

## 実験動物研究施設

教授：大川 清 がんの生化学，病態医化学  
(兼任)  
講師：和田あづみ 実験動物学，遺伝育種学

### 教育・研究概要

#### I. イヌにおける免疫学的便潜血検査と消化管内寄生虫感染における潜血傾向

医学領域において便潜血検査は，主に大腸がんのスクリーニングとして汎用されている。一方獣医学領域においては，対象となる動物種とその食性の多様さから，従来のヘモグロビンのペルオキシダーゼ活性に基づいた化学法による検査は難しく，またその適用も明らかになっていない。そこで，シマ研究所との共同研究で高齢化により今後腫瘍のスクリーニング法開発が必要と考えられるイヌを対象とした免疫学的便潜血検査系を確立し，家庭飼育犬から得た検体を用いてその性能と適用の評価を試みている。

本法においては，化学法に認められる他種動物の血肉やアスコルビン酸といった食餌内容による偽陽性および偽陰性は生じないこと，便性状に依らずある種の寄生虫種の感染によって有意に便潜血値が上昇すること，並びに駆虫によって便潜血値が低下することを確認している。これらの大半は開発途上国で問題となっている人獣共通感染症である為，当該地域においてはヒトおよび動物の感染症スクリーニング法として有用であるかもしれない。

現在，消化管内腫瘍症例の収集を行うと共に，寄生虫感染の多寡と便潜血レベルの相関および北海道立衛生研究所の協力を得て多包条虫 *Echinococcus multilocularis* 実験感染犬における経時的变化を解析中である。

#### II. *Mus musculus molossinus* ならびに *Phodopus* ハムスターを用いた実験用系統の開発と有用性探索

近年の多岐にわたる医科学研究領域からの需要に対応するためには，未開発の遺伝的資源から実験動物を育成する必要があると考えられる。そこで，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*) から独自に育成した近交系の維持と改良，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* ハムスター等から実験用系統の開発を試み，これらの有

用性探索を行っている。

日本産野生マウスは，一般に用いられる実験用マウスとは異なる亜種に分類され，従来の実験用マウスと異なる特性を多くもつ。当研究施設では，大阪府にて捕獲された野生個体を起源とする近交系を維持しつつ，これらを起源として，既存近交系をドナーあるいはレシピエントとしたコンジェニック系統あるいはコンソミック系統の育成を試みている。育成されたコンソミック系統において，骨格あるいは脂質代謝の異常が疑われる系統が得られており，現在解析中である。

また，生化学第二講座との共同研究として，維持している *molossinus* 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ェニック系統と，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士から産子を得ると，それぞれ異なった AZI ホモ接合体死亡率が観察される。現在この現象を生じさせる要因を引き続き探索中である。

*Phodopus* ハムスターとは，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た。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基礎にした改良系統の育成，マイクロサテライトマーカーの開発など実験動物としての基盤を引き続き整備している。この種からの疾患モデル開発として，黒尿症を発症する家系を発見し家系分析を行うとともに，最初に確立した近交系で胃に高分化型腺癌と診断された病変を示す個体を発見し，解析を開始している。

#### III. モデルマウス；NC/Nga 系統を用いた，アトピー性皮膚炎治療薬の探索

熱帯医学講座との共同研究で，当研究施設にて経代維持しているアトピー様皮膚炎好発系統である NC/Nga 系統を用いた，新規アトピー性皮膚炎治療薬の探索等を行っている。

#### 「点検・評価」

##### 1. 施設

実験動物研究施設では，*in vivo* 研究に不可欠な

実験動物の飼育管理だけにとどまらず、洗練された動物実験環境の提供を研究者に行い、またさらに動物実験の立案や手技などに関するコンサルテーションに応じている。平成 23 年度の実験動物研究施設利用登録者は、臨床系 15 講座および基礎系 20 講座とその他部門からあわせて 167 名であった。また、平成 21 年度より開始した新規施設利用者に対する施設利用説明会を平成 23 年度も引き続き開催し、平成 22 年度からは動物実験初心者を対象として基礎的な動物実験手技を手ほどきする技術講習会の開催を開始している。

