報告され、承認された。

《会員の異動》

(平成7年2月～平成7年11月)

入会者	喜多正和	京都府立医科大学・実験動物室
	金城 義明	日本製薬(株)大阪研究部
	中尾 康裕	小野薬品工業(株)動物管理課
	池田 卓也	バイエル薬品(株)中央研究所
	岡 智通	(株)富士バイオメディックス
	螺良 愛郎	関西医大・第2病理
	中井 洋一	武田薬品工業(株)医薬開発本部
	中尾 準一	(株)トーマンケミカル大阪 産業資材第2部
	藪中 淳	大阪府立大学農学部獣医学科
	和田 あづみ	大阪府立大学農学部獣医学科
	新比恵 啓史	田辺製薬(株)安全性研究所
	大島 五紀	塩野義製薬(株)実験動物研究センター

退会者	赤羽 行武	ラボリック・サービス(株)
	安部 保男	日本エスエルシー(株)
	伊藤 隆	
	岩井 克巳	日本シェーリング(株)
	江川 寅彦	オリエンタル酵母工業(株)
	木原 隆英	近畿大学医学部第一解剖学教室
	武居 秀夫	塩野義製薬(株)・医薬研究本部・新薬研究所
	中村 哲也	オリエンタル酵母工業(株)
	増田 恭造	日本クレア(株)大阪営業所
	松田 拓男	藤沢薬品工業(株)研究開発総務室
	森 崇子	日本チバガイギー(株)薬剤安全性ユニット
	森 純一	大阪府立大学農学部
	盛 陽子	
	山田 明男	大阪市立環境化学研究所
	山中 照明	大正薬品工業(株)研究開発部
	宮崎 七緒	日本農産工業(株)バイオ事業部
	多田 輝典	日本農産工業(株)バイオ事業部
	小川 保直	
	東野 浩司	日本製薬(株)大阪研究部
	東海林 隆次郎	愛知県心身障害者コロニー発達障害研

＜関西実験動物研究会 維持会員＞

(五十音順) (平成7年11月現在)

No.	社名	〒	住所
1	(株) 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
2	オリエンタル酵母(株) 大阪営業所	564	吹田市南吹田4-4-1
3	加商(株)	103	東京都中央区日本橋2-14-9
4	鐘紡(株) 薬品安全性研究所	534	大阪市都島区友瀨町1-5-90
5	(株) オリエンタル・バイオサービス	615	京都市右京区西京極葛野町28番地
6	(株) ケアリー	531	大阪市北区豊崎4-12-1
7	(株) ケー・エー・シー	567	摂津市島飼本町5-3-4
8	参天製薬(株) 中央研究所	553	大阪市東淀川区下新庄3-9-19
9	塩野義製薬(株) 油日ラボトリーズ	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405
10	(株) 実医研	103	東京都中央区日本橋本石町3-3-8
11	白井松器械(株)	540	大阪市中央区森ノ宮中央1-19-16
12	白銀工業(株)	547	大阪市平野区加美北4-6-19
13	(株) 新薬開発研究所 関西支所	573	枚方市河原町6-10-205
14	(株) 成和実験動物研究所	871	福岡県築上郡吉富町大字小祝955
15	(株) 大気社 大阪支社	530	大阪市北区中之島3-2-18 住友中之島ビル7F
16	大日本製薬(株) 開発研究所・安全研	564	吹田市江の木町33-94
17	武田薬品工業(株) 創業研究本部	532	大阪市淀川区十三本町2-17-85
18	田辺製薬(株) 研究開発企画センター総務部事業課	532	大阪市淀川区加島3-16-89
19	(株) 夏目製作所	113	東京都文京区湯島2-18-6
20	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
21	日本クレア(株)	550	大阪市西区京町堀1-13-2
22	日本商事(株) 医薬研究所	567	茨木市庄2-24-3
23	日本新薬(株) 創業研究本部	601	京都市南区西大路通八条下ル
24	日本テバガイギー(株) 前臨床研. 薬安研	665	宝塚市美幸町10-66
25	日本チャールスリバー(株)	550	大阪市西区西本町1-11-7
26	日本農産工業(株) バイオ事業部	220-81	横浜市区西みなとみらい2-2-1ランドマーク7-46F
27	日本ベーリンガーインゲルハイム(株)	666-01	川西市矢間字高田103
28	(株) ハイゲン	349-01	埼玉県蓮田市末広1-2-7
29	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
30	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
31	(株) 船橋農場 京都営業所	607	京都市山科区御陵鴨戸町46-6
32	丸石製薬(株) 中央研究所	538	大阪市鶴見区今津中2-2-18
33	(株) 三菱化学安全科学研究所大阪支店	541	大阪市中央区北浜三丁目1-6
34	(株) ミドリ十字 安全性研究所	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎214-1
35	(株) 美濃ラボ	503-03	岐阜県海津郡平田町今尾1195-1
36	(株) ラビトン研究所	677	兵庫県西脇市中畑町718

