

### 第65回岡山実験動物研究会

平成25年7月12日(金)午後1時30分から午後5時30分までノートルダム清心女子大学・中央棟649ND(4階)で菊永茂司先生のお世話で開催された。

開会のあいさつと一般講演1と2の司会は会長の織田銃一先生(岡山理科大学理学部)が予定されていたが、所用のため、急遽、事務局の国枝哲夫が代行することになった。

一般講演1は「ニワトリ筋ジストロフィーに関する研究」と題して松本大和氏ら(神戸大大学院・現所属:岡山大大学院)が講演され、一般講演2は「ニワトリ鞍部に生じる羽の性的二形形成機構」と題して木幡衣恵氏ら(岡山大大学院自然科学研究科・理学部生物学科)が講演された。続いて、一般講演3は「*repro23* マウス精巣におけるレトロトランスポゾンの発現解析」と題して前川真穂氏ら(岡山大大学院環境生命科学研究科)が、一般講演4は「ストレス性高体温試験とオープンフィールド試験によるコーヒー揮発性成分のストレス緩和作用:隔離飼育マウスを用いた検討」と題して曾我部 咲氏ら(ノートルダム清心女子大・人間生活学部)が講演され、司会は竹内 栄先生(岡山大大学院自然科学研究科)が担当された。

一般講演4が終了後、休憩を取った。その後、事務局から会務報告があった。会務報告は平成25年度第1回理事会の記載内容(74~76頁)を参照下さい。



本研究会 HP より引用

写真上段: 講演者の皆様 (左からプログラム順)

松本氏、木幡氏、前川氏、曾我部氏、  
土居氏、池本氏、塚本先生

中段: 聴講者の皆様

下段: 会長・事務局・座長の皆様

右端: 研究会運営スタッフの皆様

会務報告終了後、一般講演5は「酸化ストレスにより発症するアカタラセミアマウスの糖尿病に対するごぼうの効果」と題して土居若菜氏ら(岡山理科大学大学院・岡山理科大学理学部)が講演され、一般講演6は「アカネズミの繁殖期と行動圏の変化」と題して池本眞希氏ら(岡山理科大学理学部)が講演され、司会は林 泰資先生(ノートルダム清心女子大・人間生活

学部)が担当された。

一般講演終了後、特別講演に移った。特別講演は「マウス初期胚発生と精子形成過程におけるオートファジー(自食作用)の役割」と題して塚本智史先生(放射線医学総合研究所・生物研究推進課)が講演され、司会は西川 哲先生(京都薬科大・バイオサイエンス研究センター)が担当された。

講演会終了後、ノートルダム清心女子大学・カリタスホール1階ラウンジで懇親会が持たれ、講師の先生方を囲んで会員相互の親睦を深めた。最後に、第65回研究会の開催、運営にご尽力いただいた菊永茂司先生からノートルダム清心女子大学の御紹介を兼ねた閉会のあいさつがあり、盛会のうちに終えた。

#### 一般講演1

##### ニワトリ筋ジストロフィーに関する研究

松本大和\*・笹崎晋史・万年英之  
神戸大院・\*現所属:岡山大院

筋ジストロフィーとは骨格筋の壊死・変性を主徴とする進行性の筋力低下を伴う遺伝性疾患の総称であり、今日でも有効な治療法のない難病である。dystrophin 及びその関連タンパク質の異常により発症に至る例が多いが、ニワトリ筋ジストロフィー発症系(NH-413)では dystrophin 等の発現は正常であり、発症原因がいまだ不明である。我々はこの原因遺伝子の同定を目的とし、遺伝学的解析および生化学的解析を試みてきた。以下、これまでに得た研究結果について概説する。これまでの研究により、ニワトリ筋ジストロフィー原因遺伝子 (*AM: abnormal muscle*) は第2染色体q腕上の約4 Mbpの領域に存在することが示唆された。そこで我々は新たにニワトリ筋ジストロフィー-F2リソースファミリーを作成し、*AM*遺伝子の探索を行った。F2個体487羽及び新規開発DNAマーカー22個を用いたハプロタイプ分析により、ニワトリ筋ジストロフィー遺伝子の候補領域を1.2 Mbpにまで限定した。この候補領域中には7つの機能遺伝子が存在した。

各 *AM* 候補遺伝子に対して正常鶏・筋ジストロフィー発症鶏間で塩基配列と発現様式の比較を行い、*AM* 遺伝子の同定を試みた。各遺伝子の翻訳領域の塩基配列を比較した結果、アミノ酸置換を伴う非同義置換は *WWPI* 遺伝子においてのみ検出された。この変異の検出された領域のアミノ酸配列は高度に保存されていた。また、正常鶏・筋ジストロフィー発症鶏間で大きく発現様式の異なる遺伝子は候補遺伝子中に存在しなかった。以上の結果は、ユビキチンリガーゼの一種である *WWPI* 遺伝子がニワトリ筋ジストロフィーの原因遺伝子であることを強く示唆していた。

ニワトリ筋ジストロフィーではMyHCの幼鶏型から成鶏型へのアイソフォームの遷移が妨げられ、これが発症に寄与すると考えられている。そこで我々はC<sub>2</sub>C<sub>12</sub>筋芽細胞に野生型及び変異型 *WWPI* 遺伝子を導入し、筋分化マーカーを対象とした発現解析を行った。

野生型 *WWP1* 遺伝子の過剰発現に伴い *MyHC Ia* 遺伝子の発現は増加し、*MyHC Iib* 遺伝子の発現は減少した。変異型 *WWP1* 遺伝子を導入した細胞では、野生型 *WWP1* 遺伝子の導入で見られた *MyHC Iib* 遺伝子の発現減少は見られなかった。これにより *WWP1* 遺伝子の変異が筋分化の異常を導くことが示唆された。

