

# 関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成29年12月 39号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

## 目 次

### <第131回研究会（平成28年9月10日）>

テーマ：神経回路ダイナミクスへの挑戦

1. 実験動物としてマウスを用いた記憶学習の仕組みの研究  
松尾 直毅（大阪大学大学院医学系研究科 分子行動神経科学）…… 1
2. 動物実験が支える中枢神経再生治療法の開発研究  
山下 俊英（大阪大学大学院医学系研究科／生命機能研究科 分子神経科学）…………… 6

### <日本実験動物技術者協会関西支部>

テーマ：動物実験に関する効果的な教育訓練について考える

1. 岡山大学における教育訓練に関する取り組み  
樫木 勝巳・矢田 範夫（岡山大学自然生命科学研究支援センター  
動物資源部門）…………… 9
2. 動物実験に対する効率的かつ効果的な社内教育について考える  
黒木 宏二（大日本住友製薬株式会社 研究管理部）…………… 20

### <第132回研究会（平成28年12月9日）>

#### <一般講演>

- 会員の発表11題…………… 21

#### <トピックス>

外部検証促進のための人材育成

- 喜多 正和（京都府医大・医・実験動物センター）…………… 32

#### <特別講演>

1. ダイレクト・コンバージョンによる組織細胞の創出とマウスモデル  
を用いた生体内機能解析  
松田 修・山本 健太・素輪 善弘・岸田 綱郎（京都府医大院・医・  
免疫学）…………… 35
2. チンパンジーから探るヒトのこころの進化  
友永 雅己（京大・霊長類研・思考言語分野）…………… 37

<第133回研究会（平成29年3月3日）>

テーマ：実験動物学のこれから－マウスとラットを例に－

1. 焦点性てんかん原因遺伝子*DEPDC5*－*Depdc5* KOラットを用いた発症機序解明研究－  
石田 紗恵子（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）  
..... 43
2. マウス表現型解析情報を正しく伝えるために  
若菜 茂晴（理化学研究所バイオリソースセンター マウス表現型解析開発チーム） ..... 44

<第134回研究会（平成29年6月9日）>

テーマ：インフルエンザウイルスの最新情報

1. インフルエンザウイルスの宿主間伝播メカニズム  
堀本 泰介（東京大学大学院獣医学専攻獣医微生物学研究室） ..... 49
2. 創薬：ファビピラビル（T-705）の開発に関して  
古田 要介（富山化学工業㈱ 総合研究所薬理研究部） ..... 54
3. 滋賀医科大学・動物生命科学研究センターにおける感染動物実験（特にサルを用いた）施設の運用  
土屋 英明（滋賀医科大学動物生命科学研究センター） ..... 55

<トピックス>

実験動物と痛み

- 小山 なつ（滋賀医科大学統合臓器生理学部門） ..... 62

<関西実験動物研究会だより> ..... 67

<幹事会、評議員会、総会の議事概要> ..... 68

<維持会員名簿> ..... 73

<評議員名簿> ..... 74

<会長、幹事、監事名簿> ..... 75

<収支・予算> ..... 76

<会則> ..... 78

<第131回研究会（平成28年9月10日）>

テーマ：神経回路ダイナミクスへの挑戦

1. 実験動物としてマウスを用いた記憶学習の仕組みの研究

松尾 直毅（大阪大学大学院医学系研究科 分子行動神経科学）

2. 動物実験が支える中枢神経再生治療法の開発研究

山下 俊英（大阪大学大学院医学系研究科／生命機能研究科 分子神経科学）

<日本実験動物技術者協会関西支部>

テーマ：動物実験に関する効果的な教育訓練について考える

1. 岡山大学における教育訓練に関する取り組み

樺木 勝巳・矢田 範夫（岡山大学自然生命科学研究支援センター 動物資源部門）

2. 動物実験に対する効率的かつ効果的な社内教育について考える

黒木 宏二（大日本住友製薬株式会社 研究管理部）

## 実験動物としてマウスを用いた記憶学習の仕組みの研究

松尾 直毅

大阪大学大学院 医学系研究科 分子行動神経科学

記憶学習のシステムは私たちヒトを含む動物が自然界で生存していくうえで必要不可欠な生命機能のひとつである。例えば、野生動物は水や餌の在処、敵の特徴など多くの情報を経験を通じて記憶する必要がある、この機能の欠如は文字通り命取りとなる。ヒトの場合も、記憶学習機構の破綻は認知行動・精神の障害を引き起こし、「私が私であること（性格・習性・価値観・能力）は、これまでの人生で何を経験し、記憶してきたかによって決まる」と言っても過言では無いことから、個性や人格を規定するものであるとも言える。したがって、その仕組みの理解は基礎科学や人類の知の発展のみならず、医学的にも貢献する極めて重要な問題である。しかし、未だに多くが謎に包まれている。

そもそも、私たちの日々の経験により得られる膨大かつ多様な情報が、脳内のどこで、どのように記憶として表現・保持されているのであろうか？という記憶痕跡に関わる素朴な疑問は古来より多くの哲学者、科学者を魅了してきた。このような問題を科学的に解き明かすために、モデル動物の利用は不可欠となる。記憶学習の仕組みの研究には、無脊椎動物である線虫、アメフラシ、ショウジョウバエなどからゼブラフィッシュ、トリ、マウスやラット、サルなどの脊椎動物と様々な種の動物が利用されている。その中でマウスやラットなどの齧歯類は、比較的ヒトと相同な脳を持ち、最先端の分子遺伝学を用いることができ、なおかつ電気生理学、生化学、行動学を適用することが可能であることから記憶学習の研究にもよく用いられている。特に強力な分子遺伝学のツールは、特定の狙った遺伝子の時空間的な欠損（ノックアウト）、置換（ノックイン）、異所性発現を可能とし、多くの技術的革新をもたらしてきた。また、近年の光遺伝学の普及は、特定の神経細胞の活動を光照射により人為的にスイッチオン・オフすることまで可能とした。私たちの研究室でも、これらの技術を駆使することにより、特に記憶痕跡の問題に取り組んできたので、その一部を紹介する。

記憶情報は協調的に活動する一部の神経細胞集団の機能的な活動ネットワークとして存在するという「cell assembly」仮説が半世紀以上前にカナダの偉大な心

理学者 Hebb に提唱されて以来、現代の神経科学では、記憶情報は脳内の一部の特定の神経細胞群の活動（神経アンサンブル）によって担われていると信じられている。しかし、これらは千億もの数の神経細胞から構成される脳組織内でまばらに散在しているごく一部の細胞群と考えられるため、同定することさえ極めて困難である。そこで私たちは世界に先駆けて、任意の時期に任意の行動刺激により活動した細胞集団のみに、任意の遺伝子操作を行うことが可能なトランスジェニックマウスの開発を行った (1, 2)。このマウスは、その発現が神経活動依存的に迅速かつ一時的に誘導されることが知られている Immediate-Early Genes (IEGs) のひとつ *c-fos* 遺伝子のプロモーターの制御下で tTA (tetracycline-regulated transactivator) を発現するマウスと、tetO プロモーターの制御下で任意の遺伝子を発現するマウスの2種類を掛け合わせるにより得られる。tTA の転写活性はドキシサイクリン(Dox)の有無により制御されるので、tetO プロモーター下流遺伝子の発現を神経活動依存的・可逆的に制御することが出来る (図 1)。

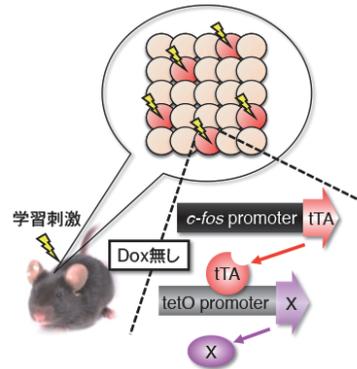


図1: 脳内に星の数ほどある神経細胞の中で学習時に活動した神経アンサンブルを選択的に遺伝学的操作を加えるシステム

実際に私たちは tetO プロモーターの下流で GFP-GluR1 を発現するダブルトランスジェニックマウスを用いることによって、学習刺激によって新しく細胞体で合成された AMPA 型グルタミン酸受容体の動態を脳内で可視化し、学習に伴ったシナプスへの形態選択的な動員を明らかにした。この結果は、長期記憶が正しく保持される仕組みを提唱した「synaptic tag 仮説」が実際に動物個体内でも働いていることを支持すると同時に、多様なシナプスの形態に機能的差異が存在することを示した (1)。さらに東京大学との共同研究により、これらの活動シナプスが樹状突起上で分散しているというよりもむしろクラスターを形成していることを見出した (3)。この発見はシナプス入力に樹状突起上で非線形的な加算を促すことにより、個々の神経細胞が持つ演算能力を高めるメカニズムの存在を示唆する。

また、tetO プロモーターの下流で tau-lacZ を長期的に発現するマウスを用いることにより、恐怖条件付け記憶の「獲得」の際に活動した神経細胞集団と、「想起」の際に活動した神経細胞集団を同一個体の同一脳切片上で単一細胞レベルで同時

に標識可視化することに成功した。その結果、記憶想起時には、扁桃体外側核や海馬 CA1 領域において学習時に活動した細胞集団が再活動する割合が有意に高いことを見出した (2, 4)。

上記の研究により「記憶」と、その実体として「特定の細胞集団の活動」の相関を示すことはできたが、両者の直接的な因果関係を示すために、私たちは DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug) を利用した研究を行った。具体的には、恐怖条件付け学習時に活動した細胞集団を活性型 DREADD のひとつである hM3Dq により標識し、後に hM3Dq の特異的合成リガンドである CNO 投与により人為的に再活動させると、PTSD の治療モデルと知られる消去訓練により消失したはずの恐怖記憶が蘇ることを実証(因果十分性)した (5)。逆に、恐怖条件付け学習時に活動した特定細胞集団のシナプス伝達をテタヌス毒素を利用して人為的に阻害することにより恐怖記憶の想起が阻害されることから、記憶の想起には学習時に活動した神経アンサンブルの活動が必要であることを実証した (因果必要性) (6)。

このように記憶は、学習時に働いた脳内の一部の神経細胞群の活動によって担われていることが示されつつある。しかし学習の瞬間に、一見ホモジニアスに見える大量の神経細胞のうち一部の特定の細胞に記憶情報が割り当てられる仕組みはほとんど知られていない。そこで私たちは、特定の記憶が割り当てられた細胞集団の性質に関わる解析を行った。野生型のマウスは文脈依存的な恐怖条件付けの繰り返し学習により記憶が強化されたが、学習時に働いた神経細胞集団の活動を選択的にテタヌス毒素により阻害した遺伝子改変マウスに繰り返し学習訓練を行っても記憶の強化が起らないことを見いだした。一方、別の新たな学習には影響を与えなかったことから、別の学習には別の細胞集団が使われることを示唆する。これらの結果は、いったん記憶情報が割り当てられた特定の神経細胞の組み合わせが、同じ学習を行う際にも再び使われ、代替えが効かない仕組みが脳内に存在することを示唆する (6)。

「痕跡」という言葉からも記憶は非常に安定である印象を受けるが、実際には記憶はいったん獲得したら永遠不変というわけではなく、様々な内的・外的要因により変化しうる。例えば、エピソードなどの記憶の細部は時間経過に伴って失われ、汎化することが知られている。適切に汎化が生じることは刻々と変化する

環境に動物が適応することに貢献していると考えられる。一方で、PTSD 患者で見られるように、恐怖記憶の過剰な汎化は無害な刺激に対してさえも不適切な恐怖反応が現れ、日常生活に大きな支障を来すため重大な問題である。しかし、記憶の汎化の神経基盤はほとんど不明である。そこで私たちは、マウスの文脈依存的恐怖条件付け学習課題を用いて、文脈に対する記憶が弁別できている際と、汎化している際での想起時に活動する神経細胞集団を可視化同定することにより解析を行った (4)。その結果、神経細胞集団の安定な再活動パターンが認められた体性感覚皮質と比べ、海馬歯状回、海馬 CA1 領域では汎化に伴う再活動パターンの変化が見られた。この結果は、時間経過に伴って記憶を構成する外界の感覚情報の処理が、海馬内もしくは感覚皮質から海馬に至る領域で変化し、記憶の表出の変化が起きることを示唆している。また記憶痕跡からは話が外れるが、「意識」の中核と示唆されているが機能が不明である前障から嗅内皮質に投射する神経回路の活動が記憶の固定化・維持に必要であることを光遺伝学的手法により見いだした (7)。

この様に私たちは、マウスを実験動物モデルとして、記憶の実体と考えられる物質的基盤 (痕跡) を分子・シナプス・細胞・回路の各階層で明らかにするという戦略のもと、独自の画期的な遺伝子改変マウスの開発を行い、それを軸に分子・細胞生物学、解剖学、光・薬理遺伝学、イメージング、行動心理学などの複合的手法を駆使して研究を行ってきた。更に最近私たちは、内視型の超小型蛍光顕微鏡システムを利用することにより、自由行動下でのマウス海馬の数百個の神経細胞のダイナミックな活動動態を捉え、その集団活動パターンを解析している。ほんの半世紀ほど前の Hebb の時代には思いもよらなかった様々な技術の発展により、記憶学習の仕組みが徐々に自然科学の言葉で解き明かされつつある。次の半世紀後には果たしてどこまで理解が進んでいるのか楽しみな時代である。

#### 参考文献

1. Matsuo N, Reijmers L, Mayford M. **Science** 319, 1104-1107 (2008)
2. Reijmers LG, Perkins BL, Matsuo N, Mayford M. **Science** 317, 1230-1233 (2007)
3. Takahashi N et al., **Science** 335, 353-356 (2012)
4. Yokoyama M, Matsuo N. **Front. Behav. Neurosci.** 10: 218 (2016)

5. Yoshii T, Hosokawa H, Matsuo N. **Neuropharmacology** 113, 1-9 (2017)
6. Matsuo N. **Cell Reports** 11, 351-357 (2015)
7. Kitanishi T, Matsuo N. **J. Neurosci.** 37, 269-280 (2017)

## 動物実験が支える中枢神経再生治療法の開発研究

山下俊英

大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学

脳血管障害、脳外傷、脊髄損傷などにより、いったん傷害を受けた中枢神経系機能は十分に回復せず、有効な治療法はいまだ存在しない。この重篤な状況を脱するには神経回路の再建、すなわち細胞死を免れた神経細胞の軸索から標的ニューロンへの新たな軸索再生が不可欠であるが、中枢神経系には軸索の再生を阻害する機構が存在している。軸索再生阻害タンパク質と呼ばれている複数の因子が、一連の発生段階を経て出来上がった神経回路の安定性を保つメカニズムの一端を担っている。私たちはこれまで損傷した神経回路の再生を負に制御する複数の因子を同定し、その分子メカニズムを明らかにした(図1: *Dev. Cell*, 2015; *Nat. Neurosci.*, 2014, 2013, 2003; *Nat. Med.*, 2012, 2011; *Neuron*, 1999; *J. Cell Biol.*, 2009; 2006; 2002, 2002; *EMBO J.*, 2011; 2003; *Cell Death Differ.*, 2008; 2008; *J. Neurosci.*, 2010; 2009; 2008; 2008; 2004)。更に「中枢神経軸索再生阻害機序」を制御し、神経症状を改善する作用を有する治療薬の開発を進めており、当該研究は実用化に向けた応用研究の段階に至っている。

一方で、中枢神経の不完全損傷の場合には、ある程度の運動機能の回復が長い期間のうちに自然にもたらされることがある。実際に成体においても脳および脊髄で代償的な回路網の再形成が起こっている。例えば、脳損傷後に中脳や上部脊髄など様々なレベルで、損傷を免れた軸索から側枝の形成がおこり、新たな回路が形成される。私たちは、中枢神経損傷後の代償性神経回路の形成現象を明らかにし(*Brain*, 2012)、そのメカニズムを解明した(図2)。特に、中枢神経障害の病態形成と機能回復の過程には、中枢神経系以外の生体システムが重要な役割を担っていることを見いだした(図3)。例えば炎症に伴って生じる新生血管が prostacycline を分泌することで、軸索分枝を伸展させ、皮質脊髄路の修復を促進することを発見した(*Nat. Med.*, 2012)。また免疫反応を担当するミ

クログリアが、発達段階において皮質脊髄ニューロンの生存を維持し、軸索の誘導を助けることを発見し、その分子メカニズムを明らかにした(Nat. Neurosci., 2013)。さらに、膵臓や肝臓などの臓器が FGF21 を分泌し、神経回路の修復を促進していることを見いだした(J. Clin. Invest., 2017)。

精神発達障害や末梢神経疾患においても、神経回路の修復という観点からのアプローチが有効であることを明らかにした。例えば、染色体微小重複による神経発達障害において、protocadherin-19 の発現変化によって、神経回路の形成異常がおこることを見出した(Mol. Psychiatry, 2016)。cohesin の機能不全によって免疫系細胞における interferon の発現が変化し、ADHD 症状が出現することを示した(J. Exp. Med., 2017)。また神経障害性疼痛において、脊髄内介在ニューロンの回路異常が症状を発現させることを示した(J. Exp. Med., 2016)。これらの成果により、「生体システムによる神経回路の障害と修復の制御」の研究は、当初の予想を超えて、多くの臓器が幅広い神経疾患の病態形成に関与していることを明らかにした(図3)。

#### 【参考文献】

1. Muramatsu R, Kubo T, et al. (2011) **Nat Med** 17: 488-494.
2. Muramatsu R, Takahashi C, et al. (2012) **Nat Med** 18: 1658-1664.
3. Ueno M, Fujita Y, et al. (2013) **Nat Neurosci** 16: 543-551.
4. Tanabe S, and Yamashita T (2014) **Cell Rep** 9: 1459-1470.
5. Ueno M, Fujiki R, Yamashita T. (2014) **Nat Neurosci** 17: 1016-1017.
6. van Erp S, et al. (2015) **Dev Cell** 35: 537-552.
7. Hayano Y, et al. (2016) **J Exp Med** 213: 2949-2966.
8. Fujitani M, et al. (2017) **Mol Psychiatry** 22: 364-374.
9. Fujita Y, et al. (2017) **J Exp Med** 214: 1431-1452.
10. Kuroda M, et al. (2017) **J Clin Invest**, 127, 3496-3509.

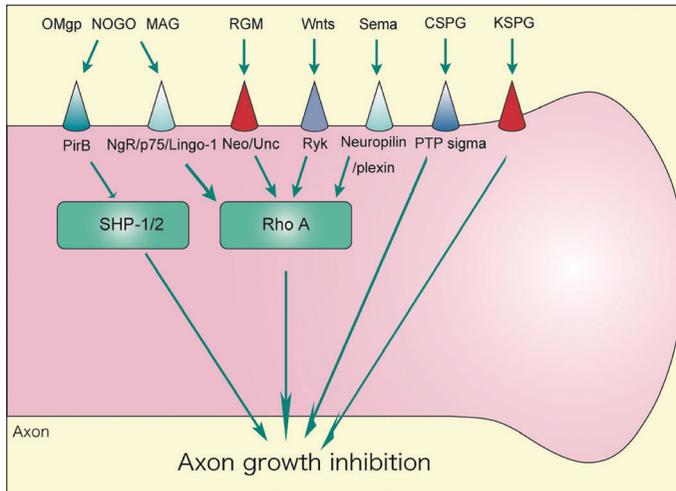


図 1

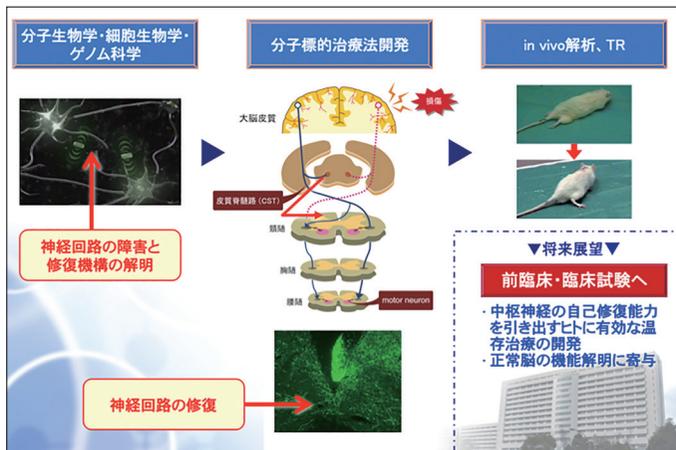


図 2

## 代償性神経回路の形成を制御する生体システム

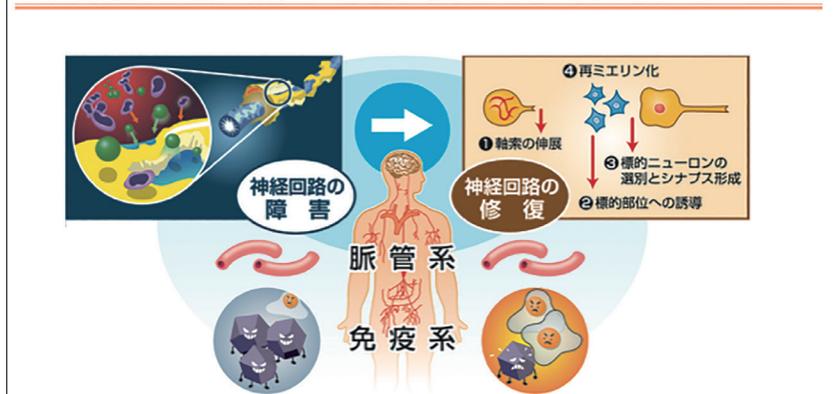


図 3

## 岡山大学における教育訓練に関する取り組み

樫木勝巳・矢田範夫

(岡山大学自然生命科学研究支援センター動物資源部門)

### はじめに

岡山大学動物実験委員会は、全学を対象に教育訓練をおこなっており、2014年度は14回開催、846名、2015年度は16回開催、683名、2016年度は17回開催471名が受講した(表1)。2012-2013年度を境にして、開催箇所が臨床講義棟の講義室(最大収容人数150-200名)から、2012年7月竣工の岡山大学自然生命科学研究支援センター動物資源部門研修棟にある多目的研修室(最大収容人数50名)へと変更となっていることから、一回あたりの参加人数が少なくなっている。しかし、参加人数の規模が小さく、講義の講師との物理的な距離が近くなっても、講義中に居眠りをする研究者や試験勉強の内職を行う学部学生は依然として散見される(図1)。

表1 岡山大学における動物実験計画書承認件数及び教育訓練実施回数、受講者数の推移

年度	動物実験計画書	教育訓練	
	承認件数	実施回数	受講者数
2008	323	8	1,116
2009	408	5	434
2010	450	9	642
2011	568	8	561
2012	681	9	546
2013	548	12	578
2014	655	12	672
2015	666	16	682
2016	570	17	471



図 1. ある教育訓練の風景

岡山大学では、動物実験の機関内管理体制の要に位置する教育訓練を形式的なものにしないために、2014年度から教育訓練受講の有効期間を設け（5年間）、2015年度からは従来の座学講義に加えて、受講後の知識確認テストの受験を課し、正答率

