

第31回岡山実験動物研究会

平成8年6月29日(土)午後1時10分から岡山県新技術振興財団との共催で川崎医科大学(附属図書館小講堂)において、初鹿了先生のお世話で開催された。

初めに会長の栗本雅司所長(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)から開会のご挨拶があり、その後直ちに一般講演に移った。

一般講演(1)は「昆虫腹筋の神経支配とその興奮性接合部位電位の生理学的性質」と題して川崎医科大学の川崎史子先生が講演された。この司会は亀井千晃先生(岡山大学薬学部)が担当された。

一般講演(2)では「ヒト白血病細胞株のハムスター着生試験とその有効利用について」と題して(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所の古谷聡美先生が講演された。この司会は内藤一郎先生(重井医学研究所)が担当された。

一般講演(3)は「アレルギー性疾患モデルとしてのBN系ラットの有用性」と題して岡山大学薬学部の大石浩子さんが講演された。この司会は大森齊先生(岡山大学工学部)が担当された。

一般講演(4)は「4型コラーゲンの自己免疫疾患である抗GBN抗体腎炎の動物モデルによる解析」と題して重井医学研究所の佐渡義一先生が講演された。この司会是新井成之先生(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)が担当された。

4題の一般講演が終了し、休憩をとった後、事務局から会務報告があった。その内容は、①平成7年度の活動報告(第29回、第30回研究会の開催、会報12号の発行、理事会・常務理事会の開催について)、②平成7年度の会計決算報告及び監事の中永征太郎先生、河本泰生先生によって会計監査がなされたこと、③第31回の研究会が岡山県新技術振興財団との共催で現在川崎医科大学で開催されていること、④第32回の研究会は岡山県新技術振興財団との共催で12月上旬に開催を予定していること、⑤第13号の研究会報の発行を進めていること、などであった。

会務報告後、特別講演が行われた。

特別講演は「広島大学医学部附属動物実験施設の紹介と実験動物の眼検査について」と題して、広島大学医学部の古川敏紀先生が講演された。この司会は岡山大学医学部の倉林謙先生が担当された。この会には約50名の参加者があり、盛会のうちに終えた。

一般講演(1)

昆虫腹筋の神経支配とその興奮性接合部位電位の生理学的性質

川崎史子(川崎医大・生理)・喜多 弘
(川崎医大・生理, 川崎医福大・感覚矯正)

フタホシオロギ腹筋の筋線維は二重神経支配を受けており、一本の筋線維から、脊椎動物のfastとslowに対応する大小2種の興奮性接合部位電位(EJP)が記録される。我々は縦走腹筋として202筋を、横行腹筋として203筋を選び、それらの神経支配と2種のEJPの性質を調べた。

202筋は、第2腹部神経節(AG2)の同側にある2個の運動神経細胞(M)によって支配され、一方が大EJPを、他方が小EJPを発生する。202筋では、左右各半分が第1腹部神経節(AG1)の反対側のMと第3腹部神経節(AG3)の反対側のMとによって支配され、前者が大EJPを、後者が小EJPを生ずる。202筋では、AG3の第1神経根(R1)の刺激によって、同じ筋線維に大小のEJPが発生するが、小EJPの方が閾値が低い。一方203筋では、AG1のR1刺激によって大EJPが、AG3のR1刺激によって小EJPが同一筋線維に生ずる。大小EJPの性質は、両方の筋肉で差が無い。

大小のEJPの性質を比較すると、大EJPの方が外液 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_o$)に対する感受性が高く、0.25mMから発生するのに対して、小EJPは0.75mMで初めて出現する。又EJP振幅の $[Ca^{2+}]_o$ 依存性にも大小EJP間で差があり、 $\log(EJP振幅)$ と $\log([Ca^{2+}]_o)$ の関係は大EJPの場合、 $[Ca^{2+}]_o = 0.25 \sim 0.5$ mMの範囲で、傾斜3.9の直線となり、小EJPでは、0.75~5mMの範囲で、傾斜1.5の直線となる。正常の $[Ca^{2+}]_o = 5$ mMでは、大EJPは筋線維の活動電位を伴うが、小EJPは活動電位を発生しない。両EJPとも 3×10^{-6} MのJoro spider toxinによって抑制され、神経伝達物質はglutamateであることが示唆された。

一般講演(2)

ヒト白血病細胞株のハムスター着生試験とその有効利用について

古谷聡美、伊藤美千代、新井成之、栗本雅司
(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)

ヒト白血病細胞株は、一般的にヌードマウスやスキッドマウスに着生しにくく、抗癌剤のin vivoでの評価が困難である。我々は従来よりハムスターの体内でヒト白血病細胞株を増殖させている。今回は、このハムスター法を利用したヒト白血病細胞株

