

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



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

【特集】 動物実験ガイドラインの策定

【研究最前線】 免疫抑制剤を使用しないサルの腎臓移植

【開発エピソード】 毒素受容体を用いた標的細胞ノックアウト法の開発と応用



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
- ラット F344/N Slc
WKAH/Hkm Slc
BN/SsN Slc
LEW/SsN Slc
MON/Jms/Gbs Slc
- スナネズミ

●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 繁殖生産ザル(奄美)
- アカゲザル

◆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-1
(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)・
ペパークリーン(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 ピッグ 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)



絵 山本容子

画家。

犬を中心とした作品づくりで40年近くなる。犬を擬人化した作品で国内、国外に多くのファンをもつ。

1981年より(社)ジャパンケネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。

1986年アメリカドッグアソシエーション特別賞を受賞。

1992年農林水産大臣賞を受賞。

1996年以後、東京、大阪を中心に個展・展示会を開催。

「(社)日本実験動物学会の理事長に就任して」	4
特 集	
「動物実験ガイドラインが策定されました」	5
疾患モデル動物開発エピソード ⑩	
「毒素受容体を用いた標的細胞ノックアウト法の開発と応用(マウス)」	9
トピックス	
「老化促進マウスにおける慢性喫煙曝露に伴う肺気種発症の酸化化剤投与による予防効果」	13
連載記事	19
犬の皮膚疾患 ⑤「外部寄生虫による犬の皮膚病」	
ホットコーナー	
「実験動物福祉調査の実施状況」	25
研究最前線	
「免疫抑制剤を使用しないサル腎臓移植」	27
海外散歩	
「バイオポリスでの研究紀行」	32
海外技術情報	35
La-house	
「モニタリング研修の質問」	37
学会の動き	38
技術者協会の動き	38
ほんのひとりとこ	39
協会からのお知らせ	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、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

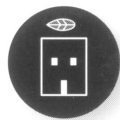
弊社では、これまで中国、韓国、台湾などのアジア諸国、地域と情報交換、技術指導、人材交流、教育研修、**実験動物及び実験動物関連器材**の輸出入販売などの活動を行って参りました。21世紀はアジアの時代。これからは**近隣諸国との友好事業を推進**致します。



●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脈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**をお請け致します。**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。**当社の人脈ネットワークを活用した人材紹介**をご利用下さい。



●クロマプレートプロジェクト

分析装置開発事業

弊社では、株式会社バイオメイトのHPLCによる血清中薬剤測定の除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

[一般労働者派遣事業(般)13-08-0297]
[有料職業紹介事業13-08-1-0309]

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

社団法人日本実験動物学会の理事長に就任して

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

施設長・教授 芹川 忠夫

平成18～19年度の(社)日本実験動物学会理事長就任に際して、ご挨拶申し上げます。

前身の実験動物研究会の設立趣意書(1951年)には、当時の特に解決すべき課題として、(1)伝染病、免疫学、細菌学の研究に、また細菌製剤その他の検定に必要な自然感染のない動物や、各種の感染や毒に対して、感受性の一定した動物の供給、(2)腫瘍研究に必要な特殊な系統の動物の供給、(3)四季を通じて一定した飼料の供給、(4)各種動物の飼育管理方法の改善、が挙げられています。現状をみますと、SPF動物、遺伝的背景が斉一化された動物、自然発症ミュータント、遺伝的に改良された動物、および遺伝子組換え動物の開発・普及により、(1)と(2)の課題は、ほぼ達成されたと評価されます。しかし、医薬品候補物質等の安全性評価試験などに、突然変異が異なる頻度で潜むクローズドコロニーが安易に使用されているという問題が残されています。また、実験動物を使用する研究分野の広がりと共に、研究の多様なニーズに応じた実験動物が種を越えて求められています。この点、ナショナルバイオリソースプロジェクトにおいて、マウス、ラット、アフリカツメガエル、メダカ、ゼブラフィ

ッシュ、シヨウジョウバエ、線虫、カイコ、ニホンザルが実験動物としての対象となり、体系的な収集、保存、提供体制が整備されています。これらの動物種と各々の系統を実験に利用する際に、それらもつポテンシャルを十分に把握するための研究は、実験動物学における大切なテーマであると思います。(3)についても、当初の課題は解決されたと評価されますが、特に、疾患モデル研究に応じた特殊飼料については、持続的な研究テーマです。(4)の課題克服については、1970年代以降、国立大学の医学系動物実験施設が格段に整備されたことが象徴的に現していますが、飼育実験システムの更なる改良や装置開発の課題があります。

この趣意書が発せられたと、ほぼ同時期1952年に、W.M.S. RussellとR.L. Burchが3Rs (Replacement, Refinement, Reduction) について説いています。この3Rsを基にした法改正により、動物実験の適正な実施が求められています。この面での実験動物学会の担う役割は、大変大きいものがあります。

要約すると、貴重な実験動物を大いに活用して研究が推進できる土壌が整った時期に来たと、今を捉えています。そして、実験動物学の本質的な研究が、これからさ

らに推進されることを期待しています。私の場合には、ラット遺伝学や疾患モデルの開発解析研究などに加えて、1) 実験動物の種と系統ごとに、実験的処置に対する反応性の相違を司っている実体、或いは法則性を求めるというテーマや、2) 環境因子を変化させることにより、表現型(演出型)をどの程度にまで変容させることができるかといったテーマ、ことばを変え、「疾患を予防克服するための明るい実験動物学」というものが浮かんできます。こういった中、今年の第53回日本実験動物学会総会において、「日本疾患モデル学会との統合を進める」ことが承認されました。この学会統合を良き機会にして、若い研究者にとっても魅力的な学会に成長させ、(社)日本実験動物学会を真にバイオサイエンスの核となる学術団体に高めたいと思っています。

(社)日本実験動物学会の理事長として、学術集会や委員会活動などを通じて、実験動物学と動物実験に係る諸事業を、誠心誠意実施することにより、この分野の発展に努力したいと思います。ついては、皆様方のご支援とご鞭撻を願います。末筆ながら、この挨拶の機会を与えて頂いた、(社)日本実験動物学会の関係各位に深く御礼申し上げます。



Guideline

(財) 実験動物中央研究所
鍵山直子

動物実験の適正化に関する 基本方針

「動物の愛護及び管理に関する法律」(以下、動愛法)の改正で動物を科学上の利用に供する場合の規定が見直され、3Rの原則が明文化された(「動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律」平成17年6月22日法律第68号)。3Rのうち苦痛の軽減(Refinement)については、改正動愛法に基づき改正された「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」(平成18年4月28日環境省告示第88号)によって努力義務が課せられたが、3R全体としては、科学技術を所管する行

政機関が動物実験ガイドラインを新たに策定し、研究機関による自主的規制を促す方針が選ばれた。

動物実験ガイドラインは、行政機関の基本指針すなわち「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日文科科学省告示)および「厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日厚生労働省告示)と、日本学術会議がこれら行政機関の依頼で策定した「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(平成18年6月1日公表、いわゆる詳細指針)の二層になっている。図に示すように、各機関がそれぞれ基本指針を踏まえ、学術会議のガ

イドラインを参考にしつつ規程等を整備し、動物実験の適正化をいっそう進めていかなければならない。

行政機関による基本指針

動物実験は、実施機関が責任をもって自主的に管理し、実施すべきことが基本指針に明記された。動物実験の最終責任は機関の長にある。動物実験責任者が立案した動物実験計画は、機関の長によって任命された動物実験委員会が機関の長の諮問を受けて、基本指針および機関内規程等に適合しているかどうかを審査し、審査結果を機関の長に報告する。機関の長は

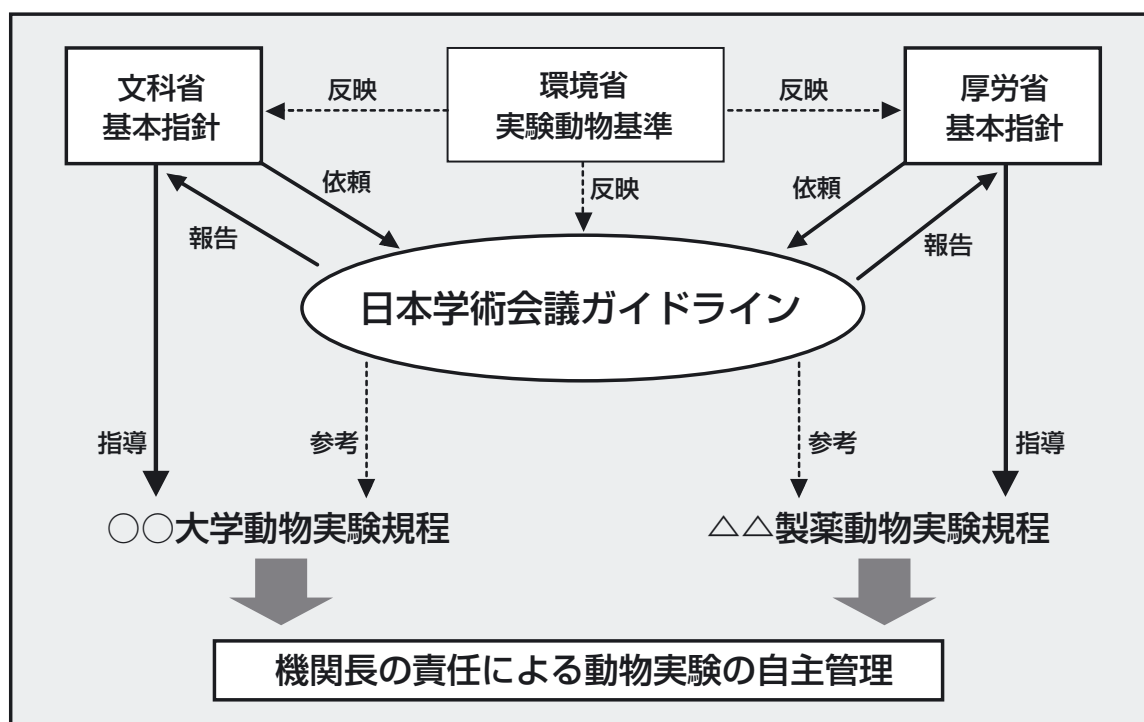
動物実験委員会の報告をもとに、動物実験計画を承認するのかわかりを決める。動物実験実施者、飼養者に対する教育や関連法令・指針等の周知も機関の長の責任下におかれた。

文科省と厚労省の基本指針についてはそれぞれのホームページで確認してほしいが、両者の間には微妙な違いが認められる。たとえば自己点検評価と情報の公開に関して、文科省の基本指針は具体的な方法に踏み込んでいるが、厚労省の場合は、基本指針が所管の営利法人にも適用されるため、個人情報や研究情報の保護、企業活動への影響に配慮した記述となっている。

いる。文科省、厚労省以外の行政機関では、農水省農林水産技術会議事務局が、「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」を平成18年6月1日付けで関係機関、団体等に通知した。なお、学術会議はガイドライン策定に際して、農水省の依頼を受けていない。しかし、結果として両者の間に有意な乖離は認められない。

日本学術会議のガイドライン

学術会議のガイドラインは、文科省と厚労省がそれぞれ告示した基本指針に準拠し、また、実験動物の取扱いに関しては環境省告示



動物実験の適正化に向けた枠組み

「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準」を踏まえて、適正な動物実験を行う際の参考あるいはモデルとなるように、省横断的な記述となっている。この点は、アメリカのILAR (Institute for Laboratory Animal Research)-NRC (National Research Council)の指針と類似している。一方、飼育動物に求められる環境条件等は研究上の要件により必ずしも一様ではなく、したがって、必要条件を各機関の専門家が科学的な観点から検討し、自主的に条件設定すべきであるという考え方から、学

術会議のガイドラインには数値基準が示されていない。

実験計画の立案時に検討を要する事項として、表に示す内容が具体的に示されている。実験操作の項では、実験室および実験設備、身体の保定、給餌または給水制限、外科的処置、鎮痛処置・麻酔・術後管理、人道的エンドポイント、安楽死処置、安全管理への配慮、および履行結果の報告の各細目が取りあげられた。動物実験責任者は、実験操作ごとに苦痛の程度を予測し、実験の目的を損なわない範囲で苦痛の軽減方法を動物実

験計画書に記述するよう指針は求めている。

自主管理に関する課題

自主管理を適正に実施するうえでの重点課題のひとつが、動物実験実施者、飼養者等に対する教育であることは明らかである。シラバスの例として学術会議のガイドラインは、関連法令、条例、指針等および規程等に関する事項、動物実験等および実験動物の取扱いに関する事項、実験動物の飼養・保管に関する事項、安全確保に関する事項、および施設等の利用に

動物実験計画の立案時に検討を要する事項

- 動物実験責任者、実施者
- 研究の目的・意義と動物実験の必要性
- 使用動物の種・系統・性別・齢・匹数
- 実験処置ごとに予想される苦痛度
- 苦痛の軽減方法（特に苦痛度が高い場合）
- 動物の最終処分方法
- 動物実験実施者・飼養者に対する教育訓練の実績
- 人および環境等への影響

- ◎ 動物実験委員会は、動物実験計画を遅滞なく審査し、機関の長に速やかに報告する。
- ◎ 動物実験責任者は、動物実験委員会の審査を経て、機関の長の承認が得られたのちに実験を開始する。

関する事項を掲げている。担当する実験処置に直結した技術の教育訓練も重要であり、十分な経験と知識を有する者による指導が不可欠である。

当然のことながら、機関内規程等はきちんとできているか、もしくは現行の規程等に修正の必要はないか、動物実験委員会は適正に設置されているか、その役割と構成は妥当か等について、基本指針に基づき、また、学会会議のガイドラインを参考に確認すべきであり、併せて、記録類の保存も自主管理の担保に不可欠な要件のひとつ

つと考えられるので、可及的速やかに整備する必要がある。そのためには機関ごとに該当項目を洗い出し、それらを網羅したチェックシートを作成するとよい。

自主管理の実効性を最終的に担保するのは、外部機関による検証システムである。このようなシステムは、自主管理の弱点ともいえるべき動物実験の社会的透明性の向上にも欠かせない。では、どのようなシステムが望ましいのか。自主管理の要となる規程の整備、動物実験委員会の活動および教育訓練の実績等に関する検証と併せ

て、実験動物の飼養・保管ならびに苦痛の軽減に関しては、現場調査も必要と考えられる。検証の方法としては、科学を理解する専門家によるピアレビューシステムが望ましいのではないかな。

最後に、実験動物といえども科学的合理性なしにみだりに殺し、傷つけ、虐待した者には、動愛法により罰則が適用される（第44条）。また、特定動物（ニホンザル等）の飼養許可制は実験動物にも等しく適用され、違反すると処罰されるので注意してほしい（第45条）。

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

毒素受容体を用いた 標的細胞ノックアウト法の開発と応用(マウス)

奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科 動物細胞工学

教授 河野 憲二
助手 斉藤 美知子

組織や細胞のそれぞれの役割を解析するために、現在までに組織の外科的除去やレーザーによる細胞の除去、遺伝子工学を用いた遺伝子ノックアウトや毒素を直接発現させて細胞を破壊する方法などが用いられてきた。しかし、組織や細胞の外科的除去は散在する細胞をすべて取り除くことが不可能であるし、発生工学的な手法であればその細胞や遺伝子が発生過程に必須であった場合には発生過程で死亡してしまい、その後の解析が困難である。

そこで我々はマウスがジフテリア毒素に対して非感受性であることを利用し、細胞特異的に毒素受容体を発現させ、そこに毒素を任意の時期に投与することにより標的細胞を破壊する「TRECK法」を開発した。この手法を用いて、肝炎モデルマウス、糖尿病モデルマウスを作製したのでその応用例も含めて紹介する。

背景

ジフテリア毒素は分子量58000のタンパク毒素である。A、B二つのドメインからなり、Aドメインは毒素本体の役割を、Bドメインは細胞表面にある受容体と結合しAドメインを細胞内に取り込む役割を果たしている。ジフテリア毒素の受容体はヒト heparin-binding EGF-like growth factor

(human HB-EGF) 前駆体であることがわかっている。毒素受容体であるhHB-EGF前駆体（膜結合型）にBドメインが結合しエンドサイトーシスによって細胞内にエンドソームとして取り込まれる⁽¹⁾。その後Aドメインがエンドソームより細胞質内に膜透過し⁽²⁾、ペプチド鎖伸長因子（elongation factor2: EF-2）をADPリボシル化する。EF-2がADPリボシル化に

