

17. 動物管理室

室長 山田 靖子

概要

平成 18 年度に「動物の愛護及び管理に関する法律」¹「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、²「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」³が施行および策定され、それに基づいて感染研内の動物実験に関わる規程が策定および改正された。平成 19 年度は新規程に則った運用を開始し、初年度の大きな作業は、感染研内のすべての動物実験施設の所長による承認であった。動物実験委員会は各動物実験区域から施設申請書を提出させ、飼養・保管等に関して現場立ち入り調査を行い、所長に結果報告を行った。すべての施設は所長の承認を得たが、改善すべき事項に対して今後改善計画を進めることとなる。

感染研では生物学的製剤の国家検定に国内ブリーダー生産のモルモットを使用しているが、従来使用していたクリーングレードの生産が打ち切られることになった。検定担当部によりデータの再現性が確認された後、SPF グレードに切り替えられた。また、戸山庁舎においては動物輸送箱をリサイクル用プラスチック容器に変更した。

平成 19 年度にバイオリスク管理委員会は感染研から搬出される物品を検査する体制を立ち上げた。感染研から搬出される動物については、動物管理室が梱包時の確認を行うこととなり、搬出チェックリスト等のルールを策定した。

戸山庁舎動物実験管理区では、洗浄室にパスルーム、管理区出入り口に手洗い用流し台、各飼育室に緊急放送受信用スピーカーを設置し、管理区の運用面で従来の問題点を払拭することができた。

村山庁舎では、動物飼育担当者が飼育中のカニクイザルに咬まれる事故が 1 件発生した。事故報告を行い、その後の健康調査を続けて問題がないことを確認した。また、動物管理室内の連絡体制など善後策を検討した。

動物管理室は、動物実験施設の管理運営を業務とし、その一環として動物実験施設の定期的微生物検査を行っている。また、昨年度に引き続き、実験動物に関する研究を行なった。実験動物の感染症に関する研究では、マウス肝炎ウイルスの感受性におけるリセプターの役

割について、モルモットサイトメガロウイルスの血清診断法について研究を進めた。モデル動物の開発研究では、麻疹ウイルス病態モデルとしてのカニクイザル、およびガングリオシドーシスの治療モデルの研究を行った。

所外からの施設見学および講演希望に対して、5 月中国動物実験施設視察団、6 月東京大学獣医学科、10 月ソウル大学、12 月アジアバイオセーフティ地域研修会に対応した。また、国内から動物実験施設の管理運営の研修を目的とした研究生 1 名を受け入れた。

平成 20 年 3 月に主任研究官 須崎百合子、動物飼育担当 増子芳郎が定年退官を迎えた。

講習会開催及び動物管理区の利用状況

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当し、講習会を開催している。平成 18 年度に動物実験に関わる感染研内の各種規程を改正したが、改正後の講習会を受講した人数は 534 名となり、平成 19 年度に申請された動物実験計画は 274 件であった。

動物実験委員会の講習会とは別途に、戸山・村山各庁舎ではそれぞれの動物実験施設の利用方法および実験動物の飼養・保管に関する講習会を行い、受講者を施設利用者として登録している。各施設の利用登録者数は平成 20 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 338 人、村山庁舎 180 人である。

実験動物施設利用者講習会および動物実験講習会 実績

開催月日	開催場所	受講者数		
		施設利用 (戸山)	施設利用 (村山)	動物実験 (全所)
4月9日	戸山	26		43
6月5日	戸山	18		21
7月17日	戸山	1		3
7月17日	村山		2	
7月19日	村山		6	
8月1日	戸山	9		13
10月2日	戸山	13		16

10月17日	村山		1	
11月19日	戸山			2
12月4日	戸山	7		9
12月4日	戸山			1
12月21日	村山		2	
1月29日	戸山			1
2月1日	戸山	8		11
合計		82 (新規)	11 (新規)	120 (年度内 受講者数)

(斜字は外国人対照講習会)

業績

調査・研究

I 動物実験施設の微生物モニタリング

I-1 定期検査

戸山、村山両庁舎の各飼育室にモニター動物を配置し、月一回定期的に微生物モニタリングを行っている。結果は別表1に示す。緑膿菌、黄色ブドウ球菌に陽性が散見されたが、これらはいわゆる日和見病原体で免疫機能が正常な動物には病原性はない。それ以外の病原体については全て陰性であり、飼育室は清浄に保たれている。

