

実験動物 ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science

目 次

学会からのお知らせ

第3回実験動物管理者研修会の開催	1
平成26年度維持会員懇談会の開催	1
第27回日本実験動物学会賞受賞者の決定	1
第64回日本実験動物学会総会大会長と開催地の決定	1
第4回実験動物管理者研修会の開催について	2
第62回日本実験動物学会総会のご案内（その2）	3

実験動物感染症の現状

センダイウイルス (Sendai virus: HVJ)	4
------------------------------------	---

他学会情報	7
-------------	---

Experimental Animals 64(1) 収載論文和文要約集	8
--	---

日本実験動物学会正会員名簿の変更一覧	i
--------------------------	---

維持会員名簿	iii
--------------	-----

編集後記	v
------------	---

Vol. 64 No. 1 / January 2015

日本実験動物学会からのお知らせ

1. 第3回実験動物管理者研修会の開催

環境省，厚生労働省，農林水産省，文部科学省の後援をいただき平成26年9月19日（金）～20日（土）に京都府立医科大学図書館ホール（京都市上京区広小路通河原町西入）において第3回実験動物管理者研修会を開催しました。総参加者は154名（会員39名，維持会員団体職員52名，非会員63名）で，アンケートにお答えいただいた参加者129名のうち125名の方からは研修講義は参考になったとの評価をいただきました。

2. 平成26年度維持会員懇談会の開催

平成26年11月21日（金）午後1時より中央大学駿河台記念館（東京都千代田区神田駿河台）において，平成26年度維持会員懇談会を開催しました。講演会では早稲田大学柴田重信先生による特別講演「体内時計を基盤にした動物実験の実施について」に続いて，維持会員3社から「動物実験を取り巻く施設，器材，技術の新潮流」についての話題提供がなされました。今回は維持会員団体職員のみならず一般の方も加えて，講演会には95名，意見交換会には57名に参加していただき，活発な討論と意見交換を行い盛会裏に終了しました。

3. 第27回日本実験動物学会賞受賞者の決定

学会賞（安東・田嶋賞，奨励賞）選考委員会は平成26年10月17日（金），功労賞諮問委員会は平成26年10月22日（水）に開催されました。各委員会からの選考結果および答申をもとに第2回理事会にて審議され，以下の受賞者が決定しました。

安東・田嶋賞：伊藤 守 会員（公益財団法人実験動物中央研究所）
「ヒト化マウス創出をめざした免疫不全マウスの開発研究」

奨 励 賞：香月康宏 会員（鳥取大学染色体工学研究センター）
「染色体工学技術を用いた新規トランスクリプトミクス動物作製システム開発」
吉見一人 会員（京都大学医学研究科附属動物実験施設）
「ゲノム編集技術を用いた遺伝子改変ラットの開発研究」

功 勞 賞：関口富士男 会員（株式会社 ハムリー）

4. 第64回日本実験動物学会総会大会長と開催地の決定

第64回日本実験動物学会総会は大和田一雄大会長（ふくしま医療機器産業推進機構）のもと，平成29年5月にビッグパレットふくしま（福島県郡山市）において開催されることが決定しました。

第4回実験動物管理者研修会の開催について

実験動物管理者研修制度ワーキンググループ

委員長 久和 茂

(公社)日本実験動物学会(以下、本学会)では動物実験を実施する国内の全ての機関に教育訓練を受けた実験動物管理者を配置できるよう、実験動物管理者の教育訓練を目的とした研修会を昨年度より定期的に開催しています。受講対象者は本事業の目的から本学会会員に限らず、非会員にも門戸を開放しております。実験動物管理者に求められる基本的な知識や技術をはじめ、動物福祉や関連法令などについて初学者でも解るように解説いたします。プログラム、参加申し込み等については12月下旬に本学会のホームページ(<http://jalas.jp/meeting/seminar.html>)に掲載いたしますので、そちらでご確認ください。多くの方のご参加をお待ちしております。

日 時：平成27年3月2日(月)～3日(火)

会 場：国立感染症研究所戸山庁舎第一会議室

参加費：4,000円(会員)、5,000円(非会員である維持会員団体職員)、6,000円(非会員)

定 員：110名

その他：受講者には資料を配布、受講修了証を発行

主 催：(公社)日本実験動物学会

後 援：環境省、厚生労働省、農林水産省、文部科学省

第62回日本実験動物学会総会のご案内（その2）

The 62nd Annual Meeting of the Japanese Association for Laboratory Animal Science

