

# 研究（事業）報告書

事業年度

（第52期）

自 平成20年4月1日  
至 平成21年3月31日

財団法人 実験動物中央研究所



# 目 次

## 研究(事業)報告

I. プロジェクト研究	1
1. ヒト化マウスプロジェクト	1
2. 実験動物開発のための新技術プロジェクト	2
3. マーモセットによるヒト疾患モデル研究・開発プロジェクト	4
4. プリオン病モデルの開発と応用に関する研究	7
5. 実験動物のフェノタイプ解析プロジェクト	7
6. 先端実験動物研究方法樹立プロジェクト	8
II. 研究部門	9
A. 実験動物研究部	9
1. 飼育技術研究室	10
2. 動物医学研究室	10
3. 遺伝モニタリング研究室	10
4. 実験動物遺伝育種研究室	11
5. 免疫研究室	11
6. 遺伝子改変研究室	11
7. 生殖工学研究室	11
B. マーモセット研究部	14
1. 疾患モデル研究室	14
2. 応用発生物理研究室	15
C. バイオメディカル研究部	15
1. 腫瘍資源研究室	15
2. 分子解析研究室	15
D. 病理病態研究部	16
1. 画像解析研究室	16
2. 分子形態研究室	16
3. ヒト化動物研究室	16
III. 研究事業部門	18
A. 試験サービス事業部	18
1. ICLAS モニタリングセンター/モニタリング事業室	18
2. 動物試験事業室	18
B. 動物資源管理部	22
1. 資源管理事業室	22
2. 維持生産管理室	23
3. 生殖工学事業室	24

IV. 教育プログラム	26
A. 教育活動事業部	26
B. 公的普及活動	26
C. コンプライアンス活動	27
V. 国際学術活動	28
VI. 発 表	30
VII. 学術集会	36
VIII. 共同研究（公的研究費による研究）	40

## 総 務 報 告

1. 役員に関する事項	45
2. 役員会に関する事項	45
3. 海外出張	46
4. 教育・研修の受託	49
5. 見学・来所（国内・海外からの来訪者）	49
6. 留学（長期研修）	50
7. 許可・認可・承認に関する事項	50
8. 学位取得	51
9. 契約に関する事項	51
10. 寄付金に関する事項	51
11. 主務官庁の指示に関する事項	51
12. 特許権に関する事項	51
13. 叙勲・受賞に関する事項	51
14. 職員数	51
15. その他	52

## （財）実験動物中央研究所維持会員制度

定例会議ならびに学術懇話会	54
維持会員に関する業務	55
財団法人 実験動物中央研究所維持会員規約	56
財団法人 実験動物中央研究所維持会員名簿	57

# I. プロジェクト研究

## 1. ヒト化マウスプロジェクト

ヒト化マウスプロジェクトは、当研究所で開発した重度免疫不全 NOG (NOD/Shi-*scid*, IL-2R $\gamma$  KO) マウスに、さらに他マウス突然変異遺伝子やヒト遺伝子の導入を行うことによってその改良を行うこと、およびそれらマウスを用いて従来困難であった点を克服するヒト化マウスモデルを作出するのが目的である。現在は改良を重点的に進めているが、作製できた改良型マウスでのヒト化マウスの検討も並行して開始している。

### 1) 新たな免疫不全マウスの作製と応用に関する研究

本研究の目的は、再生治療モデルやヒト疾患モデルの作製のために、異種細胞・組織の生着、分化、増殖が一層優れたレシーピエント (受容) マウスを作製することである。基本的には NOG マウスへのヒト遺伝子導入、不活化遺伝子導入による改良を行っている。現在までに NOG マウスに自然突然変異遺伝子を導入した 4 系統、不活化遺伝子を導入した 3 系統、ヒト遺伝子を導入した 13 系統およびそれに関連した NOD-RAG2, IL-2R $\gamma$  KO マウスなどの新規複合系統 10 系統の作出を行った。これらヒト遺伝子の導入には、トランスジェニックの場合は (NOG x NOD)F1 または (NOG x NOD-*scid*)F1 受精卵への直接注入で、既存の不活化遺伝子または自然突然変異遺伝子の導入には speed congenic 法での短期導入で実施した。現在、これらマウスのうちで確立できた系統マウスでのヒト臍帯血由来 CD34+細胞移入実験を行い、ヒト細胞の生着、分化に関する結果の一部が得られている。

NOG マウスに c-kit 突然変異体を導入したマウスに関しては、昨年度の研究で X 線未照射条件でも Wv/Wv および Wv/+ マウスでは X 線照射 NOG マウスよりも幹細胞移植後のヒト細胞の生着、分化が良いか、または同等であることを明らかにした。本年度は Wv/+ および W/+ の遺伝子を持つ 2 系統 NOG マウスについて、X 線照射条件での幹細胞移植後のヒト細胞の生着、分化を検討した。その結果、双方ともに X 線照射 NOG マウスに比べ、ヒト細胞の生着・分化が亢進することが認められた。また、NOG マウスに hIL-4 遺伝子を導入した改良マウスでは、移入されたヒト細胞の増殖が抑制される、すなわち、ヒト造血幹細胞移植によってヒト細胞の生着と分化が起きず、さらに末梢血単核球を移入した場合でも通常起こる GVHD が抑制されることが明らかとなった。Notch ligand であるヒト Jagged-1 または Delta-1 遺伝子を骨芽球特異的に発現する NOG マウスを作製した。このマウスの前者では、骨稜が少なく極めてもろい骨形成を行うこと、一方後者では逆に大理石病様の髄質が少ない骨形成を示した。これらマウスへのヒト造血幹細胞移植では、後者マウスではヒトの大理石病と同様に末梢血でのヒトリンパ球減少が認められた。

血液リンパ系ヒト化マウスの受容体マウスとして、現在 NOG マウスと BALB/cA-RAG2 IL-2R $\gamma$  KO マウスがよく使われている。一般にこれら免疫不全マウスでのヒト化マウス作製のためには、X 線照射した生体または新生児へのヒト臍帯血 CD34+幹細胞を移入することで行われている。しかし、実際にこれらマウスでのヒト細胞の生着、分化性を比較検証したデータは少ない。本年は、当研究所で新に開発した NOD-RAG2 IL-2R $\gamma$  KO (dKO) マウスを加えた 3 系統免疫不全マウスでのヒト細胞の生着、分化性を比較した。その結果、NOG、NOD-dKO、BALB/cA-dKO の順番で、生着、分化性が高いことが明らかとなった。

本研究は、文部科学省・基盤研究 S (伊藤)、特定奨励研究 (野村)、特定領域研究「免疫系自己」(湊)、若手研究 B (伊藤亮) および厚生労働省・創薬基盤推進 (田中) の研究補助金の一部として実施している。

## 2) ヒト細胞 in vivo モデルの作製

ヒト肝細胞の置換研究に特化した NOG マウスの改良を進めた。NOG マウスを遺伝背景とするトランスジェニックマウス 2 系統（ウロキナーゼタイププラスミノーゲンアクチベータ遺伝子導入マウス、単純ヘルペスウィルスチミジンキナーゼ遺伝子導入マウス）の生産コロニー構築を進めた。肝臓細胞を受容するマウスとしての適性を多方面から解析した。両系統ともに肝細胞傷害が認められ、正常ヒト肝臓細胞移植により、ヒト血清アルブミンが大量に検出できたことから、ヒト細胞の生着が確認できた。また、免疫組織学的解析からもヒト肝臓細胞の生着を確認した。ウロキナーゼタイププラスミノーゲンアクチベータ遺伝子導入 NOG マウスについてはその成果を取り纏め論文化を行った（Suemizu H, Hasegawa M, Kawai K, et al. Establishment of a humanized model of liver using NOD/Shi-scid IL2Rg(null) mice. Biochem Biophys Res Commun. 2008;377:248-252.）。

## 3) ヒト腫瘍 in vivo モデルの作製

NOG マウスを用いたヒト肝臓がんのオーソトピックモデルの開発を行った。HepG2, JHH-7, HuH-6, HuH-7 に肝がん細胞株を NOG マウスの脾門部に移植したところ HepG2, JHH-7 細胞では生着が確認できた。一方、皮下に移植した場合、HepG2, JHH-7, HuH-7 では生着が確認できたが HuH-6 細胞はどちらにも生着しなかった。皮下には生着するが肝には生着しない HuH-7 細胞は生着部位における微小環境特異性を示しているものと考えられた。HuH-7, HuH-6 を組み合わせて解析することにより、がん細胞の組織浸潤に関わる因子、浸潤後の生着能に関わる因子の探索に着手する予定である。

## 2. 実験動物開発のための新技術プロジェクト

### 1) 新たな遺伝子改変法の開発に関する研究

種々の系統マウスからの ES 細胞樹立、および作製した ES 細胞から遺伝子改変マウスの作製を行う一連の技術のシステム化の検討を継続している。昨年度、当研究所で発見された白毛色 C57BL/6J Jic (B6)-*Tyr<sup>fl</sup>* (仮称) マウスから樹立した ES 細胞の遺伝子改変用のリソースとしての有用性を確認する目的で、生殖系列への伝達の確認実験を行った。樹立 16 クロンのうち、10 クロウンが正常核型を保有していた。この 10 クロウンのうち、7 クロウンを B6D2F1 由来系統テトラプロイド胚との凝集後に移植した結果、4 クロウンでキメラマウスを獲ることができた。そのキメラマウスの生殖系列への伝達を B6 マウスとの交配で検討した結果、2 ライン（ライン名：Wit5 および Wit9）で生殖系列への伝達を確認できた。また、さらに 4 クロウンを、B6 8 細胞期胚への凝集法での検討も行った結果、Wit4 および Wit9 で生殖系列への伝達を確認できた。現在、これらクロウンを用いて実際に相同組換え実験を行い、このクロウンが実際に遺伝子改変動物作製に使用できるか否かを検討している。

ES 細胞に替わる幹細胞として、従来精子幹 (GS) 細胞に着目し、その樹立をラットおよびマウスで行ってきた。しかし、増殖力が極めて悪いことでその細胞での相同組換え実験は困難であると判じて研究を停止し、現在は ES 細胞の樹立法を再検討している。すなわち、最近になって、3i または 2i と呼ばれる分化抑制薬剤が報告され、実際にこの実験系でラット ES 細胞の樹立が報告されている。Wister-Imamichi 系統ラットの Blastocyst より ES 細胞の樹立を従来の培地と上述の 2i を含む培地で検討を行った。その結果、2i を用いた場合には Blastocyst より得られる増殖 ICM は Oct3/4 の発現が強く、従来の培養法に比べ未分化状態を維持することが確認できた。

また、従来の方法で困難であった NOD/Shi マウスでの ES の樹立も並行して実施した。従来の培養法では NOD マウスの blastocyst からコロニーを形成させることはできるが、継代・維持が困難であった。しかし、2i 含有培地での ES 細胞の分化は従来用いてきた培地と比べ、形状および Oct3/4 の発現などから極めて抑制されることが確認できた。今後は、これら ES 細胞を維持、

継代および増殖させるための条件を検討する予定である。

組織、細胞を欠損させたマウスとして、CD11c および *erastase* 発現細胞を標的とした遺伝子改変マウスを作製している。これは上述の promoter の下位に、EGFP と DTA を連結した vector を用いる方法である。現在までに、これら vector の前核期胚への注入による Tg マウスの作製を行い、遺伝子の導入されたマウスは得られている。今後はこれらマウスで実際に上述の細胞が EGFP を発現しているか、さらに発現細胞を欠損させることが可能か否かを検討する。

ヒト疾患モデルとしてのウェルナー症候群動物モデルの作製に関しては、ウェルナー (*Wrn*) 欠損マウスおよび周辺の報告から Werner helicase interacting protein (WHIP) が *Wrn* の補助あるいは本体であると仮説を立てて、研究を継続している。現在、WHIP cDNA に対して設計および作製した short hairpin RNA に相同する配列を、dox によって RNAi 効果を発現するベクター組み込みを終えた。今後はこれらに細胞導入用マーカーの組み込み、そして WHIP 遺伝子のクローニングを行う。本研究は、文科省の特定奨励研究で行われた。

## 2) 環境保全のための遺伝子改変動物制御に関する研究

本研究は、遺伝子改変マウスが野外への逸走防止、および仮に逸走した場合でも環境の保全を担保する方法論を確立するために行なっている。既にヒトと齧歯目動物に共通してみられる高プロラクチン血症による繁殖不全を利用した遺伝子改変動物の野外での繁殖阻止系を樹立した。しかしながら、繁殖生理に関わる実験動物には、本遺伝子改変動物には不向きであることから、改良型として配偶子の細胞融合に関わる *izumo1* 遺伝子に着目し、この遺伝子の RNAi による抑制の検討を行っている。今年度は *izumo1* 遺伝子とその下流にある IRES により GFP を発現する細胞実験用のコンストラクトを構築した。さらに、RNAi の効果を検討するため、*izumo1* 遺伝子の 2 箇所について short hairpin RNA 配列を設計し、それぞれについて dox によって RNAi を発現するコンストラクトを作製した。それぞれの RNAi 実験用のコンストラクトには、細胞導入用のマーカーとして DS Red および YFP を組み込んだ。今後、細胞実験にて 2 つの short hairpin RNA 配列による *izumo1* 遺伝子の発現抑制について、IRES 下の GFP を視覚的マーカーとして行う予定である。

## 3) 電磁場凍結 (CAS) を用いたほ乳類生体試料の新規保存方法の研究

ほ乳類の細胞や組織および器官を生きたまま保存する方法の構築を目指す。現在ほ乳類の生体試料の保存方法は無数にある。しかし、既存の保存方法では融解後の細胞の生存や保存前の形質を保つ点で必ずしも有効ではない。そのため食品業界で利用が始まっている CELL ALIVE SYSTEM (CAS) を応用する。CAS は細胞内外の氷晶形成を阻害して、細胞の物理的な損傷を防ぐことが分かっている。しかし、低温下での細胞内のタンパクや酵素の活性等については未確認である。そのため、胚や配偶子を用いて保存した細胞の生存性と機能の確認と、保存条件の検討を行う。本年度はマウス由来の 2 細胞期胚を使用して保存実験をおこなった。保存液はリン酸緩衝液を基本とした。実験の結果、実験区によっては、2 細胞期胚の短期間保存において保存の効果が示唆された。しかしながら既存の凍結保存方法とは概念が大きく違うため、改めて保存の基本的な理論や手法の検証をおこなう必要があることも分かった。

## 4) 実験動物リソースバンクの構築

当所の Experimental Animal Resource Bank (EARB) は胚の保存にとどまらず、品質規格を明瞭にした個体の復元供給を主にする免疫不全、感染症や生活習慣病などのヒト疾患モデル動物の国際的保存供給センターを目指す。そのためマウス、ラットおよびマーモセット等の複数の実験動物種の胚、配偶子や ES 細胞等を対象に以下の研究を実施した。1) 生殖工学技術の開発：生殖細胞の採取と培養方法、保存方法および個体復元方法と品質管理を検討した。マウスでは胚保存の検討と共に、精子および ES 細胞への研究をおこなった。ラットは本年度も NBRP-Rat と連携してリソースの蓄積をおこないつつ、疾患モデルの系統差を克服する技術開発をおこなった。また、これら保存した生殖細胞の品質管理を行うため、微生物と遺伝モニタリ

ングと連携して新技術の検討をおこなった。2) 情報管理：保存した生殖細胞の情報の電子化を行い、寄託者への連絡を開始した。またマウスの系統維持・増殖群・生産群の胚保存をおこなうため、主要系統の家系図を作製し、採卵用個体の作製を開始した。3) その他：新技術と既存技術を複合して効率的な疾患モデルの維持供給方法を検討した。またタネ動物、保存胚や配偶子、仮腹妊娠動物、実験個体および繁殖コロニー等、研究者の要求に則したリソースの供給の準備を一部開始した。本研究の詳細は研究部門/実験動物研究部/生殖工学研究室、および研究事業部門/動物資源管理部/生殖工学事業室を参照のこと。

#### 5) 新規実験動物基盤技術の開発と応用に関する研究

当研究所で培ってきた微生物統御、育種繁殖および飼育管理などの基盤技術を見直し、且つ新しい飼育方式を取り入れることによって、実験動物学におけるこれら基盤技術をさらにレベルアップすると共に、新しい飼育システムを実験動物学から提案できるような基盤研究を実施する。本年度は、まずビニールアイソレーター用手袋の検討を行った。すなわち、従来型ネオプレン製の厚さ 0.8mm のものは、作業者の負担が大きいことから、負担軽減を目的に新たな 3 種類のビニールアイソレーター用手袋の使い勝手や耐久性について、従来型のものと比較した。その結果、使い勝手では、手袋は肩口から指先部分まで厚さ 0.6mm のものが一番良く、従来タイプ 0.8mm、さらに 0.4mm および肩口 0.35mm/腕 0.4mm/指先部分 0.9mm の順であった。次に、手袋の耐久性を磨耗度試験、ピンホール試験(通電試験)で検討した結果、薄手の 0.4mm、0.6mm においても十分に使えることを確認した。次に簡易型ビニールアイソレーターの開発では、輸送箱がそのまま飼育装置としても使えるビニールアイソレーターの検討を行った。その結果、若干の作業性の低下、温湿度の悪化が見られるものの、1ヶ月間の無菌マウス飼育が出来ることを確認した。またノトバイオオート技術を応用した飼育装置の開発として、陰・陽圧ビニールアイソレーターベンチの検討を行った。その結果、陰・陽圧ともにブローアー運転開始 5 分後の粉塵量は通常のビニールアイソレーター内と近い値まで減少し、温度、湿度は位置による差は認められなかった。加えて、複合遺伝子改変マウスやラットの維持、系統化に適したマウスケージ 30 個程度を収容できる中型ビニールアイソレーター(1500×1300×900 mm)の作製を行った。実験動物飼育管理システムの開発改良に関して、無菌動物を始め、免疫不全動物、野生動物等様々な実験動物の取扱い、飼育法の改善、工夫、運営・管理システム化などについては構想段階に留まった。本研究は、文科省特定奨励研究の一部として実施された。

### 3. マーモセットによるヒト疾患モデル研究・開発プロジェクト

真猿類の高次機能と高い繁殖効率を持ち、実験用霊長類として実中研が 30 年来開発を進めてきた小型霊長類コモンマーモセットについて、ヒト疾患モデル動物の作出ならびに遺伝子改変動物の開発、抗体、cDNA などの解析ツールの開発、運動機能、MR 画像、病理的解析ならびに生産動物の規格化等に関し、多方面より総合的に検討するプロジェクトである。この研究開発は所内の各研究室ならびに事業部との協同で行う。研究は以下の 6 つのグループに分かれて実施され、本年度の研究内容は以下のごとくであった。

#### 1) 治療方法開発のためのモデル動物作出

##### a. 脊髄損傷モデルの作出と治療法の検討

前年度までの本試験に関する動物個体の選抜(年齢、性、体重、運動量、健康栄養状態)と術前術中術後の動物のケア方法の確立によって、平成 19 年以降、現在までの脊髄損傷研究に使われた実験で、マーモセットで実験中に死亡する個体が皆無である状況は平成 20 年に入っても続いている。これは、実験手技の確立、術後のケア、ならびに各種機能評価時に動物に与える負担を軽減させるための動物の取り扱い方法および各種測定器具類の見直しなどの改良によって本研究の円滑な実施が可能となったためと考える。

我々は本プロジェクトで動物の選抜、マーモセット脊髄損傷モデル個体の作製補助と処置



後の動物のケアを主として担当した。その中で、手術中の確実な麻酔管理と確立した障害時ケア法に則った厳格なる管理体制が研究の遂行に大いに役立ったと考える。本年度は、合計20個体のマーモセットを脊髄損傷実験に提供でき、モデル作成とモデル動物への肝細胞増殖因子投与や神経幹細胞移植、その他の解析等に寄与できた。本研究は文部科学省リーディングプロジェクト(慶応大岡野)の一部として実施された。

#### b. 心筋梗塞、肺高血圧、脳梗塞、多発性硬化症モデル作出と機能評価

心筋梗塞モデル作製については手術担当者の変更があり、病態作出実験が積極的に行われた。新規担当者による病態作出実験と、ES細胞から分化させた心筋細胞を用いた治療実験実施のための準備として、マーモセットへの免疫抑制処置の検討が行われ、サイクロスポリンの投与量が決定した。心筋梗塞病態の確認のため、MRIやCT観察が検討されたが、最終的に、プローブを装着したマーモセットのテレメトリーシステムによる心電図波形を採用することとし、そのためのセッティングが完了した。本研究は医薬品基盤研究費(慶応大福田)の一部として実施された。

肺高血圧モデル作出は「ウイルスベクターを用いた遺伝子導入による治療効果の検討」という内容であり、モノクロタリン投与による病態作出が検討されたが、投与方法の問題と思われる皮膚豹変発生により中断中である。

