

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成20年12月 30号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

<第95回研究会（平成19年9月14日）>

テーマ：トランスレーショナルリサーチにおけるウサギの重要性

1. トランスレーショナル リサーチにおけるWHHL/WHHLMIウサギの役割
ー高脂血症、動脈硬化等についてー
塩見 雅志（神戸大学 医学部 附属動物実験施設）…………… 1
2. Transgenic Rabbits for Translational Research
範 江林、小池 智也 …………… 13
（山梨大学大学院医学工学総合研究部(医学部)・分子病理学講座）
3. 凍結精子による遺伝子組換えウサギの系統保存
北嶋 修司、森本 正敏* …………… 16
（佐賀大学総合分析実験センター生物資源開発部門、
*現所属：熊本保健科学大学リハビリテーション学科）
4. 実験用ウサギのSPF化と胚保存
ーSPFウサギ作出の歴史、病態モデルウサギ維持生産のためにー
桑原 吉史*、北田 健作、河村 奈緒、竹入 修二、平澤 和男 …… 21
北山ラベス株式会社（*現オリエンタル酵母工業株）

<第96回研究会（平成19年12月14日）>

<特別講演>

1. 精神疾患モデル動物に必要な条件：行動をどう評価するか？
鍋島 俊隆（名城大学大学院薬学研究科薬品作用学研究室） …… 25
 2. 疾患モデル動物の開発とその応用：特にてんかんモデル動物を中心に
笹 征史（広島大学名誉教授） …………… 29
- <会員の発表 16題> …………… 37

<第97回研究会（平成20年3月7日）>

テーマ：マラリアとショウジョウバエ

1. マウスを用いたマラリア研究の醍醐味
大野 民生（名古屋大学大学院・医・医学教育研究支援センター
実験動物部門）…………… 53
2. 疾患モデル動物としてのショウジョウバエ
山本 雅敏（京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝資源センター）… 58

<第98回研究会（平成20年 6 月13日）>

テーマ：われらが評議員の研究から学ぶ

1. 遺伝解析：実験動物から家畜へ

山田 宣永（京都大学大学院）…………… 65

2. ヒトに寄生するサナダムシ－*Taenia* 属条虫の生物学－

岡本 宗裕（鳥取大・農・獣・寄生虫病学）…………… 75

3. 生物の雄・雌が決まる仕組みとその破綻機構の解明

－性決定の分子遺伝学－

星 信彦（神戸大学大学院・農・応用動物形態機能学）…………… 76

<関西実験動物研究会だより> …………… 85

<幹事会、評議員会、総会の議事概要> …………… 87

<会員の異動> …………… 92

<個人会員名簿> …………… 93

<維持会員名簿> …………… 97

<評議員名簿> …………… 98

<会長、幹事、監事名簿> …………… 100

<第95回研究会（平成19年9月14日）>

テーマ：トランスレーショナルリサーチにおけるウサギの重要性

1. トランスレーショナル リサーチにおけるWHHL/WHHLMIウサギの役割
ー高脂血症，動脈硬化等についてー

塩見 雅志（神戸大学 医学部 附属動物実験施設）

2. Transgenic Rabbits for Translational Research

範 江林、小池 智也（山梨大院・医学工学総合研究部分子病理学）

3. 凍結精子による遺伝子組換えウサギの系統保存

北嶋 修司、森本 正敏*

（佐賀大学総合分析実験センター生物資源開発部門、

*現所属：熊本保健科学大学リハビリテーション学科）

4. 実験用ウサギのSPF化と胚保存

ーSPFウサギ作出の歴史，病態モデルウサギ維持生産のためにー

桑原 吉史*、北田 健作、河村 奈緒、竹入 修二、平澤 和男

北山ラベス株式会社（*現オリエンタル酵母工業株）

トランスレーショナル リサーチにおける WHHL/WHHLMI ウサギの役割 ー高脂血症，動脈硬化等についてー

塩見 雅志

(神戸大学 医学部 附属動物実験施設)

はじめに

動物実験の実施において最も重要なことの一つが動物福祉への配慮であり，合法的（法規等と機関内規定の順守，動物実験計画書の作成，動物実験委員会の認可に基づく動物実験の実施）であると同時に，実験結果をヒトあるいは目的とした動物種に外挿できることである．実験結果をヒトに外挿する（トランスレーショナルリサーチ）ためには，実験に用いる動物の病態，疾患の発生機序，関連する代謝における酵素の働き，発現が実験に用いる動物とヒトとで対応していることが重要である．遺伝子の働きを調べる研究において，遺伝子組み換えマウスは極めて有効な実験動物であるが，複数の酵素が関連する代謝疾患および関連する疾患においては，複数の酵素の発現や機能がヒトと異なることがある．したがって，適正な動物実験を実施するためにはヒトに外挿できる動物種を実験に使用することが極めて重要となる．本稿では，脂質代謝および脂質代謝異常に起因する動脈硬化等の疾患に関する研究におけるウサギの有用性について概説する．

脂質代謝，動脈硬化，虚血性心疾患における種差

脂質代謝に関連する酵素はヒトとマウスやラットで大きく異なり，ウサギはヒトに類似している（図 1，表 1）．ヒト血中の主要なリポタンパク（主にアポタンパクと脂質で形成される粒子で血中で脂質を運搬）が低比重リポタンパク（low density lipoprotein, LDL）である¹⁾のに対し実験動物の代表であるマウスやラットは高比重リポタンパク（high density lipoprotein, HDL）である（図 2）．この違いは，ヒトの血中ではコレステロールエステル転送タンパク（cholesterol ester transfer protein, CETP）の活性が認められるがマウスやラットの血中では CETP の活性が認められない²⁾ことが原因の一つと考えられる．

ヒトでは動脈硬化の原因になるリポタンパクとして LDL が重要と考えられているが、LDL は肝臓で合成された超低比重リポタンパク (very low density lipoprotein, VLDL) に由来し、主要構成タンパクとしてアポタンパク B-100 を有している。マウスやラットでは、VLDL や LDL の主要な構成アポタンパクはアポタンパク B48 でヒトと異なる。ヒトやウサギとマウスやラットの主要アポタンパクの違いは、アポ B 編集酵素がヒトやウサギでは肝臓で発現していないが、マウスやラットでは肝臓で発現していることに由来する³⁾。ヒトではアポタンパク B48 は食事由来の脂質を運搬するリポタンパクの主要構成タンパクであり、血中からの消失速度はアポタンパク B100 含有リポタンパクに比較して極めて早い。このような違いがヒトとマウスやラットの脂質代謝の差異に大きく影響しており、遺伝子組み換えマウスを含むマウスやラットのモデルが高脂血症を示している場合でも、血中に蓄積しているリポタンパクの種類(アポタンパクを含めて)がヒトの高脂血症患者で血中に蓄積しているリポタンパクと異なる原因の一つである(図2)。さらにもっとも強力なコレステロール合成阻害剤であり、世界各国で広く使用されているスタチンは、マウスやラットではコレステロール低下効果が弱いとされている⁴⁾。一方、ウサギの脂質代謝はヒトにきわめて類似しており、スタチンのコレステロール低下作用も認められている。LDL 受容体がほとんど機能していない WHHL ウサギ^{1,5)}や WHHL ウサギに由来する WHHLMI ウサギ⁶⁾はヒトの家族性高コレステロール血症のモデル動物として広く研究に使用されてきた。また、遺伝子組み換えマウス等の高脂血症モデルで発生する動脈硬化病変は脂質蓄積やマクロファージ由来泡沫細胞に富み、線維成分が極めて少ない病変である⁷⁻⁹⁾が、そのような病変はヒトの動脈硬化では稀であり^{10,11)}、ヒトの動脈硬化病変では脂質/マクロファージの蓄積層を線維性皮膜が覆う病変や、平滑筋細胞やコラーゲン線維に富む病変などの様々な病理組織所見を示す(図3)¹²⁾。WHHLMI ウサギではヒトの動脈硬化病変と同様にさまざまな病変が認められ(図4)¹³⁾、ヒトにきわめて類似している。さらに興味深いことに、動脈硬化に関連した同じヒト遺伝子を導入した場合に、マウスとウサギで導入した遺伝子の働きが逆になる場合があると報告されている(表2)¹⁴⁾。これらの報告は、ヒトへのトランスレーショナルリサーチにおいてどの動物種選択の重要性を示唆している。

WHHL ウサギおよび WHHLMI ウサギの特性および開発の歴史

WHHL ウサギは Watanabe によって 1973 年に発見された高脂血症を示すオスの日本白色種ウサギに由来し、1980 年に系統として確立され、Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL)ウサギと命名された¹⁵⁾。その後の研究によって、WHHL ウサギの高脂血症は LDL 受容体の遺伝子異常に基づいて血中の LDL の異化が遅延することに由来することが明らかにされた¹⁶⁾。この高脂血症が原因して動脈硬化や黄色腫が自然発症する。しかし、当時の WHHL ウサギでは、心臓に血液を供給している冠動脈の動脈硬化発生率は低かった。その後、冠動脈に動脈硬化を発症したウサギのラインのみを用いる選抜交配によって、冠動脈の動脈硬化の発生率は上昇したが¹⁷⁾、心筋梗塞の発生率は極めて低かった。1990 年代になると、ヒト剖検心の病理組織学的解析の結果、心筋梗塞の発生にはマクロファージを多く含む冠動脈病変が重要であるとする仮説が有力となった。そこでマクロファージを多く含む冠動脈病変を指標の一つとして、1993 年から再度選抜交配を実施した結果、心筋梗塞の発生率が上昇し、2000 年には 28 月齢における心筋梗塞の累積発生率は 98%となり、標準飼料の給与で心筋梗塞を自然発症する WHHL ウサギを WHHLMI ウサギ⁶⁾と命名した。なお、WHHLMI ウサギ開発の過程で、インスリン抵抗性と内臓脂肪の蓄積が亢進したことから、WHHLMI ウサギは近年話題となっているメタボリックシンドロームのモデル動物にもなりうると期待し、現在開発を進めている。

WHHL ウサギ、WHHLMI ウサギを用いたトランスレーショナルリサーチ

WHHLMI ウサギの特性を図 5 に示す。WHHLMI ウサギでは、高コレステロール血症、低 HDL 血症、インスリン抵抗性や内臓脂肪蓄積を伴うメタボリックシンドロームを呈し、動脈硬化等の疾患を発症する。

1) 生体内コレステロール代謝機構の解明

上述したとり、ウサギの脂質代謝はヒトにきわめて類似している。ヒトでは血中のコレステロールのほとんどが LDL に含まれており、コレステロール代謝の中心臓器は肝臓であり、合成と異化で中心的役割を果たしている。1973 年 Goldstein JL と Brown MS¹⁸⁾は、正常な皮膚の線維芽細胞は培養液中の LDL (コレステロール)を取り込むが、家族性高コレステロール血症患者の線維芽

細胞は培養液中の LDL を取り込むことができないことを確認し、細胞への LDL の取り込みに LDL 受容体が重要な役割を果たしているとし、LDL 受容体パスウェイ仮説を提唱した。しかし、皮膚の線維芽細胞が血中のコレステロールレベルを制御しているとは考えられず、ヒトの生体内コレステロール代謝を解明するためには遺伝的に LDL 受容体が機能していない適切なモデル動物が必要であった。Watanabe は高脂血症を示す 1 匹の日本白色種ウサギを育種開発し、1977 年にその結果を学位論文としてまとめ、麻布獣医大学雑誌に報告していた¹⁹⁾。当時脂質低下剤の開発研究を行っていた三共株式会社の研究グループがその論文を読み、WHHL ウサギの特性解明に関する共同研究が始まった。その結果、WHHL ウサギの高コレステロール血症は LDL 受容体機能の著しい低下が原因していることが明らかとなった^{5,16)}。脂質代謝の研究分野では当時としては画期的な研究成果であった。1980 年に Watanabe が WHHL ウサギについての論文を発表¹²⁾するとすぐに、Goldstein から共同研究の申し入れがあり、当時 Goldstein の研究室に留学していた Toru Kita (現京都大学教授、日本動脈硬化学会理事長)が Watanabe から譲渡された WHHL ウサギを用いて、LDL をはじめとするリポタンパク代謝を解明した²⁰⁻²²⁾。Kita の後 Goldstein の研究室に留学した Tokuo Yamamoto (現東北大学教授)がウサギの LDL 受容体をクローニングし、WHHL ウサギの LDL 受容体では、LDL 結合ドメインで 12 塩基対の欠失があることを報告した²³⁾。これらの研究成果から、Goldstein は、WHHL ウサギが存在しなかったらヒトのコレステロール代謝の研究は 10 年は遅れたであろうと言ったと伝えられている。Goldstein と Brown のチームの研究成果に対して、1985 年にノーベル賞 (生理学・医学) が授与された。

2) 動脈硬化発生機序の解明

1980 年当時、動脈硬化の発生機序の仮説として、動脈壁への脂質の浸潤、動脈壁の炎症、動脈内膜の傷害に対する反応、などの仮説が提唱されていた。これらの仮説は、ヒトの剖検所見や正常ウサギに高脂肪負荷飼料を給与、あるいはウサギ等の内膜をカテーテルで傷害して作成したモデル動物の実験結果を根拠としていた。しかし、いずれのモデルもヒトとは大きく異なる条件で作成されており、決定的な説得力に欠けていた。通常飼料の給与で LDL が血中に蓄

積する WHHL ウサギでは、大動脈にヒトの動脈硬化にきわめて類似した病変が発生する（図 4）。動脈硬化は脂質代謝異常，高血圧，糖代謝異常，酸化ストレス，喫煙，社会的ストレス，家族歴，加齢，性別などが危険因子として考えられている。ヒトの病理所見や WHHL ウサギを用いた研究によって，動脈硬化の発生機序の解明が実施されてきた。動脈硬化は血流中の単球が動脈の内腔側を覆う内皮細胞に粘着し²⁴⁾，内皮下に侵入することによって発生する²⁵⁾。内皮下に侵入した単球はマクロファージとなって，変性リポタンパクを貪食し，泡沫化する²⁶⁾。泡沫化したマクロファージの間隙を縫って，中膜から平滑筋細胞が遊走し，コラーゲンを分泌してマクロファージ／泡沫細胞の層を覆うように位置する¹³⁾。泡沫細胞はやがて崩壊し，細胞外マトリクスに脂質のコアが形成される²⁷⁾。この単球の浸潤，マクロファージの泡沫化，平滑筋細胞の中膜からの遊走とコラーゲンの分泌が繰り返され，やがてコラーゲンと平滑筋細胞からなる線維性皮膜が形成される。動脈硬化病変は加齢とともに成長し，細胞成分が減少する²⁸⁾。動脈硬化病変は動脈硬化の危険因子に長期間曝されることにより，泡沫細胞の蓄積を伴う大きな脂質コアとそれを覆う菲薄化した線維性皮膜を特徴とする **rupture-prone** プラーク（図 6）¹²⁾に成長し，危険因子が減少すると **rupture** しにくい **fibromuscular plaque**²⁹⁻³¹⁾となる。これらの動脈硬化病変の進展，不安定化の過程において，内皮細胞における接着因子の発現と内膜に侵入した T-リンパ球，好中球，マクロファージや肥満細胞などの炎症細胞が分泌するサイトカイン，ケモカイン，プロテアーゼが不安定化を亢進する²⁷⁾。WHHL/WHHLMI ウサギで観察された動脈硬化の発生・進展過程はヒトの病態に類似している^{32,33)}。動脈硬化病変の破綻に関する研究を推進する上で，動物モデルに求められる動脈硬化に関する形態学的条件として脂質コアの形成，菲薄化した線維性皮膜，炎症細胞の浸潤が重要と考えられ，細胞生化学的条件として，動脈硬化病変に侵入した炎症性細胞からのサイトカインやプロテアーゼの分泌が重要であろう。また，冠動脈は，動脈硬化が発生し，狭窄率が 20%を超えると血管系が拡大する（外膜側に広がる）³⁴⁾。この反応は血流量を維持するため代償性拡張と考えられていた³⁵⁾が，マクロファージが中膜を分解して菲薄化することが原因の一つであり，中膜の消失を補うために中膜平滑筋細胞が増加することがもう一つの要因であった³⁶⁾。このような冠動脈の動脈硬化発生

に伴う形態学的な変化についても WHHLM I ウサギを用いた研究で明らかとなった。

3) 脂質低下剤の開発およびその動脈硬化抑制機序の解明

表 3 に WHHL あるいは WHHLM I ウサギを用いた薬剤等の脂質低下効果あるいは動脈硬化抑制効果に関する試験の結果を示す。高脂血症治療薬として世界で最も広く使用されているコレステロール合成阻害剤のスタチン (HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, 還元酵素阻害剤) は日本で最初に開発された (コンパクチン)。コンパクチン開発で有名な話として、ラットではコレステロール低下効果を示さなかったため、開発が中断されかけていたが、培養細胞を用いた実験やニワトリを用いた実験で強力なコレステロール低下効果を示したことで開発が継続された。1979 年当時、開発を進めるか断念するかを決断するために、当該会社は WHHL ウサギを用いた実験を計画した。WHHL ウサギにコンパクチンを投与したところ、劇的に血清コレステロールが低下効果し³⁷⁾、その後、スタチンの開発研究が大きく進展した。コンパクチンはイヌへの大量投与で副作用が生じたため開発が中断されたが、コンパクチンの誘導体であるプラバスタチンの開発が WHHL ウサギ、イヌ、サルなどを用いて行われた⁴⁾。脂質低下剤の開発の最終目標は動脈硬化や虚血性心疾患の発生予防である。WHHL ウサギは動脈硬化が発症することから、WHHL ウサギを用いてコレステロール低下剤による動脈硬化抑制試験が実施された (図 7)。当時、胆汁酸の吸着除去によるコレステロール低下剤 (陰イオン交換樹脂、コレステラミン) を用いた臨床試験で、コレステロールを低下させると心疾患の死亡率が低下するという結果が報告されていた³⁸⁾。コレステロール低下が心疾患の発生を予防するメカニズムについては臨床試験では調べることができない。WHHL ウサギにスタチンを投与した実験によって、投与群で冠動脈病変の狭窄率が低下する³⁹⁾ことが確認され、臨床試験でコレステロール低下療法による心疾患発症予防効果の一端を解明することができた。その後、免疫組織染色の手法が確立され、ウサギで使用する抗体も多数開発されるようになり、動脈硬化病変の構成成分を免疫組織染色し、画像解析装置を用いて陽性細胞あるいは陽性成分を二値化し、病変面積と構成成分の面積を測定する

ことによって病変の質を定量解析する方法を開発した⁴⁰⁾。その結果、病変構成成分の定量解析方法を用いてコレステロール低下剤が動脈硬化病変の構成成分にどのような影響を与えることがきるかを解析できるようになった。今ではこの方法は、動脈硬化のみならず広く世界中で使用されている。当時、スタチンを投与した患者の投与前と投与後の冠動脈病変の程度を冠動脈造影で調べた結果が複数報告されおり、その結果、スタチン投与による狭窄率の改善（病変の退縮）効果が大きくないにもかかわらず、心疾患の発症が抑制されたことが報告されていた⁴¹⁾。冠動脈に動脈硬化が自然発症する WHHL ウサギにスタチンを投与し、冠動脈病変の構成成分を定量解析した結果²⁹⁻³¹⁾、スタチンは冠動脈病変の進展を抑制するとともに、病変へのマクロファージ／泡沫細胞、細胞外脂質の蓄積を抑制し、平滑筋細胞の減少を抑制し、コラーゲン線維を増加することが確認された。この病変構成成分の変化は、動脈硬化病変が破綻しにくい安定な病変に変化したことを示唆している。近年のヒト心筋梗塞剖検心の病理解析の結果から、急性心筋梗塞や不安定狭心症などの急性冠症候群の発生に冠動脈病変の不安定化が重要であると考えられており¹²⁾、スタチンを投与した WHHL ウサギの実験結果は、スタチンがヒトの心疾患を抑制するメカニズムの一端を説明している。さらに、WHHL ウサギを用いた実験によって、動脈硬化の不安定化にマクロファージが分泌する matrix metalloproteinases (MMP, コラーゲン等線維を分解する酵素) が関与し、スタチンがその発現を抑制することも確認された⁴²⁾。スタチン以外にも、スクアレン合成阻害剤³⁰⁾、抗酸化剤、降圧剤などの脂質低下作用や動脈硬化抑制作用が WHHL/WHHLM I ウサギを用いて検討されている（表3）。

4) 動脈硬化病変の画像診断技術の開発などのトランスレーショナルリサーチ

急性冠症候群（急性心筋梗塞、不安定狭心症、心突然死、ACS）の発生を予防するためには、発症に強く関連する不安定な冠動脈病変を事前に検出して治療を始めることが重要になる。そのためには、不安定な冠動脈病変を検出する技術と方法の確立が必要となる。また、薬剤等による動脈硬化の治療効果の確認についても画像診断は極めて有効である。現在、WHHLM I ウサギを用いて、超音波エコー⁴³⁾、CT⁴⁴⁾、PET⁴⁴⁾、CT-PET⁴⁴⁾、MRI⁴⁵⁾などによる動脈硬化の

画像診断技術の開発、改良が行われている。Ogawa ら⁴⁶⁾は、WHHLMI ウサギに ^{18}F -fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG)を静注し CT-PET を用いて大動脈のマクロファージに富む不安定動脈硬化病変の検出方法を確立し、抗酸化剤の投与による動脈硬化抑制効果をこの方法で確認している。

さらに、高コレステロール血症の遺伝子治療法の開発として、正常 LDL 受容体を導入し、LDL 受容体の発現による高コレステロール血症の治療が WHHL ウサギを用いて実施されている。Kankkonen ら⁴⁷⁾は、レンチウイルスを用いて LDL 受容体遺伝子を WHHL ウサギに導入し、単回の導入で2年以上血清コレステロール値が低下することを確認している。

今後の研究の展開

ヒトでは、冠動脈の不安定病変（大きな脂質の塊とそれを覆う線維性皮膜の菲薄化および菲薄化部分へのマクロファージの浸潤）が破裂して閉塞性血栓が生じることによって、急性心筋梗塞をはじめとする急性冠症候群が発症すると考えられている¹²⁾。しかし、すべての不安定病変が破裂するわけではないことから、破裂するためには他の危険因子が重要であると考えられる。近年の研究⁴⁸⁾で、血流によるシェアーストレスが高い部分で不安定病変が破裂することがあると報告され（シェアーストレスの低い部分で動脈硬化は発生する）、不安定病変に物理的な力が加わることが病変の破裂に関係すると思われる。WHHLMI ウサギではこのような不安定な病変が冠動脈に発生しているが、動脈病変の破裂はごく少数例にしか認められていない。この WHHLMI ウサギとヒトとの違いについて説明できるデータは得られていないが、生活環境の違いが関係しているのかもしれない。例えば、喫煙、社会的ストレス、攻撃的性格、高脂肪食、食塩摂取過多などは、安定した快適な飼育環境で飼育されている WHHLMI ウサギには影響していないであろう。そこで、不安定冠動脈病変を有する WHHLMI ウサギの冠動脈に急激な物理的力を加え、冠動脈病変の破裂を誘発することを計画している。この方法で冠動脈病変の破裂を誘発できれば、ヒトの急性冠症候群発症メカニズムの一端を解明できると期待している。さらに、冠動脈病変の不安定化を進めるために、不安定化を促進すると考えられる遺伝子（MCP-1, MMP など）組み換えウサギと交配し、冠動脈病変の破裂と

の関係を調べることができる。冠動脈病変を安定して破裂させることができれば、冠動脈病変の破裂予防薬の開発も可能になると期待できる。

まとめ（モデル動物開発における留意点）

医学研究で動物を実験に使用する目的は、発症メカニズムや生理機構の解明とともに診断・治療方法の開発である。そのためには特定遺伝子や酵素・タンパク質の機能を研究すると同時に、複数の酵素が関与する代謝機構とその異常によって発生する疾患の全体像をとらえることが重要であることは周知の事実である。前者には遺伝子組み換え動物が適しており、後者には、ヒトの代謝機構や疾病の発生機序と類似している動物種あるいは疾患モデル動物を実験に使用することが重要である。一時期、ヒト型マウスという言葉が独り歩きしたが、複数の酵素が関与している代謝機構や代謝疾患に関する研究においては、表面的な表現型が類似しているだけでは、ヒトのモデルとはなりえないばかりか、間違った情報を与える原因にもなりかねないことに注意が必要である。脂質代謝や動脈硬化には複数の酵素が関与しており、マウスでは主要な複数の酵素やタンパクの働きがヒトと異なっているのに対し、ウサギはヒトに極めてよく類似している。脂質代謝、高脂血症、メタボリックシンドローム、動脈硬化、心筋梗塞およびこれらに関連した疾患の研究に **WHHLMI** ウサギがますます貢献できることを期待している。

参考文献

1. Goldstein JL, et al. N Engl J Med 1983; 309:288-296.
2. Agellon LB, et al. J Biol Chem 1991; 266 (17): 10796-10801.
3. Nakamuta M, et al. J Biol Chem 1995; 270:13042-56.
4. Tsujita Y, et al. Biochim Biophys Acta 1986; 877: 50-60.
5. Shimada Y, et al. Eur J Biochem 1981; 118: 557-564.
6. Shiomi M, et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23 (7): 1239-1244.
7. Caligiuri G, et al. PNAS 1999; 96: 6920-6924.
8. Ishibashi S, et al. JCI 1994; 93: 1885-1893.
9. Braun A, et al. Cir Res 2002; 90: 270-276.

10. Schwartz SM, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:705-713.
11. Falk E, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:969-972.
12. Naghavi M, et al. *Circulation* 2003;108:1664-1672.
13. Shiomi M, et al. *Curr Opin Lipidol* 2008 (in press)
14. Fan J, et al. *Lab Anim Technol Sci* 2005; 17: 91-96.
15. Watanabe Y. *Atherosclerosis* 1980; 36: 261-268.
16. Tanzawa K, et al. *FEBS Lett* 1980; 118: 81-84.
17. Shiomi M, et al. *Atherosclerosis* 1992; 96: 43-52.
18. Goldstein JL, et al. *Annu Rev Biochem* 1977; 46: 897-930.
19. 渡辺 嘉雄. *麻布獣医大誌* 1977; 2: 99-124.
20. Kita T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 2268-2272.
21. Kita T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 3623-3627.
22. Kita T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 5693-5697.
23. Yamamoto T, et al. *Science* 1986; 232: 1230-1237.
24. Cybulsky MI, et al. *Science* 1991; 251:788-791.
25. Rosenfeld ME, et al. *Arteriosclerosis* 1987; 7:9-23
26. Amanuma K, et al. *Virchows Arch A* 1986; 410:231-238.
27. Libby P. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
28. Shiomi M, et al. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:931-937.
29. Shiomi M, et al. *Arterioscler Theromb Vasc Biol* 1995; 15:1938-1944.
30. Shiomi M, et al. *Br J Pharmacol* 2008 (in press)..
31. Aikawa M, et al. *Circulation* 1998; 97:2433-2444.
32. Buja LM, et al. *Arteriosclerosis* 1983; 3: 87-101.
33. Shiomi M, et al. *J Atheroscler Thromb* 2004 Sep; 11 (4): 184-189.
34. Shiomi M, et al. *Coronary Artery Dis* 2004; 15: 419-426
35. Glagov S. *N Engl J Med* 1987; 316: 1371-1375.
36. Shiomi M, et al. *Atherosclerosis* 2008; 198:287-293.
37. Watanabe Y, et al. *Atherosclerosis* 1981; 38:27-31
38. Lipid Research Clinica Program. *J Am Med Assoc* 1984; 251: 351-364.
39. Watanabe Y , et al. *Biochim Biophys Acta* 1988; 960: 294-302.

40. Shiomi M, et al. Arterioscler Thromb 1994 ; 14 : 931-937.

41. van Boven AJ, et al. Circulation. 1996 Oct 1;94(7):1503-1505

42. Shiomi M, et al. Atherosclerosis 2005; 178(2): 287-294.

43. Steen H, et al. Invest Radiol. 2007 Sep;42(9):614-621.

44. Ogawa M, et al. J Nucl Med. 2004 Jul; 45 (7): 1245-1250

45. Priest AN, et al. Magn Reson Imaging. 2006 Dec;24(10):1287-93.

46. Ogawa M, et al. J Nucl Med. 2006 Nov;47(11):1845-1850.

47. Kankkonen HM, et al. Mol Ther. 2004 Apr; 9(4): 548-556

48. Fukumoto Y, et al. J Am Coll Cardiol 2008; 51:645-650.

表 1. 脂質代謝と動脈硬化における種差

	マウス・ラット	ヒト	WHHLMI
主要リポ蛋白	HDL, VLDL, chylomicron remnants	LDL	LDL
ApoB of VLDL	apoB-48 & apoB-100	apoB-100	apoB-100
ApoB 編集酵素	小腸・肝臓	小 腸	小 腸
CETP	none	Yes	Yes
肝性リパーゼ	細胞膜から遊離	細胞膜に結合	細胞膜に結合
食事由来脂質の影響	抵抗性	感受性	自然発症の高脂血症
動脈硬化	Lipid-rich/Collagen-poor	感受性 様々な病変	自然発症 様々な病変
炎症マーカー	Serum Amyloid P component SAP	CRP	CRP
スタチンの脂質低下効果	効果なし	Effective	Effective

表 2. 遺伝子組換えマウスと遺伝子組換えウサギの表現型の差異

	マウス	ウサギ
Lecitin:cholesterol acyltransferase	Pro-atherogenic	Anti-atherogenic
Hepatic TG lipase	Pro-atherogenic	Anti-atherogenic
apoE3	Anti-atherogenic	Pro-atherogenic
15-lipoxygenase	Pro-atherogenic	Anti-atherogenic
Apolipoprotein (a)	No Lp(a) formation	Lp(a) formation
lipoproteinlipase	No effects on Visceral fat accumulation	Effects on Visceral fat accumulation
CRP	No function	Function

(after modified by Koike T & Fan J, Laboratory Animal Technology and Science 2005; 17: 91-96)

表 3. WHHLウサギを用いた脂質低下剤と動脈硬化治療薬の試験

	高脂血症	大動脈病変	冠動脈病変
スタチン	○	×, ○	○
胆汁酸吸着樹脂	○	○	n.d.
スタチン＋胆汁酸吸着樹脂	○	○	○
MTP 阻害薬	○	n.d.	n.d.
ACAT 阻害薬	×, ○	×, ○	×, ○
Probucol	○	○	n.d.
M-CSF & GM-CSF	○	○	n.d.
ApoE	○	○	n.d.
フィブラート	×	n.d.	n.d.
魚油	×, ○	×, ○	n.d.
Thiazolidinedione	×	△	△
Ca ²⁺ 拮抗剤	×	×	×
β-ブロッカー	×	×	×
ACE 阻害薬	×	○	n.d.
A-II 受容体拮抗薬	×	○	n.d.
遺伝子治療	○	n.d.	n.d.