60%以上の者を教育訓練受講者名簿に登録することとした。その際、単に一定水準以下の成績の者を不合格として除外するような一方通行型の試験ではなく、試験問題を解き、誤った場合は解説を学習しながらより知識を深め、最終的には正答を得ることができるような、いわゆる e-learning 方式を用いた双方向の繰り返し型の学習システムを導入した。そして、その運用は、教員主体ではなく、実際に実験動物福祉の最前線に立つ本部門の技術職員（実験動物技術者）が担う仕組みも導入した。

## 1. 動物実験の機関内管理と教育訓練

文部科学省「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」（基本指針）は、「研究機関等の長は、動物実験実施者及び実験動物の飼養又は保管に従事する者に対し、動物実験等の実施並びに実験動物の飼養及び保管を適切に実施するために必要な基礎知識の修得を

表 2 基本指針が求める教育訓練実施 5 要素

- 
1. 関連法令、指針、規定等
  2. 動物実験の方法に関する基本的事項
  3. 実験動物の飼養保管に関する基本的事項
  4. 安全確保・安全管理に関する事項
  5. その他、適切な動物実験等の実施に関する事項
-

目的とした教育訓練の実施その他動物実験実施者等の資質向上を図るために必要な措置を講じること」と規定、教育訓練の実施を求めている。また教育訓練による教授すべき内容として、表2に示した5項目が規定されている。

これに基づいて岡山大学では動物実験委員会が主催し教育訓練を開催してきたが、2014年度までは1時間半の講義に途中退席せず出席し、講義終了時に受講票を提出しさえすれば、仮に講義の内容がまったく理解されていなかったとしても教育訓練受講済みとして動物実験に従事する資格が付与されていた。こうした動物実験の機関内管理が空洞化することにも繋がりがねない形式的な教育訓練のあり方を改善することが急務であった。

いくつかの研究機関等では、教育訓練の講義の最後に試験を課し、水準点に達しない者を不合格とする方法が採用されている。この方法は、教育訓練の実効性を確保する上で、有効な手法の一つであるが、表2に示した教育訓練において教授すべきとされている広範囲な内容からわずかな項目を抽出して試験問題とする点、及び多くの受講者を対象とすることから採点の利便を考慮し〇×式のような簡易な方法で解答させる点で、本当に動物実験を行う上での必要最低限の知識がカバーできるのかという問題点を内在している。

岡山大学では、2015年度から講義時間をやや短縮し、動物実験の実施にあたって基本的に踏まえるべき考え方を中心とした講義にするのと同時に、この講義の延長としてさらに実践的な知識を自ら学び考える場として、動物実験に関する知識を確認する試験（知識確認試験）の受講を義務付けることとした。この試験のコンセプトは、①単に正答か誤答かではなく解説を充実させ、受講者が「なぜ間違えたのか」ということを理解できるようにすること、②設問は3Rsなど基礎的な知識の確認だけでなく、動物実験を行なう上で陥りがちな誤り、これまで実際に起こった事例などを題材にして作成し、より実践的な知識が身に付くものとする点、③受験者をふるいにかけるための試験ではなく、合格ラインに達するまで何回でも繰り返し受けるこ

とができ、それによってより理解を深めることの三つの目的を設定した。

使用するシステムには、繰り返し学習・訓練を意味する教育訓練を実践するために、講義室という限られた時間・場所ではなく、研究室、自宅、さらには屋外からでも、時間と場所の制限なく自由に何度も受講できるようなシステムであること、ビデオのように改変が行い難い教材ではなく、社会情勢等に即して比較的容易に問題文の作成・改変、並びにその解説文の編集が可能であることを求めた。そして、導入したのが、e-learning 方式による知識確認試験であった。

## 2. e-learning システムの特徴

今回利用した e-learning システムは、日本データパシフィック株式会社が主として大学向けに開発し、<sup>1)</sup> WebClass というシステムである。岡山大学では、全学の研究活動支援の一環でこのシステムがすでに導入されており、岡山大学動物実験委員会は追加料金なく利用することができた。また、すでに研究倫理の教育訓練等にも積極的に活用されている。WebClass は、①Windows、Mac といったパーソナルコンピュータだけでなく、iPhone、Android 携帯及び iPad などのスマートフォン、タブレット端末などでも利用できること、②ユーザーインターフェースは直観的であり、一般的なインターネットブラウザさえ装備されていれば、クライアント側に特別なアプリケーションは不要であること、③動作が軽快で同時アクセス 1000 名以上での利用も可能であり、特にマニュアルを熟読しなくても容易に必要な情報にアクセスできることなどの特徴をもつ。

受講者は大学が付与する個人 ID とパスワードでログインし、このシステムを利用する。動物実験の教育訓練の性格上、大学構成員だけでなく共同研究者として動物実験に従事する外部の研究機関等に所属する研究者も受講対象であるが、そのためには学外の研究者用に発行されたローカル ID (ゲスト ID) とパスワードを用いて学外にある端末からもログインすることができる。また、動物実験委員会側から

は、①受講者の成績データ管理はいうまでもなく、②個人別のログイン時間（受講時間）、③設問ごとの解答時間（平均・最長・最短）、④設問ごとの正答率などさまざまなデータを参照することができ、設問の見直しの上で非常に有効である。

### 3. 知識確認試験で用いる試験問題について

知識確認試験で用いられる試験問題は、サーバー上にストックし、順次問題数を増やしている。実際の試験では、このストックした問題からシステムが任意に 20 題を選別し出題し、受講者は時間制限等なく 12 題以上正答すれば合格としている。

通常、このような試験では、発表者のような動物実験施設の専任教員が中心となって作成することが多いと思われる。岡山大学では、2011 年度から技術職員 1 名を動物実験委員に選任し、動物実験の各種施策の作成に委員会構成メンバーの一人として責任ある立場で関わってきたことから、知識確認試験では、問題文及びその解説文の作成の中心に据えることとした。これにより技術職員の動物実験及び実験動物に関する知識、特に実験動物福祉に関わる問題への取り組み姿勢には明らかな変化をもたらしたように見える。例えば、以下の設問例 1 では、設問文にはジエチルエーテルの記載を追加、設問例 2 や設問例 3 のように、問題設定の意図を解説文と合わせて掲載するといった工夫に関して、技術職員が独自に判断して追加された説明が添えられるようになった。

それでは、この機会に実際の設問文と解説文並びにその出題意図をいくつか例示する。

#### <設問例 1（講義の補足的問題）>

マウスに対する全身麻酔法として、本学では禁止していないが安全域が狭いため避けることが望ましいものはどれか。

- (1) イソフルラン吸入麻酔
- (2) ケタミンの腹腔内投与

(3) ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与

(4) マウスの体を直接濡らさないよう表情に置く低温麻酔

<答え>

(3)

<解説>

ペントバルビタールナトリウムは従来から麻酔薬として多用されてきたが、安全域が狭く、容易に呼吸停止が引き起こされる。また痛みを除く効果は期待できないため、近年では苦痛軽減を目的としたペントバルビタールナトリウムの使用を認めない journal もある。本学では現時点では使用禁止としないが、推奨もしていない。

同様に古くから用いられてきたジエチルエーテルについても、気道刺激性があり動物によっては苦痛となる可能性があることや、易引火性であること、実験者の安全や健康への影響も小さくないことから、本学においては使用禁止とはしないが推奨もしないという扱いとしている。

### <設問例 2 (実例に即した紛らわしい問題)>

本学で行なう実験のうち、本学の動物実験規則が適用されるものは次のうちどれか。

(1) 外部の業者から譲渡されたウシの眼球を用いて、手術手技のトレーニングをおこなった。

(2) 学外の機関との共同研究の一環として作製された動物から採取された造血幹細胞を入手し、本学では *in vitro* 実験のみをおこなった。

(3) 外部の業者からゼブラフィッシュを購入し、遺伝子ノックダウンの実験をおこなった。

(4) 外部の業者から購入したニワトリ有精卵を孵卵し、胎齢 10 日の胚を取り出して発生の実験をおこなった。

<答え>

(2)

### <解説>

(1)ウシの眼球のみを譲り受ける場合は、生きた動物を使わないので動物実験規則の対象外。(3)魚類は動物実験規則の規制が適用されないので、ゼブラフィッシュは対象外。ただし遺伝子組換え実験に該当する場合は組換え DNA 実験の承認が必要です。(2)は細胞のみを入手して *in vitro* 実験をおこなうだけで、生きた動物を使うことはないので適用外のように見えますが、細胞を採取する動物は本学の研究者と他機関との共同研究としてこの実験のために作製されたものです。したがってたとえその動物は本学にはいなくても、全体として本学の研究者がかかわる実験とみなされ、動物実験規則の適用対象となります。(4)は、たとえば孵化期間末期に近い胎齢 15 日の胚を取り出すなどの場合は、摘出胚が苦痛を感じる可能性があるため、動物実験計画書を申請し、苦痛軽減方法等を検討し承認を得る必要があります。

### <設問意図>

選択肢(2)のようなケースが近年急激に増えてきている。たとえば岡山大学の研究者が動物実験を外部の機関に委託しその成果を自らの業績として発表するような場合も、岡山大学の動物実験規則の適用対象とするのが動物実験の機関内管理の趣旨であることを理解させることがこの設問の目的である。

### <設問例 3 (研究者等の疑問に答える問題)>

動物実験における苦痛のカテゴリーの考え方について、正しいものは次のうちどれか。

(1) 動物をすぐに安楽死させた後、特定の臓器を摘出する実験は、苦痛のカテゴリーA (剖検により得られた組織を用いる実験) に該当する。

(2) 自然発症高血圧モデルである SHR は、何も実験処置を加えず血圧の推移のみを観察する限りは苦痛のカテゴリーB (動物に対してほとんど不快感を与えない実験) で差し支えない。

(3) マウス皮下に腫瘍細胞を移植しその成長をみる実験は苦痛の 카테고리C (軽度のストレスまたは痛み(短時間持続するもの)) に該当する。

(4) 動物を麻酔下に置き、処置を行った後そのまま覚醒させることなく安楽死させる実験は、苦痛の 카테고리は B (動物に対してほとんど不快感を与えない実験) で差し支えない。

<答え>

(4)

<解説>

(1)臓器摘出目的の安楽死は、 카테고리B となります。 카테고리A は、あらかじめ本学の研究者とは無関係に安楽死・解剖等が行われた個体から、たとえば食肉処理業者などから臓器や組織だけを譲り受ける場合を指します。(2) 高血圧モデルは、無処置のまま生かしておくだけでも 카테고리D となります。疾患モデルはその病態の発現が最大の場合を想定して考えます。(3) 担がんマウスについても、 카테고리D 相当です。

<設問意図>

苦痛の 카테고리의判断は動物実験計画書を作成する上で多くの研究者が迷うところであるが、特に誤解が多いのが設問に挙げたようなケースである。この設問は、疾患モデル動物の苦痛の 카테고리はその病態が最大の場合を基準に判断するという考え方を身に付けさせることが目的である。

#### <設問例 4 (動物実験について考える問題)>

「動物実験の意義」の考え方について、誤っているものはどれか。

(1) 「疾患に対する新たな治療法の開発」は動物実験の意義として適切なものである。

(2) 動物の生命を犠牲にするに足る社会的有用性が必要である。

(3) 科学者としての知的的好奇心こそ科学の発展にとって不可欠なものであるから、好奇心の充足のために動物実験を計画した。

(4) 将来医師、歯科医師、薬剤師、研究者、小中高等学校教員等として活躍する上で必要な動物の解剖、生理を学ぶための動物を用いた学生実習・実験は、動物実験の意義として適切なものである。

< 答え >

(3)

< 解説 >

(3) 「科学者としての知的好奇心」位置づけは設問前段の通りですが、社会的有用性（社会の役に立つこと）を切り離された単なる好奇心の充足のためだけの動物実験は認められません。

#### < 設問例 5（機関管理に関する問題） >

動物実験計画書の作成について、最も適切なものは次のうちどれか。

(1) 動物実験計画書は本学に所属する研究者が専門分野を生かして審査を行なうため、研究者であれば当然理解できる専門用語、略号は説明なしに用いることができる。

(2) 動物実験計画書は情報公開請求の対象であるため、常に一般市民に公開された場合を想定して、専門外の者のも実験の背景、目的、必要性、意義が理解できるように作成しなければならない。

(3) 動物実験計画書においては動物に対して加えられる処置をもれなく記載し、エンドポイントを明確に記述することが求められるため、動物実験委員会が提供する動物実験計画書の様式を逸脱することはやむを得ない。

(4) 実験実施者が非常に多く、全員の氏名を記載すると動物実験委員会所定の動物実験計画書の様式を大きく逸脱してしまう場合、一部の者の氏名の記載を省略することができる。

< 答え >

(2)

< 解説 >

(1) 一般市民でもわかるもの以外は、専門用語、略語に必ず説明が

必要です。

(3)(4) A 4判 2枚で 1 ページには研究概要と責任者・実施者、飼養保管施設等と使用動物種・系統など、2 ページは研究方法等とあらかじめ様式が決まっています。本文の文字の大きさは最低でも 8pt 以上、研究方法欄は 500～600 字を目安に記載していただくようお願いしていますので、様式からの逸脱や大量の記述は、内容の審査に入る前に返却されることになります。

#### 4. 結語

知識確認試験の開始当初の課題として挙げられていた英語版の試験は、2015 年 7 月の時点で英語による教育訓練の講義開始にともなって準備が整い、稼働を開始した。ただし試験問題の英訳がまだ完全ではなく、出題数と同じ 20 問しか準備できていない。よって、今後の課題として第一に考えられることは、英語版も含めた試験問題の一層の充実である。

特に、英語版に関しては岡山大学の留学生は、主として非欧米系の方々であるので、実験動物福祉の概念の理解に留学生個人間で大きな開きが認められる。その上、「動物の愛護及び管理に関する法律」等では、「動物の愛護」に代表される日本的な概念が含まれており、それを留学生に伝えることがいかに難しいことかを実感している。よって、問題文で使用する語句については検討を重ねてゆく必要があると考える。また、日本の研究者・学生向けでも、申請される動物実験計画書の審査の上で多くの研究者が勘違いしがちなこと、たとえば、前述のような外部の機関に実験の一部を委託する場合における動物実験の機関内管理の考え方について、さらに実例に即して試験問題を練り上げていく必要があるように思える（設問例 2）。また、必須問題と選択問題に出題を分ける等の工夫も加えてゆく必要があると考えている。

第二の解題は、解説文をもっと充実させることである。試験問題に解答し、正解であったか誤答であったかを確認するだけで終わらせる

のではなく、むしろ解説を学習してさらに基本的知識と応用力を身につけることができるような内容にしていかなければ知識確認試験を実施する意味がない。さらなる解説文の充実化のためには、最も実験動物と身近に接する技術職員の知識の深遠化は、そのために必要な不可欠な要素である。技術職員のチームとしての活動の自由度を確保するだけでなく、その進むべき方向へ向かわせてゆくための実験動物管理者による方向づけも必要があると痛感しているところである。特に、技術職員は、実験動物の飼養及び保管の最前線で、直接研究者や学生への指導・助言を耐える存在でもあるものであるので、上記の課題をクリアすることで、岡山大学における実験動物福祉が向上に繋がっていればと考えている。

最後に、最近初めてこの e-learning システムによる知識確認試験を受講した研究者の一人は、「問題はなかなか難しく、1 回目では合格点ギリギリしか取れなかった。改めて解説を勉強し、時間がかかっても満点を取れるように再挑戦したい」との感想を寄せてくれた。また、是が非でも満点を取ろうとなんどもトライする教員もかなりの人数存在するのを見かけると、「落とすための試験」ではなく、試験を受けることを通じてさらに適正な動物実験の実施についての理解を深め、動物実験の機関内管理の実効性を高める方法として、この e-learning システムによる知識確認試験は非常に有用であると考えている。

なお、この原稿は、e-learning システムを用いた動物実験教育訓練知識確認テスト（矢田範夫・上藤千佳・平山晴子・樫木勝巳）、岡山大学実験動物研究会報第 32 号（2016 年 4 月）p33-p36 に掲載したものを、平成 28 年日本実験動物技術者協会関西支部秋季大会・第 131 回関西実験動物研究会合同大会（平成 28 年 9 月 10 日大阪大学医学部）での発表時の内容に即し、加筆・修正したものである。

<sup>1)</sup><https://www.datapacific.co.jp/webclass/index.html>

## 動物実験に対する効率的かつ効果的な社内教育について考える

黒木宏二

大日本住友製薬株式会社 研究管理部

当社の動物実験に対する基本姿勢は以下の通りです。当社では、「動物の愛護及び管理に関する法律」および「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」等に準拠した社内規程を遵守して、動物実験を実施しています。また、動物実験委員会を設置し、外部に委託する試験を含めすべての動物実験計画について3Rs（使用動物数の削減「Reduction」、動物を使用しない代替法の採用「Replacement」、苦痛の軽減「Refinement」）の観点から厳正に倫理審査を実施しています。さらに、動物実験の実施状況については自己点検・評価および適切な実施の確認を行い、動物実験の倫理性と科学性の維持・向上に努めています。これらの取り組みは、財団法人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センターから厚生労働省の指針に基づいて動物実験を適正に実施していると評価されており、当社の動物実験実施施設は指針に適合した施設として認証を取得しています。

上記の当社の動物実験に対する基本姿勢を動物実験実施者に周知徹底するため、また、近年の動物実験を取り巻く環境の様々な変化（グローバル化、関連法令の改正、動物実験に関する技術の発達、動物実験に関する一般市民の関心の高まりなど）に適切に対応するために、動物実験実施者に対する教育の役割は益々重要になってきています。

当社の動物実験実施者に対する教育の概要は以下の通りです。動物実験実施者全員に対して、毎年1回の講習会の受講を義務化しており、本講習会の受講が動物実験計画書の申請および動物実験エリアへの入室の必須条件となっています。講習会は90分程度で、動物実験の関連法令、動物実験手順・飼育・施設利用についての基本事項、労働安全衛生、その年のトピクス（関連法令の改正、運用面の変更等）について教育を行っています。教育内容としては関連法令など堅苦しい話も多く含まれるため、受講者が居眠りなどするなど、教育者からの受講者への一方通行になる懸念があり、その対応は課題の一つとなっています。今回、現在の当社の教育に対する取り組みについて紹介するとともに、動物実験実施者の積極的な受講を促す効率的かつ効果的な教育について考えてみたいと思います。

<第132回研究会（平成28年12月9日）>

<一般講演>

会員の発表11題

<トピックス>

外部検証促進のための人材育成

喜多 正和（京都府医大・医・実験動物センター）

<特別講演>

1. ダイレクト・コンバージョンによる組織細胞の創出とマウスモデルを用いた生体内機能解析  
松田 修・山本 健太・素輪 善弘・岸田 綱郎（京都府医大院・医・免疫学）
2. チンパンジーから探るヒトのこころの進化  
友永 雅己（京大・霊長類研・思考言語分野）

## *Ginip* 遺伝子および転写産物のラット脳における発現解析

○沼倉佑樹<sup>1</sup>、上村里彩<sup>1</sup>、田中美有<sup>1,2</sup>、井澤武史<sup>1</sup>、山手丈至<sup>1</sup>、庫本高志<sup>2</sup>、金子武人<sup>2</sup>、真下知士<sup>3</sup>、山本 卓<sup>4</sup>、芹川忠夫<sup>5,6</sup>、桑村 充<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>大阪府立大学、<sup>2</sup>京都大学、<sup>3</sup>大阪大学、<sup>4</sup>広島大学、<sup>5</sup>大阪薬科大学、<sup>6</sup>京都疾患モデル研究所)

【背景・目的】 *Goi*-interacting protein (GINIP) は  $GABA_B$  受容体の *Goi* に特異的に結合し、末梢神経における  $GABA_B$  シグナルに関与すると推定される。また GINIP は dorsal ganglion に発現し、KO マウスは慢性的な痛覚障害を示す (Gaillard et al, Neuron 2014)。本研究は GINIP およびその *Ginip* 遺伝子の詳細な発現を明らかにするため、ラットの脳内分布に着目して解析を行った。

【材料・方法】 *Ginip*-KO ラット 15 および 67 週齢、F344 ラット (野生型) 15 および 57 週齢の各群 3 匹を用いた。ラットはイソフルラン麻酔下にて安楽殺し、中枢神経系と全身諸臓器を採材した。凍結切片を用いて *Ginip* 遺伝子に対する *in situ* hybridization を行った。また凍結あるいはパラフィン切片に対し、GINIP 抗体と各種神経細胞マーカー抗体を用いて免疫組織化学法および免疫電子顕微鏡法を行った。

【結果と考察】 大脳皮質、脊髄背角、嗅球において *Ginip* 遺伝子および GINIP の特異的な発現が認められた。脊髄背角、嗅球の傍系球体細胞層において抑制性インターニューロンのマーカーである Calbindin と GINIP が共発現していた。また興奮性ニューロンのマーカーである Tyrosine hydroxylase とは共発現が認められなかった。GINIP に対する免疫電子顕微鏡法では、前シナプス終末に一致して陽性シグナルがみられた。Calbindin 陽性細胞数は *Ginip*-KO ラット、コントロール間での有意な差は認められなかった。

以上の結果より、*Ginip* 遺伝子およびその産物 GINIP は抑制性インターニューロンに発現しているが、抑制性インターニューロンの発達には影響しないことが示唆された。

## *Ginip*-KO ラットの情動行動および記憶学習行動試験

○芹川忠夫<sup>1,2</sup>、西川久夫<sup>3</sup>、白川 裕<sup>3</sup>、真下知士<sup>4</sup>、金子武人<sup>5</sup>、  
中西 聡<sup>5</sup>、崔 宗虎<sup>5</sup>、庫本高志<sup>5</sup>、山本 卓<sup>6</sup>、笹 征史<sup>1,7</sup>、大野行弘<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>京都疾患モデル研究所、<sup>2</sup>大阪薬科大学、<sup>3</sup>(株)ケー・エー・シー、  
<sup>4</sup>大阪大学、<sup>5</sup>京都大学、<sup>6</sup>広島大学、<sup>7</sup>渚クリニック)

GABA<sub>B</sub>受容体は、認知、記憶、不安、うつ、薬物乱用、てんかん、疼痛等との関連が示唆されてきた (Kasten & BoemII, *Neurosci Biobehav Review* 2015)。Gai-interacting protein (GINIP) は、GABA<sub>B</sub>受容体の G 蛋白に介在する蛋白として報告された。*Ginip* 遺伝子 KO マウスは慢性的に過度の痛覚反応を示したが、2ヶ月齢では他の行動異常は認められなかった(Gaillard et al, *Neuron* 2014)。この度、*Ginip* 遺伝子 KO ラット系統を樹立したので、情動行動および記憶学習行動を調べた。

【材料と方法】 *Ginip* 遺伝子 KO ラットは、翻訳開始コドンを含むエクソン領域を標的にして TALEN 法により作製した。392bp 欠損変異をもつ雌雄 5ヶ月齢のホモミュータント F344/Stm-*Ginip*<sup>Δ392/Δ392</sup> と対照系統の F344/Stm を各群 6 頭にて、1) 情動行動評価試験、2) 高架式十字迷路試験、および 3) モリス水迷路試験を定法に従い実施した。得られたデータは、統計的に比較解析した。

