

実験動物 ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science

目 次

日本実験動物学会からのお知らせ	1
実験動物感染症対策委員会からのお知らせ	2
実験動物感染症の現状	
マウスノロウイルス	3
ICLAS 情報	6
Experimental Animals 60(1) 収載論文和文要約集	7
維持会員名簿	i
編集後記	iv

Vol. 60 No. 1 / January 2011

日本実験動物学会からのお知らせ

1. 平成 22 年度維持会員懇談会

平成 22 年 11 月 17 日（水）午後 1 時 30 分から中央大学駿河台記念館に於いて、平成 22 年度維持会員懇談会「創薬評価と病態モデル動物：代謝および中枢（アルツハイマー病）疾患」を開催いたしました（参加者：101 名）。

2. 平成 22 年度第 2 回理事会・第 3 回疾患モデルシンポジウム

平成 22 年 11 月 18 日（木）午前 10 時から中央大学駿河台記念館に於いて、平成 22 年度第 2 回理事会を開催しました。また午後 1 時 30 分から第 3 回疾患モデルシンポジウム「精神神経疾患モデル動物とその応用」を開催いたしました（参加者：102 名）。

3. 第 23 回（社）日本実験動物学会功労賞・学会賞の受賞者決定

学会賞（安東・田嶋賞，奨励賞）選考委員会は平成 22 年 10 月 26 日（火）および功労賞諮問委員会は 10 月 21 日（木）に開催されました。各委員会からの推薦および答申をもとに第 2 回理事会において、以下の受賞者を決定しました。

安東・田嶋賞：該当者なし

奨励賞：本多 新（理化学研究所バイオリソースセンター）

高林秀次（浜松医科大学附属動物実験施設）

功労賞：玉置憲一（実験動物中央研究所）

実験動物感染症対策委員会からのお知らせ

実験動物感染症対策委員会
委員長 喜多正和

日本実験動物学会の「マウス・ラット感染対策委員会」は委員会の名称を「実験動物感染症対策委員会」と改称し、新たな体制で活動を開始することになりました。従来の委員会においては、実験動物の中で最も使用頻度が高いマウスとラットの感染症を対象として活動をして参りましたが、本学会には感染症を取り扱う委員会が他に存在しないため、委員会において、すべての実験動物の感染症を対象として活動することの是非が検討された結果、今回の名称変更となりました。また、委員会の活動計画として、感染症関連情報の会員への提供を重要項目とすることが決定され、その活動の一環として、実験動物ニュースに「実験動物感染症の現状」を連載することに致しました。なお、昨年11月11日には、会員MLにより、ニホンザル疾病対策第3者委員会より公表された「ニホンザル血小板減少症の原因究明についての報告」をいち早く情報提供致しましたが、今後とも、実験動物ニュースと会員MLにより、会員の皆様に有用な情報を提供させて頂きたいと思っております。

連載第一弾として、「マウスノロウイルス」を池先生にご執筆頂きましたが、今後は「マウス肝炎ウイルス」、「サルレトロウイルス」、「LCMV」、「パルボウイルス」、「Bウイルス」、「ハンタウイルス」、「ボルデテラ属」、「ヘリコバクター属」、「パストレラ属」、「マイコプラズマ属」、「クロストリジウム属」などを取り上げる予定であります。なお、会員の皆様から「実験動物感染症の現状」シリーズに取り上げることを希望される感染症がございましたら、可能な限り、ご要望にお答えしたいと思いますので、ご遠慮なく委員長までご連絡下さい。

マウスノロウイルス

池 郁生

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室

要 約

マウスノロウイルス (MNV) は 2003 年に RAG2/STAT1 両遺伝子欠損マウスから分離報告された新しいウイルスである。MNV は、マウスの病原体としてと、ヒトのノロウイルスのモデルとしての 2 点から注目されている。マウス病原体としては、一部の免疫不全系統で致死性である一方で、ほとんどの健康なマウスでは感染しても無症状である。しかしながら MNV の環境安定性は高く、また持続感染する例が多い。現在、国内での汚染状況の把握が進行中であり、多くの動物実験施設で MNV 感染が見つまっている。帝王切開や胚移植で清浄化が可能である。病原性研究の進展、検査体制の整備や汚染状況を見ながら、微生物コントロールの対象とすべきか議論されている。ヒトのノロウイルスのモデルとしての MNV は、感染マウスでヒトのような急性胃腸炎を示さないが、ノロウイルス属で唯一 MNV が細胞培養で増殖可能であること、ヒトノロウイルスとの物理性状の類似性、潰瘍性大腸炎やクローン病といった多因子性疾病のコントリビューターとしてなど様々な観点から急速に研究が進んでいる。