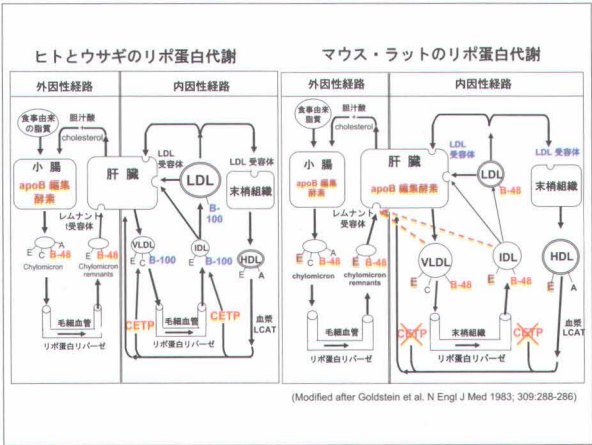


図 1. ヒト, ウサギ, マウス・ラットのリポタンパク代謝

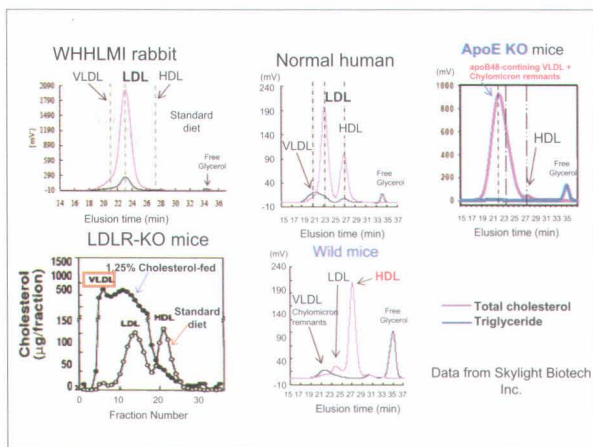


図 2. HPLCによるリポタンパクの分画

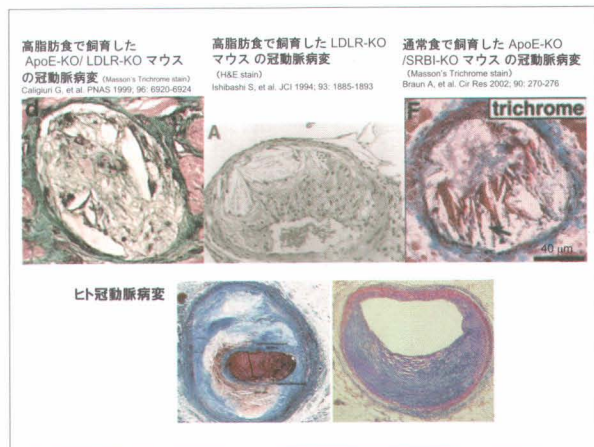


図 3. ヒトとマウスの動脈硬化

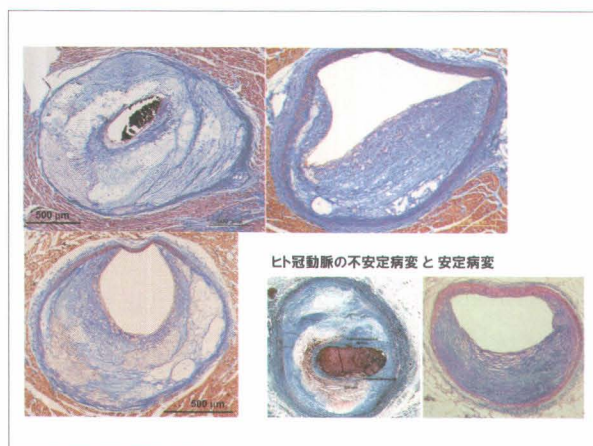


図 4. WHHLMIウサギの動脈硬化

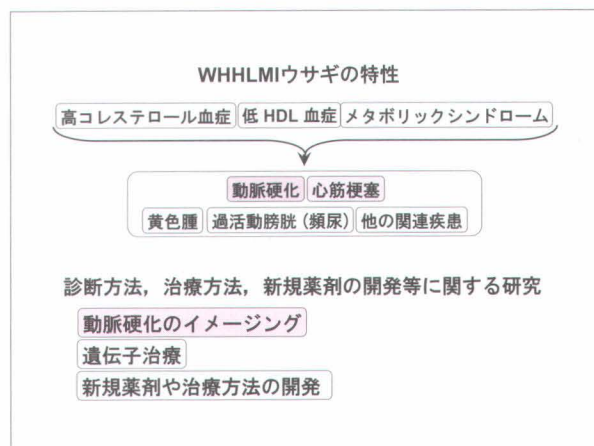


図 5. WHHLMIウサギの特性と利用できる研究分野

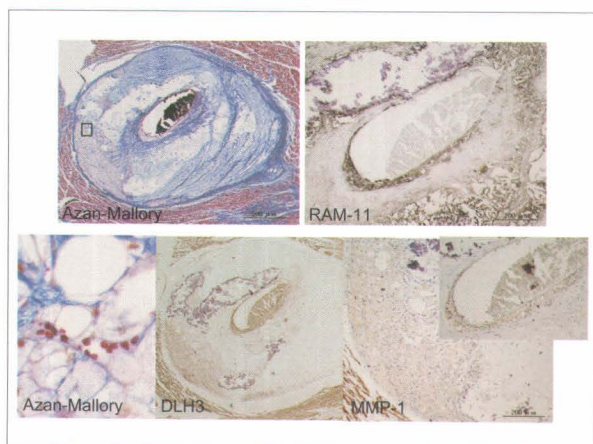


図 6. WHHLMIウサギの不安定動脈硬化病変

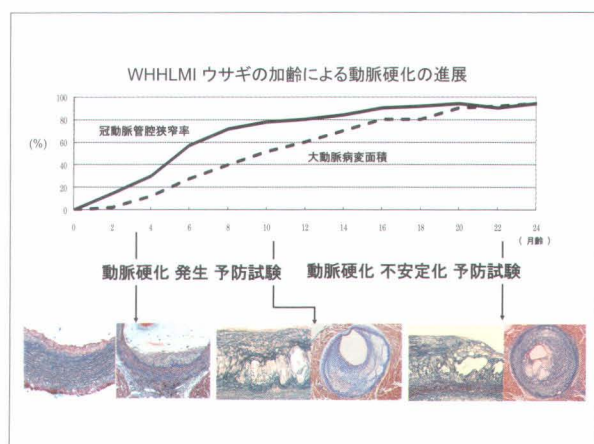


図 7. WHHLMIウサギを用いた動脈硬化抑制試験のデザイン

Transgenic Rabbits for Translational Research

山梨大学大学院医学工学総合研究部(医学部)・分子病理学講座

範 江林、小池智也

ポストゲノム時代を迎えた現在、動脈硬化や糖尿病のような多因子疾患に関連する遺伝子が同定されつつあるが、最終的には個々の遺伝子の体内での生理機能並びに病理学的意義が解明されなければならないことは言うまでもない。そのために、細胞レベルでの研究だけではなく、より人間の病態に近い適切な遺伝子改変実験動物モデルの使用が、病因関連遺伝子の解析や治療法の開発には不可欠である。動物実験で様々な研究手法を用いて、どのような方向性で、どういった研究を進めていくかは研究者にとっても肝心なことであり、国民の税金で賄われる研究費で行う研究の成果は、単なる論文発表だけにとどまらず、より社会へ還元できるように考えなければならない。つまりそれは、現在よく提唱されているトランスレーショナルリサーチ(TR)、あるいは From bench to bed 研究という概念である。米国では約10年前から、TR的研究の実施が重視され始めており、現在では、NIH科学研究費の審査から impact の高い雑誌の論文査読まで、研究成果の意義やTR性の有無が問われるようになってきた。

TRとは何か？

どんな研究がTRに当てはまるのか、あるいはTRはどのように定義されるかについては、いまだ、確立された概念がない。一般的に、研究成果が直接に臨床診断・治療・予防につながる、「臨床への橋渡し研究」とのような表現がよく目にされるようになってきた。しかし、TRは必ずしも患者に直接関わる研究に限らず、図1に示すごとく、研究の目的や内容、手法によって、基礎を重視するTR-Iと臨床を重視するTR-IIに分けられる。つまり、病態分子機序を解明する基礎TRと臨床応用に直結する臨床応用TRが含まれる。

Tg ウサギとTR

我々は世界に先駆けて、動脈硬化の発生機序の解明及び治療法の開発に向けて、ヒト遺伝子の導入による様々なトランスジェニック(Tg)ウサギ病態モデルの開発と応用への試みを行ってきた。マウスよりもウサギを利用する主な理由は、①ウサギの脂質代謝の特徴がヒト(LDL に富む)に近い②動脈硬化が発生しやすい③動脈硬化病変(早期病変から複合病変まで)がヒトの病変に類似する④神戸大学で開発された家族性高コレステロール血症のモデル WHHL ウサギは、高脂血症から動脈硬化、そして心筋梗塞までを再現できる、という点が挙げられる。しかし、めざましい勢いで普及している遺伝子改変マウスに比べ、遺伝子改変ウサギに関する研究は少なく、ウサギに対する認識はまだ不十分である。多くの研究者にとってマウスは使いやすい実験動物で、

研究費の負担が軽く、論文の発表も早い、という根強い考え(“The smaller, the better”)があり、従って、サイズの大きなウサギは、単なる *Giant mouse* に過ぎないと誤解されている。ヒトに類似しているウサギの脂質代謝の特徴と心血管生理機能から考えると、Tgウサギモデルは、特にTRにおいて重要な疾患モデルであることは明らかである。

動脈硬化の研究分野においては、TRに直接関わる研究テーマは数多くあるが、その中には、(1)動脈硬化の危険因子の同定、(2)動脈硬化の診断マーカーの確立、(3)治療の標的分子の発見が最も重要なテーマと考えられる。我々は、現在までに動脈硬化の主要危険因子である高脂血症、糖尿病、メタボリックシンドロームに関連する遺伝子をターゲットとし、基礎研究から臨床応用研究まで、さまざまな手法を用いて研究を進めてきた。その中で、動脈硬化の独立危険因子である Lp(a)を始め¹、食事後高脂血症に関する酵素であるリポ蛋白リパーゼや^{2,3}、糖尿病やインスリン抵抗性に関連するアポ蛋白 AII、肥満やメタボリックシンドロームの候補遺伝子である細胞内グルコシルコリドを活性化する変換酵素(HSD1)、糖尿病腎症や網膜症に関係する血管増殖因子^{4,5}、冠状動脈プラークの破裂や大動脈瘤の形成に関わるマクロファージエラスターゼ(MMP-12)^{6,7}、糖代謝や脂質代謝を制御する核内受容体である PPAR- γ などの遺伝子改変ウサギモデルの開発に成功し、動脈硬化の発生及び進展におけるそれぞれの役割の解明を行ってきた。さらに我々は動脈硬化の新規危険因子として注目を浴びている C 反応性蛋白(CRP)の生理機能及び心筋梗塞、脳梗塞などとの関連性を解析できるツールとして、新たな CRP ウサギモデルの開発を行っており、世界から注目されている⁸。これらのウサギモデルを用いたTR的研究実現の実例として、高脂血症ウサギモデルを用いて Schering AG 社と共同で推進している、MRI による動脈硬化の診断造影剤の開発がある。

TRの時代を迎え、診断・治療法の開発への貢献が益々希求されている。既存のウサギ病態モデルの有効利用や新たな遺伝子改変ウサギの開発は、動脈硬化を頂点とする生活習慣病の研究に大きく貢献するものと期待される。

参考文献

1. Sun H, Unoki H, Wang X, Liang J, Ichikawa T, Arai Y, Shiomi M, Marcovina S, Watanabe T, Fan J: Lipoprotein(a) enhances advanced atherosclerosis and vascular calcification in WHHL transgenic rabbits expressing human apolipoprotein(a), *J Biol Chem* 2002, 277:47486-47492
2. Koike T, Liang J, Wang X, Ichikawa T, Shiomi M, Liu G, Sun H, Kitajima S, Morimoto M, Watanabe T, Yamada N, Fan J: Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits improves hyperlipidemia and obesity, *J Biol Chem* 2004, 279:7521-7529
3. Fan J, Unoki H, Kojima N, Sun H, Shimoyamada H, Deng H, Okazaki M, Shikama H,

Yamada N, Watanabe T: Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic rabbits inhibits diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis, *J Biol Chem* 2001, 276:40071-40079.

4. Liu E, Morimoto M, Kitajima S, Koike T, Yu Y, Shiiki H, Nagata M, Watanabe T, Fan J: Increased expression of vascular endothelial growth factor in kidney leads to progressive impairment of glomerular functions, *J Am Soc Nephrol* 2007, 18:2094-2104

5. Kitajima S, Liu E, Morimoto M, Koike T, Yu Y, Watanabe T, Imagawa S, Fan J: Transgenic rabbits with increased VEGF expression develop hemangiomas in the liver: a new model for Kasabach-Merritt syndrome, *Lab Invest* 2005, 85:1517-1527

6. Liang J, Liu E, Yu Y, Kitajima S, Koike T, Jin Y, Morimoto M, Hatakeyama K, Asada Y, Watanabe T, Sasaguri Y, Watanabe S, Fan J: Macrophage metalloelastase accelerates the progression of atherosclerosis in transgenic rabbits, *Circulation* 2006, 113:1993-2001

7. Fan J, Wang X, Wu L, Matsumoto S, Liang J, Koike T, Ichikawa T, Sun H, Shikama H, Sasaguri Y, Watanabe T: Macrophage-specific overexpression of human matrix metalloproteinase-12 in transgenic rabbits, *Transgenic Res* 2004, 13:261-269

8. Sun H, Koike T, Ichikawa T, Hatakeyama K, Shiomi M, Zhang B, Kitajima S, Morimoto M, Watanabe T, Asada Y, Chen YE, Fan J: C-reactive protein in atherosclerotic lesions: its origin and pathophysiological significance, *Am J Pathol* 2005, 167:1139-1148

☒ 1

Translational Research

TRANSLATION I

Mechanistic research
Basic discovery



Potential therapy
Clinical research

TRANSLATION II

Clinical research
Proven therapy



Health services/
Community research
Integrated therapy

講演記録

凍結精子による遺伝子組換えウサギの系統保存

北嶋修司，森本正敏*

佐賀大学総合分析実験センター生物資源開発部門

*現所属：熊本保健科学大学リハビリテーション学科

1. はじめに

近年，生殖工学技術の発展により，貴重な実験動物の系統維持・保存手段として凍結精子や凍結胚による保存が盛んに行われている。凍結精子や凍結胚による保存の利点は，個体による場合と比べ少ないコストと手間で長期間安定的に保存が可能となることである。特に，マウス・ラットでは，多くの研究機関において精子や胚の凍結保存手技が確立されており，その技術が広く利用されている。いっぽう，これまでに我々の施設では，脂質代謝系がヒトに近いというウサギの生理学的特徴に着目し，山梨大学の範博士の研究グループと共同でヒト疾患モデルとしてのトランスジェニック（Tg）ウサギの開発・維持を進めてきた。現在までに8種類のヒト遺伝子を用いて15系統のTgウサギを作出，維持している。しかし，ウサギは，マウスにくらべ身体が大きいことから個体での系統維持には広い飼育スペースが必要であり，その確保や飼育管理作業の手間などが大きな問題点となる。したがって，凍結精子や凍結胚による系統維持・保存は，これらの問題を解決する方法としてウサギにおいても非常に利用価値が高いと考えられる。そのため，我々の施設ではTgウサギの系統維持・保存として，凍結精子による系統保存を進めている。本講演では，当施設におけるウサギ精子の凍結保存の実際ならびにその成績等について紹介したい。

2. ウサギ精子の凍結保存について

これまでに，ウサギの精子や胚の凍結保存法については多くの報告があり，技術的には精子あるいは胚のどちらでも可能であると考えられる。しかし，実施の容易さ，費用対効果等を考えると凍結精子による保存の方が凍結胚による保存に比べ有利な点が多い。特に，人工腔を用いて何度も繰り返し射出精液の採取が可能である点，新鮮精子あるいは凍結融解精子の腔内注入による人工授精で容易に産仔が得られるといった点はウサギ

における大きな利点であると考えられる。また、Tg ウサギの系統維持・保存に限って考えた場合、少なくとも導入した遺伝子が子孫に伝達されればよいことから、Tg ウサギ由来の精子を野生型の雌ウサギに人工授精することで十分に目的は達成できると考えられる。これらの理由から我々の施設では凍結胚よりも凍結精子による保存を中心に実施している。

3. ウサギ精子の凍結保存液

これまで、ウサギ精子の凍害保護剤として、グリセロール[7]、エチレングリコール[4]、ジメチルスルホキシド (DMSO) [8] およびアセトアミド[1,3]等が検討されており、いずれも凍結融解後に受精能を有する運動精子が得られることが報告されている。近年、Kashiwazaki ら[5]は、日本白色種 (JW) ウサギにおける精子の凍害保護剤として、それぞれ 1.0 M のグリセロール、ラクトアミド、アセトアミドおよび DMSO を用いて比較検討を行った結果、JW ウサギにおける精子の凍害保護剤としては、ラクトアミドとアセトアミドが効果的であったと報告している。また、グリセロールは、ウシ等の家畜においては最も一般的な凍害保護剤であるが、ウサギでは凍結融解後の精子を用いた人工授精の成績は低く、効果的な凍害保護剤ではないとの報告がある[2]。我々の施設でも、グリセロール、アセトアミドおよび DMSO を用いた予備検討で、アセトアミドが融解後の精子運動率、その後の人工授精で一番安定してよい成績が得られたことから (データ未発表)、Chen ら[1]や Dalimata ら[3]の組成を参考に卵黄アセトアミド溶液を用いてウサギ精子の凍結を実施している。

4. 卵黄アセトアミド溶液を用いたウサギ精子凍結保存の実際

次に、我々の施設における卵黄アセトアミド溶液を用いたウサギ精子の凍結手順を以下に紹介したい。

1) 精液の採取と卵黄アセトアミド溶液による希釈

まず、雄ウサギから人工膣を用いて精液を採取し、精液量、運動率を測定する。この時、運動率が 80%以上のものを以後の凍結操作に用いるようにしている。次いで、精液を卵黄アセトアミド溶液[1,3]で 6 倍に希釈する。

2) 精子の冷却

精子を卵黄アセトアミド溶液で希釈した後、室温から 5℃まで-0.2℃/min の冷却速度で

冷却する。冷却後、精子を 0.5ml のストローにパッキングし、さらに冷蔵庫内（5℃）で 30 分間維持する。

3) 精子の凍結

精子の凍結は、ストローを液体窒素液面より 4～5cm 上の蒸気中で 15 分間維持することにより行い、その後、ストローを液体窒素中に投入して凍結を完了する。現在では、より簡便な方法として、-80℃のフリーザー内に 30 分間維持して凍結を行い、その後液体窒素中に保管している。

4) 凍結精子の融解

凍結終了後、ストローを 1 本融解して融解後の運動精子率を確認する。液体窒素から取り出したストローを 37℃の水中に 30 秒間浸漬することで融解を行う。融解後の運動精子率が 30%以上のものを保存している。

5. 凍結精子を用いた人工授精成績

液体窒素中に凍結保存した精子は、融解後、そのまますぐに人工授精に使用することができる。融解後の精子をガラスピペットを用いて雌ウサギの膈内に注入後、50U のヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）を静脈内注射して排卵を誘起させる。これまでに、前述の凍結手順によって凍結した精子を雌 1 匹当たり凍結融解後の運動精子数で $20\sim 40\times 10^6$ 個（平均 $30.3\pm 19.0\times 10^6$ 個）を用いて人工授精した場合（n=83）、妊娠率 69.9%、平均産仔数 4.6 ± 2.9 匹という成績を得ている。

6. 凍結精子による輸送

最後に凍結精子によるウサギの輸送についても触れておきたい。凍結した精子や胚は系統維持・保存だけでなく、輸送手段としても非常に有用であると考えられる。生体での輸送では、輸送中の動物へのストレス、逃亡や死亡といった事故が懸念されるが、凍結精子による輸送は、これらの防止、さらには輸送コストの削減にもつながる。実際、我々の施設では、2005 年にドイツ Johannes-Gutenberg 大学から補体成分 C6 欠損ウサギを導入するにあたり、ウサギ生体の輸送ではなく凍結精子による輸送を行った。輸送のための精子凍結は、先に述べた我々の施設で実施している凍結手順にしたがい、先方の機関で実施してもらった。凍結後のウサギ精子はドライシッパー（CX-100, Taylor-Wharton Cryogenics, USA）を用いて輸送した。輸送後の凍結精子を融解し、5 匹の JW ウサギに人

工授精を行った結果、4匹が妊娠し、全部で11匹の仔ウサギを得ることができた[6]。現在では、日本で生まれたこれらの子孫ウサギを用いて補体成分 C6 欠損ウサギコロニーの再構築に成功している。

7. 結語

以上、我々の施設におけるウサギの精子凍結保存の実際とその成績について述べた。今後は、ヒト疾患モデルとして有用なウサギモデルを生物資源として維持・保存するだけでなく、さらには供給に向けたウサギ精子バンク等の整備も重要な課題となると考えられる。ウサギは、脂質代謝系がヒトに近いことから、脂質代謝異常、動脈硬化、メタボリックシンドロームなどのよいモデル動物なることが期待される。今後、益々の実験動物としてのウサギの利用と関連技術の発展が望まれる。

参考文献

- [1] Chen, Y., Li, J., Simkin, M.E., Yang, X. and Foote, R.H. (1989). Fertility of fresh and frozen rabbit semen inseminated at different times is indicative of male differences in capacitation time. *Biol Reprod*, **41**, 848-853.
- [2] Curry, M.R. (2000). Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Rev Reprod*, **5**, 46-52.
- [3] Dalimata, A.M. and Graham, J.K. (1997). Cryopreservation of rabbit spermatozoa using acetamide in combination with trehalose and methyl cellulose. *Theriogenology*, **49**, 831-841.
- [4] Fox, R.R. and Burdick, J.F. (1963). Preservation of Rabbit Spermatozoa: Ethylene Glycol Vs Glycerol for Frozen Semen. *Proc Soc Exp Biol Med*, **113**, 853-856.
- [5] Kashiwazaki, N., Okuda, Y., Seita, Y., Hisamatsu, S., Sonoki, S., Shino, M., Masaoka, T. and Inomata, T. (2006). Comparison of glycerol, lactamide, acetamide and dimethylsulfoxide as cryoprotectants of Japanese white rabbit spermatozoa. *J Reprod Develop*, **52**, 511-516.
- [6] Liu, E., Kitajima, S., Wiese, E., Reifenberg, K., Morimoto, M., Watanabe, T. and Fan, J. (2007). Re-establishment of complement C6-deficient rabbit colony by cryopreserved sperm

transported from abroad. *Exp Anim*, **56**, 167-171.

- [7] Stranzinger, G.F., Maurer, R.R. and Paufler, S.K. (1971). Fertility of frozen rabbit semen. *J Reprod Fertil*, **24**, 111-113.
- [8] Vicente, J.S. and Viudes-de-Castro, M.P. (1996). A sucrose-DMSO extender for freezing rabbit semen. *Reprod Nutr Dev*, **36**, 485-492.

実験用ウサギのSPF化と胚保存

- SPFウサギ作出の歴史、病態モデルウサギ維持生産のために -

桑原吉史*、北田健作、河村奈緒、竹入修二、平澤和男

北山ラベス株式会社 (*現オリエンタル酵母工業(株)kuwabara@oyc.co.jp)

わが国の実験用ウサギは、家畜改良センター年表によれば 1954 年に武田薬品が、1964 年に日生研が、また弊社北山ラベスが 1968 年に系統造成を開始したことに始まっている。

1970 年頃の実験用ウサギはその大半が農家の副業生産由来であり、それを実験動物業者が集荷し固型飼料や給水瓶での飼育に馴化させ販売されていたが、データの信頼性の問題や試験途中での死亡事故などが数多く見られた。

その様な状況下、我々は 1972 年に帝王切開・人工哺育によって SPF ウサギの作出を開始し、何度か失敗を繰り返しながらも作出に成功した。

その後 SPF 化した種ウサギを用いてクローズドコロニーを形成し、1975 年に実験用 SPF ウサギとして生産販売を開始し現在に至っている。

ウサギ関連年表 [後)家畜改良センター資料提供] http://www.ahc.go.jp/magasa/index.html

1954	武田薬品ウサギの系統造成開始
1964	日生研ウサギの系統造成開始(NW-NIBS)
1968	北山ラベスウサギの系統造成開始(KbLW)
1970	日生研NW-NIBSクローズドコロニー確立
1972	北山ラベスウサギをSPF化
1973	神戸大学で遺伝性高脂血症ウサギ発見
1988	長野牧場ウサギをSPF化



表 第2回目SPFウサギ作出成績

離乳までの死別分類

項目	群	1	2	3	4	5	合計
人工哺育数		25	24	17	41	38	145
死別原因	未熟仔	0	10	4	0	4	24
	消化不良	0	1	3	0	0	4
	アレルギー	2	3	2	6	5	18
	離乳前下痢	1	0	0	0	3	4
	その他	2	0	0	5	0	7
死亡数計		5	14	9	15	12	55
生存数計		20	10	8	26	26	90
生存率		80%	42%	47%	63%	68%	62%

※未熟仔を除いた生存率 74%

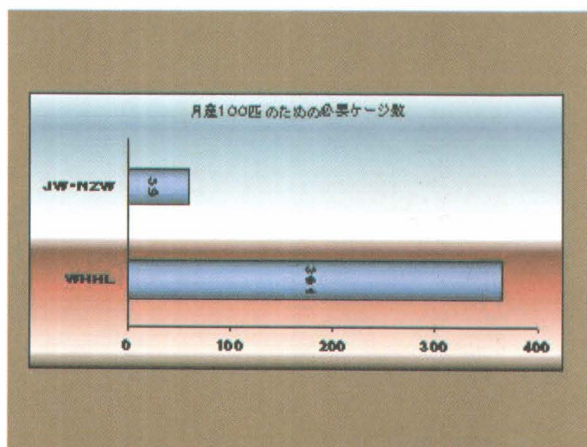
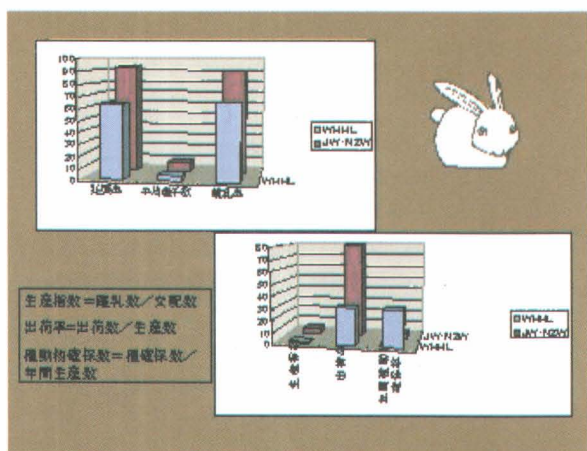


SPF ウサギ生産開始当時 1976 年の年間総出荷数は 2,400 匹程度であったが、現在は年間約 60,000 匹の SPF ウサギを研究者の皆様に使っていただけるようになった。



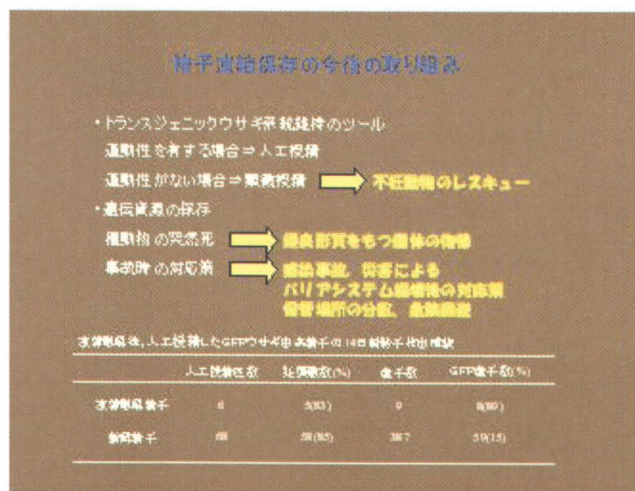
心血管病の主因と言われている脂質代謝異常と動脈硬化の研究においては、ヒトの病態とウサギはきわめて類似していると言われている。

私共では 1989 年に神戸大学医学部渡辺教授より W H H L ウサギの分与をしていただき、同時に S P F 化を行なって、現在も研究者の皆様にも有償分与を行っている。



貴重な実験動物である W H H L ウサギも、生産供給という面では病態モデルであるためか繁殖成績（妊娠率、産子数、哺育率など）は通常の J W などと比べ 1 / 5 程度であり、種（タネ）としての寿命も通常のウサギは 1 年半の間に 8 ~ 9 回の出産が出来るのに対し、W H H L では 2 ~ 3 産と少なく且つ母体の状態を考え交配間隔も長く取っている等の理由で、通常の 6 倍程度の飼育繁殖面積が必要となっているのが現状である。

このような状況を捉え、ウサギ生産業者として研究に有用なウサギを維持生産していかなければならないが、少しでも効率良く繁殖管理が



出来る様、精子や胚の凍結保存など生殖工学技術の導入は必須であると考え検討を進めている。

また最近では積極的に目的遺伝子を導入したTGウサギの作出も始められている。

この様に必要な動物を、必要な時期に希望数だけ供給でき、且つ維持には負担を最小限にすることが我々に与えら

れた課題であると考え、まだ緒についたばかりではあるが、我々なりの検討の現状をS P F 化の歴史と共に今回紹介させていただいた。

ウサギが実験動物として人類の健康や幸福を推進するために多くの研究者に使われ、脂質代謝や動脈硬化の研究等が推進されることを祈ると共に、目的にあった実験用ウサギの供給に我々生産業者も鋭意努力していきたいと考えている。

<第96回研究会（平成19年12月14日）>

<特別講演>

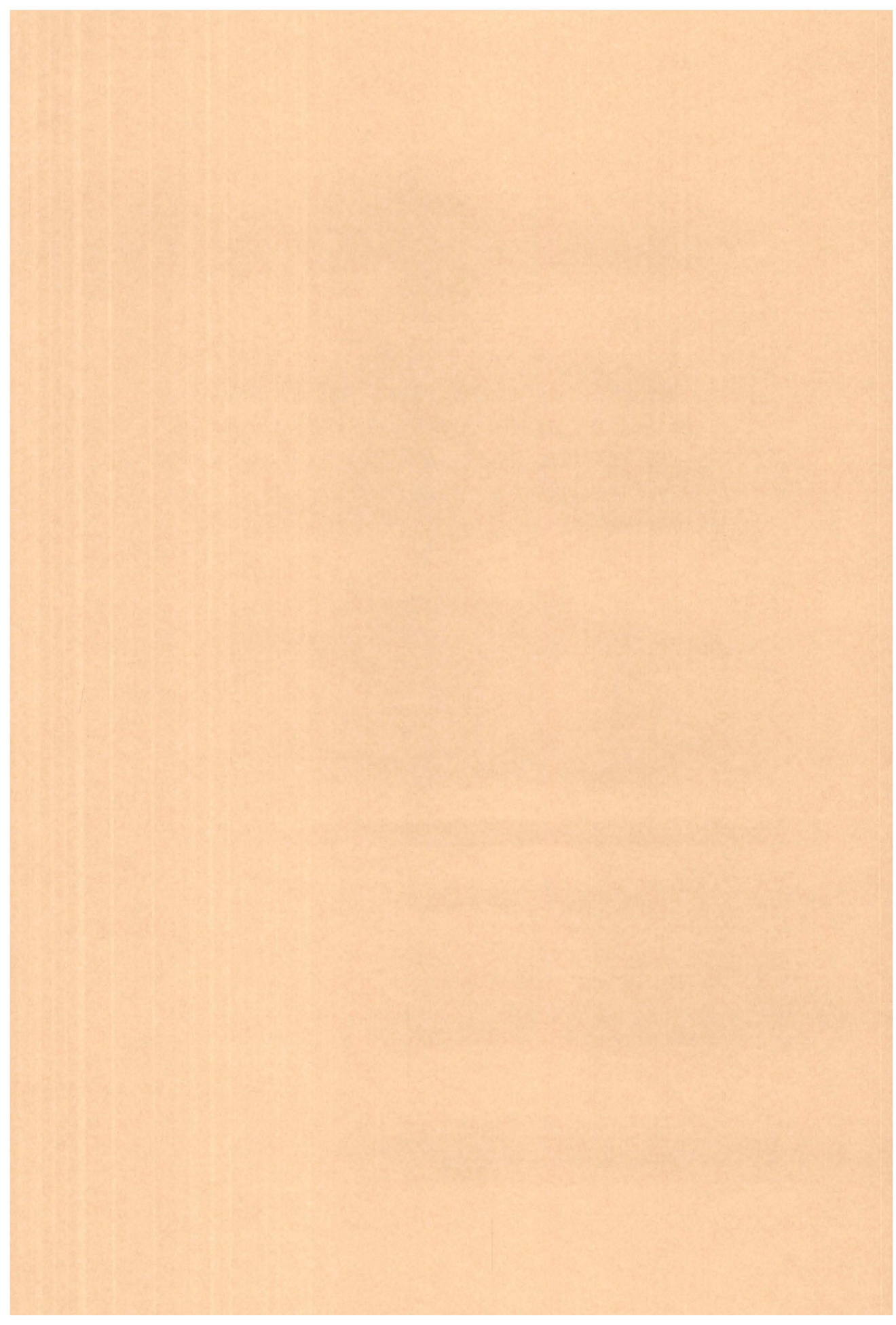
1. 精神疾患モデル動物に必要な条件：行動をどう評価するか？

鍋島 俊隆（名城大学大学院薬学研究科薬品作用学研究室）

2. 疾患モデル動物の開発とその応用：特にてんかんモデル動物を中心に

笹 征史（広島大学名誉教授）

<会員の発表 16題>



精神疾患モデル動物に必要な条件： 行動をどう評価するか？

名城大学大学院薬学研究科薬品作用学研究室

鍋島 俊隆

はじめに：あるくすりが脳に作用するかどうかを調べるのには、脳がコントロールしている行動を指標にすればよい。くすりによって行動量が増えて歩き回ったり、けいれんが起きたり、逆におとなしくなったり、眠ってしまうことも観察される。この様にしてあるくすりが脳のはたらきを興奮させるのか、抑えるのか調べる事が出来る（スクリーニング：多くのくすりの候補物質からある特定の作用を持った物質を選び出すこと）。その場合にある脳の疾患に効くかどうかを調べるためには、疾患モデル動物の異常行動が薬物で治まるかどうかを調べればよい。例えば統合失調症のモデル動物として、覚醒剤で引き起こした行動量の過感受性（同じ用量の覚醒剤を繰り返し与えると、日を重ねる毎に、くすりの作用が強くなり、行動量が1日目よりも2日目、2日目よりも5日目の方が多くなる）を指標とすれば、統合失調症でみられる陽性症状（幻覚、妄想など）を抑えるくすりが開発できる。動物の運動量の増加とヒトにみられる幻覚とどのような関連があるのかよく分からないが、二つの異常行動には共通の神経系、ドパミン作動性神経系が関係しており、この神経のはたらきを抑えるくすりが有効である。このように動物の行動変化を指標として脳のはたらきやくすりの作用を研究する学問を「行動薬理学」とか「神経精神薬理学」と言う。

上に述べたように、動物とヒトでは脳の機能に格段の違いがある。ヒトで診られる異常行動が、動物のどのような行動と一致しているのか良く解らない。しかし作用の解らないくすりの候補物質をヒトに直接投与するわけにはいかない。そこで精神疾患のモデル動物としてどういう条件が整ったら、モデル動物として、くすりの開発や疾患の発症機序の研究に役に立つのか紹介したい。又行動観察をする場合に注意しないといけないことを考えたい。

精神疾患モデル動物に必要な条件：図1に示したように急性または慢性的に薬物を投与すること、脳の特定の部位を破壊することによって薬理的または病理的に病態動物モデルが作成されている。近年は遺伝子変異によっても病態動物モデルが作成されている。動物モデルの要件として図2に示した3点がある。

脳の働きは行動変化として現れるので、動物モデルとしての先ず第一の要件は行動上の類似性があることである。動物の行動とそのモデルとなった臨床症状ができるだけ似ていることである。行動評価の問題点は図3に示したように、行動は運動機能、感覚機能、情動性、認知機能など全てが相互に関連し発現され、生体外の環境変化によって影響される。また運動や感覚機能の変化が情動性や認知機能試験に影響を与える。行動は時々刻々変化し、客観的に評価するのが難しい。これらのノイズをいかに除き客観的指標を設けて解析

するかが肝要である。最初から機器を使って行動評価をすると大きな落とし穴に落ち込む。例えば赤外線のパームを横切ることで行動量を評価する機器を使う場合には、行動量として計測された数値が、歩行、走行、立ち上がり、ジャンプ、痙攣など、どの行動変化を反映しているか分からない。まず第一に自分の目で行動観察してから機器を使うべきである。図3に Irwin の多次元観察法で観察できるパラメーターを示した。行動観察の基本はこの表に従って種々の行動変化を自分の目で観察することである。

第2の要件は薬物反応の特異性、力価の類似性である。即ち動物モデルでの薬効が臨床での薬効と類似しているかどうかである。例えば統合失調症の陽性症状モデルとしての行動過多が臨床での薬の効力(力価)と同じように抑制されるかどうか、臨床での陰性症状と同様に、陰性症状動物モデルでの社会性行動の障害は第一世代の抗精神病薬では緩解できないが、第二世代の抗精神病薬では緩解できるなどの特異性があるかどうかである。

第3の要件は行動障害の発現機序が臨床でのデータと一致しているかどうかである。統合失調症であれば、動物モデルでも前頭前野でのドパミン作動性神経機能やグルタミン酸作動性神経機能の低下が認められるかどうか、黒質-線条体系でのドパミン作動性神経機能の亢進が認められるかどうか？これらの神経機能変化が上記の抗精神病薬で改善されるかどうかなどである。

以上3つの要件を満たせば動物モデルとしては有用なものとなり、新薬のスクリーニングや病態の発症機序の研究にも有用である。

Noda, Y., Yamada, K., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencyclidine: a new model of schizophrenia.

Br. J. Pharmacol., 116, 2531-2537 (1995)

Kitaichi, K., Yamada, K., Yoneda, Y., Ogita, K., Hasegawa, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Risperidone prevents the development of supersensitivity, but not tolerance, to phencyclidine in rats treated with subacute phencyclidine.