[網 康至、須崎百合子、滝本一広、田原口元子、平井明香、増子芳郎、小川敏雄、山田靖子]

II 実験動物の感染症に関する研究

II-1 異なる受容体を持つマウスのマウス肝炎ウイルス感受性に関する研究

マウス肝炎ウイルス(MHV)は CEACAM1 を受容体として利用し、感受性 C57BL/6 (B6/R1) マウスは CEACAM1a(R1)を、抵抗性 SJL マウスは CEACAM1b(R2)を発現している。両系統の MHV 感受性が受容体に依存するかを検討するため、遺伝子組換えにより R1 を R2 に置換した C57BL/6 (B6/R2) マウスを作製した。B6/R2 マウスにおける R2 蛋白の発現は、B6/R1 マウスの R1 および SJL マウスの R2 と同程度であることが確認された。そこで、B6/R1 および SJL マウスと共に MHV-A59 を感染させ、生存率および組織中のウイルス力価を検討した結果、B6/R2 マウスは B6/R1 マウスと比べ MHV 感染時の生存率が顕著に高く、肝、脾、脳および血液中のウイルス力価は著しく低かった。また、B6/R2 マウスは、R2 を保有する

SJL マウスより高い抵抗性を示した。以上のことから、C57BL/6 と SJL の感受性の差は、CEACAM1 (R1,R2)の受容体活性だけでは説明できないと考えられ、本遺伝子以外にも MHV 感受性に関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。[平井明香、網康至、山田靖子、田口文広¹⁾(¹⁾ウイルス第3部]

II-2 モルモットサイトメガロウイルス血清診断法の検討

モルモットサイトメガロウイルス(GPCMV)はヨーロッパでは高頻度の実験用モルモットに汚染が確認されているが、日本では調査さえ行われていない。日本の汚染検査を行う目的で、血清診断法を検討した。第1にGPCMV感染細胞の Lysate を抗原として ELISA を試みた。感染モルモット血清を陽性コントロールとしたが、陽性血清で十分な反応が得られなかった。第2にGPCMV感染細胞をスライドグラス上で固定し、蛍光抗体法を試みた。感染血清で細胞の核部分に十分な蛍光反応を得たが、検査した血清の中には感染細胞の核と反応するものがあり、特異的な反応との区別が付きにくいことが判明した。第3に発現させたGPCMV-IE2蛋白を抗原としたELISAを試みたが、感染血清で十分な陽性反応が得られなかった。さらなる検討が必要である。

[山田靖子、田原口元子、滝本一広、野沢直樹¹⁾、井上直樹¹⁾(¹⁾ウイルス第1部]

III モデル動物の開発

III-1 麻疹ウイルス感染症モデル動物の開発と病態解析

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにする目的で、感染自己単核細胞を視床に接種したカニクイザル2頭について、脳内における麻疹ウイルスの持続感染について検討を行っている。血清中の抗麻疹ウイルス抗体の反応性を感染 B95a 細胞溶解産物を抗原としてウエスタンブロッティング法により解析を行ったところ、脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出された個体では、感染1年後から分子量16~18kDの蛋白を認識する抗体がこの個体だけに観察された。現在この反応する蛋白について解析中である。

[網 康至、須崎百合子]

III-2 低分子化合物 NOEV の GM1 ガングリオシドーシス治療効果について

培養細胞系で酵素還元効果が認められている NOEV (1mM) を飲水に混ぜて若齢(約2ヶ月齢)のBK48マウスに長期(7ヶ月)間投与し、脳のGM1およびアジアロ

GM1 の蓄積量の変化について生化学的に調べた。投与群の GM1 は非投与群に比べ、大脳で 32.3%、基底核で 37.5%、小脳で 22.8%、脳幹で 39.3% に減少し、投与群のアシアロ GM1 は非投与群に比べ、大脳で 37.1%、基底核で 41.1%、小脳で 33.7%、脳幹で 59.5% に減少した。若齢時から NOEV を投与したことにより、GM1 および GA1 の蓄積が抑制されたことが示唆された。[滝本一広、鈴木義之¹⁾(¹⁾国際医療福祉大学大学院]

