

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成26年12月 36号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

<第119回研究会（平成25年9月13日）>

テーマ：生体イメージングの最前線—免疫の新たな世界

1. 生きた実験動物での生体イメージング～免疫細胞の動く世界の解析
石井 優（大阪大学 大学院医学系研究科 免疫細胞生物学）…………… 1
2. ライブイメージングにより明らかになった皮膚免疫の新世界
栢島 健治（京都大学 大学院医学研究科 皮膚科学）…………… 3

<トピックス>

CRISPR/Cas9システムを用いたマウスゲノム編集

- 伊川 正人（大阪大学 微生物病研究所 感染動物実験施設）…………… 10

<第120回研究会：30周年記念大会（平成25年12月6日）>

関西実験動物研究会の歴史と未来

1. 関西実験動物研究会の歩み
阿部 敏男（関西実験動物研究会 幹事長）…………… 13
2. 企業（ブリーダー）から見た関西実験動物研究会
上田 正次（㈱フェニックスバイオ宇都宮事業所）…………… 34
3. 企業（ユーザー）から見た関西実験動物研究会
山添 裕之（住友化学㈱ 生物環境科学研究所）…………… 37
4. 関西実験動物研究会、その貢献と期待される役割、一大学関係者の経験から
塩見 雅志（神戸大学 医学研究科 附属動物実験施設）…………… 38
5. 関西実験動物研究会の展望
芹川 忠夫（関西実験動物研究会 会長）…………… 44

<シンポジウム>

テーマ：動物実験の今後を考える

1. 「動物の愛護及び管理に関する法律」の今後
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）
…………… 46
2. 獣医学における実験動物学の今後
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）
…………… 50
3. NBRPマウスの今後
吉木 淳（理化学研究所バイオリソースセンター 実験動物開発室）… 57

4. 変異ES細胞バンクは変異マウス作製に代替たりうるか？ 竹田 潤二（大阪大学医学部附属動物実験施設、大阪大学医学系研究科 環境生体機能学）	63
5. イメージング技術を用いた生体機能のCutting Edge 八木田 和弘（京都府立医科大学大学院医学研究科統合生理学）	65
<特別講演>	
動物の遺伝子操作から学ぶ胚発生制御 近藤 寿人（大阪大学大学院生命機能研究科）	67
<第121回研究会（平成26年3月7日）>	
テーマ：難治性疾患の克服に向けて	
1. タンパク質工学を駆使した難治性疾患治療薬の開発を目指して 角田 慎一（医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト／大阪大学大学院 薬学研究科医薬基盤科学分野）	73
2. プロバイオティクスの抗炎症効果 田辺 創一（広島大学大学院生物圏科学研究科）	78
3. 福山型筋ジストロフィー 仕組みの解明 治療法開発 戸田 達史（神戸大学大学院医学研究科 神経内科学／分子脳科学）	83
<第122回研究会（平成26年6月13日）>	
テーマ：免疫研究の新たな展開	
1. IL-33と好酸球性炎症 安田 好文（兵庫医科大学 免疫学・医動物学）	85
2. 多臓器間ネットワークに支えられる造血免疫システム 片山 義雄（神戸大学医学部附属病院 血液内科）	92
<トピックス>	
動物実験における人道的エンドポイントは進化したか 中井 伸子（日本新薬(株) 研開企画統括部）	99
<関西実験動物研究会だより>	107
<幹事会、評議員会、総会の議事概要>	109
<維持会員名簿>	114
<評議員名簿>	115
<会長、幹事、監事名簿>	116
<収支・予算、会則>	117

生きた実験動物での生体イメージング～免疫細胞の動く世界の解析

大阪大学医学系研究科／生命機能研究科 免疫細胞生物学 教授 石井 優

1. はじめに

動物の本質は「動き」にある。生体内においても、多彩な生命活動の維持のためには、様々な細胞がそれぞれ適切な場所に適切なタイミングで移動・遊走し、活動拠点を正確に定めることが極めて重要である。典型的な例は免疫・血液系システムであり、感染局所や全身をくまなく哨戒する好中球やマクロファージと、細胞性免疫を担うリンパ球が、リンパ組織間内の適切な微小環境で会合し、互いに情報交換することにより、正常な免疫機能が維持されている。これらの細胞遊走は時空間的に精緻にコントロールされており、各細胞が適切な場所に適切な時間に存在しなければ、十分な機能を発揮できない。これら免疫・血液系システムにおけるシステム化された細胞遊走ネットワークは soft-wired network と呼ばれる。

従来の組織・形態学の解析では、注目する組織・臓器を「固定」して観察していた。いわば「生体」を「死体」にして観察していたので、細胞の動きに関する情報を得ることはできなかった。近年、低侵襲で深部組織の観察に適した「2光子励起顕微鏡」の登場により、生体を「生きたまま」で観察することで、in vivo での細胞動態・soft-wired network をリアルタイムで解析することが可能となってきた。

2. 生体2光子励起イメージングの実際

実際に2光子励起を用いた「生体イメージング」としては「tissue explant imaging」と「intravital imaging」に大別できる。「tissue explant imaging」では、実験動物を屠殺して注目する組織・臓器を取り出して、培養液中で生かしたまま観察する方法である。

一方、「intravital imaging」では、実験動物を麻酔下で生かしたまま、観察したい組織・臓器を手術的に露出して観察する。方法論的には「tissue-explant」より困難であり、臓器・組織によってはアプローチが困難であるが多くの利点がある。特に、動物を生かしているので循環血流が保たれるメリットは非常に大きい。血流があることにより、観察している組織を完全に生理的な環境に保つことができ、また血管と組織間での細胞の流入出を捉えることもできる。これは、特に免疫・血液系のように、生体内での血流を介した細胞動態が重要なシステム(soft-wired network)の解析において威力を発揮する。2002 年頃から海外の複数のラボによって「intravital imaging」によるリンパ節内での免疫動態解析

がなされるようになった。その後、方法論の改良により種々の組織・臓器の「intravital imaging」が試みられてきたが、演者は intravital two-photon imaging による、生きた骨組織・骨髓内の高解像度イメージング法を世界に先駆けて開発した。

3. 骨組織の生体2光子励起イメージング

硬い石灰質に囲まれた骨組織の内部は、従来、生きたままでの観察が極めて困難であると考えられていた。実際にこれまで骨や骨髓の研究では、固定して摘出した骨を、カルシウムキレート剤に1週間ほど漬けて脱灰し、切片にして観察していた。この従来法でも、骨組織内の細胞の「形態」や「分子発現」(免疫染色による)を解析することはできたが、決定的な情報が欠落していた。それは細胞の「動き」であった。細胞の動きを見るためには、どうしても生きた細胞を生きた組織の中で観察する必要がある。さらに、骨髓腔のように、豊富な血管床による血流を保ったまま、そこで流入・流出する細胞の動きを捉えることが重要な場所では、「摘出して生かした(explant)」骨組織ではなく、「生きたままの個体内(intravital)」の骨組織を観察する必要があった。

演者らは骨組織内で古い骨を破壊・吸収する、破骨細胞という特殊な細胞の動態に注目して研究を行っていたが、in vitro 培養系や固定した骨組織解析ではなく、生きた骨の中で生きた破骨細胞の動態を解析したいという動機に駆られて、骨組織の2光子励起イメージングに挑戦した。骨基質に含まれるリン酸カルシウム結晶は、励起光を容易に散乱させるため、2光子励起に用いる近赤外線レーザーを用いても深部まで到達させることは難しかった。著者らは観察システムを改良し、骨基質が比較的薄い(骨表面から髓腔内まで約 80~120 μm)マウス頭頂骨を用いて、生きた骨髓内を外部から非侵襲的に高解像度で観察できる実験系を確立した。これを用いて、破骨細胞の元となる前駆細胞が、血中から骨表面へ移動したり、逆に再還流する様子をリアルタイムで可視化し、この動態を制御する脂質メディエーター・スフィンゴシン1リン酸(S1P)を同定した。

骨髓は謎めいたブラックボックスである。雑多な血液系・間葉系細胞が、所狭しと詰め込まれている。多様な血液系細胞はそれぞれ決まった場所(ニッチ)に存在し、また互いに複雑な静的・動的ネットワークを形成している。しかもそれは余程重要なもののようで、硬くて頑丈な入れ物(骨皮質)で囲まれている。血液幹細胞の自己複製や血球分化など、骨髓機能の生理・病理には、未だ不明な点が数多く残されているが、2光子励起顕微鏡による“非破壊検査”を用いた今後の解明が期待される。

ライブイメージングにより明らかになった皮膚免疫の新世界

京都市左京区聖護院川原町 5 4

京都大学医学研究科 皮膚科学

梶島健治

サマリー

二光子励起顕微鏡により、皮膚を三次元可視化することが可能となった。皮膚の血管は、蛍光デキストランをマウスに静注することで、可視化される。従って血管外へのデキストランの漏出を経時的に観察することにより、定常状態や炎症時における血管透過性について評価できる。定常下での検討では、分子サイズ 70kDa 以上のデキストランは皮内では長時間血流中に留まる。一方、ヒスタミンの静注により、高分子（2000kDa）のデキストランが即時に血管外へ漏出される。従って、皮膚局所の血管透過性の制御が皮膚の炎症を形成し、また炎症により血清タンパクの生体における分布を制御していることが示唆される。

1. はじめに

皮膚は生体を外界と隔てる生体生体における最大の臓器であり、病原微生物や抗原などの曝露から身を守っている¹。免疫応答は、時間的にも空間的にもダイナミックに移り変わる生体応答であり、その研究にはライブイメージングが力を発揮する。本稿では、ライブイメージングを用いて皮膚の血管壁バリア機能（血管透過性）を評価した研究について概説する。皮膚の定常時や炎症時の血管透過性を可視化することにより、炎症反応の理解を深めたい。

2. 二光子励起顕微鏡を用いた皮膚の可視化

従来の蛍光顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡でも生体イメージングは可能であったが、二光子励起顕微鏡の登場でより容易となった。二光子励起顕微鏡はその名の通り、二つの光子で励起を行う顕微鏡である。ある原子に光が当たると、原子核の周りをまわっている電子がその光子のエネルギーを吸収し、電子状態が最も安定な状態（基底状態）からエネルギーの高い状態（励起状態）へと移行する。これが普通の蛍光顕微鏡で起こる一光子励起である。一方で光子密度が非常に高い状況を作り出すと、2つの光子が同時に吸収される現象（二光子吸収）が確率的に生じ、電子の励起が起きる。すなわち、一光子励起の時の半分のエネルギー（2倍の波長）をもつ光子で同じ励起を起こすことが可能となる。これが二光子励起である。

二光子励起顕微鏡は生体イメージングに適した顕微鏡であり、様々な生体内構造物をそのままの姿で観察することが可能である。一例として、二光子顕微鏡で皮膚を観察し

て得られた画像を図 2A に示す。真皮コラーゲン線維は、二次高調波発生と呼ばれる光学現象により観察可能であり、定量・定性的な評価が行われている²。また、様々な蛍光試薬を用いて、血管や皮脂腺、表皮角化細胞などをラベルすることができる^{3, 4}。さらに遺伝子改変マウスを作製することで、特定の細胞を蛍光標識することも可能である。図 1 に骨髓由来細胞が蛍光ラベルされたマウスの真皮内の写真を示す。炎症が無い状態でも、免疫細胞が真皮内に密に存在している様子が観察され、皮膚が重要な免疫器官であることが改めて認識される。

皮膚内における免疫細胞の動態は、体中の全ての細胞で GFP を発現する (CAG-GFP) マウスをドナーとした骨髓キメラを作成することでその全体像を観察することができる。この骨髓キメラマウスでは、 γ 線照射に耐性である表皮角化細胞、ランゲルハンス細胞や線維芽細胞はレシピエント由来であるため蛍光を発しないが、ランゲルハンス細胞以外の樹状細胞や、好中球、T 細胞などのほとんどのドナー骨髓由来の血球系細胞は基本的に全て GFP で標識される (図 1)。

3. 蛍光デキストランを用いた血流動態の可視化

ライブイメージングによる血管透過性の評価法を紹介する。デキストランはグルコースの連なった多糖類であるが、緑や赤の蛍光でラベルされた様々なサイズのものが市販されている。本研究では蛍光標識された 20 キロダルトン (kDa) から 2000kDa のデキストランを用いた。蛍光デキストランをマウスの尾静脈から投与すると、直後から皮膚の血管が蛍光標識される (図 2A)。時間の経過とともに、デキストランは血管外へ漏出し、血管外領域 (間質) の蛍光強度が一過性に上昇する。蛍光強度を経時的に測定することで、血管のバリア機能を評価することができる⁵。

3. 定常状態における皮膚の血管透過性

炎症が起きていない定常状態の皮膚において、静注したデキストランの動態を観察した。20kDa のデキストランは、静注直後から速やかに血管外へ漏出し、1 時間以内に血流中の蛍光が消失した (図 2B: 上段)⁵。すなわち血管内にデキストランはほとんど残っていないことがわかる。40kDa のデキストランでは、静注後すみやかに間質の蛍光強度が上昇するものの、血管内にも一定時間留まった (図 2B: 中段)。一方で 70kDa 以上の分子サイズのデキストランは、血管外への漏出は数時間の観察ではほとんど認めず、長時間血管内に留まる (図 2B: 下段)⁵。血管内外の蛍光強度も経時的に捉えることが可能である (図 2C)。これらの結果から、皮膚の血管は定常状態において、40kDa と 70kDa の間にサイズバリアを持つことが示唆される。皮膚 (角層+表皮) が、およそ分子量 500 (=0.5kDa) 以上の物質を通さないバリア機能を持っていることと比較すれば、かなり緩いサイズバリアである。

4. 炎症状態における皮膚の血管透過性

“腫脹”は炎症の三徴（発熱、疼痛、腫脹）のひとつであり、炎症状態で広くみとめられる現象である。腫脹は、組織中の間質液の増加によるものであるため、炎症時には血管透過性が亢進していることが予想される。

炎症下の血管透過性の変化を観察するに際し、蕁麻疹に代表される I 型アレルギー反応は適切なモデルの一つである。肥満細胞の細胞膜上の Fc 受容体に結合している IgE が抗原の結合により架橋され、ヒスタミンを代表とするメディエーターが分泌されることにより始まる。ヒスタミン受容体は血管内皮や神経などに発現しており、血管透過性の亢進、痒みなどが引き起こされる。

従って、血管透過性の即時変化を観察するために、ヒスタミンの静注による炎症反応をモデルに解析を進めた。予め 70kDa 以上の分子サイズの蛍光標識デキストランを静注し血流を可視化し、引き続いてヒスタミンを静注した。ヒスタミンの投与直後から血流中のデキストランは大量に血管外へ漏出し、血管透過性が即座に切り替わる様子が観察された(図 3) ⁵。70kDa のデキストランはもとより、2000kDa の高分子デキストランでもヒスタミン投与後に速やかに間質へ移行した。すなわち、炎症下では血漿中の高分子タンパクが組織中へ容易に移行可能であることが示唆される。

5. 血管バリアと血漿タンパクの分子サイズ

上記に得られた結果から、血管バリアと血漿タンパクの組織への分布について以下のように考察される。図 4 に血漿タンパク質を分子サイズでプロットした図を示した。また、皮膚の血管は 40-70kDa の間あたりにサイズバリアを持つことを先に示した。実際、血漿タンパクの大部分を占め、膠質浸透圧の維持を担うアルブミンの分子量は 66kDa であり、その他のキャリアタンパクもだいたいこのあたりの分子サイズになる(図 4 橙色)。

次に、全身性アミロイドーシスの原因タンパクの分子サイズに注目されたい(図 3 青色)。AA アミロイドーシスの原因タンパクである SAA、AL アミロイドーシスの免疫グロブリン L 鎖、透析アミロイドーシスの β_2 ミクログロブリン、他トランスサイレチンなどの分子サイズはいずれも 10-20kDa である。SAA (serum amyloid A) は、肝臓で産生される急性期タンパクであり、その血中動態は CRP とほぼ関連することが知られる。AA アミロイドーシスはリウマチ、SLE などの慢性炎症性疾患の患者に合併するが、CRP ではなく SAA が全身に沈着してくるのはその分子サイズの違いによるのかもしれない (CRP=105kDa, SAA=12kDa)。すなわち全身性アミロイドーシスは、「血漿中に低分子量のタンパクが異常増加したとき」に生じてくる病態、とも理解することができる。

サイトカインの分子サイズも一度確認しておきたい。ほとんどのサイトカインの分子サイズは 20kDa 以下であり (図 4 緑色)、血中と組織との行き来にはほとんど制限がなく、短時間で濃度平衡状態に達すると考えられる。すなわち、血中濃度は組織中濃度をほぼリアルタイムに反映していると考えられる。従って、TARC がアトピー性皮膚炎の

病態を反映するのであろう。

6. 炎症と免疫グロブリンの皮膚への分布

炎症が生じ血管透過性が亢進すると組織の腫脹が生じる。腫脹は虫刺症などでも見られる basic な生体反応であるが、何を目的として生じるのであろうか。組織液のボリューム増加、すなわち血管透過性の亢進によるアルブミン、ひいては水の組織への移行があることは明らかで、いわゆる “wash-out effect” が期待されることは想像に難くない。さらに血管のサイズバリアの視点から考えてみると、「腫脹」状態下ではアルブミンのみならず、高分子の免疫グロブリン（分子量約 150：図 4 赤）といった高分子の血漿タンパクも組織中へ高濃度に移行していると考えられる。すなわち組織の腫脹とは、細胞間質の組成を組織のメンテナンスに主眼をおいた定常状態から、病原体に対応するものへと切り替える反応である、と捉えることも可能であろう。

8. おわりに

今回示したライブイメージングの手法は、他にも抗ヒスタミン薬の効果判定などへの応用が考えられる。また、血清タンパクの一つである抗体の分布においても可視化することが可能となるため、自己免疫疾患と炎症の関係などについても新発見が得られる可能性がある。さらに、細胞のみならず、血流、ひいては血管透過性の変化もイメージングの対象とすることで、皮膚の炎症をより深く理解できるような研究が進むことが期待される。

文献

Referenace

1. Egawa G, Kabashima K. Skin as a peripheral lymphoid organ: revisiting the concept of skin-associated lymphoid tissues. *The Journal of investigative dermatology* 2011, **131**(11): 2178-2185.
2. Tsai TH, Lin SJ, Lee WR, Wang CC, Hsu CT, Chu T, *et al.* Visualizing radiofrequency-skin interaction using multiphoton microscopy in vivo. *J Dermatol Sci* 2012, **65**(2): 95-101.
3. Egawa G, Miyachi Y, Kabashima K. Identification of perivascular adipose tissue in the mouse skin using two-photon microscopy. *Journal of dermatological science* 2013, **70**(2): 139-140.

4. Egawa G, Natsuaki Y, Miyachi Y, Kabashima K. Three-dimensional imaging of epidermal keratinocytes and dermal vasculatures using two-photon microscopy. *Journal of dermatological science* 2013, **70**(2): 143-145.
5. Egawa G, Nakamizo S, Natsuaki Y, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K. Intravital analysis of vascular permeability in mice using two-photon microscopy. *Scientific reports* 2013, **3**: 1932.

図 1：皮膚の毛細血管と免疫細胞

CAG-GFP マウス（緑マウス）をドナーとした骨髄キメラマウスに赤色蛍光標識デキストランを静注した。骨髄由来細胞が緑色にラベルされ、血管が赤色に描出される。

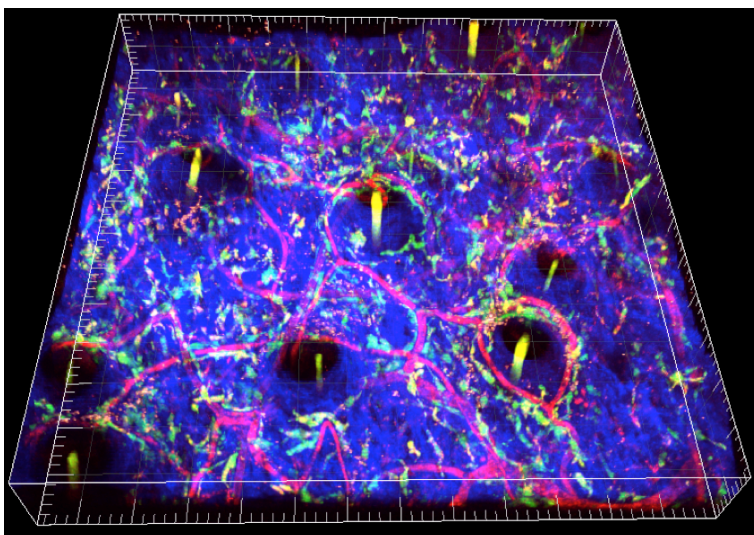


図 2：定常時の血管透過性イメージング

A 蛍光デキストラン静注直後の写真。マウス耳介の血管が可視化される。

B 上段からそれぞれ 20、40、70kDa の蛍光標識デキストランを静注し、耳介での蛍光シグナルの経時変化を撮影した。20、40kDa のデキストランは 10 分後には血管外に漏出している。

C 血管内と外の蛍光強度の経時変化

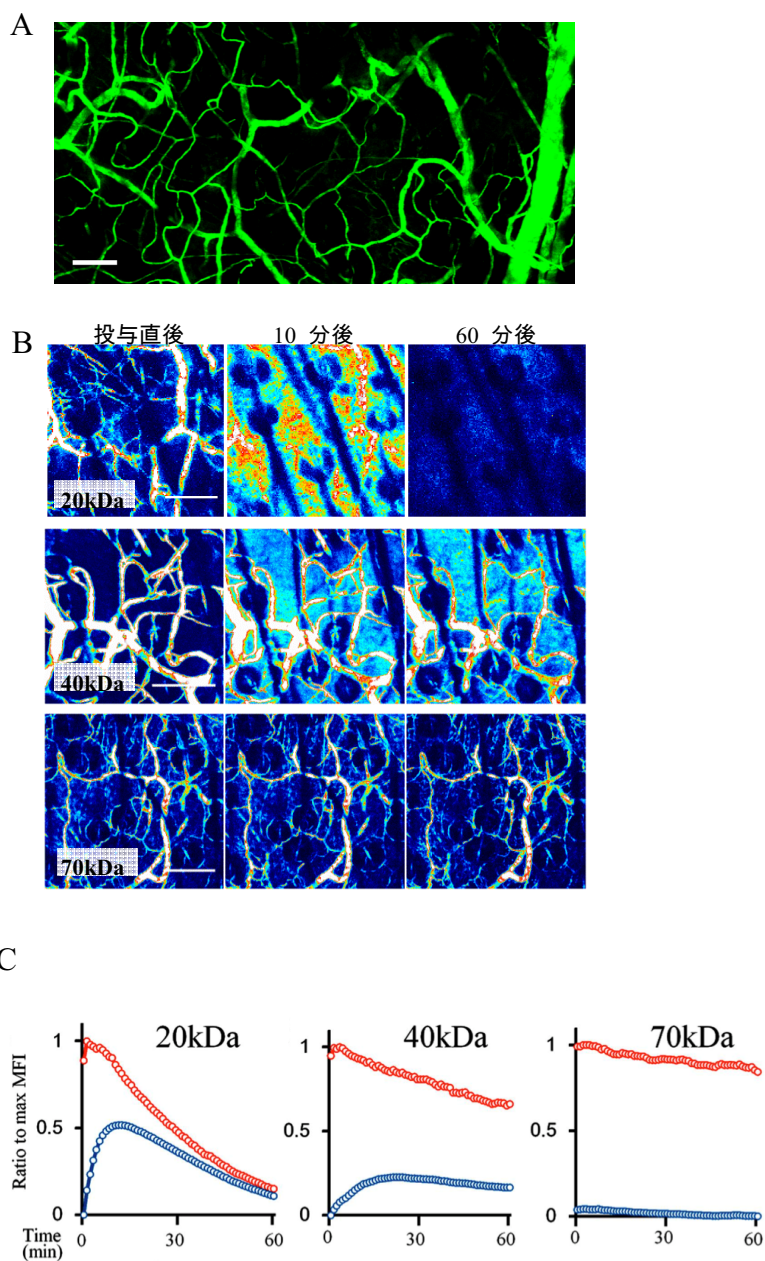


図 3：炎症時の血管透過性イメージング

ヒスタミン投与前後の 2000kDa デキストランの分布。

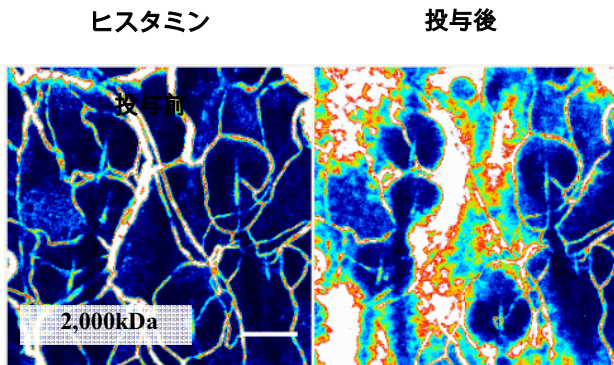
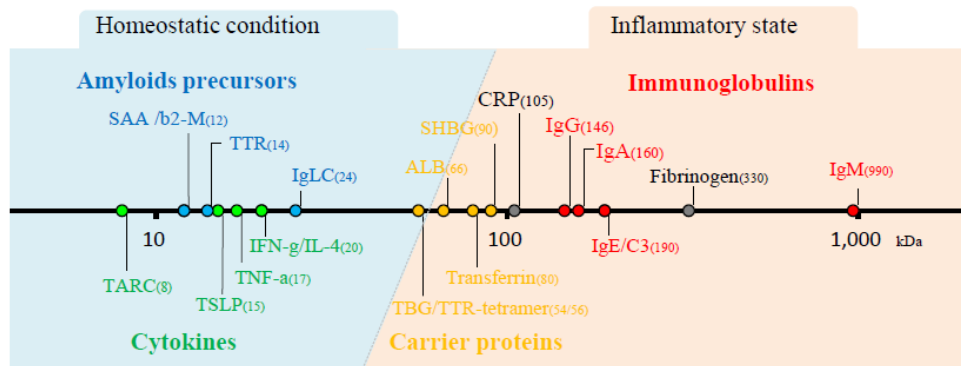


図 4：血漿タンパクの分子量

血漿中に存在するタンパクの一部を、分子サイズを横軸にして並べた。



CRISPR/Cas9 システムを用いたマウスゲノム編集

大阪大学微生物病研究所・附属感染動物実験施設・伊川正人

近年、哺乳類ゲノムの遺伝子改変法として、DNA 配列を認識するタンパク質に FokI nuclease を融合させた ZFN (zinc-finger nuclease) や TALEN (transcription activator-like effector nuclease) などの人工制限酵素が注目されている。ゲノム中の標的配列を切断し、NHEJ (Non-Homologous End-Joining) や HDR (Homology Directed Repair) を利用して遺伝子欠失や挿入、置換を行う手法である。しかし ZFN や TALEN は、ペプチドにより DNA を認識するために生じる配列特異性の問題や、作製過程が複雑で難しいなどの問題があった。

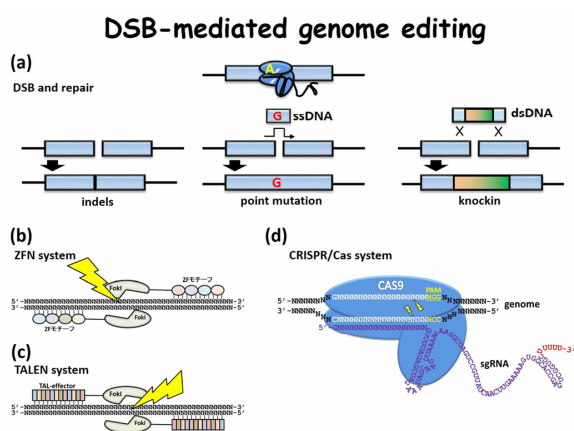
そのような中、2013 年初めに、CRISPR/CAS システムをアレンジした人工制限酵素を用いて哺乳類細胞におけるゲノム改変が報告された[1, 2]。CRISPR/CAS システムは原核細菌などが有する獲得免疫システムであり、外来 DNA を自らのゲノムの特定領域に取り込み、そこから転写された RNA と CAS nuclease の複合体により、同じ DNA 配列を認識して切断することで、2回目以降の感染を防御する。著者らは、codon optimize して NLS を付加した CAS9 nuclease と標的配列を決める sgRNA (synthetic guide RNA) を哺乳類細胞に発現させて標的 DNA 配列を切断し、NHEJ や HDR に成功した。また 5 月には、Cas9 をコードする mRNA と sgRNA を受精卵に注入することで、ダイレクトに遺伝子変異したマウス個体を得る手法も報告されている[3]。

CRISPR/CAS システムでは、RNA-DNA 結合により標的を認識することから配列特異性が高く、またオリゴ DNA を発現ベクターにクローニングするだけで簡単に遺伝子改変ベクターが構築できることから非常に簡便で高効率なゲノム編集ツールとして注目されている。本稿では、講演で使用したスライドから、重要な点について説明する。なお、詳細については参考論文を参照いただきたい[4-6]。

1. Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013; 339:819-823.
2. Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE, Norville JE, Church GM. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013; 339:823-826.
3. Wang H, Yang H, Shivalila CS, Dawlaty MM, Cheng AW, Zhang F, Jaenisch R. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 2013; 153:910-918.
4. Mashiko D, Fujihara Y, Satouh Y, Miyata H, Isotani A, Ikawa M. Generation of mutant mice by pronuclear injection of circular plasmid expressing Cas9 and single guided RNA. *Sci Rep.* 2013;3:3355.