Life Sci., 56, 531-543 (1995)

Noda, Y., Yamada, K., Komori, Y., Sugihara, H., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Role of nitric oxide in the development of tolerance and sensitization to behavioural effects of phencyclidine in mice.

Br. J. Pharmacol., 117, 1579-1585 (1996)

Kitaichi, K., Noda, Y., Hasegawa, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Acute phencyclidine induces aversion, but repeated phencyclidine induces preference in the place conditioning test in rats.

Eur. J. Pharmacol., 318, 7-9 (1996)

Kitaichi, K., Noda, Y., Hasegawa, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: In vivo functional interaction between phencyclidine binding sites and σ receptors to produce head-weaving behavior in rats.

Eur. J. Pharmacol., 318, 205-211 (1996)

Noda, Y., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Effects of antidepressants on phencyclidine-induced enhancement of immobility in a forced swimming test in mice.

Eur. J. Pharmacol., 324, 135-140 (1997)

Noda, Y., Miyamoto, Y., Mamiya, T., Kamei, H., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of dopaminergic system in phencyclidine-induced place preference in mice pretreated with phencyclidine repeatedly.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 286, 44-51 (1998)

Noda, Y., Kamei, H., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Repeated phencyclidine treatment induces negative symptom-like behavior in forced swimming test in mice: imbalance of prefrontal serotonergic and dopaminergic functions.

Neuropsychopharmacology, 23, 375-387 (2000)

Kato, K., Shishido, T., Ono, M., Shishido, K., Kobayashi, M., Suzuki, H., Nabeshima, T., Furukawa, H. and Niwa, S.: Effects of phencyclidine on behavior and extracellular levels of dopamine and its metabolites in neonatal ventral hippocampal damaged rats.

Psychopharmacology, 150, 163-169 (2000)

Mori, A., Noda, Y., Mamiya, T., Miyamoto, Y., Nakajima, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine-induced discriminative stimulus is mediated via phencyclidine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex, not via σ_1 receptors.

Behav. Brain Res., 119, 33-40 (2001)

Noda, A., Noda, Y., Kamei, H., Ichihara, K., Mamiya, T., Nagai, T., Sugiura, S., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Phencyclidine impairs latent learning in mice: interaction between glutamatergic systems and σ_1 receptors.

Neuropsychopharmacology, 24, 451-460 (2001)

Qiao, H., Noda, Y., Kamei, H., Nagai, T., Furukawa, H., Miura, H., Kayukawa, Y., Ohta, T. and Nabeshima, T.: Clozapine, but not haloperidol, reverses social behavior deficit in mice during withdrawal from chronic phencyclidine treatment.

Neuroreport, 12, 11-15 (2001)

Mori, A., Noda, Y., Nagai, T., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of dopaminergic system in the nucleus accumbens in the discriminative stimulus effects of phencyclidine.

Neuropharmacology, 42, 764-771 (2002)

Nagai, T., Noda, Y., Une, T., Furukawa, K., Furukawa, H., Kan, Q.M. and Nabeshima, T.: Effect of AD-5423 on animal models of schizophrenia: phencyclidine-induced behavioral changes in mice.

Neuroreport, 14, 269-272 (2003)

Enomoto, T., Noda, Y., Mouri, A., Shin, E.J., Wang, D., Murai, R., Hotta, K., Furukawa, H., Nitta, A., Kim, H.C. and Nabeshima, T.: Long-lasting impairment of associative learning is correlated with a dysfunction of N-methyl-D-aspartate-extracellular signaling-regulated kinase signaling in mice after withdrawal from repeated administration of phencyclidine.

Mol. Pharmacol., 68, 1765-1774 (2005)

Wang, D., Noda, Y., Zhou, Y., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Synergistic effect of galantamine with risperidone on impairment of social interaction in phencyclidine-treated mice as a schizophrenic animal model.

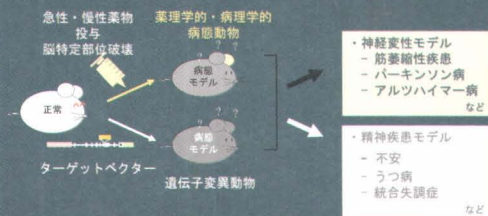
Neuropharmacology, 52, 1179-1187 (2007)

Mouri, A., Noda, Y., Noda, A., Nakamura, T., Tokura, T., Yura, Y., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of a dysfunctional dopamine-D1/NMDA-NR1 and CaMK II pathway in the impairment of latent learning in a model of schizophrenia induced by phencyclidine.

Mol. Pharmacol., in press.

図1 病態モデル動物

薬物・脳特定部位破壊などによる病態モデル動物が繁用されてきたが、近年の分子生物学の進歩により、種々の遺伝子変異マウスが開発され、神経精神疾患の病態解明やCNS薬開発のために用いられている。



Tsutsumi Nobuhisa

図2 動物モデルの要件 (Validation):

1. 行動上の類似性(Face validity)
動物の行動とそのモデルとなった臨床症状
2. 薬物反応の特異性、力価の類似性(Predictive validity)
モデルと臨床での薬物効果の選択性と力価
3. 共通の発現機序(Construct validity)

Willner, P.: Behavioral Models of Psychopharmacology: Theoretical, industrial and clinical perspectives, Cambridge Univ. Press (1991)

Tsutsumi Nobuhisa

図3 行動評価の問題点

行動とは・・・

生体に加えられた外部環境変化(刺激)と生体機能との相互作用によって表面化する、生体丸ごとの動きを意味する。



- ・行動実験開始までに変遷する生体内外の環境変化に影響される。
 - 環境変化や実験開始時間を一定にする。
- ・運動・感覚機能の変化が、情動性や認知機能試験に影響を与える。
 - 複数の異なる試験の実施。
- ・客観性に乏しい。
 - 指標の標準化。
- ・行動変化の原因を裏付ける脳内変化の探索にはミクロの実験が必須。
 - 行動変化と脳内変化の相関性を調べる。

行動観察のみでは脳機能のすべてが解明できない。

図4 Irwinの多次元観察法

観察項目		スコア
行動面のプロファイル	意識	瞳孔 瞳孔反応 皮膚反応
	気分	発声 立ち動きのなさ 攻撃性 もたれ反応 自発反応性
	運動性	自反応 触反応 驚き反応(過敏)
	中核興奮	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	運動失調	歩行 正位反射消失 瞳孔反射消失 体姿勢異常
中核神経系のプロファイル	体姿勢異常	四肢筋緊張 耳介反射 角膜反射 疼痛反応
	反射	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
自律神経系のプロファイル	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)
	瞳孔	瞳孔 瞳孔反応 瞳孔反応(過敏)

発現した行動変化、神経症状、自律神経症状などを多角的に観察分析し、定められた方式で系統的に記入、解析する方法。各観察項目について症状の強度を点数で表示するので、定量的評価が可能。

正常状態に対して・・・
 正常の場合：±/↑↓
 興奮の場合：↑
 抑制の場合：↓
 症状が観察された場合
 (運動失調や痙攣の場合)
 :+

疾患モデル動物の開発とその応用：

特にてんかんモデル動物を中心に

笹 征史

(渚クリニック・広島大学名誉教授)

てんかん患者は全人口の1～2％に存在し、けしてまれな疾患ではなく、しかもこのうち20～30％の患者は難治てんかんであり、これに対しては現在の抗てんかん薬が無効である。このようなことから新たな抗てんかん薬の開発と根治的な治療法が待たれている。これまで抗てんかん薬の開発にあたって、新薬の候補は電撃によるけいれんやペンチレンテトラゾールなどの化学物質によるけいれんを抑制するか否かによってスクリーニングされてきた。しかし、てんかんとは、「外傷や炎症、あるいは遺伝子異常によるチャネル構造の異常などの初期原因があり、そこに発作が繰り返されることによりてんかん原性(epileptogenesis)が形成され、この上に立って何らかの誘因により脳内の神経細胞集団が同期して群発発火することにより、けいれんあるいは非けいれん性の発作が繰り返されること」と定義されている。従ってこのようなヒトのてんかに相応するてんかんモデル動物の開発が必要であり、このような動物がヒトのてんかん治療に大きく寄与すると考えられる。

今回はこれまで開発されたてんかんモデル動物(表1)のうち、1986年に芹川らによって開発された二重突然変異体の自然発症てんかんラット(Spontaneously Epileptic Rat:SER)について、その開発、病態、責任遺伝子および応用意義について述べたい。

1、SERの開発

SERは1986年京都大学実験動物施設において、芹川らによって開発されたものである。これは、キョートウィスター(WKY)のインブレットコロニーにおいて偶然見出された振せんを示すtremorラット(tm/tm)のヘテロと、西ドイツのRhemらによってSD系に見出された同じく振せんを示すzitterラット(zi/zi)のホモを交配して得られた二重突然変異体(tm/tm,zi/zi)である(1)。

表現形として体毛が縮れ、巻きひげが特徴であり容易に識別できる(図1)妊性がなく、短命であり16・17週令までに死亡する。

2、SERのてんかん発作と抗てんかん薬の効果

SERは生後8週令以降自発的に、また息を吹きかけるなどの軽い刺激により、強直性けいれんと一瞬動作を停止し、凝視する状態の欠神経発作の両発作を起

こす（図1）（2）。これらの発作は8週令以降週令が進むに従い回数が増え、発作の持続時間も長くなる。慢性埋め込み電極を用いて脳波を記録しつつ、同じ時に行動（発作）を観察すると、けいれん発作時には低振幅の速波、小棘波が認められ、欠神様発作時には5-7 HZ の棘徐波複合が認められた。これらの発作には雌雄に差はみられなかった。このような脳波上の変化と行動パターンがヒトのてんかんに相応するの可否かを明らかにするため、抗てんかん薬に対する反応性を検討した（2）。その結果、強直性けいれんは、ヒトの強直性けいれんに有効なフェニトインにより、また欠神様発作はヒトの欠神様発作に有効なエトスキシミドおよびトリメタジンによって抑制された。しかし、ヒトてんかんの場合と同様フェニトインは欠神様発作には無効であり、エトスキシミドとトリメタジオンは強直性けいれんには無効であった。またヒトの両発作に有効なバルプロ酸は **SER** の両発作を抑制した。これらのことから **SER** にみられる強直性けいれんはヒトの強直-間代けいれん（大発作）に相応すると考えられた。

3、**SER** の病態

SER 脳の広範な部位に空胞変性が認められる。空胞は細胞体ではなくほとんどがミエリン内に認められる。しかし、この変化はヤコブ病に類似するものの、感染性のものではないことが神経病理学的に確かめられている。また、脳内のグルコース代謝をみた核医学的所見では、**SER** の発作後には対照 **KWY** と比べグルコース利用の低下が認められている（3）。

次に、海馬スライス標本を用い電気生理学的研究（図2）を行ったところ、**CA3** 野錐体ニューロンにてんかんに特徴的な脱分極シフトが見出された。図3に示すように苔状神経を単一刺激すると活動電位の群発とそれに続く、長い（500msec 以上）脱分極シフトが記録された。スライス標本を設置した小水構内にカルシウム拮抗薬のベラパミル、フェニジピン、ニカルジピンなどを投与すると苔状線推刺激による活動電位は一個のみとなり、脱分極シフトも抑制された。このことから脱分極シフトは **CA3** ニューロンの **L** 型カルシウムにチャンネルを介する Ca^{2+} の流入によると考えられた（4）。また、**CA3** ニューロンを単離し、このニューロンについてパッチクランプ法によりホールセル記録を行ったところ、このニューロンは **L** 型 Ca^{2+} チャンネルの閾値が正常ニューロンに比べ低い（約 10mv）ことがわかった（図4）。このため Ca^{2+} チャンネルが開きやすく、 Ca^{2+} の流入が増大し、大きな脱分極シフトを形成すると結論される。さらに、最近 **SER** 海馬 **CA3** の Ca^{2+} 電流の不活性化が延長していることが見出された（5）。このために Ca^{2+} 流入の持続が起こると考えられる。尚、海馬 **CA3** ニューロン群への Ca^{2+} 流入の増大は **fura-2** を用いた蛍光画像による研究でも

確かめられた (6)。

4、SER の遺伝子異常

tremor ラットにおいては N-acetyl-L-aspartate(NAA) を代謝する aspartoacylase(ASPA) 遺伝子が欠損していることが明らかにされた (7)。このため、脳内には NAA が蓄積する。これはヒトのカナバン病と同一の病態である。脳内に NAA が蓄積した場合、けいれん発作を誘発する。図 5 に示すように zitter ラットの脳室内に NAA を微量注入すると大脳皮質に先行して海馬脳波に棘波群発出現し、けいれん発作が認められている (8)

また、WKY ラット海馬スライス標本において CA3 ニューロンは、NAA の投与により発火頻度が増加、群発するようになる (8)。さらに、海馬 CA3 ニューロンを単離し、パッチクランプ法による検討の結果、NAA は CA3 ニューロンの代謝型グルタミン酸受容体に働き、内向き電流を惹起する (細胞を興奮させる) ことが見出された (9)。つまり、NAA は代謝型グルタミン酸に働き、海馬 CA3 ニューロンを興奮させ、この結果、脱分離することにより CA3 ニューロンの L 型 Ca^{2+} チャンネルが開放し、 Ca^{2+} 流入による脱分極シフトを起こす。これによりてんかん発作を惹起すると考えられる。

一方、zitter ラットでは attraction (Atrn) 遺伝子の欠損が Kuramoto らにより見出された(10)。この欠損は、SRE 脳に空胞変性を生じ刺激伝播が変容し、てんかん原性形成となる新たな回路形成 (再構築) に寄与すると考えられる。

5、遺伝子導入による発作抑制

それでは SER に ASPA 遺伝子を導入した場合に発作を抑制するだろうか？ ASPA 遺伝子をアデノウィルスベクターに導入し (図 6)、これを SER 脳室内に投与したところ、投与 7 日後に有意にけいれん回数が減少した。さらに、ASPA と Atrn 両遺伝子をノックアウトしたマウスでは、確かに脳波上低振中速波を示す強直性けいれん、および、5～7 Hz の棘徐波複合を示す欠神様発作が認められた (11)。以上を小括すると、ASPA/Atrn 遺伝子欠損、さらに、海馬 CA3 ニューロンの L 型 Ca^{2+} チャンネル異常が SER の両発作の原因因子と考えられる。

6、新規抗てんかん薬の評価

現在の抗てんかん薬はいずれも発作抑制薬である。今後のてんかん治療薬としてはてんかん原性の形成を抑制すること、さらには形成されたてんかん原性を根治することが目標となる。

(1) 発作抑制薬

てんかん発作抑制のメカニズムとしては、脳内の興奮系の抑制か、抑制性系

の亢進が考えられる(表2)。現状の抗てんかん薬は、図7に示すように Na^{2+} チャネル抑制、 Ca^{2+} チャネル抑制、グルタミン酸受容体の抑制、GABA 受容体の亢進があげられる。一方、各種抗てんかん薬の SER の発作に対する作用とヒトのてんかん発作に対する作用を検討すると、よく一致しており(表4,5)、新規抗てんかん薬の評価に有用である。さらに、ミオクロヌスは現在の抗けいれん薬は無効であるが、ピラセタム(ミオカーム)が臨床的に有効であることが知られており、抗ミオクロヌス薬として、オルファンドラッグとして本邦において数年前に認可された。

この時ピラセタムはいずれの誘発けいれんをも抑制しなかったのであるが、SER のけいれんを抑制した。このように従来の評価系をもれる薬物効果も評価できるという点がある。一方、発作を長期抑制するか否かについても SER は有効である(図8)(12)。

(2) てんかん原性抑制効果

我々の一連の研究の中で、ピラセタムと類縁のレベチラセタムはけいれん発作を抑制するだけではなく、てんかん原性をも抑制するのではないかとのデータがえられた(13)。すなわち、レベチラセタムを1回投与した場合にも SER のけいれん発作が長時間にわたって抑制されること、またリベチラセタムを一日一回5日間投与するとその都度発作は抑制されるが、投与中止後も1週間以上の長期にわたって抑制効果が継続することが見いだされたのである(図8)(13)。また、SER が発作を起こす以前の4週令から発作が発現する8週令まで毎日1回の注射をすると、注射終了後8週令以降の発作発現が対照群よりも有意に少なかったのである(13)。

まとめ

- 1、 SER のてんかん発作に関与する遺伝子が固定され、発作病態が明らかにされた。
L 型 Ca^{2+} チャネルの異常があり、NAA の蓄積とミエリンがてんかん原性形成にかかわり、てんかん発作を誘発するに至る。
- 2、 抗てんかん薬の評価に有用である
 - (1) 新規抗てんかん薬のスクリーニングとそのメカニズム解明に有用である。
 - (2) 従来の抗てんかん薬のスクリーニングで見落とされている薬物も評価できる。
 - (3) 抗てんかん原性を有する可能性のある薬物も評価できる。
- 3、 SER を用いて認可された抗てんかん薬として、ピラセタム(ミオカーム)、クロバザム(マイスタン)、トピラマート(トピラ)などがある。

以上のように **SER** はてんかんモデルとして有用な動物であることが明らかにされた。この研究を土台に妊性があり、寿命の長いてんかんモデルが開発されるとさらにてんかん原性の解明、抗てんかん薬の開発に寄与できるのではないかと考えられる。

文献

1. Serikawa T and Yamada J, Epileptic seizures in rats homozygous for two 2. mutantions, zitter and tremor. *J Hered*, 77, 441-444, 1986.
2. Sasa M et al, Effects of antiepileptic drugs on absence-like and tonic seizures in the spontaneously epileptic rat, a double mutant. *Epilepsia*, 29, 505-513, 1988.
3. Saji H et al, Local cerebral glucose utilization in the interictal state of the spontaneously epileptic rat (SER)., *Brain Res*, 601, 76-79, 1993.
4. Ishihara K et al, Abnormal excitability of hippocampal CA3 pyramidal neurons of spontaneously epileptic rat (SER), a double mutant. *Exp Neurol*, 119, 289-290, 1993
5. Yan H-D et al, Voltage-dependent calcium channel abnormalities in hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rats. *Epilepsia*, 48, 758-764, 2007.
6. Amano T et al, Enhanced Ca^{+2} in fluxed with mossy fiber stimulation in hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rat., *Brain Res*, 910, 199-203, 2001.
7. Kitada K et al, Accumulation of N-acetyl-L-aspartate in the brain of the tremor rat, a mutant exhibiting a absence-like seizure and spongiform degeneration in the central nervous system. *J Neurochem*, 74, 2512-2519, 2000.
8. Akimitsu T et al., Epileptic seizures induced by N-acetyl-L-aspartate in rats: in vivo and in vitro studies *Brain Res*, 861, 145-150, 200.
9. Yan H-D et al, Activation by N-acetyl-L-aspartate of acutely dissociated hippocampal neurons in rats via metabotropic glutamate receptors. *Epilepsia* 44, 1153-1159, 2003.
10. Kuramoto T et al, Attractin/mahogany/zitter plays a critical role in myelination of the central nervous system. *Proc Natl Acad sci USA*, 98, 559-564, 2001.
11. Gohma H et al, Absence-like and tonic seizures in

aspartoacylase/attractin in double mutant mice. Exp Anim, 56, 161-165, 2007.

12. Yan H-D et al, Separation of ant-epileptogenic and anti-seizure effects of levetiracetam in the spontaneously epileptic rat (SER). Epilepsia, 46, 1170-1177, 2005.
13. Cai J-Q et al, Long-lasting antiepileptic effects of levetiracetam against epileptic seizures in the spontaneously epileptic rat (SER): differentiation of levetiracetam from conventional antiepileptic drugs., Epilepsia, 46, 1362-1370, 2005.

表 1 各種遺伝性てんかんモデル動物

	発作	遺伝子
1. マウス		
ロ マウス (1954)	複雑部分発作	ceruloplasmin 遺伝子欠失
tottering (1962)	欠神発作・運動発作	Ca ²⁺ チャネル (α_{1A} 点変異)
stargazer (1990)	欠神発作	Ca ²⁺ チャネル (γ_2)
weaver	1丸せん発作	K ⁺ チャネル (内向整流性点変異)
opisthotonus	1丸せん発作	IP3受容体タイプIエクソン欠失
2. ラット		
GEPR (1973)	聴原性発作	
GAERS (1980)	欠神発作	
Tremor rat (1985)	欠神発作	aspartoacylase 遺伝子欠失
SER (1987)	欠神発作・強直性1丸せん発作	同上/アトラクテン欠失
NER (1995)	1丸せん発作	
ICA (1996)	辺縁発作	
WAG	欠神発作	

表 2 抗てんかん薬の作用メカニズムの概要

抗てんかん薬の作用メカニズム

1. 興奮系の抑制
- ーグルタミン酸神経伝達の抑制
 - ーN-アセチルアスパラギン酸作用抑制
 - ーNa⁺チャネルの抑制
 - ーCa²⁺チャネルの抑制
2. 抑制系の亢進
- ーGABA神経伝達の亢進

表3 各種抗てんかん薬の作用メカニズム

	Na ⁺ チャネル	Ca ²⁺ チャネル	GABA系	グルタミン酸系	その他
既存抗てんかん薬					
フェニトイン	↓				
カルバマゼピン	↓	↓ (L型)			
バルプロ酸	↓	↓ (L型)			
ゾニサミド	↓				
エトスクシミド		↓ (T型)			
ジアゼパム			↑		
クロバザム			↑		
フェノバルビタール			↑	↓	
新規抗てんかん薬					
vigabatrin			↑		
gabapentin	↓	↓ (L型)	↑		
tiagabine			↑		
lamotrigine	↓			↓	
felbamate	↓	↓ (L型)	↑		
topiramate	↓	↓ (L型)	↑	↓	
remucemide	↓				
levetiracetam		↓ (L型)	↑		+

↓ 阻害、↑ 増大または活性化、その他：表にあげた作用以外の作用（+ 脳内に特定の結合部位があるとの報告あり）

表 4 各種抗てんかん薬のヒトてんかんとSER発作に対する抑制作用比較

	human		SER	
	convulsion	absense	convulsion	absense
phenytoin	+	-	+	-
zonisamide	+	-	+	-
ethosuximide	-	+	-	+
trimethadione	-	+	-	+
phenobarbital	+	+~-	+	+~-
valproate	+	+	+	+
carbamazepine	+	+	+	+
diazepam	+		+	+

表 5 各種抗てんかん薬のてんかんモデル動物に対する抑制効果

抗てんかん薬	NER	Tonic		Absence like	Kindling	GEPR-9	EI*
カルバマゼピン	++	++	SER	-	++	++	?
フェニトイン	+	++	-	-	++	++	+
ゾニサミド	±	++	-	-	+	?	?
フェノバルビタール	++	++	+	-	++	++	++
ジアゼパム	++	++	++	-	?	?	+
バルプロ酸	++	++	++	+	-	-	++
エトスキシミド	±	-	+	-	?	-	++
トリメタジオン	+	-	++	-	?	?	?

EI*: antiepileptic effects on low dose PTZ-induced seizures

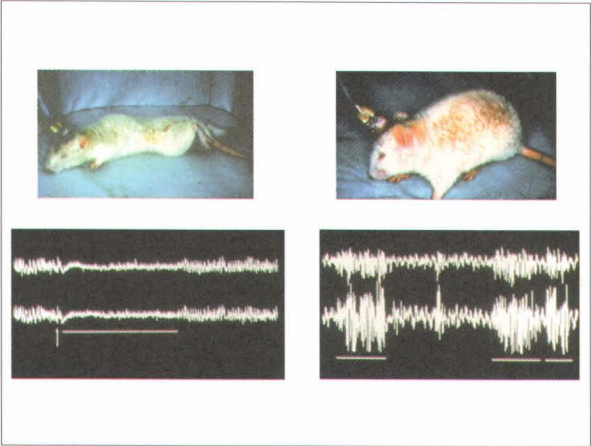


図 1 SERの強直性けいれん(左)と失神様発作(右)とその発作時の脳波(上：大脳皮質、下：海馬)

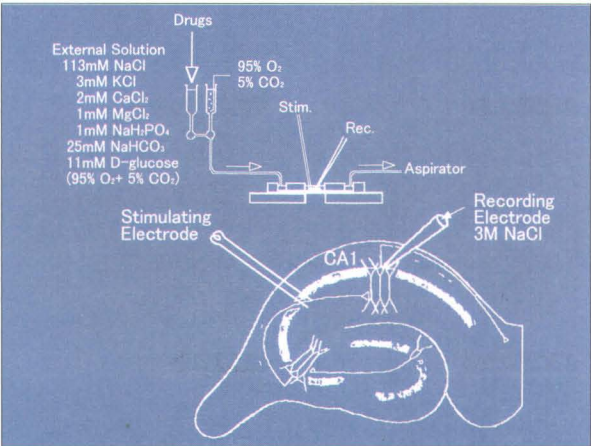


図 2 海馬スライス標本における電気生理学的研究の模式図

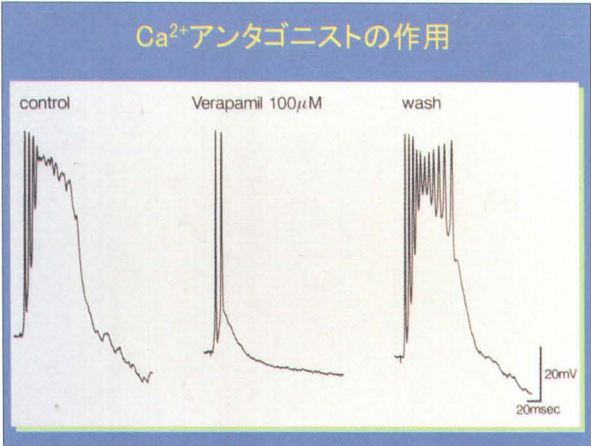


図 3 SER海馬CA 3 ニューロンの脱分極シフトに対するCa拮抗薬（ベラパミール）の抑制効果
細胞内記録時に苔状線維刺激によりCA3ニューロンに活動電位に引続き長時間持続性脱分極シフトが得られる。

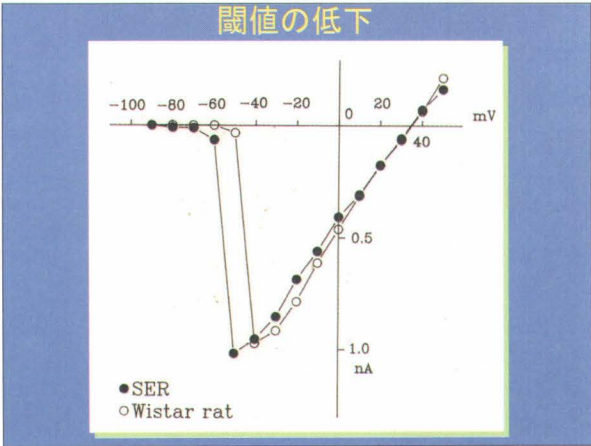


図 4 単離したSER海馬CA 3 ニューロンにおけるパッチクランプ法による研究（L型Ca²⁺チャネル電流の記録）
SER海馬CA 3 ニューロンL型Ca²⁺チャネルの開放閾値はWKYに較べ約10mV低下している。

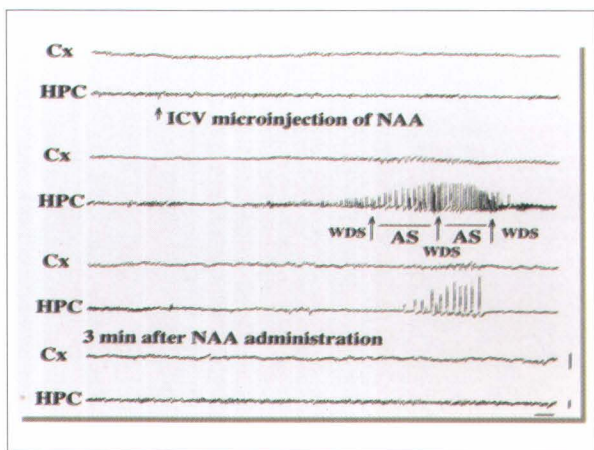


図5 WKY脳室内へのN-acetyl-L-aspartate (NAA) 投与による海馬 (HPC) 脳波へのけいれん波出現とけいれん発作 (WDS)

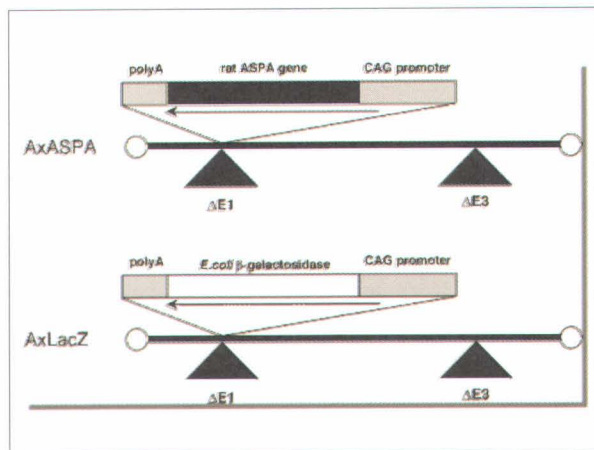


図6 アデノウイルスへのASPA遺伝子の組み込み

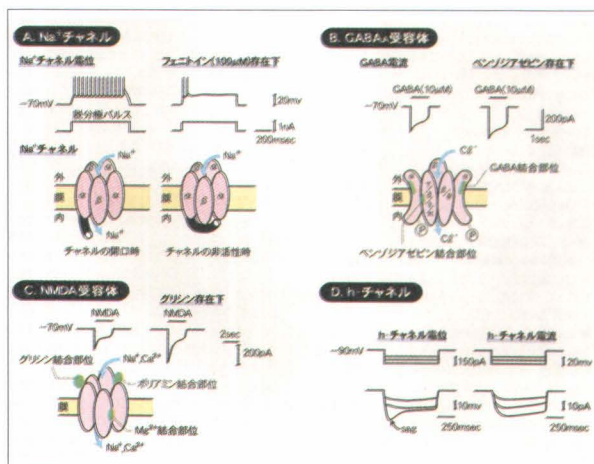


図7 主なチャネルと受容体の模式図および抗てんかん薬の作用例 (フェニトイン、ベンゾジアゼピン)

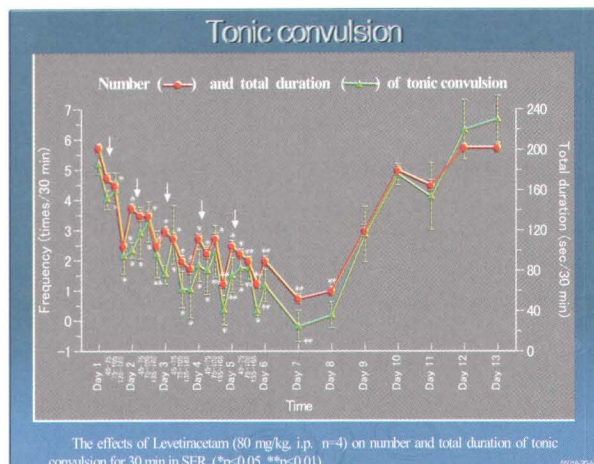


図8 SERけいれん発作に対するレベチラセタムの連続投与 (1日1回、5日間) 後の長期間持続性の抑制効果

< 会 員 の 発 表 >

1. ラット機能多型のジェノタイプピング

○庫本高志、中西 聡、芹川忠夫

（京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

2. ルシフェラーゼアッセイを用いたHIKARUラットの発光の確認とフェノタイプピング法の検討

○蟹江祐哉¹、河合澄子¹、攝田友香²、檜百合子²、小谷祐子¹、河崎愛子¹、
愛原勝巳¹、寺坂勝利²、尾崎公史²、鍵山壮一朗¹、岡本 明¹、高木康博¹、
田島 優¹、平野俊一朗³、黒澤 努¹

（¹大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学、²三協ラボサービス株式会社、

³独立行政法人産業技術総合研究所）

3. 中枢神経、神経堤細胞特異的な癌型N-Ras発現による神経線維腫症病態モデルの作製

○齋藤浩充¹、吉田利通²、山崎英俊³、鈴木 昇¹

（¹三重大・生命セ・動物機能、²三重大・院医・再生修復病理、³三重大・院医・再生統御医学）

4. 中枢神経、神経堤細胞特異的な癌型N-Ras発現による神経線維腫症病態モデルの作製

○齋藤浩充¹、吉田利通²、山崎英俊³、鈴木 昇¹

（¹三重大・生命セ・動物機能、²三重大・院医・再生修復病理、³三重大・院医・再生統御医学）

5. ナトリウムチャンネルScn1a変異ラットの特性解析

○鶴見東志子¹、真下知士¹、庫本高志¹、大野行弘²、笹 征史³、芹川忠夫¹

（¹京大院・医・附属動物実験施設、²大薬大・薬品作用解析、³渚病院）

6. Wavelet変換と人工ニューラルネットによる欠神発作自動判定システムを用いたWER系統における24時間発作推移の検討

○坪田裕司¹、都丸千夏²、飯島一憲³、宮嶋正康⁴、大和田-真壁恭子²

（¹大阪河崎リハビリテーション大学生理学、²群馬高等専門学校物質工学、

³東京 大学、⁴和歌山県立医科大学動物実験施設）

7. Helicobacter pylori 誘発胃炎におけるIL-17の関与

○喜多正和、塩見 聡、今西二郎（京府医大院医学研究科 免疫・微生物学）

8. メタボリックシンドロームを発症するWHHLMIウサギ

○塩見雅志、山田悟士、伊藤 隆（神戸大学 医学部 附属動物実験施設）

9. 慢性喫煙曝露ラットにおける血漿グレリンと体重減少の関連
○久保 薫¹、友田恒一²、吉川雅則²、西井康恵³、木村 弘²
(奈良県立医科大学・¹動物実験施設・²第2内科・³畿央大学・健康科学部)
10. 酸化チタンの超高速触媒反応を利用した実験動物関連廃棄物の分解処理について
○山本好男¹⁾、樫本逸志²⁾、西村雅宏²⁾、馬場利勝³⁾、谷 徹⁴⁾、西 克治¹⁾
(¹⁾滋賀医大法医、²⁾草津電機(株)、³⁾堺化学工業(株)、⁴⁾滋賀医大外科学)
11. ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法を用いたラット血清アルカリホスファターゼ (ALP) アイソザイム分析の毒性試験への適用
○西原義人¹、畠山和久^{1,2}、中野貴成²、菰田二一²
(¹ボゾリサーチセンター・御殿場研究所、²埼玉医科大学・生化学)
12. CF#1系由来遺伝性白内障マウス (CF#1/b cac Ta) の形態学的特性ならびに遺伝様式に関する研究
谷口雄輔、河島隆宗、近藤友宏、○岡田利也
(大阪府立大学大学院実験動物学教室)
13. 1型糖尿病修飾遺伝子の染色体マッピング
○横井伯英、藤原結花、田辺幸子、北尾麻衣、清野 進
(神戸大学大学院医学系研究科細胞分子医学)
14. *Phodopus campbelli*に発見された黒色被毛突然変異のattractin遺伝子塩基配列には欠失領域が存在した
○和田あづみ¹、大川 清¹、都築政起²
(¹東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、²広島大学・大学院生物圏科学)
15. プログラマブルインフュージョンポンプを用いたカニクイザルの卵胞発育誘起
○岩谷千鶴、山崎樹里、岡原純子、土屋英明、鳥居隆三
(滋賀医科大学・動物生命科学研究センター)
16. 鼠径リンパ節への転移を認めたカニクイザルの子宮内膜症
○中村紳一郎^{1,2}、小野文子¹、寺尾恵治³、鳥居隆三²
(¹予防衛生協会、²滋賀医科大学動物生命科学研究センター、³医薬基盤研霊長類医科学研究センター)

