

# 関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

令和6年12月 42号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

## 目 次

### 【第 151 回研究会 令和 5 年 3 月 17 日(金曜日) 於：大阪大学医学部講義棟 2 階 C 講堂】

#### <維持会員ニュース>

株式会社レナテック

#### <講演> テーマ：下水からの病原体検出

##### 1. 「下水からの病原体検出」

中村 昇太（大阪大学微生物病研究所）

左近 直美（地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所）----- 1

### 【第 152 回研究会 令和 5 年 9 月 22 日(金曜日) オンライン開催】

#### <維持会員ニュース>

株式会社夏目製作所

#### <講演> テーマ：人間と動物の多角的理解～福祉を進化させるために～

##### 1. 「日本人の動物観と公共政策(仕切られた動物観とタブーを超えて、動物福祉の向上を目指す)」

打越 綾子（成城大学 法学部）----- 4

##### 2. 「マウスにおける養育行動の神経基盤」

宮道 和成（理化学研究所生命機能科学研究センター 比較コネクトミクス研究チーム）

----- 13

### 【第 153 回研究会 令和 5 年 12 月 8 日(金曜日) 於：大阪大学医学部講義棟 A 講堂】

#### <会員の発表>

##### 1. 「*Filobacterium* 属菌(CAR バチルス)は特殊な菌ではない ～野生ネズミのほかペットのネコにも家畜のウシやサルにも～」

池 郁生（理化学研究所バイオリソース研究センター）----- 21

##### 2. 「肥満糖尿病モデル ZFDM ラットの糖尿病発症および脾島の遺伝子発現に対する女性ホルモンの影響」

中田千陽（京都大院・農・動物遺伝育種学分野）----- 22

#### <特別講演>

##### 1. 「関西実験動物研究会での忘れ物と麻布大学でのこれから」

中村 紳一郎（麻布大学 獣医学部実験動物学研究室）----- 23

##### 2. 「疾患モデル動物を用いた水頭症原因遺伝子 *Ccdc85c* の役割解析」

桑村 充（大阪公立大学 獣医病理学）----- 45

<トピックス>

「マーモセットの飼育管理, 特に wasting syndrome について」

井上 貴史 (公益財団法人実験動物中央研究所) ----- 51

**【第 154 回研究会 令和 6 年 3 月 1 日(金曜日) 於：京大楽友会館】**

<維持会員ニュース>

株式会社夏目製作所

<講演> テーマ：脳の進化

1. 「ノックアウトマウスで解明する、高次脳構造進化における長鎖非翻訳 RNA の役割」

鈴木 美穂 (名古屋大学医学系研究科・腫瘍生物学講座 ----- 60

2. 「フェレットを用いた脳の発生と進化の分子メカニズムの解析」

河崎 洋志 (金沢大学医学部 脳神経医学教室) ----- 64

<トピックス>

「動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane のオープンソース開発」

岡村 浩司 (国立成育医療研究センター システム発生・再生医学研究部・組織工学研究室)

----- 67

関西実験動物研究会 幹事・評議員・維持会員名簿----- 72

**【第 151 回研究会 令和 5 年 3 月 17 日(金曜日) 於：大阪大学医学部講義棟 2 階 C 講堂】**

テーマ：下水からの病原体検出

<講演>

1. 「下水からの病原体検出」

中村 昇太（大阪大学微生物病研究所）

左近 直美（地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所）

# 下水からの病原体検出

左近 直美／中村 昇太

(大阪健康安全基盤研究所／大阪大学微生物病研究所)

## はじめに

1940年代、Dr. JR Paul と Dr. JD Trask により感染性のポリオウイルスが下水に存在することが証明された<sup>1,2)</sup>。その後、培養細胞での分離が可能となると、下水からのポリオウイルスの検出は高感度であり、感染症対策の指標として国際基準となっている。腸管で増殖し、便に排泄される病原体が下水サーベイランスの対象となり、感染源対策へと活かされてきた。そのため、パンデミックの原因 SARS coronavirus-2 (SARS CoV-2)が下水から検出され患者発生動向とよく連動しているという報告は<sup>3)</sup>、下水サーベイランスの新たな可能性を示し、感染症疫学に大きなインパクトを与えた。患者を基本とする疾患サーベイランスに対し、下水サーベイランスは感染者の受診行動や検査数に左右されず全年齢層をカバーし不顕性感染を含むデータを得ることが可能と考えられる。病院設備や下水設備の整備が遅れている地域においても、環境サーベイランスが実施されることで感染症の流行把握につながる。そのため、疾患の拡大傾向、薬剤耐性菌など水面下での拡散把握につながることを期待されている。

## 下水からの病原体検出

都道府県又は指定都市に設置されている地方衛生研究所では予防接種法に基づき、感染症流行予測調査を実施しているが、その中に下水を用いた感染源調査も含まれ、現在ポリオと新型コロナが対象となっている。2013年以降はポリオワクチンが不活化されたことから、下水中のポリオウイルスは野生株、ワクチン株ともに検出されない状況を証明している。2024年度から新たに新型コロナが対象となった。現在のところ、前者は16都道府県が後者は12県が実施している。

公的な下水調査としてはこの2つであるが、下水に多くの病原体が存在する事は想像に難くない。多くの感染症に対する公衆衛生の潜在的手段として考慮されるべきであるが、疾患との関連性や病原体の特性をふまえて検出対象を決めなければいけない。そこで大阪大学微生物病研究所と大阪健康安全基盤研究所(大安研)は大阪大学 COI-NEXT における感染症インフラ対策としての下水の活用に取り組んできており、各種病原体の検出・データ蓄積およびその評価と早期探知の可能性について研究している。具体的には新型コロナに加えてインフルエンザ、RSウイルス感染症といった感染症発生動向調査において患者報告数が集計される疾患を用い、患者を基本とする感染症対策を補完する活用を模索している。また、2025年度に開催される大阪・関西万博は国際的マスコギザリングであり、半年開催されることから、感染症への影響が懸念される。そこで、流行性疾患への影響や輸入感染症の探知を下水サーベイランスによって評価することを新たな目標として開始した。また大阪公立大学は空の玄関となる関西国際空港の下水調査に取り組んでいる。このように大阪では大阪大学、大阪公立大学、大安研の3機関が協働しマクロ感染症学\*に資する新たな感染症インフラとして下水サーベイランスの構築に挑戦している。

\*: 感染症を社会の疾患としてとらえ、理系・文系、産官学の総合知による対策を考える感染症学

### メタゲノム解析による病原体探索

微生物病研究所の感染症メタゲノム研究分野では、次世代シーケンズ技術を用いた網羅的な病原体探索法に取り組んでいる。本手法は、病原体ごとに異なる処理をすることなく、臨床検体中の遺伝情報を網羅的に探索するため、全ての既知の病原体はもちろん、未知の病原体も検出・同定し得るものである。また、複数の病原体(共感染例)を同時に検出することもでき、検出と同時に病原体の遺伝情報が得られるため、遺伝子型のタイピング、遺伝子変異や薬剤耐性遺伝子の存在についても同時に把握できる可能性がある。具体的には、咽頭ぬぐい、血液、糞便といった臨床検体から抽出した核酸を次世代シーケンサーにて網羅的に解読し、解読された塩基配列について相同性検索を行うことで、臨床検体中に存在する病原体を明らかにする手法である。これまでに我々は、下痢症患者の糞便検体から *Campylobacter jejuni*<sup>4)</sup> や *Norovirus* の検出<sup>5)</sup>、培養法にて陰性の心内膜炎患者の大動脈弁から *Streptococcus sanguinis* の検出<sup>6)</sup>、急性呼吸不全患者の喀痰から *Streptococcus pneumoniae* と human metapneumovirus の共感染の検出<sup>7)</sup> に成功するなど、感染症メタゲノミクスにより様々な病原体の探索に取り組んできた。

メタゲノム解析はもともと環境中の微生物探索として使われてきた手法論であり、深海や土壌のウイルスや細菌の探索が行われてきた。最近では微生物だけでなく環境中の絶滅危惧種など生物多様性の探索にも使われている。そして SARS CoV-2 のパンデミック以降、感染症疫学としての下水サーベイランスのメタゲノム解析が注目されている。北カリフォルニアのアラメダ群とマリオン群の排水処理施設で行われた研究では、RNA を標的としたメタトランスクリプトーム解析により、SARS CoV-2 以外にもヒトボカウイルスやピコルナウイルスを網羅的に検出している。また解析した全サンプル中の 31% から SARS CoV-2 ゲノムのほぼ完全なゲノム長 (95%) を得ることに成功しており、下水中から検出された一塩基変異は臨床検体から観察された変異と一致していた。大阪府での下水サーベイランスにも、このメタゲノム解析による網羅的な病原体探索法を組み入れ、新たな感染症疫学体制の構築に取り組んでいる。

### おわりに

下水サーベイランスは地域社会の健康を監視するための環境アプローチである。データ蓄積、解析方法、情報還元などまだ課題が多い分野であるが、感染症対策として活用できるよう貢献していきたい。

### 文献

1. Paul JR, Trask JD, Gard S. II. POLIOMYELITIC VIRUS IN URBAN SEWAGE. J Exp Med. 1940 May 31;71(6):765-77. doi: 10.1084/jem.71.6.765. PMID: 19870997; PMCID: PMC2135110.
2. Trask JD, Paul JR; Technical Assistance of John T. Riordan. PERIODIC EXAMINATION OF SEWAGE FOR THE VIRUS OF POLIOMYELITIS. J Exp Med. 1942 Jan 1;75(1):1-6.

- doi: 10.1084/jem.75.1.1. PMID: 19871161; PMCID: PMC2135222.
3. Polo D, Quintela-Baluja M, Corbishley A, Jones DL, Singer AC, Graham DW, Romalde JL. Making waves: Wastewater-based epidemiology for COVID-19 - approaches and challenges for surveillance and prediction. *Water Res.* 2020 Nov 1;186:116404. doi: 10.1016/j.watres.2020.116404. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32942178; PMCID: PMC7480445.
  4. Nakamura S, Maeda N, Miron IM, Yoh M, Izutsu K, Kataoka C, Honda T, Yasunaga T, Nakaya T, Kawai J, Hayashizaki Y, Horii T, Iida T. Metagenomic diagnosis of bacterial infections. *Emerg Infect Dis.* 2008 Nov;14(11):1784-6. doi: 10.3201/eid1411.080589. PMID: 18976571; PMCID: PMC2630750.
  5. Nakamura S, Yang CS, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. *PLoS One.* 2009;4(1):e4219. doi: 10.1371/journal.pone.0004219. Epub 2009 Jan 19. PMID: 19156205; PMCID: PMC2625441.
  6. Imai A, Gotoh K, Asano Y, Yamada N, Motooka D, Fukushima M, Kanzaki M, Ohtani T, Sakata Y, Nishi H, Toda K, Sawa Y, Komuro I, Horii T, Iida T, Nakamura S, Takashima S. Comprehensive metagenomic approach for detecting causative microorganisms in culture-negative infective endocarditis. *Int J Cardiol.* 2014 Mar 15;172(2):e288-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.12.197. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24485222.
  7. Seki M, Yoshida H, Gotoh K, Hamada N, Motooka D, Nakamura S, Yamamoto N, Hamaguchi S, Akeda Y, Watanabe H, Iida T, Tomono K. Severe respiratory failure due to co-infection with human metapneumovirus and *Streptococcus pneumoniae*. *Respir Med Case Rep.* 2014 Mar 15;12:13-5. doi: 10.1016/j.rmcr.2013.12.007. PMID: 26029528; PMCID: PMC4061431.
  8. Crits-Christoph A, Kantor RS, Olm MR, Whitney ON, Al-Shayeb B, Lou YC, Flamholz A, Kennedy LC, Greenwald H, Hinkle A, Hetzel J, Spitzer S, Koble J, Tan A, Hyde F, Schroth G, Kuersten S, Banfield JF, Nelson KL. Genome Sequencing of Sewage Detects Regionally Prevalent SARS-CoV-2 Variants. *mBio.* 2021 Jan 19;12(1):e02703-20. doi: 10.1128/mBio.02703-20. PMID: 33468686; PMCID: PMC7845645.

**【第 152 回研究会 令和 5 年 9 月 22 日(金曜日) オンライン開催】**

テーマ：人間と動物の多角的理解～福祉を進化させるために～

<講演>

1. 「日本人の動物観と公共政策（仕切られた動物観とタブーを超えて、動物福祉の向上を目指す）」

打越 綾子（成城大学 法学部）

2. 「マウスにおける養育行動の神経基盤」

宮道 和成（理化学研究所生命機能科学研究センター 比較コネクトミクス研究チーム）

# 日本人の動物観と公共政策

## (仕切られた動物観とタブーを超えて、動物福祉の向上を目指す)

打越 綾子  
(成城大学 法学部)

### はじめに

本日は、関西実験動物研究会にて話題提供をさせていただく機会を賜り、誠にありがとうございます。本業は、行政学や公共政策といった社会科学系の研究をしておりますが、その延長で、動物に関わる公共政策の研究をしていることから、本日の研究会にお招きを受けたのだと思っております。そこで、今回は動物実験そのものに関わる話題から少し視野を広げて、動物に関わる社会的な論議を、改めて整理したいと思います。

さて、1999年に動物愛護管理法が成立してから20年以上が経ちました。「ペットは家族の一員」であり、動物愛護の気風は日本全国に溢れています。飼い主のいない犬や猫の命を救おうと保護犬・保護猫を譲り受ける人々も増えており、動愛法が制定された時には56万2000頭であった犬や猫の年間致死処置数は、2021年度には1万4000頭、実に40分の1に減少しました。「動物の命を大切に」という教育も、各地で熱心に行われています。

とはいえ、人と動物との関係を冷静に考える際には、多種多様な位置づけの動物のことを考える必要があります。愛玩動物（家庭動物）に限らず、野生動物、動物園動物、実験動物、畜産動物……。改めて考えてみれば、人間の暮らしに関わっている動物は、私たちが日常的に意識している以上に多岐にわたります。関わる公共政策も、動物愛護管理政策、自然環境保全政策、観光政策、教育政策、医療・薬事政策、農林漁業政策、食糧政策……と様々です。

### 1. 現代日本の動物観（仕切られた動物観）

ところが私たちは、自分の日常的な関心や専門を超えた動物をめぐる課題については、平日頃あまり考えないか、つい単純化して考えてしまいます。

動物愛好家であれば、犬や猫などの身近な動物については、その命を絶つことを悲しいこと、残酷なことと見なす傾向があると思います。しかし、そうした人々であっても、自らの暮らしの中で直接的に見えない動物については、その命を絶つことに無関心であることが多いです。

例えば、私たちが医療や科学の進歩によって安全・安心で豊かな生活を享受できるようになったのは、数限りない実験動物のおかげです。部活動で子どもが骨折した時の治療方法も、生理痛に悩む女性の身体のメカニズムも、加齢に伴う関節痛や認知症の予防方法も、すべて医療や科学

の進歩を目指してきた過去の動物実験の蓄積の上に構築されています。しかし、犠牲になってくれた動物の苦痛に思いを馳せ、感謝と慰霊の気持ちを持って自分の健康管理をする一般市民はどれだけいるのでしょうか。むしろ一般市民が気付きもしないところで実験動物への配慮を重ねているのは、動物実験に携わる人々です。その恩恵を日常的に受けているのが私たち一般の患者や消費者なのですが、動物実験の意義を理解している人は非常に少ないと思います。それどころか、動物実験反対というSNSの書き込みを見ることもしばしばです。

さらに言えば、愛情を込めて犬や猫の世話をする飼い主が頼りにする獣医療、つまり各種のワクチンや治療薬も、犬や猫の命を犠牲にしてきた動物実験の成果物であるということ意識さえない人が多いと思います。同じ動物種であっても、位置づけが異なれば思考の中から外れてしまうわけです。

また、現代社会において、私たち人間が動物性タンパク質を摂取しない日はほとんどありません。つまり、畜産動物は、あまねく人々にとって身近な存在、まさに私たちの身体を作っている存在です。肉や魚、卵や牛乳を一切食べない日はほとんどありませんし、それらを直接的に摂取していない日であっても菓子類やパンには卵や牛乳が使われています。加工食品の多くにはチキンエキスやラードなどが使われていることが多いです。つまり、畜産動物たちは、どんな動物よりも大量の犠牲を、そしてどんな動物よりも直接的に命を犠牲にしてくれている存在です。たとえ自分が食さなくても、自らを支えてくれる周囲の友人や様々な職業の人々のほとんどが動物性タンパク質を摂取して暮らしています。さらに、人間が飼育する動物たちの飼料・フードの原料にもなっています。これだけお世話になっているにもかかわらず、畜産動物の飼育環境に関心を持つ人々は、犬猫に関心を持つ人々に比べてごく僅かです。

こうした状況を、私は「仕切られた動物観」と呼んでいます。この「仕切られた動物観」は、「仕切られた関心」と「仕切られた専門知」の2つから構成されています。

まず「仕切られた関心」とは、ここまで述べた通り、自分が関心を持つ立場の動物以外には、さほどの関心を持たないという意味です。そして「仕切られた専門知」とは、それぞれの位置づけの動物ごとに学問体系があり、長らく蓄積されてきた専門知や技術が重要視されているという意味です。動物が対象である限り、獣医学が全ての分野に関わっているのは確かですが、職業としての獣医師は、それぞれの仕切りの中の動物の取り扱いには詳しくとも、仕切りを超えた分野については、互いにあまり情報を持っていないと思います。そもそも学問の専門分化が進んでおり、生物に関連する学問分野も、例えば生態学、動物園学、実験動物学、畜産学など異なる体系で総合的に構築されています。その専門知の上に、法制度や実務の担い手、管轄する省庁や自治体の担当部局が区切られています。そのため、仕切りを超えて動物のことを語ろうとすると、乗り越えた相手先の関係者から「無用の混乱を引き起こす」と批判・反発を受けがちです。

## 2. 動物への配慮を求める議論

### 【動物への配慮の主張】

上記の「仕切られた動物観」に対して、近年、動物愛護論、動物の権利論、動物福祉論など、既存の枠組みを超えて、横断的に動物への配慮を求める議論が高まりつつあります。

動物愛護論とは、動物を愛おしむことを是とし、動物の虐待を防止し、動物の適正飼養を通じてその命や安寧を守ろうとする議論です。19世紀のイギリスにおいて、下流階級の者が馬車の馬や猟犬を粗雑に扱う様子を批判して、上流階級が動物虐待防止運動を開始したのが最初と言われています。しかし、日本における動物愛護論はもっと歴史が古いかもしれません。もともと仏教による殺生禁止の文化の中で、様々な飼育動物を慈しむ教訓が刻まれ、庶民の間では動物の命を絶つことを忌避する意識が根付いてきました。近年は犬や猫を家族の一員として愛情を込めて育てることを目指す議論となり、些か情緒的と言われることもありますが、それが多くの日本人の平均的な価値観であると思います。ただし、現実には様々な動物の命を利用・犠牲にしていることを直視すると、議論が行きづまってしまいます。

他方、動物の権利論とは、動物は、人間の権利の客体ではない、つまり人間と同様に権利の主体であると位置づけます。そもそも動物の権利論は、人間と動物の間に明確な線引きはできないという前提に立ちます。例えば、ヒトとチンパンジーの遺伝子は非常に近いと言われます。また、言語によるコミュニケーション能力を基準に線引きしようとしても、重度の知的障害者や認知症患者を支える仕組みが大切であるように、動物の意思を尊重することが必要であって、何故人間だけが特別扱いされるのかと動物の権利論は疑問を寄せていきます。そして人間も動物も、生命の危険、痛みやストレスを感じる能力は同じであるからには、人間が一方向的に動物を利用することは種差別主義であるとし、動物の利用を否定する運動へと発展していきます。人間が動物を利用して彼らの権利を侵害するのは、今すぐにやめねばならないと説くわけです。しかし、こうした発想で個人的に肉食や動物実験を拒否できても、経済社会全体では多くの人々の賛同は集められないことでしょう。

第3の道は動物福祉論です。この議論によれば、人間が動物を利用する現実を許容した上で、動物も苦痛を感じる力を持っていると考えます。そこで、動物が活着している限り、合理的な必要性のない苦痛を最大限に除去すべきとし、動物の利用や犠牲のために命を絶つときには、可能な限り苦痛を軽減する努力をすると唱えます。そして、生前の動物の福祉、つまり動物の肉体的・精神的な健康を保つため、その動物本来の習性や能力を尊重すべきと主張します。この動物福祉論は、動物の本来の行動や、苦痛やストレスに関わる科学的、専門的な知識や判断力を求める議論です。ただし、人間に都合の良い部分で、動物の利用や犠牲、つまり殺処分や肉食を認めるため、動物の権利論から見れば中途半端という批判を受けることになります。

このように、それぞれに力点や温度差がありますが、「動物への配慮」「動物の取り扱いの改善」「動物の立場の尊重」を主張する点も、如何なる位置づけの動物に関しても現状の問題点を

指摘する点も共通しており、動物への配慮を重視した議論であることには違いありません。

#### 【動物への配慮と人間への配慮】

しかし、動物への配慮を求める議論が人道的な内容であるとしても、その主張を展開するだけで、長きにわたり構築されてきた仕切りごとの状況を改善できるものではありません。また、単にそれぞれの仕切りの中で発達してきた専門知や実務を否定しても、動物への配慮を考慮した社会を実現できるものではありません。

そして、動物への配慮を最優先にする主張は、異なる価値観の人間同士の対立を増幅する可能性があります。例えば、憧れを込めて野生動物の保護を主張する人々の中には、都会で便利な生活を享受しているため、野生動物に農作物を荒らされた農家の悔しさを実感できていない可能性もあります。また、動物実験反対とSNSに書き込む人は、難病の我が子の治療方法の開発を待ちわびている両親を悲しませているかもしれません。あるいは、「動物園の動物は狭い檻の中で暮らしていて可哀想だ」と善意のつもりで発言する人は、限られた予算・施設の中で、精一杯の愛情を持って動物を飼育している人々を傷つけているかもしれません。そして、保健所に引き取られた犬の致死処置に反対する善意のボランティアや政治家の声は、攻撃的で高齢者や子どもに噛みつき事故を起こすリスクのある犬の取り扱いをめぐって、現場の自治体職員を板挟みにさせ、結果として狭いケージでの飼育をただ長引かせているかもしれません。

動物への配慮のある社会を実現していくためには、まずは視野を広げて、人と動物の関係がどれだけ多岐にわたるか、知識や想像力を持つ必要があります。そして、動物に関わる人間同士が互いの立場を理解し、丁寧に話し合う必要があります。犬や猫の保護活動に関わる人々が如何にして行政と協力していくか、野生動物による農業被害問題を都市と農村の意識の齟齬を超えてどのように解決していくか、有限な予算の中で飼育員の待遇を底上げしながらどうやって動物園の運営を行うか、新たに発生している病気の治療方法や患者の立場をどう考えるか、家畜の飼育環境の改善とコスト上昇について生産者と消費者がどこまで認識を共有できるか。動物への配慮と人間への配慮を同時に考えていく発想を社会全体に広げていく、それが大切であろうと考えています。

### 3. 動物の致死処置をめぐる課題

#### 【日本での議論や制度の不足】

ところで、日本の動物政策全般について研究していると、動物の命を奪う場面についても考えることになります。

もちろん、動物の命を大切にするという価値観を否定する人はいません。日本に限らず世界各国で、犬や猫を家族や心の友と見なして大切に飼養する人々が多いです。戦火の中でも動物の命を守ろうとする人々の姿が、国を超えて多くの人々の共感を得る時勢です。

とはいえ、肉食や動物実験などの人間側の社会的な要請のために、そして動物自身の苦痛の除去のために、人間が動物の致死処置を行う場面も、現実にはしばしばあるのです。だからこそ人類は、作業する人間の安全を確保し、かつ動物の苦痛を最小限にするために、動物の致死処置に関わる様々な技術を発展させてきました。

特に、欧米諸国のような肉食文化を持つ地域においては、動物の命を絶つことを前提に広く社会が構築されてきています。そこでは、生前の動物福祉（それぞれの動物の習性に応じて身体的・精神的に良好な環境を確保すること）を追究し、また命を絶つ際に苦痛の少ない方法をとるための研究が蓄積されています。その結果、分野横断的な獣医学による基準、広く認知されたガイドライン、各組織での手続きやマニュアル、大学における教育カリキュラムなども整備されています。つまり、動物の殺し方に関する仕組みや教育方法が整っているわけです。しかも、それらの策定には倫理学や心理学などの様々な分野の研究者が学際的に参画し、作業従事者の立場や葛藤についても詳細な検討がなされてきました。

例えばアメリカの獣医学会は、動物の致死処置に関する3つのガイドラインを作成しています。それは、安楽死処置、緊急時の集団殺処分、屠畜の3つで、作業を行う際に考慮しなければならない様々な課題を列挙しています。動物の死のメカニズム、与える苦痛やストレス、作業する人間側へのケア、鎮静や麻酔の方法、死の確認、死体の廃棄に至るまで、事細かに注意点が挙げられています。また、飼い主のいる伴侶動物の安楽死、シェルター等での犬猫の致死処置、実験動物の安楽死処置、動物園動物の安楽殺、野生動物の捕獲と駆除、家畜伝染病発生時の緊急殺処分など、場面や位置づけごとに注意すべきことも記載されており、その手法についても銃や機械による物理的手法から薬剤等による化学的手法まで、さらに動物種ごとの配慮点まで細かく記されています。

しかし日本では、宗教的・文化的な背景や情緒的な観点から、動物の命を絶つこと自体がタブーとされてきました。つまり「動物の命を絶つのは悪いこと」という風潮が根付いてきました。現実には、近代以降の肉食文化や科学研究の進展とともに動物の命を絶つことが必然化していても、動物の致死処置そのものについて議論や研究を進めてきませんでした。また、その作業を担う人々の立場や葛藤も表立って議論されないままでした。その象徴が、屠畜をめぐる職業差別問題であったとも言えましょう。動物実験の関係者が、自分の仕事の内容を外部に話せないというのも、よく聞くところです。

そして、動物の致死処置に関する公的な指針や専門家によるガイドラインも十分に作成されてきませんでした。例えば、動物愛護管理法第40条に「動物を殺さなければならない場合には、できる限りその動物に苦痛を与えない方法によってしなければならない」とありますが、国が発出した「動物の殺処分方法に関する指針」は、1頁のみの短い文書です。詳細なガイドラインとしては、内閣官房の専門委員会と日本獣医師会が編纂した「動物の殺処分方法に関する指針の解説」（1996年）がありますが、社会的には認知されないままです。

