

Japanese Society of Laboratory Animals

LABIO 21



社団法人 日本実験動物協会

Tel. 03-3864-9730 Fax. 03-3864-0619

<http://group.lin.go.jp/jsla/> E-mail: jsla@group.lin.go.jp

【新制度】

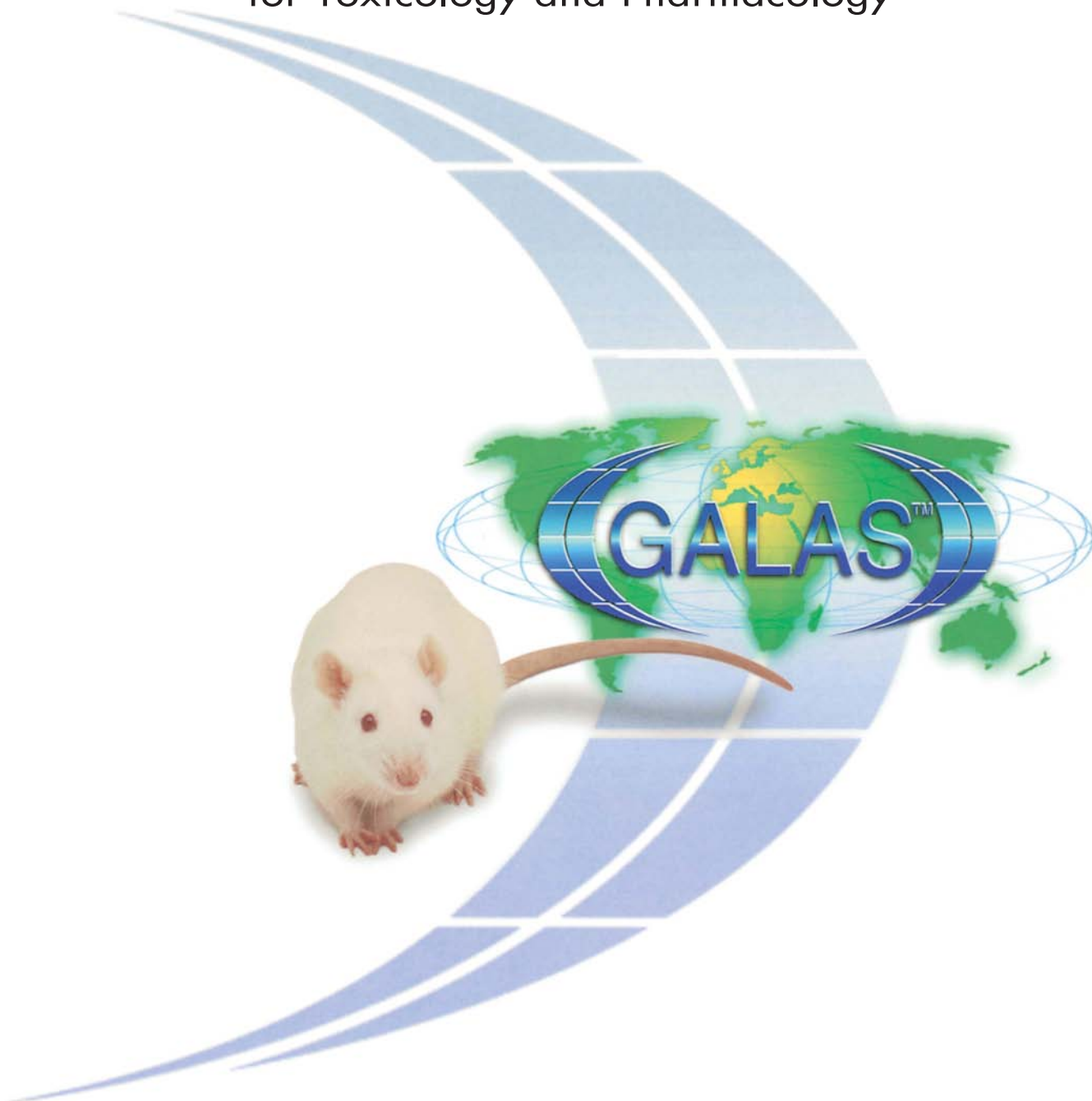
実験動物技術指導員・準指導員制度の発足について
4年生大学生の実験動物一級技術師受験特例の制定について



【特集】

単為発生マウス
—かぐやの誕生—

Introducing the Internationally Harmonized
Wistar Hannover GALAS Rat
for Toxicology and Pharmacology



Taconic M&B



CLEA JAPAN, INC.

Taconic
Quality Laboratory Animals
and Services for Research

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization



KPMG REGISTRAR

ISO 9001



JAB
QS Accreditation
R025



日本クレア株式会社

TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-Japan.com>



表紙の写真説明

動物名：比内鶏

特徴：秋田県大館地方で古くから飼育、固定化された中型の鶏で、名前は同地方の古名(比内)に由来する。シャモと同地方の地鶏との交雑により作出された。冠は3枚冠、赤耳朶、黄脚で羽色は赤笹のものが多い。昭和17年天然記念物に指定。比内地鶏として市場に出ているものは、ロードアイランドレッドとの交雑種である。

写真提供：秋田県畜産試験場

目次

(社)日本実験動物協会 会長就任のご挨拶 4

第52回日本実験動物学会総会開催に向けて 5

第39回日本実験動物技術者協会総会開催に向けて 7

特集 8
「単為発生マウス—かぐやの誕生」

連載記事 11
犬の皮膚疾患 ② 「犬の皮膚腫瘍」

トピックス 18
日動協主催で「動物実験委員会のあり方」研修会開催される

ラボテック 21
「動物実験施設の空調システム (アクアクリーン空調方式)」

開発エピソード ⑥ 26
「睡眠障害モデルマウスの開発における偶然と必然」

実験動物技術指導員・準指導員制度の発足について 33

4年制大学在学生の実験動物一級技術師受験特例の制定について 35

海外技術情報 37

ほんのひとりごと 38

La-house 39
「モニタリング研修の質問」

学会の動き 40

技術協会の動き 40

協会だより 41

KAZE 42

より広く、より深く、
皆様と共に歩む
アニマルケアが
総力を結集!!

研究支援事業

21世紀を迎え、アニマルケアは、永年に亘って培った実績とノウハウを「財産」に新規部門を推進しております。各部門のスペシャリストが皆様のお問い合わせをお待ちしております。お電話、もしくは弊社ホームページよりご連絡下さい。



●**受託事業本部**
実験動物総合受託事業
弊社は、当事業のバイオニアとして永年に亘って事業を展開して参りました。これからは弊社の基盤事業としてコミュニケーションを大切にし、適切な実験動物の飼育管理業務を遂行して、皆様の研究開発に貢献致します。



●**国際プロジェクト**
アジア関連事業
弊社は、これまで中国、韓国、台湾などのアジア諸国、地域と情報交換、技術指導、人材交流、教育研修、実験動物及び実験動物関連器材の輸出入販売などの活動を行って参りました。21世紀はアジアの時代。これからも近隣諸国との友好事業を推進致します。



●**NT-5プロジェクト派遣センター**
技術者派遣事業
弊社では、研究分野における技術者派遣事業を行っております。人材確保には、永年の業務の中で培った医薬、生命科学、食品、実験動物関連などに独自の人間ネットワークが強力にバックアップ。求めるスキルを持った最適な人材を派遣致します。



●**環境検査プロジェクト**
環境検査関連事業
弊社では、感染症予防、及び衛生管理の観点から実施される、病院、食品工場、医薬品工場などの環境検査をお届け致します。施設環境の現状把握にお役立て下さい。



●**NT-5プロジェクト紹介センター**
人材紹介事業
弊社の人材紹介事業は、お客様が社員として採用をお考えになる人材を紹介致します。専門分野における人材確保は非常に困難であり、多くの時間と費用を費やします。当社の人間ネットワークを活用した人材紹介をご利用下さい。



●**クロマトレットプロジェクト**
分析装置開発事業
弊社では、株式会社バイオメアのHPLCによる血清中薬物測定の際タンパクシステムの開発に協力し、販売されているカラムの製造に技術提供しております。

 **株式会社 アニマルケア**
<http://www.animal-care.co.jp/>

本社 〒164-0001 東京都中野区中野3-47-11 TEL. (03) 3384-9013 FAX. (03) 3384-9150
西日本営業所 〒543-0055 大阪府大阪市天王寺区悲田院町8-26 天王寺センターハイツ805 TEL. (06) 6772-6070 FAX. (06) 6772-6074
九州営業所 〒814-0021 福岡県福岡市早良区荒江3-11-31 シティーガーデン荒江701 TEL. (092) 831-8865 FAX. (092) 831-8867

(社)日本実験動物協会 会長就任のご挨拶



後藤 信男

プロフィール

昭和28年 東北大学農学部畜産学科卒業
昭和28年 福島県立会津短期大学
昭和49年 農林水産省家畜衛生試験場
実験動物研究室長
昭和62年 神戸大学農学部教授
平成 5年 国立予防衛生研究所
客員研究員

本協会は昨年8月光岡先生が健康上の理由で会長を辞任されて以来上松副会長が会長代行として運営されてきました、会員の方々から協会創立20周年という節目にあたって早めに新会長を決めるべきとのご意見が寄せられました。そこで去る3月25日に新会長を決めるための臨時総会が開催され、会員の皆様方のご推挙により、図らずも私が残された任期を引き継ぐこととなりました。

私と社団法人日本実験動物協会とのご縁は協会が設立された当時、研修事業の専門委員を3年間、また高品質実験動物改良資源確保定着事業のウサギ中央総合検討会の委員を平成8年から4年間仰せつかった程度で特に取り上げるほどの貢献をした訳ではありません。今回全く思いかげずに会長という

大役を仰せつかり誠に身の引き締まる思いであります。

歴代の藤田潯吉、倉益茂實および光岡知足会長はそれぞれ協会の進路を明確にされ、多大な功績を残されております。浅学非才の私が四代目の会長として無事つとめあげることができるのかと心配ではございますが、光岡前会長が築いてこられた路線を引き継ぎ、会員の皆様方また関係諸氏のご支援、ご協力を得て、その役目を果たしたいと思っておりますのでよろしくお願い致します。

さて、日本実験動物協会も創立20周年という節目を迎えますが、実験動物を取巻く環境も大きな転換期にきております。製薬業界は海外の大型合併に引続き、わが国においても大型の合併が相次ぎ、ICHの推進、動物福祉の問題に

おける3R思想の普及などグローバル化が進んでいます。

このような状況のなか、協会では実験動物技術の普及・推進のため実験動物高度技術者養成研修会の充実、大学生の実験動物一級技術師受験特例の制定、実験動物技術指導員・準指導員制度の発足等技術者のさらなる資質向上を図るとともに動物福祉の視点からの模擬調査並びに自主管理の考え方に基づく第三者評価方式の構築などを検討していると聞き及んでおります。

このような諸課題に対し、微力ではございますが全力を尽くして取組みたいと存じますので、会員並びに関係団体そして関係各位のご理解とご支援を重ねてお願い申し上げます。



第52回日本実験動物学会 総会開催に向けて

大会長 関口 富士男 (第一製薬 (株))

「実験動物の原点に立ち返って」をテーマに、第52回日本実験動物学会総会を平成17年5月18日(水)～20日(金)の3日間、東京都江戸川区にある「タワーホール船堀」で開催致します。総会は一年おきに関東地区で開催されていますが、東京の東の外れ、荒川と江戸川に挟まれた下町情緒豊かな江戸川区での開催は初めてです。近くには東京ディズニーランド、ディズニーシーがあります。このような環境の中、リラックスして気楽なムードで多くの人とコミュニケーションをとりながら、「実験動物の原点」に立ち返って動物実験のあり方を見つめ直してみたいと考えております。運営スタッフは、お揃いのオフィシャルジャンパーという出で立ちでスムーズな運営に務めますので、皆様もネクタイを外して、リラックスした服装で参加していただきたいと思えます。

本総会では演題発表を口演とポスターの二本立てで行うこととし、200演題の申し込みがありましたのでプログラム委員会において検討した結果、86演題を口演、

114演題をポスター発表とさせていただきますことと致しました。なお、ポスターの場合も1分間のポスターレビューをしていただきます。

過去51回の総会で、民間企業からの大会長としては一度だけ、1998年に長野県松本文化会館で開催された第45回総会において中外製薬(株)の高垣善男先生が務められたことがあります。今回が2回目ということで、民間色を出しながらも産官学が一体となるように、総会の雰囲気、企画、シンポジウムなどにおいて種々検討しております。さいわい産からは製薬業界、実験動物生産・販売業界、飼料生産・販売業界、実験動物施設・設備・器具・器材業界など、官および学からは日頃より交流をいただいております諸先生方から多大なるご協力をいただき、順調に大会の準備が進んでおります。実験動物関連の産業界、特に日本実験動物学会および日本実験動物協会の会員会社の方々は、日頃より実験動物の発展を強力に支えている立場でありながら、中々現状を理解していただく機会がありま

せん。今回、「実験動物の原点」に立ち返って動物実験を見つめ直すに当たり、それを支えている実験動物の品質、飼料の品質、動物実験施設・設備・器具・器材の有用性などについてあらためてスポットをあて、関係者の理解を一層深めていただける企画を試みました。

私自身、動物管理の立場において日頃よりマウス・ラットのSPFレベル維持に苦勞していることから、今回は特別シンポジウムで「実験動物の微生物学的品質を考える」をテーマとして取り上げ、みなさんと一緒にディスカッションさせていただきたいと思っています。そのようなことから実験動物生産関係からは「動物実験における性差の問題を考える」、実験動物施設・設備・器具・器材関係からは「実験者にとって使いやすい動物実験施設へ 一摸索と展望」、製薬関係からは「GLPと動物実験」のテーマで、それぞれシンポジウムを開催していただくことと致しました。また、学術集会委員会主催で「比較ゲノム学の視点から実験動物を考える」、日本

疾患モデル学会との協賛で「行動異常モデルマウスの新展開」のテーマでシンポジウムも開催していただきます。

さらに講演会も企画しており、教育講演では「エマージングウイルスの病原性」のテーマで河岡義裕先生（東大医科研）に、また今回は市民公開講座を開設し、北野大先生（淑徳大教授、江戸川総合人生大学学長）司会のもと、SHR等疾患モデル動物の開発・研究、カスピ海ヨーグルトなどでお馴染みの家森幸男先生（WHO循環器疾患専門委員、京大名誉教授）に、「世界調査からみた食と健康」一

「一日一善（膳）」のすすめ—のテーマでご講演をいただきます。

恒例の6つの関連集会および4つのワークショップに加え、ランチョンセミナー、ナイトセミナー、さらに若手研究者が実験動物の将来を語り合う本総会主催の自由セミナーも開催致します。日本実験動物器材協議会のご協力により、実験動物関連器材・商品の提示も例年より多い150コマを用意しております。今回は、スペシャル企画として各社毎に専用で使用いただけるホスピタリティールームを10室用意いたしましたが大変好評ですすでに満杯の状態です。

東京都内では初めてのウエルカムパーティーを、大会前日に東京湾に面した葛西臨海公園内の「江戸川区シーサイドホテル」で開催いたします。東京ディズニーランドの花火を見ながらのガーデンパーティーですので、どうぞ奮って参加いただき十分にお楽しみください。

大会会場は都営新宿線船堀駅のすぐ前で、アクセスはとても便利です。第52回総会を盛会に運営すべくスタッフ一同、万全の準備を整え、多くの皆さまの参加をお待ちしております。 以上

ノーサンのバイオ技術

Nosan Corporation

ノーサンが永年培った動物栄養の技術は、実験動物用飼料、昆虫用飼料に活かされ、さらにトランスジェニック動物、薬物代謝、遺伝子発現と進化しています。

研究に携わる皆様のご要望を直接うかがい、満足して頂ける商品とサービスをご提供する事が、ノーサンのモットーです。

- **NOSANの実験動物飼料**
マウス・ラット・ハムスター用
ウサギ用・モルモット用
イヌ用・ネコ用・サル用
- **疾患モデル動物用飼料**
- **放射線照射滅菌飼料**
- **精製・添加飼料**
- **昆虫用飼料**

NOSAN

- **NOSANの実験動物**
Cleanビーグル犬【Nosan:Beagle】販売
NIBS系ミニプタ 販売
SPFペビー豚 販売
ビーグル犬の血漿・血清 販売
- **NOSANの受託業務**
実験動物のSPF化
実験動物の受託飼育(コンベンショナル・SPF)
トランスジェニック動物の作製
動物飼育室の貸出
各種動物受託試験

- **NOSANの薬物代謝業務**
ブルド肝マイクロソーム・凍結肝細胞
ヒトP450分子種発現系・抗体
薬物代謝・酵素阻害・誘導試験受託
- **NOSANの遺伝子発現業務**
昆虫細胞を用いたタンパク質生産
Tg動物を用いた医薬品開発業務

NOSAN

日本農産工業株式会社

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい2-2-1 横浜ランドマークタワー46階 TEL 045 (224) 3713 FAX 045 (224) 3737
<http://bio.nosan.co.jp>

第39回日本実験動物技術者協会 総会開催に向けて



第39回日本実験動物技術者協会総会会長
中村 由季子

平成17年6月24日（金）、25日（土）の両日、金沢市の県立音楽堂を会場として、第39回日本実験動物技術者協会総会が開催されます。10年ぶり北陸支部が主管となつての総会です。昨年の長崎大会が大成功を収めただけに、金沢総会は少々物足りなさを感じるかもしれません。しかし、動物輸入届出制度などさまざまな問題がクローズアップされる中で、全国から立場の異なる技術者が一堂に会し、互いに、情報や意見を交換するという機会は多くはありませんので、総会という場を大いに活用して頂きたいと思ひます。そのためにも総会関係者一同で、気負いなく活発に話せる総会の雰囲気作りに努めてまいります。

