

2019年度 麻布大学 附置
生物学総合研究所紀要

Report of Research Institute of Biosciences
Azabu University

No. 30



生物科学総合研究所紀要 30 号

目次

生物科学総合研究所概要	1
生物科学総合研究所教職員.....	2
生物科学総合研究所組織図.....	4
生物科学総合研究所見取図.....	5
生物科学総合研究所規則.....	8
生物科学総合研究所紀要投稿規程.....	11
研究部門の活動状況	13
研究総括	14
プロジェクト No. P17-01	14
プロジェクト No. P17-03	16
共同利用施設部門	21
共同利用各施設部門	22
研究部門	22
各施設部門.....	22
動物実験施設.....	22
検疫動物飼育施設.....	22
SPF 動物実験施設	22
Clean 動物飼育施設	23
Conventional 動物飼育施設	23
感染実験施設.....	23
化学物質毒性実験施設.....	23
水生生物飼育施設.....	23
ラジオアイソトープ実験施設.....	23
遺伝子組換え実験施設.....	23
テーマ別活動状況	27
麻布大学バイオセキュリティー教育講演	73

生物学総合研究所概要

生物科学総合研究所教職員

所 長	教 授 (兼務) 医学 博士	佐原 弘益
	教 授 (兼務) 獣医学博士	田原口智士
	教 授 (兼務) 獣医学博士	白井 明志
	教 授 獣医学博士	落合 秀治
事 務 室 (学術支援課)	課 長	角野 由香
	主 査	新 篤志
	主 査	青野 和憲

【研 究 部 門】

部門長 : 田原口智士 (獣医学部 教 授)

○プロジェクト No.P17-01

研究テーマ「疾患モデルおよび遺伝子改変動物個体・細胞を用いた受精・発生メカニズムの解明に関する研究」

研究期間：平成 29 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

プロジェクト班長： 伊藤 潤哉 (獣医学部 准教授)

プロジェクト班員： 柏崎 直巳 (獣医学部 教 授)

プロジェクト班員： 久松 伸 (生命・環境科学部 講 師)

○プロジェクト No.P17-03

研究テーマ「化学物質の毒性発現機序に関する研究」

研究期間：平成 29 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

プロジェクト班長： 和久井 信 (獣医学部 准教授)

プロジェクト班員： 村上 賢 (獣医学部 教 授)

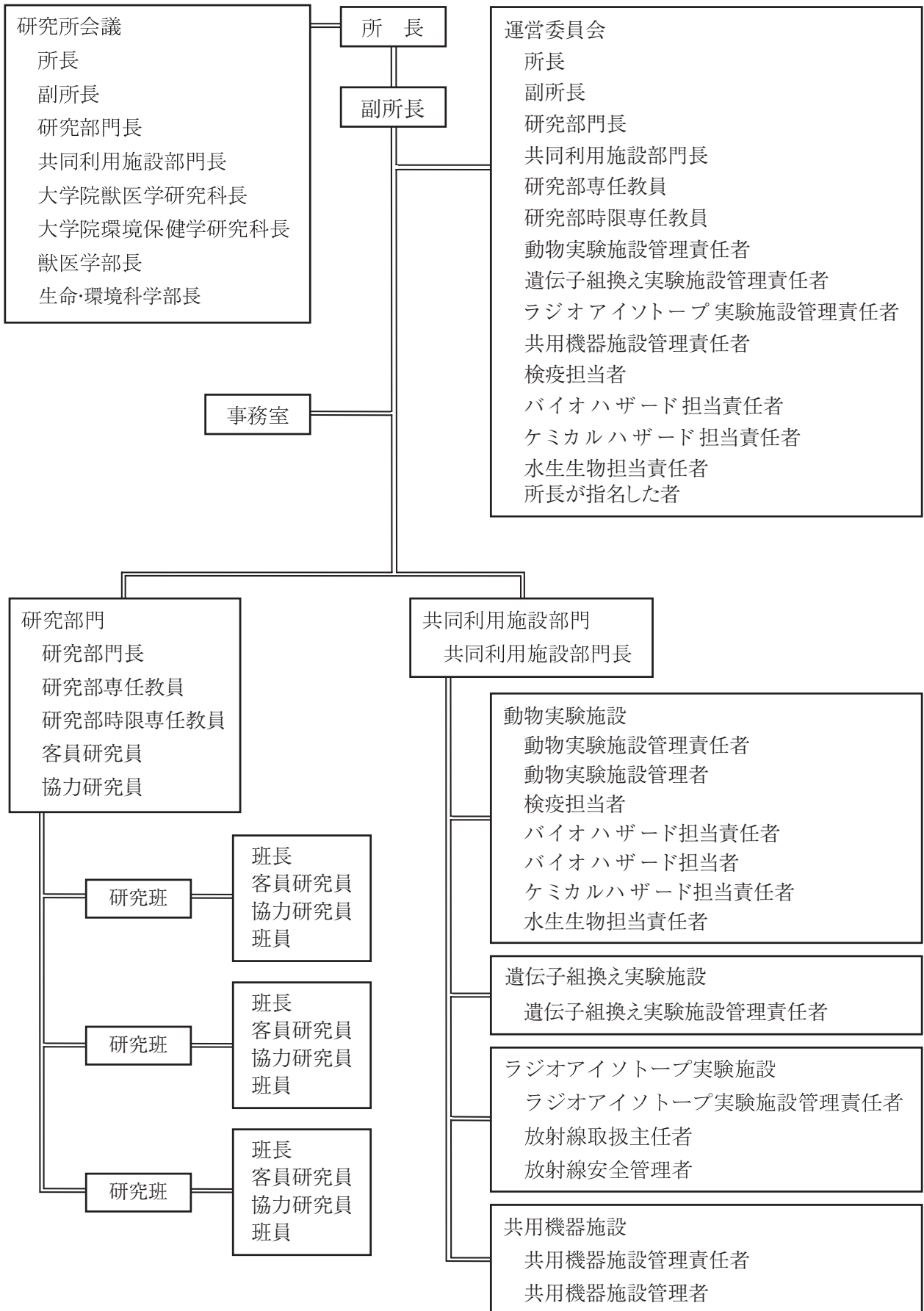
プロジェクト班員： 高木 敬彦 (獣医学部 教 授)