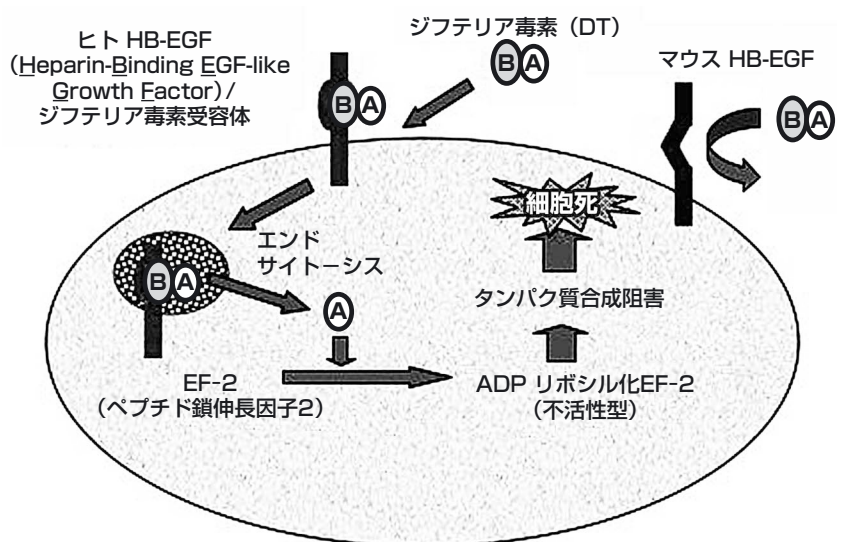


図1 ジフテリア毒素の作用機序

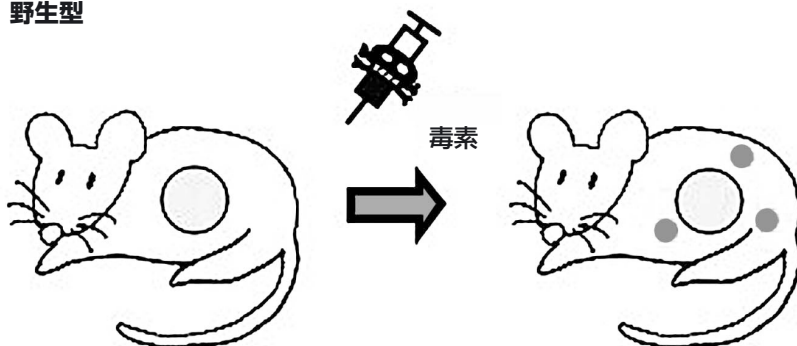
ジフテリア毒素は毒素受容体であるヒトHB-EGFにBドメインを介して結合し、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。エンドソームから膜透過して細胞質内に遊離したAドメインはペプチド鎖伸長因子2(EF-2)をADPリボシル化して不活性化し、タンパク質合成を阻害して細胞を死に至らしめる。毒素はヒトHB-EGFには結合するが、マウスHB-EGFには結合しない。

よって不活性化され、タンパク質合成が阻害されて細胞は死に至る⁽³⁾。マウスにもHB-EGFは存在するが、EGFドメインにいくつかのアミノ酸残基に違いがあり毒素が結合することができない⁽⁴⁾。毒素は細胞質内に取り込まれない限り作用しないため、マウスはジフテリア毒素に対して非感受性である(図1)。この毒素感受性に対する差異に着目し、ある細胞特異的にヒトHB-EGF(毒素受容体)を発現させたトランスジェニックマウスを作製し、任意の時期に毒素を投与することによってその標的細胞を特異的に破壊することができると考えた。毒素受容体はただ発現させただけでは、マウス個体に大きな影響を及ぼさず成体になり、成体になってから毒素を投与することによって始めて標的細胞を破壊することが出来る。これを我々はTRECK(Toxin REceptor-mediated Cell-Knockout)法と名付けた(図2)。

肝炎モデルマウス

頭で考えることと実際にマウスにすることはわけが違う。いくら机上の論理でうまくいっても、マウスが出来なければ意味がないのである。そこで、我々が考えたTRECK法というものが実際マウ

野生型



トランスジェニックマウス

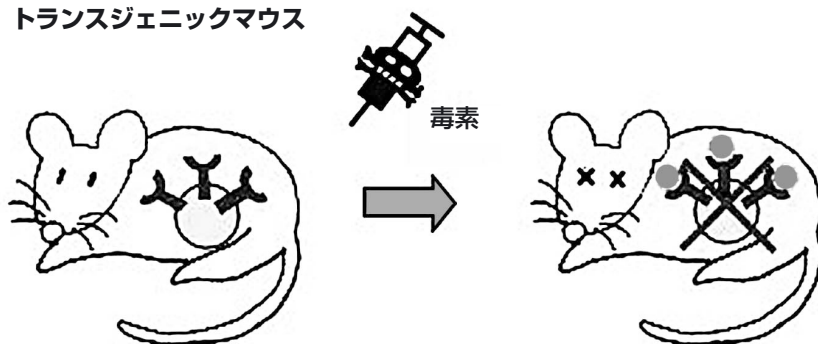


図2 TRECK法の原理

ジフテリア毒素はマウスHB-EGFには結合できないため、細胞内に入ることができず野生型マウスは毒素に対し非感受性である。マウスの細胞にヒトHB-EGF(毒素受容体)を特異的に発現させたトランスジェニックマウスを作製し、毒素を投与することによって標的細胞のみを破壊することが可能となる。

ス個体でうまく行くのかどうか、解析しやすい肝炎モデルを作製してみることにした。アルブミンエンハンサー・プロモーターは肝実質細胞で特異的にアルブミンの発現制御をしていることが既にわかっており、肝炎の場合血清中のGOT・GPT活性を測ることで肝炎の状態を推測することが容易であるからである。アルブミンエンハンサー・プロモーターの下流に毒素受容体を接続し、これをトラ

ンスジーンとしてトランスジェニックマウス(Tgマウス)を作製した。様々な発現量の異なるラインができ、これらは肝臓にのみ特異的に毒素受容体を発現していた。これらのTgマウスは、組織学的にも解剖学的にも野生型との差異は認められなかった。Tgマウスにジフテリア毒素を投与したところ、一番発現量の高かったラインでは野生型に投与しても影響のない濃度(50 μ g/kg 体重)の

100分の1の濃度(500ng/kg体重)の毒素投与によって、24時間後には血中GOT・GPT活性が急激に上がり、36時間後には死に至った。発現量の低いラインでは同じ濃度の(500ng/kg体重)毒素投与によっても死には至らず、いったん上昇したGOT・GPTは5日で正常値に回復した。どちらのラインも毒素投与量が低ければGOT・GPT活性も低く、濃度依存的に肝細胞への障害の程度を制御することがわかった。毒素投与により死に至ったマウスの肝臓の組織学的解析からも、このマウスは劇症肝炎により死亡したことが明らかであった。こうして、TRECK法による新たな肝炎モデルマウスが出来上がった。このモデルマウスは任意の時期に発症させることができ、さらに毒素濃度を調節す

ることによって肝炎の程度を変えることが可能であった⁽⁵⁾。

肝炎モデルマウスの再生研究への応用

TRECKマウスの一番の特徴は、TRECKマウスの細胞のみが毒素に対して感受性である、ということである。このマウスに、野生型マウスから細胞を分離し移植した場合、ドナー細胞は毒素に対し非感受性、レシピエント細胞は毒素に対し感受性、となる。したがって、移植後毒素を投与することによりレシピエント細胞のみを破壊し、ドナー細胞を生き延びさせることが可能である(図3)。

実際GFPマウスより肝実質細胞を分離精製し、TRECK肝炎モデルマウスに移植した。その後毒素を投与し続けたところ、3週間目

には肝細胞の大部分がGFP陽性細胞に置き換わっていることが観察された。現在再生研究に使用されている肝炎モデルマウスではレシピエント細胞のみを破壊することは不可能である。再生能力の高い肝臓をターゲットにしての再生研究には、レシピエント細胞とドナー細胞を毒素によって容易に区別できるTRECK肝炎モデルマウスは非常に有効である。

糖尿病モデルマウス

TRECK法はある細胞特異的に発現することがわかっているプロモーターさえあれば、その細胞のみを破壊し疾患モデルマウスを作ることや、その細胞の機能解析を行うことが可能である。我々は次にインシュリンプロモーターを用い、膵臓ランゲルハンス島β細胞

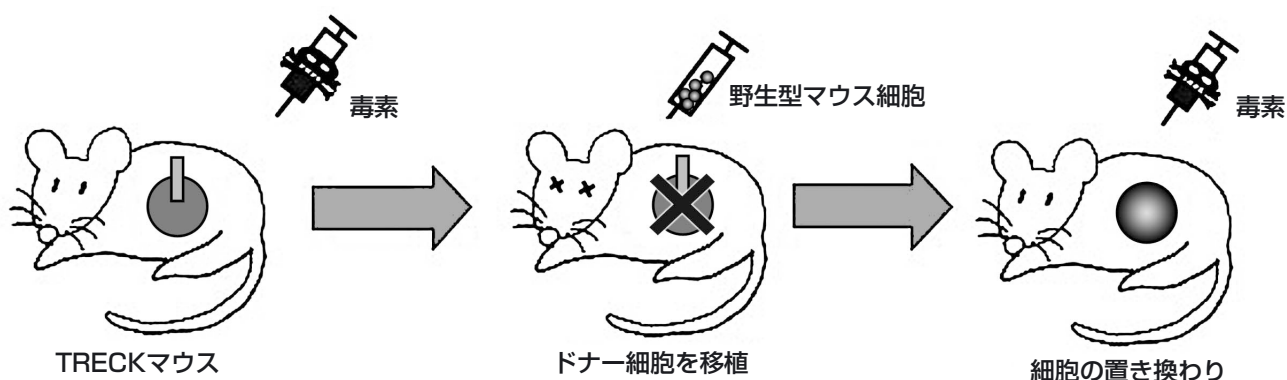


図3 再生研究への応用

毒素受容体を細胞特異的に発現させたトランスジェニックマウス(TRECKマウス)を作製する。毒素によりダメージを受けたマウスに野生型マウスから分離した細胞を移植する。移植した細胞は毒素に対し非感受性であるため、生着増殖すればさらなる毒素投与によっても細胞は死なず、TRECK由来の元の細胞と置き換わる。

特異的に毒素受容体を発現させ、毒素投与により糖尿病を発症するモデルマウスを作製した。Tgマウスは β 細胞のみに毒素受容体を発現しており、毒素投与によって血糖値が上昇し、多尿、高血糖などの糖尿病様症状を示した。毒素投与1週間後の血清中インシュリン濃度は投与前と比べて激減した。毒素投与で高血糖になったマウスにインシュリンを投与することにより、速やかに血糖値は減少した。さらに野生型マウスよりランゲルハンス島を分離精製し腎皮膜下に移植したところ、血糖値は正常値まで回復し2ヶ月以上生存し続けた。ここに毒素をさらに投与しても血糖値に変化はなく、ランゲルハンス島を移植した側の腎臓摘出により、急激に血糖値が上昇した。これらのことから、TRECK糖尿病モデルマウスは毒素投与によりインシュリン依存性の糖尿病を発症することが明らかとなった。ランゲルハンス島の組織染色により、毒素濃度依存的に β 細胞が破壊されていることが観察され、この糖尿病モデルマウスも肝炎モデルマウスと同様に毒素濃度を変えることによって障害の程度を変えることができることがわかった。また毒素濃度に依存して生存率も異なり、高濃度の毒素

投与では約2週間以内にすべてのマウスが死亡するが、低濃度での毒素投与では3ヶ月以上生存し続けた。このようにTRECK法によって肝炎、糖尿病の疾患モデルマウスを作製することが出来、さらに他のモデルマウス作製にも有用にこの方法が利用できることが示された。

おわりに

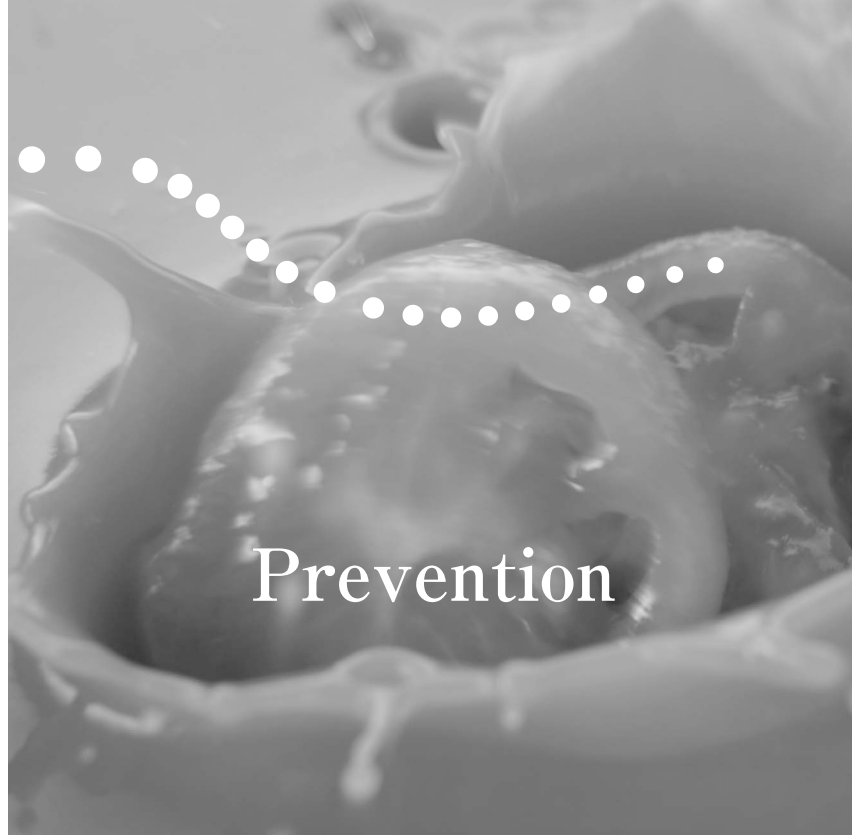
近頃再生移植研究が活発に行われている。しかし、まだ*in vitro*での再生が示されているのが主であり、個体での病状回復まで示されていないのが現状であろう。移植には臓器提供者が必要であり、また他人からの臓器や細胞移植では、常にドナーとレシピエントとの免疫反応が重大な問題となることから、他人、あるいは他の動物の細胞からの再生移植ではなく、最終的に目指すは、本人の組織を用いての再生移植である。このためには、すでに分化した本人の細胞を脱分化、分化転換させるか、幹細胞を探し分化再生さなければならぬ。それゆえ今後さまざまな細胞のスクリーニングが必要であるが、そのときに今回紹介したTRECKモデルマウスは非常に有用であると思われる。

また今回は疾患モデルマウス作

製とその応用について紹介したが、近年になってこのTRECK法を用い、細胞破壊を行ってその機能解析を行ったという論文もでてくる。はじめに述べたように、このTRECK法は今までに解析不可能であった発生過程に重要な遺伝子を成体になってから破壊し、その機能解析を行うことが可能である。今後様々な遺伝子や細胞の機能を解明し生体の謎を明らかにしていくことに、このTRECK法が役立つことを期待している。

参考文献

1. Tsuneoka et al.: Evidence for involvement of furin in cleavage and activation of diphtheria toxin, *J Biol Chem.*, 264:61-5, 268, (1993)
2. Draper et al.: The entry of diphtheria toxin into the mammalian cell cytoplasm: evidence for lysosomal involvement, *J Cell Biol.*, 84:9-854, 87 (1980)
3. Honjo et al.: Diphtheria toxin-dependent adenosine diphosphate ribosylation of aminoacyl transferase II and inhibition of protein synthesis, *J Biol Chem.* 355:3-5, 243, (1968),
4. Mitamura et al.: Diphtheria toxin binds to the epidermal growth factor (EGF)-like domain of human heparin-binding EGF-like growth factor/diphtheria toxin receptor and inhibits specifically its mitogenic activity, *J Biol Chem*, 1015-1019, 270, (1995)
5. Saito et al.: Diphtheria toxin receptor-mediated conditional and targeted cell ablation in transgenic mice, *Nature Biotechnology* 746-750, 19, (2001)



Prevention

「老化促進マウスにおける慢性喫煙曝露に伴う肺気腫発症の抗酸化剤投与による予防効果」

順天堂大学医学部 呼吸器内科学

笠木 聡

助教授 瀬山邦明

はじめに

呼吸器疾患の病態を解明するための実験ツールとして、これまで様々なモデル動物が利用されてきた^{1, 2)}。そのなかでも特にマウスは、①飼育が容易で繁殖し易い、②遺伝子解析が進んでおり人間との類似性が確認されている、③トランスジェニックマウスやノックアウトマウスなど遺伝子操作動物を作製し易い、④様々な各種抗体が存在しており実験ツールが充実している、などの理由からその中心的な役割を担っている。慢性閉塞性肺疾患（COPD）の病因解明のためにも様々な実験動物が利用