脳梗塞モデルについては慶応義塾大学の2つのグループによる計画が提出された。一つはマーモセットで一過性の全脳虚血モデルを作製し、その障害脳におけるNeurogenesisの検討であり、他の一つはマーモセット脳梗塞モデルを用い、神経・血管系におけるガス分子の生成と受容機構の解明を目指すものであった。いずれもモデル作製にあたっては慶応義塾大学医学部の教室員が動物の術前術後処置と術中の麻酔管理などを実中研の技術者が分担する方式である。Neurogenesisを対象にした当初の病態作出は困難である。本研究は慶応義塾大と実中研による21世紀COEプログラムの一部として実施された。

多発性硬化症モデル作出については、recombinant human myelin/oligodendrocyte glycoproteinをアジュバントとともに皮下投与するという方法、いわゆるExperimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE)病態作出に切り替えた。免疫はコモンマーモセット2匹を用いて行われ、発病時間に大きな違いがあったものの、脱髄病変形成に成功した。しかしながら、今後も実験を継続するためには抗原の純化等の改良が必要と考えられた。

#### c. アレルギー疾患モデルの作出

スギ花粉抗原の連続点鼻によるマーモセットでのアレルギーモデル作出を試みた。スギ花粉抗原感作動物6匹のうち、3匹で抗原投与後、くしゃみや鼻汁漏出を主徴とする症状が観察された。これら発病個体はその後症状が消失する場合もあり、ヒトの症状に類似していた。現在、病態評価のための血中のサイトカインやIgE量の定量化の取り組みを継続するとともに、アレルギー好発マーモセット集団樹立の目的で、発病個体を用いた交配を開始した。本研究は東海大学や順天堂大学との共同実験である。

### 2) 生殖工学・遺伝子改変動物の開発と研究

遺伝子改変マーモセット作出に関わる技術検討として、昨年度、EGFP遺伝子導入トランスジェニック(Tg)個体について、各組織での導入遺伝子の発現および導入遺伝子のコピー数、染色体における遺伝子導入部位を確定するために、末梢血のフローサイトメトリー解析、サザンブロット解析、FISH解析等を行った。その結果、5匹中4匹の様々な体細胞に遺伝子が導入しており、発現していることが明らかとなった。さらに、そのうち2匹は性成熟を迎え、生殖細胞にも導入遺伝子が伝達していることが、あきらかとなった。本研究は戦略的創造研究推進事業(慶応大岡野)の一部として実施された。

### 3) トランスジェニック・マーモセット作成法の改善のための技術開発

マーモセットでは生殖細胞系列に寄与するES細胞株は得られておらず、HAC保有マーモセッ

ト作出のためには、HAC を直接受精胚へ導入する方法が有効と考えられる。そのために現在、実現可能な手段として前核期受精胚の前核に直接 HAC を導入する前核注入法、あるいは未受精卵子に精子と一緒に HAC を導入する ICSI 法の 2 つの方法が考えられる。そこで、我々は HAC の受精胚への直接導入を最終目標に、まずはこの 2 つの方法で赤色蛍光タンパク (mRFP) 遺伝子の導入を試みた。

前核注入法では合計 214 個の前核期胚を処理し、mRFP 遺伝子を発現し正常に発生した 36 個 (16.8%) の 8~16 細胞期の受精胚を仮親へと胚移植した。一方、ICSI 法では合計 183 個の前核期胚を処理し、mRFP 遺伝子を発現し正常に発生した 7 個 (3.8%) の 8~16 細胞期の受精胚を 31 匹の仮親へと胚移植した。現在、これらの仮親うち 2 匹が妊娠中である。以上まとめると、前核注入法および ICSI 法により遺伝子導入した胚は正常に発生し、8~16 細胞期胚の 29.7% は mRFP 遺伝子を発現することが認められた。本研究は戦略的創造研究推進事業 (慶応大岡野) の一部およびグローバル COE (In vivo ヒト代謝システム生物学) の研究の一環として実施された。

#### 4) 神経行動解析研究

コモンマーモセットの MPTP 処置パーキンソン病モデルを用いて薬効評価研究を継続した。本年度は MPTP 処置により作出されたパーキンソン病モデルマーモセットを確保し、PET 等の新しい解析方法による脳病変解析を行った。本研究は、放医研・分子神経イメージングセンターとの共同研究で実施された。

パーキンソン病の治療薬として常用される L-DOPA の副作用としてディスクネージャがある。MPTP 処置によって作出されたパーキンソン病モデルマーモセットに L-DOPA を投与することによってディスクネージャの症候を確認できた。この実験系はパーキンソン病治療の副作用であるディスクネージャのモデルとしても期待される。

アルツハイマー病など認知症に関する前臨床研究のために、マーモセットの認知機能行動測定に向けた検討を継続した。

#### 5) 解析ツール開発ならびに生体情報の収集・整備

マーモセットは真猿類としてげっ歯類に比べてヒトに近いゲノム塩基配列をもち、とくに高次機能や代謝パターンがよりヒトに近いなどの優れた特性を有するが、実験動物として利用するために必要な生体情報が充分得られておらず、機能の形態情報を得るための解析手段の開発が望まれており、以下の開発、生体情報の収集・整備を行った。

##### a. ゲノム情報解析

実中研、慶応大岡野研、理研ゲノムサイエンス榊研との共同研究で、高速シーケンサーを用いて、マーモセットゲノム全配列の解読を開始した。組織の cDNA ライブラリー構築とその塩基配列決定プログラムに、東北大佐竹研、東海大垣生研も参画し、マーモセット脳・脊髄、肝臓、脾臓、精巣、ES 細胞より作製した配列決定を終了し、実中研玉置副所長を代表者として理研 BRC に寄託を行った。本年度は 2 件の公開前分与を実施した。本研究はグローバル COE プログラム「幹細胞医学のための教育研究拠点」の一環として実施された。

##### b. 解析用抗体開発研究

細胞表面抗原の発現ベクター構築を積極的に実施した。細胞外・膜貫通・細胞内領域から構成される細胞表面抗原のうち、抗原として重要な細胞外領域のみを緑色蛍光タンパク (GFP) のカルボキシ末端に読み枠を合わせて融合させた。各細胞表面抗原遺伝子 cDNA より、細胞外領域のみを PCR で増幅し、読み枠をずらさず平滑末端のまま発現カセットベクター (pCXGFP-1 または pCXGFP-1 Plus ベクター) に挿入した。本年度は次の 5 遺伝子 = 17A, IL-17F, CD44, CD28, CD86、Ige 鎖 Fc 部分、mCG = について発現ベクターの構築を実施した。

##### c. 形態情報整備

生体情報整備の 1 つに神経科学基盤となる脳形態の構築がある。これまでにも組織学的手法を用いた脳アトラスは存在するが、我々はすでに組織断面と MRI 断面を対応させた脳

アトラスを作成している。さらに本プロジェクトでは、今後展開される認知科学研究に対応すべく、形態～機能・代謝情報を集団解析するための脳テンプレートの作成を行う。脳テンプレートは多数の脳データを標準化して得られる電子データであり、それぞれの脳データは、形態的コントラストが良好で、3次元データとして取り扱えることが望ましい。本年度は、成体脳における白質／灰白質領域の画像コントラストを強調する3D MRI計測法の検討を行った。標準脳の作成には最低20匹のデータが必要と考えており、現在最適化した3D MRI法を用いて観測データ数を集めている。

## 6) 生産動物の規格化

### a. 集団遺伝学的特性把握等コロニーの規格化

マーモセットはクローズドコロニーとして維持されている。この集団の遺伝的偏りが無いことを検証するためには、複数の多型を示す遺伝的マーカーの発現頻度をモニターする必要がある。昨年度から実施したマイクロサテライトマーカーの多型調査によって多くの多型が見いだされ、由来集団がクローズドコロニーとして適切に維持されていることが確認された。

### b. 微生物学的調査とモニタリング

現在使用中のマーモセットは日本クレアの動物施設から購入された個体と自家繁殖個体からのみで構成されている。動物の繁殖施設における定期的検査によって、Bウイルス、SIV、SRV、s-EBV、SVV、フィロウイルス、STLV、ヘルペス・タマリヌス、ヘルペス・サイミリイ、赤痢菌、サルモネラであり、これら項目の汚染が無いことが確認されている。実中研においても、定期的な糞便材料の培養検査によってサルモネラと赤痢菌検査と異常動物の病理学的・微生物学的検査を実施している。これら検査によって、伝染病の発生が無かったことが確認されている。

しかし、現在のマーモセットコロニーでは下痢が散見されるという問題を抱えている。これまでの疫学的・微生物学的検索では特定病原体の感染である証拠は得られず、複数の要因の複合的関与が推察されており、検索が進められている。

## 4. プリオン病モデルの開発と応用に関する研究

本研究の目的は、感染性痴呆の原因である異常プリオンの感染性を短時間で評価できるシステムの確立ならびにそのシステムを用いた受託試験を視野に入れたものである。

これまでにノックイン (Ki) マウス5系統、トランスジェニック (Tg) マウス11系統、さらにKiとTgを交配したKi・Tgマウス7系統のヒトおよびウシ型プリオン感受性マウスを作出し、順次感受性試験を行ってきた。感受性試験は、段階希釈したプリオン感染脳材料( $\times 10^{-1} \sim \times 10^{-8}$ )の腹腔内投与75日後の脾臓濾胞樹状細胞での異常プリオン蛋白質の沈着を指標にする方法と、脳内投与による発症までの潜伏期間を測定する方法で検討した。

感受性試験と併行して、プリオン感染脳材料の収集・作製を行った。ヒト・CJDプリオン7株とウシ・BSEプリオン3株のマウス感染脳材料を入手し、それら材料をプリオン感受性マウスに脳内投与し、標準株の作製を行ってきた。これまでにヒトのsCJD約250匹分、vCJD80匹分、BSE120匹分、その他のプリオン60匹分のマウス感染脳材料をストックした。本研究は、東北大・院医・北本教授とプリオン病研究センター・毛利センター長との共同研究で行われた。

## 5. 実験動物のフェノタイプ解析プロジェクト

実験動物、特にヒト疾患モデルマウスのフェノタイプ解析手法の確立のためにNOGマウスを素材にした検討を継続した。今期は本システム導入にあたり、平成19年度に日本クレア(株)技術部の協力を得て実施した基礎的データ収集のためのNOGマウスの長期飼育実験により得られた材

料の解析、整理を行った。その結果、体重、血液学的データ、血液生化学的データの集計、整理が終了した。加齢による病理学的変化の解析は継続して行われており、21年度秋には終了予定である。

また無菌 NOG マウスに標準腸内フローラを定着させた後の動態の観察、および SFB（セグメント細菌）の無菌 NOG マウスへの影響も観察した。その結果、SFB の NOG マウスへの病原性を確認することはできなかった。なお標準腸内フローラの動態観察は現在継続中である。

## 6. 先端実験動物研究方法樹立プロジェクト

### 1) 実験動物の分子病理解析プロジェクト

in vivo における腫瘍細胞の動態は生体に近いと考えられるが、in vitro のような均質化された細胞集団として扱うことは困難であった。腫瘍部・非腫瘍部を病理組織学的に分類しサンプリングを行い、それぞれの細胞集団での解析するためのツールとしてレーザーマイクロダイセクション(LMD)を導入した。今年度はマウス組織標本に存在する異種細胞（ヒト細胞）をレーザーにて採取し、DNA 解析により細胞同定を可能とした。今後は、LCM での自動サンプリングを念頭に考慮し、蛍光蛋白および蛍光標識抗体によるマウス組織内での生着・増殖、検出方法などの検討を行う予定である。

### 2) 実験動物の画像解析プロジェクト

非侵襲計測装置である MRI を用いて神経微細構造評価法の確立を目指している。中枢神経系白質領域において神経軸索は様々な方向性を有し存在しており、これまで MRI を用いた走行解析は困難であった。我々は、高空間・角度分解能拡散 MRI 法を開発し、その生体適用によって複雑な神経走行領域を有する視交叉の神経構造を描出した。また生体内水分子の制限拡散を解析することによって細胞構造をマイクロレベルで定量化することを可能とした。

### 3) 多型解析による研究用動物・細胞の遺伝モニタリング

DNA 多型マーカーを PCR 及びキャピラリー電気泳動法で分析する手法を用いて、近交系マウスの系統背景遺伝子高速ジェノタイピングをコンジュニック法と組み合わせてマーカーアシストドセレクションプロトコールを進めた。本法により、C57BL/6-Wsh, C57BL/10-mdx, NOD/IQI, C57BL/6-Aw マウス系統について遺伝背景検査を実施した。マーマセットの多型プロファイル解析では、現在のマイクロサテライトマーカーを用いて親子判定だけでなく、検体の由来が正しいことの確認試験としても活用した。

## Ⅱ. 研究部門

### A. 実験動物研究部

#### 1. 飼育技術研究室

##### 1) モデル動物作製システムの開発改良

###### (1) 糖尿病モデルマウスの系統育成

IRS-2KO, aP2-MCP1-Tg 複合マウスに関する研究では、B6J-IRS-2KO, aP2-MCP1-Tg 複合マウス、B6J-IRS-2KO マウス、B6J-MCP1-Tg マウスおよび野生型を 6 匹ずつ作製し、耐糖能障害およびインシュリン抵抗性に関する動物実験を終了した。IRS-2KO, aP2-MCP1-Tg 複合マウスの耐糖能障害およびインシュリン抵抗性は B6J-IRS-2KO よりも悪化しており、IRS-2KO と野生型の間では差の見られなかった血中レジスチン濃度が aP2-MCP1-Tg 複合マウスでは高く、インシュリンの分泌が若干ではあるが有意に抑えられていた。今後さらに解析を続け、ヒトの臨床に直結したモデルの確立を目指す。

アディポネクチン欠損(Adp-KO)マウスの戻し交配は、C57BL/6Jc1 へ N9 に達し、戻し交配が完了したのものとして、凍結保存を行った。129+TerSv/Jc1 へは N5 に達し、凍結保存した。さらに DBA/2Jc1 への戻し交配も始め、現在 N5 に達し、継続中である。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施されている。

##### 2) ノトバイオート(ビニールアイソレーター)技術の開発改良

###### (1) ビニールアイソレーターの改善

ビニールアイソレーター用手袋は、現在、肩口から指先部分まで厚さ 0.8mm を使用しているが、慣れないと作業者の負担が大きくなり作業性の低下を招いている。そこで負担軽減を目的に、肩口から指先部分まで厚さ 0.4mm と 0.6mm および肩口 0.35mm/腕 0.4mm/指先部分 0.9mm の 3 種類を、従来から使用している 0.8mm との比較の上で、使い勝手と耐久性の調査を行った。調査では床換えの時の手袋の堅さ、動き易さ、まとわり具合、バンドのし易さ、作業時間等について、それぞれ 5 段階で評価し、07 年 10 月～08 年 5 月まで計 56 回(週 2 回/1 年間分)を男性 6 人、女性 2 人で実施した。その結果、実施者の作業時間は 4 種類とも差は見られなかったが、作業のし易さでは、手袋は肩口から指先部分まで厚さ 0.6mm、従来タイプ 0.8mm、次に 0.4mm および肩口 0.35mm/腕 0.4mm/指先部分 0.9mm の順であった。更に 0.8mm を除いた 3 種類の手袋について、磨耗度試験、ピンホール試験(通電試験)を行なった結果、薄手の 0.4mm、0.6mm に置いても十分に耐久性があることを確認した。本研究は文部科学省特定奨励費の一部として実施されている。

###### (2) 簡易ビニールアイソレーターの開発

無菌動物の飼育技術や設備が不十分であっても無菌動物やノトバイオートを飼育することができることを目指して、輸送箱がそのまま飼育装置としても使えるビニールアイソレーターの作製を検討した。ビニールアイソレーターと同じ材質を用いて縦横高さ 50cm 程度のチャンバーを作製し、それに輸送用無菌コンテナ 2 個と操作用手袋 1 双を取り付けた輸送用自然換気型ビニールアイソレーターを試作した。この装置に無菌マウス 10 匹と 1 ヶ月程度の飼育が出来る飼料、飲水、床敷などをセットして、手袋を介した作業性、チャンバー内の環境について調査した。その結果、通常のビニールアイソレーターに比べて、作業性が悪く、温湿度においても通常のものに比べて 10%程度の上昇が見られた。飼育 1 ヶ月後の無菌検査では、無菌が維持出来ていることを確認した。今後はチャンバーの大きさ、手袋の位置およびフィルター面積などの改善を図る。

### 3) ノトバイオート技術を応用した飼育装置の開発

#### (1) 陰・陽圧ビニールクリーンベンチ(仮称)開発

バリア飼育にNOGマウスと通常のSPFマウスを同居飼育するとしばしば下痢や衰弱が発症し、飼育や実験を中断することがある。このようなバリア飼育室においても重度免疫不全マウスの飼育と実験が長期に渡り安全に維持できる飼育・実験一体型の装置の開発を目指す。本年度は陰・陽圧ビニールクリーンベンチ(50×80×50cm)を試作し、クリーンベンチ内の粉塵量、温湿度分布などの調査を行った。その結果、陰・陽圧ともにブローアー運転開始5分後の粉塵量はビニールアイソレーター内と近い値まで下がり、温度、湿度は位置による差は無かった。今後は実際に重度免疫不全マウス飼育試験を行い、作業性、微生物統御などを調査する。

#### (2) ビニールアイソレータールーム(仮称)の開発

今年度は中型ビニールアイソレーターの作製について検討した。当所では小型ビニールアイソレーター(小型VI、1150×500×500mm)ケージ6個収容と大型VI(1800×1300×1300mm)ケージ80個収容の2種類を使用している。しかし、複数の遺伝子を組み合わせた遺伝子改変マウスやラットなどの維持、系統化にはアイソレーターのサイズが合わず、この点を改善することを目的に中型VI(1500×1300×900mm)マウスケージ30個収容のものを試作し、動物を飼育した場合のビニールアイソレーター内の環境(粉塵量・温度・湿度)調査を行った。その結果、VIを置いている飼育室内の粉塵量は1000~12000個/0.01CFであったが、VI内では50個/0.01CF以下を維持していた。温度は、VI内が飼育室より約1.5~2℃高く、また棚の位置の違いでは上段と中段では約0.5度の温度差が認められた。湿度は、動物室及びVI内の上下間で特筆すべき差は認められなかった。中型VIチャンバー内は従来の小型VI、大型VIと同様な粉塵量、温度および湿度を再現していることを確認した。これによりマウスケージ30個収容できる中型VIが無菌動物はもとより、多数のケージを必要とする複合遺伝子改変マウスやラットの維持や系統化に有効であることが示された。

### 4) 実験動物飼育管理システムの開発改良

動物実験開発のための新技術プロジェクト(5頁)を参照。

本研究室の研究項目は、文部科学省特定奨励費の一部として実施された。

## 2. 動物医学研究室

プロジェクト研究としてプリオン病のバイオアッセイシステム実用化の検討を行ってきた。昨年度から継続して、実中研で開発したマウスについて感染実験によるプリオン感受性試験を実施した。本年度は感受性試験と併行して、プリオン感染脳材料の収集・作製を行った。本研究はプリオン病モデルの開発と応用に関する研究(7頁)を参照。

## 3. 遺伝モニタリング研究室

### 1) 核型検査のためのM-FISHの検討

昨年度までの検討において構築できたM-FISH法による染色体同定システムの実用化に関する検討を継続した。具体的にはマウスやラットの細胞の核型検査について、バンディングによる旧来法の充実ならびに新たな方法としてのM(マルチプレックス)-FISHの検討を行った。その結果、Tg動物の染色体および導入遺伝子の同時染色については、これまで検討していた蛍光物質が有効でないことが確かめられたため、導入遺伝子と染色体の発色はそれぞれ別途行うことにした。

### 2) ヘリコバクター病原体遺伝子の検索

病原体遺伝子検索法としてルミネックスに着目し、本法をシステム化するにあたりまずは既存

の(16SrRNA)配列にてシステム構築を目指した。しかし16SrRNA領域はホモロジーが高く、株間の識別が難しい。そこで新たに16SrRNA領域に替えて、昨今注目されているハウスキーピング遺伝子の一つであるgyrB領域に着目し、ヘリコバクター属10種類についてgyrBの遺伝子配列を調べた。しかしこの遺伝子はコピー数が少ないため検出感度が低くルミネックスに使用することができなかった。そこでさらに他のハウスキーピング遺伝子を検索することにした。ターゲットとしたのはatpD, flaA, recAでこれらの遺伝子配列をヘリコバクター属10種類について調べた。

