

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成12年12月 21号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

< 第63回研究会（平成11年9月10日）>

テーマ：「疾患モデル：ヒトとマウスの種差を越えて」

1. Genetic Engineered Mice と動脈硬化研究 3
平野 賢一（大阪大学・院・医・分子制御内科）
2. 糖尿病血管症へのトランスジェニックアプローチ 10
山本 博（金沢大・医・生化学第二）

< 第64回研究会（平成11年12月3日）>

1. 会員による研究発表（17題） 19

< 第65回研究会（平成12年3月3日）>

テーマ：「実験動物の国際化を巡って」

1. 実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向 39
黒澤 努（大阪大・医・動物実験施設）

< 第66回研究会（平成12年6月2日）>

テーマ：「医薬品開発の前臨床試験における新しい動向と国際戦略を考える」

1. 医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方 47
松澤 利明（山之内製薬（株）信頼保証本部薬事部）

< 第67回研究会（平成12年9月22日）>

テーマ：「高次神経機能を動物実験により解明する」

1. アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構 67
今泉 和則（大阪大・院・医・機能形態学講座）
2. 哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達 84
島 義郎（大阪大・院・医・バイオ・神経生理学研究部）

＜ 関西実験動物研究会だより＞	93
＜ 幹事会、評議員会、総会の議事概要 ＞	94
＜ 会員の異動 ＞	96
＜ 個人会員名簿 ＞	97
＜ 維持会員名簿 ＞	102
＜ 評議員名簿 ＞	103
＜ 会長、幹事、監事名簿 ＞	105

< 第63回研究会（平成11年9月10日） >

テーマ：「疾患モデル：ヒトとマウスの種差を越えて」

1. Genetic Engineered Mice と動脈硬化研究

平野 賢一（大阪大学・院・医・分子制御内科）

2. 糖尿病血管症へのトランスジェニックアプローチ

山本 博（金沢大・医・生化学第二）

大阪大学大学院医学系研究科 B 5

分子制御内科（第二内科）

平野賢一

はじめに

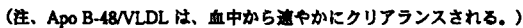
高比重リポ蛋白（HDL）を介した動脈硬化防御機構として末梢組織に蓄積したコレステロールをくみ出し、最終的に肝臓へと輸送し異化するいわゆるコレステロール逆転送系（RCT; Reverse cholesterol transport）が最も重要であると考えられる。私達は、これまでコレステリルエステル転送蛋白（CETP）欠損症、肝性トリグリセリドリパーゼ（HTGL）低下症、原発性胆汁性肝硬変症に伴う高HDL血症などの解析からRCTのメカニズムとその異常について明らかにしてきた。近年の遺伝子工学の進歩及び簡易化により、この分野においても非常に多くの遺伝子組み換え動物が作成されている。しかし、これらのデータを解釈する際には、齧歯類とヒトでのリポ蛋白代謝の違いを充分に考慮する必要がある。本稿では、齧歯類とヒトでのリポ蛋白代謝の違いをまず明確にした上で、近年開発された遺伝子組み換え動物を紹介したい。

1、コレステロール逆転送系（RCT）（図1、マウス、ヒトそれぞれの右半分）
RCTは、その第一段階であるHDLによる末梢組織からのコレステロールの引き抜き、第二段階として、コレステリルエステル転送蛋白（CETP）、レシチンコレステロールアシル転移酵素（LCAT）、リポ蛋白リパーゼ（LPL）、肝性トリグリセリドリパーゼ（HTGL）などの酵素、転送蛋白によるリポ蛋白の量や質の修飾およびリポ蛋白間の脂質転送、そして最終段階である肝臓における、LDL受容体、SR-BI（Scavenger receptor class B, Type I）などの受容体群によるHDL中のコレステロールの取込みと異化から成る。

2. ヒトとげっ歯類でのリポ蛋白代謝の相違

ヒトとげっ歯類でのリポ蛋白の最も大きな違いは、図2に示すごとく血中のコレステロールの運搬を、ヒトでは主として低比重リポ蛋白（LDL）が、齧歯類では主として高比重リポ蛋白（HDL）が行っている点である。

マウス



Species	LDL-C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	VLDL-C (mg/dL)
ヒト (Human)	~125	~50	~15
マウス (Mouse)	~10	~50	~10

- 4 -

在する。まず、LDL 側として、マウス肝臓におけるアポ B mRNA Editing が挙げられる (図 3)。アポ B mRNA Editing とは、共通のアポ B 遺伝子から転写された mRNA を編集 (Editing) することで、その結果、マウスでは、アポ B-100 を有する VLDL とアポ B-48 を有する VLDL の 2 種類が分泌される。一方、ヒト肝臓では、アポ B の Editing は、なくアポ B-100 を有する VLDL のみが分泌される。野性型マウスでは、約 70-80% が B-48 VLDL であり、アポ B-48 VLDL は、血中での半減期がアポ B-100 VLDL のその約 5 分の 1 以下と考えられており、これがマウスの低 LDL-コレステロール血症の主要な原因の一つである。さらに、動脈硬化防御機構の違いとして、ヒトにおけるコレステリルエステル転送蛋白 (CETP) 存在である。マウスでは、先天的に CETP がなく、HDL から LDL へのコレステロールの転送のないことが、マウスの HDL-コレステロールが高いことを説明する。

図 3、Apolipoproteins B mRNA Editing

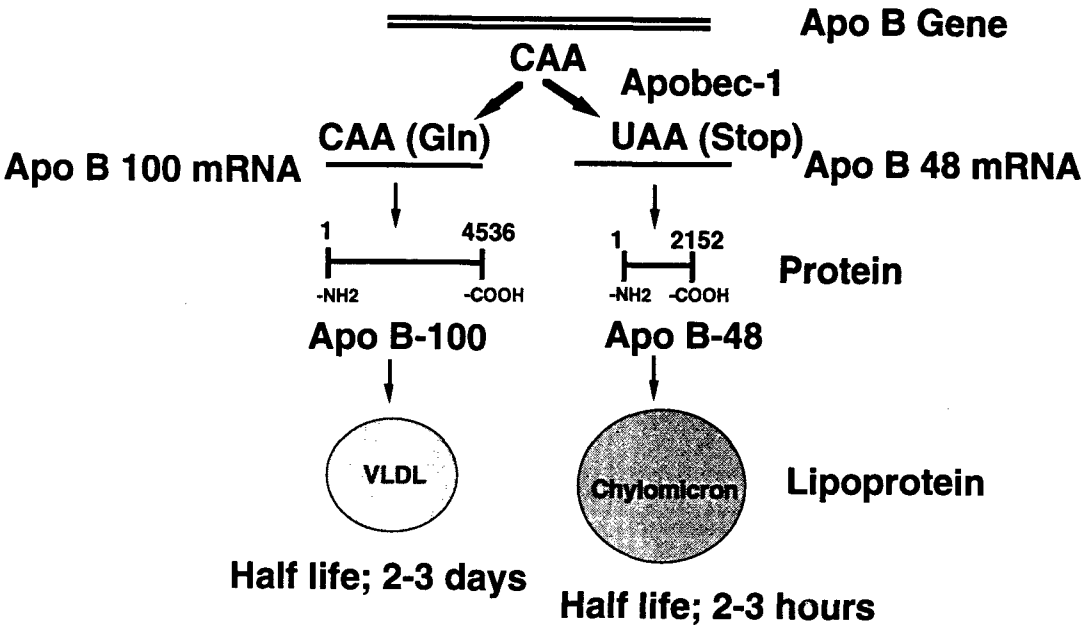


表 1、種差による動脈硬化惹起性の相違

	HDL-C 値	ヒト	ラビット	マウス
アポA-I 欠損	低値	進展	ND	不変
アポA-I 過剰	高値	NR	防御	防御
L C A T 欠損	低値	進展	ND	防御
L C A T 過剰	高値	NR	防御	進展
CETP 欠損	高値	進展	ND	ND
CETP 過剰	低値	NR	ND	防御・進展
HL 欠損	高値	進展	ND	ND
HL 過剰	低値	NR	ND	防御

NR; not reported. ND; not done.

3、表 1 に近年、開発された RCT 系の遺伝子組み替え動物及びそれに対応するヒトでの代謝異常との動脈硬化度の比較を示す。この比較で明らかなように、同一分子の過剰発現、欠損によって種によって動脈硬化惹起性が異なるばかりでなく、時には正反対の結果が得られている。ヒト代謝異常で認められる結果が、モデル動物では再現し得ないこともあるのでこれらモデル動物を使用する場合、注意が必要である。

(1) CETP Tg マウス

CETP が注目されたのは、やはりわが国における CETP 欠損症の発見による。正常者に比し、HDL - c が、約 5 倍に増加している本疾患の atherogenicity が、論争となったが、本症の存在しない欧米においては、CETP のリポ蛋白代謝における意義を解析するため、先に述べたように先天的に本蛋白の欠損しているマウスに CETP 遺伝子導入した CETP Tg mice が作成された。CETP Tg mice では、HDL - C が低下しており動脈硬化が進展したという報告が当初なされたが、追試されずその後、アポ C-III Tg マウスと交配すると HDL - C が低下するにもかかわらず、動脈硬化が予防されたとする全く相反するデータが発表さ

れている(1)。このデータは、近年明かとなったヒト CETP 欠損症が atherogenic とする結果と合致するものである(2)。

(2) LCAT Tg マウスと LCAT Tg ウサギ

NIH の Brewer らが、興味深い知見を発表している。彼等がまず、最初に作成したのは LCAT のトランスジェニックウサギである。正常対象兔の約15倍の発現を獲得した Tg rabbit は、高コレステロール食飼育下で、対照兔に比し、HDL-コレステロール値が5倍に増加、非 HDL-コレステロール値が、約3分の1に抑制され、動脈硬化面積が約20%に抑制された。次に、作成したのは、LCAT のトランスジェニックマウスである。このマウスは、HDL コレステロール、アポ A-I が3-4倍に増加したにもかかわらず、動脈硬化度も約3倍に増加したという。このマウスにみられる大粒子化した HDL は、コレステロール逆転送系の最終段階である肝臓へのコレステロールの輸送能力が低下していたと報告している(3)。同一遺伝子を過剰発現させても、種によって動脈硬化度が全く逆であることを示している。

4、最近、注目される遺伝子組み換えマウス

(1) SR-BI knockout mouse

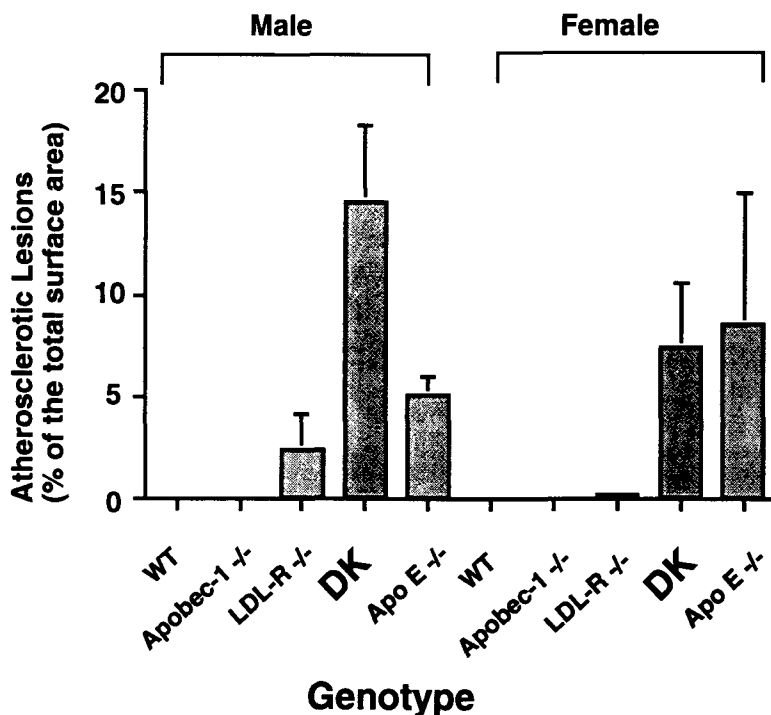
Krieger M らによってクローニングされた SR-BI は、げっ歯類においては肝臓及び副腎に高発現し、コレステリルエステルの選択的取り込みに関与している。彼等の作成した KO マウスは、HDL コレステロールが、約2倍に増加し、HDL は大粒子化した(4)。この高 HDL 血症マウスは、昨年の米国心臓病学会において動脈硬化じゃっ起性であると報告された。

(2) Apobec-1 (Apo B mRNA Editing 蛋白) と LDL 受容体のダブルノックアウトマウス。

図1、3にあるように、マウスでは肝臓でアポ B 48リポ蛋白が分泌されるため、LDL-C が低く、LDL 受容体ノックアウトマウスは、同じ遺伝的欠損を持つヒトの家族性高コレステロール血症や WHHL ウサギに比し、動脈硬化度は著しく低い。筆者らは開発した Apobec-1 (Apo B mRNA Editing 蛋白) のノックアウトマウス、すなわちアポ B-100 単独マウス(5)と石橋らの開発した LDL 受容体ノックアウトマウスを交配し、ダブルノックアウトマウスを得た。この

マウスは、普通食で飼育しても著しい動脈硬化病変を来し（図4）、WHHL ウサギに匹敵する動脈硬化じゃっ起性を有するヒトの家族性高コレステロール血症のモデルマウスである（6）。

図4、 LDL-R, apobec-1 ダブルノックアウトマウスは、アポ E ノックアウトマウスに匹敵する動脈硬化を示す。



おわりに

HDL を介する動脈硬化防御機構であるコレステロール逆転送系の障害は、粥状動脈硬化症の主因の一つである。逆にその活性化を計ることは斬新な治療法開発の戦略である。マウスとヒトとのリポ蛋白代謝の差を理解し、RCT 異常モデルマウスが有効に利用されることが期待される。

謝辞

発表の機会を与えて頂いた神戸大学医学部附属動物実験施設、塩見雅志先生に深謝致します。

文献

- (1) Hayek T, Masucci-Magoulas L, Jiang X, Walsh A, Rubin E, Breslow JL, Tall AR. Decrease early atherosclerotic lesions in hypertriglyceridemic mice expressing cholesteryl ester transfer protein transgene. *J Clin Invest.* 96, 2071-2074, 1995.
- (2) Hirano K, Yamashita S, Nakajima N, Yoshida Y, Arai T, Sakai N, Ishigami M, Takemura K, Matsuzawa Y. Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency is extremely frequent in Omagari area of Japan. - Marked hyperalphalipoproteinemia caused by cholesteryl ester transfer protein gene mutation is not a longevity syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17; 1053-1059, 1997.
- (3) Berard AM, Foger B, Remaley A, Shamburek R, Vaisman BL, Talley G, Paigen B, Hoyt Jr R, Marcovina S, Brewer HB, Santamarina-Fojo S. High plasma HDL concentrations associated with enhanced atherosclerosis in transgenic mice overexpressing lecithin cholesteryl acyltransferase. *Nature Medicine.* 3; 744-749, 1997.
- (4) Rigotti A, Trigatti BL, Penman M, Rayburn H, Herz J, Krieger M. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94, 12610-12615, 1997.
- (5) Hirano K, Young SG, Farese RV, Ng J, Sande E, Warburton C, Powell-Braxton LM, Davidson NO. Targeted disruption of the mouse apobec-1 gene abolishes apolipoprotein B mRNA editing and eliminates apolipoprotein B48. *J Biol Chem.* 271; 9887-9890, 1996.
- (6) Powell-Braxton L, Veniant M, Latvala RD, Hirano K, Won WB, Ross J, Dybdal N, Young SG, Davidson NO. A mouse model of familial hypercholesterolemia: markedly elevated low density lipoprotein cholesterol levels and severe atherosclerosis on a low-fat, chow diet. *Nature Medicine.* 4; 934-938, 1998.

糖尿病血管症へのトランスジェニックアプローチ

金沢大学医学部生化学第二

山本 博

はじめに

糖尿病という病気が怖いのは高血糖の結果血管合併症が起こるためである。糖尿病患者の平均余命は男女とも一般人口に比べ10年以上短く、死因は血管死が最も多い。死に至る以前にも網膜症、腎症等の合併症により quality of life (QOL) が著しく損なわれる。したがって、糖尿病患者の生命予後と QOL 改善のためには血管合併症の克服が必須である。

本稿では、こういう糖尿病合併症の成因解明とその克服手段開発を目指した教室のアプローチを紹介してみたい。

1. 細小血管構成細胞種とその相互作用

細小血管すなわち毛細血管、細静脈は一層の内皮細胞とそれを取り巻く周皮細胞から構成される。筆者らは、初代培養した内皮細胞と周皮細胞を用いた細小血管の再構成系を確立し、周皮細胞が隣接する内皮細胞の増殖を制御するとともに、抗血栓性プロスタノイドであるプロスタサイクリンの産生能を保持することを明らかにした¹⁾。したがって、糖尿病網膜症の病初期に周皮細胞喪失 (pericyte loss) が起ると、このような内皮-周皮間相互作用が失われる結果、血管新生、血栓傾向を招き増殖性網膜症の症候発現に至ると推定される (図1)。

2. 周皮細胞喪失のメカニズム

この周皮細胞喪失の成因として筆者らが着目したのが後期糖化反応生成物 (advanced glycation endproducts, AGE) である。AGE とは、グルコースなどの還元糖とタンパク質のアミノ基とが非酵素的に反応し、Schiff 塩基, Amadori 転移化合物を経て形成される不可逆的な架橋物質の総称である。Yamagishi らは²⁾ AGE 化アルブミンを調製してウシ網膜微小血管周皮細胞の培養培地中に添加したところ、周皮細胞の増殖が遅延すると

ともに、AGE が細胞種特異的な急性毒性を示すことを見出した。この AGE 作用は、周皮細胞表面に発現している特異レセプター (receptor for AGE, RAGE) を介すると考えられる。RAGE mRNA に相補的なアンチセンス DNA によって AGE による周皮細胞減少がほぼ完全に防止されるからである。

3. AGE の内皮作用

AGE は内皮にも直接作用する。すなわち、ヒト微小血管内皮細胞を AGE 化アルブミンに晒すと、周皮細胞の場合とは逆に、内皮細胞の増殖が促進され³⁾、また、プロスタサイクリン産生低下とプラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1 の産生亢進を来す⁴⁾。これらの AGE 作用はいずれも RAGE アンチセンスで消去されることから、AGE と RAGE の相互作用を介すると考えられる。したがって、グリケーションは(1) 内皮-周皮相互作用の破綻、(2) 内皮への直接作用という二重のメカニズムにより血管新生と血栓形成を来たしうることになる。

筆者らは先に、血管新生の主要因である低酸素によって誘導される内皮細胞増殖は内皮細胞と周皮細胞自身が産生する血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) のオートクリン・パラクリン作用を介することを明らかにした^{5), 6)}。AGE の血管新生活性も血管 VEGF によって仲介される。すなわち、内皮細胞を AGE に晒すと濃度依存的に VEGF 遺伝子の発現が誘導され、AGE による内皮細胞増殖と管腔形成は抗 VEGF 抗体で中和されることが観察された³⁾。

4. 糖尿病腎症と AGE-RAGE 系

糖尿病腎症に特徴的な結節性病変はメサンギウム領域での細胞外マトリックスの蓄積に起因する。Tsuji ら⁷⁾は、ラット腎メサンギウム細胞を AGE に晒すと、細胞外マトリックス成分の一つである IV 型コラーゲンの産生が亢進し、これは RAGE mRNA に相補的なリボザイムにより防止されることを示した。したがって、AGE-RAGE 系は網膜症と腎症という二大糖尿病細小血管合併症の発症、進展に関与しうると考えられた(図 2)。

5. RAGE トランスジェニックマウス

上記仮説を *in vivo* で検証するため、血管細胞で RAGE を過剰発現するトランスジェ

ニックマウスを作製し、生後早期からインスリン依存性糖尿病（IDDM）を発症する別系統トランスジェニックマウス⁸⁾と交配させた（図3）。得られたダブルトランスジェニックマウスは、対照 IDDM マウスに比し、腎重量・アルブミン尿・糸球体硬化係数・血清クレアチニン値の有意の増大を示し、これらの腎症関連形質は AGE 形成阻害剤である OPB-9195（大塚製薬株式会社藤井記念研究所より恵与）で軽減された。この RAGE 過剰発現糖尿病マウスは、網膜電図における律動様小波の潜時遅延、網膜微小血管透過性の亢進、網膜無灌流野の増大も示し、したがって、AGE-RAGE 系は腎症、網膜症の発症、進展に機能的に関わることが立証された。

おわりに

このように、糖尿病性細小血管症成因の少なくとも一部は、AGE という環境因子と RAGE という遺伝因子の相互作用で説明しうるかと考えられる。後者に関して最近、NF- κ B や Sp-1 を介する発現調節機構も明らかにされ、発現誘導因子として腫瘍壊死因子 α やエストラジオールが同定された¹⁰⁾。これらの分子装置は、本来発生や生体防御のために進化してきたものと考えられるが、糖尿病では不利な方向に悪用されているようにみえる。今後、RAGE 後細胞内シグナリング経路や細胞種毎の AGE 応答機構の解明を通じて、このような悪用を断ち切る血管合併症予防・治療手段を講じる必要があろう。

文献

- 1) Yamagishi S, Kobayashi K and Yamamoto H: Vascular pericytes not only regulate growth, but also preserve prostacyclin-producing ability and protect against lipid peroxide-induced injury of co-cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 418-425.
- 2) Yamagishi S, Hsu C-C, Taniguchi M, Harada S, Yamamoto Y, Ohsawa K, Kobayashi K and Yamamoto H: Receptor-mediated toxicity to pericytes of advanced glycosylation end products: A possible mechanism of pericyte loss in diabetic microangiopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213: 681-687.
- 3) Yamagishi S, Yonekura H, Yamamoto Y, Katsuno K, Sato F, Mita I, Ooka H, Satozawa N, Kawakami T, Nomura M and Yamamoto H: Advanced glycation endproducts-driven

- angiogenesis in vitro: Induction of the growth and tube formation of human microvascular endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1997; 272: 8723-8730.
- 4) Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, Yamamoto Y and Yamamoto H: Advanced glycation endproducts inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. *Diabetologia* 1998; 41: 1435-1441.
 - 5) Nomura M, Yamagishi S, Harada S, Hayashi Y, Yamashima T, Yamashita J and Yamamoto H: Possible Participation of Autocrine and Paracrine Vascular Endothelial Growth Factors in Hypoxia-Induced Proliferation of Endothelial Cells and Pericytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 28316-28324.
 - 6) Yonekura H, Sakurai S, Liu X, Migita H, Wang H, Yamagishi S, Nomura M, Abedin Md J, Unoki H, Yamamoto Y and Yamamoto H: Placenta growth factor, vascular endothelial growth factor B and C expressions in microvascular endothelial cells and pericytes: implication in autocrine and paracrine regulation of angiogenesis. *J Biol Chem* 1999; 274: 35172-35178.
 - 7) Tsuji H, Iehara N, Masegi T, Imura M, Ohkawa J, Arai H, Ishii K, Kita T and Doi T: Ribozyme targetting of receptor for advanced glycation end products in mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245: 583-588.
 - 4) Takamura T, Kato I, Kimura N, Nakazawa T, Yonekura H, Takasawa S and Okamoto H: Transgenic Mice Overexpressing Type 2 Nitric-oxide Synthase in Pancreatic β Cells Develop Insulin-dependent Diabetes without Insulinitis. *J Biol Chem* 1998; 273: 2493-2496.
 - 9) Yamamoto Y, Yamagishi S, Yonekura H, Doi T, Tsuji H, Kato I, Takasawa S, Okamoto H, Abedin Md J, Tanaka N, Sakurai S, Migita H, Unoki H, Wang H, Zenda T, Wu P-S, Segawa Y, Higashide T, Kawasaki K and Yamamoto H: Roles of the AGE-RAGE system in vascular injury in diabetes. *Ann NY Acad Sci* 2000; 902: 163-172.
 - 10) Tanaka N, Yonekura H, Yamagishi S, Fujimori H, Yamamoto Y and Yamamoto H: The receptor for advanced glycation endproducts is induced by the glycation products themselves and TNF- α through NF- κ B, and by 17 β -estradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 25781-25790.

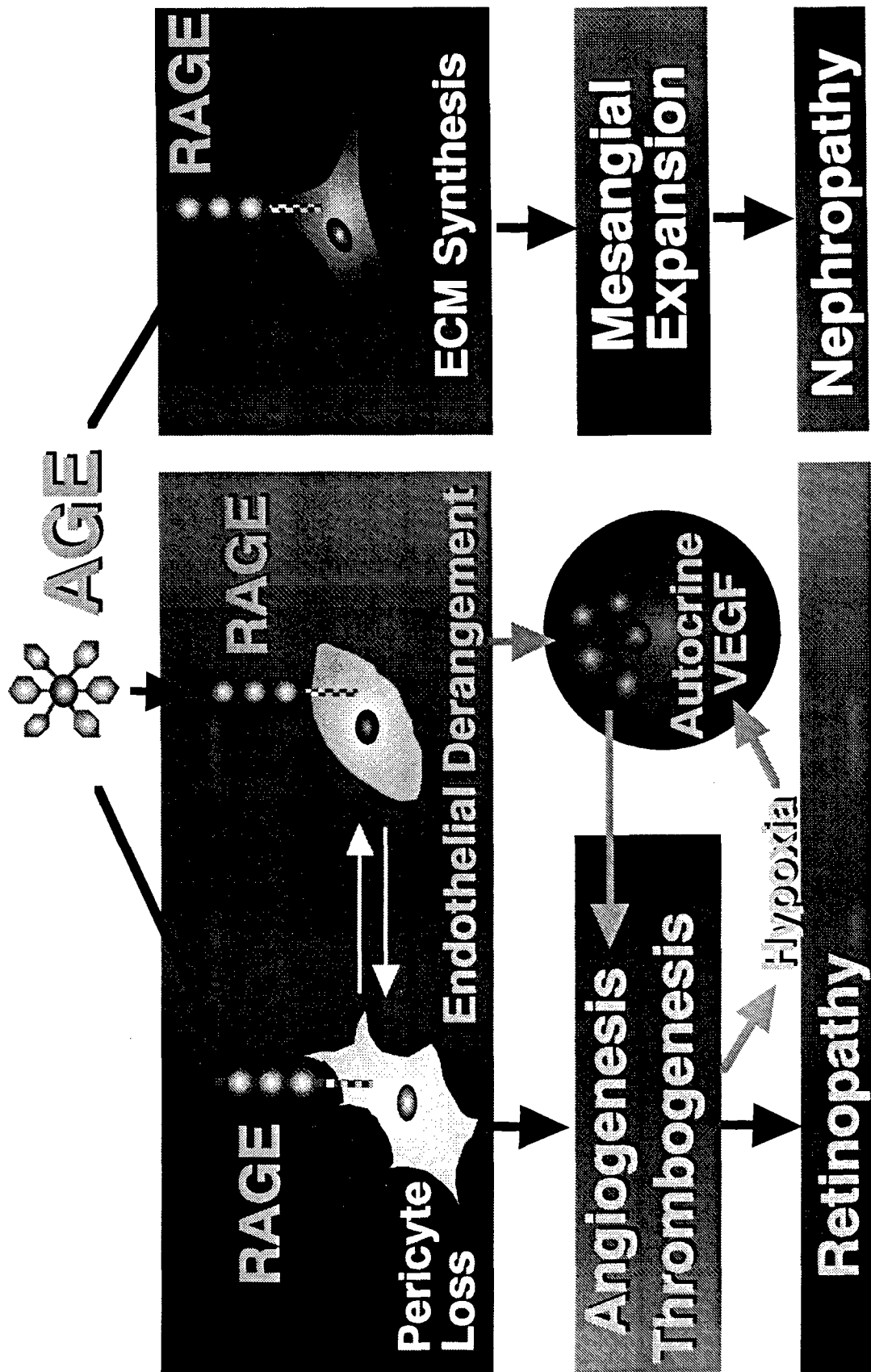


図 1. 糖尿病による細小血管傷害仮説 3)