最近の動きとして、環境省による「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解

説」(2017年)や「特定外来生物被害防止基本方針」(2022年)があり、ここにきてようやく動物の致死処置に関する考慮点や、研修や訓練の必要性が議論されるようになってきました。農林水産省も、これまで民間団体の畜産技術協会が作ってきたガイドラインを参考に、農場内での殺処分に関してアニマルウェルフェアに配慮することを指針として掲げました。とはいえ、こうした議論も緒に就いたばかりです。

もちろん、動物の命を絶つことは是非かという根本的な議論に立ち返ることも必要です。しかし現実を見据えれば、是非の問題を超えて、私たち日本人も数限りない動物を致死処置する社会で生きています。にもかかわらず、如何にして動物の命の始末を付けるかという課題に、これまで社会全体として責任を持って向き合ってきたわけではなかったわけですね。結果として、今まさに各方面で課題や苦悩が発生している状況です。

#### 【動物の致死処置をめぐる現場の課題】

所有者のいる家庭動物に関しては、獣医療の高度化と終生飼養の定着により、その寿命は延びています。しかし、終末期の動物のQOLは著しく低下することもあり、飼い主の精神的・肉体的・経済的負担も大きくなっています。時には苦痛からの解放のために動物を安楽死させる方がよい状況もあり得ますが、飼い主にはその判断が付き、動物病院側も、風評被害や訴訟リスクなどを考慮し、この問題を回避しがちです。そして、獣医師とは犬や猫の命を救う職業だと考えて獣医学部に入学した学生たちが、臨床の獣医師になる手技を磨くために必要となる致死処置を伴う様々な実習に適合できないケースが各方面で散見されています。

同じ犬や猫であっても、所有者のいない犬や猫が自治体の保健所に引き取られた場合、その致死処置には批判が寄せられることが多いです。もちろん健康で飼いやすい犬や猫であれば既に積極的に譲渡活動が進められていますが、中には高齢であったり重篤な病気を抱えていたり、攻撃的な気質を持つ動物もいます。これらの動物を一般家庭に譲渡して、高額な治療費用を掛けさせたり、高齢者や幼い子どもに大けがを負わせたりする結果になれば、犬や猫の譲渡活動も頓挫しかねません。したがって、譲渡に適さない動物の致死処置が必要になることもあります。それは、決して保健所に責任があるわけではありませぬし、むしろ社会的要請による職務上の作業と言えましょう。それでも「殺処分」されるとなると、各方面から悲しみの声だけでなく、心ない非難まで寄せられるため、それを回避しようと保健所の施設内でケージ飼育を長期間続ける自治体も散見されるようになりました。しかし、有限の公的予算では、十分なケアを施すこともできません。つまり、譲渡に適さない動物をどうすべきなのか、本来ならば議論を始めなければならないはずで、2019年の動物愛護管理法改正においては、動物の致死処置方法の国際動向について調査研究することが付帯決議されています。

動物園や水族館の動物についても、議論が揺れています。高齢で重篤な病気になった場合には、安楽殺の方が動物福祉に適う可能性もありますが、人気動物の場合は外部からの批判の声が予想されて、動物園側も強いプレッシャーを感じます。そもそも外部からの批判が来なくて

も、本来ならば野生動物は自然死を迎えるまで生きようとする本能を持っているわけで、安楽殺の決断が難しい場面も多いと聞きます。他方で、大型の肉食獣から鳥類・は虫類まで多種多様な動物に応じた十分なケアができないもどかしさもあり、担当者は苦悩や葛藤を抱えることとなります。世界動物園水族館協会の動物福祉戦略は、様々な事情による安楽殺について記載しており、日本でもルールや基準について検討すべき時機を迎えています。

野山に生息する野生動物は、これまでも狩猟の対象でした。鮮度の良い獣肉を得るためにも、捕獲すれば手際よく作業して、可能な限り苦痛やストレスを与えないのが基本です。しかし、人間の経済社会活動に被害を及ぼす鳥獣や、本来の生態系を乱す外来生物に関しては、人間が捕獲して（つまり、動物の行動の自由を奪う檻や罠による管理下に捕らえて）命を絶つまでにタイムラグが発生しがちです。被害防止に向けて檻や罠を多数設置したものの見回り作業が不徹底であると、錯誤捕獲や動物の怪我だけでなく、餓死・脱水による死などが発生し、より非人道的な結果となりかねません。そして、野生動物の取り扱いに関して全国各地で専門的人材や予算が不足しており、有害鳥獣や外来種の捕獲後の殺処分が現場任せになっている地域もあります。また、これらの作業を行う担当者への技術研修や精神的ケアも不足しています。

動物実験の分野では、グローバルな基準による知見が蓄積され、教科書や解説書にも手厚い記述があります。つまり、動物の致死処置に関しては、その苦痛を最大限に抑えるために日々訓練がなされ、経験が積み重ねられてきた分野です。とはいえ、そうした努力については一般市民にはほとんど知られておらず、動物実験に対する理不尽な非難と、専門家側からの情報発信の不足とが相まって、社会的理解が醸成されていない状況にあります。また、より詳細に状況をひもとくと、動物福祉の観点からの人道的エンドポイント（研究データを取るために観察を継続するのではなく、動物の苦痛に鑑みて致死処置をして研究を終わりとすること）の判断は時に難しいとされます。科学研究上必要な実験であっても、侵襲性の高い（苦痛の大きな）実験を行うときの従事者の精神的な葛藤を吐露する場も確保されにくいです。犬や猫を用いた場合は、実験終了後に致死処置するのか、それとも譲渡するのか（終生の飼い主を探すか）方針が流動化しており、関係者の間で迷いや戸惑いが発生することもあります。

最後に、畜産動物・産業動物についてですが、食肉に加工するための屠畜技術は長きにわたり蓄積されてきました。とはいえ、その前段階の輸送や保管時の取り扱いについて欧米諸国での水準が上がりつつあり、日本国内でも議論になる可能性があります。さらに昨今、口蹄疫や豚熱などの家畜伝染病の発生により、蔓延防止に向けた農場での緊急的な大量殺処分が急増しています。慣れない作業者のPTSDも深刻であり、平時からの研修や精神的ケアが必要となっています。

#### 【動物の致死処置を見据える必要性】

もちろん、家庭動物や動物園の動物など、基本的に終生飼養を前提にしている動物は、天寿を全うできるように日頃のケアや治療を施すことがもっとも大切です。それでも致死処置の可能性

さえ議論できないと、経済的あるいは労力的な余裕がない中で動物のQOLが著しく低下したときに、動物を苦痛から解放するための最終的な獣医療のツールがないことになります。

また、飼育環境の限界のため、動物実験や肉食のため、生態系を守るため、農業被害を防ぐため、家畜伝染病を拡大させないため、つまり人間側の様々な事情に基づいて致死処置をせざるを得ない場面も厳然として存在しています。そのときに、動物の命を絶つことへの批判ばかりが高じれば、苦痛の少ない致死処置を行うための予算や設備、人員の確保に向けた議論を水面下に封じ込めてしまうかもしれません。

それでは、動物の致死処置について、具体的になにを議論・検討すべきでしょうか。まず、安楽死や殺処分といった概念が整理されておらず、関係者の中で議論のすれ違いが発生している状況を解きほぐしていく必要があります。先に各場面における致死処置について、あえて安楽死、安楽殺、殺処分、屠畜……と不揃いの表現をそのまま用いました。それらが、人間側の社会的要請による致死処置なのか、動物自身の苦痛からの解放のための致死処置なのか、法令上の用語に則っているだけなのか、議論のすれ違いを克服するには概念の整理が必要になってきます。

次に、動物の致死処置の必要性が社会的に理解されていない場合には、理不尽な批判が発生しやすくなります。いわれなき非難を生まないためには、他の選択肢の可能性や社会的コストを十分に検討し、また動物を愛する一般の人々の気持ちを尊重した上で、その感情をいたずらに刺激することなく、しかし致死処置の必然性について言葉を尽くして情報発信していく必要があります。その場合にも、動物になるべく苦痛を与えないための努力が求められ、また根拠についても一つ一つの質問に答えられるような準備、基準やチェックリストなどを用意しておく必要があります。

そして、拠るべき基準がないまま、専門的な研修や技術の訓練が不足しているのも（動物実験以外の全ての分野で）共通した課題です。予算、必要な設備や薬剤、時間、人員等が不足しているなどの理由で苦痛の少ない致死処置方法を採用できない場合に、関係者が不安やストレス、時に逡巡や後ろめたさを抱えるのも皆同じです。ならば、致死処置の手法について真剣に検討するとともに、予算や人員確保の必要性について、全国の研究施設や自治体でどのような立論をするかをも考える必要があります。

## おわりに

動物福祉論は、2つの視点を持っています。1つは「生きている動物の飼育環境を本来の習性に応じて改善し、動物の健康を守りストレスを軽減する」という視点、もう1つは「動物の命を絶つ場合には、その苦痛を可能な限り軽減する」という視点です。つまり、命を絶つことを想定する動物福祉の議論は、必ずしもきれい事では終わりません。私たち人間は、動物の前に誰一人として善人ではいられないわけです。動物への配慮と感謝と懺悔の気持ちを、それぞれの立場に応じて日々持ち続けるしかないと思います。

皆様にも、他分野との交流を通じて、改めて人と動物の関係を多面的に思考し、動物への配慮と人間への配慮を同時に意識した社会の構築にお力添えを賜りたいと思います。

ご静聴、ありがとうございました。

# マウスにおける養育行動の神経基盤

宮道 和成

(理化学研究所 生命機能科学研究センター 比較コネクトミクス研究チーム)

## 要旨

哺乳類の幼弱個体にとって、親個体から受ける養育は心身の健康な発達に重要な役割を果たす。しかし養育行動は重労働でもあるため、いつでも発動するわけではなく、多くの種において自身の子が期待される時期になると子への親和性が増すような可塑的变化が生じる。マウスはこのモデルとして好適である。本稿では、幼弱マウスに対する攻撃行動と養育行動とを制御する大脳辺縁系神経タイプとその回路に関する現在の理解を概説する。続いて、性ステロイドホルモンであるエストロゲンと神経ホルモンであるオキシトシンを中心に、親になる移行期の行動可塑性を制御する分子・細胞・神経回路メカニズムの理解における最近の進捗について議論する。

## 導入

脳には可塑性があり、ライフステージに応じて行動を柔軟に変化させることができる。例えば、雄マウスやある系統の雌マウスは、子マウスに対して攻撃的な行動を取り、殺害することもある。子殺しは、限られた資源をめぐる潜在的な競争を減少させ、加害者の子孫の生存率を高める適応的行動と解釈される<sup>1</sup>。また、被害者の母親の生殖復帰を促進することで交尾の機会を増やす意味があるとも解釈される<sup>2</sup>。しかし、自身の子が誕生する時期が近づくと、子殺しは抑制され、子に対する養育行動が促進される<sup>3,4</sup>。げっ歯類の養育行動には、巣作り、散らばった子を巣に回収して環境の危険から守る回収行動、体温調節のために子の上にしやがむ行動などが見られる。これらの行動のうち、回収行動は養育行動の定量的指標として広く用いられてきた<sup>5</sup>。数十年にわたるげっ歯類の研究から、子に対する攻撃行動と養育行動とは、それぞれ異なる大脳辺縁系の神経タイプによって制御されていることが示されている。

## 子殺しや養育行動に関与する辺縁系の神経細胞

Numan らの先駆的な研究により、ラットの母性養育行動における内側視索前野 (medial preoptic area, MPOA) の重要性が確立された<sup>6</sup>。その後の研究で、マウスの養育行動に MPOA が重要な役割を果たすことが確認された<sup>7</sup>。Wu らは、遺伝子発現によって定義される細胞タイプのレベルで MPOA の研究を展開し、ガラニンを発現する MPOA<sup>Gal</sup> ニューロンが母性養育行動後に神経活性化マーカー c-Fos を高頻度に発現することを見出した<sup>8</sup>。MPOA<sup>Gal</sup> ニューロンを遺伝学的に除去すると、養育行動の深刻な障害をもたらした。逆に、性未経験の雄マウスにおいてこれらのニューロンを光遺伝学的に刺激すると、子への攻撃行動が緩和された。Kohl らによるその後の研究では、MPOA<sup>Gal</sup> ニューロンの入出力神経回路が明らかにされ、フェロモンシグナルの伝達、神経ホルモンの分泌、モノアミン作動性シグナルの媒介に関与するさまざまな辺縁系構造との間に、広範な相互結

合が見出された<sup>9</sup>。さらに、MPOA<sup>Gal</sup>ニューロンは、腹側被蓋野 (ventral tegmental area, VTA) や内側扁桃体 (medial amygdala, MeA) など、異なる脳領域を標的とするいくつかの異なる投射型から構成されていることがわかった。これら MPOA<sup>Gal</sup>ニューロンのサブタイプは、量的に異なる入力を受け、子への運動出力、養育行動の動機づけ、成獣との社会的交流の抑制など、養育期を特徴づける特定の役割をそれぞれ果たすようだ。これらの一連の研究によって、MPOA<sup>Gal</sup>ニューロンは、雌雄双方において養育行動制御のハブとして働くと考えられている (図 1)。

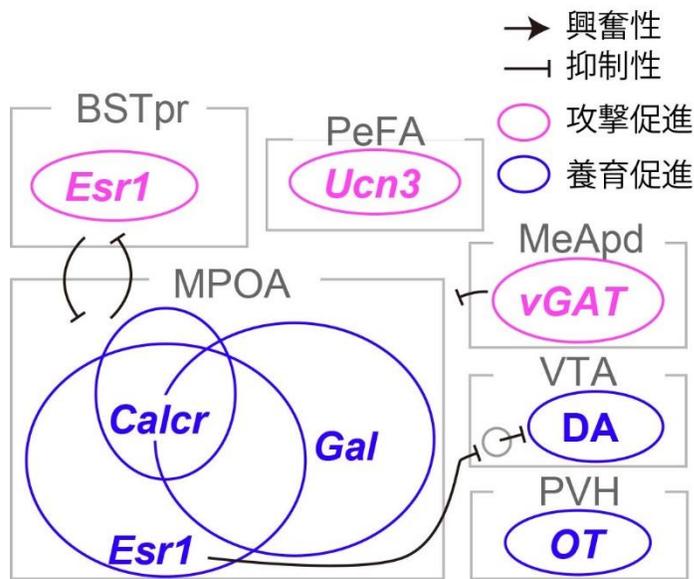


図 1 マウスの子殺しと養育行動に関する辺縁系のニューロン群

子殺しに関与する神経タイプをマゼンタで、養育行動を促進する神経タイプを青色で示す。略語と結合性に関しては本文を参照。

近年、雌マウスの養育行動の開始と維持における、エストロゲン受容体 1 型 (Esr1) を発現する MPOA<sup>Esr1</sup>ニューロンの重要性が明らかになった<sup>10</sup>。MPOA<sup>Esr1</sup>ニューロンは主に GABA 作動性の抑制性ニューロンであり、子マウス回収行動時に活動亢進を示し、光遺伝学的に活性化すると子マウス回収が促進された<sup>10</sup>。MPOA<sup>Esr1</sup>ニューロンは主に VTA の非ドパミン作動性ニューロンに投射し、おそらくドパミン作動性ニューロンを脱抑制することで母性養育行動を増強する。この観点と一致して、ドパミン作動性ニューロンは子マウスを回収する際に一過性の活性を示し、社会的報酬に関連するシグナルをコードすることができるため、雌マウスの養育行動の効率的な学習に関与すると考えられる<sup>11</sup>。

MPOA は養育行動以外にも体温、飲水量、睡眠の制御など様々な役割を担う。これらの機能を司る神経回路は、遺伝子発現のレベルで異なる個性を持つ神経細胞により構成されている。Moffitt らは、単一細胞 RNA シークエンスや空間トランスクリプトミクスの手法を用いて、MPOA<sup>Gal</sup>ニューロンや MPOA<sup>Esr1</sup>ニューロンをサブタイプに分類した<sup>12</sup>。細胞タイプの細分類と c-Fos の検出を組み合わせることで、カルシトニン受容体 (calcitonin receptor, Calcr) を発現する MPOA<sup>Calcr</sup>ニューロンが、雌雄のマウスにおいて養育行動に伴い活動することが示唆された。MPOA<sup>Calcr</sup>ニューロンを抑制すると母親マウスの養育行動が障害され、化学遺伝学的に活性化すると、雄マウスの子殺しが抑制された<sup>13</sup>。これらの知見から、MPOA<sup>Calcr</sup>ニューロンは、これまでで最も明確に解析された養育行動

の中枢である (図 1)。

嗅覚は、げっ歯類の子への行動に重要な役割を果たしている。マウスでフェロモンの検出を担う鋤鼻器官の機能を外科的あるいは遺伝学的に破壊すると、性未経験雄マウスの子殺しが減少する。フェロモン信号を伝達する脳領域のうち、Tsuneoka らは、分界条床核の一部に雄マウスの子殺しを反映した神経活動を見出した<sup>14</sup>。Chen らは、MeA の一部に雄マウスの子殺し行動を誘発するニューロンを報告し<sup>15</sup>、Autry らは視床下部に存在するウロコルチン-3 (Ucn3) 発現ニューロンが、子への攻撃行動を引き起こすことを示した<sup>16</sup>。さらに Mei らは、ロックランドスイスマウスと呼ばれる近交系マウスの雌が盛んに子殺しすることを用いて、雌マウスの子殺しの神経基盤を調べた<sup>17</sup>。その結果、分界条床核中心領域のエストロゲン受容体 1 型を発現する  $\text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロンが、雌マウスの子殺しの発現に重要な役割を果たすことが分かった。これらの証拠を総合すると、マウスの子殺し行動を特異的に制御している大脳辺縁系の特異的なニューロン群が存在すると考えられる (図 1)。

### マウスにおける養育行動のホルモンによる制御基盤

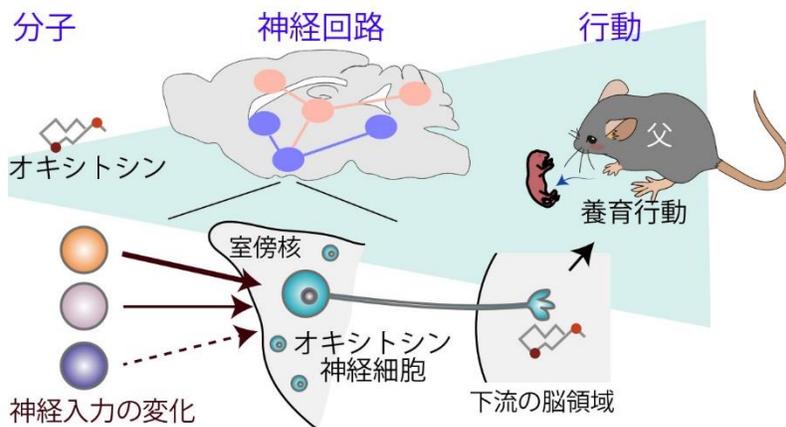
親になるのライフステージ移行期において、子への攻撃行動と養育行動はどのように適切に制御されているのだろうか？性ホルモンは生殖や養育行動に大きな影響を及ぼす。中でもエストロゲンは、エストロゲン受容体を介して多くの遺伝子の発現を調節する<sup>18</sup>。Ammari らの近年の研究は、母親マウスの養育行動の誘導にエストロゲン受容体 1 型 ( $\text{Esr1}$ ) が重要な役割を果たすことを明らかにした<sup>19</sup>。 $\text{MPOA}^{\text{Gal}}$  ニューロンと  $\text{MPOA}^{\text{Esr1}}$  ニューロンの間に重複があり<sup>12</sup>、 $\text{MPOA}^{\text{Gal}}$  ニューロン内で  $\text{Esr1}$  を欠損させるだけで養育行動が阻害される。従って、雌マウスにおける母性養育行動の発現には、 $\text{MPOA}^{\text{Gal}}$  ニューロンにおけるエストロゲンシグナル伝達が必要である。妊娠期には、 $\text{Esr1}$  依存的にこれら神経細胞に電気生理学的特性の変化が生じることも明らかにされた。こうして、エストロゲンは養育行動中枢の神経に直接働きかけることで妊娠期に養育行動の準備を進めているものと考えられる。

前述したように、 $\text{Esr1}$  を発現するもう 1 つの集団、すなわち  $\text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロンは、雌マウスの子殺しを促進する集団で、母親になる時期には抑制されるはずである。面白いことに、 $\text{MPOA}^{\text{Esr1}}$  ニューロンと  $\text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロンは、相互に単シナプス結合を介して抑制しあう関係にある<sup>17</sup>。すなわち、 $\text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロンの活性化は、 $\text{MPOA}^{\text{Esr1}}$  ニューロンに抑制性シナプス後電流を誘導し、逆も成り立つ。 $\text{MPOA}^{\text{Esr1}} \rightarrow \text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロン経路を光遺伝学的手法により抑制すると、子殺し行動が促進され、逆に活性化すると子殺しが抑制される。さらに、母体のライフステージ移行に伴い、 $\text{MPOA}^{\text{Esr1}}$  ニューロンの活動が高まり、 $\text{BSTpr}^{\text{Esr1}}$  ニューロンの活動が著しく低下する変化が生じる。このように、Mei らの報告は、子マウスへの攻撃と養育行動がいわばシーソーのように相互抑制的な神経回路のバランスによって適切に制御されることを示している<sup>17</sup>。

ステロイドホルモンに加えて、ペプチド性ホルモンも養育行動に寄与している。特に、視床下部室傍核 (paraventricular nucleus of the hypothalamus, PVH) に存在するオキシトシン (oxytocin, OT) ニューロンは性行動、母性行動、社会的行動の調節において重要な役割を果たす<sup>20-23</sup>。OT の脳室内投与<sup>24</sup> および腹腔内投与<sup>25</sup>、あるいは  $\text{PVH}^{\text{OT}}$  ニューロンの光遺伝学的活性化<sup>25,26</sup> は、処女マウスの養育行動を誘起する。対照的に、OT や OT 受容体 (oxytocin receptor, OTR) の機能喪失は、餌が乏しくストレスが高い状況を除けば、母親マウスの養育行動に大きな表現型は見られ

ない<sup>22,23</sup>。PVHにおけるOT遺伝子の脳領域特異的なノックアウトも母親マウスの養育行動に大きな影響はない<sup>27</sup>。これらの研究から、OTシグナルは雌マウスの養育行動の開始を促進するが、その維持には深く関与しないものと考えられる。

雌マウスにおけるOTの調節的役割が比較的緩やかであるのとは対照的に、Inadaらは、PVH<sup>OT</sup>ニューロンから放出されるOTが雄マウスの父性養育行動に不可欠であることを示した<sup>28</sup>。彼らは、OT遺伝子のPVH特異的なノックアウトやPVH<sup>OT</sup>ニューロンの遺伝学的除去により、父親マウスが示す子マウスの回収行動が見られなくなることを見出した。逆にPVH<sup>OT</sup>ニューロンを化学遺伝学的に活性化すると、性未経験の雄マウスにおいて子への攻撃を抑制し養育行動が誘発された。このPVH<sup>OT</sup>ニューロンの活性化は、養育中枢であるMPOA<sup>Calcr</sup>ニューロンの活動を高めると同時に、子殺し中枢の活動を抑制した。したがって、PVH<sup>OT</sup>ニューロンは、様々な大脳辺縁系のニューロン群を調整し、雄マウスの子育て行動の実行を促進する上で極めて重要な役割を果たしている。マウスにおいて父性養育行動中のPVH<sup>OT</sup>ニューロンの活動動態はよくわかってないが、雄の養育行動が盛んな一夫一妻制モデルのマンドリンハタネズミでは、養育行動に相関したPVH<sup>OT</sup>ニューロンの活動が記録されている<sup>29</sup>。



**図2 PVH<sup>OT</sup>ニューロンによる父性行動促進回路メカニズム**

父マウスの脳内の神経回路の変化と、オキシトシンを介した養育行動の促進を模式的に示す。父性行動の促進におけるOTに関連する下流の神経過程はまだ特定されていない。

父親マウスのPVH<sup>OT</sup>ニューロンの活性化の基礎となるメカニズムとして、Inadaらは、父親マウスのPVH<sup>OT</sup>ニューロンが、視床下部外側核 (lateral hypothalamus, LHA) の興奮性ニューロン (LHA<sup>vGluT2</sup>ニューロン) を含む特定の視床下部領域から、より多くの興奮性シナプス入力を受けていることを示した<sup>28</sup>。この知見は、狂犬病ウイルスを用いたトランスシナプス標識と電気生理学的な手法を用いて得られた。LHA<sup>vGluT2</sup>ニューロンを化学遺伝学的に活性化すると、下流のPVH<sup>OT</sup>ニューロンに依存する形で性未経験雄マウスの子殺しが抑制されるので、LHA<sup>vGluT2</sup>→PVH<sup>OT</sup>ニューロン経路の活性には機能的意義があるように思われる。これらの知見を総合すると、父親マウスの養育行動の促進の背景には、視床下部内の構造的可塑性が存在し、その結果、PVH<sup>OT</sup>ニューロンの活動が上昇していることが示唆される (図2)。

## 展望

上述したように、ウイルス遺伝子工学的アプローチを用いた研究によって、エストロゲンと

OT が特定の大脳辺縁系神経タイプに作用を及ぼし、それによって回路機能を調節して子殺しを抑制し養育行動を促進することが解明されてきた。注目すべきは、雌雄においてエストロゲンと OT の必要性が異なるように見えることである。雌マウスでは、エストロゲンと OT の両方が母性養育行動を促進するが、エストロゲンの方がより重要な役割を果たしている。逆に雄マウスでは、エストロゲン依存的なメカニズムの関与は不明だが、不可欠であるとは考えにくい。対照的に、父性養育行動は OT により強く依拠している<sup>28</sup>。

OT が誘発する父性行動は MPOA<sup>Calcr</sup>ニューロンの活性化と関連しているが、OT が父性行動に対して促進作用を発揮する具体的なメカニズムについては、脳領域や受容体メカニズムを含めて、さらなる研究が必要である。より一般的には、親になる変化の過程において、ホルモンや受容体の発現レベルの変化があると考えられているがその行動への寄与についてはほとんど不明なままである<sup>30</sup>。今後は領域特異的なノックアウトなどの手法を用いて、ホルモンや受容体の機能部位を同定すること、蛍光バイオセンサーを用いて、特定の行動エピソードにおけるホルモンの時空間的動態を明らかにすることが重要となるだろう。