## 2. 教育

大学院医学研究科では、共通カリキュラムにおいて実験動物学の講義および動物実験実習を担当したほか、大学院生の要望に応じ各自の研究課題の中で必要な動物実験の計画立案や手技の指導を随時行った。

また、当施設専任教員は本学動物実験委員会の委員として、動物実験委員長の統轄下に動物実験計画書の予備審査や変更審査の主査等を担当して委員会運営に参画し、本学動物実験規定に基づいて行われる動物実験教育訓練講師を担当した他、随時、動物実験計画申請者に対するコンサルテーションに応じた。

## 3. 研究

研究概要に示したように、施設教職員が各々の専門領域の下で研究活動を展開した。また、施設利用者との共同研究も積極的に行い、学会発表や論文公表を行った。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Kanai T (Tokyo Women's Medical University), Wada A, Ohkawa K, Tsudzuki M (Hiroshima University). A case of gastric carcinoma of the inbred hamster from originated *Phodopus campbelli*. Exp Anim 2011; 60(3) : 312.

### III. 学会発表

- 1) 和田あづみ, 金井孝夫(東京女子医科大), 大川 清, 都築政起(広島大). *Phodopus campbelli* 由来近交系における胃癌発症; 発症率と系統差について. 第 58 回日本実験動物学会総会. 東京, 5 月.
- 2) 金井孝夫(東京女子医科大), 和田あづみ, 大川 清, 都築政起(広島大). *Phodopus campbelli* 由来近交系ハムスターにみられた胃癌例. 第 58 回日本実験動物学会総会. 東京, 5 月.

## 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 放射線測定法, 分子遺伝学

### 教育・研究概要

#### I. 黄色ブドウ球菌の病原因子の解析

黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素 (ET) は、血清型により A と B の 2 種に分けられ、*eta* 遺伝子はファージに、*etb* 遺伝子はプラスミド上に存在する。近年では、ET を産生する MRSA が出現し、新産児や幼児に発症するリッター病、膿痂疹 (とびひ) の原因となっている。ET による表皮剥脱はセリン (Ser) プロテアーゼ活性により生ずると報告されているが、我々は ET をテトラニトロメタン処理することによりチロシン (Tyr) 残基のニトロ化を行い、表皮剥脱活性と抗原性が失われることを見いだした。さらに、プラスミドに *eta* 遺伝子をクローニングし、PCR 法により Ser 残基に変異を導入して表皮剥脱活性と抗体に対する反応性を調べたところ、セリンプロテアーゼの活性中心とされている Ser-195 ならびに残る 16 残基の Ser 残基をフェニルアラニン (Phe) に置換した各変異 ETA の活性と抗原性に変化は見られなかった。一方、Tyr-17-18 ならびに Tyr-225-232 を Phe に置換すると表皮剥脱活性は完全に失われ、逆受身ラテックス凝集反応の凝集価は親株の 1/40 に減少した。また、マイクロオクテロニー法において、Phe 17-18 ETA および Phe 225-232 ETA では、抗 ETA 血清との沈降線が観察されなかった。これらの結果から、ETA の活性中心は Tyr-17-18 ならびに Tyr-225-232 であると考えられた。

#### II. 放射線耐性生物における耐性機構の解析

緩歩動物門に属するクマムシは体長 1 ミリにも満たない微小な動物で、深海から陸上までさまざまな環境に生息している。クマムシの中には、乾燥すると肢をちぢめて干からび、樽と呼ばれる状態になるものがある。樽になると高温、高圧、紫外線、放射線などの極限状態に耐性になることが報告されている。放射線耐性機構を明らかにするために、東京都下水道局有明水再生センターより活性汚泥の提供を受け、クマムシを回収し、性状を調べた。18S-rDNA の DNA 塩基配列および形態から、活性汚泥に生育するクマムシは同一種で、和名ゲスイクマム