北陸支部の会員数は33名で、技術者協会運営規程に定められている支部設置の条件にさえあてはまっていますが、小原理事長をはじめ、多くの方々に助けて頂いて総会に向けての準備をすすめております。総会の内容につきましてはホームページをご参照頂ければ幸いです。新しい情報が入り次第、更新しております。

第39回総会ホームページ
<http://www.labanimal.org/jaeat/2005/>

町歩きが楽しい城下町金沢。ご参加の皆様に、ゆっくり歩いてみて頂きたいと思ひます。より多くの皆様のご参加をお待ちしております。

お知らせ

金沢総会の参加事前申込は、オンライン登録です。ホームページより登録できます。登録の際に不明な点がございましたら、どんな些細なことでも構いませんので、どうぞ遠慮なくご連絡下さい。参加登録につきましてのお問い合わせは下記までお願い致します。

(株)日本旅行金沢支店
担当 森川和重 090-4682-3456
E-mail: morikawa@mbi.nifty.com

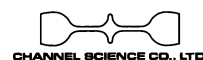


実験動物技術者は
あなたの
研究チームの一員です

実験動物受託総合管理

実験動物飼育管理

動物実験補助全般



株式会社 チャンネルサイエンス

<http://www.channelscience.co.jp>

〒167-0052 東京都杉並区南荻窪 4-29-10
TEL03-3331-7252 FAX03-3331-7347

特集

「単為発生マウス—かぐやの誕生」

河野 友宏

東京農業大学応用生物科学部
バイオサイエンス学科 教授

はじめに

竹取物語のヒロイン“かぐや姫”は、翁により竹の中から見つげられた月からの光り輝く美しい使者である。私たちが、今回世界で初めて誕生させた単為発生マウス“かぐや”（図2d）は、謎を秘めたチャーミングなお姫様として、

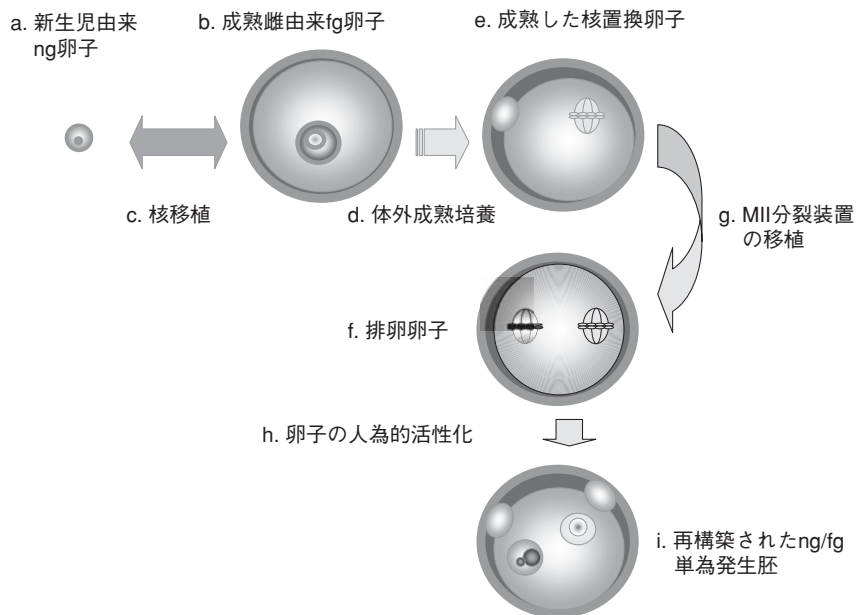


図1. 核移植によるng/fg 単為発生胚の再構築

世界中に紹介された。今まで哺乳類においては、受精を介することなく雌のゲノムのみで個体発生を遂げることは全く無理だと信じられており、“かぐや”これまでの概念を覆す成果であった。ただ生物界を見渡すと、他の多くの生物では卵子のみから個体発生を行う単為生殖を完全には放棄していない。鳥類ですら、七面鳥などで見られるように、卵子が受精することなく孵化することが知られている。しかし、胎生となった哺乳類では、後成的遺伝子修飾機構によって雌雄ゲノム間に機能差をもたらすゲノムインプリンティングの獲得と同時に、単為発生を阻止する仕組みを獲得する必要があったのかもしれない。

研究の背景

哺乳類の個体発生に精子および卵子に由来するゲノムの両者が不可欠である理由は、ゲノムに刷り

込まれた後天的遺伝子修飾により説明される。哺乳類では、主に雄ゲノムでのみ発現する遺伝子または主に雌ゲノムでのみ発現する遺伝子が存在する。これらの遺伝子はインプリント遺伝子と呼ばれ、100~200程度存在すると推定されており、現在までに80を超える遺伝子が報告されている¹⁾。それゆえ、雌ゲノムのみ由来する単為発生胚では、雄ゲノムでのみ発現すべきインプリント遺伝子が発現せず、その一方で、雌ゲノムでのみ発現するインプリント遺伝子が過剰に発現することになる。このようなインプリント遺伝子発現の過不足が原因で、単為発生胚では正常な個体発生を遂げることが全く不可能であると考えられる。このようなインプリント遺伝子の親アレル特異的な遺伝子発現を制御する情報の刷り込みは、雌雄生殖細胞が形成される過程で行われるはずである。

そこで、我々は、まず、新生児の未成熟な卵子は、ゲノムインプリンティングを完了していないと仮定し、この未成熟な卵母細胞に雄ゲノムの役割を担わせるために、核移植技術を駆使して排卵卵子（これに本来の雌ゲノムの役割を担わせる）と組み合わせた胚を構築する手法を開発した²⁾。手法の概略は図1に示した。このように非成長期卵子ゲノムと成熟した卵子ゲノムを持ち合わせた胚をng/fg胚と呼ぶこととした。胚操作を受けていないマウス単為発生胚は、胎齢9.5日までに必ず致死となるが図2 a、我々が作成した単為発生胚は、臓器形成をほぼ終えた胎齢13.5日にまで発生した（図2 b）²⁾。さらに、個体発生を完了させることができない理由を突き止めようと、単為発生胎仔の遺伝子発現を解析したところ、改変すべき遺伝子の候補の特定に至った。すなわち、雄アレルで発現する*Igf2*（インスリン様成長因子II型）遺伝子が発現していないこと、および*Igf2*と対をなし雌アレルから発現されるH19遺伝子（RNA）が過剰に発現していることが判明した。そこで、インプリント遺伝子のH19を欠損し、*Igf2*遺伝子を発現するようにした遺伝子欠損マウスの新生仔に由来する卵子を用いて実験を行うことにより、両遺伝子の発現量の是正と発生延長の誘導を試みた^{3,4)}。

H19遺伝子KOマウスを用いた単為発生胚の発生延長

7番染色体の遠位部に位置する*Igf2*およびH19遺伝子は、図3に示したように、H19遺伝子の上流にあるDMRのメチル化によって発現が制御されている。そこで、H19遺伝子の転写領域とその転写調節領域を欠損したマウス（H19 Δ 13）新生仔の卵母細胞と成熟野生型マウスの排卵卵子ゲノムからなる雌核発生胚を図1に従って構築し、その発生能を詳細に検討した⁷⁾。その結果、8.2%にあ

る28匹の胚が妊娠満期にまで発生していることが判明した。その内訳は、死亡胎仔18匹、生存胎仔10匹であった。生存が確認された産仔のうち8匹は、死亡胎仔の表現型とほぼ同様で、形態的には若干発生遅延が認められ、また、発育は明らかに抑制されており、体重は野生型の60%程であった。これらの産仔は、自発性呼吸することなく、子宮から回収後20分以内に死亡した。ところが、残りの2匹は明らかに正常な形態の産仔として誕生し、自発性呼吸を開始した（図2c）。このうち1匹は、“かぐ



図2. 単為発生マウス胚の発生延長

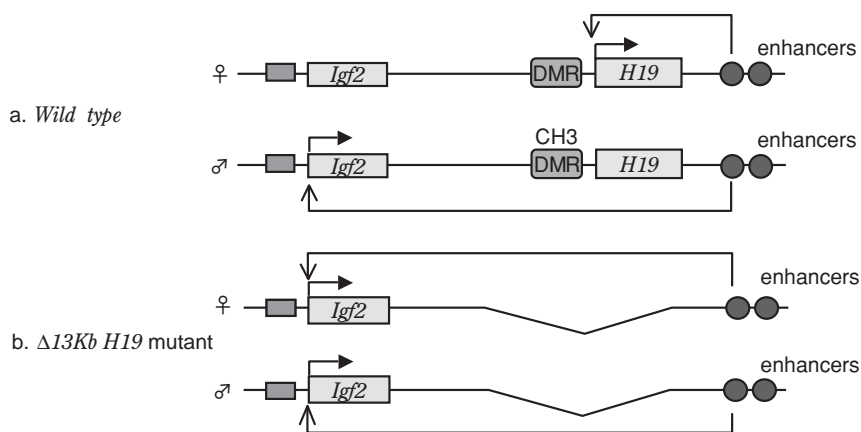


図3. 卵子構築に使用したノックアウトマウスにおける*Igf2* およびH19 遺伝子の発現

や”と名付けられ、里親につけ保育させたところ、正常に発育して成熟個体に成長した。さらに、交配により妊娠が成立し無事正常産仔を分娩したことから、正常な繁殖能力を保有していることも証明された(図2d)。また、他の1匹は生存可能なことを確認後、“かぐや”誕生の謎に迫るため遺伝子解析に供試された。以上のごとく、ゲノムインプリンティングの改変により、卵細胞に由来するゲノムのみを持つ単為発生マウスの生産に成功した^{4,5)}。このことは、哺乳類の個体発生にとって、生殖細胞形成過程で行われているDNAメチル化を基軸とする遺伝子修飾機構が、雌雄生殖細胞の機能を制御し、決定的な機能差を生み出し、単為発生を阻止する機構として機能していたことを明確に証明している。

性と“KAGUYA”誕生の意味

“KAGUYA”の誕生は、ゲノムレベルにおける雌雄の競合を示した良い例であろう。上述を例にとってみれば、雄の生殖細胞が*H19*および*Igf2*遺伝子の発現制御機構を獲得したことによって、ほ乳類の雌は卵子のみで単為生殖個体を誕生させることができなくなったのではないかと解釈できる。個体発生という最もダイナミックな生命現象において、あたかも雌雄ゲノムはそれぞれの意志を持ち、自らの遺伝情報を如何に効率的に次世代へ伝達するかを競って

いるかのようにも見える。少なくとも哺乳類の雄は、自らの遺伝情報を例外なく確実に子孫に伝える生殖方法を獲得したのである。一方、雌側に目を向けると、胎生であるために生じる妊娠による自身の生命の危険性を可能な限り軽減しようとしている姿が垣間見える。雌雄それぞれが利害関係を主張しあった結果、受精による生殖方法が選択され、単為生殖は排除されたのであろうか⁵⁾。

応用への可能性

“かぐや”が誕生し、単為生殖が様々なバイオテクノロジー分野で貢献する可能性が見いだされた。現在考えられる応用の可能性を以下にまとめてみた。

- a) 哺乳類における新たな個体生産システムにより有用動物の育種、および雌雄個体の選択的生産技術(雌雄の産み分け等、雌個体のみ又は雄個体のみを選択的に作成する技術)等のバイオテクノロジー分野の発展に貢献する可能性を示している。
- b) 生殖系列細胞におけるゲノムの機能獲得機構の解明に大きく貢献し、生殖細胞の高度利用に繋がる新しい視点を提供している。
- c) 体細胞クローンなどで発症している発生異常と後成的な遺伝子修飾の変化による遺伝子発現異常との関連についての解明に貢献する。

- d) 哺乳動物の個体発生に対する雌雄ゲノムの役割を解き明かすことに繋がるものと期待される。
- e) 幹細胞テクノロジーは、再生医療の領域で重要な研究課題となっており、単為発生胚に正常に近い性質を持たせることができれば、幹細胞を作製する胚として適切な材料となり得る。

おわりに

この研究は決して完結したのではなく、むしろ今後の可能性を示唆した段階にある新しい研究領域といえる。さらに、生殖細胞のエピジェネシスによる遺伝子発現制御機構の解明と人為的な調節の可能性を追究して行きたい。哺乳類における第3の生殖システムを構築しようとする単為発生研究は、これまでに多くの方からご教授/ご支援をいただいた。2002年度からはBRAINの研究課題に採択され研究費の支援を受け現在研究を展開している。関係者各位に謝意を表したい。

参考文献

1. <http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/imprinting/imprinting.html>
2. Kono, T., Obata, Y., Yoshimizu, T., Nakahara, T. & Carroll, J. Nature Genetics 13, 91-94 (1996).
3. Kono, T., Sotomaru, Y., Katsuzawa, Y. & Dandolo, L. Dev Biol 243, 294-300 (2002).
4. Kono, T., et al. Nature 428, 860-864 (2004).
5. 河野友宏、尾畑やよい、小川英彦 蛋白質・核酸・酵素49, 2123-2130 (2004).



シリーズ連載 ②
犬の皮膚疾患
「犬の皮膚腫瘍」

The skin disease of
The
DOG

日本獣医病理学専門家協会
JCVP認定獣医病理学専門家
麻布大学生物科学総合研究所教授
代田 欣二

腫瘍は、元々その組織に存在する細胞が異常な増殖(腫瘍細胞になる)を起こしたものです。したがって、腫瘍の名称というのは腫瘍細胞が生まれた元の細胞や組織(発生母地)の名称がついている訳です。例えば、肝細胞癌といえば、これは肝臓を構成する肝細胞が癌化したものという訳です。本稿ではイヌの皮膚腫瘍について解説しますが、前述しましたように腫瘍の名称や分類は形態学が基礎になっていますので、最初に皮膚の構成要素をについて触れ、それから腫瘍について述べることにします。



皮膚の構造 (図1-P16参照)

皮膚は表面から表皮、真皮そして皮下組織の3層からなり、表皮と真皮の境界部には基板(基底膜)が存在します。イヌから皮膚を採取する時に、剥離して皮膚として私達が採材するのは表皮と真皮の部分で、皮下組織は採材した皮膚サンプルにも体の方にも残ります。これは、表皮と真皮の結合はタイトで、皮下組織はルーズな組織(疎生結合組織)から構成されているからです。

表皮は層状構造(重層扁平上皮と呼ぶ)からなりますが、この大部分はケラチノサイト(角質化細胞)とよばれる一連の上皮細胞からなります。重層扁平上皮の層状構造は、基板に接して基底層

(胚芽層)、有棘層、顆粒層、淡明層そして最外層に角質層(角化層)となっています(図2-P16参照)。基底層は表皮の細胞を補充する場であり、正常な状態で細胞分裂像が認められます。基底層にあるケラチノサイトは分化程度が低く、核が大きく細胞質の狭い細胞で、ここから表面に向かって徐々に押し上げられ、移動と共に分化し、各層を形成しながら最終的に角化層に達し、高度に角化し核を失い扁平となり、パイ生地のように層を形成し、最終的に剥離・脱落します。表皮にはケラチノサイト以外に、メルケル細胞(触覚細胞)、メラニン色素を産生してケラチノサイトに分配しているメラニン細胞、表皮内抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞などが存在しま

す。

真皮と皮下組織は結合組織であり、発生学的に間葉(中胚葉)由来です。真皮は密な結合組織ですが、この部分には皮膚付属器と呼ばれる組織が存在します。これらには表皮から連続して形成されている皮膚付属器、すなわち毛とその莖である毛包、毛包に開口する皮脂腺やアポクリン汗腺、イヌでは肉球の皮膚に開口するエクリン汗腺(肉球腺)があります(図3-P16参照)。また、立毛筋も一端を毛包最外層の結合組織性毛包に付着する形で存在します。皮下組織には結合組織性線維の他、様々な量の脂肪組織(皮下脂肪)が存在します。さらに、真皮や皮下組織には肥満細胞、組織球・マクロファージ、樹状細胞



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ②

「犬の皮膚腫瘍」

(抗原提示細胞)が存在し、リンパ球も遊走していると考えられています。

イヌの皮膚腫瘍

さて、このように皮膚には多種多様な細胞が存在するため、多くの種類の腫瘍や腫瘍類似の病変が形成されます。特にイヌでは皮膚に発生する腫瘍は多く、イヌに発生する腫瘍全体の3分の1を占めるとの報告があります。また、皮膚の腫瘍の発生頻度は、イヌでは10万頭あたり450とされており、やはり動物の中で腫瘍の発生が多いネコの10万頭あたり120というデータと比較しても、かなり頻度が高いことがわかります。

イヌでは皮膚腫瘍のおおよそ20%~30%が組織学的に悪性腫瘍とされており、一般的に年をとるほど発生リスクは高くなります。また、ある種の腫瘍では、ウイルス感染、日光あるいは放射電離線、ホルモンや遺伝子異常、ワクチン、熱傷、免疫異常などが発生と関わることも知られています。

皮膚の腫瘍の中ではどのようなものが多いのかという事については、アメリカ、イギリスあるいはオーストラリアでの調査(1,000

~2,600例の腫瘍)がありますが、その中で発生が多い腫瘍はほぼ共通しており、トップ10として、肥満細胞腫、肛門周囲腺の腺腫、脂肪腫、皮脂腺過形成・腺腫、線維肉腫、メラノサイトの腫瘍、組織球腫、扁平上皮癌、血管周皮腫、基底細胞腫(現在の分類では、ほとんどが毛芽腫と思われる)が挙げられています。