最後に、養育行動の実行は大脳辺縁系ニューロンだけではなく、子の状態を五感を通じて把握し運動を制御するために、複数の脳領域の協調的な機能が必要と考えられる。このようなプロセスには、より高度な認知機能が必要である可能性が高いが、養育行動における前頭皮質領域の機能解析はまだ端緒を得たばかりである<sup>31</sup>。ヒトの前頭皮質が進化的に大きく拡大したことを考えると、育児に関連する高次脳機能や、前頭皮質と大脳辺縁系回路の相互作用を理解することは、ヒトの育児に貴重な洞察をもたらすと期待される。

## 引用文献:

1. Lukas, D., and Huchard, E. (2019). The evolution of infanticide by females in mammals. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* *374*, 20180075. 10.1098/rstb.2018.0075.
2. Lukas, D., and Huchard, E. (2014). Sexual conflict. The evolution of infanticide by males in mammalian societies. *Science* *346*, 841-844. 10.1126/science.1257226.
3. Dulac, C., O'Connell, L.A., and Wu, Z. (2014). Neural control of maternal and paternal behaviors. *Science* *345*, 765-770. 10.1126/science.1253291.
4. Elwood, R.W. (1994). Temporal-based kinship recognition: A switch in time saves mine. *Behav Processes* *33*, 15-24. 10.1016/0376-6357(94)90057-4.
5. Yoshihara, C., Numan, M., and Kuroda, K.O. (2018). Oxytocin and Parental Behaviors. *Curr Top Behav Neurosci* *35*, 119-153. 10.1007/7854\_2017\_11.
6. Numan, M. (1974). Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *J Comp Physiol Psychol* *87*, 746-759. 10.1037/h0036974.
7. Tsuneoka, Y., Maruyama, T., Yoshida, S., Nishimori, K., Kato, T., Numan, M., and Kuroda, K.O. (2013). Functional, anatomical, and neurochemical differentiation of

- medial preoptic area subregions in relation to maternal behavior in the mouse. *J Comp Neurol* *521*, 1633-1663. 10.1002/cne.23251.
8. Wu, Z., Autry, A.E., Bergan, J.F., Watabe-Uchida, M., and Dulac, C.G. (2014). Galanin neurons in the medial preoptic area govern parental behaviour. *Nature* *509*, 325-330. 10.1038/nature13307.
  9. Kohl, J., Babayan, B.M., Rubinstein, N.D., Autry, A.E., Marin-Rodriguez, B., Kapoor, V., Miyamishi, K., Zweifel, L.S., Luo, L., Uchida, N., and Dulac, C. (2018). Functional circuit architecture underlying parental behaviour. *Nature* *556*, 326-331. 10.1038/s41586-018-0027-0.
  10. Fang, Y.Y., Yamaguchi, T., Song, S.C., Tritsch, N.X., and Lin, D. (2018). A Hypothalamic Midbrain Pathway Essential for Driving Maternal Behaviors. *Neuron* *98*, 192-207 e110. 10.1016/j.neuron.2018.02.019.
  11. Xie, Y., Huang, L., Corona, A., Pagliaro, A.H., and Shea, S.D. (2023). A dopaminergic reward prediction error signal shapes maternal behavior in mice. *Neuron* *111*, 557-570 e557. 10.1016/j.neuron.2022.11.019.
  12. Moffitt, J.R., Bambah-Mukku, D., Eichhorn, S.W., Vaughn, E., Shekhar, K., Perez, J.D., Rubinstein, N.D., Hao, J., Regev, A., Dulac, C., and Zhuang, X. (2018). Molecular, spatial, and functional single-cell profiling of the hypothalamic preoptic region. *Science* *362*. 10.1126/science.aau5324.
  13. Yoshihara, C., Tokita, K., Maruyama, T., Kaneko, M., Tsuneoka, Y., Fukumitsu, K., Miyazawa, E., Shinozuka, K., Huang, A.J., Nishimori, K., et al. (2021). Calcitonin receptor signaling in the medial preoptic area enables risk-taking maternal care. *Cell Rep* *35*, 109204. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109204.
  14. Tsuneoka, Y., Tokita, K., Yoshihara, C., Amano, T., Esposito, G., Huang, A.J., Yu, L.M., Odaka, Y., Shinozuka, K., McHugh, T.J., and Kuroda, K.O. (2015). Distinct preoptic-BST nuclei dissociate paternal and infanticidal behavior in mice. *EMBO J* *34*, 2652-2670. 10.15252/embj.201591942.
  15. Chen, P.B., Hu, R.K., Wu, Y.E., Pan, L., Huang, S., Micevych, P.E., and Hong, W. (2019). Sexually Dimorphic Control of Parenting Behavior by the Medial Amygdala. *Cell* *176*, 1206-1221 e1218. 10.1016/j.cell.2019.01.024.
  16. Autry, A.E., Wu, Z., Kapoor, V., Kohl, J., Bambah-Mukku, D., Rubinstein, N.D., Marin-Rodriguez, B., Carta, I., Sedwick, V., Tang, M., and Dulac, C. (2021). Urocortin-3 neurons in the mouse perifornical area promote infant-directed neglect and aggression. *Elife* *10*. 10.7554/eLife.64680.
  17. Mei, L., Yan, R., Yin, L., Sullivan, R.M., and Lin, D. (2023). Antagonistic circuits mediating infanticide and maternal care in female mice. *Nature* *618*, 1006-1016. 10.1038/s41586-023-06147-9.

18. Knoedler, J.R., Inoue, S., Bayless, D.W., Yang, T., Tantry, A., Davis, C.H., Leung, N.Y., Parthasarathy, S., Wang, G., Alvarado, M., et al. (2022). A functional cellular framework for sex and estrous cycle-dependent gene expression and behavior. *Cell* *185*, 654-671 e622. 10.1016/j.cell.2021.12.031.
19. Ammari, R., Monaca, F., Cao, M., Nassar, E., Wai, P., Del Grosso, N.A., Lee, M., Borak, N., Schneider-Luftman, D., and Kohl, J. (2023). Hormone-mediated neural remodeling orchestrates parenting onset during pregnancy. *Science* *382*, 76-81. 10.1126/science.adi0576.
20. Froemke, R.C., and Young, L.J. (2021). Oxytocin, Neural Plasticity, and Social Behavior. *Annu Rev Neurosci* *44*, 359-381. 10.1146/annurev-neuro-102320-102847.
21. Yukinaga, H., Hagihara, M., Tsujimoto, K., Chiang, H.L., Kato, S., Kobayashi, K., and Miyamichi, K. (2022). Recording and manipulation of the maternal oxytocin neural activities in mice. *Curr Biol* *32*, 3821-3829 e3826. 10.1016/j.cub.2022.06.083.
22. Nishimori, K., Young, L.J., Guo, Q., Wang, Z., Insel, T.R., and Matzuk, M.M. (1996). Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* *93*, 11699-11704. 10.1073/pnas.93.21.11699.
23. Macbeth, A.H., Stepp, J.E., Lee, H.J., Young, W.S., 3rd, and Caldwell, H.K. (2010). Normal maternal behavior, but increased pup mortality, in conditional oxytocin receptor knockout females. *Behav Neurosci* *124*, 677-685. 10.1037/a0020799.
24. Pedersen, C.A., Ascher, J.A., Monroe, Y.L., and Prange, A.J., Jr. (1982). Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* *216*, 648-650. 10.1126/science.7071605.
25. Marlin, B.J., Mitre, M., D'Amour J, A., Chao, M.V., and Froemke, R.C. (2015). Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* *520*, 499-504. 10.1038/nature14402.
26. Scott, N., Prigge, M., Yizhar, O., and Kimchi, T. (2015). A sexually dimorphic hypothalamic circuit controls maternal care and oxytocin secretion. *Nature* *525*, 519-522. 10.1038/nature15378.
27. Hagihara, M., Miyamichi, K., and Inada, K. (2023). The importance of oxytocin neurons in the supraoptic nucleus for breastfeeding in mice. *PloS one* *18*, e0283152. 10.1371/journal.pone.0283152.
28. Inada, K., Hagihara, M., Tsujimoto, K., Abe, T., Konno, A., Hirai, H., Kiyonari, H., and Miyamichi, K. (2022). Plasticity of neural connections underlying oxytocin-mediated parental behaviors of male mice. *Neuron* *110*, 2009-2023 e2005. 10.1016/j.neuron.2022.03.033.
29. He, Z., Zhang, L., Hou, W., Zhang, X., Young, L.J., Li, L., Liu, L., Ma, H., Xun, Y., Lv, Z., et al. (2021). Paraventricular Nucleus Oxytocin Subsystems Promote Active Paternal Behaviors in Mandarin Voles. *The Journal of neuroscience : the official journal of the*

Society for Neuroscience *41*, 6699-6713. 10.1523/JNEUROSCI.2864-20.2021.

30. Wynne-Edwards, K.E., and Timonin, M.E. (2007). Paternal care in rodents: weakening support for hormonal regulation of the transition to behavioral fatherhood in rodent animal models of biparental care. *Horm Behav* *52*, 114-121. 10.1016/j.yhbeh.2007.03.018.
31. Corona, A., Choe, J., Munoz-Castaneda, R., Osten, P., and Shea, S.D. (2023). A circuit from the locus coeruleus to the anterior cingulate cortex modulates offspring interactions in mice. *Cell reports* *42*, 112771. 10.1016/j.celrep.2023.112771.

【第 153 回研究会 令和 5 年 12 月 8 日(金曜日) 於：大阪大学医学部講義棟 A 講堂】

<会員の発表>

1. 「*Filobacterium* 属菌(CAR バチルス)は特殊な菌ではない ～野生ネズミのほかペットのネコにも家畜のウシやサルにも～」  
池 郁生 (理化学研究所バイオリソース研究センター)
2. 「肥満糖尿病モデル ZFDM ラットの糖尿病発症および膵島の遺伝子発現に対する女性ホルモンの影響」  
中田千陽 (京都大院・農・動物遺伝育種学分野)

<特別講演>

1. 「関西実験動物研究会での忘れ物と麻布大学でのこれから」  
中村 紳一朗 (麻布大学 獣医学部実験動物学研究室)
2. 「疾患モデル動物を用いた水頭症原因遺伝子 *Ccdc85c* の役割解析」  
桑村 充 (大阪公立大学 獣医病理学)

<トピックス>

- 「マーモセットの飼育管理, 特に **wasting syndrome** について」  
井上 貴史 (公益財団法人実験動物中央研究所)

## *Filobacterium* 属菌(CAR バチルス)は特殊な菌ではない ～野生ネズミのほかペットのネコにも家畜のウシやサルにも～

○ 池 郁生<sup>1</sup>、梶田亜矢子<sup>1</sup>、目加田和之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>理化学研究所バイオリソース研究センター、<sup>2</sup>岡山理科大学理学部

マウスやラットの慢性呼吸器感染症病原体として通称 CAR(カー)バチルスという細菌が 20 世紀なかばから知られていた。この菌はグラム染色陰性のフィラメント状構造を持ち、病理組織では感染部位である呼吸器上皮細胞の線毛と酷似し、銀染色によく染まる。我々は放医研(当時)の小久保らとともに本菌のラット分離株 SMR-C の単独培養に成功し、2016 年に新種 *Filobacterium rodentium* として報告した。

マウス・ラット以外に感染する *Filobacterium* 属菌は、呼吸器上皮の線毛と類似する形態学的特徴から、ウサギ、ブタ、ウシ、ヤギ、イタリア北部の野生シカ類(アカシカ、シャモア、ノロジカ)、オーストラリアのホッピングマウス、ペットのネコ、そして米国の動物園で飼育されていたガラガラヘビで報告されてきた。その後、NGS を用いた 16S rRNA メタゲノム解析によって、フランスの野生ミズハタネズミ(*Arvicola terrestris*)に *Filobacterium* 属菌が常在しており、他の菌との共存状況の変動が個体群増減と関係しているとの論文が出版された。このほか、NCBI 登録 16S rRNA メタゲノムデータによると、実験用アカゲザル、南アフリカの爬虫類などにも *Filobacterium* 属菌が認められ、我々もチェコ、イタリア、オーストラリアのペットのネコに *Filobacterium* 属菌を検出した。

岡山理科大学にはハタネズミ(*Microtus* 属)5 種など野生由来齧歯類やスキウスのコレクションがある。我々がそれら動物の気管拭い検体を調べたところ、大型のハタネズミであるギョントーハタネズミ(*Microtus guentheri*)の全検体(n=10)が *F. rodentium* 16S rRNA 用 PCR プライマー(2 種類)と反応し、シークエンスした検体の配列は *F. rodentium* SMR-C<sup>T</sup> の配列と 100%一致した。これらの検体は、一般的な 16S rRNA ユニバーサルプライマー(*F. rodentium* とは反応しない)で増幅物が認められないことから、*F. rodentium* と考えられる菌がギョントーハタネズミの呼吸器に最優勢で棲息していると考えられる。

ミズハタネズミで検出された *Filobacterium* 属菌の 16S rRNA 配列は *F. rodentium* 型(齧歯類型)であった。16S rRNA 配列の比較から *Filobacterium* 属菌は齧歯類型、ネコ型、ブタ型、ウシ型などと感染生物により分類されること(*F. rodentium* のほかは学名未定)が分かっている。今回、*F. rodentium* 型と考えられる菌がギョントーハタネズミから検出されたことは、実験用のマウス・ラットのほか、野生のミズハタネズミや野生由来ギョントーハタネズミなどの野生齧歯類にも"齧歯類型"の *Filobacterium* 属菌が棲息(常在)することを示唆する。*Filobacterium* 属菌は特殊な(変な)病原菌ではなく、自然界に広く存在する環境菌群なのかもしれない。

## 肥満糖尿病モデル ZFDM ラットの糖尿病発症および 膵島の遺伝子発現に対する女性ホルモンの影響

○中田千陽、重中咲希、伊藤佑奈、水野智花、浦川隆矢、向山裕樹、横井伯英  
京都大学大学院農学研究科 動物遺伝育種学分野

【背景と目的】 Zucker fatty diabetes mellitus (ZFDM) ラットは、レプチン受容体のミスセンス変異 (*fatty, fa*) によって肥満を呈する Zucker fatty (ZF) ラットを起源として確立された肥満 2 型糖尿病モデルである。ZFDM ラットの糖尿病発症には性差が認められ、オスは全例が糖尿病を発症するのに対し、メスは肥満を呈するものの糖尿病を発症しない。女性ホルモンのうち 17 $\beta$  エストラジオール (E2) は、膵島を保護し糖尿病発症を抑制する作用を有していることが報告されているが、詳細なメカニズムは明らかでない。今回、ZFDM ラットの糖尿病発症および膵島の遺伝子発現に対する女性ホルモンの影響について検討した。

【方法】 実験 1) 6 週齢のオスの ZFDM ラット (n=8) を 2 群に分け、プラセボペレット (対照群) または E2 を 60 日間で 0.72 mg 徐放するペレット (E2 投与群) を皮下に留置した。実験 2) 5~7 週齢のメスの ZFDM ラット (n=14) を 2 群に分け、偽手術 (Sham 群) または卵巣切除 (OVX 群) を施した。実験 1 および 2 において全個体の体重、血糖値および血漿インスリン値を測定した。実験 3) 6 週齢の ZF ラット (n=3) および糖尿病発症から 2 週間経過したオスの ZFDM ラット (n=3) から膵島を単離した。ZF ラットの膵島を E2 非添加条件、ZFDM ラットの膵島を E2 添加条件と非添加条件に分け 24 時間培養した後、RNA-seq による網羅的な遺伝子発現解析を実施した。

【結果】 実験 1) 対照群は 10 週齢までに全例が糖尿病を発症した。E2 投与群は 19 週齢までは糖尿病を発症する個体は認められなかったが、20 週齢以降 4 匹中 3 匹が糖尿病を発症した。E2 投与群の体重増加は対照群に比べ、10 週齢頃まで比較的緩やかだった。実験 2) Sham 群に糖尿病の発症はみられなかった。OVX 群では 7 個体のうち 1 個体が 24 週齢で糖尿病を発症した。体重は 12~24 週齢で OVX 群が有意に高い値を示した。実験 3) 各個体から 50~230 個の膵島が単離された。全ての遺伝子発現データを用いた主成分分析では、ZFDM ラットと ZF ラットの間で遺伝子発現プロファイルの相違が認められた。ZFDM ラット膵島においては、E2 添加と非添加の群間よりも個体間の遺伝子発現プロファイルの相違が大きかった。個体ごとの対応ありの検定の結果、E2 添加により発現が上昇した遺伝子は 545 個、低下した遺伝子は 327 個あった。これらの遺伝子についてパスウェイ解析を行ったところ、2 型糖尿病、インスリン分泌、cAMP シグナル伝達の経路が含まれていた。また、発現変動遺伝子の多くは E2 添加によって肥満のみで糖尿病を発症しない ZF ラットの発現パターンに近づいた。以上より、女性ホルモン (E2) は、糖尿病発症を抑制する作用を有するとともに、糖尿病膵島の遺伝子発現パターンを非糖尿病の方向に変化させることが示された。

## 関西実験動物研究会での忘れ物と麻布大学でのこれから

中村 紳一郎

(麻布大学 実験動物学研究室)

### 【要旨】

私は2007年4月滋賀医科大学（滋賀医大）動物生命科学研究センターへ赴任したあと本会へ入会しましたが、新任教員の講演はしておらず、2020年3月の離任時に講演の機会をいただいた第145回が、コロナ騒動の始まりの時期と重なり、やむなく中止となってしまいました。関西への入りも出も、本会には何も残さずにひっそり？と異動することになりました。ですがこの度、私のことを忘れずに、再度お話しを下さったことに感謝いたします。この講演は、今まで本会でお話しできなかった、これまでとこれからの自分の仕事全般、特にサル類との繋がりをお話しさせていただきます。

「サルの人、中村」は、1993年頃、大学院の指導教授とテーマ決めて悶着しているとき、突然、国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センター（現・医薬基盤健康栄養研究所霊長類医学研究センター）へ行って、サルのアルツハイマー病病変の研究をしてこい、と言われたことからはじまりました（当時、吉川泰弘センター長）。その後しばらくは、日本獣医畜産大学（現・日本獣医生命科学大学）にて獣医病理学を中心に据えた、自らが主導する研究を模索していました。しかし、2007年4月に滋賀医大へ異動してから、状況が変わりました。医学部の動物実験施設の機能を適正に保つべく施設管理と、研究の両立が必要となりました。げっ歯類を中心とした施設管理に加え、カンクイザルが約350頭いた特殊性もあって、自ら主導の研究よりはサポーター的な仕事が多くなってきました。サル類を用いる共同研究のカウンターパートとして、技術系職員と調整しながら研究支援の実施、解剖執刀時に的確な材料を提供、残余臓器の有効利用システムの確立などに力を注ぐようになりました。最初は要望に応えられない研究もあつたりしましたが、離職前は技術系職員のスキル向上と共に、機材などの整備もあって、高度な研究支援にも耐え得る京都大学とのASHBi（WPI事業）等の協働にも繋がりました。様々な研究をお手伝いしながら、自分で主導できる研究、子宮内膜症の疾患モデル開発も見つかりました。その後、縁あって2020年4月からの麻布大学への異動が決まりました。

麻布大学はサル類を飼育していないので、滋賀医大で子宮内膜症の研究を細々と続けさせていただいており、少しずつサル類との縁は小さくなるだろうと思っていました。しかし最近ではカンクイザルの供給不足と値段高騰、その解決に向けての国レベルの作業をお手伝いすることになり、サル類との縁はしばらく続きそうです。異動してもなお、サル類に関係する仕事で頼りにされるのであれば、やらなければいけないことがあります。後進の育成です。サル類を用いる研究は、経済的な部分を含め、とても敷居が高くなり、若い研究者が手を出しづらくなっています。一方

で、神経科学会の霊長類実験ガイドラインの制定もあって、サル類の動物実験の場に相応しい獣医師を育てる必要があります。教育の現場に身を置く今、サル類を用いる研究への恩返しをし始める時期かと感じています。

### 【忘れ物】

先ず、関西実験動物研究会で長く役職についていたにも関わらず、2007年頃の入会時と2020年の関東への異動時に講演をしなかったのが、本来はその辺りでお話しすべく、これまでの研究歴、滋賀医科大学での実験動物施設管理について説明をしました。

#### 1. 動物のアルツハイマー病関連病変

東京大学大学院の博士課程の時には、動物のアルツハイマー病変に関する研究を行っていました。国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センター（当時）から得られた高齢カニクイザル、研究室の剖検例から得られた高齢動物の脳を解析し、数十頭のサンプルが得られたカニクイザルにおいては病変の出現傾向、脳内分布、免疫組織学的性状を詳細に検索しました。アミロイド斑は20歳くらいから出現しはじめ、側頭葉の扁桃核、前頭葉に頻出、免疫組織化学的にアミロイドβタンパク、アポリポタンパクEなどの沈着とともにアミロイド前駆体タンパク陽性の腫大神経突起、GFAP陽性のアストログリアの反応などが見られ、ヒトのアミロイド斑と類似していることが明らかになりました。この研究をしていた繋がりでも、滋賀医大へ異動してからも、アミロイドβワクチンの研究に携わる機会もありました。剖検例からはネコ、ラクダのアミロイド斑を新たに発見することができました。

大学院でサルをサンプルとする研究を始めたことが、「サルの人、中村」のキャリアの始まりでした。

#### 2. 成長ホルモンの視床下部支配、加齢性変化

その後、日本獣医畜産大学（当時）獣医病理学研究室に職を得て、間にアメリカへ留学する機会を得ました。ウィスコンシン大学国立霊長類センターにて、高齢アカゲザルの成長ホルモン（GH）分泌低下の視床下部からの支配メカニズムについて研究しました。脳下垂体前葉から分泌されるGHは、視床下部から分泌されるGH分泌ホルモン（GHRH）によって促進的、ソマトスタチン（SS）によって抑制的に制御されますが、それぞれの加齢に伴う分泌量の変化は知られていませんでした。そこで、局所で微量の緩衝液を環流できる二重カニューレを視床下部へ挿入し、径時的に緩衝液を採取、ラジオイムノアッセイでGHRHとSSを計測しました。その結果、高齢アカゲザルのGHRHは若齢より低値で、逆にSSは高齢で高値を示しました。霊長目の加齢に伴うGHの低下は、GHRHの低下とSSの上昇の両者によって生ずることが明らかになりました。

#### 3. 動物の全身性老人性アミロイド症の発見

一定の生化学的性質を示す物質の総称「アミロイド」による疾患が「アミロイド症」とされていますが、原因となるタンパク質の種類は様々です。一般社団法人予防衛生協会でも2年間お世話になっている際、高齢アフリカミドリザルの病理診断で不思議な心臓病変に出会いました。弱好酸性の斑状病変が多発し、その部分の心筋線維が脱落しています。心筋症で増生する膠原線維とは異なる変化のようでした。他の臓器をよく観察すると、同じ様な沈着物が他の臓器の間質にも

認められました。獣医病理学では確認できない変化であり、ヒト病理学を参考にすると、全身性老人性アミロイド症の変化にはほぼ合致し、このアミロイドの構成成分であるトランスサイレチンの免疫染色に陽性となり、動物で初めての同症報告となりました。その後、この疾患はアントニオ猪木さんの死因としても有名になりました。一方で、アフリカミドリザルの疾患モデル動物としての重要性を各所へ働きかけたのですが、日本での飼育数が少なく、モデル化にこぎ着けられなかったのが悔やまれます。

#### 4. 子宮内膜症に関する研究

滋賀医科大学動物生命科学センターでは各種疾患モデル動物を作製するための基盤技術として、カニクイザルの人工繁殖を行っています。メス個体の正確な性周期を知るために定期的な内視鏡による卵巣・子宮観察を行っている中で、子宮内膜症が一定頻度で観察されます。子宮内膜症は卵管・卵巣間の解離、月経といった、一部霊長類種の特殊な繁殖学的特徴から生じ、げっ歯類には良好な疾患モデル動物がありません。一方で、カニクイザルの子宮内膜症の情報もそれほど詳細に報告されていません。そこで発症個体を自然発症モデルとして、免疫学的性状等を探索することにしました。罹患カニクイザルの末梢血を対照個体と比較すると、 $TGF-\beta$  を細胞膜に架橋する latency associated protein (LAP) を有する単球が減り、NK 細胞数が増えていることが明らかになりました。骨盤腔内での免疫抑制状態が逆流月経血内の子宮内膜組織の生着を促すとも言われており、 $TGF-\beta$  を介した免疫抑制が発症に関わっていることが予測されました。一方で意外にも、細胞障害性を持つ NK 細胞数が罹患個体で増えていましたが、NK 活性を調べると著しく罹患個体で低下しており、やはり NK 細胞の活性低下も発症に関わることがわかりました。

#### 5. サル実験施設の研究支援体制整備

サル類を用いる実験は、専用の手術並びに検査機器を整える必要があります。また研究者は自らが行える施術は一部で、動物を取り扱う多くの部分はサル類のスペシャリストである技術者に委ねることになります。利用する研究者の研究内容が多様になれば、それに合わせた機材を人材といった、研究支援体制を整える必要があります。滋賀医科大学の在職中に、脳神経学、眼科、内分泌学、産婦人科学、感染病理学、免疫学、遺伝学、その他、様々な分野の研究に対応できる支援体制を築くことができました。この整備は私よりも、優秀な技術者の貢献が大きかったのが事実です。

#### 6. 獣医学的管理としての情報発信

数少ないサル類の医科学研究ができる施設の獣医師として、動物を健康に管理するための情報発信が必要です。学会等で種々の発表の機会がありましたが、滋賀医科大学の在職時に、カニクイザル施設での大腸バランチジウムアウトブレイクに対する多頭数治療の方法を、論文として残すことができました。アメパロモとカボチャ粉末を水で練って、粘土状になったものを切り分けて投与すると、効率的に投与を行えました。この取り組みもやはり技術者が、いくつかの植物粉末の中でもカボチャ粉末の嗜好性が高いこと、コストパフォーマンスが良いことなど、丁寧に調べてくれた成果なのです。

### 【これから】

これからの研究の展開として、子宮内膜症の研究でいくつかの計画を実施していることを紹介しました。一つはファージディスプレイ法でスクリーニングした、子宮内膜上皮細胞へ特異的に結合するペプチドの治療効果を評価するものです。治療ペプチドを骨盤腔内へ投与すると、内視鏡の定期観察で投与後、病変の見られるエリアが小さくなりました。採取した組織で CD10（子宮内膜組織のマーカー）に対する免疫染色を行うと、投与後に陽性エリアが少なくなっていることがわかりました。良好な新しい治療法として、さらに詳細な検討を進めているところです。もう一つの研究はげっ歯類の子宮内膜症モデル開発として、免疫不全マウスにカニクイザル由来の子宮内膜組織、骨髄細胞を投与し、さらにプログラムポンプで月経様ホルモン分泌を惹起するように計画しています。まだ断片的な成果しか得られておりませんが、これまでげっ歯類の子宮内膜症モデルでは病態の部分的な表現型しか得られませんでした。開発中のモデルは、霊長目の子宮内膜症の重要な素養を併せ持つこととなり、薬効や安全性評価も可能なモデルを目指しています。