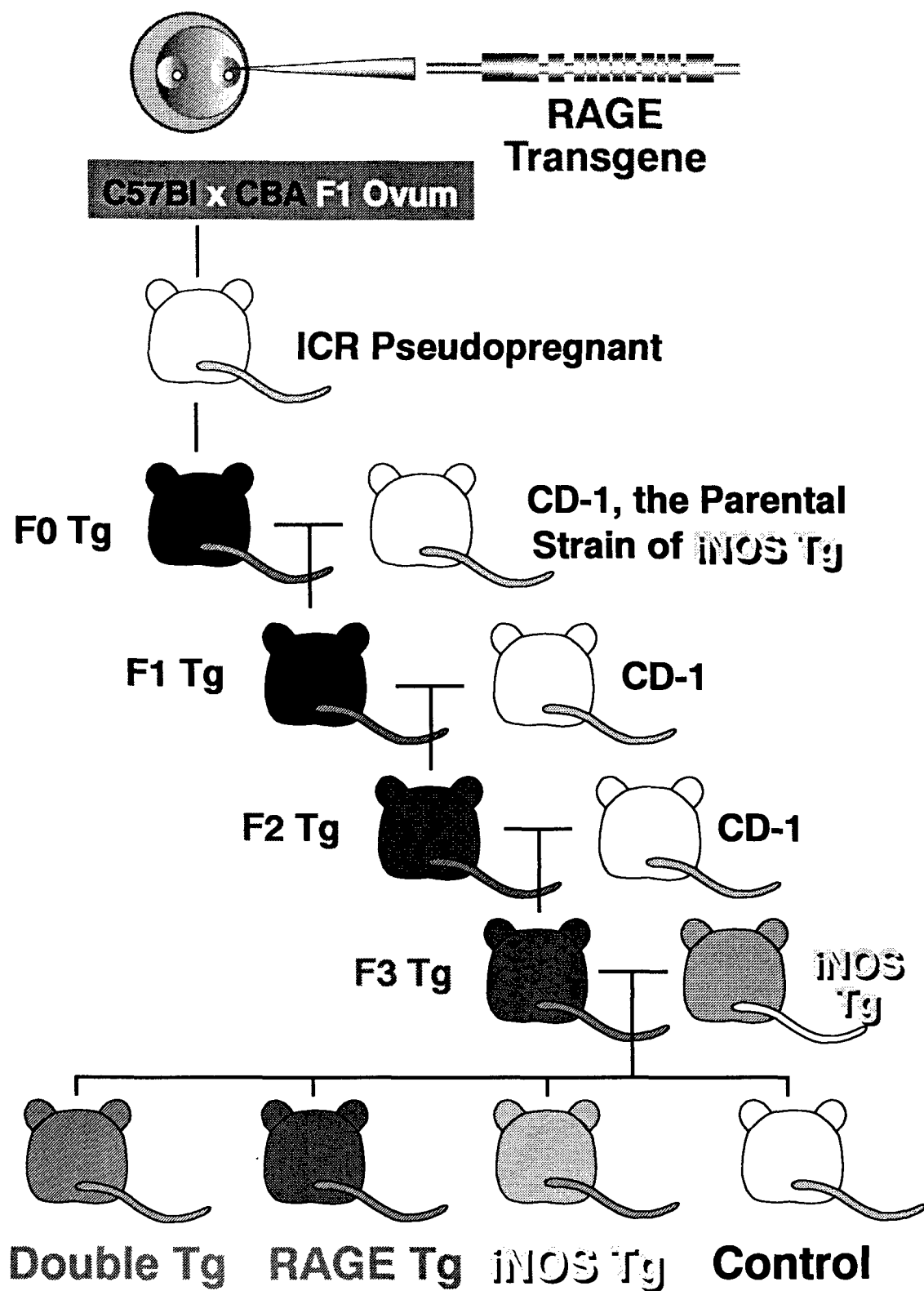


図 2. RAGE 過剰発現糖尿病マウスの作製 ⁸⁾

< 第64回研究会（平成11年12月3日） >

会員による研究発表（17題）

第 64 回関西実験動物研究会研究発表抄録

1. ネズミ盲腸蟻虫の効果的な駆虫方法について

2. 外部機関からの導入マウスに見られた

Helicobacter hepaticus 感染例と分離菌株の生物学的特性

3. 非滅菌飼料給与ラットに認められた抗 Tyzzer 菌抗体陽性例

4. 大阪産野生マウス由来近交系 MOL-SKID 系統の基礎特性解析

5. Genetic Comparison between Laboratory Rats and Japanese and German Wild Rats

6. ラット・マウス・ヒト比較遺伝子地図（第4版）の作成とその評価

7. 新たな神経系ミュータント qc ラットの遺伝的解析

8. OLETF ラットの糖尿病発症にかかわるエピスタシス効果の検出

9. EFPIA/ECVAM の「適切な投与・採血法の手引き」

10. トリブチルスズによるラットにおける着床障害

11. アトピー性皮膚炎モデル、NC/Nga マウスの血中 IgE 値

—その経時的変化および市販 IgE 測定キットの定量性の比較検討—

12. 富士ドライケムを用いて測定した血清生化学値の特徴

—慢性腎不全自然発症マウスモデルについて—

13. 家族性てんかんシェルティー犬の臨床的、神経生理学および病理学的研究

14. イヌを用いたパターンリバーサル刺激による視覚誘発電位検査

15. マウス乳癌の多臓器転移実験モデル

16. ネフローゼ自然発症 ICGN(nep) マウスを用いた糸球体における α -SMA 消失についての検討

17. 加齢による WHHL ウサギ血清コレステロールの低下のメカニズム

ネズミ盲腸蟯虫の効果的な駆虫方法について

○坂田太二 小川明美 須磨正人 ((株)田辺 R&D サービス大阪飼育管理部)

【目的】 外部施設から搬入された遺伝子操作動物 (KO及びTgマウス) に認められたネズミ盲腸蟯虫の駆除のため、従来の駆虫薬飲水混入投与方法と新しい駆虫薬噴霧法の二通りの駆除方法を試みた。その結果、駆虫薬噴霧法はネズミ盲腸蟯虫に対して優れた効果を示したので紹介する。

【方法】

1. 駆虫法

1) パモ酸ピルビニウムの飲水混入投与方法

200mlの上水道中にパモ酸ピルビニウム液0.3mlを含む飲料水を給水瓶に入れ、自由に6週間摂水摂取させた。

2) イベルメクチン噴霧法

0.1%のイベルメクチン噴霧を4週間にわたり、動物収容中のケージ内には2回/週、飼育域の壁および床については、1回/週実施した。

両駆虫法とも、駆除期間中はケージ、床敷の交換および虫卵検査を1回/週実施した。

2. 虫卵検査法

セロハン粘着テープ (幅18mm, 長さ20mm, 積水化学) を動物の肛門周囲に押し付けて、スライドグラス (幅26mm, 長さ76mm, マツナミ) に4匹分/枚貼り、10×4倍で鏡検した。

【結果】

1. パモ酸ピルビニウムの飲水混入投与方法

飼育中の全てのマウスから虫卵が検出されなくなるまで、6週間の連続飲水投与が必要であった。しかし、更に8週間の休薬後、再感染が認められたため、投与を再開すると同時にケージおよび床敷の交換および飼育室内の清掃は1回/週から毎日に変更した。その結果、投与再開10週目で寄生虫の駆除が確認された。

2. イベルメクチン噴霧法

1回目の噴霧4日後にはマウスの肛門周囲に新たな産卵による虫卵は検出されず、2回目の噴霧 (1回目の噴霧から4日目) 4日後の検査でも虫卵が検出された例はなかった。さらに3回目の噴霧から3日、7日、10日、14日および17日後に実施した検査でも虫卵は全く検出されなかった。

【考察】

パモ酸ピルビニウムの飲水混入投与方法では、再感染防止のため、虫卵を排除する目的でケージ交換や飼育室内の清掃および給水ビンへの駆虫薬混入を頻繁に行うなど、多大な労力を要し、結局、マウス盲腸蟯虫が完全に駆除されるまでに長期間 (約6ヶ月間) 必要であった。一方、イベルメクチン噴霧法では、1週間々隔の噴霧2回で虫卵は全く検出されなくなった。Le Blancら (米国ペイラー医科大学、1993年) 及び末田ら (東北大学付属動物実験施設、1999年) によって紹介されたイベルメクチン噴霧法は噴霧液を作製して噴霧するだけの簡単な作業である。今回、我々は噴霧法による駆虫方法を試みたが、非常に簡便で効果的な方法であることが確認された。

外部機関からの導入マウスにみられた *Helicobacter hepaticus* 感染例 と分離菌株の生物学的特性

○ 余野清香・根縫弘子・高橋恵子・三日月勝見（塩野義・ACセンター）

我々は第60回本研究会において、例、例よりの *Helicobacter* 属菌検索を試み、その結果を報告した。
今回我々は、導入マウスから *Helicobacter hepaticus* (*H.hepaticus*) を分離した。

ここでは分離菌の生物学的特性を中心に述べる。

<材料および方法>

供試動物：外部機関より導入された Lc マウスおよび我々の施設内で飼育している SPF マウスを用いた。

菌分離法：スロー、バツラ、HP の各分離培地を用い、マウス肝組織のスラフ培養により実施した。なお培養は 37°C、5 日間嫌気条件下にて行なった。

菌形態観察：グラム染色による菌形態観察および電子顕微鏡による鞭毛観察を行なった。

生化学的性状試験：カタラーゼ、カタラーゼおよびウリアーゼ産生性等について試験した。

定量的 DNA ハイブリダイゼーション法：プレートに固定するための DNA は、SDS 溶菌後、冷エタノールにて DNA を抽出した。ハイブリダイゼーション用 DNA は、ビオチン標識し酵素溶液、発色液の順に加えて発色させ 630nm の波長で測定した。

ELISA 実施法：抗原株には *H.hepaticus* ATCC51448 株を用い発育菌の超音波処理上清を用いた。

また ELISA の実施法は第 60 回本研究会で述べた方法に準じて行なった。

同居感染：*H.hepaticus* 感染陽性マウスと SPF DS および SCID マウスとを同居させ経時的に菌分離、症状、ELISA 抗体価の推移および血液性状、血漿生化学値について検討した。

<結果および考察>

導入マウス 4 例のうち 2 例の肝臓より *Helicobacter* 属菌を検出した。

分離菌株はグラム陰性の長さ 1.5~5.0 μm 、幅 0.2~0.3 μm で湾曲または螺旋状桿菌の形態を示し、電子顕微鏡観察では一方の極に 1 本の有鞘鞭毛を有していた。分離菌株の生化学的性状はカタラーゼ、カタラーゼおよびウリアーゼの産生が陽性であった。以上の生物学的性状は *H.hepaticus* の性状と一致した。分離菌株より調整した DNA と *Helicobacter* 属菌種との DNA ハイブリダイゼーション結果は *H.hepaticus* の基準株との間で高い相対類似度が得られた。外部機関からの導入マウスと SPF マウスとの同居感染実験では同居 5 日後に肝、肺、腎について菌が回収されたが、10 日目以降は菌が回収されなくなった。また肝の肉眼的病変は実験期間中まったく認めなかった。ELISA 抗体価は同居 10 日目頃より徐々に上昇し同居 30 日後にはほぼ 10⁴ に達した。同居 10 日後の血液性状は感染群に赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の低下が認められたが血漿生化学値には異常は認められなかった。

非滅菌飼料給与ラットに認められた抗 Tyzzer 菌抗体陽性例

○原口心雄、杉本達也、山中敏彦、神田政典、東山 昇（塩野義・AC センター）

【はじめに】我々は、SPF 動物を用いてコンベンショナル環境(CV)の微生物学的モニタリングを実施しているが、1994 年から ELISA および CF で抗 Tyzzer 菌抗体陽性を示すラットが散見されるようになった。しかし、これら抗体陽性ラットの臨床および剖検所見に異常は認められなかった。そこで、抗体陽性ラットにコーチゾン投与して Tyzzer 病の誘発を試みた(実験Ⅰ)。また、バリア環境(BS)で SPF ラットに滅菌飼料を給与した場合には、抗体陽性例が 1 例も認められていないことから、飼料の滅菌処理と抗 Tyzzer 菌抗体との関連について実験的検討を行った(実験Ⅱ)。

【材料と方法】実験Ⅰ：CV のモニター動物として SPF ラット(4 週齢・雄の Jcl:SD および Crj:CD)を配置し、C 社の非滅菌固型飼料(非滅菌飼料)を給与した。抗 Tyzzer 菌抗体検査は ELISA[1995 年 5 月まではブレザイム(デンカ生研)、それ以降はモニライザ(わかもと製薬)]および CF[抗原、抗血清(ICLAS モニタリングセンター)]で行い、両検査で陽性の場合を抗体陽性と判定した。一部の検体については IFA を実験動物中央研究所に依頼した。抗体陽性ラットの一部には hydrocortisone acetate(萬有製薬)を 25 mg/rat/day 投与し、Tyzzer 病の誘発を試みるとともに、抗体陰性ラットと同居させた。組織学的検査として肝臓のスタンプ標本をギムザ染色後、鏡検した。

実験Ⅱ：CV で SPF ラット(4 週齢・雄の Jcl:SD および Jcl:Wistar)に非滅菌飼料または高圧蒸気滅菌(121℃、7 分間)処理した同飼料(滅菌飼料)のいずれかを給与し、抗 Tyzzer 菌抗体の出現状況を観察した。

【結果】実験Ⅰ：抗体陽性ラットに Tyzzer 病は誘発されず、抗体陰性ラットに抗体陽転例は認められなかった。組織学的検査でも Tyzzer 様の菌体は観察されなかった。

実験Ⅱ：SD ラットの非滅菌飼料給与群では給与開始後、24 週目に全例(3/3 例)が抗体陽性となった。一方、SD ラットの滅菌飼料給与群(6 例)および Wistar ラットの非滅菌飼料給与群(3 例)には 36 週間の観察で抗体陽性例は認められなかった。さらに、これら抗体陽性 SD ラットと陰性 SD ラットを 1 匹ずつ同一ケージ内で飼育(3 ペア)し、滅菌飼料で維持したところ、同居期間中(56 週間)を通じて陰性 SD ラットに抗体陽転例は認められなかった。尚、ELISA で陽性を示した血清は IFA でも陽性と判定された。

【考察】CV で出現した抗 Tyzzer 菌抗体陽性例は、飼料中に含まれる易熱分解性の成分あるいは混入物質による非特異反応である可能性が高いと考えられる。

大阪産野生マウス由来近交系MOL-SKID系統の基礎特性解析

和田あづみ、奥本正昭¹、加藤秀樹²、六車香里³、江袋美知³、都築政起⁴
(大阪府大・農、¹同・先端研、²浜松医科大・動物実験施設、³(財)実験動物
中央研究所、⁴広島大・生物生産)

【目的】MOL-SKID系統は、1991年1月に大阪府堺市学園町の大阪府立大学構内で捕獲された野生マウス(*Mus musculus molossinus*)を起源に、全兄妹交配で育成した近交系であり、1999年12月現在、近交32世代に達している。本研究では、このMOL-SKID系統の基礎特性を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】MOL-SKIDマウスの形態学的（体重、頭胴長、尾長、耳介長、および後足長）ならびに遺伝学的基礎特性（生化学的標識遺伝子座、免疫遺伝学的標識遺伝子座、およびマイクロサテライトマーカー多型）の調査を行った。各調査では、適宜他の近交系を用いて比較検討を行った。

【結果と結論】MOL-SKID系統雄マウスの生後60日齢時点での体重は $14.46 \pm 0.34\text{g}$ 、頭胴長は $7.90 \pm 0.07\text{cm}$ であり、一般的なC57BL/6Nの約60%及び90%であった。また、ほとんどの測定値は先に公表した大阪産野生マウス由来近交系MOL-SKIRとの間に有意差が認められなかった。しかし、MOL-SKID系統の尾長・頭胴長比は、C57BL/6N系統およびMOL-SKIR系統のそれらよりも小さかった（0.838 vs. 1.061, 0.887）。また、耳介長・頭胴長比はC57BL/6N系統とは有意差は認められなかったが、MOL-SKIR系統よりは有意に小さかった（0.130 vs. 0.142）。

遺伝学的プロファイルを明らかにするために調査した*Idh1*はじめ26の生化学的標識遺伝子座、および*Hc*はじめ9の免疫遺伝学的標識遺伝子座は、従来*molossinus mouse*に報告されているタイプと一致した。35のマイクロサテライトマーカーの多型性を調査したところ、一般的な近交系C57BL/6N、既存の近交系ではあるが特殊な起源をもつNC/Nga、*molossinus mouse*由来であるMOM系統、MSM系統およびMOL-SKIR系統と、MOL-SKID系統の間にはそれぞれ91.4%、85.7%、54.3%、54.3%および42.9%のマーカーに多型が存在した。

Genetic Comparison between Laboratory Rats and Japanese and German Wild Rats

Birger Voigt¹, Kazuhiro Kitada¹, Ingrid Klöting² and Tadao Serikawa¹

¹ Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University, 606-8501, Kyoto, Japan

² Department of Laboratory Animal Science, Institute of Pathophysiology, University of Greifswald, 17495 Karlsburg, Germany

The evolution of any species is a never-ending process. Wild rats on different continents may have developed a varying genetic allele pattern. Laboratory rats are already bred for a number of decades separated from their wild living type comrades. However, all of the present laboratory strains have been captured from wild living rat populations several decades ago. This prompted us to genetically examine wild rats derived from Japan and Germany. The obtained genetic profiles were compared not only among the wild rats but also between additional 48 laboratory rat strains, which data was taken from Whitehead Institute/ Massachusetts Institute of Technology (WI/MIT) rat database. In conclusion, the genetic relationships between the wild and the laboratory rats were calculated.

The most surprising finding was the number of new identified alleles. For almost 80 % of the examined loci at least one allele was not observed before in any inbred strain. Furthermore, the average percentage of polymorphic loci between Japanese and German wild rats is larger than 70 %. Finally, the data taken from the genetic similarity check allows conclusions about the relationships between wild and laboratory rats.

These results are describing allelic differences between wild and laboratory rats and the data impressively show that wild rats can be used as a gene reserve for the development of new inbred lines for genetic and other studies.

ラット・マウス・ヒト比較遺伝子地図 (第4版)の作成とその評価

○中根良文・Birger Voigt・北田一博・芹川忠夫(京大・院・医)

〔目的〕ヒトを含む比較ゲノム情報の構築・拡充は、ヒトゲノム研究の成果として得られる遺伝子の存在および塩基配列情報とマウス・ラット等の実験動物において得られる遺伝子機能情報とを有機的に連結させるものとして極めて有用である。我々は現在までに、ラット遺伝的連鎖地図の構築・拡充に取り組み、それに基づいたラット・マウス・ヒト比較遺伝子地図の作成を継続的に行ってきた。近年、Watanabeらのグループにより、ラットのRadiation hybrid (RH) マップと、それを用いたマウスとヒトの比較遺伝子地図が作成された。そこで今回は、そのラット RH マップ情報をも取り入れて、我々の最新版のマップを作成し、現状の総括、および今後の展開を考察した。

〔方法〕ラット、マウス、およびヒトの遺伝子マッピング情報は、我々のこれまでのデータ、Watanabeらのマップ、Seldinらのマップ、Mouse Genome Database、およびGenome Databaseよりそれぞれ集積した。比較遺伝子地図を作成するに当たっては、マウスの遺伝的地図を中心にして、ラットとヒトのゲノム地図を対応させた。また、ラットにおいては、遺伝子の順序についての情報も取り込んだ。

〔結果と考察〕遺伝的地図上の位置が明らかな619個のマウス遺伝子とそのラットおよびヒト相同遺伝子のマッピング情報を基にして、新たな比較遺伝子地図が作成できた。マウス全染色体長(1604 cM)の約75%において、ラット-マウス間に相同領域が見いだされた。これは、我々の以前の比較遺伝子地図における相同領域の約1.5倍に当たる。また、ラットの遺伝子の順序についての情報より、今までラット-マウス間で相同領域と考えられていた一つのラット染色体領域が、2つあるいはそれ以上のシンテニーをもつ領域に分割されると推測された。今回作成した比較遺伝子地図より、ラット RH マップは、比較遺伝子地図の作成に大きく貢献していることが確かめられた。今後、比較遺伝子地図上に残存する不明確な領域については、ラットの相同遺伝子のマッピングがさらに進められることによって明らかにされるであろう。

○村口武彦¹、北田一博¹、桑村充²、Jean-Louis Guénet³、芹川忠夫¹

(¹京大・院・医・附属動物実験施設、²大阪府大・獣医病理学、³Institut Pasteur)

〔緒言〕 qc (queue courte) ラットは、フランス・パスツール研究所において、ACI ラットコロニーより発見された尾部の形態異常と後肢の歩行異常等を呈する新たな神経系ミュータントである。この qc ラットについて、遺伝学的解析及び行動学的解析、病理組織学的解析、さらに、ラット qc 遺伝子とマウス dr 遺伝子座との相同性について検討したので報告する。

〔方法と結果〕

1. 行動学的解析：出生後の動物において、姿勢の維持に関連する立ち直り反射の発達及び行動異常の観察した。その結果、ホモ個体では、7 日齢頃に姿勢維持に関連する立ち直り反射の発達に遅れが見られた。14 日齢頃には、立ち直り反射に改善が見られたが、後肢を扇状に引き引きずって歩行する後肢の歩行異常が観察されるようになった。これに加え、頭部を左右に振りながら歩行するようになってきた。離乳できる個体も希にあるが、ほとんどの動物はそれまでに死亡した。ヘテロ個体では、何ら異常は観察されなかった。
2. 病理組織学的解析：脳を摘出、ホルマリン固定し、常法に従ってパラフィン包埋、光学顕微鏡による観察した。24 日齢および 36 日齢の qc ラットの脳を病理学的に調べた結果、qc ラットの大脳および小脳はコントロールに比べて小さく、特に小脳の発達が悪かった。組織学的にも、qc ラットの小脳は明らかに低形成であり、小葉の発達が悪かった。qc ラットの海馬は、コントロールと比べて小さく、特に歯状回の低形成が目立った。また、第 3 および第 4 脳室の脈絡叢の低形成も認めた。
3. 遺伝学的解析：マイクロサテライトマーカーを用いてラットゲノム上で qc 遺伝子の存在する領域を検索した。DNA サンプルは、(BN×ACI- qc/+)F1(qc/+)×ACI- qc/+ の戻し交雑仔 N2 及び、N2F1、N2F2 より得られた qc ホモ個体、各々 19、2、13 例の計 34 例から得た。その結果、qc 遺伝子は、ラット第 13 染色体上にマッピングされた。

〔ラット qc 遺伝子とマウス dr 遺伝子との比較遺伝子地図作成〕 qc ラットの短尾と行動異常並びに病理学的解析結果がマウス第 1 染色体上 dr 遺伝子座の shaker short-tail ミュータントに類似し、qc 遺伝子がマッピングされた領域とマウス dr 遺伝子座領域とにシンテニーがあることから、qc 遺伝子と dr 遺伝子座との相同性について検討するため、比較遺伝子地図を作成した。その結果、ラット qc 遺伝子座のマウス相同ゲノム領域に dr 遺伝子座が含まれた。

〔結語〕 新たな神経系ミュータント qc ラットの外見所見（短尾と行動異常）と病理所見は、マウス第 1 染色体上の dr 遺伝子座の shaker short-tail ミュータントに類似していた。比較遺伝子地図より、ラット第 13 染色体上にマッピングされたラット qc 遺伝子は、マウス dr 遺伝子のラットホモログと推定された。今後、dr 遺伝子の情報を基に qc 遺伝子の存在領域をせばめることを考えている。

OLETF ラットの糖尿病発症に関わるエピスタシス効果の検出

○山田宜永¹、松本耕三²、佐々木義之¹ (¹京大院農、²徳大医)

Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットはヒトインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) のモデル動物として確立されたミュータントである。これまでに我々は、このラットと正常ラットである F344 ラットとの F2 交雑子の雄 160 個体を用いることで、NIDDM 発症原因遺伝子座の QTL 解析を行ってきた。MAPMAKER/QTL プログラムを用いたインターバルマッピング法により 11 個の原因遺伝子座が第 1、5、7、8、9、11、12、14、16 番染色体上に、さらに MAPQTL プログラムを用いた MQM マッピング法によりその 11 個の遺伝子座に加え、3 個の新規遺伝子座が第 5、7、17 番染色体上に存在すると判明した。これらの遺伝子座は NIDDM 発症に対する主効果に基づいて検出されたものであり、全てロッドスコアが 2.8 以上のサジェスティブレベルに達した QTL であった。MQM マッピング法で得られたロッドスコアはインターバルマッピング法に比し、増加していた。これらの結果より、MQM マッピング法の QTL 検出力はインターバルマッピング法より優れていることが明らかとなった。一方、最近の量的形質の遺伝解析の進展から、エピスタシス効果を持つ遺伝子座を検出することが可能となっており、実際に癌発症に関わる当該遺伝子座についてはすでに報告されている。ヒト NIDDM 原因遺伝子座のエピスタシス効果についても判明している。今回、OLETF ラットの NIDDM 発症に対しエピスタシス効果を発揮する原因遺伝子座の検出を行った。OLETF ラットと F344 ラットとの F2 交雑子におけるグルコース AUC 値とマイクロサテライトマーカー座でのマーカー型とのデータを least squares ANOVA により解析することで、グルコース AUC 値に対し有意なエピスタシス交互作用を示すマーカー座の対を調査した。その結果、D7Mit27 と D14Rat1、D7Mit5 と D14Rat21、D14Rat3 と D15Rat19、および D14Rat3 と At1 との間で有意なエピスタシス交互作用が検出された。これらのエピスタシス交互作用は F2 交雑子におけるグルコース AUC 値の遺伝分散の約 40% を説明した。D14Rat1 と D14Rat3 は 2cM の距離で位置していることから、これらのマーカー近傍のエピスタシス効果を持つ NIDDM 原因遺伝子は同一のものと考えられた。D7Mit27 と D7Mit5 についても近接していることから、同一の原因遺伝子を反映していると考えられた。こうして D7Mit27 および D7Mit5、D14Rat1 および D14Rat3、D14Rat21、D15Rat19、At1 マーカーの近くに存在するエピスタシス効果を持つ遺伝子座を Nidde1-5/6 と命名した。また、D14Rat1、D14Rat3、At1 はインターバルマッピング法あるいは MQM マッピング法により検出された NIDDM 遺伝子座が存在するゲノム領域内に位置していることから、これらのマーカー近傍の遺伝子座はすでに同定されている主効果を持つ遺伝子座と同一のものと考えられた。これらの遺伝子座は double OLETF ホモ接合体であるいは OLETF ホモ接合体とヘテロ接合体の組合せで血糖値上昇に対する相乗効果を示すと判明した。

EFPIA/ECVAM の「適切な投与・採血法の手引き」

海野 隆（日本シエーリング前臨床開発研究部）

欧州連邦製薬工業協会：EFPIA と欧州代替法バリデーションセンター：ECVAM による「適切な投与・採血法の手引き “A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes”」の Draft が本年 7 月に公表されたのでその概要を紹介する。
下表はその一部である。

Table 1 Administration Volumes Considered Good Practice
(and possible maximal dose volumes)

Species	Route and Volumes (ml/kg except *ml/site)						
	Oral	sc	ip	im	iv bolus	iv (slow inj)	id
Mouse	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0.05* (0.1)*	5	(25)	0.05*
Rat	10 (40)	5 (10)	10 (20)	0.1* (0.2)*	5	(20)	0.05*
Rabbit	10 (15)	1 (2)	5 (20)	0.25 (0.5)	2	(10)	0.1*
Dog	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0.25 (0.5)	2.5	(5)	0.1*
Macaque	5 (15)	2 (5)	- (10)	0.25 (0.5)	2	(-)	0.1*

Table 2: Recommended maximum blood volumes for species of given bodyweight

Species (Weight)	Blood volume (ml)	7.5 % (ml)	10 % (ml)	15 % (ml)	20 % (ml)
Mouse (25 g)	1.8	0.13	0.18	0.27	0.36
Rat (250 g)	16	1.2	1.6	2.4	3.2
Rabbit(4 kg)	224	17	22	34	45
Dog (10 kg)	850	64	85	127	170
Cynomolgus Monkey(5 kg)	325	24	32	49	65

7.5%,10%,15%の採血時の適切な回復期間はそれぞれ 1,2,4 週間を要する。20%の採血は 24 時間以内の安楽殺する場合に有効

トリブチルスズによるラットにおける着床阻害

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部 ○原園 景、江馬 眞、川島邦夫

有機スズ化合物は農業や工業の分野で広く使われており、そのうちトリブチルスズは殺生物作用を有していることから、船底や漁網の防汚剤、農業用殺菌剤として使われてきた。先に、我々は塩化トリブチルスズ (TBTCI) をラットの妊娠初期に投与すると、妊娠率の低下（着床前胚死亡の増加）及び着床後胚死亡の増加することを報告した (Toxicol. Lett., 89, 185-190, 1996; Bull. Environ. Contam. Toxicol., 61, 224-230, 1998; Arch. Environ. Contam. Toxicol., 34, 94-99, 1998)。今回は、TBTCIによる早期の胚死亡の作用機序、特に子宮機能に対する影響について検討するために、TBTCIの偽妊娠ラット子宮における脱落膜反応に及ぼす影響を調べた。