テーマ：「社会に貢献する動物実験」

大会長：喜多正和

（京都府立医科大学大学院医学研究科
教授）

会期：平成27年5月28日（木）～30日（土）

会場：京都テルサ（京都府民総合交流プラザ）
〒601-8047
京都市南区東九条下殿田町70番地

プログラム案

特別講演

高橋 淳 先生

（京都大学iPS細胞研究所 副所長）

「再生医療の最前線」

シンポジウム

S1 「製薬企業に対する第三者認証機関のあり方」

（製薬協企画）

S2 「感染症の予防と治療に貢献する動物実験」

（JALAS実験動物感染症対策委員会企画）

S3 「ゲノム編集が導く実験動物学のパラダイムシフト」

（JALAS学術集会委員会企画）

S4 「動物福祉（3R）に貢献している動物実験」

（JALAS動物福祉・倫理委員会企画）

S5 「動物園でのサイエンス」

（大会プログラム委員会企画）

S6 「動物実験に関連する最近の話題」

（大会委員会企画）

ワークショップ

W1 「実験動物における生殖技術最前線」

W2 「まるごとゼブラー実験動物としてのゼブラ
フィッシュ」

W3 「研究者と技術者が支える実験動物科学
の柱を再考する」

（実技協企画）

口頭発表およびポスター発表

5月28日（木）～30日（土）

LASセミナー

開催予定

ランチョンセミナー

5月28日（木）～30日（土）開催予定

機材展示

5月28日（木）～30日（土）開催予定

ホスピタリティルーム

5月28日（木）～30日（土）

懇親会

5月29日（金）18:00～20:00開催予定

（京都テルサ第1会場）

参加費

事前登録：学会会員 10,000円

非会員 12,000円

学生 6,000円

当日登録：学会会員 12,000円

非会員 14,000円

学生 8,000円

懇親会費

事前登録：8,000円

当日登録：10,000円

大会事務局

京都府立医科大学大学院医学研究科

実験動物センター内

第62回日本実験動物学会総会事務局

酒井ゆうこ

〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路

梶井町465

TEL/FAX: 075-251-5383

E-mail: jalas62@koto.kpu-m.ac.jp

大会ホームページ

<http://www.ipec-pub.co.jp/62jalas/>

センダイウイルス (Sendai virus: HVJ)

山田 靖子

国立感染症研究所 動物管理室

要 約

センダイウイルスは多くの動物種で呼吸器感染症を引き起こすウイルスである。マウスの感受性が高く、伝播力が非常に強いので、汚染コロニー内の感染率は非常に高くなる。SPF動物が普及する以前はマウスの感染症で最も恐れなければならない病原体であった。SPF動物が普及し、また、センダイウイルスの感染がマウスの症状から容易に判断でき、また感染が一過性で抗体が産生されると体内から消失するため、クリーニングが容易であることから、近年ではセンダイウイルスの汚染は激減している。同じくマウスの感染症を引き起こすマウス肝炎ウイルスは現在でも汚染が発生するのに対して、センダイウイルスは過去の感染症になりつつある。ただし、宿主域が広いのでマウス、ラット以外の小動物を同じ飼育施設に導入する場合には注意を要するし、接種材料がセンダイウイルスに汚染していた事例もあるので接種材料の由来にも注意が必要である。

1. ウイルス

センダイウイルスはパラミクソウイルス科に属するエンベロープを有するRNAウイルスである。別名をマウスパラインフルエンザウイルスI型あるいはHVJ (Hemagglutinating Virus of Japan) と呼ばれる。この名が示すように、日本で発見されたウイルスである。ヒト、モルモット、ニワトリ赤血球を凝集する赤血球凝集能を有する。発育鶏卵あるいは初代発育鶏卵細胞やLLC-MK2細胞などヒト、ウシ、サル由来の培養細胞で増殖する。培養細胞での増殖には培地中にトリプシンを添加する必要がある。エーテル、クロロホルム、ホルムアルデヒド、界面活性剤や加熱で不活化される。

2. 宿主・病態

本ウイルスの宿主域は広く、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、フェレット、マーモセットなどの感受性が知られている。

本ウイルスは鼻汁とともに体外に排出される。感染動物との直接接触、あるいは鼻汁で汚染した飼育器具や飼育者の手指による間接触により経鼻感染する。感受性の最も高いマウスでは、感染後2～3日で摂餌・摂水量の減少、立毛、呼吸困難等の症状を示し、異常呼吸音を発するが、鼻汁排出は顕著で

はない。感染後1週間から10日以内に死亡するか、耐過した動物は治癒する。若齢動物、特に乳仔は高い死亡率を示す。成熟マウスでは不顕性感染が多い。

肺病変は感染初期に充出血、極期に赤色肝変化、修復期に灰色肝変化や瘢痕収縮による線状病変を示す。最終的には完全に修復するか、修復不能な肺葉の萎縮と他肺葉の代償性肥大が観察される。

通常のマウスでは感染は一過性であるが、ヌードマウスなど免疫不全マウスでは例外的に持続感染し、慢性の経過をたどって消耗病wasting syndromeを呈し、死亡する。繁殖コロニーの汚染事例では喰殺、発育不良、妊娠率の低下など、生産効率の低下が観察される。マウスの系統により感受性が異なる。

ラットではマウスと同様の症状を示すが、感受性が低いため無症状のものが多い。ナキウサギ、マーモセットで呼吸器病に起因する死亡が認められている。モルモット、ハムスター、ウサギなどでは感染は通常不顕性であるが、ウイルスは異種動物間でも容易に伝播し、マウスやラットへの感染源となりうるので注意を要する。

伝播力が非常に強いので、感染防御が考慮されていないマウスやラットの飼育施設に本病が発生すると、短期間に大半の個体が感染する。血清抗体は感染1週間には検出され始め、生涯にわたって強い免疫能が付与される。抗体が産生されると体内からウイルスは消失する。最終的にほとんど全ての動物が

免疫を獲得すると、流行は終息する。しかし、免疫を獲得した動物が減少し、免疫を持たない動物が増えるに伴い、再び外部から新たに持ち込まれるウイルスによって流行が起る危険性が大きくなる。

