

実験動物ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science

目 次

第 53 回日本実験動物学会総会 シンポジウム

KIT ミュータントマウスから KIT を標的とした癌治療薬まで 北村幸彦	87	
形態形成と病態の発症に関わる GDNF/RET シグナル 伝達系の個体レベルでの解析	高橋雅英	89
ENU 誘発変異アレルシリーズによるマウス遺伝子機能解析	榎屋啓志	92
骨形成因子 BMP の骨発生過程における機能解析 三品裕司・神谷宣広	97	
日本実験動物学会からのお知らせ		
AFLAS Council Meeting 報告	101	
第 2 回 AFLAS 学術大会に参加して	101	
日本実験動物学会と日本疾患モデル学会の統合に関する経過報告	102	
他学会情報		
日本動物実験代替法学会第 20 回大会開催案内	105	
ICLAS 情報	105	
EXPERIMENTAL ANIMALS 55(5) 収載論文和文要約集	109	

Vol. 55 No. 5 / October 2006

KIT ミュータントマウスから KIT を標的とした癌治療薬まで

塩野義製薬株式会社新薬研究所 北村幸彦

はじめに

マウスのW遺伝子座のミュータントは、今から少なくとも30年前には米国のJackson研究所から市販されていた。ヘテロのW/+マウスの優勢白斑、ダブルヘテロであるW/W^vマウスのメラノサイト欠損、赤血球低形成、生殖細胞欠損は既に知られていたが、我々はJackson研究所から購入したW/W^vマウスの皮膚組織を観察して、マスト細胞が欠損していることをこのミュータントの4番目の異常として偶然見つけた。一方KIT受容体チロシンキナーゼはネコの線維肉腫の癌遺伝子産物の正常カウンターパートとして見つかった。かなり後になって、マウスのW遺伝子座がKIT受容体チロシンキナーゼをコードしていることが分かったのである。我々はマスト細胞を欠損するW/W^vマウスをレシピエントとして種々の移植実験を行い、マスト細胞の分化過程をあきらかにした^{1,2)}。

KITの機能獲得性突然変異と癌

KITの機能喪失性突然変異の結果マスト細胞が欠損するのなら、KITの機能獲得性突然変異はマスト細胞腫瘍の原因になるのではないかと考えて、腫瘍性のマスト細胞株を調べると、KITの機能獲得性突然変異がヒト、マウス、ラット由来の細胞株で高率に見つかった³⁾。ヒトではマスト細胞腫瘍の頻度は低いが、患者から直接採取したマスト細胞腫瘍にも、KITのチロシンキナーゼ領域に機能獲得性突然変異が見つかる(図1)。イヌはヒトに比べマスト細胞腫瘍の多い動物である。またヒトの場合とは異なり、イヌのマスト細胞腫瘍で見つかるのはチロシンキナーゼ領域ではなく、傍細胞膜領域の機能獲得性突然変異である。

ちょうどその頃ある班の会議で、W/W^vマウスの5番目の異常が報告された。W/W^vマウスは消化管

の蠕動運動のペースメーカーであるカハール介在細胞も欠損していたのである。マスト細胞の場合から類推すると、KITの機能獲得性突然変異がカハール介在細胞から由来する腫瘍の原因になる可能性がある。しかし当時は、カハール介在細胞から由来する腫瘍がヒトでも他の動物でも報告されていなかったため、ヒトの消化管筋層に発生した腫瘍を抗KIT抗体で染色してみたところ、予想よりはるかに多く80%の腫瘍がKIT陽性であった。しかもKIT陽性腫瘍はgastrointestinal stromal tumor (GIST)と云う名で病理組織学的に分類される腫瘍に一致した。それまで組織起源の不明であったGISTがカハール介在細胞の腫瘍であることが明らかになったのである。またGISTの90%にはKITの機能獲得性突然変異が見つかるが、この機能獲得性突然変異の大部分は傍細胞膜領域に存在する(図1)。

前述したように、KIT遺伝子の機能喪失性突然変異であるW/W^vマウスは生殖細胞を欠損している。反対にヒトの精巣、卵巣から発生する生殖細胞の腫瘍ではKITのチロシンキナーゼ領域に機能獲得性突然変異が見つかる(図1)。

分子標的薬イマチニブ

ヒトの慢性骨髄性白血病の原因であるBCR-ABLチロシンキナーゼの標的阻害薬として創られたイマチニブがKITチロシンキナーゼも阻害することがわかり、転移をおこし他に治療法のないGISTの患者に投与されたところ、顕著な延命効果がみとめられた。この1例の報告⁴⁾以後多数の患者が治験を希望したために、我々がKITの機能獲得性突然変異がGISTの原因であることを報告してから数年以内に、イマチニブは転移性GISTの治療薬として世界の主要国で承認された。

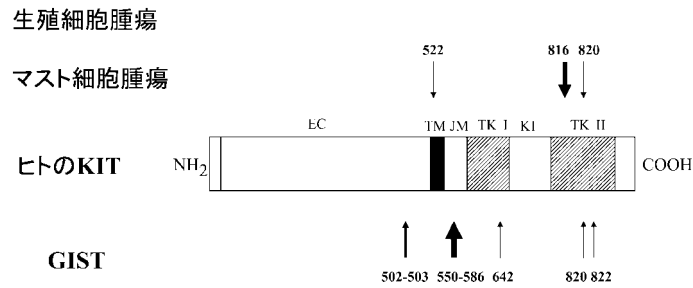


図1 ヒトのマスト細胞腫瘍，生殖細胞腫瘍，GISTで見られるKITの機能獲得性突然変異．矢印の太さはおおよその頻度を示す．

イマチニブはGIST患者の80%に見られる傍細胞膜領域の変異KITを有効に抑制するが，チロシンキナーゼ領域の変異KITには無効である。そのため，ヒトの大部分のマスト細胞腫瘍と生殖細胞腫瘍に対してイマチニブは無効である。また，傍細胞膜領域の変異KITを持つGISTの患者にイマチニブ投与を続けると，チロシンキナーゼ領域に2次性の突然変異が出現する。2次性の突然変異は新しくチロシンキナーゼ領域に生じた機能獲得性突然変異か，イマチニブがKITへ結合するのを阻害するような突然変異で，いずれの場合もイマチニブの治療効果は失われる。現在イマチニブ耐性となったGISTにも有効な新規治療薬の開発が続けられている。

文 献

1. Kitamura, Y., *et al.* 1981. Spleen colony forming cell as common precursor for tissue mast cells and granulocytes. *Nature* 291: 159-160.
2. Kitamura, Y. 1989. Heterogeneity of mast cells and phenotypic change between subpopulations. *Annu. Rev. Immunol.* 7: 59-76.
3. Furitsu, T., *et al.* 1993. Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. *J. Clin. Invest.* 92: 1736-1744.
4. Joensuu, H., *et al.* 2001. Effect of tyrosine kinase inhibitor STI71 in a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N. Engl. J. Med.* 344: 1052-1056.

第53回日本実験動物学会総会 シンポジウム

形態形成と病態の発症に関わる GDNF/RET シグナル伝達系の個体レベルでの解析

名古屋大学大学院医学系研究科附属神経疾患・腫瘍分子医学研究センター

分子病理学分野 高橋雅英

はじめに

神経栄養因子 glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) は受容体型チロシンキナーゼRETを介してその生理機能を発現する。ノックアウトマウスを用いた研究により GDNF/RET シグナル伝達系は腎臓の発生、腸管神経系の形成に必須であり、そのほか一部の中枢および末梢神経細胞の生存・分化や精子形成にも関与していることが明らかになっている¹⁾。またRETは、甲状腺髄様癌などを発症する多発性内分泌腫瘍症 (Multiple Endocrine Neoplasia (MEN)) 2型と腸管神経細胞の分化異常を引き起こすヒルシュスプルング病の原因遺伝子で、その変異により多様なメカニズムでシグナル伝達異常を引き起こし、疾患発症につながる¹⁾。しかしながら、生体内においてGDNF/RET系のどのようなシグナル伝達がこれらの器官形成あるいは病態の発症に関わっているのか必ずしも明らかになっていない。われわれは、RETのシグナル伝達系に異常を生じる数種類のトランスジェニックマウス、ノックインマウスを作製し、GDNF/RETシグナル伝達系の形態形成、病態発症における役割について個体レベルでの機能解析を行っている。

本稿ではMEN2A型変異を有するRETを発現するトランスジェニックマウスとヒルシュスプルング病類似の病態を示す2種類のノックインマウスの作製とその表現型について紹介する。

MEN2A型トランスジェニックマウスの作製

MEN 2型は甲状腺髄様癌と副腎褐色細胞腫を発症し、常染色体優性遺伝を示す腫瘍性疾患である。MEN 2型はさらに2A型と2B型に分類され、前者

は上記の腫瘍に加え、10～20%の頻度で副甲状腺の過形成を、後者は高頻度に(60～100%)に粘膜神経腫、消化管神経節腫、マルファン様体型を生じる。MEN 2A型、MEN 2B型の家系ではRET遺伝子の胚細胞 (germline) 変異が同定され、その原因遺伝子であることが明らかになっている。MEN 2A型変異は主にRETの細胞外ドメインに存在するコドン609, 611, 618, 620あるいは634のシステインのいずれかにミスセンス変異が検出される。MEN2A型変異RET蛋白の性状を解析した結果、RET蛋白が細胞表面にてリガンド非依存性にS-S結合を介した二量体を形成し、活性化されていることを証明した²⁾。

そこで、MEN2A型変異RETの*in vivo*における造腫瘍性を明らかにするため、Moloney murine leukemia virus LTRに結合したMEN2A型変異RET cDNAを導入したトランスジェニックマウスを作製した³⁾。このトランスジェニックマウスではトランスジーンが脳、肝臓、心臓、精巣、耳下腺で高く発現し、甲状腺、肺、腎臓、大腸などで弱く発現していた。興味あることにこのような発現様式にかかわらず、甲状腺髄様癌が必発した(図1)。そのほかの臓器では、乳癌と唾液腺癌が約20%づつ発生した。腫瘍細胞において予想されたとおり、RET蛋白のリガンド非依存性の2量体形成による活性化を検出し、生体内においてもRETの2量体形成が腫瘍発症の原因であることが証明された。しかしながら、肝臓や精巣などでは変異RET蛋白を高発現するにもかかわらず腫瘍を生じない理由については現在のところ明らかでない。



図1 MEN2A型トランスジェニックマウスで発生した甲状腺腫瘍。5ヵ月齢を超えたトランスジェニックマウスでは全例に甲状腺腫瘍が発生した。腫瘍は病理組織学的検索によりカルシトニン陽性の甲状腺髄様癌であることが判明した。

ヒルシュスプルング様病態をしめすノックインマウスの作製

1. Y1062F ノックインマウス

RETの細胞内ドメインに存在するチロシン1062がGDNF刺激によりリン酸化を受けると、SHCなどのアダプター蛋白が結合し、RAS/MAPKやPI3-K/AKTなどの重要な細胞内シグナル伝達系が活性化されることが知られている⁴⁾。われわれのグループは、このチロシン1062をフェニルアラニンに置換したノックインマウスを作製した(Y1062Fマウス)⁵⁾。作製したホモのノックインマウスは生後4週間以内に体重減少を伴って死亡した。病理学的検索により十二指腸から直腸にかけての腸管神経系の著しい形成異常と腎臓の低形成が観察され(図2)、チロシン1062からのシグナル伝達が腸管神経系、腎臓の発生に極めて重要な役割を果たしていることが明らかになった。胎生期のY1062Fマウスの解析により、腸管神経前駆細胞の増殖、遊走能がともに障害されていることが示唆された。胎生期の腎臓においては、後腎組織内での尿管芽の分岐が障害され、腎臓の低形成を引き起こしていた。ノックインマウスの初代培養神経細胞を用いた解析から、生体内ではPI3-K/AKTシグナル伝達系が高度に障害され、RAS/MAPK系が中等度に障害されていることが明らかになった。