本症では細胞膜上の機能ドメイン caveolae が増加することが知られている。それゆえ、その主要な構成要素である caveolin-3 を *WWP1* の基質候補と考え、発現解析を行った。caveolin-3 は本症で選択的に侵される筋ジストロフィー発症鶏の白筋において高い発現を示した。また、caveolin-3 の発現上昇は蛋白質レベルでのみ観察され、翻訳後修飾により量的調節を受ける可能性が示唆された。これらの結果は *WWP1* により caveolin-3 の量的調節が為されており、その異常により発症が導かれる可能性を示唆した。

## 一般講演 2

### ニワトリ鞍部に生じる羽の性的二形形成機構 Mechanism for sexual dimorphism in feathers of chickens

木幡衣恵<sup>1</sup>、深尾彩加<sup>1</sup>、平井彩乃<sup>2</sup>、高橋純夫<sup>1,2</sup>、  
竹内 栄<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岡山大学大学院自然科学研究科生物科学専攻、  
<sup>2</sup>岡山大学理学部生物学科

鳥類の羽はからだの部域や性、個体成長によって異なる形態や色模様を示すことから、生物界で最も複雑な表皮付属器のひとつとみなされている。

岡山県作出の地鶏、おかやま地どりの鞍部の羽は成鶏において顕著な性的二形を示し、雄で鮮やかな黄金色を示すのに対し、雌で暗い茶褐色を示す。また、雌の羽は全体に羽枝軸から小羽枝が分枝する羽枝構造がみられるが、雄の羽は先端部に小羽枝を欠く。

本研究ではこのようなニワトリ鞍部の羽の性的二形の形成機構の解明を目的とした。

#### 1. 羽色の性差

RT-PCR 解析の結果、鮮やかな黄金色を示す成鶏雄では、鞍部の羽包でアグーチシグナルタンパク (*Asip*) *class1* mRNA の高発現が観察され、暗い茶褐色を示す成鶏雌では、その発現レベルが低いことが分かった。また、成鶏雄に 17 $\beta$ -estradiol を投与すると、成鞍部には暗い茶褐色の雌型羽が生じ、*Asip class1* mRNA の発現も低下していた。一方、成鶏雌への DHT 投与は、鞍部に生じる羽の色や *Asip class1* mRNA の発現レベルに変化を与えなかった。以上から、成鶏の鞍部の羽色は雄型（鮮やかな黄金色）がデフォルトであり、雌では卵巣由来の雌性ホルモンが *Asip class1* mRNA の発現を抑制することで雌型（暗い茶褐色）を表現している可能性が示唆された。

#### 2. 羽枝構造の性差

鞍部羽包組織の形態観察の結果、雌では羽枝隆起の小羽枝板構成細胞が羽形成の進行に伴って小羽枝細胞に分化していくのに対し、雄では委縮・退化し

ていくことが分かった。また、成鶏雄に 17 $\beta$ -estradiol を投与すると、成鞍部には小羽枝をもつ雌型羽が生じ、成鶏雌への DHT 投与は、鞍部に生じる羽の羽枝構造に変化を与えなかった。

成鶏雄鞍部の正常羽包と 17 $\beta$ -estradiol 投与下で生じた雌型羽包における遺伝子発現の違いをマイクロアレイ及び RT-PCR によって解析した結果、小羽枝板構成細胞の委縮・退化と甲状腺ホルモン不活性化酵素 (*dio3*) の mRNA 発現が関連していることが分かった。甲状腺ホルモンは哺乳類においてケラチノサイトのアポトーシスを阻害することが報告されている。これらを考え合わせると、成鶏の鞍部の羽の羽枝構造は雄型（小羽枝を欠く）がデフォルトであり、雌では卵巣由来の雌性ホルモンが *dio3* mRNA の発現を抑制することで雌型（小羽枝をもつ）を表現している可能性が示唆された。

## 一般講演 3

### *repro23* マウス精巣におけるレトロトランスポゾンの発現解析

前川真穂・梶田晋平・浅野友香・秋山耕陽・  
国枝哲夫

岡山大学大学院環境生命科学研究科

【目的】 *repro23* マウスは精子形成異常を呈する突然変異マウスである。*repro23* ホモ雄個体では、精巣が著しく小さく、精子形成が減数分裂第一分裂前期のザイゴテン期で停止し不妊となるが、その原因は *Tdrd12* 遺伝子の突然変異であることがこれまでに明らかとされている。*Tdrd12* は tuder ドメインを持つタンパク質の遺伝子の一つであるが、その減数分裂における機能は未だ明らかにされていない。tuder ドメインを持つタンパク質の多くが piRNA とよばれる低分子 RNA を介したレトロトランスポゾン発現の抑制機構に関わっていることが明らかになっている。piRNA は生殖細胞におけるレトロトランスポゾンの転移を抑制することで、次の世代へ正確な遺伝情報を伝達する役割を担っていると考えられており、マウスでの piRNA の生合成の異常は雄特異的な不妊を引き起こすことが明らかとされている。そこで本研究では、*Tdrd12* 遺伝子の生殖細胞における機能を明らかにすることを目的として、*repro23* マウスの精巣におけるレトロトランスポゾンの発現について調べた。