3. 診断

本ウイルスはマウス、ラットへの伝播性が強く、本病に新たに汚染された施設では動物の異常呼吸音や全身状態の悪化および死亡、繁殖成績の低下を招き、さらに肺病変も見出されるため、症状と剖検成績からだけでも概ね推測できるが、確定診断は不可欠である。診断法には、ウイルス分離、抗体検査がある。

①ウイルス分離

ウイルス分離は充血期あるいは赤色肝変期の肺をPBSで10～50倍にした乳剤を用い、発育鶏卵羊膜腔に接種して、ウイルスを分離する。病理組織学的には感染初期の気管や気管上皮細胞内のウイルス抗原を蛍光抗体法や免疫染色法で検出する。本病の経過は一過性であるので、ウイルスの検出は感染後1週間以内の材料でのみ可能である。ウイルス検出を実施するためには封じ込めが必要であり、実施可能な施設は限られる。

②抗体検査

検査方法として、酵素抗体法（ELISA法）が高感度であり、一般的である。ELISAキットは2社から市販されており、また市販のCF用抗原をELISA抗原として用いて自家検査をすることも可能である。また、センダイウイルスには赤血球凝集能があるので、赤血球凝集抑制反応（HI法）が摘要できる。補体結合反応（CF法）の抗原も市販されている。また感染LLC-MK2細胞を抗原とした間接蛍光抗体法（IFA）による抗体検査も実施されている。

ELISAによる抗体検査において、パラインフルエンザウイルスとの交差反応でセンダイウイルス陽性と診断された事例があった。事例では、モルモットでセンダイウイルスに対するELISAが陽性と出たため、HI法あるいはIFA法を用いた抗体検査を実施して、センダイウイルスの汚染ではなく、パラインフルエンザウイルス3型の感染であることを確認した。遺伝子解析により、モルモットから分離されたパラインフルエンザウイルス3型はヒトのパラインフルエンザウイルス3型に近縁であったため、従事者から実験動物へ侵入した可能性が示唆された。

4. 感染経路

汚染動物の施設への導入に関して、近年はマウスやラットでは微生物モニタリングや施設に導入する際の事前チェックで、十分に汚染の有無が確認されている。本ウイルスは宿主域が広いので、その他の実験動物が汚染している可能性は否定できない。

センダイウイルスに汚染した接種材料から、マウスコロニーがセンダイウイルスに汚染した事例も報告されている。まだSPF動物が普及する前に作成された接種材料を用いる場合は、PCR法などによって汚染の有無を確認することが勧められる。

5. 汚染に対する対応

呼吸器感染であり、伝播が急速であるため、汚染が発覚した場合は施設内の動物を安楽死処分することが一般的に勧められている。ただし、近年、さまざまな飼育装置が開発されているので、汚染動物を封じ込める設備が整い、管理運営体制が十分に整備されている施設ではセンダイウイルスでも汚染を封じ込めることが可能であろう。全動物を安楽死処分するか、封じ込め対策を講じるか、はそれぞれの施設が自分の施設の技量を基に判断する時代になっている。

センダイウイルスではウイルスが動物間で急速に伝播すること、感染個体からウイルスが一過性で排除されることから、感染後の耐過動物を利用して汚染除去が可能とされている。全ての動物が抗体陽性となった段階で動物の新たな持ち込みと繁殖を一定期間停止し抗体陰性の動物を導入しない、あるいは抗体陽性の母獣からの移行抗体を持った仔を早期離乳させ、汚染のない施設で育成し、ウイルス汚染のない動物を作出する、などの手段が可能とされる。この方法により施設からのウイルス排除が比較的容易である。

本ウイルスの子宮内感染の報告はないので、帝王切開、受精卵の移植などによるクリーニング方法は有効である。

施設のクリーニングは、汚染動物を飼育していた装置を設置したままで行うとよい。燻蒸はもちろん有効であるが、センダイウイルスに効果のある消毒剤を、消毒剤の種類を換えて複数回行うことでも効果がある。

6. おわりに

近年はセンダイウイルスの汚染が激減しているの

で、多くの施設はセンダイウイルスによる汚染を経験していないと思われる。本稿により、センダイウイルス汚染に関して知識を習得していただければ幸いである。

参考文献

1. 藤原公策編. 1985. 実験動物感染病学. ソフトサイエンス社.
2. 本間守男. 2013. センダイウイルス (HVJ) のマウス肺病原性の機構. モダンメディア 110-116.
3. 日本実験動物協会編. 2005. 実験動物の微生物モニタリングマニュアル. アドスリー.
4. 日本実験動物学会編. 2011. 実験動物としてのマウス・ラットの感染症対策と予防. アドスリー.
5. Ohsawa, K., Yamada, A., Takeuchi, K., Watanabe, Y., Miyata, H., and Sato, H. 1998. Genetic Characterization of Parainfluenza Virus 3 Derived from Guinea Pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 60: 919-922.
6. Takimoto, K., Nakayama, K., Yabe, M., Ami, Y., Yamada, Y.K., Tamura, S., Suzuki, Y., Asano, T., and Saito, M. 1998. Contamination of Mouse-adapted Influenza Virus with Sendai Virus. *Exp. Anim.* 47: 137-140.
7. Pritchett-Corning, K.R., Cosentino, J., and Clifford, C.B. 2009. Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Lab. Anim.* 43: 165-173.
8. Zenner, L. and Regnault, J-P. 2000. Ten-year long monitoring of laboratory mouse and rats colonies in French facilities: a retrospective study. *Lab. Anim.* 34: 76-83.
9. ICLAS モニタリングセンター微生物検査結果. <http://www.iclasmonic.jp/jigyou/results/monipos.html>

