

実験動物 ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science

目 次

日本実験動物学会からのお知らせ	
第 5 回実験動物科学シンポジウムについて.....	59
平成 28 年度 維持会員懇談会の開催について.....	60
第 8 回実験動物管理者等研修会の開催について.....	61
第 64 回日本実験動物学会総会のご案内 (その 1).....	62
他学会情報.....	63
実験動物感染症の現状	
齧歯類分離 CAR バチルスの新学名, <i>Filobacterium rodentium</i> について.....	65
Experimental Animals 65(4) 収載論文和文要約集.....	69
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.....	ii
お詫びと訂正.....	iv
編集後記.....	iv

Vol. 65 No. 4 / October 2016

日本実験動物学会からのお知らせ

第5回実験動物科学シンポジウムについて

学術集会委員会
委員長 伊川正人

(公社)日本実験動物学会(以下、本学会)では医学・生命科学研究に重要な実験動物の開発や動物資源リソースの整備や活用に関する最新情報を提供するために、平成24年度から実験動物科学シンポジウムを開催しています。近年、iPS細胞を用いた再生医療研究や、ゲノム編集技術を使った疾患モデル・治療法開発研究のための実験動物として、サル類の有用性、重要性が高まっています。特に医薬品の安全性(ヒトへの外挿)を考える際に、サル類は重要です。そこで本年度は信州動物実験研究会と共催で「医学研究を支える実験動物科学—サル類—」を下記の要領で開催することとしました。本事業の目的から本学会や信州実験動物研究会会員に限らず、非会員にも門戸を開放しておりますので、多くの方のご参加をお待ちしております。

プログラム、参加申し込み等については信州実験動物研究会のホームページ(<http://shinshuanimal.umin.ne.jp/entry2.html>)に掲載しますので、そちらをご確認ください。

第5回実験動物科学シンポジウム 「医学研究を支える実験動物科学—サル類—」

日 時：平成28年10月21日(金) 12:40～17:45

場 所：信州大学松本キャンパス 旭総合研究棟9階 講義室 AB

主 催：(公社)日本実験動物学会、信州実験動物研究会

参加費：無料(当日参加は自由ですが、出来るだけ事前の参加登録をお願いします)

プログラム：

セッション1 移植免疫寛容カニクイザル

- ① MHC型特定カニクイザルの紹介(ヒトやマウスを含めた遺伝子解析を中心に)
- ② MHC型特定カニクイザルの医学研究への応用
- ③ iPS細胞由来心筋細胞を用いた心筋再生治療：霊長類同種移植モデルを用いた検討

セッション2 実験用小型霊長類マーモセット

- ④ 実験動物としてのマーモセットの特性と疾患モデルへの応用
- ⑤ GLP試験におけるマーモセットの有用性
- ⑥ 遺伝子改変マーモセットを用いた脳科学
- ⑦ 実験動物のエンリッチメントの実例

平成 28 年度 維持会員懇談会の開催について

財務特別委員会
委員長 渡部一人

日頃、(公社)日本実験動物学会への維持会員の皆様からのご理解とご支援、誠にありがとうございます。例年の通り、動物実験に関する学術振興、技術発展による社会と産業への貢献などの話題を広く情報共有、周知する目的で、講演・展示会および意見交換会を下記要領で開催いたします。維持会員の皆様に限らず、実験動物や動物実験にかかわる多くの皆様をお迎えして、当学会活動に親しんでいただく機会になれば幸いです。

プログラム・参加申し込み等については、本年 10 月初旬に本学会のホームページ (<http://jalas.jp/meeting/ijikai.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。

平成 28 年度 (公社) 日本実験動物学会 維持会員懇談会

日 時：平成 28 年 11 月 25 日 (金) 11:00 ~ (展示会), 13:00 ~ (講演会)

場 所：中央大学 駿河台記念館

〒 101-8324 東京都千代田区神田駿河台 3-11-5

内 容：「最新の話題講演」・「招待講演」および展示会

参加費：講演会・展示会 (無料), 意見交換会 (5,000 円/人)

主 催：(公社)日本実験動物学会

後 援 (予定)：

日本製薬工業協会, 安全性試験受託研究機関協議会,
動物実験関係者連絡協議会, 日本実験動物協同組合,
日本実験動物器材協議会, 日本実験動物協会

第8回実験動物管理者等研修会の開催について

実験動物管理者等研修制度委員会
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、実験動物管理者等の教育訓練を目的とした研修会を平成25年度より定期的に開催しています。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。加えて、平成28年度から「機関における動物実験の運営管理」に関する講義を追加しましたので、動物実験の運営・管理に関わる方々にとっても大いに参考になると考えます。

本事業の目的から受講対象者は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。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。

第8回実験動物管理者等研修会

日 時：平成29年2月27日(月)、28日(火)

場 所：東京大学山上会館大会議室

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：100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 他

第64回日本実験動物学会総会のご案内（その1）

The 64th Annual Meeting of the Japanese Association for Laboratory Animal Science



第64回大会公式エンブレム

テーマ：「ライフサイエンスが復興を促進する」
 大会長：大和田一雄（一般財団法人ふくしま医療
 機器産業推進機構 安全性評価部長）
 会期：平成29年5月25日（木）～27日（土）
 会場：ビックパレットふくしま（〒963-0115
 福島県郡山市南2丁目52番地）

プログラム案

●基調講演

「震災復興に貢献する実験動物～ヒト疾患の動物モデルと組織培養の互換的統合によるオンリーワンへの道～」(仮題)

渡辺慎哉 先生

(福島県立医科大学)

ふくしまトランスレーショナルリサーチセンター
 センター長・プロジェクトリーダー)

●特別講演

1. 「動物を使用した人体臓器の研究(仮題)」

中内啓光 先生

(東京大学医科学研究所 教授)

2. 「ブタからヒトへー心臓病への応用」(仮題)

福田恵一先生(慶應義塾大学 教授)

●市民公開講座

「研Q室のヨーグルト85g」(仮題)

関水 and 久 先生

(東京大学名誉教授)

帝京大学医真菌研究センター 教授)

●学会本部企画シンポジウム

- ・ 学術集会委員会企画
 光が切り開く新しい実験動物学—ここまで
 きた光遺伝学—(仮題)
- ・ 動物福祉・倫理委員会(企画中)
- ・ 実験動物感染症対策委員会(企画中)
- ・ 国際交流委員会(企画中)

●学会本部企画セミナー

- ・ 教育研修委員会(LASセミナー 企画中)
- ・ 人材育成委員会(企画中)
- ・ 動愛法等対策委員会(企画中)

●第64回総会企画シンポジウム

- ・ 医療機器開発における動物実験評価の課題
 (仮題)
- ・ 動物を用いた医学教育・医療技術トレーニング(仮題)
- ・ 病態モデルから実臨床へ(仮題)
- ・ 実験用ブタの基本技術(仮題)
- ・ 大動物の麻酔と周術期管理(仮題)
- ・ 基盤的研究を医療現場に活かすための動物
 実験の役割(仮題)

●教育講演

- ・ 英国における動物実験管理と動物福祉制度
- ・ 英国における動物福祉のための教育訓練の
 実際

●スポンサーセミナー

募集中。申し込み、お問い合わせは下記事務局
 まで。

●ランチョンセミナー

募集中。申し込み、お問い合わせは下記事務局
 まで。

●ホスピタリティールーム

募集中。申し込み、お問い合わせは下記事務局
 まで。

●器材展示会、展示企業プレゼンテーションス テージ

募集中。申し込み、お問い合わせは下記事務局
 まで。

●懇親会

大会2日目に予定

大会事務局

第64回 日本実験動物学会総会 事務局
 〒164-0003 東京都中野区東中野4-27-37
 (株)アドスリー内

TEL : 03-5925-2840 FAX : 03-5925-2913

お問合せ先 : jalas64@adthree.net

<http://sympo.adthree.net/jalas64/>

他学会情報

公益社団法人日本実験動物協会の動き

I. ブタの実技研修会開催について

この実技研修会は、主に実験動物技術者認定試験の実技試験を目指す方々からの要望を受けて開催しており、今回も実技試験を受験される方を優先したうえで、一般の受講希望者にも参加していただけるよう広く募集し、下記の内容で開催いたします。