【方法】 4 日齢、8 日齢、10 日齢、12 日齢、14 日齢、12 週齢の *repro23* ホモ個体と正常個体の精巣 RNA を用いてリアルタイム PCR 法により精巣におけるレトロトランスポゾンである Line-1 と IAP の発現解析を行った。続いて、8 日齢、10 日齢、12 日齢、14 日齢、24 日齢、12 週齢の *repro23* ホモ個体と正常個体の精巣より凍結切片を作製し、Line-1 ORF1 と IAP Gag に対する抗体を用いた蛍光免疫染色により、レトロトランスポゾンのタンパク質の発現の観察を行った。DNA 修復タンパク質である  $\gamma$  H2AX に対す

る抗体も用いて免疫染色を行い、トランスポゾンと $\gamma$ H2AXのタンパク質の発現パターンの解析を行った。

【結果】リアルタイムPCRを行った結果、Line-1 ORF2領域のmRNAは14日齢にて、IAP GagのmRNAは8日齢、10日齢、12日齢にて*repro23*ホモ個体の精巣における発現が正常個体と比較して有意に増加していた( $p < 0.05$ )。蛍光免疫染色の結果、Line-1 ORF1抗体を用いて染色を行ったものの10日齢、12日齢、14日齢、24日齢、12週齢の*repro23*ホモ個体の精細管の生殖細胞において、正常個体よりもレトロトランスポゾンの発現が高くなっており、主に精細管の内側の生殖細胞での高い発現が見られた。さらに、*repro23*ホモ個体においてLine-1が高く発現している生殖細胞では、DNA修復タンパク質である $\gamma$ H2AXも高く発現していた。また、IAP Gag抗体を用いて染色を行ったものの14日齢、24日齢、12週齢の*repro23*ホモ個体の精細管において、正常個体よりもレトロトランスポゾンの発現が高くなっており、主に精細管の基底膜側での高い発現が見られた。これらの結果から、*repro23*ホモマウスの精巣では、*Tdrd12*の欠損により減数分裂第一分裂前期でLine-1の発現が上昇し、精原細胞でIAPの発現が上昇していると考えられた。

#### 一般講演4

##### ストレス性高体温試験とオープンフィールド試験によるコーヒー揮発性成分のストレス緩和作用： 隔離飼育マウスを用いた検討

○曾我部 咲, 鈴木真奈美, 佐伯綾希子, 貝原 瞳,  
林 泰資  
ノートルダム清心女子大学・人間生活学部・  
食品栄養学科

【目的】コーヒーは世界的に最も好まれている飲料であり、その消費量は他の嗜好飲料に比べて非常に多い。長年、飲用されてきたコーヒーに関する研究は多く、糖尿病予防作用、抗がん作用、ストレス緩和作用などが知られている。しかし、これまでの大部分の研究はコーヒーの不揮発成分、特にカフェインに焦点をあてたものであり、約900種類にのぼる揮発性成分に関する研究は数少ない。そこで我々はコーヒー揮発性成分に着目し、高架式十字迷路試験、ストレス性高体温試験、ペントバルビタール睡眠試験などを用いて、揮発性成分の有する抗不安作用、抗ストレス作用、覚醒レベル低下作用について報告してきた\*。本研究では、マウスを長期間隔離飼育することにより、社会心理的なストレスモデル動物作成し、コーヒー揮発性成分のストレス緩和作用について、ストレス性高体温試験およびオープンフィールド試験などを用いて検討した。

【方法】3週齢のICR雄性マウスを購入した。動物飼育室で1週間群飼育した後、一部のマウスは個別ケージに移し隔離飼育した。実験は、10週間以上隔

離飼育した群、隔離飼育後コーヒー揮発性成分に曝露した群、および群飼育を継続した群の3群において行った。コーヒー揮発性成分の曝露は、焙煎したコーヒー豆粉末をプラスチック製の小箱に分け、室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ のテストルーム(3.8×2.8×2.4 m)内に揮発性成分を充満させて行った。マウスは実験当日4時間、テストルーム内で過ごさせた。その後、ストレス性高体温試験とオープンフィールド試験を行った。

【結果と考察】ストレス性高体温試験において、隔離飼育したマウスの体温上昇率は、群飼育したものに比較して大きかった。また、オープンフィールド試験において、自発運動量や立ち上がり回数に差は見られなかったが、隔離飼育したマウスでは脱糞数の増加が観察された。これらの結果は、隔離飼育がマウスのストレス感受性を増大させ、情動レベルを上昇させたことを示している。隔離飼育した後、コーヒー揮発性成分に曝露したマウスでは、群飼育したマウスと比較してストレス性高体温および脱糞数の差が見られなかった。以上より、コーヒー揮発性成分は通常群飼育したマウスだけでなく、隔離飼育ストレスを負荷したマウスにおいてもストレス緩和作用を有する可能性が示された。

\*Hayashi Y, et al. *Neuroscience Letters*, 531, 166-169, 2012

#### 一般講演5

##### 酸化ストレスにより発症するアカタラセミアマウスの糖尿病に対するごぼうの効果

○土居若菜<sup>1</sup>、久保田康平<sup>2</sup>、櫛谷麻奈<sup>2</sup>、佐々木康弘<sup>2</sup>、篠原悠希<sup>2</sup>、砂川早紀<sup>2</sup>、峠安純<sup>2</sup>  
竹本和憲<sup>2</sup>、織田銃一<sup>1</sup>、益岡典芳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>岡山理科大学理学部

<はじめに>

カタラーゼとは活性酸素の一つである過酸化水素を酸素に分解する酵素であり、体内における活性は強い。カタラーゼ活性の極めて低いヒトが存在し、無カタラーゼ血液症(アカタラセミア)と呼ばれている。アカタラセミアのヒトでは酸化ストレス傷害を受けやすくとされ、糖尿病の発症率が高いことが報告されたが、その詳細は明確ではない。その発症メカニズムなどを解明する目的で我々の研究室は研究を開始し、カタラーゼ活性とアロキサン投与による糖代謝の変化の関係を報告した。

