



目 次

特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

序文：特集にあたって	54
生物はなぜ死ぬのか —壊れやすいリボソーム RNA 遺伝子から考える—	56
体内時計の加齢変容	57
老化と腸内細菌	60
自然老化マウスの長期飼育による環境統御と表現型解析システムの構築について	63
慢性腎臓病とサルコペニアの現状	67

特集：実験動物を支える飼料の役割とは

実験動物を支える飼料の役割に関する特集にあたって	72
心理社会的ストレスモデル動物のストレス感受性と飼料の関係	73
栄養環境により精神疾患様症状を呈したモデルマウスの解析	78

実験動物感染症の現状

げっ歯類のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)	84
----------------------------------	----

研究室・施設便り

兵庫医科大学医学部遺伝学講座	90
----------------------	----

維持会員便り

より重宝される企業を目指して	91
----------------------	----

会員便り

ゲノム編集技術による染色体改変マウスの作製	95
プログラミングのすすめ	98
実験動物学と研究者との出会い	101

株式会社ケー・エー・シー 創立 45 周年記念研究助成 研究テーマ募集要項

他学会情報

日本実験動物学会からのお知らせ

第 70 回日本実験動物学会総会のご案内（その 3）	106
令和 5 年度通常総会へ参加のお願い	114
第 18 回実験動物管理者等研修会の開催	114
2022 年 Experimental Animals 最優秀論文賞	115
公益社団法人日本実験動物学会 令和 4 年度第 4 回理事会議事録	116

Experimental Animals 72(2) 収載論文と文要約集

維持会員名簿

編集後記

序文：特集にあたって

高橋利一
財務特別委員会委員長

本特集は、2022年度の維持会員懇談会でご発表いただいた先生方からのご寄稿により構成されている。本維持会懇談会は、会場開催とオンラインでのハイブリッド開催であった。参加者の方々には、オンラインの選択肢があったことから多くの方々が参加され、それでも都合により聴講できなかった皆様には、この特集を読んで特別講演と話題提供で講演いただいた、「老いと死」老化に関わる最新研究の情報を共有してほしいと思う次第である。また、参加された方々も再度総説を読んで、理解を深めていただければ幸いである。

特別講演では小林武彦先生（東京大学定量生命科学研究センターゲノム再生研究分野）を招待し、小林先生の著書、「生物はなぜ死ぬのか」のなかから、出芽酵母からマウスまで幅広い生物を用いたリボゾームDNAの安定性維持機構と崩壊による寿命短縮の分子メカニズムについて、最新の研究に関する講演を頂いた。この特集では、先生からレターをいただいております、それを掲載させていただいた。

中村孝博先生（明治大学農学部動物生理学研究室）には、「体内時計の加齢変容」のテーマで執筆いただいた。げっ歯類、特にマウスを実験動物として使用し、体内時計の加齢変容メカニズムの解明研究を進めておられる。加齢による概日リズム低下の神経機構について、視交叉上核細胞同士の繋がりをつくるネットワーク構造の変化がリズム出力系の低下を促進する一因であり、光が視交叉上核の時計を同調させる強力な外的環境因子であることや、社会的時差ボケによる不適切な光環境が雌性の生殖機能を乱すことなどから、光環境（生活リズム）を考慮した生活が、加齢による概日リズムの機能低下を防止する一助になると考えられている。このため、どのような分子が視交叉上核出力系に寄与するかを突き止め、概日リズムの加齢変容メカニズムを解明することで、体内時計の抗加齢に有効な方法が開発されることを期待するとのことである。

中西裕美子先生（理化学研究所生命医科学研究センター）には、「老化と腸内細菌」のテーマで報告いただいた。ヒトの腸管には数百種類、40兆個の細菌が腸内細菌叢（フローラ）を形成し、宿主へのエネルギー源の供給、腸管上皮細胞や免疫細胞の分化や成熟、腸内環境の恒常性維持、病原菌に対する感染防御などに関与する。腸内細菌叢のバランスが崩れ異常な状態が持続すると、様々な病態の形成・増悪に関わる。近年、消化管疾患のみならず、生活習慣病、自己免疫性疾患、神経変性疾患などと腸内細菌との関連性も指摘され、大きな注目を集めている。加齢においては、それに伴う宿主の免疫老化、慢性炎症、さらにライフスタイルや食事の変化が腸内細菌叢に変化をもたらす。その一方で、加齢により変化した腸内細菌叢自体も宿主側の炎症を促進している報告もあり、加齢に関わる生理的狀態には宿主と腸内細菌叢が相互に作用している事が明らかになってきた。高齢者における腸内細菌を標的とした食事療法、プロバイオティクス摂取等の介入は、健康長寿および抗老化に有利な影響を及ぼすことが期待できるため、今後のさらなる臨床研究の発展に期待したいとのことである。

小木曾 昇先生（国立長寿医療研究センター研究所研究推進基盤センター）には、「動物福祉に配慮した自然老化動物の育成自然老化マウスの長期飼育による環境統御と表現型解析システムの構築について」のテーマで執筆いただいた。加齢および老化・老年病研究を行うための基礎知識、長

寿研で加齢育成したマウスを中心とした育成方法からマウスの加齢・老化特性について紹介していただいた。また、長寿研では、老化・老年病研究のモデルとなる自然老化マウスの生理・生体学的な基礎データを蓄積されており、加齢変化の網羅的な表現型解析システムの構築により、外部研究機関への供給を開始された。生理的老化や加齢に伴う腫瘍や炎症の発生した病的老化等の研究目的に合わせた自然老化マウスやデータの提供が可能となるとのことであり、さらに動物実験を用いた基礎医学研究において、健康寿命延伸に向けた老化の遅延、老年病の発症や加齢に伴う機能低下の抑制に関するヒト老化メカニズムの解明・制御につながる研究開発を推進されているとのことである。

山田将平先生（日本赤十字社医療センター腎臓内科）には、「慢性腎臓病とサルコペニアの現状」というテーマで執筆いただいた。臨床の現場で老化に伴う、どのような問題が生じているのかについて、基礎研究者が知ることは研究の焦点をどこにあてるのか等、有用である。山田先生は臨床で腎臓の内科学を専攻されていることから、腎不全医療においてサルコペニア進行を起こしやすい社会背景と病態生理、さらに Spontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty rat を用いた肥満2型糖尿病合併慢性腎臓病におけるサルコペニア進行機序の解明とバイオマーカーの検討、GLP-1 受容体作動薬のサルコペニアに対する有用性に関する基礎研究結果についてもご紹介いただいた。実臨床におけるサルコペニア予防という観点では、患者教育が最も重要なファクターであり、医師のみでなく多職種での介入が不可欠であるとのことである。

最後になるが、今回の特集にあたって、お忙しいなか原稿を執筆いただいた先生方に、この場をお借りして感謝を申し上げたい。

特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

生物はなぜ死ぬのか —壊れやすいリボソームRNA遺伝子から考える—

小林武彦

東京大学定量生命科学研究科ゲノム再生研究分野 教授

この度は講演の機会を頂戴し、ありがとうございました。

30年ほど前に米国国立衛生研究所に勤務しておりましたが、その時に印象に残っている1枚のポスターがあります。そこには確か「実験動物を使わないと、HIVは100年かかっても治せない」というようなことが書かれていたのを記憶しています。一般の人の理解が大事だと、考えさせられました。

さて、私の講演ですが、前半では、なぜ「老化」や「死」が存在するのか、生物学の視点から述べさせていただきます。生物ができた時からゲノム（遺伝情報）は、壊れては作り変えられるというのが、繰り返されてきました。これが進化の原動力となり、結果現在の私たちを含めたすべての生物が存在します。この「壊れる」というのが、「死」に相当し、今でもそれは繰り返されているのです。言い換えれば、死ぬことができる生き物だけが、進化できて現在存在しているのです。死は必然ということになります。そして老化はその死に至る過程です。

後半では酵母を使った老化研究について紹介させていただきました。酵母は寿命が短く、老化研究にはうってつけです。また「死」や「老化」が、ゲノムの崩壊で引き起こされるのであれば、単細胞生物でも多細胞生物でも基本メカニズムは同じと考えられます。

酵母のゲノムの中でも、特に壊れやすいリボソームRNA遺伝子（rDNA）に焦点を絞って研究しています。rDNAは真核細胞では100コピー以上が巨大な反復構造を染色体上に作っています。そのためリビート間での組換えを起こしやすく不安定になりやすいのです。実際に老化した酵母細胞のrDNAは、非常に不安定になっています。

rDNAの安定性を、変異株を使って人為的に変化させてやると、その安定性に応じて寿命が変化します。代表例として、fob1とsir2変異株があります。FOB1はrDNAの組換えに関わる遺伝子で、その欠損株ではrDNAは壊れにくくなり、寿命が延長します。これに対してSIR2は逆に組換えを抑える遺伝子、その欠損株ではrDNAが非常に不安定になり寿命も半減します。さらにこれらの遺伝子を過剰発現させると欠損株とは逆の現象が観察されます。つまり、rDNAの安定性が酵母の寿命を決めているのです。

興味深いことに、SIR2のホモログ遺伝子はマウスにもヒトにも存在し「サーチュイン」と呼ばれ、全部で7個存在します。その1つであるSIRT6をマウスで過剰発現させると、酵母同様寿命が延びます。現在サーチュインの活性化が、アンチエイジング研究の1つの鍵となっています。乞うご期待。



特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

体内時計の加齢変容

中村孝博

明治大学 農学部 動物生理学研究室

はじめに

地球の自転により生み出される24時間サイクルに同調し、生理機能や行動などに日内変動をもたらす、生体機能を最適になるように調節しているものが体内（概日）時計である。概日時計そのものも、他の生理機能と同様に加齢の影響を受ける。ヒトでは、生後間もない乳幼児の睡眠－覚醒リズムは不明瞭な形で出現し、徐々に母性行動や光などの外的因子に同調したリズムが形成される。成人期では、生理的睡眠－覚醒リズムは安定し、コルチゾールなどのホルモン分泌や体温なども顕著な概日リズムを示す。しかし老年期になると次第に、「早朝覚醒」や「中途覚醒」などの睡眠障害を自覚することが多くなり、ホルモン分泌リズムの振幅低下なども認められる。マウスを含むげっ歯類においても、加齢による行動リズムの断片化やリズム周期の短縮や延長が認められる。また、軟体動物であるアメフラシなどでも概日リズムの加齢変容は認められており、概日時計の加齢変容は動物にとって普遍的なものであると言える（Nakamura TJ et al., J. Physiol Sci. 2016）。

概日時計中枢は視床下部・視交叉上核にある

哺乳類において、睡眠やその他の約24時間周期をもつ生体機能を駆動するのは、概日時計中枢である視床下部・視交叉上核である。視交叉上核は第三脳室を挟んで左右一対で構成される神経核であり、左右あわせて約2万個の神経細胞が存在する。視交叉上核の個々の細胞には細胞時計と呼ばれる十数種類の時計遺伝子からなる転写・翻訳フィードバックループ（TTFL）が存在し、自発神経発火活動などの概日リズムを生みだしている。個々の細胞は、細胞間の連絡（ネットワーク）を保ちそれぞれが同期し、視交叉上核（中枢）時計として神経・内分泌の出力経路を介して生体機能のリズムを統制している（中村孝博, 中村渉, あたらしい眼科2014）。

視交叉上核の加齢変容

これまでの国内外の研究成果から、加齢が直接、視交叉上核のリズム生成機構の低下を引き起こす可能性が示唆されてきたが、神経活動や時計遺伝子発現リズムの研究で一貫した結果が得られていなかった。筆者らは、無拘束下マウスにおける*in vivo* マルチユニット電気活動記録（*in vivo* MUA）法の構築を行い（Nakamura W et al., Curr Biol. 2008）、無拘束下マウス視交叉上核の神経活動リズムに対する加齢の影響を検討した。その結果、若齢マウスの視交叉上核は明瞭な神経活動の日内リズムを示すが、老齢マウスではそのリズムの振幅が顕著に低下していることが明らかとなった（図1；Nakamura TJ et al., J Neurosci. 2011）。神経核としての視交叉上核の活動が減弱していることから、加齢は視交叉上核の出力系の低下を引き起こし、様々な行動・生理機能の概日リズム低下を招くことが示唆される。また、*ex vivo* において個々の視交叉上核細胞における時計遺伝子発現リズムを解析した結果、加齢は個々の細胞時計よりも視交叉上核ネットワークに影響を及ぼすことが明らかとなった（Nakamura TJ et al., eNeuro, 2015）。これらの結果は、概日リズムの加齢変容の原因は、ネットワーク構造の加齢変化による視交叉上核の出力系低下によるものであることを示唆している。

早期老齢における不妊症は体内時計の加齢変容が原因!?

女性では、35歳以上になると自然妊娠がしにくくなり、その後徐々に妊孕力が低下する。不妊の原因を調べた研究では原因不明不妊が約半数であり、生殖器や副生殖器に原因が無くとも不妊が起こる（Chua SJ et al., Human Reproduction 2020）。その原因の一つに“概日リズムの乱れ”が考えられ、筆者らはマウスを用いた次の実験を行った。24時間社会に生活する現代人が直面する「週末の遅寝・朝寝坊」の生活リズムである社会的時差ボケ環境を雌性マウスに曝露

し、性周期に与える影響を観察したところ、社会的時差ボケが早期老齢の雌性マウスの性周期を攪乱することを明らかにした(図2; Takasu NN et al., Cell rep. 2015)。これをヒトに例えるならば、「30歳代後半から40歳代前半の女性が週末に夜更かし朝寝坊をする」と月経周期が乱れ、不妊症に陥る」と解釈することが

できる。すなわち、体内時計の乱れが早期老齢における不妊症の一因になっていることが推察される。

おわりに

筆者らはこれまでにげっ歯類、特にマウスを実験動物として使用し、体内時計の加齢変容メカニズム

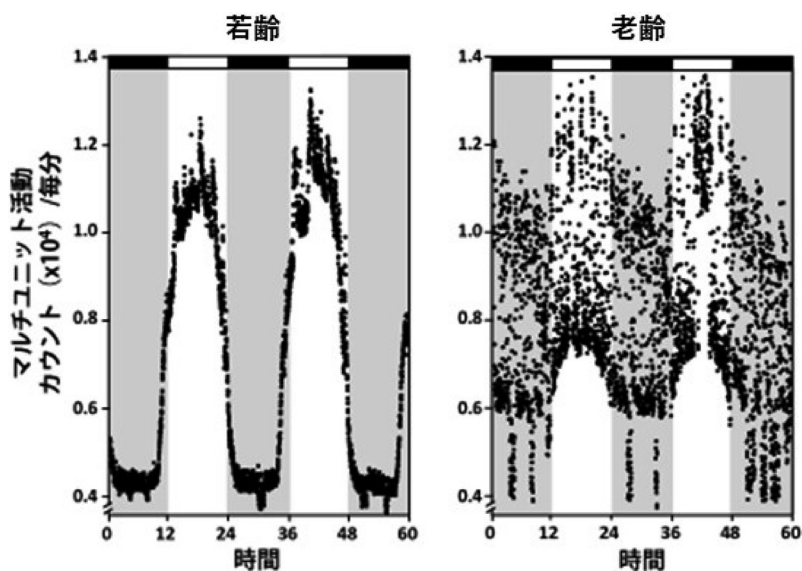


図1 無拘束下マウス視交叉上核の神経活動リズムに対する加齢の影響

視交叉上核マルチユニット神経活動に対する加齢の影響を示している。マウス視交叉上核に慢性電極を植え込み、無拘束下で視交叉上核神経活動を記録した。若齢マウス視交叉上核では、明期に高く暗期に低い明白なリズムを刻むが、老齢マウス視交叉上核では不明瞭な神経活動リズムが継続する。上部の黒いバーと灰色の網掛けは暗期を示している。Nakamura TJ et al., 2011 より改変。

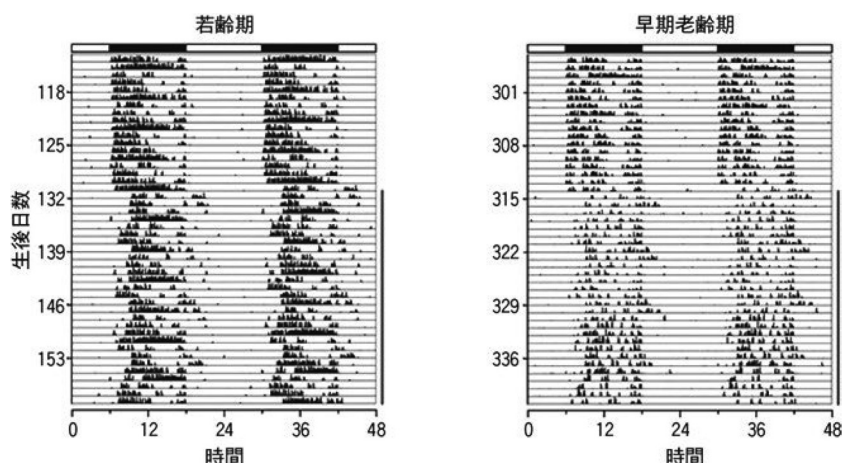


図2 若齢期(右)・早期老齢期(左)の雌性マウスの輪回し活動アクトグラム

最初の3週間は、通常の明暗条件下で飼育し、その後、社会的時差ボケ環境を模した「7日間のうち2日間のみ明暗条件を3時間ずらした環境」に暴露した。若齢、早期老齢マウスともに最初の3週間は、雌性動物特有の性周期に伴う4-5日間に一度の活動の亢進が観察された。しかし、社会的時差ボケ環境に移すと、若齢マウスでは性周期が観察されるものの、早期老齢マウスでは性周期の乱れが観察された。Takasu NN et al., 2015 より改変。

の解明研究を進めてきた。加齢による概日リズム低下の神経機構について、視交叉上核細胞同士の繋がりをつくるネットワーク構造の変化がリズム出力系の低下を促進する一因であると考えられる。光が視交叉上核の時計を同調させる強力な外的環境因子であることや、社会的時差ボケによる不適切な光環境が雌性の生殖機能を乱すことなどから、光環境（生活リズム）を考慮した生活が、加齢による概日リズムの機能低下を防止する一助になると考えられる。今後、どのような分子が視交叉上核出力系に関与するかを突き止めることにより、概日リズムの加齢変容メカニズムが解明され、体内時計の抗加齢に有効な方法が開発されることを期待する。

参考文献

- 1) Nakamura TJ et al.: The suprachiasmatic nucleus: age-related decline in biological rhythms. *J Physiol Sci* 2016; 66: 367–374
- 2) 中村孝博, 中村渉: 体内時計概論. あたらしい眼科 2014; 31: 191–198
- 3) Nakamura W et al.: In vivo monitoring of circadian timing in freely moving mice. *Curr Biol.* 2008; 18: 381–385
- 4) Nakamura TJ et al.: Age-related decline in circadian output. *J Neurosci* 2011; 31: 10201–10205
- 5) Nakamura TJ et al.: Age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions. *eNeuro* 2015; 2: ENEURO.0064-15
- 6) Chua SJ et al.: Age-related natural fertility outcomes in women over 35 years: a systematic review and individual participant data meta-analysis. *Human Reproduction* 2020; 35: 1808–1820.
- 7) Takasu NN et al.: Recovery from age-related infertility under environmental light-dark cycles adjusted to the intrinsic circadian period. *Cell Rep* 2015; 12: 1407–1413.

特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

老化と腸内細菌

中西裕美子

理化学研究所 生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム

はじめに

ヒトの腸管には数百種類、40兆個の細菌が腸内細菌叢（フローラ）を形成し、宿主へのエネルギー源供給、腸管上皮細胞や免疫細胞の分化や成熟、腸内環境の恒常性維持、病原菌に対する感染防御などに関与することが報告されている。腸内細菌叢のバランスが崩れ異常な状態（dysbiosis）が持続すると、腸内恒常性が破綻し様々な病態の形成・増悪に関わると考えられている。近年、消化管疾患のみならず、生活習慣病、自己免疫性疾患、神経変性疾患などと腸内細菌との関連性も指摘され、大きな注目を集めている。

加齢に伴う腸内細菌叢の変化

ヒトの腸内細菌叢は乳児から幼児、成人、高齢者において明確に異なることが多数報告されている[1-4]。出生後早期の腸内細菌叢は分娩様式や母親の腸内細菌叢に影響を受け、その後、離乳期に入り固形食や食べ物の種類が増えていくと急激に腸内細菌叢も変化し、3～4歳ではほぼ成人と同じ細菌叢へと変化する。成人の間は安定した腸内細菌叢を維持し、高齢期とともに緩やかな変化がみられる。367人の0歳から104歳までの日本人の腸内細菌叢を調べた研究では、個人差はあるもののビフィズス菌などを含むActinobacteria門が離乳後から有意に減少し、その後、Bacteroidetes門の減少、Firmicutes門の増加と多様性の増加が20歳まで起こることを報告している[1]。この変化は腸内細菌叢の成熟過程を表していると考えられ、その後は70歳を境にActinobacteria門の減少とProteobacteria門の増加を特徴とした老齢タイプの腸内細菌叢に変化する。海外では、Yatsunenkoらが、ベネズエラのアマゾナス州、マラウイ共和国の農村部、および米国の都市部に居住する健康な0歳から83歳の531人から得た糞便のメタゲノム解析（細菌のゲノム情報すべてを読み、どのような遺伝子を持つかを解析する手法）の結果を報告した[2]。居住地の

比較から、米国の居住者とそれ以外の2か国の居住者との間には、乳児期、及び、成人期においても腸内細菌叢および機能遺伝子レパートリーに顕著な差が認められたことから、ヒトの発育、栄養状態、生理的な差異、および西欧化が腸内細菌叢に大きく影響することを報告している。また、Claessonらはアイルランドの178人の高齢者の糞便中細菌叢が居住場所や食事によりグループ分けされることを報告した[3]。高齢者の腸内細菌叢は若齢成人よりも個人間の変動が大きく、腸内細菌叢の構成は高齢者の虚弱性、併存症の存在、栄養状態および炎症マーカーや糞便中の代謝産物と有意に相関していた。また、長期間収容介護状態の高齢者は、自立在住者よりも腸内細菌叢の多様性が有意に低かった。このような結果は、高齢者の食事、ライフスタイル、健康状態は腸内細菌叢と相関があることを裏付けている。

加齢の腸内環境と加齢関連疾患

加齢に関連する消化管の生理機能の低下（消化管運動障害など）は、腸内細菌の多様性、組成および機能的特徴に深刻な影響を及ぼす事が報告されている[5]。実際、いくつかの論文で加齢の腸内環境は腸内細菌叢の破綻（dysbiosis）が起きていると報告されている[6, 7]。腸内細菌叢が破綻すると腸管のバリア機能が低下し、漏れ出した細菌の成分（LPS、代謝物、DNA）が樹状細胞やマクロファージ、リンパ球細胞を刺激し、炎症性サイトカインの産生を増幅させる。腸管組織での炎症は脳腸軸（brain-gut axis）を通じて脳や神経系へ影響を与える。また、漏れ出した細菌の成分は血流に入り門脈を経由して肝臓に到達し、肝臓での炎症も引き起こす。このような経路を経て、全身性の疾患へ関連する。さらに、年齢に伴う生理機能の低下は、長期間にわたる免疫系の刺激により免疫老化を引き起こし、免疫力の低下から軽度の慢性炎症状態になり、細菌性胃腸炎やアテローム性

動脈硬化症、癌、メタボリック症候群、2型糖尿病、神経変性疾患などの非消化器疾患を含む、多くの加齢関連疾患に発展する [5, 8]。そこで、加齢関連疾患の原因となる慢性炎症を抑制することが疾患改善や予防になると期待されており、プロバイオティクスなどの腸内細菌は炎症応答を低下させ、適応免疫応答を改善し、免疫老化を妨げることができると期待されている (図)。いくつかの介入研究では、プロバイオティクスが、炎症性サイトカインの産生を減少させ、ナチュラルキラー細胞や貪食細胞の活性を増加させ、インフルエンザワクチン接種に対する応答性を改善することが報告されている。これは、腸内細菌叢の直接的な操作が適応免疫応答を改善し、免疫賦活効果を補う可能性があることを示唆しているが、臨床症状または疾患のリスクに対する効果の報告はない [8]。

加齢に伴う神経変性疾患も腸内細菌が関与するという報告がある。高齢者における認知症の原因の1つとされているパーキンソン病 (PD) やアルツハイマー病 (AD) の発症に腸内細菌が関与するという報告についても紹介したい。PDは、神経細胞でミスフォールドされたシヌクレイン (Syn) の蓄積が、神経変性や細胞死を引き起こすことで発症すると考えられており、65歳以上の人口の1～2%で発症している。マウスを用いた最近の研究では、Syn過剰発現マウスを無菌化、もしくは抗菌薬を投与し腸内細菌を除去

することにより運動症状の悪化が改善された。一方で、無菌化したSyn過剰発現マウスへ腸内細菌由来の代謝物である短鎖脂肪酸を経口投与すると運動症状および神経炎症が悪化したことから、腸内細菌や腸内細菌由来の代謝物がPDの重要な危険因子であることを報告している [9]。さらに、ADの発症についても腸内細菌の重要な役割が実証されている。ADは老人斑および神経原繊維変化を特徴とし、記憶障害および行動障害をもたらす神経変性疾患である。腸内細菌は、多量のアミロイドおよびリポ多糖類を放出し、それにより炎症性サイトカインの産生が促進され、ADの病因に関与するシグナル伝達経路が修飾されることが示されている [10]。このことから、腸内細菌からのアミロイド生成の抑制することが認知症の発症を予防または遅延させる治療戦略として期待されている。

腸内細菌による寿命延長効果

ラミンA (LMNA) 遺伝子を変異させた早老性マウスを使用した実験では、早老性マウスに野生型マウスの糞便を移植すると寿命が延長し、早老性マウスの高齢の糞便を移植すると寿命がさらに短くなった。腸内細菌叢解析から早老性マウスでは *Akkermansia muciniphila* (AK) が減少していたため、AKを早老性マウスへ投与すると寿命延長効果が見られた。これまでの研究から、AKはマウス、及び、ヒトへの投与

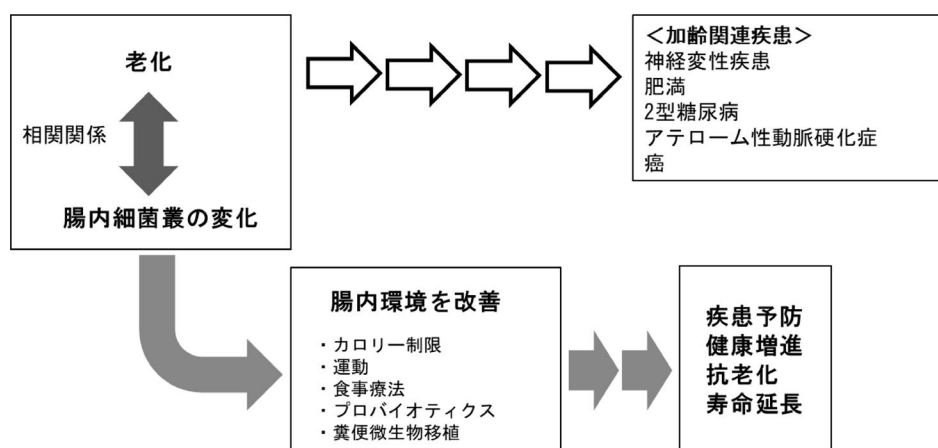


図 腸内環境と老化関連疾患

加齢に伴う腸内細菌叢の変化は免疫老化や慢性炎症に相関して変動することが報告されている。このような老化に伴う生理的变化は老化関連疾患に進展する。近年、腸内細菌が神経変性疾患、肥満、2型糖尿病およびアテローム性動脈硬化症等、老化関連疾患を調節し改善する可能性があり、高齢者において腸内細菌を標的とした食事療法、プロバイオティクス摂取、糞便移植等の介入治療は、健康および抗老化に有利な影響を及ぼすことが期待されている。

試験では、肥満やⅡ型糖尿病に対する改善効果が示されており次世代プロバイオティクスとして注目されている腸内細菌であり、寿命延長効果についても期待される。

おわりに

加齢に伴う宿主の免疫老化、慢性炎症、また、ライフスタイルや食事の変化が腸内細菌叢に変化をもたらす一方で、加齢により変化した腸内細菌叢自体も宿主側の炎症を促進している報告もあり、加齢に関わる生理的状态には宿主と腸内細菌叢が相互に作用している事が明らかになってきた。高齢者における腸内細菌を標的とした食事療法、プロバイオティクス摂取等の介入は、健康長寿および抗老化に有利な影響を及ぼすことが期待できるため、今後のさらなる臨床研究の発展に期待したい。

参考文献

1. Odamaki T, Kato K, Sugahara H, Hashikura N, Takahashi S, Xiao JZ, et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 2016; 16(1): 90; doi: 10.1186/s12866-016-0708-5.
2. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012; 486(7402): 222-7; doi: 10.1038/nature11053.
3. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature.* 2012; 488(7410): 178-84; doi: 10.1038/nature11319.
4. Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turroni S, et al. Gut Microbiota and Extreme Longevity. *Curr Biol.* 2016; 26(11): 1480-5; doi: 10.1016/j.cub.2016.04.016.
5. Konturek PC, Haziri D, Brzozowski T, Hess T, Heyman S, Kwiecien S, et al. Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society.* 2015; 66(4): 483-91.
6. Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, Naidoo A, Szamosi JC, Verschoor CP, et al. Age-Associated Microbial Dysbiosis Promotes Intestinal Permeability, Systemic Inflammation, and Macrophage Dysfunction. *Cell host & microbe.* 2017; 21(4): 455-66.e4; doi: 10.1016/j.chom.2017.03.002.
7. Nagpal R, Mainali R, Ahmadi S, Wang S, Singh R, Kavanagh K, et al. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. *Nutrition and Healthy Aging.* 2018; 4: 267-85; doi: 10.3233/NHA-170030.
8. Perez Martinez G, Bauerl C, Collado MC. Understanding gut microbiota in elderly's health will enable intervention through probiotics. *Beneficial microbes.* 2014; 5(3): 235-46; doi: 10.3920/bm2013.0079.
9. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell.* 2016; 167(6): 1469-80.e12; doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.018>.
10. Pistollato F, Sumalla Cano S, Elio I, Masias Vergara M, Giampieri F, Battino M. Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr Rev.* 2016; 74(10): 624-34; doi: 10.1093/nutrit/nuw023.

