

は、タンパク質磷酸化酵素Aや Na^+ 、 K^+ -ATPaseを介しており、最終的にはMitochondria rich cell内のNaポンプを駆動する事によってなされている。

他方、通常環境下での少量の水分吸収も、同じく腰帯腹部の皮膚を介して行われているが、しかしこれに携わる細胞は、上述のMitochondria rich cellではなく、真皮レベルに存在する粘液腺の一種の顆粒腺の上皮細胞である。この上皮細胞は、直接外界に面しているわけではなく、導管を通じて外の淡水と繋がっている。このタイプの水分吸収は、アンギオテンシンIIおよびフォルボールエステルにより完全に抑制されるので、細胞内の作動経路としてはタンパク質磷酸化酵素Cを活性化することにより水分の吸収が抑制される。また、この水分吸収は粘膜上皮の Na^+ 、 H^+ -ATPase (Na^+ 、 H^+ 交換輸送体)を阻害すると抑制されるので、淡水系に於ける Na^+ の供給源として腺腔内に分泌された粘液成分を有効に利用していると考えられる。この様にして、本来水を飲まない(飲み得ない)カエルは、水中生活に必要な塩類細胞や粘液細胞の機能を利用して皮膚から水分吸収を行い、乾燥した陸上で生活に適應しているのである。

特別講演(2)

骨粗鬆症疾患モデルとその評価について

西崎泰司

(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)

高齢化社会に向かいヒトにおいて問題になる疾患の一つに骨粗鬆症がある。この疾患の発生メカニズム研究、予防や治療薬の開発に疾患モデル動物は不可欠である。In vivoモデルでは、ラットが一般的に用いられ骨評価の方法やデータも多いが、実験期間がかかることからスケールを拡大してスクリーニングとして実施しにくい点がある。我々が紹介するモデルは、マウス、ラット、ウサギを用い、それぞれの特徴を生かした比較的短期間の実験系である。骨粗鬆症の大部分は加齢に伴って発生するが、なかでも女性の閉経後骨粗鬆症が最も多いことから卵巣摘出モデルが多く利用される。骨重量減少はラットモデルで大きく差がでる時間がかかるのに対し、マウスモデルは骨量減少など変化が比較的速く生じるが、重量の上では個体差が大きく差を掴みにくいという欠点がある。ラットを懸垂させ後肢にかかる負重を除くと急速に骨重量は減少するが、動きが大きくスクリーニングのための試験では微妙な反応を捕えにくいという欠点がある。ウサギは、持続点滴による投与が可能という点から選択した。卵巣摘出による骨への影響出現にかなりの時間がかかるが、通常行われる雄の控骨神経切断による不動化モデルを、この雌の卵巣摘出モデルに併用すると短期間の

骨重量の減少が確認される。今回は、骨評価を従来の骨重量や骨パラメータで行なうに併せて、拡大X線撮影装置を用い撮影したデータをバイオイメージングアナライザで解析し、さらに低真空電子顕微鏡や病理組織学的観察と比較した。我々は、これらの試験系のなかからトレハロースの骨粗鬆症に対する作用を明らかにした。

記念講演

内分泌攪乱物質(環境ホルモン)の何が問題か

井口泰泉(横浜市立大学・理学部)

工業化にともなって環境中に放出された化学物質は野生動物の健康に大きな脅威となっています。今までの環境問題は、致死作用、ガン化あるいは奇形といった健康影響のみに焦点があてられてきました。しかし、最近見出された多くの事例から、内分泌攪乱といった今までにはなかった新たな観点からの研究が必要となってきています。環境中に放出された化学物質の多くがホルモン様あるいは抗ホルモン様に作用するという実験的な証拠、および野外での観察結果があります。これらの化学物質は、環境中に放出されて体内に取り込まれるとホルモン様の作用を示すことから、「外因性内分泌攪乱化学物質」あるいは「環境ホルモン」とも呼ばれています。動物の生殖系の発達は環境ホルモンの暴露によって大きな影響を受けます。野生動物の研究から、環境ホルモンの暴露により、雄雌ともに生殖腺および生殖腺付属器官の発生、機能分化およびホルモンの代謝に影響が出ている動物種もあります。多くの野生動物種の生殖系で同様の異常が見られることから、ヒトに対する影響も懸念されています。野生動物の健康は地球環境の指標ともなります。化学物質のホルモン様作用、ヒトを含めた動物への健康影響を調べるためのモデル系および方法論の開発が急務となっています。化学物質による野生動物の生殖影響の実態、ヒトでの影響はまだ明らかではありませんが、環境ホルモンが原因と疑われています。各省庁の取り組みも始まり、本格的な調査が行われようとしております。化学物質対策をどの様にしたらよいのかを考えてみたいと思います。