皮膚の腫瘍は病理組織学的に、上皮系腫瘍、メラニン細胞の腫瘍、円形細胞の腫瘍、間葉系腫瘍に大きく分ける事が出来き、それぞれに良性および悪性腫瘍があります。病理診断で用いる動物の腫瘍の細かい分類は、World Health Organization (WHO)による動物腫瘍組織分類に従って行われており、本稿でもその用語を使用しますが、先に述べましたようにイヌの皮膚には多種の腫瘍が発生しますので、本稿では上記の発生頻度が高いものを中心に抜粋して解説します。

イヌの皮膚に良く認められる腫瘍

1. 上皮系腫瘍

(1) 表皮を構成する上皮細胞(ケラチノサイト)由来の腫瘍
イヌの皮膚の上皮系悪性腫瘍として最も発生頻度が高いものは扁

平上皮癌(図-4-P 16参照)で、これは皮膚癌として代表的な腫瘍です。扁平上皮癌はケラチノサイトが癌化したものですから、表皮に連続して増殖し、外方性発育とともに深部に浸潤・増殖します。組織像は腫瘍の分化程度によって様々ですが、典型的なものは腫瘍組織内に“癌真珠”という角化細胞の塊を形成します。

また、特徴的な良性腫瘍としては、イヌパピローマウイルスによるウイルス性乳頭腫が挙げられます。通常は1歳くらいの若いイヌの口腔内に発生することが多く、自然消褪する事が知られています。体表の皮膚に発生する事は比較的稀ですが、ウイルス性の封入体がパピローマウイルスに感染して増殖した腫瘍細胞の核内に認められます。

(2) 付属器腫瘍(付属器への分化を示す腫瘍)

■ 1. 毛包系腫瘍

ここに分類される腫瘍は、腫瘍細胞が毛包を形成する細胞(毛包上皮)やその前駆細胞に類似し、また、腫瘍細胞の配列やそれらが形成する腫瘍の構造が毛包に類似するものです。しばしば嚢胞構造をとり、内部に角化細胞やケラチ

ンが堆積しますが、毛のような構造物が腫瘍細胞によって形成される腫瘍もあります。嚢胞壁が破裂した場合には周囲に強い炎症を引き起こされます。イヌでの毛包系腫瘍の発生頻度は高く、ほとんどは良性腫瘍で悪性腫瘍は稀です。腫瘍の種類は多いのですが、代表的な良性腫瘍として毛芽腫、毛包上皮腫、毛母腫などが挙げられます。中でも毛芽腫の発生頻度は最も高く、新しいWHO分類が1998年に出される前に基底細胞腫と診断されていた腫瘍のほとんどが、この腫瘍であると考えられます。腫瘍細胞は、胎生期の毛包形成時に認められる原始的な毛芽の細胞に類似しています（図-5-P16参照）。

■ 2. 皮脂腺およびその変形腺の腫瘍

眼瞼に存在するマイボーム腺、肛門周囲や皮膚に散在性に認められる肛門周囲腺／肝様腺は、皮脂腺と発生学的に同じもので、皮脂腺の変形腺です。したがって、これらの腫瘍は形態も類似しており、イヌに大変多く認められます。皮脂腺（マイボーム腺、肛門周囲腺／肝様腺）腺腫（図-6-P17参照）は良性で、イヌでは良く認め

られます。悪性腫瘍は皮脂腺（マイボーム腺、肛門周囲腺／肝様腺）癌（図-7-P17参照）で、その発生頻度は高くはありませんが、深部への浸潤性が強く、局所リンパ節や肺等に転移する事があります。これらの腺の上皮腫（皮脂腺上皮腫等）と呼ばれる腫瘍もイヌに良く見られます。この腫瘍は最近ではlow-grade malignancyとされ、良性・悪性の境界に位置するものと考えられています。

■ 3. 汗腺の腫瘍

アポクリン腺とその変形腺の腫瘍
アポクリン汗腺、耳垢腺（耳道腺）、肛門囊のアポクリン腺は発生学的に同じもので、腫瘍の形態は類似しています。この中で、アポクリン汗腺や耳垢腺の良性腫瘍である各々の腺腫はイヌでしばしば認められます。外耳道にある耳垢腺が腫瘍化すると内腔が不規則になり、耳道が狭くなる事が多く、臨床的に慢性外耳道炎との鑑別が難しい事があります。また、悪性腫瘍としては、体表に出来るアポクリン汗腺癌があり、肉眼的に結節あるいはびらん・潰瘍を形成し、一見、皮膚炎様病変を形成する事があります。イヌの肛門囊のアポクリン腺癌はメスのイヌに多

く発生します。癌細胞は浸潤性が強く外科切除が困難な場合が多く、仙骨リンパ節など局所リンパ節から内臓転移を起こすこともあります。また、症例の4分の1以上に高カルシウム血症が認められると言われますが、これは腫瘍細胞からのPTH-rP（上皮小体ホルモン関連ペプチド）産生によると考えられています。耳垢腺癌もイヌでは稀でなく、局所リンパ節、肺に転移することがあります。一方、汗腺でもエックリン腺の腫瘍は動物では稀とされています。

■ 4. 爪床腫瘍（爪の下から発生する腫瘍）

爪は表皮の最外層である角質層が厚くなったもので、基本的に爪の下の爪床は皮膚と同じ構造になっています。イヌではこの部分に扁平上皮癌（爪下扁平上皮癌ないし爪床扁平上皮癌）がしばしば発生します。

2. メラニン細胞の腫瘍

イヌの皮膚に発生するメラニン細胞由来の腫瘍には、良性および悪性腫瘍があります。いっぽう、口腔粘膜や口唇部皮膚・粘膜境界部のメラニン細胞の腫瘍はほとんどが悪性です。皮膚の良性腫瘍の



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ②

「犬の皮膚腫瘍」

多くはメラノサイトマ（皮膚メラノーマ、良性メラノーマ）（図8-P17参照）と呼ばれるもので、イヌでは有毛部に発生します。イヌの悪性黒色腫（図9-P17参照）のほとんどは、上記の様に口腔や口唇皮膚粘膜境界部に発生したもので、有毛部皮膚のそれは悪性黒色腫の10%程度です。腫瘍の増殖速度は速く、局所リンパ節や肺に転移します。爪の下に発生する悪性黒色腫は動物ではイヌのみに見られます。良性・悪性の鑑別には病理組織検査が必要です。通常、メラニン細胞の腫瘍はメラニン色素を持ち、肉眼的に黒く、顕微鏡的にも腫瘍細胞が色素顆粒を持っていますが、中には色素産生が少ないかほとんどなく、肉眼的に黒くなく、細胞にも光学顕微鏡的に色素がほとんど認められない事も有ります。

（ヒトではメラノーマという用語は悪性腫瘍を指し、獣医学用語とは違いますので、注意が必要です）

3. 円形細胞の腫瘍

(1) 皮膚リンパ腫

リンパ腫はリンパ球の腫瘍で、通常はリンパ系組織に病変が形成されますが、皮膚に病変が主座する場合には皮膚リンパ腫と呼びま

す。そして、腫瘍性増殖が表皮内で見られるものを表皮向性皮膚リンパ腫（図10-P17参照）、真皮や皮下組織に見られるものを非表皮向性皮膚リンパ腫と呼び、イヌでは両タイプが認められます。表皮向性皮膚リンパ腫はヒトの菌状息肉腫mycosis fungoidesに類似し、リンパ腫細胞が皮膚や皮膚粘膜境界部の表皮内や付属器上皮に浸潤、増殖しますので、皮膚に角化亢進、落屑、脱毛、紅斑、肥厚、びらん、潰瘍、腫瘤形成などの病変が形成され、これらが消退と再発を繰り返しゆっくり進行しますので、慢性皮膚炎との鑑別が必要です。リンパ腫は進行すると最終的に、内臓やリンパ系組織などや全身に広がります。

(2) イヌの皮膚肥満細胞腫

イヌの皮膚に発生する腫瘍として最も多いものの一つです。腫瘍は基本的には悪性と考えられており、皮膚に弧在性ないし多中心性に形成され、局所リンパ節に転移し、その後内臓に転移する事があります。病理組織像による組織グレーディングが行われており、グレードI／高分化型（3年生存率：約90%）、II／中間型（3年生存率：約55%）、III／低ないし未分化型（3年生存率：約15%）

に分けられている。一般に、グレードII、IIIの腫瘍は切除後の再発リスクも高いとされ、予後とグレードのある程度の相関があることから、現在までこの組織グレーディングが最も頻繁に腫瘍の病理学的評価に用いられています。

組織グレーディングの判定にはどうしても病理学者の主観も入ってしまうことから、より客観的な組織学的評価方法の検討が多くなされており、最近では、プロトオンコジーンc-kit遺伝子産物であるKITの免疫染色性やc-kit遺伝子のイントロン11の欠失の分子生物学的検出などが有用である事が指摘されています。また、一般的に、口腔、爪床、包皮、鼻鏡などに発生するものは組織グレードにかかわらず、より挙動が悪いとされています。

(3) 組織球系腫瘍

イヌの皮膚組織球腫（図11-P17参照）は最も一般的な犬の皮膚腫瘍の一つで、発生のほとんどは4歳以下の若い動物に見られます。頭部、耳に好発し、通常単発で、ドーム状ないしボタン状の外観を示します。腫瘍細胞は表皮ランゲルハンス細胞由来とされ、活性化T細胞の作用によって自然退縮します。

その他、良／悪境界（中間、intermediate）病変として、皮膚組織球症（皮膚反応性組織球症）、全身性組織球症（全身性反応性組織球症）、明らかな悪性腫瘍として悪性組織球症という腫瘍があります。

4. 間葉系腫瘍

最初に述べたように皮膚には間葉系の腫瘍（軟部組織腫瘍ともいう）も多く発生します。この中で“イヌの血管周皮腫”について簡単に触れておきます。この腫瘍は“血管周皮腫”と呼ばれていますが、実際のところ腫瘍の由来については未だに解っておらず、WHO分類では“unclassified tumor”に分類され、悪性腫瘍と見なされています。生体にはれっきとした“血管周皮細胞”が存在しますが、“犬の血管周皮腫”の腫瘍細胞は実はその性格を持たず、ヒトの“血管周皮腫”にも全く類似していません。すなわち、血管周皮細胞由来ではないらしいのですが、従来から仕方なくこの診断名を使っている訳で、“イヌの”を必ず付けることになっています。腫瘍とその周囲の正常組織との境界は多くの場合不明瞭であるため、不完全切除による再発が多い

とされています。

5. その他

肉眼的に一見腫瘍に似た病変も高頻度に認められますが、この中には過誤腫や母斑と総称される先天性の組織奇形と考えられている病変や種々の嚢腫があります。また、乳腺は皮膚に存在するほ乳類特有の腺組織です。イヌの乳腺には高頻度に腫瘍が発生し、両側の乳腺に多発して認められる事も稀ではありません。通常乳腺腫瘍は皮膚腫瘍には含めず、乳腺腫瘍として独立して扱われています。イヌでは悪性腫瘍に比較して良性の乳腺腫瘍が多く、その中でも腫瘍組織内に軟骨や骨が形成される良性混合腫瘍が最も多く発生します。この、良性混合腫瘍はヒトや他の動物では極めて稀とされています。

以上、皮膚に原発する腫瘍について解説しましたが、この他皮膚には転移性腫瘍も発生する事があります。誌面の都合上かなり説明が短くなってしまいましたが、詳細は参考図書をご参照下さい。

最後に、執筆の機会を与えて下さいました、独立行政法人・産業医学研究所、三枝順三先生、貴重

な症例の写真をご提供頂きました、大室獣医科院長・大室農夫先生に深謝いたします。

参考図書

1. Goldschmidt MH, Dunstan RW, Stannard AA, von Tscharner C, Walder EJ, Yager JA. Histologic Classification of Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin of Domestic Animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. 2nd Series Vol. III, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.(1998).
2. Hendric MJ, Mahaffey EA, Moore FM, Vos JH, Walder EJ. Histologic Classification of Mesenchymal Tumors of Skin and Soft Tissues of Domestic Animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. 2nd Series Vol. 2, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.(1998).
3. Meuten D.J.ed, Tumors in Domestic Animals, 4th ed, Iowa State Press, Ames, (2002).
4. Scott DW, Miller WH, Griffin CE, eds. Small Animal Dermatology, 6th ed. Philadelphia, W.B. Saunders (2001).
5. Valli VE, Jacobs RM, Parodi AL, Vernau W, Moore PF. Histologic Classification of Hematopoietic Tumors of Domestic Animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. 2nd Series Vol. VIII, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.(2002).
6. Withrow SJ, MacEwen EG,eds, Small Animal Clinical Oncology, 3rd ed, Philadelphia, W.B. Saunders (2001).



犬の皮膚疾患

シリーズ連載 ②

「犬の皮膚腫瘍」

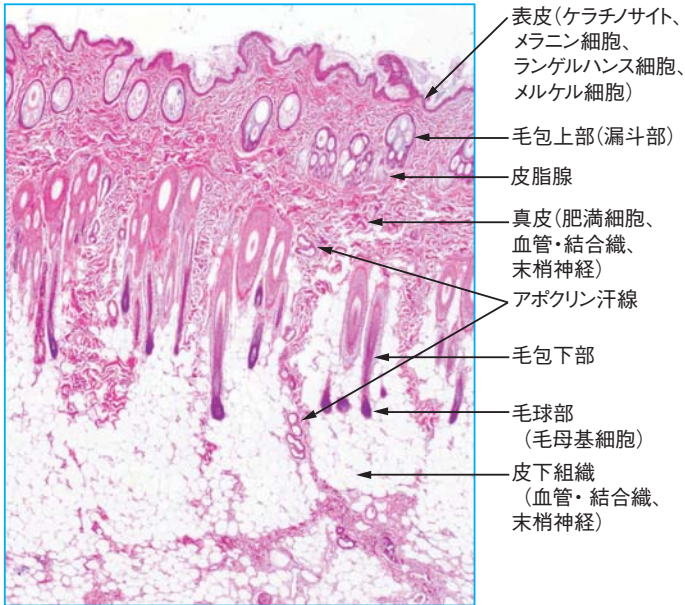


図-1 皮膚の構造と腫瘍発生母地

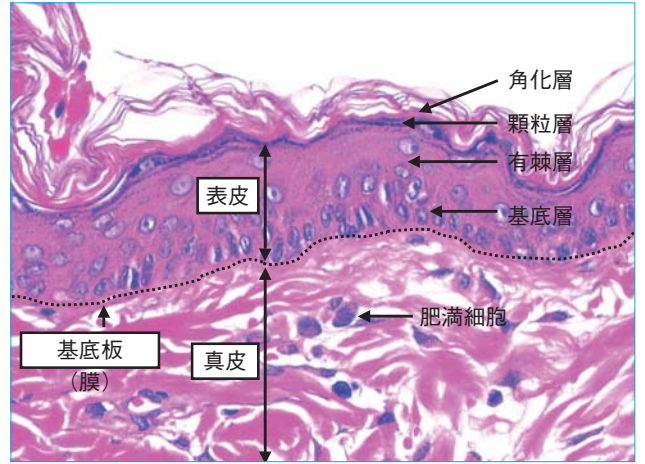
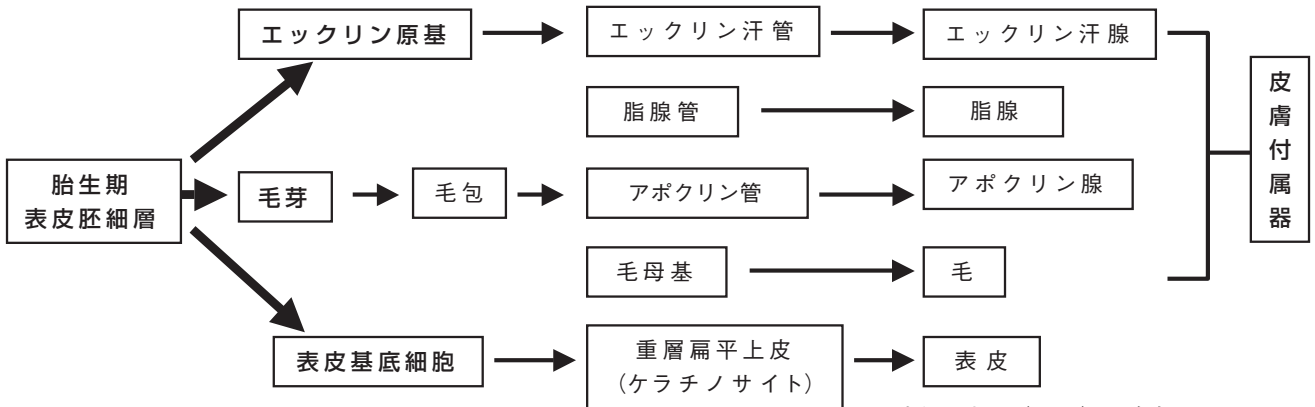