プロジェクト班員： 猪股 智夫 (獣医学部 教 授)

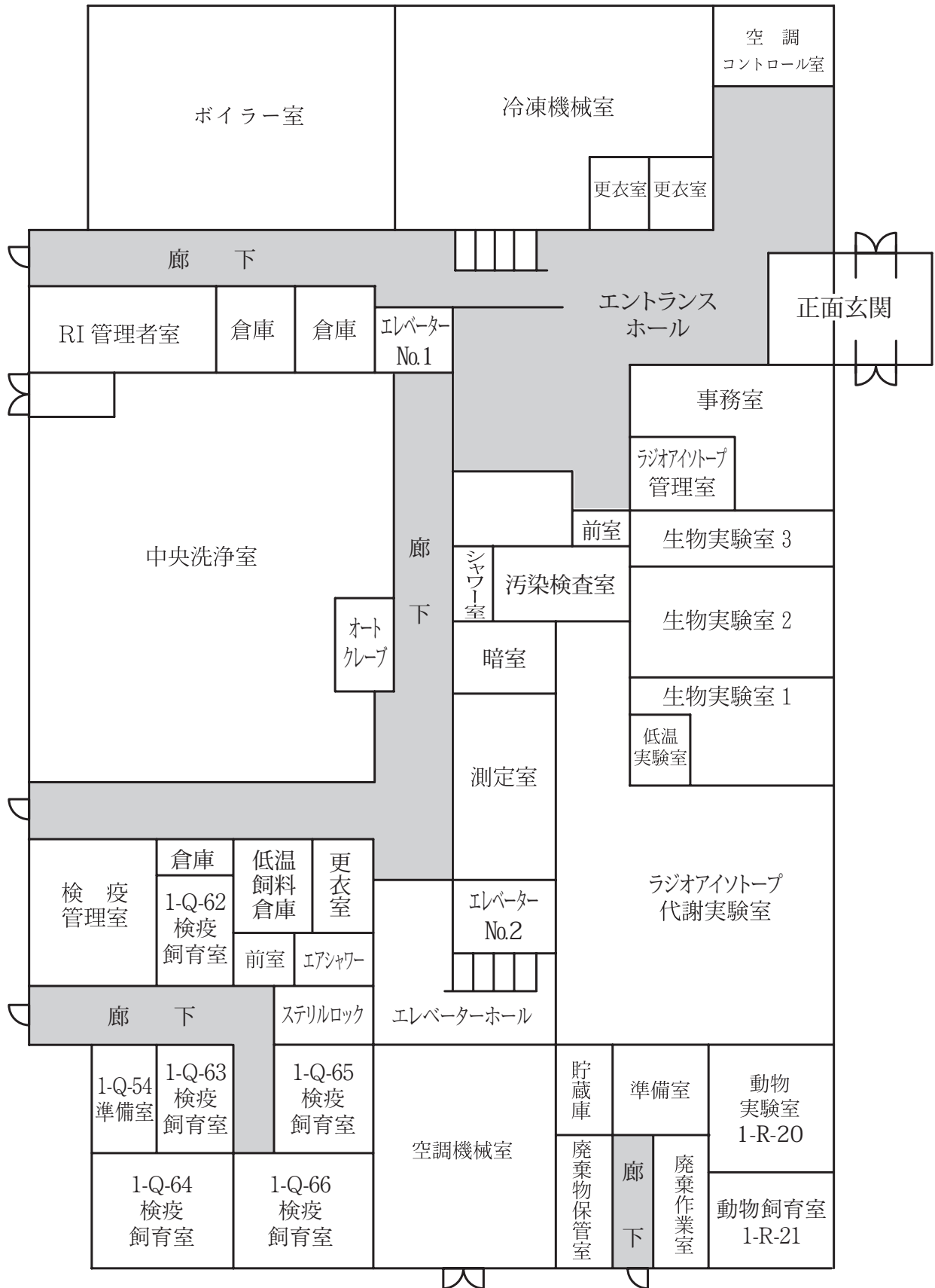
【 共 同 利 用 施 設 】

共同利用施設	氏 名	職 名
共同利用施設部門 共同利用施設部門長	栗林 尚志	生命・環境科学部 教授
動物実験施設 動物実験施設管理責任者 動物実験施設管理者 検疫担当者 バイオハザード担当責任者 バイオハザード担当者 ケミカルハザード担当責任者 水生生物担当責任者	田原口智士 須永 藤子 須永 藤子 平 健介 須永 藤子 白井 明志 松井 久実	獣 医 学 部 教 授 獣 医 学 部 准教授 獣 医 学 部 准教授 獣 医 学 部 准教授 獣 医 学 部 准教授 獣 医 学 部 教 授 獣 医 学 部 講 師
組換え DNA 実験施設 組換え DNA 実験施設管理責任者	佐原 弘益	獣 医 学 部 教 授
ラジオアイソトープ実験施設 ラジオアイソトープ実験施設管理責任者 放射線取扱主任者 放射線安全管理者	恩田 賢 落合 秀治 落合 秀治	獣 医 学 部 教 授 生物科学総合研究所 教 授 生物科学総合研究所 教 授
共用機器施設 共用機器施設管理責任者 共用機器施設管理者	栗林 尚志 落合 秀治	生命・環境科学部 教 授 生物科学総合研究所 教 授

生物科学総合研究所組織図



生物科学総合研究所見取図 1階



生物科学総合研究所見取図 2階

2-S-2 飼育室		前室	空調機械室				前室	前室	2-A-32 飼育室
前室	2-S-4 飼育室	前室					前室	2-A-34 飼育室	
廊下	2-S-7 飼育室	前室	エレベーター No.1		エレベーター ホール	廊下	前室	2-A-40 飼育室	
	2-S-9 飼育室	前室	ステリルロック	2-A-41 飼育室					
	2-S-11 飼育室	前室	2-A-44 飼育室		前室		2-A-42 飼育室		
	2-S-13 飼育室	前室	2-A-36 飼育室	前室	2-A-45 実験室				