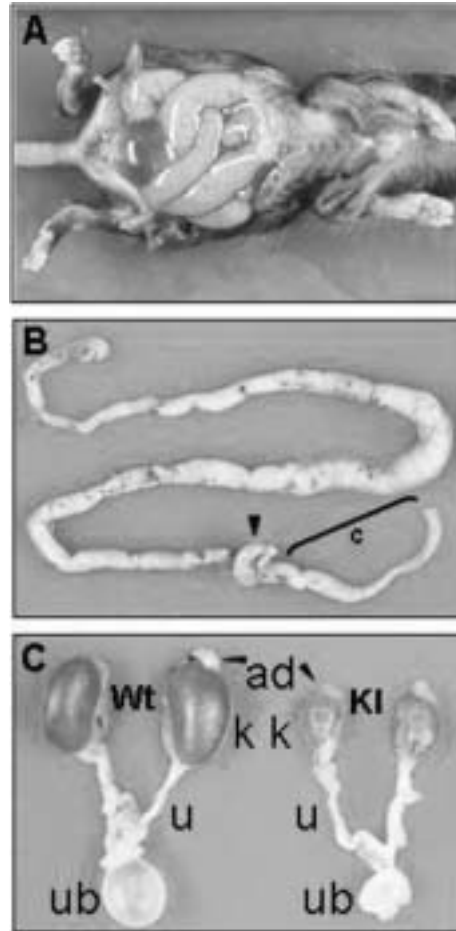


図2 Y1062F ノックインマウスにおける腸管神経系の異常と腎臓の低形成。(A, B)ホモのY1062F ノックインマウスでは腸管の著明な拡張により腹部が膨満していた。病理組織学的には小腸から大腸にかけての腸管神経細胞の欠損あるいは減少によるものであった。矢頭：盲腸；c：大腸。(C)腎臓はホモのノックインマウス(KI)において正常(Wt)の約3分の1の大きさで、低形成を示した。生後13日の腎臓(k)、尿管(u)、膀胱(ub)、副腎(ad)。

2. S697A ノックインマウスの作製

われわれのグループはまたRETチロシナーゼの機能がプロテインキナーゼA(PKA)によっても制御されることを明らかにした。RETの細胞内ドメインに存在するセリン696がPKAによるリン酸化部位であることを証明し、セリン696をアラニンに置換すると、GDNF刺激によって活性化される

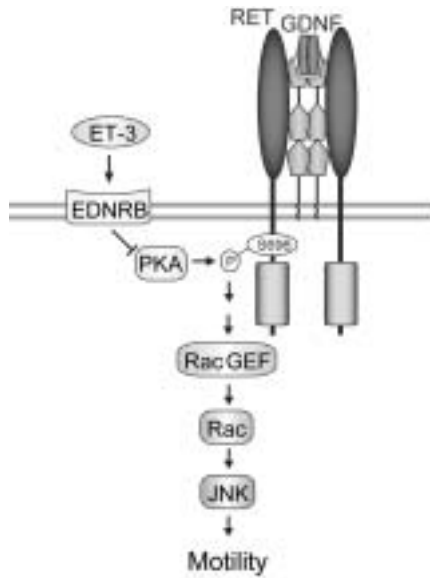


図3 プロテインキナーゼAによるRETのセリン696のリン酸化。セリン696 (S696)のリン酸化はRac/JNKシグナル伝達系の活性化に必須であり、胎児期の腸管神経細胞の遊走に参与している。腸管神経細胞においてエンドセリン3(ET-3)がエンドセリンBレセプター(EDNRB)を活性化し、プロテインキナーゼA(PKA)の機能を制御することにより、RETの機能を修飾している可能性が示唆される。

Rac1/JNKシグナル伝達系が特異的に障害されることを明らかにした^{6,7)}(図3)。さらにRac1/JNKシグナル伝達系が神経系細胞の細胞周期、とくにG2期からM期への移行を制御していることを証明した。そこでマウスRETのセリン697(ヒトRETのセリン696に相当する)をアラニンに置換したノックインマウスを作製し(S697Aマウス)、その表現系を解析した。その結果、腸管神経系では大腸の肛門側半分の領域に著しい腸管神経系の形成異常を観察した。上行結腸から小腸にかけては異常が認められなかった。ホモのS697Aマウスの腸管神経系の形成過程を解析した結果、胎生期における腸管神経前駆細胞の遊走能が低下しており、そのことが大腸遠位部における腸管神経系の欠損を引き

起こしていた。一方、腎臓の発生への影響は極めて軽微であった。よって、JNKの活性は腸管神経前駆細胞の運動能を制御していることが明らかになった。このマウスの解析結果より、ヒルシュスプルング病のもう一つの原因遺伝子であるエンドセリンBレセプターとRETのクロストークがこのセリン697のリン酸化を介して制御されている可能性が示唆された(図3)。

文 献

1. Takahashi, M. 2001. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 12: 361-373.
2. Asai, N., Iwashita, T., Matsuyama, M., and Takahashi, M. 1995. Mechanism of activation of the *ret* proto-oncogene by multiple endocrine neoplasia 2A mutations. *Mol. Cell. Biol.* 15: 1613-1619.
3. Kawai, K., Iwashita, T., Murakami, H., Hiraiwa, N., Yoshiki, A., Kusakabe, M., Ono, K., Iida, K., Nakayama, A., and Takahashi, M. 2000. Tissue-specific carcinogenesis in transgenic mice expressing the *RET* proto-oncogene with a multiple endocrine neoplasia type 2A mutation. *Cancer Res.* 60: 5254-5260.
4. Hayashi, H., Ichihara, M., Iwashita, T., Murakami, H., Shimono, Y., Kawai, K., Kurokawa, K., Murakumo, Y., Imai, T., Funahashi, H., Nakao, A., and Takahashi, M. 2000. Characterization of intracellular signals via tyrosine 1062 in RET activated by glial cell-line derived neurotrophic factor. *Oncogene* 19: 4469-4475.
5. Jijiwa, M., Fukuda, T., Kawai, K., Nakamura, A., Kurokawa, K., Murakumo, Y., Ichihara, M., and Takahashi, M. 2004. A targeting mutation of tyrosine 1062 in *Ret* causes a marked decrease of enteric neurons and renal hypoplasia. *Mol. Cell. Biol.* 24: 8026-8036.
6. Fukuda, T., Kiuchi, K., and Takahashi, M. 2002. Novel mechanism of regulation of Rac activity and lamellipodia formation by RET tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.* 277: 19114-19121.
7. Fukuda, T., Asai, N., Enomoto, A., and Takahashi, M. 2005. Activation of c-Jun amino-terminal kinase by GDNF induces G2/M cell cycle delay linked with actin reorganization. *Genes Cells* 10: 655-663.

第53回日本実験動物学会総会 シンポジウム

ENU誘発変異アレルシリーズによるマウス遺伝子機能解析

理研GSC 動物ゲノム変異開発研究チーム 梶屋啓志

マウスにおける変異リソースには、人工的に作成した変異体と自然突然変異の2種類がある。理化学研究所・ゲノム科学総合研究センター・ゲノム機能情報解析グループでは、化学変異原エチルニトロソウレア(ENU)を用いたマウスの大規模突然変異誘発プロジェクトを行っている。ENUによる突然変異誘発が他の人工的変異作製と異なる点は、1) 変異率の高さ2) 誘発される変異が塩基置換型である。の2点である^{1,2)}。ヒト遺伝疾患のほとんどは塩基置換型の多型(Single nucleotide polymorphism: SNP)によって引き起こされるといわれており、マウスENUミュータジェネシスで塩基置換型の変異が誘発されることは、ヒト疾患モデルマウスを開発する上で有利となるポイントのひとつである。

以下に理化学研究所にて行われているマウスENUミュータジェネシスの概要を示す(図1)。ENUは、上述のように、ゲノム上に約 10^{-3} /locus/gameteという高率でランダム位置に塩基置換型(SNP型)変異を誘発する。これにより、遺伝子上でも様々な位置に変異が入り、単に機能欠失だけでなく、部分的機能欠失を含めた様々な機能障害をひき起こすことになる。1つの遺伝子について、このような対立遺伝子座(アレル)を複数解析することができれば、遺伝子機能についての複数の側面を知ることができることとなる。このようにして誘発された変異リソースに対して、表現型本位(Phenotype driven)なスクリーニングを行うことにより、特定の疾患表現型に関わる遺伝子群、アリル群を網羅的に取得できると考えられる。我々は、表現型スクリーニングのために、網羅的表現型解析プラットフォームを開発した。このシステムは、可視的表現型(形態、行動)、血液像、生化学、聴覚、発癌等のそれぞれについて、ハイスループットな検査系を開発し、統合したものである(図2)。このシス

テムによって、主に点突然変異によりもたらされ、臨床所見的にも、遺伝学的にも広範囲な多様性を示すヒト遺伝疾患のモデルとなるような変異マウスを多数抽出しようとしている。得られた変異体は連鎖解析による遺伝子マッピングを行い、変異遺伝子の染色体上の位置を調べる。この情報は、既知の変異体との対応や、原因遺伝子のクローニングに用いられる。我々のプロジェクトで得られた変異体について、類似した表現型を示すものをコレクションすると、その中に、同じ染色体上に位置する変異体が複数含まれることがしばしばある。これらは同じ遺伝子の変異に由来すると考えられ、1つの遺伝子について複数の変異体を得るために、表現型スクリーニングを用いることが有効であることを示している³⁾。我々は得られた変異マウスをホームページ(<http://www.gsc.riken.jp/Mouse/>)にて公開している。これらのマウスは希望があれば理研BRCを通して分譲が可能となっている。ま

