

実験動物 ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science



目 次

特集：パンデミック再来への備え，実験動物の関わりの検証	
序文：令和5年度維持会懇談会企画によせて	75
霊長類モデルを用いたワクチン有効性評価	76
感染症研究に有用な小型実験動物の開発と供給	
—SCARDA 感染症事業プロジェクトのサポート機関として—	81
感染動物実験の受注の課題と体制整備	86
ゴールデンハムスター —その実験動物としての特性について—	94
実験動物感染症の現状	
実験動物マウスにおける黄色ブドウ球菌のゲノミクスと 施設内伝播検証法	102
第71回日本実験動物学会総会（大会）を終えて	112
維持会員便り	
—社会に求められる企業を目指して—	115
会員便り	
3D プリンターの活用とオリジナルのツールができるまで	119
学生生活を振り返って	122
他学会情報	
公益社団法人日本実験動物協会の動き	126
日本実験動物学会からのお知らせ	
公益社団法人日本実験動物学会令和6年度第1回理事会議事録	127
公益社団法人日本実験動物学会令和6年度第2回理事会議事録	129
公益社団法人日本実験動物学会第71回通常総会議事録	131
令和7年度日本実験動物学会賞受賞候補者の推薦受付について	132
Experimental Animals 73(3) 収載論文和文要約集	133
維持会員名簿	i
編集後記	iii

特集：パンデミック再来への備え，実験動物の関わりを検証

序文：令和5年度維持会懇談会企画によせて

高橋利一
財務特別委員会委員長

令和5年度維持会懇談会では，今後起こり得る感染症有事の国策として設置された先進的研究開発戦略センター（通称SCARDA）の活動に着目し，感染研究者の先生より新型コロナウイルス感染禍の研究動向と関わった動物のお話を伺い，一方で実験動物側からも感染研究に資する動物開発，生産体制，感染実験の委託体制などの話題を交換することで，今後起こり得る感染症有事に対する備えとして，実験動物の関わりを検証する狙いを持って企画した。

特別講演は，国立感染症研究所の長谷川秀樹先生にお願いしたが，実験動物感染症対策委員会が令和3年に企画したシンポジウムと連携し，実験動物ニュース Vol. 73 No. 2の「重症肺炎の原因となるコロナウイルス感染症の動物モデル：SARS-CoVからSARS-CoV-2」としてすでにご投稿いただいたので，そちらをぜひご参照いただきたい。

本特集は，特別講演に引き続いて行った話題提供より，4人の先生のご講演内容を総説としてご寄稿いただいた。演者のご紹介を含めた令和5年度維持会懇談会の概要報告については，実験動物ニュース Vol. 73 No. 1の「維持会員懇談会開催報告」をご参照いただきたい。

本企画とその記録が，日本の感染症研究に対して実験動物科学技術の貢献を考える一助となることを期待している。

特集：パンデミック再来への備え、実験動物の関わりの検証

霊長類モデルを用いたワクチン有効性評価

伊藤 靖

滋賀医科大学 病理学講座 疾患制御病態学部門

要 約

21 世紀になってから 2 回のパンデミック、2009 年 H1N1 インフルエンザと 2019 年新型コロナウイルス感染症（COVID-19）、を経験してきた。パンデミック発生時には、感染拡大を抑制し、重症者数や致死率を低下させるためにワクチンと治療薬の研究を迅速に推進する必要がある。ワクチンと治療薬の有効性の確認のために *in vitro* の研究のみならず、動物実験が必要とされる。動物実験においては、人から分離されたウイルスが感染し、類似の症状を示す動物モデルを使うことが望まれる。そのため霊長類モデルが感染症研究では重要となる。滋賀医科大学はカニクイザルを飼育可能なバイオセーフティレベル 3（ABSL3）実験室を有し、2 回のパンデミックにおいて感染実験によりウイルスの病原性解明 [1, 2]、ワクチンと治療薬の研究を行ってきた。今回は、3 種のワクチンモダリティに関して、カニクイザルモデルを使った COVID-19 とインフルエンザに対するワクチン研究の成果を紹介する。

1. mRNA ワクチン

mRNA ワクチンは COVID-19 パンデミックにおいて初めて認可されたモダリティである。病原体の遺伝子の一部、特に細胞に接着侵入するために必要な分子（SARS-CoV-2 の場合、スパイクタンパク質）の遺伝子塩基配列が判明すると短時間で製造が可能であり、パンデミック時にはこの迅速性が特に重要と考えられる。COVID-19 において初期に使用された mRNA ワクチンでは、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の全長の mRNA が脂質の膜で包まれ、細胞に取り込まれやすくなっている [3, 4]。細胞内で翻訳されたタンパク質が分解され、抗原提示細胞が T リンパ球に抗原提示し、スパイクタンパク質抗原を認

識・活性化した T リンパ球が B 細胞を助け、中和抗体が分泌されると考えられる。

我々は、カニクイザルを使い、国産ワクチンとして開発された SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチンの有効性を、東京大学石井健先生及び第一三共株式会社のグループと共同で解析した [5]。このワクチンではスパイクタンパク質の中でも細胞表面のウイルス受容体である angiotensin-converting enzyme 2（ACE2）に結合する部分である receptor-binding domain（RBD）の遺伝子を使用した（図 1）。このワクチンの長所として、① RBD より N 末端側（NTD）に対する抗体は感染性を増強させる可能性がある一方 [6]、RBD 遺伝子ワクチンは NTD に対する抗体

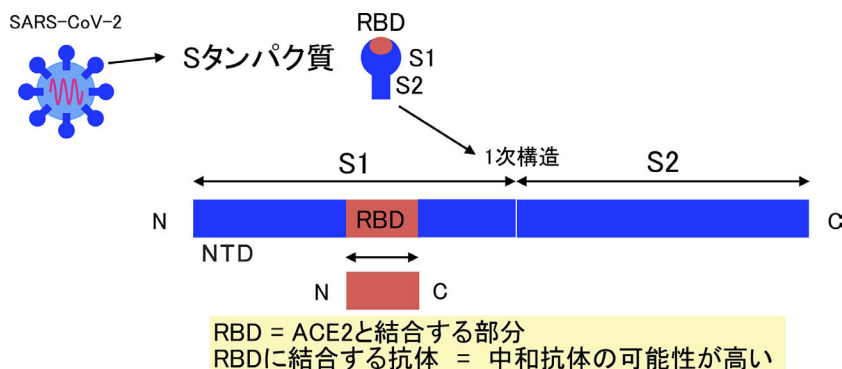


図 1 新型コロナウイルスに対するワクチンの設計

RBD（receptor-binding domain）は ACE2 と結合する部分である。従って、RBD に結合する抗体は中和抗体となり、感染予防に働く可能性が高い。

を誘導しないこと、② RBD 遺伝子はスパイクタンパク質遺伝子より分子量が小さいので、ワクチンとして接種可能な総核酸量上限が決まっているとき、1回のワクチン接種において mRNA 分子数を多くでき、より多くのタンパク質産生が期待されることなどがあげられる。

我々は RBD の mRNA を脂質膜で包んだ lipid-nanoparticle (LNP-mRNA) をカニクイザルの筋肉内に 2 回接種した。1 回目のワクチン接種から 2 週間後には 4 頭中 3 頭のサルで中和抗体が検出され、2 回目の接種 1 週間後には 4 頭のサルで高力価の中和抗体が確認された。サルに SARS-CoV-2 を感染させると、ワクチン非接種サルでは感染翌日に鼻腔内に高濃度のウイルスが検出されるのに対し、ワクチンを接種したサルの 4 頭中 3 頭ではウイルスは検出されず、他の 1 頭においてウイルス量は低値であった。以上のように RBD の LNP-mRNA は SARS-CoV-2 の複製を予防することがカニクイザルにおいて判明した。

2. ベクターワクチン

COVID-19 に対するワクチンの別のモダリティとして、ベクターワクチンの研究を行った。アデノウイルスを用いたベクターワクチンが COVID-19 のために先に認可されている [7, 8]。我々は、以前より東京都医学総合研究所小原道法先生、安井文彦先生と共同で研究を進めていたベクターワクチンである弱毒化ワクシニアウイルスを SARS-CoV-2 に応用した [9]。ワクシニアウイルスは DNA ウイルスであるので、室温でも比較的安定であり、冷凍庫のない地域へ輸送可能であると考えている。また、ワクシニアウイルスには天然痘の撲滅に寄与した実績があり、安全性が確認されている。今回用いた弱毒化ワクシニアウイルス DIIs 株は天然痘（痘瘡）に対するワクチンである LC16m8 よりさらに弱毒化されたワクシニアウイルスである。

ワクシニアウイルス DIIs の DNA 遺伝子の内部に SARS-CoV-2 スパイクタンパク質遺伝子配列を挿入することによりワクチンが作製された (rDIIs-S) (図 2)。rDIIs-S が抗原提示細胞に取り込まれると遺伝子が発現し、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質が作られ、免疫反応が起きる。カニクイザルの皮内に 2 回 rDIIs-S を接種すると血清中に中和抗体が上昇した [10]。rDIIs-S 接種カニクイザルの血清は SARS-CoV-2 初期株、 α 変異株、 β 変異株、 γ 変異株を中和した。ワクチンを接種していないサルではウイルスが感染 7 日後まで検出されたのに対し、rDIIs-S 接種カニクイザルに SARS-CoV-2 初期株を感染させると感染 3 日後以降はウイルスが検出されなかった。また、rDIIs-S 接種カニクイザルでは組織学的に肺炎はほとんどみられず、ウイルス抗原陽性細胞も検出されず、肺炎予防にも有効であった (図 3)。

さらに DIIs と rDIIs-S を接種したカニクイザル血清はエムボックスウイルスを中和することが判明しており (未発表データ)、rDIIs-S は SARS-CoV-2 とエムボックスウイルスの両方に有効であることが期待される。

3. 完全粒子ワクチン

現行のインフルエンザワクチンは精製ウイルス粒子をエーテルで破壊し、不活化することにより作成されている (スプリットワクチン)。重症化防止に効果が認められているが、発症予防効果は必ずしも高くなく、また毎年接種する必要がある。これらの点を解決するために、北海道大学喜田宏先生のグループと全日本インフルエンザワクチン研究会は、不活化法を改良し、ウイルス粒子を破壊しないように希釈ホルマリンによりインフルエンザウイルスを不活化した完全粒子ワクチンを作製した (図 4)。滋賀医科大学では、カニクイザルモデルを使い、完全粒子ワクチンの有効性評価と有効性のメカニズムを解明する研究を続けてきた [11-13]。

スプリットワクチンと完全粒子ワクチンを未感作カニクイザルの皮下に接種し、免疫反応を比較した。中和抗体はスプリットワクチンを接種したサルでは 2 回目の接種後に検出された。一方、完全粒子ワクチンを 1 回接種後に中和抗体が検出され、2 回目の接種後に中和抗体価が上昇した [14]。ウイルスを感染させるとワクチン非接種サルやスプリットワクチン接種サルより、完全粒子ワクチンを接種したサルではウイルス検出期間が短縮し、ウイルス量が低値であり、完全粒子ワクチンのスプリットワクチンより優れた効果が確認された。

完全粒子ワクチンが 1 回目の接種後から中和抗体を効率よく誘導するので、完全粒子ワクチンがプライムする過程 (一次反応) を解析するために、完全粒子ワクチンまたはスプリットワクチンをサル脾臓

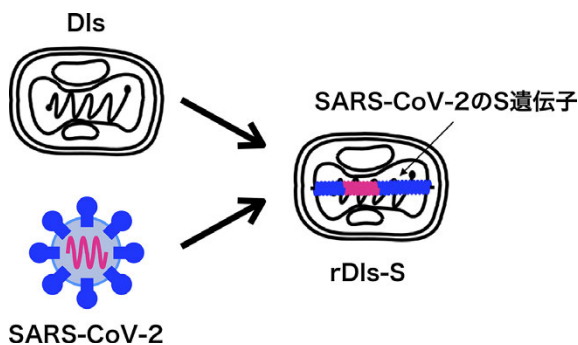


図 2 組換えワクシニアウイルスワクチン
弱毒化ワクシニアウイルス DIIs の遺伝子に SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質遺伝子配列を挿入し、rDIIs-S が作製された。

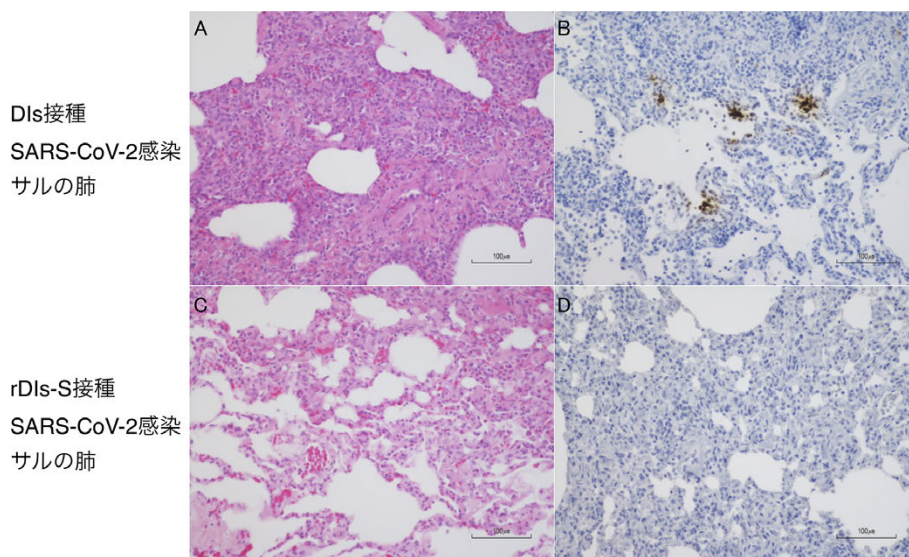


図3 SARS-CoV-2 スパイク遺伝子を含むワクシニアウイルスベクターワクチンはカニクイザルの肺炎を予防する

A, B: DI (コントロール) 接種サルの肺組織。C, D: rDI-S (SARS-CoV-2 スパイク遺伝子をもつ DI) 接種サルの肺組織。A, C: HE 染色, B, D: SARS-CoV-2 N タンパク質の免疫染色 (茶: ウイルス抗原陽性細胞)。DI 接種サルでは肺胞壁は肥厚し, リンパ球浸潤 (A), ウイルス抗原陽性細胞が多数検出され (B), ウイルス肺炎が生じている。DI-S 接種サルでは肺炎はほとんどみられず (C), ウイルス抗原も検出されない (D)。

の抗原提示細胞と培養した。その結果, 完全粒子ワクチンを加え培養すると IL-6 と TNF- α が産生されることが判明した。完全粒子ワクチンによる樹状細胞の活性化はマウスの細胞でも確認されている。また完全粒子ワクチンと培養した細胞内にワクチン由来のウイルス RNA が検出され, ウイルス粒子が細胞内に取り込まれ, ウイルス RNA が細胞内 TLR7 などの RNA 受容体に結合し, 抗原提示細胞を活性化, 成熟させたと考えられた。抗原提示細胞の活性化は抗原提示と副刺激分子の発現を上昇させ, 未感作 T リンパ球を抗原特異的に効率よく活性化させると考えられた [15]。

ヘルパー T 細胞の活性化は B リンパ球の抗体産生を促進する。そこで完全粒子ワクチンまたはスプリットワクチンを接種したサルの末梢血 B リンパ球の免疫グロブリン H 鎖のレパートリーを解析した [14]。免疫グロブリン H 鎖塩基配列を次世代シーケンサーで決定した。次にゲノム配列と比較することで H 鎖の V 領域と J 領域と CDR3 領域 (VDJ 接合部分) のアミノ酸配列を決定した。ここから同じ V 領域と J 領域, CDR3 領域に同じアミノ酸長をもち, 加えてアミノ酸配列が 90% 以上一致する配列を同一クローンに由来する細胞と仮定し, 分類した。さらにワクチン接種 2 週間後にリード頻度が 2 倍以上に増加したクローンをワクチン接種により反応したクローンと定義した。また, クローン内でアミノ酸配列の異なる配列をサブクローンと定義した。

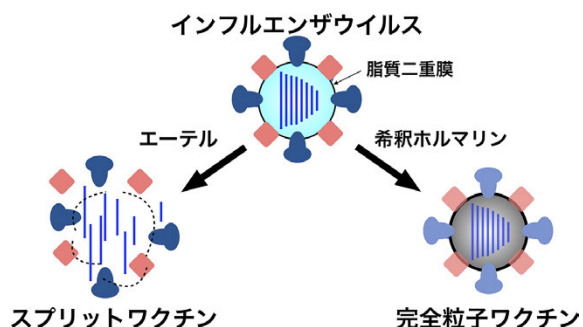


図4 インフルエンザ不活化完全粒子ワクチン
左: 現行のスプリットワクチンは精製インフルエンザウイルスの脂質二重膜をエーテルで溶かし, ウイルス粒子を破壊することにより不活化され, 作製されている。
右: 現在研究中の完全粒子ワクチンは, ホルマリンで不活化することにより粒子の形態は保存されている。

その結果, スプリットワクチンを接種したサルより完全粒子ワクチンを接種したサルでは, ワクチン接種 2 週後にサブクローン数が増加していることが判明した。サブクローン数の増加は B リンパ球の体細胞高頻度突然変異の増加を意味している。抗体の抗原との親和性成熟は免疫グロブリン遺伝子の体細胞高頻度突然変異により生じるので, 完全粒子ワク

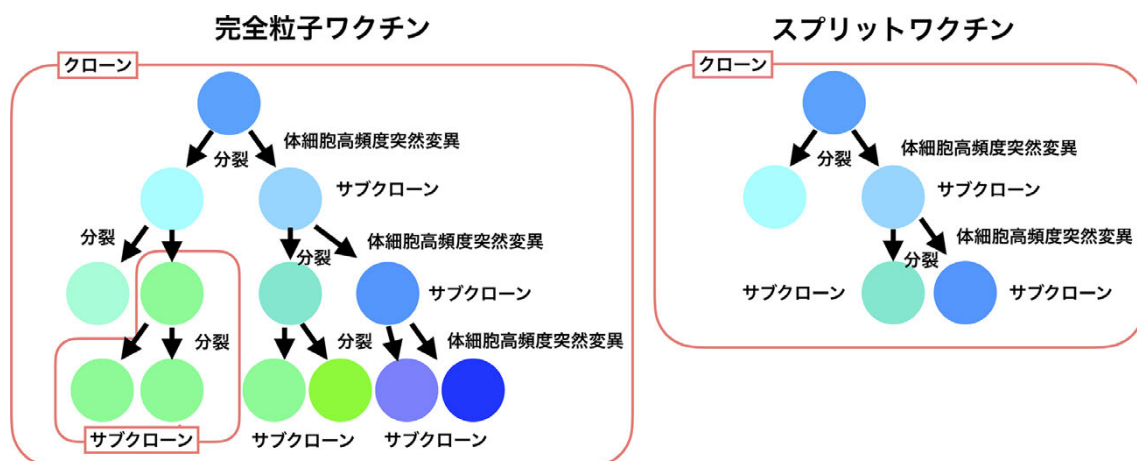


図5 完全粒子ワクチンとスプリットワクチンにより誘導される抗体の差異

左：完全粒子ワクチン接種後，B細胞が活性化され，体細胞高頻度突然変異が多く起こるため，サブクローン数が増えると考えられる。その結果，親和性成熟が促進され，中和抗体価が上昇することになる。

右：スプリットワクチン接種では，B細胞の活性化が軽度であるため，体細胞高頻度突然変異の発生が限定的で，サブクローン数が少なく，親和性成熟が進まず，中和抗体価が低いと考えられる。

チンはヘルパーT細胞を活性化することで，Bリンパ球の活性化を補助し，親和性成熟を促進させ，中和価の高い抗体産生が得られたと考えられた（図5）。

以上，カンクイザルを用いた3種のワクチン研究について紹介してきた。感染実験によるワクチンの有効性評価と安全性の確認は，今後のパンデミックに備えるために重要である。パンデミックから季節性の流行に移行した後もワクチンの基盤研究を継続する必要がある，貴重な実験動物の命を無駄にすることのないように熟考しながら研究を進めていきたい。

Reference

- Itoh Y, Shinya K, Kiso M, Watanabe T, Sakoda Y, Hatta M, et al. In vitro and in vivo characterization of new swine-origin H1N1 influenza viruses. *Nature*. 2009;460(7258):1021-5.
- Ishigaki H, Nakayama M, Kitagawa Y, Nguyen CT, Hayashi K, Shiohara M, et al. Neutralizing antibody-dependent and -independent immune responses against SARS-CoV-2 in cynomolgus macaques. *Virology*. 554: 97-105, 2021.
- Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, et al. Evaluation of the mRNA-1273 Vaccine against SARS-CoV-2 in Nonhuman Primates. *N Engl J Med*. 2020;383(16):1544-55.
- Vogel AB, Kanevsky I, Che Y, Swanson KA, Muik A, Vormehr M, et al. BNT162b vaccines protect rhesus macaques from SARS-CoV-2. *Nature*. 2021;592(7853):283-9.
- Kobiyama K, Imai M, Jounai N, Nakayama M, Hioki K, Iwatsuki-Horimoto K, et al. Optimization of an LNP-mRNA vaccine candidate targeting SARS-CoV-2 receptor-binding domain. *bioRxiv*. 2021:2021.03.04.433852. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.03.04.433852>, posted March 04, 2021.
- Liu Y, Soh WT, Kishikawa JI, Hirose M, Nakayama EE, Li S, et al. An infectivity-enhancing site on the SARS-CoV-2 spike protein targeted by antibodies. *Cell*. 2021;184(13):3452-66.e18.
- van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Belj-Rammerstorfer S, Purushotham JN, Port JR, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature*. 2020;586(7830):578-82.
- Feng L, Wang Q, Shan C, Yang C, Feng Y, Wu J, et al. An virus-vectored COVID-19 vaccine confers protection from SARS-COV-2 challenge in rhesus macaques. *Nat Commun*. 2020;11(1):4207.
- Yasui F, Itoh Y, Ikejiri A, Kitabatake M, Sakaguchi N, Munekata K, et al. Sensitization with vaccinia virus encoding H5N1 hemagglutinin restores immune potential against H5N1 influenza virus. *Sci Rep*. 2016;6:37915.
- Ishigaki H, Yasui F, Nakayama M, Endo A, Yamamoto N, Yamaji K, et al. An attenuated vaccinia vaccine encoding the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 spike protein elicits broad and durable immune responses, and protects cynomolgus macaques and human angiotensin-converting enzy-

- me 2 transgenic mice from severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 and its variants. *Front Microbiol.* 2022;13:967019.
11. Itoh Y, Ozaki H, Tsuchiya H, Okamoto K, Torii R, Sakoda Y, et al. A vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 avian influenza virus strain confers protective immunity against highly pathogenic avian influenza virus infection in cynomolgus macaques. *Vaccine.* 2008;26(4):562-72.
 12. Arikata M, Itoh Y, Okamatsu M, Maeda T, Shiina T, Tanaka K, et al. Memory immune responses against pandemic (H1N1) 2009 influenza virus induced by a whole particle vaccine in cynomolgus monkeys carrying Mafa-A1*052:02. *PLoS One.* 2012;7(5):e37220.
 13. Nakayama M, Shichinohe S, Itoh Y, Ishigaki H, Kitano M, Arikata M, et al. Protection against H5N1 highly pathogenic avian and pandemic (H1N1) 2009 influenza virus infection in cynomolgus monkeys by an inactivated H5N1 whole particle vaccine. *PLoS One.* 2013;8(12):e82740.
 14. Shiohara M, Suzuki S, Shichinohe S, Ishigaki H, Nakayama M, Nomura N, et al. Inactivated whole influenza virus particle vaccines induce neutralizing antibodies with an increase in immunoglobulin gene subclones of B-lymphocytes in cynomolgus macaques. *Vaccine.* 2022;40(30):4026-37.
 15. Shingai M, Nomura N, Sekiya T, Ohno M, Fujikura D, Handabile C, et al. Potent priming by inactivated whole influenza virus particle vaccines is linked to viral RNA uptake into antigen presenting cells. *Vaccine.* 2021;39(29):3940-51.

特 集：パンデミック再来への備え、実験動物の関わりの検証

感染症研究に有用な小型実験動物の開発と供給 —SCARDA 感染症事業プロジェクトのサポート機関として—

伊藤 守
公益財団法人実中研

要 約

2019 年から始まった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界中で猛威を振るい、世界を震撼させた。この感染症の脅威を目の辺りにして、日本の行政は 2021 年 6 月に閣議決定された「ワクチン開発・生産体制強化戦略」に基づき、日本医療研究開発機構（AMED）に先進的研究開発戦略センター（SCARDA）という組織を 2022 年 3 月に発足させ、そこで国産ワクチン等の実現に向け、世界トップレベルの研究開発拠点や研究開発をサポートする機関の整備等を行うとともに、平時から同研究拠点を中心として、出口を見据えた関連研究を強化・推進することとなった。我々の研究所は、この SCARDA プロジェクト「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」の中で小型実験動物のサポート機関として、「感染症研究に有用な小型実験動物の開発と供給」というテーマで拠点を支援することになった。2023 年度の日本実験動物学会維持会員懇談会で発表したこの事業の全体像とその中で我々の取り組みについて記す。

SCARDA プロジェクトの全体像

2019 年から始まった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界中で猛威を振るい、世界での感染者は 676,570,149 人、死者は 6,881,802 人であり、日本での感染者は 33,803,572 人、死者は 74,694 人にのぼっている（5 類に移行する前の 2023 年 3 月までの統計で、WHO、厚生省資料を参考）。日本の感染症研究は 1980 年代前半にはさほど重要ではないと見なされ、多くの大学で感染症研究室は閉鎖または他分野の研究室へと移行されていった時期がある。1985 年くらいになるとヒト免疫不全ウイルス（HIV）が出現し、このウイルス研究が行われていったが、感染が特定の経路で感染すること、ある程度効果がある薬剤の開発によって、感染症研究が重要だと言うことは分かって、感染症研究は特定の分野に限られてきた。その後、2003 年に重症急性呼吸器症候群（SARS：Severe Acute Respiratory Syndrome）、2012 年の 中 東 呼 吸 器 症 候 群（MERS：Middle East Respiratory Syndrome）が発生したが、それらは地方病的（Endemic）な形で推移し、大きな問題として扱われることはなかった。しかし、今回の SARS-CoV2 は世界のグローバル化を反映し、あっという間に世界に広がった。現在もなお感染が終息せず、むしろ感染が広がっている現状である。ただし、現在の新型コロナウイルス株は初期のウーハン株やデルタ株ほど重篤な症状はないとされる。また、サル痘、クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）、麻疹や Dengue 熱な

ど多数の感染症のアウトブレイクが世界中で報告されている。また、現在の気候変動に基づき、従来日本に存在しない昆虫媒介性の感染症の定着も日本の大きな課題である。

これに危機感を持った行政は、2021 年 6 月に閣議決定された国家戦略「ワクチン開発・生産体制強化戦略」に基づき、日本医療研究開発機構（AMED）に先進的研究開発戦略センター（SCARDA）という組織（<https://www.amed.go.jp/program/list/21/index.html>）を 2022 年 3 月に発足させ、国産ワクチン等の実現に向け、世界トップレベル研究開発拠点（フラッグシップ拠点、シナジー効果が期待できる拠点）や研究開発をサポートする機関の整備等を行うとともに、平時から同研究拠点を中心として、出口を見据えた関連研究を強化・推進することとなった。SCARDA は大きく 2 つのプロジェクトを実施している。「ワクチン・新規モダリティ研究開発事業」と「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」である。この 2 つのプロジェクトは相互に関係を持つも、前者はワクチン開発の技術開発であり、後者は平時・有事のための拠点の形成である。この中には現在少なくなっている感染症研究の人材育成も大きな課題としている。我々の研究所は後者の「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」（<https://www.amed.go.jp/program/list/21/02/002.html>）にサポート機関として参画している。この事業の拠点とサポート機関を図 1 に示すが、

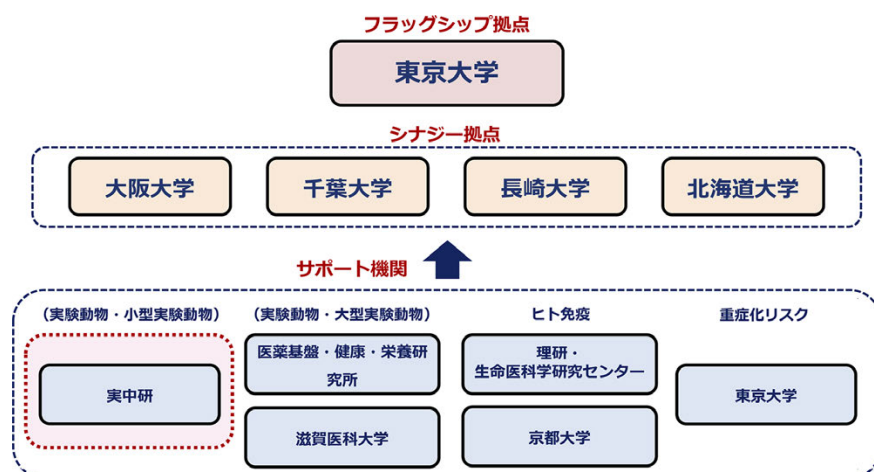


図1 AMED SCARDA「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」の構成図

フラッグシップ拠点として東京大学（拠点長：河岡義裕）、シナジー拠点として大阪大学（拠点長：審良静男）、千葉大学（拠点長：清野 宏）、長崎大学（拠点長：森田公一）、北海道大学（拠点長：澤 洋文）の5拠点が中心となって、この事業を実施している。サポート機関としては、小型実験動物として我々が、大型実験動物として医薬基盤・健康・栄養研究所（機関長：保富康宏）と滋賀医科大学（機関長：伊藤 靖）、それにヒト免疫解析として京都大学（機関長：上野英樹）、理化学研究所（機関長：山本一彦）、重症化リスクとゲノム解析で東京大学（機関長：山梨裕司）の6機関で構成されている。我々の取り組みについては後述する。

実中研での感染症研究の歴史

実中研での感染症研究は主に実験動物に関連するHJV、MHVやマイコプラズマなどで行われてきた。現在、ICLAS モニタリングセンター (<https://www.iclasmonic.jp/index.html>) として実験動物の微生物検査が行われてきているので、実験動物関係の方はよくご存じのことと思う。しかし、人獣共通感染症を含むヒト感染症の研究も行われてきた。これらにはポリオ生ワクチンの神経毒力検定のためのポリオマウス（Tg-PVR21）の確立 [1, 2, 3]、リスザルを用いた熱帯マラリア研究 [4]、粘膜型・内蔵型リーシュマニア症の病態解明 [5]、免疫不全マウスを用いたニューモテイスティス・カリニ肺炎 [6]、各種遺伝子改変マウスの作製によるプリオン研究 [7]、無菌動物を使ったピロリ菌感染研究 [8] などがある。そのうち、特に私共が世界に貢献した特筆すべきポリオマウス (https://www.ciea.or.jp/laboratory_animal/pvr.html) をここで紹介する。小児麻痺を呈するポリオウイルス感染症のために、WHOでは現在、ポリオを地球上から撲滅するプログラムを展開している。その撲滅のために使われている生ワクチンはポリオウ

イルスを弱毒化して製造されるが、しばしば不十分な弱毒化もしくは変異による強毒化が起こり、ワクチン投与によってポリオが発症することがある。そのため神経毒力の評価試験が必要で、従来は感染が成立する霊長類のカニクイザルが用いられてきた。動物愛護や資源保護の点で問題が残る霊長類の代替として開発されたのがポリオマウスである。このポリオマウスは東京都臨床医学総合研究所（現東京大学医学総合研究所）の野本明男博士らのグループが、開発したヒトのポリオウイルスレセプター遺伝子を導入した遺伝子改変マウス Tg-PVR である [1]。実中研はその4ラインを譲り受け、そのラインのうちの1つ（ライン21）を日本ポリオ研究所、東京大学医科学研究所、米国NIH、WHOとの共同研究を通して、生ワクチンのマウス脊髄内投与という精度の高いポリオ生ワクチンの神経毒力評価試験法を開発した [2]。なお、このポリオマウスによる評価試験法は、医薬品の安全性評価試験法として、世界で初めて実用に供する遺伝子改変動物であった点は特筆すべきである [3]。現在もこのポリオマウスはWHOポリオ撲滅プログラムで活躍している。実中研は、東日本大震災が起こった2011年に川崎市の中部の宮前区野川より南部の川崎区殿町に移転した。移転に際して、野川にあったABSL3施設を放棄したため、残念ながら現在の殿町の実中研ではヒト感染症の実験自体は行っていない。

実中研のサポート機関としての役割と計画

AMED、SCARDAの「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」の中で、我々は小型実験動物のサポート機関として「感染症研究に有用な小型実験動物の開発と供給」のテーマで参画していることは上述した。では、サポート機関として、実中研がどのようなことをやっているのかについて述べる。サポート機関の構成としては図2に

示しているが、実中研と3名（大阪大学・伊川、東大医科研・真下、国際医療センター・岡村）の先生方を外部研究開発分担者として迎え、〈支援〉と〈高度化〉という二つのテーマで事業を行っている（図3）。