特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

自然老化マウスの長期飼育による環境統御と
表現型解析システムの構築について

小木曾 昇

国立長寿医療研究センター研究所 研究推進基盤センター 実験動物管理室

はじめに

60歳を超える世界的な高齢者数はかつてない速さで増加しており、2015年から2050年の間に、この年齢層の人々の割合は12%から22%に増加すると言われている[1]。我が国は世界でも最も高齢化が急速に進行しており、65歳以上の高齢者の総人口に占める割合（高齢化率）は、1970年に7%（高齢化社会の基準）を超えると、1994年には14%（高齢社会の基準）に達し、2022年は高齢者が3,621万人おり、高齢化率が21%（超高齢化社会の基準）を超える28.9%（超高齢社会）であり、かなりの速さで高齢化の最高記録を更新している。しかも、2040年に向けて80歳以上の後期高齢者がかなりの増加傾向を示し、最終的に高齢化率は2060年には約40%に達することが予想されている[2, 3]。我が国においても、より健康で長生きできる社会の実現は、高齢者のQOL（クオリティ・オブ・ライフ）を高めるとともに、医療費の増大を抑制するため、重要かつ喫緊の課題である。

動物実験を用いた基礎医学研究においては、健康寿命延伸に向けた老化の遅延、老年病の発症や加齢に伴う機能低下の抑制に関するヒト老化メカニズムの解明・制御につながる研究開発が推進されている。それらの研究には、線虫、ショウジョウバエ、マウス、ラットをはじめとする様々なモデルが用いられているが、遺伝学および生理学的にヒトに似ていること、遺伝子組換え動物の作製が容易であり、繁殖の容易さも重なっていること、寿命が3年程度であること、データベースが整備されている等の理由から、マウスが広く使用されている。老化に関する研究に関連したマウスとヒトとの類似点と相違点もいくつか報告[1]されている。加齢・老化に関する研究を実施する際には、研究期間が長期になることや限られた資源であるために、系統やブリーダーの選択はもちろん実験動物福祉に配慮した適正な飼育環境を考

慮した綿密な実験計画を立てる必要がある。特に遺伝子組換えマウスやミュータントを使用した研究には、背景となる自然加齢（老化）マウスの正常な加齢に伴う病態や生理変化を知っておく必要がある。

国立長寿医療研究センター（長寿研）では、加齢・老化のメカニズム、認知症（アルツハイマー病）や骨粗鬆症、フレイル等の老年病の研究に用いる遺伝子組換え動物の他、自然加齢（老化）動物（マウス、ラット）を加齢育成し研究者に提供している。そこで、加齢および老化・老年病研究を行うための基礎知識、当センターで加齢育成したマウスを中心とした育成方法からマウスの加齢・老化特性について紹介する。

加齢育成マウスにおける動物実験の再現性に関わる因子

マウスの寿命は2-3年であるため、SPF環境下において長期的に飼育する場合、生物学的因子（遺伝学および微生物学的素因）や環境的因子（物理的および化学的因子）により加齢にともなう病気の発症時期や症状、寿命等が異なる（図1）。その中でも環境的因子（または社会的因子）、例えば飼育方法（単飼育または同居（複数飼育）、ケージサイズとその収容匹数）、特異行動としてファイティング（喧嘩）やバーバリング（barbering：毛刈り）、動物間コミュニケーション、飼育者（ハンドリング）、環境エンリッチメントの有無等）等も生体・生理学的な反応に影響することから研究を推進する上で見逃せない重要な因子になる。それらの因子を把握した上で自然老化動物の生理・行動等を的確に知ることが動物実験の再現性だけでなく、適正な飼育環境あるいは自然老化動物の飼育管理の標準化に繋がる。

長寿研では、離乳直後の3-4週齢のC57BL/6NCrSlc（B6N, 日本エスエルシー）マウスおよびC57BL/6J（B6J, ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン）マウスを3ヵ月ごとに導入し、生涯飼育を行っている。また、

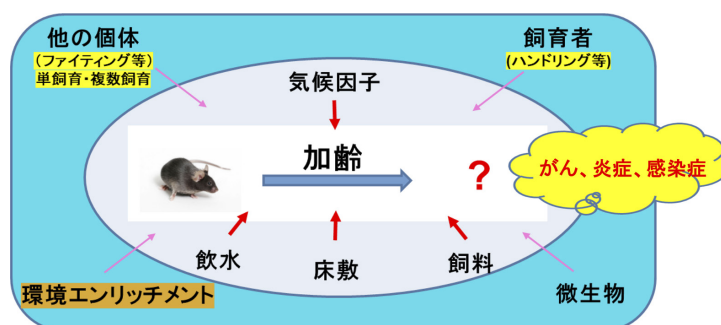


図1 加齢育成マウスにおける動物実験の再現性に関わる因子

ブリーダーにおいて、ケージ内で出産した個体を他のケージの個体と混ぜることなく、長寿研に導入することを条件としている。

加齢・老化マウスの遺伝的背景の重要性と有用性

一般的には近交系が用いられることが多い。マウス系統の利点は、ゲノムが定義されている、安定した表現型である、および多くの研究成果が公開されていることや「マウスゲノム情報学 (mouse genome informatics, MGI)」, 「マウス・フェノーム・データベース (The Mouse Phenome Database, MPD)」などのデータベースから様々なマウスの系統の標準的なデータがまとめられている [4-6]。

マウス系統の表現型は、特性が詳細に明らかにされているが、特定の対立遺伝子変異体に起因する表現型もあることを知っておく必要がある。具体的には、B6JマウスにおけるCdh23変異の対立遺伝子変異体は、難聴の発症を遅らせることがある [7]。また、ニコチンアミドヌクレオチドトランスヒドロゲナーゼの欠失していることでブドウ糖負荷試験 [8] に影響する報告がある [9]。代謝と老化の間には密接な関係があることも重要で知っておく必要がある [10]。

一方、マウスの加齢に伴う表現型のプロセスについて研究を進める上には考慮する必要がある。Yuanらは、31系統の近交系を用いてコホートを縦断的研究で調べ、生涯の様々な時期の表現型を報告している [11]。この研究の中で、IGF-1 (Insulin-like growth factor1) レベルと寿命、腎機能の変化、免疫細胞、歩行、および心機能などの他の加齢との関連性を示した。

加齢に伴う自然老化マウスの表現型を明確に知る

(1) 加齢に伴う正常な外観

被毛は、加齢に伴い薄くなり、黒色を維持するまたは茶褐色や灰色 (白色含む) になることがある。ま

た、眼周囲、背部・尾部等の部分的な脱毛が観察される場合がある。脱毛の原因は、飼料による影響の報告もあるが明確にされてなく、むしろマウス固有の社会的な行動である自身または同種他個体のバーバリングによる過剰な毛繕い、まれに喧嘩 (ファイティング) によるものと考えられる。さらに、バーバリングによっては、鼻口部の触毛が抜けること、縮毛に類似する状態が観察される。

(2) 加齢に伴う健康状態

加齢に伴う筋力の低下により運動量や行動量が少なくなるだけでなく動作も鈍くなる傾向が見られる。具体的には、背中を丸める、粗毛 (毛繕いの回数が減少)、触れても反応が鈍い、触れても (若月齢と比較して) 体が冷たい、エンリッチメントの嗜好性が減少する等である。そこで注意すべき点として、通常 (若月齢) の動物実験のエンドポイントの設定とは異なるために注意が必要である。

加齢に伴う臨床症状では、B6Jマウスでは①直腸脱、②脱毛および皮膚炎、③眼病変、④触知腫瘍が報告されている [12]。

(3) 長寿研で飼育している自然加齢 (老化) B6 マウスの特徴

(a) 生存曲線 : 雄性B6Nマウスは15ヶ月齢頃から、雌性B6Nマウス及び雌雄B6Jマウスでは18ヶ月齢前後で減少傾向を示した。雌性B6Nマウスは20ヶ月齢頃から、雄性B6Jマウスは22ヶ月齢頃、雌性B6Jマウスは24ヶ月齢を越える頃から急激に減少した。23ヶ月齢の雄性マウスについて、B6NとB6Jの生存率が逆転する現象が観察された。また、B6Nマウスは雌雄とも生存率の減少傾向は類似しているが、B6Jマウスは雌雄に著しい差が認められた (図2)。

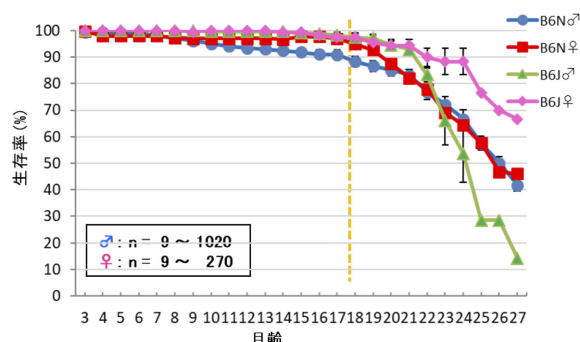


図2 加齢育成マウスの生存率

(b) 体重：加齢に伴う体重変化について、B6Nマウスでは雄性が16～18ヶ月齢，雌性は20～22ヶ月齢，B6Jマウスで雄性が13～15ヶ月齢，雌性は22～23ヶ月齢においてピークとなり，亜系統の差が明らかとなった。一方，雄性B6Nマウスは23ヶ月齢から，雌性B6Jマウスでは24ヶ月齢から減少傾向を示した。(図3)

(c) 摂餌量・摂水量：摂餌量については，B6NマウスおよびB6Jマウスの雌雄ともに24ヶ月齢まで加齢に伴う変化は観察されなかった。

摂水量では，B6NマウスおよびB6Jマウスの雄性で加齢に伴い増加傾向を示したのに対して，両系統の雌性には変動は観察されなかった。

(d) 運動試験：運動機能を評価するためのロータロッド試験について，雄性B6Nマウスでは3ヶ月齢，雌性では6ヶ月齢，B6Jマウスの雌雄ともに3ヶ月齢をピークとして，加齢に伴う体重増加に依存して運動機能（走行時間）が低下した（図4）。また，雌性の方が全体的に走行する時間が長い傾向が見られたが，B6Nマウスにおいて18ヶ月齢以降は明瞭な雌雄差は認められなかった。この結果から，フレイルモデルとしての有用性が期待される。

(e) 外観：老化度判定の行動観察の一つである脱毛の発見された個体数の発生率について，B6NマウスとB6Jマウスを月齢毎に比較したところ，雌性B6Jマウスで最も早くて生後5-6週齢頃から散見し始め，3ヶ月齢頃から顕著に脱毛が確認された。雌性B6Nマウスでは9ヶ月齢，B6NマウスおよびB6Jマウスの雄性は15ヶ月齢を越える頃から脱毛が見られた。特に両系統の雌性の脱毛が特徴であった（図5）。

(f) 血液形態学所見：B6Nマウスを用いた血液カウント結果から，加齢に伴い18ヶ月齢頃から白血球数は減少し，好中球の割合が増加する一方，リンパ球

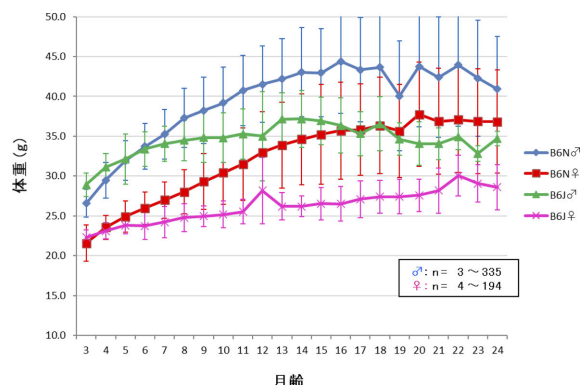


図3 加齢に伴う体重変化

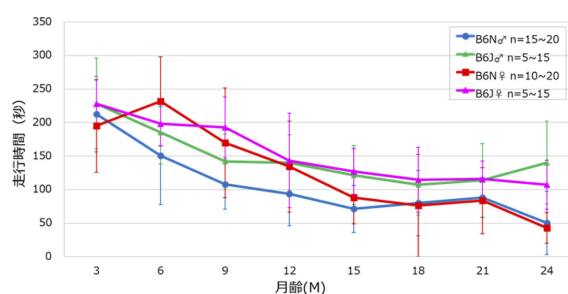


図4 加齢に伴う運動機能の変化

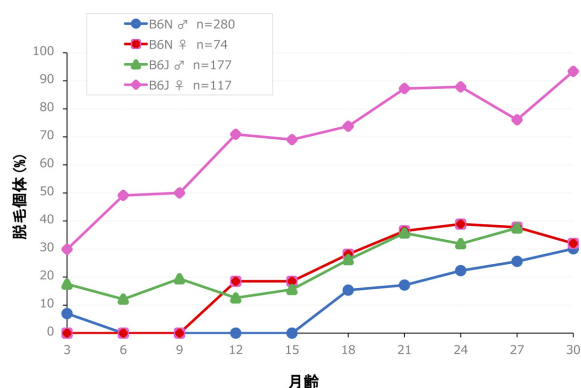


図5 加齢に伴う脱毛の発生率

については減少する傾向が見られた。赤血球についても加齢に伴い血球数が減少する傾向が認められた。形態学的には，18ヶ月齢を越える頃から好中球やリンパ球，赤血球の幼弱や異形成が観察された。

(g) 生化学所見：血清を用いた検査では，B6Jマウスは腎機能（BUN），B6Nマウスで肝機能（AST）が，特に15ヶ月齢以降にそれぞれ加齢に伴う機能障害が認められた。

(h) 病理解剖の所見：B6Nマウスにおける自然死による剖検から、雄性では精嚢腺肥大(貯留)をはじめとした肝臓退色、肝臓腫大および脾臓腫大、雌性では肝臓退色、肝臓腫大および脾臓腫大が比較的多くの個体で観察されたが、生理学的な老化の所見となる臓器の顕著な萎縮等は認められなかった。B6Nマウスを3ヶ月毎に安楽死させて解剖したところ、6ヶ月齢頃より胃の中から毛玉が観察され、9ヶ月齢で脾臓の腫大や肝臓の病変、18か月齢で腎臓の病変、24か月齢で雄性の精嚢腺の病変が認められた。一方、B6Jマウスにおいて24ヶ月齢より脾臓や肝臓の病変が観察され始めた。この解剖結果から、亜系統の加齢に伴う病気の発症時期の差が見られた。

以上の解析結果や所見から、B6マウス亜系統の加齢・老化変化(生理的老化と病的老化の判定含む)や特性が明らかとなった。

おわりに

老化・老年病研究のモデルとなる自然加齢(老化)マウスの生理・生体学的な基礎データの蓄積により、加齢変化の網羅的な表現型解析システムとして準備を進めている。長寿研では2022年度から共同研究を含む外部研究機関への供給を開始した。研究者には、

生理的老化や加齢に伴う腫瘍や炎症の発生した病的老化(ファイトニング等の環境的因子を除く)等の研究目的に合わせたエイジングファームやデータの提供が可能となるだけでなく、3RsのReductionならびにRefinementへの配慮に貢献できる。

参考文献等

- 1) World Health Organization (2018). Aging and health-factsheets.
- 2) 飯島勝矢, さらなる健康長寿社会への挑戦, フレイル予防・対策: 基礎研究から臨床, そして地域へ, 長寿科学振興財団, 2020, 9-16.
- 3) 内閣府「令和4年度版 高齢社会白書」
- 4) Eppig et al. Mamm.Genome, 26: 272-284, 2016.
- 5) Bogue et al. J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci, 71: 170-177, 2016.
- 6) <http://phenome.jax.org/>
- 7) Henry and Chole. Audiology, 19: 69-383, 1980.
- 8) Freeman et al. Diabetes, 55: 2153-2156, 2006.
- 9) Teye et al. Diabetologia, 48: 675-686, 2005.
- 10) Newgard and Pessin, J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci., 69: S21-S27, 2014.
- 11) Yuan et al., Aging Cell, 8: 277-287, 2009.
- 12) Pettan-Brewer et al., Pathobiol Aging Age Relat Dis, PMID: 22953032.

特集：“老いと死” 老化に関わる最新研究

慢性腎臓病とサルコペニアの現状

山田将平

日本赤十字社医療センター 腎臓内科

要 約

【諸言】サルコペニアとは、加齢や二次的な要因によって骨格筋量が減少することを意味する造語である。2010年にEuropean Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP)がサルコペニアの診断基準を提言し、その後2014年にはAsian Working Group for Sarcopenia (AWGS)がアジア人向けの診断基準を作成した。この背景には、近代医学の発達により医学的な予後は延びてきた一方で、高齢者の生活の質(Quality of Life: QOL)の低下が問題視されるようになってきたことが挙げられる。この原因の一つに、サルコペニアの進行による日常生活動作(Activities of Daily Living: ADL)の低下が挙げられる。サルコペニアを来す病態は様々なものがあるが、特に腎不全医療ではサルコペニア進行を起こしやすい社会背景と病態生理が存在する。また、サルコペニア進行による社会的影響も大変大きいことから、より早期にサルコペニアの予防を行うことが重要である。

【慢性腎臓病とサルコペニアに関する現状と取り組みについて】腎不全患者のサルコペニア進行の機序としては、食事量の低下や慢性炎症、運動量の低下、インスリン抵抗性、アシドーシス、尿毒物質の貯留、透析による蛋白漏出などが原因として挙げられる。慢性腎臓病を有する患者では、一般人口と比較してサルコペニアの有病率が高いことが知られている。また、サルコペニアの有病率は腎障害が進展するに従って上昇することも知られている。慢性腎臓病の中でも既に透析導入されている患者群では、サルコペニアの合併やそれによる生命予後の増悪が現状として存在する。

このような社会背景から、我々はSpontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty rat (日本クレア株式会社)を用い、肥満2型糖尿病合併慢性腎臓病におけるサルコペニア進行機序の解明とバイオマーカーの検討、そしてGLP-1受容体作動薬のサルコペニアに対する有用性に関して検討を行った。これらの検討から、尿中L-FABPのサルコペニア進行のバイオマーカーの可能性、GLP-1受容体作動薬がミトコンドリア機能維持によるサルコペニア進行抑制の可能性を有することが示唆された。

実臨床におけるサルコペニア予防という観点では、患者教育が最も重要なファクターであり、医師のみでなく多職種での介入が不可欠である。また、患者教育の方法として、医療者側の認知行動療法の理解が重要である。

【結語】腎不全患者におけるサルコペニアの進行は、一般人口と比較して生命予後のみでなく、生活の質の低下が大きく関与することから、より早期の医学的、社会的な介入が不可欠である。

緒 言

サルコペニアとは、加齢や二次的な要因によって骨格筋量が減少することを意味する造語である。近代医学の発達により医学的な予後は延びてきた一方で、高齢者の生活の質の低下が問題視されるようになってきた。この原因の一つに、サルコペニアの進行によるADL低下が挙げられる。サルコペニアを来す病態は様々なものがあるが、特に腎不全医療ではサルコペニア進行を起こしやすい社会背景と病態生理が存在する。本稿では不全におけるサルコペニア診療について述べる。

サルコペニアの定義

2010年に欧州のサルコペニアワーキンググループ(EWGSOP)から発表されたコンセンサス論文[1]において、サルコペニアの定義は「筋量と筋肉の進行性かつ全身性の減少に特徴づけられる症候群で、身体機能障害、QOL低下、死のリスクを伴うもの」とされ、診断基準として筋肉量の低下、そして筋力低下並びに身体機能低下が示された。そして、2014年にアジアのサルコペニアワーキンググループ(AWGS)が、アジア地域におけるサルコペニアの基準[2]を発表した。基本的な定義は同様であるが、

筋肉量と筋力の基準値がアジア人向けとなった(表1)。さらに、2019年にAWGSが提言のアップデート[3]を行い、特殊な機械のない一般の診療所や地域レベルでのスクリーニングが可能となった。このような背景から、サルコペニアの概念が徐々に広がり、その重要性が多くの医療者に認知されるようになってきた。

慢性腎臓病とサルコペニア

次に慢性腎臓病(Chronic Kidney Disease: CKD)患者におけるサルコペニアについて述べたい。透析まで至っていない保存期腎不全患者11,625例を対象にサルコペニアの有病率を調査した報告[4]では、正常～CKD stage 1で4.3%、CKD stage 2で6.3%、CKD stage 3-5で15.4%と報告されており、腎機能が増悪するほどサルコペニアの有病率が上がることが分かる。では、透析導入後のサルコペニアの有病率はどうか。日本の血液透析患者308人を対象とした研究[5]では、約40%がサルコペニアの定義を満たしているという結果となった。単純比較はできないが、先ほどの研究[4]において、CKD stage 2-5の群での有病率が15%程度であったことを考慮すると、いかに透析患者がサルコペニアの高リスク群であるかが分かる。また、この研究ではサルコペニアの合併群と非合併群で生命予後を比較しているが、サルコペニア合併群では有意に生命予後が悪い結果となった(図1)。

次に透析患者がサルコペニアを有することの特殊性を示したい。非透析患者でサルコペニアが進行し、寝たきりとなった場合には、自宅で家族または様々なサービスを利用した介護を行い、難しければ施設への入所を検討することが一般的である。しかし、透析患者ではサルコペニア進行で寝たきりとなった場合、日本の透析患者の約97%が選択をする血液透析患者では、透析クリニックへの移動ができなくなる。最近は送迎サービスがついている透析クリニックが多い一方で、少なくとも車椅子に座っていられる体力、また自力で車椅子からベッドへ移動できることを診療条件としているクリニックもある。つまり、それもできない患者というのは、腹膜透析への変更や、透析が可能な療養病院への長期入院が必要となり、さらに著しいQOLの低下を引き起こす可能性がある。

このような背景から、さらなる医療費の増大を抑えるため、国としても腎不全患者のサルコペニア対策に力を入れ始めた。2018年には、腎臓リハビリテーション学会がガイドラインを出し、腎不全患者のリハビリに力を入れる風潮が活性化してきている。そして、2022年には診療報酬改定により、透析患者における透析時運動指導加算が可能となった。つまり、

表1 AWGSにおけるサルコペニア基準
(文献[2]より著者作成)

評価項目	測定項目	基準
筋肉量	SMI	DXA法
		男性:7.0 kg/m ² 未満
		女性:5.4 kg/m ² 未満
		BIA法
筋力	握力	男性:7.0 kg/m ² 未満
		女性:5.4 kg/m ² 未満
		男性:26 kg未満
		女性:18 kg未満
身体機能	歩行速度	0.8m/秒以下

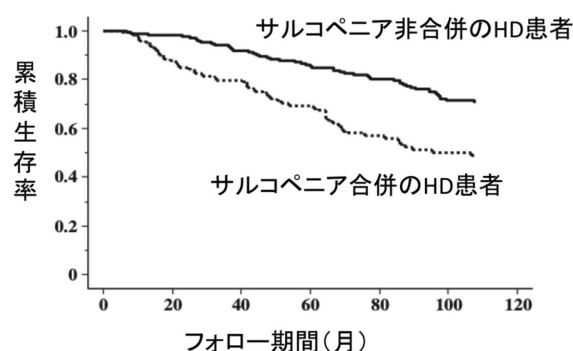


図1 血液透析患者におけるサルコペニア合併、非合併での生命予後の比較
(文献[5]より引用、著者改変)

国としては税金を使ってでもこれを食い止めなければいけない喫緊の課題であると考えており、サルコペニアは保険診療で治療する時代となってきた。

腎不全患者におけるサルコペニアの機序と治療

腎不全患者におけるサルコペニア進行の機序は様々な要因が複雑に絡み合っている[6](図2)。老化や慢性腎不全の合併症であるインスリン抵抗性の上昇、代謝性アシドーシス、尿毒素物質の貯留、また透析患者では透析によるアミノ酸喪失、透析による運動機会の減少、入院の繰り返しなどによる骨格筋量の低下がサルコペニアへつながる。そして、サルコペニアが発端となり、身体的な機能低下、活動性低下により食事量低下を生じ、さらなる筋力低下へとつながる負のスパイラルとなる。腎不全では腎移植が唯一の根治治療となるが、サルコペニア進行による全身状態の増悪は、耐術能の低下から腎移植への道が閉ざされる可能性も考えられる。そのため、いかにこのサイクルを早期に断ち切るかが重要である。

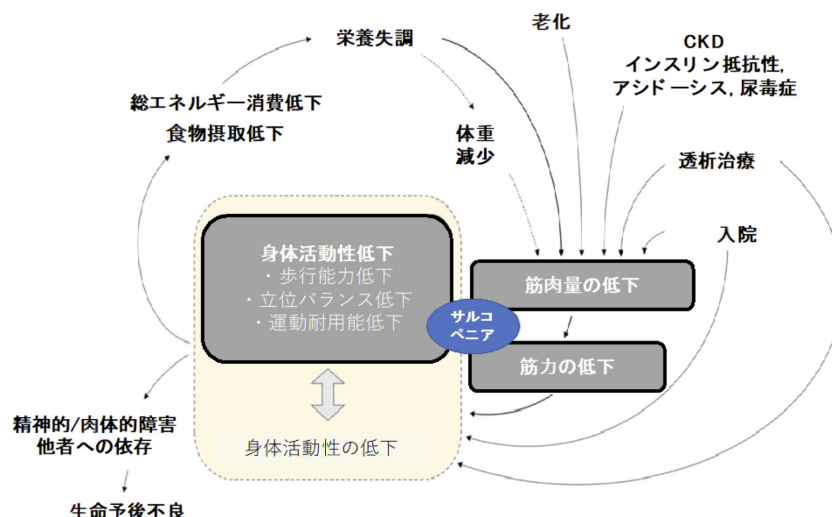


図2 腎不全患者におけるサルコペニア進行の機序（文献[6]より引用，著者改変）

サルコペニアは筋肉の量と質の問題と定義されるが，次にミクロな視点から，腎不全患者における筋肉量の低下の機序を図3[7]に示す。骨格筋のタンパク質合成に重要な役割を果たすのがPI3-K/Akt/mTOR経路であり，この経路が活性が何らかの理由で低下すると，骨格筋のタンパク質合成の低下につながる。この中でもmTORは，オートファジーの調整因子の役割もあり，mTORシグナル伝達の活性化はオートファジーの阻害による筋障害を来すことが知られている。タンパク質分解は栄養欠乏などが誘引となり，FOXOのリン酸化が起これば，MuRF1などの遺伝子発現が上昇することで引き起こされる。続いて，筋力の低下という面からCKD患者におけるサルコペニアの機序[8]を記す。運動はPGC-1 α の発現を亢進させ，ミトコンドリアの生合成を促すことが知られている。しかし，CKDではSIRT1を抑制することで，PGC-1 α の発現低下からミトコンドリア生合成低下を引き起こす可能性が考えられている。骨格筋は遅筋と速筋があるが，遅筋ではミトコンドリア優位のエネルギー代謝が起こることが知られており，ミトコンドリア量・機能低下は主に遅筋線維の障害を引き起こす。

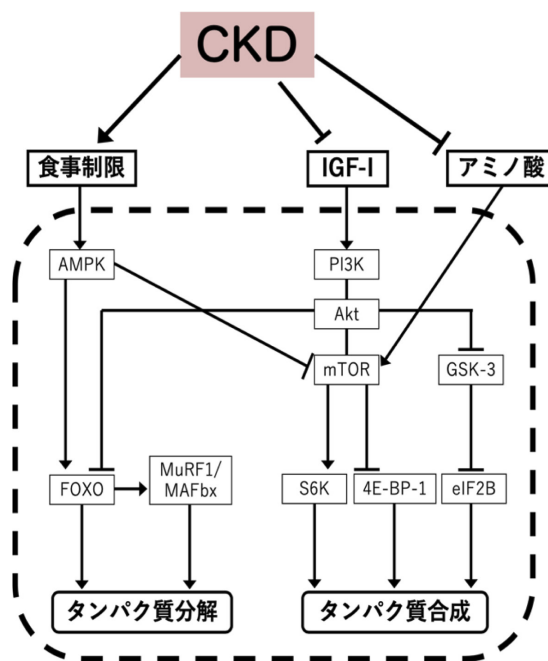


図3 腎不全患者における筋肉量低下の機序（文献[7]より引用，著者改変）

肥満2型糖尿病ラットにおけるサルコペニアの検討

我々の研究室で行った，肥満2型糖尿病モデルラットである Spontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty rat (日本クレア株式会社) を使用した検討を紹介する。この SDT fatty rat は，多飲・多食・尿糖を呈する個体である SDT rat に肥満遺伝子である変異レプチン受容体を導入したモデルであり，ヒトの2型糖尿病における病態生理に近いモデルであり，腎不全を来すことが知られている。

肥満2型糖尿病モデルラットにおけるサルコペニア進行の機序とバイオマーカーの可能性

まず我々は，SDT fatty rat と Sprague Dawley (SD) rat を用いることで SDT fatty rat におけるサルコペニア進行の機序について検討[9]を行った。SDT fatty rat では筋力/筋肉量の低下を認め，その機序として，骨格筋のタンパク合成に参与する AKT, mTOR, S6K のシグナルが，SDT fatty 群では SD 群と比較して有意に低下していた。その一方で，タンパク分解

系のシグナルに差は認められなかった。本検討から、SDT fatty rat におけるサルコペニア進行の抑制にはタンパク合成系に関与する経路に対する介入が必要である可能性が示唆された。また、本検討では尿中 L-type fatty acid-binding protein (L-FABP) のサルコペニアマーカーとしての有用性も評価した。尿中 L-FABP はヒトの近位尿細管細胞の細胞質に発現する脂肪酸結合蛋白であり、急性腎障害の尿細管マーカーとして 2011 年に保険収載された。我々の過去の検討 [10] において、慢性腎不全がない健常中・高齢者において身体活動量が低いほど、尿細管間質障害マーカーである尿中 L-FABP が高値で、さらに運動により尿中 L-FABP が低下することを報告しており、ヒトにおいてサルコペニアのマーカーとなりうる可能性が示唆されている。本検討では筋力と尿中 L-FABP の相関関係を解析し、筋力と有意に負の相関を認めた。では、なぜ尿細管マーカーである尿中 L-FABP がサルコペニアのマーカーとなりうるかだが、筋力の低下は腎内血管抵抗の上昇と独立して関連 [11] することが知られており、サルコペニアによって血管抵抗が上昇し、腎臓において微小な血流障害を来したことで尿中 L-FABP が上昇している可能性が考えられる。サルコペニアと尿中 L-FABP の関連に関しては今後さらなる検討が必要となる。

肥満 2 型糖尿病モデルラットにおける GLP-1 受容体作動薬によるサルコペニア予防効果の検討

続いて、治療介入の可能性として GLP-1 受容体作動薬によるサルコペニア抑制の可能性について検討 [12] を行った。GLP-1 は、食物摂取に反応して血糖依存性に腸内分泌細胞である L 細胞より分泌される。主な作用としては、膵臓の β 細胞に作用してインスリン分泌を促すことであるが、それ以外に脳の摂食中枢を抑制して食欲を低下させる作用、消化管運動を抑制して食欲を低下させる作用、心臓/腎臓の保護作用など様々な膵外作用が知られている。GLP-1 は、本来は DPP-4 により速やかに不活性化されるが、GLP-1 受容体制剤は DPP-4 による分解・不活性化作用を受けにくくすることで半減期がより長くなっている。インスリン製剤と異なり、体重を増やさずに血糖コントロールの改善効果が得られることが特徴と

してあげられるが、その一方で筋重量の減少の懸念もあり、使用には注意が必要である。詳細は割愛するが、本検討では、GLP-1 受容体作動薬であるリラグルチドが I 型筋線維のミトコンドリア量を維持することで脂肪酸酸化の促進に関与し、結果としてサルコペニア抑制に働いている可能性が示唆された。GLP-1 受容体作動薬は、海外では最近、痩せ薬としても使用されているほど体重減少効果が注目されており、実際にこの効果を期待して 2 型糖尿病患者に使用することもある。本検討では GLP-1 受容体作動薬により体重減少効果はあまり見られなかったことから、ヒトとは背景がやや異なり、注意が必要であると考えられる。今回の GLP-1 受容体作動薬以外にも、様々な薬剤が CKD 患者でのサルコペニア予防効果の検討がされているが、治療薬は確立されていないのが現状である。

腎不全医療におけるサルコペニア予防の取り組み

続いて、実臨床におけるサルコペニア予防の取り組みについて紹介する。通常は慢性腎不全から透析導入まで医師一人が外来でフォローすることが多い。しかし、我々の施設では、CKD が進行した時点で、個人外来から多職種でアプローチをする外来へ移行をしている (図 4)。そこで、看護師、栄養士、理学療法士など様々な視点から患者のサポートを行う。この取り組みの中で、栄養士がサルコペニアのスクリーニングを担っており、栄養指導とともに、サルコペニアの早期発見を心がけている。この保存期における多職種アプローチは、透析導入後の様々な効果をもたらすことが報告 [13] されている。

続いてサルコペニア予防に関する具体的な点として、栄養療法について示す。CKD 患者では、尿毒素物質の蓄積を避けるために蛋白制限が必要となる。特に、CKD 4-5 期では 0.6-0.8 g/kg と高度な蛋白制限を強いられ、これらがサルコペニア進行につながる可能性がある。実臨床での取り組みとして、適宜栄養士との面談を組むことで、栄養状態の評価を行い、過度な蛋白制限を避けること、そして必要十分なエネルギー摂取をすること、食事のアミノ酸スコア 100 を目指すことなどが達成できているかを確認することが重要である。また、達成の難しい方には、



図 4 日本赤十字社医療センター腎臓内科における腎不全外来の概要図

ハイカロリーゼリーや、医療用のプロテインなどを紹介する。

次に、CKD 患者における運動の意義を紹介する。低蛋白食（0.6 g/kg/day）で治療中の CKD 患者（GFR 25 程度）を対象とし、①低蛋白食のみ、②低蛋白食＋週 3 回のレジスタンス運動施行群で筋力と筋肉量を観察した研究 [14] がある。結果として、運動併用群のみで体重が維持され、筋力の増大と筋肉量の増加を認めた。つまり、低蛋白食が基本の CKD 患者では運動併用が不可欠であると結論づけられている。腎臓リハビリテーション学会から、運動の提言 [15] が出ており、具体的な運動強度などが示されている。運動には非監視型と監視型に 2 種類があり、極力、非監視型で行っていただくよう指導を行う。そして、フィードバックのために、歩数計による歩数の評価、運動記録を血圧記録と一緒にとっていただくような試みも有効であるとの報告もある。非監視型では難しいような血液透析患者などでは、透析中に院内でエルゴメータを行い、少しでも運動量を稼ぐような試みも多くのクリニックで行われており、有用性が示されている。

結 語

腎不全患者はサルコペニア発症を引き起こしやすい疾患背景があり、発症により著明な QOL 低下を来す。基礎的な検討は行われているが、実臨床には生かしていない現状があり、今後も検討が必要である。腎臓リハビリテーションの取り組みが注目されてきており、近年では保険診療でサルコペニア対策を行う時代になってきている。

文 献

1. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010; 39(4): 412–23.
2. Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB et al. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2011; 12(4): 249–56.
3. Chen LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Chou MY, Iijima K et al. Asian Working Group for Sarcopenia: 2019 Consensus Update on Sarcopenia Diagnosis and Treatment. *J Am Med Dir Assoc*. 2020; 21(3): 300–7.e2.
4. Moon SJ, Kim TH, Yoon SY, Chung JH, Hwang HJ. Relationship between Stage of Chronic Kidney Disease and Sarcopenia in Korean Aged 40 Years and Older Using the Korea National Health and Nutrition Examination Surveys (KNHANES IV-2, 3, and V-1, 2), 2008–2011. *PLoS One*. 2015; 10(6): e0130740.
5. Mori K, Nishide K, Okuno S, Shoji T, Emoto M, Tsuda A et al. Impact of diabetes on sarcopenia and mortality in patients undergoing hemodialysis. *BMC Nephrol*. 2019; 20(1): 105.
6. Matsuzawa R. Renal rehabilitation as a management strategy for physical frailty in CKD. *Renal Replacement Therapy*. 2022; 8(1): 3.
7. Sharples AP, Hughes DC, Deane CS, Saini A, Selman C, Stewart CE. Longevity and skeletal muscle mass: the role of IGF signalling, the sirtuins, dietary restriction and protein intake. *Aging Cell*. 2015; 14(4): 511–23.
8. Watanabe H, Enoki Y, Maruyama T. Sarcopenia in Chronic Kidney Disease: Factors, Mechanisms, and Therapeutic Interventions. *Biol Pharm Bull*. 2019; 42(9): 1437–45.
9. Tanabe J, Ogura Y, Kosaki K, Nagai Y, Sugaya T, Ohata K et al. Relationship between Urinary Liver-Type Fatty Acid-Binding Protein (L-FABP) and Sarcopenia in Spontaneously Diabetic Torii Fatty Rats. *J Diabetes Res*. 2020; 2020: 7614035.
10. Kosaki K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Tanahashi K, Kumagai H, Sawano Y et al. Relationship between exercise capacity and urinary liver-type fatty acid-binding protein in middle-aged and older individuals. *Clin Exp Nephrol*. 2017; 21(5): 810–7.
11. Kosaki K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Tanahashi K, Kumagai H, Sawano Y et al. Association between muscular strength and intrarenal vascular resistance in middle-aged and older individuals. *Exp Gerontol*. 2017; 91: 72–8.
12. Yamada S, Ogura Y, Inoue K, Tanabe J, Sugaya T, Ohata K et al. Effect of GLP-1 receptor agonist, liraglutide, on muscle in spontaneously diabetic torii fatty rats. *Mol Cell Endocrinol*. 2022; 539: 111472.
13. Wingard RL, Pupim LB, Krishnan M, Shintani A, Ikizler TA, Hakim RM. Early intervention improves mortality and hospitalization rates in incident hemodialysis patients: RightStart program. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007; 2(6): 1170–5.
14. Castaneda C, Gordon PL, Uhlin KL, Levey AS, Kehayias JJ, Dwyer JT et al. Resistance training to counteract the catabolism of a low-protein diet in patients with chronic renal insufficiency. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2001; 135(11): 965–76.
15. 日本腎臓リハビリテーション学会（編）：腎臓リハビリテーションガイドライン. 南江堂. 東京, 2018.