今後、これらの配列を元にルミネックスの系を確立し、収集した菌株のスクリーニングを行う予定である。

#### 4. 実験動物遺伝育種研究室

本研究はマーマセットによるヒト疾患モデル研究開発プロジェクト(7頁)を参照。

#### 5. 免疫研究室

##### 1) 異種細胞高生着性免疫不全マウスの作出と応用及びその高生着性に関する基礎的研究

NOGマウスを使った新たなGVHDモデルを作出した。このモデルはヒト末梢血単核球の移入で引き起こされるGVHDモデルであり、本モデルの特徴としては、X線照射を行わなくても良いこと、少数の細胞でGVHDを引き起こすことが可能であること、かつ従来の腹腔経由でなく静脈経由でも可能なことである。

このGVHDモデルを用いて、NOGマウスでの異種細胞の高生着性に関与する細胞亜群、因子を検討した。NOD-scidマウスの脾細胞および脾細胞から単離された樹状細胞(CD11c+陽性)をNOGマウスに移入することによって、GVHDは極めて抑制された。このCD11c+細胞をさらにB220抗原の有無を指標として、B220+CD11c+ plasmacytoid DC (pDC)およびB220-CD11c+ myeloid DC (mDC)を分画し、NOGマウスに移入した。ヒト末梢血単核球移入後のGVHDの発症はpDCで強く抑制された。このpDCはNOD-scidでは強い細胞障害活性があり、IFN $\gamma$ の産生が強いことが確認されており、NOGおよびNOD-scidマウスでのpDCの機能活性の差異がこれらマウスでの異種細胞の高生着性に差異を生じさせている原因であることが強く示唆された。

その他の研究は、ヒト化マウスプロジェクト1) 新たな免疫不全マウスの作製と応用に関する研究(1頁)を参照。

#### 6. 遺伝子改変研究室

本研究室の研究活動は、実験動物開発の新技術プロジェクトの1) 新たな遺伝子改変法の開発に関する研究および2) 遺伝子改変動物の野外での繁殖阻止に関する研究(2頁)の項を参照。

#### 7. 生殖工学研究室

##### 1) ほ乳類生体試料の新しい保存方法の開発

本年はCASを用いてマウス2細胞期胚を低温下で短期もしくは中期保存できるか否かの検討をおこなった。実験の結果、一部の方法では短期間であればマウス胚を保存できることが示唆された。詳細はプロジェクト研究/電磁場凍結の項(3頁)を参照のこと。

##### 2) 生殖工学基盤技術の開発改良

- (1) 本年度はラットの複数近交系の体外受精を継続すると共に体外培養条件の検討に着手した。ラットの新規体外受精培地を用いた体外受精試験では、近交系のF344/Jを用いて92.0%と高く安定した受精率が得られた。体外受精後の胎子発生は、体外受精当日の前核期に胚移植すると60.6%と高い値を示したが、2細胞期胚まで体外培養すると発生率は低下した。また体外受精で得られた胚を前核期および2細胞期でガラス化保存しても胎子発生は低下した。これらより、体外培養条件とガラス化法の改善が必要であると示唆された。

体外受精由来の受精卵を含めたラット胚の体外培養条件を改善する目的で検討を開始した。始めに浸透圧に着目して実験を行った。実験には BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)の2細胞期胚を用いた。ラット体外培養培地 mR1ECM (以下、R1ECM) の浸透圧が約 240mOSM で、新規体外受精培地の浸透圧が約 300mOSM であることから、R1ECM の浸透圧を 240mOSM, 260mOSM, 300mOSM に NaCl で調製して体外培養を行った。その結果、72 時間目の 8 細胞期胚への発生率は、240mOSM, 260mOSM, 300mOSM の順で、6.2%、36.9%、0.0%であった。また 96 時間目の胚盤胞期胚への発生は、4.6%、20.0%、0.0%であった。このことから、ラット胚の体外培養の発生率は浸透圧に影響されることが明らかとなった。

- (2) 実験動物の胚盤胞はキメラ作製時に宿主胚として使用される。また系統保存などには通常 2 細胞期胚が使用されるが、胚の採取や体外培養が困難な場合は、他の発生ステージの胚を使用することも考えられる。そのため本年度は、胚盤胞のガラス化保存の検討を開始した。供試胚は BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)ラットから直接採取 (以下、A 区) するか、8 細胞期胚を採取して胚盤胞まで培養して (以下、B 区) 作製した。ガラス化保存した胚盤胞の生存率は A 区で 85.1%、B 区で 93.1%だった。加温胚の胎子発生率は A 区で 45.5%、B 区で 55.6%だった。何れの採卵方法由来の胚盤胞も、ガラス化加温後に胎子発生することが示唆された。

また、昨年から継続して、ガラス化保存胚の簡易で再現性の高い加温方法の検討をおこなった。材料は CIEA method でガラス化保存したマウス C57BL/6J Jcl の 2 細胞期胚を使用した。加温操作後の保存胚の生存率は、従来のピペットマンを使用した方法 (以下、対照 A 区) (114/120, 97.0%) と、新たに考案したボルテックスと高速遠心機を使用して加温する方法 (以下、実験 A 区) (113/119, 94.2%) はほぼ同様の値となった。また加温した胚の体外培養の結果も、対照 A 区 (91.2%) と実験 A 区 (92.2%) の間に差は見られなかった。さらに加温胚の胎子発生は、対照 A 区 (57/117, 48.7%) に比べ実験 A 区 (68/114, 59.6%) で良好であった。上記検討の次に、新方法で使用する高速遠心機の新規作製をおこなった。既存の遠心機は床置きで設置場所が必要なうえ、ガラス化保存チューブに対応できるローターが市販されていない。今回の実験でも特注したローターを使用した。高価である。そのため卓上型でかつ安価なローターの作製を検討した。検討の結果、保存胚の生存率は既存の床置き遠心機 (以下、対照 B 区) (118/120, 98.3%) と新規卓上遠心機 (以下、実験 B 区) (114/120, 97.0%) は同様の値となった。次に胎子発生を調査したところ対照 B 区 (88/114, 59.6%) に比べ実験 B 区 (78/118, 66.1%) は良好の値となった。以上の実験により、簡単で再現性が高く、かつ使用機器が安価で入手しやすいガラス化保存胚の加温法が開発できた。

新しい加温法は汎用性が高いため、保存胚を分与した先の一般の研究室で手軽に加温操作を行えることが分かった。次に近交系の BALB/cA Jcl およびクローズドコロニーの Jcl:ICR マウス系統の保存胚に対して、上記実験区 B を使用して加温操作をおこなった。その結果、形態学的正常胚の割合は BALB/cA Jcl で 90.0%、Jcl:ICR で 90.0%だった。また胎子発生率は 28.7%と 70.1%だった。以上より開発した加温方法はマウス複数系統の保存胚に対して有効なことが示唆された。

継続して、ガラス化保存に使用する溶液に含まれる高分子物質について検討をおこなった。既存の溶液には高分子物質として BSA が用いられている。しかし本物質は動物由来なのでロット差があり、また目的外の不純物が混入している可能性がある。そのため BSA を化学合成した高分子に置換することを検討した。検討は化学合成された高分子物質である PVP (分子量 1 万と 4 万の 2 種)、PVA および Ficoll を使用した。溶液へは BSA (以下、対照 C 区) と同様に 3 mg/ml で各高分子を添加した。はじめに各高分子を添加した溶液のガラス化の状態を観察した。その結果 PVP 1 万がガラス化面の、フリーズフラクチャー



や白濁が最も起こりにくかった。そのため以降の実験は対照 C 区および PVP 1 万と同種の柵体である PVP 4 万を使用した。次にマウス Jcl:BDF1 同士を掛け合わせて作製した 2 細胞期胚を使用して ガラス化保存実験をおこなった。保存胚の生存率は対照 C 区、PVP 1 万および PVP 4 万で、93.7% (150/160)、84.3% (135/160) および 93.1% (135/160) となり、PVP 4 万が良好だった。しかし体外培養した胚の発生率は PVP 1 万 (84.0%) が PVP 4 万 (65.1%) よりも良好で対照 C 区 (84.4%) と同様の値となった。そのため胎子発生実験は PVP 1 万を使用した。C57BL/6Jjcl 保存 2 細胞期胚を使用した胎子発生実験では PVP 1 万 (75/137, 54.7%) と対照 C 区 (69/125, 55.2%) は同様の値となった。以上の結果より PVP 1 万はガラス化保存液に使用できることが示唆された。次に保存胚の生存率を向上するために PVP 1 万に Dextran を加えたガラス化保存液を作製した。保存胚の生存率は対照区 C (90.0%) に対して PVP 1 万 + Dextran (95.0%) は同様の値となった。しかし胎子発生率は対照区 C (50.6%) よりも PVP 1 万 + Dextran (42.8%) が低い値となった。

1 匹の個体から採取できる卵子数は精子に対し 1/1000 以下と圧倒的に少ない。そのため卵子の保存は高く安定した方法が求められる。しかし既存の卵子の超低温保存法は胚に比べ耐凍性が低く、かつ融解後の体外受精率は著しく低下する。そのため新たな卵子の超低温保存法を検討する。今までの実験から、2 種の細胞浸透性耐凍剤がガラス化加温後の体外受精率の向上に適していることがわかった。

既存の方法よりも体外受精率と受精後の発生率が向上するマウスとラットの精子の保存方法の検討を開始した。本年度は既存のマウス精子保存をおこなう R18S3 保存液中の、スキムミルクにかわる高分子物質の検討をおこなった。高分子は 2 種類のタンパク質を使用した。保存液は 18% の Raffinose に何れかのタンパク質を 3% 入れて濾過滅菌して作製した。これら保存液と R18S3 を使用して C57BL/6JJcl マウス精子を保存して融解後の精子運動性を検査した。保存した精子は未保存の精子の運動性は対照区の R18S3 で平均 41.9% の低下に対して 2 種類のタンパク質を入れた区は平均 47.5% と 60.0% の低下となった。

- (3) ES 細胞からの復元個体は ES のキメリズムが高いほど、出産後の生存率は反比例して低下するため、次世代の作製は困難となる。そこで産子の蘇生率の向上の検討を開始した。本年度は帝王切開摘出産子の蘇生装置の作製を手がけた。
- (4) 系統分与を行う際に超低温保存した胚や配偶子を発送することが日常となった。しかし施設間で使用する保存方法の相違により、輸送後不十分な技術で融解して保存胚の生存率が著しく低下する場合がある。そのため超低温保存した生殖細胞を融解してから輸送する方法を検討している。昨年度までに 2 種の保存容器を使用して、ガラス化加温した C57BL/6Jjcl マウス 2 細胞期胚の低温輸送実験をおこなった。繰り返し実験の結果、使用した 2 種の保存容器では外気が長時間 0°C 以下になると庫内の温度も低下して、結果的に輸送後の胎子発生率は低下することが分かった。本年度は新規に長時間外気が 0°C 以下になっても庫内が 4°C を保つ容器を導入して、春・夏・秋・冬と 4 回の繰り返し輸送実験をおこなった。低温輸送後の形態学正常胚の割合は、95.2%~98.7% と何れも高い割合となった。また輸送後の胎子発生は春 (50.0%)、夏 (57.0%)、秋 (59.0%) および冬 (45.0%) の何れの輸送実験区でも実用に耐えうる発生率を得ることができた。またラットガラス化加温胚に対しても低温輸送実験をおこなった。輸送後の形態学的正常胚の割合は 81.4% だったが、胚移植後の胎子発生率は未輸送区に対して低下した。
- (5) 生殖工学事業室と連携して開発した技術の実用化と EARB のインフラをおこなった。本研究の詳細は研究事業部門/動物資源管理部/生殖工学事業室 (24 頁) を参照のこと。

### 3) 遺伝子組換え動物の作製と系統育成に関する新技術の検討

- (1) ES 細胞からの効率的な個体復元法を継続して検討した。本年度は CIEA method で保存しマウス 4 倍体胚を宿主胚にした ES 細胞からの個体復元の検討をおこなっている。4 倍

体の作製には、新鮮胚を電気融合（以下、A区）、ガラス化保存した2倍体を加温後に電気融合（以下、B区）および電気融合して得られた4倍体をガラス化加温（以下、C区）の3種の方法を使用した。3種の方法により得られた4倍体を宿主胚としてES細胞からの個体復元をおこなったところ、3区共に同様の個体復元率だった。しかし電気融合の際にB区はC区よりも胚の生存率が低下する傾向にあった。そのため現在は追試を検討している。

- (2) 本年度は遺伝子組換えしたES細胞からの効率的な個体作製法の基礎的検討を毛色突然変異B6マウス由来のES細胞を使用して、遺伝子改変研究室と共同でおこなった。詳細はプロジェクト研究/実験動物開発のための新規プロジェクト/新たな遺伝子改変法の開発に関する研究（2頁）を参照のこと。

## B. マーモセット研究部

マーモセット研究部は疾患モデル研究室と応用発生生物研究室の2つの研究室から成っており、両者が緊密な連携をとりながら運営されている。前者は同研究部で実験に使用するマーモセットの準備と動物のケアを担当するとともに、薬物や外科的手法によって作出されたヒト疾患モデルマーモセットを用い、治療法の開発・検討といった動物の品質管理とモデル動物研究を分担した。後者は遺伝子改変マーモセット作出を当座の目的としたマーモセットの発生・生殖工学関連技術の確立ならびにマーモセットに使える各種抗体など解析手段の充実を図り、実験動物としての有用性を高めることを目的とした。さらに、マーモセットの生産供給を行っている日本クレア（株）に協力し、マーモセットの品質改良にも努めた。

### 1. 疾患モデル研究室

#### 1) コモンマーモセットの実験手技に関する検討

ヒト疾患モデルマーモセットを用いた治療試験において、薬剤投与方法は重要な検討課題である。マーモセットへの埋め込みポンプを用いた長期間にわたる連続薬剤投与システムを確立し、現在埋め込みポンプを用いた1ヶ月間にわたる薬液連続投与が実用化できた。

MRI撮像時間の延長に伴う麻酔方法と生体モニターの改善が検討された。特に、生体モニター・プローブの接続部位における低温火傷と思われる皮膚の壊死については、1か所の接続時間短縮をはかるための複数のプローブの使用や体温確保のための温風送風に工夫を加え、火傷発生を抑制できた。

#### 2) マーモセット飼育環境の改良

実験動物としてのサル類のRefinementへの取り組みは重要である。環境エンリッチメントの導入や行動解析に基づく動物アメニティ評価などを取り入れた飼育方法の改良を検討することは重要である。我々は、本年度、欧米でのマーモセット飼育状況を把握するために2回にわたり部員を米国、イギリス、ドイツに派遣した。

「コモンマーモセットの飼育ならびに実験に関する基準」を見直した。

#### 3) 生物材料の提供などのサービスの実施

動物資源の有効活用の目的で、安楽死処分された動物について、各種生体材料（血液その他）の採取、提供を組織的に行った。昨年度から準備された「マーモセット生体材料分与に関する同意書」と実験計画書の提出を求め、それに同意された、所外4機関へ材料提供を行った。さらに、動物飼育や実験手技の技術指導として国内外3機関から研修生を受け入れた。

#### 4) 疾患モデルマーモセットを用いた薬効評価の試験の実施

当部において開発された疾患モデルマーモセットを用い、疾患治療法の有効性評価試験を実施した。本年度は、パーキンソン病モデルマーモセットを用いた薬効評価試験を実施するとと

もに、パーキンソン病の治療に伴って発生することがある副作用であるディスクネージアの評価方法についても検討した。

## 2. 応用発生生物研究室

現在の遺伝子改変マーマセット作出における問題点の一つに、採卵、移植などの発生工学技術が侵襲的であることがあげられる。本年は、マーマセット自然交配卵をドナー動物から非観血的に採取する方法の確立を行った。様々な試行錯誤を重ねた結果、経皮子宮灌流によって従来法と同じ効率で採卵が可能となった。さらに、動物へ与える侵襲度が極めて低いこと、従来法では問題であった卵巣—子宮の癒着も生じないことが明らかとなった。

## C. バイオメディカル研究部

### 1. 腫瘍資源研究室

hu-NOG プロジェクトなどの主要研究課題のうち、がんに関する研究を行った。NOG マウスモデルによるヒト肝臓がんのオーソトピックモデルの開発を行った。HepG2, JHH-7, HuH-6, HuH-7 に肝がん細胞株をNOG マウスの脾門部に移植したところ HepG2, JHH-7 細胞では生着が確認できた。一方、皮下に移植した場合、HepG2, JHH-7, HuH-7 では生着が確認できたが HuH-6 細胞はどちらにも生着しなかった。皮下には生着するが肝には生着しない HuH-7 細胞は生着部位における微小環境特異性を示しているものと考えられた。HuH-7, HuH-6 を組み合わせて解析することにより、がん細胞の組織浸潤に関わる因子、浸潤後の生着能に関わる因子の探索に着手する予定である。NOG マウスの優れたがん細胞可移植性評価を再度実施した。従前の免疫不全動物としてヌードマウスと NOD/Shi-scid を用い、ヒト子宮頸部がん細胞 HeLa S3 細胞の生着性を NOG マウスと比較した。ヌードマウスでは  $10^5$  個、NOD/Shi-scid では  $10^4$  個の細胞が腫瘍塊形成に必要であったが、NOG マウスでは  $10^3$  個、ある個体では  $10^2$  個でも十分腫瘍形成が認められたデータを論文に取り纏め、発表した(Machida K, Suemizu H, Kawai K, et al. Higher susceptibility of NOG mice to xeno-transplanted tumors. J Toxicol Sci. 2009;34:123-127)。

### 2. 分子解析研究室

#### 1) マイクロサテライトマーカーによる遺伝子多型解析

マーマセット個体やマウス系統の分類に有用なマイクロサテライトマーカー解析をキャピラリー電気泳動法で実施した。また、従来のアガロース電気泳動でも分別できる多型マーカーの検索も行った。

#### 2) PCR による遺伝子検査法の開発・改良

点突然変異を示す自然ミュータントマウスに加え、複数の導入遺伝子をもつ遺伝子改変マウスでも遺伝子判定を従来のゲル電気泳動法から蛍光プライマー・キャピラリー電気泳動法に変更可能か検討を行った。また、遺伝子導入マウスに置いてはヘミ・ホモ型判定のための導入遺伝子クローニングを実施した。遺伝子コピー数を定量する PCR 法も確立し表現型解析との比較を実施した。

#### 3) トランスジェニック動物の導入遺伝子安定性に関する研究

短期発がん rasH2 トランスジェニックマウスについて導入遺伝子解析をサザンブロット法で行った。サザンブロット法に代わる導入遺伝子の安定性をモニターできる方法を検討した。従来の放射性同位体を用いるサザンブロット法に代わる方法について検討を開始した。

## D. 病理病態研究部

### 1. 画像解析研究室

本研究室は、平成 16 年 3 月に設置された小動物用超高磁場磁気共鳴画像装置 BrukerBiospin 社製 PharmaScan 7T（以下、MRI）の適正な運用・管理、および本装置を利用した種々実験を実施した。

第一に、慶応義塾大学医学研究科と一体となって行っている「小型霊長類コモンマーモセットの脊髄損傷モデルを用いた脊髄損傷再生プロジェクト」に拡散イメージングという最新の画像解析技術を導入し、神経微細構造の評価を行った。第二に、コモンマーモセットにおける形態的に評価が困難な神経病態モデルを対象に、機能・代謝計測を行うため周辺機器の開発を行った。以下に、それぞれの研究項目を列挙する。

#### 1) 脊髄損傷モデルコモンマーモセットの拡散 MRI

コモンマーモセットで作出された脊髄損傷部位の病像や、再生治療後の経時的变化について、最新の画像解析技術である拡散 MRI を適用した。これにより損傷脊髄神経線維の走行や病態を非破壊的に評価可能となった。

#### 2) コモンマーモセットの Neuroimaging

高分解能脳画像を取得するため頭部サーフェスコイルを導入し、さらに MRI 下で様々な機能実験を実施するための専用マーモセットホルダーを開発した。また、得られる脳機能画像の集団解析に使用する標準脳データベース作成の基礎検討を行った。

### 2. 分子形態研究室

実験動物およびモデル動物から採取した組織材料から病理標本の作製を行い、HE標本を基本とした形態学的解析、免疫組織化学染色を中心とした蛋白レベルでの解析ならびに *in situ* hybridization 法による分子病理学的解析に関連する基礎研究の手法の確立を行ってきた。

#### 1) 免疫組織化学システム

マウス、コモンマーモセットおよびヒトの組織における組織特異性抗原の検出を行った。ヒト組織に対し特異的な抗体は数種類検定を行い、マウス組織内で特異的にヒト細胞の検出を行う事が出来た。また、マーモセット組織に対しても抗ヒト抗体による交差反応性の検討を始めた。また、Humanized modelを含む種々の動物モデル、ヒト細胞移植実験系における病理組織学的検出系の確立を行った。

