

Japanese Society for Laboratory Animal Resources
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

【特集】

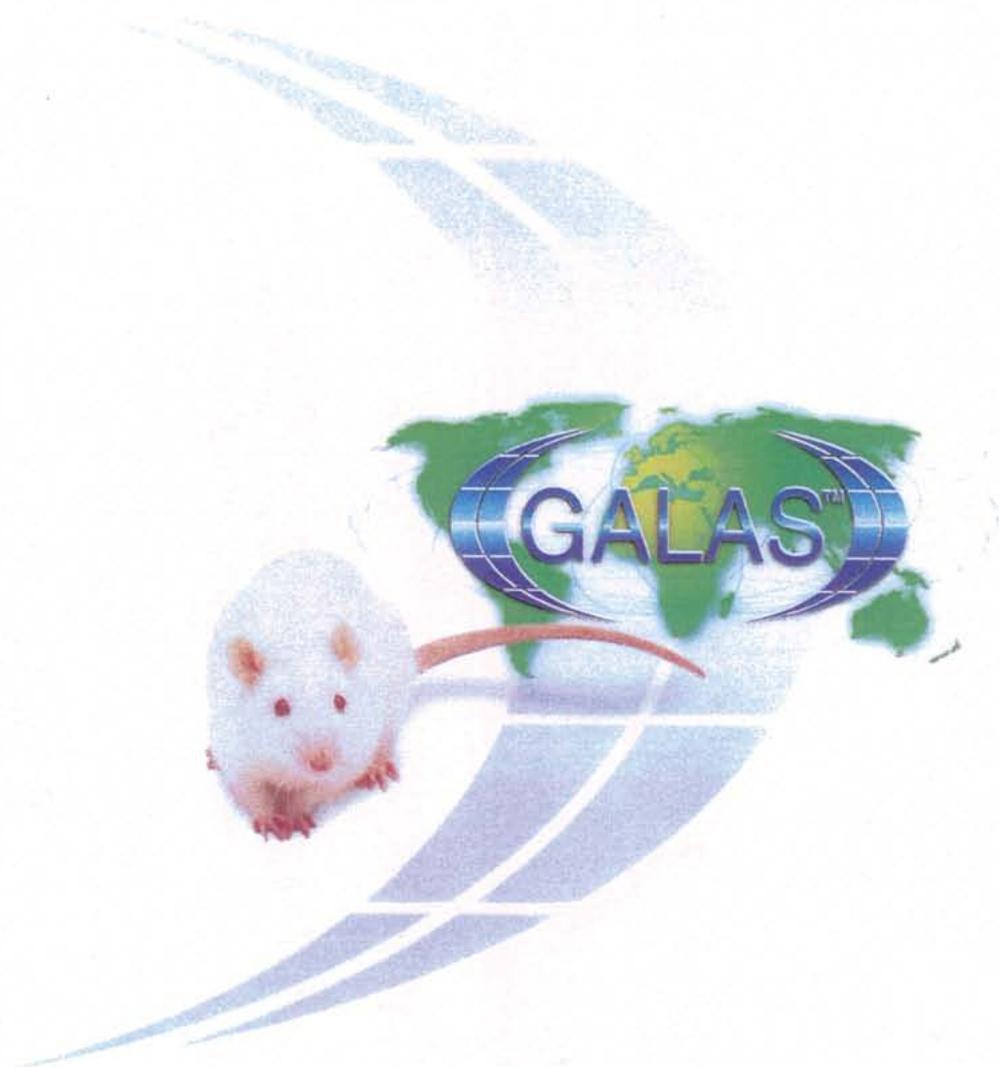
「日動協の実験動物福祉関連指針等が改定されました」

【トピックス】

「狂犬病の再発生で思うこと」



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



Taconic
Smart Solutions To Improve Human Health

 **CLEA Japan, Inc.**

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization


REGISTERED ORGANIZATION
No.2827-ISO 9001


JAB
QMS Accreditation
R002

 **日本クレア株式会社**
TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-Japan.com>



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)ジャパンケンネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。

1986年アメリカン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。

目次

「第54回日本実験動物学会総会に向けて」	4
「第41回日本実験動物技術者協会総会開催に向けて」	6
特集	
「日動協の実験動物福祉関連指針等が改定されました」	7
研究最前線	
「ヒト皮下脂肪から生まれる肝細胞の特性」	11
トピックス	
「狂犬病の再発生で思うこと」	16
疾患モデル動物開発エピソード⑫	
「ライソゾーム病モデルマウスの開発」	20
連載記事	
「サル感染症について② ―ズーノーシス―」	26
海外散歩	
「台湾 実動協・台湾実験動物交流会顛末記」	30
研究最前線	
「ラットの摘出心臓を72時間乾燥保存後蘇生させ 異所性心移植に関する研究」	33
海外技術情報	40
LA-house	42
学会の動き	43
技術者協会の動き	43
ほんのひとりごと	44
“速報”平成18年度実験動物一級技術者資格認定実地試験結果	44
協会だより	45
KAZE	46

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系ミニプタ 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>



第54回日本実験動物学会総会に向けて

大会長 須藤 カツ子
(東京医科大学)

第54回日本実験動物学会総会は『世界の中の日本』を考えてシンポジウムを企画致しました。21世紀に入り日本の実験動物は何処へ行くのか？分子生物学の発展により遺伝子導入動物がたくさん作製され、研究にもちいられているが、これからも遺伝子導入動物が実験動物の主要なツールになって行くのか？

今まででは思いも寄らない感染症が流行って来ているがこれからのウイルス学、細菌学研究はどうなっていくのか？海外および国内で行われている統廃合の製薬業界はこれからどうなっていくのか？安全性試験は減るのか？などなど実験動物を軸にして世界の中の日本を考える学会にしたいと計画を進めて来ました。まず始めに疾患モデルマウスの方向性をいろいろな観点から検証してみたいとシンポジウムⅠ『疾患モデルマウス：系統樹立と表現型解析の新潮流』を企画しました。疾患モデルマウスはどのように作られどのように系統化され、実験に利用されているのかに焦点を当てて討議して頂く予定です。また、シンポジウムⅢでは『マウス関節炎モデル』と特定の疾患に限定して検証してみたいと思います。遺伝子導入されたマウスや自然発生で見つかったマウスの関節炎モデルを使ってそれらはどのような発症機序でどの

ようにヒト疾患モデルとして利用されているのかについて国内および外国の関節炎研究者を迎えて討議して頂く事にしました。また、疾患モデル学会との共催シンポジウムにおいてもシンポジウムⅥ『ノックアウトマウスin Japan』と題して、日本特有の遺伝子導入方法を紹介し、その有用性を明らかにして頂く事になっております。

日本実験動物学会学術集会委員会シンポジウム(シンポジウムⅤ)においては『発生工学と再生医療』と題して多くの遺伝子導入動物と再生医療に利用されている現状が紹介されます。

そして、今回は海外情報講演と題して、発生生物学会、細胞生物学会との共催で『EUにおけるポストゲノムへの取り組み』を2人のプロジェクトリーダーをお招きしてお話頂く事になりました。ENUミュータジェネシスプロジェクトによりマウスの異常表現型ミュータントを取り、3000~4000系統が樹立されるなどの大きな功績をあげる一方、多くの系統が樹立されているにもかかわらず一向に異常表現型ミュータントの原因遺伝子の同定には繋がらないという事から、現在では遺伝子ターゲティング法を用いて変異マウスを網羅的に作出しようというプロジェクトが立ち上がっています。こ

の2つのプロジェクトの現状と将来展望についてお話頂く事にしておりますので、日本におけるポストゲノムの考え方や現在進行しているプロジェクトの考え方などとの相違点を考察し今後の方向付けの一助になれば幸いと考え企画しました。

教育講演では再生医療に大きな役割を果たしている造血幹細胞について『造血幹細胞研究の新しい展開』と題して中内啓光先生に最新の研究成果を報告して頂きます。以上が世界の中の日本における疾患モデルマウスに関するシンポジウムです。

同じく世界の中の日本を考えるものとして感染症があげられます。鳥インフルエンザやBSEの問題は日本国内で解決すれば良い問題ではなく、アジアや欧米諸国をも考慮に入れて研究を推進しなければならない問題です。SARSや西ナイルウイルスなどは耳新しい新興ウイルスとして身じかな存在となっております。また、オウム真理教が用いた炭疽菌やボツリヌス菌などを用いたバイオテロは、かつての日本では考えられない事件でしたが、いまや安全神話の無くなった日本では十分に考慮しなければならない問題となっております。そこで、シンポジウムⅣでは近年新しい感染症が報告されて

いますが、感染源の同定や病態の解析、予防、治療に実験動物がどのように関わり、どのように利用されているかについて世界を相手に感染症の最前線で研究しておられる先生方にお話頂く事にしました。また、今や国境の無くなった製薬業界の問題として新しいバイオ医薬品について検証してみる事にしました。シンポジウムIIでは、近年多数臨床に用いられるようになってきている生物学的製剤についてその安全性評価方法を解説して頂き、生物学的製剤の現状、品質管理、ICH-S6ガイドライン実施上の留意点等の報告後、製剤開発における実験動物の役割について討論して頂きます。

市民公開講座では現在BSEや鳥

インフルエンザなどで、食物についての感心が非常に高くなっている事を踏まえて『食の安全』について解説して頂く事にしました。基調講演として芹川忠夫先生に『動物を用いる試験と研究』と題して発がん物質や環境ホルモンの研究に実験動物が大きな役割を果たしている事をお話頂き、続いて東大農学部新しく開設された『食の安全研究センターの取り組み』について局博一先生にお話し頂く事にしております。お二人のお話と一般市民の考え方との橋渡しを明治大学教授であり、江戸川総合人生大学学長の北野大先生にして頂き、最後にタレントの前田武彦氏に『日常の食生活で気をつけている事』についてお話し頂く

事にしています。

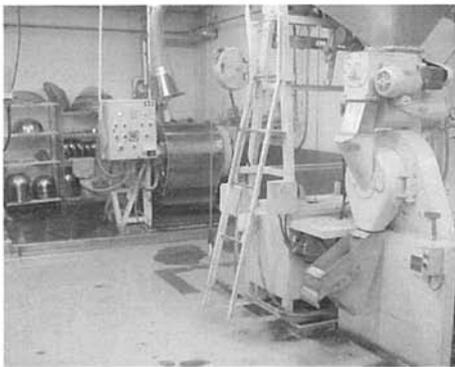
最後に本総会では、東南アジアの実験動物学会における日本の役割を考え、若い実験動物技術者の招聘を行いました。中国、韓国、台湾から実験動物の現場で働いている若い技術者を招き日本の現状を知って頂き、自国の発展に貢献して頂ける事を祈念して計画しました。器材協の協力により近年ない多数の展示ブースを設営する事になりました。新しく開発された器材の出展が期待されます。以上盛りたくさんのプログラムがありますが、参加頂いた方々には有益な情報が得られる物と確信致しております。

関係各位多数の参加をお待ちしております。

テラーメイドは医薬だけではありません。

オリエンタル酵母の特注飼料

お客様の試験目的にふさわしい飼料をご用意させていただきます。




各種モデル飼料

- 肥満
- 高脂血症
- インスリン抵抗性
- 脂肪肝
- 〔アルコール性〕
- 〔非アルコール性〕
- コリン無添加食
- アミノ酸混合飼料
(特定のアミノ酸過剰、無添加)
- 高脂肪食
- 高糖食
- 低タン白食
- 各種検体添加

各種ビタミン、ミネラルの過剰、不足、その他ご希望の配合で調製します。



オリエンタル酵母工業株式会社
ORIENTAL YEAST CO., LTD.

バイオ事業本部 ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 TEL:03-3968-1192 FAX:03-3968-4863
<http://www.oyc-bio.jp> E-mail:fbi@oyc.co.jp

営業所 ●東京バイオ営業所 ●大阪バイオ営業所 ●札幌営業所
関係会社 ●株式会社オリエンタルバイオサービス ●株式会社オリエンタルバイオサービス関東 ●株式会社ケービーティーオリエンタル

第41回日本実験動物技術者協会 総会開催に向けて



JAEAT

第41回日本実験動物技術者協会総会会長
小木曾 昇

第41回日本実験動物技術者協会総会を8年ぶりに東海支部が主催することになりました。会期は平成19年7月6日(金)～7日(土)の2日間、名古屋市中小企業振興会館(名古屋市中種区吹上 <http://www.u-net.city.nagoya.jp/mihonichi/kaijo/fukiage.htm>)で開催します。

昨今の医学・生物学研究の目覚ましい発展と実験動物に関わる法律の改正や規制の強化(動物輸入規制、外来生物法、感染症法、動物の愛護や管理に関する法律等)により、実験動物技術者の意識や対応が強く求められつつあります。その時代の要求の中で技術者として柔軟な対応すべく知識や技術力の向上に役立てられそうな企画を今回提供したいと思います。まず、適正な動物飼育維持・管理に関して、「環境モニタリングを考える—環境モニタリングの必要性について—」ならびに、第39回日本実験動物環境研究会との共催による「改定法制化における動物実験運営を考える—実験動物の福祉向上に視野を当て—」の2題のシンポジウムでご討論して頂く場を設けました。

教育講演として、総合機構で調査官専門員として製薬会社等の

GLP適合性調査をされておりました企業ではお馴染みである阿部康治先生(国立病院機構金沢医療センター)に、「データの信頼性保証とGLP」と題して講演をお願いしております。技術者における基礎的なGLPと実例についてご講演して頂けると幸いです。

また、特別講演を2題予定しています。特別講演1として、伊藤嘉男先生(名古屋市東山動物園)に、「これからの動物園」と題し今年『開園70周年』を迎えます動物園の再生を目指して、先生の今までのご経験やエピソードをふまえて名古屋の熱血さを語って戴きます。また、特別講演2では、感染症対策で全国的に著名な太田美智男先生(名古屋大学)には、「細菌の生き残り戦略と感染」の講演をお願いしました。さらに、名古屋大会を記念して日本実験動物技術者協会本部顧問である高橋久英先生(藤田保健衛生大学)にご講演して頂けることになりました。

その他、教育セミナー(ワークショップ)を加藤秀樹先生(浜松医科大学)、倉林譲先生(森ノ宮医療大学)をお願いしたのはじ

め、一般演題(口頭、ポスター)、ランチョンセミナーを予定しています。

機器展示については、十分な会場の広さがあるため、休憩や商談コーナーの設置は勿論のこと、出展企業のコマース(プレゼンテーション)できるミニ特設会場の設置を計画しています。

今回開催します会場は、最新のデザイン的な建物とは少々異なりシンプルではありますが、講演から器材展示、懇親会までの会場を1つの建物の中で行うことができるため、移動距離が少ないことと各会場への移動が容易であることが、最近の総会では見られなかった最大のメリットでもあります。最後に、記念すべき第40回京都総会后、間もない第41回の総会開催で多少の見劣りは覚悟の上ですが、実行委員が心一つにして皆様のご期待に添えるような盛会な総会にしたいと燃えております。皆様の温かいご支援とご協力を賜り、「元気な名古屋」、「エネルギッシュな名古屋」を体験戴きますことを実行委員一同お待ちしておりますので、是非ご参加いただけるようお願い申し上げます。



第41回総会ホームページ

<http://jaeat-tokai.hp.infoseek.co.jp/2007nagoya/>

JSLAR Guidelines for the Care and Management of Laboratory Animals

(社)日本実験動物協会 動物福祉専門委員会
鍵山直子

2005年6月22日の動愛法改正に基づき、環境省は、「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」(以下、「飼養保管基準」という。)を2006年4月28日に告示し、改正動愛法と併せて同年6月1日に施行した。

このことを受けて(社)日本実験動物協会(以下、日動協という。)は、動物福祉専門委員会(以下、「委員会」という。)のもとで、それまでの動物福祉関連指針等(以下、「日動協指針」という。)を全面的に見直した。「委員会」による改定案は2006年12月5日付けで運営会議により承認され、日動協のホームページに公開された。また、日動協は、会員ならびに実験動物生産者を対象に説明会を開催するとともに、技術指導員に対する周知徹底を図った。本稿では、「日動協指針」の改定にあたっての基本方針と要点について解説する。

1. 実験動物と動物実験

わが国は実験動物と動物実験を明確に区分していて、実験動物には環境省の「飼養保管基準」が適用され、動物実験には文科省、厚労省または農水省の「動物実験基本指針」が適用される。図示したように、実験に使用中の実験動物についても、「飼養保管基準」の規定を遵守するよう努めなければならない。また、実験動物といえども、動愛法における虐待等にあたる場合は罰則が科せられ

るので注意してほしい(第44条)。

「飼養保管基準」は、実験動物の適正な取扱いを推進すべく、すべての施設にあまねく適用される。したがって、ブリーダーをはじめ、「動物実験基本指針」の対象とならない機関も、「飼養保管基準」の規定を遵守するよう努めなければならない。それに対する「動物実験基本指針」は、対象を動物実験等の実施機関に限定し(図1の下段を参照)、科学的合理性に基づく実験操作の適正化を指導するものである。

担当理事	田口福志	(日本クリア)	委員	関口富士男	(第一三共)
委員長	鍵山直子	(実中研)	委員	外尾亮治	(動繁研)
委員	日柳政彦	(日本医科学動物資材)	委員	森村栄一	(日本チャールス・リバー)

2. 日動協指針の構成

「日動協指針」は、「飼養保管基準」を踏まえた、ブリーダーのための実験動物の飼養・保管、輸送および処分に関する指針であり、次の5編で構成されている。

- ・実験動物福祉憲章（「福祉憲章」と略す。）
- ・生産施設における福祉指針（「福祉指針」と略す。）
- ・実験動物の安楽死処分に関する指針（「安楽死処分指針」と略す。）
- ・実験動物福祉推進の手引き（「福祉推進の手引き」と略す。）
- ・実験動物の輸送に関する指針（「輸送指針」と略す。）

「福祉憲章」は、「飼養保管基準」に示された“動物を科学上の利用に供するにあたっての基本的な考え方”（動物の生理、生態、習性等に配慮し、動物に対する感謝の念及び責任をもって適正な飼養及び保管並びに科学上の利用に努めること。）を反映させつつ、実験動物の福祉向

上に向けての日動協のビジョンとミッションを5か条に謳いあげている（資料1）。

「福祉指針」では、「飼養保管基準」の一般原則を踏まえ、生産施設における実験動物の福祉向上に関する要諦を、社（所）長の責務、生産計画の立案、飼育管理、動物の輸送および動物の処分の5項目にまとめた（資料2）。「福祉憲章」と「福祉指針」の改廃は、動物福祉担当理事の発議により、運営会議による議を経て行う。

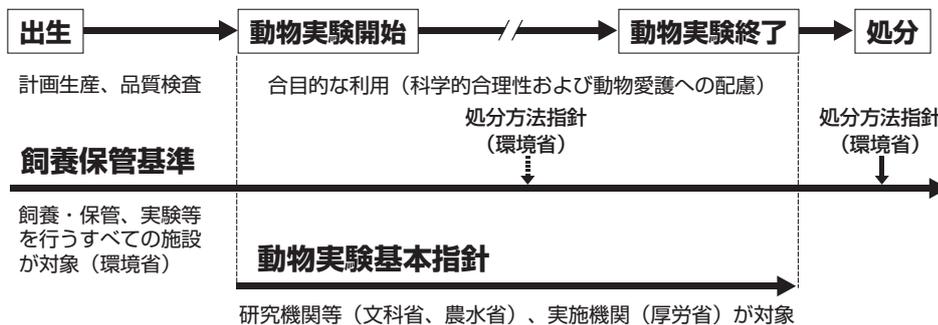
「福祉指針」に基づいて、「安楽死処分指針」、「福祉推進の手引き」、「輸送指針」の3細則が定められた。「安楽死処分指針」は、「飼養保管基準」第3 共通基準の7 施設廃止時の取扱い、および第4 個別基準 1 実験等を行う施設 (2) 事後措置に基づいて策定したが、処分の具体的方法については、動愛法に基づく「動物の処分方法に関する指針」（1995年7月総理府告示第40号、2001年1月の中央省庁等の再編により、

