

- 3) 浦島充佳, 【臨床試験の ABC】 医療統計学と臨床試験成績の読み方 医療統計学の基本, 日医師会誌 2006; 135 (Suppl) : 106-10.

## 実験動物研究施設

教授: 大川 清 腫瘍生化学, 病態生化学  
(兼任)  
助教授: 岩城 隆昌 実験動物学 (特に齧歯類の解剖学, 実験動物関連器具・装置の開発, 実験用ビールの繁殖生理学)  
講師: 成相 孝一 実験動物学, 生殖免疫学, 肝癌細胞生物学

### 研究概要

#### I. ラットおよびマウスの解剖アトラス国際版の作成

我々は文科省科学研究費の補助を得て 1993 年にウサギの断面解剖アトラス, 1997 年にラットの断面解剖アトラス, そして 2001 年にマウスの断面解剖アトラスを作成・出版したが, これらが海外でも評判となり, 英語圏向け国際改訂版の出版を望む声が高まった。そこで現在, ラットおよびマウスの解剖アトラス国際版の出版準備を進め, ラット編が先行して近く完成予定となっている。

#### II. 二酸化塩素ガス消毒に関する研究

ホルマリンガス消毒に代わる滅菌・消毒用ガスとして二酸化塩素が注目されているが, 発生後のガスが短時間に分解消滅すること, 高濃度発生で爆発の危険性があることなどから広く利用されるまでには至っていない。我々は滅菌濃度の二酸化塩素ガス (以下 C ガスと略す) を安全にしかも継続的に発生させることに成功した。その C ガスを用いた消毒効果と安全性について内外の学会で報告した。

#### III. 雄冷凍マウス体から取り出した精子と精子細胞に関する研究

遺伝子改変マウスの数が指数的に増加し, 雄性細胞の低温保存は, 貴重な動物の品種と動物種を保存する生物医学研究にとって重要な戦略となり, そのためのマウス精液凍結保存方法の研究が進行している。凍結防止剤としてラフィノースと脱脂乳を用いたマウス精液低温保存は好結果が得られているが, 遺伝子工学に好んで用いられる C57BL/6 (B6) マウスでは解凍精子での受精卵獲得が低率と問題になっている。

その解決法として, マウス雄性細胞をマウスの体と共に凍結保護なしに低温保存 ( $-20 \sim -80^{\circ}\text{C}$ ) し,

この凍結体から採取した精巣細胞を使って受精卵獲得が可能であるかどうか理研バイオリソースセンターの小倉博士らと共同で調べた。その結果、我々はマウスの精子または精子細胞（冷凍生殖器官または冷凍体から取り出した）は顕微受精によって仔マウスを発生することが可能であることを確認し、海外誌にその成果を報告した。

#### IV. 排卵卵巣における酸化ストレスマーカーの免疫組織化学的検出

排卵には活性酸素種 ROS が関わりとされている。我々もこれまでに排卵期の卵巣において ROS の一つであるスーパーオキシドが遊離していることを活性酸素センシングシステムによって確認した。当該年度においては排卵卵巣で ROS が発生することの意義を検討するため、酸化ストレスマーカー（8-OHdG, 4-HNE, HEL）の局在を免疫組織化学的に調査したところ、stigma 付近の内英膜・外英膜細胞に特に強い酸化ストレスを観察し、排卵時の卵の放出口である stigma の形成に ROS が関わっていることを結論づけた。

#### V. *Mus musculus molossinus* ならびに *Phodopus campbelli* を用いた実験用系統の育成と有用性探索

近年の多岐にわたる医科学研究領域に貢献するため、従来の実験用マウスと遺伝的な隔たりが大きい日本産野生マウス（*Mus musculus molossinus*）近交系育成、ならびに多様な実験動物確保のために非ネズミ亜科の *Phodopus* ハムスターからの実験用系統開発と、それらの有用性探索を行っている。

