

# 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	
理事候補者選挙について .....	55
平成 27 年度 維持会員懇談会の開催について .....	56
第 4 回実験動物科学シンポジウムについて .....	57
第 6 回実験動物管理者研修会の開催について .....	59
編集委員会からのお知らせ .....	59
第 63 回日本実験動物学会総会のご案内 (その 1) .....	60
実験動物感染症の現状	
ヘリコバクター属菌感染について .....	61
黄色ブドウ球菌 ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) .....	67
他学会情報 .....	70
Experimental Animals 64(4) 収載論文和文要約集 .....	72
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 .....	iv

---

**Vol. 64 No. 4 / October 2015**



## 日本実験動物学会からのお知らせ

### 理事候補者選挙について

公益社団法人日本実験動物学会選挙管理委員会

委員長：高倉 彰

委員：三好一郎

定款および理事候補者選出細則に則り、平成28～29年度在任理事候補者の選挙を下記の要領で実施します。

1. 日本実験動物学会正会員(平成27年4月1日現在)のうち、理事候補者選出細則第4章第9条に従い、浅野雅秀会員、池田卓也会員、小幡裕一会員、喜多正和会員、黒澤 努会員、高倉 彰会員および三好一郎会員は立候補できませんので、それ以外の正会員が被選挙権保有者です。
2. 選挙は立候補者制をとります。下記の「平成28～29年度理事候補者推薦書」に立候補者名と正会員3名以上の推薦者名を記入して推薦してください。推薦にあたり、立候補者の承諾を得てください。複数の立候補者を推薦するときは用紙をコピーしてそれぞれ個別に推薦してください。
3. 推薦受付期間は平成27年11月1日～11月30日(消印有効)です。郵便により7.の選挙管理委員会事務局まで郵送してください。
4. 選挙公報、投票用紙等は平成27年12月22日までに各会員宛に発送致します。
5. 投票は立候補者の5名連記による無記名投票を郵送で行い、上位15名を当選者とします(第15位の得票が同数の場合は抽選)。
6. 投票の受付期間は平成27年12月24日～2月5日(消印有効)です。
7. 選挙管理委員会事務局は学会事務所(〒113-0033 東京都文京区本郷6-26-12 東京RSビル3F)内におきます。

.....切りとり線.....

### 平成28～29年度理事候補者推薦書

平成27年11月 日

下記会員を理事候補者として推薦します。

立候補者氏名

年 齢：

所 属：

現職名：

推薦者(3名以上) 氏名

印

氏名

印

氏名

印

## 平成 27 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 27 年度 (公社) 日本実験動物学会 維持会員懇談会

日 時：2015 年 11 月 27 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：「特別講演」および「最新の話題 (講演と展示)」

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)：

日本製菓工業協会, 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4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 浅野雅秀

実験動物科学は動物の特長を活かすことでヒト疾患モデル動物として研究開発され、生命現象の解明と人類の福祉と健康に貢献している。その主流であるマウス・ラットは生命科学に飛躍的な成果をもたらしてきたが、一方でそれらでは困難な研究は他の動物種をモデルとして利用することで展開されている。また、様々なゲノム基盤の整備に加え、近年開発されたゲノム編集技術および急速な技術革新によって理論上全動物種で遺伝子改変が可能となり、多くの動物が新たなヒト疾患モデルの対象として注目されつつある。そこで今回のシンポジウムでは、スunks、ツパイ、フェレット、ウサギなど新規モデル動物に焦点を当て、これら動物が持つ遺伝学的・生理学的特性を追求・理解し、さらにこれらの動物種がトランスレショナルリサーチの新規モデル動物としての有用活用される可能性についても議論したい。

### 第4回実験動物科学シンポジウム 「新たな疾患モデル動物が切り開く橋渡し研究」

日 時：平成27年12月11日（金）13時～17時40分

場 所：加計学園50周年記念館ホール（岡山理科大学）

主 催：公益社団法人 日本実験動物学会

岡山実験動物研究会

後 援：岡山理科大学

参加費：無料

プログラム：

#### 【開会の挨拶】

13:00-13:10 （司会 浅野雅秀）

岡山理科大学 学長 波田善夫

日本実験動物学会理事長 浦野 徹

#### 【セッション1】

スunksの疾患モデルとしての可能性を探る

座長 織田銑一

13:10-13:20 織田銑一（元岡山理科大学）：

—はじめに—実験動物としてみたスunksの諸特性

13:20-13:50 坂本浩隆（岡山大学）：

神経ペプチド・ホルモン分子の進化と機能

行動制御モデルとしてのスunks

13:50-14:20 坂井貴文（埼玉大学）：

スunksを用いた消化管運動研究

—モチリンとグレリンの相乗作用について—

14:20-14:50 城ヶ原貴通（岡山理科大学）

鈴木大輔（(株)オリエンタルバイオサービス）：

スunksにける低温不耐性のメカニズム

**【セッション 2】**

新しいモデル動物—ツパイ, フェレット

座長：吉川欣亮

15:05–15:40 小原道法（東京都医学総合研究所）：  
新たなヒト型感染症モデル動物としてのツパイ

15:40–16:15 河崎洋志（金沢大学）：  
フェレットを用いた高等哺乳動物の脳神経系の分子遺伝学的解析

**【セッション 3】**

トランスレショナルリサーチのための新たなモデル動物と作出

座長：若菜茂晴

16:25–17:00 田中あかね（東京農工大学）：  
様々な動物のアレルギーから発するトランスレション研究

17:00–17:35 本多 新（宮崎大学）：  
ゲノム編集の基礎と新たな哺乳類モデルの樹立

**【おわりに】**

17:35–17:40 岡山実験動物研究会会長 国枝哲夫

**【懇親会】**

17:45–19:40

場所：岡山理科大学 11 号館 8 階ラウンジ

会費：一般 3,000 円, 学生 1,000 円（事前登録が必要です）

※懇親会参加登録は、シンポジウム事務局まで

懇親会登録アドレス：[exp-anim-okayama@animres-ous.com](mailto:exp-anim-okayama@animres-ous.com)

登録期限：2015 年 12 月 4 日（金）

## 第6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平成25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6回実験動物管理者研修会

日 時：2016年2月29日(月)～3月1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

## 編集委員会からのお知らせ

本誌「Experimental Animals」第64巻第3号(2015年7月号)に掲載された下記論文は、著者らの要望により論文が取り下げられましたことをお知らせいたします。今後は当該論文を引用されないよう、くれぐれもご注意ください。各種データベースに収集されていた書誌情報についても削除を依頼しております。

この件につきまして、読者の皆さまには大変ご迷惑をおかけしましたことを深くお詫び申し上げます。

論文名：Ultrastructural analysis between fetal and adult wound healing process of marsupial opossum skin

著 者：Kei MATSUNO and Setsunosuke IHARA

掲載誌：Experimental Animals, 第64巻第3号, 323～332頁, 2015年.

## 第63回日本実験動物学会総会のご案内（その1）

The 63rd Annual Meeting of the Japanese Association for Laboratory Animal Science

テーマ：「インビボ実験医学 ―Bench to Bedside―」

大会長：伊藤 守（公益財団法人実験動物中央研究所 副所長）

会 期：平成28年5月18日（水）～20日（金）

会 場：ミューザ川崎シンフォニーホール  
〒212-8557 川崎市幸区大宮町1310

### プログラム案

#### 特別講演

中村雅也 先生（慶應義塾大学医学部 教授）  
「脊髄損傷の臨床とその治療への新しい試み」  
（仮題）

#### 市民公開講座（未定）

#### シンポジウム（JALAS学術集会委員会企画）

腸内細菌叢による生体恒常性維持  
～腸内細菌叢の異常が引き起こす疾患～

#### ミニシンポジウム

MS 1 マーモセット関連

MS 2 薬物代謝関連

MS 3 感染症関連（JALAS実験動物感染症対策委員会企画）

MS 4 ナノテクノロジー医療関連

MS 5 未定

#### LASセミナー

#### 懇親会

5月19日開催予定

#### ミニコンサート（東京交響楽団）

毎日開催予定

#### 大会事務局

（公財）実験動物中央研究所内

第63回日本実験動物学会総会事務局 高倉 彰

〒210-0821 川崎市川崎区殿町3-25-12

TEL: 044-201-8510

FAX: 044-201-8511

E-mail: [jalas63@cica.or.jp](mailto:jalas63@cica.or.jp)



## ヘリコバクター属菌感染について

山中 仁木, 大沢 一貴

長崎大学先端生命科学研究所支援センター・比較動物医学分野

### 要 約

*Helicobacter* 属菌は、鳥類や様々な哺乳類動物の消化管および胆肝系組織から分離検出されるグラム陰性のらせん状桿菌である。同属菌には、宿主動物において常在細菌(あるいは日和見感染症菌)や病原性細菌と認識される他、ヒトからも検出され消化管や胆肝系疾患に関与する人獣共通感染症菌と認識される菌種も多く存在する。ヒトで胃潰瘍を起こす *H. pylori* については病態発生メカニズムなど詳細な研究が進められ最も良く知られている。一方、他の同属菌については菌種によって最適なガス環境や栄養要求性が異なり分離培養が難しい場合が多く、*H. pylori* に比べて病原性を含む性状に関する知見の蓄積は遅れている。実験動物では、マウスから分離され病原性が明らかな *H. hepaticus* と *H. bilis* が多くの実験動物生産業者でマウスとラットを対象とした微生物モニタリング項目に挙げられている。しかし、各研究機関で作製・飼育されている遺伝子改変動物の他、各種実験動物においてこれら2菌種の他に同属菌の感染が多く認められる。*Helicobacter* 属の各菌種がヒトを含む各種動物において共生あるいは排除すべき細菌かを判断するための科学的根拠を得るには、個々について広く詳細な研究を進め知見を積み重ねていく必要がある。