支援は、5拠点を含む感染症研究者の要望に応えて実施するもので、今回の新型コロナ感染症のような新たな pandemic, endemic な感染症の出現は大きな脅威であり、平時、要事に係わらず、常にその出現に対処する必要がある。様々な感染症の出現時に

ワクチン検定、薬効評価や前臨床試験に必要な動物モデルを迅速に作出し、供給していくことを目的とする。その支援は1) 感染症モデルとなる実験動物系統の収集、保存とデータベース化およびその供給、2) 遺伝子改変動物の迅速な作製と供給、3) 支援のための新規技術の開発の3テーマとした。1) 感染症モデルとなる実験動物系統の収集、保存とデータベース化およびその供給では、世界中より感染症のモデルになり得る実験動物系統を収集し、凍結保存を行

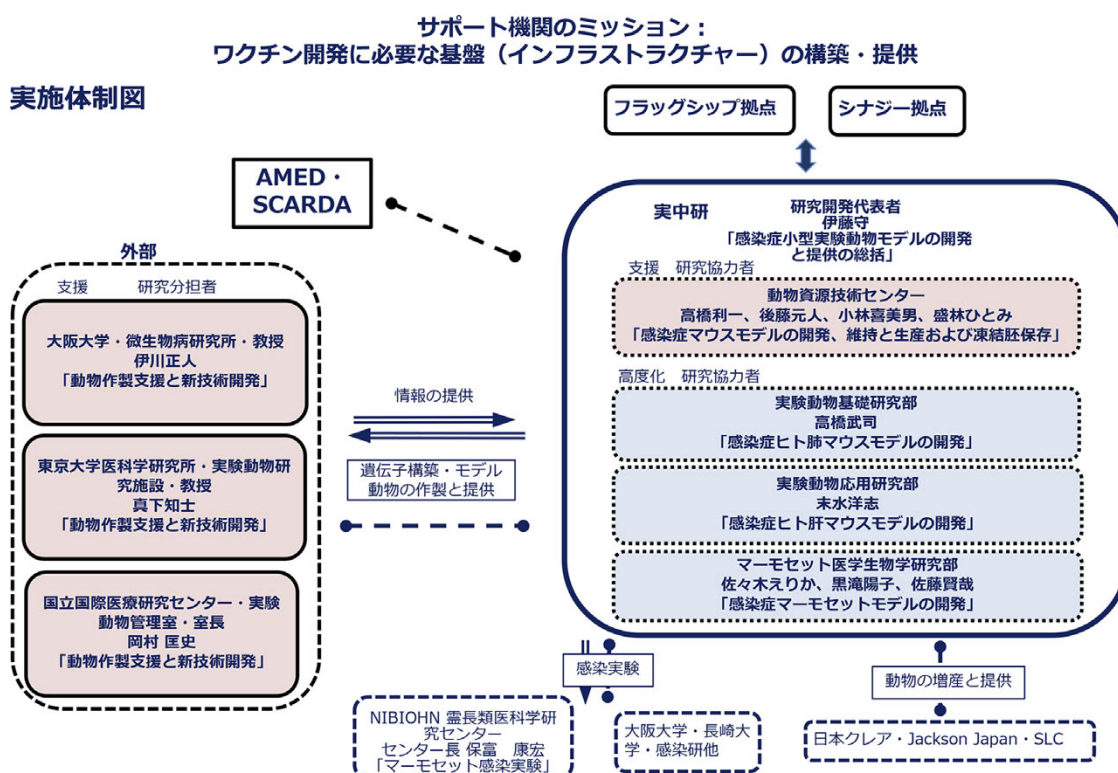


図2 小型実験動物のサポート機関としての実施体制図

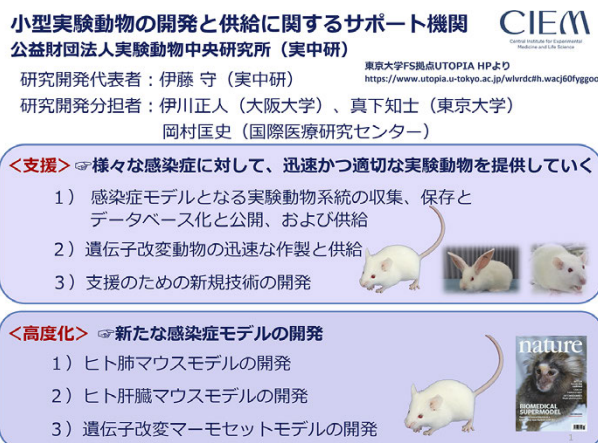


図3 小型実験動物のサポート機関としての業務 - 支援と高度化研究の概要

1) 要望があれば、それら系統を供給する。また、研究者が感染症研究のための実験動物を容易に検索できるようなデータベースを作成するというものである。データベースについては、2024年4月に実中研のHPに「感染症研究のための実験動物リソースバンクシステム」として公開した。このシステムは、8重点感染症、SCARDAの分析調査で挙げられた19感染症を含む35感染症について検索でき、動物種としては43種、遺伝子改変マウスは227系統を含み、文献数は1,024を収集している。感染症を研究している方々には是非とも利用して頂きたい。図4a~dに実中研トップホームページと検索システムのイメージを載せる。2) の遺伝子改変動物の迅速な作製と供給では、拠点研究者の要望に応じて種々の遺伝子改変動物を作製する。また、この中には我々独自の遺伝子改変マウスの作製も含み、現在までに、ACE2 Tg/KI マウス、I 型インターフェロン受容体 (IFAR2) KO マウスなどを作製しており、今後とも要望が多いと思われるマウス系統を作製して行く予定である。これらマウスは上述のデータベース上で公開し、研究者の皆さんに使用して貰う予定である。3) の支援のための新規技術の開発は主に外部研究開

発分担者にお願ひし、LNP による受精卵遺伝子導入、AAV ベクターの受精卵感染による遺伝子導入、CRISPR-Cas3 による大規模欠失マウス・ラットの作製、iGONAD 法による遺伝子導入、ピエゾドライブを用いた遺伝子導入の効率化などの新技術開発を行っている。

高度化は既存のマウスではなく、将来的に感染症モデルとして有用な新しいモデルを提供しようという試みである。これには実中研が得意とするヒト化マウスと遺伝子改変マーマウスセットを基盤として実施しており、1) ヒト肺マウスモデルの作製、2) ヒト肝臓マウスモデルの作製と3) 感染症マーマウスセットモデルの開発の3テーマを実施している。1) のヒト肺マウスモデルの作製は、ヒト肝臓マウスと同様にマウス肺に障害を与え、この障害マウス肺にヒト肺上皮細胞を移植することによって、ヒト肺上皮を保有するマウスを作製するというものである。このマウスはウイルス受容体が何であろうとも呼吸器感染症に有効と考えられる。2) のヒト肝臓マウスは、従来作製できたヒト肝臓マウスにヒト免疫系を付与するという試みである。肝炎やマラリアなどのワクチン開発に有効ではないかと考えている。3) 感染症



図 4a ~ d 感染症研究のための実験動物リソースバンクシステム

マーモセットモデルの開発では、実中研が保有するマーモセット遺伝子改変技術を駆使する。現在までにマーモセットではKOや塩基置換に成功している。しかし、KIには未だ成功していない。今回はヒトACE2を部分的にKIする試みを行っている。これによって新型コロナウイルスの感染性を保持できることができれば、現状のカニクイザルに代替できることが期待できるし、ここで樹立するKI技術で様々なヒト受容体を組み込むことが可能になり、様々な感染症モデルの作製が可能になると期待できる。今回のKI技術の確立と同時に、マーモセットでのワクチン効果を明らかにできるような各種マーモセット免疫グロブリンに対する抗体作製も行っている。意外なことにヒトとマーモセットの免疫グロブリンの交差性は弱く、必ずしも正確な抗体測定ができないのが現状と思われる。これらの試みが成功すれば、マーモセットの感染症モデルへの使用に拡がりがあると筆者は考えている。

問題点と今後の展開

本サポート機関のミッションとして、ワクチン開発のために、5年間で拠点の要望に答えて様々な感染症の機序解明のための動物モデルを作製すること、および要事の実験動物の早期供給のシステムを構築することである。そのために、様々な感染症モデルのための実験動物を収集したいと考えている。しかし、実際には感染症分野の研究者、特にワクチン開発をしている研究者は余り遺伝子改変動物を使うことはなく、通常の野生型の動物を使っていることが多いようである。また、遺伝子改変動物を使う場合でも、自ら遺伝子改変動物を作るのではなく、市販の動物を使っていることが多いと思われる。しかし、ワクチン開発でも、免疫に関連する新しいモダリティを模索している研究者は遺伝子改変動物を自ら作っているように思われる。私共も積極的に感染症モデルとして使える遺伝子改変動物を自ら作って行くつもりであるが、実験動物分野の皆さんに感染症モデルとして使えると思われる動物の本機関への寄託をお願いしたいものである。

また、要事の実験動物の大量生産と供給のためには当然私も単独では対応できない。動物生産会社との連携を行うことで、要事に対応できるようにして行きたい。ここでの動物生産会社の協力を切にお願いしたい。

最後に

日本の行政の感染症対策に対する取組みは現在も続けられており、昨年2023年9月1日に「内閣感染症危機管理統括庁」(<https://www.cas.go.jp/jp/caicm/index.html>)が発足し、この統括庁が感染症危機対応の企画立案や調整を一元的に取り扱うこととなった。また、厚生労働省に「感染症対策部」が発足し、国

立感染症研究所と国立国際医療研究センターが統合され、米国のCDCと同機能を持つ「国立健康危機管理研究機構」として、2025年度に創設されることになっている。我々の拠点形成事業とともに行政の動向を注視していきたい。

最後になるが、我々の研究所は1952年に設立され、今日まで公益財団法人実験動物中央研究所の名称で実験動物に関する研究・事業を行ってきた。今年2024年4月より、従来通り研究・事業に実験動物を中心に据えるも、実験動物の枠を越え、広く人類の健康と福祉に寄与するために、公益財団法人実中研、英名をCentral Institute for Experimental Medicine and Life Science (CIEM)と名称を変更することにした。

謝辞

本文はAMED SCARDA プロジェクト「ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業」の説明と其中で我々が行っているサポート機関の活動について書かれたもので、サポート機関に参加している皆様に感謝したい。

参考文献

1. Koike, S., et al., Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. 88(3): p. 951-5.
2. Dragunsky, E., et al., TgPVR21 mice for testing type-3 oral poliovirus vaccines: role of clinical observation and histological examination. *Vaccine*, 1997. 15(17-18): p. 1863-6.
3. Dragunsky, E., et al., Transgenic mice as an alternative to monkeys for neurovirulence testing of live oral poliovirus vaccine: validation by a WHO collaborative study. *Bull World Health Organ*, 2003. 81(4): p. 251-60.
4. Suzue, K., et al., Protective immunity induced in squirrel monkeys with recombinant serine repeat antigen (SERA) of *Plasmodium falciparum*. *Parasitol. International*, 1997. 46(1): p. 17-27.
5. Terabe, M., et al., CD4(+) cells are indispensable for ulcer development in murine cutaneous leishmaniasis [In Process Citation]. *Infect Immun*, 2000. 68(8): p. 4574-7.
6. Ito, M., et al., Prophylactic effect of FK463, a novel antifungal lipopeptide, against *Pneumocystis carinii* infection in mice. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000. 44(9): p. 2259-62.
7. Asano, M., et al., vCJD prion acquires altered virulence through trans-species infection. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 342(1): p. 293-9.
8. Nagata, J., et al., *Helicobacter pylori* induces chronic active gastritis in p53-knockout mice. *Int J Mol Med*, 2004. 13(6): p. 773-7.

特 集：パンデミック再来への備え，実験動物の関わりの検証

感染動物実験の受注の課題と体制整備

小松原博文
ハムリー株式会社

当社、ハムリー株式会社は1981年に設立し、動物販売、実験動物用の機材販売、受託試験、実験・飼育補助等、実験動物に関わる業務を行っている。当社の特色の1つとして感染実験が実施可能なP3（BSL3）施設を有することである。感染実験施設は2001年2月に稼働し、20年以上にわたり感染試験の受託を行っている。今回、当社感染試験施設を使用した試験の動向、施設の運用体制および感染試験の受注までの流れと注意すべき点について報告したい。

感染試験施設を使用した試験の動向

P3施設稼働のきっかけは、アカデミアからの感染試験の問い合わせであり、受託会社として当社の施設内で感染実験の飼育と実験補助が出来ないかというものであった。こうして、アカデミアのご要望を叶える形で、感染実験のご指導をいただきながらP3施設として運用を開始し、最初の数年間は感染実験動物の受託飼育と実験補助を中心に、P3施設を利用いただいた。

アカデミアの感染実験の受託飼育が終了するとともに、感染試験の受託を始めることにしたが、最初のころはノウハウも少なく、当時、感染症をターゲットにした製薬企業から技術移管を受けながら受託試験を開始した。当初は、細菌・真菌を用いた抗菌・抗真菌薬について決まった製薬企業からのご依頼が多かったが、少しずつウイルスの感染試験が増えていった。こうして本格的に感染試験の受託試験を請け負うようになり、試験数増加に伴い、2010年に当初の3倍の規模に増築し、現在にいたっている。また、

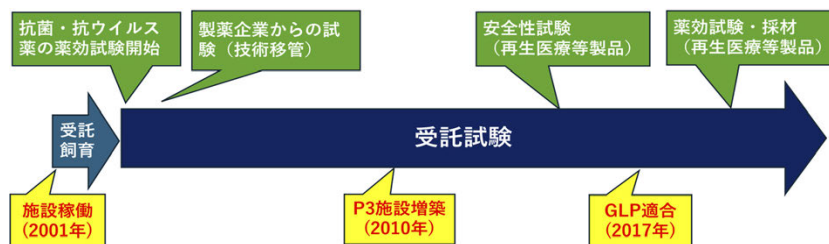
増築したところから、感染試験だけでなく、ウイルスベクターを使用した被験物質（再生医療等製品）の投与・採材の試験のご依頼がアカデミアを中心として少しずつ増え始め、その後、安全性試験のご依頼もあり、2017年にGLP適合施設の認証（一般毒性試験）を取得し、現在では再生医療等製品の投与・採材試験、薬効試験、安全性試験まで行っている（図1）。

感染試験はアカデミア、製薬企業、その他（食品、消毒、医療機器企業）からご依頼があり、再生医療等製品については、受託当初はアカデミア中心であったが、2020年頃から製薬企業からの試験依頼数も増加していった。また感染試験施設を利用した試験は、年々増加しており直近の5年間（2019～2023年）は年間50試験以上実施し、2023年現在で合計500試験以上の受託試験を行っている（図2）。

In vitro 試験は抗菌薬でのMIC（最小発育阻止濃度）や抗ウイルス薬でのウイルス力価やqPCR（リアルタイムPCR、デジタルPCR）でのコピー数の評価などを、クライアントの依頼にあわせて実施している。また当初は医薬品やワクチンなどを中心とした試験のご依頼が多かったが、近年では消毒や医療機器など他の分野からの細菌やウイルスに関連する試験の問い合わせも増えてきている。

In vivo 試験では感染モデルを用いて抗菌／抗ウイルス薬、ワクチン、免疫賦活・免疫抑制の評価をはじめ、消毒薬や抗菌活性のある医療機器など幅広く受託している。

感染モデルでは、一般状態、体重、各種モデル特有の症状のスコアならびに組織中のウイルス量や細



※試験委託者：製薬企業、アカデミア、その他（食品、消毒、医療機器企業）

図1 感染試験施設を使用した試験の動向

菌のコロニー数、サイトカインなどの各種パラメーターの測定結果をもとに評価を行っている。

感染試験施設紹介

当社、感染試験施設は独立した建物（図3）となっており、P3（BSL3）区域では小動物室が3室、中・大動物室が2室あり、動物の最大収容数はマウスで1,460匹（ラットで282匹）、サルで24頭収容可能である。P2（BSL2）区域には動物室が1室あり、ビーグルが9頭飼育可能である（図4）。上述以外にも本施設を用いてハムスター、モルモット、ツパイ、ウサギ、フェレット、ブタなど、多種多様な実験動物を使用した感染実験の経験がある。

P3区域内には小動物・大動物室に隣接した動物用の実験室が2室、検体の処置や各種測定を行う実験室が2室、細胞・ウイルスの培養およびこれらを用いた *in vitro* 試験を実施する実験室が1室ある。またP2区域には細菌の培養など *in vitro* の実験を行う実

験室が1室あり、その他付帯施設として洗浄室がある（図4）。

施設内には、自動血球計数装置、血液生化学測定装置、フローサイトメーター、マイクロプレートリーダー、リアルタイムPCRおよびデジタルPCR装置などの測定機器を保有しており、すべての試験が可能な限り施設内で完結できるように設備を整えている。

P3施設のハード面では法令に遵守し、給排気のHEPAフィルター、扉のインターロック、両扉型のオートクレープや室外排気型の安全キャビネットなどの設備を有しており、動物はアイソレーター内で飼育されている。

感染試験施設の運用体制

感染試験は、法令として「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）や「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多

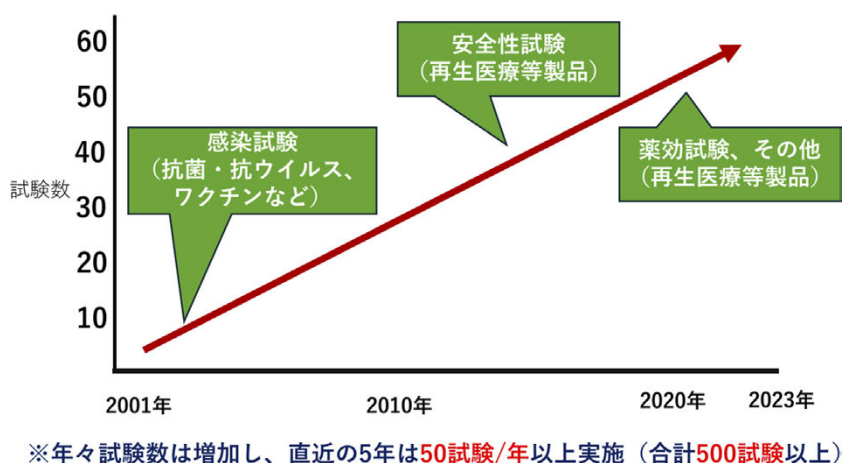


図2 感染試験数の増加



図3 感染試験施設

感染試験棟				収容匹数	
	レベル	部屋種類	部屋数	動物種	最大収容数（匹数）
動物室	P3 (BSL3)	小動物	3室	マウス・ラット	365ケージ（マウス1825 ラット 365）
		サル、ウサギ	2室	ウサギ	48
	P2 (BSL2)	多目的動物室	1室	イヌ	9
実験室	P3 (BSL3)	In vitro実験室	1室	サル	24
		In vivo 実験室	2室		
		実験機器・測定室	2室		
	P2 (BSL2)	検査室	1室		
その他		洗浄室	1室		

【12号棟測定機器】

- ・自動血球計数装置
- ・生化学自動分析装置
- ・FACS
- ・マイクロプレートリーダー
- ・real-time PCR
- ・ddPCR

【12号棟測定機器】

- ・自動血球計数装置
- ・生化学自動分析装置
- ・FACS
- ・マイクロプレートリーダー
- ・real-time PCR
- ・ddPCR

図4 感染試験施設の概略

様性の確保に関する法律」(カルタヘナ法)など、社内規程(委員会)として、病原体等安全管理規程(バイオセーフティー委員会)、遺伝子組換え実験安全管理規程(遺伝子組換え実験安全委員会)ならびに動物を使用した試験を実施する場合には、実験動物倫理委員会などの各規程を遵守して実施している。当社では大臣確認実験も多数実施しており、遺伝子組換え実験安全委員会で検討した後に申請する流れになっている。大臣確認申請には詳細な遺伝子組換え生物の情報が必要であり、試験委託者に協力を仰ぎ申請作業を進めるようにしている。

これらの法令・規程の遵守も含め、感染試験施設の運用上最も重要なことは、病原体取り扱い従事者の感染防御対策や病原体への意図しない曝露・漏洩防止など感染事故の防止であり、そのためには使用する微生物について理解した上で、運用する必要がある。

施設については受託会社としてコストを意識しながら、取り扱う微生物に適した施設レベルを維持する必要がある。加えて、サンプリングした検体が感染検体であることから、施設外で測定できる内容も限られるため、感染試験施設内での測定機器の充実も必要になる。

人員については、入社後に初めて微生物に触れる人も多い。そのため微生物全般の基礎知識として、細菌やウイルスの総論的な内容、基本的な微生物の取り扱いや消毒・滅菌方法について、理解を深める必要がある。また動物の取り扱い未経験者もいるため、微生物の取り扱いと並行して教育し、微生物自身や感染動物について知識・技術の向上に努める。加えて、誤った運用方法の理解は感染事故に繋がりがねないため、なぜそのような運用が必要なのかも正確に理解させ、感染試験での事故は本人だけでな

く、二次被害、三次被害を引き起こす可能性も高いため、これら注意点を何度も繰り返し教育する必要がある。また手技的に慣れてきた時にも感染事故が起こりやすいことから、この時期には特に注意する。

このような教育訓練としては、入社時の新人教育がありバイオセーフティだけでなく、実験動物学総論、動物実験規程、動物福祉、AAALAC、薬物管理、Good Laboratory Practice (GLP) 省令について、幅広く教育を行っている。バイオセーフティを含め重要な項目については、1年に1回教育訓練を実施している。

また On the Job Training (OJT) として、感染試験施設での飼育管理(動物取り扱い、観察、ケージ交換など)、施設管理(入退室の方法、廃棄物の処理、施設のクリーンアップ方法など)、機器使用方法(オートクレーブ、安全キャビネットなど)を行っている。また試験手技として、菌の培養・測定方法(好気培養、嫌気培養、コロニーカウント、濁度の測定、MIC など)、ウイルスの培養・測定方法(細胞培養、ウイルス培養、CPE(細胞変性効果)、プラーク、Median Tissue Culture Infectious Dose (TCID₅₀)の算出など)や動物の試験操作(保定、投与、採血、剖検など)、ならびにサンプリング後の測定方法(Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)、fluorescence-activated cell sorting (FACS)、リアルタイム PCR およびデジタル PCR など)について教育を行っている。

当社感染試験施設の運用上の安全対策として、感染試験施設専属の職員が試験操作だけでなく飼育管理も担当している。

その理由は使用する微生物についてバイオセーフティレベルや遺伝子組換え生物の理解だけでなく、①感染経路(空気感染、血液感染、接触感染など)、②消毒方法(エタノール、塩素など)などの各微生

物に対する理解、また③動物への接種タイミング、接種後の曝露・排出（尿・糞など）時期の把握など試験従事者が一番把握している内容であり、加えて、飼育管理も実施することで、動物の状態をより把握ができるためである。試験従事者には試験に使用する微生物の種類・特性、感染試験の内容など、1週間に1回、スタッフミーティングを行い情報共有している。

また試験操作では試験従事者の曝露や漏洩防止のため、BSL3の場合には飼育管理も含め、すべての作業を安全キャビネット内で実施している。安全キャビネット内での投与・採血は手技に熟練するだけでなく、安全キャビネットの使用上の注意点などの理解も必要である。

加えてHBVのように、重篤な症状を呈する可能性があり、且つワクチンがある場合には、試験従事者に事前にワクチンを接種し、抗体価が上昇するのを確認した後に試験に従事させている。HBVの試験では初回ワクチン接種後、抗体の上昇が分かるまで半年以上を要するが、試験従事者が安心して作業にあたってもらうことも大変重要である。

試験受託時の注意点

現在、細菌、真菌およびウイルスなど様々な微生物を用いて試験を実施している。ご依頼いただく試験委託者は製薬企業と大学・研究所などのアカデミアであるが、共通する委託理由としては、自身の施設内での対応が難しい、経験がないなどである。感染試験施設を維持・運用するためには、コストや人員の確保など多くの対応すべき課題があるため、専門的に行っている受託会社を使用することは有用である。また受託会社は、試験委託者のご依頼にあわせて様々な微生物を用いた試験を実施しているため、長年の経験から感染させる株の選択や感染モデルの提案、安定した手技での試験実施など、試験委託者が独自に試験を立ち上げるよりも早く試験を進められる。試験内容が確定している試験委託者の場合には、試験委託者の指示に従い試験を実施しているが、

アカデミアからの試験問い合わせを受けた際には、動物への投与量や溶媒の確認や動態、毒性などの被験物質に関する内容、製薬企業からの試験問い合わせの際には感染モデルに関する内容について不明なことが多いため、試験委託者の背景を意識しながら打合せを進めている（図5）。

感染試験を最初にお問合せいただいた際には、使用する微生物（バイオセーフティレベル、遺伝子組換え生物の大臣確認実験など）や使用動物種など、当社感染施設で対応できるかを確認している。施設として対応できる場合には、使用する微生物の培養方法、感染モデルや評価方法など試験内容について協議し、その後、試験の調整をする流れとなるが、試験委託者の目的に即した試験内容について確認するため、最初の打合せが大変重要になる（図6）。

使用する微生物については試験委託者から分与可能な確認が必要になる。試験委託者からの分与でない場合、使用する株が決まっているか、当社で入手可能かを確認する。細菌などは特定国立研究開発法人理化学研究所（JCM）や独立行政法人製品評価技術基盤機構（NBRC）などもあるが、ウイルスの場合、多くはAmerican Type Culture Collection（ATCC）から入手している。ATCCなどは受託会社が使用の際にライセンス契約が必要になり、試験委託者から分与いただく場合においても同様である。また1年ごとのライセンス契約が必要なため、長期試験の場合には注意しなければならない。また国内の機関においても受託会社で使用する場合には直接購入できないことも多々あるため、そういった場合には試験委託者経由で入手している。

また使用する株が決まっていない場合、同じ微生物であっても株によって動物へ接種した際に症状が異なるということも多々ある。そのため安易な株の選定は避けるべきであり、十分な調査や打合せが必要になる。

これらの内容を精査した上で株を選定するが、情報が入手できない場合においては予備試験を必ず実施するようにしている。

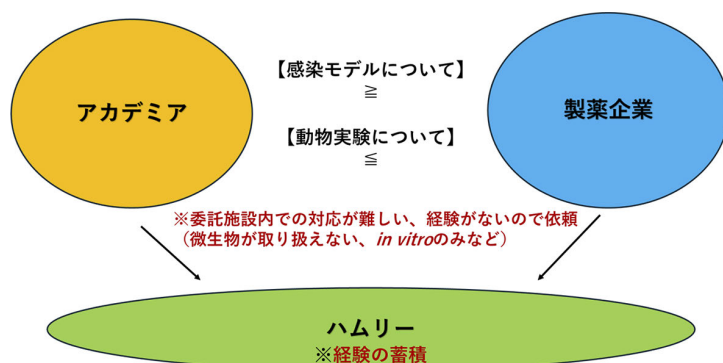


図5 感染試験の受託

感染動物モデルを使用する場合、試験委託者の目的に沿ったモデルの選定が必要になる。

感染試験だけでなくウイルスベクターを使用した再生医療等製品にも言えることだが、動物種によって各微生物（特にウイルス）の感受性が異なるため、適した動物を使用する必要がある。また薬効を評価する感染モデルの場合、ヒトと異なる症状や感染しても症状が認められない場合もある。これらを考慮し、且つ、感染モデルを用いた薬効試験の場合、動物・微生物・薬剤の3つの要素が関係するためバラツキを考慮しながら目的の評価ができるかを事前に検討することも重要である（図7）。

微生物の株の選定や感染動物モデルの大枠を確認した段階で、費用とのバランスを考慮しながら試験内容を提案する。

また真菌やウイルス（特にワクチンを用いたチャレンジ試験）などは試験期間が長期傾向になるため日程調整が必要であり、希望時期が重なると実施できないことがあるため、早めに希望時期を確認し動物室を確保している（ただし受注順に確定）。

感染試験の流れ

試験の流れとして、すでに実施経験のある感染モデルについてはすぐに薬効試験を実施するが、実施

経験がない試験については予備試験から実施し、購入した微生物の株が同じであってもロットが異なる場合は必要に応じ予備試験を実施する。

予備試験では使用する微生物の接種濃度について条件を振り、症状の確認や各微生物の組織中の量〈Colony Forming Unit (CFU) やコピー数など〉について確認し、薬効評価に最適なモデルの条件を検討する。

その後、薬効試験を実施するが、必要に応じて少ない例数でモデルの再現性や、陽性コントロールを用いてモデルの適正について確認する（図8）。

感染試験の依頼から実施までの流れについて簡単な例を用いて説明する。試験計画書案を作成後、試験委託者の確認を受け、計画書最終化までの間に各種委員会に申請し、承認を得る必要がある。遺伝子組換えの大臣確認実験の場合には数カ月の期間を要するため、計画書作成前の段階から試験委託者と協議し、試験スケジュールが遅延しないように事前に申請を進める。また ATCC からウイルス等を購入する場合、在庫がないと数カ月単位で購入が遅れる場合もあるため注意が必要である。

試験に使用する微生物はデータのバラツキを減らすために、購入時のロットだけでなく培養後に保存したロットも統一している。微生物の培養時には、

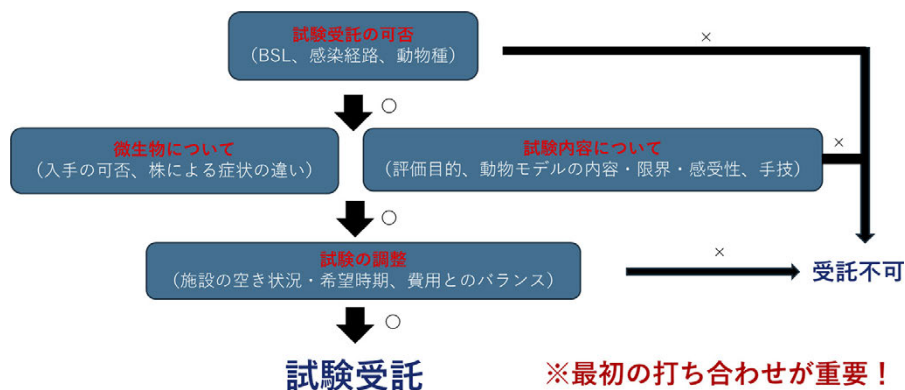


図6 感染試験受託時の課題・注意点

感染動物モデル

- 動物・微生物・薬剤の3つの要素が関係するため、バラツキを考慮しながら目的の評価ができるか事前の検討が必要
- 動物によって各微生物の感受性が異なる（特にウイルス）ため、適した動物を使用することが必要
- 感染する場合であってもヒトと症状が異なることが多い

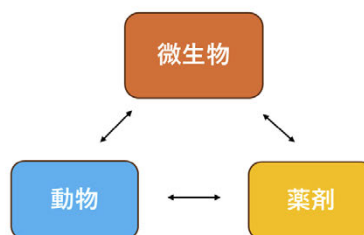


図7 感染試験受託時の課題・注意点

①細菌：嫌気性菌は増殖しにくい場合がある，②真菌：コンタミの原因になるため，施設内で汚染しないように注意して取り扱う，③ウイルス：細菌・真菌とくらべ高濃度の培養が困難など，それぞれ異なる注意点があり，また培養条件によって各微生物の増殖も異なることから，試験開始前に培養方法の検討をすることは重要である。培養条件を検討後に，動物を用いた試験の場合には動物入荷スケジュールを確定する。

動物入荷後は試験内容によって微生物の接種前後に被験物質を投与し，症状観察や組織中の微生物量など各種パラメータを確認し薬効を評価する。その後，データをまとめ報告書作成という流れになる（図9）。また必要に応じて感染検体を試験委託者に送付するが，輸送中に汚染や漏出などが発生しないように，感染検体専用の容器に入れ，関連法規に従い輸送する。

各微生物を用いた感染試験

細菌を用いた *in vivo* 感染試験は好中球の貪食作用によりモデル作製が困難な場合がある。そういった場合には免疫抑制剤を投与した好中球減少モデル動

物に細菌を感染させることができる。菌の種類や感染モデルが限定的な場合には上述の方法を採用するが，細菌を用いた免疫賦活効果などの場合には免疫抑制剤の使用が出来ないため，免疫抑制剤を使用しない肺炎球菌感染モデルや細胞内寄生菌による感染モデルなどを検討する。細菌を用いた感染モデルを用いた評価項目としては，症状（スコア），体重，組織中の菌数（CFU）がメインになる。参考として非結核性抗酸菌（MAC 菌）のマウス感染モデルについて示しているが，このモデルは免疫抑制剤を使用しないモデルであり，感染後，長期間飼育することにより組織中の菌数が増加する。また図では示していないが感染後，体重減少も認められる。

真菌を用いた試験では長期間で症状を有することが多く，評価項目としては症状（スコア）がメインであり，白癬菌など真菌は胞子を形成するため，組織中の真菌数は評価できない場合がある。参考としてモルモットを用いた体部白癬菌モデルについて示しているが，皮膚の症状をスコア化することにより薬効を評価する。また白癬菌のモデルについては，体部白癬菌のモデルだけでなく，肢白癬菌モデル，爪白癬菌モデルについても評価した経験がある（図10）。



