

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成15年12月 24号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

〈第75回研究会（平成14年9月6日）〉

テーマ：「組換え動物の利用と規制」

1. Naked DNAを用いた生体での遺伝子発現法

宮崎 純一（大阪大院・医・幹細胞制御分野）----- 3

2. 組換えDNA 実験指針改訂に伴う動物を用いる実験の取り扱い

安居院 高志（北海道大院・獣医・動物疾病制御学）----- 7

〈第76回研究会（平成14年12月6日）〉

特別講演

「マウスモデルを用いた大腸癌の形成とその化学予防の研究」

武藤 誠（京都大院・医・薬理遺伝学）----- 11

「珍頑鼠育草」の鼠はマウスかラットかネズミか」

芹川 忠夫（京都大院・医・動物実験施設）----- 14

会員による研究発表（17題）----- 21

〈第77回研究会（平成15年3月7日）〉

テーマ：「西ナイルウィルスの最新情報」

1. バイオエマージェンシーとしての米国のアルボウィルス感染症

高崎 智彦（国立感染症研究所ウィルス第一部第2室）----- 41

2. 西ナイルウィルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明

真下 知士（京都大院・医・動物実験施設）----- 45

〈第78回研究会（平成14年6月6日）〉

テーマ：「細菌感染症の病原因子と病態」

1. 下痢原性大腸菌の病原性 ―遺伝子解析から見てきたこと―

山崎 伸二（大阪府大院・農・獣医国際防疫研究室）----- 53

2. 細菌性病原因子と生体成分の相互作用 ―百日咳菌壊死毒の分子作用機構

堀口 安彦（大阪大微研・細菌毒素学分野）----- 54

3. ボツリヌス神経毒素に関する最近の研究動向 ----- 58

小崎 俊司（大阪府大院・農・獣医感染症学研究室）

〈関西実験動物研究会だより〉----- 65

〈幹事会、評議員会、総会の議事概要〉----- 67

〈会員の異動〉----- 69

〈個人会員名簿〉----- 70

〈維持会員名簿〉----- 74

〈評議員名簿〉----- 75

〈会長、幹事、監事名簿〉----- 77

〈第75回研究会（平成14年9月6日）〉

テーマ：組換え動物の利用と規制

1. Naked DNAを用いた生体での遺伝子発現法

宮崎 純一（大阪大院・医・幹細胞制御分野）

2. 組換えDNA 実験指針改訂に伴う動物を用いる実験の取り扱い

安居院 高志（北海道大院・獣医・動物疾病制御学）

Naked DNA を用いた生体での遺伝子発現法

大阪大学大学院医学系研究科幹細胞制御分野

宮崎 純一

1. naked DNA 法とは

生体に遺伝子を導入する方法の開発、改良は、遺伝子治療のみならず生命科学研究のためにも重要である。生体への遺伝子導入法の1つとして、発現プラスミド DNA を直接筋肉に注射（筋注）し導入する、いわゆる naked DNA 法がある。1990 年 Wolff らは、酵素（ β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ）を発現するプラスミド DNA をマウスに筋注すると、筋肉でこれらの酵素が発現することを報告した¹⁾。プラスミドベクターDNAは複製されたり宿主のゲノムに組み込まれたりせずに、エピソードとして数カ月間筋肉細胞内に存在した。しかし、他の組織ではほとんど DNA は取り込まれない。この方法は、生体への遺伝子導入法として非常に簡単ではあるが、発現力が弱いために応用範囲が限られてきた。その後、ウイルスなどの蛋白の一部をコードするプラスミドベクター注射により筋肉細胞内や皮膚細胞内に抗原を発現させ、抗原特異的な免疫応答を惹起して、宿主にそのウイルスに対する免疫的防御能を獲得させることが報告された。この手法は DNA ワクチンと名付けられ注目を集めるようになった。

2. In vivo エレクトロポレーションによる筋肉への遺伝子導入法

我々は naked DNA 法の発現力をさらに上げるための試みを行ってきたが、DNA 筋注部分でエレクトロポレーション（EP; すなわち、DNA を注射した筋肉の部位に電気パルスをかける）を行うことにより遺伝子導入・発現効率をこれまでの数百倍に改善することに成功した²⁾。EP 法は細胞に電気パルスをかけて、細胞膜に一過性に穴を開けることにより、DNA を細胞内に導入する方法である。最近、この手法はニワトリ胚、腫瘍などに in vivo で DNA 導入するためにも広く用いられている。

筋肉への EP 法を用いて、IL-5 をマウスで発現させた例を示す³⁾。我々のグループでは、他の実験系（トランスジェニックマウスなど）で筋肉において強い発現力が証明されている発現プラスミド pCAGGS（サイトメガロウイルスエ

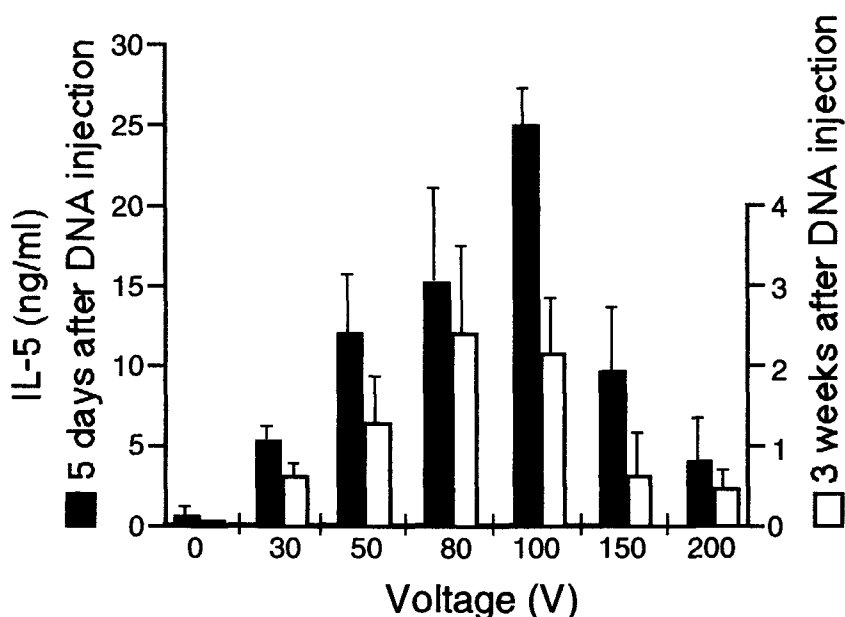


図1 電圧を変化させた時の血清 IL-5 の変化

IL-5 発現プラスミド DNA 筋注後、それぞれ横軸に示した電圧のパルスを加えた。EP 後、5 日と 3 週間後の血清 IL-5 を測定した。

ンハンサーとニワトリ β -actin プロモーターを結合し、さらにウサギ β -globin 遺伝子のポリ A シグナルを結合したもの)を使用し、良好な結果を得ている。IL-5 発現プラスミド pCAGGS-IL5 を生理食塩水に溶解し、8 週齢マウスの両側下腿部筋肉（前脛骨筋）に個体あたり 100 μ g（濃度 1.5 μ g/ml）筋注した。その後直ちに、DNA 筋注部位を挟むように、5 mm 間隔の一对の針電極（27 ゲージ）を筋肉内に挿入し、50 msec の電気パルスを 1 パルス／秒の割合で 3 パルス、さらに逆方向に 3 パルス与えた。投与 5 日後の血清 IL-5 濃度を測定したところ、EP なしでは 100 pg/ml 未満であったが、EP を行うと、電気パルスの電圧 0V から 100V まで IL-5 レベルは増加し、最高 25 ng/ml にも達することが示された（図 1）。それ以上の電圧では、筋肉への障害が起こるためか発現レベルは低下した。投与 6 週後の血清中 IL-5 濃度は低下していたが、高いものではなお 1 ng/ml 以上であった。発現の範囲を調べるために、 β -ガラクトシダーゼ発現プラスミド pCAGGS-lacZ を同様の方法で筋肉に導入し、2 日後の組織切片を X-gal で染色したところ、多くの筋線維で発現していることが示された。なお、EP なしではほとんど染色される細胞は認められなかった。

ラット（体重はマウスの約 10 倍）にエリスロポエチン遺伝子導入した例では⁴⁾、両側の下肢筋肉に計 400 µg のエリスロポエチン発現プラスミドを EP で導入した。血中エリスロポエチン濃度は 1 週間後に 120 mU/ml のピークを示し、その後次第に低下するが、20 週後も有意な上昇が認められた。ヘマトクリットは 50% から次第に上昇し、4 週間には 70% 程度に増加し、半年後も高いまま維持された。

3. 応用例と今後の展望

この方法は、研究目的でサイトカイン、成長因子などをマウスやラットに持続的に供給し、その効果を研究するための手法として有効である。既に、担癌マウスに対して IL-12 またはインターフェロンα発現プラスミドを、あるいはウイルス性心筋炎モデルマウスに対して viral IL-10 発現プラスミドを EP を用いて筋肉で発現させた研究などがあり、いずれも優れた治療効果が認められている。これまでに報告された応用例を表にまとめておく。

導入遺伝子	動物	発現レベル（血清）	効果・意義
IL-5	マウス	25 ng/ml	好酸球増加、発現の定量化
β-ガラクトシダーゼ	マウス	n.d.	発現範囲の可視化
エリスロポエチン	ラット	120 mU/ml	ヘマトクリット上昇、長期発現
IL-12	マウス	170 pg/ml	腫瘍縮小
インターフェロンα	マウス	n.d.	腫瘍縮小
viral IL-10	マウス	2.3 ng/ml	EMC ウイルス感染生存率改善
インスリン	マウス	15-23 µU/ml	糖尿病軽減
ニューロトロピン 3	マウス	n.d.	シスプラチン神経炎軽減
メラノーマ抗原	マウス	n.d.	メラノーマ拒絶
インフルエンザ HA	マウス	n.d.	インフルエンザ感染防御
ルシフェラーゼ	ウサギ	640 ng/muscle	発現定量化

n.d.: not determined

表 In vivo エレクトロポレーションを用いた筋肉への遺伝子導入

DNA ワクチンに応用すれば、発現レベルを高めることができるので、効果も高まる。DNA ワクチンでは、比較的安価に大量かつ高い純度のワクチン（プラスミド）精製が可能であるので、費用や安全性の面でも従来のワクチンに比し

て優れていると思われる。

最近、我々はEPを皮膚への遺伝子導入にも利用し、効果を認めている⁵⁾。今後の改良として、遺伝子の発現制御系を組み込んだプラスミドを導入することにより、発現レベルを薬剤投与により外から制御することも可能になろう。

文献

- 1) Wolff, J. A. Malone RW., Williams, P., et al.: Science 247, 1465-1468, 1990.
- 2) Aihara, H. & Miyazaki, J.: Nature Biotechnol. 16, 867-870, 1998.
- 3) Miyazaki, J. & Aihara, H.: Gene Therapy Protocols, 2nd ed, p49-62, Humana Press (Totowa), 2001.
- 4) Maruyama, H., Sugawa, M., Moriguchi, Y., et al.: Human Gene Ther. 11, 429-437, 2000.
- 5) Maruyama, H., Ataka, K., Higuchi, N., et al.: Gene Ther. 8, 1808-1812, 2001.

第 75 回関西実験動物研究会 組換え動物の利用と規制

2. 組換え DNA 実験指針改定に伴う動物を用いる実験の取り扱い

安居院 高志（名古屋市立大学大学院医学研究科実験動物研究教育センター）

平成 14 年 1 月 31 日付けで文科省改定組換え DNA 実験指針が告示され、同年 3 月 1 日から施行された。本講演では新指針が旧指針と変わった点、それに伴い動物を用いる実験の際に留意すべき点に付いて概説する。

従来組換え DNA 実験指針は旧文部省と旧科技庁から出されていたものの二本立てであった。両者に大きな違いはなかったものの、細かな点においてはいくつかの違いがあり、旧文部省管轄の大学等と旧科技庁管轄の製薬企業や動物生産業者との間で共同研究を行う場合などの際に若干の問題が生じることもあった。今回は省庁再編に伴い両者が統一されたためこれらの問題は解消された。更に今回の改定では、微生物を宿主とした組換え体の作製、その組換え体の動物への接種、組換え体を生殖細胞に導入された組換え動物を用いる一般的動物実験などの全てが組換え DNA 実験として統一された。これに伴い実験計画書も統一され、申請者にも審査する側にも大変分かりやすくなった。本講演ではこのような改定指針の総論的な概説を行った後に、各論として第 7 章「動物及び植物を用いる実験」について更に詳しく解説を行う。また、現時点での指針の問題点、各自が動物を用いる実験の実験者、または動物施設の管理者、動物実験委員会の委員などの立場で、それぞれ留意していかなければならない点などについて解説を行う。

〈第76回研究会（平成14年12月6日）〉

特別講演

「マウスモデルを用いた大腸癌の形成とその化学予防の研究」

武藤 誠（京都大院・医・薬理遺伝学）

「珍頑鼠育草」の鼠はマウスかラットかネズミか」

芹川 忠夫（京都大院・医・動物実験施設）

大腸癌の前駆症状である腸ポリープ症のマウスモデルとして、我々は先に Apc 遺伝子ノックアウトマウス (Apc^{Δ716}) を作出し、ヘテロ接合体がヒトの家族性大腸ポリープ症 (FAP) と同様、腸に多数のポリープを形成することを見出した。[1、2] その後この変異マウスを用いて、ポリープ形成の初期にシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) が著しく誘導されることを見出した。[3] ポリープ形成における COX-2 の役割を確認するために、我々は次に COX-2 遺伝子 (Ptgs2) のノックアウト変異を Apc^{Δ716} マウスに導入したところ、ポリープの数と大きさが激減することを見出した。(図 1) この発見を臨床応用する手だてとして、我々は更に Apc^{Δ716} マウスに COX-2 特異的阻害薬である MF-tricyclic を食餌と共に投与し、その効果を COX-1 と COX-2 の阻害薬であるスリンダク (Sulindac) 及び、全く薬剤を投与しない対照と比較した。その結果、COX-2 阻害薬は、スリンダクより更に効果的にポリープ数の減少を来した。(図 2) これらの結果は、COX-2 阻害薬が、従来の非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) と異なって、消化管出血や潰瘍化などの重篤な副作用がないという利点に加え、ポリープ症の治療にかけては、より効果的であることを示した。これらの結果に基づいて、最近 FAP 患者の COX-2 阻害薬による治療法が確立され、[4] 米国 FDA は FAP の標準治療薬として認可した。

COX-2 の直接の産物はプロスタグランジン (PGH₂) であるが、PGH₂ は更に代謝・変換されて多様なプロスタノイドとなって生理活性を示す。中でも PGE₂ は、ポリープ形成や癌化の主役と考えられているが、その受容体には EP1~EP4 の 4 種が知られており、その細胞内反応は多様である。どの EP 受容体が腸ポリープ形成のシグナルを伝達しているかを調べるために、我々はまず、これら受容体の mRNA レベルを正常腸粘膜とポリープで比較した。その結果、EP2 mRNA のみがポリープに特異的に著しく増加していることを見出した。[5] この EP2 が本当にポリープ形成に関与しているかどうかを確認するために、我々は Apc^{Δ716} マウスを EP1、EP2、EP3、EP4 受容体遺伝子のノックアウトマウスとそれぞれ交配して複合変異マウスを作出した。その結果、EP2 変異をもった Apc^{Δ716} マウスのみが、特異的にポリープ数とサイズの減少を示し、PGE₂ シグナルが EP2 受容体を介してポリープ形成を担っていることが証明された。更に

面白いことに、 PGE_2 が EP2 受容体に結合して起きる細胞内の cAMP レベルの上昇が、COX-2 の発現を更に強く増進させることを見出した。この結果は、ポリープ間質から分泌された PGE_2 がオートクライン的に COX-2 レベルを上昇させる正のフィードバック機構を示している。(図 3) [5] 同時に、これによって上昇した cAMP は、おそらく PKA を介して、血管新生促進因子 VEGF や angiopoietin2、更には基底膜成分蛋白の 1 つである Lamin α 2、の産生増加を来して血管新生と細胞接着性の変化を促すことが明らかとなった。[5]

ポリープ形成における血管新生を更に調べるために、我々はポリープ組織における、微小血管密度 (MVD ; microvessel density) をそれぞれの変異マウスで測定した。[6] $\text{Apc}^{\Delta 716}$ マウスや $\text{Apc}^{\Delta 716}$ と Smad4 変異の複合変異マウスのポリープでは MVD はポリープ径が 1mm に達したあと比例的に上昇する。しかし、 $\text{Apc}^{\Delta 716}$ と COX-2 遺伝子や EP2 遺伝子との複合変異ポリープでは MVD が 1~2mm 径のポリープで上昇できないため 2mm 以上のポリープは存在しないことを見出した。そして、VEGF や bFGF もポリープ径が約 1mm に達して初めて上昇することを見出した。これらの結果は、ポリープ径が約 1mm に達すると COX-2 の誘導が起こり、その結果、VEGF の誘導や血管新生が起こり、ポリープの更なる増大を助けていることを示している。

$\text{Apc}^{\Delta 716}$ マウスにおけるポリープ形成は、ポリープ間質における COX-2 の誘導で制御されていることは上述した通りだが、[3] この間質での COX-2 産生細胞を $\text{Apc}^{\Delta 716}$ マウスと FAP 患者のポリープ両方で免疫組織化学的に同定したところ、双方とも、大部分 (~85%) は Vimentin 陽性の線維芽細胞 (fibroblasts) であることが判明した。[7]

これまで述べた様に腸ポリープの形成における COX-2 の重要な役割は確立されたと云えるが、同時に Apc^{Min} マウスと COX-1 遺伝子ノックアウトマウスとの交配実験から COX-1 も COX-2 同様にポリープ形成に重要な役割を果たすことが明らかになった。[8] そこで Apc^{Min} と COX-1 変異マウスにできたポリープと、 $\text{Apc}^{\Delta 716}$ と COX-2 変異マウスにできたポリープを同時に系統的に調べることによって、我々は COX-1 と COX-2 が協調的に作用していることを証明した。[9] すなわち、 Apc^{Min} COX-1 マウスと $\text{Apc}^{\Delta 716}$ COX-2 マウスでは、それぞれポリープ数やサイズが激減するが、これらのマウスにできた数少ないポリープの中で 1~2mm 以上に達したものを検索すると Apc^{Min} COX-1 マウスポリープでは COX-2 が、また、 $\text{Apc}^{\Delta 716}$ COX-2 マウスポリープでは COX-1 が強く発現し

ていることが分かった。また、FAP 患者のポリープにおいても COX-1 と COX-2 が同時に発現しており、免疫蛍光染色実験では、ポリープ内の COX-2 産生線維芽細胞は、全て以前から COX-1 を産生していた細胞であったことが判明した。[9] (図 4) これらの結果は、たとえば、アスピリンは通常の薬用量では COX-2 は阻害せず、COX-1 のみを阻害するにもかかわらず、アスピリン服用者の疫学調査で有意に腸癌発生率が減少していることを明解に説明している。[10]

参考文献

- [1] Oshima, M. et al. PNAS 92: 4482-4486, 1995.
- [2] Oshima, H. et al., Cancer Res. 57: 1644-1649, 1997.
- [3] Oshima, M. et al., Cell 87: 803-809, 1996.
- [4] Steinbach, G. et al., NEJM 342: 1946-1952, 2000.
- [5] Sonoshita, M. et al., Nat. Med. 7: 1048-1051, 2001.
- [6] Seno, H. et al., Cancer Res. 62: 506-511, 2002.
- [7] Sonoshita, M. et al., Cancer Res. 62: 6846-6849, 2002.
- [8] Chulada, P.C. et al., Cancer Res. 60: 4705-4708, 2000
- [9] Takeda, H. et al., Cancer Res. 63: 4872-4877, 2003.
- [10] Thun, M. J. et al., JNCI 94: 252-266, 2002.