事務が環境省に移管）に従った。

「福祉推進の手引き」では、「飼養保管基準」の第3 共通基準および第4 個別基準を生産現場に合わせて具体化するとともに、委員会規程ならびに教育に関する規程それぞれのひな型を添付した。

「輸送指針」は、「飼養保管基準」の第3 共通基準の6 輸送時の取扱いを踏まえ、全動物種に共通する総論的指針と動物種ごとの各論的指針に分けて記述した。

なお、「福祉推進の手引き」および「輸送指針」には、業界の経験とデータをもとに妥当と判断された飼育室内環境と輸送容器サイズの目安を示した。これらの数値を参考にしつつ、各社が自主的に環境条件を設定し、作業標準（SOP）等に明文化することを望むものである。「安楽死処分指針」、「福祉推進の手引き」および「輸送指針」については、新しい知見や技術が容易かつタイムリーに取り込めるよう、「委員会」による改廃が可能とした。



動物実験基本指針の対象

- 文科省：大学、大学共同利用機関法人、高等専門学校、文科省の施設等機関、独立行政法人、民法第34条による文科省所管の法人
- 厚労省：厚労省の施設等機関、独立行政法人、民法第34条による厚労省所管の法人、その他の厚労省が所管する法人
- 農水省：農水省の機関、独立行政法人、民法第34条による農水省所管の法人

実験動物の生涯における飼養保管基準と動物実験指針の適用

図1

3. 社内規程の策定

生産各社は「飼養保管基準」に基づき、また、「日動協指針」を参考にした社内規程を、自主的にしっかりと作っておきたい。特に配慮してほしいのは次の2点である。

1) 3Rの重みづけ

「飼養保管基準」は、3RのうちのRefinement（できる限りの苦痛軽減）にウエイトを置いている。生産現場においてもRefinementは日常業務（飼養・保管、輸送およ

び最終処分)に不可欠なコンセプトであるから、Refinementをよりどころにした規程を作れば、実務者に分かりやすく、かつ、周知徹底も容易であろう。また、ひとくちに生産者と大括りしても、ブリーダーからディーラー、輸送専業と幅があるので、「飼養保管基準」に網羅的な社内規程は必ずしも必要ではないが、以下の点に注目しつつ推敲することは共通して有意義と考える。

すなわち、「飼養保管基準」の第3共通基準にある、動物の健康と安全の保持(飼養・保管の方法、施設の構造、教育訓練)、生活環境保全、危害防止(施設の構造・飼養保管方法、逸走時対応、緊急時対応)、人と動物の共通感染症に関する知識の習得、記録管理、輸送時の取扱い、施設廃止時の取扱い、および第4個別基準に示された実験動物の受け渡し時における情報提供(適正な飼養・保管方法と感染症)を踏まえて項目立てすれば、「飼養保管基準」との整合性が得られやすい。

しかし、昨今は実験動物を生産す

るだけでなく、動物実験を受託しているブリーダーも少なくない。このような施設では、実験動物の飼養・保管だけでなく侵襲性の高い実験操作が行われる場合もあるので、依頼機関を所管する行政当局の「動物実験基本指針」(文科省、厚労省または農水省)に基づいた規程も必要になるであろう。ちなみに、「動物実験基本指針」は、2R(Replacement:できる限りの代替法利用、Reduction:できる限りの使用数削減)を含む3Rのすべてを等しく取り込んでいる。

このような場合、社内規程はどのように作成すべきであろうか。飼養・保管に関する規程がすでに存在し、運用されていれば、これに実験計画の立案と実験操作に関する事項を細則等で追加するものひとつである。あるいは、飼養・保管の規程と並行して動物実験に関する規程を新たに設ける方法も考えられよう。

生産者とは逆のケースになるが、大学等を所管する文科省は全国7箇所「動物実験基本指針」に関する説明会を開いた。その席で、動物実

験に関する機関内規程に「飼養保管基準」を含めるのか、別途作るのかは各機関の長が判断すべきことであるとの見解を示している。上に述べたどちらの方法も行政的に受け入れられるものと推察される。

2) 生産規模

「飼養保管等基準」は第1一般原則の3 周知で、「飼養保管基準」の遵守に関する指導を行うことは管理者の責務であり、そのための手段として委員会を設置するか、またはそれと同等の機能を確保すること、および指針もしくは規程を策定することを求めている(注:「飼養保管基準」は、機関の長等、実験動物の飼養・保管に関して責任を有する者を管理者に含めている)。客観性および必要に応じた透明性を確保しつつ、実験動物の飼養・保管を適切な方法で行うことが、自主管理には重要である。

小規模生産の場合においては委員会の設置はおろか、それと同等の機能を確保することすら困難な状況もあり得る。しかし、委員会機能は自主管理の要であり、実験動物の生産者に対する社会的信頼と直結する重要事項であるから、より柔軟な対応も含めて真摯に取り組む必要がある。このことに関して日動協の「委員会」は、何らかの支援プログラムの樹立について検討を始めたところである。生産者の団体である日本実験動物協同組合とも連携しつつ、アクションプランを提案してゆきたい。

4. 「動物愛護管理基本指針」への対応

環境省は、動愛法に基づいて定められた「動物愛護管理基本指針」のなかで、実験動物の適正な取扱いの

資料: 1

実験動物福祉憲章

社団法人日本実験動物協会

平成6年11月

改定 平成18年12月

1. 私たちは、実験動物を慈しみ、実験動物に感謝します。
2. 私たちは、責任をもって、実験動物を適正に取扱います。
3. 私たちは、科学的知識と技術を深め、実験動物の品質向上に努めます。
4. 私たちは、環境の保全に配慮して、実験動物施設を管理します。
5. 私たちは、法規を守り、幸せで豊かな社会の発展に尽くします。

憲章の改廃

本憲章の改廃は運営会議の議を経て行う。

資料：2

推進に関して構すべき施策として、『関連省庁、団体等と連携しつつ、3Rの原則や実験動物の飼養保管等基準の周知が、効果的かつ効率的に行われるようにすること』、および『国は、実験動物の飼養保管等基準の遵守状況について定期的な実態把握を行うこと』をあげている。

動愛法は、実験動物施設を登録・報告・検査の対象から除外している(第10条第1項)。では、どのような形で生産施設に対する実態把握は行われるのであろうか。ここで、「日動協指針」の改定をはじめ、日動協が1985年から20年間余にわたって実施してきた実験動物技術者の教育訓練と資格認定事業が、生産施設を対象とした周知活動そのものであることに気づいてほしい。今年で4年目となる生産施設の調査・評価システムは、国による実態把握とよくハーモナイズする、きわめて有効な方策であることも理解されよう。

そのような意味から「委員会」は、動物福祉調査・評価委員会(八神健一委員長)および教育認定専門委員会(大和田一雄委員長)と協働歩調をとりつつ、実験動物の福祉向上に関する普及・啓発活動をいっそう推進するとともに、日動協による調査・評価システムの完成に貢献したいと考えている。

資料

1. 実験動物福祉憲章
2. 生産施設における動物福祉指針

生産施設における動物福祉指針

社団法人日本実験動物協会

平成11年3月

改定 平成18年12月

前文

実験動物は医療技術の向上、新薬の開発、生命科学の発展等に欠かせない生物資源である。実験動物の科学上の利用にあたっては、動物が命あるものであることにかんがみ、適切な利用に配慮するとともに、できる限り苦痛を与えないようにすることが重要である。そのためには、「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月環境省告示第88号)」に基づき、動物に対する感謝の念および責任をもって適正な飼養および保管ならびに科学上の利用を図らなければならない。また、人の生命、身体等への侵害を防止し、周辺的生活環境の保全に努めなければならない。

1. 社(所)長の責務

- (1) 生産施設における動物福祉に関するすべての責務を負う。
- (2) 動物福祉規程等を策定し、動物愛護の精神に基づいた実験動物の取扱いを徹底させる。
- (3) 動物福祉委員会を設置するか、または、それと同等の機能を整備して実験動物の取扱いが適正であるかどうかを諮問する。
- (4) 社(所)員の教育訓練を的確に実施し、動物福祉規程等の周知を図る。
- (5) 社(所)員の健康と安全を確保するとともに、施設周辺的生活環境の保全に努める。

2. 生産計画の立案

- (1) 実験動物の生理、生態、習性に配慮した生産方式を適用するとともに、飼育器具・器材等を開発・改良して、生産効率の向上を図る。
- (2) 実験動物の需要に関する情報を収集して生産計画を立案し、生産動物数の適正化を図る。

3. 飼育管理

- (1) 作業手順書(SOP)等を定め、飼養・保管の適正化に努めるとともに感染事故の発生を防止する。
- (2) 実験動物の健康と安全を保持し、動物の特性に応じて飼育環境を整える。
- (3) 成長過程や妊娠、幼若個体等、動物の状況に合わせた飼育管理を行う。
- (4) 飼育管理には、可能な限り認定実験動物技術者等の有資格者を充てる。

4. 動物の輸送

- (1) 「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」に基づき、また、本協会の「実験動物の輸送に関する指針」を踏まえて、安全かつストレスの少ない輸送に努める。

5. 動物の処分

- (1) 「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」に基づき、「動物の処分方法に関する指針」(平成7年7月総理府告示第40号)に従って策定された本協会の「実験動物の安楽死処分に関する指針」に準拠して、できる限り苦痛の少ない方法をもって動物を処分する。

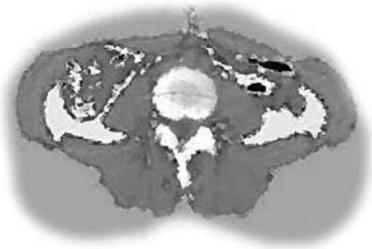
附則

本指針の実効性を高めるために必要な細則等は別に定める。

指針の改廃

本指針の改廃は運営会議の議を経て行う。

ヒト皮下脂肪から生まれる肝細胞の特性



国立がんセンター研究所がん転移研究室 独立室長
落谷 孝広

はじめに

生物に由来そなわっている自己再生能力を最大限に引き出し、難病治療に対する新しい手法を開発する目的で、再生医学の分野が注目されている。特に近年では受精卵から樹立された胚性幹細胞（ES細胞）はもちろん、倫理面や安全性などの理由から、生体内に存在している体細胞由来の幹細胞が脚光を浴びており、多くの研究機関で幹細胞の分離や同定、そして可塑性、多分化能についての詳細が明らかにされつつある。

体細胞由来の代表的な幹細胞として、骨髓細胞が挙げられ、実際に医療の現場で白血病や血管新生の治療材料として既に使用されている経緯がある。また一方で、この骨髓細胞由来幹細胞には血球系のみでは無く、生体を構成している様々な組織や細胞へと分化する能力を有している細胞群の存在が示唆されている。さらに最近では、脂肪組織中に含まれる間葉系幹細胞の利用も盛んに研究され、一部

は既に臨床に応用され始めている。本稿ではこの脂肪stem細胞の利用を中心に間葉系幹細胞が果たす再生医療への応用と展望を概説したい。

幹細胞の種類と特性

stem細胞の最たるものはES細胞であり、1981年にマウスの受精卵から樹立され（文献1）、その後1998年にヒトの胚からも樹立された（文献2）。しかし、たとえヒトES細胞であっても、すぐさま人体への移植ができる訳でもなく、まず立ちはだかるのは拒絶の問題だ。しかし、最近、自分自身の細胞を使って、失われた臓器や組織を修復する、実現すれば、拒絶反応のないまったく新しい再生医療の道が開かれる、そんな夢のような話を実現するかもしれない、希望を抱かせる実験に京都大学の山中伸弥教授らのチームが成功して話題を呼んだ（文献3）。

マウスの尾の皮膚から取った細胞に四種類の遺伝子（Oct3/4、Sox2、c-Myc、Klf4）を働かせる

と、胚（はい）性幹細胞（ES細胞）のような能力を持つ細胞に変化するというのが、それだ。終末分化を遂げた皮膚細胞から「万能細胞（ヒトの身体を構成する全ての細胞を作る能力）」が作れると証明した点で、これまでの常識を覆す発見だ。

ヒトES細胞の研究には、これまで乗り越えなければならない大きな壁があった。代表的な胚性幹細胞は、受精卵を壊さないと得られない。たとえ不妊治療で廃棄される運命にある受精卵を用いる場合でも、受精卵を「生命の萌芽」とみなす価値観からすれば許されない行為となる。このため、西欧の国々では、実験そのものを容認しないところが少なくない。核を抜いた未受精卵に体細胞の核を導入して得られるクローン胚からES細胞を作る場合も、クローン人間の誕生につながりかねず、抵抗感は強い。それらを規制する法律も定まっていない。

受精卵も、未受精卵も、倫理的側面のみならず、卵子を提供する

女性や社会全体に及ぼす影響も問題だ。京大の研究成果は、こうした問題の多くを回避できる可能性を持っているために世界中から注目される由縁だ。しかし、裏を返せば現時点ではヒトES細胞の医療への応用はそう簡単ではないことを物語っており、ヒトへの実際の応用には多くのハードルが待ち

受けている。このようなES細胞の持つ問題点を表1にまとめたが、現在ではES細胞の弱点を回避するために、ヒトの成体や胎児、羊水などに広く存在し、可塑性を持った間葉系幹細胞の存在も大きな注目を集めている。同じく表1にその特性をまとめた。ES細胞と比較して見ると明らかのように、

幹細胞のソースとしての特性を考えた場合、倫理的なバリアーの低さ、テラトーマをつくらないとう安全性、細胞の培養のしやすさ、すでに患者自身の幹細胞が利用可能な事実、等の点からは間葉系幹細胞が有利と見える。しかし、間葉系幹細胞にはES細胞のような全能性はなく、一部の細胞への可塑性が認められているに過ぎないことなどの不利な要素も存在している。

表1 ES細胞と間葉系幹細胞の性状比較

ES細胞	間葉系幹細胞
受精卵を破壊して作成	成体の組織から採取
培養にフィーダー細胞やLIF等の特殊培地が必用	比較的簡単に培養出来る
未分化能維持が困難	未分化能維持は比較的容易
大量の細胞が作成可能	大量の細胞が作成可能
全能性がある	全能性はないが可塑性はある
テラトーマを作る	テラトーマは作らない
自家移植のためにはクローン技術等が必用	自家移植が可能

ヒト間葉系幹細胞の種類と肝細胞分化の現状

ヒト間葉系幹細胞は人体の多くの部位に存在している。その分布を図1に示した。幹細胞とはそもそも我々の身体を構成している多種多様な細胞や組織に分化する能力を有し、なおかつ自己と同じ性質を持った細胞を複製する能力（自己複製能）を兼ね備えた細胞と定義される。そのなかで、特に骨髄、脂肪組織、臍帯血、等にわずかに含まれる可塑性を持つ細胞を間葉系幹細胞と呼ぶ。

この間葉系幹細胞は、骨髄では0.001~0.01%（文献4）、皮下脂肪組織には2~3%（文献5）、そして臍帯血中には60%（文献6）ほど存在していると報告されている。同様の可塑性を有する細胞が、歯胚（親知らず）や羊膜、羊水中にも存在することも話題となっている

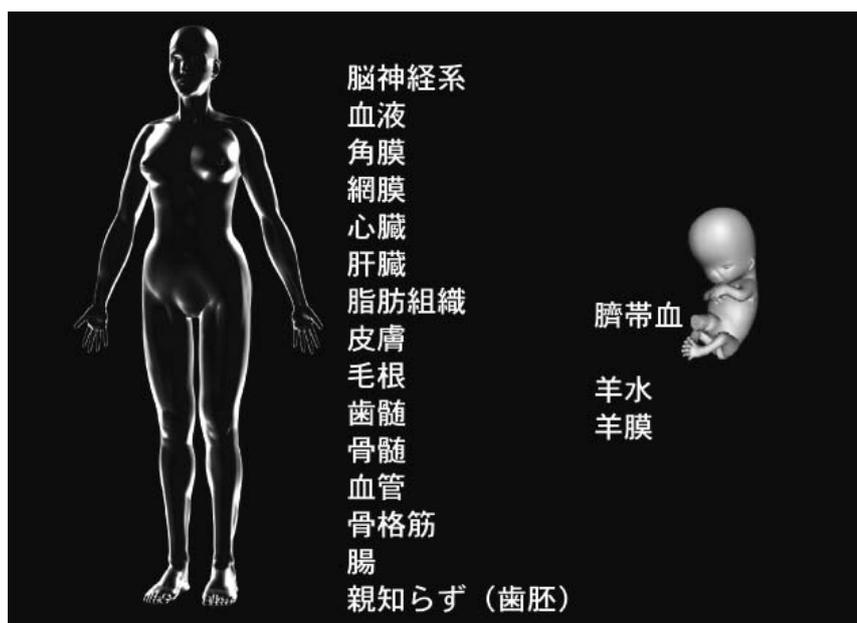


図1 幹細胞が見つかった部位

最近、大人のからだでも、このようなたくさんの部位に幹細胞が存在することがわかってきた。特に、骨髄、脂肪、臍帯血などに存在する間葉系幹細胞を、中胚葉以外の様々な細胞へと分化する手法が開発され、再生医療への応用の期待が高まっている。

る。

こういった間葉系幹細胞はヒト肝細胞を作製するためのソースとして研究が盛んである。表2にこれまで報告された肝細胞分化の系をまとめた。いくつかの報告例は肝細胞の分化誘導因子としてFGF4（繊維芽細胞増殖因子）を主体としたサイトカインの刺激に依存した系である。このFGF4が幹細胞から肝細胞を誘導する上で重要な因子となることを初めて報告したのは筆者らのグループである。

我々は当初、マウスES細胞を肝細胞へと分化する工夫を重ねていた。その課程で、肝障害を有す

るマウス個体へES細胞を移植すると、移植されたES細胞は障害を持つ肝臓だけにホーミングし、そこでテラトーマを形成した。そのテラトーマを観察すると、およそ30~40%の領域が肝細胞へと分化していた（文献7）。この系をもとに、ES細胞が肝細胞へと分化するために必須な因子として、HGF、FGF1、FGF4を見いだした（文献8、9）。この因子の組み合わせにより、わずか10日間でマウスES細胞をシャーレの中で肝細胞に分化させる系を確立した。この中で特にFGF4の働きは重要であり、肝障害に伴って実際の成体でも発現が誘導されることも明

らかとなり、世界中の研究者が肝細胞分化にこのリコンビナントタンパク質を利用している。この方法は、カニクイザルのES細胞でも有効であったが、その間細胞分化誘導効率はマウスのそれと比べて低く、マウスES細胞で得られた分化条件が霊長類であるヒトES細胞にそのまま外挿出来るかどうかは疑問である。