ラット機能多型のジェノタイピング

○ 庫本高志、中西 聡、芹川忠夫

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

機能多型 (Functional Polymorphism) とは、遺伝子の機能に関与する多型のことをいう。遺伝子の機能が変化すると、対応する病態への感受性・抵抗性が変化することが明らかになっている。つまり、機能多型とは、「病態に関与する多型」ともいうことができる。

我々は、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)事業の一環として、ラット近交系における機能多型のジェノタイピングを行った。検査する機能多型として、病態に関与することが知られている 16 種類の変異 (3 つの毛色変異と 13 の病態関連変異) を対象とした。これらの変異について、NBRP-Rat に寄託されている 143 系統のジェノタイピングを行った。

前立腺癌に関与する *Cdkn1a*、糸球体腎炎に関与する *Fcgr3*、過食に関与する *Grp10*、コレステロール生合成に関与する *Lss* と *Fdft1* 等の病態関連変異が、様々な系統に保有されていた。次いで、各病態関連変異ごとに、その保有系統のラット系統樹上の位置を特定した。いずれの病態関連変異においても、その保有系統は系統樹全体に散在しており、特定のクラスターを形成するものではなかった。さらに、現在市販されている複数のアウトブレッッドコロニーにおいても、これら病態関連変異の存在が明らかとなった。

以上より、病態関連変異は近交系の母体となるアウトブレッッド集団内に存在していたこと、また、現在利用可能なほぼ全てのラット近交系は何らかの病態関連変異を保有していることが示唆された。

ルシフェラーゼアッセイを用いた HIKARU ラットの発光の確認と フェノタイプピング法の検討

○蟹江祐哉¹、河合澄子¹、攝田友香²、樫 百合子²、小谷祐子¹、河崎愛子¹、愛原勝巳¹、寺坂勝利²、尾崎公史²、鍵山壮一朗¹、岡本 明¹、高木康博¹、田島 優¹、平野俊一朗³、黒澤 努¹

(¹大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学、²三協ラボサービス株式会社、

³独立行政法人産業技術総合研究所)

【目的】各種臓器の再生に関する報告がなされて久しいが、その具体的臨床応用例はまだない。我々は、臨床応用で要求される諸条件を満たした細胞の確立・移植細胞の非侵襲的動態の観察・細胞移植手技の至適条件の検討等を、実験動物を用いて行うため、バイオルミネッセンス動物の開発を試み、HIKARU (Wistar - *Tg(Per1-luc)10a*) ラットを生み出した。HIKARU ラットは、西洋ホタル由来のルシフェラーゼ遺伝子 (Luc) を導入した Tg ラットである。このラットの全身にルシフェラーゼが存在すると考えられる。今回、我々は HIKARU ラットが実際に発光能力を有するかどうかを、組織別にルシフェラーゼアッセイを行い確認した。また、HIKARU ラットのフェノタイプピング法を検討した。

【材料と方法】HIKARU ラットと Wistar ラットより主要臓器を含む各組織を取り出し、ルシフェラーゼアッセイシステム(Puromega; E 1500)を用いて、発光量を測定した。また、複数の HIKARU ラットから末梢血を採取して、ルシフェラーゼアッセイによる発光量を比較した。

【結果】Wistar ラットからの組織はいずれも発光が認められなかったが、HIKARU ラットから取り出した主要臓器は、ばらつきはあったものの顕著な発光が認められた。また、HIKARU ラットの末梢血でも、いずれも顕著な発光が認められた。

【考察】HIKARU ラットの摘出臓器で発光が確認され、Luc によりルシフェラーゼが全身に存在することが示された。またいずれの HIKARU ラットの末梢血も発光したことから、HIKARU ラットのフェノタイプピング法として、末梢血を用いる方法が確立できたと考える。

今後、我々は *in vivo* における発光測定法を確立し、最終的には移植細胞の動態を経時的に解析可能な新たな診断技術の開拓を目標としている。本研究は臓器機能再生という画期的治療法を開発するための基礎研究であり、医療の進歩への貢献は極めて大きいと考えている。

HIKARU ラットの系統維持

ージェノタイピングとルシフェラーゼ遺伝子解析ー

○河合澄子¹、攝田友香²、檜 百合子²、小谷祐子¹、河崎愛子¹、愛原勝巳¹、寺坂勝利²、尾崎公史²、鍵山壮一朗¹、岡本 明¹、高木康博¹、田島 優¹、平野俊一朗³、黒澤 努¹

(¹大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学、²三協ラボサービス株式会社、³独立行政法人産業技術総合研究所)

【目的】我々は再生医療の基礎研究に用いる実験動物として、バイオルミネセンス動物の開発を試み、HIKARU (Wistar-*Tg(Per1-luc)10a*) ラットを生み出した。HIKARU ラットは、西洋ホタル由来のルシフェラーゼ遺伝子

(Luc)を導入した Tg ラットである。このラットの全身にルシフェラーゼが存在すると考えられる。今回、我々は HIKARU ラットの系統維持に必要なジェノタイピング法の確立と、導入されている Luc を確認するための遺伝子解析を行った。

【材料と方法】HIKARU ラットは異なる3つの系統で維持しており、それぞれの系統のラットより組織を採取した。採取した組織より DNA を抽出し、Luc 特異プライマーF1 と R2 を用いて PCR を行った。次に Luc 特異プライマーF2, F3 と R3, R4 でも PCR を行い、得られた3つの産物のシーケンス結果 LucH を Luc (GenBank accession number : AB261988) と比較し、ルシフェラーゼ遺伝子の解析を行った。

【結果】Luc 特異プライマーF1 と R2 による PCR 産物は、HIKARU ラットの異なるいずれの系統からも検出できた。また、PCR により得られた3つの産物から解析された LucH を Luc と比較した結果、遺伝子レベルでもアミノ酸レベルでも数ヶ所の変異が認められた。

【考察】HIKARU ラットの系統維持に必要なジェノタイピングは、Luc 特異プライマーF1 と R2 を用いて確立できたものとする。また、LucH の遺伝子解析の結果、遺伝子の変異が確認されたが、別の実験でルシフェラーゼアッセイによる発光が確認されており、これらの変異のフェノタイプへの影響は極めて少ないと考える。しかし、今後の変異の可能性とそれによるフェノタイプへの影響が示唆されることから、定期的な遺伝子解析が必要であるとする。本研究は臓器機能再生という画期的治療法を開発するための基礎研究であり、医療の進歩への貢献は極めて大きいと考えている。

中枢神経、神経堤細胞特異的な癌型 N-Ras 発現による神経線維腫症病態モデルの作製

○ 齋藤浩充¹、吉田利通²、山崎英俊³、鈴木昇¹

(¹三重大・生命セ・動物機能、²三重大・院医・再生修復病理、³三重大・院医・再生統御医学)

背景：神経線維腫症(NF)には神経線維腫症Ⅰ型(NF1)、神経線維腫症Ⅱ型(NF2)があり、それぞれ3000人、35000～42000人に一人の発生率をもつ常染色体優勢の遺伝病である。NF1、NF2ともに皮膚に色素斑(カフエオレ斑)を生じ、神経線維腫、神経鞘腫、神経膠腫など神経系の腫瘍、副腎の褐色細胞腫などを高頻度に発症する。また、NF2では、患者の60～80%が白内障を発症する。NF1、NF2は、それぞれ原因遺伝子である *neurofibromin*, *merlin* 遺伝子の変異によって発症し、いずれの場合にも Ras タンパクもしくは Ras シグナル経路の活性化が報告され、症状との関連が示唆されている。Ras タンパク質には機能的に差がある N-, H-, K-Ras の三種類があり、いずれの分子も全身で発現している。NF1 患者から得られた神経鞘腫の細胞株において N-Ras の発現、活性ともに最も多いことが Mattingly らにより報告されている。そこで、NF1、NF2 の症状における N-Ras 経路活性化の関与を明らかにする目的で、NF1、NF2 の症状が現れる神経系および、神経堤由来の細胞、組織、及びレンズ上皮特異的に恒常的活性型(癌型)ヒト N-Ras を発現するマウスの作製を試みた。

方法：レンズ上皮、中枢神経系および胴部神経堤由来の細胞、組織に特異的に Cre タンパクを発現する CAMK2-Cre-Tg マウス、Cre タンパク質による組み替えで癌型 N-Ras を発現する flox-NrasG12V-Tg マウスを作製交配し、ダブルトランスジェニックマウス CAMK2-Cre-Tg^{Tg/+};flox-NrasG12V-Tg^{Tg/+}を得て経時的に観察を行った。

結果：得られた CAMK2-Cre-Tg^{Tg/+};flox-NrasG12V-Tg^{Tg/+}マウスは、生後から恒常的な皮膚の黒色化が観察された。黒色化した皮膚は、メラノサイトの増加をともないメラニン色素のケラチノサイト、マクロファージにおける異所的沈着、毛球における過剰な集積が観察された。生後3ヶ月で、黒色化した皮膚は S100 免疫染色陽性の神経線維腫が発症した。また、副腎髄質にヒト神経線維腫で観察される Wagner-Meissner 体を伴う S100 免疫染色陰性の神経線維腫が発症した。若齢マウスのレンズ組織は正常であったが、生後4ヶ月までに後嚢化白内障を発症した。さらに、生後5ヶ月で、観察した16例中3例の背部皮膚に表面に突出した神経線維腫が発症した。腫瘍組織は、S100 免疫染色陽性で脂肪粒、マスト細胞を巻き込みヒトの皮膚に発症する神経線維腫の組織像に一致していた。

考察：レンズ上皮、神経、神経堤由来の細胞、組織での癌型 N-Ras タンパク発現のみで、色素異常、皮膚の神経線維腫、白内障が再現された。この結果は、NF におけるこれらの症状の発症が N-Ras 経路の活性化により起こることを示唆している。一方、発症しなかった神経鞘腫、神経膠腫、褐色細胞腫の発症には K-Ras または H-Ras 経路、もしくは両方の活性化が必要である可能性を示唆している。これまで、色素異常、皮膚に生じる神経線維腫の病態を再現したモデルは報告されておらず、作製したマウスは、治療法開発や病態解明に有用と考えられる。

ナトリウムチャンネル *Scn1a* 変異ラットの特性解析

○鶴見東志子¹、真下知士¹、庫本高志¹、大野行弘²、笹征史³、芹川忠夫¹
(¹京大院・医・附属動物実験施設、²大薬大・薬品作用解析、³渚病院)

てんかん発症機構の解明や新規てんかん薬の開発は、てんかん治療の確立に向けた重要な課題である。近年、てんかん患者家系の遺伝学的解析から複数のてんかん原因遺伝子が報告され、その多くがイオンチャンネルの完全欠失あるいは部分的機能異常に起因していることが明らかとなっている。全般てんかん熱性痙攣プラス(GEFS+)家系においては、ナトリウムチャンネル *SCN1A* 遺伝子におけるミスセンス変異(アミノ酸置換)が多数報告されている。

我々は第92回関西実験動物研究会において、*Scn1a* 遺伝子にミスセンス変異を有するラットを報告した。この変異は、これまで GEFS+患者で報告されている変異と同じチャンネルポア領域に存在することが確認されており、本研究では、この *Scn1a* 変異ラットの誘発性けいれん感受性を調べることを目的とした。

Scn1a 変異ラットおよび対照ラット(F344/NSIc)において、1)ペンチレンテトラゾール(PTZ)尾静脈投与によるけいれん誘発実験、2)熱刺激によるけいれん誘発実験を行った。

1)PTZ誘発けいれん感受性を調べた結果、*Scn1a*変異ラットはF344/NSIcより低い濃度でけいれん発作が観察された。2)5週齢のラットに45℃のお湯で熱刺激を与え熱性けいれん感受性を調べた結果、F344/NSIcは5分間の刺激ではけいれん発作が認められなかったのに対し、*Scn1a* 変異ラットは全ての個体において4分以内にけいれん発作が誘発された。

Scn1a 変異ラットは、PTZ誘発けいれんおよび熱刺激誘発けいれんに対して明らかに高い感受性を示した。本ラットは、誘発性けいれんにおけるナトリウムチャンネルの機能解析研究、およびヒト全般てんかん熱性痙攣プラスの有用なモデル動物になると考える。

Wavelet 変換と人工ニューラルネットによる欠神発作自動判定システムを用いた WER 系統における 24 時間発作推移の検討

○坪田裕司¹、都丸千夏²、飯島一憲³、宮嶋正康⁴、大和田-真壁恭子²

(¹大阪河崎リハビリテーション大学生理学、²群馬高等専門学校物質工学、³東京大学、⁴和歌山県立医科大学動物実験施設)

Wakayama Epileptic Rat (WER) ラットは、欠神発作と強直発作を 1 個体が同時に示すてんかんモデル動物である。キンドリングを必要とせずに両発作を自然発症し、てんかん発作以外に外見繁殖等の異常を示さない特徴がある。

てんかん発作の解析を効率良く進めるために、我々は、脳波を入力信号として、Wavelet 変換による発作時脳波の特徴抽出と、3 層構造で中間層 24 個の人工ニューラルネットによる欠神発作自動判定システムを構築した。現在脳波データを 1 秒刻みで発作判定しており、24 時間のラット脳波に対するヒトの判定データとの一致率は、 $22222/36555=93\%$ であった。このシステムは、多少の誤差は含まれるものの、大きな変化を検出するには十分な精度を持つことが明らかである。今回このシステムを用いて、24 時間脳波データを解析し、その発作発現の推移について検討した。

材料には、テレメトリー法(500scan/s)で採取した 20 個体の WER ラットの慢性脳波記録を用い、上記ニューラルネットにより、1 秒間脳波における欠神発作あり、なしを判定した。そのデータを 1 時間ごとに集計し、発作発症の時間推移を検討した。また、個体データにおいて 3 日間の各発作の持続時間を分析し、時系列の自己相関についても単位根検定によるランダムウォークの検定、スペクトル解析を行った。

その結果、発作発症頻度について、暗期に高く、明期には低い発作率で推移することが明らかとなり、ラットの活動期に欠神発作も高くなることが示された。これまで人手による解析では、個体差が大きく、明確な発作リズムは見いだせなかったが、多数個体の分析により WER 系統ラットの欠神発作発症の時間推移が明らかになった。また、発作持続時間を元にした長い発作を指標とした時系列解析では、今のところ個体における時間推移には周期性は棄却され、認められていない (n=2)。今後例数を増やした解析が必要だが、各個体においては時間的に大きな偏りは認められないことが示唆された。以上から、てんかん発作の自動解析システムにより、WER 系統ラットの発作発現における新たな特徴が明らかとなった。今後強直発作の解析を進め、両発作の発現における相関について検討していきたい。

Helicobacter pylori 誘発胃炎における IL-17 の関与

○喜多正和、塩見 聡、今西二郎

(京府医大院医学研究科 免疫・微生物学)

【目的】*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染により発症する胃炎の病態形成においては IFN- γ などの Th1 サイトカインが重要な役割を果たしていることをこれまでに明らかにしてきたが、新たに発見された炎症性サイトカインである IL-17 の関与については不明な点が多い。今回、われわれは胃炎発症機構における IL-17 の役割を明らかにするため、IL-17KO マウスを用いて検討した。【方法】 *H. pylori* CPY2052 株をヘリコバクター用 Aneropack System (80% N₂、15% CO₂、5% O₂) を用い、Hp 選択培地 (栄研化学) で 37 °C、5 日間培養した。コロニーをさらに 15%FBS 含有 brain-heart infusion (BHI) 液体培地で培養後、 2×10^8 CFU/ml に調製し、あらかじめ 4 時間絶食させた野生型 C57BL/6 マウスおよび IL-17 遺伝子欠損 (KO) マウスに胃ゾンデを用いて 0.2ml 経口投与した。感染 1、2、3、6、12 ヶ月後にマウスを安楽死させ、胃を摘出し、長軸にそって二分割後、一方を胃内定着菌数 (胃内コロニー数) の測定に、他方は病理組織学的評価 (炎症の程度) に用いた。組織は 10%ホルマリンで固定、パラフィンで包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。炎症の程度は、鏡検にてシドニーシステムに従いスコア化を行い、評価を加えた。なお、コロニーの特異性は PCR 法にて確認した。

【結果】CPY2052 株を野生型および IL-17KO マウスに感染させ、経時的に胃内 IL-17 レベルを測定した結果、野生型マウスでのみ感染 12 ヶ月後まで胃粘膜局所に IL-17 の産生が認められた。また、野生型マウスでは、感染 2 ヶ月後より胃粘膜および粘膜下組織に細胞浸潤をともなう炎症像が認められたが、IL-17KO マウスではほとんど炎症は認められなかった。幽門部および体部における浸潤細胞は主に好中球とリンパ球であったが、IL-17KO マウスにおいては有意な好中球浸潤の抑制が認められた。さらに、IL-17KO マウス胃における MPO 活性は有意に低下していた。一方、*H. pylori* 感染後の胃内菌数を測定した結果、IL-17KO マウスの胃内菌数は野生型マウスに比べ有意に減少していた。

【考察】以上の結果、*H. pylori* 感染において、IL-17 は胃炎発症に重要な役割を果たしていることが示唆された。

メタボリックシンドロームを発症する WHHLM I ウサギ

○ 塩見 雅志, 山田 悟士, 伊藤 隆

(神戸大学 医学部 附属動物実験施設)

【背景と目的】神戸大学で維持している WHHLM I ウサギで, メタボリックシンドローム様病態が認められる. メタボリックシンドロームに関連する所見を調べモデル動物としての有用性を検討した.

【方法】9-18月齢の WHHLM I ウサギ9匹, 10月齢の正常日本白色種ウサギ4匹を実験に使用した. 空腹時の血糖値(酵素法), 血漿インスリン値(ELISA法), 血清脂質値(総コレステロール, 中性脂肪(TG), リポ蛋白脂質値(超遠心法-酵素法), small, dense LDL 値(ポリアニオン-二価陽イオン分離剤, デンカ生研キット)を測定した. 糖負荷試験は, 12時間以上の絶食後1.5 g/kg のグルコース水溶液を経口投与し, 投与前, 投与後15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240分に採血し, 血糖値とインスリン値を測定した. 耐糖能異常は HOMA-IR (空腹時インスリン値 x 血糖値 x 23.1 / 405) および糖負荷試験におけるインスリン値の AUC (area under concentration curve) / 血糖値の AUC で評価した. 血清 CRP 値は ELISA キットで測定した. WHHLM I ウサギを安楽死後, 内臓脂肪の蓄積量および大動脈の病変面積を測定した.

【結果】正常ウサギに比較して, すべての WHHLM I ウサギで LDL, VLDL, 血清 TG, 血清総コレステロール, small, dense LDL, および血清 CRP が高値を示した. 8匹の WHHLM I ウサギで空腹時の血清インスリン値および HOMA-IR が高値を示し, 糖負荷試験でインスリン値の低下が遅延し, インスリン抵抗性を示した. HDL と血糖値には差を認めなかった. 内臓脂肪の蓄積量は, 大動脈病変面積, VLDL-TG 値, 空腹時血糖値, 血清 CRP 値と相関した.

【結論】以上の結果より, WHHLM I ウサギでは内臓脂肪の蓄積および糖代謝異常と脂質代謝異常が認められ, 内臓脂肪の蓄積量と大動脈の動脈硬化面積に相関が認められたことから, メタボリックシンドロームのモデル動物として有用であることが示唆された.

慢性喫煙曝露ラットにおける血漿グレリンと体重減少の関連

○ 久保 薫¹、友田恒一²、吉川雅則²、西井康恵³、木村 弘²

(奈良県立医科大学・¹動物実験施設・²第2内科、³畿央大学・健康科学部)

【緒言】慢性閉塞性肺疾患(COPD)では、栄養障害ならびに胃潰瘍などの消化器障害が高率に認められ、COPDの発症・進展に重要な役割を果たすことが示唆されている。加えて、我々は栄養障害が高度なほど、またCOPDが重症なほど、血漿グレリン濃度が上昇していること明らかにした。COPDの主因が喫煙であることから、今回、Wistar Kyoto (WKY) ラットにタバコ喫煙負荷を実施し、体重変化、摂餌量および血漿グレリン濃度との関連を検討した。

【材料と方法】10週齢、雄性WKYラットの10匹に対してハンブルグⅡ喫煙装置を用いて、20分間で30本のハイライトの強制喫煙を1日2回、5回/週(月から金曜日)を4週間実施した。各週土曜日に体重ならびに摂餌量を測定した。最終喫煙後、12時間で採血し、血漿グレリン濃度をELISA法で測定した。

【結果および考察】喫煙群の体重は非喫煙群に比べて、喫煙1週目から4週目のいずれの時期においても有意に軽く、喫煙曝露による体重増加の抑制が認められた。摂餌量においても、喫煙1週目より有意に減少し、いずれの時期においても喫煙群で有意に少なく、体重と摂餌量に正の相関が認められた。血漿グレリン濃度は、喫煙群において有意な上昇が認められた。一方、デスアシルグレリン濃度は両群間で有意な差は認められなかった。グレリン濃度とデスアシルグレリン濃度の比は、非喫煙群に比べて喫煙群で有意に高く、喫煙群においてグレリンの活性がより高まっているものと考えられた。グレリン濃度とデスアシルグレリン濃度に相関はみられなかった。グレリン濃度と摂餌量との間に負の相関が見られ、摂餌量が少ないほど血漿グレリン濃度が上昇することが明らかとなった。グレリン濃度と体重との間に負の相関が見られた。

以上、タバコ喫煙曝露によって栄養障害が進行し、これに伴って血漿グレリン濃度が上昇することが実験動物においても示された。

酸化チタンの超高速触媒反応を利用した実験動物関連廃棄物の分解処理について

○山本好男¹⁾、樫本逸志²⁾、西村雅宏²⁾、馬場利勝³⁾、谷徹⁴⁾、西克治¹⁾

(¹⁾ 滋賀医大法医、²⁾ 草津電機 (株)、³⁾ 堺化学工業 (株)、⁴⁾ 滋賀医大外科学)

動物の飼育等により発生する廃棄物は焼却処理されていたが、焼却炉から発生するダイオキシン類による環境問題等から外注化による処理が一般的となっている。我々は医療廃棄物の安全で経済的な処理システムについて検討を重ね、加熱酸化チタンを利用した超高速触媒反応による分解装置を開発した。この装置および小型の実験装置を用い、実験動物分野からの廃棄物の処理について検討した。

装置及び分解方法

装置は、第一分解槽（酸化チタン）、石灰槽、第二分解槽（貴金属触媒）などからなり、第一分解槽には粒状酸化チタン触媒約200kgを容れ、温度を480℃に加熱調整した。処理物は破碎後、60～120g/minで投入した。排出ガスは石灰槽および貴金属触媒（第二分解槽）を通して排出した。排ガス中のNO、SO₂、CO、CO₂、VOC、DXNs類等の測定を行った。一部実験装置により分解過程の観察を行った。処理物は、ポリエチレン製品、シリンジ、不織布、ゴム手袋、床敷、血液、臓器・組織などで、ダンボール製の専用容器（40～55 L）に容れ、容器毎破碎し分解処理を行った。

結果及び考察

不織布、ゴム手袋、ポリエチレン製品などでは分解反応熱が多く、速やかに分解が進行し、一部加熱酸化チタンと接触・溶融時にCOやメタンなどの発生がみられたが第二分解槽の貴金属触媒により完全に分解された。組織、血液などの生体試料では、分解速度がやや遅く、分解反応熱も少ない。また排出ガス中の窒素酸化物濃度が高い傾向がみられ、窒素酸化物の低減化が今後の課題である。本法による処理では、金属、ガラス、陶器以外の有機物は残渣無く完全に分解され、また、DXNs類の発生量は非常に低値であり、安全に処理することが可能であった。これらの結果から、発熱量の多いプラスチック類と床敷きや組織・血液などを同時に処理することにより、反応熱を有効に利用する省エネ分解処理が可能と考えられた。

結語

加熱酸化チタンを用いた分解処理装置は、床敷き、手袋、マスク、組織などを残渣（灰）無く処理することができ、実験動物関連廃棄物の処理に有用である。

ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法を用いたラット血清アルカリホスファターゼ(ALP)アイソザイム分析の毒性試験への適用

○ 西原 義人¹, 畠山 和久^{1,2}, 中野 貴成², 菰田 ニー² (1ボゾリサーチセンター・御殿場研究所、²埼玉医科大学・生化学)

【目的】市販のヒト用ポリアクリルアミドゲル ALP アイソザイム分析キットを、毒性試験で頻繁に使用されるラットの血清に適用し、各 ALP アイソザイムの同定を試みた。さらに、本法を一般毒性試験の対照動物に適用し、加齢と各 ALP アイソザイムの変動について検討した。【材料及び方法】ALP 活性は生化学自動分析装置 (東芝 TBA-120FR) で、p-NPP を基質とした市販の試薬キット (シカリキッド ALP : JSCC、関東化学)を用いて測定した。ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動は市販のキット(アルフォー、常光)を用い取扱説明書に従った条件 (定電流 3 mA/ゲル 80 分、インジゴブルー染色 120 分) で実施した。骨 ALP アイソザイムを分離するため、血清はノイラミニダーゼ(ALP セパレーター、ヘレナ研究所)で前処理した。血清 ALP アイソザイムの由来を明らかにするため、抗骨 ALP 抗体、抗小腸 ALP 抗体、及び肝、骨及び小腸から抽出した臓器 ALP を使用した。ラット血清 (8、10、19 及び 32 週齢) はボゾリサーチセンターで実施した毒性試験の対照動物 (Crj:CD(SD) IGS、チャールスリバー) から収集した。【結果及び考察】血清のノイラミニダーゼ処理により主に 4 つのバンドがみられ、陽極側からそれぞれ肝、小腸、骨及び高分子型小腸 ALP であると示唆された。ラット毒性試験の対照動物の総 ALP 活性 (約 16 時間絶食) は、♂ > ♀ で、8 から 19 週齢まで急激に低下したが、本法を用いて ALP アイソザイムを分析した結果、加齢に伴い大きく変動したのは骨 ALP であった。また、小腸 ALP も軽度に低下した。一方、肝及び高分子型小腸 ALP の活性は非常に低く、かつ加齢に伴う変動はみられなかった。【結論】本法はラットの血清 ALP アイソザイム分析に適用可能で、毒性試験における ALP アイソザイムの評価、特に骨形成に影響を及ぼす薬剤の毒性評価に有用と考えられた。

CF#1 系由来遺伝性白内障マウス(CF#1/b cac Ta)の形態学的特性
ならびに遺伝様式に関する研究

谷口雄輔、河島隆宗、近藤友宏、○岡田利也
(大阪府立大学大学院実験動物学教室)

【目的】本研究は CF#1 系由来遺伝性白内障マウス(CF#1/b cac Ta) (CF#1 系白内障マウス)のヒト白内障モデルとしての有用性を評価するために CF#1 系白内障マウスの形態学的特性ならびに遺伝様式を明らかにすることを目的とした。

【方法】CF#1 系白内障マウス生後 7 日、14 日および 25 日齢の眼球を光学顕微鏡で、生後 20 日齢の水晶体を実態顕微鏡で観察した。CF#1 系白内障マウス同士の交配、CF#1 系白内障マウスと BALB/c 系マウスあるいは日本産野生マウス(MSM 系マウス)による交雑実験を行った。

【結果】CF#1 系白内障マウス同士の交配では生後 14 日～22 日齢で発症し、発症率は 100%であった。また、雌雄間の発症率に差は認められなかった。生後 7 日齢で水晶体皮質前部にわずかに水晶体線維の乱れが見られ、14 日齢では水晶体皮質前部および後部における水晶体線維の配列の乱れ、水晶体線維の膨化と空胞化が見られた。生後 25 日齢では水晶体皮質の広範囲で水晶体線維の膨化と空胞化、核遺残物が見られた。CF#1 系白内障マウスと BALB/c 系マウスとの交配による F1 世代では発症個体は認められず、F2 世代では発症率は 22.8%であったが、発症時期の遅延が認められた。さらに、肉眼的観察によって F2 世代での発症個体には pin head 型と拡散型の 2 つの表現型が認められた。pin head 型は 18～34 日齢で発症したのに対し、拡散型は 28～100 日齢で発症した。CF#1 系白内障マウスと MSM 系マウスとの交配による F1 世代では発症個体は認められず、F2 世代では発症率は 24.0%であった。さらに、戻し交配世代では発症率は 50.9%であった。F2 世代および戻し交配世代での発症時期の遅延は認められなかった。

【考察】以上のことから、本白内障の遺伝様式は常染色体劣性遺伝であること、皮質型白内障で空胞を伴うことおよび BALB/c 系マウスには本白内障を修飾する遺伝子が存在することが示唆された。

1 型糖尿病修飾遺伝子の染色体マッピング

○横井伯英、藤原結花、田辺幸子、北尾麻衣、清野 進
(神戸大学大学院医学系研究科細胞分子医学)

【目的】これまで我々は 1 型糖尿病モデル Komeda diabetes-prone (KDP) ラットの主要遺伝子として Cblb を同定し、2 つの主要遺伝子 (MHC と Cblb) による発症モデルを提唱している。この発症モデルを検証するため、KDP ラットと同一の MHC を有する TM ラットの遺伝的背景に KDP ラットの Cblb 遺伝子座を組み込んだコンジェニック系統 (TM.KDP-Cblb) を作出し、1 型糖尿病を再構成することに成功したが、コンジェニック系統の発症率が低いことから、発症を修飾する遺伝子の存在が示唆された (Yokoi et al. Diabetes 56:506-512, 2007)。今回、KDP ラットとコンジェニック系統を用いた交配実験により、1 型糖尿病修飾遺伝子の染色体マッピングを行った。

【方法】KDP とコンジェニックを交配して F1 ラットを、さらに F1 同士を交配して F2 ラットを作出し、210 日齢まで糖尿病の発症の有無を観察した。さらに F2 のうち早期発症群と非発症群を用いて全ゲノムスクランを行った。

【結果】F1 は KDP と同様に糖尿病発症開始日齢が早く、発症率が高かった (累積発症率約 80%)。このことから、KDP の遺伝的背景に優性または偽優性の遺伝様式で病態発症を促進する作用をもつ修飾遺伝子が存在すると考えられた。F2 の発症率は約 70%であり、ゲノムスクランの結果、複数の遺伝マーカーと糖尿病発症との間に連鎖が認められた。一方、MHC 領域の遺伝マーカーには有意な連鎖が認められなかった。

【結語】KDP の遺伝的背景に優性 (または偽優性) の遺伝様式で病態発症を促進する作用をもつ修飾遺伝子が存在し、それは MHC 領域以外に位置することが示唆された。

*Phodopus campbelli*に発見された黒色被毛突然変異のattractin遺伝子塩基配列には欠失領域が存在した

○和田あづみ¹、大川清¹、都築政起²

(¹ 東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、² 広島大学・大学院生物圏科学)

*Phodopus*属ハムスターとはユーラシア大陸北東部周辺に原産する掌・蹠が毛で覆われた小型齧歯目である。このネズミはドワーフハムスターなどの呼称で愛玩動物として普及している為に、人工的な環境へは既に順化済みである上に、突然変異体の発見・保存が愛好家達によって積極的に行われており、実験動物候補として適している。我々は1994年6月に実験室導入した*P. campbelli*の雌雄を起源に2001年12月に近交系PMIを確立した上で、現在も継続して新たな突然変異個体の収集を行い、*Phodopus*属ハムスターの実験動物としての充実を図っている。

1998年4月に市販*P. campbelli*中に被毛が黒い変異個体を発見し、研究室に導入した。野生型の*P. campbelli*の背部被毛は、中央に一本の黒線をもつ黄色味を帯びたagouti被毛であり、腹部被毛は明色を示す。しかし、この黒色被毛変異ハムスターは背側と腹側がともに一様な黒褐色の被毛を示した。交配実験結果から、この黒色被毛形質は常染色体性単一劣性遺伝子によって主導されていると考えられた。常染色体性単一劣性遺伝様式を示す黒色被毛変異体は、マウスのnon-agoutiをはじめとして他の動物種においても広く知られている。そこで、マウスagouti locusの優性変異型に相当すると考えられる*P. sungorus*の優性黄色被毛突然変異体と、この黒色被毛変異体との間で同座性検定を行った結果、黄色被毛形質原因遺伝子と黒色被毛形質原因遺伝子は連鎖した別遺伝子であることが判明した。

マウスのagouti locusは2番染色体89.0 cMに存在するが、73.9 cMには暗色被毛をしめす突然変異mahoganyの原因遺伝子*Atrn^{mg}* (attractin; mahogany)がマップされている。そこで、野生型と黒色変異型の*P. campbelli*それぞれのattractin遺伝子の塩基配列決定を試み、野生型の*P. campbelli*において、アミノ酸翻訳領域全長を含む3685bpのcDNA配列を決定した。黒色変異型の*P. campbelli*においては、アミノ酸翻訳領域内に234bpの塩基が欠失していた。

すなわち、この黒色被毛変異*P. campbelli*は、mahogany mouseやzitter rat、あるいはblack tremor Syrian hamster等の著名な疾患モデルと同様に、attractin遺伝子の突然変異であると考えられた。

プログラマブルインフュージョンポンプを用いたカニクイザルの卵胞 発育誘起

○岩谷千鶴、山崎樹里、岡原純子、土屋英明、鳥居隆三
(滋賀医科大学・動物生命科学研究センター)

【目的】当研究センターでは、カニクイザルの計画的室内人工繁殖を実施するため、顕微授精等の発生工学的手法を導入している。その際必要となる成熟未受精卵子(MII 卵子)は、性腺刺激ホルモンの9日間連日投与による卵巣刺激法によって卵胞発育を促した後に採取している。今回は、この連日投与方式に代えて、ジャケット式プログラマブルインフュージョンポンプ(PIP)を用いた微量連続投与により、卵胞発育を促し MII 卵子の採取が可能か否かの検討を行った。