【結果と考察】 *Ginip* 遺伝子 KO ラットは、情動行動評価試験においては雄で情動行動過多、高架式十字迷路試験においては雌で不安低下、モリス水迷路試験においては雄で記憶学習の低下が顕著であった。KO ラットにおいて観察された変異は、G 蛋白を介するエフェクター蛋白あるいはチャンネル等が GINIP の不在により正常に作動しないことに因ると考えられた。米国 NIH は前臨床試験において雄動物のみならず雌動物での評価を推奨しているが (Clayton & Collins, *Nature* 2014)、今回の試験で性差が見られた。*Ginip* 遺伝子 KO ラットは、抗不安薬の開発試験への応用や不安等の性差研究の新しいモデルとして有用であろう。

## 肥満・糖尿病モデル ZFDM ラットにおけるインクレチン応答性インスリン分泌障害機構の解明

○横井伯英<sup>1</sup>、本田洸平<sup>1</sup>、山口拓郎<sup>1</sup>、速水智英<sup>1</sup>、川畑綾子<sup>1</sup>、星川律子<sup>1</sup>、星野貴一<sup>2</sup>、星野雅行<sup>2</sup>、清野 進<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>神戸大院・医・分子代謝医学、<sup>2</sup>星野試験動物飼育所)

**【目的】** レプチン受容体 (*Lepr*) の突然変異 (*fatty, fa*) を有する肥満・糖尿病モデル Zucker fatty diabetes mellitus (ZFDM) ラット (正式名称 Hos:ZFDM-*Lepr*<sup>fa</sup>) から単離した膵島では、経時的にインクレチン応答性インスリン分泌の障害が認められる。今回、このメカニズムについて検討を行なった。

**【方法】** ZFDM 系統の *fa/fa* ホモ型と対照の *fa/+*ヘテロ型のオス個体から 7 週齢および 11 週齢時に膵島を単離し、非肥大膵島と肥大膵島 (直径 300  $\mu\text{m}$  以上) の割合を検討した。また、これらの膵島におけるインクレチン応答性インスリン分泌、インクレチン受容体遺伝子発現、グルコース刺激による代謝産物変動を評価した。

**【結果】** ホモ型の総単離膵島数に占める肥大膵島数の割合は 7 週齢から 11 週齢にかけて増加した。11 週齢時のホモ型のインクレチン受容体発現は、膵島の大きさにかかわらずヘテロ型に比べて低下していたが、インクレチン応答性インスリン分泌は肥大膵島で顕著に障害されていた。非肥大膵島と肥大膵島における代謝プロファイルの違いに寄与する代謝物としてグルタミン酸が見出され、肥大膵島においてグルタミン酸の産生障害が認められた。

**【結語】** ZFDM ラットの膵島におけるインクレチン応答性インスリン分泌障害の原因として、インクレチン受容体の発現低下ならびにグルタミン酸産生障害を示す肥大膵島の経時的増加が示唆された。

## 神経軸索ジストロフィーモデルラットの病理組織学的検討

○田中美有<sup>1</sup>、桑村 充<sup>2</sup>、庫本高志<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>京都大学・医・動物実験施設、<sup>2</sup>大阪府立大学・獣医病理)

【背景・目的】KK ラットは、エチルニトロソウレア (ENU) ミュータジェネシスにおいて発見されたミュータント系統であり、若齢時から後肢の歩行異常・運動障害を呈し、次第に消瘦して死に至る。KK ラットの脊髄では多数の腫大軸索 (スフェロイド) が観察されるため、神経軸索ジストロフィー (NAD) と診断された。本研究では、KK ラットの中中枢神経系病変の詳細な解析とともに、全身諸臓器の病理組織学的検討を実施した。

【材料・方法】発症前の 3、5 週齢、発症後の 7~10 週齢のホモ型 (*kk/kk*) および対照型ラットの脳・脊髄を含む全身諸臓器を採材し、HE 染色により評価した。中枢神経系組織に対しては、電子顕微鏡観察と、抗シナプトフィジン、ニューロフィラメント (NF)、ユビキチン抗体等を用いた免疫組織化学染色を実施した。

【結果・考察】ホモ型ラットでは、3 週齢から脾臓の腫大・うっ血・リンパ濾胞の萎縮と、胸腺皮質の萎縮が認められ、KK ラットにおける造血器の異常が示唆された。中枢神経系のスフェロイド病変は、発症前の 3 週齢から脊髄・小脳・脳幹において認められ、発症後により重度となる傾向にあった。脊髄では胸髄・腰髄・仙髄の背索を中心に、脳幹では、主に延髄薄束核・楔状束核・副楔状束核に多く局在し、KK ラットのスフェロイド病変は、深部 (固有) 感覚に関連する感覚神経路に主座することが明らかとなった。また、免疫組織化学的に、スフェロイドはシナプス関連蛋白、NF、ユビキチンに陽性を示し、電子顕微鏡観察では、スフェロイド内に **dense body**、変性したミトコンドリア、膜状・管状構造が多数蓄積していたため、軸索輸送の障害やシナプス機能の異常が示唆された。今後、さらに詳細なスフェロイドの性状解析を進め、本系統におけるスフェロイド・軸索変性の発生メカニズムの解明を目指す。

## エレクトロポレーションによる免疫不全ラットの効率的作製

○宮坂佳樹<sup>1</sup>、服部晃佑<sup>1</sup>、國廣弥生<sup>1</sup>、加野善弘<sup>1</sup>、真下知士<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 阪大院・医・附属動物実験施設、<sup>2</sup> 阪大院・医・共同研・ゲノム編集センター)

免疫不全動物はヒト細胞や組織を移植するような実験には不可欠で有用なリソースであり、すでに SCID マウスをはじめ NOD-scid、NOG など、免疫不全マウスが活用されている。マウスよりも体が大きな免疫不全ラットは外科処置が容易であるなど高い利用価値がある。

近年、次世代ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 の登場により、実験用ラットでも自由な遺伝子改変が可能になり、われわれも遺伝子改変ラット（ノックアウト、ノックイン、コンディショナル等）の作製基盤技術を整備してきた。今回はエレクトロポレーションを利用した方法で高効率に作製した免疫不全ラットを報告する。

**【材料と方法】** Il2rg 遺伝子、Prkdc 遺伝子、Rag2 遺伝子それぞれについて gRNA を設計し in vitro 転写にて調製した。9-11 週齢の雌 F344/Jcl に過排卵処置を施し交配後に採取した受精卵を Cas9 mRNA (400ng/μL)、gRNA (200ng/μL) を含む 40μL の培地 (OPTI-MEM) に移し、遺伝子導入に供した (スーパーエレクトロポレーター NEPA21)。処置後の受精卵は 2 細胞期まで培養し、9 週齢の偽妊娠雌 Jcl:SD の卵管へ移植した。得られた産仔は 2-4 週齢でジェノタイピングした。

**【結果】** CRISPR/Cas9 とエレクトロポレーションを組み合わせることにより、免疫不全関連遺伝子のノックアウトラットを作製することに成功した。変異導入効率は 36%-100% であり、遺伝子によるバラツキはあるものの、総じて効率は高いといえる。現在、得られた免疫不全ラットはリソースとしての活用を視野に、マイクロベントシステムで系統維持している。

*Pneumocystis carinii* の微生物検査に用いる PCR 用検査材料の検討

○水野洋子、谷川亜里紗、渋谷 翔、安藤理恵子、金子司郎、  
鍵山壮一郎、田島 優  
(大阪大学医学部・附属動物実験施設)

【背景】*P. carinii* の検査は抗体検査もしくは肺を採材し、病理検査や DNA 抽出後 PCR による判定がされている。

当施設において免疫不全動物の飼育が増えている。このためこの菌についてより簡便で確実に、可能であれば動物を生かしたままかつ迅速に行える検査系の確立が必要となった。

【目的】動物を生かしたまま採材できる咽喉頭ぬぐい液および安楽死後に採材する気管ぬぐい液、肺材料から抽出された DNA を用いて *P. carinii* の検出率を比較した。

【材料】当施設のモニター動物として飼育されていた F344 nu/nu、Wistar から採材した。生体動物からは：咽喉頭ぬぐい、処分動物からは咽喉頭ぬぐい、気管ぬぐい、肺を採取し、検査材料とした。

【方法】DNA 抽出：肺サンプル：DNeasy Blood & Tissue Kit250 (QIAGEN)  
咽喉頭、気管サンプル：トライトン処理  
PCR：PCR Pre mixture として puRe *Taq*<sup>TM</sup> Ready-to-Go<sup>TM</sup> PCR  
Beads (GE Healthcare) を用いた。

特異プライマーと PCR 条件は、Molecular and Cellular Probes (1999), 13, pp147-155 の方法に従った。

【結果と考察】F344 nu/nu の生体動物の咽喉頭ぬぐい液から *P. carinii* の検出が可能であった。また、免疫正常動物、Wistar を安楽死後、気管切開して採材した気管ぬぐい液においても *P. carinii* が検出された。

染色法に基づく従来の検査法では肺のみが、採材部位とされてきたが、今回咽喉頭や気管での検出が確認された。今後、検査数を増やし、各部位の検出感度を比較するとともに、生体を用いて検査が可能な咽喉頭ぬぐい液からの検出方法の実用化について検討する予定である。

## 胎児発育不全モデルマウスを用いた低出生体重児への有用な栄養管理法の検討

○吉留翔哉、近藤友宏、長井寛明、武下 愛、岡田利也  
(大阪府立大学・実験動物学教室)

**【背景・目的】** 低出生体重児は神経学的な障害やメタボリックシンドローム発症のリスクが高いことが報告されている。本研究では、胎児発育不全 (FGR) モデルマウスに対して成長期に栄養管理を導入し、成熟後の血圧と腎臓に及ぼす影響を調べた。栄養管理がメタボリックシンドローム発症リスクに及ぼす影響に加え、神経学的発達に影響を与えていないかを確認し、低出生体重児に対する栄養管理の有用性を明らかにすることを目的とした。

**【材料と方法】** C57BL/6 妊娠マウスに 6 %蛋白含有飼料を給餌することで FGR モデルマウスを作出し (FGR 群)、妊娠中に 25%蛋白含有飼料 (通常食) を給餌する群を対照群とした。両群とも出生後は 20 週齢まで通常食を給餌した。FGR 群の一部は 6 週齢から 20 週齢まで 12 %蛋白含有飼料を給餌し、これを栄養管理群とした。その後 30 週齢まですべてのマウスに高脂肪食を給餌した。体重、収縮期血圧の測定に加え、30 週齢で腎臓の採材を行った。PAS 染色を施し、糸球体硬化の程度 (糸球体硬化指数、GSI) を調べるとともに腎臓の renin、AT1、TGF $\beta$  の mRNA と蛋白発現量を調べた。また、神経学的な成長の障害の判定のため 10 週齢で行動解析を行った。

**【結果・考察】** FGR 群の血圧は 30 週齢で対照群に比べ有意に上昇しており、その上昇は栄養管理群では認められなかった。renin、TGF $\beta$  の mRNA の発現量は FGR 群が対照群に比べ有意に上昇していた。蛋白発現量は TGF $\beta$ 、renin と AT1 で FGR 群が対照群に比べ有意に上昇していた。GSI は FGR 群が栄養管理群に比べ有意に高くなっていた。これらのことから、成長期での栄養管理は FGR 新生児の高血圧発症リスクを軽減すると考えられた。10 週齢で行動解析の結果、探索行動や不安行動、記憶能力に FGR 群と栄養管理群の間には差はなかったことから、栄養管理は FGR マウスの神経発達を阻害しないことが示唆された。

## 糖尿病マウスの創傷遅延に対するシンバイオティクスの改善効果

○久保 薫<sup>1</sup>、友田恒一<sup>2</sup>、清水金忠<sup>3</sup>、小田巻俊孝<sup>3</sup>、木村 弘<sup>2</sup>  
(奈良医大・<sup>1</sup>動物実験施設、<sup>2</sup>第二内科、<sup>3</sup>森永乳業(株))

近年、腸内細菌叢の変化が肥満、糖尿病、アレルギー疾患などの様々な疾患の発症・進展に関与することが報告されている。今回、プレバイオティクスとしてグルタミン、食物繊維とオリゴ糖を豊富に含む補助栄養食品である GFO<sup>®</sup>とプロバイオティクスとしてビフィズス菌末 BB536 (*Bifidobacterium lungum*) とを組み合わせシンバイオティクスを作製し、糖尿病モデルマウスの創傷遅延に対する改善効果を検討した。

## 【材料と方法】

AIN-93G 配合 (AIN-93G) を基準に、セルロース欠乏飼料 (欠乏食) はセルロースを加えず、その基準量に相当する sucrose を増量することにより作製した。この欠乏食の sucrose を調整し、GFO<sup>®</sup> (大塚製薬) を 5%(W/W)の割合に添加した GFO 添加セルロース欠乏食 (GFO/欠乏食) を作製した。この GFO/欠乏食に用事調整にてビフィズス菌末 BB536 (*Bifidobacterium lungum*、森永乳業) を 1%(W/W)の割合で添加し、ビフィズス菌と GFO 添加セルロース欠乏食 (GFOB/欠乏食) を作製した。

AIN-93G あるいは調整飼料を 6 週齢の雄性 C57BL/KsJ-*db/db*Jcl に 4~8 週間不断給餌したのち、吸入麻酔下にて背部皮膚 (表皮と真皮層を含む) を円形状 (直径約 16mm) にくり抜き、開放創を 1 箇所作成した。創傷部位は準閉塞性フィルムドレッシング (Bioclusive: Johnson and Johnson, Arlington, TX, USA) で被覆し、2 日毎に交換するとともに創傷面積の計測を 14~16 日間実施した。実験最終時期には新鮮糞便を採取し、16S rRNA 解析により腸内細菌の種類や分布割合を評価した。

## 【結果と考察】

糖尿病モデルマウス (C57BL/KsJ-*db/db*Jcl) において、創傷治癒の遅延が観察された。給餌期間が 8 週間の場合、GFOB/欠乏食群では欠乏食群に比べて創傷後 14 日目あるいは 16 日目に有意な創傷面積の減少が認められた。また AIN-93G 群および欠乏食群に見られる腸内細菌分布の不均衡が GFOB/欠乏食群では改善された。以上の結果より、グルタミン、食物繊維、オリゴ糖と *Bifidobacterium lungum* (BB536) を組み合わせたシンバイオティクス食材が難治性創傷に対して治癒効果を示すことが示唆され、腸内環境の改善が関与するものと推察された。

## 癌型 K-Ras 依存的な肺発癌感受性遺伝子座の探索

○齋藤浩充、鈴木 昇

(三重大・先端科学研究支援センター・動物機能ゲノミクス)

【背景】*K-Ras* 変異は肺癌全体の 30% を占めるにもかかわらず *K-Ras* に対する臨床利用可能な分子標的薬は無く、治療につながる新たな標的遺伝子の探索が重要な課題である。我々は、*K-Ras* 遺伝子変異から腫瘍が出現するまでの発症過程（変異後過程）に焦点をあてるため、Cre 組み換え酵素発現により、任意の時期、細胞で癌型 *K-Ras* 遺伝子を発現可能な *Ryr2<sup>tm1Nobs</sup>* マウスを作製した。Cre 発現アデノウイルスを用いた肺気管支上皮細胞特異的な癌型 *K-ras* 遺伝子発現によりヒトの肺胞上皮 2 型様腺がんを発症するモデルマウスを作製した。このマウスにそれぞれ C57BL/6(B6) 系統と、A/J 系統の遺伝子背景を導入し、肺発癌高感受性系統 C57BL/6J(B6)-*Ryr2<sup>tm1Nobs</sup>* 及び低感受性系統 A/J-*Ryr2<sup>tm1Nobs</sup>* を樹立した。

【目的】約 20 cM 間隔で、polymorphism マーカーを設定し、F2 マウス 96 匹による QTL 解析（単点解析）を行い、癌型 *K-Ras* 変異を原因とし、変異後過程において肺発癌の抑制、促進にかかわる因子の生体レベルでの探索を試みた。

【結果と考察】これまでの探索で、第 3、7、8、9 番染色体において A/J 系統由来の遺伝子座が B6 系統由来の遺伝子座に対して有意に発癌を促進する 7 遺伝子座、第 6、11、13、19 番染色体において、B6 系統由来の遺伝子座が A/J 系統由来の遺伝子座に対して有意に発癌を促進する 4 遺伝子座、計 11 遺伝子座を見出している。このうち、第 7 染色体上の D7Mit259 (88.85cM)、第 8 染色体上の D8Mit200 (61.37cM)、第 13 染色体上の D13Mit248 (27.68cM) の 3 遺伝子座は、化学肺発癌感受性 QTL である *Sluc8* (Chr7:88.86cM)、*Sluc9* (Chr8:62.82cM)、*Sluc23* (Chr13:26.25cM)、*Pas10* (Chr13:31.02cM) の近傍に存在した。残りの 8 遺伝子座は、これまで報告されている化学肺発癌感受性 QTL とは異なった新規 QTL であり、癌型 *K-Ras* 依存的かつ、化学発癌モデルでは検出されない肺発癌感受性遺伝子の探索に有効であることが示唆された。

現在、未検定の遺伝子座について解析をすすめるとともに、新規に検出された QTL マーカー近傍の fine mapping を行い領域を狭めるとともに、2 系統から得られた肺腫瘍、および正常肺のマイクロアレイ解析データによる候補遺伝子の抽出を進めている。

各種動脈における動脈硬化病変の好発部位、及び発生した病変の性状  
動脈硬化のモデル動物である WHHLM I ウサギを用いた検討

○中川貴之<sup>1</sup>、ユウイン<sup>2</sup>、小池智也<sup>2</sup>、塩見雅志<sup>1,2</sup>

(神戸大学医学研究科<sup>1</sup> 疾患モデル動物病態生理学、<sup>2</sup> 附属動物実験  
施設)

**【背景と目的】**日本人の死因の上位を占める心疾患や脳血管疾患は動脈硬化によって引き起こされる。従って血管疾患のモデル動物の開発は重要である。神戸大学で維持している WHHLM I ウサギは自然発症の高コレステロール血症に由来して、アテローム性動脈硬化が自然発症するモデル動物である。しかし、各種動脈における動脈硬化病変の好発部位の評価はまだ報告されていない。本研究では WHHLM I ウサギを用いてアテローム性動脈病変の好発部位の特定と性状の評価を行う。

**【材料と方法】**6月齢(n=7)、10月齢(n=10)、20月齢(n=10)、30月齢(n=10)の WHHLM I ウサギを安楽死後、組織の採取を行った。大動脈、頸動脈、肺動脈、腎動脈、大腿動脈については腹側をカットオープンし、内膜面積を撮影し、病変の好発部位を観察した。内膜面積および病変面積を画像解析装置で計測し、病変面積率を算出し、病変の程度を評価した。脳底動脈および冠動脈は、病理組織標本を作製し、病変の好発部位を評価した。

**【結果】**大動脈では、大動脈弓部の腕頭動脈分岐部、鎖骨下動脈分岐部、腹腔動脈分岐部、上腸管膜動脈分岐部、腎動脈分岐部および肋間動脈分岐部周辺から病変が発生し、加齢で病変が拡大していた。頸動脈では、起始部、前甲状腺動脈、頸動脈洞周辺で病変が発生し加齢で拡大した。肺動脈では右肺動脈と左肺動脈の分岐部と右肺動脈で進行した病変が認められた。大腿動脈では、内腸骨動脈、大腿深動脈、膝窩動脈と下行膝動脈の分岐部周辺で病変が認められた。脳底動脈では、椎骨動脈合流部に顕著な病変が認められた。冠動脈では、左回旋枝に病変が頻発し、左回旋枝の分岐部および湾曲部で病変が観察された。病変の好発部位はいずれも分岐の周辺であることから、動脈の分岐部が病変の発生に関与していると考えられる。

**【結論】**以上の観察結果から、アテローム性動脈硬化病変の好発部位は各種動脈の分岐部周辺であり、動脈の分岐が病変の発生に関与することが示唆された。

カニクイザルの子宮内膜症における細胞障害ならびに免疫抑制作用について

○中村紳一朗<sup>1</sup>、仲山美沙子<sup>2</sup>、塚本真由美<sup>2</sup>、土屋英明<sup>1</sup>、岩谷千鶴<sup>1</sup>、  
野々口耕介<sup>3</sup>、村上 節<sup>4</sup>、小笠原一誠<sup>1,2</sup>、森 崇英<sup>5</sup>  
(滋賀医大 <sup>1</sup>動物生命科学研究センター、<sup>2</sup> 疾患制御病理学、<sup>4</sup> 産婦人科学、  
<sup>3</sup> 醍醐渡辺クリニック、<sup>5</sup> NPO 法人生殖再生医学アカデミア)

【背景・方法】子宮内膜症は、ヒトを含む霊長類の特徴である卵巣と卵管采の解離部分から剥離内膜組織を含む月経血が腹腔内へ漏出し、何らかの免疫学的機序の破綻によって内膜組織の除去障害が組織生着を促し、発症すると考えられている。カニクイザルは雌性生殖器の解剖学のおよび生理学的性状の類似性から、子宮内膜症を自然発症するよい疾患モデルになる。子宮内膜症カニクイザルの免疫学的挙動はヒトの例を反映すると考え、発症カニクイザル末梢血、死亡例の正所性および異所性子宮内膜組織を用い、細胞障害ならびに免疫抑制因子について FACS および免疫組織化学で検討した。

【結果・考察】末梢単核球 (Ficoll 分離) の FACS では、CD11b+単球のうち免疫抑制型と考えられる LAP+細胞は対照群で 92.8%、子宮内膜症群で 96.8%、CD4+Foxp3+の制御性 T 細胞は対照群で 3.65%、子宮内膜症群で 3.14%だった。一方 CD3-CD8+CD16+の NK 細胞は対照群で 6.81%、子宮内膜症群で 13.99%、NK 活性は対照群で 23.53%、子宮内膜症群で 8.29%だった。免疫組織化学で (X20 対物レンズ視野中の陽性数)、CD163+の抑制性マクロファージは対照群で 52.76、正所性内膜/子宮内膜症群で 51.77、異所性内膜/子宮内膜症群で 131.16、Foxp3+の制御性 T 細胞は対照群で 9.70、正所性内膜/子宮内膜症群で 11.87、異所性内膜/子宮内膜症群で 13.81 だった。

末梢血で免疫抑制に関連する細胞に大きな変化は見られなかったが、子宮内膜症の異所性内膜組織で CD163 陽性細胞が有意に多く、病変形成に寄与していることが推測された。また子宮内膜症個体では末梢血の NK 活性が著しく低下しており、それを補う形で細胞数が増えたと考えられた。NK 細胞の活性低下による細胞障害性の低下が病変形成と強く関わっていると考えられ、現在、子宮内膜組織上での NK 細胞ならびに活性に関わる因子 (Granzyme、Perforin など) の発現を検索中である。