(*Clinica.Chimica.Acta* 407(2009)43-46)

この報告において、アロキサンにより体内で過酸化水素が生成され、カタラーゼ活性が低いアカタラセミアマウスでは糖尿病を発症することを明らかにした。この報告で使用されたアロキサンは還元剤と反応することにより過酸化水素またはスーパーオキシドを生成し、体内に入った場合は選択的に膵臓を傷害することが知られている。還元型グルタチオン

との *in vitro* 反応では過酸化水素だけが検出された。(スーパーオキシド<0.0003%) また、マウスへのアロキサン投与量の増加に伴って、血糖値上昇がみられた。実験動物には Feinstein らにより確率された低カタラーゼ活性を持つ(アカタラセミア)マウス C3H/Anl-CS<sup>b</sup>CS<sup>b</sup> 及び正常マウス C3H/Anl CS<sup>a</sup>CS<sup>a</sup> を使用した。各マウスの空腹時血糖値の測定からカタラーゼ活性が低いだけでは糖代謝の異常は起こらないことも示唆された。正常マウスに比べアカタラセミアマウスの血糖値の増加が著しく、グルコース負荷試験(GTT)を行った結果、各マウスにおいて有意な増加がみられ、さらにアロキサン投与をしたマウスにおいて糖尿病様のグルコース耐糖曲線が示された。これによりカタラーゼ活性の低いマウスは正常なマウスに比べアロキサン投与による酸化ストレスで糖尿病になりやすいことが報告された。また、アロキサン投与したアカタラセミアマウスの膵臓組織は正常マウスに比べラ氏島β細胞の減少が認められた。これらの結果から、アロキサン投与による膵臓β細胞の傷害メカニズムは活性酸素である過酸化水素が生成され、カタラーゼ活性が低いと糖尿病を発症しやすいことが報告された。

#### <方法>

以前の研究である抗酸化物質であるビタミン E による糖尿病発症予防についてはビタミン E 欠乏食のアカタラセミアマウスのみ耐糖能異常と血中インスリン濃度の有意な低下が観察され、ビタミン E に酸化ストレスによる糖尿病の発症予防効果があることが示唆された。この結果をもとに現在、抗酸化物質であるポリフェノール類が多く含まれており、近年健康食品として注目を集めているごぼうを用い正常マウス、アカタラセミアマウス(週齢 10 週)を各 2 群に分けた全 4 群に実験までの 15 週間ごぼう添加、無添加の餌料と水を自由摂取させ、摂取開始から 14 週目にアロキサン投与を行いグルコース負荷試験を行い、15 週目に解剖後インスリン、C-ペプチド、過酸化脂質、8-OHdG の測定を行った。

#### <結果>

ビタミン E 同様、ごぼうにも酸化ストレスによる糖尿病の発症を予防する可能性が示唆された。その結果について報告する。

### 一般講演 6

#### アカネズミの繁殖期と行動圏の変化

○池本眞希・城ヶ原貴通・織田銃一  
岡山理科大・理・動物

#### <はじめに>

アカネズミ (*Apodemus speciosus*) は北海道から九州まで広く分布する日本固有種である。これまでに様々な分野の研究が行われており、生息地により形態学的、遺伝学的変異に富むといわれている。また、本種は季節繁殖を行うとされているが、繁殖期についても地理的変異を示すことが知られている。

アカネズミの飼育下繁殖は困難であり、これまで実験動物化がなされてこなかった。しかし近年、宮崎大学のグループがアカネズミの飼育下繁殖に成功し、現在第 3 世代に到達した(越本、私信)。本種は、地理的変異に富むことから、異なる地域個体群由来の系統作出はアカネズミの実験動物化において比較系統を提供しうると考えられる。そこで、岡山県産アカネズミ系統育成を目標として、岡山県産野生アカネズミの繁殖、行動に関する基礎的資料の蓄積のため、野外調査を実施したので報告する。

#### <材料と方法>

調査は、岡山理科大学自然植物園にて 2013 年 1 月 25 日から同年 4 月 19 日まで行った。捕獲は、60m×60m の方形区を設定し、シャーマントラップを 10m 間隔で計 49 個設置して行った。捕獲個体は、外部形態計測、繁殖状況の観察を行った後、マイクロチップにて個体識別を行い、その場で放獣した。繁殖期は捕獲個体の繁殖状態から推定し、行動圏の変化は、各個体の捕獲地点より推定した。また、個体数推定には Jolly-Seber 法を用いた。

#### <結果と考察>

全調査期間を通して、雄 6 個体、雌 3 個体の計 9 個体が捕獲され、内 4 個体は死亡した。調査地の個体数は、 $1 \leq N \leq 4$  (N は個体数) であった。雄の繁殖状況を示す p-t index は、調査開始から増加傾向にあり、2 月中旬には繁殖可能とされる  $\geq 16\text{mm}$  の個体が捕獲された。雌においては、1 月は全個体非繁殖の状態であったが、2 月から膈開口を示す個体が捕獲された。このことから、本調査地では春に繁殖期があると考えられる。また、1 月から 3 月にかけて幼獣(亜成獣)が捕獲され、春以外にも繁殖期があると考えられる。そのため、本調査区域の繁殖期は春・秋の年 2 山型が考えられるが、さらなる調査が必要である。行動圏については、雄の行動圏は互いに重複していた。一方、雌の行動圏は、捕獲地点が限られており、詳細な検討は行えなかった。雄の行動圏を、調査開始から 2 月と、3 月以降で比較すると、3 月以降の行動圏が拡大していた。捕獲個体数が少なく、繁殖期の開始時期が不明なため、繁殖期と行動圏の変化との関係はわからなかった。また、本調査地のアカネズミの生息数が少なく、繁殖期や行動圏を正確に断定することが難しい。そのため、継続的に調査を実施し、さらなる情報の蓄積を行っていく。