【方法】成熟メスカニクイザルを用いて、GnRH (0.9mg/head)を皮下投与した日にジャケットを着せ馴化を開始した。約2週間後、麻酔下で腹腔鏡により卵巣の休止状態を確認し、PIPをジャケットに同梱し、ポンプに接続されたチューブを背部皮下に埋設した。性腺刺激ホルモンの hMG は 15IU/kg/day 投与とするため、流量 300 μ l/hour にプログラムをセットし、9日間微量連続投与を行った。また比較の為、従来法として hMG(15IU/kg)を9日間連日筋肉内投与を行った。その後、各々10日目に hCG(400IU/kg)を筋肉内投与し 40 時間後に発育卵胞より採卵を行い、採取した卵子を顕微鏡下で成熟ステージごとに分類し、成熟率を比較した。

【結果および考察】PIPを使用したカニクイザル1頭から採取した卵子は、MII 卵子:46個、MI 卵子:1個、GV 卵子:6個、DG 卵子:0個であり MII 成熟率は 87% (46/53)であった。比較の為に行った従来の hMG 筋肉内投与個体(1 頭)の MII 成熟率は 50% (13/26)であった。以上の様に、今回用いたPIPによる MII 成熟率は、従来の筋肉内投与に比べ良好であった。これは、PIPによる長期間の微量連続投与により血中ホルモンが一定濃度に保たれた結果、卵子の成熟が促されたのではないかと考えられる。この手法の利用が可能となれば連日の筋肉内投与が不要となり作業性が向上するだけでなく、対象動物へ与える毎日の保定、注射針刺入による痛みやストレスも軽減され、動物福祉の観点からも有効であると考えられる。今後さらに例数を増やし、PIPの有効性の検討を行う予定である。

鼠径リンパ節への転移を認めたカニクイザルの子宮内膜症

○中村紳一朗^{1,2}、小野文子¹、寺尾恵治³、鳥居隆三²

(¹予防衛生協会、²滋賀医科大学動物生命科学研究センター、³医薬基盤研霊長類医科学研究センター)

子宮内膜症は内膜組織が、主に骨盤腔および腹腔内に播種、腔内組織に定着し、性周期と共に出血や炎症を繰り返す生殖器疾患である。重篤な場合は、肺をはじめとする他臓器への転移が知られている。子宮内膜症はカニクイザルをはじめとするサル類の多くの種でも報告されているが、骨盤腔および腹腔以外への転移は報告されていない。

病理解剖の際、肉眼的に腹腔への播種を示す子宮内膜症が確認された 8 例のカニクイザル（平均 19 歳）の子宮体部、腹腔内播種組織、鼠径リンパ節のホルマリン固定、パラフィン包埋標本を用い、病理組織学的、免疫組織化学的検索を行った。後者の一次抗体としては抗ケラチン、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）モノクローナル抗体を用いた。

8 例すべてに内膜組織の子宮筋層から外膜への浸襲像が見られた。腹腔内播種組織は、多数の小型腺腔からなる大小の結節を構成するものが 5 例、大型嚢胞を形成するものが 3 例であった。鼠径リンパ節の腺構造は 8 例中 4 例に見られ、腹腔内で大小結節を形成したうちの 3 例、大型嚢胞を形成したうちの 1 例であった。4 例ともに、腺上皮と間質細胞から構成される子宮内膜に類した構造を持っていたが、腺上皮の増殖が優位だった。また間質細胞を持たない数個の腺上皮の細胞塊も認められた。リンパ節の腺構造の腺上皮はすべての例でケラチン陽性、間質細胞は陰性だった。ER は腺上皮が 4 例中 3 例、間質細胞が 4 例中 1 例、PR は腺上皮が 4 例中 4 例、間質細胞が 4 例中 3 例陽性だった。リンパ節の腺構造は 4 例ともに ER、PR のいずれかが陽性だった。

これら腺上皮と間質細胞からなる腺構造が ER ないしは PR を持つことから、この組織は子宮内膜に由来することが明らかとなった。内膜組織の転移ルートとして、数個の腺上皮細胞塊が鼠径管またはリンパ管を經由し、鼠径リンパ節に定着することが予想された。この病態はヒトで知られる鼠径部子宮内膜症に一致していた。

<第97回研究会（平成20年3月7日）>

テーマ：マラリアとショウジョウバエ

1. マウスを用いたマラリア研究の醍醐味

大野 民生（名古屋大学大学院・医・医学教育研究支援センター実験動物部門）

2. 疾患モデル動物としてのショウジョウバエ

山本 雅敏（京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝資源センター）

マウスを用いたマラリア研究の醍醐味

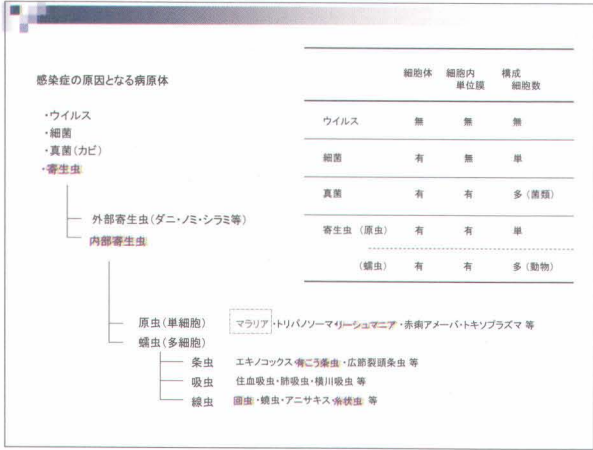
大野民生

(名古屋大学大学院医学系研究科 附属医学教育研究支援センター 実験動物部門)

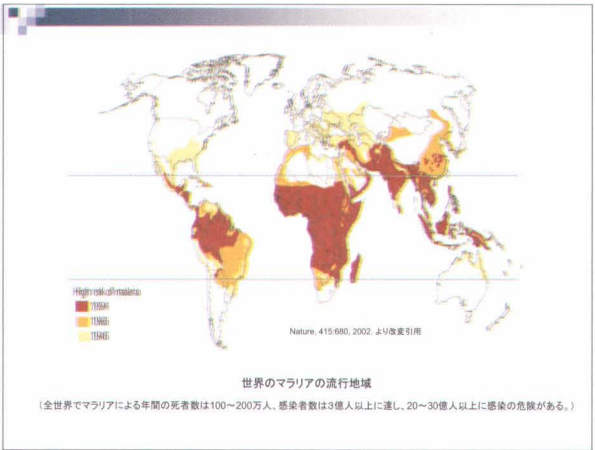
感染症の原因となる病原体はウイルス・細菌・真菌・寄生虫に分類されるが、なかでも寄生虫は単細胞の原虫類から多細胞の蠕虫類まで極めてバリエーションが豊富な集団である(スライド1)。しかも、寄生虫はウイルスや細菌などより大きなゲノムを有し、宿主ゲノムと極めて複雑な凌ぎ合いを演じている。したがって、寄生虫症は寄生虫と宿主双方のゲノム間相互作用の一端と捉えることができる。

寄生虫症のなかでもマラリアは、現在もなお世界中で猛威をふるっている悪名高き感染症であり(スライド2)、マラリア原虫(*Plasmodium* 属)の感染によって引き起こされる疾患の総称である。このマラリアによる死者は熱帯・亜熱帯地域を中心に年間 200 万人に達している(スライド3)。犠牲者の多くは4種のヒトマラリア原虫のうち熱帯熱マラリア原虫(*P. falciparum*)の感染によるものである(スライド4)。マラリアに対しては未だワクチンが開発されていないことに加え(スライド5)、その治療に有効なクロロキン等の薬剤に対する耐性原虫株の蔓延から(スライド6)、ワクチン開発や新規治療薬の開発が望まれている。マラリア原虫の生活環は媒介蚊であるハマダラ蚊(*Anopheles* 属)と各原虫種に固有の宿主(脊椎動物)から成立している。すなわち、マラリア原虫は蚊の中腸・唾液腺や宿主の肝臓・赤血球など極めて異なった環境に臨機応変に適応しながら各ステージにおいて分化・増殖を繰り返している(スライド7)。したがって、このマラリアに対するワクチン開発や新規治療薬の開発の基盤として、マラリア原虫と媒介蚊や宿主における相互関係を分子レベルで解明することが極めて重要であり、そこに日本等の先進国の果たすべき役割は大きいと考えられる(スライド8)。マラリアにおける宿主と原虫の相互関係を分子レベルで解明するにはモデルを用いた解析系が必須であり、その代表例がネズミマラリア原虫である。ネズミマラリア原虫ではその生活環を構成する全ての生物種(原虫・蚊・マウス)のゲノム情報が利用可能となっており、このモデル系はマラリア研究において重要な存在となっている(スライド9)。

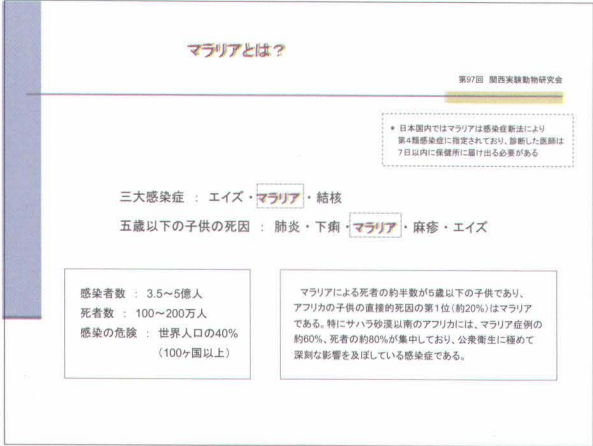
ヒトマラリアでは、病態形成に関与する極めて多くの要因が複雑に絡み合って多様な病態像を形成しているが、その中でも重要な因子として宿主の遺伝的要因が挙げられる(スライド 10)。実際、ヒトのマラリアでは、感染抵抗性に関与する幾つかの遺伝子が知られている(スライド 11)。特に、鎌型赤血球症やサラセミア等の遺伝性の赤血球異常症患者はマラリア抵抗性を有するため、マラリア流行地域の集団内にはこれらの異常症の原因遺伝子がしばしば高頻度に存在している。この事実は宿主の遺伝的因子がマラリアの病態形成に極めて大きく関与している事を端的に示している(スライド 12)。しかし、ヒト集団では年齢や栄養状態など様々な環境要因を統御することが難しく、先に挙げたごく一部の例を除けば、マラリアの病態形成に関与する宿主遺伝子についての詳細な分子機構の解析には限界がある。そこで、我々は各種環境要因を統御した感染実験が可能なネズミマラリア原虫感染マウスを用いている。マウス系統間には極めて大きなネズミマラリア原虫感染抵抗性の差が存在しており(スライド 13)、この差を規定する宿主遺伝子を同定しその機能を解明することは、マラリアの治療・予防戦略への寄与に繋がると考えている。これまでの我々の解析から、アトピー性皮膚炎のモデルとして有名なマウス NC 系統は、ネズミマラリア原虫株に対して感染初期の高増殖性を示すだけでなく、感染原虫株によってはヒトマラリアの最大の死亡原因となっている脳マラリア症や、腎障害等の合併症を誘発することが判明した(スライド 14)。したがって、NC 系統はヒトマラリアの病態形成機構を分子レベルで解析するための格好のモデルとなると考え、現在、各種病態形成に関与する宿主遺伝子を同定すべく順行性遺伝学の手法を用いた解析を試みている。



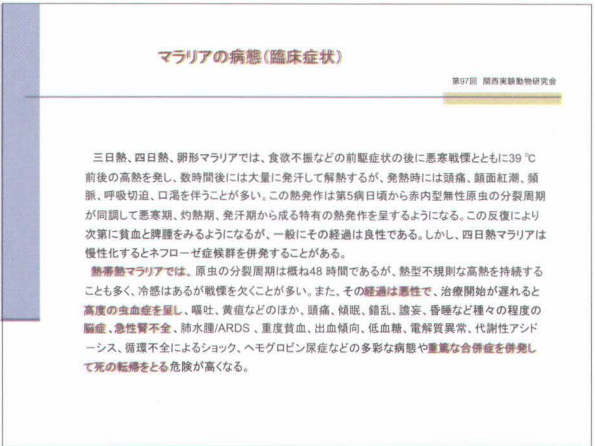
1



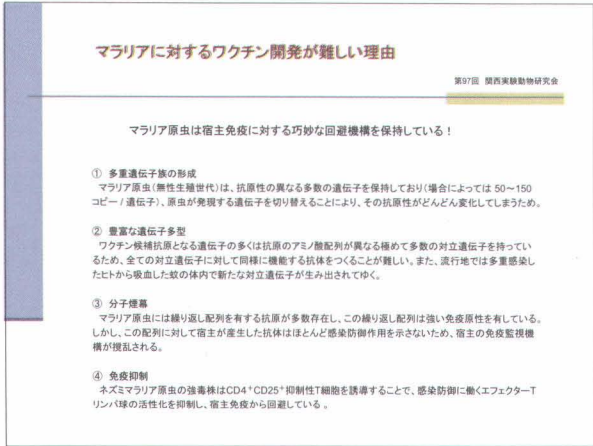
2



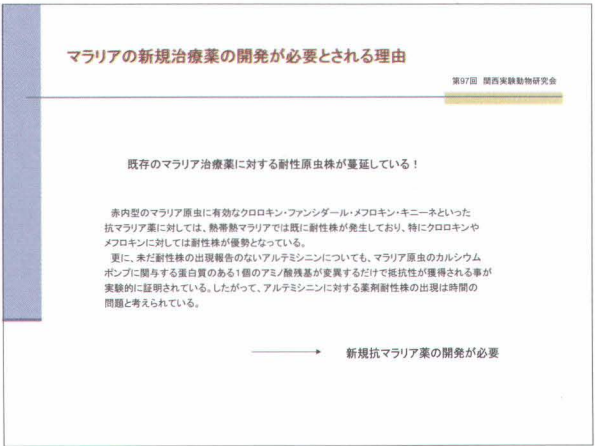
3



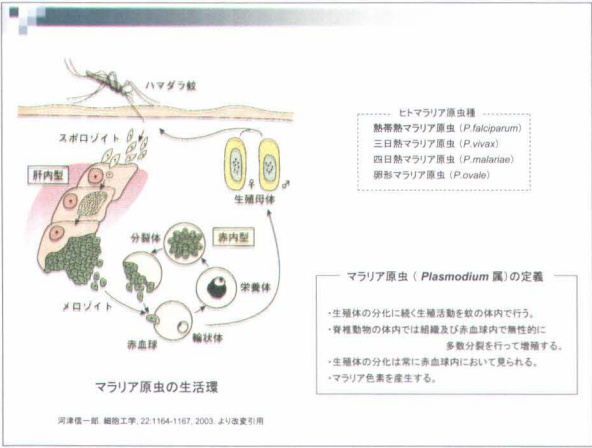
4



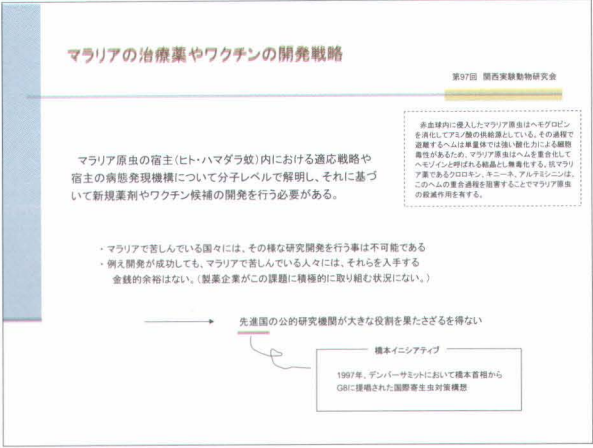
5



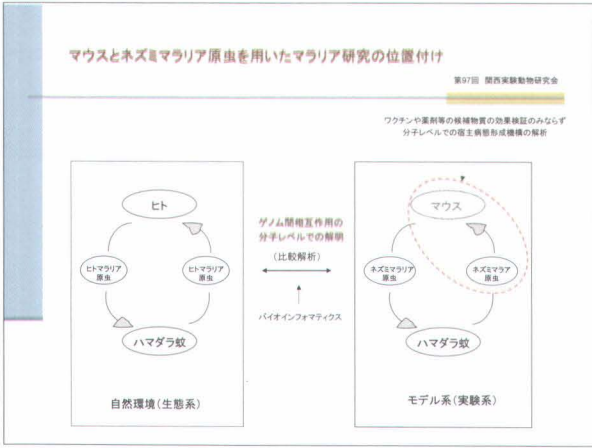
6



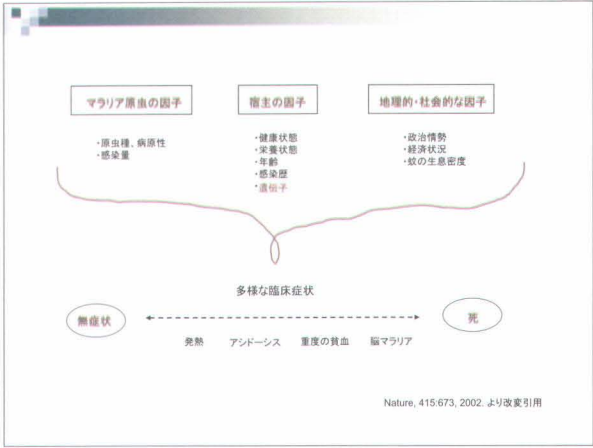
7



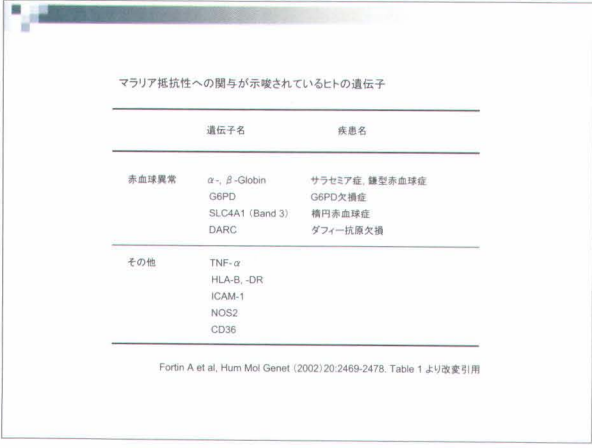
8



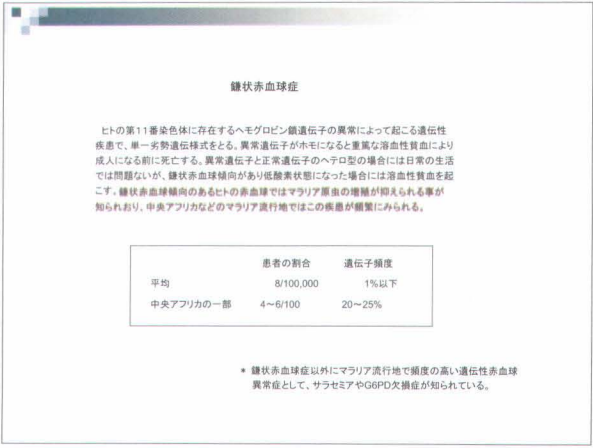
9



10



11



12

各種マウス系統の *P. yoelii* 17XL(10⁶個)
感染初期における 原虫の増殖性

第97回 関西実験動物研究会

感染後の原虫増殖(感染赤血球の増加)が顕著で、
感染後1週以内に全個体が死亡する。

感受性(高増殖性)

NC/Jlc

≒ C3H/HeN ≒ MRL ≒ NOD ≒ A/J < ...

... < DBA/2 ≒ CBA/N ≒ C57BL/6J ≒ 129X1/SvJ

抵抗性(低増殖性)

感染後の原虫増殖(感染赤血球数の増加)が
比較的緩やかで、感染3週後には体内から
原虫を完全に排除し、マウスは死亡しない。

13

マラリア研究における NC 系統の特性

第97回 関西実験動物研究会

マラリア原虫感染

- ・原虫の高増殖性 (*P. yoelii* 17XL 株)
- ・原虫の排除遅延 (*P. yoelii* 17XL 株)
- ・脳マラリアの発症 (*P. berghei* ANKA 株)
- ・ネフローゼ症候群の発症 (*P. chabaudi* AS 株)

宿主のマラリア病原体形成機構の
分子レベルでの解明

感染させる原虫株を変えるだけで、
ヒトマラリアの典型的な合併症を含む
多様な病態モデルを作製できる

こんなマウスは他にない!

アレルギー疾患

- ・アトピー性皮膚炎感受性
- ・アナフィラキシーショック感受性

各々の病態発症に直接的印関与する原因遺伝子は
異なっている。両者(マラリアとアレルギー感受性)に
共通する何らかの遺伝的背景があるのではないか?

14

疾患モデル動物としてのショウジョウバエ

山本雅敏

京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝資源センター

はじめに

ショウジョウバエは実験動物のカテゴリーには入っていません。しかし、最近特にショウジョウバエが実験動物でないことに違和感を持つ研究者が多くなってきたような印象を、以前より強く感じるようになってきました。これは、生命科学研究に生物種の壁が取払われ、各生物種の持つ生命機構、あるいは機能的原点の共通性が広く理解されるようになったからだと考えられます。特定の研究を行う上で観察や分析に有利な生命現象を示す生物種を実験材料に使用する事は、生物の普遍的な生命機構の理解につながるという認識が、以前にも増して浸透しており、一般化できる研究成果を研究者が相互に求めるようになってきたという事でしょう。

20世紀末のゲノム解析研究の成果は生物種間の遺伝子の相同性が確認され、生命の基本に大きな違いは無いという事実を明解に証明しました。この研究成果は、各生物種の持つ特性を研究対象とすることで、モデル生物という概念がより理解しやすい形で受入れられるようになったと思います。なかでもショウジョウバエは遺伝学の研究材料として長い歴史があり、ゲノムサイズがヒトやマウスの1/20と小さいにもかかわらず、詳細な遺伝学的、細胞遺伝学的遺伝子地図が作成されました。減数分裂における染色体分配機構が明らかにされたことで、多くの染色体異常が作成され、染色体メカニックスと呼ばれる交配による染色体工学の分野が成立しました。その成果として、一本の染色体を抽出し、その染色体をホモに持つ個体を作成するとか、抽出した染色体を毎世代そのまま系統として維持する技術などが開発され、交配だけで、遺伝的背景が同一あるいは極めて類似している多くの集団を作り出すことが出来ます。遺伝学的研究を常にリードし、高等真核生物であることによるヒトの疾患モデル生物としてのショウジョウバエを紹介させていただきます

ショウジョウバエの特徴

1. 遺伝学研究に最適

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)は、体長2-3mmの双翅目昆虫で、遺伝資源モデル生物として広い研究領域で用いられています。飼育は簡単

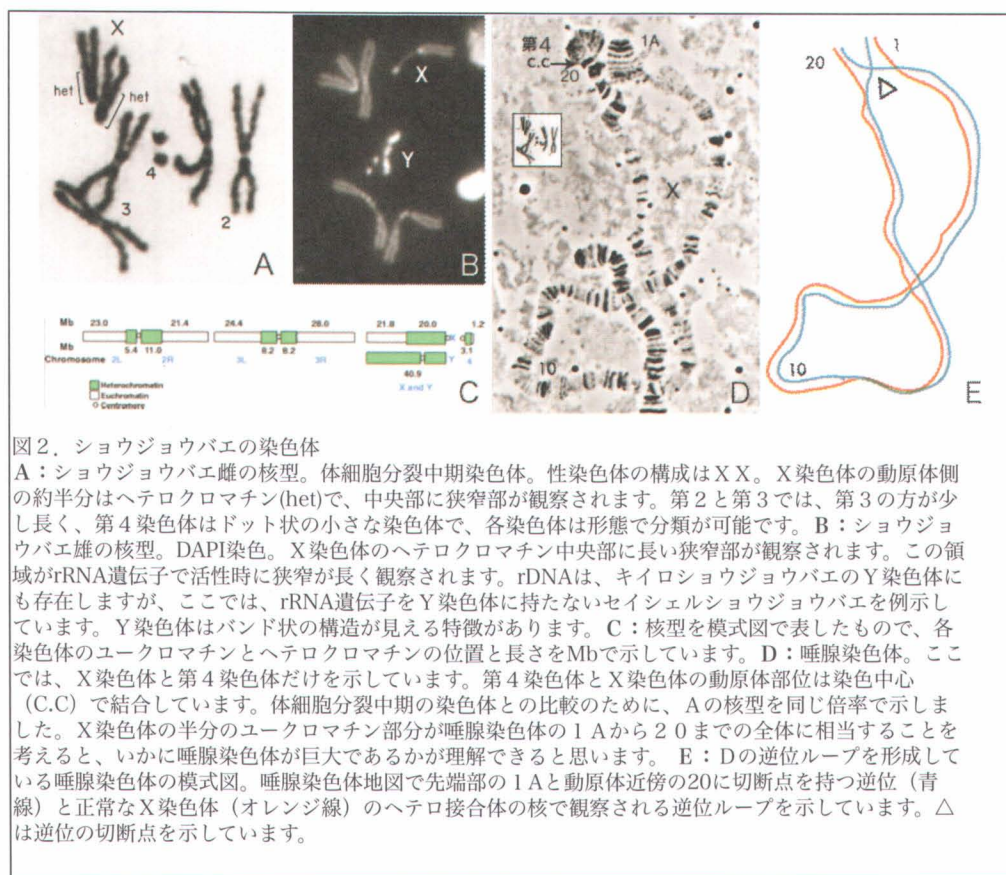


図1. キイロショウジョウバエ野生型雄

で、人工飼料（約3.5ml）の入った飼育瓶(H100mm x 25mm)に成虫を移し入れ、24℃で、約10日後に次世代が生じます。この世代時間の短さに加えて、1匹の雌は2、3日後から産卵を開始し約200～300の子供を残すため、一個体を利用して遺伝的特性の観察・解析を行うことも可能です。しかし、多数の個体を扱う事が容易である事から、100,000-200,000匹を対象とする自然突然変異などの研究も頻繁に行われました。安価に、多数の個体を厳密な飼育環境の制御下で実験に使用可能な高等真核生物として認められています（1）。

2. 遺伝子数とゲノムサイズ

遺伝子数は約14,000で、ゲノムサイズは約165,000,000bpです（2）。ヒトやネズミの推定遺伝子数は約30,000で、ゲノムサイズは3,150,000,000bpですから、単純な比較をするとショウジョウバエは約半分の遺伝子数で生物として生存し、子孫を残すなど生命活動を営んでいます。生物の持つ基本的な生命現象を理解するためには、高等生物でゲノムサイズが小さいものを選択することは、遺伝子の機能を解明する上でより有利です。



3. 巨大染色体の存在と染色体異常

ショウジョウバエの染色体は、性染色体のX（あるいは第1）とY染色体、それに常染色体の第2、第3、第4染色体で構成されています。全ての染色体は核型で判別できます（図2 A、B）。小さな第4染色体は約4.5 Mbpです（図2 C）。染色体数が少ない事は、連鎖群が少ない事で、遺伝子座の決定が容易であり交配によってさまざまな研究目的の遺伝子構成を持つ個体や集団の作製も容易になるなど極めて重要な利点があります。

通常の核型分析に用いる細胞分裂中期の染色体は卵原細胞や精原細胞、あるいは神経芽細胞で観察可能です。しかし、ショウジョウバエの遺伝学を確固たるものにした最も重要な染色体は、唾液腺にある唾腺染色体です。この染色体は多糸性染色体 (polytene chromosome) と呼ばれ、10回の複製後分裂しないまま1,000本以上の間期の染色体が相同部分で密接に対合し巨大化したものです。この巨大染色体により、体細胞中期の染色体を1000-2000倍に拡大して観察すると同様の解像度が得られることになりました（図2 D,E）。Bridges (1935)は、視野数や解像度で使いにくかった当時の顕微鏡で、約5000本の縞模様のバンドをスケッチしています（3）。バンド一本あたり約25-30KbpのDNAに相当する高い解像度で、染色体の微細な構造や遺伝子座の観察が可能です。

4. 多様な遺伝資源系統

a) 突然変異と突然変異系統

ショウジョウバエが研究用生物として用いられてから100年になります。この比較的短い長い歴史の中で、多くの突然変異が発見されました。また、染色体異常を巧みに操作する染色体メカニクス（4）により、雌雄を継代して飼育するだけで遺伝的特性を維持する“系統”維持技術の改良が重ねられてきました。そのような技術によって、現在約50,000系統以上が存在すると思われます。ショウジョウバエ系統の閲覧・検索・提供依頼は<http://www.DGRC.jp/>（国内）、<http://flystocks.bio.indiana.edu/>（アメリカ合衆国）を参照して下さい。

遺伝的欠損等を持つ突然変異などを用いて、現在8,500以上の遺伝子の機能がすでに確認あるいは推定されています。ショウジョウバエではこのように膨大な遺伝情報を背景にして、ひとつの遺伝子の機能解明研究から、複数の遺伝子に依存する生命現象の解明に研究の動向が変化しています。各種変更遺伝子や突然変異に関するデータベースとしてはたくさんありますが、詳細な研究成果データベースとしては<http://flybase.net/>, 初心者向けには<http://www.DGRC.kit.ac.jp/~jdd/>を参照してください。

b) 染色体異常

ショウジョウバエには多種多様な染色体異常があります。なかでも、X染色体の両

腕が動原体ひとつで付着した、付着X染色体（これは画期的な染色体異常です）。また、同一染色体の2ヶ所で切断後染色体断片が逆方向に修復されて出来る逆位(Inversion)（図2 D,E）は、逆位内で発生した組換えによる組換え体は生じない事から、複数の逆位を持つ染色体はバランサーとして極めて重要です。染色体異常の利用なくして今日の遺伝学上の発見は非常に限られたものになっていたでしょう。不妊、致死、減数分裂異常など、ホモ接合体の個体や集団の生存が不可能な突然変異が維持可能となり、しかも系統からはいつでもホモ接合体を入手できます。特に、染色体の一部が欠落した欠失は、遺伝子座の決定、遺伝子発現などに非常に重要な染色体異常（図3）です。欠失領域が少しずつ重なり連続した欠失セットがほぼ全ゲノムを網羅する形で系統化されています（5）。

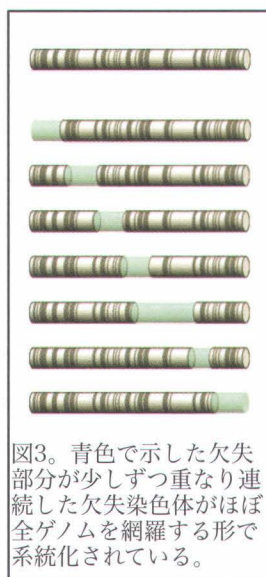


図3. 青色で示した欠失部分が少しずつ重なり連続した欠失染色体がほぼ全ゲノムを網羅する形で系統化されている。

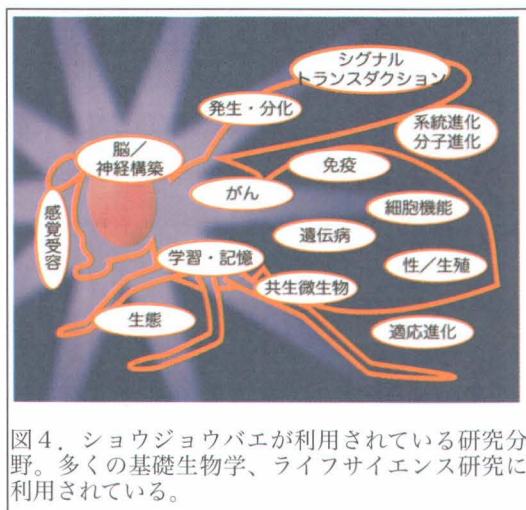
c) P-因子挿入系統

ゲノム研究の成果に基づく遺伝子の機能解析研究が急速に増加し、ショウジョウバエ突然変異がゲノム全域からスクリーニングできるシステムが完備され、多くの系統が開発・維持されています。近年、トランスポゾン的一种P因子から様々な機能を持つ改変型P因子が考案され、ゲノムのプロモーターの下流にGAL-4遺伝子が挿入されることでそのプロモーターに依存したGAL-4の発現を起こさせるNP系統、転移挿入したゲノム位置の両方向にUASを介して強制発現させるGS系統、GAL-4産生系統をドライバーとして、強制的にRNAi効果を狙うRNAi系統、遺伝子の下流あるいはプロモーター下流にGFP遺伝子を転移挿入する事で得られる蛍光発光型遺伝子発現可視化系統であるプロテイントラップ系統などが、体系的に作製されています。P因子挿入系統はそれぞれのベクターの機能により、gain-of-function やloss-of-functionの突然変異の開発が期待できます。

ショウジョウバエでのRNAi系統とは、dRNAやDNAの注入ではなく、NP系統などのGAL4発現系統を利用すると、生体内でヘアピン型の二本鎖RNAを組織特異的に強制発現することができる方法を利用したものが主流です。特定の遺伝子をターゲットにする場合、その遺伝子の部分的ヘアピン構造を持った系統を選択して、発現させたい組織や器官で発現するGAL-4系統と交配することによって、狙った遺伝子のloss-of-function変異を組織特異的に誘導することが可能となる訳です。

5. ヒト遺伝病遺伝子との相同性

ショウジョウバエにはヒトの疾患原因遺伝子に対応する相同遺伝子が多数発見されています（表1）。このことから、ショウジョウバエを用いた研究によりヒトの疾病



ヒト遺伝病に対応する
ショウジョウバエの相同遺伝子数

疾病種別	遺伝子数
悪性腫瘍	75
神経疾患	67
貯蔵	42
眼科疾患	38
免疫疾患	31
発育異常	31
心臓血管系疾患	25
骨格形成異常	23
聴覚障害	12
内分泌疾患	47
血液疾患	37
代謝系疾患	103
その他	128
合 計	659