記

開催予定日：平成28年10月29日（土）～30日（日）
場所：日本獣医生命科学大学
受講者数：12名程度（1級、2級技術者レベルを班分けして実施する予定です。）
研修内容：ハンドリング、保定、性別判定、体重測定、体温測定、心拍測定、投与（経口、皮下、静脈内、筋肉内等）、採血（耳介静脈、前大静脈叢）、麻酔、切皮・縫合等
実習テキスト：公益社団法人日本実験動物協会教育・認定委員会発行、A4版、18頁

II. ウサギ及びサル類の実技研修会について

1. ウサギ実技研修会（1級・2級実技試験受験者対象）
開催予定日：平成28年10月29日（土）～30日（日）
場所：日本獣医生命科学大学
2. サル類の実技研修会（1級・2級実技試験受験者対象）
開催予定日：平成28年10月29日（土）
場所：日本獣医生命科学大学

NPO 法人動物実験関係者連絡協議会（動連協） 第5回シンポジウムのご案内

テーマ：動物愛護管理法の過去・現在・未来

日時：平成28年12月10日（土）13:00～17:00

会場：東京大学農学部1号館8番教室

文京区弥生1-1-1 (<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/campus/overview.html>)

参加費：会員1,000円，非会員3,000円

【プログラム】

司会：浦野 徹（動連協 理事，生理学研究所特任教授）

三好一郎（東北大学教授）

13:00～13:20 開会の挨拶

板東武彦（動連協 理事長，生理学研究所特任教授）

13:20～13:25 はじめに

浦野 徹（動連協理事）

13:25～14:10 「動物愛護管理法の歴史的経緯」

則久雅司（環境省自然環境局総務課動物愛護管理室室長）

14:10～14:55 「医薬品食品領域での動物愛護管理法の現在と未来」

小島 肇（国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部第二室室長）

休憩（20分）

15:15～16:00 「動物実験領域での動物愛護管理法の現在と未来」

八神健一（動連協 理事，筑波大学特命教授）

16:00～16:50 総合討論

16:50～17:00 閉会の挨拶

泰羅雅登（動連協 副理事長，東京医科歯科大学教授）

主催：NPO 法人動物実験関係者連絡協議会

後援：（公社）日本実験動物学会，（公社）日本実験動物協会，日本実験動物協同組合，
日本神経科学学会，（一社）日本生理学会，日本実験動物技術者協会，
日本製薬工業協会

申込方法：NPO 法人動物実験関係者連絡協議会のホームページでご確認ください

<http://www.renkyo.or.jp/>

問合せ先：NPO 法人動物実験関係者連絡協議会 事務局

〒164-0003 東京都中野区東中野 4-27-37 （株）アドスリー内

TEL 03-5925-2840 FAX 03-5925-2913 E-Mail npo@renkyo.or.jp

齧歯類分離 CAR バチルスの新学名, *Filobacterium rodentium* について

池 郁生

国立研究開発法人理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室

要 約

“CAR (カー) バチルス” は、寒天培地を用いた培養ができず、学名は未定であった。2016 年, “CAR バチルス” のラット分離株である SMR-C^T はバクテロイデス門スフィンゴバクテリウム目の新科フィロバクテリウム科 (*Filobacteriaceae*) に、新属・新種として「フィロバクテリウム・ローデンティウム (*Filobacterium rodentium*)」と命名された。基準株は SMR-C^T である。

“CAR (カー) バチルス” はラットやマウスに見られる慢性呼吸器疾患 (chronic respiratory disease) の一因として発見されたグラム陰性のフィラメント状桿菌である [5]。この菌はそれら動物の気道の線毛上皮細胞 (ciliated epithelial cell) に主に感染し、菌の形状が線毛と類似しているため Ganaway らにより CAR バチルス (*Cilia-Associated Respiratory bacillus*) と命名された [5]。“CAR バチルス” はいわゆる培養困難菌であり、1980 年の発見 [20] 以来、本菌には学名がつけられていなかった。理化学研究所 (理研) バイオリソースセンター (BRC) 実験動物開発室の池、同微生物材料開発室 (JCM) の坂本、放射線医学総合研究所生物研究推進課の小久保らの共同研究グループは、“CAR バチルス” が分類学の「科」レベルで新しい生物群であることを明らかにし、“CAR バチルス” のラット分離株である SMR-C^T をフィロバクテリウム科 (*Filobacteriaceae*) フィロバクテリウム属のフィロバクテリウム・ローデンティウム (*Filobacterium rodentium*) と命名した [6]。本稿ではこれについて概説する。

“CAR バチルス” は寒天培地で培養できない [5, 7, 9]。この菌の分離には孵化鶏卵漿尿膜腔への注入培養 [5] や、3T3 細胞等に感染させて共培養する方法 [2, 15, 17] が取られ、ラット・マウスからは CAR-NIH [5], SMR [10], CBR [7], CAT-StL および X シリーズ [15], CBM [16] の諸株、そしてウサギ分離株として B シリーズ [3], プタ分離株として PigCAR-1 など [13] が報告されている。これら分離株は以下の “CAR バチ

ルス” としての特徴を示す。すなわち、感染動物の呼吸器線毛上皮の線毛部で増殖し、感染実験で慢性呼吸器疾患を起こし、菌自体はグラム染色陰性かつ銀染色陽性のフィラメント状桿菌を呈し、電子顕微鏡で 3 層の外膜が確認され、滑走運動を行う。

細菌に学名を命名するためには、国際原核生物分類命名委員会 (International Committee on Systematics of Prokaryotes, ICSP) による国際細菌命名規約 (International Code of Nomenclature of Bacteria) に沿い、ICSP の公式機関誌である *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* にその性状を記載して提案しなければならない。他誌での学名提案も可能だが、その場合は提案した学名とその性状を記載した論文を *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* に送り、ICSP の審査を受ける必要がある。細菌の学名命名については、森と中川による解説が参考になる [12]。

国際細菌命名規約によると、学名命名には表 1 の要件が必要である。簡単に述べると、学名は菌株に対して命名されるものであるため、培養可能な基準株 (Type strain) を決め、それを誰もが自由に使えるようにカルチャーコレクションに無条件で寄託し (要件 1)、その基準株について必要な記述を行い (要件 2-5)、ラテン語文法に適った学名を考案し (要件 6)、*Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* に提案する。提案が認められれば、同誌に採択され、LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, www.bacterio.net/index.html) や、NCBI の Taxonomy Browser (www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html/) に記載さ

表 1. 細菌とアーキアの学名命名に必要な項目

1. 最低 2 カ国のカルチャーコレクションに寄託 培養可能であること, 無条件寄託であること
2. 菌のコロニー性状, 細胞形態の記述
3. 生理・生化学的性状試験結果の記述 至適生育温度・pH, 耐塩性, 生化学試験性状など
4. 化学分類学的性状試験結果の記述 菌体脂肪酸組成分析 (分類群の特徴を表す) 細胞壁アミノ酸組成分析 (グラム陽性菌で重要) キノン類分析 (呼吸における電子伝達系補酵素) G+C 含量測定
5. 16S rDNA 塩基配列に基づく分子系統関係の記述
6. ラテン語文法に適った学名