### 【その他】

研究や施設管理の他に、様々なフィールドで社会貢献しています。最近ではカニクイザルの国内供給問題について調べる厚労科研に加わって、特にアカデミアでサル類を飼育する施設で、自家繁殖業務の有無、繁殖を行うための技術力について調査しました。この供給問題で特にカニクイザルの値段が高騰し、実験実施が困難な期間が長引くと、若い研究者、技術者がサル類を用いる研究に携わる機会を失い、サル業界の人材が枯渇するのではないかという懸念についてもお話ししました。現在、自身が獣医学教育の現場にいることから、講義の中でサル類に関わる内容を少しでも多く盛り込みつつ、動物実験のフィールドで動物福祉を担保するための獣医師が必要とされていること、を伝えていきたいと思っています。

# 関西実験動物研究会での忘れ物 と麻布大学でのこれから

麻布大学  
獣医学部実験動物学研究室  
中村 紳一郎

第153回関西実験動物研究会  
(2023年12月8日)

## ○ 忘れ物.....

入会時の講演を  
していません

～最初と最後の話をします～

**関西実験動物研究会**  
Kansai Laboratory Animal Research Association

日時: 令和2年3月6日(金) 13:00~16:30 **第145回  
研究会**

場所: 京都大学 薬友会館 (京都市左京区西田二本坂町)

<トピックス>  
13:00~13:50 座長: 岸本 真志 (東京農業大学)  
「Unmet Medical Needs を意識したモデル動物のキャラクタリゼーション」  
太田 毅 (京都大学農学研究所 教授)

<講演会>  
テーマ 「発生工学技術の新しい展開」

1. 13:50~14:40 座長: 坪田 裕司 (大阪河崎リハビリテーション大学)  
「新しい遺伝子操作技術の開発と応用～技術開発研究の面白さと楽しさ～」  
森岡 裕香 (神戸大学医学部附属動物実験施設 准教授)

2. 14:50~15:40 座長: 浅野 雅秀 (京都大学)  
「家畜動物を存る」  
中尾 和真 (大阪大学獣医学部附属動物実験施設 教授)

(特別講演) 15:40~16:30 座長: 塩原 雅志 (神戸大学)  
「干支ひと周りとともに過ごした滋賀医科大学  
～12年間で充実してきた実験用サル施設～」  
中村 紳一郎 (滋賀医科大学 准教授)

(研究会参加費) 個人会員: 無料 非会員: 2,000円 (学生は無料)  
※懇親会は、随時の事情により中止とします。

関西実験動物研究会 事務局  
〒600-0077 京都市左京区藤原川原町 53  
京都大学イリス・生命科学研究所 総合生体プロセス分野内  
TEL: 075-751-4880 FAX: 075-751-4882  
E-mail: kansaijin@front.kyoto-u.ac.jp (出来るだけメールにてご連絡下さい。)

## 忘れ物

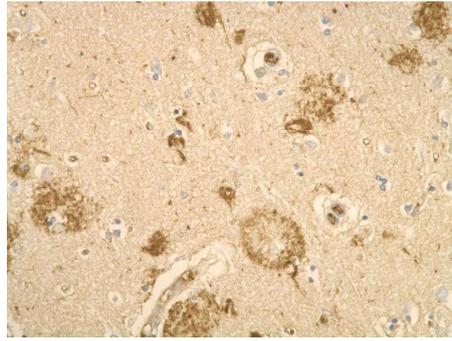
大学院～留学～滋賀医科大学  
サル類を用いた疾患モデル研究

- ①動物のアルツハイマー病関連病変
- ②成長ホルモンの視床下部支配、加齢性変化
- ③動物の全身性老人性アミロイド症の発見
- ④子宮内膜症に関する研究

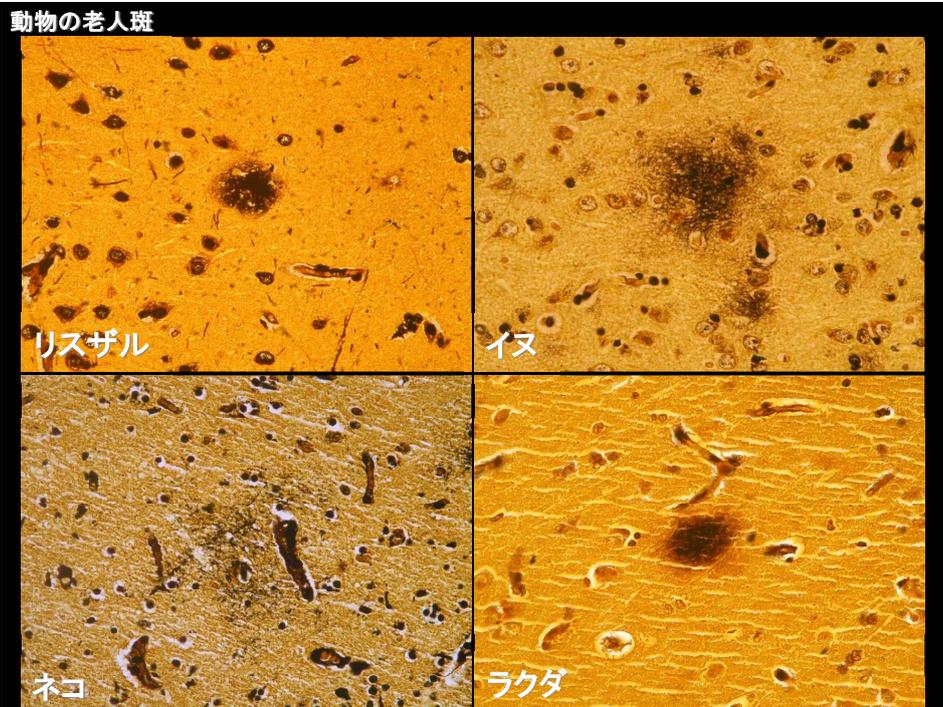
研究支援体制づくり

- ⑤. サル実験施設の研究支援体制整備
- ⑥. 獣医学的管理としての情報発信

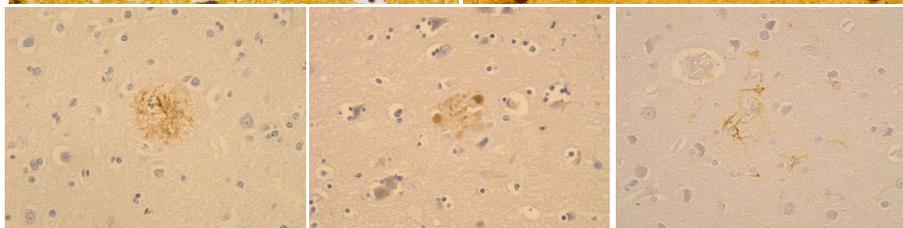
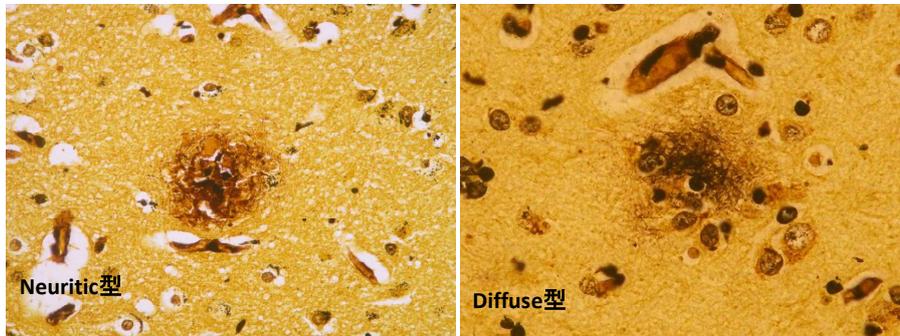
# 1. 動物の老人斑に関する研究



ヒトの老人斑



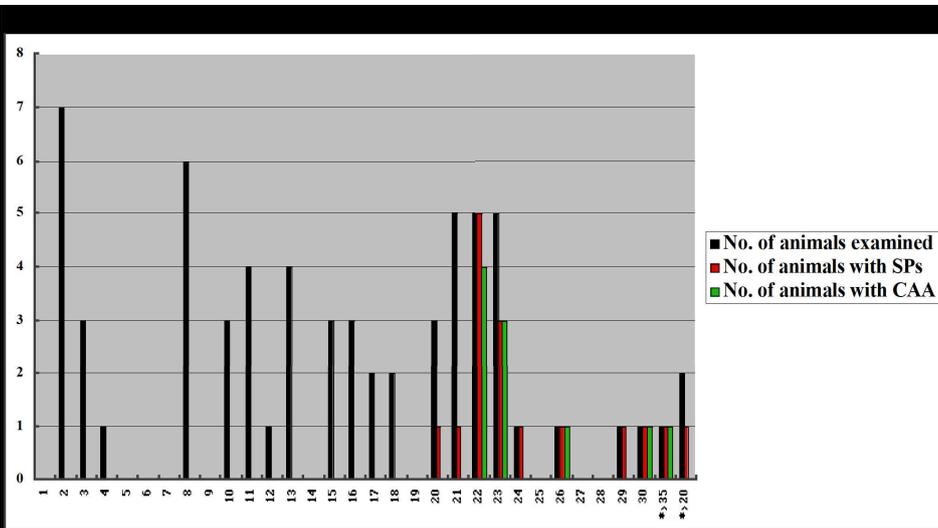
カニクイザルの老人斑



アミロイド沈着部  
ApoE

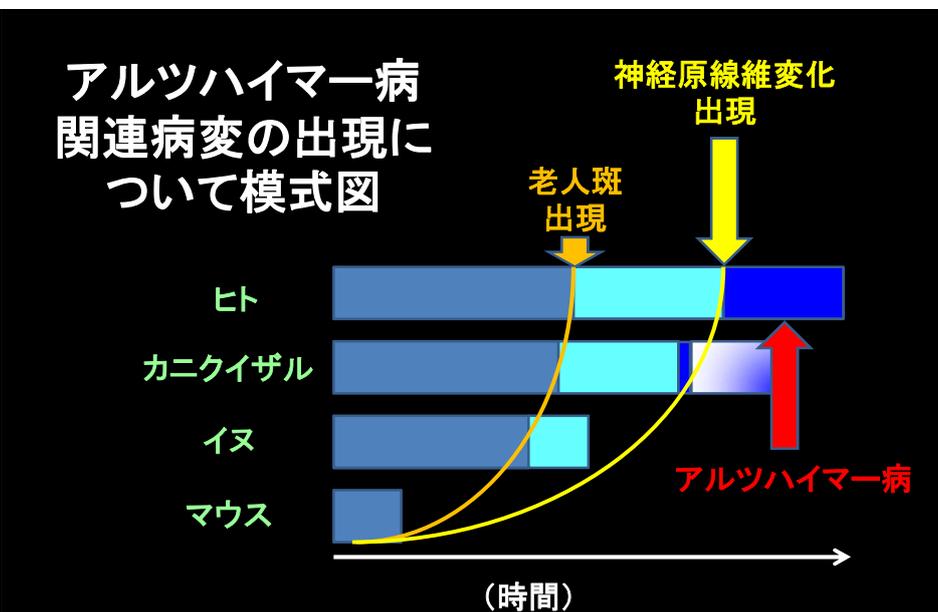
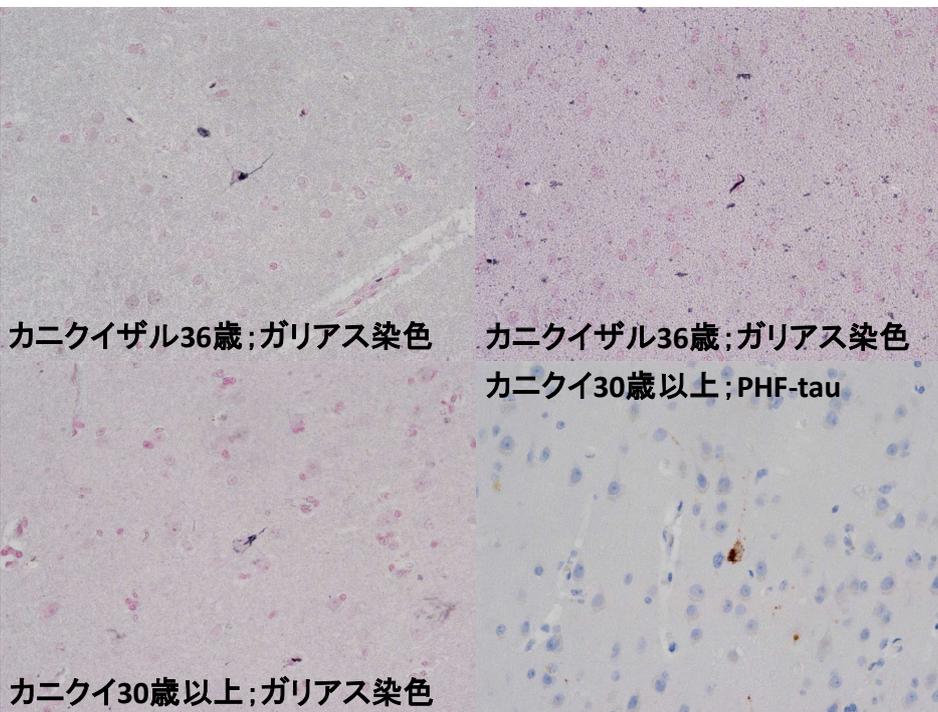
腫大神経突起  
APP、tau、PS-1

グリア細胞  
GFAP



**Number of animals examined and onset of SPs and CAA vs. age.**

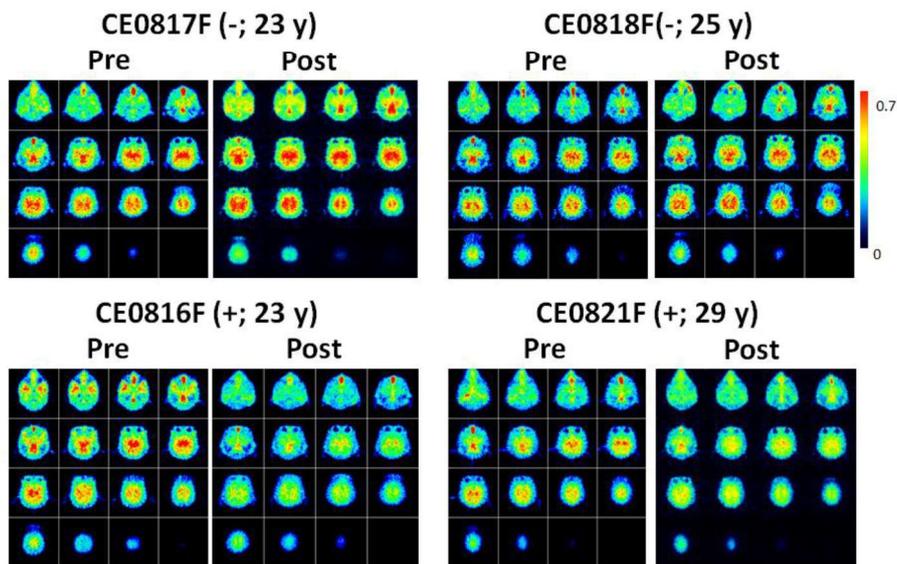
\* detailed age was unknown, but over 20-years-old.



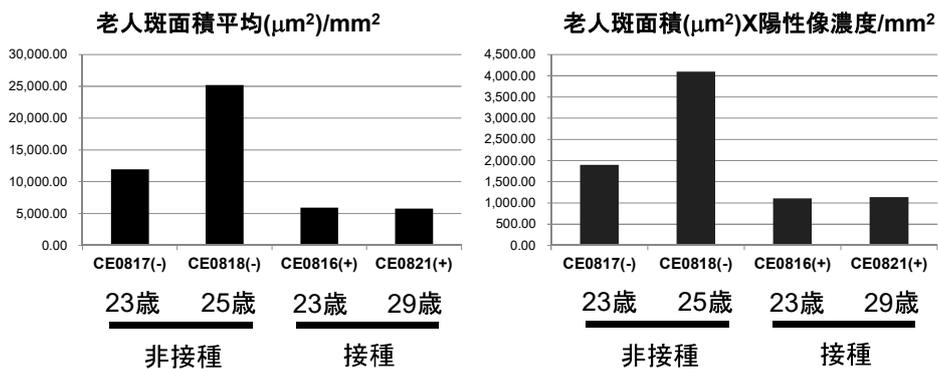
# 高齢カニクイザル2頭にAAV-Aβ1-43ワクチンを経口投与

滋賀医大#	年齢	
CE0817F	23y	非投与
CE0818F	25y	非投与
CE0816F	23y	投与
CE0821F	29y	投与

## 結果 PIB-PET

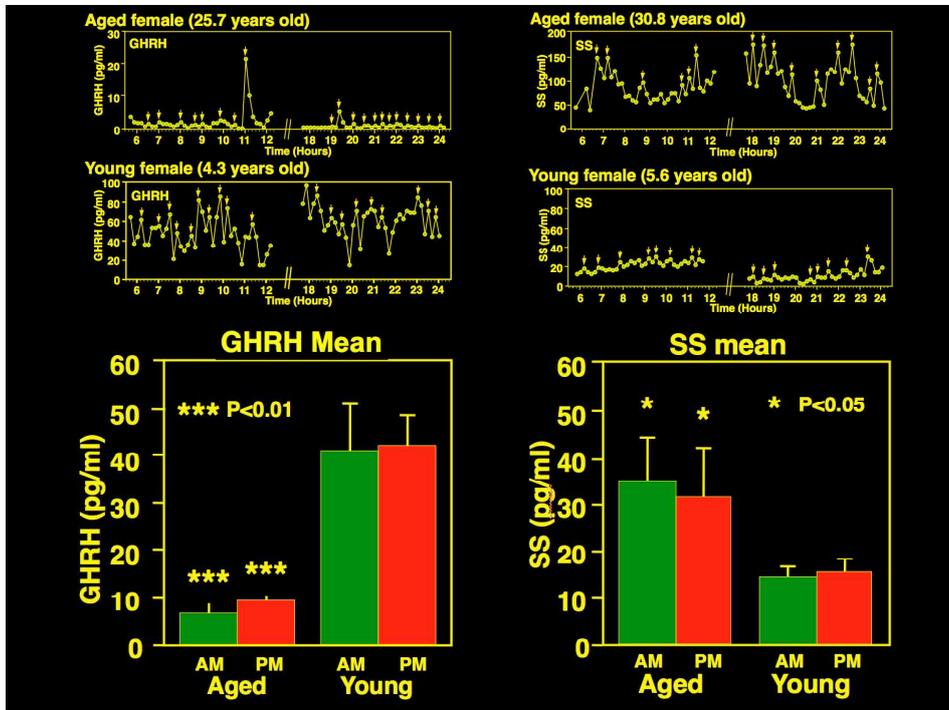
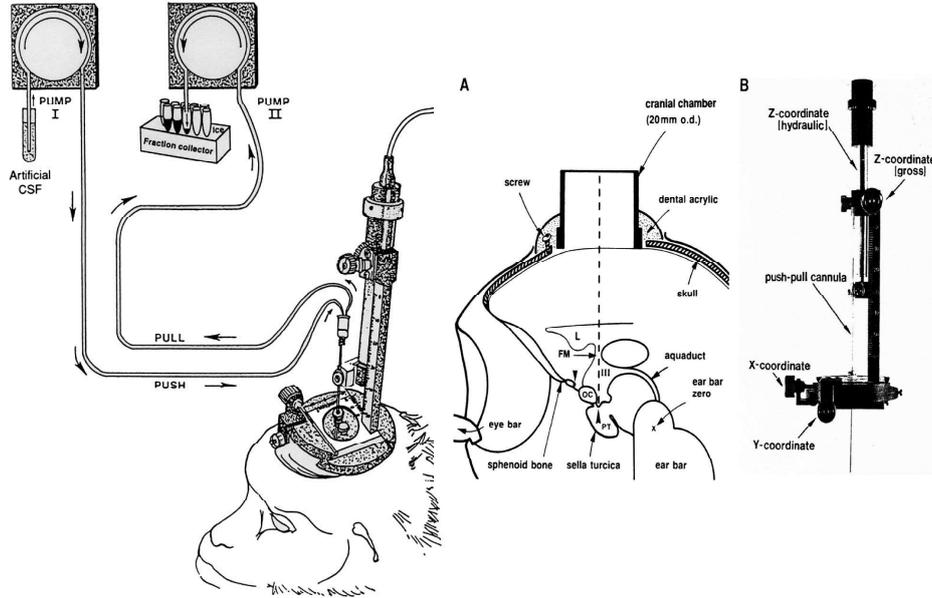