の原因解明や治療に応用できる変更遺伝子の発見とその機能の解明など治療法の開発に繋がる研究が活発化しているのです。

6. 最近のショウジョウバエを用いた研究例

a) パーキンソン症候群に関連する遺伝子

早期発症型ドーパミン作動性神経変性の運動欠損の原因遺伝子としてショウジョウバエの *pink1*、*parkin*、*DJ-1* などが知られていた。最近、*Pink1* タンパク質はミトコンドリアに局在し、*pink1* 突然変異体には雄不妊、筋肉変性、ミトコンドリアの形態異常、さらに内幕クリステの分断化が観察されました。ヒトの *PINK1* を持った遺伝子導入ショウジョウバエは妊性やミトコンドリアの形態が正常となり、ヒトと機能的に類似していることなどが示されました (8)。

b) 左右非対称性の決定

体の表面構造は基本的に左右対称であるが、胚の腸管、成虫の腸管や精巣の形態が左巻きと右巻きのどちらに決定されるかを解明するステップとなる遺伝子の同定とその制御機構の研究成果が報告されました (9)。同時期に、雄の外部生殖器が形成される過程で、野生型では360度右巻きになるのですが、左巻きに回転する突然変異が発見されました (10)。同定された遺伝子はともに *Kyo31DF* 遺伝子でした。

c) 受精遺伝子の決定と解析

受精に重要な卵形成時に機能する遺伝子 *sesame* や、精子形成時に必要な遺伝子 *sneaky*、*misfire*、などが次々報告されています (11, 12, 13)。キイロショウジョウバエの精子の長さは2mmもあり体長とほぼ同じ長さです。他のショウジョウバエ種の精子も非常に長いことから、ショウジョウバエの精子は何故長いのか? という問題に興味を持たれていますが、この問題はまだ解決されていません (14)。

d) 糖尿病に関する研究

井村裕夫先生がショウジョウバエ遺伝資源センターを訪問された際、ショウジョウバエにも肥満が見られるとか、脂肪の増減があるとか、インシュリン類似タンパク質やインシュリン受容体が存在するなどの話を興味深くお話する機会がありました。その際に、これまで医学としてヒトとほ乳類が研究の対象であったものから、ショウジョウバエなどの昆虫を用いた研究が今後重要になる事を再確認しました。

このような背景もあって、本講演ではショウジョウバエのインシュリン産生細胞 (Insulin-Producing Cells, IPCs) を取り上げ、インシュリン様ペプチドを産生するほ乳類との相同性の高い5つの遺伝子 *Drosophila* insulinlike peptide 遺伝子 (*dilp1* から *5*) の失活と

その影響について報告している Rulifson らの論文 (15) を中心に紹介しました。相同性の高い5つの *dilp* 遺伝子は、幼虫、蛹、成虫の脳に存在していました。この論文では、*dilp* 遺伝子のプロモーターをドライバーとして用いて細胞死誘発因子を作り出す Reaper 遺伝子を強制発現させ (上述のトランスポゾンベクターを用いた系を利用して作製したものです)、IPCs

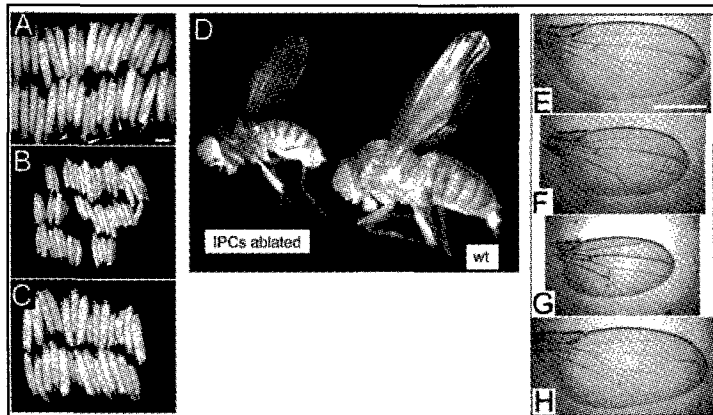


図5. IPCの消失による体のサイズに関する表現型。脳にあるインシュリン産生細胞の消失は細胞数と細胞のサイズの変化に依存した体の大きさを減少させ、体液中の炭水化物濃度を上昇させます。A: 野生型の幼虫。B: 細胞死によりIPCを消滅させた幼虫。C: IPC消滅させた状況で、*dilp2*遺伝子を強制発現させた幼虫。野生型と同じ大きさに回復している。D: 野生型(wt)と飼育温度を29°CでIPC消滅させた成虫の比較。E-Hは翅の大きさの比較。E: Aと同じ野生型。F: Bと同じIPC消失。G: Cと同じ救済された個体群。H: Dと同じIPC消失型。

を消滅させるという人為的に突然変異状態を作成する方法で、*dilp* 遺伝子の機能を調査したものです。その結果、図5のように、野生型の幼虫と比べて小さく、成長速度も有意に遅くなり、成虫も小さくなった。翅の大きさは、細胞数と細胞の大きさを計る目安になるが、その大きさにも顕著な違いが生じています。同様に、*Drosophila* insulin receptor の機能喪失型の突然変異 (*dinr^{E19}*) などの研究成果も多く、細胞や器官のサイズを調節する効果があるとの報告があります。インシュリン様ペプチドの過剰発現により体のサイズは大きくなるということです (16)。このような、インシュリンの研究はショウジョウバエで非常に盛んで、2007年度には医学会でショウジョウバエの講演があったという事で、今まで考える対象にしていなかったショウジョウバエの重要性を認識したとの内科医の研究者から驚きのコメントが届きました。

上の研究分野以外にもショウジョウバエはさまざまな基礎生物学研究の分野で最適のモデル生物として利用されています。試しに、思いつく‘研究内容’（睡眠、痛み、学習、思いつく病名など）と‘ショウジョウバエ’をキーワードにしてネット検索してみれば、いかに多くの研究分野で利用されているかが実感できることでしょう。

最後に、ショウジョウバエは病気を伝搬する危険な病原菌やウイルスを持っていないという点からも、実験用生物また実習用生物として重要である点を付け加えておきます。

文献

- (1) M. Ashburner, K. G. Golic, and R. S. Hawley: *Drosophila: a laboratory handbook*. 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2005
- (2) M. D. Adams et. al., *Science* 287: 2185 - 2195, (2000)
- (3) C. B. Bridges: *J. Heredity* 26: 60-64, (1935)
- (4) 山本雅敏: 遺伝 35: (1)87-91, (2)54-60, (3)57-60, (4)95-100, (5)66-71, (6)65-71, (7)101-105, (10)99-104, (11)67-72, (1981)
- (5) Ryder E.J., Blows F.M., et al.: *Genetics*. 167(2):797-813, 2004
- (6) Thibault S.T., Singer M.A., et al. : *Nature Genetics* 36(3):283-287, 2004
- (7) Parks A.L., Cook K.R., et al. : *Nature Genetics* 36(3):288-292, 2004
- (8) Clark, I.E., M.W. Dodson, C. Jiang, J.H. Cao, J.R. Huh, J.H. Seol, S.J. Yoo, B.A. Hay & M. Guo: *Drosophila pink1* is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature* 441, 1162-1166, 2006
- (9) Hozumi, S., R. Maeda, K. Taniguchi, M. Kanai, S. Shirakabe, T. Sasamura, P. Speder, S. Noselli, T. Aigaki, R. Murakami & K. Matsuno: An unconventional myosin in *Drosophila* reverses the default handedness in visceral organs. *Nature* 440, 798-802, 2006
- (10) Speder, P., G. Adam & S. Noselli: Type ID unconventional myosin controls left-right asymmetry in *Drosophila*. *Nature* 440, 803-807, 2006
- (11) Loppin, B., E. Bonnefoy, C. Anselme, T.L. Karr & P. Couble: The histone H3.3 chaperone HIRA is essential for chromatin assembly in the male pronucleus. *Nature* 437, 1386-1390, 2005
- (12) Ohsako, T. & Yamamoto, M-Y.: in preparation
- (13) Bjork, A.,& S. Pitnick: Intensity of sexual selection along the anisogamy-isogamy continuum. *Nature* 441, 742-745, 2006
- (14) Joiner, W.J., A. Crocker, B.H. White & A. Sehgal: Sleep in *Drosophila* is regulated by adult mushroom bodies. *Nature* 441, 757-760, 2006

<第98回研究会（平成20年6月13日）>

テーマ：われらが評議員の研究から学ぶ

1. 遺伝解析：実験動物から家畜へ

山田 宣永（京都大学大学院）

2. ヒトに寄生するサナダムシ－*Taenia*属条虫の生物学－

岡本 宗裕（鳥取大・農・獣・寄生虫病学）

3. 生物の雄・雌が決まる仕組みとその破綻機構の解明

－性決定の分子遺伝学－

星 信彦（神戸大学大学院・農・応用動物形態機能学）

遺伝解析：実験動物から家畜へ

山田 宜永（京都大学大学院農学研究科）

これまでに、筆者は哺乳動物（実験動物と家畜）における単一遺伝子性形質および量的形質の遺伝的制御機構の解明という 2 つに大別される研究を行ってきた。

単一遺伝子により支配される単一遺伝子性形質の遺伝的制御機構の解明については、LEC ラット（実験動物）の肝内銅代謝異常、LEC ラット（実験動物）の免疫不全および Piebald マウス（実験動物）の毛色異常という 3 つのテーマについて分子遺伝学的解析を行い、原因遺伝子・変異を同定し、形質発現の分子機構を明らかにした。

さまざまな環境要因に加えて、複数の遺伝子の組み合わせが影響する量的形質の遺伝的制御機構の解明については、OLETF ラット（実験動物）の高血糖、OLETF ラット（実験動物）の肥満と筋肉内脂肪蓄積、体細胞クローン牛（家畜）の発生異常および黒毛和種（家畜）の脂肪交雑という 4 つのテーマについてゲノム解析を行い、原因遺伝子・変異あるいは関連遺伝子を同定し、形質発現の分子機構の解明につなげた。

今回、実験動物（Piebald マウス）における単一遺伝子性形質（毛色異常）の遺伝解析、家畜（黒毛和種牛）における量的形質（脂肪交雑；経済形質）の遺伝解析、および実験動物（OLETF ラット）を用いた脂肪交雑形質（筋肉内脂肪蓄積）の遺伝解析という 3 つの研究課題について報告する。

I. Piebald マウスにおける毛色異常の遺伝解析

Piebald マウスは、白斑点様の異常な毛色を示す。Piebald-lethal マウスでは、“Black-eyed white”という毛色異常と巨大結腸がみられるが、Ednrb 遺伝子の欠失により神経冠細胞に由来するメラノサイトと腸管神経叢が欠損し、これらの表現型が引き起こされることが明らかにされていた (1)。

Piebald の白斑点様の毛色異常についても、相補性試験により Ednrb が原因遺伝子であることを示した (2)。しかし Ednrb の cDNA 配列には変異はみられず、Ednrb の mRNA レベルおよびタンパク質レベルが～25%に減少し、メラノサイトが部分的に欠損することがこのような毛色異常につながることを明らかにした (2)。そこで、cerebral astrocyte の初代培養系で Ednrb mRNA の安定性を調べたが、Piebald における Ednrb mRNA レベルの減少は mRNA の安定性によるものではなかった (2)。次に、ルシフェラーゼレポー

ターアッセイにより、Ednrb の 5 kb および 11 kb の 5'フランキング領域のプロモーター活性を調べた。Ednrb 5'フランキング領域をもつレポーター遺伝子を C6 glioma および ROS17/2 osteosarcoma 細胞へトランスフェクションし、ルシフェラーゼ活性を測定した。その結果、Piebald での Ednrb 発現の減少がプロモーター領域の変異に起因するかもしれないという可能性を否定した (2)。

そこで、Piebald での Ednrb 発現減少がスプライシング変異により引き起こされているかもしれないという可能性を検討することとした。最初に、エクソン-イントロン境界領域のシーケンス解析を行った。これらの領域において、スプライシングに関わるコンセンサス配列は Piebald アリルで保存されていた (2)。次に、エクソントラッピング実験により Ednrb のスプライシングの正確さ・効率を調べた。Ednrb のエクソン 2~エクソン 5 およびエクソン 5~エクソン 7 の領域を、それぞれエクソントラッピングベクターに挿入し、COS1 細胞へトランスフェクションした後、COS1 細胞内でトラッピングベクターから転写されたエクソンを質的および量的に調べることで、Ednrb のイントロン 2~イントロン 6 のスプライシングの正確さ・効率を測定した。しかし、正確さ・効率ともに Piebald アリルにおいて異常は認められなかった (2)。イントロン 2~イントロン 6 のイントロン長についても、Piebald アリルと正常アリルで差は見られなかった (2)。

ここで、イントロン 1 のイントロン長が Piebald アリルで~5 kb 長くなっていることを発見した (2)。そこで、イントロン 1 について、制限酵素切断地図を作成し、シーケンス解析を行ったところ、Piebald アリルでは、エクソン 1 から 15 kb 下流、エクソン 2 から 5 kb 上流の位置に、5056 bp のレトロトランスポゾン様エレメントが挿入していた (2)。このエレメントの 5'および 3'末端には 507 bp の direct repeat が存在し、その direct repeat は、AATAAA poly(A) signal および T cluster という転写終結および 3'プロセッシングに関わるコンセンサス配列を持っていた (2)。さらに、direct repeat は splice acceptor site および branch site というスプライシングの 3'受容側のコンセンサス配列を保存していた (2)。また、レトロトランスポゾン様エレメントの挿入位置では、6 bp のホストゲノム DNA が重複していた (2)。これらの結果から、Piebald の Ednrb イントロン 1 に存在するレトロトランスポゾン様エレメントは、レトロトランスポジションにより挿入したものと考えられた (2)。

こうして、Piebald での Ednrb 発現減少が、レトロトランスポゾン様エレメント上での未成熟な転写終結およびエクソン 1 からエレメントへの異常なスプライシングにより引き

起こされているかもしれないという可能性を検討することとした。Ednrb cDNA エクソン 1 をプローブとしたノーザン解析を行ったところ、Piebald では正常な Ednrb のサイズ (4.4 kb) をもつ RNA とともに 6 kb の RNA が検出され、それらの RNA 量は、それぞれ、正常マウスでみられた Ednrb mRNA 量の～25%および～75%であった (2)。Ednrb cDNA エクソン 2～6 およびレトロトランスポゾン様エレメントをプローブとしたノーザン解析では、Piebald において、4.4 kb の RNA のみ (正常マウスの Ednrb mRNA 量の～25%) および 6 kb RNA のみが検出された (2)。さらに、RT-PCR およびシーケンス解析により、Piebald では、エクソン 1 の splice donor site とレトロトランスポゾン様エレメントの 5' direct repeat の splice acceptor site のスプライシングにより生成されるキメラ RNA が存在することを示した (2)。また、3'RACE およびシーケンス解析により、Piebald では、レトロトランスポゾン様エレメントの 3' direct repeat の poly(A) signal の下流 28 bp の位置で転写終結する RNA が存在することを明らかにした (2)。これらの結果から、Piebald アリルでは、～1 kb Ednrb エクソン 1 と～5 kb レトロトランスポゾン様エレメントを含む～6 kb hybrid transcript が転写されると結論した (図 1) (2)。

Piebald アリルでは、エクソン 1 から正常に転写開始した transcript の～75%が、イントロン 1 に挿入したレトロトランスポゾン様エレメントの 3' direct repeat 上で未成熟に転写終結してしまい、エクソン 1 の splice donor site とエレメントの 5' direct repeat 上の splice acceptor site との間で異常なスプライシングを受けると考えられた (図 1)。最後に、heterologous gene の発現に対するレトロトランスポゾン様エレメントの挿入の影響を調べるために、ルシフェラーゼレポーターアッセイを行った。イントロンに Piebald Ednrb と同じ方向でレトロトランスポゾン様エレメントを挿入したレポーター遺伝子では、挿入していないレポーター遺伝子に比べ、ルシフェラーゼ活性が～25%に減少した (2)。しかし、Piebald Ednrb と逆の方向でエレメントを挿入したレポーター遺伝子では、そのような活性の減少はみられなかった (2)。これらの一連の研究結果から、イントロン 1 へのレトロトランスポゾン様エレメントの挿入により引き起こされる Ednrb transcript の未成熟な転写終結と異常なスプライシングが、Piebald マウスの部分的機能欠損表現型の原因となる正常 Ednrb transcript の減少につながるということを解明した (2)。

II. 黒毛和種牛における脂肪交雑の遺伝解析

筋肉に脂肪がきめ細かに交雑した「霜降り」とよばれている脂肪交雑の良い牛肉は、高

級牛肉として流通しており、肉牛生産者はその高い収益性や国際的な競争力といった点から、脂肪交雑に優れた肉牛を生産することに大きな関心を寄せている。ウシ脂肪交雑には、飼育・飼養条件といった環境要因に加えて、複数の遺伝子座つまり量的形質遺伝子座 (QTL) の組み合わせが影響している (3)。

脂肪交雑形成能力の高い個体とそうでない個体を肥育の早期に判別し、それらの能力に合った肥育計画を立てることができれば、効率的な牛肉生産をすすめる上で非常に望ましい。さらに、その能力を若齢時に判定できれば、世代間隔を短縮することができ、育種改良に多大の貢献をする。

このような事情に鑑み、ウシの脂肪交雑形成能力を遺伝子型判定により評価するために、ウシの脂肪交雑形成に関連する遺伝子の探索、同定が試みられているが、実際にウシの脂肪交雑形成能力の遺伝子型判定に用いることのできる、関連遺伝子は同定されていない。

こうして、ウシの脂肪交雑形成能力に関連する遺伝子を特定することを目的として、脂肪交雑形成能力が極めて高いことが判明している黒毛和種雄牛「糸福号」由来の体細胞クローン牛とその能力が極めて低いホルスタイン種牛の間で、脂肪交雑形成が始まる前後 8 ～14 ヶ月齢の時期の最長筋において、mRNA の経時的発現パターンが異なる遺伝子を調べた (4)。ディファレンシャルディスプレイ (DD) 法に～100 種類のプライマーペアを利用することで、77 個の遺伝子において経時的発現パターンが異なっていることを明らかにした (5)。これら 77 個の遺伝子の塩基配列を決定し、さらにホモロジー検索を行うことにより、ヒトなどで機能が既知となっている 35 個の遺伝子と未知である 42 個の遺伝子を明らかにした (5)。これらの遺伝子について、リアルタイム PCR により発現パターンを確認するとともに、RH マッピングおよび *in silico* マッピングを行い、そのマッピング位置を黒毛和種父方半きょうだい家系で検出された脂肪交雑 QTL の染色体位置と比較した (6)。さらに、機能既知の遺伝子については、脂肪細胞系細胞の増殖・分化・成熟およびその細胞を取り巻く外部環境に関与する機能をもつものか否かを検索した。このような発現パターン、マッピング、および機能情報より、23 個を脂肪交雑関連遺伝子の候補として選択した (例として EDG1 : 図 2)。

これらの候補遺伝子について、クローニングおよび塩基配列の決定、並びにデータベースの検索を行うことによりウシゲノム構造を明らかにした。さらに、ゲノム構造に基づき、エクソンおよびプロモーター領域(～8 kb)をカバーするプライマーの設計を行い、PCR ダイレクトシーケンスを行うことで、高脂肪交雑能力牛群と低脂肪交雑能力牛群間での一塩

基多型 (SNP) を検出した (7-9)。

これらの SNP について黒毛和種雄牛の集団を用いた相関解析を行った結果、機能既知の遺伝子である EDG1 および TTN、並びに未知遺伝子の c17-25 における SNP の遺伝子型間の変動が 5%水準で有意となり、それぞれ、G 対立遺伝子、T 対立遺伝子および A 対立遺伝子が脂肪交雑形成に対してプラスに働いていることを明らかにした。ここで、種雄牛の集団はいくつかの系統から構成されており、SNP と脂肪交雑との相関が集団の構造化と関与していることが考えられたので、特定の集団に属する後代肥育牛を用いた相関解析を行った。大分系、鳥取系および兵庫系の 3 つの集団を用いて、半きょうだい肥育牛の育種価について、遺伝子型を母数効果、種雄牛を変量効果とするモデルで分散分析を行ったところ、3 つの集団のいずれにおいても、EDG1、TTN および c17-25 の SNP の遺伝子型の変動は危険率 5%以下で有意となった。以上の結果から、EDG1 SNP の G 対立遺伝子、TTN SNP の T 対立遺伝子および c17-25 SNP の A 対立遺伝子が脂肪交雑形成に対してプラスの効果をもっていることが示された (8, 9)。

さらに、黒毛和種と比べて脂肪交雑形成能力が低いホルスタイン種、日本短角種および褐毛和種において、これら 3 つの対立遺伝子は低いアليل頻度を示した。

高脂肪交雑能力牛群で高い発現レベルを示す EDG1 は筋肉内血管形成に関与するという既知の機能を持っているが (図 2)、発現増加により筋肉内血管形成さらにはエネルギー供給が亢進し、脂肪交雑形成能力が高くなるかもしれない。また、高脂肪交雑能力牛群で低い発現レベルを示す TTN は筋繊維生成に関わるという既知の機能を持つが、発現減少により筋組織の構造を弱体化し、脂肪細胞系細胞の増殖・分化・成熟を促進させることで、脂肪交雑形成能力が高くなるかもしれない。さらに、高脂肪交雑能力牛群で低い発現レベルを示す c17-25 は機能未知であるが、その発現の減少が高い脂肪交雑形成能力につながっているかもしれない。このような仮説が正しければ、3 つの遺伝子は脂肪交雑原因遺伝子 (QTG) であり、その発現に関わる多型が原因変異 (QTN) となる。一方で、これら 3 つの遺伝子・SNP は真の脂肪交雑原因遺伝子・変異と連鎖不平衡にあるという可能性も考えられる。(EDG1 SNP については、ルシフェラーゼレポーターアッセイにより、functional SNP つまり脂肪交雑原因変異ではないということが示されている (8)。)

いづれにしても、これら 3 つの SNP は脂肪交雑と有意な相関を示すことから、これらの SNP の遺伝子型判定を種牛、肥育牛に適用していくことで、肉用牛産業に多大な貢献ができると考えられる。

Ⅲ. OLETF ラットを用いた脂肪交雑の遺伝解析

ウシ脂肪交雑 QTL は、半きょうだい家系を用いた解析により、数多く同定されている (3)。しかしながら、その QTL の原因となる遺伝子は、依然として明らかにされていない。このような遺伝子を同定するために、ウシ脂肪交雑のモデルとなりうる小実験動物を利用することで、筋肉内脂肪量増加に関わる原因遺伝子の同定を行い、最終的に、その遺伝子情報をウシゲノム解析へと外挿するという戦略をとることとした。

ヒト肥満型糖尿病のモデル動物として確立された Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) では (10)、筋肉内脂肪量が増加しており (11)、ウシ脂肪交雑のモデルとしても有用であると考えられる。そこで、OLETF に QTL 解析、コンジェニック系統を用いたファインマッピング解析、さらにポジショナルキャンディデートアプローチを適用することで、OLETF の筋肉内脂肪量増加に関わる原因遺伝子を同定することを試みた。OLETF と F344 ラットの間の交配により作出された F2 インタークロスの雄個体において、35 週齢時での筋肉内脂肪量の表現型データと全ゲノムを網羅するマイクロサテライトマーカーのタイピングデータを用いた QTL 解析を実行した。その結果、筋肉内脂肪量 QTL (Imf) が 1 番染色体上に存在し、OLETF アリルが脂肪量の増加を引き起こしていることを明らかにした (12)。

Imf QTL の 1-lod support interval は、D1Rat166 と D1Rat90 の間の～10 cM であることから、原因遺伝子の同定のためにはコンジェニック系統を用いたファインマッピング解析が必要である。F344 由来のレシピエントゲノムをバックグラウンドとし、Imf の存在領域のみを OLETF 由来のドナーゲノムとした Imf コンジェニック系統をスピードコンジェニック法により作製した (13)。Imf コンジェニックについて、35 週齢時での筋肉内脂肪量の表現型を調べることで、Imf の領域に筋肉内脂肪量に関わる原因遺伝子が存在することが確認された (13)。さらに、Imf コンジェニックより、Imf 領域内で組換えが生じている informative recombinant を作製し、35 週齢時での筋肉内脂肪量の表現型を調べることで、Imf の存在領域を D1Rat225 と D1Rat90 の間の～2.3 cM の領域に局限した (図 3) (14, 15)。

筋肉内脂肪量増加に関わる原因遺伝子が存在する Imf 領域として局限された 2.3 cM の領域のラットゲノムシーケンスを検索したところ、46 個の遺伝子がある領域に位置することが明らかにされた (図 3) (14, 15)。46 個の遺伝子の中で、生理学的機能の点で原因遺

伝子の候補となりうる遺伝子の検索を行った結果、腸管からの食餌性脂肪吸収に影響し、ヒトにおいて BMI 値と関連することが知られている Pnlip 遺伝子を取り上げられた(図 3) (14, 15)。また、46 個のうち 25 個の遺伝子をプローブに、35 週齢時の肝、脾、筋肉および脂肪組織から抽出された RNA をターゲットに用いたマクロアレイ解析を行った。その結果、脾 RNA をターゲットに用いた解析において、Pnlip 遺伝子の発現レベルが OLETF で増加していることが示唆された(図 3) (14, 15)。こうして、Pnlip 遺伝子は筋肉内脂肪量増加に関わる原因遺伝子の有力な候補になりうると考えられた(図 3)。Pnlip の脾における OLETF での発現レベルの増加は、competitive RT-PCR 法を用いて確認された(14, 15)。

OLETF と F344 における Pnlip の～9.8 kb の 5'上流隣接領域、～13.1 kb のエクソン/イントロン領域および～3.6 kb の 3'下流隣接領域を、ラットゲノムシーケンスから得られるプライマーによりダイレクトシーケンス解析することで、唯一転写開始点の上流～3.4 kb の位置に VNTR 多型を検出した(14, 15)。この VNTR 多型は、F344 アリルに比べ OLETF アリルにおいてサイズが長いものであった。ファインマッピング解析に用いられた Imf の存在領域内で組換えが生じている informative recombinant について、Pnlip 遺伝子の VNTR 多型および脾での発現レベルを解析した。その結果、筋肉内脂肪量に関わる原因遺伝子は、Pnlip の VNTR 多型および発現レベルと共分離することが明らかにされた(14, 15)。プロモーターおよびイントロン領域での多型が遺伝子発現レベルの変化を引き起こし、量的形質発現の原因変異となっている例が多いということが報告されている。さらに、プロモーター上の VNTR 多型が遺伝子発現に影響することも、多くの遺伝子で報告されており、INS1 遺伝子では、プロモーター上の VNTR 多型が骨格筋、脂肪組織および脾での発現レベルに影響を及ぼすことで(長いサイズのアリルが発現レベルを増加させることで)、糖尿病発症につながっていることが示されている。また、家畜においても、ウシ乳量・乳質形質原因遺伝子として同定された DGAT1 遺伝子の原因変異としてプロモーター上の VNTR 多型が関わっていることが報告されている。こうして、ポジショナルクランディングアプローチにより、Pnlip 遺伝子の VNTR 多型が OLETF での発現レベルの増加を引き起こし、筋肉内での脂肪量の増加につながっていると考えられた。

Pnlip 遺伝子はウシ 26 番染色体上に位置する。黒毛和種雄牛に由来する半きょうだい家系を用いた QTL 解析により、そのウシ 26 番染色体領域上には脂肪交雑原因遺伝子も存在する。こうして、現在、Pnlip 遺伝子をウシ脂肪交雑原因遺伝子の候補として取り上げ

ウシ集団での関連解析を行い、ウシ集団における Pnlip 遺伝子の脂肪交雑原因遺伝子としての同定を行っている。

1 つ目では、実験動物を用いた遺伝病の遺伝解析、2 つ目では、家畜を用いた家畜経済形質の遺伝解析、3 つ目では、実験動物をモデルとして用いた家畜経済形質の遺伝解析という研究課題について、報告した。2 つ目の報告にあるように、家畜経済形質の関連遺伝子を同定するという目的であれば、家畜を用いた解析で対応できると考えられるが、ファインマッピング実験、ポジショナルクランディングアプローチ、さらに生化学的解析に基づく原因遺伝子としての確認実験を必要とする家畜経済形質原因遺伝子の同定を目的とする場合、3 つ目の研究課題で紹介したように、実験動物の利用が有効であると考えている。

参考文献

1. Hosoda K, Hammer RE, Richardson JA, Baynash AG, Cheung JC, Giaid A, and Yanagisawa M. (1994) *Cell* 79, 1267-1276
2. Yamada T, Ohtani S, Sakurai T, Tsuji T, Kunieda T, and Yanagisawa M. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 10799-10807
3. 山田宜永、谷口幸雄、三宅武、佐々木義之 (2003) *動物遺伝育種研究* 30, 21-28
4. 永田幸洋、揖斐隆之、谷口幸雄、山田宜永、佐々木義之 (2002) *動物遺伝育種研究* 30, 11-18
5. Sasaki Y, Nagai K, Nagata Y, Doronbekov K, Nishimura S, Yoshioka S, Fujita T, Shiga K, Miyake T, Taniguchi Y, and Yamada T. (2006) *Anim. Genet.* 37, 40-46
6. Yamada T, Taniguchi Y, Nishimura S, Yoshioka S, Takasuga A, Sugimoto Y, and Sasaki Y. (2006) *Anim. Genet.* 37, 184-185
7. Sasaki Y, Yamada T, and Miyake T. (2006) *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 13-01
8. Yamada T, Itoh M, Nishimura S, Taniguchi Y, Miyake T, Sasaki S, Yoshioka S, Fujita T, Shiga K, Morita M, and Sasaki Y. (submitted) *Anim. Genet.*
9. Yamada T, Sasaki S, Sukegawa S, Yoshioka S, Watanabe N, Morita M, Murakami H, Morimatsu F, Fujita T, Miyake T, and Sasaki Y. (in preparation)
10. Yamada T, Miyake T, Taniguchi Y, Muramatsu Y, Kose H, Matsumoto K, and

Sasaki Y. (2003) *Animal Frontier Sciences*, (Eds.) E. Sato, H. Miyamoto, N. Manabe, Hokuto Shobo, pp.295-302

11. 梅津陽介、田之村秀樹、三宅武、谷口幸雄、眞鍋昇、山田宜永、佐々木義之 (2001) *動物遺伝育種研究* 29, 3-10

12. Tanomura H, Miyake T, Taniguchi Y, Manabe N, Kose H, Matsumoto K, Yamada T, and Sasaki Y. (2002) *J. Vet. Med. Sci.* 64, 45-50

13. Tanomura H, Taniguchi Y, Muramatsu Y, Kose H, Miyake T, Matsumoto K, Yamada T, and Sasaki Y. (2003) *Exp. Anim.* 52, 303-308

14. Muramatsu Y, Yamada T, Taniguchi Y, Ogino T, Kose H, Matsumoto K, and Sasaki Y. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331, 1270-1276

15. Muramatsu Y, Yamada T, Taniguchi Y, Ogino T, Kose H, Matsumoto K, and Sasaki Y. (in press) *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*

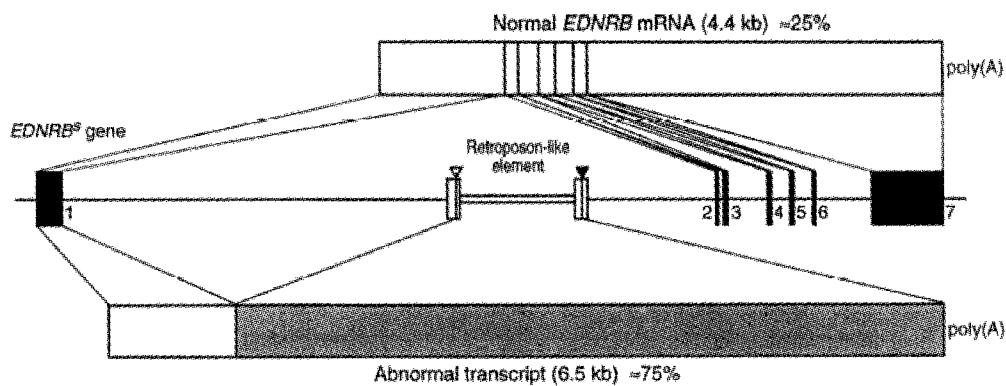


図1. Schematic representation of the *EDNRB* transcripts in piebald mice

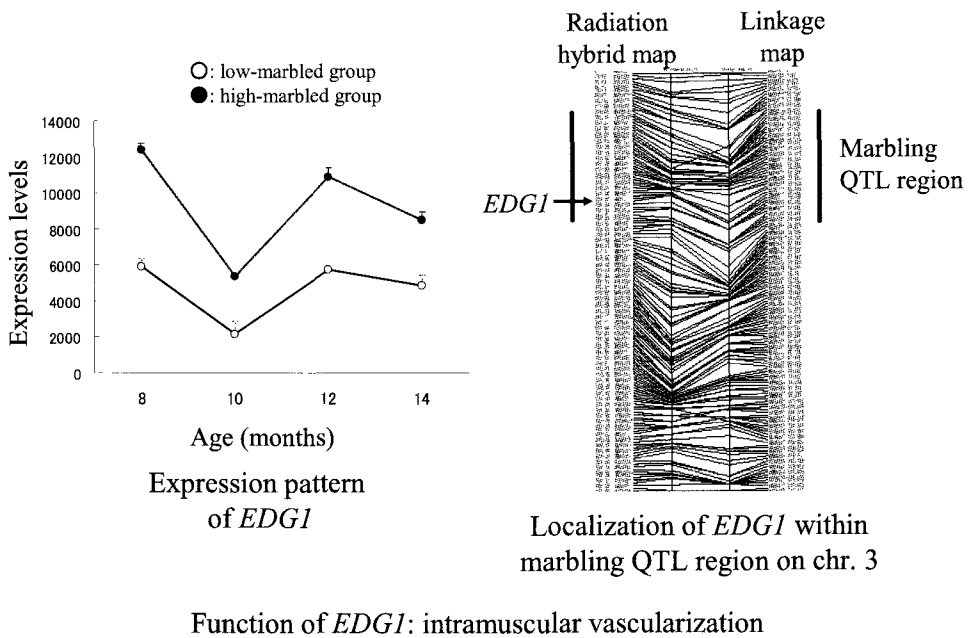


图2. Identification of *EDG1* as positional functional candidate for marbling gene