Fig. 3

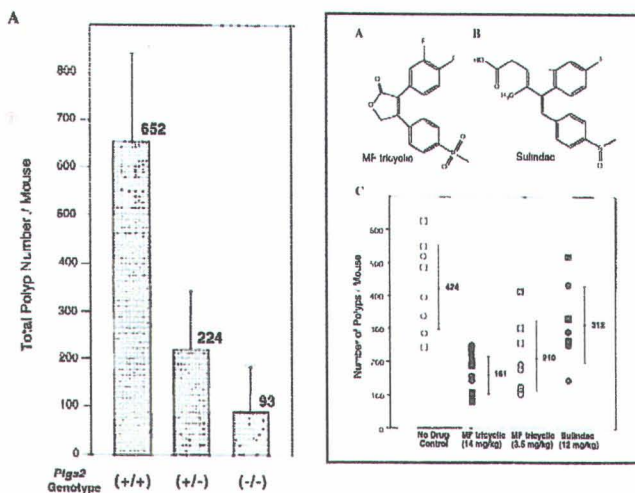


Fig. 1

Fig. 2

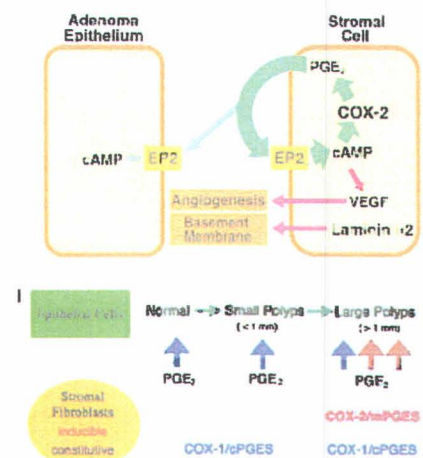
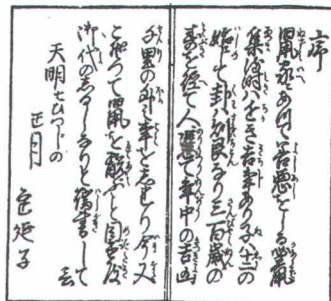


Fig. 4

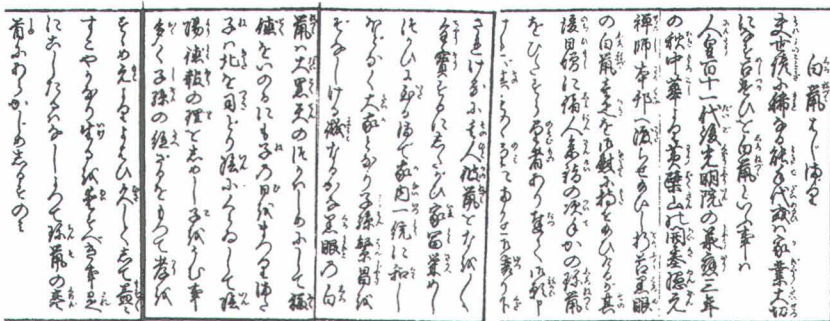
はじめに

「珍翫鼠育艸」（ちんがんそだてぐさ）（1）は、天明 7 年（1787 年）に京都の銭屋長兵衛が出版元で発行された江戸時代の鼠愛好家向けの小冊子である。序（右に示す、上野文庫本より）の終わりに定延子という名があり、著者ではないかと思われるが定かではない。この冊子については、森脇（2）、近藤（3）、早川（4）、山田（5）、西川（6）らによって紹介されているので、ご存知の方は多いと思う。今回、これを取り上げたのは、紹介されている鼠はマウスではなくてラットではないだろうかと思うからである（8）。京都帝国大の徳田御稔が、1935 年に「珍翫鼠育艸」を The breeding of curious varieties of the mouse として世に紹介している（7）。それゆえ、この貴重な書物が世界のラット研究者の目に触れにくいのである。そこで、第 14 回国際ラット遺伝システムワークショップ（2002 年 10 月 8 日～11 日、京都）において、この本を紹介した。登場する鼠の毛色とそのパターン及び眼の色の記述と絵はあるが、鼠のサイズが数値で表示されていない。耳の大きさや体型、子供の手のひらの上でおとなしく扱われている鼠の絵からすると、私にはどうしてもラットに見えるが断定はできない。しかし、マウスであると断定することも少し無理があるように思える。そこで、ある程度の偏見を敢えてもって、ラットである可能性を探った。現存する原著は、国立国会図書館の国会図書館本（参考資料として全文を後掲）、香川大学の神原文庫本、甲南女子大学の上野文庫本の 3 冊とされている。西川は、変体仮名で書かれた原著の全文を現代仮名に改めて紹介している（6）。



題元と白鼠

本書には、「序」、「白鼠のはじまり」、「諸鼠の異名」、「諸鼠の絵図」、「鼠とやにてわけをくべき心得の事」、「同じく子をうみ候いて心得とやの事」、「豆白豆ぶちの事」、「同じく日々ならびに暑寒食物の事」、「同じく鼠つよくかふ事」、「鼠食物の善悪の事」、「同じく牝牡見分けやうの事」、「鼠種取



様秘伝」、「地鼠之事」、「珍鼠之事」という章が設けられている。「白鼠のはじまり」の章

(上に示す、上野文庫本より) には、京都宇治の黄檗山万福寺の開祖隠元禅師(右の絵、万福寺のHPより)が中国から招かれた承応3年(1654年)に、黒眼の白鼠をペットとして随伴され、その子孫を譲りうけた商人の家業が大いに栄え、この鼠が大黒天のお使いと呼ばれたのだと紹介されている。隠元の研究家である大槻よると、隠元と黄檗山に纏わる鼠について、唯一あるのは、「白鼠歌」(9)という隠元が詠まれた長歌のみである。その長歌には、「大雪の翌朝、修行僧が台所で一匹の瑞鼠(めでたい鼠)を捕らえて差し出した。見ると、体全体が白玉の色で、両眼は、銅色の瞳で黄金の光を放っている。薄い両方の耳をまっすぐ立て、五つの爪は赤くて鋭い、堂々たる威容で静かにいて、怖がる気配は全くない。これは吉祥の知らせだ。云々(崔 和訳)」と詠まれている。



マウスかラットか

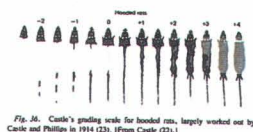


Fig. 36. Castle's grading scale for hooded rats, largely worked out by Castle and Phillips in 1914 (23). [From Castle (23).]

B. Castle's Second Career

The year 1936 was another major turning point in Castle's life. With the completion of the new Biological Laboratories on the main campus, the Bunsen closed its doors and Castle went into retirement, both on July 1, 1936. In the words of Dunn (48), "... the rich colors of an old building which housed hundreds or thousands of rats and mice and rabbits and guinea pigs, and the spaciousness (and often the low temperature) of its high-ceilinged rooms failed in the end to compensate for its physical separation from the main center of the University." Despite his disappointment, Castle faced these new realities squarely as expressed in a letter to Dunn in February of 1936. "I am grateful for the long continued opportunities which I



Fig. 38



Fig. 37

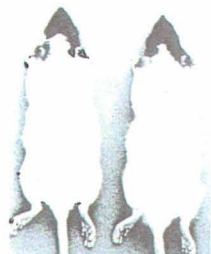


Fig. 39

Figs. 37-39. Rats representing 3 alleles at the H locus, from the work of Castle. Fig. 37, hood (H^h) rat of grade +54. Fig. 38, hooded rat (LH) of grade +2. Fig. 39, hood rat (H^h) of grade +1. [From Castle (23), by permission.]

実験用のラットは、我が国ではダイコクネズミと呼ばれていた。それゆえ、この冊子に登場する黒眼の白鼠はラットである方が自然のように思える。加えて、頭(かしら)ぶち、月の熊(同(おなじく)月の熊、下の絵)といった毛色パターンは、20世紀初頭、米国ハーバード大学の初代哺乳動物遺伝学者 Castle らがモディファイヤー遺伝子の概念を実験的に明示した論文(10、11)に出てくる写真(左に掲載)と、酷似して



いる。彼らは、ラットの頭巾班の有色分布量は、頭巾班遺伝子とそのモディファイヤー遺伝子によ



って制御されていることを示した。熊ぶち(右の絵)の毛色パターンは普通には見かけないが、米国(12)



のラット愛好家のホームページには、ダルメシアン(上の写真)という名で登場する。熊ぶちは、確かにマウスにおける Piebald の毛色パターンに、より一層合致しているように思えるが、その熊ぶちも黒目の白鼠も英国(13)や米国の鼠愛好家のコレクションに登場する。豆ぶち(右の絵)という小型の鼠の絵があるが、これがマウス

なのかも知れない。

実験用ラットの由来



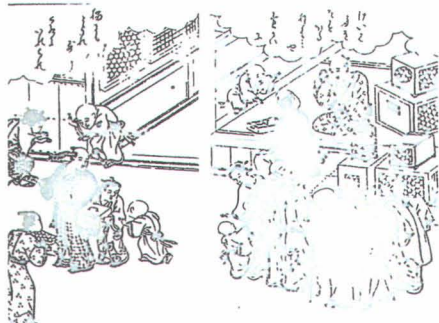
レンブラントのエッチングの中に、鼠駆除を商いにしている人(The Rat Killer, 1632 年) (14) を描いたものがある(左の絵)。また、100 匹のドブネズミを囲いの中に放ち、イヌを使ってそれらを殺す時間を競ったラット殺しゲーム(右の絵)が、19 世紀にヨーロッパで行われており、米国にもこのゲームが伝わっている。



ちなみに、Billy the Rat Killing Dog (1832 年) (14) の絵には、ビリーの記録は 5 分 30 秒であったとの説明がある。

この悪趣味なゲームが盛んになると、ラットをたくさん準備しておくことが必要となり、このゲームに使用するドブネズミを、捕獲収集すると共に繁殖が行われたと想像される。その中からアルビノラットも生まれたことであろう (11)。

一方、「養鼠玉のかけはし」(1781 年)には、江戸時代の愛玩用の鼠ショップの賑わいがほほえましく描かれている(右の絵)。ラット殺しゲームとは大きな違いである。中国には、1780 年に鼠使いの記録がある。日本の愛玩鼠の文化は、おそらく中国から伝わったのであろう。ネズミに対する西洋人と東洋人の想いの違いは、ペストの世界的な大流行(541 年～、1346 年～、1855 年～)と関係しているかも知れない。現在、医学生物学等の研究に利用されている実験用ラット系統は、先に紹介



したラット殺しゲーム用に繁殖されていたラットに由来するのではないかとされている(11)。しかし、実験用ラットの中には、中国から日本にやってきたラットに由来しているものが含まれている可能性がある。高血圧自然発症ラット SHR と自然発症てんかんラット SER の一方の起源系統は、京都ウイスターラットである。京都ウイスターラットは米国のウイスター研究所に由来するラットであり、ウイスター研究所のラットは、シカゴの研究グループとブリーダーから入手されたアルビノラットに由来しているようである。その起源ラットには、江戸時代に日本に訪れた外国人が鼠ショップで買い込み、母国に持ち帰ったものが含まれているかも知れない。そうすると、SHR や SER は、日本に里帰りしたラットから生まれたことになる。吉田肉腫の生着率が高いとして、我国において癌研究によく利用されてきたドンリュウラットは、1950 年に群馬県の太田市の動物商から入手されたラットに由来する日本産の実験用ラットと言われている。太田市には「子育て呑竜(どんりゅう)さま」と呼ばれているお寺(大光院)があるが、その呑竜さまに因んで名づけられたのであろう。DNA フィンガープリント(次頁右上の写真)を調べてみると、驚いたことに DON(ドンリュウラットの 1 近交系)と SHR/Kyo およびその対照系統である WKY/Kyo

〈第76回研究会（平成14年12月6日）〉
会員による研究発表（17題）

〈第76回研究会（平成14年12月6日）〉

第76回関西実験動物研究会研究発表抄録

1. 大規模施設での*Aspicularis tetraptera*駆虫の試み
2. スナネズミに感染した腸トリコモナス及び病原性鞭毛虫の駆除
3. 薬剤耐性*H.pylori*感染症に対する補完・代替療法の可能性
4. マウスES細胞を用いたembryotoxicity検出法の検討
5. 体表に移動性ストライプを有する突然変異マウスについて
6. Deafness Kyoto(*dfk*)ラットの聴性脳幹反応
7. カケンヘアレスラットの成長、繁殖特性解析と原因遺伝子の染色体マッピング
8. 新規遺伝性腎癌発症モデルラット（Nihon ラット）の確立とその原因遺伝子の同定
9. スナネズミに関する形態観察と行動解析
10. 遺伝性白内障マウスに関する形態学的解析
11. *Phodopus*属ハムスターから育成された近交系；PMIの特性解析—PMIおよび別種ハムスターを用いたmtDNA部分塩基配列多型解析—
12. アスパルトアシラーゼとアトラクチン両遺伝子のダブルミュータントマウス：脳波と中枢神経系の病理解析
13. Cre/Loxシステムを用いた活性化型K-rasがん遺伝子による発癌モデルマウス
14. 動脈硬化による冠動脈代償性拡張の解析モデル
15. The National Bio-Resource Project for the Rat in Japan
16. 米国におけるラットリソースの現状について
17. 「珍頑鼠育草」の鼠はマウスかラットかネズミか（別掲載）

大規模施設での *Aspiculuris tetraptera* 駆虫の試み

鍵山壮一朗¹、林 貴代¹、福田岳夫²、高本 剛²、出森 豊²、広畑 剛²、田島 優¹、
鈴木 真³、長田重一⁴、黒澤 努¹

(¹阪大・医・附属動物実験施設、²アスク、³ファイザー製薬、⁴阪大・院・医・遺伝医学)

【目的】大阪大学医学部附属動物実験施設では、平成 14 年 4 月に 1 部屋の実験飼育室で蟯虫 *Aspiculuris tetraptera* (以降 *A. tetra*) の汚染事故が発生、これに対し、ユーザー側から実験中断を最小限とする駆虫が求められた。実験を維持したままマウスから駆虫可能な方法としては、駆虫薬を用いた方法が知られており、*A. tetra* も薬物を用いた駆虫の成功例が報告されている。そこで今回、薬物による駆虫を試みた。

【方法】

飼育形態

飼育ラック：自動給水 9 列 10 段両面飼育ラック×5 台，自動給水 7 列 6 段片面飼育ラック×3 台

飼育ケージ数：約 900 ケージ

利用形態

Tg マウスの系統維持・繁殖とそれらを用いた実験

主な背景となる系統

C57BL/6, C57BL/6×129SV, ICR, BDF1

KO 遺伝子

CAD (Caspase Activated DNase) etc .

駆虫法

駆虫薬：パモ酸ピランテル駆虫薬コンバントリン原末（ファイザー製薬）

基礎飼料：ラボ MR ストックペレット（日本農産）

駆虫薬配合率：パモ酸ピランテル 0.06%

駆虫期間：*A. tetra* のライフサイクルをもとに、特殊飼料の 7 週間給餌。

虫卵対策

当施設では、ユーザーによりケージ交換や、飼育室内清掃などの一般飼育室内作業が行われている。ケージ交換や清掃の時期や頻度にばらつきが出てしまうため、駆虫薬では効果のない虫卵が残存してしまう可能性が考えられた。今回は虫卵対策として、専業担当者が飼育室内作業を行った。さらに、当施設で用いられる飼育ラックが自動給水型であり、飼育ラックに虫卵が残存する可能性が高いことから、週 1 回全飼育ラックの熱湯洗浄を行った。

【結果】

検査名称（検査回数）	検査結果（陽性数/検体数）
駆虫薬効果確認（2 回）	0/28
投薬終了判定（1 回）	0/13
再感染確認（3 回）	0/39
定期（2 回）	0/26

【考察】現在までの検査結果が全て陰性であったことから、今回用いた方法により *A. tetra* の駆虫を完了した可能性が高い。この方法は、系統数が多く、実験速度が大きく影響するよう飼育室では現実的な方法であると考えられた。

2. スナネズミに感染した腸トリコモナス及び病原性鞭毛虫の駆除

○新谷 聰 (国立循環器病センター・研究所)

はじめに

当センターで自家繁殖をしているスナネズミ (Mongolian Gerbil) で、離乳後の幼弱動物が死亡する例が観察された。親2匹の検査を実施した結果、腸トリコモナス (Intestinal trichomonas) 及び鞭毛虫 (Spirotrichomonas muris) が腸内容から検出された。死亡する例が増加した為、上記二種の原虫に絞って、成熟4匹、幼弱3匹を検査した所、供試動物全てから上記2種の原虫が確認された。トリコモナスは一般的に非病原性とされており、スピロヌクレウス (ヘキサミタ) は病原性を有し、離乳直後の幼弱動物の死亡原因となる。本原虫の薬剤による完全な駆虫は困難な場合が多く、コロニー浄化の方法は、帝王切開法とコメントにあった。敢えて、薬物による駆虫を試み、スナネズミ系統繁殖の一助になればと考えた。

実験方法

1. 動物：体重は雄60g以上、雌55g以上、行動が俊敏で眼光の輝く健康個体。
2. 駆虫薬：メトロニダゾール (フラジール内服錠)。マウス・ラットのLD50は1～5gm/kg。
3. 投与方法A. マーガリンに固形飼料の粉末と内服錠の粉末を混ぜ、自発的に摂食するペースト状の剤形を作成した。この剤形で2mg、4mg、8mgのメトロニダゾールを6日間摂食させた。本剤2mgは、ヒトの1日内服量に相当する量である。対照群は無し。雌雄各6匹計12匹を用いた。
4. 投与方法B. グリセリン6mlに227mgの内服錠粉末 (駆虫薬100mg含有) を混入し、懸濁液の剤形を作成した。この剤形で胃ゾンデを用いて0.3ml、0.6mlを一日1回4日間投与した。一回投薬量は約5mg、10mg、対照群はグリセリンのみ投与。雌雄各8匹計16匹を用いた。

実験結果

投与方法A. 検査6匹、鞭毛虫は全例陰性、トリコモナスは2mg、8mgで1匹陽性、4匹は陰性。

投与方法B. 検査7匹、鞭毛虫は全例陰性、トリコモナスは投薬群4匹陰性、対照群3匹陽性。

考 察

投与方法Aは、対照群が無く駆虫薬摂食量が不明確で、正確な評価ができないが、最少量 (2mg) で、アメーバが陰性になった。投与方法Bは、トリコモナスが投薬群と対照群で截然と判別でき、0.3ml (5mg) でも駆除可能であった。鞭毛虫 (スピロヌクレウス) が対照群でも陰性であった点は、本原虫が慢性感染では不顕性感染に移行し、試験動物が全て成熟動物であった事によると思われる。繁殖群に対して、薬剤の0.3ml (10mg) を7日間位、経口投与する予定である。