他学会情報

公益社団法人日本実験動物協会の動き

- I. 日動協：教育セミナー フォーラム 2015 の開催
予定テーマ：「日動協の動物実験における情報公開の指針について」その他
 - (1) 平成 27 年 2 月 28 日（土）東京大学弥生講堂
 - (2) 平成 27 年 3 月 21 日（土）京都府立医科大学図書館ホール

- II. 平成 26 年度実験動物技術者指導員研修会
平成 27 年 3 月 1 日（日）日本獣医生命科学大学
内容：1 級実技試験の実施結果、実技研修会、指導教本等に関するグループ討議

Experimental Animals

— 和 文 要 約 —

Vol. 64, No. 1 January 2015

総説

遺伝性てんかんモデルラットにおける進歩 1-17

芹川忠夫^{1,2)}・真下知士¹⁾・庫本高志¹⁾・Birger VOIGT¹⁾・大野行弘²⁾・笹 征史³⁾

¹⁾ 京都大学医学研究科, ²⁾ 大阪薬科大学薬品作用解析学, ³⁾ 渚クリニック

てんかん研究における実験用ラットの適合性を考慮して, 我々および他の研究グループは遺伝性てんかんモデルラットを開発してきた。てんかんラットあるいは発作感受性ラットがアウトブリードストックに見つけられた場合には, 通常, そのてんかん形質は選択交配によって遺伝的に固定された。結果的に, 欠伸発作モデルのGAERSとWAG/Rij, 聴源発作モデルのGEPR-3とGEPR-9, 全般性強直間代けいれんモデルのIER, NER, WER, およびカナバン病の関連てんかんモデルのTRMとSERが樹立された。これらのてんかんモデルラットの原因遺伝子を含めて遺伝的基盤を明らかにすることは, てんかん原性の理解に向けた重要なステップであろう。遺伝子主導のエチルニトロソウレア誘発ミュータジェネシスの体系的方法によって, *Scn1a* 遺伝子にミスセンス変異をもつ熱性けいれんモデルラット (Hissラット) と *Lgi1* 遺伝子にミスセンス変異をもつ常染色体性優性側頭葉てんかんモデルラットを開発した。さらに, エチルニトロソウレア誘発ミュータントから *Kcna1* 遺伝子にミスセンス変異をもつ発作性運動失調症1型 (EA1) モデルラット, メチルニトロソウレア誘発ミュータントから *Cacna1a* 遺伝子にミスセンス変異をもつ発作性運動失調症1型 (EA2) モデルラットを, それぞれ見出して系統として確立した。このようにして, てんかんモデルラットは, “表現型から遺伝子”と“遺伝子から表現型”という2つの道程において開発されてきた。近未来においては, 高度に洗練されたゲノム編集技術の利用によって, 新規てんかんラットモデルの開発が大いに推進されるであろう。

原著

Characterization of acute phase proteins and oxidative stress response to road transportation in the dog 19–24

Francesco FAZIO¹⁾, Stefania CASELLA¹⁾, Claudia GIANNETTO¹⁾, Elisabetta GIUDICE¹⁾, and Giuseppe PICCIONE¹⁾

¹⁾Department of Veterinary Sciences, Polo Universitario Annunziata, University of Messina, 98168, Messina, Italy

Haptoglobin (Hp), serum amyloid A (SAA), C-reactive protein (CRP), white blood cells (WBC), reactive oxygen metabolites (ROMs), the antioxidant barrier (Oxy-adsorbent) and thiol groups of plasma compounds (SHp) were measured in ten dogs that had been transported a distance of about 230 km within 2 h (experimental group) and in ten dogs that had not been subjected to road transportation (control group). Blood was collected via cephalic venipuncture before road transportation (T0), after road transportation (T1), and more than 6 (T6) and 24 (T24) hours after road transportation in the experimental group (Group A) and at the same time points in the control group (Group B). The GLM (general linear model) Repeated Measures procedure showed a significant difference between the two groups ($P<0.0001$) and a significant rise ($P<0.0001$) in the concentrations of Hp, SAA, CRP, WBC, ROMs, Oxy-adsorbent and SHp after road transportation in Group A, underlining that physiological and homeostatic mechanisms are modified differently at various sampling times.