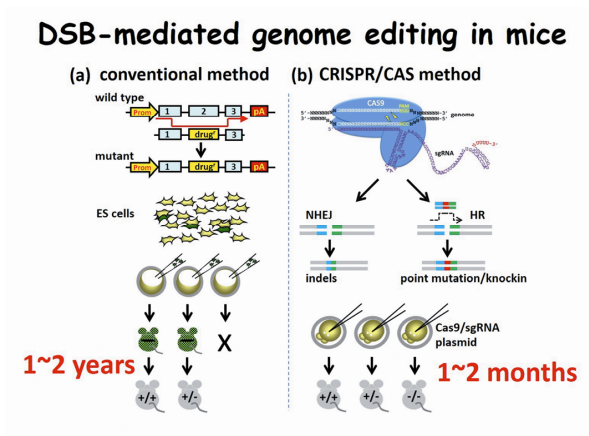
5. Mashiko D, Young SA, Muto M, Kato H, Nozawa K, Ogawa M, Noda T, Kim YJ, Satouh Y, Fujihara Y, Ikawa M. Feasibility for a large scale mouse mutagenesis by injecting CRISPR/Cas plasmid into zygotes. *Dev Growth Differ.* 2014; 56:122-9.
6. 伊川 正人. ゲノム編集がひらく遺伝子改変マウスの未来. *ライフサイエンス 領域融合レビュー.* 2014; 3:e008

【スライド 1】 ゲノム編集技術の原理と人工制限酵素



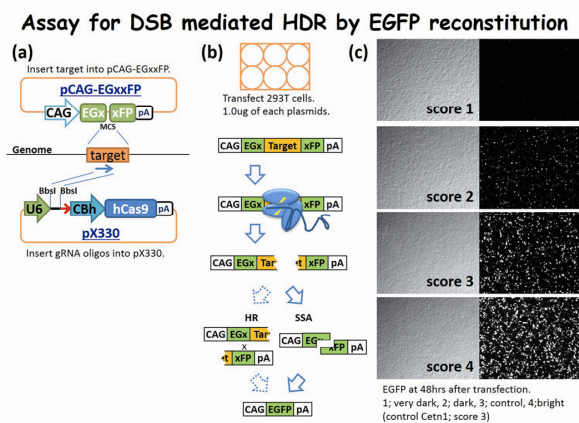
- (a) ゲノム編集では、2本鎖DNAが切断された後の修復エラーを利用して遺伝子改変する。切断面がそのまま結合する非相同末端結合経路による修復では再結合の際に欠損や挿入が起こりやすい。相同組換え経路による修復の際に参照できるような1本鎖DNAや2本鎖DNAがあると、1塩基の置換やノックインなど、デザインした変異を導入することができる。
- (b) ZFNは、3塩基を認識するジンクフィンガーモチーフを数個と、FokIヌクレアーゼを結合した融合タンパク質として作製する。2つのZFNがセンス鎖およびアンチセンス鎖を認識するとFokI二量体が形成され、DNA切断活性を発揮する。
- (c) TALENでは、A、C、G、Tそれぞれ1塩基に特異的に対応するユニットからなるTALエフェクターが標的となるDNAを認識する。
- (d) CRISPR/Cas系では、guide RNA (gRNA) の5' 末端の20塩基が標的DNAを認識する。gRNAにリクルートされたCas9は、PAM配列の上流の3番目と4番目の塩基のあいだを切断する。

【スライド2】ノックアウトマウスの新旧作製法比較



- (a) 従来はジーンターゲットベクターの構築に数ヶ月、ES細胞での相同組換えに数ヶ月、ホスト初期胚への注入によるキメラマウス作製に数ヶ月、さらに交配による生殖系列の寄与に数ヶ月と、ノックアウトマウスを作製するまでに1~2年の歳月を要していた。
- (b) CRISPR/Cas系では、1~2週間で構築したベクターを受精卵に注入するだけでノックアウトマウスが1~2ヶ月で得られる。

【スライド3】



- (a) pX330プラスミドは、ヒトU6プロモーターの制御下にgRNAを、普遍性トリβアクチンハイブリッドプロモーター（CBh）の制御下にコドンヒット化したCas9を発現する。標的とするPAM配列の上流20塩基をBbsI制限酵素部位に挿入するだけでノックアウトベクターが完成する。pCAG-EGxxFPレポータープラスミドには、標的配列を含む500塩基ほどを挿入すれば良い。
- (b) pCAG-EGxxFPレポータープラスミドをpX330プラスミドと同時に細胞へ導入すると、pX330から発現したCas9-gRNA複合体によりレポータープラスミドに挿入された標的配列が切断される。標的配列の前後にある重複領域を利用した修復によりEGFP発現カセットが復元されると、細胞は蛍光を発する。
- (c) トランスフェクション後、48時間で撮影した写真。明るさに応じてスコア付けできるので、明るいものを選んで受精卵に注入する。

関西実験動物研究会の歩み

— 創立 30 周年を迎えて —

阿部敏男（関西実験動物研究会 幹事長）

創立 30 周年の記念大会を迎えられるにあたり、会員の皆様とともに心からお慶び申し上げます。また本研究会を今日の発展に導かれた歴代の会長、評議員、幹事・監事の皆様、また、側面よりご支援とご協力を賜りました維持会員の皆様に心より感謝し、お礼申し上げます。

さて、本研究会の「あゆみ」については、平成 20 年に開催された第 100 回記念大会にて芹川忠夫第三代会長が詳しく述べられています¹⁾、本稿ではそれ以降の活動状況も加味して研究会の発展にご尽力された諸先輩・同僚、さらには記念大会や関連行事等々を思い起こしながら「研究会の歩み」を振り返ってみることにいたします。

沿革

関西実験動物研究会は、故山田淳三京都大学名誉教授の呼びかけとそのお考えを支援する人達のご尽力で、昭和 59 年（1984 年）3 月 16 日に「関西地区において実験動物学ならびに関係諸科学の発達を図る事」を目的として発足しました。

これを遡ること昭和 53 年 6 月に山田先生は京都大学において本研究会の前身となる「実験動物セミナー」を始められ、昭和 55 年 3 月にはさらに「関西実験動物集談会」へと拡大されて現在の「関西実験動物研究会」の礎を築かれました（図 1）。



山田淳三先生

発起人名簿 63 名には、当時、関西圏において実験動物あるいは動物実験に深く関心を抱かれていた大学や企業の諸氏が名を連ねられています（図 2）¹⁾。

昭和 53 年の「実験動物セミナー」を源流に、起算して 36 年有余、研究会の流れは、宮嶋宏彰 第二代会長（当時 武田薬品工業（株））、芹川忠夫 第三代会長（京都大学名誉教授）へと引き継がれ（図 3）、いつも変わらぬ会員のご支援のもと、研究分野の枠を超え、実験動物と動物実験に関心のある方々の集まりの場、また知識と情報の交換の場として研究・業務の発展と科学の進展に寄与すべく活動が継続されてきました。

昭和 59 年に発足した関西実験動物研究会は平成 26 年 3 月に創立 30 周年を迎えます。

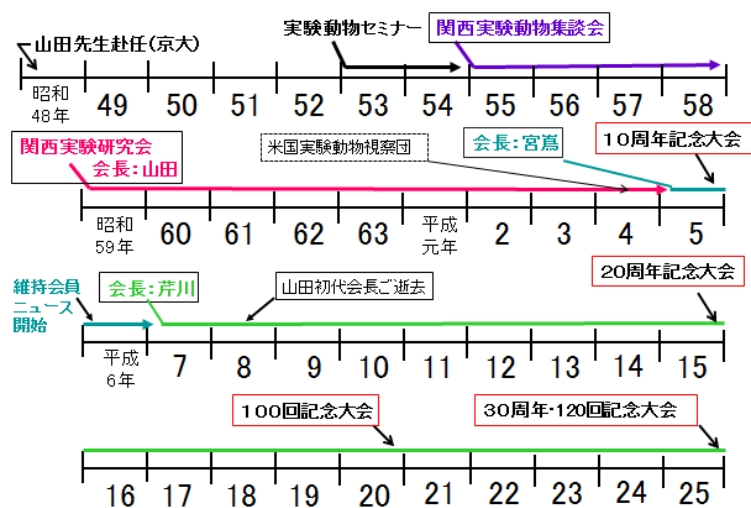


図1 関西実験動物研究会のあゆみ

図2 現・旧評議員の発起人



発起人名簿 63 名の中
で現在又は旧評議員の
皆様



図3 歴代の会長

運営ならびに活動の骨子

役員として評議員、幹事（庶務・会計、集会、会誌の各担当）および監事が構成され、3年毎に役員人事が行われ、歴代の会長のリーダーシップのもと、幹事が中心となって①学術集会（研究会）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の運営がなされています。

会員

平成25年10月現在の会員数は、個人会員205名、維持会員41団体であり、大学関係、公立研究機関、製薬企業ならびに実験動物関連企業等々、様々な領域の皆様からご参加をいただいています。

名誉会員として山田淳三初代会長（享年67歳）、宮脇宏彰第二代会長のお二人が第14回評議員会（平成8年3月8日）にて推薦・承認されました。会員名簿を眺めてみますと、ご夫婦で会員の桑村 充（大阪府大）&桑村有規（㈱新日本科学）、田島 優（阪大）&田島朋子（大阪府大）、並びに水野信哉&水野 洋子（両名阪大）、親子で会員の清水英男&清水何一（清水実験材料㈱）、また海外から常連として参加されている Dr. Kang, Byeong-Cheol（Seoul National University、図5）など、多彩な顔ぶれで構成されている研究会でもあります。

会員の推移について、個人会員は昭和50年の設立当時の290名に対して平成25年では205名に、また維持会員は昭和61年の設立当時の21社に対して平成25年では41社とそれぞれ変動がみられますが（図4）、いずれにしても研究会の今後のさらなる活性化に期待するところであります。

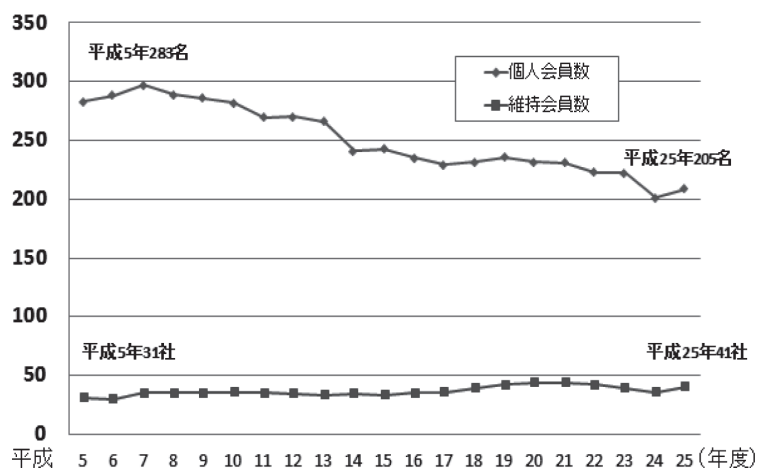


図4 個人会員および維持会員の推移（平成5～25年度）

学術集会（研究会）

学術集会（研究会）は、毎年4回（3月、6月、9月、12月）、京都・大阪・周辺関西圏で開催されています（図6）。3月の研究会には評議員会、総会、特別講演、6月、9月の研究会には講演会またはシンポジウム、また12月の研究会には会員の発表と特別講演、さらに例年多数の会員が参加する忘年会をかねた懇親会が企画され、会員相互の密な情報交換の場が提供されています。学術集会は昭和59年の第1回研究会から数えて、今回で第120回を迎えました。但し、第17回と19回研究会の間に昭和63年の臨時大会が開催されていますので、正しくは通算121回目の大会ということになります。これらの研究会では、実験動物、動物実験並びにその周辺領域のアカデミックあるいは実用的な内容が選定され、テーマとして取り上げられています。

維持会員から新しい情報の提供が行われる「維持会員ニュース」のセッションが宮脇会長の時代に設けられ、また芹川会長の時代には研究会毎にテーマ名が設けられました。さらにタイムリーな話題を取り上げた「トピックス」のセッションが第102回研究会から開始されました。各研究会における開催記録については資料1～3を、またそれ以前の開催記録につきましては「参考資料¹⁾」を参照ください。

I 記念大会

1) 創立10周年記念大会（第40回研究会）

第二代宮脇会長の下で、平成5年12月11日に京大会館にて開催され、宮脇会長の特別講演、信州、東海および岡山の各実験動物研究会の代表者によるメッセージ、並びに初代山田会長の「関西実験動物研究会10周年のあゆみ」と題する講演会がもたれました。

2) 創立20周年記念大会（第80回研究会）

第三代芹川会長の下で平成15年12月5日に京都市勧業館みやこメッセにて開催され、「動物実験の明日を考える」と題する記念フォーラムが持たれました。

3) 第100回研究会（創立25周年記念大会）

創立25周年記念と併せて平成20年12月5日に聖護院御殿荘にて開催され、「動物実験～過去・現在・未来～」と題する特別シンポジウムにおいて、関西実験動物研究会のあゆみ（芹川忠夫）、動物実験と法規準（黒澤努）、遺伝育種（庫本高志）、微生物感染症（池郁生）、環境（朱宮正剛）、疾患モデル（岩倉洋一郎）、創薬（小高裕之、武内浩二）という異なる分野をテーマに論ぜられ、特別講演には「モデル動物の開発と脳研究（中西重忠）」が持たれました。さらに初めての試みとして口頭発表に換えて「ポスター発表」が企画され、会員の研究発表（36題）、自由な発想によるユニークな発表（3題）および維持会員のパネル展示（7題）が大広間に整然と掲示され、各ポスターの前

で熱心に説明・デスカッションするなど、極めて盛況であった光景が思い出されます。

100 回記念大会に臨む芹川忠夫会長の心意気が強く感じられた会でした。当然のことながら、韓国からご参加いただいた皆様も交えて懇親会は大いに盛り上がり、談義に花が咲いたことが脳裡に鮮明に焼き付いています（図5）。



第100回大会 韓国からのお客様

図5 第100回研究会
(後列左 Dr. Kang, Byeong-Cheol)

4) 第120回研究会及び創立30周年記念大会

平成25年12月6日に聖護院御殿荘にて開催されました。

II 維持会員ニュース

維持会員ニュースは計39回の研究会において延べ82社から発表をいただきました（資料3）。初回は第41回研究会（平成6年3月）において、大気社による「エアーカーテン方式によるケージラック」、および日本チャールスリバー株式会社による「生産業者における品質管理・・・これからの課題」と題する発表でした¹⁾。

これまでの発表回数上位ベスト3は下記のとおりです。

発表6回：日本エスエルシー(株)

4回：日本チャールスリバー(株)、日本クレア(株)

3回：(株)ケー・エー・シー、(株)イナリサーチ、(株)新日本科学、白井松器械(株)、エルエスジー(株)

III 学術集会会場

毎年4回、京都・大阪・周辺関西圏で開催される研究会の会場は、各回担当幹事の方々によって設定されてきました（図6）。開催回数ベスト5は下記のとおりです。

開催36回：京大会館

17回：大阪大学「銀杏会館」

14回：京都大学楽友会館

12回：みやこメッセ

4回：京都市教育センター、大阪大学医学部講義棟、大阪大学コンベンションセンター：

図6 学術集会会場

京 都



関西会館 (14回)



京大会館 (36回)



芝蘭会館 (2回)



みやこメッセ (12回)



京都市教育文化センター (4回)



京都市国際交流センター



聖護院御殿荘 (3回)

() : 開催回数

大 阪



銀杏会館 (17回) <大阪大学>



コンベンションセンター (4回)



千里ライフサイエンスセンター (2回)



大阪府立大学 学術交流会館 (2回)



大阪医科大学 別館



大阪科学技術センター (3回)



国立循環器病センター



医薬基盤研究所

大阪大学工業会館
大阪大学講義棟

三和化学研究所
大阪メディカルホール (2回)

武田薬品工業 吹田研究所

神 戸



神戸大学 神緑会館



神戸大学 シスメックスホール



臨床研究情報センター

滋 賀



琵琶湖ホテル



滋賀医大

大津市警察会館
おおみ荘

奈良



猿沢荘

会誌およびホームページ

記録集として会誌「関西実験動物研究会会報」が当該年度の集大成版として年1～2回発行され、研究会の講演・発表内容、評議員会、総会、幹事会等の開催記録や会務が掲載されています。講演会内容の掲載について、以前は編集担当者が録音テープを繰り返し聴きながら文章を書き下ろしていたので、校正等も含めて大変手間のかかる作業でしたが、近年は講演者に執筆を依頼していることで編集作業は円滑に進むようになりました。しかし原稿提出が遅れて山本好夫編集委員長を悩ますこともありました。

会員はじめ関係諸機関・諸学会との情報交換・連絡として、ホームページが開設され、各研究会の案内が JALAS メーリングリストなどを通して会員以外にも通知されています。
<http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/kansai/kansai.html>

幹事・監事 等

前述の如く、通常の研究会活動は幹事（庶務・会計担当、集会担当、会誌担当）および監事が中心となって企画・運営がなされてきました（資料4、5）。

とくに学術集会（研究会）の開催にあたっては講演テーマの選定、講演者への依頼、会場設営等々で幹事の皆さんには大変ご足労いただいています。

本会設立当初（第1期）には山田淳三初代会長のもとで、庶務・会計を 芹川忠夫（京大・医）、集会を及川 弘（塩野義・油日）、牧野 進（塩野義・油日）および鳥居隆三（滋賀医大）、編集を宮脇宏彰（武田薬品）、新谷 聡（循環器病センター）および山中久（田辺製薬）、並びに監事を増田恭造（日本クレア）および佐々木 弘（日本チャールスリバー）の各氏が担当されていました¹⁾。

現在は第9期の幹事および監事が運営にあたり、第8期と同一メンバーではありますが、芹川会長のもと総勢22名で構成されており（図7）¹⁾、第1期の9名に比べて大幅な人員増となっています。これは学術集会を開催するにあたり、近年の科学分野における進展目ざましい状況を勘案してより効果的に企画・運営するために、第6期（平成11～13年）から集会担当幹事の増員が図られたことによります。

懇親会担当特別幹事の浅野裕三氏、歴代の会長のもとで事務を担当された山口千佳子さんと江南佳子さんは記憶に新しく、また聖護院御殿荘の大西氏には例年快く会場を提供していただきました（右挿入図）。



浅野裕三 集会(特別)幹事



山口千佳子さん
事務局



聖護院御殿荘
大西様

江南佳子さん 事務局

図7 第9期の幹事・監事

関西実験動物研究会幹事(平成23-25年度) 集会担当



旧幹事・監事(写真に登場しなかった皆様)として会の運営にご尽力いただいた石川尚明、江馬 真、岡本宗裕、北田一博、佐々木 弘、清水英男、新谷 聡、前田敏宏、増田恭造、三日月勝美、宮脇茂樹および森岡宏至の各氏に改めて感謝を申し上げます。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究会の発展に貢献された歴代の会長、評議員、幹事・監事の皆様、また、ご理解、ご支援とご協力を賜りました多くの会員並びに維持会員の皆様に心より感謝し、お礼申しあげます。また会の運営に熱心に携わって頂いた歴代の幹事、監査の皆様方には数々のご助言とご協力をいただきありがとうございました。これまで円滑に運営ができましたのも幹事諸氏の温かい縁の下のご支援のお蔭でした。

最後になりますが、第三代芹川忠夫会長には卓越したリーダーシップのもとで本研究会を長年にわたり導き、発展させていていただいたこと、心からお礼申しあげます。

関西実験動物研究会が未来に向けてさらに大きく羽ばたくことを祈念して。

参考資料

¹⁾： 芹川忠夫 関西実験動物研究会会報，平成 20 年 12 月，29 号，11～37.

添付資料

1. 関西実験動物研究会 研究会開催記録（第 101 回～第 120 回）
2. 関西実験動物研究会 館員研究発表記録（第 104 回～第 116 回）
3. 関西実験動物研究会 維持会員ニュース（第 101 回～第 119 回）
4. 関西実験動物研究会 歴代会長・幹事・監事名簿（第 1 期～第 10 期）
5. 関西実験動物研究会の歴史

資料1 関西実験動物研究会 研究会開催記録(第101回～第120回)

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第101回	H21.3.6 京大会館	講演会 動物を熟視して考える 脊椎動物が季節を読み取るしくみをさぐる	吉村 崇	名大・院・生命農学
		欺き・協力・優しさ・ねたみーフサオミギザルの社会的知性ー	藤田和生	京大・文・心理
第102回	H21.6.26 神戸大学瀧川会館	講演会 シリーズ「われらが評議員の研究から学ぶ」第2回 野生集団より育成されたマウス系統の実験動物としての貢献(総論)	宮下信泉	香川大・総合生命科学研究センター
		退役動物; 生化学研究における有用性	山本好男	三重大・創造開発センター・伊賀研究拠点
		トピックス 超小型ブタ(マイクロミニブタ)の開発と今後の展望	伊藤勝彦	富士マイクラ(株)
第103回	H21.9.4 京大会館	講演会 神経・筋疾患の病態とモデル動物 ニワトリ筋ジストロフィー責任遺伝子の同定とモデル動物としての展開	万年英之	神戸大・院・農・動物遺伝育種
		モデル動物によって大脳基底核疾患の病態を探る	南部 篤	自然科学研究機構生理学研・生体システム研
		トピックス 実験動物施設におけるホルムアルデヒド規制とその国内外における対応	池田卓也	日本チャールズ・リバー株式会社
第104回	H21.12.11 みやこめっせ	特別講演 小動物を用いた生体光イメージング	近藤科江	京都大・院・医
		炎症関連大腸発がんモデルの作出とその発がん・化学予防研究への活用 会員研究発表14題	田中卓二	金沢医大・東海細胞研
第105回	H22.3.19 京大会館	講演会 器官発生・幹細胞分化の基本原理を探る 器官形成のモデル動物としてのニワトリ胚	八杉貞雄	京産大・工・生物工学
		哺乳動物の造血幹細胞ニッチ	長澤丘司	京大・再生研・生体システム制御
第106回	H22.6.11 阪大コンベンションセンター	講演会 動物実験第三者認証とその後 国動協と公私動協の「動物実験に関する相互検証プログラム」	喜多正和	京都府立医大
		日本実験動物協会第2期実験動物生産施設等福祉調査	上田正次	(株)フェニックスバイオ
		ヒューマンサイエンス振興財団による動物実験実施施設認証を受けて	山田靖子	国立感染症研
		AAALAC International 国際実験動物管理公認協会認証	須藤有ニ	アステラスリサーチテクノロジ(株)
第107回	H22.9.10 滋賀医科大学	講演会 難病克服への実験動物を用いたアプローチ 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	熊本大・生命科学・病態情報解析
		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
		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・霊長類医学科学研究センター

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第108回	H22.12.10 みやこめっせ	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 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
		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・霊長類研究所
		会員研究発表13題		
第109回	H23.3.4 京都大学楽友会館	講演会 細胞機能の基礎研究と新規の疾患リソース研究 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
		エビ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、JST さきがけ
		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
第110回	H23.6.17 大阪大学銀杏会館	講演会 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 CIOMSの指針	笠井憲雪	東北大・院・医・動物実験施設
		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・院・医・ア ビ°-疾患研究センター
		OIEの実験動物福祉綱領	黒澤 努	大阪大・院・医・動物実験施設
		第2部 大震災の経験 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・内科
		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・動物実験施設
第111回	H23.9.9 医薬基盤研究所	講演会 医薬品の開発を支える基盤研究-安全性評価研究の進展- 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
		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)
		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
		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
第112回	H23.12.2 京都大学楽友会館	特別講演-1 生体分子イメージング：概要と臨床画像診断・創薬研究への展開	佐治英郎	京都大・院・薬・病態機能分析学
		特別講演-2 モデル動物を用いた糖尿病の遺伝解析：1型、2型、そして・・・	池上博司	近畿大・医・内分泌・代謝・糖尿病内科
		会員研究発表12題		
第113回	H24.3.2 京都大学楽友会館	講演会 マウスモデルを用いた神経機能の解明 内耳有毛細胞の感覚毛形成における Whirlin の役割	吉川欣亮	東京都医総研・哺乳類遺伝プロジェクト
		パーキンソン病の分子病態—動物モデルを中心に	高橋良輔	京都大・医・脳病態生理学・臨床神経
		トピックス 家畜伝染病予防法施行規則の改正	喜多正和	京都府立医大・院・医・実験動物センター

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第114回	H24.6.15 大阪府立大 りんくうキャンパス	講演会 泌尿生殖器の発生と病態 発生制御遺伝子と病態ミュータントモデルから考える生殖器官形成	山田 源	和歌山医大・先端医学研・遺伝子制御
		ラット実験モデルの解析から見てきた腎線維化の病理発生	山手丈至	大阪府大・生命環境科学研・獣医病理
		トピックス 実験動物における環境エンリッチメント充実への取り組み	小山公成	アステラスリサーチテクノロジー（株）
第115回	H24.9.7 大阪大学銀杏会館	講演会 動物実験実施体制の課題 わが国の動物実験実施体制の課題と将来：動物愛護法改正問題への製薬協の取り組み	中村和希	日本製薬協・医薬品評価委員会・基礎研究部会
		動物実験の自主管理の推進に向けて－HS財団の動物実験外部評価・検証制度－	佐々木 弥生	(財)ヒューマンサイエンス振興財団
		Laboratory animal welfare might be resolved by education and laws	PARK, J.H.	Seoul National University
第116回	H24.12.14 聖護院御殿荘	特別講演-1 獣医外科学、実験動物学、実験動物医学、動物実験代替法学	黒澤 努	大阪大・医・実験動物医学
		特別講演-2 実験動物の領域に潜り込んで得たもの	芹川忠夫	京都大・院・医・動物実験施設
		トピックス Introduction of the Education Program for Animal Experimental in Seoul National University 会員研究発表14題	Jung Sun MIN	Seoul National University
第117回	H25.3.1 京都大学楽友会館	講演会 アカハライモリとゼブラフィッシュを用いて生命原理を解き明かす アカハライモリのモデル動物化に向けた資源・技術・情報基盤の研究：外傷性疾患の治療と再生研究への適用を視野に	千葉親文	筑波大・脳神経情報学・再生生理
		ゼブラフィッシュの色素細胞間相互作用とパターン形成	渡邊正勝	大阪大・生命機能研・パターン形成
		トピックス 実験用シロネズミの起源	庫本高志	京都大・院・医・動物実験施設
第118回	H25.6.14 神戸大学・医・シスメックスホール	講演会 遺伝子改変技術を用いた糖尿病および動脈硬化研究 脂質代謝・動脈硬化研究におけるウサギの有用性 - apoA- II トランスジェニックウサギの開発と応用 -	小池智也	神戸大・院・医・動物実験施設
		新たなインスリン分泌メカニズムと糖尿病治療薬開発における意義	清野 進	神戸大・院・医・分子代謝医学
		トピックス 高活性型TALENの開発と様々な動物におけるゲノム編集	山本 卓	広島大・院・理・数理分子生命理学
第119回	H25.9.13 大阪大学銀杏会館	講演会 生体イメージングの最前線 -免疫学の新たな世界- 生きた実験動物での生体イメージング～免疫細胞の動く世界の解析	石井 優	大阪大・院・医/生命機能・免疫細胞生物
		ライブイメージングにより明らかになった皮膚免疫の新世界	柘島健治	京都大・院・医・皮膚科学
		トピックス CRISPR/Cas9 システムを用いたマウスゲノム編集	伊川正人	大阪大・微生物病研・感染動物実験施設

回	日時・会場	テーマ・演題	講演者	所属
第120回	H25.12.6 聖護院御殿荘	30周年記念大会		
		1. 関西実験動物研究会の歴史と未来		
		1) 関西実験動物研究会の歩み	阿部敏男	関西実験動物研究会 幹事長
		2) 企業（ブリーダー）から見た関西実験動物研究会	上田正次	(株)フェニックスバイオ 宇都宮事業所
		3) 企業（ユーザー）から見た関西実験動物研究会	山添裕之	住友化学(株) 生物環境 科学研究所
		4) 関西実験動物研究会、その貢献と期待される役割、一大学関係者の経験から	塩見雅志	神戸大・院・医・動物実 験施設
		5) 関西実験動物研究会の展望	芹川忠夫	関西実験動物研究会 会長
		2. シンポジウム：動物実験の今後を考える		
		1) 「動物の愛護及び管理に関する法律」の今後	喜多正和	京都府立医大・院・医・ 実験動物センター
		2) 獣医学における実験動物学の今後	岡田利也	大阪府立大・院・生命環 境科学・実験動物
		3) NBRPマウスの今後	吉木 淳	理研バイオリソースセン ター・実験動物開発室
		4) 変異ES細胞バンクは変異マウス作製に代替たりうるか？	竹田潤二	大阪大・医・動物実験施 設、大阪大・院・医・環 境生体機能
		5) イメージング技術を用いた生体機能の cutting edge	八木田和弘	京都府立医大・院・医・ 総合生理
		3. 特別講演		
		動物の遺伝子操作から学ぶ胚発生制御	近藤寿人	大阪大・院・生命機能研 究科

資料2 関西実験動物研究会 会員研究発表記録（第104回～第116回）

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第100回	H20.12.5	大野民生ら	名大・院・医	マウスのマラリア原虫感染抵抗性遺伝子座の解析
	聖護院御殿荘	横井伯英ら	神戸大・院・医	1型糖尿病修飾遺伝子座の解析
		岡島涼子ら	京大・院・医	LEXF/FXLE リコンビナント近交系を用いたキンドリング感受性座位の同定
		矢ヶ崎佳代子ら	京大・院・医	ダンボラットの形態解析と遺伝解析
		中西 聡ら	京大・院・医	ラット <i>Arp 3</i> 、 <i>Abcg 5</i> 、 <i>Srebf 1</i> 遺伝子の機能多型ジェノタイピング
		高木弓枝ら	京大・院・医	RT1領域解析のためのSSLPマーカーセットの開発とゲノプロファイル
		小谷祐子ら	阪大・医	Mouse Hepatitis Virusの遺伝子解析
		上野 渉ら	放医研・基盤技術セ	放医研で維持されているマウス系統の遺伝学的モニタリングシステムのためのチャートの作成および杯凍結と組み合わせた今後の展開
		Byeong-Chheol KANGら	Seoul National Univ.	Establishment of DMN-induced liver cirrhosis model in NOD/SCID mouse for evaluation of the efficacy and safety of human mesenchymal stem cells
		飛田康孝ら	(株)ケー・エー・シー	Fe-NTA誘発酸化ストレスモデルを用いた抗酸化作用の評価における投与方法の重要性について
		吉見一人ら	京大・院・医	Kyoto Apc Deltaラットを用いた大腸腫瘍誘発試験
		今田竜一ら	(株)新日本科学	気道内への直接曝露による喘息モデル作成の確立
		Kori YABUUCHI	Osaka Univ. Med.	Infection with <i>Pneumocystis carinii</i> in rat
		石田紗恵子ら	京大・院・医	ラットENUミュータントアーカイブ：LGI1標的遺伝子のスクリーニング
		鈴木 昇ら	三重大・生命セ	横紋筋肉腫モデルマウスに発症する悪液質関連遺伝子の解析
		斉藤浩充ら	三重大・生命セ	電位依存性Ca ²⁺ チャネルα1A蛋白質ノックダウン及び脳の領域特異的ノックアウトマウスの解析
		西 泰明ら	三重大・生命セ	発癌モデルマウスの生体腫瘍に対するX線CT装置による解析可能性の検討
		喜多正和ら	京都府立医大・院	<i>Helicobacter pylori</i> 感染症におけるサイトカインの役割
		西井康恵ら	畿央大・健康科学	セルロース欠乏飼料と喫煙曝露がC57BL/6マウスの腸内環境と栄養状態に及ぼす影響
		坪田裕司ら	大阪河崎リハ大	欠神発作脳波自動判定システムにより抽出された pre-clinical 波の発作リズムの変動
		狗巻和男ら	大阪府大・獣医病理	<i>dmy</i> ラットのミエリン崩壊におけるグリア細胞の役割
		貝塚理恵ら	大阪府大・獣医病理	小脳中部欠損(CVD)ラットの脳小脳異形成の病理発生における <i>Unc5h3</i> と <i>Netrin1</i> の役割

回	日時・会場	講演者	所属	演題
		杉本潤一郎	(株)ボソリサーチセンター	カニクイザルにおける視覚機能検査
		和田 聡	(株)三菱化学安全科 研	カニクイザルを用いたホルター心電図による薬剤誘発性QT延長および不整脈の評価
		勝亦芳裕	(株)ボソリサーチセンター	Tlk あるいはqc 遺伝子を有するラット胎児の形態学的な特徴
		山本 大	(株)三菱化学安全科 研	日本白色種ウサギの胎児にみられた雄起因の生殖器奇形
		中村紳一朗	滋賀医大	老齢カニクイザルの神経原線維変化と老人斑
		大竹 聡	(株)オリエンタルバ イオサービス	体外受精を用いたマウス計画生産への取り組み
		内尾こずえ	医薬基盤研・生物資 源	胚移植由来ネフローゼマウス（ICGNマウス）産仔の病態解析
		佐藤順子	(株)三菱化学安全科 研	メスの観察からよむカニクイザル雌性周期の回転状況および生殖器の形態的特徴
		岩谷千鶴	滋賀医大	カニクイザル連続微量投与による卵巣刺激法の検討
		山崎樹里	滋賀医大	クライオトップを用いたカニクイザル顕微授精胚の凍結保存および凍結胚由来産子の獲得
		芹川忠夫	京大・院・医	NBRP-Ratの「過去」「現在」「未来」
		松田潤一郎	医薬基盤研	医薬基盤研究所 実験動物研究資源バンクの活動紹介
		小浦美奈子	医薬基盤研	医薬基盤研究所で系統維持している各種齧歯類（スナネズミ、マストミス、シリアンハムスター）の特性
		和田あづみ	東京慈恵医大	<i>Phodopus</i> 属ハムスターの実験動物化—モデル動物候補としての突然変異収集—
		庫本高志	京大・院・医	「養鼠玉（ようそたま）のかげはし」にみる日本人とネズミ
		塩見雅志	神戸大・医	WHHL, WHHLMIウサギ開発の歴史
		西川 哲	放医研	実験動物学と「動物実験学」
		熊藤健太	清水実験材料(株)	人にやさしく 菌にきびしく スーパー次亜水
		長嶋和浩	日本照射サービス (株)	実験動物用器材のガンマ線滅菌について
		高橋尚士	(株)ピオスタ	株式会社 ピオスタ会社概要
		橋本貴生	(株)サンブラネット	癌研究のためのマウスおよびラットモデルの有用性
		塩田 明	(株)フェニックスバ イオ 宇都宮営業所	組換えBACテクノロジーを利用した『セミ・ノックアウトラット』の開発
		関あずさ	ハムリー(株)	カニクイザルを用いた骨代謝試験の紹介 —OVXモデルと骨折モデルを中心として—
		金剛仙太郎	ジャパンファーム	クラウン系ミニブタの特徴

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第104回	H21.12.11 みやこめっせ	加藤啓子	大阪府大・生環科学	てんかん発症過程に関わる成長ホルモンの役割
		坪田裕司ら	大阪河崎リハ大	欠神発作脳波 pre-clinical 波の発作リズムに見られたパラツキ
		小谷祐子ら	阪大・医	実験動物の <i>Entamoeba muris</i> 検査法の検討
		池 郁生ら	理研BRC	マウスの消化管原虫、 <i>Spironucleus muris</i> の検査について
		小浦美奈子ら	医薬基盤研	クローズドコロニーddYの中から発見された疾走を伴うてんかん様の症状を呈するマウスについて
		石田紗恵子ら	京大・院・医	Phenotype-driven mutagenesisによる新規てんかんモデルラットの開発
		井上聡子ら	京大・院・医	日本産野生由来近交系ラット DOB/Oda の特性解析
		和田あづみら	東京慈恵医大	<i>Phodopus campbelli</i> に発見された黒眼黄色被毛色突然変異ハムスターのtyrosinase-related protein 1遺伝子 cDNA塩基配列には欠損領域が存在した
		平野隆爾ら	大阪府大・獣医病理	水頭症ミュータントhhyマウスの病態解析
		中村紳一朗ら	滋賀医大	高齢ニホンザルのtau蛋白蓄積
		喜多正和ら	京都府立医大・院	マウス根尖病巣におけるIL-17の役割
		吉見一人ら	京大・院・医	炎症性腸疾患モデルとしての Kyoto Apc Deltaラット
		横井伯英ら	神戸大・院・医	SDTラットにおける主要組織適合遺伝子複合体のゲノムプロファイリング
		斉藤浩充ら	三重大・生命セ	遺伝子改変技術を用いて作成した癌悪液質モデルマウスの解析
第108回	H22.12.10 みやこめっせ	中西 聡ら	京大・院・医	CycleavePCR法を用いたラット系統の遺伝子判定について
		斉藤浩充ら	三重大・生命セ	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
		和田あづみら	東京慈恵医大	<i>Phodopus campbelli</i> 由来近交系に発見された胃癌発症例
		鈴木 昇ら	三重大・生命セ	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
		喜多正和ら	京都府立医大・院	炎症性腸疾患(IBD)マウスモデルにおけるγ型IFNの役割
		加藤啓子	京都産大・総合生命科	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
		小谷祐子ら	阪大・医	大規模動物実験施設におけるMurine Norovirus汚染状況
		池 郁生	理研BRC	モニタリング対象微生物の生物学
		横井伯英ら	神戸大・院・医	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
		滝澤明子ら	京大・院・医	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
		久保 薫ら	奈良医大	エラストーゼ誘導肺気腫は繊維除去食および欠食で促進する
		吉見一人ら	京大・院・医	KADラットを用いた大腸癌化学療法試験法の確立
		Huajin Pangら	阪大・院・医	ラットの三種混合注射麻酔と拮抗薬