喜多正和、巖 暁群、今西二郎（京都府立医科大学、実験動物部門・微生物）

Helicobacter pylori (*H. pylori*) は慢性胃炎、胃潰瘍、胃癌などの主要な病原因子であることが明らかにされてきた。現在、*H. pylori* に対する除菌療法として、プロトンポンプインヒビターと抗生物質 2 剤を併用する triple therapy が主流となっており、80%以上の除菌率を示している。しかし、特に抗生物質に対する耐性菌の出現が臨床問題となっており、新しい治療法の開発が望まれている。一方、古くから漢方薬はある種の細菌感染症に対して有効性が報告されているが、その抗菌効果の機序は不明な点が多い。本研究では、漢方製剤の中で免疫増強効果のあることが報告されている補中益気湯（HET；ツムラ漢方生薬研究所）に注目し、*H. pylori* に対する抗菌効果を *in vitro* および *in vivo* で検討した。

H. pylori 抗生物質感受性株（ATCC43504, CPY2052, Sydney strain）および耐性株（ATCC43504, CPY2052, 143 b）を用い、*in vitro* における HET の最小発育阻止濃度を測定した結果、抗生物質感受性株および耐性株に対する最小発育阻止濃度はいずれも 2.5 mg/ml であり、HET は薬剤感受性菌と同様、薬剤耐性菌に対しても有効であることが明らかとなった。次に、*in vivo* における HET の抗菌効果を検討するため、*H. pylori* 感染前あるいは感染後に 1000 mg/kg の HET を C57BL/6 マウスに経口投与し、*H. pylori* 感染 2 週後の胃内菌数を比較検討した。その結果、HET 非投与の対照群に比べ、HET 前投与群で有意な胃内菌数の減少が認められ、HET の *H. pylori* に対する抗菌効果が *in vivo* においても確認された。前実験において、HET 単独投与により *H. pylori* に対する除菌効果が認められたが、その効果はそれほど強いものではなかった。そこで、薬剤感受性菌に対して、HET と抗生物質との併用療法による除菌治療法を試みた。その結果、HET 単独群では完全除菌率は 10 例中 0 例（0%）であったが、HET とアモキシシリン併用群では 10 例中 4 例（40%）、HET とクラリスロマイシン併用群では 10 例中 10 例（100%）であり、HET と抗生物質の併用療法は非常に有効であることが明らかとなった。

漢方製剤である補中益気湯（HET）は宿主の免疫能を増強する作用のあることが知られており、種々の感染症に対してその有効性が報告されている。本研究では、HET の *H. pylori* 感染に対する効果を *in vitro* および *in vivo* で検討した結果、1) HET は薬剤感受性菌および耐性菌に対して同様の抗菌効果を示すこと、2) HET の抗菌効果は *in vitro* および *in vivo* で認められること、3) HET は抗生物質と併用することにより抗菌効果が増強され、完全に除菌することが可能であること、4) HET の作用機序として IFN- γ 産生が関与していることなどを明らかにした。抗生物質による除菌療法においては薬剤耐性菌の出現などの副作用が問題となっている。HET は副作用が少なく、かつ薬剤耐性菌に対しても有効と考えられ、*H. pylori* 感染症に対する治療法として有用であることが示唆された。

マウス ES 細胞を用いた embryotoxicity 検出法の検討

○西村 友成, 西田 敦之, 小林 欣滋, 新比恵 啓志

(田辺製薬・安全研)

【緒言】多分化能を有するマウスの embryonic stem cell (ES) 細胞を用いた embryotoxicity 検出法は, 従来の全胚培養法や Micromass 法と比較して, 試験実施にあたり実際に動物を使用することがなく, 継代された細胞を使用することから, 使用動物数の削減および試験結果の再現性向上が期待される. 今回, Newall ら(1994 年)の方法をもとに, 自社で樹立したマウス ES 細胞を用い, embryotoxicity 検出法を検討した.

【材料と方法】自社で樹立した 129 系マウス由来の ES 細胞 (TerSV-6 株) を使用した. 培地は LIF 非添加の ES 細胞用培地を用い, Newall らの方法に加え, 96-well プレーットのゼラチン処理および細胞増殖アッセイ WST-1 (Cell Counting kit, DOJINDO) の使用を検討した. embryotoxicity の評価は, 段階希釈で化合物を含んだ培地で ES 細胞を 7 日間培養し, その増殖抑制および分化抑制の IC₅₀ を比較する方法で実施した. 今回の検討は催奇形性の情報が明らかである 5 化合物 (Penicillin G, Caffeine, Aspirin, Cyclophosphamide, Hydroxyurea) について行った.

【結果】プレートのゼラチン処理により ES 細胞の増殖は均一性を増し, さらに WST-1 の使用により操作の簡便性が向上した. embryotoxicity の評価については, 使用した 5 化合物すべてについて既知の催奇形性情報と一致した結果が得られた.

【考察】Newall らの方法に改良を加え, プレーートのゼラチン処理および WST-1 を採用することにより, TerSV-6 株は化合物の embryotoxicity の検出系として有用であることを確認した. さらに Newall らの方法では embryotoxicity を検出できなかった Caffeine についても検出できたことから, TerSV-6 株は検出感度についても向上している可能性が示唆された.

体表に移動性ストライプを有する突然変異マウスについて

○鈴木 昇*、近藤 滋

(*三重大・医・動物実験施設、理科学研究所・発生再生科学総合研センター)



当施設において新規に樹立した突然変異マウスを紹介する。

主たる特徴は、以下の3点である。

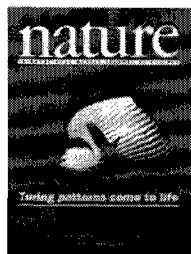
- ① 被毛のない
- ② 胸腺がない
- ③ 約30日を周期として加齢とともに体色パターンが変化する

○典型的な体色パターン変化の時系列的観察の結果、生後3ヶ月齢までは全身性の同期した変化、3-8ヶ月齢はからだの部分間で相のずれが生じ幅の広い移動波様のパターン、8ヶ月齢以降は幅が狭いシャープな移動波様パターンを形成することが判明している。

○予備的なシミュレーションの結果、この新規突然変異体皮膚の波様のパターン変化は、反応拡散波の一形式であるBZ波（アクベーターの拡散がインヒビターのそれより速い場合に生成する波）に近いと推測している。

○ストライプの移動が毛包の形成と崩壊に密接に関与することを見出しているため、突然変異の原因遺伝子の解析を目指すとともに、毛包形成に関与する分子（群）と波様パターン形成の関わりを解析予定である。

近藤らは、熱帯魚タテジマキンチャクダイの模様がアクチベーターとインヒビターからなる反応拡散波によって生成されうること示した（Nature 誌、376号、765-768ページ）。本変異体は、魚類における現象と類似の現象について、哺乳類を用いて物質レベルでの解析を可能にするため、基礎生物学、とりわけ皮膚医科学において興味深いモデル動物になると期待される。



Deafness Kyoto (*dfk*) ラットの聴性脳幹反応

○ 谷本 憲昭¹, 山崎 賢一², 中西 聡², 庫本 高志²,
芹川 忠夫²

(¹田辺製薬・安全研, ²京都大・院・医・附属動物実験施設)

【緒言】1999 年, 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設で系統維持されていた WTC.ZI-*zi* コンジェニック系のコロニーにおいて, 頭を上方に持ち上げる, 後ずさりする, 旋回運動を呈するなどの行動異常を示すラットが発見された. これらの表現型は *zi* 突然変異の有無に関係なく現れ, 常染色体劣性遺伝することが判った. 上記の行動異常に加えて, このミュータントラットは, 音刺激に対して反応を示さないようであった. 今回, “deafness Kyoto (gene symbol; *dfk*)” と名づけた, この新規ミュータントラットの聴覚機能検査を行った.

【材料と方法】WTC/Kyo-*dfk/dfk* と WTC/Kyo 雄ラット各 3 匹の聴覚機能を 26 週齢時に検査した. 最初に, 約 95 dB の刺激音を与えて驚愕反応の有無を観察した. 次に聴性脳幹反応 (Auditory Brainstem Response, 以下 ABR) 検査を実施した. ABR 検査では, 動物を麻酔下で 38°C の恒温ベッドに静置して, 60~135 dB SPL の click 音および 0.5~10 kHz の tone burst 音 (120 dB SPL) を与えて, 反応を記録した.

【結果および考察】WTC/Kyo は音刺激に対し驚愕反応を示し, ABR 波形も正常であった. 一方, WTC/Kyo-*dfk/dfk* は音刺激に対してなんら驚愕反応を示さなかった. また, 最高音圧 (135 dB SPL), そして如何なる周波数域においても, ABR は無反応であった. 以上のことから, WTC/Kyo-*dfk/dfk* ラットは聴覚機能異常を有し, 完全に deafness であると判断した.

木村国雄¹、庫本高志²、小森 彰¹、郷間宏史²、芹川忠夫² (1 科研製薬㈱総合研究所、2 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

【緒言】カケンヘアレスラットは、1987 年に科研製薬㈱総合研究所で維持されていた Gunn's rat コロニーから出現した脱毛を特徴とするミュータントである。予備的な遺伝解析から、カケンヘアレスラットの表現型は、Gunn's rat の原因遺伝子 (*Ugt1*) とリンクせず、単一の常染色体上劣性遺伝子に支配され、この原因遺伝子を *kaken hairless* (gene symbol: *khr*) と命名した。*khrkhr* では、生後 3~4 週齢で完全に脱毛し、6 週齢頃には粗い短毛が全身に生じるが、7~8 週齢頃から再び脱毛し、これ以降では頭部、腹部などに限局した被毛が疎に見られる。今回は、カケンヘアレスラットの成長・繁殖特性解析、皮膚の病理学的検討と *khr* 遺伝子の染色体マッピングを行ったので報告する。

【方法】成長の検討のために、4 週齢の *khrkhr* 雌雄各 15 匹、*khr+* 雌 15 匹、雄 12 匹を用いた。繁殖特性解析のために、*khrkhr* 雌×*khrkhr* 雄の 12 ペア、*khr+* 雌×*khrkhr* 雄の 15 ペアを用いた妊娠末期検査及び *khrkhr* 雌×*khrkhr* 雄の 23 ペア、*khr+* 雌×*khrkhr* 雄の 21 ペアを用いた分娩哺育検査を行った。病理学的検討として、*khrkhr* 及び *khr+* の背部皮膚を用い、常法に従って H&E 染色を施した組織標本作製した。原因遺伝子解析のために、(BN×*khrkhr*) 交雑 F₁×*khrkhr* のバッククロス 108 匹を作製し、59 個の SSLP マーカーを用いて連鎖解析を行い、*khr* 遺伝子のマッピングを行った。

【結果及び考察】*khrkhr* の体重は、*khr+* に比べ雌雄とも生後 4 週齢より有意に小さかった。繁殖特性解析の結果から *khrkhr* 母体と *khr+* 母体の生存胎子数及び胎子体重に差はなかったが、*khrkhr* 母体の離乳子数は、*khr+* の離乳子数の約半分であった。これらの結果は、*khrkhr* 母体で哺育能力の低下が示唆された。病理学的検討の結果、*khrkhr* の皮膚では毛胞の萎縮と皮脂腺の過形成が認められた。連鎖解析の結果、*khr* 遺伝子は、第 7 染色体テロメア近傍の SSLP マーカーと有意に連鎖していた。ハプロタイプ解析の結果、*khr* は、*D7Mit12 (Bzrp)*, *D7Rat11* - 4.2 cM - *D7Mit2* - 12.5 cM - *khr*, *Perf*, *D7Mit8*, *D7Rat3*, *D7Rat80* の位置にマップされた。*khr* がマップされた領域には、別のラット被毛 mutation である *shorn (shn)* 遺伝子がマップされている。*Shn/shn* ラットの脱毛過程は、*khrkhr* のそれと非常に類似していた。これらのことから、*khr* と *shn* は、同一座位のミュータントアレルであることが示唆された。比較マッピングにより、*khr* 座位は、マウス第 15 染色体(55-58)及びヒト第 12 染色体 q12-q13 に相当した。これらの領域にマップされている *Hoxc13* 及び *Krt2* が、*khr* の候補遺伝子と考えられた。

新規遺伝性腎癌発症モデルラット（Nihon ラット）の確立と

その原因遺伝子の同定

○沖本一夫¹⁾，河内真美¹⁾，田中浩二¹⁾，松岡信男¹⁾，樋野興夫²⁾

（大日本製薬・安全研¹⁾，癌研・実験病理部²⁾）

我々はSD系ラットからEkerラットとは異なる腎癌を発症するラットを発見し、系統の育成及び特性の検索を行った結果、このラット（Nihon ラット）はメンデルの法則に従い、常染色体優性遺伝形式により伝達すること、ヘテロ接合体は100%腎癌を発症し、ホモ接合体は胎生10～12日前後で致死する遺伝性腎癌発症モデルラットであることを見出した。

Nihon ラットの腎腫瘍の肉眼像は、初期病変として8週齢ごろから小さなシストが腎表面に散在性にみられ、その後週齢が進むと充実性の白色から黄白色の結節が形成され、生後1年には大きな黄白色腫瘍とシストが多発する。その組織像はsolidでclear/acidophilic typeとpapillaryでbasophilic typeの2つのタイプに分類でき、変異尿細管、変異過形成、腺腫、腺癌へと多段階的な発癌過程を示す。この表現型をEkerラットと比較すると、Nihonラットは早期から腎腫瘍を発症すること、ヒト腎癌との組織類似性の高いclear cell typeが優位にみられることが特徴であった。また、Nihonラットの自然史の検討では、腎癌内に骨化生が高率に認められ、さらに、腎癌以外の病変として心臓に横紋筋腫症様の病変が若齢期にのみ認められた。これらの病変はいずれもNihonラット特有の病変と考えられた。

我々はこのNihonラットの継代・維持を続けるとともに、原因遺伝子の単離・同定のためにBrown Norwayラットを用いた戻し交配ラット113例を作製し、mappingにより原因遺伝子座がラット染色体10番に局在することを見出した。その後、ポジショナル・クローニングから原因遺伝子も同定した。

さらに、Nihonラットの腎癌組織からcell lineを確立し、そのcell lineを用いた解析からLOHを認め、我々の期待どおりNihonラットの原因遺伝子はがん抑制遺伝子と考えられた。

以上の知見から、Nihonラットはヒト疾患のモデル動物となり、ヒト腎癌の癌化機構の解明に寄与し、その疾患の原因究明、さらには治療薬、予防薬、診断薬の開発に繋がる有用なモデル動物と考えられる。

スナネズミに関する形態観察と行動解析

○岩崎直昭、岡田利也、森岡宏至、森川嘉夫(大阪府大院・実験動物医学)

【目的】スナネズミ(*Meriones unguiculatus*)は脳循環に特異性があり、Willis 環の不完全な個体が多いことが知られている。この解剖学的特性により脳虚血実験や行動解析に用いられる。本研究では月齢の異なるスナネズミを用いて基本的な行動を解析した。また、成熟個体を用いて両側総頸動脈結紮による脳の組織学的変化を調べた。

【材料と方法】**行動解析:**2、4、6 ヶ月齢のスナネズミの雄を用い、ローターロッドテストおよびオープンフィールドテストを行った。ローターロッドテストではローラーの回転開始からスナネズミが落下するまでの時間を測定した。オープンフィールドテストでは 3 分間の移動区画数、立ち上がり数、立ち止まり数、排糞数について測定した。**形態学的解析:**6 ヶ月齢のスナネズミを用いて両側総頸動脈を結紮し 5 分後に解放する手術を行った。手術後 1、3、5 および 10 日目に脳を採取し、HE 染色、クリューバ・バレラ染色を施した。

【結果】オープンフィールドテストにおいて 2 ヶ月齢の移動区画数は試行回数の増加とともに減少する傾向にあり、1 回目から 2 回目にかけて有意に減少した。移動区画数の月齢間の比較では 2 ヶ月齢と 4 ヶ月齢の 1 回目の試行が 6 ヶ月齢に比べて有意に多かった。各月齢の立ち止まり数は 1 回目から 2 回目にかけて有意に増加した。2 回目の試行において 6 ヶ月齢の立ち止まり数は 2、4 ヶ月齢に比べて有意に少なかった。ローターロッドテストでは 2 ヶ月齢の 1 回目から 2 回目にかけて有意に増加し、2 回目の試行において 2 ヶ月齢の方が 4 ヶ月齢に比べて有意に大きかった。脳組織において結紮・解放手術による海馬錐体細胞層の厚さの減少と神経細胞の萎縮、空胞化が観察された。

【考察】行動解析において試行の回数によって差がみられたが、これは新奇な環境に対する適応を示している。さらに月齢による差から若齢動物の方が適応能力に優れていると考えられる。

遺伝性白内障マウスに関する形態学的解析

○長井寛明、岡田利也、森岡宏至、森川嘉夫(大阪府大院・実験動物医学)

【緒論】遺伝性白内障マウスについては多数の報告があり、ヒトの白内障発症モデルとして利用されている。一方、眼球の発生に fibroblast growth factor (FGF) が関与しているという報告および白内障の発症に transforming growth factor- β (TGF- β) が関与しているという報告がある。本研究では ddY 系マウスに見出された白内障について遺伝様式および形態学的特徴を調べた。

【材料と方法】発症個体同士の交配による次世代の白内障発症時期ならびに発症個体と正常個体との交配による次世代 (F_1 および F_2) について白内障発症頻度を調べた。発症個体の眼球を 10% 中性緩衝ホルマリンまたは 4% グルタルアルデヒド液で固定した。ホルマリン固定標本については上昇アルコール系列で脱水後、パラフィン包埋した。厚さ 4 μ m の切片を作製し、HE 染色の他に抗 FGF-2 抗体および抗 TGF- β 抗体による免疫染色を施した。グルタルアルデヒド固定標本については水晶体を切断後、1% 四酸化オスミウム液で後固定、アセトン脱水、臨界点乾燥および金属定着を行い、走査型電子顕微鏡による観察を行った。

【結果】本白内障の発症は 6 から 8 週齢の間に限局していた。発症個体と正常個体との交配による F_1 世代では全く発症せず、 F_2 世代では 166 例中 45 例で発症した。白内障発症マウスにおいて、水晶体皮質領域における線維に配列の乱れが認められた。白内障発症マウスにおける水晶体上皮細胞の抗 FGF-2 抗体に対する反応は正常マウスよりも弱かった。白内障発症マウスにおける水晶体上皮細胞の抗 TGF- β 抗体に対する反応は正常マウスよりも強かった。

【考察】これらのことから本白内障は劣性遺伝の様式をとり、水晶体皮質領域の水晶体繊維の乱れを特徴とすることがわかった。さらに、本白内障の発症に FGF-2 と TGF- β の両者の関与が考えられる。

*Phodopus*属ハムスターから育成された近交系；PMIの特性解析
-PMIおよび別種ハムスターを用いたmtDNA部分塩基配列多型解析-
○和田あづみ、一柳亞希¹、西村正彦²、大川清、都築政起¹
(慈恵大・医、¹広大・院・生物、²名大・院・医)