「生体部分肺移植」と「上海実験動物科学の進展」講演会 第37回岡山実験動物研究会

平成11年5月26日(水)午後1時30分から5時20分まで

で岡山大学医学部図書館(鹿田分館)3階講堂で、医学部附属動物実験施設の倉林讓先生を大会長として、岡山県新技術振興財団の後援で開催された。

はじめに、医学部長の難波正義教授から来岡された中国視察団に歓迎の意を込めたご挨拶をいただき、続いて附属動物実験施設長の赤木忠厚教授からご挨拶をいただいた。会長の佐藤(岡山大・農学部)から挨拶があり、その後、直ちに一般講演に移った。

一般講演(1)は「Tg動物飼育用ラック「ルフテンTg」の開発」と題して白銀工業(株)の橋詰俊雄氏が講演された。この司会は新井成之先生(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)が担当された。

一般講演(2)は「免疫グロブリン遺伝子Knock-inマウスを用いる抗体の親和性成熟機構の解析：RAG遺伝子産物は関与するか」と題して岡山大学工学部の曲正樹氏が講演された。この司会は亀井千晃教授(岡山大・薬学部)が担当された。

休憩を取った後、事務局から会務報告があった。その内容は、①平成10年度の研究会は第35回が7月18日岡山大学薬学部で、第36回が11月27日岡山国際交流センターで岡山新技術振興財団との共催で開催されたこと、②第15号の研究会報は9月に発行し、10月に会員に送付したこと、③理事会は2回、常務理事会は3回開催したこと、④平成10年度(1月1日～12月31日)の会計収支決算報告(内容は理事会報告に記載)と監事の先生によって会計監査が行われたこと、⑤平成11年度の活動計画で、第37回研究会は本日(5月26日)、岡山大学医学部で開催されていること、第38回は11月下旬から12月上旬にかけて開催を予定していること、第16号の研究会報は8月発行を予定していること、などであった。

会務報告後、特別講演2題が行われた。

特別講演(1)は「上海実験動物科学の進展」と題して上海実験動物科学專業委員会会長の王楠田教授が日本語で講演された。この司会は倉林讓先生(岡山大・医学部・附属動物実験施設)が担当された。なお、通訳として、中村信義先生(日中科技咨询服务、(株)豊王監査役、中国西安医科大学顧問)が同席された。

特別講演(2)は「生体部分肺移植について」と題して岡山大学医学部第二外科教授の清水信義先生が講演された。この司会は佐藤(岡山大・農学部)が担当した。

この会には85名の参加者があり、盛会のうちに終了した。倉林讓先生のお計らいと動物実験施設のスタッフの皆様のご協力により同会場で講師の先生方と中国視察団の方々を囲んで懇親会が行われた。はじめに、医学部長の難波正義先生、医学部附属動物実験施設長の赤木忠厚先生からご挨拶があり、続いて名誉会員の矢部芳郎先生から乾杯のご発声をいた

だいた。この懇親会では、中国の視察団代表の王楠田教授から難波正義医学部長に記念品贈呈のセレモニーがあり、今後益々の日中友好親善を誓い合った。前会長の栗本雅司先生(株)林原生物化学研究所・藤崎研究所)から閉会のご挨拶と大会長の倉林讓先生からお礼を込められたご挨拶があり、和やかな雰囲気の中に散会した。

一般講演と特別講演の要旨は以下の通りです。なお、一般講演「ルフテンTgの開発」は本誌21～25頁に、特別講演「上海実験動物科学の進展」は17～20頁に掲載されていますので、ご参照下さい。

一般講演(1)

Tg動物飼育用ラック「ルフテンTg」の開発

齋藤正信¹⁾・大城匡豊¹⁾・銀 一之²⁾・

橋詰俊雄²⁾・倉林 讓³⁾

(¹⁾大氣社・²⁾白銀工業・

³⁾岡山大学・医・動物実験施設)