れる。

“CAR バチルス”の学名命名の場合も、培養可能な基準株を決めてそれをカルチャーコレクションに寄託する必要があった。共同研究グループは Schoebらの方法を参考に、“CAR バチルス”のラット分離株である SMR [10] が Vero E6 細胞と共培養するとよく増殖することを見いだした。3T3 細胞など他の細胞との共培養でも SMR は増殖したが、SMR の培養初期では増殖可能な状態に至るまで 2-3 週間必要とし、寿命の長い Vero E6 細胞のほうが SMR の増殖支持効果が高いと判断した。SMR は菌端を Vero E6 細胞上に付着させ、もう一端を培地中に伸ばした。位相差顕微鏡を用いて培養中の菌を観察すると、Vero E6 細胞に付着した SMR 菌体は培地中でイソギンチャクの触手のようにゆらゆらと揺れた。

SMR はいったん増殖を始めると、一部は Vero E6 細胞に付着しないで浮遊状態で増殖した。そこで Vero E6 調整培地 (Vero E6 細胞を 37°C, 5%CO₂ インキュベータで 10% ウシ胎児血清添加 IMDM 培地を用いて 3 日間、集密培養し、その培養上清を 0.22 μm フィルターろ過したもの) を使用すると、SMR を 37°C, 5%CO₂ インキュベータで単独培養可能なことが分かった。こうして単独培養できるようになった SMR を改めて SMR-C 株と名付け、学名命名のための基準株とした。SMR-C^T を理研 BRC の微生物材料開発室とドイツの DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) に条件無しで寄託した (JCM 19453^T = DSM 100392^T)。

SMR-C^T の培養条件は、Vero E6 調整培地を用い、SMR-C^T を様々な温度、pH、NaCl 濃度で培養し、増殖するか否かで評価した。SMR-C^T の生化学性状は Rapid ID 32A (bioMérieux) を用い、キットの説明書

にしたがって判定した。菌体脂肪酸組成は、湿菌体をアルカリけん化処理後にメチル化し脂肪酸メチルエステルとして抽出して、菌体脂肪酸組成分析システム (MIDI Inc.) を用いて決定した [8, 11]。SMR-C^T のゲノム DNA はフェノール/クロロホルム法で抽出し、次世代シーケンサーでドラフトゲノムを定め、欠失部分は別途シークエンスを行って完全な環状ゲノム塩基配列を決定した (東京大学大学院新領域創成科学研究科附属オーミクス情報センター 服部正平元教授らとの共同研究)。MiGAP (www.migap.org) [18] を用いてゲノム DNA 塩基配列から 16S rRNA 遺伝子領域を推定し、また G+C 含量を計算した。SMR-C^T の 16S rRNA 遺伝子はゲノム中に 1 セットのみ存在した。16S rRNA 遺伝子 (LC055729, GenBank/EMBL/DDBJ) を対象に BLASTN 解析 (blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) [1] を行って近縁の基準株を選び、各遺伝子配列を MUSCLE 法で整列させ、近隣結合法 [14, 19] ならびに最尤法 [4] で系統樹を描いた (ブートストラップ値 1,000)。

SMR-C^T は微好気性で、胞子を形成せず、グラム染色陰性かつ好銀性のフィラメント状桿菌であった。増殖中の菌は位相差検鏡で容易に確認できた。分裂時間は 20-24 時間。4-37°C で増え、最適温度は 37°C だった。pH は 6 から 8 が最適であった。ラット・マウスの生理的な塩濃度以上では成長しなかった。Vero E6 調整培地を用い、超低付着性培養器で培養すると、菌は単独で浮遊状態で増え、大きさは 0.8-0.9 × 8.3-10.0 μm であった。SMR-C^T は鞭毛や線毛といった運動器官を持たないが、滑走運動を行った。SMR-C^T を BALB/c マウスに投与すると慢性呼吸器疾患を発症した。SMR-C^T を透過型電子顕微鏡で観察すると、他の“CAR バチルス”同様に 3 層の外膜を確認

表 2. *Filobacterium rodentium* の学名

学名	<i>Filobacterium rodentium</i>
門	<i>Bacteroidetes</i>
綱	<i>Sphingobacteriia</i>
目	<i>Sphingobacteriales</i>
科	<i>Filobacteriaceae</i> fam. nov.
属	<i>Filobacterium</i> gen. nov.
種	<i>rodentium</i> sp. nov.
基準株	SMR-C ^T = JCM 19453 ^T = DSM 100392 ^T

することができた。

SMR-C^T のゲノム塩基配列から推定した 1,491 塩基の 16S rRNA 遺伝子配列を用いて BLASTN 解析を行うと、ラットやマウスから分離報告のある“CAR バチルス”の株と 99-100% 一致した。“CAR バチルス”ブタ分離株との相同性は 87-88% であった。“CAR バチルス”以外の基準株との比較では、一番近縁だったのが *Chitinophaga pinensis* DSM 2588^T, *Terrimonas ferruginea* DSM 30193^T, *Chitinophaga ginsengisoli* Gsoil 052^T, *Chitinophaga filiformis* NBRC 15056^T, *Chitinophaga cymbidii* R156-2^T および *Chitinophaga skermanii* CC-SG1B^T であり、すべてキティノファーガ科 (*Chitinophagaceae*) に属し、SMR-C^T との相同性はいずれも 86% であった。

SMR-C^T の脂肪酸組成は、iso-C_{15:0} (41.0%), anteiso-C_{15:0} (25.8%), C_{16:0} (17.0%), C_{14:0} (10.3%), iso-C_{16:0} (4.4%), そして anteiso-C_{17:0} (1.7%) であった。不飽和脂肪酸やヒドロキシ脂肪酸は認められなかった。SMR-C^T の最優勢脂肪酸は iso-C_{15:0} であり、キティノファーガ科に属する他の基準株と同様であったが、anteiso-C_{15:0}, C_{16:0} および C_{14:0} の構成比はいずれの基準株とも異なっていた。

ゲノム塩基配列から計算した G+C 含量は、47.7 mol% であった。文献から調べたキティノファーガ科に属する他の基準株の G+C 含量は 40.7-51.9% だった。

SMR-C^T の生化学性状で特徴的であったことは、ウレアーゼ陽性、ならびに α ガラクトシダーゼ、β ガラクトシダーゼ、α グルコシダーゼ、α フコシダーゼがそれぞれ陰性だったことである。文献から調べたキティノファーガ科に属する他の基準株では *Chitinophaga ginsengisoli* Gsoil 052^T と *Chitinophaga pinensis* DSM 2588^T のほかはウレアーゼ陰性（一部の株では未検査）であり、α ガラクトシダーゼ、β ガラクトシダーゼ、α グルコシダーゼ、α フコシダーゼについては、キティノファーガ科に属する他の基準株

表 3. *Filobacterium rodentium* SMR-C^T の主要性状

分離源	ラット呼吸器疾患肺
グラム染色	陰性
銀染色	陽性
細胞長	8-10 μm
形状	フィラメント状桿菌
胞子形成	なし
鞭毛・線毛	なし
滑走運動	あり
DNA G+C 含量	47.7 mol%
ウレアーゼ活性	あり
α-ガラクトシダーゼ活性	なし
β-ガラクトシダーゼ活性	なし
α-グルコシダーゼ活性	なし
α-フコシダーゼ活性	なし
主要脂肪酸	iso-C _{15:0} , anteiso-C _{15:0} , C _{16:0} , C _{14:0}

ですべて陰性を示したものはなかった。

16S rRNA 遺伝子配列を対象とした系統樹解析では、SMR-C^T は“CAR バチルス”の他の齧歯類由来株とクレイドを形成したが、近隣結合法と最尤法の双方ともに SMR-C^T はキティノファーガ科のいずれの属ともクラスターを形成せず、SMR-C^T が細菌の新たな系列を代表することが示唆された。