回	日時・会場	講演者	所属	演題
第112回	H23.12.2 京大楽友会館	中村紳一朗ら	滋賀医大	アルツハイマー経口ワクチン接種の老齡カニクイザルにおけるアミロイドβタンパクの解析
		坪田裕司ら	大阪河崎リハ大	前方リーチ距離と足趾把持力の関係に見る高齢者モデル動物の必要性
		久保 薫ら	奈良医大	ホエイベブチド含有補助食品はC57BL/6マウスにおけるエラストーゼ誘導肺気腫を抑制する
		喜多正和ら	京都府立医大・院	<i>Porphyromonas gingivalis</i> による心筋炎の誘発とその機序
		横井伯英ら	神戸大・院・医	自己免疫性1型糖尿病および甲状腺炎の発症機構における主要組織適合遺伝子複合体(MHC) クラスⅡ分子の役割
		石田紗恵子ら	京大・院・医	Episodic ataxin type1 (EA1) のモデルラットADMSの特性評価
		北田一博ら	北大・院・理	遺伝子トラップラットを用いた大脳皮質における Netrin4の発現解析
		竹鶴裕亮ら	京大・院・医	F344/Stm ラットにおける効率的な卵子および杯採取法の検討
		西山瑛美ら	武庫川女子大・薬	マウス由来繊維芽細胞(3T3-L1)を用いた検討
		大西浩之ら	阪大・院・医	虚血腎傷害マウスを用いた骨髓幹細胞による血管内皮再生分子機構の解析：SDF-1/CXCR4シグナル経路の重要性
		山田泰広ら	京大・iPS細胞研	細胞リプログラミングと発がん
		斉藤浩充ら	三重大・生命科学研	BMPRI1A 介在シグナル低下による頭顔面形成異常の発症機構
第116回	H24.12.14 聖護院御殿荘	麓 直浩ら	京大・院・医	LGI1変異ラット音刺激誘発けいれんモデルにおける c-Fos免疫染色による解析
		庫本高志ら	京大・院・医	TRMラットにおける欠神てんかんの遺伝要因
		大野民生ら	名大・院・医	SM/JとA/J系統を起源とするマウス体系的遺伝解析系を用いた血中中性脂肪濃度を規定する遺伝子の解析
		前川智樹ら	名大・院・医	マウスを用いたストレプトゾトシン誘発糖尿病感受性遺伝子の解析
		喜多正和ら	京都府立医大・院	薬剤耐性 <i>H.pylori</i> 感染症に対する補完代替療法
		鈴木 昇ら	三重大・生命科学研	インターロイキン6はカヘキシアの病態維持作用だけでなく、カヘキシア誘導能を付与する因子として作用する
		渡邊仁美ら	京大・再生研	自然免疫因子リボカリン2は細胞膜リン脂質フォスファチジルエタノールアミンに結合し、雌生殖路内で精子成熟を促進する
		久保 薫ら	奈良医大	喫煙暴露ラットに対する分子鎖アミノ酸の効果
		横井伯英ら	神戸大・院・医	ZFDMラット：新規肥満・糖尿病モデルの確立
		長谷川優子ら	大阪府大	ミエリン異常ミュータントdmyラットのミエリン崩壊における神経細胞の病態
		斉藤浩充ら	三重大・生命科学研	遺伝子改変肺がんモデルマウスを用いた発癌感受性関連遺伝子探索システムの作製と解析
		今野兼次郎ら	京都産大・総合生命科	内視鏡プローブを用いたマウスへの気管チューブ挿管と吸入麻酔
		ユウ インら	神戸大・院・医	正常カロリーの高脂肪・高糖質食がWHHLMIウサギに及ぼす影響
		小池智也ら	神戸大・院・医	急性冠症候群誘発モデル、WHHLMIウサギ

資料3 関西実験動物研究会 維持会員ニュース（第101回～第119回）

回	日 時	会 場	企 業 名	演 題
第101回	H21. 3.6	京大会館	日本チャールス・リバー(株)	日本チャールス・リバーにおける研究支援サービス
			(財) 動物繁殖研究所	動物繁殖研究所のメタボリックシンドロームモデル動物の紹介
第102回	H21. 6.26	神戸大学瀧川会館	有限会社メディア	超小型マイクロチップ（皮下埋込み）を用いた個体識別管理
			日本エスエルシー（株）	Slc:Wistar Hannover/Rcc の紹介
第103回	H21. 9.4	京大会館	日本クレア（株）	日本クレア（株）の受託業務とTaconicArtemis遺伝子改変マウスモデル作製・販売のご紹介
			(株)日本医科学動物資材研究所	実験動物用サル の現状と将来展望
第105回	H22. 3.19	京大会館	オリエンタル技研工業（株）	最新の室内除染技術：過酸化水素除染装置
			白井松器械（株）	作業環境改善のご提案
第106回	H22. 6.11	阪大コンベンションセンター	エルエスジー（株）	疾患モデルにおけるオープンソースダイエットの利用とその応用
第107回	H22. 9.10	滋賀医科大学臨床講義室3	(株)イブバイオサイエンス	イブバイオサイエンスのカニクイザル安定供給への取り組み
第109回	H23. 3.4	京大楽友会館	日本医科学動物資材研究所	今なぜ、Hannover Wistar なのかーガン原性試験への有用性ー
第110回	H23. 6.17	阪大銀杏会館	オリエンタル酵母工業株式会社	ミニブタの有用性
第111回	H23. 9.9	医薬基盤研究所	日本エスエルシー（株）	SHRSP系の新しいモデル動物
第113回	H24. 3.2	京大楽友会館	(株)ケー・エー・シー	(株)ケー・エー・シーの受託試験の紹介ー動物繁殖、ミニブタ試験、抗腫瘍試験
第114回	H24. 6.15	大阪府大 りんくうキャンパス	エルエスジー株式会社	ローデント用紙製環境エンリッチメントの紹介
第115回	H24. 9.7	阪大銀杏会館	白井松器械株式会社	女性労働基準規則の改正と環境改善製品
			日本チャールス・リバー(株)	重度免疫不全動物（NSGマウス）新規国内生産開始
第117回	H25. 3.1	京大楽友会館	(株)トランスジェニック	(株)トランスジェニックⅡ期棟稼働についてー可視化マウス、サル薬理試験 他ー
			(有)キョウエー	震災時の安全確保を目的とした実験動物研究施設の耐震対策
第118回	H25. 6.14	神戸大学・医・シスメックスホール	株式会社 エイチ・エス・ピー	弱酸性次亜塩素酸水溶液の活用について
第119回	H25. 9.13	阪大銀杏会館	日本エスエルシー(株)	Zuckerラットより見出された新しい疾病モデル動物の紹介

資料4 関西実験動物研究会 歴代会長・幹事・監事名簿（第1期～第10期）

期	会 長	庶務・会計	集 会	編 集	監 事
1期 S59～S61	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	及川 弘 (塩野義製薬)	宮脇宏彰 (武田薬品工業)	増田恭造 (日本クレア)
			牧野 進 (塩野義製薬)	新谷 聰 (循環器病セ)	佐々木 弘 (日本チャールズ リバー)
			鳥居隆三 (滋賀医大)	山中 久 (田辺製薬)	
2期 S62～S64	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	宮脇宏彰 (武田薬品)	増田恭造 (日本クレア)
			海野 隆 (日本シェーリング)	新谷 聰 (循環器病セ)	佐々木 弘 (日本チャールズ リバー)
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (田辺製薬)	高木貞明 (日本SLC)
				飯田晶敏 (大日本製薬)	
3期 H2～H4	山田淳三 (京大・医)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	飯田晶敏 (大日本製薬)	増田恭造 (日本クレア)
			海野 隆 (日本シェーリング)	石川尚明 (実生研)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (ラビトン研)	
				阿部敏男 (武田薬品工業)	
				三日月勝見 (塩野義製薬)	
				宮脇茂樹 (日本新薬)	
4期 H5～H6	宮脇宏彰 (武田薬品工業)	芹川忠夫 (京大・医)	内海健二郎 (ケーエーシー)	飯田晶敏 (大日本製薬)	清水英男 (清水実験材料)
			海野 隆 (日本シェーリング)	石川尚明 (藤沢薬品工業)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (ラビトン研)	
				阿部敏男 (武田薬品工業)	
				三日月勝見 (塩野義製薬)	
				宮脇茂樹 (日本新薬)	
4期 H7	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医)	内海健二郎 (大日本製薬)	飯田晶敏 (資生堂)	清水英男 (清水実験材料)
			海野 隆 (鐘紡)	石川尚明 (藤沢薬品工業)	高木貞明 (日本SLC)
			黒澤 努 (阪大・医)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			森岡宏至 (大阪府立大)	山中 久 (イナリサーチ)	
				阿部敏男 (武田薬品工業)	
				三日月勝見 (塩野義製薬)	
				宮脇茂樹 (日本新薬)	
5期 H8～H10	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (田辺製薬)	飯田晶敏 (資生堂)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	岡本宗裕 (阪大・医)	高木貞明 (日本SLC)
			海野 隆 (日本シェーリング)	新谷 聰 (循環器病セ)	
			黒澤 努 (阪大・医)	鳥居隆三 (滋賀医大)	
			森岡宏至 (大阪府大・農)	三日月勝見 (塩野義製薬)	
			森本純司 (大阪医科大)	宮脇茂樹 (日本新薬)	
				山中 久 (イナリサーチ)	
				山本好男 (滋賀医大)	

6期 H11~H13	芹川忠夫 (京大・医)	北田一博 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (田辺製薬)	飯田晶敏 (日本エスエルシー)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	岡本宗裕 (阪大・医)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (バイエル薬品)	新谷 聡 (循環器病セ)	
			海野 隆 (日本オルガノン)	鳥居隆三 (滋賀医大)	
			江馬 真 (国立医薬品食品衛生研)	三日月勝見 (塩野義製薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	宮脇茂樹 (日本新薬)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山中 久 (イナリサーチ)	
			塩見雅志 (神戸大・医)	山本好男 (滋賀医大)	
			田島 優 (阪大・医)		
			前田敏宏 (大日本製薬)		
7期 H14~H16	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (ボソリサーチセンター)	浅田 孝 (藤沢薬品工業)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	飯田昌敏 (日本エスエルシー)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (グラクソ・スミスクライン)	鳥居隆三 (滋賀医科大)	
			海野 隆 (日本オルガノン)	新谷 聡 (循環器病セ)	
			江馬 真 (国立医薬品食品衛生研)	中井伸子 (日本新薬)	
			岡田利也 (大阪府大・農)	宮脇茂樹 (日本新薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (イナリサーチ)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山本好男 (滋賀医大)	
			塩見雅志 (神戸大・医)		
			田島 優 (阪大・医)		
8期 H17~H19	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	浅野裕三 (ボソリサーチセンター)	浅田 孝 (先端医療振興財団)	清水英男 (清水実験材料)
			阿部敏男 (武田ラビックス)	飯田昌敏 (三菱化学)	高木貞明 (日本SLC)
			池田卓也 (日本チャールズ・リバー)	鳥居隆三 (滋賀医科大)	
			海野 隆 (シンバイオ製薬)	新谷 聡 (循環器病セ)	
			岡田利也 (大阪府大・農)	中井伸子 (日本新薬)	
			黒澤 努 (阪大・医)	山中 久 (イナリサーチ)	
			久保 薫 (奈良県立医大)	山本好男 (滋賀医大)	
			塩見雅志 (神戸大・医)		
			田島 優 (阪大・医)		
			前田敏宏 (ケーエーシー)		
9期 H20~H22 & 10期 H23~H25	芹川忠夫 (京大・医)	庫本高志 (京大・医) 喜多正和 (京都府立医大)	阿部 敏男 (武田ラビックス)	山本好男 (滋賀医大)	清水英男 (清水実験材料)
			池田 卓也 (日本チャールズ・リバー)	飯田晶敏 (三菱化学)	山崎章弘 (日本チャールズ・リバー)
			岡田 利也 (大阪府立大)	中村伸一郎 (滋賀医大)	
			黒澤 努 (阪大・医)	中井伸子 (日本新薬)	
			久保 薫 (奈良県立医大)		
			桑村 充 (大阪府立大)		
			近藤 玄 (京大・再生医科研)		
			塩見 雅志 (神戸大・医)		
			田島 優 (阪大・医)		
			坪田 裕司 (大阪河崎リハビリテーション大)		
			松田潤一郎 (医薬基盤研)		
			森本 純司 (大阪医科大)		
			山添 裕之 (住友化学)		
			横井 伯英 (神戸大・医)		

資料5 関西実験動物研究会の歴史

役員 任期	年		研究会開催月				会誌(発行月) その他
	西暦	邦暦	3月	6月	9月	12月	
1期	1984年	昭和59年	1回	2	3	4	山田先生初代会長就任
	1985年	60年	5	6	7	8	1巻1号(3月)
	1986年	61年	9	10	11	12	2号(10月)
2期	1987年	62年	13	14	15	16	3号(7月)
	1988年	63年	17	18	19	20	4号(6月)
	1989年	昭和64年 平成元年	21	22	23	24	5号(1月)、6号(9月)
3期	1990年	2年	25	26	27	28	7号(3月)、8号(10月)
	1991年	3年	29	30	31	32	9号(5月)
	1992年	4年	33	34	35	36	10号(5月)、11号(11月)
4期	1993年	5年	37	38	39	40回	宮脇会長就任(H5.3.5) 40回:10周年記念大会 12号(5月)、13号(12月)
	1994年	6年	41	42	43	44	14号(7月)
	1995年	7年	45	46	47	48	芹川会長就任(H7.3.10) ¹⁾ 15号(2月)、16号(12月)
5期	1996年	8年	49	50	51	52	山田淳三先生ご逝去 (H8.8.17) 17号(12月)
	1997年	9年	53	54	55	56	18号(12月)
	1998年	10年	57	58	59	60	19号(12月)
6期	1999年	11年	61	62	63	64	20号(12月)
	2000年	12年	65	66	67	68	21号(12月)
	2001年	13年	69	70	71	72	22号(12月)
7期	2002年	14年	73	74	75	76	23号(12月)
	2003年	15年	77	78	79	80回	80回:20周年記念大会 24号(12月)
	2004年	16年	81	82	83	84	25号(12月)
8期	2005年	17年	85	86	87	88	26号(12月)
	2006年	18年	89	90	91	92	27号(12月)
	2007年	19年	93	94	95	96	28号(12月)
9期	2008年	20年	97	98	99	100回	25周年:100回記念大会 29号、30号(12月)
	2009年	21年	101	102	103	104	31号(12月)
	2010年	22年	105	106	107	108	32号(12月)
10期	2011年	23年	109	110	111	112	山口さん退職(H23.3.11) 33号(12月)
	2012年	24年	113	114	115	116	34号(12月)
	2013年	25年	117	118	119	120回	120回:30周年記念大会 35号(12月)

¹⁾:残任1年間の4期会長。芹川会長就任(5期、H8.3.8)

2013.12.06

実験動物セミナー(昭53年～54年)、実験動物集談会(昭55年～58年)

企業（ブリーダー）から見た関西実験動物研究会

上田正次

株式会社フェニックスバイオ宇都宮事業所

1. はじめに

関西実験動物研究会の印象を一言でいうと、気軽に参加でき、大学や公的研究機関、企業などの様々なバックグラウンドの研究者の方々とフランクに意見交換ができる研究会である。実験動物という共通のキーワードのもとに、アカデミアや企業の研究者はもとより、ブリーダー、動物実験に関わる受託企業、機器メーカーなどで働く多様なメンバーが集まり、参加しないと損をしたような気になる情報交換の場を提供してくれる研究会である。年4回の集会のうち3回は週末の午後からということもあり、関西に限らず関東からでも気軽に参加できる。一方、年末には会員自身が発表する午前の研究会と著名な先生方を招いて講演いただく午後の特別講演に加え、研究会終了後の懇親会プラス泊まり込みの親睦会からなる魅力的な研究会である。この様な関西実験動物研究会を企業の立場から紹介させていただきます。

2. 関西実験動物研究会の演題構成と雰囲気

関西実験動物研究会というだけあって関西独特といってもいい雰囲気があり、たとえ実験動物にはじめて関わった未熟者が参加しても快く受け入れてもらえる懐の大きい研究会である。午後から半日の研究会は、大きな大会にありがちな分厚い要旨集から演題を探すという手間をかける必要がない。しかし、コンパクトにまとめられているにもかかわらず、非常に多くの情報が入手でき、自由に意見交換ができるお手頃な研究会といえる。

毎回設けられたテーマのもとで、講演2題とトピックスを合わせて3つの演題がある。研究情報はもとより動物実験を行うにあたり知っておかなければならない法規制やガイドラインの解説などを非常にタイムリーに提供してくれる。不得意な研究者が多い法規制を解りやすく解説してくれるのは何よりもありがたい。研究講演では、たっぷり1時間を使い、研究の背景から最新情報までをじっくり総説してくれる。維持会員ニュースでは、動物実験に関わる各種機器から受託サービス等の幅広い業種の紹介がなされる。この様に至れり尽くせりの構成となっている。これらをアレンジする集会幹事の方々の努力には、いつも感謝している。また、懇親会での情報交換も見逃せない。演者を囲んで非常にフラン

クに話ができる意見並びに情報交換の場であり、ホットな情報、「なま」の情報との出会いがある。

そのいくつかの例を紹介する。最近話題のゲノム編集技術では、TALEN 技術を第 118 回で、CRISPR 技術を第 119 回で、いずれもトピックスのコーナーで最新の技術情報が紹介された。一方、第 108 回の特別講演ではクローン技術が、第 112 回の特別講演では生体分子イメージング技術が紹介された。さらに、第 110 回では阪神淡路大震災と東日本大震災で震災被害を経験された動物施設の先生から「なま」の声を聴くことができ、第 117 回の維持会員ニュースでは耐震対策グッズも紹介された。これらの情報は動物施設を日常管理する者にとって非常に貴重な情報であった。

さらに、動物実験に関わる研究者にとって避けて通ることのできない実験動物福祉等に関わる法規制については、第 115 回で取りあげられた。日本製薬工業協会、ヒューマンサイエンス振興財団、ソウル大学から動物実験の実施体制についての紹介がなされた。また、第 110 回では、動物実験の国際動向として、CIOMS 指針、ILAR 指針、OIE 実験動物福祉綱領が紹介された。第 106 回では、第三者認証（国立大学法人動物実験施設協議会の相互検証プログラム、日本実験動物協会の第 2 期実験動物生産施設等福祉調査、ヒューマンサイエンス振興財団の動物実験実施施設認証、さらに、AAALAC International 認証）について、実際に査察を受けた施設の体験が紹介された。一方、国内法規への対応として、家畜伝染病予防法施行規則の改正が第 113 回で、実験動物施設のホルムアルデヒドに関わる規制（特定化学物質傷害予防規則の改正）が第 103 回のトピックスで解説された。

研究者をサポートする受託企業は、最新の実験ツールやシステムを取り入れて提供することが重要かつ不可欠なことであり、情報収集や意見交換の機会は本当に貴重で、特に、従業員 30 人足らずの小さな組織で、研究者の要望に応じて遺伝子改変動物を作製して供給している弊社のような会社にとっては、関西実験動物研究会は情報収集活動の場として欠かせない集会となっている。研究会では、研究者自身の経験を踏まえた貴重な話を聞き、問題解決へのアドバイスを直接得ることもできる。また、研究者が求めるサービスを知り、逆に提供できるサービスを研究者にアピールする機会が持てる。さらに、普段は機会の少ない実験動物関連企業に属する者同士がお互いの立場を意識せずに意見交換が行えるため、関西実験動物研究会への参加は欠かせない。

3. 関西実験動物研究会の魅力

繰返しになるが、最後に関西実験動物研究会の魅力をまとめた。まずは、演者と参加者

の距離が近いことがあげられる。活発な意見交換により情報交流が容易にできる。それに適した規模の研究会であり、参加者の意識も高い。そして、研究会での演題は、実にタイムリーでホットなものが取りあげられる。直ぐに役立つ最新情報がたくさん発信されている。このような素晴らしい企画は集会幹事の方々の努力の賜物といえる。また、何よりも魅力的なことは、気さくな雰囲気のなかで研究者の「なまの声」を聴けることがあげられる。特に、参加者の顔がよく見える規模の懇親会では、お酒が言葉をよりなめらかにしてくれるノコミュニケーション効果の付加価値も加わってくる。このような素晴らしい交流の場を提供してくれる魅力あふれる研究会である。

4. 関西実験動物研究会に期待するもの

本研究会は、「関西地区において実験動物学ならびに関係諸科学の発達を図ること」を目的に出発したとのことを先の演者からご紹介いただいた。関西実験動物研究会は、今や関西にとどまらず全国区になっている。勿論、内容も国際レベルであり、世界で活躍されている先生方から最新の情報を発信してもらえる学術集会となっている。

この様に魅力あふれる雰囲気に関西実験動物研究会の情報発信に期待するところは大きく、益々の発展を切望するものである。

企業の情報源は、「先進的」/「役立つ」ことが肝心。しかし、「高額で」、「遠く」、「時間がかかる」というのでは、使いにくい。その点、KLASは「気軽」で、かつ、「広角的な視点」で情報収集ができる。以下、その諸点に触れる。

1. KLASは「先進的で」・「役立つ」

大学・企業なども多くが、コネのある会員も多い。その分野の著名な先生方の講演が聞け、直接お話できる。腫瘍・神経・内分泌・発生・遺伝など、取り扱う分野・動物種に限定がない。実に見事にまったくない。

2. KLASは「気軽」に参加できる。

全国的にその分野の著名な先生方の講演が聞け、年4回も開催するが、年会費は3000円と安い。主に京阪神で開催するので地元製薬関連企業にとっては移動距離が短い。また、ほとんどが平日半日コースなので、多忙な研究者などがストレスを感じずに会社を離れられる。

3. KLASは「広角的な視点」に情報が得られる。

講演のほか、研究成果の発表の場と維持会員（業者さん）のPRが程よくミックスされ、情報に偏りが無い。関西の土地柄・風土をフルに生かしている。

KLASは日本実験動物学会の地方会ではない。実は、パラレルワールド/異次元である（来てみればわかる。名簿を見ても自明か？）。KLASには、北海道、東京、九州のみならず、西は韓国などからも会員が集まる。よって、「関西は、関八州/関東より西」と定義すべきかのか、悩んでしまう。面倒なのでいつも、「定義は、まあ、ええやんか」ということになってしまう。ほかにかわる研究会はないのである。

最後に、KLAS会員は、今後とも、自らKLAS人であることを意識し、自分が聞きたいを基本にテーマ設定をしていこうではありませんか。

関西実験動物研究会、その貢献と期待される役割、一大学関係者の経験から

塩見 雅志

(神戸大学 医学研究科 附属動物実験施設)

はじめに

1980年に始まった実験動物集団会が発展し、1984年3月に関西実験動物研究会がスタートし、2013年12月に創立30周年記念大会、そして第120回研究会が開催された。研究会を年4回、120回継続している学術団体を他に知らない。歴代の会長と会員諸兄の研究会活動に対する理解と尽力の賜物であることは間違いない。さらに、本研究会が会員同士の交流の場、情報交換の場として重要な役割を果たして来たことも120回継続している理由の一つであろう。関西には多くの実験動物の専門家がいます。サルの専門家、ラットの専門家、動物福祉の専門家、薬剤の安全性試験の専門家、飼育環境や飼料の専門家、生殖工学の専門家、遺伝学の専門家、感染症／微生物学の専門家、実験動物の飼育の専門家等々。小生が所属する神戸大学医学研究科附属動物実験施設は、従来から実験動物の中でもマイナーなウサギを用いた研究活動を行ってきた。いわゆる傍流である。したがって、振り返ってみると、本研究会からいつも助けられて現在に至った様に感じられる。

研究用に自治体から譲渡されていたイヌ、ネコの問題

先代の故渡邊嘉雄教授から神戸大学医学部附属動物実験施設を引き継いだ2年後、自治体から譲渡されるイヌ・ネコの研究使用について批判的な運動が全国で展開された。社会的に不適切な状況（終生飼育すべきペットが不要動物として安楽死）に医学研究が依存していた状況は好ましくなかったが、自治体から譲渡されたイヌやネコが医学／医療／獣医医療に貢献した例は数え切れないほどある。兵庫県は国内で唯一譲渡制度を継続してくれたが、当時、兵庫県庁には毎日のように批判的なグループから長時間の電話があり、県の担当職員は他の業務を遂行するために夜遅くまで残業を余儀なくされたと聞いている。この譲渡問題を契機にして、兵庫県と神戸大学に千通を超える抗議文が届いた。これらの抗議文はいくつかのパターンに分類され、組織的に送付されていたことが窺われた。危機管理、適正な動物実験実施体制、動物実験における動物福祉の考え方、動物権への反論、欧米の動物実験実施体制の文献調査、抗議や質問状等への対応方針等、大変よい経験をすることができた。個人的な脅迫やハラスメントもあったが、本研究会の緒先生方のご支援もあり、何とか凌ぐことができた。関西実験動物研究会では、動物福祉、危機管理等について優れた見

識を有する先生方が活躍されている。これをご縁にして、故山田淳三先生からお誘いをいただいて本研究会に入会した。当時の会長は宮嶋浩彰先生であった。

阪神淡路大震災

動物実験に批判的なグループの問題が一段落したと安心したのも束の間、1995年1月17日に阪神淡路大震災が発生し、当施設も壊滅的な被害を受けた。地震発生当日施設に駆けつけたが、手の付け様がない惨状であった。会議室、事務室、器材倉庫、教員室を片付け、対策本部を設置して、集まれる人員だけで復旧作業を開始した。自宅が全壊したにもかかわらず復旧のために施設に駆けつけてくれた職員もいた。幸いにも飼育室の扉はすべて閉まっており、飼育室外への動物の逃亡はなかったが、飼育ラックの転倒やケージの落下により飼育室内に逃亡した動物をケージに収容し、蒸留水を給水ビンで与えた。地震発生直後の一週間で動物への給餌・給水体制を整え、衛生用水の供給元を見つけ、大型の自動飼育装置やケージ洗浄装置等を元の位置に移動させるための手動式フォークリフトの手配を整えた。その時点で、本研究会の鳥居隆三先生と芹川忠夫先生が災害救援隊を組織され、救援バスで駆けつけてくださった。施設内の清掃・消毒等の復旧作業を開始できる体制が整ったタイミングで災害救援隊が到着したのである。彼らの奮闘により、翌日から施設はほぼ通常業務に戻ることができた。また、黒澤先生、国動協加盟施設の皆様、実験動物の飼料や飼育器材を取り扱っている企業や飼育管理関係会社の方々からも多大なご支援を戴いた。阪神淡路大震災からの復旧においても本研究会会員諸兄に助けていただいた。緊急事態が勃発した際の本研究会会員の団結力と底力に感謝である。震災2ヵ月後の本研究会の総会・評議員会に出席して御礼を申し上げた日を鮮明に記憶している。

関西実験動物研究会の120回続いている講演会

講演会の講師の所属とその講演で取り扱われている主要な動物種について表1にまとめた。講演会の講師の所属は大学のみならず、研究所、製薬会社、官公庁、実験動物関連会社等とさまざまな分野にまたがり、海外の先生方にもご講演いただいている。ご講演の話題となった動物種も、哺乳類だけではなく、扁形動物（プラナリア）、昆虫、魚類、両生類、鳥類を含む多岐にわたっていた。また、講演内容を研究内容で分類してみると（表2）、各種の疾患モデル動物を用いた研究に関する話題がもっとも多いが、生殖工学、動物の感染症、薬理・安全性試験、遺伝・遺伝子機能、細胞分化・再生、行動解析、イメージングなどとともに、動物実験に関する法規、海外の動物実験実施体制、動物福祉、教育、危機管理等と広い分野の話題が提供されていた。さらに維持会員懇談会で

は、実験動物の飼育設備、飼育システム、新規の実験動物の紹介、解析機器等が紹介され、実験動物飼育施設の充実等に必要な情報を入手することができ、施設の改修や設備要求の参考になる。関西実験動物研究会が果たしてきた役割を表 3 に示す。このように振り返ってみると、本研究会の講演会に参加しているだけで、生命科学に関連するほとんどすべての分野を勉強できることが分かる。学術的なテーマのみならず、動物実験のあり方（国際的な動向、動物福祉、法規制）や実験動物飼育施設の管理（危機管理を含む）についてもさまざまな情報を得ることができる。このような研究会は他に存在しないのではないだろうか。また、毎年 12 月に会員発表会があるが、この会員発表会は大学院生や学部生をはじめとする若手にとって、オーラルでの研究発表を体験できるよい機会である。本研究会はさまざまな専門分野の会員で構成されていることから、想定外の質問があることもあり、大いに勉強になるに違いない。それぞれの機関における卒業論文等の研究発表の練習の機会としても有用であろう。そして、研究会終了後の懇親会において、アカデミア、製薬会社、ブリーダー、動物実験関連会者等の参加者による意見交換の機会を通して、会員相互の親睦や関連情報の交換のみならず、研究や動物実験施設運営等に関する新しい発想を得たり、共同研究や新しい事業の契機となったりし、さらに緊急時の相互支援の絆の礎を築いている。

今後期待される役割

関西実験動物研究会への期待について表 4 に示す。2011 年 12 月 2 日に発刊された *The Wall Street Journal* は、世界の主要な製薬会社の薬剤開発において、20%程度しか前臨床試験の結果を臨床試験で再現できていないと報じた。この低い再現性の原因はさまざまあると思われるが、その一つとして、ヒトの病態に対応している疾患モデル動物が薬剤開発に使用されていないことが考えられている。すなわち、動物を用いた実験の結果をヒトに外挿するためには、研究対象としている生理機構、代謝経路、疾患の発症機序等がヒトと動物で共通していることが重要である。遺伝子を組み換えることによってマウスはヒトのモデルになりうると安易に信じ込んでいる研究者が多いのかもしれない。マウスとウサギにヒトの遺伝子を過剰発現させた場合、遺伝子によってはまったく逆の作用を発揮することがあると報告されている。複数の遺伝子が形質の発現に関連している場合、一つの遺伝子を組み換えてもマウスはヒトのモデルになり得ない場合があることを認識し、トランスレーショナル・リサーチにおいては実験に使用する動物種の選択に先立ち比較生物学的な検討を十分に行うことが重要である。表面的な形質のみの評価にとどまることなく、代謝酵素の種類と発現強度、疾患の発症メカニズム、生理機構に著しい差がないかどうかを確認

し、実験に使用する動物種を選択することが重要であろう。実験動物の特性を比較生物学的観点から検討し、明らかにすることは、実験動物関係者の責務の一つである。本研究会においても、比較生物学的な観点をこれまで以上に重視して活動を展開していただきたい。動物福祉への配慮をはじめとし、我が国の動物実験実施体制は過渡期にあると考えられる。欧米のみならず近隣諸国の動向をも注視し、必要な動物実験がより適切に実施されるよう、情報収集をしっかりと行い、その情報を鵜呑みにせず、背景を含めて考察を行うことが求められる。この分野については国際的に活動を展開している製薬企業やブリーダー等の役割が大きいと考えられる。さらに、新しい遺伝子組換え技術、生体イメージング装置や各種デバイスの開発をはじめとする実験動物／動物実験をとりまく技術革新も著しい。これらの最新の技術についても講演会を通して紹介していただきたい。その他にも検査対象の病原微生物項目、飼育ケージ等のサイズをはじめとする飼育環境等、国内にはあいまいなまま検討が進んでいない課題が複数ある。これらに関しても研究会活動をとおして議論を進めていただきたい。最後に、講演会や会員発表会における質問者が限られていることが心配である。若手の会員からの質問がほとんどない。講演する側の立場になると、質問が少ないと、参加者が理解してくれたかどうか、関心を持ってくれたかどうか不安になる。質問することは講演者に対する礼儀でもある。質問は何でもかまわない。十分に理解できなかったことを教えてもらうことが質問であり、恥ずかしいことではない。研究発表や講演に対して質問を行うことによってコミュニケーション能力を養うことができ、自己啓発にも繋がる。会員は講演会や会員発表会に参加したら、必ず一つは質問することを心がけていただきたい。アカデミア、製薬会社、官公庁、関連会社の垣根を取り外し、遠慮することなく、発言していただきたい。関西実験動物研究会の今後は若手の会員に委ねられている。