図-2 表皮の構造



真鍋、幸田(1997)を改変

図-3 表皮と付属器の発生



図-4 イヌの扁平上皮癌

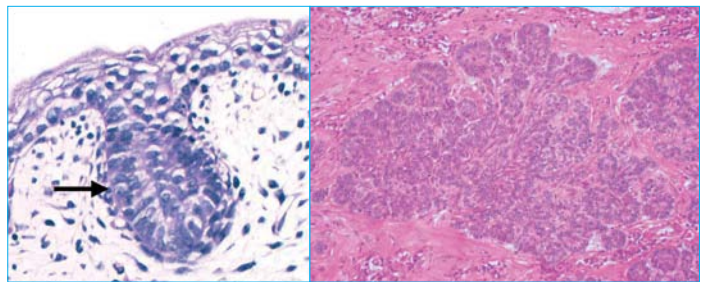


図-5 毛芽と毛芽腫

左図は胎齢18日のラットの皮膚で、矢印は表皮胚細胞から下方に伸長する”毛芽”で、右図の毛芽腫はこれに似る。

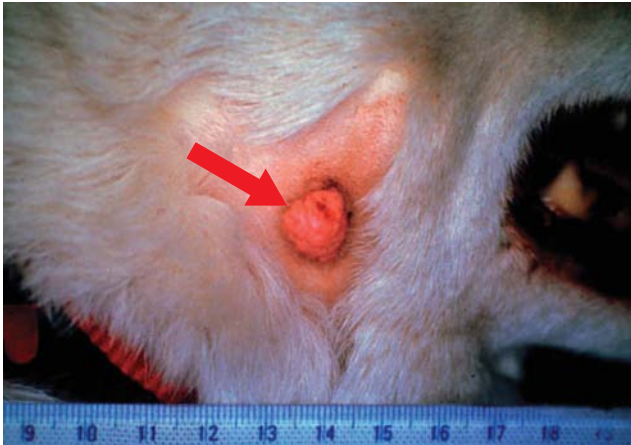


図-6 皮脂腺腺腫



図-7 皮脂腺癌

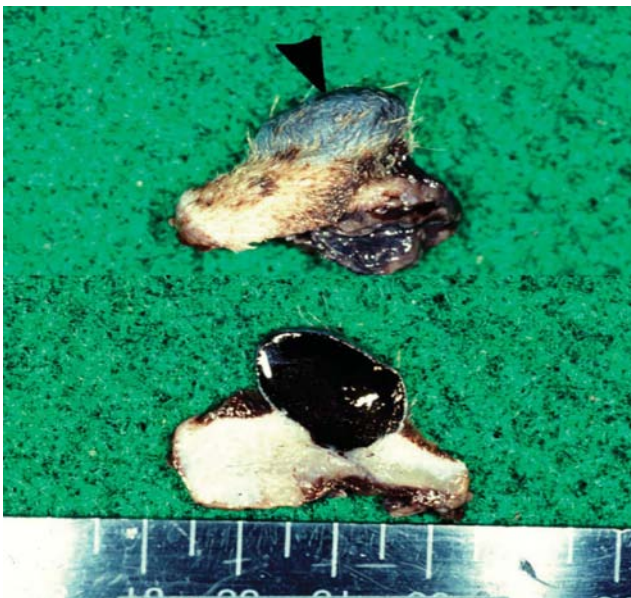


図-8 皮膚の良性メラノーマ
上は表面、下は断面で黒い事が良く判る



図-9 悪性黒色種（口腔）
点線で囲った腫瘍の右側は黒いが、左側はメラニンが少ない。



図-10 イヌの表皮向性リンパ腫
体表に多数の皮疹が認められる。



図-11 イヌの皮膚組織球腫



日動協主催で 「動物実験委員会のあり方」研修会開催される

動物福祉に関連する問題は「動物の愛護及び管理に関する法律」の見直しの時期もあって、非常に関心の高いテーマである。動物実験の試験計画書に対し動物実験委員会がどのような議論をするか模擬委員会を行い、この機会にみんなまで3Rの理念を考え直してみようと企画した。平成17年2月9日(水)「動物実験委員会のあり方」研修会と題して東京大学弥生講堂にて日動協主催の研修会を開催した。

時期的に関心の高いテーマであり、講師陣も揃い、会場も便利で収容能力も大きく、230名が参加した。大盛況であった。模擬委員会も活発な議論が行われ、総合討論は参加者からの質問も多く、大いにもりあがった。予定時間を30分間延長し、5時30分閉会した。

研修会のプログラムは次の通り。

第一部 講演会 座長：吉川泰弘（東京大学）

1. 生産者の実験動物福祉委員会と日動協の模擬訪問調査 鍵山直子（自然科学研究機構）
2. 動物実験における苦痛評価 <SCAW倫理カテゴリーの解説> 松田幸久（秋田大学）
3. 動物実験委員会の現状（理化学研究所における動物実験管理体制） 加賀屋悟（理化学研究所）

第二部 模擬動物実験委員会

1. 実験計画の審査のポイント — 3RとCost-benefit分析— 大和田一雄（山形大学）
2. 実験計画の模擬審査

議長：八神健一（筑波大学）大和田一雄（前述）

- ①NMDAレセプターの抑制による疼痛の制御（疼痛実験）
- ②TMS9641の単回投与毒性試験
- ③腹腔鏡下手術の手技確立と臨床応用のための実験
- ④尾部懸垂法を活用したラットの循環調節機構の解明
- ⑤光学計測法を用いた半慢性的生理実験
- ⑥遺伝子改変による疾患モデルの開発

◆ 模擬委員

青木貢一（動物との共生を考える連絡会）、尾崎明（理化学研究所）、大和田一雄（山形大学）、片平清昭（福島県立医科大学）、加賀屋悟（理化学研究所）、笠井一弘（リジョイス）、久原孝俊（順天堂大学）、小林英司（自治医科大学）、松田幸久（秋田大学）八神健一（筑波大学）

動物実験計画書の審査と動物実験委員会の基本姿勢 「動物実験委員会のあり方」研修会に参加して

神戸大学医学部附属動物実験施設 助教授

● 塩見 雅志

昭和62年5月に「大学等における動物実験について」という当時の文部省学術国際局長通知が出てまもなく18年になる。各研究機関では、当該通知に基づいて動物実験委員会を組織し、動物実験に関する指針を定め、動物実験計画書の審査を実施するようになった。しかし、これらの活動は各研究機関が試行錯誤を繰り返し、研究機関ごとに差異があるのが実情であろう。今年12月に予定されている「動物の愛護と管理に関する法律（以下、動愛法と略）」の改正を控え、本研修会は良いタイミングであった。

第一部の講演会では動愛法の改正を睨んでとも思われる「動物飼育施設／動物実験委員会の模擬訪問調査」が印象に残った。訪問調査の目的、動愛法の解釈に基づく訪問調査のポイント、調査結果を受けての自主管理の考え方等、参考になった。第二部の動物実験計画書模擬審査会も大変興味深く拝聴した。しかし、審査される動物実験計画書の記載項目／記述の程

度が話題提供者ごとに異なり、審査しにくそうに見えた。動物実験計画書の審査には動物実験委員会のポリシーが反映されるべきであり、そのポリシーは動物実験計画書の書式に具現されていなければならない。とは言え、模擬審査会のあり方が良く示されていたと思う。とくに、比較生物学に基づく動物種の選定、エンドポイントに関する議論は参考になった。しかし、現在広く実施されている遺伝子組換えマウスの作成や今後活発になる可能性があるミュタジェネシス等についての模擬審査を見てみたかった。模擬審査に機関外の者が参加することには意義がある。しかし、どのような角度からのコメントを求めるかを事前に充分議論しておく必要がある。外部委員を加える目的は、一般市民の視点に立った客観的な意見にあると思う。例えば、「この研究で動物を必要とする理由」、「この研究からどのような成果が期待できるのか」、「より苦痛の少ない方法

はないのか」などではないであろうか。主観的な意見は一般市民の感情を認識する上では重要と思うが、実験計画書の審査にはそぐわないと感じた。また、動物実験計画書は情報開示請求の対象となる文書であることから、研究機関の社会への説明責任に対する考え方が表されたものでなければならず、動物実験委員会による審査もそのことを前提に実施されるべきであろう。

計画書の審査には各研究機関で差異がある。模擬審査も大切であるが、その前の段階として、審査における基本姿勢についての議論を深める必要があるように感じた。また、動物実験における倫理的な対応については、現状の動物実験や近い将来に主流になると考えられる動物実験を見据えて方針を打出さなければならない。欧米の追随ばかりではなく、現在の我が国の状況を踏まえて、今後どのように体制を整えていくかについての議論も望みたい。

日動協研修会「動物の福祉を考える」に参加して

動物愛法改正を控えたこの時期、動物生産、飼育管理、実験等に従事する関係者を対象とした今回の研修会は、日動協ならではのタイムリーな企画であった。第二部では模擬とはいえ、関係者による動物実験委員会の審査状況が初めて公開されるとあって、迷わず参加した次第。

主な製薬企業の動物実験実施に関する承認方法（審査システム）は、「研究総務部門連絡会」等の情報から概略を把握していたが、大学関係は全く未知である。従って、各機関の運用細則も判らずに「審査状況」の感想を述べることは出来ない。ここでは私の関係する企業の方法、考え方の一端を述べ、その差異を参加した方あるいは読者がどのように感じ取るか、個々の判断にお任せすることにした。

関係する会社における動物実験承認審査は、平成3年末より開始され、現在に至る間、私も委員として委員会の立ち上げ、倫理審査に携わって来た。この間、幾たびかの改定が行われ、「審査システム」は大きく変わった。研究所が複数地域に分散されているため、3年前からはIT化に踏み切り、申請書・計画書・終了報告書は紙ベースからイントラ利用の電子「承認システム」に変更された。この結果、全社同一基準による審査、複数人による同時審査が可能となる等、適切且つ効率的な運用が可能となり、審査時間の大幅短縮に結びついた。そのため、研究員もその運用ルールを知った上で審査申請を行い、

さらに動物購入手続きに至る手順を覚える事は必須となった。

委員会は倫理（福祉）条項を精査するのは当然であるが、実験方法さらには研究の進め方そのものに対しても指導を入れることもある。すなわち、実験の効率的実施である。供試数はもとより、実験意義・必要性に言及することも委員会業務の範疇としている。またそれを指摘できる委員を配置している。研究の効率的実施とは大学等の研究員には馴染めない言葉と思えるが、開発競争のさ中、最も適切な動物種を選択し、少ない労力で洗練された手技をもって、再現性のあるデータを短時間・短期間に得ること。言い換えれば「3R」を最大限に意識した運営をしていることに他ならない。

福祉教育では、これらの思想を新入社員の導入研修において徹底して摺り込んでいる。動物福祉とは？を教えるため、法律的、宗教的、観念的なお話だけでは学生時代の頭の切換えには不十分。企業内研究所とは？から始まり経費管理に至るまでの考えを含めて教える事になる。動物の保定一つ満足に出来ない研究員は、動物実験をする資格もないとのキツイ言葉は私が入社した頃、先輩から言われた言葉。動物実験を行う研究員にはこの言葉、今も生き続けている。覚醒下で行われるADMEや行動薬理学的評価系実験では、実験技術の質が問われることをしばしば経験する。昨今、管理職からは実験技術レベル下がっているとの嘆きの

声も聞く。学生時代にVitro実験ばかりして来ているからな〜と、理解はするものの、そのためにデータがバラツキ、さらに実験回数や供試数を増やし、時間を浪費することなど企業内研究員のすることではないとの教育・指導内容である。今や、飼育管理SOPに「実験動物技術師二級」資格を持たない者は飼育管理業務に携われないと謳われている時代でもある。

委員会業務として他に、動物飼育施設および動物管理方法あるいは動物実験実施状況に対して定期査察を行い、指摘事項に対しての改善報告書の提出を部門長に義務付けている。すこし違う話であるが、飼育管理部門長に対しては、「防疫ルール」破りの研究員に対する施設利用許可の取り消し（研究不適格者の印）が出来る権限も与えられている。指導・管理体制が厳し過ぎるとの声も時に聞くが、時流を読めない者には研究資格が無いとの基本姿勢が底流に有るからである。

今回の「模擬審査」では、敢えて質疑応答がし易い計画書にアレンジし、参加者に対して動物の福祉問題を理解し易くするという主催者側の工夫を随所に感じ取れるものがあった。しかし、実験動物福祉とは？を議論する時期は既に去り、今は如何にすれば必要とする動物実験をすることができるか、効率的な組織作り、システム構築が必要な時期と思えた。

空調システムの概要 (アクアクリーン空調方式)

日本クリア株式会社 荒巻 正樹

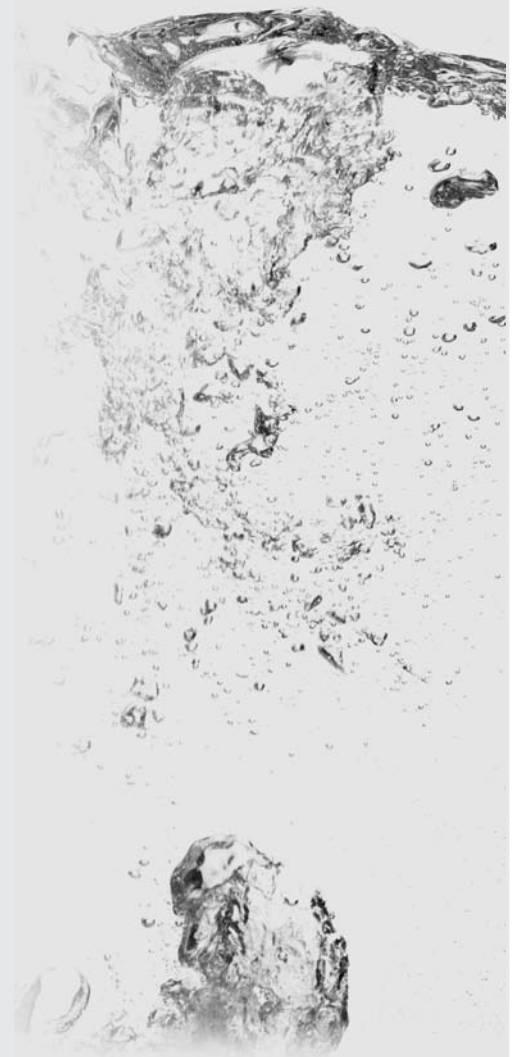
本装置は一般空調システムの間接空調とは異なり直接冷水を噴霧し、その中に空気を通過させるだけで夏季は冷却&除湿、冬季は加熱&加湿の基本条件である露点温度作り、室内に吹き出されます。

この水の直接スプレーは、熱交換効率が高いことや空調機内の水タンク(約2.0トン)は蓄熱の役目をすることから、安定した温湿度制御が得られます。

又、直接スプレーは空気の洗滌や脱臭に効果があり、特に動物室の臭気は水溶性ガス(アンモニア、硫化水素)系が多く含まれていることから除去効率が高く、脱臭の役割も十分に果たしてくれます。

この様に、空気調和機の出口空気は清浄化されることから、レターン方式でも室内臭気濃度は低く、一般空調機(エアハン型、パッケージ型)と比較し約2倍のレターン量を増やすことができ、エネルギーの削減(全熱交換器不要など)になります。

又、空気中の粉塵や外部からのガスなども清浄化されることから、室内吹出口フィルター(HEPA&中性能フィルター)の寿命も約3倍(弊社生育場にて比較)に延びるなど、交換費用やエネルギーの削減ができ、実験動物施設の空調設備としては最も優れた『省エネルギー空調システム』の採用で安全な動物飼育環境を得ることができます。



■ 各装置の動作内容

1. アクアクリーン空気調和機

本空調機は、全ステンレス製で気密性と断熱性の高いボックス構造ですが、内部にはスプレーノズルと水滴分離装置(エリミネーター)が組み込まれ水スプレーだけのイメージになっています。(写真-3参照)

槽内は約2.0トンの水の保有槽と薬液槽(300ℓ)があり、通常運転中は水タンクを冷却&加熱し、循環ポンプにて水スプレーの中に空気を通し次に水滴分離器(エリミネーター)を通過させ、飽和空気(露点温度:13~15℃)状態を作り室内に供給されます。

又、薬液槽は2回/週の割合で、スプレーポンプの吸込口が薬液槽に切り替わり、空気調和槽内を薬液噴霧し、消毒工程が自動的に行なわれ、水槽内の菌の発生やカビの防止対策

を考慮しています。

(薬液槽への薬液は次亜塩素酸ナトリウム:約100ppm濃度を自動添加)

2. 水フィルター逆洗滌装置

空気調和機は温、湿度のコントロールだけでなく、空気洗滌と脱臭を同時に行なう為、水に洗い落とされた汚れや臭気は水に溶け込むことから水フィルターによる汚れの除去と周期的な水の入替工程が自動的に行なわれます。

フィルターの目詰りは、自動的に逆洗滌工程でポンプの水圧を自動弁の動作切替により、逆から加圧し汚れを落とし排水へ放出します。

この様な工程にも薬液が注入され、安全な消毒法で処理がおこなわれます。

3. 前段処理フィルター: 中性能フィルター処理(0.5ミクロン×90%)

外気及びレターン空気は空気調和機の水ス

医学・薬学・理工学者向けの生命科学を中心とした情報誌

Biophilia

~生命科学の未来を考える~

ビオフィリア

生命科学に関するさまざまな情報の効率的な媒体として、総説、特集、連載、技術紹介、ニュース等を中心とする情報雑誌。

毎年3月・6月・9月・12月 各10日発売

定価 1,890円 (税込)

詳しくはホームページ <http://www.biophilia.jp/> をご覧下さい。随時、内容は更新していきます。

編集委員長 前島 一淑 (慶應義塾大学名誉教授)

編集委員

海野 隆 (日本オルガノン株式会社主幹部員)

小林 英司 (自治医科大学分子病態治療研究センター教授)

星 信彦 (神戸大学農学部教授)