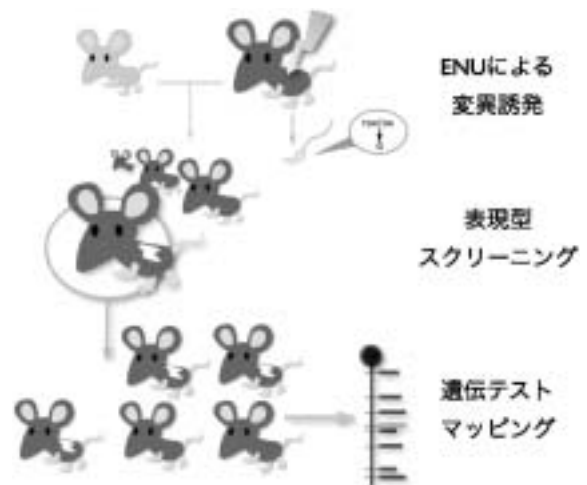


図1 マウスENUミュータジェネシスの概要。

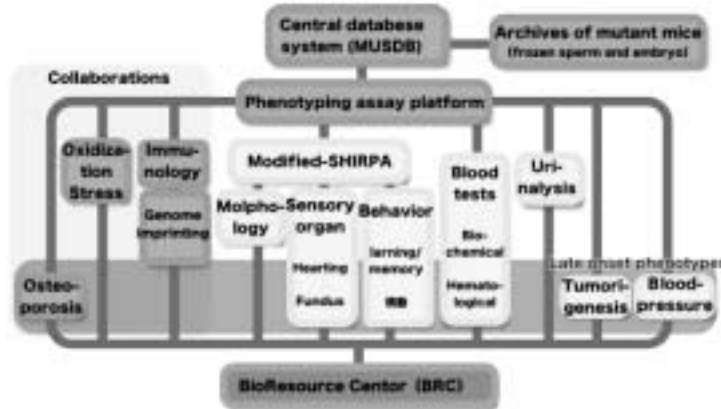


図2 理研GSCにおける網羅的表現型プラットフォーム。

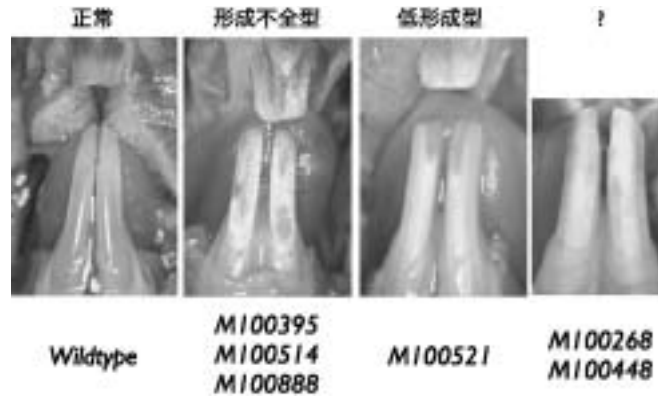


図3 切歯エナメル質に異常を呈する複数の変異体。

た、表現型プラットフォームの内容、コントロールデータ等も同サイトで公開している。

表現型スクリーニングによって得られたENU誘発アレルシリーズの一例として、エナメル質形成不全症 (Amelogenesis imperfecta: AI) モデルマウスについて紹介する。ヒトAIはエナメル質形成に異常を示すヒト遺伝疾患であり、いくつかの原因遺伝子が知られている。ただし、臨床学的な所見および、遺伝学的な知見の双方が非常にバリエーションに富んでおり⁴⁾、これらの違った症状の起こる分子生物学的な基盤については、未だ不明な点が多く残されている。

我々はマウス可視的表現型の網羅的スクリーニングである、Modified-SHIRPAによって、切歯エナメル質に異常を呈する複数の変異体が抽出した

(図3)。この中で、3つの突然変異体は第5染色体上のエナメル質構成分子 Enamelin (*Enam*)、Ameloblastin (*Ambn*) 遺伝子近傍にマップされたが、その表現型のタイプは、ヒトAIの低形成型、形成不全型に相当する2種類に大別された。*Enam*、*Ambn*量遺伝子の塩基配列解析により、これら3つの変異体は*Enam*遺伝子にDNA塩基置換があることが確認された(図4)。ヒトAIのひとつであるAIH2はENAMが責任遺伝子であることが判明している⁵⁻⁹⁾。M100521アレルはイントロン4のスプライシングドナー位置に変異があり、スプライシング異常が引き起こされることが予想されたため、RT-PCRおよびReal time RT-PCRによる解析を行った。この結果、変異型mRNAほぼ全てが分解されていることが明らかとなった(図5)。よっ

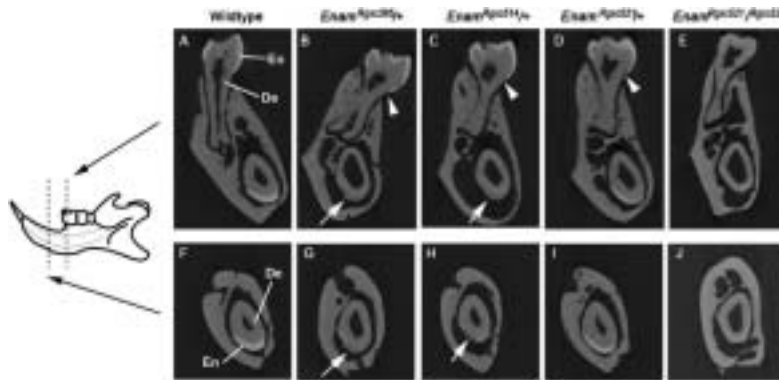


図6 *M100521*ヘテロ，ホモにおける歯のCT像．ホモではエナメル質が完全に欠失している．

Affected Gene	<i>Enam</i> (Masuya et al 2005)			<i>Amelx</i>	
Mutant or allele	<i>M-521/M-521</i>	<i>M-521/+</i>	<i>M-395/+</i> <i>M-514/+</i>	<i>Amelx</i> knockout (Gibson et al 2001)	<i>M-888/+</i>
Molecular disfunction	Completely loss of Enamelin	Haplo-insufficiency of Enamelin	Missense mutation of some subproducts of Enamelin	Completely loss of Amelogenin	Missense mutation of some subproducts of Amelogenin
Corresponding human clinical variant	Generalized hypoplastic AI (Completely loss of enamel)	Hypomaturation AI (Soft enamel)	Local hypoplastic AI (Locally loss of enamel)	Smooth hypoplastic AI (Thin enamel)	Local hypoplastic AI (Locally loss of enamel)

図7 ENUミュータジェネシスによって得られたAIモデルマウスのバリエーション．

て *M100521* アレルは機能欠失型変異と結論された。このアレルはヘテロでは低形成型のエナメル質形成不全症に類似した表現型を示し，ホモでは形成不全型のひとつに分類されるエナメル質の完全な欠損を示した（図6）。このことより，エナメル質形成に *Enam* 遺伝子が不可欠であることが示された。また，エナメル質の主要構成タンパクである Amelogenin をコードする *Amelx* ノックアウトマウス¹⁰⁾との比較により，Enamelin はエナメル質形成開始，Amelogenin はエナメル質成長において機能していることが示唆される。

アミノ酸塩基置換をもたらす *M100395* および *M100514* のヘテロ接合体はヒトでの形成不全型に相当する症状を示すことが確認された。この症状は *M100521*ヘテロ，ホモとも異なるため，Enamelin

タンパクの欠損および不足では説明できない。我々は *Enam* 遺伝子機能の異なる側面が *M100395* および *M100514* で示されていると考えている。面白いことに，X染色体上にマップされる *M100888* 変異体と，これら2つのアレルの症状は類似していた。*M100888* は，*Amelx* 遺伝子近傍にマップされ，塩基配列解析の結果，この遺伝子に変異を持つことが明らかとなった。共にエナメル質構成タンパクである Enamelin と Amelogenin には何らかの相互作用があるかもしれない。

以上のように，ヒトにおける変化に富んだ臨床所見を，マウスモデルにおいて再現することができ（図7），これらのマウスの解析によって，遺伝子機能について新たな知見を得ることが出来た。今後さらに AI の分子生物学的および，遺伝学的基

盤を明らかにする上で、これらのマウスがモデルとして極めて有効であることが示唆される¹¹⁾。

文 献

1. Hitotsumachi, S., Carpenter, D.A., and Russell, W.L. 1985. Dose-repetition increases the mutagenic effectiveness of N-ethyl-N-nitrosourea in mouse spermatogonia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 6619–6621.
2. Nolan, P.M., Kapfhamer, D., and Bucan, M. 1997. Random mutagenesis screen for dominant behavioral mutations in mice. *Methods* 13: 379–395.
3. Masuya, H., Inoue, M., Wada, Y., Shimizu, A., Nagano, J., Kawai, A., Inoue, A., Kagami, T., Hirayama, T., Yamaga, A., Kaneda, H., Kobayashi, K., Minowa, O., Miura, I., Gondo, Y., Noda, T., Wakana, S., and Shiroishi, T. 2005. Implementation of the modified-SHIRPA protocol for screening of dominant phenotypes in a large-scale ENU mutagenesis program. *Mamm. Genome* 16: 829–837.
4. Witkop, C.J. Jr. and Sauk, J.J. Jr. 1976. Heritable defects of enamel. p. 151. *In: Oral Facial Genetics* (Stewart, R.E. and Prescott, G.H. eds.) Mosby, St Louis.
5. Hu, J.C., Zhang, C.H., Yang, Y., Karrman-Mardh, C., Forsman-Semb, K., and Simmer, J.P. 2001. Cloning and characterization of the mouse and human enamel genes. *J. Dent. Res.* 80: 898–902.
6. Dong, J., Gu, T.T., Simmons, D., and MacDougall, M. 2000. Enamelin maps to human chromosome 4q21 within the autosomal dominant amelogenesis imperfecta locus. *Eur. J. Oral Sci.* 108: 353–358.
7. Rajpar, M.H., Harley, K., Laing, C., Davies, R.M., and Dixon, M.J. 2001. Mutation of the gene encoding the enamel-specific protein, enamel, causes autosomal-dominant amelogenesis imperfecta. *Hum. Mol. Genet.* 10: 1673–1677.
8. Mardh, C.K., Backman, B., Holmgren, G., Hu, J.C., Simmer, J.P., and Forsman-Semb, K. 2002. A nonsense mutation in the enamel gene causes local hypoplastic autosomal dominant amelogenesis imperfecta (AIH2). *Hum. Mol. Genet.* 11: 1069–1074.
9. Hart, T.C., Hart, P.S., Gorry, M.C., Michalec, M.D., Ryu, O.H., Uygur, C., Ozdemir, D., Firatli, S., Aren, G., and Firatli, E. 2003. Novel ENAM mutation responsible for autosomal recessive amelogenesis imperfecta and localised enamel defects. *J. Med. Genet.* 40: 900–906.
10. Gibson, C.W., Yuan, Z.A., Hall, B., Longenecker, G., Chen, E., Thyagarajan, T., Sreenath, T., Wright, J.T., Decker, S., Piddington, R., Harrison, G., and Kulkarni, A.B. 2001. Amelogenin-deficient mice display an amelogenesis imperfecta phenotype. *J. Biol. Chem.* 276: 31871–31875.
11. Masuya, H., Shimizu, K., Sezutsu, H., Sakuraba, Y., Nagano, J., Shimizu, A., Fujimoto, N., Kawai, A., Miura, I., Kaneda, H., Kobayashi, K., Ishijima, J., Maeda, T., Gondo, Y., Noda, T., Wakana, S., and Shiroishi, T. 2005. Enamelin (Enam) is essential for amelogenesis: ENU-induced mouse mutants as models for different clinical subtypes of human amelogenesis imperfecta (AI). *Hum. Mol. Genet.* 14: 575–583.