### 1. *Helicobacter* 属菌

*Helicobacter* 属菌は、鳥類や様々な哺乳類動物の消化管から分離され、現在35種に分類されている(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)。通常幅0.3~0.5 μm、長さ1.5~10 μmの細長いグラム陰性のらせん状桿菌で、種によって両端あるいは一端に1本あるいは複数本の鞭毛を持つ。当初 *Campylobacter* 属に分類されていたが、1989年に生化学的性状の違いから *Helicobacter* 属として独立した。同属菌は宿主における主な生息部位の違いから大きく2つのタイプに分けられる。1つは主に胃に生息する gastric タイプで、最も知られている *H. pylori* の他に *H. aurati*, *H. baculiformis*, *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. muridarum*, *H. mustelae*, *H. salomonis*, *H. suis* ほか同属菌の1/3を占める。残りの2/3は enterohepatic タイプで下部消化管あるいは肝臓や胆嚢から検出され、*H. bilis*, *H. canis*, *H. canadensis*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. ganmani*, *H. hepaticus*, *H. macacae*, *H. mastomyrinus*, *H. pullorum*, *H. rodentium*, *H. typhlonius*, *H. troglodytes* などが挙げられる。2つのタイプ間で生息

部位が異なる理由として、ウレアーゼ産生性とその働きの違いがある。Gastric タイプはウレアーゼ産生性であり、この酵素によって尿素からアンモニアを作ることで菌周囲の低pH環境を中和し胃内の過酷な環境でも生息することができる。一方、enterohepatic タイプには *H. hepaticus* などウレアーゼ産生性の菌種もいるが多くが非産生性である。Enterohepatic タイプでウレアーゼ産生性であっても gastric タイプが持つウレアーゼ活性調節機構とは異なり低pH環境下ではウレアーゼ活性が見られない。よって enterohepatic タイプが産生するウレアーゼは、胆肝系組織への定着など別の役割を持っていると考えられている [12]。

培養は通常微好気環境下でヒツジやウマの血液あるいは血清を含む寒天培地が用いられ、コロニー形成には3-5日程度の培養時間が必要である。培養温度は37℃で行われるが42℃でも増殖可能な菌種も存在し、その場合その菌種は本来鳥類を宿主とすると推測される。選択培地にはバンコマイシン・ポリミキシンB・トリメトプリム・アンホテリシンBなどが適宜添加され、市販の培地では *Campylobacter* 属菌分離培地として知られるスキロー培地などが利用さ

れる。寒天平板培地上のコロニーは半透明で直径1 mm以下の極小円形あるいはフィルム状に広がる形状を示すものが多い。しかしながら、水素ガスが培養に必要な場合や栄養要求性が菌種や株によって異なり、分離培養できた場合でもその条件が悪くなると次第に増殖しなくなる。そのため、簡易的に微好気環境を作ることができるジャーを用いた通常の実験室での培養は難しく、各菌種の安定した分離培養にはそれ相応の設備と経験が必要となる。このような理由もあり、*H. pylori*と比較してその他の同属菌の病原性を含む性状解析に関する知見の蓄積が遅れているのが現状である。

*H. pylori*については、スナネズミやマウス等の各種感染動物モデルが確立され、それらを用いて詳細な研究がなされているのがご存知の通りである[17, 29]。本稿では、*H. pylori*以外の菌種について解説したい。

## 2. ヒトと動物への感染とその病原性

*Helicobacter* 属菌は鳥類や様々な哺乳類動物から検出分離されると同時にヒトからも検出され、人獣共通感染症原因菌と認識される菌種が多数存在する。例えば、*H. fennelliae* や *H. cinaedi* は、ヒトから分離された後アカゲザルやイヌ、*H. cinaedi* はそれに加えネコやハムスターからも分離された[34]。これらの2菌はヒトで直腸炎や胃腸障害を起し、また、主に免疫不全状態の患者で蜂巣炎や同病院内の患者の血液から菌分離されるなど院内感染を起す菌として注視されている[25]。更に、ブタオザルへの感染実験では下痢を伴う敗血症を呈し直腸への菌の定着が認められ[7]、人獣共通感染症原因菌とされる菌種の中でこの2菌種はコッホの条件をほぼ満たす。特に *H. cinaedi* は、心内膜炎、髄膜炎、あるいは骨髄炎を呈する患者の血液などから検出分離された他、最近では動脈硬化症患者の病変組織から検出され感染マウスモデルを用いた研究ではその病態を促進することが示され注目されている[22]。その他、gastricタイプの *H. baculiformis*, *H. bizzoeronii*, *H. salomonis*, *H. suis*, *H. heilmannii* が炎症症状を示す患者の上部消化管、enterohepaticタイプでは *H. bilis* や *H. canis* が免疫不全患者の血液から検出された他、*H. canadensis* や *H. pullorum* は下痢症や胃腸炎を起した患者の糞便からそれぞれ検出され、ヒトにおいて胃腸炎や炎症性腸疾患発症への関与が強く疑われている[6, 13, 22]。また、*H. bilis*, *H. ganmani*, *H. hepaticus* は、肝炎や胆嚢炎あるいは胆石症を起した患者で特異抗体価の上昇や菌遺伝子の検出が健常者に比べて多く

みられることから、発症あるいは症状の増悪への関与が疑われている[6, 22]。

これらの菌の感染経路は、保菌動物との直接あるいは間接的接触による経口感染と考えられている。例えば、イヌやネコの口腔から同属菌が検出されており、マウスやハムスターを含めペット動物との密接な接触によるヒトへの感染が危惧される[6, 15, 22]。また、*H. suis* や *H. canis* では、ブタやヒツジの肉製品を介したヒトへの感染も疑われている[3, 32]。その他、野外マウスが複数の同属菌を保有しており、ヒトや他の動物への感染にreservoirの役割を果たしていると考えられる[36]。もちろん、通常の常在細菌と考えられている一方で、同属菌が自然感染した場合の各種動物における病原性についても多くの報告がある。Gastricタイプでは *H. aurati* (ハムスター)、*H. bizzoeronii* (イヌ・ネコ)、*H. felis* (イヌ・ネコ)、*H. mustelae* (フェレット)、*H. suis* (ブタ)、enterohepaticタイプでは *H. cinaedi* や *H. fennelliae* の他に、*H. canis* (イヌ)、*H. macacae* (アカゲザル) が各種動物でそれぞれ食道や胃あるいは肝臓や腸管における炎症誘導に関与すると強く疑われている[13, 22]。

## 3. 実験動物における感染状況

現在、主な実験動物生産業者では *Helicobacter* 属菌の中で *H. bilis* と *H. hepaticus* が主に微生物モニタリング項目に挙げられ、市販されているマウスやラットがこれら2菌種に感染していない場合が多い。しかしながら、国内外の大学や企業などの各研究機関で飼育されている遺伝子改変動物を中心としたマウスやラットからはこれら2菌種を含め同属菌が検出されている[16, 24]。欧州および北米の調査報告によれば、実験用マウスで2菌種の他に *H. ganmani*, *H. mastomyrinus*, *H. rodentium*, *H. typhlonius* が、ラットでは2菌種の他に *H. ganmani* と *H. rodentium* が主に検出されている[2, 18, 33]。日本国内の実験用マウスでも、*H. typhlonius* 以外は欧州および北米の調査結果と同様の菌種が検出されている[37]。それに加え国内飼養マウスで、未同定菌であるMIT 01-6451が同属菌の中で高頻度に検出される[33, 37]。このMIT 01-6451菌は、欧州および北米の飼養マウスからは検出されず日本の他にタイの実験用マウスで検出され[4]、主に東アジアに分布する地域特有种と推測される。その他、*H. muridarum* や *H. trogonum* はラット消化管から分離された菌種であり、ハムスターからも *H. aurati* や *H. cinaedi* の他複数の菌種が分離検出されている。ただし、ラットやハムスターにおけるこれらの菌の病原性について情報は非常に少ない。

今後、詳細な調査研究が必要である。

実験用ビーグル犬では *H. canis* の他、*H. bizzozeronii* や *H. felis* など複数の同属菌が検出されている [19]。食用ブタでは、欧州や韓国での調査で *H. suis* を主とした複数の同属菌感染が高い頻度で検出されており [1, 23]、実験に使用される日本国内の通常の食用ブタはある程度の割合で同属菌を保有していると推測される。アカゲザルからは、前述のとおり *H. macacae* などが検出分離されている。これらのいわゆるコンベンショナル環境で飼育されている動物の場合、ここに挙げた同属菌以外の菌種についても環境中から経口的に感染していても不思議ではない。

#### 4. 実験動物における病原性と病原因子

病原性について、前項で述べた実験用マウスで検出頻度の高い菌種に絞って紹介する。

*H. hepaticus* は、A/JCr マウスで肝炎を起こす菌として分離され、*H. pylori* 以外の同属菌の中では比較的安全性解析が進められている菌種である。各種系統マウスで感受性が異なり、C3H/HeNcr, SJL/Ncr, BALB/cAnNcr および SCID/Ncr は感受性で同菌に感染すると肝炎を起こし、C57BL/6Ncr は抵抗性でその症状が見られない [35]。また、雌雄間でも感受性が異なり雄は雌に比べて高感受性である。感染初期には限局性の壊死斑やリンパ球やマクロファージが浸潤した非化膿性の炎症像が見られ、その後症状は悪化し肝細胞癌へと発展する場合もある。更に、SCID マウスを始め Rag-2 欠損マウス、腸炎自然発症モデルとして知られる IL-10 欠損マウスなどの免疫不全マウスに感染すると、盲腸・結腸・直腸などの下部消化管で炎症を誘導促進し腸炎や直腸脱を呈する。しかし、腸内細菌相の違いにより同じマウス系統でも症状の程度に大きな違いが認められることから、同菌が腸炎誘導に関与することは間違いないが、発症の直接的原因であるかどうかは明らかではない [8]。