おわりに

大学教員の一人として、関西実験動物研究会とのかかわり及び今後の期待について個人的に感じていることをここにまとめた。本研究会から助けていただいたことばかりである。本研究会は動物実験および実験動物に関する情報交換、勉強会の場として極めて有効である。会員諸兄には、本研究会を有効利用し、自己啓発の一助としていただくとともに、会員一人一人が本研究会の活動を支えていることをこれまで以上に自覚していただき、会活動に活発に参加していただきたい。

表 1. 講演会の講師と動物種

講師の所属 (264 人)		動物種 (講演演題から推測)
大学	183 人 (69%)	プラナリア
研究所	34 人 (13%)	ショウジョウバエ
製薬会社	30 人 (11%)	メダカ、ゼブラフィッシュ
官公庁	1 人 (0.3%)	イモリ
その他	9 人 (3%)	ニワトリ、ウズラ
海外	7 人 (3%)	イヌ、ブタ
		マウス、ラット
		ウサギ
		サル

表 2. 講演の内容 (講演演題から分類)

疾患モデル動物	69 題	細胞分化・再生	14 題
神経・運動機能疾患	13 題	繁殖・生殖	13 題
悪性腫瘍	12 題	行動解析	9 題
糖尿病	10 題	イメージング	6 題
老化	8 題	人工臓器	2 題
高血圧	6 題	その他	55 題
高脂血症・動脈硬化	5 題	法律等	19 題
腎・泌尿器疾患	3 題	国際的な動向	15 題
消化器疾患	2 題	動物福祉・代替法	9 題
免疫・感染症	23 題	教育	5 題
胚操作・生殖工学等	28 題	バイオリソース	3 題
動物の感染症	27 題	防災・危機管理	2 題
薬理・安全性試験	25 題	統計	2 題
遺伝・遺伝子機能	19 題		

表 3. 関西実験動物研究会が果たして来た役割

1. 最新の情報、知識、技術などを得ることができる	
1) 専門外の学問領域	知識の幅を広げる 新しい発想 講義の話題
2) 動物実験に関する国際的な動向	
3) 動物福祉の考え方	
4) 動物実験施設の設計・管理・運営・機器等	
2. 人とのつながりを得られる	
1) 専門外の研究者	新しい発想 共同研究 非常時の支援
2) 民間企業等	
3. 他では得られない会員の輪	
アカデミア	知識の幅を広げる 新しい発想 非常時の支援
製薬会社	
ブリーダー	
関連会社	

表 4. 関西実験動物研究会への期待

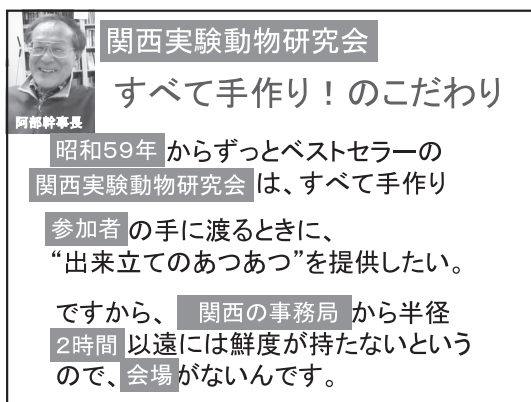
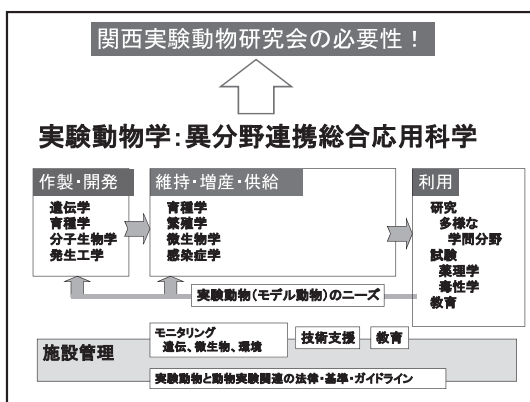
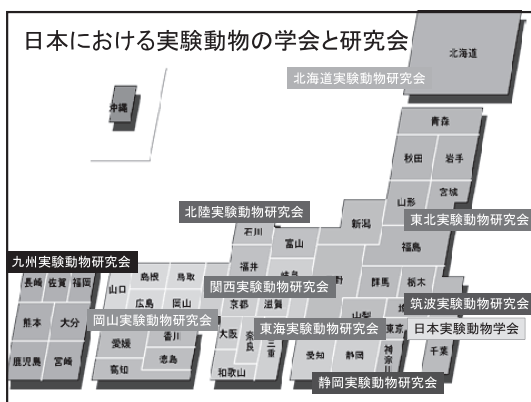
1. トランスレーショナル・リサーチの推進	
医学研究における動物実験の基本は、動物実験の結果をヒトに外挿できることであり、そのためにはヒトの病態に対応した動物種／疾患モデル動物を開発し、研究に使用することが重要である。	比較生物学
2. 各種実験動物に関する生物学	
動物とヒトとの異同	
3. 新しい実験技術の紹介	
遺伝子導入技術、イメージング、デバイスなど	
4. 動物福祉、国際的な動向	適切な動物実験
製薬会社、ブリーダー等からの最新情報の提供	
5. 会員相互の交流の推進	
アカデミア、製薬会社、ブリーダー、実験動物関連機関の垣根を越えて	

関西実験動物研究会の展望

会長 芹川忠夫

この度、関西実験動物研究会 30 周年記念大会（第 120 回研究会）を開催するに至りました。若い頃に創設の準備段階から関わったものとして、大変感慨深いものがあります。実験動物、動物実験、および関連の諸科学を学び、周辺の諸問題について忌憚なく話し合える場を提供しようと本研究会を運営してきました。関西実験動物研究会の発展には、関西特有の文化が影響しているように思います。恰好づけることを好まず、誰もが本音で意見交換をすることが出来るという雰囲気が根付きました。このようなスタイルで、年 4 回、120 回も休まず続けたのですから、実験動物と動物実験に関する諸科学を学ぶ一つのユニークなコアを形成できたと思っています。しかし、最近、その様相に少し変化が見えてきました。社会の変化が実験動物界にも及んでいることが底辺にあるのでしょうか、意欲のある高齢者は依然として目立つ一方、若手のエネルギーの取り込みが不足しているように思われます。私は平成 7 年度から今年度までの 19 年間、関西実験動物研究会の会長を担って参りました。本研究会の会則に役職の停年制はありませんが、30 周年を迎えたこの機会に私自身はその役職を降りることに致しました。幹事会からは、喜多正和先生（京都府立医科大学）を次期会長候補として推薦しています。そして、来年 3 月に開催する評議員会において次期会長と執行部役員を決定して頂こうと思っています。実験動物・動物実験に関連する諸科学の発展が求められながらも、大学、研究所、企業において、それに応じた人員や体制を拡充することが難しい状況にあるようです。新体制においては、過去にこだわらずに、現状をよく分析して今後の関西実験動物研究会の在り方を検討して頂きたいと思います。そうすることによって、現状の問題点が克服され、新たな関西実験動物研究会をスタートすることができると期待しています。

関西実験動物研究会には多くの先生にご講演を頂き、「関西実験動物研究会報」に寄稿して頂きました。ここに改めて御礼を申し上げます。そして、会員、維持会員、評議員、幹事、監事の皆様には、ご協力とご助言を賜り誠にありがとうございました。皆さまと長く楽しく過ごさせて頂いたこと、深く感謝申し上げます。



「動物の愛護及び管理に関する法律」の今後

喜多正和

京都市立医大大学院医学研究科実験動物センター

1973年に制定された「動物の保護及び管理に関する法律」は、その後、環境省の所管のもとに見直され、その結果、2005年6月22日に改正され、2006年6月1日から施行された。実験動物に関連した主たる改正ポイントは、第41条の中の、動物を科学上の利用に供する場合の方法、事後措置等の部分であって、今回の法律改正で初めて実験動物の愛護に関する理念であるいわゆる3Rが盛り込まれた点である。さらに、平成24年には中央環境審議会動物愛護部会の動物愛護管理のあり方検討小委員会の動物愛護管理のあり方検討報告書（最終版）において、動物実験に関する項目の改正について賛否両論が併記されたため、国動協および公私動協をはじめ国立大学協会、国立大学医学部長会議、日本実験動物協会、日本製薬工業協会、日本実験動物協同組合、日本実験動物学会、日本生理学会、日本医学会等が協力して動物愛護管理法改正反対の活動を続け、今回の改正においては、届出制又は登録制等の規制導入は見送られ、いままで通りの自主管理体制を継続することになった。しかしながら、動物実験に関する項目が環境省の動物愛護管理法の中にある限りは、5年毎の見直し対象項目になることは避けられず、今後とも研究機関等における自主管理（機関管理）体制の向上が必須であることは明白である。さらに、衆議院環境委員会および参議院環境委員会において付帯決議がなされ、動物実験に関する項目として「実験動物の取扱いに係る法制度の検討に際しては、関係者による自主管理の取組及び関係府省による実態把握の取組を踏まえつつ、国際的な規制の動向や科学的知見に関する情報の収集に努めること。また、関係府省との連携を図りつつ、3R（代替法の選択、使用数の削減、苦痛の軽減）の実効性の強化等により、実験動物の福祉の実現に努めること」という文章が追加されている。

このような状況を踏まえ、国立大学法人動物実験施設協議会及び公私立大学実験動物施設協議会の幹事会は、文部科学省の指導の下に、「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」（平成18年文部科学省告示71号）第6第3項に定められた情報公開を更に推進するために、それぞれの協議会の会員校に対して、情報公開を積極的に実施するよう要請している（別紙1）。本講演では、「動物の愛護及び管理に関する法律」の現状と今後に向けた課題について概説する。

(別紙 1)

動物実験に関する情報公開に関する更なる取組について

平成 25 年 9 月 27 日

国立大学法人動物実験施設協議会 幹事会

公私立大学実験動物施設協議会幹事会

「動物の愛護及び管理に関する法律」は同法律の附則第9条により、5年を目途として、施行の状況を踏まえ、必要がある時には改正を行っているが、平成18年の改正において初めて動物実験に関する項目が明文化された。昨年の改正時には、政府内及び与野党内で動物実験に関して様々な議論が行われ、最終的に変更は加えられなかったものの、研究機関による自主管理の取組の推進や実験動物の福祉の実現に努めることなどが衆参両院の決議として定められた。

このような状況を踏まえ、国立大学法人動物実験施設協議会及び公私立大学実験動物施設協議会の幹事会は、文部科学省の指導の下に、「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」(平成18年文部科学省告示71号)第6第3項に定められた情報公開を更に推進するために、それぞれの協議会の会員校に対して、以下の項目の情報公開を積極的に実施するよう要請している。

情報公開項目

1、機関内規程

機関内規程に付随した細則等の情報公開に関しては、各機関の判断に委ねる。

2、自己点検評価の結果

3、外部検証の結果

4、飼養及び保管の状況

1) 動物種 (哺乳類、鳥類、爬虫類)

2) 動物数(毎年の特定期日の飼養数あるいは一日当たりの平均飼養数。マウスとラットでは二桁の概数)

3) 施設の情報(機関の長によって承認された飼養保管施設の総数並びに主要な飼養保管施設の名称)

5、その他

1) 前年度の実験計画書の年間の承認件数

承認期間が複数年に跨がり、当該年度以前に承認された計画であっても、当該年度が承認期間に含まれる場合は計数する。

2) 前年度の教育訓練の実績(実施月日、実施内容の概略、参加者数)

3) 動物実験委員会(当該年度4月1日時点での委員の構成(基本指針に示された3通りの役割ごとの委員の所属部局及び専門分野))

基本指針に示された3通りの役割とは、文科省の基本指針に示された、(1)動物実験等に関して優れた識見を有する者、(2)実験動物に関して優れた識見を有する者および(3)その他学識経験を有する者の3区分を示す。委員の所属部局及び専門分野をそれぞれの区分ごとに示す。

動物の愛護及び管理に関する法律の改正パンフレット(平成25年8月)

動物の愛護及び管理に関する法律が改正されました

(動物取扱業者編)



- 第一種動物取扱業者の義務
- 犬猫等健康安全管理計画の作成・管理
- 犬猫等健康安全管理計画の提出
- 第二種動物取扱業者の届出
- 動物取扱業者の届出
- 動物取扱業者の届出

環境省

動物の愛護及び管理に関する法律が改正されました

(一般飼い主編)



- 動物の譲渡にあたって
- 譲渡先で飼育するに際しては
- 飼い主であることを知ることが重要
- 特定動物を飼う場合
- 飼育環境に合った飼育方法
- 犬猫の飼育環境

環境省

改正動物愛護管理法の
主なポイント

● 終生飼養の徹底

- ▶ 動物の所有者の責務として、動物がその命を終えるまで適切に飼養すること(終生飼養)が明記されました。
- ▶ 動物取扱業者の責務に、販売が困難になった動物の終生飼養を確保することが明記されました。
- ▶ 都道府県等は、終生飼養に反する理由による引取り(動物取扱業者からの引取り、繰り返しする引取り、老齢や病気を理由とした引取り等)を拒否できるようになりました。

● 動物取扱業者による適正な取扱いの推進

- ▶ これまでの「動物取扱業」は「第一種動物取扱業」という名称に変更されました。
- ▶ 犬及び猫を販売する第一種動物取扱業者(犬猫等販売業者)は、犬猫等健康安全管理計画の策定、飼育環境の整備・管理、毎年1回の所有状況報告が義務付けられました。
- ▶ 第一種動物取扱業者(哺乳類、鳥類、爬虫類の販売を業として営む者)は、販売に際してあらかじめ、購入者に対して現物確認・対面説明をすることが義務付けられました。
- ▶ 幼齢の犬猫の販売制限が設けられました。
- ▶ 飼育施設を有し、一定数以上の動物を非営利で取扱う場合(譲渡・展示等)には、第二種動物取扱業として届出が義務付けられました。

● その他

- ▶ 罰則が強化されました。

動物実験に関する情報公開に関する更なる取組について

平成25年9月27日

国立大学法人動物実験施設協議会幹事会
公私立大学実験動物施設協議会幹事会

「動物の愛護及び管理に関する法律」は同法律の附則第9条により、5年を目途として、施行の状況を踏まえ、必要がある時には改正を行っているが、平成18年の改正において初めて動物実験に関する項目が明文化された。昨年の改正時には、政府内及び与野党内で動物実験に関して様々な議論が行われ、最終的に変更は加えられなかったものの、研究機関による自主管理の取組の推進や実験動物の福祉の実現に努めることなどが衆参両院の決議として定められた。このような状況を踏まえ、国立大学法人動物実験施設協議会及び公私立大学実験動物施設協議会の幹事会は、文部科学省の指導の下に、「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」(平成18年文部科学省告示71号)第6第3項に定められた情報公開を更に推進するために、それぞれの協議会の会員校に対して、以下の項目の情報公開を積極的に実施するよう要請している。

情報公開項目

- 機関内規程
機関内規程に付随した細則等の情報公開に関しては、各機関の判断に委ねる。
 - 自己点検評価の結果
 - 外部検証の結果
 - 飼養及び保管の状況
 - 1) 動物種(哺乳類、鳥類、爬虫類)
 - 2) 動物数(毎年の特定日の飼養数あるいは一日当たりの平均飼養数。マウスとラットでは二桁の概数)
 - 3) 施設の情報(機関の長によって承認された飼養保管施設の総数並びに主要な飼養保管施設の名称)
 - その他
 - 1) 前年度の実験計画書の年間の承認件数
承認期間が複数年に跨り、当該年度以前に承認された計画であっても、当該年度が承認期間に含まれる場合は計数する。
 - 2) 前年度の教育訓練の実績(実施月日、実施内容の概略、参加者数)
 - 3) 動物実験委員会(当該年度4月1日時点での委員の構成(基本指針に示された3通りの役割ごとの委員の所属部署及び専門分野))
- 基本指針に示された3通りの役割とは、文科省の基本指針に示された、(1) 動物実験等に関して優れた識見を有する者、(2) 実験動物に関して優れた識見を有する者および(3) その他学識経験を有する者の3区分を示す。委員の所属部署及び専門分野をそれぞれの区分ごとに示す。

情報公開と外部検証について

- 文科省告示 動物実験基本指針(平成18年6月1日)
「研究機関等の長は、動物実験等の実施に関する透明性を確保するため、定期的に、研究機関等における動物実験等の基本指針への適合性に關し、自ら点検及び評価を実施するとともに、当該点検及び評価の結果について、当該研究機関以外のものによる検証を実施することに努めること。」
- 環境省告示 実験動物飼養保管基準(平成25年8月30日)
「管理者は、定期的に、本基準及び本基準に即した指針の遵守状況について点検を行い、その結果について適切な方法により公表すること。なお、当該点検結果については、可能な限りの、外部の機関等による検証を行うよう努めること。」

獣医学における実験動物学の今後

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科
獣医学専攻 岡田 利也

はじめに

獣医学は、ヒト以外の動物を対象とした比較生物学的知識の集大成であり、動物の医療を根幹とする総合的な学問分野である。獣医学教育には、国際交流の活性化による動物の感染症や人獣共通感染症の脅威の高まり、食品・医薬品の安全性確保、環境の保全、生命倫理教育の充実などへの対応が求められている。近年、国際獣疫事務局（OIE）をはじめとする国際機関は世界各国の獣医師の質の向上・確保が喫緊の課題であると提言しており、我が国の獣医学教育においても国際標準化に向けた高度化が求められている。

一方、実験動物学は実験に用いられる動物を対象とした学問で、実験動物を作り、増やし、使用方法ならびに動物実験に関する科学の研究と開発に関する学問である。実験動物を人の健康のため役立てることを目的とし、多くの学問領域を包括する総合科学であり、解剖学、生理学といった一定の方法論を持つ知識・研究体系とは異なる。即ち、実験動物学は獣医学を構成する一つの学問領域ではなく、獣医学と同列の学問分野とみなすことができる。さらに、この獣医学と同列ともいえる実験動物学が昭和58年度に獣医師国家試験科目に加えられ、獣医系大学ではそれに先立って実験動物学の講義・実習等が導入された。以後、実験動物学教育は社会的要請に応えるため、段階的に充実されてきている。

このような背景のもと教育面に焦点をあて、わが国の獣医学教育において現在進められている改革を中心に、大阪府立大学の取り組み等を紹介しながら、獣医学における実験動物学の今後についてお話ししたい。

1. 獣医学教育改革の流れ

中央教育審議会（文部科学省諮問機関）は「我が国の高等教育は『教育の質の保証』が課題である」と、平成20年「学士教育の構築に向けて」（答申）の中で「教育課程の編成・実施方針の明確化」、「教育内容・方法の改善」および「大学間連携」によって学士教育の充実を図ることを各大学に求めた。その後、「獣医学教育の改善・充実に関する調査研究協力者会議」が文部科学省のもとに設置され、獣医学教育における学部教育の改善・充実に向けた検討が進められた。そして、平成23年5月、「今後の獣医学教育の改善・充実方策について」意見のとりまとめが公表された。その概要は以下のとおりである。

1) 獣医学教育を取り巻く状況の変化

現場の最前線で活躍できる高度な実践力を備えた獣医師の養成が獣医学教

育の喫緊の課題・責務である。

- ① 社会ニーズに対応した人材の高度化
(口蹄疫や鳥インフルエンザ・BSE等の発生、獣医療の多様化、高度化)
- ② 獣医師養成の国際的通用性の確保
(国際獣疫事務局のコンピテンシーリスト)
- ③ 我が国の獣医師の現状を踏まえた対応
(産業動物分野の魅力向上、高度な実践力を有する獣医師養成が必要)
- ④ 我が国の大学教育改革を踏まえた対応
(高等教育の質保証が重要な課題、医学等における質保証の取り組み例)

2) 獣医学教育各分野の現状と課題

16 大学の教育内容・教育研究体制を分析

- ① 最低限共通的に教育すべき内容を十分に教育できていない大学がある
- ② 新たな分野(獣疫学、動物行動治療学)への対応が十分取れていない
- ③ 将来のキャリアと学びを関連づける教育に課題がある
- ④ 獣医師として求められる実践的な力を育む教育(実習科目や応用系・臨床系の講義科目等)に課題がある
- ⑤ 獣医師養成課程の規模の小さい大学に課題が多い

3) 獣医学教育改善・充実の基本的方向と具体的方策

現状の課題を解決しつつ、国際水準の教育を実現するためには、全国の獣医学関係者の総意のもと教育改革の取り組みをスピーディーに推進することが必要

- ① モデルコアカリキュラムの策定等による教育内容・方法の改善促進
- ② 自己点検・評価の実施や分野別第三者評価の導入など、獣医学教育の質を保証するための評価システムの構築
- ③ 共同獣医学部・共同獣医学科の設置など大学間連携の促進による教員の確保を含めた教育研究体制の充実
- ④ 実習室等の教育環境及び附属家畜病院の充実や、外部専門機関等との連携による臨床教育等の充実
- ⑤ 共用試験導入に向けた検討(診療行為に参加する学生の事前評価について社会的信頼を得る仕組みを構築)

さらに、医学・薬学等の事例を参考にして、国際水準の獣医学教育の実施に向けた改革工程が示された。その中で、

- ・ 教育研究体制の整備⇒教育研究体制の充実
- ・ モデルコアカリキュラムの策定・実施⇒教育内容・方法の改善
- ・ 分野別第三者評価の導入・実施
- ・ 共用試験の導入・実施⇒臨床教育の改善

に関して、あくまで目安ではあるが、平成 23 年度からのタイムスケジュールが示された。そして、国際水準の獣医学教育の提供に向けて、「『充実した獣医学教育の実施、自律的な教育改善を促す質保証システムの構築を目指し、各大学の取組の成果を検証し、結果を公表する』など、その確実な取組を推進していく必要がある」と提言されている。

2. 獣医系大学の改革に向けた動き

現在、全国の獣医系大学は、モデルコアカリキュラム策定による教育内容・方法の改善促進、共同学部・学科の設置など大学間連携の促進による教員の確保を含めた教育研究体制の充実を模索し、獣医学教育の改革をすすめている。

1) モデルコアカリキュラム：

全国大学獣医学関係代表者協議会の獣医学教育モデルコアカリキュラム委員会によって、獣医学生が卒業するまでに修得しなければならない学習項目が示されている。獣医学生が修得すべき基本となる教育内容であるとともに全大学に課される獣医学教育の到達目標で、6 年間の履修年限の中で獣医学として教えるべき 3 分の 2 程度の内容である。各科目に必要な履修時間数は示さず、大学独自の判断で決めることを前提としている。下の表に示すような教育分野、科目数が定められ、科目毎に全体目標と教育すべき学習項目が、学習項目毎に一般目標、到達目標が示されている。

	講義科目	実習科目
導入教育・基礎獣医学教育分野	13 科目	6 科目
病態獣医学教育分野	7 科目	3 科目
応用獣医学教育分野	8 科目	4 科目
臨床獣医学教育分野	23 科目	6 科目

実験動物学は、獣医学概論、獣医療倫理・動物福祉学、獣医事法規等とともに導入教育・基礎獣医学教育分野に含まれている。実験動物学の講義と実習に関するモデルコアカリキュラムは以下のとおりである。

①実験動物学モデルコアカリキュラム

【全体目標】

遺伝、育種、繁殖などの実験動物の品質に関する事項および飼育環境や動物実験法などの動物実験に関する事項を比較生物学的視点から理解するとともに法令や基準等の社会規範に則し、かつ動物の福祉に配慮した適正な動物実験を実施するための方策を修得する。

【項目】

- (1) 動物実験の意義、倫理と関連法規
- (2) 動物実験のデザインと成績の評価

- (3) 動物実験の基本的技術
- (4) 実験動物の遺伝
- (5) 実験動物の育種
- (6) 実験動物の繁殖
- (7) 実験動物の飼育管理
- (8) 各実験動物の特性
- (9) 実験動物の微生物コントロール
- (10) 実験動物の感染症
- (11) モデル動物学
- (12) 発生工学

②実験動物学実習モデルコアカリキュラム

【全体目標】

動物実験計画の立案と審査について学ぶとともに保定、投与、採血、麻酔、鎮痛、安楽死、剖検・採材などの基本的動物実験手技を修得する。また、実験動物の品質を保証するための遺伝的モニタリングや微生物モニタリング、および発生工学の基礎技術を体験し、動物実験を実施するための基盤を理解する。

【項目】

- (1) 動物実験計画の立案と審査
- (2) 動物実験の基本的手技
- (3) 実験動物の遺伝学的品質
- (4) 実験動物の微生物学的品質
- (5) 発生工学の基礎技術

2) 大学間連携の促進による教員の確保を含めた教育研究体制の充実

「獣医学教育の改善・充実に関する調査研究協力者会議」による「今後の獣医学教育の改善・充実方策について」意見のとりまとめを受けて、山口大学と鹿児島大学における農学部獣医学科から共同獣医学部への改組、東京農工大学と岩手大学あるいは岐阜大学と鳥取大学における獣医学科から共同学科への改組、北海道大学と帯広畜産大学における共同教育課程への改組など、大学間連携による教育体制の充実が図られている。

①山口大学・鹿児島大学共同獣医学部

平成 24 年度に共同獣医学部が設置され、二つの大学が持っている教育資源、人材、設備に共用相互補完型の教員配置と施設整備を進めることによって、戦略的な獣医学教育改革の推進が図られている。新たな獣医学教育カリキュラムの構築と国際水準の獣医学部教育への進化を目指している。

②北海道大学・帯広畜産大学共同獣医学課程

北海道大学は人獣共通感染症、ライフサイエンス研究、生態系保全および小動物臨床を重点に、帯広畜産大学は産業動物診療、生産獣医療および獣医公衆学教育を重点に教育研究を行ってきた。国際水準の獣医学教育を実践するため、共同獣医学課程を編成し、北海道というフィールドを生かした実践的かつ先進的な獣医学教育を行うことを目指している。

3) 共用試験

CBT (Computer-Based Testing) 試験と OSCE (Objective Structured Clinical Examination) 試験を採用し、臨床実務実習参加のための事前評価を行う。モデルコアカリキュラム臨床科目で「参加型臨床実習」を導入し、見学型から参加型に臨床実習を変えることで実践的教育効果の高揚を図る。診療行為に学生が参加する際に当該学生の前評価によって社会的信頼を得るための仕組みを構築する必要がある、そのため共用試験を実施する。

3. 大阪府立大学の取り組み

大阪府立大学においても、獣医学教育の改革の動きに遅れを取らないように、モデルコアカリキュラム、大学間連携、実習室等の教育環境ならびに臨床教育等の充実、共用試験導入に取り組んでいる。

1) 大学間連携

平成 24 年 12 月に宮崎大学農学部との間で獣医学教育の連携に関する協定を締結した。産業動物の生産現場を近隣に擁する宮崎大学農学部では産業動物関連の獣医学教育について、食品の流通・消費拠点に位置する大阪府立大学生命環境科学域では公衆衛生関連の獣医学教育について実学の教育資源を蓄積してきた。両大学は教育連携を実施し、特徴ある獣医学教育を相互に提供することにより、現場の最前線で活躍できる高度な実践力を備えた獣医師を育成することを目指している。

2) モデルコアカリキュラム (実験動物学の場合)

獣医系大学における実験動物学教育は各大学等が教育設備環境等の現状に沿った独自の教育を実施している。しかしながら、上述の獣医系大学の改革に向けた動きや改革をすすめることで生じる問題などについて情報を共有し、各大学における教育効果を高めることも重要である。実験動物医学会のもと「実験動物教育委員会」が組織されており、実験動物学教育のレベル高揚に貢献している。同委員会は日本獣医学会学術集会開催時に毎回開催され、獣医系大学の実験動物学を担当する教員が各大学の実験動物学教育について意見交換を行っている。実験動物教育委員会での情報等を参考にしながら、大阪府立大学における実験動物学の教育効果を高めようと工夫を凝らしてきた。獣医学教育改革

の動きを踏まえつつ、大学の教育組織が学部・学科から学域・学類制に改組された平成 24 年度以降の入学生（学域生・学類生）に対してモデルコアカリキュラムに対応した教育を実施している。基礎系科目は 2 年生で受講することから、実験動物学はすでにモデルコアカリキュラムに対応した内容で実施している。講義・実習の内容は以下に示すとおりである。

大阪府立大学における実験動物学の講義内容

平成 24 年度（旧課程）	⇒	平成 25 年度（新課程）
＜実験動物学 A・B＞		＜実験動物学＞
➤ 序 説 (5)		➤ 序 説 (2)
➤ 比較遺伝学 (4)		➤ 比較遺伝学 (2)
➤ 育 種 学 (4)		➤ 育 種 学 (2)
➤ 繁 殖 学 (3)		➤ 繁 殖 学 (2)
➤ 飼育管理学 (4)		➤ 飼育管理学 (2)
➤ 比較実験動物学 (4)		➤ 比較実験動物学 (3)
➤ 疾 病 学 (2)		➤ 疾 病 学 (2)
() はコマ数、1 コマは 90 分		

大阪府立大学における実験動物学実習の内容

- ビデオ学習：実習内容の説明、動物実験教育訓練 (1 回)
- 実験動物比較観察（比較生物学・特性） (8 回)
- マウス遺伝的監視 (2 回)
- （毛色、生化学的形質、形態学的形質）
- ラット胎子の発生（骨発生、各種臓器発生） (2 回)
- 動物実験計画書の作成・審査 (2 回)

講義は 4 単位から 2 単位になり、コマ数が半減している。それゆえ、講義内容の修正が必要で、項目によっては他の科目で講義を行うようにし、獣医学類での教育全体として漏れのないように努めている。

3) 共用試験導入に向けて

獣医学共用試験委員会に委員を派遣するとともに、共用試験関連の学内委員会（CBT 関係の委員会、OSCE 関係の委員会）を設置して、平成 28 年度から

の本試験に備えて準備をしている。

4. 獣医学教育改革後の実験動物学教育のあるべき姿

実験動物学が誕生した当初は、信頼性のあるデータを得るための実験動物の作出と飼育法、新しい実験動物の探索、交配方法の工夫（遺伝的統御）、病原体汚染を防ぐ（微生物学的統御）、環境による影響（環境統御）などに関することがらが研究の中心であった。1970年代後半から1980年代は確立された実験動物の品質保証（遺伝的、微生物学的モニタリング）、疾患モデル動物の探索、適正な動物実験法、動物実験反対運動への対応に、1990年代以降は分子生物学、遺伝子工学の発達にともない、ヒト疾患関連遺伝子の単離、受精卵への導入、疾患モデル動物の開発へと研究の中心が変わってきている。

実験動物学の学問分野は基礎実験動物学（きわめて基礎的な分野）、実験動物管理学（施設の構造・建築や、飼育・施設管理を含む分野）、実験動物社会学（実験動物福祉や法規制および特許等を含む分野）ならびに応用実験動物学（医薬、食品、農薬など産業と直結する分野）に分けられる。昭和58年度の獣医師国家試験科目への組み入れに先立って、獣医系大学が実験動物学の講義・実習を導入することから実験動物学教育が始まり、以後、社会的要請に応えるため段階的に充実されてきた。これまで、基礎実験動物学と応用実験動物学分野が実験動物学教育の中心であった。しかし、獣医学教育の国際標準化には国際的に通用する実験動物の飼育管理等が欠かせないことや近年の一般社会の動物福祉に対する関心が高まっていることから適正な飼育管理や動物福祉に関する教育の重要性が増してきている。獣医学教育改革による獣医師の質の向上・確保は獣医師としての責任と倫理観を備え、一般社会から信頼される人材の育成が必要である。今後、実験動物管理学および実験動物社会学に関する教育の益々重要になるものと考えられる。

おわりに

本講演では、獣医学教育改革の現状紹介を中心に「獣医学における実験動物学の今後」について述べてきた。獣医学教育改革の進められる中で、実験動物学教育も変革を求められている。上述のように、実験動物学の誕生以来、実験動物学教育を担う組織体制は少しずつ充実されてきた。しかしながら、その守備範囲が極めて広範に亘ることからまだまだ不十分な点が多く、さらなる充実が必要である。現在の獣医学教育の改革に際して、実験動物学教育の一層の充実を図る動き、動物実験施設の新設、実験動物学担当教員の増員等早急な対応が望まれる。

NBRP マウスの今後

吉木 淳

理化学研究所バイオリソースセンター・実験動物開発室

〒305-0074 つくば市高野台 3-1-1 email:yoshiki@brc.riken.jp

「リソースなくして、研究なし」また同時に「研究なくして、リソースなし」と言われるようにバイオリソースは研究者の努力と研究開発資金の投資の結晶として生まれ蓄積されている。特に生物材料は一度絶えたら復元不可能なためその維持保存が特に重要である。理化学研究所バイオリソースセンター（理研BRC 図1）は重要なバイオリソースの確保、持続的利用、研究の質の向上と効率化を図るため、実験動物マウス、実験植物シロイヌナズナ、細胞、遺伝子材料等を収集・保存・品質

