

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成23年12月 33号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

<第107回研究会（平成22年9月10日）>

テーマ：難病克服への実験動物を用いたアプローチ

1. 家族性アミロイドポリニューロパチー、老人性全身性アミロイドーシスと疾患モデル動物

植田 光晴・安東 由喜雄（熊本大・生命科学・病態情報解析学）… 1

2. 筋萎縮性側索硬化症研究におけるモデル動物のインパクト

漆谷 真（滋賀医大・分子神経科学研究センター） …… 10

3. 霊長類の循環器疾患とモデル動物開発

揚山 直英（医薬基盤研・霊長類医科学研究センター） …… 14

<第108回研究会（平成22年12月10日）>

<特別講演1>

体細胞核移植クローン技術の現状と今後の展望について

—マウスをモデルとして—

小倉 淳郎（理研バイオリソースセンター） …… 23

<特別講演2>

化学発癌剤誘発肝細胞がんに対するDRHラットの遺伝的抵抗性

日合 弘（滋賀県立成人病センター研究所） …… 30

<トピックス>

京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因

岡本 宗裕（京都大学・霊長類研究所） …… 36

<会員の発表 13題>

<第109回研究会（平成23年3月4日）>

テーマ：細胞機能の基礎研究と新規の疾患リソース研究

1. マウス毛色変異体を用いて色素細胞の新機能を探る

山本 博章（長浜バイオ大学） …… 57

2. エピジェネティックス制御を背景とした腫瘍細胞分化異常と発がん

山田 泰広（京大・iPS細胞研究所、JSTさきがけ） …… 62

3. スギ花粉症における自然発症動物と犬のバイオバンクプロジェクト

阪口 雅弘（麻布大・獣医） …… 64

<第110回研究会（平成23年 6 月17日）>

テーマ：実験動物に関する国際規約の改定と大震災の経験

第1部 実験動物に関する国際規約の改定

1. CIOMSの原則

笠井 憲雪（東北大院・医・附属動物実験施設） 69

2. ILAR「実験動物のケアと使用に関する指針」改訂版（第8版）について

久原 孝俊（順天堂大院・医・アトピー疾患研究センター） 70

3. OIEの実験動物福祉綱領

黒澤 努（大阪大・医・附属動物実験施設） 77

第2部 大震災の経験

1. 阪神淡路大震災の経験 ―被災状況、復興過程、防災対策―

塩見 雅志（神戸大院・医・附属動物実験施設） 86

2. 3.11東日本大震災の経験 ―震災後の対応と被災状況

笠井 憲雪（東北大院・医・附属動物実験施設） 99

<関西実験動物研究会だより> 101

<幹事会、評議員会、総会の議事概要> 103

<会員の異動> 107

<個人会員名簿> 108

<維持会員名簿> 112

<評議員名簿> 113

<会長、幹事、監事名簿、収支・予算、会則> 115

<第107回研究会（平成22年9月10日）>

テーマ：難病克服への実験動物を用いたアプローチ」

1. 家族性アミロイドポリニューロパチー、老人性全身性アミロイドーシスと疾患モデル動物

植田 光晴・安東 由喜雄（熊本大・生命科学・病態情報解析学）

2. 筋萎縮性側索硬化症研究におけるモデル動物のインパクト

漆谷 真（滋賀医大・分子神経科学研究センター）

3. 霊長類の循環器疾患とモデル動物開発

揚山 直英（医薬基盤研・霊長類医科学研究センター）

家族性アミロイドポリニューロパチー、 老人性全身性アミロイドーシスと疾患モデル動物

植田光晴、安東由喜雄

熊本大学 大学院生命科学研究部 病態情報解析学分野（臨床検査医学）

はじめに

アミロイドーシスは、通常は可溶性の蛋白質が様々な原因により、難溶性の線維構造物であるアミロイドへと重合し、諸臓器に沈着することで生じる疾患群である。トランスサイレチン（**TTR**）は、代表的なアミロイド原因蛋白質であり、遺伝子変異を生じることで遺伝性疾患である家族性アミロイドポリニューロパチー（**FAP**）を生じ、また、野生型の **TTR** も高齢者に生じる弧発性の疾患である老人性全身性アミロイドーシス（**SSA**）の原因蛋白質となる。これまでに、**TTR** アミロイドーシスはヒト以外の動物で確認されていなかったが、近年、**Nakamura** らにより、高齢のアフリカミドリザルで、**TTR** アミロイドーシスが自然発症することが見いだされた。本稿では、ヒトにおける **FAP** および **SSA** の病態および治療法などを概説し、アフリカミドリザルの **TTR** 発症機構に関する研究成果を紹介する。

アミロイドーシス

病理学者 **Virchow** は 1853 年に、細胞外に沈着するろう状の物質に対してアミロイドという病理学的な概念を提唱した。本沈着物がヨード反応を呈することから、当初は沈着物の本体はでんぷんであると想定され、「でんぷん」を意味するラテン語の “**amylum**”，ギリシャ語の “**amylon**” から発生させて、“**amyloid**” と名づけられた。本邦でも「類澱粉質」と訳されている。その後の研究からアミロイド線維の主な構成成分は蛋白質であることが判明している。

組織に沈着したアミロイド線維を電子顕微鏡で観察すると、8~15 nm の枝分かれのない細線維として観察される。アミロイド線維の構成成分の解析や病態解明には純度の高いアミロイド線維の抽出が必要であったが不溶性のため分離が出来なかった。このためアミロイド線維の構成成分や構造の詳細は長らく不明であった。**Virchow** が **Amyloid** と命名してから約 100 年が過ぎた 1968 年にイスラエル出身の研究者である **Pras** らは、アミロイド線維が蒸留水に溶けやすい性質を持っていることを偶然に見出し、この性質を利用し crude なアミロイド沈着組織から純度の高いアミロイド線維を分離する「水抽出法」を開発した。これがアミロイドーシス研究のブレークスルーとなり、本抽出法を用いて 1970

年代から様々なアミロイドーシスでアミロイド線維を形成する種々のアミロイド前駆蛋白質が分離・同定された。1978年には Costa らが FAP で沈着しているアミロイド線維の前駆蛋白質がトランスサイレチン (TTR) であることを明らかにしている。

現在までに、27 種類の蛋白質がアミロイド線維を構成する前駆蛋白質として同定されている[1]。アミロイドーシスを生じる蛋白質の同定に続き、種々のアミロイド前駆蛋白質がアミロイド線維へと形態を変化させる要因についても解明されてきた。代表的なものとして、a) アミロイド前駆蛋白質の増加、b) 前駆蛋白質の遺伝子変異、c) 前駆蛋白質の異常な断片化などが、アミロイド線維形成に関与しているものと考えられている。現在は、主にアミロイド前駆蛋白質の種類により、アミロイドーシスの分類が行われている (図 1)。本疾患群は、遺伝子変異、老化、炎症、腫瘍などを基礎疾患として発症し、脳、神経、心臓、消化管、腎臓、眼など様々な臓器障害を生じる (図 2)。

TTR アミロイドーシス

TTR は遺伝子変異を生じると、遺伝性アミロイドーシスである FAP の前駆蛋白質としてアミロイドーシスを引き起こす[2]。また、遺伝子変異を持たない TTR も SSA の前駆蛋白質として、アミロイドを形成することが判明している。TTR は主に肝臓から産生されるが、脳脈絡叢、眼の網膜色素上皮、脾臓ランゲルハンス島の α 細胞からも産生されることが報告されている。TTR は 127 個のアミノ酸から構成される。一分子内に 8 つの β ストランド (A~H) 構造を持ち、これらにより逆向きの 2 つの β シート構造が形成される。豊富な β シート構造が、TTR のアミロイド形成能と関連していると考えられている。生体内では、通常 TTR は四量体として機能している。TTR 単量体は β ストランド F と H を介して、他方の単量体 TTR と水素結合を形成し二量体となる。また、TTR 二量体は AB ループと、他方の β ストランド H とで水素結合し四量体を形成する。二量体を形成する単量体間の結合力は、四量体を形成する二量体同士の結合力より強い。TTR 四量体の中心部には 1 分子のサイロキシシン (T4) が強く結合して血中での運搬を担っている。T4 が TTR 四量体の中心部に結合することにより、TTR 四量体の安定性は増加する。また、TTR はレチノール結合蛋白質との結合を介して、ビタミン A の輸送を担っている。

現在まで、TTR 遺伝子には 120 種以上の変異型が存在することが報告されており、その大部分が FAP を生じる[3]。また、TTR の遺伝子変異型と FAP の臨床症状には、ある程度の相関があることも確認されている。TTR の 30 番目のアミノ酸であるバリンがメチオニンに変異する Val30Met 型は、FAP の原因変異として最も高頻度であり、末梢神経障害で発症し、その後、全身諸臓器の障害

を生じ、未治療だと発症後約 10 年で死に至る難病である。本疾患は、ポルトガル、スウェーデン、日本に大きな患者集積地があるが（図 3）、同じ遺伝子変異型であっても、ポルトガルとスウェーデンでは、浸透率や発症年齢等に大きな違いがある。ポルトガルでは、Val30Met 変異を持つ 90%以上が 30 歳代前後で発症し、比較的病気の進行が急速であるが、スウェーデンでは、Val30Met 変異を保因しても発症しない場合が多く、発症しても比較的高齢で進行も緩徐である症例が多い（図 4）。本邦においても、TTR 遺伝子に同じ Val30Met 変異を持つ患者であっても、20 から 30 歳代の若年で発症するタイプと、50 歳以上の高齢で発症するケースがあり、TTR 遺伝子変異以外の要因が本疾患の発症に深くかかわっていると予測されている（図 5）。その他にも、脳脊髄の髄膜や血管を中心にアミロイドが沈着する「脳髄膜型」や心アミロイドーシスが主体となり生じる「心臓型」の遺伝性 TTR アミロイドーシスが知られている。本邦でも、最も患者数の多い Val30Met 型に加えて、20 種以上の TTR 遺伝子変異型がこれまでに報告されている。

一方、遺伝子変異のない野生型の TTR も、SSA のアミロイド前駆蛋白質として、高齢者の心臓を中心にアミロイド沈着を生じる（図 6）[4]。欧米での剖検例を用いた解析によると、80 歳以上の高齢者の 25%程度に野生型 TTR に由来するアミロイド沈着が確認されている。我々が行った日本人を対象にして同様の解析では、80 歳以上の 11.5%に TTR アミロイド沈着が確認された[5]。

FAP と SSA は、同じ TTR が生じるアミロイドーシスであるが、両疾患におけるアミロイドの沈着臓器やアミロイド沈着の形態には幾つかの相違点がある。沈着臓器に関しては、FAP では、末梢神経、消化管、心臓、腎臓など全身の諸臓器に病変が生じるが、SSA では主として心臓にアミロイド沈着が生じる（図 7）。また、同じ心臓におけるアミロイドでも、FAP では心室壁の周辺や心筋束周囲を主体として沈着が生じるが、SSA では心室壁内部に斑状のアミロイド沈着として認められる場合が多い（図 8）。また、電子顕微鏡にてアミロイド線維の形態を観察すると、FAP では細長い線維が平行して存在するのに対し、SSA では比較的短い線維が不規則な方向で沈着していることが確認できる。アミロイドの形態からも FAP と SSA では、アミロイド形成機構が異なると考えられる。

肝移植療法および関連する病態

本疾患の病原蛋白質である異型 TTR の 95%以上が肝臓で産生されていることから、1990 年 4 月にスウェーデンで肝移植が本疾患に対する治療法として初めて行われ、その有効性が示されてきた（図 9）。現在、年間約 120 例の肝移植が FAP に対して実施されている。しかし、肝移植で本疾患が完全に治癒するわけ

ではなく、症候の大部分は移植後も残存する。また、発症から長期間の経過や高齢、mBMI が低値であると移植後の予後が不良であるため、肝移植が実施できない場合も少なくない。また、症例によっては肝移植後も症候が進行するケースもある。熊本大学でフォローしている FAP 患者に対して、これまでに 45 例の肝移植が実施され、大部分の症例では良好な経過が確認されているが、一部の患者では移植後も症候が進行している（図 10）。

肝移植後も症候が徐々に進行し、10 年以上経過した後に死亡した 4 例の FAP 患者（Val30Met 型）の剖検組織を用いて、病理組織学的な解析を実施したところ、通常の FAP 患者と比較して、重度のアミロイドを認める臓器と、ほとんどアミロイド沈着が認められない臓器が確認された。移植後の症例では、腎臓、甲状腺、消化管、末梢神経等では、アミロイド沈着の量はわずかであったが、心臓、肺、舌では、移植していない FAP 患者と同等のアミロイド沈着が確認された（図 11）。

これらの病理組織からアミロイドを抽出し、アミロイドの構成成分を確認したところ、移植後の症例では、脊髄を除く各臓器で、野生型 TTR が主体となりアミロイドを形成していることが判明した。脊髄のアミロイドは肝移植後も変異型 TTR を主体として構成されていることが確認されたが、この変異型 TTR は、肝移植後も継続して脳脈絡叢で産生され、髄液へと分泌された異型 TTR に由来していると考えられる。また、肝移植を受けずに死亡した FAP 患者の剖検時の病理組織を用いて解析したところ、肝移植後もアミロイドの沈着が継続して認められた心臓、肺、舌でのアミロイドは、変異型と野生型の TTR がほぼ同量で存在し、これに対して、肝移植後の症例でわずかなアミロイド沈着のみであった腎臓、甲状腺、末梢神経等では、変異型 TTR が主体となりアミロイドを構成していることも確認された。また、肝移植後に野生型 TTR が主体となりアミロイド沈着を生じる臓器部位は、孤発性疾患である SSA で野生型 TTR がアミロイドを生じる部位と類似していた。これらの結果から、野生型 TTR がアミロイドを形成しやすい臓器部位は、変異型 TTR がアミロイドを形成する臓器部位と異なると考えられた。

新規治療法の開発

これらの背景から、肝移植以外の治療法の確立が急務である。現在、臨床応用に最も近いものとして TTR を四量体として安定化する薬剤がある。TTR は血中で安定した四量体を形成しているが、異型 TTR の存在でこの四量体が不安定となり、単量体へと解離することが TTR のミスフォールディングやアミロイド形成過程に重要な過程と考えられている。非ステロイド系抗炎症薬のひとつであるジフルニサルに TTR 四量体の安定化作用が認められるため、新規の FAP

治療薬として有望視されており、現在臨床治験が進行している。ジフルニサルには非ステロイド系抗炎症薬が元来持つ COX 阻害作用が存在し、腎障害などの副作用が出現する危険性が想定されるため、COX 阻害作用を持たずに TTR 四量体の強い安定化作用を示す新規化合物である tafamidis も国際的な臨床治験が実施され、末梢神経障害に由来する症候の進行を一部抑制する結果が得られている。

動物におけるアミロイドーシスの発生と遺伝子改変モデル

ヒト以外でも各種の動物がアミロイドーシスを発症することが報告されている（図 1 2）。特に炎症に続発して発症する AA アミロイドーシスは多くの動物種で発症することが確認されている。その他にも幾つかのアミロイドーシスの発生が確認されているが、ヒト以外の動物では TTR アミロイドーシスの発症は確認されていなかった。また、TTR アミロイドーシスのモデル動物として、これまでに各種の遺伝子改変動物（マウス、ラット、ハエ）が開発されてきた。これらのモデルでは、導入されたヒト TTR が組織に沈着することが確認されたものもあるが、ヒトの臨床症候に類似した表現型を示さないため、よりヒトの病態に類似した動物モデルの開発が求められてきた。

高齢アフリカミドリザルに生じる TTR アミロイドーシス

2008 年に Nakamura らは、高齢のアフリカミドリザルが TTR アミロイドーシスを発症し、ヒトの病態と類似した不整脈や心不全症候を認めたことを報告した（図 1 3）[6]。本例は、ヒト以外で TTR アミロイドーシスの発症が報告された初めての症例である。その後、我々との共同研究により、アフリカミドリザルの TTR は、他の生物種と異なり 122 番目のアミノ酸がイソロイシン（他の生物種はバリン）であることが判明した（図 1 4）[7]。

我々は、多種の霊長類の剖検時病理組織を用いて、TTR アミロイド沈着の発生を調査したが、アフリカミドリザル以外では、TTR アミロイド沈着は確認できなかった。

アフリカミドリザルの TTR アミノ酸配列は、Ile122 アレル以外は、カイニクイザルの TTR アミノ酸配列と同一であるが、アフリカミドリザルの血中 TTR はカイニクイザル TTR と比較して四量体が不安定で単量体へと解離しやすい傾向が観察された（図 1 5）。この結果から、アフリカミドリザルの保因する Ile122 アレルが、アフリカミドリザルの TTR アミロイドーシス発症の主なリスクファクターであると考えられた。

また、ヒトでは、TTR の 122 番目のアミノ酸は通常バリンであるが、アフリカ系アメリカ人の約 3.9%は Val122Ile 変異を持ち、心症候が主体の TTR アミロ

イドーシスの発症要因であることが知られている。アフリカミドリザルも心症候を主体に発症することから、アフリカミドリザルにおけるアミロイドーシスはヒト **TTR** アミロイドーシスの病態と類似し、ヒト病態モデルとして有用であると考えられる。

おわりに

TTR アミロイドーシスの病態や治療に関連する近年の知見および、新たな疾患動物モデルとして期待されるアフリカミドリザルに関する研究成果を概説した。

また、サル **TTR** アミロイドーシスに関する研究成果は、滋賀医科大学 動物生命科学研究センター 中村紳一朗先生、医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター 揚山直英先生、麻布大学 獣医学部 宇根有美先生、富山大学 構造生物学 水口峰之先生との共同研究によるものである。

参考文献

1. Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, et al. Amyloid fibril protein nomenclature: 2010 recommendations from the nomenclature committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid* 2010;17:101–104.
2. Ando Y, Nakamura M, Araki S. Transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy. *Arch Neurol* 2005;62:1057–1062.
3. Connors LH, Lim A, Prokaeva T, et al. Tabulation of human transthyretin (TTR) variants, 2003. *Amyloid* 2003;10:160–184.
4. Westermarck P, Bergström J, Solomon A, et al. Transthyretin-derived senile systemic amyloidosis: Clinicopathologic and structural considerations. *Amyloid* 2003;10:48–54.
5. Ueda M, Horibata Y, Shono M, Misumi Y, Oshima T, Su Y, Tasaki M, Shinriki S, Kawahara S, Jono H, Obayashi K, Ogawa H, Ando Y. Clinicopathological features of senile systemic amyloidosis: an ante- and

postmortem study. Mod Pathol, 2011 (in press).

6. Nakamura S, Okabayashi S, Ageyama N, et al. Transthyretin amyloidosis and two other aging-related amyloidoses in an aged vervet monkey. Vet Pathol 2008;45:67-72.

7. Ueda M, Ageyama N, Nakamura S, Nakamura M, Chambers J, Misumi Y, Mizuguchi M, Shinriki S, Kawahara S, Tasaki M, Jono H, Obayashi K, Sasaki E, Une Y, Ando Y. Aged vervet monkeys developing transthyretin amyloidosis with the human disease-causing Ile122 allele: A valid pathological model of the human disease. Lab Invest, 2011 (in press)

アミロイドーシス

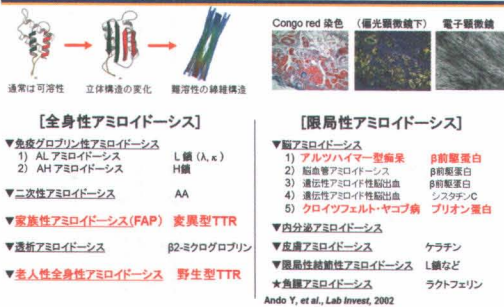


図 1. 各種アミロイドーシスの病型

アミロイドーシスの多様な病態

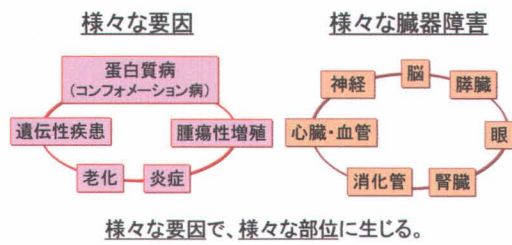


図 2. アミロイドーシスの多様な病態

FAP患者の主な集積地域

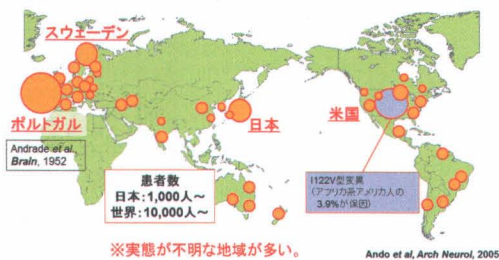


図 3. FAP患者の主たる集積地

同じFAP ATTR V30Mでも、表現型が違う。

	Sweden	Portugal
発症年齢	55.5歳	34.6歳
浸透率	2～3%	90%以上
進行速度	比較的緩徐	比較的急速

図 4. FAPにおける表現型の多様性

様々なTTR変異型によるFAP

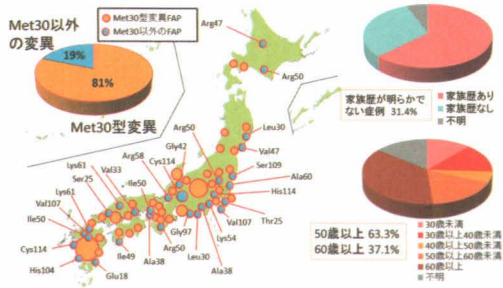


図 5. 本邦のFAP臨床像

老人性全身性アミロイドーシス (Senile Systemic Amyloidosis, SSA)

- ・野生型トランスサイレチン(TTR)が原因(TTRに変異がなくても病気がおこる！)
- ・心不全と手根管症候群で発症する場合が多い。
- ・高齢化と共に、益々重要視される病態
(欧米では80歳以上の約25%がSSAと考えられている。)

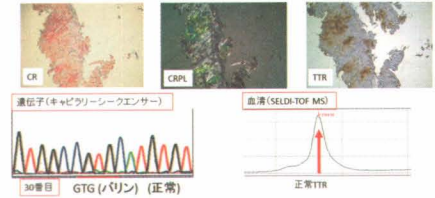


図 6. 老人性全身性アミロイドーシスの臨床像

FAPとSSAは、沈着(障害)臓器・部位が異なる。

【FAP】	腎臓	【SSA】		FAP	SSA
心臓	++	++			
腎臓	++	-			
消化管	++	+			
甲状腺	+++	-			

図 7. FAPとSSAの病理所見の違い

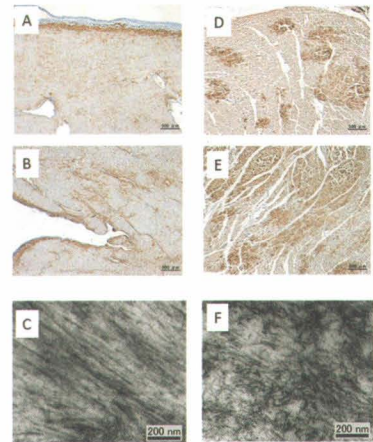


図 8. 心臓におけるFAPとSSAのアミロイド沈着像の違い

FAPの肝移植と病態の変化

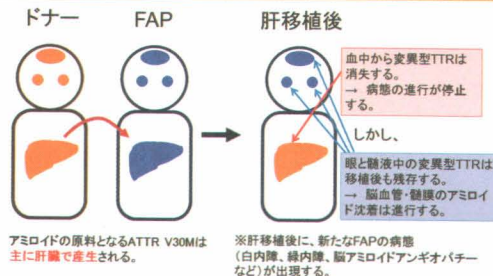


図 9. FAPに対する肝移植

本学における FAP に対する肝移植治療

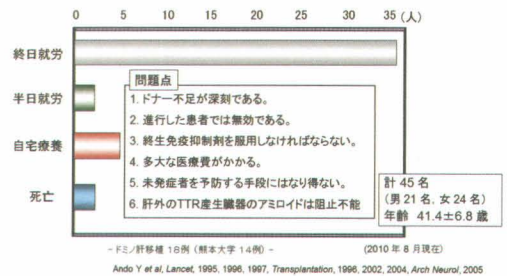


図10. 肝移植を受けたFAP患者のADL

肝移植後、長期経過例

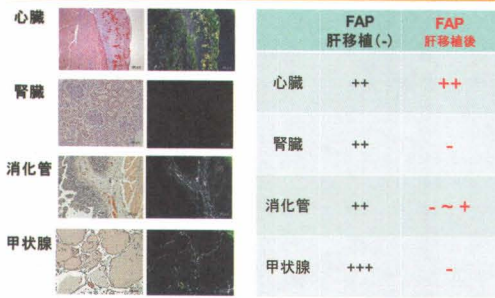


図11. 肝移植長期経過例の病理所見

動物におけるアミロイドーシス

自然発症アミロイドーシス			
アミロイド 原蛋白	全長性 (h)	症候、沈着臓器	動物種
AA	S	慢性炎症に誘発	様々な生物種 (mouse, cow, bird, etc.)
AApoAII	S	出血に誘発	Mouse
Aβ	L	脳、老化に誘発	Dog, monkey, ape, etc.
AIAPP	L	糖尿病に誘発	Cat, monkey, ape, etc.
AL	L	骨髄腫に誘発	Horse
AApoAII	S	老化に誘発	Dog
Alns	L	糖尿病に誘発	Octodon degus (rodent)
ACas (α-2S casein)	L	乳腺	Cow
Atau	L	脳	Polar bear, ape, etc.

Westermark et al., Amyloid 2007

図12. 動物におけるアミロイドーシス

TTRアミロイド沈着

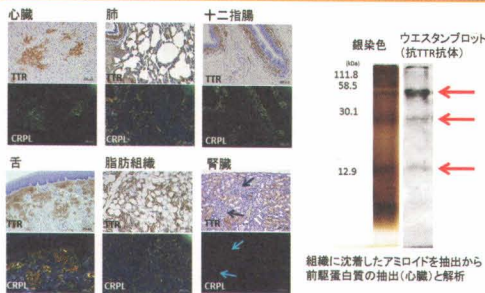


図13. TTRアミロイドーシスを発症したアフリカミドリザルの病理像

		アフリカミドリザル (N=17)	カニクイザル (N=15)
-16	Arg	17/17 (100%)	12/15 (80%)
	Arg/His	-	2/15 (13%)
	Arg/Cys	-	1/15 (7%)
5	Val	7/17 (41%)	12/15 (80%)
	Val/Ile	7/17 (41%)	3/15 (20%)
	Ile	3/17 (18%)	-
42	Ala	17/17 (100%)	12/15 (80%)
	Ala/Val	-	3/15 (20%)
62	Ala	17/17 (100%)	11/15 (73%)
	Ala/Val	-	4/15 (27%)
122	Ile	17/17 (100%)	-
	Val	-	15/15 (100%)

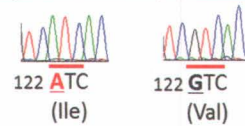


図14. アフリカミドリザルとカニクイザルのTTR配列

血中 TTR 四量体の安定性

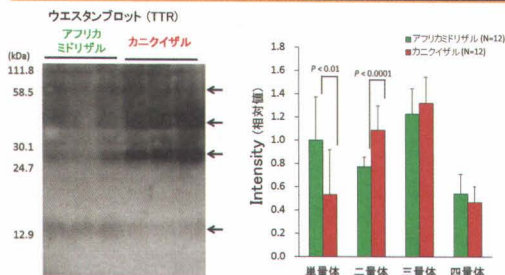


図15. アフリカミドリザルとカニクイザルの血中TTRの安定性

筋萎縮性側索硬化症研究におけるモデル動物のインパクト

滋賀医科大学分子神経科学研究センター
神経難病治療学分野
漆谷 真

要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は脳脊髄における運動ニューロン変性によって顔面、四肢の筋萎縮と筋力低下を来す、致死性の神経変性疾患である。神経難病研究には適切なモデル動物の存在が不可欠であり、まずは家族性 ALS の原因遺伝子を探索する中で、1993 年に家族性 ALS の 20% で superoxide dismutase 1 (SOD1) の突然変異が発見され、ヒト遺伝子以上に基づく最初の ALS モデルマウスが作出された。さらに 2006 年に孤発性と家族性 ALS の病態関連分子として TAR DNA-binding protein-43 (TDP-43) が同定され、TDP-43 のトランスジェニック (Tg) マウスも ALS と類似の病理所見と麻痺症状を起こすことが報告され、新たな ALS モデル動物として期待されている。変異 SOD1 トランスジェニックマウスの研究によって、神経病理学において示唆されてきたプロテアソーム経路や酸化ストレスの関与が実際に証明され、逆にマウスにおいて発見された小胞体ストレスや分泌系の関与がヒト病理で確認されるなど、ALS の病態理解は飛躍的に進んだ。

我々は変異 SOD1 Tg マウスの解析から原因タンパク質が細胞外に分泌されミクログリアの活性化と運動ニューロン死を引き起こすことを発見し、細胞外の変異 SOD1 を標的としたワクチン療法と抗体療法を Tg マウスに行い一定の効果を得た。しかしその一方で、変異 SOD1 トランスジェニックマウスにおいて有効性が確認された実に多くの治療薬について臨床治験が行われたが、残念ながらこれまで有効性が確認されたものはない。今後はモデル動物のとらえ方とヒトへの外挿性について十分な議論を行うことにより、臨床応用性の高い適切なモデルマウスの作出と利用が望まれる。

はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis; ALS) は脳・脊髄の運動ニューロンの神経細胞死によって全身の筋萎縮と筋力低下が生じる、進行性の神経変性疾患である。発症後の罹病期間は 3~5 年で自発呼吸が不可能となる致死性疾患で厚生労働省の特定疾患に指定されている。我が国では 7000 人の患者がおり、毎年 10 万人あたり 3 人の新規発症者がいると考えられている。

フランスの有名な神経内科医、神経病理学者である Jean-Martin Charcot がはじめて ALS 患者 2 例の臨床・神経病理学的所見を詳細に論文発表したのは 1869 年であり、疾患単位としての歴史はアルツハイマー病を 40 余年上回る。

ALS の原因は長い間不明であったが、臨床遺伝学の進歩により 1993 年スーパーオキシジスムターゼ 1 (superoxide dismutase 1; SOD1) の突然変異が家族性 ALS 患者の 20% に存在することが発見され¹⁾、それ以降 ALS 研究は第 1 黄金期を迎えた。

疾患の病態を理解し治療法を開発するためには適切な疾患モデルを開発することが重要である。ALS モデルとして用いられている in vitro モデルと動物モデルについて以下に紹介し、ALS 研究における成果や現在の位置づけについて概説する。

ALS の in vitro モデル (表 1)

ALS の細胞モデルは古くから存在する。大別すると、胎仔マウスやラットの脊髄組織を用いた分散培養細胞や脊髄切片を培養する初代培養と、不死化細胞を用いた cell-line に疾患関連遺伝子を発現させる実験系が汎用されている。近年では培養技術の進歩により、Tg マウスの胎仔脊髄や ES 細胞からの運動ニューロンの純培養を用いる研究グループも増えている。初代培養は運動ニューロンの性質を保っているという利点がある反面、不死化細胞に比較して培養が煩雑である。不死化細胞は実験が簡便であるが、腫瘍細胞を背景としているため、運動ニューロンで生じる現象を再現できない可能性はある。ただし、不死化細胞の中でカナダの Niel Cashman によって開発された NSC34 は神経芽細胞腫と脊髄運動ニューロンのハイブリッド細胞で運動ニューロンの形質を有すると考えられている。

現在 ALS において唯一有効性が確認されている薬剤、リルゾールはグルタミン酸放出抑制剤であるが、運動ニューロン死におけるグルタミン酸毒性の関与は初代培養細胞を用いて明らかにされたものである^{2, 3)}。

表1 ALSのin vitroモデル

- 培養細胞を用いた障害実験
 - 細胞 (運動ニューロンの性質を有する)
 - 胎児ラットマウス脊髄運動ニューロン初代培養 (分岐培養, 伸長培養)
 - B3細胞由来培養運動ニューロン
 - 運動ニューロン不活化細胞(TG34)
 - 障害 (ALSで関連が疑われている)
 - グルタミン酸
 - 酸化ストレス
 - ミトコンドリア障害薬 (ロタノン)
- 疾患関連遺伝子発現培養細胞
 - 不活化培養細胞へのトランスフェクション
 - 神経
 - 運動ニューロンの性質をどれだけ有するか不明
 - Tgマウスの胎児細胞初代培養 (transgenic culture)
 - 神経, グリア細胞の特性が維持されている
 - 培養に手間がかかる (genotyping, 必要数, 封入可能性)
 - 染色体が実験手技に影響し, 厳密な細胞比較が困難 (non-TgとTg等)
 - 初代培養細胞へのトランスフェクション
 - 封入実験や多条件の実験が組みやすい
 - 適当ウイルスベクターが必要

齧歯類を用いた ALS モデル動物

ALS は臨床病理学的所見が極めて明確であり、ALS のモデルマウスとなるためには少なくとも以下の諸点を満たすことが求められる。

1. 進行性の致死性四肢麻痺
2. 体性運動ニューロン優位の神経変性
3. 神経炎症 (グリオシス)
4. 異常タンパク凝集体

1. 障害実験マウス

ALS が運動ニューロンを選択的に傷害する疾患であることから、舌下神経や脊髄前根の axotomy や avulsion によって運動ニューロンを選択的に傷害するモデルは手技が容易で、実験の再現性に優れていることから、現在でもよく用いられている。