1. 病原体：マウスノロウイルス Murine norovirus (MNV) (科名：カリシウイルス科, 属名：ノロウイルス属). 症状：無症状, 死亡

a. 形態・ゲノム構造・タンパク質

ほぼ球状の正 20 面体でエンベロープを欠く。1 本鎖のプラス鎖 RNA (サイズ: 7.4 kbp) で、3' 末端にポリ A を有し、5' 末端には RNA の感染性に必須な分子量 14.3 kDa の VPg と呼ばれるタンパク質が共有結合する。3 つの ORF が存在する。ゲノムの 5' 側に非構造タンパク質が、3' 側に構造タンパク質がコードされている。分子量約 60 kDa のカプシドタンパク質 1 種類が主要構造タンパク質 (VP1) である。VPg とは別に分子量 22 kDa のタンパク質 (VP2) がピリオン中に存在すると考えられている。ピコルナウイルスと同源性を有する非構造タンパク質として、ヘリカーゼ、プロテアーゼ、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼが知られている。

b. 増殖

細胞質内で増殖し、感染細胞内には 2 種の主要なプラス鎖 RNA が検出される。ゲノムサイズの RNA は非構造タンパク質の mRNA として、サブゲノムサイズの RNA はカプシドタンパク質と 3' 末端の小さ

な ORF の mRNA として機能する。非構造タンパク質はポリプロテインとして翻訳され、ウイルスのプロテアーゼにより開裂し成熟した各種非構造タンパク質となる。ゲノムサイズの 2 本鎖 RNA が存在することから、ネガティブ鎖を介して複製が行なわれるものと考えられている。

c. 培養

MNV はマウスの樹状細胞およびマクロファージ系細胞でよく増殖する。マウスマクロファージ系腫瘍細胞株である RAW264 細胞および RAW264.7 細胞に感染させて増殖させることができる。

d. 株

MNV では、多数のウイルス株が世界各地で分離されている (MNV-1, MNV-2, MNV-3, MNV-4, S7 など)。ノロウイルス属には、ヒトのノロウイルス (NV) のほか、ブタノロウイルス、ウシノロウイルスが知られ、VP1 遺伝子の塩基配列を基にしたホモロジー解析で 5 つの genogroup (GI ~ GV) に分けられる。MNV の分離株はすべて GV に属する。

e. 物理化学的性状・不活化法

MNV は環境安定性が高いと言われる。これは、室温で 14 日保存した糞便から MNV を RT-PCR で検出

可能なことから推察される。一方、MNVは、カリシウイルス科のネコカリシウイルス(ベジウイルス属)と異なり、70%エタノール感受性が高く、瞬時に感染価が減少する。紫外線による不活化も有効である。

2. 感染様式

a. 感受性動物種

MNVはマウスだけが感受性動物とされている。ヒトのノロウイルス(NV)のほか、ブタ、ウシでもノロウイルスが知られているが、動物種間における交差感染の報告はない。自然免疫の機能不全マウスにおいて致死的な感染を起こす。肺、肝臓、脾臓、小腸などでウイルスは増殖し、病理組織学的には肝炎、間質性肺炎、腹膜炎、胸膜炎などが認められる。

b. 地理分布

アメリカやヨーロッパなど世界中のマウスが高頻度に汚染されており、2005年に報告された北米の研究施設を対象とした調査では約22%のマウスがMNV抗体陽性であった。国内のマウスの調査結果においても、本ウイルスの感染が確認されている。

c. 伝播経路

糞便中に排出されたウイルスが経口感染する。不顕性感染例でも腸管や腸間膜リンパ節では長期間感染が持続し、ウイルス排出は感染後8週間以上続くことが報告されている。MNVは同居によって容易に感染が成立する。マウス系統によって各臓器におけるMNV核酸量に差がみられる。MNVの垂直感染の報告はない。

d. 感染率および致死率

日本国内におけるMNVの汚染状況は調査が始まったばかりであるが、今までの報告によるとコンベンショナル施設におけるMNV感染率は高いと予想される。一方、長年に渡って多くの感染マウスが飼育されてきたにも関わらず、特定の自然免疫系の欠損マウスを除いて病原性を示唆する報告はほとんどない。以上の知見に基づけば、実験マウスコロニーで感染個体が発見されても、淘汰やクリーニング等の緊急対応は一般に不要と考えられる。今後、汚染状況や病原性に関する情報を集積しつつ、各施設の用途に合わせた対応方針を慎重に検討していくことが必要である。