以上から、共同研究グループは、SMR-C^T などラットやマウスから分離された“CAR バチルス”は「科」レベルで新しい生物群であると考えた。そしてこの SMR-C^T を、バクテロイデス門スフィンゴバクテリウム目の新しい科であるフィロバクテリウム科 (*Filobacteriaceae*)、その中の新しい属であるフィロバクテリウム属の新種「フィロバクテリウム・ローデンティウム (*Filobacterium rodentium*)」と命名した [6]。*Filobacterium* は、新ラテン語でフィラメント状細菌の意味、*rodentium* は、マウスやラットが属する齧歯類由来であることを意味する。基準株は SMR-C^T である (表 2)。表 3 に *Filobacterium rodentium* SMR-C^T の主要性状を記載した。

“CAR バチルス”は 1980 年の最初の報告 [27] から 35 年を経て、SMR-C^T を基準株として学名を得ることとなった。しかし、SMR-C^T の病原性発揮機構については未解明のままである。上記のように SMR-C^T のゲノム塩基配列は既に決定しているが、類縁菌を含め未知の遺伝子が多く、SMR-C^T の病原性関連遺伝子候補は不明である。今後、病原性発揮機構の研究が必要である。

謝 辞

Filobacterium rodentium SMR-C^T 学名命名に関わったすべての方々、すべての機関に感謝申し上げます。

文 献

1. Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25: 3389–33402.
2. Cundiff, D. D., Besch-Williford, C., Hook, R. R. Jr, Franklin, C. L. and Riley, L. K. 1994. Detection of cilia-associated respiratory bacillus by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 32: 1930–1934.
3. Cundiff, D. D., Besch-Williford, C. L., Hook, R. R. Jr, Franklin, C. L. and Riley, L. K. 1995. Characterization of cilia-associated respiratory bacillus in rabbits and analysis of the 16S rRNA gene sequence. *Lab. Anim. Sci.* 45: 22–26.
4. Felsenstein, J. 1989. PHYLIP – Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164–166.
5. Ganaway, J. R., Spencer, T. H., Moore, T. D. and Allen, A. M. 1985. Isolation, propagation, and characterization of a newly recognized pathogen, cilia-associated respiratory bacillus of rats, an etiological agent of chronic respiratory disease. *Infect. Immun.* 47: 472–479.
6. Ike, F., Sakamoto, M., Ohkuma, M., Kajita, A., Matsushita, S. and Kokubo, T. 2016. *Filobacterium rodentium* gen. nov., sp. nov., a member of *Filobacteriaceae* fam. nov. within the phylum *Bacteroidetes*; includes a microaerobic filamentous bacterium isolated from specimens from diseased rodent respiratory tracts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 150–157.
7. Itoh, T., Kohyama, K., Takakura, A., Takenouchi, T. and Kagiya, N. 1987. Naturally occurring CAR bacillus infection in a laboratory rat colony and epidemiological observations. *Exp. Anim.* 36: 387–393.
8. Kuykendall, L. D., Roy, M. A., O'Neill, J. J. and Devine, T. E. 1988. Fatty acids, antibiotic resistance, and deoxyribonucleic acid homology groups of *Bradyrhizobium japonicum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38: 358–361.
9. MacKenzie, W. F., Magill, L. S. and Hulse, M. 1981. A filamentous bacterium associated with respiratory disease in wild rats. *Vet. Pathol.* 18: 836–839.
10. Matsushita, S. 1986. Spontaneous respiratory disease associated with cilia-associated respiratory (CAR) bacillus in a rat. *Jap. J. Vet. Sci.* 48: 437–440.
11. Miller, L. T. 1982. Single derivatization method for routine analysis of bacterial whole-cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acids. *J. Clin. Microbiol.* 16: 584–586.
12. 森 浩二, 中川恭好. 2011. 微生物名ってどうやって決まるの? 生物工学 89(6): 336–339.
13. Nietfeld, J. C., Fickbohm, B. L., Rogers, D. G., Franklin, C. L. and Riley, L. K. 1999. Isolation of cilia-associated respiratory (CAR) bacillus from pigs and calves and experimental infection of gnotobiotic pigs and rodents. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11: 252–258.
14. Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
15. Schoeb, T. R., Dybvig, K., Davidson, M. K. and Davis, J. K. 1993. Cultivation of cilia-associated respiratory bacillus in artificial medium and determination of the 16S rRNA gene sequence. *J. Clin. Microbiol.* 31: 2751–2757.
16. Shoji, Y., Nozu, R., Takakura, A., Matsushita, S. and Itoh, T. 1988. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to CAR bacillus. *Exp. Anim.* 37: 67–72.
17. Shoji, Y., Itoh, T. and Kagiya, N. 1992. Propagation of CAR bacillus in artificial media. *Exp. Anim.* 41: 231–234.
18. Sugawara, H., Ohyama, A., Mori, H. and Kurokawa, K. 2009. Microbial genome annotation pipeline (MiGAP) for diverse users. In the 20th International Conference on Genome Informatics. (Kanagawa, Japan), p. S001-1-S001-2 vol. 20.
19. Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. CLUSTER W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
20. Van Zwieten, M. J., Solleveld, H. A., Lindsey, J. R., de Groot, F. G., Zurcher, C. and Hollander, C. F. 1980. Respiratory disease in rats associated with a filamentous bacterium: a preliminary report. *Lab. Anim. Sci.* 30: 215–221.

Experimental Animals

— 和 文 要 約 —

Vol. 65, No. 4 October 2016

原著

Effects of nimesulide on the small intestine mucositis induced by methotrexate
in rats..... 329–336

Aynur ARSLAN¹⁾, Adalet OZCICEK²⁾, Bahadir SULEYMAN³⁾, Taha Abdulkadir COBAN⁴⁾,
Ferda Keskin CIMEN⁵⁾, Hatice Sevim NALKIRAN⁶⁾, Mehmet KUZUCU⁷⁾,
Durdu ALTUNER³⁾, Nihal CETIN³⁾, and Halis SULEYMAN³⁾

¹⁾Department of Internal Medicine, Istinye State Hospital, 34465, Istanbul, Turkey,

²⁾Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Erzincan University, 24030, Erzincan, Turkey,

³⁾Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Erzincan University, 24030, Erzincan, Turkey,

⁴⁾Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Erzincan University, 24030, Erzincan, Turkey,

⁵⁾Department of Pathology, Mengucek Gazi Training and Research Hospital, 24030, Erzincan, Turkey,

⁶⁾Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, 53020,

Rize, Turkey, ⁷⁾Department of Biology, Science and Art Faculty, Erzincan University, 24030,
Erzincan, Turkey

Intestinal mucositis is one of the major problems in the patients receiving cancer treatment. Nimesulide is a drug with antioxidant, antiinflammatory and antiulcer features. We aimed to investigate the effect of nimesulide on the small intestine mucositis induced by methotrexate (MTX) in rats. Experimental animals were divided into the control group, MTX group (MTXG) and nimesulide+MTX administered group (NMTXG) with eight rats per group. The control and MTXG groups were given distilled water by gavage and the NMTXG was given nimesulide 100 mg/kg orally. After one hour, the NMTXG and MTXG rat groups were administered oral MTX 5 mg/kg. This procedure was repeated once a day for 15 days and the rats were sacrificed. The duodenum and jejunum of each rat was removed for the assessment of biochemical markers and histopathological evaluation. Malondialdehyde (MDA) and myeloperoxidase (MPO) levels were significantly higher in the duodenal and jejunal tissues of the animals which received MTX, compared to the control and NMTXG ($P<0.001$). Also, the levels of total glutathione (tGSH), glutathione reductase (GSHRd), glutathione peroxidase (GSHPx), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) were significantly lower in the MTXG ($P<0.001$) compared to other groups. MTX led to villus and crypt epithelial damage and inflammation containing marked PMNL and eosinophils in the intestinal tissues histopathologically. Whereas, there was only mild irregularities in the villus structures of the NMTXG. Nimesulide protected the small intestines against damage by MTX. Intestinal mucositis caused by MTX may be preventable by co-administered nimesulide.