#### 2) *In situ* Hybridization システム

ヒト正常細胞を移植したNOGマウス組織標本を作製し、免疫組織化学染色手法を用いて蛋白レベルでヒト細胞の同定を行い、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LMD) により目的の細胞のみを抽出しDNA解析を行なった結果、目的とする遺伝子の検出が可能となった。

### 3. ヒト化動物研究室

慶應義塾大学医学部との連携のもと、主に NOG マウスを用いたヒトがん細胞転移モデルにおけるがんの進展の分子代謝学的特性を明らかにして新たな制癌治療戦略の開発につながることをめざして、研究活動を展開した。具体的には、外因的要因である微小環境ストレスががんの進展にもたらす影響を、培養細胞系とその移入による生体内モデルとの組み合わせにより検討した。病理組織学的解析、フローサイトメトリー解析、遺伝子・タンパク発現解析等を通じて、低酸素環境ががん細胞の幹細胞性や上皮間葉系移行 (EMT) の促進をもたらして、腫瘍の成長・浸潤・転移を支持することが示された。また、慶應義塾大学医学部医化学教室のメタボローム解析チームの協力により、低酸素環境に対するがん細胞の代謝適応の特性が一部明らかになった。さらに急性低酸素と慢性低酸素における生物学的効果の違いが示された。また、ヒト由来

のある種の非がん細胞とヒトがん細胞の共移入により、成長・浸潤・転移の亢進を呈する NOG マウス皮下腫瘍が形成され、がんニッチの解明に向けて進展した。共同研究として、バイオイメージングを用いて微小環境の動態をリアルタイムにモニタリングできる系の開発を、慶應義塾大学医学部の信濃町キャンパスにておこなってきた。その結果、生体内分子挙動を組織切片上で解析のうえ、イメージングを得るという新たな質量分析手法へ向けての方向性が固まった。これらの研究活動の成果をふまえ、さらなる展開をめざす。

## Ⅲ. 研究事業部門

### A. 試験サービス事業部

#### 1. ICLAS モニタリングセンター/モニタリング事業室

ICLAS モニタリングセンターの目的は、実験動物の微生物・遺伝モニタリングを通して国際的に実験動物の品質の向上および動物福祉に寄与しようとするものである。センターの主たる業務内容は、依頼検査の実施、検査技術の開発・改良ならびに品質管理の重要性の普及である。海外活動として、タイ国立実験動物センターと韓国科学技術院に ICLAS モニタリングサブセンターがあり、これらサブセンターにモニタリングキットなど標準物質の分与や研修生の受け入れなどを含む支援も行っている。以下に平成 20 年度の活動を報告する。

なお、本センターの活動の一部は、文部科学省特定奨励研究補助金および文部科学省がん特定研究補助金などの支援の下に実施された。

#### 1) 微生物モニタリング

##### (1) 微生物検査の実施

表 1・2 に示したごとく、前年度とほぼ同数の微生物モニタリング依頼があった。依頼先は実験動物の動物実験施設と生産施設であり、大学では医学部の動物実験施設が主体であった。依頼先別に見た今年度の特徴は、大学・研究所からの依頼が依然増加したとともに、昨年度減少傾向にあったブリーダーからの依頼が増加した。また検体別では、細胞等の微生物検査依頼増の他、糞便による *Helicobacter* 等の検査依頼が増加した。モニタリング検査成績は、*P. pneumotropica* の汚染率は依然高いものの、ここ数年大きな変化は無いが、ラットティザー菌の陽性施設が認められたのが 20 年度の特徴であった。

##### (2) モニタリングの普及活動

モニタリングの普及活動としての標準物質の供給を行った（表 3 参照）。また ICLAS モニタリングサブセンターや国内共同研究機関への供給実績は以下のとおりであった。

- ・ ICLAS モニタリングサブセンターへの試薬供給実績  
韓国：モニライザ 70 キット、ELISA 抗原プレート 30 枚、IFA 抗原プレート 240 枚  
タイ：モニライザ 24 キット、PCR 用陽性コントロール 4 種。
- ・ 熊本大学動物資源開発研究センターへの試薬供給実績：モニライザ 48 キット、IFA 抗原 20 枚。
- ・ 製薬会社・大学 5 機関、ブリーダー 3 社に各種抗原・抗血清を分与

##### (3) 感染症検査技術の開発・改良

###### a. 人獣共通感染症診断システムの確立

イヌのエキノコックス診断用簡易キット（わかもと製薬㈱との共同研究）動物用診断薬として農水省からの認可を本キットの確認診断体制として、ELISA、PCR および虫卵検査法による二次検査体制確立し、フォローアップを実施した。

###### b. 新たな抗体検査システムの検討

ELISA に替わる新抗体検査であるルミネックスの導入に関し、筑波大学との共同研究を継続した。当センターの分担は抗原作製と反応系の評価であり、今年度は *M. pulmonis*、*C. piliforme*、Vaccinia virus、Sendai virus、Mouse adenovirus 抗原不活化条件、反応性の検討を実施した。その結果、Mouse adenovirus 抗原を除き、良好な結果を得ることができ、実用化へ一歩前進した。なお Mouse adenovirus に関しては、従来の不活化法では反応性が低下することが判明したため、不活化法の再検討が必要である。

c. 電流型 DNA チップによる感染症検査システムの確立

東芝(株)と共同研究を行っている本感染症検査システムに関し、今年度は *Helicobacter* 属菌の検出系が確立でき、実用化した。現在他病原体の検出系の検討を実施している。

d. LCMV抗体検査のためのELISAの確立

ホルマリン不活化ウイルスを抗原として用いた、LCMVのELISAによる抗体検査系を長崎大の協力を得て確立した。現在野外材料を用い、従来法間接蛍光抗体法との比較を実施し、感度、特異性の検討を実施している。

e. 腸内フローラモニタリングの確立

今年度は、分子生物学的手法であるT-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) 法によるマウス消化管内正常細菌叢モニタリングシステムの確立のための検討を継続して行った。

20年度は、ビニールアイソレーター内で飼育されている免疫不全マウスを対象に本法による腸内フローラ検査を実施し、培養法と比較した。その結果、本法と培養法との相関性は概ねあることが確認された。ただし本法に用いている検出用プライマーは、ヒト腸内細菌用であるためマウスの腸内細菌検出用プローブの確立が必要であることが示唆された。またFISH法およびrealtime-PCR法の導入も引き続き検討する。

f. 検査項目の充実ならびに ELISA や PCR システムの拡充

- ① Polyoma virus の抗体検査系を確立した。
- ② PCR による mouse norovirus 検出系を確立した。
- ③ 当センターが初めて分離した新しいマウス呼吸器病原菌である *B. hinzii* の病原性、検査法に関する情報を、実験動物学会にて報告するとともに、論文を下記に投稿し、掲載された。

Hayashimoto, N., Yasuda, M., Goto, K., Takakura, A., Itoh, T. 2008.

*Bordetella hinzii* infection in a laboratory mouse and experimental study of the isolate. *Comp. Med.*

また本感染症の病原性、検査法の啓蒙活動を、日動協、実技協との共催にて開催したモニタリング研修会を通じて行うとともに、受託検査を開始した。

(4) 広報活動(教育、情報収集)

- a. (社) 日本実験動物協会との共催によるモニタリング研修会を開催、30名が受講。
- b. (社) 日本実験動物協会が開催した高度技術者研修会において「病気と衛生」の講義を行なった。
- c. 北京にて開催された The 3<sup>rd</sup> AFLAS Congress にて、2名が口頭発表を行なった。
- d. 日本実験動物技術者協会関東支部主催のモニタリング研修会に協力、20名が受講。
- e. 日本実験動物技術者協会との共催によるモニタリング研修会を麻布大学にて開催、20名が受講。
- f. 第59回 AALAS 総会において1名が演題 *Bordetella hinzii* infection in a laboratory mouse and experimental study of the isolate. を発表した。また同時に開催された、ICLAS のモニタリングに関するラウンド会議にも出席し、検査項目に関する当センターの考え方を報告し討議した。
- g. 韓国の ICLAS モニタリングサブセンターとの技術交流のため2名が出張し、技術指導および意見交換を行った。
- h. 国内から8名、国外から1名(韓国)の研修生を受け入れた。そして国内から2名、国外から5名の見学者を受け入れた。また東京大学農学研究科の学生を対象に微生物モニタリングの講義・実習を行なった。

- i. 生産業者や研究機関等から検査用に送付された実験動物の血清を保存した“血清バンク”を継続した。
- j. ICLAS モニタリングセンターのホームページの管理・充実を継続した。
- k. 第 56 回日本実験動物学会総会にてホスピタリティールームを開設した。

表 1 受託検査依頼先別内訳（前年同期実績、対増減率）

依頼先	依頼件数		検体数	
所 外				
ブリーダー	1,570	(1,173, 33.8%↑)	11,184	(7,980, 40.2%↑)
製薬他	1,348	(1,522, 11.5%↓)	7,316	(8,193, 12.0%↓)
大学・研究所	2,289	(2,172, 5.4%↑)	17,146	(16,238, 5.6%↑)
がん特定	334	(407, 21.9%↑)	5,223	(6,039, 15.6%↓)
日動協	27	(38, 40.1%↓)	259	(344, 32.8%↓)
小 計	5,568	(5,312, 04.8%↑)	41,128	(38,848, 5.9%↑)
所 内	328	(271, 21.0%↑)	4,794	(3,927, 22.1%↑)
合 計	5,896	(5,583, 5.6%↑)	45,922	(42,775, 7.4%↑)

表 2 受託検査検体内容別内訳（対前年同期増減率）

動物種他	動物	血清	糞便	フキトリ	その他	合計
マウス	20,319	8,015	2,597	19	615	31,565 (5.1%↑)
ラット	2,746	2,342	16	0	36	5,158 (16.4%↑)
ハムスター	69	16	0	0	0	85 (22.0%↑)
モルモット	131	109	7	0	0	247 (27.3%↑)
ウサギ	206	210	18	0	0	434 (13.6%↑)
サル類	6	0	313	3	57	379 (49.6%↓)
その他	26	0	0	0	0	26 (30.8%↓)
細胞・培地					8,028	8,028 (17.7%↑)
合 計	23,521 (3.9%↑)	10,692 (6.9%↑)	2,951 (0.2%↓)	22 (314.3%↑)	8,736 (20.7%)	45,922 (7.4%↑)

注) マウス・ラット等のその他は臓器等

表 3 標準物質の供給および収集

① モニライザの頒布数および施設数（前年同期実績）

IVA	HVJ	MHV	Myco	Tyz	Hanta	合計	施設数
2,314	605	598	586	600	343	5,046	789
(2,334)	(658)	(666)	(631)	(645)	(342)	(5,344)	(845)

総頒布数は前年比 5.9%減

② 「日動協検査材料幹旋事業」抗原・抗血清の供給数および施設数（前年同期実績）

Tyz 抗原	対照抗原	抗血清	Sal 抗原	抗血清	合計	施設数
333	20	47	186	73	659	28
(205)	(18)	(34)	(251)	(95)	(603)	(29)

総供給数は前年比 9.3%増



## 2) 遺伝モニタリング

### (1) 遺伝的モニタリングや遺伝検査の受託業務

表 4、5 に昨年度の実績を示した。昨年度に比べ、依頼件数、検体数が減少した。

### (2) モニタリングの普及活動（研修会・講習会等の開催） はなかった。

### (3) 検査技術の開発・改良

- a. これまで蓄積してきた従来の生化学及び免疫遺伝学的標識遺伝子マーカー検査データにマイクロサテライトマーカー検査データを加えて、データベースとして整理した。
- b. 遺伝子マーカー検査の中で、判定が困難な複数の生化学標識遺伝子について、条件設定を見直した。また、製造中止となった各種試薬類を使用した項目の検討を行った。
- c. マウスやラットの細胞の核型検査について、バンディングによる旧来法の充実ならびに新たな方法としての M（マルチプレックス）-FISH の検討を行った。また、近年注目されてきている iPS 細胞の染色体検査の検討を行った。
- d. データベースによる実験動物の遺伝的プロファイルデータの作成を継続している。本プロファイル作成によって、現在用いられている近交系マウス、ラットの変異が明らかすることができるが、現在までのところ変異の認められた例はない。

### (4) 広報活動

- a. 大学から 1 件の標準物質の頒布を行った。本標準品はマウス遺伝背景を生化学検査によって調べるものである。本検査は微生物検査と比較して一般的でない（近交系の遺伝検査はブリーダーによってなされており、ユーザーによってなされることはほとんどない）ため、標準物質の頒布数はブリーダー等に限定される。
- b. 研修生の受入れはなかった。

表 4 受託検査依頼先別内訳（前年同期実績）

依頼先	依頼件数	検体数
ブリーダー	48 (41) ↑	586 (792) ↓
製薬・他	53 (81) ↓	378 (826) ↓
大学・研究所	62 (67) ↓	373 (415) ↓
所内	19 (15) ↓	65 (126) ↓
合計	182 (204) ↓	1,402 (2,159) ↓

表 5 受託検査内容別内訳（前年度実績）

	依頼件数	検体数
近交系・クローズドコロニーのモニタリング	56 (47) ↑	704 (906) ↓
コンジェニックマウスの遺伝背景検査	57 (78) ↓	481 (908) ↓
染色体の核型検査	30 (28) ↑	87 (131) ↓
ES 細胞の染色体数検査	31 (42) ↓	100 (178) ↓
FISH 法による導入遺伝子部位検査	7 (8) ↓	21 (14) ↑
その他（間期核 FISH）	2 (1) ↑	9 (22) ↓
合計	182 (204) ↓	1,407 (2,159) ↓

## 2. 動物試験事業室

- a. 平成 20 年度の事業目標はほぼ達成した。昨年度に引き続き同一クライアントから反復して依頼を受ける機会が多かった。このことは、試験実施水準や信頼性基準などについてクライアントの要望を満たせたことに大きな要因であると思われた。一方、試験実施水準を維持するために他部門の所員に協力を仰がざるを得なかった点が反省点である。次年度にはその点を改善するために人員補強を含めてさらに技術水準を向上させることが目標となる。一方、新たな受託試験分野として予定していた「無菌動物を用いた機能性食品の評価試験」については具体的な進展がなかった。
- b. ヒト腫瘍株の管理業務については、順次在庫アンプルの補充等の整備を実施している。従前の契約に基づく腫瘍株の分与業務は凍結細胞の再固形化が順調でなかったことなどの要因により本年度も終了する事は出来なかった。可及的速やかに作業を終了すべく、来年度も作業を継続する。また、その他の腫瘍株の分与依頼に対して個別に対応するとともに、必要に応じて、委託者の要望に可能な限り対応した。また、海外からの問い合わせが増加することが予想されるため、実中研腫瘍株リストの英語版を作成した。
- c. プロジェクト研究として、日本クレア産および米国 Taconic 社産 rash2 マウスの発がん感受性簡易モニタリングを実施した。両社由来の rash2 マウスに本試験系の陽性対照物質 MNU を投与し、前胃乳頭腫の発生率を指標として両コロニーの発がん感受性を比較したところ、両コロニーの前胃乳頭腫発生率に差は認められず、背景データともほぼ一致していた。体重、一般状態、生存率など他のパラメーターについても両コロニー間で大きな差は認められなかったことから、両コロニーの発がん感受性は同等であり、かつ従前の発がん感受性を維持していると判断した。一方、前胃乳頭腫のみを判断指標としたため、途中死亡個体があった場合の判断基準が複雑になることが問題点として指摘された。この点は、試験期間をさらに短縮することの可否と併せて次年度以後の課題と考えられた。

もうひとつのプロジェクト研究として実施した「少数腫瘍細胞の NOG マウスへの移植実験」については国立医薬品食品衛生研究所の土屋先生との共同研究として実施した。平成 19 年度中に、NOG マウスではわずか 10 個の HeLaS3 細胞を移植した場合でも生着し癌化細胞の検出に有用であることを報告した。この結果を受けて平成 20 年度には生着率を向上させるための条件について検討した。ヒト正常骨格筋芽細胞  $10^6$  個存在下で 10 個の HeLaS3 細胞を移植したところ、腫瘍細胞単独で移植した場合よりも生着率が向上した。一方、HepG2 細胞 10 個のみを移植した場合および HepG2 細胞 10 個 + 骨格筋芽細胞を移植した場合は生着しなかったことから、HeLaS3 細胞に比較して HepG2 細胞の可移植性は低いことが示唆された。ついで HepG2 細胞についてマトリゲルを併用して検討したところ、マトリゲル存在下では HepG2 細胞 10 個を移植した場合でも高率に生着したことから、マトリゲル併用により生着率が向上することが明らかとなった。マトリゲル存在下ではわずか 1 個の HepG2 細胞を移植した場合でも生着する例が認められた。

## B. 動物資源管理部

### 1. 資源管理事業室

#### 1) 出荷手順書の見直し

3 月に DNA 安全委員会等関連委員会の現地調査を受け、内容が了承された。これにより出荷手順書の見直しが完了した。

## 2) スクスの新飼料の開発改良と系統育成

昨年度から嗜好性を落さないために既存の飼料と新しい飼料を混合し与えていたが、既存の飼料の生産が打ち切りになった事により新しい飼料(CIEA 312)単独で給餌を行なっている。現在までに維持生産に問題は無いことが確認されている。

催吐剤(ベラトリンサルフェート)に対する嘔吐反応を指標として、嘔吐感受性の異なる系統の育成を進めている。嘔吐反応による選抜育成は20世代に達し、各系統の種親選抜を兼ねた嘔吐発症率は Jic:SUN-Her1 の2回検査では99.0%(215/217)、Jic:SUN-Ler の5回検査で1.40%(1/71)の発症率で両系統とも安定した発症率であった。繁殖成績は、Jic:SUN-Her は出産率67.5%、平均産子数3.5匹、離乳率93.3%、生産効率2.2匹。Jic:SUN-Ler は出産率62.0%、平均産子数2.6匹、離乳率92.5%、生産効率1.5匹であった。Jic:SUN-Ler において、出産率、生産効率に低下がみられた。

EDSの種親選抜を兼ねた血糖値の測定を実施した結果、29~56日令の動物を検査し♂38匹で平均290±136mg/dl、♀32匹で251±141mg/dlであった。繁殖成績は、出産率53.1%、平均産子数3.8匹、離乳率79.1%、生産効率1.6匹であった。出産率、離乳率に低下がみられた。

## 3) その他

研修生の受け入れはなかった。

## 2. 維持生産管理室

### 1) 免疫不全動物の改良

本年度新たに作製された複合免疫不全系統の NOG/Jic-Tg(Alb-HSVtk)7-2 及び NOG/Jic-Tg(Alb-uPA)11-4 の2系統について生産用タネ動物の繁殖を開始した。NOG/Jic-Tg(Alb-HSVtk)7-2 は7ペアの交配を実施し、そのうち4ペアは4産まで出産した。これら4ペアの繁殖成績は、出産率100%、総産子数97匹、離乳数94匹、離乳率96.9%、Tg数31匹、Tg生産指数2.1であった。残り3ペアについては現在交配を継続中である。NOG/Jic-Tg(Alb-uPA)11-4 は12ペアでの交配を実施し、全て出産した。初産における繁殖成績は出産率100%、総産子数70匹、離乳数59匹、離乳率84.2%であった。これらは現在交配を継続中である。なお、NOG/Jic-Tg(Alb-HSVtk)7-2 については大型ビニールアイソレーターによる小規模生産を開始した。本研究の一部は文部科学省特定奨励費で実施した。

### 2) 各種マウス、ラットを中心とする系統動物の育成・維持

標準型ビニールアイソレーターを用いた系統動物の維持は、マウス30系統について実施された。内訳は、近交系5系統、SCIDコンジュニック6系統、その他(遺伝子改変、ミュータント)19系統である。系統維持のための胚保存は、胚を採取するための動物の増殖を開始した。本研究の一部は文部科学省特定奨励費で実施された。

### 3) 外部機関への系統分与、微生物クリーニングによる系統動物の清浄化及び遺伝的純化

外部機関からの依頼による国内の無償配布は大学24校・研究所21機関に対して、マウス146系統7,758匹、ラット4系統48匹の無償供給をおこなった。このうち6系統82匹については系統分与として供給した。また有償ではマウス22系統、4,667匹の供給をおこなった。海外へのマウスの無償配布は4機関5系統646匹、有償では1機関1系統50匹、合計5系696匹の供給をおこなった。

生殖工学技術と子宮切断術・里子法を組み合わせた微生物クリーニングをおこなった。マウスでは、大学19校へ29系統871匹、研究所14機関へ62系統2,992匹、製薬2機関へ3系統153匹、実験動物生産業者1機関へ5系統397匹、合計36機関99系統4,413匹のクリーニング完了動物を作製した。ラットは3機関の依頼により3系統36匹のクリーニング完了動物を作製した。