e. 感染経過

Manuel, C.A.らの報告によると、4週齢のICRマウスを用いた同居感染実験の報告では、同居2週目ですべてのマウスの糞便がRT-PCRでMNV陽性、同

居4週目にすべてのマウスで抗MNV抗体陽性であった。MNV汚染床敷を用いた4週齢のICRマウス感染実験でも、遅くとも10週目にはRT-PCRでMNV陽性、12週目に抗MNV抗体陽性という。MNV感染マウスは3か月以上ウイルス核酸の糞便からの排泄が持続する。

f. 病理

免疫学的に正常な野生型マウスでは臨床的变化は軽微である。ウイルス株によりすぐに排除されるもの、持続するものがある。腸管膜リンパ節、腸管、脾臓などでウイルスは増殖する。病理組織学的変化は概して軽微とされる。

g. 病原性

通常、本ウイルスによるマウスの感染は不顕性である。ヌードマウスやscidマウスなどのT細胞やB細胞が欠如している免疫不全マウスでも不顕性感染となる。一方、STAT1欠損マウスやIFN α β γレセプター欠損マウスなどのインターフェロン系自然免疫の不全マウスは本ウイルスに高い感受性を示し、脳炎、肺炎、肝炎を伴う致死感染となることが報告されている。

h. 診断

臨床的な診断は困難である。ELISAあるいはIFAによる抗MNV抗体産生や、RT-PCRによるMNVゲノムの検出により検査が可能である。MNV感染マウスでは持続感染例が多く、また糞便中でMNVは比較的安定であるので、検査個体が抗MNV抗体陽性あるいはRT-PCR陽性であった場合、同一系統の個体もMNV陽性であること、そして抗MNV抗体陽性個体のケージから採取した糞便がRT-PCRでMNV陽性となることも多い。

i. 実験への影響

インターフェロン系機能に異常があるマウスでは、臨床症状を現し死亡率も高いため、本ウイルスを排除する必要がある。一方、通常のマウスにおける不顕性感染例でMNVが実験成績に影響を及ぼしたとの報告は少ない。しかし、MNVがマクロファージで増殖することから、マクロファージ機能やインターフェロン応答、特に腸管免疫系を解析する実験では問題となる可能性がある。また、以下の感染モデルの項で述べるように、炎症性大腸炎やクローン病のモデルでMNVが憎悪因子となる報告がある。MNVに関する論文は、ここ2009年頃から爆発的に増えているため、今後もMNVが実験へ影響する報告がなされる可能性があり、継続的な情報収集が必要である。

3. 感染制御 / 予防

a. バイオセーフティ

一部の免疫不全マウスで病原性が確認されていることから、MNVはバイオセーフティレベル2に分類されている(下記の5. d項参照)。今後、国内での検査体制の整備や汚染状況の把握が進み次第、国立大学法人動物実験施設協議会が策定した「実験動物の授受に関するガイドライン」および「感染動物実験における安全対策」への追加も検討される予定であるが、現時点では未決定である(上記2. d項も参照のこと)。

b. 清浄化方法

MNV感染マウスからのウイルス排除には、帝王切開や胚移植が有効である。

4. 検査方法

a. 分離

一般に糞便等からウイルス分離を行う際は、RAW264系細胞が用いられる。

b. 抗体検査

精製MNVや組換え抗原を用いた抗体検査(ELISA, IFA)が実用化されているが、市販の診断キットはない。日本チャールス・リバー株式会社モニタリングセンターではMFI法による血清検査を請け負っている。

c. PCR

盲腸内容物や糞便などからMNVの核酸を検出するRT-PCR法が実用化されている。MNV陽性検体が入手できる場合は自家検査も可能である。実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンターにRT-PCR検査を依頼することができる。

d. 組織病理学

免疫染色により、腸間膜リンパ節や脾、小腸、肺などのマクロファージ・単球・小腸上皮細胞にMNV抗原が検出される。

5. 感染実験

a. 感染症モデル

炎症性大腸炎: *Helicobacter bilis* 感染マウスにMNVを共感染させると大腸の病理組織学変化が憎悪する。

クローン病: クローン病感受性遺伝子であるATG16L1を低レベルで発現させたマウスはパネート細胞の抗菌ペプチド分泌産生に異常が生じるが、

MNVはこのマウスに持続感染し、パネート細胞にインターフェロン γ や腫瘍壊死因子 α といったpro-inflammatoryサイトカイン遺伝子発現を誘導し、デキストラン硫酸ナトリウム投与に反応して腸に潰瘍を起こすことから、クローン病様症状発症のコントリビュータとして働くのではないかとされる。