癌性神経因性疼痛に対する抗NGF治療の効果 337-343

宮城正行¹⁾・石川哲大²⁾・鴨田博人²⁾・鈴木 都²⁾・井上 玄¹⁾・佐久間詳浩²⁾・及川泰宏²⁾・
内田健太郎¹⁾・鈴木崇根²⁾・高橋和久²⁾・高相晶士¹⁾・大鳥精司²⁾

¹⁾北里大学医学部整形外科学, ²⁾千葉大学大学院医学研究院整形外科学

悪性腫瘍の脊椎転移は脊髄を圧迫し麻痺を起こす一方、神経根を圧迫し激しい疼痛を訴える。この疼痛はオピオイドを含む種々の薬物治療に難治性である。昨今、抗NGF（神経成長因子）製剤の鎮痛効果が注目される。本研究の目的はマウス坐骨神経悪性腫瘍浸潤モデルにて抗NGF中和抗体の効果を検討することである。悪性腫瘍浸潤モデル作製のため、8週齢雄性マウスの右坐骨神経にNCTC2472（マウス線維肉腫細胞）を注射した。腫瘍注射2週後に抗NGF中和抗体を腹腔内投与した治療群と生食を投与した無治療群にわけた。さらに右坐骨神経に生食を注射したsham群も用意した。3週後（治療1週後）にCatWalkを用いた歩行解析を行った後、右L4-L6の後根神経節（DRG）をCGRP（炎症性疼痛ペプチド）とATF-3（神経傷害のマーカー）で、腰膨大部の脊髄をiba-1（マイクログリア：神経傷害のマーカー）で免疫組織化学染色を行った。CatWalkで解析された歩行時の後肢の平均接地圧の患健比、DRGのCGRP陽性細胞数、ATF-3陽性細胞数、脊髄後角のマイクログリアの数を算出し検討した。処置後3週での平均接地圧の患健比はsham群に比し、無治療群は有意に減少していたが、治療群は有意に回復を示した（ $P<0.05$ ）。DRGのCGRP陽性細胞数、ATF-3陽性細胞数、脊髄後角のマイクログリアの数はいずれもsham群に比し、無治療群は有意に上昇したが、治療群は有意に上昇を抑制した（ $P<0.05$ ）。本モデルで有意に歩行時の平均接地圧が減少し、DRGや脊髄後角での感作が確認された。しかし、抗NGF抗体を投与することで歩行変化や支配感覚神経の感作を抑制することができた。このことより悪性腫瘍浸潤に伴う神経因性疼痛に対して抗NGF治療は有効である可能性がある。

ブスルファンによる出血時間延長を伴う急性血小板減少のブタモデル 345-351

阿部朋行^{1,2)}・河野正太^{1,2)}・大貫貴広¹⁾・菱川修司³⁾・國田 智⁴⁾・花園 豊^{1,2)}

¹⁾自治医科大学分子病態治療研究センター再生医学研究部, ²⁾自治医科大学先端医療技術開発センター幹細胞・創薬基盤研究部門, ³⁾自治医科大学先端医療技術開発センター医療技術トレーニング部門, ⁴⁾自治医科大学先端医療技術開発センター動物資源開発部門

ブスルファン（BU）は、造血幹細胞移植の前処置に使用される薬剤であり、骨髄抑制の結果として血小板が減少する。本研究では、BUによる急性血小板減少のブタモデルを作出した。マイクロミニブタ（6-12ヵ月齢、体重8.5~14.4kg、富士マイクラ）にBU 4, 6, 8 mg/kgを静脈内投与し（各々n=1, 8, 1）、16日間にわたって末梢血の血小板数を測定した。その結果、血小板数はBU投与量に依存して減少したが、6 mg/kgのBU投与が血小板減少モデルとして至適と判断された。この至適投与量のBUを投与した場合、血小板数は7日目から低下し、12日目に30,000/ μ l未満に減少した（最低値14,000/ μ l、投与15日目）。出血時間は血小板数の減少に伴って延長した（ $r=-0.63$, $P<0.01$ ）。白血球数はBU投与後3日目から減少傾向だったが、最低値5,000/ μ lにとどまり、感染徴候は見られなかった。ヘモグロビン値および血液凝固検査値に著明な変化はなかった。いずれの個体も食欲減退、体重減少、活動性の低下は見られなかった。BU投与16日目では、骨髄有核細胞数および各血球系統コロニー数が有意に低下し、骨髄細胞密度の低下が認められ、予想どおり血小板減少は骨髄抑制に起因するものであった。本ブタモデルは臨床応用をめざした止血剤の試験等に有用と思われる。

隔離飼育した亜鉛欠乏食マウスの攻撃行動に対する抑肝散加陳皮半夏の
改善効果と海馬過剰興奮に対する二つの成分の改善効果..... 353-361

玉野春南・塩谷悠介・井出和希・武田厚司

静岡県立大学薬学部統合生理学分野

認知症患者の周辺症状である精神症状や行動障害（攻撃性，興奮性，幻覚，徘徊など）を改善することが期待される漢方薬，抑肝散加陳皮半夏の効果について，亜鉛欠乏食動物を用いて検討した。マウスを隔離飼育すると攻撃性（噛みつき・レスリング）が増加するが，亜鉛欠乏食を与えるとこの攻撃性は顕著に促進され，この攻撃行動には興奮性グルタミン酸作動性神経の過剰な活動が関与する。本研究では隔離飼育した亜鉛欠乏食マウスを認知症周辺症状のモデルとして用い，このマウスに抑肝散加陳皮半夏水（1.5 mg/ml）を飲料水として与えた。マウスの飲水量から1日あたりの抑肝散加陳皮半夏の摂取量は約300 mg/kg体重であった。抑肝散加陳皮半夏を飲料水として与えると，体重増加と飲水量においてコントロール群との間に違いは見られなかった。一方，攻撃行動を示したマウスの割合は抑肝散加陳皮半夏摂取により低下しなかったが，攻撃行動を示したトータル時間は有意に減少した。抑肝散加陳皮半夏の成分でカンゾウとチョウトウコウにそれぞれ含まれる18 β -glycyrrhetic acid（GA）とGeissoschizine methylether（GM）は，亜鉛欠乏食で亢進した海馬グルタミン酸作動性神経からの過剰なグルタミン酸放出を細胞内カルシウムシグナリングの抑制を介して改善することが明らかとなった。この改善は，抑肝散加陳皮半夏による攻撃行動減少の一因であることが考えられる。

Optimization of phenylhydrazine induced hyperbilirubinemia in experimental rabbit
..... 363-372

Haq NAWAZ¹⁾, Muhammad Aslam SHAD²⁾, and Mohammad Saeed IQBAL³⁾

¹⁾Institute of Chemical Sciences, Bahauddin Zakariya University, Multan, Punjab, Pakistan,

²⁾Department of Biochemistry, Bahauddin Zakariya University, Multan, Punjab, Pakistan,

³⁾Department of Chemistry, Forman Christian College, Lahore 54600, Punjab, Pakistan

Induction of hyperbilirubinemia in experimental rabbits by phenylhydrazine was optimized in terms of dose, dose interval and number of doses using response surface methodology. Central Composite Design was employed using five levels for each of the three input variables. Degree of hyperbilirubinemia was measured in terms of bilirubin level in serum of animals. A dose dependent significant elevation ($P < 0.05$) of total serum bilirubin level was observed which was optimized by using eight factorial, six axial and six central points as suggested by experimental design. Optimum levels of phenylhydrazine dose, total number of doses and a dose interval to achieve maximum elevation (4.06 mg/dl^{-1}) of total serum bilirubin were found to be 11.56 mg/kg^{-1} body weight, 8 and 24.65 h, respectively. The induction procedure was validated by performing five replicate experiments on a group of five animals which showed $3.56 \pm 0.47 \text{ mg/kg}^{-1}$ body weight elevation in total serum bilirubin level.