*Phodopus*とは、ユーラシア大陸北東部あたりに分布する掌・蹠が毛で覆われている小型のハムスターをさす属名で、東カザフスタンから南西シベリアに分布する*P. sungorus*、モンゴルから満州周辺に分布する*P. campbelli*、および極東カザフスタンから満州まで分布する*P. roborovskii* が報告されている。これらは近年、愛玩用としての飼育頭数が増加し、人工的環境下での飼育繁殖が容易であることから、新規実験動物候補として好適であることが予想された。そこで、1994年6月に大阪府内で愛玩用に販売されていた*Phodopus*属ハムスターの雌雄を実験室内に導入し、これらを起源に全兄妹交配による近交系育成を開始した。2001年12月に全兄妹交配20世代目の個体が誕生し、2002年12月現在は近交23世代目のハムスターが繁殖中である。PMIと名付けた本近交系は、紅眼黄色被毛形質を示す常染色体性単一劣性遺伝子をホモ型で保持する他、ヘテロ型が白斑被毛を示す常染色体性単一不完全優性遺伝子*Mi*に関しセグリゲイティング近交系として維持されている。

この新規樹立近交系は、外観および短日条件下の被毛白色化が起こらないといった特徴から、*P. campbelli*に属すると推定されている。しかし、この種は近縁種*P. sungorus*との間で妊性のある交雑個体を得る事が可能であるため、現在流通している愛玩用個体はこれら二種の特徴を両方持っている個体が大多数である。PMIそのものはすでに近交系として成立しているため、起源が交雑個体であったとしても、系統の遺伝的安定性に影響があるとは考えがたい。しかし本研究では、系統のプロファイルを把握する必要からも、PMI系統個体のミトコンドリアDNAのD-loop, 12sRNAを含む部分753bpの塩基配列の決定を行い、起源の異なる動物と比較して評価した。

その結果、PMIハムスターを含むおのおの起源の異なる*P. campbelli*5個体、*P. sungorus* 2個体、*P. roborovski* 2個体より解読したこの箇所の塩基配列は、それぞれの種で1タイプしか見いだすことはできなかった。また、*P. campbelli*は*P. sungorus*、*P. roborovski*、および属のことなる*Mesocricetus auratus* とでは、おのおの97.4%、88.8%、および76.5%、相当箇所の塩基配列が一致していた。

アスパルトアシラーゼとアトラクチン両遺伝子のダブルミュータントマウス：脳波と中枢神経系の病理解析

○郷間宏史¹・桑村充²・庫本高志¹・関貴弘³・Reuben Matalon⁴・北田一博⁵・笹征史^{1,3}・芹川忠夫¹
(京大院・医・動物実験施設¹、大阪府大院・獣医病理²、広島大医・薬理³、The university of Texas Medical Branch at Galveston⁴、北大・先端研⁵)

自然発症てんかんラット SER は *zitter* (*zi*) と *tremor* (*tm*) の両ミュータント遺伝子をホモに持つ。*zi* は attractin (*Atrn*) 遺伝子第 12 イントロンのスプライシングドナーサイトに 8bp の欠失を持ち、*tm* は aspartoacylase (*Aspa*)、vanilloid receptor、olfactory receptor を含む 200kb 以上の広範な欠失であることが知られている。*tremor* ラット (*tm/tm*) においては *Aspa* の欠失により生じる N-acetyl-L-aspartate (NAA) の中枢神経への蓄積が認められ、また正常ラットへの NAA の脳室内投与により欠神様発作とけいれんが誘発される。SER の大脳皮質と海馬における脳波検査 (EEG) においては行動停止と意識低下を疑わせる欠神様発作に 5-7Hz の特異的な spike and wave が検出され、強直性けいれん時に低振幅速波が検出された。今回、我々は *Aspa*、*Atrn* 両遺伝子に変異を持つダブルミュータントマウスを作製し、EEG の検査および脳の病理組織学的解析を行い、SER のてんかん発作と中枢神経変異が *Aspa* と *Atrn* の両遺伝子のみに起因するのかを検討した。

約 7 ヶ月齢のダブルミュータントマウス (*Aspa*^{-/-}, *Atrn*^{mg-3J/mg-3J}) とコントロールマウス (*Aspa*^{+/+}, *Atrn*^{+/+}) の大脳皮質における EEG 検査を行い、欠神様発作の頻度と累積時間および強直性けいれんの頻度を測定した。また各遺伝子型 (*Aspa*^{-/-}, *Atrn*^{mg-3J/mg-3J}・*Aspa*^{-/-}, *Atrn*^{+/+}・*Aspa*^{+/+}, *Atrn*^{mg-3J/mg-3J}) のマウス (3 ヶ月齢時) について脳の病理組織学的解析を行った。

EEG 検査の結果、ダブルミュータントマウスでは欠神様発作の累積時間は平均 173.7±36.2 秒/30 分、頻度は平均 50.3±21.7 回/30 分であり、強直性けいれんは 11±4.1 回/30 分であった (5 分毎に息吹き刺激の条件下)。一方、コントロールマウスでは欠神様発作、強直性けいれんともに起こらなかった。また脳の病理組織学的解析では、ダブルミュータントマウス、*Aspa* ノックアウトマウス、*Atrn* 遺伝子変異マウスにそれぞれ SER、*tm/tm* ラット、*zi/zi* ラットと同様の分布と程度を示す海綿状変性が見られた。これらの結果より、SER のてんかん発作と中枢神経系の病理組織学的変化は、*Aspa* と *Atrn* の両遺伝子の機能欠失によるものであることが確認された。

(参考文献)

Matalon R, et al. Knock-out mouse for Canavan disease: a model for gene transfer to the central nervous system. *J Gene Med* 2000 May-Jun;2(3):165-75

Inui T, et al. The spontaneously epileptic rat (SER), a zitter tremor double mutant rat: histopathological findings in the central nervous system. *Brain res.* 1990 May 28;517(1-2):123-33

Sasa M, et al. Effects of Antiepileptic Drugs on Absence-Like and Tonic Seizures in the Spontaneously Epileptic Rat, a Double Mutant Rat. *Epilepsia* 1988 29(5):505-513

Kuramoto T, et al. Attractin/Mahogany/Zitter plays a critical role in myelination of the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001 Jan 16;98(2):559-64

C r e/L o xシステムを用いた活性化型 K-ras がん遺伝子による 発癌モデルマウス

○津村秀樹、齋藤浩充、鈴木 昇 (三重・医・動物実験施設)

R a s タンパクは、単量体G T PアーゼのR a s スーパーファミリーに属し受容体チロシンキナーゼから核へシグナルを伝え、正常では、細胞の分化や増殖に重要な役割を担う分子である。他方、その変異型分子がヒトがん細胞において高率に変異が認められるため（結腸・直腸癌で約50%、すい臓癌で約90%）、細胞の癌化のキー遺伝子と考えられている。したがって、多様な臓器・細胞型において活性化R a s タンパクを発現できる動物システムはがんの予防や治療にきわめて有用であると考えられる。

当施設におけるC r e/L o xシステムを用いた活性化型 K-ras がん遺伝子による発癌モデルマウスを作製の経過と成果について報告したい。

強制発現用プロモーター（C A G）、L o x P 配列に挟まれた転写・翻訳のS T O P 配列、ヒトの活性化型 K-ras 遺伝子c D N A、ポリAシグナル、I R E S、大腸菌ベータガラクトシダーゼ、ポリAシグナルの順に連結した遺伝子を、トランスジェニック法または遺伝子ターゲティング（ノックイン）法を用いて動物を作製した。組み換え酵素C R E タンパクに依存してS T O P がはずれ、活性型K-R A S たんぱくが翻訳されると同時にベータガラクトシダーゼ染色が可能となるため、前がん状態の検出も可能である。

C R E 発現用アデノウィルスの局所感染やC r e 発現マウスと交配などにより様々な臓器において発癌を試みている。現時点において、最も進展している肺癌の誘導を中心に応用の可能性を述べさせていただく。

動脈硬化による冠動脈代償性拡張の解析モデル

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

【目的】動脈は病変が発生すると拡大／縮小 (remodeling) する。従来、ヒトや動物で動脈の remodeling が調べられているが、解析方法に問題 (血管の tapering, 個体差等) が残されていた。冠動脈狭窄の診断は心筋梗塞の発症予防に重要であるが、観血的／非観血的評価あるいは冠動脈狭窄と血流の維持の関係を調べる上で、冠動脈の remodeling を正しく評価する方法の確立は重要である。Coronary atherosclerosis-prone WHHL ウサギは冠動脈に動脈硬化病変が自然発症することから、WHHL ウサギを用いて従来の問題点を克服したヒト冠動脈 remodeling の解析方法の開発を試みた。

【方法】冠動脈の代償性拡張は8-12月齢の WHHL ウサギ (7匹) を用いて解析した。麻酔下に生理食塩水で灌流後、ホルマリン固定液で全身灌流固定した。心臓をパラフィン包埋後、左回旋枝について薄切し、elastic van Gieson 染色を実施した。血管の病変面積および内弾性板の内側の面積 (IEL) を画像解析装置で計測し、内腔面積、管腔狭窄率を算出した。代償性拡張の解析は、従来の個体差／血管 tapering を考慮しない方法と新たに開発した個体差と血管 tapering を補正した方法で解析した。個体差と血管 tapering の影響を除去するために、動脈硬化病変が発生している部位について、病変発生前の内腔面積を算出し、病変発生前の内腔面積に対する病変部位の内腔面積および IEL 面積の変化率を算出し、管腔狭窄率の変化に伴う内腔面積および IEL 面積の変化率の変動を解析した。血管壁のずり応力の変化は、病変が発生していない部位を 1.0 とし、Poiseuille の法則と Stokes の関係式を用いて、動脈硬化発生部位における血管壁ずり応力の変化率を算出した。

【結果】従来のヒトにおける解析方法と同様の解析方法で WHHL ウサギの回旋枝を解析すると、管腔狭窄率 29% まで内腔が拡大しその後内腔面積が低下した。この所見は従来のヒトにおける解析結果に類似していた。したがって、WHHL ウサギを用いた冠動脈の代償性拡張反応はヒト冠動脈代償性拡張の解析モデルに成りうることを示している。新たに開発した解析方法を用いると、内腔面積は管腔狭窄率 10% まで減少し、10-70% の間でほぼ一定に維持され、70% を越えると急激に低下した。一方、IEL 面積は狭窄率 40% までほぼ一定で、60% を越えると急激に拡大した。この回帰曲線は、計算によって求めた血管壁のずり応力の狭窄率の増加に伴う変化に類似していた。

【結論】個体差と血管の tapering を補正した解析方法では、冠動脈の代償性拡張は狭窄率 70% までの範囲で認められ、血管壁のずり応力の変化が関係していることが示唆された。WHHL ウサギはヒト冠動脈代償性拡張の解析モデルとして有用であり、代償性拡張のメカニズムの検討にも使用できると考えられる。

The National Bio-Resource Project for the Rat in Japan

Birger Voigt, Katsumi Kogishi, Yoshifumi Nakane, Ken-ichi Yamasaki, Satoshi Nakanishi, Tomoji Mashimo, Takashi Kuramoto, Tadao Serikawa (Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University)

This rat project is a part of the National Bio-Resource Project for more than 20 species including animals, plants, microbes, tissues and DNAs. It was founded by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (Monkasho), in Japan. The work started from July 1, 2002 and will continue for a period of 5 years. Institute of Laboratory Animals, Graduate School of Medicine, Kyoto University, is the central facility. The purpose of this project is to facilitate the availability of genetically and phenotypically standardized rat strains for experimental research. Closest attention will be given to Japanese derived strains but also rat strains from outside Japan will be taken into this repository. The resource is available to biomedical scientists worldwide.

Objectives of the rat project are:

1. Collection and supply of rat strains.

More than 200 rat strains are supposed to be integrated within the first five years of this project. Those strains will be reference strains, derived from spontaneous mutations and/or developed by classical breeding techniques, such as congenic and recombinant inbred strains. In dependence of the progress for artificially designed rat strains (mutagenesis, rat ES cells, etc.), the number of strains introduced into this repository will be markedly increased.

2. Sperm and embryo cryopreservation and their supply

Embryos of rat strains collected will be cryopreserved in a network of affiliated institutions. Supply for interested researchers will be given at the minimum real costs.

3. Genomic profiling

In the first step, about 300 microsatellite markers will be examined. The markers will mainly be derived from the profiling data of the 48 strains at Rat Genome Database (RGD <http://rgd.mcw.edu>). In the future, single nucleotide polymorphisms (SNPs) will be added to the database.

4. Characterization of the phenotypes

All strains will be checked for a standard of physiological, biochemical and behavioural parameters. More specific data according to the strain's phenotype will also be integrated.

5. Database

A publicly available database (Internet) of all collected strains and achieved data will be developed.

The embryo/spermatozoa bank and the associated database will become a unique and important tool in the field of functional genomics for the rat research community. Until now, there is no comparable rat resource worldwide. This project also preserves genetic material for future research as well as it propagates and supports rat research activities at all. The exploration of the human genome, mainly in terms of functional genomics, is strongly supported by animal experimentations and this Rat Bio-Resource Project is one link to this.

米国におけるラットリソースの現状について

庫本 高志(京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

平成 14 年 10 月 21 日より 11 月 30 日までの 6 週間、文部科学省在外研究員として、米国におけるラットリソースの研究開発動向を調査してきたので、それについて報告する。主な訪問先は以下の通りである。

◆ **Medical College of Wisconsin, Human and Molecular Genetics Center**(ウィスコンシン州)

遺伝性高血圧ラットである SS 系統または FHH 系統の各染色体を、正常血圧 BN ラットの染色体と置換したコンソミック系統を作製し、心臓、肺、血管、腎機能に関する疾患モデル動物を開発する PhysGen プロジェクトの中核期間。2002 年 11 月現在、SS-9^{BN}, SS-12^{BN}, SS-13^{BN}, SS-16^{BN}, SS-18^{BN}, SS-20^{BN} の 6 系統が完成している。SS-2^{BN}, SS-Y^{BN}, FHH-1^{BN} が完成間近とのことであった。各コンソミック系統は、腎機能、血圧、呼吸器機能、心肺機能に関する約 250 の検査項目についてフェノタイピングされる。これらのデータは <http://pga.mcw.edu/pga/jsp/data/> から入手できる。

◆ **National Institute of Health**(メリーランド州)

マウス、ラット、モルモット、ウサギなどの小動物のリソースである NIH Animal Genetic Resource を管理、運営している。ラットに関しては近交系、コンジェニック、アウトブレッドを含めて 112 系統が保存されている。また、2000 年より、国立関節筋肉皮膚研究所との共同で、自己免疫疾患研究に利用できるラットモデルの開発と保存を行っている。関節炎モデルとして、LEW ラットと F344 ラットに、また、糖尿病モデルとして、BB ラットに焦点が当てられていた。

◆ **University of Missouri-Columbia**(ミズーリ州)

2001 年に設立されたラット専門のリソース Rat Resource and Research Center (RRRC) の中核機関。RRRC は国立心臓肺血管研究所と国立リサーチリソースセンターの補助金により運営されている。1 系統当たり、500 個の 8-cell を凍結保存する。1 年間に約 10 系統のラット系統を導入、保存、提供することを目標としている。また、RRRC では、胚、精子、卵巣の凍結保存と遺伝子破壊ラットの作製を目標とした核移植に関する技術開発も行っている。

我が国でも、平成 14 年度より、京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設を中核機関として、ナショナルバイオリソースセンター(ラット)が開設された。今回の派遣で得られた情報を活用し、我が国のラットリソースの整備に貢献したい。

「珍翫鼠育艸」の鼠はマウスかラットかネズミか

芹川忠夫（京都大学院・医・動物実験施設）

「珍翫鼠育艸」は、天明7年（1787年）に京都の銭屋長兵衛が出版元で発行された江戸時代の鼠愛好家向けの小冊子です。序の終わりに、定延子という名前が記載されているので著者ではないかと思われませんが、さだかではありません。この本については、多くの研究者によって紹介されていますので、すでによくご存知の方は多いと思います。私が、今回この本を取り上げるのは、紹介されている鼠はマウスではなくてラットではないだろうかと思うからです。京都帝国大の Mitoshi Tokuda は、1935年、*The Journal of Heredity* 26(12):480-484 に *An Eighteen Century Japanese Guide-Book on Mouse-Breeding* という論文タイトルで、「珍頑鼠育草」を *The breeding of curious varieties of the mouse* として世に紹介しています。それゆえ、ラットというキーワードで論文の検索をしても、この貴重な本が世界のラット研究者の目に触れないでいました。そこで、去る10月8日から11日にかけて開催しました第14回国際ラット遺伝システムワークショップにおいて、この本を紹介しました。登場する鼠の毛色とそのパターン及び眼の色の記述と絵はありますが、鼠のサイズが数値で表示されていません。耳の大きさや体型、子供の手のひらの上でおとなしく扱われている鼠の絵からすると、私にはどうしてもラットに見えますが、ラットであると断定的なことは申せません。しかし、マウスであると断定することも少し無理があるように思われます。そこで、ある程度の偏見を敢えてもって、ラットである可能性を探ってみました。「白鼠のはじまり」の章において、黒目の白鼠を大黒天のつかわしめと呼ぶことが紹介されています。実験用のラットは、我が国ではダイコクネズミと呼ばれていたことは、ご存知のとおりです。それゆえ、この本に登場する黒目の白鼠はラットである方が自然のように思えます。頭ぶち、月の熊といった毛色パターンは、Castle and Philip（1914年）のhooded毛色の研究に示されたものと違いがありません。熊ぶちは、確かにマウスにおける毛色パターンに、より一層合致するとは思いますが、その熊ぶちも黒目の白鼠も英国や米国の鼠愛好家のコレクションに登場します。豆ぶちという鼠は、これまで矮小マウスのことと紹介されていましたが、これがマウスなのかも知れません。黄檗山万福寺の開祖、隠元禅師のペットとして共に承応3年（1654年）の秋にやってきた大黒鼠は、江戸時代の鼠愛好家の中で広まり、一部は西欧へもたらされたのかも知れません。実験用ラット系統のあるものは、このルーツに由来するものがあり、我が国には、実験用ラットの系統として逆輸入されたものがあるかも知れません。実験用のラット系統、ペットとして維持されているラット系統のゲノム解析により、このような仮説を証明することができるかも知れません。ヒトのモデルとしてマウスとラットを共に用いた遺伝子機能研究の場において、両者を包めて使える *Nezumi* という語は、便利なキーワードになりえます。江戸時代に栄えた我が国の鼠文化の流れが、現代のバイオメディカルサイエンスに貢献していると思うと楽しいものです。

〈第77回研究会（平成15年3月7日）〉

テーマ：西ナイルウィルスの最新情報

1. バイオエマージェンシーとしての米国のアルボウィルス感染症

高崎 智彦（国立感染症研究所ウィルス第一部第2室）

2. 西ナイルウィルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明

真下 知士（京都大院・医・動物実験施設）

国立感染症研究所

ウイルス第一部

高 崎 智 彦

要約: アルボウイルス感染症は、重要な新興再興感染症の一つである。1999年に米国に侵入したウエストナイル熱の流行、2001年に60年ぶりに発生したハワイ州でのデング熱の流行は我々にとっても教訓とすべき重要な事例である。地球環境の温暖化は蚊やダニといった昆虫にとっては好ましい環境の変化である。新興再興感染症としてアルボウイルス感染症は、日本においても注意を払わなければならない感染症である。

アルボウイルス感染症は、発展途上地域のみならず先進地域でも発生するものである。それを示す事例が1999年夏に米国ニューヨーク市で発生したウエストナイル熱であった。これは、西半球で発生した初めてのウエストナイルウイルス感染症であった¹⁾。Queens地区で確認された最初の8症例の疫学的特徴としては、旅行・社会的行事・飲食店・飲食物・病院などに共通する原因が存在しなかった。患者は家族以外の人と接触する機会は比較的少なく、その家族は発病していない。共通の特徴としては8人の患者全員が庭や戸外で喫煙したり、ガーデニングを習慣的に夕方に行っていた点であった。