## 老人斑計測データ

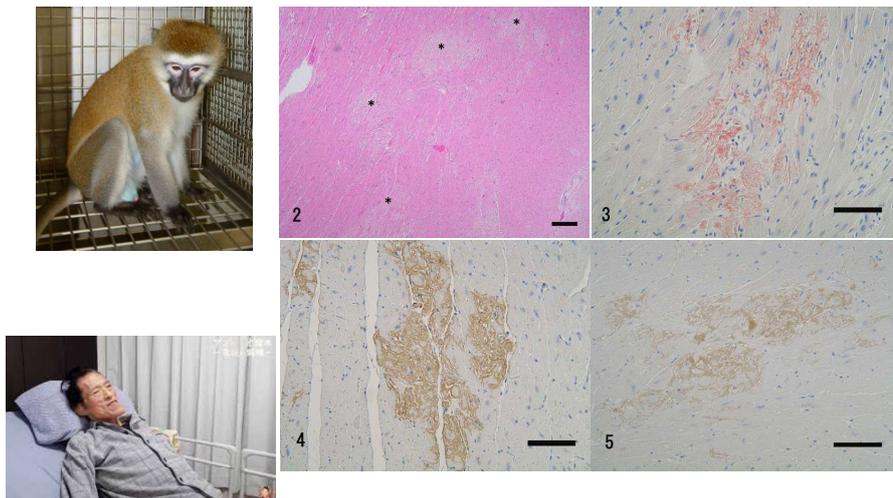


Aβ(82E1)抗体による免疫染色

## 2. 成長ホルモンの視床下部支配、加齢性変化

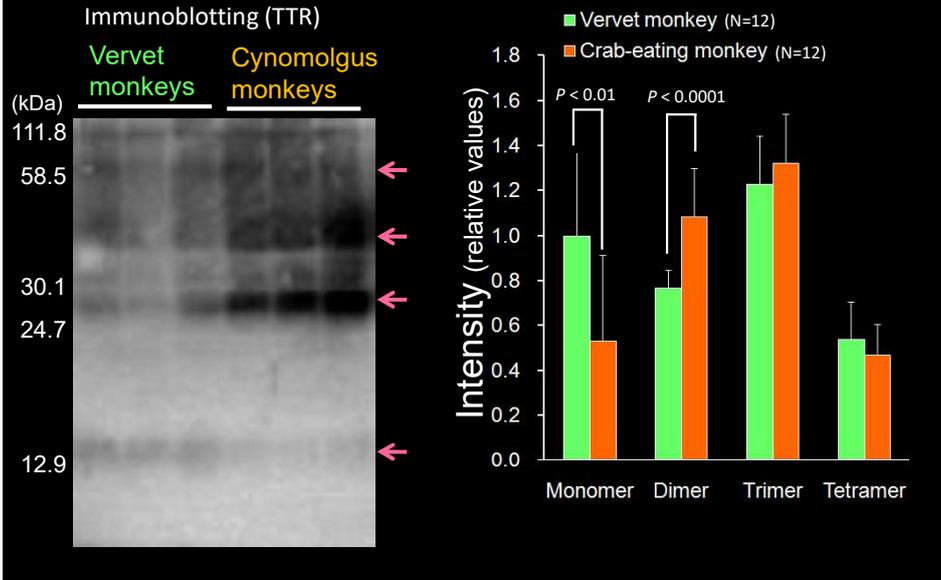


## 3. 動物の全身性老人性アミロイド症の発見

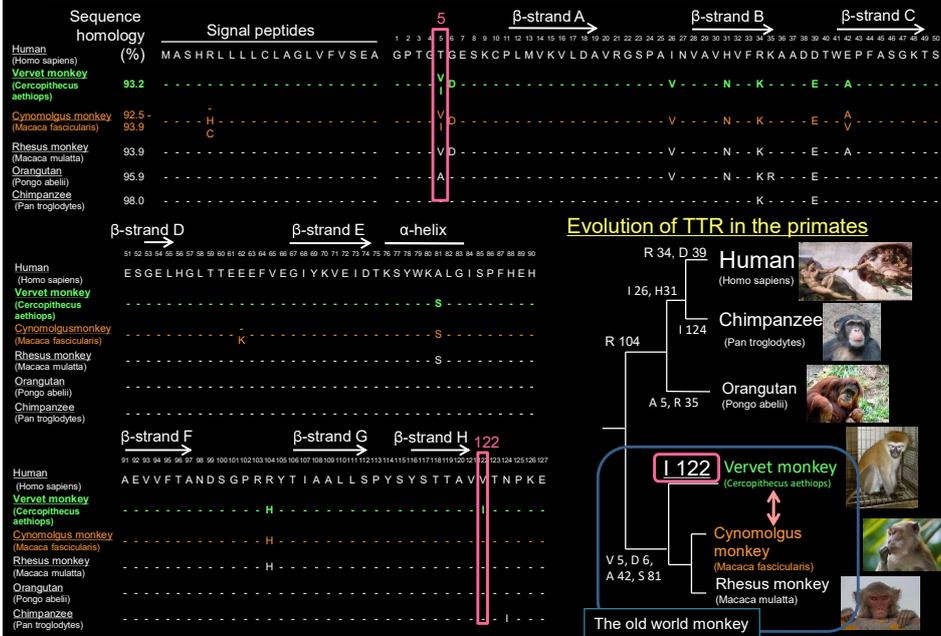


・元気があれば、何でもできる

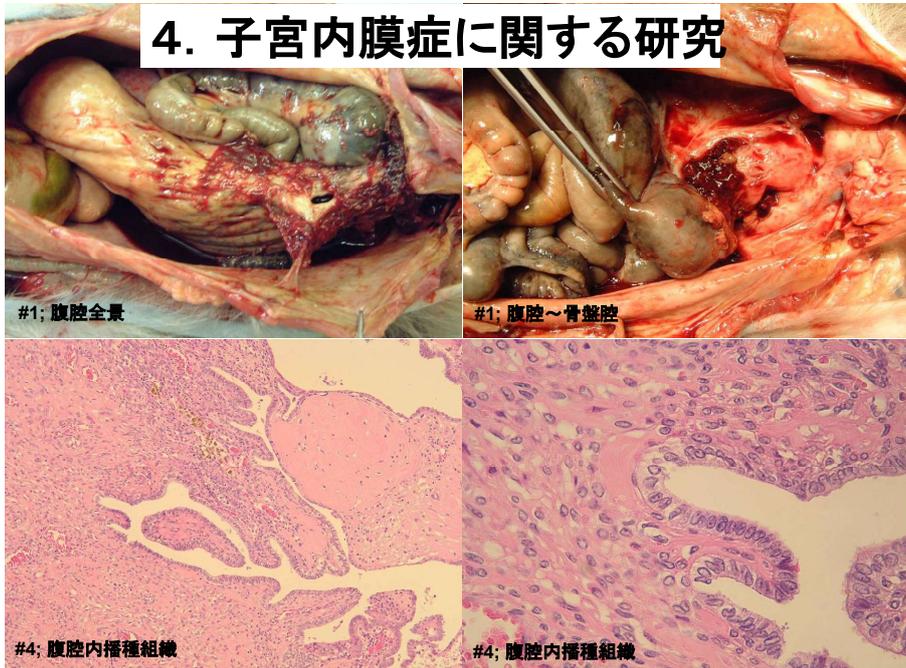
# 血清TTRの生化学的性状



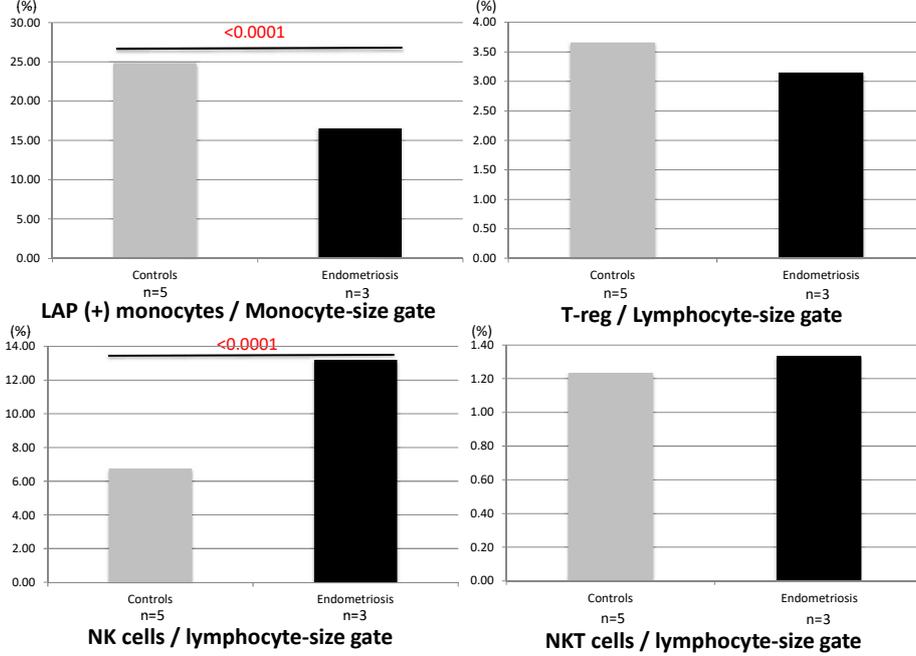
## TTR sequences of primates



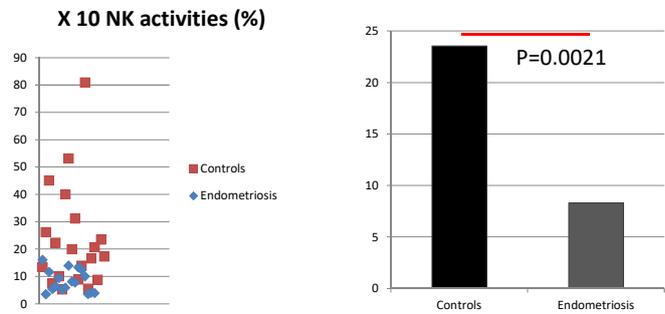
## 4. 子宮内膜症に関する研究



## Results of FACS; LAP (+) monocytes, T-reg and NK cells, PBMC

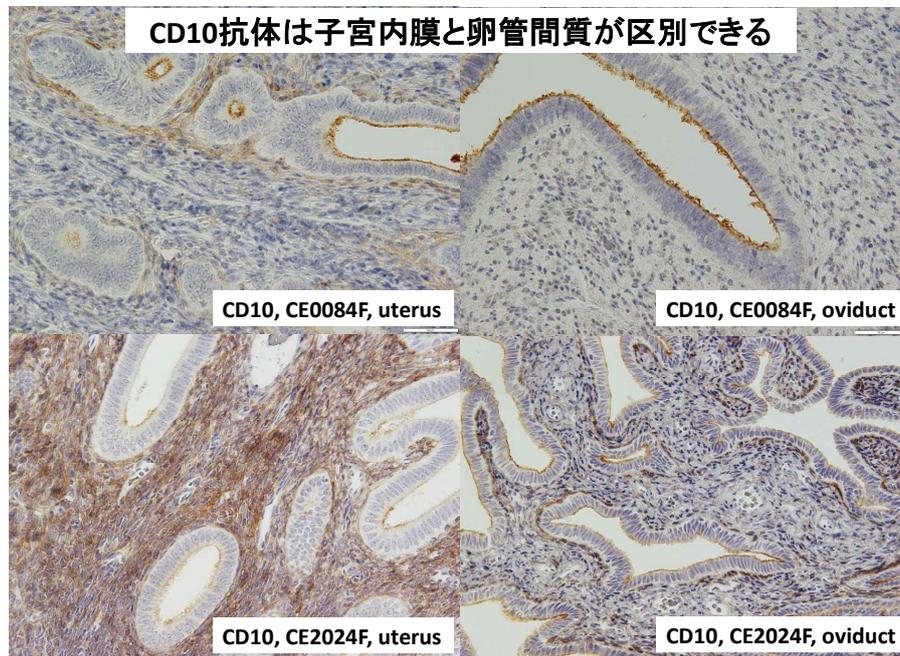


## Results of NK activity, PBMC



(免疫学的研究;末梢血でわかること)

NK細胞の活性の低下で内膜は生着。細胞数は反応性に増加。  
TGF- $\beta$ が架橋された免疫抑制性マクロファージは、減少。



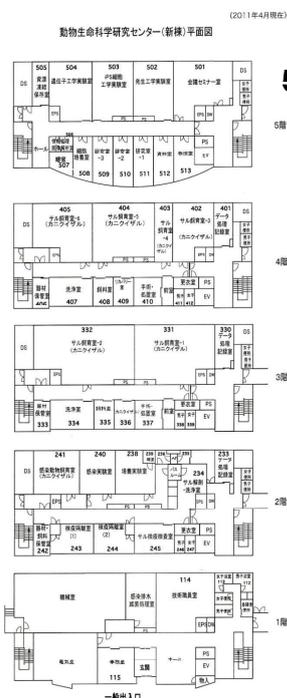
# 忘れ物

## 大学院～留学～滋賀医科大学 サル類を用いた疾患モデル研究

- ①動物のアルツハイマー病関連病変
- ②成長ホルモンの視床下部支配、加齢性変化
- ③動物の全身性老人性アミロイド症の発見
- ④子宮内膜症に関する研究

### 研究支援体制づくり

- ⑤. サル実験施設の研究支援体制整備
- ⑥. 獣医学的管理としての情報発信



## 5. サル実験施設の研究支援体制整備

サル類の実験・研究施設として特化した動物生命科学研究センター第4期施設



## サル類実験・研究施設

- 実験室:7
- 飼育室:12
- 手術・処置室:6
- 外部研究者用居室: 1
- P3飼育室: 2
- P3実験室: 2



# サル個体情報の管理システム

## 3) 学内および学外研究者の研究支援

### サル研究支援スタッフ

- 獣医師:2名
- 技術専門職員:2名
- 技術職員:1名
- サル飼育技術員:6名
- 発生工学系技術者:4名
- 
- 合計10名



### ・本研究の支援内容(1)

- ・手術前、術中の麻酔管理
- ・手術中の個体管理(バイタル等モニタリング)
- ・手術直後の個体管理(麻酔の継続、投薬等)
- ・周術期における個体管理(重点的な観察、投薬)
- ・術後観察等作業補助
- ・解剖・材料採取



京都府医大・同志社大・滋賀医大の緊密に連携  
→ 良好な成績、結果の蓄積

# ・本研究の支援内容(2)

- ・研究実施エリアの拡充
- ・細胞移植・専用飼育室の配備
- ・移植専用飼育室での管理体制の確立
- ・特殊な材料採取への対応
- ・免疫寛容・拒絶に関わる免疫組織学的解析への協力



## サルを用いた研究



再生医療研究

- ・受精卵からのサルES細胞樹立
- ・体細胞核移植によるクローン胚作製とテラーメードES細胞樹立
- ・ES細胞から各種機能細胞への分化・誘導研究
- ・サルiPS細胞樹立
- ・iPS細胞から精子/卵子作製と新たな有性生殖系の構築

モデル動物の作製

- ・アルツハイマー病モデル (ES細胞+遺伝子導入)
- ・子宮内膜症モデル

細胞移植免疫寛容個体 (MHCホモ個体) 作製とiPS細胞の安全性

- ・評価系の確立
- ・感染防御研究
- ・高病原性鳥インフルエンザ感染とワクチン開発
- ・新型インフルエンザ感染

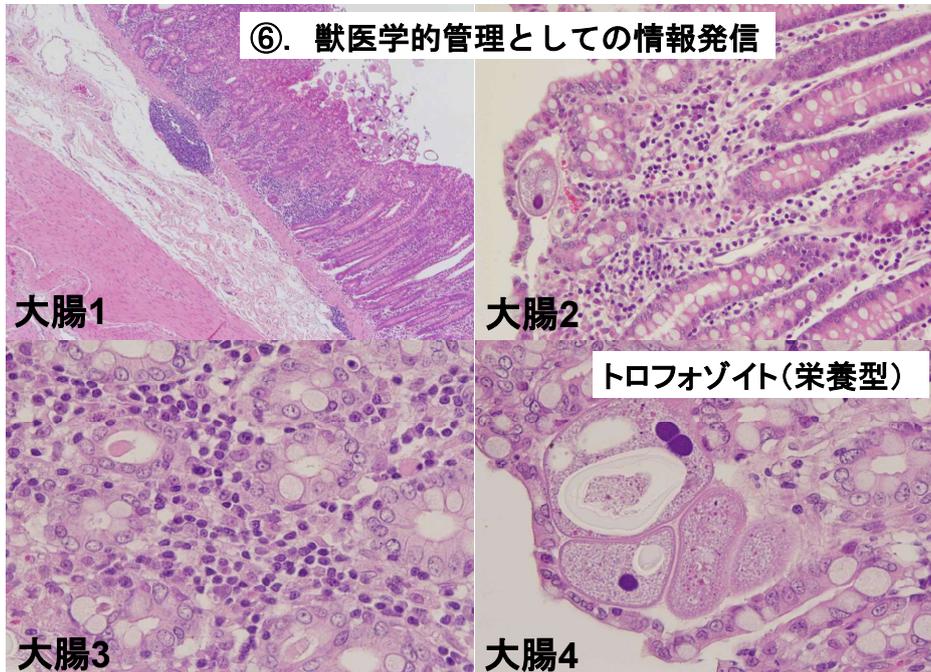
臨床応用に向けたトランスレショナルリサーチ

- ・軟骨再生、インプラント、骨髄移植

心筋細胞 神経細胞 肝細胞 骨細胞 造血細胞 精子/卵子等

体細胞核移植法によるテラーメードES細胞の樹立と精子の作出

## ⑥. 獣医学的管理としての情報発信



## メトロニダゾール

## パロモマイシン硫酸塩



投与のしやすさ  
加工のしやすさ

微生物のDNA合成阻害

原虫細胞内の30Sリボソームに結合、翻訳、蛋白の合成阻害

錠剤

カプセル(顆粒)

苦い

無味

### 材料と方法

4. 多頭数への投与方法(陽性個体以外も投与)  
(22+ / 582 monkeys、施設全域)

④試行4 試行2、3の用量、期間を練り餌に応用

〈レシピ;580頭分10日分〉

2gカボチャ粉末+25mgパロモマイシン/2ml/日・頭

- ・カボチャの粉 11.6kg (20g)
- ・水 11.6L (20ml)
- ・アメパロモカプセル 580カプセル(1カプセル)

〈1カプセル換算での作製手順〉

- ①パロモマイシン250mg/20mlの水溶液を作製。
- ②同水溶液とカボチャの粉20gを1:1の割合で混合。
- ③粘土状になるまで混ぜ合わせたら、型に嵌め1個約4gになるように均等に切り分けた。

\* 食べたかどうかは、ダブルチェック

〈糞便検査〉

- ・投薬開始から0、14(終了日)、21、28日目に、陽性個体のうち15例を選んで検査に供した。



### 結果(2)

#### ②試行2 確実な期間と用量

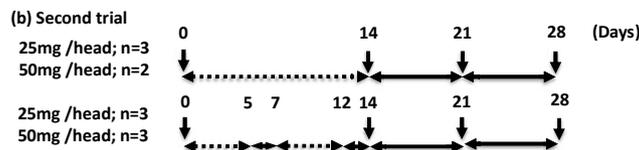


Table 3 Detection of *B. coli* by PS treatment in trial 2

Duration (days)				0		14		21		28	
Doses	Animal ID	Age	Pre-administration		10 or 14 days administration		Cyst	Trop	Cyst	Trop	
			Cyst	Trop	Cyst	Trop					
25mg / 10 days	13F	Unknown	++	-	-	-	-	-	-	-	
	14M	9.5	-	++	-	-	-	-	-	-	
	15M	6.8	++	-	-	-	-	-	-	-	
50mg / 10 days	16M	13.7	+	-	-	-	-	-	-	-	
	17M	4.7	+	-	-	-	-	-	-	-	
	18M	4.6	+	-	-	-	-	-	-	-	
25mg / 14 days	19F	14	++	-	-	-	-	-	-	-	
	20F	12.5	+	-	-	-	-	-	-	-	
	21M	5.6	-	++	-	-	-	-	-	-	
50mg / 14 days	22M	8.3	+	-	-	-	-	-	-	-	
	23F	6.5	+	-	-	-	-	-	-	-	

# ○ これから

## 子宮内膜症のペプチド療法

ファージディスプレイ法によって

子宮内膜組織に特異的なペプチド[Z13]を同定し、治療薬を開発

[Z13]	子宮内膜組織に特異的なペプチド
[KLAKLAL] <sub>2</sub>	ミトコンドリア膜を破壊してアポトーシスを誘導するペプチド
[HLAHLAH] <sub>2</sub>	エンドソーム破壊活性のあるヒステジンを含む新規ペプチド

d-[KLAKLAK]<sub>2</sub>-HLAHL-Z13 (以下、D型ペプチド)

D型アミノ酸はL型アミノ酸と比較して細胞膜損傷活性における拡張構造が優れている

Dochez V, Ducarme G. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RM and ROMA, a review J Ovarian Res. 2019

複数回投与と経時的な内視鏡観察により病変の推移、血漿パラメーターの観察を観察

(適切な投与条件の検討のためペプチドとヒアルロニダーゼの混合物を用いた)

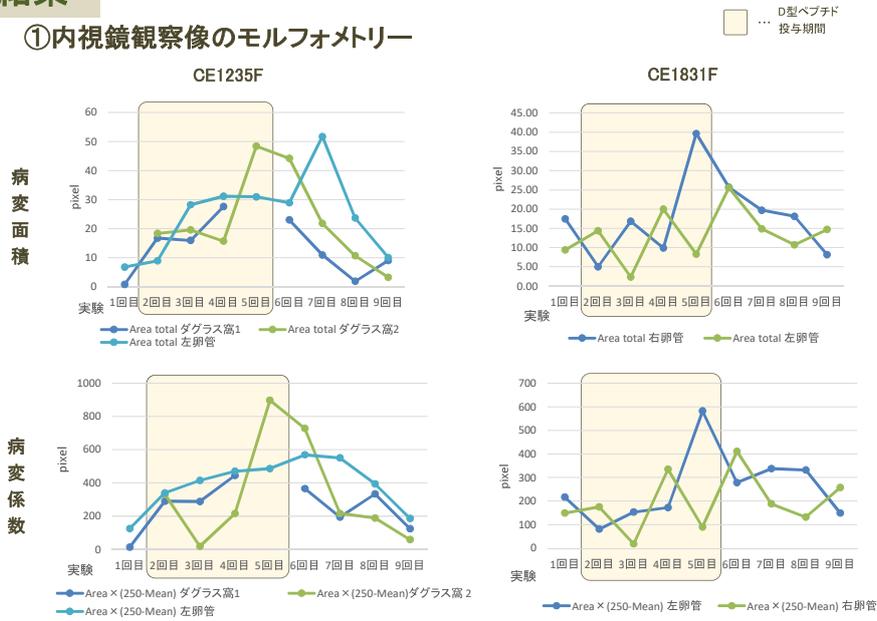
## 結果

### ①内視鏡観察像所見



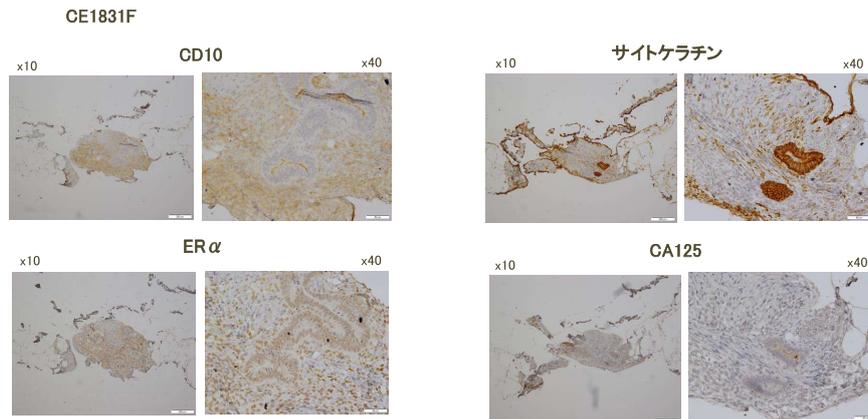
## 結果

### ①内視鏡観察像のモルフォメリー



## 結果

### ③免疫組織化学染色

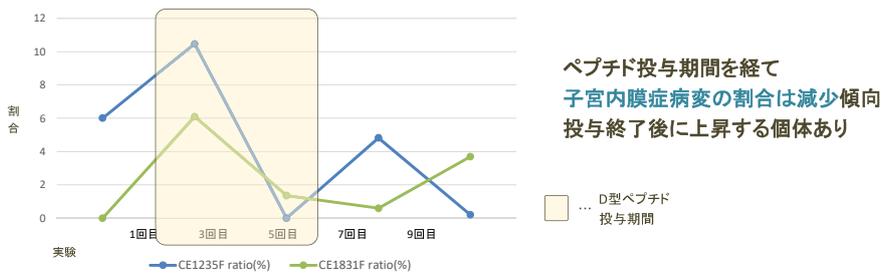


最もきれいに異所性子宮内膜組織を染めているのがCD10  
ImageJでのモルフォメリーにはCD10での免疫染色を使用

## 結果

### ③ImageJによるモルフォメリー

#### 病変割合の推移



ペプチド投与期間を経て  
子宮内膜症病変の割合は減少傾向  
投与終了後に上昇する個体あり

CE1235F



# 結果

## ④ELISA

### CA125



### PD-L1



### TGF-β1



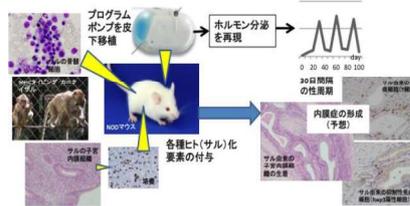
ペプチド投与期間を経て  
**TGF-β1の値は大きく減少**  
 投与終了後に上昇する個体あり  
 CA125、PD-L1は大きな差なし  
 投与終了後上昇

... D型ペプチド  
 投与期間

### 子宮内膜症、動物モデルの特徴

	霊長類(サル)	げっ歯類(マウス・ラット)
病態の再現	可能	手術操作で可能
実験結果の信憑性	高い	中程度
発生までの時間	長い	実験的に操作で短期に
コスト	高い	低い

サル類モデルはあるものの…、利便性としては???



ヒト(サル)化子宮内膜症モデルマウス開発の概略



**ヒト(サル)化マウス**

ヒト細胞でもいいのでは？  
 否→倫理的な壁！



**サル子宮内膜細胞**

NOGマウス

サル骨髄(免疫)細胞

月経サイクル

○マウスへヒト的特性を付与

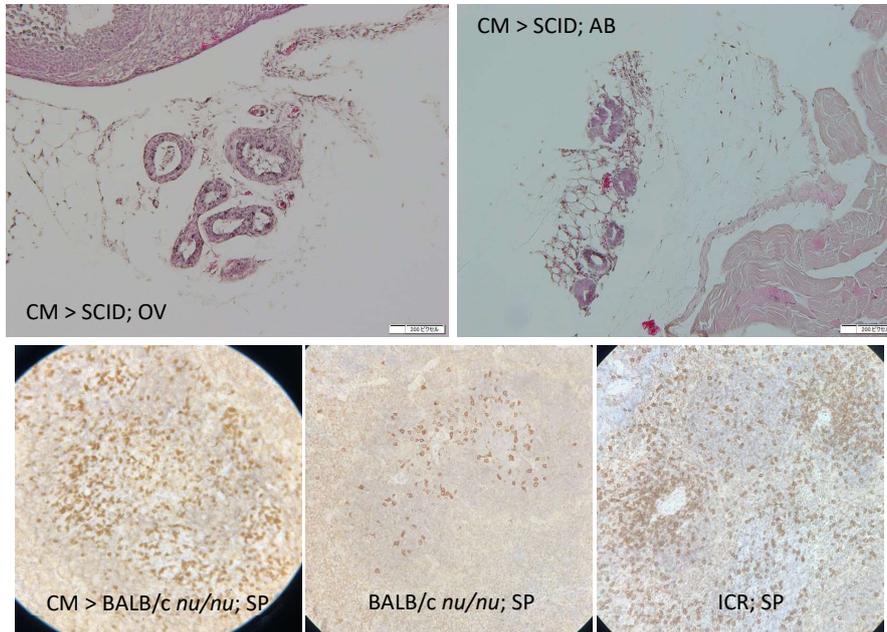
×自然発症しない

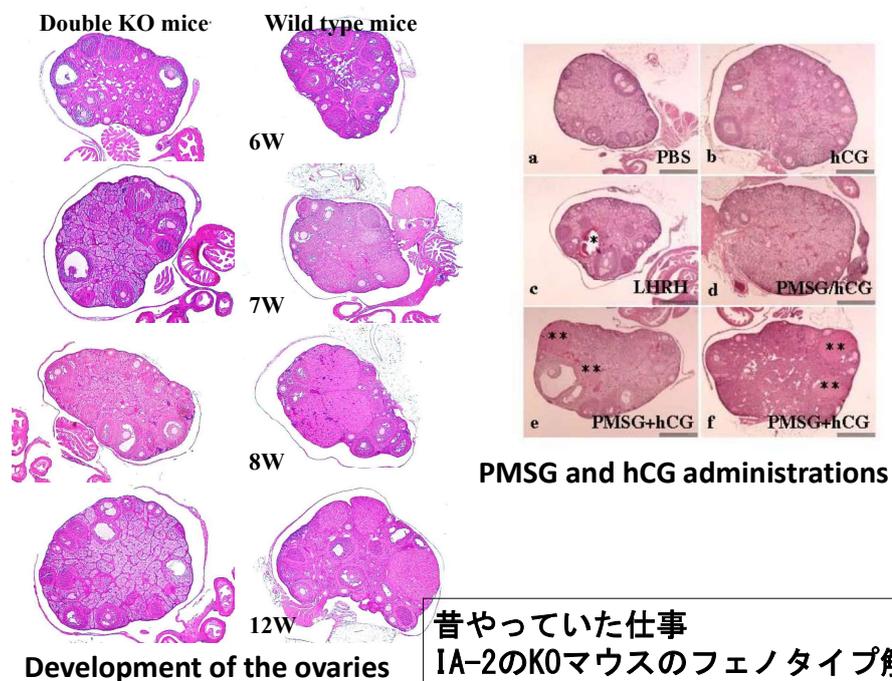
× 発生まで時間がかかる

× 発生頻度は？

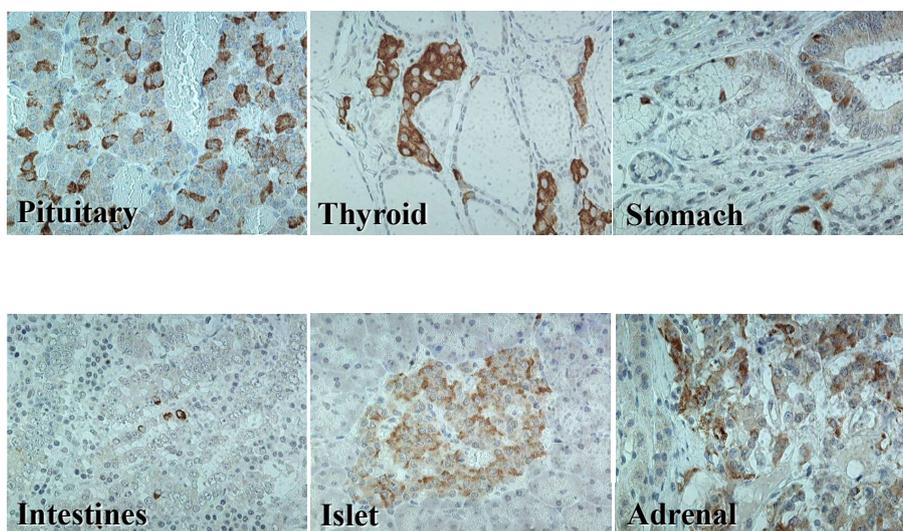
× 飼育費用…

## げっ歯類によるサロゲートモデルのストラテジー





### Immunolocalization of IA-2



これから～  
似たようなフェノタイプのラット

## ○ その他

## 社会貢献

### 動物実験委員会（外部）

- ・生物科学安全研究所

### 外部検証

- ・日本実験動物学会、
- ・日本医薬情報センター、認証委員  
(厚労省管轄の施設の**実地調査**、1年半)

### 学会委員

### 英文誌編集

- ・Experimental Animals
- ・Primates

## カニクイザル供給問題

- ・実験動物の航空輸送
- ・海外生産拠点の変化
- ・動物権利団体のキャンペーン



### 絶滅危惧カニクイザル密輸容疑、米がカンボジア政府関係者を逮捕

最大3000匹を違法取引した業者に関与した疑い、ワシントン条約会議への途上で拘束

2022.11.22

ツイート いいね! 100

10	厚生労働科学特別研究事業	三好 一郎	ミヨシ イチロウ	東北大学	教授・施設長	日本におけるカニクイザル等（非ヒト霊長類）の需要と供給の現状把握と不足見込み数の推計並びに今後の検討・発言に向けた研究
----	--------------	-------	----------	------	--------	---



絶滅危惧種に指定されているカニクイザル。写真はマレーシアで撮影したもの。  
(PHOTOGRAPH BY TIM LAMAN, NPL/MINDEN PICTURES)

[画像のクリックで拡大表示]

- ・国内飼育施設の把握
- ・動物の導入ルート
- ・施設での繁殖業務の有無

## 権利団体対策



某団体から2件質問来ました

滋賀県動物生命科学研究センターは、旧「医学部付属動物実験施設」（一九七七年設立）を改装して二〇二二年に開設された。飼育しているのは、マウス、ラット、ウサギ、サル、犬、ブタなど。サルはカニクイザルが多く、現在（二〇二二年五月時点）六八匹を飼育している。このうち輸入は五四八匹で、センターで体外受精などで繁殖したのが二四匹いる。

同センターを訪れたのは一六年三月。同施設は「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」などをうたっている。動物福祉に力を入れたようになったのは、二〇年余り前は、捕獲された野生のニホンザルを入手していたのですが、動物愛護団体から情報開示請求があり、それを機に野生ザルではなく繁殖業者から入手することに変更しました。当時の施設長が「動物実験が入るために役立つものだ、ということ世の中の人に分かってもらおう。そのためには動物福祉に取り組み、外部の人にも見てもらえるような施設をなければならない」という意識があったので」と獣医師の中村伸一郎・同センター准教授は説明した。

滋賀県大は学内の動物実験委員会に加え、動物生命科学研究倫理委員会も設けている。倫理委員会は「侵襲性が高い実験で『こんなことをしているのか』と判断に迷った時」に開かれるという。

麻布大傘は一七年四月、同大で取材に応じ、「外科実習では、卵巣と子宮の摘出、去勢、脾臓の摘出など生体を使用せざるをえない手技のみに大を使っている。皮膚縫合、結紮（血管などを縛って固定すること）は皮膚パッド、練習キットを使って事前に十分練習させている」と答えた。

## サル業界の人材育成

- ・おっさんのつぶやき・・・若い頃は気軽にサルの実験ができたなあ
- ・サルを扱っている機関が減少  
(サルを使える機関の偏り)
- ・サルの値段が高騰
- ・学学、産官学連携
- ・サル研究やサル利用について行政のコミットと責任所掌の明確化

## 自己点検・・・

- ・やった実験を外部公表  
×
- ・実験動物、動物実験の適切な管理  
○
- ・共同研究支援  
○
- ・社会貢献  
○
- ・今後の展望  
?