*Phodopus* ハムスターは、従来実験動物として用いられてきたシリアンハムスターとは別属の小型のハムスターであり、実験動物として好適な種である事が判明している。我々はすでに、この属のハムスターでは世界初となる近交系を確立し、生物学的基礎特性データの収集を行っている。現在さらに新たな近交系の育成、すでに確立した近交系を用いたコンジュニック系統の育成、疾患モデルの開発、さらなる生物学的基礎特性データの蓄積、新規突然変異の収集、突然変異原因遺伝子のクローニング、ならびにマイクロサテライトマーカーの開発を行っている。また、生化学講座第2との共同研究として、独自に育成した日本産野生マウス由来近交系の一つ；MSKR をドナー系統に用い、ポリアミンの負の調節因子；アンチザイム1遺伝子（以下 AZI）をノックアウトしたアリルをもつコンジュニック系統と、

AZI ノックアウトアリルをもつ C57BL/6J 系統由来第10番染色体をもつコンソミック系統を完成した。これら遺伝的背景を変更した系統を用いて AZI ノックアウトアリルのヘテロ接合体同志から産子を得ると、それぞれ異なった AZI ホモ接合体死亡率が観察される。現在この現象が生じさせる要因を探索中である。

#### VI. 実験動物研究施設を利用する講座等との共同研究

本年度は ME 研究室、内科学（消化器・肝臓）・臨床検査医学、病理学の各教室と以下の共同研究を行った。

1) 超音波照射による筋組織からの一酸化窒素の産生に関する研究（ME 研究室）。

2) ラジアルフロー型バイオリアクターによる人工肝の開発と応用に関する研究（生化学1&2、内科学・臨床検査医学、病理学）。

#### 「点検・評価」

実験動物関係参考書の多くは海外で作成され、我が国へは翻訳本として紹介されている。しかし著者らのマウスやラットの断面解剖アトラスは、我が国発の出版物（日本語・英語併記）として現在、海外17国で販売され、利用されている。現在、海外読者の希望に即した上記英語版を作成中で、これら出版物は内外の実験動物関係者や動物実験を行う初学者等に貢献できると考えている。一方、ホルマリンに代わるガス消毒剤としての二酸化塩素ガス発生の研究は、実験動物施設汚染防止の関係から注目され、その成果の一部は北京で開催された実験動物の国際学会で招待講演として評価された。

本学の実験動物供試動物数は大きく変わっていないが、教室供試動物数が減少、その分、当施設での供試動物数が増えている。このことから当施設の充実を一層図る必要が増している。他方、SPF 飼育マウスにおいて MHV (mouse hepatitis virus) 抗体陽性個体が見つかり、一部のマウスを処分・再検査する事態が発生したが、外部2カ所の検査で何れも陰性と判定され、問題は現在収束している。

#### 研 究 業 績

##### I. 原著論文

- 1) Koyama T, Tsubota A, Nariyai K, Yoshikawa T, Mitsunaga M, Sumi M, Nimura H, Yanaga K, Yumoto Y, Mabashi Y, Takahashi H. Detection of sentinel nodes by a novel red-fluorescent dye,