*H. bilis* は、CBA/CA, DBA/2, C57BL/6, BALB/c マウスの胆嚢・肝臓・下部消化管から分離された。これらの感染マウスは CBA/CA, DBA/2, C57BL/6 の順に異なる肝炎症状の程度を示し BALB/c では炎症像はみられず、マウス系統間で *H. bilis* 感染に対する感受性に差が認められた [10]。また、SCID を始め Rag-2 欠損などの免疫不全マウスに感染させると大腸炎を発症し、一部のマウスで肝炎が認められる。また、自然感染および実験的感染した nude ラットは下痢を示し大腸粘膜組織ではリンパ球浸潤など炎症像を認め、感染ラットの盲腸から菌が分離されている [14]。

*H. ganmani* はオーストラリアで飼養されていた実

験用マウスの腸管および肝臓から分離された。本菌の直接的病原性を示す報告はないが、腸炎自然発症モデルである IL-10 欠損マウスに感染させるとその発症を誘導促進することが分かっている [39]。

*H. rodentium* は実験用マウスの糞および大腸から分離され、マウスにおける直接的病原性を示す報告はない。しかし、IL-10 欠損マウスでは腸炎発症を誘導促進し、*H. bilis* あるいは *H. hepaticus* の単独感染時に比べ *H. rodentium* が重複感染することにより、肝炎あるいは大腸炎症状は重症化する [21, 30]。また、IL-10 欠損マウスでは、*H. rodentium* 感染により妊娠率および新生子生存率が有意に減少し繁殖効率が低下する [27]。

*H. typhlonius* は大腸炎を呈する IL-10 欠損マウスから分離された。実験的感染により IL-10 欠損および SCID マウスで盲腸・結腸・直腸にそれぞれ炎症症状を示し、A/JCr マウスでも低～中程度の盲腸炎が認められた [9, 11]。また、*H. rodentium* の場合と同様に、IL-10 欠損マウスで感染により妊娠率および新生子生存率が減少し繁殖効率が有意に低下する [27]。

*H. mastomyrinus* は、実験用マウスおよびマストミス (*Mastomys natalensis*) の肝臓・盲腸から分離された。菌の分離に用いた感染マウスは直腸脱を呈し、菌分離に用いたマストミスの肝臓では単球や好酸球が浸潤した炎症や壊死像が認められた [28]。また、実験的感染により Rag あるいは IL-10 欠損など免疫不全マウスを用いた感染実験では *H. hepaticus* 感染マウスと比較して盲腸や結腸における炎症の程度が重症であり、*H. mastomyrinus* は *H. hepaticus* よりも病原性が高い可能性がある [5]。

*Helicobacter* sp. MIT 01-6451 は、2007 年に初めて日本国内の飼養マウスから検出された未同定菌である [33]。この菌は感染マウスの盲腸以下の下部消化管から主に検出され一部マウスで胆嚢からも検出される。現在のところ腸炎発症誘導など生息部位における病原性について論文報告はないが、学会等で肝臓壊死あるいは盲腸および大腸炎発症に関与を疑う報告があり今後の報告に注目したい。一方、感染した妊娠 SCID マウスの一部で生殖器から菌が検出され通常の生息部位外への菌の移行を認め、分娩異常を示すなど感染による繁殖効率への影響が疑われる [38]。

病原性に関わる因子として、運動性に関わる鞭毛、酸化ストレスに対して抵抗するための catalase や hydrogenase などの酵素、あるいは宿主体内の適当な部位に移動定着するための因子であるウレアーゼなどの他、cytolethal distending toxin (CDT)、タイプ VI 分泌系タンパクが挙げられる。

CDT は、*Campylobacter* 属菌の他、*Salmonella* 属や

*Shigella* 属菌も保有する。*Helicobacter* 属菌では、*H. hepaticus* の他、*H. bilis*, *H. cinaedi*, *H. canis*, *H. mastomyrinus*, *H. pullorum* などが産生能を持ち、ゲノム解析から MIT 01-6451 も CDT 遺伝子クラスターを保有していることが分かっている。CDT は AB 型毒素で 3 つのサブユニット A・B・C の内 B サブユニットが主に CDT 活性を示し、DNA 切断を起こすことにより細胞周期を停止しアポトーシスを誘導する。菌の持続的感染により主な生息部位である消化管の粘膜上皮細胞にダメージを与え、腸内細菌と宿主間バランスなど消化管粘膜における恒常性が損なわれることになる [8]。

これまで *H. hepaticus* のゲノムに病原性に関与する pathogenicity island と呼ばれる領域が存在することが分かっていたが、近年この領域に type VI 分泌システム (T6SS) がコードされていることが明らかとなった。T6SS は、競合する細菌の増殖を抑制するなど主に細菌間の相互作用に利用されると考えられている。しかしながら、*H. hepaticus* では T6SS タンパクである VgrG や Hcp が細胞障害性を示し宿主消化管における炎症を誘導することが示され、T6SS の病原性への関わりが明らかになりつつある [8]。また、他の同属菌のゲノム中にも T6SS 関連因子をコードしていることがゲノム解析により明らかになっている。

## 5. 実験動物における感染経路と感染除去方法

基本的には糞-口あるいは口-口経路による感染と考えられる。マウスなどのげっ歯類では食糞行動が見られることから、感染マウスとの同居以外に感染マウスの糞を含む床敷きをケージに混和することにより感染が起こる。胎盤・乳汁・産道を介した垂直感染については、免疫正常マウスでは起こらないと考えられる。しかし、*H. typhlonius* は感染後通常の生息部位とは異なる生殖器から一過性に菌が検出され [26]、*H. hepaticus* は感染 SCID マウスの胎子組織から分離され胎子への垂直感染を示す報告もある [20]。このことから、稀ではあるが特に免疫不全動物で胎盤を介した胎子への垂直感染が起こり得ると考えられる。出生後の新生子では、感染母マウスによる哺育で生後数日～7 日前後経つと徐々に感染が認められる [38]。一方、生後約 24 時間以上感染母マウスと接触させた新生子は既に感染が成立していたとされる [31]。この報告では、新生子は出生後 24 時間以上感染母マウスと接触後に非感染の里親に哺育されている。つまり、出生後の新生子の感染は母マウスとの接触および生後の食糞行動の頻度に依存していると考えられる。また、新生子は出生直後から感

染母マウスとの接触等により感染リスクは高まるが、感染母マウスの母乳を持続的に摂取することによりその期間は母乳中の移行抗体が新生子における感染防御にある程度働いていると考えられる。

これらのことを踏まえて *Helicobacter* 属菌感染マウスのクリーニングを行えば、非感染新生子が得られることになる。つまり、①新生子は出生直後に非感染の里親に哺育させる。②帝王切開により胎子を摘出し胎子は非感染の里親に哺育させる。あるいは、③受精卵から個体復元を行う。の主に 3 通りの方法である。その他、アモキシシリンやテトラサイクリン系抗生薬投与による実験動物からの除去方法も試みられているが、薬剤耐性菌の出現や菌交代現象など腸内細菌相の変化による生体への影響を考慮しなければならない。

## 6. 菌の取扱いと検出方法

*H. pylori* の他、*H. bilis*, *H. felis*, *H. heilmannii*, *H. hepaticus* が、バイオセーフティレベル (BSL/ABSL) 2 に (日本細菌学会)、また、カルタヘナ法では P2 にそれぞれ分類されている。前述のとおり分離培養は菌種や株により栄養要求性や適したガス環境が異なり手間と時間がかかり難しい。Immunoblot 法を用いた抗体検出、あるいは研究手法として fluorescence *in situ* hybridization (FISH) や Warthin-Starry 染色など組織染色による菌体検出が行われている。しかし、検疫およびモニタリング検査など実験動物における感染検出法は、同属菌特異的プライマーを用いて菌遺伝子を検出する PCR 法が最も簡便で確実な方法である。試料は新鮮糞便や盲腸等消化管内容物から抽出した総 DNA を用いる。検出する遺伝子は主に 16S リボソーム RNA 遺伝子が利用されているが、その他にウレアーゼ遺伝子なども考えられる。また、陽性 PCR 増幅産物について、シーケンス解析あるいは RFLP (restriction fragment length polymorphism) 解析等を行い再確認あるいは菌種を簡易的に特定することができる。

以上、本稿では *Helicobacter* 属菌として分類されている 35 種の中の *H. pylori* 以外の菌種について主に紹介した。しかし、MIT 01-6451 のように 35 種以外にも *Helicobacter* 属菌と考えられる未同定菌が存在し、実験動物を含め各種動物から新たに検出分離されている。また、その中には病原性を示す可能性のある菌も多い。これらの菌が感染することによるヒトを含む各種動物における影響についても留意しておかなければならないことを付け加えておく。