ヒト脂肪組織に由来する間葉系幹細胞の肝細胞分化

ポーランドから外国人招聘研究者として来日しているAgnieszka Banas研究員らを中心とする我々の研究グループはヒト皮下脂肪組

表2 間葉系幹細胞の肝細胞分化

幹細胞の種類	分化誘導法	特色
骨髄由来間葉系幹細胞	FGF2+HGF+OsM処理 肝細胞との共培養 FGF4+HGF処理 HGF+OsM処理 肝障害動物（四塩化炭素） （アリルアルコール） （X線照射） HGF処理+肝障害（四塩化炭素）	In vitroの培養系 （増殖因子処理） 肝再生の動物への移植
臍帯血由来間葉系幹細胞	FGF4+HGF+三次元培養 FGF4+HGF処理 HGF+OsM処理 FGF4+HGF+肝障害（四塩化炭素） 肝障害（四塩化炭素） 肝細胞との共培養 発生中の胎児内へ移植	In vitroの培養系 （増殖因子処理） 肝再生の動物や胎児への移植
脂肪組織由来間葉系幹細胞	HGF+OsM+DMSO処理 HGF+FGF1+FGF4処理	In vitroの培養系 （増殖因子処理）

織由来の間葉系幹細胞に注目している（文献10、11）。おなかについているやっかいな脂肪組織はメタボリックシンドローム等の象徴的存在として嫌われものだが、そのなかに存在している幹細胞の潜在能力には一目置くべきであろうし、それどころかメタボリックシンドロームで悩む我々の救世主である可能性もある。その理由はいくつか挙げられる。まず間葉系幹細胞の兄貴分とでもいうべき骨髄のそれと比べて、採取が容易である。骨髄液は骨盤骨（腸骨）から注射器で採取されるが、通常は全身麻酔の措置がとられるなど、危険性が無い訳ではない。しかし、皮下脂肪の場合は、脂肪吸引等の簡便で安全性の高い技術が発達しており、局所麻酔で十分な措置であり、容易である。さらに組織当たりの幹細胞のコンテンツも高い。間葉系幹細胞自体の性状は骨髄のそれとは多少異なっているものの、やはり可塑性を持っており、軟骨、骨、脂肪細胞へ良く分化する。この脂肪組織由来の間葉系幹細胞を前述のHGF、FGF1、FGF4のサイトカイン・カクテルで処理し、さらに肝細胞への成熟を促すとされるオンコスタチンMやデキサメサゾンで刺激すると、肝細胞の形質を示す細胞が分化してくる。形態は完全にヒト肝細胞と同様とは言えないが、細胞間に

は擬胆管様構造が出現し、アルブミンなどの肝細胞特異的な生物学的分化も認められる。さらに我々は、国立国際医療センターの大河内仁志先生や、徳原真先生と共同で、同センターで腹部のがん手術を受けた患者さん7人から、インフォームドコンセントのもとに手術の際に皮下脂肪を5グラムずつ採取し、その中から間葉系幹細胞を分離・培養し、前述のサイトカインを3種類加えて、約40日間ほど培養したところ、ほぼすべてが肝細胞に似た細胞へと変化した。この肝細胞の性質を調べたところ、血しょう成分であるアルブミンや薬物代謝酵素など、肝臓でしか合成されないたんぱく質が14種類以上検出され、有用なたんぱく質の合成機能が確認された（文献12）。また、薬物で人工的に肝機能不全に陥らせたマウスに、この肝細胞を1匹当たり約1千万個、注射で移植したところ、上昇していたアンモニア濃度が24時間で正常レベル近くまで低下したことから、生命を維持する上で重要な肝臓のアンモニア分解機能が正常に働くことも確かめられた。

これからの展望

実際に、がん患者さんといった臨床を想定した脂肪組織の間葉系幹細胞を、自家移植可能な自身の肝細胞に分化出来た事実は意義深

い。しかし、このような分化誘導した「肝細胞」と称する細胞が、本当にどこまで成熟肝細胞としての能力を持っているのか、腫瘍を作る危険性は無いのか、もとの未分化な細胞に変化してしまう恐れは無いのか、等の多くの疑問にこれから答えを慎重に出していく必要がある。

おわりに

韓国・ソウル大教授によるクローン胚ねつ造が発覚したことでこれまで希望に満ちていた患者さんたちは再び大きな闇へと突き落とされていった。そんな状況の中、間葉系幹細胞そのものや、そこから分化させた様々な細胞がヒトにも治療応用できれば、その恩恵ははかりしれない。ただ、実際の治療に結びつけるのは容易なことではなく、多くの難関が待ち受けている。進歩が著しいとはいえ、神経や肝臓、膵臓等といった目的の細胞に正確に分化させる方法もまだ多くは研究段階だ。体内に移植した後、がん化しはしないか、がんにならずとも他の細胞に変化してしまう可能性も否定できない。まだまだ我々には幹細胞の持つ大きな可能性と魅力を十分に理解したといえる段階には無く、従ってES細胞や間葉系幹細胞が持つかもしれない闇の部分に鋭いメスを入れる勇気と忍耐が肝要だ。

文献

- Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981 Jul 9;292 (5819) :154-156.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998 Nov 6;282 (5391) : 1145-1147.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006 Aug 25;126 (4) : 663-676.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999 Apr 2;284 (5411) : 143-147.
- Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem*. 2004;14 (4-6) : 311-324.
- Bieback K, Kern S, Kluter H, Eichler H. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells*. 2004;22 (4) : 625-634.
- Yamamoto H, Quinn G, Asari A, et al. Differentiation of embryonic stem cells into hepatocytes: biological functions and therapeutic application. *Hepatology*. 2003 May;37 (5) : 983-993.
- Teratani T, Yamamoto H, Aoyagi K, et al. Direct hepatic fate specification from mouse embryonic stem cells. *Hepatology*. 2005 Apr;41 (4) :836-846.
- Yamamoto Y, Teratani T, Yamamoto H, et al. Recapitulation of in vivo gene expression during hepatic differentiation from murine embryonic stem cells. *Hepatology*. 2005 Sep;42 (3) : 558-567.
- Banas A, Quinn G, Yamamoto Y, et al. "Stem cells into liver"--basic research and potential clinical applications. *Adv Exp Med Biol*. 2006; 585: 3-17.
- 山本雄介, Agnieszka Banas, 寺谷工, 落谷孝広. バイオ人工肝臓の新しいソースとしてのステム細胞の評価。再生医療、2006, Vol.5, No.3, 93-99.
- Banas A, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology*, in press

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、株式会社バイオメイトのHPLCによる血清中薬物濃度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(第)13-08-0297]
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 [有料職業紹介事業13-08-ユ-0309]
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

狂犬病の再発生で思うこと

岐阜大学名誉教授
源 宣之

1) はじめに

21世紀に入り、口蹄疫、高病原性トリインフルエンザ（家禽ペスト）、BSE、SARSなど様々な感染症がわが国に数十年振りにあるいは新たに出現している。今世紀がエマージング感染症時代と言われる所以であろう。そのような矢先、平成18年11月にフィリピンで犬に咬まれた二人の日本人が帰国後相次いで狂犬病で発病し亡くなった。まさにエマージング感染症がまた1つ発生した。本病が撲滅された「過去の感染症」と思ってきたあるいは発病すると100%死亡する怖さをすっかり忘れていた大多数の日本人にとって、これは

驚愕すべきニュースとなった。

これまで、私は東南アジアの国々で日本人観光客が何の躊躇することなしに繋がれていない犬や猫、時にはサルなどに近づき「可愛い」と云って無邪気に餌を与えたり、頭を撫でている光景に度々出会ってきたので、いずれ日本で狂犬病の輸入感染が起こるのではと心配してきたのである。

そこで、今回の発生を機会に、改めて世界の狂犬病の発生現況の中で、日本がどのような位置付けにあるのかを示す。また、わが国での狂犬病の再発生を防ぐには何が必要なのかを考察してみたい。

2) 日本周辺国の発生状況

過去10年間で狂犬病の発生あるいは狂犬病関連（リッサ）ウイルスの検出されていない国は、わが国の外に北欧三国、ニュージーランドおよび太平洋上の島国にすぎない（図1）³⁾。現在の世界における狂犬病の発生数は、毎年人で約33,000～35,000件、動物で33,000～54,000件とWHOに報告されている。しかし、これらのデータにはサーベランスの確立されていないアジア、アフリカ等多数の発生が考えられている地域からの正確な数値が含まれておらず、また、狂犬病と極めて類似した症状を示すリッサウイルス感染症もヨーロ

ッパを除き含まれていない。後述するが日本を含めて多くの地域での犬と人との発生比率は10～40倍であり、この比率から推測すると世界の犬の発生数は30万～50万頭となる。世界における狂犬病の主な感染源動物は、先進国で野生動物、発展途上国では犬で、人の狂犬病の99%は犬により発生している。したがって、狂犬病対策として先進国では経口ワクチンが野生



図1 狂犬病とリッサウイルス感染症の発生状況 (文献3より改変)

動物に投与されている。一方、発展途上国では、犬へのワクチン接種が重要であるが、経済、社会習慣、宗教観などにより十分に実施されていないのが現状で、それが狂犬病を減少させることの出来ない大きな原因である。

世界の狂犬病の発生状況について、ヨーロッパおよび新大陸地域については他紙面に譲り、日本周辺国に絞って記述する。

人の狂犬病は犬が主な感染源動物であるアジア、アフリカ、中南米地域に集中しているが、正確な件数は不明である。インドで30,000人、パキスタンで2,000~5,000人、バングラデッシュで2,000人、ミャンマーで500~1,000人が毎年狂犬病で死亡していると言われていいる。1984年に撲滅した韓国も1993年に北朝鮮との国境で再発生し、2002年には人を含めて77件に達している。図2には中国の人における発生状況を示した。1980年代に毎年4,000~7,000人の発生が認められたが、その後急激に減少させ、

1990年中頃には約100人までに低下させている。この減少は、犬への予防接種の励行と犬の飼育に対する高額な税金を課したからではないかと推測している。しかし、1998年から再び増加に転じ、2003年以降現在まで年間2,031~2,651人を記録している⁴⁾。この増加は、中国の最近の経済成長と関係しており、犬を飼育する国民が急増し、予防接種や放浪犬の捕獲などの対策が十分に行き届いていないのが原因であろう。なかでも、日本との交流の盛んな南部地域での発生増加が注目される。南部4省、広西壮族自治区、湖南省、広東省および貴州省のみで中国全体の60%が発生している⁵⁾。これらの地域では食肉として犬を飼育しているので、この点も発生増加と関連するのかもしれない。表1には今回の発生源となったフィリピンの状況を示した。人は犬と共に若干減少傾向にあるが、依然、世界で6番目に多い発生国である。ロシアにおける狂犬病は、1991年に情報

が公開されて以来年々増加しており、2005年には3,087件に達している²⁾。このうち1,140件(37%)が犬と猫の発生である。しかし、これらの数字のほとんどがウラル山脈より西地域からのデータであり、最近多数の船舶が日本に寄港しているが、それらの船の出航地域である沿海州やシベリア東部における狂犬病の発生状況はほとんど明らかになっていない。寄港する多くの船が犬を放し飼いで連れてきており、港町では厳重な注意が必要である。

一方、犬へのワクチン投与および放浪犬の取り締まりを強力に実施しているタイでの発生は、1990年に人で185人、動物(ほとんどが犬)で6,535件であったが、最近はそれぞれ約20人、約1,000件までに減らしている(図3)。以上の状況から、日本が世界の狂犬病多発地帯のまっただ中に位置していることを認識すべきであろう。

3) 日本の発生状況

わが国には、8世紀頃から狂犬病の知識は伝わっていたようであるが、流行の記録は江戸時代の18

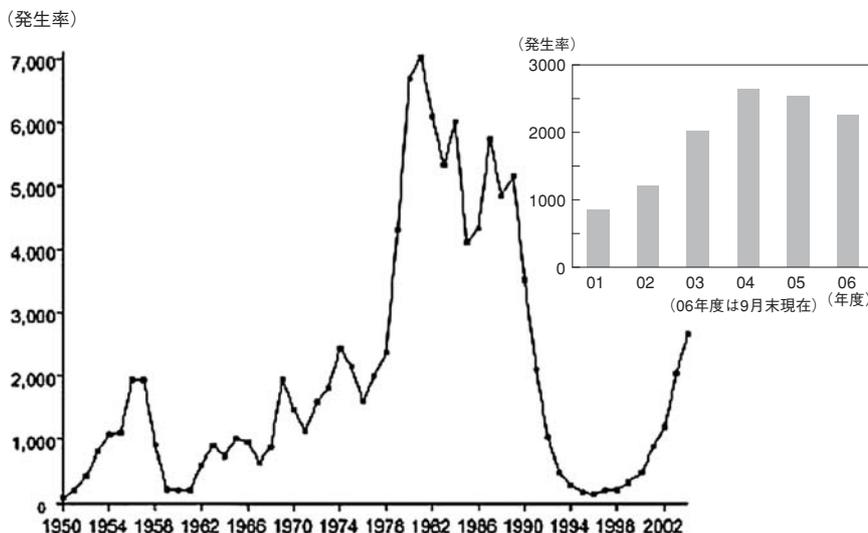


図2 中国における人の狂犬病の発生状況 (1950~2006)

文献4より改変

表1 フィリピンにおける狂犬病の発生状況

年度	発生数	
	人	犬
2000	359	?
2001	293	2550
2002	269	2365
2003	258	1901
2004	248	1546

世紀頃から散見される。しかし、正確な発生状況が記録されたのは、図4に示したように「獣疫予防法」が公布された1896年（明治29年）以降である¹⁾。わが国の狂犬病の発生状況は、これまでに多くの人達によって報告されている。したがって、ここではワクチンとの関係のみに焦点を絞る。図4で明らかなように、1897年以降大まかに2回の流行時期がある。最初は1924年の合計3,524件をピークとし、約30年間流行が続いた時期で、次が1950年の976件をピ

ークとする第二次大戦中およびその後の約10年間の時期である。最初の流行は、1922年に家畜伝染病予防法が改正され、1925年に犬への予防接種や放浪犬の捕獲などの対策が強力に推し進められた結果、その後10年間でほぼ沈静化された。日本での最後の流行は(?)、やはり1950年に狂犬病予防法が制定され、同様の犬対策が施された後7年間、1957年を最後に発生していない。今回の人での発生は1970年にネパールで犬に咬まれ、帰国後発病した学生の輸入感染以

来36年振りである。以上の事実は犬へのワクチン接種が狂犬病の予防に如何に有効であるかを明白に物語っている。図4でもう一つの重要なことは、人と動物（実質的にほとんどが犬）の発生数が、平行していることである。この点は、人の狂犬病が多数発生している地域では例外なく認められている（表1，図3）。したがって、人の感染源動物は犬であり、犬の予防対策を徹底すれば、人の狂犬病の発生を無くすることが出来ることを物語っている。

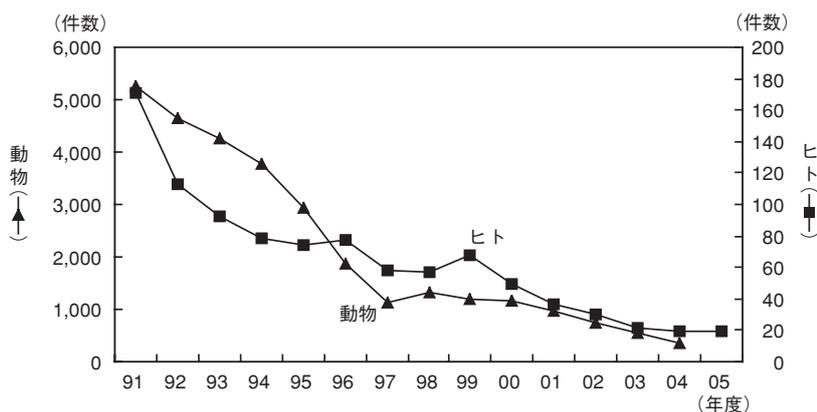


図3 タイにおける人と動物の年度別狂犬病発生数
(タイ赤十字, Veera Tepsumethanonのデータを改変)

4) 予防対策

日本では、1958年から国内に生息する動物を感染源とする狂犬病の発生がない。このことから、国内の動物に狂犬病ウイルスが侵淫していないと言える。したがって、わが国における本病の対策の基本は、今回の事例の如く海外で動物に咬まれ帰国後発病する輸入感染と海外からの狂犬病ウイルス感染動物の侵入および万一侵入した場合の備えである。

輸入感染症に対しては、むやみに放浪犬を始めとする知らない動物に近づかないことは当然であるが、犬の狂犬病の流行しているアジア・アフリカで長期間滞在する旅行者へ事前のワクチン接種を推奨すること、特に、それらの国々で都会から離れた地域に出掛ける人達は、咬まれた後の発病阻止（曝露後免疫）として用いる安全で効果の高い組織培養由来ワクチンを迅速に入手できない可能性も

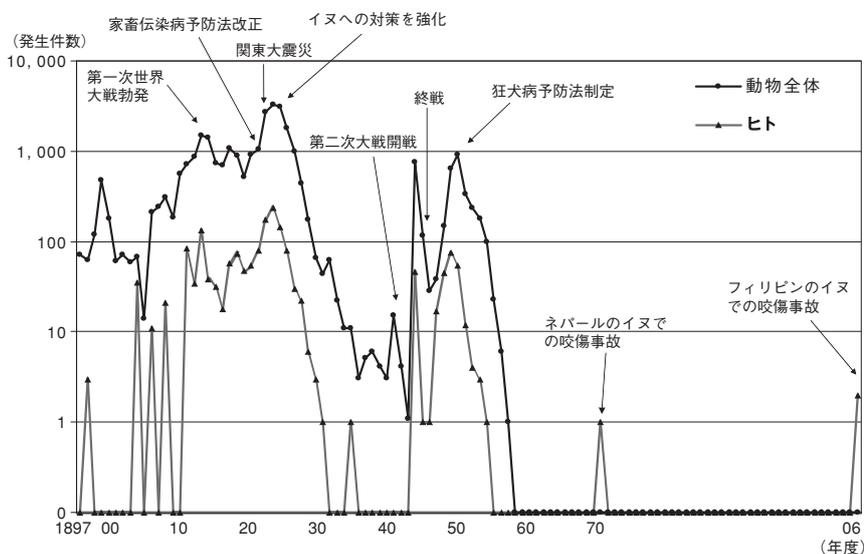


図4 日本における狂犬病の発生状況（1897～2006年）

あるので、ワクチンを事前に接種しておくことが肝要である。少なくとも狂犬病発生国で犬のみならず動物に咬まれた場合は、直ちに暴露後免疫をすることを常に広報することである。

動物の輸入に対しては、動物検査の強化である。我が国の狂犬病予防法による検査対象動物は、長い間犬のみであったが、2000年に猫、キツネ、スカンク、アライグマが検査対象動物に追加された。さらに、2004年犬、猫は生後3ヶ月目に初回免疫を、その4週間後に2回目の免疫を行い、その後6ヶ月間の待機期間並びに0.5国際単位以上の中和抗体の保持を義務付けることになった。さらに2005年にコウモリやプレリードッグ等は輸入禁止となった。これらの法律改正により、検査対象動物による狂犬病ウイルスの持ち込みは皆無になるものと期待される。また、他の野生動物や実験動物としての小型げっ歯類は、これまで年間100万匹以上が無検査で輸入されていたが、いずれも届け出制となり、これまでより厳しく監視されることとなった。問題は不法に輸入される動物である。記述したように、北海道や日本海沿岸の各港では、近年狂犬病の発生が増加している、あるいはそれが推測されるロシア、中国、ベトナム、北朝鮮からの船舶が多数入港している。また、日本国内で高価な価額で販売されている犬の密輸入の噂も伝え聞かしている。厳しい法律が施行されればされるほど、不法