b. 封じ込めレベル

国立感染症研究所ではMNVについて、病原体のバイオセーフティレベル(BSL)、感染実験の動物バイオセーフティレベル(ABSL)ともにレベル2としている。

謝辞

本ウイルスの日本における研究はまだ中途にあり、本項記述には、久和茂先生(東京大学)、遠矢幸伸先生(日本大学)、國田智先生(筑波大学)、後藤一雄先生(帝京大学)、片山和彦先生(国立感染症研究所)、山田靖子先生(同)、酒井宏治先生(同)、高木弘隆先生(同)など多くの研究者の講演・意見を参考にした。著述については文献欄に記載したが、学会発表等については記載していない。皆さん、色々ありがとうございました。

主要文献

- ・ Karst, S.M. *et al.* 2003. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science* 299: 1575–1578.
- ・ Hsu, C.C. *et al.* 2006. Persistent infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine noroviruses. *Comp. Med.* 56: 247–251.
- ・ Henderson, K.S. 2008. Murine norovirus, a recently discovered and highly prevalent viral agent of mice. *Lab. Anim. (NY)* 37: 314–320.
- ・ Manuel, C.A. *et al.* 2008. Soiled-bedding sentinel detection of murine norovirus 4. *J. Amer. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 47: 31–36.
- ・ Goto, K. *et al.* 2009. Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice. *Exp. Anim.* 58: 135–140.
- ・ 久和 茂. 2009. マウスにおけるマウスノロウイルス感染症. *Labio21* 38: 6–8.
- ・ 後藤一雄. 2009. わが国の実験用マウスにおけるマウスノロウイルスの汚染状況. *Labio21* 38: 9–13.
- ・ 遠矢幸伸. 2003. カリシウイルスと感染症. 獣医微生物学第二版(見上 彪監修), 文永堂出版, 東京.

ICLAS 情報

このICLAS情報は、ICLAS FYI BulletinやICLAS理事からの情報などをもとに、ニュース発行時に陳腐化しない案件を選択したものです。

1. 関連学会、講習会等の案内

a. 3rd East Mediterranean ICLAS Symposium

Dear Colleagues,

On behalf of the Organizing Committee, it is my pleasure to invite colleagues to the Third East Mediterranean ICLAS Symposium on Laboratory Animal Science. The symposium is organized by the Laboratory Animal Science Association-Turkey (LASA-Turkey) in association with International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) and will be held in the city of Istanbul, Turkey, on June 13 and 15, 2011. The symposium is open everyone interested in Laboratory Animal Science and experimental studies.

During the symposium, many topics will be under discussion, including ethical evaluation, experimental design, new technologies in Laboratory Animal Science, new animal models, methods for reduction etc. We invite you to participate in the meeting and welcome you to submit abstracts for oral or poster presentations.

I surely believe that we will benefit from and enjoy this meeting, and I do hope to see you in Istanbul in June 2011. For further information, please visit

<http://www.iclas2011istanbul.org/default.asp>

With my kind regards,

Siyami Karahan, DVM, PhD

President, Laboratory Animal Science Association-Turkey

2. 出版等

a. International Harmonization of Guidance on the Ethical Review of Proposals for the Use of Animals, and on the Education and Training of Animal Users in Science

ICLASは2010年6月に上記International Harmonization of Guidanceを発表しました。その内容は、<http://www.iclas.org/>で入手可能です。

3. ICLAS会議

a. 第15回ICLAS総会開催のおしらせ

The XV ICLAS General Assembly will be held on the afternoon of June 12 and the morning of June 13, 2011, during the Third ICLAS East Mediterranean Regional Meeting in the wonderful city of Istanbul, Turkey.

b. ICLAS FYI Bulletin 受信者の募集

ICLAS FYI Bulletinは実験動物学に関する集会、講習会や出版の情報をICLASがE-mailで配信するもので、受信者を更新中です。受信希望者は氏名とメールアドレス下記宛て送ってください。

I am in the process of updating the list of recipients of the ICLAS FYI Bulletin. Please let me know if you wish your name to be removed or if you would like to have individuals added. Please send me their names, country and e-mail addresses if you wish to add colleagues to the list.

Steven P. Pakes, DVM, PhD

Professor of Pathology, UTexas Southwestern Med. Ctr.