ホントに琵琶湖の水は止まるか？



## あとは第三者評価で・・・

- ・東京大学獣医病理学研究室
- ・東京大学実験動物学研究室
- ・日本獣医生命科学大学獣医病理学研究室
- ・ウイスコンシン大学国立霊長類センター  
Terasawa Labo
- ・一般社団法人予防衛生協会
- ・滋賀医科大学動物生命科学研究センター
- ・麻布大学実験動物学研究室

の関係者に深謝します。



天王寺動物園にいるホントの  
新世界ザル・フサオマキザル

これも新世界ザル?

天王寺動物園出口から新世界を望む(2014年6月22日)

# 疾患モデル動物を用いた水頭症原因遺伝子 *Ccdc85c* の役割解析

桑村 充

(大阪公立大学 獣医病理学教室)

Coiled-coil domain containing 85c (*Ccdc85c*)は、水頭症を自然発症するミュータント hemorrhagic hydrocephalus (*hhy*)マウスの原因遺伝子として同定された (Mori et al. Am J Pathol, 2012). 我々は *Ccdc85c* ノックアウトラットを作製し、病態比較および *Ccdc85c* の役割解析を行ってきた。これまでの成果の概要を述べたい。

*hhy* マウス, *Ccdc85c* ノックアウトラットともに、生後 2 週齢頃で頭部の膨隆が認められ (図 1)、4 週齢頃までに状態が悪化してほぼ全例が死亡する。



図 1

発症のホモ型個体では、脳出血 (図 1)、側脳室の拡張、側脳室背側の脳皮質に異所性灰白質 (図 2 矢頭)、上皮細胞扁平化や消失 (図 3) が認められた。

生後0日齢 神経上皮細胞（上衣細胞）の形態

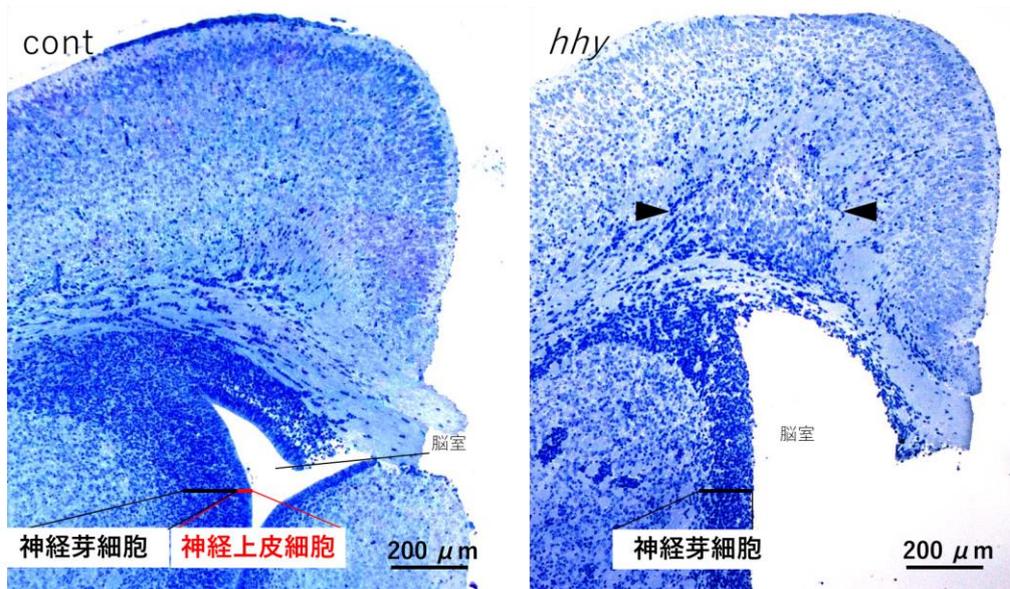


図 2

生後マウス（上衣細胞の形態）

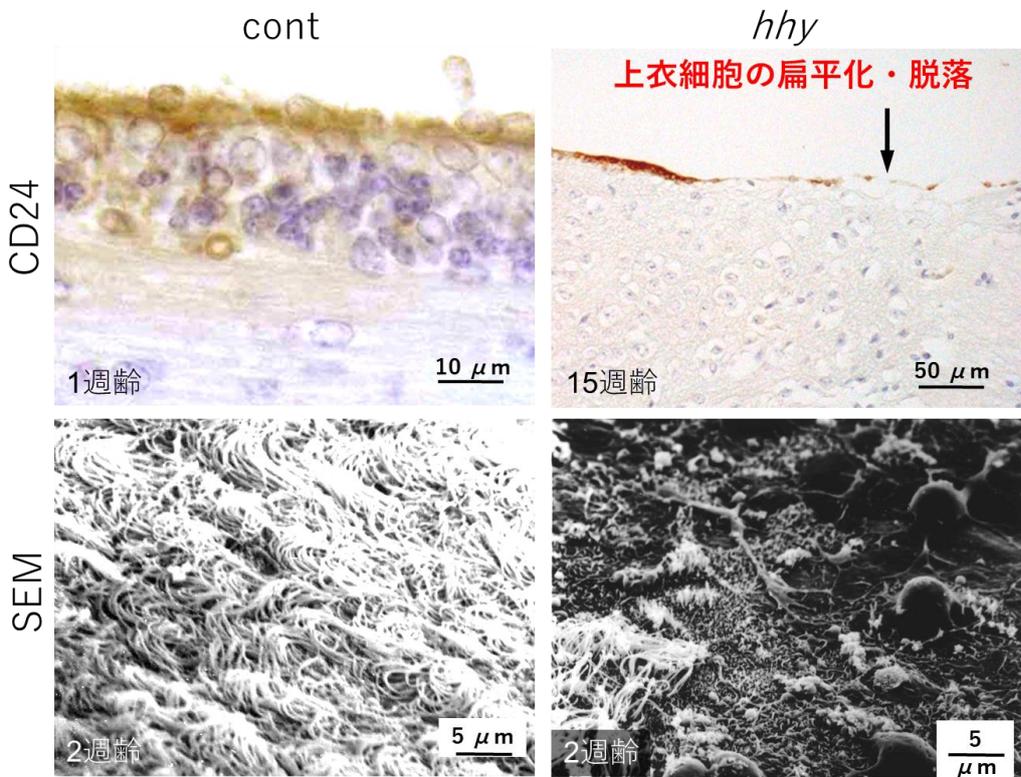


図 3

RT-PCRにて全身臓器の *Ccde85c* 遺伝子発現を解析したところ、大脳、小脳、脊髄、眼球、皮膚、精巣および内耳で特に強い発現が確認された。CCDC85C 蛋白は中枢神経発達期の神経上皮／上皮細胞に発現し、ZO-1 などの細胞間接着分子との共発現していた。

**異所性灰白質**：経時的に病変の進行過程を観察したところ、*hhy* ホモ型マウスでは脳の発達早期に神経上皮細胞の脱落を生じた。胎齢 13, 15, 17 日目に分裂細胞の S 期に核内に取り込まれる BrdU を投与し生後 7 日にて解剖し、BrdU 取込み細胞を同定した。*hhy* マウスでは、胎齢 15 日以降に産生された神経細胞が異所性灰白質に分布した。さらに、NeuN（成熟神経細胞）、*Satb2*（発生後期神経細胞）、*Tbr1*（発生早期神経細胞）に対する免疫組織化学によって、異所性灰白質に多数の *Satb2* 陽性神経細胞が分布し、発生後期の神経細胞が異所性灰白質を構成することが明らかとなった（図 4～6）。

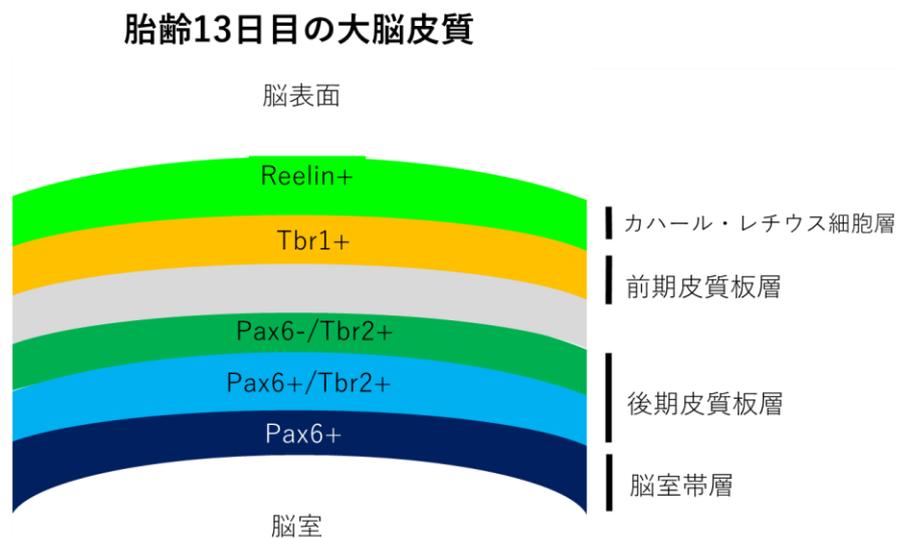
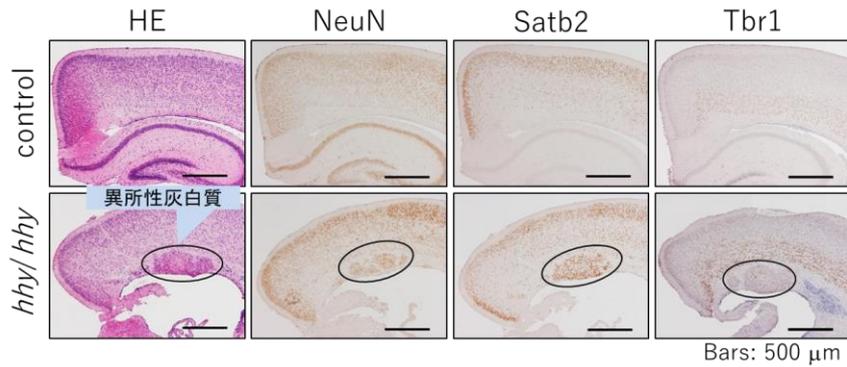


図 4

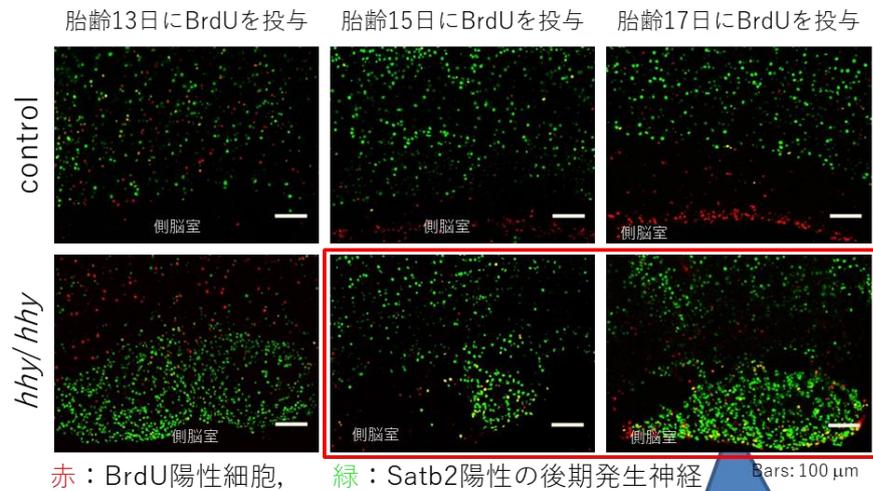
### 異所性灰白質構成細胞の発生時期の検討(生後7日)



	NeuN	Satb2	Tbr1
陽性細胞	成熟神経細胞	後期発生神経細胞	早期発生神経細胞
正常灰白質	+	+(特に表層)	+(やや深層)
異所性灰白質	+	+	-

図 5

### 異所性灰白質構成細胞の産生時期の検討(生後7日)



赤: BrdU陽性細胞, 緑: Satb2陽性の後期発生神経細胞

**hhy**マウスでは**胎齢15日以降**に産生された後期発生神経細胞が異所性灰白質を構成している。

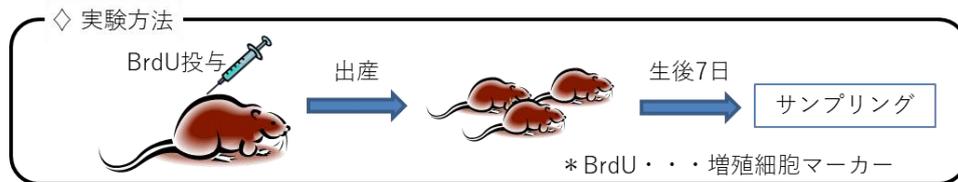


図 6

水頭症：発症個体の側脳室では，神経上皮細胞の脱落部位を中心として上皮細胞が発達せず，水頭症の発症とともに扁平化した細胞が内張りした．上皮細胞の欠損が何らかの役割を演じて脳脊髄液の貯留を引き起こし，水頭症の原因と考えられた（図 3、7）．

## まとめ

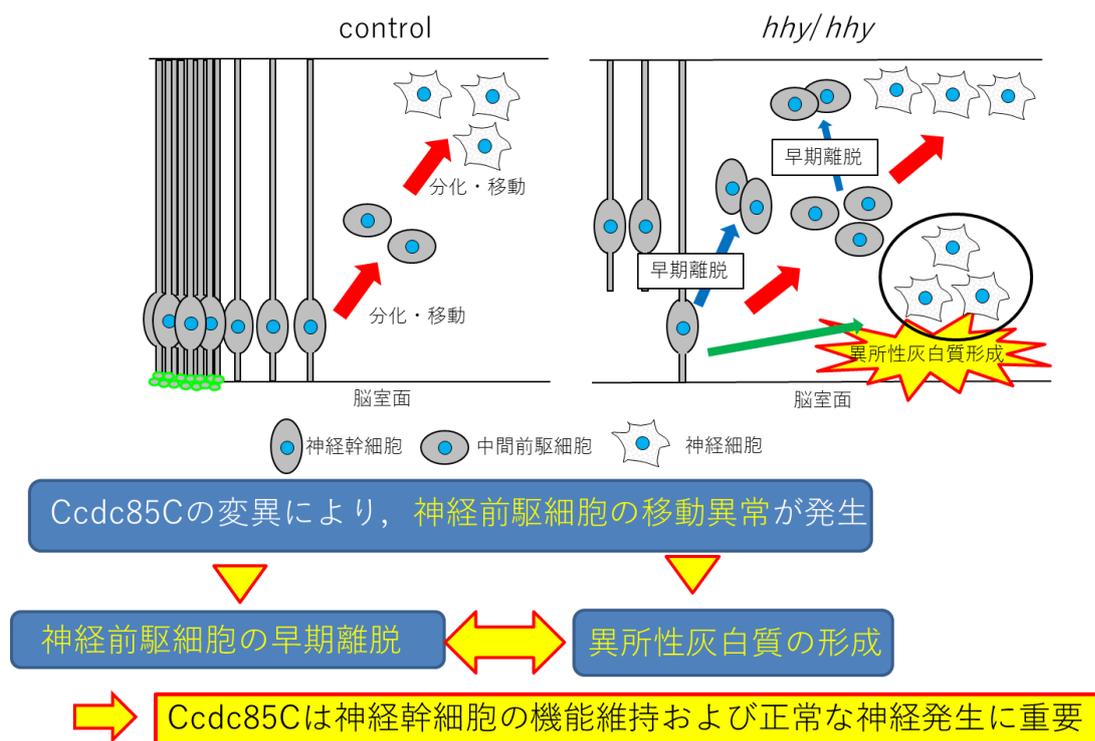


図 7

網膜病変： *Ccnc85c* ノックアウトラットの生後 13 日齢から網膜病変が認められた．網膜病変は，外顆粒層の核が巣状に錐体桿体層に認められる網膜異形成（図 8、 *hhy* マウスの病変）と，内顆粒層の二層化であった． *Ccnc85c* ノックアウトラットの網膜異形成領域では，CCDC85C，CROCC， $\alpha$ -tubulin，ZO-1，Sopsin（外節の光受容蛋白質マーカー）の発現が欠如していた． *Ccnc85c* ノックアウトラットの網膜異形成が認められない領域においては，CROCC， $\alpha$ -tubulin，ZO-1 が発現しているものの，CROCC， $\alpha$ -tubulin 陽性の線毛が減数した．



図 8 (*hhy* マウスの網膜異形成)

最近, *Ccdc85c* が細胞極性に関与し神経幹細胞の増殖を制御すること,  $\beta$ -catenin を介して肝細胞癌の発癌に関与することが報告された. 我々の観察した病変は, これらの報告とよく一致すると考えられた.

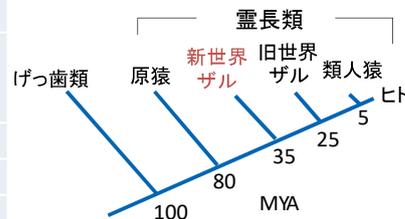
# マーモセットの飼育管理 特にwasting syndromeについて

公益財団法人 実験動物中央研究所  
マーモセット医学生物学研究部  
井上貴史

## コモンマーモセット



英名	common marmoset
学名	<i>Callithrix jacchus</i>
分類	霊長目直鼻亜目真猿下目広鼻小目 (新世界ザル類)オマキザル科 マーモセット亜科
原産	ブラジル北東部
体サイズ	体重300-500 g, 体長20-25 cm
生活史 寿命	性成熟1.5歳, 1-3子/回 出産 平均 11年 (20年以上も)



## マーモセットの実験動物としての特性

### ヒトに近縁

ヒトとの類似性: 遺伝子, 生理学的・解剖学的特徴, 代謝, 病原体感受性, 高次脳機能, 社会行動...



### 小型

取扱いが容易  
貴重な新薬, 細胞等の投与量が少なく済む  
生態に配慮した広い飼育スペースを提供しやすい

### 繁殖効率が良い

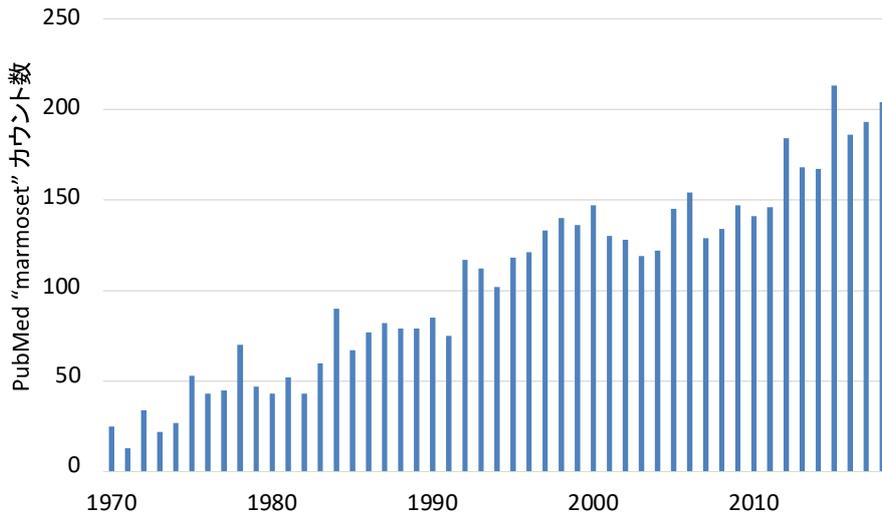
高い繁殖力: 1.5歳で性成熟, 2-3子を年2産  
国内に多数の繁殖コロニー  
遺伝学的・微生物学的にコント  
計画繁殖, 安定した供給体制

### 遺伝子改変動物の作製に適する

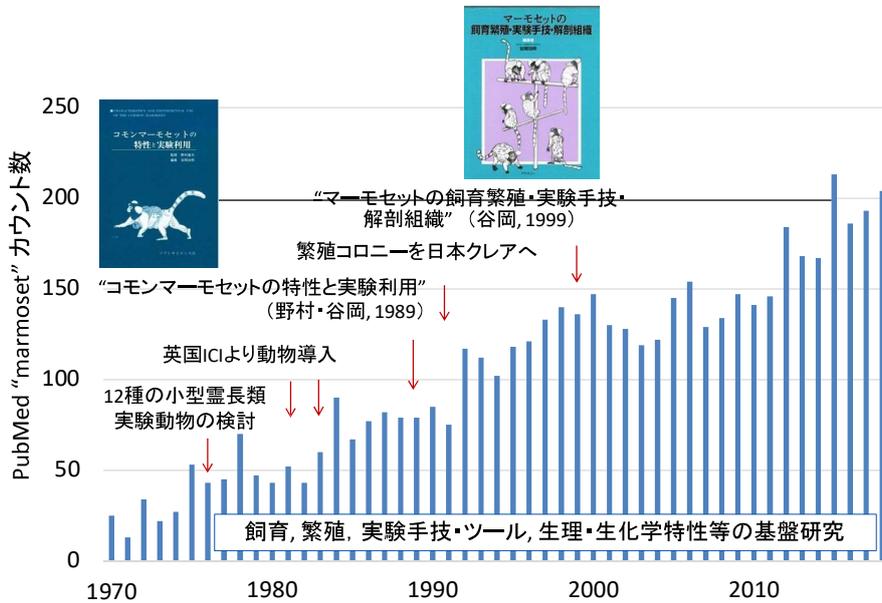


(Sasaki et al., 2009)

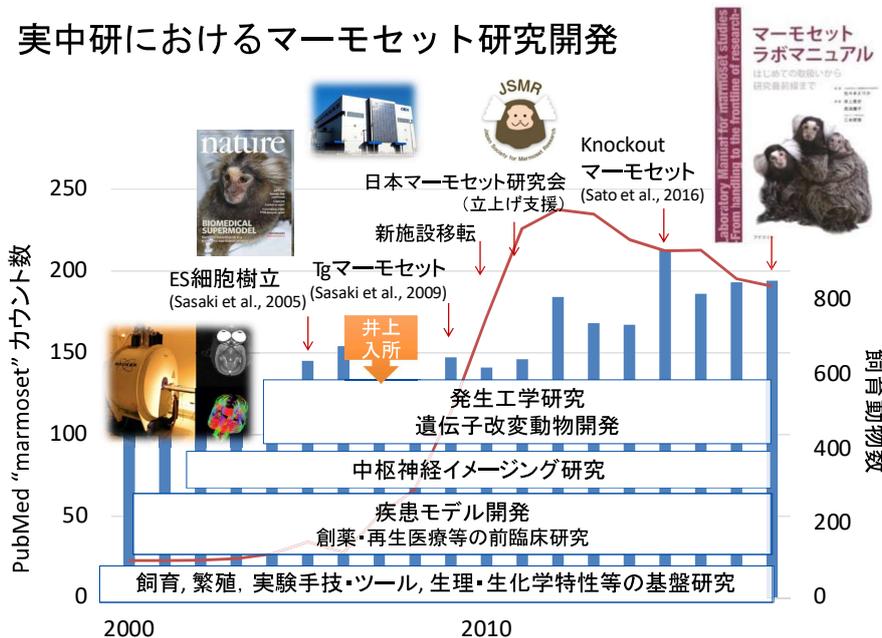
# PubMed検索“marmoset”