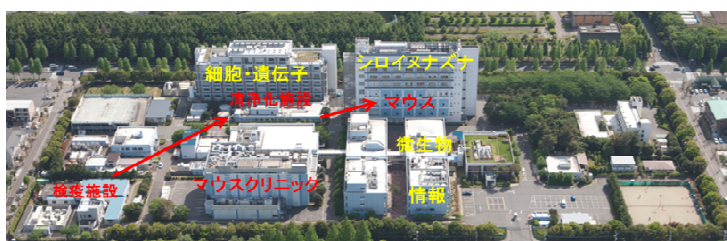


図1. 理研バイオリソースセンターの筑波キャンパス

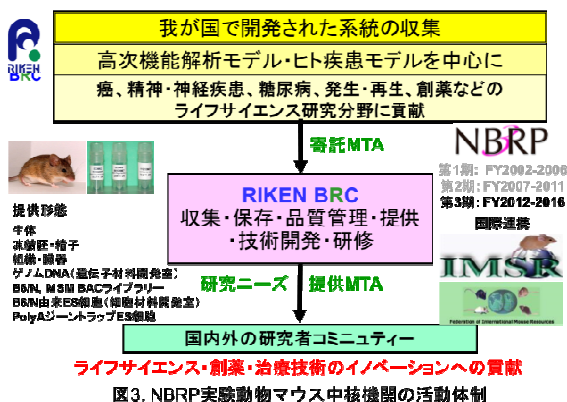
管理・提供するセンターとして、長年の研究コミュニティの念願を受けて 2001 年に設立された¹⁾。2002 年から文部科学省により開始されたナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）は、ライフサイエンス研究の推進を目的として、実験動植物や細胞、遺伝子材料など国が戦略的に整備することが重要な生物遺伝資源について収集・保存・提供を行うプロジェクトである²⁾。理研BRC・実験動物開発室は2002年以來、NBRPの中核機関として、国内で開発されたマウス系統の収集・保存・品質管理ならびに提供を続けており、現在では収集数 7,000



図2. NBRPパンフレットの表紙

系統を超え、国内外 900 機関、海外 34 カ国に我が国で開発されたマウス系統を提供している（図 3）^{3,4)}。

マウスリソースは近交系、ゲノム情報、遺伝子材料、胚性幹細胞株、個体レベルの遺伝子操作技術の整備が最も進んだ実験動物である。遺伝的に均一な近交系マウスは再現性の高い動物実験系であり、遺伝子機能の解明や病気の治療法の開発に不可欠である³⁾。



近年では、Cre-loxシステム⁵⁾やTETシステム⁶⁾を用いて特定の細胞・組織・臓器において任意の時期に遺伝子操作を行う技術も開発されている。特定の細胞、細胞内小器官や生体内分子を標識する蛍光レポーターを組み込んだマウスはイメージング技術との組合せにより生命現象をリアルタイムで可視化してくれる。さらに、ゲノム編集技術が登場し、特に、CRISPR/Cas9による遺伝子改変が実験動物で盛んに利用され始め、ES細胞を介することなく特定の遺伝子を狙って欠失や変異の導入が可能となり、さらに、同時に複数の遺伝子を改変する事もできる様になってきた^{7,8)}。

遺伝子改変マウスの利用が益々さかんになる中、その品質管理についてもこれまで以上の注意が要求されている。特に、遺伝子組換えマウスは拡散防止措置の実施が法令で義務付けられていることから、授受にあたっては正確な情報提供が必須となっている。多数の遺伝子組換え系統を同時に使用して複数の系統を交配する実験の機会も増え、各個体がどの組換え遺伝子を保有しているのか厳密な検査が必要である。論文や組換え生物の情報提供書に記載された供与核酸に落ちや誤りがあった場合には、遺伝検査の対象にされることもなく組換え体が拡散し、実験結果にも致命的な影響を与える恐れがある。その対策として、理研BRCでは、寄託されたマウスを対象に他の遺伝子組換えマウスとのコンタミがないことを確認するため、代表的なマーカー遺伝子10種類（*neo*, *Pgk-neo*, *Tk-neo*, *IRES*, *lacZ*, *GFP*, *Cre*, *Flp*, *Puro*, *Hyg*）の検査を実施している⁹⁾。

世界の主要なマウスリソースの専門機関が連携して標準近交系と国際標準の表現型解析プロトコルを用いて質の高いノックアウトマウスリソースとその表現型データを集約して効率的に作製・公開している。

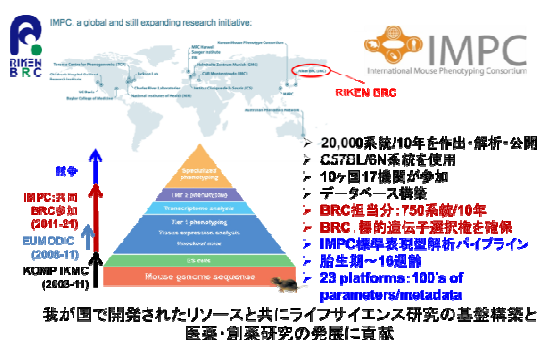


図4. マウス全遺伝子のそれぞれをノックアウトしたマウスの基本的な表現型を世界共通の基準で解析し、そのデータとマウスを世界の研究者に提供するプロジェクト

動物実験は、科学的、倫理的、経済的な理由により、適切なデザイン、正しい解析、透明性ある報告が厳しく要求される¹¹⁾。すべての要件が満たされて、実験結果の科学的有効性が保証され、得られる知識が最大化される。科学論文には実験方法と結果の審査、解析、再現が可能となるための最低限の情報が含まれなければならない。必須情報の省略は科学的かつ倫理的な問題を引き起こす。

— 59 —

表現型解析プロトコルの作成と表現型データの公開において、こうしたガイドラインを取り入れた先進的な取り組みがある。

Nature誌は*Scientific Reports*の「Editorial and publishing policies」¹⁴⁾中の「データ及び実験材料の入手可能性」の項で、「Publicationの本質は、著者が発表した主張を他者が再現することができ、その主張に基づいてさらなる構築ができることである」と明記している。さらに、「生物材料の共有」の項では、*Scientific Reports*の筆者に、前提条件なしに実験材料、データおよび関連プロトコルを他者に速やかに入手可能にすることを義務付けている。また、変異系統および細胞株などの生物材料については、公的レポジトリ（例えば、マウスの場合には、The Jackson Laboratory、the European Mouse Mutant Archive (EMMA)、the European Conditional Mouse Mutagenesis Program (EUCOMM)、the Knockout Mouse Project (KOMP)、RIKEN BioResource Centre、the Mutant Mouse Regional Resource Centers等）がある場合には、そこから材料を入手し、論文にはそのアクセス番号を提供することとしている。リソース機関は、研究コミュニティと連携して実験の再現性を確保するための重要な役割を果たしている。

理研BRCおよびNBRPの各リソース機関ではMTAを用いてバイオリソースの知的財産としての取扱いを行っている。利用者には書類作成に一定のご負担をお願いすることになるが、このMTAは、生物材料の知的財産権の所在と利用条件の明確化、寄託者・開発研究者の権利の保全、品質管理を受けた材料への継続的なアクセスの確保など、高品質な生物材料の円滑な流通と普及には重要な役割を果たしている。一方、寄託者・開発者の了解やMTAの締結などの適切な移転手続きなしに研究材料を入手することは研究倫理に反した行為であるばかりか、その品質にも懸念を生じ、実験の再現性の確保に困難が生じる可能性がある。

爆発的なマウスリソースとその解析情報の増加に伴って、リソース機関が実験研究の再現性、高品質な研究材料への継続的なアクセスおよびリソースの寄託者・開発者の権利を確保するうえで、今後も益々重要性を増すものと考えている。リソース機関は、研究コミュニティの利用があつてはじめて成り立つものであり、利用者の皆様には、バイオリソース事業の果たす役割に対するご理解とご支援をお願いしたい。

謝辞

理研 BRC・小幡裕一センター長ならびに理研 BRC・森脇和郎特別顧問（故人）のご助言・ご指導、ならびに、実験動物開発室、遺伝工学基盤技術室をはじめ理研 BRC の職員の皆様のご協力に感謝致します。

参考文献および URL

- 1) 理研バイオリソースセンター <http://ja.brc.riken.jp/>
- 2) ナショナルバイオリソースプロジェクト <http://www.nbrp.jp/index.jsp>
- 3) Yoshiki, A., Ike, F., Mekada, K., Kitaura, Y., Nakata, H., Hiraiwa, N., Mochida, K., Ijuin, M., Kadota, M., Murakami, A., Ogura, A., Abe, K., Moriwaki, K. & Obata, Y. The mouse resources at the RIKEN BioResource center. *Exp Anim* **58**: 85-96, 2009.
- 4) 実験動物開発室 <http://mus.brc.riken.jp/link>
- 5) Sauer B. and Henderson N.: Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85: 5166-5170, 1988.
- 6) Gossen M. and Bujard H.: Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 89: 5547-5551, 1992.
- 7) Wang, H., Yang, H., Shivalila, C. S., Dawlaty, M. M., Cheng, A. W., Zhang, F. & Jaenisch, R. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* **153**, 910-918, 2013.
- 8) Yang, H., Wang, H., Shivalila, C. S., Cheng, A. W., Shi, L. & Jaenisch, R. One-step generation of mice carrying reporter and conditional alleles by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* **154**, 1370-1379, 2013.
- 9) Nakata, H., Hashimoto, T., Seki, Y., Mekada, K., Obata, Y. & Yoshiki, A. Simultaneous detection of multiple transgenes for genetically-modified mouse strains. *Exp Anim* **58**, 437-442, 2009.

- 10) The International Mouse Phenotyping Consortium
<http://www.mousephenotype.org/>
- 11) Kilkenny, C., Parsons, N., Kadyszewski, E., Festing, M. F., Cuthill, I. C., Fry, D., Hutton, J. & Altman, D. G. Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals. *PLoS One* **4**, e7824, 2009.
- 12) Hooijmans, C. R., Leenaars, M. & Ritskes-Hoitinga, M. A gold standard publication checklist to improve the quality of animal studies, to fully integrate the Three Rs, and to make systematic reviews more feasible. *Altern Lab Anim* **38**, 167-182, 2010.
- 13) ARRIVE Guideline <https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines>
- 14) Editorial and publishing policies in Nature
<http://www.nature.com/srep/policies/index.html>

変異 ES 細胞バンクは変異マウス作製に代替たりうるか？

大阪大学医学部附属動物実験施設

大阪大学医学系研究科・環境生体機能学

竹田潤二

動物実験の取り組み方は、3R（Replacement, Reduction, Refinement）という言葉に集約されている様な気がしています。Replacement, Reduction, Refinement のうち Refinement は普通、改善という意味になると思いますが、ここでは苦痛を軽減するという風に訳されていると思います。まず、動物実験をしない方法を考えて、他に方法がないなら、なるべく数を減らし、苦痛を最小限にして行なって下さいと解釈できます。

私も研究室で多くのノックアウトマウスを作製してきましたが、その多くが表現型陰性であり、論文を発表しなかった経験があります。しかも、表現型が確認できるまでに、ES 細胞におけるターゲッティング、そしてキメラマウス、ヘテロマウス、ホモマウスの作製と年単位の時間が掛かってします。表現型が現れる確率をもっと高い手法はないものかどうか、これまで模索してきました。これこそが、3R の Replacement の概念に合致するのではないかな？

そこで、あらかじめ遺伝子機能が欠損した ES 細胞バンクを構築し、試験管内における分化等の実験を施し、研究者それぞれが興味のある表現型が現れたものだけ変異マウスを作製するという取り組みをやっています。例えば、試験管内で ES 細胞から血液細胞を作製する系を利用して、変異 ES 細胞バンクをスクリーニングした所、ある遺伝子が破壊された ES 細胞からは全く血液細胞が作り出されませんでした。その同じ遺伝子が欠損したマウスを樹立した所、血液系が発生する以前に胎生致死となっていました。たぶん、血液系にも機能的に関連していると考え、血液系だけで遺伝子が欠損できるコンディショナルノックアウトマウスを作製し、表現型を解析中です。どうも、血液系に表現型が出ているようです。このように、ES 細胞を利用してあらかじめ、機能解析しておくことにより、むだに表現型陰性マウスを作製しなくてもいいようになることが期待されます。

最近、樹立されたハプロイド **ES** 細胞は片アレルしか存在しないので、さらにこの流れを一気に加速する可能性があります。

参考論文

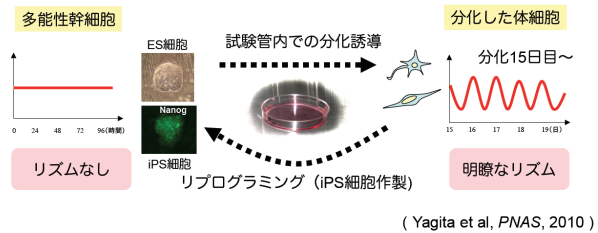
- 1, Horie K., et al. A homozygous mutant embryonic stem cell bank readily applicable for phenotype-driven genetic screening. *Nat. Methods*, 8:1071-1077, 2011
- 2, Kokubu C and J Takeda. When half is better than the whole: advances in haploid embryonic stem cell technology. *Cell Stem Cells*, 14: 265-267, 2014

八木田和弘

京都府立医科大学大学院医学研究科統合生理学

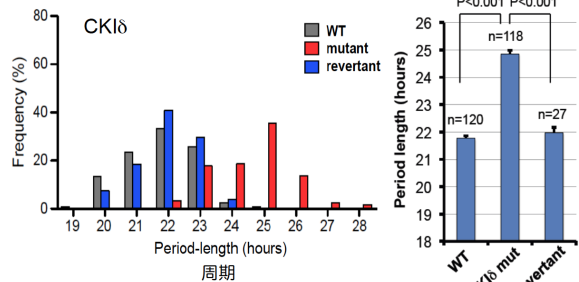
一生にわたって刻み続ける概日時計は、生体における計時機構の基盤を担い、環境変化に合わせた生体リズムを生み出す内因性の自律振動体である。哺乳類の場合、睡眠覚醒、体温、血圧、心拍数、肝機能、消化管蠕動運動、内分泌、エネルギー代謝など、極めて多岐にわたる生理現象の日内変動（概日リズム）を制御している。概日時計は時計遺伝子と呼ばれる一連の遺伝子群によって成り立っており、概日リズムの中核である視交叉上核のみならず、全身のほとんどの臓器・組織を構成する細胞に備わっていることが知られている。そのため、概日時計の医学的生理的意義の解明には「細胞レベル－臓器レベル－個体レベル」といった階層を貫いたトータルな解析システムが必要となる。

細胞分化に伴い発生しリプログラミングで消失する概日時計



(図1) 細胞分化と概日時計の発生(獲得)は密接な相関関係にある

最近、我々は、遺伝子改変技術及び発生工学技術と定量的リアルタイム・イメージングを駆使し、ES細胞には概日時計の振動が見られないこと、しかし分化誘導することで *in vitro* で細胞自律性に概日時計の形成が起ること、さらにリプログラミングしiPS細胞にすることで再び概日時計が消失すること、を明らかにした(図

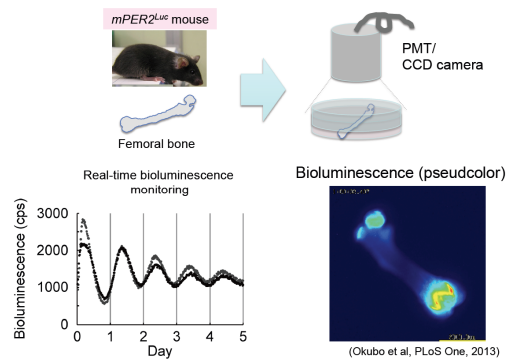


(Umemura et al, PLoS One, 2013)

(図2) *in vitro* 概日時計形成アッセイはCKIΔ欠損による周期延長を検出

1) (1)。この結果を踏まえ、遺伝子変異ES細胞を用いて *in vitro* 概日リズム形成アッセイによる概日リズム異常スクリーニング法を確立した(図2) (2)。

近年、イメージング技術の目覚ましい進歩によって、生体機能を「生きたまま」あるいは「あるがまま」観察することが可能になってきている。特に、生物毒性の低いルシフェラーゼを用いた生物発光による長期間連続イメージングが注目を集めてきており、我々が進めている臓器レベルでの発光イメージングによる概日リズム解析によって、マウス大腿骨などの器官培養による臓器全体の概日時計の様子が長期間にわたって分かるようになった（図3）（3）。



（図3）マウス大腿骨の器官培養における明瞭なmPER2^{Luc} 発光リズムの観察

引用文献

1. Okubo N, Minami Y, Fujiwara H, Umemura Y, Tsuchiya Y, Shirai Y, Oda R, Inokawa H, Kubo T, **Yagita K***. Prolonged Bioluminescence Monitoring in Mouse ex vivo Bone Culture Revealed Persistent Circadian Rhythms in Articular Cartilages and Growth Plates., *PLoS One*, 8, e78306, 2013
2. Umemura Y, Yoshida J, Wada M, Tsuchiya Y, Minami Y, Watanabe H, Kondoh G, Takeda J, Inokawa H, Horie K, **Yagita K***. An in vitro ES cell-based clock recapitulation assay model identifies CK2a as an endogenous clock regulator. *PLoS One*, 8, e67241, 2013
3. **Yagita K***, Horie K, Koinuma S, Nakamura W, Yamanaka I, Urasaki A, Shigeyoshi Y, Kawakami K, Shimada S, Takeda J, Uchiyama Y, Development of circadian oscillator during differentiation of mouse embryonic stem cell in vitro., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 3846-3851, 2010.

動物の遺伝子操作から学ぶ胚発生の制御

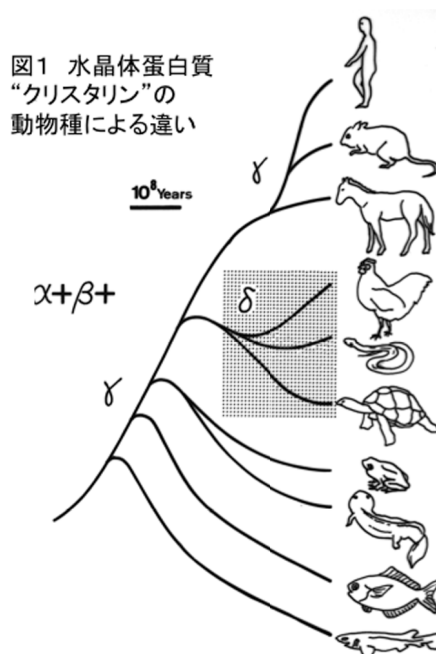
近藤寿人（大阪大学大学院生命機能研究科、現 京都産業大学総合生命科学部）

実験動物の遺伝子操作や変異体をつくる技術とともに、胚発生を司る基本的な制御機構の数々が明らかにされてきた。その30年以上にわたる発展の歴史を、私の経験を素材としてお話ししたい。

私は、遺伝子の働きから発生過程を明らかにすることを早くから志していたが、当初は動物の遺伝子の研究法は皆無であり、大学院生時代や、米国での研究員時代は大腸菌を使って遺伝子の研究をしていた。在米の期間に、世では **intron** が発見され、さまざまなクローニングベクターの開発が始まり、制限酵素もその数を増やしつつあった。動物の遺伝子を直接に研究する発生生物学が可能になると感じていた1978年暮れに、京都大学の岡田節人研究室に助手として参加するという僥倖に恵まれた。トランスジェニックマウス、ES細胞の樹立、ショウジョウバエを使った形態形成変異体の網羅的なスクリーニングなど、今日の発生生物学、医科学のいずれにとってもかけがえのない成果が、相次いで発表されていった時期であった。

私は、発生生物学の実験を始める前に、まず Anne McLaren 著 "Mammalian Chimeras" (1976) と、その松永丈志訳「哺乳類の遺伝発生学」(岩波書店、1980) の全文にわたって日英文を対照する役があたり、そのおかげで、現代的な実験動物としてのマウスについて多くを学ぶことができた。ES細胞が発表されると躊躇なくすぐに私の実験にそれを取り入れたのは、McLaren の本のおかげである。

私が最初に提起した問題は、クローニングされたニワトリの δ -クリスタリン



遺伝子をマウス細胞に導入した場合に、それが水晶体特異的に発現されるか？という問題であった。マウスは δ -クリスタリン遺伝子を持たず、代わりに γ -クリスタリン遺伝子をもっている(図1)。従ってニワトリの δ -クリスタリン遺伝子がマウスでも水晶体特異的に発現されれば、個々の遺伝子に対応した制御ではなく、「水晶体の分化状態」に対応した制御が行われることになる。答えは”Yes”であった(Kondoh et al., 1983, 1987, Takahashi et al., 1998)。最初は初代培養の各々の核へのマイクロインジェクションを用いたが、後には横山峯介氏(当時)をはじめとした実験動物中央研究所ほかの方々の協力を得てトランスジェニックマウスなどでもそれを確認した。この経験を通して、実験動物のエキスパートのすばらしい技術力を認識した。

ニワトリの δ -クリスタリン遺伝子がマウスの中でも水晶体特異的に制御されるという事実から、クリスタリン遺伝子の制御が明らかになれば、水晶体分化の機構そのものがわかるだろうという予想できた。そこで、直ちに δ -クリスタリン遺伝子のなかの制御領域の解析に向かった。そして遺伝子の第3イントロンに水晶体特異的なエンハンサーがあることを突き止めた(Hayashi et al., 1987)。しかし、そのエンハンサーに結合して水晶体特異的な転写活性化をもたらす転写因子を明らかにするには、地道で長い研究の歩みが必要であった。

その研究を進めながらも、名古屋大学で新しい研究室を始めたのを機に、N-myc による胚発生制御を、ノックアウトマウスをつくることによって研究することにした。当時知られていた転写制御因子は極めて限定されたものであったが、その中にあって、N-Myc は ES 細胞などの初期胚細胞や神経系の幹細胞で強く発現されていて、現在 Sox2 が担うことが明らかになっている制御機能を N-myc に期待したのであった。その予想とは異なった研究の展開になったが、初めて ES 細胞でのダブル・ノックアウトを実現し、また Tenacin のノックアウトマウスを成功された相賀裕美子さんとほぼ同時に、日本では最初に N-myc 遺伝子を用いてノックアウトマウスを作製することができた(Sawai et al., 1991)。

この間の経験から、ES 細胞を直接用いた研究によっては、着床後間もなくおきる体細胞系列の分離機構を研究することはできないだろうと考えて、エピブラスト幹細胞の出現を待った。それは 2007 年によく実現した。

δ -クリスタリンエンハンサーについては、30 塩基長の最小のエンハンサー単位（コア領域、DC5 と呼ぶ）が同定され、その隣接した位置に水晶体で強く発現される 2 つの異なった転写因子が同時に結合することがエンハンサーの活性化に必要であることが示された。その片方の因子が *Sox2* であることを蒲池雄介氏が見つけ、それを論文発表したのが 1995 年である(Kamachi et al., 1995)。それ以来、私は *Sox2* による転写制御機構を追い求めている。DC5 に結合するもう一方の転写因子は *Pax6* であった(Kamachi et al., 2001)。この一連の研究から、次のことを結論した。(1)*Sox2* などの転写因子はパートナー転写因子との複合体として初めて作用する(*Sox-Partner code*; Kamachi et al., 2013)。(2)*Sox2* などの転写因子とパートナー因子の組み合わせが細胞の分化状態を規定する。(3)その組み合わせの変化が発生過程を進行させる。

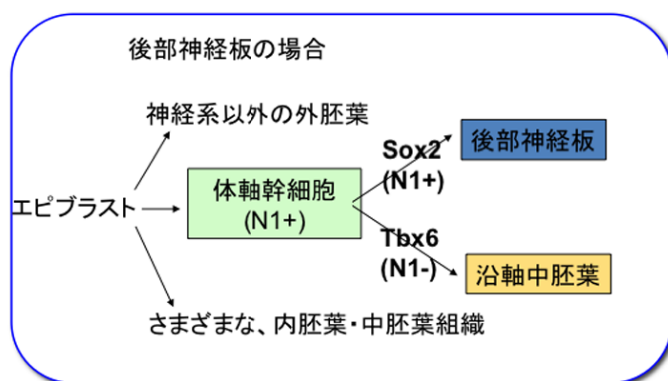
さて、*Sox2* 遺伝子は、初期胚ではエピブラスト、神経系原基、感覚器原基で切れ目無く発現されており、神経系原基での発現は大人にまで続いている。この *Sox2* の発現が、単純な制御によって実現されているとは考え難かったので、ゲノム構成がコンパクトなニワトリの *Sox2* 遺伝子近傍 200 kb の領域に分布するエンハンサーを、ニワトリ胚への *electroporation* を用いて網羅的に検索した(Uchikawa et al., 2003)。その結果、これまでに 27 個の異なったエンハンサーを同定した。その多くは神経系でエンハンサー活性を持っていたが、活性化時期や神経系のどの領域で活性を持つかという特異性は互いに異なっていた。このように沢山のエンハンサーを 1 個の転写因子遺伝子が持つのは、様々な発生段階や細胞環境に対応しつつ、特定の転写因子の発現と機能を確保するための機構であろう。また、個々のエンハンサーの解析から、発生初期では、*Sox2* 遺伝子は N2, N1 という 2 つのエンハンサーによって制御されること、そしてそれらはそれぞれ、前部神経板、後部神経板の発生に対応していることが明らかになった。つまり、神経板の 2 つの領域は全く異なった機構でつくられる。

Sox2 の後部神経板での発現を制御する N1 エンハンサーの活性とその制御を解析した結果、興味深い事実がわかった。N1 エンハンサーは原条の両側のエピブラスト(*caudal lateral epiblast*)で活性化され、そのままエピブラスト側にとどまった細胞では *Sox2* が発現されて、後部神経板として発生する。しかし、*caudal lateral epiblast* の細胞の多くは原条を通して中胚葉区画に移動し

(gastrulation)、それらの細胞は N1 エンハンサーをひとたび活性化していたにもかかわらずその N1 活性を抑制してしまう。N1 エンハンサーを抑制することが中胚葉の発生に不可欠なのであろう。

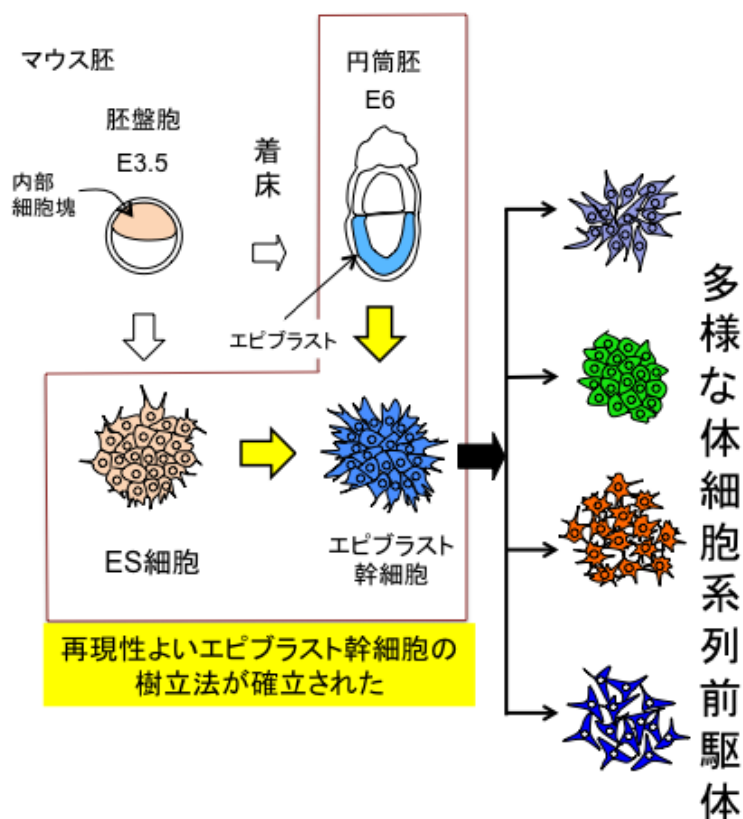
このことから、2つのことが示唆された。(1) Caudal lateral epiblast の細胞は、後部神経板と中胚葉との2つの発生能を併せ持つ bipotential cells の集団である。(2)もし、N1 エンハンサー活性が中胚葉区画で抑制されなければ、中胚葉の代わりに神経系が発生するのではないかと (Takemoto et al., 2006)。後者の予測に合致すると思われたのが 1998 年に発表された *Tbx6* ノックアウトマウス胚であった。沿軸中胚葉を欠き、その代わりに神経管が発生するので、3本の神経管をもつ。*Tbx6* ノックアウト胚を詳しく分析した結果、上記の2項目に間違いがないことが示された (Takemoto et al., 2011) (図2)。このことは、事実上、細胞系列の分離に関する三胚葉説を否定している。

図2 後部神経板を発生させる機構と細胞系列



体細胞系列の細胞群の直接の前駆体は、着床後胚の一部であるエピブラストである。マウス胚では、小さな円筒胚の最深部にある組織で、それを直接的に研究することは難しかった。しかし、2007年にエピブラストから直接エピブラスト幹細胞(EpiSC)が樹立され、新しい時代が到来した。エピブラスト幹細胞を使って個別の体細胞系列の発生の制御を研究できるようになったのである (図3)。私たちは手始めに、エピブラストから前部神経板が直接的に発生する際の転写制御機構を詳細に研究した (Iwafuchi-Doi et al., 2011, 2012)。それを発展させて、より広い体細胞系列に研究対象を広げている現状である。

図3 エピブラスト幹細胞の意義



これまでの私たちの研究は、現代的な実験動物や、それに由来する幹細胞を確立された方々のご尽力と成果の上に成り立っている。皆様に感謝を申し上げて、私の話を閉じたい。

文献

- Kondoh, H., Yasuda, K. & Okada, T. S. Tissue-specific expression of a cloned chick delta-crystallin gene in mouse cells. *Nature* 301, 440-442 (1983).
- Kondoh, H., Katoh, K., Takahashi, Y., Fujisawa, H., Yokoyama, M., Kimura, S., Katsuki, M., Saito, M., Nomura, T., Hiramoto, Y. & Okada, T. Specific expression of the chicken delta-crystallin gene in the lens and the pyramidal neurons of the piriform cortex in transgenic mice. *Dev Biol* 120, 177-185 (1987).
- Hayashi, S., Goto, K., Okada, T. S. & Kondoh, H. Lens-specific enhancer in the third intron regulates expression of the chicken delta 1-crystallin gene. *Genes Dev* 1, 818-828 (1987).
- Takahashi, Y., Hanaoka, K., Hayasaka, M., Katoh, K., Kato, Y., Okada, T. S. & Kondoh, H. Embryonic stem cell-mediated transfer and correct regulation of the chicken delta-crystallin gene in developing mouse embryos. *Development* 102,

- 259-269 (1988).
- Sawai, S., Shimono, A., Hanaoka, K. & Kondoh, H. Embryonic lethality resulting from disruption of both N-myc alleles in mouse zygotes. *New Biol* 3, 861-869 (1991).
- Kamachi, Y., Sockanathan, S., Liu, Q., Breitman, M., Lovell-Badge, R. & Kondoh, H. Involvement of SOX proteins in lens-specific activation of crystallin genes. *Embo J* 14, 3510-3519 (1995).
- Kamachi, Y., Uchikawa, M., Tanouchi, A., Sekido, R. & Kondoh, H. Pax6 and SOX2 form a co-DNA-binding partner complex that regulates initiation of lens development. *Genes Dev* 15, 1272-1286 (2001).
- Uchikawa, M., Ishida, Y., Takemoto, T., Kamachi, Y. & Kondoh, H. Functional analysis of chicken Sox2 enhancers highlights an array of diverse regulatory elements that are conserved in mammals. *Dev Cell* 4, 509-519 (2003).
- Takemoto, T., Uchikawa, M., Kamachi, Y. & Kondoh, H. Convergence of Wnt and FGF signals in the genesis of posterior neural plate through activation of the Sox2 enhancer N-1. *Development* 133, 297-306 (2006).
- Takemoto, T., Uchikawa, M., Yoshida, M., Bell, D. M., Lovell-Badge, R., Papaioannou, V. E. & Kondoh, H. Tbx6-dependent Sox2 regulation determines neural or mesodermal fate in axial stem cells. *Nature* 470, 394-398 (2011).
- Iwafuchi-Doi, M., Yoshida, Y., Onichtchouk, D., Leichsenring, M., Driever, W., Takemoto, T., Uchikawa, M., Kamachi, Y. & Kondoh, H. The Pou5f1/Pou3f-dependent but SoxB-independent regulation of conserved enhancer N2 initiates Sox2 expression during epiblast to neural plate stages in vertebrates. *Dev Biol* 352, 354-366 (2011).
- Iwafuchi-Doi, M., Matsuda, K., Murakami, K., Niwa, H., Tesar, P. J., Aruga, J., Matsuo, I. & Kondoh, H. Transcriptional regulatory networks in epiblast cells and during anterior neural plate development as modeled in epiblast stem cells. *Development* 139, 3926-3937 (2012).
- Kamachi, Y & Kondoh, H. Sox proteins: regulators of cell fate specification and differentiation. *Development* 140, 4129-4144 (2013).