### 特別講演

#### マウス初期胚発生と精子形成過程におけるオートファジー(自食作用)の役割

塚本智史

放射線医学総合研究所 生物研究推進課

オートファジー(自食作用)は細胞質の一部をオートファゴソームと呼ばれる二重膜の構造体で取り囲んで、最終的にリソソームで分解する経路である。



れてきた。筋ジストロフィーニワトリの原因遺伝子が特定され、ユビキチンキナーゼの WWP1 であることが明らかにされた。この筋ジストロフィーニワトリは、飼育しているときの観察から他の系統に比べ便に含まれる水分が多いことが認められた。したがって、原因遺伝子 WWP1 は、ユビキチンキナーゼであり、筋肉以外でも発現することが知られているため、筋ジストロフィーニワトリは水分代謝においても何らかの異常があると考えられ、筋ジストロフィーニワトリの水分代謝調節機構を調べた。

5 週齢の雄の筋ジストロフィーニワトリ (413 系) と白色レグホン (C/O 系) を用い、無処理群と 1 日絶水した高浸透圧状態 (高浸透圧群) に分けた。処理後、筋ジストロフィーニワトリと白色レグホンの無処理群と高浸透圧群の血液を採取し、血液の浸透圧など測定した。筋ジストロフィーニワトリの血液浸透圧は、無処理群においても有意に白色レグホンよりも高く、血中 Na 濃度も同様に有意に高かった。したがって、筋ジストロフィーニワトリは高ナトリウム血症であることが考えられた。高ナトリウム血症が生じる可能性は、1) 体内水分の不足あるいは 2) 塩分の過剰摂取が一般的に考えられている。2 つの系統の血液量を測定すると、両系統において有意な差が観察されなかった。また、腎臓において水分の再吸収に重要なアクアポリン (AQP) 2 と AQP3 の発現は、両系統で差が無く、高浸透圧刺激では両系統ともに遺伝子発現が増加した。以上の結果から、水分の不足による高ナトリウム血症は、可能性が低いと考えられた。次に、塩分の過剰摂取は、飼料が同じために餌からの塩分の過剰摂取は可能性が低いと考えられた。そのために、腎臓における塩分の再吸収に何か問題があるのではないかと考えられた。腎臓における上皮性ナトリウム ( $\alpha$  ENaC) 遺伝子発現は、筋ジストロフィーニワトリの発現が白色レグホンよりも有意に低く、高浸透圧刺激により白色レグホンの  $\alpha$  ENaC 遺伝子発現も有意に減少した。この  $\alpha$  ENaC 遺伝子発現の減少は、血中の浸透圧に反比例しており、筋ジストロフィーニワトリにおける低い  $\alpha$  ENaC 遺伝子発現は、高ナトリウム血症により抑制された結果ではないかと示唆された。現在、鳥類における ENaC に対する抗体が、存在しないために  $\alpha$  ENaC タンパク質の量を測定することが出来ない。筋ジストロフィーニワトリの原因遺伝子の WWP1 はユビキチンキナーゼであり、腎臓の塩分の再吸収に関与する ENaC が WWP1 の標的分子である可能性があることが示唆されている。そのため、今回の実験と合わせて考察すると、以下のような仮説を提案する。筋ジストロフィーニワトリでは、ユビキチンキナーゼである WWP1 の異常により腎臓における ENaC タンパク質を代謝することが出来ないため過剰に ENaC タンパク質が存在することとなった。その結果、ENaC タンパク質が塩分の再吸収に働くために、過剰の塩分が腎臓において再吸収されることとなり、筋ジストロフィーニワトリは、恒常的に高ナトリウム血症

を示すこととなった。腎臓における  $\alpha$  ENaC 遺伝子発現は、筋ジストロフィーニワトリでは高ナトリウム血症のために抑制されていると考えられた。

## 特別講演 2

### 実験動物を用いた酢酸の肥満抑制効果の評価

山下広美

岡山県立大学・保健福祉学部栄養学科

肥満や生活習慣病の増加と共に中年男性を中心にメタボリックシンドローム増加の危険性が指摘されている。この主因として過栄養や偏食がもたらす体脂肪の過剰蓄積、また肝臓など臓器への異常な脂肪蓄積が指摘されている。肥満や生活習慣病が増加する現状を背景にして、様々な健康食品も市販されている。私達はこれまで安全性が高く、食経験の豊富な食品成分の中でも特に酢に注目し、酢の主成分である酢酸の生体における生理作用と機能について検討してきた。酢酸は、生体において空腹時に脂肪酸から生成される内因性の成分であり、骨格筋などで生体燃料として作用することをこれまで示してきた。一方、病態動物 OLETF ラットを用いて摂食時に外因性に酢酸を摂取させると、酢酸は容易に血中に移行し、組織に速やかに取り込まれた後、肝臓において代謝される過程で脂肪合成関連遺伝子の転写量を低下させ脂肪合成を抑制するように作用することを示した。酢酸の継続的な摂取により体脂肪蓄積が抑制されて肥満が抑制され、耐糖能が改善すること、さらに脂肪肝が低下することを示した。また酢酸を摂取させた OLETF ラットの骨格筋および脂肪組織を解析すると、骨格筋ではミオグロビンおよびグルコーストランスポーター 4 (GLUT4) の転写量が増加し、脂肪組織においては脂肪滴肥大化が抑制され、脂肪分解系遺伝子の発現が増加していた。