## 外部検証促進のための人材育成

京都府立医科大学大学院医学研究科 実験動物センター  
喜多正和

動物実験の適正性を国民に広く示すため、我が国では動物実験の基本指針において実施機関の情報公開と第三者による外部検証の実施を求めている。NBRP が展開する動物リソースの利用拡大と適正な活用のためにも外部検証の普及は極めて重要である。

検証は現在、国立大学法人動物実験施設協議会（国動協）と公私立大学実験動協議会（公私動協）が合同で設立した検証委員会の専門員によって、①～⑥に示す通り実施されている。すなわち受検機関から申請書と各種資料が検証委員会に提出された時点で、①調査チームを決定。②専門員は書面調査を行った後、訪問調査を実施。③専門員は調査結果を検証委員会に報告。④検証委員会は、専門員とともに「検証結果報告書(案)」を作成し、対象機関に通知。⑤対象機関は報告書案に意見申し立てが可能。⑥申し立て内容と調査結果等を総合的に判断して、最終的な「検証結果報告書」を受検機関に通知。の手順で実施される。またこの実務の中核は、外部検証のために育成された専門員が担っている。

しかしながら高度な専門性が要求される専門員の人数は限られており、恒常的な人員不足が、検証実施率低迷の一因であると考えられている。本事業は、外部検証を推進することでバイオリソースの適正利用と、それによる医学生命科学研究の推進に資することを目的として、動物実験の外部検証を的確に推し進める専門的な人材を確保するため、模擬訪問調査を含む4日間のカリキュラムを構築し、それに沿って専門員を計画的に育成する。このことで、専門性を備えた外部検証専門員を5年間に100名育成することが可能となる。この数は事業期間中に1割程度の定年退職者が出たとしても、国内の動物実験実施機関（文部科学省資料で約420機関）の外部検証を5年間で全て網羅でき得る規模である。また教育カリキュラムには動物実験実施機関に対する外部検証説明会と個別相談会を含めており、受講者の現場対応力を養うとともに、外部検証を受ける機関に対して実務的な情報を提供することで、外部検証の実施促進にも貢献できる。



課題名:外部検証促進のための人材育成  
代表機関:日本実験動物学会

課題管理者: 越本 知大(理事:宮崎大学)  
協力者:

- ・浦野 徹(国動協:自然科学研究機構)
- ・三浦 竜一(国動協:東京大学)
- ・三好 一郎(国動協:東北大学)
- ・喜多 正和(公私動協:京都府立医科大学)
- ・佐加良 英治(公私動協:兵庫医科大学)
- ・下田 耕治(公私動協:慶應義塾大学)
- ・森松 正美(北海道大学)
- ・岡村 匡史(国立国際医療研究センター研究所)
- ・林元 展人(実験動物中央研究所)

01 年度計画及び評価項目	実施時期	28年度	29年度	30年度	31年度	32年度					
教育プログラムの作成											
教育プログラムの改善											
教育関係者による 研究会の実施											
02 平成30年度の方針項目及び実施計画	実施時期(平成30年4月~平成31年3月)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	3
準備活動 9/15~10/15作成											

予算(5年間)  
4,940,0(千円)

		機関名 (代表機関課題管理者名又は 分担機関課題管理者名)	年度別所要見込み額(単位:千円)					
			28	29	30	31	32	合計
実施機関及 び所要見込 額(概算)	代表 機関	日本実験動物学会	10980	10280	9980	9330	8830	49400
	分担 機関							
	計		10980	10280	9980	9330	8830	49400

分担機関が3機関以上の場合、適宜追加してください。

訪問調査専門員の育成予定

		受講者				
		1年次	2年次	3年次	4年次	5年次
	第一回受講	5	20	0	20	0
	第二回受講	0	5	20	0	20
	現役再教育	25	0	0	0	0
	受講者合計	30	25	20	20	20
専門員 育成数	主査クラス以上	25	5	20	0	20
	副査クラス	5	20	0	20	0
累計専 門員数	主査クラス以上	25	30	50	50	70
	副査クラス	5	20	0	20	0
		現役25名 を主査クラ ス以上に、 新規5名を 副査クラ スに養成	初年次の5 名を主査ク ラスに、新 規20名を 副査クラ スに養成	2年次の20 名を主査ク ラスに養成	副査クラス 20名養成	4年次の20 名を主査ク ラスに養成

検証委員(動物実験に関する外部検証事業)

役職名	氏名	所属	加盟機関
委員長	喜多 正和	京都府立医科大学	公私動協
副委員長	八神 健一	筑波大学	外部
委員	有川 二郎	北海道大学	国動協
委員	岩淵 祐二	公共価値創造研究所	外部
委員	越本 知大	宮崎大学	国動協
委員	下田 耕治	慶應義塾大学	公私動協
委員	武石 悟郎	公益社団法人日本実験動物協会	外部
委員	武内 ゆかり	東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医動物行動学研究室	外部

専門員 25名

外部検証促進のための人材育成プログラム 教育講習会計画

時間	議題タイトル	議題内容 目的
9:00-9:10	挨拶 趣意説明	
9:10-9:40	講義1「動愛法における実験動物の愛護及び飼養管理基準への適合性に関する外部検証の意義」	法、基本指針と外部検証の必要性等について、実験動物実験の考え方を学ぶ
9:40-10:10	講義2「機関管理による動物実験の適正化を保証する動物実験基本指針の意義」	動物実験の機関管理の概念と、動物実験基本指針における外部検証の位置づけや意味合いについて学ぶ
10:20-11:20	講義3「一般市民に対する外部検証の役割と意義」	検証一般社会に対する役割や考えについて、動物実験協会としての役割を含めて学ぶ
11:20-12:00	講義4「評価概論、評価者倫理」	評価についての基本概念や注意点を学ぶ
13:00-13:20	講義5「相互検証プログラムの理念と目的、概要」	検証と認証の違い、検証プログラムの経緯、制度概要、現役者の役割を学ぶ
13:20-15:00	講義6「申請書類の作成と訪問調査への対応」	検証を受ける機関が、どんな資料をどのように準備しているのかを学ぶため、検証を準備する立場で外部検証を実施するための知識を学ぶ
15:10-16:40	講義7「訪問調査の実施手順と報告書の作成」	訪問調査実施に際しての注意点及び調査後の報告書作成の手順について学ぶ
16:40-17:00	質疑応答・事務局挨拶	
9:00-10:00	講義8「施設の現場確認と指摘事項の具体例」	これまでよく見られた問題点や指摘すべき点などを具体事例として例示し、審査及び訪問調査、さらには報告書作成の参考とする
10:10-11:40	講義9「国内の検証/認証の現状」	AAALAC、日動協、HRI等の制度概要を学び、その内訳に併せて1-2週間の視点で外部検証との違いを学ぶ
11:40-12:00	質疑応答・事務局挨拶	
13:00-17:00	ワークショップ1「模擬訪問調査」	①案件の訪問調査申請時に、該当した機関申請欄(2-4)まで訪問調査を実施する。(後日、その結果に基づいて報告書を作成)
9:00-12:00	ワークショップ2「模擬報告書作成1」	説明会/相談会の時間設定を優先して、やむを得ず日外に定める
12:00-15:00	外部検証説明会	文部科学省から検証事業説明書について説明を受け参加者が呼びかけられる。その際、本年度の検証実施体制についても説明し、担当者や関係者などによる質疑応答の機会がある。参加者全員に呼びかけられ、各自に依頼事項を受け付けることで、機関の検証準備をサポートする
9:00-12:00	ワークショップ2「模擬報告書作成1」つづき	説明会/相談会の時間設定を優先して、やむを得ず日外に定める
13:00-16:00	ワークショップ3「報告書検討会」	作成した模擬報告書を全員で検討し、最終報告書に仕上げる作業を行う。本過程は検証委員会の最終過程に用いる検証委員会で実施される。

教育講習会プログラム(予定)

- 1) 第1日(土)
  - 9:10-9:40 講義1「動愛法における実験動物の愛護及び飼養管理基準への適合性に関する外部検証の意義」
  - 9:40-10:10 講義2「機関管理による動物実験の適正化を保証する動物実験基本指針と外部検証の意義」
  - 10:20-11:20 講義3「一般市民に対する外部検証の役割と意義」
  - 11:20-12:00 講義4「評価概論、評価者倫理」
  - 13:00-13:20 講義5「相互検証プログラムの理念と目的、概要」
  - 13:30-15:00 講義6「申請書類の作成と訪問調査への対応」
  - 15:10-16:40 講義7「訪問調査の実施手順と報告書の作成」
- 2) 第2日(日)
  - 9:00-10:00 講義8「施設の現場確認と指摘事項の具体例」
  - 10:10-11:40 講義9「国内の検証/認証の現状」
  - 11:40-12:00 質疑応答/講義総括・事務連絡
  - 13:00-17:00 ワークショップ1「模擬訪問調査」
- 3) 第3日(金)
  - 9:00-12:00 ワークショップ2「模擬報告書作成1」
  - 13:00-15:00 外部検証説明会
  - 15:15-17:00 外部検証個別相談会
- 4) 第4日(土)
  - 9:00-12:00 ワークショップ2「模擬報告書作成1」
  - 13:00-16:00 ワークショップ3「報告書検討会」

京都府立医科大学大学院医学研究科免疫学<sup>1)</sup>、歯科口腔科学<sup>2)</sup>、形成外科学<sup>3)</sup>

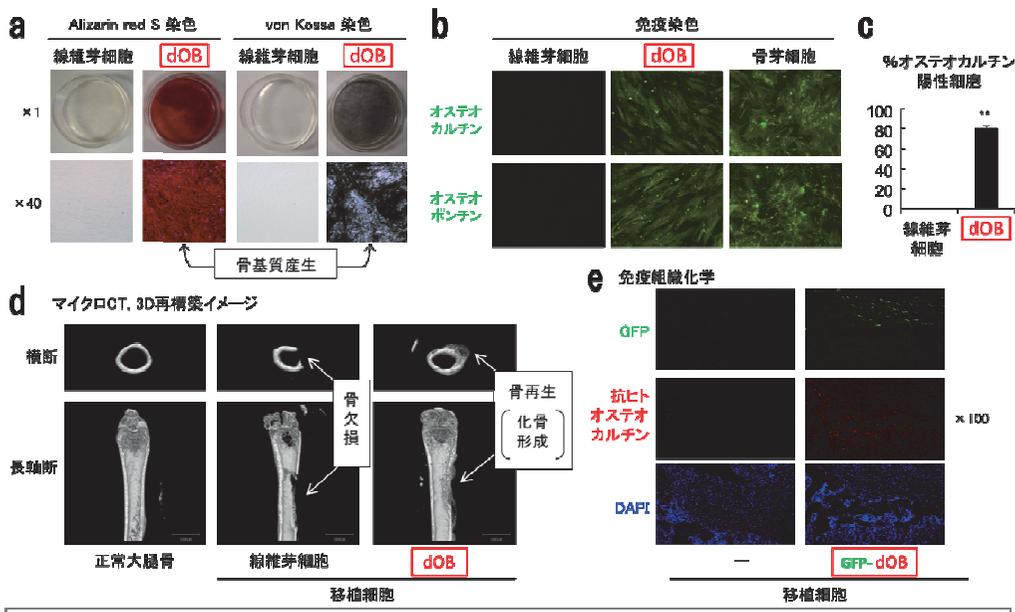
松田 修<sup>1)</sup>、山本健太<sup>1,2)</sup>、素輪善弘<sup>1,2)</sup>、岸田綱郎<sup>1)</sup>

再生医学研究が著しく進展する中、移植用のさまざまな組織細胞を創出する技術が着目されている。生体内で高い機能を発揮し、なおかつ移植しても癌化の危険がない細胞を、均質かつ多数準備することが求められるが、ダイレクト・コンバージョン（ダイレクト・リプログラミング）は、このような移植に適した細胞を調整するには理想的な技術のひとつである。すなわち、低侵襲にドナーから採取したのち、十分に増殖させられる細胞（たとえば線維芽細胞）から、目的とする細胞に直接転換することによって、高機能でなおかつ造腫瘍性がない細胞を提供することが可能と考えられる。

本講演では、我々が行っているダイレクト・コンバージョンの研究を概観し、とくに得られた細胞の生体内での機能をマウスに移植して解析する研究について議論したい。

褐色脂肪細胞は食物由来の余剰エネルギーを散逸する細胞であるが、糖尿病患者ではその機能はほとんど消失している。我々は、ヒトとマウスの線維芽細胞を直接、機能的な褐色脂肪細胞にコンヴァートする技術を樹立した。すなわち、ヒトではC/EBP- $\beta$ とc-Myc 遺伝子、マウスではC/EBP- $\beta$ 、c-Myc と PRDM16 遺伝子を導入することで、90%以上の線維芽細胞を、UCP1 を高発現する褐色脂肪細胞（dBAs）に誘導できた。dBAs は高い代謝活性を有し、マウス dBAs を 2 型糖尿病マウスに移植すると、UCP1 依存的に、インスリン抵抗性、体重増加、耐糖能異常、脂質異常症がすべて著明に改善できる。本技術は 2 型糖尿病に対する新しい再生医療をもたらす可能性がある (Kishida T. et al., Stem Cell Rep) .

一方、高齢化が急速に進む中、骨折後の癒合不全や偽関節などで、障害や長期臥床に陥る高齢者が増加している。また、歯槽骨吸収や骨腫瘍切除後の骨欠損等に対しても、骨組織の再生が望まれている。骨芽細胞は石灰化骨基質を産生し骨の形成とリモデリングに寄与する主要な細胞である。我々は、ヒトの線維芽細胞に Runx2, Osterix, Oct4 and L-myc (RXOL) の 4 因子の遺伝子を導入することで、機能的な骨芽細胞を直接



ダイレクト・リプログラミングで誘導した骨芽細胞(dOB)は骨を再生する(PNAS, 2015)  
 ヒト線維芽細胞にRunx2, Osterix, Oct4およびL-myc遺伝子を導入すると, 石灰化骨基質を多量に産生し(a), 骨基質タンパクを発現するdOBにコンヴァートした(b). コンヴァージョンの効率率は80%以上であった(c). 免疫不全マウスの大腿骨に欠損を作成してdOBを異種移植すると, 生体内で著明な骨再生を認め(d), dOBは肥厚骨膜に集積し, ヒト骨基質タンパクを産生していた(e).

誘導する技術を樹立した(図). その効率は80%以上であり, 得られた骨芽細胞(dOB)は骨芽細胞特異的のマーカを産生し, 石灰化骨基質を多量に産生し, ヒト骨由来骨芽細胞に類似の遺伝子発現を示した. マウスの骨欠損部に dOB を移植すると, 骨基質を産生して骨再生に寄与した. 本研究は新しい骨再生治療に発展する可能性が期待できる (Yamamoto K. et al., Proc Natl Acad Sci USA ; Yamamoto K. et al., J Cell Biochem) .

我々は, さらにさまざまな組織細胞のダイレクト・コンヴァージョンについて研究を行っている. これらの技術を将来的に応用展開する上で, 疾患モデル動物を用いた生体内機能解析実験は極めて重要な位置づけにある.

## チンパンジーから探るヒトのこころの進化

京都大学霊長類研究所

友永雅己

私たち人間のこころは、進化という時間の中ではぐくまれてきた。そしてもちろん生まれてから死ぬまで常に変化し続けている。「ヒトのこころはどのように進化してきたのか、そしてそれはなぜか。」比較認知科学はこの問いに答えようとする研究領域だ。今回の講演では、主としてヒトにもっとも近縁なチンパンジーを対象とした研究の一端を紹介し、比較認知科学が先の問いに対してどのような答えをもたらそうとしているのかを示したい。また、近年精力的に進めている、まったく異なる環境に適応してきた他の哺乳類を対象とした比較研究についても言及し、こころの進化の多様性と環境適応の関係について概観する。

トピックとしては、以下を予定している。

(1) チンパンジーにおける顔の認識：ヒトを含む霊長類にとって顔は社会生活を送る上で極めて重要な情報源である。チンパンジーがこのような顔刺激をどのように知覚・認識しているのかについてこれまで行ってきた研究を紹介する。

(2) 視覚世界の認識の種間比較：樹上環境に適応したチンパンジー、陸上環境に適応したヒトとウマ、そして水中という環境に適応したイルカという多様な哺乳類を対象に彼らが視覚的な世界をどのように知覚・認識しているのかについて、特に形の知覚の問題に焦点を当て分析した研究を紹介する。

(3) 数の認識の種間比較：数は、人間の高次の知的活動の産物ではない。ヒト以外の動物も積極的に数という属性を行動選択の手がかりとして自発的に利用していることが明らかになっている。ここでは、チンパンジーやウマで行っている数の認識に関する比較認知科学研究の成果を報告したい。

これらのトピックを通して、比較認知科学研究の現状と今後の展開について考えていきたい。

# チンパンジーから探る ヒトのこころの進化

京都大学霊長類研究所  
友永 雅己  
tomonaga.masaki.4m@kyoto-u.ac.jp

1

# 比較認知科学

Comparative Cognitive Science

2

## 比較認知科学 (Comparative Cognitive Science)

現生種との比較を通して  
こころの進化の道筋を探る



3



## SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Efficient search for a face by chimpanzees (*Pan troglodytes*)

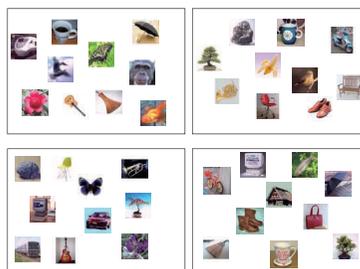
Masaki Tomonaga & Tomoko Inoue\*



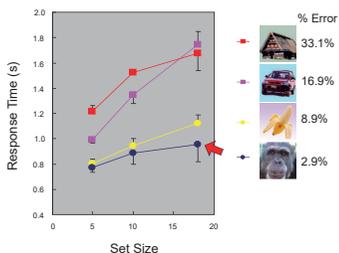
5

## 視覚探索課題

チンパンジーの顔、バナナ、家、車

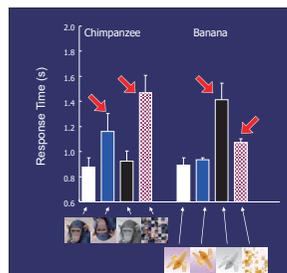


## チンパンジーでも顔は見つけやすい



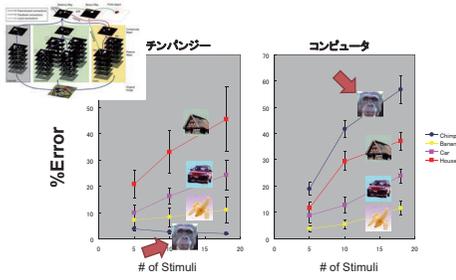
7

## 顔は顔、バナナは黄色

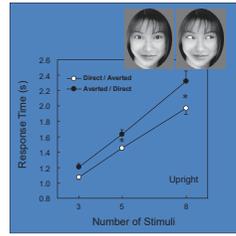


8

## コンピュータとは違う見方



## Efficient Detection of "Direct Gaze"

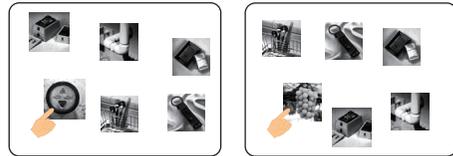


Tomonaga & Imura (2010)

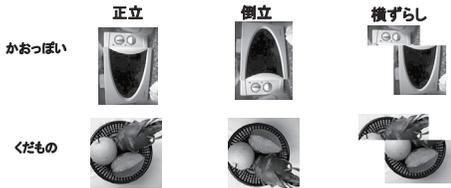
## パレイドリア



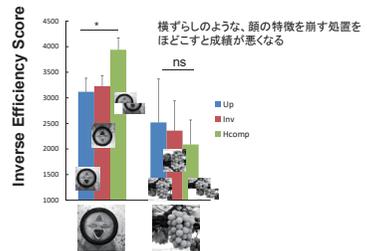
## かおっぽいモノを見つける



## かおっぽいモノを見つける



## かおっぽい



## チンパンジーはどこを見てるの？



京都大学 Kyoto University

研究発表

ボノボはチンパンジーよりも頻りにアイ・コンタクトする

2018年09月22日

研究発表 霊長類研究センター発表、早稲谷 新発見情報センター発表、フェイス・フォームラボ (トイワン・マックス・アラン・ラウレンス 研究員) との共同研究を行い、ヒトに類似的に顔を見つめ、視線、ボノボはチンパンジーのアイ・コンタクトについて非対称なアイ・コンタクト、視線に顔を向き直す頻りにを用いて、ボノボはチンパンジーよりも頻りにアイ・コンタクトすることも発見しました。

(a)

Viewer	Bonobo	Chimpanzees
Bonobo picture		
Chimpanzee picture		

less-more fixations

# 動物のこころを探る

17



海から森へ  
森から海へ

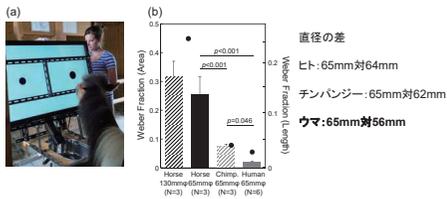


## A Horse's Eye View



Tomonaga et al., *Biology Letters* (2015)

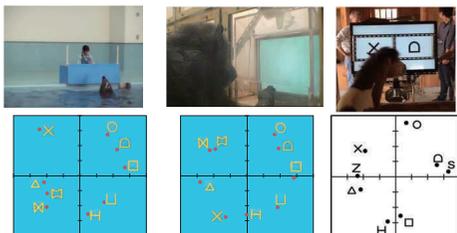
## 結果:どこまでの差を識別できるか



## 形を見分ける



## チンパンジー、イルカとの比較

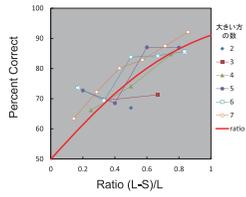


## 数を比べる

24

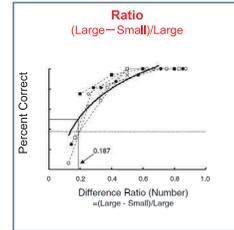
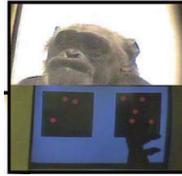
## 結果

- BL(7-1)の正答率 ニモ: 94%、ポニョ: 94%、トーマス: 89%
- 全体の正答率 ニモ: 79%、ポニョ: 77%、トーマス: 76%



## Tomonaga (2008)

- チンパンジー



Small et al. (2008) p. 114-115  
 DOI: 10.1016/j.cognition.2007.08.004  
 ORIGINAL PAPER  
 Relative numerosity discrimination by chimpanzees  
 (*Pan troglodytes*): evidence for approximate numerical  
 representations  
 Model: Tomonaga