偽妊娠0-3日（膣栓＝偽妊娠0日）にTBTCIを0, 4.1, 8.1, 16.3, 32.5mg/kg、または偽妊娠4-7日に0, 8.1, 16.3, 32.5, 65.1mg/kg経口投与した。偽妊娠4日に子宮内膜を機械的に刺激することにより脱落膜反応を誘起し、偽妊娠9日の子宮重量を脱落膜反応の指標とした。

偽妊娠0-3日にTBTCIを投与したとき、偽妊娠9日の子宮重量および血中プロゲステロン濃度は投与量の増加とともに減少し、16.3mg/kg以上の投与量で有意に減少した。しかし、卵巣重量にはTBTCI投与による変化はみられなかった。偽妊娠4-7日にTBTCIを投与したとき、子宮重量および血中プロゲステロン濃度は投与量の増加とともに減少し、16.3mg/kg以上の投与量で有意に減少した。卵巣重量に変化はみられなかった。

以上のことから、TBTCIは偽妊娠ラット子宮における脱落膜反応を抑制することが明らかになった。さらに、妊娠ラットに投与したとき着床前胚死亡率の上昇及び着床後胚死亡率の上昇が観察されたのと同じ投与量のTBTCIを偽妊娠0-3日または偽妊娠4-7日に投与したときに偽妊娠ラットにおける脱落膜反応が抑制されたことから、TBTCIによる早期の胚死亡には少なくとも子宮の脱落膜反応の抑制が関与していると考えられた。

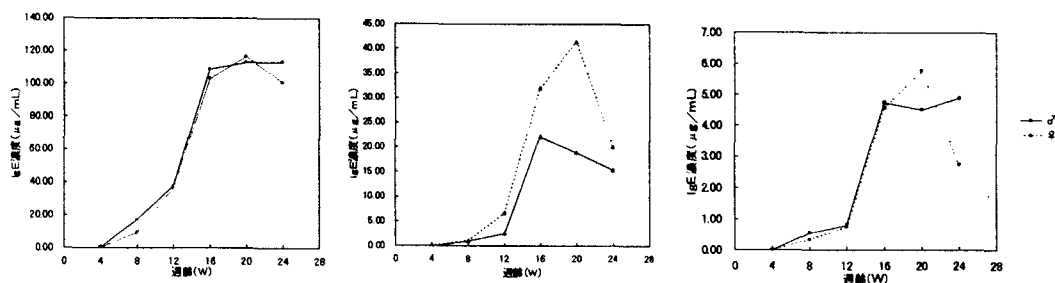
アトピー性皮膚炎モデル、NC/Ngaマウスの血中IgE値 —その経時的变化および市販IgE測定キットの定量性の比較検討—

河田昭彦、佐藤紀子、村松美由起、村松浩二、内山長久、飯田晶敏
(日本エスエルシー株式会社)

NC/Ngaマウス（NCマウス）はコンベンショナル環境下において7～8週齢頃から自然発症性の皮膚炎がみられ、その臨床および病理組織像の特徴から、ヒトのアトピー性皮膚炎のモデルとして注目されている。同時にこのNCマウスではヒトのアトピー性皮膚炎と同様に血中IgEの上昇が見られる。本報告では、NCマウスの血中IgE濃度を市販3社の測定キットを用いて測定し、その経時的推移および3キット間の定量性を比較検討した。

コンベンショナル環境下で飼育した4、8、12、16、20および24週齢の雌雄NCマウスを用いた。動物数は各週齢とも雌雄各5例とした。各週齢時にマウスの下大静脈から採血し、その血清について「PharMingen's OptEIA™ Mouse IgE Set」（PharMingen社）（以下PMキット）、「マウスIgE測定測定キット「ヤマサEIA」（ヤマサ醤油(株)）（以下ヤマサキット）、「モリナガマウスIgE測定キットELISA Mouse IgE Kit」（(株)森永生科学研究所）（以下モリナガキット）を用いて血中IgE濃度を測定した。

NCマウスの血中IgE濃度は、雌雄とも8週齢時から16週齢時にかけて上昇し、16週齢時にピークに達した後、高値のまま推移した。また、血中IgE濃度に性差はみられなかった。一方、血中IgE濃度の測定値に各キット間で大きな差がみられ、モリナガキット<ヤマサキット<PMキットの順で高値を示した。この差異は各キットに使用されているIgE標準品のクローンが異なることから、その抗IgE抗体である固相抗体および酵素標識抗体に特異性が生じることと起因すると考えられた。また、各キット間の測定値には相関性が認められた。



1) PMキット

2) ヤマサキット

3) モリナガ

NCマウスの経時的血中IgE濃度推移

富士ドライケムを用いて測定した血清生化学値の特徴 —慢性腎不全自然発症マウスモデルについて—

○木下明美, 堀川洋子, 竹中やよい, 田島 優, 黒澤 努 (阪大・医・動物実験施設)

[はじめに]

従来の試験管を用いた液状試薬と液状試料を反応させるウェットケミストリーは操作が煩雑であり、ドライケミストリーと比較すると数倍から数十倍の検体量を必要とする。マウスやラット等の小動物を用いる研究では、採取できる血液量は少なく、多種項目の検査や経時の変化を追求する実験では検査項目が制限される。さらにウェットケミストリーでは測定原理から反応時間を長く設定しなければならないものも多く、少数検体の測定でも長時間を要する。そこで、一項目の検体量が少なく、反応時間の短いドライケミストリーを検討した。このシステムは展開層、試薬層、透明支持体からなる多層フィルム方式のスライドに検体を 10 μ l 自動点着するものである。

[材料および方法]

今回検討したドライケミストリーシステムは富士ドライケム (FUJI DRI-CHEM 3000V) である。まず本システムの直線性を検討した。蒸留水で牛血清アルブミンを希釈し、濃度と希釈率の比例関係を検討した。ついで、サブラインの近交化途上の 2 週齢以上の慢性腎不全自然発症マウス系統の血清について、血中尿素窒素値、クレアチニン値、総タンパク値、アルブミン値、総コレステロール値およびトリグリセロール値を富士ドライケムと和光純薬の測定キットで測定した。血液はケタミン-キシラジン混合薬の腹腔内投与による全身麻酔下で心臓から採取し、遠心分離して血清を得た。この血清は測定まで -20℃ で凍結保存した。

[結果]

牛血清アルブミンのアルブミン値について 希釈を行い測定した結果、ある程度の直線性が保たれていることが分かった。富士ドライケムと和光純薬の測定キットで測定した血清生化学値に良い相関関係が認められた。

また慢性腎不全自然発症マウス系統については、homo 群の血清生化学値に慢性腎不全の特徴が見られた。すなわちタンパク量の変動として総タンパク値およびアルブミン値の低下が見られた。腎機能の指標として血中尿素窒素値およびクレアチニン値は漸次上昇した。さらに血清中の脂質である総コレステロール値およびトリグリセロール値は週齢とともに上昇する傾向を示した。

[考察]

今回腎不全自然発症モデルマウスで、血清生化学値の変化を観察し、慢性腎不全の特徴的なパターンを見い出せたことからモデルマウスの近交化を進めるうえで、即時検査が可能であるというドライケミストリーの特長は有用であると考えられた。

家族性てんかんシェルティー犬の臨床的、神経生理学的 および病理学的研究

森田剛仁, 池田繁生, 島田章則, 日笠喜朗¹, 竹内崇², 大濱栄作³, 柴原壽行⁴
(鳥取大・獣医・病理,¹同・内科,²同・生理,³同大・医・脳神経病理,⁴同・動物実験)

【はじめに】てんかんは、神経細胞の過剰な興奮により反復性の発作性神経症状を主徴とする慢性の脳疾患であり、発作の発生機序に関しては未だ不明な点が多い。当教室では突発性に全身性発作を生じ、それが数日から数ヶ月の寛解期を経て発作を反復する特発性家族性てんかんシェルティー犬の家系を獲得・維持し、臨床的、神経生理学的および病理学的に検索した。

【材料と方法】

1) 内科学的検査(家系犬6例): 一般血液検査、血液生化学的検査など。2) 病理学的検索(家系犬発作重責後死亡例5例): 全身諸臓器10%ホルマリン固定、パラフィン切片作製後、HE染色及び免疫組織学的検索(抗ヒトGFAPモノクローナル抗体使用)を実施。3) 脳波検査(家系犬6例): 国際式10-20法により、生後経時的にキシラジン(1.0 mg/kg, i.m.)鎮静下で実施。4) 脳内アミノ酸の検討: ①脳脊髄液内(家系犬6例、正常シェルティー犬4例): 混合深麻酔下、大後頭孔より採取。高速液体クロマトグラフィー電気検出器(HPLC-ED)によりグルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸、アスパラギン、アルギニン、グリシン、タウリン、GABA、スレオニン及びアラニンを定量。②*in vivo* 脳実質内(家系犬5例、正常シェルティー犬4例): フローセン深麻酔下にて、過換気状態あるいはてんかん賦活薬(メチパール)投与後、前頭葉皮質からマイクロダイアリシス法によりサンプル採取。HPLC-EDによりグルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸、アスパラギン、アルギニン、グリシン、タウリン及びGABAを測定し、各アミノ酸の変動を検討。脳波測定を同時に実施。

【結果】1) 本例の発作の特徴は全身性硬直性けいれんで、流涎、失禁などを伴っていた。1回の発作時間は2-3分で、発作の頻度は1-10回/月と症例により差があった。追跡調査より雌雄共に発症例を確認。発作の頻度は初期には夜間から早朝に高く、発作を反復するに従い昼間にも発生する傾向があった。血液生化学的検査で著変を認めなかった。2) 病理学的検索の結果、急性神経細胞壊死及びグリオーシスが前頭葉皮質に高頻度に認められた。扁桃核および海馬神経細胞の変化は軽度であった。奇形、形成異常などは無かった。3) 脳波検査の結果、発作初期には鋭波及び棘波が前頭葉優位に確認され、発作を長期間反復した症例では、程度に差はあるもののそれらが頭頂葉および後頭葉にも検出された。4) 家系犬の脳脊髄液内スレオニン値が高値を示した(家系例: 549.35 ± 72.94 nmol/ml、対照例: 301.71 ± 87.51 nmol/ml)。5) 家系犬1例において正常換気から過換気状態(血中PCO₂: 15-25)に移行した時に高振幅鋭波の群発および棘波の散発が記録された。過換気状態ではグルタミン酸、グルタミン及びGABAの値が上昇した。他の家系犬および対照例では各アミノ酸の著明な変動を認めなかった。

【考察】①脳波所見より、本家系の発作焦点は最初は前頭葉であり、発作を反復するうちに発作の焦点が広汎性になると考えられた。②病理組織学的に前頭葉皮質の神経細胞が広範に壊死していることは、発作焦点を考える上で興味深い。③家系犬1例の大脳前頭葉における異常脳波出現と一致し、前頭葉皮質のグルタミン酸過剰産生を疑う所見が得られた。本所見は現時点では他の家系犬には認められていないが、今後検索を重ね検討する必要がある。一方、発作焦点に関しては大脳前頭葉深部(扁桃核など)に電極を挿入することにより真の発作焦点を確認し、同時に脳脊髄液内のスレオニン高値の意義についても検討して行く予定である。

イヌを用いたパターンリバーサル刺激による視覚誘発電位検査

○尾崎 潤一郎, 桑村 有規, 谷本 憲昭, 久世 博 (田辺製薬 安全研)

視覚誘発電位 (Visual Evoked Potential, VEP) は閃光刺激あるいは図形反転刺激によって誘発される脳電位で, 視神経から大脳皮質視覚野に至る視覚伝導路の異常を検出するための指標として期待されている。しかし, 動物における VEP 検査では, 一般的に閃光刺激が用いられることが多いが, 個体差が大きく, 結果の再現性に乏しいという問題があった。

今回, 個体差が比較的小さいといわれている図形反転刺激による VEP 検査法(PR-VEP)を無麻酔下のビーグル犬 (1 才: 8 例, 11~12 才: 4 例) を用いて検討した。その結果, 若齢犬 8 例中 6 例で明瞭な P1 が認められ, パターンの格子サイズが小さくなるに連れて (45 mm, 22 mm, 11 mm), P1 の潜時は延長し (平均 60, 66, 72 msec; $n=6$), P1 振幅は格子サイズ 22 mm で最大となった (平均 10 μ V, $n=6$)。VEP 波形の形態は個体毎で様々であったが, 個体内では経日のおよび経時的検査において, 高い再現性が確認された。一方, 老齢犬では, P1 潜時が平均 86 msec (格子サイズ: 22 mm) と, 若齢犬と比較して延長していた。加齢による P1 波の潜時延長はヒトにおいても認められている。また, 老齢犬 2 例の P1 振幅は若齢犬の約 2 倍高かった。これら 2 例の老齢犬では, 閃光刺激 VEP 検査においても光過敏性てんかん患者でみられるような巨大な誘発反応が認められたが, 行動観察, 前眼部検査, 眼底観察, 網膜電位図(ERG), 網膜および視神経の組織学検査において異常は認められず, 今回みられた VEP の変化の意義について特定することはできなかった。

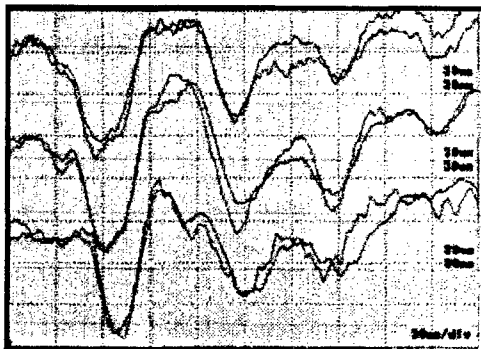
以上のことから, 無麻酔下のビーグルを用いて PR-VEP 検査を実施および評価することは可能であると判断される。

PR-VEP 代表波形

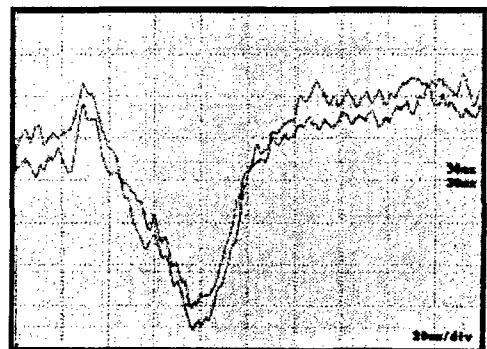
若齢犬: 上から格子サイズ 45 mm, 22 mm, 11 mm

老齢犬: 格子サイズ 22 mm

若齢犬



老齢犬



マウス乳癌の多臓器転移実験モデル

○森本純司¹、広石伸互²、前田 環³、森 浩志³

(¹大阪医大・実験動物センター、³同・2病理、²福井県立大・生物資源)

制癌研究においては、癌転移の克服が最重要課題となっており、癌転移研究の推進ならびに転移抑制物質の探索には適切な転移実験モデルが不可欠である。従来、転移研究における動物実験モデルとしては、B16メラノーマ細胞を用いた実験系が有名であるが、多種多様な癌に対応するためには、いろいろな臓器癌の転移実験モデルが必要である。

我々は以前から乳癌に注目し、いくつかの乳癌細胞株や乳癌高発・高転移マウスを作製したが、転移臓器は限られ、肺がほとんどであった。しかし、新たに樹立したマウス乳癌細胞株（BJMC338）をBALB/cマウスに皮下移植した中に、リンパ節に転移するものが見出された。リンパ節転移実験モデルを作製すべく、リンパ組織、胸腺、肺等の転移巣を細切し、移植針を用いて、皮下移植→リンパ節等転移巣→皮下移植を繰り返した。

その結果、皮下移植3代目、移植2ヶ月でリンパ節に59%（13/22）、肺に91%（20/22）、移植4代目でリンパ節に80%（16/20）、肺に80%（16/20）、胸腺に60%（12/20）、肋骨/肋間筋に60%（12/20）、その他肝、腎、脾、卵巣にも転移巣が肉眼的に認められた。移植宿主（BALB/c）における腫瘍の生着・増殖および転移率に雌雄差は認められなかった。移植8～10代においては、リンパ節、肺、胸腺、肋骨/肋間筋に高頻度（70～100%）に転移が認められ、脾、肝、腎、卵巣にも4～38%の転移が肉眼的に観察された。現在、移植11代に達しているが、さらにこの移植を繰り返し、より高頻度の安定した転移実験系の確立を目指している。

一般に、ヒトの乳癌はリンパ節や骨転移が多いと言われているが、マウス乳癌においては転移が見られても肺がほとんどであり、リンパ節転移は少ない。まして、多臓器転移はめずらしい。この転移実験モデルが確立されれば、ヒト乳癌に近いモデルとして有用である。

ネフローゼ自然発症ICGN(nep)マウスを用いた 糸球体における α -SMA消失についての検討

堀川洋子、澤嶋効、木下明美、田島優、黒澤努
(大阪大学医学部附属動物実験施設)

<はじめに>

ネフローゼ自然発症マウスICGN系が慢性腎不全を発症することに着目し、病態解析を進めている。本系統ホモは離乳直後3週齢から糸球体硬化(diffuse mesangial sclerosis)が観察され、6週齢にはほぼ確立する。14週齢からは病理組織学的に尿管際管間質線維化が観察されるが、発症の時期、程度にばらつきが見らる。尿管管間質の線維化を安定させるため、本系統ホモに尿管管間質線維症作成実験モデルである片側尿管結紮術を施した。片側尿管結紮術を施した本系統ホモでは尿管管間質線維症の亢進だけでなく、結紮側の腎において糸球体硬化の軽減と糸球体における α SMA陽性細胞(筋線維芽細胞)の減少が観察された。今回は糸球体の変化について報告する。

<方法>

6-8週齢のICGNマウス(ホモ、n=6)を用いた。ケタミン-キシラジン混合薬の腹腔内投与による全身麻酔下で腹部正中切開し、左側尿管を2箇所結紮後、切断した。手術前:0日目、術後2、4および7日目に剖検、採材した。HE染色、免疫染色(α SMA:筋線維芽細胞のマーカー、細胞外マトリックス:フィブロネクチン、ビメンチン:足細胞、フォンビルブランドファクター:血管内皮細胞)を行った。糸球体の病理組織は左腎の尿管結紮側と右腎の対側とで比較した。さらに、14週齢のホモにも左側尿管結紮を施し、7日目で剖検、採材し、糸球体の α SMAについて左腎の尿管結紮側と右腎の対側とで比較した。

<結果>

- 1) 6週齢ホモ群において対側腎糸球体と比べ、尿管結紮側腎糸球体における α SMAおよびフィブロネクチンが減少することが観察された。
- 2) 6週齢ホモ群において左腎尿管結紮側腎糸球体を構成する細胞数と対側腎糸球体を構成する細胞数との間に有意差は認められなかった。
また、足細胞、血管内皮細胞についても尿管結紮側腎糸球体と対側腎糸球体との間には有意差は認められなかった
- 3) 14週齢ホモ群において対側腎糸球体と比べ、尿管結紮側腎糸球体における α SMAが減少することが観察された。

<考察>

糸球体硬化はメサングウム細胞が筋線維芽細胞に非可逆的に形質転換することでおこる病態とされてきた。筋線維芽細胞は細胞外マトリックスを産生、沈着させ、糸球体硬化を促進する。今回の結果からは、片側尿管結紮下の腎糸球体では筋線維芽細胞が観察されなくなり、細胞外マトリックスの沈着も軽減した。また、糸球体の血管腔が開く像が観察された。この変化は糸球体を構成している細胞数の種類、数に変化が認められないことから、筋線維芽細胞がメサングウム細胞に戻った可能性が考えられた。最終文化型とされてきた筋線維芽細胞の性質について検討をする必要があるように思われる。

また、糸球体の変化は6週齢および14週齢ホモにおいても観察されたことから、ある条件下では糸球体硬化が軽減する可能性があると考えられた。

加齢による WHHL ウサギ血清コレステロールの低下のメカニズム

塩見 雅志, 伊藤 隆, 田村 敏昌, 山田 悟士 (神戸大学医学部附属動物実験施設)

【目的】 WHHL ウサギでは血中コレステロールの異化が遺伝的に障害されているにもかかわらず, 加齢にしたがって血清コレステロールが低下する. そのメカニズムを, コレステロール代謝酵素, 血漿リポ蛋白リパーゼ, 超低比重リポ蛋白 (VLDL) の肝からの分泌速度および血中からの異化速度について検討した.

【方法】 3月齢, 6月齢, 12月齢, 24月齢の WHHL ウサギを用いた. 血清脂質値の測定には各月齢 8 匹のウサギを, コレステロール代謝に関する測定には各月齢 4 匹のウサギを使用した. リポ蛋白は超遠心法で分画し, 脂質値は酵素法で測定した. 肝ミクロゾームは超遠心法で分画し, ミクロゾーム分画の HMG-CoA 還元酵素 (コレステロール合成の律速酵素) の活性は [^{14}C]メバロン酸の合成速度から, ACAT (コレステロールエステル化酵素) の活性は [^{14}C]cholesteryl oleate の合成速度から, cholesterol-7- α -hydroxylase (胆汁酸合成の律速酵素, C7H) の活性は 7- α -hydroxy-4-cholesten-3-on の生成速度から算出した. ミクロゾーム分画および肝臓のコレステロール含量は Folch 法で抽出して酵素法で測定した. 血中のリポ蛋白リパーゼ活性はトリオレインを基質として遊離脂肪酸量を測定し, リポ蛋白リパーゼ (LPL) と 肝性トリグリセリドリパーゼ (HTGL) の分別には 1 mol NaCl を使用した. 肝からの VLDL の分泌速度は Triton WR-1339 静注後の VLDL 脂質の増加速度から算出し, 血中からの VLDL の異化速度は血漿中 VLDL プールと VLDL 異化速度から算出した.

【結果】 血清コレステロールは加齢にしたがって 3月齢の 916 ± 177 mg/dL (平均値 $\pm$ 標準偏差) から 24月齢の 508 ± 55 mg/dL に低下した ($P < 0.01$). この低下は VLDL (98 ± 48 vs. 49 ± 19 mg/dL, $P < 0.01$) および 低比重リポ蛋白 (680 ± 115 vs. 393 ± 46 mg/dL, $P < 0.01$) の低下に依存していた. 肝ミクロゾームの酵素活性では, 加齢によって HMG-CoA 還元酵素の活性が上昇し (2.93 ± 0.90 vs. 7.11 ± 0.42 pmol/min/mg protein, $P < 0.01$), ACAT 活性が低下した (66.6 ± 20.8 vs. 30.1 ± 11.7 pmol/min/mg protein, $P < 0.05$) が, C7H の活性には差が認められなかった (5.91 ± 1.45 vs. 5.00 ± 0.92 pmol/min/mg protein). また, ミクロゾーム中コレステロール含量 (12.3 ± 2.5 vs. 10.6 ± 1.9 μ g/mg protein) および肝臓中コレステロール含量 (2.51 ± 0.32 vs. 2.32 ± 0.12 mg/g wet tissue) にも差が認められなかった. 血中の LPL 活性 (0.19 ± 0.04 vs. 0.19 ± 0.09 μ mol FFA/min/ml) および HTGL 活性 (0.05 ± 0.02 vs. 0.06 ± 0.01 μ mol FFA/min/ml) にも有意な差は認められなかった. 加齢によって, VLDL-コレステロールの肝からの分泌速度は低下し (36.4 ± 8.4 vs. 17.9 ± 3.0 mg/hour, $P < 0.01$), 血中からの異化速度は上昇した (0.31 ± 0.16 vs. 0.56 ± 0.19 mg/hour, $P < 0.01$).

【結論】 加齢による WHHL ウサギの血清コレステロールの低下には VLDL-コレステロールの分泌の低下と血中からの異化の亢進が関与していると考えられた.

< 第65回研究会（平成12年3月3日） >

テーマ：「実験動物の国際化を巡って」

1. 実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向

黒澤 努（大阪大・医・動物実験施設）

実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向

大阪大学医学部附属動物実験施設

黒 澤 努

はじめに

実験動物は科学者畜とも呼ばれるごとく、科学の進展には欠くことのできない研究の資源である。とくに生きた試験管とも呼ばれるとおり、バイオメディカルリサーチの根幹をなすものである。これなしにはバイオメディカルリサーチの進展はありえなかったであろうし、今後の発展も望めない。他の科学に用いられる資材との違いは生きているという点であり、これはダイナミックに変化していることを意味する。また実験動物のなかでも医学では哺乳動物が多く使われるが、これは医学が対象とするものも哺乳動物のヒトであるから極めて自然の成り行きである。しかし、使われる実験動物がヒトに近縁であると、一般の方々に同情心がわき起こり、とりわけ霊長類では実験動物福祉の考え方にもとづく倫理的な取り扱いが求められる。培養細胞も生きてはいるが、この倫理的に扱わねばならぬという点で実験動物とは異なる。また細胞は培養液中で継代されるので環境のコントロールは容易であるが、実験動物は通常の空間で、極めて近縁ではあるが微生物学的統御などが全くなされていないヒト（研究者）によって利用されることから、微生物を含む環境の統御が極めて難しい実験資材と考えられる。

実験動物飼育管理基準

科学目的の実験資材であるから国際的に同じ品質のものが使われて当然である。しかし、上記のような理由から、これまでの実験動物はその品質だけでなく、取り扱い方についても国際的な標準化はなされていなかった。その一方医薬品の安全性試験は製薬企業が国際化するにつれ、各国で同じ成績が求められるようになった。まず医薬品の安全性試験の実験データの取り扱い方法が国際標準化された。これがG L Pである。G L Pの一部には動物実験も含まれるため、その実験動物の品質についてもG L Pでは規定しなけりばならなかった。ところが実験動物の品質は単にその動物を検査するだけではならず、その飼育管理方法をも規定し、検査しなけりばならなかった。このためG L Pでは試験実施機関の査察が行われるようになったが、実験動物の合理的な飼育基準がしめされねば、査察官の恣意によって査察の結果は大きく異なることとなる。したがってG L Pが真に国際化するためには国際的に認められた実験動物品質基準および飼育基準がなければならぬこととなる。しかしそうしたものはこれまでには存在していない。唯一あるのは医療用具の安全性試験の国際標準I S O / T C 1 9 4 が作成した文書が存在する。正式な名称はI S O 1 0 9 9 3

ー 2 である。この文書中では実験動物の品質だけでなく倫理的に扱う方法についての標準が示されているが、肝腎のその品質の確認方法、および品質維持のための飼育管理方法に関しては、国際的な標準が見いだせなかったため、詳細はのべられていない。

米国では早くから N I H が研究費を支給する研究機関に実験動物の管理および使用に関する基準を遵守するように呼びかけていて、きわめて明確な実験動物施設の管理方法が基準化されている (ILAR 1996 の基準)。この中では詳細な実験動物施設管理基準が記述されていて、これまでは厳格な最低限遵守すべき数値などが（たとえばケージのサイズ）記述されていたが、最新版の改訂を機にこうした数値は科学的妥当性がある場合は各研究機関で定めても良いとすることとしている。その一方、研究機関の責任体制を明確にするように規定している。これは米国では動物福祉法に基づいて研究機関は動物実験委員会を組織することとなっているので、そこが多くの科学的判断を下せるようにするとともに、その委員会が良く機能するように考えられたものであろう。とはいえ、そうした委員会には専門家の参加を義務づけていて、さらにそれら専門家の意見が十分反映されるような規程となっていることから、実質的には専門家による科学的判断を重視する体制を支持しているものと見られる。

実験動物医学専門医

実験動物の飼育管理基準では最後まで専門家の手による管理が必要になることから、米国では早くから実験動物医学専門医 (DACLAM: Diplomate of American College of Laboratory Animal Medicine) を養成し、実験動物の品質および動物実験施設の管理を委ねるような仕組みが完成している (<http://www.aclam.org/>)。この実験動物医学専門医はすでに 720 名の登録がなされていて、その協会では実験動物学会とは独立して研究会を定期的に行っている。さらに管理されるべき実験動物施設も専門家による査察制度が充実し、多くの有力研究機関が、第三者である査察機関 (AAALAC International: Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) の査察を受け入れ、その認証をもって動物実験施設の管理の適切性を証明してきた。とうぜんこうした査察機関には多くの実験動物医学専門医が参加している。

欧州では E C の統合問題が持ち上がったときからすでに E C Directive として実験動物の飼育管理方法の基準を 1986 年に発布している。実験動物に関しては欧州実験動物連合 (F E L A S A: Federation of European Laboratory Animal Science Associations) が実質的に E C 標準を作る専門家集団と目されているが、実験動物医学の専門家は存在していない。しかし、F E L A S A を中心としてすでに E C L A M (European College of Laboratory Animal

Medicine)の組織作りが開始されており、来年にも専門医が誕生する見通しである（ごく最近行われた米国実験動物学会の展示ブースにて来年から専門医の認証を行うことが公表された。<http://www.eclam.org/>）。欧州の動物実験施設の認証はAAALAC Internationalがすでにブラッセルに事務所を開設し、いくつかの有力製薬企業の研究所がすでに認証されている。ちなみにアジアでもすでにAAALAC Internationalの認証を受けた研究機関がフィリピン、韓国、台湾に誕生している。