## 実中研におけるマーモセット研究開発



## 実中研におけるマーモセット研究開発



## 実中研マーモセット施設の紹介

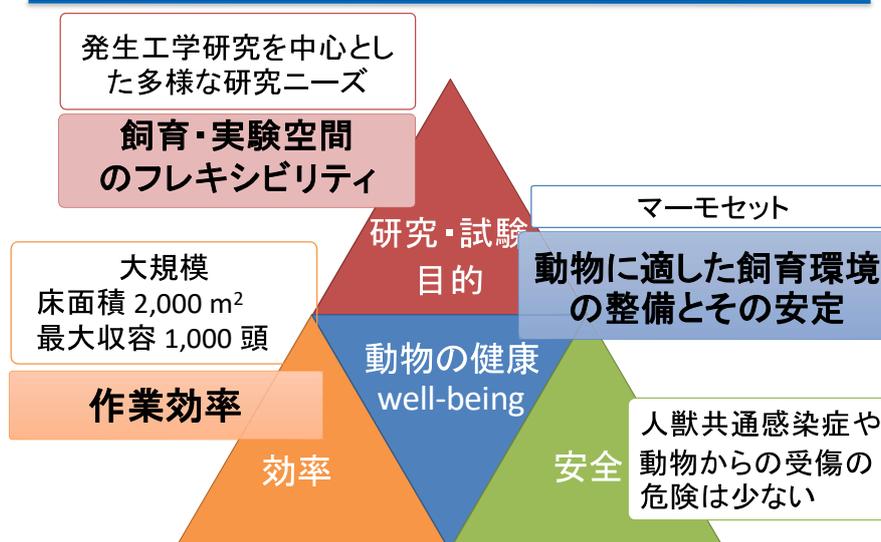
稼働年	2011年から現施設に移転 2019年 リニューアル
施設規模	総床面積 約2,000 m <sup>2</sup> 動物室 29室
動物数	約700頭 (2023年11月現在)



## 動物実験施設のバランス



## 実中研のマーモセット施設の基本コンセプト



## マーモセットの飼育条件

温度	27-28℃
湿度	30-50%
換気回数	10-15回/時
照明	150-300 lux (床上 40-85cm) 12時間照明サイクル
騒音	60 dBを超えない
飼育単位	単独, ペア(同性・異性), ファミリー 複数飼育を標準 単独飼育では視覚・聴覚的に孤立させない ペア飼育では相性が非常に重要
その他	1室あたりの飼育数が多すぎないようにする 向い合うケージ間は1.5 m以上とするか, 目隠しを設けると なり合うケージ間でのやりとりがないようにする

## 欧米指針における マーモセットケージサイズの推奨基準

指針	収容頭数	床面積	高さ
EU指令 <sup>a</sup> (2010)	2頭+子まで (5ヶ月齢以下)	0.5 m <sup>2</sup> 以上 (5ヶ月齢以上個体1頭追加 ごとに0.2 m <sup>3</sup> 追加)	150 cm 以上 (ケージ天井まで 180 cm以上)
ILAR Guide <sup>b</sup> (2012)	複数飼育	0.2 m <sup>2</sup> 以上/頭	76.2 cm 以上

- 両指針とも複数飼育が標準
- 8ヶ月齢以前に子分けすべきでない (EU指令)

- a. 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.
- b. Guide for the care and use of laboratory animals 8th Edition, Institute for Laboratory Animal Research (ILAR), 2011

## マーモセットの給餌

- 摂餌量: 12-25 g/日 (固形飼料の場合)  
基礎代謝率: 140-210 kcal/kg BW/day
- 高いビタミンD要求量(不足すると骨障害)  
※自然光を浴びない場合に特に注意
- 霊長類はビタミンCを生合成できない
- 食べこぼしが多い
- 補助食の偏食に注意



新世界ザル  
専用飼料  
CMS-1M  
(日本クレア)



給餌のバリエーション

各飼料の栄養成分(100g中の含有量) <https://www.clea-japan.com/>

項目・単位	旧世界ザル(CMK-2)	新世界ザル(CMS-1)	マウス(CA1)
粗タンパク質%	20.8	27.5	27.4
粗脂肪%	4.2	8.7	4.9
粗繊維%	4.8	3.3	4.2
粗灰分%	6.5	6.6	8.2
炭水化物NFE%	55.6	45.9	46.8
エネルギー kcal	343.6	372.5	340.8
ビタミンC mg	58	144	21
ビタミンD3 IU	215	3185	225

マーモセット  
の必要栄養  
については  
未だ不明が  
多く、改善の  
余地がある

## マーモセットの給餌

実中研の給餌

飼料(CMS-1M, 日本クレア): 1日1回給餌+夕方に補充

補助食

繁殖動物, 育成動物の栄養補助: はちみつミルクご飯, うずら卵水煮, Ca剤..

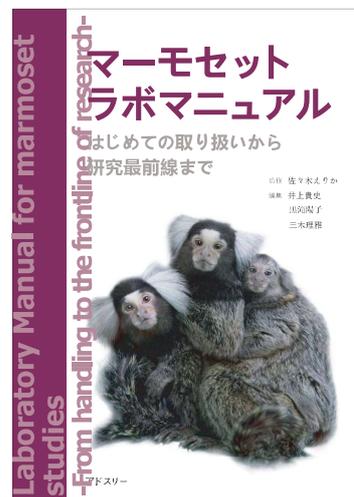
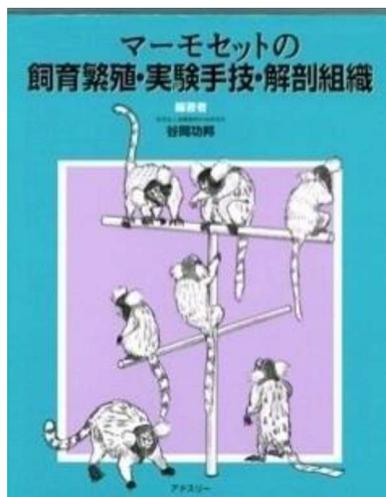
体調不良動物, 疾患モデル動物の栄養補給: 練り餌, 流動食, 肉(ペットフード)などの高タンパク食.

食欲増進のため, ごほうび(馴化)として, 投薬時に: カステラ, マシュマロ, アラビアガム..



## マーモセットの環境エンリッチメント

- 運動や本来の習性を促す工夫
- とまり木は, 運動のみならず, 木かじり, マーキングといった習性を促す
- 快適で安心できる隠れ家/寝床の設置  
: 巣箱(兼捕獲箱), ハンモック, 寝床棚...
- 周囲を見渡せるような装置: バルコニー...
- 餌探し (foraging) を促す
- 洗い過ぎは過剰なマーキングを招く可能性
- 補助保温: 環境のバリエーション
- 音楽よりも静寂を好む, という報告



# マーモセットの飼育管理

## 特にwasting syndromeについて

---

- 実中研における  
マーモセットの飼育管理
- 実中研における  
マーモセットの疾病とその対策  
Wasting syndromeについて



Attributed to Louis Tessier  
(France), 1719-1781

## 実中研のマーモセットの防疫対策

---

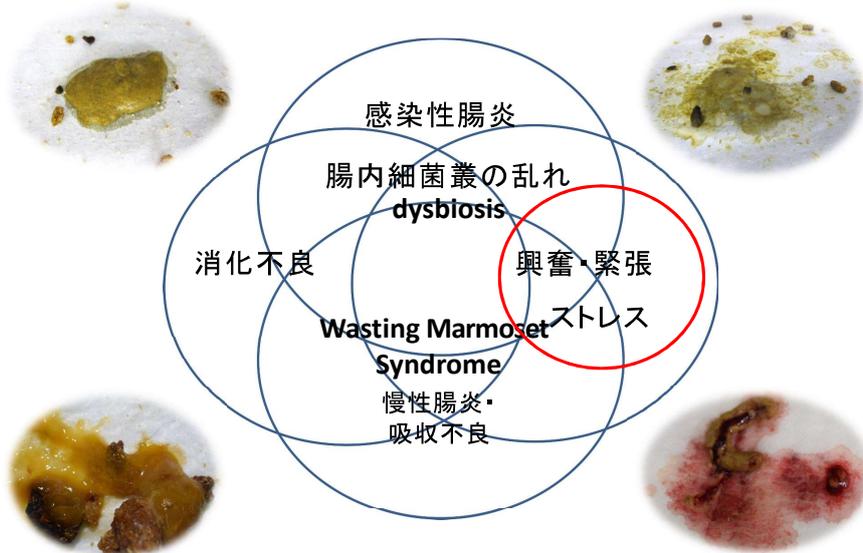
- 入退室制限  
麻疹抗体陽性で結核の疑いのない(胸部X線検査等)証明の提出  
発熱, 発咳の認める者の入室を禁止
- 更衣(個人用防護具)  
専用衣, 帽子,  
マスク, 手袋着用
- 定期検査  
糞便細菌検査(抜き取り検査(異常便), 月1回)  
: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Klebsiella* spp.  
結核菌(ツベルクリン検査)は必要に応じて

## マーモセットで注意すべき感染症

---

- 国内では繁殖コロニー確立以後,  
重大な感染症の発生事例の報告なし
- ヒトと共通の感染症の注意  
マーモセット→ヒトの重篤な感染症の報告はない  
: Bウイルスの自然感染例なし(自然宿主でない)  
ヒト→マーモセットの重篤な感染症の事例がある  
: 麻疹, 単純ヘルペス1型(HHV-1)の  
致死性の集団感染事例の報告
- 他の動物からの感染症の注意  
: *Herpes tamarinus*, *Herpes saimiri* (リスザル)  
センダイウイルス, LCMV(げっ歯類)

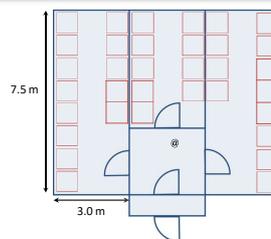
# マーモセットの下痢症の原因



## マーモセット飼育環境の改善

デリケートな動物・ファミリーが基本社会形態

- 飼育室環境の安定化
  - 飼育室に隣接した処置室の設置
  - 中央洗浄により動物室内で洗浄作業を実施しない
- 大型ケージの導入によりファミリー飼育を適用
- 良好なヒトと動物との関係構築
  - できる限り恐怖心を与えない取り扱い



### 実中研のマーモセットにおいて検出されている病原微生物

分類	微生物種	疾患との関連
原虫	<i>Pentatrichomonas hominis</i> (腸トリコモナス)	低病原性, 正常便と下痢便で同程度に検出 (Inoue et al., 2015)
細菌	<b>Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> (EPEC, 腸管病原性大腸菌)</b>	血便, 出血性大腸炎 (Hayashimoto et al., 2016)
	<b><i>Clostridium difficile</i></b>	下痢症(特に粘液性), 偽膜性大腸炎(致命的) (Inoue et al., 2022)
	<b><i>Clostridium perfringens</i> (ウェルシュ菌)</b>	稀に敗血症 (Yasuda et al., 2016)
	<b><i>Klebsiella pneumoniae</i> (肺炎桿菌)</b>	敗血症(繁殖コロニー立上げ時に若齢個体で流行, 伊藤1989) 海外で高病原性株が問題
	<b><i>Helicobacter</i> spp.</b>	非病原性?
ウイルス	Callitrichine herpesvirus 3 (CalHV-3; lymphocryptvirus)	リンパ球増殖症/リンパ腫との関連? (Inoue et al., 2022)

## Marmoset Wasting Syndrome (MWS)

- Callitrichinaeに属する種(マーモセット類)に認められる消耗症でMWSは古くから慢性の衰弱や発育障害を示す病気の総称
- **削瘦、骨格筋の萎縮、脱毛を主徴とし、貧血や低アルブミン血症、下痢(慢性あるいは間欠的)が認められることが多い**
- 診断基準は施設によって異なる

### 実中研の診断基準

- 十分な餌の摂餌にも関わらず持続的な体重減少
- 脱毛症
- その他に衰弱の原因となる疾患が認められない
- \* 削瘦, 低アルブミン血症, 貧血を主徴

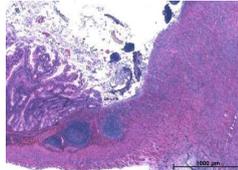
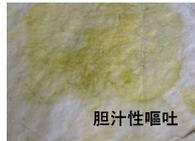


## 実中研でのMWSの現状の対策・治療

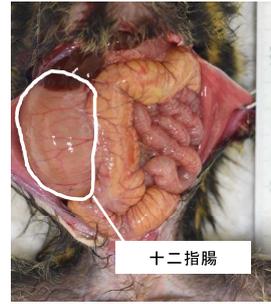
- 早期対応: 体重減少時の迅速な対応, 血液検査(低アルブミン, 貧血)による診断
- ストレス軽減: 実験中止, ペア分け, 移動..
- 飼育環境の改善により発症減
- 栄養補給: 練り餌, 高栄養流動食(メイバランス, ), 高タンパク食(キャットフード肉..)
- 投薬例: 消化酵素剤&ビタミンB12  
高力価パングレアチン製剤(リパクレオン顆粒, マイラン) 0.06g/匹/日 PO  
通常のパングレアチンの6-8倍の酵素活性  
ビタミンB12(シアノコバラミン, 東和薬品) 100mg/匹/週 SC

## マーモセットの十二指腸拡張症

- 慢性的な十二指腸の拡張/狭窄を呈する疾患 (Mineshige et al., 2020)
- 実中研では2009年から症例がみつまっている (計150頭以上).
- 海外のコロニーでの類似の疾患の報告 (Fitz et al., 2020, Sheh et al., 2022, Kwak et al., 2022).
- 徴候: 嘔吐, 上腹部の張り, 脱水 (Cl), 衰弱, 誤嚥性肺炎 (麻酔のリスク)
- 原因不明
  - 関連病変: 十二指腸潰瘍, 十二指腸-結腸の癒着 (腹膜炎を伴う), 胆管炎
  - 家族性??
  - *Clostridium perfringens* 検出例が多い (Sheh et al., 2022)



十二指腸潰瘍



## 実験動物マーモセットの課題

### ヒトに近縁

- ヒトとの相違性
- 心理的ストレスなど動物のwell-beingへの特別な配慮
- ヒトと共通の感染症のリスク

### 小型

- **健康管理の課題:** デリケート, 急激な衰弱  
消化器疾患, wasting syndrome, 十二指腸拡張症

### 繁殖効率が良い

- 出産, 育仔の負担
- 3匹出産時の対応: 人工哺育, 補助哺乳

### 遺伝子改変動物の作製に適する

- 倫理的課題  
特に疾患モデル

26

**【第 154 回研究会 令和 6 年 3 月 1 日(金曜日) 於：京大楽友会館】**

テーマ：脳の進化

<講演>

1. 「ノックアウトマウスで解明する、高次脳構造進化における長鎖非翻訳 RNA の役割」

鈴木 美穂 (名古屋大学医学系研究科・腫瘍生物学講座)

2. 「フェレットを用いた脳の発生と進化の分子メカニズムの解析」

河崎 洋志 (金沢大学医学部 脳神経医学教室)

<トピックス>

「動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane のオープンソース開発」

岡村浩司 (国立成育医療研究センター システム発生・再生医学研究部・組織工  
学研究室)

# ノックアウトマウスで解明する、 高次脳構造進化における長鎖非翻訳 RNA の役割

鈴木 美穂

(名古屋大学医学系研究科 腫瘍生物学講座)

哺乳類の脳が持つ高度な機能は、二つの重要な構造の獲得を通じて進化した。一つは、哺乳類の出現とともに発達した新皮質である。新皮質の六層構造と神経回路網は大量の情報処理を行う中枢として働く。もう一つは、左右の脳の連結である。有胎盤哺乳類以降、脳梁と呼ばれる神経繊維の束が発達し、これにより左右の大脳半球がつながり迅速に情報を伝達し合って一体として働くことを可能にした。脳梁の進化は、脳の情報処理能力を指数関数的に増加させ、高度な認知機能の獲得を促した。

このような高次脳機能を担う構造の進化は、どのような分子メカニズムによって実現されたのだろうか？この問いに答えるために、私たちはタンパク質をコードしない長鎖非翻訳 RNA (lncRNA) の機能的意義に注目した。これまでの研究から、種を超えて配列保存性が高い lncRNA の多くが脳神経系で特異的に発現し、また一部の lncRNA 分子が複数の遺伝子発現を一括して調節していることがわかってきた。一方で、脳特異的な発現様式を示すにも拘わらずいまだ機能がわかっていない lncRNA が数多く存在する。

私たちは、配列保存性が高い lncRNA のうち、有胎盤哺乳類以降に脳での発現を獲得した長鎖非翻訳 RNA (lncRNA) を探索した。ECONEXIN と名付けた lncRNA はヒトとマウスで 83%と、lncRNA としては例外的に高い配列相同性を示し、有胎盤哺乳類以降の脳に特異的に発現していた (図 1)。

## 高次脳機能の進化にかかわる lncRNA の探索 有胎盤哺乳類以降 脳での発現 + 高い塩基配列保存性

### ECONEXIN (evolutionary conserved and expressed in neural tissues)

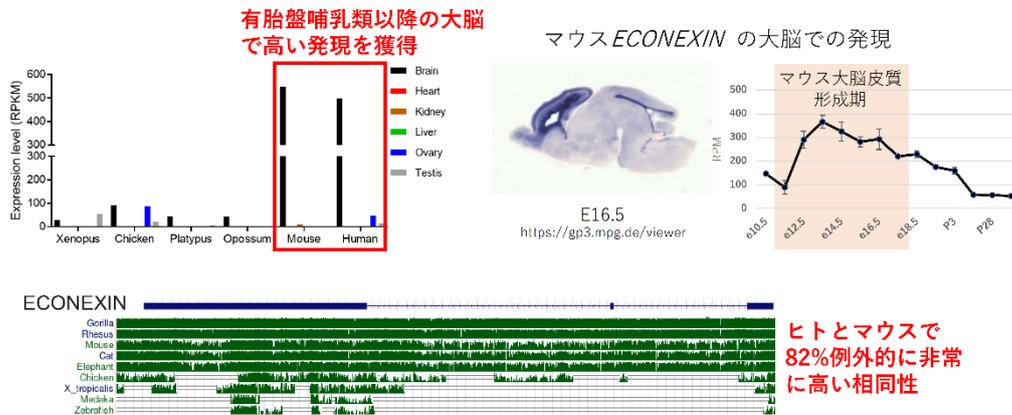


図 1

ECONEXIN ノックアウトマウス (ECO-KO マウス) を作製したところ、ECO-KO ホモマウスは生後一日目に致死であり、大脳皮質の菲薄化と脳梁の形成異常が認められた (図2)。進化の過程で左右の脳をつなぐ脳梁が現れたのは有胎盤哺乳類以降であり、ECONEXIN 遺伝子が脳で高発現するようになった時期と一致することは非常に興味深い。

### ECONEXIN KOマウスは脳梁の軸索交差異常を示す

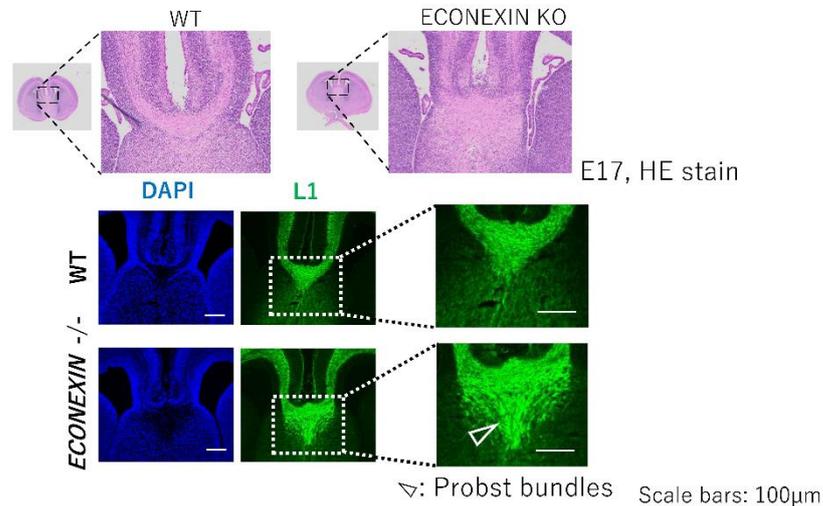


図2

lncRNA の大部分は、細胞や組織に特異的に発現しており、組織の形成、発達、維持に関与していると考えられている。しかし、これまで動物モデルを用いた *in vivo* 実験で、lncRNA が発生を制御する分子メカニズムを明らかにした例は極めて限られる。私たちは、ECONEXIN が遺伝子発現を制御する分子メカニズムを明らかにするため、ECO-KO マウス胚の大脳組織を用いてシングルセル RNA-seq (scRNA-seq) を用い、単細胞レベルでの詳細な解析を行った (図3)。

### ECONEXIN<sup>-/-</sup>マウス大脳のシングルセルRNA-seq解析

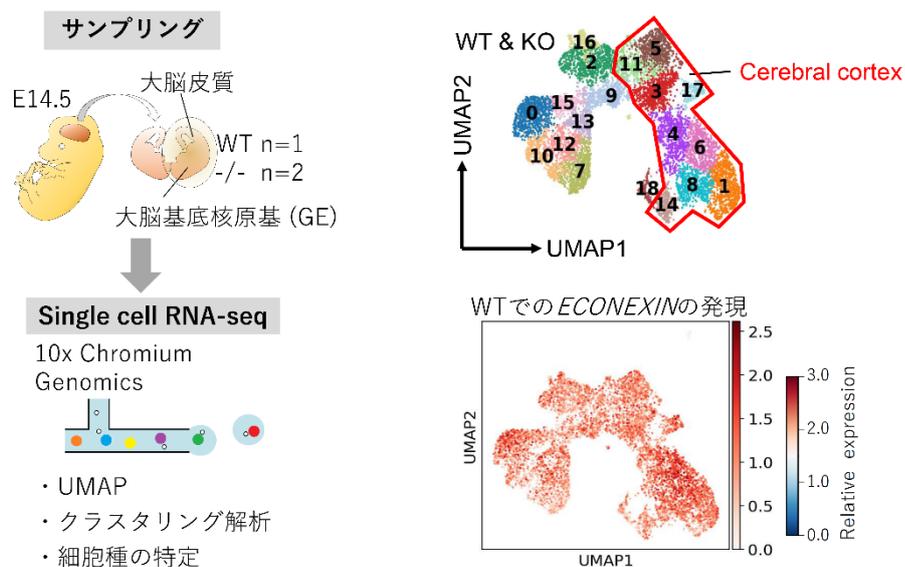


図3

その結果、ECONEXIN が胎生期の神経細胞の発生に不可欠な遺伝子群の発現を制御していることを見出した。lncRNA は miRNA と結合し分解することによって下流の遺伝子発現を調節することが知られている。ECO-KO マウス胚の脳組織で Small RNA-seq を行ったところ、多数の miRNA の発現が増加していることを見出した。我々はこのように ECONEXIN が多数の遺伝子の発現を制御する機構を「ECONEXIN による多次元遺伝子発現制御機構 (ECONEXIN-miRNA-mRNA ネットワーク)」と名付けた (図4)。

### 胎生期脳におけるECONEXIN-miRNA-mRNAネットワーク

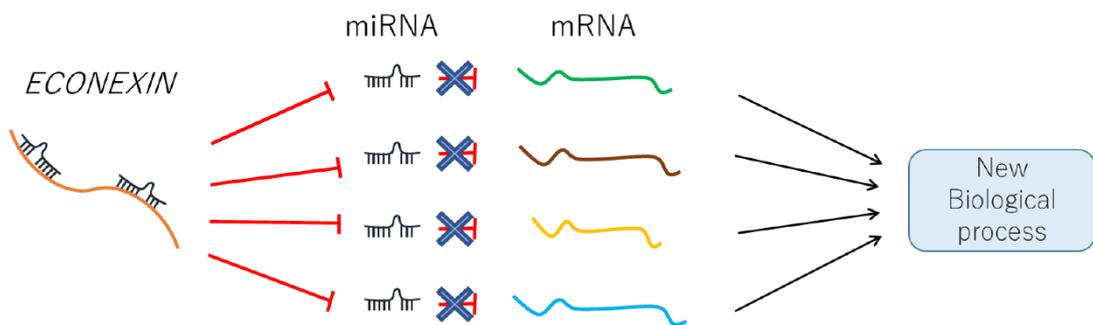


図4

ヒト ECONEXIN 遺伝子座近傍には多数の精神疾患関連 SNPs の報告があり、ECONEXIN の発現低下が精神疾患発症に関与する可能性が示唆される。これを検証するために、成体 ECO-KO ヘテロマウスを用いて網羅的行動バッテリーテストを実施した。16種の行動実験のうち、ECO-KO マウスは精神疾患に関連する行動異常が見られた。このほかにも、恐怖記憶の低下や社会性行動の異常、多動性が観察された。これは ECO-KO マウスにおける脳梁や大脳皮質の神経活動の異常を示唆する結果である (図5)。

### ECONEXIN +/- マウスを用いた網羅的行動テスト

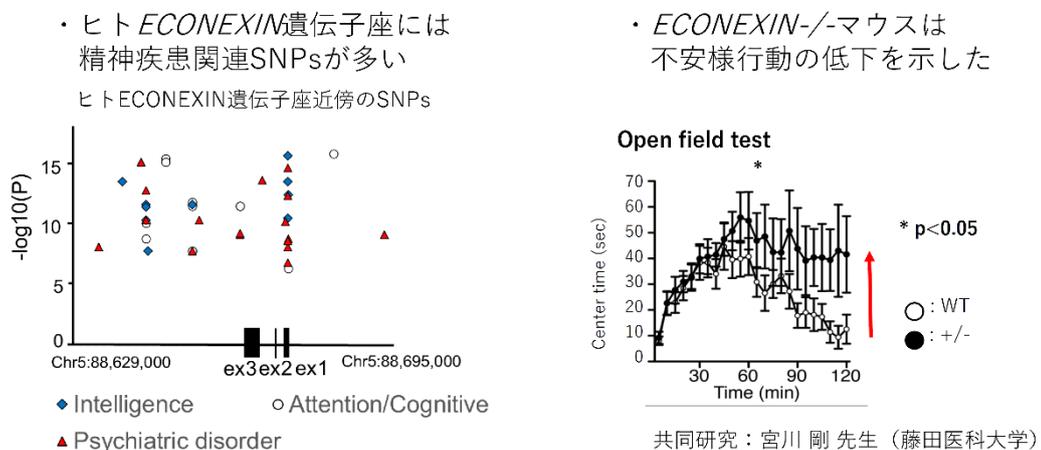


図5

以上の研究結果から、ECONEXIN は高次脳機能の調節において重要な役割を果たしていることが示された。特に、ノックアウトマウスを用いた実験は、ECONEXIN が正常な高次脳機能における必要不可欠な因子であることを強調している。これは、lncRNA が単なるジャンク DNA から転写された産物ではなく、生物学的機能を担う重要な分子であるという最近の RNA 研究の見解を支持するものである。今後の研究によって、ECONEXIN をはじめとする lncRNA の機能的側面がさらに明らかになることが期待される。