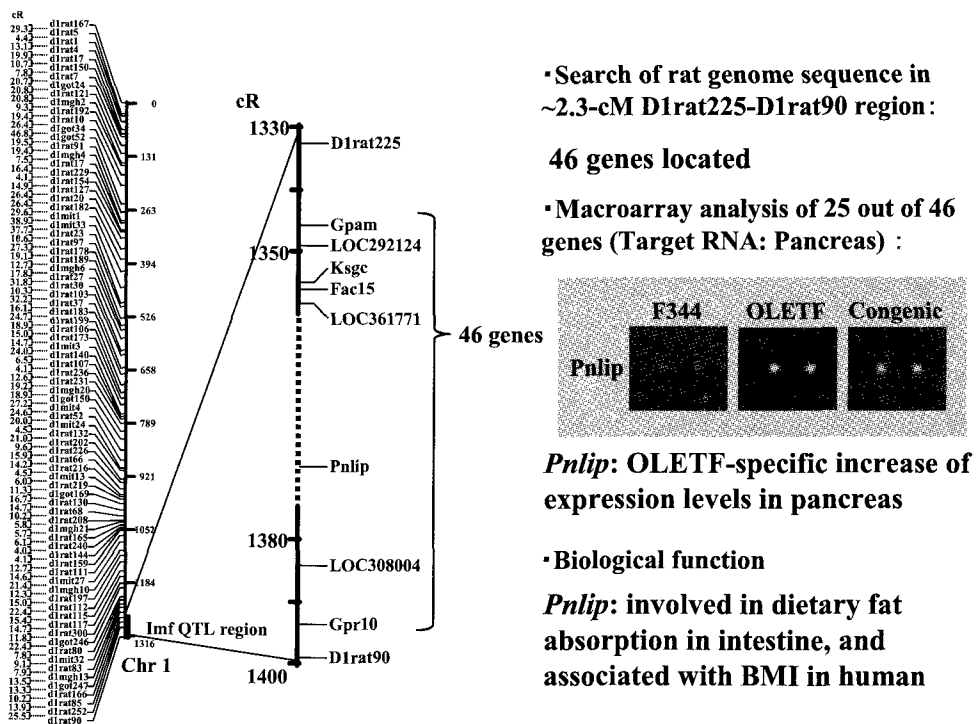


图3. Identification of *Pnlip* as positional functional candidate for *Imf* QTL

ヒトに寄生するサナダムシ

—*Taenia* 属条虫の生物学—

岡本宗裕（鳥取大学農学部獣医学科寄生虫病学教室）

テニア属の条虫は、中間宿主、終宿主とも哺乳類をその宿主としており、中間宿主は終宿主から排出された虫卵を、終宿主は中間宿主内の幼虫（囊虫）を経口摂取することにより感染する。ヒトに寄生するテニア属条虫は、ブタサナダムシと呼ばれる有鉤条虫 *Taenia solium* とウシサナダムシと呼ばれる無鉤条虫 *T. saginata* が古くから知られていた。しかし、アジア・太平洋地域の各国で牛肉を食べないのに地域住民が無鉤条虫に感染しているという事例が報告され、ブタの内臓で囊虫が発育する第三の人体寄生テニア属条虫 *T. asiatica*（仮称：アジア条虫）が記載され、今日に至っている。上述の3種はそれぞれ、ブタ、ウシ、ブタを中間宿主とし、終宿主はヒトのみである。また、ヒトは有鉤条虫の中間宿主にもなりうるため、虫卵を経口摂取した場合、脳囊虫症と呼ばれる重篤な寄生虫疾患に罹患することになる。脳囊虫症は、新興・再興感染症として地球規模で年々その深刻さが増大してきている難治性人獣共通寄生虫疾患である。一方、無鉤条虫やアジア条虫はヒトにそれほど重篤な疾病を起こさないが、畜産領域から見た場合には、感染部位は食用不可で廃棄となるためきわめて重要な問題である。

テニア症を予防するためのもっとも有効な方法は感染源である家畜とヒトの間で成立している生活環を断ち切ることである。終宿主はヒトのみ、中間宿主は家畜、すなわちヒトが家畜に寄生した囊虫を食べない限り生活環がまわらないことになる。このように考えると、コントロールは理論的には比較的容易に感じられる。しかし、生活習慣や食文化に根ざしたこれらの条虫の生活環を断ち切ることは、実際にはきわめて困難である。また、これら条虫の遺伝的多様性や種間関係が問題をさらに複雑にしている。

今回は、テニア属条虫の生物学的特徴、流行の現状、遺伝的多様性、交雑等、最近得られた知見について、紹介する。

本稿は現在論文投稿中につき、
次号に掲載する予定です。

編集委員会

星 信彦（神戸大学大学院農学研究科分子形態学分野）

1. はじめに

哺乳類では、ゲノムあたり2万2千の遺伝子があるといわれ、これに基づいて多種多様な細胞・組織・器官からなる統合体としての個体が形成される。個体形成過程には当然、雌雄の分化も含まれる。性分化は個体発生過程における種々の器官における雌雄差、すなわち性差の発現の集積結果と解釈される。

いかんにして1個の受精卵が増殖し、各動物固有の細胞、組織、器官に分化するか？ とくに生殖腺はその形態や機能に唯一『性』依存的差異が認められる組織であり、その発生過程には「性分化」という通常の組織では不要なステップが介在する。この点が生殖腺の分化を複雑にしている反面、研究対象としては極めて魅力的な素材である。生物は遺伝的多様性を獲得するために有性生殖という次世代に遺伝情報を受け継ぐシステムを構築した。いうなれば、種の保存のための基盤が『性の決定・分化』であり、生物の雄・雌が決まる仕組みは極めて重要な個体発生の分化過程あるいは生命活動と考えられる。精巣と卵巣とは何が違うのか。生殖腺に性差を与えるものは何か。

2. 性の決定・分化機構の探索の歴史的背景

アリストテレス（BC384～322）の時代以降20世紀に入るまで、ヒト胎児の性の決定は一般に環境因子、特に母親の食物あるいは栄養によるものと信じられていた。しかしながら、メンデルイズムの再発見（1901）により、脊椎動物および多くの無脊椎動物の性の決定は染色体の構成によると考えられるようになった。すなわち、性の決定および分化機構の研究の歴史は、性染色体の存在および役割の発見、性ホルモンによる内・外性器の分化の確立、ならびに近年の分子生物学的手法を利用した性の逆転患者に対する分子遺伝学的解析との密接な関連により急速に解明されてきた（図1）。とくに、未分化性腺の精巢化がY染色体上に位置するSRY（sex determining region of Y chromosome）遺伝子により誘導されることが1990年に初めて明らかにされて以来、性の決定・分化機構は速やかに解明されるものと思われた（図2）。しかしながら、1つの遺伝子によって制御されるほど性の分化機構は簡単ではなく、その作用機序には様々な転写因子の関与および段階があり、その複雑さが再認識されている。とくにSRYの転移や欠失では説明のつかない性逆

転の症例が報告されるにつれ、性決定に関与する他の遺伝子候補が次々に同定された (図 3, 4). また、人為的遺伝子変異の作製が可能となり、変異表現型から遺伝子の生体機能を究明することにより、多くの性分化関連遺伝子の発見が相次いでいる。しかしながら、精巣決定遺伝子 *SRY* ひとつをとってみても発見後 18 年が経過したものの未だ標的遺伝子がみつからず、最近では脊椎動物では 2 番目となるメダカの性決定遺伝子 (*DMY*) が特定され (図 5), その機能発現機構には他の多くの遺伝子の関与が考えられてきており、性の分化とその異常に関する基礎的あるいは臨床的問題はなかなか複雑である。むしろ漸く問題解決の糸口に到達したというのが現状であるといえるのかもしれない。

3. 生殖腺の性決定・分化機構に関わる最近の話題

1990 年以降、主に性腺の分化に異常を示す疾患の原因遺伝子の解明から、*SRY*, *WT-1* (Wilms' tumor-1), *SOX-9* (*SRY*-related HMG box-9), *DAX-1* (dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the human X chromosome gene 1) などの DNA 結合遺伝子が性腺の分化に必須であることが明らかにされてきた。一方、ノックアウトマウスの解析から *WT-1*, *Ad4BP/SF-1* などの転写因子の関与が示された。

性染色体はその名が示す通り性を決定する遺伝子の担体であり、性の一次分化 (遺伝的性の決定) を導く役割を担っている。ヒトを含む哺乳動物の性決定における遺伝的プログラムの原型は雌性化であり、このプログラムに雄性特異的な因子が作用することによって雄性化へ向かう (図 6)。すなわち、その原則は Y 染色体が存在しない場合には性腺原基は自動的に卵巣に分化し、Y 染色体がゲノムに加わると原基は精巣に分化するようにプログラミングされている。また、性分化のカスケード機構において、雄動物の内外生殖器の形成は主として精巣由来のホルモンである Müller 管抑制因子 (MIS) およびテストステロンに二次的に依存していることから、未分化性腺を精巣へと分化誘導する精巣決定因子 (TDF) が性の決定因子といえる (図 7)。

一方、性染色体上には性の決定に関与する遺伝子のみならず実に様々な遺伝子が存在する。このような性染色体の構造異常にはしばしば、相互転座、欠失、逆位、環状染色体、同腕染色体、重複などが認められる。また、表現型に影響するものから正常変異と考えられるものまで様々である。構造異常を伴い微細断片化した性染色体は一般染色体検査の結果、由来不明のマーカー染色体として認識されることも多い。このような染色体を有する細胞はモザイクとして組織限定性に認められることも稀ではない。時には左右の組織でその染色体構成が異なることも起こる。Y 染色体の構造異常は由来不明のマーカー染色体として発見されることが多い。一方、X 染色体の

構造異常は表現型に影響し、性分化そのものよりも特定の疾患群として確立しているものが多い。

X染色体とY染色体は進化的には一對の常染色体から生じたものと考えられている。Y染色体上にはSRYをはじめとして、精子形成に関与する遺伝子などが存在する。Y染色体上の遺伝子は哺乳類の間でも保存性が低く、かなりの多様性を有している。一方、X染色体上には数多くの遺伝子が存在し、進化的な保存性も高い(図8, 9)。

細胞遺伝学的手法を用いた染色体構造異常の解析では、微小マーカー染色体の由来、染色体転座における切断点や欠失の有無などを分析する上で、実際には解析不能な場合も少なくない。性分化異常症の多くは、性染色体に関連したモザイク、転座、欠失などが認められる。また、染色体には形態上の異常が認められない性の逆転患者の確認もされている。我々の検討で染色体検査のみでは不明であったY成分の有無を明らかにすることができ、性分化異常症の発症の原因がY染色体以外にも存在する可能性を示すことができた。また、多胎妊娠における性分化異常に性決定遺伝子とのキメリズム、モザイシズムが密接に関与することも明らかにすることができた(図10-12)。

4. 生殖細胞とゲノム刷込み

配偶子におけるゲノム刷込み (genomic imprinting) は、胚が持つ父親由来と母親由来の一對の遺伝子の一方が優先的に発現されるようにマーク付けされることをいう。すなわち、哺乳類のゲノムは雌雄の生殖細胞において別々の修飾を受け、その結果、父由来、母由来ゲノムは機能的に非等価である。この刷込み現象の胚発生における重要性は、実際に刷込みを受ける遺伝子が次々と同定され、また、ターゲッティングによりそれらの機能が明らかにされるにつれますます明白になってきた。しかしながら、ゲノム刷込みを受ける遺伝子の生殖系列での発現を調べたところ、体細胞系列ではすべて父方あるいは母方のどちらかからのゲノムしか発現しないが、生殖細胞では等しく両方の対立遺伝子が発現していることが明らかとなった。これは始原生殖細胞における脱メチル化状態を反映するものか、あるいはより一般的なクロマチン構造の変化によるものかは不明であるが、この刷込みの「中和」現象は始原生殖細胞の大きな特徴であり始原生殖細胞の持つ全能性との関連からも非常に興味深い。刷込みが起きるのも、また、それが消去されるのも基本的には生殖系列に特異的な現象である。刷込みのメカニズムは未だ不明だが、刷込みの中心 (imprinting center) と呼ぶべき領域がゲノム上に存在し、それが *cis* に働いて近接する遺伝子に刷込みを与えると一般に考えられている。同様な発現調節としてX染色体の不活化の問題がある。これにも XIC (X-inactivation center) の存在が知られており、その周囲の遺伝子に *cis* に働いて発

現の抑制が起きる。刷込み、X 染色体不活化ともゲノムのメチル化が関与していることが知られている。一般に精子、卵はそれぞれ特徴的なゲノムメチル化のパターンを有するが、受精後、卵割期の初期胚ではゲノム全体にわたる脱メチル化が起きる。最近の研究によると、刷込みを受ける遺伝子群はゲノム上でクラスターをなし、刷込みドメインを形成している。また、ヒト卵母細胞および着床前初期胚に両親由来の XIST (X inactive-specific transcript) の発現が認められ、マウスでは父親由来の Xist のみであることから、マウスでは刷込みを受けるがヒトでは両対立遺伝子が発現する遺伝子もあり、これが刷込みの機構および進化の解明に寄与する可能性もある。ゲノム刷込みは生命体が有する極めて巧妙な生命調節システムであり、雌雄の間で繰り返され、生殖細胞の隠された機能を開発する上で重要な意義を持つと思われる、今後の研究の進展に大きな期待がもたれる。

これら生殖腺の性決定に関わる遺伝子群の関連を理解するのは極めて難しいが、SRY は primary TDF (testis determining factor)、SOX-9 は clinical TDF、DAX-1 は anti-TDF と単純に考えると、ヒトにおける性分化機構がわかりやすくなるものと思われる (図 13)。

5. 哺乳動物の雄・雌が決まるしくみとその破綻機構のエピジェネティック分子基盤

これまで我々は多数の性分化異常症例を経験し、その分子細胞遺伝学的解析からそれらには組織限定性の性染色体モザイク (X モノソミーモザイク) による性染色体遺伝子量補償機構の破綻が関与している可能性を示してきた (図 14)。しかしながら、何故染色体モザイクが生じるのか、モザイクによる遺伝子発現機構および性分化機構はほとんど明らかにされておらず、多様な性分化異常が生じることの説明は未だなされていない。『生命の設計図』であるゲノムを生体はどのように利用して細胞を分化・増殖させ、生殖器官を維持しているのかを理解するためには、どの遺伝子が「いつ」「どこで」働くかを知ることが、ポストゲノムにおける重要な問題と考えられる。近年、その遺伝子発現調節機構には、ゲノムに書かれた遺伝情報を変更することなく、個体発生や細胞分化の過程において遺伝子発現を制御する現象 (エピジェネティクス) が様々な分野で脚光を浴びている。受精から老化に至るまですべての細胞で重要な働きを有しており、メンデル遺伝では説明できない遺伝現象や、塩基配列に異常の見つからない癌抑制遺伝子のサイレンシング、クローン動物の成功率の低さや一卵性双生児の表現型の不一致などの原因として分子レベルで研究が進む『エピジェネティクス』が性分化機構においても解決の糸口になる可能性がある。

また、最近、哺乳類を含む脊椎動物では、ゲノム DNA のメチル化の程度は各体細胞により異なり、ゲノムの転写調節領域のメチル化は染色体異常あるいは遺伝子のサイレンス機構と関連し

ていることが明らかになってきている。一方、XY 女性（性逆転）患者では、精巣決定遺伝子 *SRY* の突然変異が原因であるのは 10–15% にすぎず、多くは説明のつかない症例で性分化破綻機構には不明な点が多い。また、X 染色体モノソミーモザイクも性分化異常症においてかなりの割合を占めるものの、その発症要因は不明であった。最近、我々は XY 女性において、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性を有する *P300/CBP-associated factor (PCAF)* 遺伝子の高発現から *SRY* のヒストンアセチル化異常 (*SRY* の持続高発現) が原因で性逆転になった症例を経験した (図 15, *Nat Genet* 誌投稿中)。また、遺伝子改変性転換 *SryTg-Ypos* マウスと精巣化抑制で知られる M33KO 系 B6 マウスとの交配から右性腺が卵巣に、左性腺が精巣に分化する真性半陰陽マウスを作製することに成功した (図 16)。この精巣および卵巣を個別に有する真性半陰陽マウスをモデル動物として未分化性腺から精子および卵子に至る生殖細胞レベルでの性染色体および関連遺伝子群のメチル化プロファイルならびにクロマチン修復因子の機能異常と性分化異常との関連から、生殖細胞の性差はいつ、どのように生じるのかを解明することが出来ると考えている。

また、さらに最近、Hunt *et al.* (2008) は Y 染色分体の動原体（常染色体や X 染色体とは形態学的、分子構造的に大きく異なる）の特性が半陰陽の原因となることを報告した。*Sry* が Y 染色体動原体に近いことを考慮すると、Y 染色体動原体領域のエピジェネティック変化が *Sry* や隣接遺伝子に影響するかもしれない。

細胞がゲノム情報をどのように活用するかを長期的に記憶・制御するためのシステムである DNA メチル化等の異常など、DNA メチル化プロファイル、DNA メチル化とクロマチン構造の解析（ポリコム関連タンパク、ヒストン脱アセチル化・メチル化酵素）により性分化機構の一端を解明できるものと期待できる。また、種の保存と密接に関連があり、同一の組織を起源としながら『性の決定機構』に従って分化を異にする精巣と卵巣。それらの分化と染色体モザイク、あるいはメチル化および遺伝子量補償機構との関連に焦点を当てることにより、生殖腺の発生・分化と動物の形づくりに新たな光をあてものであり、将来、性分化機構の解明に向けて新たな展開が期待されるとともに生命医科学、臨床医学および生殖医療の連携のもとに新たな展開が期待される。

6. まとめ (図 17, 18)

性の決定・分化機構の破綻によって生ずる性分化異常症は、上述のように多様な素因が関連すること、ならびに我々を含めこれまで多くの臨床研究報告から明らかになったように、複雑で多岐にわたった様々な様相を呈する。そして、その多くが単発的な発症であり、また、根本的な治

療法が確立されていないことなどから、従来では詳細に検討されることが少なかった。しかしながら、その発生頻度は出生児の 0.2〜0.3%に起こるとされ決して少なくないものであり、性別判定を誤れば、患者のアイデンティティーに関わる一生の問題となり、家族を含め精神的・肉体的苦痛は推し量ることのできないものとなる。それゆえ、性分化異常症を含め性分化機構の解明は今後推し進められていかなければならない急務と考える。今後は、家系解析も含め、性分化関連遺伝子群とその相互調節機構の解明につとめ、さらなる基礎的・臨床研究の発展を望みたい。

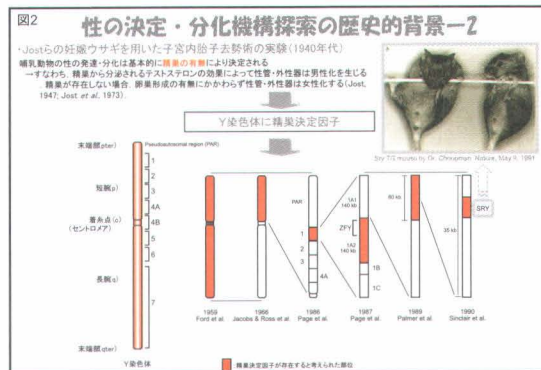
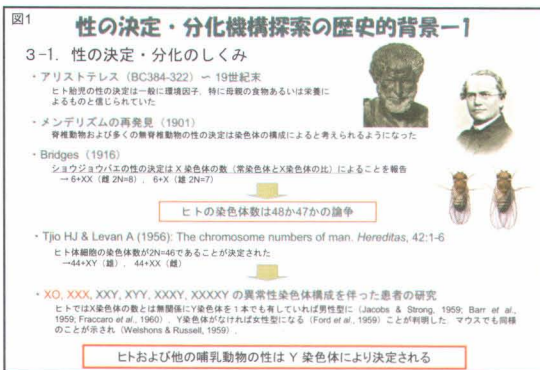
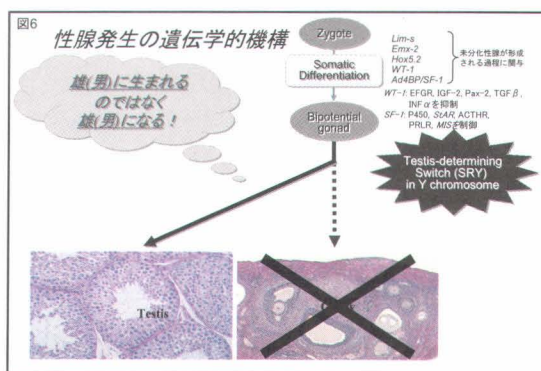
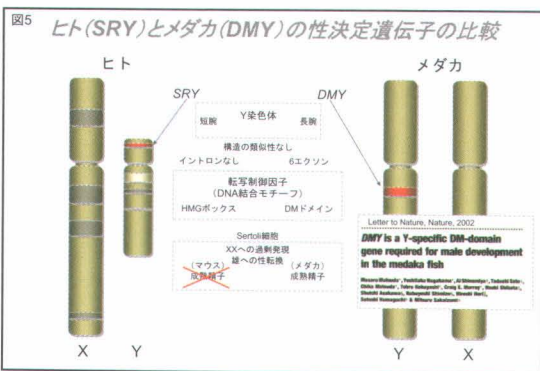


図3 泌尿生殖腺原基および生殖腺の分化を制御する転写因子

転写因子	DNA結合ドメイン	生殖腺関連組織での発現分布	標的遺伝子	ヒト遺伝子座	泌尿生殖系系の異常表現型
SRY	HMGf yHs	未分化性腺 (雄のみ)	不明	(Yp11.3)	精巣の卵巣化
WT-1	Zn7cβ ⁺ (Cys-His)	未分化性腺, Sertoli細胞, 腎原基	DAX-1, MIS, Ad4BP/SF-1	(11p13)	泌尿生殖系系の形成異常, 性分化異常
SOX9	HMGf yHs	未分化性腺, Sertoli細胞	MIS	(17q24)	生殖腺の形成異常, 性転換
SOX8	HMGf yHs	未分化性腺, Sertoli細胞	不明		
Ad4BP/SF-1	核受容体	未分化性腺, Sertoli細胞, Leydig細胞, 副腎原基	Xistf ⁺ 形成的遺伝子 MIS, Dax-1, Sox9	(9q33)	生殖腺と副腎の形成異常
DAX-1	核受容体	未分化性腺, Sertoli細胞, Leydig細胞, 副腎原基	Xistf ⁺ 形成的遺伝子 MIS	(Xq21)	生殖腺と副腎の形成異常
EMX2	ホモオキ yHs	未分化性腺, 腎原基	不明	(10)	生殖腺と腎臓の形成異常
GATA4	Zn7cβ ⁺ (Cys-His)	未分化性腺, Sertoli細胞	MIS		性分化異常
LHX9	ホモオキ yHs	未分化性腺, 腎原基	不明	(1)	生殖腺の形成異常
M33	ポリコム	未分化性腺, Sertoli細胞	不明	(11)	精巣の卵巣化
DMRT1	DMドメイン	未分化性腺, Sertoli細胞	不明	(9)	生殖腺の形成不全, 機能異常
ARX	Paired homeo	未分化性腺, 腎原基	不明	(X)	Leydig細胞形成異常
DMY	DMドメイン	不明	不明		メダカにおける性転換



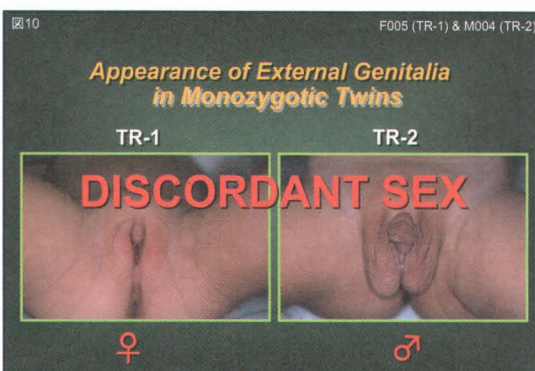
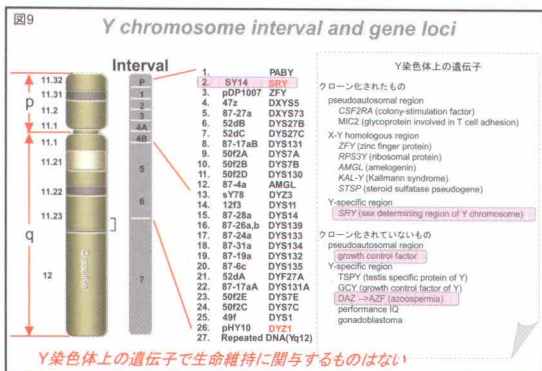
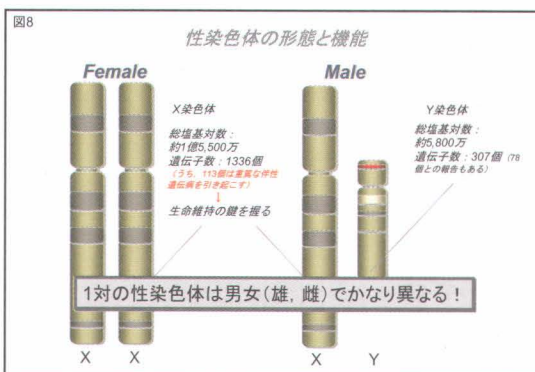
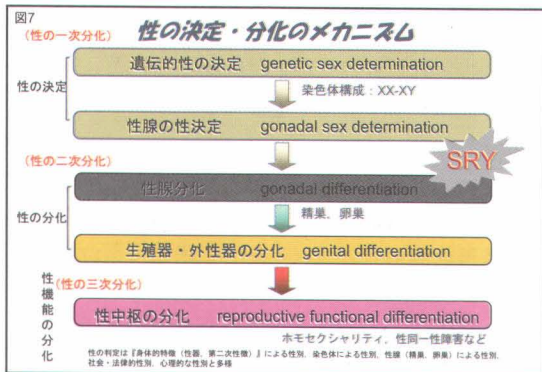


図11

Discordance of cell clonality ratio at different tissues in monozygotic twins: Case F005 and M004

Cell line		At birth (%)				10 days (%)				5 months (%)				13 months (%)				30 months (%)			
		Unilateral blood	Peripheral blood	Peripheral blood	Buccal cell	Abdominal wall	Gonad ⁵	Skin		Abdominal wall	Gonad	Skin		Abdominal wall	Gonad	Skin		Abdominal wall	Gonad	Skin	
						Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.	Rt.	Lt.
Case 5 (TR-1) (♀)	47,X,+mar x2	41(82.0)	22(73.3)	72(72.0)	18 (3.6)	N.E.	0 (0.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	46,X,+mar	0 (0.0)	2 (6.7)	17(17.0)	190 (38.0)	N.E.	0 (0.0)	97(97.0)	7 (7.0)	0 (0.0)	5 (5.0)	4 (4.0)									
	45,X	9(18.0)	6(20.0)	11(11.0)	292 (58.4)	N.E.	100(100)	2 (2.0)	92(92.0)	100(100)	95(95.0)	96(96.0)									
Case 15 (TR-2) (♂)	47,X,+mar x2	46(92.0)	21(70.0)	70(70.0)	312 (62.4)	47(46.1)	N.E.	N.E.	0 (0.0)	2 (2.0)	45(45.0)	40(40.0)									
	46,X,+mar	0 (0.0)	2 (6.7)	19(19.0)	30 (6.0)	2 (2.0)	N.E.	N.E.	0 (0.0)	4 (4.0)	1 (1.0)	0 (0.0)									
	45,X	4 (8.0)	7(23.3)	15(15.0)	158 (31.6)	53(51.9)	N.E.	N.E.	100(100)	94(94.0)	54(54.0)	60(60.0)									

* FISH % Biopsy samples under microscopy N.E.: not examined

mar identified as Y(X)(Y)(X)(Y) by the results of chromosome banding, molecular genetic, and FISH analysis.

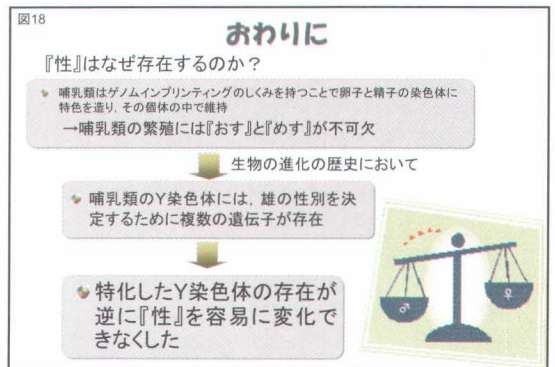
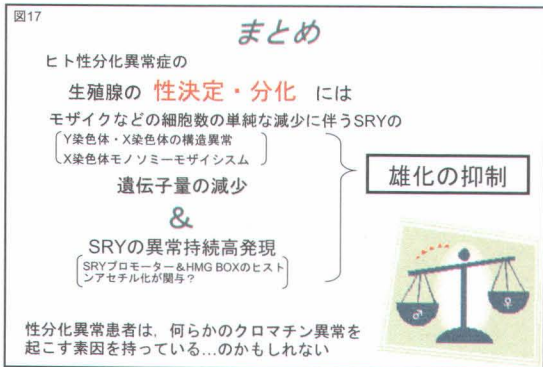
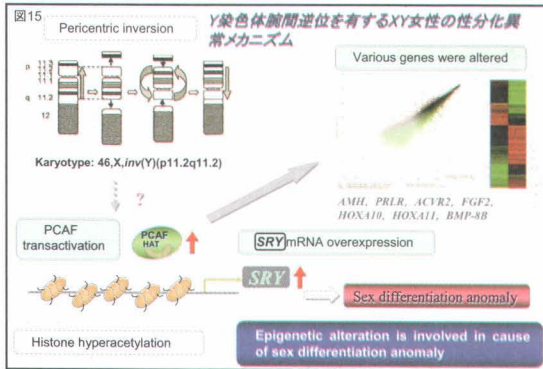
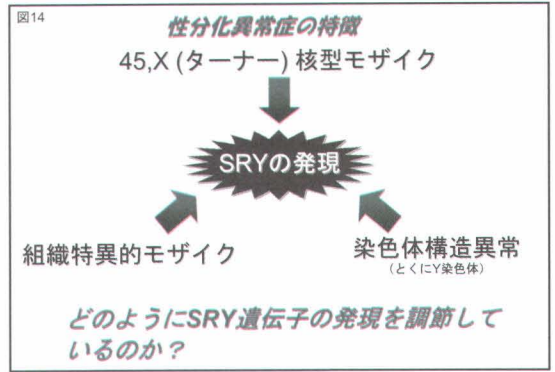
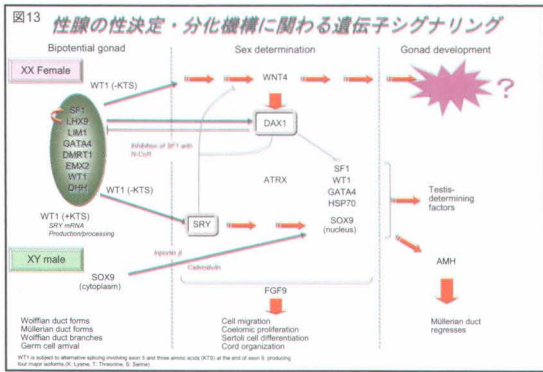
Discordant sex

no mosaicism

図12 染色体分析結果

	表現型女性 (12例)	表現型男性 (7例)
構造異常(SMCを含む)	66.7 % (8/12)	57.1 % (4/7)
モザイシズム (含キメラズム)	66.7 % (8/12)	42.9 % (3/7)
45,X モザイシズム	75.0 % (6/8)	100 % (3/3)
45,X モザイシズム	50.0 % (6/12)	42.9 % (3/7)
組織限定モザイシズム	41.7 % (5/12)	28.6 % (2/7)

SMC: supernumerary marker chromosome 微小核マーカー染色体



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 28 号に掲載した第 95 回研究会以後、以下の研究会が開催された。

1) 第 96 回研究会(平成 19 年 12 月 14 日 於京都市勧業館「みやこめっせ」)

会員による研究発表(16 題)

＜特別講演＞

1. 精神疾患モデル動物に必要な条件:行動をどう評価するか?