- ATX-S10Na (II), in an orthotopic xenograft rat model of human gastric carcinoma. *Lasers Surg Med* 2006; Epub ahead of print
- 2) Ogonuki N<sup>1)</sup>, Mochida K<sup>1)</sup>, Mik Hi<sup>1)</sup>, Inoue K<sup>1)</sup>, Martin FM (Medical Research Council), Iwaki T, Moriwaki K<sup>1)</sup>, Obata Y<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>RIKEN), Morozumi K<sup>2)</sup>, Yanagimachi R<sup>2)</sup>(<sup>2</sup>Univ Hawaii Med), Ogura A. Spermatozoa and spermatids retrieved from frozen reproductive organs or frozen whole bodies of male mice can produce normal offspring. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 29(103): 13098-103.
- 3) Kanai H, Marushima H, Kimura N, Iwaki T, Saito M, Maehashi H, Shimizu K, Muto M, Masaki T, Ohkawa K, Yokoyama K, Nakayama M, Harada T, Hano H, Yoshiaki Hataba Y, Fukuda T, Nakamura M<sup>1)</sup>, Totsuka N<sup>1)</sup>, Ishikawa S<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>Biott Co), Unemura Y, Ishii Y, Yanaga K, Matsuura T. Extracorporeal bioartificial liver using the radial-flow bioreactor in treatment of fatal experimental hepatic encephalopathy. *Artifl Organs* 2007; 31(2): 148-70.
- 4) Nariai K, Uchiyama H<sup>1)</sup>, Sato K<sup>1)</sup>, Tsumagari S<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>Nihon Univ), Kanayama K. The TUNEL observation of murine follicular oocyte cleaving with repeated superovulation. *Reprod Immunol Biol* 2006; 21: 1-5.
- 5) Nariai K, Uchiyama H<sup>1)</sup>, Sato K<sup>1)</sup>, Suzuki K<sup>1)</sup>, Asano R<sup>1)</sup>, Yukawa M<sup>1)</sup>, Tsumagari S<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>Nihon Univ), Kanayama K. Experimental induction of immunotolerance to gonadotropin in mice. *Reprod Immunol Biol* 2006; 21: 53-7.
- 6) Iwaki T, Minekawa T<sup>1)</sup>, Minekawa M<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>Tokiwa Kagaku), Hano H. Study of chlorine dioxide disinfection in place of formaldehyde gas. *Exp Anim* 2006; 53(3), 298: 152.
- 7) 岩城隆昌, 内田豪気, 上田 薫, 羽野 寛, 小暮一俊(日立空調サービス), 北林厚生. 二酸化塩素による滅菌に関する研究. *実験動物と環境* 2006; 14(1): 81-5.
- 8) 岩城隆昌, 飯田総一郎<sup>1)</sup>, 漆谷昌巳<sup>1)</sup>, 上村 泰<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>高砂熱学工業). オゾンを利用した危険な脱臭法と活性酸素を利用した安全な脱臭法について. *実験動物と環境* 2007; 15(1): 44-50.
- 9) Watanabe N, Tomimori Y<sup>1)</sup>, Terakawa M<sup>1)</sup>, Ishiwata K, Wada A, Muto T<sup>1)</sup>, Tanaka T<sup>1)</sup>, Maruoka H<sup>1)</sup>, Nagahira K<sup>1)</sup>, Nakatsuka T<sup>1)</sup>, Fukuda Y(<sup>1</sup>Daiichi Asubio Pharma Co., Limited). Oral administration of chymase inhibitor improves dermatitis in NC/Nga mice. *J Invest Dermatol* 2007; 127(4): 971-3.
- 10) Wada A, Ohkawa K, Tsudzuki M (Univ Hiroshima). A long haired mutant of the *Phodopus* hamster found in the process of inbreeding. *Exp. Anim* 2006; 55 (3): 255.

## II. 総 説

- 1) 岩城隆昌, 飯田総一郎<sup>1)</sup>, 漆谷昌巳<sup>1)</sup>, 上村 泰<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>高砂熱学工業). オゾン脱臭に伴う危険性について. *日獣医師会誌* 2007; 60(3): 168-70.

