

実験動物研究施設

教授：嘉糠 洋陸 寄生虫感染と衛生動物学
講師：櫻井 達也 分子寄生虫学

教育・研究概要

I. アフリカトリパノソーマと宿主およびベクターとの相互作用に関する研究

アフリカトリパノソーマ症は人と家畜の致死性の原虫感染症であり、ツェツェバエ (*Glossina* spp.) によって媒介される。哺乳類と昆虫という全く異なる寄生環境に適応するために、アフリカトリパノソーマ原虫は複雑な生活環を有している。宿主血流中に寄生した血流型は吸血時にツェツェバエに摂取されると、中腸内でプロサイクリック型へと分化し、宿主への感染性を失う。プロサイクリック型は、ツェツェバエ体内を移行し、口吻・唾液腺内ステージであるエピマスティゴート型へと分化し、ツェツェバエ組織に強く接着して増殖する。エピマスティゴート型はメタサイクリック型へと分化することで、宿主への感染能を再獲得する。一連の細胞分化は原虫の伝播に必須の生物現象であり、新規アフリカトリパノソーマ症制御法を開発する上で有望な標的となりうる。しかし、いずれの細胞分化の分子メカニズムも未解明である。我々は、全発育ステージの培養と各発育ステージ間の細胞分化の再現を *in vitro* で可能な *Trypanosoma congolense* を用いて、プロテオーム解析などの網羅的解析により原虫の細胞分化に関わる分子の探索を行っている。

II. 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便潜血傾向

獣医療の進歩はイヌやネコといった伴侶動物の長寿化をもたらした。しかしそれに伴って腫瘍をはじめとした加齢性疾患も増加しており、スクリーニング法の開発が喫緊の課題となっている。便潜血検査は、医学領域において大腸がんのスクリーニング法として広く普及している。しかしながら、大・小動物を問わず獣医療における臨床的意義についての知見は殆どなく、検査として実施されることもない。これはヘモグロビンのペルオキシダーゼ活性に基づいた従来の化学触媒法が絶食を前提としており、現代において多様な飼養環境にある動物には適していないことに起因すると考えられる。そこで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

行った。本法においては、化学触媒法で認められる他種動物の血肉やアスコルビン酸 (ビタミン C) といった食餌内容による影響を受けず、実施前の絶食が必要ないことを確認した。また、定量的な評価が可能であり、特定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。これらの寄生虫種は現在も国内でよく認められるため、イヌの便潜血検査においてはこれらの存在も考慮する必要性があることが示唆された。現在、消化管内腫瘍症例における診断的価値について検討を継続している。

III. アミノ酸摂取量の調整によるマラリア制御の可能性

マラリアは最も重要な寄生虫感染症の1つであり、薬剤耐性株の出現などから、この疾病に対する予防・治療法の確立が強く望まれている。マラリア原虫は大半のアミノ酸生合成経路を欠損しており、増殖に必要なアミノ酸の一部を感染宿主の血漿から得ている。宿主-マラリア原虫相互作用についての理解を深めるため、我々は宿主血漿に含まれる遊離アミノ酸の網羅的な組成 (血漿アミノグラム) をメインパラメータとし、栄養学的知見に基づくマラリア制御の可能性を検討している。これまでの解析から、イソロイシン欠損食の投与による血漿アミノグラムの変化により、脳性マラリアのモデルマウス C57BL/6J の生存率が上昇する結果を得ている (=脳性マラリアトランス)。興味深いことに、脳における原虫量について、通常食とイソロイシン欠損食投与群間で差はなかった。これらの結果は、脳性マラリアの発症について、アミノ酸が介する新規のメカニズムが存在することを示唆している。現在は、マウスモデルを用いて、血漿アミノグラムと脳性マラリアトランスとの関連の有無を検討している。

「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。2017年度の実験動物研究施設利用登録者は、臨床系 19 講座、基礎系 14 講座、総合医科学研究センター 15 部門等からあわせて 747 名 (2018 年 3 月 31 日時点) であり、前年度と比べて約 50 名増加した。この傾向は数年来続いており、

本学で実施される医科学研究において、実験動物研究施設の果たす役割と重要性が年々増していることを表していると考えられる。当施設では、本学の研究者が動物実験を行うためのコアファシリティとして、多様化する in vivo 研究技術や実験動物種に対応すると同時に、3Rs の精神に則って、少ない動物数で低侵襲的に高機能解析を実施可能な環境の整備を推し進めている。施設の高機能化を図るべく、嘉糠洋陸施設長の指示のもと、櫻井達也講師が中心となって、高性能 in vivo イメージング機器群や実験動物用麻酔器等の実験機器の使用環境の整備と動物飼育室・飼育室の拡充を推し進めた。また、ユーザー対応の充実の一環として、新規施設利用者に対する施設利用説明会（2009 年度より開催）および動物実験に不慣れな研究者を対象とした基礎的な動物実験手技の技術講習会（2010 年度より開催）を 2017 年度も年 3 回開催した。

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。学部教育について、櫻井講師が、コース研究室配属で配属となった 2 名の医学部生（3 年生）を担当し、6 週間にわたり実験を実施したほか、コース外国語Ⅲのユニット「医学英語専門文献抄読Ⅰ」でも 2 名の医学部生（3 年生）を担当し、科学論文の読み方、特に構成や特有の英語表現等について解説した。また、医学部生（3 年生）を対象としたコース臨床基礎医学のユニット「寄生虫と感染」の講義およびユニット「寄生虫学実習」の一部を担当した。医学生が研究室配属や選択実習において動物実験に関わる機会が増えていることなどから、今後も施設教員が医学科カリキュラムに積極的に参加し、持てる専門知識・能力を発揮することで、引き続き学部教育に貢献していくことが望まれる。

また、当施設専任教員は、獣医学の専門知識を有する委員として本学動物実験委員会の運営に参画し、動物実験委員長の下に、本学動物実験規程に基づいて行われる動物実験教育訓練および動物実験計画審査の講師・審査員を担当した他、随時、動物実験計画申請者からの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、学会発表等を行った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Kurihara S, Fujioka M¹⁾, Yoshida T, Koizumi M, Ogawa K¹⁾ (¹ Keio Univ), Kojima H, Okano JH. A surgical procedure for the administration of drugs to the inner ear in a non-human primate common marmoset (*Callithrix jacchus*). J Vis Exp 2018; 132: e56374.

III. 学会発表

- 1) 小泉 誠. (基盤技術チュートリアル「麻酔・行動トレーニング・健康管理」)「実践的な麻酔法」東京慈恵会医科大学におけるマーマセット麻酔管理の実際. 第 7 回日本マーマセット研究会大会. 京都, 1 月.