行為が横行するのが世の常なのかもしれない。これらに対しては港湾での監視、捕獲、外国船への広報活動を強化する必要がある。さらに、オーストラリアを始めパプアニューギニア、フィリッピン、タイ等で確認されているリッサウイルスの侵入である(図1)。このウイルスが東南アジア全地域にどの程度広がっているのかはまだ明らかでない。早急にリッサウイルスの浸淫調査が望まれる。

以上のようにわが国周辺地域における狂犬病およびリッサウイルス感染症の発生近況は、決して楽観視出来るものではない。十分な検査制度が働いていても様々な感染症が新たな地域に出現していること、本病がきわめて危険な人獣共通感染症であること、犬は人への最大の感染源動物であること、万一発生した場合社会的な大混乱が予想されることなどを考慮すると、犬へのワクチン接種は国内での狂犬病流行阻止に極めて有効な手段と言えるであろう。最近日本における犬へのワクチン接種率(登録数に対する注射頭数)が約75%と10年前に比べ24ポイントも低下している。また、わが国のイヌの推定飼育頭数は1,245万頭とされており(日本ペット工業会統計資料、<http://www.jpffma.org/shiryu/shiryu-set.html>)、この数値を母数とすると40%の接種率に過ぎないことになる。わが国が犬へのワクチン接種により狂犬病の撲滅を達成した歴史を考えると憂慮すべき事態である。ワクチン接

種率を上げるためには、「本病は、最も恐るべき致死性人獣共通感染症であるが、人や動物にワクチン接種することにより、発病や流行を確実に阻止できる感染症でもある。」と広報活動することが重要である。



5) おわりに

以上、アジアを中心とする狂犬病の発現状況と予防対策に絞って記述した。狂犬病ウイルスはインフルエンザウイルスと異なり、その抗原性は極めて安定しており、ワクチンは予防としても暴露後の発病阻止としても極めて有効である。にもかかわらず、本病は世界で4,000年間以上にわたり人類を悩ませている。その最大の問題は発展途上国における経済事情である。もっと安価、安全、効果の高いワクチンを開発し、狂犬病の発生している発展途上国に援助することも日本の重要な使命である。

参考文献

- 1) 源 宣之: 獣医学1990、清水悠紀 臣ら編集、近代出版、東京、208~223(1990)
- 2) Rabies Bulletin Europe ホームページ: <http://www.who-rabies-bulletin.org/>
- 3) Warrell MJ, Warrell DA.: Rabies and other lyssavirus diseases. Lancet 363: 959-969, (2004)
- 4) Zhang YZ, Xiong CL, Xiao DL, et al.: Emerg Infect Dis, 11, 1983~1984, (2005)
- 5) Zhang YZ, Xiong CL, Zou Y, et al.: Virus Res, 121, 179~188, (2006)

ライソゾーム病モデルマウスの開発

—神経遺伝病の新規治療法開発を目指して—



独立行政法人医薬基盤研究所
生物資源研究部 実験動物開発研究室
研究リーダー

松田 潤一郎



はじめに

私たちは、ライソゾーム病のモデルマウスの作製と、それを利用した新しい治療法の開発を長年にわたり手がけてきた。幸い良き指導者、共同研究者に恵まれ、ケミカルシャペロン (chemical chaperone) という全く新しい概念の経口治療薬、しかも脳をターゲットとした治療薬の有効性をモデルマウスを用いて示すところまで研究が進展した。今までの研究を少し振り返り、話題提供としたい。



1. ライソゾーム病事始め

私たちがライソゾーム病モデルマウスの作製に取り掛かったのは、かれこれ15年ほど前の話になる。当時、私は国立予防衛生研究所 (略称、予研) の獣疫部実験動物第一室*に属しており、ハワイ大学医学部の柳町隆造先生の下での留学を終え、帰国したばかりであった。柳町先生は哺乳類の受精研究の権威で、ハワイでは私は連日マイクロマニピュレーターを操作してハムスターの顕微授精を行っていた。(予研の実験動物第一室は後に国立感染症研究所獣疫学部実験動物開発室を経て、厚生労働省の研究機関の再編により、現所属に移行した。)

さて当時の獣疫部長の内貴正治先生は糖脂質の専門家で、多くの脂質蓄積症を含むライソゾーム病にも興味を持っておられた。丁度そのころノックアウト (KO) マウスの作製が可能となってきたことから、是非、ライソゾーム病のモデルマウスを作ってみようという話になった。そこで紹介されたのが、東京都臨床医学総合研究所 (臨床研) の副所長 (現、国際医療福祉大学教授)、鈴木義之先生である。鈴木先生はライソゾーム病研究のパイオニアの一人で、小児神経学の専門家ということもあり、神経遺伝病であるGM1ガングリオシドーシスについて精力的な研究を進めておられ、本症の責任遺伝子であるβ-ガラクトシダーゼ遺伝子のクローニング、多様な臨床型と特定の変異遺伝子との関係を明らかにされ

るとともに、それぞれの変異酵素の細胞内での分子病理 (変異酵素の細胞内での異常な動態) について解明されつつあった。

β-ガラクトシダーゼ (ライソゾームの酸性条件下でもおにガングリオシドGM1の末端のガラクトースを加水分解する酵素) の遺伝子変異は、実は全く異なる症状を示す2つの疾患 (遺伝様式は常染色体劣性遺伝)、すなわち神経変性疾患であるGM1ガングリオシドーシスと、中枢神経の異常は無く骨軟骨の異常のみを示すモルキオB病 (蓄積物質はGM1ではなくケラタン硫酸) をもたらす。同一の遺伝子の異なる変異で起こる2つの疾患を統一的に理解するため、β-ガラクトシドーシスという疾患概念を鈴木先生たちは提唱されている (表1)。GM1ガングリオシドーシスは残存酵素活性

表1 β-ガラクトシドーシスの4臨床型

臨床型	GM1-ガングリオシドーシス			モルキオB病
	乳児型	幼児型	成人型	
経過 発症時期 死亡年齢	急性 0-6ヶ月 0-2才	亜急性 6-20ヶ月 3-20才	慢性 3才-30才 20才以上	慢性 5-10才 20才以上
障害臓器	全般	特定臓器		
	中枢神経、 内臓、骨軟骨 その他	中枢神経	大脳基底核	骨軟骨
残存活性 遺伝子変異	0~1% 多種類	2% R201C等	3~7% I51T等	2~4% W273L等
マウスモデル	β-Gal KO	BK	AK	FK

の多少や発症時期などから、乳児型、幼児型、成人型と多様であるが、基本的には乳幼児期に発症する進行性の神経変性疾患で、致命的な難病である。適切な動物モデルの利用なしには病態解明や治療法開発は非常に困難である。GM1ガングリオシドーシスのモデル動物としては、ネコ、イヌ、ヒツジなどの自然発症モデルが知られていたが、マウスやラットなどの小動物モデルは報告がなかった。そこで私たちは、モデル動物となることを願って、 β -ガラクトシダーゼKOマウスの作製を開始することとした。

2. β -ガラクトシダーゼKOマウスの作製へ

ES細胞を利用した遺伝子ターゲティングによるKOマウス作製は、現在では確立された技術となり、民間受託業者などの作製サービスを利用できるようにまでなっている。しかし、私たちが β -ガラクトシダーゼKOマウスの作製を開始した1992年当時は、KOマウス作製はまだ一部の研究室でしか出来ない高度な技術と考えられていた。私たちはもちろん初めての挑戦であったので、KOマウス作製で先行しているいくつかの研究室を訪ねて、ノウハウを教えてもらいながら、試行錯誤も重ねつつ、モデルマウスの作製を開始した。

β -ガラクトシダーゼKOマウスの作製は、おもに3人が担当した。まず、ターゲティングベクターの構築など遺伝子関係を、臨床研の

大島章弘先生が担当した。彼は、ヒト β -ガラクトシダーゼ遺伝子のクローニングを実際に担当した先生で、GM1ガングリオシドーシスの専門家である。

次に、同僚の鈴木治君がES細胞のパート、すなわち培養、ターゲティングベクターのES細胞への導入、セクション、コロニーピックアップを担当してくれた。KOマウスが出来るかどうかは、なんと言ってもES細胞の質、すなわちES細胞に生殖系列キメラ形成能力があるかどうかにかかっている。ES細胞の培養には、抗生物質を入れてはいけなく、ウシ血清もロットを選ぶ、フィーダー細胞やLIFが必要などなど、手が掛かるのに加えて、1日半から2日という頻繁な継代維持が必要であるが、鈴木君は休日返上で丁寧にこなしてくれた。

最後に私が、マイクロマニピュレーターを用いたキメラマウスの作製を担当した。ハワイでは精子頭部を卵子に注入して顕微授精を行っていたが、今度は、ES細胞を胚盤胞腔あるいは8細胞期胚の囲卵腔へマイクロインジェクションすることになった。インジェクション用の鋭く切れの良いガラス針を試行錯誤しながら自作していた。breaking methodと称して、メス刃でガラス管を折るという原始的なやり方で、良い針が出来るにはコツが必要であった。現在では、注入キメラの作製にはピエゾマイクロマニピュレーターを使用することで、鋭いガラス針を苦勞して準備する必要もなく簡便に行

うことが出来るようになっていく。因みに、マウスの顕微授精や核移植クローン作製にはピエゾの利用が大きなブレークスルーをもたらした。



3. 3年掛かったKOマウス作製

さまざまな失敗を重ねながら、やっと目的の β -ガラクトシダーゼKOマウスを得るまでに3年ほどの月日を必要とした。まず1年目は、ES細胞(E14)にターゲティングベクターを導入して、ポジティブ・ネガティブ選択により得られてくるコロニーをいくらか調べても目的の相同組み換え体が得られなかった。いろいろ調べると、ターゲティングベクターの作製には、E14の由来系統である129マウスではなく、BALB/cマウスのゲノムライブラリーを用いていたことが判った。相同組換えの効率が悪い一つの理由として、ターゲティングベクターがES細胞とは異なる系統のゲノムライブラリーを用いて構築されていたことが考えられた。そこで、2年目は、ES細胞をTT2という日本で樹立された細胞株に変え、由来系統であるB6CBAF1のゲノムライブラリーからベクターを作製し、さらにエレクトロポレーションの条件を低電圧、高キャパシタンスに変えるなど工夫した。これによって確かに相同組換えを起こしたES細胞が得られた。しかし、毛色で見ると限りES細胞の寄与率が非常に高いキメラマウスは出来るものの、交配して生まれてくる子供にES細胞由来の動物が一匹もおら

ず、生殖系列キメラが出来なかった。そして3年目にしてやっと待望の生殖系列キメラマウスが得られ、ヘテロ欠損マウス同士の交配により、 β -ガラクトシダーゼノックアウトマウスが誕生した。1994年12月であった。尻尾の酵素活性を測ると確かに非常に低く、感激のものであった。

4. 半年経ってやっと発病した!

3年掛かりの苦勞の末、待望の β -ガラクトシダーゼKOマウスが出来たが、本当に病気になるのだろうかという心配が常にあった。実は、丁度そのころ、GM2ガングリオシドーシスの1つであるTay-Sachs (テイ・ザックス) 病の原因遺伝子 β ヘキソサミニダーゼAのKOマウスが報告されており、ヒトに比べて脂質GM2の蓄積が少なく1年経っても神経症状が出ないと言われていた。GM2の代謝経路がマウスとヒトで異なっており、マウスではGM2からシアリダーゼによりシアロGM2が出来るとの経路があり、GM2が充分溜まらないのではと考えられていた。GM1の代謝経路もGM2と同様にヒトとマウスで異

なる危険性があった。さらに α ガラクトシダーゼ欠損症であるFabry病の場合は、もともとマウスでは基質 (globotriaosylceramide など) があまり作られないため、KOマウスでは蓄積も少なく発症しないと報告されている。また、逆の例もあり、典型的なライソゾーム病であるGaucher (ゴーシェ) 病では、原因遺伝子の β -グルコシダーゼ (グルコセレブロシダーゼ) KOマウスは生後すぐに死亡するため、モデルとしては利用できないことが報告されていた。

私たちの β -ガラクトシダーゼKOマウスは元気に生まれてきて、3、4か月齢まではとくに異常は見られず、繁殖も可能であった。病気にならないのではないかとやきもきしていたが、4か月を過ぎる頃からやや動きが緩慢になり、6か月齢では尻尾を上げてヨタヨタ歩くなど歩行障害や振戦が明らかとなり、尻尾を持ってぶら下げると四肢を縮めるという特徴的な症状を示した (図1)。さらに月齢が進むと重度の歩行障害、四肢麻痺が進行し、摂食困難に陥り削瘦が激しくなり9-10か月齢までに死亡した (文献1)。病理学的にも

神経細胞の膨化が広範に見られ、電顕的にも糖脂質蓄積症に典型的な層状の封入体 (Membranous cytoplasmic body, MCB) が多数認められた。脂質分析では、脳にガングリオシドGM1とそのシアロ体であるGA1が著しく増加していた (文献2)。

ヒトのGM1ガングリオシドーシスとの違いは、例えば肝臓と脾臓の腫大が無いこと、骨軟骨異形成や眼底所見 (cherry-red spot) が見られないことなどである。ヒトの症例とは確かに違いはあるものの、何よりも神経症状を示すGM1ガングリオシドーシスの良いモデルと考えられた。3年以上に及ぶ苦勞が報われた思いであった。実はアメリカでもKOマウスの作製が進められていたが、幸い我々のグループが先んじて、1995年8月、シアトルで開催された国際複合糖質会議で発表できた。発表が無事終わり、鈴木先生、内貴先生 (残念なことに翌96年12月に急逝された)、鈴木治君たちと祝杯を挙げたときの、あのOyster barの生牡蠣のおいしさが今でも忘れられない。

なお、KOマウスでは β -ガラクトシダーゼ活性は完全欠損していると考えられ、ヒトではもっとも重篤で典型例な乳児型 (生後半年以内に発症し、2歳までに死亡) に相当すると見なされる。しかしKOマウスは性成熟に達し繁殖も可能で、発症時期からするとマウスにとっては「成人型」と言うべきかもしれない。いずれにしろ、ヒトとマウスでは、妊娠期間、性



図1 β -ガラクトシダーゼKOマウスの臨床症状

成熟時期、寿命など、成長の時間軸が全く異なるわけであり、ライソゾーム病のように時間とともに基質が蓄積して発症する疾患の場合、この違いの認識が重要であろう。



5. 多様な臨床型に対応したヒト型モデルマウスの作製

既に述べたように β -ガラクトシダーゼ欠損症 (β -ガラクトシドーシス) は、中枢神経症状を呈するGM1ガングリオシドーシス (乳児型、幼児型、成人型) と骨軟骨症状を示すモルキオB病を含み多様である。 β -ガラクトシダーゼKOマウスは、前述の議論はあるものの、基本的には酵素活性を完全に欠損するという意味で、ヒトでは古典的な乳児型に相当すると見なして差し支えない。

治療法としては、酵素の完全欠損の場合は、正常酵素を何らかの方法で補うしかなく、酵素蛋白の投与による酵素補充療法や正常遺伝子を導入する遺伝子治療がある。GM1ガングリオシドーシスの中枢神経障害をターゲットとした治療としては、酵素蛋白の血中投与では、酵素は血液脳関門を通過できず脳の治療はまず無理であり、遺伝子治療としてウイルスベクターを直接脳内に投与することも行われているが、長期的な発現持続の問題や安全性の問題などを抱えており、まだ実験段階である。また別のアプローチとして、蓄積する基質の合成を阻害することで、基質の蓄積量を減らそうという治療 (substrate deprivation)

がガングリオシドーシスを含むスフィンゴ脂質蓄積症で試みられている。しかし、生理機能を持つ多様なガングリオシドの合成が低下することによる副作用など、問題が多いと思われる。

一方、鈴木義之先生のグループは、ライソゾーム病でみられる変異酵素を調べたところ、必ずしも酵素触媒活性が全くないというわけではないが、細胞内で酵素タンパク質が不安定でライソゾームまで輸送されるまでに分解される例が多く見られた。そこで残存酵素活性をもつ変異酵素を分解されないように保護し、あるいは酵素を活性化することで酵素活性を少しでも回復できないかという方向で、治療法の開発を試みられていた。

そこで、私たちは、新規の治療法開発に利用するための多様な病型に対応するモデルマウスの作製に取り掛かった。鈴木グループによってヒト β -ガラクトシダーゼの遺伝子変異と病型との対応が調べられており、GM1ガングリオシドーシスの幼児型で認められる代表的な遺伝子変異R201C (201番目のアミノ酸アルギニンがシステインに変異)、同じく成人型変異I51T (51番目のイソロイシンがスレオニンに変異)、モルキオB病に見られる変異W273L (273番目のトリプトファンがロイシンに変異) をそれぞれ持つ変異型ヒト β -ガラクトシダーゼ遺伝子cDNAを、多臓器での強発現を期待してCAGプロモーター (β アクチンプロモーター) と融合させた遺伝子を導入したマウスを作製

した。さらにそれぞれのトランスジェニックマウスを β -ガラクトシダーゼKOマウスと交配させ、KOマウスのバックグラウンドにヒトの変異酵素のみを発現する「ヒト型」マウスを得た。

各変異酵素について、その発現量が異なる複数の系統が得られたが、その詳細は省くとして、ここでは幼児型ヒト変異 β -ガラクトシダーゼR201C発現マウスの1系統であるBK48について紹介する。BK48マウスの大脳の β -ガラクトシダーゼ活性は、野生型マウスに比較するとその4.1%であり非常に低い。が、 β -ガラクトシダーゼKOマウス (1.9%) に比べると明らかに高く、これはヒト幼児型変異酵素の活性発現によると見なされた。本マウスの神経症状は比較的マイルドでありまた発症も遅く、10か月令頃から挙尾と歩行異常を示し、その後、振戦、重度の歩行異常を示し13~17か月齢 (平均約15か月齢) で死亡した。 β -ガラクトシダーゼKOマウスの寿命は約10か月齢であるから、平均約5か月の延長が見られた。ガングリオシドGM1の蓄積スピードもKOマウスに比べ遅く、幼児型の症状モデルとして有用であると見なされた。



6. モデルマウスを用いた新規治療法—ケミカルシャペロン療法—の開発

既に述べたように鈴木先生のグループは、変異酵素分子を何とか生かして、活性を回復させられないかと検討しているなかで、その酵素の基質類似化合物が酵素の活

性部位に結合し、変異酵素分子を安定化させることを見出した。具体的には、 α -ガラクトシダーゼ欠損症（Fabry病）の変異酵素の活性化に、ガラクトース類似物質で α -ガラクトシダーゼの競合阻害剤の1-デオキシガラクトノジリマイシンが有効であることを示した（文献3）。まさに逆転の発想である。鈴木先生によるケミカルシャペロン療法の説明を図2に示す。すなわち酵素の阻害剤がシャペロン（普通は他の蛋白の適正なフォールディングや構築を行う蛋白を指す）として働き中性の条件下で変異酵素の安定化をもたらし、無事にライソゾームに運ばれば酸性条件下で酵素と解離し酵素活性発現をもたらすと考えられている。シャペロンは普通、蛋白質であるが、この場合は低分子化合物であるので区別してケミカルシャペロンと呼んでいる。もともと阻害剤なので高濃度では酵素活性を低下させるが、低濃度ではケ