骨形成因子 BMP の骨発生過程における機能解析

米国立環境衛生科学研究所生殖発生毒性学部門 三品裕司
神谷宣広

はじめに

骨形成因子(BMP)はTGF- β スーパーファミリーに属する分泌タンパク質である。これらは皮下に移植した場合、異所性に骨を作る活性を持った物質として発見された。その活性がタンパク質分解酵素に感受性であったことから Bone Morphogenetic Proteinと命名された。精製されたタンパク質のペプチド配列をもとに遺伝子がクローン化され、TGF- β の仲間であることがわかり、今では20種類以上のBMPとその関連遺伝子が知られるようになった。これまで10年以上にわたり、BMPやその受容体のノックアウトマウスが作成され、その解析結果からBMPは異所的骨化作用ばかりでなく、初期胚での軸形成から様々な臓器形成まで、広範な生物活性を持つことが明らかになってきた。しかしながら、最も強力な骨誘導活性を持つBMP2やBMP4、その受容体のノックアウトマウスが初期胚で致死となってしまうため、これら遺伝子産物の骨の発生や維持に対する機能については解析が遅れていた。

BMP 受容体とその機能解析

BMPの受容体はI型とII型が知られており、どちらも細胞膜貫通ドメインを一つ持ったセリンスレオニンキナーゼである。シグナル伝達には両者が複合体を作ることが必須である。I型受容体にはBMPRIA, BMPRIIB, ACVRIの3種類が知られている。受容体からのシグナルは大きくSmadのリン酸化を介する経路とp38MAPキナーゼを介する経路とに二分する。それぞれの経路に関与する遺伝子のノックアウトマウスもいくつか作成され、現在解析が精力的に行われている¹⁾。

我々は以前IA型BMP受容体(Bmpr1a)のノッ

クアウトマウスを作成し、中胚葉を誘導することなく初期胚で致死となることを報告した²⁾。そこで、BMPRIAを介するBMPシグナルの発生後期、生誕後の機能を調べるために、Cre/loxP系を利用したコンディショナルノックアウトマウスを作成した(図1)。11個あるエクソンのうちの第二エクソンをloxPサイトで囲み、第二エクソンがなくなることでBMPRIAの活性が消失することを確認した³⁾。こうして作成したマウスを様々な発現特異性を持ったCreトランスジェニックマウスと交配することによって、ボディパターン、心臓形成、肢芽形成、顔面形成、神経発生、毛根形成などさまざまな組織に対する多様なBMPシグナルの機能を示してきた⁴⁾。

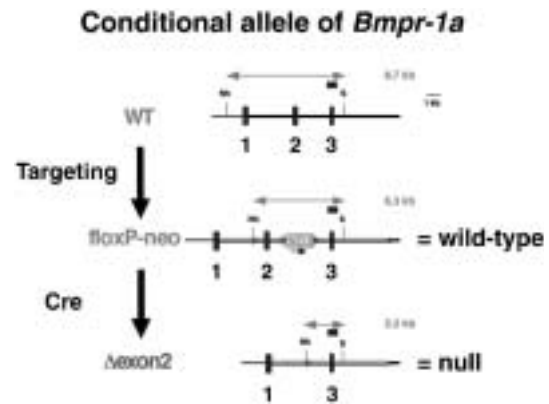


図1 コンディショナル変異マウスの作成。11個あるBMPRIA型受容体遺伝子(Bmpr1a)のエクソンのうち、第二エクソンをジーンターゲティング法によりloxPサイトで囲んだ。第二エクソンをCre組み替え酵素によって除くことで遺伝子の機能欠損が起こることを確認し、以後の実験に用いた。文献3より一部改変。

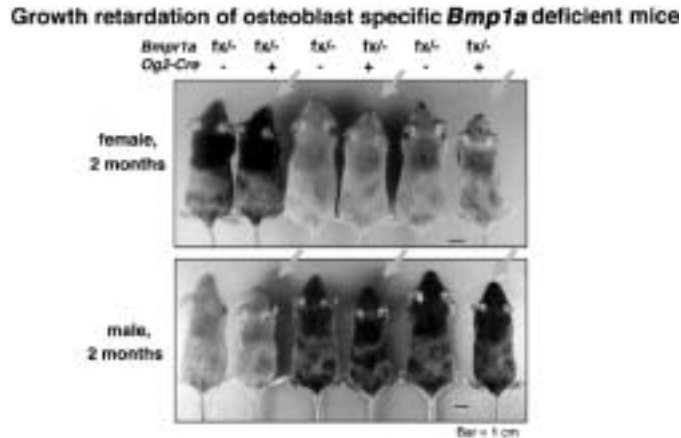


図2 骨特異的な *Bmpr1a* ノックアウトマウスの表現型．オステオカルシン-Cre(*Og2-Cre*)マウスと掛け合わせることで *Bmpr1a* を骨芽細胞特異的にノックアウトした．胎児致死は回避され、体長の少し短いマウスが誕生した(矢印)．文献5より一部改変．

また、骨の維持に対する BMP シグナルの役割を調べるため、オステオカルシンプロモーターにより骨芽細胞特異的に Cre を発現するトランスジェニックマウスを用いて解析を行った⁵⁾。Cre/loxp 系の利用により、初期胚での致死は回避され、骨特異的に BMPRIA を消失したマウスが誕生した(図2)。生後3ヵ月齢までは、これら骨特異的なノックアウトマウスはコントロールに比べてやや短い体長を示し、大腿骨の骨量は約半分程度に減少していた。これらのことは、BMP シグナルが骨芽細胞の造骨作用に重要な働きを果たしていることを示している。興味深いことに、生後3ヵ月の変異マウスではコントロールに比べて低い骨量を示したのに対し、生後10ヵ月の変異マウスはより高い骨量を示した(図3)。骨特異的なノックアウトマウスにおいて、骨の合成速度は低いままであったので、破骨細胞の機能低下がその理由として考えられた。実際にノックアウトマウスから調整した頭蓋骨の器官培養系において、BMP 添加により破骨細胞特異的なマーカー遺伝子発現の増加がみられなかったことから、10ヵ月齢の骨特異的なノックアウトマウスにおいては、BMP は骨芽細胞による破骨細胞への機能補助に重要であることが示された。これらの結果は BMP シグナルへの骨芽細胞の反応が月齢依存的に変化することを示唆している(図4)。

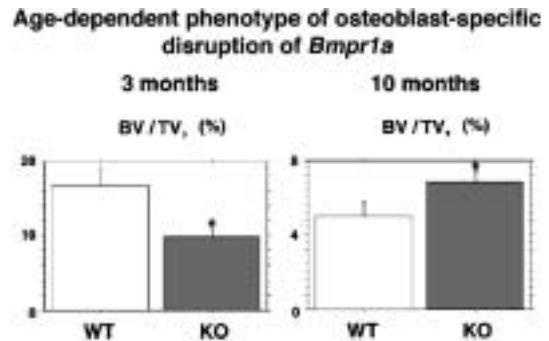


図3 月齢特異的な骨の表現型．3ヵ月齢では *Bmpr1a* の骨特異的なノックアウトマウス(KO)はコントロール(WT)に比べ低い骨量を示した．10ヵ月齢ではノックアウトマウスの骨の合成速度は低いままであったが、コントロールに比べ高い骨量を示した BV, bone volume, TV, total volume. 文献5より一部改変．

BMP の骨に対する多様な役割

これらの結果を踏まえて、月齢依存的な BMP シグナルの機能をより直接的に調べるため、我々はタモキシフェン(TM)投与によって DNA 組み換え活性が誘導できる CreER を使い、組織特異性に加えてステージ特異性を合わせた2次元的なノックアウトを行うことにした。骨芽細胞特異的にノックアウト

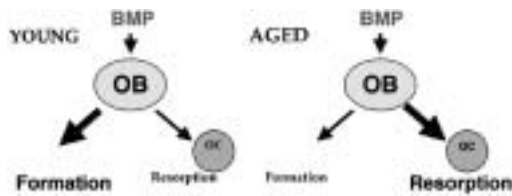


図4 月齢特異的な骨芽細胞の反応。骨芽細胞は自身で骨を作るとともに、破骨細胞による骨の吸収機能に必要であることが知られている。月齢の低いときには骨芽細胞はBMP刺激によってより骨を作る方向へ反応し、月齢が高いときには逆に破骨細胞をよりサポートする方向へ反応すると考えると、骨特異的なBMP受容体ノックアウトマウスの加齢による表現型の変化を説明できる。OB, osteoblast, OC, osteoclast。

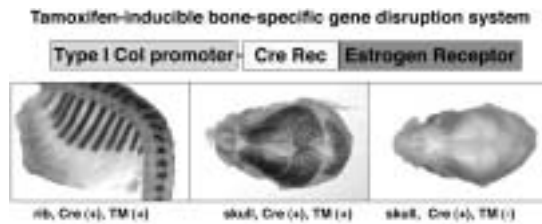


図5 骨特異的、月齢特異的なノックアウトシステム。Cre 組換え酵素とエストロゲン受容体の融合タンパク (CreER) はタモキシフェンと結合するまでは細胞質にとどまり、核でのDNA組換えには関与できない。これを骨特異的なプロモータ (ここではI型コラーゲンを使用) で発現させることによって、骨特異的、かつ月齢特異的なBMP受容体のノックアウトを行うことができる。Creの活性をlacZレポーターマウスを使って調べると、骨特異的、かつタモキシフェン(TM)依存的に活性がみられた (黒い染色)。

を行うため、CreERをI型コラーゲンプロモーターで発現させた (図5)。胎児期13日目から17日目までTMを妊娠マウスに投与し、18日目で胎児を調べたところ、長管骨においてはミネラル化の大幅な低下が認められた。皮質骨は薄く、骨稜は未発達な形態を示した。一方、頭蓋骨は変異マウスの方でより高いミネラル化が見られた。これらの結果は骨芽細胞におけるBMPシグナルの働きが内軟骨性骨化と膜性骨化とで異なる可能性を示している。

生誕直後から3週間TMを投与した場合には、変異マウスの骨稜はより成熟した形態を見せたが、骨密度はコントロールに比べ低い値を示した。生後2ヵ月から5ヵ月までの間TMを投与した場合には、変異マウスの骨密度はコントロールに比べ高い値を示した。これらの結果はオステオカルシンCreマウスで得られた結果と一致している。興味深いことに長管骨の間でも骨密度が高くなる程度は骨の場所によって大幅に変化した。これらのことから、骨芽細胞のBMPシグナルへの反応性は、骨の場所、形態によって異なることが示唆された。

おわりに

これらの結果はBMPRIAを介するBMPシグナルは骨の形成そのものには必須ではないものの、骨の質を保つために重要な働きをしていることを示している。また、BMPの作用は骨化の様式が異なる長管骨と頭蓋骨とで異なり、加齢によって変化

し、また長管骨の間でも場所によって異なることが示唆された。以上述べたように、BMPの作用は単一の組織をとって見た場合でも、時期や部位によって異なっており、その多面作用には改めて驚かされる。

謝辞

第53回大会において発表の機会を与えてくださった国枝哲夫先生に感謝いたします。また、今回の発表の一部はハーバード大学マサチューセッツ総合病院の小林竜也博士、ハンククローネンバーグ博士、メルク/ワイエスの原田俊一博士、ミズーリ大学カンザス校のジャンフェン博士、ノースカロライナ大学チャペルヒル校の山内三男博士との共同研究です。なお、原田俊一博士は本年7月、執務中に急逝されました。新しい環境で意欲的なテーマを展開しようとしていた矢先でした。硬組織研究界へ数多くの業績を残され、だれからも親しまれた博士のその早すぎる旅立ちはまことに残念でなりません。謹んでご冥福を祈ります。

文 献

1. Kishigami, S. and Mishina Y. 2005. BMP signaling and early embryonic patterning. *Cytokine Growth*

- Factor Rev.* 16: 265–278.
2. Mishina, Y., Suzuki, A., Ueno, N., and Behringer, R.R. 1995. Bmpr encodes a type I bone morphogenetic protein receptor that is essential for gastrulation during mouse embryogenesis. *Genes Dev.* 9: 3027–3037.
 3. Mishina, Y., Mark C., Hanks, M.C., Misura, S., Tallquist, M.D., and Behringer, R.R. 2002. Generation of Bmpr/Alk3 conditional knockout mice. *Genesis.* 32: 66–72.
 4. Mishina, Y. 2003. Function of Bone Morphogenetic Protein signaling during mouse development. *Frontier in Biosciences* 8: d855–869.
 5. Mishina, Y., Starbuck, M.W., Gentile, M.A., Fukuda, T., Seedor, G.J., Hanks, M.C., Amling, M., Harada, S., Pinero, G.J., and Behringer, R.R. 2004. BMP type IA receptor signaling regulates postnatal osteoblast function and bone remodeling. *J. Biol. Chem.* 279: 27560–27566.