特集：実験動物を支える飼料の役割とは

実験動物を支える飼料の役割に関する特集にあたって

豊田 淳¹

小山公成²

¹ 茨城大学 農学部 食生命科学科飼料資源科学研究室

² 株式会社ケー・エー・シー

実験動物用飼料は、1950年代にマウス・ラット用の専用の飼料の販売が開始され、以後対象動物種、用途別に品目も増加し、現在約30種類以上の飼料が利用されている。

実験動物用飼料はNRC（National Research Council）飼養標準に示される要求量を参考にして設計されており、長く国内の実験動物飼育に用いられ、動物を用いた研究を支えてきた。

適正な動物実験データを得るためには、実験動物を健康で本来の特性を発揮できるように飼育することが必須になる。そのためには様々な要因をコントロールすることが必要になるが、特に飼料は動物生体に直接的な影響を及ぼすので、栄養面のみならず、食性、嗜好性、安全性、安定性等も含めてより完全なものが求められる。また近年では飼料の成分・組成が動物の心理や行動に大きな影響を及ぼすこと、動物実験の再現性にも大きく影響することも報告され、その重要性があらためて認識されてきている。

このように実験動物飼育及び実験データに対して重要な因子である飼料であるが、これまで実験動物用の飼料にスポットをあてて議論される機会が多くないように思えた。今回、第68回日本実験動物学会総会において、実験動物用飼料に関連するシンポジウムを開催することで、あらためて飼料が実験動物や動物実験に及ぼす影響やその役割について議論する機会を得た。

本特集は、同総会のシンポジウム「実験動物を支える飼料の役割とは」においてご講演をいただいた「心理社会的ストレスモデル動物のストレス感受性と飼料の関係」及び「栄養環境依存的な精神疾患モデルマウスの開発とその利用」についてまとめたものである。

本特集が今後の実験動物・動物実験における飼料の役割について考える機会になれば幸いである。

特集：実験動物を支える飼料の役割とは

心理社会的ストレスモデル動物のストレス感受性と飼料の関係

豊田 淳

茨城大学 農学部 食生命科学科
東京農工大学大学院 連合農学研究科

要 約

私共の研究グループではうつ病を食事で予防できる社会を実現するため、うつ病モデルマウスに農産物や食品成分を給与して、抗うつ効果を検証している。また、うつ病と栄養・代謝についての基礎研究として、うつ病モデルマウスの栄養・代謝を研究している。その研究過程において、モデルマウス作製時に給与する飼料が、心理社会的ストレスへの感受性に影響することを発見した。すなわち、天然原料で調製した飼料（非精製飼料）を給与したマウスは半精製飼料（AIN-93G）を給与したマウスと比べて、心理社会的ストレスに対して抵抗性（レジリエンス）を示した。また、双方のマウス間で血漿等の代謝物プロファイルも異なっていた。以上のことから、動物実験を行う際には実験目的を十分に考慮して、より慎重に飼料を選択すべきであり、既製品の飼料で不都合な事象が起こるような場合には、実験系に適した飼料の設計を自ら行うことも必要となろう。

はじめに

昨今の日本においては精神疾患の患者数が増加していると言われており、なかでもうつ病や不安障害が多いと言われている。また、新型コロナウイルス感染症の拡大が人々のところに影響をおよぼしていると考えられており、特に若年層の自殺が社会問題となっている。うつ病の治療には選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）などの抗うつ薬が用いられるが、既存の治療法が奏功しない患者が30%程度は存在すると言われている。またSSRIの効果を得るためには継続投与が必要であり、多様な副作用が患者のQOLを大きく下げる。そこで私共は、うつ病を発症する前に予防することに着目し、生活習慣、特に食事でうつ病を予防することを目標に研究に着手した。そのための基礎研究として、うつ病モデル動物の栄養・代謝の特徴について解析を行っている。私共は、うつ病モデル動物として心理社会的ストレスを暴露したマウス（社会的敗北ストレスモデルマウス）を実験に用いているが、このモデルの作製時に使用する飼料の検討結果から、実験動物飼料の重要性について教訓を得た。動物実験における給与飼料の重要性について、私共の研究結果に沿って触れていきたい。

1. うつ病モデル動物

主にうつ病研究に使われているのはマウスやラットのモデルである。特に、強制水泳や尾部懸垂などの急性ストレスを暴露したモデルが薬剤のスクリーニングなどにも広く使われている [1]。また、これらのモデルは食品中機能性成分の探索にも用いられている。一方、疾患モデルは3つの妥当性、すなわち表面妥当性、構成概念妥当性、予測妥当性を満足するものが適当であるとされるため、どのタイプのモデルを研究に使用するかの判断は重要であり、研究目的に合致したものでないといけない [2]。そのため、ヒトが通常生活する上で起こりえない強制水泳や尾部懸垂というストレスモデルで、果たしてうつ病の何が分かるのか？ということを理解しておかないといけない。急性ストレスのうつ病モデルは簡単に作製でき、再現性にも優れているので使いやすいが、これらのうつ病モデル動物の「限界」についてはよく考慮すべきであろう。一方、うつ病モデル動物にはどうしてもクリアできない壁がある。そもそも、マウスやラットに死の概念があるのか不明であるため、うつ病患者にしばしば見られる希死念慮や自殺衝動などを動物モデルで再現することは困難である。このように、うつ病モデルの妥当性については様々な「限界」があるが比較的妥当と言われるモデルとして、心理社会的ストレスを動物に暴露した社会的敗北ストレスモデルが知られており、行動、

脳の遺伝子発現など網羅的に調べられている [3]。特に C57BL/6 オスマウス (B6) を使ったモデルが主流であり、攻撃性の高いオスの ICR マウス (ICR) による身体的・精神的ストレスを、B6 に反復して暴露することによって作出される (図 1)。B6 は ICR との闘争に敗北し、その敗北を毎日繰り返し経験することで、不安様行動やうつ様行動を示すようになる。しかしながらこの方法には欠点もあり、ICR による噛みつきで B6 が外傷を負うケースが頻発することである。これはうつ病モデルとしての妥当性を低下させる要因になるため、私共は B6 の咬傷を減少させるために、闘争時間を標準的な方法 [4] よりも短縮した方法を開発した。その方法で作出されるモデルを亜慢性社会的敗北ストレスモデルとした [5, 6]。

2. 飼料が心理社会的ストレス感受性に与える影響

この亜慢性社会的敗北ストレスモデルの開発当初には、固形の非精製飼料 (MF, オリエンタル酵母) を給与してモデルを作製していた。一方、本モデルのメタボローム研究や食品成分による介入試験が増え、栄養・代謝を研究する上で非精製飼料では不都合であるため、固形や粉末の半精製飼料 (AIN-93G) を用いることが増えた。AIN はアメリカの国立栄養研究所が発表したラットおよびマウス用の飼料であり、タンパク質源としてカゼイン、糖質源としてコンスターチ、スクロース、難消化性多糖としてセルロースが配合されている。主に使われているのは、AIN-76A, AIN-93G, AIN-93M であり、成長段階や研究目的によって使い分けられている。私共は、亜慢性社会的敗北ストレスモデルは給与する飼料によって、摂食量や飲水量だけでなく、行動にも差が

出ること気が付いた。そこで非精製飼料 (MF) と半精製飼料 (AIN-93G) を給与したモデルマウスのキャラクターの違いを調査するために、MF および AIN-93G の固形飼料をそれぞれ B6 に給与し、亜慢性社会的敗北ストレスモデルを作製し、両者の行動を比較した [7]。社会的敗北ストレスモデルのストレス感受性の評価として、攻撃者である ICR に対する社会行動 (接近) を観察する方法がある。すなわち、敗北ストレスを受けているにも関わらず ICR に接近していく B6 をストレス耐性あり (レジリエント) とし、一方で ICR に接近せず逃避する B6 をストレス耐性なし (脆弱) と評価する [4]。この脆弱性を示す B6 の症状はうつ病の様々な所見と近似しており、この脆弱マウスからうつ病発症に関与する可能性のある分子も複数同定されてきた [8]。一方、敗北モデルマウスについての研究論文がハイインパクトなジャーナルに掲載されることが増えたが、使用した飼料についての記載が無いものが多い。ほとんどの研究で非精製飼料を使用したと想像できるが、非精製飼料についてはメーカーによって多様な商品があり、研究データの再現性の確認をしたい時など飼料の詳細が記載されていないのがネックになる。特に、社会的敗北ストレスモデルマウスを作製する時に問題になるのは、レジリエントマウスと脆弱マウスがどのくらいの比率で出現するかである。研究目的にもよるが、多くの場合は脆弱マウスを解析することによりうつ病のメカニズムを探ることになるため、一回のモデル作製で脆弱マウスがどのくらい得られるかが研究を進める上でのポイントになる。私共の研究では、AIN-93G で飼育した B6 は MF で飼育した B6 よりも心理社会的ストレスに対して脆弱だった (表 1) [7]。すなわち、脆弱マウスを作製するには

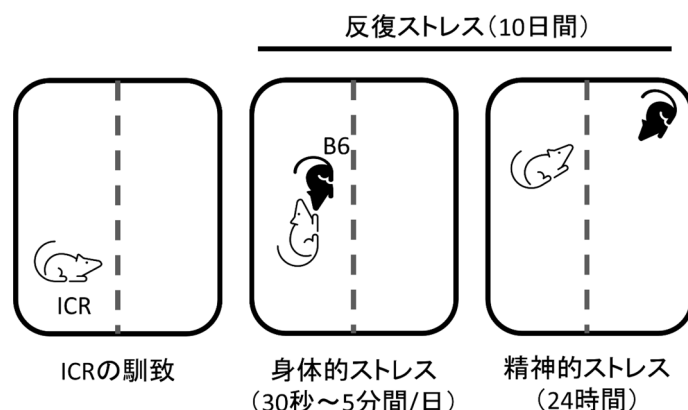


図 1 亜慢性社会的敗北ストレスモデルマウスの作製法

ICR オスマウスを数日飼育したケージに B6 オスマウスを入れて、両者に闘争行動を誘発させる (身体的ストレス)。通常は B6 が ICR に敗北する (社会的敗北)。この B6 を ICR のいる空間と隣接した部屋に移し、飼育する (精神的ストレス)。身体的ストレスと精神的ストレスを 10 日間反復する。方法の詳細は文献 [5, 6] を参照のこと。

半精製飼料を用いた方が良いという結果であった。逆の言い方をすれば、非精製飼料に用いられている飼料原料にストレス耐性を付与する効果を持つ成分があると思われる。今回、私共が見つけたのは、敗北ストレスモデルのストレス感受性が給与飼料に影響を受けたということであるが、マウスの他の行動、例えば記憶・学習課題に関する行動などへの給与飼料の影響も注意しないといけない。

3. 亜慢性社会的敗北ストレスモデルの代謝物の解析

次に飼料が亜慢性社会的敗北ストレスモデルマウスの代謝物に与える影響について調査した。今回はガスクロマトグラフ質量分析器（GC-MS）を用いたメタボローム解析により、血漿、盲腸内容物、肝臓の代謝物を網羅的に解析した。上記の実験同様、AIN-93GあるいはMFをB6マウスに給与し、亜慢性社会的敗北ストレスモデルマウスを作製した。その結果、心理社会的ストレスよりも給与飼料の違いの方が代謝物に影響した[9]。代謝レベルで見るとストレスよりも飼料の影響が大きいということであり、これはこのモデルに限ったことではないと思われるが、研究者は給与飼料のインパクトに留意しないといけないだろう。この研究で得た特に興味深い発見は、代謝物によって全く違う挙動をするということである。例えば、血漿と肝臓の4-ヒドロキシプロリンはどちらの飼料給与下でもストレスで増加した。その一方で、血漿中のコハク酸、フマル酸、リンゴ酸などクエン酸回路の分子は、MFとAIN-93Gで逆の方向に変動した（表2）。肝臓の代謝物ではこのような動きをするものは見出せなかったが、血漿と盲腸のこのような代謝物の動きはとても興味深い。血液中のうつ病バイオマーカーの探索など行われているが、ロバストなマーカーは得られていない。ヒト検体でうつ病バイオマーカーの探索も試みられているが、しばしば真逆の動きを見せる「バイ

オマーカー候補」もあり、エタノールアミンリン酸などはその典型であろう[10, 11]。詳細は不明であるが、うつ病患者の食事習慣や食事内容が代謝物に大きな影響を与えていることが、うつ病バイオマーカー発見の難しさを招いているのかもしれない。

4. 健常 B6 マウスの行動および腸内細菌叢の解析

そもそも AIN-93G、MF の給与はマウスにどのような影響を与えているのか？私共は一旦、敗北モデルから離れ、この2つの飼料の評価を行うことにした。上記の亜慢性社会的敗北ストレスモデルマウスのメタボローム研究では、給与飼料によって代謝物プロファイルに違いが出るのが分かったので、代謝物の主要ソースである腸内細菌に着目した。健常な B6 オスマウスにこの2種類の固形飼料をそれぞれ給与したところ、ホームケージおよびオープンフィールド内での自発活動量、血漿中のコルチコステロンには両群で差がなかったものの、腸内細菌叢は異なっていた[12]。表3には属レベルで差があったものをリストしたが、AIN-93Gを給与したB6の腸内では *Allobaculum* 属の相対的存在量が顕著に多いことが判明した。*Allobaculum* 属に属する細菌はほとんど培養されておらず、この細菌が腸内でどのような代謝に関わっているのかは不明であるが、MFを給与されたB6の腸内環境と AIN-93G を給与された B6 のそれとは全く異なることは予測できる。もちろん動物の入手先（ブリーダー）、飼育環境、実験従事者など様々な要因によってもマウスの腸内細菌叢は変動するであろうが、今回の私共が得たデータは栄養学研究の標準飼料である AIN-93G も万能ではないことを示唆している。特に近年、ゲノム解析が低コストで可能になってきており、腸内細菌叢の研究が非常に盛んになっている。生活習慣病などの様々な疾患が、「腸内環境の乱れ」で説明されている。一方、脳機能や行動に腸内環境が影響するという知見も増えてきており、脳腸相関研究も活性化している。実際に自閉症モデルマウスでは、腸内細菌由来の尿毒素関連

表1 給与飼料が亜慢性社会的敗北ストレスモデルのストレス感受性に与える影響

	Control AIN-93G	Control MF	Stress AIN-93G	Stress MF
脆弱性 (%)	12.5	8.3	73.9	34.8
耐性 (n)	21	11	6	15
脆弱性 (n)	3	1	17	8

AIN-93G および MF をそれぞれ給与した B6 で亜慢性社会的敗北ストレスモデルを作製し、Social interaction test により ICR に対する社会行動を評価した。詳細は文献 [7] を参照のこと。

表2 亜慢性社会的敗北ストレスモデルのメタボローム解析

	AIN-93G	MF
コハク酸(血漿)	低下	増加
フマル酸(血漿)	低下	増加
リンゴ酸(血漿)	低下	増加
GABA(血漿)	低下	増加
ケトイソカプロン酸(血漿)	低下	増加
パントテン酸(盲腸)	低下	増加

詳細は文献 [9] を参照のこと。

の代謝物が脳に入り、それが自閉症様行動の原因になることが明らかにされている [13]。

5. 健常 B6 マウスの脳内キヌレニン経路の解析

キヌレニンはインドールアミンジオキシゲナーゼ、トリプトファンジオキシゲナーゼによってトリプトファンから合成され、さらにキヌレン酸、キノリン酸、ピコリン酸、NAD などに代謝される。この代謝経路はキヌレニン経路と呼ばれており、トリプトファン代謝の中では主要経路である [14]。キヌレニン経路は炎症性疾患で活性化し、うつ病、統合失調症などの精神疾患の脳でも活性化するとされている [14]。私共は亜慢性社会的敗北ストレスモデルの脳でキヌレニンレベルが上昇していることを発見し、この上昇は、ヘスペリジンの給与で抑制できることを見出した [15]。また、ヘスペリジン介入によりマウスが心理社会的ストレスに対してレジリエントになることも発見した。ヘスペリジンがストレスによる脳内キヌレニン経路の活性化を抑制していると考えられるが、その詳細は不明であり、現在、解析中である。ヘスペリジンは柑橘果皮の主要なフラボノイドであり、抗炎症作用を有する。実際に抗炎症作用のある物質が社会的敗北ストレスモデルのストレス抵抗性を上昇させる例が次々と見つかっており、その中にはファイトケミカルも含まれている [16]。抗炎症作

用を持つ成分は、飼料、特に非精製飼料にも含有していることが考えられるため、私共は脳内キヌレニン経路が給与飼料の種類に影響されるか検討することにした。給与飼料として、前記の MF、AIN-93G に加えて、AIN-93M も追加し、健常な B6 オスマウスに 12 日間給与し、血漿、脳（海馬、線条体、小脳、前頭前野）のトリプトファンおよびキヌレニンの濃度を測定した。その結果、MF 給与群の血漿キヌレニンレベルが他の群よりも高かったのに対して、海馬では逆に AIN-93G 給与群と比較して低値であった（表 4 および 5） [17]。先述の通り、MF を給与した亜慢性社会的敗北ストレスモデルマウスは、AIN-93G を給与したモデルマウスよりもストレスに対してレジリエントであったことから [7]、MF 給与群の海馬では他の群よりもストレスによるキヌレニン経路の活性化が起こりにくい可能性が示唆された。MF に含有する成分がこのような作用に関与していることが想定されるが、ファイトケミカルはその候補になるであろう。

今後の展望

研究目的や内容を吟味し、適切な飼料を選択して動物実験を実施することは、畜産学や栄養学分野の研究者には常識とされているが、他の生命科学分野では必ずしもそうではないようである。Nature、

表 3 健常 B6 マウスの腸内細菌叢解析（属レベル）

属	MF 平均(%)	AIN-93G 平均(%)	P
<i>Adlercreutzia</i>	0.78023	0.16475	0.00603
<i>Parabacteroides</i>	0.24653	0.09267	0.02507
<i>Ruminococcus</i>	1.94690	0.92168	0.01386
<i>Dorea</i>	0.11682	0.00997	0.02796
<i>Allobaculum</i>	3.78764	43.3899	0.00424
<i>Bilophila</i>	0.04314	0.00566	0.03321
<i>Desulfovibrio</i>	2.25272	0.08036	0.03320

表 4 健常 B6 マウスの血漿キヌレニンおよびトリプトファン濃度

	キヌレニン (μM)	トリプトファン (μM)
MF	0.60 $\pm$ 0.07 ^a	48.2 $\pm$ 3.61
AIN-93G	0.36 $\pm$ 0.04 ^b	41.4 $\pm$ 4.66
AIN-93M	0.31 $\pm$ 0.07 ^b	30.7 $\pm$ 10.1

異符号間に有意差あり (p<0.05)

表 5 健常 B6 マウスの海馬キヌレニンおよびトリプトファン濃度

	キヌレニン (μM)	トリプトファン (μM)
MF	0.32 $\pm$ 0.03 ^a	220 $\pm$ 22.2 ^a
AIN-93G	0.46 $\pm$ 0.03 ^b	303 $\pm$ 26.0 ^{ab}
AIN-93M	0.38 $\pm$ 0.03 ^{ab}	396 $\pm$ 65.8 ^b

異符号間に有意差あり (p<0.05)

Cell, Scienceなどの著名な雑誌に掲載された論文でさえ、動物実験で用いた飼料の記載が無いものも多く、実験の再現性を確認するうえでの障壁になっている。これは生命科学における飼料の置かれている状況を如実に物語っていると言える。生命科学系論文に掲載されたデータの再現性が問題になって久しいが、動物実験で得られたデータに給与飼料が影響しているのは間違いない。データの再現性を担保するために、給与飼料の選択もより適切でなければならないし、その内容を論文等で公表するように努めるべきである。また、飼料を研究者に販売する企業側にも問題があると言える。例えば、飼料に使う原材料などの情報開示は進んでいるとは言えず、通常、ユーザーが原材料の原産地などの情報を得ようにもあるところで情報開示がストップする。現在、飼料に配合されるカゼインにはその処理過程で乳酸菌体が混入しているものがある。一方、乳酸菌フリーの工程で調製したカゼインも飼料に配合されるケースがある。つまり、同じAIN飼料でも乳酸菌入りカゼインと乳酸菌フリーのカゼインで調製されたものが市場に出ていることになる。どちらの飼料を選択するかは、乳酸菌の評価研究をしている研究者はもちろん、すべての研究者にとっても重要であろう。乳酸菌の死菌体が腸内環境や免疫系、神経系に影響すると主張する論文はいくらでも見つかる。カゼインの問題だけではなく、研究者がより適切で健全な動物実験を実施するために、飼料会社はこれまで以上に情報開示や技術サポートを行うべきであろう。現在、AIN-76およびAIN-93は栄養研究の標準飼料とされているが、AIN-93の様々な問題点、課題が指摘されている。我々の実験でもそうであったように、AIN-93給与による腸内細菌叢の異常が報告されており、この飼料組成を見直しすべきとの意見が出ている[18]。今後、マウス、ラットにより適した飼料の開発が進むと思われるが、その動向には注視されたい。

謝辞

ここでご紹介した一連の研究は、当時、筆者の研究室に所属していた後藤達彦博士（現在、帯広畜産

大学）を中心に実施したものです。また、京都大学大学院農学研究科の友永省三先生、東京農工大学大学院農学研究院の永岡謙太郎先生、柴田学園大学生活創生学部の奥野海良人先生、茨城県立医療大学保健医療学部の中村勇先生、東京医科大学茨城医療センターの宮崎照雄先生、本多彰先生に分析などご協力いただきました。本稿執筆の機会を作っていただきました小山公成博士（当時・アステラス製薬、現・ケー・エー・シー）は、筆者の研究室に博士課程大学院生として在籍しましたが、実験動物の飼料について情報交換をしていただきました。本研究は、文部科学省特別経費（茨城大学農医連携プロジェクト）、内閣府SIP、科学研究費補助金を受けて実施しました。

引用文献

- 1) Krishnan V, Nestler EJ. *Nature* 2008 455: 894–902.
- 2) Nestler EJ, Hyman SE. *Nat Neurosci* 2010 13: 1161–9.
- 3) Russo SJ, Nestler EJ. *Nat Rev Neurosci* 2013 14: 609–25.
- 4) Golden SA, Covington HE 3rd, Berton O, Russo SJ. *Nat Protoc* 2011 6: 1183–91.
- 5) Goto T, et al. *Behav Brain Res* 2014 270: 339–48.
- 6) Goto T, Toyoda A. *J Vis Exp* 2015 105: 52973.
- 7) Goto T, Kubota Y, Toyoda A. *Nutr Neurosci* 2016 19: 284–9.
- 8) Krishnan V, et al. *Cell* 2007 131: 391–404.
- 9) Goto T, Tomonaga S, Toyoda A. *J Proteome Res* 2017 16: 1857–67.
- 10) Ogawa S, et al. *J Psychiatric Res* 2018 96: 23–32.
- 11) Kawamura N, et al. *Psychiatry Clin Neurosci* 2018 72: 349–61.
- 12) Toyoda A, et al. *Neurosci Lett* 2018 670: 36–40.
- 13) Hsiao EY, et al. *Cell* 2013 155: 1451–63.
- 14) 門司晃. 精神経誌 2012;114: 124–33.
- 15) Sato M, et al. *Biosci Biotechnol Biochem* 2019 83: 19–23.
- 16) Toyoda A. *Anim Sci J* 2020 91: e13478.
- 17) Yajima Y, et al. *Int J Tryptophan Res* 2022 11786469211066285.
- 18) Klurfeld DM, Gregory JF, Fiorotto ML. *J Nutr* 2021 151: 1380–82.

特集：実験動物を支える飼料の役割とは

栄養環境により精神疾患様症状を呈したモデルマウスの解析

新保裕子
佐久間敦文
平井志伸

東京都医学総合研究所 精神行動医学研究分野フロンティア研究室 脳代謝制御グループ

はじめに

現在、精神疾患はさまざまな遺伝的要因と環境要因が重なり合って発症する多因子疾患と認識されている。疫学研究により、進学、昇進、引っ越しなど人によっては一見喜ばしい事象に感じられることも、現代における精神疾患発症の環境ストレス要因となりうるということが推察されている。最近我々のグループは、栄養に関する現代特有の環境ストレス要因を発見し論文発表を行った。その内容をその解析手法の一つと共に紹介したい。

統合失調症とは

精神疾患には、うつ病、双極性障害、統合失調症などが含まれる。統合失調症は、脳の機能低下により、思考、行動、感情を他人に理解できる形で統合する能力が低下することで、まとまりのない行動が見られる病態である。統合失調症は思春期から20代ぐらいまでに発症しやすく、人口の1%がかかる発生頻度の高い疾患である [1, 2]。

幻覚、妄想等の陽性症状、自閉や意欲低下等の陰性症状、そして記憶力・注意力・集中力・判断力が低下する認知機能障害が三つの大きな特徴として知られている [3]。多くは慢性・再発性の経過をたどり、社会生活に困難をきたすため、病態解明や治療法の開発が求められている。

原因

精神疾患の多くは遺伝性疾患として捉えられてきたが、近年、環境要因との関連性が強く指摘されるようになった [4]。家系内の連鎖解析、次世代シー

クエンスを用いたエクソーム解析やゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、統合失調症の原因と考えられている遺伝子として様々な因子 (*Neuregulin*, *Dysbindin*, *COMT*, *DISC1*, *RGS4*, *GRM3*, *G72*, *22q deletion* 等) が報告されている [5]。これらの遺伝子のうち、*DISC1* 関連の変異は統合失調症患者で多数報告されている [6]。環境因子として、妊婦の栄養不良、ウイルス感染、周産期障害 (低体重出生) 等も挙げられており、栄養環境もストレスとなることが伺い知れる [7-11]。

精神疾患とモデル動物解析

実モデル動物を用いた研究においても、胎児期や発達期における栄養不良は、統合失調症の三大所見の一つである認知機能低下を表出させることが見出されている [12]。我々も、統合失調症や双極性障害患者において、発現低下や活性低下が報告されている *Glyoxylase-1* 遺伝子のヘテロ欠損マウスと *Disrupted In Schizophrenia-1* (*DISC1*) 遺伝子の部分欠損ヘテロマウスに対し、その思春期にあたる時期にスクロース摂取過多という環境ストレス要因を付加することで、遺伝要因と栄養環境要因の相加・相乗効果を検証し発表した [13]。遺伝と栄養環境負荷が重なったマウスでは、様々な精神疾患様症状を呈するようになることを、生理学的、生化学的、組織学的解析などを組み合わせた包括的な解析を行うことで見出した。そして、どちらの遺伝子変異マウスにおいても二つの要因が重なると決定的な異常を呈したのは認知機能障害であった。そこで、発表論文内で用いた *DISC1* 部分欠損ヘテロマウスを用いた認知機能 (短期記憶) の齧歯類における評価法と、過剰なスクロースを含む飼料の作成法について以下に示す。

認知機能試験

ヒトにおける精神疾患の認知機能試験として、Wisconsin Card Sorting Test (WCST) や Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB) が知られているが [14, 15], 精神疾患と健常人を対象とした試験は現実的に同意や倫理的な面で難しい。従って病態メカニズムの解明や薬剤の開発にはモデル動物を用いて認知機能試験を行うことが多い。1998年に Ennaceur, A. と Delacour, J. はラットを用いた記憶試験において、二つの物体を探索させた後、片方を新奇物体にした場合、馴染の物体よりも新奇物体の探索時間が長いことを見出した [16]。この新奇性を好む (= 馴染の位置や物体そのものを記憶している) という齧歯類の特性を利用した新奇位置認識試験 (Object location test, OLT), 及び新奇物体認識試験 (Novel object recognition test, NORT) は、アルツハイマー病、統合失調症、自閉症等の精神疾患モデル動物においてモデル妥当性の検証試験として適用されている。

試験に使用する箱への馴化、二つの物体への自由探索 (トレーニング)、一定時間の休憩後に OLT の場合は片方の物体を新奇位置に移動、NORT の場合は片方の物体を新奇物体に交換し、それぞれ新奇位置物体および新奇物体への接触時間を評価する。現在我々は Denninger らのプロトコル [17], 及び我々が引用文献 13 で用いた手法を更にブラッシュアップした内容で、馴らし⇒トレーニング⇒OLT⇒NORT の連続試験を採用している。図 1 にその手順、また引用文献 13 内で報告した OLT 結果にサンプル数を追加し、更にオリジナルとは異なる統計解析を取り入れた結果を図 2 に示す。因みに、OLT は海馬が、NORT は鼻周囲皮質が、それぞれの部位の破壊実験より試験遂行の責任部位の一つであることが知られている [18, 19]。

作成した統合失調症モデルマウスの飼育、及び栄養環境

モデル動物

C57BL/6 J をバックグラウンドにもつ Disc1 L1 モデルマウス (exon1 ~ 3 欠損) を用いた [20, 21]。Disc1 exon1-3 欠損変異をもつヘテロ接合体 (+/-) のオスと野生型のメスを交配し、得られたヘテロ接合体 Disc1 L1 (+/-) と野生型 Disc1 L1 (+/+) の 3 か月齢のオスを行動試験に用いた。

飼育環境

飼育動物は、温度 $23.5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、12 時間照明 (明期 8:00-20:00、暗期 20:00-8:00) を含む適正な飼育環境下で維持した。離乳後 (P21) に母マウスから離し、オスとメスを分けて 1 ケージ内に 2 ~ 5 匹を収容した。

栄養環境

オリエンタル酵母 (日本) から提供された 2 種類の特殊飼料 Sucrose diet HSD-70 (#OYC 2405100) と Corn starch diet HCD-70 (#OYC 2405000) を用いた (表 1)。これらの飼料には同カロリー % の炭水化物、脂質、及びたんぱく質が含まれる。離乳直後 (P21) にこの特殊飼料投与を開始した。

統合失調症モデルマウスの行動試験

試験箱及び物体の選択

試験箱は、一般的なマウス用のオープンフィールド試験の箱 ($50\text{ cm} \times 50\text{ cm}$) を狭め ($50\text{ cm} \times 33\text{ cm}$) にして使用し、箱の壁に目印となる紙を貼り付けた。様々な物体を試験した検証結果から、マウスに認識させる物体として、 $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ 程度の動物形をしたプラスチック製の玩具を選択した。これは、接触時間の個体差が小さく、ペットボトルや更に大きな玩具と比較してより長時間接触することが予備実験で分かったためである。おそらく不安の軽減によるものと考えられる (未発表)。

行動試験の時間帯および試験室内の環境

コンベンションレベルで飼育しているマウスを、グループ飼育の状態で試験 30 分以上前に行動部屋に搬入し、10 時から 18 時の間に行動試験を実施した。

行動試験プロトコル (図 1)

Handling と Habituation : マウスを実験者や行動室に慣れさせ、実験時のストレスを回避し不安を取り除く為に、行動試験を開始する 1 日前に、 $50\text{ cm} \times 50\text{ cm}$ の Box を用いて行動量テストを兼ねたオープンフィールド試験を 30 分間実施した (250 lux 下)。マウスを手を持つ際には、右手から左手に移すなど数分間ハンドリングを行った。

Habituation : マウスを本番用の $50\text{ cm} \times 33\text{ cm}$ の箱の中央に置き、10 分間自由に行動させ軌跡を記録した。終了後、ホームケージに戻し、1 ~ 2 時間休憩後、次の試験に進んだ。

Training trial：二つの物体AとBを用意し、それぞれを壁から少し離れたところに配置した。マウスを二つの物体の間に置き5分間自由に行動させ、ビデオ撮影と軌跡記録を行った。終了後、ホームケージに戻し、

5分間休憩後、次の試験に進んだ。Training trialからは全て10 lux下で実験を行った。

OLT (Object location test)：二つの物体のうち一つを対面の壁側に移動させた。動かしていない物体を馴

表1 引用文献13中で作成したコーンスターチ食、スクロース食の組成表(引用文献13中の表改変)

含有成分	コーンスターチ食 (gm %)	スクロース食 (gm %)
セルロース	4.27	4.27
ココアバター	2.59	2.59
大豆油	2.39	2.39
スクロース (砂糖)	0	65.44
カゼイン	19.95	19.95
グルコース	14.32	0
β コーンスターチ	51.12	0
その他	5.36	5.36
合計 (g)	100	100
3大栄養素によるカロリー配分	コーンスターチ食 (kcal %)	スクロース食 (kcal %)
タンパク質	18.7	19.9
脂質	11.7	13.3
炭水化物	69.6	66.8
トータルエネルギー	コーンスターチ食 (kcal/100 g)	スクロース食 (kcal/100 g)
	360.2	361.5

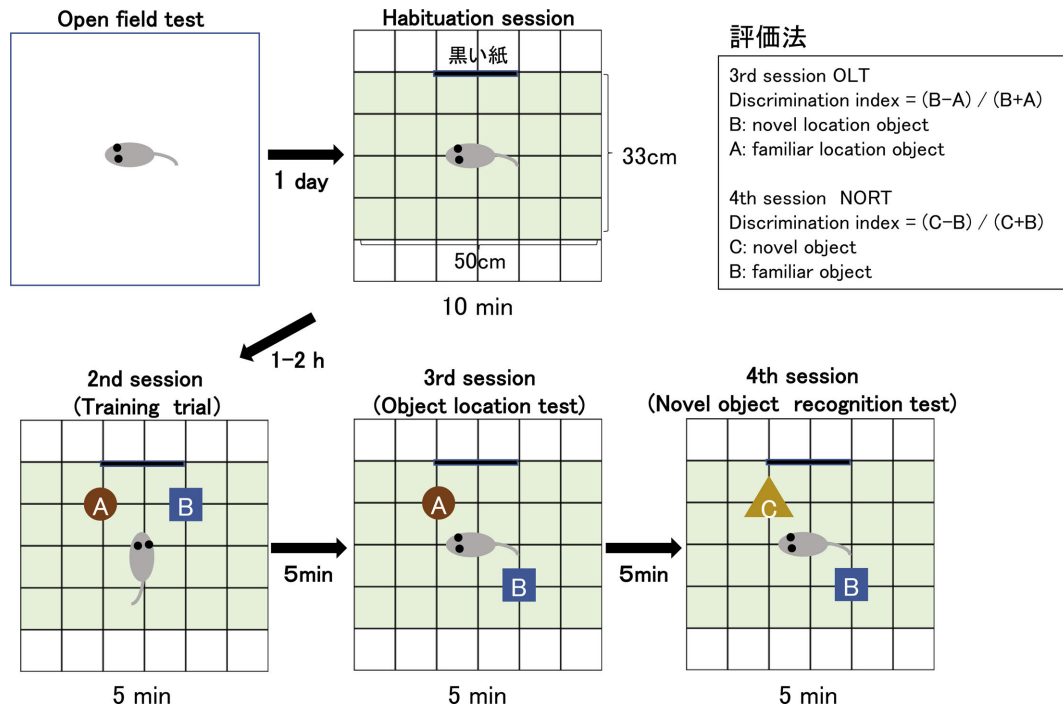


図1 物体認識試験 (OLT) と新奇物体認識試験 (NORT) の試験の流れ

Open filed testに使用したBoxに壁を挿入しOLTとNORTに使用する。黒い紙は目印として、幅13.5 cm、高さ40 cmのものをBoxの床から壁に貼る。プロトコルの詳細は本文を参照。

染の物体A、移動した物体を新奇位置物体Bとした。マウスを二つの物体の間に置き、5分間自由に行動させ、ビデオ撮影と軌跡記録を行った。終了後、ホームケージに戻し、5分間休憩後、次の試験に進んだ。

NORT (Novel object recognition test) : OLTで動かししていない馴染の物体Aを新奇物体Cに置き換えた。マウスを二つの物体の間に置き、5分間自由に行動させ、ビデオ撮影と軌跡記録を行った。終了後、ホームケージに戻した。

評価 : 録画したビデオを再生し、物体に接触した時間を計測した。物体の横でグルーミングした時間は計測しなかった。二つの物体の合計接触時間のうち、新奇位置物体、新奇物体を探索した時間の割合をDiscrimination index 値として示した。自動撮影も試したが、目視が最も確実だった為、最終的にはこの方法を採用した。

結果

海馬機能等を評価可能なOLTにおいて、環境(スクロース食)と遺伝(DISCI部分欠損ヘテロマウス)それぞれ単独要因であっても、コントロールとして使用したコーンスターチ食を与えた野生型マウスと比較して有意な短期記憶の低下が認められたが、二つの要因が重なるとそのスコア低下は決定的なものとなった(図2)。環境と遺伝それぞれ単独のストレス要因の群と比較した場合でも、二つの要因が重なった群(スクロース食を給餌したDISCI部分欠損ヘテロマウス)ではスコアが有意に低下した。今回、引用文献13よりもサンプル数を増やし、多重比較検定にTukey-kramer法を用いたことで、遺伝と環境要因の組み合わせによる相加・相乗効果の傾向がより明確に示された。

考察

本実験では、マウスの思春期に相当する期間にスクロース食を給餌し認知機能障害を誘導したが、この障害の表出にはスクロース餌開始時期に臨界期が存在するのか、そして一度低下した機能は飼料を通常に戻すことで回復するのかについては未解明のままであり、今後の課題である。

ヒトが今回のような高スクロース含有量の食事を思春期中に摂り続けることは現実的にならないと思われるが、ヒトの思春期(小学校高学年から20歳ぐらい

まで約10年)はマウスのそれ(生後35-60日程度の約30日)とは比べ物にならない程長い為、本研究で使用した飼料より少量のスクロース含有食でも種々の脳機能障害が表出する可能性が十分推察される。

おわりに

スクロース含有量を我々よりも減らした飼料を給餌した場合の、モデル動物の脳高次機能、精神面への影響が検討された例が過去に存在している。

2015年に発表された研究では、ラットに対してヒトの思春期にあたると考えられる期間中のみ通常飼料(組成については記載がなし)と水、そして10%スクロース溶液を与えて生育した後、成熟期におけるその影響が調べられた[22]。その結果、スクロー

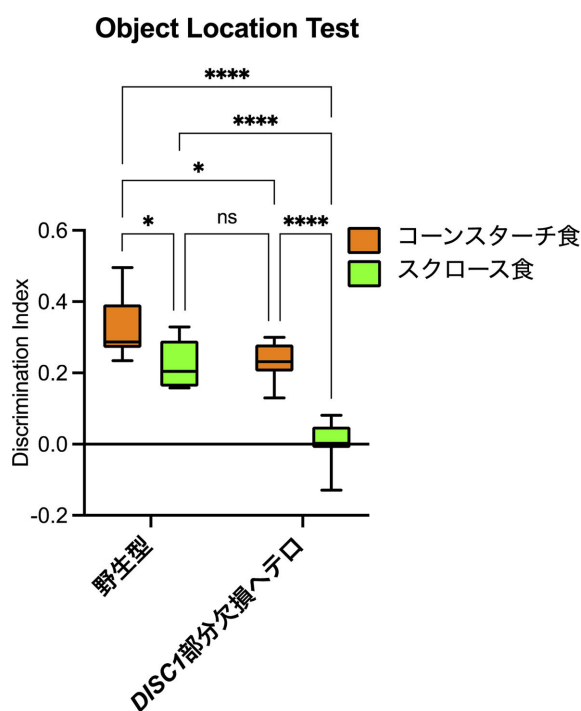


図2 発達期DISCI部分欠損ヘテロマウスへのスクロース食給餌による認知機能の評価

箱ひげ図の上端は最大値、下端は最小値、箱の中の横線は中央値を示す。群間比較は飼料と遺伝子型を主要因として二元配置分散分析(two-way ANOVA)を用いて行った。2つの主要因共に主効果が、更に交互作用も認められた(餌: $F(1, 31) = 50.38, p < 0.0001$; 遺伝子型: $F(1, 31) = 47.65, p < 0.0001$; 飼料×遺伝子型: $F(1, 31) = 8.246, p = 0.0073$)。その為Tukey-kramer法によるポストホックテストを行った。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns=not significant.