角田 慎一

独立行政法人医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト プロジェクトリーダー

サイトカインの機能を制御するバイオ医薬品

自己免疫疾患は、自己の抗原に対して免疫機構が過剰に応答してしまう病気であるが、その発症原因は未だ不明な点が多い。近年、自己免疫疾患の病態には、往々にして免疫応答の調節を担うサイトカインのインバランスが関わっていることが明らかとされ、難治性の自己免疫疾患の治療法として、生物製剤などのサイトカインシグナルの制御薬が、現在のところ最も有効なアプローチとなっている。

種々の自己免疫疾患における炎症性病態の惹起・悪化に関わるサイトカインの一つに腫瘍壊死因子（TNF- α ）がある。TNF- α （TNF）は、マクロファージをはじめとする免疫反応の惹起に関わる細胞から分泌される。一方、リンパ球の細胞膜には TNF 受容体タンパク質が発現しており、TNF による刺激で免疫反応が活性化される。何らかの原因によって免疫細胞が自己の生体成分を異物と認識し、TNF が分泌過剰の状態が続くと、慢性の炎症や組織破壊などの自己免疫疾患の病態を発症することになる（図 1）¹⁾。

近年、免疫応答制御の鍵分子である TNF の機能を特異的に阻害できる薬が開発され、その結果、従来は治療困難であった慢性関節リウマチなどの難治性疾患の病態が大きく改善できるようになってきた。従来、薬は低分子有機化合物が主流であったが、昨今では、抗 TNF 抗体をはじめとして、モノクローナル抗体などの高分子のタンパク質から成る薬（バイオ医薬品）が台頭し、低分子化合物では困難であった薬理作用を発揮している。

代表的なバイオ医薬品である抗 TNF 抗体製剤は、リウマチ性疾患に対する薬として臨床で優れた治療効果を発揮している。しかし一方で、TNF は本来、宿主の生体防御機構にも重要な役割を担っているため、抗 TNF 抗体の投与により、感染症やがんの発症リスクが高まるといった副作用も伴う。また自己免疫疾患の中でも、多発性硬化症では、抗 TNF 抗体の投与により逆に病態悪化が認められたことから、本疾患には抗 TNF 抗体の使用は禁忌となっている。したがって、これら問題点を克服し得る薬が開発できれば、次世代の難治性疾患治療薬として大いに期待される。

タンパク質機能改変技術による新規フォーマットのバイオ医薬品

最近の研究から、TNF には 2 種類の受容体サブタイプ (TNFR1/R2) が存在し、そのうち、TNFR1 を介した過剰なシグナルが炎症の惹起・悪化に、可溶型/膜結合型 TNF の TNFR2 を介したシグナルがウイルス感染に対する防御や多発性硬化症の病態抑制に関与していることが示唆されている²⁾。これらの知見を加味すると、TNFR2 のシグナルは保持し、TNFR1 を介したシグナルのみを選択的に阻害する薬ができれば、既存の TNF 阻害薬が適用できなかった多発性硬化症等にも有効性を示し、また感染症のリスクも低減できるような、有効性・安全性に優れた治療薬になりうると考えられる (図 2)。本観点から著者らは、タンパク質工学的手法によって機能を任意に改変した TNF を創製し、TNFR1 選択的阻害剤 (アンタゴニスト) として応用する、新しいタイプのバイオ医薬品を考案した。このサイトカイン機能改変体は、抗体では達成困難であった機能を発揮できることや、大腸菌発現系のような低コストな手段で製造可能であることなどの点から、新規フォーマットのバイオ医薬品として期待できる。

TNFR1 選択的アンタゴニストとして働く TNF 機能改変体

サイトカインは受容体と相互作用することで細胞内にシグナルを伝達する。そこで著者らは、TNF のアミノ酸残基の一部を人為的に別のアミノ酸残基に置換することで、受容体への結合親和性や結合選択性を変化させた TNF 改変体の創製を試みた。

我々は、膨大な種類のタンパク質ライブラリの中から、目的とする機能を有するタンパク質を迅速に選別可能とするファージディスプレイ法を駆使することにより、1 億種類以上のタンパク質アミノ酸置換体のライブラリを構築し、その中から受容体との親和性、特異性、生物活性などの特性を変化させた“タンパク質機能改変体”を自在に取得する基盤技術を確認してきた (図 3)。本技術に基づき、TNF 受容体との相互作用に関わる TNF 中の 6 箇所のアミノ酸残基を網羅的に他の 20 種類のアミノ酸に置換した TNF 改変体ライブラリを構築した。本ライブラリからのスクリーニングを行った結果、TNFR1 には結合するが TNFR2 とは結合しない、さらに、結合はするがシグナルは伝えない、デコイサイトカインとも言うべき「TNFR1 選択的アンタゴニスト (R1antTNF)」を得ることに成功した (図 4)³⁾。

そこで、この R1antTNF の新規自己免疫疾患治療薬としての有効性を評価するため、関節

リウマチのモデルである CIA マウスに投与して治療効果を検討した。その結果、TNFR1 選択的アンタゴニストである R1antTNF は、既存の抗 TNF 抗体のように、感染防御能を低下させることなく、関節炎の抑制効果を発揮することが判明した (図 5)⁴⁾。また、多発性硬化症のモデルとして用いられる EAE マウスにおいても、病態悪化は認められず、神経麻痺の抑制効果を発揮しうることを明らかとした⁵⁾。現在、他の自己免疫疾患モデルでの治療実験を進めるとともに、有効性・安全性に優れた自己免疫疾患治療薬として、臨床応用に向けた取り組みを進めているところである。

今後の展望

本稿で紹介したタンパク質機能改変体創製技術は、TNF に限らず、様々なサイトカインやタンパク質を医薬品化するための高機能化、機能改変に有用と考えられる。我々も TNF に加え、インターフェロンやリンホトキシンなどの高機能化と医薬品としての応用の可能性⁶⁾、さらには、ペプチド医薬品の開発への応用を検討している。今後、我々が確立した創薬基盤技術により、我が国初の画期的医薬品が誕生することを期待している。

参考文献

1. Feldmann M et al. Nat Med 9: 1245-1250, 2003.
2. Lubel JS et al. Intern Med J 37: 705-712, 2007.
3. Shibata H et al. J Biol Chem 283: 998-1007, 2008.
4. Shibata H et al. Biomaterials 30: 6638-6647, 2009.
5. Nomura T et al. J Control Release 149: 8-14, 2009.
6. Morishige T et al. Cytokine 61: 578-584, 2013.

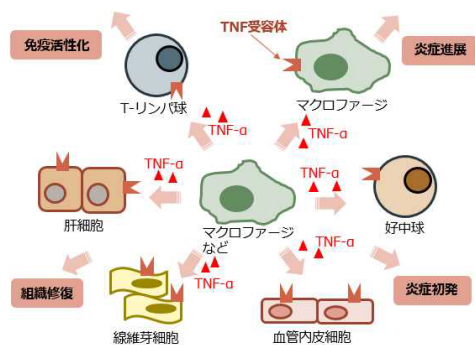


図 1 TNF- α の生理機能

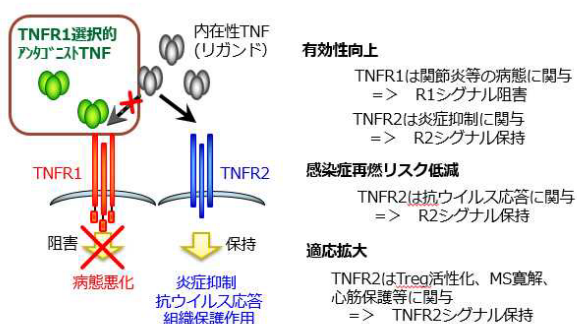


図 2 TNFR1 選択的アンタゴニストのコンセプト

炎症病態に関わる TNFR1 のシグナルは阻害し、有益な作用に関わる TNFR2 のシグナルは保持することで、有効性と安全性に優れた自己免疫疾患治療薬が創製できると考えられる。

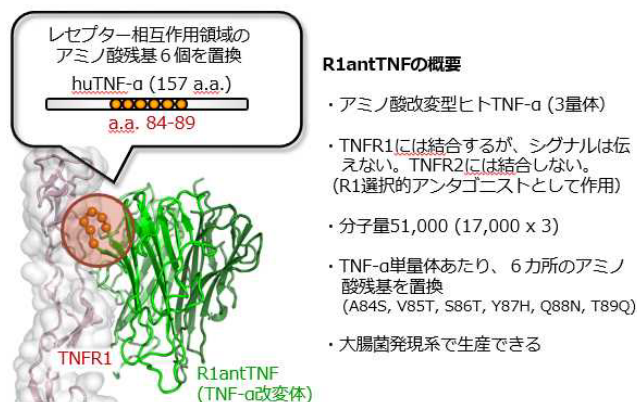


図 3 タンパク質機能改変体創製技術

野生型サイトカインを鋳型に、有用な機能を有する改変体を創製する。一部のアミノ酸残基のコドンランダム化させた cDNA ライブラリを設計し、ファージディスプレイ法により数十億種類以上の改変体タンパク質を発見するライブラリを構築する。構築したライブラリの中から、標的レセプターへの結合性を有し、かつ目的とする生物活性を示す改変体を迅速にスクリーニングすることができる。

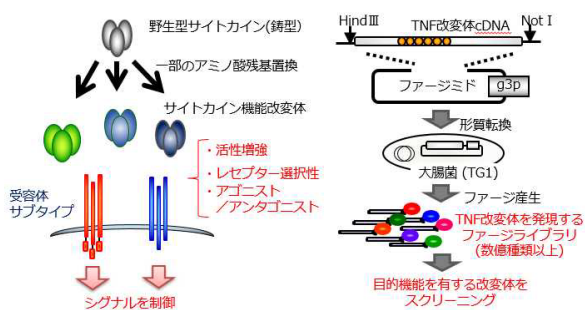


図 4 TNFR1 選択的アンタゴニスト (R1antTNF) の概要

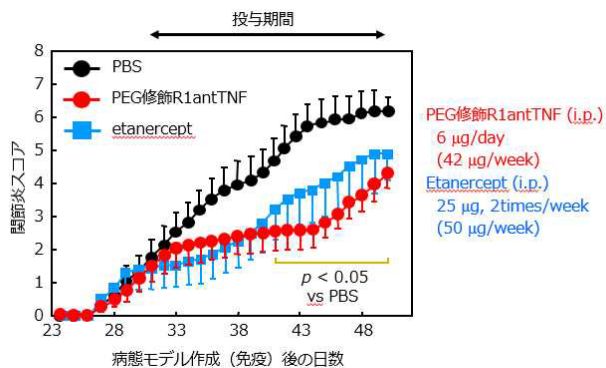


図 5 関節リウマチモデルマウスにおける R1antTNF の抗炎症効果

コラーゲン誘発関節炎マウスに、ポリエチレングリコール(PEG)修飾することで血中安定性を高めた R1antTNF と、比較として既存の抗 TNF 阻害薬 (Etanercept) を腹腔内投与し、関節炎症状を経日的に評価した。PEG 修飾 R1antTNF は既存薬と同等の顕著な関節炎抑制効果を発揮した。

プロバイオティクスの抗炎症効果

広島大学・大学院生物圏科学研究科 田辺 創一

炎症性腸疾患（inflammatory bowel disease, **IBD**, 潰瘍性大腸炎・クローン病など）は、難病に指定されている疾患である。IBD は、複合的な要因によって発症する。腸管上皮細胞層によるバリア機能の異常により、高分子抗原や微生物などが侵入することで、粘膜固有層の免疫細胞が過剰に活性化し、腸管での炎症が引き起こされる。また、腸における炎症には Th17 細胞の関与も指摘されている（Figure 1）。Th17 は、炎症・自己免疫疾患・アレルギーなどに深く関与する IL-17 産生細胞であることから、Th17 活性を抑制することが炎症抑制に効果的であると考えられる¹⁾。乳酸菌・ビフィズス菌は、樹状細胞などにより認識され、抗炎症効果をはじめとする免疫調節作用を有すると期待されている²⁾。

Streptococcus thermophilus ST28 は、Th17 分化誘導環境下（in vitro）において Th17 分化および IL-17 産生を低下させた。一方、ST28 は Th1 サイトカインである IFN- γ の産生量を有意に増加させた。このような Th1/Th17 バランス制御を担う因子（の少なくとも その一部）として、ST28 のゲノム DNA が示唆された（Figure 2）。続いて、生体内における Th17 抑制効果を、デキストラン硫酸ナトリウム誘導 腸炎マウス（DSS マウス）を用いて評価した。DSS マウスへの ST28 の経口投与は、血便と下痢を伴う腸炎症状を軽減した。また、ST28 の経口投与は、大腸粘膜固有層の Th17 割合を減少させ、大腸粘膜固有層および脾細胞における過剰な IL-17 産生も著しく減少させた。

また、炎症状態の上皮細胞では、CD40 などの共刺激分子が異常発現し、腸炎に深く関与することが明らかになってきた（Figure 3）。DSS マウスにおいて、*Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* JCM 1222^T 投与は、CD40 発現を制御することで、炎症に関わる IL-17 の高産生を抑制することを明らかにした³⁾。現在、Th17 をはじめ 腸炎に深く関わる免疫細胞について解析するとともに、低酸素と炎症に関係についても検討している。

腸管上皮バリア損傷に対する乳酸菌の回復効果についても解析した。DSS マウス腸管において、経口投与した *Lactobacillus rhamnosus* OLL2838 は、tight junction 構成・調節タンパク質である ZO-1 および MLCK 発現を制御することにより、腸管バリア機能の低下を抑制した。さらに、Caco-2 細胞での検討から、OLL2838 の活性成分の 1 つはリポテイコ酸であり、Toll-like receptor (TLR) 2 を介して腸管バリア回復効果を発揮することが示された（Figure 4）。TLR2 シグナル以外のバリア回復メカニズムも報告されている⁴⁾。

IBD は腸炎の中でも重篤な段階であるが、我々の日常生活におけるストレスなどによっても、局所的に軽微な炎症が起こっており、これを乳酸菌・ビフィズス菌が修復していると推察されることから、これらの腸管炎症抑制作用は、IBD 患者に限定されるものではないと思われる。今後、有効菌種・菌株や作用機序の全容が明らかとなることを期待したい。

主要論文

- 1) **Tanabe S.** The effect of probiotics and gut microbiota on Th17 cells. *Int Rev Immunol.* 2013, 32(5-6): 511-525.
- 2) Luongo D, Miyamoto J, Bergamo P, Nazzaro F, Baruzzi F, Sashihara T, **Tanabe S**, Rossi M. Differential modulation of innate immunity in vitro by probiotic strains of *Lactobacillus gasseri*. *BMC Microbiol.* 2013, 13: 298. doi: 10.1186/1471-2180-13-298.
- 3) Miyauchi E, Ogita T, Miyamoto J, Kawamoto S, Morita H, Ohno H, Suzuki T, **Tanabe S.** *Bifidobacterium longum* alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis by suppressing IL-17A response: involvement of intestinal epithelial costimulatory molecules. *PLoS One* 2013, 8(11): e79735. doi: 10.1371/journal.pone.0079735.
- 4) Miyauchi E, O'Callaghan J, Buttó LF, Hurley G, Melgar S, **Tanabe S**, Shanahan F, Nally K, O'Toole PW. Mechanism of protection of transepithelial barrier function by *Lactobacillus salivarius*: strain dependence and attenuation by bacteriocin production. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012, 303(9): G1029-1041.

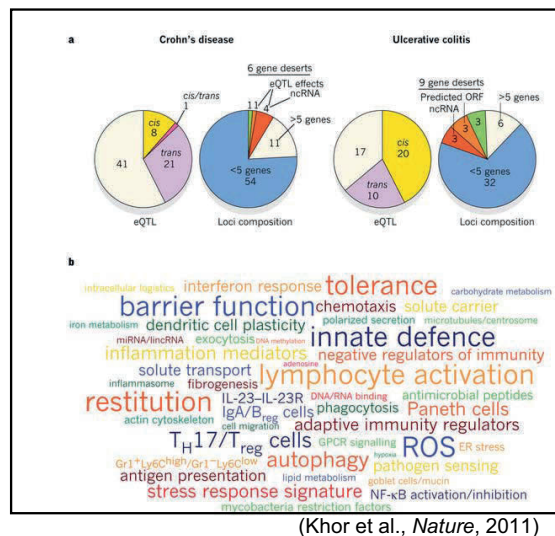


Figure 1. Genetic architecture of IBD-linked susceptibility loci

Among complex diseases, genome-wide association studies (GWAS) have been successful in IBD, identifying 99 non-overlapping genetic risk loci, including 28 that are shared between Crohn's disease and ulcerative colitis.

(Khor et al., Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011. 474: 307-317 から引用)

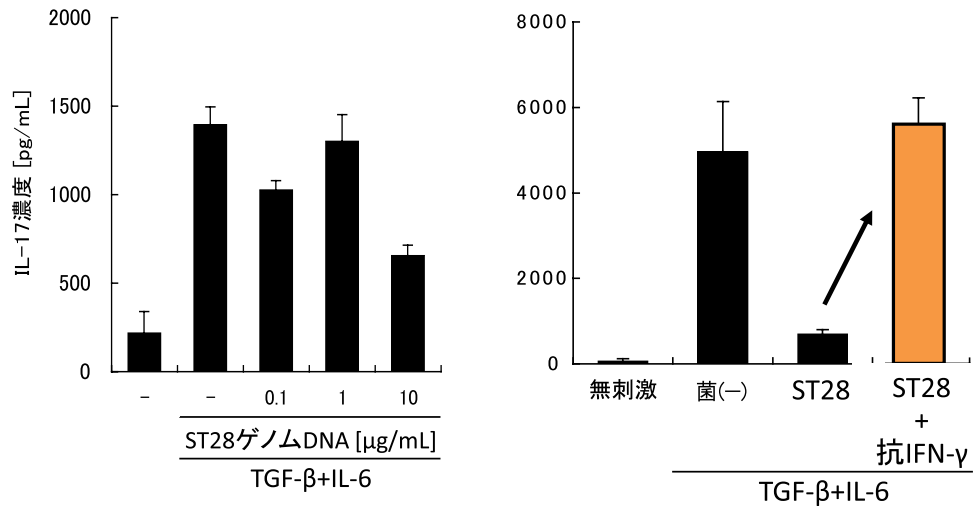
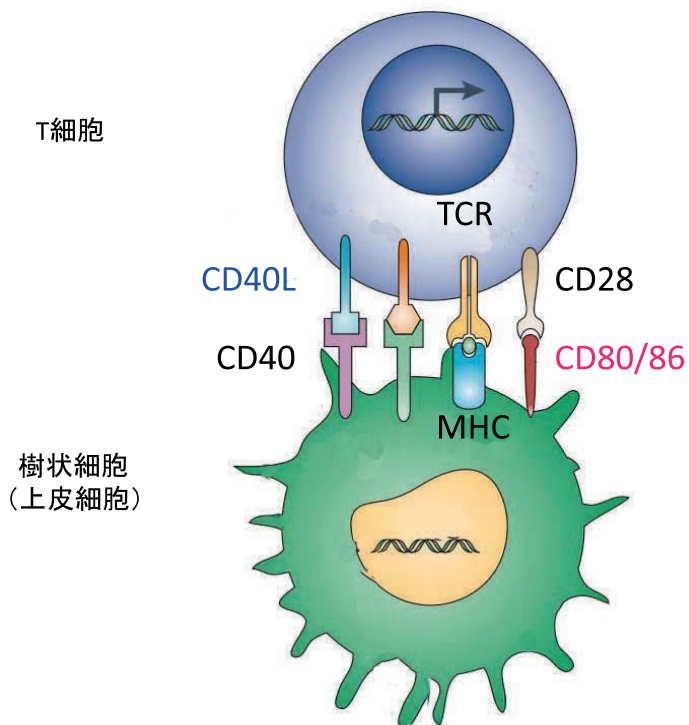


Figure 2.

(左) *Streptococcus thermophilus* ST28 ゲノムDNAによるIL-17産生抑制(マウス脾細胞).

(右) ST28によるIL-17産生抑制におよぼす抗IFN-γ抗体の影響.

ST28(および そのゲノムDNA)は、Th1/Th17バランスを制御すると考えられた。



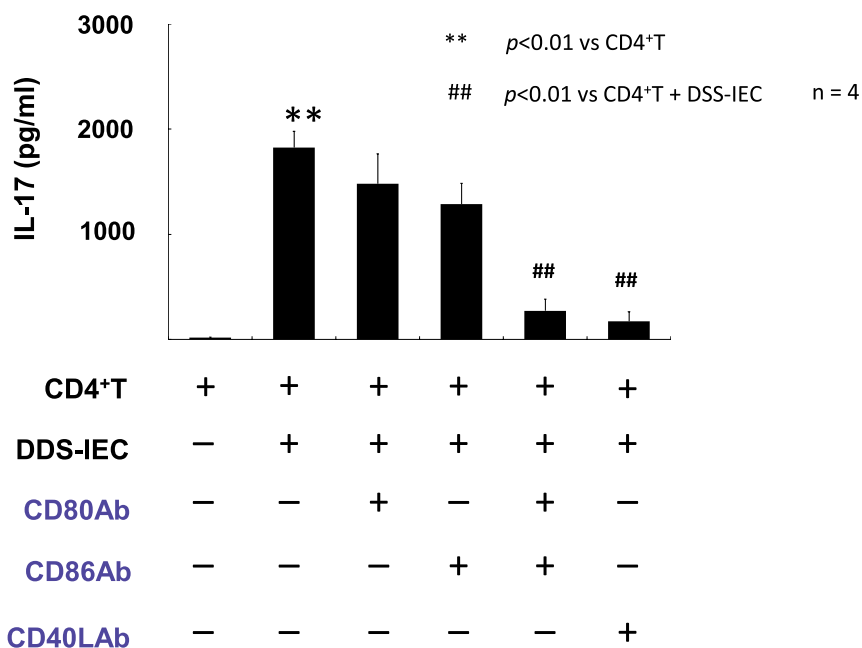
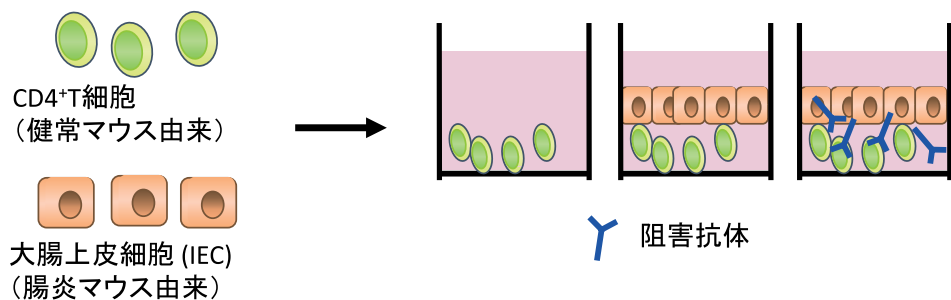


Figure 3.

(前ページ) 炎症状態の上皮細胞における共刺激分子の異常発現.

(本ページ) 炎症上皮細胞とT細胞の共培養実験.

CD80を阻害した場合、サイトカイン産生に影響は見られなかったが、CD80とCD86の両方を阻害した場合、あるいはCD40を阻害した場合、炎症上皮によるTh17分化が抑制された。(文献3のデータを引用)

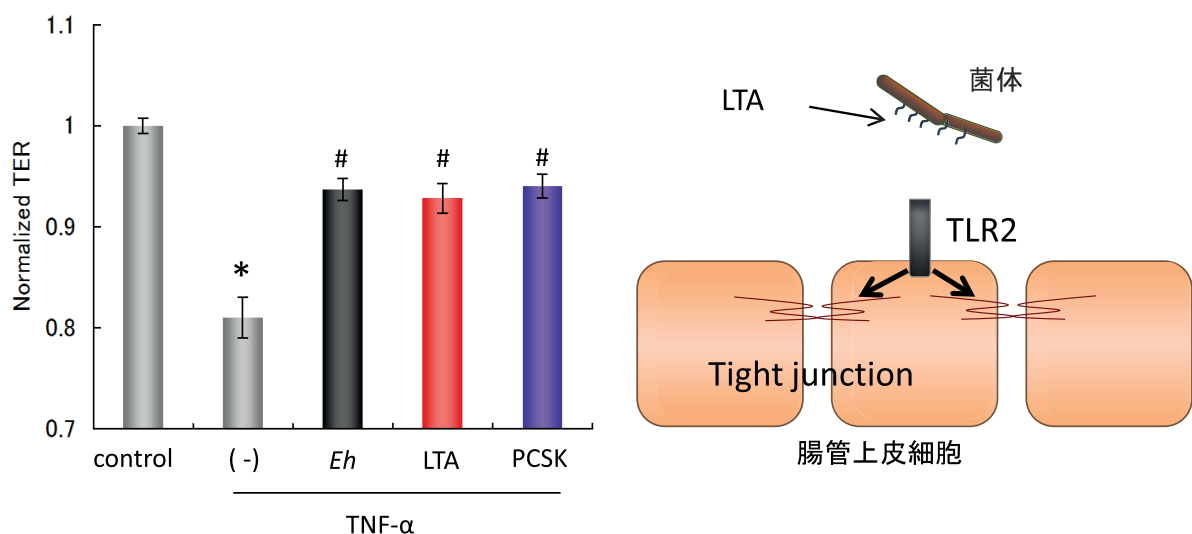


Figure 4. TNF- α による上皮損傷に対する菌体(*Eh*)およびTLR2リガンドの効果 (Caco-2). Transwell上に培養したCaco-2細胞の上皮バリアにTNF- α で損傷を与えると、経上皮電気抵抗値(TER)が低下し、バリア損傷が観察された。本系に菌体(*Eh*)、菌体由来リポテイコ酸(LTA)あるいはTLR2リガンドであるPCSKを添加すると、上皮バリアが回復した。(Miyachi et al., 2008)

福山型筋ジストロフィー 仕組みの解明 治療法開発

戸田達史

神戸大学大学院医学研究科 神経内科学／分子脳科学

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子としてジストロフィンが発見されて以来、この 20 年間で、40 種以上の筋ジス原因遺伝子が報告されている。我が国において、デュシェンヌ型に次いで多い小児期筋ジスである福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) は、先天性筋ジストロフィーに多小脳回などの脳奇形を伴う常染色体性劣性遺伝疾患であり、我々の 90 人に 1 人が保因者である。1960 年に福山幸夫博士によって発見され、その約 40 年後の 1998 年に、我々によって、原因遺伝子フクチンが同定された。

福山型は、muscle-eye-brain 病(MEB)などと類似疾患とされる。我々は遠藤玉夫博士らとともに糖転移酵素 POMGnT1 の遺伝子が MEB 原因遺伝子であることを明らかにした。FCMD や MEB、Walker-Warburg(WWS)症候群、肢帯型 2I 型などに共通した病態として、 α ジストログリカンの糖鎖修飾異常が発見され、 α ジストログリカノパチーという新しい疾患概念が確立された。糖転移酵素の欠損により α ジストログリカンの糖鎖修飾が乱れ、ラミニンなどとの結合ができなくなり、脳奇形を伴う筋ジストロフィーが発症していると考えられている。

さらに近年、福山型筋ジストロフィーの根本的治療法につながる分子メカニズムと治療法を発見した。殆どの FCMD 患者は、フクチン遺伝子の 3' 非翻訳領域に約 3kb の SVA 型レトロトランスポゾンの挿入変異を持つ。我々は、FCMD が SVA の挿入により誘導される「スプライシング異常症」であることを見いだした。さらに異常スプライシングを阻止するため、スプライシング配列を標的とするアンチセンス核酸を設計し、患者由来細胞に導入、及び FCMD モデルマウスに筋注ならびに全身投与した結果、患者由来細胞において正常のフクチンが回復し、またモデルマウスにおいて正常フクチンの回復、 α ジストログリカンの糖鎖修飾及びラミニン結合能の回復が確認された。SVA のエクソントラッピング機能はヒトの疾患や進化に関与しており、FCMD に対しては初の根治療法実現の可能性が示唆される (エクソントラップ阻害療法)。

本講演では、福山型筋ジストロフィーの臨床、遺伝子、病態、分子標的治療などを概観する。

IL-33 と好酸球性炎症

安田好文

兵庫医科大学 免疫学・医動物学

腸管寄生線虫感染と宿主応答

寄生虫は、単細胞性の原虫（マラリア原虫など）と、多細胞性の蠕虫（回虫など）に分けられ、蠕虫はさらに条虫、吸虫、線虫に分類される。線虫のうち、拘虫や糞線虫などのある種の腸管寄生線虫に感染すると、宿主の肺には著しい好酸球浸潤が認められ、Löffler 症候群と呼ばれる喘息様の症状を呈する。Löffler 症候群は寄生虫感染や薬剤によって誘発される肺好酸球増多症であるが、その発症メカニズムは不明である。これらの線虫の幼虫は体内に侵入すると、血行性に肺に集積し、ここで血中から肺胞内へ侵入する。そして気道から咽喉へ来たところで嚥下され、小腸へ至り、成虫となって産卵するというライフサイクルを持つ（図1）。線虫の感染に対しては、宿主体内ではおもに Th2 型免疫応答が誘導される。Th2 細胞から産生される IL-4, IL-5, IL-13 などの Th2 サイトカインはそれぞれ IgE 産生、好酸球増多、ムチン産生亢進など、さまざまな Th2 型免疫応答の効果機構を活性化し、寄生虫の排除にあたる。今回 Löffler 症候群のモデルとして用いるネズミ糞線虫 *Strongyloides venezuelensis* (*S. venezuelensis*) の排除には腸管粘膜に集積した粘膜型肥満細胞が働く。このように感染宿主体内では Th2 細胞が虫体抗原を認識し、分化・活性化して IL-5 や IL-13 を産生することから、Löffler 症候群も Th2 型獲得免疫応答の一つであると考えられてきた。

Löffler 症候群の発症機序

S. venezuelensis 感染マウスの肺を調べると、感染後 7 日目から 14 日目をピークに好酸球の浸潤が認められる。この時期には虫は腸管に達しており、肺にはすでにほとんど寄生虫抗原は存在しないにもかかわらず、持続的に好酸球が

集積する。ヒトでも線虫が肺を通過した後に好酸球性炎症が顕われるため、炎症時に肺を調べても、虫体が見つからないケースも多い。この現象は従来の Th2 型免疫応答によるアレルギー反応と考えると矛盾しているように思われる。

そこで、まず獲得免疫細胞を欠損する Rag2 欠損マウスを用いて Löffler 症候群における Th2 細胞の役割を検討した。Rag2 欠損マウスには Th2 細胞が存在しないにもかかわらず、糞線虫感染によって野生型マウスと同等の好酸球浸潤が認められ、肺での *IL5* mRNA も発現が誘導された。つまり、Löffler 症候群発症には獲得免疫系は不要であることがわかった。

では好酸球はどのように集積するのだろうか。好酸球は Th2 細胞の産生する IL-5, IL-13 によって増殖、遊走することが示されているが、最近になって、Th2 サイトカイン産生には Th2 細胞とは異なる経路があることが明らかとなってきた。寄生虫が粘膜組織に感染する場合、一番始めに寄生虫に接触するのは粘膜上皮細胞であるが、上皮細胞は IL-18、IL-25、IL-33 を含む多くのサイトカインやケモカインを産生する。これらは種々の細胞に働き、IL-4, IL-5, IL-13 などの Th2 サイトカイン産生を誘導する。

IL-33 は IL-1 α , β や IL-18 などと同じ IL-1 ファミリーに属するサイトカインであり、上皮細胞や血管内皮細胞の核内に存在する (図 2)。IL-1 β や IL-18 が caspase-1 によって切断されて活性化され、遊離するのに対して、IL-33 は caspase-1 に切断されると活性を失い、むしろ前駆体と考えられていた全長型が活性を示す。その細胞からの遊離には caspase 類の活性化をひき起こさないネクローシスが一因になると考えられているが、機械的な刺激で遊離するという報告もある。IL-33 の受容体 ST2 は IL-1 受容体ファミリーに属し、IL-1RAcP と複合体を形成する。ST2 は細胞内に TIR ドメインを持ち、Toll like receptor と同様にシグナル伝達分子として MyD88 を用いて、NF- κ B や MAPK を活性化する。ST2 は発見当初、マスト細胞や Th2 細胞に発現することが知られていたが、他にも好塩基球、好酸球、好中球、II 群自然リンパ球 (group II innate lymphoid cells ; ILC2) などでの発現が報告されている。これらの細胞に IL-33 が作用するとおもに Th2 サイトカインが産生される。in vivo では、腹腔内に IL-33 を投与すると主に好酸球が増加し、各組織には好酸球の浸潤が観察される。また

肺や腸管では杯細胞の過形成がみられる。このように、IL-33 は上皮細胞から産生され、Th2 サイトカインを強く誘導することから、抗蠕虫免疫応答やアレルギー性疾患において重要な役割を果たすことが考えられる。

Löffler 症候群では好酸球が集積することから、我々はこの IL-33 がその発症に関与するのではないかと考えた。実際に IL-33 を経鼻的に投与すると、肺胞中に好酸球の浸潤が認められ、しかもこの反応は Rag2 欠損マウスでも見られることから糞線虫感染の場合と同様に Th2 細胞非依存性の現象であることが明らかとなった。また *S. venezuelensis* 感染後、肺の組織中には IL-33 蛋白と *Il33* mRNA 発現が増加する。この時の肺の IL-33 発現細胞は免疫組織染色により II 型肺胞上皮細胞 (ATII) であり、ATII の数自体も感染によって増加する。