## 参考文献

- Appino, S., Guarda, F., Pregel, P., Amedeo, S., Cutuflia, M.A., Bellonio, G., and Ponzetto, A. 2006. Detection of helicobacter candidatus suis by PCR in oesophagogastric ulcers of swine in Italy. *Acta. Vet. Hung.* 54: 517–524.
- Bohr, U.R., Selgrad, M., Ochmann, C., Backert, S., König, W., Fenske, A., Wex, T., and Malfertheiner, P. 2006. Prevalence and spread of enterohepatic Helicobacter species in mice reared in a specific-pathogen-free animal facility. *J. Clin. Microbiol.* 44: 738–742.
- De Cooman, L., Flahou, B., Houf, K., Smet, A., Ducatelle, R., Pasmans, F., and Haesebrouck, F. 2013. Survival of Helicobacter suis bacteria in retail pig meat. *Int. J. Food Microbiol.* 166: 164–167.
- Duangchanchot, M., Inpukaew, R., Thongsiri, P., Hayashimoto, N., Gemma, N., Nikaido, M., Takahashi, M., and Kengkoom, K. 2014. Prevalence of helicobacter in laboratory mice in Thailand. *Exp. Anim.* 63: 169–173.
- Eaton, K.A., Opp, J.S., Gray, B.M., Bergin, I.L., and Young, V.B. 2011. Ulcerative typhlocolitis associated with Helicobacter mastomyrinus in telomerase-deficient mice. *Vet. Pathol.* 48: 713–725.
- Flahou, B., Haesebrouck, F., Smet, A., Yonezawa, H., Osaki, T., and Kamiya, S. 2013. Gastric and enterohepatic non-Helicobacter pylori Helicobacters. *Helicobacter* 18: 66–72.
- Flores, B.M., Fennell, C.L., Kuller, L., Bronsdon, M.A., Morton, W.R., and Stamm, W.E. 1990. Experimental infection of pig-tailed macaques (*Macaca nemestrina*) with *Campylobacter cinaedi* and *Campylobacter fennelliae*. *Infect. Immun.* 58: 3947–3953.
- Fox, J.G., Ge, Z., Whary, M.T., Erdman, S.E., and Horwitz, B.H. 2011. Helicobacter hepaticus infection in mice: models for understanding lower bowel inflammation and cancer. *Mucosal. Immunol.* 4: 22–30.
- Fox, J.G., Gorelick, P.L., Kullberg, M.C., Ge, Z., Dewhirst, F.E., and Ward, J.M. 1999. A novel urease-negative Helicobacter species associated with colitis and typhlitis in IL-10-deficient mice. *Infect. Immun.* 67: 1757–1762.
- Fox, J.G., Yan, L.L., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Shames, B., Murphy, J.C., Hayward, A., Belcher, J.C., and Mendes, E.N. 1995. Helicobacter bilis sp. nov., a novel Helicobacter species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. *J. Clin. Microbiol.* 33: 445–454.
- Franklin, C.L., Riley, L.K., Livingston, R.S., Beckwith, C.S., Hook, R.R., Besch-Williford, C.L., Hunziker, R., and Gorelick, P.L. 1999. Enteric lesions in SCID mice infected with “Helicobacter typhlonicus,” a novel urease-negative Helicobacter species. *Lab. Anim. Sci.* 49: 496–505.
- Ge, Z., Lee, A., Whary, M.T., Rogers, A.B., Maurer, K.J., Taylor, N.S., Schauer, D.B., and Fox, J.G. 2008. Helicobacter hepaticus urease is not required for intestinal colonization but promotes hepatic inflammation in male A/JCr mice. *Microb. Pathog.* 45: 18–24.
- Haesebrouck, F., Pasmans, F., Flahou, B., Chiers, K., Baele, M., Meyns, T., Decostere, A., and Ducatelle, R. 2009. Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clin. Microbiol. Rev.* 22: 202–223.
- Haines, D.C., Gorelick, P.L., Battles, J.K., Pike, K.M., Anderson, R.J., Fox, J.G., Taylor, N.S., Shen, Z., Dewhirst, F.E., Anver, M.R., and Ward, J.M. 1998. Inflammatory large bowel disease in immunodeficient rats naturally and experimentally infected with Helicobacter bilis. *Vet. Pathol.* 35: 202–208.
- Hayashimoto, N., Morita, H., Ishida, T., Uchida, R., Tanaka, M., Ozawa, M., Yasuda, M., and Itoh, T. 2015. Microbiological survey of mice (*Mus musculus*) purchased from commercial pet shops in Kanagawa and Tokyo, Japan. *Exp. Anim.* 64: 155–160.
- Hayashimoto, N., Morita, H., Ishida, T., Yasuda, M., Kameda, S., Uchida, R., Tanaka, M., Ozawa, M., Sato, A., Takakura, A., Itoh, T., and Kagiya, N. 2013. Current microbiological status of laboratory mice and rats in experimental facilities in Japan. *Exp. Anim.* 62: 41–48.
- Hirayama, F., Takagi, S., Yokoyama, Y., Iwao, E., and Ikeda, Y. 1996. Establishment of gastric Helicobacter pylori infection in Mongolian gerbils. *J. Gastroenterol.* 31: 24–28.
- Johansson, S.K., Feinstein, R.E., Johansson, K.E., Lindberg, A.V. 2006. Occurrence of Helicobacter species other than H. hepaticus in laboratory mice and rats in Sweden. *Comp. Med.* 56: 110–113.
- Lanzoni, A., Faustinelli, I., Cristofori, P., Luini, M., Simpson, K.W., Scanziani, E., and Recordati, C. 2011. Localization of Helicobacter spp. in the fundic mucosa of laboratory Beagle dogs: an ultrastructural study. *Vet. Res.* 42: 42.

20. Li, X., Fox, J.G., Whary, M.T., Yan, L., Shames, B., and Zhao, Z. 1998. SCID/NCr mice naturally infected with *Helicobacter hepaticus* develop progressive hepatitis, proliferative typhlitis, and colitis. *Infect. Immun.* 66: 5477–5484.
21. Myles, M.H., Livingston, R.S., and Franklin, C.L. 2004. Pathogenicity of *Helicobacter rodentium* in A/JCr and SCID mice. *Comp. Med.* 54: 549–557.
22. Ménard, A., Péré-Védrenne, C., Haesebrouck, F., and Flahou, B. 2014. Gastric and enterohepatic helicobacters other than *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 19: 59–67.
23. Park, J.H., Seok, S.H., Cho, S.A., Baek, M.W., Lee, H.Y., and Kim, D.J. 2004. The high prevalence of *Helicobacter* sp. in porcine pyloric mucosa and its histopathological and molecular characteristics. *Vet. Microbiol.* 104: 219–225.
24. 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.
25. Rimbara, E., Mori, S., Kim, H., Matsui, M., Suzuki, S., Takahashi, S., Yamamoto, S., Mukai, M., and Shibayama, K. 2013. *Helicobacter cinaedi* and *Helicobacter fennelliae* transmission in a hospital from 2008 to 2012. *J. Clin. Microbiol.* 51: 2439–2442.
26. Scavizzi, F. and Raspa, M. 2006. *Helicobacter typhlonius* was detected in the sex organs of three mouse strains but did not transmit vertically. *Lab. Anim.* 40: 70–79.
27. Sharp, J.M., Vanderford, D.A., Chichlowski, M., Myles, M.H., and Hale, L.P. 2008. *Helicobacter* infection decreases reproductive performance of IL10-deficient mice. *Comp. Med.* 58: 447–453.
28. Shen, Z., Xu, S., Dewhirst, F.E., Paster, B.J., Pena, J.A., Modlin, I.M., Kidd, M., and Fox, J.G. 2005. A novel enterohepatic *Helicobacter* species ‘*Helicobacter mastomyrinus*’ isolated from the liver and intestine of rodents. *Helicobacter* 10: 59–70.
29. Shiomi, S., Toriie, A., Imamura, S., Konishi, H., Mitsufuji, S., Iwakur, Y., Yamaoka, Y., Ota, H., Yamamoto, T., Imanishi, J., and Kita, M. 2008. IL-17 is involved in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammatory responses in a mouse model. *Helicobacter* 13: 518–524.
30. Shomer, N.H., Dangler, C.A., Marini, R.P., and Fox, J.G. 1998. *Helicobacter bilis*/*Helicobacter rodentium* co-infection associated with diarrhea in a colony of scid mice. *Lab. Anim. Sci.* 48: 455–459.
31. Singletary, K.B., Kloster, C.A., and Baker, D.G. 2003. Optimal age at fostering for derivation of *Helicobacter hepaticus*-free mice. *Comp. Med.* 53: 259–264.
32. Swennes, A.G., Turk, M.L., Trowel, E.M., Cullin, C., Shen, Z., Pang, J., Petersson, K.H., Dewhirst, F.E., and Fox, J.G. 2014. *Helicobacter canis* colonization in sheep: a Zoonotic link. *Helicobacter* 19: 65–68.
33. Taylor, N.S., Xu, S., Nambiar, P., Dewhirst, F.E., and Fox, J.G. 2007. Enterohepatic *Helicobacter* species are prevalent in mice from commercial and academic institutions in Asia, Europe, and North America. *J. Clin. Microbiol.* 45: 2166–2172.
34. Totten, P.A., Fennell, C.L., Tenover, F.C., Wezenberg, J.M., Perine, P.L., Stamm, W.E., and Holmes, K.K. 1985. *Campylobacter cinaedi* (sp. nov.) and *Campylobacter fennelliae* (sp. nov.): two new *Campylobacter* species associated with enteric disease in homosexual men. *J. Infect. Dis.* 151: 131–139.
35. Ward, J.M., Fox, J.G., Anver, M.R., Haines, D.C., George, C.V., Collins, M.J., Gorelick, P.L., Nagashima, K., Gonda, M.A., and Gilden, R.V. 1994. Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. *J. Natl. Cancer Inst.* 86: 1222–1227.
36. Wasimuddin, Čížková, D., Bryja, J., Albrechtová, J., Hauffe, H.C., and Piále, J. 2012. High prevalence and species diversity of *Helicobacter* spp. detected in wild house mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 8158–8160.
37. Yamanaka, H., Arita, M., Oi, R., Ohsawa, M., Mizushima, M., Takagi, T., Kubo, N., Yamamoto, N., Takemoto, T., and Ohsawa, K. 2013. Prevalence of an unidentified *Helicobacter* species in laboratory mice and its distribution in the hepatobiliary system and gastrointestinal tract. *Exp. Anim.* 62: 109–116.
38. Yamanaka, H., Nakanishi, T., Takagi, T., Ohsawa, M., Kubo, N., Yamamoto, N., Takemoto, T., and Ohsawa, K. 2015. *Helicobacter* sp. MIT 01-6451 infection during fetal and neonatal life in laboratory mice. *Exp. Anim.* (in press)
39. Zhang, L., Danon, S.J., Grehan, M., Chan, V., Lee, A., and Mitchell, H. 2005. Natural colonization with *Helicobacter* species and the development of inflammatory bowel disease in interleukin-10-deficient mice. *Helicobacter* 10: 223–230.