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 1995年11月現在

（五十音順）

○は評議員、◎は幹事、△は監事

氏名	〒	住所	所属
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	武田薬品工業（株）監査室
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 深	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）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	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業(株)実験動物研究管理室
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	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
い◎◎			
飯田 晶敏	236	横浜市金沢区福浦2-1-2-1	(株)資生堂研究所・医薬品研究所 薬理G
飯塚 三喜	666-01	川西市矢間字高田103	日本バーリンガー・インゲルハイム(株)
池田 卓也	619-02	京都府相楽郡木津町字見台6-5-1-3	バイエル薬品（株）中央研究所
池田 克己	693	出雲市塩冶町89-1	島根難病研究所
◎◎			
石川 尚明	532	大阪市淀川区加島2-1-6	藤沢薬品工業（株）開発第一研究所
石川 隆司	564	吹田市江ノ木町33-94	大日本製薬（株）総合研究所
石束 丞治	349-01	埼玉県蓮田市末広1-2-7	(株)ハイゲン
石割 秀樹	505-03	岐阜県加茂郡八百津町野上字火打平1649-11	日本クレア（株）
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
市田 州	569	大阪府高槻市紫町1-1	(財) たばこ産業弘済会 高槻事業所
伊藤 隆康	569	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
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	塩野義製薬（株）油日ラボラトリーズ
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	日本バーリンガー・インゲルハイム(株)
新比恵 啓史	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
岩知道 公彦	569	高槻市水室6-10-1	武田薬品工業（株）実験動物研究管理室
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			
上島 育二	580	松原市西大塚1-3-40	藤本製薬（株）
◎◎			
内海 健二郎	563	大阪府池田市伏尾町103	大日本製薬(株)アニマルケア部
浦谷 衛	525	草津市西洪川2-3-1	石原産業(株)中央研究所
◎◎			
海野 隆	534	大阪市都島区友禅町1-5-90	鐘紡（株）薬品安全性研究所
え◎			
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)
榎本 康弘	220-81	横浜市西区みなとみらい2-2-1ランドマーク46階	日本農産工業（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	532	大阪市淀川区加島2-1-6	藤沢薬品工業（株）
遠藤 敏	103	東京都中央区日本橋2-14-9	加商（株）ライフサイエンスグループ
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)実験サービスセンター
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
大島 洋次郎	743	山口県光市浅江1-7-17	武田薬品工業（株）薬剤安全性研究所光支所
大島 五紀	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405	塩野義製薬(株)実験動物研究センター
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)実験サービスセンター
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	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業（株）実験動物研究管理室
岡 智通	408	山梨県北巨摩郡小淵沢町10221	(株)富士バイオメディックス
岡崎 彰亮	105	東京都港区芝大門2-12-9	エデストロムジャパン（株）
岡田 いすづ		大阪市淀川区西三国1-12-4	ラボリックサービス（株）
小笠原 定則	525	草津市野路町2247	日清食品（株）
○			
岡庭 梓	532	淀川区宮原5-1-3	(株)ボソリサーチセンター
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
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
小木曾 敬吉	464	名古屋市中千種区自由ヶ丘2-12-4-104	
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	名古屋市中区辻町字流7-6	愛知県衛生研究所
尾崎 晴茂	569	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所
織田 茂	569	高槻市水室町6-10-1	武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所
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