2. 変異 SOD1 トランスジェニック (Tg) マウス

1994 年、米国の Mark Gurney 博士らは、SOD1 の 93 番目のグリシンをがアラニンに置換した突然変異体を全身に過剰発現させたマウスが、致死性の四肢麻痺を呈し、脊髄の組織化学的解析によって ALS 同様の運動ニューロンの減少とアストロサイトやミクログリアの増生を認めた⁴⁾。この変異 SOD1 トランスジェニックマウスはヒト遺伝子異常に基づく初めての ALS のモデル動物として広く普及した。同時に、らは SOD1 のノックアウトマウスを作製したが、軸索損傷時の運動ニューロンが野生型に比べて脆弱傾向を認めたが、ALS の表現型は示さなかった⁵⁾。加えて、140 種類を超える SOD1 の突然変異において、変異部位はあらゆる機能ドメインに存在し、既報の SOD1 の酵素活性は正常から、喪失まで実に様々であるボックスことなどから、現在変異 SOD1 の突然変異による ALS は、原因タンパク質の機能喪失によるものではなく、酵素活性とは無関係の何らかの機能獲得、つ

まり gain of toxic function によると考えられている⁶⁾。

3. TDP43 トランスジェニックマウス

1993 年から、2005 年にかけて ALS 研究は SOD1 を中心に進められ、極めて多くの病態が明らかになったが、患者の 90%以上を占める孤発性 ALS の原因解明は進まなかった。2006 年に本邦の長谷川⁷⁾、米国の Trojanowski、Lee らのグループ⁸⁾は前頭側頭変性症の患者脳の組織ライセート中の界面活性剤不溶性成分に存在するタンパク質の質量解析を行い、各々のグループが独立して TAR DNA binding protein 43 (TDP-43)を同定した。さらに彼らは TDP43 に対する抗体が孤発性 ALS の運動ニューロン内のユビキチン陽性封入体を染色する事を見出した。特に ALS の運動ニューロンに存在する skein-like inclusion と言われる封入体は、ALS の病理的診断価値の高い構造体であり、TDP-43 は ALS の病態に深く関わる分子として注目された。驚くべきことに、その後孤発性、家族性 ALS で TDP43 の突然変異を有する例が世界中で報告され、TGP43 は ALS の原因となり得ることが臨床的遺伝学的に証明された⁹⁾。TDP-43 は核内に存在する RNA 結合タンパク質であるがその生理的機能は不明である。最初の TDP-43 トランスジェニックマウスは米国ワシントン大学の Robert Baloh 博士によって作成された¹⁰⁾。彼らは家族性 ALS の原因遺伝子 A315T 変異体をプリオンプロモーター下に過剰発現するマウスを作成したところ、大脳と脊髄にユビキチン化封入体と神経細胞死を認める、致死性の四肢麻痺を呈するという、ALS を伴う前頭側頭変性症 (FTLD-ALS) と同様の表現型を示すマウスの作成に成功した。ところが、その後変異体のみならず野生型 TDP-43 の過剰発現によってマウスが運動ニューロン変性と麻痺を呈することが次々と報告され¹¹⁾、孤発性 ALS に存在する野生型 TDP-43 の発現上昇と運動ニューロン死との関連が注目されている。しかし、RNA 結合タンパク質である TDP-43 を人為的に過剰発現させることで、生理的な転写が様々な影響を受ける可能性があり、慎重な解釈が求められると共に、まずは変異型 TDP-43 の病態生理を明らかにすることが重要と考えられる。

TDP-43 のノックアウトマウスは米国の Philip Wong のグループが作出したが、栄養障害を生じたのみで ALS に関連する表現型は呈さなかった¹²⁾。よって TDP-43 の機能喪失が ALS の直接原因にはならないと考えられる。

SOD1Tg マウスが教えた重要な病態：非細胞自律性運動ニューロン死

変異 SOD1 は野生型に比し、親水性が低く培養細胞に過剰発現させると界面活性剤不溶性の画分で多く検出される。このため HSP70 等の分子シャペロンと結合しやすく、ポリユビキチン化を受ける^{13, 14)}。ま

た強固なオリゴマーを形成しやすく、EGFP等の蛍光タグで標識すると細胞内で明瞭な凝集体を形成する。また、ミトコンドリアへの結合による機能障害やプロテアソームの機能障害を呈しやすく、変異SOD1のそうした物性に対して運動ニューロンが脆弱である可能性が考えられた。実際培養細胞では、変異SOD1を過剰発現した細胞は細胞自律性に死滅する。ところが、米国。カナダの4グループによる共同研究によって正常胚と変異SOD1 Tgマウスの初期胚を交合させて作ったキメラマウスの研究がなされ、運動ニューロンのみに変異SOD1が発現してもALS様の運動ニューロン変性が生じず、運動ニューロン周囲を変異SOD1発現細胞が取り囲むことが重要であることが明らかとなった¹⁵⁾。その後米国Don ClevelandのグループはCre-LoxPシステムを用いて、運動ニューロン、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドログリアの中で特定の細胞において、変異SOD1の発現を抑えたTgマウスを作製し、解析した結果、運動ニューロンの変異SOD1は発症を規定し、ミクログリアとアストロサイトの変異SOD1は、進行を規定することが明らかとなった¹⁶⁾。この様にALSの運動ニューロン死は、それ自身が発現する変異SOD1ではなく、周囲をとりまくグリア細胞における変異SOD1の発現によって引き起こされ、これを非細胞自律性運動ニューロン死という。非細胞自律性ニューロン死の機序の解明は治療法開発に直結するため、ニューロンとグリア細胞間のシグナル連絡を担う分子の探索の努力がなされてきた。炎症関連分子や、グルタミン酸などは古くから着目された物質であるが、我々は運動ニューロン変性には変異SOD1発現細胞が必要という証拠から、変異SOD1自体に着目し、酵母two hybrid法を用い変異SOD1結合タンパクのスクリーニングを行った結果、神経分泌タンパクであるクロモグラニンBを同定した。さらに変異SOD1がクロモグラニンBと同じファミリーに属するクロモグラニンAとも結合し、細胞外に分泌され、ミクログリアの活性化を介して運動ニューロン死を起こすことを報告した¹⁷⁾。さらにクロモグラニンAと変異SOD1のダブルトランスジェニックマウスを作製し、クロモグラニンAの過剰発現によりALSの発症が促進されることを示した¹⁸⁾。

SOD1 Tgマウスに対する免疫療法

我々は細胞の変異タンパクを治療標的として変異SOD1を金属非配位状態でよりミスフォールドさせたワクチンを用いて変異SOD1トランスジェニックマウスを免疫したところ、発症、進行とも有意に遅延させた。さらに変異SOD1ワクチンによって得られた抗血清からIgGを精製し、トランスジェニックマウスの脳室内に持続投与させたところ、疾患の進行を有意に遅延させた¹⁹⁾。我々は同時に変異SOD1特異的なマウスモノクローナル抗体を作製し、近年そのうちの1クローンが脳室内投与によりALS症状の進行を

抑制させた。我々は変異SOD1タンパクに質に対する結合性がより高いクローンを髄腔内に持続投与することにより、疾患の進行を著明に遅らせることに成功している。

ALSモデルマウスの再検証

これまで実に多くの治療薬が変異SOD1トランスジェニックマウスにおいて有効であると報告されて速やかに臨床試験が行われたが、残念ながらこれまで有効性が確認されたものはない。こうした流れの中、近年遺伝子改変モデルマウスの治療研究における有効性が盛んに議論されている。問題点として

- 1) 遺伝子改変マウスが臨床、病理学的にどこまで疾患を再現しているか
- 2) 性差や飼育環境、繁殖の遺伝子バックグラウンドが均一か
- 3) 遺伝子改変の戦略が実際の臨床病態と著しくかけ離れてはいないか
- 4) 1遺伝子異常に基づく表現型をどこまで孤発性患者の病態に応用可能であるのか

等があげられている。さらに近年では霊長類と齧歯類では種差が大きすぎ疾患治療への外挿性が低いという意見もある。しかしながら、遺伝子改変動物が病態への理解に大きな貢献をしていることに疑いはなく、例えば変異SOD1トランスジェニックマウスの解析から発見された運動ニューロン死のメカニズムは、その後の免疫療法や再生医療に大きな影響を与えている。

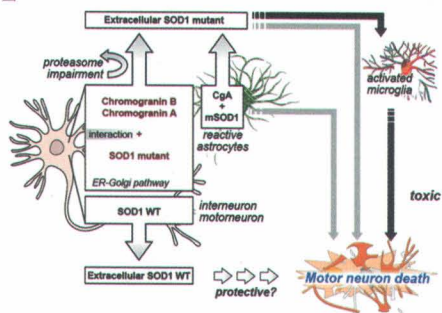
最後に

言うまでもなく、難病の克服には病態の理解が必須である。そのためには疾患モデル動物の存在が欠かせない。近年の臨床遺伝学、遺伝子工学と実験動物学の著しい進歩から、ヒト遺伝子異常に基づく遺伝子改変マウスの作製が容易になり、数々の難病の病態の解明や治療法の提示に貢献している。ALSも同様の恩恵に浴してきたが、現在臨床試験の段階で足踏みをしており、実験動物の正当性が改めて見直されている。我々はモデル動物、特に齧歯類から得られた情報をいかにヒトに外挿するかについて、今後議論を深める必要がある。

謝辞

本講演の機会を与えていただいた、関西実験動物研究会の関係者各位、滋賀医科大学 鳥居隆三教授、中村紳一郎准教授に深謝いたします。本講は第107回 関西実験動物研究会にて講演した内容を編集したものである。

図

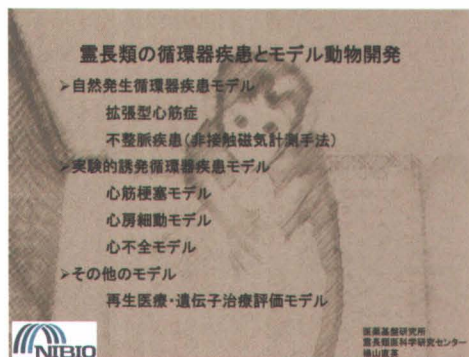


変異SOD1はクロモグラニンとの結合を介して細胞外に分泌され、ミトコンドリアの活性化を介した運動ニューロン死を引き起こす。この細胞外の変異SOD1は免疫療法の治療標的として注目されている。Urushitani et al. Nat Neurosci 2006より改題。

参考文献

- Rosen DR, et al: Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 362: 59-62, 1993.
- Rothstein JD, et al: Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 38: 73-84, 1995.
- Urushitani M, et al: Mechanism of selective motor neuronal death after exposure of spinal cord to glutamate: involvement of glutamate-induced nitric oxide in motor neuron toxicity and nonmotor neuron protection. *Ann Neurol* 44: 796-807, 1998.
- Gurney ME, et al: Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. *Science* 264: 1772-1775, 1994.
- Reaume AG, et al: Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. *Nat Genet* 13: 43-47, 1996.
- Boillee S, et al: ALS: a disease of motor neurons and their nonneuronal neighbors. *Neuron* 52: 39-59, 2006.
- Arai T, et al: TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 351: 602-611, 2006.
- Neumann M, et al: Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314: 130-133, 2006.
- Chen-Plotkin AS, et al: TAR DNA-binding protein 43 in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 6: 211-220, 2010.
- Wegorzewska I, et al: TDP-43 mutant transgenic mice develop features of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 18809-18814, 2009.
- Xu YF, et al: Wild-type human TDP-43 expression causes TDP-43 phosphorylation, mitochondrial aggregation, motor deficits, and early mortality in transgenic mice. *J Neurosci* 30: 10851-10859, 2010.
- Chiang PM, et al: Deletion of TDP-43 down-regulates Tbc1d1, a gene linked to obesity, and alters body fat metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 16320-16324, 2010.
- Urushitani M, et al: Proteasomal inhibition by misfolded mutant superoxide dismutase 1 induces selective motor neuron death in familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 83: 1030-1042, 2002.
- Urushitani M, et al: CHIP promotes proteasomal degradation of familial ALS-linked mutant SOD1 by ubiquitinating Hsp/Hsc70. *J Neurochem* 90: 231-244, 2004.
- Clement AM, et al: Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 302: 113-117, 2003.
- Lobsiger CS, et al: Glial cells as intrinsic components of non-cell-autonomous neurodegenerative disease. *Nat Neurosci* 10: 1355-1360, 2007.
- Urushitani M, et al: Chromogranin-mediated secretion of mutant superoxide dismutase proteins linked to amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 9: 108-118, 2006.
- Ezzi SA, et al: Neuronal over-expression of chromogranin A accelerates disease onset in a mouse model of ALS. *J Neurochem* 115: 1102-1111, 2010.
- Urushitani M, et al: Therapeutic effects of immunization with mutant superoxide dismutase in mice models of amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 2495-2500, 2007.

「霊長類の循環器疾患とモデル動物開発」
 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
 揚山直英



これまで著者らは霊長類を用いた様々な研究に従事してきたが、最近はその新規診断予防法の開発研究が急がれる循環器疾患に着目して研究を行っている。当センターは30年以上に渡り維持される世界でも例のないカンクイザル大規模繁殖コロニーを有しているという特徴から、自然発生の疾患モデルや施設の特殊性を生かした様々な誘発疾患モデルを用いた研究を展開する事が可能である。今回はその様な霊長類の循環器疾患モデルの開発や応用の中から、上記に示す内容を抜粋してご紹介する。



まず、霊長類と循環器疾患の関係、背景や目

的などを述べたい。まず大前提として、図1左に示す様に循環器疾患は世界各国で死亡原因の上位に上がり問題となっていることから、その新規治療・診断・予防法樹立というものが求められている。こういった手法のエビデンス獲得のためにはモデル動物が必須であると言うのは言うまでも無い事実である。さらに、昨今では循環器疾患をはじめとした様々な疾患に対する研究を進展させるためには前臨床研究も含めてヒトにもっとも近縁なサル類のモデルが必須となりつつあり、その需要も高まっている。しかしながら一方で、サル類の循環器疾患の報告はほとんど無く、また、その検査や評価方法が確立されていないと言う事もわかって来ている(右図)。すなわち、循環器疾患の研究を展開する以前に、サルの客観的な評価系が必要であると言う事になる。そこで我々はサルにおける診断技術の確立や、高感度な検出系、体系的調査など、評価系の樹立や疾患モデルの樹立を目指す事にした。



まず我々はサル類における循環器疾患研究を可能とすべく、その基盤となる技術として図2に示した画像診断や電気生理学的な評価

個体が劇的な病態を示している事がわかり、疾患抽出に役立てられた。また、心電図からも QTc や QRS 波などの重要な指標が得られ、毒性、安全性試験では大変重要な不整脈などの評価基準として役立てられている。さらに、MRI や心磁計からも図に示したデータベースやイメージング評価基準が得られている。こうした評価基準を利用し、スクリーニングを通す事でサル繁殖コロニー内に多様な自然発生の循環器疾患が存在する事実がわかってきた。特にその中にはサルで初の報告となる心室中隔欠損や弁膜症、右室二腔症等の貴重な疾患も含まれている。今回はこれらの疾患の中から自然発生の心筋症や不整脈疾患、さらに作出型心筋梗塞モデルなどを中心に紹介する。



まず、こちらもサル類では初の報告となる心不全病態を呈する拡張型心筋症について紹介したものである。図 4 左にある様に、心筋症の中には肥大型、拘束型などのいくつかの分類があり、その中の一つに拡張型心筋症がある。また、病態も図に示したいくつかの形態を示すが、拡張相を呈するなどして最終的に

は主に心不全を来すものが拡張型心筋症でもある。その症状は重症化すると対症療法としては基本的に心臓移植などの外科的治療しか無く、根治療法はほぼ無いと言える。そのため、現時点では厚労省指定の難治性疾患に分類され、その新規治療法や予防法の開発研究が重点的に進められている疾患でもある。今回我々の研究成果によって、その疾患の唯一のモデルとなりうる可能性を示すサルのモデルが抽出された。右図に示したモデルは心電図所見で左室高電位差を示しレントゲン所見でも明らかな心胸郭比の拡大を認めた。さらに心エコーでも左室の拡張と機能低下が認められた。また、MRI でも壁運動の異常、造影による心筋バイアビリティの低下が見て取れた。その後、治療にも関わらず、重度な心不全病態を呈し死亡したが、その病理所見でも拡張型心筋症の特徴所見を示した。

図5:まとめ

カニクイザル繁殖コロニーにおいてヒト病態を忠実に反映し、家系性を有する、拡張型心筋症モデルを構築した。

- ◆心エコー、心電図、レントゲン検査による心拡大、心室の拡張、FS、EFなどの機能低下といった所見より、本疾患が臨床レベルでヒト病態を忠実に反映する事を明らかにした。
- ◆本疾患において心臓ペプチドホルモンのANP、BNPは心機能の低下に伴い上昇する事を明らかにし、これらホルモンの測定値がサル類において心疾患の有用な指標となる事を明らかにした。
- ◆MRIでは負荷条件下において心電図同期撮影法による壁運動の低下、遅延造影による心筋バイアビリティの低下を描写する事に成功し、サル疾患モデルにおける画像診断の有用性を示した。
- ◆病理学的検査では心腔間質のびまん性線維化、心筋の線維交差配列や脱落などの所見を得ることが出来、本疾患が病理レベルでもヒトの病態を忠実に反映する拡張型心筋症である事を示した。
- ◆本疾患に家系集積性が確認され、さらにヒトとの相関性はなかったが、疾患特異的な遺伝子変異の存在が示唆された。

以上、図5に示した通り、結論としてはカニクイザル繁殖コロニーにおいて重度の心不全症状を呈し、ヒト病態を忠実に反映する拡張型心筋症個体が存在する事が明らかとなり、貴重な疾患モデルとしての樹立が示唆された。

すなわち、得られた成果としては、サル類の循環器疾患に対する有用な指標を樹立し、画像診断も可能とし、病理組織レベルでの検索でもその有用性を示し、家系性も明らかにしたと言う事があげられる。心筋症や心不全の病態機序は未だわかっていない事が多く、その解明を本疾患モデルを用いて進めることは、心臓病態学の発展ならびにこれらの疾患の新規治療・診断法開発研究に多くの知見を与えるものと思われる。さらに、特に樹立した霊長類心筋症モデルの応用として、得られたサンプルから mutation 部位の確認や、疾患関連タンパク質を洗い出すようなプロテオーム解析も現在検討している。また、こうしたモデルを利用して、心疾患の新たなバイオマーカーの可能性を持つ物質の解析やイメージングなどのアプローチも現在進めており、その成果が待たれている。この様に、このモデル群一つ取ってもすでに遺伝子、タンパク、個体レベルでのリサーチリソースとして有効な利用が促進されつつあり、今後、本疾患モデルのさらなる詳細な解析を通じて貴重な生物資源としての付加価値を探るつもりである。

図6:非接触磁気計測手法に基づく電気生理学評価



心磁図

➢心臓の電気的興奮に伴い磁界が発生する
➢磁界は生体内部臓器の透磁率が一定である

心磁計は超伝導量子干渉素子(SQUID)を用いた非接触磁気計測手法により心臓の磁場分布を測定し、心臓の電気生理的活動を心磁図として評価出来る

心磁計の特徴

➢心電計より高い空間分解能(微小電位に対する感受性が高い)
➢心臓の電気的興奮に伴い発生する磁界を三次元的に解析できる
➢体表面での多点計測が可能

虚血性心疾患・不整脈・胎児心疾患の早期診断に有効

続いてはモデルなどを使用して、新たな診断法を模索すると言うような、いわばメーカーからデベロッパー側へシフトした研究の導入を紹介する。

図 6 に示した非接触磁気計測手法とは心臓の電気生理学的機能を検査する手法であり、新たな不整脈疾患等の診断方法になる可能性を秘めた技術となる。図上部に示した通り、心臓は心筋細胞内の電気興奮に伴うイオン電流によって微弱な磁場が発生する。この磁場は電位差と違って生体内臓器の透磁率が一定であり、その心臓から発生する微弱な磁場を超伝導粒子干渉素子により測定し、心磁図として評価する事が出来る装置が心磁計である。その心磁計の特長としては、透磁率が一定な微弱な磁場を測定出来ることから、心電計よりも高い空間分解能を持つこと、電気生理的活動を三次元的に測定できること、多点計測が可能であること、さらに、非侵襲かつ非接触で測定できる等の特徴があげられる。これまでのところ、ヒトでの研究を通して、この心磁図が虚血性心疾患・不整脈・胎児心疾患の早期診断に有効であることもわかりつつある。



心磁計を用いた非接触磁気計測の実験システムを図 7 に示した。64ch 心磁計（日立ハイテック製）を用い、シールドルームやモニタリング装置、同期用心電図、解析用コンピューターを含めたサルに特化したシステムの構築を行った。このシステムにより、サルは心磁計の下に数分寝かされるだけで、安全に、非侵襲的、非接触でデータを採取する事が可能となった。これらのシステムを用い、老齢ザルを含んだカニクイザル繁殖コロニーを対象に非接触磁気計測を施行した。

Table 1. Characteristics of Cynomolgus Monkeys				
		Females N=51	Males N=44	Total N=95
Age (years)	Mean ± SD	19.3 ± 8.7	11.2 ± 8.6	15.6 ± 9.5
	Range	1.2 - 34.8	1.8 - 33.8	1.2 - 34.8
Weight (kg)	Mean ± SD	3.6 ± 1.0	5.1 ± 1.5	4.3 ± 1.5
	Range	1.3 - 6.1	2.5 - 9.6	1.3 - 9.6

上記の Table 1 に測定対象とした動物のデータを示した。これまでに 1 歳から 34 歳までの動物（雄 44 頭、雌 51 頭）を測定した。さらにこれらの個体は全て心電図の同期下で測定を行い、同時に前述した超音波、レントゲ

ン、血液検査などのサルに特化した循環器疾患検査を行い、その病態も診断している。

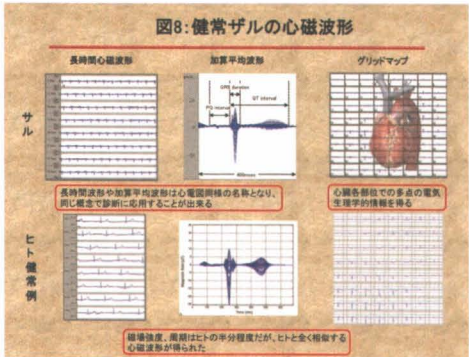


図 8 に示したのは心電図、心エコー、レントゲン検査で異常は認められず健康体と診断された 6 歳、3kg のメスのカニクイザルから得られた正常心磁波形である。まず心磁波形の説明をすると、測定より得られるのはこうした長時間波形や加算平均波形となり、これらには心電図波形同様の診断概念が適応できるものとなる。さらに、グリッドマップと言われる画像では、上記に示す様に心臓の多点での電気生理学的な情報を得ることが可能となる。そして、これらの波形を正常なヒトのものと比較したところ、磁場強度や周期がヒトの半分程度になるものの（これは単純に心臓の大きさの違いから来るものと思われるが）、形としてはほぼ同様の相似をする波形を得ることが出来た。よって、ヒト新生児相当の大きさのカニクイザルにおいても心磁場を適切に測定出来ることを明らかにした。



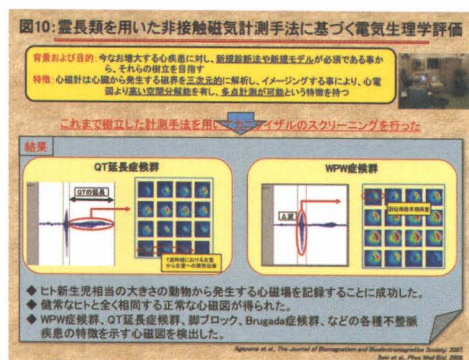
さらに、これらグリッドマップを重ね合わせた波形から単位時間あたりで心臓の各部位の電気的活動をイメージングとして評価することが可能となる電流アローマップと言う画像が得られる（図 9）。前述の健康ザルから得られたデータより電流アローマップを作成した。その結果、サルの P 波成分では心房の興奮は右房から左房が遅れて見える事が解り、QRS 波形では左右の脚から心室全体に興奮が伝わり、T 波における心室の再分極では興奮は同一方向にのみ伝達する事が読み取れた。これらの所見はヒトのそれと全く一致したものであり、ヒト新生児相当の大きさの霊長類からも正常な電流アローマップを記録することが可能であることが示された。

Table 2. MCG parameters (in ms) obtained from 95 cynomolgus monkeys.

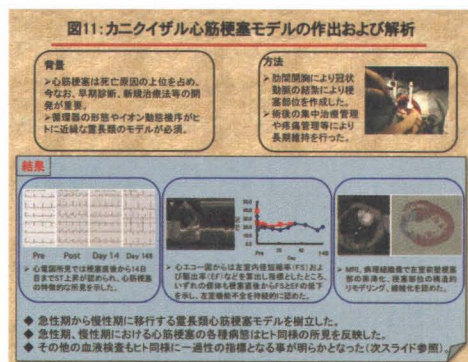
		Females N=51	Males N=44	Total N=95
PQ interval	Means $\pm$ SD	77 $\pm$ 13	80 $\pm$ 14	79 $\pm$ 14
	Range	52-108	48-111	48-111
QRS duration	Means $\pm$ SD	41 $\pm$ 6	44 $\pm$ 7	42 $\pm$ 7
	Range	31-58	30-63	30-63
QT interval	Means $\pm$ SD	210 $\pm$ 26	225 $\pm$ 21	222 $\pm$ 23
	Range	171-283	187-264	171-283
QTc	Means $\pm$ SD	365 $\pm$ 29	361 $\pm$ 20	363 $\pm$ 25
	Range	286-432	316-395	286-432

Table 2 は心磁図の加算平均波形から得ら

れたPQ間隔、QRS振幅、QT間隔とQTcの各数値を示したものである。雌雄の間でいずれも有意差は認められなかった。また、ほぼ心電図から得られた各パラメーターとも相同する値が検出され、心電図の概念が適応できる事が明らかとなった。これらのことから、サル類における心磁図の評価基準が樹立された。



ここまでの心磁計の話をもとめたものが図10である。こうした高感度、高解像度のイメージング手法である新規診断法としての可能性を秘めた心磁計をサル類に適応した結果、ヒト新生児に相当する様な小さなサルでも心臓磁場を計測する事が可能であり、また、ヒトと全く同様の画像が得られる事が明らかとなった。さらにその過程で様々な評価基準を得る事にも成功し、それらと比較する事によって図に示した様なWPW症候群、QT延長症候群、脚ブロック、Brugada症候群などの所見を示す個体を抽出する事が出来た。さらに、これら検査手法、サル疾患モデルの組み合わせにより、様々な創薬の安全性や有効性評価に有効なシステムの樹立を現在試みているところである。



続いて心筋梗塞のモデルについて紹介する。まず、心筋梗塞について説明すると、この疾患は心疾患の中でも最も患者数が多く、その治療法にはカテーテル手術やバイパス手術などが存在する。しかしながら、重篤で多様な病態を示す疾患であり、死亡原因の上位にも位置することから、さらなる早期診断や後判定法の開発研究が常に求められている疾患でもある。一方、ヒト病態を忠実に再現でき、慢性病態をも評価する事が可能なサルモデルを用いた新規治療・診断法の開発研究も求められ、本疾患に対するその需要が高まってきている。そこで、我々は冠動脈結紮手法により、虚血部位を作成したモデルにおいて、長期的にその病態をフォローすることによりまずモデルの正当性を評価した。図11に示した様に、心電図においてはSTの上昇が初期に認められヒトと同様の所見を示し、各種血液検査でも一過性に心筋梗塞の所見を示した。さらに、心エコーでは発症初期より長期的に左室の機能不全を認める所見が観察された。また、病理所見でも梗塞領域を中心とした心筋のリモデリング、線維化所見が認められ、け

図12: 心筋梗塞モデルにおける非接触磁気計測を用いた新規診断法の検討

背景

- 心筋梗塞の影響やイオン電流機序が7セプトにわたるカウティザル心筋梗塞モデルを用いて、新規診断法としての可能性を検討した。

方法

- これまでモデルに特化して確立した非接触磁気計測手法を用いて、カウティザル心筋梗塞モデルの心臓磁場計測を行った。

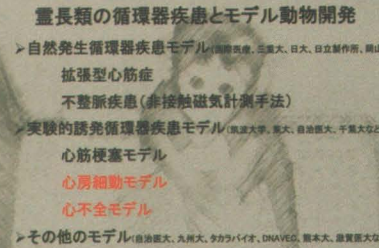
結果

心臓磁場計測から得られた「ローマープイ」(心臓は磁気的極性、表面積の異なる2つの磁気的極性を持つ)の磁場分布を、心臓の位置と向きから推定した。

心臓磁場計測から得られた「ローマープイ」(心臓は磁気的極性、表面積の異なる2つの磁気的極性を持つ)の磁場分布を、心臓の位置と向きから推定した。

心臓磁場計測によってカウティザル心筋梗塞モデルの損傷評価が可能であった。

さらに、血液検査等と比べ、新たな高度型・長期の診断法としての可能性が示唆された。



重長類の循環器疾患とモデル動物開発

- ▶ 自然発生循環器疾患モデル (自発性、三重犬、日本、日立製作所、岡山大学など)
- ▶ 拡張型心筋症
- ▶ 不整脈疾患 (非接触磁気計測手法)
- ▶ 実験的誘発循環器疾患モデル (東大、自治医大、千葉大など)
- ▶ 心筋梗塞モデル
- ▶ 心房細動モデル
- ▶ 心不全モデル
- ▶ その他のモデル (自治医大、九州大、ケカライオス、DNAVEC、熊本大、最良大など)

再生医療・遺伝子治療評価モデル

広島県立総合研究センター
広島県立科学研究所
広島県立総合研究センター
広島県立総合研究センター

まず、我々はサルでも人工心肺下で体外循環を行い、開胸、開心術を可能とする事に成功している。さらにペースメーカーを用いたラピッドペーシングにより、心不全病態を再現しヒトと同様の病変を示す事を明らかとした心不全モデルについても治療や診断方法の研究を進めている。また、患者数が多く QOL にも多大な影響を与えと言われる、社会的にも大きな問題となっている心房細動の再現性の取れた良いモデルが構築されつつあり、その新規治療法開発研究への応用が待たれている。さらに、体外循環を利用した造血幹細胞移植モデル系も樹立し、これまでに再生医療や遺伝子治療の安全性・有効性評価モデルとして役立てられている。

— 20 —

謝辞

本研究は多くの機関との共同研究の結果得られた成果である。この場を借りて東京大学、自治医科大学、日本大学、東北大学、岡山大学、筑波大学、三重大学、熊本大学、国際医療センター、日立製作所および医薬基盤研究所の多くの共同研究者に心よりの感謝を申し上げます。

<第108回研究会（平成22年12月10日）>

<特別講演 1 >

体細胞核移植クローン技術の現状と今後の展望について
—マウスをモデルとして—

小倉 淳郎（理研バイオリソースセンター）

<特別講演 2 >

化学発癌剤誘発肝細胞がんに対するDRHラットの遺伝的抵抗性
日合 弘（滋賀県立成人病センター研究所）

<トピックス>

京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因
岡本 宗裕（京都大学・霊長類研究所）

<会員の発表 13題>

体細胞核移植クローン技術の現状と今後の展望について

－ マウスをモデルとして －

理研バイオリソースセンター 小倉淳郎

【はじめに】

体細胞核移植クローン技術は、胚操作による動物作出法の一つである。本技術は、体細胞核をドナーとして用いることができることから、産業や医療などへの幅広い応用が期待をされている。また、1つの体細胞から個体を作出できる、すなわち体細胞ゲノムに全能性を付与できる唯一の技術であり、エピジェネティクス領域の研究対象としても非常に興味深い。しかしながら、すでに初の成体体細胞クローンヒツジ「ドリー」誕生から14年を経過したにもかかわらず、体細胞クローン産子の出生率は相変わらず低く、現在は限られた研究室あるいは現場で利用されるにとどまっている。たとえばマウスに関しては、米国内の多くの有力な研究者がiPS細胞へ流れた影響もあり、世界中でも5から10程度の研究室で実験が進められているに過ぎない（しかもその半数以上は日本国内）。その低効率の原因には、genetic および epigenetic な原因が複雑にからみあっており、これが技術ブレークスルーを達成できない一つの理由である。近年ようやくマウスを用いた体細胞クローン研究が進展を見せてきた。例えば、ヒストン脱アセチル化阻害剤処理[1] や、*Xist* 遺伝子の発現正常化[2,3] により、劇的な効率改善が確認された。マウスはヒトに次いでゲノムの情報が豊富であり、遺伝子改変動物も数多く利用可能である。この長所を最大限に利用することで、今後、哺乳類の体細胞核移植クローンが着実に改良されていくことが期待される。本総説では、マウスをモデルとして用いた体細胞核移植クローン技術の改善とその将来展望について解説をする。

【genetic な原因と epigenetic な原因】

核移植技術には、必ず人為的な操作により胚を再構築する過程が含まれるために、ある程度の染色体異常が生じることは避けられない。顕微鏡下で胚を構築するという意味では顕微授精(ICSI)も同様であるが、1)取り扱う細胞が精子であり、核が物理的な衝撃に強く、2)卵子の活性化や前核形成は正常の受精とほぼ同じスケジュールで進行するという2つの利点により、比較的染色体異常は少ない。興味深いことに、上記 1)と 2)の条件が異なる円形精子細胞を用いた顕微授精では、染色体異常が急増し[4]、出生率も著しく低下する[5]。このことから、

体細胞核移植クローンにおいても相当数の胚が染色体異常を呈していることが予想される。マウスではまだ詳細な染色体異常の解析結果は報告されていないが、ウサギやサルでは高頻度の染色体異常が報告されている[6,7]。このように、体細胞核移植クローンは epigenetics 領域における極めて興味深い研究対象である一方で、常に染色体異常も伴っていることを認識しておくべきであろう。

【主な2つの epigenetic な原因】

体細胞核移植クローンは、体細胞ゲノムに全能性を付与し、受精卵の状態に戻す(ゲノム再プログラム化)技術である。iPS(人工多能性幹)細胞を樹立する過程もゲノム再プログラム化の一種であるが、あくまで ES(胚性幹)細胞の状態(多能性状態)という体細胞の枠内に限定された再プログラム化である。哺乳動物胚は、着床という特有の過程を経ることで、生殖細胞から初期胚にかけてのゲノム状態と全く異なる epigenetic な性質を獲得する。これまでの研究により、DNAメチル化、ヒストンメチル化、X染色体不活化制御などが、生殖細胞・胚系列と着床後の体細胞で大きく異なることが明らかにされている[2,8-10]。よって、体細胞ゲノムが受精卵ゲノム状態に再プログラム化されるためには、いわゆる分化状態を単純に未分化状態に戻すこと(iPS 細胞の樹立に近い)に加えて、着床の際に挿入された全ゲノムにわたる epigenetic な変化をうち消すという2種類のハードルが存在することが予想される。実際に、最近のマウスをモデルとした体細胞核移植クローンの改善の試みにより、この推測を裏付ける成果が得られている。以下、そのマウスを用いた研究について述べる。

【ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の利用】

哺乳類の初期胚は、受精から胚盤胞期にかけて徐々に全ゲノムレベルで DNA 脱メチル化が進行するが、体細胞クローン胚では、この DNA 脱メチル化が十分に進まないことが知られている[11]。そこで予め脱メチル化処理をしたドナー体細胞を用いるなどの様々な工夫によりクローン胚の発生を改善する多数の試みがなされてきたが、いずれも劇的な効果が得られていない[12]。一方、再構築胚のヒストンアセチル化状態を高めることにより、体細胞クローンの効率を改善する試みもなされた。代表的なヒストン脱アセチル化阻害剤(trichostatin A)[13]を用いたところ、マウスにおいて極めて高い効果が認められた。胚移植あたりの出生率は 0.3% から 6.5% まで上昇した [1] (または 0.8% から 2.8% [14])。その後も、有効なヒストン脱アセチル化阻害剤の探索が進み、scriptaid や suberoylanilide hydroxamic acid の効果が

確認されている(総説[15])。

【X 染色体遺伝子発現の改善】

上記のヒストン脱アセチル化酵素阻害剤処理は、特にマウスで劇的な効果が見られるが、その効果は、あくまで卵子の再プログラム化能力の範囲内であると考えられる。2細胞期における発生停止が著減することからも、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤により胚性遺伝子の活性化はかなり改善していると予想されるが、それでも着床後の大規模な胚致死が大きな課題として残されていた。すなわち、卵子のゲノム再プログラム化能力を超えた異常が潜在していることが予想された。そこで私達は着床直前の胚盤胞にその原因が隠れているという推定の元に、単一クローン胚の網羅的遺伝子発現を行った。その結果、調べた限りあらゆる体細胞核移植胚においてX染色体遺伝子の発現低下が顕著であることが明らかになった。通常、X染色体全域にわたる遺伝子発現抑制は、いわゆる「X染色体不活化」現象として正常の雌細胞でも生じている。このX染色体不活化は、雌細胞の2本存在するX染色体のうち1本から抑制性の*Xist* RNAが転写されて、それが*cis*に染色体を不活化する。体細胞核移植胚の*Xist* 発現量を調べたところ、雌は通常の数倍まで上昇し、雄胚からも有意に発現していることが明らかになった。本来*Xist* が無発現のはずの雄胚からも発現していたという事実は、活性X染色体から異所性に*Xist* が発現していることを示唆する。この推定は、*Xist* に対するRNA-FISHでも確認された。そこで、*Xist* ヘテロノックアウトマウスを用いて、母方(卵子)からノックアウトアレルを引き継いだ雌マウスあるいは雄マウスの体細胞をドナーとして核移植を実施し、活性X染色体から*Xist* が発現しない胚を作出した。これらの胚の遺伝子発現を解析したところ、予想通りX染色体上遺伝子の発現は改善し、さらには常染色体上の低発現遺伝子のほとんど(85%)がその発現が正常レベルに復した。そこで、これらの*Xist* ノックアウト体細胞核移植胚を受容雌に移植したところ、胚移植あたり13-14%の率で産子へ発生した[2]。これは、野生型核移植胚の8-9倍の出生率に相当する。

これらの実験から、*Xist* がクローン胚の発生低下の主な原因の一つであることが明らかになったが、一方では科学上および実用上の課題が残された。すなわち、ノックアウトドナー細胞を用いると、発生全期間にわたり活性化X染色体の*Xist* が抑制されるために、どの時期の*Xist* の異所性発現が決定的に影響を与えているのか不明なままである。また、ノックアウトドナー細胞から生まれたクローンは、当然ノックアウト動物になってしまうため、実用上の価値が低い。これらの問題点を解決するために、私達はRNA干渉技術を用いたノックダウン実験

に着手した。雄ドナー体細胞(未成熟セルトリ細胞)の核移植により再構築した1細胞期胚へ特異的 *siRNA* を注入し、その後の *Xist* RNA レベルを観察したところ、抑制効果は72時間(桑実期胚)まで持続し、その後は効果がほぼ消失する。すなわち、胚盤胞期以降は再び異所性 *Xist* が回復してしまっていた。しかし予想外にも、これらの胚をレシピエントマウスへ移植すると、着床直後の 5.5 日において正常胚の率が著しく増加し(1%から 16%へ)、その傾向はほぼそのまま出生期まで継続した。最終的に胚移植当たり 12%、さらに *trichostatin A* を併用すると 20%まで出生率が上昇した[3]。これは、一定数の胚が染色体異常により脱落することを考えると、極めて高い数字であると考えられる。また興味深いことに、クローン新生仔の臓器に見られた異常な遺伝子発現[16]が、このノックダウン法によって有意に正常化することも明らかになった[3]。家畜の体細胞クローン技術における最大の問題点は周産期死亡(死産や産直死)であり、その異常には *XIST* 遺伝子の異常発現が関与していることが疑われている[17,18]。このノックダウン法を用いることで、家畜の体細胞クローンで出生率のみならず、正常産子率も改善することが期待される。

一方では、*Xist* ノックアウトやノックダウンを用いても、改善が認められない X 染色体上の遺伝子群が2つ認められた。それは XqF3 および XqA7.2-7.3 領域に分布する *Magea* および *Xlr* 遺伝子ファミリーである。*Magea* は、ヒストンアセチル化酵素の一つである G9a ノックアウト胚性幹(ES)細胞で上昇することが知られており、通常の体細胞ではヒストン H3K9 ジメチル(H3K9me2)修飾により発現抑制を受けていると考えられている。最近、この抑制性の H3K9me2 は、ゲノム上にブロック上に分布していることが判明し、LOCKs(Large Organized Chromatin K9 modifications)と名付けられた[19]。この X 染色体の *Magea* および *Xlr* は、ちょうど LOCKs 領域に含まれており、おそらく体細胞における H3K9me2 修飾が再プログラム化されず、核移植胚でも抑制を受け続けていると考えられる。*Magea* や *Xlr* は、生殖細胞、着床前胚、腫瘍などで発現することが知られているが、その機能は不明である。Wen らは、この LOCKs の規模は体細胞の分化度と関連すると報告しているが、分化度とは関係なく、ゲノム上の分布パターンは体細胞全般に共通しているという考え方もある[20]。私たちの卵丘細胞を使った H3K9me2 の ChIP on Chip の結果は、後者を支持しており[2]、この LOCKs は”somatic cell signature”とも言えるかもしれない。

【体細胞クローンの将来】

体細胞核移植クローンは、単一の細胞核から完全な胚および個体を作出する唯一の発生

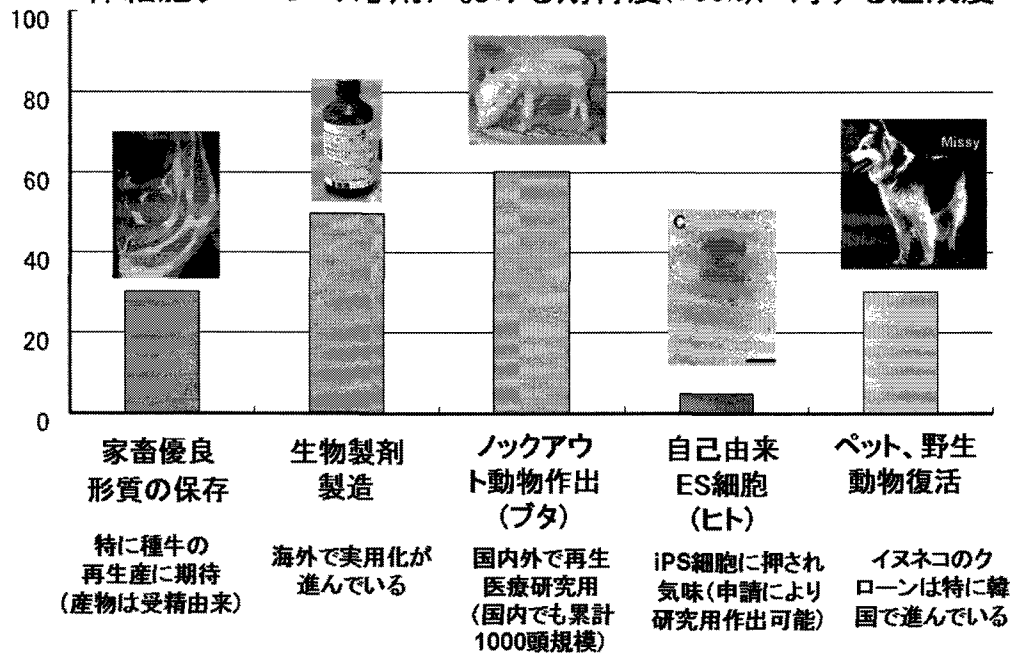
工学技術であることから、1) 優良家畜の大量作出(あるいは種雄の保存)、2) トランスジェニックによる生物製剤生産、3) ノックアウト動物作出、4) 自己由来 ES 細胞樹立、5) ペットや絶滅危惧種の復活等々、数多くの応用が期待できる。このため、1997 年に初の成体体細胞クローン羊「ドリー」が報告されて以来、国内外の多くの大学・研究機関・企業が体細胞クローン技術の研究を開始した。欧米ではヒトタンパク質を家畜に作らせるプロジェクトが継続的に進められており、European Medicines Agency (EMA) が 2006 年に初めてトランスジェニック動物由来の産物の流通を認可するなど、クローン技術への期待が高い。また、近年は移植臓器研究のためのノックアウトブタもクローン技術により増産されている。しかしながら肝心のクローン産子の出生率は依然伸び悩んでおり、長年にわたり、技術的なブレークスルーが待ち望まれてきた。図に、現在のさまざまな体細胞クローンの応用分野における技術的達成度を示した。本総説で述べた技術、特に *Xist* 遺伝子に対するノックダウンは、哺乳類全般に応用できることが予想される。5 年後あるいは 10 年後には、この図に示した棒グラフが 100% 近くまで伸びることを期待している。

1. Kishigami S, *et al.* Significant improvement of mouse cloning technique by treatment with trichostatin A after somatic nuclear transfer. *Biochem Biophys Res Commun* 340:183–189, 2006.
2. Inoue K, *et al.* Impeding *Xist* expression from the active X chromosome improves mouse somatic cell nuclear transfer. *Science* 330: 496–499, 2010.
3. Matoba S, *et al.* RNAi-mediated knockdown of *Xist* can rescue the impaired postimplantation development of cloned mouse embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* (in press).
4. Yamagata K, *et al.* Assessment of chromosomal integrity using a novel live-cell imaging technique in mouse embryos produced by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 24:2490–2499, 2009.
5. Ogonuki N, *et al.* The effect on intracytoplasmic sperm injection outcome of genotype, male germ cell stage and freeze-thawing in mice. *PLoS ONE* 5: e11062, 2010.
6. Yin XJ, *et al.* Effect of enucleation procedures and maturation conditions on the development of nuclear-transferred rabbit oocytes receiving male fibroblast cells. *Reproduction* 124:41–47, 2002.
7. Simerly C, *et al.* Molecular correlates of primate nuclear transfer failures. *Science* 300:297,

2003.

8. Borgel J, *et al.* Targets and dynamics of promoter DNA methylation during early mouse development. *Nat Genet* 42:1093-1100, 2010.
9. Okamoto I, *et al.* Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development. *Science* 303:644-649, 2004.
10. Hudson QJ, *et al.* Extra-embryonic-specific imprinted expression is restricted to defined lineages in the post-implantation embryo. *Dev Biol* 353:420-431, 2011.
11. Kang YK, *et al.* Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. *Nat Genet* 28:173-177, 2001.
12. Enright BP, *et al.* Methylation and acetylation characteristics of cloned bovine embryos from donor cells treated with 5-aza-2'-deoxycytidine. *Biol Reprod* 72:944-948, 2005.
13. Yoshida M, *et al.* Potent and specific inhibition of mammalian histone deacetylase both in vivo and in vitro by trichostatin A. *J Biol Chem* 265:17174-17179, 1990.
14. Rybouchkin A, *et al.* Role of histone acetylation in reprogramming of somatic nuclei following nuclear transfer. *Biol Reprod* 74:1083-1089, 2006.
15. Thuan *et al.* How to improve the success rate of mouse cloning technology. *J Reprod Dev* 56:20-30, 2010.
16. Kohda T, *et al.* Variation in gene expression and aberrantly regulated 1 chromosome regions in cloned mice. *Biol Reprod* 73:1302-1311, 2006.
17. Jiang L, *et al.* Expression of X-linked genes in deceased neonates and surviving cloned female piglets. *Mol Reprod Dev* 75:265-273, 2008.
18. Su JM, *et al.* Expression and methylation status of imprinted genes in placentas of deceased and live cloned transgenic calves. *Theriogenology* 75:1346-1359, 2011.
19. Wen B, *et al.* Large histone H3 lysine 9 dimethylated chromatin blocks distinguish differentiated from embryonic stem cells. *Nat Genet* 41:246-250, 2009.
20. Filion GJ & van Steensel B. Reassessing the abundance of H3K9me2 chromatin domains in embryonic stem cells. *Nat Genet*, 42:4, 2010.

% 体細胞クローンの応用における期待度(100%)に対する達成度



※注: この達成度はあくまで筆者の主観であり、必ずしも文献等の科学的根拠に基づくものではありません。

化学発癌剤誘発肝細胞がんに対する DRH ラットの遺伝的抵抗性

Genetic resistance to chemical-induced hepatocarcinogenesis in

DRH rats: A positional cloning approach

日合 弘（滋賀県立成人病センター研究所/京都大学大学院医学研究科*）

*現所属： 京都大学大学院医学研究科 メディカルイノベーションセンター、
DSK プロジェクト、悪性制御研究ラボ
〒606-8561 京都市左京区吉田近衛町 1
Tel. 075-753-9320
E-mail. hiai1129@gmail.com

要約： 化学発癌剤誘発肝がん発生に強力な優性遺伝的抵抗性を示す DRH ラットについて QTL 解析を行い、2つの主要 QTL のうち *Drh1* のコンジェニックラットを作製した。*Drh1* をもつ個体が硝酸鉛による肝 DNA 合成に抵抗性であることを指標にさらに QTL 解析を行い、*Drh1* の候補遺伝子に SNP を発見した。この候補遺伝子は in vitro, in vivo の予備実験で *Drh1* に対応する機能を示した。

肝細胞がんの多段階発生と遺伝要因

肝細胞がん(HCC)はアジア、アフリカ地区で非常に多い難治性のがんで、肝炎ウイルス、化学物質、微生物産物、寄生虫などによっておこることが知られている。その予防、診断、治療は重要な医療上の課題である。HCC の発生機構のモデルとして dimethyl-azobenzene (DAB)、diethylnitrosamin (DEN)、acetyl-aminofluorein (FAA)などの発癌剤によるラット、マウスなどの発がんが研究されてきた。その結果、肝発がんは基本的に多段階のプロセスで、これらの強力な発がん剤は肝細胞のイニシエーションに働くとともに、持続的に投与すると、イニシエートされた肝細胞の増殖と更なる遺伝的変異、選択が加わり最終的に HCC が発生することが定説となっている。肝部分切除、フェオバルビタールなどは HCC 発生のプロモーションに重要な役割を果たす。HCC 誘発に遺伝的な感受性・抵抗性があることはマウス、ラットで多くの報告があるが、発がん段階が多段階であることを反映してその遺伝経路は複雑であって、多くの量的形質遺伝子座(QTL)として報告されているが¹、その責任遺伝子はいずれもいまだ同定されていない。

肝癌抵抗性 DRH ラットの起源

大阪大学の東ら²は closed colony Donryu rat に 3'-methyl-dimethyl-aminoazobenzene (3'-Me-DAB) を投与し phase II 酵素の誘導を研究する過程で、この誘導に強い抵抗を示す個体があることをみつけた。抵抗性個体間で選択的交配を行うとともに、3'-Me-DAB の持続投与下で兄妹交配を 20 世代以上継続して近交系 DRH (Donryu Resistant to Hepatocarcinogenesis) ラットを樹立した³。近交系成立後は 3'-Me-DAB の持続投与は行っていない。このラットは 3'-Me-DAB ほかの肝発癌剤による phase II 酵素の誘導、前がん病変である Glutathion-S-transferase-Pi (GST-P) を強く発現する酵素変異病巣 (EAF)、さらに HCC の発生に強い優性遺伝的抵抗性を示した^{4,5}。発がん抵抗性は発癌剤の化学構造に対し非特異的であり、DAB 類縁化合物、DEN, AAF, DMBA などによる発がんに対し強い抵抗性を示すが⁶、4NQO 飲用による口腔がんに対しては抑制効果はみられなかった (田沼、未発表)。DRH の発がん抵抗性は遺伝的に優性であるが、(DRH x F344)F1 ラットに 3'-Me-DAB を投与し、投与開始後 8 週めに 15 頭は無処置、10 頭には部分肝切除を行ったところ、無処置群は 1/15 頭しか発がんをみなかったが、部分肝切除群では 9/10 に肝がんが発生した⁷。つまり DRH の遺伝的抵抗性は部分肝切除のような強力な肝増殖ドライブがかかる場合には無効となる。

このラットは吉富製薬から DRH/Seac として市販されていたが、現在はラットバイオリソースに寄託され維持、供給されている。このラットの成立過程から類推して、この遺伝的抵抗性は Donryu ラットで自然突然変異として成立したものを選択圧の下に選別されたものと考えられる。

DRH ラットの抵抗性遺伝子と *Drh1* コンジェニックラットの作成

我々はこの抵抗性を研究するため、DRH ラットと感受性 F344 ラットの F2 世代に 3'-Me-DAB を投与し、第 8 週で GST-P mRNA、EAF などを計測、第 20 週で HCC の発生を計測し、これらを量的パラメーターとして全ゲノム解析した結果、*Drh1* (第 1 染色体、*D1Wox10* ~ *D1Rat302*)、*Drh2* (第 4 染色体、*D1Rat23* ~ *D1Rat37*) の 2 つの強力な抵抗性 QTL をマップした^{4,5}。

2 つの抵抗性 QTL それぞれの単独効果を調べるため DRH ラットに感受性 F344 ラットからの *Drh1* を含む染色体セグメントを導入したスピードコンジェニック DRH.F344-*Drh1* (DFD) ラットを作成した⁸。マイクロサテライトマーカーを利用したスピードコンジェニックラットの作成法の詳細は原著を参考にされたい。DFD ラットは DRH を背景にしているため、*Drh2* は抵抗性アレルのホモであり、F344 に由来する *Drh1* 感受性アレルを含む第一染色体セグメントは少なくとも 45cM にわたっている (*Drh1*^{F344/F344}-*Drh2*^{DRH/DRH})。このため、遺伝子そのものの同定は不可能であるが、*Drh1* 単独の生物学的効果はある程度評価することができる。

Drh1 コンジェニックの表現型パラメーター

DFD ラットは7週間にわたる 3'-Me-DAB 投与の投与に対し、EAF 数、肝細胞アポトーシス誘導の値については F344 と同等であり、DRH は有意に異なっていた。これらのパラメーターは抵抗性 *Drh1* アレルにより特異的に決定されることを示していた。これに対し、EAF サイズ、肝繊維化、肝重量、肝細胞増殖マーカー (PCNA、CyclinD1 陽性細胞率) などは DRH と F344 ラットの中間値を示し、*Drh1* だけではなく *Drh2* などの影響も受けていることが示された (表 1)⁸。

さらに、注目すべきパラメーターとして、肝マイトゲンである硝酸鉛を投与すると F344、DFD ラットでは肝細胞 DNA 合成が増加し 2 日後にピークに達するが、DRH ラットでは DNA 合成はおこらず肝細胞はアポトーシスに陥った (図 1)⁸。硝酸鉛に対する応答は、投与後 2 日で肝細胞への BrdU とりこみを計測することにより定量的に判定でき、*Drh1* あるいはその近傍の遺伝子の機能的評価指標として優れている。我々はこのパラメーターを *Drh1* のポジショナルクローニングのための量的指標として用いることにした。

Drh1 ポジショナルクローニング

Drh1 の責任遺伝子を決定するため、1057 頭の DRH x (DRH x DFD)F1 について、硝酸鉛を投与し、2 日後 BrdU 取り込みによる肝 DNA 合成を評価するとともに、体重、肝重量の測定も行った。これら量的パラメーターに対し全個体についてゲノムワイド相関研究をおこなった。特に *Drh1* を含む領域にマーカー座位を多く用いて解析し、MapMaker QTL にて Interval mapping を行った結果、*D1Rat475* と *Oxsts3832* の間で、DNA 合成、体重、肝重量に対しそれぞれ極めて高いロッド値を示すピークを観察した。DRH、DFD ラットに硝酸鉛を投与後 2 日の肝 cDNA を用いて CHIP 解析を行ったが、このピーク近傍で有意の発現変動を認める遺伝子はみつからなかった (逢坂、未発表)。そこでこのピーク位置を中心にマッピングされている 52 の遺伝子等を選び、塩基配列決定を行ったところ、*Rdrh1* (未発表につき仮名) のコーディングシーケンス内にアミノ酸置換をもたらす SNP が見つかった。*Rdrh1* は肝細胆管に発現している膜タンパクをコードしており、毒物排泄に関与するポンプとして重要な分子で有力な候補遺伝子である。多くの機能欠損型の変異が知られている。DRH ラットでは優性の抵抗性遺伝子として働いており、*Rdrh1* がその責任遺伝子であるならば、これまで報告がない機能獲得型変異と考えられる。

Drh1 変異候補遺伝子の機能

Drh1 変異候補遺伝子の機能を評価するため、変異および野生型 *Rdrh1* cDNA をトランスフェクトした T193 細胞を用いて、glutathion methylfluorescein (GF) transport assay を行った。GF はこのポンプタンパクのモデル基質のひとつである。このアッセイではトランスフェクト後、短時間内では変異 cDNA をもつ細胞で機能の亢進が認められた。

さらに変異の効果を in vivo で検証するため、変異および野生型 *Rdrh1* cDNA を組み込

んだアデノウイルスを感受性 F344 ラットに門脈内接種し、さらに硝酸鉛投与後 2 日目の肝 DNA 合成を調べた。変異 *Rdrh1* cDNA-adenovirus を接種されたラットは、無処理群、野生型 cDNA 投与群に比べ著明な肝 DNA 合成低下を示した。

これらの所見は *Rdrh1* の DRH 型変異はポンプタンパク機能を亢進させることを示している。これが肝がん抵抗性にどのように関与しているか、なぜこの変異が gain-of-function をもたらすに至ったかについては明らかではない。現在我々は変異 *Rdrh1* を肝で強制発現する TG ラットを作成し、解析中であり、これを用いた in vivo の実験により発がんの各段階に対する機能を明らかにしたい。

ヒト肝がんの大部分は肝炎ウイルスによるものであるが、なお一部にはアフラトキシンなど化学物質による肝がんも存在する。化学発がん物質に対する遺伝的抵抗性の機構の理解は、発がん過程の理解やリスクグループの検出の手がかりになるだけでなく、有害化学物質に対する防護措置や、抗がん剤の副作用防止法の開発など応用面からも重要である。

謝辞

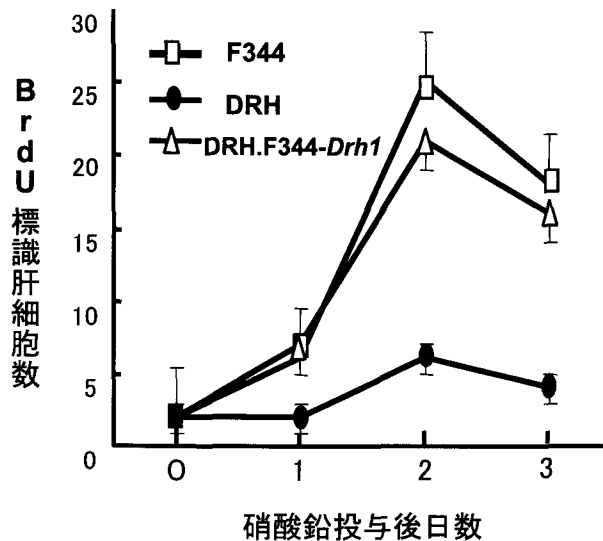
本稿の発表の機会を与えていただいた芹川忠夫教授に感謝する。この研究は以下の多くの共同研究者の協力の賜物であり深謝する：東 監、曾昭鏞、田沼順一、東 新、伝田阿由美、小西陽一、楊 要、劉洪波、信本和美、山田義博、谷垣健二、木下和生、逢坂光彦、真下知士、国広弥生、村木一枝、大見奈津江、戸田好信、蔣 麗、木村めぐみ。TG ラット作成にはフェニックスバイオ社の協力を得た。

文献

1. Feo, F., De Miglio M.R., Smile, M.M., Muroni, M.R., Calvisi, D.F., Frau, M., Pascale, R.M. Hepatocellular carcinoma as a complex polygenic disease. Interpretive analysis of recent developments on genetic predisposition. *Biochim. Biophys. Acta*, 1765: 126-147, 2006.
2. Sakamoto, Y., Higashi T., Tateishi N. Factors involved in the appearance and switch-off of hepatic gamma-glutamyl transpeptidase. *Gann Monogr. Cancer Res.* 29: 281-289, 1983.
3. Higashi, T., Fukui, R., Sekiya, R.M., Yoshimoto, F., Tateishi, N., Sakamoto, Y. Decrease induction of gammaglutamyltranspeptidase activity by 3'-methyl-4-dimethyl aminoazobenzene in the rats given carcinogen-containing diet for several generations. *Jpn. J., Cancer Res.* 77: 139-144, 1986.
4. Zeng, Z-Z., Higashi S, Kitayama, W., Denda, A., Yan, Y., Matsuo, K., Konishi, Y., Hiai, H., Higashi, K. Genetic resistance to chemical carcinogen-induced preneoplastic hepatic lesions in DRH strain rats. *Cancer Res.* 60: 2876-2881,

B.W.2000.

5. Yan, Y., Zeng Z-Z., Higashi, S., Denda, A., Konishi, Y., Onishi, S., Ueno, H., Higashi, K., Hiai, H. Resistance of DRH strain rats to chemical carcinogenesis of liver: genetic analysis of later progression stage. *Carcinogenesis* 23: 189-196, 2002.
6. Higashi, K., Denda, A., Higashi, T., Hiai, H. Genetic resistance to chemical hepatocarcinogenesis in the DRG rat strain. *Comp. Med.* 54: 373-377, 2004.
7. Liu, H., Nobumoto, K., Yamada, Y., Higashi, K., Hiai, H. Modulation of genetic resistance to hepatocarcinogenesis in DRH rats by partial hepatectomy. *Cancer Lett.* 196: 13-16, 2003.
8. Liu, H., Higashi, K., Hiai, H. Role of resistant *Drh1* locus in chemical carcinogen-induced hepatocarcinogenesis in rats: Analysis with a speed congenic strain. *Cancer Sci.* 96: 164-169, 2005.



図説明：

生後4週令のラットに100 $\mu\text{mol/kg}$ の硝酸鉛をi.p.投与。0, 1, 2, 3日目にBrdUを30 mg/kg.B.W., ip投与し2時間後に肝を採取し、免疫染色によりBrdU取り込み肝細胞核を数えた。縦軸は400倍拡大で10視野あたりの陽性核数平均値。

表1. コンジェニックラットを用いた肝癌抵抗性遺伝子 *Drh1* の機能の評価

表現型	処置	F344		DRH.F344- <i>Drh1</i> (DFD)		DRH
酵素変異病巣(EAF)数/ 視野	3'Me-DAB 投与 7週後	9.6 ± 2.7	≒	8.6 ± 1.4	>	2.5 ± 0.8
GST-P 陽性肝面積比	同上	44.2 ± 5.2	>	12.9 ± 2.8	>	3.0 ± 1.6
EAF平均面積(mm ²)	同上	0.08 ± 0.02	>	0.02 ± 0.006	>	0.07 ± 0.004
肝線維化率	同上	17.9 ± 3.3	>	11.3 ± 2.9	>	5.7 ± 0.8
肝細胞アポトーシス (TUNEL法)	同上	1.3 ± 0.8	≒	2.9 ± 1.5	<	57.9 ± 7.3
PCNA陽性肝細胞	同上	22.6 ± 2.5	>	11.3 ± 2.2	>	3.8 ± 1.4
CyclinD1陽性肝細胞	同上	28.2 ± 7.1	>	18.1 ± 2.4	>	7.8 ± 1.6
平均体重(10週令) (g)	無処置	256	<	331	≒	335
平均肝重量(10週令) (g)	無処置	3.2	<	7.3	<	10.8

表現型の量的解析はカラーイメージアナライザーAnalySIS 3.1を用いた画像解析による⁶.