## 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)

森田 華子, 林元 展人

公益財団法人実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター

### 要 約

ブドウ球菌 (*Staphylococcus* 属菌) は通性嫌気性のグラム陽性球菌であり, コアグラーゼを産生する黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) と, 産生しない菌群 (コアグラーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS)) に分けられる。

黄色ブドウ球菌は哺乳動物における常在菌であり, 実験動物であるマウス・ラットにおいても最も陽性率が高い細菌である。通常, 免疫が正常な動物に対しての病原性は低いが, 免疫不全動物では時に高い病原性を示すため, 統御対象とすべき微生物である。また, 免疫が正常でも創傷部位から組織内や血中に侵入した場合などに病巣を形成することがあるので注意が必要である。

また免疫不全動物において, コアグラーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) のうち *Staphylococcus xylosum* のように病変への関連が示されている菌や, *Staphylococcus sciuri* など病変への直接的な関与は明らかではないが, 病変部から分離されている菌もある。

今後様々な遺伝子改変動物や免疫不全動物の出現に伴い, 黄色ブドウ球菌以外の病原性が低いと考えられているブドウ球菌も統御対象微生物として注意を払う必要性が出てくるかもしれない。

### 1. 細菌

ブドウ球菌 (*Staphylococcus* 属菌) は通性嫌気性のグラム陽性球菌でブドウの房状の配列の集塊を形成する。ブドウ球菌はコアグラーゼを産生する黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) と, 産生しない菌群 (コアグラーゼ陰性ブドウ球菌 (CNS)) に分けられる。CNS の代表に表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) がある。コアグラーゼはフィブリンを析出させて血漿を凝固させる酵素であり, フィブリンの網をバリアにして食細胞の貪食から免れる。

ブドウ球菌のうち, 黄色ブドウ球菌は直接侵襲や毒素によって様々な病態を引き起こす。

そのため, 本稿では黄色ブドウ球菌を中心に解説する。

黄色ブドウ球菌はグラム陽性球菌で, 運動性はなく芽胞は形成しない。食塩耐性, マンニットを分解し, 卵黄反応陽性である。また, 多くの株では  $\alpha$  あるいは  $\beta$  溶血毒のいずれかを産生する。ウマ血液寒天培地では両溶血が観察されるが, ヒツジ血液寒天培地では  $\beta$  溶血が観察される。

黄色ブドウ球菌は免疫が正常でも創傷部位から組織内や血中に侵入した場合などに病巣を形成する。主な疾患としては直接侵襲による皮膚軟部組織感染症や肺炎, 敗血症などがある。また, 毒素による病態として, エンテロトキシン (腸管毒) による食中毒や, 表皮剥脱毒素 (ET) による水泡性膿痂疹・ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (SSSS), TSS 毒素-1 やエンテロトキシンによる毒素性ショック症候群などが知られている。

### 2. 実験動物における黄色ブドウ球菌感染

黄色ブドウ球菌は哺乳動物の皮膚や鼻腔, 消化管における常在菌であり, 実験動物であるマウス・ラットにおいても最も陽性率が高い細菌である。2014 年における ICLAS モニタリングセンターでの日本国内の動物実験施設の微生物モニタリング検査ではマウスで 15%, ラットで 60% 程度の陽性率を示している [7]。

免疫が正常な動物においては通常病原性は低く, 日和見病原菌に位置づけられる。しかし, 免疫不全動物においては化膿性結膜炎による失明や皮下膿瘍

形成などの原因となることがある。そのため、免疫不全動物では排除対象とすべき病原微生物である。また、免疫が正常な動物においても外傷による皮膚炎や膿瘍、雄マウスにおける包皮腺膿瘍などの二次感染の原因菌となる場合がある。

### 3. 検査方法

本菌は普通寒天培地、血液寒天培地などほとんどの非選択培地によく発育するが、分離には本菌の食塩耐性能、マンニト分解能等を利用したマンニト食塩寒天培地やスタヒロコッカス No.110 培地などの分離選択培地が用いられ、分離と同時に卵黄反応も観察できるエッグヨーク食塩寒天培地なども常用されている。本培地に材料を接種し、37℃ 24 時間培養すると、直径 1～2 mm の黄色コロニーが発育し、その周囲にリング状の卵黄反応が観察される（卵黄加培地のみ）。また、最近では本菌を確度高く分離することが可能な X-SA 寒天培地のような酵素基質培地も広く使われている。X-SA 寒天培地では材料を塗

沫し 37℃、20～24 時間培養後、直径 2～3 mm の水色コロニーを呈する菌は確度高く本菌と推察することができる [6]。

本菌の分離材料としては、病変部、盲腸内容、糞便、口腔スワブなどが適している。同定には市販の生化学性状検査用キットを用いる方法の他、平板培地上のコロニーから PCR により同定する方法などが報告されている [2]。

### 4. 感染経路

伝播は、感染動物の糞便や保菌者を介した接触感染により起こる。飲水を介した伝播防止には塩素添加（5～10 ppm）が有効であるとされる [6]。

### 5. 病変への関与の実際

ICLAS モニタリングセンターで 2013 年 1 月～2015 年 6 月までに検査を行ったマウス 50,688 匹の内、マウス 37 検体について本菌に起因する病変が確認さ

所見		系統	雌雄	検体数	計
包皮腺膿瘍		BALB/cAnN	♂	5	19
		C57BL/6	♂	4	
		ICR	♂	3	
		ddY	♂	2	
		129/Sv	♂	1	
		不明	♂	4	
皮下膿瘍 (上顎・下顎部)	左頬部	C57BL/6	♂	1	7
	右頬部	Rag2-KO	♂	1	
	鼻部	C57BL/6	♀	1	
	鼻部	不明	♀	1	
	下顎部	ICR	♀	2	
	頸部	不明	不明	1	
皮下膿瘍 (上記以外)	頭部	ICR	♂	1	4
	前肢	Rag2-KO	♂	1	
	胸部	ICR	♀	1	
	左単径部	不明	不明	1	
臓器膿瘍	精巣	ICR	♂	1	4
	肺	ICR	♂	1	
	肝臓	C57BL/6	♂	1	
	腹腔内	不明	♀	1	
痂痂	顔面	Rag2-KO	♂	2	2
潰瘍	顔面	Rag2-KO	♀	1	1



れた。内分けとしては、包皮腺膿瘍が最も多く19検体、次いで皮下膿瘍（上顎・下顎部）7検体、皮下膿瘍（上顎・下顎部以外）4検体、その他臓器膿瘍4検体、痲癩2検体、潰瘍1検体であった。また、免疫が正常な系統の動物が24検体、免疫不全の系統の動物が5検体、系統が不明のものが8検体であった。

皮下膿瘍としては上顎・下顎部において多く見られたが、これは黄色ブドウ球菌が口腔や鼻腔に存在することから、口腔内外傷や歯根部、鼻腔毛根部からの感染によるものと考えられる [3]。

## 6. その他のブドウ球菌の感染事例

ICLAS モニタリングセンターでは CNS に分類される *Staphylococcus sciuri* (*S. sciuri*) を免疫不全マウスの病変部から分離した例を数例経験している。

重度の免疫不全動物である NOG マウスに衰弱、削瘦、背弯姿勢、眼瞼腫脹および発赤、粗毛、皮膚全身性に鱗屑が見られた。しかし皮膚には発赤、発疹ならびに痲癩形成は見られなかった。また、内臓所見には著変は認められなかった。

これらの動物では病理組織学的検査の結果、外耳道において角質増生による貯留角化が見られ、貯留角層内に球菌（グラム染色陽性）が見られた。中耳鼓室において単球系細胞（マクロファージ）および白血球（好中球）を主体とした炎症性細胞を伴った炎症性滲出液の貯留が見られた。耳介ならびに体部皮膚においては、皮膚の全身性に平坦型の表皮肥厚ならびに角質増生（過角化）が見られた。耳介皮膚など一部において不全角化（錯角化）が見られ、角層内においては球菌（グラム染色陽性）塊が散見された。しかし球菌に対する炎症反応はみとめられなかった。眼瞼においては表皮肥厚ならびに真皮の浮腫が見られた。

これらの動物に対する培養検査では、体表病変部、耳孔、眼結膜、気管において *S. sciuri* が分離された。なお、血液塗抹の培養検査は陰性、体表面部の寄生虫検査は陰性であった。

以上の検査結果から、皮膚異常は表皮肥厚ならびに不全角化症と診断され、憎悪因子として皮膚等から分離された *S. sciuri* の関与が考えられた。この *S. sciuri* については過去に子豚の滲出性表皮炎から分離され、経口接種・筋肉接種により病変を再現した感染実験の例も報告されており [1]、免疫不全マウスにおいても、さらなる病原性の解析が必要であると思われる。

また、ブドウ球菌が皮膚病変に関与した例として、*Staphylococcus xylosus* (*S. xylosus*) が NOS2 ノックアウト

トマウス耳介周囲の潰瘍性皮膚炎から分離された報告がある [5]。この *S. xylosus* については SJL/J マウスを用いた感染実験により尾部接種群のマウスの約 80% において皮膚病変が見られたと報告されている [4]。

## 7. まとめ

以上にブドウ球菌はマウスの皮膚における常在菌ではあるものの、免疫不全マウスや遺伝子改変マウスにおいて、病変に関与することがあるという実例を示した。現在、遺伝子改変技術の進歩に伴い、多様な免疫学的特性を持つ遺伝子改変マウスが作出されている。このような動物においては、今まで常在菌として捉えられていたブドウ球菌に関しても、制御対象微生物として注意を払う必要性が出てくるかもしれない。