#### 参考文献

1. Deguchi et al., *Oncogene*, 2017
2. Mattick et al., *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023
3. Sauvageau et al., *eLife*, 2013
4. Liu et al., *Human Genetics*, 2020

# フェレットを用いた脳の発生と進化の分子メカニズムの解析

河崎 洋志

(金沢大学 医学系 脳神経医学研究分野)

## はじめに

ヒトに至る進化の歴史の中で脳は著しく発達してきた。巨大化するとともに多様な脳構築を獲得しており、高次脳機能の発展の基盤になったと考えられている。例えば、ヒトの脳の表面には皺（脳回と脳溝）が多く存在し、多くの神経細胞を収容できるようになったと考えられている。また発生期の脳では多くの神経細胞を産生するため、神経幹細胞である外側放射状グリア(oRG)細胞が著しく増加した。このように脳は著しく発達してきたが、発達した脳の形成や進化、疾患病態の分子機構には不明な点が多く残されている。そこで我々は、比較的発達した脳を持つ食肉類哺乳動物フェレット(*Mustela putorius furo*)に着目し、フェレット脳における遺伝子操作技術を確立してきた<sup>1-3)</sup>。このフェレットでの遺伝子操作技術を用いて、脳の形成、進化や疾患の分子機構の研究を進めている。

## フェレットでの遺伝子操作

フェレットは中型の食肉類哺乳動物で、以下の特徴を持つ。第1にマウスに比べて脳が大きく、皺など発達した脳構築を持つ(図1)。第2にフェレットは新生仔が未熟な状態で生まれることから、研究を新生仔で行いやすい。第3にフェレットは実験動物として認識されている。そこで我々はフェレットで遺伝子操作技術を確立できれば、脳の形成や進化、疾患の分子生物学的研究に有効だと考えた<sup>1-3)</sup>。

我々は以前にフェレット用cDNAマイクロアレイを作成し、フェレットでの遺伝子スクリーニングを可能としていた<sup>4)</sup>。続いて我々は子宮内電気穿孔法を用いて、フェレット脳での遺伝子操作を可能とした(図1)<sup>5-7)</sup>。さらに子宮内電気穿孔法とpiggyBacを組み合わせることでグリア細胞での遺伝子操作も可能とし、CRISPR/Cas9を組み合わせることで脳での遺伝子ノックアウトも可能とした<sup>8-10)</sup>。これらの技術は現在、多くの研究室で導入されている<sup>11)</sup>。

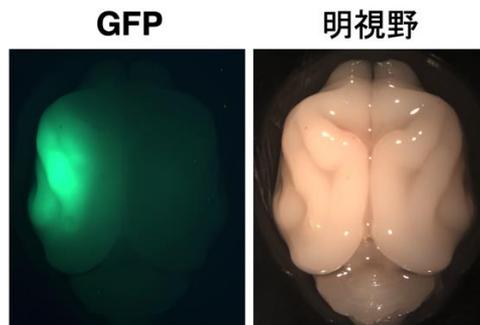


図1. フェレット脳に導入したGFPの蛍光

## フェレットを用いたoRG細胞の産生制御機構の解析

神経幹細胞には放射状グリア(RG)細胞、oRG細胞と中間前駆(IP)細胞が存在する。ヒト、サルやフェレットの脳ではoRG細胞が多く、マウスの脳ではoRG細胞が少ないことから、oRG細胞が注目されていた<sup>12)</sup>。我々は線維芽細胞増殖因子(FGF)をフェレット脳に導入したところ、oRG細胞の分裂が増加することを見いだした<sup>13)</sup>。逆に優性不能型FGF受容体3を発現させるとoRG細胞の分裂が減少した<sup>14)</sup>。これらの結果は、FGFシグナルがoRG細胞の分裂を制御していることを示唆している(図2)。続いて、oRG細胞の分化制御機構を解析した。ソニックヘッジホッグ(Shh)をフェレット脳に発現させるとoRG細胞の分化が抑制され、逆にShhシグナルを阻害するとoRG細胞から神経細胞への分化が促進された。即ち、ShhシグナルはoRG細胞から神経細胞の分化を抑制し、oRG細胞の状態を維持することが示唆された(図2)<sup>15)</sup>。

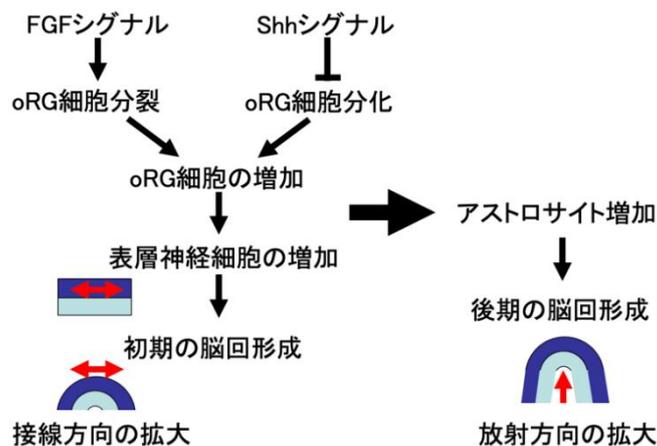


図2. oRG細胞産生と脳回形成の制御機構の仮説

## フェレットを用いた脳回形成機構の解析

oRG細胞が脳回形成に重要であるとの仮説が提唱されていたことから、FGFシグナルやShhシグナルを操作しoRG細胞数を増加させ、脳回形成に変化が出るか検討した。子宮内電気穿孔法でFGFシグナルやShhシグナルを活性化させたところ脳回が増加し<sup>13)</sup>、抑制すると脳回形成が阻害された<sup>14)</sup>。これらの結果から、FGFシグナルやShhシグナルによるoRG細胞増加が脳回形成に重要であることが示唆された(図2)。

続いて、oRG細胞増加と脳回形成をつなぐメカニズムを解析した。FGFシグナルやShhシグナルを活性化させると、大脳皮質2~3層が選択的に厚くなる一方で、5~6層には変化が見られなかった<sup>13-15)</sup>。そこで2~3層の神経細胞を選択的に減少させたところ脳回形成が阻害されたことから<sup>9)</sup>、大脳皮質の表層側の神経細胞の増加が脳回形成に重要であることが示唆された(図2)。しかし発生過程において、神経細胞の産生終了後も脳回形成は進行する。そこでフェレット脳でアストロサイトを選択的に減少させたと

ころ、脳回形成が阻害された<sup>16)</sup>。この結果はアストロサイト産生も脳回形成に重要であることを示唆している (図2)。

### さいごに

マウスを用いて大脳に関する研究が多くなされているが、大脳の形成や進化、疾患病態はいまだに不明な点が多く残されている。近年、フェレットなどの新たな動物モデル、さらに子宮内電気穿孔法やゲノム編集技術などの新たな研究技術が発展し、大脳の研究は急激に進歩しつつある。我々はフェレットを用いて一緒に研究する仲間を受け入れているので、このような研究に興味があればぜひ気軽に [kawasaki@med.kanazawa-u.ac.jp](mailto:kawasaki@med.kanazawa-u.ac.jp) まで連絡して頂きたい。

### 謝辞

今回、このような機会を頂きました森岡裕香先生、桑村充先生、中井伸子先生および関係各位に深謝申し上げます。ご紹介した研究は研究室メンバーが頑張ってくれた成果です。この場を借りて感謝致します。

### 文献

- 1) Kawasaki H. *Neurosci Res.* 2014;86:59-65.
- 2) Kawasaki H. *Front Neural Circuits.* 2017;93:259-69.
- 3) Shinmyo Y, et al. In: Shigeno S, Murakami Y, Nomura T, editors. *Brain Evolution by Design.* 1st ed. New York: Springer Publishers; 2017. p. 311-27.
- 4) Kawasaki H, et al. *J Neurosci.* 2004;24:9962-70.
- 5) Kawasaki H, et al. *Mol Brain.* 2012;5:24.
- 6) Kawasaki H, et al. *Biol Open.* 2013;2:95-100.
- 7) Kawasaki H. In: Saito T, editor. *Electroporation Methods and Neuroscience.* New York: Springer Publishers; 2015. p. 105-13.
- 8) Shinmyo Y, et al. *Sci Rep.* 2016;6:20611.
- 9) Shinmyo Y, et al. *Cell Rep.* 2017;20:2131-43.
- 10) Shinmyo Y, Kawasaki H. *Curr Protoc Neurosci.* 2017;79:3.32.1-3.32.11.
- 11) Gilardi C, Kalebic N. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:661759.
- 12) Fietz SA, et al. *Nat Neurosci.* 2010;13:690-9.
- 13) Masuda K, et al. *Sci Rep.* 2015;5:15370.
- 14) Matsumoto N, et al. *eLife.* 2017;6:e29285.
- 15) Matsumoto N, et al. *eLife.* 2020;9:e54873.
- 16) Shinmyo Y, et al. *Sci Adv.* 2022;8:eabi5209.

# 動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane のオープンソース開発

国立成育医療研究センター システム発生・再生医学研究部

岡村 浩司

研究や試験、教育などを目的とする動物実験を行うためには、大学等、各機関において、動物実験委員会および指針に基づいた内規を作成し、個々の実験計画を管理する必要がある。動物福祉に配慮した上で法律や各種指針等に沿った計画を立案し、委員会は計画書の内容の修正を求める場合も多い。このプロセスを管理することは、第三者検証を受ける際に重要である一方、扱う情報量の多さ、手順の煩雑さから関係者の通常業務を圧迫しかねない。多くの機関では企業等にソフトウェア開発を依頼し、動物実験の管理に関する一連の作業を自動化しているが、導入コストだけでなく、毎年のように改善が求められるため、維持するための保守費用も大きな負担になっている。近年、ランサムウェア等による医療情報システム攻撃が増加しており、今後、動物実験に対する同様の攻撃も考えられ、これらプロプラエタリソフトウェアの運用を続けることには懸念がある。本研究では、実験動物を行う側、および管理する側が一体となり、オープンソースソフトウェアを組み合わせ、独自の動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane の開発を進めている。Linux に MariaDB と Nginx をインストールすることでデータベースを備えたウェブサーバを構築し、プログラミング言語は最近研究者の間でも広く使われるようになった Python を採用、フレームワーク Flask および SQLAlchemy を基にしたウェブサービスとして、Linux、macOS、Windows はもちろん、スマートフォンも含めたあらゆるクライアント環境で、ブラウザさえあれば追加ソフトウェアのインストールなしに無償で利用できるよう設計した。システムの仕様、およびインストール方法や取り扱い方法をまとめたドキュメントの整備も行っており、Linux についての基本的な知識があれば、管理者としてシステムの運用や保守作業を行うことが可能である。DockerHub からコンテナを公開、GitHub からソースプログラムも公開してコミュニティレベルでの開発、特にセキュリティ面での保守作業を継続し、また利用者へのサポート体制も整え、国内で広く使われることを目指して開発を進めている。

## 開発の背景

所属研究機関の実験動物および動物実験の管理については、システム開発会社にプログラム作成を依頼し、納品されたハードウェアおよびソフトウェアを機関内のネットワーク内に配置、2010 年よりこれまで更新することなく使い続けている。Java により作られたウェブアプリケーションで、ユーザ側からはブラウザから読み書きすることができ、大きなトラブルなく現在でも問題なく稼働しており、利用され続け、特に管理する側の利点は大きい。定期的なバックアップシステムも備えているものの、万が一故障した場合に、最新のハードウェアやオペレーティングシステムで同様に動かすことが可能かという懸念がある一方、近年は情報管理部署に対する監査体制なども厳しくなっていて、10 年以上も前のソフトウェアが一度も更新されることなく稼働し

続けていることに対しては、年を追うごとに何らかの対応を求める意見が強く出される状況になってきた。設計を担当した開発会社はすでに存在せず、プロプライエタリなソフトウェアの更新は、とても現状の予算でカバーできるものではない。

近年、次世代シークエンサから得られるデータの解析はもちろんのこと、画像認識などの AI が広く普及し、研究にも活用されるようになり、研究者の間でもアプリケーション開発が可能、あるいは強い関心を持つような人材も増えてきた。そこで今回、アプリケーションを独自に開発しようという話が持ち上がり、**Your Advanced Manager for Merciful Animals Necessary for Experiments (Yammane)** という名を付け、計画をスタートさせることとなった。動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane は、実験者と管理者はもちろんのこと、動物実験の計画を審査する委員会のメンバー、さらには、外部検証を行う第三者機関からの利用も想定し、開発を進めることとした。

### ハードウェア

研究費のない状態からのスタートで、システム開発に用いるコンピュータは、研究機関が 10 年以上前に購入し、使われなくなったラックマウント型サーバ Hitachi HA8000/RS210 を確保した。1U であるが、Intel Xeon E5-2670 2.6 GHz を 2 個搭載し、メモリは 64 GiB、内臓ハードディスクの容量は RAID 5 で 2.5 TB 以上あり、現在であっても比較的高性能なコンピュータである。しかしながら、Yammane を普及させるためには必ずしも高性能なハードウェアに頼ることは得策ではなく、安価に購入できる Chromebook での実装も同時に検討を行なっている。さらに、最近では命令セットアーキテクチャが AMD64 ではない AArch64 が急速に普及しており、CPU の種類に依存しない開発を心がけ、より安価な Raspberry Pi 4 での動作確認も行う予定である。

### ソフトウェア

現在では Linux を中心とするオープンソースソフトウェアが無償かつ、かなり安全に利用できる環境が整っている。実際に運用する段階になってからの維持、そして規模を拡大した際のコスト増大を抑えるために無償ソフトウェア利用は必須と思われ、本開発の方針として有償のソフトウェアは利用しないこととした。オペレーティングシステムとしては Linux、当初ディストリビューションは CentOS 7 を採用していたが、メンテナンスの終了が発表されているため、Rocky Linux 9 への移行作業を行なっている。今回の開発の一つの契機にもなっているが、セキュリティの観点から、最新のソフトウェアの導入は常に考えておかなければならない。

プログラミング環境については、近年の AI 普及でスクリプト言語 Python を利用、あるいは Python に強い関心を持つ研究者が増えており、Python を主な開発言語とすることにし、環境構築には Miniforge を用いた。

### ウェブアプリケーション

ウェブアプリケーションとして開発される Yammane は、主に TCP/IP を介した 2 つのクライアントサーバモデルから成り立っている。サーバと聞くと、高性能なハードウェアをイメージする人が多いようだが、本来サーバとは奉仕者とか給仕する人を意味し、コンピュータというより

も、要求に対して何らかの対応を行うソフトウェアと考えていただきたい。イメージされているハードウェアとしてのサーバは、そのようなソフトウェアが稼働しているコンピュータである。

一つめのクライアントサーバモデルは、ユーザのブラウザがクライアントで、ウェブサーバがサーバとなる。一般的なウェブサイトへのアクセスと同様で、Yammane に対する操作は、端末が Windows でも、macOS でも、Linux でも、モバイル端末等であっても、ブラウザから行うことができ、その要求は Yammane に組み込まれたウェブサーバである Nginx が処理を行うことになる。

二つめのクライアントサーバモデルは、ユーザからは直接見えない手続きが行われるところになるが、ウェブサーバ Nginx がクライアントとなり、データベースサーバとして採用している MariaDB がサーバとなって、動物実験管理に必要なデータの生成、読み取り、更新、削除といった処理が行われる。先のクライアントサーバとは異なり、Nginx と MariaDB は同一のホストで動いており、同一ホスト内で要求や返答、データのやり取りが行われることになる。

かつてウェブアプリケーションは CGI と呼ばれる仕組みを利用して作られていたが、処理速度やセキュリティの問題から、最近ではウェブアプリケーションフレームワークが使われることが多くなった。Yammane では、Python とウェブサーバのインターフェースとなる uWSGI、およびテンプレートエンジン Jinja2 を組み合わせて開発されたフレームワーク Flask を採用しており、Python に加え、HTML5、CSS、JavaScript といったテキストファイルを用意して開発することになる。また MariaDB の操作には、SQL ではなく Python でクエリの作成が可能な SQLAlchemy を用いている。

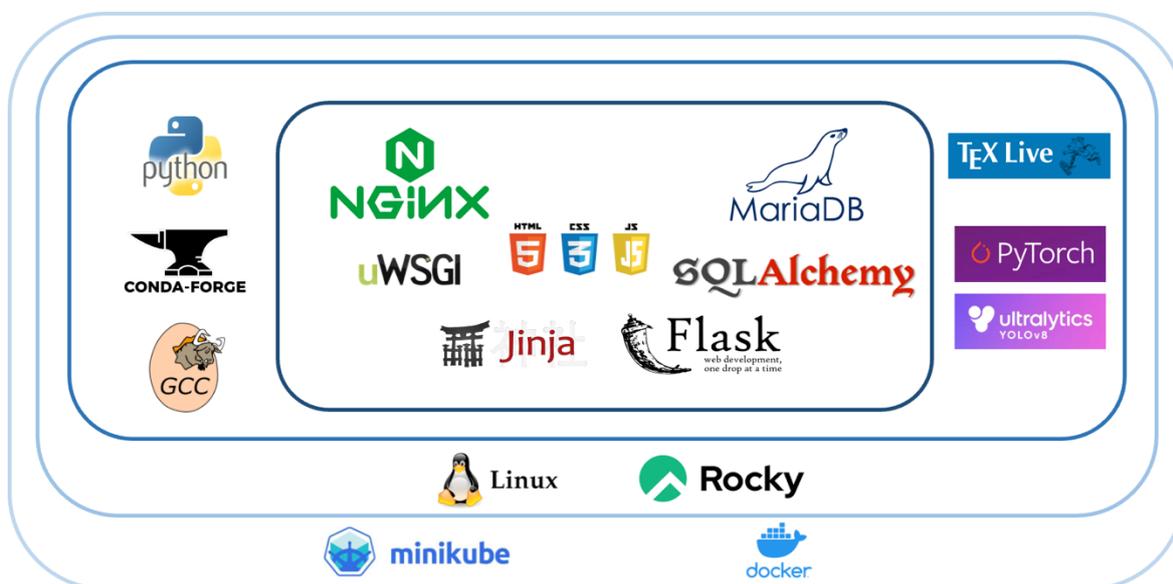


図 1. 動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane を構成するソフトウェア

### オープンソース開発

これら紹介したソフトウェアはどれもコミュニティによってオープンソースにより開発が行われている。ソースプログラムが公開されており、ライセンスに種類があるものの基本的には

無償で利用でき、プログラムを改変して実行、さらには頒布することもできる。ソースプログラムが公開されている、つまり中身が明かされているということで安全性に問題があるようにも思えるが、多数の有志の目に晒されているため脆弱性が迅速に修正され、セキュリティ上の懸念はむしろ低いと考えることができる。無償ということに加え、高汎用性、安定性、信頼性、そして安全性についてもオープンソースソフトウェアにはメリットがある。Yammane 自体についても、いずれはオープンソースによるコミュニティ開発に移行させたいと考えている。

### Yammane の機能

ブラウザから Yammane のトップページにアクセスし、ログインすると、さまざまな機能が使えるようになるが、その中心は実験計画の提出と管理である。国立大学法人動物実験施設協議会の推奨する項目等を参考にして作られたウェブフォームに記載することで提出を行うことができる。提出側にとっては少しばかり手間のかかる作業になるが、管理側にとっては一元管理による利便性は高く、その後の作業負担が軽くなり、審査委員会の開催、および外部検証の際の手間も大幅に軽減される。入力項目については、他の研究機関に対してヒアリングを行い、拡充を図って行きたい。

動物の購入や搬入の申請も行うことができ、いずれは発注や支払いの手続きとも連携させたいと考えている。動物実験の管理だけでなく、実験動物の管理を行うことも目指しており、動物個体を管理するデータベースも備えている。現状、ある程度の手入力が発生してしまうが、取得や妊娠、出生など情報を入力しておけば、出産予定、離乳、性成熟、さらには老齢などの通知をユーザの LINE アカウントに自動的に発送する仕組みも導入されている。昨今、GPT-4o や Claude 3.5 Sonnet といったきわめて知性の高い基盤モデルが開発されつつあり、実験者によるメモ書きや音声といった非構造化データを、生成 AI によって構造化し、動物繁殖のためのデータを作り出せないか、そのような検討も行なっている。

その他、実験や動物管理の自己点検を行うこともでき、これら多くの結果は、PDF として出力することも可能になっている。



図 2. 動物実験管理ウェブアプリケーション Yammane にログインした時の表示

### クラウドシフト

現状では、ウェブサーバやデータベースサーバを含む Yammane を設定したホストを機関内のプライベートネットワークに接続し、その機関内にて利用することを想定している。設定の簡易化を目的としたコンテナ化も行なっているが、他の多くの機関で使われるようになると、効率的なメンテナンスを考えればクラウドへの移行は避けられないであろう。そうなれば TLS 対応は必須であり、それぞれの実験者の実験計画や維持している動物情報がクラウドに蓄積することになる。ゼロトラストの考え方に基づいたより高度なセキュリティ対策が必要になるかもしれない。コミュニティレベルの開発によりリリースされてきた多くのオープンソースソフトウェアの成功例に倣い、本アプリケーションについても仲間を募り、持続的な開発を目指したい。

### 学会発表

1. 動物実験管理システムのオープンソース開発  
岡村 峻平, 進導 美幸, 青砥 早希, 黒木 陽子, 岡村 浩司  
第 70 回日本実験動物学会総会 O-38  
2023 年 5 月 24 日 つくば国際会議場
2. 動物実験管理ウェブアプリケーションのオープンソース開発  
進導 美幸, 岡村 峻平, 青砥 早希, 黒木 陽子, 岡村 浩司  
第 46 回日本分子生物学会年会 2P-955  
2023 年 12 月 7 日 神戸国際展示場

幹事

役職	氏名	所属
会長	横井 伯英	京都大学大学院農学研究科 動物遺伝育種学分野
幹事長	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
編集・庶務	桑村 充	大阪公立大学大学院獣医学研究科 獣医病理学教室
	中井 伸子	
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
	磯野 協一	和歌山県立医科大学 附属動物実験施設
	刃野 善弘	大阪大学医学部 附属動物実験施設
	依馬 正次	滋賀医科大学 動物生命科学研究所センター
	太田 毅	京都大学大学院農学研究科 生体機構学分野
	喜多 正和	京都府立医科大学大学院医学研究科
	葛谷 和也	科研製薬株式会社
	古賀 真昭	日本新薬株式会社
	近藤 玄	京都大学医生物学研究所 統合生体プロセス分野
	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
	田中 美有	大阪公立大学大学院獣医学研究科 獣医病理学教室
	中尾 和貴	大阪大学医学部 附属動物実験施設
	成瀬 智恵	京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
	宮坂 佳樹	大阪大学医学部 附属動物実験施設
	森岡 裕香	神戸大学大学院医学系研究科 附属動物実験施設
山添 裕之	株式会社住化技術情報センター	
監事	清水 何一	清水実験材料株式会社
	佐々木 昌志	株式会社エーテック

## 評 議 員

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
磯谷 綾子	奈良先端科学技術大学院大学
磯野 協一	和歌山県立医科大学 附属動物実験施設
今井 良悦	ラビックス株式会社
内尾こずえ	(国研) 医薬基盤・健康・栄養研究所
宇野 絹子	京都大学大学院農学研究科 生体機構学分野
刈野 善弘	大阪大学医学部 附属動物実験施設
依馬 正次	滋賀医科大学 動物生命科学研究センター
太田 毅	京都大学大学院農学研究科 生体機構学分野
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	大阪公立大学大学院獣医学研究科
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
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	大阪公立大学大学院獣医学研究科
喜多 正和	京都府立医科大学大学院医学研究科
北田 一博	北海道大学大学院理学研究院
清成 寛	(国研) 理化学研究所生命機能科学研究センター 生体モデル開発チーム
葛谷 和也	科研製薬株式会社
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
黒木 宏二	大日本住友製薬株式会社
桑村 充	大阪公立大学大学院獣医学研究科 獣医病理学教室
古賀 真昭	日本新薬株式会社
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	京都大学医生物学研究所 統合生体プロセス分野
近藤 友宏	大阪公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
坂本 雄二	株式会社ケー・エー・シー
佐加良 英治	兵庫医科大学 病態モデル研究センター
笹瀬 智彦	日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

氏名	所属
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 稔	シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社 生物マテリアル領域
高木 貞明	日本エスエルシー株式会社
竹田 潤二	(前) 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
田中 美有	大阪公立大学大学院獣医学研究科 獣医病理学教室
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
徳弘 圭造	関西医科大学 ゲノム編集部門
中井 伸子	
中尾 和貴	大阪大学医学部 附属動物実験施設
中村 紳一郎	麻布大学獣医学部実験動物学
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	(前職) 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
藤原 祥高	国立循環器病研究センター 先端医療技術開発部
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
宮坂 佳樹	大阪大学医学部 附属動物実験施設
宮田 治彦	大阪大学微生物研究所
森岡 裕香	神戸大学大学院医学研究科 附属動物実験施設
森島 英喜	ラビックス株式会社
山添 裕之	株式会社住化技術情報センター
山田 宜永	新潟大学農学部農業生産科学科 動物遺伝学
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
横井 伯英	京都大学大学院農学研究科 動物遺伝育種学分野
横山 俊史	神戸大学大学院農学研究科

## 維持会員

EP トレーディング株式会社

株式会社エーテック

エフ・シー・アール・アンドバイオ株式会社

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

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

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

白井松器械株式会社

株式会社新日本科学

住友ファーマ株式会社

株式会社精研

セオービット株式会社

テクニプラスト・ジャパン株式会社

株式会社夏目製作所

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

ハマグチラボプラス株式会社

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

株式会社 HERO

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

令和6年12月18日印刷

令和6年12月18日発行

編集兼発行者 横井 伯英

発行所 関西実験動物研究会

〒606 - 8502 京都市左京区北白川追分町

京都大学大学院農学研究科 動物遺伝種学分野内

印刷所 石川特殊特急製本株式会社