5323 Harry Hines Blvd. Dallas, TX 75390-9072

E-mail: steven.pakes@UTSouthwestern.edu

Phone: 214-648-1684

Fax: 214-648-4096

URL: <http://www.iclas.org>

Experimental Animals

— 和文要約 —

Vol. 60, No. 1 January 2011

総説

養鼠玉のかけはし：日本における最初のラット飼育ガイドブック 1-6

庫本高志

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

江戸時代、鼠を飼育することが流行し、二冊のガイドブックが発行された。『養鼠玉のかけはし (1775年)』と『珍翫鼠育草 (1787年)』である。しかし、これらが扱っている“鼠”という動物が、マウスなのかラットなのか明らかではない。ここでは、『養鼠玉のかけはし』の内容を検討することによって、この本に記載されている動物の種別を明らかにしてみたい。『養鼠玉のかけはし』は、上下二巻からなる。作者は春帆堂亭主で、鼠の紹介、変種の紹介、そして、飼育方法の実際が記載されている。“鼠”の別名は“ねずみ”であり、家に棲み着くとされた。この“ねずみ”とは別に、“のらこ”という動物が紹介されている。“のらこ”は“ねずみ”より小さく、その俗名を“はつかねずみ”という。つまり、“鼠”はラット、“のらこ”はマウスで、当時の人びとはラットとマウスを区別し、別々の名前と呼んでいた。近年、私は、『養鼠玉のかけはし』で紹介されている変種と同様の毛色や模様を示すラットが、現在の実験用ラットからも見いだされることを示した。以上より、“鼠”はラットであり、『養鼠玉のかけはし』で扱われている動物はラットであると思われる。

レビューシリーズ：ヒト疾患モデル動物の最前線

脂質メディエーターとライフサイエンス 7-20

村上 誠^{1,2)}

¹⁾東京都臨床医学総合研究所脂質代謝プロジェクト, ²⁾昭和大学薬学部衛生化学教室

「脂質メディエーター」は、刺激に応じて局所で一過的に産生され、細胞外に放出された後に標的細胞上の特異的G蛋白共役受容体に作用してシグナルを伝達し、速やかに消去される脂溶性生理活性物質である。このような性質から、脂質メディエーターは局所ホルモンあるいはオタコイドの一種といえる。ゲノムから直接情報が得られるタンパク質とは異なり、脂質はゲノムにコードされていないため、ゲノムから直接情報を得る事はできない。しかしながら、脂質の代謝酵素、輸送体、あるいは受容体の遺伝子改変動物から得られる情報を理論的に統合することにより、特定の脂質分子の機能を間接的に知ることが可能である。今や、脂質メディエーターが炎症、不妊、動脈硬化、虚血、生活習慣病、癌などさまざまな疾患と密接に関連していることは明らかである。本稿では、多様な脂質メディエーターの基本的知識を概説した後、単一の脂質代謝酵素のノックアウトマウスが脂質情報を抽出するために如何に有用であるかについて、基礎サイエンスや臨床との関連も踏まえつつ紹介したい。

糖尿病のトランスレーショナル研究支援のためのIRS-2ノックアウトマウスの
系統化と特性検索に関する研究21-32

橋本晴夫

財団法人実験動物中央研究所

2型糖尿病研究において、食事すなわち栄養摂取の面からのアプローチは、いくつかある治療研究の中で重要なものの1つである。我々は2型糖尿病（以後、糖尿病）モデルマウスを用いた再現性のある動物実験のため、実験動物学的な見地から次の2つを提案したい。すなわち糖尿病モデルマウスの系統化と毎日の飼育管理に用いる飼料の改良である。糖尿病モデルマウスの系統化とは、背景遺伝子の揃ったマウス系統の確立であり、それによって安定した結果をもたらすツールを提供できることになる。今回の研究では東京大学糖尿病代謝内科の窪田らによって作られ、耐糖能障害およびインシュリン抵抗性の両方、すなわち2型糖尿病を引き起こすIRS-2欠損マウス (*Diabetes* 49: 1880-1889, 2000) を導入し、その系統化を行い、背景系統によって糖尿病発症がどのような影響を受けるかを調べた。次に我々は現代日本人食および現代アメリカ人食をマウス用へ換算し補正を加えた飼料を作製し、これらの飼料を糖尿病モデルマウスに摂取させることにより、肝臓、膵臓、白色脂肪などのインシュリンシグナルについて比較してみた。これにより現代人の糖尿病により近い評価系を確立できるものと考えた。今回、これらのデータを例として、動物実験にとって、動物の品質と一般飼育（今回は飼料）の因子の重要性について考えてみたい。