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 1995年11月現在

	氏名	〒	住所	所属
か	岳 兼飛	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	
	檜原 昭裕	771-01	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大腸薬品（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
	方山 和幸	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	（株）ミドリ十字安全性研究所
	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
	加藤 仁五	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)実験サービスセンター
	加堂 洋一	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業(株)実験サービスセンター
	金城 義明	598	泉佐野市住吉町 26	日本製薬（株）大阪研究部
	金田 平八郎	677	西脇市中畑町 718	ラビトン研究所
	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	大阪市鶴見区今津中 2-2-18	丸石製薬（株）中央研究所
	川路 尚徳	600	京都市下京区中堂寺南町 17	（株）ケーエーシー京都技術センター
	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
	喜多 正和	602	京都市上京区河原町広小路	京都府立医科大学 実験動物室
○○	北田 一博	606-01	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
く	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）
	木村 和幸	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	（株）ミドリ十字安全性研究所
	喜岡 勝則		京都市伏見区醍醐僧尊坊町 1-47	（株）新薬開発研究所・関西事業本部
	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
こ	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 譲	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	565	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
○○	小泉 清	240	神奈川県横浜市保土ヶ谷区神戸町 4-5-206	
○	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
○	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）生物環境化学研究所
	小嶋 明廣	532	大阪市淀川区加島 3-16-89	（株）マルゴ・リサーチ・サービス
	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（株）研究開発調整室
○	小林 嘉代	589	大阪府狹山市大野東 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	河内長野市小山田町 345	日本農薬(株)安全性研究所
	小村 宗平	676	兵庫県高砂町宮前 1-8	鎭潤化学工業（株）高砂研究所
○	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 正照	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）実験動物研究管理室
	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
	坂田 太二	514	大阪市淀川区加島 3-16-89	マルゴ・リサーチサービス
さ	坂本 雄二	664	伊丹市大鹿桜ヶ丘 1-1	千寿製薬（株）
	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 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
	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
	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	京都府立医科大学実験動物学教室
	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
	柴田 博	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	（株）ミドリ十字安全性研究所
	柴生田 正樹	541	大阪市中央区道修町 2-3-6	武田薬品工業（株）監査室
○	嶋川 幸三	569	高槻市水室町 6-10-1	武田薬品工業（株）実験動物研究管理室
	鷲田 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
	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
	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	羽鳥市福寿町間島 6-104	（株）日本バイオリサーチセンター羽鳥研
○	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	鎭紡（株）薬品研究所
	周藤 勝一	755	宇都市藤曲 2540 番地	協和醗酵工業（株）安全性研究所
	東海林 隆次郎	480-03	春日井市神鹿町 713-8	愛知県心身障害者コロニー発達障害研
○	城 勝哉	663	西宮市武庫川町 1-1	兵庫医科大学第一解剖学教室
	銀 一之	547	大阪市平野区加美北 4-6-19	白銀工業（株）

関西実験動物物研究会（個人会員名簿） 1995年11月現在

(五十音順)