>、<はANOVA解析により統計的有意、≒は有意差なし(N=6)

京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因

岡本宗裕（京都大学・霊長類研究所・人類進化モデル研究センター）

発生の経緯

本疾病が霊長類研究所で初めて観察されたのは、2001年のことで、その年に2頭、翌2002年に5頭が発症し、うち6頭が死亡しました。このような「出血症」を起こして死亡する病気は、誰も経験しておらず、原因究明に向けて、ウイルス、細菌、真菌等の感染症、化学物質、薬物中毒等、当時の技術で調べられるあらゆる可能性を検討しました。しかし、結局この病気の原因を突き止めることはできませんでした。その後6年間発生は見られませんでした。2008年3月に再び発症個体が発見され、2011年3月までの間に43頭が発症し、42頭が死亡しました（このなかには、予後不良と判断して安楽殺した個体が含まれています）。

発症した個体は、顔面蒼白、鼻粘膜・歯茎・皮下の出血、褐色の粘血便等を呈し、一旦発症すると致死率は極めて高い病気です。血小板数の激減、それに続く赤血球並びに白血球数の低下が発症個体共通にみられ、死亡時にはほとんどの場合血小板数はゼロになります。図1は、発症したニホンザル1個体の血液性状を、1年半継続的に測定したものです。もちろん、発症を予想していたわけではなく、定期検診等で繰り返しデータをとっていた個体が発症したため、このようなデータを得ることができました。測定間隔は一定ではありませんが、測定回数8-9の間は2週間です。血小板数は、死亡直前の2週間で急激に減少し、死亡時にはほとんどゼロになっています。なお、発症ニホンザルの間に、性別、産地、年齢、家系等の共通する特徴は見られません。

この病気について、原因が全く未知であった第1期や2010年7月の報告の時点では、仮称ではありますが「ニホンザル出血症」という病名を用いました。この病名は、罹患ザルの症状を的確に表しているものである意味的を射た病名なのですが、エボラ出血熱等の恐ろしい病気を連想させるものだったため、無用な混乱を起こしてしまったようです。後述するように、現在は病因がある程度特定できていますから、「ニホンザル・サルレトロウイルス関連流行性血小板減少症」（英名：SRV-associated Infectious Thrombocytopenia in Japanese monkeys、略称：「ニホンザル血小板減少症」）とするのが妥当と思われます。

病因

第2期の流行は、複数の施設で多数の個体が発症する、いわゆるアウトブレイクという状況を呈しました。サル施設棟、本棟地下および実験棟の個別飼育室に加えて、屋外のグループケージと放飼場一区

画でも発症したのが第1期と大きく異なる点です。ただ、ランダムに発生するわけではなく、発症個体は特定の飼育室に限定されており、ある飼育室で発症個体がみられると続けて複数個体発症する傾向がみられました。また、放飼場ではほぼ同時期に十数個体が発症しました。このような病気の広がり方から、感染症の可能性が高いと考えられました。

炎症の際に増加するとされているCRPはいずれの発症個体でも増加していないこと、白血球数が減少すること、抗生物質の投与が全く無効なことから、ウイルス感染が強く疑われました。そこで予防衛生協会、国立感染症研究所、大阪大学微生物病研究所、京都大学ウイルス研究所、京都大学霊長類研究所が連携し、ウイルスにターゲットを絞って原因の究明に当たりました。①抗ウイルス抗体の検出、②ウイルスRNAや宿主の染色体に入り込んだウイルスDNA（プロウイルス）を検出するPCR、③①、②を用いた疫学調査、④RDV法（Rapid Determination System of Viral Sequence）、⑤次世代シーケンサーによるメタゲノミック診断、⑥血漿、糞便、組織からのウイルス分離と電子顕微鏡による観察等、さまざまな方法で原因の究明にあたりました。

その結果、霊長類研究所で発生したニホンザルの病気は、SRV-4（サルレトロウイルス4型）と深い関連があるという証拠が得られました。症状を呈したニホンザルの血漿中には、このSRV-4のウイルス遺伝子（RNA）が確認され（図2）、血漿、糞便、骨髄等からSRV-4が分離されました。一方、発症したサルとまったく接点のないサルでは、いずれもSRV-4ウイルス遺伝子は検出されませんでした（表1）。興味深いことに、発症した個体について抗SRV抗体の有無を調べたところ、解析した全ての例で抗SRV抗体は検出されませんでした。このことから、我々は、何らかの要因により抗SRV抗体が産生されないニホンザル個体があり、このようなサルではウイルスの増殖をコントロールできず、その結果ウイルスが骨髄細胞を傷害し血小板減少を呈したものと考えています

SRVは未知のウイルスではなく、ニホンザル以外のマカク属ではよく知られたウイルスです。実際我々も、第1期のときに、すでに原因のひとつの可能性としてSRVを疑い、その検査も実施していました。しかし当時は、技術的にこのウイルスに対する抗体検査しか実施することができず、その検査では全て陰性でした。SRV-4ウイルスの塩基配列が解明されたのは2010年のことで、我々もその論文（Zao et al., 2010）のプライマーを利用してウイルスRNAやプロウイルスDNAを検出しています。

SRVはレトロウイルス科に属するウイルスで、血清型から1型から7型まで分類されており、6型を除いてマカク属のサルに感染していることが知られています。図3は、gag領域の一部の塩基配列から見たSRV1型～5型の分子系統樹です。SRV-4は、実験動物として飼育されているカニクイザルからのみ確認されているウイルスで、我が国でも筑波の霊長類センターから報告されています。ただし、霊長類研究所のニホンザル由来のウイルスは、筑波の霊長類センターや2010年に報告されたものとは遺伝子レベルで1.3～1.9%異

なっています（図3）。文献を調べてみると、このウイルスがカニクイザルに感染してもほとんどの場合無症状ですが、免疫抑制による慢性の下痢や個体によっては軽度の血小板減少症を呈することがあるようです。しかし、ニホンザル以外の霊長類では、このSRV-4感染により急性の血小板減少症を起こした例は知られていません。今回発症ニホンザルから検出されたSRV-4は、おそらくカニクイザルに由来するものと推定しています。ニホンザルも、カニクイザルも、アカゲザルも、同じオナガザル科マカカ属のサルで、進化的に近い関係にありますが、自然界では、日本だけにすむニホンザルと他のマカカ属サルが会うことは絶対にありません。しかし、霊長類研究所という特殊な施設では、両者が会うことがあるのです。たとえば、病気やケガのサルは種類が異なっても治療のために同じ病室に集めていたし、研究上の要請で、異なる種類のサルを同じ室内で飼育していた時期もあります。過去のこうした事態が契機となって、近縁なサル類のあいだでSRV-4の個体間伝播が起こり、血小板減少症の発症に到ったと考えています。

ヒトへの感染

SRV の人への感染は何例か報告されていますが、これまでに病気としての発症例はありません。また、霊長類研究所を含めた国内外のサル飼育施設、さらに複数種のマカカ属が生息している東南アジアの国々からも、感染例の報告は全くありません。SRV-4の人への感染性は極めて低いと考えられます。一方で、ヒト由来の細胞を用いて容易にウイルスを分離することができますから、ウイルスがヒトの細胞に感染できることは確かです。感染動物の取り扱いには十分な注意が必要です。

参考文献

- 1) Zao et al. (2010) Virology, 405, 390-396
- 2) Lerche et al., (2001) Journal of Virology, 75(4), 1783-1789
- 3) 吉川泰弘(2010)、ニホンザル血小板減少症の原因究明についての報告
(2010-11-11 公表文)
- 4) 岡本宗裕(2010)、京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因、第108回 関西実験動物研究会
- 5) 吉川泰弘、ニホンザルの流行性血小板減少症について、LABIO 21, 44:11-15(2011)

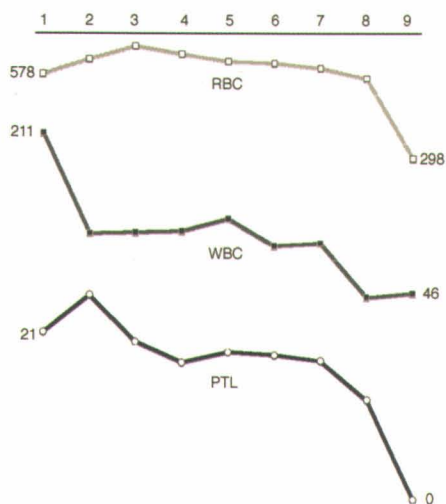
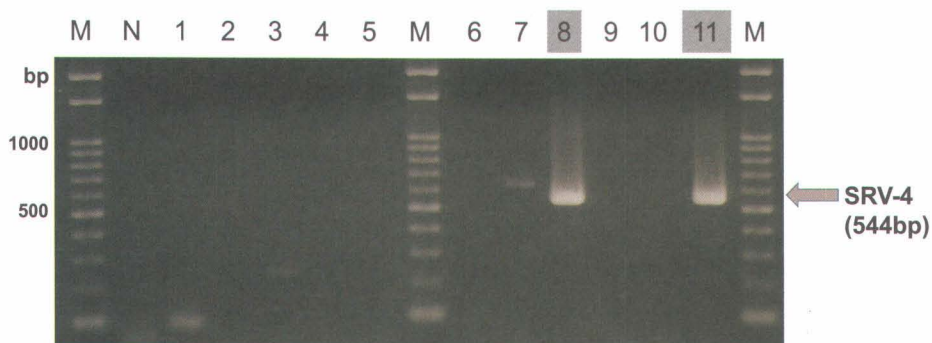


図1. 血小板減少症を発症し死亡したニホンザルの血小板数(PTL)、白血球数(WBC)、および赤血球数(RBC)の経時的变化。指数の単位は $\times 10^4/\mu\text{l}$ 。
(霊長類研究、26:69-71, 2-10)

図2 One step RT-PCR による血漿中のウイルスRNAの検出



サンプル8と11がウイルスRNA陽性

50°C	30min
95°C	15min
95°C	30sec
45°C	32sec
72°C	1.15min
72°C	2min
4°C	∞

} x45 サイクル

Primer: a SRV-4 F1167
a SRV-4 R1710
(Zao et al, 2010)

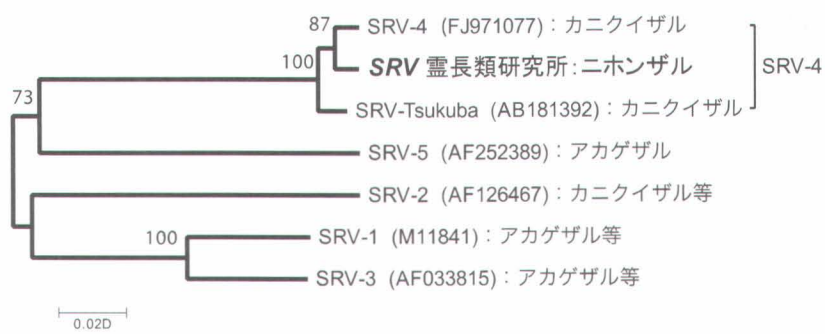


図3 SRVの分子系統

gag領域の一部の塩基配列から見たSRV1型～5型の分子系統樹。SRV-1～3はアカゲザル、カニクイザルなど*Macaca*属の複数の種から、SRV-5はアカゲザルからのみ検出されている。SRV-4はこれまでカニクイザルからのみ報告されていたが、今回初めてニホンザルから検出された。なお、これらのほとんどは、動物実験施設で飼育しているサルからの検出例であり、野外での宿主についてはほとんどわかっていない。

表1 ウイルス検査の結果(陽性個体数/検査頭数)

	SEBV	SCMV	BV	STLV	SFV	SRV	
	抗体	抗体	抗体	抗体	抗体	抗体	遺伝子
発症死亡群 (感染)	13/14	14/14	5/14	3/14	14/14	0/14	14/14
発症同居群 (感染の可能性あり)	26/27	26/27	8/27	12/27	25/27	14/27	18/27
未発症区域群	10/10	10/10	2/10	5/10	10/10	0/10	0/10

SVV、SIVは全て陰性

予防衛生協会提供

<第108回関西実験動物研究会>

日時 平成22年12月10日（金）10：00～16：50

場所 京都市勧業館「みやこめっせ」

< 会 員 の 発 表 >

1. CycleavePCR法を用いたラット系統の遺伝子判定について
○中西 聡、庫本高志（京都大・医・動物実験施設）
2. 神経堤細胞特異的なdominant negative type BMPR1A 発現マウスによる顔面形成におけるBMP-BMPR1A シグナルの機能解析
○齋藤浩充¹、山崎英俊²、鈴木 昇¹（¹三重大・生命セ・動物機能ゲノミクス、²三重大・医・幹細胞発生学）
3. Phodopus campbelli由来近交系に発見された胃癌発症例
○和田あづみ¹、金井孝夫²、大川 清¹、都築政起³（¹東京慈恵会医大・実験動物研究施設、²東京女子医大・実験動物施設、³広島大・生物圏科学）
4. 遺伝子改変肺癌モデルで新たに見出されたマウス系統間肺癌感受性
○鈴木 昇、齋藤浩充（三重大・生命セ・動物機能ゲノミクス）
5. 炎症性腸疾患（IBD）マウスモデルにおける γ 型IFNの役割
○喜多正和^{1,2}、伊藤令子³、今西二郎²（¹京府医大院・実験動物セ、²免疫・微生物、³内科）
6. シアル酸転移酵素遺伝子欠損に基づくストレス性情動系障害モデルマウスの確立
○加藤啓子（京都産業大・総合生命科学）
7. 大規模動物実験施設におけるMurine Norovirus汚染状況
○小谷祐子、愛原勝巳、河崎愛子、金子司郎、鍵山壮一朗、岡本 明、黒澤 努、田島 優（大阪大・医・動物実験施設）
8. モニタリング対象微生物の生物学
○池 郁生（理研BRC・実験動物開発室）
9. KDPラットにおける1型糖尿病修飾遺伝子の遺伝学的解析
○横井伯英、日高志保美、大矢美紀、清野 進（神戸大院・医・細胞分子医学）
10. ジンクフィンガーヌクレアーゼを用いたノックアウトラット作製法
○滝澤明子、真下知士、国広弥生、山崎賢一、芹川忠夫（京都大・医・動物実験施設）
11. エラスターゼ誘導肺気腫は繊維除去食および欠食で促進する
○久保 薫¹、友田恒一²、吉川雅則²、山元佳史²、濱田 薫²、木村 弘²（奈良医大・¹動物実験施設、²内科学第二講座）

12. KADラットを用いた大腸癌化学療法試験法の確立

○吉見一人¹、橋本貴生²、田中卓二³、丹羽佑介²、芹川忠夫¹、庫本高志¹（¹京大・医・動物実験施設、²サンプルネット、³東海細胞研究所）

13. ラットの三種混合注射麻酔と拮抗薬

○Huajin Pang¹、河合澄子¹、塩谷恭子²、片平清昭³、高木康博¹、田島 優^{1,4}、黒澤 努^{1,4}（¹大阪大・医・実験動物医学、²国立循環器病セ・実験動物、³福島県医・実験動物研究施設、⁴大阪大・医・動物実験施設）

CycleavePCR 法を用いたラット系統の遺伝子判定について

○中西 聡、庫本高志

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

CycleavePCR 法は、サイクリングプローブ法を使用したリアルタイム PCR で、RNA と DNA からなるキメラプローブと RNase H の組み合わせにより、遺伝子断片の一塩基置換 (SNP) の検出を行うことが可能である。プローブは RNA 部分を挟んで 3'末端に蛍光物質、5'末端にクエンチャーが標識されており、SNP サイトあるいはその 3'側隣とハイブリダイズする塩基を RNA に設定する。プローブが PCR 増幅産物中の相補的な配列と結合しプローブの RNA とターゲットの DNA がハイブリットを形成すると RNA の 5'側が RNaseH により切断され、プローブが遊離し蛍光を発する。一方、ミスマッチのため RNA-DNA ハイブリッドが形成されなければ、RNaseH により切断されないため、蛍光を発しない。この蛍光の有無をリアルタイム PCR で検出することで、SNP を正確に検出できる。今回、CycleavePCR 法によりミュータントラットの点変異の遺伝子判定を試みた。

【材料と方法】

家族性大腸腺腫症の原因遺伝子 Adenomatous polyposis coli(*Apc*)にナンセンス変異 (S2523X) を持つ KAD ラットを用いた。*Apc* 遺伝子の点変異を含んだターゲット領域を増幅するプライマーとサイクリングプローブの設計・合成は、タカラバイオの Double-Dye プローブ合成サービスに依頼した。テンプレートは、PCR ダイレクトシーケンスにより遺伝子型が確定している個体のゲノム DNA を用いた。サイクリングプローブの検出には、Thermal Cycler Dice® Real Time System を用いた。

【結果と考察】

KAD ラットのミュータントホモ型、ヘテロ型、野生型を明確に判別することができた。その結果は、ダイレクトシーケンス法より得られた結果と一致した。遺伝子判定に要する時間は、PCR を行っている時間と等しく、極めて短時間に遺伝子判定を行う事ができた。これらの結果から、CycleavePCR 法は、ラット系統の点変異の遺伝子判定において非常に有用な方法であると考えられた。

神経堤細胞特異的な dominant negative type BMPR1A 発現マウスによる顔面形成における BMP-BMPR1A シグナルの機能解析

○齋藤 浩充¹、山崎 英俊²、鈴木 昇¹

(¹三重大・生命セ・動物機能ゲノミクス、²三重大・院医・幹細胞発生学)

(背景) BMP-2, -4, -7 リガンドは 2 型受容体 (BMPR2) と 1 型受容体の 1 つである BMPR1A 分子の会合を誘導し、BMPR1A 分子の細胞内ドメインを活性化することでシグナルを伝達する。BMP-2, -4, -7、BMPR2、BMPR1A 遺伝子は、神経堤細胞 (NCC) 由来の間充細胞と、それを取り囲む上皮細胞で構成される顔面形成原器に発現しており、BMPR1A を介したシグナルの顔面形成への関与が示唆された。

(方法) 細胞内ドメインを欠失した dominant negative タイプの BMPR1A 分子 (dnBMPR1A) を Cre 組み換え酵素による組み換えで発現できるトランスジェニックマウス (*flox-dnBMPR1A-tg*) を作製した。これを NCC 特異的 Cre 発現トランスジェニックマウス (*P0-Cre-tg*) と交配し、NCC 由来細胞特異的に BMPR1A を介したシグナルをノックダウンしたダブルトランスジェニック (ダブル tg) マウスを作成し、顔面形成における BMP-BMPR1A シグナル機能を解析した。

(結果) 神経堤細胞が顔面形成原器への移動を終える胎生 9.5 日において、ダブル tg とコントロールマウスの形態および NCC マーカー *Ap2α* 遺伝子発現パターンに違いは検出されず NCC の移動には異常が無いことが示された。胎生 10.5 日で、ダブル tg マウスの上顎鼻隆起の形成不全と間充細胞の細胞密度低下が認められた。組織化学的解析から、上顎鼻隆起の間充細胞において細胞増殖の低下を伴わないアポトーシス細胞の増加が検出された。胎生 11.5 日から生後 0 日齢までのダブル tg マウスの 80% に上顎鼻部の顔面裂が生じていた。顔面裂を発症したマウスは、口蓋裂 (100%)、心室中隔欠損 (20%) を合併しており致死であった。顔面裂を発症していない残りの 20% は、特徴的な短顔であり、30% で色素異常 (腹部の白斑) を生じていたが、生存、生殖に異常はみられなかった。また、骨染色、および CT による解析から、全てのダブル tg マウスに前頭骨の形成不全が検出された。以上の結果から、正常な BMP-BMPR1A シグナルが、上顎鼻隆起の NCC 由来間充細胞の生存、維持に必要であることを明らかにした。

*Phodopus campbelli*由来近交系に発見された胃癌発症例

○和田あづみ¹、金井孝夫²、大川 清¹、都築政起³

(¹ 東京慈恵会医科大学・実験動物研究施設、² 東京女子医科大学・実験動物中央施設、³ 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り、報告されている3種；*P. campbelli*、*P. roborovskii* および*P. sungorus*は1990年代から愛玩用に広く普及している。飼育頭数そのものが多い愛玩動物である*Phodopus*属ハムスターは、さらなる疾患モデル候補となりうる新規突然変異体の発見も期待できる優れた育種素材であると考えられるため、我々はこの愛玩用*Phodopus*属ハムスターに対し「狭義の実験動物」としての基盤を整備している。

我々は1994年6月に、*P. campbelli*と推定されるハムスターの雌雄を各一頭導入し、これらの子供から全兄妹交配による近交系育成を開始した。この家系は、紅眼黄色被毛形質を示す常染色体性単一劣性遺伝子をホモ型で固定させつつ、ヘテロ型が白斑被毛を示す常染色体性単一不完全優性遺伝子*Mi* に関しセグリゲイティング近交系として育成を試み、2001年12月に全兄妹交配20世代目の個体を得て、近交系として確立した（PMI系統）。2010年10月現在では、近交48世代に達している。

2009年、このPMI系統の剖検を行った際に、胃が異常な形態を示す個体を発見した。2010年5月にも同様の胃の異常形態を示す個体を発見し、組織学的な検索を行った結果、この異常形態の病変は高分化型腺癌と診断された。

その後、PMI系統およびそのコンジェニック系統とコアイソジェニック系統に関して剖検調査を行ったところ、22例（平均328日齢）中、18例（82%、平均341日齢、216-515日齢）の胃内に腫瘍を確認した。一方、PMI系統とは別起源の個体を主体として新たに育成した*P. campbelli*近交系では、剖検調査を行った4例（平均280日齢、265-293日齢）全例において、胃内の腫瘍は確認できなかった。

遺伝子改変肺癌モデルで新たに見出されたマウス系統間肺癌感受性

○鈴木 昇、齋藤 浩充

(三重大・生命セ・動物機能ゲノミクス)

(背景) ヒト肺癌の 35%では、癌遺伝子 *K-Ras* 遺伝子に恒常的活性型 *K-Ras* (癌型 *K-Ras*) 変異が検出されることが報告されている。我々は、Cre タンパクによる組み換えで、任意の時期、細胞で癌型 *K-Ras* 発現を誘導できる flox-癌型 *Kras* マウスを作成した。肺胞上皮細胞特異的に癌型 *K-Ras* を発現させると、ヒトの肺胞上皮 2 型様の腺癌を発症させることができる。このモデルは、自然発癌 (ヒトでの発癌) における「癌型 *K-Ras* 変異から腫瘍が出現するまでの肺癌発症過程」を実験的に再現したモデルである。従来、肺癌モデルとして、発癌物質 (ウレタン、E N U) の投与により肺腺癌を誘導する化学発癌モデルが使われ、生じる腫瘍数が A/J 系統では、C57BL6/J (B6) 系統の 8-20 倍であることが報告され発症促進、抑制に関わる遺伝子の探索が試みられてきた。しかしながら、化学発癌モデルでは、発癌物質暴露による影響、発癌物質の代謝、遺伝子変異の修復、変異の多様性など様々な混在した要因を区別できない。

(目的・方法) A/J 系統および B6 系統の遺伝子背景をもった A/J:flox-癌型 *Kras* マウス、B6:flox-癌型 *Kras* マウスを作成し肺癌実験を行い発症した腫瘍数を比較することで、2 系統間の自然発癌における肺癌感受性を抽出、検討できると考え実験を行った。

(結果) 結果は、化学発癌の場合とは逆に、B6 系統 (123.6 ± 10.3) が A/J 系統 (10.3 ± 17.0) より肺癌高感受性であることを示していた ($P < 0.05$)。癌型 *K-Ras* 発現誘導に、アデノウイルスベクターを用いていることから、感染の差が疑われたため、感染後の肺から DNA を精製し PCR 法により感染量を検討したが、差は検出されなかった。加えて、A/J:flox-癌型 *Kras* マウス、B6:flox-癌型 *Kras* マウスへのウレタン投与を行い化学発癌感受性を確認した。この結果は、これまでの報告と一致し A/J 系統 (26.6 ± 3.5) が B6 系統 (0.75 ± 0.5) より有意に高い感受性を示した ($P < 0.01$)。今後、遺伝子改変モデルにおける発癌感受性関連遺伝子を同定することで、化学発癌に伴う様々な要因に隠れていた、自然発癌において重要な遺伝子を特定できると考えている。

炎症性腸疾患（IBD）マウスモデルにおける γ 型 IFN の役割

○喜多正和^{1,2}、伊藤令子³、今西二郎²

（¹京府医大院・実験動物センター、²免疫・微生物、³内科）

炎症性腸疾患（IBD）は、腸管粘膜に慢性の炎症または潰瘍を生ずる原因不明の疾患の総称である。本疾患の発症や増悪の原因の一つとしてサイトカインの関与が報告されているが、IBD の病態形成における IFN- γ の役割については不明な点が多い。本研究では、IBD マウスモデルにおける γ 型 IFN の役割について遺伝子欠損マウスを用いて検討した。

C57BL/6 マウスに 2.5% dextran sulfate sodium (DSS) を 1 週間投与することにより IBD モデルを作成した。野生型マウスでは、DSS 投与 6 日後より体重が減少し、下痢および腸管内出血が認められたが、IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは下痢および腸管内出血は認められなかった。また、腸管の長さは DSS 投与野生型マウスでは非投与群に比べ有意に短縮し、組織学的に著明な炎症細胞の浸潤が認められたが、IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは組織学的な炎症像は認められなかった。さらに、炎症組織においては IFN- γ および IFN 誘発ケモカインである IP-10, MIG, MCP-1 産生が増強しており、ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性の有意な発現増強が認められた。一方、IFN- γ 遺伝子欠損マウスでは、これらのサイトカインおよびケモカインの産生はほとんど認められず、MPO 活性は正常レベルであった。

以上の結果より、炎症性腸疾患（IBD）の病態形成において、IFN- γ は重要な役割を果たしていること、その機序としてケモカインの産生抑制が考えられることが明らかとなった。

シアル酸転移酵素遺伝子欠損に基づくストレス性情動系障害モデルマウスの確立

○ 加藤啓子 （京都産業大学・総合生命科学部）

難治てんかんの5割を占める側頭葉てんかんは、海馬・扁桃体・側頭葉に発作の発火点を持つてんかんであり、我々は、この側頭葉てんかんのモデルマウス（扁桃体キンドリングマウス）を作成し、難治てんかんの発症に関わる分子を探索してきた。側頭葉てんかんのモデルマウスとは、情動学習の中枢である扁桃体に刺激電極を挿入し、1日1回約2週間軽微な刺激（ $480\mu\text{A}$, $200\mu\text{sec}$ duration, 60Hz , 2sec ）を導入することで、てんかん発作を誘導する、扁桃体キンドリングマウスである。スクリーニングをおこなった結果、成長ホルモンと $\alpha 2, 3$ -シアル酸転移酵素がてんかん発症に連動した発現上昇を示すことを見出した。第104回本研究会では、成長ホルモンは下垂体だけでなく脳内でも発現し、脳内で誘導された成長ホルモンシグナル系が、てんかん発作だけでなく、不安症やうつ病の発症にも関与することを示した。

一方本研究会では、 $\alpha 2, 3$ -シアル酸転移酵素（ST3Gal IV）遺伝子欠損マウスを作成し、本マウスがてんかんを含む神経精神疾患症状を示すことについて検討した結果を紹介する。 $\alpha 2, 3$ -シアル酸転移酵素（ST3Gal IV）遺伝子をC57BL/6Jマウスゲノムより分離し、MS12ES細胞を用いてターゲティングマウスを作成した。その後、ターゲティングマウス由来2細胞期卵にCAG promoter-Cre プラスミドを注入し、全身性のノックアウトマウスを作成した。まずは、本酵素欠損マウスにキンドリング刺激を施し、てんかん発作を誘導した。その結果、てんかん発作を発症しなかったことから、ST3Gal IVが、てんかん発作誘導のキー分子であることを示唆することができた。次に恐怖条件付け試験により、本マウスは、恐怖記憶の増強を呈したことから、不安症のモデルになることがわかった。さらには、オープンフィールド試験により、環境への適応性が低いこと、さらには、睡眠障害を示すことがわかった。また、血漿中の成長ホルモン-IGF1の減少に伴う成長障害、オスの性行動障害、さらには、メス周産期分娩異常（死産）を示すことがわかった。以上のことから、 $\alpha 2, 3$ -シアル酸転移酵素（ST3Gal IV）遺伝子欠損マウスが、不安障害、適応障害、ホルモン恒常性障害といった、ストレス性情動系障害モデルマウスとしての有用性の高いことが示唆された。

大規模動物実験施設における Murine Norovirus 汚染状況

○小谷祐子、愛原勝巳、河崎愛子、金子司郎、鍵山壮一郎、岡本 明、
黒澤 努、田島 優

(大阪大学医学部附属動物実験施設)

【背景・目的】Murine Norovirus (MNV) は 2003 年に発見されたカリシウイルス科に属する新興ウイルスである。また、このウイルスは IFN 系機能不全マウスに致死的な感染をひきおこすことが知られている。海外の実験動物施設ではこのウイルスが SPF マウスに広く感染していることが報告されている。

大阪大学医学部附属動物実験施設では、2009 年に当施設のある SPF 飼育室で飼育しているマウスが MNV に感染していることが明らかとなった。そこで今回、微生物モニタリング用囲マウスを用いて当施設の全ての SPF 飼育室の MNV 汚染状況を調査した。

【方法】囲マウスの糞便から抽出した RNA を検査材料とした。検査法には nested RT-PCR を用いた。プライマーには Goto らが報告した MNV の RNA polymerase 遺伝子を標的とする特異プライマーを用いた。得られた PCR 産物からダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を解読し、系統樹解析を実施した。

【結果・考察】当施設の SPF 飼育室 30 室のうち 16 飼育室 (53%) から MNV 特異 PCR 産物が得られた。これらの PCR 産物の塩基配列は既知の MNV 株の配列と 88%以上の相同性を示した。

系統樹解析の結果、これらの塩基配列は 5 つのクラスターを形成し、当施設には 5 つの株が存在する可能性が示唆された。各クラスターには複数の飼育室を含むクラスターと単一の飼育室から成るクラスターがあった。

モニタリング対象微生物の生物学

○池 郁生

(理研 BRC・実験動物開発室)

高品質の動物実験を遂行するために実験動物の微生物制御は必要である。日本における微生物モニタリング対象微生物は、日本実験動物協会の日動協メニュー¹⁾や、国立大学法人動物実験施設協議会施設及び公私立大学実験動物施設協議会施設における「微生物学的モニタリング対象微生物および寄生虫」²⁾、検査機関である財団法人 実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターの微生物検査項目³⁾などが知られ、飼育施設のグレードや飼育方針に合わせて検査対象微生物の清浄化とそのモニターに努力が払われている。

モニタリング対象微生物は、その発見が古いほど生物学的にも興味をもたれて詳細な研究がなされたものが多い。マウス病原体では、センダイウイルス、マウス肝炎ウイルス、肺マイコプラズマ、ティザー菌などの研究が有名だが、その他にもハンタウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、マウス脳脊髄炎ウイルス、乳酸脱水素酵素上昇ウイルス、マウスパルボウイルス、マウスサイトメガロウイルス、腸粘膜肥厚症菌、肺パスツレラなどの生物学が行われている。特に、2000 年以後では、ヒトの感染症のモデルとして、モニタリング対象微生物を用いた感染実験の論文が増えてきている。その一方で、センダイウイルスのように、新たなベクターとして用いられる病原体もあり、これらモニタリング対象微生物を用いた生物学の最近の流れを注視する必要がある。

本発表では、マウスの実験動物学の立場から、これらモニタリング対象微生物の生物学の最近の流れを紹介する。

1) http://www.nichidokyo.or.jp/monitoring_details.html

2) http://www.kokudoukyou.org/kankoku/juju/juju_table1.pdf

3) <http://www.iclasmonic.jp/kensaannai.htm>

KDP ラットにおける 1 型糖尿病修飾遺伝子の遺伝学的解析

○横井伯英、日高志保美、大矢美紀、清野 進
(神戸大学大学院医学研究科細胞分子医学)

我々は自然発症 1 型糖尿病モデル **Komeda diabetes-prone (KDP)** ラットの解析から、2 つの主要遺伝子 (**MHC** の **u** ハプロタイプと **Cblb** のナンセンス変異) による発症モデルを提唱した。この発症モデルを検証するため、**KDP** の変異 **Cblb** アレルを **KDP** と同一の **MHC** ハプロタイプを有する **TM** ラットに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。修飾遺伝子を同定するため、これまで **F2** 交配系を用いた遺伝解析を行ってきたが、最近では **N2** 交配系を用いた解析を進めている。今回はこれら 2 つの交配系による解析の結果を報告する。

コンジェニックと **KDP** 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 250 匹を作出し、コンジェニック、**KDP**、**F1** および **F2** について 210 日齢まで糖尿病の発症の有無を観察した。これらの **F2** 全個体について全染色体に散在する **DNA** 多型マーカーを用いて遺伝子型の判定を行い、糖尿病発症との連鎖解析を行った。

KDP は糖尿病発症開始日齢が早く、発症率が高かったが (累積発症率約 80%)、コンジェニックは発症開始日齢が遅く、発症率が低かった (同約 25%)。 **F1** は **KDP** と同様に発症が早く、発症率が高かった (同約 80%)。 **F2** は発症が早い個体から発症しない個体までばらつきがあった (同約 70%)。 **F2** を用いた解析の結果、複数の修飾遺伝子座が同定された。また、発症日齢特異的および性別特異的に作用する遺伝子座が存在することが示唆された。

現在、(コンジェニック×**KDP**) **F1**×コンジェニックの交配から作出した **N2** ラット約 300 匹について同様の解析を行い、**F2** の解析から同定された修飾遺伝子座の検証および新たな遺伝子座の同定を進めている。

ジンクフィンガーヌクレアーゼを用いたノックアウトラット作製法

○滝澤明子、真下知士、国広弥生、山崎賢一、芹川忠夫
(京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

【目的】特定の遺伝子を欠損させたノックアウト動物は、遺伝子機能解析モデルとしての有用性だけではなく、疾患モデル動物としての利用価値も高い。我々は、これまで **ENU** ミュータジェネシスにより、ヒト疾患遺伝子を標的としたさまざまな疾患モデルラットを作製してきた。ラット **ES** 細胞を用いたノックアウトラットの作出が報告されたが、その効率はマウス **ES** 細胞と比べて低く、さらなる改良が必要である。近年、特定の遺伝子に特異的に **DNA** 二本鎖切断をいれることが可能なジンクフィンガーヌクレアーゼ

(**ZFN**) により、標的遺伝子に変異を導入する技術が報告された。我々は、この **ZFN** 技術による効率的なノックアウトラット作製方法を検討した。

【方法】複数のラット標的遺伝子について、複数のラット系統 (**F344/Stm**、**TM/Kyo**) を検討した。**ZFN** 発現ベクターは、シグマアルドリッチから購入した。転写したメッセンジャー **RNA** をラット前核期受精卵の雄性前核へマイクロインジェクションした ($5 \mu\text{g/mL}$)。 **ZFN** 注入胚を偽妊娠誘起したメス (**CrIj:WD**) の卵管内に移植し、22 日後に産子を得た。**PCR** ダイレクトシーケンス法により、**ZFN** により誘導された遺伝子変異を確認した。遺伝子変異が確認されたファウンダーラットについては、次世代へのジャームライントランスミッションを確認した。

【結果および考察】 **ZFN** の **mRNA** 注入胚を移植した結果、全ての遺伝子についてそれぞれノックアウト個体を得られた (44.8%)。ファウンダーラットの中には、モザイク状に複数の欠損変異または挿入変異が導入されているものが存在した。作出されたファウンダーラットを交配させた結果、次世代にも確実に遺伝子変異が確認された。さらに複数の **ZFN** を **Co-injection** することで、ダブルノックアウトの作出も可能であった。以上の結果、**ZFN** により複数の系統、遺伝子でノックアウトラットを作出することができることを証明した。**ZFN** 作製からノックアウトラット作出まで、およそ 4-6 カ月程度であった。ジンクフィンガーヌクレアーゼは、ノックアウトラットを短期間で効果的に作製することができる優れた技術である。

エラスターゼ誘導肺気腫は繊維除去食および欠食で促進する

○久保 薫¹、友田 恒一²、吉川 雅則²、山元 佳史²、濱田 薫²、
木村 弘²

(奈良医大・¹動物実験施設、²内科学第二講座)

現代人の食生活において、不規則な食事摂取に加えて、食物繊維の不足が問題視されている。不規則な食事摂取は生体に様々な影響をもたらすことが知られ、食物繊維摂取は喫煙による気道炎症や慢性閉塞性肺疾患の発症を抑制することが報告されている。今回は、我々は動物実験モデルを用いて、欠食および食物繊維摂取が肺気腫の進展にもたらす影響について検討した。

【材料と方法】

10 週齢の雄 Wistar Kyoto に対して AIN-93G の不断給餌あるいは欠食とセルロース欠乏 AIN-93G の不断給餌あるいは欠食を 6 週間実施したのち、麻酔下にて 1.2UI のブタ膵臓由来のエラスターゼを 300 μ l の割合で気管内投与した。エラスターゼ投与後 6 週間後に安楽死させ、肺の組織学的解析を行った。呼吸機能は、小動物用呼吸機能測定装置を用いて解析した。欠食は、毎週の月曜日（午前）から火曜日（午前）の 24 時間以内と土曜日（午後）から月曜日（午前）の 36 時間以内とした。

【結果】

不断給餌の場合、セルロース欠乏 AIN-93G は体重増加に影響しなかった。AIN-93G あるいはセルロース欠乏 AIN-93G の欠食群は、AIN-93G の不断給餌群に比べて有意な体重増加の抑制が観察された。欠食の場合、AIN-93G 給餌群とセルロース欠乏 AIN-93G 給餌群で体重増加に有意な差が認められた。不断給餌の場合、セルロース欠乏 AIN-93G 給餌群は、AIN-93G 給餌の群に比べて摂餌量が有意に少なかった。セルロース欠乏 AIN-93G 給餌において、摂餌量は不断給餌群に比して欠食群で有意に多かった。肺機能検査においては、セルロース欠乏 AIN-93G の欠食群が、他の群に比べて分時換気量は低下し、呼気時間は増加した。組織学的解析においても、セルロース欠乏 AIN-93G の欠食群で肺胞壁の破壊に伴う気腔（気腫性病変）の拡大が他の群に比べて顕著であった。

以上の結果から、不規則な食事摂取に加えて食物繊維の不足は、慢性閉塞性肺疾患の進展に関与することが示唆された。

KAD ラットを用いた大腸癌化学療法試験法の確立

○吉見一人¹、橋本貴生²、田中卓二³、丹羽佑介²、芹川忠夫¹、庫本高志¹

(¹京大院・医・動物実験施設、²サン普拉ネット、³東海細胞研究所)