わが国では実験動物の飼育管理方法の基準は、強いて言えば実験動物の飼養と管理に関する基準があるが、実質的な基準とはなりえずまた、成立してから改正がなされておらず、現行の動物実験それも高度先進的な動物実験を行うための基準としてはほとんど機能していない。旧動管法が動物愛護管理法として改正されたのを機に、明確な基準の策定が望まれる。幸い実験動物医学の専門家については日本実験動物医学会（<http://hayato.med.osaka-u.ac.jp/index/societies-j/jalam-j.html>）が認定医を養成するためのファウンダーの認定を開始し、昨年より専門医が誕生している（DJCLAM: Diplomate of Japanese College of Laboratory Animal Medicine）。これは欧州より3年早く世界で米国に次ぎ2番目に実験動物医学の専門医制度が確立したこととなる。すでにECLAM、JCLAMともにACLAMに代表団を派遣して、相互協力を行う体制が整いつつある。ECLAMはまだ専門医が誕生する前からACLAMに対して相互認証を申し入れていることから、これが実現する可能性も大きい。JCLAMでは本年新たに11名の専門医が誕生し、現在43名の専門医が活躍を開始している。実験動物の国際化という点で、我が国の最も大きな欧米との違いは実験動物施設の査察制度の有無であろう。わが国ではどの産業においても、伝統的に自社内での点検、あるいは同業組合内での点検が一般的であり、また世間もそれを重視してきた。しかし、国際的にはこの方式は通用せず、独立した第三者機関の査察、認定が常識となっている。したがってわが国にもこうした実験動物医学専門医を交えた何らかの動物実験施設査察認定機関の設立が望まれる。

国際実験動物施設認定協会 (AAALAC International)
<http://www.aaalac.org/>

AAALAC Internationalは当初、米国内の実験動物施設の認証団体として1960年代から活動を開始している。これがECの統合により欧州にも実験動物施設認証システムが必要になったことを受けて改称し、国際組織へと変貌した。欧州ではすでに大手の製薬企業の実験動物施設が認証されているが、先述のごとく、アジアでも数カ国の機関が認証をうけている。こうして現在世界10カ国以上の国で600機関以上が認証されている。さらに、AAALAC

International は、すでにアジア事務所の開設プランを作っている。しかし、我が国ではどの機関もまだ認証を受けていない。したがって実験動物の国際化に極めて緊急性があるとするならば AAALAC International の認定を受けることも視野に入れる必要がある。そこで AAAALAC International の査察認定制度について解説する。

外国の認定機関の査察には言語の問題がつきまとう。文書類はすべて英語で記載しなければならないだけでなく、査察を受ける場合は施設従業員が査察員の質問に答えなければならない。また諸外国での認証制度というのは極めて厳格に運用され権威があるだけにその認定料はわが国の水準から考えると極めて高価である。これは査察認定が専門家により行われ、その専門家雇用経費が高いことも関係している。わが国では専門家に高額な対価を支払うという習慣が一般化しておらず、容易に受け入れられるかどうかは明らかではない。AAALAC International ではまず認証を行う前にそれぞれの機関が認証され得るのかどうかの判断が行えるよう、査察を伴わない、書類による実験動物施設管理体制の審査およびアドバイスを行う事業を開始した。これは単に機関の実験動物管理基準を書式にしたがって記載するだけなのでさほど困難なものではない。また英語による書類の提出というのが困難な機関に対しては自国語での記述も可能としている。当然翻訳はどこかでやらねばならぬが、それはすべて AAALAC International が外注しておこなうこととしている。したがって、この翻訳料を負担さえすれば日本語による事前審査はうけられることとなった。さらに AAALAC International は多数の外国人を Ad hoc Consultants として任命し、実際の査察の多くの部分を各国語でも行える準備を行っている。我が国でもすでにこれが任命され、現在最低 2 名の査察員は日本語を普通に話すことができる。これらのことを勘案すると我が国で AAALAC International の認定を受ける土壌は完成したと言っても良い。しかし、わが国ではなにかの認定というのは概ね国家機関が行うことが多かったことから、第三者機関の認定にあまり馴染みがない。今後、我が国の実験動物施設がこうした国際的な認証を受けるのか、あるいは同様な組織を作って独自に実験動物施設の管理体制の認証を行って行くのか、いずれにせよ、なんらかの基準に基づいてそれが実行されていることを示すような仕組みが必要となろう。これが実験動物の国際化の第一歩となることは疑いがない。

今後の見通し

こうしているうちに米国と欧州では実験動物飼育管理基準についての標準化についての検討が始まった。わが国にはそれに匹敵する基準がないので、現在のところその席にはついていないようである。これはとくに EC の実験動物飼育管理基準の見直しと連動している可能性がある。実際 ISO/TC 194 で

は実験動物の品質などにつき新たな文章の作成が提案されたが、ECのこの見直し作業が終わっていないので時期尚早とされた。2000年の12月までにこれが終了されるとされている（関西実験動物研究会で発表した後、新たな情報によれば、ECのこの見直し作業はかなり遅れて当初の本年中の改訂は不可能になり1、2年遅れるとのことである。

さらに実験動物の品質については米国実験動物学会科学委員会が国際標準化の必要性を認め、遺伝学的品質と微生物学品質に関するWGを発足させた。現在このWGにはわが国からは日本実験動物医学会の理事が参加しているが、日本実験動物学会もこうしたWGに加わるべきであるとして、近々呼びかけることとなっている。

すでに米国FDAはそれまで実験動物施設の飼育管理基準に関してはGLP内で規程していて、とくに他の認証を受ける必要は表明していなかった。しかし、異種移植が現実のものとなりはじめたことから、それに関するガイドラインを作成し、その中で異種移植のソース動物はAAALAC Internationalのような組織に認定された機関由来のものに限るとした。現実には国際的に実験動物施設を認証しているのはAAALAC Internationalしか存在せず、当面は米国では異種移植のソース動物はこうした認証された機関からのみ供給されることとなる。逆にいえば我が国で極めて将来性のある実験動物に由来する細胞、器官、臓器などが開発されても、米国ではそれらの臨床試験は行えないこととなるのかもしれない。

こうしてみると実験動物の品質および実験動物施設の飼育管理方法の基準に関してはわが国は国際的には極めて整合性のない状態に陥っている。しかし、国内にいるものの目から見れば、実験動物の品質は遺伝的にも微生物学的にも極めて高い水準にあると考えられる。ごく最近米国で発生した大規模なコロナウイルス病事故は、わが国ではその厳格な管理と相俟って起こっていない。TG動物の移動による感染症の拡大に関しても、現在は水際でなんとか防疫体制が整っているようで、大事故は発生していない。とするとわが国の実験動物関係者が作り上げてきたシステムは国際的に当然評価されるべきである。いまこそ日本の実験動物関係者は積極的に国際会議に参加し、われわれの築いてきた実験動物科学の手法を国際標準として認めるようはたらきかける必要がある。そのためにも現在まで行われてきた実験動物の飼育管理基準を明確な文書にまとめ、動物実験施設は査察認定を積極的に受けることが必要となる。

< 第66回研究会（平成12年6月2日） >

テーマ：「医薬品開発の前臨床試験における新しい動向と国際戦略を考える」

1. 医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方

松澤 利明（山之内製薬（株）信頼保証本部薬事部）

医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方

松澤 利明 山之内製薬(株)

2000年6月2日大阪大学医学部銀杏会館で開催される第66回関西実験動物研究会の講師の要請を受けた。指定された演題は「医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方」であった。この研究会のイメージに合わないと思ったので、幹事の海野 隆先生（日本シェーリング(株)）に問いかけたところ次の3つについて解説するようにとの示唆を得た。

- 1) . ICHの成果を受けて世界的に実験動物を用いる前臨床試験がどのように変わってきたか、また今後どのように変わっていくか。
- 2) . 国際的な政治的経済的な力関係や動物福祉、バイオテク医薬品の開発などから今後、日本および世界の前臨床試験がどのように変わっていくか。
- 3) . 日本における安全性試験を中心とした前臨床試験施設が縮小閉鎖されていく動きの中で、今後研究者・技術者の雇用の場として拡大し得る分野があるか。

これら3つの課題の回答は極めて難しい。なぜなら、日本の医薬品産業は、激動の渦中にあり、全く不安定な社会的・経済的環境下にある。そのため職場環境の悪化をよぎなくされている方々も少なくない。回答が正解であったとして、それが良い方向を指しているとは限らないので、今回の講演は話題の提供に留めたい。

1. 医療と医薬品

1) 世界の医薬品市場推移

1998年の資料によると日本市場は世界の医薬品市場の16%を占めていたが、医療費抑制策のため3年連続で薬価切り下げが行われている。日本製薬企業は全くの虚弱体質となり、手持ちキャッシュフローが目減りしている。一方、海外市場は伸びている中で日本市場だけが成長なく、2005年には10%まで落ち込むとされている（表1）。そのため、日本製薬企業の各社は、益々巨大企業との格差が広がっている。日本製薬企業の幾つかは、外国企業に買収される場合も出てきている。かなり危機的状態ではあるが、日本製薬企業は生き残るため、R&Dの費用比率を高めて市場の伸びが期待される欧米へ進出せざるを得ない。

日本製薬企業の傾向は数年前から欧米での臨床開発にみられている（表2-3）。

1) R&Dを取り巻く環境

世界に伍していくには、まず、創薬の探索の技術革新を推進しなければならない。グローバル化の進展には、ICHの新GCPの実施、ICH-E5による外国データの相互受け入れ、開発速度を迅速に遂行しなければならない(図1)。臨床開発の速度をはやめるため、研究開発費の増大は避けて通れないし、キャッシュフローが必要である。従って、企業のリストラの進行が図られている。元来のリストラは人員整理を主目的とするのではなく、R&Dの機能が競争出来る体制を再構築するためのものである。

3) 医薬品産業のR&Dインフラの整備

官庁から公表されている資料によると、産官学共同研究の推進、ベンチャー企業の育成（基礎研究の強化、ゲノム研究基盤の整備等）および治験環境の整備等のR&Dインフラの整備が必要であるとされている。行政の思惑通りに医薬品産業が成長できるのか、視界は全く開けていない。

4) 21世紀—製薬産業の展望

21世紀—製薬産業の展望として、高齢化・少子化社会および生命科学の時代の2つのテーマが取り上げられている。

1) 高齢化・少子化社会では、医療費の抑制と医療の質の向上がテーマである

解決策は医療技術の革新および新医薬品の研究開発であるといわれている。新医薬品は医療技術革新の担い手であるとの位置づけてある。

2) 生命科学の時代では、裾野の広い生命科学産業の中核をなす製薬産業は、

科学技術創造立国を目指す日本に相応しい産業といわれている。欧州のスイスや英国などは半世紀以前から国の政策・社会環境が整備されている。日本では早急に取り組むべき課題であると思われる。

2. 医薬品産業の規制に関する国際調和会議（ICH）

ICHは、10年前、新薬の開発及び承認申請のための技術的要求の国際的ハーモナイズを

目的としてMCA/FDA主導型で始まった。関西実験動物研究会では、ICHのトピックが、過去に数多く取り上げられていると聞いている。1991～1998年の活動期であるICH-1～4をPhase-1と称し、各地域の既存ガイドラインのハーモナイズのために協議された。まず、重複を避けるため、Down sizing/Down scalingを主体として来た。イヌ単回投与試験（日本）、イヌの慢性毒性試験の9カ月投与期間設定（12カ月要求：米国）あるいはウサギの生殖毒性試験の使用動物数が増加した例外を除けば比較的最適化されているが、各地域の運用は様々である。究極の目的は、資源の軽減、開発費の節減および開発期間の短縮などを実装することにより新薬を一日も早く患者へ届ける事である。

開発期間の短縮は、規制当局の審査期間の短縮なくして実現するものではない。そのためPhase-2のICH-5では主要なトピックとして、コモンテクニカルドキュメント（CTD）／申請資料作成様式・要領がハーモナイズの対象である。全てのICH地域において申請されるであろう技術情報のパッケージを共通するための検討が進められている。いずれ電子媒体を用いての申請体制に移行する。一方、Phase-1で合意したガイドラインの内容の維持と改定が検討されている。また、将来、混乱を避けるための維持の仕組みを設定の在り方も検討されている。今後、日本の規制当局の真価も問われるであろう。Phase-2におけるICHの枠組みは、研究開発型企業＋ジェネリック＋OTCの参画となった。ICH地域の17カ国にWHO加盟（191カ国）の代表が加わりICHメカニズムの拡大と普及が展開されている（図2）。

1) ガイドラインには寿命・賞味期限がある

ガイドラインには賞味期限があると思う（図3）。それは科学の進歩に追いつけない、科学を支える背景・環境の違いによる地域差が生じる、および言語や文化の違いにより解釈あるいは運用に差がでるためである。従って、メンテナンスあるいはフォローアップが必要となる。そのため、ガイドラインの最適化する事を常に考える事になる。その場合に、不要なものを切り捨てサイズの縮小、スケールの短縮、およびそれを補完できるものを模索しなければならない。拡大解釈や運用の誤用を生むガイドラインは存在しない方がよいと思う。したがって、ガイドラインを制定する場合はタイムリーにどのようなメンテナンスするのか、そのメカニズムとオペレーションを同時に考えておく必要がある。これがICHのコンセプトである。

2) ICHと前臨床試験

前臨床試験は、毒性、薬理および薬物動態の領域から成り立っている。候補化合物の物性の情報なくして試験はできないため前臨床試験の検討項目に加えるべきである。創薬段階の物性分析で何をすべきかはケースバイケースで早めに決定して対応する事により、薬物動態とともに候補化合物の絞り込みに間違いなく貢献するはずである。

医薬品の研究開発段階 (Drug Development Stage) は、いろいろの分け方があると思うが、そう簡単に創薬が見つかるわけではなく、探索・育薬段階の技術革新をより効率的に進める事が求められている。医薬品の開発期間 (Drug Development Times) (Table 4) には地域差があり、また企業サイズによっても異なる。欧州の調査期間の調べによると日本では14年間、欧米の巨大企業では10年半、欧米の中小企業では12年半が必要である。したがって、研究開発期間の短縮はR&Dの命題であり、特に日本製薬企業にとって全くの有余はない。そのために何をすべきかは、前演者の堀井郁夫先生 (日本ロシュ株) が紹介された通りである。

3. 実験動物と動物福祉

貴研究会は実験動物の研究・動物福祉などの専門家集団である。実験動物と動物福祉の話題は釈迦に説法になると思われるので、切り口を変えて話題を提供する。実験動物の研究者・技術者が個々に特性を活かされて、洗練された専門家になる事が前提にあると思われる。

1) 動物の保護及び管理に関する法律

周知のように動物の保護及び管理に関する法律が、日本でも昨年末改定されました (表5)。家畜と実験動物が改定の対象にならなかったことは、ユーザーおよびブリーダーがそれなりに動物の保護と管理を適正に行われていると社会的に認知されたものと思われる。すなわち、実験動物施設には、倫理委員会および適切なSOPがあり、健全な運営がされていると云えよう。

2) 動物の管理と使用に関する米国連邦の規制

動物の保護及び管理に関する法律は、各国の文化・社会・宗教的背景により、その内容がかなり異なるため科学的背景だけでは議論できない。その国の法律を熟知しておくか、必ず事前に現地の専門家と相談する事が重要である。この分野では、米国連邦の規制が比較的科学的根拠に富んでいるので、実験動物に関する情報(Table 6)を集め理解しておく事が望ましい。欧米のCROへ、特に非げっ歯類を用いる毒性試験を外部委託する際には、その国の動物保護法に遵守することが肝要である。また、テロ活動を伴う動物愛護団体、例えばPeople for the Ethical Treatment of Animals(PETA)などの存在を十分認識してトラブルに巻き込まれないよう注意することが必要である。

3) 動物実験代替法

動物実験代替法については、周知のようにSubstantial Goal of “3Rs”としてRefinement、Reduction、およびReplacementで成り立っている。実験動物を用いた試験を計画・実施する際には心掛ける必要がある。日本製薬工業協会加盟会社の現状については、この会場にご出席の甲田 彰先生(住友製薬)および橋本正晴先生(藤沢薬品工業)方によって調査結果が公表されている(文献1)。In vitro toxicity testingの目的は単に、動物福祉だけでなく、いくつかの理由がある事が上げられている。主な代替試験系では、初代培養細胞を用いているケースが多いし、また生殖毒性では、全胚培養系を用いているなど様々である。また、どのような毒性試験に通常あるいは時々in vitro試験が実施しているか調べたところ、肝毒性、腎毒性、眼の刺激性試験などが実施率が高った。ご存知のように代替法のフレームワークは図4、代謝試験系は図5に示すごとくである。

4) 実験動物使用数

前演者の堀井先生のところで、フロアから質問がありましたので、急遽医薬品研究開発の先進国の英国の状況を示す。Table 7にはNumber of scientific procedure in the UK by speciesを見て頂きたい。どのような分野に使われているか分かると思う。Table 8は英国における1989年と1997年の使用動物数の比較を示したデータである。詳細は脚注の文献を見て頂きたい。今後の実験動物の使用推移するか大体の予想がつくと思われる。動物使用数の増加要因は、種々の疾患モデル動物の作出およびヒトへ外挿するために必要な試験

の増加、また、減少要因は、企業再編に伴う研究開発型企業数の減少（領域の絞込み）、ICHに伴うグローバル化（試験系・試験法の標準化・統一化）（試験の最適化）、探索研究の技術革新（動物実験代替法）および試験材料の多様化などが上げられる。日本では使用動物数がどのように推移されているのでしょうか。

4. 前臨床試験と動物技術者

医薬品における非臨床試験の業態・機能は、

1) 要員について、毒性・病理・薬物動態・薬理・安定性・規格試験法の専門家（研究者・技術者）が必要である。試験のマネジメントは試験責任者が行い、試験の立案および実施に関する責任と権限を有す。そのため彼らの恒常的教育と訓練はかなり重要である。試験組織のマネジメントは運営管理者が行い、権限の集中と委譲をきちんとする事が大切である。

2) 試験組織について、研究者・技術者の役割分担を明確にした上で相互に協力できる環境をつくるのが肝要である。経験・要員数・技術水準などのバランスのとれた構成が必要である。

3) 試験水準について、グループの試験水準を高く維持するSOPを備えなければならない。試験遂行における試験責任者と部門間の係わりをFig. 6に示す。組織と機能を円滑に運営できれば試験の信頼性も高まる。

特に、反復投与試験、生殖毒性試験、癌原性試験等のように多数の動物を扱う試験は、日本の大学等では教育・訓練しておらず日本の製薬企業独自あるいはCROによって今後とも高い実験技術水準の維持が必要である。

1) 研究と試験

医薬品の研究開発は様々な規制の上に成り立っており、試験の信頼性確保も重要になっている。アカデミアの先生方も出席されているので、試験を受託する際は、事前に委託者から申請資料として利用するか、単なる研究なのか確認して頂きたい。医薬品の販売・製造など許認可の申請資料論文と学術論文の違いは、申請資料論文・試験では、正確性、妥当性及び安全性が重視される(表9)。学術論文では、科学性と斬新性を重視するため、信

信頼性確保に欠ける点があるといわれている。「試験」の性質、責任の大きさ、技術水準および現実的影響力は「研究」のそれと異なる。前臨床試験の信頼性確保の重み付けは、試験のコンセプトと位置づけにより異なると思われる（図7）。しかし、試験の信頼性確保は必須である。アカデミアの先生方のご理解・ご協力よろしくをお願いしたい。

2) 動物臨床化学値とアーチファクト

昨年日本実験動物学会のセミナーでは、イヌを用いる反復投与毒性試験の説明の中で、イヌにおける臨床化学検査値のアーチファクトについて発表した。ここではラットについて2～3紹介する。詳しくはオリジナル論文あるいは小生執筆の論文を読んで頂きたい（文献2，8）。例示は採血およびその後測定までのアーチファクトである。Table 10にはカリウムの測定値を示めず（文献3-5）。元来カリウム濃度は種差がないが、抗凝固剤を使用して迅速に血漿を分離して直ちに測定すれば、カリウムを豊富に含有する赤血球からリークしないため測定値は高くない。同様な事は血小板でも見られる（Table 11、文献6）。Table 12には凝固系のAPTTの検査値を示す。ラット血漿を冷蔵保存するとその値は延長する（文献7）。このように測定値はFalse negativeな結果を生み出す可能性がある。アーチファクトと背景データは、洋の東西を問わず対照群との比較に支障ないとして無視されることがある。しかし、試験の信頼性確保のためには、アウトソーシングされる際、そのCROのデータにアーチファクト含まれているか否かを事前に調査しておく必要がある。

また、アルカリフォスファターゼおよびアルブミンの測定試薬および装置はヒト用を用いているため測定原理に大きな差がなくとも測定値には同じラットの血液試料と思えない程の差が見られている（文献8、表13-14）。このようなことから日本臨床化学会動物臨床化学専門委員会では、プロジェクトを作り検討している。また、国際的にもアピールするため座長の海野 隆先生は一昨年マレーシアのクアランパールで環太平洋・アジアの臨床化学会に出席し、Inter-laboratory assurance program of clinical chemistry parametersについて講演されている（文献9）。臨床化学検査では、精度管理も重要な業務である。

5. 医薬品研究の過去・現在・未来

1) 20世紀の主な薬の発見・発明

製薬協がまとめた資料（山崎1999）を引用しますと表15および表16のようになる。

2) The top ten therapeutic classes in 1998

1998年、世界の市場で多く使用されている医薬品はTable 17のように抗潰瘍剤がトップ、次が抗脂血症薬、抗うつ薬の順である。しかし、次ぎの10年間同じように推移することはないと思われる。1997年米国製薬工業協会（PhRMA）の調査では、バイオ医薬品はEP0が28%、insulinが18%、GSFsとinterferonがそれぞれ15%である（Fig. 8）。

3) 医薬の研究開発の未来予測

医薬の研究開発の未来予測は表18-19に示すごとくである。堀井先生のお話のようにゲノム創薬研究開発は始まっており、うまくツールを使用すれば研究開発の効率化ができるようである。ゲノム創薬の開発研究は図9に示すようなプロセスで進むと思われる。バイオ医薬品はFig. 10に示すように伸びると言われている。米国FDAによるとバイオ・ゲノム創薬による医薬品の申請が20-30%を占めている。

6. 医薬品のR&Dの技術革新

医薬品のR&D期間は10年間と長時間のためベストの条件で実装することが極めて重要である。そのため技術・時間・人材の不足はアウトソーシングを迅速に行い、ベストコンディションを維持する事である（図1、Fig. 11）。最近ではCROビジネスも盛んになっている（Fig. 11-12）。豊富な情報と優秀な技術があっても適切なマネジメントと早い決断なくして、良い製品を作り上げることは困難である（Fig. 13）。

探索創薬期における戦略的方策（Strategic Management of Drug Discovery）はファルマコゲノミックス（Pharmacogenomics）による標的治療の新しいアプローチ（A new approach to targeting therapies）である。Pharmacogenomicsを正確に読み取り臨床試験プログラムを作り上げ、シミュレーションを繰り返した後実装する事である（図9）。

1) ゲノム創薬の育薬期

ゲノム創薬には、それに適した創薬薬物動態および創薬毒性を同時に検討する必要がある。候補の選択を適正にする (Optimizing Drug Candidate Selection) ためには加速のための方策 (Techniques for Accelerating) と High-Throughput ADME and Toxicology Screens の技術のレベルアップが必要である。

2) 開発期間の短縮

既に述べたように開発期間の短縮ためには Seamless Development が必要である (Fig. 13-14)。いかにして、より早く Fast Track to First in Man を実現する事が肝要である。開発候補物質、特に NCE's の開発途中での脱落要因は PK が 56%, Animal Toxicology が 16%, Commercial が 7%, Adverse in Man が 14%, および Other が 7% と云われている (Kennedy 1997)。そのため各社、PK に傾注する事は避けられない。化合物の絞り込みは第 1 に PK、第 2 に CYP などの酵素などの生化学手法、そして第 3 に遺伝子多型 (SNP's) などの順番に段階的に行うと思うが、いずれ順番が逆転する可能性も充分考えられる。

Preclinical Safety Evaluation Program to Enable First Dose to Man Studies については、多くの先生方によって紹介されている。ご存知のことであると思う。現実的には、新しい NCE の text article は最小限 GLP/GMP 対応の体制を整備する。製剤研究は時計のまわり始まりが原薬より遅いけれども、欧米での臨床試験規模は大きいので早めの規格設定と供給体制づくりも必要である。毒性試験では遺伝毒性、単回投与毒性、用量設定試験を含む反復投与毒性が必要である。薬理試験では薬理作用のメカニズムと安全性薬理が必要である。そして、薬物動態と薬物代謝が必要である。

3) 特許期間

究極の目的は良い新薬を迅速に患者に届けることである。そのためには Fast Track to First in Market の実現であり、特許期間をいかに活かすかでもある。Patent Expire なるかなり前に、ピークセールを早く実現する事とそれを長く維持する (Peak Sales Period) ことが製品のもつ宿命でもある。The clock is ticking. 競争の原理として時間管理がすべてに優先する。

4) 危機管理

医薬品の研究開発における危機要因 (Risk Factors in Pharmaceutical R&D) は前述したが、再度整理すると、特に探索創薬期における危機 (Drug Discovery Risk) にはPatent position、effective patent life、R & D focusのずれ・ぼけ、Access to new technologiesの遅れ・気負い、Predictive powerの不足・偏りを認識して危機管理に対処しておく事が大切である。そのためには目利きのできる人材が必要である事とデジタル情報とそれを裏付ける技術革新が必要であり、同時にリスクマネジメントをマイクロとマクロの場面できちんを行うことが大切である。巨大製薬会社のグラクソのDr. Tarbitは新技術時代のエンジンを提示して新モレキュラー探索のためフルパワーで邁進することを提示している (Fig. 15)。

5) 国の投資と支援の要望

明治維新と同じように国の投資と支援なくしてミレニアム・21世紀の医薬品産業は、科学技術創造立国を目指す日本に相応しい産業には育たないと思う。特に、非臨床試験段階の加速のためには、創薬に有用な情報のデータベースの構築およびヒト組織を用いた非臨床試験の実施 (研究資源としてのヒト組織バンクの設立と社会環境の整備) を重点的に行うために一日も早く実現して貰いたい。

謝辞

座長の海野先生ありがとうございました。日本製薬工業協会発行のニュースレター、海外ニュース、研究資料、Capsule等から説明の図表を利用・作成させて頂きました。ありがとうございました。

7. 文献

- 1 Matsuzawa, T., Koda, A., and Hashimoto, M. *et al.* 1998. Current Status of Conducting Alternative Testing to Mammalian Toxicity Studies in the JPMA, *Altern. Animal Test Experiment.* 5, 162-172
- 2 Matsuzawa, T., Nomura, M. and Unno, T. 1993. Clinical pathology reference ranges of laboratory animals. *J. Vet. Med. Sci.* 55: 351-362.
- 3 Ito, S., Matsuzawa, T., and Saida, M. *et al.* 1998. Time and temperature effects on potassium concentration of stored whole blood from four mammalian species. *Comp. Haematol. Int.* 8:77-81.