- 予備試験（モデル作製）：微生物濃度設定、症状等確認
- 予備試験（薬効試験）：例数少なめ、再現性、評価項目：少
- 本試験（薬効試験）：例数多め、被験物質濃度設定、評価項目：増

※実施経験があるモデルは、すぐに薬効試験を実施

図8 感染試験の流れ

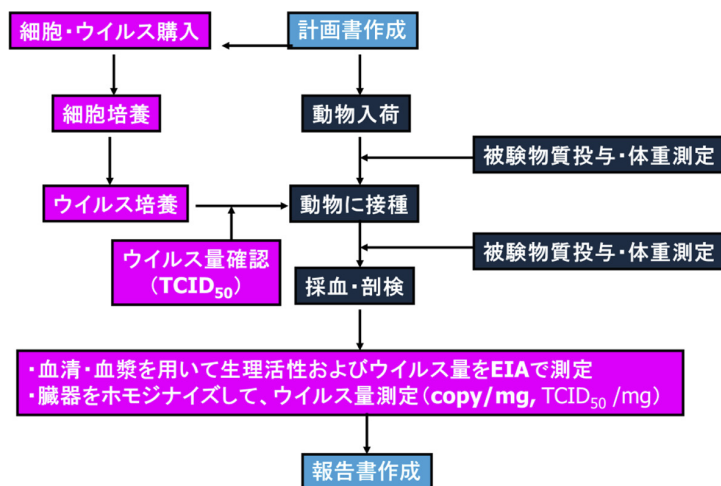


図9 感染試験の流れ②

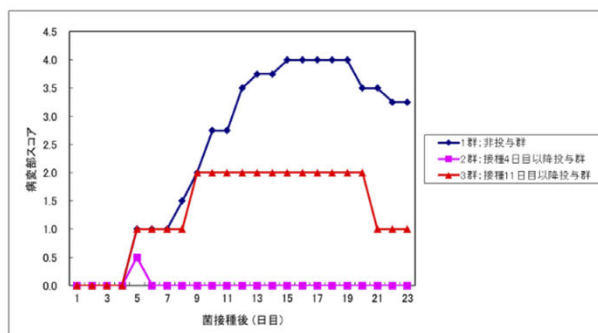
評価内容（細菌・真菌）

(unit: log₁₀ cfu/臓器)

接種菌数 (/50μL/body)	標本採取日	肺内生菌数	脾臓内生菌数	動物数
2×10 ⁵ cfu	Day7	2.00 ± 0.04	2.54 ± 0.01	(3)
	Day28	5.09 ± 0.04	2.02 ± 0.23	(4)
	Day49	4.63 ± 0.05	2.58 ± 0.04	(4)
	Day84	3.71 ± 0.03	2.42 ± 0.15	(4)
2×10 ⁶ cfu	Day7	2.59 ± 0.08	3.26 ± 0.23	(4)
	Day28	6.23 ± 0.09	3.09 ± 0.03	(4)
	Day49	5.42 ± 0.03	3.51 ± 0.11	(4)
	Day84	4.94 ± 0.06	3.55 ± 0.06	(4)
2×10 ⁷ cfu	Day7	3.50 ± 0.25	4.62 ± 0.28	(4)
	Day28	7.27 ± 0.12	3.53 ± 0.27	(4)
	Day49	6.74 ± 0.06	4.45 ± 0.03	(4)
	Day84	6.15 ± 0.05	3.99 ± 0.08	(3)

Mean±Standard Error

MAC菌感染マウスモデル（肺中、脾臓中生菌数）



白癬菌感染モルモットモデル

【細菌】

- 短期の試験多い
- 組織中の菌数評価
- 症状（スコア）

【真菌】

- 長期の試験多い
- 症状（スコア）

図 10 感染試験例（細菌・真菌）

ウイルスを用いた試験は比較的長期間実施することも多く、評価項目としては症状や組織中のウイルス量（copy 数）がメインになる。

参考として示した HBV 感染モデルはヒト肝細胞キメラマウスを用いた感染モデルであり、 1×10^5 copies/body でウイルスを接種すると感染後 8～10 週間でウイルスが定常状態に達する。このモデルを用いて、血中 HBV DNA 量、HBs 抗原、HBe 抗原などから薬効評価を実施している。

インフルエンザ感染マウスモデルの場合、インフルエンザウイルスをマウスに接種し、感染数日後のマウスの肺ホモジナイズ液を次のマウスに接種し、これを複数回実施することでマウスに感受性のあるインフルエンザウイルスを作製し、このウイルスを用いて薬効試験を実施している。このウイルスを 3×10^3 TCID₅₀/body で感染させると感染 5 日後には肺中で 11.1 log₁₀ copies/lung となり、体重減少も認められる。図ではインフルエンザ A 型（H1N1）である A/PR/8/34 について示しているが、当社ではその他に A 型（H3N2）である A/Port Chalmers/1/73 と B 型である B/Lee/40 についてもマウス感受性ウイルスを保有している。

またアデノウイルス感染ウサギモデルとしては、ウサギの眼への感染方法を工夫することにより症状が認められるモデルを作製しており、アデノウイルス 37 型と 5 型で実施経験を有している（図 11）。

その他、感染試験のうち実施経験のあるウイルスとしては HIV、SIV、HCV、ロタウイルス、RSV およびライノウイルスなどがある。

HIV や HBV など宿主がヒトの場合、ヒト化マウスモデルを用いて試験を実施しており、HIV 感染モデルはヒト造血幹細胞を移植した NOG マウスを用い

て実施しており、血中ウイルス量の測定やフローサイトメトリーを用いて CD4/CD8 などの各種パラメーターも評価している。

呼吸器系ではインフルエンザウイルス以外の呼吸器系の感染モデルとしては RSV やライノウイルスなどを用いた感染試験も実施している。また他のウイルス感染モデルとしてはロタウイルスを用いた下痢発症モデルなど、試験内容にあわせたモデルを作製し薬効試験を実施している。

細菌の感染試験としては MAC 菌以外では大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、結核菌、肺炎球菌、アクネ菌およびクロストリジウムなどの実施経験がある。

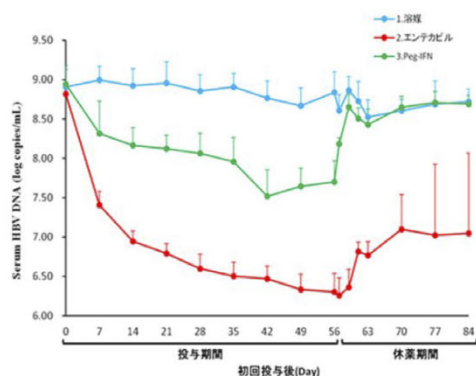
全身感染モデルでは大腸菌や黄色ブドウ球菌、呼吸器系感染モデルでは肺炎球菌や MAC 菌、眼感染モデルでは黄色ブドウ球菌や表皮ブドウ球菌、緑膿菌、皮膚感染モデルではアクネ菌や表皮ブドウ菌など各病変部位に対応した感染試験を実施している。また PK-PD（Pharmacokinetics/Pharmacodynamics）を目的とした試験も対応している。

真菌の感染試験では白癬菌以外では全身感染モデルとしてカンジダ、呼吸器系の感染モデルとしてアスペルギルス、皮膚感染モデルとしてはマラセチアを用いた試験の経験がある（図 12）。

このように単に感染試験と一口に言っても感染モデルは多種多様にある。そのため各微生物を用いた感染モデルの試験は検討から実施することが必要であるが、未経験の微生物であっても当社で長年培ってきた経験や技術を生かし、最適な感染モデルの提供に努めている。

また感染試験以外では BSL2 の腫瘍細胞を用いたゼノグラフトモデルやシンジェニックモデルを用いた抗腫瘍効果試験も実施している。ゼノグラフトモ

評価内容（ウイルス）



HBV感染PXBマウスモデル（血中HBV量）

【ウイルス】

- ・ 長期試験が多い
- ・ 組織中のウイルス量
- ・ 症状

ウイルス接種後5日目	
肺中ウイルス量 (log ₁₀ copy/lung)	体重増加率 (%)
11.1 ± 0.3	85.4 ± 3.1
(Mean ± SD, n = 14)	

インフルエンザウイルス感染マウスモデル（肺中ウイルス量）



非感染

感染

アデノウイルス感染ウサギモデル（眼）

図 11 感染試験例（ウイルス）

ウイルス	細菌	真菌
・ HIV, SIV ・ HBV, HCV ・ アデノウイルス ・ インフルエンザウイルス ・ サイトメガロウイルス ・ センダイウイルス ・ 単純ヘルペスウイルス ・ マウス肝炎ウイルス ・ ロタウイルス ・ RSV	・ サルモネラ ・ 大腸菌 ・ アクネ菌 ・ 肺炎球菌 ・ 黄色ブドウ球菌 ・ 表皮ブドウ球菌 ・ 緑膿菌 ・ リステリア ・ 結核菌 ・ MAC菌 ・ クロストリジウム	・ アスペルギウス ・ カンジダ ・ 白癬菌 ・ マラセチア
組換えウイルス ・ AAV ・ アデノウイルス ・ センダイウイルス		
・ 使用動物 マウス、ラット、ウサギ、フェレット、イヌ、サル類 など		

図 12 使用経験のある微生物および動物種

デル試験ではヌードマウスや Scid マウスなど免疫不全マウスを使用するが、個別換気ケージを使用することで感染防止に努めている。

加えて再生医療等製品ではウイルスベクターを使用した遺伝子治療用製品や腫瘍溶解性ウイルスの薬効試験、一般毒性試験、生体内分布試験、排出試験を行っており、薬効試験から安全性試験まで対応している。

結 語

感染試験をはじめとして感染試験施設を用いた試験の依頼は年々増加しており、近年では遺伝子治療用製品の増加に伴い、幅広く感染試験施設が使用されるようになった。

試験を実施するためには各種法令や規程を遵守し、コストバランスを考慮しながら感染事故を防ぐためのハード・ソフト面を充実させ、且つ継続的な社員教育を推し進めている。

また感染実験を受注するにあたり、各微生物や感染モデルなど試験委託者との情報共有や試験系の詳細な打合せを実施することが重要であり、一歩ずつ試験を進め適した感染モデルを使用することが結果的に薬剤を評価する最短の方法になる。

自社でこのような施設を運営するには費用面や社内の体制・制約などハード・ソフト面で種々検討すべき項目がある。また感染試験の経験の蓄積も必要なため、不慣れな試験内容について自社で検討するよりも、受託試験施設の使用は有用であると考えている。

特集：パンデミック再来への備え、実験動物の関わりを検証

ゴールデンハムスター —その実験動物としての特性について—

廣瀬美智子¹小倉淳郎^{1,2}¹ 理化学研究所バイオリソース研究センター² 筑波大学生命環境系

1. はじめに

ゴールデン（シリアン）ハムスター（*Mesocricetus auratus*）は、マウスとラットの間くらい大きさの実験用げっ歯動物である。人に慣れやすく、愛らしいことから家庭でも広く飼育されている。ただし、ペットショップなどで良く見かける小型のハムスターは別の種である（ジャンガリアンハムスターなど）。ゴールデンハムスター（以下、ハムスターと略す）は、実験動物としての歴史は古く、感染症学（寄生虫、細菌、ウイルス）、免疫学、生理学、生殖・発生学（特に受精の分野）などの医学・生物学実験に広く用いられてきた。しかし、1980年代以降の遺伝子改変マウスの普及により、小型実験動物の実験はマウスがほとんどを占めるようになり、その結果、ハムスターは特殊な実験などに限定的に使われるのみになっていた。ところが近年、そのハムスターが再び注目を集めるようになってきた。その理由の一つが、ハムスターの新型コロナウイルス（Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2）への易感染性である[1-2]。ただし、肺病変はできるものの、今のところ、ヒトで見られるような致命的な呼吸器症状は再現されにくいようである。もう一つの理由が、ゲノム編集技術の発達である。ハムスターの受精卵は、これまで報告された動物の中で最も体外での培養が難しく、また生殖細胞キメラを作成可能なES細胞もなかったため[3]、遺伝子改変ハムスター、特にノックアウト（KO）ハムスターの作出は困難を極めていた。2013年にCRISPR/Cas9によりゲノム編集KOマウス[4]が報告された直後、2014年にKOハムスター作出が報告された[5]。その後、徐々にKOハムスターを用いた報告が増加している。このハムスターの実験動物としての有用性の再認識は、実際に出荷動物数の増加にも現れており、平成10年（1998年）のハムスターの販売数82,510頭は、平成31年（2019年）の5,887頭まで減少を続けていたが、日本実験動物協会の調べによると令和4年（2022年）には20,022頭まで回復している（<https://www.nichidokyo.or.jp/production.html>）。本稿では、ゴールデンハムスターの実験動物としての有用性、そして今後の課題について解説する。

2. 由来

ゴールデンハムスターは、実験用マウスおよびラットと同じネズミ亜目に属するが、キヌゲネズミ科というハムスター類が含まれる別の科に分類される（図1）。マウス・ラットとの進化上の分岐は1,000年以上と言われており、長い年月にわたって、これらの実験動物とは別の進化をたどってきた[6-7]。これが、KOハムスターの作出実験に期待される点である。なお、CHO細胞で有名なチャイニーズハムスターなど他のハムスター類とは別属である。実験動物としての歴史は古く、1930年にシリアで捕獲された野生個体3匹（同腹の雄1、雌2）の子孫が実験動物として世界中で広く用いられるようになった（これがシリアンハムスターとも呼ばれる所以である）[8]。このため、私たちが用いるゴールデンハムスターは、その遺伝的多様性は低いと考えられているが、さまざまな研究室で数十代あるいはそれ以上にわたってクローズドコロニーとして独自に維持されてきたため、自然変異による多型はそれぞれの系統に蓄積していると考えられる。実際に、これまでに（見つけやすい）被毛の変異は数多く報告されていることから、当然、他の器官の機能に関わる遺伝子にも変異は生じていると予想される。例えば、我が国で見つかったAPAハムスターのstreptozotocinによる糖尿病と腎病変は、特異的な遺伝的背景によるものであろう[9-10]。しかし、2000年前後までさまざまなブリーダーや研究室で維持されていた数々の貴重なハムスター系統が、上で述べた実験動物としてのハムスターの需要の低下により、次々と途絶えてしまった。現在国内で市販されている実験用ハムスター系統は、SPF化を経て生き残った限られた種動物からの子孫であり、遺伝的多様性は非常に狭いと考えられる[11]。これについては、後述する。

3. 実験動物としての特性と有用性

3-1. 発生・生殖学

ハムスターは、非常に安定した4日間の発情周期、マウスの標準的過排卵方法（eCG-hCG）への高い反応性、過排卵後の多数の受精卵の獲得、真獣類の中で最も短い妊娠期間（16日）、マウスやラットと同

げっ歯目 ネズミ亜目 キヌゲネズミ科 ゴールデンハムスター属
Mesocricetus auratus (ゴールデンハムスター、シリアンハムスター)

原産地：シリア、レバノン、イスラエル

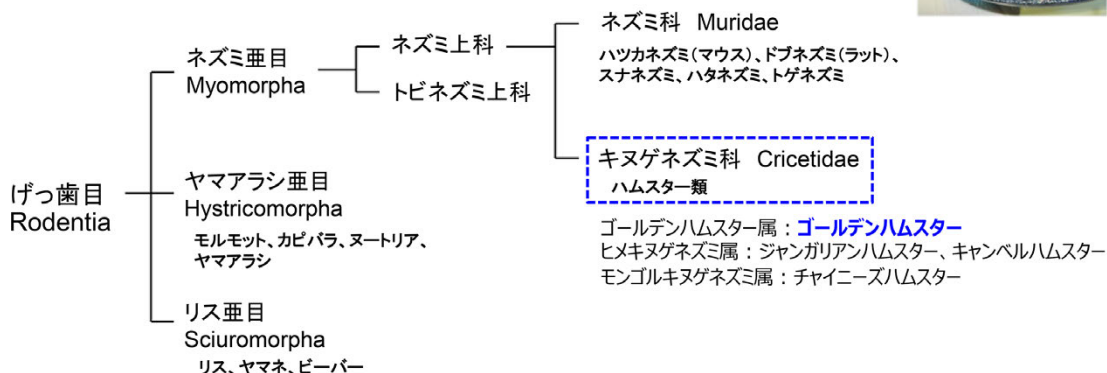


図1 分類学上のゴールデンハムスター
マウス・ラットとは異なるキヌゲネズミ科に分類される。

様の実験室での容易に繁殖など、研究を進める上で有利な生殖学的特性を持っている。このような理由から、ハムスターは、その配偶子や初期胚を用いた発生・生殖生物学の研究の実験種として長い歴史を持っている。最初に脚光を浴びたのが、1963年の柳町とChangによる哺乳類における最初の体外受精(*in vitro fertilization*, IVF)の成功である[12]。それまでにChangは交配後の雌ウサギから回収した精子でIVFに成功していたが[13]、このハムスターの実験が、雄から回収した精子での初の成功になった。哺乳類では、雄から回収したばかりの精子は受精ができない。そこで柳町とChangは、培養液の工夫により体外で精子に受精能を獲得させた。これは、通常の位相差顕微鏡でハムスター精子の先体反応(受精能獲得により生じる)が容易に確認できたことが大きな要因である。以来、ハムスターの体外受精システムは、精子の受精能獲得、精子の先体反応、前核形成などの基礎研究、さらには応用研究としてヒト等の他種の精子の受精能確認のために精子進入検査(ハムスターテスト)として用いられた[14-15]。また、柳町らは、ハムスターを用いて初の顕微授精(*intracytoplasmic sperm injection*, ICSI)に成功している[16]。これらの成果は、IVFおよびICSIを用いたヒトの不妊治療の発展に大きな貢献をもたらした。

3-2. 感染症学

ハムスターは実験室に持ち込まれた当初より、さまざまな感染症実験に用いられた。特に寄生虫では *Speleorodens clethrionomys* (nasal mite) [17], *Demodex aurati* [18] など多数の例がある。また、細菌感染では、*Corynebacterium kutscheri* [19], *Car Bacillus* (現在は *Filobacterium rodentium* [20]) [21],

Salmonella spp. [22], *Clostridium piliformis* (Tyzzer's disease) [22] などが挙げられる。また、ウイルス感染では、マウスにも感染するリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) [23], センダイウイルス [24] などだけでなく、主に非ヒト霊長類を宿主とする Foamy virus にも長期感染することが明らかにされている[25-26]。また、SARS-CoV-1にも感染感受性があることが報告され、治療実験も行われている[27-28]。SARS-CoV-2(新型コロナウイルス)の感染実験もそのパンデミック以来直ちに実施され、肺におけるウイルスの増殖と病変、その回復、抗体の産生などが報告された[1-2]。その後、現在まで毎年50-200報のハムスターを用いたSARS-CoV-2感染の結果が報告されているが、そのほとんどは、野生型ハムスターを用いたSARS-CoV-2変異株の感染性や病原性、ワクチンの効果、薬剤の効果などの報告である[29-31]。今後、遺伝子改変ハムスターを用いることにより、重症化の機序などが明らかになると期待される。

3-3. 脂質代謝

1980年代の比較生理学的研究の時代から、ハムスターの脂質代謝はヒトに類似していることが知られている[32-34]。例えば、低密度リポ蛋白 (low density lipoprotein, LDL) による血清コレステロールの比率、LDL-コレステロールの制御メカニズム、胆汁酸の組成など、多くの類似点が指摘されている。これらの背景により、ヒトの動脈硬化など心臓血管系疾患の研究にも貴重なモデルとして提供されている[35-36]。従来は、ハムスターの脂質代謝研究には、自然発症モデル系統の利用や特別試料の投与[37]などが行われていたが、ハムスターのゲノム編集が

可能になってからは、KO ハムスターが脂質代謝研究に大きな役割を果たしている。例えば、LDL 受容体 KO ハムスターは、ヒトの家族性高コレステロール血症のモデルとして、マウスでは得られない表現型を提供している [38]。今後、脂質代謝病の研究におけるハムスターの役割はますます重要になると予想される。

3-4. その他の実験モデル

その他にも、ハムスターの生物学的特性を利用した研究が進められている。例えば、ハムスターは季節非依存性に冬眠を誘導できる貴重な小型実験動物である [39]。マウスでも日内休眠を利用した実験系により冬眠研究が進められており、冬眠のさまざまな分子メカニズムが明らかにされつつある [40]。一方で、実際に冬眠をするハムスターを用いることで初めて明らかになるメカニズムも予想され、今後もこの分野でも KO ハムスターの利用が期待されている。

また、ハムスターは抗生物質に極めて敏感であることから、さまざまな抗生物質による腸内細菌や全身状態への影響が広く研究されており、ヒトの抗生物質誘導性の腸炎のモデルとなっている [41]。他にも、ハムスター特有の大きな頬袋を利用した腫瘍や感染症の研究など、ハムスターの特徴を利用したさまざまな実験モデルが用いられている [42]。

4. ゲノム編集 KO ハムスターの作出

以上のようにハムスターは実験動物としての優れた特徴を持っているが、その受精卵の培養の難しさ

から、一般の発生工学技術の応用がほとんどできない状況であった。これは、ハムスター胚が CO₂ 濃度の低下、温度低下、化学物質の混入、可視光線の照射などに非常に敏感であるためである [43]。例えば、多くの牛血清アルブミン (BSA) のロットがハムスターの発生を阻害することが報告されている [44]。これらのロット差は通常のマウスの受精卵の培養ではあまり問題になっていない。米国ウィスコンシン大学 (当時) の Bavister らのグループは、1980 年代から 1990 年代にかけて、ハムスターの胚培養実験を繰り返し、その結果、培養液のグルコースとリン酸の存在がハムスター胚の発生停止を引き起こすことを見出し [45]、グルコースとリン酸を含まないハムスター胚培養用培地 (Hamster Embryo Culture Medium, HECM) が開発された。現在でもハムスターだけでなく、ラット、霊長類の胚の培養に広く使用されている [46, 47]。Bavister らは、1992 年には世界で初めて 1 細胞胚を胚盤胞までの培養に成功し、体外受精で得られた胚から子孫を誕生させている [48]。この時すでに柳町と Chang によるハムスターでの初めての IVF 成功から 29 年が経過していた。同様にハムスターの ICSI 由来産子の誕生には 26 年 [49]、円形精子細胞の顕微授精由来産子誕生には 11 年の歳月を要した [50-51]。

最初のハムスターのゲノム編集は、このハムスター ICSI の実験系と同様に、培養液や実験室をハムスターの胚操作に整備して成功したものである [52]。しかし、このような特殊な技術と実験系は世界でも限られた研究室のみで可能であり、我が国では、現在までに慶應義塾大学の塩見、蓮輪らの成功が報告さ

ハムスターの実験動物としての特徴

- 体重 100-150 g 程度でありラットより小さく、飼育コロニー維持が容易
- 安定した体外受精 (最初の精巢上体精子による体外受精)
- 雌は正確に 4 日性周期を維持する (数ヶ月後の実験も計画可能)
- 妊娠期間が有胎盤動物で最も短い (16 日)
→ 性成熟も速く、世代交代速い
- 多産である (5-10 匹)
- 通常の PMSG (eCG) を用いて過剰排卵が可能である (40-50 個/雌)
- 脂質代謝や糖代謝システムがヒトに近い
- 季節非依存性に冬眠を誘導できる
- マウス・ラットとは異なる微生物感染への感受性を持つ
- 進化上マウス・ラットの系統から早く分かれており、遺伝子改変によりマウス・ラットとは異なる結果を得ることが期待できる (特に無表現型 KO)

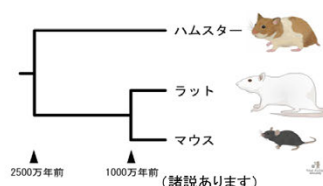


図 2 ゴールデンハムスターの実験動物としての特徴
実験に用いる上で有利なさまざまな特徴を持つ。

れている [53]。なお、同グループは、ゴールデンハムスターの詳細なゲノム情報も解析し、公開しており、KO の作出に大きく貢献している [54]。

我々は、ハムスターのゲノム編集が容易にできるように、東海大学の大塚らが開発した卵管内ゲノム編集法 *i*-GONAD 法 [55] を用いて、KO ハムスターの作出を行った [56]。なお、最初に発表された GONAD 法は Cas9 mRNA を用いていたが [57]、ハムスターの透明帯は mRNA を通さないため、Cas9 タンパク質を用いる *i*-GONAD 法を応用する必要がある (図3)。

GONAD 法で KO ハムスターを作出する第一の目的は、マウスでは得られない遺伝子の機能解析やモデル動物を開発することにある。例えば、哺乳類の主要な精子先体酵素であるアクロシンは、マウスおよびラットのノックアウト実験により受精に不要と言われていた [58–59]。そこで、*i*-GONAD 法でアクロシン KO ハムスターを作出したところ、ホモ KO の雄は精子の透明帯通過不全のために完全不妊となることが明らかになった (図4) [60]。この結果は、単にマウス・ラットとハムスターの種間差を示しただけでなく、マウス・ラットの精子先体は他の動物の精子先体よりも小さいこと、そしてヒトでもアクロシン変異による不妊が報告されたこと [61] から、受精におけるアクロシンの重要性は、他の哺乳類にも当てはまる可能性を示したと言える。

また、生殖細胞におけるトランスポゾン抑制に働く PIWI-piRNA 系の雌における役割も、KO ハムスターによって初めて明らかにされた。piRNA は約 30 塩基の小分子 RNA で、配列に相補性のあるトランスポゾン RNA へと PIWI タンパク質をガイドする [62]。哺乳類の PIWI タンパク質は、PIWIL1 から 4 までの 4 種類が存在し、PIWIL3 が卵巣で発現するが、マウスには PIWIL3 が存在しない。このため、マウスで PIWI-piRNA 系を機能不全にしても、雄のみで表現型が現れていた。そこで、我々はチェコのグループと共同で PIWI-piRNA 系に必須の RNA helicase である MOV10L1 を KO したハムスターを作製したところ、ホモ雄が予想通りに不妊になっただけでなく、ホモ雌も不妊になった [63]。この結果は、PIWIL1 および PIWIL3 を CRISPR/Cas9 注入法で KO した慶應義塾大学の結果と同様であった [53]。これらの研究については、総説で解説されている [64]。

最近では、順天堂大学のグループとの共同研究で卵管由来糖タンパク質の KO ハムスターを作出した。このタンパク質もアクロシンと同様にマウスでは表現型がなかったものであるが [65]、ハムスターでは雌が不妊になった [66]。自然交配で体内受精は進行するようであるが、その後の胚発生に障害をきたす。その原因はまだ明らかになっていないが、体内と体外の周囲環境の違いが胚発生におよぼす影響について貴重な情報を与えると期待される。



図3 *i*-GONAD 法によるノックアウトハムスターの作出

ハムスターの透明帯は mRNA を通さないため、Cas9 mRNA を用いる GONAD 法でなく、Cas9 タンパク質を用いる *i*-GONAD 法を応用する必要がある。最初の試みでは、tyrosinase を用いたアルビノ KO 作出を確認することをお勧めする。

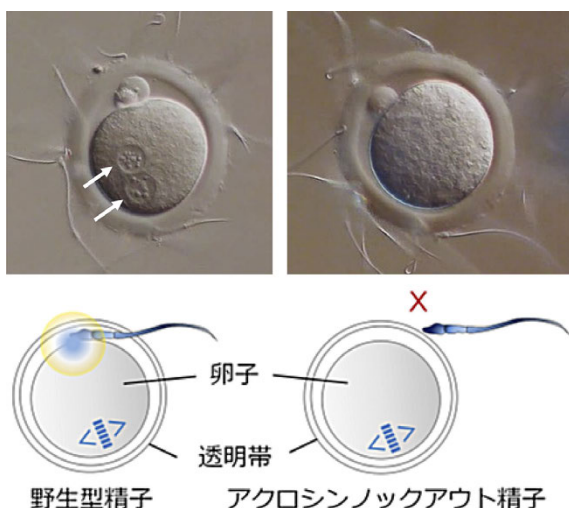


図4 アクロシンノックアウト雄ハムスターの精子を用いた体外受精

野生型精子を用いると2前核(左図、矢印)を持つ受精卵を得られるが、アクロシンノックアウト精子は透明帯を通過できないため、卵子は未受精のままである(右図)。

その他に Irs2 (insulin receptor substrate 2) の KO ハムスターも作出した。Irs2 KO マウスは肥満型の2型糖尿病を呈するが [67], Irs2 KO ハムスターは痩せ型2型糖尿病を発症するという相違が見られている(投稿中)。この糖尿病ハムスターは、貴重な東アジア型の2型糖尿病研究のモデルとなるのみならず、新型コロナウイルス感染症の研究にも使われることが期待される。

以上のように、KO ハムスターは、マウスで明らかにできなかった遺伝子の機能を明らかにしたり、マウスでは得られない貴重な実験モデルを提供したりするなど、今後ますます重要性が増すことが期待される。

5. 実験動物としてのハムスターの課題

5-1. 遺伝的多様性の確保

上述の通り、実験用ハムスターは、限られた数の個体からの子孫であるので、遺伝的多様性はもともと小さいが、現在用いられている SPF ハムスターは、感受性が高い抗生物質や薬物投与を生き残ったハムスターの子孫であるため [11], さらに遺伝的に限られたコロニーになっている可能性が高い。実際に、我々はこれらの SPF ハムスターとは全く由来の異なるハムスターの凍結胚由来系統を導入し(図5), F1 を作出したところ、高い繁殖成績を示した。また、ハムスターは妊娠血清性腺刺激ホルモン(PMSG, eCG と呼ばれる)処理後の自然交配により多数の受精卵が効率よく採取できる(40-50 個/匹)こと



図5 凍結融解胚の移植により SPF 施設へ導入したハムスター(おち夢クリニック名古屋 堀内俊孝先生、森下奈美先生ご提供)突然変異による準アルビノの表現型を示し、耳は黒い(矢印)。

が大きな特長であったが [68], 最近は多くの研究室で eCG 後の性周期の乱れや受精率の低下が問題になっている。これは、系統の胚凍結を行う上でも大きな問題である。今後、何らかの方法で以前のハムスターの生殖生理学的な利点を復活させていく必要がある。

5-2. 系統保存

限られた飼育スペースの中で、KO ハムスターの系統が増えてくると、凍結保存をする必要が生じてくる。これまでいくつかのグループからハムスターの胚凍結保存法が報告されているが [69-70], 必ずしも簡単ではない。ハムスター胚が様々な外的な環境の影響を受けやすいことから、各処理の時間、温度、試薬の最適化が必要になってくる。筆者らも改善を試みているが、上記の通り、肝心の受精卵が得にくいことから、再現性の確認に至っていない。今後、繁殖成績や受精卵採取効率の良い系統が確立されれば、自然交配によって変異アレルを導入することで、胚移植が可能になると期待される。他に精子凍結保存および卵巣凍結保存も技術的には可能になっているが、実用化にはさらなる改良が必要である。

5-3. ノックインハムスターの作出

i-GONAD 法の利用により、KO ハムスターの作出法は確立されたとと言える。さらに広くハムスターが研究利用されるためには、ノックイン系統の作出も必要になってくるであろう。上述の通り、ハムスター透明帯は RNA/DNA を通しにくいことから、i-GONAD 法をそのままノックイン系統作出に用いることは難しい。現在は注入法に頼るしかないので、ハムスター受精卵に適したノックイン技術の開発が待たれるところである。

6. 終わりに

実験動物としてのゴールデンハムスターの有用性および現在の課題について概説をした。まだまだその実験動物としての可能性は残されており、特性を利用して研究に用いれば、マウス・ラットとは異なる重要な発見が得られると期待される。本稿の内容が、新たなゴールデンハムスターの利用拡大につながれば幸いである。

参考文献

1. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020;583(7818):834-8.
2. Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(28):16587-95.
3. Doetschman T, Williams P, Maeda N. Establishment of hamster blastocyst-derived embryonic stem (ES) cells. *Dev Biol*. 1988;127(1):224-7.
4. Wang H, Yang H, Shivalila CS, Dawlaty MM, Cheng AW, Zhang F, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*. 2013;153(4):910-8.
5. Fan Z, Li W, Lee SR, Meng Q, Shi B, Bunch TD, et al. Efficient gene targeting in golden Syrian hamsters by the CRISPR/Cas9 system. *PLoS One*. 2014;9(10):e109755.
6. Swanson MT, Oliveros CH, Esselstyn JA. A phylogenomic rodent tree reveals the repeated evolution of masseter architectures. *Proc Biol Sci*. 2019;286(1902):20190672.
7. Herrera-Álvarez S, Karlsson E, Ryder OA, Lindblad-Toh K, Crawford AJ. How to make a rodent giant: Genomic basis and tradeoffs of gigantism in the capybara, the world's largest rodent. *Mol Biol Evol*. 2021;38(5):1715-30.
8. Adler S. Origin of the golden hamster *Cricetus auratus* as a laboratory animal. *Nature*. 1948;162(4111):256.
9. Han JS, Sugawara Y, Doi K. Rapid induction of glomerular lipidosis in APA hamsters by streptozotocin. *Int J Exp Pathol*. 1992;73(1):75-84.
10. Han JS, Doi K. Morphometric study on the renal glomeruli of streptozotocin (SZ)-induced diabetic APA hamsters. *Histol Histopathol*. 1992;7(4):549-54.
11. 渋谷 政, 矢鍋 誠, 大杉 直, 田中 利. 薬剤投与による Syrian hamster の SPF 化の試み. *Exp Anim*. 1992;41(3):379-81.
12. Yanagimachi R, Chang MC. Fertilization of hamster eggs in vitro. *Nature*. 1963;200:281-2.
13. Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature*. 1959;184(Suppl 7):466-7.
14. Hanada A, Chang MC. Penetration of the zona-free or intact eggs by foreign spermatozoa and the fertilization of deer mouse eggs in vitro. *J Exp Zool*. 1978;203(2):277-85.
15. Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ. The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod*. 1976;15(4):471-6.
16. Uehara T, Yanagimachi R. Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei. *Biol Reprod*. 1976;15(4):467-70.
17. Bornstein S, Iwarsson K. Nasal mites in a colony of Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Lab Anim*. 1980;14(1):31-3.
18. Skavlen P, Peterson M. Skin lesions in hamsters. *Lab animal (USA)*. 1989;18(1).
19. Amano H, Akimoto T, Takahashi KW, Nakagawa M, Saito M. Isolation of *Corynebacterium kutscheri* from aged Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Lab Anim Sci*. 1991;41(3):265-8.
20. Ike F, Sakamoto M, Ohkuma M, Kajita A, Matsushita S, Kokubo T. *Filobacterium rodentium* gen. nov., sp. nov., a member of Filobacteriaceae fam. nov. within the phylum Bacteroidetes; includes a microaerobic filamentous bacterium isolated from specimens from diseased rodent respiratory tracts. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016;66(1):150-7.
21. Shoji-Darkye Y, Itoh T, Kagiya N. Pathogenesis of CAR bacillus in rabbits, guinea pigs, Syrian hamsters, and mice. *Lab Anim Sci*. 1991;41(6):567-71.
22. Dean H. Percy, Stephen W. Barthold. Hamster. In: Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2007. pp. 179-205.
23. Hotchin J, Sikora E, Kinch W, Hinman A, Woodall J. Lymphocytic choriomeningitis in a hamster colony causes infection of hospital personnel. *Science*. 1974;185(4157):1173-4.
24. Matsumoto T NI, Kariya Y and Ohashi K. Studies on a strain of pneumotropic virus of hamster. *Nagoya Journal of Medical Science*. 1954;17(2):93-7.
25. Hruska JF, Takemoto KK. Biochemical properties of a hamster syncytium-forming ("foamy") virus. *J Natl Cancer Inst*. 1975;54(3):601-5.
26. Blochmann R, Curths C, Coulibaly C, Cichutek K, Kurth R, Norley S, et al. A novel small animal model to study the replication of simian foamy virus in vivo. *Virology*. 2014;448:65-73.