○は評議員、◎は幹事、△は監事

	氏名	〒	住所	所属
す	菅原 努	606	京都市左京区田中門前町103	バストゥ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
	杉谷順康	743	山口県光市光井字武田4720	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所光支所
	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
	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
	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	573	枚方市川原町6-10-205	(株) 新薬開発研究所 関西支所
	曾我 正彦	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
た○	高折 修二	693	出雲市塩冶町89-1	鳥根医科大学
△	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	300-03	茨城県稲敷郡阿見町中央8-5-1	(株) 実生研・筑波研究所
	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
	高橋 明之	569	高槻市紫町1-1	(財) たばこ産業弘済会 高槻事業所
	竹下 崇		京都市南区西大路八条下ル	日本新薬(株) 安全性研究所動物管理課
	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	バストゥールビル5F (財) 体質研究会
	竹之下 美恵	649-73	橋本市隅田町山内514	
○	竹之下 洋司	649-73	和歌山県橋本郡橋本町山内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	565	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
	辰巳 光義	532	大阪市淀川区加島2-1-6	藤沢薬品工業(株) 実験サービスセンター
○	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) 安全性研究所
	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
ち	千葉 薫	569	高槻市紫町1-1	(財) たばこ産業弘済会 高槻事業所
	千葉 博喜	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
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実験動物学
	蝶良 愛郎	570	守口市文園町10-15	関西医大・第2病理
○	蝶良 義彦	661	尼崎市塚口町1-33-21	
	坪田 裕司	640	和歌山県九番丁9	和歌山県立医大第2生理学教室
て	寺島 幸男	426	藤枝市源跡301	科研製薬(株) 中央研究所GLP室
と	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	566	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
	富田 喜久雄	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町相模116-25	
◎◎	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
な	中井 健史	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
	中井 洋一	569	高槻市氷室町6-10-1	武田薬品工業(株) 医薬開発本部
	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 康裕	618	大阪府三島郡島本町桜井3-1-1	小野薬品工業(株) 動物管理課
	中尾 準一	541	大阪市中央区瓦町1-6-7	(株) トーメンケミカル大阪 産業資材第2部
	中川 和年	771-01	徳島市川内町平石字夷野224-2	大鵬薬品(株)
	中川 洋子	532	大阪市淀川区加島3-16-89	田辺製薬(株) 安全性研究所
	中口 武	532	淀川区十三本町2-17-85 武田薬品工業(株)	大阪工場内(株) 武田ラビックス
	長崎 徹	514	大阪市淀川区加島3-16-89	田辺製薬(株) 安全性研究所
	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 健博	531	大阪市大淀区島崎4-12-17	(株) ケアリー
	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
	中村 公章	607	山科区四ノ宮南河原町14	科研製薬(株) 中央研究所薬理研究部
	中村 智恵美	700	岡山市鹿田町2-5-1	岡山大学医学部法医学教室
	中村 政美	930-01	富山市杉谷2630	富山医科大学動物実験センター
	中山 亮	660-01	川西市大和町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 聡	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 健志	601	京都市南区西大路通り八条下ル	日本新薬(株) 安全性研究所
	西川 哲	431-31	浜松市半田町3600	浜松医科大学 動物実験施設

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 1995年11月現在

		(五十音順)		○は評議員、◎は幹事、△は監事
	氏名	〒	住所	所属
○	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 孝義	529-17	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲場 555	(株) 環境バイロクス研究所
	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
	西山 秀志	532	淀川区十三本町 2-17-85	(株) 武田ラビックス
ぬ	二宮 寿三	743	光市島田 7-7-23	武田薬品工業 (株) 薬剤安全性研究所光支所
	沼沢 拓身	673-14	兵庫県加東郡社町木梨	日本臓器製薬(株)
	野澤 謙	467	名古屋瑞穂区月見ヶ丘 21-2	
の○	野村 彰	061-14	北海道恵庭市戸磯 452-1	(株) 新薬開発研究所
	橋本 岩雄	573	枚方市招提田近 3-11	メレルダウ製薬 (株)
は	浜田 祐二		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
ひ	林 新茂	565	吹田市津雲台 5-18 D75-102	
	伴野 高彦	596	岸和田市三田町 3 7 0	新日本ラボラトリー
	東 稔広	532	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シェーリング (株)
	東山 昇	565	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬 (株) 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
ふ	平川 公昭	534	大阪市都島区友洲町 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
	福西 克弘	534	大阪市都島区友洲町 1-5-90	鐘紡 (株) 薬品安全性研究所
	福永 裕樹	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	(株) ミドリ十字安全性研究所
	藤井 恒雄	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業 (株) 安全性研究所
	藤井 登志之	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業 (株) 安全性研究所
	藤島 寛	573-01	枚方市長尾元町 4-11-2-101	
	藤田 和男	530	大阪市北区中之島 3-2-18	(株) 大気社
	藤村 一	606	京都市左京区鹿ヶ谷下宮前町 9-2	
ほ	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究実験動物室
	古川 学	522	滋賀県彦根市日夏町 2948-1	
	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	高槻市水室 6-10-1	武田薬品工業 (株) 実験動物研究管理室
ま	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	鳥根医科大学第 2 病理学教室
	前田 勝弘	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)研究管理部動物室
	前田 敏宏	564	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)研究管理部動物室
	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
	牧野 奈津代	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業 (株) 安全研・病理
	政本 浩二	729-64	広島県高田郡甲田町下甲立 1624	湧水製薬(株)中央研究所
	増岡 通夫	532	大阪市淀川区十三本町 2-18-85	(株)武田ラビックス
	町尾 久夫	396	長野県伊那市荒井区川北 3052	北山ラベス (株)
み○◎	松浦 稔	569	高槻市大蔵司 2-46-2	
	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	日本バーリンガーインゲルハイム (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
	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	(株)武田ラビックス
	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
	水野 信哉	565	吹田市山田丘 2-2	大阪大学・医学部・附属動物実験施設
も	三原 啓子	532	大阪市淀川区宮原 5-1-3 新大阪生島ビル	(株) ボ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
	宮嶋 宏彰	891-13	鹿児島県鹿児島市吉田町宮之浦 2438	(株) 新日本科学
	宮嶋 正康	640	和歌山市九番町 27	和歌山県立医科大学動物室
	宮本 誠	553	福島区福島 1-1-50	大阪大学医学部附属病院病理部
	宮本 博好	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	(株) ミドリ十字安全性研究所
	宮本 政樹	665	宝塚市美幸町 10-66	日本チバガイギー (株) 薬剤安全性ユニット
	宮脇 茂樹	601	京都市南区西大路通八条下ル	日本新薬(株)分子生物研究室
	椋本 末男	532	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業 (株) 開発第一研究所
	武藤 通彦	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
も	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
	本山 守夫	530	大阪市北区中之島 2-2-2 ニチメンビル 13F	実医研 (株)
	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） 1995年11月現在