以上より酢酸を摂取すると、脂肪合成の低下と内臓脂肪蓄積の低下、さらに抗肥満効果を期待することができる。肥満は 2 型糖尿病の危険因子であることから酢酸には耐糖能を改善し 2 型糖尿病を予防する可能性も示唆される。また内臓脂肪蓄積を基盤とするメタボリックシンドロームの増加が懸念されているが、酢酸がその予防に効果を発揮するかもしれない。

## 特別講演 3

### Hox 遺伝子と聴覚回路の発生

成田裕一

名古屋文理大学・健康生活学部

聴覚回路の活動は、音の振動が内耳の有毛細胞で感知されることで始まる。この時に、内耳の構造と音自体の物理的な性質によって、低周波数の音はより頂側の、高周波数の音はより基底側の有毛細胞を刺激する。つまり、この時点で音の周波数情報は内

耳の頂-基底軸上の位置情報に翻訳されることになる。その後、音情報が内耳神経によって、後脳の蝸牛神経核(CN)へと伝えられる際にも、周波数に基づいた位置関係は維持される。これが「トノトピー」と呼ばれる構造である。

マウスの出生直後には、ほぼ正確なトノトピーが形成されていることから、発生段階における分子的なコントロールが、トノトピーの形成には重要だと考えられている。しかし、このトノトピーが形成される分子メカニズムに関する研究はこれまでほとんどない。

*Hox* 遺伝子群は後脳発生の初期において、前後軸パターンニングを司る因子として良く知られている。近年の報告によると一部の *Hox* 遺伝子は、より後期の神経発生や神経回路形成においても重要な役割を果たしている事が明らかになってきている。そこで、我々は聴覚回路形成における *Hox* 遺伝子の発現解析を行った。その結果、*Hoxa2* および *Hoxb2* が CN において、その発生初期から発現している事が分かった。加えて、ヒトの HOXA2 突然変異は、聴覚異常をもたらすことも近年報告されている。これらのデータは *Hoxa2* および *Hoxb2* がトノトピー形成において重要な役割を果たしている可能性を示唆するものである。そこで、これらの *Hox* 遺伝子の聴覚回路の後期発生における機能を解析する目的で、コンディショナル変異マウスを作出して、解析を行った。その解析結果について報告する。

#### 特別講演 4

##### 実験動物福祉 —主観で語る覚悟を—

北 徳

倉敷芸術科学大学生命動物科学科 非常勤講師

この国の実験動物分野で、実験動物の福祉が論じられるようになってから、かなりの年月が流れました。私自身が、実験動物の福祉についての私見を細々と公表し始めた頃(1989年前後)、実験動物関係者は、あまりこの問題に関わりたくなさそうな雰囲気であったように思います。それからしばらくの間、実験動物福祉を語ることは、動物実験反対運動を利用する行為(利敵行為)であるかのように見られる時期が続きました。これは、私の個人的印象にすぎないかも知れませんが、実際、ある研究者は「一部の教育や訓練の十分でない動物実験従事者か関係者たちが格好の攻撃材料を提供することもある」(下線、引用者)と書いて、実験動物福祉について語ろうとする実験動物技術者や関係者を、動物実験反対運動加担者であるかのように非難しました。また、私自身は「科学的でない」との批判を受けていたようでもあります。現に、そのような手紙をいただいたりもしました。ある手紙には「勉強が足りない」との文言が記されていました。この「科学的でない」とか「勉強が足りない」といった批判は、当時、実験動物福祉を語ろうとする現場技術者一般に向けて発

せられたものでもあったでしょう。実験動物管理の現場で、実験動物に一番近い立場にいる技術者は、目の前で起こっている事実に根拠して実験動物の福祉を考えようとします。ところが、そこにある事実に基づいた意見を公表すると、科学的でなかったり、勉強が足りなかったり、動物実験反対運動に加担しているかのように非難される時代であったわけです。

そして、20年あまりを経た現在、実験動物関係者の間で、実験動物福祉を語ることは当たり前のこととなりました。実験動物学会や実験動物技術者協会などでも関連の研究発表、シンポジウムや講演企画が花盛りです。時代は変わる。今は、ほとんどの関係者が、自分自身が昔から実験動物福祉の重要性を主張していたかのように振る舞っています。動物実験反対運動加担者であるかのように見られていたとの被害妄想に浸っている私としては、何とも不思議な気分です。と言いつつ、現在は倉敷芸術科学大学で、主に動物看護師や実験動物技術者を目指す学生たちを相手に「動物福祉論」と題して動物の福祉を考える授業を担当しています。そこで、強調するのが「科学的であれ!!」ということです。かつて「科学的でない」と非難され「科学的でなくて何が悪い」と居直っていた私が、学生たちに、動物福祉を考えるにあたっては「科学的であれ!!」と語る。これを称して「自己矛盾」。

したがって「自己矛盾」も甚だしい授業であるわけですが、動物に関する物事を考えるということは、本質的に自己の内面に矛盾を抱え込むことにならざるを得ない。私の現在の考えです。この本質的な「自己矛盾」からは抜け出せないということ、そこに身を置かざるを得ないということを受け容れ、その「自己矛盾」に満ちた位置に身を置き続ける「覚悟」を持って欲しい。その「覚悟」の上でこそ、動物に関する物事を真摯に学び語ることができるようになるのではないか。そのように学生たちには伝えたい。授業を担当するようになって7年を経た今、そのように考えるようになりました。