では実際に好酸球性肺炎発症に IL-33 は働いているのだろうか。IL-33 欠損マウスに *S. venezuelensis* を感染させてみると、肺の好酸球浸潤が野生型マウスと比較して著しく減少しており、IL-5, IL-13 や好酸球遊走性ケモカインである CCL11 の発現上昇も弱まる。好酸球以外の好中球や T 細胞、B 細胞、マクロファージなどの遊走は影響を受けていないことから、IL-33 は好酸球集積に特異的に働いていると考えられる。

ではなぜ *S. venezuelensis* 感染によって IL-33 が産生されるのだろうか。寄生虫の外皮にはキチンが含まれていることが知られている。キチンは自然界で 2 番目に多い多糖類であり、哺乳類はキチンを持たないが、甲殻類から真菌まで寄生虫を含む多様な生物がキチンを持っている。またキチンを生体内投与すると、好酸球浸潤を誘導することもしられている。そこで、寄生虫感染の代わりにキチンの経鼻投与すると、肺胞洗浄液中に IL-33 が検出され、ATII も *S. venezuelensis* 感染時と同様に増加する。さらに IL-33 欠損マウスではこの好酸球浸潤が減弱する。このことから、*S. venezuelensis* 感染による IL-33 産生誘導には虫体のキチンが関与する可能性が考えられる。

では IL-33 に反応するのはどの細胞だろうか。感染 Rag2 欠損マウスの肺でも IL-5 の産生が認められることから、IL-33 の標的細胞は Th2 細胞以外に存在すると考えられる。また好酸球集積は抗 IL-5 抗体で抑制されることから、IL-33 による IL-5 産生は重要である。そこで、肺胞洗浄液中の IL-5 産生細胞を検索す

ると、系統マーカー陰性で ST2 陽性の細胞群が IL-5 を産生していることがわかった。この細胞群の細胞表面マーカーを調べると ILC2 と一致することが明らかとなった ($\text{Lin}^- \text{Sca-1}^+ \text{ST2}^+ \text{c-Kit}^+ \text{CD25}^+ \text{Thy1.2}^+ \text{ICOS}^+ \text{CD11b}^- \text{CD11c}^-$)。ILC(innate lymphoid cells)は近年大変注目されている自然型リンパ系細胞群であり、そのサイトカイン産生と転写因子発現パターンから、ヘルパーT 細胞の Th1, Th2, Th17(Th22)の分類になぞらえて IFN γ 産生性で T-bet を発現する ILC1, IL-5 や IL-13 を産生し、GATA3 を持つ ILC2, IL-17 や IL-22 を産生し、ROR γ t を発現する ILC3 に分類されている。Löffler 症候群発症における ILC2 の重要性は、T 細胞のいない Rag2 欠損マウスでも、野生型と同様に感染によって ILC2 が出現して好酸球浸潤が見られる一方で、ILC2 を欠損する IL-2Rcommon γ /Rag2 重欠損マウスでは //5 mRNA の発現、好酸球集積ともに全く認められないことから明らかである。さらに、ILC2 誘導における IL-33 の役割を調べると、IL-33 欠損マウスでは野生型マウスと比較して ILC2 が著しく減少しており、逆に感染時に IL-33 を経鼻投与したところ、大量の ILC2 が誘導され、これに伴って IL-33 欠損マウスで減弱していた好酸球浸潤も強力に誘導されたことから、ILC2 は IL-33 の存在下で誘導され、好酸球の集積を引き起こすと考えられる。

このように、*S. venezuelensis* 感染によって上皮細胞から産生された IL-33 が、ILC2を増加させるとともに刺激してTh2サイトカインを産生させることが、好酸球性肺炎の発症機構であることがわかった(図3)。

IL-33 とアトピー性皮膚炎

皮膚の強いかゆみを特徴として多くの人を悩ませるアレルギー性疾患としてアトピー性皮膚炎(atopic dermatitis; AD)が挙げられる。先進国では約30%の人が罹患しており、強いかゆみを伴う湿疹が慢性的に続く疾患であり、血液中に好酸球が増加している。そしてADの皮疹部には、IL-25、IL-33、TSLPのような上皮細胞由来サイトカインの発現が高いことが知られている。しかし、皮疹部のIL-33発現上昇が炎症の結果なのか、原因なのかは不明である。そこで、われわれはAD発症におけるIL-33の役割を明らかにするため、皮膚角化細胞特異的にIL-33を過剰発現するマウスを作製した。すると、このマウスはSPF

条件下でも顔面や耳を引っ掻く動作が増え、耳や四肢、尾部に皮疹や紅斑がみられ、AD 様皮膚炎を自然発症することがわかった。野生型マウスと比べ、このマウスの血中にはヒスタミンや IgE の増加がみられ、皮疹部の組織中には好酸球や肥満細胞が浸潤している。また皮膚組織中に IL-5、IL-13 が検出される。さらに皮疹部をフローサイトメトリーで解析すると、好酸球や肥満細胞だけでなく ILC2 も増加しており、これらの細胞は IL-5 や IL-13 を産生していた。そしてこのマウスに抗 IL-5 抗体を投与すると、皮膚の好酸球浸潤はほぼ完全に抑制され、皮膚炎も著しく改善された。まとめると、皮膚角化細胞に IL-33 が過剰発現すると、皮膚に肥満細胞や ILC2 が集積する。この ILC2 はさらに IL-33 の刺激を受けて IL-5 や IL-13 を産生して好酸球を集積させる。肥満細胞からのヒスタミンがかゆみを引き起こし、好酸球由来の塩基性タンパクの作用で皮膚炎が発症する。このように IL-33 は皮膚局所での発現が増えるだけで、好酸球浸潤主体の皮膚炎を発症させる強力な AD 誘発因子である。

おわりに

生体はその表面を外界と区切るため上皮細胞によってカバーされている。この上皮細胞は感染などに備えて核内に IL-33 を発現している。感染や刺激物によって上皮細胞が活性化される、あるいは傷害されると IL-33 が遊離し、ILC2 を活性化して生体防御や組織修復に働くと考えられる。しかし、強い感染や遺伝的素因などによってこの IL-33 発現が過剰になると、肺では Löffler 症候群が誘導され、皮膚では AD が起こると考えられる。このような過剰な免疫応答による疾患に対しては IL-33 の制御による治療が有効になると期待される。

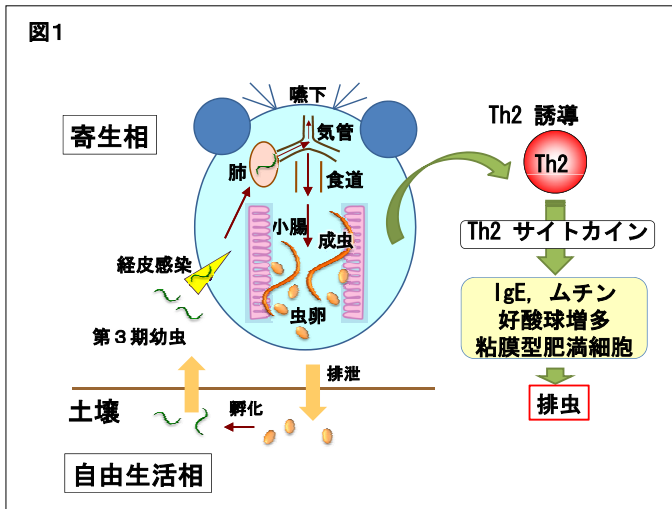


図1 *S. venezuelensis* のライフサイクル

S. venezuelensis はげっ歯類の糞線虫である。フィラリア型の第3期幼虫が宿主の皮膚から侵入すると、血行性に肺へ至る。ここで血管から肺胞へ移行し、気道を咽喉まで上ったところで嚥下されて小腸に到達し成虫になる。成虫は全て雌であり、大量の虫卵を産む。便と共に排出された虫卵は土壌中で孵り、一部は感染せず雄と雌の成虫となる（自由生活相）。感染された宿主は Th2 型免疫応答を起こし、肥満細胞依存性に排虫する。

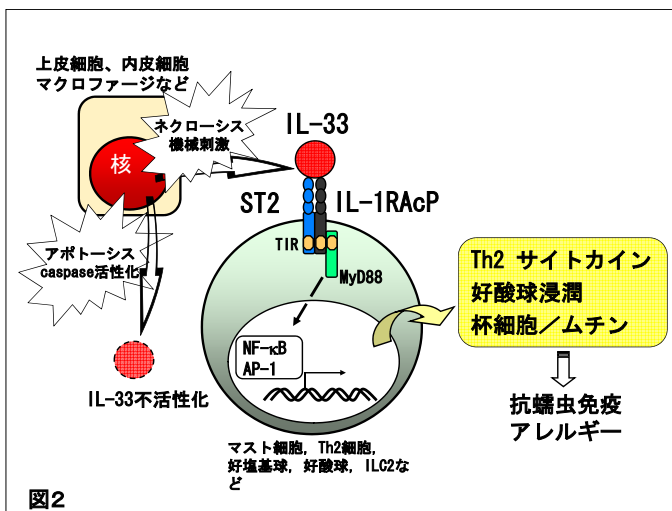


図2 IL-33

IL-33 は上皮細胞などの核内に発現する。ネクロシスで遊離し、アポトーシスではカスパーゼによって切断されるため不活化される。IL-33 の受容体は ST2 と IL-1RAcP 鎖からなり、MyD88 を介してシグナルを伝える。IL-33 刺激を受けた細胞は Th2 サイトカインを産生する。IL-33 投与マウスでは好酸球増多と杯細胞過形成がみられ、抗蠕虫免疫応答やアレルギー疾患に関与すると考えられる。

図3

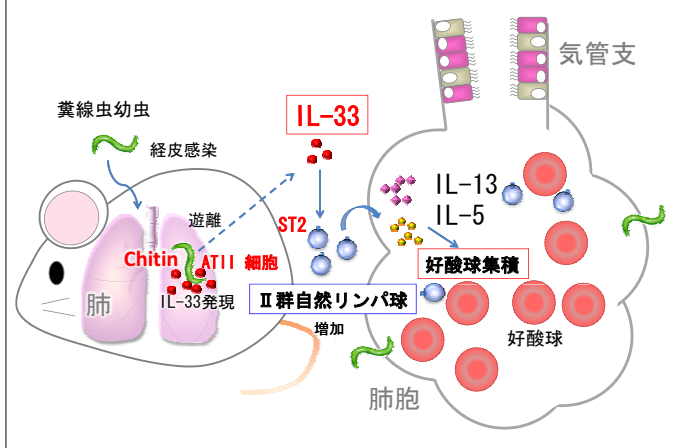


図3 糞線虫感染による Löffler 症候群発症機序

糞線虫幼虫が肺へくると、血管から肺胞内へ移行する。その際、傷害された肺胞上皮細胞から遊離した IL-33 の作用によって ILC2 が肺に増加し、IL-5 や IL-13 を産生する。これらのサイトカインは好酸球を増殖させ、また肺へ遊走させることで好酸球性の炎症をひき起こす。

多臓器間ネットワークに支えられる造血免疫システム

神戸大学医学部附属病院血液内科講師、JST さきがけ研究者
片山義雄

要旨：

免疫造血システムは、これまで造血幹細胞から始まる血球分化系譜とそれに必要な各種転写因子やサイトカインの研究に支えられて来ました。しかし、近年の研究で、これら血球の分化増殖は、血球自身のプログラムだけでなく周囲の環境からのシグナルによって大きくその運命を握られていることが明らかとなってきました。血球を育む環境である骨髄、胸腺など造血系臓器が、非造血系臓器である骨組織や神経系に大きく支配されている構図を概説します。

はじめに：

全ての血球の元になる造血幹細胞が、その本来の機能（必要な際に必要なだけ自己複製と分化増殖を行い、体全体の血球数を一定に保ち、また緊急時には適切に必要な血球を追加供給する）を発揮するために最適な環境が骨髄に存在し、これをニッチと呼びます。最近の研究で、ニッチに異常を来しただけで、本来異常でないはずの造血幹細胞から染色体異常を伴った造血器腫瘍を発生させることがマウスでは証明されています。これまで長い間、血球そのものに備わった分化増殖プログラムで説明されていた血球・免疫細胞分化系譜が、実は周囲環境によってその運命が大きく左右されていることになります。造血幹細胞の周囲環境であるニッチ、そのニッチを制御している細胞や組織、更にそこに影響を与えている遠隔臓器というふうに大きく俯瞰して行くと、異なる臓器により体中のいろいろな機能が影響を受けている可能性が見えてきます。我々のこれまでの研究をもとに、この多臓器間ネットワークに支えられる造血免疫システムを論じてみます。

神経系によるリンパ系臓器制御：

・Katayama Y, Frenette PS. Galactocerebrosides are required postnatally for stromal-dependent bone marrow lymphopoiesis. *Immunity* 18: 789-800, 2003

神経のミエリン鞘は脂質成分が多く、その多くが糖脂質の一種 galactocerebroside です。セラミドからこの糖脂質を合成する酵素が UDP-galactose:ceramide galactosyltransferase (CGT) です。CGT ノックアウトマウスは galactocerebroside を欠損し、神経伝達速度の低下や震えなど強い臨床症状を呈します。このマウスは神経学領域で作成されたため、造血システムについては全く解析されていませんでした。このマウスの血液パラメーターを解析したところ、末梢血で白血球が減少しており、その減少はリンパ球特異的であり、骨髄球系の細胞数に異常はありませんでした。詳細な解析により、これらがリンパ球造血を担う支持細胞（ストローマとも呼ばれる環境側の細胞、すなわちニッチです）特異的な分化増殖不全によるものであることが判明し、神経系によるリンパ球造血ニッチ制御の構図が見えてきました。

神経系と骨代謝による造血幹細胞ニッチ制御：

・Katayama Y, Battista M, Kao WM, Hidalgo A, Peired AJ, Thomas SA, Frenette PS. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell* 124: 407-421, 2006

・Kawamori Y, Katayama Y, Asada N, Minagawa K, Sato M, Okamura A, Shimoyama M, Nakagawa K, Okano T, Tanimoto M, Kato S, Matsui T. Role for vitamin D receptor in the neuronal control of the hematopoietic stem cell niche. *Blood* 116: 5528-5535, 2010

・Asada N, Katayama Y, Sato M, Minagawa K, Wakahashi K, Kawano H, Kawano Y, Sada A, Ikeda K, Matsui T, Tanimoto M. Matrix-embedded osteocytes regulate mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Stem Cell* 6, 737-747, 2013.

血液内科臨床では、白血病や重症再生不良性貧血など難治性造血器疾患に対する根治治療として骨髄移植が盛んに行われています。これは健康人ドナーの骨髄を採取し患者さんの末梢循環より移植することで、骨髄に含まれる造血幹細胞が骨髄中のニッチを探し当てそこに定着し、造血システムをそっくり入れ替えてしまうことで成立します。近年、サイトカイン granulocyte

colony-stimulating factor (G-CSF) を数日にわたって健常人に投与することで、骨髓中の造血幹細胞がそのニッチから遊離し末梢血に大量に流れ出る（動員と呼ばれる現象）ことが明らかとなりました。この末梢血幹細胞を採取し骨髓の代わりに用いる移植法が欧米では骨髓移植にかわり標準治療となり、本邦でも同様の傾向にあります。臨床現場では、なぜ G-CSF を投与することにより造血幹細胞が骨髓を離れ末梢血に流れ出るのかについて不明のまま、この治療が行われています。

G-CSF で動員を誘導したマウスの骨髓を詳細に観察したところ、造血幹細胞ニッチとして認識されている骨表面の骨芽細胞が形態的に抑制されていることがわかりました。しかし、骨芽細胞は G-CSF 受容体を発現していないので、G-CSF が何か別の細胞ないしは組織に働き、2 次的に造血幹細胞ニッチを抑制する経路が考えられました。様々な候補を検討しましたが、最終的に明らかにできたのは交感神経でした。骨芽細胞には $\beta 2$ アドレナリン受容体が発現しており、カテコラミンによる刺激は非常に強い骨芽細胞抑制シグナルです。実際、化学的ないしは遺伝子組み換えによる交感神経遮断を行うと、骨髓での造血幹細胞数は変化がないものの、G-CSF 投与により骨芽細胞の形態変化も起こらず造血幹細胞の末梢血への動員もほとんどおこりませんでした。すなわち、直接か間接かは定かではありませんが、G-CSF は交感神経を刺激することで骨芽細胞を抑制させ、ニッチが破綻して造血幹細胞は骨髓から遊離する、という構図が見えてきました。

この研究の発展として、骨芽細胞における $\beta 2$ アドレナリン受容体シグナルの下流でビタミン D 受容体が転写レベルで制御されており、神経シグナルで誘導されたビタミン D 受容体がビタミン D と結合すると、更に下流の造血幹細胞動員シグナルが高いレベルで長時間持続することが判明しています。

更に最近我々は、骨表面の骨芽細胞のみでなく、骨組織に完全に埋もれた形で存在する骨細胞に注目した研究も発表しています。骨細胞は骨芽細胞の最終分化段階であり、硬い骨の中に埋もれていて研究の術もなかったため、本来の研究ジャンルである骨代謝の世界でも、あまり活動性のない取るに足らない細胞と考えられていました。しかし、近年これが荷重や重力を感知する細胞であると認識されるようになり、にわかに骨代謝の世界では脚光を浴び始めています。まず我々は、G-CSF 投与後、骨表面の骨芽細胞と骨組織に埋もれた骨細胞どちらにはじめに影響が及ぶのか検討してみました。遺伝子変化を定量的にみて

いくと、骨芽細胞では G-CSF 投与数日してからその遺伝子変化が生じるのに比べ、骨細胞では初回投与後数時間という非常に鋭敏な抑制系の反応があることを捉えることができました。外科的神経切除実験により、これが骨細胞への交感神経支配によるものであることも証明しています。遺伝子組み換え技術を用いて作製された骨細胞特異的ジフテリア毒素受容体発現マウス (DMP1-DTR Tg マウス) にジフテリア毒を投与することにより骨細胞を特異的に除去し、G-CSF による動員を検討したところ、骨髄中の造血幹細胞数は骨細胞除去で変わらないものの、G-CSF による動員はほぼ起きない、すなわち骨組織中の骨細胞が働かなければ骨髄中の造血幹細胞が骨髄から遊離できないことがわかりました。これにより、造血幹細胞ニッチは骨組織の中からも骨細胞を介して制御され、更にこの骨細胞は神経系によってコントロールされているという、骨組織と造血システムの深い関係が見えてきました。

これらの研究より、神経系による骨代謝を介した造血システム制御 Brain-Bone-Blood integration の概念が確立しました。

骨組織による免疫・脂質代謝制御：

・Sato M, Asada N, Kawano Y, Wakahashi K, Minagawa K, Kawano H, Sada A, Ikeda K, Matsui T, Katayama Y. Osteocytes regulate primary lymphoid organs and fat metabolism. *Cell Metabolism* 18, 749-758, 2013.

寝たきりの高齢者と宇宙飛行士に共通した臨床症状として、急速に進行する骨粗鬆症がよく知られています。これは微小重力による骨組織内骨細胞への刺激の低下ととらえることができます。もう一つ共通した臨床所見として、免疫不全を我々は想定しました。宇宙飛行士の地球への帰還後のリンパ球の数や機能が異常であることは多くの報告があり、また寝たきりの高齢者の易感染性は臨床的に良く知られているところです。

マウスの尾部懸垂により後ろ足のみ荷重がかからなくすると、この部分の骨組織内骨細胞ネットワークは破綻し、その部分の骨髄中の B 細胞は著明に減少していました。ところが、前足は地上に着いているため全身的な荷重除去ではなく、末梢血の B 細胞を含めた血球数は全て正常でした。これは、低荷重における骨細胞破綻と局所リンパ球造血不全が関連していることを示しています。

骨細胞とリンパ球造血の関係を探るため、DMP1-DTR Tg マウスに骨代謝がほぼ平衡となる 15 週齢でジフテリア毒を投与し骨細胞除去 (osteocyte-less:OL)

マウスを作成しました。OL マウスでは骨細胞ネットワークの破綻に伴い、末梢血中の B/T リンパ球の減少、胸腺の著明な萎縮、脾臓の萎縮が見られました。骨髄球系の細胞の低下は認められず、リンパ球系特異的な減少でした。このマウスを約 3 ヶ月間そのまま飼育していると、骨細胞の再生とともにこれらリンパ球数は回復するため、骨細胞との関連が強く示唆されました。

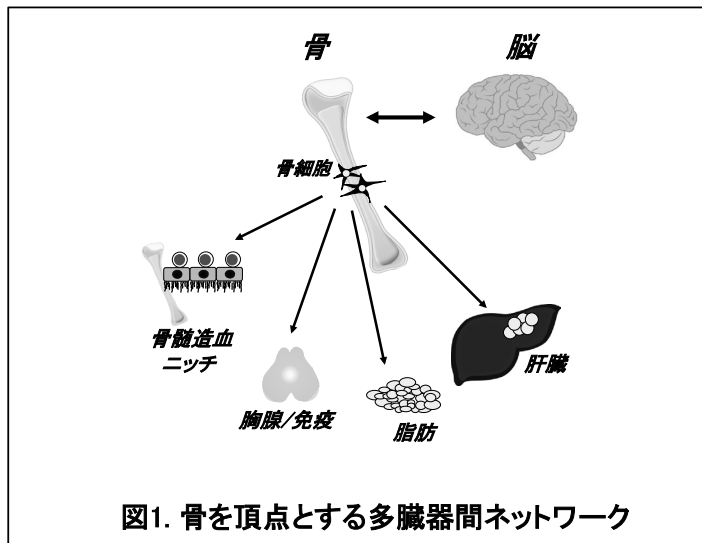
B リンパ球の一次リンパ臓器は骨髄です。OL マウスの骨髄では、免疫グロブリン陰性の B リンパ球前駆細胞が著明に減少していました。分化段階を詳細に解析すると造血幹細胞や共通リンパ球前駆細胞といった非常に未分化な部分は大きな減少は見られませんでした。pro-B 細胞と呼ばれる骨髄支持細胞依存的な細胞集団をはじめとした減少であることが明らかとなりました。一方骨髄球系の前駆細胞数は正常であり、この異常がやはりリンパ球造血特異的なものであることが再確認されました。次に、B リンパ球造血を培養で再現できる長期骨髄培養を行いました。野生型マウスの骨髄からは 6 週間以上の長期にわたる B リンパ球造血を造血支持細胞とともに培養皿の中で再現できますが、OL マウスの骨髄からは B 細胞は産生されず、培養皿底面の付着系細胞もフローサイトメトリーの解析で本来 B 細胞造血をサポートするはずの間葉系細胞が野生型の培養では 30-40%認められるものの、OL マウスの培養ではほぼ消失していました。一方、骨髄球系の長期培養では野生型、OL マウスいずれからも、長期に骨髄球系前駆細胞の産生をサポートする間葉系支持細胞が同じように確認できました。すなわち、骨細胞を除去した OL マウスの骨髄では、B 細胞特異的にサポートする間葉系支持細胞が欠落していることが明らかとなりました。

次に、T リンパ球の一次リンパ組織である胸腺の解析を行いました。OL マウスでは胸腺は著明に萎縮しますが、免疫染色ではこれは Keratin8 を発現する胸腺皮質間葉系支持細胞の減少によるものでした。すなわち、骨髄での B リンパ球造血同様、血球そのものではなく環境側の異常に起因することが示唆されました。これを確認するため、2 匹のマウスの側腹部を手術でつなぎ、側腹血行路を介し血流を共有させたパラバイオーシスモデルを用いました。野生型と DMP1-DTR Tg の 2 匹をパラバイオーシスとし、両者にジフテリア毒を投与することにより、DMP1-DTR Tg のみ OL マウスとなるも、血流は野生型と共有されている状態がでかかります。このモデルでは、血行性の液性因子（ホルモンなど）や T 細胞前駆細胞も隣のマウスに移動できます。OL マウス由来の T 細胞前駆細胞は野生型マウスの胸腺で正常に分化することができましたが、野生型マ

ウス由来の T 細胞前駆細胞は OL マウスの胸腺で分化増殖ができませんでした。すなわち、骨細胞除去をすることで骨組織とは明らかに離れた遠隔臓器である胸腺の環境が異常となること、それがパラバイオーシスで血行性に供給される因子ではない可能性が示唆されました。

また我々は、OL マウスではリンパ球のみでなく、全身の白色脂肪が急速に失われることも見いだしました。失われた脂肪は決して肝臓に貯留しているわけではなく、むしろ肝臓内の脂肪も減少している傾向にありました。視床下部の摂食中枢を化学的に破壊することで過食となり、非常に脂肪層の厚くなったマウスでも骨細胞除去により同様に皮下脂肪等は消失しましたが、この場合は肝臓が著明な脂肪肝となりました。遺伝子解析より、脳の部位によっては摂食中枢の破壊そのもので、また脳の別の摂食中枢を破壊した上での骨細胞除去によっても、肝臓での脂肪クリアランスを司る遺伝子の発現が抑制されていたため、肝での脂肪排出機能異常が原因の一つと考えられました。これらから、骨細胞は全身の脂肪の適切な保持に必須の役割を果たしており、脳と協調して肝での脂肪貯留の調整を行っていることも明らかとなりました。

以上のことから、骨組織内骨細胞は、隣接している骨髄のみでなく、胸腺、脂肪、肝臓といった遠隔臓器をも機能的に調整している、すなわち「骨を頂点とした多臓器連関」の構図が見えて来たわけです（図 1）。



おわりに：

我々が進化の過程で海から陸に上がり、「1Gの大きさの重力」という地球上に住んでいる限り決して逃れ得ない持続的な刺激に長年曝され、更に寒暖の変化や酸素の濃度、食料不足や感染症など環境ストレスに対して適応してきた結果、一般的には役割分担をして専門特化してきたものと現代の西洋医学では捉えられている各臓器が、実際には非常に緻密に連携し共同でこれらストレスに立ち向かっていることが見えて来ています。おそらく、無作為に複数の臓器をピックアップしても必ず深い機能協調があるはずで、我々人類がまだ証明できていないだけなのだと思います。これらの臓器間ネットワークが全て正常に働いて、初めて有機体としての「個」と捉える考え方の方が臓器別よりも常識的かもしれません。各種疾病や一般的な老化もこのネットワークにほころびが生じた時に連鎖的に発症するという考え方もできるかもしれません。また逆にこの考え方を利用することにより、問題となる疾患とは異なる標的臓器への薬剤が思わぬ効果をあげる可能性も出てきます。そろそろ医学は、臨床にしろ基礎研究にしろ、分野別の垣根を撤廃した融合的な考え方を重視すべき時代にきているように思います。

動物実験における人道的エンドポイントは進化したか

日本新薬（株）研開企画統括部 中井伸子

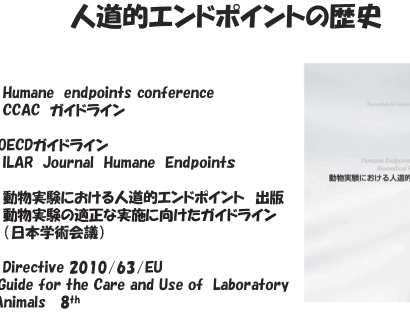
動物実験における福祉の理念として、3Rの原則(Replacement：代替法の利用、Reduction：必要最小数の利用、Refinement：苦痛の軽減、Russell & Burch、1959)が広く受け入れられており、達成に向けて努力が重ねられている。

人道的エンドポイントに関しては、1998年秋にオランダで開催された『Humane endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research に関する国際会議』で、その概念と現状、可能性等について産学官の代表者により検討され、普及に向けての努力が開始された。そして現在では人道的エンドポイントは定着し、各種ガイドラインにおいても人道的エンドポイントの設定に関する多くの記載がある。

当初は苦痛度の高い実験や死をエンドポイントとする実験を前提として、人道的エンドポイントが考慮される傾向があったが、この十数年間、動物実験のRefinementの手段としてより人道的なエンドポイントを目指し多くの努力が重ねられてきた。現在では、苦痛度が高いから人道的エンドポイントを考慮するのではなく、人道的エンドポイントを『実験中に動物が被る苦痛を最小限にするための refinement の重要な戦略のひとつ』と位置づけ、苦痛が顕性化する前段階で苦痛を予測し、苦痛が現れる前に実験を終了させる取り組みもなされている。

人道的エンドポイントは、実験目的、実験の種類もしくは実験条件等によりの判定基準が異なり画一的な基準はない。しかし、人道的エンドポイントを設定するにあたり、人道的エンドポイントを Scientific endpoint、Justifiable endpoint および Unpredicted endpoint にわけエンドポイントマトリクスとして検討する方法など、設定に向けての工夫も提唱されている。

今回は、人道的エンドポイントの設定に関する基本的な考え方を再度確認するとともに、実験動物の苦痛を最小限にするための一手段としての人道的エンドポイントについて、最近の国内外の知見等を含めて紹介する。



人道的エンドポイントの歴史

- 1998 Humane endpoints conference
- 1998 CCAC ガイドライン
- 2000 OECDガイドライン
- 2000 ILAR Journal Humane Endpoints
- 2006 動物実験における人道的エンドポイント 出版
- 2006 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン (日本学術会議)
- 2010 Directive 2010/63/EU
- 2010 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 8th



画一的な人道的エンドポイントの判定基準はない。瀕死状態は死亡に比べれば人道的なエンドポイントである。実験ごとに人道的エンドポイントの判定基準は異なるため、施設ごとにリファレンスを作成する必要がある。さらに知識と経験に基づき人道的エンドポイントを改良することも重要である。

人道的エンドポイントの実際(復習)

- ◆ 画一的な判定基準なし
- ◆ 瀕死状態は死亡に代わる人道的エンドポイント
- ◆ 人道的エンドポイントを左右する条件
 - 実験目的
 - 実験系(モデル)の種類
 - 動物種、系統
 - 実験条件
- ◆ 実験系ごとに工夫して知識と経験に基づき人道的エンドポイントを定める→施設ごとのリファレンスが必要
- ◆ 知見の蓄積や技術の進歩により人道的エンドポイントの判定基準は変化する。

[illegible]

— 100 —

人道的エンドポイントとは（進化形）

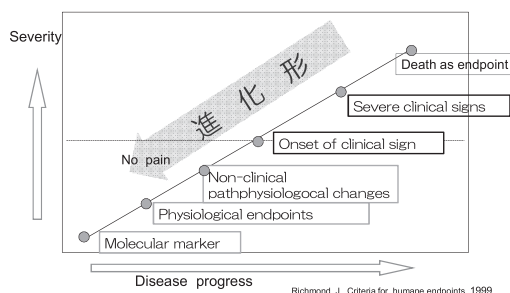
The earliest indicator in an animal experiment of (potential) pain and/or distress that, within the context of moral justification and scientific endpoints to be met, can be used to avoid or limit pain and/or distress by taking actions such as humane killing or terminating or alleviating the pain and distress.

Hendriksen et al(2011) Use of humane endpoints to minimize suffering. In The Cost Manual of Laboratory Animal Care and Use (ed. B. Howard, T. Nevalainen & G. Perretta)

人道的エンドポイントは、実験中に動物が被る苦痛を最小限にするための refinement の戦略のひとつ！倫理的妥当性および、科学的なエンドポイントに合致し、かつ安楽死、実験の終了などの措置により、潜在的なものの苦痛を最小限に抑えたりすることができるとも早期の指標である。Hendriksen et al(2011) 中井梓子 訳

人道的エンドポイントは経験に基づき改良し進化させるべきである。人道的エンドポイントを「動物実験における激しい痛みや苦痛、差し迫った死の最も早期の指標」とする狭義の定義から、最近では「実験中に動物が被る苦痛や痛みを最小限にするために計画された苦痛軽減の戦略」と進化し、より広義に用いられる傾向がある。

人道的エンドポイントの適用



人道的エンドポイントは実験方法の改善により、痛みや苦痛を感じる前あるいは、臨床的に顕性化する前に適用することもできる。

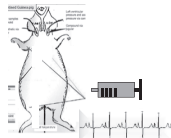
広義

QT延長リスク評価試験

In vitro hERG電流測定
hERG発現細胞を用いたパッチクランプ試験



In vivo QT試験（麻酔下）
モルモット心電図測定



In vivo QT測定
イヌテレメリー試験（心電図）
無麻酔、無拘束



広義の人道的エンドポイントの例として、QT延長リスク評価試験がある。覚醒下のイヌを用いたテレメリー試験の前に、麻酔下モルモットの心電図測定試験、さらには、最初のステップとして、*In vitro* hERG電流測定試験を実施し、動物が被る苦痛を最小限に留めることができる。

抗癌剤の評価

- ①延命効果の確認(生存率:死をエンドポイント)
 - ↓安楽死させ評価する方法
- ②摘出試験法: 予め定めた実験期間終了時に腫瘍を摘出し評価
 - ↓生存状態で評価する方法
- ③画像診断法: 腫瘍の大きさ(増殖速度)、転移
- ④代用マーカーの使用: 行動学的・神経学的変化など

抗癌剤の評価においても、単に瀕死状態を定義し、人道的エンドポイントとしていたものから、評価方法を工夫することにより、さらに人道的なエンドポイントに置き換えることができる。

人道的エンドポイントの設定と適用

Three Ws :人道的エンドポイントのrefinementのための検討事項

What is a Humane Endpoint?

Why Apply Humane Endpoints?

倫理、社会、法令、科学

When to Apply a Humane Endpoint.