原著

遺伝子発現プロファイルを用いて評価した白金ナノ粒子が生体に与える影響33-45

堅尾和夫¹⁾・本間玲子^{2,3)}・加藤史子^{2,4)}・渡辺慎哉²⁾・今井順一²⁾

¹⁾日本大学, ²⁾福島県立医科大学, ³⁾(株)ニッポンジーン, ⁴⁾(株)メディクローム

白金は金属自体無害とされ、自動車排気ガス装置や食物添加物、化粧品など身近な商品に使用されている。さらに近年においては、微粒子化された白金粒子は抗酸化作用があるとの理由から特にアジア圏で積極的に体内に摂取されている。しかし、微粒子化された白金粒子が生体に与える影響は十分に研究されていない。そこで我々は白金ナノ粒子が生体に与える影響を調べるため、ラットに白金ナノ粒子を経口投与し、ラットの25臓器の遺伝子発現変動をDNAマイクロアレイにより比較解析した。その結果、発現レベルが変動した遺伝子は12臓器において18遺伝子（約0.17%）であった。特にその中で、直接曝露臓器である腺胃では炎症関連の遺伝子発現が変動し、皮下脂肪ではATPase活性を有する遺伝子群の発現が上昇していた。また、皮下脂肪と腺胃で発現変動があった遺伝子についてReal time RT-PCRを行ったところ、マイクロアレイの結果を裏付けることができた。これらの結果は、微粒子化された白金粒子は生体に対して遺伝子発現レベルで影響をほとんど与えないが、臓器によって局所的に影響を及ぼす可能性を示している。

成熟ラットにおける短期間の精管切除がFSH, LH, インヒビン,
テストステロン濃度および精子運動性に及ぼす影響.....47-56

任 龍権^{1,2)}・翁 強^{2,3)}・岸本海織²⁾・渡辺 元^{1,2)}・
Sukanya JAROENPORN⁴⁾・田谷一善^{1,2)}

¹⁾岐阜大学大学院連合獣医学研究科基礎獣医学連合講座, ²⁾東京農工大学農学部獣医学科獣医生理
学研究室, ³⁾北京林業大学生物科学技術学院, ⁴⁾チュラロンコン大学理学部霊長類研究室

本研究では、成熟雄ラットにおいて両側精管切除後のFSH, LH, インヒビン, テストステロン
分泌および精子運動性の変化を明らかにすることを目的とした。精管切除は外科的に行い
(処置群), 偽手術により精管切除を行わないラットを対照(対照群)として使用した。手術後3,
5, 7, 14, 30, 60, 90日に血中FSH, LH, インヒビン, テストステロン濃度をラジオイムノ
アッセイ法で, 精子の運動活性を精子分析装置(CASA)により測定した。結果として, 精巣上
体重量は処置群で手術後30日まで有意に増加した。組織学的には, 処置群において精細管内
の多核巨細胞の出現を含む精子形成異常と精巣上体における精子細胞変性が認められた。血
中FSH, LH, テストステロン濃度は手術後3日においてのみ低下した。一方で, インヒビン濃
度は, 手術後3日に有意に増加した。精子運動パラメーターである直線速度(VSL), 曲線速度
(VCL), 平均軌跡から精子頭部の振幅の平均(ALH, mean)および精子頭部の振幅の最大(ALH,
max)は手術後60日から低下した。以上の結果から, 精管切除術は手術後60日後から精子運動
性を低下させること, また一時的に精子形成異常の可能性はあるが, 精巣ホルモンの分泌機能
には大きな影響を与えないことが判明した。