日本実験動物学会からのお知らせ

AFLAS Council Meeting 報告

日 時：2006年8月31日(木), 13:30 ~ 15:00

場 所：韓国済州島

Jeju International Conference Center

Council memberの中で、韓国(4名)、中国(3名)、台湾(1名)、日本(5名)が出席し、タイとフィリピンが欠席した(定足数を満たした)。オブザーバーとしてマレーシアとシンガポールが出席。日本からの出席者は、菅野 茂前 AFLAS 会長、笠井 憲雪 AFLAS 副会長、伊藤豊志雄 AFLAS 委員、芹川忠夫理事長、黒澤 努国際交流委員長であった。

Lee 会長の挨拶、出席者の自己紹介の後に Kwon 事務局長の司会で議事が進行した。

議 事

1. 決算と予算

2005 ~ 2006 年の決算と 2006 ~ 2007 年の予算が承認された。

年会費は変更なしで、JALAS の分担金は 2,000 ドル。

2. 次回 AFLAS 会議

2008 年第 3 回大会は中国実験動物学会(CALAS)の Qin 大会長で、北京での開催が決定した。時期は 11 月上旬を予定。

3. 次々回 AFLAS 会議

2010 年は台湾実験動物学会(CTSLAS)が担当することの内諾を得た。

4. 2006 年 ~ 2008 年の Executive Board

President: Dr. Qin Chuan

Immediate past-President: Dr. Yong-Soon Lee

Vice-President: Dr. Yang-Seok Oh

Dr. San-Chi Liang

Dr. Noriyuki Kasai

Secretary General: Dr. Zhang Lian-Feng

Auditor: Dr. Parntep Ratanakorn

なお、今回、ICLAS 定款の“副会長を 2 名から

3 名に変更する案”が承認された。これに伴い AFLAS 規程の改正がなされる。

5. 新メンバー候補

マレーシアとシンガポールが新メンバーとして加わる意思が示された。帰国後国内で承認を得た後で正式に参加手続きを取ることとなった。

6. AFLAS Journal

出版の可否について、今後更に検討をすることとした。

7. AFLAS ホームページ

今後中国実験動物学会が管理することが決められた。

(文責：伊藤豊志雄)

第 2 回 AFLAS 学術大会に参加して

第 2 回アジア実験動物学会連盟(AFLAS)学術大会は去る 8 月 30 日から 9 月 1 日までの 3 日間、韓国の代表的な観光地であるジェジュ(済州)島の国際コンベンションセンターにて開催されました。今大会は AFLAS 会長韓国ソウル大学イ・ヨンスン(李 栄純)教授を大会長として韓国実験動物学会会長オウ・ヤンセオク教授(ハリム大学)を実行委員長として、韓国実験動物学会を挙げて運営され、すばらしい大会となりました。

大会にはアジア各国はもとより世界各地から約 500 名の参加者があり、日本からも本学会会員を中心に約 50 名が参加しました。大会はキム・サンゴン博士の開会講演に始まり、ヒト疾患モデル動物などの 9 シンポジウムには 10 カ国から 41 名の方が講演を行い、うち日本からは 10 名の方が講演を行いました。また、ポスターは 5 カ国から 148 題の発表があり、うち日本からは 20 題の発表がなされました。

今大会の特徴は、ICLAS(国際実験動物学会)と AAALAC International の支援によりこれらの国際組織が主体となり 2 つのシンポジウムが開かれた

め、アジアのみならずアメリカやイタリアなど世界12カ国から参加者が集い、国際レベルでの議論がなされたことです。

また、この大会で高橋英機会員(理研)が優秀若手研究者として、久和茂会員(東京大)と岡野伸哉会員(東北大)が優秀ポスター発表者として、さらに菅野茂会員(東大名誉教授)と笠井憲雪会員(東北大)がAFLAS設立と第1回大会開催の功労者としてそれぞれ顕彰されました。

期間中に開かれたAFLAS会員学会代表者によるAFLAS Council会議で、次の第3回大会は秦川AFLAS新会長の下で2008年秋に北京にて中国実験動物学会による運営で行われること、さらに第4回大会は2010年に台湾で開催されることが決められました。

(文責：笠井憲雪)

日本実験動物学会と日本疾患モデル学会の統合に関する経過報告

現在、日本実験動物学会と日本疾患モデル学会の間では、実験動物、疾患モデルに関する学術活動の一層の発展を目的として、両学会を統合することを前提とした検討が進められている。この経過については、適宜、理事会、総会等で報告がされているところではあるが、今回、学会員にこの件に関してより正確に理解していただくために、これまでの両学会の間での検討の経過について改めて報告する。本報告は、平成16・17年度実験動物学会将来計画委員会(吉川泰弘委員長)の報告をもとに、平成18年4月に発足した両学会の合同の委員会(学会統合組織委員会：八神健一委員長)における検討状況を加筆したものである。

1. 両学会の歴史

日本実験動物学会は、1951年に安東洪次、田嶋嘉雄らにより「実験動物研究会」として設立され、翌1952年には「実験動物彙報(現、学会誌「Experimental Animals」)の発行が開始された。その後、「日本実験動物研究会」、「日本実験動物学会」と名称変更を重

ね、1986年に文部省所管の公益法人「社団法人日本実験動物学会」として認可を受けた。この間に、1966年に「日本実験動物技術者懇談会(現、日本実験動物技術者協会)」、1985年に農水省所管の公益法人「社団法人日本実験動物協会」が設立され、実験動物技術者の組織化や教育認定事業が発展的に展開されていった。

一方、学術研究分野においては、実験動物が広く医学研究分野、特に人の疾患研究に多用されるにつれ、学会内に「疾患モデル動物専門部会(ワーキンググループ)」を設置し、疾患モデル動物の利用と維持に関する全国調査や疾患モデル動物ニュースの学会誌上での連載など活発な活動が進められた。このワーキンググループの廃止を契機に、1984年に発展的に「疾患モデル動物研究会」が設立され、「日本疾患モデル動物学会」、「日本疾患モデル学会」と名称変更を重ね、現在に至っている。このように、両学会は、学術研究という学会活動の中心部分において、その目的を同じくするものであり、両学会に所属する会員も多い。

2. 統合の必要性

近年、学術研究が網羅的になり、複合的・総合的なアプローチによる巨大な科学研究プロジェクトが導入されるにいたって、細分化・専門化した学会・研究会の統合を図る必要性が、多くの学術分野で認識されるようになった。実験動物学会においても、疾患モデルは学術研究の主要命題のひとつであり、現在も、その演題は多数を占める。疾患モデル学会との統合により、疾患モデル動物を用いた研究成果が実験動物学会にフィードバックされ、この分野の研究のいっそうの発展が期待できる。

一方、学会の運営には、会員管理や会計処理ならびに学会誌編集等、多大な労力を要し、大学や研究機関の法人化が進む中で独自の事務所や事務局スタッフを持たない学会の運営は困難な状況にある。さらに、学会の資産管理や個人情報管理、情報公開など、学会活動に対する社会的要請も格段に強まる中で、疾患モデル学会の組織的基盤の強化は避けられない現状がある。

また、学会の発展のためには、ある程度の規模が必要であり、会員の増加は規模の拡大に向けての第1歩となる。特に、若い研究者の確保は、どの学会

にとっても今後の学会の維持・発展のために必須の要素である。このような状況から、両学会の統合は双方の不都合を補完しあうものであり、この統合を契機として、今後、新たな実験動物学会が実験動物関連の諸団体を必要に応じて統合して行くためのリーダーシップを発揮することが期待できる。

3. 統合に向けた両学会の取り組み

- ・ 2002年11月 疾患モデル学会将来検討委員会、幹事会において、実験動物学会との統合に向けた検討を開始した。
- ・ 2003年11月 疾患モデル学会評議員会および総会において、将来検討委員会、幹事会での統合に関する検討状況について報告され、意見交換がなされた。
- ・ 2003年11月 山村研一疾患モデル学会会長より、菅野茂実験動物学会理事長および吉川泰弘将来計画委員会委員長に対し、両学会の統合に関する検討が依頼された。
- ・ 2004年11月 疾患モデル学会総会において、実験動物学会との統合を一つの選択肢として具体的検討を進めること、会員の意向を確認するためアンケートの実施が承認された。
- ・ 2005年3月 実験動物学会将来計画委員会（委員長：吉川泰弘，委員：井上 達，浦野 徹，加藤秀樹，久和 茂，国枝哲夫，芹川忠夫，降矢 強，八神健一，山村研一）において、両学会の統合に関して審議し、統合に向けた具体的な協議を進めることとした。また、同委員会の中に、学会統合ワーキンググループ（委員長：八神健一，委員：岡部 勝，久和 茂，国枝哲夫，樋野興夫）を設置し、統合に向けた具体的な問題点やタイムテーブル案の検討を開始した。
- ・ 2005年3～4月 疾患モデル学会が統合に関する会員アンケートを実施し、回収率約60%で、賛成（積極的賛成および消極的賛成）の回答が約70%であった。
- ・ 2005年11月 実験動物学会将来計画委員会は、学会統合ワーキンググループによる検討結果をもとに、「日本疾患モデル学会・日本実験動物学会の統合に関する検討報告」をまとめ、菅野理事長および山村会長に報告した。
- ・ 2005年11月 疾患モデル学会幹事会、評議員会、総会において、統合に関する検討経緯が説明され、実験動物学会との統合を基本方針とすること、両学会の統合に向けて両学会より選出された委員による合同委員会を設置すること、委員の選定は会長に一任することが承認された。
- ・ 2005年12月 実験動物学会理事会において、統合に関する検討経緯が説明され、両学会の統合に向けて両学会より選出された委員による合同委員会で具体的協議を開始することが承認された。
- ・ 2006年4月 両学会より選出された委員による「学会統合組織委員会（委員長：八神健一，委員：岡部 勝，菅野 純，国枝哲夫，桑原正貴，佐伯武頼，関口富士男，芹川忠夫（6月より米川博通に交代））」が設置され、統合条件の整理や統合合意書（案）の検討を開始した。
- ・ 2006年5月 実験動物学会理事会および総会において、統合問題に関する経緯が報告され、2006年度の事業計画として、両学会の統合を進めることが承認された。

4. 統合の基本方針

実験動物学会と疾患モデル学会は、疾患モデル動物を含む実験動物学関連領域のいっそうの発展と関連する学術研究の推進のため、両学会の統合を進める。

疾患モデル学会正会員は、2007年度をもって実験動物学会正会員に移行するものとし、また、疾患モデル学会の基本財産も2007年度をもって実験動物学会に移管するものとする。そのために必要な手続きを行う。