ニューヨーク市当局は、蚊が媒介する脳炎を疑い、ただちに市と州の連携を確立し、蚊に関するサーベイランス体制を整えた。同様の症例を検索するためFaxを通じて市内の医師に情報を流し、電話による医家向けのホットラインを設置した。ウエストナイルウイルスによる感染症であることが判明した後、一般向けの電話によるホットラインとメディアによるキャンペーンを開始した。1999年には、最終的にニューヨーク州で62人のウエストナイル熱／脳炎の患者が発生した。このうち、1症例はQueens地区で感染したカナダ人旅行者で帰国後、死亡している。鳥の体内あるいは蚊の中で越冬したウイルスは、2000年に再び流行を起こし、積極的な蚊に対するコントロールを実施したにもかかわらず21症例を記録した。2001年に入るとウエストナイルウイルスの侵淫地域は、10州39群におよびフロリダ州まで南下した。患者数は66例と再び増加傾向を呈した。蚊の活動の活発な南部の州に入ったウエストナイルウイルスは、2002年の夏季には大流行を引き起こし、4000例をこえる患者と274人に及ぶ死者を記録した²⁾。2002年の患者のうち69%は髄膜脳炎患者であり、21%はウエストナイル熱、10%は症状が特徴的ではなかった。米国では1975年に同じフラビ

ウイルス日本脳炎血清型群であるセントルイス脳炎 (SLE)ウイルスによる脳炎の流行があった。およそ 2,100 症例のうち、170 人の死亡者が報告されたが、その後 2 年間で流行は終息した。従って、今回のウエストナイル熱の流行もあと 2 年間で終息する可能性も指摘されているが、ウエストナイルウイルスの媒介蚊が、イエカ属だけでなくヤブカ属も含めて多種類に及ぶことを考えると、終息するにはもう少し時間を要するかもしれない。

デングウイルスは世界的に見た場合、最も重要なフラビウイルスであると考えられる。デングウイルス感染症は東南アジアから世界中の熱帯・亜熱帯地域に広がった感染症である³⁾(Table 2)。このデング熱の流行が 2001 年から 2002 年にかけて 60 年ぶりにハワイで発生した。この流行で 117 例のデング熱患者が発生したことが、CDC によって確認されている。117 例中 88 症例がマウイ島であり、そのうちの 76 症例が Hana 地区というリゾート地の住民に集中していた。25 症例がオアフ島で発生し、4 症例がカウアイ島で発生した(Table 3)。カウアイの 4 症例はマウイ島からの輸入症例である事が判明している。この流行の媒介蚊は、ヒトスジシマカであった。デングウイルスの最も効率の良い媒介蚊である熱帯シマカは、マウイ・オアフ・カウアイにはいないことが確認されている。今回の、ハワイにおけるデング熱は、デングウイルス 1 型によるものであり、ウイルスはタヒチから持ち込まれたものであることが遺伝子解析等により明らかにされている。

日本においても第二次世界大戦中にデング熱は流行している。それ以後約 60 年間日本国内でデング熱の流行は発生していない。しかし、海外渡航による輸入デング感染症は、年間数十例と近年増加傾向にある(Table 4)。2000 年には、フィリピンへ団体旅行した 44 人のうち 3 人が、帰国後デング熱を発症し、同じ病院に入院したという事例もあった⁴⁾。また、デング出血熱やデング熱に起因すると思われる急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) 症例などの重症例も報告されている⁵⁾。

地球環境の温暖化は蚊やダニといった昆虫にとっては好ましい環境の変化である。日本においても新興再興感染症としてアルボウイルス感染症は、日本国内に常在している日本脳炎ウイルスも含めて注意を払わなければならない感染症である。

参考文献

- 1) Lanciotti RS, Roehrig VD, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. Science

286:2333-2337,1999.

- 2) CDC. Provisional surveillance summary of the West Nile virus epidemic—United States, January – November 2002. MMWR 51:1129-1133, 2002.
- 3) Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. *Emerg. Infect. Dis.* 1:55-57. 1995.
- 4) Tokuda A, Sugito K, Tabeta H, Takasaki T, Yamada KY, Kurane I. 3 dengue fever cases, infected during group tour to the Philippines. *J.J.A. Inf. D.* 76:953-957. 2002.
- 5) Yamamoto Y, Takasaki T, Yamada KY, Kimura M, Washizaki K, Yoshikawa K, Hitani A, Nakamura T, Iwamoto A. Acute disseminated encephalomyelitis following dengue fever. *J. Infect. Chemother.* 8:175-177. 2002.

Table 1

The number of patients infected with
West Nile virus in USA

Year	Number of patients	(death)
1999	62	7
2000	21	2
2001	66	9
2002	4071	274

Table 2

Dengue fever and dengue hemorrhagic fever, cases reported to WHO.

	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
The Americas	157340	60468	80917	179187	316411	276691	389917	708146
The Asia	205298	178339	169019	149490	226282	232832	287092	445186
The Oceania	1485	2285	1121	279	3812	1121	1598	29210

Numbers are based on WHO data.

Table 3
The number of dengue patients in Hawaii during 2001 to 2002

Maui		Oahu		Kauai	
Haiku	4	Aiea	1	Anahola	1
Hana-area	76	Haleiwa	1	Hanalei	1
Kihei	1	Hauula	4	Kalaheo	1
Kula	1	Honolulu	1	Kapaa	1
Lahaina	2	Kailua	2		
Makawao	1	Kaneohe	11		
Paia	1	Laie	5		
Pukalani	1				
Wailuku	1				
TOTAL	88	TOTAL	25	TOTAL	4

Numbers are based on the data of DOH in Hawaii State.

Table 4

Confirmed IMPORTED Dengue Fever: 1985-2002 in NIID, Japan

year	number of suspected cases	Dengue fever	Dengue haemorrhagic cases	Total number of dengue cases
1985	8	4	0	4
1986	2	0	0	0
1987	13	4	0	4
1988	6	4	0	4
1989	6	1	0	1
1990	21	10	1(death)	11
1991	11	5	1	6
1992	28	13	0	14
1993	15	7	0	7
1994	28	11	0	11
1995	35	16	0	16
1996	34	14	0	15
1997	26	6	0	6
1998	90	42	0	42
1999	40	11	0	11
2000	44	19	0	19
2001	67	34	0	34
2002	178	51	1	53

西ナイルウイルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明

真下知士（京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

【はじめに】

病原微生物の感染は、感染力や毒素など微生物側の病原性と、自然免疫など宿主側の生体防御機構との攻防（バランス）により、その発病の運命が決定される。宿主側の免疫防御機構を明らかにすることは、感染症の病態解明、予防、治療、創薬への応用につながるため、近年、ヒトやモデル動物において広く研究が行われている。

鎌形赤血球症患者が、熱帯熱マラリア原虫感染に強い抵抗性を示すことはよく知られているが、その他にも結核、エイズ、住血吸虫など病原微生物感染に対する抵抗性・感受性がこれまでヒトで報告されている。マウスは感染実験および遺伝解析を行うことができるため、感染症に対する感受性（遺伝因子）を研究するためのモデル動物として有用である。結核菌・サルモネラ菌などの細菌感染感受性を決定する *Nramp1* 遺伝子や、インフルエンザウイルス (*Mx* 遺伝子)、サイトメガロウイルス (*Cmv1* 遺伝子)などのウイルス感染に対する感受性遺伝子がこれまでに同定されている。我々は、2002 年夏にアメリカでアウトブレイクしたウエスト(西)ナイルウイルス感染に対する抵抗性・感受性を支配する遺伝子についての研究を行った。

1. ウエストナイルウイルス感染の動物モデル

ウエストナイルウイルスなどのフラビウイルスは、蚊やダニを媒介して感染する+鎖 RNA ウイルスである。その中には、黄熱、デング熱、日本脳炎など、ヒトに重篤な病状を引き起こすウイルスが含まれている。これまでの疫学的研究では、ウイルス感受性に対して宿主側の遺伝素因の

関与が示唆されている。例えばキューバにおけるデング熱の疫学調査では、黒人原住民が白人コーカシアンよりもウイルス感染に対して抵抗性を示すといった報告がある。

我々はこのウイルス感染に対する宿主側免疫防御機構を解明するため、マウスモデルを確立した。1998年にイスラエルで発生したウエストナイルウイルス（1999年ニューヨークで発生したウイルスとは、わずか0.3%のアミノ酸配列の違いしかない）をBALB/cやC57BL/6のような実験マウス系統に腹腔内感染させると、全例が感染後10日以内に脳炎を発症し、死亡する。それに対し、MBT/Pasなどの野生由来近交系マウスでは、死亡せずに抵抗性を示す。我々はこのマウスモデルを用いたポジショナルクローニング法により、ウエストナイルウイルス感受性を決定する遺伝子（*Wnv*）として2'-5'-oligoadenylate synthetase (2'-5'-OAS 遺伝子) を同定した（1）。

2. ウエストナイルウイルス感受性遺伝子の同定

ウエストナイルウイルス感受性を示す実験マウスと抵抗性を示す野生マウスとの交配実験の結果は、ウイルス抵抗性が常染色体の優性遺伝形質であることを示した。ウエストナイルウイルス感染3日後のマウス脳組織標本における免疫組織学的解析では、実験マウスにおいて顕著なウイルス増殖が認められたのに対し、野生マウスではほとんどその増加が認められなかった。このことはウエストナイルウイルス抵抗性がウイルスの複製過程の制御によることを示唆している。

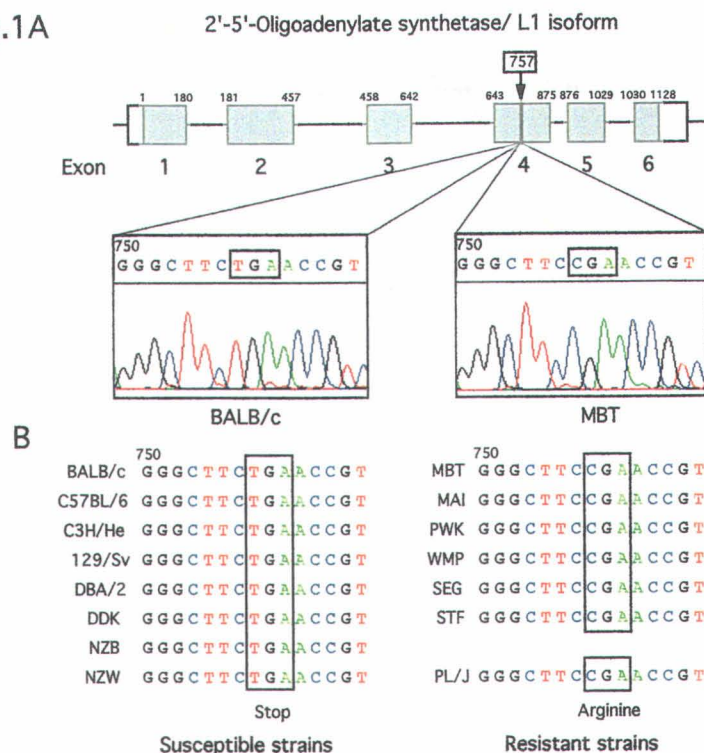
つぎに我々は、F1マウスに実験マウスを戻し交配して作製した第2世代マウスを用いた遺伝解析により、*Wnv* 座位の存在領域をD5Mit408からD5Mit242までの0.46cMにマップした。この領域に存在するウイルス抵抗性の候補遺伝子を検索するために、当該領域内における1) Radiation Hybrid Mapの作製、2) マウスBACライブラリーを用いた物理地図の作

製、3) マウス・ヒト比較地図の作製を行った。作製された詳細な遺伝子地図の検索により、ウイルス抵抗性の候補遺伝子として 2'-5'-OAS 遺伝子を見いだした。

2'-5'-OAS 遺伝子はインターフェロンにより誘導される酵素のひとつで、RNaseL 酵素を介して細胞質内の mRNA およびウイルス RNA を分解する。マウスではこれまで、3つのタイプの 2'-5'-OAS 遺伝子 (L1, L2, L3 型) が報告されていた。BALB/c と MBT 間で3つの 2'-5'-OAS 遺伝子の塩基配列比較を行った結果、2'-5'-OAS 遺伝子 L1 型において MBT では7つのエクソンから 376 アミノ酸の蛋白質が翻訳されるのに対し、BALB/c では第4エクソンにストップコドンがあるために、252 アミノ酸の蛋白質しか產生されていないことを見いだした (Fig.1A)。さらにフラビウイルス感受性を示した他の7つの実験マウス系統は、全てこのナンセンス変異が認められたのに対し、ウイルス抵抗性を示した5つの野生マウス系統では、アルギニンが認められた。またこれまでフラビウイルス抵抗性が報告されていた実験マウス PL/J 系統では、野生マウスと同じアルギニンが認められた (Fig.1B)。

実験マウスおよび野生マウス 15 系統におけるフラビウイルス感受性形質とストップコドンとの一致は、2'-5'-OAS 遺伝子 L1 型がウエストナイルウイルス (フラビウイルス) 感受性の原因遺伝子そのものであることを強く示唆している。ウエストナイルウイルス抵抗性が優性遺伝形質を示すことを鑑みれば、いくつかのクラスター遺伝子の中でも 2'-5'-OAS 遺伝子 L1 型は、ウイルス感染に対する宿主側の防御機構において重要な働きをしていると考えられる。ほとんどの実験マウス系統において同じ変異が認められたことは、これら実験マウス系統が比較的少数の遺伝的に均一なマウス集団から由来していることを示唆するものであり、モデル動物あるいは多型性としての野生由来マウス系統の重要性を示している。

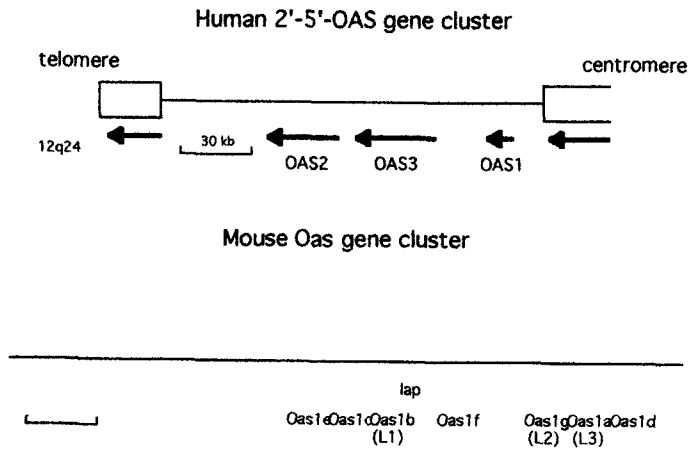
Fig.1A



3. 2-5-OAS 遺伝子クラスターのゲノム構造と機能解析

2'-5'-OAS 遺伝子はインターフェロンのもつ抗ウイルス作用、抗細胞増殖作用において重要な役割を果たすと考えられている。ヒト 2'-5'-OAS 遺伝子 (*OAS1*, *OAS2*, *OAS3*) はクラスターとして第 12 染色体上 150kb の範囲に存在するのに対し、マウスでは 3 つの 2'-5'-OAS 遺伝子 (L1, L2, L3) が報告されていたが、そのゲノム構造は明らかにされていなかった。そこで、我々は大規模ゲノムシーケンスによるゲノム解析の結果、驚くような結果を得た(2)。マウス *Oas2*, *Oas3* 遺伝子はヒトと同じゲノム構造を示すのに対し、マウス *Oas1* 遺伝子は L1, L2, L3 型を含む少なくとも 8 個の遺伝子 (現在 *Oas1a-h* と呼ばれている) が、ランダムな方向で存在していた (Fig.2)。アミノ酸配列の比較解析および系統樹解析から、8 個のマウス *Oas1* 遺伝子のうち、L1, L2, L3 型以外の 5 個の *Oas1* 遺伝子

(*Oasl*c,*ld*,*le*,*lf*,*lh*) は偽遺伝子であると推測された。コンピュータープログラムによるプロモーター領域の転写因子解析および RT-PCR 法による発現解析から、マウス *Oasl* 遺伝子は in vivo でそれぞれ異なった発現様式を示すことが明らかとなった。このことは個々の *Oasl* 遺伝子が、それぞれ異なった機能を有する可能性を示唆している。マウス *Oasl* 遺伝子のウイルス感染に対する宿主側防御機構における作用機能については、ノックアウトマウスなどを用いたさらなる検討が必要であろう。



4. 今後の展望

現在、我々は 2'-5'-OAS/L1 遺伝子がフラビウイルス感受性遺伝子そのものであることの証明、およびウイルス感染に対する宿主側の免疫防御機構を解明するため、野生型の 2'-5'-OAS/L1 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製中である。また、実験マウスでは 2'-5'-OAS/L1 遺伝子にすでに突然変異が存在するためノックアウトマウスを作製することができない。したがって、実験マウスにおいて同定されたストップコドンだけを正常アミノ酸（アルギニン）に変換して正常なタンパク質を作成することができるようになったノックインマウスを作製している。

2002 年夏に、アフリカ北部ナイル川流域の風土病として知られていたウエストナイル熱がアメリカ全土で猛威をふるったことは、まだ日本人の記憶に新しい。米疾病対策センター (CDC) によると 2002 年で 3873 人の感染者が確認され、そのうち 246 人が死亡した。感染は西に向かって拡がりつつあり、近いうちには日本への伝播もおそれられている。現在までのところ、西ナイルウイルス感染症に対する特異的な抗ウイルス治療薬はなく、対症療法しかない。ワクチンにおいても、未だ開発途上である。本研究における成果が、今後のウエストナイルウイルス感染対策の一助になれば幸いである。

【参考文献】

- 1) Mashimo T, Lucas M, Simon-Chazottes D, Frenkiel MP, Montagutelli X, Ceccaldi PE, Deubel V, Guenet JL, Despres P: A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-Oligoadenylate Synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99: 11311-6.
- 2) Mashimo T, Glaser P, Lucas M, Simon-Chazottes D, Ceccaldi PE, Montagutelli X, Despres P, Guenet JL: Structural and Functional Genomics, and Evolutionary Relationships in the Cluster of Genes Encoding Murine 2'-5'-Oligoadenylate Synthetases. *Genomics* in press.