されているが、いずれも長期間の慢性喫煙曝露が必要であった。また、COPDは主に高齢者に発症することが知られており、病因解明には老化も関わっていると考えられている。今回、我々は成長後に老化指標の発現が加速する特徴を有する老化促進モデルマウス（SAM: senescence accelerated mouse）を用い、短期間の慢性喫煙曝露により肺気腫の作製が可能であったことを以下に紹介する。また、特に喫煙により生じるマウス肺病変におけるオキシダント-アンチオキシダント不均衡の役割や肺に生じるアポトーシスに着目し、抗酸化剤リコピンの同時投与によっ

て喫煙による肺気腫の発症に対する予防効果についても検討した。

老化促進マウス(SAM: senescence accelerated mouse)とは

AKR/J系マウスで特に老化徴候の激しいマウスの近交系として確立された老化促進モデルマウスである。このモデルの示す老化の特徴は、老化促進即ち、ほぼ正常な成長を終えた後成熟期に入ってから、加齢と共に急速かつ不可逆的に進行する老化を特徴とする遺伝子改変操作によって作出されたモデルではないマウスである³⁾。特にSAMP1とSAMP2に関しては、加齢とともに老化指標の発現

が加速し、肺に関しても機能的、形態学的に老化肺を呈することが知られている。具体的には、生後3～4ヶ月齢頃より肺のコンプライアンスが上昇し肺構造の破壊なしに気腔の拡大、肺の過膨張が認められる^{4, 5)}。表1に現在繁殖維持されている老化促進モデルマウスをまとめた。

方法

①慢性喫煙曝露

SAMP1と対照として正常な老化表出を示すSAMR1（雄、3ヶ月齢、各群6匹）を用いて慢性喫煙曝露実験を行った。曝露条件は、ケンタッキー大学研究用タバコ1R1を使用し、慢性喫煙曝露装置としては柴田科学社製SG-200を使用した。喫煙条件としては1.5%タバコ煙を1日30分、週5日、8週間継続して吸入曝露させ肺気腫を作製した。また同時に喫煙曝露期間中に水分の代わりにトマトジュース（100g中にリコピン5mg、ビタミンA 52.6mg、蛋白質0.68g、食物繊維0.68g、ナトリウム110mg、カリウム279mg、カルシウム6.8mg、エネルギー20kcal含有）投与し、喫煙による気腔の拡大や肺胞の破壊が予防できるかを検討した。

②肺の形態学的検討

開胸後に肺動脈より採血を行い、PBSにより十分脱血を行ったのちに気管支肺胞洗浄を行い、肺を摘出した。摘出肺は20%ホルマ

リン液を満たした定圧灌流固定装置を用い、25cmH₂Oで定圧固定した。固定肺をパラフィン包埋し薄切後HE染色を行い、MLI (mean linear intercept)⁶⁾とDI (destructive index)^{7, 8)}を測定した。

③免疫染色によるアポトーシスの評価

パラフィン包埋し薄切した肺組織に対して、ss-DNA法による免疫染色を行い、中枢気道、末梢気道上皮、血管内皮細胞や肺胞上皮細胞など肺胞構成細胞に分類し陽

性細胞数を測定し比較検討した。また活性化カスパーゼ-3による免疫染色も行いトマトジュースによる喫煙曝露に伴うアポトーシスの抑制効果を検討した。

④肺内 VEGF (vascular endothelial growth factor) 濃度と Glutathione 濃度測定

慢性喫煙曝露後に摘出した肺を十分にホモジナイズし、その上清よりELISA法により肺内のVEGF濃度の測定を行った。また慢性喫煙に伴い酸化ストレスが引き起こ

表1. 現在繁殖維持されている老化促進モデルマウス

SAMR1	非胸腺性リンパ腫、組織球腫瘍、卵巣嚢腫
SAMP1	肺過膨張、難聴、老化アミロイド症、免疫応答能低下
SAMP6	老年性骨粗鬆症、続発性アミロイド症
SAMP8	学習、記憶障害をはじめとする行動生理学的障害、免疫応答能低下、リンパ腫
SAMP10	学習、記憶障害、脳萎縮、腎萎縮、老化アミロイド症

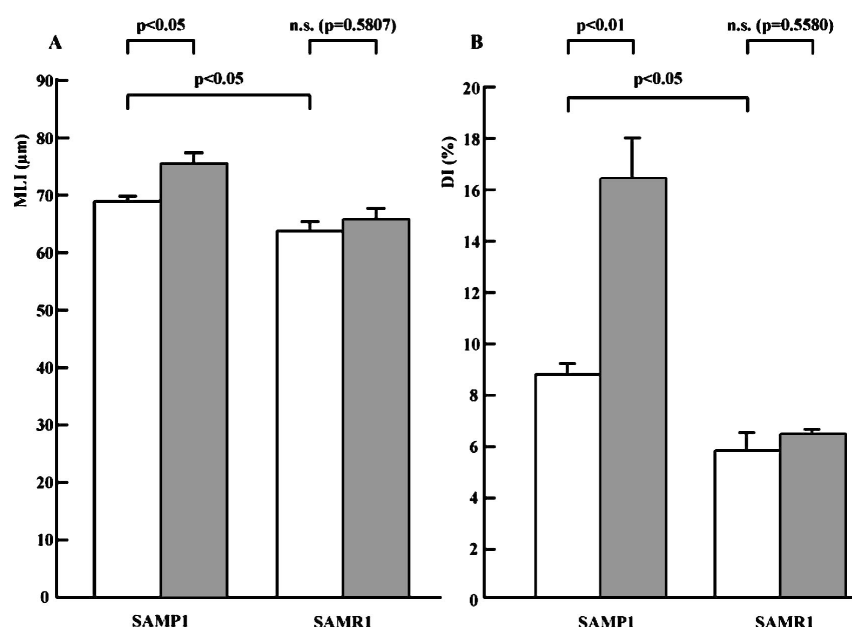


図1. 喫煙における形態学的検討

■ 喫煙後 □ 喫煙前

SAMP1: 喫煙後にMLI、DI共に上昇を認める。

SAMR1: 喫煙前後でMLI、DI共に有意な上昇を認めず。

されることが知られているが、トマトジュース特にリコピンの抗酸化作用により慢性喫煙による酸化ストレスが軽減できるかを検討するためにGlutathione濃度の測定も行った。測定後にtwo-way ANOVA法とBonferroni/Dunn法により統計解析を行った。

結果

慢性喫煙曝露後の形態学的結果を図1に示す。SAMP1ではMLI、DI共に有意な増加を示し（MLI: SAMP1 air群 vs. smoke群, 68.76 ± 0.69 vs. 75.34 ± 1.70 μm , $P < 0.05$, DI: 8.61 ± 0.38 vs. 16.18 ± 1.54 %, $P < 0.05$ ）、短期間の喫煙曝露によって肺気腫が作製できた。また、水分の代わりにトマトジュースを投与した結果、病理学的に気腔の拡大が改善され（図2）、MLIの低下も認められた（SAMP1 非リコピン群 vs. リコピン群, 66.90 ± 1.33 vs. 62.87 ± 0.8 μm ）（図3）。さらに喫煙曝露による酸化ストレスについては、Glutathione濃度を測定した。種の違いによる初期値の相違があったがSAMP1、SAMR1共に喫煙によって濃度上昇が見られた（図4A）。

ss-DNA法と活性化カスパーゼ-3による免疫染色では、喫煙により中枢や末梢気道上皮、血管内皮細胞や肺胞上皮細胞など肺胞構成細胞に陽性細胞の有意な増加を認めたことからアポトーシスが誘導されていることが確認され、トマ

トジュースの投与により陽性細胞の減少を認めたことからアポトーシスの改善が認められたと判断し

た（図5A、B、C（B、Cは18ページにカラーで掲載））。

我々は、肺気腫発症機序の一つ

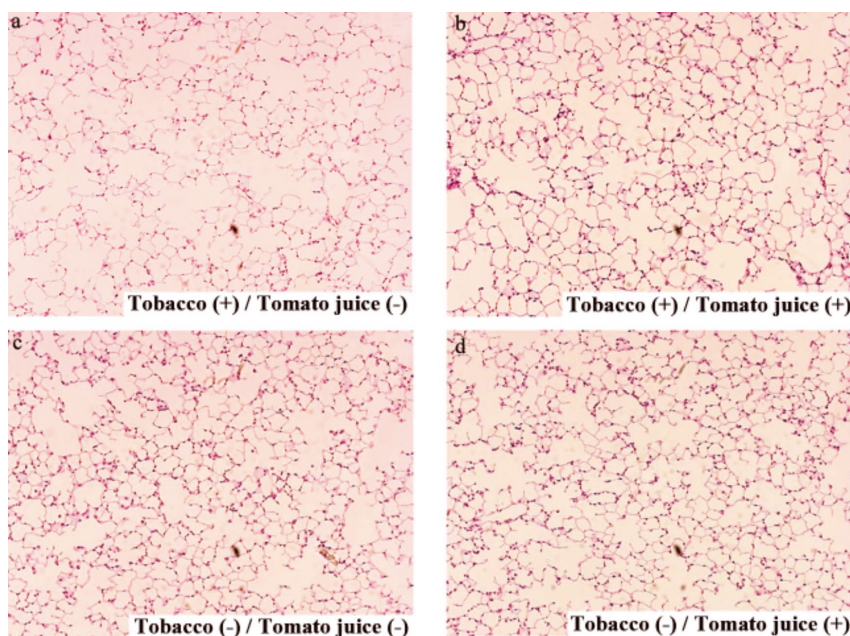


図2. 病理学的検討

8週間の喫煙曝露によって気腔の拡大が認められる (a)。
トマトジュースの投与によって気腫性変化の改善が認められる (b)。

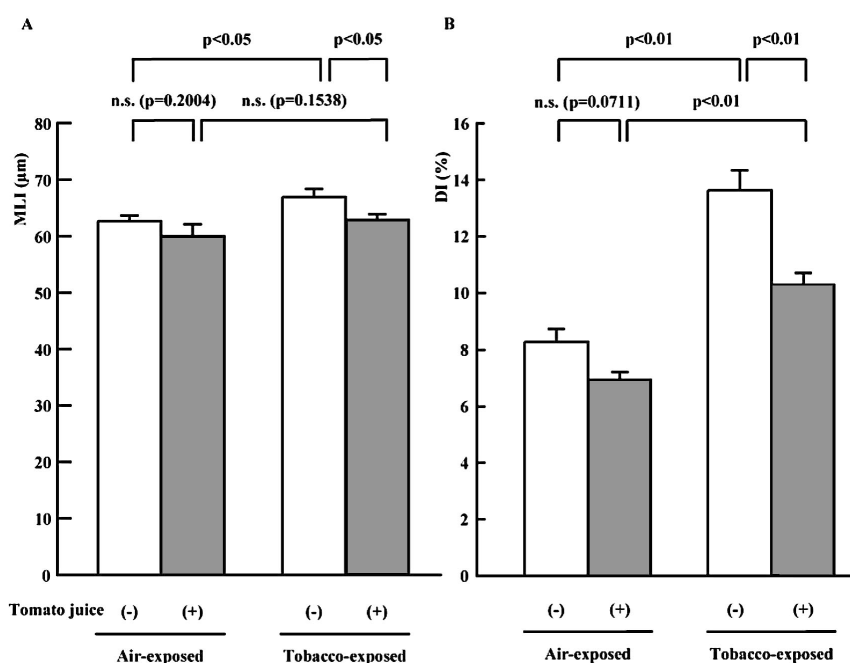


図3. SAMP1の形態学的検討：トマトジュースによる抑制効果

■喫煙後 □喫煙前
トマトジュースの投与によりMLI、DI共に低下が認められた。

としてVEGFの関与にも注目し、喫煙曝露後に摘出した肺より肺内VEGF濃度の測定も行った。慢性喫煙に伴い肺内VEGF濃度の低下

が認められたが(図4B)、トマトジュースの投与に伴い喫煙曝露に伴う肺内VEGF濃度の低下が抑制できたことが示唆された(図6)。

考察

現在、喫煙に関連した肺気腫発症の病因については、様々な実験動物が用いられているが、いずれも長期間の慢性喫煙曝露が必要であった。またCOPDは主に60~70歳代の高齢者に発症することが知られており、発症機序には老化も関わっていると考えられている。今回我々は、老化促進という特徴を有するSAMP1マウスを用いることにより、老化と喫煙の要素を取り入れ肺気腫モデルマウスを作製した。

慢性喫煙によるオキシダントストレスが生じると、II型肺胞上皮から γ -グルタミルシステイン合成酵素活性の発現が起こりGlutathione濃度の上昇が起こることが知られている^{8, 9)}。今回の実験でも喫煙曝露後に濃度上昇を認めた。しかし、喫煙曝露中にトマトジュースを投与した群ではGlutathione濃度の上昇が抑制できた。このことはリコピンがアンチオキシダントとして消費され、肺気腫発症の予防に寄与した可能性が示唆された。

また、最近では炎症細胞の関与なしにタバコ煙に含まれるフリーラジカルや活性酸素の直接作用によって細胞が傷害され、アポトーシスを生じるという報告がある^{10, 11, 12)}。今回の実験でも、ss-DNAや活性化カスパーゼ-3による免疫染色により、喫煙に伴うアポトー

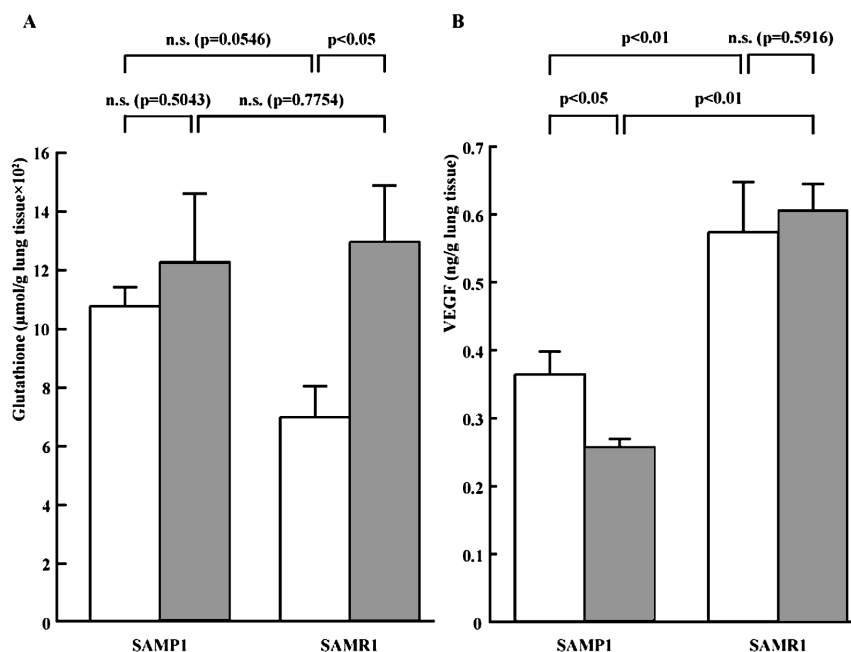


図4. 喫煙に伴う肺内Glutathione濃度とVEGF濃度測定

■ 喫煙後 □ 喫煙前
(A) 肺内Glutathione濃度
(B) 肺内VEGF濃度

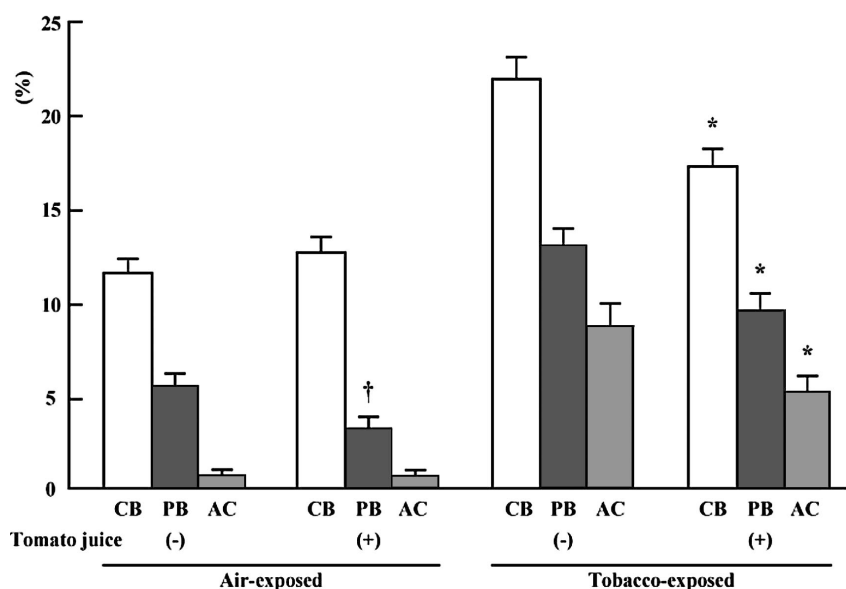


図5A. ss-DNA陽性細胞の比較

AC: alveolar septal cells
PB: bronchiolar cells adjacent to alveolar duct
CB: bronchial cells in the central airway