ス溶液を飲んで育ったラットはそうでない対照群のラットに比べて体脂肪量が増加することだけでなく、認知機能試験 (Object-in-place memory test) のスコアが有意に下がること、そして海馬と前頭前皮質におけるパルブアルブミン陽性ニューロンの数も有意に減少することが判明した。これは統合失調症患者に見られる特徴と一致しており、少量のスクロース摂取でも体内動態に明らかな悪影響を及ぼしうることが分かる。

さらに低い濃度のスクロース溶液 (5%) を通常飼料と共に与えてもラットの健康に影響が出たという研究結果が2018年に発表されている (餌組成については記載がなし) [23]。実験の概要は上記に紹介したものとはほぼ同様だが、結果としては、思春期に飼料と5%スクロース溶液を与えられたラットは対照群のラットと比較して、体重の増加こそないものの、成熟期においてForced swim testのスコア低下やスクロースへの興味の薄れが見られ、うつ病様の症状を呈した。さらに、うつ病が海馬の萎縮と関連するヒトのデータを反映するように5%スクロース摂取ラットでは海馬歯状回における新生ニューロンの数が減少していたが、抗うつ薬イミプラミンによって回復した。ちなみに、ラットが成熟期に入ってから同様の実験を開始したところ強制水泳試験のスコア低下が見られたが、思春期に5%スクロース溶液を与えた場合よりも軽度であり、それ以外は5%スクロース溶液を与えなかった場合と有意な差が見られなかった。

以上の結果は、少量のスクロース (5 ~ 10% のスクロース溶液) 摂取でも行動試験などの実験結果に直接反映されるほどの影響を実験動物に与えることを示している。特に思春期に当たる期間にスクロースを摂取させると脳機能に大きな影響を与えるようである。ただし、上記二つの実験ではラットが飲んだスクロース溶液のカロリー分だけ摂取する飼料が減少する為 (マウスは摂取カロリーを一定に保つように自身でコントロールして食事する)、実際にスクロース何%含有の飼料を与えた時と同じ結果になるのか、それ以外の栄養素の組成は全体的に見るとどのように変化するのかなどについては、定かではないことには留意すべきと考える。

引用文献

- Ross CA, Margolis RL, Reading SAJ, Pletnikov M, Coyle JT. Neurobiology of Schizophrenia. *Neuron*. 2006; 52: 139–53.
- Kilmer PD. Schizophrenia. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 1738–49.
- Joyce EM, Roiser JP. Cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry*. 2007; 20: 268–72.
- Van Os J, Rutten BPF, Poulton R. Gene-environment interactions in schizophrenia: Review of epidemiological findings and future directions. *Schizophr. Bull.* 2008; 34: 1066–82.
- Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: On the matter of their convergence. *Mol. Psychiatry*. 2005; 10: 40–68.
- Sawamura N, Sawa A. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1): A key susceptibility factor for major mental illnesses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006; 1086: 126–33.
- Stein Z, Susser M. Fertility, fecundity, famine: food rations in the Dutch famine 1944/5 have a causal relation to fertility, and probably to fecundity. *Hum. Biol.* 1975; 47: 131–54.
- Brown AS, Susser ES. Prenatal nutritional deficiency and risk of adult schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 2008; 34: 1054–63.
- Abel KM, Wicks S, Susser ES, Dalman C, Pedersen MG, Mortensen PB, et al. Birth Weight, Schizophrenia, and Adult Mental Disorder. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2010; 67: 923–30.
- Freedman D, Bao Y, Kremen WS, Vinogradov S, McKeague IW, Brown AS. Birth weight and neurocognition in schizophrenia spectrum disorders. *Schizophr. Bull.* 2013; 39: 592–600.
- Kneeland RE, Fatemi SH. Viral infection, inflammation and schizophrenia. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry*. 2013; 42: 35–48.
- Mackawa M, Watanabe A, Iwayama Y, Kimura T, Hamazaki K, Balan S, et al. Polyunsaturated fatty acid deficiency during neurodevelopment in mice models the prodromal state of schizophrenia through epigenetic changes in nuclear receptor genes. *Transl. Psychiatry*. 2017; 7: 1–11.
- Hirai S, Miwa H, Tanaka T, Toriumi K, Kunii Y, Shimbo H, et al. High-sucrose diets contribute to brain angiopathy with impaired glucose uptake and psychosis-related higher brain dysfunctions in mice. *Sci. Adv.* 2021; 7: 6077.
- Lange F, Seer C, Kopp B. Cognitive flexibility in neurological disorders: Cognitive components and event-related potentials. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017; 83: 496–507.
- Jennifer H. Barnett, Andrew D. Blackwell BJS and TWR. The Paired Associates Learning (PAL) Test: 30 Years of CANTAB Translational Neuroscience from Laboratory to Bedside in Dementia Research. *Curr.*

- Top. Behav. Neurosci.* 2016; 28: 449–74.
16. Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav. Brain Res.* 1988; 31: 47–59.
 17. Denninger JK, Smith BM, Kirby ED. Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on a budget. *J. Vis. Exp.* 2018; 2018: 1–10.
 18. Barker GRI, Warburton EC. When is the hippocampus involved in recognition memory? *J. Neurosci.* 2011; 31: 10721–31.
 19. Barker GRI, Bird F, Alexander V, Warburton EC. Recognition memory for objects, place, and temporal order: A disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *J. Neurosci.* 2007; 27: 2948–57.
 20. Shahani N, Seshadri S, Jaaro-Peled H, Ishizuka K, Hirota-Tsuyada Y, Wang Q, et al. DISC1 regulates trafficking and processing of APP and A β generation. *Mol. Psychiatry.* 2015; 20: 874–9.
 21. Tomoda T, Sumitomo A, Jaaro-Peled H, Sawa A. Utility and validity of DISC1 mouse models in biological psychiatry. *Neuroscience.* 2016; 321: 99–107.
 22. Reichelt AC, Killcross S, Hambly LD, Morris MJ, Westbrook RF. Impact of adolescent sucrose access on cognitive control, recognition memory, and parvalbumin immunoreactivity. *Learn. Mem.* 2015; 22: 215–24.
 23. Gueye AB, Vendruscolo LF, de Ávila C, Le Moine C, Darnaudéry M, Cador M. Unlimited sucrose consumption during adolescence generates a depressive-like phenotype in adulthood. *Neuropsychopharmacology.* 2018; 43: 2627–35.

げっ歯類のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)

高木利一¹大沢一貴²¹ 日本エスエルシー株式会社 バイオテクニカルセンター 品質管理部² 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 比較動物医学分野

要 約

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) は、アレナウイルス科に属しマウスを自然宿主とする人獣共通感染性のウイルスで、1933年に初めてアメリカで分離され、これまでに日本や欧米などで感染した動物やヒトが確認されている。LCMVは、現在も免疫学研究の進展に貢献している一方で、動物飼育者や研究者などのヒトに対しては病原性や致死性もあることから、実験動物分野においては排除されるべき病原体と考えられている。日本国内の実験動物における感染報告例は稀なものの、2005年には輸入後に交配維持されていた野生由来の近交系マウスで汚染が確認された事例がある。本稿では、垂直感染したマウス個体は、免疫寛容に陥り抗体検出が困難とされること、帝王切開を実施してもウイルスを排除できないリスクを伴うこと、ヒトもウイルス感受性動物であることなどを考慮すると、実験動物施設において適切な導入時検査および定期的モニタリングを行い、マウスコロニー内に絶対に持ち込ませない、拡散させないように注意を払う必要があることを概説する。

(実験動物ニュース 2023 Vol. 72 No. 2, p.84-89.)

1. ウイルス

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) は、アレナウイルス科 (Arenaviridae) に属する。アレナウイルス科は、かつてアレナウイルス属 (*Arenavirus*) の1属であったが、現在は宿主により4属に大別され、哺乳類を宿主とするマムアレナウイルス属 (*Mammarenavirus*)、宿主が魚類のアンテナウイルス属 (*Antennavirus*)、および宿主がヘビ類のハートマニウイルス属とレプトアレナウイルス属 (*Hartmanivirus*, *Reptarenavirus*) に分けられている [17, 28]。本科の名称はウイルス粒子に宿主細胞由来のリボソームが取り込まれそれが砂粒状に見えるので、ラテン語の砂粒 (*Arenouse*) に由来し名付けられ、ウイルスは直径 40 ~ 200 nm の球形または不定形でエンベロープを有する。

マムアレナウイルス属に分類される LCMV のゲノムは、線状一本鎖で二分節状のアンビセンス RNA で、3.4 kb からなる S-RNA と 7.2 kb からなる L-RNA の2分節から構成され、各分節には各2つの ORF が存在する。すなわち、S-RNA にはヌクレオカプシドタンパク質と糖タンパク質、L-RNA には RNA 依存性 RNA ポリメラーゼと zinc フィンガータンパク質がコードされている。

2. 宿主および感受性動物

マムアレナウイルス属は、LCMV やラッサウイルスなどの旧世界アレナウイルス、ならびにフニンウイルス、グアナリトウイルス、サビアウイルス、マチュポウイルスなどの新世界アレナウイルスの2群に大別され、概ね各ウイルスは固有のげっ歯類を自然宿主としている [29]。LCMV の自然宿主はハツカネズミ (*Mus musculus*) で、感受性動物としてはヒト、ハムスターやモルモット等のげっ歯類、イヌ、ブタならびにサル類など多くの動物種が知られている。

3. ウイルス分離

LCMV は、1933年に Armstrong らによってセントルイス脳炎と診断された患者から最初に分離され、マウスからは1935年に Traub により分離された [2, 25]。その後も、ヒトの脳脊髄液や移植臓器、マウモセットの肝臓あるいは野生のネズミなどからウイルス分離され、これまでに30以上の LCMV 株が報告されている [9, 16]。日本国内においては、1937年に笠原らによりウイルスが分離され [11]、その後も大阪港のハツカネズミから1990年に分離された OQ 株、フランスから輸入したマウスから2005年に

分離された M 株ないし BRC 株が知られている [10, 35, 36]。

4. バイオセーフティレベル (BSL)・アニマルバイオセーフティレベル (ABSL)

LCMV は、日本国内の多くの施設において BSL2 に分類され、動物感染実験の場合 ABSL3 として扱う機関が多いと推察される。米国 CDC/NIH の Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th Edition においては、取扱い状況によって細分化されている [30]。原則としては BSL2、ヒト以外の霊長類で致死性が明らかな株、エアロゾル発生リスクが高い場合や高濃度使用の場合、感染した移植用腫瘍、野外分離株ならびにヒト症例の臨床材料を操作する場合については BSL3、マウスの脳で継代されたウイルス株を用いたマウス感染実験は ABSL2、ハムスターの感染実験は ABSL3 と実験内容に応じて細分化されている。他方で WHO が公表している Laboratory Biosafety Manual, 4th Edition では、リスク評価を基に経済的に実現かつ持続可能な施設の状況に応じた安全対策と危険性のバランスがとれるよう、個々の状況や優先順位に即した判断が求められている [34]。日本国内においても各機関あるいは実験者は、これらガイドラインやマニュアルを参考に微生物を安全に取扱うための設備機器および個人用防護具などを整備し、適切に運用するシステムを構築するとよいであろう。

5. 検査方法

検査方法には、抗体検査や遺伝子検査のほか、ウイルス培養検査や Mouse/Hamster Antibody Production (MAP/HAP) テストがある。抗体検査については、日本国内では ICLAS モニタリングセンターあるいはジャクソン・ラボラトリー・ジャパンに、海外では IDEXX Laboratories などに委託することができる。ジャクソン・ラボラトリー・ジャパンあるいは IDEXX Laboratories は、少量の血液で検査可能なため、遺伝子組換え動物など希少な動物の場合においても安楽死処分せずに直接その個体を検査することができる。また、米国 Biotech Trading Partners 社からは、8 ウェルストリッププレートの ELISA キットが販売され、少検体数の検査から効率的かつ経済的に検査することができる。日本国内においては、バキュロウイルス組換え LCMV 抗原を用いた ELISA 法が確立されているが、現在までに検査キットの市販には至っていないようである [23]。抗体産生が微弱な場合、遺伝子検査に頼らざるを得ないであろう。複数の機関で解析・設計されたプライマーを用いた RT-PCR 法が報告されているが、LCMV 株間の塩基配列

の相同性はそれほど高くなく、どのウイルス株でも検出可能なユニバーサルプライマーの設計は極めて困難と考えられる [10, 21]。

ウイルス培養検査や MAP/HAP テストは、検査期間が長く感度がやや低い欠点はあるものの陽性信頼度が高く優れたウイルス検出方法といえる。すなわち、脾臓、腎臓ないし肺の 10% 臓器乳剤を培養細胞 (Vero 細胞, BHK 細胞または L 細胞) に播種しウイルスの有無を確認する、あるいはマウスやハムスターの腹腔に接種し抗体価上昇の有無を検査する。また、LCMV は日米欧の医薬品規制調和国際会議のガイドライン (ICH-Q5A (R1)) に基づきヒト又は動物細胞株を用いた医薬品製造などにおいて混入すべきでないウイルスの 1 つとして定められ、これに基づきウイルス否定試験が実施されている [31, 32, 33]。ウイルス培養検査や MAP/HAP テストはいずれも古典的な方法ではあるが、使用する RT-PCR 検査の LCMV 検出スペクトルの内か外か不確実な場合、信頼度の高い検査方法は極めて限られる。その点で、ウイルス RNA を高感度に検出可能な方法が開発されることが期待されているともいえる。

6. ヒトの臨床症状

ヒトでの LCMV 感染例では、無症状の場合も多いが、発症した場合は発熱、頭痛、筋肉痛、あるいは倦怠感を伴うインフルエンザ様症状を示す。また、妊娠中の感染では、流産や新生児の先天性水頭症、脈絡網膜炎、精神障害を起こすことがある。臓器移植ドナーの LCMV 感染に起因するレシピエントの死亡例が複数報告されているが、臓器移植を除きヒト→ヒト水平感染の報告はないようである。免疫抑制状態に誘導する場合は重篤になる傾向にあり、今後わが国でも注意を払うべきであろう [9, 16]。

7. マウスに関する知見

1) マウスの感染様式

LCMV の自然宿主であるマウスの脳内に実験的にウイルスを接種した場合に、いわゆるリンパ球性脈絡髄膜炎を惹起し、接種後約 1 週間で立毛、円背、間代性痙攣を起こし死亡する。また、マウスの場合、水平感染では抗体産生を認め多くは無症状に推移するが、垂直感染の場合は抗体が産生されにくい免疫寛容状態となり、持続感染して唾液や尿中にウイルスを排出するといわれている。

2) 野生動物の抗 LCMV 抗体

これまでに、アメリカ大陸、ヨーロッパ大陸あるいは中国大陆など複数の地域で抗体保有動物の存在が確認されており、抗 LCMV 抗体保有率は、ガボン

(2019～2020年)で2.25%, バルバドス(2019年)で3.0%, コロンビア(2010～2011年)で10.0%, スペイン(2003～2006年)で3.8%, イタリア(2002～2006年)で8.3%, イギリス(2004年)で4.2%, アルゼンチン(1998～2003年)で9.4%などの報告がある[5, 7, 8, 15, 18, 20, 26]。日本国内でも、森田らにより1984～1987年に国内固有種であるアカネズミ(*Apodemus speciosus*)から静岡県および千葉県で一例ずつ(0.3%および0.7%)低抗体価であるものの確認されている。また、森田らにより1990年に横浜港、1991年に大阪港に生息する野生マウスの抗体調査が行われ(7.0～25.9%), 1998～2001年には吉川らにより名古屋港(6.1%)や神戸港(30.0%)でも行われている[13, 14]。複数匹の陽性を確認できた地域は、海外と直接交流のある限られた港湾地区での調査であり、また20年以上前に捕獲した動物のデータであるため、近年における日本国内全般の抗体保有野生ネズミの分布状況については不明である。

3) 実験動物施設における感染例

実験動物分野におけるLCMV感染例については、1986年に佐藤らにより抗体検査が行われ、マウス(SPFを含む)やシリアンハムスターなどで2～6%の抗体保有率であることが確認されている[19]。直近の感染報告例は、2005年に理化学研究所がフランスのパスツール研究所より導入した野生由来の近交系マウスにおける感染である[10, 35]。帝王切開を経てこれらマウスを導入したものの、垂直感染したLCMVをコロニーから排除できなかったとされている。免疫機能の不完全な新生子期にLCMVが感染した場合、免疫寛容状態をマウスに引き起こすことが知られており、パスツール研究所でも8年間に渡り発見されなかったのも抗体産生が微弱であったためと推察される。これらを踏まえると、LCMVがマウスコロニーに侵淫した場合、血清学的に検出することはそれほど容易ではない可能性がある。現在、日本国内の主要な実験動物生産業者におけるLCMV検査は、血清検査あるいはPCR検査を年4回実施して

いる。また、ICLASモニタリングセンターは、大学、研究所および製薬企業などから依頼された血清検査結果を公にしている。これらの検査で過去10年間における抗LCMV抗体あるいはウイルスゲノム陽性例は確認されていないとされており、日本国内の施設にLCMV感染マウスが存在する可能性は低いと考えられる。しかしながら、海外においては野生マウスやヒトのLCMV感染が報告されているため[1, 3, 8, 24, 26]、遺伝子組換えマウスなど海外から動物を導入するにあたっては、施設内へウイルスを拡散させないよう十分な検疫体制が必要であると考えられる。

4) 日本国内分離株の特徴(マウス病原性・組織持続性)

マウスにおけるLCMVの致死率は、感染細胞の表面に存在するウイルスエプトープペプチドと宿主MHCクラスI分子の複合体を認識する細胞傷害性T細胞によって引き起こされる組織損傷に起因すると報告されている[4, 6, 27]。そこで、国内分離のOQ株およびBRC株、ならびに米国分離のWE株におけるマウスに対する病原性を確認するため、DBA/1J(H-2^a), BALB/c(H-2^d)およびC57BL/6(H-2^b)マウスに10⁴ TCID₅₀(50% Tissue Culture Infectious Dose)を腹腔内接種したところ、OQ株とWE株を感染させたマウスはいずれも立毛や衰弱が認められ、死亡個体の確認されたマウス系統もあった。一方でBRC株感染マウスはいずれの系統においても無症状で、他2株で高い致死率を示したDBA/1Jマウスにおいても臨床徴候や致死性を示さなかったことから、BRC株はマウスに対して低病原性または非病原性の株であることが示唆された(表1)[22, 36]。さらに、BRC株感染C57BL/6マウスの主要臓器における経時的なウイルスゲノム量をリアルタイムRT-PCR法を用いて確認したところ、感染後3か月でも肺や肺胞液にウイルスゲノムRNAが持続的に存在していることが確認された(図1)[22]。このことから、宿主とウイルス株の組合せによっては、ウイルスが尿だけではなく呼吸器系から持続的に排泄される可能性を考慮する必要があるのかもしれない。

表1 ウイルス接種4週間におけるマウス生存率

系統 株	DBA/1J (H-2 ^a)	BALB/c (H-2 ^d)	C57BL/6 (H-2 ^b)
OQ	0% (0/6)*	83% (5/6)	100% (5/5)
BRC	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (5/5)
WE	0% (0/6)	100% (6/6)	100% (5/5)

3週齢雌のマウス3系統(DBA/1J, BALB/cおよびC57BL/6)の5～6匹に、ウイルス3株(OQ, BRCおよびWE)を10⁴ TCID₅₀腹腔内接種した。

*: 括弧内は(生存匹数/接種匹数)

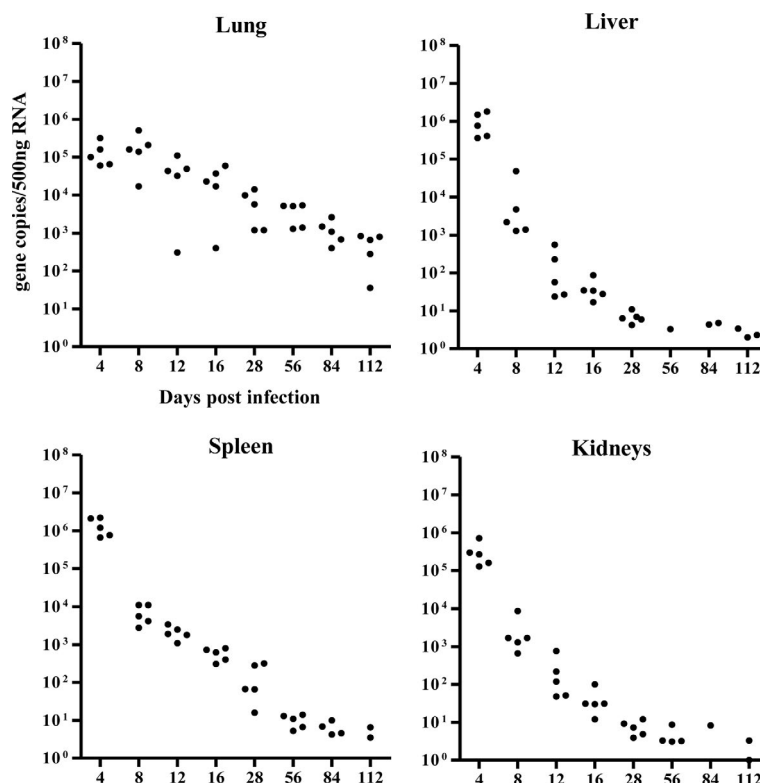


図1 BRC株感染C57BL/6マウスの接種4～112日後における組織中のウイルスゲノム量
3週齢雌のC57BL/6マウス5匹にBRC株を 10^4 TCID₅₀腹腔内接種し、接種4、8、12、16、28、56、84および112日後に肺、肝臓、脾臓、腎臓を採取し、各組織におけるtotal RNA 500 ng中のウイルスゲノム量についてOne step Real Time RT-PCR法を用いて定量した。

8. 今後の展望

海外においては野生マウスから、あるいは野生マウスを起因とする繁殖生産マウスおよびその動物飼育者から抗LCMV抗体が確認されている[5, 7, 8, 12, 15, 18, 20]。また、LCMV感染によるヒトの先天性疾患の可能性も報告されている[3, 24]。一方、日本国内では野生マウスのLCMV感染はそれほど調査されておらず、実験動物施設における陽性報告はない。しかしながら、2005年に日本国内のマウスから分離された事実は、今後もLCMVの持続感染動物への警戒は不可欠であることを示唆している。動物の授受が頻繁に行われている現状を顧みると、ほとんどの施設で事故経験のないLCMVなどのげっ歯類の人獣共通感染性病原体の検索は決して疎かにしてはならない。LCMVの場合、持続感染系が一旦成立すると通常の微生物モニタリングによる抗体検出が困難となり、コロニーからのウイルス排除が後手に回り被害が甚大となりがねない。それには、コロニー内にLCMVを絶対に持ち込まないための細心の導入時検疫体制ならびに定期的なモニタリング検査に加え、適確に判断できる「管理者」の育成が肝要といえる。

参考文献

1. Alburkat H, Jääskeläinen AJ, Barakat AM, Hasony HJ, Sironen T, Al-Hello H, Smura T, Vapalahti O. 2020. Lymphocytic Choriomeningitis Virus Infections and Seroprevalence, Southern Iraq. *Emerg Infect Dis.* 26: 3002–3006.
2. Armstrong C, Lillie R D. 1934. Experimental lymphocytic choriomeningitis of encephalitis epidemic. *Public Health Rep.* 49: 1019–1027.
3. Ansari N, Demmler-Harrison G, Coats DK, Paysse EA. 2021. Severe congenital chorioretinitis caused by congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection. *Am J Ophthalmol Case Rep.* 22: 101094.
4. Barthold, S.W. and Smith, A.L. 2007. Lymphocytic choriomeningitis virus. pp. 179–213. In: *The Mouse in Biomedical Research*, 2nd ed Vol. 2. (Fox, J.G., Barthold, S.W., Davisson, M.T., Newcomer, C.E., Quimby, F.W. and Smith, A.L., eds.), Academic Press, New York.
5. Becker SD, Bennett M, Stewart JP, Hurst JL. 2007. Serological survey of virus infection among wild house mice (*Mus domesticus*) in the UK. *Lab Anim.* 41: 229–238.

6. Botten, J.W. and Kotturi, M.F. 2007. Adaptive immunity to Lymphocytic choriomeningitis virus: new insights into antigenic determinants. *Future Virol.* 2: 495–508.
7. Castellar A, Guevara M, Rodas JD, Londoño AF, Arroyave E, Díaz FJ, Levis S, Blanco PJ. 2017. First evidence of lymphocytic choriomeningitis virus (Arenavirus) infection in *Mus musculus* rodents captured in the urban area of the municipality of Sincelejo, Sucre, Colombia. *Biomedica.* 37: 75–85.
8. Douglas KO, Cayol C, Forbes KM, Samuels TA, Vapalahti O, Sironen T, Gittens-St Hilaire M. 2021. Serological Evidence of Multiple Zoonotic Viral Infections among Wild Rodents in Barbados. *Pathogens.* 10: 663.
9. Fischer SA, Graham MB, Kuehnert MJ, Kotton CN, Srinivasan A, Marty FM, Comer JA, Guarner J, Paddock CD, DeMeo DL, Shieh WJ, Erickson BR, Bandy U, DeMaria A Jr, Davis JP, Delmonico FL, Pavlin B, Likos A, Vincent MJ, Sealy TK, Goldsmith CS, Jernigan DB, Rollin PE, Packard MM, Patel M, Rowland C, Helfand RF, Nichol ST, Fishman JA, Ksiazek T, Zaki SR. 2006. Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. *N. Engl. J. Med.* 354: 2235–2249.
10. Ike F, Bourgade F, Ohsawa K, Sato H, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Takimoto K, Yamada YK, Jaubert J, Berard M, Nakata H, Hiraiwa N, Mekada K, Takakura A, Itoh T, Obata Y, Yoshiki A, Montagnetelli X. 2007. Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice. *Comp. Med.* 57: 272–281.
11. Kasahara S, Hamano R, Yamada R, Tsubaki S. 1937. Choriomeningitis virus isolated in the course of experimental studies on endemic encephalitis. *Tras. Soc. Pathol. Jpn.* 27: 581–585.
12. Knust B, Ströher U, Edison L, Albariño CG, Lovejoy J, Armeanu E, House J, Cory D, Horton C, Fowler KL, Austin J, Poe J, Humbaugh KE, Guerrero L, Campbell S, Gibbons A, Reed Z, Cannon D, Manning C, Petersen B, Metcalf D, Marsh B, Nichol ST, Rollin PE. 2014. Lymphocytic choriomeningitis virus in employees and mice at multipremises feeder-rodent operation, United States, 2012. *Emerg Infect Dis.* 20: 240–247.
13. Morita C, Matsuura Y, Fujii H, Joh K, Baba K, Kato M, Hisada M. 1991. Isolation of lymphocytic choriomeningitis virus from wild house mice (*Mus musculus*) in Osaka port, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 889–892.
14. Morita C, Matsuura Y, Kawashima E, Takahashi S, Kawaguchi J, Iida S, Yamanaka T, Jitsukawa W. 1991. Seroepidemiological survey of lymphocytic choriomeningitis virus in wild house mouse (*Mus musculus*) in Yokohama port, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 219–222.
15. Ledesma J, Fedele CG, Carro F, Lledó L, Sánchez-Seco MP, Tenorio A, Soriguer RC, Saz JV, Domínguez G, Rosas MF, Barandika JF, Gegúndez MI. 2009. Independent lineage of lymphocytic choriomeningitis virus in wood mice (*Apodemus sylvaticus*), Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 1677–1680.
16. Paddock C, Ksiazek T, Comer JA, Rollin P, Nichol S, Shieh WJ, Guarner J, Goldsmith C, Greer P, Srinivasan A, Jernigan D, Kehl S, Graham M, Zaki S. 2005. Pathology of fatal lymphocytic choriomeningitis virus infection in multiple organ transplant recipients from a common donor. *Mod. Pathol.* 18: 263A–264A.
17. Radoshitzky SR, Buchmeier MJ, Charrel RN, Clegg JCS, Gonzalez J-PJ, Günther S, Hepojoki J, Kuhn JH, Lukashevich IS, Romanowski V, Salvato MS, Sironi M, Stenglein MD, de la Torre JC, ICTV Report Consortium. 2019. ICTV Virus Taxonomy Profile: Arenaviridae. *J Gen Virol.* 100: 1200–1201.
18. Riera L, Castillo E, Del Carmen Saavedra M, Priotto J, Sottosanti J, Polop J, Ambrosio AM. 2005. Serological study of the lymphochoriomeningitis virus (LCMV) in an inner city of Argentina. *J Med Virol.* 76: 285–289.
19. Sato H, Miyata H. 1986. Detection of lymphocytic choriomeningitis virus antibody in colonies of laboratory animals in Japan. *Exp. Anim.* 35: 189–192.
20. Tagliapietra V, Rosà R, Hauffe HC, Laakkonen J, Voutilainen L, Vapalahti O, Vaheri A, Henttonen H, Rizzoli A. 2009. Spatial and temporal dynamics of lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodents, northern Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 1019–1025.
21. Takagi T, Ohsawa M, Morita C, Sato H, Ohsawa K. Genomic analysis and pathogenic characteristics of lymphocytic choriomeningitis virus strains isolated in Japan. 2012. *Comp Med.* 62: 185–192.
22. Takagi T, Ohsawa M, Yamanaka H, Matsuda N, Sato H, Ohsawa K. 2017. Difference of two new LCMV strains in lethality and viral genome load in tissues. *Exp Anim.* 66: 199–208.
23. Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK. 2008. Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. *Exp. Anim.* 57: 357–365.
24. Tevaearai F, Moser L, Pomar L. 2022. Prenatal Dia-

- gnosis of Congenital Lymphocytic Choriomeningitis Virus Infection: A Case Report. *Viruses*. 14: 2586.
25. Traub E. 1935. A filterable virus recovered from white mice. *Science*. 81: 298–299.
 26. Ushijima Y, Abe H, Ozeki T, Ondo GN, Mbadinga MJVM, Bikangui R, Nze-Nkogue C, Akomo-Okoue EF, Ella GWE, Koumba LBM, Nso BCBB, Mintsa-Nguema R, Makouloutou-Nzassi P, Makanga BK, Nguetlet FLM, Zadeh VR, Urata S, Mbouna AVN, Massinga-Loembe M, Agnandji ST, Lell B, Yasuda J. 2021. Identification of potential novel hosts and the risk of infection with lymphocytic choriomeningitis virus in humans in Gabon, Central Africa. *Int J Infect Dis*. 105: 452–459.
 27. Zinkernagel, R.M. and Doherty, P.C. 1974. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*. 248: 701–702.
 28. <https://ictv.global/report/chapter/arenaviridae/arenaviridae> (2023 年 2 月 28 日確認)
 29. <https://ictv.global/report/chapter/arenaviridae/arenaviridae/mammarenavirus> (2023 年 2 月 28 日確認)
 30. https://www.cdc.gov/labs/pdf/SF__19_308133-A_BMBL6_00-BOOK-WEB-final-3.pdf (2023 年 2 月 28 日確認)
 31. https://www.maff.go.jp/nval/hourei_tuuti/pdf/100303toriatsukai.pdf (2023 年 2 月 28 日確認)
 32. <https://www.pmda.go.jp/files/000156380.pdf> (2023 年 2 月 28 日確認)
 33. <https://www.pmda.go.jp/files/000212850.pdf> (2023 年 2 月 28 日確認)
 34. <https://www.who.int/publications/item/9789240011311> (2023 年 2 月 28 日確認)
 35. 池 郁生, Bourgad F, 大沢一貴, 高木利一, 佐藤 浩, 森川 茂, 酒井宏治, 水谷哲也, 西條政幸, 倉根一郎, 滝本一広, 山田靖子, Jaubert J, Berard M, 中田初美, 平岩典子, 目加田和之, 高倉 彰, 伊藤豊志雄, 小幡裕一, 吉木 淳, Montaguteli X. 2010. 輸入マウスに感染していたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス. *獣医畜産新報*. 63: 205–207.
 36. 高木利一, 大沢牧子, 森田千春, 池 郁生, 佐藤 浩, 大沢一貴. 2009. 国内分離リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) 2 株におけるマウス病原性比較. *九州実験動物雑誌*. 25: 37–42.