<第133回研究会（平成29年3月3日）>

テーマ：実験動物学のこれから－マウスとラットを例に－

1. 焦点性てんかん原因遺伝子*DEPDC5*－*Depdc5* KOラットを用いた発症機序解明研究－

石田 紗恵子（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）

2. マウス表現型解析情報を正しく伝えるために

若菜 茂晴（理化学研究所バイオリソースセンター マウス表現型解析開発チーム）

# 焦点性てんかん原因遺伝子 *DEPDC5* — *Depdc5* KO ラットを用いた発症機序解明研究 —

石田 紗恵子

東京医科歯科大 難治疾患研究所 分子神経科学分野

「てんかん」は、神経細胞の過度な放電に由来する反復性発作を特徴とし、人口の約1%に生じる頻度の高い神経疾患であるが、多くの場合は根本的な治療法がなく、抗てんかん薬を長期間服用する対症療法に頼らざるを得ない。また、全体の約30%は抗てんかん薬が効かない難治性である。近年、てんかん患者家系より、特定の遺伝子の変異が報告されている。新規原因遺伝子の同定、およびその機能解析が新たな発症機序の解明や治療薬の開発につながることを期待されている。

発作の起始が脳の一部分に限局する焦点性てんかんは、成人てんかんの約60%を占める。近年我々は、てんかん患者における全エクソーム解析により、複数の主要な焦点性てんかんに共通する原因遺伝子として、*DEP domain containing 5 (DEPDC5)* を同定した (Ishida *et al.*, *Nat Genet.* 2013)。DEPDC5および、DEPDC5が形成するGATOR1複合体は、焦点性てんかんの約10%もの発症に関与している。これまで同定されているてんかん原因遺伝子の多くはイオンチャネル関連遺伝子もしくは神経伝達物質受容体のサブユニットであるが、DEPDC5の構造はそれらと相同性がなく、その疾患発症機序は既知のものとは異なると推測される。しかしながら、生体内での機能はこれまで不明であった。そこで我々は、*Depdc5*の機能解明を目的に、ゲノム編集技術TALENsを用いて *Depdc5* ノックアウト (KO) ラットを作製し、解析を行った (Marsan & Ishida *et al.*, *Neurobiol Dis.* 2016)。

*Depdc5*<sup>-/-</sup>個体はE14.5から発育遅延を呈し、胎生致死を示した。また、*Depdc5*<sup>-/-</sup>胎仔脳において、細胞の成長・増殖等を制御しているmechanistic target of rapamycin complex1 (mTORC1) 経路の亢進が認められた。さらに、mTORC1抑制物質であるRapamycinを妊娠マウスに投与した結果、*Depdc5*<sup>-/-</sup>個体の発育遅延および致死が回避された。*Depdc5*<sup>+/-</sup>個体は胎生致死ではなく、自発性てんかん様発作は示さなかったが、錐体細胞において、野生型とは異なる興奮性および発火パターンを示した。また、大脳皮質において、DEPDC5に変異を有する患者から報告されているballoon-like cellやCytomegalic dysmorphic neuronが認められ、それらの出現もRapamycinによって抑制された。

以上の結果より、*Depdc5*はmTORC1の抑制因子であることが明らかになり、mTORC1経路の異常亢進が、発症メカニズムに関与している可能性が示唆された。*Depdc5* KOラットはmTOR経路障害 (mTORpathy) モデルとして、更なる病態解明研究や、発症の予防治療法の開発研究に役立つことが期待される。

マウス表現型解析情報を正しく伝えるために

若菜茂晴

理化学研究所バイオリソースセンター

マウス表現型解析開発チーム/日本マウスクリック

## はじめに

表現型解析は生物機能そのものを解明する手段であり、その結果を見いだすことは生物学の目的である。表現型と言ってもいろいろあるし、マウスで自分が知りたい解析方法は？といろいろ考えることもあると思う。一般に、表現型（ひょうげんがた）という言葉は、生物学分野では広く捉えがちなものであるが、疾患のような漠然としたものから、最近では分子表現型という分子まで記されている場合もある。我々はこれまでマウス ENU ミュータジェネシス、マウスクリニック、マウス国際マウス表現型解析コンソーシアム（International Mouse Phenotyping Consortium）に関わって多くのマウス表現型解析を行ってきた。本稿では改めて正確に表現型解析を行うことの難しさを問い、正しく表現型情報を得るには何が必要か考えてみる。

### 1. 表現型解析をする前に

実験動物のマウスは近交系として様々な機関で維持されている。代表的なもの C57BL/6 であり、さらに亜系や維持機関名称が略語として記されており、表記方法は Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains ( <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml> ) にガイドラインとして明文化されている。しかし、実際 SNPs を調べてみると同一系統や同一亜系であっても差が認められ、遺伝的に完全な同一ゲノムの系統とはなっていない。特にマウスをある系統に十分バッククロスして遺伝的背景を同一にしたと思っても実際調べてみると SNPs の差が認められることがある。実際に実験を行う前に、その遺伝的背景を調べ、同一ゲノム配列を有したマウス系統を実験に使用することが望ましい。

また、同一系統、同一亜系であっても表現型が異なることがある。つまり育成コロニーが異なりそれぞれの Mouse Colony Management が異なると mutation が蓄積し表現型に差が生じることがある。使用するマウスの Mouse Colony

Management が正しく行われているか確認し、形態異常の頻度が生じることを未然に防ぐ必要がある。

さらに、遺伝子改変マウス等を生産する際の交配様式の重要性に触れておく。通常、遺伝子改変マウス等を生産する場合、同腹コントロール個体を得るため、ヘテロ♀ x ヘテロ♂で行い、次世代でヘテロ、ホモ、ワイルドの個体を得る。この交配様式の場合のワイルドタイプに注目してみると、ヘテロタイプの母親から生まれたことになる。従ってヘテロタイプの胎内環境で育ったことになり、純系のワイルドタイプの母親の胎内環境とは異なる可能性がある。我々はこの両者のワイルドタイプ（ヘテロタイプの胎内環境で生育、ワイルドタイプの母親の胎内環境で生育）の表現型を比較したところ、マウスの行動様式に差が認められた（若菜私信）。マウスの系統を用いる場合、その母親世代の胎内環境の影響を胎児期に受け、次世代の表現型に現れる場合がある。マウスをどのように交配して生産したかは表現型解析の重要なポイントになる。

## 2. 表現型情報をどう標記するか？

さて、マウスが準備できて表現型を解析する。表現型解析には様々な方法があり、その結果の標記も千差万別である。たとえば太っているマウスを見て○○病モデルなど曖昧な表現で済ませることが多い。その表現はいわゆる暗黙知の範疇である。暗黙知である限り、共通認識として取り扱うことがいささか困難である。一方、ゲノム情報は ATGC という 4 つの塩基で認識されるデジタルデータとしてとらえることができる形式的で緻密なデータである。暗黙知とはその記載が主観的であり、経験知に基づくものであり、情報はアナログである。しかし、そこから生まれてくるものは創造的でさえあるが、ゲノム情報のような形式知は計測値のような客観的でデジタル的なものであり、それはマニュアルに従って算出されるものである。つまり、生物個体のゲノムの変異を捉えるとき、表現型情報も精密科学として解析する形式知化して標記しておくことが必要である。では共通認識としての形式知を記載するにはどうすればよいか？定量的な情報は比較的容易あるが、定性的な情報をどう扱うか？例えば、情報学の世界では、データベースや知識ベース間で共通語彙（オントロジー）が用いられつつある。オントロジーとは、情報システムが扱う事象に関して、語彙を明示的に定義して共通利用しようとするもので、マウスの表現型を扱う MP (Mammalian Phenotype : マウス表現型オントロジー)、生物種横断的な表現型

記述に用いられる PATO (Phenotypic Quality Ontology : 表現型・性質オントロジー)、マウスの解剖学的部位を扱う MA (Mouse Anatomy : マウス解剖学オントロジー) などが公開されている。たとえば、毛のないマウスを観て nude と標記するか、bald とするか、hairless とするかについて、研究者独自にその特徴を注視しておくことは重要であるが、このような「表記揺れ」によって情報の収集が妨げられるとすれば、それは大きな問題である。(実際に 2000 年代初頭の全文検索システムでは、網羅的な情報収集が難しいという問題があった)。マウス表現型オントロジーでは、bald、hairless 等は同義語と扱われ、さらに、皮膚に関する表現型というカテゴリにまとめられている。それぞれの語彙には世界標準の ID がつけられていて、世界のどの DB 上の記載であっても同一に理解することが可能であり、どこで解析しても同じような情報として処理される。現在では、上記の表現型オントロジーは様々なデータベースで利用されており、これらのデータベースの中には、例えばジャクソン研究所の Mouse Genome Informatics (MGI) のように、表現型アノテーションや各種ゲノムデータベースとリンクされているものもあり、研究の基盤として極めて重要になっている。

### 3. 表現型解析方法として記すべきものは？

表現型解析に当たって、解析方法をきちんと記述し、再現できるよう残しておくことは、実験科学の鉄則でもある。しかし、実際にはもう一度実験してみても同じデータが得られなかったり、論文通り実験をやってみてもうまくいかないことがある。何かコツのようなものがあるかもしれないが、いつもそうとは限らない。なにか表現型結果に影響を及ぼすものがあるのかもしれない。その要因は明確なものではないが、一般的には、少なくとも実験に関わる機器、道具、日時、温度、湿度、実験等を情報として残しておく必要があるだろう。業務実験や、再現性を重視する大規模プロジェクトでは、SOP (Standard Operating Procedure) いわゆる標準作業手順書を作成し、これにもとづいて実験を行うことで再現性を確保している。一般的に、SOP には作業手順ができる限り詳しく記載してあり、記録すべき実験条件 (上記の機器、道具、日時、温度、等) が明記されている。これらはいわゆるメタデータ (データを説明するデータ) といって実験データの場合は、いわゆる「条件」に相当する。前述の IMPC (国際マウス表現型コンソーシアム) では、世界の主要なマウス研究機関が同一遺伝的背景のマウスを用いてマウスゲノム中の各 KO 遺伝子マウスを同一の

SOP で網羅的表現型解析を行っている。この IMPC における Experimental design の議論の中で、データのみならず Batches, Instrument effects, Operator effects, Time effects, Order effects… (実験集団、機器、実験者、時間、順序) を記録しておくことを推奨している。これらのメタデータは今後 IT を駆使した情報学的解析では重要な要素となってくる。

#### 4. コントロールデータも変動する！

マウスの表現型解析を行って、コントロールデータとの有意差を見いだすことは重要であり、そこから新たな生物機能を見いだす可能性もある。そのためには正確に表現型データを把握することが重要である。前述したように、表現型解析を正確に記述し、SOP に基づいてきちんとデータを記録する。しかし、そのように実験を行ってもコントロールデータは変動することがある。筆者らの日本マウスクリニックでは IMPC プロジェクトを開始する前にコントロールとなる C57BL/6N 系統を毎月♂♀10 匹ずつ計 20 匹、基準パイプライン 23 種 1000 項目の表現型解析を行った。その結果、コントロールデータであっても毎月変動し、はずれ値が認められる項目、認められない項目が明らかになった。遺伝的要因か環境要因かは明確でないが、コントロールデータであっても固定せず、データが変動することを認識すべきである。我々は、同一 SOP に基づいて 3 回の実験を行ったところ、コントロール値と実験値との間に有意差が認められたり、または有意差が生じないケースがあった。一回の実験で有意差が認められたといっても、結論を急がず十分にデータを再検討する必要がある。解析する表現型の性質を十分把握し、また関連する表現型の連動にも注意することが重要である。

#### 最後に

表現型解析情報を正しく記すにあたっての様々な問題を記した。マウスの表現型を共通認識を持って正確に記すことがいかに難しいか考えていただきたい。まずはマウスをじっくり観察し、そのマウスがどんなものか明らかにし、読者がそれらの結果からさらに独自の研究を行ってあらたな生物機能を発見することを願っている。

## 参考図書

1. 理化学研究所ゲノム機能情報研究グループ編：「マウス表現型プロトコール 形態分析から生理機能解析まで」，細胞工学別冊：実験プロトコールシリーズ，秀潤社（2006）
2. 山村研一、若菜茂晴 編：「論文ができてしまう！疾患モデルマウス表現型解析指南」，中山書店（2011）
3. 伊川正人，高橋 智，若菜茂晴 編：「マウス表現型解析スタンダード」，実験医学別冊，羊土社（2016）

<第134回研究会（平成29年6月9日）>

テーマ：インフルエンザウイルスの最新情報

1. インフルエンザウイルスの宿主間伝播メカニズム

堀本 泰介（東京大学大学院獣医学専攻獣医微生物学研究室）

2. 創薬：ファビピラビル（T-705）の開発に関して

古田 要介（富山化学工業(株) 総合研究所薬理研究部）

3. 滋賀医科大学・動物生命科学研究センターにおける感染動物実験（特にサルを用いた）施設の運用

土屋 英明（滋賀医科大学動物生命科学研究センター）

<トピックス>

実験動物と痛み

小山 なつ（滋賀医科大学統合臓器生理学部門）

## インフルエンザウイルスの宿主間伝播メカニズム

堀本泰介

東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医微生物学研究室

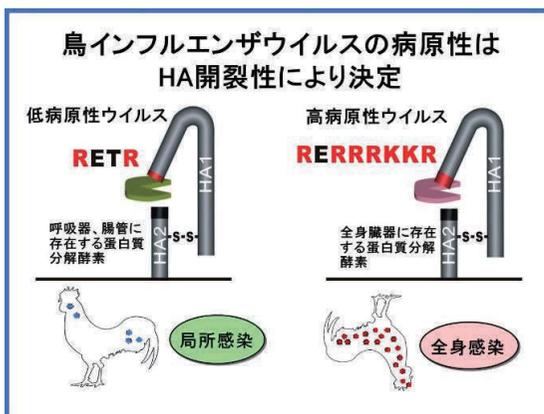
インフルエンザウイルスは、さまざまな動物に感染し病気を起こす。人では毎年季節性インフルエンザ (H1N1, H3N2, B) が流行し、鳥インフルエンザはここ 20 年来、H5 亜型を中心とする高病原性ウイルスが、世界中の養鶏業等にダメージを与え続けている。また、偶発的ではあるが人への感染も継続して報告されており、新たなパンデミック (人の世界的大流行) を引き起こす変異ウイルスの出現が危惧されている。さらに、中国における低病原性鳥ウイルス (H7N9) の人への感染・死亡者数も年々増加しており、最近ではその高病原性ウイルスへの変異も確認されている。また、過去のパンデミックウイルスの解析から、変異ウイルス出現にはウイルスの混合容器と形容される豚の役割が重要視されている。豚ウイルスがパンデミックを引き起こした 2009 年の事例は記憶に新しい。一方、インフルエンザはその他の哺乳動物にも健康被害を与えている。過去には、馬インフルエンザが国内の競走馬に流行し競馬開催が中止になった例もあるが、最近ではその馬ウイルスが犬に伝播して、犬インフルエンザ (H3N8) として米国全域に広がっている。これ以外にも、韓国で鳥ウイルスが犬に伝播・馴化し、犬インフルエンザ (H3N2) として韓国全土に広がるとともに、中国やタイにも飛び火している。犬ウイルス (H3N2) は輸入犬を介して米国にも侵入し、少なからず健康被害が報告されている。さらに、昨年末には米国で、H7N2 低病原性鳥ウイルスが猫に伝播した猫インフルエンザが集団発生した。幸い、これらの犬や猫のインフルエンザは、わが国では今のところ報告されていないが、近い将来何らかの経路で侵入してくる可能性はある。これらの報告は、A 型インフルエンザウイルスは広い宿主域をもつこと、わずかな変異で種間伝播能を獲得することを示している。一方、2011 年には、これまで感受性がないとされた反芻動物の牛からもインフルエンザウイルスが分離された。この分離株は、A 型ウイルスあるいは人の B 型、C 型ウイルスとはゲノム構造が異なるため新しく D 型インフルエンザウイルスとして分類された。私たちは昨年、この D 型ウイルスがわが国にも存在するのかを調査したところ、すでに牛社会の広い範囲に侵淫していること、またウイルスは日本で独立して進化していること、さらに死亡率の高い牛の呼吸器病症状候群の原因病原体の一つである可能性を報告した。本稿では、動物インフルエンザについて概説するとともに、その宿主間伝播について、加えて、新しい牛の D 型インフルエンザについて私たちの研究成果を含めてまとめてみたい。

インフルエンザウイルス				
型	A	B	C	D
亜型	HA (H1-H18) NA (N1-N11)	なし	なし	
宿主	ヒト ブタ ウマ 他哺乳類 鳥類	ヒト	ヒト	ウシ ブタ .
ヒト 流行	季節性 パンデミック	季節性	小規模	??

インフルエンザウイルスは粒子内部のタンパク質 (NP と M1) の抗原性により A 型から D 型に分類される。A 型ウイルスは表面タンパク質 HA と NA の抗原性によりさらに亜型に分かれる。鳥インフルエンザウイルスは全て A 型である。人の季節性インフルエンザは A 型 (H1N1 と H3N2) と B 型ウイルスにより、また世界的大流行 (パンデミック) は A 型ウイルスにより引き起こされる。

鳥インフルエンザウイルス(家禽)		
	弱毒型ウイルス	強毒型ウイルス
H A 亜型	H1 ~ H16	H5あるいはH7
組織親和性	呼吸器、腸管	全ての臓器(脳含む)
病 態	軽い (呼吸器症状、下痢、 産卵率低下)  まれに重症 (混合、二次感染)  2005年H5N2(茨城) 2009年H7N6(愛知)	致死性(ほぼ100%) 急性全身性症状 産卵停止、肺炎、 呼吸器症状、脚部腫脹、 とさか紫変・浮腫 神経症状 強い伝染性 日本では1925年H7N7(千葉) 2004年~H5N1(西日本) 2010.11年H5N1(各地) 2014年~H5N8(各地) 2016年~H5N6(各地)

鳥インフルエンザウイルスは家禽における病原性により弱毒型と強毒型に分けられる。前者は呼吸器と腸管のみで増殖し症状は軽い。後者は H5 もしくは H7 に限局され、全身臓器で増殖し、急性全身性症状からほぼ 100%死亡する。わが国には、2004 年以降海外での感染拡大に呼応し、H5N1、H5N8、H5N6 ウイルスが侵入した。H5 と H7 ウイルスの場合、弱毒型を低病原性ウイルス、強毒型を高病原性ウイルスという。



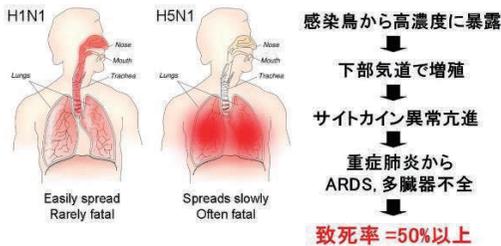
鳥ウイルスの家禽における病原性を決定する最も重要な因子は HA 開裂性である。インフルエンザウイルスの HA は開裂して初めて増殖に必要な膜融合能が活性化される。HA 開裂部のアミノ酸配列の違いにより開裂に利用する宿主のプロテアーゼが異なり、低病原性ウイルスと高病原性ウイルスの組織特異性が大きく異なる。つまり、HA 開裂部のわずかなアミノ酸配列のみの違いが、鳥ウイルスの病原性を決定している。

## 鳥インフルエンザウイルスの人への感染

発生日	発生日	ウイルス	感染者・死者数
1997	香港	H5N1 高病原性	18人・6人
1999	香港	H9N2 低病原性	2人・0人
2002	香港	H5N1 高病原性	2人・1人
2003	オランダ	H7N7 高病原性	87人・1人
2003-	アジア諸国 ヨーロッパ、アフリカ	H5N1 高病原性	859人・453人 (2017.5.現在)
2009	香港	H9N2 低病原性	1人・0人
2006	イギリス	H7N2 高病原性	4人・0人
2004	カナダ	H7N3 高病原性	2人・0人
2013-	中国	H7N9 低病原性 (高病原性)	1393人・534人 (2017.4.現在)
2013	中国	H9N2 低病原性	2人・0人
2014-	中国	H5N6 高病原性	12人・4人
2014	中国	H10N8 低病原性	2人・0人
2015-	エジプト	H9N2 低病原性	1人・0人

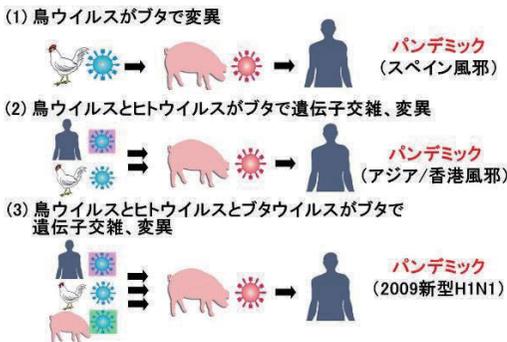
鳥インフルエンザウイルスは低/高病原性に関わらず偶発的に人に感染し、健康被害を及ぼす。1997年に初めて人死亡例を出したH5N1ウイルスは、変異を繰り返しながら現在まで多くの感染者を出した。また、2013年中国に出現したH7N9ウイルスはそれを超える感染者を出している。H7N9ウイルスはすでに人に感染しやすい変異が一部導入されている。今後、人から人に効率的に伝播できる新たなパンデミックウイルスに変化することが危惧される。

## H5N1ウイルスのヒトにおける病原性



H5N1鳥ウイルスの人における高い病原性(致死率)は、家禽にみられるような全身性感染の結果ではない。人が高濃度のウイルスに暴露されると、一部が下部気道に到達する。肺胞II型細胞やマクロファージには鳥ウイルスが感染できるレセプターが存在するため、肺の奥の領域でウイルスが増殖する。宿主反応としてサイトカインが異常亢進することで多臓器不全が誘発され、人は死亡する。

## パンデミックウイルスの出現モデル



過去のパンデミックは鳥ウイルス、豚ウイルス、人ウイルスが変異や遺伝子交雑をすることにより発生した。そして、豚がその中間宿主としての役割を果たしている。豚の呼吸器上皮細胞は人と鳥ウイルス両方のレセプターを持っていること、豚はウイルスに感染しても不顕性の場合が多いため感染個体の摘発が難しいことから新型ウイルスを生み出す母体となりうる。

## 哺乳動物のA型インフルエンザ

### ブタインフルエンザ

- ・軽い呼吸器感染、予後良好、不顕性感染多い
- ・主にH1N1, H3N2, H1N2 ・世界中で報告、国内流行あり
- ・ヒトや鳥ウイルスと遺伝子交雑

### ウマインフルエンザ

- ・熱発、急性呼吸器感染、伝播力強く流行広がる
- ・H7N7, H3N8のみ。近年は後者の流行のみ
- ・1971国内初発、2007の流行では競馬開催中止

### イヌインフルエンザ

- ・急性呼吸器感染、死亡例多数あり
- ・ウマ H3N8ウイルスが競争犬に伝播流行(2004米国)
- ・鳥 H3N2ウイルスがペット犬に伝播 (2007韓国; 中国; タイ; 2015米国)

### ネコインフルエンザ

- ・軽い呼吸器感染、死亡1例 ・ヒト感染1例
- ・鳥 H7N2低病原性ウイルスがシェルター猫に伝播流行 (2016米国)