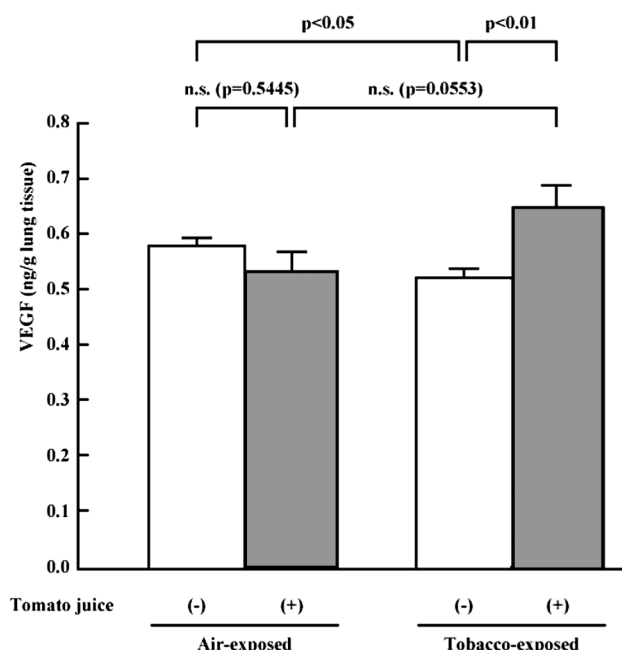


図6. 喫煙に伴うVEGF濃度: トマトジュースによる抑制効果

■ 喫煙後 □ 喫煙前

トマトジュースの投与によりVEGF濃度の低下が抑制された。

シスの誘導が観察できた。また、肺気腫患者では、健常者と比較し肺でVEGFとVEGF-receptorの発現が減少していたこと¹³⁾、VEGF-receptor阻害剤の投与によりアポトーシスが誘導され、気腫化が確認されたという報告¹⁴⁾があることから、我々は肺気腫におけるオキシダントストレスとアポトーシスの相互作用に関してはVEGFが重要な役割を担っていると考えた¹⁵⁾。実際に喫煙曝露により肺気腫が発症し、VEGF濃度の低下が認められ、トマトジュースの投与による抑制効果も認められた。

おわりに

今回我々はSAMP1マウスを用いることによって短期間に、再現性よく肺気腫を作製することができた。さらに抗酸化剤としてトマ

トジュースを投与することによって肺気腫の発症を予防できた。この老化促進マウスSAMP1は、喫煙や老化によって引き起こるとされている肺気腫の病因解明やさらなる治療法の開発のために非常に有用であることが示唆された。しかし「種の相違」という点から、人間の肺気腫

病態をSAMP1マウスで再現するには限界があることにも十分注意する必要がある。

文献

- Shapiro SD. Animal model for COPD. *Chest* 117: 320S, 2000.
- Dawkins PA. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 56: 972, 2001
- Takeda T, Hosokawa M, Higuchi K, Hosono M, Aikiguchi I, and Katoh H. A novel murine model of aging, Senescence-Accelerated Mouse (SAM). *Arch Gerontol Geriatr* 19: 185-192, 1994.
- Kurozumi M, Matsushita T, Hosokawa M, and Takeda T. Age-related changes in lung structure and function in the senescence-accelerated mouse (SAM): SAM-P/1 as a new murine model of senile hyperinflation of lung. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 776-782, 1994.
- Teramoto S, Fukuchi Y, Uejima Y, Teramoto K, Oka T, and Orimo H. A novel model of senile lung: senescence-accelerated mouse (SAM). *Am J Respir Crit Care Med* 150: 238-244, 1994.
- Thurlbeck WM. The internal surface area of nonemphysematous lungs. *Am Rev Respir Dis* 95: 765-773, 1967.
- Saetta M, Shiner RJ, Angus GE, Kim WD, Wang NS, King M, Ghezzi H, and Cosio MG. Destructive index: a measurement of lung parenchymal destruction in smokers. *Am Rev Respir Dis* 131: 764-769, 1985.
- Cantin AM, North SL, Hubbard RC, and Crystal RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* 63: 152-157, 1987.
- Rahman I, Smith CA, Lawson MF, Harrison DJ, and MacNee W. Induction of gamma-glutamylcysteine synthetase by cigarette smoke is associated with AP-1 in human alveolar epithelial cells. *FEBS Lett* 396: 21-25, 1996.
- Aoshiba K, Tamaoki J, and Nagai A. Acute cigarette smoke exposure induces apoptosis of alveolar macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 281: L1392-1401, 2001.
- Aoshiba K, Yasui S, and Nagai A. Apoptosis of alveolar macrophages by cigarette smoke. *Chest* 117: 320S, 2000.
- Church DF and Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 64: 111-126, 1985.
- Kasahara Y et al. Endothelial cell death and decrease expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 2 in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 163 (3 Pt 1): 737-744, 2001.
- Kasahara Y, Tudor RM, Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, Waltenberger J, and Voelkel NF. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 106: 1311-1319, 2000.
- Tudor RM, Zhen L, Cho CY, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Salvemini D, Voelkel NF, and Flores SC. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29: 88-97, 2003.

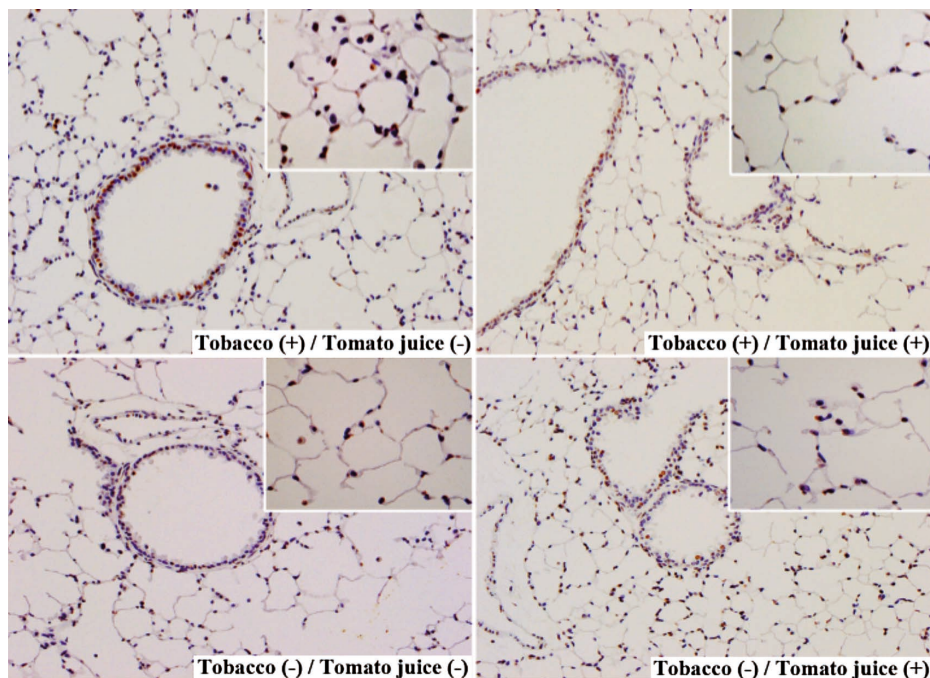


図5B. ss-DNA法にて染色したSAMP1の肺組織

AC: alveolar septal cells
PB: bronchiolar cells adjacent to alveolar duct
CB: bronchial cells in the central airway

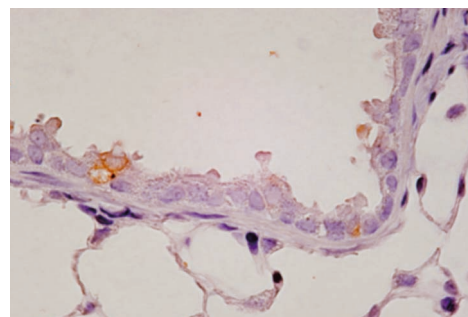


図5C. 活性化カスパーゼ-3法にて
染色した喫煙曝露後の
SAMP1の肺組織

喫煙によりss-DNA、活性化カスパーゼ-3陽性細胞の増加が認められた。しかし、トマトジュースの投与により陽性細胞の減少が認められた。

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の薬物代謝業務

プー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

■ NOSANの実験動物

Cleanビーグル犬【Nosan:Beagle】販売
NIBS系ミニブタ 販売
SPFベビー豚 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)
動物飼育室の貸出
各種動物受託試験

■ 遺伝子改変マウス作製業務

トランスジェニックマウス作製
ノックアウトマウス作製
遺伝子解析

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>



犬の皮膚疾患

シリーズ連載⑤

「外部寄生虫による犬の皮膚病」

The skin disease of The DOG

帯広畜産大学 畜産学部獣医学科
教授 猪熊 壽

はじめに

犬の皮膚病の重要な原因のひとつに外部寄生虫があげられる。外部寄生虫の多くは節足動物であり、ダニ類または昆虫に分類される（表1）。これらは動物の皮膚に寄生して組織液吸引、あるいは吸血により直接的な皮膚のトラブルを起こす。外部寄生虫による皮膚病は必ずしも屋外で飼育されている動物にみられるものではなく、完全屋内飼育の動物、あるいは実験動物舎で飼育されている動

物にもみられることがある。とくに多頭飼育や衛生環境の良くない場合には外部寄生虫病による直接的な被害が大きくなることもある。また外部寄生虫の中でも吸血性のものは人と動物の重要な各種病原微生物を媒介することも知られている。本稿では犬の外部寄生虫による皮膚病のうちとくに重要なものに絞って、原因寄生虫のライフサイクル、症状、診断法および治療・予防法について概説することとしたい。

1. ダニ類による皮膚病

1) 毛包虫症

a) 原因寄生虫（図1）

毛包虫症の原因 *Demodex canis* は犬の毛包内に寄生して、全生涯を宿主の皮膚内ですごす。健康犬の皮膚にも寄生していることがあるが、多くは無症状で、なぜ毛包虫症が発症するのか正確な機序は明らかではない。好発の犬種および年齢が知られており、なんらかの遺伝性素因が発症に関連すると考えられる。また糖尿病、甲状腺機能低下症など免疫抑制性疾患の併発が関連する症例もある。

b) 症状

全身性に発症する場合と局所的のみの場合がある。脱毛、落屑、脂漏、糜爛、小膿胞がみられる。初期には痒みは軽度であるが、二次感染により膿皮症を併発し痒みが強いこともある（図2）。頭部、顔面、四肢端に病変が見られることが多い。

c) 診断

病変部の被毛を抜取り、20～25% KOH 溶液で処理して顕微鏡で観察すると毛包虫が観察される

表1：犬の皮膚病に関連した主な外部寄生虫

分類	原因となる外部寄生虫	犬の疾病
I. ダニ類		
(1) Mites ツツガムシ類	ミヤガワタマツツガムシなど ツメダニ ニキビダニ	ツツガムシ皮膚炎 ツメダニ皮膚炎 毛包虫症 (アカラス、毛嚢虫症)
ヒゼンダニ類	イヌヒゼンダニ ミミヒゼンダニ	疥癬症 耳ダニ症
(2) Ticks マダニ チマダニ属	マダニ寄生性皮膚炎 フタトゲチマダニ、キチマダニ、 ツリガネチマダニなど	
マダニ属	ヤマトマダニ、シュルツェマダニ、 タネガタマダニなど	
コイタマダニ属	クリイロコイタマダニ	
II. 昆虫類		
ノミ シラミ	ネコノミ、イヌノミ イヌジラミ、イヌハジラミ	ノミアレルギー性皮膚炎 シラミ寄生性皮膚炎



犬の皮膚疾患

シリーズ連載⑤

「外部寄生虫による犬の皮膚病」

(図3)。また病変部皮膚スクレーピング材料の観察でも毛包虫が検出される(図1)。発症例では卵から幼ダニ、若ダニ、成ダニまで各種ステージのものが観察されることがある。

d) 治療と予防

犬の毛包虫駆除薬としては、外用薬としてアミトラズによる薬浴、また内服薬としてイベルメクチン、ミルベマイシン等が使用されている。いずれも犬の毛包虫症に対しては承認外使用になるので、症例に用いる場合には飼主に対して十分なインフォームドコンセントが必要となる。

①アミトラズ：希釈して薬浴または病変部に塗布する。日本では殺ダニ作用のある農薬として販売されているが、家庭での保管、取扱いが危険である。また効果に比べて副作用の危険が大きい。

②イベルメクチン：0.4~0.6mg/kg 1日1回の経口投与が有効である。特定の犬種(コリー系など)で中枢神経毒性を示すことがある。また嘔吐などの副作用を示す個体もあるので、最初は低用量(0.1mg/kg SID)から開始し、幼犬に対しても使用を避ける。

③ミルベマイシン：0.5~2.0mg/kg 1日1回経口投与。イベルメクチンに比較して安全性に優れるが費用が高い。副作用等の問題でイベルメクチンが使用できないときに選択する。

膿皮症治療のための抗生物質の

選択にあたっては、膿皮症が深在性である場合にはセファレキシン、セファドロキシル、エンフロキサシン、クリンダマイシンなどが候補となるが、細菌培養および感受性試験結果に基づく抗生物質の選択が望ましい。

ステロイド剤は痒みのある皮膚病の治療にしばしば用いられる薬物であるが、免疫抑制作用があるため全身性毛包虫症の治療には禁忌である。

2) 疥癬

a) 原因寄生虫(図4)

疥癬の原因となる *Sarcoptes scabiei var. canis* (犬穿孔疥癬虫、イヌセンコウヒゼンダニ) は全生涯を犬の皮膚に寄生して過ごす。皮内にトンネルを作って生活し、強烈な痒みを誘発する。宿主特異性が強く、犬の疥癬は犬の皮膚だけで生活するが、一過性に人も含めた他の動物種に感染して発赤、痒みなどを起こす。

b) 症状

非常に強い痒みの特徴的である。しきりに病変部を掻き、身体を壁にこすり付けるため、脱毛、発赤、出血性痂皮、表皮剥離、肥厚などの病変が認められる。全身性にみられるが、耳介、眼周囲、四肢とくに肘周辺に多発する(図5)。細菌の二次感染のため化膿性病変もよくみられる。

c) 診断

疥癬は表皮角質層にトンネルを

作って寄生するため表皮をスクレーピングして検査する必要がある。肘、腹部、耳介などで検出されることが多く、複数の箇所を複数回スクレーピングすると検出率が高くなるが、それでも疥癬が検出できない場合がある。この場合、他の搔痒を伴う皮膚病、たとえばアレルギー性疾患との鑑別が困難となる。しかし、強い痒み(血が出るほど掻く、身体検査中も常に掻くなど)、病変および分布から疥癬症を強く疑うのであれば、まず診断的治療を行う。

d) 治療と予防

犬の疥癬症に有効な薬物が複数報告されている。承認外使用のものもあるので、症例に用いる場合には飼主に対して十分なインフォームドコンセントが必要である。

①イベルメクチン：200~400 μ g/kg皮下投与、1~2週間間隔、2から3回で有効。経口投与と同じく、特定の犬種(コリー、シェルトイーなど)で中枢神経毒性を示すことがあるので禁忌。

②セラメクチン：6~12mg/kg外用滴下、1ヶ月間隔で2回投与する。安全性が高いのが長所である。

疥癬は接触感染により動物から動物へ伝播するため、同居動物にも感染しやすい。とくに免疫力低下動物や基礎疾患を持つ個体は容易に感染するので注意が必要となる。このため発症動物だけでなく、同居している動物に対しても予防

的治療を行う。犬舎や床敷の消毒も有効である。

また一過性に人に感染することがあり、発疹、発赤、痒みなどがみられることがある（図6）。

3) 耳ダニ（耳疥癬）

a) 原因寄生虫（図7）

ミミヒゼンダニ（*Otodectes cynotis*）は、犬だけでなく、猫、キツネ等の肉食哺乳類の外耳道表皮に寄生し、上皮の剥離片を摂取して生活している。全生涯を宿主上で過ごす。

b) 症状

外耳炎を引起す。耳の搔痒が強いため、症例は頭を振ったり、四肢で耳を掻く動作が頻繁にみられる。黒褐色乾性ないしロウ様の耳垢が特徴的である。外耳道の炎症が内耳に達すると、斜頸、平衡感覚障害などの前庭障害が認められる。食欲元気などの全身症状に影響することもある。

c) 診断

耳鏡により外耳道を観察するとミミヒゼンダニが動いているのを観察することができる。綿棒で耳垢を採取して実体顕微鏡または拡大鏡でも観察できる。細菌性または真菌性の外耳炎について鑑別する必要があるし、併発もありうる。

d) 治療と予防

耳垢の除去および耳道洗浄を行う。セラメクチン：6 mg/kg外用滴下、1回投与法がわが国で唯一承認された治療薬として利用可能

である。このほか、殺ダニ剤（トリクロロホン、ピレスロイドなど）の使用、イベルメクチン：200～400 μ g/kg皮下投与などが承認外使用として治療の選択となる。併発した細菌性または真菌性の外耳炎に対しては、菌同定および感受性試験結果に基づく抗生物質の選択が望ましい。