ミカルシャペロンとして作用しライソゾーム内の酵素活性を高めるわけである。

私たちは脳障害を伴うGM1ガングリオシドーシスにこのケミカルシャペロン療法を応用するため、すでに述べたようにヒト変異型 β -ガラクトシダーゼを発現するモデルマウスを作製していた。一方、鈴木グループはGM1ガングリオシドーシスの多種類の患者細胞などを用いて、酵素活性増大効果を示すかどうかを指標にガラクトース類似化合物のスクリーニングを行った結果、有機合成された新規化合物（生化学工業（株）提供）のNOEV（N-octyl-4-epi- β -valienamine、分子量287.4）が有効であることが判ってきた。NOEVは擬似糖（カルバ糖）のアミン誘導体で炭素数8の側鎖をもち（N-octyl体）、室温でも安定で β -ガラクトシダーゼの強力な阻害剤である。

NOEVは細胞レベルのスクリー

ニングでは、全ての種類の患者細胞に効果があるわけではないが、3割程度の患者細胞には効果があり、そのうちでも特に幼児型変異のR201C変異を持つ細胞の活性上昇が顕著であった。そこでモデル動物として前述したヒト変異型R201C β -ガラクトシダーゼを発現するBK48マウスに、1mM NOEV水溶液を1週間飲水として自由摂取させた。NOEV投与により全身の臓器で β -ガラクトシダーゼ活性が顕著に増大し、脳でも5倍程度の活性上昇が認められた。免疫組織化学的には大脳皮質の神経細胞のガングリオシドGM1とアシアロGM1の蓄積が減少していることが判った。経口摂取されたNOEVが血液脳関門を通過して脳に達し、神経細胞の変異酵素にケミカルシャペロンとして作用し酵素を安定化させ、活性発現をもたらしたことを、動物モデルを用いてきれいに示すことが出来た（文献4）。現在、神経症状の発症予防や治療効果などについて、モデル動物へのNOEVの投与時期、投与期間、投与量など詳細な検討が続けられており、進展が期待される。

ケミカルシャペロンという全く新しいコンセプトによる治療法は、原理的には全てのライソゾーム病に適応可能であり、実際に私たちはゴーシェ病への応用を目指して、モデル動物の開発を行っているところである。さらに広く考えて、ケミカルシャペロンが変異蛋白質のフォールディングなどを助け、蛋白質を安定化させること

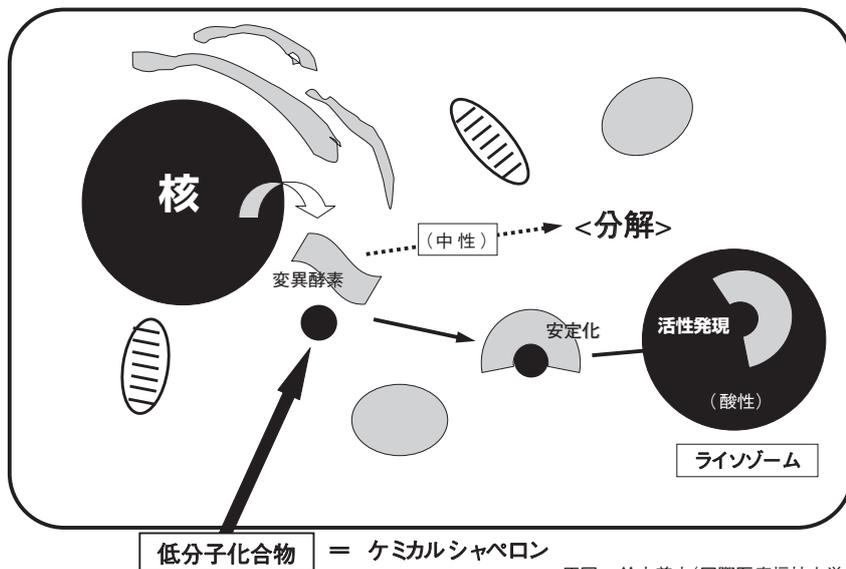


図2 ケミカルシャペロン療法の原理（遺伝性ライソゾーム病）

に注目するならば、ライソゾーム病以外の多くの遺伝病への応用も可能ではないかと期待される。これらの可能性を検証するためには、ここまで紹介してきたように適切な動物モデルが重要な役割を果たすことは明らかであろう。私たちの研究が、神経遺伝病を始めとした多くの難病の治療法開発のヒントになり、何らかの貢献ができれば幸いである。

なお、私たちが運営している医薬基盤研究所の実験動物研究資源バンクでは、疾患研究や創薬研究に役立つ疾患モデル動物を中心に収集、保存、提供をしており、本稿で紹介したモデルマウスは当バンクから入手可能である (<http://animal.nibio.go.jp/>)。



本研究は、既に名前を挙げた方々のみならず、私の現所属および前所属の国立感染症研究所獣医科学部第四室（実験動物開発室）のメンバーをはじめ、多くの方々の協力により支えられてきました。ここに心より謝意を表します。最後に、本稿の執筆の機会を与えて頂きました国立感染症研究所獣医科学部長 山田章雄先生に深謝致します。

文献

1. Matsuda, J, Suzuki, O, Oshima, A, Ogura, A, Naiki, M and Suzuki, Y. Neurological manifestations of the knockout mouse with β -galactosidase deficiency. Brain Dev, 19:19-20, 1997.

2. Matsuda, J, Suzuki, O, Oshima, A, Ogura, A, Noguchi, Y, Yamamoto, Y, Asano, T, Takimoto, K, Suzuki, Y and Naiki, M. β Galactosidase-deficient Mouse as an Animal Model for GM1 gangliosidosis. Glycoconjugate J, 14:729-736, 1997.

3. Fan JQ, Ishii S, Asano N, Suzuki Y. Accelerated transport and maturation of lysosomal alpha-galactosidase A in Fabry lymphoblasts by an enzyme inhibitor. Nat Med. 5:112-5, 1999.

4. Matsuda J, Suzuki O, Oshima A, Yamamoto Y, Noguchi A, Takimoto K, Itoh M, Matsuzaki Y, Yasuda Y, Ogawa S, Sakata Y, Nanba E, Higaki K, Ogawa Y, Tominaga L, Ohno K, Iwasaki H, Watanabe H, Brady RO, Suzuki Y, Chemical chaperone therapy for brain pathology in GM1-gangliosidosis. Proc Natl Acad Sci USA, 100: 15912-15917, 2003.

ワーキングプロセスを構築します



動物実験施設の管理者の皆様へ、日常業務のスケジュールリングから予実管理を円滑にするために開発したアプリケーションを、飼育・リソース保存などの技術サポートを含めご提供させていただきます。また、研究者の皆様には、表現系解析、遺伝子解析等に、弊社開発のアプリケーションをご利用いただくことにより、専門スタッフが扱うリソースとコンピュータシステム上の解析データのシームレスに連携する環境をご提供させていただきます。

私どもは、お客様にとって最も効率的な研究スタイルの構築をお手伝いさせていただくことを目指しております。

実験動物施設の立ち上げから、作業手順書の作成、現状の問題改善など、お気軽にお問い合わせください。

Information Technology

- 研究支援システム
- 飼育・リソース管理システム
- 表現型解析システム
- 分析機器オンラインシステム
- 受託開発
- ホームページ作成
- ホスティングサービス
- ネットワーク構築
- セキュリティソリューション

Bio Technology

- マウス受精卵販売
- 受託繁殖業務
- 遺伝子改変マウス受託生産
- 受精卵作成業務
- 飼育・生殖工学技術者派遣
- 飼育・生殖工学技術者教育

Standard Protocol Organized Company



株式会社 スポック

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

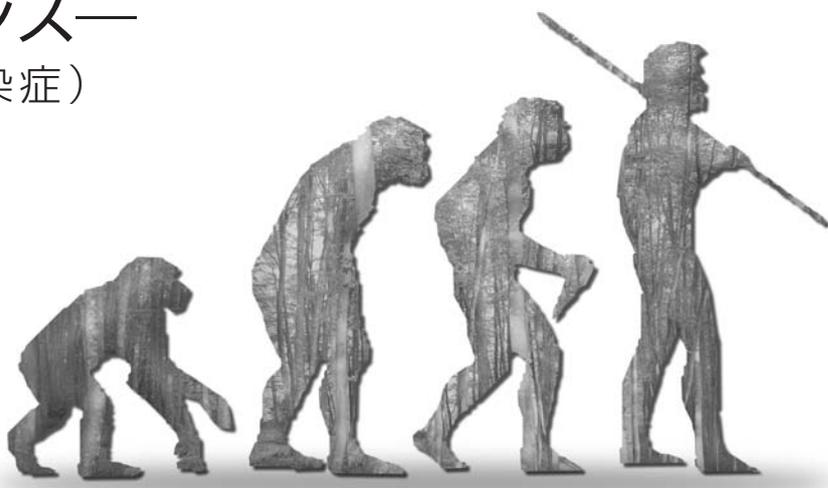
〒230-0046

神奈川県横浜市鶴見区小野町 75 番地 1

Tel. 045-500-1263 Fax. 045-505-5677

サルの感染症について

—ズーノーシス— (人獣共通感染症)



国立感染症研究所

獣医科学部第三室 室長 棚林 清

はじめに



ヒトと動物に共通する感染症のことは英語ではZoonosisと呼ばれています。これをそのまま日本語の音にして表現すると「ズーノーシス」となります。ズーノーシスは「自然の状態ではヒトと脊椎動物の間で伝播する疾病あるいは感染症」(WHO) また、「動物からヒトへ自然に伝播すると思われるいかなる疾病あるいは感染症」(EU)と定義されています。後者の方が動物の範囲が広い定義になっています。Zoonosisに当てはまる日本語として人畜共通感染症、人獣共通感染症、ヒトと動物の共通感染症などとそれぞれの立場で使われてきていますが、動物からヒトへの感染症は公衆衛生上とりわけ重要であるとして動物由来感染症という言葉も使われます。ここでは

人獣共通感染症と呼ぶことにいたします。2000年以降、話題となった感染症でSARS、ウエストナイル熱、サル痘、野兎病など、また最近国内での死亡患者が報告された狂犬病や、現在も発生が続いている高病原性鳥インフルエンザなども人獣共通感染症です。

ヒトに感染する病原体はウイルスやプリオン、細菌リケッチア、真菌、原虫、寄生虫と様々です。Taylorら(2001年)の報告では1415種あり、このうちヒトと動物とに感染するものは868種(61%)で、さらに33%はヒトからヒトへの感染も起こすものです。また、これまで知られていなかった新しい感染症(新興感染症)の多くが人獣共通感染症です。

本シリーズ第1回の総論にもあるように、各種のサルが医科学実験、展示、また愛玩用などとして

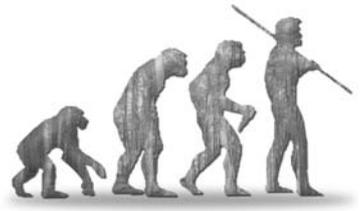
飼育されヒトとの接触の機会があり、細菌やウイルス、寄生虫など多様な病原体がサルからヒトへ、ヒトからサルへと感染します。今回はサルから感染する人獣共通感染症のなかで、サルやその材料を取扱する作業従事者で注意すべき感染症の中からBウイルス病と細菌性赤痢について概説します。

Bウイルス病



Bウイルスに感染しているアカゲザルやカニクイザルなどからの咬傷、ひっかき傷、飛沫などから感染し、進行性上向性脳脊髄炎を引き起こす感染症です。ヒトでの感染の報告はこれまで40例程度と稀な感染症ですが致死性であることからサルと接触する可能性のある場合は注意しなければならない疾病です。

原因病原体のBウイルスはヒト



単純ヘルペスウイルス1型、2型と同じアルファヘルペス亜科に属するDNAウイルスで、正式な名称は *Cercopithecine herpesvirus 1* (CHV1)です。Monkey B Virus, Herpesvirus simiaeなどとも称されますが一般には、初めてウイルス分離がされた患者のイニシャルからBウイルスと呼ばれています。自然界では旧世界ザルでアジアを原産とするマカク属サルに感染しており、多くはアカゲザルやカニクイザルで確認されていますがボンネットザル、ニホンザル、タイワンザル、ブタオザル、ベニガオザルでも感染が確認されています。マカク属サルでは不顕性または口腔内に水疱を生じる程度の軽微な症状ですが他のヘルペスウイルスの感染症と同様に、神経節に潜伏感染し免疫抑制やストレスなどの要因で再活性化して唾液、生殖器分泌液中に排泄されます。感染の割合は幼令ザルでは少なく成熟に伴い感染率は上昇し80～90%に達する群もあります。新世界ザルやアフリカ産のサルに感染した場合は致死的になる場合があります。平成8年の国立大学で飼育されているサルについての抗体保有調査では、マカク属サルで380/948頭(40%)、その内ニホンザルでは34%(211/629頭)が陽

性であったと報告されています。

ヒトへの感染はサルからの咬傷や引っ掻き、また汚染注射針の刺し傷やケージでの引っ掻き傷などから起きています。発症までの潜伏期間は、早い場合で2日、通常2～5週間であり、初期には感染部位の水疱や痛み、発熱などが起き、進行すると重度の脳脊髄炎症状を呈し死に至る場合もあります。また、神経系に重度の後遺症も見られます。例外的に約10年の潜伏感染後、再活性化により発症した例もありますが、サルの取り扱い経験者と接触の無い人での抗体調査で不顕性感染の証拠はなかったとされています。ヒトからヒトへの二次感染は患者の病巣部に治療軟膏を塗った際に感染した1例があります。1997年米国アトランタにある霊長類センターでの例はサルの排泄物と思われるものを目に浴びたことによりその粘膜から感染し、治療にも拘わらず亡くなっています。わが国では多くのマカク属サルが医学実験用や展示動物として飼育されていますがヒトでの感染例は報告されていませんし、マカク属サル原産国や地域での報告もありません。

サルでの検査は通常血清抗体検査により行われます。ヒトでの診断のための検査はサルとの接触し

た状況や症状とを考慮した上で感染部位のウイルス分離やPCR法での遺伝子の検出により行われます。血清抗体の検出はELISA、ウエスタンブロット法、ドットブロット法などで行われますが多くのヒトが単純ヘルペスウイルスに対する抗体を有することから鑑別が必要となります。

マカク属サルにおいてはBウイルスに感染していても症状が顕性化することなく再活性化してウイルスを排泄する可能性があり、マカク属サルおよびその生材料を取り扱う場合には常に本ウイルスの感染の危険性を考慮して作業を行う必要があります。まずはサルからの咬傷のリスクを軽減する措置をすることや手袋、マスク、フェイスマスクなどで个人防护を確実に行うなどの作業手順書を作成し実施することが重要です。もし、咬傷、ひっかき、針刺し事故が起きた時には、直ちに洗浄を行い、責任者に報告するとともに予め指定しておいた医師を受診し、暴露の状況から感染の危険度を評価しその後の検査や治療方針を決定します。また、サルの感染状況を定期的な検査で把握しておくことや抗体検査に備えて定期的に作業者の血清を保存しておくことも勧められます。感染の危険性が高い場

サル感染症について

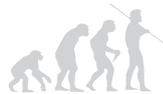
—ズーノーシス—

(人獣共通感染症)

合、検査結果が陽性の場合には抗ヘルペス剤のアシクロビルやガンシクロビルが発症予防あるいは治療薬として用いられます。Bウイルス感染の予防、診断治療に関するガイドラインが米国ワーキンググループで作成されておりその日本語訳もされています。

感染症法においてBウイルス病は4類感染症に指定されており診断した医師は直ちに保健所等への報告義務があります。患者の隔離などの措置は必要ありません。幸いにも国内ではヒトの感染事例はないものの、医学実験や試験施設、また動物園や野猿公園には多くのマカク属サルがおり、接触する可能性のある人または管理者は十分な感染防御対策を心がける必要があります。

細菌性赤痢



細菌性赤痢は、赤痢菌感染による血液を混じた下痢を典型的な症状とする急性感染症で、自然感染はヒトおよびサルで起きます。感染サルの便は同一施設内の他のサルへの感染源となるばかりでなく、ヒトへの感染源にもなりさらに二次感染の可能性もあります。国内ではペットのサルから、国外では飼育作業や動物園での感染事例もあり、人獣共通感染症として

注意が必要です。

原因となる細菌である赤痢菌は腸内細菌科 *Shigella* 属で *S. dysenteriae* (A 群)、*S. flexneri* (B 群)、*S. boydii* (C 群)、*S. sonnei* (D 群) の4菌種が含まれ、さらに、これらの亜群は多くの血清型に分類されます。

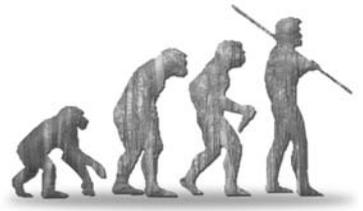
ヒトでの発生は世界的に見られ、衛生状態の悪い開発途上国において多く発生していて近年、日本国内においては年間数百例の報告がありますが、過半数は東南アジアなど国外で感染した輸入例です。サルへの感染は捕獲直後の野生個体では赤痢菌は分離されないことから人の飼育環境下で感染すると考えられています。チンパンジー、ゴリラ、オラウータン、テナガザルなどの類人猿やカニクイザル、アカゲザルなどの旧世界ザルで多く、タマリン、リスザルなどの新世界ザルや原猿類での報告は多くありません。飼育ニホンザルからの分離例もあります。

潜伏期間は2～9日で臨床症状はヒトに類似し水様性、粘液性、粘血性、膿粘血性の下痢、元気食欲の消失、ときに嘔吐などがあります。また、発症個体では数日から2週間で死亡することが多いとされています。病巣は大腸に局限し粘膜の肥厚、浮腫、充血、出血、

フィブリン様物質の付着あるいは糜爛があります。しかしながら、無症状で正常便を排泄する保菌個体も多く、過去には東南アジアから輸入された野生カニクイザルの13.2%から赤痢菌が検出され、そのうち半数以上の個体は無症状で正常便を排出していたと報告されています。近年、衛生状況が向上しているものの輸入ザルでは2005年から2006年8月までに72例が届出されています。いずれも輸入検査時の検査で見つかったものです。

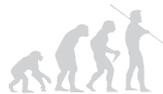
治療はリファンピシン、クロラムフェニコール、アンピシリン、ホスホマイシンなどの抗生物質等の投与及び必要に応じて乳酸リンゲル液による維持療法が行われます。薬剤耐性菌の出現を考慮して、分離菌の感受性を調べ適切な投与をすることが肝要です。

サルからのヒトへの感染例は国内外で報告があります。日本では1974年、1979年、1993年に輸入されたペットから感染したと思われる患者が発生しています。国内の医学実験施設などでのヒトへの感染の報告はありませんが、先に記載したようにサルからヒト、さらにヒトへの感染が拡大しないような措置をすることが重要です。獣医師にはサルが細菌性赤痢に感染