鍋島 俊隆(名城大学大学院薬学研究科薬品作用学研究室)

2. 疾患モデル動物の開発とその応用:特にてんかんモデル動物を中心に

笹 征史(広島大学名誉教授)

2) 第 97 回研究会(平成 20 年 3 月 7 日 於京大会館)

＜講演＞ テーマ : マラリアとショウジョウバエ

1. マウスを用いたマラリア研究の醍醐味

大野民生(名古屋大院・医・附属医学教育研究支援センター 実験動物部門)

2. 疾患モデル動物としてのショウジョウバエ

山本雅敏 (京都工芸繊維大・ショウジョウバエ遺伝資源センター)

＜維持会員ニュース＞

ハムリー(株) : 実験動物用吸入麻酔器の紹介

3) 第 98 回研究会(平成 20 年 6 月 13 日 於京大会館)

＜講演＞ テーマ : シリーズ「われらが評議員の研究から学ぶ」 第1回

1. 遺伝解析:実験動物から家畜へ

山田宜永 (京都大院・農学研究科)

2. ヒトに寄生するサナダムシ -*Taenia* 属条虫の生物学-

岡本宗裕(鳥取大・農・獣・寄生虫病学)

3. 生物の雄・雌が決まる仕組みとその破綻機構の解明 — 性決定の分子遺伝学
星 信彦(神戸大院・農・応用動物学形態機能学)

4) 第99回研究会(平成20年9月12日 於大阪大学医学部学友会館「銀杏会館」)

＜講演＞ テーマ：動物実験の科学的・倫理的な実施とその成果

1. 日本学術会議が提言した第3者認証とその現在 — AAALAC International の
国際認証との関連で—

黒澤 努(大阪大院・医・実験動物医学)

2. 実験用ラットの価値を高める研究

芹川忠夫(京都大院・医・動物実験施設)

3. リンパ球動態研究における動物実験の重要性

宮坂昌之(大阪大院・医・免疫学フロンティア研究センター)

＜維持会員ニュース＞

エルエスジー(株):実験動物への水分補給の新提案-ClearH2 社製 Gel のご紹介

幹事会、評議員会、総会の議事録

1. 幹事会の概要（平成 19 年 11 月 5 日 於 京大・医・動物実験施設）

1) 出席

阿部、飯田、岡田、喜多、久保、庫本、黒澤、塩見、芹川、田島、中井、森本、山本(13 名)

2) 議事

(1) 第 96 回関西実験動物研究会のプログラムについて

特別講演(2 題)と一般演題(16 題)のプログラムと座長を決定した。

一般演題の講演時間は 1 題 12 分とした。

(2) 第 9 期(平成 20 年度～22 年度)の役員改選について

幹事、監事の候補者について協議した。

(3) 第 97 回研究会、第 100 回研究会について

芹川会長より第 97 回研究会について説明があった。

開催日は平成 20 年 3 月 7 日(金)、会場は京大会館、テーマは未定。大野民夫先生(名古屋大学)と山本雅敏先生(京都工芸繊維大学)に、講演を依頼中。

第 100 回記念大会企画・運営委員長(芹川会長)より準備状況について説明があった。開催日は、平成 20 年 12 月 5 日(金)、会場の候補として、京都大学医学部芝蘭会館と聖護院御殿荘が挙げられた。協議の結果、開催場所は聖護院御殿荘に決定した。

(4) その他

芹川会長より、実験動物擁護団体に設立に関する新聞報道(朝日新聞 11 月 2 日)について、話題提供があった。

2. 幹事会の概要（平成 20 年 2 月 22 日 於 京大・医・動物実験施設）

1) 出席

阿部、喜多、久保、庫本、塩見、芹川、田島、中井、前田、森本、山中、山本、(12 名)

2) 議事

(1) 第 26 回評議員会、第 25 回総会について

総会時における司会には森本幹事を選出した。

(2) 平成 19 年度の事業報告

芹川会長より、平成 19 年度の事業報告があった。

(3) 平成 19 年度の決算報告

芹川会長より平成 19 年度の決算報告があった。

芹川会長より平成 19 年度繰越金決算書が監事の承認を得た旨報告された。

(4) 役員改選について

芹川会長より第 9 期(平成 20 年度～22 年度)幹事・監事名簿の提案があった。

幹事辞退者 6 名(浅田、浅野、海野、新谷、山中、前田)と監事辞退者 1 名(高木)が了承された。

新幹事候補として以下の 6 名が挙げられ、第 26 回評議員会において集会幹事として推薦することが了承された。

桑村充(大阪府立大学)、近藤玄(京都大学)、坪田裕司(大阪河崎リハビリテーション大学)、松田潤一郎(医薬基盤研究所)、山添裕之(住友化学)、横井伯英(神戸大学)

新監事候補として、山崎章弘氏(日本チャールズリバー)が挙げられ、第 26 回評議員会において推薦することが了承された。

新評議員候補として、以下の 10 名が挙げられ、第 26 回評議員会において推薦することが了承された。

上田正次(フェニックスバイオ)、大野民生(名古屋大学)、倉林 譲(森ノ宮医療大学)、佐加良英治(兵庫医科大学)、塩谷恭子(循環器病センター)、高木貞明(日本 SLC)、中村紳一郎(滋賀医科大学)、真下知士(京都大学)、山田宜永(京都大学)、星信彦(神戸大学)

新評議員候補のうち、第 26 回評議員会に欠席予定の方に対しては、事務局より予め評議員受諾の有無を尋ねることとした。

(5) 平成 20 年度の事業計画案

阿部幹事より平成 20 年度事業計画(案)の説明があった。

芹川会長、喜多幹事、山本幹事から、会員の研究活動を活性化するためにの方策が提案された。

平成 20 年度より、6 月の研究会を評議員の研究発表の場とすることが提案された。

第 97 回研究会(平成 20 年 3 月 7 日)の開催概要について、芹川会長より講演会の趣旨と演者の紹介があった。

第 98 回研究会は、平成 20 年 6 月 13 日(金)に京大会館で開催予定。

芹川会長が担当。テーマは新評議員の研究紹介。

第 99 回研究会は、平成 20 年 9 月 12 日(金)に銀杏会館で開催予定。

黒澤、田島幹事が担当。テーマは未定。

第 100 回研究会は、平成 20 年 12 月 5 日(金)にみやこめっせで開催予定。

芹川会長が担当。

機関紙は例年通り発行する(第 29 号)

第 100 回記念大会特別号として発行する。第 100 回記念大会当日に配布予定。原稿締め切りは平成 20 年 10 月末を予定。

広告を掲載する予定。

(6) 平成 20 年度予算案

喜多幹事より平成 20 年度予算案の説明があった。

100 回記念大会は特別会計とする。

100 回記念大会の会費は、会員は無料、非会員は 3000 円とする。

(7) その他

塩見幹事より、第 3 回ウサギフォーラムの開催について案内があった。

3. 第 26 回評議員会の概要(平成 20 年 3 月 7 日 於 京大会館)

1) 出席

阿部、飯田、稲垣、新比恵、上田、内海、及川、大野、沖本、喜多、北田、倉林、庫本、久保、近藤、佐加良、塩見、塩谷、鈴木、芹川、高島、竹之下、田島、坪田、鳥居、中井、中村、橋本、原田、星、前田、牧野、真下、増岡、松田、宮畠、森島、森本、安田、山添、山田、山中、山本好、横井、(44 名)

2) 議事

(1) 役員改選

第 9 期(平成 20 年～22 年)評議員の選出があった。

新評議員の紹介があった。

会長に芹川忠夫京都大学教授が選出された。

幹事が選出された。

監事が選出された。

(2) 平成 19 年度事業報告及び決算報告

阿部集会幹事より、平成 19 年度の事業報告があった。

山本編集幹事より、第 28 号会報発行の報告があった。

喜多庶務・会計幹事より、平成 19 年度決算報告があった。

芹川会長より、会員数推移について追加説明があった。

芹川会長より、清水、高木両監事より監査を受けた繰越金決算書について報告があった。

平成 19 年度決算報告が、全会一致で承認された。

(3) 平成 20 年度事業計画及び予算案

阿部集会幹事より、平成 20 年度の事業計画(案)が説明された。

山本編集幹事より、第 29 号会報の発行予定について説明があった。

喜多庶務・会計幹事より、平成 20 年度予算(案)について説明があった。

平成 20 年度事業計画(案)および予算案が、全会一致で承認された。

芹川会長より、第 100 回記念大会について説明があった。

喜多庶務・会計幹事より、第 100 回記念大会予算(案)について説明があった。

運営については広く会員から意見を募ることが了承された。

(4) その他

塩見幹事より、ウサギフォーラムの開催の紹介があった。

4. 第 25 回総会の概要（平成 20 年 3 月 7 日 於 京大会館）

司会の森本幹事より、総会の開催にあたり、議長の推薦が求められた。

久保幹事が、山中幹事を議長に推薦し、山中幹事が議長に選出された。

1) 議事

(1) 役員改選

芹川会長より、第 9 期役員の紹介があった。

芹川会長より、第 9 期新評議員の紹介があった。

第 9 期役員の選任が、全会一致で承認された。

(2) 平成 19 年度収支決算報告

阿部集会幹事より、平成 19 年度の事業報告がされた。

山本編集幹事より、第 28 号会報発行の報告がされた。

喜多庶務・会計幹事より、平成 19 年度決算報告がされた。

清水監事より、監査を行った繰越金決算書について報告があった。

平成 19 年度決算報告が全会一致で承認された。

(3) 平成 20 年度の事業計画(案)及び予算(案)

阿部集会幹事より、平成 20 年度の事業計画(案)が説明された。

山本編集幹事より、第 29 号会報の発行予定について説明があった。

芹川会長より 100 回記念大会の説明があった。

喜多庶務・会計幹事より、平成 20 年度予算(案)について説明があった。

喜多庶務・会計幹事より、第 100 回記念大会予算(案)について説明があった。

平成 20 年度予算(案)が、全会一致で承認された。

(4) その他

《 会員の異動 》

(平成19年11月～平成20年10月)

入会者	西原 義人 鶴見 東志子 横山 政幸 蟹江 祐哉 藪内 かおり 星 信彦 池淵 一也 佐藤 秀蔵 北野 光昭 南地 勇 中島 文博 三枝 順三 内尾 こずえ 西 泰明	(株)ボゾリサーチセンター 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 ポーラ化成工業(株)医薬品開発研究部動物管理室 大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室 大阪大学医学部附属動物実験施設 神戸大学大学院農学研究科応用動物学科 大鵬薬品工業(株) (株)武田ラビックス 実験支援部 (株)カネカ フロンティアバイオ・メディカル研究所 塩野義製薬(株) (株)ケーエーシー JST 山中ips 細胞特別プロジェクト (独)医薬基盤研究所生物資源研究部実験動物開発室 (三重大学生命科学研究支援センター)
退会者	土井 孝良 三吉 由佳里 蓮間 忠芳 柳本 行雄 勝田 敦美 江馬 真 新谷 聰 大槻 重信 堂前 嘉代子 滝澤 信二 吉田 元信 岡 智通 加藤 仁五 西川 健志 螺良 愛郎 茂木 正行 原田 延行 細江 和典 名部 美琴 茂木 亮一 大島 洋次郎 蟹江 祐哉	武田薬品工業(株)医薬研究本部研究推進部 (株)ジャパンファームクラウン研究所 生活科学研究所 生活化学研究所 (有)行動医科学研究所 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 武庫川女子大学生生活環境学部 石川島芝浦機械(株) 大日本住友製薬(株)アニマルサイエンス部 京都ヘルスケア(株) アステラスリサーチサービス(株) 日本新薬(株)安全性研究部 関西医科大学 第二病理学教室 (株)新日本科学 日本農産工業(株)バイオ部バイオ第1グループ (株)カネカ ライフサイエンス研究所 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医病理 日本チャールス・リバー(株)西日本営業部 武田薬品工業(株)開発研究センター 大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2008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
	吾郷 昭夫	693-8501	出雲市塩冶町 89-1	島根医科大学附属動物実験施設
	浅田 孝	650-0047	神戸市中央区港島南町2-2 先端医療センター内	(財)先端医療振興財団
○	浅野 裕三	419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125	(株)ボソリサーチセンター 函南研究所
	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	田辺三菱製薬(株)安全研
○◎	阿部 敏男	743-8502	山口県光市大字三井字武田4720	(株)武田ラビックス 光事業所
	新井 健史	162-0814	東京都新宿区新小川町6-36 S&Sビル	エルエスジー(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 孝夫	520-3001	滋賀県栗東市東坂 531-1	(株)ケーエーシー バイオサイエンス事業部
い	安藤 健史	615-0882	京都市右京区西京極葛野町 28 番	(株)オリエンタルバイオサービス
	李 成一	570-8506	守口市文園町10-15	関西医科大学付属生命医学研究所モデル動物部門
○◎	飯田 晶敏	541-0044	大阪市中央区伏見町4-1-1明治安田生命ビル	(株)三菱化学安全科学研究所
	生島 泰博	598-8558	大阪府泉佐野市住吉町26	日本製薬(株)大阪研究所
○◎	池田 卓也	222-0033	横浜市長北区新横浜3-17-6 イノテックビル11F	日本チャールス・リバー(株)
○	池田 克己	663-8137	西宮市池開町 6-46	武庫川女子大学 薬学部
	池淵 一也	771-0194	徳島市川内町平石夷野 224-2	大鵬薬品工業(株)
	井澤 武史	599-8531	大阪府堺市学園町1-1	大阪府立大学・農・獣医病理
	石坂和彦	162-0814	東京都新宿区新小川町6-36	エルエスジー(株)
	市橋 優	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
	伊東 孝	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
	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)開発研究センター
○	稲垣 晴久	444-8585	岡崎市明大寺町字西郷中38	自然科学研究機構生理学研究所 NBR事業推進室
	乾 俊秀	335-8505	埼玉県戸田市川岸2丁目2-50	田辺三菱製薬(株)研究推進部
	乾 公正	525-0025	滋賀県草津市西浜川 2-3-1	石原産業(株)中央研究所
	井上 勉	578-0901	東大阪市加納7丁目 23-3-112	
○	新比恵 啓志	532-8505	大阪市淀川区加島3丁目 16-89	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
	今林 潤一	541-0056	大阪市中央区久太郎町1-9-28	(株)富士バイオメディックス 営業部
	岩谷 千鶴	520-2192	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
う○	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)創薬第一研究所
	上田 正次	321-0973	栃木県宇都宮市岩曽町1198-4	(株)フェニックスバイオ宇都宮事業所
	内尾 こずえ	567-0085	茨木市彩都あさぎ 7-6-8	(独)医薬基盤研究所生物資源研究部実験動物開発室
	内田 克則	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)
○	内海 健二郎	604-8423	京都市中京区西の京西月光町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	105-0004	東京都港区新橋5-23-7 三栄ビル9F	シンバイオ製薬(株)開発戦略本部前臨床開発部
お○	及川 弘	525-0028	滋賀県草津市上笠 2-1-8-1	
	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
	大田 聖	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
	太田 誠	541-0053	大阪市中央区本町4-2-12 東芝大阪ビル8F	石川島芝浦機械(株)防災環境事業部
	大坪 義和	532-0003	大阪市淀川区宮原 5-2-30	沢井製薬(株)
○	大野 民生	466-8550	名古屋市中区鶴舞町65	名古屋大学大学院医学系研究科附属医学教育支援センター
	大山 美千代	468-0004	名古屋市中白区梅が丘2-207	
	岡崎 彰亮	107-0052	東京都港区赤坂1丁目11-28 森ビル5F	エデストロムジャパン(株)
○◎	岡田 利也	599-8531	大阪府堺市学園町 1-1	大阪府立大学大学院生命環境科学研究所実験動物学
	岡庭 梓	560-0082	豊中市新千里東町2丁目5番25-1018号	
○	岡本 宗裕	680-8553	鳥取市湖山町南4-101	鳥取大学農学部獣医学科寄生虫病学
○	沖本 一夫	564-0053	吹田市江の木町 33-94	大日本住友製薬(株)研究本部 研究業務第1部
	荻野 信二	567-0878	大阪府茨木市蔵垣内 1-3-45	大日本住友製薬(株)茨木工場
	尾崎潤一郎	591-8004	堺市北区蔵前町1414-19	
か	鍵山 莊一郎	565-0871	大阪府吹田市山田丘 2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
	加藤 鋭二	562-0015	大阪府箕面市稲 2-7-3	
	鍋木 力	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町	清水実験材料(株)
	川合 是彰	573-1134	枚方市養父丘 1-12-17	
	河合 澄子	565-0871	吹田市山田丘2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
	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
	川中 栄奈	606-8202	京都市左京区田中大堰町45 デトムワン京大前206号	
	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梶井町465	京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター
○	北田 一博	060-0810	札幌市北区北10条西8丁目	北海道大学先端科学技術共同研究センター
	北野 光昭	676-8688	高砂市高砂町宮前町 1-8	(株)カネカ フロンティアバイオ・メディカル研究所
	木下 邦明	224-0812	横浜市戸塚区粕尾町560	ポーラ化成工業(株)医薬品開発研究部動物管理室
	木村 国雄	520-2324	滋賀県野洲市近江富士 4-5-16	
く	日下部 健	599-8531	大阪府堺市中区学園町1-1	大阪府立大学大学院獣医学専攻動物構造機能学
	久世 博	419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125	(株)ボソリサーチセンター 函南研究所
	国友 一朗	580-0016	大阪府松原市上田8-1-20	
○◎	久保 薫	634-8521	橿原市四条町 840	奈良県立医科大学 先端医学研究機構 施設部 動物実験施設
	熊藤 健太	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町37	清水実験材料(株)
○◎	庫本 高志	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
○◎	倉林 譲	559-0034	大阪市住之江区南港北1-26-16	森ノ宮医療大学保健医療学部鍼灸学科
○◎	黒澤 努	565-0871	吹田市山田丘 2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
○◎	桑村 充	599-8531	大阪府堺市学園町1-1	大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医病理
	桑村 有規	591-8032	堺市百舌鳥梅町3-14-15	((株)新日本科学)

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2008年10月現在

	氏名	〒	住所	所属
こ	小泉 清	248-0007	神奈川県鎌倉市大町2-3-3キャトルセゾン鎌倉A21	((株)DIMS医学研究所)
	甲田 彰	665-0817	兵庫県宝塚市平井山荘5-24-303	
	小沢 康彦	565-0871	吹田市山田丘2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
	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
	小谷 祐子	565-0871	吹田市山田丘2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
	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	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
	小森 彰	607-8042	京都市山科区西宮南河原町14	科研製薬(株)中央研究所薬理研究部
	小山 公成	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6	アステラスリサーチサービス(株)
○◎	近藤 玄	606-8507	京都市左京区聖護院川原町53	京都大学再生医学研究所
	近藤 靖	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺三菱製薬(株)先端医学研究部
さ	齋藤 浩充	514-8507	三重県津市江戸橋 2-174	三重大学医学部動物実験施設
	齋藤 朋子	532-0011	大阪市淀川区西中島 5-11-10 第3中島ビル9F	日本チャールス・リバー(株)西日本営業部
	三枝 順三	600-8813	京都市下京区中堂寺南町134 京都リサーチパーク2号館	JST 山中ips 細胞特別プロジェクト
	坂田 太二	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89 田辺製薬内	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)
	相模 ノム	164-8721	東京都中野区本町 1-32-2 ハーモニータワー11F	(株)Hシンパウラ
○	佐加良 英治	663-8501	西宮市武庫川町1-1	兵庫医科大学動物実験施設
	佐藤 良夫	590-0504	泉南市信達市場 31-218	
	佐藤 秀蔵	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	(株)武田ラビックス 実験支援部
	鮫島 秀暢	890-0011	鹿児島市玉里団地1丁目 22-19	
	澤浦 雅人	532-0011	大阪市淀川区西中島 5-11-10 第3中島ビル9F	日本チャールス・リバー(株)西日本営業部
し◎◎	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
○	塩谷 恭子	565-3565	大阪府吹田市藤白台5-7-1	国立循環器病センター研究所 動物管理室
	清水 何一	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町37	清水実験材料(株)
△	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
	清水 大	603-8214	京都市北区紫野雲林院町83パークシティ北大路308	
	白石 弘之	600-8815	京都市下京区中堂寺粟田町93	マルホ(株)京都 R&Dセンター医薬開発研究所
す	菅原 努	604-8171	京都市中京区烏丸通御池下ル虎屋町566-1	(財)慢性疾患・リハビリテーション研究振興財団
	杉本 学	576-0031	大阪府交野市森南 2-27-3	
○	鈴木 昇	514-8507	三重県津市江戸橋 2-174	三重大学生命科学研究支援センター 機能ゲノミクス分野
	鈴木 真	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188	(株)イナリサーチ 試験研究センター
	鈴木 稔	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405	塩野義製薬(株)
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
そ	菅 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
た○	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)
	高木 弓枝	433-8114	静岡県浜松市葵 3-5-1	日本エス・エル・シー(株)
○	高島 俊行	532-0011	大阪市淀川区西中島7-14-35-303	ハムリー(株)国際事業部 大阪出張所
	高谷 尋美	532-8505	大阪市淀川区加島3-16-89	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
	高田 達之	520-2192	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
	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
	滝澤 明子	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
○	竹之下 誠	648-0003	橋本市隅田町山内 514	
○◎	田島 優	565-0871	吹田市山田丘 2-2	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室
	谷村 孝	590-0137	堺市南区城山台1-14-10	
	谷本 憲昭	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
	多根 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	222-0033	横浜市新北区新横浜3-17-6イノテックビル11F	日本チャールス・リバー(株)
ち○	千葉 薫	569-1125	高槻市紫町 1-1	JT クリエイティブサービス R&Dサポートグループ
つ	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 ベイ・ウイング神戸ビル801号	スリスジャパン(株)
	土屋 英明	520-2192	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
	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育種学教室
○◎	坪田 裕司	597-0104	大阪府貝塚市水間158	大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部
	鶴田 恵三	642-0017	和歌山県海南市南赤坂16-1海南インテリジェントパーク	(株)新日本科学
	鶴見 東志子	570-8506	大阪府守口市文園町10-15	関西医科大学生命医学研究所分子遺伝学部門
て	出口 央士	606-8507	京都市左京区聖護院川原町53	京都大学再生医学研究所 附属再生実験動物施設
と	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
	鳥取 潤一	895-2701	鹿児島県伊佐郡菱刈町前目字池田 3504-157	(株)ジャパンファーム クラウン研究所
○	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
な	直井 国子	502-8585	岐阜市三田洞東5丁目6-1	岐阜薬科大学 薬物治療学講座
	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	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14	日本新薬(株)研開企画統括部研開管理課
	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)
	中島 健博	531-0072	大阪市北区豊崎 4-12-1	(株)ケアリー
	中島 文博	520-3001	滋賀県栗東市東坂 91	(株)ケーエーシー
	中西 聡	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 紳一郎	520-2192	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
	中村 正典	650-0047	神戸市中央区港島南町5-5-2	カルナバイオサイエンス(株)標的分子研究部
	中山 亮	666-0112	川西市大和 3-28-10	
	那須 礼久	586-0006	大阪府河内長野市松ヶ丘中町 1330-1	堺化学工業(株)医薬事業部
	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	532-0003	大阪市淀川区宮島5丁目2-30	沢井製薬(株)生物研究部

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2008年10月現在

	氏名	住所	所属
	南地 勇	520-3423 滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405	塩野義製薬(株)
	西 泰明	514-0063 三重県津市洪見町763-35 洪見宿舍2号	(三重大学生命科学研究支援センター)
	西井 康恵	635-0832 奈良県北葛城郡広陵町馬見中4-2-2	幾代大学 健康科学部
	西川 哲	263-8555 千葉県稲毛区六川 4-9-1	放射線医学総合研究所
	西原 義人	412-0039 静岡県御殿場市かまど1284	(株)ポリリサーチセンター
	西村 友成	532-8505 大阪市淀川区加島 3-16-89	田辺三菱製薬(株)安全研
	西村 正彦	431-3126 浜松市有玉台4-17-15	
	西村 弘道	597-0061 貝塚市浦田 172-12	(株)ケーエーシー
	西森 司雄	528-0049 滋賀県甲賀市水口町貴生川 2-143	
	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
は	橋本 正晴	604-8423 京都市中京区西ノ京西月光町 40	(株)ケーエーシー アニマルケア事業本部
○	浜田 修一	314-0255 茨城県神栖市砂山14番地	三菱化学安全科学研究所鹿島研究所毒性第2グループ
○	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
○	原田 正史	545-0051 大阪市阿倍野区旭町	大阪市立大学医学研究科動物実験施設
ひ	平川 公昭	541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1三井住友銀行高麗ビル	(株)新日本科学 安全性研究所 病理センター
○	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	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
	廣瀬 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
	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	大日本住友製薬(株)安全性研究所
	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
	藤沢 公忠	532-0011 大阪市淀川区西中島 5-11-10 第3中島ビル9F	日本チャールス・リバー(株)西日本営業部
	藤本 祐次郎	650-0047 神戸市中央区港島南町1-5-5	(株)オリエンタルバイオサービス
○	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
	古川 雅一	532-8505 大阪市淀川区加島3-16-89	(株)田辺R&Dサービス 薬理毒性部
ほ	星 信彦	657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1	神戸大学大学院農学研究科応用動物学科
	星野 雅行	340-0801 埼玉県八潮市八条4035	(株)星野試験動物飼育所
	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
	堀 孝司	615-0882 京都市右京区西京極葛野町 28 番	(株)オリエンタルバイオサービス
	堀江 信一	592-8349 堺市西区浜寺諏訪ノ森東1-92-4	
ま	前田 敏宏	520-3001 滋賀県栗東市東坂 91	(株)ケーエーシー バイオサイエンス事業部 生物科学センター
	真壁 恭子	371-8530 前橋市島羽町 580	群馬工業高等専門学校 物質工学科
○	牧野 進	528-0005 滋賀県甲賀市水口町水口 1639-28松尾団地	
○	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	433-8114 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 栗東市東坂531-1	(株)ケーエーシー 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
	松尾 公平	554-0022 大阪市此花区春日日出中3-1-98	大日本住友製薬(株)研究業務動物管理グループ
○◎	松田 潤一郎	567-0085 茨木市彩都あさぎ7-6-8	(独)医薬基盤研究所 生物資源研究部 実験動物開発研究室
	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
み	三日月 勝見	520-3405 滋賀県甲賀郡甲賀町隠岐 2235	
	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	田辺三菱製薬(株)創薬研究所
	水野 信哉	565-0081 吹田市山田丘 2-2-B7	大阪大学大学院医学系研究科分子再生医学教室
	水野 洋子	567-0048 大阪府茨木市北春日丘4-5-32 B101	
	御田村 亜紀	561-0825 大阪府豊中市二葉町3-1-1	
	三野 将城	599-8531 大阪府堺市学園町 1-1	塩野義製薬(株)
	三原 径子	410-0866 静岡県沼津市市道町 13-4 本山方	大阪府立大学・院・農学生命科学研・実験動物学
○	宮下 信泉	761-6793 香川県木田郡三木町大池戸1750-1	香川大学研究推進機構総合生命科学研究センター動物実験部
☆	宮脇 宏彰	565-0821 大阪府吹田市山田東4-41-4-310	
○	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
	宮地 均	606-8507 京都市左京区聖護院川原町53	京都大学ウイルス研究所附属感染症モデルセンター
	宮本 誠	560-0011 豊中市上野西 1-12-22	
	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
も	森 幹雄	564-0053 吹田市江の木町 33-94	大日本住友製薬(株)開発研究所
	森岡 宏至	591-8022 堺市北区金岡町 1200-6	
	森岡 一輝	544-8666 大阪市生野区巽西 1-8-1	
○	森島 英喜	532-8686 大阪市淀川区十三本町 2-17-85	ロート製薬(株)生物臨床研究部開発支援G
○◎	森本 純司	569-8686 高槻市大学町 2-7	武田薬品工業(株)開発研究センター
や	安井 菜穂美	663-8179 西宮市甲子園九番町11-68	大阪医科大学研究機構実験動物センター
○	安田 正秀	569-1094 高槻市奈佐原 4-20-1	武庫川女子大学 健康未来学講座
	安原 吉高	532-8686 大阪市淀川区十三本町 2-17-85	大阪薬科大学動物関連研究施設
	矢野 英樹	619-1401 京都府相楽郡南山城村童仙房小玉181	武田薬品工業(株)創薬第一研究所 病態モデルG
	数内 かおり	565-0871 吹田市山田丘2-2	(株)オリエンタルバイオサービス
△	山崎 章弘	222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル11F	大阪大学医学部附属動物実験施設
	山崎 樹里	520-2192 大津市瀬田月輪町	日本チャールス・リバー(株)
○◎	山添 裕之	554-0022 大阪市此花区春日日出中3-1-98	滋賀医科大学・動物生命科学研究センター
	山手 丈至	599-8531 大阪府堺市学園町1-1	住友化学工業(株)生物環境科学研究所
	山田 篤	532-8514 大阪市淀川区加島2-1-6	大阪府立大学・農・獣医病理
○	山田 宣永	606-8224 京都市左京区北白川追分町	アステラスリサーチテクノロジー(株)安全性研究部
			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)2008年10月現在

	氏名	〒	住所	所属
○	山中 久	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188	(株)イナリサーチ 営業本部
○	山本 博	930-0194	富山市杉谷 2630	富山大学命科学先端研究センター 動物資源開発分野
○◎	山本 好男	520-2192	大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学社会医学講座法医学分野
よ○◎	横井 伯英	650-0047	神戸市中央区港島南町1-5-6 神戸BTセンター	神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学
	横山 政幸	244-0812	横浜市戸塚区柏尾町560	ポーラ化成工業(株) 中央研究所 実験動物管理室
	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)開発研究センター
わ	若狭 芳男	399-4501	長野県伊那市西箕輪 2148-188	(株)イナリサーチ 薬理研究部
	渡邊仁美	606-8507	京都市左京区聖護院川原町53	京都大学再生医科学研究所附属再生実験動物施設
	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 20 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	アステラスリサーチテクノロジー(株)	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6
3	(株)IHIシバウラ	164-8721	東京都中野区本町 1-32-2 ハーモニータワー11F
4	(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
5	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
6	(株)大塚製薬工場・栄養研究所	772-8601	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115
7	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
8	オリエンタル技研工業(株)	532-0003	大阪市淀川区宮原 2-14-14
9	(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
10	北山ラベス(株)	396-0021	長野県伊那市荒井区川北 3052
11	グローブ(株)	113-0033	東京都文京区本郷2丁目 29-1
12	(株)ケアリー 和歌山研究所	648-0003	和歌山県橋本市隅田町山内514
13	(株)ケー・エー・シー	604-8423	京都市中京区西の京西月光町 40
14	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
15	参天製薬(株)研究開発センター	630-0101	生駒市高山町 8916-16
16	(株)サンプラネット BMR部	503-1602	岐阜県大垣市上石津町牧田萩原4388
17	三和プラントエンジニアリング(株)	771-0202	徳島県板野郡北島町太郎八須字新開1-10
18	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
19	(株)島津製作所・分析計測事業部・マーケティング部	101-8448	東京都千代田区神田錦町 1-3
20	清水実験材料(株)	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町 37
21	(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
22	白井松器械(株)	540-0003	大阪市中央区森ノ宮中央 1-19-16
23	新光電子(株)	651-2132	神戸市西区森友 2-15-2
24	(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
25	(株)精研	542-0066	大阪市中央区瓦屋町2丁目11-16
26	大日本住友製薬(株)研究本部 研究業務第1部	564-0053	吹田市江の木町 33-94
27	高塚ライフサイエンス(株)	700-8577	岡山市今1丁目 3-9
28	田辺三菱製薬(株)安全性研究所	532-8505	大阪市淀川区加島 3-16-89
29	(株)ティー・ティー・エム	532-0011	大阪市淀川区西中島 6-3-25 北白石ビル東館
30	(株)夏目製作所	113-0034	東京都文京区湯島 2-18-6
31	日精バイリス(株)	528-0052	滋賀県甲賀市水口町宇川555
32	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
33	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
34	日本照射サービス(株)	105-8716	東京都港区新橋5丁目11-3
35	日本新薬(株)創薬研究所・安全性研究部	601-8550	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
36	日本チャールス・リバー(株)西日本営業所	532-0011	大阪市淀川区西中島 5-11-10 第3中島ビル9F
37	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
38	(株)ヴィジョンズ	271-0044	千葉県松戸市西馬橋 1-11-3 レオハイツ203号
39	(株)フェニックスバイオ	321-0973	栃木県宇都宮市岩曽町1198-4
40	丸石製薬(株)中央研究所	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
41	三浦工業(株)メディカル西日本営業部	579-8502	東大阪市西石切町 7-5-1 三浦大阪ビル3F
42	(株)美濃ラボ	503-0321	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
43	メディカクリーン(株)	553-0002	大阪市福島区鷺洲 3-1-1-101

社名変更

退会

2/4 茶谷産業(株)バイオメディカル事業部
5/15(株)三菱化学安全科学研究所大阪支店

石川島芝浦機械(株)→(株)IHIシバウラ
三浦プロテック(株)→三浦工業(株)

住所変更

日本チャールス・リバー(株)

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)

関西実験動物研究会 評議員名簿

第9期(平成20年度～22年度)

氏名	所属
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 光事業所
飯田 晶敏	(株)三菱化学安全科学研究所
池田 卓也	日本チャールス・リバー(株)
池田 克己	武庫川女子大学 薬学部
稲垣 晴久	自然科学研究機構生理学研究所
新比恵 啓志	田辺三菱製薬(株)安全性研究所
上田 正次	(株)フェニックスバイオ宇都宮事業所
内海 健二郎	(株)ケーエーシー
海野 隆	シンバイオ製薬(株)開発戦略本部前臨床開発部
及川 弘	
大野 民生	名古屋大学大学院医学系研究科附属医学教育支援センター
岡田 利也	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
岡本 宗裕	鳥取大学農学部獣医学科実験動物機能学
沖本 一夫	大日本住友製薬 研究業務第1部 動物管理チーム
喜多 正和	京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター
北田 一博	北海道大学先端科学技術共同研究センター
久保 薫	奈良県立医科大学先端医学研究機構動物実験施設
倉林 譲	森ノ宮医療大学保健医療学部鍼灸学科
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	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学
桑村 充	大阪府立大学大学院農学生命科学科獣医病理
近藤 玄	京都大学再生医科学研究所
佐加良 英治	兵庫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
塩谷 恭子	国立循環器病センター研究所 動物管理室
鈴木 昇	三重大学生命科学研究支援センター
芹川 忠夫	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
高木 貞明	日本エス・エル・シー(株)
高島 俊行	ハムリー(株)国際事業所 大阪出張所
竹之下 誠	(株)ケアリー和歌山研究所
田島 優	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学
千葉 薫	JT クリエイティブサービス R&Dサポートグループ
坪田 裕司	大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部生理学教室
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)研究企画統括部研究管理課
中村 紳一郎	滋賀医科大学動物生命科学研究センター
橋本 正晴	(株)ケーエーシー アニマルケア事業本部
原田 正史	大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設

氏名	所属
平川 公昭	(株)新日本科学 大阪病理センター
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
星 信彦	神戸大学大学院農学研究科応用動物学講座
前田 敏宏	(株)ケーエーシー バイオサイエンス事業部生物科学センター
牧野 進	
真下知士	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
増岡 通夫	(株)ケーエーシー 生物科学センター
松田 潤一郎	(独)医薬基盤研究所 生物資源研究部
宮下 信泉	香川大学研究推進機構総合生命科学研究センター動物実験部門
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
森島 英喜	武田薬品工業(株)開発研究センター
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
山田宜永	京都大学大学院農学研究科
山中 久	(株)イナリサーチ営業本部
山本 博	富山大学命科学先端研究センター動物資源開発分野
山本 好男	滋賀医科大学社会医学講座法医学分野
横井 伯英	神戸大学医学系研究科細胞分子医学

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:kansajim@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20年～22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	京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター
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 光事業所
池田 卓也	日本チャールス・リバー(株)
岡田 利也	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
黒澤 努	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学
久保 薫	奈良県立医科大学先端医学研究機構動物実験施設
桑村 充	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
近藤 玄	京都大学再生医科学研究所
塩見 雅志	神戸大学医学部附属動物実験施設
田島 優	大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学
坪田 裕司	大阪河崎リハビリテーション大学リハビリテーション学部
松田潤一郎	(独)医薬基盤研究所 生物資源研究部 実験動物開発研究室
森本 純司	大阪医科大学研究機構実験動物センター
山添 裕之	住友化学(株)生物環境科学研究所
横井 伯英	神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学
編集： 山本 好男	滋賀医科大学社会医学講座法医学分野
飯田 晶敏	(株)三菱化学安全科学研究所
中村紳一郎	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)研開企画統括部研開管理課
監事： 清水 英男	清水実験材料(株)
山崎 章弘	日本チャールス・リバー(株)

平成20年12月15日 印 刷
平成20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30号
Kansai Journal of Laboratory Animals
平成20年12月

第95回研究会：トランスレーショナルリサーチにおけるウサギの重要性

塩見 雅志：トランスレーショナルリサーチにおけるWHHL/WHHLMIウサギの役割
—高脂血症，動脈硬化等について— 1

範 江林、小池 智也：Transgenic Rabbits for Translational Research 13

北嶋 修司、森本 正敏：凍結精子による遺伝子組換えウサギの系統保存 16

桑原 吉史、北田 健作、河村 奈緒、竹入 修二、平澤 和男：実験用ウサギのSPF化と
胚保存—SPFウサギ作出の歴史，病態モデルウサギ維持生産のために— 21

第96回研究会

＜特別講演＞

鍋島 俊隆：精神疾患モデル動物に必要な条件：行動をどう評価するか？ 25

笹 征史：疾患モデル動物の開発とその応用：特にてんかんモデル動物を中心に 29

＜会員の発表 16題＞ 37

第97回研究会：マラリアとショウジョウバエ

大野 民生：マウスを用いたマラリア研究の醍醐味 53

山本 雅敏：疾患モデル動物としてのショウジョウバエ 58

第98回研究会：われらが評議員の研究から学ぶ

山田 宣永：遺伝解析：実験動物から家畜へ 65

岡本 宗裕：ヒトに寄生するサナダムシ—*Taenia*属条虫の生物学— 75

星 信彦：生物の雄・雌が決まる仕組みとその破綻機構の解明—性決定の分子遺伝学— 76

〈関西実験動物研究会だより〉 85

幹事会、評議員会、総会の議事概要 87 会員の異動 92

個人会員名簿 93 維持会員名簿 97 評議員名簿 98

会長、幹事、監事名簿 100