疥癬と同様、発症動物だけでなく、同居している動物に対しても検査および治療を行う。犬舎や床敷、および症例に使用した器具の消毒も必要である。

4) マダニ

a) 原因寄生虫

マダニは前述のダニ類に比べて大型（2～30mm）で、哺乳動物、鳥類などに寄生して吸血する。日本の犬に寄生するマダニはすべて3宿主性であり、幼ダニ、若ダニ、成ダニはそれぞれ植物上で待機して動物に取り付き吸血する。十分量を吸血したマダニは動物から落下し、幼ダニ、若ダニは脱皮して次のステージのマダニになり、成ダニは産卵する。日本の犬に最も高頻度に寄生の認められる種はフタトゲチマダニで、次いでキチマダニ、クリイロコイタマダニ、ヤマトマダニが多く認められる（図8）。フタトゲチマダニ、キチマダニ、ヤマトマダニは、北日本から南日本まで広範囲に分布しているが、クリイロコイタマダニは基本的に熱帯のマダニであり、沖縄

県の犬に最も普通にみられる。しかしクリイロコイタマダニは犬舎に定着しやすいマダニであり、本州の実験動物舎や一般犬舎での定着例も過去には報告されている。

b) 症状

マダニは大量寄生により、犬に皮膚炎や貧血などの直接的な病害を引起すことがある。また犬に対して病原性を示すバベシア原虫 *Babesia gibsoni* や *Babesia canis* のほか、人に対して病原性を示すものライム病病原体 *Borrelia spp.* や日本紅斑熱の病原体 *Rickettsia japonica* など媒介する。犬は人の生活環境内にマダニを持込むという意味で、マダニ媒介性共通感染症の伝播にとって重要な役割を果たしている。

c) 診断

マダニは大型であり、寄生を肉眼で観察することができる。しかし、幼ダニや若ダニなど幼若な個体は成ダニに比べて小さく、被毛や指間に隠れて吸血が進むまで気づかれないこともある（図9）。

d) 治療と予防

殺ダニ成分含有の薬剤を使用することによって駆除を行う。駆除剤としてはいろいろな形状の各種薬剤が利用可能で、即効的な殺虫効果が期待されるような滴下剤が汎用されている。

なおマダニは吸血時に身体の一部を動物皮膚内に深く侵入しているので、マダニを引っ張ると一部が皮膚内に残ってしまうことがあ



犬の皮膚疾患

シリーズ連載⑤

「外部寄生虫による犬の皮膚病」

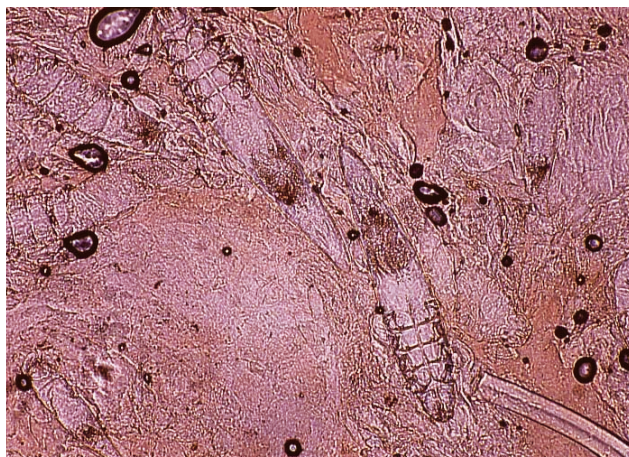


図1 スクレーピング材料中にみられた犬毛包虫



図2 犬毛包虫症症例、二次感染による顔面の重篤な膿皮症

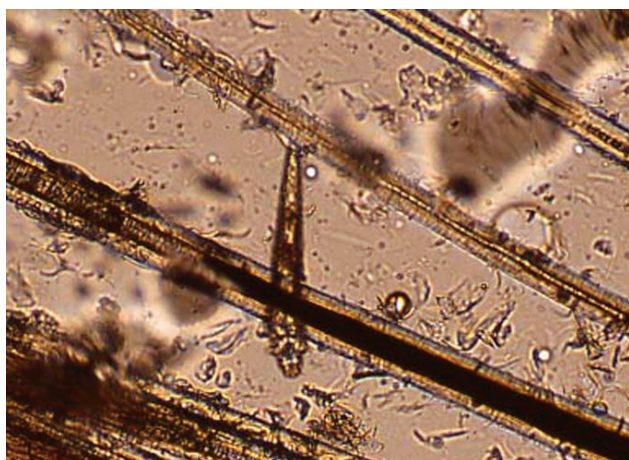


図3 抜いた毛の中に検出された犬毛包虫

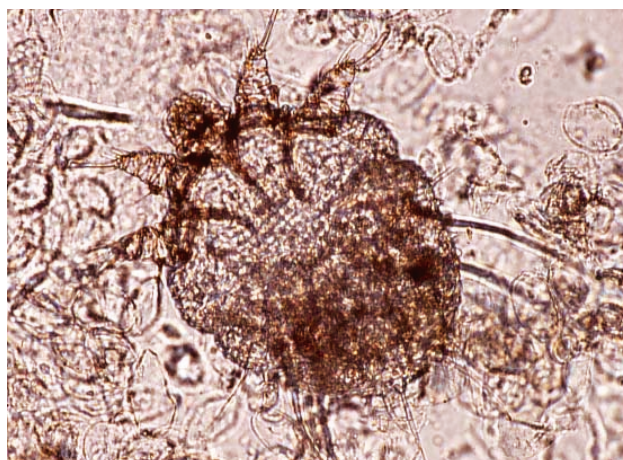


図4 イヌセンコウヒゼンダニ



図5 犬疥癬症例



図6 疥癬症の犬と添い寝した後にみられた飼主の腹部発疹



図7 ミミヒゼンダニ

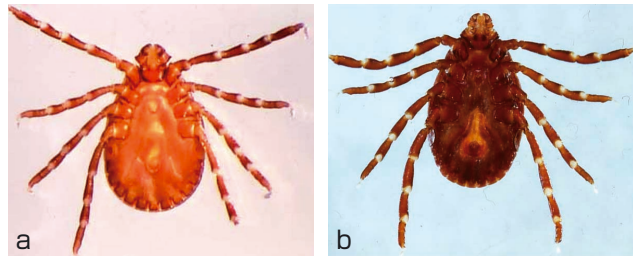


図8 マダニ a フタトゲチマダニ（雌腹側）
b クリイロコイタマダニ（雌腹側）



図9 クリイロコイタマダニ若ダニの寄生

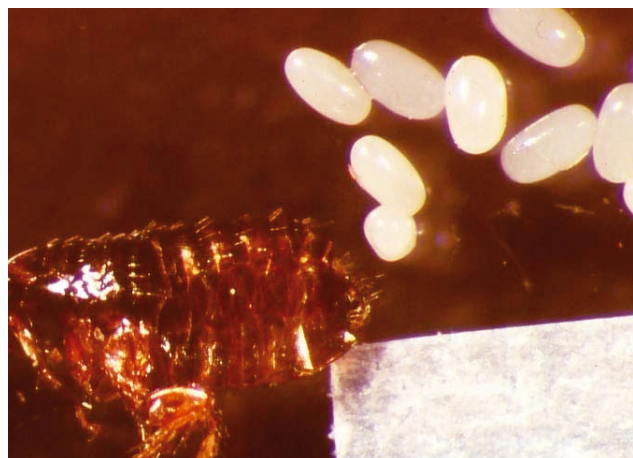


図10 吸血後のノミ成虫の産卵



図11 ノミアレルギー性皮膚炎による背部の脱毛



図12 イヌハジラミ



犬の皮膚疾患

シリーズ連載⑤

「外部寄生虫による犬の皮膚病」

る。またマダニ媒介性感染症の病原体のなかには、マダニを除去しようとして虫体を強く掴む際に動物体内に注入されるものもあるため、マダニの除去には細心の注意が必要である。

マダニ寄生を完全に防ぐ忌避剤はないため、マダニ常在地域においては動物を散歩させないとか、歩く場所を制限することでマダニ寄生を減らすことができる。なおクリイロコイタマダニは犬舎定着性が強いので、犬舎の徹底的な消毒が必要である。

5) ノミ

a) 原因寄生虫 (図10)

ノミは陰翅目昆虫で、翅はないが、強靱な脚でジャンプすることができる。完全変態(卵→幼虫(1～3齢)→さなぎ→成虫)し、成虫が恒温動物に寄生して、雌雄が吸血する。犬に寄生するものはイヌノミとネコノミがあるが、最近ではほとんどがネコノミである。

b) 症状

大量の成ノミが吸血することで貧血が生じることもあるが、まれである。むしろ犬では吸血時に分泌される唾液により誘発されるアレルギー性皮膚炎がよくみられる。丘疹、発赤、浮腫のほか、強い掻痒により、2次的に脱毛、色素沈着、肥厚、苔癬、膿皮症が認められる(図11)。好発部位は背線から腰、臀部、尾、大腿、内股～下腹部にかけての皮膚である。

イヌノミ、ネコノミは瓜実条虫および縮小条虫の中間宿主になりうる。また、人獣共通感染症のネコひっかき病病原体 *Bartonella henselae* を媒介することも知られている。

c) 診断

肉眼的に体表のノミの寄生を確認することができる。少数寄生の場合、成虫を発見することができないことがあるが、被毛の間に黒色のノミの糞を確認できれば間接的な証明となる。ノミアレルギー性皮膚炎の診断として、症例血清中に特異的IgE抗体を検出する方法も利用可能である。

d) 治療と予防

ノミ駆除剤として各種薬剤および形状のものを利用することができる。有機リン剤系、カーバメイト系、ピレスリンおよびピレスロイド系の他、最近ではフィプロニル、イミダクロプリル、セラメクチンなど副作用の小さい製剤が利用できる。形状別では粉剤、ムース、シャンプーなど即効性に富むものと滴下剤、首輪型など残効性に優れたものがあり、使い分けできる。

卵および幼虫は動物から離れて生息しているため、駆除にあたっては動物の体表だけでなく、犬舎周辺、寝床の対策も必要である。また昆虫成長攪乱剤として卵や幼虫の発育を阻害するものとして、ルフエヌロン、メトブレンなどの製剤が利用できるが、環境中のノ

ミ駆除という意味で有効と思われる。

6) シラミとハジラミ

a) 原因寄生虫

シラミ、ハジラミ(図12)ともに翅がない永久寄生性の不完全変態昆虫(卵→1～3齢若虫→成虫)である。ただし、シラミは成虫(雌雄)、若虫ともに吸血するのに対し、ハジラミは吸血せず、ふけ・羽・皮脂を食べて生活している点が相違する。

b) 症状

シラミは絶えず吸血しており、動物に対して激しい掻痒感を与える。このため脱毛、発赤、出血性～膿痂皮などの病変が生じ、二次的な細菌感染も生じやすい。多数寄生により貧血が生じる。いっぽうハジラミは吸血しないが、体表を活発に移動することでやはり掻痒を生じ、脱毛、湿疹等の病変がみられる。どちらも激しい痒みは動物にストレスを与え不安、不眠、食欲減退などがみられることもある。

c) 診断

被毛から虫体を検出し、実体顕微鏡で観察同定する。

d) 治療と予防

殺虫剤の散布または噴霧、シャンプー剤や滴下剤を利用することができる。被毛上に産み付けられる卵には無効であるため、1週間から10日後に再度駆除を行う必要がある。

実験動物福祉調査の実施状況

実験動物福祉調査・評価委員会 委員長

八神 健一

改正動物愛護法が平成18年6月1日より施行され、それに合わせて行政機関より「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（環境省告示）」、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針（文部科学省告示）」、「厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針（厚生労働省通知）」及び「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」（農林水産省通知）が出され、さらに「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン（日本学術会議）」が公表された。これにより、実験動物の福祉と動物実験の適正化が、それぞれ法令と指針に基づいて行われるわが国の体制が整備

された。日本実験動物協会（日動協）は、実験動物福祉に関する自主管理体制のひとつとして平成16年より実験動物生産施設の模擬調査を開始した。会員の実験動物福祉への具体的な取り組み状況を日動協より委嘱された外部委員が訪問調査し、評価結果をもとに個別の指導助言を行ってきた。調査方法の概要は、既に本誌に掲載されている（鍵山直子、2004、実験動物生産施設の模擬調査について、LABIO21 No.17, 34-35）。

【模擬調査の実施状況】

調査は、実験動物生産施設模擬調査実施要領に従い公正に実施され、平成16及び17年度に合計11施設が本調査を受けた。調査施設は

従業員数が10名未満の小規模施設から50名以上の大規模施設に及び、取扱い動物種もマウス・ラットをはじめウサギ・モルモットやイヌ・ネコ等、多岐にわたっている。事業範囲も生産販売に限らず、受託飼育、飼育管理業務の請負や飼育技術者の派遣など多様な業務が含まれている（表1）。

調査は、生産業者等にとって動物福祉に係る自主管理の重要な項目となる組織、教育訓練、動物飼育、衛生管理、安楽死の5項目について、内部規則、標準操作手順、マニュアル、実施記録等の確認や担当者のヒアリングにより、その実施状況をチェックする。その後、調査委員は調査結果をチェックシートに記入し、申請者の確認を受

表1 平成16・17年度実験動物生産施設模擬調査の調査施設

年度	調査施設数	従業員数（施設数*）	動物種（施設数*）	事業（施設数*）
16	5	50～ (2) 20～29 (3)	マウス・ラット (4) ウサギ等 (2) イヌ・ネコ等 (3)	生産販売 (4) 受託飼育 (1) 請負派遣 (1) 受託試験 (1)
17	6	50～ (1) 20～29 (2) 10～19 (2) 1～9 (1)	マウス・ラット (5) ウサギ等 (2)	生産販売 (3) 受託飼育 (4) 請負派遣 (2) 試験・研究 (1)

*施設数は重複するため、各年度の調査施設数より多い。

表2 模擬調査結果の評価区分

評価区分	
(1)	評価事項のすべてが良好であり、実験動物福祉の観点から適切な管理・運用がなされていると認める。
(2)	調査事項の一部に不備が認められ、実験動物福祉の観点から改善が望ましい。
(3)	調査事項に重大な不備が認められる。実験動物福祉の観点から早急な改善が必要である。

けた後、調査・評価委員会において説明し、委員会としての指導助言事項について審議がなされる。審議結果は文書で申請者に報告される。その後、報告を受けた申請者は、指導助言事項に対し、改善の時期や内容を文書で回答する。この回答に対して、委員会は内容を精査し、最終的な評価の結果を評価区分（表2）に従って決定し、申請者に報告する。この際、評価区分（2）または（3）に評価された場合は必要な改善事項を併記することとしている。

これまでに調査を受けた施設では、動物福祉に関する基本方針を規定した文書およびそれに基づく委員会規程など、社内諸規程の体

系的な整備や機関と委員長の責任の所在が必ずしも明確になっていない点などがやや共通的にみられた。しかし、指導助言に対していずれも前向きに改善に取り組んでおり、重大な不備が認められる事例はなかった。また、社内の視点では気付かなかったことの指摘あるいは社内規程や委員会のあり方等に関する指導助言が有益であった、との好意的な感想が寄せられている。

【今後の課題】

実験動物の福祉と動物実験の適正化は、法令と統一ガイドラインに基づき新たな歩みを踏み出した。これまで、実験動物福祉調

査・評価委員会は、試行錯誤を繰り返しつつ、「走りながら考える」を合言葉に調査活動を進めてきた。2年間の活動の中で、模擬調査の問題点や改善点も次第に明らかになってきた。特に、自主管理体制の要となる基準や指針等が制定されたことを契機に、基準や指針等との適合性を確認できるよう評価項目を見直す必要がある。また、模擬調査を本格的な評価・検証システムとして立ち上げ、日動協の会員すべてがこれを受けるには、委員の養成も不可欠である。わが国の実験動物生産施設のすべてが日動協会員となり、評価を受けるようになるまで、是非、この制度を育てて行かなければならない。

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、ローデントカフェ 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.oys.co.jp>

免疫抑制剤を使用しない サルへの腎臓移植

順天堂大学 免疫学

場集田 寿
奥村 康

1. 臓器移植と免疫抑制剤の歴史 (表1)