Slc:Wistar アウトブレッドラットと F344 近交系ラットの遺伝的類似性 25–29

中西 聡¹⁾・芹川忠夫^{1,2)}・庫本高志¹⁾

¹⁾京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設, ²⁾大阪薬科大学薬品作用解析学

Slc:Wistar ラットはアウトブレッドラットとして広く利用されている。しかし、成長曲線、生存率、免疫学的形質、生化学的形質などの様々な表現形質について、F344 近交系ラットとの類似性が指摘されてきた。また、遺伝学的にも、Slc:Wistar ラットと F344 ラットの類似性が指摘されている。本研究では、Slc:Wistar ラットの遺伝特性を明確にするために、27 のマイクロサテライトマーカーを用いて Slc:Wistar ラットの遺伝子型を決定し、各アレルの遺伝子頻度を算出した。そして、他の Wistar ラットならびに F344 近交系ラットと比較した。Slc:Wistar ラットでは、27 マーカーのうち 23 マーカー (85%) において、単一のアレルのみが検出され、遺伝子座が固定していると考えられた。そして、それらの遺伝子型は F344 ラットの遺伝子型と同一であった。以前の我々のデータと併せると、36 遺伝子座のうち 32 (89%) 遺伝子座が固定されており、それらの遺伝子型は F344 のものと同一であることが判明した。以上のことから、Slc:Wistar ラットと F344 近交系ラットとの遺伝的類似性が確認された。従って、Slc:Wistar ラットを用いる際は、F344 近交系との遺伝的類似性を十分に考慮する必要がある。

CRISPR/Cas9を用いた簡便なウサギチロシナーゼ遺伝子の破壊..... 31-37

本多 新^{1,2)}・廣瀬美智子²⁾・山海 直³⁾・ヤスミン ルブナ³⁾・湯澤和明³⁾・本勝希実子¹⁾・伊豆美奈¹⁾・井口 純⁴⁾・伊川正人⁵⁾・小倉淳郎²⁾

¹⁾宮崎大学テニュアトラック推進機構, ²⁾理化学研究所バイオリソースセンター,

³⁾医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター, ⁴⁾宮崎大学IR推進機構, ⁵⁾大阪大学微生物病研究所

げっ歯類以外のは乳動物における遺伝子破壊実験は、ヒト遺伝子の機能を推測する上で精度の高い指標になりうるだけでなく、ヒト疾患モデルの構築などでもその力を発揮する。我々は、clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) and CRISPR-associated (Cas) CRISPR/Cas9をコードする環状プラスミドDNAの前核期卵子注入による、ウサギチロシナーゼ遺伝子破壊の成功について報告する。本方法は*in vitro*における標的配列の切断活性評価に用いたプラスミドを直接、ウサギの受精卵に前核注入するだけで、ウサギでの遺伝子破壊を成し遂げることができる。本実験で破壊したウサギTyrosinase遺伝子はgermline transmissionし、次世代においてアルビノの表現型も確認することができた。また、オフターゲット変異や導入プラスミドのゲノムへの導入も確認されなかった。より単純で効率の良い遺伝子破壊法は、げっ歯類以外のは乳動物における橋渡し研究速度の加速に役立つだろう。

マウスにおける三種混合麻酔薬の投与経路による麻酔効果の比較と

アチパメゾールの拮抗作用について..... 39-47

桐原由美子¹⁾・武智眞由美¹⁾・黒崎 薫¹⁾・小林裕太²⁾・齊藤洋司³⁾・竹内 崇⁴⁾

¹⁾島根大学研究機構総合科学研究支援センター実験動物部門, ²⁾島根大学医学部基礎看護学講座,

³⁾島根大学医学部麻酔科学講座, ⁴⁾鳥取大学農学部共同獣医学科獣医臨床検査学分野

メedetミジン (MED), ミダゾラム (MID), ブトルファノール (BUT) の三種混合麻酔薬 (混合麻酔) は、げっ歯類の麻酔薬として使用されている。混合麻酔は、通常腹腔内 (IP) 投与されているが、他の投与経路による麻酔効果は明らかではない。よって混合麻酔を皮下 (SC), 静脈内 (IV) に投与し、IP投与と麻酔効果を比較した。混合麻酔は、アチパメゾール (ATI) 投与により麻酔から容易に回復する。ATIの投与量、投与時期による効果について検討した。MED : MID : BUTを0.3 : 4 : 5mg/kgの割合になるように混合しIP, SC, IV投与した。また、混合麻酔をIP投与10, 30分後にATI 0.3 mg/kg, あるいは1.5 mg/kgをIP投与した。麻酔スコアにより麻酔時間を測定した。投与経路により、麻酔時間に差は認められなかった。混合麻酔投与30分後にATIを投与した場合、麻酔からの回復時間に投与量による差は認められなかった。混合麻酔投与10分後では、ATI 1.5 mg/kgはATI 0.3 mg/kgと比較し、有意に早い麻酔からの回復を示した。混合麻酔のSC投与はIP投与と同等の麻酔効果が得られ、新たに投与経路として推奨される。ATIにより混合麻酔から覚醒させる場合、麻酔投与後10分以内ではATI 1.5 mg/kgの投与がより有効であることが明らかになった。

Identification of causative pathogens in mouse eyes with bacterial keratitis
by sequence analysis of 16S rDNA libraries 49–56

Hong-Yan SONG¹⁾, Bao-Feng QIU²⁾, Chun LIU¹⁾, Shun-Xing ZHU¹⁾,
Sheng-Cun WANG¹⁾, Jin MIAO¹⁾, Jing JING¹⁾, and Yi-Xiang SHAO¹⁾

¹⁾Laboratory Animal Center of Nantong University, No. 19 Qixiu Road, Chongchuan District,
Nantong, Jiangsu 226001, P. R. China

²⁾Nantong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No. 102 Chongchuan Road,
Chongchuan District, Jiangsu 226004, P. R. China