An HBV-tolerant immunocompetent model that effectively simulates chronic hepatitis B virus infection in mice 373–382

Lunzhi YUAN^{1,2)}, Tengyun WANG^{1,2)}, Yali ZHANG^{1,2)}, Xuan LIU^{1,2)}, Tianying ZHANG^{1,2)}, Xiaoling LI^{1,2)}, Pingguo LIU³⁾, Kun WU^{1,2)}, James Wai Kuo SHIH^{1,2)}, Quan YUAN^{1,2)}, Tong CHENG^{1,2)}, and Ningshao XIA^{1,2)}

¹⁾State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, 361102, P.R. China, ²⁾National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in infectious diseases, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, P.R. China, ³⁾Department of Hepatobiliary Surgery, Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361102, P.R. China

Hepatitis B virus (HBV) is the leading cause of liver disease and hepatic carcinoma (HCC). Approximately 350 million people worldwide are infected with HBV and at risk of chronicity. An efficient HBV-tolerant murine model that mimics HBV infection in humans is desirable for HBV-related research. In this study, we investigated and established a murine model by hydrodynamic injection (HDI) of pAAV/HBV into the tail vein of AAVS1 site element-transgenic mice. In 80% of the injected mice, the serum level of HBsAg reached 10^{3-4} IU/ml and persisted for more than half a year. Next, the model was used to evaluate RNA interference (RNAi)-based antiviral therapy. Data obtained using the model demonstrated that this model will facilitate the elucidation of the mechanisms underlying chronic HBV infection and will also be useful for evaluating new antiviral drugs.

Physiological and pharmacokinetic effects of multilevel caging on Sprague Dawley rats under ketamine-xylazine anesthesia..... 383–392

Aurore DODELET-DEVILLERS¹⁾, Chiara ZULLIAN¹⁾, Francis BEAUDRY²⁾, Jim GOURDON³⁾, Julie CHEVRETTE³⁾, Pierre HÉLIE²⁾, and Pascal VACHON¹⁾

¹⁾Department of Veterinary Biomedicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada, ²⁾Department of Pathology and Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada, ³⁾Comparative Medicine and Animal Resources Centre, McGill University, Montréal, Quebec, Canada

While the cage refinement is a necessary step towards improving the welfare of research rats, increasing the complexity and surface area of the living space of an animal may have physiological impacts that need to be taken into consideration. In this study, ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) caused a short duration anesthesia that was significantly decreased in Sprague-Dawley rats housed in multilevel cages (MLC), compared to rats housed in standard cages (SDC). The withdrawal reflex, the palpebral reflexes and the time-to-sternal all occurred earlier in MLC housed rats, suggesting an effect of housing on the physiology of the rats. In addition, during anesthesia, cardiac frequencies were increased in animals housed in the smaller SDC. Respiratory frequencies, the blood oxygen saturation and rectal temperatures during anesthesia did not vary between conditions during the anesthesia. While xylazine pharmacokinetics were unchanged with caging conditions, the clearance and half-lives of ketamine and its metabolite, norketamine, were altered in the rats housed in MLC. Finally, while no difference was ultimately seen in rat body weights, isolated liver and adrenal gland weights were significantly lighter in rats housed in the MLC. Increasing cage sizes, while having a positive impact on wellbeing in rats, can alter anesthetic drug metabolism and thus modify anesthesia parameters and associated physiological processes.

イソフルラン吸入麻酔がSHR/Izm, WKY/Izm, Crl:CD (SD) ラットの
呼吸循環機能に及ぼす抑制作用及び抑制作用に対する感受性の系統差 393-402

加藤弘毅¹⁾・若井 淳²⁾・小澤和典³⁾・関口美穂^{3,4)}・片平清昭³⁾

¹⁾防衛医科大学校医学教育部動物実験施設, ²⁾岩手医科大学医歯薬総合研究所実験動物医学研究部門,

³⁾福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター,

⁴⁾福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設

イソフルランは齧歯類の麻酔に幅広く用いられるが、イソフルランの吸入濃度増加がラットの呼吸循環機能に及ぼす影響及びその系統間比較に関しては十分に明らかになっていない。そこで、本研究では、麻酔気化器のダイヤル設定値を増加させた際のSHR/Izm, WKY/Izm, Crl:CD (SD)の呼吸循環器系パラメータを取得し、解析した。1.5%イソフルランによる麻酔導入後、双極誘導心電図、tail-cuff法による血圧そして呼吸数を取得した後、設定値を段階的に、2, 3, 4および5%へ上げ、各吸入濃度における呼吸循環器系パラメータを取得した。4%以上の吸入濃度で、RRおよびPR間隔の有意な延長が3系統で認められ、QT_c間隔の有意な短縮がSHR/Izmでのみ観察された ($P<0.05$)。心拍変動の周波数領域解析で、LF/HFの有意な増加がSHR/Izmで、HFの有意な減少がWKY/Izmで認められた ($P<0.05$)。また、血圧および心拍数はSHR/Izmで顕著に減少し、一方、減少の程度は3系統の中でWKY/Izmが最も小さかった。呼吸数は、吸入濃度増加に伴い3系統で同様に減少した。以上の結果は、イソフルラン吸入麻酔による心循環器系への抑制作用に対してラット系統間で感受性に差があり、用いた3系統の中では、SHR/Izmは感受性が高いことを示唆している。

立体的な生活環境構造による成長期マウスへの運動導入効果 403-411

中村 悠¹⁾・上野安貴¹⁾・布村由香^{2,4)}・中垣和英^{2,5)}・武田庄平³⁾・鈴木 馨¹⁾

¹⁾東京農工大学フィールドサイエンスセンター, ²⁾日本獣医生命科学大学, ³⁾東京農工大学農学部比較心理学, ⁴⁾現在:株式会社ケーナインラボ, ⁵⁾現在:新潟大学医歯学総合病院生命科学医療センター

ICRマウスを成長期の3週齢から10週齢まで飼育し、生活環境にハシゴなど障害物を設置する環境エンリッチメントによる運動導入効果を標準的環境との比較で調べた。障害物を設置することにより、雌雄ともに運動量が有意に増加した ($P<0.01$)。運動群のマウスは、標準環境に比べてオスでは6~9週齢、メスでは8週齢時の体重が大きかった ($P<0.05$)。また、運動群のメスのマウスは性成熟が有意に早くなった ($P<0.001$)。運動群の雌雄マウスにおいて、情動を測定するオープンフィールドテストの不安様行動とストレスホルモンである血漿コルチコステロン濃度に減少傾向が有り、これらはオスで有意だった ($P<0.05$)。さらに、血中のナチュラルキラー細胞は運動群のマウスで多い傾向があったが、有意な差は検出されなかった。結論として、立体的な生活環境の提供によってストレスのない日常的な運動が成長期のマウスに導入された。さらに、これらの実験結果から、運動が体の成長、性成熟、不安様行動に有益な効果を果たすことが示唆された。また、動物を集団飼育する場合に環境エンリッチメントがメスよりもオスに対してより効果的である可能性が示唆された。

Radiotherapy combined with an engineered *Salmonella typhimurium* inhibits tumor growth in a mouse model of colon cancer 413–418

Xiande LIU¹⁾, Shengnan JIANG²⁾, Linghua PIAO³⁾, and Feng YUAN⁴⁾

¹⁾Department of Veterinary Medicine, Hainan University, 58 Renmin Road, Haikou, Hainan, 570228, P.R. China, ²⁾Department of Nuclear Medicine, Affiliated HaiKou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University, 43 Renmin Road, Haikou, Hainan, 570208 China, ³⁾Department of Physiology, Hainan Medical University, 3 Xueyuan Road, Haikou, Hainan, 571199, P.R. China, ⁴⁾Department of Radiation Oncology, Affiliated HaiKou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University, 43 Renmin Road, Haikou, Hainan, 570208, P.R. China

The engineered *Salmonella typhimurium* ΔppGpp (*S.t* ΔppGpp) has been studied in terms of its ability to carry imaging probes (bacterial luciferase, Lux) for tumor imaging or carry therapeutic molecules (Cytolysin A) to kill cancer cells. To establish a novel cancer therapy, bacterial therapy was combined with radiotherapy using the attenuated strain *S.t* ΔppGpp/pBAD-ClyA. Radiotherapy (21Gy) contributed to *S. typhimurium* colonization in a colon tumor (CT26) model of BALB/c mice. The combination of bacterial therapy and radiotherapy treatments reduced tumor growth compared with only bacterial therapy.