臓器移植の歴史は意外にも古く、1902年にCarrelが移植臓器の血管吻合の技術を開発したことから始まっている。それを基にUllmanがイヌを用いて腎臓移植を初めて成功させた。今の常識から考えると臓器移植後に移植片拒絶反応が起こりうるのは当然であるが、もちろん当時は移植後いったん生着した臓器が1週間目頃より拒絶反応が起こる理由などは分かるはずもなかったかもしれない。その後、移植片拒絶は免疫反応が主役であることが判明し、拒絶反応を制御する薬剤の開発が行われてきた。1967年南アフリカのBarnardがヒトの同所性心移植に初めて成功し、その華々しい成果で臓器移植は一躍世間の注目を浴びることとなった。しかし、当時は免疫抑制剤に有用なものがなかったため移植臓器の生着率は悪く、移植医療の発展を妨げていた。1970年代に入り、サイクロスポリンが開発され、強力な免疫抑制効果が確かめられると移植医療は一変し、1980年代より腎臓をはじめとする臓器移植は飛躍的に増えていった。免疫抑制剤の開発にはマ

表1 移植学の歴史

年	人物	内容
1902	Carrel Ullman	臓器移植の血管吻合の開発 イヌ腎臓移植を初めて実施
1912	Shoene	同種皮膚移植は成功しないことを発見
1944	Medawar	second set accelerated rejectionを発見
1948	Snell	Histocompatibility factor (H-2)の証明
1965	Dausset	ヒトのhistocompatibility systemを提唱
1967	Barnard	ヒト同所性心移植の成功
1980～		サイクロスポリンの開発、実用化

ウスやラットが用いられることが多く、移植臓器も初期の頃は皮膚であった。移植した皮膚の生着が延長すると免疫抑制剤として期待され、実験としては次のステップに突入する。つまり、実験動物がより大型化し、イヌやサルが用いられるようになる。最近では千葉大学の落合がイヌの腎臓移植にてタクロリムスの開発に寄与したこと⁽¹⁾が記憶に新しい。

2. いまなぜ免疫寛容が必要か？

1970年代から本格的に始まった臓器移植は内科的にコントロールできない腎臓、肝臓、心臓などの疾患に対する医療としてその位置を不動のものにしている。将来は自己の細胞や組織から何らかの再



図1 移植臓器の動脈内膜肥厚

拒絶反応が生じている腎臓の動脈を示す。矢印は動脈の内弾性板であるが、移植片の動脈の内膜が肥厚し血管内腔がほとんど閉塞している。

生を行い、自己と同じ抗原を有する細胞や組織を使うことになるであろうし、また人工臓器も小型化し体内埋め込み可能なものになれば実用化が加速するかもしれない。しかし、それらのことが実現されるまでは移植医療は重要な地位を占めることになる。一卵性双生児間同士の移植でない限り臓器移植後は免疫抑制剤の投与が不可欠である。多くの場合、免疫抑制剤の投与中止は拒絶反応の再燃を惹起し、移植片はその機能を失う。T細胞を筆頭に種々の細胞群が拒絶反応に関与するが、それらの機能を制御する薬剤にサイクロスポリン、タクロリムス、シロリムスなどがある。これらの薬剤を長期間服用する際には当然のことなが

ら副作用に注意する必要がある。サイクロスポリンには易感染性、腎毒性、高血圧症、高脂血症、悪性腫瘍の発生増加（長期使用例の約4%）などがある。タクロリムスには先述したものに加えて、糖尿病が発生しやすい（5年以上使用例の15%）とされている。長期の使用を考えると腎毒性は無視できない。薬剤の血清濃度が高すぎると腎機能に障害を与えるし、低いと拒絶反応を惹起する可能性が高くなる。また、これら2剤では長期使用例における血管内膜肥厚（図1）による移植臓器の機能障害もおこっている。シロリムスは血管中膜、内膜の増殖を抑制する作用があり、いわゆる慢性拒絶

反応を抑制するものとして期待が集まったが、逆に抑制しすぎて血栓症が発症しやすくなるともされる。有効な免疫抑制剤の無かった時代には考えられないことではあるが、腎臓移植で移植後5年間の生着率が80%を超えるようになった現在では長期間の免疫抑制剤使用の結果起こるこれらの副作用をいかに克服するかが真剣に論じられている。免疫寛容（トレランス）は、免疫抑制のない状態においてある特定の抗原に対する拒絶反応は制御されているが、その他の抗原に対する反応は保たれている状態と定義される。トレランスをいかに効率よく誘導するかが我々に課せられた課題でもある。

3. 実験動物としてのマウス、サルの役割

マウスは主要組織適合抗原（MHC）がヒトと同等かそれ以上に分かっており、しかもMHCが同一である純系の群が作られ、免疫反応の解明に大きく貢献している。1990年代に入るとマウスの心臓移植手技が普及し、移植片拒絶反応を抑制する作用を有する種々の薬剤が開発されるようになった。ここで移植片の拒絶反応に関して簡単に説明する。臓器移植の主役はT細胞であるが、その拒絶反応に関わるプロセスとして移植された臓器を非自己と認識するこ

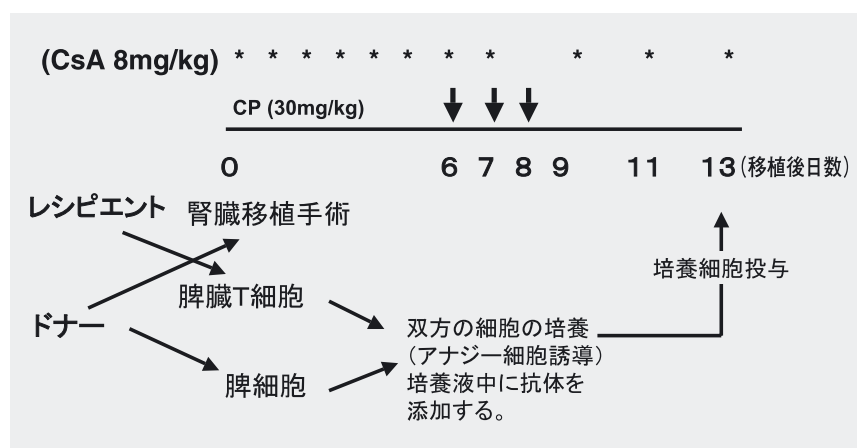


図2 われわれの実験のプロトコール

レシピエントは両側の腎臓を摘出し、ドナーの片腎を移植した。移植に先立ち、ドナー／レシピエント双方から脾臓を摘出し、single cellの状態にした。レシピエントの脾細胞からT細胞を得、ドナーの脾細胞には20Gyの放射線を照射し、これらの細胞を13日間、抗CD80/CD86抗体の存在下に混合培養した。この13日間にレシピエントにはサイクロスポリン（8mg/kg）を筋肉内投与（アスタリスクで示してある）、またサイクロフォスファミド（30mg/kg）を移植後6、7、8日目に筋肉内投与した。移植後はサイクロスポリン投与を中止した。

とが必要である。通常T細胞上のT細胞受容体（TCR）とCD3複合体がグラフトの主要組織適合抗原（MHC）クラスI、あるいはクラスII抗原を認識する。その際にTCRから直接入るシグナルの他に副刺激が必要とされており⁽²⁾、この副刺激伝達する分子にはT細胞上のCD28やCD154などがある。興味あることに、抗原認識が行われる際に副刺激伝達分子に対する抗体を用いるとT細胞はその抗原に対して増殖できず、結果として一種の免疫寛容状態（クローン麻痺）に陥る⁽³⁾と考えられている。これらの事象を実験的に証明したのがマウスを用いた臓器移植における寛容誘導の成功であった。マウスでは比較的容易にトランスが誘導され、ヒトへの応用の可能性も一気に高まった。さて、それらの薬剤がヒトへ応用できるかどうかを模索する次のステップとして、MHCが比較的良好に判明しているサルが一般的には用いられる。その結果を表2にまとめてみたが、マウスでの実験結果はサルにはほとんど当てはまらないことが分かる。副刺激伝達シグナルというより細胞同士の接着に関与するとされるLFA-1/ICAM-1に対する抗体はマウスの心臓移植では免疫反応を完全に抑制した⁽⁴⁾が、サルを用いての実験は寛容が誘導されたとの報告はない。わずかに

ICMA-1抗体を用いての実験結果が報告されている⁽⁵⁾が、短期間で拒絶反応が起こっている。同様にCD28の経路をCD80/CD86に対する抗体を用いて阻害してもサルでは効果がない⁽⁶⁾。CD154(CD40L)の経路を抗CD154抗体で阻害した実験は先述したものよりは効果がある⁽⁷⁾。使用量を工夫することにより（最後に投与してから）6ヶ月以上拒絶反応が起こらず、5年以上も生きている症例もあるという。しかし、抗CD154抗体を使用すると血栓症を引き起こしやすいとの理由で臨床応用は見送られている⁽⁸⁾。CD28,CD154の経路を同時に阻害しても同様の結果⁽⁹⁾で、これらの実験結果を見る限り、同じ哺乳類であってもマウスの免疫反応とサルなど大型動物のそれとは全く別物であることが分かる。この実験動物間の種差の原因は詳しくは分かってはいないが、ある薬剤がヒトに有効であるか否かを考える際には重要なポイントになる。サルなど大型の動物を実験に用いることに関しては倫理的な理

由で制限があることが多いが、ヒトへの応用を考えるならば避けては通れないステップであろう。

4. 麻痺細胞は免疫抑制細胞になりうるか？

抗原認識の際に副刺激を阻害するとそのT細胞は認識した抗原に対して「麻痺」状態に陥ると述べたが、この麻痺細胞は最近その抗原に対する拒絶反応を直接抑制することが判明してきた。つまり、種々の方法でいわゆる「アナジー」にした細胞は免疫抑制細胞としての機能を発揮するのではないかと考えられている⁽¹⁰⁾。ヒトの骨髄移植の系でレシピエントの細胞とドナーの細胞を二日間混合培養し、その中にCTLA4-Igを添加して得られた細胞をレシピエントに戻してやると骨髄移植後のGVHDを制御できるという報告⁽¹¹⁾がある。また、マウスのラ氏島移植の系では、ドナーの脾細胞とレシピエントの脾細胞を抗CD80/CD86抗体の存在下で一週間培養し、その細胞をレシピエントに戻した後で、（ド

表2 各種抗体の免疫抑制効果（サル腎臓移植での評価）

阻害経路	生存日数	参考文献
LFA-1 (注1)	7~43日	(5)
CD28 (注2)	21~35日	(6)
CD154	>73~>527日	(7)
CD28/CD154 (注3)	32、>150	(9)

注1. ICAM-1 に対する抗体を用いている。

注2. CD80/CD86に対する抗体を用いている。

注3. CTLA4-Igと抗CD154抗体を用いている。

ナーの) ラ氏島を移植するとその生着が延長するという報告⁽¹²⁾も出された。この培養細胞はドナー抗原に対していわゆる「アナジー」の状態に陥っていた。考えようによっては、特定の抗原に対してアナジーに陥った細胞が移植されたラ氏島の拒絶を妨げたようにも思える。我々はマウスの心臓移植の実験で同じようなことを確かめていたが、そのことをサルを用いた実験で確かめることとした。

5. 我々の考えたプロトコール (図2) とその結果⁽¹³⁾

MHCの異なる二頭のアカゲサルを用いてドナー／レシピエントとし、レシピエントは両腎臓を摘出した後にドナーの片腎を移植した。手術の際にドナー、レシピエント双方から脾臓を摘出し、レシピエントの脾臓からT細胞を取り出し、ドナーの(抗原提示細胞を

含む) 脾細胞と混合培養した。その際に抗CD80/CD86抗体を添加し、13日間混合培養した。その間、レシピエントには8mg/kgのサイクロスポリンを移植後7日間は連日、その後術後9、11、13日目に投与し、またT細胞を極力減らす目的でサイクロフォスファミドを3日間投与した。移植後13日目に培養した細胞をレシピエントに戻し、細胞移入後はすべての免疫抑制剤を中止し、実験群の生存日数をもってプロトコールの有用性を検証した。移植後は血清クレアチニンレベルをモニターし、移植片拒絶反応の程度を推測した。また、必要に応じて移植腎のバイオプシーを行い、組織学的に拒絶反応の程度を評価した。6例の腎臓移植を行ったが、そのうち3例は移植後1年以上生存した。1年以内に失ったものは3例であり、それぞれ、明らかな拒絶反応、腎

臓針精検術後の出血、膀胱尿管吻合部の狭窄に起因する水腎症が原因であった。残り3例は実験終了時1年以上を経過して生存中である。

アカゲザルは意外にもサイクロスポリンに対する感受性が強く、同剤を長期間使用すると(同剤)中止後も月単位で生存することがあるらしい。しかし、我々の使用したサイクロスポリンは少ない量であり、しかも期間は短い。培養細胞を移入しないコントロール群ではすべて移植後1ヶ月以内に死亡しているの、移入した培養細胞に移植免疫を抑制する効果があったと考えられた。長期生存しているレシピエントに自己、ドナー、全く別のサルの皮膚を移植すると、自己とドナーの皮膚は生着するのにに対しthird-party(全く別の個体)の皮膚は拒絶される(図3)。すなわち、抗原特異的な免疫抑制状態が得られたことが裏付けられた。

われわれの実験系にはいくつかのポイントがある。臓器移植後レシピエントの体内で起こっている免疫反応を体外で再現したこと、その培養の際に副刺激伝達シグナルを抗体で阻害したこと、細胞培養の期間は既存の免疫抑制剤を利用したこと、サイクロフォスファミド投与により免疫抑制細胞移入時にT細胞を減らしたことであろう。臓器移植に際しては免疫拒

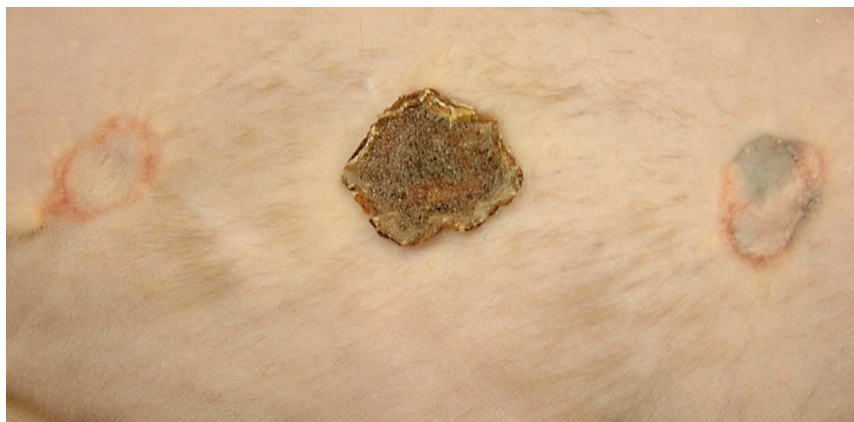


図3 スキンチャレンジテスト(skin challenge test)

腎臓移植後1年以上を経過した一例に、自己の皮膚(Host)、ドナーの皮膚(Donor)、そしてドナー以外のサルの皮膚(Third-party)の皮膚を移植した。皮膚移植後40日目の状態を示してあるが、Third-partyの皮膚以外は生着している。

絶に関与する反応と、その拒絶反応を（逆に）抑制する細胞が共に出現するのかもしれない。そのバランスがどちらに傾くかで臓器が拒絶されるか生着するかが決定されるとも考えられる。我々の実験系では移植後のレシピエントのアロ反応性細胞はサイクロフォスファマイドでかなり減らしている。その状況下、（培養した結果）免疫抑制細胞が非常に多い集団を移入することにより、レシピエント体内では免疫抑制細胞が優位な状態になり、これが移植片の生着延長につながったと結論づけた。

6. 最後に

研究はトライ＆エラーの繰り返しで、当初考えられていた理論を基に実験を行っても必ずしも首尾よく望んだ結果が得られるとは限らない。むしろ、日の目を見ないデータの方がはるかに多い。とりわけ生体とはブラックボックスのようなもので、始まり（ある種の免疫抑制剤と考えられるものを投与した事実）と終わり（移植した臓器が生着した事実）があるだけの結果しか得られないこともある。サルを用いて実験を行った背景には何百匹ものマウスを使っての実験があり、一連の実験にも多くのサルが犠牲になった。また、サルを用いての実験には東京女子医大の君川博士、筑波の霊長類研

究センターの小野博士の協力もあった。「免疫抑制剤を使用しない手法でのトランス誘導」という途轍もない夢を実現するために多くの労力が費やされたことを感慨深く思い出している。われわれの行ってきた研究が実際にヒトに応用可能か否かについてはまだ結論は出ていないが、これからの推移を見守りたいものである。