研究室・施設便り

兵庫医科大学医学部遺伝学講座

大村谷昌樹

兵庫医科大学医学部遺伝学講座を担当しております大村谷（おおむらや）昌樹と申します。今回は日本実験動物学会の実験動物ニュース「研究室・施設便り」に掲載していただく機会を頂きましたので、自己紹介を兼ねまして、本研究室について紹介させていただきます。

まず私の経歴ですが、熊本出身で、平成7年熊本大学医学部卒業、熊本大学消化器外科で研修を行いました。当時、同教室で遺伝的に慢性膵炎が多発する希な疾患である遺伝性膵炎の家系から原因遺伝子（膵分泌性トリプシンインヒビター）を特定しました。そのオルソログ遺伝子 *Spink3* のノックアウトマウスを作製するため、同大学発生医学研究センター山村研一教授の研究室に大学院生として入学いたしました。その際、研究の面白さを知り、学位取得後もそのまま同大学生命資源研究・支援センターの特任助教、准教授を経て、平成28年（熊本地震の直後）に現在の兵庫医科大学に着任いたしました。

熊本時代からマウスばかり、特に膵臓病（膵炎、膵癌）を中心にやっておりましたが、本学に来てからも当然マウスを作製するところから始め（本学西宮病態モデル研究センターの佐加良先生には随分お世話になっております）、マウスの解析を進めております。前述の *Spink3* KO マウスでは膵腺房細胞（膵臓の外分泌を担う）にオートファジー（自食作用）の異常が見られたことが契機となり、現在もリソソーム酵素；カテプシンB、D、Lやオートファジーの選択的基質p62/SQSTM1、またオートファジー細胞死やネクロプトーシス、フェロトーシスなどの比較的新しい細胞死のメカニズムに関する研究をマウスを使って継続中です。

本研究室のメンバーですが、マウスを担当するスタッフが杉本さんと今坂さんで、共に熊本大学の同

僚でした。杉本道彦准教授は昨年10月より理研BRCの阿部訓也先生の研究室から赴任され、マウス作製に加え、X染色体不活性化制御機構、*Vps52*の哺乳類初期発生制御因子としての役割などに関する研究を続けています。また、今坂舞助教は熊本大学薬学部の学部学生時代から、山村研究室でマウスの作製を継続して行っており、その後、同研究室・荒木喜美現教授に代わられた後にポスドクとして勤務後、本学に赴任しています。

また、本学の整形外科と小児科から1名ずつ、中国からの留学生3名の5名が博士課程に在籍し、皆、マウスをこよなく愛するメンバーとなっております。

動物実験に対する規制が厳しくなりつつありますが、本学西宮病態モデル研究センターを率いておられる佐加良先生にご協力を頂きながら、今後も（適正な）マウス研究を続けていく所存です。どうぞよろしくお願い申し上げます。



左から今坂助教、杉本准教授、大村谷（兵庫医科大学教育研究棟の本研究室前にて）

より重宝される企業を目指して

株式会社アドスリー
石井宏幸

株式会社アドスリーは、2023年9月で創立40周年を迎えます。日本実験動物学会様をはじめ、実験動物にかかわる先生方、企業の方々にお支えいただき、ここまで事業を続けてまいることができました。この場を借りて衷心より御礼申し上げますとともに、今後ともご指導ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

アドスリーと実験動物のかかわり

弊社は、1983年9月1日に創立し、東京都港区虎ノ門に事務所を構え、事業を始めました。2001年に東京都中野区東中野に事務所を移転し、2021年からは東京都新宿区新小川町に移り、現在に至ります。2022年9月、事業承継し、新体制となりました。私はその中で出版部門を担当しております。

弊社は、編集・制作を中心に事業を始め、出版社同士のつながりから、文部科学省主催の公開シンポジウムの運営に関わることとなり、事務局業務、イベント運営業務を手掛けることになりました。シンポジウムの運営にあたる中で、その時の科学技術の最先端に行く研究者の方々と多くの出会いがあり、事業の拡張につながりました。実験動物関連の専門書制作に携わるようになったのもこのシンポジウム運営がきっかけでした。特に『実験動物の技術と応用』は実験動物技術者資格認定試験のテキストとして長くお使いいただいております。また、情報科学技術分野の研究者の方の助言で、当時としては比較的早い段階で、Webサイト制作に乗り出しました。当時、書籍の情報をWebサイトに載せている出版社はまだあまりなく、販売促進に役立ちました。そして、この取り組みが現在のIT事業につながっています。

実験動物関連書籍の著者とのつながりで、日本実験動物学会総会の運営に携わらせていただくことになり、それを機会に、書籍制作はもとより、日本実験動物技術者協会、公私立大学実験動物施設協議会などの事務局代行、学術大会、研究会などの運営業務を承るなど、今日につながっております。

アドスリーの主な事業

前述したような経緯で、弊社は、1) 出版事業、2) 事務局代行業業、3) イベント運営事業、4) IT事業の4事業部門を柱としております。

出版事業は、実験動物関連をはじめ、生命科学、医歯薬理工系の専門書を中心に、サッカーの審判資格認定講習会用のテキストや、歴史、文化財、建築など、幅広い分野の書籍の制作・販売をしております。市販書籍に加えて、特定の専門学校用のテキストや、自伝、詩集、画集といった私的出版物、企業の周年記念誌、退職の記念誌などの編集・制作も手がけています。近年は、印刷物に加え、電子書籍を、また教材の枠を広げて、動画・音声による教材制作も行っております。

事務局代行業業は、会員管理、経理業務といった団体事務局運営に係る基本業務はもとより、団体様のご要望に応じたすべての業務の代行を承っております。一般法人、公益法人、NPO法人への移行のサポート等も行っております。現在は、15学協会の事務局代行業務を承っております。

イベント運営事業では、会場手配から、ポスター作成を含む各種広報活動、Webサイト制作、参加登録システムの構築、会計業務、要旨集の編集など、イベント運営に係る諸業務をトータルでお手伝いさせていただきます。コロナ禍で急増したオンライン配信、会場とオンラインとのハイブリッド形式の実績も積み上げています。

IT事業では、学術団体等のWebサイト制作、学術大会等の登録・投稿システムの構築など、事務局業務や学術大会などを円滑に効率良く安全に運営するためのIT技術／環境サポートをはじめ、eラーニングのプラットフォーム構築、zoomやWebexの運用など、多種多様なITサービスをご提供しています。

上記の事業部門にそれぞれの担当を置き業務を遂行することに加え、それぞれの専門性を持った担当者間で連携してお客様のご要望に柔軟に対応できることが弊社の特色です。例えば、学術大会の運営では、事前・当日の運営事務に加えて、Webサイトの制作、

登録システムの構築，ポスターの制作・印刷，講演予稿集の編集・制作・印刷といった開催に係る諸業務全般をトータルでお手伝いできる体制を整えています。

動物実験計画申請管理システム：AMO システム

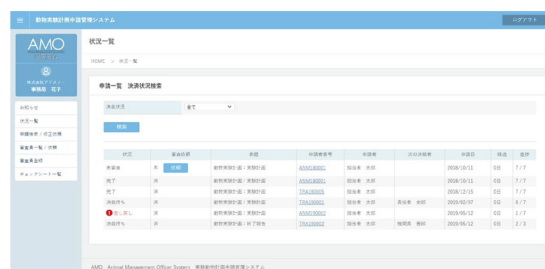
動物実験計画申請から承認，報告までをオンラインで一括管理する「AMO (Animal Management Officer) システム」を構築しました。動物実験施設の管理運用に関するセミナーを開催する中で，審査手続きや書類の管理等，事務局業務の負担が大きいという声を伺ったことがきっかけで，実験動物管理のセミナーや関連書籍を手がけてきた経験を活かすことができればと思い，制作に着手しました。業務効率を向上し，スムーズに研究を進められるようお役立ただければと存じます。

審査依頼や申請書の修正指示などをシステムに事前設定し，依頼メールの送信や，各手続きの期日に合わせて確認メールの送信がすることができます。これにより個別の連絡業務の大幅な軽減が図れます。また，システムによる一元管理により，審査状況の進捗などを，画面を確認するだけで把握でき，関係者間での情報共有をスムーズに行うことができます。申請書類，報告書類も一元管理により，確実な保管ができ，また，外部検証への対応等で過去の書類が必要になった際も検索機能で容易に辿ることができます。

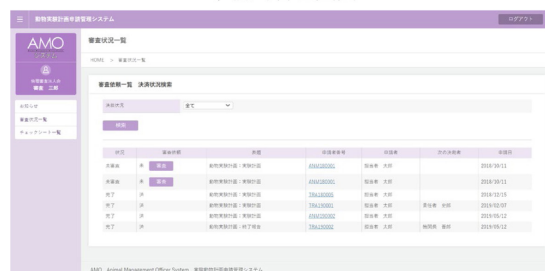
初めてのご利用の場合や，システムに操作に慣れていない方でも直感的で使いやすいよう，画面構成や操作性にも配慮いたしました。

計画申請の際の計画書作成，事務局への提出においては，初めて計画書を作成する方でも，画面のガイドにより記載事項を把握でき，より早く申請を進めていただけるよう配慮いたしました。また，過去の申請から継続申請する場合や，計画内容の一部改訂をした上で申請をする場合には，申請書履歴から当該の書類にアクセスし，過去の計画書から新規書類を作成することができます。より早い研究への着手につながればと存じます。

事務局が行う各手続きは，システム上で状況をリアルタイムで把握できます。システムで一元管理することで，必要な情報に簡単にアクセスでき，様々な情報のとりまとめや日頃の管理を大幅に軽減ができます。審査依頼，修正指示，承認といった諸連絡業務もシステム上から行うことで，連絡業務そのものの効率が上がり，また，その後の進捗等の管理も確実かつ能率的に行っていただけます。

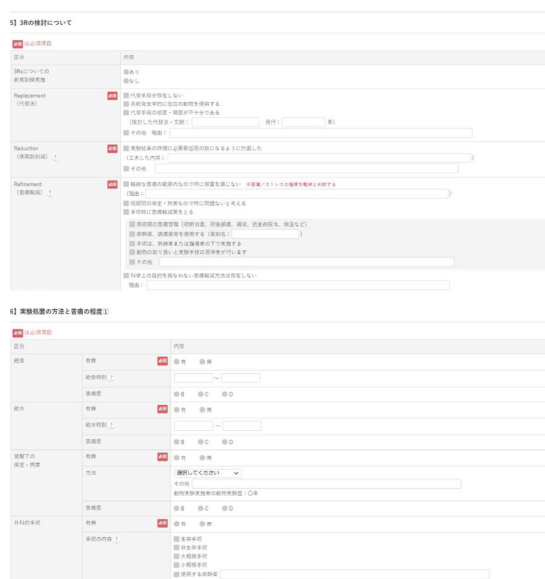


事務局管理画面



審査員管理画面

一覧で状況を把握し，処理の遅滞等を防ぐことができます。処理の通知が必要な項目は，処理後に自動でメールを送信します。



計画書の必要記入事項は，機関内規程等に合わせてカスタマイズに対応いたします。



詳細は，<https://www.adthree.com/amo/system.html>にてご覧いただければ幸いです。

これまでに、理化学研究所や産業技術総合研究所の研修をはじめ、大学の先生方のオンライン授業用、講演会、研修、会議などの配信にご利用いただいております。

実験動物にかかわる皆様にはこれまで大変お世話になっておりますこと重ねて御礼申し上げます。また、会誌にて弊社を紹介させていただく機会をいただきましたこと感謝申し上げます。

アドスリーは皆様に重宝される企業を目指してまいります。今後ともご指導ご鞭撻くださいますようお願い申し上げます。

日本実験動物学会総会では例年ブースを出展させていただいております。総会にご参加の際には、ぜひブースにお立ち寄りいただき、書籍や教材、システムのご要望、またはまったく新しいご提案など、お寄せいただければと存じます。心よりお待ちしております。

会員便り

ゲノム編集技術による染色体改変マウスの作製

中部大学 実験動物教育研究センター 生命健康科学部 生命医科学科
 応用生物学部 AI 数理データサイエンスセンター
 岩田 悟

中部大学 実験動物教育研究センターの岩田悟と申します。藤田医科大学 吉村文先生より会員便りのご指名を賜りました。吉村先生とは藤田医大病態モデル科学研究会という藤田医科大学・愛知県医療療育総合センター・中部大学の研究者が幹事を務める研究会にて知り合い、今回のご縁を頂くに至りました。所属機関では、動物実験施設の管理・運営、遺伝子改変マウスの作製を主たる業務としています。本会員便りでは、この場をお借りして現所属機関にて作製した染色体改変マウスと遺伝学研究ツールである balancer 染色体マウスについてご紹介いたします。

これまでのゲノム編集技術

ご存知の通り、ゲノム編集技術とは人工の DNA 切断酵素を用いて任意の遺伝子を自在に改変する技術です。中でも CRISPR/Cas9 は、煩雑な実験系の構築が必要であった ZFN や TALEN と比較して簡便でありコストもかからなくなったことで、瞬く間に世界中に拡大しました。博士号を所得して間もない 2014 年の陽春、前任地である東京女子医科大学で初めて CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集動物（当時は線虫 *C. elegans* を主に扱っていました）を作製した際は、あまりに簡単に遺伝子が改変できたことに衝撃を覚えました。最近では、さらに簡便かつ短時間で高効率なゲノム編集動物が作製できるエレクトロポレーション法^{*1}が普及したことで、学部卒研生レベルでも扱える技術となりました（^{*1}エレクトロポレーション法は細胞に電気パルスを与え、一時的にできる隙間を通して受精卵内にゲノム編集試薬を導入する手法）。

ゲノム編集を用いた染色体改変技術

エレクトロポレーション法は短時間・低侵襲でゲノム編集が可能ですが、染色体改変のような大きいスケールでのゲノム編集は効率が低く不利と考えら

れていました。そこで私は、実験条件を最適化することで特定の染色体が改変されたマウスを *in vitro* エレクトロポレーション法を用いて作り出すを試みました。その結果、以下の CRISPR 試薬（Cas9 タンパク質：200 ng/ μ L, crRNA/tracrRNA：100 ng/ μ L, ssODN：100 ng/ μ L）を用いた際に、従来の報告の 1.5 倍長い約 7.67 Mb（メガベース：1 Mb は 100 万塩基対）の染色体逆位（染色体の一部が反対方向となった染色体異常）を持つマウスが作製できました（図 1）[1]。染色体疾患のモデルマウスを作製するには長い染色体改変が必要であり、改変領域が長いほど、より多くの種類の疾患モデルを作製できます。さらに、採卵と移植が不要で、マウス生体内にある受精卵に対し卵管ごとゲノム編集する *in vivo* エレクトロポレーション法（*i*-GONAD 法）を適用（Cas9 タンパク質：540 ng/ μ L, crRNA/tracrRNA：33 μ M, ssODN：495 ng/ μ L）したところ、メガベース単位の逆位領域を有するマウスの作製に成功しました。*i*-GONAD 法は 2017 年に東海大学の大塚正人先生、三浦浩美先生、国立成育医療研究センター（当時、鹿児島大学ご所属）の佐藤正宏先生にご指導いただきました [2]。手軽にゲノム編集動物が作製できることから、ここ数年、所属機関ではほとんどの遺伝子改変マウスを *i*-GONAD 法で作製しています。教育研究時間の確保に大きく貢献しており、ご指導いただいた先生方には感謝の気持ちでいっぱいです。以上の結果からエレクトロポレーション法はマウス受精卵における染色体レベルの長い遺伝子領域の改変技術としても有効であることが示されました。

遺伝学的ツール、balancer 染色体マウスの開発

ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 は、その効率の高さ故に、対立遺伝子の両方が同時に破壊されることが多いため、生存に必須な遺伝子を標的とした遺伝子破壊（ノックアウト）マウスの作製も非常に困難です。

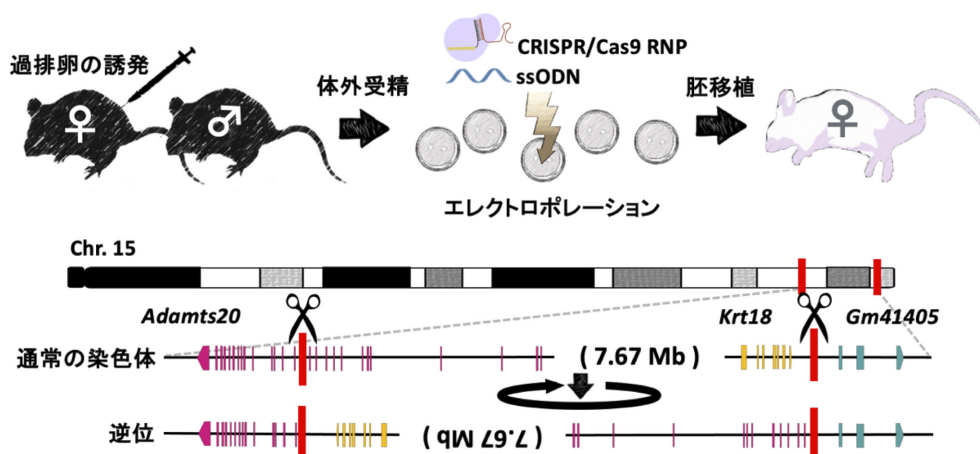


図1 エレクトロポレーション法を用いた染色体改変マウスの作製

生存に必須な遺伝子の中には疾患の原因遺伝子と報告されている遺伝子もあり、効率的なノックアウトマウス作製法の開発が必要とされています。そこで私は、遺伝学的ツールであるバランサー染色体マウスを作製し、一对の染色体のうち片側のみをallele特異的にゲノム編集する手法の開発を試みました。バランサー染色体とは、塩基対が反転した染色体逆位を持つ人工染色体で、減数分裂時の遺伝的組換えを抑制する遺伝学的ツールとして線虫やショウジョウバエの遺伝学研究でよく用いられています。

まず、全ゲノム解析によりC3H/HeJ (C3H) 近交系マウスの6番染色体に存在する約57.8 Mbの染色体逆位 $In(6)IJ$ を塩基レベルで同定し、この逆位領域以外が遺伝学研究に広く用いられるC57BL/6N (B6) 近交系マウスに置き換わったB6.C3H- $In(6)IJ$ 系統を作製しました(ちなみに、日本クレア社のC3H系統は染色体逆位 $In(6)IJ$ を保有しているのに対し、日本エスエルシー社のC3H系統は染色体逆位 $In(6)IJ$ を保有していません。 $In(6)IJ$ は1970年代前半に生じた可能性が高いそうです。したがって、日本エスエルシー社のC3H系統は1970年以前のC3H系統から派生したものと思われる)。B6.C3H- $In(6)IJ$ 系統とB6系統を掛け合わせたF1胚を用いることで、逆位領域に相当する染色体上にあるB6系統特異的な塩基配列を狙ったゲノム編集が可能となります。さらに、B6.C3H- $In(6)IJ$ の逆位領域内に存在する毛色決定遺伝子 $Mitf$ を標的としたゲノム編集を行うことにより、PCRを行わずとも目視で遺伝子型を確認することを可能としました。

バランサー染色体マウスを用いたゲノム編集

作製したバランサー染色体B6.C3H- $In(6)IJ$ を用いてB6系統特異的なゲノム編集をした結果、劣性(潜性)致死変異を有する $Tprkb$ 遺伝子(指定難病ギャロウェイ・モワト症候群の原因遺伝子の一つとして報告されている)のノックアウト系統を得ることに初めて成功しました(図2) [3]。さらに、逆位領域内での遺伝的組換えが起こらないことを利用し、 $Tprkb$ 変異が安定的にヘテロ接合体(対立遺伝子の片方のみが変異を有する個体)で維持されることも確認しました。他の染色体に関しても同様の戦略を用いてallele特異的なノックアウトや安定的な系統維持が可能と考えられます。公開マウスバンクに保存されているバランサー染色体マウスの情報はInternational Mouse Strain Resource (IMSR) (<http://www.findmice.org/>)で検索可能です。本内容は米国遺伝学会が発行するオープンアクセスジャーナル「G3: Genes, Genomes, Genetics」誌に掲載され、作成したカバーアートが表紙を飾りました(図3)。

おわりに

今回ゲノム編集に用いたエレクトロポレーション法は、従来法のマイクロインジェクション法に比べて熟練した手技を必要とせず、高価な設備も必要としないため、より簡便に染色体の改変やallele特異的にノックアウトマウスを行う事が可能となりました。本稿では取り上げませんでしたが、より複雑な染色体改変技術に関する論文を投稿中であり、第70回日本実験動物学会総会(つくば市)にて報告できればと思います。

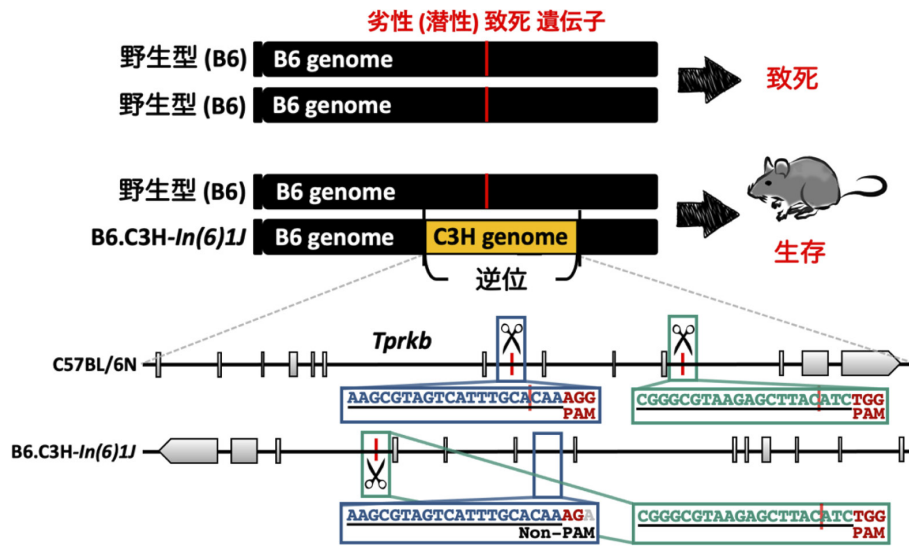


図2 バランサー染色体を用いてB6系統特異的なゲノム編集をする手法

本研究で開発したバランサー染色体B6.C3H-*In(6)1J*は理化学研究所バイオリソース研究センターへ譲渡しており (BRC No. RBRC11511), 理研を通じて全世界の研究者が利用可能です。今後も, 研究者に有益なゲノム編集法の開発やゲノム編集動物の作製を通じ, 医学・生命科学研究の発展に貢献していきたいと考えています。

謝辞

i-GONAD法を立ち上げるにあたり御教授ご指導下さった, 東海大学の太塚正人先生, 三浦浩美先生, 国立成育医療研究センターの佐藤正宏先生に感謝いたします。また, *in vitro*エレクトロポレーション法を立ち上げるにあたりご指導下さった, ネットパジーン株式会社の早川靖彦様に感謝いたします。

参考文献

1. Iwata, S., Nakadai, H., Fukushi, D., Jose, M., Nagahara, M., & Iwamoto, T. (2019). Simple and large-scale chromosomal engineering of mouse zygotes via *in vitro* and *in vivo* electroporation. *Scientific Reports*, 9(1), 1–8.
2. Ohtsuka, M., Sato, M., Miura, H., Takabayashi, S., Matsuyama, M., Koyano, T., ... & Gurumurthy, C. B. (2018). *i*-GONAD: a robust method for *in situ* germline genome engineering using CRISPR nucleases. *Genome Biology*, 19(1), 1–15.



図3 G3誌8月号の表紙。バランサー染色体 (右のマウス) とバランスを取りながら、B6近交系マウス (左のマウス) が致死遺伝子をゲノム編集している様子を表している。

3. Iwata, S., Sasaki, T., Nagahara, M., & Iwamoto, T. (2021). An efficient *i*-GONAD method for creating and maintaining lethal mutant mice using an inversion balancer identified from the C3H/HeJcl strain. *G3*, 11(8), jkab194.

プログラミングのすすめ

東京大学大学院農学生命科学研究科 食と動物のシステム科学研究室
小林幸司

1. はじめに

東京大学大学院農学生命科学研究科 食と動物のシステム科学研究室の小林幸司と申します。この度、広島大学 原爆放射線医科学研究所の三浦健人先生の紹介を受けて執筆することになりました。本稿では、何となく興味があってもいざ学ぼうとするとハードルが高いことで有名な“プログラミング”というものについて紹介します。

私は2015年に大学院を修了し、製薬企業で3年間勤めた後に2018年から大学に戻って研究を行っています。大学では一貫して村田幸久准教授（東京大学大学院農学生命科学研究科）に指導を受け、今も村田研究室のスタッフとして働いています。大学院では“脂質メディエーター”と呼ばれる生理活性を持つ脂質が炎症反応や血管機能に与える影響を研究しており、大学に戻ってからも炎症反応を制御する脂質メディエーターの研究を行っています。そのため、私は自分のことを病態生理学・薬理学の研究者だと認識しています。加えて、5年ほど前から機械学習（人工知能）を用いた実験動物の行動解析を始めており、そのご縁で実験動物学会に参加するようになりました。機械学習と画像解析を併用することで、マウスのひっかき、グルーミング行動を自動的に解析する方法を開発しています[1-3]。最近では、複数のマウスを同時に追跡する方法を発表しました[4]。学術集会等で見かけたら発表を聞いていただけると嬉しいです。

2. 生物学者がプログラミングを学ぶ意義

プログラミングとは、“何かしらの処理をコンピューターに実行させるために、コンピューターに対する指示書（プログラム）を作る作業”を指します。この指示書は、専用の言語（プログラミング言語といいますが）で書く必要があります。また、プログラミング言語には数多くの種類があり、それぞれ流儀が違います。いきなりハードルが高そうです。

では、その難しそうなプログラミングを学ぶ意義とは何でしょうか。最も大きなメリットは、反復的なデータ処理を省力化できることです。私は企業で働いている間、6万種類の化合物の中から、ある酵素の阻害活性が高いものをスクリーニングする機会がありました。384 well プレート160枚分のエクセルシートを一つずつ人力で解析するのは、考えるだけで気分が重い上にミスが起こりそうです。プログラムを書いておけば、コーヒーを飲んでいる間に自動的に処理が160セット行われて、結果が出力されます。実際、私はこの時に縁もゆかりもなかったプログラミングを初めて勉強しましたが、非常に助かりました。スクリーニングなんてそうそう行わないので、製薬企業でしか役に立たないのでは？と思われる方もいらっしゃるかもしれませんが、RNAシーケンズ解析やsingle cell PCR、メタゲノム解析等、とんでもない量のデータを解析することになる可能性は意外と高いです。プログラミングの技術を持っていると、そのようなデータを簡単に処理したり、グラフ化したりすることができます。

もう一つのメリットは、機械学習の手法を導入できることです。機械学習とは何かという説明はここでは割愛しますが、論文を読んでいてUMAPやtSNEといった次元削減法を見たことがある方は多いかと思いますが（UMAP + tSNEで画像検索すると、何となく見覚えのあるグラフが出てきます）。これらの手法は非常に高度で難解なアルゴリズムに基づくものですが、実際に書くべきプログラムは数行です。そのほかにも、ロジスティック回帰やクラスター解析、ニューラルネットワークに至るまで、すべてプログラムを書けば実行できます。実際のところ、本稿を読んで機械学習を導入しようと思う読者はそれほど多くないと思いますが、無限の可能性が広がっていることが分かっていただければ幸いです。

3. プログラミングをどのように勉強するか

では、どのようにプログラミングを勉強するかについて、私の経験を踏まえて述べていきましょう。まず、何のためにプログラミングを勉強するのかを明確にすることが重要です。煩雑な統計解析を省力化したい、大量のデータの処理を楽に実行したい、機械学習をぶん回したい、就職に有利になりそうなので一通り勉強したい等、いろいろな動機があると思います。動機が具体的であればあるほど、強いモチベーションにつながるので好ましいです。

次に、どのプログラミング言語を勉強するか決める必要があります。特にこだわりがないのであればPythonが良いでしょう。Pythonの文法は(あくまで他の言語との比較ですが)直観的で簡単なのでとっつきやすいです。統計処理を行うのが主目的であればR言語を学ぶのもよいですが、機械学習などに応用がききやすく参考書やネット上の情報が充実しているPythonの方がお勧めです。他にもC++やC#, Ruby, Perl等、多くのプログラミング言語が存在して様々な分野で使用されていますが、難易度が高かったり、生物学研究に生かすのが難しかったりするためあまり勧められません。

次は使用する教材です。学生の方々は、大学で開講されているPythonの講座を聴講するのが最良です。初心者の方にもTAの方々が丁寧に答えてくれますし、出される課題をきちんとこなしていけば、確実に一定のレベルに達するでしょう。では、社会人の方々はどうか。一から参考書を読んで勉強するのは、よほど強いモチベーションがないと挫折する可能性が高いので、やめておいた方が無難です。プログラミングスクールに通うという方法もあるとは思いますが、インターネットで調べた限りではかなり高額かつ評価がまちまちだったので、考慮に入れません。私のお勧めは、東京大学や京都大学から公開されているPythonの入門講座の資料を使って勉強することです[5, 6]。これらの資料はとても親切に記述されているとともに、豊富な練習問題が付属しています。英語の文法書をいくら読みこなしても英語が話せるようにならないと同様、プログラミング言語も実際に書いてみないと書けるようにはなりません。より多くの練習問題を解きたい方は、良質な無料のコンテンツが公開されているので、それをあたってみれば良いでしょう[7]。このステップをこなせば、あなたもプログラマーの仲間入りです。

4. より発展的な内容を勉強するためには

より複雑なことをする場合は、もう少し勉強しなくてはなりません。特に、ニューラルネットワークなど機械学習の手法を使った研究を行うためには、理論的背景と実装の両方を理解する必要があります。先ほどと同じく、大学の授業に心当たりのある方はそれを受講するのが最良です。そうでない方は、参考書を読んで勉強するのがよいでしょう。初心者の時とは違ってある程度のことが分かっているので、本を読んでも詰まりにくく、なんとか太刀打ちできるはずです。良書も多いので、いくつか紹介しておきます[8-10]。ブログの記事等は、良質なものとそうでないものが混在しているため、参考程度が望ましいですが、有用なことも多いです。練習問題に相当するコンテンツはあまりないのですが、Kaggleなどの機械学習コンテストの入門編がお勧めです[11]。

5. おわりに

Perlというプログラミング言語を開発したLarry Wallという人は、プログラマーの美德として、1) Laziness (怠惰: 面倒なことをコンピューターに丸投げしたい)、2) Impatience (短気: 処理が遅いとイライラする)、3) Hubris (傲慢: 自分のプログラムが最高だと思う)、の3つを挙げています。生物系の研究者でも1や2に該当する方は多いのではないのでしょうか。プログラミングによって面倒なデータ処理を正確・迅速に行うことができれば、単調な作業から解放されて時間が節約できます。また、機械学習を用いることで大規模なデータから有用な情報を取り出すこともできます。勝手なイメージで恐縮ですが、生物の研究者は数学やプログラミングに苦手意識がある方が多いです(実際、私は今でも数学がとても苦手です)。本稿を読んだ方のプログラミングに対するハードルが下がり、一人でも多くプログラムが書ける生物学者が増えることを期待しながら筆をおくことにします。

Reference

1. Kobayashi, K. et al. Automated detection of mouse scratching behaviour using convolutional recurrent neural network. *Sci Rep* 11, 658 (2021).
2. Sakamoto, N. et al. Automated Grooming Detection of Mouse by Three-Dimensional Convolutional Neural Network. *Front Behav Neurosci* 16, 1 (2022).
3. Sakamoto, N., Haraguchi, T., Kobayashi, K., Miyazaki, Y. & Murata, T. Automated scratching detection

- system for black mouse using deep learning. *Front Physiol* 13, 1466 (2022).
4. Sakamoto, N. et al. Marker-less tracking system for multiple mice using Mask R-CNN. *Front Behav Neurosci* 16, 524 (2023).
 5. Kyoto University Research Information Repository: プログラミング演習 Python 2019. <https://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/handle/2433/245698>.
 6. Python プログラミング入門—Python プログラミング入門 documentation. <https://utokyo-ipp.github.io/>.
 7. アルゴ式. <https://algo-method.com/>.
 8. Python ではじめる機械学習. (O'Reilly Japan) .
 9. 深層学習 改訂第2版. (講談社) .
 10. PyTorch 実践入門—ディープラーニングの基礎から実装へ. (マイナビ出版).
 11. Kaggle: Your Machine Learning and Data Science Community. <https://www.kaggle.com/>.