吉崎 理華 ((株)東レリサーチセンター研究員)

劉 陽 (慶應義塾大学医学部)

株式会社アドスリー

〒164-0003 中野区東中野4-27-37

tel:03-5925-2840 fax:03-5925-2913 <http://www.adthree.com>

プレーで約60%は浄化されますが、ダクト内及び機器への汚れ防止やHEPAフィルターの寿命を延ばす目的から、前段処理として中性能フィルターが取付られています。

又、フィルターの交換時に動物室内への給気の停止は室内温、湿度の変化、室内圧力保持などが出来ないことから、フィルターBOX内は2層に気密分離され、フィルター交換時は切替方式にて給気ファンを止めることなく、交換やメンテが可能となっています。

4. 前段加熱ヒーター

空気調和機出口に取付けられ、露点温度(13.5℃)の状態では、機器及びフィルターなどに飽和空気(湿度100%)がふれ、結露や腐食などトラブル防止対策として、予め空調機出口温度を上げる目的の加熱ヒーターです。(夏季16~18℃ 冬季:18~22℃)

又、冬季は室内温度調節用ヒーター(再熱)の補助的な役目を果たし、再熱ヒーターの故障で室温が大きく下がることを防止します。

■ システムの特長

(動物実験施設空調に必要な5ポイントの特長があります)

① 温、湿度の安定性

調機内部には1.5~2.0トンの水を保有し、水の温度(露点温度)を年間同じ温度にするだけで湿度も一定となります。

水の比熱1.0に対して空気の比熱0.24からも理解できるように、水の温度変化は空気1/4倍にあたることから安定した制御が得られます。

② 外気導入からの汚染防止

一般的な動物室の空気導入はHEPAフィルターを最終処理とし、中性能フィルターで前段処理をしています。『アクアクリーン』空調機は水シャワーで外部からの汚れや排気ガスな

ど除去効率が高く(約60%以上)、中性能&HEPAフィルターの寿命は、一般空調方式と異なり約2~3倍と長く、ランニングコストの低減にもなります。

③ 動物室内の臭気対策

動物の臭気成分は、アンモニア、硫化水素、プロピオン酸、その他数種あり、いずれも水溶性であることから水シャワーに溶解しやすく、有効な脱臭効果があることから、高価な脱臭装置は不要で定期的な水の入替(自動)で行なわれます。

④ ランニングコストの低下

ランニングコストの高くなる原因は、取入れる外気量によって大きく左右されますが、『アクアクリーン』水シャワーは脱臭効果が高いことからレターン量を多く取ることができ、ロスナイ不要で有効なエネルギーの削減ができます。

又、冬季における外気量の増加は加湿エネルギーを大量に必要としますが、本装置は水スプレーとレターン量により加湿エネルギーは僅かなエネルギーで済み、全体的に一般システムの30~50%の削減が可能です。

⑤ 設備の耐用年数

動物実験施設空調に関しては一般にアンモニアと消毒液などの影響で機器に腐食が発生し、数年で交換をするようになります。

『アクアクリーン』システムは、水スプレーで冷却することから、冷却コイルが無く、冷却コイルの腐食や目詰まりなどの心配はありません。

又、他の機器・設備に対しても腐食防止対策が施され、ステンレス製を採用し耐久年数を大幅に改善しています。

(配管なども鉄分による赤水対策として、ステンレスを採用しています)



写真-1 機械室内機設置全体図



写真-2 空調和機廻り設備機器



写真-3 空調機内部水シャワー冷却状況



写真-4 空調設備動力&操作盤

Experimental Animals

Covance R. P, Inc 代理店 Japan Laboratory Animals, Inc.



取扱品目

各種実験動物の受託飼育

SPF・クリーン各種実験動物

輸入動物 (Covance・Harlan・Vanny) : ビーグル犬・モンゲレル犬・サル類・遺伝子操作マウス etc.

その他実験動物 獣血液・血清・臓器 床敷 飼料 飼育器具・器材

非GLPの受託試験

動物用医薬品一般販売

株式会社 日本医科学動物資材研究所

〒179-0074 東京都練馬区春日町6丁目10番40号

TEL (03) 3990-3303 FAX (03) 3998-2243

睡眠障害モデルマウスの 開発における偶然と必然

(財)大阪バイオサイエンス研究所
分子行動生物学部門・研究部長
裏出 良博



はじめに

我々は、睡眠の基礎研究に取り組んでいる。その研究の歴史は、1983年、京都大学・医学部・医化学第一講座（早石修教授、現大阪バイオサイエンス研究所理事長）における「プロスタグランジン（PG）D₂による睡眠誘発の発見」に遡る。その後、新技術開発事業団（現科学技術振興機構）ERATO 早石情報伝達プロジェクト、当研究所・酵素代謝部門を經由して、現在の我々に引き継がれている。

筆者は、PGD₂の睡眠誘発作用が発見された当時、大学院生として同教室に在籍し、その後、日本学術振興会の奨励研究員としてPGD合成酵素の精製を担当した。

以来、20年以上も本酵素に関する研究を続けている。こんなに長く、一つの研究テーマを継続できたのは、大変幸運だったと思う。この数年は、「遺伝子から行動まで」をモットーに本酵素の結晶構造解析と遺伝子操作マウスの機能解析を中心に、研究を進めている。

睡眠のような難解なテーマを相手にすると、「使える技術は何でも使う」ことは当然で、様々な分野を行来できる学際性を要求される。そして、「誰も考えないことを必死で考える」ことが習慣になり、「考え抜いたすえに偶然を期待する」ようになる。そして「常識を越えた発見には、非常識な論理展開や偶然が必須である」と納得する。しかし、発見に最も重要

なのは人である。情熱と好奇心に溢れ、正確な実験技術と卓越した観察眼を持つ研究者が、発見や発明の必須条件である。先人もそのことは良く話された。「とにかく、やってみなはれ。」というのが当研究所の初代理事長であった佐治敬三サントリー会長（故人）の口癖であり、「乱れたデータで自分の頭を汚すな。」というのは、早石先生の恩師であるアーサー・コンバーグ教授（スタンフォード大学）の口癖である。そして、これらの要素がうまく合わさると様々な予想外の発見に結びつく。以下に、PGD合成酵素遺伝子操作マウスに関する研究エピソードを紹介する。

睡眠物質としてのPGD₂

睡眠の重要性は誰でも知っている。睡眠不足が続くとミスが増え、体調も悪くなる。2、3日の徹夜なら何とかなるが、徹夜を続けると、どんどん眠気が強くなる。そして、1週間も起き続けるのは至難の技だ。どうしてだろうか？いつも寝付きの悪い人でも、徹夜明けには簡単に寝付ける。そして、眠気の強いとき、たとえ20分程度の短時間の睡眠でも頭はすっきりする。この間、頭のなかで何がおきているのだろうか？実は、脳内の睡眠物質の濃度が変化して眠気が左右されているのである。

「断眠中に睡眠物質が脳内に蓄積する」ことを世界で最初に証明したのは、20世紀初頭の日本の石森国臣博士⁽¹⁾とフランスのヘンリー・ピエロン博士⁽²⁾である。彼らは、それぞれ独自に、長時間断眠させたイヌの脳脊髄液を別のイヌの脳内に投与すると、そのイヌが眠ることを発見し、断眠中に脳内に蓄積する睡眠物質の存在を予言した。その後、約1世紀の間に、動物の脳、血液、尿などから、約30種類にも及ぶ睡眠物質が同定された。その中で、PGD₂は最も強力であり分子レベルの作用機構

が最も明確な睡眠物質である。

PGD₂による睡眠誘発の分子機構を図1に示す^(3,5)。睡眠物質としてのPGD₂は、脳を包むくも膜、脳脊髄液を産生する脈絡叢、ミエリンを作るオリゴデンドログリア細胞に分布するリポカリン型PGD合成酵素(L-PGDS)により産生され、脳脊髄液に分泌される。そして前脳基底部に局在するDP受容体を刺激して、第2の睡眠物質であるアデノシンの分泌を促し、前脳基底近傍のアデノシンA_{2A}受容体を持つ神経細胞を刺激する。その刺激は、視索前野に存在する睡眠中枢に伝えられ、GABA系の抑制性投射を介して後部視床下部のヒスタミン系覚醒中枢を抑制し、睡眠を誘発する。この情報伝達系は、従来から知られている様々な睡眠覚醒調節作用を示す物質の作用機構を説明でき

る。たとえば、アデノシンA_{2A}受容体拮抗薬であるカフェインは睡眠を妨げる。逆に、GABA_A受容体作動薬であるベンゾジアゼピン系の精神安定薬は睡眠導入効果を示し、風邪薬や抗アレルギー薬として服用する抗ヒスタミン薬は眠気を誘う等々である。では、これらの情報伝達系に関与する遺伝子の欠損や大量発現は、動物の睡眠覚醒にどのような影響を及ぼすのだろうか？我々は、L-PGDSの遺伝子操作から実験を始めた。

L-PGDS遺伝子操作マウスの作製

12年前、私が日本チバガイギー(現ノバルティス)国際科学研究所から当部門の副部長に着任した際、部長兼務であった早石所長と江口直美特別研究員(現・当部門副部長)の3人で作戦を練り、L-PGDSの遺伝子ノックアウト

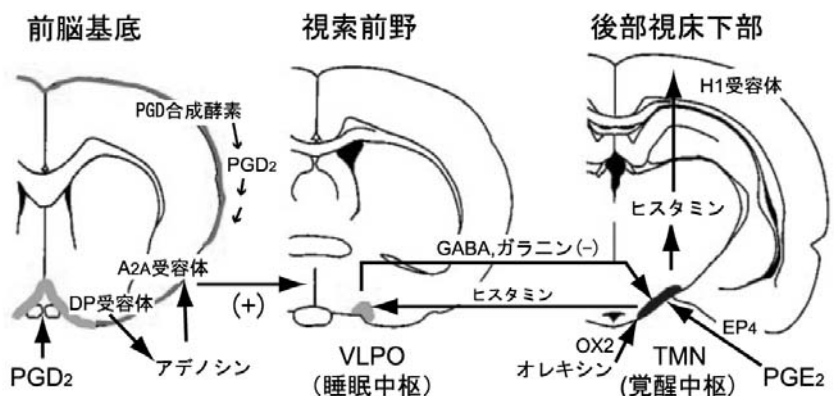


図1 PGD₂による睡眠誘発機構の模式図

(KO) マウスの作製とマウス用の睡眠バイオアッセイ系の確立を最優先課題として研究を開始した⁶⁾。まず、江口博士が東京大学・医学部の生化学講座（岡山博人教授）に出向して、マウスL-PGDSの遺伝子クローニングを行い、次いで、大阪府立母子保健総合医療センター（吉田進昭部長、現東京大学・医科学研究所教授）のもとでES細胞での相同組み換え、胚移植、キメラマウス、F1ヘテロマウス、そして、KOマウスの作製を行った。

同時に、当時、マウスの睡眠測定を行っていた世界の3つの研究所、オーストリア・チューリッヒ大学（アレキサンダー・ボルベイ教授、アイリーン・トブラー教授）、フランス・リヨン大学（レイモンド・セスプルジオ教授）、スイス・ジュネーブ大学（メディー・タフティー教授）を訪問して研修を受け、彼らの方法を組み合わせた新たな睡眠バイオアッセイ系を当部門に設置した。さらに、それまで使用されていた脳波と筋電図を記録紙に出力する方式を廃止し、全波形データのコンピューター解析を目指してNECバイオメディカル（現GEバイオメディカル）とキッセイコムテック株式

会社との共同研究を開始した。その結果、全データをDVDに記録するシステムが完成し、現在、世界の睡眠研究施設で標準ソフトとして利用されている「スリープサイン」が開発された。

これらの研究と並行して、新たに研究に参加した金岡禧秀特別研究員（現ハーバード大学・講師）がヒトL-PGDSを大量発現するトランスジェニック（TG）マウスの作製を担当し、これらの動物が示す睡眠異常についての検討を始めた。ところが、両マウスとも発育や行動パターンに明らかな異常は見られず、ノンレム睡眠（脳波が緩やかになるので徐波睡眠ともいう。意識が無く脳を休息させると考えられる睡眠）とレム睡眠（Rapid Eye Movementの頭文字から名付けられた睡眠。睡眠中であり全身の筋肉が弛緩しているにも関わらず、脳が活発に活動し、閉じた瞼の下で眼球が水平方向に活発に動く。夢を見る睡眠と考えられる）の量と質や、工業技術院（現産業総合研究所）石田真理雄部長に依頼して解析してもらった行動量の日内リズムも、野生型マウスと同じであった。

「変化が無いとは、どういうことだ。作戦ミスか？」嫌な予感が

漂う時に悲観的な事を考えると、実験結果に反映されると私は信じている。こんな時こそ楽観的に考え「幸運」をを待つのである。当時の研究室には、情熱に溢れ、好奇心旺盛で、元気な研究者が既に大勢集まり、外部の共同研究者との交流も盛んになっていた。「そのうち、なにか出てくる。」と念じてしばらくすると、予想通り、幸運の女神が微笑だした。そして、これらの動物の生理機能の異常が次々と明らかになってきた。

予想外の発見も多い。一例はL-PGDS-KOマウスの痛覚異常である⁷⁾。アスピリンやインドメタシンなどの非ステロイド性抗炎症薬が、PGの合成を止めて痛みを緩和することは知られていたが、痛みに関係するのはPGE₂と考えられ、PGD₂は無視されていた。ところが、江口博士はPGD₂と痛覚の関連を研究していた関西医大の伊藤誠二教授との共同研究を進め、ヘルペスによる帯状発疹などの際に本来痛みとして感じない接触刺激が激痛を起こすアロディニア（異痛）と呼ばれる現象がL-PGDS-KOマウスでは起きないことを証明した。研究所の片隅でいつも黙々と実験をしていた大阪医大の南敏明講師（現大阪医大教授）

と共に、江口博士がデータシートを片手に部長室へ駆け込んで来たときには、「これで報告書は何とかなる。」と胸をなで下ろした。

L-PGDS遺伝子操作マウスの睡眠異常

L-PGDS遺伝子KOマウスの睡眠調節異常は、約1世紀前の石森博士とピエロン博士が行ったのと同じ、断眠実験により明らかになった⁽⁸⁾。但し、マウスの断眠は、彼の行なった犬の散歩のように簡単には行かない。定期的に床に微弱な電気を流して動物を刺激するとか、動物の足を水につけておく、あるいは強制的に泳がせるようなことをすると、ストレスに対する防御反応が動物の行動に現れ、断眠に対する反応を隠してしまう。かといって、マウスが眠りだすのを感じてやさしく起こす便利な機械はない。結局、研究者がマウスのそばにいて彼らの行動やモニターに現れる脳波を観察し、マウ

スが眠り始めると化粧用のパフでひげや耳たぶ、尾のつけ根を軽く触って起こすという、極めて手間のかかる実験をすることになった。(図2. 左の写真) 数人でチームを作り、2時間交代でネズミのケージの横に張り付く実験が、何回となく行われた。この実験は、参加者が多くないと不可能である。しかも、彼らの理解と協力が不十分だと断眠の精度が低下する。我々は、幸い良い仲間恵まれた。さらに、この実験は参加者の動物の行動観察力を磨くと同時に、日常生活の悩みや進路の相談室としての「井戸端会議」的機能も果たすという予想外の効果もあ

げた。

この断眠実験の様子とその結果を図2に示す。12時間の明暗サイクルで飼育しているマウスの場合、暗期(活動期)12時間全体でのノンレム睡眠時間は約220分、レム睡眠時間は約30分である。その睡眠時間の総量や日内リズムは、野生型マウスとL-PGDS-KOマウスの変化はない。次に、明期の後半6時間、上に述べた方法でマウスを起こし続けると、野生型マウスでは断眠解除後の暗期の睡眠量が著しく増加する。そして、暗期12時間全体では、断眠前日に比べ、ノンレム睡眠は約66分、レム睡眠時間は約6分増加する。

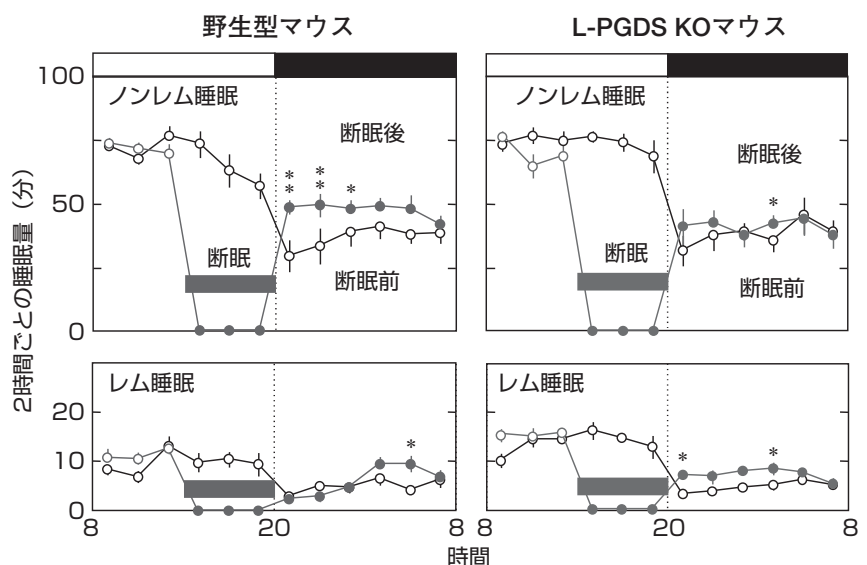
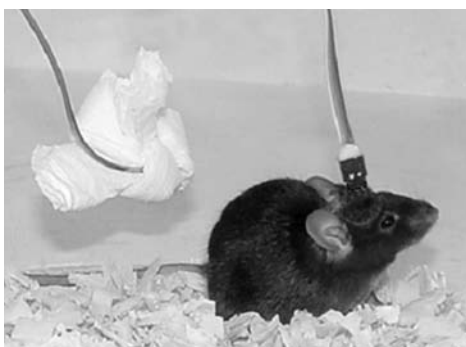