27. Roberts A, Vogel L, Guarner J, Hayes N, Murphy B, Zaki S, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of golden Syrian hamsters. *J Virol*. 2005;79(1):503-11.
28. Roberts A, Thomas WD, Guarner J, Lamirande EW, Babcock GJ, Greenough TC, et al. Therapy with a severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus-neutralizing human monoclonal antibody reduces disease severity and viral burden in golden Syrian hamsters. *J Infect Dis*. 2006;193(5):685-92.
29. Zhou J, Sukhova K, Peacock TP, McKay PF, Brown JC, Frise R, et al. Omicron breakthrough infections in vaccinated or previously infected hamsters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(45):e2308655120.
30. Thiruvengadam R, Rizvi ZA, Raghavan S, Murugesan DR, Gosain M, Dandotiya J, et al. Clinical and experimental evidence suggest omicron variant of SARS-CoV-2 is inherently less pathogenic than delta variant independent of previous immunity. *Eur J Med Res*. 2023;28(1):421.
31. Reyna RA, Walker J, Mitchell B, Shinde DP, Plante JA, Weaver SC, et al. Vaccination against SARS-CoV-2 Does Not Protect against the Development of Anosmia in a Hamster Model. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(10).
32. Spady DK, Dietschy JM. Sterol synthesis in vivo in 18 tissues of the squirrel monkey, guinea pig, rabbit, hamster, and rat. *J Lipid Res*. 1983;24(3):303-15.
33. Spady DK, Turley SD, Dietschy JM. Rates of low density lipoprotein uptake and cholesterol synthesis are regulated independently in the liver. *J Lipid Res*. 1985;26(4):465-72.
34. Dietschy JM. Regulation of cholesterol metabolism in man and in other species. *Klin Wochenschr*. 1984;62(8):338-45.
35. Sicart R, Sable-Amplis R, Guirio A. Comparative studies of the circulating lipoproteins in hamster (*Mesocricetus auratus*) with a normal or spontaneous high level of cholesterol in the plasma. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1984;78(3):511-4.
36. Élisabeth Berry-Lortsch RS-A. Reduced bile salt secretion in hamsters with spontaneous high liver cholesterol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 1981;69(2):243-7.
37. Bhathena J, Kulamarva A, Martoni C, Urbanska AM, Malhotra M, Paul A, et al. Diet-induced metabolic hamster model of nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2011;4:195-203.
38. Guo X, Gao M, Wang Y, Lin X, Yang L, Cong N, et al. LDL Receptor Gene-ablated Hamsters: A Rodent Model of Familial Hypercholesterolemia With Dominant Inheritance and Diet-induced Coronary Atherosclerosis. *EBioMedicine*. 2018;27:214-24.
39. 中川 哲, 山口良文. 実験動物としてのゴールデンハムスターの有用性 (II) 冬眠モデル哺乳類としてのゴールデンハムスター. *Labio21*. 2022;85:5-8.
40. Takahashi TM, Sunagawa GA, Soya S, Abe M, Sakurai K, Ishikawa K, et al. A discrete neuronal circuit induces a hibernation-like state in rodents. *Nature*. 2020;583(7814):109-14.
41. Small JD. Drugs Used in Hamsters with a Review of Antibiotic-Associated Colitis. In: G. L. Van Hoosier JaCWM, editor. *Laboratory Hamsters*. American college of laboratory animal medicine series. Orland, Florida: ACADEMIC PRESS, INC.; 1987. p. 179-99.
42. Christian E. Newcomer dAF, Brian D. Goldman, Michael R. Murphy, Ghanta N. Rao, gerald Shaklar et al. *Experimental Biology: Other Research Uses of Syrian Hamsters*. In: G. L. Van Hoosier JaCWM, editor. *Laboratory Hamsters*. American college of laboratory animal medicine series. Orland, Florida: ACADEMIC PRESS, INC.; 1987.
43. Hirose M, Ogura A. The golden (Syrian) hamster as a model for the study of reproductive biology: Past, present, and future. *Reprod Med Biol*. 2019;18(1):34-9.
44. McKiernan SH, Bavister BD. Different lots of bovine serum albumin inhibit or stimulate in vitro development of hamster embryos. *In Vitro Cell Dev Biol*. 1992;28a(3 Pt 1):154-6.
45. Schini SA, Bavister BD. Two-cell block to development of cultured hamster embryos is caused by phosphate and glucose. *Biol Reprod*. 1988;39(5):1183-92.
46. Kishi J, Noda Y, Narimoto K, Umaoka Y, Mori T. Block to development in cultured rat 1-cell embryos is overcome using medium HECM-1. *Hum Reprod*. 1991;6(10):1445-8.
47. Liu Z, Nie YH, Zhang CC, Cai YJ, Wang Y, Lu HP, et al. Generation of macaques with sperm derived from juvenile monkey testicular xenografts. *Cell Res*. 2016;26(1):139-42.
48. Barnett DK, Bavister BD. Hypotaourine requirement for in vitro development of golden hamster one-cell embryos into morulae and blastocysts, and production of term offspring from in vitro-fertilized ova. *Biol Reprod*. 1992;47(2):297-304.
49. Yamauchi Y, Yanagimachi R, Horiuchi T. Full-term development of golden hamster oocytes following intracytoplasmic sperm head injection. *Biol Reprod*. 2002;67(2):534-9.
50. Ogura A, Yanagimachi R. Round spermatid nuclei injected into hamster oocytes from pronuclei and participate in syngamy. *Biol Reprod*. 1993;48(2):219-25.

51. Haigo K, Yamauchi Y, Yazama F, Yanagimachi R, Horiuchi T. Full-term development of hamster embryos produced by injection of round spermatids into oocytes. *Biol Reprod.* 2004;71(1):194-8.
52. Li R, Miao J, Fan Z, Song S, Kong IK, Wang Y, et al. Production of Genetically Engineered Golden Syrian Hamsters by Pronuclear Injection of the CRISPR/Cas9 Complex. *J Vis Exp.* 2018(131).
53. Hasuwa H, Iwasaki YW, Au Yeung WK, Ishino K, Masuda H, Sasaki H, et al. Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters. *Nat Cell Biol.* 2021;23(9):1002-12.
54. Ishino K, Hasuwa H, Yoshimura J, Iwasaki YW, Nishihara H, Seki NM, et al. Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte maturation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(5):2700-20.
55. Ohtsuka M, Sato M. i-GONAD: A method for generating genome-edited animals without ex vivo handling of embryos. *Dev Growth Differ.* 2019;61(5):306-15.
56. Hirose M, Tomishima T, Ogura A. Editing the Genome of the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). *Methods Mol Biol.* 2023;2637:247-54.
57. Takahashi G, Gurumurthy CB, Wada K, Miura H, Sato M, Ohtsuka M. GONAD: Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system: a novel microinjection independent genome engineering method in mice. *Sci Rep.* 2015;5:11406.
58. Baba T, Azuma S, Kashiwabara S, Toyoda Y. Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization. *J Biol Chem.* 1994;269(50):31845-9.
59. Isotani A, Matsumura T, Ogawa M, Tanaka T, Yamagata K, Ikawa M, et al. A delayed sperm penetration of cumulus layers by disruption of acrosin gene in rats. *Biol Reprod.* 2017;97(1):61-8.
60. Hirose M, Honda A, Fulka H, Tamura-Nakano M, Matoba S, Tomishima T, et al. Acrosin is essential for sperm penetration through the zona pellucida in hamsters. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(5):2513-8.
61. Hua R, Xue R, Liu Y, Li Y, Sha X, Li K, et al. ACROSIN deficiency causes total fertilization failure in humans by preventing the sperm from penetrating the zona pellucida. *Hum Reprod.* 2023;38(6):1213-23.
62. Ozata DM, Gainetdinov I, Zoch A, O'Carroll D, Zamore PD. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions. *Nat Rev Genet.* 2019;20(2):89-108.
63. Loubalova Z, Fulka H, Horvat F, Pasulka J, Malik R, Hirose M, et al. Formation of spermatogonia and fertile oocytes in golden hamsters requires piRNAs. *Nat Cell Biol.* 2021;23(9):992-1001.
64. Ding D, Chen C. Cracking the egg: A breakthrough in piRNA function in mammalian oocytes and embryos. *Biol Reprod.* 2022;106(1):6-8.
65. Araki Y, Nohara M, Yoshida-Komiya H, Kuramochi T, Ito M, Hoshi H, et al. Effect of a null mutation of the oviduct-specific glycoprotein gene on mouse fertilization. *Biochem J.* 2003;374(Pt 2):551-7.
66. Yamatoya K, Kurosawa M, Hirose M, Miura Y, Taka H, Nakano T, et al. The fluid factor OVGP1 provides a significant oviductal microenvironment for the reproductive process in golden hamster. *Biol Reprod.* 2024;110(3):465-75.
67. Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature.* 1998;391(6670):900-4.
68. Bavister BD, Leibfried ML, Lieberman G. Development of preimplantation embryos of the golden hamster in a defined culture medium. *Biol Reprod.* 1983;28(1):235-47.
69. Lane M, Bavister BD, Lyons EA, Forest KT. Containerless vitrification of mammalian oocytes and embryos. *Nat Biotechnol.* 1999;17(12):1234-6.
70. Fan Z, Meng Q, Bunch TD, White KL, Wang Z. Effective cryopreservation of golden Syrian hamster embryos by open pulled straw vitrification. *Lab Anim.* 2016;50(1):45-53.

実験動物マウスにおける黄色ブドウ球菌のゲノミクスと 施設内伝播検証法

佐々木崇

札幌医科大学 医学部 動物実験施設部

要 約

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、免疫正常な実験動物マウス系統で保菌が見られても発病は稀と考えられ、多くの動物実験施設では免疫正常マウス系統の微生物モニタリング対象としていない。しかし本菌は、マウスの原因不明死亡検体から最も多く菌分離され、施設内で保菌／感染が拡大（伝播）したことを示唆する過去の文献も見られる。一方、免疫不全マウスでは本菌により重篤な症状が発症しうるため、ブリーダーは微生物モニタリングレポートの公開とともに本菌陰性動物を販売している。このように、実験動物マウス飼養保管施設における黄色ブドウ球菌の感染対策上の位置付けには十分な配慮が必要である。特に、免疫正常か免疫不全かを問わず施設内のマウス系統で本菌保有個体が複数見つかった際、施設内伝播に起因していたかの判断は、検証法の問題点と相まって結論を出すことが困難である。

本稿では、本菌の施設内伝播検証に用いる遺伝子型別法の新旧方法論について概説する。その理解に不可欠な本菌ゲノミクスの基本知識（ゲノム構造、進化機序）と実験動物マウス最優勢クローンである Sequence type (ST) 88 型系統株の遺伝的多様性について解説する。それを踏まえ、施設内伝播検証法としての従来の遺伝子型別法の分解能不足という欠点と、それを補う次世代シーケンサーによる全ゲノム解析法の応用性を考察する。

(実験動物ニュース 2024 Vol. 73 No. 3, p. 102-111.)

1. はじめに

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、ヒト・マウス・ラットなど哺乳類広域種の皮膚に常在するグラム染色陽性の球菌であり、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* 属) に属する。本菌は日和見的に様々な臓器で感染病態を引き起こす、ブドウ球菌属中最も病原性が高い種である。本菌は自律性可動遺伝因子（後述）と呼ばれる複数の機構によりゲノム中に外来遺伝子を取り込む。この機構により生じる、本菌の多剤耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) は、ヒトの医療現場で水平伝播し抗菌薬治療や感染対策を難しくすることから、各国や地域で流行する遺伝的起源を同一にする MRSA クローンの動向が世界的に監視されている。

黄色ブドウ球菌は、健康人の約3割に保菌が見られ、主な常在部位として鼻前庭、手指、会陰部皮膚の順に優勢であることが報告されている [1]。宿主動物種により優勢常在部位が異なることが示唆され [2]、保菌個体を高感度にスクリーニングするには対象動物種の最優勢部位からの検体採取が重要である。

本菌が皮膚常在菌であることと、ヒトや動物の本菌保菌調査で糞便検体を用いた過去の報告が見られないことから、実験動物マウス対象のスクリーニング検査で糞便検体を用いる場合には、検出感度の低下を考慮し結果を解釈すべきかもしれない。

黄色ブドウ球菌は、実験動物マウスの Specific-pathogen-free (SPF) 対象病原体に含まれていない。文献的に、ブリーダーによっては20%もの SPF 個体から本菌が菌分離されるという [3]。免疫正常マウスで本菌が検出されても通常は特別な措置は求められないが、マウス死亡例の検査依頼検体から最も多く分離されるとも報告されている (ICLAS モニタリングセンター HP: 事業報告>微生物検査結果)。

実験動物マウス飼養保管施設において、黄色ブドウ球菌の施設内伝播を想起させる事例が報告されているが [4]、この報告における検証では、菌株の遺伝子型別は病原性遺伝子の有無を解析する PCR 法や、生存必須遺伝子の部分塩基配列を解析する従来の方法が用いられていた。医学領域の MRSA 院内伝播検証スキームは近年、全ゲノムシーケンスによる一塩基多型 (SNP: Single Nucleotide Polymorphism;

後述)解析を用いた高分解能検査をゴールドスタンダードとしている。この方法を用いることで、従来の遺伝子型別法では同一と判断された菌株でも、SNP数や分子系統の差分により遺伝的差異をさらに分解できる。実験動物マウス飼養保管施設において本菌が施設内伝播するかを結論づけるには、全ゲノムシーケンスによる方法を用いる必要があると筆者は考えている。

このように、黄色ブドウ球菌の実験動物マウス飼養保管施設における感染対策上の位置付けの決定には、施設内伝播検証に用いる遺伝子型別法のアップデートが求められる。そこで本稿では、黄色ブドウ球菌の新旧遺伝子型別法を理解するため、前半部分で本菌のゲノミクスの基礎とマウス最優勢クローンである Sequence type (ST) 88 型系統株のゲノム疫学について解説する。後半部分では、本菌の従来の遺伝子型別法が施設内伝播検証目的には分解能不足である点を提起し、その解決法としての次世代シーケンサーによる全ゲノム解析法の応用性や課題を概説する。

2. ブドウ球菌のゲノム特性

2001年、世界で初めて黄色ブドウ球菌株(N315という株名のMRSA株)の完全長配列が報告された[5]。ゲノムサイズ2.81 Mbp, GC含量約32.8%を示す本菌のゲノム特性は、同じバチルス綱のグラム陽性菌である肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae* TIGR4株, 2.16 Mbp, 39.7%)や枯草菌(*Bacillus subtilis* 168株, 4.21 Mbp, 43.5%)と類似し、大腸菌(*Escherichia coli* EDL933株, 5.53 Mbp, 50.4%)や緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa* PAO1株, 6.26 Mbp, 66.6%)といったグラム陰性菌に比して小型かつ低GC含量を示す。

ブドウ球菌属は現在約50菌種が分類記載され、種や株レベルで遺伝的多様化が進んできた[6]。他の細菌分類群同様、遺伝的多様性獲得の基本機序は、ortholog 遺伝子と呼ばれる相同遺伝子上に生じた点変異、塩基配列の挿入/欠失、相同組換えなどの蓄積とそれらの遺伝的垂直伝播である。このような微小変異は、細菌分類群ごとにおおよそ定まった進化速度に呼応して緩やかに進み、祖先集団からの遺伝的多様性を積み上げ、外部環境からの選択圧の結果として種分化し、生理・生化学的機能を収斂させてきたと考えられる。黄色ブドウ球菌(N315株)、肺炎球菌(TIGR4株)、枯草菌(168株)の全染色体性遺伝子中の属内コア遺伝子(各属内全菌種で保存された ortholog 遺伝子)の割合を、今回新たに算出してみたところ、それぞれ約46%, 30%, 25%であった。この数値差は、ブドウ球菌属が一定環境でコアゲノム構造を固持してきた分類群であることと、レンサ球菌属及びバチルス属が多様な環境適応のためユ

ニークな進化を遂げた菌種を多く包含することを示唆している。

3. ブドウ球菌属の外来遺伝子獲得機構

ブドウ球菌属には、前述した病原体特有の緩やかな進化を一足飛びにするダイナミックな進化機序も知られている。Insertion sequences (ISs) と呼ばれる特有の繰り返し配列や、トランスポゾン、バクテリオファージといった自律性可動遺伝因子(Mobile genetic elements: MGEs)を介した外来遺伝子の獲得、そしてそれらの挿入部位にコードされていた既存遺伝子の破損・脱落が起こり、本属菌はこの一イベントだけで親株との大規模なゲノム差異を生じうる。以下に、本菌に特徴的な2つのMGEsについて概説する。

3-1. ゲノミックアイランド (Genomic islands: GIs)

ブドウ球菌属のゲノム多様性獲得に寄与した遺伝因子として、ゲノミックアイランド (Genomic islands: GIs) と呼ばれる MGEs が知られている。GIs は、バクテリオファージ感染でファージゲノムが細菌ゲノム内にインテグレートされ形成される。GIs は、ファージ誘導が起こるまで細菌ゲノム中にプロファージとして維持される可動性タイプ(Φ [phi])と、ファージとして自律移動するための遺伝因子を失い細菌ゲノム内に定着した非可動性タイプ(ν [neu])とに区別される。

GIs 領域は、宿主への病原性を担う毒素遺伝子やスーパー抗原活性に関与する遺伝子が多数並ぶことから、病原性アイランドとも呼称されている。個々の GIs 領域は黄色ブドウ球菌株間でも多様性が見られ、株レベルの病原性差異にも寄与している[7]。図1は、完全長配列が登録されている黄色ブドウ球菌研究でしばしば用いられる著名な菌株のゲノム中の GIs 分布を示している。非可動性 GIs である ν Saa/ $\beta/\gamma/\epsilon$ は、全ての黄色ブドウ球菌系統のゲノム内に保存されている。黄色ブドウ球菌が属内で突出した高病原性種となったのは、共通祖先がこれらのファージを獲得したことに起因していると考えられる。

また、感染ファージゲノムがもたらす特定遺伝子が、黄色ブドウ球菌株が宿主にとって無害あるいは病気を引き起こすかの免疫学的均衡を崩すドライバーとなることが報告されている[8]。この研究では、黄色ブドウ球菌の細胞壁を構成するリボタイコ酸を標的とした宿主免疫応答が、通常では本菌による発症を制御しているものの、リボタイコ酸を修飾する酵素 TarP をコードする遺伝子がファージによりもたらされた菌株では、エピトープ変化と免疫原性低下が生じ、既存宿主免疫応答からの回避を介した病態発症が起こることを示唆している。

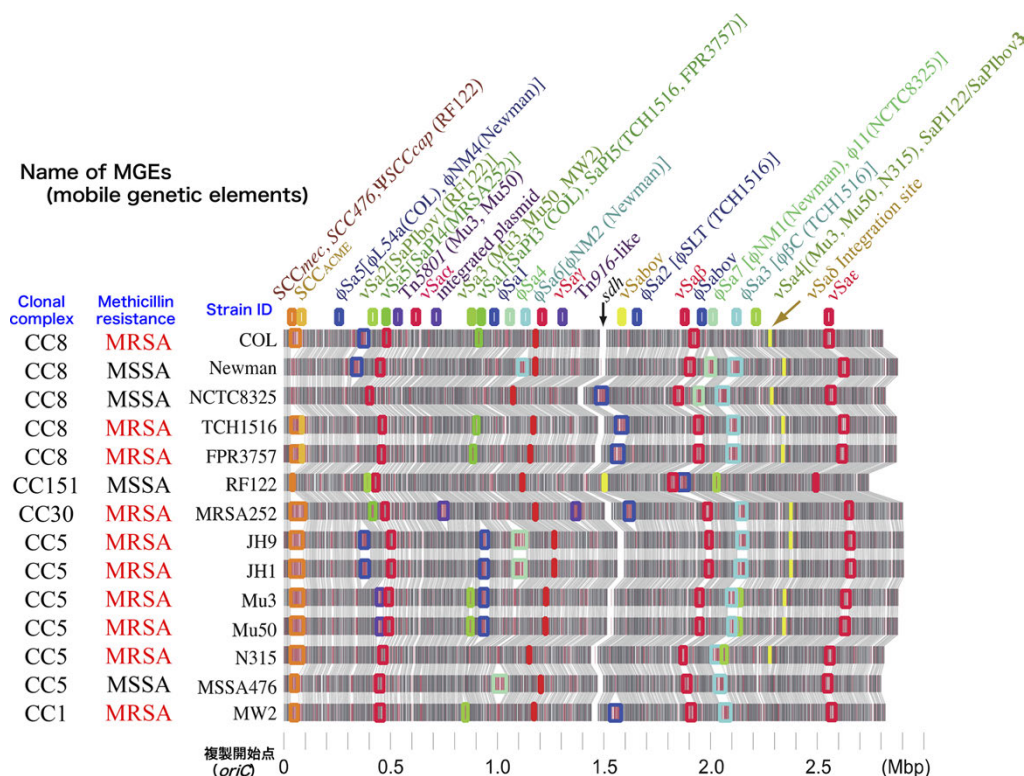


図1 黄色ブドウ球菌 14 株の全ゲノムアラインメント

本図は、複製開始点を左端とし、黄色ブドウ球菌 14 株（MRSA10 株と MSSA4 株）の全ゲノムアラインメントを表現している。Strain ID の左に Clonal complex とメチシリン耐性を示した。各株のゲノム配列中、灰色は全株共有のコア遺伝子、赤色は非共有遺伝子を意味している。図上部に示した GIs (Genomic islands) のうち、Φ [phi] は可動性 GIs であるプロファージ、v [neu] は非可動性 GIs、Tn はトランスポゾン、SCC はブドウ球菌カセット染色体を意味している。sdh 遺伝子は、ゲノム中の *terC* (複製終結点) 付近に位置する 1.1 メガダルトンの細胞壁関連フィブロネクチン結合タンパク質をコードし、大部分の黄色ブドウ球菌株に保存された単一巨大遺伝子である。図は、Hiramatsu K et al. *Infect Chemother.* 2013. Jun; 45(2): 117-136. (参考文献 7) の Figure 1 (A) を引用し、遺伝子型、メチシリン耐性の有無、複製開始点の位置等に関する表記を加え改変した。

3-2. ブドウ球菌カセット染色体 (Staphylococcal cassette chromosome : SCC)

進化の過程でブドウ球菌属の遺伝的多様化を促進した因子の一つとして、ブドウ球菌カセット染色体 (Staphylococcal cassette chromosome : SCC) と呼ばれる MGE が知られ、これも GIs の一種である [7]。SCC は、部位特異的組換え酵素をコードする *ccr* 遺伝子を搭載し、この働きにより黄色ブドウ球菌 N315 株ゲノム上の複製開始点 (*oriC*) に程近い 23 番目の遺伝子 *orfX* (SA0023 : リボソーム RNA メチルトランスフェラーゼ) の 3' 末端側に部位特異的に挿入される。このゲノム領域は *oriC* environ と呼称されている。ゲノム中に組み込まれた SCC 内部には、inverted repeat, direct repeat, トランスポゾン、特有の挿入配列等が複数コピー含まれ、これらを糊代とした遺伝子の挿入・欠失が頻繁に繰り返される。やがて *ccr* 遺伝子の脱落と共に SCC は可動性を失い、外部獲得した遺伝子群のうち、その菌株にとって有用なものだけが選択的に *oriC* environ にストレージされてい

く。この機構により、ブドウ球菌属は菌種間・菌株間の多様性を形成してきたと考えられる。SCC はブドウ球菌属の菌株間を水平伝播することでもたらされる。ブドウ球菌属の菌種同定で評価される生化学的性状をコードする遺伝子群もこの領域に複数搭載されている [9]。

SCC には抗菌薬耐性遺伝子が搭載されていることも多い。メチシリン耐性の責任遺伝子 *mecA* を搭載した SCC は SCCmec と呼ばれ、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) がこれを外部から獲得し MRSA が出現したと説明されている (図 2)。

4. 実験動物マウス由来黄色ブドウ球菌

Sequence type (ST) 88 型株のゲノミクス

実験動物マウスに適応した黄色ブドウ球菌株は、Multi-locus sequence typing (MLST) と呼ばれる塩基配列に基づく型別で ST88 型を含む数系統しかないことを以前本誌において概説した [10]。このような背景から、実験動物マウス飼養保管施設内で本菌の施

設内伝播検証をするには、同時期に複数分離された菌株が互いに同一 ST 型であることを示しただけでは水平伝播の証拠にはなりえず、さらなる微小なゲノム差異を検出する高分解能検査が必要となる。ここからは本菌の ST88 型株のゲノム特性と分子疫学について解説する。

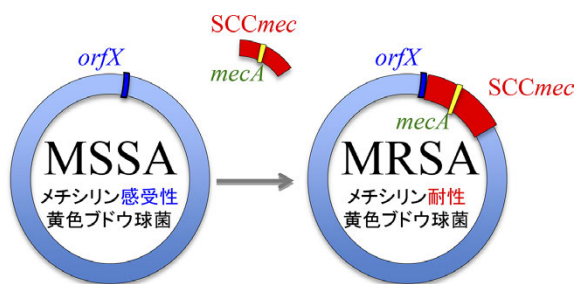


図2 MRSAの進化概念図

メチシリン耐性遺伝子 *mecA* を搭載した SCC (Staphylococcal cassette chromosome) は SCCmec と呼ばれ、MSSA (メチシリン感受性黄色ブドウ球菌) ゲノム中の *orfX* 遺伝子 3' 末端側に部位特異的に挿入されると MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) となる。

4-1. 実験動物マウス由来黄色ブドウ球菌 ST88 型株のゲノム解析状況と特性

実験動物マウスに由来する ST88 型株の全ゲノムデータは、ニュージーランドの C57BL/6J オス個体から分離された JSNZ 株 1 株のドラフト配列が登録されているのみである [4]。この他には、ネズミ上科 (Muroidea) のキタハタネズミ (*Microtus agrestis*) に由来する ST88 型株のドラフト配列も入手可能である (muC88d 株: ドイツの野生個体由来) [11]。

JSNZ 株は、ドラフト配列登録のみでゲノム関連情報を記載した文献がないため、今回、本稿で各種解析を実施した。JSNZ 株は、ゲノムサイズは 2,692,570 bp, GC 含量は 32.8%, 推定遺伝子数は 2,552 と、黄色ブドウ球菌ゲノムの一般構造としては平均的であった。既知の抗菌薬耐性遺伝子は検出されなかった。病原性関連遺伝子は、黄色ブドウ球菌全菌株に共通保存されたプロテアーゼ aureolysin (*aur*) や *splA*, 赤血球溶解毒素 (*hlgA*, *hlgB*, *hlgC*), 白血球溶解毒素 (*lukD-E*, *lukG-H*) の保有が見られるものの、黄色ブドウ球菌の高病原性株でしばしば見られる Pantone-Valentine leukocidin (PVL: *lukF-S*), 表皮剥脱毒素, ブドウ球菌エンテロトキシン (Staphylococcal enterotoxin; SE) など、特筆すべき病原性遺伝子の保有はなかった。キタハタネズミ由来 muC88d 株も同様であった。

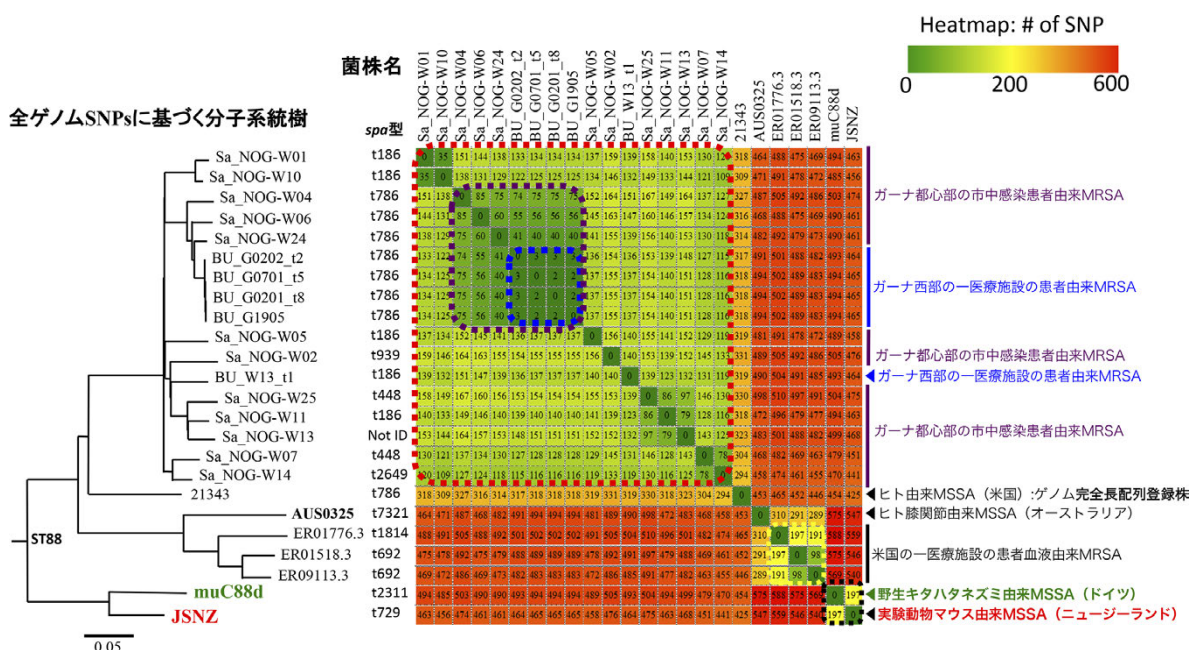


図3 ST88 型系統の全ゲノム SNP 系統樹とペアワイズ SNP 数のヒートマップ

ST88 型を示す 24 株 (ガーナ株 17, 他地域のヒト由来株 5 および実験動物マウスとキタハタネズミ由来株各 1) の全ゲノム配列について、完全長配列が登録されている AUS0325 株をレファレンスとして SNP を検出し、系統樹を描画した (左)。右図では各株間で検出したペアワイズの SNP 数を記載するとともに、その SNP 数を 0 から 600 に至るヒートマップとして緑, 黄, 赤色の段階的表現で示した。また、株間で類似した SNP 数を示すものを点線で囲んだ。