会員便り

実験動物学と研究者との出会い

京都大学大学院 医学研究科附属動物実験施設
成瀬智恵

この度、東京理科大学・生命医科学研究所の小川修平先生からのご紹介で会員便りを執筆させていただくことになりました。京都大学大学院・医学研究科附属動物実験施設の成瀬智恵と申します。小川先生とは、昨年の実験動物学会の懇親会で初めてお会いし、岩倉洋一郎先生繋がりということで親しくお話する機会を得ました。そのご縁から、この原稿を執筆する機会をいただきました。実験動物と関わるようになってから、四半世紀以上が過ぎましたが、岩倉研究室からの先生方とのご縁で、多くの素晴らしい先生、そして実験動物学との出会いがありました。前半では、私が出会った先生方と実験動物学における女性研究者について、後半には、現在私が行っている研究について説明させていただきます。

私が大学院に進学する当時は、ノックアウトマウス作製技術が可能になりつつあったころでした。生体の遺伝子破壊が可能になる技術とはどんなものだろう、なぜそのような技術開発ができたのだろう、自分でもやってみたい、と思い、東大医科研の岩倉洋一郎先生（現・東京理科大学・生命医科学研究所）の研究室を訪れました。教授になられてまだ数年だった先生は、非常に穏やかに話される方で、私が興味を持ったことを取り留めなく話すのを受け止めてくださり、思考の整理を促してくださいました。京都大学出身の先生らしく、「おもしろいこと」を研究することを奨励してくださっていたと思います。岩倉先生の研究室には、須藤カツ子先生（現・東京医科大学）、西城忍先生（現・千葉大学）、大学院生として、宝来玲子先生（現・米国NIH）など、優れた女性研究者がいらっしゃいました。当時は、まだ女性研究者の割合は少なかったのですが、私が岩倉研にいた時は、スタッフ、学生とも男女半々くらいだったと思います。留学生もいましたし、企業から出向している研究者もいて、近年、ダイバーシティの重要性が注目されていますが、当時から岩倉研は最先端だったのではないかと思います。

博士号を取得した後、浅野雅秀先生の研究室の立ち上げに伴い、金沢大学・学際科学実験センター実験動物研究施設の運営に参加いたしました。金沢大学では、本多登美男様、中村由季子様はじめ、熱心で高い技術を持つ施設職員の方々、獣医であり准教授の橋本憲佳先生、何より、浅野先生のリーダーシップで、実験動物施設が運営されていることをスタッフとして学ぶことができました。金沢大学でも、スタッフ、学生共に、多くの女性が参加していました。実験動物学分野は女性が参加しやすい雰囲気が醸成されており、性別にこだわることなく仕事ができる良い環境があると感じております。しかしながら、それは、多くの先輩、先生方のご尽力の結果であり、我々もまた努力すべきであろうと考えております。また、理学部出身で、実験動物について何の知識も持たなかった私が、多くの先生方との出会いによって実験動物学に携わり、研究を続けられたことに心から感謝を申し上げます。

後半は、私たちが最近行っているタンパク質ノックダウン法の研究について、昨年論文にまとめましたので、その内容について以下に書かせていただきます。

背景

私たちは以前より、デグロンシステムに注目しておりました。デグロンシステムは、細胞が本来持つタンパク質分解システムであり、これまでも植物のオーキシンを添加するAIDシステムが遺伝研の鐘巻先生らによって報告されるなど、デグロンシステムを利用した様々なタンパク質分解法が世界的に開発され、培養細胞や体外での研究に広く用いられています。しかしながら、動物生体の内在性タンパク質に応用して、生体内での効果を調べた例は未だありませんでした。

この実験系が動物個体に応用できれば、私が以前より研究を進めている発生生物学や、医療研究に使

用できるのではないかと考え、マウスへの実装をする際に、PD-1の阻害によるがん治療法の利用をモデルケースとして考えました。がんの治療に関する研究は近年大きく進歩しており、特に、元来生物に備わる免疫力を最大限に利用してがんを排除しようとする免疫療法が注目されています。免疫機能のブレーキの役割を持つPD-1を阻害することで、免疫細胞によるがん細胞の傷害活性を高めるがん免疫療法は、高い治療効果が認められますが、自己免疫疾患を発症する例があります。そこで、免疫細胞上のPD-1を必要な期間だけ分解できるようなシステムを構築すれば、この問題を解決できる新しい治療法開発につながるのではないかと考えました。医療応用を考えると、タンパク質分解の際に添加する薬剤は医療用に認可されたものが望ましいと考えました。

結果として、筑波大学トランスボーダー医学研究センター 杉山文博先生や、文部科学省研究支援プラットフォームを通じた岐阜大学 医学部附属病院 宮崎龍彦先生のご協力を賜り、特定のタンパク質を必要な時だけ除去するSMAShデグロンシステム(注1)を用いて、マウスの内在性PD-1の分解およびがん細胞の増殖抑制に成功しました。

免疫細胞によるがん細胞の傷害活性を高めるがん免疫療法は、免疫機能のブレーキの役割を持つPD-1タンパク質の機能を阻害することで高い治療効果を発揮しますが、PD-1の機能を長く阻害しすぎることから自己免疫疾患を発症する例があります。そこで、免疫細胞上のPD-1を短い時間だけ分解でき

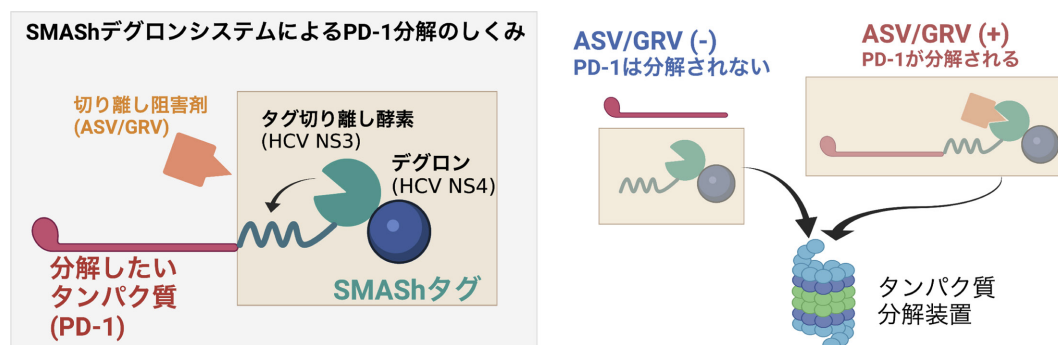
るようながん治療モデルを構築しました。本研究は、タンパク質分解の目印であるデグロンタグを人工的に付与することで、マウス生体内において内在性タンパク質の機能阻害ができることを示した最初の例であり、様々な生物現象や病気の治療法の研究などに応用することが期待できます。

(注1) SMAShデグロンシステム (Small Molecule-Assisted Shutoffの略。“smash”は英語で「粉々に壊す」という意味。)

スタンフォード大・Lin博士らが開発したタンパク質分解システム。分解したいタンパク質(本研究ではPD-1)に融合させる、分解のための目印のことを「SMAShタグ」と呼んでいる。

研究手法・成果

マウスのPD-1にタンパク質を分解するための目印であるSMAShタグを融合させるため、遺伝子組換え技術を用いてSMAShタグ遺伝子をマウスPD-1遺伝子の後ろに挿入しました。SMAShタグを融合したタンパク質はC型肝炎の治療薬であるアスナプレビル(ASV)やグラゾプレビル(GRV)の投与により分解されます。PD-1-SMAShノックインマウスの免疫細胞を培養して、ASVやGRVを加えると、がん免疫において重要な役割をしているCD8陽性T細胞でPD-1が減少しました。また、MC-38大腸がん細胞株を移植し、ノックインマウスに薬剤を投与したところ、野生型マウスや薬剤を投与しないノックインマウスと比べて、がん細胞の増殖が抑制されました。さらに、ノックインマウスの骨髄細胞を移植して、免疫細胞



左図: SMAShタグはタンパク質分解酵素HCV NS3と、HCV NS3が分解するアミノ酸配列、およびデグロン(細胞のタンパク質分解システムに「このタンパク質を分解してください」と知らせる構造)HCV NS4から構成される。アスナプレビル(ASV)やグラゾプレビル(GRV)はHCV NS3の分解機能を邪魔する阻害剤。

右図: HCV NS3の機能がASVやGRVによって阻害され、SMAShタグがPD-1から切り離されなくなると、PD-1はSMAShタグと共に分解される(赤字)。薬剤がない時には、SMAShタグがPD-1から切り離されるので、PD-1は分解されない(青字)。ASVやGRVを加えることでPD-1が一時的に分解されるようになって、薬剤を除去すれば再びPD-1は発現する。

をノックインマウスのものに置き換えた野生型マウスでもがん細胞の増殖が抑制されました。

波及効果, 今後の予定

本研究は, 必要な時だけ特定のタンパク質を分解して減らすことのできるデグロンシステムによって, マウス生体内の内在性タンパク質を機能阻害できることを示した最初の例であり, 様々な生物現象や病気の治療法の研究などに応用することが期待できます。

残念ながら, 本研究のノックインマウスは, 1 年齢以上の高齢になると一部の個体で軽い自己免疫疾患を発症してしまいました。これは, SMASh デグロンシステムが薬剤投与なしでも PD-1 の分解をある程度促進しており, ノックインマウスでは野生型よりも PD-1 の発現量が低下してしまっているためと考えられました。そこで, 薬剤投与のない時には分解が起こらないシステムの開発を現在進めています。

参考図表

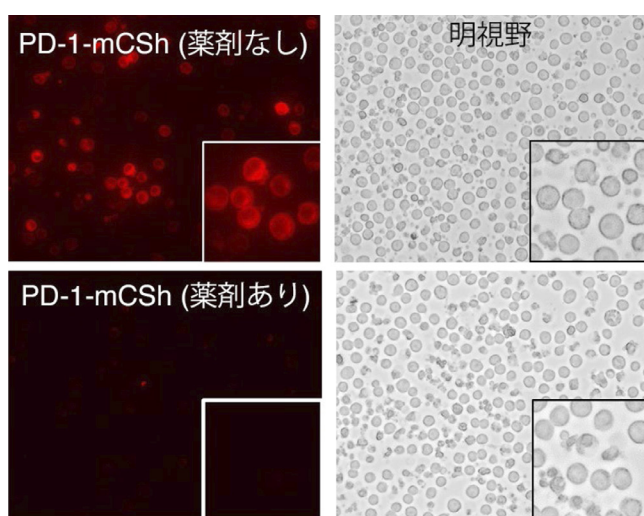


図1 PD-1-mCherry-SMASh 融合タンパク質を強制発現させた Jurkat ヒト T 細胞株での mCherry (PD-1 と共に発現するようにした蛍光タンパク質) の発現変化。薬剤を加えると mCherry の発現は低下した。右下の枠内は拡大図。

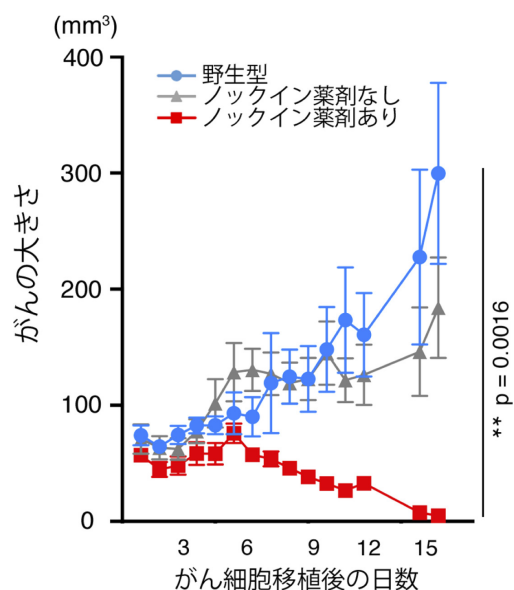


図2 ノックインまたは野生型骨髓細胞を移植した野生型マウスに MC-38 大腸がん細胞株を移植した。ノックイン血液細胞を持つマウスに薬剤を投与すると, 薬剤投与なしや野生型血液細胞を持つマウスに比べてがん細胞の増殖が抑制された。

株式会社ケー・エー・シー 創立45周年記念研究助成 研究テーマ募集要項

1. 対象テーマ

実験動物学分野における研究

(例)・実験動物の飼育管理・品質管理に関する研究

・実験動物の開発・特性探索に関する研究

・動物実験法に関する研究

2. 助成金額及び採択件数

1件あたり120万円。採択件数は3件。助成金は所属機関への寄附金として交付いたします。

なお、本助成金の使途は、助成対象テーマの目的に沿うものである限り特別な制限はありません。

3. 応募資格

(1) 上記の研究テーマに意欲的に取り組んでいる、日本国内の国公立・私立大学及び公的（国公立及び公益法人等）研究機関／施設に所属する研究者（研究業務に従事する技術者を含む）であること。

(2) 当該分野の次代を担う人材を育成するため、応募受付開始日における年齢を45歳以下とします。ただし、学部・大学院等の学生は募集対象といたしません。

(3) 所属研究機関が当該助成金を寄附金として受け入れることを承諾できること。

(4) 採択対象となった研究について、その成果・進捗（中間報告可）を発表（報告）できること。

※ 助成金の交付2年後を目途に研究発表会（報告会）の開催を予定しております。

4. 応募方法

(1) 所定の様式（申請書等）を弊社ホームページ（<https://www.kacnet.co.jp>）からダウンロード、もしくは下記の連絡先に請求し、必要事項を記入の上、下記の連絡先まで郵送してください。

なお、応募書類は返却いたしませんので、予めご了解願います。

(2) 受付後1週間以内に申請者へe-mailにてその旨ご連絡いたします。

投函後、1週間を経ても返信がない場合には、下記の連絡先までお問い合わせください。

5. 応募受付期間

2023年4月1日（土）から6月9日（金）まで。当日の消印有効。

6. 選考方法

社外有識者を含む選考委員会において選考します。委員名及び選考過程については開示いたしません。

選考にあたっては、応募者・所属機関と弊社ならびに選考委員との間で利益相反に当たらぬよう配慮いたします。

7. 採否通知及び助成金の交付、情報の公開について

採否は決定後直ちにお知らせします。助成金は2023年9月以降に所属機関に寄附金として交付します。

助成対象者のお名前、ご所属、研究題目等を弊社ホームページ等で紹介させていただきます。

8. 連絡先

株式会社ケー・エー・シー 経営企画室内 研究助成事務局

〒604-8423 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

e-mail: jyosei45@kacnet.co.jp / TEL: 075-801-2041 / FAX: 075-801-7688

他学会情報

公益社団法人日本実験動物協会の動き

I. 今後の行事予定

(1) 「日常の管理研修会」

開催予定日：令和5年6月17日（土）

開催場所：日本獣医生命科学大学

内容等：実験動物関連業務に携わる方であれば、どなたでも参加いただける研修会です。研修内容は、特に初心者の方々に対象に企画しており、実験動物概論、動物福祉、飼育管理及び洗浄・消毒・滅菌などの座学に加えて、実際に小動物を用いて取扱い方法などの基礎的な実習も行います。毎年、新入職員の初期研修の一環として受講いただき、大変ご好評をいただいている研修会ですので、皆様の周りに対象者がいましたら是非受講を勧めていただきますようお願いいたします。

(2) 「微生物モニタリング技術研修会」

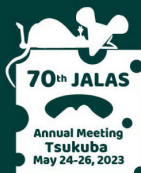
開催予定日：令和5年7月7日（金）～8日（土）

開催場所：公益財団法人実験動物中央研究所

内容等：最新の微生物モニタリング技術を2日間で実践的に学べます。

研修内容は、微生物モニタリング検査の初心者の方だけでなく、すでにその業務に携わっている方のスキルアップあるいは情報収集にも役立つ内容となっています。毎年定員を超える参加希望がありますので、事前に日程を確保いただき、案内がありましたら早めにお申し込みいただきますようお願いいたします。

詳細については、他の行事予定も含めて日動協ホームページ <http://www.nichidokyo.or.jp/> で随時お知らせいたしますのでご覧ください。



語ろう実験動物 ～よい広く・よい深く～

会 期 2023年 5月24日(水)～26日(金)

会 場 つくば国際会議場(つくば市)



大会長：杉山文博(筑波大学生命科学動物資源センター)

大会ホームページ：<https://cfmeeting.com/jalas70/>

プログラム

特別講演 1

5月24日(水) 13:00～14:00 第1会場(2Fメインホール)

座 長：八神健一(筑波大学)

演 題：基礎科学の進歩が切り開く新しい移植医療

演 者：中内啓光(スタンフォード大学・東京医科歯科大学)

特別講演 2

5月25日(木) 15:30～16:30 第1会場(2Fメインホール)

座 長：杉山文博(筑波大学)

演 題：遺伝子改変マウスによる新規神経ペプチド産生ニューロンの機能解明

演 者：櫻井 武(筑波大学)

シンポジウム 1(大会企画)

5月24日(水) 14:10～16:40 第1会場(2Fメインホール)

テーマ：実験動物を用いた医学実装へのアプローチ

座 長：金井正美(東京医科歯科大学)

國田 智(自治医科大学)

演 者 1：「加齢黄斑変性の治療標的・治療薬探索そして臨床実装の挑戦」

福田慎一(筑波大学)

演 者 2：「胎生臓器補完法によるキメラ臓器移植」

横尾 隆(東京慈恵会医科大学)

演 者 3：「マイクロデバイス工学による生産率改善への挑戦」

池内真志(東京医科歯科大学)

演 者 4：「手術ロボット(リバーフィールド)実装へ向けた試み」

川嶋健嗣(東京大学)

シンポジウム 2(大会企画)

5月25日(木) 9:00～11:30 第1会場(2Fメインホール)

テーマ：宇宙生物学における動物実験これまでとこれから

座 長：高橋 智(筑波大学)

吉木 淳(理化学研究所)

演 者 1：「線虫の宇宙実験—微小重力とドーパミン—」

東谷篤志(東北大学)

演者 2：「メダカを用いた宇宙と地上の骨生物学研究」

茶谷昌宏（昭和大学）

演者 3：「マウスを用いた骨格筋制御機構の解明」

高橋 智（筑波大学）

演者 4：「宇宙生物学における動物実験のこれから」

芝 大（宇宙航空研究開発機構）

シンポジウム 3（実験動物感染症対策委員会企画）

5月25日（木）9:00～11:30 第2会場（2F中ホール200）

テーマ：IVCシステムを用いた実験用げっ歯類の飼育と管理

座 長：丸山 滋（ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン）

山田 梓（ラビックス）

演者 1：「施設におけるSPF環境を維持するための最適な運用について

—IVCシステムを中心に—」

小木曾 昇（国立長寿医療研究センター研究所）

演者 2：「総合的な観点から考えたIVCケージ導入の利点と課題」

磯部剛仁（中外製薬）

演者 3：「個別換気ケージシステムにおける微生物モニタリング法の検証

—排気ダストPCR法と従来法の比較—」

植野昌未（実験動物中央研究所）

演者 4：「マウスにおける *Corynebacterium mastitidis* 及び *Helicobacter mastomyrinus* 感染症」

櫻木 求（大鵬薬品工業）

演者 5：「IVCシステムにおける感染事例（ネズミ盲腸蟻虫・ネズミ大腸蟻虫）への対応・

原因究明・対策」

土佐紀子（北海道大学）

シンポジウム 4（日本実験動物医学会共催）

5月25日（木）9:00～11:30 第4会場（3F中ホール300）

テーマ：難治性疾患に立ち向かう核酸医薬の最前線

座 長：越後谷裕介（日本大学）

大沼健太（日本たばこ産業）

演者 1：「核酸医薬の安全性確保に向けた取り組み：毒性の予測と回避」

井上貴雄（国立医薬品食品衛生研究所）

演者 2：「疾患モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーのRNA治療開発」

青木吉嗣（国立精神・神経医療研究センター）

演者 3：「血液脳関門通過型ヘテロ2本鎖核酸」

横田隆徳（東京医科歯科大学）

シンポジウム 5（学術集会委員会企画）

5月26日（金）9:00～12:00 第1会場（2Fメインホール）

テーマ：感覚研究の最前線と実験動物学の新展開

座 長：吉川欣亮（東京都医学総合研究所）

小出 剛（国立遺伝学研究所）

演者 1：「脳・脊髄が修飾する痒覚感受性とその伝達機構」

高浪景子（奈良女子大学）

演者 2：「消化管における飲水感知メカニズムの解明」

市木貴子（新潟大学）

演者 3：「オルガノイド培養による消化管の化学感覚研究」

岩槻 建（東京農業大学）

演者 4：「非視覚光受容体 OPN5 による脳機能制御」

早野元詞（慶應義塾大学）

演者 5：「音を受容する内耳感覚上皮帯の in vivo 光イメージングおよびナノ振動動態の分析」

太田 岳（大阪大学）

シンポジウム 6（日本製薬工業協会共催）

5月26日（金）9:00～11:30 第2会場（2F中ホール200）

テーマ：実験動物試験における、アカデミア「研究公正」と医薬「信頼性基準」

～相互理解から生まれる医薬品開発エコシステムへの挑戦～

座 長：渡部一人（日本製薬工業協会）

鈴木 睦（日本製薬工業協会・協和キリン）

演者 1：「承認申請資料に係る信頼性確保について

～信頼性の基準が果たす役割と今後の課題～」

林 恭平（医薬品医療機器総合機構）

演者 2：「創薬における Data Integrity」

米良綾子（アステラス製薬）

演者 3：「信頼される動物試験と ARRIVE・PREPARE ガイドライン」

綾部信哉（理化学研究所）

演者 4：「医薬品開発研究における信頼性基準の運用課題」

鳥塚尚樹（ブリストル・マイヤーズスクイブ）

演者 5：「アカデミアに試験を委託する施設向けの手引きについて」

長岐すみこ（日本QA研究会）

シンポジウム 7（サル類の疾病と病理のための研究会共催）

5月26日（金）9:00～11:30 第4会場（3F中ホール300）

テーマ：サル類を取り巻く感染症～現状と対策～

座 長：板垣伊織（予防衛生協会）

山海 直（医薬基盤・健康・栄養研究所）

中村紳一郎（麻布大学）

演者 1：「サル類を取り巻く感染症 —現状と対策—（総論）」

中村紳一郎（麻布大学）

演者 2：「試験研究用霊長類の輸入現状と見通しについて」

竹之下 誠（イブバイオサイエンス）

演者 3：「展示施設におけるサル類の感染症流行の傾向」

宇根有美（岡山理科大学）

演者 4：「サル類の結核：ツベルクリン試験を主体とした検査系の再構築」

板垣伊織（予防衛生協会）

演者 5：「結核感染カニクイザルを用いたサル結核検査法の検討」

岡村智崇（医薬基盤・健康・栄養研究所）

シンポジウム 8 (日本実験動物学会企画)

5月26日(金) 13:10 ~ 16:00 第1会場 (2F メインホール)

テーマ: 動物実験機関管理の実績と今後の発展に向けて

座 長: 國田 智 (自治医科大学)

渡辺秀徳 (JT クリエイティブサービス)

演 者 1: 「動物愛護管理法の沿革, 機関管理体制及び今後の見通しについて」

野村 環 (環境省自然環境局動物愛護管理室)

演 者 2: 「大学等の研究機関における適正な動物実験の実施について」

坂本真梨子 (文部科学省研究振興局ライフサイエンス課)

演 者 3: 「動物福祉・倫理委員会のこれまでとこれから」

佐加良英治 (兵庫医科大学)

演 者 4: 「実験動物管理者研修制度委員会の取り組みについて」

森松正美 (北海道大学)

演 者 5: 「人材育成委員会の役割と活動」

三浦竜一 (東京大学)

演 者 6: 「日本実験動物学会が実施する動物実験外部検証制度」

越本知大 (宮崎大学)

演 者 7: 「動愛法等対策委員会 ―機関管理のさらなる向上に向けて―」

塩谷恭子 (国立循環器病センター)

LAS セミナー 1

5月24日(水) 13:30 ~ 15:30 第3会場 (2F 中会議場 202/201)

テーマ: 3Rsに配慮した実験動物技術の最新知見と研究応用

座 長: 新美君枝 (理化学研究所)

小木曾 昇 (国立長寿医療研究センター研究所)

演 者 1: 「3Rsに配慮した実験動物への麻酔・安楽死について」

高木久宜 (浜松医科大学)

演 者 2: 「サル類の周術期管理について」

和田 聡 (アステラス製薬)

演 者 3: 「人工知能 (AI) を用いた動物行動解析」

小林幸司 (東京大学)

演 者 4: 「自由行動下のコモンマーモセット家族を対象とした

自動行動解析ケージシステムの開発」

坂本晃海 (実験動物中央研究所)

LAS セミナー 2

5月25日(木) 9:00 ~ 11:30 第3会場 (2F 中会議場 202/201)

テーマ: いまから始めるウイルスベクター

座 長: 三浦竜一 (東京大学)

磯谷綾子 (奈良先端科学技術大学院大学)

演 者 1: 「動物実験にレンチウイルスベクターを使ってみよう」

森岡裕香 (神戸大学)

演 者 2: 「初心者でも安心! ゼロから始めるアデノベクター

~ゲノム編集治療に向けた挑戦」

中西友子 (順天堂大学)

演者3：「何も知らないしベクターなんて作れないあなたがAAVで簡単にノックイン動物を作る方法」

本多 新（自治医科大学）

演者4：「ステルス型RNAベクターの開発と応用」

中西真人（ときわバイオ）

LAS セミナー 3

5月26日（金）9:00～11:30 第3会場（2F中会議場202/201）

テーマ：知りたい！実験動物 part 2

座 長：清成 寛（理化学研究所）

井上貴史（実験動物中央研究所）

演者1：「細胞・個体の寿命を研究するためのモデル動物『一年魚』」

黒川大輔（東京大学）

演者2：「ヤモリなのに壁登りが苦手な『ソメワケササクレヤモリ』」

清成 寛（理化学研究所）

演者3：「ネズミではありません『スunks』」

目加田和之（岡山理科大学）

演者4：「全身に病気を併存する不思議な実験動物『コットンラット』」

中村鉄平（北海道大学）

口頭発表（優秀発表賞）

5月24日（水）9:00～11:30 第1会場（2Fメインホール）

口頭発表（一般）

5月24日（水）9:00～11:00 第2～4会場

（2F中ホール200・中会議室202/201, 3F中ホール300）

14:00～16:30 第2・4会場（2F中ホール200, 3F中ホール300）

ポスター発表

5月24日（水）～5月26日（金）ポスター・展示会場1/2

（1F多目的ホール・大会議室101/102）

示説 5月24日（水）17:00～18:00 奇数番号

5月25日（木）16:30～17:30 偶数番号

*優秀発表賞発表者は全員5月25日（木）の同時刻に示説

ランチョンセミナー 1（協賛企業：株式会社星野試験動物飼育所）

5月24日（水）11:45～12:45 第2会場（2F中ホール200）

座 長：星野貴一（星野試験動物飼育所）

演 者：「早期発症し持続的高血糖を示す新たな2型糖尿病モデルマウスNSY.B6-Tyr⁺,A^y系統」

大野民生（名古屋大学）

ランチョンセミナー 2（協賛企業：株式会社ケー・エー・シー）

5月24日（水）11:45～12:45 第3会場（中会議室202/201）

座 長：谷口佳史（ケー・エー・シー）

演 者：「実験動物技術教育における3RsとSDGs」

谷口佳史, 天野真理子（以上, ケー・エー・シー）,

村上誠（ハンドレッド）

ランチョンセミナー 3 (協賛企業：ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社)

5月24日(水) 11:45～12:45 第4会場(3F中ホール300)

座長：丸山 滋(ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン)

演者：「微生物モニタリングの昔と今とこれから」

鈴木裕貴(ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン)

ランチョンセミナー 4 (協賛企業：ハムリー株式会社)

5月25日(木) 12:00～13:00 第2会場(2F中ホール200)

座長：伊藤由広(ハムリー)

演者：「過酸化水素ガスによる空間殺菌と最近の事例～微生物制御の観点から～」

桑原浩輔(十全バイオシステムズ)

ランチョンセミナー 5 (協賛企業：ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社)

5月25日(木) 12:00～13:00 第3会場(2F中会議室202/201)

座長：佐藤正直(ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン)

演者：「ヒト化NSG™マウスを用いたIn Vivoでのがん免疫療法の評価」

セバステイアン ロドリゲス(ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン)

ランチョンセミナー 6 (協賛企業：九動株式会社)

5月25日(木) 12:00～13:00 第4会場(3F中ホール300)

座長：竹尾 透(熊本大学)

演者：「ラット体外受精の全て」

竹尾 透, 中尾聡宏, 山鹿優真, 中瀬直己, 三小田伸之(以上, 熊本大学)

ランチョンセミナー 7 (協賛企業：三浦工業株式会社)

5月26日(金) 12:00～13:00 第2会場(2F中ホール200)

座長：黒澤 努(鹿児島大学・国立医薬品食品衛生研究所・ISO/TC194/WG3)

演者：「①動物実験施設におけるバッチ式洗浄器の活用

②オゾン過酸化水素混合ガス滅菌器のアプリケーション事例」

太田亘俊(三浦工業)

ランチョンセミナー 8 (協賛企業：【第一部】日本クレア株式会社, 【第二部】実験動物中央研究所)

5月26日(金) 12:00～13:00 第4会場(3F中ホール300)

座長：佐々木えりか(実験動物中央研究所)

【第一部】

演者：「コモンマーモセットにおける絨毛性ゴナドトロピン(CG)の定量及び定性分析系の開発
—早期妊娠診断のための簡便で実用的なイムノクロマト検査を主として—」

曾我拓馬(日本クレア)

【第二部】

演者：「尿中コモンマーモセット絨毛性ゴナドトロピン検査キットによる性周期管理と
人工授精」

岸本恵子(実験動物中央研究所)

器材展示

5月24日(水)～5月26日(金) ポスター・展示会場1/2

(1F多目的ホール・大会議室101/102)

ホスピタリティールーム

5月24日(水)～5月26日(金)

【HR-1】実験動物中央研究所(3F 中会議室304)

【HR-2】株式会社夏目製作所(4F 小会議室401)

【HR-3】日本クレア株式会社(4F 小会議室402)

【HR-4】ハムリー株式会社(4F 小会議室403)

【HR-5】九動株式会社(4F 小会議室404)

【HR-6】筑波実験動物研究会(4F 小会議室407)

託児室

5月24日(水)～5月26日(金)

通常総会・学会賞授賞式・受賞講演

5月25日(木) 13:00～15:20 第1会場(2F メインホール)

功労賞

喜多正和(京都府立医科大学)

高倉 彰(実験動物中央研究所)

安東・田嶋賞

久和 茂(東京大学)

「マウス肝炎ウイルスのマウス個体の感染防御機構およびマウス個体間での伝播に関する研究」

奨励賞

吉沢隆浩(信州大学)

「筋拘縮型エーラスダンロス症候群の疾患モデル動物の開発と解析」

最優秀論文賞

川上浩平, 松尾裕之, 梶谷尚世, 山田高也, 松本健一

「4系統の近交系マウスにおける異なる居住条件下での生存率の比較：環境エンリッチメントの影響」

Comparison of survival rates in four inbred mouse strains under different housing conditions: effects of environmental enrichment. *Exp Anim.* 71(2): 150–160. 2022.

マクシェヴァ ユリア, 鄭琇絢, 秋津葵, 前田菜摘, 丸橋拓海, 葉曉琪, 海部知則, 西城忍, 孫海陽, 韓偉, 唐策, 岩倉洋一郎

「C型レクチン受容体Clec1Aは、樹状細胞の抗原提示能を高めるとともに炎症性サイトカインIL-17を誘導することにより、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症に重要な役割を果たしている」

The C-type lectin receptor Clec1A plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis by enhancing antigen presenting ability of dendritic cells and inducing inflammatory cytokine IL-17. *Exp Anim.* 71(3): 288–304. 2022.

大野民生, 宮坂勇輝, 吉田勘太, 小林美里, 堀尾文彦, 横井伯英, 水野正司, 池上博司

「早期発症し持続的高血糖を示す新たな2型糖尿病モデルマウス」

A novel model mouse for type 2 diabetes mellitus with early onset and persistent hyperglycemia. *Exp Anim.* 71(4): 510–518. 2022.

国際賞

5月24日(水) 16:00～17:00 第3会場(2F中会議場202/201)

座長：竹尾 透(熊本大学)

Dinh Thi Huong Tra(理化学研究所)

演者1：Ms. Xiaoliang Jiang

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences / CALAS)

演者2：Dr. Yu-Wen Liu (Academia Sinica and National Defense Medical Center / CSLAS)

演者3：Mr. Jae-Hun Ahn

(Chonnam National University and Seoul National University Hospital / KALAS)

演者4：Dr. Ahmad Kurniawan

(Research Organization of Nuclear Technology, National Research and Innovation Agency / IALAS)

理事・評議員懇談会

5月23日(火) 15:00～17:00 第3会場(2F中会議室202)

情報交換会

5月25日(木) 18:30～20:30 ホテル日航つくば(別館1階)

参加費

大会参加費			情報交換会費		
区分	事前登録	当日登録	区分	事前登録	当日登録
正会員	10,000円	13,000円	正会員・非会員	8,000円	10,000円
学生会員	3,000円	5,000円	学生会員	6,000円	8,000円
非会員	13,000円	17,000円	1) (公社)日本獣医学会, 日本製薬工業協会, サル類の疾病と病理のための研究会, 筑波実験動物研究会, 日本毒性学会, 日本実験動物技術者協会 2) 発表しない学部学生が対象です。当日登録にのみであり, 学生証の提示が必要となります。		
関連学会員 ¹⁾	11,000円	14,000円			
学部学生 ²⁾	—	無料			

事前参加登録期間

2022年12月1日(木)～2023年4月14日(金)

第70回日本実験動物学会総会 事務局

〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1 筑波大学生命科学動物資源センター内

E-mail: jalas70@md.tsukuba.ac.jp

参加登録・機材等担当

株式会社コンベンションアシスト

第70回日本実験動物学会総会 担当：大川忠司

Email: jalas70@cfmeeting.com

協力

つくば観光コンベンション協会

茨城県MICE誘致推進協議会

後援

文部科学省

環境省

筑波大学

筑波実験動物研究会

日本実験動物学会からのお知らせ

令和5年度通常総会へ参加のお願い

公益社団法人日本実験動物学会
理事長 三好一郎

公益社団法人日本実験動物学会の令和5年度通常総会は第70回日本実験動物学会総会期間中に下記の日程にて開催されます。多数の会員のご出席をお願い致します。

日 時：令和5年5月25日（木） 13:00～15:20

場 所：つくば国際会議場大ホール（第一会場）
（茨城県つくば市竹園2丁目20-3）

学会賞授賞式および受賞講演は通常総会終了後に行われます。

第18回実験動物管理者等研修会の開催

日 時：2023年6月29日（木）～30日（金）

会 場：北海道大学獣医学部

〒060-0818 北海道札幌市北区北18条西9丁目

アクセス <https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/access/>

参加方法及びプログラム等は日本実験動物学会ホームページ（<http://jalas.jp/>）をご覧ください。

2022 年 Experimental Animals 最優秀論文賞

編集委員会（高橋委員長）にて 2022 年 Experimental Animals 最優秀論文賞候補論文の選考が行われ、下記の論文が選出された旨の報告があり、理事会にて異議なく承認されました。論文筆頭著者は第 70 回通常総会後の学会賞授与式において表彰されます。なお、2022 年以降は研究分野ごとに審査され、最多 3 篇の論文が表彰されます。

題 名：Comparison of survival rates in four inbred mouse strains under different housing conditions: effects of environmental enrichment

「4 系統の近交系マウスにおける異なる居住条件下での生存率の比較：環境エンリッチメントの影響」

掲載号：Experimental Animals Vol.71(2) 150–160, 2022

著者名：川上浩平，松尾裕之，梶谷尚世，山田高也，松本健一

所 属：島根大学総合科学研究支援センター実験動物部門，
島根大学総合科学研究支援センター生体情報・RI 実験部門

題 名：The C-type lectin receptor Clec1A plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis by enhancing antigen presenting ability of dendritic cells and inducing inflammatory cytokine IL-17

「C 型レクチン受容体 Clec1A は、樹状細胞の抗原提示能を高めるとともに炎症性サイトカイン IL-17 を誘導することにより、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症に重要な役割を果たしている」

掲載号：Experimental Animals Vol.71(3) 288–304, 2022

著者名：マクシェヴァ ユリア，鄭琇絢，秋津葵，前田菜摘，丸橋拓海，葉曉琪，
海部知則，西城忍，孫海陽，韓偉，唐策，岩倉洋一郎

所 属：東京理科大学生命医科学研究所ヒト疾患モデル研究センター，
ハーバード大学医学大学院ダナ・ファーマー癌研究所，
理化学研究所生命機能科学研究センター，東京大学定量生命科学研究所，
中華人民共和国中山大学第一病院精密医学研究所，東北医科薬科大学医学部，
千葉大学真菌医学研究センター

題 名：A novel model mouse for type 2 diabetes mellitus with early onset and persistent hyperglycemia

「早期発症し持続的高血糖を示す新たな 2 型糖尿病モデルマウス」

掲載号：Experimental Animals Vol.71(4) 510–518, 2022

著者名：大野民生，宮坂勇輝，吉田勘太，小林美里，堀尾文彦，横井伯英，
水野正司，池上博司

所 属：名古屋大学大学院医学系研究科実験動物部門，名古屋学芸大学管理栄養学部，
名古屋女子大学家政学部，京都大学大学院農学研究科動物遺伝育種学分野，
名古屋大学大学院医学系研究科腎不全システム治療学寄附講座・腎臓内科，
近畿大学医学部内分泌・代謝・糖尿病内科

公益社団法人日本実験動物学会 令和4年度第4回理事会議事録

1. 開催日時

令和5年3月7日(火) 13:00 ~ 14:20

2. 会場

(公社) 日本実験動物学会事務局

〒113-0033 東京都文京区本郷 6-26-12

東京 RS ビル 3F

Web 開催

3. 理事現在数及び定足数並びに出席理事数とその氏名

理事現在数 20名 定足数 11名

出席理事数 19名

三好一郎, (理事長), 久和 茂 (理事長代行),
岡村匡史, 角田 茂, 國田 智, 高橋英機
(以上, 常務理事), 浅野雅秀, 伊川正人,
池 郁生, 佐加良英治, 佐々木えりか,
佐々木宣哉, 塩谷恭子, 高橋 智, 高橋利一,
三浦竜一, 森松正美, 山田久陽, 吉木 淳
(以上, 理事)