- 4 Caisey JD, and King D J.1980.Clinical chemical values for some common laboratory animals. Clin. Chemi. 26: 1877-1879..
- 5 Wolford, S. T., Schroer, R. A. and Gohs, F. X. 1986. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. J. Toxicol. Environ.Health. 18: 161-188.
- 6 Matsuzawa, T. and Ishikawa, A. 1993. The effect of preanalytical conditions on lactate dehydrogenase and creatine kinase activities in the rat. Comp Haematol Int 3: 214-219.
- 7 Tabata, H., Nakamura, S. and Matsuzawa, T. 1995. Some species differences in the false prolongation of prothrombin times and activated partial thromboplastin times in toxicology. Comp Haematol Int 5:140-144.
- 8 Matsuzawa, T., Hayashi, Y. and Nomura, M.*et al* 1997. A survey of the values of clinical chemistry parameters obtained for a common rat blood sample in ninety-eight Japanese laboratories. J. Toxicol. Sci. 22: 25-45.
- 9 Unno,T., Matsuzawa,T., Nomura,M., Hayashi,Y. and Furuya,T.1998. Inter-laboratory assurance program of clinical chemistry parameters

表 1 世界の医薬品市場推移 (兆円)

年	1996	2000	2005
北米	12.37	15.91	20.50
欧州	10.41	12.99	17.03
アジア・アフリカ	3.95	6.28	11.07
日本	6.34	5.68	6.27
南米	2.48	3.71	6.14
合計	35.55	44.47	61.01

出典：長期ビジョン研究会 1998年

表 2 在米日系製薬企業の米国における
臨床段階での研究開発状況

臨床合計 (品目数)

調査	総計	P-1	P-2	P-3	NDA
92年	45	13	22	8	2
98年	56	25	15	14	2

製薬協海外ニュース98-6

表 3 在米日系製薬企業の研究開発の進行形式

	合計	P-1	P-2	P-3	NDA
日本先行	37.5	18.8	18.2	72.7	100
国内外同時	22.5	18.8	27.3	27.3	0
米国先行	32.5	56.2	36.3	0	0
欧州先行	7.5	6.3	18.2	0	0
合計	100	100	100	100	100

製薬協海外ニュース98-6

Table 4 Development Times for NCE's

From synthesis to launch (years)

	Japanese	Other Western	Major Pharma
Synthesis to P-1 start	5.0	3.5	2.5
P-1 start – P-2 start	1.5	2.0	2.0
P-2 start – First pivotal dose	2.5	2.5	2.0
First Pivotal dose–Submission	2.5	2.5	2.5
First Submission to Launch	2.5	2.0	1.5
Total	14.0	12.5	10.5

表5 動物の保護及び管理に関する法律

主な改正点 1999年12月

- 動物（家畜・実験動物を除く）取扱業者に対する規制の導入
 - 実態把握のための知事等への届出の義務付け（違反には罰則）
 - 必要な場合の立入検査、基準に違反した場合の改善勧告・命令
- ペット等の殺傷や遺棄の防止—罰則の強化による取締の有効化
 - 対象に爬虫類を追加
 - みだりな殺傷や安易な遺棄が犯罪であることの周知
- 飼主の責任の強化と適正な飼養のための指導や普及啓発の推進
 - 飼主の繁殖制限への指導の強化
 - 名札等による飼主の明示への努力義務

Table 6 ANIMAL CARE AND WELFARE: USA

- Active IACOC
- Trained technical staff
- Compliant with the guide
- Management's role
- Who is on the IACUC, training
- USDA report
- Vet monthly inspection reports
- Animal vendor inspection reports
- How often are cages changed
- Microbial analysis

Table 7 Number of scientific procedures in the UK by species (1989).

Use for medical/veterinary product groups

	Efficacy, metabolism nutrition and other	Toxicity	Total
Mouse	87.9%	12.1%	870,643
Rat	79.5	20.5	491,606
Rabbit	24.4	75.6	81,899
Dog	53.5	46.5	9,804
Primate	47.0	53.0	3,674

Parkinson & P. Grasso, 1993: Human & Experimental Toxicology ; 12. 99-109

Table 8 Number of scientific procedures in the UK by species

Use for medical/veterinary product groups

	1989	1997
Mouse	870,643	1,517,888
Rat	491,606	636,694
Rabbit	81,899	44,996
Dog	9,804	7,240
Primate	3,674	2,013

Parkinson & P. Grasso, 1993: Human & Experimental Toxicology ; 12. 99-109

表9 医薬品開発における試験の重要性

研究とは	試験とは
• 性質 - 探索的 • 責任の大きさ - 個人 • 繰返し確認 - あり • 技術水準 - 低～高 • 現実的影響力 - 間接的	• 性質 - 実証的 • 責任の大きさ - 国／企業 • 繰返し確認 - ない／あり • 技術水準 - 高 • 現実的影響力 - 直接的

Table 10 Blood Potassium Levels (mmol/L)

	Ito <i>et al</i>		Wolford <i>et al</i>	Caisey <i>et al</i>
	Plasma	Serum#	Serum	Serum
Dog	4.0	4.3	4.7	4.4
Monkey	3.9	4.7	5.2	4.1
Rabbit	4.0	4.2	5.4	6.0
Rat	3.9	4.8	6.6	4.5

#:blood coagulation accelerator

Ito *et al*, 1999: Comp Haematol Int

Table 11 GOT, GPT, LDH, CK and ALP activity in lysed platelets

No. of platelets 10 ⁶ /U1	lysed	GOT IU/l	GPT IU/l	LDH IU/l	CK IU/l	ALP IU/l
0.68		1	N	26	N	N
3.4		6	N	143	41	N
6.8		12	N	283	104	N
13.6		24	1	566	251	N
68		120	5	>2000	1285	0.4

N:no activity

Matsuzawa & Ishikawa, 1993: Comp Haematol Int 3:214-219

Table 12 Activated Partial Thromboplastin Time (sec) after storage at 4°C

	0 hr	1	2	4	8	24
Mouse	23.2	23.2	23.2	22.9	23.7	24.0
Rat	16.7	17.7	19.2	20.2	21.2	27.3
Rabbit	25.5	26.0	26.1	26.6	26.0	26.4
Dog	12.0	12.0	12.0	12.3	12.3	12.2
Monkey	21.9	21.5	21.9	22.6	23.4	24.9
Human	27.3	29.8	30.0	31.4	32.2	31.2

(Tabata *et al*.1995: Comp. Haematol. Int.)

表13 ラット血清アルカリフォスファターゼ* 活性, IU/L

測定原理	n	Mean	S. D.
全体	98	386	125
Kind-King 法 a	2	121	50
JSCC 準拠 b	6	564	71
IFCC 準拠 b	6	218	69
SSCC 準拠 b	27	392	87
GSCC 準拠 b	42	434	89
その他 b	15	275	107

a: フェリリン酸基質法、 b: p-ニトロフェリリン酸基質法

Matsuzawa *et al.* 1997: J. Toxicol. Sci.

表14 ラット血清アルブミン濃度, g/dl

測定原理	n	Mean	S. D.
全体	97	3.2	0.7
電気泳動法	11	3.1	0.1
BCG (A 社)	23	3.9	0.4
BCG (B 社)	27	2.5	0.2
BCG (その他)	36	3.4	0.5

Matsuzawa *et al.* 1997: J. Toxicol. Sci.

表15 20世紀の主な薬の発見・発明

- 1901: 副腎髄質からアドレナリンをホルモンとして分離
- 1903: ジエチルバルビツール酸の催眠作用を発見
- 1906: 降圧作用をもつ神経伝達物質アセチルコリンを発明
- 1910: 化学療法薬サルバルサンを発明
- 1911: ビタミンB1(オリザニン)を発明
- 1914: 強心作用をもつジギトキシンを発見
- 1921: インスリンを発見・分離
- 1928: 青カビから抗生物質ペニシリンを発見
- 1935: 感染症の治療薬サルファ剤プロントジルを発明
- 1939: 合成鎮痛薬のペチジン発明

山崎幹夫1999: Capsule No. 63/Nov. p. 2-7, JPMA

表16 20世紀の主な薬の発見・発明 つづき

- 1942: 化合物ナイトロジェン・マスタードが抗がん薬として利用される
- 1944: 土壌菌からストレプトマイシンを発見
- 1945: 副腎皮質ホルモンが発見され、リウマチの治療薬作用を発明
- 1953: ウイルスを抑制するインターフェロンが発見される
- 1954: インド蛇木から降圧作用をもつレセルピンを発見
- 1963: 非ステロイド系鎮痛・消炎薬インドメサジンを発明
- 1965: 発病のメカニズムの研究から降圧薬の β ブロッカーを発明
- 1976: 胃酸分泌を抑制するヒスタミンH2拮抗薬シメチジンを発明
- 1982: 遺伝子組換え技術によるバイオ医薬品のインスリンを発明
- 1990: アデノシンデアミラーゼ欠損症患者に対して遺伝子治療を行う
- 1997: 遺伝子操作技術によるクローン羊が誕生

山崎幹夫1999: Capsule No. 63/Nov. p. 2-7, JPMA

Table 17 The top ten therapeutic classes in 1998
(IMS Health report)

Therapeutic class	1998 sales (\$billion)	% growth vs 1997
Anti-ulcers	12.9	+ 3
Cholesterol & triglyceride reducers	9.8	+20
Antidepressants	9.4	+21
Ca-antagonists	8.7	+ 1
Cephalosporins	6.8	- 1
ACE-inhibitors	6.5	+ 4
Non-narcotic analgesics	6.2	- 4
Antirheumatic non-steroidals	5.3	+ 4
Antipsychotics	3.9	+30
Broad spectrum penicillins	3.8	+ 4
Total	73.8	+ 7

表18 医薬の研究開発の未来予測

- 2007: HIVワクチン開発
- 2008: 痛風の原因遺伝子解明
経口投与で有効なインスリン開発
- 2009: エイズの治療法が実用化
マラリアワクチンが普及
- 2010: ウイルス性肝疾患の治療薬が普及
ある種の癌の発生を予防する医薬の開発
- 2011: 動脈硬化の発症機構の解明
癌に有効な生物学的・免疫学的治療法普及
- 2012: 癌の転移機構の解明

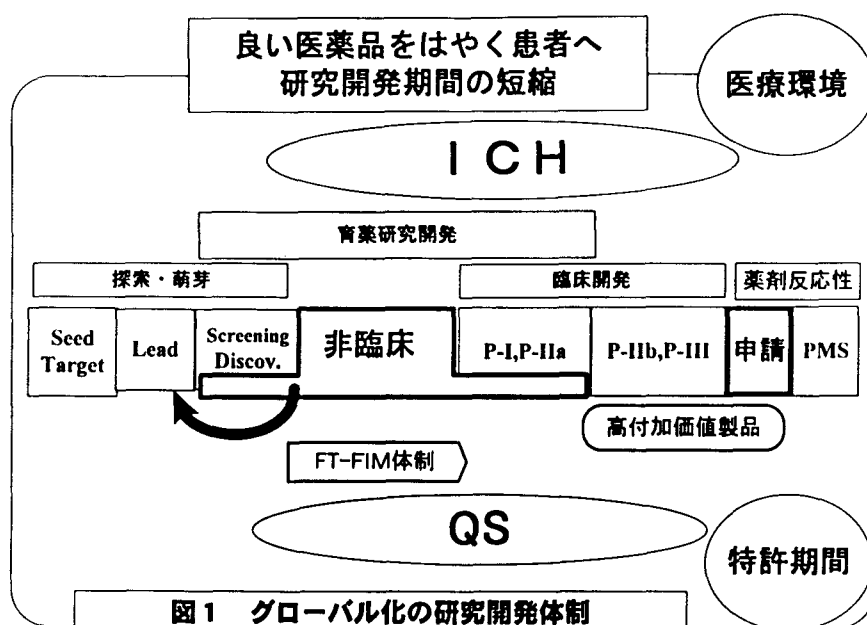
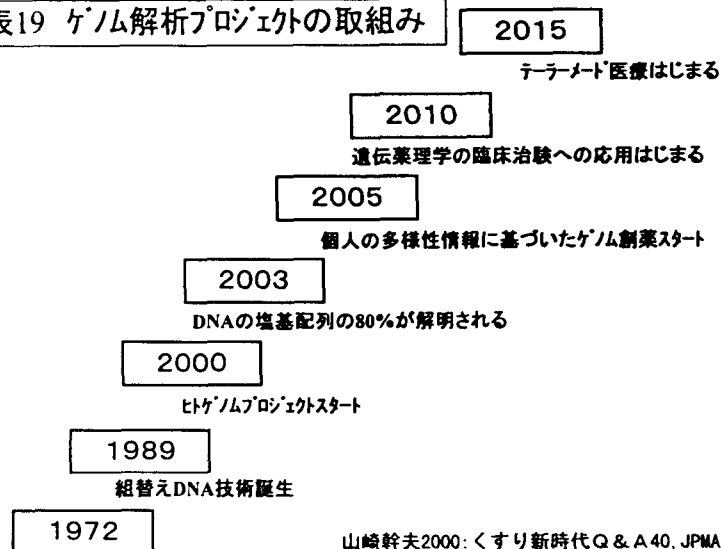
資料: 科学技術庁「第6回技術予測調査」から抜粋

表18 医薬の研究開発の未来予測 つづき

- 2013: 全ての癌の5年生存率が70%を超える
癌化機構の解明
- 2014: 悪性腫瘍に対する遺伝子治療の普及
- 2015: 薬物を脳内の目的部位に移行させる方向の開発
- 2016: アルツハイマー型痴呆症治療可能に
実験動物に代替する完全なテスト法開発
- 2018: アレルギー性疾患完治可能
精神分裂症を完治させる治療法開発
- 2020: 遺伝子治療が内服薬で可能に

資料: 科学技術庁「第6回技術予測調査」から抜粋

表19 ゲノム解析プロジェクトの取組み



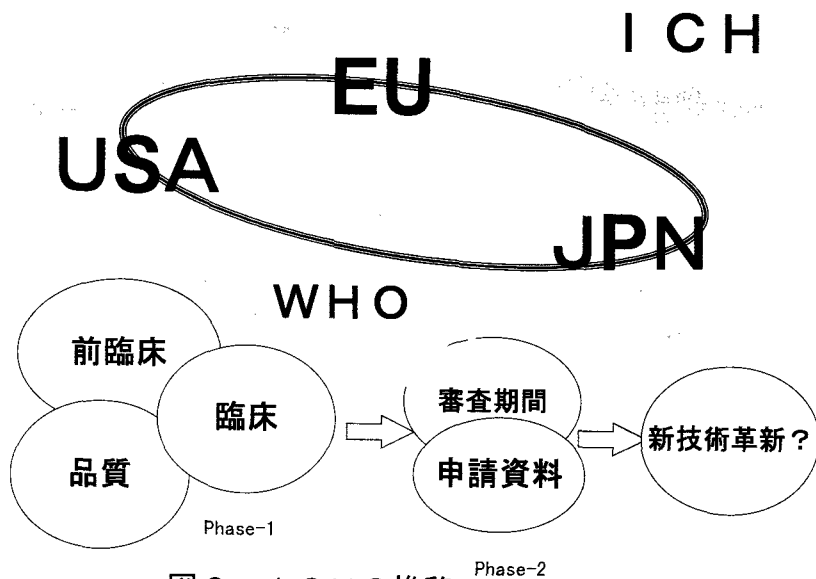


図2 ICHの推移

ガイドラインには寿命・賞味期限がある

- ・科学の進歩
- ・地域差
- ・解釈

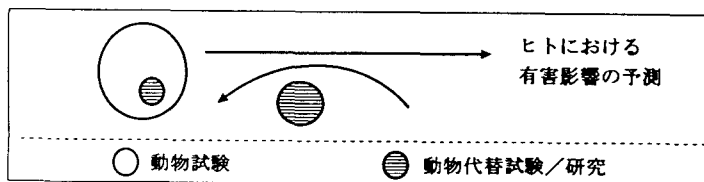


メンテナンス・フォローアップ
が必要

ガイドラインの最適化

- ・サイズの縮小
- ・スケールの短縮
- ・補完

図3 ガイドラインのコンセプト



現行の毒性試験

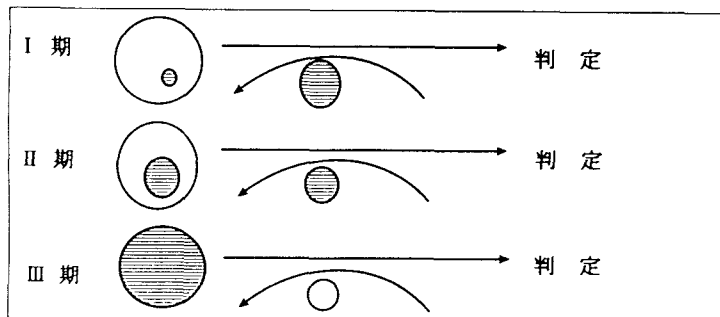


図4 動物代替試験開発の方策

図5 種々の薬物代謝試験系

In Vivo

- (1) 莫大な時間、費用、労力が必要である。
- (2) 動物種間の差が無視できない。
- (3) 動物での試験結果を、ヒトへ外挿することが困難である。
- (4) 大量の動物を犠牲にすることに対する論理的な問題。

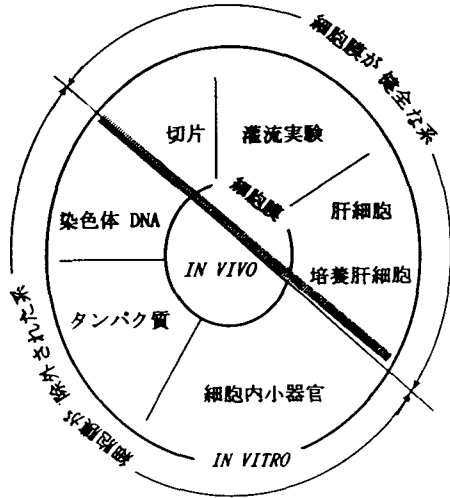
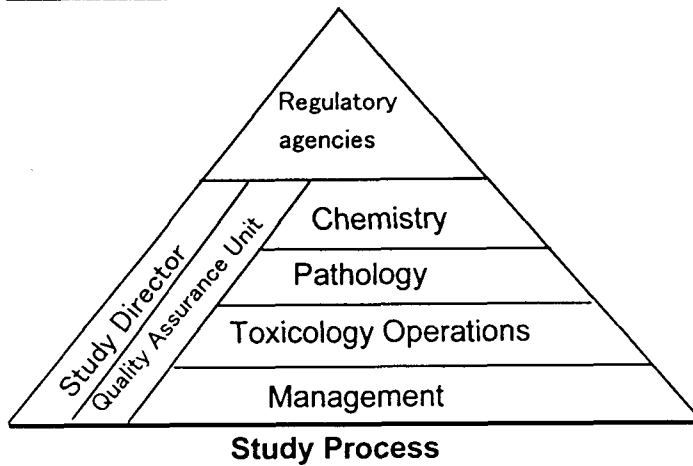


Fig. 6 Study Conduct Relations



All work is a process. Studies are driven by study directors, performed by technical staff, monitored by Quality Assurance, and supported by management.

図7 信頼性確保の重み付け

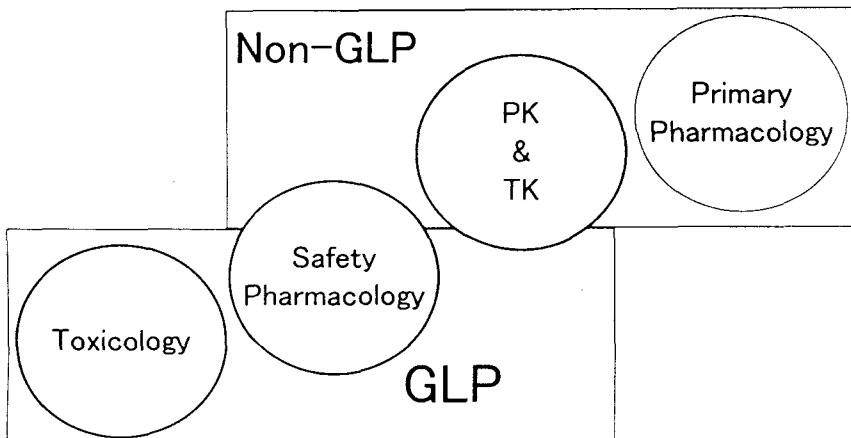
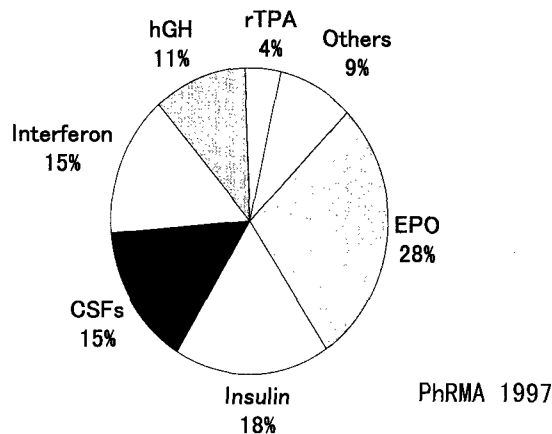


Fig. 8 Biopharmaceuticals
Market Segmentation 1997



PhRMA 1997

図9 ゲノム創薬の研究開発

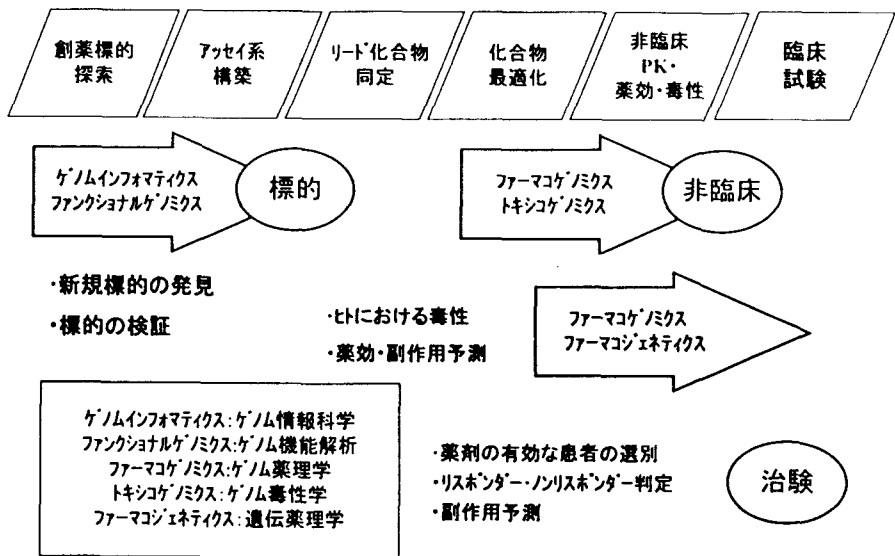


Fig. 10 Biopharmaceuticals Market Evolution
world revenue

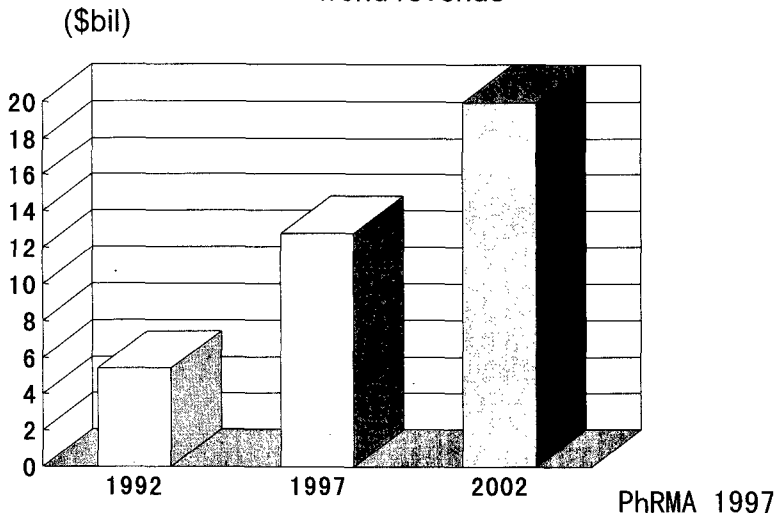


Fig. 11 Outsourcing

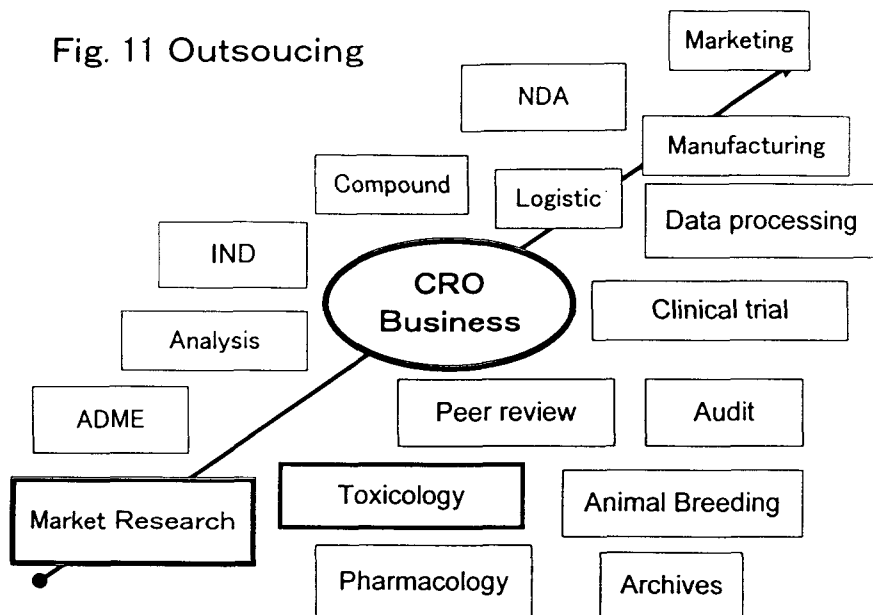
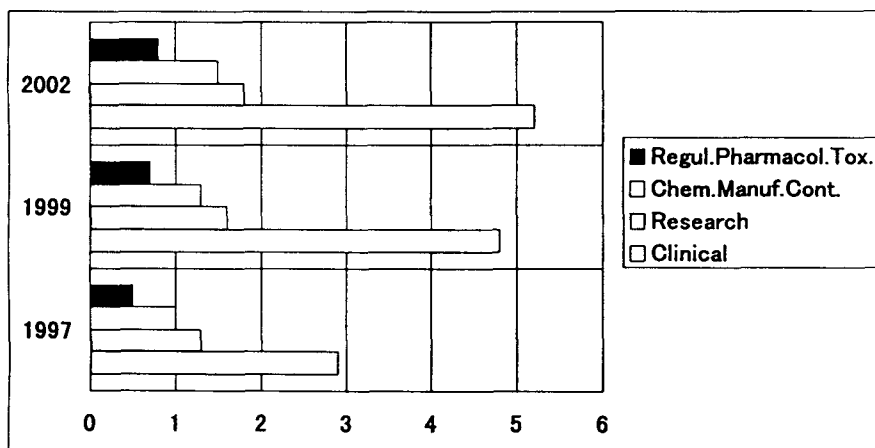


Fig. 12 Estimated size of outsourcing markets (1997-2002)



Size of outsourcing market (US\$ billion)

Source:CMR International/Scip's Guide to Trends in R & D

Fig . 13 Major Decisions in Drug Development

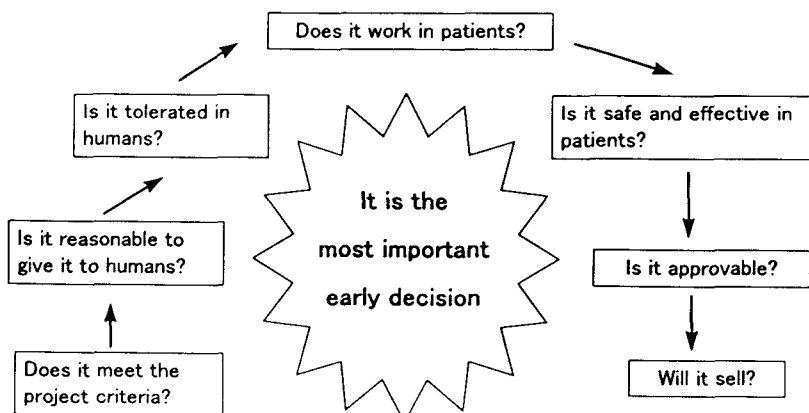


Fig. 14 Close Cooperation and Commitment Partnerships

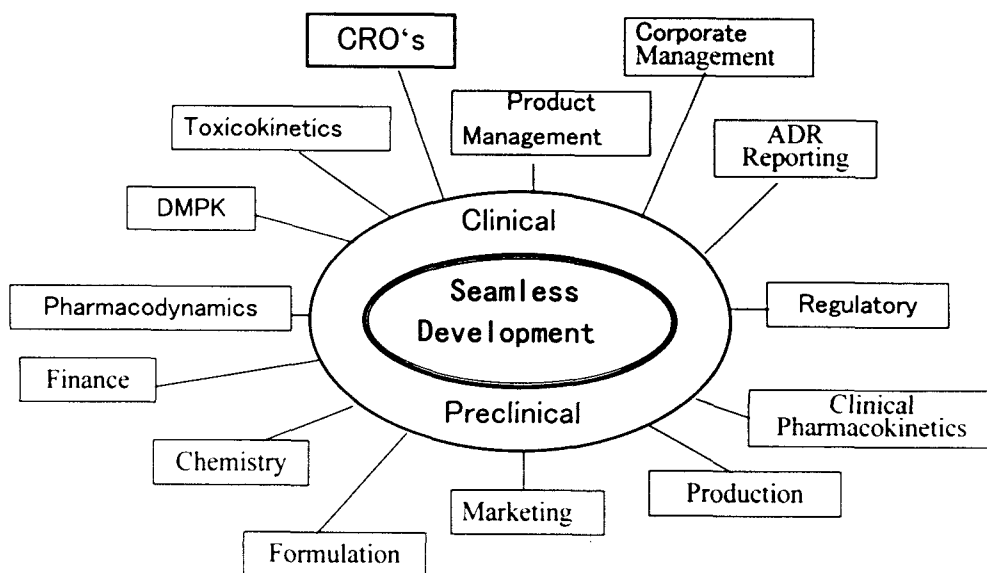
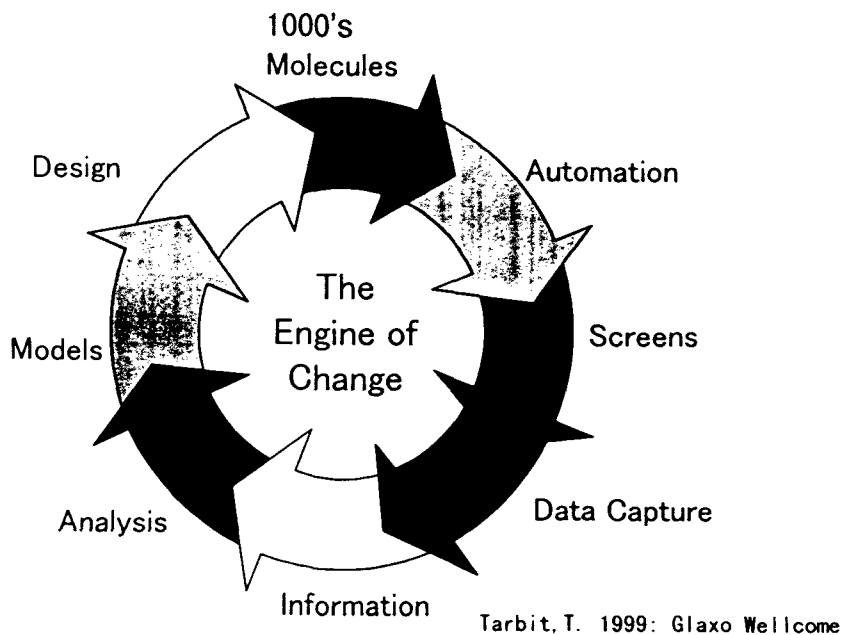


Fig. 15 The Future Process of Drug Discovery?