4-2. ヒト由来 ST88 型 MRSA 株による

院内・地域アウトブレイク事例

本項では、ST88 型 MRSA 株が地域優勢クローンとして広がっているガーナの文献を引用し、MRSA 株における SNP 数解釈について解説する [12]。

図 3 に、公的データベースからゲノム配列が入手可能な ST88 型系統 24 株をデータセットとし、AU0325 株をレファレンスとした全ゲノム SNP 系統樹と各株間におけるペアワイズ SNP 数を示した。

図 3 右側のヒートマップを見ると、ガーナ西部の一医療施設の患者由来 MRSA である 4 株 (BU_G0202_t2 ~ BU_G1905; 青色点線部) 中の SNP 数はわずかに桁台であった。ガーナ都心部の市中感染患者由来 MRSA 株まで含めた 7 株 (Sa_NOG-W04 ~ BU_G1905; 紫色点線部) に広げると、SNP 数は二桁台にまで増加した。そしてガーナ由来株全体 (Sa_NOG-W01 ~ Sa_NOG-W14 までの 17 株; 赤色の点線部) まで範囲を広げると、SNP 数は最大で 167 を示した。

同様に、文献としての報告はなかったが、米国の一医療施設の患者 3 名から分離された血液培養由来 ST88 型 3 株の登録ゲノムを用い SNP 数を算出したところ、200 以下であった (黄色点線部)。

文献的に、医療現場における MRSA 院内アウトブレイクでは 50 SNPs 以下、地域内アウトブレイクでは 200 SNPs 以下という報告があり、これらがしばしば SNP 数解釈の基準として引用される [13-17]。前述のガーナ及び米国の事例とも、菌株背景と SNP 数の関係が概ねこの基準値と合致している。

4-3. げっ歯類由来黄色ブドウ球菌 ST88 型株の

分子系統解析と SNP 数解釈

図 3 には、げっ歯類に由来する ST88 型 2 株も含まれている。実験動物マウス由来 JSNZ 株とキタハタネズミ由来 muC88d 株は、ヒト由来株で構成されるクラスターとは独立しているため、この両株はげっ歯類特異的な進化系統であることが予想される。しかしそれを結論づけるには、実験動物マウスやその他のげっ歯類に由来するさらなるゲノムデータ集積と再現性確認が必要である。

SNP 数に目を向けると、JSNZ 株と muC88d 株の差異はわずか 197 であり (黒色点線部)、ヒト MRSA 株の SNP 数解釈基準では地域内アウトブレイク (200 SNPs 以下) に相当する。しかし両株は由来する国も宿主動物種も異なっており、ヒト MRSA 株の SNP 数解釈基準を直ちに適応することには無理があった。多様な黄色ブドウ球菌クローンを許容するヒト宿主とは異なり、わずかに数系統の適応しか許容していないと考えられるマウス宿主では、本菌の進化速度低下の可能性を考慮すべきかもしれない。実験動物マウスに特化した施設内伝播検証のための SNP 数解釈基準の構築には、今後のゲノム情報登録とケーススタディの集積に期待するしかない。

4-4. 実験動物マウス定着性に関与する

黄色ブドウ球菌の遺伝子変異

黄色ブドウ球菌の実験動物マウス皮膚組織への定着性に関与する遺伝子やその変異は、少数ながら報告されている。

USA300 株 (ST8-MRSA 株、ヒトにおける市中感染型 MRSA の代表株の一つ) を用いたマウス皮膚感染モデルでは、解糖系及び TCA サイクル関連遺伝子の非同義置換や転写誘導変異を獲得した変異株が選択されたことが報告されている [18]。

MW2 株 (ST1-MRSA 株、ヒトにおける市中感染型 MRSA の代表株の一つ) は、 β 溶血毒素 (*hly*) 遺伝子のコーディング配列内部に挿入されたプロファージを持つが、このファージ脱落により同遺伝子の復帰変異を果たした変異株が、同じく皮膚感染マウスモデルにおいて選択されたことも報告されている [19]。*hly* 遺伝子は、皮膚角層中のスフィンゴミエリンをセラミドへ加水分解する機能を有していることから、宿主表皮バリアの破壊に寄与する本菌変異体が宿主内で選択されたと考察されている。図 4 に、げっ歯類由来 ST88 型 2 株とヒト由来 ST88 型 1 株の *hly* 遺伝子近傍領域のゲノムマップを示した。キタハタネズミ由来 muC88d 株及びヒト由来 AUS0325 株では、*hly* 遺伝子内部にプロファージ ϕ Sa3 が挿入され、*hly* 遺伝子の 2 つの断片がスプリットしている。それに対し、実験動物マウス由来 JSNZ 株では、この領域にプロファージ ϕ Sa3 の痕跡はなく *hly* 遺伝子のコーディング領域全長が保持されていることから、プロファージ脱落による *hly* 遺伝子の復帰変異が生じたことが示唆される。

本菌のマウス定着性を上昇させるという既報の遺伝子変異が ST88 型株においても普遍的な現象かは、さらなる研究で示される必要がある。

5. 黄色ブドウ球菌株の従来の遺伝子型別法

本菌分離株の遺伝子型別法は、多剤耐性菌 MRSA の院内、地域、国家間におけるクローンの蔓延状況を知る分子疫学解析ツールとして汎用されてきた。MRSA 蔓延の黎明期は、遺伝的に多様な MRSA クローンが院内や市中に分布していたため [20]、従来法でも施設内伝播検証にある程度応用できた。しかし近年は、同一 ST 型を示す院内感染型 MRSA クローンが広範な地域間で同時多発的に検出されるモノクローナルなクローン分布となっているため、高分解能検査である全ゲノム解析がこの検証目的では主流となっている。そのような意味合いとは異なるが、実験動物マウスでは適応クローンが特定 ST 型に限られる背景から、本菌による施設内伝播を検証するには同一 ST 型株間の SNP レベルのゲノム差異を評価できる方法によらなければ妥当な検証結果が得られない。

以下に、本菌分離株を遺伝子型別するための従来法 3 種類について概説し、解析事例を紹介する。

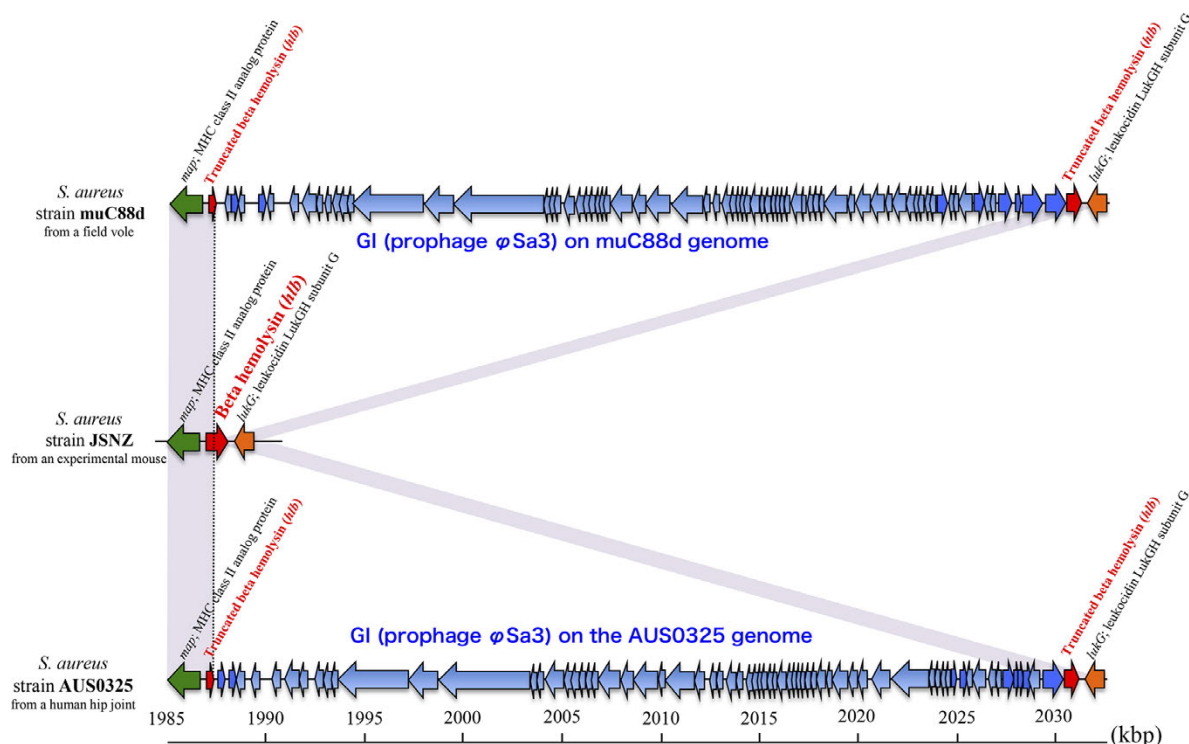


図4 *hlb* 遺伝子及びプロファージ ϕ Sa3 近傍のゲノムマップ

キタハタネズミ由来 muC88d 株（上段）及びヒト由来 AUS0325 株（下段）では、プロファージ ϕ Sa3 が *hlb* 遺伝子内部に挿入され、*hlb* 遺伝子が断裂しているため機能していない。一方、実験動物マウス由来 JSNZ 株（中段）では、このプロファージの脱落により *hlb* 遺伝子が復帰変異を起こしている。

5-1. パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法

多くの細菌分類群で古くから応用されるゲノム全体を反映した遺伝子型別法である。制限酵素処理（黄色ブドウ球菌では制限酵素 *Sma* I が用いられる）した断片化ゲノム DNA を、電場の方向を一定時間毎に変化させる条件で泳動することで、数百 kbp にも及ぶ巨大 DNA 断片の泳動が可能となり、得られた各供試菌株のバンドニングパターンから菌株間の遺伝的差異を評価する。

かつては MRSA 院内感染事例の施設内伝播検証に用いられてきたが [21]、手技的に煩雑かつ時間を要し、得られる結果がアナログデータのためラボラトリー間比較も難しかった。遺伝的差異を評価するための分解能も十分ではなく、近年はこの用途で用いられなくなった。

5-2. Multi-locus sequence typing（MLST）法

多くの細菌分類群で現在も広く用いられる遺伝子型別法である。ゲノム全域に散在する生存必須 7 遺伝子の各 500 塩基ほどの部分塩基配列を解析対象とするゲノム全体を反映する遺伝子型別法である。黄色ブドウ球菌では、*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi*, *yqiL* がマーカー遺伝子とされる [22]。塩基配列の違いによって各遺伝子の allotype が付与され、そ

の組み合わせにより Sequence type（ST）が数字として付与される。互いに近縁な複数の ST 型を包含する群として Clonal complex（CC）という表記がなされることもある。本菌の分子疫学研究では今なお必須の基本データとして扱われる。しかし遺伝的差異を評価するための分解能は PFGE 法にも劣ると考えられ、同一 ST 型を示すクローナルな菌株間でも全ゲノム解析で数千もの SNP 数を示すことがあり、本法単独解析による施設内伝播検証は不可能である。

5-3. *spa* 型別法

spa 遺伝子は、多くの動物種の IgG 抗体の Fc 領域に結合するプロテイン A をコードする黄色ブドウ球菌特有の遺伝子である。繰り返し配列に富む本遺伝子単独の塩基配列を解析することで、アルファベットと数字の組み合わせの型番が付与される [23]。同一 ST 型あるいは PFGE 型でも、本法でゲノム差異を表現できることもあり、高分解能な遺伝子型別法の一つと捉えられている。しかし単一遺伝子解析のため、ゲノム全体の遺伝子型を反映するとは限らず、異なる ST あるいは PFGE 型でも同一 *spa* 型を示す菌株も見られ、適切な結果解釈には他の型別法との併用を要する。

5-4. PFGE, MLST および *spa* 型別法による

黄色ブドウ球菌の解析例

これら3種類の遺伝子型別法としての分解能は *spa* 型別法 > PFGE 法 > MLST 法の順と一般的には考えられているが、必ずしもこれに当てはまらない事例も見られる。

図5に、埼玉県の小児患者由来 MRSA 株に対する3つの型別法を併用した解析例を示した[13]。PFGE 法に基づくデンドログラム（樹形図）で同一クラスターと判定した株が、MLST 法で ST834 と ST2578 の2つの型に判定が分かれた（図5：点線部分）。また、同一 *spa* 型（t9624）が、ST834、ST2578、ST1566、ST1558 の4つの ST 型にまたがって判定されている（図5：太字部分）。このように、3つの従来法を全て併用しても結果解釈に難渋する本例のようなケースが見られる。

その一方、ここで引用した文献では、前述の全ゲノム SNP 解析における菌株間のペアワイズ SNP 数として 35-119 という定量的数値と分子系統解析結果が得られ、当地域の小児患者で ST834 型系統の MRSA による地域的アウトブレイクが起きていると結論づけられた。

6. 全ゲノム解析による実験動物マウス由来

黄色ブドウ球菌株の施設内伝播検証

ここまで、黄色ブドウ球菌の施設内伝播検証では、従来の遺伝子型別法の分解能不足と結果解釈の困難さに問題点があることを挙げ、高分解能かつ定性性のある全ゲノム解析の必要性を述べた。そこで本セクションでは、実験動物施設でマウス死亡事例が同時期に多発し、複数の死亡個体から本菌が分離されたケースを想定し、次世代シーケンサーを用いた全

ゲノム解析の流れや費用、バイオインフォマティクス解析などを紹介する。

6-1. 次世代シーケンスまでの流れ、

シーケンス取得量、出力ファイル

まず、施設内で分離された黄色ブドウ球菌複数株に対し、PCR 法のような確実な方法による菌種同定[24]を実施する。初期スクリーニングとして、従来のサンガーシーケンス法による MLST 法が推奨される。複数分離株が同一 ST 型であることが確認されれば、水平伝播が疑われるため全ゲノム解析の工程に進める意義がある。

被検菌1株あたりの次世代シーケンス取得量として、黄色ブドウ球菌であればカバレッジとして少なくともゲノムサイズ約 3 Mbp の 50 倍に相当するリード数が必要であり、100 倍程度あれば大抵のインフォマティクス解析ができる。外部受託サービス依頼時にはこの点を確認されたい。

次世代シーケンスの出力ファイルは、用いる解析プラットフォームによるが、Illumina 社のペアエンド解析を利用する場合、ショートリードの解読クオリティと塩基配列の情報を格納した fastq ファイルというテキストファイルが生データとして出力され、1 検体あたり数百メガバイトの2ファイルが得られる。

6-2. 解析時間、費用

次世代シーケンサー本体を所有し、試薬一式を購入し保持している施設では、2-3 日程度あれば解析結果の解釈が可能となる。外部受託サービスを利用する場合は、依頼先や時期、解析プランにもよるが、解析結果納品までに1-2ヶ月はかかる。費用面では、次世代シーケンス受託会社に DNA 抽出から依頼する

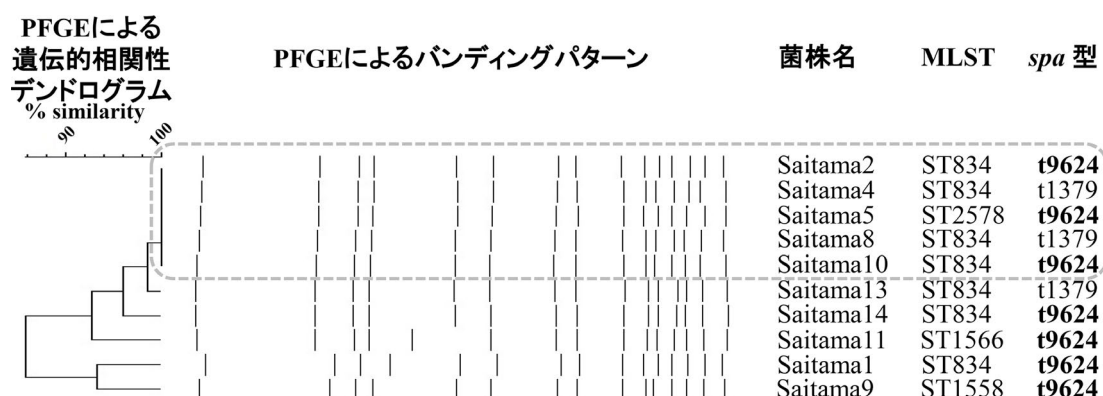


図5 黄色ブドウ球菌株における従来の遺伝子型別法3種類の解析事例

PFGE（パルスフィールドゲル電気泳動）、MLST（Multi-locus Sequence Typing）、*spa* 型別法の解析例を示す。PFGE によるデンドログラム（樹形図）で同一クラスターと判定した菌株でも、MLST 型や *spa* 型が異なる菌株や、MLST 型や *spa* 型が同一でも PFGE デンドログラムとの判定が一致しない菌株がある。このように、従来法3種を併用しても結果解釈は困難な場合があり、単独の型別法だけでは誤って解釈する可能性が大きい。図は、Uehara Y et al. *BMC Infect Dis.* 2019 Jan 9;19(1):35. (参考文献13) の Fig. 2a に日本語説明を追記し改変した。

場合、この工程だけで一検体数千円程度の費用がかかる。自前で精製した DNA 検体を受託会社へ送付する場合は、次世代シーケンス費用のみの依頼で一株 2 万円前後が一般的である。バイオインフォマティクス解析も依頼する場合、一般的には次世代シーケンス費そのものを上回る場合があり、納期も遅れる。

次世代シーケンサーには多種多様なプラットフォームがあるため、ライブラリー作製法や機器の使用法の解説は本稿では割愛する。

6-3. バイオインフォマティクス解析

前述のように、施設内伝播検証には、全ゲノムシーケンスを利用した SNP 解析が有効である。この解析には、次世代シーケンスの生データである fastq ファイルを用いる方法と、生データを用いゲノムアセンブリして得られるコンティグの fasta ファイルを用いる方法とがある。いずれも同一 ST 型を示す菌株のみをデータセットとし、一括で SNP 解析を実施する。図 6 に示した通り、ST 型が異なるなど、遺伝的に遠縁の菌株同士の解析では SNP 解析の対象となる相同領域が大幅に減少してしまうため、異なる ST 型株はデータセットから除外することが重要である。

バイオインフォマティクス解析を自前で実施する場合は、デンマーク工科大学が提供している web ベースの解析フォーム Center for Genomic Epidemiology (<https://www.genomicepidemiology.org/>) が大変便利である。アカウント登録の必要はなく無料で使用できる。コマンドライン操作が不要で、初心者でも直感的に操作できる。

同 web サイト内の「MLST」を用いると、被検菌株の MLST 型を改めて確認できる。SNP 解析には「CSiphylogeny」を用いる。同一 ST 型を示す被検菌株の fastq ファイルあるいはコンティグ fasta ファイ

ルを一括アップロードし解析を実行すれば、施設内伝播検証に必要な菌株間ペアワイズ SNP 数や系統樹ファイルなど、各種ファイルが出力される。解析の混雑状況によるが、2-3 日以内に解析結果が得られる。現時点において本法で留意すべき点は、前述の通り、実験動物マウス由来黄色ブドウ球菌株における SNP 数の解釈基準が存在しないことである。実験動物マウス由来黄色ブドウ球菌株のゲノムデータの蓄積と関連研究の進展が待たれる。

そのほか、薬剤耐性遺伝子の保有状況を出力する「ResFinder」や病原因子関連の遺伝子保有状況を出力する「VirulenceFinder」などがあり、いずれの解析プログラムも次世代シーケンスデータを同 web サイト上でアップロードし、菌種名や解析条件を選択するのみで簡便に解析結果が得られる。同 web サイトは、黄色ブドウ球菌のほか、緑膿菌を含む多くの細菌種に対するユニバーサルなゲノム解析プラットフォームを提供している。

7. おわりに

実験動物マウスにおける黄色ブドウ球菌株の施設内伝播を全ゲノム解析で検証するには、SNP データ解析の基準構築が課題として残されている。それには、実験動物マウス由来菌株のゲノム情報とケーススタディの今後の集積が不可欠であるが、そのようにして飼育室間、研究施設間、あるいは国や地域間に跨る本菌の挙動が明らかになれば、本菌の感染対策上の位置づけも明確に決まってくるだろう。

実験者や飼育者が保菌する本菌のヒト宿主適応株が、免疫正常マウス系統に容易には伝播し定着しないことは既に知られている。しかし、免疫不全マウスの各系統でもその伝播および定着動向が同様であるかを示した過去の報告は見られず未解明のままで

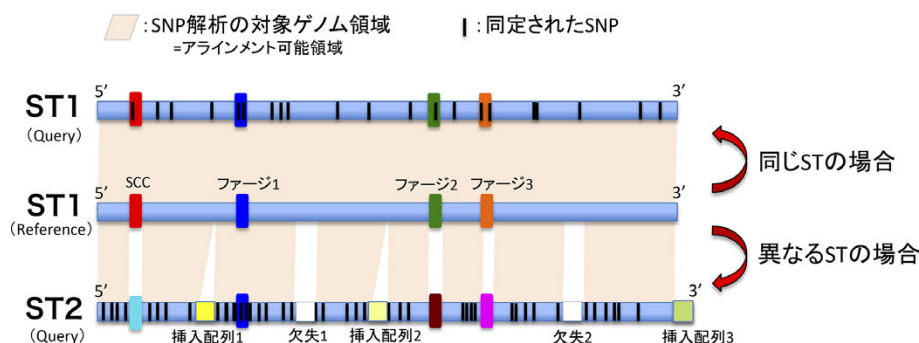


図 6 SNP (Single Nucleotide Polymorphism: 一塩基多型) 解析の概念図

SNP 解析では、レファレンスとする株と解析対象 (クエリー) 株のゲノム塩基配列間で塩基配列アラインメントが可能な相同領域を解析対象とする。同一 ST 型の菌株間では、外来獲得遺伝子配列 (SCC やファージ)、挿入・欠失配列が株間でほぼ同一であることが多く、SNP 解析の対象領域が広がる。一方、異なる ST 型の菌株間では外来獲得配列や挿入・欠失配列が双方で大きく異なるため、ゲノム中の SNP 解析対象領域が狭くなる。施設内伝播検証で SNP 数を解釈する場合、同じ ST 型を示す菌株のみを解析対象とするなど、ゲノム中の相同領域の割合 (%) を把握した上で数値比較することが重要である。

ある。これを明らかにする研究が進めば、各免疫不全マウス系統における宿主免疫の特定機構の欠落が、黄色ブドウ球菌クローン定着の許容度にどう影響するかが判明する可能性もあり、本菌のみならず常在菌と免疫との関連について新展開が見えてくるかもしれない。今後の本分野の発展を期待したい。

参考文献

1. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005 Dec;5(12):751-62. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4.
2. Weese JS, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol*. 2010 Jan 27;140(3-4):418-29. doi: 10.1016/j.vet-mic.2009.01.039.
3. Schulz D, Grumann D, Trübe P, Pritchett-Corning K, Johnson S, Reppschläger K, et al. Laboratory mice are frequently colonized with *Staphylococcus aureus* and mount a systemic immune response-note of caution for in vivo infection experiments. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017 May 2;7:152. doi: 10.3389/fcimb.2017.00152. eCollection 2017.
4. Holtfreter S, Radcliff FJ, Grumann D, Read H, Johnson S, Monecke S et al. Characterization of a Mouse-Adapted *Staphylococcus aureus* Strain. *PLoS One*. 2013 Sep 2;8(9):e71142. doi: 10.1371/journal.pone.0071142. eCollection 2013. PMID: 24023720
5. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2001 Apr 21;357(9264):1225-40. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04403-2.
6. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 2014 Oct;27(4):870-926. doi: 10.1128/CMR.00109-13.
7. Hiramatsu K, Ito T, Tsubakishita S, Sasaki T, Takeuchi F, Morimoto Y et al. Genomic basis for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Infect Chemother*. 2013. Jun; 45(2): 117–136. doi: 10.3947/ic.2013.45.2.117
8. Gerlach D, Guo Y, De Castro C, Kim SH, Schlatterer K, Xu FF et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* alters cell wall glycosylation to evade immunity. *Nature*. 2018 Nov;563(7733):705-709. doi: 10.1038/s41586-018-0730-x.
9. Takeuchi F, Watanabe S, Baba T, Yuzawa H, Ito T, Morimoto Y et al. Whole-genome sequencing of *Staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species. *J Bacteriol*. 2005 Nov;187(21):7292-308. doi: 10.1128/JB.187.21.7292-7308.2005.
10. 佐々木崇. 実験動物におけるブドウ球菌感染症の宿主特異性. 日本実験動物学会 実験動物ニュース. 2021. Vol. 70. No. 2 (2021 年 4 月) 64–70.
11. Trübe P, Hertlein T, Mrochen DM, Schulz D, Jorde I, Krause B et al. Bringing together what belongs together: Optimizing murine infection models by using mouse-adapted *Staphylococcus aureus* strains. *Int J Med Microbiol*. 2019 Jan;309(1):26-38. doi: 10.1016/j.ijmm.2018.10.007.
12. Kpeli G, Buultjens AH, Giulieri S, Owusu-Mireku E, Aboagye SY, Baines SL et al. Genomic analysis of ST88 community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Ghana. *PeerJ*. 2017 Feb 28;5:e3047. doi: 10.7717/peerj.3047. eCollection 2017.
13. Uehara Y, Sasaki T, Baba T, Lu Y, Imajo E, Sato Y et al. Regional outbreak of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST834 in Japanese children. *BMC Infect Dis*. 2019 Jan 9;19(1):35. doi: 10.1186/s12879-018-3646-z.
14. Köser CU, Holden MT, Ellington MJ, Cartwright EJ, Brown NM, Ogilvy-Stuart AL et al. Rapid whole-genome sequencing for investigation of a neonatal MRSA outbreak. *N Engl J Med*. 2012 Jun 14;366(24):2267-75. doi: 10.1056/NEJMoa1109910.
15. Harris SR, Cartwright EJ, Török ME, Holden MT, Brown NM, Ogilvy-Stuart AL et al. Whole-genome sequencing for analysis of an outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2013 Feb;13(2):130-6. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70268-2.
16. Tewhey R, Cannavino CR, Leake JA, Bansal V, Topol EJ, Torkamani A et al. Genetic structure of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300. *BMC Genomics*. 2012 Sep 25;13:508. doi: 10.1186/1471-2164-13-508.
17. Alam MT, Read TD, Petit RA 3rd, Boyle-Vavra S, Miller LG, Eells SJ et al. Transmission and microevolution of USA300 MRSA in U.S. households: evidence from whole-genome sequencing. *mBio*. 2015 Mar 10;6(2):e00054. doi: 10.1128/mBio.00054-15.
18. Acker KP, Wong Fok Lung T, West E, Craft J, Narechania A et al. Strains of *Staphylococcus aureus* that colonize and infect skin harbor mutations in metabolic genes. *iScience*. 2019 Sep 27;19:281-290. doi: 10.1016/j.isci.2019.07.037.
19. Katayama Y, Baba T, Sekine M, Fukuda M, Hiramatsu K. Beta-hemolysin promotes skin colonization by *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 2013 Mar;195(6):1194-203. doi: 10.1128/JB.01786-12.

20. Zuo H, Uehara Y, Lu Y, Sasaki T, Hiramatsu K. Genetic and phenotypic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among Japanese inpatients in the early 1980s. *Sci Rep*. 2021 Mar 8;11(1):5447. doi: 10.1038/s41598-021-84481-6.
21. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995 Sep;33(9):2233-9. doi: 10.1128/jcm.33.9.2233-2239.1995.
22. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2000 Mar;38(3):1008-15. doi: 10.1128/JCM.38.3.1008-1015.2000.
23. Frénay HM, Bunschoten AE, Schouls LM, van Leeuwen WJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Verhoef J et al. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996 Jan;15(1):60-4. doi: 10.1007/BF01586186.
24. Sasaki T, Tsubakishita S, Tanaka Y, Sakusabe A, Ohtsuka M, Hirotaki S et al. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *J Clin Microbiol*. 2010 Mar;48(3):765-9. doi: 10.1128/JCM.01232-09.

第71回日本実験動物学会総会（大会）を終えて

第71回日本実験動物学会総会

大会長 浅野雅秀

京都大学大学院 医学研究科 附属動物実験施設

第71回日本実験動物学会総会（大会）を2024年5月29日（水）～31日（金）の3日間、「みやこめっせ」と「ロームシアター京都」におきまして開催いたしました（写真1）。日本実験動物研究会の時代を含めると、京都での開催はこれで5回目となります。第62回総会（2015年、喜多正和大会長）のあとを受け、9年ぶりに京都で開催することができ、たいへん光栄なものと存じます。本学会も年々、参加者や企業展示の規模も大きくなってきましたので、今回は「みやこめっせ」と「ロームシアター京都」という広めの会場を準備致しました。新型コロナウイルス感染によるパンデミックも終焉し、以前と同じような活気ある大会が開催できたのではないかと考えております。参加者は招待者も含めて約1,260名でそのうち海外からの参加者が80名を超えました。例年に比べて海外、特に韓国からの参加者が多く、京都での開催が影響したのかもしれませんが。

本大会では「科学技術と医療の革新が交差する、実験動物学の新時代」というテーマを掲げ、企画をさせていただきました。通常総会の後は学会賞授賞式・受賞講演があり、功労賞は落合敏秋先生と山田靖子先生、安東・田嶋賞は真下知士先生、奨励賞は渡邊正輝先生が受賞されました（写真2）。また、最優秀論文賞3名、国際賞5名、優秀発表賞3名の受賞もあり、本学会を基盤に活躍されてきた方々が表彰されました。

特別講演として、京都大学の斎藤通紀先生に「生殖細胞発生機構の解明とその試験官内再構成」について、大阪大学の長田重一先生に「細胞膜におけるリン脂質フリッパーゼとスクランブラーゼ」について、最先端の講演をしていただき、多くの方に参加いただきました。また、韓国実験動物学会会長のJK Seong 先生には、Special Lecture from KALAS（Korea）として、「Molecular pathway of beneficial effect exercise in Germ Free mouse」の講演をしてもらいました。

シンポジウムは、日本実験動物医学会との共催の「ワンヘルスへの貢献～薬剤耐性の現状～」、大会企画の「記憶のメカニズム研究の新展開」、日本製薬工



写真1



写真2

業協会との共催の「3Rsの進展に寄与する動物実験技術におけるDx」、学術集会委員会企画の「実験動物を活用したがん研究の最先端」、実験動物感染症対策委員会企画の「免疫不全動物の感染症と微生物学的管理」、動物福祉・倫理委員会企画の「動物実験における3Rsの現在地：国際的なガイドラインと科学的な進歩、その運用について」、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクトとの共催の「新しい時代の実験動物バイオリソース」、そして日本実験

動物技術者協会との共催の「動物福祉を探究する新たな視点～こんなところにも動物福祉～」の8つを実施しました。学術的なものから動物福祉関連まで、本学会会員の様々な興味に対応できたのであれば幸いです。

LAS セミナーは例年通り3つの企画、「知りたい！実験動物 part3」、「動物の気持ちを理解する（行動解析）」、「いまから始めるバイオインフォマティクス」の講演があり、いずれも盛況でした。最終日の午後は市民公開講座「動物と学ぶ 動物園からアフリカのジャングルまで」を開催し、京都市動物園の山梨裕美先生に「京都市動物園の取組：野生と飼育下の動物の暮らしをサポートする」について、京都大学野生動物研究センターの伊谷原一先生に「日本の霊長類学略史と最後の類人猿（ボノボ）の社会」についての講演をいただき、実験動物とは異なる展示動物と野生動物のお話を伺い、たいへん参考になりました。

一般の発表は昨年度に引き続き、口頭発表とポスター発表の2本立てで行いました。近年の大きな学会では一般の口頭発表の機会がなくなってきており、本学会は修士の学生でも口頭発表ができる良い機会となりました。一般口頭発表は69演題、国際賞口頭発表は5演題、ポスター発表は149演題（優秀発表賞を含む）と多くの発表があり、活発な議論が行われました（写真3）。2年前から始まりました優秀発表賞は今年も28演題の応募をいただき、その中から選考された12演題による口頭発表が初日に開催され、素晴らしい発表ばかりでした。

情報交換会はホテルオークラ京都で開催し、350名ほどの参加をいただきました。京都大学オーケストラ部による弦楽四重奏の演奏が流れるなか開演となり、三好一郎理事長、浅野大会長、芹川忠夫元理事長の挨拶があり、恒例の鏡開きが行われました（写真4）。乾杯は喜多正和元大会長のご発声で行われ歓談がスタートしました。歓談半ばには優秀発表賞の授賞者3名が発表され、大いに盛り上がりました（写真5）。

最後に中国実験動物学会会長の Qin Chuan（秦川）先生からはビデオメッセージにより杭州でのAFLAS2025のご紹介があり、続いて第72回日本実験動物学会総会（名古屋大会）の長尾静子大会長からご挨拶をいただきました。

日本実験動物器材協議会のご協力による企業展示も十分なスペースを確保し、65社から123コマのブー

スの出展をいただきました。協賛企業からは、寄付（38社）、プログラム集広告（21社）、HP バナー広告（3社）、スクリーン広告（3社）、ホスピタリティー



写真3



写真4



写真5

ム（4社）、ランチョンセミナー（6社7回）、書籍展示など（4社）、ネームホルダー（1社）、コンgresパック（1社）など多大なご支援をいただき、本総会を開催することができました。子育て中の研究者のために託児室も準備しました。7名のご利用をいただき、子育て中の研究者のお役に立てて良かったです。