図2 断眠実験の様子(左の写真)とその結果(文献8)

明期後半6時間(14:00~20:00)の断眠処置による(■、□、●、○)野生型(左)およびL-PGDS KO(右)マウスのノンレムおよびレム睡眠量の経時変化(n=6)。

この現象は、我々も経験する。前夜、十分な睡眠時間が確保できないと、その夜の睡眠時間は、いつもより長くなる。これは睡眠不足を解消するための恒常性維持機能の働きによる現象である。しかし、L-PGDS-KOマウスでは、この断眠によるノンレム睡眠の増加が起こらない。一方、レム睡眠のリバウンドは観察され、断眠前日に比べ約15分増加した。以上の結果は、「L-PGDSが欠損すると、断眠による睡眠物質PGD₂の脳内での蓄積が起こらないので、断眠後のノンレム睡眠時間が変化しない。」ことを示している。この説明は、断眠前後のマウスの脳内PGD₂量を定量すると、野生型マウスでは6時間の断眠により脳内PGD₂量が倍増するが、L-PGDS-KOマウスでは全く変化しないことから裏付けられた。どうやら、約1世紀前に石森とピエロンが存在を予言した睡眠物質はPGD₂らしいことを突き止めた。

一方、ヒト型L-PGDS大量発現TGマウスの睡眠異常は、実験担当者により、偶然発見された⁽⁹⁾。それは、運悪く野生型とTGマウスが同じ匹数入った隣り合わせのマウスのケージから、遺伝子系を表示したラベルが落下したことか

ら始まった。そこで、再度遺伝子診断を行うために尾の末端を少し切り取った。本来、この操作は生後1、2週間の段階で行う。その場合は尾も柔らかいが、成熟したマウスだと骨も硬くなっており、少々てこずる。この実験を行った小野泰子技術員（現大阪大学・技術員）は、少し心配になって、尾の組織を採取した後のマウスを観察していた。すると、片方のケージのマウスは全て興奮し活発に動き回っているのに対して、もう一方のケージのマウスは全てじっと眼を閉じて動かなくなることに気がついた。遺伝子診断の結果、前者が野生型マウス、後者がTGマ

ウスであった。その後、マウスの脳波を測定してみると、尾の切断による痛覚刺激を与えると野生型マウスでは睡眠量は低下するのに対し、TGマウスでは刺激後5時間にわたりノンレム睡眠が増加した（図3）。しかし、レム睡眠量は変化しなかった。また、ノンレム睡眠の増加と相関した脳内PGD₂含量の増加も証明された。従って、このTGマウスの睡眠発作は、痛覚刺激の負荷により脳内のPGD₂量が増加して起きたと考えられる。「痛い」と感じた後、徐々に眠気が強くなって眠ってしまう睡眠発作モデル動物ができていたのである。

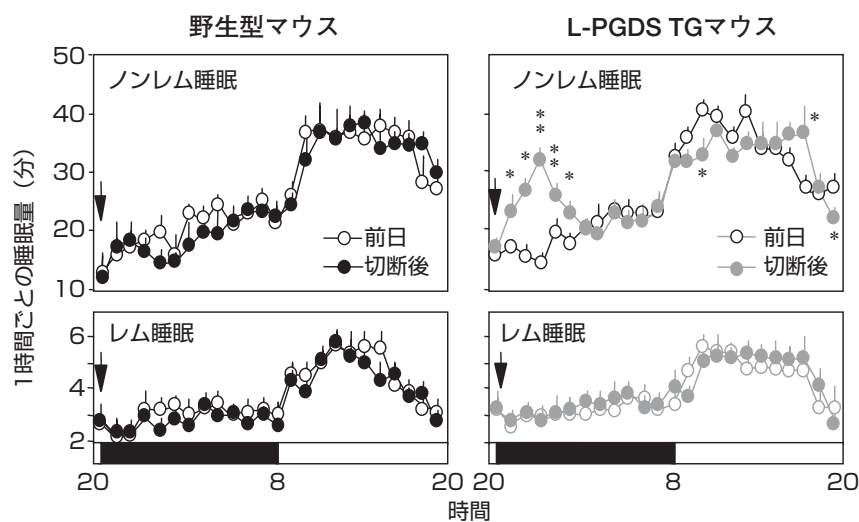


図3 ヒト型L-PGDS大量発現TGマウスにおける痛覚刺激後の睡眠量の変化(文献9)

○は切断前日、●は切断後の結果を示す。通常の明暗サイクル下において、TGマウスの睡眠発現パターンは野生型と比べ、明らかな異常はない。しかし暗期開始時(20:00)に尾の先端を切ると(矢印)、その後5時間にわたりノンレム睡眠量が特異的に増加する。

おわりに

L-PGDSの欠損と大量発現が共にノンレム睡眠に影響を与えることがわかり、PGD₂の睡眠誘発作用が遺伝子レベルで裏付けられた。現在、我々の部門では、京都大学の成宮周教授の研究室で作成されたDP受容体KOマウス、ハーバード大学チェン・ジャン・ファン教授の研究室で作成されたアデノシンA_{2A}受容体KOマウス、九州大学渡邊武教授（現理化学研究所・免疫・アレルギー科学総合研究所）の研究室で作成されたヒスタミンH1受容体KOマウスの睡眠解析を進めている。これらのKOマウスは、いずれも、その発育や行動パターンに明らかな異常は見られず、明暗環境下における睡眠量も野生型マウスとほぼ同様である。つまり、睡眠物質および睡眠情報の伝達系は単一ではなく、一つの物質の情報伝達系の欠損は他のシステムにより十分に補償されるようである。ところが、これらの動物に断眠のような刺激を加えると様々な睡眠異常が起きる。L-PGDS-KOマウスでの経験が大変役立っている。

上述のように、12年前3人から出発した研究チームも、最近30

人程度の大所帯になり、2、3年おきに研究員が入れ替わり、のべ10人以上の海外からの研究者も参加している。睡眠研究は行動学的解析が主要な部分を占め時間がかかる。何よりもスピードを要求される企業研究所から着任した当時「こんなスローペースで研究費や研究ポジションが獲得できるのだろうか」と不安だった。しかし、現在のところ、その心配は取り越し苦労に終わっている。

研究費の面では、科学技術振興事業団（現科学技術振興機構）CRESTプロジェクト、厚生労働科学研究費、文部科学省振興調整費などの大型プロジェクトの助成を受け、大阪市や様々な民間財団、企業からの支援を頂いている。さらに、昨年度より、生研センターの基礎研究推進事業に採択され、京都府サーチパーク内に分室を設けて、「自然な睡眠覚醒調節作用を持つ天然素材の探索に関する研究」を開始した。いろんな素材が多く企業から持ち込まれ、日本一の脳波解析の規模を持つ動物睡眠研究室が稼働し始めた。

当部門で睡眠研究に参加した研究者のほとんどが国内の大学の教授・助教授、ハーバード大学やスタンフォード大学などの研究スタ

ッフ、あるいは企業の研究員として現在も睡眠研究を継続している。そして、本年1月、当部門の池田真行研究員が富山大学理学部の助教授に転出し、新たに毛利育子研究員がノースカロライナ大学より着任した。さらに、江口副部長は、本年4月より早稲田大学先端バイオ研究所の客員教授として着任し、シンガポールの早稲田オリパスバイオサイエンス研究所に新たな睡眠研究室を開設する。そこには当部門の特別研究員であった坂田三恵博士が既に講師として着任している。当部門のもう1人のスタッフである黄志力（ホン・ツーリー）研究員は、中国・上海の復旦大学医学部（旧上海医科大学）の教授を兼任し、新たな睡眠研究施設の開設を進めている。我々の睡眠研究は海外に活動の場を広げている。これまでの睡眠研究で得た実感を綴った随録「不眠社会の眠り考」が日本経済新聞サイエンス欄（平成15年11月から16年2月）に掲載された。ご興味ある方はご一読ください。

最後に、本原稿の執筆の機会を頂いた、日本実験動物協会・理事の中川真佐志氏に感謝します。

文献

1. 石森国臣: 不眠動物ノ脳質中ニ證明シ得タル催眠性物質-睡眠の真因. 東京医学会雑誌23: 429-457, 1909.
2. Pieron H.: Le probleme Physiologique du Sommeil. Paris: Masson; 1913.
3. 裏出良博: 睡眠覚醒調節の分子機構. 神経進歩44 (6) : 883-890, 2000.
4. 裏出良博ら: 睡眠物質. 脳神経558 (1) : 455-55, 2003.
5. 裏出良博ら: 睡眠覚醒調節の分子機構. 最新医学59 (3) : 15-20, 2004.
6. 裏出良博ら: 睡眠研究における遺伝子工学的アプローチ. 日本臨床 56 (2) : 489-492, 1998.
7. Eguchi N., et al.: Lack of tactile pain (allodynia) in lipocalin-type prostaglandin D synthase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA 96: 726-730, 1999.
8. Eguchi N et al.: Sleep of gene-knockout and transgenic mice for prostaglandin D synthase. Sleep Res Online 2: 665, 1999.
9. Pinzar E., et al.: Prostaglandin D synthase gene is involved in the regulation of non-rapid eye movement sleep. Proc Natl Acad Sci USA 97: 4903-4907, 2000.
10. 裏出良博: 「不眠社会の眠り考」日本経済新聞日曜日朝刊サンデーニッケイサイエンス欄2003.11~2004.2

略歴

- 1982年 4月~ 日本学術振興会 奨励研究員
- 1983年10月~ 新技術開発事業団・早石生物情報伝達プロジェクト 研究員
- 1987年10月~ (財)大阪バイオサイエンス研究所・酵素代謝部門 研究員
- 1988年10月~ 米国ロッシュ分子生物学研究所 客員研究員
- 1990年 4月~ 日本チバガイギー国際科学研究所 主任研究員
- 1993年11月~ (財)大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物学部門 研究副部長
- 1998年 4月~ 現在 (財)大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物学部門 研究部長
- 2000年4月~ 現在 大阪大学大学院医学研究科 客員教授

**未来の芽を育む、
伝統と信頼の技術。**

動物実験に関する最先端の研究活動をトータルに支えます。

Core Technologies
発酵、計測制御、素材加工、生体、免疫、遺伝子工学 etc.

実験動物用飼料
Certified Diet, 特別注文飼料 etc.

実験動物/関連器材

- SPFローデント[日本チャールス・リバー(株)]
- SPFウサギ[北山ラベス(株):JW、NZW、DUTCH、WHHL]
- 実験用繁殖犬[北山ラベス(株):TOYOビーグル、HBD]
- 実験用飼育器材[床敷、ケージ類、給水瓶、ローデンカフェ etc.]

受託サービス
薬理薬効/安全性評価に関する受託試験、実験動物の受託飼育、遺伝子発現、組換え蛋白、抗体作製、遺伝子改変動物 etc.

オリエンタル酵母工業株式会社
ORIENTAL YEAST CO., LTD.
バイオ事業部 ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 Phone:03-3968-1192
<http://www.oyc.co.jp>

実験動物技術指導員・

準指導員制度の発足について

教育・認定専門委員会 委員長 大和田 一雄

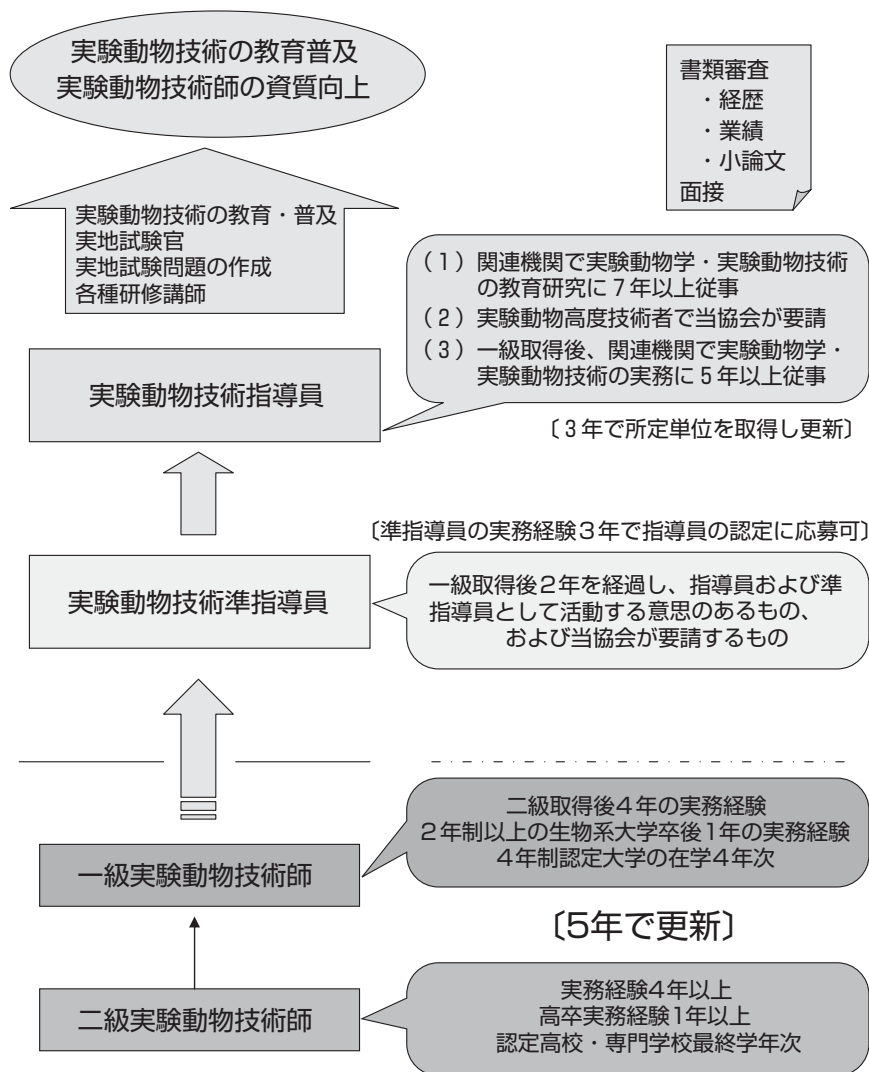
(社)日本実験動物協会はこれまで20年にわたり、数千人の二級実験動物技術師と700人に及ぶ一級実験動物技術師を認定してきた。初期の頃からこの事業に関わり、実験動物技術師の養成、教育、認定の任にあたってこられた先達の諸先生方のご尽力に心より敬意を表するものである。

近年は、時代の要請に添い、学科試験問題をWeb上に公開し、20年ぶりに教科書を改訂し、各論や実地試験における選択動物種を変更する等、種々新たな視点で実験動物技術師の養成、教育・認定にとりくんできたところである。

21世紀における生命科学の進展や動物実験の場における動物福祉の実践という観点から今後とも実験動物技術師の必要性は益々高まっていくことは疑いが無く、より質の高い実験動物技術師の養成システムの構築が求められている。

この様な背景のもと、平成17年度から実験動物技術指導員並びに準指導員の制度を発足させ、実験動物技術師養成の新たな枠組みを構築することとした。概略を図に示した。

実験動物技術の進展 = 生命科学の進展に寄与



本制度は、実験動物技術指導員を認定並びに確保することにより、実験動物技術の教育・普及に努め、実験動物技術師の資質を向上させ、実験動物技術の進展に貢献することを目的としている(実験動物技術指導員認

定規程第1条)。併せて、今次研究の潮流である生命科学の進展に寄与することを目的とするとはいうまでもない。

[実験動物技術指導員の役割]

実験動物技術指導員の役割は、実験動物技術者の実地指導等、

実験動物技術の教育・普及に関することと、日動協の実施する各種試験の現地試験官、現地試験問題の作成、各種研修講師等に関することである。また、準指導員は指導員の実務を補助することを役割とする。

実験動物技術指導員並びに準指導員は下記の3種類の方法により公募し、当協会の審査並びに試験により認定する。

〔実験動物技術指導員の応募資格〕

- (1) 大学、研究所、製薬企業、受託研究企業、動物生産企業等で実験動物学・実験動物技術の教育・研究等の実務に7年以上従事している者
- (2) 関連分野に従事する実験動物高度技術者で当協会が要請する者
- (3) 実験動物技術師一級資格取得後大学、研究所、製薬企業、受託研究企業、動物生産企業等で実験動物学・実験動物技術に関する実務に5年以上従事している者

〔実験動物技術準指導員の応募資格〕

一級資格取得後2年を経過し、実験動物技術指導員および実験動物技術準指導員として活動する意思がある者並びに当協会が実験動物技術準指導員として要請する者。但し、準指導員が指導員の認定を受けるには準指導員の実務経験3年を必要とする。