WHHLMI ウサギにおける冠動脈病変の進行による冠スパズムおよび狭心症様虚血性心疾患の発生.....419–426

小池智也¹⁾・田村姿央理²⁾・于 イン¹⁾・國吉信恵¹⁾・塩見雅志^{1,2)}

¹⁾神戸大学医学研究科附属動物実験施設, ²⁾神戸大学医学研究科疾患モデル動物病態生理学分野

WHHLMI ウサギでは重度の冠動脈病変が発生し, 慢性虚血による心筋梗塞が発症する。しかし, 急性の虚血性心疾患の発症については適切なモデル動物が開発されていない。本研究では, WHHLMI ウサギに冠スパズムを誘発し, 冠動脈病変の程度と冠スパズムの発生との関係および狭心症等の急性の心筋虚血病変の発生について解析した。麻酔下でノルエピネフリンを耳介周縁静脈から持続点滴投与中にエルゴノビンを投与し, 冠スパズムを誘発した。冠動脈造影と病理組織学的解析において, 冠スパズム発生部位に冠動脈病変が観察され, 冠スパズムは進行した冠動脈病変で発生頻度が有意に高く, 心エコーによる解析において冠スパズムの発生で左室壁の運動度が低下し, 血清心筋虚血マーカーが上昇し, 心筋虚血を示す心電図変化が認められた。これらの変化はいずれも統計的に有意であった。以上の結果から, 冠スパズムの発生に冠動脈病変の重症化が関与し, WHHLMI ウサギは狭心症様急性虚血性心疾患のモデル動物として有用であると考えられる。

自己免疫疾患および2型糖尿病モデルマウスでの実験的AAアミロイドーシスの伝達.....427–436

前田麻友子¹⁾・村上智亮²⁾・Naeem Muhammad³⁾・猪島康雄^{1,3)}・石黒直隆^{1,3)}

¹⁾岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科食品環境衛生学研究室, ²⁾東京農工大学農学部共同獣医学科獣医毒性学研究室, ³⁾岐阜大学大学院連合獣医学研究科

AAアミロイドーシスは, アミロイドA (AA) 蛋白質の蓄積に特徴づけられる蛋白質の折りたたみ異常疾患である。AAアミロイドーシスは, 食肉動物にみられ, 異なった動物に伝達する。AA蛋白質の前駆蛋白質は, 急性期蛋白質の血清アミロイドA蛋白質であり, リュウマチ疾患の慢性病に観察される。自己免疫病や2型糖尿病など慢性疾患は, AAアミロイドーシスを惹

起するファクターと考えられる。本研究は、自己免疫病や2型糖尿病とAAアミロイドーシスの関係を明らかにする目的で、マウス、ウシおよびニワトリ由来のAA蛋白質をこれら疾患モデルマウスに実験的に投与した。コントロールとして野生マウスを用いた。自己免疫疾患モデルマウスでのSAA、IL-6およびIL-10の濃度はコントロールマウスより高かった。しかし、自己免疫疾患および2型糖尿病モデルマウスでの脾臓のAA蛋白質の蓄積は、コントロールマウスに比べて低く、両モデルマウスの脾臓でのAA蛋白質の蓄積は、コンゴレッド染色や免疫組織化学検査ではコントロールマウスに比べて少なかった。これらの結果は、生体の免疫応答において、SAA濃度や炎症あるいは非炎症状態以外の要因がAA蛋白質の蓄積に関与していることを示している。

Noni (*Morinda citrifolia* Linn.) fruit juice attenuates the rewarding effect of ethanol in conditioned place preference in mice 437-445

Vijayapandi PANDY and Yasmin KHAN

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia

Morinda citrifolia L. commonly known as noni or Indian mulberry belongs to the family Rubiaceae. Noni fruit juice has recently become a very popular remedy for the treatment of several diseases, including psychiatric disorders. This study aimed to investigate the anticraving effect of Tahitian Noni® Juice (TNJ) against ethanol seeking behavior in ICR male mice using the conditioned place preference (CPP) test. The CPP procedure consisted of four phases: preconditioning, conditioning, extinction, and reinstatement. During conditioning, intraperitoneal (i.p.) injections of ethanol (2 g/kg body weight (bw)) and normal saline (10 ml/kg bw) were given on alternate days for 12 days. Then, the animals were subjected to extinction trials for the next 12 days to weaken CPP. Finally, CPP was reinstated in the extinguished animals by a single low-dose priming injection of ethanol (0.4 g/kg bw, i.p.). The effect of TNJ (as a source of drinking water) on different phases of ethanol CPP in mice was studied. TNJ-treated mice showed a significant reduction in ethanol seeking behavior in the CPP test. The reference drug, acamprosate (ACAM) also showed a similar effect in the CPP test. The outcome of this study suggests that TNJ is effective in attenuating ethanol craving in mice and could be utilized for the treatment of alcohol dependence. Further clinical studies in this direction are warranted to support the present preclinical findings.

成長ホルモン分泌パターンに依存する性的二形性ラット肝シトクロムP450
遺伝子発現の検出のための新しい*in vivo*解析モデル 447-454

丸山基世¹⁾・藤澤正彦²⁾・横須賀誠³⁾・斎藤 徹³⁾・羽山伸一⁴⁾・秋元敏雄¹⁾・袴田陽二²⁾

¹⁾日本医科大学実験動物管理室, ²⁾日本獣医生命科学大学獣医学部獣医保健看護学科,

³⁾同 比較動物医学教室, ⁴⁾同 野生動物学教室

肝臓の薬物代謝酵素シトクロムP450 (CYP)の一部は性的二形性を示し、薬物の効果や副作用の性差の原因として臨床的重要な問題となっている。ラットにおいてCYPの性的二形性は下垂体成長ホルモン (GH) の分泌パターンの性差に強く依存するとされているが、詳細なメカニズムは明らかでない。我々は、以前にマウスアルブミンエンハンサー/プロモーターの制御下で、肝細胞特異的に蛍光タンパク質DsRed2遺伝子を発現するトランスジェニック (Alb-DsRed2 Tg) ラットを作製し、肝DsRed2発現が成熟雄ラットに限定される性的二形を示すことを報告した。本研究では、GH分泌パターンに依存する内因性CYP発現と性的二形性DsRed2

発現の関連性を検討するために、本ラットのGH分泌パターンを雌雄で逆転させ、肝CYPおよびDsRed2発現を比較した。生後1日目に雌雄Alb-DsRed2 Tgラットの性腺を摘出し、雌には同時にテストステロンプロピオネートを投与した。従来の報告と一致して、実験的にGH分泌パターンを雌雄で逆転させるとCYPの性的二形性発現が逆転し、それと同期して本ラットのDsRed2発現の性的二形性が逆転した。肝DsRed2発現は性的二形CYP発現と強く相関し、本ラットはGH分泌パターンに依存する性的二形CYP発現の変化を簡便に評価できる有用なツールであることが明らかとなった。