実験動物学会は、定款の改正をしない範囲で、上記の手続きを円滑に進めるために必要な細則・規程・申し合わせ等の改正を行う。

実験動物学会は、疾患モデルに関する学術研究が学会活動の中核のひとつであることを認識し、学術集会や学会誌のあり方について、それぞれ当該委員会において継続的に検討する。

統合に向けた諸手続きの検討および統合合意書案作成を、学会統合組織委員会において進める。

5. 実行計画（タイムテーブル）案

（現時点での概要を示すものであり，詳細は学会統合組織委員会で引き続き検討）

予定年月日	実施事項
2006年10月	統合の条件について「学会統合組織委員会」で検討し，統合合意書案を作成
2006年11月	実験動物学会理事会において統合合意書案の審議
2006年11月	疾患モデル学会幹事会，評議員会，総会において「統合合意書案」を提示し，審議のうえ学会統合の承認を得る
2007年5月	実験動物学会理事会において統合合意書案および関連する細則等の審議，承認，さらに総会において統合合意書案の承認
2007年8月31日	疾患モデル学会幹事会，評議員会において，統合合意書の審議，承認，さらに総会において報告
2007年9月1日	疾患モデル学会会員の実験動物学会会員への移行手続きの実施
2007年12月頃	実験動物学会次期役員（2008 / 2009年度）の選挙
2008年3月31日	疾患モデル学会は基本財産を実験動物学会に移管し，残務整理を終えた後に，事務局を閉鎖する。

6. 今後の検討課題

疾患モデル関連の企画：現在の疾患モデル学会の活動を，シンポジウム等の形式で統合後も一定期間行うなど，実験動物学会非会員の疾患モデル学会会員が，実験動物学会に入りやすい環境を作ることが必要である。疾患モデル関連の秋季シンポジウムあるいはワークショップなどの新企画も検討する。

会員の移行：疾患モデル動物学会会員のうち約半数を占める実験動物学会非会員が，円滑に実験動物学会に移行できるよう，具体的な手続きを検討する。

会員の権利：疾患モデル動物学会会員のうち約半数を占める実験動物学会非会員の意見が統合後の学会運営に反映できるよう考慮し，統合後直ちに実験動物学会会員としての権利を行使できるような対応を検討する。具体的には，統合後の役員選挙に合わせて，選挙権および被選挙権を行使できるよう，会員の移行手続きを検討する。

細則・諸規程・申し合わせ等の改正：上記の手続きを円滑に進めるため，必要な改正を行う。学会誌の名称など，統合後も引き続き検討する。

（学会統合組織委員会）

他 学 会 情 報

日本動物実験代替法学会 第20回大会開催案内

日 時 : 2006年12月8日(金)・9日(土)
 会 場 : 〒153-8505 東京都目黒区駒場4-6-1
 東京大学駒場IIキャンパス内・総合研究実験棟(An棟)2階コンベンションホール(口演)・隣接するポスター会場(ホワイエ)および必要に応じて棟内の各種会議室。
 小田急線東北沢駅・井の頭線駒場東大前駅から徒歩7分程度で到着できます。いわゆる「東京大学教養学部」(駒場Iキャンパス)とは異なりますので、ご注意ください。キャンパスおよびキャンパス内ビル配置については、以下のウェブページをご覧ください。
<http://www.iis.u-tokyo.ac.jp/map/index.html>
 大会HP : 代替法のHP内にアップデートされた情報を適宜追加告知します。
<http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsaae/>
 大会長 : 東京大学大学院医学系研究科・疾患生命工学センター, 同大学生産技術研究所(兼務) 酒井康行
 大会事務局 :
 東京大学生産技術研究所
 物質・環境系部門 酒井康行研究室内
 TEL 03-5452-6352 FAX 03-5452-6353
 E-MAIL jsaae20@iis.u-tokyo.ac.jp

懇親会 : 12月8日(金) 18:00-20:00
 ホワイエ(ポスター会場)にて

参加申し込み

・参加登録費 :

会員事前	5,000円
会員当日	7,000円
(事前登録は9月30日まで)	
非会員事前	7,000円
非会員当日	9,000円
学生(事前・当日にかかわらず)	2,000円

・懇親会費 :

会員・非会員	5,000円(当日は7,000円)
学生	3,000円(当日も同額)

・参加費振込先 :

三菱東京UFJ銀行
 代々木上原支店(店番137)
 普通預金 0879936
 20th JSAAE 代表 酒井康行
 (ニジュツカイ ジェイエスエーエーイー
 サカイヤスユキ)

* 振込みに当たっては、振込み人名義に、必ずフルネームと所属を明記してください。

* 恐縮ですが、振込費用は各自ご負担ください。

* 宿泊のお世話は致しませんので、恐縮ですが各自でご手配ください。

ICLAS 情報

1. 関連学会, 講習会等の案内

a. The 10th FELASA Symposium and the XIV

ICLAS General Assembly & Conference

On behalf of the Scientific and Organizing Committees, we are pleased to invite you to attend the FELASA and ICLAS Joint Meeting, which will take place from June 11th to June 14th 2007 in Northern Italy, on the shores of Lake Como. The international meeting will include the 10th FELASA Symposium and the XIV ICLAS General Assembly & Conference, and will provide a comprehensive overview of the most recent developments in the field of laboratory animal sciences and technologies. We hope you will join us for the full program that will also include enjoyable social events in the Italian warm and pleasant climate.

We look forward to seeing you in Italy in 2007!

Claudio Bernardi

Gemma Perretta

Chair of the Scientific Committee, Chair of the Organizing Committee

More information on the web site:

<http://www.felasa-iclas2007.com/>

b. AALAS National Meeting

October 15–19, 2006

Salt Lake City, UT

For more information, visit

<http://nationalmeeting.aalas.org/>.

c. The BCLAS

The BCLAS (Belgian Council for Laboratory Animal Science) will organize its annual Symposium on 16 November 2006 in Louvain-la-Neuve. The title is: "How to apply the 3 R's in our daily work?" and the working languages are Dutch and French.

More information (program, how to reach, registration form, contact,...) can be found on the website: www.alphavisa.com/bclas2006

Filip Mulkens

Vice-president BCLAS

www.bclas.org

d. CAAT 25th Anniversary Symposium and Gala Dinner

November 2, 2006

Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health
Baltimore, MD

For more information, visit www.altweb.jhsph.edu
<<http://http://altweb.jhsph.edu/>>, or contact Marilyn Principe at mprincip@jhsph.edu.

2. ニュース

The European Commission seeks input from experts in animal use for experimentation and other scientific purposes. The Commission is revising animal welfare legislation 86/609/EEC and has posted two questionnaires on its website, one for the general public and one for experts in animal welfare, animal testing, animal science, natural sciences (especially biology, medicine, pharmacology and toxicology), legal and economic affairs related to these areas. The Commission is interested in collecting facts, figures, and expert feedback as it works to prepare the revision of the legislation. To participate in the survey, go to: ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/ia_info_en.htm.

3. 出版

a. Enrichment for Nonhuman Primates

The NIH's Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW) has announced a new resource on enrichment for nonhuman primates, developed in concert with the Association of Primate Veterinarians, the American Society of Primatologists, and USDA Animal Care. This resource is divided into six booklets that serve as an introduction to the basic behavior and environmental enrichment of species commonly used in education, research, and entertainment. The booklets are intended

to be primers because they provide a basic introduction to the subject of environmental enrichment for primates housed in a diversity of conditions. The booklets may be downloaded as PDF files from <grants.nih.gov/grants/olaw/request_publications.htm>, where instructions are also available for requesting hard copy (delivery may take 5-6 weeks).

The booklets are *_Baboons_*, NIH Pub No. 05-5745; *_Capuchins_*, NIH Pub No. 05-5746; *_Chimpanzees_*, NIH Pub No. 05-5748; *_Macaques_*, NIH Pub No. 05-5744; *_Marmosets and Tamarins_*, NIH Pub No. 05-5747; and *_Squirrel Monkeys_*, NIH Pub No. 05-574.

b. OLAW

New OLAW brochure, *What Investigators Need to Know About the Use of Animals* <<http://grants.nih.gov/grants/olaw/InvestigatorsNeed2Know.pdf>>, provides a succinct resource for investigators to quickly grasp the expectations and requirements when using animals in research supported by the PHS. Contact OLAW at olaw@od.nih.gov for hard copies, include number of copies needed and a complete mailing address.

c. LABORATORY ANIMALS

<<http://www.lal.org.uk/>>

The International Journal of Laboratory Animal Science and Welfare

Current Issue-Volume 40(2) April 2006

Working Group Report

Assessing the welfare of genetically altered animals. 111. DJ Wells, LC Playle, WEJ Enser, P Flecknell, MA Gardiner, J Holland, BR Howard, R Hubrecht, KR Humphreys, IJ Jackson, N Lane, M Maconochie, G Mason, DB Morton, R Raymond, V Robinson, JA Smith, N Watt.

d. "WHAT'S NEW AT ILAR" E-NEWSLETTER

A quarterly e-newsletter to inform readers of new ILAR reports, current and upcoming ILAR Journal

issues, laboratory animal science workshops and conferences, and news from various laboratory animal science organizations.

TO SUBSCRIBE to "What's New at ILAR"

E-mail ILAR at ILAR@nas.edu and type SUBSCRIBE in subject line.

e. ILAR JOURNAL

Current Issue

Volume 47(3): Type 2 Diabetes and Obesity

<<http://www.nationalacademies.org/ilarjhome>>

Publication of a previous ILAR Journal issue devoted primarily to animal models of type 1 (insulin-dependent) diabetes occasioned a demand for a similar review focused on models of type 2 (T2D)-non-insulin-dependent or adult-onset diabetes.

Articles in this issue:

- * Type 2 Diabetes-An Introduction to the Development and Use of Animal Models
- * Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition
- * Molecular Approaches to Study Control of Glucose Homeostasis
- * Nutritionally Induced Diabetes in Desert Rodents as Models of Type 2 Diabetes: *Acomys cahirinus* (Spiny Mice) and *Psammomys obesus* (Desert Gerbil)
- * Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) Transgenic Rodents as Models for Type 2 Diabetes
- * Feline Models of Type 2 Diabetes
- * Swine Models of Type 2 Diabetes Mellitus: Insulin Resistance, Glucose Tolerance, and Cardiovascular Complications
- * Old World Nonhuman Primate Models of Type 2 Diabetes Mellitus

Articles and whole issues of ILAR Journal and ILAR e-Journal can be ordered and downloaded online at www.ilarjournal.com <[http://](http://www.ilarjournal.com)

www.nationalacademies.org/ilarjo>. Overnight delivery of print copies is available within the U.S.

Next Issue-September 2006

Vol 47 (4): Preparation of Animals for Use in the Laboratory

Recent Issues

Vol 47 (2): Phenotyping of Genetically Engineered Mice

Vol 47 (1): Animal Models of Diseases Related to the Fetus and Newborn

Vol 46 (4): Serendipity, Science, and Animals

Vol 46 (3): Immunization Procedures and Adjuvant Products

f. ILAR e-JOURNAL ONLINE

<http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/journal.shtml>

ILAR launched its online publication, ILAR e-Journal, with the article "Verification of IACUC Approval and the Just-in-time Process," by Michael D. Mann and Ernest D. Prentice. ILAR e-Journal will expand upon ILAR Journal's mission of providing pertinent information for investigators in biomedical and related research, institutional officials for research, veterinarians, and members of animal care and use committees by publishing additional ONLINE ONLY articles on laboratory animal research topics in conjunction with the quarterly printed issues of ILAR Journal.