## III. 学会発表

- 1) 坪田昭人, 成相孝一, 松本健治, 藤瀬清隆, 斉藤博久(成育医療センター), 保科定頼. 肝腫瘍原性に影響を及ぼす酸化ストレスの解析: 網羅的遺伝子発現解析からの検討. 第13回遺伝子診療学会. 東京, 7月.
- 2) 成相孝一. 医学・生物学領域における活性酸素センサーの応用. 第10回多目的酸素電極装置研究会. 東京, 9月.
- 3) 成相孝一, 坪田昭人, 石川満寿英<sup>1)</sup>, 江口勝哉<sup>1)</sup>, 豊田裕次郎<sup>1)</sup>, 設楽正樹<sup>1)</sup>, 小柳津研一<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>東京理大), 湯浅 真, 藤瀬清隆. 排卵期の卵胞におけるスーパーオキシドの役割. 第123回成医会総会. 東京, 10月.
- 4) 成相孝一, 坪田昭人, 藤瀬清隆, 金山喜一, 石川満寿英<sup>1)</sup>, 江口勝哉<sup>1)</sup>, 豊田裕次郎<sup>1)</sup>, 設楽正樹<sup>1)</sup>, 小柳津研一<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>東京理大), 湯浅 真. 排卵期の家兎卵巣における酸化ストレスマーカーの免疫組織化学的検出. 第21回日本生殖免疫学会. 東京, 12月.
- 5) 岩城隆昌, 峯川 武(トキワ科学器械), 羽野 寛. 肝ホルマリンに代わる二酸化塩素消毒の検討. 第53回日本実験動物学会総会. 神戸, 5月.
- 6) 鈴木さつき<sup>1)</sup>, 田中寿彦<sup>1)</sup>, 室井和善<sup>1)</sup>, 岩城隆昌, 鈴木雄士<sup>1)</sup>, 桐村和子<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>日本歯科大). マイクロアイソレーションシステムでラットを飼育する場合の床敷の検討. 第53回日本実験動物学会総会. 神戸, 5月.
- 7) 岩城隆昌, 峯川 武(トキワ科学器械). 二酸化塩素燻煙消毒法の検討. 第40回日本実験動物技術者協会総会. 京都, 10月.
- 8) 和田あづみ, 大川 清, 都築政起(広島大). *Phodopus* 属ハムスターに発見された長毛形質について. 第53回日本実験動物学会. 神戸, 5月.
- 9) 和田あづみ, 大川 清, 都築政起(広島大). *Phodopus* 属ハムスターに発見された黒色被毛形質の原因遺伝子探索. 第23回日本疾患モデル学会. 伊香保, 11月.
- 10) 和田あづみ, 大川 清, 都築政起(広島大). *Phodopus* 属ハムスターに発見された優性白色被毛突然変異. 第92回関西実験動物研究会. 京都, 12月.

## V. その他

- 1) 岩城隆昌, 林 一彦<sup>1)</sup>, 安田正秀(大阪薬科大), 鈴木さつき<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>日本歯科大). 公私立大学実験動物施設協議会記録 2006; 13: 1-307.

## アイソトープ実験研究施設

教授: 福田 国彦 放射線診断学  
(兼任)

講師: 吉沢 幸夫 分子遺伝学, 放射線測定法

### 研究概要

#### I. 黄色ブドウ球菌の病原因子の解析

黄色ブドウ球菌はその菌体表面にヒト細胞に対する様々な接着因子をもつ。ファイブロネクチン結合タンパク (FnBP) もそのひとつで、アミノ酸配列および DNA 塩基配列の似通った A・B がある。マクロファージによる貪食には FnBPA の関与が大きいとされているため、FnBPA 遺伝子を欠損した株を作成した。親株 SH1000 とこの欠損株 3d を用いて、マウス非貪食細胞へ感染させたところ、3d 株では細胞内への感染が著しく低下することが明らかとなった。

テイコプラニンとバンコマイシンは同じグリコペプチド系薬でありながら、 $\beta$ -ラクタム系薬との併用効果において、前者が良好な相乗効果を示すのに対し、後者は弱い相乗効果あるいは菌株によっては拮抗作用を示す。そこでテイコプラニンが細胞壁以外に膜へ作用する可能性を検討するために、細胞壁を欠損した L-form を作成し、薬剤感受性を調べた。L-form は  $\beta$ -ラクタム薬への感受性を失ったが、細胞壁合成阻害剤とされているテイコプラニンへの感受性は増加した。これに対し、バンコマイシンの MIC は L-form と親株で差がなかった。

黄色ブドウ球菌 RN4220 株がオパールサプレッサーを保有することを確認した。スタフィロキナーゼ (SAK) 遺伝子にオパール変異を導入し、RN4220 株での遺伝子発現を調べたところ、SAK が産生されていた。

#### II. 放射線耐性生物における耐性機構の解析

放射線に高度耐性である生物の一つとして、クマムシが知られている。しかし、放射線に対する LD<sub>50</sub> を調べた例はなく、耐性機構も不明のままである。これらを明らかにするためにクマムシの実験室での飼育を始めた。

#### III. 日常生活用品に含まれる放射能の測定と評価

日常生活用品の中には、天然鉱石に含まれる放射性同位元素を用い様々な効能を謳った製品が存在する。これら「放射性コンシューマプロダクト」によ