< 第67回研究会（平成12年9月22日） >

テーマ：「高次神経機能を動物実験により解明する」

1. アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構

今泉 和則（大阪大・院・医・機能形態学講座）

2. 哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達

畠 義郎（大阪大・院・医・バイオ・神経生理学研究部）

アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構

大阪大学大学院医学系研究科機能形態学講座

今 泉 和 則

はじめに

老年期（65才以上）に、脳神経細胞の変性に伴って起こる痴呆が進み、社会適応が困難になった状態を老年痴呆と呼ぶ。痴呆症は主に老年期の脳動脈硬化による脳血管性痴呆とアルツハイマー病に大別できる。脳血管性痴呆の場合、動脈硬化などにより脳血管が詰まったりあるいは破綻したりすることにより、その血管から栄養を供給されている脳神経細胞が死滅し、それが原因で痴呆症をきたす。従って、発症の引き金は単純である。それに対し、アルツハイマー病の場合は痴呆症に至る過程は単純な経路ではなく、複雑な機構が絡み合っているものと想定されている。

日本では高齢化が進み、アルツハイマー病患者数も激増している。65才以上の高齢者のうち4～5%にあたる約100万人が発症しているものと推定されている。欧米でもその数は増加しており400万人以上と予想されている。しかし、現在のところ、アルツハイマー病の病態発症の分子機構が明らかになっていないため、有効な治療法は確立されていない。

I. アルツハイマー病とは

(1) アルツハイマー病の神経病理

アルツハイマー病患者の脳では、アミロイド β 蛋白と呼ばれる不溶性の蛋白質が神経細胞の間隙に蓄積してできた老人斑と、神経細胞内に細線維が束をなして凝集する神経原線維変化が特徴的な病理変化として観察される¹⁾ (図1)。病変が見られる領域、特に大脳皮質連合野および海馬・扁桃体などの辺縁系の神経細胞は死滅脱落し、さらに進行すると脳の萎縮につながる。このような状態では本来神経細胞が持つ機能、すなわち記憶や学習能力が著しく障害され痴呆という症状がみられるようになる。老人斑はアミロイド β 蛋白をコアとして腫大変性神経突起の出現、グリア細胞の反応がみられる。脳実質以外にもアミロイドは髄膜血管や脳実質の小血管あるいは毛細血管にも沈着する（アミロイド・アンギオパチー）。

(2) アルツハイマー病の遺伝的背景

アルツハイマー病は、明らかな家族歴のない孤発性アルツハイマー病と少数例ではあるが、常染色体優性遺伝を示す家族性アルツハイマー病（FAD）に分けられる。近年の分子遺伝学の進歩により、FADの原因遺伝子として3つの分子が同定されている。アミロイド β 蛋白の前駆体蛋白質である「APP」²⁾、「プレセニリン-1（PS1）」³⁾、「プレセニリン-2（PS2）」⁴⁾ がそれぞれである。この内PS1の遺伝子変異で発症するケースが最も多い。PS1は1995年トロント大学のHyslopらのグループにより第14番染色体上の点突然変異が見い出された。FAD家系でPS1変異は約50種類発見されている。一方、孤発性アル

ツハイマー病の研究は FAD に比べかなり遅れていて発症の引き金となるキー分子が何であるか、まだ明らかにされていない。FAD 脳と孤発性アルツハイマー病脳における病理学的特徴に大きな違いは見い出せない。従って、FAD の原因遺伝子は孤発性アルツハイマー病においても発症に関わる候補因子として考えることができる。

(3) PS1 変異と神経細胞死

1) PS1 の構造と機能

PS1 は 467 個のアミノ酸からなる多数回膜貫通型の蛋白質である (図 2)。全長蛋白質は主に小胞体に存在するが、不安定であり生理的条件下で限定分解を受ける。断片化した N-および C-terminal fragment (NTF、CTF) はゴルジ体で安定化して存在する。この分子は特に脳細胞に多く発現しているわけではなく、各種細胞に偏在する。PS1 の変異が見い出されている領域は主に 2 つに大別される。ひとつは膜貫通部分で、もうひとつは限定分解近辺である。従って、膜構造の変化や断片化障害が AD 発症の引き金になっているのかもしれない。

2) PS1 変異と A β 産生

変異 PS1 遺伝子を導入した培養細胞では、培養上清中に分泌される A β 42 が増加すること⁵⁾、トランスジェニックマウスの脳内 A β 42 量が増加することが良く知られている⁶⁾。最近、Cre-loxP system を用いて PS1 変異体“ノックイン”マウスが作成され、脳内 A β 量が測定された。その結果、A β 42 が特異的に増加し、しかも増加の割合は gene-dosage dependent であることが確認された⁷⁾。以上のような研究成果から、A β 42 の産生増加が AD の発症に直結している可能性が極めて高いといえる。実際にそれをサポートする証拠として、AD 患者脳の初期に沈着する A β 分子種は主に A β 42 であること⁸⁾、FAD 患者皮膚培養線維芽細胞からの A β 42 の分泌増加⁹⁾などが挙げられる。

3) PS1 変異による神経細胞死

AD 脳では神経細胞が極度に脱落している。しかし、神経細胞死が生じるメカニズムについては十分理解されていない。変異 PS1 がアポトーシスを引き起こす可能性を示唆する報告がいくつかある。そのひとつは、変異 PS1 を導入した PC12 細胞では、神経成長因子(NGF)の枯渇や A β 刺激によっておこるアポトーシスを助長することである¹⁰⁾。また、PS1 とアポトーシスの関係はモデル動物でも確かめられている。13 ヶ月例の老齢 PS1 トランスジェニックマウスで神経細胞死が有意に増加していること¹¹⁾、変異 PS1 ノックインマウスにカイニン酸投与すると、野生型に比べ明らかに海馬神経細胞でのアポトーシス感受性が上昇していること¹²⁾などが報告されている。

我々は変異 PS1 の発現によって生じる細胞死に興味を持ち、その分子機構の解明を目的に研究を進めてきた。特に Mattson らの報告¹⁰⁾はひとつの可能性を示唆すると考えた。変異 PS1 を導入した PC12 細胞の細胞死が小胞体からのカルシウム放出を阻害するような薬剤や、抗酸化剤の処理により抑制される。カルシウムホメオスタシスの攪乱や活性酸素はいずれも強い小胞体ストレスを誘発する。PS1 が主に小胞体に局在することから両者に何らかの関連が予想できる。

このような観点から研究を進めた結果、変異 PS1 は小胞体に存在するストレスセンサーを介するシグナル伝達に障害を与え、分子シャペロンの発現を減弱させることによって細胞死を引き起こすことを明らかにした¹³⁾。この研究の結果を示す前に、小胞体ストレスとはどのようなもので、それが生じたとき生体がどのような防御機構を作動させるのかを紹介しておく。

II. 小胞体ストレス

(1) 小胞体ストレスとその応答機構

小胞体は、リボゾームで合成された蛋白質の正常な折り畳み、すなわち糖鎖修飾や立体構造を形成させる場である。糖鎖修飾（ツニカマイシン）やタンパク質輸送（プレフェルジン A）を阻害する薬剤あるいは DTT などの還元剤、変異タンパク質の過剰発現、低酸素負荷などのストレスは、小胞体でのタンパク質折り畳みに障害が生じ、折り畳みが不完全な蛋白質（unfolded protein）が小胞体に蓄積するようになる。この状態を小胞体ストレスと呼ぶ。脳においては例えば、一過性の脳虚血や興奮性アミノ酸などによるカルシウムの細胞内流入がこのようなストレスを誘発するものと考えられる。小胞体ストレスを引き起こす刺激が過剰な場合あるいは長時間持続する場合、細胞はアポトーシス様の形態変化を起こし死滅する。

小胞体ストレスが負荷され小胞体の機能が障害されたとき、細胞死から逃れるための防御機構が作動することも良く知られている。すなわち、以下に示す 4 つの防御機構である。1) unfolded protein を refolding させるシステム（unfolded protein response、UPR）。小胞体の膜上に存在するストレスセンサー分子が小胞体内腔の異常蛋白質の蓄積を感知し、小胞体分子シャペロンを誘導させて、異常蛋白質の蓄積を防ぐ¹⁴⁾。2) 蛋白質翻訳抑制。PERK (PKR-like ER kinase)¹⁵⁾ と呼ばれる小胞体膜上のセンサー分子が活性化し、eIF2 α をリン酸化して mRNA から蛋白質の翻訳を抑制し、unfolded protein が小胞体内で蓄積することを防ぐ。3) Golgi-小胞体間の逆行性輸送。折り畳み異常な未熟な蛋白質が分泌系に乗って細胞外に出ていかにないように、Golgi から小胞体への逆行性輸送の活性化と順行性輸送を遮断する¹⁶⁾。4) プロテアゾームでの分解。小胞体内に蓄積した異常蛋白質は Sec61 などのチャネルを通してプロテアゾームに送り込まれ分解される¹⁷⁾。これらの防御機構の中で 1) の UPR がアルツハイマー病との関連で注目されている。

(2) UPR に関わる分子群

小胞体内に蓄積した異常タンパク質を感知するセンサー分子として Ire1 α ¹⁸⁾ および β ¹⁹⁾ が同定されている。また、センサーとしての機能を有するか否かは議論の余地はあるが、小胞体膜上に存在し、ストレスの負荷によって活性化し分子シャペロン群の転写を促進する分子として ATF6^{20,21)} が知られている。Ire1 α と ATF6 の構造および活性化機構を図 3 に示した。Ire1 α の N 末端側にはセンサードメインがあり、小胞体内腔側に位置する。細胞質側にはセリン/スレオニンキナーゼドメインと RNase ドメインが存在

する。Ire1 の活性化機構とシグナル伝達に関しては、酵母で良く調べられている。Ire1 は定常状態ではモノマーとして存在するが、**unfolded protein** が小胞体内腔に蓄積するようになるとダイマーを形成し、自己リン酸化により活性化する。その後、Ire1 α の RNase ドメインが転写因子である Hac1 のプレ mRNA をスプライスアウトさせる。酵母 Hac1 遺伝子は定常状態では、不安定型の Hac1^p 蛋白質を翻訳するが、この蛋白質は速やかにプロテアゾームによって分解され、分子シャペロンの発現誘導を行うことはない。小胞体ストレスが負荷され、Ire1 が活性化するとその RNase ドメインによって Hac1 プレ mRNA の特定の領域が切断され、安定型の Hac1¹ を翻訳するようになる(図 3)。活性型となった Hac1¹ は小胞体分子シャペロン群の転写調節領域 (UPRE) に直接結合してそれらの遺伝子発現を促進する。

哺乳細胞では、酵母の UPRE に相当するシャペロン転写調節領域は ERSE と名付けられたシス配列であると考えられている。森らのグループはこのエレメントに結合する転写因子を同定した^{20,21)}。それが ATF6 である。ATF6 は約 90 kDa の II 型の膜貫通糖蛋白質で C 末端側が小胞体内腔に向く。小胞体ストレスが負荷されると ATF6 は小胞体膜近傍で切断され、ベーシック・ロイジンジッパー構造を含む N 末端側約 50 kDa の切断断片が核に移行して分子シャペロンの転写を促進させる。

さて、小胞体のストレスを感知する機構はどのようなになっているのだろうか？最近、D.Ron らのグループが非常に興味ある現象を見出している²²⁾。ストレスが負荷されない状態では、Ire1 α 、 β および PERK にはそれぞれに GRP78 が結合してヘテロダイマーを形成するが、ストレスが負荷されるとそれらは解離するという。この解離が引き金となって Ire1 はホモダイマーを、PERK はオリゴマーを形成して、自己リン酸化により活性化し下流分子にシグナルを伝達する。GRP78 が何故、小胞体ストレスの際にストレスセンサーから解離していくかについては、明らかにされていないが、蓄積してきた **unfolded protein** とストレスセンサーとのあいだに競合関係が成立し、**unfolded protein** が大過剰になるとそちらの方にシフトし、センサーから解離していくことが予想される。小胞体ストレスが除去され正常な状態に回復すると、GRP78 はふたたびセンサー分子と安定なコンプレックスを形成するようになる。なお、ATF6 についてはこのようなストレスセンシング機構を有しているかは明らかにされていない。

III. 変異 PS1 による神経細胞死のメカニズム

上述したように変異 PS1 を発現する細胞では小胞体ストレスに対し脆弱になる。我々はストレスに対して応答する防御機構、すなわち UPR が障害されているからではないかと考えた。そこでまず UPR の最終産物である分子シャペロン群の発現変化をみることにした。正常細胞あるいは野生型 PS1 を発現する細胞では、小胞体ストレスに応答して GRP78 遺伝子の強い発現誘導がみられたが、変異 PS1 を発現する細胞では明らかにその誘導が減弱していた(図 4)。つまり、変異 PS1 は GRP78 遺伝子の発現に対し、負に制御している可能性がある。この現象は、変異 PS1 ノックインマウスから摘出した

初代培養神経細胞でも確認できている。GRP78 の発現上昇をコントロールする小胞体ストレスセンサーIre1 α の活性化状態をみると、変異 PS1 を発現する細胞では Ire1 α の自己リン酸化レベルが減弱していた。従って、GRP78 の誘導減弱は Ire1 の活性化が障害された結果であると考えられる。他の小胞体ストレスセンサーと変異 PS1 との関連性についても検討を進めた結果、PERK のリン酸化レベルの低下および ATF6 の小胞体膜近傍での切断と切断断片の核移行がいずれも障害されることを明らかにした（本日から論文投稿中）。変異 PS1 は小胞体に存在するストレスセンサー全般にそれぞれの活性化を障害していることから、おそらく、ミスセンス変異が導入された PS1 は折り畳み異常の蛋白質蓄積を感知するシステムを攪乱しているのであろう。現在、変異 PS1 がどのような機構でストレス感知システムに影響を与えているかを検討している。

GRP78 遺伝子の発現抑制が変異 PS1 による細胞死に直接関連しているのであろうか？変異 PS1 を発現する細胞にあらかじめ GRP78 遺伝子を導入しておき、その後小胞体ストレスを負荷し、細胞死から救済できるか否かをみえた。すると GRP78 の遺伝子導入により変異 PS1 発現細胞では明らかに小胞体ストレスに対して抵抗性を示すようになり、野生型 PS1 を発現する細胞と同等の抵抗性にまで回復した（図 4）。以上から、変異 PS1 によって起こる細胞死は小胞体分子シャペロンの発現誘導の減弱が原因であると証明されたわけである。

小胞体ストレスと PS1 との関連性を示唆する研究成果は筆者らのグループ以外からも報告されている²³⁾。P.Walter らは、小胞体の膜上で Ire1 は切断され断片化した C 末端断片が核に移行し、特定の mRNA（酵母でいう転写因子 Hac1）をプロセッシングして UPR を活性化することを示した。その論文の中で彼らは、PS1 ノックアウト細胞を使うと Ire1 の切断が障害され、C 末端の核移行が抑制されることを見出している。この結果は、PS1 がストレスセンサーIre1 の機能発現に重要な小胞体膜上での切断現象に直接あるいは間接的に関与し、UPR の活性化を制御している可能性があることを意味する。特に興味を引くポイントは Ire1 の切断が小胞体の膜上であることである。これは PS1 による APP の切断機構と一致するようにも思われる。ただし、我々も現在、PS1 のノックアウトマウスから分離した線維芽細胞を使って、UPR に対する PS1 欠損の影響について追試しているが、彼らの導き出したデータを再現できていない。D.Ron らのグループも PS1、PS2 のダブルノックアウト細胞で検討したが、UPR に何ら変化がないことを確認している（D.Ron 私信）。従って、野生型 PS と UPR あるいは PS による小胞体ストレスセンサーの膜上での切断については議論の余地があり、さらに厳密に解析していく必要がある。

おわりに

FAD に連鎖した変異 PS1 は小胞体に局在するストレスセンサー群の機能障害を引き起こし、UPR のシグナル経路を抑制する。その結果、ストレスが負荷された際に GRP78 などの分子シャペロン群の発現誘導が障害される。家族性アルツハイマー病ではこのような

分子機序により、折り畳み異常の蛋白質が小胞体に蓄積するようになり神経細胞が徐々に死滅減少するものと推察できる。アルツハイマー病では神経細胞死の他にアミロイド β 蛋白質が異常に沈着することも重要な病理変化である。変異 PS1 が A β の産生に影響を与えること、A β 自体が神経毒性を示すことから、アミロイドの沈着が引き金となって神経原線維変化を引き起こし、最終的に痴呆の原因になる神経細胞死が起こるという“アミロイド仮説”が一般的には受け入れられている。小胞体ストレスは A β 産生に影響を与えるのであろうか？ APP を小胞体に滞留させるような処理をほどこすと、A β 42 の産生が亢進することが以前報告されている²⁴⁾。また、GRP78 の過剰発現は A β 40 および 42 の分泌を抑制することも知られている²⁵⁾。このように小胞体の機能と A β 産生とは決してかけ離れた事象ではないように思われる。小胞体ストレスと A β 産生がどこでクロストークするのか新たな展開が期待される。

文献

- 1) Selkoe D.J.: Annu.Rev.Neurosci. (1994) 17: 489-517
- 2) Chartier-Harlin M.C, et al.: Nature (1991) 353: 844-846
- 3) Sherrington R, et al: Nature (1995) 375: 754-760
- 4) Levy-Lahad E, et al: Science (1995) 269: 973-977
- 5) Borchelt D.R, et al: Neuron (1995) 17: 1005-1013
- 6) Duff K, et al: Nature (1996) 383: 710-713
- 7) Nakano Y, et al: Eur J Neurosci (1999) 11: 2577-2581
- 8) Iwatsubo T, et al: Neuron (1994) 13: 45-53
- 9) Scheuner D, et al: Nature Med (1996) 2:864-870
- 10) Qing G, et al: J Neurosci (1997) 17: 4212-4222
- 11) Chui D H, et al: Nat Med (1999) 5: 560-564
- 12) Guo Q, et al: Nat Med (1999) 5: 101-106
- 13) Katayama T, et al: Nature Cell Biol (1999) 1:479-485
- 14) Sidrauski,C, et al: Trends in Cell Biol (1998) 8: 245-249
- 15) Harding,H P, et al: Nature (1999) 397: 271-274
- 16) Hammond,C & Helenius,A : J Cell Biol (1994) 126: 41-52
- 17) Zhou,M & Schekman,R : Mol Cell (1999) 4: 925-934
- 18) Tirasophon,W, et al: Genes Dev (1998) 12:1812-1824
- 19) Wang,X-Z, et al: EMBO J. (1998) 17: 5708-5717
- 20) Yoshida,H, et al: J Biol Chem (1998) 273: 33741-33749
- 21) Haze,K, et al: Mol Biol Cell (1999) 10: 3787-3799
- 22) Bertolotti A, et al: Nature Cell Biol (2000) 2: 326-332
- 23) Niwa M, et al: Cell (1999) 99: 691-702.
- 24) Cook D G, et al: Nature Med (1997) 3: 1021-1023
- 25) Yang Y, et al: J Biol Chem (1998) 273: 25552-25555

図の説明

図 1. アルツハイマー病患者脳の病理組織像

上：大脳皮質におけるアミロイド斑。抗A β 1-42 抗体で免疫染色した。アミロイドの沈着した老人斑がみられる。

下：大脳皮質第5層錐体細胞にみられる神経原線維変化。抗 PHF 抗体による免疫染色。

矢頭：PHF 陽性の沈着物。

図 2 プレセニリン-1 の構造

PS1 は小胞体膜に局在し、8 回膜貫通構造をとる。N 末端、C 末端、及び大きなループ構造は細胞質側に配向する。ループ部分でプロセッシングを受け、N 末端断片(NTF)と C 末端断片(CTF)に分かれる。今まで同定された家族性アルツハイマー病に連鎖する主な変異を□で示す。PS1 の第 6 及び第 7 膜貫通部分にアスパラギン酸が並列して存在 (○) し、その構造が、Aspartyl protease としての活性中心で APP の γ 切断および PS1 の限定分解に関与すると指摘されている。APP は BACE によって β 切断を受けた後、PS1 によって γ 切断され A β が産生されると言う。

図 3 小胞体ストレス応答のメカニズム

A: Ire1 (α および β) および ATF6 の構造

B: UPR 活性化の分子機構

小胞体膜上には UPR のシグナル伝達に関与する膜タンパク質、Ire1 (α および β)、ATF6 が存在する。小胞体ストレスが負荷されると、Ire1 はホモダイマーを形成して活性化する (リン酸化-P)。Ire1 はその C 末端側に存在する RNase ドメインによって転写因子 Hac1 のプレ mRNA をスプライスアウトさせ活性型の Hac1^pをコードする mRNA に変換する。Hac1^pは核に輸送され、UPRE に結合して分子シャペロンの転写を促進させる (ただし、哺乳類の細胞では Hac1 に相当する分子は同定されていない)。ATF6 は小胞体ストレス負荷時に膜近傍で切断されて約 50 kDa の断片が生成される (p50ATF6)。切断断片は核に移行して ERSE に結合し、分子シャペロンの転写を促進させる。

図 4. 変異 PS1 と小胞体ストレス

A: GRP78 mRNA のノーザンブロットニング。変異 PS1 (A246E、 Δ E9) を発現する細胞ではツニカマイシン (Tm, 1 μ g/ml) 刺激後の GRP78 mRNA 誘導は野生型と比較して減弱している。内部標準として β -アクチンを用いた。

B: Ire1 α のリン酸化。293T 細胞に各種 PS1 コンストラクトと Ire1-flag を co-transfect し、細胞を ³²P でラベルした後、Ire1 のリン酸化レベルをみるために抗 flag 抗体で免疫

沈降した。下は Ire1 α のウェスタンブロッティング。それぞれの発現レベルには違いはみられない。

C: Live/Dead 染色。緑は生細胞、赤は死細胞。ウイルスベクターを使って GRP78 をあらかじめ導入しておくことと変異 PS1 発現細胞のストレス感受性は野生型とほぼ同じレベルまで回復する(文献 13 を改変)。

図 1



図 2

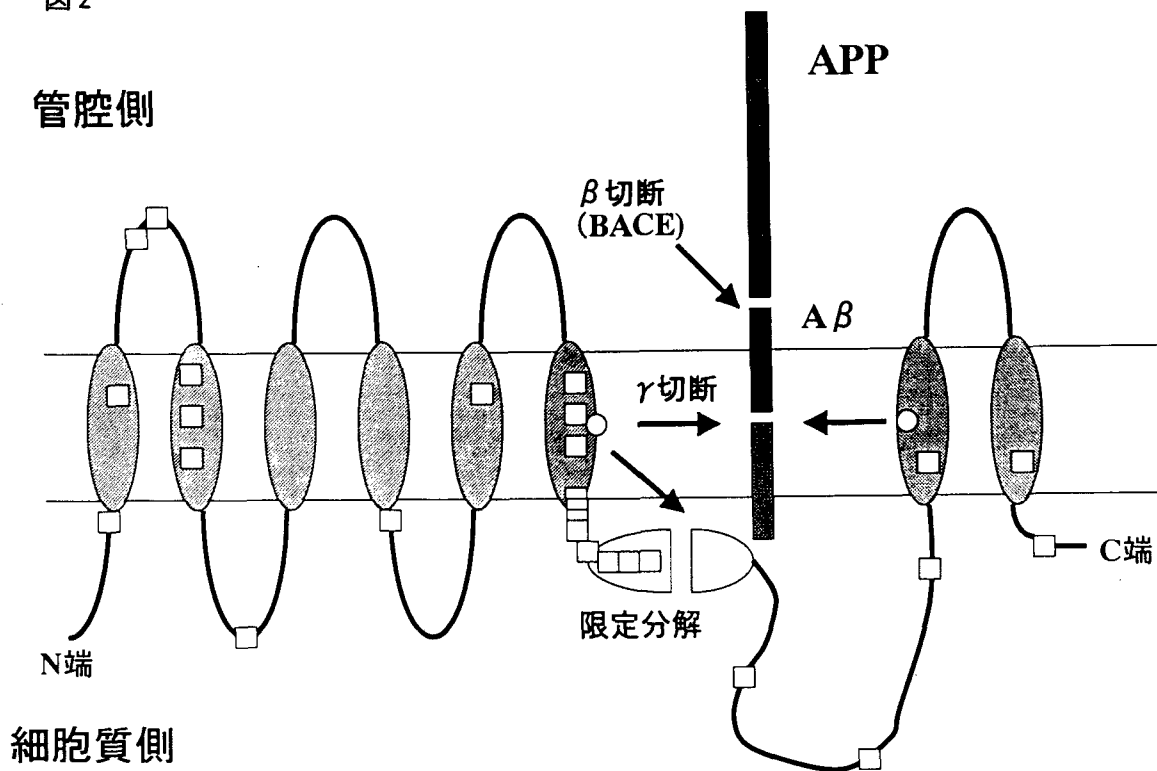
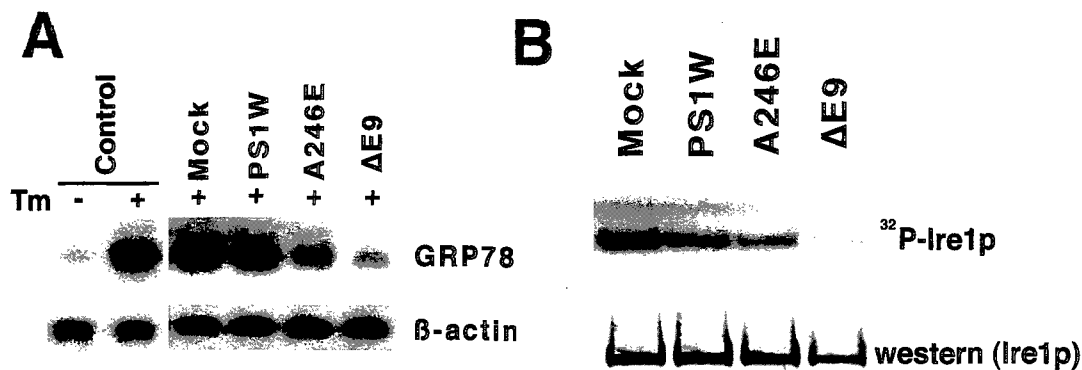


図 3



C

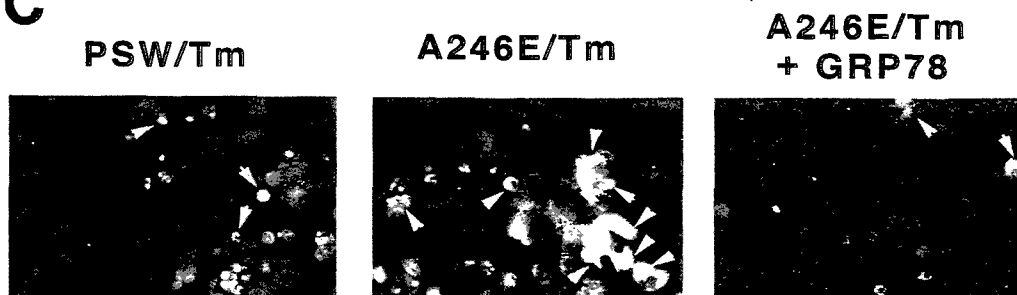
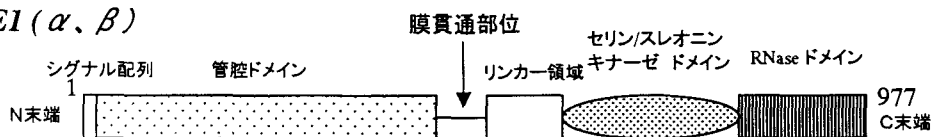