Hendriksen et al(2011)

Hendriksenらは、人道的エンドポイントを設定する際に、三つのW（人道的エンドポイントとは何か、なぜ適用するのか、いつ適用するのか）に分けて検討することにより、より適切な人道的エンドポイントを定めることができるとしている。

人道的エンドポイントの開発のための Endpoint Matrix			
	定義	設定時の検討事項	適用時の検討事項
科学的エンドポイント (目的) Scientific	実験目的が達成できたことを示す基準	どのようなデータが必要か データ収集が不要となる指標は何か？ 予想される苦痛への影響やコスト・ベネフィットへの影響は？	誰が設定するか モニタリング法は？報告はどうするか？ エンドポイントの到達を誰が決定するか？
人道的(既定の) エンドポイント Justifiable	研究のベネフィットから判断して、許容できる最大限の苦痛科学的エンドポイントが未達でも強制的に実験を終了	コストベネフィット分析 研究目的達成と苦痛の境界となる指標を決定 苦痛の回避、軽減への対応の確認	誰が苦痛を検出できるか？ どのようなエンドポイントを検出し報告するか？ 実験終了の決定者は誰？ 利用可能な代替手段？
不測のエンドポイント Unpredicted	実験目的とは関連しない、もしくは予想していたものとは異なる不測エンドポイント	想定された徴候に加えて病気の早期兆候を観察。 突然の苦痛にコストベネフィット割損。既定のエンドポイントを超える又は、科学的エンドポイントの達成を妨げる場合は実験を中止させる	誰が苦痛を検出できるか？ どのようなエンドポイントを検出し報告するか？ 実験終了の決定者は誰？ (苦痛の決定の判断)利用可能な代替手段？

V. Ashall & K. Millar
ALTEX (2014) より

Ashallらは、効果的で調和のとれた人道的エンドポイントの適用を実現するために、実験計画時にエンドポイントマトリクスを用いて、関係者全員で議論することを推奨している。「科学的(合目的)」、「既定(人道的)」および「不測」の3種類のエンドポイントを系統的に一貫して定義し、適用することで、より適切な人道的エンドポイントを定めることができる。

人道的エンドポイント適用のための戦略(復習) ～スコアシート～

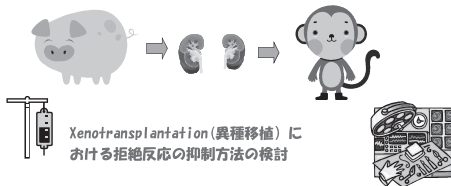
1. パイロット試験で少数の動物に処置を施し、発現する症状のリストを作成
2. 実験期間中に多くの動物に発現し、苦痛や瀕死状態の評価に重要な症状のリストを作成
3. 主要な一般状態と日付・時刻を対比させたシートを作成
 - 苦痛が生じる可能性が高い時期に症状のスコアを判定
 - 飼育管理上の注意点、獣医学的処置、一般状態の記録方法、人道的エンドポイント適用の目安、安楽死処置に関する指示内容などをスコアシートに明記

人道的エンドポイントを適切なタイミングで適用するためには、スコアシートを作成することが推奨されている。スコアシートは主要な一般状態と日付、時間を対比させた記録書で、このシートを使い関係者間で、発生する全ての情報を共有することが人道的エンドポイントの適用において重要である。

移植実験における人道的エンドポイント適用

Refinement of a transplantation project in the non-human primate by the use of a humane endpoint

Laboratory Animals(2007)41,456-469より



サルを用いた臓器移植の実験でスコアシートを活用し、苦痛の軽減が図られた例を紹介する。

Humane endpoints (Before)

- ✓ 重度の腎機能不全: 尿量減少、クレアチニン上昇、脱力、食欲不振、血漿中のクレアチニン濃度 $700 \mu\text{mol/L}$ を超える。
- ✓ 衰弱もしくは創傷の化膿
- ✓ 全身性の疾患もしくは通常の健康な状態からの著しい逸脱
- ✓ 動物実験施設の専門獣医師の助言

この実験では、従来、人道的エンドポイントは定められていたが、血中のクレアチニン濃度を除き、判定基準はあいまいなものであったため、観察者により症状の記載も異なり、情報共有も不十分であった。

経験とデータ蓄積、解析による Humane endpoints の改良

- 連続して臨床観察を行い記録する
- 連続した検査記録を残す
- 移植された臓器や全身の他の臓器の機能不全を予測できる基準を定める

そこで、人道的エンドポイントを改良するために、推奨されていたスコアシートを採用し、連続して臨床観察と検査の記録を残すこととし、さらに、今までの経験からこれらの記録をもとに、臓器の機能不全を予測できる判定基準を定めた。

Effective monitoring system

- All clinical observations, blood samples drawn and drugs administered were recorded on a daily basis in the data sheet.
- Early in the morning (07:00 h), the animals underwent a physical examination and some metabolic parameters were checked

すべての記録を連続した記録用紙に記録され、関係者でこれら情報を共有することにした。

Humane endpoints: quantitative parameters

指標	安楽死
腎機能の生化学的検査値	血清クレアチニン値の進行性の上昇 (700 $\mu\text{mol/L}$)。フラットに達するか24時間以内に改善が認められない場合
体重の変化	20%を超えた変化(増加もしくは減少)
体温の変化	顕著な高もしくは低体温 (> 10%) 顕著ではないが持続する高もしくは低体温で治療効果がない場合
血液学	顕著な貧血 (ヘモグロビン 6 g/dL以下) で輸血に反応しない場合
生化学、電解質	顕著な血清電解質バランスの不均衡があり、輸液に反応しない場合

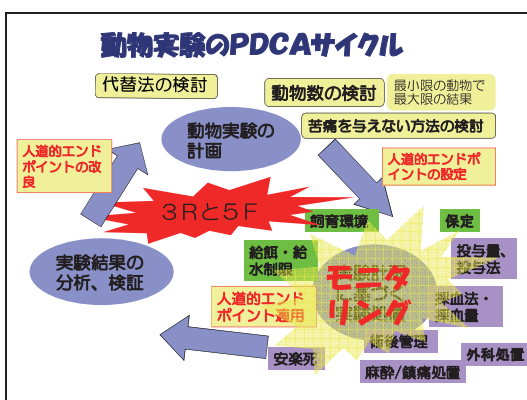
1項目でも陽性の場合は安楽死

安楽死させるべき臨床検査の指標

Humane endpoints: qualitative / observable parameters	
指標	安楽死基準
健康状態	健康状態が非常に悪い 72時間以上、健康状態が悪い
反応性	意識がない 24時間以上、緊張感はあるがあまり反応しない状態が持続
臓器の機能障害が疑われる臨床データがある	例: 持続する嘔吐や下痢で治療に反応しない場合
痛みの兆候 診察時に発声する 蹲い姿勢と痛そうな表情 グルーミングをしないか過度 歯の露出、振戦 痛みの兆候 + 摂食、摂水拒否 痛みの兆候 + 体重減少 予想以上に攻撃的になる	一つ以上の痛みの兆候が認められ、持続的で痛み止めの治療に反応しない場合

1項目でも陽性的場合は安楽死

サル健康状態や反応性など、臨床観察により得られる情報を用いた安楽死の基準も定め、これらの連続記録と安楽死の基準により、早期に安楽死させることで、動物が被る苦痛を最小限にした。



動物実験における3Rの取組みにおいて、Refinementに関しては、PDCA (Plan、Do、Check、Action) サイクルを回すことが重要である。とりわけ、人道的エンドポイントに関しては実験結果を検証し、次の実験計画につなげることが重要である。

まとめ

- 人道的エンドポイントは、実験中に動物が被る苦痛を最小限にするためのrefinementの戦略のひとつである。
- 人道的エンドポイントは倫理的妥当性と科学的エンドポイントに合致、かつ安楽死や実験の終了などの措置により、苦痛を最小限もしくは取り除くことができるもっとも早期の指標である
- 人道的エンドポイントの適用で重要なポイント
 - ✓ 高頻度の観察で変化を見逃さない
 - ✓ 関係者間で情報共有と協力
 - ✓ エンドポイントを見直し改良する

人道的エンドポイントは苦痛カテゴリーDの実験に限定するものではない。苦痛軽減の一つのツールとして、より積極的に人道的エンドポイントを検討し、さらにPDCAサイクルを回して、人道的エンドポイントを改良し続けることにより、実験動物の苦痛を最小限に留める努力を続けることが重要である。

引用文献

- (1) Ashall, V. and Millar, K. (2013). An opportunity to refocus on the 'Humane' in experimental endpoints: Moving beyond Directive *2010/63/EU*. *ATLA* 41, 307-12.
- (2) EU . European Union (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official J .EU L 276, 33-79.
- (3) Hendriksen, C., Morton, D. & Cussler, K. (2011). Use of humane endpoints to minimise suffering. In *The Cost Manual of Laboratory Animal Care and Use* (ed. B. Howard, T. Nevalainen & G. Perretta), pp. 333–353. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- (4) Ashall, V. and Millar, K. (2014). Endpoint Matrix: a conceptual tool to promote consideration of the multiple dimensions of humane endpoints. *ALTEX Online* first published January 7, 2014
- (5) F Fante, M Boldrin, L Polito, L Ravarotto, M Castagnaro, S Hutabba, E Cozzi and E Ancona (2007). Refinement of a transplantation project in the non-human primate by the use of a humane endpoint. *Laboratory Animals* 41, 456-469

<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 35 号に掲載した第 119 回研究会以降、以下の研究会が開催された。

1) 30 周年記念大会 (第 120 回研究会：平成 25 年 12 月 6 日 (金)、聖護院御殿荘)

<関西実験動物研究会の歴史と未来>

1. 関西実験動物研究会の歩み

阿部 敏男 (関西実験動物研究会 幹事長)

2. 企業 (ブリーダー) から見た関西実験動物研究会

上田 正次 ((株) フェニックスバイオ宇都宮事業所)

3. 企業 (ユーザー) から見た関西実験動物研究会

山添 裕之 (住友化学 (株) 生物環境科学研究所)

4. 関西実験動物研究会、その貢献と期待される役割、一大学関係者の経験から

塩見 雅志 (神戸大学医学研究科附属動物実験施設)

5. 関西実験動物研究会の展望

芹川 忠夫 (関西実験動物研究会 会長)

<シンポジウム> テーマ：動物実験の今後を考える

1. 「動物の愛護及び管理に関する法律」の今後

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)

2. 獣医学における実験動物学の今後

岡田 利也 (大阪府立大学大学院生命環境科学研究科実験動物学教室)

3. NBRP マウスの今後

吉木 淳 (理研バイオリソースセンター 実験動物開発室)

4. 変異 ES 細胞バンクは変異マウス作製に代替たりうるか？

竹田 潤二 (大阪大学医学部附属動物実験施設、大阪大学医学系研究科環境生体機能学)

5. イメージング技術を用いた生体機能の cutting edge

八木田 和弘 (京都府立医科大学大学院医学研究科統合生理学)

<特別講演>

動物の遺伝子操作から学ぶ胚発生の制御

近藤 寿人 (大阪大学大学院生命機能研究科)

2) 第 121 回研究会 (平成 26 年 3 月 7 日 (金)、京都大学 楽友会館)

<講演会> テーマ：難治性疾患の克服に向けて

1. TNF- α 機能改変体の創製と難治性疾患治療薬開発の試み

角田 慎一 (医薬基盤研究所バイオ創薬プロジェクト/大阪大学大学院薬学研究科医薬基盤
科学分野)

2. プロバイオティクスの抗炎症効果

田辺 創一 (広島大学大学院生物圏科学研究科)

3. 福山型筋ジストロフィー 仕組みの解明 治療法開発

戸田 達史 (神戸大学大学院医学研究科 神経内科学/分子脳科学)

<維持会員ニュース>

空気触媒を用いた実験動物施設の抗菌・脱臭の可能性

(有) メディア

3) 第 122 回研究会 (平成 26 年 6 月 13 日 (金)、神戸大学医学部会館 シスメックスホール)

<講演会> テーマ: 免疫研究の新たな展開

1. IL-33 と好酸球性炎症

安田 好文 (兵庫医科大学 免疫学・医動物学)

2. 多臓器間ネットワークに支えられる造血免疫システム

片山 義雄 (神戸大学医学部附属病院 血液内科)

<トピックス>

動物実験における人道的エンドポイントは進化したか

中井 伸子 (日本新薬(株) 研開企画統括部)

<維持会員ニュース>

Hydropac® 飲水管理の新しいカタチ

(株) 夏目製作所

4) 第 123 回研究会 (平成 26 年 9 月 27 日 (土)、大阪大学 銀杏会館)

<講演会> テーマ: 循環器研究の新たな展開

1. ゼブラフィッシュを用いた心臓・血管形成のイメージングによる研究

望月 直樹 (国立循環器病研究センター研究所 細胞生物学部)

2. Spring-8 放射光を用いた小動物心血管機能の in vivo イメージング

白井 幹康 (国立循環器病研究センター研究所 心臓生理機能部)

<トピックス>

名古屋議定書についての詳細説明

中川原 秀樹 (文部科学省 研究振興局 ライフサイエンス課 生命科学研究係)

鈴木 睦昭 (国立遺伝学研究所 ABS 学術対策チーム室長)

<維持会員ニュース>

1. PCR を活用した微生物モニタリングの提案

日本チャールス・リバー (株)

2. 新しい洗浄器の提案 “減圧沸騰式洗浄器 RQ 型”

三浦工業 (株)

幹事会の概要

日時:平成26年1月27日(月)、午後3時～5時

場所:京都科学技術センター1階B会議室

出席者:阿部、喜多、久保、庫本、黒澤、桑村、近藤、芹川、田島、坪田、中井、松田、森本、山添、山本、横井

欠席者:池田、岡田、塩見、中村

議事:

1. 平成25年度事業報告

- ・ 阿部幹事長より平成25年度事業報告があった。

2. 平成25年度決算報告

- ・ 庫本幹事より、平成25年度決算報告があった。
- ・ 事務局より、印刷費と予備費について追加説明があった。
- ・ 芹川会長より、繰越決算書について説明があった。

3. 事務局の移転とそれに伴う関西実験動物研究会の会則改訂について

- ・ 芹川会長より、事務局の移転とそれに伴う会則の改訂について説明があり、全会一致で認められた。

4. 第11期評議員、幹事、監事について

- ・ 喜多幹事より、第11期評議員名簿(案)について説明があった。
- ・ 喜多幹事より、第11期幹事・監事名簿(案)について説明があった。
- ・ 新評議員候補者について審議され、全員について了承された。ただし、会員でない方については、総会での承認後、評議員会員として入会していただくことにした。

5. 平成26年度事業計画案

- ・ 喜多幹事より、平成26年度事業計画案について説明があった。
- ・ 第122回研究会は、平成26年6月に神戸で開催し、担当は塩見、横井、坪田、佐加良となった。
- ・ 第123回研究会は、平成26年9月に大阪で開催し、担当は松田、田島、塩谷、伊川となった。
- ・ 第124回研究会は、平成26年12月5日(金)に京都大学楽友会館で開催し、担当は、庫本、中村、真下となった。
- ・ 第125回研究会は、平成27年3月6日(金)に京都大学楽友会館で開催し、担当は、喜多、近藤、桑村、加藤となった。

6. 平成26年度予算案

- ・ 庫本幹事より、平成26年度予算案について説明があった。
- ・ 印刷費については、PDF化の経費を含むこととした。

7. 第32回評議員会、第31回総会の進行について

- ・ 第32回評議員会の進行について協議された。
- ・ 第31回総会の進行について協議され、司会は田島幹事が担当することとなった。

8. その他

- ・ 阿部幹事と森本幹事から、退任の挨拶があった。

日時:平成26年11月5日(水)、午後3時～5時

場所:京都府立医科大学大学院医学研究科 実験動物センター 会議室

出席者:喜多、久保、庫本、桑村、近藤、佐加良、塩見、塩谷、田島、中井、中村、真下、松田、山添、山本、横井

欠席者:伊川、池田、岡田、黒澤、坪田、宮嶋

議事:

1. 第124回研究会について

- ・ 一般演題14題と特別講演2題の時間割および座長を決定した。

2. 第125回研究会(評議員会、総会:平成27年3月6日)について(担当:喜多、近藤、桑村)

- ・ 講演を浅野先生(現金沢大学、12月1日付で京都大学に着任予定)と依馬先生(滋賀医科大学)に依頼することとした。

3. 来年度の予定について

- ・ 研究会の担当幹事を決定した。9月の大阪は今年度と同様に土曜日開催とすることとした。

第126回研究会は、平成27年6月に神戸で開催し、担当は塩見、佐加良、桑村、横井となった。

第127回研究会は、平成27年9月の土曜日に大阪で開催し、担当は田島、松田、塩谷、伊川となった。

第128回研究会は、平成27年12月に京都で開催し、担当は喜多、近藤、中井、山添となった。

第129回研究会は、平成28年3月に京都で開催し、担当は庫本、真下、久保、山本となった。

4. その他

- ・ 旅費及び謝礼に関する申し合わせについて確認した。(幹事会マターとする。)
- ・ 名誉会員に関する申し合わせについて確認した。(幹事会マターとする。)
- ・ メーリングリストの利用に関する基準について確認した。メーリングリストは運用中であるので、基準についてはホームページ上で速やかに公開し、次回の評議員会および総会にて報告することとした。
- ・ 研究会会報について
個人会員名簿と会員の異動については会報には掲載しないこととした。ホームページ上で会員のみが閲覧できるようにする方向で検討することとした。
予算書と決算書は従来通り掲載することとした。

冊子体の会報の必要性や講演記録の必要性について今後検討していくこととした。

評議員会の概要

第 32 回関西実験動物研究会評議員会

日時：平成 26 年 3 月 7 日（金）11:30～13:00

場所：楽友会館 2 階講演室

出席：45 名

阿部敏男、伊川正人、池田卓也、上田正次、海野隆、大野民生、岡田利也、岡本宗裕、沖本一夫、春日久男、加藤啓子、金子武人、喜多正和、北田一博、久保薫、倉林譲、庫本高志、黒澤努、桑村充、小池智也、近藤友宏、佐加良英治、佐藤浩、塩見雅志、鈴木昇、芹川忠夫、高木貞明、高島俊行、竹之下誠、田島優、坪田裕司、中井伸子、中村紳一郎、橋本正晴、平川公昭、平沢勉、星信彦、真下知士、増岡通夫、松田潤一郎、宮寫宏彰、森島英喜、山中久、山本好男、横井伯英

議事：

1. 平成 25 年度 事業報告及び決算報告

- ・ 芹川会長より、会長退任のあいさつがあった。
- ・ 阿部幹事より、平成 25 年度の事業報告があった。
- ・ 山本幹事より、会報第 35 号の発行について報告があった。
- ・ 庫本幹事より、平成 25 年度収支決算書について報告があった。
- ・ 鈴木評議員より、会報の PDF 化経費について質問があり、庫本幹事が回答した。
- ・ 平成 25 年度収支決算報告が全会一致で承認された。

2. 第 11 期（平成 26～28 年度）評議員の選出

- ・ 喜多幹事より、第 11 期（平成 26～28 年度）評議員の選出について説明があり、全会一致で承認された。

3. 会長、幹事、監事の選出

- ・ 芹川会長より、第 10 期幹事会として喜多幹事を次期会長として推薦することの説明があり全会一致で承認された。
- ・ 喜多会長より、会長就任のあいさつがあった。
- ・ 喜多会長より、第 11 期幹事及び監事の選出について説明があり、全会一致で承認された。

4. 平成 26 年度 事業計画（案）

- ・ 桑村幹事より、平成 26 年度の事業計画（案）について説明があり、全会一致で承認された。

5. 事務局の移転、会則の改訂

- ・ 喜多会長より、事務局を公益財団法人京都科学技術センター 22 号室から京都府立医科大学実験動物センターに移転すること並びにそれに伴う会則の改訂について説明があり、全会

一致で承認された。

6. 成 26 年度 予算案

- ・ 庫本幹事より、平成 26 年度予算案について説明があり、全会一致で承認された。

7. その他

- ・ 喜多会長より、平成 27 年 5 月開催予定の日本実験動物学会総会（大会長：喜多会長）について協力依頼があった。
- ・ 阿部前幹事より、幹事退任のあいさつがあった。

総会の概要

第 3 1 回関西実験動物研究会総会

日時：平成 26 年 3 月 7 日（金）13:00 - 13:30

場所：楽友会館 2 階講演室

司会の田島幹事より、総会の開催にあたり議長の推薦が求められた。

松田幹事が議長に選出された。

議事：

1. 平成 25 年度事業報告及び決算報告

- ・ 阿部幹事より、平成 25 年度の事業報告がされた。
- ・ 庫本幹事より、平成 25 年度決算報告がされた。
- ・ 清水監事より、監査を行った繰り越し決算書について報告があった。
- ・ 平成 25 年度事業報告ならびに決算報告が全会一致で承認された。

2. 第 11 期評議員選出

- ・ 喜多幹事より、第 11 期評議員選出について説明があった。
- ・ 第 11 期評議員が全会一致で承認された。

3. 会長選出

- ・ 芹川会長より、喜多新会長の選出について説明があった。
- ・ 喜多新会長が全会一致で承認された。

4. 新会長あいさつ

- ・ 喜多新会長より、あいさつがあった。

5. 幹事選出、幹事会の組織

- ・ 喜多新会長より新幹事と幹事会について説明があった。
- ・ 新幹事と幹事会について全会一致で承認された。

6. 監事推薦

- ・ 喜多新会長より新監事 2 名が推薦された。

- ・ 新監事について全会一致で承認された。
7. 平成 26 年度事業計画案
 - ・ 桑村新幹事長より、平成 26 年度事業計画（案）について説明があった。
 - ・ 平成 26 年度事業計画（案）が全会一致で承認された。
 8. 平成 26 年度予算案
 - ・ 庫本幹事より、平成 26 年度予算（案）について説明があった。
 - ・ 平成 26 年度予算（案）が全会一致で承認された。
 9. その他
 10. 前幹事長退任のあいさつ
 - ・ 前阿部幹事長より退任のあいさつがあった。

関西実験動物研究会 維持会員名簿（平成26年度）
（あいうえお順）

アステラスリサーチテクノロジー株式会社
エルエスジー株式会社
オリエンタル酵母工業株式会社
株式会社アイセイ
株式会社イナリサーチ 大阪支所
株式会社イブバイオサイエンス
株式会社エイチ・エス・ピー
株式会社エーテック
株式会社大塚製薬工場 研究開発センター
株式会社オリエンタル・バイオサービス
株式会社ケー・エー・シー
株式会社新日本科学
株式会社精研
株式会社特殊免疫研究所
株式会社トランスジェニック
株式会社夏目製作所
株式会社日本医科学動物資材研究所
株式会社ビオスタ
株式会社美濃ラボ
株式会社レナテック
北山ラベス株式会社
財団法人動物繁殖研究所
三協ラボサービス株式会社
清水実験材料株式会社
白井松器械株式会社
大日本住友製薬株式会社
高塚ライフサイエンス株式会社
日精バイリス株式会社
日本エスエルシー株式会社
日本クレア株式会社
日本新薬株式会社
日本チャールス・リバー株式会社
ハムリー株式会社
丸石製薬株式会社株式会社
三浦工業株式会社
有限会社キョウエー
有限会社メディア

関西実験動物研究会 評議員名簿（平成26-28年度）

氏 名	所 属
阿部 敏男	(前)株式会社武田ラビックス
伊川 正人	大阪大学微生物病研究所 附属感染動物実験施設
池田 克己	武庫川女子大学薬学部 健康機能解析学
池田 卓也	日本チャールス・リバー株式会社
今井 良悦	武田薬品工業株式会社 湘南研究所 研究業務部
上田 正次	株式会社特殊免疫研究所 宇都宮事業所
海野 隆	株式会社JCLバイオアッセイ
大野 民生	名古屋大学大学院医学系研究科 附属医学教育研究支援センター
岡田 利也	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 実験動物学
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
沖本 一夫	株式会社新日本科学 安全性研究所病理研究部 大阪病理センター
春日 久男	株式会社武田ラビックス
加藤 啓子	京都産業大学総合生命科学部 動物生命医科学科
金子 武人	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
喜多 正和	京都府立医科大学大学院医学研究科 実験動物学センター
北田 一博	北海道大学大学院理学院 生物科学研究部門
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	岡山大学 医学部
庫本 高志	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
黒木 宏二	大日本住友製薬株式会社
黒澤 努	
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
小池 智也	神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
小林 欣滋	株式会社新日本科学 安全性研究所 病理研究部
近藤 玄	京都大学再生医科学研究所 附属再生動物実験施設
近藤 友宏	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 実験動物学
近藤 靖	田辺三菱製薬株式会社
佐加良 英治	兵庫医科大学 動物実験施設
佐藤 浩	自然科学研究機構 生理学研究
塩見 雅志	神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
塩谷 恭子	独立行政法人国立循環器病研究センター研究所 動物実験管理室
鈴木 昇	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
芹川 忠夫	京都大学 名誉教授
高木 貞明	日本エスエルシー株式会社
高島 俊行	ハムリー株式会社国際事業部 大阪出張所
竹田 潤二	大阪大学大学院医学系研究科 環境・生体機能学
竹之下 誠	株式会社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	株式会社JT クリエイティブサービス 高槻事業所 動物管理課
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
中井 伸子	日本新薬株式会社 研開企画統括部研開管理課
中村 伸一郎	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
橋本 正晴	株式会社ケー・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
平川 公昭	株式会社新日本科学 安全性研究所病理研究部 大阪病理センター
平沢 勉	シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社
星 信彦	神戸大学大学院農学研究科 応用動物学
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	株式会社トランスジェニック
松田 潤一郎	独立行政法人医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部
宮下 信泉	香川大学総合生命科学研究センター 動物実験部門
宮脇 宏彰	株式会社ケー・エー・シー
宮嶋 正康	和歌山県立医科大学 実験動物施設
森島 英喜	武田薬品工業株式会社 湘南研究所
山添 裕之	住友化学株式会社 生物環境科学研究所
山田 宜永	新潟大学農学部農業生産科学科 動物遺伝学
山中 久	株式会社イナリサーチ 大阪支所
山本 博	富山大学生命科学先端研究センター 動物実験施設
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 分子代謝医学

関西実験動物研究会 会長・幹事・監事名簿

(平成26～28年度、平成26年度10月現在)

	氏 名	所 属
会長	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
庶務・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
	宮嶋 正康	和歌山県立医科大学 実験動物施設
	横井 伯英	神戸大学大学院医学研究科 分子代謝医学
集会(幹事長)	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
	伊川 正人	大阪大学微生物研究所 附属感染動物実験施設
	池田 卓也	日本チャールス・リバー株式会社
	岡田 利也	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 実験動物学
	黒澤 努	
	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
	近藤 玄	京都大学再生医科学研究所 附属再生実験動物施設
	佐加良 英治	兵庫医科大学 動物実験施設
	塩見 雅志	神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
	塩谷 恭子	国立循環器病研究センター研究所 動物実験管理室
	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 生理学
	真下 知土	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
	松田 潤一郎	独立行政法人医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部
	山添 裕之	住友化学株式会社 生物環境科学研究所
編集(委員長)	山本 好男	三重大学社会連携研究センター 伊賀研究拠点
	中井 伸子	日本新薬株式会社 研開企画統括部研開管理課
	中村 紳一郎	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
監事	清水 英男	清水実験材料株式会社
	橋本 正晴	株式会社ケー・エー・シー アニマルケア事業本部

平成25年度 収支決算書

費目		金額（円）	平成25年度予算	
			金額（円）	対比（円）
繰越金		1,425,052	1,425,052	0
収入の部	会費	2,265,000	2,215,000	50,000
	普通会员(@3,000)	450,000(150)	480,000(160)	△30,000
	普通会员前受金(@3,000)	12,000(4)	0	12,000
	評議員(@5,000)	280,000(56)	295,000(59)	△15,000
	評議員前受金(@5,000)	15,000(3)	0	15,000
	維持会員(@30,000)	1,320,000(44)	1,230,000(41)	90,000
	維持会員前受金(@30,000)	30,000(1)	0	30,000
	参加費（非会員）(@2,000)	158,000(79)	210,000(105)	△52,000
	会報代金(@1,500)	0	1,500	△1,500
	預金利息	138	200	△62
収入計		2,265,138	2,216,700	48,438
収入総計		3,690,190	3,641,752	48,438
支出の部	事務局経費	519,473	645,000	125,527
	事務局賃貸費	350,000	350,000	0
	通信費	104,450	130,000	25,550
	事務用消耗品費	34,106	40,000	5,894
	印刷費	30,917	125,000	94,083
	機関誌発行経費	590,282	650,000	59,718
	編集費	23,100	30,000	6,900
	印刷費	498,000	550,000	52,000
	会誌PDF化経費	69,182	70,000	818
	集会経費	928,012	945,000	16,988
	会場費	114,700	100,000	△14,700
	講演者招待費	529,660	535,000	5,340
	幹事会・評議員会	244,652	250,000	5,348
	謝金・アルバイト費	39,000	60,000	21,000
	予備費	0	100,000	100,000
支出計		2,037,767	2,340,000	302,233
繰越剰余金		1,652,423	1,301,752	350,671
支出総計		3,690,190	3,641,752	△48,438

<参考>

年度内収支（収入－支出）＝（2,265,138－2,037,767）＝227,371円

平成26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26年度予算(案)	平成25年度決算	平成25年度予算
繰越金		1,652,423	1,425,052	1,425,052
収入の部	会費収入	2,260,000	2,265,000	2,215,000
	普通会員 (口)	600,000 (200)	450,000 (150)	480,000 (160)
	普通会員前受金 (口)	0 (0)	12,000 (4)	0 (0)
	評議員会員 (口)	300,000 (60)	280,000 (56)	295,000 (59)
	評議員会員前受金 (口)	0 (0)	15,000 (3)	0 (0)
	維持会員 (団体)	1,200,000 (40)	1,320,000 (44)	1,230,000 (41)
	維持会員前受金 (団体)	0 (0)	30,000 (1)	0 (0)
	当日参加 (口)	160,000 (80)	158,000 (79)	210,000 (105)
	会報代金	1,500	0	1,500
	預金利息	100	138	200
収入金		2,261,600	2,265,138	2,216,700
収入総計		3,914,023	3,690,190	3,641,752
支出の部	事務局経費	560,000	519,473	645,000
	人件費	350,000	350,000	350,000
	通信費	120,000	104,450	130,000
	事務費	40,000	34,106	40,000
	印刷費	50,000	30,917	125,000
	機関誌発行経費	580,000	590,282	650,000
	編集費	30,000	23,100	30,000
	印刷費(PDF化を含む)	550,000	498,000	550,000
	機関誌PDF化経費	0	69,182	70,000
	集会経費	1,021,600	928,012	945,000
	会場費	120,000	114,700	100,000
	講演者招待費	551,600	529,660	535,000
	幹事会・評議員会	300,000	244,652	250,000
	アルバイト費	50,000	39,000	60,000
	予備費	100,000	0	100,000
支出計		2,261,600	2,037,767	2,340,000
繰越剰余金		1,652,423	1,652,423	1,301,752
支出総計		3,914,023	3,690,190	3,641,752

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上京区河原町通広小路上る梶井町 465、京都府立医科大学実験動物センターに置く。

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。
- (27) 本会則は平成 25 年 3 月 1 日より施行し、平成 25 年 4 月 1 日より適用する。
- (28) 本会則は平成 26 年 3 月 7 日より施行し、平成 26 年 4 月 1 日より適用する。

平成26年12月10日 印 刷
平成26年12月10日 発 行

編集兼発行者 喜 多 正 和
発 行 所 関西実験動物研究会
〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上る梶井町465
京都府立医科大学 実験動物センター
印 刷 所 プラスエー株式会社
〒525-0047 滋賀県草津市追分5丁目4番11号

関西実験動物研究会会報 第36号

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成26年12月

第119回研究会：生体イメージングの最前線・免疫の新たな世界

石井 優：生きた実験動物での生体イメージング～免疫細胞の動く世界の解析 1

梶島 健治：ライブイメージングにより明らかになった皮膚免疫の新世界 3

＜トピックス＞

伊川 正人：CRISPR/Cas9システムを用いたマウスゲノム編集 10

第120回研究会：関西実験動物研究会30周年記念大会

30周年記念講演：関西実験動物研究会の歴史と未来 13

30周年記念シンポジウム：動物実験の今後を考える 46

＜特別講演＞

近藤 寿人：動物の遺伝子操作から学ぶ胚発生の制御 67

第121回研究会：難治性疾患の克服に向けて

角田 慎一：タンパク質工学を駆使した難治性疾患治療薬の開発を目指して 73

田辺 創一：プロバイオティクスの抗炎症効果 78

戸田 達史：横山型筋ジストロフィー 仕組みの解明 治療法開発 83

第122回研究会：免疫研究の新たな展開

安田 好文：IL-33と好酸球炎症 85

片山 義雄：多臓器間ネットワークに支えられる造血免疫システム 92

＜トピックス＞

中井 伸子：動物実験における人道的エンドポイントは進化したか 99

〈関西実験動物研究会だより〉 107

幹事会、評議員会、総会の議事概要 109 維持会員名簿 114

評議員名簿 115 会長、幹事、監事名簿 116

収支・予算 117 会則 119