の着生試験結果と、担癌ハムスターを用いて行った抗癌剤効果試験について紹介する。

我々がやっているハムスター法とは、抗リンパ球血清により免疫抑制した新生児ハムスターにヒト白血病細胞株を移植し、ハムスターの体内で増殖させる方法である。我々が所有しているヒト血球由来細胞株のうち、101種（T cell 27種、B cell 50種、non-T, non-B cell 10種、Myelomonocytoid cell 7種、non-L, non-M cell 7種）の細胞を用いてハムスター法で着生試験を行った。その結果、ヒト白血病細胞株のハムスターへの着生は、順に82%、70%、40%、83%、86%と、ほぼ高い割合での着生が確認された。

また、ヒト白血病細胞株のハムスターの着生と細胞の分化の程度と関わりがあるかを考察したが、現段階では細胞の分化とハムスターへの着生には、関係が見られなかった。

次に、ヌードマウスやスキッドマウスに着生しにくいヒトT細胞急性リンパ芽球白血病細胞株であるCCRF-CEMで、ハムスター法を利用して行った抗癌剤効果試験を紹介する。新生児ハムスターにCCRF-CEMを移植し、TNFを移植の後12日目から32日目までの21日間腹腔内投与した。TNF投与終了翌日の33日令の担癌ハムスターの生存率は、コントロール群47.2%に対し、5,000JRU/bodyで66.7%、15,000JRU/bodyで83.3%、45,000JRU/bodyで83.3%と15,000及び45,000JRU/bodyのTNF投与によって生存率は有意(Fisher's exact probability test)に上昇した。このときの腫瘍増殖抑制効果は、TNFの用量依存的な腫瘍増殖抑制効果が認められた。この様に、ヒト白血病細胞株の着生ハムスターを用いて各種抗癌物質の効果試験が可能であることがわかった。

一般講演(3)

アレルギー性疾患モデルとしての BN系ラットの有用性

大石浩子・杉本幸雄・亀井千晃
(岡山大学・薬学部)

Brown-Norway (BN)系ラットは米国のWistar研究所で近交系として確立された有色ラットで、総IgE値が高く、特異的IgE抗体産生能も優れていることから、喘息及び鼻アレルギーなどの各種アレルギー性疾患モデルとして注目されている。しかし、アレルギー性疾患における肥満細胞の重要性にも関わらず、BN系ラットの肥満細胞の性質に関する詳細な研究はほとんど行われていない。そこでBN系ラットの肥満細胞の性質、ヒスタミン含量およびヒスタミン遊離物質に対する反応性について、Wistar系ラット

およびSD系ラットと比較した。実験には、日本チャールス・リバー社より入手した10~15週齢のBN系ラット、Wistar系ラットおよびSD系ラットを使用した。最初に腹腔肥満細胞について検討した結果、BN系ラットの腹腔肥満細胞は、Wistar系ラットおよびSD系ラットと比較して有意に細胞直径が小さく、細胞数およびヒスタミン含量も少ないことが判明した。しかし、代表的なヒスタミン遊離物質であるコンパウンド48/80によるヒスタミン遊離反応において、BN系ラット肥満細胞は最も高い感受性を示し、0.1 μ g/mlおよび0.3 μ g/mlの濃度におけるヒスタミン遊離率は、Wistar系ラットおよびSD系ラットと比較して有意に高い値を示した。さらに肺組織について検討したところ、BN系ラットの肺は、他の2系統と比較して組織重量比およびヒスタミン含量のいずれも有意に高いことが判明した。一方BN系ラットの皮膚組織は、Wistar系ラットおよびSD系ラットと比較するとヒスタミン含量が有意に低かった。以上の結果、BN系ラットの肥満細胞は、コンパウンド48/80に対して高い反応性を示したことから、抗アレルギー薬のヒスタミン遊離抑制作用の検討に有用であることが示唆された。

一般講演(4)

4型コラーゲンの自己免疫疾患である 抗GBM抗体腎炎の動物モデルによる解析

佐渡義一(重井医学研究所免疫部門)

1919年にGoodpastureによって報告された腎炎は1980年代から現在にかけて、その原因抗原、また発症のスタートとなる自己抗体の解析が進み、その全体像が明らかにされた。私達は動物モデルを通して解析に参加してきた。

基底膜コラーゲンである4型コラーゲンは基底膜の主成分で現在 α 1鎖から α 6鎖までの6種類の α 鎖が報告されている。各 α 鎖のアミノ酸配列はcDNAを用いた手法で明らかになっている。私達の研究室では1980年代にラットを用いた実験腎炎を開発し、発症のメカニズムを追求してきた。原因抗原の解析は天然の抗原を可溶化した抗原をラットに免疫注射するモデルに始まり、精製抗原、合成ペプチド、そして組換え蛋白質によるモデルに至っている。研究の進展にともない原因抗原が α 3鎖と α 4鎖の球状ドメイン(NC1)にあることが明らかになってきている。

この腎炎研究の過程でラットリンパ節細胞をB細胞の起源とするモノクローナル抗体の新しい作製法(ラットリンパ節法)を開発した。この方法では従来のマウス脾臓法にくらべ約10倍の効率で陽性ハイブリドーマが得られる。この方法を用いて合成ペ