Seeking Manuscripts for ILAR e-Journal

To all readers and authors: If you have a manuscript that relates to science-based, high-quality, humane care of animals, novel animal or other biological models for the study of disease, or any other topic pertinent to the mission of ILAR, you may submit it for publication in the new ILAR e-Journal. While the theme-based quarterly print issues of ILAR Journal will not change,

the ILAR e-Journal will address the need for more published information on these topics. All submitted manuscripts will be peer reviewed. All published articles will be fully indexed online and will have the same visibility as ILAR Journal articles that appear originally in print. Interested authors should follow the ILAR Journal "Instructions to Authors," <http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/instructions_to_authors.shtml> e-mail their respective manuscripts to ILAR@nas.edu, and include "Prospective MS" on the Subject line of the email.

4. ICLAS 会議

a. ICLAS 理事会開催

韓国・済州島において、2006年8月30日から9月1日のAFLAS会議に先立つ8月28、29日にICLAS理事会が開催された。また、8月30日の午前中にICLASメンバーとAFLASメンバーとの会談も行われた。

b. ICLAS FYI Bulletin

ICLAS FYI Bulletinの受信者を更新中です。受信希望者は氏名、メールアドレスを送ってください。

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

Steven P. Pakes, DVM, PhD

Professor of Pathology, UTexas Southwestern Med. Ctr.

5323 Harry Hines Blvd. Dallas, TX 75390-9072

E-Mail: steven.pakes@UTSouthwestern.edu

Phone: 214-648-1684

Fax: 214-648-4096

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

Experimental Animals

—和文要約—

Vol. 55, No. 5 October 2006

原著

“F344”の二大亜系統，F344/DuとF344/Nの下顎骨の特性比較 415-418

田中 慎¹⁾・桑原佐知^{1,2)}・西島和俊¹⁾・大野民生³⁾・長屋政博⁴⁾・中村康典⁵⁾・
角 保徳⁵⁾・宮石 理⁶⁾・青山博昭⁷⁾・後藤信男⁸⁾

¹⁾国立長寿医療センター・加齢動物育成室，²⁾兵庫医科大学解剖学教室，³⁾名古屋大学大学院医学研究科，⁴⁾国立長寿医療センター・リハビリテーション科，⁵⁾国立長寿医療センター・先端医療部・口腔外科，⁶⁾中部労災病院，⁷⁾残留農薬研究所，⁸⁾日本実験動物協会

近交系ラット“F344”の二大亜系統である，F344/DuCrIjとF344/NSIcの下顎骨性状をDXA法で60日齢前後で比較した。これら2系統は生存性や下顎骨の形状が大きく異なり，遺伝的な違いが示唆されるのに，以前のマイクロサテライトによる解析では差を検出できなかった。今回測定した，体重・下顎骨重量・下顎骨の骨塩量(BMC)・骨面積(AREA)・骨密度(BMD)そして骨塩率(BMR)のいずれでも亜系統差が見られ，F344/Duが大きかった。いずれも歯を含んだ測定値をもとにしたが，実験への使用に当たっては亜系統差に注意すべき事がこれらの結果からも喚起された。また，新たに提案された骨塩率：BMRは，骨特性の種間比較に有用であろうと考えられた。

ヒトウイルソン病モデル，Long-Evans Cinnamon (LEC) ラット脳細胞における
銅の蓄積とDNA損傷の生成 419-426

林 正信¹⁾・布施清夏¹⁾・遠藤大二¹⁾・堀口 昇¹⁾・中山憲司²⁾・昆 泰寛³⁾・奥井登代²⁾

¹⁾酪農学園大学獣医学部放射線獣医学，²⁾北海道立衛生研究所，³⁾北海道大学獣医学研究科解剖学

ヒトウイルソン病では遺伝性の銅の代謝異常により肝臓，腎臓，脳に銅が蓄積し，それぞれの組織に障害が引き起こされる。ウイルソン病のモデル動物である Long-Evans Cinnamon (LEC) ラットの脳における銅濃度は20週齢から増加し，24週齢で対照のWKAHラット脳の銅濃度と比較して3.5～6倍高い値を示した。LECラット肝臓の銅濃度は4から12週齢まで週齢に依存して増加し，ついで16から20週齢で減少した。これらの結果から，肝臓に蓄積していた銅が肝障害に伴って肝臓から遊離し，脳に蓄積すると考えられたが，脳の銅濃度は肝臓の濃度の1/20以下であった。また，脳におけるDNAの一本鎖切断(SSBs)の生成を comet 法で解析した。LECラットの大脳と小脳でDNA損傷を有しない細胞核の割合は24週齢で減少し，DNA損傷度の大きい細胞核が24週齢で出現した。DNA損傷頻度を comet スコアで評価したところ，LECラットの大脳と小脳細胞の comet スコアは24週齢で20週齢以下の値と比較して有意に増加し，WKAHラットのそれよりも有意に高い値を示した。これらの結果はLECラットにおいて，肝臓でDNAのSSBsが生成されるよりも低い銅濃度で脳細胞においてSSBsが生成されることを示した。

Microbiological Monitoring of Guinea Pigs Reared Conventionally
at Two Breeding Facilities in Korea 427-432

Jong-Hwan PARK^{1)*}, Seung-Hyeok SEOK¹⁾, Min-Won BAEK¹⁾, Hui-Young LEE¹⁾, Dong-Jae KIM¹⁾, Jung-Sik CHO²⁾, Chuel-Kyu KIM²⁾, Dae-Youn HWANG²⁾, and Jae-Hak PARK¹⁾

¹⁾Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, and ²⁾Laboratory Animal Resources Team, National Institute of Toxicological Research, Korea FDA Republic of Korea

*Present Address: Department of Pathology and Comprehensive Cancer Center, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, MI 48109, USA

In this study, microbiological monitoring of guinea pigs reared conventionally in two facilities was performed twice in 2004, with a three-month-interval between surveys. This study was based on the recommendations of the FELASA Working Group, with some modifications. In serological tests in the first survey, some animals from facility A showed positive results for *Encephalitozoon cuniculi*, Sendai virus, pneumonia virus of mice (PVM), and Reovirus-3 (Reo-3); facility B showed a positive result only for *E. cuniculi*. The results of the second survey were similar to the first, except for the presence of Sendai virus; all animals from the two facilities were Sendai virus-negative in the second experiment. No pathogenic bacteria were cultured in the organs of any of the animals in the first survey. However, in the second survey, *Bordetella bronchiseptica* was cultured from the lung tissue of two 10-week-old animals from facility A. Chlamydial infection was examined by the Macchiavello method, but no animal showed positive results. Tests using fecal flotation or the KOH wet mount method showed no infection of endoparasites, protozoa, ectoparasites, or dermatophytes in any animal in both surveys. However, in the histopathological examination, an infection of protozoa-like organisms was observed in the cecum of some animals from facility A. The present study revealed that microbiological contamination was present in guinea pigs reared conventionally in two facilities in Korea, suggesting that there is a need to improve environmental conditions in order to eradicate microbial contamination.

F344の亜系統，F344/DuとF344/Nの下顎骨の形態計測学的比較 433-438

田中 慎¹⁾・桑原佐知^{1,5)}・西島和俊¹⁾・中村康典²⁾・角 保徳²⁾・大野民生³⁾・後藤信男⁴⁾

¹⁾国立長寿医療センター・加齢動物育成室，²⁾国立長寿医療センター・先端医療部・口腔外科，
³⁾名古屋大学大学院医学研究科，⁴⁾日本実験動物協会，⁵⁾兵庫医科大学解剖学教室

近交系ラット，F344の2つの主な亜系統，F344/DuとF344/Nのうち，わが国で入手できるF344/DuCrIcrljとF344/NSIcについて2ヵ月齢で下顎骨を形態計測学的に，主成分分析で比較した。これら2つの亜系統は，その加齢特性（生存性や加齢に伴う疾病）で大きく異なるにも関わらず，マイクロサテライトマーカーで比較した際には違いがなかった。下顎骨上の13の位置で，高さや長さを測定したところ，体重やいくつかの測定値は，F344/Duが有意に大きいものがあったが，F344/Nが大きい項目や差のない項目もあった。主成分分析の結果抽出された3つの主成分で両亜系統を比較・検討したところ，下顎骨の総体的な大きさ，とくに長さについて亜系統差が検出され，F344/Duが大きかった。また，形状での個体差はF344/Nで大きいようであった。これらの差は，亜系統ながら，遺伝的な違いを示唆し，他にも特性の差がうかがわれることから，使用にあたっては注意が必要と考えられた。

Diffuse Alveolar Lesion in *BALB/c* Mice Induced with Human Reovirus

BYD1 Strain and its Potential Relation with SARS 439–447

Cheng HE¹⁾, Qi YANG¹⁾, Ming LEI¹⁾, Wanyong PANG¹⁾, Jianmin YANG¹⁾, Hong ZHU²⁾,
and Qing DUAN²⁾¹⁾Laboratory Animal Institute, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, and ²⁾Microbiology and Epidemiology Institute, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, People's Republic of China

The objective of this study was to investigate the pathogenicity and associated lesions of a new reovirus (ReoV) isolated from patients with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) in China. Twenty-five four-week-old *BALB/c* female mice inoculated intranasally with either ReoV (strain BYD1) alone, or ReoV combined with SARS-CoV (strain BJV) displayed ejecting fur and loss of body weight compared with control animals. ReoV and SARS-CoV were isolated from most postmortem tissues. The histopathological features of ReoV infected animals consisted of diffuse alveolar damage, with scattered hemorrhage, hyaline membrane formation and interstitial pneumonia. A typical type II pneumocyte hyperplasia and fibrogranulomatous tissue formation in the alveolar septae were observed both in the animals inoculated simultaneously with these two viruses and in the animals inoculated firstly with SARS-CoV, followed by ReoV. The animals inoculated firstly with ReoV, followed with SARS-CoV displayed scattered hemorrhage in the alveolar septa. Furthermore, other lesions in above two combination groups included depletion of lymphocytes in the germinal center of lymph nodes in the lung hilus and the spleen, hemorrhagic necrosis in white pulp of spleen, hydroid degeneration, and fatty degeneration in the liver and kidney. Mice induced with SARS-CoV alone did not display clinical signs, characteristically hyaline membrane formation, hemorrhage and early pulmonary fibrosis in lung tissue. This study demonstrated that the newly isolated ReoV might be a virulent pathogen for *BALB/c* mice. Mice infected firstly with SARS-CoV, followed with ReoV developed a typical diffuse alveolar lesion.