	2-S-15 飼育室	前室	2-A-38 飼育室	前室					
	2-S-17 飼育室		前室	飼料倉庫			解剖室	処置室	
	オートクレーブ		ステリル ロック	更衣室	エレベーター No.2		2-A-49 準備室		
作業室			エレベーター ホール	2-A-50 飼育室					
倉庫				空調機械室		前室	2-A-51 飼育室		

生物科学総合研究所見取図 3階

3-T-7 高温 飼育室	3-T-8 低温 飼育室	前室	廊 下	空調機械室		3-I-31 飼育室			
3-T-4 飼育室		前室							
		3-T-6 飼育室				前室	3-I-35 飼育室	3-I-34 飼育室	
3-T-10 飼育室		前室				エレベーター No.1	エレベーター ホール	3-I-37 飼育室	3-I-36 飼育室
		実験 前室	3-T-11A 原子吸光 設置室	3-T-11C GCSM 設置室	3-I-39 飼育室	3-I-38 実験室			
3-T-13 実験室		3-T-12 電子スピ ン共鳴装 置設置室		廊 下	更衣室	廊 下	脱衣室	3-I-41 飼育室	3-I-40 飼育室
					更衣室		脱衣室	3-I-43 飼育室	3-I-42 飼育室
秤量 室	3-T-14 準備室		廊 下	廊 下	更衣室	廊 下	脱衣室	洗浄室	
3-T-16 高分解能 ガスクロマトグラフ 質量分析計 設置室					3-T-15 クローズ キャビネット 設置室		更衣室		
		3-T-18 飼育室		廊 下			廊 下	更衣室	脱衣室
3-T-20 飼育室					廊 下	廊 下		エレベーター ホール	エレベーター No.2
		3-T-21 飼育室		廊 下			廊 下	空調機械室	
前室	3-I-53 飼育室								
3-T-21 飼育室		廊 下	廊 下	空調機械室		前室	3-I-55 飼育室		
						前室	3-I-57 飼育室		