マウスの遺伝的背景の置き換えをおこなった。遺伝子改変1系統、ミュータント2系統の計3

系統について戻し交配をおこない、コンジュニック系の育成を進めた。このうち遺伝子改変 1 系統については遺伝背景の置き換えを完了した。ミュータント 2 系統については継続中である。

#### 4) バイオバブルの検討

バリア飼育室内におけるフリースタンディングタイプの bio-Bubble の有効性については、バリア飼育室の改装が行われなかった為実施しなかった。マウスを供給する際の梱包スペースとして運用を行っているフリースタンディングタイプの bio-Bubble は、落下菌法とスタンプ法を用いた緑膿菌及び黄色ブドウ球菌の測定を月 1 回の定期で実施した。前室及び本室について 2 つの検査方法を併せて 18 箇所の測定を実施したが、結果はいずれも陰性であり、本装置は出荷梱包スペースとして活用されている。次年度以降も継続利用及び月 1 回の定期検査を実施する。本研究の一部は文部科学省特定奨励費で実施した。

#### 5) 広報活動

平成 20 年 12 月 9 日～12 日に神戸ポートアイランドで開催された「第 31 回 日本分子生物学会年会・第 81 回 日本生化学会大会 合同大会」に ICLAS モニタリングセンターと共同でブース出展を行った。

#### 6) 教育研修

本期間は教育研修の一環として、4機関より研修生10名を受け入れた。

### 3. 生殖工学事業室

- a. 実験動物の系統維持と個体生産および実験材料の一部を、保存胚を用いた供給システムに置き換えるため、所内で育成しているマウスを対象として 71 系統、18,819 個の胚を保存した。実験材料としては、マウスで 16 系統、13,853 個、ラットで 4 系統、504 個を保存した。また電気融合により 4 倍体にしたマウス 2 系統、3,125 個の保存もおこなった。所外を対象としてマウス胚の超低温保存サービスを実施した。その結果、大学寄託 34 系統 8,618 個、研究機関寄託 6 系統 1,407 個、企業寄託 6 系統 1,798 個、合計 46 系統 11,823 個の胚を保存した。またラットは、所内 2 系統 188 個、大学 3 系統 386 個、研究機関 7 系統 528 個、合計 12 系統から 1,102 個の胚を採取し、保存をおこなった。
- b. 所内外へ系統分与や実験用として動物個体を供給するために、マウスは 75 系統 5,291 匹の産子、ラットは 2 系統 52 匹の産子を生殖工学技術で作製した。全ての産子はビニールアイソレーターを用いた子宮切断法により帝王切開した後に、SPF グレード里親に哺育、離乳後の飼育を行い生後 6 週齢から供給した。

内外へ保存胚で系統分与をおこなうため、マウスでは国内の 8 機関に、遺伝子改変 21 系統 3,451 個、近交系 3 系統 370 個の 2 細胞期胚を、海外で 3 機関に遺伝子改変 3 系統 310 個を超低温保存して供給した。またラットは国内で 1 機関に、近交系およびコンジュニック 3 系統 397 個の 2 細胞期胚を供給した。

実験に使用する各種材料を所内外に供給した。妊娠動物の供給を行うために、胚移植したレシピエントメスマウスを、大学 1 系統 8 匹、企業 3 系統 71 匹、ブリーダー 1 系統 5 匹供給した。トランスジェニックマウス作製時の材料として、5 系統 7,322 個のガラス化保存した前核期受精卵を供給した。マウス ES 細胞からの個体復元をおこなう材料として、ガラス化保存した 1 系統 740 個の 8 細胞期胚と、2 系統 814 個の、ガラス化保存したマウス 4 倍体 4 細胞期を供給した。またラットでは、2 系統 63 個のガラス化保存した 8 細胞期胚を供給した。
- c. 所内外からの依頼により、19 遺伝子を用いて Tg マウスの作製をおこなった。所外依頼では 13 遺伝子、所内依頼では 6 遺伝子の DNA 注入作業をおこない、得られた Tg を供給した。
- d. 保存胚で行っている保存系統の公表を進めると共に、一般寄託者へ保存系統の詳細な情報、例えばラインや個体番号、遺伝子型などを提供する方法を検討した。本年度より、外部依頼により保存したマウス胚の情報と今後の保存胚の保管に関して、寄託者へ連絡することを

こなつた。また保存胚で系統維持、増殖、生産のタネ個体の作製することを前提として、主なマウス系統の家系図を電子化することを開始した。現在までに14系統の家系図を作成して、保存する胚採取をおこなうための計画的な個体制作を開始した。

- e. 我々が開発した新規体外受精法を日常業務に組み込むため、マウス8系統で新規体外受精培地での効果を検証した。検証にはC57BL/6J、C3H/HeJ、DBA/2J、BALB/cByJ、BALB/cA、CBA/N、129<sup>ter</sup>/SV、およびJc1:ICRを用いて体外受精を実施し、得られた受精卵を2細胞期胚で胚移植して胎子発生を調べた。その結果、受精率は、C57BL/6J、C3H/HeJ、DBA/2J、BALB/cByJ、BALB/cA、CBA/N、129<sup>ter</sup>/SV、およびJc1:ICRの順で、93.7%、97.9%、99.2%、90.7%、87.1%、97.4%、43.1%、87.3%で、胎子発生は69.2%、60.0%、59.2%、48.0%、50.7%、66.9%、62.9%、84.2%であった。受精率および胎子発生共に従来法より高く安定した結果が得られた。以上から新規体外受精培地を使用した体外受精による受精卵の作製は、複数の系統に有効である事が明らかとなった。そのため日常業務に本体外受精法の使用を開始した。
- f. 各施設の技術格差縮小と各施行技術の伝搬のため、凍結保存に代表される生殖工学技術について教育および研修をおこなうと共に継続して教材の開発をおこなった。本年度は実技の研修を3名が受講した。また実験動物学会でラットの胚保存を中心とした生殖工学技術のワークショップを開催した。また開発した技術の外部への伝搬のため、日本実験動物学会総会および日本実験動物技術者協会懇話会へ合計6題の一般演題を発表した。

## IV. 教育プログラム

### A. 教育活動事業部

#### 1. 動物実験医学研究の支援者育成プログラム

平成16年度から、科学技術振興調整費・人材養成プログラムの補助をえて、慶応義塾大学医学部と共同で実施しているが、平成20年度は本プログラムの最終年度であった。

(財) 実験動物中央研究所が担当している実習コースの平成20年度の受講生は、①基礎課程・飼育管理技術コース14名②基礎課程・受精卵凍結保存コース2名③基礎課程・モニタリングコース1名の合計17名であった。

また今年度も、疾患モデル動物に関する講義を計5回開催し、延べ205名の参加者を得た。

#### 2. AET セミナー「動物実験技術士」養成講座

AET (Animal Experimentation Technologist) セミナーは、高品質の実験動物の作出や維持のみならず、それらの動物を供試して質の高い動物実験を如何に実施するかを中心に、具体的な実務内容を盛り込んだ「動物実験技術士」養成講座である。4月に開講し、月1回の割合で講義9回、実技2回を行い、年度末には考課試験および動物実験技術士の認定授与式などを実施する。カリキュラムの骨子を①適正な実験動物と動物実験、②実験動物の飼育管理と動物実験技術、③実験動物の品質管理、④動物実験系の開発における4項目とし、講義と実技を交えて実施している。昨年度から引き続き当研究所での開講に加えて、大阪での開講をWebテレビ会議システムによって行った。今年度は関東44名、関西11名の計55名が受講し、その内45名が考課試験を受け、「動物実験技術士」として40名が認定された。本年度の実施内容の詳細は学術集会AETセミナー(38頁)を参照。また、動物実験医学の研究支援者育成システムと連携し、8月から11月までの間、4回にわたり、「疾患モデル動物=animal model for human disease」と題した特別講義を行い、多くの方に参加を頂き大変盛況であった。本年度の実施内容の詳細は動物実験医学の研究支援者育成システム学術集会(39頁)を参照。今後は「動物実験技術士」養成講座の充実を図りつつ、技術コースの設定と開講に尽力していく。

### B. 公的普及活動

研究所の設立目的の一つに実験動物、実験動物科学の普及がある。その中の公的普及活動計画を国内と国外に分けて説明する。

国内活動：延べ11名の職員が日本学術会議の暫定連携会員としてICLAS分科会委員をはじめ、日本実験動物学会、日本実験動物技術者協会、日本実験動物協会の役員や委員、理化学研究所等他研究機関の外部委員、または大学の客員教授や非常勤講師を委嘱され、委員会活動、外部評価委員活動あるいは講義・実習を行った。所内の複数部署では実験動物関連学協会におけるワークショップやセミナーを開催し、実験動物科学の啓蒙と普及に努めた。さらに、国内の複数の実験動物関連リソースセンターなどと連携し、品質検査や系統の凍結保存を分担した。

国際活動：国際実験動物科学会議(ICLAS)のScientific Memberとなり、さらに、これまでと同様に実中研職員がICLASの常務理事や理事として活動を継続するとともに、ICLASモニタリングセンターとして実験動物の品質管理等での役割を継続した。モニタリングセンターは、タイと韓国にサブセンターに対し、センター員の相互訪問や標準物質の配布などによって、それらの活動支援を継続した。

実中研の野村達次所長のコーディネートの下、会議が重ねられ、これまで26回を数えた日米科学

技術協力事業（実験動物科学）は日本側文部科学省研究振興局学術機関課、米国側 National Institutes of Health (NIH)が窓口になり、毎年1回、日米の実験動物研究者が一同に会し、意見交換を行ってきたものである。米国における本会議開催は平成19年度をもって活動を一時中断することが確認され、今年度は国内委員会を立ち上げた。

### C. コンプライアンス活動

コンプライアンス意識の浸透を目的として、コンプライアンス担当責任者ならびに所員を対象に教育・研修を実施した。さらに理解を深める為、書籍を購入した。

#### 1) 所内セミナー

平成20年9月

管理職（部長会出席者）に対するセミナー

平成20年11月27日，平成21年1月30日

一般職員に対するセミナー

鈴木 瑞穂 講師 KPMGあずさビジネススクール株式会社

#### 2) 外部セミナー

平成20年4月

「新人必須の知識とセンス（社会人としての自覚とリーガルセンス）」

KPMG あずさビジネススクール株式会社

平成20年11月

「第14回 GLP 研修会」 独立行政法人医薬品医療機器総合機構

財団法人日本薬剤師研修センター

平成21年1月

「2009 新春コンプライアンスフォーラム」

KPMG あずさビジネススクール株式会社

平成21年2月

「教育セミナー・フォーラム '09 動物福祉と第三者評価」

(社) 日本実験動物協会

平成21年3月

「著作権基礎セミナー」 学術著作権協会

「コンプライアンス推進のための コミュニケーション・トレーニング セミナー」

第一法規株式会社

#### 3) 書籍購入

「やさしくわかるコンプライアンス 茶髪って違反ですか」

KPMG あずさビジネススクール株式会社

鈴木 瑞穂 著

## V. 国際学術活動

### 1. 日米科学技術協力事業（実験動物科学）

平成20年3月13日にメリーランド州NIHで開催された平成19年度日米科学協力事業（実験動物科学）によって、本事業の当面の間の休止が合意された。そこで、この休止期間中の日本側の対応を話し合う目的で、本プロジェクトの日本側リーダーである野村達次によって準備委員会が召集された。その後、過去に本事業に係った研究者も加え、対応が話し合われた。

準備委員会：準備委員会メンバーは、これまで本事業に深く関わってきた4名と、文部科学省研究振興局学術機関課・土井係長とで構成した。この準備委員会においては、これまでの本事業経過の説明の後で、今後も実験動物科学分野における日本側と米国側の問題点や情報を交換するための国内組織の必要性とその国内委員会には本準備委員会委員が主体となることが確認された。

準備委員会での討議内容は以下のごとくであった。

#### 1. 日本学術振興会の事業支援

- ・事業は継続するが支援金を拠出しないという形態を採用する。

#### 2. 国内委員会

- ・本準備委員が中心になり、その都度国動協等のメンバーを加えるなどし、世界の実験動物科学の現況をキャッチアップしていく。
- ・この活動は日米科学協力事業見直しの時期まで継続する。

#### 3. 動物実験反対運動への対応（動愛法見直しへの対応）

- ・動物実験反対運動への対応は日米共通の課題である。今後、日米の共通課題としてとりあげる可能性がある。
- ・世界の動向を把握しつつ、日本文化（仏教思想）に根ざした日本的動物実験の在り方を主張したい。

国内委員会：日程的に委員が一同に会することが困難であったため、伊藤準備委員が中心となり各委員と財団法人実験動物中央研究所と浜松医科大学で計2回にわたり、熊本大学・浦野徹教授と浜松医科大学・加藤秀樹准教授の国内委員就任依頼と先の準備委員会の討議内容の紹介ならびに確認が行われた。

### 2. Center for Advancement of Health and Biosciences (CAHB) (米国カリフォルニア州)

CAHBは実中研の海外プロモーションセンターとしての機能を有するアメリカカリフォルニア州の非営利団体NPOとして、2002年より活動して来ているが、これは2004年より開始された日本の文部科学省主導の『国公立大学独立行政法人化』に先行していた。また、今日、同じく文部科学省が推進しているところのCenter of Excellence (COE)プログラムから、国際的人材育成プログラムGlobal COEプログラムにも先行して、各大学の模範拠点との機能も有している。一方、アメリカの大学も意図するところは同じであり、例えばカリフォルニア州立大学は、10校のキャンパス全体を代表してその本部であるUniversity of California President Office (UCOP)は、日本、中国、インドを見据えて海外連携活動を2006年度より集中的に開始している。よって、日本の大学関係者及びUCからの問い合わせ、訪問にも対応している。

今年度は、2007年3月に開催した国際シンポジウムNurse 2008により、CAHBの知名度が高まり、シンポジウムのその後の報告や、問い合わせに時間を使用した。また、非営利団体の利点を生かし、大学・研究機関等へNOGマウスのPRを行うなど、CLEA Internationalの営業活動を支援した。さらに、In Vivo Science Internationalの設置、開発、移転にも貢献した。2008年度は、CAHBの新規メンバーとして、



中外製薬が加盟し、コンサルタント業務を受託した。また、昨年度に引き続き、東北大学からのコンサルタント業務も受託した。新規事業としては、CAHB本来の業務である日米のバイオ事業の架橋として、ベンチャー企業からの業務を依頼され推進した。2009年度の活動は、これらを踏まえて、1)CAHB forumの継続発展(TgPVR, Tg-rasH2, NOG関連会議を含む)、2)電子版百科事典「Wikipedia」による情報発信、3)実中研グループ・日米の大学研究所の国際学会の支援、4)NOGマウスのPR、5)Nurse2009の開催、6)日米バイオ企業の架橋、コンサルタント、7)In Vivo Science Internationalの支援 8) IWHUM開催支援を中心として、実中研グループの国際情報発信を中心に、CAHB支援団体との連携を推進する。

### **3. PharmaLogicals Research (PLR) (シンガポール)**

PLRは2008年1月から第三期のプロジェクト期間に入り、これに連動して2007年12月3日から政府系のインキュベーション拠点であるBioPolisに拠点を移した。本年度も、第2期までに蓄積した臨床材料やNOGマウス移植材料を研究材料として、がんの特異的な抗体医薬の開発、診断薬のシード探索を推進している。

### **4. International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS)**

世界で唯一の実験動物科学に関する国際組織であるICLASに、日本からNational Member、Scientific MemberあるいはAssociate Memberとして複数の研究機関が参画している。実中研もScientific Memberとして参加している。日本からの役員として、玉置憲一が副会長、鍵山直子（北海道大学）が理事として活動を行なっている。

### **5. ICLAS モニタリングサブセンター(タイ・韓国)**

タイ：タイのMahidol大学内にあるタイ国立実験動物センター (NLAC) は実中研の支援を受け、実験動物の生産供給と品質管理活動を行なっている。本年度もNLACとは実験動物の品質管理に不可欠な資材の供給（感染症検査キット、抗原プレート、抗血清等）等の支援を行った。東南アジアの拠点として今後も活動支援を継続する方針である。

韓国：韓国のKorea Research Institute for Bioscience and BiotechnologyにあるICLASモニタリングサブセンターに必要な試薬の提供を行うとともに、センター員の相互訪問を行うとともに、両機関の今後の関係継続を確認した。

### **6. Asian Federation of Laboratory Animal Science Organization (AFLAS)**

AFLASはアジア地域各国の実験動物学会組織の連合体であり、2年に1回の大会を持ち回りで開催し、情報交換の目的で創設された組織である。2008年はオリンピック終了後の2008年9月27日から29日の3日間に北京の近郊で開催された。実中研からも後藤と保田の2名が研究発表を行った。次回、2010年のAFLAS会議は台湾で開催の予定である。

## VI. 発 表

### A. 定期刊行物等発表

- 1) T.Nomura, N.Tamaoki, A.Takakura, H.Suemizu: Basic Concept of Development and Practical Application of Animal Models for Human Diseases. Humanized Mice : Current topics in Microbiology and Immunology. 2008
- 2) M.Nakamura, H.Suemizu : Novel Metastasis Models of Human Cancer in NOG Mice Humanized Mice. Current topics in Microbiology and Immunology. 2008
- 3) 野村達次、安部忍 : 「ポリオウイルスレセプター (PVR) 導入マウスの実用化-ポリオウイルス生ワクチン神経毒力評価マウスの確立」 分子細胞治療Vol. 7 No. 2 2008 P73-75
- 4) 鍵山直子: 教育セミナーフォーラム2008「機関内規程の効率的・効果的運用」LABIO21-APR. 2008 P9-10
- 5) 伊藤豊志雄 : 「インドの実験動物事情」 LABIO21 APR. 2008 P20-22
- 6) Hao Chen, F.Hattori, M.Murata, Li, W., S.Yuasa, T.Onitsuka, K.Shimoji, Y.Ohno, E.Sasaki, K.Kimura, D.Hakuno, M.Sano, S.Makino, S.Ogawa, K.Fukuda: Common marmoset embryonic stem cell can differentiate into cardiomyocytes. BBRC, 2008. 9;369:801-6
- 7) 佐々木えりか : 「第3章治療 再生医療」小児科学第3版. 医学書院. 2008. 4. P154-156
- 8) M. Ito, K. Kobayashi, T. Nakahata: NOD/Shi-scid IL2rgamma(null) (NOG) mice more appropriate for humanized mouse models. Curr Top Microbiol Immunol 2008;324:P53-76
- 9) R. Ito, M. Shiina, Y. Saito, Y. Tokuda, Y. Kametani, S. Habu: Antigen-specific antibody production of human B cells in NOG mice reconstituted with the human immune system. Curr Top Microbiol Immunol 2008;324:P95-107
- 10) Y. Koyanagi, Y. Tanaka, M. Ito, N. Yamamoto: Humanized mice for human retrovirus infection. Curr Top Microbiol Immunol 2008;324:P133-148
- 11) M.Nakamura, H.Suemizu: Novel metastasis models of human cancer in NOG mice. Curr Top Microbiol Immunol 2008;324:P167-177
- 12) T.Nomura, N.Tamaoki, A.Takakura, H.Suemizu: Basic concept of development and practical application of animal models for human diseases. Curr Top Microbiol Immunol 2008;324:P1-24
- 13) A.Yamane, T.Nakamura, H.Suzuki, M.Ito, Y.Ohnishi, Y.Ikeda, Y.Miyakawa: Interferon- $\alpha$ 2b-induced thrombocytopenia is caused by inhibition of platelet production but not proliferation and endomitosis in human megakaryocytes. Blood 2008
- 14) 伊藤豊志雄 : 「実験動物・動物実験の現状」連載 実験動物第2回. 分子細胞治療Vol. 7 No. 1 2008
- 15) 鍵山直子 : 動物実験外部検証制度に望むこと. ヒューマンサイエンス2008. 19 (4), P32-34
- 16) 鍵山直子 : 動物実験に対する市民の理解を得るためにー動物実験関係者のための連絡協議会の必要性についてー. LABIO21 (July 2008)33, P27-29
- 17) T.Arai, H.Hashimoto, K.Kawai, A.Mori, Y.Ohnishi, K.Hioki, M.Ito, M.Saito, Y.Ueyama, M.Ohsugi, R.Suzuki, N.Kubota, T.Yamauchi, K.Tobe, T.Kadowaki, K.Kosaka: Fulminant type 1 diabetes mellitus observed in insulin receptor substrate 2 deficient mice. Clinical and Experimental Medicine 2008, 8 P93-99
- 18) H.Hashimoto, T.Eto, T.Kamisako, N.Hoya, T.Hayakeyama, T.Arai, M.Yokosuka, Y.Ohnishi, M.Ito, K.Hioki, R.Suzuki, M.Ohsugi, M.Saito, Y.Ueyama, T.Yamauchi, N.Kubota, K.Tobe, T.Kadowaki, N.Tamaoki, T.Nomura, K.Kosaka : An efficient reproductive method for Irs2<sup>-/-</sup> mice with C57BL/6JJc1 genetic background. Experimental animals 2008. 57. P407-411

