

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

シであると同定された。ゲスイクマムシは乾燥させると樽様の形態になるが、完全な樽にはならず、水を加えても蘇生することにはなかった。ゲスイクマムシをシャーレに取り、炭酸水（ロケット プリオブルースパークリング）を数滴加えると、クマムシは硬直して動かなくなった。その後30秒程経つと元のように体を伸び縮みさせ活発に足を動かすようになった。これにより、炭酸水はクマムシに対して短時間の麻酔効果があることが分かった。顕微鏡観察を容易にするために、活性汚泥から採取したクマムシを2 $\mu$ M CellTracker Green CMFDA (Lonza Walkersville, Inc. 以下 CellTracker) 溶液で90分間蛍光染色した。染色したクマムシをミネラルウォーターに移し、8匹ずつ12本の15mlチューブに入れ、日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所のコバルト60照射装置にて7000Gy、4000 Gy、2000 Gy、1000 Gy、500 Gyの5条件で $\gamma$ 線照射し、未照射群と共に生存率を調べた。照射3時間後における生存率はすべての照射線量で0%、一方、未照射群では生存率100%であった。蛍光染色しなかった場合の生存率は1000Gy以下では未照射群と同等であるが、蛍光染色すると照射群での生存率が低線量において低下することから、CellTrackerはゲスイクマムシに対して放射線増感作用があることが示唆された。

### Ⅲ. 放射線測定法の開発

肺がんの原因として、喫煙に次ぐとされている空气中ラドンの濃度測定を目的として、シリコーンをシンチレータとして用いる測定法の開発を行った。世界保健機構は2009年に室内ラドン濃度の参考レベルとして100Bq/m<sup>3</sup>を提案し、この値を実現することが困難な国においても300Bq/m<sup>3</sup>を超えないことを要求している。我々は、揮発性が低く、引火点が高いシリコーンオイル・シンチレータによるラドンの測定を試み、報告した。メチルフェニル基を保有するHIVAC F4（信越化学工業）を溶媒として用いたシリコーンオイル・シンチレータは、ラドンを含む水と振盪することにより水よりラドンを効率良く抽出することができた。計数効率もトルエンシンチレータと同等であった。今回、空气中ラドンを捕集し、測定することを目的にシリコーンゴム・シンチレータを作成した。信越化学工業のKER-6150-AおよびBに第1蛍光体として2,5-diphenyloxazoleを2g/lに、第2蛍光体として1,4-Bis(5-phenyl-2-oxazolyl) benzeneを0.2g/lに加え、等量を混合して100度1時間、150度2時間加熱した。

得られたシリコーンゴム・シンチレータは、透明で、柔軟性を持ち、耐熱・耐寒・耐水性であった。

### Ⅳ. 環境中における放射性降下物の挙動

2011年3月に発生した福島第一原子力発電所事故により環境中に放出された放射性物質の分布と挙動の調査を行なった。事故直後より大学および周辺で空間線量率の測定を行ない、放射性物質が風により飛来し降雨により地面へ沈着したことを確認した。2011年4月～11月に福島県と関東地方の約70カ所から環境試料を採取し、放射性物質の定量とイメージングプレートを用いた画像解析を行なった。東京都内および周辺地域における土壌試料中の放射性物質は<sup>134</sup>Cs: 0.4～100kBq/m<sup>2</sup>, <sup>137</sup>Cs: 0.5～130kBq/m<sup>2</sup>（試料採取時）と広い濃度範囲を示し、場所による放射性降下量の違いが明らかになった。植物試料のデータからは、放射性物質が外部に付着している場合と内部に取り込まれた場合があることがわかった。マツ・ヒノキなどの針葉樹の画像から、葉に付着した「ホットパーティクル（放射性物質濃度の高い粒）」の存在が確認された。2011年6月に福島県川俣町で採取されたタケノコ試料のイメージング画像からは、放射性セシウムがタケの内部に取り込まれタケノコの生長点に集積している様子が明瞭に見られた。今後これらの環境中の放射性物質がどのように移動・循環されるか継続して調査する予定である。