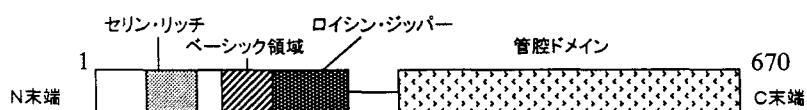
図 4

A

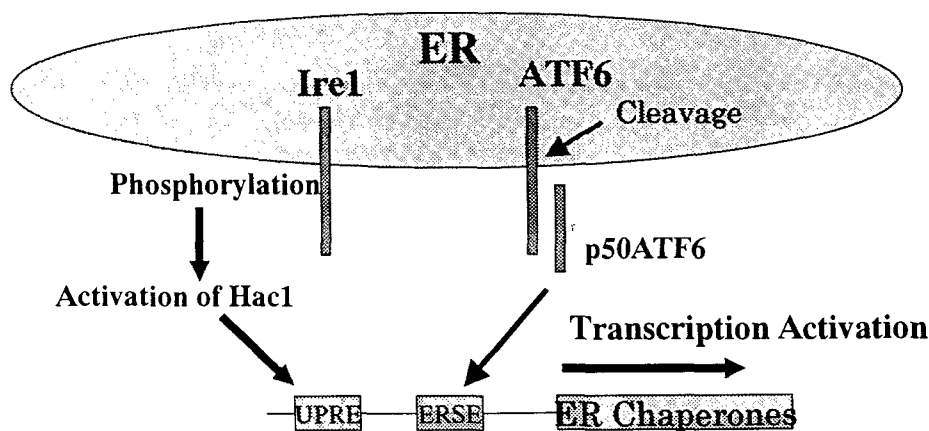
1. IRE1 (α , β)



2. ATF6



B



哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達

大阪大学大学院医学系研究科

バイオメディカル教育研究センター神経生理学研究部

畠 義郎

我々の脳の働きは、百億個を越える神経細胞が織り成すネットワークの上に成り立っている。このネットワークの大筋は遺伝情報に基づいて構築されるが、それに引き続く最終段階においては神経活動に依存したネットワークのチューニングが行われる。従って、この後期過程においては、感覚や運動を通して環境との相互作用そのものが脳の形成過程に重要な役割を果たすことになる。では、その神経活動に依存したネットワーク形成とは、具体的にどのようなルールに沿って行われるのだろうか？例えば、どのような強さの、あるいは頻度の神経活動が神経結合の形成や消失を引き起こすのだろうか。このような神経回路網形成のルールを明らかにすることは、脳の正常な発達過程の理解のみならず、障害からの回復や機能再建を考える際にも重要な知見となるであろう。哺乳類大脳皮質視覚野における眼優位性コラムの形成過程は、神経回路の生後発達や可塑性のモデルとして、広く研究されてきた。以下に、これまでの研究により明らかとなった、眼優位性コラム形成過程での視覚経験や神経活動の役割、さらに、最近注目されている神経栄養因子のこの過程への関与の可能性について概説する。

視覚系の構造

ネコやサル、ヒトなどの高等哺乳動物では、網膜によって受容された視覚情報は、視床の外側膝状体背側核を経て大脳皮質一次視覚野(17野;以下、視覚野)に伝達される。この時、左右の網膜で受容された情報は外側膝状体の別々の層に伝達されるため、外側膝状体ニューロンは左右どちらかの眼に与えた光刺激にのみ反応する。これに対して視覚野には外側膝状体各層からの情報が収束するので、視覚野ニューロンの多くはどちらの眼に光刺激を与えても反応する性質(両眼反応性)を示し、この両眼の情報の統合が立体視を成立させると考えられている¹⁾。ただし、どちらの眼からの入力により強く反応するかという性質(眼優位性:Ocular dominance)はニューロンによって異なり、

両眼に対して等しく反応するものから一方の眼にのみ反応するものまで存在する。

このように視覚野には様々な眼優位性をもつニューロンが存在するが、それらは皮質内においてランダムに存在するわけではない。より強く反応する眼（優位眼）を同じくするニューロンが皮質表面から白質まで垂直に配列し、眼優位性コラムと呼ばれる機能構造を形成している²⁾。両眼からの情報を伝える外側膝状体からの神経終末は視覚野内においてそれぞれが幅400-500 μ m程度のパッチあるいはストライプ状になって存在しており、このような求心性線維の皮質内での局在が眼優位性コラムの基盤であると考えられている。

生後発達と神経活動の影響

出生直後のネコでは、左右両眼からの入力線維は視覚野内で混在しており眼優位性コラムは認められず、生後4週目頃より次第に神経終末の局在化が進み、成熟脳にみられるようなパターンが形成されてくることが報告されている³⁾。この眼優位性コラムの形成過程は視覚経験の影響を受けることが明らかになっている⁴⁾。例えば、幼若期に一時的に片眼の視覚入力を眼瞼縫合により遮断すると、眼球には異常が生じないにもかかわらず、視覚野ニューロンは視覚遮断しておいた眼に対する光反応性を失ってしまう。さらに、そのような動物で外側膝状体からの神経終末の視覚野内分布を観察したところ、健常眼の眼優位性コラムが顕著に拡大し、一方、遮蔽しておいた眼球に対応するコラムは縮小していた。従って、外側膝状体からの投射線維と視覚野ニューロンの結合様式は視覚入力に依存して変化するものと考えられる。

この現象を説明する最も簡単な仮説は次のようなものであろう。まず視覚野では両眼からの情報を運ぶ外側膝状体からの投射線維は、より多くの視覚野ニューロン、ひいてはより広い皮質領域を求めて競合していると考ええる。正常な動物では両眼からの入力はほぼ拮抗しており同程度の領域を占めている。ところが一方の眼を視覚遮断すると、そちらの入力のみが弱くなり入力の不均衡が生じる。その結果、より強い健常眼からの入力線維が競合に勝ち、より多くの視覚野ニューロンと皮質領域を獲得する、というものである。

競合メカニズムと抑制の役割

では、この競合はどのような仕組みで起こるのだろうか。例えば、どの神経細胞の活動

が実際に評価されているのだろう。例えば前述の仮説では、入力線維の活動の強弱こそが重要であり、その標的である皮質ニューロンは何の関与もしていない。果たしてそうであろうか。この点を明らかにするには、外側膝状体からの投射線維の神経活動は阻害せず、皮質ニューロンの神経活動だけを選択的に阻害して、なお可塑的变化が生じるかどうかを調べればよい。GABAA受容体作用薬のムシモールを視覚野に直接注入すると、外側膝状体からの投射線維の活動には影響を与えず、皮質ニューロンを選択的に抑制することができる。このような処置を施した動物を用いて片眼視覚遮断を行った結果、皮質ニューロンは通常とは逆に、視覚遮断されていた眼への刺激に良く反応するようになり、眼優位性コラムもまた遮蔽眼のコラムが拡大していた(図1)^{5,6)}。

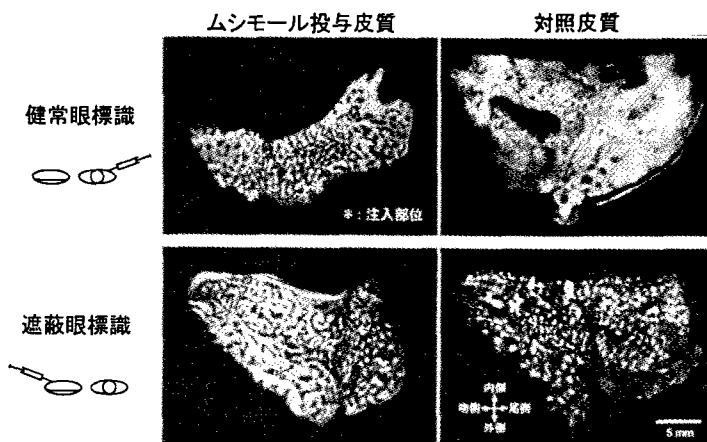


図1 抑制された視覚野での眼優位性コラムの可塑性。

図は、視覚野を含む皮質領域の標本。より広い皮質表面像を得るために、組織より白質を取り除き平面に広げた伸展標本にしてある。一侧の眼球に、³Hで標識したアミノ酸、Prolineを

注入した。Prolineは網膜の神経節細胞によって取り込まれた後、軸索中を視床まで運ばれる。そこで外側膝状体ニューロンに取り込まれ、さらに視覚野まで輸送されるので、一侧の眼球からの情報が視覚野内のどの部分に投射しているかをオートラジオグラフィにより可視化することができる。白く見える部分が標識された線維が投射する領域。黒い間隙部分はもう一方の眼からの投射を受ける領域。対照側(右側のパネル)の視覚野では健常眼からの投射線維が大部分の領域を占め、遮蔽眼の領域は小さなパッチ状に縮小している。ムシモールにより視覚野の活動を抑制した側では(左側のパネル)、注入部位(*)近傍において、対照側とは逆に、遮蔽眼からの投射線維がより多くの領域を占め、健常眼の領域は縮小する傾向が見られる。文献6より改変。

つまり、皮質ニューロンの神経活動が抑制された状態では視覚遮断による可塑性は残っているが、その方向が通常と逆であった。さらに、そのような動物において、外側膝状体に順行性トレーサ、PHA-Lを微量注入して視床-皮質投射線維を標識し、単一入力

線維の皮質内分枝の形態を解析したところ、明らかに、健常眼からの入力線維が、遮蔽眼からのものに比べて貧弱な分枝パターンを示していた⁷⁾。この点を定量的に解析し、さらに正常動物など、ほかの動物群と比較した結果、抑制皮質内の健常眼からの入力線維は、正常動物、皮質抑制を行わない動物における遮蔽眼からの入力線維など、他の全てのグループに比べて、軸索の皮質内の長さ、分枝数いずれも低い値を示した。それに対して抑制皮質内の遮蔽眼からの入力線維は、正常動物と同程度の分枝数を示し、退縮の兆候は認められなかった。従って、標的となる皮質ニューロンが抑制されている際には、よりactiveな入力線維が退縮するということができる。

この結果は、外部よりGABAA受容体作用薬を投与して皮質ニューロンを抑制した場合のものであるが、このことは、内因性の皮質内抑制もまた視覚野の可塑性の発現に何らかの役割を果たしていることを示唆している。最近、抑制性伝達物質であるGABAの合成酵素の1種であるGAD65の酵素の欠損動物では、片眼視覚遮断による眼優位性の変化が見られないことが報告された⁸⁾。このことは、正常な視覚野における眼優位性の可塑性のコントロールには、皮質内抑制系による皮質ニューロンの抑制が重要な役割を果たしていることを示唆している。

片眼遮蔽に対する脳由来神経栄養因子の影響

上記の結果において、標的ニューロンが(抑制されており)反応しないときには、activeな入力経路が選択的に抑圧される仕組みが働いていることから、皮質ニューロンから入力線維へ逆行性に何らかのメッセージが伝達されと考えられる。このメッセンジャーの実体は興味の持たれるところであるが、近年、両眼からの入力線維が、視覚野内の標的ニューロンにより産生／放出される栄養因子を競合的に受容するという仮説が提唱されている。その中でも、脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)や、NT-4/5といったTrkB受容体に作用する神経栄養因子を発達期の動物の視覚野に直接注入すると、眼優位性コラムの形成が阻害されることが報告されており、これらの因子が眼優位性コラムの形成や維持に必須の因子である可能性が示唆されている^{9,10)}。

もし、両眼からの入力に神経栄養因子を巡って競合することが発達期のコラム形成やコラムの可塑性の基本メカニズムであるならば、たとえ一側の視覚入力を遮断しても、外部より神経栄養因子を投与することで、遮蔽眼に対応する眼優位性コラムの縮小を防

ぐことができると考えられる。そこで、BDNFがそのような栄養因子として機能する可能性を探るため、発達期のネコを片眼視覚遮断すると同時にBDNFを視覚野内に直接注入することで、眼優位性コラムの可塑的変化がどのような影響を受けるかを検討した¹¹⁾。健常眼コラムを標識した動物では、BDNF注入部位近傍をのぞいて、標識された部位は視覚野上で優位となり、標識されていない部位は小さなパッチ状となっていた。これは、片眼遮断後に通常観察される、健常眼コラムの拡大を反映するものと考えられる。それに対して、BDNF注入部位近傍では、この標識領域の優位性はいっそう顕著なものとなり、標識されていない部位ははっきりとは認められなかった(図2A)。すなわち、この領域では健常眼コラムの拡大が増強した可能性がある。

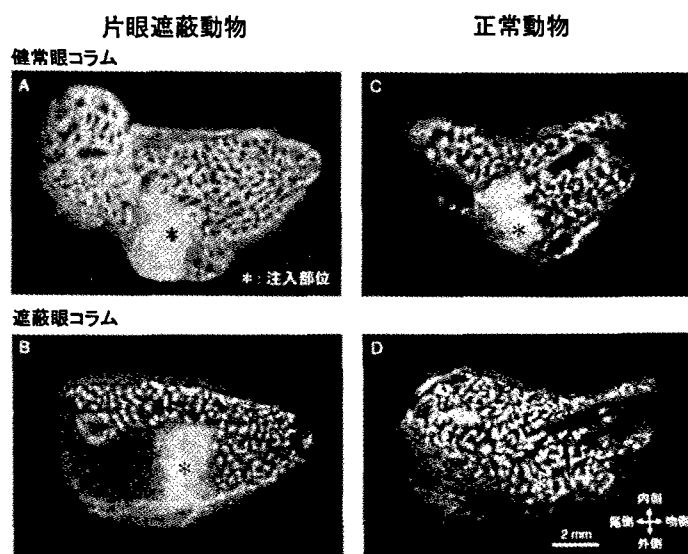


図2 BDNFによる眼優位性コラム拡大作用。

A,B) BDNFを投与した片眼遮断動物の眼優位性コラム。健常眼コラム(A)、遮断眼コラム(B)共に、BDNF注入部位近傍においては顕著な拡大を示し、明瞭なコラム構造が見られない。C,D) 視覚遮断を行わない正常な動物においても、BDNFを投与した皮質(C)では

コラム構造の拡大が認められる。Vehicleのみを投与した場合はコラム構造に変化は見られない(D)。文献¹¹より改変。

一方、遮断眼コラムは、BDNF注入部位より離れた領域においては、小さなパッチ状に縮小している様子が観察された。しかしながらBDNF注入部位近傍では、健常眼コラムを標識した場合と同様に、明瞭なコラム構造が判別できないまでに標識領域が拡大していた(図2B)。このことは、遮断眼コラムは、外部よりBDNFの供給を受けた領域においては縮小せず、むしろ拡大していたことを示している。さらに、このBDNFを投与された領域で、健常眼、遮断眼いずれのコラムも拡大していたことから、この領域では両眼からの入力とはややコラム状に分離しておらず、入り交じった状態になっていたと考えられる。

この実験においてBDNF投与を開始した生後35-38日齢では、眼優位性コラムはすでにほぼできあがっている。従って、片眼遮蔽動物での結果は、BDNF投与が既存のコラム構造を拡大する作用を持つこと、またその作用は視覚入力の有無には無関係であることを示唆している。そこで、視覚遮断を行わない正常動物を用いて同様の実験を行った結果、片眼遮蔽動物と同様に、BDNF注入部位近傍においては標識部位が視覚野の大部分を占めるまでに拡大し、明瞭なコラム構造は観察されなかった(図2C)。この動物の対照皮質では、vehicle注入部位近傍においても、そこから離れた部位と同様の明らかなコラム構造が観察された(図2D)。従って、BDNF投与は、視覚入力の有無に関わらず、眼優位性コラムを拡大する作用を持つものと考えられる。

これらの結果は、BDNFがシナプス後細胞より放出され、シナプス前線維の機能や形態を調節する栄養因子としてシナプスの可塑性に寄与しているという仮説によく一致する。ただし、投与したBDNFが、まず視覚野ニューロンに作用してその機能や形態を変化させ視覚野ニューロンと入力線維間の相互作用を修飾することで、間接的に眼優位性コラムを拡大したという可能性も排除できない。したがって、今後、BDNFがどのような経路を介してその作用を示したのか、また、正常な脳内で内因性のBDNFが同様の作用を示すのかどうかを検討していく必要があろう。

<参考文献>

- 1) Hubel, D.H., Wiesel, T.N.: Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol. (Lond.)*, 160:106-154, 1962.
- 2) Hubel, D.H., Wiesel, T.N.: Shape and arrangement of columns in cat's striate cortex. *J. Physiol. (Lond.)*, 165:559-568, 1963.
- 3) LeVay, S., Stryker, M.P., Shatz, C.J.: Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: a quantitative study. *J. Comp. Neurol.*, 179:223-244, 1978.
- 4) Shatz, C.J., Stryker, M.P.: Ocular dominance in layer IV of the cat's visual cortex and the effects of monocular deprivation. *J. Physiol. (Lond.)*, 281:267-283, 1978.
- 5) Reiter, H.O., Stryker, M.P.: Neural plasticity without postsynaptic action

- potentials: less-active inputs become dominant when kitten visual cortical cells are pharmacologically inhibited. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85:3623-3627, 1988.
- 6) Hata, Y., Stryker, M.P.: Control of thalamocortical afferent rearrangement by postsynaptic activity in developing visual cortex. *Science*, 265:1732-1735, 1994.
 - 7) Hata, Y., Tsumoto, T., Stryker, M.P.: Selective pruning of more active afferents when cat visual cortex is pharmacologically inhibited. *Neuron*, 22:375-381, 1999.
 - 8) Hensch, T.K. et al.: Local GABA circuit control of experience-dependent plasticity in developing visual cortex. *Science*, 282:1504-1507, 1998.
 - 9) Cabelli RJ, Hohn A, Shatz CJ : *Science*, 267:1662-1666, 1995.
 - 10) Thoenen, H.: Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 270:593-598, 1995.
 - 11) Hata Y., Ohshima M., Ichisaka S., Wakita M., Fukuda M. & Tsumoto T. (2000) BDNF expands ocular dominance columns in visual cortex in monocularly deprived and non-deprived kittens, but does not in adult cats. *J. Neuroscience* 20:RC57 (1-5).

＜関西実験動物研究会だより＞

＜幹事会、評議員会、総会の議事概要＞

＜会員の異動＞

＜個人会員名簿＞

＜維持会員名簿＞

＜評議員名簿＞

＜会長、幹事、監事名簿＞

＜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 20 号に掲載した第 63 回研究会以後、以下の研究会が開催された。

1) 第 64 回研究会（平成 11 年 12 月 3 日 於京都市勤業館「みやこめっせ」）

会員による研究発表（17題）

＜特別講演＞

疾患モデルからヒトへー 予知・予防医学への貢献

家森幸男（京都大・人間・環境学研究科）

2) 第 65 回研究会（平成 12 年 3 月 3 日 於京大会館）

＜講演会＞ テーマ：実験動物の国際化を巡って

1. 「実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向」

黒澤 努（大阪大・医・動物実験施設）

2. 「Informatics in Laboratory Animal Science」

Ken Boschert（Comparative Medicine, Washington Univ.）

＜維持会員ニュース＞ 日本クレア(株) 「Wistar Hannover GALAS ラットについて」

3) 第 66 回研究会（平成 12 年 6 月 2 日 於大阪大学医学部学友会館「銀杏会館」）

＜講演会＞ テーマ：医薬品開発の前臨床試験における新しい動向と国際戦略を考える

1. 医薬品の創薬・開発研究における安全性評価の新しい動向

堀井郁夫（日本ロッシュ（株）研究所）

2. 医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方

松澤利明（山之内製薬（株）信頼性保証本部薬事部）

＜維持会員ニュース＞ （株）三菱化学安全科学研究所

「神経毒性物質で誘発される特徴的な機能・行動異常と病理変化との関連性」

4) 第 67 回研究会（平成 12 年 9 月 22 日 於大阪大学コンベンションセンター）

＜講演会＞ テーマ：高次神経機能を動物実験により解明する

1. プログラム細胞死の人為的操作による神経疾患治療の試み

三浦正幸（大阪大院医・バイオ・神経機能解剖学研究部）

2. アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構

今泉和則（大阪大院医・機能形態学講座）

3. 哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達

畠 義郎（大阪大院医・バイオ・神経生理学研究部）

＜維持会員ニュース＞ （株）ケアリー 「弊社供給ベトナム産カニクイザルにおける *Entamoeba histolytica* の寄生状況 - PCRを用いた診断」

幹事会、評議員会、総会の議事録

1) 幹事会の概要 - 1 (平成 12 年 2 月 25 日 於 京都大・院・医・附属動物実験施設)

1. 出席：阿部、浅野、池田、喜多、北田、久保、黒澤、塩見、芹川、新谷、三日月、森岡、森本、山中、(事務局、山口) (15名)

2. 議事

- (1) 平成 11 年度の事業報告について話し合わせ、平成 11 年度事業報告が作成された。
- (2) 関西実験動物研究会会報第 20 号の発行されたことが報告された。
- (3) 平成 11 年度の決算報告について話し合わせ、平成 11 年度決算報告が作成された。
- (4) 平成 12 年度の事業計画について話し合わせ、平成 12 年度事業計画案が作成された。
- (5) 平成 12 年度の機関誌発行計画について話し合わせ、関西実験動物研究会会報第 21 号の発行予定を決定した。今後の会誌発行のあり方について議論され、これまで通り年 1 回の発行を原則として遵守することが確認された。
- (6) 平成 12 年度の予算について話し合わせ、平成 12 年度予算計画案が作成された。
- (7) 新評議員として、鈴木氏(三重大学)、森島氏(武田薬品)の選出を評議員会に諮ることが決定された。
- (8) 第 68 回研究会を 12 月 1 日に京都で開催する事が決定された。
- (9) 会員のさらなる便宜を図るため、前もって講演内容の抄録を配布することが決定された。
- (10) 維持会員ニュースが 3 順目に入っていることが紹介され、今後のあり方について討議された。

2) 幹事会の概要 - 2 (平成 12 年 9 月 22 日 於 大阪大学コンベンションセンター)

1. 出席：浅野、阿部、北田、黒澤、塩見、芹川、森本 (7名)

2. 議事

- (1) 第 68 回研究会の特別講演の講演者として、日合弘氏(京大医、基礎病態学)に依頼することが決定された。
- (2) 第 70 回(平成13年 6 月)以降の研究会企画に関しては、担当者を特定せずに芹川会長および集会幹事全員で進めることが決定された。研究会企画に際して、E-mail 等を活用することにより、集会幹事相互の意志疎通を図ることが確認された。

3) 第 18 回評議員会の概要 (平成 12 年 3 月 3 日 於 京大会館)

1. 出席：浅野、阿部、飯田、池田、稲垣、内海、及川、河井、喜多、北田、久保、黒澤、塩見、芹川、高島、千葉、鳥居、中井、新谷、橋本、原田、平川、古河、牧野、増岡、三日月、宮脇、森岡、森島、森本、安田、山添、山中、山本、(34名)

2. 議事

- (1) 平成 11 年度事業報告：阿部幹事(集会)より平成 11 年度事業報告が行われ、承認された。
- (2) 平成 11 年度機関誌発行報告：山本幹事(編集)より、関西実験動物研究会会報第 20

号が発行されたことが報告され、承認された。

- (3) 平成 11 年度決算報告：喜多幹事（庶務）より平成 11 年度収支決算報告と、監事による監査の結果適正であったことが報告され、承認された。
- (4) 新評議員として、鈴木氏（三重大学）、森島氏（武田薬品）が推薦され、選出された。
- (5) 平成 12 年度事業計画案：阿部幹事（集会）より平成 12 年度事業計画案が説明され、承認された。
- (6) 平成 12 年度機関誌発行報告：山本幹事（編集）より、関西実験動物研究会会報第 21 号の発行を予定している旨説明され、承認された。
- (7) 平成 12 年度予算案：喜多幹事（庶務）より平成12年度の予算案が説明され、承認された。

4) 第 17 回総会の概要（平成 12 年 3 月 3 日 於 京大会館）

- (1) 平成 11 年度事業報告が行われ、承認された。
- (2) 平成 11 年度においては、関西実験動物研究会会報第 20 号が発行された旨報告され、承認された。
- (3) 平成 11 年度収支決算報告が行われ、承認された。
- (4) 新評議員として、鈴木氏（三重大学）、森島氏（武田薬品）が選出されたことが報告され、承認された。
- (5) 平成 12 年度事業計画案が説明され、承認された。
- (8) 平成 12 年において、関西実験動物研究会会報第 21 号の発行を予定していることが説明され、承認された。
- (9) 平成 12 年度の予算案が説明され、承認された。

《会員の異動》

(平成11年10月～平成12年9月)

入会者	余野 清香	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	Birger Voigt	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	中根 良文	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	山田 宜永	京都大学大学院農学研究科
	河田 昭彦	日本エスエルシー(株) 受託試験部
	森田 剛仁	鳥取大学農学部家畜病理学教室
	木下 明美	大阪大学医学部附属動物実験施設
	尾崎 潤一郎	田辺製薬(株) 安全性研究所
	原園 景	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所
	豆越 慎一	(株) 森永生科学研究所
	尾形 美和子	住化テクノサービス(株)
	梅田 光夫	大日本除蟲菊(株)
	大野 民生	名古屋大学医学部附属動物実験施設
	渡辺 弘之	岡崎産業(株)
	山田 秀一	京都大学ウイルス研究所
	伊東 久男	兵庫医科大学動物実験施設
	鏝 友成	オリエンタル酵母工業(株) 大阪バイオ営業所
	藤平 司郎	藤沢薬品工業(株) 安全性研究所
	中川 照文	科研製薬(株)
	久保 武	東レ(株) 安全性研究室
	原 卓司	協和発酵工業(株) 安全性研究所
	坪田 裕司	和歌山県立医大第二生理学
	脇坂 江美	(株) ケアリー 和歌山研究所
退会者	尾崎 晴茂	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
	萬野 賢児	摂南大学薬物安全科学研究所
	鈴木 靖郎	小野薬品工業(株) 福井安全性研究所
	龍門 徳彦	(財) たばこ産業弘済会
	石割 秀樹	日本クレア(株)
	浦谷 衛	石原産業(株) 中央研究所
	岸本 嘉夫	塩野義製薬(株) 油日ラボラトリーズ
	須田 浩	参天製薬(株) 中央研究所
	三村 哲夫	田辺製薬(株) 安全性研究所
	寺島 幸男	科研製薬(株) 中央研究所G L P室
	小泉 勤	福井医科大学動物実験施設
	野村 彰	
	中口 武	大阪工場内(株) 武田ラビックス
	西条 武俊	武田薬品工業(株) 薬剤安全性研究所
	石東 丞治	(株) ハイゲン
	平松 保造	摂南大学薬物安全科学研究所
	堀 孝司	オリエンタル酵母工業(株) 大阪営業所
	中川 博司	(株) 新日本ラボラトリー
	石井 昭男	協和発酵工業(株) 安全性研究所
訃報	川路 尚徳	