参考文献

- 1) Ochiai T, et al. 1987. Studies of the effects of FK506 on renal allografting in the beagle dog. *Transplantation* 44: 729 - 733
- 2) Schwartz, R.H. 1990. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 248:1349 - 1356.
- 3) Boussiotis, V.A., Gibben, J.G., Freeman, G.J., Nadler, L.M. 1994. Blockade of the CD28 costimulatory pathway: a means to induce tolerance. *Current Opinion of Immunology*. 1994: 797 - 807
- 4) Isobe, M., Yagita H., Okumura, K., and Ihara, A. 1992. Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1. *Science* 255:1125 - 1127
- 5) Cosimi, A.B., Conti, D., Delmonico, F.L., et al. 1990. In vivo effects of monoclonal antibody to ICAM-1 (CD54) in nonhuman primates with renal allografts. *J. Immunology*. 144: 4604-4612
- 6) Ossevoort, M.A., Ringers, J., Kuhn, E.V., et al. 1999. Prevention of renal allograft rejection in primates by blocking the B7/CD28 pathway. *Transplantation*. 68: 1010 - 1018.
- 7) Kirk, A.D., Burkly, L.C., Batty, D.S., Baumgartner, R.E., Berning, J.D., Buchanan, K., John H. Fechner, J., Germond, R.L., Kampaen, R.L., Patterson, N.B., et al. 1999. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat. Med.* 5:686 - 693.
- 8) Kawai, T., Andrews, D., Colvin, P.B., Sachs, D., and Cosimi, A.B. 2000. Thromboembolic complications after treatment with monoclonal antibody against CD40 ligand. *Nat. Med.* 6:114.
- 9) Kirk, A.D., Harlan, D.M., Armstrong, N.N., et al. 1997. CTLA4-Ig and anti-CD40 ligand prevent renal allograft rejection in primates. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94: 8789 - 8794
- 10) Lombardi, G., Sidhu, S., Batchelor, R., and Lechler, R. 1994. Anergic T cells as suppressor cells in vitro. *Science* 264:1587-1589.
- 11) Guinan, E.C., Boussiotis, V.A., Neuberg, D., Brennan, L.L., Hirano, N., Nadler, L.M., and Gribben, J.G. 1999. Transplantation of anergic histoincompatible bone marrow allografts. *N. Engl. J. Med.* 340:1704 - 1714.
- 12) Luo, Z.-J., Gotoh, M., Grochowicki, T., Tanaka, T., Kimura, F., Kawashima, H., Yagita, H., Okumura, K., and Miyasaka, M. 2000. Anergic T cells generated in vitro suppress rejection response to islet allografts. *Transplantation* 69:2144 - 2148.
- 13) Bashuda, H., Kimikawa, M., Kato, Y., Ono, F., Shimizu, A., Yagita, H., Teraoka, A., Yagita, H., and Okumura, K. 2005. Renal allograft rejection is prevented by adoptive transfer of anergic T cells in non-human primates. *J. Clinical Investigation*. 115, 1896-1902

シンガポール 海外散歩 バイオポリスでの研究紀行

早稲田大学先端バイオ研究所教授、兼
シンガポール早稲田オリパス・バイオサイエンス研究所主任研究員
江口 直美

1. シンガポールに滞在して

シンガポールは、青い空の下、熱帯地域独特の太くて背の高い緑の樹木がこんもりと茂るなか、近代的な高層ビルや瀟洒なヨーロッパ風の建物が立ち並び、その間を高速道路とコンピュータ制御のMRT列車が縦走している近未来都市のような国である。そのシンガポールに住まいを移してから、はや1年が経過した。昨年4月より早稲田大学先端バイオ研究所に教授として着任し、シンガポールの新規研究拠点バイオポリス(Biopolis)に新設された産学連携のWaseda-Olympus Bioscience Research Institute (WOBRI)の主任研究員として睡眠科学研究チームを率いることになったからである。

これまで全く想像もしていなかった海外赴任に際し、シンガポールが北緯1度と赤道に近いので、自分と日本から同行する若手研究者の体調管理、交通事故、病気の3点が気になった。ところが、住んでみると一切の心配は無くなった。街中を歩いても差別を感じることはなく、多民族国家の真髄を感じる。緑の茂みは日中の厳しい日差しを遮り、風も吹いて心地よ

く、7月8月は大阪や京都ほど暑くなく過ごしやすい。万全な冷房除湿対策に基づき建物内の温度湿度が年中ほぼ一定のため、体調を維持しやすい。研究所周辺に衣食住と金融関係が全て揃っている。タクシーやバスの運転手マナーも良いため(厳しい罰金制度がある)、交通事故に遭うリスクは低い。街は早朝から清掃され、多くの料理店でコップの水を飲めるほど衛生管理もしっかりしている。台風と地震がないのも良い。このように快適な生活環境が整った海外で仕事ができることは、強運である。

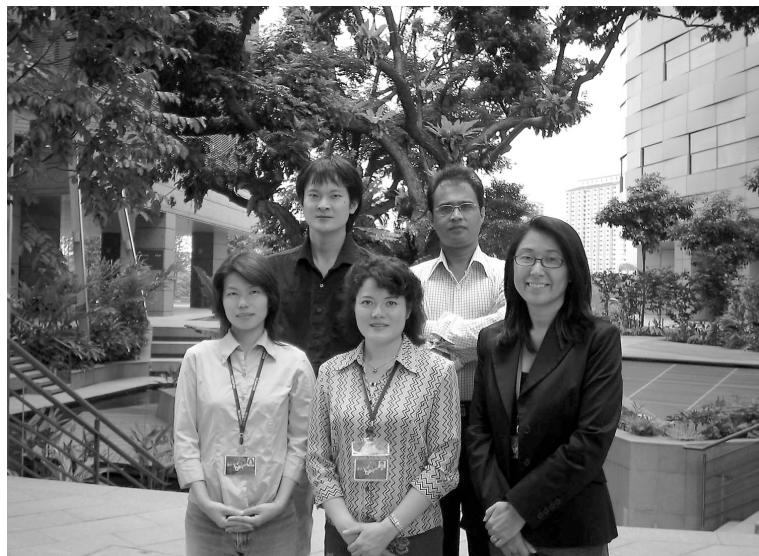
2. バイオポリスの研究環境

バイオポリスは、シンガポール政府主導のもと2004年4月に開設



マーライオンと高層ビル

されたバイオメディカルサイエンス研究開発地区である。その広大な敷地内には未来都市のようなモダンなビルが7棟建ち、スカイブリッジで連結されている。5棟は



睡眠研究チームの写真、前列中央が著者

政府の研究開発機関（A*STAR, Agency of Science, Technology and Research）で占められ、他の2棟は一般向けに有料賃貸で開放され、世界の大手企業NOVARTISなどが参加している。われわれWOBRIもその一角を借りている。

設立目的は、より高度な医療ビジネスを展開するために基礎科学から実用化まで一貫した研究活動を行い、新規医薬品の生産や医療技術の向上と開発を図ることである。そのために数千名の研究者が活躍できる場を提供し、世界中から著名な研究者や研究機関を招聘している。その顔ぶれは、欧米やオーストラリアからの白人やインド系・アジア系など多彩である。若手の育成も積極的に行われ、敷地内に往来する人が月単位で増えていることを実感している。

子育てを含む生活支援体制も整っており、日本より先進国である。中国系が大多数を占めるこの国では男女共に働くのは自然であり、早朝から夜まで幼稚園児から学童までを預かる広い託児所と各国料理を集めた食堂街（Food Court）が完備されている。子供たちは託児所で楽しく自然にサイエンスに触れ、両親と一緒に夕食をとり、近くの公園を散歩する。さらに、驚いたのは、水・金曜日に会議室で最新洋画の上映会がある。毎日家族と一緒に過ごしながらか

で研究ができる環境に精神的な余裕が感じられ、日本の女性研究者にありがちな子育てと研究生活の両立の悲慘さはここには無い。

3. シンガポールにおける動物実験に関する法律と規制

日本では2005年6月に動物愛護法が改正され、本年6月1日より動物実験基本指針に基づき動物実験が実施される。それよりも早くシンガポールでは食料管理動物保護局（AVA; Agri-food and Veterinary Authority）も関与して2004年10月にNACLAR（The National Advisory Committee on Laboratory Animal Research）が動物実験の実施に関するNACLARガイドラインを作成した。オーストラリア、カナダ、ニュージーランド、米国NIHとNRCの5種類のガイドを基に練られており、「The 3Rs」を中心に160頁からなる緻密な内容である。動物実験の各種許認可はシンガポール政府省庁が行うため、イギリスやドイツの規制と似ている。世界中から集まった大手製薬企業や

研究者に標準を合わせた結果と思うが、これまで慣れた日本の審査よりかなり厳しく、去年われわれは動物実験計画書の承認をもらうために本当に四苦八苦した。

シンガポールでの動物実験実施の手順と日本の場合と異なる点を紹介する。

①動物実験施設のライセンス取得：AVAに機関長名で申請した後、AVAから数時間にわたる設備の視察と実験者への質疑応答がある。若手研究員達は動物の扱いやオペの詳細な手順を役人に理解させるために、英語による説明とお絵描きがずいぶん上手になった。本ライセンスの取得により実験動物の購入が可能となる。1年更新。半年毎に89項目のチェックシートに基づくAVAの査察がある。

②バイオポリスでの教育訓練：NACLARガイドラインの理解と実施のため、教授を含む全ての研究者と実験技術者必須のトレーニングコースである。日本と異なり、約1万円の受講料を



バイオポリス



受講証明書

支払い、3日間コースで1～2日目は配布された100頁の書類を基に講義（法的環境と労働安全衛生、The 3Rs-Replacement, Reduction and Refinement、手術、実験動物の病気と診断）、3日目に実技を行う。これは実用的で役に立った。6名1組になり、白衣やマスクを着用して実際にマウス・ラット・ウサギ・モルモットの保持、性別確認、SQ/IP/ID/IV/PO/IM投与、目/尾/心臓/耳からの採血を行う。全員が動物に触っているか監視が入るため、初めてラットやマウスを扱って噛まれたと騒ぐ中堅研究者もいれば、中年の白人教授連中が昔取った杵柄なのか上手に採血する様子も見られ、親近感を覚えた。実技の最後に各人に受講証明書が発行される（受講証明書の写真）。このCertificate番号はシンガポール

国内のどの研究機関でも通用するため、日本のように研究機関ごとに受講する必要は無い。

③動物実験計画書の作成と審査：

IACUC（the Institutional Animal Care and Use Committee）の申請書様式に沿って2実験40頁びっしりと記載する。重要ポイントは、動物実験の経験年数と内容、教育訓練、実験計画と痛みのカテゴリー分け、「The 3Rs」対策とそれを導き出した根拠（参考引用文献や諸外国ガイドラインの検索と熟読）を明示することである。受講証明書、MSDS（Material Safety Data Sheet）、S O P s（Standard Operating Procedures）の添付が義務付けられている。本申請書の責任者は、主任研究員の私となる。前所属研究機関で2年間動物実験委員会委員長を務めた経験を十二分に生かしてこの重責を務めたいと思っている。

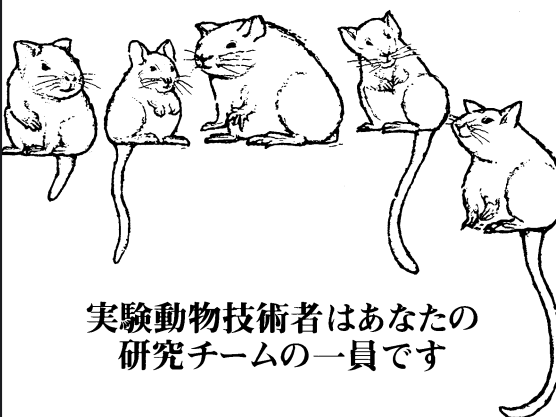
④バイオポリス動物実験委員会の獣医による定期査察：動物実験計画書IACUCの承認番号を発行された後、2ヵ月毎に実

験計画に準じているか否かの査察が入る。幸い、われわれWOBRIは優良印を頂いた。

4. 最後に

シンガポールは、朝7時に日が急に昇り、夜7時に釣瓶落としのように日が暮れる。そして、研究室内は常に室温24度、湿度50%である。動物実験室のマウスと同じ環境に慣らされた私は、久しぶりに日本で見た夕焼けを火事と勘違いするようになった。この様子だとマウスの気持ちが分かる日も近い。

最後に、本稿の執筆の機会を頂いた、オリエンタル酵母工業株式会社 中川真佐志本部長に深謝致します。



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

CHANNEL SCIENCE CO., LTD.

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

抄訳25-1

Information

実験動物の人道的な安楽死について

動物実験をおこなう科学者は、動物を処分する場合は、できるかぎり不安や痛みを与えない方法によって安楽死を施すことに同意する。実際的には、マウスやラットは二酸化炭素（炭酸ガス）によって安楽死させられることが多い。しかし、獣医師や倫理学者の中には、二酸化炭素を用いた安楽死法が必ずしも人道的な方法ではないと考えている者もいる（訳注：たとえば、M. C. Leach: Comparative Medicine, 52, 249-257(2002), 本誌No. 16, p. 32; K. M. Conlee: Laboratory Animals, 39, 137-161(2005) 参照）。このテーマに関する研究は少ないので、未だ結論に到達していないが、二酸化炭素が齧歯動物に苦痛を与えることが報告されている。彼らは、齧歯動物の安楽死のためには他の方法を用いるべきであると述べている。二酸化炭素を用いた安楽死法に代わる方法として、多数の動物を処分する場合は、ハロタンやイソフルランの過剰投与が苦痛の少ない方法として推奨されている。処分動物の匹数が少ない場合は、頸椎脱臼による安楽死法も推奨されている。頸椎脱臼による安楽死法の適切な実施のためには熟練した技術が必要であるが、そのためには、麻酔を施した動物を用いて訓練をすることが可能である。あるいは、麻酔薬投与と頸椎脱臼を併用することも可能である。米国獣医学会の「安楽死に関する指針」には、頸椎脱臼をおこなう際には、その正当な科学的根拠を明確にすることが求められていること、そして

頸椎脱臼法は実施者に不快感を与える可能性があることが記載されているため、米国においては、二酸化炭素による安楽死法が一般的におこなわれているものと考えられる。また、二酸化炭素を用いた安楽死法が一般的におこなわれているその他の理由として、簡便であること、トラブルが少ないこと、そして費用も少なくすむということが挙げられる。

二酸化炭素を用いた一般的な安楽死法においては、動物をチャンバー内に入れ、チャンバー内の二酸化炭素濃度を徐々に上昇させる。二酸化炭素濃度が上昇するのにもない、動物は麻酔状態に陥り、その後死亡する。徐々に二酸化炭素濃度を上昇させる理由は、高濃度の二酸化炭素が粘膜上で炭酸を生成し、痛みをひき起こすことを防ぐためである。そのような痛みがひき起こされる前に、動物を麻酔状態に陥らせることが望まれる。米国においては、あらかじめ二酸化炭素を充滿させたチャンバー内に動物を入れることがおこなわれているが、英国においては、この方法は禁止されている。二酸化炭素で処置した後に、頸椎脱臼をおこなう場合も少なくない。米国、欧州、そして日本において、現在、安楽死の方法に関する指針の見直しがおこなわれている。その際、二酸化炭素の使用は一つの論点となるであろう。

米国においては、国からの研究費を用いる研究者は、2000年の米国獣医学会安楽死委員会の「安楽死に関

する指針」に従わなければならない。この指針においては、二酸化炭素の単独使用が認められている。頸椎脱臼は、熟練を要するために、条件付きで認められている。また、最も人道的な方法が、必ずしも、安楽死実施者に不快感を与えないわけではないことが記載されている。

本年(2006年)2月、英国ニューカッスル大学に34人の科学者および実験動物関係者が集まり、実験動物の安楽死における二酸化炭素使用の是非について議論がなされた。組織委員の一人である神経生理学者H. Golledgeは、「少なくともラットにおいては、二酸化炭素を30%/分以下の流量でチャンバー内に導入すれば、動物は二酸化炭素によって痛みを感じる前に、意識を消失することが確認された」と述べている。一方、米国ハーバード大学のR. Banzettは、「痛みをひき起こさない濃度の二酸化炭素が動物に呼吸困難をひき起こす可能性が高い」と述べた。

米国動物愛護協会のK. Conleeは、二酸化炭素の単独使用は残酷であり、麻酔用吸入ガスを用いるべきであると考えている。彼女は、もし実験の目的等により麻酔薬が使えない場合は、断首を推奨している。また、「動物の匹数が少ない場合は、熟練した者が頸椎脱臼法をおこない、匹数が多い場合は、まずハロタンやイソフルランで麻酔をし、その後、大量の二酸化炭素に暴露すればよい」と述べている。

英国バーミンガム大学のD. Morton

は、実験動物福祉に関する報告書の中において、動物を二酸化炭素に暴露する前にあらかじめ麻酔薬を投与することに賛同しているものの、研究者たちがこれまで長い間慣れてきたこと、および経済的な理由により、二酸化炭素を用いた安楽死法から他の方法に移行するのはむずかしいという。

米国シカゴ大学のB. Taylor Bennettは、二酸化炭素の使用に関する論文が少ない、およびそれらの実験結果が一致していないという理由のた

めに、まだ二酸化炭素を用いた安楽死法から他の方法に移行することはできないという。彼は「これらの実験の方法論にはほとんど一貫性がみられない。これらの実験をさらにおこなう必要があるが、このテーマの研究のための研究資金源はきわめて限られている」と述べている。

その他の方法として、一酸化炭素またはアルゴン(ガス)を用いた安楽死法が検討されている。一酸化炭素については、ヒトの中毒事故において、

ヒトが苦痛を感じなかったと述べており、またアルゴンは、養鶏業において一般的に用いられており、両方法とも人道的な安楽死法であると考えられている。

いずれにせよ、動物に安楽死処置を施す者はすべて、可能な方法について慎重に検討し、動物と人間双方にとって最善の方法によっておこなわなければならない。

(抄訳：久原孝俊)

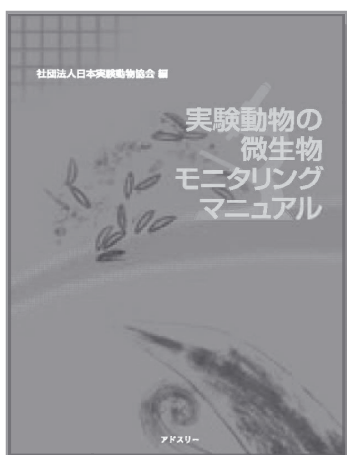
訳注：本稿は、Nature誌(2006年6月1日号)の下記「論説」および「ニュース・フィーチャー」を読んで、自由にまとめたものである。
無署名記事：Nature **441**, 550 (2006).
E. Marris: Nature **441**, 570-571 (2006).