発表業績一覧

I 誌上発表

I-1 欧文発表

- 1) Hara M, Kikuchi T, Sata T, Nakajima N, Ami Y, Sato Y, Tanaka K, Narita T, Ono F, Akari H, Terao K, Mukai R. (2007): Detection of SRV/D shedding in body fluids of cynomolgus macaques and comparison of partial gp70 sequences in SRV/D-T isolates. *Virus Genes*. 35(2):281-8.
- 2) Fumio Ike, Franck Bourgade, Kazutaka Ohsawa, Hiroshi Sato, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Kazuhiro Takimoto, Yasuko K Yamada, Jean Jaubert, Marion Berard, Hatsumi Nakata, Noriko Hiraiwa, Kazuyuki Mekada, Akira Takakura, Toshio Itoh, Yuichi Obata, Atsushi Yoshiki, and Xavier Montagutelli. (2007): Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice. *Comparative Medicine*. 57(3):272-281.
- 3) Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Ohkubo M, Watanabe H, Iwasaki H, Matsuda J, Noguchi Y, Takimoto K, Itoh M, Tabe M, Iida M, Kubo T, Ogawa S, Nanba E, Higaki K, Ohno K, Brady RO. (2007): Chemical chaperone therapy: clinical effect in murine G(M1)-gangliosidosis. *Annals of neurology*. 62(6):671-675.

I-2 和文発表

- 1) 網 康至(2007): SSPE モデル動物開発の試み。日本臨床、65(8)、1506-1512.
- 2) 山田靖子(2007): 実験動物の感染症 マウス肝炎ウイルス(MHV)の現状と課題 。アニテックス、19 (2) 48-50.

学会発表

II-1 国内学会

- 1) 田原口元子、牛尾博子、滝本一広、山田靖子：マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割。第 14 回日本獣医学会学術集会、平成 19 年 4 月、筑波。
- 2) 福士秀悦、前田 健、平井明香、新倉 綾、山田靖子、横山 勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川 茂：コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析。第 55 回日本ウイルス学会、平成 19 年 10 月、札幌。
- 3) 福士秀悦、平井明香、新倉 綾、山田靖子、前田 健、吉川泰弘、横山 勝、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川 茂：コウモリ由来 ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析。人と動物の共通感染症研究会学術集会、平成 19 年 11 月、東京。
- 4) 山田靖子：動物実験におけるバイオセーフティ。第 7 回日本バイオセーフティ学会総会、平成 19 年 11 月、東京。
- 5) 滝本一広：ELISA による実験動物の LCMV 汚染検査、理研シンポジウム「マイクロ流体チップの研究開発- デバイス開発と感染症検査分析への応用-」、平成 20 年 2 月、和光。

動物管理室

(別表1)

定期的微生物モニタリング成績

病原体検査項目		検査方法	年間検査結果 (陽性数/検査数)					
			戸山庁舎			村山分室		
			マウス	ウサギ	モルモット	マウス	ウサギ	モルモット
サルモネラ	Salmonella spp.	培養	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/264	0/2	0/10	82/192	0/72	0/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	28/264	0/11	21/55	65/192	0/72	58/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/264			0/192		
肺バツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/264			0/192		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/264			0/192		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/264			0/192		
ウサギバツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/72	
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/72	0/96
溶血連鎖球菌	Streptococcus zooepidemicus	培養			0/10			0/96
肺炎球菌	Streptococcus pneumoniae	培養			0/55			0/96
センダイウイルス	Sendai virus (HVJ)	血清反応	0/264	0/2	0/10	0/192	0/72	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus (MHV)	血清反応	0/264			0/192		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/96			0/64		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/96			0/64		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/264					
スピロヌクレウス (ヘキサミタ)	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/264					
ネズミ盲腸蟻虫	Syphacia spp.	鏡検	0/264					
ネズミ大腸蟻虫	Aspicularis tetraptera	鏡検	0/264					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/264					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/264					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/264					
コクシジウム	Eimeria caviae, Eimeria spp.	鏡検		0/2	0/10			
嚢尾虫	Cysticercus pisiformis	剖検・肉眼所見		0/2				
ウサギ疥癬ダニ	Psoroptes cuniculi	鏡検		0/2				

(空欄は検査を実施していない)