していることを診断した場合は保健所に届出ることが義務付けられています。その場合、施設の状況、飼育形態や作業員の感染防御状況を評価して措置するようにガイドラインが作られています。医学実験用として飼育されている施設では作業員の個人防御がなされていること、接触する人が制限されていること、施設から糞便等が施設外へ消毒も無く排泄されることが無いことから、感染個体の適切な管理がなされていれば公衆衛生上のリスクは大きなものにはならないと考えられます。対策ガイドラインや届出基準はインターネット上からダウンロード可能です。

おわりに



現在、サルの輸入に関しては、エボラやマールブルグ病を対象に衛生条件が整った国からのみ輸出入検疫を経て輸入許可されています。また、ペット目的の輸入はできないこととなっています。これらの感染症に罹ったサルが国内に輸入されることはなく、管理が徹底できない施設では外国産のサルが飼育されることはなくなっています。しかし、サルとヒトとの間で共通に感染する疾病は多くあります。また、概説したようにBウイルスや細菌性赤痢に罹患したサ

ルでは症状を示さずに病原体を排泄することが知られていますので感染の有無の判定には検査が必要になります。しかし検査には限界があることを十分認識し、個人の感染防護、施設整備、作業員の教育訓練などソフトとハード両面からマニュアル等を作成し実施していくことが重要と思われます。近々、感染症法の改正に伴いサルにおける結核についても診断した獣医師の届出対象に加えられています。

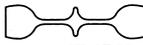
参考資料

- ・ Taylor LH et al. Risk factors for human disease emergence. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B (2001) 356, 983-989.
- ・ 棚林 清：Bウイルス感染症、神山恒夫、山田章雄（編）：動物由来感染症－その診断と対策－、pp.123 - 127. (2003年) 真興交易医書出版部
- ・ Bウイルス：予防法と治療法のガイドライン 長 文明 (1997) オベリスク1997増刊号 p 6-23.
- ・ Bウイルス(Cercopithecine Herpesvirus1) 感染の予防、緊急対応および治療に関するガイドライン 光永 総子ら (2004) 霊長類研究20：147-164.
- ・ サルの細菌性赤痢対策ガイドライン <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/02.html>



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

実動協・台湾実験動物交流会顛末記

日本実験動物協同組合 元専務理事
柏木 利秀

昨年11月9日12時過ぎに台北中正国際空港の到着口に日本人のおじさん、おばさん計20名が集合した。この団体こそ我が日本実験動物協同組合（実動協）の台湾実験動物交流会の面々である。実動協はさすが全国組織である。なんとこの面々は、成田、中部、関西、福岡の各空港から出発し、ここ中正空港にほぼ同時に到着というわけである。参加メンバーの都合がつかず3年間延び延びになっていた交流会であるが、実動協の外尾常務理事（動物繁殖研究所理事長）と東京大学に長年留学経験のある黄坤正先生（現国立陽明大学兼任教授）の多大なご尽力によりやっと今回実現したもので、台湾の実験動物関係者との情報交換とともに、週末を利用して癒しの国、グルメの国台湾を満喫しようという企画だ。

参加者のうち夫婦連れが6組計12名も占めた。これは、日頃のサービス不足解消とお目付け役というダブルメリットの暗黙の結果といえよう。



台湾実験動物交流会 故宮博物院にて

11月上旬とはいえ、台北はさすがに暑く、湿度も高く、今回の盛りだくさんな行事、観光の強行日程に、筆者を含め、おじさん、おばさんは耐えられるかとちと不安がよぎったが、そこは団体旅行である。クーラーの効いたバスに乗車。台湾JTBの林（中国名）さんのガイドにて一路交流会場の台湾中央研究院（Academia Sinica）に向かった。林さんは経験豊富な日本語堪能なガイドで、日本びいき。車窓から認められる高層ビル、橋等の建築物、車を見つけるたび

に、日本企業の名前が飛び出し、日本のものはすべて良し、との説明。天邪鬼（あまのじゃく）な筆者は、サービス過剰とも感じたが、悪い気はしない。現金なものである。

交流会は、中央研究院細胞與固體生物學研究所 (Institute of Cellular and Organismic Biology, ICOB) 実験動物施設、同生物医学科学研究所 (Institute of Biomedical Sciences, IBMS) 実験動物室中心、さらに同じキャンパス内にある国家実験動物中心



(National Laboratory Animal Center, NLAC) の先生方と充実した情報交換を行った。これらの交流会には、台湾唯一の民間ブリーダーである楽斯科生物科技股份有限公司 (BioLASCO) の陳振忠社長が出席していたことが印象的であった。どの機関からもきわめて熱心に、現状説明と如何に施設のProtectionを行っているかにつき説明を受けた。ICOBの施設については特に見学が許されたが、そこで日本の技術、機器が非常に役立っていることを聞かされ、今後の更なる交流の重要性が認識された。

日本側からは、実動協のHome Pageを参考に、活動状況を説明したが、思わぬハプニングが発生。なんと直接日本のHome Pageにアクセスするも、字化けし、まともには写らず。急遽持参のCDを写して間に合わせたが、検索機能を実際にお見せできず残念であった。

交流会は、黄先生の通訳をも交え、中国語、日本語、英語のちゃんぽんとなったが、同じ東洋人が、母国を遠く離れた英語を共通語と

して会話する不思議さをここでも味わった。とはいえ、なんといつでも英語はすでに世界共通語となっており、ITによる情報通信の進展により、ますます重要になっている。今回の台湾の各研究機関にても、欧米留学組がなんとなく幅を利かせてきているように感じたのは、筆者だけであろうか。

交流会は昼間に留まらず、晩餐会としては上記研究所のほか陽明大学、統安生技、進階生技などの先生方多数の参加を得て大いに盛り上がった。特に公務多忙のところ中央研究院ICOB所長である遊正博先生 (秘書長同席) の出席を頂いたことは台湾側の歓迎ぶりの大きさを示しており、大いに感銘した。

読者の方はすでにご存知でしょうが、交流会にて得られた情報を2つ紹介しましょう。

台湾には新処方薬を基礎から研究開発する民間企業はなく、実験動物はほとんど研究機関で使用されていること、上記BioLASCO社が最近民間として実験動物の生産供給を開始したが、台湾では国家実験動物中心(NLAC)が長年生産供給を担っており、規模の拡大を計画中で、台湾南部でも生産を開始するとのことであった。

観光・グルメは、台北、九份、そして高尾と堪能したが、紙面の都合上書ききれないので、筆者の

心に残ったものを少し触れておくことにします。

1) 故宮博物院

新装成った立派な建物を見上げ、北京のすばらしい故宮 (紫禁城) にあった展示品を思い出しながら、わくわくしつつ入場。いまだ収蔵品の整理がついていないためか、あるいは展示方法が変更になったためか、正直期待をはずされた。こんなものが古い時代に中国では作られていたのだ、と自慢できる少しアクロバチックな工芸品がメイン展示され、また、時代の変遷が大まかにわかる展示がなされ、教育的配慮重視のように見受けられた。多くに収蔵品の整理が進み、より多くの展示品を来場者の好みで見られるようになることを期待したい (本年2月に全館工事完了となるも、収蔵品がきわめて多くテーマ毎に部分公開されている)。

2) 士林 (台北) 夜店

週末の土曜日の夜店に出かけ





た。規模と人と活気と混沌（それに強烈な醜酵臭、人いきれも）に圧倒された。もしかしたら、戦後日本の闇市はこのようなものではなかったろうかと、少なくともその凄ましいエネルギーだけは間違いなく同一では、と妙に感じてしまった。これはきっと、浅田次郎の小説「地下鉄（メトロ）に乗って」の影響かも。

3) 台北戯棚(Taipei Eye)

当日の催し物である、小西園掌中戯団による人形劇と京劇生徒による京劇を観る。

本人形劇は、人形の操縦が早く、ストーリーも単純明快で、心地よいテンポを大いに楽しんだ。

台北で、しかも練習生の京劇は、どこか学芸会的気恥ずかしさを感じるのではと懸念していたが、字幕を横目で追っかけながら観終わると、一生懸命さがあまり露骨に残らず、少しすがすがしい気がした。

黄坤正先生、遊正博先生（ICOB 所長）、廖欽峰先生（ICOB実験動物施設長）、陳先生（IMBS実験動物室中心長）、梁善居先生（NLAC所長：台湾実験動物学会理事長）はじめ台湾の実験動物関係の先生方、参加者の皆さん、そしてガイドの林さん有難うございました。



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

ラットの摘出心臓を72時間乾燥保存後蘇生させ異所性心移植に関する研究

関邦博(1)、吉田 優(1)、畑山直之(1)、関野一(2)、
神奈川大学理学部(1)、株式会社PRO(2)

「Rat isolated heart preserved for 72 hours in perfluorocarbon with CO₂ and heterotopically trasplanted」
Kunihiro Seki(1), Yu Yoshida(1), Naoyuki Hatayama(1), Hajime Sekino(2).

(1) Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University

(2) PRO Co.,Ltd.

E-mail : sekikuni@info.kanagawa-u.ac.jp

要約

ラットの摘出心臓の心腔内にKH液(Krebs-Henseleit液)を満たしたあと、不活性液体のperfluorocarbon(PFC)液に混合ガス(PCO₂=100hPaとPO₂=900hPa)を曝気しながら浸漬保存した。72時間保存後、レシピエントラットの頸部に異所性心移植し蘇生させたところ、心臓は生着し長期間(12週間以上)にわたり拍動をつづけた。

この哺乳動物の臓器保存方法で72時間の保存についてはほぼ100%の再現性が得られた。

現在までラットの摘出心臓を何らかの方法で保存し確実な再現性をもって異所性心移植後の長期間の生着を得たとする報告の保存時間は最大で48時間であり、われわれの臓器保存方法は、この記録を更新するものである。

はじめに

ヒトの肺、心臓、肝臓、腎臓、膵臓などの臨床移植治療は、既に実用化され日常化している。⁽⁹⁾

年々増加する移植待機患者に対

して提供される臓器の不足問題が深刻化している。

現在移植臓器の保存は、低温保存が主流であり、4から24時間が保存限界である。

臓器が長時間保存できない理由としては、摂氏4度の低温や虚血により細胞膜が傷害をうける等の問題点が指摘されているが⁽⁸⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾何らかの方法で、臓器が、血液のように、より長時間移植臓器を保存することができれば、臓器の供給体制を改善させることができると考えられ、長時間の臓器保存のための技術の確立が要望されている⁽⁴⁾。

現在までの試みを概観すると、まず臨床的に汎用されている保存液への単純浸漬法ではUniversity of Winsconsin Solution(UWS)を使用したラット、ウサギ、ヒビ、ヒトの摘出心臓の低温保存・蘇生でも6から18時間が限界である⁽¹¹⁾⁽²⁵⁾。

低温下でも組織はわずかに代謝しており、それによる老廃物を除去する観点から組織を灌流する方法も試みられており、単純浸漬に

比べて良好な保存時間が報告されているが、装置が大掛りとなり一般化されていない。

また灌流により血管内皮が傷害されるといふ指摘もある。⁽¹⁹⁾

同様に低温下での組織代謝に着目してこれを改善させるための保存液や灌流液に酸素を供給する試みもあり保存時間の延長が報告されている⁽²⁴⁾。

このような試みの中でKurodaraは心腔内にUW液をみだし酸素を多量に溶かすことのできる不活性液体のperfluorocarbon(PFC)液に混合ガス(PCO₂=50hPaとPO₂=950hPa)を供給しながら浸漬保存し、保存期間を24時間(100%)から48時間(5匹中4匹)とする結果を得ている。⁽¹⁰⁾

本研究の著者の一人であるSeki et al(1998)は、生命体が体内の水分量を減少させて代謝を低下させ、乾燥、低温などの極限環境に適応するcryptobiosisに着目し、このような状態にあるクマムシが超高压下におかれても再生しうることを示した⁽²¹⁾。

この現象を応用し臓器保存にも

PFC液を用いながら水分量を減少させ蘇生させる実験を行い、時には良い結果を得たが再現性には乏しかった。

その後CO₂ガスが生体に対して麻酔作用、代謝抑制作用を持つことに着目し水分量減少と高濃度(20%)のCO₂=炭酸ガス環境下で心臓保存の実験を行い一定の結果を得た⁽²²⁾。

今回組織への酸素供給を改善する観点からKurodaらの方法を採用しCO₂濃度を変更し、より良い結果を得た。

PFC液にラットから摘出した心臓を浸漬後、高分圧(10%)の炭酸ガス(100hPa)を酸素とともに曝気しながら、摂氏4度の冷蔵庫に72時間保存後、レシピエント

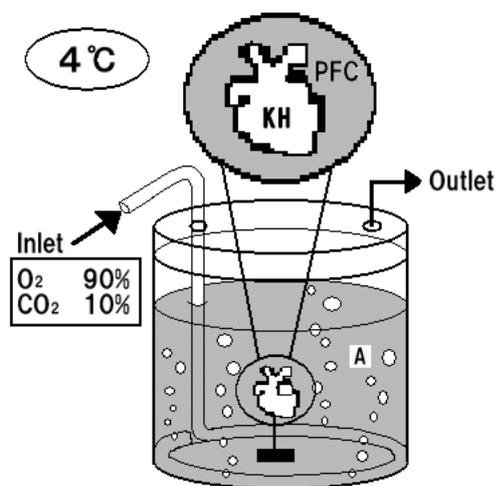


図1

ラットの摘出心臓を保存容器に入れ、摂氏4℃の冷蔵庫に保存する実験中の様子を示した。摘出心臓は、A:PFC(不活性ガス液体)の中に保存した。保存期間中は、FCO₂=10、FO₂=90で曝気し続けた。

ラットの頸部に異所性心移植を行い蘇生させ、12週間後、心電図を記録し移植された心臓が機能し続けていることを実証した。

方法

本実験で使用したラットは、日本SLC株式会社で拒絶反応を発現

させないように移植用に開発されたWistar Lewisラット、近交系のLEW/SsN Slc(♂、6週齢)を使用した。

エーテル麻酔下でラットから心臓を摘出し、大動脈・肺動脈切断後、混合ガス(PCO₂=150hPaとPO₂=850hPa)で曝気、4℃に冷

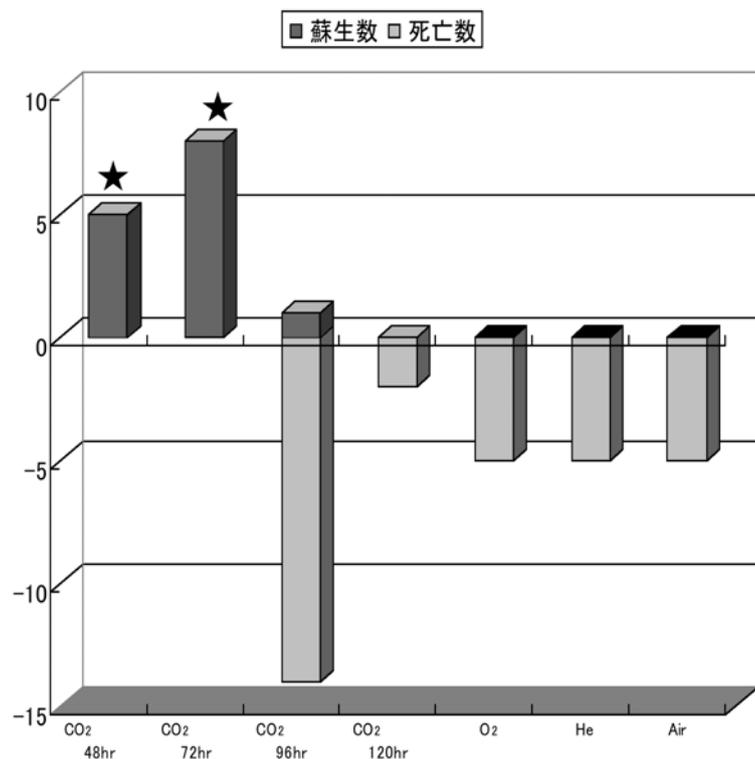


図2

横軸はCO₂曝露による保存時間と対照実験として純O₂、純He、標準空気による72時間の保存方法を示した。縦軸は蘇生と死亡の個体数を示した。CO₂(100hPa)を曝気しながら48時間保存したものは5/5(100%)蘇生した。CO₂(100hPa)を曝気しながら72時間保存したものは8/8(100%)蘇生した。CO₂(100hPa)を曝気しながら96時間保存したものは1/15(6%)蘇生した。CO₂(100hPa)を曝気しながら120時間保存したものは0/5(0%)と蘇生しなかった。純O₂、純He、標準空気をそれぞれ曝気しながら72時間保存したものはどれも0/5(0%)と蘇生しなかった。対照実験とCO₂曝露による保存との個体数をそれぞれ一元配置の分散分析(ANOVA)を用いて、有意差検定を行った。(★=P<0.05)

やしたKH液にて脱血、さらに保存液として注入した。

KH液 (Krebs-Henseleit) には抗生物質、ワーファリンを加え、グルコースは通常の4倍を溶解させたものを用いた。

あらかじめ混合ガス (PCO₂ = 100hPaとPO₂ = 900hPa) で曝気し、4℃に冷やしたPFC液に摘出心臓を浸漬させた。

保存中の摘出心臓に混合ガス (PCO₂ = 100hPaとPO₂ = 900hPa) を毎分35mlで曝気し続けた(図1)。

72時間保存後PFC液から取り出し、生理食塩水に一時的に浸漬した後、摘出心臓をレシピエントラットの右頸部に異所性心移植を実施し、拍動が安定した後縫合する。レシピエントラットに抗生物質を溶解させた飲用水を与え、飼育室にて事後観察を行った。

12週間後、レシピエントラットとドナーラットの心臓の拍動を心電図で記録した。(図3)

結果

PFC液に48から120時間保存後蘇生させた摘出心臓をレシピエントラットの頸動脈と大動脈、外頸静脈と肺動脈をそれぞれ端々吻合し、30例の異所性心移植を行い移植直後に拍動を心電図で記録できたものは13例であった(図2)。

72時間保存し異所性心移植後10週間後に拍動を確認し、心電図を記録できたものは8例であった(図3)。

対照実験として供給するガスとして純酸素、純ヘリウム、標準空気をいい、他は同一条件として保存蘇生実験を実施した。

ラットの摘出心臓をPFC液に72時間浸漬保存し、純酸素、不活性ガスである純ヘリウム、標準空気をそれぞれ個別に毎分35mlを曝気した後、異所性心移植を実施したが、各5例の全てにおいてドナー心臓の拍動は見られなかった。(表1)

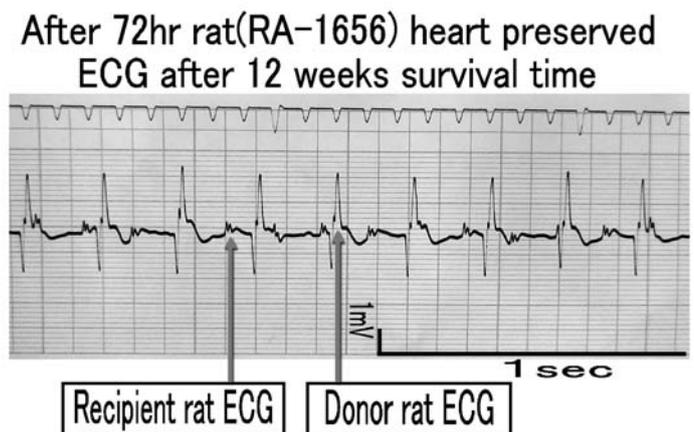


図3 ラット (RA-1656) の摘出心臓を72時間保存後、2006年8月22日に異所移植を行い蘇生させた後、12週間後にドナー心臓とレシピエントラットの心電図を記録したものである。