【目的】近年遺伝子関連研究の発展に伴い、Tg動物の飼育が急激に増加しており、ケージ・ラックシステムに対しても従来とは異なった機能、性能が求められるようになった。特に、①動物相互および動物⇄人間の相互汚染防止機能の一層の向上、②大量飼育化のため作業の効率化の要求などあることが特徴的と思われる。

上記①の要求に対しての従来の回答は、Micro Isolation Systemであるが、本システムは要求①に対しては良いが、要求②に対して大きな問題があるものと思われ、各研究施設での大量導入には至っていない。弊社ではエアカーテンを利用した気流制御システム「ルフテン」を製造し好評を得ているが、従来のシステムは動物⇄人間の汚染防止に主眼がおかれ、必ずしも人間(飼育室空間)⇄動物の汚染防止機能については十分ではない。今回このルフテンをベースに検討を加え、Tgマウスの飼育にも適したエアカーテン・システムの開発に取り組んだ。

【開発のコンセプト】対象をマウスに限定し、シューボックスケージを前提に、Micro Isolation Systemの感染防止機能を凌ぐラックをエアカーテン・システムで実現することを狙いとした。

【設計の考え方】棚板を給気ダクト、背面板を排気ダクトとした扉無しのラックにシューボックスケージを吊り式で収納する構成とした。

(1)吊りレールでケージの左右上部を吊り、更にケージ上部と背面板間も塞ぐことにより、上部3方を閉じ、給気の出口を上部前方のみにする。

(2)上方の棚板ダクトからケージ内に個別に換気用給気を吹き込む。これでケージ内を微陽圧にし、外部からの汚染空気の侵入を防止する。

(3) 給気出口上方の棚板にエアカーテン吹出し口を設け、ケージからの汚染空気を下方に吹き落とし、これを背面に設けた排気吸入口より排気する。これにより、汚染空気の飼育室内への拡散を防ぐ。

(4) 吊りケージ底と棚板間には間隔を設け、棚板の清掃作業を容易にした。

【結果】汚染防止機能について気流シミュレーションにより評価を行った。

(1) ケージ内→飼育室内、飼育室内→ケージの汚染の拡散は阻止される。

(2) 動物相互も隔離される。

との結果が得られた。更に実機による可視化試験でもこれらの効果を確認した。扉のない、エアカーテン式の操作性の良いラックで、Micro Isolation Systemにはほぼ匹敵する汚染拡散防止機能を備えたラックを開発することができた。今後皆様のご意見をとり入れ、安価でより安全なものに育ててゆきたい。

一般講演(2)

免疫グロブリン遺伝子Knock-inマウスを用いる抗体の親和性成熟機構の解析： RAG遺伝子産物は関与するか？

曲 正樹・金山直樹・疋田正喜・
Mabilia Cascalho*・大森 斉
(岡山大学・工・生物機能工学・

*Dept. Microbiol. Immunol., UCSF, USA)

免疫された動物において、最初に産生されるのは抗原に対する親和性の低いIgM抗体であるが、時間とともにIgG、IgEなどヘクラススイッチし、親和性が増大する。この現象が親和性成熟(Affinity maturation)であり、2次抗体応答においてより顕著に観察される。親和性成熟の主な機構は、リンパ組織の胚中心で起こる免疫グロブリン遺伝子(Ig)の可変領域の変異と選択であると考えられてきた。

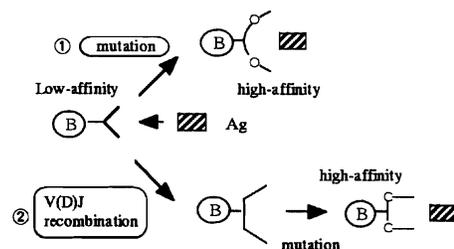
抗体の可変領域の多様性は、B細胞の初期分化の段階で発現するrecombination activating gene (RAG)-1、RAG-2タンパクが仲介するIg遺伝子のV(D)J再構成によって生じる。従来、RAGは骨髄中の未成熟B細胞にのみ発現し、成熟B細胞では発現しないとされてきた。しかし我々は最近、末梢リンパ組織の胚中心B細胞でRAG遺伝子が再発現し、V(D)J再構成(receptor editing)が起こることを見出した^{1),2),3)}。胚中心に再発現するRAGの生理的役割を解析する一環として、RAGが抗体の親和性成熟に関与しているかどうかを、IgH遺伝子Knock-inマウスを用いて検討しつつあるので、従来の経過も含めて報告する。