- 19) 高倉彰：センダイウイルス感染症. アニテックスVol.20 No.4. P46
- 20) 高倉彰：LA-house読者との対話. LABIO21 No.33 P42
- 21) 谷岡功邦、佐々木えりか、玉置憲一：「ヒト疾患モデル動物の開発と確立—マーマーセットを例として—」分子細胞治療Vol. 7 No.5 2008 P59-63
- 22) 山田雅之、疋島啓吾：「超高磁場MRIによる画像解析」 Medical Science Digest Vol34(9), 2008
- 23) 伊藤守：「免疫不全マウスを用いたヒト化マウス」分子細胞治療 Vol.7 NO.4,2008
- 24) H. Suemizu, C. Yagihashi, T. Mizushima, T. Ogura, T. Etho, K. Kawai, M. Ito: Establishing EGFP Congenic Mice in a NOD/Shi-scid IL2Rgnull (NOG) Genetic Background Using a Marker-Assisted Selection Protocol (MASP). Exp. Anim. 57 (5). P471-477. 2008
- 25) H. Suemizu, M. Hasegawa, K. Kawai, K. Taniguchi, M. Monnai, M. Wakui, M. Suematsu, M. Ito, Gary Peltz, M. Nakamura: Establishment of a humanized model of liver using NOD/Shi-scid IL2Rgnull Mice. Biochemical and Biophysical Research Communications. 377(2008). P248-252
- 26) M. Yajima, K. Imadome, A. Nakagawa, S. Watanabe, K. Terashima, H. Nakamura, M. Ito, N. Shimizu, M. Honda, N. Yamamoto, S. Fujiwara: A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. J Infect Dis 198 (2008):P673-682
- 27) Y. Terada, Y. Terunuma-Sato, T. Kakoi-Yoshimoto, H. Hasegawa, T. Ugajin, Y. Koyanagi, M. Ito, T. Murakami, H. Sasano, N. Yaegashi, K. Okamura: Development of Human Graafian Follicles Following Transplantation of Human Ovarian Tissue into NOD/SCID/ccnull Mice. American Journal of Reproductive Immunology 60(2008):P534-540
- 28) M. Yamada, S. Momoshima, Y. Masutani, K. Fujiyoshi, O. Abe, M. Nakamura, S. Aoki, N. Tamaoki, H. Okano: Diffusion - Tensor Neuronal Fiber Tractography and Manganese - enhanced MR Imaging of Primate Visual Pathway in the Common Marmoset: Radiology Vol. 249 No. 3 December 2008. P855-864
- 29) M. Yamada, S. Momoshima, Y. Masutani, K. Fujiyoshi, O. Abe, M. Nakamura, S. Aoki, N. Tamaoki, H. Okano: Diffusion-Tensor Neuronal Fiber Tractography and Manganese-enhanced MR Imaging of Primate Visual Pathway in the Common Marmoset. Preliminary Results. Radiology 249. P855-864. 2008
- 30) T. Takagi, M. Nakamura, M. Yamada, K. Hikishima, S. Momoshima, K. Fujiyoshi, S. Shibata, H. J. Okano, Y. Toyama, H. Okano: Visualization of peripheral nerve degeneration and regeneration. monitoring with diffusion tensor tractography. NeuroImage 44. P884-892. 2009
- 31) K. Machida, H. Suemizu, K. Kawai, T. Ishikawa, R. Sawada, Y. Ohnishi, T. Tsuchiya: Higher susceptibility of NOG mice to xenotransplanted tumors. The Journal of Toxicological Sciences .Vol. 34, No. 1, P123-127. 2009
- 32) C. Nishime, Y. Ohnishi, H. Suemizu, N. Tamaoki, T. Kusumi, F. Sato, H. Yamazaki, M. Nakamura, Y. Ueyama, H. Kijima: In vivo chemotherapeutic profile of human gallbladder small cell carcinoma. Biomedical Research 29(5) P251-256. 2008
- 33) 藤吉兼浩、疋島啓吾、山田雅之、北村和也、辻収彦、八木一夫、百島祐貴、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也：「制限拡散を利用した脊髄損傷の経時的解析」日本磁気共鳴医学会雑誌 Vol. 29(1). P21. 2009
- 34) 山田雅之、疋島啓吾、藤吉兼浩、百島祐貴、中村雅也、岡野栄之、玉置憲一：「マンガン神経トレーシング(MRMRI)による霊長類視覚伝導路の描出と網膜神経分布の解析」日本磁気共鳴医

学会雑誌 Vol. 29(1).P23-29. 2009

- 35) 疋島啓吾、山田雅之、藤吉兼浩、百島祐貴、川井健司、中村雅也、玉置憲一、岡野栄之：「高分解能High b-value多軸拡散計測による視交叉神経走行追跡」日本磁気共鳴医学会雑誌 Vol. 29(1).P41-44. 2009
- 36) M. Hizume, A. Kobayashi, K. Teruya, H. Ohashi, J. W. Ironside, S. Mohri, T. Kitamoto : 2009. Human prion protein (PrP) 219K is converted to PrP<sup>Sc</sup> but shows heterozygous inhibition in variant Creutzfeldt-Jakob disease infection. J Biol Chem 284:P3603-3609
- 37) R. Ito, S. Maekawa, K. Kawai, H. Suemizu, S. Suzuki, H. Ishii, Y. Tanioka, M. Satake, H. Yagita, S. Habu, M. Ito : 2008. Novel monoclonal antibodies recognizing different subsets of lymphocytes from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). Immunol Lett 121:P116-122
- 38) T. Yahata, Y. Muguruma, S. Yumino, Y. Sheng, T. Uno, H. Matsuzawa, M. Ito, S. Kato, T. Hotta, K. Ando : 2008. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize the hierarchical structure of hematopoiesis. Stem Cells.26:P3228-3236
- 39) D. Ogawa, Y. Okada, M. Nakamura, Y. Kanemura, H. J. Okano, Y. Matsuzaki, T. Shimazaki, M. Ito, E. Ikeda, T. Tamiya, S. Nagao, H. Okano : 2009. Evaluation of human fetal neural stem/progenitor cells as a source for cell replacement therapy for neurological disorders: properties and tumorigenicity after long-term in vitro maintenance. J Neurosci Res 87:P307-317

## B. 学会の発表

- 1) 江藤智生、佐藤晃、板井元、遠藤圭子、後藤一雄、日置恭司、上迫努：「長期間超低温保存したマウス胚の生存と発生」日本実験動物技術者協会関東支部 第34回懇話会。2008年3月7日。神奈川
- 2) 今井都泰、江藤智生、平田裕、吉田和作、小川麻弥、日置恭司：「中型ビニールアイソレーターの開発」日本実験動物技術者協会関東支部 第34回懇話会。2008年3月7日。神奈川
- 3) 平田裕、小倉智幸、江藤智生、日置恭司、伊藤守：「NOD/Shi を背景遺伝子にもつ免疫不全マウスの繁殖性の検討」日本実験動物技術者協会関東支部 第34回懇話会。2008年3月7日。神奈川
- 4) 鍵山直子：「動物実験に対する市民の理解を得るために」放射線医学総合研究所講演会。2008年4月14日
- 5) 遠藤圭子、上迫努、佐藤晃、板井元、江藤智生：「ガラス化保存胚の新しい加温方法の開発」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15日～17日。東京
- 6) 板井元、上迫努、佐藤晃、遠藤圭子、江藤智生：「超低温保存液に用いる新たな高分子の検索」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15日～17日。仙台
- 7) 佐藤晃、外丸祐介、江藤智生：「ガラス化加温胚の低温輸送方法について」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15日～17日。仙台
- 8) 江藤智生、佐藤晃、板井元、遠藤圭子、上迫努：「マウス複数系統の胚のガラス化保存の検討」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15～17日。仙台
- 9) 上迫努、江藤智生：「BALB/c 系統を用いた体外受精培地の改良」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15日～17日。仙台
- 10) 伊田幸、小倉智幸、平牧強、佐々木正史、上迫努、江藤智生、菅原綾子、後藤一雄、末水洋志、伊藤守：「新規白色突然変異 C57BL/6JJic マウスの遺伝解析およびバイオリソースへの応用」日本実験動物科学技術 2008。2008年5月15日～17日。仙台

- 11) 片野いくみ、伊藤亮治、佐々木正史、上迫努、江藤智生、小倉智幸、伊藤守：「C-kit 変異をもつ重度免疫不全 NOG-Wv/Wv マウスの特性とヒト細胞生着性の向上」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 15 日～17 日. 仙台
- 12) 伊藤亮治、小倉智幸、川井健司、伊藤守：「重度免疫不全 NOG マウスを用いた高 GVHD 感受性モデル」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 15 日～17 日. 仙台
- 13) 橋本晴夫、江藤智生、上迫努、鬼頭千佳、川井健司、森智恵、日置恭司、伊藤守、玉置憲一、野村達次：「遺伝子改変動物の可逆的繁殖阻止に対する高プロラクチン血症動物の応用」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 15 日～17 日. 仙台
- 14) 水島友子、本田貴子、川井健司、金村米博、末水洋志：「NOD/Shi-scidIL2r $\gamma$  null (NOG) マウスへの造血幹細胞移植における X 線およびサイクロフォスファミドによる移植前処理条件の検討」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 16 日. 仙台
- 15) 高倉彰：「センダイウイルス—温故知新—」実験動物感染症としてのセンダイウイルス—病態、診断、国内の発生状況. 日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 16 日. 仙台
- 16) 保田昌彦、林元展人、後藤一雄、高倉彰、伊藤豊志雄：「微生物モニタリング検査内で始めて発見されたマウス *Bordetella hinzii* 感染症の病理学的所見」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 16 日. 仙台
- 17) 林元展人、保田昌彦、後藤一雄、高倉彰、伊藤豊志雄：「マウスにみられた *Bordetella hinzii* 感染症と分離株の感染実験」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 16 日. 仙台
- 18) 後藤一雄、林元展人、保田昌彦、石田智子、亀田周子、高倉彰、伊藤豊志雄：「実験・自然感染マウス糞便からの PCR 法によるマウスノロウイルスの検出」日本実験動物科学技術 2008. 2008 年 5 月 16 日. 仙台
- 19) 日置恭司：「実験動物(マウス・ラット)の飼育管理のポイント」情報機構. 2008 年 5 月 21 日. 東京
- 20) 島田亜樹子：「コモンマーモセットの卵胞刺激に適した卵胞成熟ホルモン (FSH) 製剤の比較検討」第 101 回日本繁殖生物学大会. 2008 年 9 月 18 日～9 月 20 日. 福岡
- 21) 富岡郁夫：「コモンマーモセット卵子体外成熟培地の検討」第 101 回日本繁殖生物学大会. 2008 年 9 月 18 日～9 月 20 日. 福岡
- 22) 安東潔、大林茂、永井裕司、大西新、山田雅之、疋島啓吾、伊藤豊志雄、岡野栄之、野村達次：「PET および MRI によるパーキンソン病モデル・マーモセット脳の *in vivo* 解析」第 38 回日本神経精神薬理学会学術年会. 2008 年 10 月 1 日. 東京
- 23) 伊藤亮治、片野いくみ、小倉智幸、川井健司、伊藤守：「Dendritic cells have a suppressive effect on xeno-GVHD in novel immunodeficient NOG mice」第 10 回国際樹状細胞シンポジウム. 2008 年 10 月 1 日～10 月 5 日. 神戸
- 24) N. Kagiya, K. Goto, N. Hayashimoto, T. Ishida, A. Takakura: Self assessment of microbiological monitoring methods using test samples supplied by ICLAS. 59th AALAS Meeting セミナー. 2008 年 10 月 8 日. インディアナポリス.
- 25) 伊藤亮治、小倉智幸、川井健司、入江奈緒子、松尾光一、垣生園子、伊藤守：「ヒト Delta-like 1 トランスジェニック NOG マウスに発症する骨硬化はヒト造血系の再構築を抑制する」第 26 回骨代謝学会. 2008 年 10 月 29 日～10 月 31 日. 大阪
- 26) 安東潔、大林茂、永井裕司、大西新、須原哲也、井上貴史、伊藤豊志雄、野村達次：「*In vivo* PET 測定により検出されたマーモセット脳の神経変性とパーキンソン病様症候発現強度の高相関性」第 82 回日本薬理学会年会. 2008 年 10 月 31 日. 横浜
- 27) K. Ando, S. Obayashi, Y. Nagai, A. Ohnishi, T. Suhara, T. Itoh, T. Nomura : 「*In vivo* PET

analysis of parkinsonian marmoset brains」 Society for Neuroscience Meeting in Washington DC. 2008年11月15日

- 28) 佐藤佳、Chuan yi Nie、三沢尚子、田中勇悦、伊藤守、小柳義夫：「ヒト化マウスにおける HIV-1 の感染指向性と持続産生細胞の同定」第 22 回日本エイズ学会。2008 年 11 月 26 日～28 日。大阪
- 29) 片野いくみ、伊藤亮治、川井健司、伊藤守：「C-kit 変異をもつ重度免疫不全 NOG-Wv マウスはヒト細胞の高い生着性を示す」第 38 回日本免疫学会。2008 年 12 月 1 日～3 日。京都
- 30) 伊藤亮治、片野いくみ、川井健司、伊藤守：「NOG マウスにおける樹状細胞の機能低下は高度 Xenograft 発症の要因となる」第 38 回日本免疫学会。2008 年 12 月 1 日～3 日。京都
- 31) Y. Watanabe, T. Takahashi, A. Okajima, N. Ishii, M. Ito, S. Tsuchiya, K. Sugamura : 「Facilitating the human B cell development in humanized NOG mice」 第 38 回日本免疫学会。2008 年 12 月 1 日～3 日。京都
- 32) 佐藤桂、三沢尚子、Chuan yi N、高橋玲、伊藤守、小柳義夫：「EBV 感染モデルマウスの確立と活性化 CD8+T 細胞の誘導」第 38 回日本免疫学会。2008 年 12 月 1 日～3 日。京都

### C. 講義・講演等

- 1) 佐々木えりか：「マーモセット（1）」多次元共同脳科学推進センター キックオフシンポジウム。自然科学研究機構 岡崎カンファレンスセンター。2008 年 4 月 17 日。愛知
- 2) 佐々木えりか：「実験動物としてのマーモセットの開発」静岡実験動物研究会。2008 年 5 月 8 日。静岡
- 3) 橋本晴夫、江藤智生、上迫努、鬼頭千佳、川井健司、森智恵、日置恭司、伊藤守、玉置憲一：「遺伝子改変による高プロラクチン血症モデルマウス開発の試み」日本実験動物技術者協会研究奨励賞 受賞講演 日本実験動物科学技術 2008。2008 年 5 月 15 日～17 日。仙台
- 4) 高倉彰、後藤一雄：「微生物モニタリング」日本実験動物科学技術 2008 七夕セミナー。2008 年 5 月 16 日。仙台
- 5) 江藤智生、日置恭司：「胚と精子の凍結保存」日本実験動物科学技術 2008 七夕セミナー。2008 年 5 月 17 日。仙台
- 6) 鍵山直子：「動物実験の倫理的適正化に向けたブリーダーとユーザーの連携」日本実験動物協同組合通常総会。2008 年 5 月 24 日。熱海
- 7) 高倉彰、後藤一雄、林元展人、保田昌彦：日本クレア株式会社技術部勉強会。2008 年 6 月。御殿場
- 8) 日置恭司、末水洋志：「動物実験を始めるにあたって」東京農業大学第 7 回動物実験ガイダンス。2008 年 6 月 13 日。東京
- 9) 高倉彰：「Bio Expo2008 電流型 DNA チップの非医療分野への応用」2008 年 7 月。東京
- 10) 伊藤豊志雄、高倉彰、後藤一雄、石田智子、林元展人、保田昌彦、植野昌未：「日動協感染症予防・診断研修会」2008 年 7 月。川崎
- 11) 伊藤守：「重度免疫不全 NOG マウスの基礎と応用の現状、および今後の展開」北海道大学獣医学部セミナー。2008 年 7 月 23 日。札幌
- 12) 高倉彰、林元展人、保田昌彦：「日本実験動物技術者協会関東支部微生物モニタリング研修会」2008 年 9 月。相模原

- 13) 高倉彰：「病気と衛生」日本実験動物協会高度技術師研修会．2007年9月．白河
- 14) 高倉彰：「免疫不全マウス飼育管理上の注意事項」協和発酵株式会社．2008年9月．三島
- 15) 伊藤守：「機能的異種細胞・組織移植動物実験系としてのNOGマウス」第8回学術フロンティア・ハイテクリサーチシンポジウム．日本獣医生命科学大学．2008年9月11日．武蔵野
- 16) 末水洋志：「NOGマウスを用いた癌研究の紹介」第8回学術フロンティア・ハイテクリサーチシンポジウム．日本獣医生命科学大学．2008年9月11日．武蔵野
- 17) 高倉彰：「動物感染症の検査システム開発の紹介」第8回学術フロンティア・ハイテクリサーチシンポジウム．日本獣医生命科学大学．2008年9月11日．武蔵野
- 18) 橋本晴夫：「糖尿病モデル動物開発における実験動物中央研究所・日本獣医生命科学大学の共同研究」第8回学術フロンティア・ハイテクリサーチシンポジウム．日本獣医生命科学大学．2008年9月11日．武蔵野
- 19) 鍵山直子：「動物実験倫理指針の運用と課題」第68回日本動物心理学会特別講演．2008年9月14日．水戸
- 20) 高倉彰：「実験動物の主要感染症と微生物モニタリング」安評センター．2008年10月．磐田
- 21) 安東潔：「サル類の神経精神疾患モデルを用いた前臨床研究-アカゲザルからマーモセットへ-」脳科学研究戦略推進プログラム課題C分科会．2008年10月30日．京都
- 22) 伊藤守：「ヒト化マウス作製に有用な重度免疫不全NOGマウスの基礎と応用」第80回理研BRCセミナー．2008年11月11日．つくば
- 23) 後藤一雄、林元展人、保田昌彦：「日本実験動物技術者協会関西支部微生物モニタリング研修会」2009年1月．高槻
- 24) 伊藤守：「ヒト化マウス作製の実際と応用」京都大学AKセミナー．2009年2月17日．京都
- 25) 日置恭司、末水洋志：「動物実験を始めるにあたって」東京農業大学動物実験ガイダンス．東京農大．2009年2月26日

## Ⅶ．学術集会

### A. 特別セミナー・講演会

[2008年9月25日]

「マウス表現型解析基盤の標準化と日本マウスクリニック計画」  
(独)理化学研究所 バイオリソースセンター・マウス表現型解析開発チーム  
若菜 茂晴先生

[2009年1月22日] 2009年新春セミナー

基調講演 (座長:野村 龍太)

「2009年に思う」

(財)実験動物中央研究所 永田 宏理事

実験動物中央研究所報告 (座長:玉置 憲一)

実用化を期待する今後楽しみな研究成果あれこれ

- (1) マーモセット発生工学における基盤技術の確立と応用研究への発展  
実中研マーモセット研究部 富岡郁夫、佐々木えりか、伊藤豊志雄
- (2) ヒト肝臓を持ったマウス 現状とこれから  
実中研バイオメディカル研究部 末水洋志

特別講演 (座長:野村 龍太)

「川崎臨海部と神奈川口構想」

川崎市総合企画局臨海部活性化推進室 小林延秀室長

本日のまとめ

(財)実験動物中央研究所 副所長 玉置 憲一

[2009年3月18日]

「2つの異なる NKT 細胞サブセットによる抗腫瘍免疫の正と負の調節作用」  
米国国立がん研究所ワクチンブランチ 寺部 正記先生

### B. 所内研究発表会

[2008年2月28日] (バイオメディカル研究部)

水島友子: NOG マウスへの造血幹細胞移植における X 線および cyclophosphamide による  
移植前処理条件の検討

末水洋志: ヒト化マウス作製を目指した NOG マウスの改良

[2008年3月6日] (試験サービス事業部)

浦野浩司: 日本クレア産 rash2 マウスと Taconic 社産 rash2 マウスの発がん感受性比較

町田一彦: NOG マウスにおける少数 HeLa 細胞の生着性

[2008年3月27日] (実験動物研究部)

橋本晴夫: IRS-2 ノックアウトマウスにおける系統化と基礎研究

[2008年6月19日] (実験動物研究部)