ENUミュータジェネシス由来のKyoto rhinoラットは先天性脱毛と
巣状糸球体硬化症を示す.....57-63

庫本高志¹⁾・桑村 充²⁾・田上 史¹⁾・真下知士¹⁾・能勢真人³⁾・芹川忠夫¹⁾

¹⁾京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設, ²⁾大阪府立大学獣医病理,

³⁾愛媛大学大学院医学研究科

Kyoto rhinoラットはENUミュータジェネシスにより作製された先天性脱毛を示すミュータ
ントで, バックグランド系統であるF344に戻し交雑することなく, 兄妹交配により系統化され
た。先天性脱毛は劣性遺伝し, 原因遺伝子はKyoto rhino (*krh*)と名付けられた。ホモ個体は,
生後8週までに体毛が抜け, たるんだ皮膚, 毛根部の嚢胞を特徴とする。皮膚の病理組織学的
解析により, 毛胞は非常に拡張しケラチンを含むことが明らかとなった。遺伝学的解析により,
*krh*と第15染色体のヘアレス遺伝子(*Hr*)の連鎖が見いだされた。シーケンス解析により,
*Hr*遺伝子にナンセンス変異(S413X)を見いだした。変異HRタンパク質はzinc-fingerドメイン
ならびに抑制ドメインを欠くと予想された。高齢の*Hr^{krh}*ホモラットでは, 巣状糸球体硬化症が
観察された。糸球体はBowman嚢にタンパク滲出液を含んでおり, 分節化したメザンギウム基
質と足細胞の傷害が観察された。さらに, *Hr^{krh}*ホモラットは, 高タンパク尿を示した。系統確
立の過程を考慮すると, F344-*Hr^{krh}*ラットは, 先天性脱毛の原因遺伝子である*Hr^{krh}*に加えて,
巣状糸球体硬化症に関与するENUにより誘発された遺伝変異を有している可能性が考えられ
た。F344-*Hr^{krh}*ラットは, 皮膚疾患のモデル動物としてだけでなく, 巣状糸球体硬化症の病態
発生メカニズムを解析するモデル系として利用できるだろう。

Triplex PCR for the Simultaneous Detection of *Pseudomonas aeruginosa*,
Helicobacter hepaticus, and *Salmonella typhimurium* 65–70

Eui-Suk JEONG¹⁾, Kyoung-Sun LEE¹⁾, Seung-Ho HEO^{1, 2)},
 Jin-Hee SEO¹⁾, and Yang-Kyu CHOI¹⁾

¹⁾Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701 and ²⁾Asan Institute for Life Sciences, University of Ulsan College of Medicine, Seoul 138-736, Republic of Korea

The accurate and economical diagnosis of pathogenic bacteria is necessary for the microbiological control of laboratory animals. In this study, we developed a triplex PCR method for the direct detection of three common gastroenteric bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter hepaticus*, and *Salmonella typhimurium*. Targets were specifically amplified by conventional PCR assay using a genomic fragment from *P. aeruginosa*, 16S ribosomal RNA from *H. hepaticus*, and the *invA* gene from *S. typhimurium*. To investigate the specificity of our primers, they were tested against purified DNA from many other bacterial species. There were no amplification products from other bacteria. Under optimized conditions, the triplex assay simultaneously yielded a 726-bp product from *P. aeruginosa*, a 417-bp product from *H. hepaticus*, and a 246-bp product from *S. typhimurium*. The detection limits of this assay in pure culture were 10 pg for *P. aeruginosa*, and 0.1 pg for *H. hepaticus* and *S. typhimurium*. All three bacteria were successfully detected in the liver, cecum, and feces of experimentally infected mice. This method is a useful and convenient assay that allows the simultaneous identification of bacterial pathogens in mice. Our triplex method will be used to improve quality control in the detection of pathogenic bacterial infections in laboratory animal facilities.

Identification of a Novel Point Mutation of Mouse *Atp2b2* Induced by
N-Ethyl-*N*-Nitrosourea Mutagenesis 71–78

Lin XU¹⁾, Zixing WANG²⁾, Xiwen XIONG²⁾, Xingxing GU²⁾, Xiang GAO²⁾, and Xia GAO¹⁾

¹⁾Department of Otolaryngology and Head & Neck Surgery, The Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008 and ²⁾MOE Key Laboratory of Model Animal for Disease Study, Model Animal Research Center, Nanjing University, Nanjing 210061, China

N-ethyl-*N*-nitrosourea (ENU)-induced mutagenesis is an important approach in the study of gene function and the establishment of human disease models. Here we report an ENU-induced mutation, *Elfin*, as a mouse model with hearing loss. Homozygous mutants were deaf and displayed severe ataxia, while heterozygous mice had a significant hearing loss. Histological analysis of the inner ear revealed that *Elfin* had progressive degeneration of the organ of Corti, spiral ganglion cells and an absence of otoconia in the vestibular system. The new mutation was mapped to chromosome 6 between microsatellite markers *D6Mit39* and *D6Mit254*, where the Ca²⁺-ATPase type 2 (*Atp2b2*) gene resides. Sequence analysis revealed a unique T-to-A transition mutation at amino acid 655 resulting in Ile-to-Asn substitution. These results for the *Elfin* mutant confirm the role of ATP2B2 in balance, hearing and formation of otoconia and suggest it may serve as a new model of human hereditary hearing loss.