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2000年9月現在

（五十音順）★は会長、☆は名誉会員、○は評議員、◎は幹事、△は監事

氏名	〒	住所	所属
あ			
青木 純二	543-0055	大阪市天王寺区恵田院町 8-26-903	アニマルケア
青野 皆基	743-0011	山口県光市光井字武田 4720	武田薬品工業（株）薬事管理部監査室
赤川 利加寿	532-0011	大阪市淀川区西中島 7-14-35	ハムリー（株）大阪出張所
秋元 博一	520-3241	滋賀県甲賀郡甲賀町北山台 1 丁目 18-9	
秋山 旗	480-1103	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
○ 浅田 孝	532-0031	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
◎◎ 浅野 裕三	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬（株）安全性研究所
浅野 武敏	060-0818	札幌市北区北18条西9丁目	北海道大学大学院獣医学研究科放射線学教室
東文男	640-1473	和歌山県海草郡美里町毛原宮 486	(株)紀和実験動物研究所
足立 民子	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬（株）安全研
◎◎ 阿部 敏男	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	(株)武田ラビックス 系統管理部
安倍 宏明	550-0005	大阪市西区西本町 1-11-7	日本チャールズリバー（株）
新井 健史	530-0001	大阪市北区梅田 1-2-2-800	豊田通商（株）
荒木 宏昌	536-0025	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
有富 博之	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	シオノギ製薬 新薬研 実験動物管理室
安藤 幸夫	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業(株) 薬物機能第一研究所
い◎◎ 飯田 昂敏	433-8114	浜松市葵東 3-5-1	日本エスエルシー（株）
飯塚 三喜	666-0131	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	619-0200	京都府相楽郡木津町州見台 6-5-1-3	バイエル薬品（株）中央研究所
池田 克己	606-8316	京都市左京区吉田二本松町	京都大学大学院人間環境学研究所
石川 尚明	300-2656	茨城県つくば市真瀬 940-1	三協ラボサービス（株）つくば営業所
石川 隆司	564-0053	吹田市江ノ木町 3 3 - 9 4	大日本製薬（株）総合研究所
伊藤 隆康	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
伊東 久男	663-8501	西宮市武庫川1-1	兵庫医科大学動物実験施設
○ 稲垣 晴久	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	塩野義製薬（株）油日ラボトリーズ
乾 俊秀	532-8505	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	578-0901	東大阪市加納 7 丁目 23-3-112	
今井 章浩	665-0876	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
新比恵 啓志	532-8505	大阪市淀川区加島 3 丁目 16-89	田辺製薬（株）安全性研究所
今林 潤一	631-0806	奈良市朱雀 6-17-3-7B	化合物安全性研究所 営業部
岩知道 公彦	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）開拓第三研究所
岩堀 雄祐	520-3001	滋賀県栗太郡栗東町東坂 91	(株) ケーエーシー
う○ 内海 健二郎	604-8423	京都市中京区西の京西月見町40	(株) ケーエーシー
梅田 光夫	561-0827	大阪府豊中市大黒町1-1-11	大日本除虫菊（株）
◎◎ 海野 隆	532-0004	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シエーリング（株）前臨床開発研究部
え 榎本 康弘	220-8146	横浜市区みなとみらい 2-2-1 ランドマーク46階	日本農産工業（株）
◎◎ 江馬 真	540-8146	大阪市中央区法円坂 1-4-43	国立医薬品食品衛生研究所
お○ 及川 弘	525-0028	滋賀県草津市上笠 2-1-8-1	
大江 治	532-0031	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
大島 洋次郎	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
大島 五紀	520-3423	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 肇和	535-0004	大阪市旭区生江 1-8-14	沢井製薬（株）大阪研究所
大野 周三	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢テクニクス（株）業務Ⅱ部
大野 民生	466-8550	名古屋市昭和区鶴舞町65	名古屋大学医学部附属動物実験施設
大原 志雄	520-3423	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
大森 吉明	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	(株) 武田ラビックス 系統管理部
岡 智通	532-0002	大阪市淀川区東三国 4-4-15 コラム新大阪 6 F	(株) 富士バイオメディックス
岡崎 彰亮	105-0012	東京都港区芝大門 2-12-9	エドストロムジャパン（株）
尾形 美和子	554-8558	大阪市此花区春日出中3-1-98	住化テクノサービス（株）
○ 岡庭 梓	532-0003	大阪市淀川区宮原 5-1-3	(株) ポリリサーチセンター
◎◎ 岡本 宗裕	565-0871	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	564-0053	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	464-0044	名古屋市千種区自由ヶ丘 2-12-4-104	
狭野 信二	567-0878	大阪府茨木市蔵垣内 1-3-45	住友製薬（株）茨木工場
奥田 誠治	586-0006	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	485-0811	小牧市光ヶ丘 3-39-15	
奥本 正昭	599-8570	大阪府堺市学園町 1-2	大阪府立大学先端科学研究所
尾崎 潤一郎	113-0001	東京都文京区白山1-20-15ホワイトヒルズ境野503	田辺製薬（株）安全性研究所
○ 小田 厚子	743-0011	山口県光市光井字武田 4720	武田薬品工業（株）薬物機能第二研・光支所
か 鎌山 莊一郎	565-0871	大阪府吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設

関西実験動物研究会（個人会員名簿）2000年9月現在

	氏名	〒	住所	所属
	樫原 昭裕	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鷲薬品（株）
	加藤 敬二	564-0053	大阪府吹田市江の木町 6-5	日本クレア（株）大阪事業所
	加藤 仁五	532-0031	大阪府淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業（株）実験サービスセンター
	金城 義明	598-0061	泉佐野市住吉町 26	日本製薬（株）大阪研究部
	金田 平八郎	677-0032	西脇市中畑町 718	ラビトン研究所
	川合 是彰	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬（株）安全性研究所
○	河井 祥一郎	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18	丸石製薬（株）中央研究所
	河田 昭彦	433-8114	浜松市葵東 3-5-1	日本エスエルシー（株）受託研究部
	川西 和夫	520-2152	大津市月輪 3丁目 5-25	科研製薬（株）製剤研究部
	神田 政典	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬（株）新薬研究所
き○○	喜多 正和	602-8566	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	606-8501	京都市左京区吉田近衛町	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	北山 博章	615-0882	京都市右京区西京極葛野町 28 番	オリエンタルバイオサービス
	木下 明美	565-0872	大阪府吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
<	久世 博	532-8505	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	580-0016	大阪府松原市上田 8-1-20	
○○	久保 薫	634-8521	徳島市四条町 840	奈良県立医科大学 動物実験施設
	久保 武	520-0842	大津市園山 3丁目 1-2	東レ（株）安全性研究室
	倉林 隆	700-0914	岡山県鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部附属動物実験施設
○○	黒澤 努	565-0871	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 清	240-0012	神奈川県横浜市長谷区月見台 33-8-201	
	甲田 彰	554-0022	大阪市此花区春日出中 3丁目 1-98	住友製薬（株）総合研究センター
○	小嶋 明廣	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	（株）田辺 R&D サービス 大阪飼育管理部
	小谷 猛夫	599-8531	堺市学園町 1-1	大阪府立大学大学院農学生命科学研究科
	小林 嘉代	589-0014	大阪狭山市大野東 377-2	近畿大学ライフサイエンス研究所
	小林 忍	605-8550	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬（株）
	小林 欣滋	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬（株）安全性研究所
	小松 正美	586-0094	河内長野市小山田町 345	日本製薬（株）安全性研究所
	小森 彰	607-8042	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	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬（株）先端医学研究部
さ	境 陽子	520-3423	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
	坂田 太二	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺 R&D サービス
	佐藤 公道	606-8501	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	565-0871	吹田市山田丘 1-8	大阪大学歯学部中央研究室
	鯨島 秀暢	890-0011	鹿児島市玉里団地 1丁目 22-19	
し	塩田 恒三	602-0000	京都市上京区河原町広小路	京都府立医科大学医学動物学教室
○○	塩見 雅志	650-0017	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	541-0045	京都市中央区道修町 2-3-6	武田薬品工業（株）薬事管理部監査室
	嶋川 幸三	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）開拓第三研究所
	高田 好文	520-3111	滋賀県甲賀郡石部町東寺 1038	日本クレア（株）石部生産場
	清水 大	604-8423	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	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町 37	清水実験材料（株）
	清水 雅良	501-6251	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
	下西 功	534-0016	大阪市都島区友淵町 1-5-90	日本オルガノン（株）開発企画部
	鑑 一之	742-0021	山口県柳井市宮本開作	白銀工業（株）柳井製作所
す	菅原 努	606-8225	京都市左京区田中門前町 103	バスタークルビル京都イメリタスクラ
	杉井 孝	576-0031	大阪府交野市森南 2-27-3	（株）ケーエーシー 営業本部
	杉谷 順康	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）薬事管理部監査室
	鈴木 秀作	890-0073	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 昇	514-8507	三重県津市江戸橋 2-174	三重大学医学部附属動物実験施設
せ★○○	芹川 忠夫	606-8501	京都市左京区吉田近衛町	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	曾我 正彦	520-3423	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
た○	高折 修二	693-0021	出雲市塩冶町 89-1	鳥根医科大学
△	高木 貞明	601-8151	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	530-6035	大阪市北区天満橋1-8-30 OAP タワー35F	（株）三菱化学安全科学研究所
	高橋 明男	187-0031	東京都小平市小川東町 4-1-1	国立精神神経センター神経研究所
	高橋 恵子	520-3423	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
	竹下 崇	305-0003	つくば市桜 3-14-1	日本新薬（株）
	武田 篤彦	606-8225	京都市左京区田中門前町 103-5	バスタークルビル5 F（財）体質研究会
	竹之下 美恵	648-0003	橋本市隣田町山内 514	（株）ケアリー
○	竹之下 洋司	648-0003	和歌山県橋本市隣田町山内 514	（株）ケアリー
	田島 優	565-0871	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2000年9月現在

	氏名	〒	住所	所属
○	成巳 光義	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢テクニス（株）業務 4部 RI施設
	谷村 孝	590-0137	堺市城山台1-14-10	
	谷本 純一	583-0872	羽曳野市はびきの 4-15-4	
	多根井 昌孝	604-8423	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	550-0005	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
ち○	田畑 信子	743-0011	山口県光市光井字武田 4720	武田薬品工業（株）薬物機能第二研・光支所
	玉田 尋通	599-8231	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科
	千葉 薫	569-1125	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	520-3423	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
	塚原 清志	520-3423	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
つ	都築 政起	739-0046	東広島市鏡山1-4-4	広島大学生物生産学部家畜畜産学教室
	○ 蝶良 愛郎	570-0074	守口市文園町10-15	関西西大・第2病理
	蝶良 義彦	661-0002	尼崎市塚口町 1-33-21	
	坪田 裕司	641-0012	和歌山市紀三井寺 811-1	和歌山県立医大第二生理学
	津村 秀樹	514-0001	三重県津市江戸橋 2-174	三重大学医学部附属動物実験施設
と	鑑 友成	564-0043	吹田市南吹田 4丁目 4-1	オリエンタル酵母工業（株）大阪バイオ営業所
	堂前 嘉代子	663-8558	西宮市池間町6-46	武庫川女子大学生活環境学部
	徳本 和弥	566-0022	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	520-3423	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
	○◎ 鳥居 隆三	520-2192	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	520-3423	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
	○ 中井 伸子	601-8550	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬（株）安全性研究部
	中井 洋一	503-0628	岐阜県海津郡海津町福江290	（株）日本生物化学センター
	中尾 博之	520-3423	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
	中尾 康裕	618-0022	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
	中川 和年	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大興薬品（株）
	中川 照文	125-0041	東京都葛飾区金町3-5-13	ワコーエレガンス301 科研製薬（株）
	長澤 久光	610-0121	京都府城陽市寺田深谷 7-76	
	中島 健博	531-0072	大阪市北区豊崎 4-12-17	（株）ケアリー
	中島 文博	564-0053	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 文晴	062-0000	北海道札幌市豊平区真栄363-24	（株）化合物安全性研究所 病理検査室
	中根 良文	606-8501	京都市左京区吉田近衛町	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	中村 公章	607-8042	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	700-0914	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部法医学教室
	中村 正典	534-0016	大阪府都島区友洲町1-5-90	日本オルガノン（株）医薬研究所
	中山 亮	666-0112	川西市大和西 3-28-10	
	夏目 克彦	113-8551	東京都文京区湯島 2-18-6	夏目製作所（株）
	並河 知子	535-0004	大阪市旭区生江 1丁目 8-14	沢井製薬（株）研究部
	新谷 穂	565-8565	吹田市藤白台 5-125	国立循環器病センター研究所
	西川 健志	605-8550	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
に○◎	西川 哲	431-3124	浜松市半田町 3600	浜松医科大学 動物実験施設
	西田 伊久男	528-0052	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
	西家 義武	565-0871	吹田市山田丘 3-1	大阪大学微生物病研究所
	西村 孝義	528-0052	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲馬 555	（株）環境バイリス研究所
	西村 正彦	466-0065	名古屋市長和区鶴舞町65	名古屋大学医学部附属動物実験施設
	西村 弘道	597-0061	貝塚市清田 172-12	（株）ケーエーシー
	西山 秀志	532-8686	淀川区十三本町 2-17-85	（株）武田ラビックス
	沼沢 拓身	673-1461	兵庫県加東郡社町木梨	日本硝子製薬（株）
	ね 根本 良夫	561-0825	豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬（株）新薬研究所
	根藤 弘子	520-3423	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
の	野澤 康	467-0035	名古屋市長和区弥富町月見ヶ丘 21-2	
	は○ 橋本 正晴	532-8514	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業（株）安全性研究所
	橋詰 俊雄	547-0001	大阪市平野区加美北 4-6-19	白銀工業
	長谷川 治子	542-0083	大阪府中央区東心斎橋 2-1-13	
	浜田 祐二	871-0801	福岡県上郡吉富町小祝 955	セアック吉富
	早川 純一郎	920-1161	金沢市鈴見台4-12-6	
	林 新茂	565-0862	吹田市津雲台 5-18 □ 75-102	
	原 卓司	755-8501	山口県宇部市藤曲2548	協和発酵工業（株）安全性研究所
	原口 心雄	561-0825	豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬（株）新薬研究所
	原園 景	540-0006	大阪府中央区法門坂1-1-43	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所
○	原田 正史	545-0051	大阪市阿倍野区旭町	大阪市立大学医学部
ひ	東 稔広	532-0004	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シエーリング（株）

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2000年9月現在

	氏名	T	住所	所属
	東山 昇	561-0825	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬（株）新薬研究所
	足田 精一	607-8042	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
	日高 隆義	676-0027	兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8	価値化学工業（株）高砂研究所
○	平川 公昭	590-0422	兵庫県龍崎町希望が丘 1-4-21	（株）新日本科学 薬物代謝分析センター
	平沢 勉	520-3423	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
	Birger Voigt	606-8501	京都市左京区吉田近衛町	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
ふ	福岡 俊文	554-0022	大阪市此花区豊日中 3-1-98	住友化学工業（株）生物環境科学研究所
	堀西 克弘	534-0016	大阪市都島区友通町 1-5-90	日本オルガノン（株）医薬研究所
	藤井 恒雄	532-0031	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	532-0031	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 昇一	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬（株）新薬研究所
	藤平 司郎	532-8514	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業（株）安全性研究所
○	藤村 一	606-0805	京都市左京区下鴨森本町 15	（財）生産開発科学研究所
○	古河 恵一	589-8511	大阪府大阪狭山市大野東 377-2	近畿大学医学部共同研究実験動物室
ほ	干場 純治	700-0914	岡山県鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部附属動物実験施設
	細野 和裕	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）開拓第三研究所
	堀江 良一	693-0021	出雲市塩冶町 89-1	島根医科大学第2病理学教室
	堀川 洋子	565-0871	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
ま	前田 勝弘	564-0053	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	564-0053	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 耕子	641-0012	和歌山市紀三井寺 811-1	和歌山県立医科大学 第2生理学教室
○	牧野 達	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田	塩野義製薬（株）実験動物研究センター
	政本 浩二	739-1105	広島県高田郡甲田町下甲1 1624	湧永製薬（株）中央研究所
	増井 剛夫	433-8111	静岡県浜松市美 3-5-1	日本エスエルシー（株）品質管理部
○	増岡通夫	520-3001	滋賀県栗太郡栗東町東坂 91	（株）KAC生物科学センター
	町尾 久夫	564-0043	吹田市南吹田 4-4-1	オリエンタル酵母工業（株）大阪バイオ営業所
	松浦 裕	569-1034	高槻市大蔵司 2-46-2	
	松村 理一郎	666-0116	川西市水明台 3-5-76	
	松本 耕三	770-0042	徳島市蔵本町 3	徳島大学医学部附属動物実験施設
	豆越 慎一	230-	横浜市長見区下末吉 2-1-1	（株）森永生命科学研究所
み○◎	三日月 勝見	520-3423	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
	三日月 幸治	520-3423	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
	神子田 武	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	（株）武田ラビックス
	水内 博	532-8505	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	565-0081	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部「付設」施設・腫瘍生化学講座
	三原 佳子	410-0866	静岡県沼津市市道町 13-4 本山方	
☆○	宮高 宏彰	892-0871	鹿児島県鹿児島市吉田町宮之清 2438	（株）新日本科学
○	宮嶋 正康	641-8509	和歌山市紀三井寺 811-1	和歌山県立医科大学実験動物室
	宮本 誠	553-0003	福島県福島市 1-1-50	大阪大学医学部附属病院病理部
○◎	宮脇 茂樹	305-0003	つくば市桜 3丁目14-1	日本新薬（株）東部創薬研究所
む	椋本 末男	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢薬品工業（株）分子生物研究室
	武藤 通彦	520-3423	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
	村口 武彦	606-8501	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
	村本 泰一	567-0806	大阪府茨木市庄2-24-3	（株）アズエール
も	本山 守夫	531-0071	大阪市北区中津 1-6-28 約30坪 4F	実医研（株）
	森 聖	541-0045	大阪市中央区道修町3-1-8	塩野義製薬（株）医薬情報部
	森 幸生	567-0806	茨木市庄 2丁目 24-3	（株）アズエール
○◎	森岡 宏至	599-8531	堺市学園町 1-1	大阪府立大学・院・農学生命科学研・獣医学・実験動物学
	森岡 一輝	544-8666	大阪市生野区西宮 1-8-1	ロート製薬（株）生物臨床研究部開発支援G
	森島 英喜	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
	森田 剛仁	680-0945	鳥取市湖山町南4丁目101	鳥取大学農学部家畜病理学教室
○◎	森本 純司	569-8686	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	569-1094	高槻市奈佐原 4-20-1	大阪医科大学実験動物センター
	安原 吉高	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業（株）開拓第三研究所
	柳本 行雄	550-0005	大阪市西区西本町 2-5-19	生活化学研究所
	矢野 賢一	679-2296	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1	吉富製薬（株）安全性研究所
	山北 修	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大興薬品工業(株)研究部
	山口 哲生	392-0016	長野県諏訪市豊田 6598	（株）CSKリサーチパーク
	山崎 俊幸	666-0116	兵庫県川西市水明台4丁目2-35	
	山下 武夫	520-3423	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
	山下 浩文	520-3423	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
	山田 宣永	606-8224	京都市左京区北白川造分町	京都大学大学院農学研究科

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2000年9月現在

	氏名	〒	住所	所属
	山田 秀一	606-8397	京都市左京区聖護院川原町53	京都大学ウイルス研究所
○	山添 裕之	554-0022	大阪市此花区春日出中3-1-98	住友化学工業（株）生物環境科学研究所
○◎	山中 久	541-0045	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
	山元 勝一	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1450	塩野義製薬（株）実験動物研究センター
	山本 孝史	598-8540	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	535-0004	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	930-0152	富山市杉谷 2630	富山医科大学動物実験センター
○◎	山本 好男	520-2192	大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学法医学教室
	山本 淑子	606-8501	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	606-8501	京都市左京区吉田二本松町	京都大学人間環境学部
よ	吉岡 勝	532-8686	大阪市淀川区十三本町2-17-85	武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
	吉澤 達	604-8423	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	561-0825	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 元信	563-0011	池田市伏尾町103	大日本製薬（株）γ-アミノ酸部研究所
	吉船 伸一	567-0806	茨木市庄2丁目 24-3	（株）アズウェル
	余野 清香	520-3423	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
わ	若狭 芳男	399-4501	長野県伊那市西箕輪 8047	（株）イナリサーチ 薬理研究部
	脇坂 江美	648-0003	和歌山県橋本市隅田町山内 514	（株）ケアリー 和歌山研究所
	渡辺 信介	589-0014	大阪府大阪狭山市大野東 377-2	近畿大学ライフサイエンス研究所
	渡辺 清	520-3423	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
	渡辺 弘之	340-0027	埼玉県草加市岡新田西町405	岡崎産業（株）
	和田 あづみ	599-8531	堺市学園町 1-1	大阪府立大学農学部獣医学科

上記個人会員名簿に追加、訂正等があれば

事務局（TEL：075-753-4489, FAX：075-753-4409, e-mail：cyamachi@ip.media.kyoto-u.ac.jp）にご連絡下さい

関西実験動物研究会 維持会員名簿

(五十音順) (平成12年9月現在)

No.	社名	〒	住所
1	(株) アズウエル	567-0806	茨木市庄 2-24-3
2	(株) イナリサーチ大阪支所	541-0045	大阪市中央区道修町2-2-6道修町後藤ビル3F
3	ウエルファイド (株) 研究本部 開発研究所	679-2296	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1
6	(株) 大塚製薬工場・鳴門研究所	772-0017	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115
4	オリエンタル酵母 (株) 大阪バイオ営業所	564-0043	吹田市南吹田 4-4-1
5	(株) オリエンタル・バイオサービス	615-0882	京都市右京区西京極葛野町 28 番地
7	北山ラベス (株)	396-0021	長野県伊那市荒井区川北 3052
8	(株) ケアリー	531-0072	大阪市北区豊崎 4-12-1
9	(株) ケー・エー・シー	604-8423	京都市中京区西の京西月光町 40
10	参天製薬 (株) 中央研究所	533-0021	大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
11	塩野義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405
12	(株) 実医研	531-0071	大阪市北区中津 1-6-28 ホーコクビル4F
13	白銀工業 (株) 柳井製作所	742-0021	山口県柳井宮本開作
14	(株) 新日本科学	892-0871	鹿児島県鹿児島郡吉田宮之浦2438
15	セアック吉富 (株)	871-0801	福岡県築上郡吉富町大字小祝 955
16	大日本製薬 (株) 開発研究所・安全研	564-0053	吹田市江の木町 33-94
17	武田薬品工業 (株) 創薬研究本部	532-8686	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	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89
19	豊田通商 (株) 東京本社物資部ライフサイエンスグループ	103-8655	東京都中央区日本橋 2-14-9
20	(株) 夏目製作所	113-0034	東京都文京区湯島 2-18-6
21	日本エスエルシー (株)	601-8151	京都市南区上鳥羽塔ノ森東向町 93-8
22	日本オルガノン (株)	534-0016	大阪市都島区友淵町 1-5-90
23	日本クレア (株) 大阪事業所	564-0053	大阪府吹田市江の木町 6-5
24	日本新薬 (株) 創薬研究本部	601-8550	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
25	日本チャールス・リバー (株)	550-0005	大阪市西区西本町 1-11-7
26	日本ベーリンガーインゲルハイム (株)	666-0193	兵庫県川西市矢間 3 丁目10-1
27	藤沢薬品工業 (株) 企画部 研究開発	532-8514	大阪市淀川区加島 2-1-6
28	扶桑薬品工業 (株) 研究開発 センター	536-0025	大阪市城東区森の宮 2-3-30
29	丸石製薬 (株) 中央研究所	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
30	(株) 三菱化学安全科学研究所大阪支店	530-6035	大阪市北区天満橋 1-8-30 OAPタワー35F
31	(株) 美濃ラボ	503-0321	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
32	(株) ラビトン研究所	677-0032	兵庫県西脇市中畑町 718

上記維持会員名簿に追加、訂正等があれば下記までご連絡下さい

事務局 (TEL : 075-753-4489, FAX : 075-753-4409, e-mail : cyamachi@ip.media.kyoto-u.ac.jp)

関西実験動物研究会 評議員名簿

(平成11年度～13年度)

氏名	所属
浅田 孝	藤沢薬品工業（株）開発第一研究所
浅野 裕三	田辺製薬（株）安全性研究所
阿部 敏男	(株)武田ラビックス 系統管理部
飯田 晶敏	日本エスエルシー（株）
池田 卓也	バイエル薬品（株）中央研究所
稲垣 晴久	塩野義製薬（株）
内海 健二郎	（株）ケーエーシー
海野 隆	日本シエーリング（株）前臨床開発研究部
江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所
及川 弘	
岡庭 梓	（株）ボゾリサーチ
岡本 宗裕	鳥取大学農学部獣医学科実験動物機能学
河井 祥一郎	丸石製薬（株）中央研究所
喜多 正和	京都府立医科大学実験動物室
北田 一博	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
久保 薫	奈良県立医科大学動物実験施設
黒澤 努	大阪大学医学部附属動物実験施設
小嶋 明廣	田辺 R&D サービス
塩見 雅志	神戸大学医学部附属動物実験施設
鈴木 昇	三重大学医学部附属動物実験施設
芹川 忠夫	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
高折 修二	島根医科大学
高島 俊行	（株）三菱化学安全科学研究所
竹之下 洋司	（株）ケアリー
谷村 孝	
千葉 薫	（財）たばこ産業弘済会理化学関連事業部
螺良 愛郎	関西医科大学第二病理学教室
鳥居 隆三	滋賀医科大学医学部附属動物実験施設
中井 伸子	日本新薬（株）中央研究所
新谷 聡	国立循環器病センター研究所
橋本 正晴	藤沢薬品工業（株）安全性研究所
原田 正史	大阪市立大学医学部動物実験施設
平川 公昭	（株）新日本科学
藤村 一	（財）生産開発科学研究所
古河 恵一	近畿大学医学部共同研実験動物室
前田 敏宏	大日本製薬（株）研究管理部動飼室

氏名	所属
牧野 進	塩野義製薬（株）実験動物研究センター
増岡通夫	（株）ケーエーシー生物科学センター
三日月 勝見	塩野義製薬（株）実験動物研究センター
宮脇 宏彰	（株）新日本科学
宮嶋 正康	和歌山県立医科大学実験動物施設
宮脇 茂樹	日本新薬（株）東部創薬研究所
森岡 宏至	大阪府立大学大学院農学生命科学科獣医学実験動物学
森島 英喜	武田薬品工業（株）薬物機能第二研究所
森本 純司	大阪医科大学実験動物センター
安田 正秀	大阪薬科大学実験動物センター
山添 裕之	住友化学工業（株）生物環境科学研究所
山中 久	（株）イナリサーチ大阪支所
山本 博	富山医科薬科大学動物実験センター
山本 好男	滋賀医科大学法医学教室
家森 幸男	京都大学大学院人間環境学研究科
吉田 元信	大日本製薬（株）アニマルヘルス部

上記評議員名簿に追加、訂正等があれば

事務局（TEL：075-753-4489, FAX：075-753-4409,

e-mail：cyamachi@ip.media.kyoto-u.ac.jp）にご連絡下さい

関西実験動物研究会 会長・幹事・監事名簿

(平成 12 年度)

	名前	所属
会長：	芹川 忠夫	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
庶務・	喜多 正和	京都府立医科大学実験動物室
会計：	北田 一博	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
集会：	阿部 敏男	(株) 武田ラビックス系統管理部
	浅野 裕三	田辺製薬 (株) 安全性研究所
	池田 卓也	バイエル薬品 (株) 中央研究所
	海野 隆	日本シェーリング (株) 研究開発本部
	江馬 真	国立医薬品食品衛生研究所
	黒澤 努	大阪大学医学部附属動物実験施設
	久保 薫	奈良県立医科大学 動物実験施設
	塩見 雅志	神戸大学医学部附属動物実験施設
	前田 敏宏	大日本製薬 (株) 研究管理部動飼室
	森岡 宏至	大阪府大大学院農学生命科学研究科獣医学実験動物学
	森本 純司	大阪医科大学実験動物センター
編集：	山本 好男	滋賀医科大学法医学教室
(京都 G)	鳥居 隆三	滋賀医科大学医学部附属動物実験施設
	三日月 勝見	塩野義製薬 (株) 実験動物研究センター
	宮脇 茂樹	日本新薬 (株) 東部創薬研究所
編集：	新谷 聡	国立循環器病センター研究所
(大阪 G)	飯田 晶敏	日本エスエルシー (株)
	岡本 宗裕	鳥取大学農学部獣医学科実験動物機能学講座
	山中 久	(株) イナリサーチ大阪支所
監事：	清水 英男	清水実験材料 (株)
	高木 貞明	日本エスエルシー (株)

平成 12 年 12 月 1 日 印 刷

平成 12 年 12 月 1 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

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

印 刷 所 プラスエー株式会社

〒525-0046 滋賀県草津市追分町 376 番地の 10

関西実験動物研究会会報 第21号
Kansai Journal of Laboratory Animals

第63回研究会：疾患モデル：ヒトとマウスの種差を越えて

平野 賢一：Genetic Engineered Miceと動脈硬化研究 3

山本 博：糖尿病血管症へのトランスジェニックアプローチ 10

第64回研究会

抄録：会員による研究発表（17題） 19

第65回研究会：実験動物の国際化を巡って

黒澤 努：実験動物と動物実験施設：国際標準化の動向 39

第66回研究会：医薬品開発の前臨床試験における新しい動向と国際戦略を考える

松澤 利明：医薬品産業の国際化と前臨床試験の在り方 47

第67回研究会：高次神経機能を動物実験により解明する

今泉 和則：アルツハイマー病にみられる神経細胞死の分子機構 73

畠 義郎：哺乳類視覚系に見られる経験依存的な神経回路発達 84

＜関西実験動物研究会だより＞

幹事会、評議員会、総会の議事概要 93 会員の異動 96

個人会員名簿 97 維持会員名簿 102 評議員名簿 103

会長、幹事、監事名簿 105