麻布大学生物科学総合研究所規則

(昭和63年11月24日)
制 定

(総則)

- 第1条 麻布大学学則第5条の規定するところにより、麻布大学生物科学総合研究所（以下「研究所」という。）を設置する。
- 2 研究所の国際公称は Azabu University Research Institute of Biosciences とし、その略称を AURIB とする。

(目的)

- 第2条 研究所は、生物科学及びこれに関連する学術分野に関する総合的な研究機能を果すとともに教育の充実を図り、あわせて国内外における当該分野での学術交流の発展に寄与することを目的とする。

(組織及び体制)

- 第3条 研究所に、次の部門を置く。

(1) 研究部門

研究部門は、時限課題研究（原則として5年以内）を遂行する3～5の研究班（研究プロジェクト）により構成される。各研究班（研究プロジェクト）は、次の教員により構成され、研究班のリーダーは原則として専任教員又は時限専任教員とする。

ア. 専任教員

専任教員は、研究班の構成員となる他、研究部門長及び共同利用施設部門長を補佐する。専任教員は学部教授会構成員とする。

イ. 時限専任教員

時限専任教員の任期は、時限付研究プロジェクト期間（5年以内）中とし、時限専任教員は学部研究室兼務とするが、任期中は原則として研究所専任とし、学部教授会構成員とする。

ウ. 研究班員

研究班員は、学部教授会構成員とし、研究所を兼務する。研究班（研究プロジェクト）に時限で参加する。

エ. 研究班友

研究班友は、学部教授会構成員とし、研究所兼務ではなく随時研究班に参加する者とする。

オ. 客員研究員及び協力研究員

研究部門には、必要に応じて客員研究員及び協力研究員を置くことができる。客員研究員及び協力研究員に関する規程は別に定める。

(2) 共同利用施設部門

共同利用施設部門は、次の施設から構成される。

ア. 動物実験施設

動物実験施設には、生理機能試験、代謝試験、感染試験、毒性試験及び水生生物試験等が行えるエリアを設置する。

また、動物実験施設の管理・運営のため、動物実験施設管理責任者を置き、その下に検疫担当者、バイオハザード担当者、ケミカルハザード担当者、水生生物担当者を置く。

イ. ラジオアイソトープ実験施設

ラジオアイソトープ実験施設には、ラジオアイソトープを用いた実験を管理・統括するため、

ラジオアイソトープ実験施設管理責任者を置く。

また、ラジオアイソトープの安全管理には、放射線取扱主任者及び放射線安全管理者が参画する。

ウ. 遺伝子組換え実験施設

遺伝子組換え実験施設には、遺伝子組換え実験を管理・統括するため、遺伝子組換え実験施設管理責任者を置く。

エ. 共用機器施設

生物科学総合研究所に共用機器施設を置く。共用機器の保守管理、利用者へのサービス業務を行うため、施設に共用機器施設管理責任者、各機器担当者を置く。

2 部門に関する細則は、別に定める。

(研究所長)

第4条 研究所に所長を置く。

- 2 所長は、学長の命を受け、研究所に関する校務をつかさどる。
- 3 所長及び副所長の選考は、学校法人麻布獣医学園人事規則に基づき、理事長が任命する。

(研究所副所長)

第5条 研究所に副所長を置くことができる。

- 2 副所長は、所長を助け、各部門の運営について協力し、調整する。

(研究部門長)

第6条 研究部門に研究部門長を置く。

- 2 研究部門長は、各研究班（研究プロジェクト）における研究活動に関する校務を整理する。
- 3 研究部門長は、教授又は准教授の職にある者をもって充てる。

(共同利用施設部門長)

第7条 共同利用施設部門に共同利用施設部門長を置く。

- 2 共同利用施設部門長は、各施設に関する校務を整理する。
- 3 共同利用施設部門長は、教授又は准教授の職にある者をもって充てる。

(事務室)

第8条 研究所に事務室を置く。

- 2 事務室に関する細則は、別に定める。

(運営委員会)