Inhibition of DMBA Induced Rat Mammary Duct Damage by Novel Synthetic

Organoselenium Compounds 449–455

Ilknur OZDEMIR¹⁾, Zeliha SELAMOGLU TALAS²⁾, Mehmet GUL³⁾, Burhan ATES¹⁾,
Yetkin GOK¹⁾, Mukaddes ESREFOGLU³⁾, and Ismet YILMAZ¹⁾¹⁾Department of Chemistry, ²⁾Biology, Faculty of Science and Art, Inonu University, 44280, Malatya, and ³⁾Department of Embryology and Histology, Medical Faculty, Inonu University, Turgut Ozal Medical Center, Malatya, Turkey, TR

The balance between prooxidants and antioxidants is crucial to the survival and functioning of aerobic organisms. Partially reduced derivatives of oxygen, which are produced in aerobic organisms as part of normal physiological and metabolic processes, are toxic species, oxidizing numerous biomolecules, which initiate tissue injury and cell death. DMBA (7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene) is a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) known to cause tumors in rats. DMBA is known to generate DNA-reactive species, which may enhance oxidative stress in cells, during its metabolism. Besides the formation of DNA adducts, oxidative products derived from mutagen metabolism, such as DMBA, might impair vital cellular functions by damaging proteins and lipid membranes. Synthetic organoselenium compounds inhibit the initiation phase of carcinogenesis by inhibiting DMBA-DNA adduct formation in the target organ *in vivo*. Because of the health problems induced by many environmental pollutants, many efforts have been undertaken to evaluate the relative antioxidant potential of selenium and synthetic organoselenium compounds. We undertook the present study to evaluate the chemopreventive potential of the novel synthetic organoselenium compounds (1-*isopropyl*-3-methylbenzimidazole-2-selenone (SeI)

and 1, 3-di-*p*-methoxybenzylpyrimidine-2-selenone (SeII) in the well-established DMBA-treated rat model by monitoring the extent of lipid peroxidation and mammary duct damage. In this study, adult female Wistar rats were treated with DMBA and the novel organoselenium compounds (SeI and SeII) in determined doses. In DMBA-treated rats, the effects of the organoselenium compounds on malondialdehyde (MDA) levels and histological changes in the rat mammary lactiferous duct were studied. The ability of the organoselenium compounds to prevent oxidative damage induced by DMBA in rat mammary ducts was demonstrated. Protection against lipid peroxidation measured as MDA in the SeI and SeII treated groups was provided by the novel synthesized organoselenium compounds. SeI and SeII both provided chemoprevention against DMBA-induced oxidative stress in the rat mammary duct.

ラットにおける卵巣摘出術前後のリセドロネート投与が

海綿骨量減少におよぼす影響 457-466

岩本 潤¹⁾・竹田 毅¹⁾・佐藤能啓²⁾・Chwan-Li SHEN³⁾・James K. YEH⁴⁾

¹⁾慶應義塾大学病院スポーツクリニック, ²⁾見立病院神経内科, ³⁾Department of Pathology, Texas Tech University Health Sciences Center, TX, USA, ⁴⁾Metabolism Laboratory, Department of Medicine, Winthrop-University Hospital, NY, USA

目的: 本研究の目的は, 骨形態計測の手法を用いて, ラットにおける卵巣摘出術 (OVX) 前
のリセドロネート (Ris) 投与と OVX 後の Ris 投与 (投与回数減少) が海綿骨量減少におよぼす
影響について比較検討することおよび OVX 前の Ris 投与のもと, OVX 後の Ris 継続投与 (投
与回数減少) の海綿骨量減少に対する有用性について明らかにすることである。材料および方
法: 1) 6週間の実験: 材料は4ヵ月齢の Sprague-Dawley 系ラット 50匹である。これらを無作為
に以下の5群に分けた (1群10匹ずつ)。すなわち, 4週間の Ris (2.5 μg/kg) または溶媒 (Veh)
投与後, OVX を施行し, 以後2週間の Ris または Veh 投与群 (Ris-OVX-Ris, Veh-OVX-Ris, Ris-
OVX-Veh, Veh-OVX-Veh の4群) および4週間の Veh 投与後, 偽手術 (Sham) を施行し, 以
後2週間の Veh 投与群 (Veh-Sham-Veh 群: 対照群) である。Ris または Veh は皮下注射で投与
したが, その頻度は手術前の4週間は週5回, 手術後の2週間は週2回とした。2) 10週間の実
験: 手術後の Ris または Veh の投与期間を6週間とした以外, 6週間の実験と同じプロトコ
ールで実験を行った。3) 6週間および10週間の実験プロトコール終了後に, 脛骨近位部2次海
綿骨の骨形態計測を行った。結果: 1) 6週間の実験: OVX 前および OVX 後の Ris 投与は海綿
骨量の減少を同程度に予防した。2) 10週間の実験: OVX 前および OVX 後の Ris 投与は海綿骨
量の減少を緩和するのみであったが, OVX 前の Ris 投与の海綿骨量減少の緩和効果は OVX 後
の Ris 投与のそれよりもより小さかった。3) 6週および10週の実験とも, OVX 前 Ris 投与と
OVX 後 Ris 投与は海綿骨量に対して相加的作用を有していた。結論: OVX 前の Ris 投与 (週5
回) および OVX 後の Ris 投与 (週2回) は OVX 後早期の海綿骨量減少の予防に有用であるこ
とおよび OVX 後の Ris 投与 (週2回) は OVX 後長期の海綿骨量減少の緩和に有用であるこ
とが示唆された。また OVX 前の Ris 投与と OVX 後の Ris 投与は海綿骨量に対して相加的作用を
有していたことから, OVX 前に十分な Ris 投与 (週5回) が行われていれば, OVX 後には Ris
は少ない投与回数 (週2回) で効果的に海綿骨量減少を緩和できることが示唆された。

短報

低温曝露時ならびに高脂肪食投与時におけるスunks

Ucp1 mRNA 発現量の変動 467-471

鈴木大輔^{1, 2)}・村田善晴²⁾・織田銑一¹⁾

¹⁾名古屋大学大学院生命農学研究科動物管理理学研究室, ²⁾名古屋大学環境医学研究所発生遺伝分野

スunksにおける低温不耐性の原因を検討するため、低温曝露時ならびに高脂肪食摂取時における、褐色脂肪組織の脱共役蛋白質1 (*Ucp1*), およびその調節因子として機能する2型脱ヨード酵素 (*D2*) の mRNA 発現量を測定した。その結果、単一条件のみでは両遺伝子の発現量は変化しなかったが、両条件を並行すると両遺伝子の発現量は増加した。低温不耐性の原因として、摂取している餌の内容に起因していることが示唆された。

齧歯目における腎臓の短および長ループネフロン比率の種差 473-476

市居 修・矢吹 映・小嶋敏慶・松元光春・鈴木秀作

鹿児島大学農学部基礎獣医学講座解剖学分野

本研究では、マウス、ラット、ハムスター、スナネズミおよびモルモットの腎臓における長および短ループネフロンを Air Cast 法を用いて可視化し、その比率を測定した。マウスとラットでは短ループネフロンの、ハムスターとスナネズミでは長ループネフロンの占める割合が有意に高く、モルモットでは短ループネフロンと長ループネフロンの比率はほぼ同等であった。

雌カニクイザルの血中コルチゾン濃度、NK細胞活性およびTリンパ球細胞の

マイトジェン反応に対するメタンフェタミン投与の影響 477-481

斎藤正好^{1, 5)}・山口孝雄²⁾・川田哲也¹⁾・伊東久夫¹⁾・金井孝夫³⁾・寺田 賢⁴⁾・

横須賀誠⁵⁾・斎藤 徹⁵⁾

¹⁾千葉大学大学院医学研究院放射線医学, ²⁾(株)サイエンス・サービス実験動物事業部,

³⁾東京女子医科大学実験動物施設, ⁴⁾東邦大学医学部法医学,

⁵⁾日本獣医生命科学大学獣医学部比較動物行動医学

雌カニクイザルに metamphetamine (MAP) の単回投与 (3.0 mg/kg, iv) を行い、血清コルチゾン濃度とリンパ球系細胞の反応について検討した。コルチゾン濃度は、投与6時間後で投与前の2.66倍で有意な上昇がみられ、24時間後も継続した。NK活性は投与6時間で増加がみられたが、24時間後では顕著な低下を示した。マイトジェン反応は、PHA添加リンパ球で上昇し、24時間後まで上昇傾向が続いた。MAP投与後のNK細胞活性の一過性増加とその後の顕著な低下、さらにTリンパ球のマイトジェンに対する変動は血清コルチゾン濃度の上昇と深く関連すると推測された。

A New Approach for the Analysis of Testicular Cells Using

a Laser Scanning Cytometer 483-486

Jungkee Kwon

Biosafety Research Institute, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Korea

The laser scanning cytometer (LSC) is a new laboratory tool that offers increased sensitivity and

specificity compared to traditional technology. By combining the properties of the advantages of flow cytometry and immunohistochemistry, LSC-based analysis allows the automated evaluation of testicular cells in general and meiosis in particular. Testicular cell smears with previous staining by propidium iodide were analyzed by LSC. The results were compared with those for flow cytometry. LSC is a new, applicable methodology for analyzing spermatogenesis schedule.

gyrB 遺伝子配列を用いた実験動物由来 *Pasteurella pneumotropica* 分離株の 系統樹解析 487-490

林元展人・植野昌未・高倉 彰・伊藤豊志雄

財団法人実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター

gyrB 遺伝子の配列を用いて実験動物由来の *P. pneumotropica* 49 株の系統樹解析を行った。系統樹では 49 株は明瞭な 3 群 (A: 生物型 Jawetz マウス由来株, B: 生物型 Jawetz ラット由来株, C: 生物型 Heyl 株) に分けられた。その結果, 本菌の *gyrB* 遺伝子は 2 生物型間で, さらに生物型 Jawetz では株の由来動物種間で異なる事が示唆された。

エンドセリン B 受容体遺伝子における欠失が WS4 マウスの ワールデンブルグ症候群様表現型の原因である 491-495

大谷 真^{1,3)}・新海雄介^{1,4)}・片山健太郎¹⁾・堀部晃央¹⁾・辻 岳人¹⁾・

松島芳文²⁾・橋 正芳^{2)*}・国枝哲夫¹⁾

¹⁾岡山大学大学院自然科学研究科, ²⁾埼玉県立がんセンター研究所, ³⁾現所属: 国立精神・神経センター 神経研究所, ⁴⁾現所属: 近畿大学先端技術総合研究所, * 故人

WS4 マウスは, 色素異常, 難聴, 巨大結腸症を呈するヒトのワールデンブルグ症候群 4 型のモデル動物であり, その原因遺伝子はエンドセリン B 受容体遺伝子 (*Ednrb*) と同座であることが明らかにされている。本研究では WS4 マウスの *Ednrb* 遺伝子の塩基配列を解析し, この遺伝子中に 598-bp の欠失を見いだした。この欠失領域は第 2 エクソンの全領域と, 第 3 エクソンの 5' 側の領域を含んでおり, 欠失を誘発したと考えられる逆向きの反復配列に挟まれていた。以上から, *Ednrb* 遺伝子内に生じたこの欠失が WS4 マウスの表現型の原因となる突然変異であると結論づけられた。

MES 系ラットにおける好酸球増多症の第 3 の原因遺伝子は 第 1 番染色体上に存在する 497-500

森 政之¹⁾・樋口京一¹⁾・松本清司²⁾

¹⁾信州大学大学院 医学研究科 加齢適応医科学系専攻 加齢生物学分野, ²⁾信州大学ヒト環境科学研究支援センター 生命科学分野 動物実験部門

MES 系ラットは好酸球増多症および多くの器官での好酸球による炎症性傷害を自然発症する。MES 系ラットの好酸球増多症の一義的な原因遺伝子は第 19 番染色体上に, また血中好酸球数に対する弱い効果をもつ QTL が第 2 番染色体上に存在する。今回我々は好酸球増多症の第 3 の原因遺伝子が第 1 番染色体上に存在することを報告する。これらの結果は MES 系ラットの好酸球増多症が複雑な遺伝的支配下にあることを示唆する。