「食べるといういとなみ(略)、ひとにおいては、意味によって、解釈によって食がほころびるということが起こる。食はひとの生理と文化のはざまでも揺れている」と鷺田清一氏が述べていますが、この「食」を「動物に関わる物事」と読み替えると、動物に関わる物事の本質が浮かび上がってくるように思われます。つまり、「主観」においても語ることができなければ、本質的なレベルで語ることはできないのではないかと、ということです。その意味で、私たち実験動物関係者は、実験動物福祉を「主観で語る覚悟」をせねばならないと思うのです。

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

#### 平成 25 年度第 1 回理事会

平成 25 年 7 月 12 日(金)12:30 から 13:00 まで  
ノートルダム清心女子大学・中央棟第 2 会議室で開

催された。

## 1. 平成 24(2012)年度の活動報告

①研究会を 2 回開催:第 63 回研究会は 6 月 29 日(金) 13:30 から 17:30 まで岡山大学・教育学部本館 407 号室(4 階)で河田哲典先生(岡山大・教育学部)のお世話で開催された。一般講演 6 題、特別講演 2 題、懇親会が企画された。第 64 回研究会(創立 30 周年記念大会)は日本生物工学会西日本支部協賛で、11 月 30 日(金)13:30~17.30 までピュアリティまきびで開催された。特別講演、招待講演、記念講演各 1 題と懇親会が企画された。

②会報の発行・公開:第 28 号会報が 4 月に発行され、5 月に会員への送付された。総頁数は 87 頁。第 28 号までの会報は岡山大学学術成果リポジトリにコンテンツ登録および電子ジャーナルとして公開された。

特定非営利活動法人医学中央雑誌(医中誌)刊行会及び科学技術振興機構(JST)知識基盤情報部から文献情報のデータベース収録のため会報送付、資料(サンプル誌)寄贈の依頼があったので、応えることにした。第 29 号会報(創立 30 周年記念号)の編集に着手した。

③役員を選任:会則 第 6 条(役員)・第 7 条(役員を選任)・第 9 条(役員任期)に基づき、平成 25 年~26 年度の役員を選任した。

④名誉会員の推挙:三谷恵一先生(本研究会会長、環太平洋大学・岡山大学名誉教授)は研究会理事 昭和 60 年から、会長 3 期 6 年間(平成 19 年~24 年まで)務められ、名誉会員として推挙したことを紹介した。

⑤ホームページの更なる充実:HP は理事の嶋村三智也氏の御努力で新たに再構築された。

新 HP のアドレス: <http://okayamaexpanim.sharepoint.com/Pages/default.aspx>

## ⑥会員の異動

入会:畑生俊光氏(岡山大大学院・環境生命科学研究所・動物生理学)

平山晴子氏(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門)

石原すみれ氏(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門・津島北施設)

退会:鳥居隆三氏(滋賀医大・動物生命科学研究センター)

干場純治氏(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門)

⑦日本実験動物技術者協会 第 47 回総会 in 晴れの国 岡山(平成 25 年 9 月 27 日~28 日、川崎医療福祉大学で開催、本研究会常務理事の矢田範夫氏が大会事務局担当)に協力する。研究会 HP トップページに掲載案内、第 64 回研究会で開催の案内をした。

⑧理事会の開催(2 回):第 63 回(6 月 29 日)、第 64 回研究会開催日(11 月 30 日)

⑨拡大常務理事会の開催(2 回):5 月 10 日、10 月 24 日)

## 2. 平成 24(2012)年度の会計報告

平成 24(2012)年度(1 月 1 日~12 月 31 日)の会計収支報告:収入の部として前年度繰越金 476,045 円、会費(41 人 71 口) 71,000 円、賛助会費(9 社)270,000 円、寄付金(倉林 譲先生)5,000 円、寄付金(河田哲典先生)12,707 円、寄付金(三谷恵一先生)340 円、郵便貯金利子 33 円となり、収入総額は 835,125 円、一方、支出の部として印刷費(第 28 号会報)159,978 円、通信費 42,970 円、第 63 回研究会謝金 20,000 円、補助 40,000 円、第 64 回研究会謝金 60,000 円、補助 100,112 円、雑費 21,137 円となった。なお、雑費の内訳は振替手数料、編集作業代、収入印紙、表彰状・筒、文具類などである。支出総額は 444,19714 円で、残高は 390,928 円であった。会計収支決算報告書は平成 25 年 3 月 8 日に監事の先生方によって会計監査を受けた。

## 3. 平成 25(2013)年度の活動経過と活動計画

①研究会を 2 回開催する。第 65 回研究会は 7 月 12 日(金)13:30~17:30 まで菊永茂司先生(ノートルダム清心女子大学)のお世話でノートルダム清心女子大学・中央棟 649ND(4 階)で開催されている。一般講演 6 題、特別講演 1 題、懇親会が企画されている。第 66 回研究会は 11 月 29 日(金)13:30~織田銑一先生のお世話で岡山理科大学・創立 50 周年記念館で開催を予定している。特別講演・記念講演など計 3 題と懇親会を企画する。

②研究会報(第 29 号、創立 30 周年記念号)を 4 月に発行し、5 月に会員に送付した。総頁数は 106 頁。最初のページにカラーの集合写真を載せた。岡山大学学術成果リポジトリ等へのコンテンツ登録および公開を延長・継続するとともに医中誌刊行会、JST 知識基盤情報部へ会報第 29 号を贈呈した。第 30 号の「施設めぐり」の原稿については、織田銑一先生が国立長寿医療センター研究所実験動物管理室の室長小木曾昇氏に執筆をお願いし、引き受けていただけることになった。京都薬科大学バイオサイエンス研究センターが今年 9 月より稼働予定のことから、会員の西川 哲氏に寄稿を依頼する。