剛性の異なる2種類のマウス大腿骨専用骨折作成・プレッシングシステム
 Mouse Fix™を用いた骨折治癒過程とFGF-2の発現の比較検討 79-87

上野正喜¹⁾・占部 憲¹⁾・成瀬康治¹⁾・内田健太郎¹⁾・峰原宏昌¹⁾・山本豪明¹⁾・
 糸満盛憲¹⁾・Roland STECK²⁾・Laura GREGORY²⁾・Martin E. WULLSCHLEGER^{2, 3)}・
 Michael A. SCHUETZ^{2, 3)}

¹⁾北里大学医学部整形外科, ²⁾IHBI, Queensland University of Technology,

³⁾Trauma Services, The Princess Alexandra Hospital

骨折治癒過程は骨折部の力学的環境により変化し、その細胞性事象が異なることはよく知られているが、その理由は明らかではない。本研究では内因性のfibroblast growth factor-2 (FGF-2)と骨折部の力学環境の関係を明らかにするため、C57Bl6Jマウス(10週齢・雄)72匹にマウス大腿骨専用骨折作成・プレッシングシステム Mouse Fix™を用いて骨折モデルを作成した。剛性の異なる2種類のプレート Rigid plate (R群)とFlexible plate (F群)で固定し、骨折作成後3, 5, 7, 10, 14, 21日目に各6匹ずつを安楽死させた。μCTによる外仮骨体積計測とHE染色, Safranin-O染色, FGF-2とProliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)の免疫染色による組織学的検討を行った。F群はR群に対し有意に大きな外仮骨を形成し、組織像では、R群は骨折部の間隙の肉芽組織に直接骨形成が見られ、軟骨の形成はほとんど観察されなかった。F群は、大量の外仮骨が内軟骨性骨化により形成されていた。F群ではR群に比較して肉芽組織の顕著なFGF-2の発現が見られ、外仮骨の増大の理由と考えられた。力学的環境の違いによる細胞事象の異なる骨折治癒過程では、内因性のFGF-2発現パターンに大きな違いがあった。

短報

イヌのアクアポリン-1の末梢赤血球での発現とその細胞容積の関係 89-91

落合秀治¹⁾・恩田 賢²⁾・圓尾拓也³⁾・印牧信行³⁾

麻布大学¹⁾生物科学総合研究所・²⁾獣医学部内科第三研究室・³⁾附属動物病院

赤血球容積におけるAQP-1の役割を評価するために、末梢赤血球を比重で分画し、赤血球細胞膜内のAQP-1タンパク質量について抗体を用いて評価した。細胞容積が大きい分画と小さい分画にはAQP-1発現量に有意な差はなかった。加えて、遺伝的にNa-Kポンプを持ち、赤血球が通常のイヌより20%大きい高Kイヌ赤血球でも通常のイヌ赤血球と差はなかった。これによりAQP-1は末梢赤血球の細胞容積の決定に寄与していないと推察された。

広告掲載一覧

日本クレア株式会社	実験動物等企業広告
株式会社 日本医科学動物資材研究所	実験動物等企業広告
中部科学資材株式会社	実験動物等企業広告
日本チャールス・リバー株式会社	実験動物等企業広告
北山ラベス株式会社	実験動物等企業広告
日本エスエルシー株式会社	飼料
株式会社 ケー・イー・シー	実験動物総合受託事業
日本エスエルシー株式会社	実験動物
オリエンタル酵母工業株式会社	飼料
株式会社 新日本科学	安全性試験受託機関
株式会社 アニマルケア	研究支援事業
財団法人 動物繁殖研究所	実験動物と受託業務
株式会社 フナバシファーム	動物と飼料
室町機械株式会社	非観血式血圧計
バイオリサーチセンター株式会社	ジャケット／カニューラ
エデストロムジャパン株式会社	実験動物等企業広告
株式会社 ウォータリングシステムズ	噴水式自動飼育架台
清和産業株式会社	ワッシングシステムズ
株式会社 夏目製作所	実験動物飼育装置
小原医科産業株式会社	行動実験機器
バイオリサーチセンター株式会社	麻酔器
株式会社 ソフトロン	非観血血圧測定装置
ダイダン株式会社	実験動物飼育室システム
わかもと製薬株式会社	感染症診断キット
株式会社 アニメック	げっ歯類のエンリッチメント
株式会社 シナノ製作所	人工呼吸器
株式会社 アイセイ	医療洗浄剤
株式会社 ビオスタ	試薬と受託業務
日本実験動物飼料協会	実験動物等企業広告
九動株式会社	マウス精子凍結・体外受精システム