本大会は、関西実験動物研究会の先生方を中心に、組織委員会（近藤玄委員長）、財務委員会（桑原克彦委員長）、プログラム委員会（横井伯英委員長）、実行委員会（成瀬智恵委員長）などを担当いただき、総勢 70 名を超える皆様のご協力により開催することができました（写真 6）。この場をお借りして心より感謝申し上げます。来年は名古屋において第 72 回日

本実験動物学会総会が開催されます。再びみなさまとお会いできることを楽しみにしております。



写真 6

維持会員便り

— 社会に求められる企業を目指して —

株式会社レナテック
第一営業部 部長 早野富男

はじめに

はじめまして、株式会社レナテック第一営業部 光触媒除菌脱臭装置 責任者の早野富男と申します。この度は「実験動物ニュース」へ当社の紹介をさせていただき機会をいただき誠に有難うございます。

当社は1987年5月半導体製造装置関連メーカーからスピンアウトした同志数人で立ち上げた研究開発型ベンチャー企業です。

現在、「光触媒除菌脱臭事業」「半導体液晶関連事業」「ヘルスケア事業」の3つの事業を展開しており

ます。光触媒除菌脱臭事業では企業様向けの大型プラントから家庭用の小型機器まで揃え、利用する場所の除菌・脱臭を行い皆様の快適な空間作りに貢献しております。半導体液晶関連事業では製造の過程で必要な製品を取り扱っております。ヘルスケア事業におきましては、がんリスクスクリーニング検査【メタロ・バランス検査】を確立致しました。

1. 会社社屋、恒例行事、季節の花—この1年の紹介

当社は、神奈川県伊勢原市高森にあります。



社屋の外観



第一分析センター



第二分析センター



昼休みを利用して近くの桜の木の下でのお花見 (2024年4月)



レナテックガーデンのチューリップ (2024年4月)



近くの高森神社へ初詣 (2024年1月)



4年振りの忘年会 (2023年12月)



レナテックガーデンのツリー (2023年12月)



ウッドデッキに吊るした干し柿 (2023年10月)



収穫できたイチジクとブルーベリー (2023年9月)



念願だったウッドデッキでの流しそうめん (2023年7月)

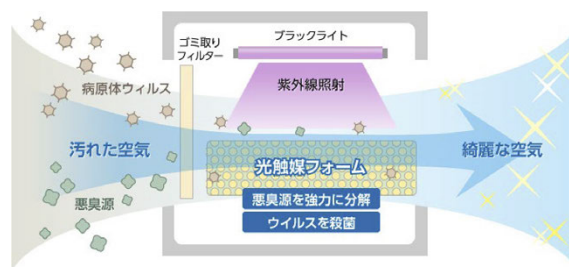


レナテックガーデンの紫陽花 (2023年6月)

2. 事業の紹介

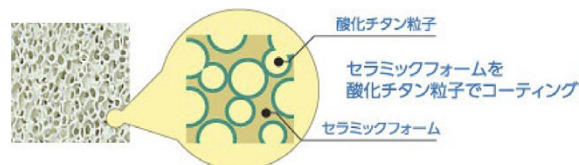
光触媒を除菌脱臭装置へ応用

光触媒を脱臭器へ応用するために当社では、多孔質セラミックを酸化チタンでコーティングしたものを脱臭装置に搭載しています。常に特定波長の光をセラミックに照射することで、空気がセラミックを通過すると同時に脱臭、浄化処理をします。



光触媒セラミックフォーム

特殊な技術を用いて、多孔質セラミックフォームを酸化チタンナノ粒子でコーティング。



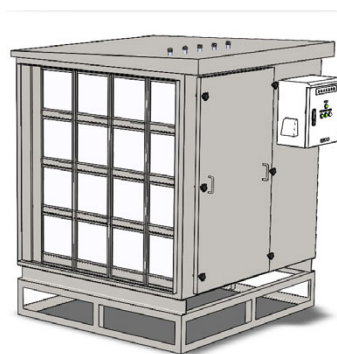
① 企業様向け大型光触媒除菌（ウイルス、菌、カビ）

脱臭装置（～40,000 m³/h）

ブラックライト（蛍光灯からLEDへ）→一般照明用の蛍光灯の製造・輸出入は2027年までに廃止されます。

LED化により、従来型（蛍光灯）より、「小型」、「軽量」、「低価格」、「省エネ」を実現！従来型同様、稼動したままメンテナンスが可能。

大手製薬会社をはじめ、各種工場のほか、動物飼育施設、汚泥処理設備等の施設で幅広く皆様にご利用いただいております。排気臭でお困りの際は、お気軽にご相談下さい。様々な処理風量に対応致します。

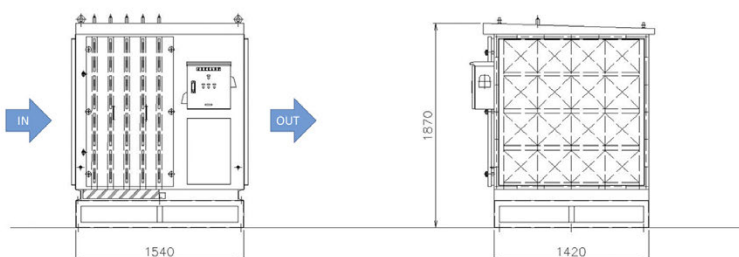


*10,000 m³/h

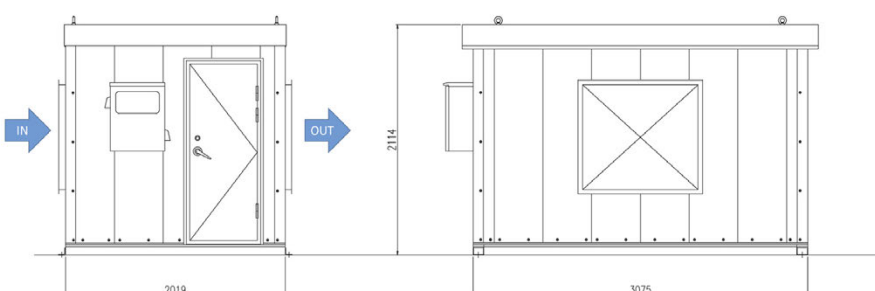


外形寸法比較（10,000 m³/h）

LED型



従来型（蛍光灯）



② ご家庭様向け小型光触媒除菌

(ウイルス, 菌, カビ) 脱臭機 QOL-FAN

大型光触媒除菌脱臭装置の高性能をそのままに家庭用仕様にコンパクト化を実現!

ご家庭, 動物病院, 介護施設, 医療施設等で幅広くみなさまにご利用いただいております。



型式	QOL-P (光触媒フォーム: 不織布)
風量	強: 約0.7m ³ /min 弱: 約0.3m ³ /min
電源	AC100V 50Hz/60Hz
消費電力	最大12W
寸法	W150×D180×H504mm
重量	約1.6kg



型式	QOL-MS (光触媒フォーム: セラミックフォーム)
風量	強: 約3.5m ³ /min 弱: 約1.0m ³ /min
電源	AC100V 50Hz用, AC100V 60Hz用 選択
消費電力	最大200W
寸法	W334×D458×H415mm
重量	約22.0kg

③ 動物の受託分析

ヒトのがんリスクスクリーニング検査の手法を利用して, マウス, ラット等の血清または血漿から微量金属の受託分析を行っております。マウス, ラット以外で分析してほしい動物, 上記以外の元素のご希望がありましたらご相談ください。

④ メタロ・バランス (MB) がんリスクスクリーニング検査

がんが発症している可能性を判別する新しい, 「メタロ・バランス (MB) がんリスクスクリーニング検査」を開発しました。

血液中の亜鉛など17種の微量元素濃度を測定し, 健康な人とがんである人の微量元素濃度のバランスの違いを統計的手法で解析する事で, 現在がんであるリスク (可能性) をスクリーニング (ふるい分け) 評価し, 自覚症状が出る前・より早い段階でのがん発見を目的とするまったく新しい検査です。

*この検査は, 採血時点でのがんのリスクを評価するものであり, がんであるか否かをはっきり判断 (確定診断) するものではありません。また, 1年後・2年後のがん発症を予測するものでもありません。

動物の微量金属の受託分析

分析金属は19種類 (同時に分析)



動物より採血した血液を
遠心分離していただき,
100μL (血清or血漿) を
冷蔵でお送りください。



Li (リチウム)	V (バナジウム)	Se (セレン)
Na (ナトリウム)	Mn (マンガン)	Rb (ルビジウム)
Mg (マグネシウム)	Fe (鉄)	Sr (ストロンチウム)
P (リン)	Co (コバルト)	Mo (モリブデン)
S (硫黄)	Cu (銅)	Ce (セリウム)
K (カリウム)	Zn (亜鉛)	
Ca (カルシウム)	As (砒素)	

* がん発症している動物の検体を
パッキングして送ります。送
信は必ずお名前・氏名・〒番号
を明記してください。

メタロ・バランス (MB) がんリスクスクリーニング検査

5mlの採血で男性6人女性9人の罹患リスク判別
クリニックでも簡単導入! 集患・増患効果!
導入はレナテックにお任せください。



Metallo-balance



令和5年度
神奈川県工業技術開発大賞
未来創出賞受賞

神奈川県では, 技術開発の奨励と技術開発力の向上を目的に県内の中堅・中小企業が開発した優れた工業技術・製品を表彰しています。その中でも, 未来創出賞は社会的効果が特に優れた技術・製品に送られます。



2023年12月20日 神奈川県知事より表彰されました。



2024年4月15日 神奈川県知事より表彰されました。

この度, 神奈川県の未病の見える化や未病の改善につながる優れた商品やサービスを選出する「ME-BYOBAND」に「メタロ・バランス検査」が認定されました。

⑤半導体事業

半導体事業では、従来の半導体で使用されている溶剤に比べて、火災の危険性が低く、また毒性の低い有機溶剤である、レジスト剥離剤を取り扱っています。また、このレジスト剥離剤を用いた治具洗浄装置の製造販売を行っております。

3. おわりに

以上、弊社の事業の紹介をさせていただきました。

実験動物環境において動物飼育室からの排気臭は気になるところです。

すでに説明させていただいておりますが、(株)レナテックは将来を見据えた光触媒除菌脱臭装置に使用するブラックライトを蛍光灯からLEDにする事で、「小型」、「軽量」、「低価格」、「省エネ」を実現しております。

臭いでお困りの場合は、お気軽にご相談下さい。

また、動物の血液（血清 or 血漿）の微量金属を分析してほしい等、ご希望がございましたら、お気軽にご相談ください。

今後ともどうぞ宜しくお願い申し上げます。

会員便り

3Dプリンターの活用とオリジナルのツールができるまで

公益財団法人実中研
塚本晃海

はじめに

はじめまして、塚本晃海（ゆりもとてるみ）と申します。実中研のマーモセット医学生物学研究部に現在所属しています。この度は、鳥取大学医学部の吉村祐貴先生からバトンをつなぎまして、会員便りを執筆させていただくこととなりました。吉村先生とは部署は違いましたが実中研で2年ほど一緒に過ごしたご縁で紹介いただきました。私は麻布大学の獣医学部獣医学科をでた後に、東京大学大学院医学系研究科の医用生体工学講座で博士課程を修了しました。学部生時代には獣医師の卵として生物の勉強を頑張り、博士課程では血液ポンプや人工心臓の研究のために、機械設計、機械工作、流体力学、プログラミング、センサーの計測と解析手法など、今の研究の基礎となる本当にたくさん勉強させていただきました。そして、この博士課程で初めて動物実験にも本格的に参画させていただきました。このときのヤギを用いた大型動物の動物実験ではチーム一丸となった仕事をさせていただき、非常に良い経験、いい思い出となっています。現在、実中研の一員として、マーモセットの獣医、非侵襲的な行動解析手法の研究開発、脳機能計測のためのデバイス作製と多岐にわたった活動ができているのも、これまでに知識や技術を教えていただきました先生方や、いろいろなことに取り組むことを許して下さっている周りの先生方のおかげですので、みなさまには大変感謝しております。研究の方でもいろいろなことに手を出していることからわかるように私生活でもいろいろなことに手を出しています。例えば、魚、両生類、爬虫類の飼育、苔や観葉植物の育成、カメラ、画像編集、3DCAD設計、ドローン、漫画、ゲーム、仮想通貨などいろいろなことをして日々遊んでいます。この執筆は何を書いてもいいと言われてしますので、何を書こうか非常に迷いましたが、過去の記事を拝見したところ、みなさま非常に有用な情報を出されていたので、私もみなさまの興味を引くべく、趣味兼研究の実務にも使っている3DCAD設計と、3Dプリンターについて

紹介しようと思います（ここ2,3年では話題になっていなかったの、ちょうどよいかと思いました）。他の趣味について興味ある方がおられましたらぜひ実験動物学会でお声がけください。

3Dプリンターでのものづくり

3Dプリンターが話題になり、最近は3Dプリンターで建てられた家もあるなどニュース¹になっている一方で、私個人的には3Dプリンターでなんでも作るような同士の会うことはなく、話題になっているほどに3Dプリンターが世界を変えている印象はありません。プログラミングなどと比較するとまだまだ情報は少なく、周りにものづくりをしている先輩がいない場合には、最初の1歩目のハードルが非常に高いという印象です。それでも3Dプリンターは従来の削り出しや曲げ等の加工と比べるとボタンを押すだけでいいので、専門的な知識や設備もいらず、怪我などの危険性もほとんどありませんし、最近は無料で優秀、高機能なソフトウェアも出てきていますので、敷居は段々と下がってきていると思います。3Dプリンターでの工作は、部品の歩留まりがあまり良くないため、大掛かりなものの作製や大量生産には向いていませんが、ここにカメラを安定して置きたいといったアイデアや、顕微鏡に大きめのシャーレがピタッとハマるようなステージを作りたいなど、自分だけが欲しい1点物を試行錯誤しながら形にすることができますので、研究との関連性が非常に高いスキルだと思います。特にメジャーではない実験動物を扱っている場合には専用の器具が見つからないことがほとんどですので、こんなものがあつたらいいというアイデアを3Dプリンターで叶えることもできます。また、設計作業は非常にクリエイティブな作業ですので、単純作業や、事務書類の作成といった気が進まない作業のいい息抜きにもなります。私はこれまでにMRIにピッタリ入るマーモセット用の保定器^{2,3}や真空採血管が転がらないようにするホルダー（図1）などを3Dプリンターで作りました。特に

この採血ホルダーは所内では活躍しているのですが、学会等で発表することはありませんので、このホルダーが出来上がるまでの作業の流れをせっかくなのでこちらで紹介させていただきます。

① 3DCAD ソフトの準備

3Dデザインをするためには、3DCADソフトをインストールする必要があります。CADはComputer Aided Designの略で、コンピューターを使って図面を書くことをいいます。CADには2次元と3次元のものがあるのですが、3Dプリンターでものを作る時には3DCADのみで大丈夫です。おすすめの3DCADソフトはAutodeskのFusion⁴です。というか今はこれ以外の選択肢はありません。Fusionは商用利用しない場合は無料ですし、大学の場合にはアカデミックプランもあります。Fusionをインストールするところまではネットにたくさんの情報⁵がありますので、そちらをご参考ください。

② Fusion による設計の流れ

さて、ソフトウェアがインストールできればいよいよ設計をします。簡単な図形の場合にはいきなり書き始めることができるのですが、私は簡単な絵と、絶対に守らなければならない長さや、決定事項を紙に下書きします。この採血ホルダーの場合には、真空採血管のソケットが逃げないようにソケットのはめ方の予定(図2)と、大体の横からの図と後ろからの図を書きました。続いて、一番大きな構成要素を最初にCADの中に書きます。そしてその要素に他の要素を付け足していく、または他の要素で削っていくという方法で少しずつ理想の形にしていきます。Fusionには本当にたくさんの機能があるのですが、「押し出し」と「回転」だけでほぼすべてのものが出来上がりますので、なれないうちはその2機能だけを使

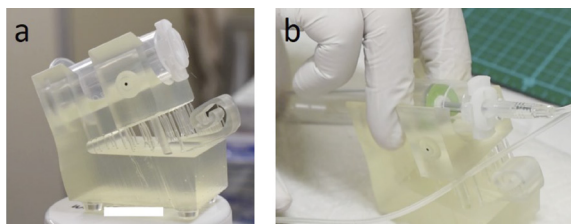


図1 今回紹介する真空採血管ソケット用のホルダー
真空採血管ソケット(テルモ ベノジェクトIIホルダーD、白色透明のパーツ)が採血中に不安定なため、手元を見なくとも安定した採血ができるように作成したホルダー (a)。実際の採血時での使用例 (b)。

用するのでもいいと思います。実際に手元にあるボールペンやコップなど色々なものを見てみても、大体のものは単純な構成要素の組み合わせからできていることが分かります。今回の真空採血管ホルダーでは、大きな形状は直方体で、その直方体からソケットの形状の円柱をくり抜き、ソケットの固定が安定するように爪をつけました(図3)。

③ 試作品のプリントと修正

この後ホルダーは2回作り直した(図4)のですが、ある程度できた段階で一緒に使用する人にみてもらう、または一度3Dプリントをしてみて触ってみるといいと思います。出力すると、考えていなかった部分が目に見えてきますし、使いにくい、微妙にフィットしない部分を軌道修正する方針がたちます。手元に3Dプリンターがある場合には、大抵のものは1晩で完成しますので、図面を書いて気持ちが温まっている状態ですぐに実機を確認することができます。これが3Dプリンターの醍醐味ですね(外注した場合には数ヶ月かかることもよくありますので、納品されたときには設計の詳細は忘れてしまっています)。

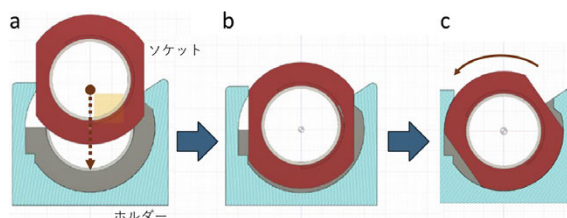


図2 ソケットの固定方法の案

上からソケットを差し込み(a, b)、回転させる(c)ことでソケットがホルダーから外れないようにする。

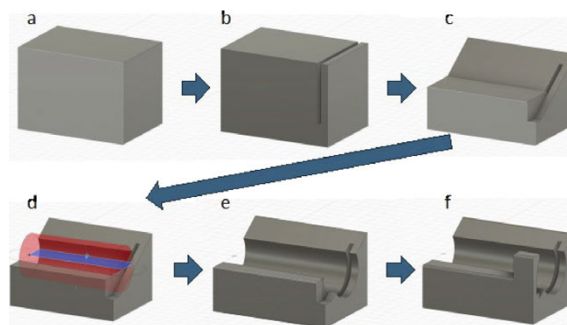


図3 3次元図面の設計手順による変化

a-fの順で設計が進んでいく。最初に作った直方体(a)から順に削っていき(b, c)、真空採血管のソケットのサイズを切り取る(d, e)。最後にソケットをホールドするための爪を付けた(f)。

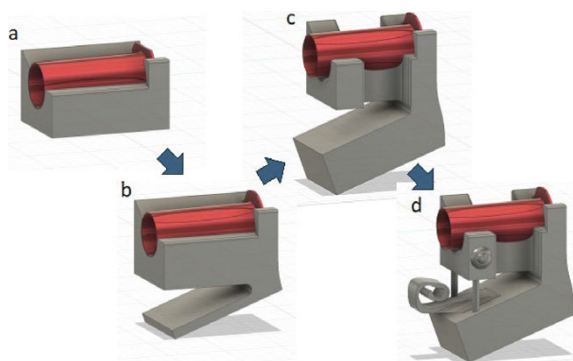


図4 ホルダーの修正によるデザインの変化

当初の設計 (a) に角度をつけ (b)、指をいれる用のつばと高さを出すための形状の変更をした (c)。最後に形状からカメレオンに似せたデザインをつけた (d)。dの形状を3Dプリントしたものが図1である。灰色：作成したホルダー、赤色：真空採血管ソケット。

3Dプリンターを出力するためには、Fusionのそのままの形式ではなく、一度STLファイルに変換します。Fusionの「メッシュで保存」を選択して、STLファイルをエクスポートします。3Dプリンターのソフトは使用する3Dプリンターの機器によって異なりますので、割愛しますが、大抵の3DプリンターのソフトはSTLファイルを読み込めるといいます。

少し脱線しますが、我々は、FormlabのForm3, 3Lを使っています。3Dプリンターの方式には色々あるのですが、私は光造形が一番使いやすいと思っています。サポート材を後で切り取る作業は大変なのですが、精度はかなり良いです。ただ、付属の硬化用の機械だけだとベタつきが残りますので、よく晴れた日に屋外でしっかりと硬化させるといいと思います。

ホルダーを3Dプリンターで出力すると、i) 角度をつけたいこと、ii) 持ち手用のつばが欲しいこと、iii) ソケットとの干渉、iv) 意外と滑るのでその対策、の4つの改善が必要とわかりました。角度とつば、干渉の3つの改善点については、3次元図面上で解決しました。特にiii) のソケットとの干渉は試作品の現物合わせをすることで初めてわかりますので、既存の製品と組み合わせをする場合には詳細な形状のズレを現実世界で検証することが必須です。改めて長さを測り、i), iii) を解決しました。また、ii) に対しては、より使いやすくするために、使用時には人差し指と中指でホルダーを抑え、親指で採血管を押し込むという形状に改良しました (図1b参照)。iv) の滑る問題については、図面の改善によって解決することが難しかったので、使用する先生からアドバイスを

頂き、100円ショップの滑り止めのゴムを貼り付けることで解決しました (図1a参照)。ここまで出来あがったときに、形状がカメレオンに似ているなど思いましたので、機能的には全く関係のない目と舌を付け足して完成です。

終わりに

このように3D設計と3Dプリンターを活用することで、自分の研究や身の回りの業務で使うちょっとしたものを手軽に作ることができます。外注するとたしかにきれいなクオリティのものはできますが、試作品や、業務上なくてもいいけどあると便利なものには、工業製品のハイクオリティは必要ありませんので、無骨な見た目でも役目を果たしてくれるものを手に入れることができます。今回は全体の流れのみの紹介で、具体的なスケッチの書き方については触れていません。この記事だけでは3DCADを使いこなせるようにならないと思いますが、設計から完成までの流れとキーワードは入れ込みましたので、この記事が3Dプリンターや3DCADに挑戦してみたい方のきっかけとなれば幸いです。

参考文献

1. 一般向け 3D プリンター住宅、水回り完備 550 万円で販売開始！ 44 時間 30 分で施工、シニアに大人気の理由は？ 50 平米 1LDK・二人世帯向け「serendix50」<https://suumo.jp/journal/2023/09/14/197979/>
2. Development of a non-invasive novel individual marmoset holder for evaluation by awake functional magnetic resonance brain imaging. Fumiko Seki, Terumi Yurimoto, Michiko Kamioka, Takashi Inoue, Yuji Komaki, Atsushi Iriki, Erika Sasaki, Yumiko Yamazaki. bioRxiv 2023.12.21.572749; doi: <https://doi.org/10.1101/2023.12.21.572749>
3. Development of a noninvasive olfactory stimulation fMRI system in marmosets. Terumi Yurimoto, Fumiko Seki, Akihiro Yamada, Junnosuke Okajima, Tomoyuki Yambe, Yoshiaki Takewa, Michiko Kamioka, Takashi Inoue, Yusuke Inoue, Erika Sasaki. bioRxiv 2024.04.21.590223; doi: <https://doi.org/10.1101/2024.04.21.590223>
4. Autodesk Fusion 公式ページ <https://www.autodesk.co.jp/products/fusion-360/overview?term=1-YE-AR&tab=subscription>
5. 無料でも使える高機能 3DCAD Fusion 360 のインストール手順 . <https://cad-kenkyujo.com/fusion360/install/>

会員便り

学生生活を振り返って

鳥取大学大学院 医学系研究科 染色体医工学講座
下谷和人

はじめまして。鳥取大学の染色体医工学講座に所属しています、博士後期課程2年の下谷和人と申します。この度は、自然科学研究機構生命創成探究センターの山崎匡太郎先生のご紹介で、実験動物ニュースの会員便りを執筆する機会をいただきました。何を書こうかと迷い、過去の会員だよりを読んでいたところ、多くの方がご自身の研究テーマや波瀾万丈な研究生生活などについて書いており、その熱意や行動力に圧倒されました。それに比べて、自分にはそのような経験が少ないことに気づき、全く筆が進みません笑。そこで、「筆が乗らない時」とGoogleで検索してみました。すると、多くの記事に「とりあえず書き始めることが大事」と書いてありました。確かにその通りだと思い、とりあえず書き始めてみることにします。学生生活もそろそろ終わりを迎えるので、この機会にこれまでを振り返ってみたいと思います。

私は鳥取県で生まれ育ちました。皆さんは鳥取県と聞いて何を思い浮かべますか？松葉蟹や二十世紀梨は美味しいですね。さらに、『ゲゲゲの鬼太郎』や『名探偵コナン』の作者も鳥取県出身です。しかし、ほとんどの方がまず思い浮かべるのは鳥取砂丘だと思います(写真1)。実際、私もそうです。私の家は鳥取砂丘から歩いて行ける距離にありました。そのため、な

んと小学校から高校までの12年間、毎年遠足は砂丘に行きました。砂丘では鬼ごっこやかくれんぼ、ドッジボールなどをして遊びました。ただ、やはり砂しかないので本当にやる事が無さすぎて友達とゴミ拾いをしていた年もあります。夏は特に暑くなるため、観光でお越しの際は熱中症にご注意ください。また、近くには展示物がすべて砂で作られた「砂の美術館」がありますので、お越しの際はこちらもぜひ訪れてみてください(写真2)。

高校を卒業後、私は1年間京都で浪人生活を送り、その後鳥取大学に入学しました。鳥取県の高校生の多くは都会に憧れ、県外の大学に進学します。しかし、浪人中に人の多さに疲れてしまい、都会は自分に向いていないと感じて地元に戻ることに決めました。

4月は、様々なサークルが新歓を行います。私は小学校から高校までずっとバスケットボールをしていたので、大学では何か新しいことに挑戦したいと漠然と考えていました。そんな時、強く誘われたのがアカペラサークルでした。アカペラは4～6人程度の少人数で、楽器を使わずに曲を演奏するものです。私は歌うことがあまり得意ではなく、カラオケも好きではありませんでした。そのため、誘われた当初はアカペラがどのようなものかよく分かっていませんでした。



写真1 鳥取砂丘
鳥取市観光サイト【公式】ホームページより



写真2 砂の美術館



写真3 自分たちで立ち上げたアカペライベント「だるずアカペラ」

たが、流れに身を任せてアカペラサークルに入部しました。そして2年生に進級するタイミングで、私たちは「渡米」しました。鳥取大学は約100 kmも距離がある鳥取市と米子市にそれぞれキャンパスがあり、鳥取キャンパスには様々な学部があり、米子キャンパスには医学部があります。私は医学部の生命科学科に所属しており、1年間鳥取キャンパスで教養を学んだ後、米子キャンパスに移り、医学部の専門科目を学びます。この移動を私たちは「渡米」と呼んでいます。実は、鳥取市と米子市の間にはハワイ（羽合町、現在は市町村合併で湯梨浜町）があり、「渡米」という言葉は個人的に結構好きです。

2年生になると米子キャンパスで再び新歓が行われます。しかし、米子にはアカペラサークルがなく、せっかくアカペラの楽しさに気づいたのに、もうでないのかと残念に思いました。そのとき、ふと「自分でサークルを立ち上げればいいのか」と思いつきました。しかし、そもそもサークルの作り方も分かりませんでしたし、「一年しかアカペラをしていない初心者がサークルを作っているのか？」「人が集まらないのでは？」といったネガティブな考えが浮かびました。そんな迷いの中で、季節は冬になっていました。しかし、アカペラを続けたいという気持ちは変わりませんでした。それに加え、将来、同じようにアカペラを続けたいと願う後輩たちのために場所を作りたいという思いもありました。そして、同期や後輩に声をかけ、米子でアカペラサークルを立ち上げることにしました。初めてのことでばかりでうまくいくかは分かりませんが、問題が起きたらその時に考えればいいのかという気持ちでした。2年も続けば上出来だろうと考えていました。



写真4 横浜で参加したアカペライベント「50Fes」

それからもう5年が経ちました。サークル設立時は学部3年生だった私も、現在博士後期課程の2年生になりました。部員は当初の8人から40人以上に増え、米子キャンパスとしては規模の大きいサークルになっています。時々県のイベントなどから演奏依頼を受けることもあります。予想以上に順調に進んでおり、私自身驚いています。これはひとえに後輩たちの努力の結果です。私もまだ学生としてサークルに所属していますが、後輩たちからは「いつまでいるのだろう」と思われているらしいです笑。昨年、米子では初めてとなるアカペラの路上ライブイベントを仲間と企画して立ち上げました(写真3)。このイベントは年に1回の開催を予定しています。また、岡山、広島、横浜など各地で開催されているアカペライベントにも参加したりしています(写真4)。現在も週に1回程度の練習、たまに本番という形でアカペラライフを楽しんでいます。

ここまで研究の話は全くしてきませんでした、すみません。私は主に染色体工学技術を用いた動物の作製とその評価をメインで行っております。これらについては、前回の山崎先生の会員日よりや、その前の飛知和さんの会員日より、「実験動物ニュース2023年Vol. 72 No. 4特集：ヒト化動物の最新研究」に詳しく書かれていますので、ぜひご一読ください。私は学部時から様々なものに結合できる「抗体」という分子に魅力を感じていました。当時は抗体は何にでも結合できる性質を持っているのだから、それを活用すればどんな病気でも治療薬を作る事ができるのではないかと安直に考えていました笑。そのため、抗体作製に関わる研究として、ヒトの抗体遺伝子が導入されたマウスによる抗体作製に魅力を感じ、現在の研究室への配属を希望しました。現在は染色体工学技術によるヒト抗体遺伝子座全長が導入されたマウスの作製と機能評価、抗体取得技術の開発といった研究に取り組んでいます。

実験動物学会について知ったきっかけは、2022年11月に鳥取大学米子キャンパスで開催された「第10回実験動物科学シンポジウム」でした。当時、博士前期課程2年だった私は、会場準備や質疑応答の際のマイク係を務めていました。先生方の非常に興味深い発表を聴き、実験動物の可能性をこれまで以上に強く感じ、学会に参加したいと思うようになりました。そこで、教授の香月先生に実験動物学会への参加をお願いしたところ、快く承諾してくださいました。そして翌年、筑波で開催された第70回日本実験動物学会総会に参加し、ポスター発表を行いました。様々な実験動物についての話を大変興味深く聞くことがで

きました。今年、京都で開催された第71回日本実験動物学会総会では、初めての口頭発表で非常に緊張しましたが、ありがたいことに優秀発表賞をいただくことができました(写真5)。後から知ったのですが、香月先生も13年前の第58回総会で同じ賞を受賞されていたようで、教授と同じ賞をいただけたことを誇りに思いました。

その後、先斗町で学会に参加したメンバーにお祝いをしていただきました(写真6)。鴨川が見えるおしゃれなテラスで飲んだビールはとても美味しかったです。学会終了後、帰りの新幹線まで時間があつたので、浪人中に過ごしていた出町柳駅周辺を散策しました。景色は8年前とほとんど変わっていませんでしたが、その当時とは街の印象が少し違って見えました。

大学受験の時は、とにかくたくさん勉強していました。特にセンター試験(現在は共通テストというらしいですが)は失敗すると志望校を変えせざるを得なくなるため、昔の過去問まで遡って対策しました。受験勉強は確かに大変でした。もう二度と受験生には戻りたくありません。しかし、本を読むのが好きだった私にとって、国語の現代文は息抜きのような存在でした。センター試験の問題文として選ばれる文章は非常に興味深く、読むのが楽しいものや考えさせられるものに出会うことができました。特に、2014年の追試で出題された田島正樹の「正義の哲学」は印象深く、今でも時々思い出します。もしかすると



写真5 優秀発表賞をいただいた時の写真
三好先生（真ん中）から賞状をいただいた私（右）



写真6 先斗町での写真
左から香月先生、私、同期の岸間さん、一つ先輩の飛知和さん

同世代の方々も多くが読んだことがあるのではないのでしょうか。以下に一部引用します。

“「決断」については、誤解されていることが多い。AかBか（Aか非Aか）いずれも決断し得るものと思われよう。しかし、本当はいずれか一方だけが本当の決断であり得、他方は単に決断の回避でしかないのだ（両方が決断の回避である場合もある）。（省略）決断を回避するという誤った「決断」をした者たちにとって、事態は相変わらずあいまいなまま仮象の可能性を帯びたままであり、己れの不決断の本質が見えないのに対し、決断した者のみが事後的に己れの決断の真の意味を認識するのだ。”