一方、豚以外の哺乳動物も新型ウイルスを生み出す潜在性を持っている。不顕性感染が多い豚インフルエンザとは異なり、馬インフルエンザは獣医衛生上重要であり、近年では犬や猫のインフルエンザも拡大しつつある。特に人と同居するこれら伴侶動物のウイルスが変異する、あるいは人ウイルスと遺伝子交雑することにより新型ウイルスが発生することが危惧される。

## A型インフルエンザウイルスの宿主特異性決定因子

**HA:** レセプター特異性: S138A, T160A, Q226L, I55T, A143T, G225D, E190D, G228S, R228Q, etc

膜融合pH変化: various

**NA:** NA活性制御: ストーク欠損型(19, 20, 22, 27AA)  
HA-NA機能バランスの変化

**PB2:** RNA合成能: E627K, D701N, G590S, Q591K/R, K526R, T271A

**PB1:** RNA合成能: L472V, L598P

**PB1-F2:** アポトーシス誘導: 欠損型(69-73), N66S

**PA:** RNA合成能: A100V, R356K, N409S

**NP:** RNA合成能: A150R      核移行因子結合能: N319K

**M1:** マウス病原性増強: N30D

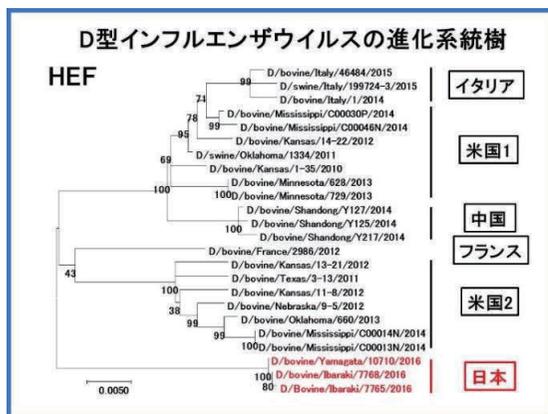
**NS1:** マウス病原性増強: P42S, D92E, 欠損型(4AA)

A型ウイルスの宿主間伝播に必要な変異については、マウスやフェレットなどの動物モデルで解析されている。別の動物種の呼吸器上皮細胞レセプターに結合できる変異やその細胞でウイルスRNAを効率よく転写・複製できる変異が必須であり、その機能を担う特にHAとPB2の特定の変異が複数同定されている。その他のタンパク質の変異もウイルスの宿主間伝播には重要である。

## D型インフルエンザウイルス抗体調査

都道府県	牛種	年	サンプル数	陽性数	陽性率(%)
北海道	ホルスタイン	2012-14	199	56	28.1
岩手	黒毛和種	2015	50	10	20.0
群馬	ホルスタイン	2015-16	109	60	55.0
栃木	ホルスタイン	2016	62	18	29.0
埼玉	ホルスタイン	2016	23	7	30.4
東京	ホルスタイン	2014	66	30	45.5
山梨	ホルスタイン	2015	30	15	50.0
長野	ホルスタイン	2015	30	15	50.0
岐阜	ホルスタイン	2010, 14	37	5	26.3
大阪	ホルスタイン	2016	24	7	29.2
鳥取	ホル/黒毛	2015-16	127	0	0
宮崎	黒毛和種	2013	879	272	30.9
鹿児島	黒毛和種	2016	12	6	50.0
計			1648	501	30.4

加えて、2013年に新しいD型インフルエンザが米国から報告された。これまで感受性がないとされた反芻動物である牛から検出され、牛の重要疾患である呼吸器病症候群の原因ウイルスの一つである可能性から注目された。私たちは、わが国の牛社会にもD型インフルエンザが広く侵淫していることを報告し、呼吸器症状の牛からのウイルス分離にも成功した。



系統樹解析により、D型ウイルス日本株は遺伝的に海外分離株とは別のクレードを形成することが判明し、国内で独自に進化してきたことが推測される。また、D型ウイルスの表面タンパク質HEFの抗原性解析により、日本株と海外株との抗原性の相違を明らかにした。これらの成績は、日本株を用いたD型インフルエンザワクチンの開発により、わが国の牛呼吸器病候群の発生を予防できる可能性を示している。

## 参考論文

1. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clinical Microbiol Rev* 14: 129-149, 2001
2. Horimoto T, Kawaoka Y. Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nature Rev Microbiol* 3: 591-600, 2005
3. Horimoto T, Kawaoka Y. Reverse genetics provides direct evidence for a correlation of hemagglutinin cleavability and virulence of an avian influenza A virus. *J Virol* 68: 3120-3128, 1994
4. Yamada S, Suzuki Y, Horimoto T, *et al.* Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature* 444: 378-382, 2006
5. Horimoto T, Gen F, Murakami S, *et al.* Serological evidence of infection of dogs with human influenza viruses in Japan. *Vet Rec* 174: 96, 2014
6. Murakami S, Endoh M, Horimoto T, *et al.* Influenza D virus infection in herd of cattle, Japan. *Emerg Infect Dis* 22: 1517-1519, 2016
7. Horimoto T, Hiono T, Murakami S, *et al.* Nationwide distribution of bovine influenza D virus infection in Japan. *PloSOne* 11: e0163828, 2016

## 創薬:ファビピラビル(T-705)の開発に関して

古田 要介

富山化学工業株式会社 事業開発部

新しい薬剤を生み出す創薬研究は、リード化合物の探索から始まり、開発化合物の決定から上市に至るまでに多くの時間と膨大な費用が費やされ、研究開発に携わる多くの研究者・開発関係者の努力が必要である。

ファビピラビル(T-705)は、富山化学工業株式会社で抗インフルエンザウイルス活性を指標に化合物ライブラリーをスクリーニングし創製された薬剤である。ファビピラビルは従来の薬剤とは異なる作用機序を有しており、細胞内に取り込まれたファビピラビルが細胞内酵素により代謝・変換され、ファビピラビル・リボシル三リン酸体となり、これがウイルスの RNA ポリメラーゼ (RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ) を選択的に阻害する。すなわち、ファビピラビルは核酸塩基母核化合物ではないが、核酸と同様な代謝・変換を受けて擬似核酸としてウイルスに作用を示す。これまでウイルスの DNA ポリメラーゼ (DNA 依存性 DNA ポリメラーゼ, RNA 依存性 DNA ポリメラーゼ:逆転写酵素) をターゲットとした薬剤や、作用機序の一部としてウイルスの RNA ポリメラーゼを標的とした薬剤は上市されているが、ウイルスの RNA ポリメラーゼを選択的に阻害するものではなく、新たな作用機序に分類される薬剤である。

ファビピラビルの特徴は、*in vitro* で A, B, および C 型のすべての型のインフルエンザウイルスだけでなく、既存薬 (アマンタジン塩酸塩, オセルタミビルリン酸, およびザナミビル水和物など) の耐性株に対しても抗ウイルス活性を示すことや、マウス感染モデルにおいても同様に治療効果を示すことがあげられる。また、ファビピラビルは広範囲な RNA ウイルスに対して *in vitro* や動物モデルで効果を示し、出血熱の原因となるアレナウイルス, ブニヤウイルス, およびフィロウイルスなどに対しても効果を示すことから、治療法の確立されていない RNA ウイルス感染症の薬剤として期待されている。

今回はそれらの知見も含めた薬剤の特徴を紹介する。

### <参考文献>

Furuta Y, Gowen BB, et al. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Research* (2013) 100(2); 446-454

## 滋賀医科大学・動物生命科学研究センターにおける感染動物実験(特にサルを用いた)施設の運用

滋賀医科大学 動物生命科学研究センター

土屋 英明

### 要約

滋賀医科大学 動物生命科学研究センターは、動物の生命現象に関わる研究を総合的に行うことを目的として、「医学部附属動物実験施設」を改組、改称し2002年(平成14年)4月1日に発足、第4期棟も竣工し、本格的な活動が開始された。そのおよそ2年半後、平成16年9月からサル類用 ABSL-3実験区域の運用を開始した。すなわちヒトに近縁な実験動物である、サル類を用いて医科学研究のための感染実験を実施するに当たりその準備期間として竣工後もさらに時間を要したこととなる。そこには感染動物実験施設の運用における「ソフトウェア」および「ハードウェア」の徹底的な準備のために費やした時間が存在している。感染実験区域は、区域内において取り扱われる微生物等を一般区域へ漏出させないため、特に厳重な封じ込め処置がなされており、そのため区域内で実験・作業を実施する際の入・退出手順は時間を要するものであり、災害発生時には迅速な対応が実験・作業等実施者の生命に関わる重要な事項となっており、それらの相反する課題の解決と、サル類を対象とした ABSL-3感染実験施設の本格的運用開始に際し、近隣住民からの研究活動への理解を得ることが重要と考えられた。これら「サル類を用いた感染実験」に関して運用の開始前から現在、そして今後について、それらのシステムを構築し、運用してきた現場のスタッフとして紹介する。

### 1. 序文

滋賀医科大学 動物生命科学研究センター(以下当センター)の6つの運営基本理念の第1と第2には、それぞれ動物福祉に配慮した飼育と管理、動物実験における生命倫理への配慮がうたわれている(<http://www.rcals.jp/>)。これらは特に、ヒトに近縁な実験動物であるサル類を用いた医科学研究(感染実験)では、いかに動物への負担を軽減することが出来るかが大きな課題となる。一方、対象動物や微生物を外部環境からいかに隔離し「封じ込め」を行うかは完成して当然が前提となっているのは言うまでも無い。また、感染実験区域は、区域内において取り扱われる微生物等を一般区域へ漏出させないために厳重な封じ込め処置がなされている。そのため区域内で実験・作業を実施する際の入・退出手順は時間を要するものであり、災害発生時には迅速な対応が実験・作業等実施者(以下使用者)の生命に関わる重要な事項となっており、関係者には年1回定期的に実施されている「感染実験区域に特化した防災訓練」への参加を積極的に促している。また、感染実験施設の本格的運用開始に際しては、「滋賀医科大学の霊長類研究における病原体等の取扱い及び保管等に関する安全監視に係る住民説明会」を実施し、病原微生物等を用いた医科学研究に対する社会的意義の啓発に加え、近隣住民からの動物実験への理解も得ることが出来た。これら当センターで実施される「感染実験」に関して「ソフトウェア」では当センターの使用者となるためのプロセスや条件、使用者となって研究活動を継続するために、自身の安全を維持する手段、使用者が研究活動に専念できるための環境整備に関して、また「ハードウェア」ではサルを対象とした感染実験において限られた人員配置でも安全かつスムーズな作業を遂行可能とするための、飼育装置、安全キャビネット、動物監視体制、滅菌・消毒システムを含めて、運用開始前に準備したこと、現在実施している研究により得られた成果、そして今後について紹介する。

### 2. 「ソフトウェア」

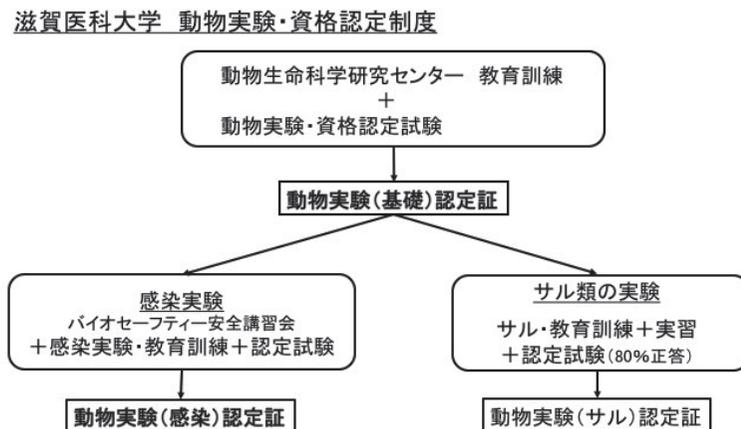
#### ① 利用資格ライセンスの取得義務(入室制限)

当センターにおいて繁殖・飼養されるサルを用いて医科学研究を実施すること、サルを用いた動物実験に携わる業務に従事出来る者は学内研究者に限られてはならず、所定の条件が整えば所属(他大学、研究機

関、民間企業等)を問わず利用が可能となっている。すなわち当センターを利用する者、動物実験に携わろうとする者は全て滋賀医科大学が規定する「動物実験資格」を取得する必要がある(図1)。

実験資格はマウス等を用いた動物実験を実施するための「基礎」、病原体等を使用する「感染実験」およびヒトに近縁な実験動物であるサルを使用するための「サル」の3種となっている。「サル」の実験資格については2004年4月から導入され、「基礎」の資格を取得後に実際のサルの取り扱い等を含めた実習と講習会の受講、資格認定試験への合格が必要となる。すなわち本学においてサルを用いた動物実験に携わる者については技術者のみならず研究者もサル取扱に関する実習を受講する義務が課せられている。更に、「サル」資格には3段階のレベルが設けられており、実習内容によりA:独立してサルを取り扱うことが出来る、B:Aと協力してサルを取り扱うことが出来る、C:サルに関する実験等の補助が出来る、となっている。それぞれのレベルにおいては講習内容、試験問題は同一であるが、実習時間が異なっており、A:30回、B:10回、C:3回の受講が必須となっている。特にサルを用いた感染実験を実施する場合はB以上の資格取得が求められる。また、本資格を取得した者のみが本学において実施しようとする動物実験に関する「動物実験計画書」を作成あるいは参画が可能となり、動物実験委員会等による計画書の審査を経て学長の承認を得た者のみが、「入室制限」を解除され使用者となる。

図1 滋賀医科大学動物生命科学センターにおける実験動物資格認定制度



## ② 実験区域内防災訓練等の定期的実施

感染実験区域は、厳重な封じ込め処置がなされているため区域内で実験・作業を実施する際の入・退出手順は時間を要するが、災害発生時には迅速な対応が使用者の生命に関わる重要な事項となっている。消防庁防火安全室は『平成13年9月に発生した新宿区歌舞伎町ビル火災を踏まえた消防審議会答申(平成13年12月26日付け)において、当該火災が大惨事になった要因として「階段室の物品存置」「避難訓練の未実施」「消防用設備等の点検未実施」「初期消火、通報及び避難誘導等の初期対応を的確に行うことができなかったこと」等が挙げられ、防火管理、とりわけ初期消火、通報及び避難誘導等の初期対応を的確に行うことが重要である。』と通達を各地方自治体へ発し、防災訓練の実施を促している。そこで当センターでは、「滋賀医科大学 動物生命科学センター 感染実験区域防災要項」に従い、定期的な防災訓練を実施している。実際に ABSL-3 感染実験区域において着用するタイベックスーツを始めとする感染防護装備を参加者全員が身につけて、次のような手順で防災訓練を実施している。1) 消火訓練：区域内の危険箇所を想定し小型消火器を用いた消火方法の習得、2) 屋内消火栓の操作訓練：区域内と同型の消火栓を複数名グループにより操作し火元へ向かう訓練、3) 通報訓練：火災の状況・取り扱っている病原体等を

事務職員等に的確に連絡する手順を習得、4) 避難訓練：災害発生時の事故等により生じる恐れのある負傷者も想定した避難手順の確認、5) 避難経路等の確認：当該施設における2通りの避難経路、避難方法のガイダンスとなる。この感染実験区域防災訓練は平成19年度から毎年実施され、これまでに10回、延べ278名が参加している。

### ③ 運用開始前の近隣住民説明会

サル類を対象としたABSL-3感染実験施設の本格的運用開始に際し、近隣住民からの研究活動への理解を得るため、本学が敷地を接する滋賀県大津市ならびに草津市の住民の代表者等10名を対象に平成18年7月「滋賀医科大学の霊長類研究における病原体等の取扱い及び保管等に関する安全監視に係る住民説明会」を実施し、その後大津市、草津市の会場でそれぞれの住民を対象に同様の説明会を行った。第1回の説明会では本学及び本学動物生命科学研究センターの沿革、本研究の使命と意義、安全確保に関する規程及び委員会等についての説明、本研究を行う実験施設(動物生命科学研究センター)の設備、利用手順及び緊急時の対応等について説明、ワクチン開発の意義、研究内容及び研究の安全性等について説明を行った。その後、住民側からの意見聴取・質疑応答を経て閉会した。説明会終了後各地区の代表者等から研究活動への賛意が寄せられ、研究活動の本格的実施へと繋がった。

## 3. 「ハードウェア」

### ① 独立空調管理式のサル飼育装置[1](図2, 3)

感染実験区域では、乾式システムが多く採用され、汚染物(飼育動物の糞尿・残餌・実験使用済器材)は、すべて人の手で回収され、オートクレーブ滅菌後、区域外へ搬出され、洗浄、処分されている。当センターでは、大型の感染排水滅菌処理用のオートクレーブが設置されており、汚染物の清掃、処理に水を使用することができるため、その特性を最大限に生かすケージシステムを開発した。ケージのサイズは、W500×D850×H830mm、前面扉は手足が出せない格子状(15mm 間隔)としつつも麻酔薬等の投与は容易に行える構造である。ケージ内には1本の止まり木(フェノール樹脂製)と天井部にぶらさがり棒を2本設けたことにより、カンクイザルの樹上生活を配慮した環境とした。ケージを収容する密閉式のドラフトは、吸排気共にHEPAフィルターを通した個別換気式とし、ドラフト底部には水溜層(消毒水)を備え、タイマーにより自動水洗・排水でき、直接階下のオートクレーブに送ることができる。また、逸走防止措置として、外部からは簡単に施錠でき、内部からは絶対に解錠できない3重(3個、2種)の錠を有する。最大72時間の給餌時間を設定できるソレノイドを用いた自動給餌装置を設けた。また給餌器はパズルフィーダーを固定型とし、食べこぼしなどが少なく、衛生的な環境を維持することができる。また、詳細な観察が必要な場合には、装置をはずし通常の給餌方式をとることが可能である。

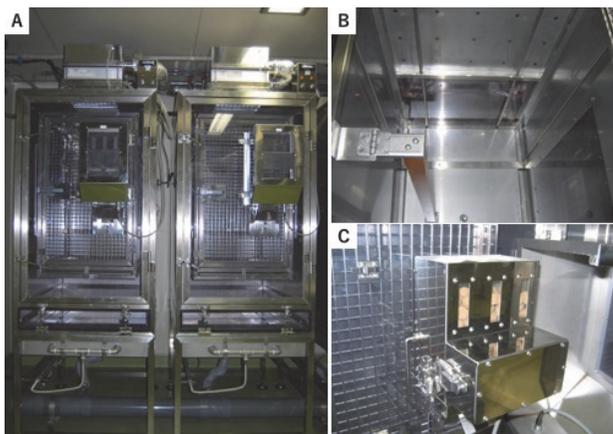


図2 独立空調管理式サル飼育装置

- A) 感染実験サル用飼育ケージ。
- B) ケージ内天井部ぶらさがり棒とフェノール樹脂製止まり木。
- C) ケージ前扉み設置された自動給餌装置

## ② 作業性に優れたバイオハザードキャビネット[2](図4)

安全キャビネットは、感染実験の際にヒトの安全を確保出来ることが必須の要件である。当センターでは麻酔下でのサルからの材料採取・解剖を主目的とし、既に感染実験用として建設されている施設・設備機能を変更することなく、既存の排気を利用して、室内で安全に動物実験が実施できる安全キャビネットを作製設置した。本体は、既存の感染飼育室に設置したが、飼育室内の差圧等を変更することなく設置が可能であった。構造部材には SUS 316 を使用し解剖台面の寸法は W1,300×D800×H70mm とし、陰圧気流の逆流防止スリットを設けた。両サイドに W1,300×H300mm の大きな開口部を設け上部には屋根型で透明の硬質ガラスを設置することにより、使用者が立位で作業することができる。解剖台には、4カ所の動物固定用フックを設置し、左右に排気口を設け、洗浄排水は直接階下の大型感染排水滅菌用オートクレーブに廃棄される。フィルターチャンバーは、SUS 316 を使用し本体外形寸法は W800×D800×H1,298mm で、キャスターも設け上段に中性能フィルター、下段に HEPA フィルターを設置した。フィルター交換は、直接作業者が触れる事が無く行える構造とした。排気ファンは騒音を少なくするために消音ボックスに内蔵した。本体の設置は、特別な配線、配管、空調等の工事が不要なく、既存の飼育室に設置が可能である事が特徴である。また開口部が大きく、対面式で4名の使用者が同時に処置が出来、作業をスムーズに行うことができる。解剖台は洗浄排水機能を持ち、排水された汚水等はオートクレーブ滅菌され排水処理設備により処理を行う機能とした。フィルター交換時も汚染されたフィルターに直接触れる事もなく安全に行うことができる。

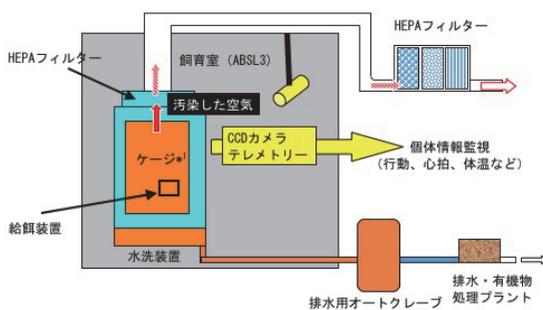


図3 感染実験システム概略図



図4 バイオセーフティキャビネット

## ③ 24時間サル飼育管理システムによる被験個体の監視[1]

サル飼育装置内ケージ上部のLEDランプ、赤外線投光器と、ケージ前方に取り付けられた高感度 CCD カメラにより、24時間個体を監視し、その映像は感染区域外のモニタシステムにて各個体に付き 720 時間以上の録画が可能となった。ケージ側面には体温、心拍等を測定できるテレメトリーシステムも設置した。事前に被研個体への発信器の埋設設置が必要となるが、これらの装備・設備によって、感染区域へ直接出入りしなくとも、適切な飼育と動物の観察が可能となり、前述の自動給餌装置との併用により飼育管理作業の軽減化とヒトへの感染の危険性を減少させることが出来る。

## ④ 滅菌・消毒装置(図5)

1) スーパー次亜水 (消毒水) : 次亜塩素酸ナトリウムを塩酸と水で一定濃度に希釈すると同時に pH を弱酸性に調整した次亜塩素酸水で、当センター5階に生成装置が設置され、生成された消毒水が常時2t 備蓄される状態を維持している。感染実験区域を含む全館内に配置された消毒水供給システムにより送水されているため、微粒子噴霧装置 (空間消毒)、シャワーノズル、シンク、消毒槽等の随所で必要時に必要量を使用が可能とな

っている。この消毒水はウィルスや芽胞菌、MRSAに非常に有効で耐性菌を作らないことも報告されている[3]。

## 2) 感染排水用大型高压蒸気滅菌装置 (排水AC)

当センターの ABSL-3 感染実験区域の特徴として、通常乾式で実験操作を消毒水と排水処理の併用による、湿式運用を可能とした排水 AC が挙げられる。本装置は容量 3t の高压蒸気滅菌タンク 2 台から構成されており、サル飼育装置に由来するサル排泄物を含む排水、安全キャビネットにて使用した排水、各実験室からの排水を 1.5t 収容し、規定量に達すると自動的に高压蒸気滅菌し排水する。使用者は運転状況を確認するだけで、貯留・運転・廃棄の操作は不要なため、人員の効率的な配置が可能となる。