Kyoto Apc Delta (KAD) ラットは、家族性大腸腺腫症の原因遺伝子である *Apc* 遺伝子にナンセンス変異 (S2523X) を持つ。この KAD ラットにアゾキシメタン (AOM) とデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を投与すると、AOM 投与後 15 週で全ての個体到大腸腫瘍を誘発することができる。今回、大腸腫瘍誘発 KAD ラットを用いた化学療法試験法の確立を目的とし、代表的な抗がん剤である 5-fluorouracil (5-FU) を用いて化学療法試験を行った。

【材料と方法】

5 週齢の雄性 KAD ラットに AOM (20 mg/kg 体重、1 回、背部皮下投与) と DSS (2%濃度で 7 日間、飲水投与) を投与し大腸癌を誘発した。実験開始後 9 週目に大腸管腔内の内視鏡観察を行い、誘発腫瘍数に基づいて、溶媒投与群 (n=9)、5-FU 50 mg/kg 投与群 (n=9) 及び 75 mg/kg 投与群 (n=9) に群分けした。5-FU は週 1 回の尾静脈内投与を 3 週連続で行った後に 1 週間休薬させ、これを 1 クールとして全 2 クール実施した。なお、5-FU 投与プロトコールは、無処置の雄性 KAD ラットに 5-FU を投与し、その後の体重減少及び死亡率より設定した。AOM 投与 16 週間後に剖検および病理解析を実施し、腫瘍個数、腫瘍体積を測定した。

【結果と考察】

5-FU 75 mg/kg 投与群では死亡例が確認されたことから、当該用量は大腸腫瘍誘発 KAD ラットにおいて毒性用量と判断し、5-FU 50 mg/kg 投与群を評価の対象とした。剖検の結果、1 頭あたりの腫瘍数は 5-FU 投与群で 6.3 ± 1.0 個、溶媒投与群で 5.6 ± 0.9 個 ($p=0.62$)、1 頭あたりの総腫瘍体積は 5-FU 投与群で $75.0 \pm 19.1 \text{ mm}^3$ 、溶媒投与群で $105.3 \pm 22.9 \text{ mm}^3$ ($p=0.33$) であった。病理解析の結果、1 頭あたりの腺腫および腺癌の総腫瘍数は 5-FU 投与群で 6.1 ± 0.8 個、溶媒投与群で 6.3 ± 1.6 個 ($p=0.90$)、腺癌の平均体積は 5-FU 投与群で $34.4 \pm 6.8 \text{ mm}^3$ 、溶媒投与群で $65.9 \pm 9.5 \text{ mm}^3$ ($p<0.02$) であった。以上より、KAD ラットに誘発された腺癌に対する 5-FU の抗腫瘍効果が確認できた。短期間で全ての個体到大腸腫瘍を誘発できる KAD ラットを用いることで、新規化合物の大腸がんに対する抗腫瘍効果や、新たな投与プロトコールの開発が効果的に推進できると期待される。

ラットの三種混合注射麻酔と拮抗薬

○Huajin Pang¹、河合澄子¹、塩谷恭子²、片平清昭³、高木康博¹、田島優^{1,4}、黒澤努^{1,4}

¹ 大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室、² 国立循環器病センター実験動物管理室、³ 福島県立医科大学実験動物研究施設、⁴ 大阪大学医学部附属動物実験施設

【目的】動物実験の際、麻酔は動物福祉の観点からも苦痛軽減のためにも重要である。ケタミンが麻薬指定されたことにより、麻薬以外の薬剤による簡便な麻酔方法の開発が求められている。われわれはケタミンに代わる麻酔薬として、塩酸メデトミジン（以下 **Med** ）、ミダゾラム（以下 **Mid** ）、酒石酸ブトルファノール（以下 **But** ）の三種混合薬がマウスの注射用麻酔薬として有用であることを報告した。しかし、示唆された投与量ではラットにおいて、1 時間以上の長時間深麻酔となると報告された。そこで短時間の実験処置に適する約 30～45 分間の深麻酔が得られる麻酔法の開発が必要と考えた。今回、前報告と同じ麻酔薬を用いるが、アチパメゾール（以下 **Ati** ）の追加投与により、短時間で麻酔から覚醒させ得る方法を検討したので報告する。

【方法】供試動物は Slc: Wistar-SPF のオスである。実験群 1：三種混合麻酔薬投与量は **Med** 0.15 mg/kg BW、**Mid** 2.0 mg/kg BW、**But** 2.5 mg/kg BW（以下 60 分群）とし、腹腔内投与した。実験群 2：三種混合麻酔薬を 60 分群と同じく腹腔内投与し、投与後 40 分にメデトミジン拮抗薬であるアチパメゾールを投与した。投与量は **Ati** 0.3 mg/kg BW（以下 **Ati** 投与群）とし、腹腔内投与した。三種混合麻酔薬を投与後 5 分ごとに 前肢及び後肢の引込み反射、尾の反射、角膜反射、正向反射の有無を観察し、すべての反射消失を麻酔スコア 5 とし、スコア 4 以上を外科麻酔とした。

【結果】スコア 4 以上の平均深麻酔時間は、60 分群が約 65 分であった。深麻酔中に **Ati** を腹腔内投与すると全例直ちに覚醒し、その後覚醒状態を持続した。**Ati** 投与群の平均深麻酔時間は約 35 分であった。

【考察】以上のことから、これまで報告のあったラットにおける三種混合麻酔薬（**Med**/**Mid**/**But** 0.015/0.2/0.25 mg/ml）投与後、**Ati** 0.03 mg/ml を追加投与すると深麻酔から直ちに覚醒し、短時間の外科麻酔とできることが明らかとなった。

<第109回研究会（平成23年3月4日）>

テーマ：細胞機能の基礎研究と新規の疾患リソース研究

1. マウス毛色変異体を用いて色素細胞の新機能を探る

山本 博章（長浜バイオ大学）

2. エピジェネティックス制御を背景とした腫瘍細胞分化異常と発がん

山田 泰広（京大・iPS細胞研究所、JSTさきがけ）

3. スギ花粉症における自然発症動物と犬のバイオバンクプロジェクト

阪口 雅弘（麻布大・獣医）

マウス毛色変異体を用いて色素細胞の新機能を探る

山本博章(長浜バイオ大学)

我々は哺乳類が持つ色素細胞を発生させる経路（系譜）には 2 経路ある。一方は発生中の脳泡に由来し、網膜色素上皮に至る経路であり、他方は脊椎動物特異的な胚の細胞集団・神経冠（堤）に由来するメラノサイトである。メラノサイトは高い移動能を持ち、皮膚以外にも眼、内耳、心臓、等々、多くの組織・器官に定着する(図 1)。

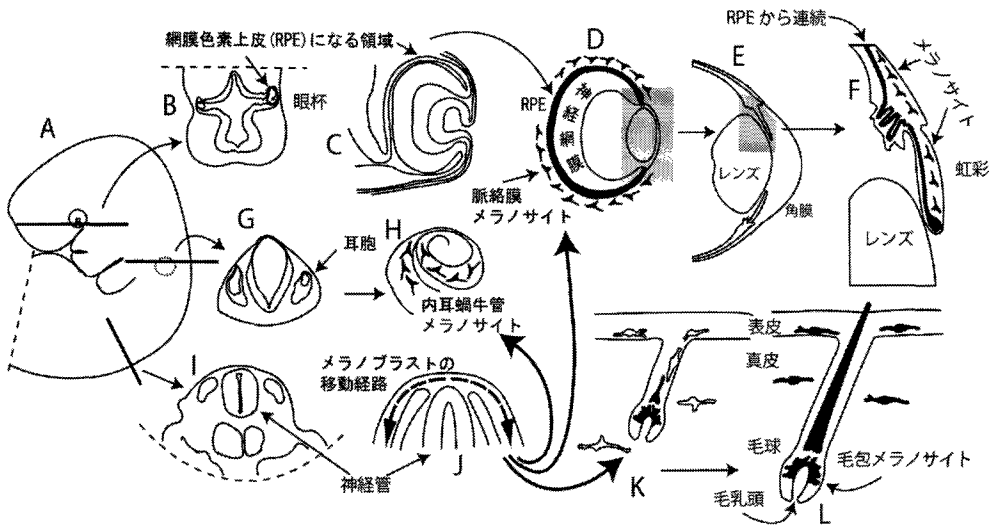


図 1. 哺乳動物メラニン色素細胞の細胞系譜

受精後 10.5 日のマウス胚 (A) と、胚に示されたそれぞれの線分に対応する切断面を示す (B, G, I)。網膜色素上皮 (RPE) が分化する眼杯 (B)、耳胞 (G) の領域、また胚の背側に形成される神経冠からメラノサイト前駆細胞 (メラノブラスト) が移動する様子を模式化するための腹部横断面 (I) である。網膜色素上皮 (RPE) は、眼杯から眼杯 (B, C) を経て神経網膜の外側に一層の細胞層として形成される (D)。D のグレー部分を拡大したのが E、さらにその中のグレー部分を拡大したのが F である。メラノブラストは神経冠から全身に移動し (J)、毛の根元 (毛包、K、L) や毛包間の真皮や表皮に分布する。内耳 (H) にも定着する。虹彩部分にはそのレンズ側に RPE に連続した色素層と、外界側には移動してきたメラノサイトが分布する。文献 1 より出版社の許可を得て転載

毛色や皮膚色は、メラノサイトが産生するメラニンの質や量に大きく依存する。背側の神経冠より発生したメラノサイト前駆細胞は、マウスでは E9.5 (胎生 9.5 日齢) から腹側に向かって移動し、E12.5 になると、真皮層から表皮層に這い出し、さらに形成期の毛包に移動する。メラノサイトは、ヒトにおいては毛包

間の上皮にも分布する（残る）が、マウスではほとんどが毛包に移動し毛包間での分布は極めて少ない。メラノサイトではメラノソームと呼ばれるオルガネラの中でメラニン合成が行われる。メラニンはメラノソームごと隣接する多数のケラチノサイトに受け渡され、毛や皮膚の色として発現される。従って、このような仕組みで体色を表現するので、当然ながら我々ヒトは、カメレオンのように体色を瞬時に変更できないのである。同様に紫外線により瞬時に皮膚の暗色化を起こすことはできない。

さてこのメラノサイトの神経冠からの発生と分化であるが、定着場所まで、また定着してからのメラノソームのケラチノサイトへの移送等、多くのステップで数多くの遺伝子に関わる。それぞれの遺伝子はこの過程のどのステップに関わるかで、表現型への影響が異なる。例えば神経冠からの初期の発生や移動に関わる遺伝子群は、その活性が不十分であると白斑を生ずることになる。例えばこれら遺伝子座には、*Sox10*, *Pax3*, *Snai2*, *Mitf*などの転写因子群、*Kitl*/*Kit*, *Edn3*/*Ednrb*などのリガンドーレセプター系をコードする遺伝子座が関わり、極端な場合は全身真っ白となる。

定着場所にたどり着いてメラニン合成を行うには、メラニン合成の鍵酵素チロシナーゼをコードする *Tyr* 遺伝子を始め、メラニン合成に関わる一群の遺伝子が必要であり、さらにはメラノソームの形成に関与する遺伝子群の発現も必須となる。その後はこのメラノソームをメラノサイト周辺で多数を占めるケラチノサイトに移送するステップも必要である。このように毛や皮膚の色を決めるには、多くの遺伝子関わっている。眼の色に関わる遺伝子も含めて、その表現型への関与には軽重あるが、現在のところ約 400 近くの遺伝子座が記載され (Montoliu, L. *et al.*, 2011)、内 170 余りが同定(クローニング)されている。

このように、メラノサイトの機能なしには皮膚色の発現を語ることはできないのであるが、この細胞が移動し定着する他の組織や器官での当該細胞の機能の解明は遅れている。

その一例として聴覚に関わる機能について紹介する。ダーウィンの「種の起源」の第一章に青眼のネコは難聴との記載がある。現在ではこれがすべてのネコに当てはまるわけではないことがわかっているが、この表現型を取る多くのネコが難聴であること、また他の哺乳動物においても、眼は着色していても(アルビノとは異なり眼は真っ赤ではないことが多い)、真っ白な毛色を持てば難聴の個体が多い。このことは、伴侶動物と生活している方々には、ダーウィンの指摘を待つまでもなく、よく知られたことと思う。この主な原因は、前述の皮膚メラノサイトと由来を同じくする色素細胞(メラノサイト)が内耳の血管条に定着できないことに因る。つまり発生から定着までの途中の過程がうまくいかないと、皮膚と内耳の両組織にメラノサイトを欠損するわけである。ヒトでは難聴を伴う色素異常症としてワールデンブルグ症候群が知られているが、先に述べたマウス白斑遺伝子群のヒトオルソログの多くがこの原因遺伝子となる。

さてこの聴覚に関わる色素細胞の機能で興味深いのは、当該細胞におけるメラニン合成は必須とは言えないことである。それは、メラノサイトは発生させるがチロシナーゼ遺伝子の突然変異で当該酵素の活性を失うアルビノ個体には聴覚が認められ、しかも難聴ではないからである。メラニン合成を必須としない色素細胞の機能とは何であろうか？

聴覚に必須の内耳メラノサイトは内耳血管条に存在する。血管条はコルチ器が面する蝸牛中央階の内リンパに面してはいるものの、異なる場所に形成され(図 2B)、血管に富んだ構造をとる。メラノサイトはこの血管を取り巻いている。このメラノサイトは蝸牛内電位の維持に必須の Kir4.1 カリウムチャンネルをコードする遺伝子 *Kcnj10* を発現することが特に重要であるとされる(Marcus *et al.*, 2002)。

我々は、メラニン色素細胞である網膜色素上皮は正常に分化させるが、神経冠由来のメラノサイトを分化させられない黒眼白毛色(black-eyed white)マウス

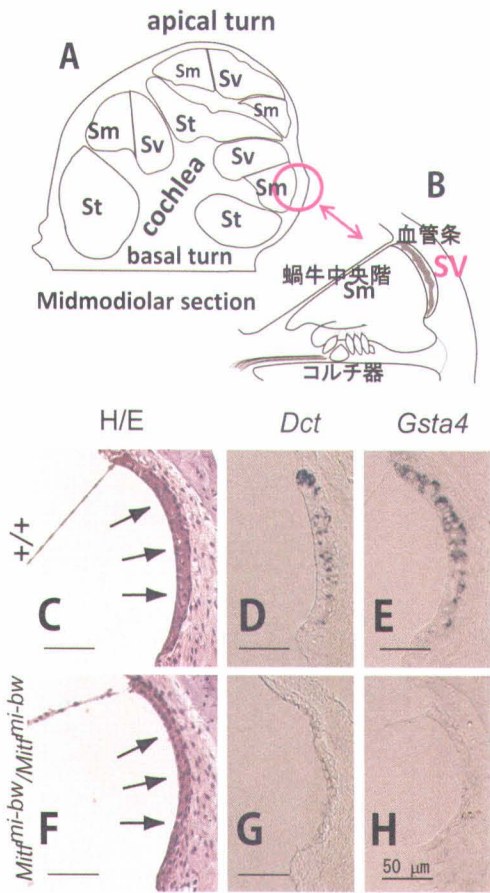


図 2 血管条における *Gsta4* 遺伝子の発現

血管条メラノサイトは、蝸牛 (A: 断面図) の中央階に面した血管条 (B) に発達した血管網と併存する。同じ中央階に面するコルチ器とは接していない (B)。野生型 (+/+, C-E) と黒眼白毛色 (black-eyed white, *Mitf^{mi-bw}* ホモ接合体, F-H) の血管条の構造 (C, F: ヘマトキシリンエオシン染色) とメラノサイトマーカー遺伝子 *Dct* (メラニン合成に関わる遺伝子) の発現 (D および G: インシツハイブリダイゼーション) および *Gsta4* 遺伝子の発現 (E および H)。野生型では血管条に *Dct* と *Gsta4* の強い発現が認められる。両者とも同じメラノサイトで発現する (Uehara *et al.*, 2009)。Sm: 中央階; St: 鼓室階; Sv (図 2A): 前庭階; Sv (図 2B): 血管条。C-H の矢印は血管条を示す。C-H は出版社の許可を得て文献 5 より改変して転載。

突然変異体・*Mitf^{mi-bw}* と野生型マウスの内耳における遺伝子発現プロファイルの比較から、抗酸化ストレス遺伝子として知られる *Gst* (Glutathione

S-transferase)の一種、*Gsta4*を血管条メラノサイトが高発現させることを見出した(Uehara et al. 2009) (図 2C-H)。用いたマウス変異体は転写因子・Mitf (microphthalmia associated transcription factor)のアレル *Mitf^{fmi-bw}*のホモ接合体である。

この酵素 Gst は多くのアイソフォームからなるファミリーを形成しており、グルタチオン(GSH)と、生体にとって異物となる物質の結合を触媒し解毒する。なかでも GSTA4 は主に脂質過酸化生成物と、たとえば 4-hydroxynonenal (4-HNE)との結合を触媒し、酸化ストレス防御システムに深くかかわっている。4-HNE はそれ自身が酸化ストレスとして働くだけでなく、酸化ストレスに対する防御応答を活性化する。例えば apoptosis の活性化や、Gst や Sod (superoxide dismutase)など酸化ストレス防御に関わる酵素群をコードする遺伝子群を活性化する。*Mitf^{fmi-bw}* ホモ接合体において、血管条メラノサイトの欠損による当該領域の *Gsta4* 活性の消失は、酸化ストレスレベルの亢進を招き、その制御機構が影響を受けている可能性があるが、今後の詳細な解析を必要としている。ちなみに雑音や聴覚毒性を持つ試薬が酸化ストレスを惹起させるとの報告もある。

では内耳メラノサイトでのメラニン合成には意義がないのであろうか。チンチラネズミに雑音を聞かせると内耳が真っ黒くなったとの報告 (Gratton and Wright, 1992)、またアルビノが騒音による機械的難聴になりやすかったり、また聴覚毒性を持つ試薬に弱いこと、さらにはより若いうちに難聴になる傾向があることなどが報告されており、当該機構へのメラニン色素の関与を示唆している(Hill, 1992)。

さて、皮膚や内耳以外にもメラノサイトは様々な組織・器官に定着する。これら領域における色素細胞の役割は何であろうか？ 今後の解析を待たなければならぬが、我々は、この細胞が色素細胞としての共通の機能を保持しながらも、定着先でそれぞれ特異的な機能を担うように進化してきたのではないかと考えているところである。

最後に、今回紹介したマウス毛色突然変異体*Mitf^{fmi-bw}*が示す黒眼白毛色の表現型は、江戸時代に発行された『珍翫鼠育升』(ちんがんそだてぐさ)の「黒眼の白」ネズミと同じ表現型である。このネズミは「大黒天の使いであり福德にあふれている」と書かれている。ちょうど今、我々もblack-eyed whiteマウスから学ぶ楽しさを感じているところである。

エピジェネティクス制御を背景とした腫瘍細胞分化異常と発がん

山田泰広（京都大学・iPS細胞研究所、科学技術振興機構 さきがけ）

ほぼ全てのがん細胞において、エピジェネティクス修飾異常が検出される。しかしながらその原因、発がんにおける意義には不明な点が多い。我々は、家族性大腸腺腫症のモデルマウス（*Apc* Min/+マウス）を用いて、発がんにおけるエピジェネティクス制御機構の意義解明を目指している。我々の研究により、*Apc* Min/+マウスの大腸発がん過程には少なくとも二段階の発がん過程が存在し、早期病変発生には *Apc* 遺伝子の loss of heterozygosity が重要であることが明らかとなった。一方で、早期病変から大腸腫瘍形成までのメカニズムは不明であった。最近の研究結果により、DNA メチル化に代表されるエピジェネティック制御機構が大腸腫瘍形成に強く関わるということが明らかになってきた。我々は、DNA メチル化基転移酵素である *DNA methyltransferase* の hypomorphic, conditional knock-out, inducible マウスを用いた研究により、特に早期病変から大腸腫瘍形成に至る大腸多段階発がん後期に de novo DNA メチル化が重要であることが明らかとなった。さらに、腫瘍細胞において DNA メチル化レベルを低下させると、本来未分化状態を維持して増生する腫瘍細胞に分化が誘導され、腫瘍細胞は増殖を停止することが分かった。DNA メチル化によるエピジェネティック制御機構を背景とした、細胞分化制御と発がんとの関連を示唆するものと考えられる。 β -catenin 強制発現可能マウスモデルを使った解析より、大腸上皮の未分化状態維持には β -catenin/Tcf 転写活性が重要であることが分かり、DNA メチル化による canonical Wnt signal の制御が大腸発がん進展に関与していることが予想された。

4 種類の転写因子を強制発現させることで、体細胞が ES 細胞とほぼ同等の細胞に変化する、つまり iPS 細胞が樹立できることが明らかとなった。iPS 細胞樹立の過程には、ダイナミックなエピジェネティック修飾状態の変化を伴う。iPS 細胞作製技術を用いることにより、腫瘍細胞のエピジェネティック修飾状態の強制的な変化誘導が可能と考えられる。我々は、*Apc* Min/+マウス大腸腫瘍から iPS 細胞の樹立を目指し、iPS 細胞に性質が類似した細胞株を樹立した。腫瘍

スギ花粉症における自然発症動物と犬のバイオバンクプロジェクト

麻布大学獣医学部獣医学科微生物学第1研究室 阪口雅弘

スギ花粉症における根治的な治療法の研究開発が進まなかった理由の1つとしてアレルギー症状の伴う花粉症の実験動物モデルがなかったことが考えられる。ニホンザルにおいてスギ花粉症の存在が明らかになっている。さらに、自然発症のスギ花粉症のイヌも発見され、治療および基礎研究分野におけるモデル動物として期待されている。

自然発症のスギ花粉症ニホンザルは鼻水、くしゃみ、目のかゆみと人とまったく同じ症状を示す(図1)[1]。これはヒト以外の霊長類においてIgE抗体を介したアレルギー疾患の初めての自然発症例であった。淡路島のニホンザル群れにおいて3才以上のニホンザル272頭をスギ花粉シーズン中に観察したところ、21頭(8%)がスギ花粉症を発症していることも明らかになった(表1)[2]。

イヌにおいてもスギ花粉症が確認された[3]。しかし、ヒトやサルの場合と異なり、呼吸器症状よりも主に皮膚炎症状が高頻度に認められた。疫学的調査として、42頭のアトピー犬において24種類のアレルゲンに対するIgE抗体の反応性を調べた。ヒトと同様にスギ花粉アレルゲンに対する反応性が高く、約20%のイヌがスギ花粉アレルゲンに感作されていることが明らかになった[4]。

ヒト以外の自然発症のスギ花粉症のニホンザル、イヌが発見され、これらのモデル動物を用いることにより、ブレイクスルーとなるこれらの治療法の研究が飛躍的に発展するものと思われる[5]。

2003年にヒトゲノムの全配列情報の解読が終了した。また、一塩基の違いからなる遺伝子多型情報である一塩基多型(SNP)の解析方法が開発され、患者と健常者の全ゲノムの遺伝子多型情報を網羅的に比較することにより、病気の発症や薬効に関わる遺伝子が次々と解明されてきている。犬の全ゲノム配列情報も2003年にプードルのゲノムから解読された[6]。解読した情報をもとに遺伝子多型の解析方法も整備されつつある。

医学分野では飛躍的に進歩したゲノム解析技術を効率よく利用するために、大規模な生物資源を確保する重要性が認識され、バイオバンクプロジェクトが各国で実施されている。獣医学においても欧米を中心に犬のゲノムプロジェクトが進み、犬の生物資源を収集するバイオバンクプロジェクトが実施されている。

日本において全国の大学附属動物病院を中心とした二次診療施設から症例情報とDNAおよび血

清を収集し、麻布大学において保管を行う犬のバイオバンクプロジェクトを発足させた（図2）[7]。今後、飛躍的なゲノム研究における科学技術の進歩が予想されることから、犬のバイオバンクプロジェクトによって収集された犬の症例情報と DNA および血清は将来的な犬のゲノム研究の発展に必ず役立つと考えられる。

参考文献

1. Hashimoto M, Sakaguchi M, Inouye S, *et al.* Prevalence of IgE antibody to crude and purified allergens of Japanese cedar pollen among different troops of Japanese monkeys (*Macaca fuscata*). *J Med Primatol* 23: 393-396, 1994
2. Sakaguchi M, Kobayashi C, Inouye S, *et al.* The incidence of Japanese cedar pollinosis and sensitization to the pollen allergens among Japanese monkeys in a troop. *Immunology* 97:348-351, 1999
3. Sasaki Y, Kitagawa H, Fujioka T, *et al.* Hypersensitivity to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen in dogs. *J Vet Med Sci* 57: 683-685, 1995
4. Masuda K, Sakaguchi M, Saito S, *et al.* In vivo and in vitro tests showing sensitization to Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen in atopic dogs. *J Vet Med Sci* 62: 995-1000, 2000
5. Sakaguchi M, Hirahara K, Fujimura T, Toda M. Approaches for immunotherapies in Japanese cedar pollinosis. *Auris Nasus Larynx* 38,431-438, 2011
6. Kirkness EF, Bafna V, Halpern AL, *et al.* The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science* 301: 1898-1903, 2003
7. 川原井晋平、阪口雅弘. 犬のバイオバンクプロジェクトの試み. *J-Vet* 23, 57-64, 2010

図1 スギ花粉症のニホンザル



図2 日本におけるイヌのバイオバンクシステム

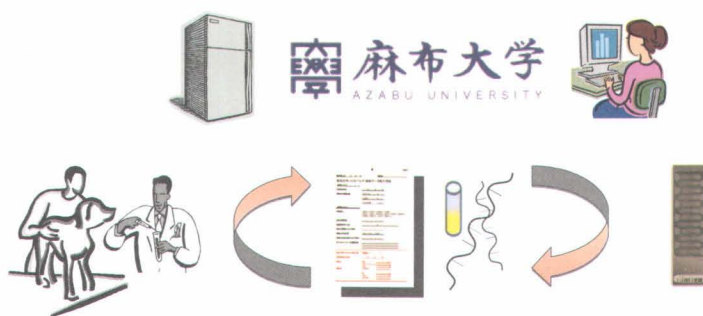


表1 淡路島モンキーセンターにおけるニホンザルのスギ花粉症発症率

No. of monkeys	CJ pollinosis	
	Symptom (+)	Symptom(-)
272	21 (8 %)	251(92%)

症状のある21頭はすべてスギ花粉特異IgE抗体陽性

<第110回研究会（平成23年6月17日）>

テーマ：実験動物に関する国際規約の改定と大震災の経験

第1部 実験動物に関する国際規約の改定

1. CIOMSの原則

笠井 憲雪（東北大院・医・附属動物実験施設）

2. ILAR「実験動物のケアと使用に関する指針」改訂版（第8版）について

久原 孝俊（順天堂大院・医・アトピー疾患研究センター）

3. OIEの実験動物福祉綱領

黒澤 努（大阪大・医・附属動物実験施設）

第2部 大震災の経験

1. 阪神淡路大震災の経験 ―被災状況、復興過程、防災対策―

塩見 雅志（神戸大院・医・附属動物実験施設）

2. 3.11東日本大震災の経験 ―震災後の対応と被災状況

笠井 憲雪（東北大院・医・附属動物実験施設）

CIOMS の原則

「医学生物学領域の動物実験に関する国際原則」の改訂について “International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals”

笠井憲雪

東北大学大学院医学系研究科

国際的・学際的総意を結集した国際医学団体協議会（CIOMS）は医学生物学に関係する学会の代表者から構成される国際的な非政府組織であり、広く受け入れられる基本的な声明を提案することを目的として設置されている。

1985 年 CIOMS は「医学生物学領域の動物実験に関する国際原則」を策定した。この原則は、その後の世界各国の動物実験の適正化に大きく貢献して来た。しかし、最初の策定から、26 年経ち、世界の動物実験を巡る状況も変化して来ている。そこで CIOMS はこの原則を改正するために、改訂委員会を立ち上げ、検討を重ねて来た。去る 4 月 14 日に最終改定案を公表した。今回はこれを和訳し、その内容をお知らせしたい。

ILAR「実験動物のケアと使用に関する指針」 改訂版（第8版）について

久原 孝俊

順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター

2005年、わが国の「動物の愛護及び管理に関する法律」（以下、「動物愛護法」）が改正され、2006年6月1日から施行された。2005年に改正された「動物愛護法」には、国際的に広く普及している、動物実験における Russell と Burch の 3R（“Replacement”「代替法の利用」、”Reduction”「使用動物数の削減」、”Refinement”「苦痛の軽減」）の原則が明確に記載されている(1,2)。「動物愛護法」の改正にともない、環境省は「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」を「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（以下、「基準」）へ改正し、文部科学省、厚生労働省、農林水産省は「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」などいわゆる「基本指針」を告示した。また日本学術会議は、文部科学省および厚生労働省からの依頼に対応して、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（以下、「ガイドライン」）を作成した。動物実験を実施するにあたっては、これら関連法規を遵守しなければならない。

「基本指針」や「ガイドライン」には、動物実験を実施する各機関等において、機関等の長は、「動物愛護法」、「基準」、「基本指針」、およびその他の関連法規の規程をふまえて機関内規程を策定すること、と記載されている。日本学術会議が作成した「ガイドライン」は、各機関等が機関内規程を策定する際の雛形となるものである。現在、「動物愛護法」の改正にともない、「基本指針」や「ガイドライン」にもとづいて、わが国の多くの機関において、動物実験のための機関内規程が新たに策定され、あるいは、現在策定されつつあるところである。

動物実験計画書の作成あるいは動物実験の実施にあたっては、実験責任者あるいは実験実施者は、実験動物が被る苦痛の程度を客観的に判断し、その判断にもとづいて、苦痛軽減のための適切な措置を講じることがきわめて重要である。実験動物が被る苦痛の程度を客観的に判断することは、きわめて困難なことであるが、日本学術会議の「ガイドライン」には、SCAW*の「苦痛分類」(3)が参照例として挙げられている。SCAWの「苦痛分類」については、すでに1988年に、日本実験動物協会の「実験動物 海外技術情報」誌 No.7（1月20日号）

*Scientists Center for Animal Welfare: 動物福祉を推進するために、1979年にカナダおよび米国の科学者によって設立された機関である。SCAWは、動物実験委員会の活動を援助し、動物福祉に関する会合、教育プログラムを主催している。

に筆者が日本語訳を紹介した(4)。その後、「アニテックス」誌第2巻5号にも紹介した(5)。当時(1987年)は、ちょうど文部省国際学術局から「大学等における動物実験について」が所管の機関に通知され、各機関において動物実験指針が作成されていた時期であり、このSCAWの「苦痛分類」の日本語訳がわが国の多くの機関において活用されたことは、よろこばしいことであった(6-11)。またその後、わが国においても、黒澤らがSCAWの「苦痛分類」にもとづいた「苦痛による生命科学実験分類」を示している(12)。SCAWが作成した「苦痛分類」は、きわめて有用な資料である。しかし、大事なことは、苦痛度を分類することではない。大事なことは、われわれが実験動物に苦痛を与えていることを自覚することである。そして、自覚をしたら、どのようにしてその苦痛を軽減できるのかを真摯に考えることこそが重要なのである。それが“Refinement”(「洗練」)の謂である。われわれには、“Refinement”に対する配慮をさらに向上させる必要がある。

一方、気にかかることは、わが国において遺伝子改変動物の福祉に関する規程や文献、資料等が少ないことである。今日の遺伝子改変動物の爆発的増加とその使用を考えると、われわれは、遺伝子改変動物の福祉について考慮しないわけにはいかない。遺伝子を人為的に操作して疾患モデル動物を作製することは、きわめて困難かつ重大な倫理的問題をわれわれに投げかけている。遺伝子改変動物の福祉に関しては、きわめて注意深い考察が必要であろう。そのためには、「遺伝子改変マウス作出における洗練および削減」(13,14)が大きなヒントを与えてくれる。

さらに2008年からは、わが国においても、第三者による動物実験施設(およびその管理等)の検証や認証が始まりつつある。このような背景において、動物福祉に配慮した、さらに適正な動物実験を実施するためには、各機関における動物実験委員会の果たす役割がますます重要になってくるものと思われる。

他方、海外においても、2010年には、EU(欧州連合)の「科学的目的のために使用される動物の保護に関する指令」、世界動物保健機関(OIE)の「実験動物福祉綱領」、米国の実験動物研究協会(ILAR)の「実験動物のケアと使用に関する指針」(15,16)などが改訂され、また本年(2011年)は、国際医科学機構評議会(CIOMS)の「原則」が改訂された。これらのうち、ILARの改訂第8版「実験動物のケアと使用に関する指針」は、15年ぶりに改訂されたものである。ILARの「実験動物のケアと使用に関する指針」は、これまで世界10か国語に翻訳され、また国際実験動物愛護評価認定協会AAALAC Internationalが動物実験実施施設を国際認証する際の基本文書とされており、米国のみならず、世界中の多くの国々において、適正な動物実験の実施のためのきわめて有用な指針として活用されてきた。今後も、各機関が適正な動物実験を推進したり、または自己点検を実施したり、もしくは第三者検証・認証等を受けたりす

る際に、ILARの「実験動物のケアと使用に関する指針」は、大いに参考になる指針であろう。

ILARの「実験動物のケアと使用に関する指針」の今次改訂版における要点を以下に箇条書きにする。

- ・動物のケアと使用に関するプログラムの枠組みが記載されている。各機関は、この動物のケアと使用に関するプログラムにもとづいて、機関における諸規程を策定することができるであろう。機関内規程や機関の責務、スタッフや動物使用プログラムの管理ならびに監視、労働安全衛生、動物施設の設計と管理などについても記載されている。
- ・環境エンリッチメントは、動物の知覚神経や運動神経を刺激したり、心理学的な健康をもたらしたりすることによって、動物の安寧を増進する。環境エンリッチメントの例として、サル類のために止まり木や視覚障壁を設置したり、ネコやウサギのために高い位置に柵を設置したり、モルモットのためにシェルターを提供したり、あるいはマウスのために新奇な物や飼料探索装置を提供したり、もしくは巣材を提供したりすることなどが挙げられている。他の環境要因と同様に、環境エンリッチメントは実験結果に影響を及ぼすこともあり得るので、適切に調整しなければならない。
- ・輸送、苦痛、安楽死、獣医学的ケアなどに関する情報が増大した。飼育している動物の種や匹数にかかわらず、適切な獣医学的ケアを提供することによって、高水準の動物ケアと倫理基準を達成しなければならない。
- ・今次の改訂版において、初めて、魚類その他の水生動物に関するケアおよび使用に関する記載がなされた。このことは、とりもなおさず、これらの動物種の使用が増加していることを示している。
- ・社会性のある動物は、相性のよいペアまたは群で飼育しなければならない。科学的に正当な理由により、社会性のある動物を個別飼育する場合は、その飼育期間をできるかぎり短くしなければならない。
- ・科学的な目的のために実験動物を使用する場合は、ひきつづき、3つのR、すなわち、“Replacement”「代替法の利用」、**“Reduction”**「使用動物数の削減」、**“Refinement”**「苦痛の軽減」が「実験動物のケアと使用に関する指針」の基盤となっている。動物実験の計画および実施にあたっては、研究者は3つのRに配慮して、人道的な動物実験をおこなわなければならない。

- ・ 今次の改訂版において、動物のバイオセキュリティの項目が初めて記載された。「動物のバイオセキュリティ」とは、動物に疾病をひき起こしたり、あるいは実験結果に影響を及ぼすおそれのある感染を封じ込めたり、防御したり、または撲滅するためのすべての措置を意味する。動物のバイオセキュリティプログラムを成功させるためには、健康な動物のみを動物施設に搬入すること、飼料に感染性微生物が付着しないようにすること、そして、万一感染性微生物が侵入してしまった場合は、交差汚染を防ぐことが重要である。さらに、飼育中の動物の微生物学的モニタリングも必要である。
- ・ 旧版（第 7 版）でも強調されていた目標達成（結果指向）型のアプローチが再確認されている。目標達成（結果指向）型のアプローチにおいては、目標とする結果が記載されている。その目標を達成するためには、実験動物のケアと使用にかかわるスタッフの柔軟な対応が求められている。

研究会当日に示したスライドの中から、重要なものをいくつか以下に掲載する。



図 1. 新旧「ガイド」表紙

ガイドの比較

ガイド7版

序文
第1章 機関の規範と責務
第2章 動物の環境、住居、
および管理
第3章 獣医療
第4章 施設
付録 A～D

ガイド8版

第1章 重要な概念
第2章 動物のケアと使用に
関するプログラム
第3章 環境、住居、および
管理
第4章 獣医学的ケア
第5章 施設
付録 A～D

図 2. 新旧「ガイド」目次

最小飼育スペース推奨値 recommended minimum space

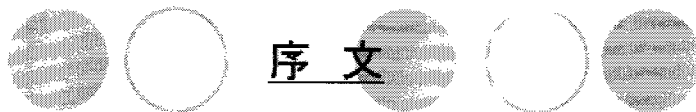
“Overview” p. xviii

The use of the word “minimum” does not further restrict users of the *Guide* because, although the space requirements are numbers (i.e., engineering standards), they are used in a performance standards framework.