表 1

PFC液に炭酸ガスを曝気させたものを表中の1A、1B、1C、1Dと示し、PFC液に純酸素、純ヘリウム、標準空気をそれぞれ2、3、4と示した。それぞれラットの心臓を保存後、異所性心移植による蘇生率とその10週間後の生存率を示した。また、対照実験の2、3、4とCO₂曝露による保存の1A、1Bとをそれぞれ一元配置の分散分析 (ANOVA) を用いて、有意差検定を行った。(★=P<0.05)

Group	Preservation method	Preservation time	n	Resuscitation rate(%)	Ten-week survival rate(%)
1A	KH/PFC+CO ₂ (100hPa)	48	5	5/5 (100)★	5/5 (100)
1B	KH/PFC+CO ₂ (100hPa)	72	8	8/8 (100)★	5/8 (63)
1C	KH/PFC+CO ₂ (100hPa)	96	15	1/15 (6)	0/15 (0)
1D	KH/PFC+CO ₂ (100hPa)	120	2	0/2 (0)	0/2 (0)
2	KH/PFC+O ₂	72	5	0/5 (0)	0/5 (0)
3	KH/PFC+He	72	5	0/5 (0)	0/5 (0)
4	KH/PFC+Air	72	5	0/5 (0)	0/5 (0)

考察

Kuroda et al (1995) は、ラットの心腔内にUW液を満たし摘出した心臓全体をPFC液に浸漬し、PFC液を通じて酸素を供給することにより、摘出心臓を最大・48時間保存後、蘇生させ異所性心移植を行い6週間生存 (4/5=80%) させたことを報告した⁽¹⁰⁾。

今回我々は上記の方法を改変し、ラットの摘出心臓をPFC液に浸漬し、酸素に加えて炭酸ガスを分圧100hPaで曝気供給しながら摘出心臓を保存した。

この結果、72時間以上保存した心臓を、レシピエントラットの右頸部に異所性心移植を実施し、蘇生させて12週間以上生存させることができた。

CO₂濃度以外の変更点として本実験では、UW液の代わりにKH液を用いた。

UW液を用いて72時間以上の保存を試みたが、蘇生に際して心房の一部の細動しか見られなかった。これはUW液の高粘性が長時間の保存には適さないように思われる。

一方KH液では良い結果が得られた。KH液が最善とする理由はなく、最適の保存液については今後探求していく。

また摘出した心臓がPFC液から浮き上がらないようにKuroda et

al (1995) は、ラットの摘出心臓をネットで押さえていたが、これでは臓器の一部が傷害をされる可能性を我々は推察した。そこで、我々は摘出心臓から出ている血管を長めに切断し血管と容器を糸で浮かさないように固定した。あたかも風船のように浮かんでいるため機械的な臓器傷害を除去できるものと示唆した。

また心臓が生着していることが外部から判断できるため頸部異所性心移植法を用いた。

本研究の最も重要な点は摘出心臓をPFC液を通じてやや高い濃度のCO₂環境下で保存したことである。

CO₂は容易に組織に拡散するため摘出心臓の組織全体が高い濃度のCO₂環境下にあると考えられる。

CO₂は多くの生物学的実験ではO₂を混合して、bufferとの併用下でO₂/CO₂=95%/5% (大気圧下5%CO₂はほぼ生体内のCO₂濃度35mmHgと同等) として使用されている。

一方で、高濃度のCO₂: 15~20%以上では麻酔作用、代謝抑制作用をもち^{(15) (20)}、実験動物の麻酔⁽⁵⁾、穀物の保存、魚の輸送保存にも商業的に使われている^{(13) (14)}。

このようなCO₂の効果の機序については蛋白質の生体高分子の表

面に吸着して保護するという説⁽¹²⁾ や、CO₂同様に麻酔作用⁽⁷⁾、代謝抑制作用⁽³⁾、植物の保存⁽²⁶⁾ に使われるXe等の不活性ガスと同様に生体内の水分子の集合体をなんらかの意味で構造化する⁽²³⁾ ことが効果の主因ではないかとする説もある。

しかしCO₂溶解に伴って起こるpHの低下の影響も関与していると考えられ、詳細はいまだに不明である。

一方、本研究の著者の一人である Seki et al(1998)は体内の水分量を減少させた状態のクマムシがperfluorocarbon(PFC)の中で6000気圧の超高圧下におかれても再生しうることを示した⁽²¹⁾。

生命体がこのように体内の水分量を減少させて代謝を低下させ、乾燥、低温などの極限環境に適応することはcryptobiosisとよばれているが、北極圏の植物の乾燥休眠や、多くのバクテリアが、相対湿度が60%以下になると休眠状態になる現象など自然界で広範囲に見られる現象で、細菌の場合は乾燥保存法として実用化もされている。

この現象のひとつの特徴は細胞内の水の一部が失われるのだが、生体高分子表面を保護する結合水は残り、自由水が減少し、それに伴って細胞内の代謝が再生可能な限界内で低下することと考えられ

る。

このことから組織または細胞内の構造化された水を残し、自由水を組織や細胞に傷害を与えず再生可能な方法で取り除くことにより、代謝の低下が起こり臓器の長期間保存ができる可能性があると考え哺乳動物の摘出臓器を保存する実験に取り組んだ。

1998年から現在までPFC液を用いながら水分量を減少させ蘇生させる実験をラットとブタで多数行い、時には良い結果を得たが再現性には乏しかった。

その後CO₂ガスが上記のごとく生体に対して麻酔作用、代謝抑制作用を持つことに着目し水分量の減少と高濃度CO₂ (20%) の環境下で心臓保存の実験を行い一定の結果を得た。

2005年には2気圧の高圧下でCO₂分圧が400hPaの環境下でラット摘出心臓を24時間水分を減少させながら保存した後、蘇生させレシピエントラットに異所性心移植法を用い蘇生できることを再現性をもって示した⁽²²⁾。

生体内の結合水を保持し自由水の水分量を減少させるのと同様にCO₂ガスは自由水を構造化させるものと示唆したが、生物物理学的にそのことを立証するのは今後の課題である。

これまでの我々の研究は、臓器を乾燥させ水分量を減少させた

り、CO₂ガスにより組織の代謝を抑制させることを主眼としていた。

今回、組織へのO₂の供給に着目したKurodaの実験にCO₂濃度の変更を試み、より良い結果を得ることができた。

CO₂の効果に着目した組織保存の実験としては、我々のもの以前にはOhta et al⁽¹⁶⁾ ⁽¹⁷⁾ のものがあり、Modified Euro-Collins液にCO₂を付加して犬の血管の保存について良い結果を得ているが、同様の実験をラット心臓について行ったところ、48時間以内でも蘇生は見られなかった。

これは心筋がより多くのO₂の供給を必要とするためと考えられ、PFC液使用下ではO₂の供給が改善して保存時間が延長できたと考えている。

また、組織内の自由水の濃度の測定は困難であるが、PFC液浸漬下でのO₂、CO₂ガス曝露は組織水分量を減少させる方向に傾けることが可能であると考えられ、自由水の減少と組織保存効果の関係も今後の検討課題である。

我々の研究は水分量の減少やCO₂ガスにより組織の代謝を抑制し保存時間を延長しようとするもので、あたかも人工的に組織を冬眠状態に導いたと考えることもできる。

一方で低温暴露⁽¹⁾ や電子伝達

系の酵素を阻害して⁽²⁾ 生命活動そのものをその後蘇生できるような形で一時的に停止し、この方法で臓器保存を行おうとする考えかたもありsuspended animationといわれている。

いずれも生命あるものと物質のごとき状態を自由に行き来できることをめざす技術的試みでありこれらを総合してsemibiology (半生物学)と呼ぶことを提案したい。

我々は、さらなる保存時間の延長をめざして研究中である。心筋細胞の休眠状態を維持するための最適の炭酸ガス分圧と浸漬液、保存液の選択または作成、特にCO₂に伴うpHの低下を防ぐためのModified Euro-Collins液⁽¹⁷⁾ に準じた緩衝液を用いた実験を施行中である。

また実用段階をめざしてより大きな動物の心臓に応用できるように灌流法の併用も試みている。

またCO₂の効果に関する基礎的な研究とともに、保存組織のATP濃度や測定顕微鏡的組織像の観察も検討中である。

酸素と炭酸ガスの混合ガス環境下やPFC液下で臓器を保存すると乾燥が進行する。時間の経過と共に摘出臓器の重量が実験前と比較し、-30%以上乾燥するとほとんど蘇生できなかつた。

この原因は、摘出心臓を4℃の低温下で保存しても、極端に代謝

が減少するにもかかわらず心臓自体が酸素代謝をわずかながら行っていたためであると示唆された。

ラットの摘出心臓をPCO₂ = 2000hPa (ヒトの致死量の2000倍の分圧) に曝露する実験を行ったところ、24時間以上経過しても水分の喪失は起こらなかったことから明らかとなった。

反対にPO₂ = 2000hPaに摘出心臓を24時間曝露すると、-30%以上の水分喪失が生じることが明らかとなった。

高分圧のCO₂は、酸素代謝を完全に抑制する効果があり水分喪失が生じないことが示唆された Seki et al (2007 in press)。

哺乳動物の摘出臓器を長期間保存蘇生できるパラメーターは、保存ガス分圧、圧力自体、温度、湿度、酸素分圧などをうまくコントロールすれば長期間の臓器保存が可能になることが示唆された。

我々の開発した摘出臓器を乾燥させる保存蘇生技術は、生命活動を停止させ再び蘇えさせる semibiology (半生物学) という新分野を誕生させた。

自動車が故障し修理して再び乗れるようになるのは、設計図と部品と修理技術があるからである。

ヒトの場合、自動車のように設計図 (解剖図)、修理技術 (外科手術) は既に完成している。ただし、部品 (臓器) がない。

部品は、ヒトの脳死者からの供給に頼っているが、臓器の最大保存期間は24時間である。

私たちの臓器保存蘇生技術は、部品 (臓器) を24時間から72時間に伸ばしたことである。臓器の保存期間が1年間以上になると、半導体のようにヒトの寿命も半永久的になる。

semibiologyの技術が発展するとヒトの寿命は、自動車と同じように半永久的になるものと思われる。

自然界の植物や動物が毎年のように自ら乾燥休眠し、翌年の春に覚醒している自然現象は、既に植物や動物の細胞、組織に応用され実用化が図られている。

我々は、この自然界で植物や動物が毎年の冬場の-60℃以下になるような環境で休眠から蘇生して生命活動を再現したりする現象を、哺乳動物の摘出臓器に応用できることを本実験で示し、さらに再現性があることを本実験で示すことができた。

結論

ラットの摘出心臓をPFC液に浸漬し、炭酸ガス分圧100hPaで曝気しながら72時間以上保存した心臓を、レシピエントラットの右頸部に異所性心移植を実施し、24週間以上生存させることができた。

参考文献

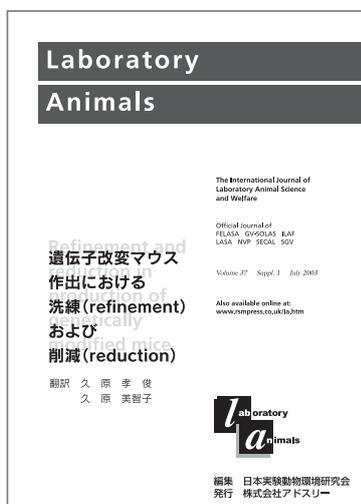
- Behringer W, Safar P, Wu X, Kentner R, Radovsky A, Kochanek PM, Dixon CE, Tisherman SA: Survival without brain damage after clinical death of 60-120 min in dogs using suspended animation by profound hypothermia. Crit Care Med 31:1523-1531, 2003
- Blackstone E, Morrison M, Roth M.B: H₂S induces a suspended animation-like state in mice. Science 308:518 (2005)
- Bruemmer J.H, Brunetti B.B, Schreiner H.R: Effects of helium group gases and nitrous oxide on HeLa cells
- Cooper JD, Patterson GA, Trulock EP et al: Results of single and bilateral lung transplantation in 131 consecutive recipients. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 107: 460-471, 1994
- Danneman PJ, Stein S, and Walshaw SO: Humane and practical implications of using carbon dioxide mixed with oxygen for anesthesia or euthanasia of rats. Lab Anim Sci 47:376-385, 1997
- Dean JB, Mulkey DK, Garcia AJ, Putnam RW, Henderson RA: Neuronal sensitivity to hyperoxia, hypercapnia, and inert gases at hyperbaric pressures
- Goto, T. ed: Xenon. International Anesthesiology Clinics. 39 (2). Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, 2001.
- Heffner JE, Pepine JE: Pulmonary strategies of antioxidant defence. Am. Rev. Respir. Dis. 140, 531-554, 1989.
- Kalayoglu M, Sollinger HW, Stratta RJ, et al: Extended preservation of the liver for clinical transplantation. Lancet, 2, 617, 1988.
- Kuroda Y, Kawamura T, Tanioka T, et al: Heart preservation using a cavitory two-layer (University of Winsconsin Solution/Perfluorochemical) cold storage method. Transplantation, 59, 699-701, 1995.
- Makowka I, Zerbe TR, Champman F, et al: Prolonged rat cardiac preservation with UW lactobionate solution. Transplant Proc. 21, 1350,

- 1989.
12. Mitsuda H, Kawai F, Yamamoto A, Nakajima K: Carbon dioxide-protein interaction in a gas-solid phase. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.*,21,151-162,1975
 13. Mitsuda H, Nakajima K, Mizuno H, Kawai F, Yamamoto A: Effects of carbon dioxide on carp. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.*,26,99-102,1980
 14. Mitsuda H, Ueno S, Mizuno H, Ueda T, Fjikawa H: Effects of carbon dioxide on serum biochemical patterns and on histopathological changes of organ in rats. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.*,28,105-115,1982
 15. Nunn, J F.: The effects of changes in the carbon dioxide tension, p460-471. In *Applied respiratory physiology*. Butterworths&Co.,Ltd.,London
 16. Ohta T, Yasuda A, Mitsuda H: Effect of carbon dioxide on conservation of physiological activities of animal tissue. *Proc. Japan Acad* 1987; 63B; 340.
 17. Ohta T, Yasuda A, Mitsuda H: Effect of carbon dioxide on conservation of vasoactivity of canine mesenteric arteries. *Transplantation*. 1989 Apr;47(4):740-2.
 18. Oz MC, Pinsky DJ, Koga S, et al : Novel preservation solution permits 24-hours presevation in rat and baboon cardiac transplant model. *Circulation* 88, 291-297, 1993.
 19. Pegg DE: Organ presevation. *Surg. Clin. North Am.* 66. 617, 1986.
 20. Schaefer KE, Messier AA, Morgan C, Baker GT: Effect of chronic hypercapnia on body temperature regulation. *J Appl Physiol* 38:900-906,1975
 21. Seki K, Toyoshima M: Preserving Tardigarades under pressure. *Nature* 1998 Vol.395 No.6705, pp.853-854.
 22. Seki, et al: Preservation of rat heart under hypercapnic and hyperbaric condition (in Japanese);on the 2005 conference of Japanese society of hyperbaric physiology
 23. Tanaka H, Nakanishi K; Hydrophobic hydration of inert gases: Thermodynamic properties, inherent structures, and normal-mode analysis. *J. Chem Phys*, 95,(5), 3717-3727,1991
 24. Tsutsumi H, Oshima K, Mohara J, et al: Successful orthotopic cardiac transplantation following 24-hr preservation using a hypothermic perfusion apparatus in canine hearts. *J Heart Lung Transplant* 19: 60-61, 2000
 25. Yeh T, Hanan SA, Johson DE, et al: Superior myocardial preservation with modified UW solution after prolonged ischemia in the rat heart. *Ann. Thorac. Surg.* 49. 932. 1990.
 26. Yoshino T, Sotome I, Ohtani T, Isobe S, Oshita S, Maekawa T: Observations of xenon gas-treated barley cells in solution by atomic force microscopy. *Journal of Electron Microscopy* (49)3:483-486(2000)



Laboratory Animals 遺伝子改変マウス 作出における洗練および削減

好評発売中



遺伝子研究者 待望の日本語訳書

日本実験動物環境研究会編 編
久原 孝俊／久原 美智子 訳

- B5変形判／並製／86頁
- ISBN 4-900659-72-X
- 発行日 2006年 11月28日
- 定 価 1,260円 (税込)
- 本書の内容

現在、世界的に注目を集めているヒトゲノム。
遺伝子レベルでの研究は生命倫理の領域まで達する
難問である。本書はこの難問に対して大きな指針とされる
“Laboratory Animals37巻”補遺の待望の日本語版です。

発行：株式会社 アドスリー
発売：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

遺伝子改変マウスのための福祉評価法

2003年、英国の生物学および医学生物学研究資金供給機関の援助を受けて、遺伝子改変 (genetically altered : GA) マウスの福祉を評価するための方法を検討するワーキンググループが設立された。ワーキンググループは報告書を作成し、その中で、GAマウスの福祉を評価するための方法および機関間において「マウスパスポート」を用いて福祉に関する情報を伝達する方法を推奨している。本報告書は、以下のURLで閲覧することができる：www.nc3rs.org.uk/GAmice または www.lal.org.uk/gaa。本稿は、この報告書の概略である。

科学的処置におけるGA動物(とくに、GAマウス)の使用は、増加の一途をたどっている。遺伝子改変がマウスの福祉に及ぼす影響はさまざまである。遺伝子改変による形質の変化がマウスの福祉に及ぼす影響を評価するためには、国レベルで統一された方法を用いることが必要である。ワーキンググループは、その報告書の中で、動物の痛み、苦しみ、および持続する傷害を客観的に評価するための指標を確立するために、さらに研究をおこなうことが必要であると記している。かならずしもすべての遺伝子改変がマウスの福祉に影響を及ぼすわけではないが、大切なことは、遺伝子改変によって引き起こされる痛み、苦しみ、あるいは持続する傷害を被っている動物を迅速に見つけることである。ワーキンググループは、研究施設という制約の中で、どのようにしてGA動物の福祉を評価することができるかを検討した。また、GAマウスを国内外において授受する場合に、情報

を伝達するための手段として「マウスパスポート」というシステムを提案している。GAマウスの福祉評価によって得られる情報は、当該GAマウスの「福祉プロフィール」と「マウスパスポート」の基礎となる。出生後に、子マウスの匹数ならびに子マウスの外観および活動性を記録すべきである。離乳期以降は、非侵襲的な方法を用いて、福祉評価を実施することを推奨する。これらの福祉評価をおこなうための様式(チェックシート)や「マウスパスポート」の雛形は、上記報告書に例示されている。「マウスパスポート」を利用することにより、実験動物技術者が当該GAマウスを飼育管理する際にとくに注意すべき情報を容易に得ることができる。本福祉評価を実施することにより、GAマウスが被る苦痛を軽減することができると考えられる。

以下、GAマウスの福祉評価に関する勧告の要点のみを記す。

1. 科学的、倫理的、および法律的な観点から、各機関は、有害な影響を被っているGAマウスを同定するためのシステムを備えていなければならない。
2. 新たにGAマウスを作出した場合、あるいは新たにGAマウスを導入する場合には、各機関においてGAマウスの福祉評価を実施すべきである。
3. GAマウスの福祉評価は、新生子期、離乳期、および成体期のそれぞれにおいて実施すべきである。成体マウスの場合、ケージ交換のときに福祉評価を実施するのがよい。
4. 非侵襲的な方法を用いて、福祉評