図5 滅菌・消毒装置

A) スーパー一次亜水(消毒水)貯水タンク. B) スーパー一次亜水(消毒水)生成装置. C) スーパー一次亜水(消毒水)制御装置. D) 感染排水用大型高压蒸気滅菌装置

## 4. まとめ

なぜカニクイザルを対象とした感染実験施設が必要だったか、カニクイザルはニホンザル、アカゲザルと同じマカク属のサルであり、アカゲザルとヒトのゲノムの相同性は 93%という報告がある[4]。そのため他の実験動物よりカニクイザルの免疫、解剖学的構造、内分泌代謝、行動等はヒトに近いので前臨床研究に用いられるが、それ以外にもサルをインフルエンザ研究に使用する理由がある。実験用マウスはインフルエンザウイルス抵抗遺伝子 Mx に変異があり、さらにインフルエンザウイルス受容体の発現分布がヒトとは異なる。またインフルエンザウイルスに感染するとマウスでは体温が下がるとの報告があり[5]、ヒトとの違いを考慮の上使用する必要がある。そこで、ヒトと似た症状を示すフェレットがインフルエンザ研究では用いられるが、フェレットでは免疫学的解析のためのツールが十分とはいえない。これらの動物の欠点を補うことのできる動物がカニクイザルである。サルを用いた実験例としては 2009 年にパンデミックインフルエンザウイルスが登場した直後、ヒトから分離されたウイルスをカニクイザルに感染させ、病原性の解析を行った研究が報告されている[6]。報告の内容とは、パンデミックインフルエンザウイルスはそれまでの季節性インフルエンザウイルスと比べ肺でよく増え、肺炎を起こしやすいので、1918 年のスペインかぜのウイルスほどの高い病原性はないが警戒する必要があることについてであった。その後、本格的な大流行が日本でも始まり、季節性インフルエンザではめったにみられないインフルエンザウイルス性肺炎が大流行の最中にみられたとの報告があり、サルでの病原性はヒトでの病原性をよく反映すると考えられ、サルを用いた実験はヒトで起こることを予測するのに役立つと考えられる。また、サルを用いる利点としてヒトとの類似点が挙げられ、高病原性鳥インフルエンザウイルスの病原性の解析、ヒトの臨床試験では行えないようなウイルスによる攻撃試験を伴うワクチン及び治療薬の有効性評価が報告されている[7][8][9]。さらにヒトでは過去の感染歴、ワクチン接種状況によりウイルスの複製効率や症

状が修飾を受けることが予想されるが、免疫学的にナイーブなサルを用いると純粹に初めてワクチンを接種したときの反応、初感染時の反応、ワクチン及び治療薬の有効性の解析が可能である。また、急性期のサンプルを気管支内視鏡を用いて採取し、テレメリーシステムを使い昼夜連続して体温を記録し、ヒトでは得難い情報を解析されている。ヒトの分子に対するモノクローナル抗体の半分以上がカニクイザルでも使用可能であり、免疫学的ツールも充実している。一方で実験動物としてのサルの問題点は、サルを用いる免疫研究の問題点はマウスのような近交系がないことである。これはヒトのような多様性のある集団を反映する一方で主要組織適合抗原複合体 (MHC)も多様であるので、抗原特異的免疫反応の解析が問題となる。この問題の解決のため、我々は東海大学 椎名隆先生との共同研究により本学及びブリーダーのカニクイザル MHC (Mafa)を解析した[10]。その結果、ワクチンにより誘導されるメモリー反応の詳細な評価が可能となり、より有効性の高いワクチンの開発に貢献できると考えられている[11]。現在、当センターでは特定の Mafa ハプロタイプを持つサルの繁殖を当センターが独自に確立した手法を用いて進めており、今後ワクチン開発のみならず、腫瘍免疫、iPS 細胞等の移植の研究にも利用していく予定である。

当センターではサルを用いた本格的共同利用実験 (ABSL-3 感染実験)の実施が決定した時点から最終的な施設の整備が開始されたため、最新の装置を試行錯誤しながら順次配備していくことが出来た。一方、当センターにとって幸いなこと?に建設当初からサルという特殊な実験動物を少ない人数で維持・管理して行かざるを得ないと想定しており、そのため膨大な資金を投じて自動化された飼育・管理設備等のインフラ整備がなされた。また、国立大学法人付属の実験施設であるため運営資金についても利用者のみを頼りにすることは出来ないため、動物実験の円滑な実施には使用者である研究者自身の積極的な参加も重要となるため、動物実験に関する多岐にわたる教育制度も整備された。これらの事により、通常多くの人手を必要とする感染実験・動物管理がごく少数の人員で可能となっている。

## 謝辞

本稿作成に当たり、カニクイザルを用いた感染実験に関する研究成果等をご教示くださった滋賀医科大学 疾患制御病理学講座 伊藤靖先生に感謝いたします。また、感染実験区域の運用に当たり獣医学的専門知識をご教示くださった滋賀医科大学 動物生命科学研究センター 中村紳一郎先生に感謝いたします。感染実験区域の実際の運用に日々ご協力・ご支援いただいている 滋賀医科大学 動物生命科学研究センター 職員の皆様に改めてお礼を申し上げます。

## 参考文献

1. 岡原則夫、石橋国夫、土屋英明、伊藤靖、中川孝博、藤原三郎、鳥居隆三 2006. 感染実験におけるサル用飼育ケージと監視システム 第40回実験動物技術者協会総会 講演要旨集
2. 中川孝博、土屋英明、石橋国夫、伊藤靖、岡原則夫、飯塚荘、早川義久、鳥居隆三 2006. サル対応型対面式バイオセーフティキャビネットについて 第40回実験動物技術者協会総会 講演要旨集
3. Ono T, Yamashita K, Murayama T, Sato T. 2012. Microbicidal effect of weak acid hypochlorous solution on various microorganisms. *Biocontrol Sci.* 17:129-33.
4. Macaque Genome Sequencing and Analysis Consortium. 2007. Evolutionary and biomedical insights from the rhesus macaque genome. *Rhesus Science.* 316(5822):222-34.

5. Conn CA, McClellan JL, Maassab HF, Smitka CW, Majde JA, Kluger MJ. 1995. Cytokines and the acute phase response to influenza virus in mice. *Am J Physiol.* 268: R78-84.
6. Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, Muramoto Y, Tamura D, Sakai-Tagawa Y, Noda T, Sakabe S, Imai M, Hatta Y, Watanabe S, Li C, Yamada S, Fujii K, Murakami S, Imai H, Kakugawa S, Ito M, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Shimojima M, Horimoto T, Goto H, Takahashi K, Makino A, Ishigaki H, Nakayama M, Okamatsu M, Takahashi K, Warshauer D, Shult PA, Saito R, Suzuki H, Furuta Y, Yamashita M, Mitamura K, Nakano K, Nakamura M, Brockman-Schneider R, Mitamura H, Yamazaki M, Sugaya N, Suresh M, Ozawa M, Neumann G, Gern J, Kida H, Ogasawara K & Kawaoka Y. 2009. In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. *Nature.* 460: 1021-1025.
7. Itoh Y, Ozaki H, Tsuchiya H, Okamoto K, Torii R, Sakoda Y, Kawaoka Y, Ogasawara K, Kida H. 2008. A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 avian influenza virus strain confers protective immunity against highly pathogenic avian influenza virus infection in cynomolgus macaques. *Vaccine.* 26: 562-572.
8. Miyake T, Soda K, Itoh Y, Sakoda Y, Ishigaki H, Nagata T, Ishida H, Nakayama M, Ozaki H, Tsuchiya H, Torii R, Kida H, Ogasawara K. 2010. Amelioration of pneumonia with *Streptococcus pneumoniae* infection by inoculation with a vaccine against highly pathogenic avian influenza virus in a non-human primate mixed infection model. *J Med Primatol.* 39: 58-70
9. Kitano M, Itoh Y, Kodama M, Ishigaki H, Nakayama M, Ishida H, Baba K, Noda T, Sato K, Nihashi Y, Kanazu T, Yoshida R, Torii R, Sato A, Ogasawara K. 2011. Efficacy of single intravenous injection of peramivir against influenza B virus infection in ferrets and cynomolgus macaques. *Antimicrob Agents Chemother.* 55: 4961-70.
10. Shiina T, Yamada Y, Aarnink A, Suzuki S, Masuya A, Ito S, Ido D, Yamanaka H, Iwatani C, Tsuchiya H, Ishigaki H, Itoh Y, Ogasawara K, Kulski JK, Blancher A. 2015. Discovery of novel MHC-class I alleles and haplotypes in Filipino cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) by pyrosequencing and Sanger sequencing. *Immunogenetics.* 67: 563-578.
11. Arikata M, Itoh Y, Okamatsu M, Maeda T, Shiina T, Tanaka K, Suzuki S, Nakayama M, Sakoda Y, Ishigaki H, Takada A, Ishida H, Soda K, Pham VL, Tsuchiya H, Nakamura S, Torii R, Shimizu T, Inoko H, Ohkubo I, Kida H, Ogasawara K. 2012. Memory immune responses against pandemic (H1N1) 2009 influenza virus induced by a whole particle vaccine in cynomolgus monkeys carrying Mafa-A\*052:02. *PLoS ONE.* 7: e37220.

## 実験動物と痛み

小山 なつ

滋賀医科大学 統合臓器生理学部門

動物実験を適切に行うための3R (or 4R) の原則の3番目のRがRefinement(麻酔、鎮痛薬の使用や実験技術・精度の向上による動物が受ける苦痛の軽減)である。

SCAW (Scientists Center for Animal Welfare) は苦痛を分類しているが、苦痛とは単なる体の痛みだけでなく、様々なストレスによる不快な体験であろう。痛みは主観であるので、ヒトの痛みですら、他覚的に評価できるものではない。

### 1) 痛みとは

「痛み」や「苦痛」が他の感覚と異なる点は、他人と共有できない体験であることである。痛みは常に主観である。他人の痛みは訴えや表情から推し量ることしかできないだけでなく、自分の痛みも正確に表現するのむずかしい。国際疼痛学会：IASP は、痛みは「実質的または潜在的な組織損傷に結びつく、あるいはこのような損傷を表わす言葉を使って述べられる不快な感覚・情動体験である」と定義した<sup>1)</sup>。通常痛みは身体を脅かす侵害刺激が加わったときに生じる警告信号として発せられるものであるが、必ずしも侵害刺激と痛みは強く結びついているわけではない。侵害刺激が加わっても痛みを感じないこともある。侵害刺激がなくても痛みに悩まされることもあり、私たちが表現する痛みは、身体の異常を正確に表現とは限らない。IASP の定義には長い注釈 (図1) がつけられていて、注釈の2番目のパラグラフに「言葉でのコミュニケーションができなくても、個人が痛みを経験している可能性があり、適切な疼痛緩和治療が必要とされる可能性がある」と書かれている。脳構造が異なる動物の痛みはヒトの痛みと異なる可能性があるが、言葉で表現しない新生児や動物にも、IASP の定義は適応される。痛みの表出法は動物によって異なるので、動物の行動を日頃から観察しておくことが重要である。損傷部位をなめたり、引っ掻いたりする。重心を移動させたり、うずくまったままである場合もあるが、逆に過度に動き回ったり、攻撃的になるかもしれない。ヒトでもストレスが強い場合には痛みを感じないこともあるが、不安が強い場合に痛みが強まることもある。適切なハンドリング

などにより動物に負の情動を生じさせないようにすることは、痛みや痛みに付随して生じる生体反応の軽減に繋がる可能性がある。

## 2) 痛みの発生メカニズム

感覚生理学に基づいて、痛みの発生のメカニズムについて復習してみたいと思う。それぞれの感覚には特有な感覚受容器、特有な伝導路、特有な感覚野がある。感覚受容器は刺激を電気信号に変える変換器であり、適刺激によって発生した活動電位は伝導路を上行し、脊髄や視床を経由して、感覚野に到達して感覚が生じる。視覚に関して考えると、視覚の感覚受容器は網膜の視細胞であり、視細胞は視覚の適刺激である光刺激を受けると膜電位に変化が生じ、網膜からの出力細胞である神経節細胞に発生する活動電位は視神経を伝導する。視神経は視床外側膝状体とシナプス接続し、さらに視覚信号は視覚野をはじめとする様々な視覚関連の中枢に到達して、ものが見える。つまり、視覚や痛覚を含めた感覚は脳で生じるのである。

痛みに関与する一次侵害受容ニューロンは（脊髄）後根神経節に細胞体のある偽単極細胞である。一次侵害受容ニューロンの軸索線維は一次求心性神経であり、後根神経節から末梢と脊髄へと2つの軸索を伸ばしている。末梢の終末端は髄鞘に覆われてなく、髄鞘を欠いた自由終末が侵害刺激を受容するために特化した侵害受容器である。皮膚の侵害受容器は強い機械刺激、43℃以上の熱刺激や15℃度以下の冷刺激、侵害性化学刺激に反応する。侵害受容器上には様々な侵害刺激に反応する受容体がある。組織損傷によって産生されるブラジキニン、プロスタグランジンや様々な炎症媒介物質の相互作用で侵害受容器の興奮が強まる。侵害刺激はあらゆる組織で同じではなく、消化管は切ったり、灼いたりするような機械刺激は適刺激ではないが、閉塞した消化管が強く収縮するような刺激が適刺激であり、強い痛みを感じる。筋肉も虚血時に強く収縮すると強い痛みを感じる。このような侵害刺激によって、侵害受容器上のナトリウムチャンネルが開き、ナトリウムイオンが細胞内に流入することによって、活動電位が生じる。侵害受容器で発生した活動電位は一次求心性線維の軸索を伝わり、もう一つの終末である脊髄内終末まで到達する。活動電位の伝導にもナトリウムチャンネルが関わっている。痛み信号を伝える一次求心性線維には、有髄線維の中で最も細いA $\delta$ 線維と無髄C線維がある。有髄線維の伝導速度は12~30m/secで、無髄C線維の伝導速度0.5~2.0/secであり、伝導速度に対応した速い痛みと遅い痛みを生じさせる。

A $\delta$ 線維と無髄C線維は脊髄後角の二次侵害受容ニューロンとシナプス接続する。脊髄内終末まで活動電位が到達すると、カルシウムチャンネルからカルシウムイオンが流入して、神経伝達物質が放出される。主要な神経伝達物質であるグルタミン酸

が二次侵害受容ニューロンのグルタミン酸受容体 (AMPA 受容体と NMDA 受容体) と結合すると、二次侵害受容ニューロンが興奮する。無髄 C 線維からはグルタミン酸だけではなく、P 物質や CGRP も放出されて、二次ニューロンを強く興奮させる。

脊髄内の二次侵害受容ニューロンは幾つかシナプスを変えることもあるが、投射ニューロンの軸索線維は正中線を超えて対側の伝導路を上行する。主要な伝導路は脊髄視床路であり、外側と内側に分かれ、脳幹網様体に枝を出しながら、中脳や視床に向かう。外側脊髄視床路は感覚的側面に関与し、視床腹側基底核群を經由して体性感覚野に至る。内側脊髄視床路は情動的側面に関与し、視床髄板内核群などを經由し、大脳辺縁系を含む脳の広い部位に至る。感覚的側面によりどこがどの程度痛いかがわかり、情動的側面により負の情動を引き起こすとともに、情動を表出する。痛みを感じるためには、脳の広い領域が関わっているために、脳の特定の領域を刺激しても、痛みを誘発することはできない。興味深いことに最近の functional MRI の研究では、からだの痛みに関連する脳領域と、こころの痛みに関連する領域にはオーバーラップがあるために、脳はからだの苦悩とこころの苦悩を区別できない可能性がある。

痛みを感じるためのスタートは侵害受容器であり、ゴールは脳の広い領域であるが、痛みの伝導路で様々な修飾が加わるので、痛み信号が増強される場合もあるが、軽減される場合もある。中枢神経系には痛みを伝える系だけではなく、内因性の疼痛抑制系が存在する。抑制性の神経伝達物質である  $\gamma$ -アミノ酪酸 : GABA やグリシンも侵害受容ニューロンのシナプスにおいて、活動電位が発生しないように作用する。中脳中心灰白質からのセロトニンが関わる系と、青斑核からのノルアドレナリンが関わる系が脊髄後角に下行し、侵害受容ニューロンの活動を抑制する。これらの系は単に痛みを抑制させるだけではなく、心拍数を増加させるなどの自律神経系に対する指令や、痛みが和らぐ行動の指令も出す系と関連している。また脳内麻薬とも呼ばれる内因性のオピオイドやドーパミンが関与する脳内報酬系も痛みの緩和に関わっている。

### 3) 侵害受容反応と痛み

デカルトの死後に出版された「人間論」にはたき火の横に立つ少年が描かれている。足が火の粉で炙られると、足から脳まで伸びている神経が引っ張られて脳で警鐘を鳴らし、足をたき火から遠ざけようとする。足から脳へ至る痛みの伝導路を描いたシェーマとも考えられるが、侵害受容を説明するものでもある。「侵害受容」という概念を最初に提唱したのは、近代神経生理学のパイオニアのサー・チャール

ズ・シェリントンである。シェリントンは「シナプス」などの用語を命名したことで有名であり、さまざまな脊髄反射の研究もして、1932年にノーベル生理学・医学賞を受賞した。筋が引き伸ばされた時に元の長さに戻ろうとする伸張反射は単シナプス反射であるのに対し、ピンを踏んだ時に生じる屈曲反射は多シナプス反射である。鋭敏なピンを踏むと、痛いと感じるよりも前に、足を屈曲させてピンから足を遠ざける。侵害受容神経を伝導する興奮が脊髄に到達すると、興奮性介在ニューロンを介して屈筋が収縮し、伸筋が弛緩する。シェリントンは頸髄を切断して痛みを感じることはないイヌでも、屈曲反射が生じることを示した。IASPは「侵害受容: nociception」を「侵害刺激を符号化する神経過程」と定義している。屈曲反射は侵害刺激源から体を遠ざけようとする逃避反射である。侵害受容反応は生体防御反応であり、痛みは防御反応を補足する高次脳機能と考えることができる。しかし、侵害刺激によって侵害受容反応は生じるが、痛みは生じるとは限らない。侵害受容反応は痛みと似て非なるものである。主観である痛みは科学研究になりえないが、侵害受容反応は客観的に評価できるので、解剖学や生理学の研究の対象になり得る。ホットプレートテストやプランターテストをはじめとする、覚醒動物を対象とする行動実験も、痛みの伝導路の活動を調べる麻酔下の動物を対象とする実験も、侵害受容反応を対象とすることで、研究として成立する。

#### 4) 痛みと情動

アリストテレスは感覚を分類していたが、痛みは快樂の対極にある情動と考えた。現代では痛みは不快な感覚、情動体験であると捉えられているが、情動とは単なる感情ではなく、不快な感情によって引き起こされる自律神経反応や疼痛行動をも含む。心拍数を増加させ、汗をかくなどの自律神経反応はヒトでも動物でも共通する反応である。ヒトでは薬を飲んだり、医者に行こうとする動機付けとなり、動物の逃避行動も情動反応である。情動は思考、学習、記憶、認知機能などと同様に、ヒトで最も発達した高次機能の一つである。ヒトで最も発達しているのは大脳新皮質であり、大脳辺縁系は大脳新皮質の内側に局在する。前者は痛みの感覚的側面に参与し、後者は情動的側面に参与する。大脳辺縁系の一部である扁桃体は情動と本能行動の座と呼ばれ、生体内外から受けた情報に対して過去の記憶に基づいて生物学的評価を行う場であり、侵害刺激に対しても不安や恐怖を脳に刻みつける。帯状回や島皮質などは快・不快と結びついた本能的情動や感情、行動につながる動機を生起させる機能を担っている。危険や脅威から逃避反応、外敵を攻撃する反応を取る原始的な防衛本能に参与する。新皮質の容積はヒトで最も大きいですが、大脳辺縁系の

容積比はヒトでもげっ歯類でもほとんど変わらない。つまり、扁桃体が関わる情動はあらゆる動物に共通した生命の根冠に関わる反応と考えることができる。

痛みは究極のストレスと考えることもできる。ストレスが大きいほどコルチコステロンなどの放出を介して、感じる痛みも強くなり、逆に丁寧なハンドリングなどにより痛みは軽減される。動物実験において、不快と感じられるストレスをも含む苦痛を可能な限り軽減することは、単に痛みに伴われる負の感情の増大を防止するだけでなく、ストレスに伴われる様々な自律神経反応、内分泌反応が、実験結果に及ぼす効果を最小限にとどめることにもつながる。

本稿は2017年6月9日に滋賀で開催された、関西実験動物研究会 第134回研究会の講演に基づいて作成したものである<sup>2)</sup>。

#### 参考文献

- 1) 国際疼痛学会：IASP の痛みの定義 以下の URL 参照  
<https://www.iasp-pain.org/Taxonomy?navItemNumber=576#Pain>
- 2) 小山なつ：痛みと鎮痛の基礎知識 増補改訂版 技術評論社 P.1～430, 2016

図1 国際疼痛学会：IASP の痛みの定義とその注釈 の原文

<https://www.iasp-pain.org/Taxonomy?navItemNumber=576#Pain>

#### **Pain**

An unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage.

*Note:* The inability to communicate verbally does not negate the possibility that an individual is experiencing pain and is in need of appropriate pain-relieving treatment. Pain is always subjective. Each individual learns the application of the word through experiences related to injury in early life. Biologists recognize that those stimuli which cause pain are liable to damage tissue. Accordingly, pain is that experience we associate with actual or potential tissue damage. It is unquestionably a sensation in a part or parts of the body, but it is also always unpleasant and therefore also an emotional experience. Experiences which resemble pain but are not unpleasant, e.g., pricking, should not be called pain. Unpleasant abnormal experiences (dysesthesias) may also be pain but are not necessarily so because, subjectively, they may not have the usual sensory qualities of pain. Many people report pain in the absence of tissue damage or any likely pathophysiological cause; usually this happens for psychological reasons. There is usually no way to distinguish their experience from that due to tissue damage if we take the subjective report. If they regard their experience as pain, and if they report it in the same ways as pain caused by tissue damage, it should be accepted as pain. This definition avoids tying pain to the stimulus. Activity induced in the nociceptor and nociceptive pathways by a noxious stimulus is not pain, which is always a psychological state, even though we may well appreciate that pain most often has a proximate physical cause.