「概説」

「最小」という用語は、「ガイド」の読者に制限を課すものではない。なぜなら、最小飼育スペース推奨値は数字で記載されているものの、その数字は、数値基準としてではなく、成果達成型（結果指向型）基準の枠組みにおいて使われているからである。

図 3. 目標達成（結果指向）型アプローチの重要性



— the following two topics merit further study:

- (1) space and housing needs of laboratory species and
- (2) the need and best methods for providing enrichment, exercise, and human contact. — Janet C. Garber

…以下の2つのトピックスについては、さらなる研究が必要である:

- (1) 実験動物種による飼育スペースおよび住居の要件
- (2) エンリッチメント、運動、および人間との接触の必要性
および最善の方法

図 4. 飼育スペースならびにエンリッチメント、運動、および人間との接触の必要性についてはさらなる研究が必要



- 近くの機関と協力
 - 携帯電話が使えない
 - 資材やスタッフを共有

協力とコミュニケーション！

Bradford Goodwin

図 5. 災害時または緊急時には協力とコミュニケーションが大事

文 献

- (1) W. M. S. Russell and R. L. Burch: "The principles of humane experimental technique". Methuen, London. 1959.
- (2) 久原孝俊: アニテックス. 23: 23-33, 2011.
- (3) Anonymous: Consensus recommendations on effective institutional animal care and use committees. Laboratory Animal Science. Special Issue, 11-13, 1987.
- (4) 久原孝俊: 実験動物海外技術情報. No. 7 (1月20日号): 14-17, 1988.
- (5) 久原孝俊: アニテックス. 2: 232-247, 1990.
- (6) 久原孝俊: アニテックス. 4: 154-167, 1992.
- (7) 久原孝俊: LABIO 21. 29: 35-38, 2007.
- (8) 国立大学法人動物実験施設協議会: 動物実験処置の苦痛分類に関する解説. 2004.
- (9) 久原孝俊: 実験動物と環境. 16(2): 127-133, 2008.
- (10) 久原孝俊: 実験動物技術. 43: 109-114, 2008.
- (11) T. Kuhara: Alternatives to Animal Testing and Experimentation 14, 721-722, 2008.
- (12) 黒澤 努, 大谷若菜: Alternatives to Animal Testing and Experimentation 8, 113-121, 2002.
- (13) V. Robinson, M. Jennings: "Refinement and reduction in production of genetically modified mice". Laboratory Animals. 37, Supplement 1, 2003 whole volume.
- (14) 久原孝俊, 久原美智子: "遺伝子改変マウス作出における洗練 (refinement) および削減 (reduction)". アドスリー. 2006.
- (15) National Research Council: "Guide for the care and use of laboratory animals". 2011.
- (16) 日本実験動物学会: "実験動物の管理と使用に関する指針". アドスリー. 2011.

OIEの実験動物福祉綱領

黒澤 努

大阪大学医学部実験動物医学教室

はじめに

動物福祉の概念は国際的に定着しつつあり、具体的にどのようなことをすることが動物福祉向上につながるかが明確となってきた。特に欧州を中心とする先進国ないし都会化した国家では、家庭動物に対する考え方だけでなく家畜などヒトが利用する動物全般に関して動物福祉が重要であるとされるようになった。さらには野生動物に関してもその福祉の重要性が認識されるにいたっている。すなわち動物福祉の考え方はあらゆる動物に対して拡大してきたと言って良い。これは現行の我が国の動物愛護法の基本的考え方とは若干異なっている。すなわち動物愛護法はヒトが利用する動物に関する法律とされていて、その動物もヒトの使用形態により、家庭動物、産業動物、実験動物および展示動物として区分し、さらに家庭動物と展示動物は終生飼育として実験動物、畜産動物とは異なる扱いをすることとなっている。さらに野生動物は鳥獣保護法という別の法律により保護されるものとされている。

実験動物の福祉を考えると欧州では全ての動物を対象に福祉が考えられるようになっている点に注目すべきである。とくに家畜は日本を含む多くのアジアの国々ではやがて食料となったり、経済的な価値がなくなれば処分することとなる動物に対しての福祉の概念は一般的ではなかった。したがって、実験動物に対しても一般市民の多くは特殊な動物であるとの認識から、さほどの関心はもたなかった。

ただし、動物実験に関しては欧米の知識、情報が容易に導入されるようになると、まずアジアの先進国で議論されるようになった。とりわけ、高度に工業化した国々では工業化による環境汚染、社会的ひずみなどの反省から、科学推進にすら疑問の声を上げる市民が出現し、その多くの市民が科学の方法の一つである動物実験に目を向け始めた。とくに欧米の少し古い情報を得た我が国の市民の中には根源的に動物実験に反対する者も出現するにいたった。いまや我が国の一般市民はその熱心さ、その率、および過激さには違いはあるとしてもほとんど欧米化したものと考えなければならない。実際多くの動物実験反対運動家は国内情報だけでなく欧米の情報を大量に得て、活動の元としている。また通常の市民の中にも動物実験反対運動が動物愛護運動だと喧伝されたことによりそれを支持する者が多いことも欧米化の一部と考えられる。

動物実験は科学のために実験手法のひとつであるから、科学の進展を望む多くの市民は動物実験を支持するものと科学者は考えがちである。また欧米でも科学は国家戦略としてその推進が図られたことから、動物実験は国家の活動目的の一部と考えられるようになってきた。これに対して1900年代半ばから、国家戦略に対する反論が一般市民から出始め、い

わゆる市民運動として活発化してきた。その結果多くの欧米諸国では投票権を持つこうした一般市民の意見を受け入れざるを得ず、市民運動を受け入れるだけでなく、その擁護に乗り出してきた。すなわち欧米では当初、国家戦略の一部であった動物実験はそれを批判する市民運動の監視下におかれるようになり、やがて、各国政府が市民運動を擁護するようになると、政府自体が市民と協力して、動物実験を監視する仕組みを構築するようになった。すなわち、動物実験は市民と政府の監視下で行なわれるという仕組みが欧米では完成した。当然欧米でも科学者は厳しい動物実験規制は科学の進展を妨げると主張してきているが、多くの科学者の中にも欧米的動物福祉の重要性に気づく者が多かったことから、科学者自らが、実験動物福祉について提案することも多くなった。したがって、欧米各国政府は市民の意見を入れながら、科学界との調和に乗り出し、次々と動物実験規制法を実験動物福祉の担保ないし実験動物保護の目的で制定していったのである。こうした歴史は我が国のこしばらくの様子とは全くことなり、一般市民がもとめる動物福祉と科学を含む産業振興を比較し、後者を優先する政策をとってきたと言わざるを得ない。また動物実験を必要とする科学者も動物実験の規制、すなわち自身の研究活動が制限されることを嫌い、一貫して動物実験規制強化に反対し続けている。欧米で出たような科学者が政府の政策作成に協力して、適切な実験動物福祉のあり方を積極的に提案することは少なかった。その活動はわずかにはあったが、その多くは動物実験の法的規制を如何にして免れるかに重点をおいたものであり、社会科学、国際的な動きなどを総合して、大所高所からの提案がなされることは極めて少なかった。

とくに現在動物実験に関する規範とされる3Rsのような新しい概念を提唱する科学者は我が国には日本動物実験代替法学会を除き、出現しなかった。この点においても動物実験に関しては我が国は欧米とは異なった経緯をたどってきたといえる。しかし、科学は極めて国際的なものであり、とくに真実を極めるための基本的な実験データの収集法に各国独自の方法などが許されるものではない。当然、動物実験も科学のための一手法であるから、我が国独自の方法などが許容されることはあり得ない。しかし、我が国の動物実験を必要とする科学者の主流は相も変わらず我が国の動物実験のあり方が欧米とは違っても差し支えないとの主張を変えていない。

ところが最近欧米の動物実験に関する動きに大きな変化が訪れたように感ぜられる。それまでは動物実験は国家戦略の一部でもあったことから各国独自の法規制や指針の制定により律してきていたが、徐々にその国際化が始まった。とくに、2010年は実験動物に関する国際的規約に関して画期的な年となった。まず5月にOIE（世界動物保健機関：旧国際獣疫事務局）の実験動物福祉綱領が制定された。これは本格的な実験動物福祉に関する世界で最初の系統だった国際標準文書である。これ以前にも1985年に提案されたCIOMSの指針は存在したが、あくまでもこれは動物実験に関わる科学者の国際団体が提案したもので、必ずしも政治的に大きな力を持つものではない。また動物実験を必要とする個別の分野では

いくつかの国際標準文書策定がなされていた。例えば ISO10993 は医療機器の生物学的安全性に関する国際標準であるが、その中に ISO10993-Part2 があり、その国際標準は実験動物保護の目的に制定された Animal Welfare Requirement である。ただし、この国際標準は医療機器分野についてのものであり、広く科学界、医薬品、化学品の試験、研究などに関しては効力をもつものではなかった。逆に医薬品の安全性試験に関する国際的枠組みである ICH では当初はその方法に関する技術的な国際整合性を見いだすために構築された組織で、実験動物福祉に関する取り決めは行っていなかった。しかし、国際的に実験動物福祉が社会の注目を集めるようになり、個別に追加的に実験動物福祉に関して文書を策定するようになってきた。また、我が国では動物愛護法の対象とはなっていない野生動物に関しても福祉の概念が専門家の間で構築された。

この概念の多くは野生動物保護の考え方の発展形と考えられ、環境保護の一部をなしているように見受けられる。本来福祉はヒトが利用する動物に関するものとの考え方があったが、すでに野生動物福祉の考え方は国際的に論ぜられるようになりはじめている。いずれにせよ、動物福祉の対象は広く動物一般に拡大してきていて、どの動物に関しても例外はなくなっているように見受けられる。

ついで 9 月には EU の実験動物保護法が発効し、2013 年までには加盟各国は法制を整備することが義務づけられた。この法律制定は欧州の一般市民を巻き込んだ大きな議論を巻き起こし、産業界、科学界との調整が難航し、長年かけて制定されたものである。その元は 1986 年に制定された、実験動物保護法であるが、この旧法では各国政府に法の制定を義務づけなかったことから、実効性がないとして改訂されたものである。改訂法では参加国の法律制定を義務づけている。実務的には霊長類の実験使用の是非が話題となり、その国際的な影響も大きいものと考えられる。結果として類人猿はその使用がなければ人類の存亡に関わるような場合にだけ使用できるとして、実質的には実験使用は禁止された。また、通常の霊長類の実験使用も極めて厳格に規制された。しかし、EU の実験動物保護法のインパクトはなんといっても法律文書の詳細性である。2 段組の文章にして実に 47 ページにわたるものである。前提だけで 56 項目に亘って記述されていて、本文は全 6 章、66 条からなっている。また付属文書が 8 文書あり、その中には付属文書 3 の動物の飼育室とケアに関する研究機関への要求事項、20 ページ、付属文書 4 の安楽死の方法 2 ページ、など詳細な規程が記載されている。我が国の動物実験の詳細指針と言われる日本学術会議の指針が英文で 18 ページであることと比較すると、如何に法律の規定が詳細であるかが理解できよう。さらに 2011 年には米国 ILAR の指針の第 8 版の出版がなされた。この指針は第 7 版が世界 11 ヶ国語に翻訳されており、実験動物ケアの国際的な標準文書となっている。我が国でも鍵山先生がつぎつぎと改訂毎に翻訳されていることから広く普及している。また我が国には実験動物の飼育スペースに関する基準数値が日本実験動物環境研究会が提唱するもの以外ないことから、多くの教科書で ILAR の指針の飼育スペースが引用されており、この飼育スペースは我が国では広く知られている。残念ながらこの飼育スペースの数値は、本書が

法的なものではないとの理由もあり、ほとんど使われていない。ただ AAALAC International は ILAR の指針を標準文書に指定していることから、研究機関が所属する国に別途の法律等がない場合にはこの文書に従うよう要請していて、AAALAC 認証機関ではこの飼育スペースを基準としていて徐々に普及はしている。

ILAR の指針は実験動物福祉の実現のために定めたとされているが、今回の改定では国際性を意識し、編纂委員および校閲委員に多くの外国人を登用している。旧版との違いはそのページ数の増量とりわけ獣医学的ケアの章が格段に充実した点である。また水生動物の記述が新たになされたことも注目点である。さらに用語の定義を厳格にし、must、should 等はどのような意味で、どのように区別して使われたかについても解説されている。要するに must は指針のとおりになければならないことを意味し、should は他に科学的な根拠等があれば、必ずしも指針通りでなくとも良いとのことである。日本実験動物学会はこの翻訳権を獲得し、監訳発行している。邦訳を読むと他の我が国の指針との違いがあきらかとなる。例えば日本学術会議の詳細指針はあくまでも動物実験を適切に行うための指針であるが、ILAR の指針の目標は実験動物の人道的ケアと使用を促すこととされている点で異なる。さらに ILAR の指針は 3Rs の考え方を全面的に押し出している。さらに米国内では動物実験は法的な規制がしっかりできてはいるが、それは研究機関の自主管理とあいまって機能するとして、この指針は自主管理のために必要な項目について記載しているとしている。北米では動物実験の規制は自主管理で行っていると主張する者がいるが、ILAR の指針では明確に法律的規制と自主管理の双方がうまくかみ合うことが重要だとしている点に注目したい。

さらに 1985 年に発効し、国際的に実験動物法制の成立に著しい影響を与えた、CIOMS の指針が ICLAS により改訂作業が行われている。この CIOMS は科学者団体の国際的連合であり、政治的な団体ではないが、欧米各国政府はこれを科学者からの情報発信として尊重し、各国の動物実験規制法の元として、法律改訂を行っている。この CIOMS の指針が現在の実験動物福祉の考え方の高まりにより、改訂されることから、改訂時の世界各国の動物実験規制法への影響は極めて大きいことが予想される。しかし、この改訂が行われる過程で、上記の国際的な実験動物福祉に関する文書案は公開されていたことから、ほぼその全てを織り込み済みとなっている。したがって、そのインパクトはこの時期に動物実験規制法などを改定していない、我が国を含む国々に対しては大きいものの、欧米各国にはそれほど大きなインパクトのあるものとはならないかもしれない。実際内容を精査しても、前述の文書類の記載を大きく逸脱するような内容は案には全く含まれていない。ICLAS 内の原案は 2011 年にできあがり、CIOMS からは 2012 年には改訂版が発刊されることとなっている。

OIE とは

OIE は the Office International des Epizooties と称して 1924 年に設立されたパリに本部を置く国際機関である。主に畜産動物の国際的な移動にともなう伝染病の対策などに貢献して来た。2003 年に the World Organisation for Animal health と改称したが、OIE の略称はそのまま踏襲してきている。関連国際機関には WHO、FAO、WVA などがあるが、特筆すべきは WTO（世界貿易機関）の動物及び畜産品に関する協定の基準文書を策定することとなっている点である。すなわち OIE 自体は国際的な制裁制度をもっていないが、WTO を通じて OIE の規程ないし国際標準からの逸脱は制裁され得る点である。現在 178 ヶ国が加盟しているがこれは ISO 加盟国が 133 ヶ国と比較するとその国際的規模が理解しやすい。逆に我が国はこれまで工業立国を目指してきたことから ISO は極めて知名度が高く実業においても国際標準の遵守とは ISO の国際標準文書に従うことという常識がすでに存在していた一方、動物関連の国際標準を OIE が策定していたことは多くの国民が知らない。

OIE の名前が我が国でも広く広まったのは BSE の発生が明らかとなった時期である。BSE の清浄国の定義をいち早く OIE が制定し、それにしたがって、ウシおよび牛肉の輸出入に OIE が関係した時期である。とくに米国に BSE の発生が見られた際には OIE の国際標準を厳格に適用し、米国の牛肉輸入制限を行ったことから一般市民も OIE の名称を知ることとなった。この 2003 年に始まった米国の牛肉輸入制限で被った米国の経済的損失は年間 3 0 0 0 億円にのぼるとされている。この制限は今も実行されていることからその総額は相当な規模となってしまっている。

近年になり伝染性疾病の発生により、アジア地区にも影響力を高めてきた。我が国でトリインフルエンザが発生した際にはその鎮圧に相当厳しい体制で臨んだ。数十万羽のニワトリを極めて短時間に素人を動員してまで処分せざるを得なかったが、これは OIE の国際標準にしたがった処置である。また最近発生した宮崎県の口蹄疫の流行では OIE の清浄国としての認定を得るため、大胆な方策を適用した。30 万頭に及ぶ偶蹄獣を、ことごとく処分したのである。とくにワクチンの使用については政府の判断が定まらず混乱したが、結論として、折角ワクチン接種した動物もことごとく処分せざるを得なかった。これまで我が国を OIE の規程による口蹄疫清浄国するために行った決定である。牛肉の輸出入では我が国の畜産家保護のために、OIE の協定をたびたび持ち出して、各国からの安価な牛肉の輸入を防止してきた経緯がある。しかし、ひとたびインフルエンザ汚染国および口蹄疫汚染国と OIE に認定されてしまうと、これまで OIE の規程だとして、汚染国からの輸入を厳しく制限してきた立場の根拠を失い、輸入制限撤廃を行わなければならなかったからである。宮崎の口蹄疫の被害額は 3 0 0 0 億円にのぼるとされる。またニワトリインフルエンザ発生による処分ニワトリへの補償には相当な税金を使ったとされている。いずれにせよ、我が国は OIE の文書に経済的な意味で従わねばならない立場にある。

OIE の動物福祉

OIE は 2004 年の総会において動物福祉の原則に関する国際標準を定めた。これはそれまでも存在した Terrestrial Animal Health Code（陸生動物保健綱領）に動物福祉の条項を追加したものである。これは安全、安心な畜産物は健康な動物から得られるとの原則にたち、畜産動物も福祉に配慮してストレスの少ない飼育方法が必要だとしたものである。この中には欧州ですでに良く知られた 5 つの自由の原則が規程された。すなわち 1，飢え、乾き、栄養不良からの自由、2，恐怖と絶望からの自由、3，肉体的なそして温度上の不快感からの自由、4，痛み、傷害、病気からの自由、5，正常な行動を示す自由である。これらは当初畜産動物に適用されるものとされていた。このインパクトは我が国の畜産界には極めて大きいものとなっている。これまで我が国では畜産動物に関しては一般市民の福祉に関する関心が薄く、ほとんど顧みられることはなかった。担当省である農水省はこの動きを知っていたようではあるが、あまりにも我が国の常識とはかけ離れた考え方であり、国際標準として成立することはないと観測していたのではないと思われる。実際、主要な策定委員会には我が国の専門家ははいっていない。多くの国際組織の委員会等はオブザーバの出席は認められることが多く、畜産動物の福祉に関する委員会もそのインパクトの大きさが予測できていたら、日本の専門家を委員会に送り込んでいたのではないかと想像する。しかし、そうしたことはなくすでに綱領は総会にて正式に求められている。我が国ができる残りの活動は実際にその国際標準にしたがった体制をいつまでに策定すれば良いかくらいしかないのではないと思われる。現行、この国際標準と我が国の現実的な乖離は、ニワトリのバッテリーケージから床飼いへの転換、ウシのスタンション使用の禁止、母豚の飼育スペースの拡大などであるとされている。

これら OIE の国際標準では加盟各国政府がその遵守のための法整備を求めている点である。農水省はこのため関係団体と協議を始めているが、経済動物の扱いであるため、その対策費は直接物価に反映されることと、そもそも畜産動物福祉という考え方がなかったところに突然、新しい概念が導入されたこととなることから、難渋を極めている。

OIE の実験動物福祉

2008 年になり OIE は実験動物福祉に関しても国際標準を制定することとなり新たなワーキンググループに専門家が招集された。OIE は伝統的に世界を 5 地域に分けその各地域の専門家と国際的な組織から代表委員を招集している。今回はアフリカ、南米、北米、欧州、アジアの 5 地域と ICLAS、IACLAM から委員が招集された。

表1 OIE 実験動物福祉綱領 WG メンバー

Dr David Bayvel (Chair) NZ

Dr Tsutomu Miki Kurosawa, Asia

Prof. Souilem Ouajdi, Africa

Dr Kathryn Bayne, North America

Dr Christophe Joubert, Europe

Dr Ekaterina Rivera, South America

Dr Gilles Demers, ICLAS

Dr Judy Mac Arthur Clark, IACLAM

委員長は親委員会である動物福祉 WG の Bayvel 先生である。とうぜん、実験動物福祉綱領は既に制定されていた動物福祉綱領を参考に策定することとなった。委員のほとんどが国際的な実験動物福祉関連文書の策定に関与した方ばかりで、関連国際文書の内容を良く理解していた。したがって新たな国際標準文書の策定とはいっても、大枠のところでの議論には多少時間がかかったものの、年に2回、各3日間の会議を続け、3回目にはほぼ原案ができあがっていた。ただ国際文書であるから、その加盟国への周知には極めて長い時間がかかった。我々の策定した原案は直ちに加盟国に配布され、我が国でも農林水産省のホームページにてパブリックコメントを求める通知がなされた。実際その後のWGの会議には我が国からのコメントもなされていたが、とくに重大な異議は唱えられておらず、日本人である私としては安堵して審議を続けた。各国の意見を汲んでどのように改訂するか議論が続いたが、これらもスムーズに進み、WGの原案作りが終了した。この過程でWGではもっぱら技術的な文書を作ることに集中していたが、やがてOIE部内の文書を校正する委員会に回って文言が改訂され戻ってきたものには、この文書に基づいて加盟各国は法整備を行う規程が追加されていた。WG内でもこの文書はどのような意義を持つものかとの意見がでたので、OIE代表との意見交換時にこの点をたざしたところ、文書は国際標準であって指針ではないと説明された。また国際標準と指針との違いは国際標準では遵守されないときには提訴されることもあるが指針ではそれはないと説明があった。実際のこの文書のfollowupの委員会が開催された際に同時に行われていた新たな委員会では、OIEの国際標準文書の遵守徹底のための方法の策定が議論されていた。したがって、OIEの実験動物福祉綱領に従えば我が国には新たな法を制定する必要性が生まれることになる。またそうしなかった場合の方策もすでに構築中であるということとなる。

ここで心配は国際文書における recommend という用語である。農水省のパブコメ時に使われた仮訳ではすべて推奨と訳されていた。しかし、国際文書における recommend は勧告と翻訳されるべきものであり、この二つには大きな違いがある。また should の訳もなににな

すべきであると翻訳されているが、これは国際文書ではなにになにしなければならないと翻訳すべきものである。すべきであるといわれるとしなくてもさしたる事はないように解釈されがちだが、しなければならないということとなると、その遵守は必須のものとのニュアンスが伝わる。こうした国際文書の解釈についても専門家は原文にあたり良く検討しておく必要がある。

なお OIE の実験動物福祉綱領は OIE のホームページ上で公開されていて、

http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_1.7.8.htm

で全文参照できる。その内容は全 9 条からなっていて、3Rs と獣医師の役割が強調された内容となっている。

表 2 OIE 実験動物福祉綱領の骨子

- 研究における動物の使用に関する加盟国の法的規制を作るための国際標準
- 3Rs（動物実験代替法）の重要性
- 各国は動物実験を監視する（法的）システムを作らねばならない
- 法制では公的に行うことと民間が行うことを明確に規定しなければならない
- OIE は動物実験における獣医師の中心的役割を認定する
- 記録を残し、情報を開示する

いずれにせよ OIE の実験動物福祉綱領ではなにかの数値基準をあきらかにしているものではない。多くの内容はソフトウェア重視である。したがってこの遵守は、各研究機関に実験動物医学の専門家が存在すればさほど困難なことではないように感ぜられる。ただ我が国では実験動物の専門家を擁せずに動物実験を行っている研究機関もあり、こうした機関ではどのようにすることが遵守することとなるのかの判断すらできなく、困惑するところもあるかもしれない。ただ建前としてはすでに我が国の種々の指針等において動物実験委員会の中にそうした専門家がすでにいることとなっているのであるから、現在そうした専門家がいらない研究機関はないものと信じたい。

おわりに

実験動物産業は、われわれにとってこそ重要な産業ではあるが、全国的にみれば、経済規模的に極めてマイナーな分野であることを認めざるを得ない。すなわち、他の畜産業保護という経済的な波及の大きい問題の前には、実験動物産業が多少の不利益となることがあっても、それを優先することはあり得ない。したがって我が国政府が畜産業を保護するために、実験動物福祉綱領を全面的に受け入れる可能性は極めて高い。しかし、新たにできた実験動物福祉綱領に抵触したからと言って、直ちになにか不利益が起こるとは思われな

いが、どこかの国が自国に不利益を感じたときに、この綱領に我が国は抵触していると言
い出されると、実験動物界は大混乱に陥る事が予想される。とくに法の整備がもとめられ
ていて、さらにそうした規程を履行しない場合の方法が相談されるとなると、OIE からや
がてその点を指摘され、短時間で法整備を行うこととなる可能性もある。長時間かかった
としても動物実験を行う現場にそぐわない法律も多々できていることから、短時間で法整備
されると、現場の都合はほとんど聞き入れられないものができる可能性も否定できない。
とするならばわれわれは OIE の実験動物福祉綱領に記載された条項に従い、今のうちから
適切な法整備を行うことを政府に提言し、やがての混乱防止を図るべきである。また我が
国でそうした法整備がなされずとも率先して実験動物福祉の国際標準を良く理解し、実践
することが重要であろう。

参考文献

Terrestrial Animal Health Code

<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/>

日本野生動物医学会

野生動物医学研究における動物福祉に関する指針（日本語版）

<http://jjzwm.com/blog/sishin/>

欧州実験動物保護法

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:EN:PDF>

ILAR の指針

日本実験動物学会監訳

<http://www.adthree.com/publish/2011/05/care-and-use-of-laboratory-animals.html>

ILAR「実験動物のケアと使用に関する指針」改訂版（第8版）について

—とくに第7版との比較検討—

久原 孝俊

順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター

第 110 回関西実験動物研究会 第 1 部 実験動物に関する国際規約の改定

http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/kansai/kansai_web_new/PDF%20files/Others/110_Kuhara.pdf

阪神淡路大震災の経験－被災状況、復興過程、防災対策－

塩見 雅志

神戸大学 医学研究科 附属動物実験施設、循環器内科学分野疾患モデル動物開発部門

要約

神戸大学医学研究科附属動物実験施設は、1995年1月17日（火）に発生した直下型の兵庫県南部地震（阪神淡路大震災、マグニチュード7.3、震度7）に被災した。当時の対応およびその後の対策について紹介する。

1. 動物実験施設の被害状況：施設外壁の貫通したヒビ、床の防水破綻、飼育ラックの損壊・転倒、給水・排水配管の断裂が生じ、ケージの落下による飼育室内への逃亡などにより、マウスは31%、ラットは12%が被害を受けた。ライフラインは停止し（電気5時間、ガス35日間、水道22日間）、ボイラーが復旧（35日後）するまで空調設備は換気のみとなり、ケージ洗浄装置や大型高圧蒸気滅菌装置は使用不能となった。

2. 飼育設備等の被害状況：大型で重い飼育設備の損壊が激しかった一方、軽量の飼育設備の損傷は軽微であり、飼育室と一体のビルトイン飼育設備の損傷は皆無であった。配管直結型の自動給水では、配管の断裂、飼育設備の移動・転倒により、給水が困難となった。自家発電装置については、水冷式であったため、給水配管の断裂により高架水槽が空になった時点で停止した（地震発生2時間後）。

3. 震災発生時の対応：地震発生当日、施設全体のダメージを確認し、施設内の会議室および教員室を整理して対策本部を設置し、飼育室内逃亡動物を収容した。地震発生2日目に職員の安否確認を終了し、大学事務部と連絡を取り、飲用水を学内貯水槽から確保し、飼育設備・飼育室の清掃用に農学部附属農場から井戸水の提供を受けた。マウス・ラットの飼育は、樹脂ケージを用い、滅菌済み床敷きを多量に投入し、週1回汚物処理のみ実施し、ケージの交換を中止した。室内が外気温まで低下したため、繁殖している飼育室内にファンヒーターを配置し、保育中の動物の保温に努めた。エレベータの運転再開（地震発生3日後）後、大型ジャッキを使用して大型飼育装置の位置調整を行った。地震発生23日後に運営委員会を開催し、被害状況・飼育管理状況の報告と今後の対応方針について説明した。滋賀医科大学・京都大学等からの救援隊の支援により、地震発生1ヵ月後に施設は通常管理に復帰した。

4. 震災後の地震対策：ハード面では、マウス・ラット類を給水ビンと樹脂ケージで飼育し、ケージを可動式の小型の飼育ラックに収容し、飼育ラックにはケージ落下防止バーを設置し、飼育室の壁に連結した。ウサギ飼育設備は12ケージ搭載できる小型の飼育ラックに更新し、ラック同士をエルバーで連結し、給

水用タンクを設置した。ソフト面では、災害時の対応マニュアル（職員用、施設利用者用、勤務時間体用、職員不在時用）を作成し、全職員に周知した。（当施設のホームページに掲示）

5. まとめ：備えあれば憂いなし。地震対策、災害時の初期対応、飼育管理体制の立て直しについてマニュアルを定め、耐震設備を導入することが重要と考える。神戸大の被災例が災害対策・対応・手順書作成の一助となれば幸いである。

はじめに

2011 年になってから、宮崎県で新燃岳の噴火、東北地方太平洋沖での巨大地震および大津波の発生、その後も各地で有感地震が連続しており、日本列島が活動期に入ったとも言われている。神戸大学は 1995 年 1 月 17 日に発生した兵庫県南部地震（阪神・淡路大震災）に被災した。兵庫県南部地震は直下型の巨大地震であり、今年 3 月に発生した東日本大震災とは異なるが、阪神・淡路大震災による災害の状況、被災時の対応、震災後考案した耐震飼育設備、災害対策マニュアルと緊急時連絡網を紹介する。

日本国内には活断層が縦横に存在しており、いずれの地域も大地震に被災する危険性を否定できない。不幸にも巨大地震に被災した場合に、動物実験施設の管理者は、人的被害のみならず、実験動物の逸走防止と実験動物が受ける被害を最小限に抑え、動物福祉に配慮しつつ、速やかな復旧に努めることが求められる。さらに、災害発生時における実験動物に対する適切な対応は、実験データの信頼性や特殊系統動物の系統維持に重要であり、飼育動物の適切な飼育管理と淘汰のバランスを考える必要がある。そのためには、地震災害に対応した設備の導入と災害対応マニュアル及び災害時の連絡網を整備しておくことが、必要不可欠であると考ええる。

阪神淡路大震災の概要

表 1 に阪神淡路大震災の概要を示す。1995 年 1 月 17 日火曜日の午前 5 時 46 分に、淡路島北部を震源とするマグニチュード 7.3 の地震が発生し、確認されていなかった活断層が連動して神戸、阪神地区に直下型の大地震が発生した。特に海岸を埋め立てた地域の揺れが激しく、最大深度は 7 に達し、南北の揺れの速度は 8.39cm/sec、東西の揺れの速度は 74.4cm/sec と推定されている。阪神高速道路高架の横転やビルの倒壊等が多発した。神戸の市街地は瀬戸内海（大阪湾）と六甲山に挟まれているが、六甲山では数トンと思われる岩石が地下から地表に隆起したことが報道されていた。すなわち、大型の飼育設備等を床や壁に固定していても、直下型の巨大地震の場合にはその耐震効果が期待ないことを示唆している。