伊田 幸: C57BL/6JJic に出現した黒眼白毛色突然変異マウスの遺伝解析および ES  
細胞の樹立

伊藤亮治: NOG マウスを用いた高 GVHD 感受性モデル

[2008年7月31日] (バイオメディカル研究部・病理病態研究部)

末水洋志: ヒト化マウス作製を目指した NOG マウスの改良 (Urokinase type



plasminogen activator; uPA, transgenic NOG マウスの作製)

川井健司：NOG マウスにおける免疫染色の検討

[2008年9月18日] (試験サービス事業部)

後藤一雄：電流検出型 DNA チップを用いた実験動物病原体の検出

林元展人：マウスの *Bordetella hinzii* 感染症

保田昌彦：免疫不全マウス・ラットにおいて見られた病理組織学的検査報告 (平成 20 年度分) - *Bordetella hinzii* の実験感染を含めた 3 症例 -

[2008年11月7日] (マーモセット研究部)

前田拓志：マーモセット iPS 細胞樹立にむけて

井上貴史：海外におけるコモンマーモセットの飼育方法

[2008年12月4日] (動物資源管理部)

上迫 努：体外受精率が低率なマウス系統の受精率向上の試み

佐藤 晃：マウスガラス化加温胚の低温輸送方法について

平田 裕：NOG、NOD/Shi-scid、NOD/Shi マウスの繁殖成績の比較

[2009年1月14日] (実験動物研究部)

伊藤 守：「ヒト化マウス」の現状と今後

片野いくみ：NOG-hIL-4 Tg マウスではヒト末梢血単核球移植による GVHD 発症が抑制される

[2009年2月5日] (バイオメディカル研究部・病理病態研究部)

浦井昌俊：ヒトがん進展NOGマウスモデルを用いた低酸素ストレスの腫瘍生物学的効果の検討

[2009年3月5日] (試験サービス事業部)

浦野浩司：rasH2 マウスの発がん感受性簡易モニタリング

町田一彦：NOG マウスにおける少数腫瘍細胞の生着性

## C. 所内教育研修セミナー

- ・ 2008年4月1日～2008年4月3日：新人研修(教育活動担当部)
- ・ 2008年4月3日：遺伝子組換え動物の取扱いに関する教育訓練「遺伝子組換え生物の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)」主旨とその適用範囲を新規採用の業務担当者及び関係者に説明(遺伝子組換え実験安全委員会)
- ・ 2008年4月26日～2009年3月14日：動物実験技術士養成講座(教育活動担当部)
- ・ 2008年5月22日：放射線従事者教育訓練(放射線委員会)
- ・ 2008年7月1日～2008年7月2日：受託試験における「信頼性の基準」準拠に関する教育訓練(コンプライアンス部)
- ・ 2008年7月4日～2008年7月5日：日本実験動物協会モニタリング技術研修会(ICLASモニタリングセンター)
- ・ 2008年8月23～2008年11月8日：動物実験医学の研究支援者育成システム「疾患モデル動物」(教育活動担当部)
- ・ 2008年9月10日：コンプライアンス委員会による教育訓練(コンプライアンス部)
- ・ 2007年4月10日～2008年12月4日：動物実験計画審査要領および動物実験等に関する教育訓練(動物資源管理部)
- ・ 2008年11月27日：コンプライアンス委員会による教育訓練(コンプライアンス部)
- ・ 2009年1月30日：コンプライアンス委員会による教育訓練(コンプライアンス部)

- ・ 2009年 3月25日：遺伝子組換え動物の取扱いに関する教育訓練「遺伝子組換え生物の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）」－2004年2月19日施行－の主旨とその適用範囲を業務担当者及び関係者に説明（遺伝子組換え実験安全委員会）

#### D. AETセミナー「動物実験技術士」養成講座

[2008年 4月 26日]

- ・ 高垣善男：動物実験のための科学と技術の教育
- ・ 斉藤宗雄：適正な実験動物/実験動物の開発改良

[2008年 5月 24日]

- ・ 服部祐二：適正な動物実験
- ・ 伊藤豊志雄：動物実験の飼育管理に係る法律
- ・ 末水洋志：遺伝子組換え動物の取り扱いに係る法律

[2008年 6月 21日]

- ・ 伊藤豊志雄：なぜ動物実験が成立するのか/実験動物の一般生理
- ・ 日置恭司：育種と繁殖

[2008年 7月 12日]

- ・ 日置恭司：実験動物(マウス、ラット)の特性と飼育器材/飼料の与え方
- ・ 堤 秀樹：実験動物(イヌ、ネコ、ブタ、サル、その他)の特性と飼育器材

[2008年 8月 23日]

- ・ 平田 裕：実験動物(マウス、ラット)の飼育管理
- ・ 日置恭司：無菌動物(マウス、ラット)の飼育管理
- ・ 今井都泰：実験動物の飼育装置および設備の管理

[2008年 9月 20日]

- ・ 浦野浩司、町田一彦：実験動物と動物実験/動物実験の基本操作(講義)

[2008年 10月 18日]

- ・ 浦野浩司、町田一彦：動物実験の基本操作「実技-1」

[2008年 11月 15日]

- ・ 浦野浩司、町田一彦：動物実験の基本操作「実技-2」

[2008年 12月 13日]

- ・ 伊藤豊志雄：異常動物への対応/実験小動物の感染症コントロール
- ・ 後藤一雄：遺伝モニタリング

[2009年 1月 17日]

- ・ 高倉 彰：動物実験における品質管理の必要性/微生物モニタリング
- ・ 江藤智生：生殖工学・発生工学「その周辺技術」

[2009年 2月 14日]

- ・ 伊藤 守：遺伝子操作動物作製の基礎と歴史
- ・ 大西保行：ヒト疾患モデル動物

[2009年 3月 14日]

- ・ 野村達次：動物実験の目指すところ

#### E. 動物実験医学の研究支援者育成システム「疾患モデル」講義

[2008年 8月 23日]

- ・ 玉置憲一：動物実験医学総論

[2008年9月20日]

・伊藤豊志雄：マーマセツを用いた実験動物モデルと医学研究

[2008年10月11日]

・武林 享：環境衛生・労働衛生と動物実験

・涌井昌俊：免疫不全動物を用いた実験動物モデルと医学研

[2008年11月8日]

・橋本晴夫：現在の2型糖尿病研究と実験動物モデル開発

・堤 秀樹：遺伝子改変マウスを用いた短期発がん性試験

## F. IGLAS モニタリングセンター運営検討委員会

日程調整の関係上、4月に下記内容にて開催予定である。

日時：平成21年4月23日14:30～

場所：学士会館

推進委員：高垣善男先生、森脇和郎先生

運営検討委員：(社)日本実験動物学会

杉山文博先生、真下知士先生

(社)日本実験動物協会

高木博義先生、日柳政彦先生

日本実験動物協同組合

團迫 勉先生、矢澤肇先生

国立大学法人動物実験施設協議会

横山峯介先生、大野民生先生

日本実験動物技術者協会

佐加良英治先生

日本製薬工業会

佐神文郎先生

センター員：伊藤以下17名

## G. 「In vivo 実験医学の創成と展開のためのヒューマンバイオセンシング技術」公開シンポジウム

インビボ実験医学をテーマとしたシリーズ第2回目となる公開シンポジウムとして、実中研と慶応義塾大学G-COEプログラム「In vivo ヒト代謝システム生物学拠点（末松教授）」が主催した掲題の催しを2008年12月17日慶応義塾大学北里講堂において開催し、約150名の参加者を得た。これには、文部科学省科学振興調整費新興分野人材養成「動物実験医学の研究支援者育成システム」（慶應義塾大学相磯教授）および慶応義塾大学G-COEプログラム「幹細胞医学のための教育研究拠点（岡野教授）」の共催を得た。

当研究所が主唱するIn vivo 実験医学の普及と発展のためにもこの催しは継続的に実施することとし、来年度は食の安全におけるin vivo 実験医学の重要性をハイライトすることを目論だテーマ立てを模索している。

## H. 第2回ヒト化マウス国際ワークショップ(International Workshop on Humanized Mice)

実中研で開発されたNOGマウスやその他の免疫不全マウスにヒト細胞や組織・臓器を再構成させたマウス（ヒト化マウス）の研究成果を討議するために、実中研が主催した第1回目の国際ワークショップが平成18年に開催された。これを受けて、第2回目のワークショップが2008年4月3日～6日にかけてオランダ・アムステルダムで開催されることとなった。本国際ワークショップの事務局は当研究所に置かれおり、またサイエンティフィックコミティーやアドバイザーコミティーのメンバーとして、第2回ワークショップ開催大会事務局と協力し、開催のための準備を行なっている。

## Ⅷ. 共同研究（公的研究費による研究）

### 1. 実験動物の品質管理等に係る基礎的研究〔文部科学省科学研究費補助金 - 特定奨励費〕

- 実施期間 自平成20年4月 至自平成21年3月  
研究代表者 野村 達次
- 1) 分担課題 遺伝的モニタリングに関する研究  
研究分担者 後藤 一雄
  - 2) 分担課題 微生物モニタリングに関する研究  
研究分担者 高倉 彰
  - 3) 分担課題 系統動物の維持に関する研究  
研究分担者 小倉 智幸
  - 4) 分担課題 胚の凍結保存に関する研究  
研究分担者 江藤 智生
  - 5) 分担課題 遺伝子改変動物に関する研究  
研究分担者 伊藤 守

### 2. 重度免疫不全 NOG マウスの改良・改変によるヒト化モデル動物の基盤創設〔独立行政法人日本学術振興会科学研究費補助金 - 基盤研究（S）〕

- 課題番号 18100005  
実施期間 自平成18年4月 至平成23年3月  
研究代表者 伊藤 守  
連携研究者 末水洋志, 垣生園子(順天堂大・医)、安藤 潔(東海大・医)、宮川義隆(慶応義塾大・医)、鈴江一友(群馬大・医)

### 3. 電流検出型DNAチップによる実験動物病原体の病原遺伝子探索と定量検出系の構築〔独立行政法人日本学術振興会科学研究費補助金 - 基盤研究（C）〕

- 課題番号 20500381  
実施期間 自平成20年4月 至平成21年3月  
研究代表者 後藤 一雄  
研究分担者 保田昌彦, 林元展人

### 4. ヒト型IgG抗体を産生する新規ヒト化NOGマウスの開発〔文部科学省科学研究費補助金 - 若手研究（B）〕

- 課題番号 19700373  
実施期間 自平成19年4月 至平成22年3月  
研究代表者 伊藤 亮治

### 5. 実験動物由来ヘリコバクター属菌の病原遺伝子検索と簡易診断〔文部科学省科学研究費補助金 - 若手研究（B）〕

- 課題番号 19700374  
実施期間 自平成19年4月 至平成21年3月  
研究代表者 篠原 晴香

6. MR制限拡散情報に基づく神経軸索径解析〔文部科学省科学研究費補助金 - 若手研究 (B)〕
- 課題番号 20790918  
 実施期間 自平成20年4月 至平成22年3月  
 研究代表者 疋島啓吾
7. 実験動物科学〔独立行政法人日本学術振興会日米科学技術協力事業・非エネルギー分野〕
- 実施期間 自平成20年12月 至平成21年3月  
 研究代表者 野村達次
8. 再生医療の実現化プロジェクト 再生医療実現化を目指したヒトiPS細胞・ES細胞・体性幹細胞研究拠点(疾患モデル動物を用いた幹細胞治療の安全性と有効性の検討)〔文部科学省科学技術試験研究委託事業〕
- 実施期間 平成20年4月 至平成21年3月  
 業務主任者 伊藤豊志雄  
 担当責任者 伊藤豊志雄、佐々木えりか
9. 脳科学研究戦略推進プログラム 先端的遺伝子導入・改変技術による脳科学研究のための独自の霊長類モデルの開発と応用(コモンマーモセットの遺伝子改変技術の基盤整備)〔文部科学省科学技術試験研究委託事業〕
- 実施期間 平成20年7月 至平成21年3月  
 業務主任者 佐々木えりか  
 担当責任者 佐々木えりか
10. コモンマーモセットの発生工学的技術および疾患モデルの開発〔独立行政法人科学技術振興機構-戦略的創造研究推進事業〕
- 実施期間 平成20年4月 至平成21年3月  
 研究担当者 伊藤豊志雄
11. iPS細胞を用いたヒト疾患モデルマーモセット作製法の確立〔独立行政法人科学技術振興機構-戦略的創造研究推進事業個人型研究(さきがけタイプ)〕
- 実施期間 平成20年6月 至平成21年3月  
 研究担当者 佐々木えりか
12. カルボラン誘導体抗エストロゲン剤のBNCT(ホウ素中性子捕捉療法)による乳がん治療法の検討〔独立行政法人科学技術振興機構-産学共同シーズイノベーション化事業 顕在化ステージ〕
- 実施期間 平成20年4月 至平成20年10月  
 研究担当者 大西保行
13. コモンマーモセットサル心筋梗塞モデルの開発〔独立行政法人医薬基盤研究所-保健医療分野における基礎研究推進事業〕
- 実施期間 平成20年4月 至平成21年3月  
 研究代表者 野村達次  
 研究者 玉置憲一、伊藤豊志雄、佐々木えりか

14. 文部科学省グローバル COE プログラム：In vivo ヒト代謝システム生物学拠点〔学校法人慶応義塾  
業務委託費〕

実施期間 平成 20 年 10 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 野 村 達 次  
事業推進担当者 佐々木えりか

15. 個体レベルでのがんの統合的研究〔文部科学省科学研究費補助金 - 特定領域研究〕

課題番号 17012017  
実施期間 平成 20 年 4 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 山 村 研 一 (熊本大・発生医学研究センター)  
研究分担者 伊藤豊志雄  
分担課題 微生物学的モニタリング

16. ヒト型免疫マウスモデルの作出と応用〔文部科学省科学研究費補助金 - 特定領域研究〕

課題番号 19059001  
実施期間 平成 20 年 4 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 菅 村 和 夫 (東北大・大学院医学系研究科)  
研究分担者 伊藤 守  
分担課題 HLA 導入 NOG マウスの樹立

17. マイクロビーズ法によるマウス・ラット感染症の微量検査法の開発〔独立行政法人日本学術振興  
会科学研究費補助金 - 基盤研究 (A)〕

課題番号 19200033  
実施期間 自平成 20 年 4 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 八 神 健 一 (筑波大・大学院人間総合科学研究科)  
研究分担者 後藤一雄  
分担課題 マイコプラズマ等の抗原作製反応条件の検討

18. マウス病原性ヘリコバクターの特異的抗原検出診断法の開発〔独立行政法人日本学術振興会科学  
研究費補助金 - 基盤研究 (B)〕

課題番号 20300143  
実施期間 自平成 20 年 4 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 國 田 智  
研究分担者 後藤一雄  
分担課題 自然感染材料を用いた評価

19. 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための総括的研究〔厚生労働省精神・神経  
疾患研究委託費〕

課題番号 19 指 - 7  
実施期間 平成 20 年 4 月 至平成 21 年 3 月  
研究代表者 武 田 伸 一 (国立精神・神経センター・神経研究所)  
研究分担者 日置恭司

- 分担課題 筋ジストロフィー関連モデル動物の生産供給システムの検討
20. ヒト免疫機構を構築した新規「ヒト化マウス」を用いたエイズワクチン・治療薬評価系の開発〔厚生労働省科学研究費補助金・創薬基盤推進研究事業:政策創薬総合研究事業〕
- 課題番号 H19-政策創薬一般-008
- 実施期間 平成20年4月 至平成21年3月
- 研究代表者 田中 勇悦 (琉球大・医)
- 研究分担者 伊藤 守
- 分担課題 ヒト化マウスの基盤となる免疫不全マウスの開発と供給

# 總務報告



## 1. 役員に関する事項

理事長	野村 達次	研究所所長、医学博士
理事	玉置 憲一	東海大学医学部名誉教授、医学博士
〃	西村 俊彦	スタンフォード大学準教授、医学博士
〃	永田 宏	三井物産株式会社顧問
〃	小坂 樹徳	東京大学名誉教授、医学博士
〃	名本 公洲	元(株)大蔵省代表日本銀行政策委員、弁護士
監事	野村 生次	株式会社野村事務所代表取締役社長
〃	大澤 敏男	元川崎北税務署長、税理士
評議員	野村 龍太	研究所副所長
〃	齊藤 宗雄	研究所総務経理部長、日本クレア(株)会長
〃	菅谷 英一	愛英堂診療所所長、医学博士
〃	山本 慧	北里大学客員教授、医学博士
〃	上山 義人	東海大学医学部教授、医学博士
〃	北村 昭	日本クレア(株)監査役
〃	高垣 善男	元中外製薬(株)取締役
〃	伊藤 豊志雄	研究所マーモセット研究部部長、獣医学博士
学術顧問	合田 朗	北里大学名誉教授、医学博士
〃	林 裕造	元国立衛生試験場安全性評価センター長、医学博士
〃	鈴木 善祐	東京大学名誉教授、農学博士
〃	石成 公成	Prof. The Johns Hopkins University. (retired)
〃	L. G. Goodwin	M. D., Director of Science, the Zoological Society, England

## 2. 役員会に関する事項

### 1) 評議員会・理事会

平成 20 年 6 月 19 日に本館 3 階会議室において平成 20 年度前期定例評議員会が開催された。以下の議案が討議され承認された。

- 第 1 号議案：平成 19 年度事業報告書（案）の承認に関する件
- 第 2 号議案：平成 19 年度収支報告書（案）の承認に関する件
- 第 3 号議案：実験動物中央研究所役員報酬等に関する内規一部改定の件
- 第 4 号議案：その他

平成 20 年 6 月 19 日に本館 3 階会議室において第 92 回定例理事会が開催された。以下の議案が討議され承認された。

- 第 1 号議案：平成 19 年度事業報告書（案）の承認に関する件
- 第 2 号議案：平成 19 年度収支報告書（案）の承認に関する件
- 第 3 号議案：実験動物中央研究所役員報酬等に関する内規一部改定の件
- 第 4 号議案：その他

平成 20 年 11 月 5 日、臨時評議会（書面）が開催され、以下の議案が討議され承認された。

第 1 号議案：役員報酬一部改訂の承認に関する件

平成 20 年 11 月 5 日、臨時理事会（書面）が開催され、以下の議案が討議され承認された。

第 1 号議案：役員報酬一部改訂の承認に関する件

平成 21 年 3 月 23 日、本館 3 館会議室において平成 20 年度後期定例評議員会が開催された。以下の議案が討議され承認された。

第 1 号議案：平成 21 年度事業計画書（案）の承認に関する件

第 2 号議案：平成 21 年度収支予算書（案）の承認に関する件

第 3 号議案：その他

平成 21 年 3 月 23 日、本館 3 館会議室において第 93 回定例理事会が開催された。以下の議案が討議され承認された。

第 1 号議案：平成 21 年度事業計画書（案）の承認に関する件

第 2 号議案：平成 21 年度収支予算書（案）の承認に関する件

第 3 号議案：その他

### 3. 海外出張

- 1) 大西保行研究員はケルンにて、Artemis 社との共同研究打合せのため、2008 年 3 月 29 日～4 月 3 日までドイツへ出張。
- 2) 前野日出雄研究員はサンフランシスコにて、In-Vivo Science Int'l, Inc. への支援業務及び現地会計事務所との打ち合わせのため、2008 年 5 月 1 日～5 月 11 日までアメリカへ出張。
- 3) 疋島啓吾研究員はトロントにて、国際磁気共鳴医学会での研究発表及び打ち合わせのため、2008 年 5 月 2 日～5 月 10 日までカナダへ出張。
- 4) 鍵山直子研究員は Tartu にて、ICLAS 理事会出席ならびに Scand-LAS 学会参加のため、2008 年 5 月 4 日～5 月 11 日までエストニアへ出張。
- 5) 伊藤豊志雄研究員は Quezon City にて、Philippine Association for Laboratory Animal Science での講演のため、2008 年 5 月 7 日～5 月 10 日までフィリピンへ出張。
- 6) 野村副所長はケルン、デュッセルドルフにて、Artemis 社、Taconic 社とのビジネスミーティングのため、2008 年 6 月 1 日～6 月 5 日までドイツへ出張。
- 7) 林元展人研究員は In Vivo Science International, Inc. Mountain View, CA にて微生物検査技術指導のため、2008 年 6 月 22 日～28 日まで米国へ出張。
- 8) 野村副所長はサンフランシスコ、ニューヨークにて CAHB 打合せ、B-Bridge 社打合せ、JETRO のヒヤリング・審査ほかのため、2008 年 6 月 26 日～7 月 3 日まで米国へ出張。
- 9) 浦野浩司研究員は Charles River Pre Clinical services, Huntington Life Science にて rasH2 販促プレゼンテーションのため、2008 年 7 月 12 日～7 月 20 日までアメリカへ出張。
- 10) 佐々木えりか研究員はエディンバラにて、国際霊長類学会(International Primatological Society)参加（聴講）、MRC Human Reproductive Science Unit マーモセット施設の視察のため、2008 年 8 月 2 日～8 月 11 日までイギリスへ出張。
- 11) 井上貴史研究員はエディンバラにて、国際霊長類学会(International Primatological