## 参考文献

1. Chen, S., Wang, Y., Chen, F., Yang, H., Gan, M., and Zheng, S. J. 2007. A Highly Pathogenic Strain of *Staphylococcus sciuri* Caused Fatal Exudative Epidermitis in Piglets. PLoS ONE. 2: e147. Published online 2007 Jan 10. doi: 10.1371/journal.pone.0000147
2. Hayashimoto, N., Goto, K., Takakura, A., and Itoh, T. 2009. Isolation and identification procedure for *Staphylococcus aureus* in laboratory mice and rats by combined use of chromogenic X-SA agar and specific polymerase chain reaction. *J. Vet. Med. Sci.* 71: 27–32.
3. Lawson, G. W. 2010. Etiopathogenesis of mandibulo-facial and maxillofacial abscesses in mice. *Comp. Med.* 60: 200–204.
4. Thornton, V. B., Davis, J. A., St Clair, M. B., and Cole, M. N. 2003. Inoculation of *Staphylococcus xylosus* in SJL/J mice to determine pathogenicity. *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.* 42: 49–52.
5. Won, Y. S., Kwon, H. J., Oh, G. T., Kim, B. H., Lee, C. H., Park, Y. H., Hyun, B. H., and Choi, Y. K. 2002. Identification of *Staphylococcus xylosus* isolated from C57BL/6J-Nos2(tm1Lau) mice with dermatitis. *Microbiol. Immunol.* 46: 629–632.
6. 公益社団法人日本実験動物協会編 2015. 実験動物の感染症と微生物モニタリング. アドスリー.
7. ICLAS モニタリングセンター HP 微生物検査結果. <http://www.iclasmoniac.jp/jigyoku/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. ブタの実技研修会開催について

日動協ではマウス・ラット、モルモット、ウサギ、サル類の実技研修会を開催しています。昨年度よりこれに加え、ブタの実技研修会を開催したところ好評を博しましたので、本年度も開催いたします。

ブタの実技研修会を開催する背景をご紹介します。

- ① 実験動物 1 級技術者認定試験でブタを選択する受験者が最近増えていること
- ② 実験動物販売量調査によればブタの販売量が増えていること
- ③ ブタの技術者養成の要望が高まっていること

実施要領は下記のとおりです。

#### 記

開催予定日	平成 27 年 11 月 7 日（土）～ 8 日（日）
場所	日本獣医生命科学大学
定員	12 名（1 級、2 級技術者レベルを班分けして実施する予定）
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. モルモット・ウサギ及びサル類の実技研修会について

- ① モルモット・ウサギの実技研修会（1 級実技試験受験者対象）

日時：平成 27 年 11 月 7 日（土）～ 8 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）

日時：平成 27 年 11 月 7 日（土）

場所：日本獣医生命科学大学

## NPO 動物実験関係者連絡協議会（動連協） 第4回シンポジウムのご案内

日 時：平成27年11月28日（土） 13:00～16:30

会 場：日比谷図書文化館 B1 日比谷コンベンションホール

千代田区日比谷公園1番4号（日比谷公園内）

<http://hibiyal.jp/hibiya/access.html>

参加費：会員1,000円，非会員3,000円

### 【プログラム】

13:00～13:10 開会の挨拶

板東武彦（動連協 理事長）

第一部 トピックス「日本医療研究開発の新しい体制と方向性」

座長：八神健一（動連協 理事，筑波大学教授）

13:10～14:00 「日本医療研究開発機構の役割」

菱山 豊（日本医療研究開発機構 執行役）

14:00～14:20 コーヒーブレイク

第二部 シンポジウム「動物実験に関する法体系を考える」

座長：浦野 徹（動連協 理事，自然科学研究機構 生理学研究所特任教授）

塩谷恭子（国立循環器病研究センター 動物実験管理室室長）

14:20～14:50 「動物実験の法規制を考える視点—比較法学者が科学者に教えてほしいこと」

青木人志（一橋大学 教授）

14:50～15:20 「医薬品開発における動物実験の法規制〈現状と今後〉」

渡部一人（日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会長）

15:20～15:50 「動物倫理に関わる研究体制の現状と展望を考える」

板東武彦（動連協 理事長，新潟大学名誉教授）

15:50～16:30 総合討論

主 催：NPO 法人動物実験関係者連絡協議会

後 援：公益社団法人 日本実験動物学会，公益社団法人 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，一般社団法人 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（予定）

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](mailto:npo@renkyo.or.jp)

---

# Experimental Animals

## — 和 文 要 約 —

Vol. 64, No. 4 October 2015

---

### 原著

Compound48/80 に対して皮膚反応を示さないビーグル犬の  
報告とメカニズム検討..... 333-341

打田光宏<sup>1,2)</sup>・伊藤富美<sup>1)</sup>・土屋敏行<sup>1)</sup>・庄司陽子<sup>1)</sup>・黒沢 亨<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Meiji Seika ファルマ株式会社医薬研究所, <sup>2)</sup>大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻  
動物構造機能学分野統合バイオ機能学講座応用薬理学教室

ビーグル犬は毒性試験又は皮膚疾患モデル動物として利用される。他の実験動物に比べ、イヌは化学物質に対する皮膚反応の感受性が高いことが知られる。今回、マスト細胞の脱顆粒物質である compound 48/80 に対する反応性が低いユニークなフェノタイプ (NR) を見出した。それらの動物の皮膚マスト細胞の密度及びヒスタミン含有量は、wildタイプ (WT) と定性的に同程度であった。HCO-60, ヒスタミン, コンカナバリン A, カルシウムイオノフォア A23187 に対する皮膚反応は両タイプで同程度であったが、compound 48/80 に対する反応のみ明らかに差異がみられた。4つの異なるブリーダーから入手したイヌを用いて、compound 48/80 に対する皮膚反応を検査したところ、いずれのブリーダーにおいても、NR は 17-20% の割合で存在した。さらに、過去に遡った解析では、NR は劣性遺伝子として保存されていた。また、WT における compound 48/80 の皮膚反応は、生後 2-4 ヶ月まで確認されなかった。これらの結論として、今回 compound 48/80 に対する皮膚反応が認められないフェノタイプを見出し、それは広く実験動物として供給されるビーグル犬の中に、劣性形質として保存されていた。この知見はイヌのより良い利用及びモデル作製に貢献するものである。

Coxsackievirus B3 infection reduces female mouse fertility ..... 343-352

Hye Min SHIM<sup>1)</sup>, Ji Young HWANG<sup>1)</sup>, Kyung Min LEE<sup>1)</sup>, Yun Hwa KIM<sup>1)</sup>,  
Daewon JEONG<sup>1)</sup>, Jaesook ROH<sup>2)</sup>, Hyeon-Hae CHOI<sup>2)</sup>, Jung Hye HWANG<sup>3)</sup>, and  
Hosun PARK<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Microbiology, College of Medicine, Yeungnam University, 170, Hyeonchung-ro, Namgu, Daegu 705-703, Republic of Korea, <sup>2)</sup>Department of Anatomy and Cell Biology, College of Medicine, Hanyang University, 222, Wangsimni-ro, Seongdong-gu, Seoul 133-791, Republic of Korea, <sup>3)</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Hanyang University Hospital, 222, Wangsimni-ro, Seongdong-gu, Seoul 133-791, Republic of Korea

Previously we demonstrated coxsackievirus B3 (CVB3) infection during early gestation as a cause of pregnancy loss. Here, we investigated the impacts of CVB3 infection on female mouse fertility. Coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR) expression and CVB3 replication in the ovary

were evaluated by immunohistochemistry or reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). CAR was highly expressed in granulosa cells (GCs) and CVB3 replicated in the ovary. Histological analysis showed a significant increase in the number of atretic follicles in the ovaries of CVB3-infected mice (CVBM). Estrous cycle evaluation demonstrated that a higher number of CVBM were in proestrus compared to mock mice (CVBM vs. mock; 61.5%, 28.5%, respectively). Estradiol concentration in GC culture supernatant and serum were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay. Baseline and stimulated levels of estradiol in GC were decreased in CVBM, consistent with significantly reduced serum levels in these animals. In addition, aromatase transcript levels in GCs from CVBM were also decreased by 40% relative to the mock. Bone mineral density evaluated by micro-computed tomography was significantly decreased in the CVBM. Moreover, the fertility rate was also significantly decreased for the CVBM compared to the mock (CVBM vs. mock; 20%, 94.7%, respectively). This study suggests that CVB3 infection could interfere with reproduction by disturbing ovarian function and cyclic changes of the uterus.

T細胞特異的にGATA-3を過剰発現させたトランスジェニックマウスは、  
T-betおよびROR $\gamma$ t過剰発現マウスより重篤な実験的腹膜線維症を呈する ..... 353-362

楊 景堯<sup>1)</sup>・小島正美<sup>1)</sup>・高橋 智<sup>1-4)</sup>

<sup>1)</sup>筑波大学医学医療系生命医科学域解剖学・発生学, <sup>2)</sup>筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構,

<sup>3)</sup>筑波大学生命領域学際研究センター, <sup>4)</sup>筑波大学生命科学動物資源センター

被嚢性腹膜硬化症は長期腹膜透析における重篤な合併症である。病因として、いろいろ論じられているが、不明な点も多く、特にTヘルパー (Th) 細胞の役割は明らかでない。本研究では、Th1, Th2, およびTh17細胞の発現制御転写因子であるT-bet, GATA-3およびROR $\gamma$ tをT細胞に特異的に発現するトランスジェニック (Tg) マウスを用いて、実験的腹膜硬化症モデルを誘導し、腹膜線維化におけるTh細胞の役割を検討した。T-bet Tgマウス, GATA-3 Tgマウス, ROR $\gamma$ t Tgマウス, および野生型マウスに0.1%クロールヘキシジングルコネート (CG) (0.01 ml/体重 (g)) を週3回投与し、3週継続し評価した。3週投与では、GATA-3 Tgマウスは腹壁腹膜の肥厚、腹膜組織における $\alpha$ -SMAの発現、マクロファージの浸潤、III型コラーゲンの発現がもっとも強く、T-bet Tgマウスがもっとも軽微であった。T-bet Tgの腹水を検討したところ、IFN- $\gamma$ の高値を認めため、野生型マウスにCGとともにIFN- $\gamma$ を投与したところ、腹膜線維化の緩和を有意に確認できた。本研究の結果から、腹膜線維化においては、Th細胞およびそのサイトカインが関与していることが考えられ、またこれらを制御することにより、病態制御の可能性が示唆された。