4-hydroxy-3-nitrophenylacetyl (NP) ハプテン

に対する抗体のVHカセット(VHT)をターゲッティングによりJH部位に導入したQMマウス(表現型VHT/JH⁻, κ/κ^{-} , λ^{+}/λ^{+})及び(QM×B6)F1を用いた。QMやF1のB細胞の少なくとも80%は導入したVHTを発現していた。このような比較的均一なB細胞集団をもつマウスで、親和性成熟を解析するためにQMマウス由来の抗NP抗体に対する低親和性ハプテンを検索したところ、p-nitrophenylacetyl (pNP)がNPの約1/10の親和性しか示さないことを見いだした。一方、5-iodo-4-hydroxy-3-nitrophenylacetyl (NIP)はNPより約10倍高い親和性を示した。

pNP-CGGあるいはNIP-CGGでQMマウスを免疫した場合、リンパ節胚中心におけるRAGの発現は前者の方が高かったことから、抗原に対し低親和性のB細胞がRAGを発現し、V(D)J再構成を起こしていることが示唆された。また、非免疫のF1マウスでは、pNPに対する抗体価は検出できなかった。そこでpNPを結合させたニワトリγ-グロブリン(CGG)でF1マウスを免疫したところ抗pNP抗体応答は通常よりゆっくりと起こり、免疫8日目までは抗体応答、pNP親和性共に低かったが、16日目になると抗体価が上昇し、親和性も増大した。最初はpNPに対する高親和性クローンは存在していないと考えられるので、ここで見られた親和性成熟が体細胞変異のみで進行したのか、V(D)J再構成も関与したのかが問題となる。図に示すように当然低親和性B細胞は体細胞変異(①)によって高親和性を獲得するが、V(D)J再構成(②)によって他のV(D)Jに変換した後、体細胞変異によってより高親和性を獲得する経路も存在する可能性がある。

pNP-CGG免疫したF1マウスにおいて観察される親和性成熟は、我々がin vivoでのRAG発現を抑制する手段として報告している³⁾抗IL-7R抗体投与によって阻害されることを見いだしているので、少なくとも部分的には図の②の経路が親和性成熟に関与していると考えられる。現在、単離した抗pNP抗体ハイブリドーマの産生する高親和性抗体においてどのようなVH、VLが使われているかを解析しようとしている。



図：抗体の親和性成熟の機構に関する仮説 (RAGの関与?)

文献

- 1) Hikida M, Ohmori H, et al. Science 274, 2092 (1996)
- 2) Hikida M, & Ohmori H, J. Exp. Med. 187, 795 (1998)
- 3) Hikida M, Ohmori H, et al. J. Exp. Med. 188, 365 (1998)

特別講演 (1)

上海実験動物科学の進展

王 楠田

(上海実験動物科学専門委員会会長)

この度、我々一行7名は、岡山大学医学部難波正義医学部長ならびに第46回日本実験動物学会(於市川市文化会館)降矢強大会長の招聘により、貴国の実験動物科学関係の学术交流と関連施設、研究所、工場等を視察する目的で訪日致しました。岡山大学小坂二度見学長、難波正義医学部長、赤木忠厚動物実験施設長、倉林譲動物実験施設専任助教授ならびに降矢強実験動物学会大会長のお世話により訪日できましたこと、訪日団を代表して心から感謝の意を表します。

実験動物科学は、生命科学の中で大きな役割を持つ重要な分野であります。1949年、新中国が生まれてから50年間の中で、中国実験動物科学近代化の発展過程は、啓蒙運動段階から発展過程を経てきました。以下に上海実験動物科学技術の進展について簡単に紹介致します。

1. 新中国の実験動物科学事業の基礎
2. 中国実験動物科学近代化のための啓蒙運動

1) 1979年、上海市畜牧獸医学会実験動物学会実験動物科学研究会発足、全国各省で学会組織成立、1987年、中国実験動物学会成立。

2) 1981年、上海学会の専門雑誌「上海実験動物科学」を創刊。1984年、「北京実験動物科学」、1990年、「中国実験動物科学雑誌」、1993年、「中国実験動物学報」等が発刊される。