長い注釈

関西実験動物研究会だより

<その他>

## 関西実験動物研究会だより

関西実験動物研究会会報第 38 号に掲載した第 130 回研究会以降、以下の研究会が開催された。

### 1) 第 131 回研究会 日本実験動物技術者協会関西支部 合同大会

(平成 28 年 9 月 10 日 (土)、大阪大学 医学部講義棟 1 階 A 講堂)

関西実験動物研究会

<維持会員ニュース>

PRIA-PCR によるマウス・ラットの微生物モニタリングサービスー

日本チャールス・リバー株式会社

<講演会> テーマ：神経回路ダイナミクスへの挑戦

#### 1. 実験動物としてマウスを用いた記憶学習の仕組みの研究

松尾 直毅 (大阪大学大学院医学系研究科 分子行動神経科学)

#### 2. 動物実験が支える中枢神経再生治療法の開発研究

山下 俊英 (大阪大学大学院医学系研究科/生命機能研究科 分子神経科学)

日本実験動物技術者協会関西支部

<講演会> テーマ：動物実験に関する効果的な教育訓練について考える

#### 1. 岡山大学における教育訓練に係る取り組み

樫木 勝巳 (岡山大学自然生命科学研究支援センター 動物資源部門)

#### 2. 動物実験に対する効率的かつ効果的な社内教育について考える

黒木 宏二 (大日本住友製薬株式会社 研究管理部)

### 2) 第 132 回研究会 (平成 28 年 12 月 9 日 (金)、京都府立医科大学 図書館ホール)

<トピックス>

外部検証促進のための人材育成

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)

<特別講演>

#### 1. ダイレクト・コンヴァージョンによる組織細胞の創出とマウスモデルを用いた生体内機能解析

松田 修 (京都府立医科大学大学院医学研究科 免疫学)

#### 2. チンパンジーから探るヒトのこころの進化

友永雅己 (京都大学霊長類研究所 思考言語分野)

<会員の発表> 11 題

### 3) 第 133 回研究会 (平成 29 年 3 月 3 日 (金)、京都大学 楽友会館)

<維持会員ニュース>

CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変動物作製とその周辺サービス

株式会社ケー・エー・シー

<講演会> テーマ：実験動物学のこれから—マウスとラットを例に—

1. 焦点性てんかん原因遺伝子、DEPDC5 KO ラットの解析  
石田 紗恵子 先生（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子神経科学分野）
2. マウス表現型解析情報を正しく伝えるために  
若菜 茂晴 先生（理化学研究所バイオリソースセンター マウス表現型解析開発チーム）

4) 第 134 回研究会（平成 29 年 6 月 9 日（金）、滋賀医科大学 臨床講義室 2）

<講演会> テーマ： インフルエンザウイルスの最新情報

1. 疫学（トリインフルエンザウイルスの疫学的知見）  
堀本泰介（東京大学大学院獣医学専攻 獣医微生物学研究室）
2. 創薬（ファビピラビル（T-705）の開発に関して）  
古田要介（富山化学株式会社・事業開発部）
3. 感染動物実験施設の管理について  
土屋英明（滋賀医科大学 動物生命科学センター）

<トピックス>

実験動物と痛み

小山なつ（滋賀医科大学・統合臓器生理学部門）

<維持会員ニュース>

日精バイリス株式会社

《幹事会、評議員会、総会の議事概要》

## 幹事会の概要

日時：平成 29 年 2 月 14 日（火）、午後 3 時～5 時

場所：京都府立医科大学 基礎 3 階会議室

出席者：喜多、桑村、庫本、横井、浅野、岡田、久保、近藤、塩見、塩谷、田島、中井、中村、  
真下、松田、山添

欠席者：宮嶋、伊川、佐加良、坪田、山本

オブザーバー：山本（事務局担当）

議事：

1. 平成 28 年度事業報告について  
・平成 28 年度の事業報告について確認した。
2. 平成 28 年度決算報告について  
・平成 28 年度の決算報告について確認した。

3. 第12期（平成29年4月～平成31年3月）評議員、幹事、監事について
  - ・第12期評議員、幹事、監事について確認した。近藤集會幹事が次期会長となること、桑村幹事長、久保集會幹事と真下集會幹事が庶務・会計幹事となること、喜多会長と横井庶務・会計幹事が集會幹事となること、芹川評議員が集會幹事となること、松田集會幹事が退任すること、清水英男監事が退任し高木博隆会員が監事となることとなった。また、新規評議員として清水何一会員と高木博隆会員を推薦することとなった。さらに、上田評議員の退任について報告があった。
4. 事務局移転とそれに伴う関西実験動物研究会の会則改定について
  - ・事務局移転とそれに伴う関西実験動物研究会の会則改定について確認した。
5. 平成29年度事業計画（案）について
  - ・平成29年度の事業計画（案）について確認した。
6. 平成29年度予算（案）について
  - ・平成29年度の予算（案）および会費未納者について確認した。
7. 第35回評議員会、第34回総会の進行について
  - ・評議員会および総会の進行について確認した。
8. その他
  - ・故 池田卓也幹事・評議員に対して総会で黙祷を捧げることとなった。
  - ・動物実験に対する情報開示請求への対応について情報交換を行った。
  - ・小規模施設における動物実験の実施について情報交換を行った。

日時：平成29年11月7日（金）、午後4時～5時15分

場所：京都大学ウイルス・再生医科学研究所 1号館1階会議室

出席幹事：近藤、庫本、久保、真下、浅野、岡田、喜多、佐加良、塩見、塩谷、芹川、田島、  
坪田、山添、横井、中井、中村

欠席幹事：山本、桑村、伊川

議題ならびに審議：

今年度より任命された芹川幹事（京都疾患モデル研究所、大阪薬科大学）より自己紹介があった。

#### 1. 第136回研究会について

一般演題15題、トピックス1題、特別講演2題と韓国ソウル大学病院の李国賢教授による **short presentation** によりプログラムを構成し、座長を決定した。

なお、一般演題の発表時間は1題につき12分（口演10分、質疑応答2分）とした。

## 2. 第137回研究会(評議員会、総会2018年3月2日)について

担当幹事、庫本幹事、浅野幹事、岡田幹事、坪田幹事により維持会員ニュース、特別講演2題と、できればトピックを加えて構成するとし、詳細について検討中であることが報告された。

## 3. 来年度の予定について

下記の通り、開催場所、日時、担当幹事等が審議され、承認された。プログラムについては、担当幹事で検討され、幹事会で審議することとした。

喜多幹事より予算枠から特別講演の演者3名の内、2名は関西圏からの招聘が望ましい旨の提案がなされた。

### 1) 第138回(2018年6月15日) 奈良 久保幹事、桑村幹事、佐加良幹事、横井幹事

久保幹事より、開催場所として、奈良市内の奈良春日野国際フォーラム 薨～I・RA・KA～(旧新公会堂)が提案され、承認された。

### 2) 第139回(2018年9月 日) 大阪 伊川幹事、塩谷幹事、田島幹事、真下幹事、山添幹事

例年通り土曜日の開催とし、技術者協会との合同開催の可能性がある旨が報告され、開催日程は他の学会等の日程を基に決定することが承認された。

### 3) 第140回(2018年12月7日) 京都 近藤幹事、喜多幹事、芹川幹事、中井幹事、中村幹事

例年通り京都大学楽友会館で開催する予定とした。また、研究会ののち懇親会(忘年会)を行うことが承認された。

### 4) 第141回(2019年3月 日) 京都 浅野幹事、岡田幹事、庫本幹事、塩見幹事、坪田幹事

例年通り京都大学楽友会館で開催する予定が承認された。

## 評議員会の概要

### 第35回関西実験動物研究会評議員会

日時：平成29年3月3日(金)12:00～13:20

場所：京都大学 楽友会館 2階 会議・講演室

出席：47名

浅野雅秀、磯野協一、刃野善弘、海野 隆、岡田利也、岡本宗裕、沖本一夫、春日久男、金子武人、喜多正和、清成 寛、久保 薫、庫本高志、桑村 充、近藤 玄、近藤 靖、佐加良英治、佐藤 浩、塩見雅志、塩谷恭子、清水何一、鈴木 昇、鈴木 稔、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、中村紳一朗、成瀬智恵、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、宮口純一、宮脇宏彰、森島英喜、山添裕之、山中 久、山本 博、山本好男、横井伯英

議事および審議：

### 1. 平成28年度事業報告

- ・平成 28 年度の事業報告が桑村幹事長より報告され、承認された。
- ・会報第 38 号発行について山本幹事より報告され、承認された。

## 2. 平成 28 年度決算報告

- ・平成 28 年度収支決算書に基づき庫本幹事により説明され、承認された。
- ・繰越決算書について清水監事と橋本監事により監査され、適正であったことが橋本監事より報告され、承認された。

## 3. 第 12 期（平成 29～31 年度）評議員の選出

- ・喜多会長より、会則第 11 条に則り磯野協一（和歌山医大）、刃野善弘（阪大）、清成寛（理研）、清水何一（清水実験材料（株））、鈴木稔（塩野義（株））、成瀬智恵（京大）、宮口純一（住友テクノ（株））が選出された旨が紹介され、承認された。
- 5 名の評議員の辞退が報告され、承認された。

## 4. 第 12 期 会長、幹事、監事の選出

- ・喜多会長より近藤玄（京大）新会長が紹介され、近藤新会長より庶務・会計幹事（4 名）、集会幹事（1 2 名）、編集幹事（3 名）、監事（2 名）が紹介され、承認された。

## 5. 事務局移転および会則の改定

- ・喜多会長より会則VI.所在地 第 21 条の改正とVI. および附則に含まれていた「会則改正に関する条文」をVII. 会則 第 22 条とすることが提案され、承認された。

## 6. 平成 29 年度 事業計画（案）

- ・近藤新会長より提案され、承認された。今後、維持会員ニュースの発表者の所属・氏名を明示することとし、抄録の公開については、今後の課題とした。
- ・会報 39 号の 1 2 月発行予定が山本（編集）幹事より提案され、承認された。

## 7. 平成 29 年度予算（案）

- ・庫本（庶務・会計）幹事より提案され、承認された。

## 8. その他

- ・喜多会長より、引き続き会費未納者（個人・維持会員）への請求を続ける。会費未納者（個人）への呼びかけの協力を求めた。
- 飼養保管基準の解説書の発行予定と省庁での動物実験の実態の把握が進められていること等の情報が提供された。

## 総会の概要

第34回関西実験動物研究会総会

日時：平成29年3月3日（金）13:30～14:10

場所：京都大学 楽友会館 2階 会議・講演室

久保幹事の司会により、総会に先立ち故池田卓也先生のご冥福を祈り、黙禱が行われた。  
中井幹事により塩谷幹事が議長に推薦され、承認された。

議事および審議：

以下のとおり、塩谷議長により議事の審議が進められた。

1. 平成28年度事業報告

- ・平成28年度の事業報告が桑村幹事長より報告され、承認された。
- ・会報第38号発行について山本幹事より報告され、承認された。桑

2. 平成28年度決算報告

- ・平成28年度収支決算書に基づき庫本幹事により説明され、承認された。
- ・繰越決算書について清水監事と橋本監事により監査され、適正であったことが橋本監事より報告され、承認された。

3. 第12期（平成29～31年度）評議員の選出

- ・喜多会長より、会則第11条に則り磯野協一（和歌山医大）、外野善弘（阪大）、清成寛（理研）、清水何一（清水実験材料（株））、鈴木稔（塩野義（株））、成瀬智恵（京大）、宮口純一（住友テクノ（株））が選出された旨が紹介され、承認された。
- 5名の評議員の辞退が報告され、承認された。

4. 第12期 会長、幹事、監事の選出

- ・喜多会長より近藤玄（京大）新会長が紹介され、近藤新会長より庶務・会計幹事（4名）、集会幹事（12名）、編集幹事（3名）、監事（2名）が紹介され、承認された。

5. 事務局移転および会則の改定

- ・喜多会長より会則VI.所在地 第21条の改正とVI.および附則に含まれていた「会則改正に関する条文」をVII. 会則 第22条とすることが提案され、承認された。

6. 平成29年度事業計画（案）

- ・近藤新会長より提案され、承認された。
- ・会報39号の12月発行予定が山本（編集）幹事より提案され、承認された。

7. 平成29年度予算（案）

- ・庫本（庶務・会計）幹事より提案され、承認された。

関西実験動物研究会 維持会員名簿(平成29年度

(あいうえお順)

株式会社アイセイ
EPS益新株式会社
株式会社イナリサーチ
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
小原医科産業株式会社
オリエンタル酵母工業株式会社
株式会社オリエンタルバイオサービス
株式会社カワニシ ライフサイエンス事業部
北山ラベス株式会社
株式会社ケー・エー・シー
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
株式会社新日本科学
株式会社精研
セオービット株式会社
大日本住友製薬株式会社
テクノプラスト・ジャパン株式会社
一般財団法人動物繁殖研究所
株式会社特殊免疫研究所
株式会社夏目製作所
日精バイリス株式会社
株式会社日本医科学動物資材研究所
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
有限会社浜口動物
ハムリー株式会社
株式会社ビオスタ
株式会社ビッグバン
丸石製薬株式会社株式会社
三浦工業株式会社
株式会社美濃ラボ
株式会社レナテック

関西実験動物研究会 評議員名簿(平成29～31年度)

氏名	所 属
浅野 雅秀	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
阿部 敏男	前 株式会社武田ラビックス光事業所
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
磯野 協一	和歌山県立医科大学 動物実験施設
今井 良悦	武田薬品工業株式会社 湘南研究所
如野 善弘	大阪大学医学部 附属動物実験施設
海野 隆	医薬品非臨床安全性コンサルタント
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 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 実験動物センター
北田 一博	北海道大学大学院理学研究院
清成 寛	(国研)理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター 生体モデル開発ユニット
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 謙	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
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	京都大学ウイルス・再生医科学研究所 統合生体プロセス分野
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 生理学研究所
塩見 雅志	神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
塩谷 恭子	(国研)国立循環器病研究センター研究所 動物実験管理室
清水 何一	清水実験材料株式会社
鈴木 昇	三重大学先端科学研究支援センター 動物機能ゲノミクス部門
鈴木 稔	シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社 モデル動物生産部門
芹川 忠夫	京都疾患モデル研究所
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
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 附属動物実験施設
千葉 薫	株式会社IT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	
中村 紳一朗	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
成瀬 智恵	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
橋本 正晴	株式会社ケー・エー・シー
平川 公昭	株式会社新日本科学 大阪病理センター
星 信彦	神戸大学大学院農学研究科 応用動物学講座
真下 知士	大阪大学大学院医学系研究科 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	(国研)医薬基盤・健康・栄養研究所 開発振興部/創薬デザイン研究センター
宮口 純一	住化テクノサービス株式会社 応用動物センター研究支援部
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
宮嶋 宏彰	株式会社ケー・エー・シー
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
山本 博	富山大学医学部 ウイルス学教室
山本 好男	三重大学地域拠点サテライト 伊賀サテライト伊賀研究拠点
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29～31年度、平成29年3月現在)

	氏 名	所 属
会 長	近藤 玄	京都大学ウイルス・再生医科学研究所 統合生体プロセス分野
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
	久保 薫	奈良県立医科大学先端医学研究機構 動物実験施設
	桑村 充	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 獣医病理学
	真下 知士	大阪大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設
集 会	浅野 雅秀	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
	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
	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
	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
	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	(国研)国立循環器病研究センター研究所 動物実験管理室
	芹川忠夫	京都疾患モデル研究所
	田島 優	大阪大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設
	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
	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)	横井 伯英	神戸大学大学院医学研究科 分子代謝医学
	山本 好男	三重大学 地域拠点サテライト伊賀サテライト 伊賀研究拠点
	中井 伸子	
監 事	中村 紳一朗	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
	高木 博隆	日本エスエルシー株式会社
	橋本 正晴	株式会社ケー・エー・シー

平成28年度 収支決算書

費目	金額(円)	平成28年度予算	
		金額(円)	対比(円)
<b>繰越金</b>	<b>1,966,475</b>	<b>1,966,475</b>	<b>0</b>
<b>収入の部</b>	<b>1,617,000</b>	<b>1,795,000</b>	<b>△ 178,000</b>
<b>会費収入</b>			
普通会员 (口)	384,000 (128)	360,000 (120)	24,000
普通会员前受金 (口)	3,000 (1)	0 (0)	3,000
評議員会員 (口)	285,000 (57)	295,000 (59)	△ 10,000
評議員会員前受金 (口)	0 (0)	0 (0)	0
維持会員 (団体)	945,000 (31.5)	1,140,000 (38)	△ 195,000
維持会員前受金 (団体)	0 (0)	0 (0)	0
<b>当日参加</b> (口)	99,000 (49.5)	<b>100,000 (50)</b>	<b>△ 1,000</b>
<b>会報代金</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>預金利息</b>	<b>22</b>	<b>100</b>	<b>△ 78</b>
<b>収入計</b>	<b>1,716,022</b>	<b>1,895,100</b>	<b>△ 179,078</b>
<b>収入総計</b>	<b>3,682,497</b>	<b>3,861,575</b>	<b>△ 179,078</b>
<b>支出の部</b>	<b>503,435</b>	<b>575,100</b>	<b>△ 71,665</b>
<b>事務局経費</b>			
人件費	350,000	350,000	0
通信費	72,314	100,000	△ 27,686
事務費	28,957	50,100	△ 21,143
印刷費	52,164	75,000	△ 22,836
<b>機関誌発行経費</b>	<b>522,864</b>	<b>600,000</b>	<b>△ 77,136</b>
編集費	0	30,000	△ 30,000
印刷費(PDF化を含む)	522,864	570,000	△ 47,136
<b>集会経費</b>	<b>626,332</b>	<b>670,000</b>	<b>△ 43,668</b>
会場費	52,100	100,000	△ 47,900
講演者招待費	371,240	350,000	21,240
幹事会・評議員会	175,992	200,000	△ 24,008
アルバイト費	27,000	20,000	7,000
<b>予備費</b>	<b>0</b>	<b>50,000</b>	<b>△ 50,000</b>
<b>支出計</b>	<b>1,652,631</b>	<b>1,895,100</b>	<b>△ 242,469</b>
<b>繰越剰余金</b>	<b>2,029,866</b>	<b>1,966,475</b>	<b>63,391</b>
<b>支出総計</b>	<b>3,682,497</b>	<b>3,861,575</b>	<b>△ 179,078</b>

<参考>

年度内収支(収入 - 支出) = (1,716,022 - 1,652,631) = 63,391 円

平成29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29年度予算(案)	平成28年度決算	平成28年度予算
<b>繰越金</b>		<b>2,029,866</b>	<b>1,966,475</b>	<b>1,966,475</b>
収入の部	<b>会費収入</b>	<b>1,740,000</b>	<b>1,617,000</b>	<b>1,795,000</b>
	普通会員 (口)	360,000 (120)	384,000 (128)	360,000 (120)
	普通会員前受金 (口)	0 (0)	3,000 (1)	0 (0)
	評議員会員 (口)	300,000 (60)	285,000 (57)	295,000 (59)
	評議員会員前受金 (口)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	維持会員 (団体)	1,080,000 (36)	945,000 (32)	1,140,000 (38)
	維持会員前受金 (団体)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	当日参加 (口)	<b>100,000 (50)</b>	<b>99,000 (50)</b>	<b>100,000 (50)</b>
	会報代金	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	預金利息	<b>2</b>	<b>22</b>	<b>100</b>
<b>収入計</b>		<b>1,840,002</b>	<b>1,716,022</b>	<b>1,895,100</b>
<b>収入総計</b>		<b>3,869,868</b>	<b>3,682,497</b>	<b>3,861,575</b>
支出の部	<b>事務局経費</b>	<b>560,002</b>	<b>503,435</b>	<b>575,100</b>
	人件費	350,000	350,000	350,000
	通信費	80,000	72,314	100,000
	事務費	50,002	28,957	50,100
	印刷費	80,000	52,164	75,000
	<b>機関誌発行経費</b>	<b>600,000</b>	<b>522,864</b>	<b>600,000</b>
	編集費	30,000	0	30,000
	印刷費(PDF化を含む)	570,000	522,864	570,000
	<b>集会経費</b>	<b>700,000</b>	<b>626,332</b>	<b>670,000</b>
	会場費	80,000	52,100	100,000
	講演者招待費	400,000	371,240	350,000
	幹事会・評議員会	200,000	175,992	200,000
	アルバイト費	20,000	27,000	20,000
	予備費	<b>50,000</b>	<b>0</b>	<b>50,000</b>
<b>支出計</b>		<b>1,910,002</b>	<b>1,652,631</b>	<b>1,895,100</b>
<b>繰越剰余金</b>		<b>1,959,866</b>	<b>2,029,866</b>	<b>1,966,475</b>
<b>支出総計</b>		<b>3,869,868</b>	<b>3,682,497</b>	<b>3,861,575</b>

# 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 会員相互の情報交換・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. 所在地

- (21) 本会の所在地は京都市左京区聖護院川原町 53、京都大学ウイルス・再生医科学研究所 統合生体プロセス分野内とする。

## VII. 会則改正

- (22) 本会則の改正は評議員の議決を経て総会の承認を受ける。

## VIII. 附則

- (23) 本会則は昭和 59 年 3 月 16 日より施行する。
- (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。
- (29) 本会則は平成 29 年 3 月 3 日より施行し、平成 29 年 4 月 1 日より適用する。

平成29年12月15日 印刷  
平成29年12月15日 発行

編集兼発行者 近藤 玄  
発行所 関西実験動物研究会  
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53  
京都大学ウイルス・再生医科学研究所 統合生体プロセス分野内  
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39号

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成29年12月

### 第131回研究会：神経回路ダイナミクスへの挑戦

松尾 直毅：実験動物としてマウスを用いた記憶学習の仕組みの研究 1

山下 俊英：動物実験が支える中枢神経再生治療法の開発研究 6

〈日本実験動物技術者協会関西支部〉：動物実験に関する効果的な教育訓練について考える

樫木 勝巳・矢田 範夫：岡山大学における教育訓練に関する取り組み 9

黒木 宏二：動物実験に対する効率的かつ効果的な社内教育について考える 20

### 第132回研究会

〈一般講演〉 会員の発表 11題 21

〈トピックス〉

喜多 正和：外部検証促進のための人材育成 32

〈特別講演〉

松田 修・山本 健太・素輪 善弘・岸田 綱郎：ダイレクト・コンヴァージョンによる組織細胞の創出とマウスモデルを用いた生体内機能解析 35

友永 雅己：チンパンジーから探るヒトのこころの進化 37

### 第133回研究会：実験動物学のこれから —マウスとラットを例に—

石田 紗恵子：焦点性てんかん原因遺伝子*DEPDC5* −*Depdc5* KOラットを用いた発症機序解明研究— 43

若菜 茂晴：マウス表現型解析情報を正しく伝えるために 44

### 第134回研究会：インフルエンザウイルスの最新情報

堀本 泰介：インフルエンザウイルスの宿主間伝播メカニズム 49

古田 要介：創薬：ファビピラビル (T-705) の開発に関して 54

土屋 英明：滋賀医科大学・動物生命科学センターにおける感染動物実験（特にサルを用いた）施設の運用 55

〈トピックス〉

小山 なつ：実験動物と痛み 62

〈関西実験動物研究会だより〉 67

幹事会、評議員会、総会の議事概要 68 維持会員名簿 73

評議員名簿 74 会長、幹事、監事名簿 75

収支・予算 76 会則 78