〈第78回研究会（平成15年6月6日）〉

テーマ：細菌感染症の病原因子と病態

1. 下痢原性大腸菌の病原性 ―遺伝子解析から見えてきたこと―

山崎 伸二（大阪府大院・農・獣医国際防疫研究室）

2. 細菌性病原因子と生体成分の相互作用 ―百日咳菌壊死毒の分子作用機構

堀口 安彦（大阪大微研・細菌毒素学分野）

3. ボツリヌス神経毒素に関する最近の研究動向

小崎 俊司（大阪府大院・農・獣医感染症学研究室）

第 78 回関西実験動物研究会
細菌感染症の病原因子と分子病態

1. 下痢原性大腸菌の病原性—遺伝子解析から見えてきたこと—

山崎伸二（大阪府立大学院・農学生命科学研究科・獣医国際防疫学研究室）

大腸菌は、通常は健康人の正常細菌叢を構成する細菌の一種である。しかし 1930 年頃から、ある特定の血清型の菌が乳幼児の胃腸炎の原因となることが知られるようになってきた。この特定の血清型に属する大腸菌は、腸管病原性大腸菌（EPEC）と名付けられ、現在までに、腸管組織侵入性大腸菌（EIEC）、腸管毒素原性大腸菌（ETEC）、腸管出血性大腸菌（EHEC）、腸管凝集性大腸菌（EAEC）、腸管拡散付着性大腸菌（DAEC）の少なくとも 6 種類の下痢原性大腸菌が知られている。

1997 年、Blattner らによって大腸菌 K-12 株の全塩基配列が決定され、全長が 4.6 Mb であることが明らかにされた。さらに、2001 年、Perna らと Hayashi らによって、EHEC O157 の全塩基配列が決定され、大腸菌の病原性をゲノムレベルで比較解析することが可能となった。O157 のゲノムの全長は、約 5.6 Mb あり、O157 に特異的な領域が約 1 Mb 存在し、病原性に関わる遺伝子群がこの領域に局在していると考えられる。また、K-12 株に特異的な領域が 300 kb も存在したことは予想外であった。この O157 に特異的な領域のほとんどは、ファージに由来するものであり、EHEC の最も重要な病原因子である志賀毒素もラムボイドファージ上にコードされている。例えば、EHEC O157:H7 は EPEC O55:H7 に志賀毒素ファージや O157 の特異 O 抗原遺伝子が挿入され、派生してきたと考えられている。志賀毒素ファージのゲノムも次々と決定されてきている。現在までに少なくとも 5 個の志賀毒素 2 ファージと 2 個の志賀毒素 1 ファージの全塩基配列が明らかにされ、EHEC の病原性における志賀毒素ファージの役割も論じられるようになってきている。

一方、1987 年カナダの研究グループは、ある種の大腸菌の培養上清を CHO 細胞に添加すると、24 時間以内に ETEC の産生する易熱性エンテロトキシン（LT）と同様の形態変化、すなわち細胞を伸長させるが、96 時間から 120 時間培養すると、LT とは異なり細胞を致死させる毒素を産生していることを報告した。彼らはこの毒素を、Cytolethal distending toxin（CDT）と名付けた。しかし、CDT の致死活性が、細胞の G2 周期への移行を阻害に基づくなど、CDT に関する研究は進んだが、CDT 産生性大腸菌の下痢原性大腸菌としての位置づけは長年の間明確にされていない。インド国立コレラ及び腸管感染症研究所との共同研究で、重症下痢症患者便から CDT 産生性大腸菌の分離を試み、分離菌の分子レベルの細菌学的性状や臨床データを解析した結果、CDT 産生性大腸菌は、EPEC から派生した新たな下痢原性大腸菌としての可能性が示唆された。

細菌性病原因子と生体成分の相互作用—百日咳菌壊死毒の分子作用機構

大阪大学微生物病研究所・細菌毒素学分野・堀口安彦

細菌性病原因子は様々な宿主成分と相互作用することによって感染症の病態成立に関与している。そこには生理的な状態では見られない異常な宿主細胞の姿が見られるが、それらは病原因子による宿主細胞機能の阻害や増幅の結果にはかならない。われわれの研究室では数種類の病原因子を題材にこのような動物細胞機能の変化を解析している。本稿では百日咳菌壊死毒、ウエルシュ菌エンテロトキシン、および腸管病原性大腸菌に関するわれわれの知見を紹介する。

1) 百日咳菌壊死毒

百日咳菌に代表される *Bordetella* 属の細菌に共通の壊死毒 (DNT) は、実験動物に皮内注射すると皮膚壊死を起こすことからこの名が付いている。本毒素は *B. bronchiseptica* 感染によるブタ萎縮性鼻炎で見られる鼻甲介骨の萎縮に関与すると考えられてきたが、その詳細は不明であった。われわれは DNT を高純度に精製することに成功し (Horiguchi et al, 1989; Horiguchi et al, 1990)、本毒素が骨芽細胞系列にある細胞の分化を阻害することにより、骨形成不全を起こして鼻甲介骨の萎縮を招来することを示した (Horiguchi et al, 1991; Horiguchi et al, 1995)。さらに、DNT は本質的にトランスグルタミナーゼで、標的細胞内の Rho ファミリータンパク質の 63 位のグルタミンを脱アミド化、あるいはボリアミン化することを明らかにした。その結果 Rho 自身の持つ GTPase 活性が阻害され、あるいは特定のエフェクタータンパクと GTP 非依存的に相互作用するようになり、分子スイッチとしての Rho は構成的に活性型となる (Horiguchi et al, 1995; Masuda et al, 2000; Masuda et al, 2002)。この機構によって DNT は毒性を発揮し、感染宿主に種々の病態を惹起すると考えられた。DNT の特異受容体は未同定であるが、DNT の N 末端側 50 アミノ酸までの領域に受容体結合部位が存在し、C 末端側約 300 アミノ酸からなる領域にトランスグルタミナーゼ活性が存在することがわかった (Kashimoto et al, 1999; Matsuzawa et al, 2002)。DNT の細胞内侵入には細胞由来の Furin ファミリープロテアーゼの作用が必須であり、本プロテアーゼでプロセッシングを受けて遊離した DNT 断片が細胞膜を通過することがわかった (論文投稿中)。われわれの興味は百日咳症において DNT がどのような役割を果たしているかという疑問に移行しつつある。現在、これを解明するため、DNT 遺伝子を欠失させた百日咳変異株を作製し、その病原性を解析している。

2) ウエルシュ菌エンテロトキシン

ウエルシュ菌エンテロトキシン (CPE) は本菌による食中毒の原因毒素として知られている。CPE は標的細胞膜に小孔を形成して膜透過性を亢進させ、最終的に細胞を破壊する。一般に、膜に小孔を形成するタイプの細菌毒素は脂質二重膜と疎水的に結合して作用を発揮することから標的細胞の選択性がきわめて低い。これに対して CPE の標的細胞はきわめて特異的で非感受性の細胞には全く作用しない。このことからわれわれは CPE の膜受容体は特異な分子であると考え、その同定を試み、受容体遺伝子のクローニングに成功した (Katahira et al, 1997a)。この遺伝子は 209 アミノ酸からなる 4 回膜貫通型タンパクをコードしており、いくつかのサブタイプが存在すると考えられた (Katahira et al, 1997b)。その後、このタンパクは細胞間接着構造のひとつであるタイトジャンクション (TJ) の構成タンパクであることが月田らによって明らかにされ、クローディンと命名された (Furuse et al, 1998; Sonoda et al, 1999)。CPE はクローディンの第 2 番細胞外ループと結合した (Fujita et al, 2000)。クローディン結合領域からなる CPE の C 末端側断片を上皮細胞モデルに作用させると、細胞間電気抵抗値が減少するとともに TJ の構造が消失することがわかった (Sonoda et al, 1999)。この結果は、クローディンが TJ の構造と機能に重要な役割を果たしていることを示す最初の証拠となった。

3) 腸管病原性大腸菌

腸管病原性大腸菌 (EPEC) は特に開発途上国において死亡率の高い小児下痢症を起こす。EPEC の感染による下痢発症機序は詳細にはわかっていない。しかし、感染初期に宿主の腸管上皮のバリアの破壊が起こり、これが下痢症に関与することが指摘されている。感染細菌による上皮細胞バリアの破壊という概念は比較的新しい。EPEC はこれを解析する格好のモデルとなりうる。実際、試験管内で培養分化させた上皮系樹立細胞株に EPEC を感染させると上皮細胞間電気抵抗値 (TER) の低下が観察できる。これは上皮細胞間に発達した tight junction (TJ) の解離と密接に関係していると考えられる。

EPEC の染色体には LEE (Locus for enterocyte effacement) と呼ばれる 41 個の orf からなる病原遺伝子の密集した領域が存在する (Elliott et al, 1998)。LEE には宿主細胞への密着や病原因子の分泌に特化した III 型分泌装置、およびそれによって分泌される病原因子がコードされているが、個々のタンパク質の機能の詳細は不明であり、また未知タンパク質の orf も存在する。少なくとも LEE 欠失 EPEC では先述の上皮細胞の TER を低下させる能力がないので、LEE 内にコードされている病原因子が、TJ の解離に関与すると考えられた。

そこで、LEE 内の種々の遺伝子を欠失させた EPEC を用いて TJ 解離能を調べた結果、以下のことが明らかとなった (未発表)。1) EPEC による TJ 解離は III 型分泌装置依存性である。2) TJ 解離には EPEC と

宿主の密着が必要である。3) 密着後に特異的に III 型分泌装置により分泌される病原因子が TJ 解離には必須である。すなわち、EPEC の III 型分泌は初期分泌と後期分泌に質的に区別できるということがわかった。これは、細菌が病原因子を分泌するタイミングを制御する能力を持っていることを示す好例である。

参考文献

Elliott, S.J., L.A. Wainwright, T.K. McDaniel, K.G. Jarvis, Y.K. Deng, L.C. Lai, B.P. McNamara, M.S. Sonnenberg, and J.B. Kaper. 1998. The complete sequence of the locus of enterocyte effacement (LEE) from enteropathogenic *Escherichia coli* E2348/69. *Mol Microbiol.* 28:1-4.

Fujita, K., J. Katahira, Y. Horiguchi, N. Sonoda, M. Furuse, and S. Tsukita. 2000. *Clostridium perfringens* enterotoxin binds to the second extracellular loop of claudin-3, a tight junction integral membrane protein. *FEBS Lett.* 476:258-261.

Furuse, M., K. Fujita, T. Hiragi, K. Fujimoto, and S. Tsukita. 1998. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol.* 141:1539-50.

Horiguchi, Y., N. Inoue, M. Masuda, T. Kashimoto, J. Katahira, N. Sugimoto, and M. Matsuda. 1997. *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotizing toxin induces reorganization of actin stress fibers through deamidation of Gln-63 of the GTP-binding protein Rho. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:11623-11626.

Horiguchi, Y., T. Nakai, and K. Kume. 1989. Purification and characterization of *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotic toxin. *Microb. Pathog.* 6:361-368.

Horiguchi, Y., T. Nakai, and K. Kume. 1990. Simplified procedure for purification of *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotic toxin. *FEMS Microbiol. Lett.* 66:39-43.

Horiguchi, Y., T. Nakai, and K. Kume. 1991. Effects of *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotic toxin on the structure and function of osteoblastic clone MC3T3-E1 cells. *Infect. Immun.* 59:1112-1116.

Horiguchi, Y., T. Okada, N. Sugimoto, Y. Morikawa, J. Katahira, and M. Matsuda. 1995. Effects of *Bordetella bronchiseptica* dermonecrotizing toxin on bone formation in calvaria of neonatal rats. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*

Kashimoto, T., J. Katahira, W.R. Cornejo, M. Masuda, A. Fukuo, T. Matsuzawa, T. Ohnishi, and Y. Horiguchi. 1999. Identification of functional domains of *Bordetella* dermonecrotizing toxin. *Infect. Immun.* 67:3727-3732.

Katahira, J., N. Inoue, Y. Horiguchi, M. Matsuda, and N. Sugimoto. 1997a. Molecular cloning and functional characterization of the receptor for *Clostridium perfringens* enterotoxin. *J. Cell Biol.* 136:1239-1247.

Katahira, J., H. Sugiyama, N. Inoue, Y. Horiguchi, M. Matsuda, and N. Sugimoto. 1997b. *Clostridium perfringens* enterotoxin utilizes two structurally related membrane proteins as functional receptors *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 272:26652-26658.

Masuda, M., L. Betancourt, T. Matsuzawa, T. Kashimoto, T. Takao, Y. Shimonishi, and Y. Horiguchi. 2000. Activation of Rho through a cross-link with polyamines catalyzed by *Bordetella* dermonecrotizing toxin. *EMBO J.* 19:521-530.

Masuda, M., M. Minami, H. Shime, T. Matsuzawa, and Y. Horiguchi. 2002. In vivo modifications of small GTPase Rac and Cdc42 by *Bordetella* dermonecrotic toxin. *Infect. Immun.* 70:998-1001.

Matsuzawa, T., T. Kashimoto, J. Katahira, and Y. Horiguchi. 2002. Identification of a Receptor-binding domain of *Bordetella* dermonecrotic toxin. *Infect. Immun.* 70:3427-3432.

Sonoda, N., M. Furuse, H. Sasaki, S. Yonemura, J. Katahira, Y. Horiguchi, and S. Tsukita. 1999. *Clostridium perfringens* enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: Evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. *J. Cell Biol.* 147:195-204.

ボツリヌス神経毒素に関する最近の研究動向

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科

獣医感染症学研究室

小崎 俊司

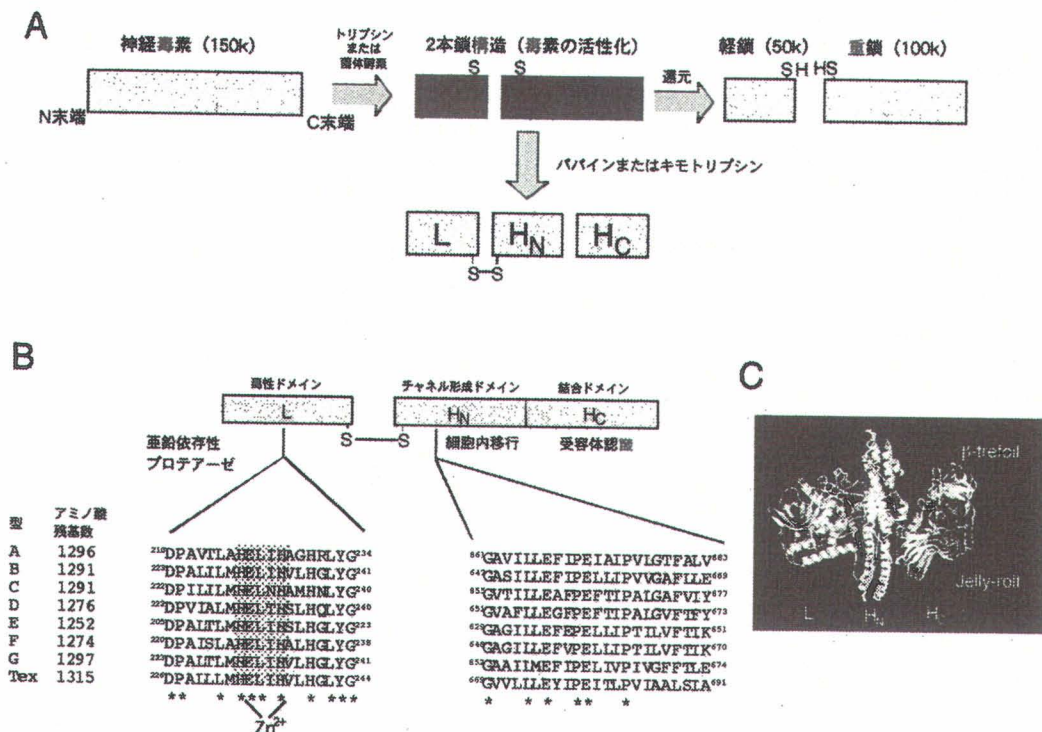
偏性嫌気性有芽胞菌であるクロストリジウム属菌には古くから毒素性疾患を起こす菌が多く含まれていることが知られているが、その中でもボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) はヒトを含む哺乳動物および鳥類に対して極めて致死率の高い神経症状を主徴とする疾病を起こす。本菌によって起こるボツリヌス中毒は食品内で芽胞が発芽、増殖する際に産生される毒素を経口的に接種して起こる典型的な食餌性毒素型食中毒である。また、生後2週から6ヶ月未満の乳児に起こる乳児ボツリヌス症は経口的に接種された芽胞が腸管内で増殖し毒素を産生することにより起こると考えられている。動物および鳥類におけるボツリヌス症はヒトにおける2つの中毒様式のいずれかにより起こるが、多くの場合ヒトにおける罹患事例が殆どない C、D 型菌が原因となっている。ボツリヌス毒素（特に A、B 型）は自然界に存在する最も毒性の高い物質であることはよく知られている。1960 年代から米国でこの毒素の持つ特異な麻痺作用を利用して限局性の筋緊張亢進を緩和する治療方法が開発され神経内科領域では最も注目されている治療薬にもなり、ジストニアをはじめとする種々の不随意運動疾患に対する効果についての研究成果が蓄積されている。

本疾病の病因物質であるボツリヌス毒素がシナプス前膜に作用し神経伝達物質の遊離を特異的に阻害することは半世紀前から判っていたが、詳細な作用機序については明らかではなかった。ここ 10 数年間に神経伝達物質遊離に関わる細胞内因子と毒作用との関係が解明されてきた。本稿ではボツリヌス毒素の作用機構に関する最近の知見と課題について概説する。

1. 神経毒素の構造と活性

ボツリヌス菌は産生する毒素の抗原性（血清型）により A～G 型の 7 型に分類されている。毒素型に係らず毒素は分子量 150kDa の神経毒素と分子量 150kDa 以上の無毒成分で構成されている。無毒成分は毒素が経口毒として作用する際

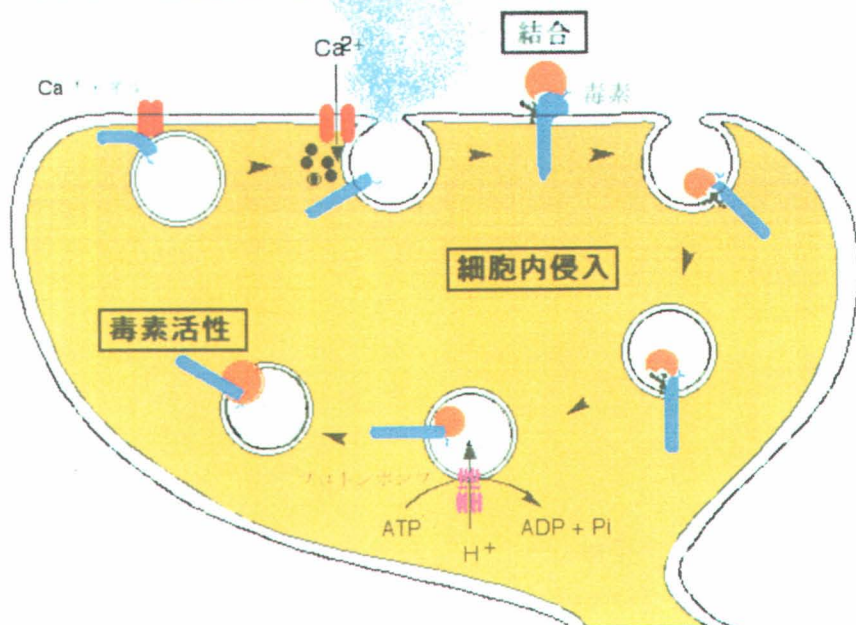
図1 神経毒素の構造



に胃や腸管内で受ける酸、消化酵素から神経毒素を保護していると考えられている。神経毒素は菌体内で毒素活性の持たない未活性の一本鎖ポリペプチドの形で産生され、自己の菌が産生する蛋白分解酵素あるいは消化管内に分泌される消化酵素により分子内で解裂を受け、少なくとも一個のSS結合で結ばれた毒性のある二本鎖構造（軽鎖および重鎖）に変化する（図1A）。毒素の神経に対する作用様式から毒性発現には①受容体結合、②細胞内への取り込み、移行、および③毒作用発揮に至るまでには3つの過程を経る必要がある。毒素分子の構造解析から重鎖C末端領域（H_C）に受容体認識、重鎖N末端領域（H_N）に細胞内移行を担う活性があり、軽鎖（L）は細胞内での毒作用に関与していると考えられていた。最近、毒素の結晶構造が明らかになり、毒素分子は作用発現に対応する3つのドメイン（L、H_N、H_C）で構成されていることがわかった¹⁾（図1C）。神経毒素の全アミノ酸配列の解明により、軽鎖は下記に述べるように金属プロテアーゼの持つ共通のモチーフHEXXHを持つことから酵素活性を有していることが予想された。重鎖N末端領域にはチャネル形成活性を発揮する共通するモチーフの存在が明らかにされている（図1B）。重鎖C末端領域には2つのサブドメインが存在し、そのN末端領域はjellyroll motif、C末端領域