3) 1982年と1985年、国家科学技術委員会は雲南省と北京で全国実験動物科学技術者会議を開催し、衛生部、医学管理局、中国科学院等も実験動物科学技術者会議を、上海、北京、雲南、天津等で開催し、これら4市、省を国家クラスの実験動物センターと認定し、近代化された実験動物センターの建設が進められた。

4) 1985年、全国で初めての実験動物管理委員会を上海衛生部門が設立された。1989年、実験動物標準化技術委員会も上海技術監督局の主管で成立した。

5) 1981年から上海学会は、国内外の専門家を招聘し、上海農学院、江蘇農学院、衛生部門、中国科学

院、医薬局、本学会等で開催する、全国性、地方性実験動物、専門、中高級研修班の講習(3~12ヶ月)に協力頂いた。また、実験動物科学叢書8冊と実験動物に関するビデオも制作した。

6) 上海実験動物の商業的生産と供給体制の確立。ウサギ、モルモット、ビーグル犬の繁殖場を設立すると同時に、上海、蘇州にいくつかの実験動物器材工場を開設した。

3. 中国実験動物科学発展の段階

1990年代から実験動物の生産供給の専門化が進められ、中国科学院上海実験動物センター、中英合弁企業BK公司等は、上海におけるクリーン、SPFクラスのマウス、ラットの需要を満足するとともに、部分的に中国国内あるいは輸出する段階に至っている(サル、ビーグル、ウサギ、マウス、ラット等)。

目下の所、上海の100施設でバリアシステムに改造する工事が行われており、70%が完成している。2000年には上海におけるすべての動物がクリーン、SPF動物に置き換わるであろう。1980年代後期、上海では前後して疾患モデル動物、トランスジェニック動物の研究センターが設立され、生命科学院、バイオテクノロジー研究センター、遺伝センターなど高等技術研究機関が設立され、この方面の進展も大きいものがある。

この外に、技術人員、専門管理者の整備があげられる。上海では、毎年、専門職を採用し、計画的に育成しており、人材は、年々増加し、本専門委員会の会員も400名になっている。

我々は、中国実験動物科学の進展には自信と確信を持っている。中国と日本は近隣関係にあり、この20年来、良好な合作の基礎を築き上げた。新しい世紀の到来を共に迎え、合作と交流を深め、人類の健康、発展のために、一層努力したいと思います。

最後に、日本実験動物学会ならびに岡山実験動物研究会の益々のご発展を、祈念致します。

(日中科技咨詢服務 中村信義先生訳)

特別講演 (2)

国内初の生体部分肺移植

清水信義(岡山大学医学部第2外科講座)

肺移植は欧米では末期呼吸不全患者の治療としてすでに7千例以上が実施されているが、わが国では基礎的な研究では外国に遅れていないものの、実際の臨床での肺移植は長い間実施されず成功例が無かった。しかし、1998年10月28日我々は国内最初の両側生体部分肺移植を実施した。患者は術後2ヶ月で無事退院してその後の経過も良く、国内初の成功例として関連学会に報告している。

・患者(レシピエント): 24歳 女性 事務員

・診断名：気管支拡張症 (primary ciliary dyskinesia)
 ・主訴：呼吸困難
 ・現病歴：幼少時から肺炎を繰り返し、12歳の時気管支拡張症と診断された。以後呼吸器感染を繰り返し5年前からは酸素吸入を必要とするようになり、2年前からは松本市内の病院で治療を続けていたが、症状は進行し1ヶ月前信州大学に入院した。しかし、症状は進行し、各種感受性抗生剤投与にもかかわらず発熱が持続し、当院入院10日前には呼吸不全となり人工呼吸器管理となり、気管切開を受けた。保存的治療の限界と診断され、肺移植の適応を検討されて、1998年10月23日岡山大学附属病院に入院した。

入院時には人工呼吸器が装着されていたが、意識は清明でチアノーゼはない。胸部聴診で全肺領域に湿性ラ音を聴取した。動脈血液ガス分析では人工呼吸下 (FiO₂=0.6, TV380ml, PEEP 3cm, PS25cm) でPO₂ 82.6mmHg, PCO₂ 68.9mmHg, SaO₂ 95.7%であった。