- Society)参加 (聴講)、MRC Human Reproductive Science Unit マーモセット施設の視察のため、2008年8月2日～8月11日までイギリスへ出張
- 12) 大岩亮研究員はエディンバラにて、国際霊長類学会(International Primatological Society)参加 (聴講)、MRC Human Reproductive Science Unit マーモセット施設の視察のため、2008年8月2日～8月11日までイギリスへ出張
  - 13) 日置恭司研究員はカリフォルニア、In Vivo Science International, Inc. にて、IVSI-NOG 飼育管理の引き継ぎのため、2008年8月10日～8月21日までアメリカへ出張。
  - 14) 野村副所長はケルン、ストックホルム、ロンドンにて、TaconicArtemis、Karolinska Inst.、三井物産欧州本部とのNOG 関連打合せのため、2008年8月12日～8月16日までドイツ、スウェーデン、イギリスへ出張。
  - 15) 野村副所長はサンフランシスコ、ニューヨークにて、CAHB, CLEA Intl., Invivo Science Inc. との打ち合わせ、GALAS 会議出席のため、2008年9月18日～9月26日まで米国へ出張。
  - 16) 後藤一雄研究員是北京にて、AFLAS 参加・発表のため、2008年9月26日～9月30日まで中国へ出張。
  - 17) 保田昌彦研究員是北京にて、AFLAS 参加・発表のため、2008年9月26日～9月30日まで中国へ出張。
  - 18) 伊藤守研究員は Stanford Univ, SUNY Upstate Medical Univ, Columbia Univ, Mount Sinai Univ, ULCA, USC の 6 大学、Karolinska Institute にて、学術セミナー出席、Dr. Holmgren (Karolinska Institute)との共同研究打合せのため、2008年10月19日～10月30日まで米国、スウェーデンへ出張。
  - 19) 野村副所長はケルン、パリ、ストックホルム、ミラノ、ジュネーブにて、Mitsui Medical Healthcare Europe Meeting 参加、Bern Univ. とのエキットビジネスミーティング、WHO/UNICEF Consultation 出席、TaconicArtemis との打合せのため、2008年10月24日～11月1日までドイツ、フランス、スウェーデン、イタリア、スイスへ出張。
  - 20) 大西保行研究員は PLR にて、IACUC NOG 移植がん研究の打合せのため、2008年11月5日～11月7日までシンガポールへ出張。
  - 21) 日置恭司研究員は In Vivo Science International, Inc. にて、IVSI - NOG 飼育管理の引継ぎのため、2008年11月9日～11月15日まで米国へ出張。
  - 22) 林元展人研究員は Indianapolis convention center、Missouri University にて、AALAS National Meeting 参加 (発表、並びにパネリストとして)、施設見学 (Missouri University) のため、2008年11月9日～11月15日まで米国へ出張。
  - 23) 野村副所長はインディアナポリス、ニューヨーク、サンフランシスコにて、AALAS 参加、BioReliance との会議、Taconic 生育場訪問、CHAB、CLEA Intl.、In-vivoScience Inc. との打合せのため、2008年11月10日～11月21日まで米国へ出張。
  - 24) 安東潔研究員はワシントン DC にて、米国神経科学会学術年会 (Annual Meeting of Society for Neuroscience2008) での発表及び情報収集のため、2008年11月13日～11月22日まで米国へ出張。
  - 25) 末水洋志研究員は FDA, The Rockefeller University, Mount Sinai School of Medicine, ROCHE Palo Alto, Stanford University にて、NOG マウス紹介・共同研究打合せ、American Society of Hematology ; ASH にて学会出展、NOG マウス紹介のため、2008年11月30日～12月9日まで米国へ出張。

- 26) 前野日出雄副部長は CLEA Int'l, Inc.、In Vivo Science Int'l, Inc. との打合せのため、2008 年 12 月 2 日～12 月 21 日まで米国へ出張。
- 27) 後藤一雄 研究員、亀田周子 研究員は Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology にて、微生物・遺伝モニタリングの検査技術の講演および今後の協力体制打合せのため、2008 年 12 月 4 日～12 月 6 日まで韓国へ出張。
- 28) 日置恭司 研究員は In Vivo Science Int'l, Inc. にて、Mountain View IVSI 施設の NOG 飼育管理、Panorama Research Institute(Sunnyvale)内 IVSI 施設の立ち上げ準備のため、2008 年 12 月 9 日～12 月 18 日まで米国へ出張。
- 29) 野村副所長は PLR, A\*STAR にて、PLR STC/取締役会出席、A\*STAR との研究打合せのため、2008 年 12 月 14 日～12 月 17 日までシンガポールへ出張。
- 30) 大西保行 研究員は PLR にて、PLR STC, Ethical Committee 出席のため、2008 年 12 月 15 日～12 月 17 日までシンガポールへ出張。
- 31) 野村副所長は YT Resolution, Mitsui & CO. INC., New York, Taconic, Janner & Block LLP, CAHB, IVSI, B-BRIDGE, Panolama Research, Stanford Univ にて、各社打合せのため、2009 年 1 月 12 日～1 月 18 日まで米国へ出張。
- 32) 浦野浩司 研究員は Bioservice Scientific Laboratories, Aurigon Life Science, にて、rasH2 販売促進のためのプレゼンテーションのため、2009 年 1 月 25 日～2 月 1 日までドイツへ出張。
- 33) 野村副所長はアムステルダム、ケルン、ミュンスター、デュッセルドルフにて、IWHUM 打合せ、TaconicArtemis との打合せ、ミュンスター大学との共同研究打合せのため、2009 年 2 月 1 日～2 月 8 日までスイス・ドイツへ出張。
- 34) 伊藤守 研究員は Academic Medical Center, Univ. amsterdam, Artemis Taconic にて、第 2 回 IWHUM ワークショップ打合せ、共同研究打合せ他のため、2009 年 2 月 2 日～2 月 6 日までオランダ・ドイツへ出張。
- 35) 佐々木えりか 研究員はアルテミス社、ミュンスター大学にて、アルテミス社との共同研究の打合わせ、ミュンスター大学との共同研究打合せのため、2009 年 2 月 3 日～2 月 8 日までドイツへ出張。
- 36) 伊藤豊志雄 研究員、佐々木えりか 研究員、井上貴史 研究員はエジンバラ、ケンブリッジ、ゲッチングン、ミュンスターにて、マーモセット飼養 5 施設の見学、意見交換のため、2009 年 3 月 1 日～3 月 7 日までイギリス・ドイツへ出張。
- 37) 野村副所長は New York, Washington D. C., Baltimore, San Francisco にて、SOT 参加、NOG 係争問題特許事務所との打合せほかのため、2009 年 3 月 11 日～3 月 21 日まで米国へ出張。
- 38) 堤秀樹 研究員は BioReliance, Baltimore Conference Center にて、BioReliance との Business Meeting、Taconic との Business Meeting、Ferring Pharma. との Business Meeting、第 48 回米国毒性学会参加のため、2009 年 3 月 12 日～3 月 20 日まで米国へ出張。
- 39) 大西保行 研究員は SOT, BioReliance, Stroock, IVSI にて、学会発表、Taconic との打合せ、特許打合せ、BioReliance への NOG 等技術紹介、Dr. Peltz との共同研究の動物室設営のため、2009 年 3 月 12 日～3 月 25 日まで米国へ出張。
- 40) 浦野浩司 研究員はボルティモア、フィラデルフィアにて、SOT, Taconic との会議、企業訪問のため、2009 年 3 月 14 日～3 月 30 日まで米国へ出張。

#### 4. 教育・研修の受託

- 1) 株式会社ジェー・エー・シーの中村肇氏は2008年5月12日～5月14日まで、事業推進部にて研修。
- 2) National Institute for Toxicological Research の Mr.Meekyung Jang は2008年5月19日～5月30日まで、試験サービス事業部にて研修。
- 3) 埼玉医科大学中央研究施設実験動物部門・実験助手の石原由夏氏は、2008年6月16日～6月27日まで、動物資源管理部にて研修。
- 4) 理化学研究所免疫アレルギーセンターの本橋未来氏は、2008年6月26日～6月27日まで、教育活動担当部にて研修。
- 5) 先導生命科学研究支援センターの久保憲昭氏は、2008年6月30日～7月11日まで、動物資源管理部にて研修。
- 6) 株式会社ジェー・エー・シーの稲田洋介氏は、2008年7月22日～8月8日まで、飼育技術研究室にて研修。
- 7) CLEA International, Inc. の郡ああこ氏は、2008年8月18日～8月29日まで、教育担当部、実験動物研究部にて研修。
- 8) 株式会社ジェー・エー・シーの堀井八東氏は、2008年9月16日～9月19日まで、試験サービス事業部にて研修。
- 9) 株式会社ジェー・エー・シーの横田政明氏は、2008年10月7日～10月10日まで、教育活動担当部にて研修。
- 10) 株式会社ジェー・エー・シーの竹田俊史氏は、2008年10月27日～10月31日まで、事業推進部にて研修。
- 11) 名古屋市立大学大学院医学研究科実験動物研究教育センターの西尾政幸氏は、2008年11月17日～11月21日まで、マーモセット研究部にて研修。
- 12) 広島大学自然科学研究支援開発センターの外丸祐介氏他3名は、2008年11月26日～11月28日まで、マーモセット研究部にて研修。
- 13) 加藤レディースクリニックの山寺里枝氏、鈴木智子氏は、2008年12月15日～12月29日まで、マーモセット研究部にて研修。
- 14) 慶應義塾大学医学部解剖学の林原真沙美氏は、2009年1月8日～1月9日まで、飼育技術研究室にて研修。
- 15) 慶應義塾大学医学部解剖学の井村知子氏は、2009年1月13日～1月23日まで、生殖工学事業室にて研修。
- 16) 株式会社ジェー・エー・シーの米山正明氏は、2009年1月28日～1月28日まで、教育活動担当部にて研修。
- 17) 株式会社ジェー・エー・シーの本橋未来氏は、2009年1月28日～1月28日まで、教育活動担当部にて研修。

#### 5. 見学・来所（国内・海外からの来訪者）

##### a. 国内

- 1) 2008年5月21日 1 国立成育医療センター研究所の堀内保臣様が来所、実験動物研究部を見学。
- 2) 2008年5月29日～5月30日 株式会社サンプラネットの加藤隆規様、根本康生様が来所、

試験サービス事業部を見学。

- 3) 2008年6月19日 全北大学校(大韓民国)獣医学研究科および獣医学部の金世洲様ほか3名、麻布大学の山内俊哉様が来所、動物資源管理部およびモニタリングセンターを見学。
- 4) 2008年7月3日 国立医薬品食品衛生研究所療品部の西川隆平様、石川烈様が来所、アネックス棟・解剖室・培養室・X線照射室を見学。
- 5) 2008年7月22日 テルモ株式会社研究開発センターの山本敬様が来所、試験サービス事業部動物試験事業室を見学。
- 6) 2008年7月24日 テルモ株式会社評価センターの田中直子様が見学。
- 7) 2008年9月2日 株式会社エスアールエル医科学分析センターの柳川正様他2名、株式会社エスアールエル・メディサーチ営業部の今井誠様、東洋紡ジーンアナリシス敦賀バイオ研究所の瀬川昌也様が来所、ICLAS モニタリングセンターならびに動物資源管理部を見学。
- 8) 2008年11月10日 万有製薬つくば研究所の大八木篤様、玉井淑貴様が来所、試験サービス事業部ならびにICLAS モニタリングセンターを見学
- 9) 2009年2月25日 慶應義塾大学の羽鳥賢一様、藤本弘一様が来所、マーモセット飼育施設を見学。
- 10) 2009年3月18日 東京大学医科学研究所の田亜敏様他3名が見学。

**b. 海外からの来訪者**

なし

**6. 留学（長期研修）**

**a. 国内留学（研修）**

なし

**b. 国内留学（研修）受け入れ**

- 1) 株式会社ジェー・エー・シーの山田知歩子氏は2008年4月2日～9月1日まで、画像解析研究室にて研修。
- 2) 慶應義塾大学医学部生理学教室の河村佳見氏は、2008年9月3日～12月2日まで、生殖工学研究室・事業室にて研修。
- 3) 加藤レディースクリニックの河野康二郎氏は、2008年12月15日から、マーモセット研究部にて研修。
- 4) 株式会社ジェー・エー・シーの西山理絵氏は、2009年1月19日～2月27日まで、飼育技術研究室にて研修。

**c. 海外留学（研修）**

なし

**d. 海外からの留学（研修）受け入れ**

なし

**7. 許可・認可・承認に関する事項**

なし

## 8. 学位取得

井上 貴史（北海道大学大学院獣医学研究科獣医学専攻平成20年3月25日 博士取得）

## 9. 契約に関する事項

なし

## 10. 寄付金に関する事項

- ・維持会員会費のうち、特定公益増進法人に対する寄付金として受領したもの

8件 14,500千円

- ・日本クレア株式会社

10,000千円

## 11. 主務官庁の指示に関する事項

特になし

## 12. 特許権に関する事項

- ・平成20年4月30日付で、発明の名称「実験動物初期胚のガラス化保存方法」のシンガポールにおける出願が特許登録された（特許番号：131820）
- ・平成21年1月16日付で、発明の名称「ヒト多発性骨髄腫の動物モデル」の出願が特許登録された（特許番号：4245332）
- ・当研究所が保有するNOGマウスに関する米国特許（No. 7,145,055）を米国ジャクソン研究所が侵害しているとして、カリフォルニア北地区連邦地方裁判所に2008年12月12日付けで提訴し、受理された。

## 13. 叙勲・受賞に関する事項

- ・平成21年1月5日、林元展人研究員は、実験動物に対する病原性とその検査法に関する研究に対し、社内表彰された。
- ・平成21年1月5日、川井健司研究員は、病理病態学とその技術の確立の研究開発に対し、社内表彰された。
- ・平成21年1月5日、佐々木えりか研究員ほかTg コモンマーモセット作出チームは、遺伝子導入コモンマーモセットの作出ならびにGFP 遺伝子導入マーモセットの研究開発に対し、社内表彰された。

## 14. 職員数

	男	女	計
役員	15	0	15
研究職	34	12	46
事務職	12	6	18
その他	0	1	1
計	61	19	80

	常 勤	非常勤	計
役員	4	11	15
研究職	32	14	46
事務職	17	1	18
その他	0	1	1
計	53	27	80

## 15. その他

- ・平成 20 年 7 月 25 日、東北大学と研究開発、教育・人材育成などに係る相互協力が可能なすべての分野での連携を目指した協力協定を締結。



## (財)実験動物中央研究所維持会員制度

## 定例会議ならびに学術懇話会

7月29日（火）、東京霞が関の東海大学校友会館において（財）実験動物中央研究所維持会員第27回定例会議ならびに学術懇話会が開催された。会員27社のうち出席者は15社の30名、実中研役員ら11名が出席した。

### プログラム

#### 第27回定例会議

- |           |        |      |
|-----------|--------|------|
| 1. 挨拶     | 理事長    | 野村達次 |
| 2. 研究概要報告 | 副所長    | 玉置憲一 |
| 3. 事業概要報告 | 副所長    | 野村龍太 |
| 4. 経理報告   | 総務経理部長 | 斎藤宗雄 |

#### 学術懇話会

『特別講演』

遺伝子改変マウスを用いた短期発がん性試験の現状

堤 秀樹（中外製薬株式会社）

〔話題提供1〕

日本クレア産 rasH2 マウスと Taconic 社産 rasH2 マウスの発がん感受性比較

浦野 浩司（試験サービス事業部）

〔追加話題〕

rasH2 マウスを用いた超短期発がん性評価法の開発

河部 真弓（株DIMS 医学研究所）

〔話題提供2〕

～モデル動物作製の資源・支援～

◆遺伝子改変動物の作出に有効な生物資源の開発の試みと現状

伊藤 守（実験動物研究部）

◆TaconicArtemis 社の遺伝子ノックダウンマウスのご紹介

大西 保行（事業推進部）

= 懇話会（午後6時～朝日の間） =

## 維持会員に関する業務

- |                    |     |      |
|--------------------|-----|------|
| 1. ヒト悪性腫瘍分与：       | 3社  | 12件  |
| 2. 教育研修、見学：        | 2社  | 2件   |
| 3. 微生物モニタリング・疾病診断： | 22社 | 466件 |

平成20年度 微生物モニタリング・疾病診断検査内訳

動物種	動物数	血清数	その他	合計
マウス	1,197	633	214	2,044
ラット	252	178	14	444
ハムスター類	0	0	0	0
モルモット	27	5	0	32
ウサギ	18	13	0	31
その他	0	0	658	658
培養細胞等	—	—	375	375
合計	1,494	829	1,261	3,584

- |                    |    |    |
|--------------------|----|----|
| 4. 遺伝的モニタリング・遺伝検査： | 1社 | 5件 |
|--------------------|----|----|

平成20年度 遺伝モニタリング・遺伝検査内訳

検査項目	依頼件数	検体数
遺伝モニタリング	0	0
染色体数検査	2	11
遺伝子マッピング	0	0
スピードコンジェニック	3	25
合計	5	36

## 財団法人 実験動物中央研究所維持会員規約

### 第一条（目的）

財団法人実験動物中央研究所(以下、実中研という)は、その事業すなわち、実験動物の開発・改良、動物実験の質的向上、標準化と合理化ならびに臨床医学の発展および新薬の開発に直接結びつくモデル動物の開発等に対する財政的援助を受けることを目的として、実験動物中央研究所維持会員(以下、維持会員という)の制度を設ける。

### 第二条（維持会員の資格）

1. 第一条の目的に賛同した法人で、所定の入会手続きを経て実中研理事会の承認を得たものを維持会員とする。
2. 維持会員は年会費を実験動物中央研究所に納入しなければならない。  
年会費は1口 100 万円、1口以上とする。
3. 退会しようとするときは、その旨を実験動物中央研究所理事会に届け出なければならない。

### 第三条（維持会員の特典）

維持会員は、実中研から次に定める利益を優先的に享受することができる。

- イ. 実験動物ならび動物実験に関する情報提供
- ロ. 実験動物の飼育管理、動物実験手技などに関するアドバイス
- ハ. 実験動物の遺伝学的、微生物学的品質モニタリングの実施ならびに関連事項についての情報提供
- ニ. 特殊実験動物の分与
- ホ. ヒト悪性腫瘍株の分与
- ヘ. 飼育技術ならびに動物実験手技についての研修
- ト. 研究開発プロジェクトへの共同研究加入
- チ. 定期的研究報告会への参加

### 第四条（顧問の嘱託）

1. 実中研は、維持会員制の適正な運営を図るため、寄付行為第 25 条に基づき、顧問をおく。
2. 実中研理事会は、維持会員制に関する重要事項については顧問に諮り、その意見を尊重しなければならない。

### 第五条（維持会の組織）

1. 維持会員は維持会を組織し、毎年 1 回、定例会議を開催するものとする。
2. 定例会議は、臨時会議とともに実中研理事長が召集し、議長はその都度、会員の互選で選出する。
3. 会議は維持会員制に関する事項を審議し、その意見を実中研理事会に具申することができる。実中研の理事及び第 4 条に定める顧問は、会議に出席して意見を述べることができる。
4. 実中研理事会は、維持会員制の運営状況、実中研の研究成果、研究結果に関する報告文書を作成し、定例会議に提出して説明しなければならない。

## 財団法人 実験動物中央研究所維持会員名簿

(平成 21 年 3 月 31 日現在)

アステラス製薬株式会社  
アスヒ<sup>®</sup>オファーマ株式会社  
エーザイ株式会社  
大塚製薬株式会社  
株式会社クレハ  
株式会社コーカ<sup>®</sup>アイソトープ<sup>®</sup>  
株式会社ヘルセウス<sup>®</sup>プロテオミクス  
株式会社ヤクルト本社  
協和発酵キリン株式会社  
参天製薬株式会社  
塩野義製薬株式会社  
セルシ<sup>®</sup>エンテック株式会社  
タカラバイオ株式会社  
大正製薬株式会社

大日本住友製薬株式会社  
大鵬薬品工業株式会社  
第一三共株式会社  
武田薬品工業株式会社  
田辺三菱製薬株式会社  
中外製薬株式会社  
日産化学工業株式会社  
日本たばこ産業株式会社  
日本化薬株式会社  
日本製薬株式会社  
万有製薬株式会社  
明治製菓株式会社  
わかもと製薬株式会社

計 27 社 (50 音順)