(五十音順)				○は評議員、◎は幹事、△は監事
	氏名	〒	住所	所属
	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 幸生	567	茨木市庄 2 丁目 5-1	日本商事(株) 医薬研究所
○	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	743	山口県光市大字光井字武田4720	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所光支所
	森本 宏一	665	宝塚市美幸町10-66	日本チバガイギー(株) 薬剤安全性ユニット
○	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	大阪医科大学実験動物センター
	安原 吉高	569	大阪府高槻市水室町 6-10-1	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
	柳 行雄	550	大阪市西区西本町 2-5-19	生活化学研究所
	藪中 淳	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科
	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
	山口 哲生	171	東京都豊島区高田 3-41-8	(株) CSK リサーチパーク
	山崎 俊幸	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業(株)
	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
名誉会員	山田 淳三	604	京都市中京区西の京西月光町40	(株) ケーエーシー
◎	山中 久	541	中央区道修町 2-2-6 道修町後藤ビル 3F	(株) イナリサーチ 大阪支所
	山之内 孝尚	520	大津市杉浦町 10-10	
	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 孝史	598	大阪府泉佐野市住吉町一番地	不二製油(株) 生物化学研究所
	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
○	山本 博	930-01	富山市杉谷 2630	富山医科薬科大学動物実験センター
◎	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
○	家森 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	吉岡 勝	569	大阪府高槻市水室町 6-10-1	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
	吉澤 達	604	京都市中京区西ノ京西月光町40	(株) ケーエーシー
	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
	吉船 伸一	567	茨木市庄 2 丁目 24-3	日本商事(株) 医薬品研究所
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
	和田 あづみ	593	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科

編集後記

本号はかなりボリューム・アップしました。また、第43、および45回研究会の講演会の記事は、様々な分野における会員の皆様にとって、それぞれに十分な内容のあるものではないかと考えます。

ところで、本号はこの師走に会員の皆様の手元に届けられるものと思いますが、この年の日本には衝撃的な出来事が続発しました。私の曖昧な記憶の儘に並べてみても横浜の医師母子殺人事件、神戸地震、オウム真理教事件などがあります。また、バブル崩壊後の日本経済の低迷と雇用不安は深刻な影響を日本社会に与えています。一方、国としての方向性を示せない政治家、奢り、腐敗した官僚（機構）、講座制に象徴される大学の閉鎖性と後進性などは相も変わらずあり、一

体これからの日本はどこへ行くのか、この国は自浄作用を喪失して、ひたすら終末への道を駆け落ちつつあるのではないかと不安にかられます。さらに、このような状況は日本だけに限らないのではないか、人類自体が一つの種としての役割を終えて滅亡への道を辿りつつあるのではと、SF小説・映画かぶれの私は話を飛躍させて考えたりします。何れにしても、かつて地球上に栄えて絶滅した生物のように、人類もまた繁栄から滅亡に向かう可能性があります。そして、人類の存在の痕跡はどのような形でこの地球上に残るのでしょうか・・・

少しばかり杞憂と妄想の過ぎる編集後記になりました、どうぞ御容赦願います。

1995年晩秋 M. I 記

平成7年12月11日 印刷
平成7年12月15日 発行

編集兼発行者 芹 川 忠 夫
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