胸部X線写真では全肺野に網状影と浸潤影があり、輪状の気管支拡張像がありその中に液面形成を認め、経時的に増悪していた。胸部CT写真でも両上肺野優位に著明な気管支拡張像を認め、一部には粘液様物質の貯溜を認める部分がある。

肺移植以外に救命する方法はなく、慎重に検討の後生体部分肺移植の適応と判定し10月28日に実施した。生体肺移植では臓器提供者は2名必要であり、本例では母親と妹がそれぞれ左下葉と右下葉を提供した。

手術はまず提供者1(妹)右開胸を開始し、ついでレシピエントの手術開始後ドナー2(母)の左開胸が開始された。レシピエントの開胸開始後約1時間40分でまず右肺全摘が終了し、ついで1時間で左肺摘出が終了した。両胸腔を十分に洗浄し、止血を確認した後右肺移植を開始した。右肺移植に要した時間は約50分、ついで左肺移植を開始し45分で終了した。この間の人工心肺使用時間は6時間34分、手術時間は7時間46分であり、出血量は約2Lであった。

術後2日目に肺水腫が発生したが、その後は順調な経過をたどり、術後2ヶ月目に無事退院し術後6ヶ月の現在郷里の病院に外来通院し免疫抑制剤などの治療を続けている。

平成10年度理事会報告

平成10年度の理事会は2回開催された。第1回目は7月18日(土)12時50分から13時15分まで岡山大学薬学部で、第2回目は11月27日(金)12時50分から13時10分まで岡山国際交流センターで開催された。

第1回理事会

①平成9年度の活動報告：岡山県新技術振興財団との共催で、特別講演会が3月6日(木)岡山大学農学部で、第33回が7月12日(土)岡山大学農学部で、創立15周年記念、第34回が11月28日(金)メルパルク岡山で開催、第14号の研究会報の発行(10月)と会員への送付(11月)、理事会の開催(7月12日、11月28日)、常務理事会の開催(5月29日、10月7日)の報告があった。

②平成9年度(1月1日から12月31日)までの会計収支決算報告があった。前年度繰越金は711,632円、会費142,000円、賛助会費390,000円、岡山県新技術振興財団からの補助金100,000円、利子366円の収入合計1,343,998円、これに対して印刷費131,775円通信費47,320円、研究会補助費：特別講演会30,000円、第33回研究会80,000円、第34回研究会304,475円、雑費4,595円の支出合計598,165円で、残高は745,833円であった。会計監査が中永征太郎先生、河本泰生先生の両監事によって5月26日に行われたことの報告があった。なお、残高745,833円は次年度繰越金として組み入れる報告があり、了承された。

③役員の選任：会則に則り常務理事に辻岡克彦教授(川崎医科大学・生理学教室)を推挙した。

④平成10年度の活動計画：第35回研究会は本日7月18日(土)岡山大学薬学部において、第36回は11月下旬から12月上旬に公共施設においていずれも岡山県新技術振興財団との共催で開催する予定であることが報告された。第15号の会報の発行と理事会(2回)、常務理事会(3回)の開催を予定している。

第2回理事会

①平成10年度の活動報告：岡山県新技術振興財団との共催・後援で2回の研究会を開催、第35回研究会は7月18日(土)岡山大学薬学部で、第36回研究会は本日11月27日(金)開催。研究会報14号の発行、理事会(7月18日、11月27日)・常務理事会(6月11日、9月29日、10月27日)開催の報告があった。

②平成10年度(1月1日から11月24日まで)の収入、支出、残高の状況報告があった。収入額は前年度繰越金745,833円、会費70,000円、賛助会費150,000円、岡山県新技術振興財団からの補助金70,000円、利子342円の合計1,036,175円、一方支出額は印刷費131,775円、通信費52,240円、研究会補助費：第35回研究会70,000円、雑費13,798円の合計197,813円で、残高は838,362円であった。

③役員の選任：次期(平成11,12年度)の役員として、理事17名、監事2名を再選し、了承された。

④平成11年度の活動計画：2回の研究会を岡山県新技術振興財団の後援で開催する予定である。第37回研究会は岡山大学医学部(会員持ち回り会場)で開催する予定であることが報告された。第16号の研究