〔資格認定〕

実験動物技術指導員認定小委員会（学識経験者、理事等で構成）による書類審査（経歴、業績、小論文）並びに面接試験により認定の可否が判断される。

認定を受けるには、①所属機関等からの推薦、②公募出願、③当協会から依頼する場合、の3つの方法があり、それぞれ所定の必要書類を当協会まで提出しなければならない。

いずれの場合も上記の応募資格要件を満たしている必要がある。

〔資格の継続〕

認定者は実験動物技術指導員または準指導員として名簿に記載・登録され、資格認定証が交付される。

登録後は、3年ごとに登録の更新を行う必要があり、その際、所定の必要単位を取得している

ことが継続の要件となる。更新に必要な取得単位は25単位以上/3年とする。

所定単位の例は以下の通りである。

以上、平成17年度から発足する実験動物技術指導員並びに準指導員の制度の概略について述べた。常に質の高い実験動物技術師を確保し、時代に即した先端技術を導入していくためには、実験動物技術師による実験動物技術師の再生産（養成・教育）が必要不可欠であり、その様なシステムの構築が実験動物界の裾野を磐石なものとし、ひいては生命科学の進展に寄与していくものと信じてやまない。

関係各位におかれては、上記の背景と趣旨にご賛同いただき、多数の応募（推薦）と今後の協力を切にお願いする次第である。

〔更新に必要な所定単位の例〕

・当協会の「実験動物技術指導員研修」受講	： 10単位
・同「教育セミナー フォーラム」受講	： 3～5単位
(内容により事前に明示する)	
・同「動物実験法研修」受講	： 3単位
・同「上記以外の各種研修」受講	： 2単位
・同 研修その他一般業務補助	： 2単位
・同2日以上の実地指導	： 5単位
・同実地試験官担当	： 5単位
・同実地問題の作成	： 1間1単位
・実験動物技術関連学会での発表・論文 (10単位/3年を限度とする)	
筆頭演者・筆頭著者	： 3単位
共演・共著者	： 2単位
・他機関での関連研修 (実技) 指導	： 2～5単位 (内容を勘案する)
更新手続きに必要な取得単位数	： 25単位以上/3年

4年制大学在学生の実験動物 一級技術師受験特例の制定について

教育・認定専門員会委員長 ■ 大和田一雄

生物系4年制大学の在学学生を対象に一級実験動物技術師資格認定試験の特例規定を設け、大学在学中に受験が可能となるように規程を制定した。この制度は平成17年度より適用される。

従来、一級実験動物技術師認定試験を受験するためには、二級技術師資格取得後4年の実務経験あるいは生物系2年制以上の大学卒業者で1年以上の実務経験が必要であったが、この特例が設けられたことにより、所定の単位を取得していれば、生物系4年制大学在学中に一級実験動物技術師認定試験を受けることが可能となった。

この特例の適用を受けるためには、予め、そのカリキュラム、動物飼育設備等について日動協の認定を受ける必要がある。詳細は(社)日本実験動物協会事務局に問い合わせられたい。図に申請から認可並びに受験から合格、認定登録までの概略を示した。

(1) 教育カリキュラム

学科及び実地とも、当協会が認定する内容を8単位以上取得していることが求められる。大学生の受験特例必須履修項目の概要は以下の通りである。

実験動物一級技術師大学受験特例必須履修項目

1. 学科

- 1) 「実験動物の技術と応用・入門編」1) 並びに「実験動物の技術と応用・実践編」2) の総論および各論の内容をすべて網羅した講義を受講し、単位を取得していること。
- 2) 90～120分×15回=2単位とし、別紙の内容3) (「実験動物の技術と応用・入門編」及び「実験動物の技術と応用・実践編」) に相当する内容を履修し、合計8単位以上(相当)取得していること。
- 3) 各大学で開講している学科目で、内容的に上記に該当するものがあれば、科目を問わない。ただし、申請時に、内容が合致しているか、単位として十分か、等について日動協で調査を行うこととする。
- 4) 必修、選択を問わず、「実験動物学」を2単位以上、履修していること。
- 5) 通常開講している学科目で不足の場合は、夏期特別講習等で補講してもよいが、この場合も内容の妥当性について日動協が調査を行う。

2. 実地

- 1) 「実験動物の技術と応用・入門編」の「IX動物実験の基本」及び各論の各種動物における実験手技の項、並びに「実験動物の技術と応用・実践編」の「IX特殊実験法と検査法」、「X遺伝子操作と凍結保存」、「XI命名規約およびモニタリング」及び各論の各種動物における実験手技の項を履修していること。
- 2) 実験動物の適正な飼育・取扱いができ、実験動物施設および動物実験施設の運営管理について理解できること。
- 3) 一級技術師資格認定試験受験者のための実験動物高度技術者養成研修(白河研修)の実地テキストに記載されている実技が正確にできること。
- 4) 90～120分×15回=2単位とし、上記に該当する内容の実地・実習の単位を、該当する科目において合計8単位以上(相当)取得していること。

※1) : 実験動物技術師二級用テキスト(アドスリー 2004)

2) : 実験動物技術師一級用テキスト(アドスリー 2004)

3) 本編では内容を省略する。詳細はそれぞれのテキストを参照のこと。

(2) 実験動物飼育施設、実習設備

書面審査および実地調査により、認定の適否を判定する。飼育施設・設備の規模の大小等は問わないが、適切な飼育環境が維持できること、学生が適正な飼育管理を学ぶ環境にあること、並びに動物福祉に立脚した適正な動物実験が実施できる状況にあること、等が実地調査のポイントとなる。

技術師名簿に登録する。実務経験に含まれる業務は、飼育管理や動物を用いた試験、研究の実務を内容とし、動物飼育施設にあっても机上作業や動物に接しない周辺作業は実務経験とは認めない。

格等の特例規程について概略を述べた。21世紀は生命科学の時代といわれ、益々動物実験の重要性が高まることは疑いが無い。従来の受験制度に加え、今回制定した新たな制度を活用し、多くの有為な若者がこの世界に挑戦し、業界活性化と飛躍の担い手として斯界で活躍することを願っている。

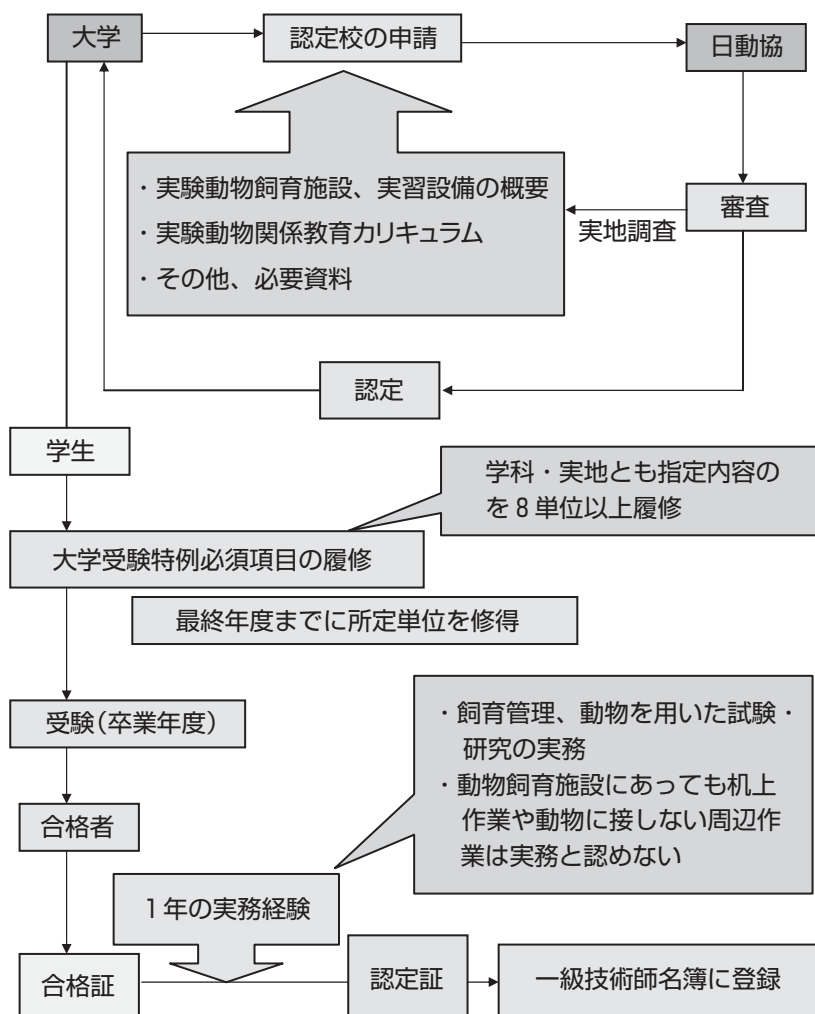
以上、新たに制定された一級実験動物技術師認定試験受験資

(3) 受験時期

受験は、卒業年次とし、仮に単位を修得済みであってもそれ以前の学年での受験は認めない。試験日は一般受験者の試験日と同一日とし、大学在生学生だけの特別日程は設定しない。例年、一級技術師認定試験の学科試験は11月末から12月はじめ、実地試験は翌年の3月上旬に予定されている。なお、学科試験不合格者は実地試験を受けることが出来ない。

実験動物技術師資格認定規程第5条(2)ウ

[会長は、生物系大学等の在学者の受験資格について特例を設けることができる。]



(4) 合格から認定まで

学科試験および実地試験合格者には合格年度に合格証を与える。その後関連業務において1年の実務経験を経た後、本人の申請により、実務経験を勘案して認定の可否を判断し、一級技術師認定証を与え、同時に一級

翻訳20-1

Information

ラットにおける低分子物質の脳への浸透性(脳-血漿比)の検討における灌流効果の比較

創薬の過程において、嚙歯類を用いて、血漿および脳における新規化学物質の濃度を測定することは、とくにその標的受容体が脳にある場合は重要である。嚙歯類を用いた薬物動態試験により脳と血漿中の濃度比(B/P)を測定することは、化学物質の脳への浸透性を検討するために有用である。本研究では、脳組織における化学物質濃度を正確に測定するためには、生理食塩水の全身灌流によって血液を完全に除去することが必要であるか否か検討した。脳への浸透性の高いジ

アゼパムを陽性対照として、また脳への浸透性の低いことが知られている化合物Aを陰性対照として用いた。ラットにジアゼパムまたは化合物Aを静脈内投与した後麻酔下において採血し、さらに、無処置あるいは生理食塩水による全身灌流を行った後に脳を摘出した。血漿および脳ホモジネートは、遠心によるタンパク質除去後に分析物(化合物A、ジアゼパム、内部標準)を回収し、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析(LC/MS/MS)により解析した。液体クロマトグラフィー/タンデム

質量分析を用いて得られたB/P値は、灌流処置ラットと無処置ラットの間で有意差は認められなかった($p \geq 0.05$)。ラットを用いた脳への浸透性研究において、この方法(灌流をせずに雄ラットの脳を摘出する方法)は、灌流を行う方法に比べ有用な代替法である。なぜなら、B/Pデータを得る際、麻酔や外科的処置を省くことができるため、実験に要する時間を大幅に短縮し、動物の苦痛を軽減させることができるためである。

(翻訳:黒川正樹)

J. E. Fenyk-Melody, X. Shen, Q. Peng, W. Pikounis, L. Colwell, J. Pivnichny, L. C. Anderson and C. S. Tamvakopoulos: Comparative Medicine. 54(4), 378-381 (2004).



キーワード:ラット、薬物動態、脳、浸透、脳-血漿比、灌流

翻訳20-2

Information

*Helicobacter hepaticus*感染A/JCrマウスの慢性腸炎における性差

*Helicobacter hepaticus*はマウスにおける細菌性病原体であり、A/JCrマウス、無菌Swiss Websterマウスおよび免疫不全マウスに慢性腸炎を惹起することが報告されている。著者らの知る限り、*H. hepaticus*感染マウスの慢性腸炎の発症における性差に関する研究は未だ行われていない。本論文の目的は、*H. hepaticus*を慢性感染させた雄と雌のA/JCrマウスにおける腸炎の重症度の違い、およびこれらのマウスにおける粘膜免疫応答の特性を検討することである。*H. hepaticus*を感染させた雄と雌のA/JCrマウスの盲腸組織を用いて、感染1か月および3か月後に腸疾患の組織学的評価を客観的に行った。さらに、これらのマウスの盲腸組織を用いて、インターフェロン γ (IFN- γ)、腫瘍壊死因子 α (TNF- α)、インターロイキン4(IL-4)、

IL-10、マクロファージ炎症タンパク質1 α (MIP-1 α)、インターフェロン誘導タンパク10 (IP-10) および γ インターフェロン誘導モノカイン (MIG) のmRNA発現量を半定量逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)解析によって測定した。感染1か月後では、盲腸病変スコアに有意差は認められなかった。しかしながら、感染雌マウスにおいては、非感染雌マウスに比べて、盲腸IL-10、MIP-1 α 、IP-10およびMIGのmRNA発現量が有意に上昇し、IL-10およびMIP-1 α の発現量は、感染雄マウスに比較して有意に上昇していた($P \leq 0.05$)。感染3か月後においては、感染雌マウスおよび雄マウスの盲腸病変スコアは、非感染対照群に比べて有意に上昇し($P \leq 0.05$)、また感染雌マウスにおいては、感染雄マウスに比べて盲腸病変スコアが有意に高い値

を示した($P \leq 0.05$)。さらに、感染雌マウスでは、非感染雌マウスおよび感染雄マウスに比べて、盲腸IFN- γ 、TNF- α 、IL-10、MIP-1 α 、IP-10およびMIGのmRNA発現量が有意に上昇し($P \leq 0.05$)、そして感染雄マウスでは、雄対照群に比べて盲腸TNF- α およびIL-10のmRNA発現量が有意に上昇した($P \leq 0.05$)。これらのデータは、*H. hepaticus*を感染させたA/JCrマウスにおいては、雌マウスが雄マウスに比べてより重篤な腸炎を発症すること、慢性粘膜炎症がIL-10活性の亢進による抑制作用を受けないためTh-1応答に偏っていることを示唆している。*H. hepaticus*を感染させたA/JCrマウスは、細菌感染による粘膜の炎症反応における性差の研究の適切なモデル動物となるであろう。

(翻訳:北野真見)

R. S. Livingston, M. H. Myles, B. A. Livingston, J. M. Criley, C. L. Franklin: Comparative Medicine. 54(3), 301-308 (2004).



キーワード:マウス、*Helicobacter hepaticus*、性差、粘膜免疫

翻訳20-3

生物材料の感染性因子汚染の検出感度に関する *in vivo* 抗体産生試験と *in vitro* PCR法に基づく手法の比較

細菌およびウイルスは、汚染した可移植性腫瘍、細胞株、血清あるいはその他の生物材料を介して実験用齧歯類に感染することがある。現在、生物材料はマウス抗体産生試験 (MAP) あるいはラット抗体産生試験 (RAP) などの血清検査によって検査されている。われわれは、生物材料のウイルス汚染を直接検出する新たな方法として、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCRおよびリアルタイム

PCR) 法を用いた試験を行い、評価することにした。したがって、本研究の目的は、われわれの考案した新たなPCR法の検証、ならびにPCR法とMAP試験の比較検討を行うことである。14種類のウイルスのうち8種類のウイルスに関しては、通常のPCR法は、マウスウイルス検出において、MAP試験より高感度かつより特異的であった。14種類のウイルスのうち12種類のウイルスに関して

は、リアルタイムPCR法はMAP試験より高感度であった。14種類のウイルスのうち2種類のウイルスでは、3つの検出方法は同程度の感度を示した。さらに、PCRによるスクリーニング法は、生物材料におけるマウスウイルス検出のために動物を使用する必要性がなく、3Rの原則の代替法に明らかに合致している。

(翻訳：北野真見)

F. Bootz, I. Sieber, D. Popovic, M. Tischhauser and F. R. Homberger: *Laboratory Animals*. **37**(4), 341-351 (2003).



キーワード：マウス、MAP試験、PCR、代替法、マウスウイルス、生物材料、3R

Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books Books

「へんないきもの」

早川いくお(著)、寺西晃(イラスト)、
バジリコ社 1,575円
表題通りのへんな“いきもの”満載の本である。へー!こんな“いきもの”が存在するのだと感心させられる。“いきもの”の生態・形態はその“いき



ほんのひとりごと

もの”自身にとっては合目的なはずであるが、人間から見るとそれはしばしば不可解であったり滑稽であったりする。著者はへんな“いきもの”の生態を巧みに、しかもかなり擬人

的に解説し、おじさん達の琴線に触れてくる。寺西のイラストも秀逸である。もっとへんな“いきもの”も存在するにちがいないので、続編が待たれる。 [選・評：三枝順三]

「東京旅行記」

嵐山光三郎 著
知恵の森文庫、光文社 648円
不良中年(今や老年?)嵐山光三郎による東京散歩案内。著者が言っているように「文学碑や史跡めぐりではなく、東京の町に吹いている風そのものを捜す」散歩が楽しい。3

人の中年が連れ立ってその日の気分で街中をぶらぶらと各自の蘊蓄を披瀝しながら徘徊し、いろいろなお店に立ち寄って買い物をしたり、町の人情に触れたりしながら、最後は居酒屋でまとめるパターンで28地域を紹介している。本書の中で馴染みのある地域が出てくると“うんうんそうだな”“それは知らなかった”など結構楽しめるし、全く馴染みの無

い町にはいつか行ってみようと思わせる。また著者らはかなりの健啖家でかなり食い飲むので、訪ねてみたい料理屋・レストラン・居酒屋等のメニューを含めた情報も豊富である。元本は1990年のものであるが、文庫化にあたり2004年現在の店の有無や値段を再調査してくれているのが嬉しい。 [選・評：三枝順三]

1. 材料採取等に関する質問

Q: 溶血した血清、血漿は血清反応の結果にどのような影響を及ぼすのでしょうか?