ライフラインが復旧するまでの期間を表 2 に示す。電気の復旧は神戸市街地が地震発生 6 日後、電話が 14 日後、水道が 42 日後、ガスが 87 日後、主要な鉄道が 74 日後であった。これらの復旧までの期間は地震の規模がはるかに大

きい東日本大震災における仙台市街地に比較すると顕著に遅れていることが分かる。すなわち、震源地あるいは動いた活断層からの距離によって、ライフラインに及ぼす地震の影響が異なると考えられる。神戸市街地の復旧に要した期間に比較して、当施設の復旧までの期間は短い。特に、電気と電話は地震当日に復旧し、水道の復旧は地震発生後 22 日であった。医学部が設置されている大学では、医療機関を優先して復旧が進められることから、市街地に優先して復旧工事が進められる。電気が約 5 時間で復旧したことは、地震発生後の空調対策を考える上で、考慮すべき判断材料の一つであろう。一方、水道の復旧に 22 日、ガスの復旧に 35 日要したことは、空調の方式や飼育器材の洗浄・滅菌に極めて大きな影響があることを示している。なお、電話については、郊外の公衆電話は比較的繋がりやすかった。災害発生時には携帯電話や被災地の固定電話でなく、周辺地域の公衆電話を活用することが有効である。

動物実験施設の被害状況

職員およびその家族は全員無事であったが、家屋の全半壊により避難所に避難した職員が 2 人であった。施設建屋の被害状況を表 3 に示す。飼育室等の壁及び床に外部と貫通した大きな亀裂が生じ、水道管の断裂により高架水槽の水が短時間で流出した。当施設には水冷式の自家発電装置が設置されており、地震発生時の停電により作動したが、高架水槽の水の流出により、短時間で停止した。地震発生後短時間で電気が復旧したことから、病院が併設されている研究機関の動物実験施設では、自家発電装置の設置について水道の復旧までの期間と合わせて慎重に検討する必要がある。また、空調クーリングタワーなどにも損壊が生じた。

飼育設備の損傷を表 4 に示す。飼育設備では、大型の自走式自動飼育装置の被害が著しく、軽量の飼育棚の被害は軽微であり、ビルトインのイヌ術後回復室にはまったく被害はなかった。すべての自走式大型飼育装置は床から浮き上がり、50 cm - 1 m の幅で数回移動した跡が残されており、歪が生じ、自動水洗機能が損なわれた。また、給水配管が断裂し、自動給水機能も損なわれた。実験動物に対する影響では、飼育室の扉はすべて閉じていたことから、飼育室外への動物の逃亡はなかったと考えられた。しかし、ケージの落下や自動飼育装置の転倒により、一部のマウスやラットが飼育室内に逃亡した。

動物実験施設における震災発生後の対応状況

1) 地震発生当日（火曜日）

職員（外注職員を含む）14 人中 8 人が出勤し、被害状況を確認し、会議室、事務室、倉庫、教員室を整理し、会議室に対策本部を設置した。飼育室内に逃亡していた一部のマウス等をケージに収容し、飼育室の清掃、給餌、給水瓶に

よる給水を実施した。職員は自宅の整理のため約2時間で帰宅とした。

2) 地震発生翌日（水曜日）

対策本部（会議室）に出勤できた全職員を集め、被害状況と復旧方針を伝えた。具体的には、復旧作業は二人一組で行うこと、問題点は全員集合して協議して意思の統一を図ること、担当した作業が終了するたびに対策本部に戻り、独自の判断で他の復旧作業を行わないこと、1日6回全体会議を実施することなどである。当日の復旧作業、中長期の復旧計画、医学部事務局との連絡・折衝、文部省、国動協などの学外機関との連絡、記録の作成を施設専任教員が担当し、対策本部に待機した。

学部事務局に動物用飲用水および飼育室や飼育器材の清掃・洗浄用の衛生用水の確保を依頼した。飲用水として地震発生後使用していない別棟地下の貯水槽の水の使用の許可を得、18Lの給水タンク等を用いて7-9階の飼育エリアまで階段で運び上げた。自動飼育装置で飼育していたラット（約700ケージ）を床敷飼育とし、ケージ交換を中止して床敷のみの交換とし、給水瓶で給水した。自動飼育装置で飼育していたウサギ（約300匹）は給水瓶あるいは給餌器を2個セットし、給水した。当面の間、施設の復旧作業は、自宅の整理および交通機関の停止のため、毎日3時頃には終了することとした。なお、出勤できなかった職員の安否について個人的に確認するよう職員に依頼した。

3) 地震発生後2日目（木曜日）

地震で移動した一部の自動飼育装置を職員全員で元の位置に移動し、全動物への給餌・給水を再開した。地震が1月17に発生し、空調が停止したことから、系統維持をしているマウス、ラット、ウサギの繁殖・育成室に事務局から調達したセラミックファンヒーターを配置した。なお、職員全員の無事を職員同士の横の連絡によって確認できた。

4) 地震発生3日目（金曜日）

エレベータが復旧し、外注員派遣会社2人の応援要員が大型ジャッキを持参し、すべての移動した自動飼育装置を元の位置に移動した。

5) 地震発生後4日目（土曜日）

飼育室の整理が一段落し、飼育室への研究者の入室が可能となった。当時、すべての動物を維持することが困難と判断されたことから、施設利用分野に系統維持以外のマウス・ラット等小動物について飼育匹数の調整を実施するよう文書で依頼した。医学部事務局から逆性石鹼液、モップ、ホウキ等の衛生用品を入手し、施設内の衛生管理を再開した。

6) 地震発生5日目（日曜日）

職員の休養日とした。21時頃滋賀医科大学の鳥居助教授（現教授）、京都大学の芹川教授が「文部省災害派遣団」を組織し、応援に来室した。物資の搬入

および状況説明、施設内の案内、復旧作業方針の説明を行った。

7) 地震発生 6 日目 (月曜日)

農学部附属農場から衛生用水として井戸水が給水車で届き、文部省災害派遣団 9 人、施設職員 11 人で自動飼育装置に残留していた汚物を除去・水洗し、施設内の消毒を実施した。また、これまで放置していた手術室、実験室等の整理もようやく実施できた。文部省災害派遣団の応援と衛生用水の確保により、施設の復旧は加速度的に進み始めた。

公共交通手段の停止により、遠方の職員の出勤が困難（全職員の出勤は地震発生から 13 日目）なことから、地震発生から一週間の復旧作業は困難の連続であった。とくに、大型飼育装置の移動、飲用水、衛生用水の確保、大量の消毒用器材の確保が重要であった。施設の機能が正常化するのには、ボイラーの復旧（地震発生 29 日後）によって、空調、大型オートクレーブ、ケージ自動洗浄装置が復旧してからであった。地震発生 21 日後に動物実験施設運営委員会を開催し、被害状況、施設の現状と今後の対応方針（病原微生物検査の実施と動物受け入れ再開条件）について了承を得た。

震災後の地震対策

1) ハード面での対応

ハード面での対応は耐震設備の開発・導入と建物の耐震改修であった。耐震改修においては最新の耐震基準を満たすことが必要であり、研究機関の建築を担当する事務局と十分な打ち合わせが必要である。被災経験からの注意点として、配管の断裂を防止するために壁等貫通部分で衝撃を吸収できる蛇腹構造等を採用することと、空調の熱源となるボイラーの着火方式にガスを採用しないことである。避難経路として少なくとも 2 方向を確保し、平常時には使用しない動線を確保することも重要である。また、飼育室等の扉は手を離せば必ず閉じるようドアチェックを付け、適切に作動するよう調整しておくことが重要である。遺伝子組換え動物の飼育数が増加していることから、飼育室と廊下の間にはネズミ返しに加えて二つ以上の扉を配置することが望ましい。また、自家発電装置は阪神淡路大震災ではほとんど機能しなかった。大地震が発生した場合に停電が長時間持続することを想定して設置するのであれば、水冷式の場合の冷却水の確保の問題に加え、空調機を運転するための大容量の自家発電装置の設置と燃料の備蓄体制を確保する必要がある。短時間の停電を想定するのであれば、飼育エリアへの入室を差し控えることで自家発電装置がなくとも SPF バリアを維持できると考える。夜間の停電に備えて各所に非常用懐中電燈等を配置することも重要である。

耐震設備については、阪神淡路大震災の経験から、表 4 に示すとおり、大型設備、自動給水、網底ケージ（汚物処理が困難）は直下型の大地震には弱く、

軽量キャスター付飼育棚は壁に固定するとケージが落下しやすく、固定しなければ室内にいる研究者や飼育管理技術者にとって極めて危険となる。もっとも安全な設備はビルトインの設備であった。これらの経験から、表5に示すコンセプトに基づいて飼育設備を設計・開発し、1995年に文部省（現、文部科学省）の災害復興経費で導入した。[1,2]。飼育設備は軽量の設備とし、設備を飼育室に固定、あるいは飼育設備同士を連結することとした。ケージの落下防止では、飼育管理作業の障害にならず、容易にオン・オフできる装置を設置することが望ましいと考えた。また、小動物を網底ケージで飼育すると断水時に汚物処理が困難となるため、平底ケージを採用し、平底ケージで自動給水を行った場合に給水配管の断裂・変形によりケージ内が水で満たされる危険性があるため、給水ビンを採用した。

2) ソフト面での対応

ソフト面での対応は災害対策マニュアルの作成と災害対策教育である。当施設の災害対策マニュアルを添付資料に示す。災害対策マニュアルとして当施設では4種類を準備した。勤務時間帯用と施設職員不在時用、それぞれの施設職員用と施設利用者用である。さらに、復旧マニュアルおよび教職員の指示・命令系統および連絡毛についても公表している。これらの災害対応マニュアルについては動物実験施設の講習会で説明すると共に当施設のホームページで公開している[3]。勤務時間帯における施設教職員用マニュアルでは、飼育管理作業中に大きな揺れを感じたら直ちにケージに上網をセットし、飼育棚に戻し、ケージ落下防止バーをセットする。その時間がない場合には、上網をセットしたあと、ケージを床において飼育室から廊下に出る。動物を麻酔中の場合には動物をケージ戻し、上網をセットして床に置き、処置中の場合には、直ちに麻酔死あるいは大血管を切断して安楽死し、廊下に出る。いずれの場合も廊下に出た際は必ず飼育室の扉を閉める。その後、安全な場所に身を潜めるか、建物外に出て指定された集合場所に向かい、選任教員の指示に従う。この場合、選任教員と連絡が取れるまで集合場所を離れない。地震が終息した後、建築の専門家の許可の下に施設に戻り、施設の被害状況を確認する。勤務時間外の場合は、指定された集合場所に一端集合し、施設選任教員との連絡が取れるまでその場に待機する。なお、災害時集合場所は序列を付けて複数定めておく必要がある。地震発生後の対応として、平常時に、災害規模に応じて維持し続ける動物／系統等について序列を決めておき、必要に応じて飼育動物の安楽死を施設利用者に依頼することが重要である。この場合、もっとも序列が高い動物／系統は、他で系統維持／胚保存されていない動物種であることは言うまでもない。さらに終息時の病原微生物検査、しかるべき時期に施設利用者に状況説明と復旧計画を示すことも必要である。災害発生後できるだけ早い時期に所轄する省庁や関係機関に被害状況について一報を入れることも忘れてはならない。

施設利用者用としては、実験処置時、麻酔時、飼育室／実験室／手術室から退室した時の注意（施設職員用に同じ）を特に周知することが重要である。

まとめ

阪神淡路大震災が発生してからすでに 26 年が経過する。様々な経緯および懸念があり、これまで被害状況、復旧過程、震災対策について報告を差し控えてきた。しかし、東日本大震災の発生後規模の大きな地震が頻発していることから、阪神淡路大震災の経験をここに紹介し、参考にいただければ幸甚である。なお、当施設では災害対策マニュアルを作成しているが、実際に大地震が発生した場合にこのマニュアルがそのまま活用できるとは考えていない。マニュアルを作成し、その基本的な理念を確認することによって、さまざまな災害状況に対応できるものと考えている。このマニュアルをたたき台として臨機応変に対応し、不幸にも震災等の被害を受けた場合により被害を少なくし、より早く復旧できれば何よりである。最後に東日本大震災の犠牲者のご冥福をお祈りし、被災者の皆様の一日も速い再出発を祈念します。

謝辞

阪神淡路大震災においては多大なご支援をいただき、当施設は復旧することができた。文部省（現文部科学省）、国立大学法人動物実験施設協議会、滋賀医科大学附属動物実験施設（当時）、京都大学医学部附属動物実験施設（当時）、大阪大学医学部附属動物実験施設、広島大学医学部附属動物実験施設（当時）、その他多くの支援をしてくださった皆様に深謝します。

参考文献

1. 塩見 雅志, 伊藤 隆, 田村 敏昌, 矢田 龍男, 天野宣 正: 耐震性, 居住性, 取り扱いの容易さを考慮した飼育設備の開発. アニテックス 9: 35-44 (1997).
2. 塩見 雅志, 天野宣正: 耐震飼育設備の開発方針と実用性について ― 耐震性, 居住性, 実用性を考慮した各種実験動物用飼育設備の開発 ―. クリーンテクノロジー 7: 39-43 (1997)
3. 動物実験施設における災害対策マニュアル (平成 8 年 8 月 5 日)
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/iea/bosai.html>

動物実験施設における災害対策マニュアル（平成8年8月5日）

I. 動物実験施設利用者用マニュアル

1) 身体の安全確保を行い、災害規模が小さければ初期消火等を行う。

2) 実験中の動物への対応

原則：災害発生時には動物が飼育室あるいは実験室の外に逃亡しないよう万全を期す。

- ・実験中の小動物はケージに收容し、床あるいは飼育棚に戻す。
- ・覚醒下の大動物は繋留する。
- ・麻酔下で手術中の大動物については安楽死する。

3) 使用中の機器への対応

- ・運転を緊急停止する。

4) 使用中の薬品への対応

- ・落下しないよう床に置く等の対処をする。
- ・発火性・爆発性のある薬品については医学部が定める方法に従う。

5) ガス・電気・水道・酸素への対応

- ・直ちに使用を中止し、元栓等を閉める。

6) エレベータ使用中の対応

- ・直ちに近くの階に停止させ脱出する。
- ・脱出困難な場合は非常ボタンを押して守衛室に連絡する。

7) 飼育室・実験室からの脱出

- ・脱出時には動物の逃亡がないよう必ず扉を閉める。

8) 災害発生時の通報

① 動物実験施設職員の勤務時間（平日）

- ・同一階に大声で事態を知らせる。
- ・7階事務室に連絡する（内線電話が使用不能の場合は階段を使用して事務室に知らせる）。

② 動物実験施設職員の勤務時間（土曜日と休日の 9:00-17:00）

- ・大声で各階にいる人々に知らせ、守衛室に連絡する（内線 5052）。

③ 動物実験施設職員の勤務時間外

- ・守衛室に連絡する（内線 5052）。

9) 動物実験施設外への脱出

- ・近くの非常口あるいは中央階段を使用して脱出する。
- ・脱出時には開けた扉は必ず閉める。
- ・エレベータは使用しない。

10) 動物実験施設職員への状況報告

- ・後日、実験中の動物に対する対応及び脱出経路について報告する。

11) 災害後の機器の点検

- ・建物の安全確認後、各研究グループが所有している機器を点検し、正常運転が不能な場合は施設外に持ち出す。
- ・施設内の整備等の理由により、動物実験施設が機器の持ち出しを要請した場合は、すみやかに講座に持ち帰る。

12) 災害後の動物の確認と安楽死

- ・建物の安全確認後、災害時に放置した実験中の動物の状態について確認し、動物実験施設職員に対処を相談する。

- ・災害の規模が大きく全動物を適正に維持することが困難と判断された場合、動物実験施設と協議の上、研究者が実験用動物を安楽死する。

13) その他

- ・夜間動物実験施設を使用する場合は、停電を想定して、懐中電灯等を用意する。
- ・各自で必要と考えられる措置を実施し、後日動物実験施設に連絡する。

II. 施設職員用

1. 勤務時間内の場合の対応

- 1) 身体の安全を確保し、災害規模が小さければ初期消火等を行う。
- 2) 飼育作業中の動物への対応
 - ・直ちに動物をケージに収容し、ケージを飼育棚に戻す。
 - ・ケージの落下防止装置を確認する。
 - ・飼育棚の転倒防止装置を確認する。
 - ・上記が不可の場合は、ケージを床に置く
- 3) 運転中の機器への対応
 - ・オートクレーブ、ケージ洗浄装置等は直ちに緊急停止ボタンを押して機械を停止させ、電源を切る。
 - ・時間に余裕があれば蒸気バルブを閉栓する。
- 4) 使用中のガス・電気・水道・蒸気への対応
 - ・直ちに閉栓する。
- 5) エレベータ使用中の対応
 - ・直ちに近くの階に停止させ、脱出する。
 - ・脱出困難な場合には非常ボタンを押して警務員室に連絡する。
- 6) 飼育室からの脱出
 - ・脱出時には動物が逃亡しないよう必ず扉を閉める。
- 7) 災害発生時の通報・専任教官への連絡
 - a. 平日は7階事務室に連絡する。
 - ・事務室担当者は災害の状況を確認し、専任教官に連絡する。
 - ・専任教官の指示に従って館内放送する（放送不能の場合は、分担して各階に大声で知らせる。専任教官不在の場合は下記に示す指示命令系統の順位に従う）
 - ・専任教官（専任教官不在の場合は指示命令系統の順位に従う）は災害の状況を確認し、施設長（細胞生物学 饗庭 教授 内線 5600）および動物実験施設担当事務官（内線 5195）に連絡する。
 - b. 土曜日と休日は大声で各階にいる人々に知らせ、警務員室に連絡する（内線 5052）
- 8) 動物実験施設会議室への集合および避難
 - ・一旦、1階会議室あるいは指定避難場所に集合する。
 - ・指定避難場所
 - ① 基礎校舎北門付近、② 医学部本館前正面玄関付近、③ 文化ホール東側広場、④ 大倉山公園、⑤ 荒田公園
- 9) 救出あるいは初期消火活動
 - ・災害の程度が軽い場合には、専任教官等の指示に従い、逃げ遅れた人の救出および初期消火活動等を行う。
- 10) 職員・利用者の安否の確認
 - ・施設利用者の状況や職員の作業場所を専任教官に連絡し、安否を確認する。

- 11) 動物実験施設外への脱出
 - ・エレベータは使用しない.
 - ・近くの非常口あるいは中央階段を使用して脱出する.
 - ・脱出時には開けた扉は必ず閉める.
- 12) 災害後の安全確認と施設内の状況把握復旧作業
 - ・事務専門官の安全確認の後に施設内に立ち入り, 状況を把握する.
- 13) 復旧作業
 - ・別紙参照

2. 勤務時間外の場合

- 1) 動物実験施設あるいは指定場所への集合
 - ・可能な限り出勤する
 - ・出勤できない場合は, 専任教官に連絡する.
 - ・動物実験施設に入室できない場合は指定避難場所にて待機する. (出勤者が少数であっても, 教官と連絡が取れるまで帰宅しない)
 指定避難場所: ① 基礎校舎北門付近, ② 医学部本館前正面玄関付近, ③ 文化ホール東側広場, ④ 大倉山公園, ⑤ 荒田公園
- 2) 専任教官の指示に従って職員の安否・出勤の可否について職員同士で確認する.
- 3) 安全確認後, 施設内の状況把握
 - ・事務専門官の安全確認後, 施設内に入り, 状況を把握する.
- 4) 復旧作業
 - ・別紙参照

3. 職員の指示命令系統の順位

施設長
 V
 専任准教授
 V
 助 手 >>>> 外注職員
 V
 事務室担当技術職員
 V
 飼育室担当技官

4. 緊急時の電話連絡

- 1) 勤務時間外
 - 基礎校舎警務員室
 V
 専任准教授 >>>> 助手 >>>> 外注員派遣会社
 V V
 V 事務室担当技術職員 >>>> 飼育室担当技官
 V
 施設長, 動物実験施設担当事務官

2) 勤務時間内

各階の責任者

V

事務室担当技術職員 >>>> 施設全体への連絡

V

専任教員

V

施設長、動物実験施設担当事務官

III. 神戸大学医学部附属動物実験施設における地震等災害発生時の対応マニュアル

平成7年2月28日

平成7年1月17日に発生した兵庫県南部地震（阪神大震災）により、本学医学部附属動物実験施設も甚大な被害を受けた。本震災を教訓として、地震災害発生時の被害を最小限にし、災害からの復旧を速やかに実施できる体制を整えることを目的としてここに対応マニュアルを作成する。

1) 地震発生当日から一週間以内におこなうべきこと

発生した地震災害の規模によっては、地震発生当日にすべてに対して対応することが困難な場合も想定できるので、対応可能な事項から順次実施する。

①出勤できた職員は至急施設長、専任教官および総務課長（または庶務掛長）と連絡をとる。

被害状況が収拾不可能と思われても、危険がないならば、連絡がとれるまで、施設内あるいは施設近くで待機する。

②専任教官あるいは施設長の指示に従い、以下の対応を行う。

専任教官あるいは施設長は建物倒壊の危険等を考慮して指示を出す。この場合、ヘルメット等を着用できるように準備しておくことが肝要である。

a. 施設全体の被害状況の概要把握

b. 会議室等に対策本部を設置

一つの作業が終了するたびに対策本部に集合し、全体作業の進行状況を把握しながら、次の作業の指示を出すことが効果的である。

c. 職員の安否および出勤の可否の確認

公衆電話は、他の電話が不通の場合にも使用できる場合がある。キャンパス周辺の公衆電話が使用不能な場合においても、被災地周辺の公衆電話が使可能である場合がある。

d. 飼育室外への動物の逃亡の有無の確認

逃亡している場合には、直ちに出勤者全員に連絡し、逃亡動物をケージに収容し、逃亡した飼育室の状況を確認し、逃亡防止策を講ずる。

e. 飼育室内に逃亡動物がいる場合の動物の収容

f. 水道、電気、電話、ガス、エレベータ、空調等の点検

ガス、水道については一旦元栓を閉じること。また、エレベータの運転再開は資材の搬入・運搬に重要である。ただし、余震発生時にエレベータが停止することがあるので、人は使用しない方がよい。

g. 飼育器材や衛生器材を保管している物品庫および飼料庫の確認

使用可能な物資等の数を確認し、必要な物資等を取り出せる状況にする。なお、定位置への整理は後日でかまわない。

h. 給餌・給水ができる体制の確立

状況がきわめて厳しい場合には、動物の飲用水の確保についてのみ地震発生当日に努力する。

- ・飼育装置等が移動している場合には、飼育装置を正規の位置に戻す。地震発生当日は、給餌・給水ができる状態および安全な状態を確保することを目的とした移動にとどめる。位置の調整等は後日でかまわない。多人数確保できる場合には、人力のみで動かすことも可能であるが、飼育装置の損傷の原因になりかねない。自動車用のジャッキ2台と丸太4本以上を用意し、丸太を飼育装置の下に入れることによって、飼育装置を動かすことが可能である。

- ・動物用の飲用水の確保

地震発生時には高架水槽等に損傷が発生する場合があると同時に、高架水槽等に異常がなくとも貯水槽あるいは揚水ポンプ等に異常がある場合もあるため、これら全てを確認する必要がある。いずれにも異常がある場合には、他の貯水槽等からの飲用水の確保が必要となる。この場合、水を運搬するためのポリタンクや給水瓶等に水を注ぐためのヤカンが有用である。

- ・衛生処理用水の確保

飼育装置の汚物処理、飼育器機、飼育棚、飼育室、通路などの清掃・消毒用の雑用水の確保も重要である。当施設の場合には農学部附属農場から井戸水の供給を受けた。届けられた雑用水を貯水するためには、大型のポリバールが有効である。当施設の場合、動物屍体収置用の大型ポリバールを転用した。

- ・飼料、床敷等の在庫確認を実施し、必要に応じて発注を行う。

とくに、通常オートクレープ滅菌を実施している場合には、滅菌飼料等に配慮する必要がある。

- i. 動物屍体収置室の確認。

- j. 飼育動物の安楽死処分についての判断。

動物実験施設、医学部およびキャンパス周辺の被災状況および復旧の見通しを確認し、動物の健康管理や適切な飼育管理が困難になると予想される場合には、飼育動物の段階的な安楽死を施設長と協議する。導入困難な特殊な系統動物を保護する意味においても、やむを得ない場合の飼育動物の段階的な安楽死は必要である。

- k. 医学部事務部との連携

- l. 国立大学動物実験施設協議会および文部科学省研究振興局学術機関課庶務・学術資料係長への状況報告

地震発生当日あるいは翌日には一報を入れる。

- m. 動物実験施設利用分野等への通知

施設の被害状況の概要と復旧・運営について協力要請を行う。また、やむを得ない場合には飼育動物の安楽死を依頼する。

2) 地震発生一週間後以降

- ①. 飼育管理体制への立て直し

- a. 動物への給餌・給水を確立
- b. 汚物処理・飼育室の清掃・消毒等の衛生管理
- c. 飼育設備の位置調整・修理

- ②. 施設機能の回復

- a. 倉庫・事務室・実験室等の整理・整頓
- b. 被害状況についてのリストの作成・予算要求
- c. 動物実験施設運営委員会の開催

被害状況、現在の飼育管理体制の報告、復旧方針の確認・了承、実験遂行の可否等の審議

3) 断水・ガスの供給停止が長期化する場合の飼育管理における工夫

a. マウス・ラット類の飼育

全動物を床敷飼育にし、ケージに床敷を多量に入れて、ケージ交換は行わずに床敷交換のみを週一回実施する。給水瓶への補水あるいは充水にヤカンの使用が効果的である。

b. ウサギ・イヌの管理

自動飼育装置あるいは簡易水洗飼育装置を使用している場合は、給水専用のタンクを設置する。給水瓶を使用する必要がなくなり、給水瓶の交換・洗浄・消毒の必要がなく、補水の手間も簡略化できる。専用タンクの設置が困難な場合は飲水用の器あるいは給水瓶をセットする。給水瓶への補水あるいは充水にはヤカンの使用が効果的である。

c. 自動飼育機等の汚物処理

ドライワイパーのゴム部分と柄の角度を90度にしたもので飼育装置の末端に汚物を集め、ジュウノウあるいはチリトリ等ですくい取る方法が効果的である。

d. 飲用水の確保

学内で飲用水の確保が困難な場合には、外部機関に定期的に水の供給を依頼する。あるいは給水瓶の洗浄・消毒を依頼し、充水して納入してもらう。

e. 冬期における新生仔飼育室の保温

空調が停止している場合、温風器あるいはセラミックファンヒーター等を使用することによって、飼育室の温度をある程度維持できる。

4) マスコミや一般市民からの質問あるいは取材依頼等に対する対応

- ①. 総務課長を窓口とし、施設長および専任教官の協議のうえ対応のしかたを決定する。必要と思われる場合には、国立大学動物実験施設協議会および文部科学省研究振興局学術機関課庶務・学術資料係長と協議する。
- ②. 対応内容については国立大学動物実験施設協議会および文部科学省研究振興局学術機関課庶務・学術資料係長に報告する。

(以上)

3.11 東日本大震災の経験---震災後の対応と被災状況

東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設

笠井憲雪

3.11 東日本大震災は 1000 年に 1 回という未曾有の震災であった。震度 6 強の揺れに、震央に近い東北大学は人命も含め大きな被害を受けた。建物や設備等の被害総額は 800 億円とも言われている。全学にある約 70 カ所の実験動物の飼養保管施設も動物の死亡を含め、その被害は甚大であった。しかし、事前に地震対策が取られていた施設は、直接の被害としては比較的軽微であったが、問題は震災による電気や水道、ガス等のインフラの停止であった。当施設の 2 カ所（中央棟 5200 m²と臨床分室 1000 m²）の飼育施設の被害と対応について、報告する。

3 月 11 日午後 2 時 46 分震災直後の揺れが収まった後、施設職員は他職員及び施設で実験中の研究者学生へ、早急に建物外へ脱出するよう各階の飼育室実験室へ呼びかけ、その後安否確認を行なった。幸い負傷者等はいなかった。

動物の被害は、翌日、自動給水装置の不具合からマウス約 80 匹ほどの死亡が確認された。マウスやラットの飼育装置の転倒は臨時に使用していた簡易飼育棚 2 台のみであり、他の約 240 台は室内での移動はあったが転倒しなかった。これは最近 10 年以上にわたる飼育装置の耐震補強の結果であろう。大震災も「備えあれば憂いなし」と実感した。転倒した 2 台の飼育棚のケージから動物は飛び出したが、全て室内で捕獲できた。イヌやブタ等の飼育装置及び動物の被害なかった。

震災直後に停止したインフラのうち、電気と水道は翌日午前に復旧したが、津波被害によりガスの復旧には 2 か月を要すると報道された。当施設は隣接する大学病院とともにパワーセンターからガスにより作られた蒸気の配給をうけ、暖房とオートクレーブに使用しているため、暖房はもとより器材等の滅菌ができなくなった。そこで SPF を守るために飼育室のケージ交換は停止し、入室を制限し、震災前の状態を保つとした。しかし 3 月 17 日にはガス停止の長期化を見越して動物の 3 割削減を研究者に要請し、実施した。しかし、25 日にはガスも復旧し 28 日は施設の全面復旧宣言にこぎ着けた。2 ヶ月のガス停止予想が 2 週間で復旧した訳で、災害時の状況の見通しの難しさを知った。

市民生活用の電気水ガスは長期に停止し、食料、ガソリン等の入手が困難になったため、業務の遂行には施設職員 35 名の生活維持にも配慮する必要があった。震災数日後から各地からの食料等の支援物資が集まりだし、これらを用いて施設職員への昼食及び一部朝夕食の炊き出しを 3 月 28 日まで行なった。他に実験動物関係機関や企業等から滅菌床敷き等、多くのご援助をいただき、大変ありがたく感じた。この場をお借りして感謝申し上げたい。

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32号に掲載した第107回研究会以後、以下の研究会が開催された。

- 1) 第108回研究会(平成22年12月10日 於 京都市勧業館「みやこめっせ」)
会員による研究発表(13題)

＜特別講演＞

1. 体細胞核移植クローン技術の現状と今後の展望について-マウスをモデルとして-
小倉淳郎((独)理化学研究所 筑波研究所 バイオリソースセンター)
2. ラット肝がん抵抗性遺伝子のポジショナルクローニング
日合 弘(滋賀県立成人病センター研究所)

- 2) 第109回研究会(平成23年3月4日 於 京都大学 楽友会館)

＜講演＞ テーマ：細胞機能の基礎研究と新規の疾患リソース研究

1. マウス毛色変異体を用いて色素細胞の新機能を探る
山本博章(長浜バイオ大学)
2. エピジェネティクス制御を背景とした腫瘍細胞分化異常と発がん
山田泰広(京都大学 iPS 細胞研究所、JST さきがけ)

＜維持会員ニュース＞

1. 日本医科学動物資材研究所:今なぜ、Hannover Wistar なのか
-ガン原性試験への有用性-

- 3) 第110回研究会(平成23年6月17日 於 大阪大学 銀杏会館)

＜講演会＞ 第1部 テーマ:実験動物に関する国際規約の改定

1. CIOMS の指針
笠井憲雪(東北大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設)
2. ILAR ガイド改訂版(第8版)について-とくに第7版との比較検討-
久原孝俊(順天堂大学大学院医学研究科 アトピー疾患研究センター)
3. OIE の実験動物福祉綱領
黒澤 努(大阪大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設)

第2部 テーマ:大震災の経験

1. 阪神淡路大震災の経験-被災状況、復興過程、防災対策-

塩見雅志(神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設)

2. 東日本大震災の経験-震災後の対応と被災状況

笠井憲雪(東北大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設)

<維持会員ニュース>

オリエンタル酵母工業(株):ミニブタの有用性

4) 第 111 回研究会(平成 23 年 9 月 9 日 於 (独)基盤技術研究所 図書室)

<講演会>テーマ:医薬品の開発を支える基礎研究-安全性評価研究の進展-

1. 大規模トキシコゲノミクスデータベースを活用した安全性バイオマーカー探索

山田 弘 ((独)医薬基盤研究所 創薬基盤研究部)

2. 実験動物の眼毒性-網膜障害部位と網膜電図(ERG)

今井良悦(武田薬品工業(株) 研究業務部 動物管理グループ)

3. ラット切歯の病理-薬剤安全性試験でみられた症例

阿部敏男 ((株)武田ラビックス 光営業所)

4. 皮膚の病態モデル動物の病理-医薬品の薬効・安全性研究から

飯田晶敏(岐阜大学 応用生物科学部獣医学課程)

<維持会員ニュース>

日本エスエルシー(株):SHRSP 系の新しいモデル動物

幹事会、評議員会、総会の議事録

1. 幹事会の概要(平成 22 年 11 月 5 日 於 京大・医・動物実験施設)

1) 出席

阿部、喜多、久保、庫本、桑村、黒澤、近藤、芹川、田島、坪田、中井、中村、松田、森本、山添、横井 (16 名)

2) 議事

(1) 第 108 回研究会について

一般演題は 13 題、特別講演は 2 題、トピックス 1 題

プログラムと座長が決められた。

一般講演の演題時間は質疑応答を含め 12 分とした。

(2) 今後の予定について

芹川会長より、第 29 回評議員会、第 28 回総会、第 109 回研究会の開催会場である
楽友会館について説明があった。

芹川会長より、第 109 回の準備状況について説明があり、演者の推薦が募られた。

(3) 役員改選について(第 10 期 平成 23～25 年度)

芹川会長より、現評議員に継続の意向を尋ねるとの報告があった。

2. 幹事会の概要(平成 23 年 2 月 21 日 於 京大・医・動物実験施設)