ヒトIL-6をコンディショナルに発現するトランスジェニックマウスの作製.....455-463

森 大気¹⁾・村澤裕介²⁾・猪飼里奈³⁾・早川朋子¹⁾・中村博幸⁴⁾・小木曾 昇⁵⁾・
新飯田俊平¹⁾・渡辺 研³⁾

¹⁾国立長寿医療研究センター (NCGG) メディカルゲノムセンター, ²⁾NCGG健康長寿支援ロボットセンター, ³⁾NCGG運動器疾患研究部, ⁴⁾金沢大学大学院顎顔面口腔外科学分野, ⁵⁾NCGG実験動物管理室

IL-6は様々な生理機能や疾病に関与する重要なサイトカインである。これまでに、機能獲得型のトランスジェニックマウスを用いた実験系が確立され、IL-6の機能解析に大きく貢献してきた。しかし、多様なIL-6の機能の解明に用いるトランスジェニックマウスを発現部位や時期に合わせてそれぞれ作製するには非常に労力と時間を要する。本研究では、Cre-loxPシステムを用いたコンディショナルにヒトIL-6を発現するトランスジェニックマウス (LGL-IL6) を樹立した。このマウスでは、Cre活性依存的に緑色蛍光タンパク質の発現ユニットが除去され、ヒトIL-6が発現する。このLGL-IL6マウスと、発現様式が記述されたCreドライバーマウスを使うことにより、時空間特異的にヒトIL-6の過剰発現による病態の解明に役に立つと考えられる。

コモンマーモセットの脳におけるCYP2D mRNAの*in situ*

ハイブリダイゼーション研究.....465-471

嶋本良則¹⁾・新美君枝²⁾・北村 浩³⁾・椿下早絵⁴⁾・高橋英機²⁾

¹⁾酪農学園大学獣医学群獣医保健看護学類動物疾病治療研究室, ²⁾国立研究開発法人理化学研究所脳科学総合研究センター動物資源開発支援ユニット, ³⁾酪農学園大学獣医学群獣医保健看護学類獣医学類獣医生理学研究室, ⁴⁾酪農学園大学獣医学群獣医保健看護学類動物理学療法研究室

コモンマーモセットは、神経科学および行動研究などの生物医学の研究分野でますます使用されるようになってきた霊長類動物である。シトクロムP450 (CYP) 2Dは、ヒトの脳内において精神神経学的な活動に関与することが推測されるようになった。本研究で、我々はマーモセットの脳内でのCYP2Dの役割を明らかにするために、*in situ*ハイブリダイゼーション (ISH) 法を用いて脳内でのCYP2Dの発現パターンを調べた。加えて、コモンマーモセットのCYP2Dでよく研究されているアイソフォームであるCYP2D19遺伝子の染色体上の位置を決定するために、蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション (FISH) 解析を実施した。コモンマーモセットの脳内におけるCYP2D mRNAは、大脳皮質、海馬、黒質、小脳の神経細胞に局在しており、これはヒト脳での知見と一致していた。FISH解析では、CYP2D19遺伝子は1番染色体の長腕に位置していた。この部分はヒトのCYP2D6が存在する22番染色体に相同な領域であった。これらの結果から、マーモセット脳内のCYP2Dは、脳活動においてヒトCYP2D6と同様な役割を果たしうることを、そしてCYP2D19遺伝子はシニクな様式で保存されていることが示唆される。以上の知見は、コモンマーモセットは脳内でのCYP2Dの機能不全に関連した精神疾患を研究するための有益なモデルであることを示唆している。

ラットの頭部骨膜欠損モデルに対しフィブリン糊およびポリグリコール酸シートとゼラチンスポンジにより被覆した創部治癒効果の比較473-483

越沼伸也¹⁾・村上翔子¹⁾・野井将大¹⁾・村上拓也¹⁾・向所賢一²⁾・杉原洋行²⁾・山本 学¹⁾¹⁾滋賀医科大学医学部歯科口腔外科学講座, ²⁾滋賀医科大学医学部病理学講座分子診断病理学部門

口腔外科領域の手術では、骨膜の除去が必要となる症例が存在する。そのような症例において、骨面を露出させたままにすると感染する可能性が存在し、また創部は二次治癒の間、瘢痕形成をする。本研究の目的は、手術によって骨膜が欠損した症例に対し、創傷治癒における理想的な被覆材料を検討することにある。今回われわれは、10週齢のWistar ratを用いて頭部の皮膚と骨膜が1 cm²欠損したモデルを、イソフルレンによる全身麻酔下に作製した。ratは、欠損部に対する治療法から3グループに分けた。(1) フィブリン糊付きポリグリコール酸シートにより創部を被覆した群 (PGA-FG), (2) スポンゼル® (ゼラチンスポンジ被覆材) により創部を被覆した群 (GS), (3) 開放創群 (Control), とした。そして創部の治癒を、2週間、4週間、6週間で組織学的に評価した。その結果、GSとPGA-FG治療では湿潤環境が維持され、骨の表面が乾燥と感染から保護されたことから、Controlと比較してより治癒が認められた。術後6週間では、GSはすべてのratで完全な上皮化が認められたが、PGA-FGとControlではすべてのratではなかった。創部被覆材では、維持がよく湿潤環境が保たれると創傷治癒が促進される。GSの術後6週間を組織学的に観察した結果、骨表面の骨芽細胞の増殖が付属器の再生とともに完全な上皮化が認められた。それと比較して、PGA-FGでは、素材の吸収速度が遅く、創部に残存していたことから治癒の遅延を引き起こし、また異物反応のある瘢痕組織形成によって骨芽細胞の増殖を阻害していた。

維持会員（五十音順）（91社）

（平成28年8月31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)	213-8522	神奈川県川崎市高津区下作延5-36-1
アステラスリサーチテクノロジー(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
(株) アネシス	101-0052	東京都千代田区神田小川町3-3
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) 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
(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
Crimson Interactive Pvt. Ltd.		1001, 10th Floor, Techniplex-II, Veer Savarkar Flyover, S. V. Road, Goregaon (W), Mumbai 400062, India
(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
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) ジェー・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

会 員 名	〒	住 所
(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
(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	542-0081	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
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
田辺三菱製薬(株)	227-0033	神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000 番地
(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)	104-8324	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4-32-25
(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
(株) ハクバテック・ライフサイエンス・ソリューションズ	180-0002	武蔵野市吉祥寺東町2-38-2
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

会 員 名	〒	住 所
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)	314-0103	茨城県神栖市東深芝4-2
(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
(株) 明治	250-0862	神奈川県小田原市成田540
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
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	東京都国立市泉5-11
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 ●

リオデジャネイロオリンピックにおいて日本選手団は、これまでに最高のメダル獲得数であった前回ロンドン大会での38個を上回り41個のメダル獲得となり、寝不足と戦いながらも日々感動の連続だった。引き続きパラリンピックで盛り上がっているところであるが、その間には立て続けに台風が襲来し甚大な被害を及ぼしている。

一方、実験動物分野に関連するところでは、第1回ゲノム編集学会が広島で開催とのニュースも新聞紙上を含め流れていた。急速な発展を見せているゲノム編集技術は、モザイク性やオフターゲット作用といった問題も指摘されているが、いかにこれらの諸問題を克服しながらどのような方向に進んでいくのであろうか。研究の発展に大きな期待が寄せられているからこそ、倫理的な配慮の重要性が改めて問われるところかもしれない。

【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	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
株式会社 ケー・イー・シー	実験動物総合受託事業
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
室町機械株式会社	非観血式血圧計
日本エスエルシー株式会社	実験動物
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	動物実験用麻酔装置他
株式会社 ソフトロン	ECG プロセッサ
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
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
株式会社 アニマルケア	実験動物等企業広告
九動株式会社	マウス精子凍結・体外受精システム
ハムリー株式会社	実験動物等企業広告
日本医学広告社	広告代理店