コモンマーモセットから検出された*Pentatrichomonas hominis*..... 363-368

井上貴史・林元展人・保田昌彦・佐々木えりか・伊藤豊志雄

公益財団法人実験動物中央研究所

国内外の実験動物施設においてコモンマーモセットから消化管トリコモナス原虫が検出されているが、これまでに種同定や病原性についての有用な情報はない。そこで、本研究では実験動物施設においてマーモセットの消化管トリコモナス原虫の保有状況を調査し、検出された原虫の種同定とDNA塩基配列による種内変異の解析を行った。糞便88検体を直接塗抹法により検査したところ、58検体 (66%) でトリコモナス栄養体が検出された。トリコモナスは正常

便 (31/49, 63%), 下痢便 (27/39, 69%) ともに検出され、陽性率に便性状による有意な差は認められなかった。検出された原虫は、形態的特徴と18SリボソームRNA遺伝子の部分配列 (297 bp) から *Pentatrichomonas hominis* と同定された。また、検出された *P. hominis* について、イヌ、ウシ、ヒト、他のサル類などから得られた本原虫との種内変異に関してITS (internal transcribed spacer) 領域を含む部分配列 (293 bp) を用いて解析したところ、変異率は1%未満であった。*P. hominis* は霊長類を含む多種の哺乳類の大腸に寄生し、非病原性とされている。以上の結果より、本原虫はマーモセットと他の哺乳類種との間で伝播している可能性があるが、本原虫がマーモセットの下痢症の主要因とはなっていないことが確認された。

### カニクイザルの動物飼育担当者との親和性構築における

新規トレーニングの効果 ..... 369-373

西本 愛・立花勇氣・高浦 薫・越智武洋・小山公成

アステラスリサーチテクノロジー・動物管理部

我々は、動物飼育担当者とはカニクイザルの信頼関係を構築することを目的として、2-10歳のカニクイザルを用いて、トレーニングを行った。トレーニングはレーズン供与 (1日3回) と動物飼育担当者とのコミュニケーション機会の増加 (1日5回) を151日間継続した。サルの親和性の行動評価は、スコア-1からスコア5まで7段階の点数付けとした。トレーニング前、61匹中35匹のサルが動物飼育担当者から直接レーズンを受け取れなかった (スコア-1, 0, 1)。トレーニング後、これら35匹中28匹のサル (80%) が動物飼育担当者から直接レーズンを取ることができた (スコア2以上)。親和性の行動スコアは、トレーニングにより  $1.2 \pm 0.1$  から  $4.3 \pm 0.2$  に上昇した。トレーニングにより動物飼育担当者への親和性が確立される期間 (スコア2に達するまでの期間) は、雄より雌の方が長かった。トレーニング151日後、動物飼育担当者から直接レーズンを取れなかった個体数は、雌で31匹中6匹、雄では30匹中1匹であった。サルの年齢に関わらず、有効なトレーニング効果が得られた。これらの結果より、レーズンを与え、サルに接する機会を増やすトレーニングを行うことよりサルの動物飼育担当者に対する親和性が著しく向上するものの、トレーニングの効果においては性差があることも示された。さらに、サルの問題行動および一般症状もトレーニングにより改善された。

### *Helicobacter* sp. MIT 01-6451 のマウスにおける胎子および

新生子への垂直感染について ..... 375-382

山中仁木<sup>1)</sup>・中西 太<sup>1)</sup>・高木利一<sup>1,2)</sup>・大沢牧子<sup>1)</sup>・久保憲昭<sup>1)</sup>・山本直土<sup>1)</sup>・  
嶽本剛平<sup>1)</sup>・大沢一貴<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>長崎大学 先端生命科学研究所 比較動物医学分野,

<sup>2)</sup>日本エスエルシー BTセンター 品質管理部

*Helicobacter* sp. MIT 01-6451 は、日本国内の各研究機関および生産業者の実験用マウスから高頻度に検出され、マウスの大腸に主に生息する。本研究では、MIT 01-6451 の特徴を解明するため、垂直感染の可能性について免疫正常および免疫不全マウスを用いて調べた。その結果、妊娠16-18日における免疫正常感染マウスの乳腺・子宮・膣からは菌は検出されなかったが、SCIDマウスの一部でこれらの組織に加えて胎盤からも検出された。しかし、全てのマウス系統でこの時期の胎子の感染は認められなかった。また感染マウスから生まれた新生子では、出生直後は感染しておらず、その後C57BL/6とSCIDマウスでは生後9-11日までに感染が認め

られたが、BALB/c マウスでは感染時期が遅かった。感染雌マウスの特異的血清中IgAおよびIgG 価を調べたところ、C57BL/6と比較してBALB/cマウスで有意に高かった。更に、各系統感染マウスの産子数を非感染群と比較したところ、有意差は認められなかったがSCIDマウスで死産が認められ産子数が少ない傾向にあった。以上より、MIT 01-6451は胎盤・産道・母乳を介して垂直感染する可能性は低いが、日和見的に分娩異常など繁殖障害を起こす可能性が考えられた。また、母体の菌特異的免疫反応が母乳を介して新生子の感染時期に影響を及ぼすことが考えられた。

雌ラットにおける母仔分離ストレスは性周期における摂餌行動の  
周期的変化を阻害する..... 383-390

岩崎進一・井上幸紀

大阪市立大学大学院医学研究科神経精神医学

幼少時期のストレスフルな出来事は摂食障害発症と関係していると言われている。また、雌ラットにおいては性周期により摂餌行動が影響を受けることはよく知られている。そこで我々は、性周期を同調させた雌ラットを用いて、幼少時期のストレスが成長後の食行動について影響するかどうかを調べた。心理的ストレスとして母仔分離ストレスを用い、幼少時期に親と1日6時間分離させたラット群と母仔分離を行わない群のラットを比較した。陰インピーダンスを測定することにより性周期を測定し、性周期1サイクル中のそれぞれの群において1日摂餌、飲水量を測定した。非母仔分離群では性周期により摂餌、飲水にて周期的な変化を示したが、母仔分離を受けた群では、性周期による変化が失われていた。発情期では母仔分離群は非母子分離群に比して摂餌減少と飲水増加と逆の傾向が見られた。このことから、雌ラットにおいて幼少時期のストレスは性周期における摂餌量の周期的変化を阻害し、幼少時期のストレスにより成長後においても摂餌行動に対して持続する影響が及ぼされることが示唆された。

The relation between the effect of a subhypnotic dose of thiopental on claw pain  
threshold in rats and adrenalin, noradrenalin and dopamine levels ..... 391-396

Mehmet AKSOY<sup>1)</sup>, Ali AHISKALIOGLU<sup>1)</sup>, Ilker INCE<sup>1)</sup>, Mine CELIK<sup>1)</sup>, Aysenur DOSTBIL<sup>1)</sup>,  
Ufuk KUYRUKLUYILDIZ<sup>2)</sup>, Durdu ALTUNER<sup>3)</sup>, Nezahat KURT<sup>4)</sup>, and Halis SULEYMAN<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Anesthesiology and Reanimation, Faculty of Medicine, Ataturk University, 25240, #Erzurum, Turkey, <sup>2)</sup>Department of Anesthesiology and Reanimation, Faculty of Medicine, Erzincan University, 24030, #Erzincan, Turkey, <sup>3)</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Erzincan University, 24030, #Erzincan, Turkey, <sup>4)</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Ataturk University, #25340, Erzurum, Turkey

Thiopental sodium (TPS) needs to be applied together with adrenalin in order to establish its analgesic effect in general anesthesia. We aimed to investigate the effect of TPS on the claw pain threshold in rats and evaluated its relationship with endogenous adrenalin (ADR), noradrenalin (NDR), and dopamine (DOP) levels. Intact and adrenalectomized rats were used in the experiment. Intact animals were divided into the following groups: 15 mg/kg TPS (TS), 0.3 mg/kg ADR+15 mg/kg TPS (ATS) and 0.3 mg/kg ADR alone (ADR). Adrenalectomized animals were divided into the following groups: 15 mg/kg TPS (A-TS), 0.3 mg/kg ADR+15 mg/kg TPS (A-ATS) and 0.3 mg/kg ADR alone (A-ADR). Claw pain threshold and blood ADR, NDR, and DOP levels were measured. The TS group's claw pain threshold was found low. However, the claw pain thresholds of the ATS and

ADR groups increased significantly. In the A-TS group, the pain threshold decreased compared with normal, and in the A-ATS and A-ADR groups, the pain threshold increased. TPS reduced the blood ADR levels in intact rats; however, no significant changes were observed in the NDR and DOP levels. #TPS provides hyperalgesia by reducing the production of ADR in rats. The present study shows that to achieve analgesic activity, TPS needs to be applied together with ADR.