#### 「点検・評価」

##### 1. 施設

アイソトープ実験研究施設は、本学における放射性同位元素(RI)を用いた基礎医学・生化学研究の実施と支援を行っている。また、2011年度からはRIを使用しない動物実験等も積極的に受け入れている。2011年度は、14講座・研究室の35名、2カリキュラムの14名の合計49名（うち女性15名）が実験・研究を行った。昨年度に比べ、5講座・研究室・9名の増加であった。RI受入件数は19件で7件の増加、使用核種は<sup>32</sup>P, <sup>51</sup>Cr, <sup>3</sup>H, <sup>35</sup>S, <sup>125</sup>Iなどであり、使用量合計は1210MBqで、477MBqの増加であった。

##### 2. 研究

「黄色ブドウ球菌の病原因子の解析」については、黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素が従来報告されてきたセリンプロテアーゼではないことを明らかにし、発表した。今後、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群の発症機構を解明するために、毒素の基質を解明したい。

「放射線耐性生物における耐性機構の解析」については、活性汚泥からゲスイクマムシを採取して実験に用いる手法を確立できた。タンパク質を染色する蛍光色素である CellTracker でゲスイクマムシの放射線感受性が増加したことは、放射線耐性に関与しているタンパク質の同定に一步近づいたと言える。

「放射線測定法の開発」については、シリコーンオイル・シンチレータによるラドン測定について論文として報告した。今年度作成したシリコーンゴム・シンチレータは、固体シンチレータであるため取扱が容易で、ラドン測定法として期待できる。

「環境中における放射性降下物の挙動」については、一般市民の関心も高く、関連研究会への参加のみならず、一般向けの講演会・測定会等も積極的に行っている。

### 3. 教育

放射線障害防止法に基づく教育訓練を年8回実施し90名が受講した。施設管理部署の一次立入者を対象とした教育訓練を年度初めに3回実施し17名が受講した。大学院共通カリキュラムにおいてRI基礎技術の取得を目的とした1コース3日間の実習を行い、2コース6名が受講した。研究室配属学生2講座8名が6週間の実習を行った。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Shinji H, Yosizawa Y, Tajima A, Iwase T, Sugimoto S, Seki K, Mizunoe Y. Role of fibronectin-binding proteins A and B in in vitro cellular infections and in vivo septic infections by *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 2011; 79(6) : 2215-23.

### III. 学会発表

- 1) 吉沢幸夫, 櫻井 進 (河野臨床医学研究所). 黄色ブドウ球菌性表皮剥脱素血清型 A の生物活性および抗原性におけるチロシン残基の役割. 第56回日本ブドウ球菌研究会. 高知, 9月.
- 2) 堀内公子, 箕輪はるか, 吉沢幸夫. モナザイトからの溶出実験による人工放射能泉の分析. 日本温泉科学会第64回大会. 神戸, 9月. [温泉科学 2011; 61(3) : 181-2]
- 3) 箕輪はるか. 千葉県船橋市の放射線分布からみた都市部における放射性降下物の挙動. 2011年度日本地球化学会第58回年会. 札幌, 9月.
- 4) 堀内公子, 箕輪はるか, 吉沢幸夫. モナザイトからの放射性核種の侵入実験. 2011日本放射化学会年会・

第55回放射化学討論会. 長野, 9月. [Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences 2011; 12(Suppl.) : 99]

- 5) 箕輪はるか. 植物試料のイメージングプレート画像による原子力発電所事故由来の放射性降下物の調査. 2011日本放射化学会年会・第55回放射化学討論会. 長野, 9月. [Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences 2011; 12(Suppl.) : 45]

- 6) 堀内公子, 箕輪はるか, 吉沢幸夫. モナザイトからの溶出実験による人工放射能泉の分析. 第128回成医学会総会. 東京, 10月. [慈恵医大誌 2011; 126(6) : 209-10]

## IV. 著 書

- 1) Yoshizawa Y, Minowa H, Takiue M. Determination of radon using silicone oil scintillator. In: Cassette P, editor. LSC 2010: Advances in liquid scintillation spectrometry. Tucson: Radiocarbon, 2011. p.273-7.