キーワード：福祉、安楽死法、二酸化炭素

新刊書籍のご案内

実験動物の微生物 モニタリング マニュアル



社団法人日本実験動物協会 編

- 造本・体裁 A4判 上製本 96頁
- 発行 2005年10月下旬
- 定価 **7,875円** (本体価格7,500円)
- 内容

本書は、現代に即応した必要不可欠なモニタリング技術を網羅し、読者が一目で理解でき得るよう、左ページに解説、右ページにはカラー写真を挿入して編集してあります。また本書はすでに出版されている「実験動物の技術と応用入門編・実践編」副読本としてもご利用いただけます。

- | | |
|---|---|
| 1章 微生物モニタリング <ul style="list-style-type: none"> I. 微生物モニタリングの意義 II. モニタリング計画のたて方 III. 検査手技 IV. 微生物汚染確定後の対処 | 2章 モニタリング対象微生物のプロファイル <ul style="list-style-type: none"> I. ウィルス II. 細菌・真菌 III. 寄生虫 |
|---|---|

株式会社 アドスリー
販売：丸善(株)

〒164-0003 東京都中野区東中野4-27-37
TEL:03-5925-2840/FAX:03-5925-2913
E-mail:book@adthree.com/URL: http://www.adthree.com

感染症診断・予防実技研修会（モニタリング研修会）においては、受講生から様々な質問が出されます。その中から今回は飼育管理、特に消毒薬に関する質問に対する回答をまとめました。

飼育管理関連

Q：施設の衛生管理、感染の拡大防止には消毒が不可欠ですが、各消毒薬の特徴を教えてください。

A：微生物を殺す手段には、滅菌と消毒があります。ご存知のように、滅菌は全ての微生物を死滅させることができますが、消毒ではそれはできません。目的とする微生物の排除、菌数のある一定以下に減少させることが消毒の目的です。したがって質問にあるように、高い消毒効果を得るためには、各消毒薬の特徴を知り、利点・欠点を知っておくことは重要なことです。

汎用されている消毒薬には、アルコール系、第四級アンモニウム系、ハロゲン系、や二酸化塩素系などがあります。

① アルコール系

消毒用アルコール（70%エタノール）が主に使用されていますが、イソプロピルアルコール（30～50%）も含まれます。用途としては輸送箱、手指、手術器具等消毒に用いられています。ほとんどの微生物に対し消毒効果がありますが、ティザー菌のような芽胞菌には効果がありません。

② 第四級アンモニウム塩系(逆性(陽イオン)石鹼)

ハイアミン、オスバン等が含まれます。低毒性で、洗浄効果もあるため手指、床、飼育棚など幅広く使用されています。消毒効果は黄色ブドウ球菌等のグラム陽性菌には効果がありますが、緑膿菌などグラム陰性菌やウイルスに対してはやや効果が低下します。真菌、芽胞菌に対しては効果がありません。また使用上の注意点として陰イオンである通常の石鹼と併用すると効果を失います。

③ ハロゲン系

ピューラックスなどの無機塩素化合物とマイクロクリーンやダイアザンなどのヨードホル

が含まれます。この系は、芽胞菌にはやや効果が劣るものの、ウイルスを含め多くの微生物に対し高い消毒効果を有します。ただ高い効果があるということは、反面毒性も強いということです。また低温下、有機物の存在下では効果が低下するので、効果を上げるためには消毒対象物の温度管理や洗浄が必要です。ヨードホルはヨウ素と界面活性剤の複合体であることから、洗浄効果があります。ただ着色という欠点があるため、対象物が限定されます。

④ 二酸化塩素系

最近、エクスポアーなど二酸化塩素を利用した消毒薬やそれを利用した装置が開発されています。消毒効果は高く、ほとんどの微生物を死滅させることができるため、ホルマリン薫蒸の代わりに飼育室等のクリンナップに使用されています。また低毒性であることから、用途は今後更に拡大していくと考えられます。

モニタリング技術小委員会 委員長 高倉 彰

日本実験動物学会の動き

1. 平成18～19年度日本実験動物学会役員

理事長：芹川忠夫

常務理事：米川博通、伊藤喜久治（庶務担当）、真下知士（庶務担当）、須藤カツ子（会計担当）、関口富士男（会計担当）

理事：安居院高志、有川二郎、池田卓也、岩倉洋一郎、大和田一雄、岡部勝、黒澤努、佐藤浩、高倉彰、日置恭司、松本清司、安田充也、山村研一、吉川泰弘

監事：宮嶋宏彰、降矢強

2. 平成17年度学会賞および最優秀論文賞

平成17年度学会賞功労賞：山内一也

平成17年度安東・田嶋賞：米川博通「実験用マウス系統の遺伝的起源に関する研究と実験動物学への応用」

平成17年度奨励賞：権仲基「ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH) ファミリーのマウス精巣における役割と機能の検索」

高橋英機「遺伝子組換え動物を用いた電位依存性カルシウムチャネルの解析」

2005年Experimental Animals 最優秀論文賞：

稲垣秀晃ほか「報酬の古典的条件付けによってラットの心臓に対する自律神経系調節に生じる変化」

2005年度日本実験動物学会 国際賞：

Xie Xiayang (中国)、Hee Kyung Jin (韓国)、Ma. Christina B. Portilla (フィリピン)、Chih-Hsin Tang (台湾)、Theera Somchitprasert (タイ)

日本実験動物技術者協会の動き

1. 第40回日本実験動物技術者協会総会

会期：2006年10月27日(金)～28日(土)

会場：京都テルサ

内容：特別講演として養老孟司先生(東京大学名誉教授)、浅田次郎先生(直木賞作家)を招聘
ナショナルバイオリソースプロジェクト-ラット共催のシンポジウム
日本実験動物学会共催の教育セミナー

その他、セミナーを多数企画しております。詳しくは総会ホームページ(下記URL)を御覧ください。(http://www.jaeat-kansai.org/40kinen/kyotoindex.html)

2. 関東支部

講習会等	期日	場所	テーマ
実技講習会	H18. 9. 8～9	麻布大学 (神奈川県相模原市)	感染症と検査及び微生物クリーニング http://jaeat-kanto.adthree.com/
実技講習会	H18. 10. 21～22	慶應義塾大学医学部	イヌの取り扱いと実験手技 http://jaeat-kanto.adthree.com/
実技講習会	H18. 11. 9～11	慶應義塾大学医学部	ラット・マウスの取り扱い、実験手技 http://jaeat-kanto.adthree.com/
REG部会	H18. 11. 18	順天堂大学医学部	http://jaeat-kanto.adthree.com/

日動協からのお知らせ

1. 「実験動物技術師」の名称変更について

【経過】

昨年4月に社団法人日本技術士会から実験動物技術師の名称は、技術士法違反のおそれがあるので名称変更をしてほしい旨の申し入れがありました。

これに対し、本会としては、

- ①長期間使用してきた歴史があり、多くの技術師が社会で活躍していること等から、変更しないですむ方法はないものかと、農林水産省や弁護士さんと相談を重ねた結果、変更はやむを得ないとの判断になりました。
- ②新名称について、総務会、運営会議、教育・認定委員会等で検討し、3月開催の理事会において「実験動物一級技術者」、「実験動物二

級技術者」と呼称することに決定し、去る5月24日開催の総会にその旨報告しました。（英文名は、従来と同じ：実験動物一級技術者は、[Senior Laboratory Animal Technician]、実験動物二級技術者は、[Junior Laboratory Animal Technician] です。）

【今後の手続き】

今後は、本会ホームページに掲載（本文）するとともに、セミナーフォーラムの開催案内の際、資格認定登録者に個別に「お知らせ」すること。更新時期が来た場合には、順次「一級・二級実験動物技術者」として「認定証」を交付することにします。

2. 協会の英名も変更

協会は、同じ理事会において、協会英名を「Japanese Society of Laboratory Animals」としてきましたが、「Japanese Society for Laboratory Animal Resources」に変更することに決定しました。

3. 認定登録について

（１）「試験合格者」にお知らせ

試験合格者の中には、「合格」をもって資格認定者と勘違いされる方がいますが、本会の「実験動物技術者資格認定規程」では、「認定試験に合格した者の申請に基づき社団法人日本実験動物協会技術者名簿に登録し、認定証を交付する。」となっていますので、「合格」しただけでは資格認定者ではありませんので、認定申請書を提出して「認定登録」を受けるようにしてください。

（２）認定登録の期限について

認定試験に合格したにもかかわらず、いつまでも「認定登録」手続きをしない人、更新期限（認定登録後5年以内）が過ぎているにもかかわらず「更新手続き」をしない人が少数ですがいます。

このような、方々の「登録」「更新」は、原則として合格後二年、更新期限切れ後二年以内に手続きを完了するようにしてください。期限が切れた場合には、資格を失うことがあります。

以上の問い合わせは、

社団法人日本実験動物協会

TEL：03-3864-9730、

FAX：03-3864-0619、

Eメール：jsla@group.lin.go.jp

1. 第22回通常総会

本協会は平成18年5月24日に第22回通常総会を馬事畜産会館で開き、平成17年度事業報告及び収支決算並びに平成18年度事業計画及び収支予算を承認した。収支決算及び予算の概要は下記の通りである。

また、任期満了に伴い次期役員（18～19年度）を選任した。更に、長年本会理事及び監事として当協会事業に尽力された柏木氏、大和田氏、椎橋氏の3氏に感謝状と記念品を贈呈した。

■ 決算・予算

平成17年度収支決算	（収入額）	87,082千円	（支出額）	87,491千円
平成18年度収支予算	（同上）	71,851千円	（同上）	74,825千円

■ 役員

（会 長）	後藤信男
（副会長）	上松嘉男、吉川泰弘、橋本正晴
（専務理事）	高木博義
（常務理事）	前 理雄
（理 事）	小山内努、日柳政彦、渋谷仁志、清水英男、関口富士男、芹川忠夫 田口福志、中川真佐志、新関治男、福田勝洋、森村栄一、矢澤肇
（監 事）	斉田勝、波多野義一、夏目克彦

2. 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1回通信教育小委員会	18. 4. 6	通信教育の18年度の方針
第1回モニタリング技術小委員会	18. 4. 12	イヌ、サルの検疫と馴化マニュアルの作成
第1回情報専門委員会	18. 4. 13	LABIO21 No.25の企画
第1回教育・認定専門委員会	18. 4. 24	年間の事業計画について
第1回動物福祉評価委員会	18. 4. 24	模擬調査の調査・評価マニュアルの作成
監事会	18. 5. 2	平成17年度の事業監査
第46回理事会・第22回総会	18. 5. 24	平成17年度の事業報告及び平成18年度事業計画
第2回モニタリング技術小委員会	18. 6. 2	イヌ、サルの検疫と馴化マニュアルの作成
第1回技術指導員研修企画委員会	18. 6. 17	技術指導員研修会の企画について
「日常の管理」講習会	18. 6. 17	日本獣医生命科学大学にて

3. 行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所
モニタリング研修会	18. 7. 7～8	実験動物中央研究所
高校生対象実験動物二級技術師学科試験	18. 8. 20	認定校
通信教育（スクーリング）	18. 9. 2～3	日獣大、京都府立医科大
白河研修	18. 9. 11～15	家畜改良センター研修所
教育セミナー フォーラム東京	18. 9. 28	東京大学弥生講堂
教育セミナー フォーラム京都	18. 9. 30	京都府立医科大学
各論講義	18. 10. 19～20	馬事畜産会館
実験動物一級学科、二級学科・実地試験	18. 11. 26	日獣大、京都府立医科大
実験動物一級実地試験	19. 3. 4	日獣大

(2) 関係協会団体行事

◆ 第142回日本獣医学会学術集会

日 時：2006年9月22日(金)～24日(日)
会 場：山口大学吉田キャンパス
会 長：那須哲之

◆ 第23回日本疾患モデル学会

日 時：2006年11月30日(木)・12月1日(金)
会 場：群馬県伊香保温泉 福一
内 容：総会及び学術集会

◆ 第35回日本環境変異原学会

日 時：2006年11月20日～21日
会 場：リーガロイヤルホテル堺
大会長：八木 孝司

◆ 第37日本実験動物環境研究会平成18年度総会

日 時：2006年12月2日(土)
会 場：順天堂大学医学部
詳 細：kuhara@med.juntendo.ac.jp

(3) 海外行事

◆ 2nd AFLAS Meeting

日 時：2006年8月30日～9月1日
会 場：Jeju ICC, South Korea

◆ National AALAS Meeting

日 時：2006年10月15～19日
会 場：Salt Lake City, UT
詳 細：http://www.aalas.org

◆ NIH/OLAW Occupational Health & Safety Facility in Animal Conference

日 時：2006年9月13日～14日
会 場：Ithaca,
詳 細：jmp13@cornell.edu

※ 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。

お詫びと訂正

「LABIO21」No.24号の46ページKAZE欄、上から3行目、風を風に訂正。



ようやく春めいてきたある日のこと、三枝先生から電話を戴いた。LABIOの編集長を引き受けて貰えないかという内容だった。LABIOというのは2年ぐらい前に、漫談のような旅行記をやはり三枝先生の依頼で書いたことがある程度のお付き合いで、いきなり編集長とは。丁重にお断りしたのだが、三枝先生は遠くへ転勤になるのでは非にと仰る。いろいろとおだてられ、確か長い沈黙の後だったと思うが、ついに押し切られてしまった。いろいろな方が後になって良く引き受けたものだと言っているそうであるが、本人も全く同意である。大体LABIOは自分の駄文の掲載号以外は持っていないかつ、実験動物に関しても深く関わっているわけでもなく、いちユーザーみたいなものである。職場で動物実験委員を任されている程度である。飛んだ役(厄?)を引き受けてしまったようだ。しかもLABIOのバックナンバーを頂戴したところ、その内容の充実していること。益々責任の重さを痛感した。

話は変わるが、今年はモーツァルトの生誕250周年だそうだが、モーツァルトの使う音階は風の音の音階だそうで、そのため風の音を聞いているときのような爽快さがあるのだそう。

LABIOが爽快な風の音となって皆様の手元に届くよう微力を注ぎたいと思います。どうぞよろしくお願いいたします。

山田章雄

STAFF

情報専門委員会

担当理事	新関 治男	HARUO NIIZEKI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
〃	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
〃	川本 英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
事務局	前 理雄	MICHIO MAE
〃	関 武浩	TAKEHIRO SEKI

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

● LABIO 21 No.25 平成18年7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

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>

生命で見つける無限の世界



GETTING RESULTS

小さな生命から新たな可能性を見出し「健康で明るい社会づくり」をモットーに私たちは、より精度の高い実験動物・関連商品の開発に取り組んでいます。



CLEA



日本クレア株式会社

<http://www.CLEA-Japan.com>



REGISTERED ORGANIZATION
No.2827-ISO 9001



JAB
QMS Accreditation
R002