The clone library method using PCR amplification of the 16S ribosomal RNA (rRNA) gene was used to identify pathogens from corneal scrapings of C57BL/6-corneal opacity (B6-Co) mice with bacterial keratitis. All 10 samples from the eyes with bacterial keratitis showed positive PCR results. All 10 samples from the normal cornea showed negative PCR results. In all 10 PCR-positive samples, the predominant and second most predominant species accounted for 20.9 to 40.6% and 14.7 to 26.1%, respectively, of each clone library. The predominant species were *Staphylococcus lentus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus epidermidis*. The microbiota analysis detected a diverse group of microbiota in the eyes of B6-Co mice with bacterial keratitis and showed that the causative pathogens could be determined based on percentages of bacterial species in the clone libraries. The bacterial species detected in this study were mostly in accordance with results of studies on clinical bacterial keratitis in human eyes. Based on the results of our previous studies and this study, the B6-Co mouse should be considered a favorable model for studying bacterial keratitis.

マウスの注射麻酔および吸入麻酔におけるバイタルサインの評価 57–64

塚本篤士¹⁾・芹沢和也¹⁾・佐藤礼一郎²⁾・山崎淳平³⁾・猪股智夫¹⁾

¹⁾麻布大学獣医学部実験動物学研究室, ²⁾麻布大学獣医学部内科学第三研究室, ³⁾北海道大学獣医学部臨床分子生物学教室

適切な麻酔法の選択は、動物実験を適正に実施するうえで重要な要素となる。本研究ではバイタルサインを指標に、マウスにおける各種麻酔法の特性を比較した。雄ddyマウスを用い、ケタミン・キシラジン混合麻酔(K/X)、メドミジン・ミダゾラム・ブトルフェノールの三種混合麻酔(M/M/B)、ペントバルビタール単独麻酔、イソフルラン吸入麻酔の4種の麻酔法について、直腸温度、心拍数、呼吸数、動脈血酸素飽和度(SPO₂)の動態ならびに、その変動係数を比較した。また、各群において外科麻酔深度到達率を算出した。K/X群では、他の麻酔群と比較し心拍数の有意な低下を認め、さらに変動係数が最も高値を示したことから、循環器抑制が比較的強いことが示唆された。一方、呼吸数ならびにSPO₂は安定しており、呼吸抑制は軽度であると考えられる。M/M/B群では心拍数ならびにSPO₂の変動が大きかったものの、アチパメゾールの投与によって両値の速やかな回復を認めた。ペントバルビタール単独麻酔群では麻酔時におけるSPO₂の低下が顕著であり、さらに62.5%の個体で外科麻酔深度が得られなかった。イソフルラン吸入麻酔群における心拍数は4群の中で最も安定していた。呼吸数は他の注射麻酔群と比較し有意に低下したが、SPO₂が安定していたことから、1回換気量の増加により血中酸素濃度が維持されていると考えられた。本研究で得られた知見は、動物実験における麻酔選択の基礎情報として有用と考えられる。

Preventive effect of safranal against oxidative damage in aged male rat brain 65–71

Saeed SAMARGHANDIAN¹⁾, Mohsen AZIMI-NEZHAD^{1,2)}, and Fariborz SAMINI³⁾¹⁾Department of Basic Medical Sciences, Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran²⁾Department of Medical Genetics, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran³⁾Department of Neurosurgery, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

An imbalance between production of reactive oxygen species (ROS) and its elimination by antioxidant defense system in the body has been implicated for causes of aging and neurodegenerative diseases. This study was design to assess the changes in activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione -S-transferase, catalase), lipid peroxidation and reduced glutathione (GSH) levels in the brain of 2, 10 and 20 month old rats, and to determine the effect of safranal on the status of selected oxidative stress indices in the 10 and 20 month old rats. The aged rats (10 and 20 months) were given intraperitoneal injections of safranal (0.5 mg/kg day) daily for one month. The results of this study demonstrated that aging caused significant increase in the level of lipid peroxidation as well decrease in the GSH level and activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione- transferase (GST) in the brain of aging rats. The results of this study showed that safranal ameliorated the increased lipid peroxidation level as well as decreased GSH content of the brain of 10 and 20 month old rats. In addition, safranal treatment to the 20 month old rats, which restored the SOD and GST activities. In conclusion, safranal can be effective to protect susceptible aged brain from oxidative damage by increasing antioxidant defenses.

Influence of three coccidiostats on the pharmacokinetics of florfenicol in rabbits 73–79

Chun LIU¹⁾, Sheng-Jie WANG¹⁾, Qian ZHANG¹⁾, and Yi-Xiang SHAO¹⁾¹⁾Laboratory Animal Center, Nantong University, Nantong, P.R. China