価を実施することを推奨する。たとえば、新生子の場合、皮膚の色、活動性、胃内のミルク(ミルクスポット)など；離乳期以降は、外観、大きさ、被毛、姿勢、歩様、活動性、臨床所見などである。

5. 福祉評価の実施に際しては、観察したマウスの匹数、および福祉上有害な影響を被っているマウスについて記録しなければならない。
6. 福祉評価によって得られた情報にもとづいて、当該GAマウスの「福祉プロフィール」を作成しなければならない。「福祉プロフィール」は、中央管理室に保管するとともに、当該GAマウスを飼育している室にも常備しておかなければならない。
7. 福祉評価をおこなうすべての者に適切な教育を施し、かつ、定期的に再教育をしなければならない。
8. 各機関は、関係者に対して福祉上の問題点を周知徹底し、そして福祉上有害な影響を被っているマウスに対して適切な処置を施す責任を有する。
9. 機関間においてGAマウスの授受をおこなう場合は、飼育管理、繁殖上の注意点、予想される形質、福祉上の問題点などに関する情報を提供しなければならない。その際、「マウスパスポート」を、直接、実験動物技術者にも提供しなければならない。
10. 各機関は、職員が福祉評価をおこなうために、日常の飼育管理作業に支障が生じないよう、適切な人員を配置しなければならない。

(抄訳：久原孝俊)

D. J. Wells, L. C. Playle *et al.* : *Laboratory Animals*. 40(2), 111-114 (2006).



キーワード：マウス、遺伝子改変、福祉評価

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) の血液検査値および血清生化学値

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) は、脊椎動物の発生や遺伝学の研究において、すぐれたモデルであることが示されている。突然変異体を作製する研究によって、造血や血液凝固などに欠陥をもつ、血液系の突然変異体が多数作製されている。ゼブラフィッシュを用いた研究の圧倒的多数が胚における発生や突然変異の影響に関するものである一方、成体のゼブラフィッシュにおける影響についてはほとんど調べられていない。我々は、ゼブラフィッシュが老化

や加齢性疾患の研究のために有用なモデルになると確信しており、成体ゼブラフィッシュの基本的特性のいくつかを解明することを目的とした。そこで、成体ゼブラフィッシュから血液を採取し、血液学および生化学的なパラメーターの基準値を決めるために分析を行った。白血球百分率では、リンパ球の比率が平均82.95%と優勢であった。総赤血球数は、平均 3.02×10^6 個/ μ lであった。アラントランスアミナーゼ (ALT)、アミラーゼ、およびリンの数値が大きい

ことを除けば、血清生化学的分析結果は、哺乳類や他の魚類で報告されている値の範囲内にあった。多数作製されている変異ゼブラフィッシュを精密に解析するためには、正常ゼブラフィッシュの特性の解明が必要である。我々は本研究の結果が、正常な成体ゼブラフィッシュの特性を解析するための一助になるであろうと確信しており、ゼブラフィッシュがヒトの疾患や老化の研究において使われることが大いに期待される。(翻訳:小柳沙綾歌)

J. M. Murtha, W. Qi and E. T. Keller: *Comparative Medicine*. 53(1):37-41 (2003).



キーワード:ゼブラフィッシュ、血液検査値、血清生化学値、ヒト疾患モデル

研究施設で飼育されているゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) によくみられる微胞子虫 *Pseudoloma neurophilia* のPCR法による検出

研究施設のゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) に最も流行している病原体の1つとして、微胞子虫である *Pseudoloma neurophilia* が挙げられる。おもに脊椎に感染し、衰弱や脊柱側湾を引き起こす。研究施設のコロニーにおいて *P. neurophilia* が広く流行している原因は不明であるが、研究室間における感染魚や感染卵の移動が関与していると考えられる。研究施設間における本病原体の拡散防止に加え、寄生虫をもっていないゼブラフィッシュを実験に使用することが望ましい。そこで我々は、PCR

法にもとづいた *P. neurophilia* 診断法を開発した。従来の診断法と比較して、PCR診断法は迅速で多数のゼブラフィッシュのスクリーニングが可能であり、また卵、濾過水、バイオフィーム、およびその他のサンプルにも適用可能である。*P. neurophilia* のリボソームDNAのスモールサブユニットに特異的なPCRプライマーを用いることにより、1反応当たり10個の胞子を確実に検出することができ、また多くの場合、1反応当たりわずか0.1個の胞子をも検出することができた。このPCR検査法は、魚由来の

他の微胞子虫種に対して交差反応性を示さなかった。我々は、ゼブラフィッシュコロニーにおける *P. neurophilia* 感染の有無を調べる際や、あるいは研究施設間でのゼブラフィッシュの移送、とくに実験において寄生虫をもっていないゼブラフィッシュの使用が求められる際のスクリーニングにおいて、このPCR検査法が研究者らによって用いられることを推奨する。さらに我々は現在、*P. neurophilia* の垂直感染の可能性をこのPCR検査法を用いて検討している。(翻訳:門田勇介)

C. M. Whipps and M. L. Kent: *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 45(1), 36-39 (2006).



キーワード:ゼブラフィッシュ、*Pseudoloma neurophilia*、PCR法、診断

捕獲マカク属サル類 (*Macaca fuscata*, *M. mulatta*, *M. fascicularis*) における抗Bウイルス抗体価の変化

Bウイルス (*Cercopithecine herpesvirus 1*; BV) 陽性マカク属サル類における抗BV抗体価の変化をELISA法により調べた。航空機による輸送後のBV感染カニクザル、および屋外の集団ケージから屋内の個別ケージに移動したアカゲザ

ルにおいて、抗BV IgG抗体価の上昇が観察された。感染性ウイルスの排出については検討しなかったが、抗体価の上昇はBVの再活性化を示唆している。興味深いことに、囲いのある屋外で飼育されているニホンザルのコロニーにおいて、

繁殖期の雄においてのみ抗BV IgG抗体価の上昇が観察された(雌では観察されなかった)。今後の研究において、BVの再活性化が抗BV抗体価の上昇を引き起こすかを検討する必要がある。(翻訳:伊波興一朗)

F. Mitsunaga, S. Nakamura, T. Hayashi and R. Eberle: *Comparative Medicine*. 57(1), 120-124 (2007).



キーワード:マカク属サル類、Bウイルス、抗体、再活性化

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。今回からは平成18年度の研修会において出された質問とそれに対する回答を紹介します。まず、検査技術に関するものから記載します。

Q：グラム染色において、形状が解りにくい時や菌体染色に斑がでる時があります。原因を教えてください。

A：まず形状が解りにくい原因には、菌が新鮮でないことや塗抹が濃すぎることが考えられます。つぎに染色に斑が出る原因として考えられることは、脱色不足が一番考えられます。脱色時間を多少長めにしても、グラム陽性に染まった菌が脱色されることはありません。また菌が新鮮でない時にも斑が出る時があります。

Q：PCRの導入を計画しているが専用の実験室が必要でしょうか？

A：専用の実験室を用意し、操作はクリンベンチ内にて実施したほうが良いと思います。その理由は、コンタミ防止です。PCRは感度が高く、操作中ゴミ等の飛び込みにより非特異反応を起こす恐れがありますし、RNAを取り扱う時はRNAを溶かす阻害物質等のコンタミに注意する必要が有るからです。

Q：H.hepaticusの検査において、盲腸内容物のPCRにおいて陽性になり、糞便の培養検査により陰性になる場合はあるのでしょうか？またその逆はあるのでしょうか？

A：PCRは培養に比べかなり検出感度が良いため、PCR陽性、培養陰性はありえると思います。糞便の培養検査の感度が低下するのは、検体処理時に居雑物排除のため、遠心、フィルター処理をすることにより、検体内の菌数が減少することが大きな原因であると思います。またこの逆のケースですが、感度が悪い培養で菌が分離されている分けですから、通常はPCR陰性は考えられないと思います。まずPCRの操作に問題ありと考えた方が良いでしょう。

Q：血清の非動化とはどういうことなのでしょうか？また非動化しなかった場合、凝集反応、CFの結果にどのような影響をあたえますか？

A：非動化とは、血清を56℃30分あるいは60℃20分加熱することにより、血清中に存在する、自然凝集因子、抗補体作用などの血清反応阻害物質を排除することです。またこれにより、被検血清中に存在する補体を除去することができます。したがってこの操作を実施しなかった場合、凝集反応では自然凝集因子により陰性なのに凝集してしまうことが起こりえます。またCFでは抗補体作用や自己の補体による偽陽性反応や偽陰性反応が起こる場合があります。ですので凝集反応やCFにおいては必須の操作であると言えます。ただELISAでは上記の阻害物質の影響が少ないので必須ではありません。

日本実験動物学会の動き

1. 第54回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成19年5月23日（水）～25日（金）の期間、タワーホール船堀（東京都江戸川区）で開催されます。奮ってご参加下さい。

詳細につきましては総会ホームページ（<http://www.ipecc-pub.co.jp/54jalas/>）をご参照下さい。

日本実験動物技術者協会の動き

第41回日本実験動物技術者協会総会

会 期 平成19年7月6日（金）～7日（土）
 会 場 名古屋市中小企業振興会館（吹上ホール）
 名古屋市千種区吹上2-6-3
 TEL 052-735-2111
 FAX 052-735-2116
<http://www.u-net.city.nagoya.jp/>
 会 長 小木曾昇（名古屋大学大学院医学系研究
 科附属医学教育研究支援センター）

総会事務局：
 京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター内
 前田典彦
 （京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター）
 〒484-8506 愛知県犬山市大字犬山字官林41番地
 Tel: 0568-63-0607 Fax: 0568-62-9559
 Email: jaeat2007@pri.kyoto-u.ac.jp
 ホームページ
<http://jaeat-tokai.hp.infoseek.co.jp/2007nagoya/>
 「第41回日本実験動物技術者協会総会名古屋大会」

奥羽支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
研修・施設見学会	H19年10月 (予定)	(財)環境科学技術研究所 先端分子生物科学研究センター	新設「第2研究棟」における低線量(率)放射線の生物への影響実験調査の紹介(仮)

東北支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
平成18年度支部総会および 支部講演会	H19.4.21	東北大学医学部附属病院 臨床小講堂	講演1 「異常動物への対応 —早期発見と診断、 そして適切な対応とは—」 講演2 「生殖細胞のメカニズムを解明する」

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
支部主催実技講習会	H19.8 (予定)	順天堂大学医学部	「ブタの取り扱い」
本部共催実技講習会 (疾病)	H19.9.7-8 (予定)	麻布大学	「実験動物の感染症と検査および微生物クリーニング」
本部共催実技講習会 (手技)	H19.11月 (予定)	慶應義塾大学医学部	「実験動物の取り扱い、実験手技及び比較解剖」
REG部会	H19.11.17 (予定)	順天堂大学医学部	内容未定

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第61回実験動物学習会 (座学)	H.19.7	大阪大学医学部銀杏会館	実験動物二級技術者レベルの座学講習
地方大会	H.19.10	岡山県	未定
第62回実験動物学習会 (実技)	H.19.11 (予定)	大阪府内の大学で調整中	実験動物二級技術者レベルの実技講習

九州支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
創立30周年記念講演会	H19.4.7	鹿児島県民交流センター	「九州支部30年のあゆみ」 「改正動物愛護管理法と動物実験について考える」 「世界自然遺産 屋久島」他2題
第26回研究発表会および 第30回総会	H19.4.8	鹿児島県民交流センター	「特定外来生物法について」他1題の特別講演

詳細は、日本実験動物技術者協会のホームページ（<http://jaeat.org/>）を参照下さい。

1. カルタヘナ法の周知及び遵守の徹底のお願い

今般、遺伝子組換えマウスの国外輸送の際、成田空港においてマウスが一時的に逃亡するという事態が起きました。当事者である財団法人実験動物中央研究所（実中研）は文部科学省より「遺伝子組換え生物等の使用の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（通称カルタヘナ法）に基づく適切な措置を執らずに使用等を行っていたとして嚴重注意を受けました。このことに関しての詳しい内容は文部科学省のホームページ（http://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/）をご参照ください。

当協会に対しては、農林水産省生産局畜産部畜産振興課長から、協会の会員及び賛助会員等に対して法令遵守を徹底するように指導を行い、再びこのような問題を起さないよう充分注意されたい旨の指導がありました。

皆様の職場におかれましても法令遵守を一層徹底していただくとともに再度関係業務の総点検を行っていただき再発防止に一層努めてくださいますようお願いいたします。

社団法人日本実験動物協会

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4回情報専門委員会	19.1.12（金）	「LABIO21」No. 28の企画
実験動物福祉専門委員会	19.2. 6（火）	動物福祉に関する指針等の改訂
第6回モニタリング小委員会開催	19.2. 9（金）	イス、サルの検疫・順化マニュアルの作成
動物福祉に関する指針等の説明会	19.2.10（土）	東京会場 馬事畜産会館63名参加
動物福祉に関する指針等の説明会	19.2.17（土）	大阪会場 36名参加
指導員研修会	19.2.24（土）	馬事畜産会館76名参加
第3回ミニ豚等普及促進企画検討小委員会	19.2.26（月）	ミニブタ普及用DVDの作成
実験動物福祉調査・評価委員会	19.3. 2（金）	模擬調査の評価基準について他
実験動物一級技術師実地試験	19.3. 4（日）	日本獣医生命科学大学59名受験
第4回教育・認定専門委員会	19.3. 6（火）	平成19年度の事業計画と日程について
試験問題採点委員会、可否判定委員会	19.3. 6（火）	技術者一級実地試験について
第2回運営会議	19.3. 9（金）	平成19年度の事業計画と日程について
生産対策委員会	19.3.14（水）	平成19年度の生産対策事業について
第47回理事会	19.3.30（金）	平成18年度の事業報告と平成19年度の予算について

3. 行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所
第1回通信教育小委員会	19.4. 6（金）	平成19年度の通信教育について
第1回情報専門委員会	19.4. 6（金）	「LABIO21」No.29の企画
第1回モニタリング小委員会	19.4.12（木）	イス、サルの検疫・順化マニュアルの作成
第48回理事会	19.5.18（金）	森川ビル会議室
第23回通常総会	19.5.18（金）	森川ビル会議室
「日常の管理」研修会	19.6.30（土）	京都府立医科大学
通信教育スクリーニング	19.9. 8～9（土、日）	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
白川研修	19.9.17～21（月、金）	（独）家畜改良センター
一級・二級技術者試験	19.11	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学

(2) 関係協会団体行事

◆第54回日本実験動物学会総会

日 時：2007年5月23日～25日
 会 場：船堀タワー、東京
 会 長：須藤かつ子
 詳 細：<http://www.ipec-pub.co.jp/54jalas/>

◆第41回日本実験動物技術者協会総会

日 時：2007年7月6日～7日
 会 場：名古屋市中小企業振興会館（吹上ホール）
 会 長：小木曾昇
 詳 細：<http://jaeat-tokai.hp.infoseek.co.jp/2007nagoya/index.html>

協会だより

◆第38回日本実験動物環境研究会/

第41回日本実験動物技術者協会(東海)との共催大会

日時:2007年7月6日~7日

会場:名古屋市中小企業振興会館(千種区吹上)

◆The 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences.

日時:2007年8月21日~25日

会場:イースト21、東京

詳細:<http://www.knt.co.jp/ec/2007/wc6/>

◆第24回日本疾患モデル学会総会

日時:2007年8月31日~9月1日

会場:つくば国際会議場

会長:八神健一・高橋 智

詳細:専用HPを3月上旬に開設予定

◆第37回静岡実験動物研究会総会、第35回研究発表会

日時:2007年10月26日

会場:三島市民文化会館(JR三島駅南口徒歩3分)

詳細:<http://www.mishima-youyouhall.com/visitor/access.html>

米国実験動物学会の日程表は<http://www.azaalas.org/calendar.html>で検索できます。

(3) 海外行事

◆ The 7th Trans-Tech Meeting

日時:2007年4月19日~21日

会場:Chicago、米国

詳細:JIM ARTWOHL (jeart@uic.edu) FOR INFORMATION.

◆ Am College of Lab Animal Medicine Forum

日時:2007年5月6日~9日

会場:Tucson, AZ

詳細:http://www.aclam.org/aclam_calendar.html

◆ The FELASA and ICLAS Joint Meeting

日時:2007年6月11日~14日

会場:the shores of Lake Como, Italy

詳細:<http://www.felasa-iclas2007.com/>

◆ 2nd International Meeting on Rabbit Biotechnology

日時:2007年6月15~16日

会場:パリ近郊の Jouy en Josas (ベルサイユ宮殿の近く)

詳細:http://www.inra.fr/rabbit_biotech_meeting/pre_programme

◆ Frontiers in Microscopy II: Imaging From Single Molecules to Whole Organisms and Its Application

日時:2007年6月18日~21日

会場:The Jackson Laboratory、米国

詳細:<http://www.jax.org/courses/events/coursedetails.do?id=443&detail=scope>

◆ Am. Veterinary Medical Assoc. Annual Meeting

日時:2007年7月14日~18日

会場:Washington DC

詳細:<http://www.avma.org>

◆ 2007 LAWTE Conference

日時:2007年8月8日~10日

会場:the downtown Radisson Hotel in Boston

詳細:<https://www.123signup.com/servlet/SignUpMember?PG=1520316182300>

◆ National AALAS Meeting

日時:2007年10月14日~18日

会場:Charlotte, NC

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。



先日、環境省の動愛法担当の方々と、長時間にわたり親しく話す機会を得た。動愛法がらみの意見交換が主な内容であったが、とりわけ、実験動物や動物実験の適正化に係る第三者による検証システムについて、環境省の関心の高さが伺えた。動愛法の2010年再見直し作業は来年にも始まる予定であり、その作業の過程において、第三者評価システムの実効性が大きく問われるであろうとのこと。2005年の見直しにおいても、それ以前と同様、実験動物・動物実験は自主管理(自主規制)が認められた。その背景には適正化の検証制度確立が担保的要素として存在していた担当官は言う。本協会は既に実験動物生産施設において、検証システムの名称を「模擬調査」としているものの、第三者評価が実質的に行われていると言える。環境省は当該調査の内容を十分把握しており、一定の評価をしている。本協会は調査の実施率を上げることを最重要課題として、実動協と共に啓発活動を展開中である。一方、大学研究機関や製薬企業のその動きに関しては、担当官は未だ明確に見えていないことに若干の不安を口にしていた。しかし、これらの組織も現在、実施に向けた環境作りを実施中と聞いている。早期に具体的に見える形になればよいのだが。さて、動物実験のボリュームの大きさと目立つ存在は受託試験研究機関である。化学物質等安全性試験受託研究機関協議会(安研協)として組織化されているが、検証制度についての動きはどうなっているのだろう。AAALAC認証を視野に入れているところもあると聞く。いずれにしても時間は待ってくれない。次の見直しに向け万事怠りなく進むしかない。(日柳政彦)

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	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
〃	河野 公雄	KIMIO KAWANO
〃	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
〃	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

● LABIO 21 No.28 平成19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 コンジエニック
- ラット 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(奄美)

◆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)
- ヘアークリーニング(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)、フタを用いた試験・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>