③ホームページで研究会、会報、講演会などを逐次紹介している。

④名誉会員の推戴:三谷恵一先生に表彰状を平成 25 年 1 月初旬に贈呈(送付)する。三谷先生は平成 24 年 12 月末日まで会長職のため。

## ⑤会員の異動 (6 月 20 日現在)

入会:荒川健祐氏(岡山大大学院・環境生命科学研究所・畜産食品機能学)

朝田風太氏(サイポート・インスティテュート(株) 西日本オペレーション本部・岡山オフィス)

退会:中野和代氏(岡山大大学院・医歯薬学総合研究科)

藤田明士氏(株)クラレ・新事業開発本部)

阿部浅樹氏(岡山大大学院・環境生命科学研究所・動物生理学)

株式会社アニマルケア様(賛助会員)

## ⑥日本実験動物技術者協会 第 47 回総会 in 晴れの





謝金 0 円、補助 40,000 円、第 66 回研究会謝金 10,000 円、補助 50,000 円、雑費(振替手数料)2,230 円、支出総額は 355,287 円で、残高は 434,344 円である。

#### 4. 役員を選任

平成 25~26 年度役員は第 64 回研究会(平成 24 年 11 月 30 日開催)の理事会、総会で承認を得て、これまで会務、実務を担当してきたが、監事の菊永茂司先生(ノートルダム清心女子大学)から委員交代のお申し出があった。平成 26 年度は役員を選任が予定されていることから、当面、菊永茂司先生の残任期間(平成 26 年度)をお願いする。

監事 林 泰資先生(ノートルダム清心女子大学・大学院人間生活学研究科)

#### 5. 投稿規程の改正

##### 【現行】

3. 寄稿は、実験動物及び動物実験に関する総説、原著論文、短報並びに資料とし、A4 サイズの用紙を用いて作成した原稿 1 部とその内容が打ち込まれたフロッピーディスクを提出する。
4. 寄稿の構成は表題、著者名、所属機関名、本文(謝辞)、(中略)の順とする。和文表題、著者名(全員の姓名)のみは英文として、寄稿の際に添付する。
10. 別刷りの費用は、50 部を超える場合に、その費用は著者負担とする。必要部数は投稿の際に事務局に指示する。

##### 【改正】

3. 寄稿は、実験動物及び動物実験に関する総説、原著論文、短報並びに資料とし、A4 の用紙に合わせた電子ファイルとして事務局(編集担当)に送付する。
  4. 寄稿の構成は表題、著者名、所属機関名、本文(謝辞)、(中略)の順とする。和文表題、著者名(全員の姓名)のみは英文として、寄稿の際に添付する。
  10. 別刷りは特別の場合を除き、PDF ファイルで著者にお渡しする。
- #### 6. 平成 26(2014)年度の活動計画

##### ①研究会の開催(2回)

##### ○第 67 回研究会 会員持ち回り会場

世話役：樫木勝巳先生・矢田範夫氏(岡山大・自然生命科学支援センター・動物資源部門)

日時：7 月 11 日(金) 13:30~17:30

12:00~18:00(予約済)

会場：マスカットキューブ(地域医療人育成センター岡山)(予約済)

岡山大学鹿田キャンパス内

企画：一般講演が中心で、特別講演など 1 題を企画、懇親会(大学生協予定)

##### ○第 68 回研究会

日時：11 月下旬~12 月上旬(金)を予定

会場：岡山理科大学・50 周年記念館(予定)

企画：特別講演、記念講演など計 3~4 題、交流会

##### ②研究会報の発行・編集・製本など

○第 30 号の発行(3 月予定)、会員への送付(4 月予定)、第 31 号の編集

○会報の製本(第 25 号~第 30 号)5 月予定 4 冊うち 2 冊寄贈(猪 貴義先生・国会図書館)

○会報の大きさ変更(現在の B5 版⇒A4 版、第 31 号以降)《検討課題》

##### ③会報寄贈・文献情報のデータベース収録

○岡山大学学術成果リポジトリ等へのコンテンツ登録および公開(延長)

○文献情報誌「医学中央雑誌(医中誌)」

○科学技術振興機構(JST)

##### ④役員を選任 平成 27~28 年度

会則 第 6 条(役員)、第 7 条(役員を選任)、第 9 条(役員の任期)

##### ⑤ホームページの更なる充実

##### ⑥会員の拡大

⑦理事会の開催(2回)第 67 回(7 月 11 日)、第 68 回研究会 開催日

⑧拡大常務理事会の開催(2回) 研究会開催日の約 1.5~2 ヶ月前

⑨近隣大学・研究機関・中国四国の国立大学動物実験施設の関係者との交流の活性化、情報交換および若手の交流の場をつくりだす。

⑩日本実験動物学会・地区研究会・関連研究会などとの連携・協力、情報交換を図る。

#### 第 2 回理事会以降の会計報告

前頁記載の平成 25(2013)年度の会計収支中間報告に追加、変更のあった項目と金額のみを下記に示す。収入額は会費 66,500 円で、寄付金(織田銑一先生)5,456 円、収入総額は 811,087 円となった。

一方、支出額は変更がなく、支出総額は 355,287 円であり、残高は 455,800 円となった。

今年に入って、平成 25 年度の会計収支報告が作成された。平成 26(2014)年 2 月 3 日、4 日の両日、監事の先生方によって会計監査を受けた。