A: 切れないハサミの使用や、一回で必要量が取れずシリンジなどにて何度も採血を繰り返したり、また水分混入等により溶血が起きてしまいますが、多少の溶血は検査結果に影響ありません。特にELISAでは操作中の洗浄により、溶血した血清は排除されるので問題ありません。ただ、補体結合反応(CF)は溶血の有無にて判定するため強い溶血をした血清は判定を困難させる恐れがあります。また強く溶血した血清を加熱非動化处理した場合、血清内に凝固物が出現し、検査に使用できないことがあるので、注意が必要です。

Q: 血清の非動化はどのような場合に必要なのでしょうか?

A: 血清中には、自然凝集素や補体そして抗補体作用を起こす因子など血清反応を阻害する様々な因子が含まれていますが、それらの多くは熱に弱いとされています。そこでこれら因子を血清中から排除し、正常な反応をさせるために非動化が必要になります。ただこの処理は全ての血清反応に必要ではなく、方法により異なります。特にCFでは、この処理により血清中の補体そして抗補体作用を起こす因子を完全に除去した血清を検体として準備しなければなりません。また凝集反応においても血清中の自然凝集素を除去するため

に必要となります。一方ELISAや間接蛍光抗体法においては必須ではありませんし、また非動化处理血清を用いても問題ありません。

Q: 血清を凍結保存していますが、どのくらい保存可能なのでしょう? また凍結融解が抗体価に与える影響を教えてください。

A: 凍結保存(-20℃)されている血清は半永久的に保存可能です(冷凍庫の故障等がない限り)。つぎに凍結融解の影響ですが、何度も繰り返す(1回くらいはOKです)と血清中の抗体価は低下します。したがって何度も使用する抗血清などは、小分けし保存しておいた方が良いと思います。

2. 補体結合反応(CF)と凝集反応に関する質問

Q: CFにおいて、全て溶血が起こらないあるいは全て溶血してしまった時の原因は何ですか?

A: CFにおいては、補体の力価(濃度)が重要なファクターとなります。溶血が起こらない場合は補体量が少ない、また全て溶血してしまう場合は多すぎることが考えられます。まず、使用している補体の力価を再測定し、至適濃度か否かを確認すべきです。補体量が適正な場合、次に考えられる原因は適正な非動化处理がされているか否かです。非動化されていない場合は、血清中にもともと存在する補体により全て溶血してしまったり、抗補体作用により

溶血が起こらなかつたりします。

Q: 凝集反応の判定において、凝集しているのか、していないのか迷うことがあります。明確に見分ける方法はありますか?

A: このような判定像は、非動化处理されていない血清を検体として用いたときに血清中の自然凝集素により起こることがあります。まずそれを確認してください。また抗原が自然凝集してしまうことがありますので、必ず生理食塩水などを用いた陰性対照を置き、抗原が自然凝集していないことを確認してください。ただこのような処置をしても判定しにくいことがあります。その場合は完全に凝集(陽性対照と同じ凝集像)しているものだけ陽性と判断した方が良いと思います。

3. ELISAに関する質問

Q: 偽陽性反応が起こる原因のひとつとして、高週齢動物(特にラット)の検査があげられていますが、高週齢とは何週齢以上でしょうか?

A: 確かに、ELISAにおいて高週齢ラットで偽陽性反応が見られることがあります。われわれの経験では、30週齢以上の動物でその傾向が見られます。ただこの現象は、全ての高週齢ラットにおいて見られる分けではありません。個体、系統、生産施設により異なります。したがってこのような動物を検査する際、偽陽性反応が起きる可能

性があることを念頭に置き検査し、結果を解析すべきであると思えます。

Q: 判定において、発色が陽性コントロール以下の場合、それが無色透明でなくても陰性と判定して良いのでしょうか？

A: はい、その通りです。ELISAキットの判定は、陽性コントロールと同等かそれ以上の発色のみ陽性と判定してください。通常感染

が起きた場合、その発色は陽性コントロールよりかなり強い発色を示します。

Q: ラット血清はMHVで陽性になったとき、それはMHV感染より唾液腺涙腺炎ウイルス (SDAV) 感染を疑うべきでしょうか？

A: はい、その通りです。MHVはマウスに感染するウイルスであり、自然感染ではラットに感染することはありません。では何故、

MHV抗原を用いてSDAV抗体を検査しているのかと言うと、MHVはSDAVと同じコロナウイルス属であり、SDAV抗原と高い交差性を有しています。ですからMHV抗原を用いてもSDAV抗体が検出できるわけです。

今回は、培養検査、寄生虫検査に関するQ&Aを特集します。
モニタリング技術小委員会 高倉 彰

日本実験動物学会の動き

1. 平成16年度米田記念若手研究者支援事業授与決定について

平成16年度社団法人日本実験動物学会米田記念若手研究者支援事業授与候補者として選考委員会より推薦され、理事会で承認されました。

授与者は、大谷 真、川口友浩、木村展之、滝澤明子の各会員です。

2. 2004年Experimental Animals最優秀論文賞が以下の通り決定しました。

野口 章会員・他: 「ゲノムウォーキングにより決定した外来遺伝子近傍ゲノム配列による導入遺伝子の染色体マッピングと遺伝子型判定法」

3. 第52回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成17年5月18日 (水) ~20日 (金) にタワーホール船堀で開催される予定です。

詳細に関しましてはホームページ (<http://www.cs-oto.com/52jalas/>) をご覧下さい。

日本実験動物技術者協会の動き

第39回日本実験動物技術者協会総会のお知らせ

会 期: 平成17年 6月24日 (金) ~25日 (土)

お問い合わせは下記総会事務局へ

会 場: 石川県立音楽堂 邦楽ホール・交流ホール

担当 : 内本 淳

石川県金沢市昭和町20-1(金沢駅東口)

E-mail : uchimoto@kiea.m.kanazawa-u.ac.jp

TEL : 076-232-8111(代) FAX : 076-232-8101

会 長: 中村由季子 (金沢大学学際科学実験センター
実験動物研究施設)

1. 関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
学習会	H17.7 (予定)	大阪大学医学部 銀杏会館 (予定)	第57回実験動物学習会・座学

(社)日本実験動物協会は創立二十周年を迎えました

当協会は実験動物の開発・改良・普及、実験動物に関する技術の向上を図り、実験動物産業の健全な発展に寄与する目的で、広く実験動物生産者および関連事業者並びに実験動物利用者団体を結集した全国組織として昭和60年に創立され、本年、創立二十周年を迎えることができました。

創立二十周年を迎えるにあたり、会員・賛助会員と共に協会の設立、発展にご尽力いただいた先輩諸氏ならびに諸先生方をお招きし、右記の内容で記念式典、記念講演会ならびに祝宴を開催する予定です。

記

期 日 平成17年5月24日 (火)
 場 所 虎ノ門パストラル
 第一部 記念式典 午後15:00~15:30
 開会の辞、会長式辞、表彰式、来賓祝辞、閉会の辞
 第二部 20周年記念講演 午後15:30~16:30
 講師 筑波大学名誉教授 村上 和雄 先生
 演題 「笑いと感動があなたの遺伝子をオンにする」
 第三部 祝宴 午後16:30~

平成16年度実験動物技術師一級資格認定実地試験結果 (速報)

平成17年3月6日(日)に実施された一級技術師の実地試験結果は次の通りである。

一級受験者は60名であり、最終合格率は24名で合格率は40%であった。

①一級実地 (必須科目)	受験者 4名	合格者 2名	(合格率 20%)
②一級実地 (選択科目)	受験者 37名	合格者 24名	(合格率 65%)

1. 専門委員会等活動状況

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
第4回実験動物福祉専門委員会	17.1.6	動愛法の見直し対応他
第5回情報専門委員会	17.1.14	LABIO21 No.20の企画及び20周年記念誌
第4回モニタリング小委員会	17.1.19	モニタリングマニュアル改定の件
第2回20周年記念行事準備委員会	17.1.24	式典の式次第、記念講演他
第6回教育・認定専門委員会	17.1.25	実験動物技術指導員、教育セミナーフォーラム
第2回通信教育小委員会	17.2.1	Q & Aについて
第2回運営会議	17.2.4	平成17年度事業計画他
動物実験法研修会	17.2.9	「動物実験委員会のあり方」(東大弥生講堂)
実験動物生産体制中央委員会	17.2.25	今後の課題について
第20回実験動物技術師一級実地試験	17.3.6	会場：日本獣医畜産大学
教育セミナー フォーラム2005(京都)	17.3.15	「最近話題の人獣共通感染症と実験動物の感染症」
教育セミナー フォーラム2005(東京)	17.3.23	「実験動物における遺伝子改変技術の現状と畜産分野への展開」
第43回理事会	17.3.25	平成16年度の事業報告及び平成17年度事業計画
臨時総会	17.3.25	理事の補欠選挙

2. 行事予定

(1) 協会関係

開催月日	行事名
17.5.24	第44回理事会
17.5.24	第21回総会並びに20周年記念式典
17.6中旬	日常の管理講習会

(2) 関係協会団体行事

◆ 第52回日本実験動物学会総会

日 時：2005年5月18日（水）～20日（金）
 会 場：江戸川区民総合ホール（タワーホール船越）
 会 長：関口富士男

◆ 第32回日本実験動物環境研究会

日 時：2005年5月17日13：00～16：00
 会 場：タワーホール船掘、東京
 内 容：「飼育スペース指針—ILAR96の適合性を考える—（仮題）」

◆ 技術者協会・環境研究会共催シンポジウム

日 時：2005年6月24日（金）、25日（土）
 会 場：石川県立音楽堂 邦楽ホール・交流ホール
 内 容：「実験動物の福祉と環境（仮題）」

◆ 第2回北海道実験動物研究会 総会及び学術集会

日 時：2005年7月（土曜日午後実施予定）
 会 場：北海道大学大学院獣医学研究科
 内 容：総会及び学術集会

(3) 海外行事

◆ AZAALAS Spring Symposium

日 時：2005年4月22日
 会 場：InnSuites Tucson City Center Hotel - Tucson, Arizona
 詳 細：http://www.azaalas.org/Events/Symposium/Symposium_registration.htm

◆ ACLAM Forum c

米国実験動物医学専門医協会
 日 時：2005年5月15日～18日
 会 場：Asheville, NC
 詳 細：<http://www.aclam.org>

◆ 19th Annual Charles River Laboratories Short Course

日 時：2005年6月13～17日
 会 場：Sheraton Ferncroft, Danvers, MA.
 詳 細：Registration at www.criver.com/shortcourse2005.

◆ Am. Veterinary Medical Assoc. Annual Meeting 米国獣医学会

日 時：2005年7月16日～20日
 会 場：Minneapolis, MN
 詳 細：(847)925-8070 AVMA

◆ The 6th Transgenic Technology Meeting (TT2005)

日 時：2005年9月11～13日
 会 場：Barcelona (Spain)
 詳 細：<http://www.cnb.uam.es/~tt2005/>

◆ National AALAS Meeting（米国実験動物学会）

日 時：2005年11月6～10日
 会 場：St. Louis
 詳 細：<http://www.aalas.org>

※ 関連団体の行事については出来るだけ多くの関係者に周知したいので、行事計画が決定した場合には事務局まで御連絡下さい。



自分が50代になり、若い頃イメージしていた50歳とあまりにもかけ離れた現実を見て、呆然としている今日この頃です。

先日、ひよんな事でバリバリのカソリックの牧師の話の話を聞きました。不幸にも宗教を持たない私としては、何年かぶりに自分の内面と話をしました。こういうのも、たまには有りかなと考えました。

今年も始まり、端から悪いニュースばかりです。何か突き抜きたい、青空を見たいという気持ちは私だけでしょうか。（荒巻）

STAFF

情報専門委員会

担当理事	新関 治男	HARUO NIIZEKI
委員長	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
委員	荒巻 正樹	MASAKI ARAMAKI
〃	櫻井 康博	YASUHIRO SAKURAI
〃	日柳 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	椎橋 明広	AKIHIRO SHIIHASHI
〃	仁田 修治	SHUJI NITTA
〃	中川真佐志	MASASHI NAKAGAWA
事務局	宮本 伸昭	NOBUAKI MIYAMOTO
〃	関 武浩	TAKEHIRO SEKI

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI K. NAMIMOTO

● LABIO 21 No.20 平成17年4月1日発行/ ● 発行所 社団法人日本実験動物協会/ ● 編集 情報専門委員会
 ● 住所 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2-8-10 神田永谷マンション602号室/ ● TEL 03-3864-9730 FAX 03-3864-0619
 ● URL <http://group.lin.go.jp/jsla/> ● E-mail jsla@group.lin.go.jp

未来に繋げる技術と信頼



SLCの実験動物

◆SPF動物

- クローズドコロニー
 - マウス Slc : ddY
 - Slc : ICR
 - ラット Slc : SD
 - Slc : Wistar
 - Slc : Wistar/ST
 - HOS[®] : Donryu
 - モルモット Slc : Hartley
 - ウサギ Slc : NZW
 - Slc : JW/CSK
 - ハムスター Slc : Syrian

●近交系

- マウス
 - BALB/c Cr Slc
 - C57BL/6 Cr Slc
 - ※ C57BL/6J
 - C3H/He Slc
 - DBA/2 Cr Slc
 - ※ A/J
 - AKR/N Slc
 - C3H/He N Slc MTV⁻
 - B10 コンジェニック
 - F344/N Slc
 - WKAH/Hkm Slc
 - BN/SsN Slc
 - LEW/SsN Slc
 - スナネズミ MON/Jms/Gbs Slc

●交雑郡

- マウス
 - Slc : BDF₁
 - Slc : B6C3F₁

●ミュータント系

- ヌードマウス BALB/c Slc-nu
- KSN/Slc

◆Conventional動物

- ビーグル犬 ノーサンビーグル
- カニクイザル[®]
- アカゲザル[®] 繁殖生産ザル[®](南米)

◆Clean動物

- クローズドコロニー
 - マウス Std : ddY
 - ラット Std : Wistar
 - Std : Wistar/ST
 - HOS[®] : Donryu
 - モルモット Std : Hartley
 - ウサギ Std : NZW
 - Std : JW/CSK
 - ハムスター Std : Syrian

◆疾患モデル動物

- マウス ※ MRL/MpJ-lpr (自己免疫疾患)
- Slc : NZBWF₁ (自己免疫疾患)
- NC/Ngaマウス (皮膚炎)
- AKITAマウス (糖尿病)
- ★ HR-I (ヘアレスマウス)
- ラット WBN/Kob Slc (高血糖好発)
- DA/Slc (コラーゲン誘導関節炎)
- HWY/Slc (ヘアレスラット)
- Slc : Zucker-fa/fa (肥満)
- ★ DIS/Eis・DIR/Eis (食塩感受性高血圧症)
- ★ SHR・SHRSP・WKY (高血圧)

◆その他

- 実験動物用床敷・ソフトチップ(木)
- ヘパークリーン(紙)

※印は受託生産動物 ★印は仕入販売動物です。

LabDiet 実験動物用飼料

PMI Nutrition International はISO9002 を取得し、信頼性の高い実験動物用飼料を製造して100年以上の実績を誇る企業です。厳選された原料と厳しい品質検査によるGLP試験に適したサーティファイド飼料をはじめ、常に高品質な製品を世界各国に提供しております。

<取扱項目>

- ◆マウス・ラット・ハムスター用 サーティファイド ローデント ダイエット 5002
- ◆旧世界ザル用 サーティファイド プライメイト ダイエット 5048
- ◆イヌ用 サーティファイド キャニン ダイエット 5007
- ◆モルモット用 サーティファイド ギニア ビッグ ダイエット 5026
- ◆ウサギ用 サーティファイド ハイ ファイバー ラビット ダイエット 5325
- ◆新世界ザル用 ニューワールド プライメイト ダイエット 5040
- ◆フェレット用 フェレット ダイエット 5L14

ホームページアドレス <http://www.labdiet.com>

SLCの受託業務内容

- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ)を用いた安全性試験(非GLP)
- サル(カニクイザル、アカゲザル)、ブタを用いた試験・検査
- 実験動物(マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌおよびサル)を用いた経時的採血試験(血中濃度試験)
- 日本薬局方等に基づく生物学的試験
- 細胞毒性試験 ■ 特殊試験 ■ 薬効薬理試験
- 特殊動物の作製および各種試験 ■ ポリクローナル抗体の作製
- 病理組織標本作製および鏡検 ■ トランジェニック動物(マウス、ラット)の作製
- ノックアウトマウス(キメラマウス)の作製

上記 項目のお問い合わせは受託試験部まで **053-437-5348(代)**

- 外科的病態モデル動物および偽妊娠マウス・ラットの販売
- 実験動物(マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ)の子宮切断術によるSPF化および繁殖
- 実験動物(マウス、ラット)の委託生産

上記 項目のお問い合わせは各エリア営業専用電話までご連絡ください。



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市湖東町3371番地の8
TEL(053)486-3178(代)
FAX(053)486-3156

営業専用
TEL

関東エリア(053)486-3155(代)
関西エリア(053)486-3157(代)
九州エリア(0942)41-1656(代)

わたしたちにできること

ライフサイエンスの発展に貢献する実験動物を・・・

日本チャールス・リバー株式会社は、創業時の基本理念
「科学の知識に基づいた実験動物の生産・供給」に基づき、
世界のスタンダードとなる高品質SPF/VAF実験動物を安定供給し、
ライフサイエンスの発展を応援しています(VAF: Virus Antibody Free)。

※1995年、ISO9002シリーズ認証取得。



日本チャールス・リバー株式会社

TEL.045(474)9340 FAX.045(474)9341

<http://www.crj.co.jp>