4. 監事現在数及び出席監事氏名

監事現在数 2名

下田耕治, 渡部一人 (以上, 監事)

5. その他の出席者氏名

三枝順三, 三國ミサ (以上, 事務局)

6. 議長の氏名

三好一郎

7. 議題

〈審議事項〉

第1号議案 2022年最優秀論文賞候補論文について

第2号議案 2022年国際賞候補者について

第3号議案 令和5年度事業計画書について

第4号議案 令和5年度収支予算書について

第5号議案 旅費規程の改定について

第6号議案 第70回日本実験動物学会 通常総会の招集について

〈報告事項〉

1. 学会賞副賞について

〈その他〉

1. 学会誌 Experimental Animals の編集作業について

2. 動物実験を啓蒙するポスター

3. 今後の予定

8. 理事会の議事内容及び経過

(1) 定足数の確認

冒頭で高橋英機常務理事が定足数を確認し、議長が本会議の成立を宣言した。

(2) 議案の審議及び議決結果等

第1号議案 2022年最優秀論文賞候補論文について

高橋智理事(編集委員長)から審議資料1について説明があり、編集委員会により選考された3編の論文が承認された。

第2号議案 2022年国際賞候補者について

吉木理事(国際交流委員長)から審議資料2について説明があり、国際交流委員会により選考された4名の候補者(中国, 台湾, 韓国及びインドネシア)が承認された。

第3号議案 令和5年度事業計画書について

高橋英機常務理事から審議資料3について説明があり、令和5年度事業計画が原案通り承認された。

第4号議案 令和5年度収支予算書について

角田常務理事から審議資料4について説明があり、令和5年度収支予算書が原案通り承認された。経常収益は令和4年度に比べ約100万円の減益、経常費用は約150万円の増額となり、当期経常収支は約400万円の赤字となる。しかし、コロナ禍により黒字決算が続いており、コロナ禍で制限された活動を再開させて、その黒字を解消するために必要な経費であると説明があった。また、本年度も特定費用準備金を計画に従い積み立てることが併せて承認された。

第5号議案 旅費規程の改定について

國田常務理事及び三浦理事より審議資料5について説明があり、旅費支給規定改正案が原案通り承認された。

第6号議案 第70回日本実験動物学会通常総会の招集について

三好理事長より審議資料6に示された第70回日本実験動物学会通常総会の日程、審議事項及び報告事項について説明があり原案通り承認された。

(3) 報告事項

1. 三好理事長より学会賞の副賞のメダルについて説明があり、安東・田嶋賞は従来どおり純銀製、奨励賞は銅製のメダルとすることが報告された。

(4) その他

1. 高橋智理事（編集委員長）より学会誌 *Experimental Animals* への投稿数が激増し委員の負担が過重であるので編集体制の改善を検討しており、基本方針が定まった段階で、理事会の協力をお願いしたいとの発言があった。
2. 佐加良理事（動物福祉・倫理委員長）より、動物実験を啓蒙するポスターを作成し、学会として情報発信を継続して実施することが説明された。出席理事から異議は出されなかった。

3. 三枝事務局長より令和5年度第1回理事会は令和5年4月24日（月）14:00～16:00にお茶の水ソラシティカンファレンスルームA会議室にて開催することが報告された。

以上をもって議案の審議を終了した。

14時20分に閉会を宣言し、解散した。

この議事録が正確であることを証するため、出席した理事長及び監事は記名押印する。

Experimental Animals

— 和 文 要 約 —

Vol. 72, No. 2 April 2023

総説

コモンマーモセットの実験的ヒト疾患モデルと獣医学的管理 140–150

井上貴史¹⁾・坂本晃海¹⁾・関布美子²⁾・佐藤賢哉¹⁾・佐々木えりか¹⁾

¹⁾実験動物中央研究所 マーモセット医学生物学研究部,

²⁾実験動物中央研究所 ライブイメージングセンター

コモンマーモセット (*Callithrix jacchus*, マーモセット) は、真猿類としてヒトとの高い類似性を有しながら小型で繁殖力が高くライフサイクルが短いという実験動物としての特性を持ち合わせており、非ヒト霊長類モデル動物の一種として幅広く医学生物学研究において利用されている。近年では、遺伝子改変技術によるヒト疾患モデルマーモセットの開発が進展しているが、一方で、MPTP誘導パーキンソン病モデル、脊髄損傷モデル、膵臓切除+ストレプトゾトシン投与による1型糖尿病モデル、チオアセトアミド誘導肝線維化モデルなど、外科処置や薬物投与による実験的疾患モデルが前臨床研究に貢献している。また、マーモセットを用いた研究の進展は、適切な麻酔・周術期管理のプロトコルの策定や病原微生物の調査・対策など、獣医学的管理の洗練によって支えられている。本稿では、これらのマーモセットを用いた実験的疾患モデルの開発とマーモセットの獣医学的管理について実験動物中央研究所での経験をもとに概説する。

原著

Transmembrane p24 trafficking protein 10 (TMED10) inhibits mitochondrial damage and protects neurons in ischemic stroke via the c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway 151–163

Qiushi LI^{1,2)}, Xuying LIU³⁾, Ruixian XING²⁾ and Rubo SUI^{1,2)}

¹⁾Medical College of Soochow University, No. 1, Shizi Street, Suzhou, Jiangsu Province, 215021, P.R. China, ²⁾Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, No. 2, Section 5, Renmin Street, Jinzhou, Liaoning Province, 121000, P.R. China, ³⁾Department of Neurology, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, No. 2, Section 5, Heping Road, Linghe District, Jinzhou, Liaoning Province, 121000, P.R. China

Stroke, a type of acute cerebrovascular disease, is a global disease with high mortality. Neuronal ischemia and hypoxia are closely related to occurrence and development of cognitive impairment. Transmembrane p24 trafficking protein 10 (TMED10) as a transmembrane protein involves in vesicle protein transport in the secretory pathways. However, the function and mechanism of TMED10 on ischemic stroke and cognitive impairments remain unclear. In current study, TMED10 was highly expressed in cerebral ischemic penumbra of middle cerebral artery occlusion (MCAO) mouse model. Downregulation of TMED10 suppressed cell survival and facilitated apoptosis in primary cortical neurons, which were grown under oxygen glucose deprivation/reoxygenation (OGD/R) condition.

Upregulation of TMED10 protected neurons from apoptosis induced by OGD/R. Further research indicated that the decrease of TMED10 resulted in neuronal mitochondrial injury through increasing reactive oxygen species (ROS) production. Meanwhile, TMED10 reduction induced neuronal apoptosis and mitochondrial damage through activating the c-Jun N-terminal kinase (JNK) pathway. Moreover, the knockdown of TMED10 increased cerebral infarction area, aggravated neuronal injury and promoted neuronal apoptosis through activating the JNK pathway in the cerebral ischemic penumbra of MCAO mouse model. Additionally, Morris water maze test verified that the severity of cognitive impairment increased with the decline of TMED10. Collectively, this study reveals that TMED10 inhibits mitochondrial damage, and protects neurons from apoptosis in MCAO-induced ischemic stroke and cognitive impairment via blocking the JNK pathway.

Deficiency of IRG1/ itaconate aggravates endotoxemia-induced acute lung injury by inhibiting autophagy in mice 164–172

Jing-Huan QIU¹⁾, Li ZHANG²⁾, Ke-Xin LI³⁾, Qiu-Hong ZHANG¹⁾, Ke-Rui FAN²⁾, Kun CHEN²⁾, Yu JIANG⁴⁾ and Gang LIU¹⁾

¹⁾Department of Emergency and Critical Care Medicine, University-Town Hospital of Chongqing Medical University, 55 Middle Road, University City, Shapingba District, Chongqing 401331, P.R. China, ²⁾Department of Pathophysiology, Chongqing Medical University, 1 Yixueyuan Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, P.R. China, ³⁾Medical Sciences Research Center, University-Town Hospital of Chongqing Medical University, 55 Middle Road, University City, Shapingba District, Chongqing 401331, P.R. China, ⁴⁾Department of Respiratory and Critical Care Medicine, University-Town Hospital of Chongqing Medical University, 55 Middle Road, University City, Shapingba District, Chongqing 401331, P.R. China

Itaconate, produced by aconitate decarboxylase 1 (ACOD1), which is encoded by immune-responsive gene 1 (*Irg1*), is one of the metabolites derived from the tricarboxylic acid cycle. It has been reported that exogenous itaconate plays an anti-inflammatory role in the progression of multiple diseases and pathological processes, including activated macrophage, ischemia-reperfusion injury, and acute lung injury. However, the role and specific mechanism of endogenous itaconate in endotoxemia-induced acute lung injury (ALI) remain unclear. The animal model of ALI in wild-type and *Irg1*^{-/-} mice was constructed by LPS intraperitoneal injection. Ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectroscopy (UPLC-MS/MS) analysis was performed to measure the quantity of endogenous itaconate. The protective effect of itaconate was investigated by the behavioral assessment and the levels of inflammatory cytokines. Acute lung injury was assessed by hematoxylin and eosin staining, total protein in BALF, and Evans blue leakage. Western blotting was used to detect the IRG1 expression and autophagic protein in the lung. We demonstrated that IRG1 was highly expressed in ALI and that endogenous itaconate was produced simultaneously and was 100 times higher. Using *Irg1*^{-/-} mice, we found that endogenous itaconate was likely to exert an anti-inflammatory effect by activating NRF2 and promoting autophagy. Furthermore, autophagy was restrained by LPS but enhanced by 4-octyl itaconate (4-OI) pretreatment. Our study illustrated that a deficiency of IRG1/Itaconate aggravates ALI and that the IRG1/itaconate pathway protects against ALI. The protective mechanisms could be related to the facilitation of autophagy. Such findings may provide a theoretical foundation for the treatment of endotoxemia-induced ALI.

国立長寿医療研究センターエイジングファームで飼育したC57BL/6Nマウスの
肺組織における加齢性変化の解析..... 173-182

川口耕一郎¹⁾・浅井あづさ¹⁾・三河隆太¹⁾・小木曾昇¹⁾・杉本昌隆^{1,2)}

¹⁾国立長寿医療研究センター, ²⁾東京都健康長寿医療センター

老化は極めて複雑な複合的生命現象であり、その理解のために単細胞生物から哺乳動物まで、様々なモデル生物が研究に利用されている。ヒトの疾患や老化メカニズムを研究するための代替モデルとしては、マウスが最も利用されている。ヒトとの相同性の高さや、遺伝子組み換え動物の作製が容易であることなど多くの利点をもつ一方で、実験用マウスの最大寿命は3年近くに上ることから、その準備には時間がかかるという問題点もある。このような問題を回避して老化研究を効率よく進めるために、国立長寿医療研究センターでは、研究者の要望に応じて加齢動物を供給するシステム「エイジングファーム」を運用している。本研究ではエイジングファームプロジェクトの一環として、加齢育成動物の加齢に伴う肺組織の生理機能と遺伝子発現の変化について解析を行った。肺の生理機能の低下は生後6か月以前に既に見られ、少なくとも12か月齢まで低下し続けた。一方、RNAシーケンスによる遺伝子発現プロファイリング解析では、老化の初期段階での変化は小さいが、3か月齢と比較して12か月齢と24か月齢でそれぞれ顕著な変化が認められた。加齢に伴う肺組織の変化は、様々な慢性呼吸器疾患の病態に関与すると考えられている。本解析で示された加齢育成動物の特性を定義し、公開することで、加齢病態研究リソースとしてのエイジングファームの有用性が確保されるであろう。

中程度の高血糖は悪性黒色腫の肝臓への転移を抑制する..... 183-192

クースウィメイセリン¹⁾・畠中智寛¹⁾・松木菜保子¹⁾・皆川晟也²⁾・浅見京花²⁾・
辺見拓也¹⁾・森本暁音¹⁾・斉藤美佳子^{1,3)}

¹⁾東京農工大学工学府生命工学専攻, ²⁾東京農工大学工学府産業技術専攻,

³⁾東京農工大学バイオリソース実験室

様々ながんの転移は高血糖によって促進されると言われているが、メラノーマと大腸がんは例外的であるようだ。我々は、実際にメラノーマB16-F10細胞は高血糖により転移が抑制されることを確認した。糖尿病のリスクという問題は残るが、転移を防ぐという予後の観点からは魅力的な結果であった。そこで、糖尿病予備群モデルマウス(GKKOマウス)を用いて、中程度な高血糖状態の効果を検討した。B16-F10細胞の肝臓への転移に着目し、肝臓の転移コロニーの数と体積を分析した。GKKOマウスの転移コロニー数の中央値は、コントロールマウスに比べ0.57倍($P=0.06$)であった。マクロファージマーカーの解析では、腫瘍抑制性のM1タイプマーカーであるCD86の発現が増加し、腫瘍促進性のM2タイプマーカーであるCD206の発現が減少していた。また、炎症性サイトカインであるCxc110が上昇する傾向が見られた。B16-F10の細胞活性については、中程度の高血糖により、遊走能と浸潤能が低下した。結論として、B16-F10細胞の肝臓への転移は、糖尿病のリスクを伴わずに、適度な高血糖によって抑制される可能性があることがわかった。この情報は、予後における食事療法の立案に貢献するはずである。

コモンマーモセット下顎骨の骨特性に対する加齢と繁殖歴の影響 193–198

西島和俊^{1,2,3)}・斎藤亮一⁴⁾・大野民生⁵⁾・田中 慎⁶⁾

¹⁾自然科学研究機構動物資源共同利用研究センター, ²⁾自然科学研究機構生理学研究所,

³⁾総合研究大学院大学生理学専攻, ⁴⁾国立精神・神経医療研究センター神経研究所霊長類管理室,

⁵⁾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実験動物部門,

⁶⁾元国立長寿医療センター研究所加齢動物育成室

ヒトのモデル動物として重用されるコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) の骨特性に対する加齢と繁殖歴の影響を明らかにするために, 79頭の雄および66頭の雌の下顎骨について, 骨重量, 骨面積, 骨塩量, 骨密度 (骨面積に対する骨塩量の割合) 及び骨塩率 (骨重量に対する骨塩量の割合) を解析した。下顎骨は加齢に伴い脆くなり, 厚みが増した。骨重量, 骨面積, 骨塩量には1.5–2歳と13–15歳に変曲点が見られた。1.5–2歳までは成長期, 2つの変曲点の間は加齢, 13–15歳以降は老齢期に適合した。骨密度は1.5–2歳まで上昇し, その後, 雄では徐々に減少したが, 雌ではより急激な減少が見られ, 出産・授乳がその原因となっていると考えられた。骨塩率は, 他の指標とは異なり, 1歳までにピークに達した後は一定で, 18歳を越えると減少した。2–5歳の個体の比較では, 経産雌の骨密度は未経産雌より低い傾向にあった。本研究により, 加齢や繁殖歴の影響を受けたコモンマーモセットの下顎骨の特性が明らかとなった。

Downregulation of High mobility group box 2 relieves spinal cord injury
by inhibiting microglia-mediated neuroinflammation..... 199–208

Pengzhi YANG^{1,2)}, Jie HE²⁾, Changlin WANG²⁾, Chi YANG²⁾ and Fengzeng JIAN¹⁾

¹⁾Department of Neurosurgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, No. 45 Changchun Street, Beijing 100053, P.R. China, ²⁾Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, No. 678 Furong Road, Hefei 230601, P.R. China

Spinal cord injury (SCI), characterized by sensory disturbance and motor deficits, is associated with excessive inflammatory cytokine production of microglial cells. Previous studies have demonstrated High mobility group box 2 (HMGB2) as a microglial pro-inflammatory factor in stroke. This present study aims to evaluate the function of HMGB2 in a SCI rat model induced by striking the spinal cord at T9 to T12 using a rod. Our results showed that the levels of HMGB2 were significantly increased in the spinal cord tissues of SCI rats. Besides, HMGB2 downregulation was achieved by receiving an injection of lentivirus encoding HMGB2 shRNA in the spinal cord. Knockdown of HMGB2 suppressed SCI-induced microglial activation and neuroinflammation, as well as alleviated neuronal loss. In addition, we confirmed that HMGB2 silencing lessened lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation in BV-2 cells. Furthermore, our findings demonstrated that HMGB2 knockdown suppressed the canonical nuclear factor of κ B (NF- κ B) signaling pathway both *in vivo* and *in vitro*. Collectively, this study manifested strong anti-inflammatory roles of HMGB2 knockdown on microglia-mediated neuroinflammation and suggested that HMGB2 might serve as a potential target for SCI therapy.

Comparison of ketamine/xylazine and isoflurane anesthesia on the establishment of mouse middle cerebral artery occlusion model 209–217

Chenyang GU¹⁾, Jiale LIU¹⁾, Yajing LI²⁾, Qiankun ZHANG¹⁾, Chaoqun LIN³⁾, Jiajun HUANG¹⁾, Wenjie DUAN¹⁾, Yushu DENG¹⁾, Waqas AHMED⁴⁾, Rong LI¹⁾, Jun LONG¹⁾, Ahsan Ali KHAN⁵⁾ and Lukui CHEN¹⁾

¹⁾Department of Neurosurgery, Neuroscience Center, Integrated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, 13 Shiliugang Road, Guangzhou 510310, P.R. China,

²⁾Affiliated Dongguan Hospital, Southern Medical University (Dongguan People's Hospital), 78 Wandao Road, Guangzhou 510280, P.R. China, ³⁾Department of Neurosurgery, University of Chinese Academy of Sciences Shenzhen Hospital, 39 Huaxia Road, Shenzhen 518107, P.R. China

⁴⁾School of Medicine, Southeast University, 87 Dingjiaqiao Road, Nanjing 210009, P.R. China,

⁵⁾Section of Neurosurgery, The Aga Khan University, Stadium Road, P. O. Box 3500, Karachi 74800, Pakistan

The middle cerebral artery occlusion model (MCAO) is one of the most common stroke models in neuroscience research. The establishment of the mouse MCAO model in terms of animal survival depends on anesthesia, which is an important part of the entire surgical process. The 7-day survival rate of the MCAO model under isoflurane (ISO) anesthesia (35%) was lower than ketamine/xylazine (KX) anesthesia (70%), which demonstrated that the success rate of the MCAO model under KX anesthesia would be significantly higher than that under ISO anesthesia. As confirmed by TTC staining and MRI, the cerebral infarction area of mice successfully modeled under ISO anesthesia was significantly smaller than that of KX anesthesia. The diameter of cerebral blood vessels under ISO anesthesia was significantly larger than that under KX, and the blood perfusion volume was also significantly increased in the same area. ISO has proven to delay the coagulation time and affect the activation of coagulation factors. ISO anesthesia may cause bleeding, vasodilation, respiratory depression, and other phenomena that affect the success rate and death of diseased animal models. In conclusion, compared with ISO anesthesia, KX anesthesia is a safer and more suitable method for the establishment of a mouse MCAO model. The data will inform safer and more detailed anesthesia recommendations for the establishment of animal models of vascular-related major injury diseases.

Amyloid enhancing factorの局所投与によるマウスの*in situ* アミロイドA沈着とそれに続く全身性AAアミロイドーシス 218–223

岩出 進・大場涼平・小林夏海・村上智亮

東京農工大学共同獣医学科獣医毒性学研究室

アミロイドA (AA) アミロイドーシスは、マウスやニワトリなどいくつかの動物種で実験的に伝播することが知られている。脾臓はAAアミロイドーシスの伝播における最初の沈着部位として重要であるが、伝播の成立に必須ではなく、その役割は正確に理解されていない。今回、伝播性AAアミロイドーシスにおいて、なぜ脾臓が最初の沈着部位であるかを明らかにするために、AAアミロイドーシス罹患マウスから抽出したAAフィブリルである amyloid enhancing factor (AEF) を局所臓器 (肝臓, 脾臓, 腎臓, 胃壁, パイエル板) に投与, あるいは静脈内, 腹腔内投与し, アミロイド分布を比較した。興味深いことに、脾臓だけでなく、各投与臓器において投与部位に初期アミロイドの沈着が観察された。さらに、臓器内投与群のアミロイド沈着量は、静脈内投与群や腹腔内投与群のそれよりも大きかった。このことから、局所的に投与した AEF は *in situ* でアミロイド沈着を開始し、そこからアミロイド沈着が全身に広がることが示唆された。

Trpv1欠損マウスにおける皮膚の創傷治癒遅延 224-232

上野一樹¹⁾・雑賀司珠也²⁾・岡田由香²⁾・岩西宏樹²⁾・鈴木堅太郎^{3,4)}・
山田 源^{1,3)}・朝村真一¹⁾

¹⁾和歌山県立医科大学形成外科学教室, ²⁾和歌山県立医科大学眼科学教室,

³⁾和歌山県立医科大学遺伝子制御学研究室, ⁴⁾山梨大学生命環境学部生命工学科

Transient receptor potential (TRP) チャンネルは、細胞膜に存在するイオンチャンネル型受容体の一つであり、多くの化学的・物理的刺激を感受するセンサーとして、多様な生体機能にかかわっている。TRPV1は、そのうちのサブファミリー TRPV グループに属するCa²⁺透過性の高い非選択性陽イオンチャンネルであり、皮膚にもその発現が報告されている。今回、マウスの皮膚の創傷治癒過程におけるTRPV1チャンネルの役割を解析した。実験には、8-10週齢の*Trpv1* 遺伝子欠損 (KO) マウスと野生型 (WT) マウスを用いた。全身麻酔下にそれぞれの背部皮膚に直径5.0 mmの円形の全層皮膚欠損創を作製した。皮膚欠損創作成後 (POD: post-operative days; 0, 2, 4, 7, 10, 14), 肉眼的観察, 組織学的解析から治癒過程を評価した。その結果, *Trpv1* KO マウスにおいて, 有意に背部皮膚の創傷治癒が遅延し, 再上皮化の異常が観察された。さらに, 好中球の機能制御に重要なプロセスとして知られるNETs (Neutrophil Extracellular Traps) 形成の亢進と, 好中球性炎症の遷延化を認めた。以上の結果より, TRPV1チャンネルは, 好中球性の炎症反応を制御する, マウス皮膚創傷治癒に重要なTRPチャンネルである可能性が示唆された。

CybaとNox2変異ラットは遺伝的背景および性別に依存した異なる

好酸球増多症の発症率を示す 233-241

森 政之^{1,2)}・代 健¹⁾・宮原大貴¹⁾・李 瑩²⁾・亢 暁静²⁾・吉見一人^{3,4)}・
真下知士^{3,4)}・樋口京一^{1,5)}・松本清司⁶⁾

¹⁾信州大学学術研究院先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所ニューロヘルスイノベーション部門,

²⁾信州大学大学院総合医理工学研究科加齢生物学教室,

³⁾東京大学医科学研究所実験動物研究施設先進動物ゲノム研究分野,

⁴⁾東京大学医科学研究所システム疾患モデルセンターゲノム編集研究分野,

⁵⁾長野保健医療大学地域保健医療研究センター,

⁶⁾信州大学基盤研究支援センター動物実験支援部門

MES系ラットは遺伝性好酸球増多症のモデルであり、雌雄ともに100%の個体が好酸球増多症を発症する。MESの好酸球増多の根本原因はチトクロームb-245, α ポリペプチドをコードする遺伝子の機能喪失変異 (*Cyba*^{mes} 変異アレル) であることが分かっていた。CYBAタンパク質はスーパーオキシドを生成するNADPHオキシダーゼ複合体の構成成分であり、その触媒サブユニットはNOX1, NOX2, またはNOX4タンパク質のいずれかである。しかし, CYBAの欠損が好酸球増多を引き起こす分子メカニズムや, 3つのNOXアイソタイプのうちのどの機能喪失が本疾患の原因であるのかはこれまで不明であった。後者の問題を解明するために, *Nox1*, *Nox2*, *Nox4* 遺伝子それぞれをノックアウトしたF344/Nラットを作製した。また, これらのノックアウトラットと同一の遺伝的背景を持つF344.MES-*Cyba*^{mes} コンジェニックラットを作製した。その結果, 血中好酸球増多はF344/N-*Nox2*^{em1} 雄ラットには認められなかったが, F344/N-*Nox2*^{em1} 雌ラットの約20%に認められた。この結果から, NOX2の欠損がラットの好酸球増多症の原因であることが明らかとなった。また, F344.MES-*Cyba*^{mes} コンジェニックラットの雌は全個体が, また雄は約50%が本疾患を発症することが観察された。これらの結果から, NOX2 NADPH オキシダーゼ, またはCYBAの欠損に加えて, F344/N系統の遺伝的背景と性別の両方が本疾患の発症に影響を与えることも示された。これら好酸球増多症発症率の異なる*Cyba*および*Nox2*変異ラット系統は, 本疾患の発症に関わる分子機構や因子の解明に有用であると考えられる。

Loss of AKAP12 aggravates rheumatoid arthritis-like symptoms and cardiac damage in collagen-induced arthritis mice..... 242–252

Yanhui NI¹⁾, Jingjing CAO²⁾, Jing YUAN¹⁾ and Xiaoran NING²⁾

¹⁾Department of Cardiology, Hebei General Hospital, 348 Heping West Road, Shijiazhuang 050051, Hebei, P.R. China, ²⁾Department of Rheumatology and Immunology, Hebei General Hospital, 348 Heping West Road, Shijiazhuang 050051, Hebei, P.R. China

A-kinase anchoring protein 12 (AKAP12) has been identified as an anti-inflammatory and anti-fibrotic regulator in chronic inflammation and cardiovascular disease. However, the potential of AKAP12 in autoimmune disorders, rheumatoid arthritis (RA) and associated cardiac complications remains elusive. Here, a murine model of collagen-induced arthritis (CIA) was successfully induced, followed by adenovirus-mediated AKAP12 short hairpin RNA (shRNA) treatment. AKAP12 silenced mice displayed elevated clinical arthritis scores and significant ankle joint swelling. AKAP12 loss in CIA mice increased inflammatory cell infiltration and cartilage erosion, increased the levels of anti-IIC IgG and inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α in serum, and upregulated the expression of cartilage-degrading enzymes MMP-1, MMP-3, MMP-13 in synovium, but reduced IL-10. The number of M1 macrophages and the expression of the markers (CCR7, *IL-6*, *TNF- α* and *iNOS*) was enhanced in synovial tissues, while M2 polarized macrophages and the makers (*IL-10* and *arginase-1*) were reduced in response to AKAP12 loss. Moreover, low expression of AKAP12 was detected in the hearts of CIA mice. Loss of AKAP12 results in increased cardiac inflammation and fibrosis. This work suggests that AKAP12 loss aggravates joint inflammation likely through the promotion of M1 macrophage polarization and exacerbates inflammation-caused cardiac fibrosis.

Construction of a canine model with acute type B aortic dissection using a self-made pressure-driven flow device 253–261

Zongwei LIU, Jiaxue BI, Fang NIU, Hao LIANG, Jibo FAN, Jiajun LI,
Duan WANG and Xiangchen DAI

Department of Vascular Surgery of Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin, 300000, P.R. China

A reproducible canine aortic dissection (AD) model would be useful for evaluating the performance of novel endovascular treatment devices. Therefore, we attempted to create a reproducible canine model of Stanford type B AD (TBAB) by a surgical method. Computed tomography angiography was performed 2 h after the procedure to determine if a false lumen was present, and follow-up imaging was performed 10 d after the procedure using digital subtraction angiography, intravascular ultrasound (IVUS), and color Doppler flow imaging (CDFI) to confirm stable persistence of the false lumen. The success rate of model construction was 88.8% (16/18). All surviving dogs had distal re-entries (16/16). The number of re-entries in the dogs was 1.50 ± 0.52 , and the mean length of the false lumen was 175.37 ± 16.98 mm. IVUS showed the area of the false lumen at the narrowest part of the arterial lumen was $84.88 \pm 1.27\%$. The CDFI showed that the peak systolic velocity in the false lumen (10.89 ± 0.74 cm/s) was significantly slower than that in the true lumen (25.31 ± 1.72 cm/s; $P < 0.001$). Moreover, the direction of blood flow in the true lumen was consistent, whereas that in the false lumen was disordered. We optimized the traditional surgical method to construct a canine model of TBAD to improve the success rate of model construction, and designed a novel device to lengthen the false lumen. The proposed model has wide implications in evaluating the performance of novel endovascular treatment devices and studying the AD-related hemodynamics.

Effects of intravenous infusion, vest wearing and repeated intravenous blood collection on clinical pathology parameters in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) 262–273

Qi ZHAO^{1,2)}, Caiyun LI¹⁾, Yan CHEN³⁾, Yongtao LIU¹⁾, Shuyan WANG^{1,2)} and Xijie WANG^{1,2)}

¹⁾Shanghai InnoStar Bio-tech Co., Ltd., 199 Guoshoujing Road, Pilot Free Trade Zone, Pudong, Shanghai 201203, P.R. China, ²⁾China State Institute of Pharmaceutical Industry, 285 Copernicus Road, Pilot Free Trade Zone, Pudong, Shanghai 201203, P.R. China, ³⁾InnoStar Bio-tech Nantong Co., Ltd., Building A18, 100 Dongtinghu Road, Linjiang Town, Haimen District, Nantong City, Jiangsu Province, 226133 P.R. China

Nonhuman primates are used extensively in a variety of nonclinical safety evaluation studies of new drugs. In those studies, intravenous infusion is a common treatment method, a noninvasive telemetry system is usually used for cardiovascular safety and pharmacology evaluation, and blood samples are repeatedly collected for various analysis. Intravenous infusion, vest wearing, and repeated intravenous blood collection can cause a stress response in cynomolgus monkeys, which may lead to changes in clinical pathology parameters in them. Here, we aimed to test the effects of the above operations on clinical pathology parameters in cynomolgus monkeys. Twenty monkeys (10 male/10 female) were administered 0.9% sodium chloride injections via intravenous infusions on Days 1 and 10. Each animal wore a vest before each dosing, and the vest was removed at 24 h after each dosing. Blood samples were collected before the first dose and at 2 min, 24 h, 48 h, 72 h, and 168 h after each dosing. As compared to values before the first dose (D-1) increases in reticulocytes (percentage and absolute count) and decreases in erythrocytes (red blood cells, hemoglobin, and hematocrit) were noted after dosing. The decrease in erythrocytes and increase in reticulocytes were considered to be related to the repeated intravenous blood collection. Increases in leukocytes (white blood cells and absolute count and percentage of neutrophils) and platelets (mean platelet volume and platelet distribution width) were noted at 2 min or 24 h post dose. Increases in aspartate aminotransferase, direct bilirubin, creatine kinase, C-reactive protein, and human cardiac troponin I and decreases in inorganic phosphate were noted at 2 min to 72 h post dose.

Evaluation of different rat models intrauterine adhesion models and improvement of the technique for their establishment..... 274–284

Jin XI^{1,2)}, Yan PAN^{2,3)}, Chunchun JIN^{2,4)}, Jingyu LIU²⁾, Jie CHENG²⁾ and Bin XU²⁾

¹⁾College of Acupuncture and Massage, Shaanxi University of Chinese Medicine, Middle Section of Century Avenue, Xianyang 712046, P.R. China, ²⁾College of Acupuncture and Massage, Nanjing University of Chinese Medicine, No.138 Xianlin Avenue, Nanjing 210023, P.R. China, ³⁾The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, No.299 Qing Yang Road, Wuxi 214023, P.R. China, ⁴⁾The People's Hospital of Jiawang District of Xuzhou, No.118 Coal Source Road, Xuzhou 221004, P.R. China

Intrauterine adhesion (IUA), a leading cause of uterine infertility, is characterized by endometrial fibrosis. Implementing an appropriate animal model is essential for the research on the mechanisms of IUA. In the present study, we established and evaluated different intrauterine adhesion modeling procedures in rats to provide a reference for researchers. Rat IUA models were established by mechanical injury, 95% ethanol injection, and dual (mechanical injury with infection) injury. After two estrus cycles, the female rats were mated with sexually mature male rats, and uterine tissues were obtained on the 5th day of pregnancy. Hematoxylin and eosin staining and immunohistochemical detection of cytokeratin 19 and vimentin were performed to assess the morphology of the endometrium. Masson's trichrome staining and the expression of transforming growth factor- β 1 and collagen I were used to assess the endometrium fibrosis. The expression of integrin α v β 3, leukemia inhibitory factor, and homeobox gene A10 in the rat endometrium was used to evaluate the endometrial receptivity. In addition, the efficiency of embryo implantation was examined in the uterus on the 8th day of pregnancy. Our study found that mechanical injury caused by a curette can be completely repaired after two estrus cycles. However, dual injury and 95% ethanol injection can be used to establish an IUA rat model, and the dual injury is closer to the clinicopathological characteristics of IUA.