は β -trefoil motif を有している。重鎖 C 末端領域の受容体結合部位は β -trefoil motif にあることが予想されている。図 1 では作用および構造が類似している破傷風毒素 (Tex) における共通部分も示した。

図2 ポツリヌス神経毒素の受容体への結合と細胞内侵入



2. 毒素受容体

毒素型により罹患動物が異なる。ヒトは主として A、B、E および F 型による中毒であり、家畜および家禽は C および D 型菌によることが多い。通常、毒素の活性はマウスに対する致死量で表現するが、A および B 型毒素が最も活性が高く、F 型毒素が最も低い。これらの知見は毒素型により作用機序に違いがあることを示している。全ての型の毒素は脳シナプトソーム膜に結合するが、型により結合部位が異なる。私共はラット脳シナプトソームを材料にして B 型神経毒素に対する受容体蛋白の単離を試みた結果、神経細胞膜内に多く存在するガングリオシド GT1b あるいは GD1a 共存下で毒素結合活性を発揮する蛋白を得た。この蛋白の抗原性および部分アミノ酸配列を調べた結果、シナプス小胞膜にあるシナプトタグミンであることを証明した。シナプトタグミンは、N 末端部分を小胞内腔側、C 末端領域をシナプス小胞外に向けた形で存在しているが、シナプス小胞内の神経伝達物質が放出される際には小胞膜とシナプス前膜が融

合し、小胞内腔側がシナプス前膜上で外側に向いた状態になると考えられる。その結果、シナプトタグミンの N 末端領域が膜外に露出する形になることから、この領域が毒素が受容体として認識する部位であると予想した。実際、この領域部分を含むシナプトタグミンの部分断片に集約して毒素結合活性が保持されており、C 末端領域には毒素の認識部位が全く含まれていなかった²⁾。これらの結果は毒素の神経細胞内への侵入は受容体が介在する取り込み (receptor-mediated endocytosis) であり、また同時にシナプス小胞のリサイクリングを利用していることを示している。神経活動に相関して毒作用が進行することは知られていたが、神経細胞に対する毒素の巧みな作用機構はこの事象をよく反映している⁴⁾ (図 2)。

3. 毒素の細胞内動態

軽鎖には金属プロテアーゼと類似した部位が存在することから神経細胞内の基質が探索された。その結果、シナプス小胞とシナプス前膜との融合に関与すると考えられていた SNAP 受容体 (SNARE) と呼ばれている蛋白群が軽鎖の基質であることがわかった。SNARE には v-SNARE (シナプス小胞側) と t-SNARE (前膜側) があり、v-SNARE であるシナプトブレビン は B、D、F、G 型軽鎖の基質であり、t-SNARE であるシンタキシンは C 型、SNAP-25 は A、E 型の基質である (表 1)。3 種類の SNARE は相互に蛋白の束を形成し小胞と前膜との膜融合を促進するが、軽鎖はこれら蛋白の一つを切断することで SNARE 複合体の構造が不安定になり、その結果シナプス小胞がシナプス内に留まることになると考えられている。この軽鎖の持つ SNARE 蛋白に対する基質特異性の高い活性は神経伝達物質の遊離機構解明に有力なツールとして利用されている。一方、シナプス小胞から軽鎖がどのようにして膜を通過するのかは依然不明である。他の細菌毒素と同様に重鎖 N 末端部分が小胞膜にチャンネルを形成し、これを介して軽鎖が小胞外に遊離されると予想されている³⁾。しかし、形成されるチャンネル孔の大きさが軽鎖を通過させるのに十分ではなく、今後解明すべき点として残されている。

表1 軽鎖の細胞内標的蛋白質と切断部位

毒素型	標的蛋白	切断部位	局在部位
A	SNAP-25	¹⁹⁷ Gln- ¹⁹⁸ Arg	シナプス前膜
B	シナプトブレビン 2	⁷⁶ Gln- ⁷⁷ Phe	シナプス小胞
C	シンタキシン 1 A	²⁵³ Lys- ²⁵⁴ Lys	シナプス前膜
	シンタキシン 1 B	²⁵² Lys- ²⁵³ Ala	
D	SNAP-25	¹⁹⁸ Arg- ¹⁹⁹ Ala	シナプス前膜
	シナプトブレビン 1	⁶¹ Lys- ⁶² Leu	シナプス小胞
	シナプトブレビン 2	⁵⁹ Lys- ⁶⁰ Leu	
E	SNAP-25	¹⁸⁰ Arg- ¹⁸¹ Ile	シナプス前膜
F	シナプトブレビン 1	⁶⁰ Gln- ⁶¹ Lys	シナプス小胞
	シナプトブレビン 2	⁵⁸ Gln- ⁵⁹ Lys	
G	シナプトブレビン 1	⁸³ Ala- ⁸⁴ Ala	シナプス小胞
	シナプトブレビン 2	⁸¹ Ala- ⁸² Ala	

4. 今後の展望

毒素の作用機構は神経伝達物質遊離のメカニズム解明と歩調を合わせて徐々に明らかにされてきた。今後、毒素型に特異的な受容体の性状解析や毒素の細胞内移行の解明は、毒素の型によって異なる感受性を示す動物のボツリヌス症を理解する上で重要な課題である。また、毒素はヒトにおける筋緊張異常（ジストニア）に対する治療薬としての利用ばかりでなく、美容整形（しわ取り）領域での使用が欧米では急増している。毒作用のメカニズムを詳細に検討することは、毒素を「くすり」としてより安全で有効に利用し、さらには広汎性疾病に適用した際に問題となる抗体産生を回避するためにも必要な事項として残されている。

文献

- 1) Lacy, D.B., Tepp, W., Cohen, A.C. et al. (1998): Nature Struct. Biol. 5, 898-902.
- 2) Nishiki, T., Tokuyama, Y., Kamata, Y. et al. (1996): FEBS Lett 378, 253-7.
- 3) Schiavo, G., Matteoli, M. and Montecucco, C. (2000): Physiol. Rev. 80, 717-766.
- 4) Simpson, L.L. (1986): Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 26, 427-453

関西実験動物研究会だより

＜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 23 号に掲載した第 75 回研究会以後、以下の研究会が開催された。

- 1) 第 76 回研究会（平成 14 年 12 月 6 日 於京都市勧業館「みやこめっせ」）
会員による研究発表（17 題）

＜特別講演＞ 武藤 誠（京都大院・医・遺伝薬理学）

マウスモデルを用いた大腸癌の形成とその化学予防の研究

- 2) 第 77 回研究会（平成 15 年 3 月 7 日 於京大会館）

＜講演会＞ テーマ：西ナイルウイルスの最新情報

1. バイオエマージェンシーとしての米国のアルボウイルス感染症
高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部 第 2 室）
2. 西ナイルウイルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明
真下知士（京都大院・医・動物実験施設）

＜維持会員ニュース＞

（株）ジャパンファーム クラウン研究所：クラウン系ミニブタの紹介

- 3) 第 78 回研究会（平成 15 年 6 月 6 日 於大阪府立大学学術交流会館）

＜講演会＞ テーマ：細菌感染症の病原因子と分子病態

1. 下痢原性大腸菌の病原性 ―遺伝子解析から見てきたこと―
山崎伸二（大阪府大院・農・獣医国際防疫学研究室）
2. 細菌性病原因子と生体成分の相互作用―百日咳菌壊死毒の分子作用機構
堀口安彦（大阪大微研・細菌毒素学分野）
3. ボツリヌス菌毒素に関する最近の研究動向
小崎俊司（大阪府大院・農・獣医感染症学研究室）

＜維持会員ニュース＞

清水実験材料（株）：動物実験施設での、スーパー次亜水（低濃度弱酸性
次亜塩素酸ナトリウム水）による殺菌・消臭

- 4) 第 79 回研究会（平成 15 年 9 月 26 日 於猿沢荘（地方職員共済組合奈良宿泊所））

＜講演会＞ テーマ：腎疾患モデルと投与採血の指針

1. 線維芽細胞を中心とした間質線維化の発症機構について
岩野正之（奈良県立医科大学・第一内科学講座）
2. 純系高 IgA 血症マウス（HIGA）の開発と病態解析

武曾恵理（（財）田附興風会医学研究所 北野病院）

3. 被験物質の投与と採血に関するガイドライン

中井伸子（日本新薬（株）・安全性研究部）

<維持会員ニュース>

（株）精研：アニコン（一方向気流方式）空調システムの開発と今後の展望

幹事会、評議員会、総会の議事録

1) 幹事会の概要（平成 14 年 10 月 30 日 於 京都府立医大・実験動物部門）

1. 出席：阿部、浅野、岡田、喜多、久保、塩見、芹川、森本、山口（9 名）

2. 議事

(1) 第 76 回研究会の開催について

プログラムの編集が行われた。

一般演題は 17 題。特別講演は京都大学大学院医学研究科武藤誠先生。

各演題の座長を決定した。

(2) 第 77 回研究会の開催について

平成 15 年 3 月に京大会館（担当：芹川）にて開催予定となった。

(3) 第 78 回研究会の開催について

平成 15 年 6 月に大阪府立大学国際交流会館（担当：岡田）にて開催予定となった。

(4) 第 79 回研究会の開催について

平成 15 年 9 月に奈良市猿沢荘（担当：久保）にて開催予定となった。

2) 幹事会の概要（平成 15 年 2 月 21 日 於 京都府立医大・実験動物部門）

1. 出席：浅田、浅野、阿部、池田、飯田、岡田、喜多、庫本、久保、芹川、田島、新谷、森本、山本、山口（15 名）

2. 議事

(1) 平成 14 年度の事業報告について話し合わせ、平成 14 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 23 号の発行（平成 14 年 12 月）が報告された。

(3) 平成 14 年度の決算報告について話し合わせ、平成 14 年度決算報告が作成された。

(4) 平成 15 年度の事業計画について話し合わせ、平成 15 年度事業計画案が作成された。

(5) 平成 15 年度の機関紙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 24 号の発行を決定した。

(6) 平成 15 年度の予算について話し合わせ、平成 15 年度予算計画案が作成された。

(7) 第 77 回研究会を 3 月 7 日に京都市で、第 78 回研究会を堺市で、第 79 回研究会を奈良市で、第 80 回研究会を京都市で開催することが決定された。

3) 第 21 回評議員会の概要（平成 15 年 3 月 7 日 於 京大会館）

1. 出席：浅野、阿部、飯田、池田克、稲垣、新比恵、内海、海野、江馬、及川、岡田、喜多、北田、庫本、黒澤、久保、桑村、芹川、高島、竹之下、田島、千葉、坪田、鳥居、中井、新谷、橋本、原田、平沢、堀江、前田、増岡、宮嶋、森岡、森島、森本、安田、山中、山本（39名）

2. 議事

- (1) 平成 14 年度事業報告：阿部幹事（集会）より平成 14 年事業報告が行われ、承認された。
- (2) 平成 14 年度機関紙発行報告：山本幹事（編集）より、関西実験動物研究会会報第 23 号が発行されたこと報告され、承認された。
- (3) 平成 14 年度決算報告：喜多幹事（庶務）より、平成 14 年度収支決算報告が報告された。芹川会長から、監事による監査の結果、繰越金決算書が適正であったことが報告され、平成 14 年度決算報告が承認された。
- (4) 平成 15 年度事業計画案：阿部幹事（集会）より平成 15 年度事業計画案が説明され、承認された。
- (5) 平成 15 年度機関紙発行報告：山本幹事（編集）より、関西実験動物研究会会報第 24 号の発行を予定している旨説明され、承認された。
- (6) 平成 15 年度予算案：喜多幹事（庶務）より平成 15 年度の予算案が説明され、承認された。
- (7) 芹川会長より、評議員に対して、新しい維持会員の勧誘について協力が求められた。
- (8) その他
 - ・鳥居幹事より、滋賀医科大学動物生命科学研究センターの概要説明と開所式の案内があった。

4) 第 20 回総会の概要（平成 15 年 3 月 7 日 於 京大会館）

- (1) 浅野幹事が議長に選出された。
- (2) 平成 14 年度事業報告が行われ、承認された。
- (3) 関西実験動物研究会会報第 23 号会報が発行されたことが報告された。
- (4) 平成 14 年度収支決算報告が行われ、高木監事より、監査の結果適正であったことが報告され、承認された。
- (5) 平成 15 年度の事業計画（案）が説明され、承認された。
- (6) 関西実験動物研究会会報第 24 号の発行を予定していることが説明され、承認された。
- (7) 平成 15 年度予算（案）が説明され、承認された。

《会員の異動》

(平成14年11月～平成15年10月)

入会者

西村 友成	田辺製薬(株) 安全研
山手 丈至	大阪府立大学・農・獣医病理
木村 国雄	科研製薬(株) 研究開発本部信頼性保証部
長井 寛明	大阪府立大学・院・農学生命科学研・実験動物学
三野 将城	大阪府立大学・院・農学生命科学研・実験動物学
平井 誠	旭化成(株) 開発研究所
栃倉 匡文	
真下 知士	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
土井 清弘	(株) ケーエーシー
細江 和典	鐘淵化学工業(株) ライフサイエンス研究所
松尾 公平	住友製薬(株) 研究業務動物管理グループ
渡邊 雄造	白井松器械(株)

退会者

藤村 一	(財) 生産開発科学研究所
山本 利男	(財) 食品農医薬品安全性評価センター 事業部
豆越 慎一	(株) 森永生科学研究所
矢野 賢一	吉富製薬(株) 安全性研究所
三日月 幸治	塩野義製薬(株) 実験動物研究センター
大原 忠雄	塩野義製薬(株) 実験動物研究センター
徳本 和弥	塩野義製薬(株) 摂津工場生物試験課
今井 章浩	大阪府立成人病センター研究所
松村 理一郎	
原 卓司	協和発酵工業(株) 安全性研究所
武田 篤彦	パスツールビル5F (財) 体質研究会
山口 哲生	(株) CSKリサーチパーク
山本 淑子	京都大学医学部法医学教室
山梶 圭二郎	日本チャールズリバー(株)

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2003年10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	赤川 利加寿	306-0101	茨城県猿島郡三和町尾崎 2638-2	ハムリー(株)
	秋元 博一	520-3241	滋賀県甲賀郡甲西町北山台1丁目 18-9	愛知医科大学附属動物実験施設
	秋山 潔	480-1103	愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又	島根医科大学附属動物実験施設
	吾郷 昭夫	693-8501	出雲市塩冶町 89-1	(財)先端医療財団事業化推進部 推進課
	◎◎ 浅田 孝	650-0047	神戸市中央区港島南町2-2	(株)ボソリサーチセンター函南研究所
	◎◎ 浅野 裕三	419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125	(株)紀和実験動物研究所
	東 文男	640-1473	和歌山県海草郡美里町毛原宮 486	田辺製薬(株)安全研
	足立 民子	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	オリエンタル酵母工業(株)大阪バイオ営業所
	鎧 友成	564-0043	吹田市南吹田 4丁目 4-1	(株)武田ラビックス 系統管理部
	◎◎ 阿部 敏男	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	エルエスシー(株)
	新井 健史	162-0814	東京都新宿区新小川町6-36 S&Sビル	扶桑薬品工業(株)研究開発センター
	荒木 宏昌	536-0025	大阪市城東区森ノ宮 2-3-3	(株)環境バイロックス研究所
	荒木 しおり	528-0052	滋賀県甲賀郡水口町大字宇川字稲場555	シオノギ製薬 新薬研 実験動物管理室
	有富 博之	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	武田薬品工業(株)薬物機能第二研究所
	安藤 孝夫	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	日本エスエルシー(株)
	い◎◎ 飯田 晶敏	433-8114	浜松市葵東 3-5-1	日本ベーリンガー・インゲルハイム(株)
	飯塚 三喜	666-0131	川西市矢間字高田 103	グラクソ・スミスクライン(株)筑波研究所動物管理部
	◎◎ 池田 卓也	300-4247	茨城県つくば市和台43番地	武庫川女子大学 生活環境学部
	○ 池田 克己	663-8137	西宮市池間町 6-46	大日本製薬(株)総合研究所
	石川 隆司	564-0053	吹田市江ノ木町33-94	武田薬品工業(株)薬物機能第二研究所
い	伊藤 隆康	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	兵庫医科大学動物実験施設
	伊東 久男	663-8501	西宮市武庫川1-1	塩野義製薬(株)油日ラボラトリーズ
	○ 稲垣 晴久	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	田辺製薬(株)安全性研究所
	乾 俊秀	532-8505	大阪市淀川区加島3丁目 16-89	石原産業(株)中央研究所
	乾 公正	525-0025	滋賀県草津市西洪川 2-3-1	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	化合物安全性研究所 営業部
	○ 新比恵 啓志	532-8505	大阪市淀川区加島3丁目 16-89	武田薬品工業(株)研究推進部
	今林 潤一	631-0806	奈良市朱雀6-17-3-7B	(株)ワイエスニューテクノロジー研究所
	岩知道 公彦	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	(株)ケーエーシー
	う ○ 上田 正次	329-0512	栃木県下都賀郡石橋町下石橋519	大日本除虫菊(株)
	○ 内海 健二郎	604-8423	京都市中京区西の京西月光町40	日本オルガノン(株)研究開発本部薬事申請部
	◎◎ 梅田 光夫	561-0827	大阪府豊中市大黒町1-1-11	国立医薬品食品衛生研究所
	◎◎ 海野 隆	534-0016	大阪市都島区友淵町1-5-90	武田薬品工業(株)薬剤安全性センター
	え◎◎ 江馬 真	540-8146	大阪市中央区法円坂 1-4-43	塩野義製薬(株)実験動物研究センター
	お○ 及川 弘	525-0028	滋賀県草津市上笠 2-1-8-1	沢井製薬(株)大阪研究所
	大島 洋次郎	743-8502	山口県光市光井字武田 4720	名古屋大学医学部附属動物実験施設
	大島 五紀	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405	(株)富士バイオメディックス
	大槻 重信	620-0802	京都府福知山市宇興 493	エデストロムジャパン(株)
	大坪 義和	535-0004	大阪市旭区生江 1-8-14	大阪府立大学・院・農学生命科学研・実験動物学
	大野 民生	466-8550	名古屋市昭和区鶴舞町65	住化テクノサービス(株)
う	岡 智通	365-0039	埼玉県鴻巣市東1-1-25	(株)ボソリサーチセンター
	岡崎 彰亮	107-0052	東京都港区赤坂1丁目11-28 森ビル5F	大阪大学医学部附属動物実験施設
	◎◎ 岡田 利也	599-8531	大阪府堺市学園町 1-1	大鵬薬品(株)
	尾形 美和子	554-8558	大阪市此花区春日出中3-1-98	(有)行動医学研究所
	岡庭 梓	532-0003	大阪市淀川区宮原 5-1-3	日本クレア(株)大阪事業所
	○ 岡本 宗裕	565-0871	吹田市山田丘 2-2	藤沢薬品工業(株)実験サービスセンター
	沖本 一夫	564-0053	吹田市江の木町 33-94	日本製薬(株)大阪研究部
	小本 曾 敬吉	464-0044	名古屋市千種区自由ヶ丘 2-12-4-104	ラビオン研究所
	荻野 信二	567-0878	大阪府茨木市蔵垣内 1-3-45	清水実験材料(株)
	奥田 誠治	586-0006	河内長野市松ヶ丘中町 1330-1	丸石製薬(株)中央研究所
	奥本 正昭	599-8570	大阪府堺市学園町 1-2	日本エスエルシー(株)受託研究部
	尾崎潤一郎	532-8505	大阪市淀川区加島3-16-89	塩野義製薬(株)新薬研究所
	か 鍵山 荘一郎	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
	梶原 昭裕	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品(株)
	勝田 敦美	673-0885	明石市桜町14-16	(有)行動医学研究所
	加藤 鋭二	564-0053	大阪府吹田市江の木の町 6-5	日本クレア(株)大阪事業所
	加藤 仁五	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
	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	ラビオン研究所
	鎮木 力	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町	清水実験材料(株)
き	川合 是彰	573-1134	枚方市養父丘 1-12-17	丸石製薬(株)中央研究所
	河井 祥一郎	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18	日本エスエルシー(株)受託研究部
	河田 昭彦	433-8114	浜松市葵東 3-5-1	塩野義製薬(株)新薬研究所
	神田 政典	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	京都府立医科大学 実験動物室
	喜多 正和	602-8566	京都市上京区河原町広小路	北海道大学先端科学技術共同研究センター
	○ 北村 一博	060-0810	札幌市北区北10条西8丁目	オリエンタルバイオサービス
	北山 博章	615-0882	京都市右京区西京極葛野町 28 番	ボーラ化成工業(株)医薬品開発研究部動物管理室
	木下 邦明	224-0812	横浜市戸塚区粕尾町560	