1) 出席

阿部、飯田、池田、岡田、喜多、庫本、黒澤、桑村、近藤、芹川、田島、坪田、中井、松田、森本、山本、横井 (17 名)

2) 議事

(1) 平成 22 年度 事業報告について

阿部幹事より、平成 22 年度事業報告があった。

(2) 平成 22 年度 決算報告について

喜多幹事より、平成 22 年度決算報告があった。

(3) 役員改選について

新比恵氏、内海氏、前田氏、牧野氏、4名の現評議員から新評議員辞退の申し出があった。

芹川会長より、今井良悦氏、黒木宏二氏、近藤 靖氏の紹介があり、新評議員としての推薦を求められた。

幹事会として、3 名の方々を推薦することとした。

芹川会長より、第 10 期の事務局は京都大学で担当するとの報告があった。

芹川会長より、監事を清水氏、山崎氏にお願いし、両氏から承諾を受け取っていることが報告された。

(4) 平成 23 年度 事業計画案について

阿部幹事より、平成 23 年度事業計画案について説明があった。

山本編集担当幹事より、会誌の発行形態について意向伺いがあった。

協議の結果、従来通り冊子体での発行を継続することとした。

阿部集会幹事長から、副幹事長として桑村、横井両幹事が推薦され、了承された。

第 110 回から 114 回までの担当幹事が決定した。

- | | | | |
|-----------|--------------|------|----------|
| ① 第 110 回 | 平成 23 年 6 月 | 大阪 | 黒澤、田島、山添 |
| ② 第 111 回 | 平成 23 年 9 月 | 大阪 | 松田、中井、飯田 |
| ③ 第 112 回 | 平成 23 年 12 月 | 京都 | 横井、塩見、近藤 |
| ④ 第 113 回 | 平成 24 年 3 月 | 京都 | 庫本、喜多、池田 |
| ⑤ 第 114 回 | 平成 24 年 6 月 | りんくう | 桑村、岡田、坪田 |

(5) 平成 23 年度 予算案について

芹川会長より、平成 23 年度予算案について説明があった。

(6) その他

芹川会長より、第 18 回国際ラット遺伝システムワークショップの開催報告があった。

第 28 回総会の司会者を森本幹事とした。

3. 第29回評議員会の概要(平成23年3月4日 於 京都大学楽友会館)

1) 出席

浅野、阿部、飯田、池田卓、池田克、上田、海野、大野、岡田、岡本、沖本、喜多、北田、久保、庫本、倉林、黒木、黒澤、桑村、近藤玄、近藤靖、塩見、塩谷、鈴木、芹川、高木、高島、竹之下、田島、千葉、坪田、鳥居、中井、中村、原田、平川、平沢、古河、星、真下、増岡、松田、宮嶌、森島、森本、安田、山添、山中、横井(48名)

2) 議事

(1) 役員改選について

芹川会長より、第10期評議員のうち第9期評議員からの移行者について承認が求められ、全会一致で承認された。

芹川会長より、新評議員の紹介があり、承認が求められた。全会一致で承認された。新評議員のあいさつがあった。

第10期の会長として、芹川評議員が全会一致で選出された。

芹川会長より、第10期の幹事、監事が紹介され、承認が求められた。全会一致で承認された。

(2) 平成22年度 事業報告及び決算報告

阿部集会幹事より、平成22年度の事業報告があった。

喜多庶務・会計幹事より、平成22年度収支決算書について報告があった。

芹川会長より、繰越金決算書について報告があった。

平成22年度収支決算報告が全会一致で承認された。

(3) 平成22年度 事業計画及び予算案

阿部集会幹事より、平成23年度の事業計画(案)が説明された。

喜多庶務・会計幹事より、平成23年度予算案について説明があった。

平成23年度事業計画(案)および予算案が、全会一致で承認された。

(4) その他

芹川会長より、第57回日本実験動物学会総会の後援への感謝が述べられた。

芹川会長より、第18回国際ラット遺伝システムワークショップの後援への感謝が述べられた。

喜多幹事より、日本実験動物学会主催の動愛法セミナーの紹介があった。

黒澤幹事より、動物福祉に関する国際情勢について情報提供があった。

4. 第 28 回総会の概要(平成 23 年 3 月 4 日 於 京都大学楽友会館)

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。

桑村幹事が議長に選出された。

1) 議事

(1) 役員改選について

芹川会長より、第 10 期評議員のうち第 9 期評議員からの移行者について承認が求められ、全会一致で承認された。

芹川会長より、新評議員の紹介があり承認が求められた。全会一致で承認された。新評議員のあいさつがあった。

第 10 期の会長として、芹川評議員が全会一致で選出された。

芹川会長より、第 10 期の幹事、監事が紹介され、承認が求められた。全会一致で承認された。

(2) 平成 22 年度 事業報告及び決算報告

阿部集会幹事より、平成 22 年度の事業報告があった。

喜多庶務・会計幹事より、平成 22 年度収支決算書について報告があった。

芹川会長より、繰越金決算書について報告があった。

平成 22 年度収支決算報告が全会一致で承認された。

(3) 平成 22 年度 事業計画及び予算案

阿部集会幹事より、平成 23 年度の事業計画(案)が説明された。

喜多庶務・会計幹事より、平成 23 年度予算案について説明があった。

平成 23 年度事業計画(案)および予算案が、全会一致で承認された。

(4) その他

芹川会長より、第 57 回日本実験動物学会総会の後援への感謝が述べられた。

芹川会長より、第 18 回国際ラット遺伝システムワークショップの後援への感謝が述べられた。

喜多幹事より、日本実験動物学会主催の動愛法セミナーの紹介があった。

黒澤幹事より、動物福祉に関する国際情勢について情報提供があった。

《 会員の異動 》

(平成22年11月～平成23年10月)

入会者	今井 良悦	武田薬品工業(株)・研究業務部・動物管理グループ
	金子 武人	京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	杉橋 裕道	(株)オリエンタルバイオサービス 神戸BMラボラトリー
	辻 正継	(株)ジェーエーシー
	鳥居 国政	(株)ジェーエーシー
	新田 静香	シオノギテクノアドバンスリサーチ(株)
	藤田 和隆	シオノギテクノアドバンスリサーチ(株)
	引土 知幸	大日本除虫菊株式会社 中央研究所
	山本 博章	長浜バイオ大学
退会者	南地 勇	塩野義製薬(株)
	中島 文博	(株)ケーエーシー
	町尾 久夫	オリエンタル酵母工業(株)大阪バイオ営業所
	干場 純治	岡山大学自然生命科学研究支援センター動物資源部門
	安藤 孝夫	(株)ケーエーシー バイオサイエンス事業部
	梅田 光夫	大日本除虫菊(株)
	日下部 健	山口大学農学部獣医学科獣医解剖学教室
	熊本 香名子	滋賀医科大学動物生命科学研究センター
	高橋 明男	国立精神神経センター神経研究所
	安原 吉高	武田薬品工業(株)創薬第一研究所 病態モデルグループ

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2011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	郵便番号	住所	所属
あ	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)ボジリサーチセンター 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
	○◎ 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
	安倍 宏明	305-0047	茨城県つくば市千現 2-1-6 つくば創業プラザ210	マーシャル・バイオリソーシス・ジャパン(株)
	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(株)
	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
	李 成一	570-8506	大阪府守口市文園町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	562-0024	大阪府箕面市栗生新家5丁目14-8	(岐阜大学 応用生物科学部獣医学課程)
	池 郁生	305-0074	茨城県つくば市高野台 3-1-1	(独)理化学研究所バイオリソースセンター
○◎	池田 卓也	222-0033	神奈川県横浜港北区新横浜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	兵庫県西宮市池開町 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・獣医療病理
	石井 高夫	564-0051	大阪府吹田市豊津町15-11 江坂石岡ビル	(株)エム技研
	石坂 和彦	106-0046	東京都港区元麻布3-1-36 つなかわビル3F	テクニプラスト・ジャパン(株)
	飯原 美穂	650-0047	神戸市中央区港島南町6丁目7-4 HI-DEC	(株)ピオスタ
	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	愛知県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	滋賀県草津市西汲川 2-3-1	石原産業(株)中央研究所
	乾 雅臣	574-0043	大阪府大東市灰塚 5-10-3	日本医科学動物資料研究所
	井上 勉	578-0901	東大阪市加納7丁目 23-3-112	
○	今井 良悦	532-8686	大阪市淀川区十三本町2-17-85	武田薬品工業(株)研究業務部・動物管理グループ
	今林 潤一	631-0806	奈良市朱雀 6-17-3-4B	
	新比恵 啓志	541-0046	大阪市中央区平野町 2-6-6	田辺三菱製薬(株)信頼性保証本部 くすり相談センター
	岩谷 千鶴	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
	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学都宮事業所
	上野 渉	263-8555	千葉県稲毛区穴川 4-9-1	(独)放射線医学総合研究所 実験動物開発・管理課
	内尾 こそえ	567-0085	大阪府茨木市彩都あさぎ 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	大阪市此花区春日中3-1-98	住化テクノサービス(株)
	内海 健二郎	579-8046	大阪府東大阪市昭和町7丁目22	
○	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
○	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513	(株)イフバイオサイエンス
	大竹 聡	619-1401	京都府相楽郡南山城村萱仙房小玉181	(株)オリエンタルバイオサービス南山城研究所
	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	愛知県名古屋市中昭和区鶴舞町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
	大和田 恭子	371-8530	群馬県前橋市鳥羽町 580	群馬工業高等専門学校 物質工学科
	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)
	岡島 涼子	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
○◎	岡田 利也	598-8531	大阪府泉佐野市りんくう往来北 1-58	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻
	岡庭 梓	560-0082	大阪府豊中市新千里東町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	大阪府吹田市江の木町 33-94	大日本住友製薬(株)研究管理部管理第1G 動物管理チーム
	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	大阪府堺市北区蔵前町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
	勝亦 芳裕	412-0039	静岡県御殿場市かまど1284	(株)ボジリサーチセンター 御殿場研究所
	加藤 鋭二	562-0015	大阪府箕面市稲 2-7-3	
	加藤 啓子	603-8555	京都市北区上賀茂本山	京都産業大学
	金子 武人	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
	鍋木 力	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町	清水実験材(株)

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2011年10月現在

	氏名	郵便番号	住所	所属
	川合 是彰	573-1134	大阪府枚方市養父丘 1-12-17	
	河合 澄子	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
	河田 昭彦	433-8114	静岡県浜松市葵東 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	
き○○	喜多 正和	602-8566	京都市上京区河原町広小路梶井町465	塩野義製薬(株)新薬研究所
○	北田 一博	060-0810	札幌市北区北10条西8丁目	京都府立医科大学大学院医学研究科実験動物センター
	北野 光昭	676-8688	兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8	北海道大学先端科学技術共同研究センター
	木下 邦明	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188	(株)カネカ フロンティアバイオ・メディカル研究所
	木村 国雄	520-2324	滋賀県野洲市近江富士 4-5-16	(株)イナリサーチ
く	日柳 章彦	520-2192	滋賀県大津市瀬田月輪町	
	博 一朗	419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125	滋賀医科大学動物生命科学研究所
	国友 一朗	580-0016	大阪府松原市上田8-1-20	(株)ボゾリサーチセンター 函南研究所
○○	久保 薫	634-8521	奈良県橿原市四条町 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
○	黒木 宏二	554-0022	大阪市此花区春日出中 3-1-98	大日本住友製薬(株)
○○	黒澤 努	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
	黒松 久	160-0022	東京都新宿区新宿区 2-19-1 ビッグス新宿ビル10F	(株)HISパワラ
○○	桑村 充	598-8531	大阪府泉佐野市りんくう往来北 1-58	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医病理学教室
	桑村 有規	591-8032	大阪府堺市百舌鳥梅町3-14-15	((株)新日本科学)
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医科学研究所)
	甲田 彰	665-0817	兵庫県宝塚市平井山荘5-24-303	
	小浦 美奈子	567-0085	大阪府茨木市彩都あさぎ 7-6-8	(独)医薬基盤研究所
	小谷 祐子	565-0871	大阪府吹田市山田丘2-2	大阪大学医学部附属動物実験施設
	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	京都大学再生医科学研究所
○	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
	今野 兼次郎	603-8555	京都市北区上賀茂本山	京都産業大学
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
	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
	坂田 進	635-0832	奈良県北葛城郡広陵町馬見中 4-2-2	畿央大学
	坂本 雄二	651-2241	神戸市西区室谷 1-5-4	千寿製薬(株)
○	佐加良 英治	663-8501	兵庫県西宮市武庫川町1-1	兵庫医科大学動物実験施設
	佐々木 昌志	554-0022	大阪市此花区春日出中 3-1-98	大日本住友製薬(株)研究管理部
	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
	佐藤 順子	419-0123	静岡県田方郡函南町間宮59-1-102	(株)三菱化学安全科学研究所
	佐藤 浩	444-8585	愛知県岡崎市明大寺町西郷中 38	自然科学研究機構 生理学研究所
	飯島 秀暢	890-0011	鹿児島市玉里団地1丁目 22-19	
	澤浦 雅人	567-0865	大阪府茨木市横江 2-9-2	日本チャールス・リバー(株)カスタマーサポートセンター
LO○○	塩見 雅志	650-0017	神戸市中央区楠町 7-5-1	神戸大学大学院医学研究科附属動物実験施設
○	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 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	600-6815	京都市下京区中堂寺粟田町93	
す	杉井 学	576-0031	大阪府交野市森南 2-27-3	マルホ(株)京都 R&Dセンター医薬開発研究所
	杉橋 裕道	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 神戸BMラボラトリー
	潤一郎	419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125	(株)ボゾリサーチセンター
○	鈴木 彬	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 稔	520-3423	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田1405	塩野義製薬(株)
	須藤 有二	532-8514	大阪市淀川区加島 2-1-6	アステラスリサーチテクノロジー(株)

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2011年10月現在

	氏名	郵便番号	住所	所属
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	曾我 正彦	561-0825	大阪府豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬(株)新薬研究所
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)
	高木 康博	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
○	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
	高橋 尚士	650-0047	神戸市中央区港島南町6丁目7-4 HI-DEC	(株)ピオスタ
○	竹之下 誠	648-0003	和歌山県橋本市隅田町山内 513	(株)イブバイオサイエンス
○◎	田島 優	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
	田島 朋子	598-8531	大阪府泉佐野市りんくう往来北 1-58	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
	田中 卓二	500-8285	岐阜市南郷 5丁目1-2	(株)東海細胞研究所
	棚橋 友子	615-0882	京都市右京区西京極葛野町28	(株)オリエンタルバイオサービス 営業部
	谷村 孝	590-0137	大阪府堺市南区城山台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
	多根井 昌孝	604-8423	京都市中京区西の京西月光町 40	(株)ケーエーシー 営業本部
ち○	千葉 薫	569-1125	大阪府高槻市紫町 1-1	JT クリエイトイブサービス 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	サンタサーロ&ステリープロ ソリューション株式会社
	辻 正継	564-0053	大阪府吹田市江の木町 6-5	(株)ジェーエーシー
	土屋 英明	520-2192	滋賀県大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学 動物生命科学研究所センター
	都築 政起	739-0046	広島市東広島市鏡山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・理学療法専攻生理学
	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
て	鶴見 東志子	570-8506	大阪府守口市文園町10-15	関西医科大学 動物センター
と	出口 央士	606-8507	京都市左京区聖護院川原町53	京都大学再生医科学研究所 附属再生実験動物施設
	土井 清弘	604-8423	京都市中京区西の京西月光町40	(株)ケーエーシー
	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所センター
	鳥居 国政	561-0053	大阪府吹田市江の木町 6-5	(株)ジェーエーシー
な	直井 国子	349-0221	埼玉県南埼玉郡白岡町上野田 737-102	
	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 紳一朗	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所センター
	中村 正典	650-0047	神戸市中央区港島南町 1-5-5 BMA3F	カルナバイオサイエンス(株)研究開発部
	中山 亮	666-0112	大阪府川西市大和西 3-28-10	
	那須 礼史	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	大阪市淀川区宮原5丁目2-30	沢井製薬(株)生物研究部
	西 泰明	514-0063	三重県津市洪見町763-35 洪見宿舎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	幾中央大学 健康科学部
	西川 哲	263-8555	千葉県稲毛区穴川 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)ボソリサーチセンター
	西村 正彦	431-3126	静岡県浜松市有玉台4-17-15	
	西村 弘道	597-0061	大阪府貝塚市浦田 172-12	(株)ケーエーシー
	西山 秀志	532-8686	大阪府淀川区十三本町 2-17-85	(株)武田ラビックス
	新田 静香	553-0002	大阪府福島区鷺洲 5-12-4	シオノギテクノアドバンスリサーチ(株)
ね	根本 良夫	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
	野々口 和幸	604-8423	京都市中京区西ノ京西月光町 40	(株)ケーエーシー
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
○	原口 心雄	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
	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	引土 知幸	561-0827	大阪府豊中市大黒町1-1-11	大日本除虫菊株式会社 中央研究所
	飛田 康孝	520-3001	滋賀県栗東市東坂 91	(株)ケーエーシー
○	平川 公昭	541-0044	大阪府中央区伏見町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	561-0825	大阪府豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬(株)創薬・開発研究所

関西実験動物研究会(個人会員名簿)2011年10月現在

	氏名	郵便番号	住所	所属
	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)油日ラボトリーズ
ふ	福岡 俊文	554-0022	大阪市此花区春日出中3-1-98	大日本住友製薬(株)安全性研究所
	藤沢 公忠	567-0865	大阪府茨木市横江 2-9-2	日本チャールス・リバー(株)カスタマーサポートセンター
	藤田 和隆	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1	シオノゲキョノアドバンスリサーチ(株)
○	古河 恵一	589-8511	大阪府大阪狭山市大野東 377-2	近畿大学医学部共同研究実験動物室
ほ○	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	埼玉県八潮市八奈4035	(株)星野試験動物飼育所
	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	大阪府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
	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	604-8423	京都市中京区西ノ京西月光町 40	(株)ケー・エー・シー
	松尾 公平	554-0022	大阪市此花区春日出中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	大阪府茨木市彩都あさぎ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	603-8555	京都市北区上賀茂本山	京都産業大学工学部生物工学科
み	三上 崇徳	701-0192	岡山県倉敷市松島 577	川崎医科大学中央研究部医学生物センター
	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	大阪府吹田市山田丘 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	565-0871	大阪府吹田市山田丘3-2	大阪大学 蛋白質研究所 8 F動物室
○	御田村 亜紀	561-0825	大阪府豊中市二葉町3-1-1	塩野義製薬(株)
☆○	宮下 信泉	761-6793	香川県木田郡三木町大字池戸1750-1	香川大学研究推進機構総合生命科学センター動物実験部門
○	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	大阪府豊中市上野西 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
も	森 幹雄	564-0053	大阪府吹田市江の木町 33-94	大日本住友製薬(株)研究管理部 管理第2グループ
	森岡 宏至	591-8022	大阪府堺市北区金岡町 1200-6	
○	森岡 一輝	544-8666	大阪市生野区箕西 1-8-1	ロート製薬(株)生物臨床研究部開発支援G
○◎	森島 英喜	532-8686	大阪市淀川区十三本町 2-17-85	武田薬品工業(株)開発研究センター
や○	森本 純司	569-8686	大阪府高槻市大学町 2-7	大阪医科大学研究機構実験動物センター
	安田 正秀	569-1094	大阪府高槻市奈佐原 4-20-1	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重仙房小玉181	(株)オリエンタルバイオサービス
	数内 かおり	665-0033	兵庫県宝塚市伊子志2-4-29-708	((株)新日本科学 CR事業カンパニー前臨床事業部 安全研)
△	山崎 章弘	222-0033	神奈川県横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル11F	日本チャールス・リバー(株)
○◎	山崎 樹里	520-2192	滋賀県大津市瀬田月輪町	滋賀医科大学・動物生命科学センター
	山添 裕之	554-0022	大阪市此花区春日出中3-1-98	住友化学(株)生物環境科学研究所
	山手 文至	599-8531	大阪府堺市学園町1-1	大阪府立大学・農・獣医病理
	山田 篤	532-8514	大阪市淀川区加島2-1-6	アステラスリサーチテクノロジー(株)安全性研究部
○	山田 宣永	950-2181	新潟市西区五十嵐二の町 8050	新潟大学農学部資源動物遺伝学分野
	山田 泰広	502-0081	岐阜市長良4丁目3番地	
○	山中 久	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188	(株)イナリサーチ
	山本 大	314-0255	茨城県神栖市砂山14	(株)三菱化学安全科学研究所安全性第2部
○	山本 博	930-0194	富山市杉谷 2630	富山大学生命科学先端研究センター 動物資源開発分野
	山本 博章	526-0829	滋賀県長浜市田村町1266	長浜バイオ大学
○◎	山本 好男	518-0131	三重県伊賀市ゆめが丘1-3-3「ゆめテクノ伊賀」内	三重大学社会連携研究センター 伊賀研究拠点
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
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
	和田 聡	314-0255	茨城県神栖市砂山14	(株)三菱化学安全科学研究所安全性第2部

上記個人会員名簿に追加、訂正等があれば

事務局(TEL/FAX: 075-753-4687, e-mail: kansaijim@anim.med.kyoto-u.ac.jp)にご連絡下さい

関西実験動物研究会 維持会員名簿

(五十音順)(平成23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1丁目6-1
2	アステラスリサーチテクノロジー(株)動物管理部	532-0031	大阪市淀川区加島 2-1-6
3	(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
4	(株)イブバイオサイエンス	648-0003	和歌山県橋本市隅田町 513
5	(株)エーテック	662-0854	兵庫県西宮市罐塚町2-15サンコーボユウⅢ201号室
6	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
7	(株)大塚製薬工場 研究開発センター	772-8601	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115
8	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
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	(株)ケー・エー・シー	604-8423	京都市中央区西の京西月光町 40
12	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
13	参天製薬(株)研究開発センター	630-0101	生駒市高山町 8916-16
14	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
15	塩野義製薬(株)医薬研究本部	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1
16	(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
17	清水実験材料(株)	606-8304	京都市左京区吉田下阿達町 37
18	(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
19	白井松器械(株)	540-0003	大阪市中央区森ノ宮中央 1-19-16
20	(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
21	(株)精研	542-0066	大阪市中央区瓦屋町2丁目11-16
22	大日本住友製薬(株)研究本部 研究管理部 管理第1Q、動物管理チーム	564-0053	吹田市江の木町 33-94
23	高塚ライフサイエンス(株)	700-8577	岡山市今1丁目 3-9
24	財団法人動物繁殖研究所	300-0134	茨城県かすみがうら市深谷1103
25	(株)夏目製作所	113-0034	東京都文京区湯島 2-18-6
26	日精バイリス(株)	528-0052	滋賀県甲賀市水口町宇川555
27	(株)日本医科学動物資材研究所	179-0074	東京都練馬区春日町 6丁目 10-40
28	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
29	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
30	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
31	日本チャールス・リバー(株)カスタマーサポートセンター	567-0865	茨木市横江2-9-2
32	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
33	(株)ピオスタ	650-0047	神戸市中央区港島南町6丁目7番4号 HI-DEC 404
34	(株)フェニックスバイオ	321-0973	栃木県宇都宮市岩曽町1198-4
35	丸石製薬(株)中央研究所	538-0042	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
36	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
37	(株)美濃ラボ	503-0321	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
38	(有)メディア	606-8106	京都市左京区高野東開町 1-23-28-506
39	(株)メディアエート	611-0041	宇治市槇島町目川 117-5

入会

退会

2011/6/30 (株)ティー・ティー・エム
2011/8/5 オリエンタル技研工業(株)
2011/10/25 日本照射サービス(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/FAX: 075-753-4687, e-mail: kansajim@anim.med.kyoto-u.ac.jp)

関西実験動物研究会 評議員名簿

第10期(平成 23年度～ 25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	岐阜大学 応用生物科学部獣医学課程
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
今井 良悦	武田薬品工業(株)研究業務部 動物管理グループ
上田 正次	(株)フェニックスバイオ宇都宮事業所
海野 隆	シンバイオ製薬(株)開発戦略本部前臨床開発部
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
近藤 靖	田辺三菱製薬(株)先端医学研究部
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)イブバイオサイエンス
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・開発研究所
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
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	
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(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	富山大学生命科学先端研究センター動物資源開発分野
山本 好男	三重大学社会連携研究センター・伊賀研究拠点
横井 伯英	神戸大学大学院医学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/FAX:075-753-4687 :e-mail:kansaijim@anim.med.kyoto-u.ac.jp)にご連絡下さい)

関西実験動物研究会 会長・幹事・監事名簿

(平成23年～25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獣医学専攻
	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獣医病理学
	近藤 玄	京都大学再生医科学研究所
	塩見 雅志	神戸大学大学院医学研究科附属動物実験施設
	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	三重大学社会連携研究センター・伊賀研究拠点
	飯田 晶敏	岐阜大学 応用生物科学部獣医学課程
	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 21 年度 収支決算書

費目		金額（円）	平成21年度予算	
			金額（円）	対比（円）
繰越金		1,193,357	1,193,357	0
収入 の 部	会費	2,090,000	2,286,000	△196,000
	普通会员	393,000(131)	546,000(182)	△153,000
	評議員	27,500(55)	300,000(60)	△25,000
	維持会員	1,260,000(42)	1,320,000(44)	△120,000
	参加費（非会員）	162,000(108)	120,000(80)	42,000
	会報代金	0	1,500	△1,500
	預金利息	1,669	2,500	△831
	寄附	52,500	0	52,500
	第102回懇親会	38,000	0	38,000
	第103回懇親会	14,500	0	14,500
収入計		2,144,169	2,290,000	△145,831
収入総計		3,337,526	3,483,357	△145,831
支出 の 部	事務局経費	588,542	640,000	51,458
	人件費	350,000	350,000	0
	通信費	141,582	150,000	8,418
	事務費	29,760	40,000	10,240
	印刷費	67,200	100,000	32,800
	機関誌発行経費	525,000	580,000	55,000
	編集費	0	30,000	30,000
	印刷費	525,000	550,000	25,000
	集会経費	873,449	930,000	56,551
	会場費	207,169	200,000	△7,169
	講演者招待費	365,430	400,000	34,570
	幹事会・評議員会	221,850	250,000	28,150
	アルバイト費	79,000	80,000	1,000
	予備費	0	50,000	50,000
	支出計	1,986,991	2,200,000	213,009
繰越剰余金		1,350,535	1,283,357	67,178
支出総計		3,337,526	3,483,357	145,831

参考： 年度内収支（収入 2,144,169 - 支出 1,986,991）＝ 157,178

平成 22 年度 関西実験動物研究会予算書

(普通会員費:3,000 円)

(評議員会員費:5,000 円)

(維持会員費:30,000 円)

(当日参加費:1,500 円(3月)、2,000 円(6月以降))

費目		平成 22 年度予算	平成 21 年度決算(円)
繰越金		1,350,535	1,193,357
収入の部	会費収入	2,231,000	2,090,000
	普通会員費(口)	486,000(162)	393,000(131)
	評議員会員費(口)	295,000(59)	27,5000(55)
	維持会員費(団体)	1,260,000(42)	1,260,000(42)
	参加費(非会員)(口)	190,000(100)	162,000(108)
	会報代金	1,500	0
	預金利息	1,500	1,669
	寄附	0	52,500
収入計		2,234,000	2,144,169
収入総計		3,584,535	3,337,526
支出の部	事務局経費	624,000	588,542
	人件費	350,000	350,000
	通信費	150,000	141,582
	事務用消耗品費	40,000	29,760
	印刷費	84,000	67,200
	機関誌発行経費	580,000	525,000
	編集費	30,000	0
	印刷費	550,000	525,000
	集会経費	980,000	873,449
	会場費	150,000	207,169
	講演者招待費	500,000	365,430
	幹事会・評議員会	250,000	221,850
	アルバイト費	80,000	79,000
	予備費	50,000	0
支出計		2,234,000	1,986,991
繰越剰余金		1,350,535	1,350,535
支出総計		3,584,535	3,337,526

平成 23 年度 関西実験動物研究会予算書

(普通会員費:3,000 円)

(評議員会員費:5,000 円)

(維持会員費:30,000 円)

(当日参加費:2,000 円)

費目		平成 23 年度予算	平成 22 年度決算(円)
繰越金		1,566,190	1,350,535
収入 の 部	会費収入	2,231,000	2,346,000
	普通会員費(口)	486,000(162)	486,000(162)
	評議員会員費(口)	285,000(57)	305,000(61)
	維持会員費(団体)	1,260,000(42)	1,350,000(45)
	参加費(非会員)(口)	200,000(100)	205,000(106)
	会報代金	1,500	0
	預金利息	500	520
収入計		2,233,000	2,346,520
収入総計		3,799,190	3,697,055
支出 の 部	事務局経費	630,000	603,614
	人件費	350,000	350,000
	通信費	150,000	135,838
	事務用消耗品費	40,000	33,776
	印刷費	90,000	84,000
	機関誌発行経費	630,000	600,000
	編集費	30,000	0
	印刷費	600,000	600,000
	集会経費	980,000	927,251
	会場費	150,000	129,931
	講演者招待費	500,000	508,770
	幹事会・評議員会	250,000	216,550
	アルバイト費	80,000	72,000
	予備費	50,000	0
支出計		2,290,000	2,130,865
繰越剰余金		1,509,190	1,566,190
支出総計		3,799,190	3,697,055

関西実験動物研究会会則

I. 総則

- (1) 本会は関西実験動物研究会 (Kansai Laboratory Animal Research Association) という。
- (2) 本会は関西地区において実験動物学ならびに関連諸科学の発達を図る事を目的とする。
- (3) 本会はその目的を達成するために以下の諸事業を行なう。
 - ① 学術集会の開催
 - ② 会誌の発行
 - ③ 関係諸機関・諸学会との情報交換・連絡
 - ④ 会員相互の連絡
 - ⑤ その他必要と認められる事業

II. 会員

- (4) 本会の会員は個人からなる普通会員と法人及びこれに準ずる団体からなる維持会員からなる。
- (5) 会員は本会の趣旨に賛同し、本会を維持するために会費を支払う。
- (6) 会費は前納とし、普通会員は年額 3,000 円、評議員は 5,000 円、維持会員は 30,000 円とする。
- (7) 会員は会誌の配付を受ける。
- (8) 本会に名誉会員をおくことができる。

III. 役員

- (9) 本会の役員は、会長 1 名、評議員若干名及び 監事 2 名とする。
- (10) 会長は評議員の互選によって選出する。
- (11) 評議員は普通会員 3 名以上の推薦によって選出し、総会の承認を受ける。
- (12) 監事は評議員の推薦によって選出し、会長が委嘱する。
- (13) 会長は本会を代表し、会務を統理する。会長に支障があるときは評議員の互選により 1 名を選出し、会長の職務を代行する。
- (14) 会長は評議員会を召集し、その議長となる。
- (15) 評議員は評議員会を組織し、本会に関する重要な事項を審議・決定する。また、評議員の互選により選ばれた幹事は、幹事会を組織し、会長の補佐及び庶務、会計、集会、会誌発行などの会務を実行する。
- (16) 監事は会計を監査する。
- (17) 役員の任期は 3 年とし、再任を妨げない。

IV. 総会

- (18) 会長は毎年 1 回普通会員で構成される総会を召集し、会務の必要事項を報告し、承認を受ける。

V. 会計

- (19) 本会の事業年度は毎年 1 月 1 日より 12 月 31 日までとする。
- (20) 本会の経費は会費、寄付金その他の収入をもってあてる。

VI. 附則

- (21) 本会則は昭和 59 年 3 月 16 日より施行する。
- (22) 本会則の改正は評議員会の議決を経て総会の承認を受ける。
- (23) 本会の事務局は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内に置く。

VII. 附則

- (24) 本会則は平成 2 年 3 月 9 日より施行し、平成 2 年 1 月 1 日より適用する。
- (25) 本会則は平成 8 年 3 月 9 日より施行し、平成 8 年 1 月 1 日より適用する。
- (26) 本会則は平成 14 年 3 月 8 日より施行し、平成 14 年 1 月 1 日より適用する。

平成23年12月15日 印 刷
平成23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33号
Kansai Journal of Laboratory Animals
平成23年12月

第107回研究会：難病克服への実験動物を用いたアプローチ

植田 光晴：家族性アミロイドポリニューロパチー、老人性全身性アミロイドーシスと
疾患モデル動物 1

漆谷 真：筋萎縮性側索硬化症研究におけるモデル動物のインパクト 10

揚山 直英：霊長類の循環器疾患とモデル動物開発 14

第108回研究会

＜特別講演＞

小倉 淳郎：体細胞核移植クローン技術の現状と今後の展望について
—マウスをモデルとして— 23

日合 弘：化学発癌剤誘発肝細胞がんに対するDRHラットの遺伝的抵抗性 30

＜トピックス＞

岡本 宗裕：京都大学霊長類研究所で発生したニホンザル血小板減少症とその病因 36

＜会員の発表 13題＞ 41

第109回研究会：細胞機能の基礎研究と新規の疾患リソース研究

山本 博章：マウス毛色変異体を用いて色素細胞の新機能を探る 57

山田 泰広：エピジェネティックス制御を背景とした腫瘍細胞分化異常と発がん 62

阪口 雅弘：スギ花粉症における自然発症動物と犬のバイオバンクプロジェクト 64

第110回研究会：実験動物に関する国際規約の改定と大震災の経験

＜第1部＞ 実験動物に関する国際規約の改定

笠井 憲雪：CIOMSの原則 69

久原 孝俊：ILAR「実験動物のケアと使用に関する指針」改訂版（第8版）について 70

黒澤 努：OIEの実験動物福祉綱領 77

＜第2部＞ 大震災の経験

塩見 雅志：阪神淡路大震災の経験—被災状況、復興過程、防災対策— 86

笠井 憲雪：3.11東日本大震災の経験—震災後の対応と被災状況 99

＜関西実験動物研究会だより＞ 101

幹事会、評議員会、総会の議事概要 103 会員の異動 107

個人会員名簿 108 維持会員名簿 112 評議員名簿 113

会長、幹事、監事名簿、収支・予算、会則 115