In-feed Medication has been used for a long time to prevent coccidiosis, a worldwide protozoal disease in rabbits. Florfenicol (FFC) has been widely used in veterinary clinics for bacterial diseases treatment. Therefore, the use of combinations of coccidiostats with FFC in rabbits is common. In the present study, we aimed to evaluate the effect of three coccidiostats, sulfaquinoxaline (SUL), robenidine (ROB), and toltrazuril (TOL), as feed additives on the pharmacokinetic profile of FFC in rabbits. The disposition kinetics of FFC in rabbits were investigated after a single intravenous injection (25 mg/kg) in rabbits fed anticoccidial-free diets or feeds containing SUL (250 ppm), ROB (66 ppm), or TOL (2 ppm), respectively, for 20 days. Plasma FFC concentrations were determined by the high performance liquid chromatography (HPLC) method. The pharmacokinetic parameters of FFC were analyzed using a non-compartmental analysis based on the statistical moment theory. The results demonstrated that ROB feeding resulted in an obvious decrease in plasma FFC level as compared with anticoccidial-free feeding. The terminal elimination half-life ($t_{1/2z}$), area under the concentration–time curve (AUC), area under the first moment curve ($AUMC$), and mean residence time (MRT) significantly decreased, whereas the elimination rate constant (λ_z) and total body clearance (CL_z) obviously increased in rabbits pretreated with ROB. However, we did not find that SUL or TOL feeding had any effect on the pharmacokinetic profile of FFC. Our findings suggested that more attention should be paid to the use of FFC in rabbits supplemented with ROB.

Ovariectomy differential influence on some hemostatic markers of mice and rats 81–89

Cristina LEMINI¹⁾, Ruth JAIMEZ¹⁾, Alejandra FIGUEROA¹⁾, Lucía MARTINEZ-MOTA²⁾,
María Estela AVILA¹⁾, and Martha MEDINA¹⁾

¹⁾Facultad de Medicina, Departamento de Farmacología, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, CP 04510, México D.F., México

²⁾Laboratorio de Farmacología Conductual, Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Calzada México-Xochimilco 101, Col. San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, CP 14370, México D.F., México

Rodent ovariectomy is an experimental method to eliminate the main source of sexual steroids. This work explored for the first time the ovariectomy temporal changes induced in the hemostatic coagulation markers: prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), thrombin time (TT), and fibrinogen concentration (FIB) along with uterine weight on adult female CD1 mice and Wistar rats. Uterine weight (Uw) was assessed before ovariectomy (control), and 1, 3, 5, 7, 9, 16, and 21 days after surgery. PT, aPTT, TT and FIB were estimated the same days, using reported standard techniques. Ovariectomy decreased Uw, since day 1; and from day 10 to 21 reached the lowest values for both species. After day 1, mice hemostatic parameters changed (PT +10%, $P<0.05$; aPTT +53%, $P<0.05$; TT -24%, $P<0.05$; FIB +67%, $P<0.05$). Rats showed significant changes only in TT and FIB (TT -13%, $P<0.001$; FIB +65%, $P<0.001$). Neither mice PT, aPTT and TT, recovered control values after 21 days. In the rats from day 5 to 16 aPTT diminished (18–23%, $P<0.05$) recovering to control values on day 21, TT after 9 days and PT on day 16. In both species, FIB returned to its control values after 9 days. Ovariectomy differentially altered the PT hemostatic parameter of mice and rats indicating a non-equivalence among both species behaviour for experimental studies of blood coagulation.

C57BL/6N 亜系統特異的 SNP マーカーの整備 91–100

目加田和之・廣瀬真由・村上亜弓・吉木 淳

理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室

C57BL/6N 亜系統は、国際的なノックアウトマウス作出プロジェクトでの遺伝背景として利用されている。現在、世界各地で C57BL/6N の異なる亜系統が利用されているが、その遺伝的相違性についてはほとんど検証されていない。そこで、我々は、C57BL/6N 系統を用いたゲノム塩基配列のリシーケンス解析により得られた塩基配列情報を利用して C57BL/6N 亜系統特異的な SNP の探索を行い、遺伝モニタリングに有用な SNP の選択を行った。C57BL/6NJ と C57BL/6J の塩基配列情報 (The Wellcome Trust Sanger Institute) の比較データから高信頼度判定された SNP 遺伝子座を抽出し、12 種類の近交系との多型頻度を調べることで、1,361 個の C57BL/6N 特異的なアレル候補を選別した。実際のマウスゲノム DNA を用いてダイレクトシーケンスによりそれらの遺伝子型を確定した。多型性が確認できた 10 個のアミノ酸置換を伴う SNP を含む 277 個の SNP アレルから、Y 染色体を除く染色体領域に均等に配置されるよう遺伝子座の選定を行い、100 カ所の SNP マーカーとして整備した。これらのマーカーセットを用いて、国内外から入手した 11 種類の C57BL/6N を由来とする亜系統の遺伝子型を判定したところ、亜系統間の多型を検出することができた。これらの SNP 情報は、C57BL/6N 亜系統間の詳細な遺伝的プロファイリングを可能とし、C57BL/6N を背景とする系統の高度な遺伝背景統御に有用なツールとなることが期待される。