この文章は、志望校を決めるという人生の重要な決断を前にしていた私にとって衝撃的でした。本当の決断をした者だけが、その決断が正しかったことを知ることができ、決断を回避すると「あの時こうしていれば」と後悔を引きずり、モヤモヤしながら過ごしてしまうというのです。実際に、そういった場面はこれまでもありました。「サークルを設立する」というのも一つの決断でした。もし決断していなければ、多分モヤモヤしながら過ごしていたでしょうし、実験動物学会に行きたいと申し出なかったら（シャ

イな私にとっては初めてのことでした笑）、このような貴重な経験もできていなかったと思います。

大学院生は特に、進学か就職か、アカデミアか企業かといった選択を迫られることが多いように思います。しかし、どちらかが誤った決断というわけではないように思えます。決断の正しさは後になって初めてわかるものであるならば、何を基準に選択すればよいのでしょうか。著者は、「決断の根拠は与えられないが、愛や自由、正義といった未来への行動のひな形に身を委ねるしかない」と続けています。これは、愛や自由、正義のような自分の価値観に基づいて選択することが大切であり、どの選択肢が正解かどうかは人それぞれ異なるという意味だと自分は解釈しました。

私も現在博士後期課程2年になり、長かった学生生活が終わりを迎えようとしています。そして、大きな人生の岐路に立たされています。決断を「回避」することはもしかしたら簡単かもしれませんが、どのような結果になるかはわからない中でも、自分にとって面白そうと感じた方向、心がワクワクする方向に進んでいきたいと思っています。

他学会情報

公益社団法人日本実験動物協会の動き

I. 第40回定時総会、第1回臨時理事会

本協会は令和6年6月14日に第40回定時総会を日本教育会館で開催し、令和5年度決算を承認しました。貸借対照表は当協会のホームページに掲載します。

また、任期満了に伴い次期役員（令和6～7年度）を選任しました。次いで開催された理事会にて役職を次のとおり決定しました。

◇役員

会 長：久和 茂（新任、代表理事）

副 会 長：木本重信（新任、代表理事）、外尾亮治（業務執行理事）、黒木宏二（業務執行理事）

常務理事：櫻井 保（業務執行理事兼事務局長）

理 事：森安政史（新任、業務執行理事）、齋藤敏樹（業務執行理事）、椎橋明広（業務執行理事）、
三宅誠司（業務執行理事）、新井健史（新任）、小倉淳郎（新任）、北村 典、清水何一、
武石 勝、中野洋子、山本恵司（新任）

監 事：夏目知佳子、村松久美子

更に、総会において、永年にわたり役員として貢献された以下の方々に役員功労賞を贈呈しました。

福田勝洋氏（会長）、吉川泰弘氏（副会長）、武石悟郎氏（常務理事）、

新井秀夫氏（理事）、関口富士男氏（理事）

このほか、委員功労賞を林元展人氏及び阿部敏男氏に、また、職員功労賞を畔上二郎氏に贈呈しました。

II. 実験動物技術者資格認定試験

1. 2級 学科試験 8月4日（日） 実技試験 11月23日（土）

2. 1級 学科試験 9月14日（土） 実技試験 11月24日（日）

III. 各種実技研修会について

1. 微生物モニタリング技術研修会

開催予定日: 令和6年7月12日（金）～13日（土）

開催場所: 公益財団法人実中研

2. 実験動物基本実技研修会（1級及び2級水準）

開催予定日: 令和6年8月24日（土）、25日（日）

開催場所: 日本獣医生命科学大学

3. 実験動物高度技術者養成研修会（白河研修会）

開催予定日: 令和6年9月11日（水）～13日（金）

開催場所: （独）家畜改良センター中央畜産研修施設

（その他、実験動物技術者資格認定試験及び研修会の詳細については、

日動協ホームページ <https://www.nichidokyo.or.jp/> をご覧ください。）

日本実験動物学会からのお知らせ

公益社団法人日本実験動物学会 令和6年度第1回理事会議事録

1. 開催日時

令和6年5月10日（金）13:30～15:20

2. 会場

東京大学弥生講堂アネックス

東京都文京区弥生 1-1-1

3. 理事現在数及び定足数並びに出席理事数及びその氏名

理事現在数 20名 定足数 11名

出席理事数 17名

三好一郎, (理事長), 久和 茂 (理事長代行),
岡村匡史, 角田 茂, 國田 智, 高橋英機 (以
上, 常務理事), 浅野雅秀, 伊川正人, 池 郁生,
越本知大, 佐々木宣哉, 高橋 智, 高橋利一,
三浦竜一, 森松正美, 山田久陽 (以上, 理事)

欠席理事数 3名

佐加良英治, 塩谷恭子, 吉木 淳 (以上, 理事)

4. 監事現在数及び出席監事氏名

監事現在数 2名

出席監事数 2名

下田耕治, 渡部一人 (以上, 監事)

5. その他の出席者氏名

長尾静子 (第72回大会長 藤田医科大学)

莊 一隆, 小島美穂 (以上, 税制経営研究所)

三枝順三, 三國ミサ, 久保田久代 (以上, 事
務局)

6. 議長の氏名

三好一郎

7. 議題

〈審議事項〉

第1号議案 令和5年度事業報告について

第2号議案 令和5年度収支決算報告並びに
監事監査報告について

第3号議案 令和6-7年度役員の選任について

第4号議案 令和5年度下半期新入会員について
〈報告事項〉

1. 令和5年度委員会活動報告並びに令和6年度
委員会活動計画

〈その他〉

1. 第72回大会長による挨拶と大会概要説明

2. 第71回大会長による挨拶と大会概要説明

8. 理事会の議事内容及び経過

(1) 定足数の確認

冒頭で高橋英機庶務担当理事が定足数を確認
し, 議長が本会議の成立を宣言した。

(2) 議案の審議状況及び議決結果等

第1号議案 令和5年度事業報告について

國田庶務担当理事より審議資料1について説
明があり, 令和5年度事業報告案が原案通り
承認された。

第2号議案 令和5年度収支決算報告並びに監
事監査報告について

角田会計担当理事及び下田監事より審議資料
2について説明があり, 令和5年度収支決算
報告案並びに監事監査報告案が原案通り承認
された。

第3号議案 令和6-7年度役員の選任について

三好理事長から審議資料3について説明があ
り, 令和6-7年度役員候補者が原案通り承認
された。

第4号議案 令和5年度下半期新入会員について

三好理事長から審議資料4について説明があ
り, 令和5年度下半期新入会員が原案通り承
認された。

(3) 報告事項

1. 令和5年度委員会報告並びに令和6年度委員
会活動計画が各担当理事もしくは代理人から
報告された。

編集委員会 (高橋 智委員長)

学術集会委員会 (伊川正人委員長)

財務特別委員会 (高橋利一委員長)

国際交流委員会 (代理 高橋英機理事)

広報・情報公開検討委員会 (山田久陽委員長)

動物福祉・倫理委員会 (代理 國田 智理事)

定款・細則・規定等検討委員会

(佐々木宣哉委員長)

実験動物感染症対策委員会（池 郁生委員長）
教育研修委員会（佐々木えりか委員長）
実験動物管理者研修制度委員会
（森松正美委員長）
人材育成委員会（三浦竜一委員長）
将来検討委員会（浅野雅秀委員長）
動愛法等対策委員会（代理 三好一郎理事長）
外部検証委員会（越本知大委員長）

(4) その他

1. 長尾静子第 72 回大会長より大会概要が報告された。
2. 浅野雅秀第 71 回大会長より大会準備概要が報告された。

以上をもって議案の審議を終了した。

15 時 20 分に閉会を宣言し解散した。

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

令和 6 年 5 月 10 日

公益社団法人日本実験動物学会 令和6年度第2回理事会議事録

1. 開催日時

令和6年5月30日（木）17:00～17:30

2. 会場

みやこめッセ B1F 会議室3（特別展示場B）

3. 理事現在数及び定足数並びに出席理事数及びその氏名

理事現在数 20名 定足数 11名

出席理事数 18名

岡村匡史, 小倉淳郎, 久和 茂, 國田 智,
越本知大, 佐加良英治, 佐々木えりか,
塩谷恭子, 高橋英機, 高橋 智, 竹尾 透,
中村紳一朗, 夏目知佳子, 成瀬智恵, 林元展人,
真下知士, 森松正美, 吉木 淳

欠席理事数 2名

伊川正人, 佐々木宣哉

4. 監事現在数及び出席監事氏名

監事現在数 2名

出席監事数 2名

今井良悦, 杉山文博（以上、監事）

5. その他の出席者氏名

三枝順三（以上、事務局）

6. 議長の氏名

三枝順三（第1号議案）

小倉淳郎（第2号議案以降）

7. 議題

〈審議事項〉

第1号議案 代表理事の選定

第2号議案 業務執行理事の選定

第3号議案 委員会の設置と委員長の選定

8. 理事会の議事の経過の要領及びその結果

(1) 定足数の確認等

冒頭で三枝事務局長が定足数の充足を確認し、本会議の成立を宣した。

(2) 議案の審議状況及び議決結果等

第1号議案 代表理事の選定

議長より、定款5章第20条第2項および第21条第3項に則り代表理事（以下、理事長）の選定のための説明が行われ、理事長の自薦及び他薦が求められた。久和 茂理事より小倉淳郎理事を理事長に推薦する提案があった。

審議の結果、小倉淳郎理事を理事長とすることが出席理事全員一致で承認された。

以後の審議は小倉理事長を議長に実施された。

第2号議案 業務執行理事の選定

議長より、定款5章第20条第3項および21条第3項に則り業務執行理事（常務理事）の選定のための説明が行われ、以下の理事が小倉理事長より常務理事に指名された。

理 事 長 代 行：久和 茂 理事

庶務担当常務理事：國田 智 理事

庶務担当常務理事：高橋英機 理事

会計担当常務理事：岡村匡史 理事

会計担当常務理事：林元展人 理事

審議の結果、上記理事を常務理事とすることが出席理事全員一致で承認された。

第3号議案 委員会の設置と担当の選定

議長より、委員会・ワーキンググループ規程第1条および2条に従い委員会の設置と委員長の選定のための説明が行われ、常置委員会と各委員会の担当は以下の通り小倉理事長より指名された。

編集委員会：高橋 智 理事

学術集会委員会：真下知士 理事

財務特別委員会：久和 茂 理事,

夏目知佳子 理事

国際交流委員会：吉木 淳 理事

広報・情報公開検討委員会：佐加良英治 理事

動物福祉・倫理委員会：成瀬智恵 理事

定款・細則・規定等検討委員会：佐々木宣哉 理事

実験動物感染症対策委員会：中村紳一朗 理事

教育研修委員会：佐々木えりか 理事

実験動物管理者研修制度委員会：竹尾 透 理事

人材育成委員会：越本知大 理事

将来検討委員会：伊川正人 理事

動愛法等対策委員会：塩谷恭子 理事

外部検証委員会：森松正美 理事

審議の結果、上記の通り委員会の設置と担当理事とすることが、出席理事全員一致で承認された。

(3) 報告事項

1. 議長より今後の会務運営等の説明要望に対し、三枝事務局長より学会運営を円滑に進めるために、各理事は令和 6-7 年度在任評議員候補者の推薦および担当委員会委員の選任を 6 月中旬までに完了するように要請がなされた。

以上をもって議案の審議を終了した。

17 時 30 分に閉会を宣言し解散した。

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

令和 6 年 5 月 30 日

公益社団法人日本実験動物学会 第 71 回通常総会議事録

日 時：令和 6 年 5 月 30 日（木）

13:30 ～ 14:00

場 所：ロームシアター京都

サウスホール（第 1 会場）

総社員数：1,011 名

[定足数の確認]

國田庶務担当理事によって、出席者数（含む議決権行使書）が下記のとおり確認され、定足数を満たし総会が成立している旨の報告が行われた。

出席者：252 名

委任状数：268 名

定足数：337 名

[出席理事及び監事]

理 事 長：三好一郎

理事長代行：久和 茂

常務理事：岡村匡史，角田 茂，國田 智，
高橋英機

理 事：浅野雅秀，伊川正人，池 郁生，
越本知大，佐加良英治，
佐々木えりか，塩谷恭子，
高橋 智，高橋利一，三浦竜一，
森松正美，山田久陽，吉木 淳

監 事：下田耕治，渡部一人

[議長選出]

國田庶務担当理事が議長の選出を出席者に諮ったところ、出席者より近藤 玄会員の推薦があり、異議なく推薦通り選出された。

以後、近藤会員を議長として総会が開催された。

[議事録署名人の選出]

近藤議長より磯谷綾子会員、森岡裕香会員を議事録署名人として推薦したい旨の発議があり、出席者に諮ったところ、異議なく推薦通り選出された。

議 題

[審議事項]

第 1 号議案 令和 5 年度事業報告

近藤議長から第 1 号議案が上程され、高橋庶務担当理事が令和 5 年度事業報告の要点を第 71 回通常総会資料の第 1 頁から第 6 頁にもとづき説明した。

これに対して、近藤議長は第 1 号議案を出席者に諮り、特に質疑応答はなく、全会一致で本議案が承認された。

第 2 号議案 令和 5 年度収支決算ならびに監査報告
近藤議長から第 2 号議案が上程され、角田会計担当理事が令和 5 年度収支決算の要点を第 71 回通常総会資料の第 7 頁から第 16 頁にもとづき説明した。次いで下田監事が第 71 回通常総会資料の第 17 頁の監査報告について説明した。これに対して、近藤議長は第 2 号議案を出席者に諮り、特に質疑応答はなく、全会一致で本議案が承認された。

第 3 号議案 令和 6-7 年度役員の選任

本総会の終結をもって理事及び監事全員が任期満了となるため、近藤議長から第 3 号議案が上程された。議長が第 71 回通常総会資料第 18 頁にもとづき令和 6-7 年度役員の選任について説明した。

次いで、近藤議長は個々の役員候補者の氏名を読み上げて出席者に候補者ごとの承認を諮り、特に質疑応答はなく、全会一致で本議案が承認された。

[報告事項]

令和 6 年度事業計画・収支予算

近藤議長から令和 6 年度事業計画・収支予算について令和 6 年 3 月 7 日に開催された令和 5 年度第 3 回理事会において承認されたこと及びその内容が第 71 回通常総会資料の第 19 頁から第 22 頁に記載されている旨の報告があった。

[閉会]

以上により本日の議事はすべて終了し、近藤議長は閉会を宣言した。

令和 6 年 5 月 30 日

令和7年度日本実験動物学会賞（功労賞, 安東・田嶋賞, 奨励賞） 受賞候補者の推薦受付について

令和7年度日本実験動物学会賞の推薦を下記の要領で受け付けます。学会ホームページ＞学会案内＞賞（<http://jalas.jp/gakkai/prize.html>）に、「推薦受付について」、「推薦募集要項」、「表彰規程」を掲載しておりますので、推薦募集要項および表彰規程に従いご応募下さい。

ご不明な点は事務局（Tel: 03-3814-8276 e-mail: office@jalas.jp）までお問い合わせ下さい。

【受付期間】 令和6年7月1日（月）～9月30日（月）必着

【書類の提出先】 応募書類は簡易書留としてお送りください。

〒113-0033 東京都文京区本郷6丁目26-12 東京RSビル3F
公益社団法人日本実験動物学会理事長 小倉淳郎 宛

Experimental Animals

— 和 文 要 約 —

Vol. 73, No. 3 July 2024

総説

グリマススケール：実験動物の痛みを評価するための有用なツール.....234–245

大沼健太・渡邊正輝・佐々木宣哉

北里大学獣医学部実験動物学研究室

実験動物の痛みを正確かつ短時間に評価することは、動物に余計な苦痛を与えないことから、実験の再現性を高めるとともに、獣医師、飼育担当者、および研究者が常に意識している獣医学的ケアや動物福祉の観点からも極めて重要である。痛みの評価には、行動学、免疫組織化学、電気生理学、分子生物学など様々なアプローチが取られている。動物と同様に言語を解さない乳幼児の顔の表情変化から痛みを読み取ることに着想を得て開発されたグリマススケールは、動物の表情の変化をスコア化し、苦痛尺度を客観的に評価する方法であり、非常に簡便かつ実用的な痛みの評価方法として認識されようになった。約10年前にマウスから始まったその評価方法は、今では様々な実験動物に応用され、広く研究現場で用いられるようになっていく。本総説では、動物実験従事者がグリマススケールをさらに使いやすくするために、「ケージサイド」からのグリマススケールの有用性に着目し、各種動物における痛みに対する表情の違い、グリマススケールの応用例、現在実施されている自動解析法について紹介し、今後の展望についても述べる。

原著

- Autologous transplantation of green tea epigallocatechin-3-gallate pretreated adipose-derived stem cells increases cardiac regenerative capability through C-X-C motif chemokine receptor 4 expression in the treatment of rats with diabetic cardiomyopathy..... 246–258

Tung-Sheng Chen¹⁾, Wei-Wen Kuo²⁾ and Chih-Yang Huang^{3–6)}

¹⁾Graduate Program of Biotechnology and Pharmaceutical Industries, National Taiwan Normal University, No. 88, Sec. 4, Tingzhou Road, Taipei 116059, Taiwan, ²⁾Department of Biological Science and Technology, China Medical University, No. 91, Xueshi Road, North District, Taichung 404328, Taiwan, ³⁾Cardiovascular and Mitochondrial Related Diseases Research Center, Hualien Tzu Chi Hospital, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation, No. 707 Sec. 3, Zhongyang Road, Hualien 970473, Taiwan, ⁴⁾Center of General Education, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation, Tzu Chi University of Science and Technology, No. 880, Sec. 2, Chien-kuo Road, Hualien 970302, Taiwan, ⁵⁾Department of Medical Research, China Medical University Hospital, China Medical University, No. 91, Xueshi Road, North District, Taichung 404328, Taiwan, ⁶⁾Department of Biotechnology, Asia University, No. 500, Lioufeng Road, Taichung 413305, Taiwan

Cardiomyopathy is one of complications related to diabetes. Stem cell transplantation shows potential in diabetic cardiomyopathy treatment. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is one of the major components found in green tea. Although stem cell transplantation and green tea EGCG supplementation show therapeutic effects on cardiomyopathy, the detailed cellular mechanisms in stem cell transplantation coupled with EGCG treatment remain unclear. This study investigates whether adipose-derived stem cells (ADSC) pretreated with EGCG show better protective effect on diabetic cardiomyopathy than ADSC without EGCG pretreatment. A cell model indicated that ADSC pretreated with EGCG increased cell functions including colony formation, migration and survival markers. All of these functions are blocked by small interfering C-X-C motif chemokine receptor 4 (siCXCR4) administration. These findings suggest that ADSC pretreatment with EGCG increases cell functions through CXCR4 expression. A diabetic animal model was designed to verify the above findings, including Sham, DM (diabetes mellitus), DM+ADSC (DM rats receiving autologous transplantation of ADSC) and DM+E-ADSC (DM rats receiving EGCG pretreated ADSC). Compared to the Sham, we found that all of pathophysiological signalings were activated in the DM group, including functional changes (decrease in ejection fraction and fractional shortening), structural changes (disarray and fibrosis) and molecular changes (increases in apoptotic, fibrotic, hypertrophic markers and decreases in survival and longevity markers). E-ADSC (DM+E-ADSC) transplantation shows significant improvement in the above pathophysiological signalings greater than ADSC (DM+ADSC). Therefore, ADSC pretreated with EGCG may contribute to clinical applications for diabetic patients with cardiomyopathy.

Neuroprotective effect of gallic acid in mice with rotenone-induced neurodegeneration 259–269

Wachiryah Thong-asa¹⁾, Chatrung Wassana¹⁾, Kunyarat Sukkasem¹⁾, Pichcha Innoi¹⁾, Montira Dechakul¹⁾ and Pattraporn Timda¹⁾

¹⁾Animal Toxicology and Physiology Specialty Research Unit (ATPSRU), Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Road, Jatujak, Bangkok 10900, Thailand

We investigated the effect of gallic acid (Gal) against neurodegenerative pathophysiology relevant to Parkinson's disease (PD) in mice with rotenone-induced toxicity. Forty male institute of cancer research (ICR) mice were randomly divided into four groups: sham-veh, PD-veh (received subcutaneous injection with 2.5 mg/kg/48 h of rotenone); PD-Gal50; and PD-Gal100 (the latter two groups received subcutaneous injection with 2.5 mg/kg/48 h of rotenone and oral gavage with gallic acid 50 and 100 mg/kg/48 h, respectively). All treatments continued for 5 weeks with motor ability assessments once per week using hanging and rotarod tests. Brain tissue evaluation of oxidative status, together with striatal and substantia nigra par compacta (SNc) histological and immunohistological assessments were performed. The results indicate that rotenone significantly induced muscle weakness and motor coordination deficit from the first week of rotenone injection, and a significant increase in neuronal degeneration was presented in both the striatum and SNc. Decreased tyrosine hydroxylase and increment of glia fibrillary acidic protein expression in SNc were depicted. The deteriorating effects of rotenone were ameliorated by gallic acid treatment, especially 100 mg/kg dose. Rotenone did not induce a significant change of lipid peroxidation indicated, but gallic acid exhibited a significant inhibitory effect on the lipid peroxidation increment. Rotenone showed a significant reduction of superoxide dismutase activity, and neither 50 nor 100 mg/kg of gallic acid could alleviate this enzyme activity. In conclusion, gallic acid ameliorated motor deficits and preserving SNc neurons which led to maintaining of the dopaminergic source, including a nurturing effect on supporting astrocytes in mice with rotenone-induced neurodegeneration.

MRL/MpJ-Fas^{lpr/lpr} マウスの全身性自己免疫異常は直腸粘膜関連リンパ組織の形態を変化させる 270–285

Md. Zahir Uddin Rubel^{1, 2)}・市居 修^{1, 3)}・難波貴志¹⁾・Md. Abdul Masum^{1, 4)}・Tsolmon Chuluunbaatar^{1, 5)}・平石真也¹⁾・中村鉄平⁶⁾・昆 泰寛¹⁾

¹⁾北海道大学大学院獣医学研究院基礎獣医学分野解剖学教室, ²⁾Department of Poultry Science, Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Sher-e-Bangla Agricultural University, ³⁾北海道大学大学院農学研究院アグリメディカル講座, ⁴⁾Department of Anatomy, Histology, and Physiology, Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Sher-e-Bangla Agricultural University, ⁵⁾Department of Basic Science of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Science, ⁶⁾北海道大学大学院獣医学研究院応用獣医学分野実験動物学教室

本研究は自己免疫疾患 (AD) マウス系統 MRL/MpJ-Fas^{lpr/lpr} (Lpr) とその野生型 MRL/MpJ-Fas^{+/+} (MpJ) の直腸と肛門を用い, ADが腸管関連リンパ組織の形態機能に与える影響を評価した。リンパ組織は直腸の粘膜固有層と粘膜下組織に観察され, これを直腸粘膜関連リンパ組織 (RMALT) と定義した。LprのRMALTはMpJよりも有意に多く, かつ大きかった。Lprの肛門直腸結合から最初に出現するRMALTまでの距離は, MpJよりも有意に短かった。免疫染色では, T細胞 (CD3⁺, CD4⁺, またはCD8⁺), B220⁺ B細胞, IBA1⁺マクロファージ, Ki67⁺増殖細胞, PNA⁺高内皮細静脈がRMALTに見られた。Lprのマクロファージ, 増殖細胞, T細胞 (CD4⁺ またはCD8⁺), 高内皮細静脈の数は, MpJよりも有意に多かった。Lpr直腸におけるケモカインとそれらの受容体 (Ccl9, Ccl13, Cxcr3, Cxcr5) の遺伝子発現レベルは, MpJよりも有意に高かった。直腸上皮において, LprのGP2⁺ M細胞数はMpJよりも有意に多かった。本研究はADによるRMALTの形態変化を明らかにした。ADではT細胞サブセット, 増殖細胞, マクロファージ, 高内皮細静脈, ケモカイン発現, M細胞が質的・量的に変化し, RMALTの形態が変化すると考えられた。

雄性生殖細胞における *Exoc3* ではなく *Exoc7* の欠失は、マウスにおいて
 精母細胞の凝集を伴う重度な精子形成不全を引き起こす 286–292

三上夏輝¹⁾・Kim Chi Nguyen Lieu¹⁾・大澤優生²⁾・加藤花名子³⁾・石田みゆき³⁾・谷本陽子³⁾・
 森本健斗^{4,5)}・村田知弥³⁾・康 宇鎮³⁾・杉山文博³⁾・依馬正次⁶⁾・高橋 智³⁾・水野聖哉³⁾

¹⁾筑波大学大学院人間総合科学学術院ヒューマンバイオロジー学位プログラム, ²⁾筑波大学大学院人間総合科学学術院フロンティア医科学学位プログラム, ³⁾筑波大学トランスボーダー医学研究センター生命科学動物資源センター, ⁴⁾筑波大学大学院人間総合科学学術院医学学位プログラム, ⁵⁾日本学術振興会特別研究員, ⁶⁾滋賀医科大学動物生命科学研究センター

小胞輸送は細胞内で生産された機能分子を細胞膜や細胞外へ輸送するために必須である。8つの異なるタンパクから構成される exocyst complex は小胞輸送における繫留イベントを制御するために重要な機能装置である。exocyst complex の各構成因子の生体での機能解析研究がマウスを用いて実施されている。興味深いことに、各 exocyst 因子欠損変異マウスが異なる表現型を示すことがある。この矛盾は、exocyst 因子が exocyst complex の構成因子としての役割以外の機能をもつことに起因するかもしれない。その構成因子の一つである EXOC1 をコードする *Exoc1* 遺伝子の雄性生殖細胞特異的な条件付きノックアウト (cKO) マウスは重篤な精子形成不全を呈するが、他の exocyst 因子の欠損変異体でもこの異常が現れるかは不明であった。我々は本研究で、exocyst 因子である EXOC3 は精子形成に必要ないが、EXOC7 の枯渇は重篤な精子形成異常を招くことを示した。EXOC1 は exocyst complex の構成因子以外の機能をもつが、雄性生殖細胞特異的な *Exoc7* cKO マウスと *Exoc1* cKO マウスが似た表現型が示した事実は、マウスでは exocyst complex が精子形成に重要であることを示唆する。今回の研究成果は小胞輸送の側面からの精子形成を理解の促進に貢献するであろう。

Progranulin 欠損はマウス片側尿管閉塞モデルにおける
 尿細管間質障害を抑制する 293–301

足立恵理・村越真紀・柴田照美・下澤建太・作間宏子・岸田千晶・合田朋仁・鈴木祐介
 順天堂大学医学部腎臓内科

Progranulin (PGRN) は、臓器あるいは疾患によって、炎症と抗炎症の相反する作用を有する。これまでの研究で、PGRN と肝線維化の関連性は報告されているが、腎線維化への関与は明らかにされていない。本研究は、尿細管間質線維化のモデルである片側尿管閉塞 (Unilateral Ureteral Obstruction; UUO) マウスの腎組織における PGRN の役割を検討することを目的とした。8週齢の PGRN ノックアウト (KO) マウスと野生型 (WT) マウスを、UUO 処置後3日目と7日目に安楽死させ腎組織を採取した。UUO 処置後の KO マウスでは、尿細管障害 (尿細管管腔の拡張や一部管腔内の円柱形成、尿細管間質の拡大・細胞浸潤および線維化) などの組織学的変化が、UUO 処置後の WT マウスに比較して改善していた。さらに、定量的 PCR 法により、UUO 処置後の KO マウスでは、炎症関連遺伝子 (*Il1b*, *Tnf*, *Il6*, *Ccl2*, *Adgre1*) と線維化関連遺伝子 (*Tgfb1*, *Acta2*, *Fln1*, *Col1a2*) において、腎組織の mRNA 発現量が UUO 処置後の WT マウスに比較して低下していた。UUO 処置後の WT マウスにおける腎組織の PGRNmRNA および蛋白発現は、シャム処置後の WT マウスよりも上昇していた。これらの結果から、UUO マウスの腎臓における炎症や尿細管間質の線維化に PGRN は関与していることが示唆された。

マウスへのビタミンA欠乏食給餌による肝臓および脂肪組織の
レチノイド含量の経時変化 302-309

加藤 (鈴木) 美羅¹⁾・岡松優子¹⁾・稲波 修²⁾・木村和弘¹⁾

¹⁾北海道大学大学院獣医学研究院生化学教室, ²⁾北海道大学大学院獣医学研究院放射線学教室

ビタミンAは、様々な生理機能に関わる重要な栄養素である。生体内でのビタミンAの役割を解明するために、ビタミンA欠乏食給餌によるビタミンA欠乏モデルマウスが用いられてきた。しかし、ビタミンA欠乏食給餌による臓器中のビタミンA含量の経時変化に関する報告はなく、適切な給餌期間の検証はなされていない。本研究では、マウスにビタミンA欠乏食を8週間与え、2週間ごとに肝臓と白色脂肪組織におけるレチノイド量を高速液体クロマトグラフィーで評価した。ビタミンA欠乏食の給餌開始後、6週間で肝臓のレチノールは有意に減少したが、ビタミンAの主な貯蔵形態であるパルミチン酸レチニルは8週間後まで変化がなかった。血漿中のレチノール濃度も実験期間中は一定に保たれた。白色脂肪組織では、パルミチン酸レチニルは8週間後までに徐々に減少した。これらの結果から、ビタミンA欠乏食を6週間以上給餌すると肝臓のレチノールと白色脂肪組織のパルミチン酸レチニルが減少するが、全身のビタミンAは枯渇しないことが明らかになった。

遺伝子発現のアレル間発現差解析のために新たに作製した
マウス亜種間F1ハイブリッド由来ES細胞 310-318

齋藤彩圭¹⁾・田原僚祐¹⁾・廣瀬美智子²⁾・門田雅世³⁾・長谷川歩未²⁾・近藤伸二⁴⁾・

加藤英政⁵⁾・天野孝紀⁶⁾・吉木 淳³⁾・小倉淳郎²⁾・清澤秀孔¹⁾

¹⁾千葉工業大学先進工学部生命科学ゲノム科学研究室, ²⁾理研BRC遺伝工学基盤技術室, ³⁾理研BRC実験動物開発室, ⁴⁾情報・システム研究機構ゲノム解析支援センター, ⁵⁾愛媛大学大学院医学系研究科生体構造医学講座, ⁶⁾理研BRC次世代ヒト疾患モデル研究開発チーム

アレル特異的モノアレル遺伝子発現はユニークな現象であり、遺伝子発現制御の解析の良いいりソースとなる。この現象を研究するために、我々は異なる亜種に属する4種類の近交系マウスを交配させて得たF1ハイブリッド胚盤胞由来のES細胞を新たに作製し、未分化なES細胞のマーカー遺伝子の発現量と核型の解析を行った。我々が樹立した細胞株の有用性の一例として、*Inpp5d* 遺伝子のアレル特異的な遺伝子発現パターンの解析も行った。このような、親のアレルに依存した発現を示すアレル特異的遺伝子発現は、異なる亜種間で*Inpp5d* 遺伝子のシス因子とトランス因子の親和性に差があることに起因していると考えられる。今回4種の近交系マウスを使用したことにより、遺伝的多型が大幅に増加した。F1ハイブリッドES細胞は例で示した*Inpp5d* 遺伝子だけではなくゲノムレベルで遺伝的多型を持っている。今回、我々が*Inpp5d* 遺伝子座で例を示したように、樹立した細胞株はシス因子とトランス因子の不和合に基づく対立遺伝子発現の不均衡性及びそれに関連する遺伝子型の解析に貢献することができる。

Dehydroepiandrosterone modulates the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway to alleviate 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced premature ovarian insufficiency in rats..... 319–335

Cihan Cakir¹⁾, Goktan Kuspinar¹⁾, Kiper Aslan²⁾, Cengiz Bozyigit³⁾, Isil Kasapoglu²⁾, Melahat Dirican⁴⁾, Gurkan Uncu²⁾ and Berrin Avci¹⁾

¹⁾Department of Histology and Embryology, Bursa Uludag University School of Medicine, Görükle Campus, Nilüfer, Bursa, 16059, Türkiye, ²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Bursa Uludag University School of Medicine, Görükle Campus, Nilüfer, Bursa, 16059, Türkiye, ³⁾Department of Medical Biochemistry, Bursa City Hospital, Doğanköy District, Nilüfer Bursa, 16110, Türkiye, ⁴⁾Department of Medical Biochemistry, Bursa Uludag University School of Medicine, Görükle Campus, Nilüfer, Bursa, 16059, Türkiye

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is frequently integrated as an adjuvant in over a quarter of controlled ovarian hyperstimulation (COH) protocols, despite the ongoing debate regarding its impact. This study aimed to evaluate the efficacy and mechanism of action of DHEA on ovarian follicular development and ovarian response in rats with varying ovarian reserves. The study involved 75 rats categorized into 15 distinct groups. The ovarian tissues of rats in both the normal ovarian reserve group and the premature ovarian insufficiency (POI) group, induced by 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) injection, were subjected to histomorphological and biochemical analyses following the administration of DHEA, either alone or in combination with COH. Follicle counting was performed on histological sections obtained from various tissues. Serum concentrations of anti-Müllerian hormone (AMH) and the quantification of specific proteins in ovarian tissue, including phosphatase and tensin homolog of chromosome 10 (PTEN), phosphoinositide 3-kinase (PI3K), phosphorylated protein kinase B (pAKT), cyclooxygenase 2 (COX-2), caspase-3, as well as assessments of total antioxidant status and total oxidant status, were conducted employing the ELISA method. The impact of DHEA exhibited variability based on ovarian reserve. In the POI model, DHEA augmented follicular development and ovarian response to the COH protocol by upregulating the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway, mitigating apoptosis, inflammation, and oxidative stress, contrary to its effects in the normal ovarian reserve group. In conclusion, it has been determined that DHEA may exert beneficial effects on ovarian stimulation response by enhancing the initiation of primordial follicles and supporting antral follicle populations.