Non-Hsp 遺伝子群が熱ショック因子 HSF1 による個体の恒常性維持に  
不可欠な働きをしている ..... 397-406

林田直樹

山口大学大学院医学系研究科生化学第二教室

哺乳類の組織はその生存を脅かす環境に絶えず曝されており、このような環境から組織及び細胞を守る機構は生物にとって不可欠である。熱ショック転写因子 HSF1 は、熱ショックタンパク質 Hsp を誘導し、細胞内で合成されたタンパク質を正しい立体構造に維持する。さらに Hsp 以外の non-Hsp の遺伝子群の発現も誘導し、変性したタンパク質を分解する。最近私は、non-Hsp 遺伝子群が培養細胞の生存には Hsp 以上に重要であることを発見したが、同様の機構が哺乳動物組織でも存在するかは不明である。本論文では、野生型ハンチントンマウス (WT-HD) と HSF1 欠損ハンチントンマウス (HSF1KO-HD) の各組織において、ポリグルタミンタンパク質 (polyQ) の凝集体がどの程度生じるかを比較した。また、私が polyQ の凝集を強く抑制することを明らかにした 8 個の遺伝子群が各組織でどの程度発現しているか、およびその発現が HSF1 の欠損によって低下するかを調べた。8 個の遺伝子群のうち、NFATc2 を含む 5 遺伝子はほとんどの組織で発現していたが、他の 3 つはほとんど発現がなかった。驚いたことに、HSF1KO-HD において、NFATc2 を含む 5 つの遺伝子の発現が顕著に低下するのは心臓、脾臓、胃のみであった。さらに、polyQ の凝集体はどちらの HD でも形成されていなかったが、前凝集体状態の polyQ タンパク質の量は HSF1KO-HD でより多いことがわかった。これらの結果は、non-Hsp 遺伝子群が哺乳動物組織の恒常性の保護に重要であり、その結果、個体全体の恒常性の維持にも不可欠である可能性を示唆している。

がん遺伝子 *Lmo3* は *Hen2* と協調してマウスに水頭症を誘導する ..... 407-414

磯貝恵理子<sup>1)</sup>・奥村和弘<sup>1)</sup>・斎藤 慈<sup>1)</sup>・吉澤康博<sup>1)</sup>・伊東 恭子<sup>6)</sup>・丹藤 創<sup>6)</sup>・  
大平 美紀<sup>2)</sup>・原口清輝<sup>3,5)</sup>・中川原 章<sup>4)</sup>・伏木信次<sup>6)</sup>・永瀬浩喜<sup>7)</sup>・若林雄一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>千葉県がんセンター研究所実験動物研究室, <sup>2)</sup>千葉県がんセンター研究所がんゲノム研究室,

<sup>3)</sup>千葉県がんセンター研究所発生工学研究室, <sup>4)</sup>千葉県がんセンター研究所がん先進治療開発研究室,

<sup>5)</sup>独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所・家畜育種繁殖研究領域,

<sup>6)</sup>京都府立医科大学大学院分子病態病理学部門, <sup>7)</sup>がん遺伝創薬研究室, 千葉県がんセンター研究所

我々は既に、神経発生関連遺伝子である LMO3 (LIM-Only protein 3) と HEN2 (Helix-Loop-Helix protein 2) が神経発生に重要な働きをする HES1 (Hairy and Enhancer of Split 1) の機能を抑制し、HES1 による MASH1 の転写制御に干渉して神経細胞の増殖を亢進させ、神経芽腫の発生あるいは悪性化に関与することを示した。そこで、これらの神経発生に関連する遺伝子群の生体内での機能を検討するため、*Lmo3*, *Hen2* の各遺伝子を神経堤細胞と中枢神経系で高発現させたトランスジェニックマウス (Tg) を作製したところ、出生後早期に水頭症が起った。その発生頻度はバックグラウンド系統である C57BL/6J マウスの頻度より有意に高く、*Lmo3*, *Hen2* のダブル Tg では全ての個体が水頭症を発症した。従って、*Lmo3* と *Hen2* は水頭症の発生に関与し、



更に相乗的な効果をもたらすことが考えられた。*Lmo3*と*Hen2*のシングルTg, ダブルTgともに中脳水道狭窄が観察されたが, ダブルTgの狭窄の程度は軽度であった。更にダブルTgマウスでは, 胎生期18.5日においても水頭症が発生していた。これらの結果から, 水頭症の原因は中脳水道狭窄だけではなく, 大脳皮質の発生過程異常の可能性もあることが推察された。また, これらと非常に似た形質を示す*Robo1/2*ダブルノックアウトマウスの水頭症は大脳発生時のventricular zone progenitorsにおける*Hes1*の発現量低下に起因することが報告されている。以上のことから, *Lmo3*と*Hen2*の発現レベルの変化がHES1の機能を修飾し, 生体内においても正常な神経発生が干渉され, 大脳発生異常の原因となることが示唆された。

#### Rab GTPase 活性化因子TBC1D9のマウス精巣における発現と細胞内局在..... 415-424

中村有孝<sup>1)</sup>・浅野 淳<sup>1)</sup>・保坂善真<sup>2)</sup>・竹内崇師<sup>3)</sup>・岩永敏彦<sup>4)</sup>・山野好章<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>鳥取大学農学部共同獣医学科獣医生化学教室, <sup>2)</sup>鳥取大学農学部共同獣医学科獣医解剖学教室,  
<sup>3)</sup>鳥取大学農学部共同獣医学科実験動物学教室, <sup>4)</sup>北海道大学大学院医学研究科解剖学講座

雄性生殖細胞内では, 細胞の形態変化やアクロソーム形成の際に膜輸送が見られ, 精子形成において重要である。TBCタンパク質ファミリーは, 低分子量Gタンパク質Rabに対するGTPase活性化タンパク質として機能し, Rabタンパク質の機能を負に制御し, 膜輸送を調節する因子として知られている。本研究において, 我々はTBCタンパク質の一つであるTBC1D9のマウス組織における発現と, タンパク質の細胞内局在について検討した。その結果, *Tbc1d9*遺伝子は, 成熟個体の精巣に強く発現することが明らかになった。さらに, *Tbc1d9* mRNAは一次および二次精母細胞に発現しており, TBC1D9タンパク質は精母細胞と精子細胞で発現することがわかった。また, 293T細胞にTBC1D9-GFP融合タンパク質を発現させると, 融合タンパク質はエンドソームとゴルジ体に局在していた。特に, TBC1D9 isoform 1は恒常的活性型のRab7およびRab9変異体タンパク質が局在する細胞内部位に存在することが明らかになった。また, 免疫沈降法を用いた解析により, TBC1D9-GFPタンパク質はRab7およびRab9と相互作用することがわかった。以上の結果より, TBC1D9タンパク質は主に精母細胞で発現し, Rab9およびRab7陽性の細胞内小胞に関連した膜輸送の調節に関わる可能性が示された。

#### Muscle mass, structural and functional investigations of senescence-accelerated mouse P8 (SAMP8)..... 425-433

An Yun GUO<sup>1)</sup>, Kwok Sui LEUNG<sup>1,2)</sup>, Parco Ming Fai SIU<sup>4)</sup>, Jiang Hui QIN<sup>1)</sup>,  
Simon Kwoon Ho CHOW<sup>1)</sup>, Ling QIN<sup>1,2)</sup>, Chi Yu LI<sup>1)</sup>, and Wing Hoi CHEUNG<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Orthopaedics and Traumatology, Prince of Wales Hospital, The Chinese University of Hong Kong, Shatin, New Territories, Hong Kong SAR, P.R. China, <sup>2)</sup>Translational Medicine Research & Development Center, Institute of Biomedical and Health Engineering, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, P.R. China, <sup>3)</sup>The CUHK-ACC Space Medicine Centre on Health Maintenance of Musculoskeletal System, The Chinese University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen, P.R. China, <sup>4)</sup>Department of Health Technology and Informatics, Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong SAR, P.R. China

Sarcopenia is an age-related systemic syndrome with progressive deterioration in skeletal muscle functions and loss in mass. Although the senescence-accelerated mouse P8 (SAMP8) was reported valid for muscular ageing research, there was no report on the details such as sarcopenia onset time. Therefore, this study was to investigate the change of muscle mass, structure and functions during

the development of sarcopenia. Besides the average life span, muscle mass, structural and functional measurements were also studied. Male SAMP8 animals were examined at month 6, 7, 8, 9, and 10, in which the right gastrocnemius was isolated and tested for *ex vivo* contractile properties and fatigability while the contralateral one was harvested for muscle fiber cross-sectional area (FCSA) and typing assessments. Results showed that the peak of muscle mass appeared at month 7 and the onset of contractility decline was observed from month 8. Compared with month 8, most of the functional parameters at month 10 decreased significantly. Structurally, muscle fiber type IIA made up the largest proportion of the gastrocnemius, and the fiber size was found to peak at month 8. Based on the altered muscle mass, structural and functional outcomes, it was concluded that the onset of sarcopenia in SAMP8 animals was at month 8. SAMP8 animals at month 8 should be at pre-sarcopenia stage while month 10 at sarcopenia stage. It is confirmed that SAMP8 mouse can be used in sarcopenia research with established time line in this study.

A novel mice model of metabolic syndrome: the high-fat-high-fructose diet-fed ICR mice.....435-442

Zhang ZHUHUA, Wang ZHIQUAN, Yang ZHEN, Niu YIXIN, Zhang WEIWEI,  
Li XIAOYONG, Liu YUEMING, Zhang HONGMEI, Qin LI, and Su QING

Department of Endocrinology, Xinhua hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine,  
1665 Kongjiang Road, Shanghai, P.R.China

Currently, the metabolic syndrome (MS) is occurring at growing rates worldwide, raising extensive concerns on the mechanisms and therapeutic interventions for this disorder. Herein, we described a novel method of establishing MS model in rodents. Male Institute of Cancer Research (ICR) mice were fed with high-fat-high-fructose (HFHF) diet or normal chow (NC) respectively for 12 weeks. Metabolic phenotypes were assessed by glucose tolerance test, insulin tolerance test and hyperinsulinemic-euglycemic clamp. Blood pressure was measured by a tail-cuff system. At the end of the experiment, mice were sacrificed, and blood and tissues were harvested for subsequent analysis. Serum insulin levels were measured by ELISA, and lipid profiles were determined biochemically. The HFHF diet-fed ICR mice exhibited obvious characteristics of the components of MS, including obvious obesity, severe insulin resistance, hyperinsulinemia, dislipidemia, significant hypertension and hyperuricemia. Our data suggest that HFHF diet-fed ICR mice may be a robust and efficient animal model that could well mimic the basic pathogenesis of human MS.

## 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
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
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	動物実験用麻醉装置他
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	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

---