維持会員（五十音順）（89社）

（平成26年11月30日現在）

会 員 名	〒	住 所
(株) IHI	135-8710	東京都江東区豊洲3-1-1
(株) アイセイ	594-1151	大阪府和泉市唐国町1-6-1
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)	108-8532	東京都港区芝浦2-5-1
アステラスリサーチテクノロジー(株)	532-8514	大阪府大阪市淀川区加島2-1-6
(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
(株) イナリサーチ	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188
エーザイ(株)	300-2635	茨城県つくば市東光台5-1-3
(株) LSIメディエンス	314-0255	茨城県神栖市砂山14-1
EPS益新(株) LSG事業部	162-0821	東京都新宿区津久戸町1-8 神楽坂AKビル8F
(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)	913-0032	福井県坂井市三国町山岸50-10
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
(一財) 化学及血清療法研究所	869-1298	熊本県菊池市旭志川辺1314-1
科研製薬(株)	426-8646	静岡県藤枝市源助301
鹿島建設(株)	107-0052	東京都港区赤坂6-5-11
北里第一三共ワクチン(株)	364-0026	埼玉県北本市荒井6-111
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
協和発酵キリン(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
クミアイ化学工業(株)	439-0031	静岡県菊川市加茂3360
(株) クレハ	169-8503	東京都新宿区百人町3-26-2
(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
興和(株)	189-0022	東京都東村山市野口町2-17-43
(株) コーサー研究所	174-0051	東京都板橋区小豆沢1-18-4
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
(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
シオノギ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
清水建設(株)	104-0031	東京都中央区京橋2-16-1 8階
昭和セラミックス(株)	486-0934	愛知県春日井市長塚町1-1-9

会 員 名	〒	住 所
(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
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	542-0066	大阪府大阪市中央区瓦屋町2-11-16
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
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
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
田辺三菱製薬(株) かずさ事業所	292-0818	千葉県木更津市かずさ鎌足1-1-1
(株) 中外医学科学研究所	412-8513	静岡県御殿場市駒門1-135
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)	104-8324	東京都中央区銀座1-16-7 友泉ビル
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
(株) 夏目製作所	113-8551	東京都文京区湯島2-18-6
(株) 日本医科学動物資材研究所	179-0074	東京都練馬区春日町6-10-40
(合) 日本医学広告社	102-0071	東京都千代田区富士見2-12-8
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
日本チャールスリバー(株)	222-0033	神奈川県横浜市港北区新横浜3-17-6
日本農産工業(株)	300-2615	茨城県つくば市田倉5246
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
日本配合飼料(株)	314-0103	茨城県神栖市東深芝4-2
バニーグループ 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	768-0061	香川県観音寺市八幡町2-9-41
日立アプライアンス(株)	105-0022	東京都港区海岸1-16-1 ニューピア竹芝サウスタワー15階
(株) 日立プラントテクノロジー	170-8466	東京都豊島区東池袋4-5-2
(株) ボゾリサーチセンター	412-0039	静岡県御殿場市竈1284

会 員 名	〒	住 所
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
(株) 明治	250-0862	神奈川県小田原市成田540
持田製薬(株)	160-0004	東京都新宿区四谷1-22KDX 四谷ビル
(株) ヤクルト本社	186-8650	東京都国立市谷保1796
八洲電機(株)	105-8686	東京都港区芝2-7-17 住友芝公園ビル8F
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

● 編集後記 ●

2015年は一体どんな年になるのだろうか。干支は羊であるが、実験動物として羊を利用することはそれ程あるとは思えない。兎の年だとしたら丁度タイムリーなのだが、表紙を飾っているのは近年注目を浴びているゲノム編集による研究成果のウサギさん達である。実験動物ニュースの案内にもあるように、今年の5月に京都で開催予定の第62回日本実験動物学会総会においても、シンポジウムとして「ゲノム編集が導く実験動物学のパラダイムシフト」が企画されている。ゲノム編集を用いた研究は、今後も益々発展するものと考えられることから、是非とも本誌に多くの研究成果が寄せられることを期待している。また、本号に掲載されている総説は、前号で総説を掲載した岡部 勝先生と同様に、第25回日本実験動物学会安東・田嶋賞を受賞された芹川忠夫先生を中心に「遺伝性てんかんモデルラットにおける進歩」としてまとめて頂いた。昨年度からはPMCにも掲載されるようになったが、今後も読者が利用しやすく情報の豊富な学会誌を目指し、継続的に努力していく所存である。会員の皆様に対して、これまで以上の論文投稿と忌憚のないご意見をお願いしながら、2015年がより良い年になることを切に祈る次第である。

【EIC】

広告掲載一覧

日本クレア株式会社	実験動物等企業広告
オリエンタル酵母工業株式会社	飼料
日本チャールス・リバー株式会社	実験動物等企業広告
日本エスエルシー株式会社	飼料
株式会社 ケー・イー・シー	実験動物総合受託事業
日本エスエルシー株式会社	実験動物
北山ラベス株式会社	実験動物等企業広告
株式会社 フナバシファーム	動物と飼料
室町機械株式会社	新型麻醉器
バイオリサーチセンター株式会社	ジャケット／カニューラ
わかもと製薬株式会社	感染症診断キット
エデストロムジャパン株式会社	実験動物等企業広告
有限会社 仁木商事	噴水式自動飼育架台
清和産業株式会社	ワッシングシステムズ
株式会社 夏目製作所	実験動物訓練用ラットモデル
バイオリサーチセンター株式会社	麻醉器
株式会社 ソフトロン	非観血血圧測定装置
株式会社 アニメック	げっ歯類のエンリッチメント
株式会社 シナノ製作所	ラット・マウス代謝ケージ
株式会社 アイセイ	医療洗浄剤
株式会社 ビオスタ	試薬と受託業務
九動株式会社	マウス精子凍結・体外受精システム
株式会社 アニマルケア	実験動物等企業広告
リサーチ・アンド・イノベーションジャパン株式会社	血液分析装置