Transient receptor potential vanilloid 1 interacts with Toll-like receptor 4 (TLR4)/cluster of differentiation 14 (CD14) signaling pathway in lipopolysaccharide-mediated inflammation in macrophages 336–346

Julia Chu-Ning Hsu¹⁾, Hsu-Wen Tseng²⁾, Chia-Hui Chen³⁾ and Tzong-Shyuan Lee³⁾

¹⁾Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, National Chung Hsing University, 145, Xingda Road, South District, Taichung 402202, Taiwan, ²⁾Department of Physiology, School of Medicine, National Yang-Ming University, 155, Sec. 2, Linong Street, Taipei 112304, Taiwan, ³⁾Graduate Institute and Department of Physiology, College of Medicine, National Taiwan University, 1, Sec. 1, Jen-Ai Road, Taipei 100233, Taiwan

Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1), a ligand-gated cation channel, is a receptor for vanilloids on sensory neurons and is also activated by capsaicin, heat, protons, arachidonic acid metabolites, and inflammatory mediators on neuronal or non-neuronal cells. However, the role of the TRPV1 receptor in pro-inflammatory cytokine secretion and its potential regulatory mechanisms in lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation has yet to be entirely understood. To investigate the role and regulatory mechanism of the TRPV1 receptor in regulating LPS-induced inflammatory responses, bone marrow-derived macrophages (BMDMs) harvested from wild-type (WT) and TRPV1 deficient (*Trpv1*^{-/-}) mice were used as the cell model. In WT BMDMs, LPS induced an increase in the levels of tumor necrosis factor- α , IL-1 β , inducible nitric oxide synthase, and nitric oxide, which were attenuated in *Trpv1*^{-/-} BMDMs. Additionally, the phosphorylation of inhibitor of nuclear factor kappa-B α and mitogen-activated protein kinases, as well as the translocation of nuclear factor kappa-B and activator protein 1, were all decreased in LPS-treated *Trpv1*^{-/-} BMDMs. Immunoprecipitation assay revealed that LPS treatment increased the formation of TRPV1–Toll-like receptor 4 (TLR4)–cluster of differentiation 14 (CD14) complex in WT BMDMs. Genetic deletion of TRPV1 in BMDMs impaired the LPS-triggered immune-complex formation of TLR4, myeloid differentiation protein 88, and interleukin-1 receptor-associated kinase, all of which are essential regulators in LPS-induced activation of the TLR4 signaling pathway. Moreover, genetic deletion of TRPV1 prevented the LPS-induced lethality and pro-inflammatory production in mice. In conclusion, the TRPV1 receptor may positively regulate the LPS-mediated inflammatory responses in macrophages by increasing the interaction with the TLR4–CD14 complex and activating the downstream signaling cascade.

カナバン病モデル aspartoacylase (*Aspa*) ノックアウトラットにおける ミエリン病変 347–356

武田周二¹⁾・星合里香¹⁾・田中美有¹⁾・井澤武史¹⁾・山手丈至¹⁾・庫本高志²⁾・桑村 充¹⁾

¹⁾大阪公立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻獣医病理学教室, ²⁾京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設

カナバン病は, aspartoacylase (*ASPA*) 遺伝子の変異により生じる致死性の遺伝性神経疾患であり, 中枢神経における N-acetyl-aspartate (NAA) の加水分解が阻害され, NAA の蓄積, 空胞形成および神経症状を呈する。本報告では, ゲノム編集 (TALEN) により作製された *Aspa*-KO ラットの脳および脊髄を用い, カナバン病の病態解明に向けた形態学的な解析を行った。*Aspa*-KO ラットで神経症状は認められなかったが, 中枢神経系 (特に脳幹網様体, 上行および下行運動神経野, ならびに嗅覚神経野) において顕著な空胞化が認められ, ミエリンの変性および低形成が認められた。免疫組織化学染色では, 肥大活性化したアストロサイトが認められたものの, 神経細胞数に明らかな変化は認められなかった。*Aspa*-KO ラットは, これまでのカナバン病モデル動物と異なり, 長期間生存し, 神経症状を呈さない特徴があるものの, カナバン病類似の神経病変を呈することが明らかとなった。今後, カナバン病の病態発生および治療法の開発研究に応用されることが期待される。

維持会員（五十音順）（94社）

（令和6年7月5日現在）

会 員 名	〒	住 所
アーク・リソース（株）	861-5271	熊本県熊本市西区中原町 383-2
（株）IHI 物流産業システム	135-8710	東京都江東区豊洲 3-1-1 豊洲 IHI ビル
（株）アイテクノ	391-0004	長野県茅野市城山 10-10
アイパークインスティテュート（株）	251-8555	神奈川県藤沢市村岡東 2-26-1
旭化成ファーマ（株）	410-2321	静岡県伊豆の国市三福 632-1
味の素（株）	210-8681	神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1
あすか製薬（株）	251-8555	神奈川県藤沢市村岡東 2-26-1 湘南ヘルスイノベーションパーク B31F-4110
アステラス製薬（株）	305-8585	茨城県つくば市御幸が丘 21
（株）アドスリー	162-0814	東京都新宿区新小川町 5-20 サンライズビル II 3F
（株）アニマルケア	160-0022	東京都新宿区新宿 5-18-14 新宿北西ビル 7F
（株）アニメック	183-0031	東京都府中市西府町 3-17-4
EPトレーディング（株）	162-0821	東京都新宿区津久戸町 1-8 神楽坂 AK ビル 6階
（株）イナリサーチ	399-4501	長野県伊那市西箕輪 2148-188
インビボサイエンス（株）	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-12
エーザイ（株）	300-2635	茨城県つくば市東光台 5-1-3
メディフォード（株）	174-0053	東京都板橋区清水町 36-1 板橋本町ビル
（株）大塚製薬工場	772-8601	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115
小野薬品工業（株）	618-8585	大阪府三島郡島本町桜井 3-1-1
小原医科産業（株）	165-0022	東京都中野区江古田 4-28-16
オリエンタル酵母工業（株）	174-8505	東京都板橋区小豆沢 3-6-10
花王（株）	321-3497	栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2606
科研製薬（株）	426-8646	静岡県藤枝市源助 301
鹿島建設（株）	107-8348	東京都港区赤坂 6-5-11
北山ラベス（株）	396-0025	長野県伊那市荒井 3052-1
キッセイ薬品工業（株）	399-8304	長野県安曇野市穂高柏原 4365-1
九動（株）	841-0075	佐賀県鳥栖市立石町惣楽 883-1
共立製薬（株）	300-1252	茨城県つくば市高見原 2-9-22
協和キリン（株）富士リサーチパーク	411-8731	静岡県駿東郡長泉町下土狩 1188
（有）葛生運送	287-0224	千葉県成田市新田 280-1
クミアイ化学工業（株）	439-0031	静岡県菊川市加茂 3360
（株）クレハ	974-8686	福島県いわき市錦町落合 16
グローバル・リンクス・テクノロジー（株）	433-8116	静岡県浜松市中区西丘町 943-1
（株）ケー・エー・シー	110-0005	東京都台東区上野 1-4-4 藤井ビル 3階（株）ケー・エー・シー東京支社
KMバイオロジクス（株）	869-1298	熊本県菊池市旭志川辺 1314-1
興和（株）	189-0022	東京都東村山市野口町 2-17-43
三協ラボサービス（株）	132-0023	東京都江戸川区西一之江 2-13-16
参天製薬（株）	630-0101	奈良県生駒市高山町 8916-16
（株）三和化学研究所	511-0406	三重県いなべ市北勢町塩崎 363
（株）ジェー・エー・シー	153-0043	東京都目黒区東山 1-2-7 第44興和ビル 3階
GemPharmatech Co., Ltd.	12 Xuefu Rd, Jiangbei New Area District, 210031, Nanjing, China	
シオノギテクノアドバンスリサーチ（株）	561-0825	大阪府豊中市二葉町 3-1-1

会 員 名	〒	住 所
(公財) 実中研	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-12
清水建設 (株)	104-0031	東京都中央区京橋 2-16-1 8階
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン (株)	222-0033	神奈川県横浜市港北区新横浜 3-17-6
昭和セラミックス (株)	486-0934	愛知県春日井市長塚町 1-1-9
(有) 新東洋製作所	334-0073	埼玉県川口市赤井 2-13-22
(株) 新日本科学安全性研究所	891-1394	鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地
(株) シーエーシー	103-0015	東京都中央区日本橋箱崎町 24 番 1 号
住友化学 (株)	554-8558	大阪府大阪市此花区春日出中 3-1-98
(株) 精研	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場 2-1-3
清和産業 (株)	132-0033	東京都江戸川区東小松川 4-57-7
ゼリア新薬工業 (株)	360-0111	埼玉県熊谷市押切字沼上 2512-1
千寿製薬 (株)	650-0047	兵庫県神戸市中央区港島南町 6-4-3
ゾエティス・ジャパン (株)	151-0053	東京都渋谷区代々木 3-22-7 新宿文化クイントビル 14階
第一三共 (株)	134-8630	東京都江戸川区北葛西 1-16-13
大正製薬 (株)	331-9530	埼玉県さいたま市北区吉野町 1-403
ダイダン (株)	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-22 ライフイノベーションセンター R407
武田薬品工業 (株)	251-8555	神奈川県藤沢市村岡東 2-26-1
(株) 中外医科学研究所	244-8602	神奈川県横浜市戸塚区戸塚町 216
中外製薬 (株)	244-8602	神奈川県横浜市戸塚区戸塚町 216 中外サイエンスパーク横浜
千代田エクスワンエンジニアリング (株)	221-0022	神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-13
(株) ツムラ	300-1192	茨城県稲敷郡阿見町吉原 3586
帝人ファーマ (株)	191-8512	東京都日野市旭が丘 4-3-2
(一財) 動物繁殖研究所	300-0134	茨城県かすみがうら市深谷 1103
東洋熱工業 (株)	104-8324	東京都中央区京橋 2-5-12 東熱ビル
トーアエイヨー (株)	960-0280	福島県福島市飯坂町湯野字田中 1
トキワ科学器械 (株)	110-0005	東京都台東区上野 5-11-1
Transnetyx	8110	Cordova Rd, Suite 119, Cordova TN, 38016 USA
(株) 夏目製作所	113-8551	東京都文京区湯島 2-18-6
日本エスエルシー (株)	431-1103	静岡県浜松市西区湖東町 3371-8
日本化薬 (株)	115-8588	東京都北区志茂 3-31-12
日本クレア (株)	153-8533	東京都目黒区東山 1-2-7
日本実験動物器材協議会	153-8533	東京都目黒区東山 1-2-7 日本クレア (株) 内
(公社) 日本実験動物協会	101-0051	東京都千代田区神田神保町 3-2-5 九段ロイヤルビル 502 号室
日本実験動物協同組合	101-0032	東京都千代田区岩本町 2-8-10 神田永谷マンション 602
日本新薬 (株)	601-8550	京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
(一財) 日本生物科学研究所	198-0024	東京都青梅市新町 9-2221-1
日本たばこ産業 (株) 医薬総合研究所	569-1125	大阪府高槻市紫町 1-1
日本たばこ産業 (株) たばこ中央研究所	227-8512	神奈川県横浜市青葉区梅が丘 6-2
日本農産工業 (株)	220-8146	神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-2-1 ランドマークタワー 46F
日本農薬 (株) 総合研究所	586-0094	大阪府河内長野市小山田町 345 番地
バニーグループ 日本事務所	370-0074	群馬県高崎市下小鳥町 290-1
ハムリー (株)	306-0101	茨城県古河市尾崎 2638-2
(一財) 阪大微生物病研究会	565-0871	大阪府吹田市山田丘 3-1 大阪大学内
フィード・ワン (株)	221-0835	神奈川県横浜市神奈川区鶴屋町 2-23-2
(株) ボゾリサーチセンター	412-0039	静岡県御殿場市竈 1284

会 員 名	〒	住 所
三浦工業 (株)	108-0074	東京都港区高輪 2-15-35 三浦高輪ビル 2F
Meiji Seika ファルマ (株)	104-8002	東京都中央区京橋 2-4-16
持田製薬 (株)	412-8524	静岡県御殿場市神場字上ノ原 722
(株) ヤクルト本社 中央研究所	186-8650	東京都国立市泉 5-11
八洲EIテクノロジー (株)	101-0062	東京都千代田区神田駿河台 3-4 龍名館本店ビル 4階
ライオン (株)	256-0811	神奈川県小田原市田島 100
レッテンマイヤー・ジャパン (株)	101-0052	東京都千代田区神田小川町 3-26-8 ユニゾ神田小川町三丁目ビル 3F
(株) レナテック	259-1114	神奈川県伊勢原市高森 4-19-15

(公社) 日本実験動物学会 会員の入会・退会・変更の申込みについて

会員の入会・変更の申込みは下記の方法で受け付けております。

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

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

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

[その他ご不明な点はこちらまで]

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

● 編集後記 ●

梅雨空にあじさいの花が映える今日この頃です。この梅雨が明けると猛暑がやってきます。この実験動物ニュースが発刊される頃には、梅雨も明け、蟬の鳴き声が一段と強くなっている頃でしょうか。梅雨明けとともに球児の夏もやってきます。球児の聖地である甲子園球場は今年で100周年です。100年という歴史を感じます。このさき、実験動物学会が100周年を迎える日には、どのような歴史を刻んでいるのでしょうか。想像するだけでも楽しみです。

さて、第71回日本実験動物学会総会において、あたらしい理事が承認され、それに伴い「広報・情報公開検討委員会」も新体制となりました。この実験動物ニュースから新体制で編集を行っています。これまでの特集やシリーズはもとより、あたらしいシリーズや記事が組めるように活動していきたいと思っております。

本号では、特集として令和5年度維持会懇談会企画である「パンデミック再来への備え、実験動物の関わりの検証」を滋賀医科大学の伊藤 靖先生、公益財団法人実中研の伊藤 守先生、ハムリー株式会社の小松原博文先生、理化学研究所の廣瀬美智子先生と小倉淳郎先生に、それぞれ維持会懇談会での講演内容を総説として投稿いただきました。実験動物感染症の現状では、札幌医科大学の佐々木崇先生に「実験動物マウスにおける黄色ブドウ球菌のゲノミクスと施設内伝播検証法」を投稿いただきました。第71回日本実験動物学会総会の開催記を大会長である京都大学の浅野雅秀先生に寄稿いただきました。維持会員便りは株式会社レナテックの早野富男氏に、会員便りは公益社団法人実中研の塚本晃海先生と鳥取大学大学院の下谷和人先生に寄稿いただいております。とても充実した内容になっております。会員のみなさま、ぜひ、ご一読下さい。

広報・情報公開検討委員会では実験動物ニュースに掲載する原稿を広く募集しております。ご自分の研究内容やあたらしい研究手法のご紹介など、会員の方々にアピールできる絶好の場となりますので、奮って投稿ください。また、お願いいたします。なお、本委員会への連絡、ご投稿の希望等は、日本実験動物学会事務局の方にメールにて、ご連絡をお願いいたします。

あたらしい体制となりますが、この実験動物ニュースが日本実験動物学会の歴史の一つになれるよう努めて参ります。どうぞ、よろしくお願いいたします。

【広報・情報公開検討委員会】

広告掲載一覧

日本クレア株式会社	実験動物等企業広告
北山ラベス株式会社	実験動物等企業広告
日本エスエルシー株式会社	飼料
日本エスエルシー株式会社	実験動物
九動株式会社	実験動物等企業広告
わかもと製薬株式会社	感染症診断キット
株式会社 ケー・エー・シー	実験動物総合受託事業
株式会社 夏目製作所	E-22-CC C-Clipper 掃除機付きバリカン
株式会社 アニメック	Bio Huts
ダイダン株式会社	実験動物飼育ラック
ハムリー株式会社	非臨床試験ご相談ください！
リサーチ アンド イノベーション ジャパン株式会社	LAB Gluco (実験動物のグルコース測定に)



私たちは日本クレアは、生命のあらゆる可能性を追求し、発展させる基盤として、動物実験のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。

新しい発見を変わらない品質で

マウス・ラット・コモンマーマセツト

●クローズドコロニー

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

●近交系

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

●ハイブリッド系

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

●疾患モデル

免疫不全モデル

マウス BALB/cAjcl-nu
C.B-17/ICR-scld Jcl
NOD/Shijcl-scld Jcl
ALY^{scld}/NscJcl-aly
ラット F344/Njcl-rnu

1型糖尿病モデル

マウス NOD/Shijcl

2型糖尿病モデル

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

アスコルビン酸合成能欠如モデル

ラット ODS/Shijcl-od

網膜変性疾患モデル

ラット RCS/Jcl-rdy

関節リウマチモデル

マウス SKG/Jcl

外用保湿剤・外用殺菌消毒薬効果検証モデル

マウス NOA/Jcl

ヒトDuchenne型筋ジストロフィーモデル

マウス C57BL/10-mdx/Jcl

●遺伝子改変動物

短期発がん性試験モデル

マウス CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic

乳腺がん高感受性モデル

ラット Hras128/Jcl

膵がん短期発がんモデル

ラット Kras301/Jcl

生体恒常性維持機構解析モデル

マウス α-Klotho KO/Jcl

マウス klotho/Jcl

アレルギーモデル

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

●Germ free

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

●コモンマーマセツト

Jcl:C.Marmoset(Jic) (国内生産)

その他の取り扱い動物

●(公財)実験動物中央研究所維持系統

●フェレット(輸入販売)

生産地：中華人民共和国／輸入販売代理店
(株)野村事務所を通じて国内販売

実験動物用飼料

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

器具・器材

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

受託業務

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

関連業務

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

業務提携

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

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



日本クレア株式会社

www.CLEA-Japan.com

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

東京 A 口部	〒153-8533	東京都目黒区東山1-2-7	TEL.03-5704-7050
大阪 A 口部	〒564-0053	大阪府吹田市江の木町6-5	TEL.06-4861-7101
東京 器材部	〒153-8533	東京都目黒区東山1-2-7	TEL.03-5704-7600
大阪 器材部	〒564-0053	大阪府吹田市江の木町6-5	TEL.06-4861-7105
札幌出張所	〒063-0849	北海道札幌市西区八軒九条西10-4-28	TEL.011-631-2725
仙台出張所	〒983-0014	宮城県仙台市宮城野区高砂1-30-24	TEL.022-352-4417
名古屋出張所	〒465-0093	愛知県名古屋市中東区一社3-79	TEL.052-715-7580

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

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

実験動物生産・供給

●SPFウサギ(SPF項目 8項目)

Kbl:JW(日本白色種)
Kbl:NZW(ニュージーランドホワイト種)
Kbl:Dutch(ダッチ種)

●Healthyウサギ(SPF項目 6項目)

Kbs:JW(日本白色種)
Kbs:NZW(ニュージーランドホワイト種)

バイオ関連支援サービス

●広範囲な動物実験関連業務を代行します

○非GLP試験 ○実験動物長短期飼育
○変異型ロドリプシンTgウサギ(有色・白色)
○各種Tgウサギ作製 ○拒癌マウス作製

●ポリクローナル抗体作製 ●抗体精製

●モノクローナル抗体作製

●細胞培養・凍結保存

●GMP対応試験

○発熱性物質試験 ○細胞毒性試験
○急性毒性試験 ○抗原性試験 ○溶血性試験

●微生物検査代行(動物・検査セット)



北山ラベス株式会社

Laboratory Animals Breeding & Equipment Supply

〒396-0025 長野県伊那市荒井3052番地1

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

LabDiet®

Your work is worth it.™



LabDiet® 製品は世界中の研究機関で使用されている実験動物用飼料です。研究の多様化とともに増える研究者からのご要望にお応えするため、飼料の原材料、栄養、配合に至るまでの知識を結び合わせた高品質飼料の製造を目指しております。

LabDiet®の製造工場は1996年11月、米国で初めて飼料製造工場としてISO9002を取得し、2015年にはFSSC22000を取得いたしました。製造に関わるすべての従業員が厳しいGMPガイドラインを遵守しております。

LabDiet® 取扱項目

- 齧歯類用(マウス・ラット・ハムスター) ●ウサギ用
- マウス用 ●旧・新世界ザル用
- ラット用 ●イヌ用
- モルモット用 ●ネコ用
- フェレット用

特殊飼料ブランド TestDiet® も弊社にて取り扱っております。成分調整飼料や検体添加飼料等のご希望がございましたら、弊社までお問い合わせください。

日本
総代理店



SLC

日本エス エル シー株式会社

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

営業専用TEL 関東エリア (053)486-3155代 関西エリア (053)486-3157代 九州エリア (0942)41-1656代

SLCの実験動物



マウス

- アウトブリード
Slc : ddY
Slc : ICR
- インブリード
DBA/1 JmsSlc(コラーゲン・薬物誘導関節炎)
BALB/cCrSlc
C57BL/6NcrSlc・C57BL/6JmsSlc(由来)
C3H/HeSlc
C3H/HeNSlc
C3H/HeYokSlc
DBA/2CrSlc
NZW/NSlc
A/JmsSlc
AKR/NSlc
NC/NgaSlc(薬物・アレルギー誘導アトピー性皮膚炎)
CBA/NSlc
129x1/SvJmsSlc
- B10コンジュニク
C57BL/10SnSlc
B10.A/SgSnSlc・B10.BR/SgSnSlc
B10.D2/nSgSnSlc・B10.S/SgSlc
- ハイブリッド
B6D2F1/Slc(Slc:BDF1)
CB6F1/Slc(Slc:CBF1)
CD2F1/Slc(Slc:CDF1)
B6C3F1/Slc(Slc:B6C3F1)
(NZWxJ)BXSb)F1/Slc受注生産
※上記以外の系統については御相談ください。
- ヌードマウス(ミュータント系)
BALB/cSlc-nu(Foxn1^{nu})
KSN/Slc(Foxn1^{nu})
- 疾患モデル
BXSb/MpJmsSlc-Yaa(自己免疫疾患)
C3H/HeJmsSlc-jpr(自己免疫疾患-Fas^{lpr})
C57BL/6JmsSlc-jpr(自己免疫疾患-Fas^{lpr})
MRL/MpJmsSlc-jpr(自己免疫疾患-Fas^{lpr})
NZB/NSlc(自己免疫疾患)
NZBWF1/Slc(自己免疫疾患)

WBB6F1/Kit-Ki^{nu}/Kit^{nu}/Slc(肥満細胞欠損貧血・Kit^{nu}/Kit^{nu})
NC/Nga(皮膚炎)

- ★ SAMR1/TaSlc(非胸腺リンパ腫-SAM系対照動物)
- ★ SAMP1/SkuSlc(老化アミロイド症)
- ★ SAMP6/TaSlc(老年性骨粗鬆症)
- ★ SAMP8/TaSlc(学習・記憶障害)
- ★ SAMP10/TaSlc(脳萎縮・うつ様行動)
- ★ SAMP10-Sq2(SQ2変異による慢性糖尿病・脳萎縮に伴う学習記憶障害・うつ様行動)
- C57BL/6N Daruma(肥満モデル)
- AKITA/Slc
C57BL/6HamSlc-ob/ob(肥満・2型糖尿病・Lepr^{ob})
HIGA/NscSlc(IgA腎症)
B6.KOR/StmSlc-Apoe^u(アポE欠損高脂血症-Apoe^u)
C.KOR/StmSlc-Apoe^u(アポE欠損高脂血症-Apoe^u)
C.KOR/StmSlc-TraSp2^u(アポE欠損高脂血症-Apoe^u・TraSp2^u)

ラット

- アウトブリード
Slc : SD
Slc : Wistar
Slc : Wistar/ST
- インブリード
F344/NSlc
BN/SnSlc
DA/Slc(薬物誘導性関節炎)
LEW/SeSlc(薬物誘導性関節炎)
ACI/NSlc(免疫)受注
- ヌードラット
Slc : Long-Evans-rnu/rnu
- 疾患モデル
★ SHR/Izm(高血圧)
★ SHRSF/Izm(脳卒中)
★ WKY/Izm(SHR/Izmのコントロール)
★ SHRSF/Ezo(AD/HD)
★ SHRSF/Dmcr(NASHモデル【HFC飼料給餌】)
★ DIS/EisSlc(食塩感受性高血圧症)
★ DIR/EisSlc(食塩抵抗性)
★ Slc : Zucker-fafa(肥満・Lepr^{fa})
★ HWY/Slc(ヘアレスラット)

モルモット

- アウトブリード
Slc : Hartley

ウサギ

- アウトブリード
Slc : JW/CSK
Slc : NZW
- ハムスター
- アウトブリード
Slc : Syrian
- 疾患モデル
J2N-k(心筋症モデル)
J2N-n(J2N-kのコントロール)

スナネズミ

- インブリード
MON/Jms/GbsSlc

無菌動物

- インブリードラット
F344/NSlc(GF)
- インブリードマウス(三協ラボサービス株)
Tsl : C57BL/6Ncr

遺伝子改変動物

- マウス
C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)(グリーンマウス)
C57BL/6JmsSlc-Tg(gpr delta)
- ヌードマウス
C57BL/6-BALB/c-nu/nu-EGFP(EGFP全身発現ヌードマウス)
- ラット
SD-Tg(CAG-EGFP)(グリーンラット)
F344/NSlc-Tg(gpr delta)
- 疾患モデル
★ APPOSK-Tg[C57BL/6-Tg(APPsw)](オビマ病理-老人病形成なし)
★ APPWT-Tg[C57BL/6-Tg(APPwt)](APPswの対照動物)
★ Tau609 Tg[C57BL/6-Tg(tau609)](タウ病理)
★ Tau784 Tg[C57BL/6-Tg(tau784)](タウ病理)
★ Tau264 Tg[C57BL/6-Tg(tau264)](Tau609, Tau784の対照動物)
- ノックインマウス
★ OSK-KI[C57BL/6-Tg(OSK-K)](マウスαβ産生)
(特許第6323876号)

(株)星野試験動物飼育所

- アウトブリードマウス
Hos : HR-1(ヘアレス)
- インブリードマウス
NSY.B6-Ty^u/A/Hos(2型糖尿病)
- ハイブリッドマウス
Hos : HRM2(メラニン保有)
- アウトブリードラット
Hos : OLETF(2型糖尿病)
Hos : LETO(OLETFの対照動物)
Hos : ZFDM-Lepr^{ob}(2型糖尿病)

(一財)動物繁殖研究所

- インブリードマウス
IVCS(4日性周期)
C57BL/6Jlar+Lepr^{ob}/+Lepr^{ob}(肥満2型糖尿病)
TSOD(肥満2型糖尿病)
- アウトブリードラット
lar : Wistar-Jmimichi
lar : Long-Evans

エンヴィーゴ(旧ハランOEM生物動物)

- アウトブリードラット
★ RocHan^u : WIST
- インブリードマウス
★ CBA/CaOlaHsd
- 免疫不全モデルマウス
★ C.B-17/ICrHsd-Prkdc^{scid}

その他(conventional動物)

- ミニプタ
☆(一財)日生研-NPO法人医用ミニプタ研究所)
- マイクロミニプタ
☆国内繁殖生産(富士マイクラ(株))
- 医学用ビーバタ(SPF)SHIZUOKA EXPIG
☆静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター
- ビーグル犬
☆国内繁殖生産((一財)動物繁殖研究所)
- フェレット
☆自家繁殖生産(中伊豆支所)
- ★印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。



SLC

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

営業専用
TEL

関東エリア (053)486-3155代
関西エリア (053)486-3157代
九州エリア (0942)41-1656代



生命科学研究を支援し
人々の福祉と健康に貢献する
九動株式会社

- ▶ 動物販売
- ▶ 動物輸送
- ▶ 試薬販売
- ▶ 飼育・管理
- ▶ 体外受精
- ▶ 移植・凍結
- ▶ 微生物検査 (K-Sat)
- ▶ 動物血液検査

 **KYUD CO., LTD.**

九州営業所: TEL 0942-82-6519
筑波営業所: TEL 029-898-9750



**確かな実験データは
確実なチェックから・・・**

スピーディ

スムーズ

高感度



特徴

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

ELISAによる実験動物の感染症診断キット

モニライザ[®]
MONILISA[®]

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

頒布元 公益財団法人 **実中研**
ICLAS モニタリングセンター

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

製造
販売元



わかもと製薬株式会社

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

2024.4

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



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

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

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

E-22-CC C-Clipper

“吸いながら毛を刈る” 動物実験シーンのための新しいバリカン



バリカンの切れ味、掃除機の吸引力、その他各所、
どれを取っても素晴らしいです。



アレルギーを持つ私が全くと言っていいほど
アレルギー症状が出ませんでした。



2名がかりの作業が1名でできるようになったので
作業効率がアップしました。

まずは夏目製作所に聞いてみよう！

製品 C-Clipper →



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



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

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



CERTIFIED

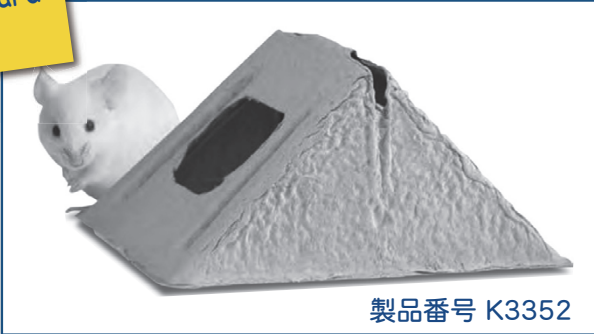
Bio-Huts™

初めてのマウス用検定済みペーパーハット



The Industry Standard
Just Got Better!

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



製品番号 K3352

お問い合わせとご用命は.....

●製造元： 

www.bio-serv.com

●輸入元：  株式会社 アニメック

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

アニメックの製品 URL: <http://animec-tokyo.sakura.ne.jp>
E-mail: animec@theia.ocn.ne.jp

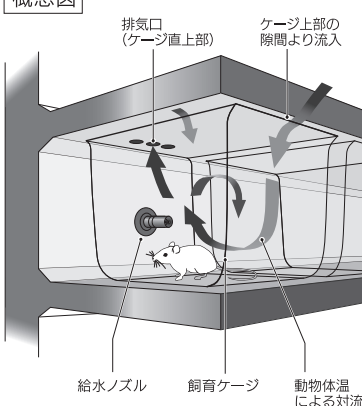
「ダイダン」の一方方向気流ラックがさらに進化！ 特許 第4961404号、第5749901号

実験動物飼育ラック アイラックシステム

Novel One Way Air Flow Rearing Equipment (iRack System)

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

概念図



オープンラック

IVC Individual Ventilation Cage

▶

アイラックシステム

操作しやすい! 安全! 省エネ!
よこれにくい! 感染リスクが少ない!

●環境面の向上

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

●操作性の向上

ラック前面に扉などがなく、ケージの操作性や清掃性が向上。

●ランニングコスト削減

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

構造と特長

ケージ個別換気方式の採用	良好な気流による均一な温度分布
高度な一方方向気流の形成	床敷交換の削減が可能に
遮蔽物がなくケージの出し入れが容易に	メンテナンスも容易に

ダイダン株式会社

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

非臨床試験ご相談ください！

安全性・薬効・動態試験

医薬品・医療機器・再生医療等製品・食品素材など

埋植試験

ウサギ・イヌ・サル・ブタなどへの皮下埋植
骨内（大腿骨・脛骨・橈骨・顎骨）への埋植

レンタル動物試験

カニクイザル・ビーグルをお貸しして、動態試験のサンプリング



ハムリー

検索

お問い合わせ

本社営業所 TEL 0280-76-4477 E-Mail hb@hamri.co.jp

東京営業所 TEL 048-650-4477 E-Mail tb@hamri.co.jp

大阪営業所 TEL 06-6306-4477 E-Mail ob@hamri.co.jp

ラ ボ グ ル コ

LAB Gluco

実験動物のグルコース測定に！

ヘマトクリットによる測定への影響を軽減します

試験研究用
Research Use Only

※医療目的・診断目的ではご使用になれません。

主な特長

- イジェクターでセンサーを衛生的な廃棄
- 測定範囲 20 ~ 600mg/dL
- 約5秒の迅速測定
- 必要検体量 1.1μL

■ オーダー・インフォメーション

製品番号 製品名

4239R1006 ラボ グルコ本体

4239R1007 LG用センサー (50枚入り×2個)

販売

リサーチ・アンド・イノベーションジャパン株式会社
千葉県白井市七次台3-13-1
TEL:090-2248-4555 FAX:047-497-0243
www.r-i-j.com

輸入元・学術のお問い合わせ
株式会社フォラケア・ジャパン
東京都港区新橋5-10-8 FORAビル 3F
TEL:03-6452-8642 FAX:03-6452-8641