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2003年10月現在

	氏名	〒	住所	所属
く	木村 国雄	426-8646	静岡県藤枝市源助301番地	科研製薬(株)研究開発本部信頼性保証部
	久世 博	541-8505	大阪市中央区道修町3-2-10	田辺製薬(株)医薬情報センター
	国友 一朗	580-0016	大阪府松原市上田8-1-20	
〇◎	久保 薫	634-8521	権原市四条町 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
〇◎	庫本 高志	104-0045	東京都中央区築地 5-1-1	国立がんセンター研究所がん研究部
	倉林 謙	700-0914	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学医学部附属動物実験施設
〇◎	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
	桑村 充	599-8531	大阪府堺市学園町1-1	大阪府立大学・農・獣医病理
こ	小泉 清	240-0012	神奈川県横浜市保土ヶ谷区月見台 33-8-201	
	甲田 彰	541-8510	大阪市中央区道修町 2-2-8	住友製薬(株)開発本部
さ	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
	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
	坂本 雄二	651-2241	神戸市西区室谷 1-5-4	千寿製薬(株)
	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
	佐藤 雅樹	642-0017	海南市南赤坂 16-1	(株)新日本科学 薬物代謝分析センター
し	鮫島 秀暢	890-0011	鹿児島市玉里団地1丁目 22-19	
	澤浦 雅人	550-0005	大阪市西区西本町 1-6-2	日本チャールズリバー(株)
	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	大阪市中央区道修町 2-3-6	武田薬品工業(株)薬事管理部監査室
	島 朋絵	550-0005	大阪市西区西本町1-6-2	日本チャールズリバー(株)
	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)研究推進部
	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
す	菅原 努	606-8225	京都市左京区田中門前町 103	バスタービル京都イメリタスクラ
	杉井 学	576-0031	大阪府交野市森南 2-27-3	(株)ケーエーシー 営業本部
〇	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★〇◎	鈴木 稔	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405	塩野義製薬(株)
	角井 正義	532-8686	大阪市淀川区十三本町2-17-85	(株)武田ラビックス 技術教育担当
	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	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
	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—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)
	竹之下 誠	648-0003	橋本市隅田町山内 514	
〇◎	田島 優	565-0871	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部附属実験動物施設
	谷村 孝	590-0137	堺市城山台1-14-10	
〇	谷本 憲昭	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)安全性研究所
	谷本 純一	583-0872	羽曳野市はびきの 4-15-4	
ち〇	多根井 昌幸	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1-6-2	日本チャールズ・リバー(株)大阪営業所
	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	JT クリエイトサービス 理化学関連事業本部
	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
	田畑 勇一	604-8423	京都市中京区西の京西月光町 40	(株)ケーエーシー
	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
	辻 嘉昭	650-0033	神戸市江戸町85-1・エイ・ウイング神戸ビル801号	ステリスジャパン(株)
	都築 政起	739-0046	広島島市鏡山1-4-4	広島大学生物生産学部家畜育種学教室
〇	蝶良 愛郎	570-0074	守口市文園町10-15	関西医大・第2病理
	坪田 裕司	641-0012	和歌山県紀三井寺 811-1	和歌山県立医大第二生理学
〇	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
	土井 清弘	604-8423	京都市中京区西の京西月光町40	(株)ケーエーシー
と	堂前 嘉代子	663-8558	西宮市池開町6-46	武庫川女子大学生生活環境学部
	枡倉 匡文	615-0925	京都市右京区梅津大槻場町6-6 嵐山ロイヤルハイ	
〇◎	鳥居 隆三	520-2192	滋賀県大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学動物生命科学研究センター
	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
な	中井 伸子	601-8550	京都市南区西大路八条下ル	日本新薬(株)安全性研究所
	中井 洋一	503-0628	岐阜県海津郡海津町福江290	(株)日本生物科学センター
	長井 寛明	599-8531	大阪府堺市学園町 1-1	大阪府立大学・院・農学生命科学研・実験動物学

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2003年10月現在

	氏名	〒	住所	所属
	中川 和年	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品(株)
	中川 照文	125-0041	東京都葛飾区金町3-5-13ワコレカンス301	科研製薬(株)
	長澤 久充	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 正典	534-0016	大阪市都島区友洲町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
に○◎	新谷 聡	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
	西川 哲	431-3192	浜松市半田山 1-20-1	浜松医科大学 動物実験施設
	西村 孝義	528-0052	滋賀県甲賀郡水口町宇川稲場 555	(株)環境バイロス研究所
	西村 友成	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺製薬(株)安全研
	西村 正彦	466-0065	名古屋市中区昭和区鶴舞町65	名古屋大学医学部附属動物実験施設
	西村 弘道	597-0061	貝塚市浦田 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
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
	根縫 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
は○	橋本 正晴	532-8514	大阪市淀川区加島 2-1-6	藤沢テクニクス(株)
	蓮間 忠芳	550-0005	大阪市西区西本町2-5-19	生活科学研究所
	浜田 修一	286-8511	千葉県成田市南平台1143	エスエス製薬(株)中央研究所
	早川純一郎	920-1161	金沢市鈴見台4-12-6	
	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	大阪市中央区法円坂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
	原田 延行	220-8146	横浜市西区みなとみらい2-2-1ランドマークタワー46	日本農産工業(株)バイオ部バイオ第1グループ
ひ	東 稔広	532-0004	大阪市淀川区西宮原 2-6-64	日本シーリング(株)
	東山 昇	553-0002	大阪市福島区鷺洲 5-12-4	塩野義製薬(株)中央研究所
	足田 精一	607-8042	京都市山科区四ノ宮南河原町	科研製薬(株)総合研究所
	日高 隆義	676-0027	兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8	鐘淵化学工業(株)高砂研究所
	平井 誠	410-2321	静岡県田方郡大仁町三福632-1	旭化成(株)開発研究所
○	平川 公昭	590-0422	泉南郡熊取町希望が丘 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
	平山 信恵	641-0012	和歌山市紀三井寺 672 ドエル紀三井寺405	(株)新日本科学
	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	大阪市此花区春日日出中3-1-98	住友化学工業(株)生物環境科学研究所
	福岡 克弘	892-0871	鹿児島県鹿児島市吉田町宮之浦 2438	(株)新日本科学
	福岡 綾子	892-0871	鹿児島県鹿児島市吉田町宮之浦 2438	(株)新日本科学
	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
	藤島 昇一	566-0022	摂津市三島 3-5-1	塩野義製薬(株)摂津工場 品質評価研
	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
○	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実験動物室
ほ	干場 純治	700-0914	岡山市鹿田町 2-5-1	岡山大学自然生命科学研究支援センター動物資源部門
	細江 和典	676-8688	高砂市高砂町宮前町1-8	鐘淵化学工業(株)ライフサイエンス研究所
○	堀江 成光	630-0101	生駒市高山町 8916-16	参天製薬(株)奈良研究開発センター
	堀江 信一	541-0044	大阪市中央区伏見町2-1-1住友銀行高麗橋ビ	(株)新日本科学
	堀江 良一	693-0021	出雲市塩治町 89-1	島根医科大学第2病理学教室
ま	前田 勝弘	564-0053	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)安全性研究所
	真壁 恭子	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 進	520-3001	滋賀県栗東市東坂91	(株)ケー・エー・シー 生物科学センター
	真下 知士	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
	増井 則夫	433-8111	静岡県浜松市葵 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
	増田 亜紀	561-0825	大阪府豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬(株)
	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
	松尾 公平	554-0042	大阪市此花区春日日出中3-1-98	住友製薬(株)研究業務動物管理グループ
	松本 耕三	770-0002	徳島市蔵本町3	徳島大学医学部附属動物実験施設
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
	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	335-8505	埼玉県戸田市川岸2-2-50	田辺製薬(株)創薬研究所
	水野 信哉	565-0081	吹田市山田丘 2-2	大阪大学医学部バイオメディカルセンター腫瘍生化学講座
	水野 洋子	567-0048	大阪府茨木市北春日丘4-5-32 B101	
	三野 将城	599-8531	大阪府堺市学園町 1-1	大阪府立大学・院・農学生命科学研究・実験動物学
	三原 径子	410-0866	静岡県沼津市市道町 13-4 本山方	
☆○	宮崎 宏彰	892-0871	鹿児島県鹿児島市吉田町宮之浦 2438	(株)新日本科学
○	宮崎 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

関西実験動物研究会（個人会員名簿） 2003年10月現在

	氏名	〒	住所	所属
	宮本 誠	560-0011	豊中市上野西 1-12-22	
〇◎	宮脇 茂樹	601-8550	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14	日本新薬(株)知的財産部
む	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	605-0976	京都市東山区泉涌寺東林町2	
も	森 幹雄	564-0053	吹田市江の木町 33-94	大日本製薬(株)開発研究所
〇	森岡 宏至	591-8022	堺市金岡町 1200-6	
	森岡 一輝	544-8666	大阪市生野区巽西 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
〇◎	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
や〇	安田 正秀	569-1094	高槻市奈佐原 4-20-1	大阪薬科大学動物関連研究施設
	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)創薬第一研究所 病態モデルG
	柳本 行雄	550-0005	大阪市西区西本町 2-5-19	生活化学研究所
	山北 修	771-0132	徳島市川内町平石字夷野 224-2	大鵬薬品工業(株)製薬業務部 QAU課
	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
〇	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
	山手 文至	599-8531	大阪府堺市学園町1-1	大阪府立大学・農・獣医病理
	山田 宜永	606-8224	京都市左京区北白川追分町	京都大学大学院農学研究科
	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
〇◎	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
〇	山本 博	930-0152	富山市杉谷 2630	富山医科薬科大学動物実験センター
〇◎	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
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
	吉田 豊彦	561-0825	豊中市二葉町 3-1-1	塩野義製薬(株)新薬研究所
〇	吉田 元信	541-0045	大阪市中央区道修町 2-6-8	大日本製薬(株)アミナルサイエンス部
	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
	渡邊 雄造	540-0003	大阪市中央区森ノ宮中央1-19-16	白井松器械(株)
	和田 あづみ	105-8461	東京都港区西新橋 3-25-8	東京慈恵医大・総合医科学研究セ・実験動物

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: kansajim@anim.med.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15年10月現在)

No.	社名	〒	住所
1	(株)アイセイ	594-1151	大阪府和泉市唐国町1丁目6-1
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	エルエスジー(株)	162-0814	東京都新宿区新小川町 6-36 S&Sビル
4	(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
5	オリエンタル酵母工業(株)大阪バイオ営業所	564-0043	吹田市南吹田 4-4-1
6	(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	(株)サンブラネット 川島事業本部	501-6024	岐阜県羽島郡川島町竹早町 2-1
8	北山ラベス(株)	396-0021	長野県伊那市荒井区川北 3052
9	(株)共生 カルモア事業部	453-0856	名古屋市中村区並木 2 丁目 68
10	(株)ケアリー	531-0072	大阪市北区豊崎 4-12-1
11	(株)ケー・エー・シー	604-8423	京都市中京区西の京西月光町 40
12	参天製薬(株)研究開発センター	630-0101	生駒市高山町 8916-16
13	三協ラボサービス(株)	132-0023	東京都江戸川区西一之江 2-13-16
14	塩野義製薬(株)医薬研究開発本部	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405
15	清水実験材料(株)	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町 37
16	白井松器械(株)	540-0003	大阪市中央区森ノ宮中央 1-19-16
17	(株)ジャパンファーム クラウン研究所	895-2701	鹿児島県伊佐郡菱刈町前目字池田 3504-157
18	(株)新日本科学 大阪支社	541-0044	大阪市中央区伏見町2-1-1三井住友銀行高麗橋ビル
19	(株)精研	542-0066	大阪市中央区瓦屋町二丁目11-16
20	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
21	田辺製薬(株)安全性研究所	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89
22	(株)夏目製作所	113-0034	東京都文京区湯島 2-18-6
23	ニチメンマシナリー(株)	105-0014	東京都港区芝3丁目24-21
24	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
25	日本オルガノン(株)	534-0016	大阪市都島区友淵町 1-5-90
26	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
27	日本新薬(株)研究開発本部	601-8550	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
28	日本チャールスリバー(株)	550-0005	大阪市西区西本町 1-11-7
29	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
30	ハムリー(株)大阪営業所	532-0011	大阪市淀川区西中島 7-14-35-303
31	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
32	丸石製薬(株)中央研究所	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
33	三浦工業(株)メディカル西日本営業部	533-0011	大阪市東淀川区大桐 2-7-12 三浦ビル
34	(株)三菱化学安全科学研究所大阪支店	541-0044	大阪市中央区伏見町4-1-1(大阪明治生命館7F)
35	(株)美濃ラボ	503-0321	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
36	(株)ラビトン研究所	677-0032	兵庫県西脇市中畑町 338

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: kansajim@anim.med.kyoto-u.ac.jp)

入会

清水実験材料(株)

(株)ジャパンファーム クラウン研究所

ニチメンマシナリー(株)

(株)精研

(株)アイセイ

社名変更

H14.12.6 豊田通商(株)→エルエスジー(株)

住所変更

H15.5.1 参天製薬

退会

セアック吉富(株)

三菱ウエルファーマ(株)研究本部 安全性研究所

武田薬品工業(株)医薬研究本部

部署変更

田辺製薬 研究開発→安全研

関西実験動物研究会 評議員名簿

(平成 14 年度～16 年度)

氏名	所属
浅田 孝	(財) 先端医療財団 事業化推進部推進課
浅野 裕三	(株) ボゾリサーチセンター函南研究所
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	グ・ラリ・ミスクライン(株) 筑波研究所動物管理部
池田 克巳	武庫川女子大学 生活環境学部
稲垣 晴久	塩野義製薬(株)
新比恵 啓志	田辺製薬(株) 安全性研究所
内海 健二郎	(株) ケーエーシー
海野 隆	日本オルガノン(株) 研究開発研究部
江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室
及川 弘	
岡田 利也	大阪府立大学大学院農学生命科学科実験動物医学研究室
岡本 宗裕	鳥取大学農学部獣医学科実験動物機能学
喜多 正和	京都府立医科大学実験動物室
北田 一博	北海道大学先端科学技術共同センター
庫本 高志	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
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
桑村 充	大阪府立大学大学院農学生命科学科獣医病理
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
高島 俊行	(株) 三菱化学安全科学研究所
竹之 誠	(株) ケアリー和歌山研究所
田島 優	大阪大学医学部附属動物実験施設
谷村 孝	
千葉 薫	JT クリエイティブサービス
螺良 愛郎	関西医科大学第二病理学教室
坪田 裕司	和歌山県立医科大学第二生理学
鳥居 隆三	滋賀医科大学動物生命科学研究センター
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	藤沢テクニス(株)
原田 正史	大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設
平川 公昭	(株) 新日本科学
平沢 勉	塩野義製薬(株) 創薬研究所
古河 恵一	近畿大学医学部共同研実験動物室
堀江 成光	参天製薬(株) 奈良研究開発センター

氏名	所属
前田 敏宏	大日本製薬(株) 安全性研究所
牧野 進	(株) ケーエーシー生物科学センター
増岡通夫	(株) ケーエーシー生物科学センター
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) 知的財産部
森岡 宏至	
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	大阪薬科大学動物関連研究施設
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
吉田 元信	大日本製薬(株) アニマルサイエンス部

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 : kansaijim@anim.med.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 15 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：	庫本 高志	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	(株) ボゾリサーチセンター函南研究所
	池田 卓也	グラクソ・スミスクライン (株) 筑波研究所 動物管理部
	海野 隆	日本オルガノン (株) 研究開発本部 薬事申請部
	江馬 真	国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室
	岡田 利也	大阪府大大学院農学生命科学研究科実験動物医学研
	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
	田島 優	大阪大学医学部附属動物実験施設
	前田 敏宏	大日本製薬 (株) 安全性研究所
	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
	浅田 孝	(財) 先端医療財団 事業化推進部推進課
	飯田 晶敏	日本エスエルシー (株)
	鳥居 隆三	滋賀医科大学動物生命科学研究センター
	新谷 聰	国立循環器病センター研究所
	宮脇 茂樹	日本新薬 (株) 知的財産部
	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15年12月15日 印 刷
平成15年12月15日 発 行

編集兼発行者 芹 川 忠 夫
発 行 所 関西実験動物研究会
〒606-8501 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24号
Kansai Journal of Laboratory Animals
平成15年12月

第75回研究会：組換え動物の利用と規制

宮崎 純一：Naked DNAを用いた生体での遺伝子発現法 3

安居院高志：組換えDNA 実験指針改訂に伴う動物を用いる実験の取り扱い 7

第76回研究会

武藤 誠：マウスモデルを用いた大腸癌の形成とその化学予防の研究 11

芹川 忠夫：「珍頑鼠育草」の鼠はマウスかラットかネズミか 14

抄録：会員による研究発表（17題） 21

第77回研究会：西ナイルウィルスの最新情報

高崎 智彦：バイオエマージェンシーとしての米国のアルボウィルス感染症 41

真下 知士：西ナイルウィルス感染に対する宿主側免疫防御機構の解明 45

第78回研究会：細菌感染症の病原因子と病態

山崎 伸二：下痢原性大腸菌の病原性—遺伝子解析から見えてきたこと— 53

堀口 安彦：細菌性病原因子と生体成分の相互作用—百日咳菌壊死毒の分子作用機構— 54

小崎 俊司：ボツリヌス神経毒素に関する最近の研究動向 58

〈関西実験動物研究会だより〉 65

幹事会、評議員会、総会の議事概要 67 会員の異動 69

個人会員名簿 70 維持会員名簿 74 評議員名簿 75

会長、幹事、監事名簿 77