維持会員（五十音順）（95社）

（令和5年4月12日現在）

会 員 名	〒	住 所
(株) IHI 物流産業システム	135-0061	東京都江東区豊洲3-1-1
(株) アイテクノ	391-0004	長野県茅野市城山10-10
旭化成ファーマ(株)	410-2321	静岡県伊豆の国市三福632-1
味の素(株)	210-8681	神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1
あすか製薬(株)	213-8522	神奈川県川崎市高津区下作延5-36-1
アステラス製薬(株)	305-8585	茨城県つくば市御幸が丘21
(株) アドスリー	164-0003	東京都中野区東中野4-27-37
(株) アニマルケア	160-0022	東京都新宿区新宿5-18-14 新宿北西ビル7F
(株) アニメック	183-0031	東京都府中市西府町3-17-4
EPトレーディング(株)	162-0825	東京都新宿区神楽坂4-8
(株) イナリサーチ	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188
インビボサイエンス(株)	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12
エーザイ(株)	300-2635	茨城県つくば市東光台5-1-3
(株) LSIM安全科学研究所	101-0047	東京都千代田区内神田1-13-4
(株) 大塚製薬工場	772-8601	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原115
小野薬品工業(株)	618-8585	大阪府三島郡島本町桜井3-1-1
小原医科産業(株)	165-0022	東京都中野区江古田4-28-16
オリエンタル酵母工業(株)	174-8505	東京都板橋区小豆沢3-6-10
花王(株)	321-3497	栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606
科研製薬(株)	426-8646	静岡県藤枝市源助301
鹿島建設(株)	107-8348	東京都港区赤坂6-5-11
北山ラベス(株)	396-0025	長野県伊那市荒井3052-1
キッセイ薬品工業(株)	399-8304	長野県安曇野市穂高柏原4365-1
九動(株)	841-0075	佐賀県鳥栖市立石町惣楽883-1
共立製薬(株)	300-1252	茨城県つくば市高見原2-9-22
協和キリン(株) 富士リサーチパーク	411-0943	静岡県駿東郡長泉町下土狩1188
(有) 葛生運送	287-0224	千葉県成田市新田280-1
クミアイ化学工業(株)	439-0031	静岡県菊川市加茂3360
(株) クレハ	974-8686	福島県いわき市錦町落合16
グローバル・リンクス・テクノロジー(株)	433-8116	静岡県浜松市中区西丘町943-1
(株) ケー・エー・シー	604-8423	京都府京都市中京区西ノ京西月光町40
KMバイオロジクス(株)	869-1298	熊本県菊池市旭志川辺1314-1
興和(株)	189-0022	東京都東村山市野口町2-17-43
サイヤジェン(株)	170-0002	東京都豊島区巣鴨1-20-10 宝生第一ビル4階
三協ラボサービス(株)	132-0023	東京都江戸川区西一之江2-13-16
参天製薬(株)	630-0101	奈良県生駒市高山町8916-16
(株) 三和化学研究所	511-0406	三重県いなべ市北勢町塩崎363
サンワテクノス(株)	104-0031	東京都中央区京橋3-1-1 東京スクエアガーデン18F
(株) ジュー・エー・シー	153-0043	東京都目黒区東山1-2-7 第44興和ビル3階
GemPharmatech Co., Ltd.	12 Xuefu Rd, Jiangbei New Area District, 210031, Nanjing, China	
シオノゲテクノアドバンスリサーチ(株)	520-3423	滋賀県甲賀市甲賀町五反田1405
(公財) 実験動物中央研究所	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12

会 員 名	〒	住 所
清水建設(株)	104-0031	東京都中央区京橋2-16-1 8階
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン(株)	222-0033	神奈川県横浜市港北区新横浜3-17-6
昭和セラミックス(株)	486-0934	愛知県春日井市長塚町1-1-9
(有)新東洋製作所	334-0073	埼玉県川口市赤井2-13-22
(株)新日本科学安全性研究所	891-1394	鹿児島県鹿児島市宮之浦町2438番地
(株)シーエーシー	103-0015	東京都中央区日本橋箱崎町24番1号
住友化学(株)	554-8558	大阪府大阪市此花区春日出中3-1-98
(株)精研	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場2-1-3
清和産業(株)	132-0033	東京都江戸川区東小松川4-57-7
ゼリア新薬工業(株)	360-0111	埼玉県熊谷市押切字沼上2512-1
全国農業協同組合連合会飼料畜産中央研究所	300-4204	茨城県つくば市作谷1708-2
ゾエティス・ジャパン(株)	151-0053	東京都渋谷区代々木3-22-7 新宿文化クイントビル14階
第一三共(株)	134-8630	東京都江戸川区北葛西1-16-13
大正製薬(株)	331-9530	埼玉県さいたま市北区吉野町1-403
ダイダシ(株)	102-8175	東京都千代田区富士見2-15-10
武田薬品工業(株)	251-0012	神奈川県藤沢市村岡東二丁目26番地1
(株)中外医科学研究所	247-8530	神奈川県鎌倉市梶原200
中外製薬(株)	412-8513	静岡県御殿場市駒門1-135
千代田テクノエース(株)	221-0022	神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-13
(株)ツムラ	300-1192	茨城県稲敷郡阿見町吉原3586
帝人ファーマ(株)	191-8512	東京都日野市旭が丘4-3-2
(一財)動物繁殖研究所	300-0134	茨城県茨城県かすみがうら市深谷1103
東洋熱工業(株)	104-0031	東京都中央区京橋2-5-12 東熱ビル
トーアエイヨー(株)	960-0280	福島県福島市飯坂町湯野字田中1
トキワ科学器械(株)	110-0005	東京都台東区上野5-11-1
Transnetyx	8110 Cordova Rd, Suite 119, Cordova TN, 38016 USA	
(株)夏目製作所	113-8551	東京都文京区湯島2-18-6
日本エスエルシー(株)	431-1103	静岡県浜松市湖東町3371-8
日本化薬(株)	115-8588	東京都北区志茂3-31-12
日本クレア(株)	153-8533	東京都目黒区東山1-2-7
日本実験動物器材協議会	153-8533	東京都目黒区東山1-2-7 日本クレア(株)内
(公社)日本実験動物協会	101-0051	東京都千代田区神田神保町3-2-5 九段ロイヤルビル502号室
日本実験動物協同組合	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
日本新薬(株)	601-8550	京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14
(一財)日本生物科学研究所	198-0024	東京都青梅市新町9-2221-1
日本たばこ産業(株)	569-1125	大阪府高槻市紫町1-1
日本たばこ産業(株)たばこ中央研究所	227-8512	神奈川県横浜市青葉区梅が丘6-2
日本農産工業(株)	220-8146	神奈川県横浜市西区みなとみらい2-2-1 ランドマークタワー46F
日本農薬(株)総合研究所	586-0094	大阪府河内長野市小山田町345番地
バイオサイトジェン	101-111	中国北京市大興区宝参南街12豪院
パニーグループ 日本事務所	370-0074	群馬県高崎市下小鳥町290-1
ハムリー(株)	306-0101	茨城県古河市尾崎2638-2
(一財)阪大微生物病研究会	565-0871	大阪府吹田市山田丘3-1 大阪大学内
フィード・ワン(株)	221-0835	神奈川県横浜市神奈川区鶴屋町2-23-2
(株)ボゾリサーチセンター	412-0039	静岡県御殿場市竈1284
三浦工業(株)	108-0074	東京都港区高輪2-15-35 三浦高輪ビル2F
Meiji Seika ファルマ(株)横浜研究所	222-8567	神奈川県横浜市港北区師岡町760

会 員 名	〒	住 所
持田製薬(株)	412-8524	静岡県御殿場市神場字上ノ原722
(株)ヤクルト本社	186-8650	東京都国立市泉5-11
八洲環境エンジニアリング(株)	116-0014	東京都荒川区東日暮里3-11-17
ライオン(株)	256-0811	神奈川県小田原市田島100
レッテンマイヤー・ジャパン(株)	101-0052	東京都千代田区神田小川町3-26-8 野村不動産小川町ビル3F
(株)レナテック	259-1114	神奈川県伊勢原市高森4-19-15

(公社)日本実験動物学会 会員の入会・退会・変更の申込みについて

会員の入会・変更の申込みは下記の方法で受け付けております。

<https://www.jalas.jp/>

(公社)日本実験動物学会ホームページより受け付け
会員情報の変更はホームページの会員ページにログインしてできます。

[入会・退会・変更の申込みについてのお問い合わせ] Email office2@jalas.jp

[その他ご不明な点はこちらまで]

公益社団法人 日本実験動物学会 事務局
〒113-0033 東京都文京区本郷6-26-12 東京RSビル3F
TEL 03-3814-8276 FAX 03-3814-3990 Email office@jalas.jp

● 編集後記 ●

今年も桜がきれいに咲きました。関東近辺では桜の見ごろの週末が雨でしたが、桜が持ちこたえてくれ、次の週末も桜の名所の混雑ぶりがニュースで取り上げられていました。また、多くの外国の方たちも桜を楽しまれています。戦争を継続している国もあるなかで、日本はなんと平和なのでしょう。人の賑わいの回復は、コロナが少しおさまりを見せていることが大きく影響していると思います。通勤時間帯の電車内にも変化がみられており、マスクを外しておられる方が散見されるようになってきました。プロ野球も開幕し、球場での観客の皆様の応援は、コロナ前と変わらないような印象です。この平穏な生活が続くことを祈るばかりです。当学会につきましても5月に現地開催で、第70回日本実験動物学会が24日から開催されます。本号でも学会前の最後の案内をいたしておりますので、皆様、是非ご参加ください。学会会場でお会いできるのを楽しみにしております。さて、本ニュースでは、昨年11月に開催されました維持会員懇談会(川崎)の全演者の先生からご寄稿いただき、特集を組みました。「“老いと死” 老化に関わる最新研究」と題しまして、特別講演をしていただきました東大・小林先生から「生物はなぜ死ぬのか —壊れやすいリボソームRNA 遺伝子から考える—」のテーマでレターを、他の4名の先生方からは、「体内時計の加齢変容」(明治大・中村先生)、「老化と腸内細菌」(理研・中西先生)、「自然老化マウスの長期飼育による環境統御と表現型解析システムの構築について」(長寿医療研・小木曾先生)、「慢性腎臓病とサルコペニアの現状」(日赤・山田先生)について総説を執筆いただきました。別に前総会のシンポジウムから、特集として、「実験動物を支える飼料の役割とは」のテーマで、「心理社会的ストレスモデル動物のストレス感受性と飼料の関係」(茨城大、東京農工大・豊田先生)、「栄養環境により精神疾患様症状を呈したモデルマウスの解析」(東京都医学総合研・新保、佐久間、平井先生)に投稿いただきました。「実験動物感染症の現状」のシリーズでは、「げっ歯類のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)」(日本SLC・高木先生、長崎大・大沢先生)、「研究室施設便り」では、「兵庫医科大学医学部遺伝学講座」(大村谷先生)、「維持会員便り」では、「より重宝される企業を目指して」((株)アドスリー、石井先生)、「会員便り」には3名の先生(中部大・岩田先生、東大院・小林先生、京大・成瀬先生)に寄稿いただきました。本号では、維持会員懇談会からの総説を掲載いたしましたが、数号遅れではありますが実験動物科学シンポジウムの先生方の特集も計画しておりますので、ご期待ください。また、単独で総説をご寄稿いただける先生が居られました是非ご連絡をお願いいたします。引き続き、内容の豊富な実験動物ニュースに育てていきたいと思いますので、どうかよろしくお願い申し上げます。

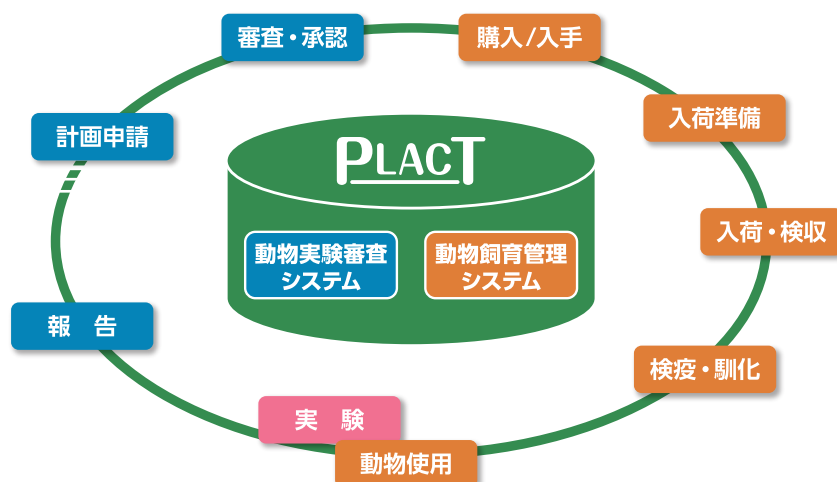
【広報・情報公開検討委員会】

広告掲載一覧

株式会社 シーエーシー	実験動物管理システム
日本クレア株式会社	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
日本エスエルシー株式会社	実験動物
九動株式会社	実験動物等企業広告
わかもと製薬株式会社	感染症診断キット
株式会社 ケー・エー・シー	実験動物総合受託事業
清和産業株式会社	ウォッシングシステムズ
株式会社 夏目製作所	気管内噴霧スプレー
株式会社 アニメック	げっ歯類のエンリッチメント
ダイダン株式会社	実験動物飼育ラック
ハムリー株式会社	二酸化塩素ガス発生デバイス
株式会社東京メニックス	マーマセット用ICU

動物管理システム **PLACT**

動物実験・遺伝子組換え実験の計画申請から飼育管理まで
動物実験業務の一連の流れをサポート



実験審査

審査の支援機能、各種確認作業の自動化により、審査業務の作業負荷を軽減

- ✓ 委員会向け：付箋機能、変更点表示
- ✓ 事務局向け：教育受講・申請必須項目などのチェック自動化、停滞した審議のリマインド、審査状況の把握
- ✓ 申請者向け：過去申請のコピー、関連実験紐づけ



飼育管理

獣医担当・飼育担当の連携強化、飼育室・飼育動物の情報を一元管理、飼育管理業務をトータルサポート

- ✓ 獣医学的ケア支援：異常所見の共有迅速化、処置記録の管理
- ✓ 飼育管理業務支援：匹数管理、飼育室予約
- ✓ 個体情報の管理：体重、飼育履歴などを個体毎に管理
- ✓ 転記作業の削減：タブレットで飼育室内から観察記録登録

動物管理システム「PLACT」に関するお問い合わせは、下記までご連絡ください



株式会社 **シーイーシー**

PLACT担当

〒103-0015 東京都中央区日本橋箱崎町24-1

E-mail

pharma@cac.co.jp

URL

https://service.cac.co.jp/pharma/drug_discovery/plact





新しい発見を変わらない品質で
動物実験のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。

マウス・ラット・コモンマウス

● クローズドコロニー

- **マウス** Jcl:ICR
● **ラット** Jcl:SD, Jcl:Wistar
BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)

● 近交系

- **マウス** C3H/HeNjcl, C3H/HeJcl*
C57BL/6Njcl, C57BL/6Jcl*
BALB/cAjcl, BALB/cByJcl*
FVB/Njcl, DBA/2Jcl*, 129^{ter}/SvJcl
● **ラット** F344/Jcl

● ハイブリッド系

- **マウス** B6C3F1/Jcl, B6D2F1/Jcl,
MCH(ICR)/Jcl (Multi Cross Hybrid)

● 疾患モデル

免疫不全モデル

- **マウス** BALB/cAjcl-nu
C.B-17/1cr-scld Jcl
NOD/Shijic-scld Jcl
ALY[®]/NscJcl-aly
● **ラット** F344/Njcl-rnu

1型糖尿病モデル

- **マウス** NOD/Shijcl

2型糖尿病モデル

- **マウス** KK/Tajcl, KK-A^y/Tajcl
BKS.Cg-m+/+Lepr^{db}/Jcl*
● **ラット** GK/Jcl, SDT/Jcl, SDT fatty/Jcl

アスコルビン酸合成能欠如モデル

- **ラット** ODS/Shijcl-od

網膜変性疾患モデル

- **ラット** RCS/Jcl-rdy

関節リウマチモデル

- **マウス** SKG/Jcl

外用保湿剤・外用殺菌消毒薬効果検証モデル

- **マウス** NOA/Jcl

ヒトDuchenne型筋ジストロフィーモデル

- **マウス** C57BL/10-mdx/Jcl

● 遺伝子改変動物

短期発がん性試験モデル

- **マウス** CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic

乳腺がん高感受性モデル

- **ラット** Hras128/Jcl

膝がん短期発がんモデル

- **ラット** Kras301/Jcl

生体恒常性維持機構解析モデル

- **マウス** α-Klotho KO/Jcl

- **マウス** klotho/Jcl

アレルギーモデル

- **マウス** OVA-IgE/Jcl (卵アレルギー)
TNP-IgE/Jcl (化学物質アレルギー)

● Germ free

- **マウス** MCH(ICR)/Jcl[Gf], C57BL/6Njcl[Gf]
BALB/cAjcl[Gf]

● コモンマウス

- Jcl:C.Marmoset(Jic) (国内生産)

その他の取り扱い動物

● (公財) 実験動物中央研究所維持系統

● フェレット(輸入販売)

生産地：中華人民共和国／輸入販売代理店
(株) 野村事務所) を通じて国内販売

実験動物用飼料

一般動物用飼料／家畜・家禽試験用飼料／放射線
滅菌飼料／特殊配合飼料／成分分析

器具・器材

飼育ケージ／飼育機・ラック／自動飼育システム／
クリーンエアシステム／バイオハザード対策システム
／空調設備・排水処理システム／管理・実験機器／
施設計画コンサルティング

受託業務

微生物学的クリーニング／遺伝子改変マウスの作製
／モノクローナル抗体作製／受精卵採取・凍結処理
／凍結受精卵の供給／系統維持及び生産／各種
処置動物作出／マイクロバイオーム研究のサポート
(無菌動物・ノトバイオームマウス作製および
受託試験)／各種受託試験 他

関連業務

動物輸出入／微生物モニタリング／遺伝子モニタリング
／各種データ／情報サービス

業務提携

Physiogenex社(仏)：代謝性疾患領域に特化した薬効
薬理試験受託サービス

* This substrain is at least (a number-20 by definition) generations
removed from the originating JAX® mice strain and has NOT been
re-infused with pedigree stock from The Jackson Laboratory.



日本クレア株式会社

www.CLEA-Japan.com

[動物・飼料のご注文先: AD受注センター TEL.03-5704-7123]

東京 A D 部	〒153-8533	東京都目黒区東山1-2-7	TEL.03-5704-7050
大阪 A D 部	〒564-0053	大阪府吹田市江の木町6-5	TEL.06-4861-7101
東京 器材部	〒153-8533	東京都目黒区東山1-2-7	TEL.03-5704-7600
大阪 器材部	〒564-0053	大阪府吹田市江の木町6-5	TEL.06-4861-7105
札幌出張所	〒063-0849	北海道札幌市西区八軒九条西10-4-28	TEL.011-631-2725
仙台出張所	〒983-0014	宮城県仙台市宮城野区高砂1-30-24	TEL.022-352-4417
名古屋出張所	〒465-0093	愛知県名古屋市中区東一社3-79	TEL.052-715-7580

私たちは、生命科学発展のサポートを通じて
人々の幸せと社会に貢献してまいります

科学性と動物福祉の両立を目指した
品質管理と実験管理
日本実験動物協会福祉認証取得施設

実験動物生産・供給

- **SPFウサギ (SPF項目 8項目)**
Kbl:JW(日本白色種)
Kbl:NZW(ニュージーランドホワイト種)
Kbl:Dutch(タッチ種)
- **Healthyウサギ (SPF項目 6項目)**
Kbs:JW(日本白色種)
Kbs:NZW(ニュージーランドホワイト種)
- **実験用イヌ** TOYO Beagle
- **実験用ネコ** Narc:Catus

バイオ関連支援サービス

- 広範囲な動物実験関連業務を代行します
 - 非GLP試験
 - 実験動物長短期飼育
 - 変異型ロドプシンTgウサギ(有色・白色)
 - 各種Tgウサギ作製
 - 担癌マウス作製
- ポリクローナル抗体作製 ● 抗体精製
- モノクローナル抗体作製
- 細胞培養・凍結保存
- GMP対応試験
 - 発熱性物質試験
 - 細胞毒性試験
 - 急性毒性試験
 - 抗原性試験
 - 溶血性試験
- 微生物検査代行(動物・検査セット)



北山ラベス株式会社

Laboratory Animals Breeding & Equipment Supply

〒396-0025 長野県伊那市荒井3052番地 1

TEL.0265-78-8115 FAX.0265-78-8885

LabDiet®
Your work is worth it.®

PicoLab® シリーズ

海外の施設で使用される飼料をあなたの動物へ



SUMMARY OF
IRRADIATED RODENT DIETS

アメリカ合衆国含め世界で販売増加
日本でも人気のLabDiet®製品です!

※本製品はガンマ線照射済飼料です。
※比較のリーズナブルな価格でご購入いただけます。

- ✓ 海外の研究で使用されている飼料と同じ飼料を使いたい
- ✓ 海外の施設との共同研究で、使用する飼料を合わせたい
- ✓ 世界で実績のある飼料を使いたい

日本
総代理店



SLC

日本エス エル シー株式会社

〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371-8
TEL(053)486-3178代 FAX(053)486-3156 <http://www.jslc.co.jp/>

ご注文はこちら

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)

SLCの実験動物



マウス

●アウトブリード

Slc: ddY

☆ Slc: ICR

●インブリード

DBA/1JmsSlc(コラーゲン薬物誘導関節炎)

BALB/cCrSlc

C57BL/6NcrSlc C57BL/6JmsSlc

C3H/HeSlc

C3H/HeNSlc

C3H/HeJYokSlc

DBA/2CrSlc

NZW/NSlc

A/JmsSlc

AKR/NSlc

NC/NgaSlc(薬物・アレルギー誘導アトピー性皮膚炎)

CBA/NSlc

129x1/SvJmsSlc

●B10コンジュニク

C57BL/10SnSlc

B10.A/SgSnSlc B10.BR/SgSnSlc

B10.D2/nSgSnSlc B10.S/SgSlc

●ハイブリッド

B6D2F1/Slc(Slc:CBDF1)

CB6F1/Slc(Slc:CBF1)

CD2F1/Slc(Slc:CBDF1)

B6C3F1/Slc(Slc:B6C3F1)

※上記以外の系統については御相談ください。

●ヌードマウス(ミュータント系)

BALB/cSlc-*nu*(*Foxn1*⁰)

KSN/Slc(*Foxn1*⁰)

●疾患モデル

BXSB/MpJmsSlc-*Yaa* (自己免疫疾患)

C3H/HeJmsSlc-*lpr* (自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

C57BL/6JmsSlc-*lpr* (自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

MRL/MpJmsSlc-*lpr* (自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

NZB/NSlc (自己免疫疾患)

NZBWF1/Slc (自己免疫疾患)

WBB6F1/Ka-Km⁺/Slc(肥満細胞欠損貧血-*Kit*^W/Kit^W)

NC/Nga(皮膚炎)

☆ Hos: HR-1(ヘアレスマウス)

☆ Hos: HRM-2(メラニン保有ヘアレスマウス)

★ SAMR1/TaSlc(SAMP系対照動物)

★ SAMP1/SkSlc(老化/アミロイド症)

★ SAMP6/TaSlc(老年性白内障症)

★ SAMP8/TaSlc(学習記憶障害)

★ SAMP10/TaSlc(脳萎縮-うつ様行動)

★ SAMP10-ΔSglt2

(SGLT2変異による腎性糖尿・脳萎縮を伴う学習記憶障害-うつ様行動)

★ AKITA/Slc(糖尿病)

★ T5OD(2型糖尿病)

★ C57BL/6JHmSlc-*ob/ob*(肥満-2型糖尿病-*Lepr*^{ob})

★ C57BLKS/Ja-*Lepr*^{ob}/HmSlc(肥満-2型糖尿病-*Lepr*^{ob})

★ NSY/Hos(2型糖尿病)

★ Daruma(肥満)

★ HIGA/NscSlc(1gA腎症)

★ B6.KOR/SnSlc-Apoe^{-/-}(アポE欠損高脂血症-Apoe^{-/-})

★ C.KOR/SnSlc-Apoe^{-/-}(アポE欠損高脂血症-Apoe^{-/-})

★ C.KOR/SnSlc-*Traf3*^{Δp2-Δp2}(アポE欠損高脂血症-Apoe^{-/-})

ラット

●アウトブリード

Slc: SD

Slc: Wistar

Slc: Wistar/ST

Hos: Donnyu

☆ lar: Wistar(Wistar-Kyoto)

☆ lar: Long-Evans

●インブリード

F344/NSlc

WKHA/HkmSlc

BN/SsSlc

DA/Slc(薬物誘導性関節炎)

LEW/SsSlc(薬物誘導性関節炎)

●ヌードラット(ミュータント)

Slc: Long-Evans-*nu/nu*

●疾患モデル

★ SHR/ltm(高血圧)

★ SHRSP/ltm(脳卒中)

★ WKY/ltm(SHR/ltmのコントロール)

★ SHRSP5/Dmcr(NASHモデル【HFC飼料給餌】)

★ SHRSP/Ezo(AD/HD)

DS/EsSlc(食塩感受性高血圧症)

DIR/EsSlc(食塩感受性高血圧症)

Slc: Zucker-fa/faf(肥満-*Lepr*^{fa})

☆ Hos: ZFDM-*Lepr*^{fa}(糖尿病-肥満)

HWY/Slc(ヘアレスラット)

☆ Hos: OLETF(2型糖尿病)

☆ Hos: LETO(OLETFのコントロール)

モルモット

●アウトブリード

Slc: Hartley

ウサギ

●アウトブリード

Slc: JW/CSK

Slc: NZW

ハムスター

●アウトブリード

Slc: Syrian

●疾患モデル

J2N-k(心臓症モデル)

J2N-n(J2N-kのコントロール)

スナネズミ

●インブリード

MON/Jms/GbsSlc

無菌動物

F344/NSlc(GF)

☆ Tst: C57BL/6Ncr

ENVIGO(旧ハランOEM生物動物)

●アウトブリードラット

RocHan® WIST

●インブリードマウス

CBA/CaOlaHsd

●免疫不全マウス

C.B-17/1crHsd-*Prkdc*^{scid}

遺伝子改変動物

■アルツハイマー病モデル(認知症関連モデル)

★ APP^{PS2}-Tg[C57BL/6-Tg(APP^{PS2})](認知症モデル)

★ Tau⁶⁰⁹-Tg[C57BL/6-Tg(Tau⁶⁰⁹)](認知症モデル)

★ Tau⁷⁸⁴-Tg[C57BL/6-Tg(Tau⁷⁸⁴)](認知症モデル)

★ APP^{wt}-Tg[C57BL/6-Tg(APP^{wt})](ApoEの対照動物)

★ Tau²⁶⁴-Tg[C57BL/6-Tg(Tau²⁶⁴)](Tau⁶⁰⁹, Tau⁷⁸⁴の対照動物)

—ノックインマウス—

★ OSK-KI[C57BL/6-Tg(OSK-KI)](認知症モデル)

■EGFPモデル

●マウス

C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)(グリーンマウス)

●ヌードマウス

C57BL/6-BALB/c-*nu/nu*-EGFP(EGFP全身発現ヌードマウス)

●ラット

SD-Tg(CAG-EGFP)(グリーンラット)

gpt deltaモデル

●マウス

C57BL/6JmsSlc-Tg(*gpt* delta)

●ラット

F344/NSlc-Tg(*gpt* delta)

その他(クリーン動物)

●医薬用ベビーブタ SHIZUOKA EXPIG

☆静岡県畜産技術研究所小家畜センター

その他(conventional動物)

●ビーグル犬

☆国内繁殖生産(一財)動物繁殖研究所]

●マイクロミニピグ

☆国内繁殖生産(富士マイクラ株式会社)

●ミニブタ

☆国内繁殖生産

[日生研株式会社-NPO法人 医用ミニブタ研究所]

●フェレット

☆国内繁殖生産(中伊豆支所)

●モモンマーモセット

☆国内繁殖生産(中伊豆支所)

受注生産動物

マウス

●疾患モデル

C57BL/6 JHmSlc-*hgh*(NK細胞活性低下)

CTS/Shi(免疫不全-白内障)(NZW×BXSB)F1/Slc(黒斑症)

ラット

●インブリード

ACI/NSlc

●疾患モデル

GK/Slc(2型糖尿病)

FH/HamSlc(脳内セロトニン系の機能不全)

★ F344/NSlc-Apoe^{-/-}(大腸癌易発症)

Gunn/Slc-jj(高ビリルビン血症)

モルモット

●アウトブリード

Hos: Weiser-Maples(メラニン保有)

ウサギ

●アウトブリード

Slc: UWF-NIBS(ヘアレス)

★印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。



日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371-8
TEL(053)486-3178代 FAX(053)486-3156
<http://www.jslc.co.jp/>

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)



動物販売



試薬販売



動物輸送



飼育・管理



微生物検査

鳥栖（佐賀県）、熊本（熊本県）、筑波（茨城県）



KYUDO CO., LTD.
九動株式会社



E-mail: web_req@kyudo.co.jp

URL: http://www.kyudo.co.jp/

確かな実験データは 確実なチェックから・・・

スピーディ

スムーズ

高感度



- 抗体検出感度に優れ、特異性、再現性が高く、どのような場所でも簡便に検査ができ、in-house モニタリングに最適です。
- 酵素標識物として、プロテインAを使用していますので、同一試薬で、マウス・モルモット・ウサギ・ハムスターの抗体検査ができます。

ELISAによる実験動物の感染症診断キット

モニライザ®

MONILISA®

- モニライザ® IVA**(96ウェル)
HVJ,MHV/SDAV, *M.pulmonis*, Tyzzer菌抗体検査用
- モニライザ® HVJ**(96ウェル)
HVJ抗体検査用
- モニライザ® MHV**(96ウェル)
MHV/SDAV抗体検査用
- モニライザ® Myco**(96ウェル)
M.pulmonis 抗体検査用
- モニライザ® Tyzzer**(96ウェル)
Tyzzer菌抗体検査用
- モニライザ® HANTA**(48ウェル)
Hantavirus抗体検査用

公益財団法人 実験動物中央研究所
頒布元 ICLAS モニタリングセンター

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町3丁目25番12号
TEL.044-201-8525 FAX.044-201-8526

製造
販売元



わがもと製薬株式会社

〒103-8330 東京都中央区日本橋本町二丁目2番2号
TEL.03-3279-0381 FAX.03-3279-1271

2019.3

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー



動物実験総合支援事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <https://www.kacnet.co.jp/>

Seiwa の Washing Systems

<http://www.seiwa-sangyo.co.jp>



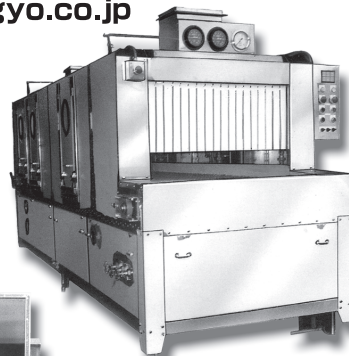
マウスからウサギまで。ケージの
最大サイズに合わせて4種類

ロータリーワッシャー

RTS-150型 RTS-2200型
RTS-180型 RTS-2400型

精密回転ノズルで完璧洗浄

ボトルワッシャー



ケージの大型化に対応。ご要望に
応じた豊富な種類、オプション

ケージワッシャー

ロボット導入により洗浄作業を省力化!

ケージ自動洗浄システム

汚れのはげしい容器の洗浄に

ブラシクリーナー

SB-4RF型

その他の製品／ラックワッシャー・バブリング水槽・床敷定量供給装置



洗浄システム並びに周辺機器メーカー
清和産業株式会社

本社・江戸川工場
〒132-0033 東京都江戸川区東小松川 4-57-7
電話：03-3654-4151 (代表) FAX：03-3654-4155



気管内噴霧スプレーシリーズ

- KN-34700-1 マウス用
- KN-34700-2 マウス、ラット、モルモット用
- KN-34700-3 マーモセット用
- KN-34700-4 ラット、モルモット用
- KN-34700-5 マーモセット、ウサギ用
- KN-34700-6 カニクイザル用

気管内にウイルスや薬液を噴霧するときに使用するスプレーです。



ライフサイエンスの未来と共に
株式会社 夏目製佐所
<https://www.nazme.co.jp>



東京本社
〒113-8551 東京都文京区湯島 2-18-6
TEL : 03-3813-3251
FAX : 03-3815-2002

大阪支社
〒561-0811 大阪府豊中市若竹町 1-9-1
TEL : 06-6398-7177
FAX : 06-6398-7178



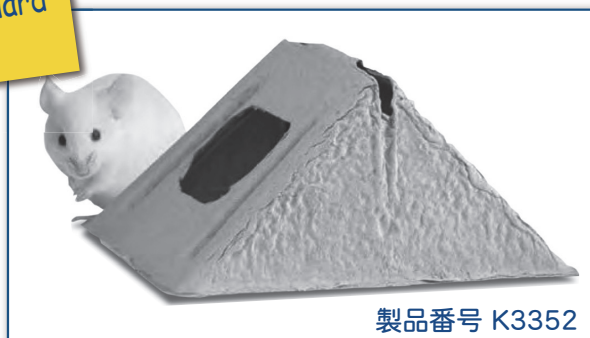
The Industry Standard
Just Got Better!

- オートクレーブにかけられます。
- アクリルアミドを含みません。
- 汚染物質検査済。
- GLP適合原料
- 2 方が開いているので観察がしやすい。
- 簡単に割れて Half Hut が 2 個になる。

Bio-HutsTM

CERTIFIED

初めてのマウス用検定済みペーパーハット



製品番号 K3352

お問い合わせとご用命は.....

●製造元：.....

Bio Serv[®]
Delivering Solutions[™]
◆ Nutritional ◆ Enrichment ◆ Medicated ◆ Special Needs
www.bio-serv.com

●輸入元：.....

Animec 株式会社 アニメック

〒183-0031 東京都府中市西府町3-17-4 Tel: 042-333-7531 Fax: 042-333-0602

アニメックの製品

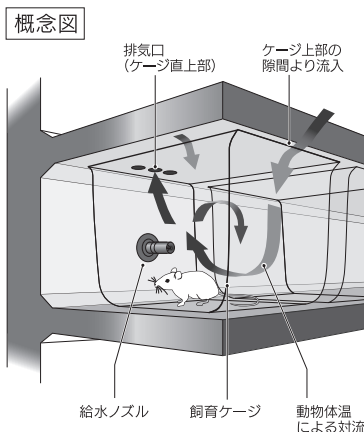
検索

URL: <http://animec-tokyo.sakura.ne.jp>
E-mail: animec@theia.ocn.ne.jp

実験動物飼育ラック アイラックシステム

Novel One Way Air Flow Rearing Equipment 〈iRack System〉

「アイラックシステム」とは、オープンラックの「易操作性」と、IVCのような「安全性」を同時に兼ね備えた実験動物飼育ラックです。



オープンラック

IVC Individual Ventilation Cage

アイラックシステム

操作しやすい! 安全! 省エネ!
よごれにくい! 感染リスクが少ない!

●環境面の向上

安定した一方向気流により、アレルギー・感染リスク・臭気の低減、実験精度の向上、動物福祉の向上が可能。

●操作性の向上

ラック前面に扉などがなく、ケージの操作性や清掃性が向上。

●ランニングコスト削減

さらに小排気風量(当社比30~60%)で、外気負荷・搬送動力エネルギーを削減。

構造と特長

ケージ個別換気方式の採用

高度な一方向気流の形成

遮蔽物がなくケージの出し入れが容易に

良好な気流による均一な温度分布

床敷交換の削減が可能に

メンテナンスも容易に

ダイダン株式会社

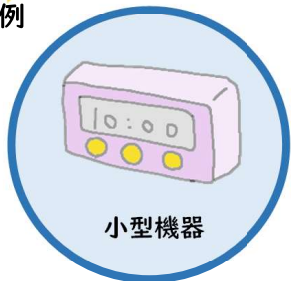
<https://www.daidan.co.jp/>

二酸化塩素ガス発生デバイス HaLu-R (即効型)

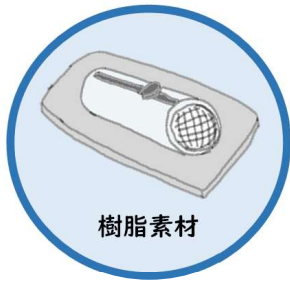


HaLu-Rはスティックを折るだけで、短時間で高濃度の二酸化塩素ガスを放出させることができます。これまでオートクレーブやアルコールに適さず十分な殺菌を行えなかった器材に対し、高水準な除菌が実現可能です。

用途例



小型機器



樹脂素材



紙類

※詳細はお問い合わせください



ハムリー株式会社

<https://www.hamri.co.jp>



お問い合わせ

本社営業所	TEL 0280-76-4477	E-Mail hb@hamri.co.jp
東京営業所	TEL 048-650-4477	E-Mail tb@hamri.co.jp
大阪営業所	TEL 06-6306-4477	E-Mail ob@hamri.co.jp

※第70回日本実験動物学会総会（つくば大会）に展示します

マーモセット用 ICU (O₂ 保温ケージ)

Marmos B

マーモス スリー



- ・暖房温度設定 (環境温度～38℃)※冷房機能無
- ・酸素濃度設定 (21%～50%)
- ・殺菌ランプ内蔵 (ON / OFF)
- ・換気モード (ON: 定周期換気、OFF: 換気ハッチ常時閉)

S1/2 タイプ 外寸: W630×D680×H760mm
 内寸: W566×D650×H566mm

※ケージごと収容可能な L1/2 タイプ (内寸: W566×D650×H776) も御座います。

マーモセットの術後回復、体調管理に！

Menix 株式会社 **東京メニックス**

〒359-1141 埼玉県所沢市小手指町 2-1442-8
<https://www.t-menix.com>



website



本体: S1/2 タイプ
マルチハンガー、専用ラック (キャスター付き) はオプション