第9条 研究所に運営委員会を置き、次の事項を審議する。

- (1) 研究部門の運営に関連する事項
 - (2) 研究部門の運営費予算の立案及び執行計画に関する事項
 - (3) 各施設の管理及び運営に関連する事項
 - (4) 各施設の運営費予算の立案及び執行計画に関する事項
 - (5) その他研究部門及び共同利用施設にかかる重要な事項
- 2 運営委員会は、所長、副所長、研究部門長、研究部専任教員、研究部時限専任教員並びに共同利用施設部門長、各施設管理責任者及び所長が指名した者をもって組織する。
 - 3 運営委員会は、所長が招集し、議長となる。

(研究所会議)

第10条 研究所に研究所会議を置き、研究所の運営に関する重要事項を審議する。

- 2 研究所会議は、所長、副所長、研究部門長、共同利用施設部門長、獣医学部長、生命・環境科学部長、大学院両研究科長をもって組織する。
- 3 研究所会議は、所長が招集し、議長となる。
- 4 研究所会議の規則は、別に定める。

(規則の改廃手続き)

第11条 規則の改廃手続きは、運営委員会及び研究所会議の意見を聴いて学長が行う。

(その他)

第12条 この規則に定めるもののほか、必要な事項は、別に定める。

附則

この規則は、昭和63年11月24日から施行する。

附則

この規則は、平成4年12月8日に改正し、平成5年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成7年1月24日に改正し、平成8年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成9年2月19日に改正し、平成9年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成9年7月23日に改正し、平成9年7月1日から適用する。

附則

この規則は、平成10年3月18日に改正し、平成10年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成11年4月21日に改正し、平成11年4月1日から適用する。

附則

この規則は、平成15年2月26日に改正し、平成15年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成19年3月20日に改正し、平成19年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成20年3月5日に改正し、平成20年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成27年3月17日に改正し、平成27年4月1日から施行する。

附則

この規則は、平成31年1月24日に改正し、平成31年4月1日から施行する。

「麻布大学生物科学総合研究所紀要」投稿規程

第1条（趣旨）

麻布大学生物科学総合研究所における学術研究の促進並びに教育への奇与を目的として、麻布大学生物科学総合研究所紀要を発行する。

第2条（発行及び編集）

本誌の編集及び発行は、麻布大学生物科学総合研究所紀要編集委員会（以下「編集委員会」という）が行う。

第3条（発行時期）

本誌は、原則として年1回発行とする。

第4条（原稿執筆者）

本誌に執筆出来る者は、麻布大学生物科学総合研究所プロジェクト研究班長、麻布大学生物科学総合研究所施設利用者並びに編集委員会が執筆を依頼する者とする。

第5条（掲載記事）

掲載記事は麻布大学生物科学総合研究所を用いて生まれた成果内容を中心とする。

しかし、その研究成果が知的財産として申請予定の場合はその旨明らかにした場合掲載を免除する。また、麻布大学生物科学総合研究所が主体となって開催した講演会及び研究プロジェクト報告や教育啓発活動を記事として掲載する。

第6条（転載の禁止）

他の雑誌等に掲載された総説、原著論文、研究ノート、記録、報告、翻訳及び書評は、掲載しない。

第7条（原稿の形式・送付先）

原稿は原則として編集委員会が定めるフォーマットにしたがい日本語若しくは英語とし、事務局まで提出する。

執筆要項は別に定める。

提出先：〒 252-5201

神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71

麻布大学内

麻布大学生物科学総合研究所紀要編集委員会事務局

電話 042-754-7111

第8条（著作権）

本誌に掲載された論文・記事の著作権は、全て編集委員会に帰するものとする。

附則

- 1 この規程は、平成25年10月15日から施行する。

研究部門の活動状況

研究総括

生物科学総合研究所・研究プロジェクト5件の研究テーマについて、平成30年度の研究成果ならびにプロジェクトの概要を報告する。

○プロジェクト No. P 17 - 01

研究テーマ

疾患モデルおよび遺伝子改変動物個体・細胞を用いた受精・発生メカニズムの解明に関する研究

研究期間：2017年度～2019年度

プロジェクト班長：伊藤 潤哉（獣医学部・動物繁殖学研究室）

プロジェクト班員：柏崎 直巳（獣医学部・動物繁殖学研究室）

プロジェクト班員：久松 伸（生命環境科学部・環境遺伝子工学研究室）

【目的】

ほとんどの動物において受精時には卵内 Ca^{2+} イオンの上昇が起こる。この Ca^{2+} イオンの上昇には、精子内の卵活性化因子が必要だと考えられており、現在、最も有力な卵活性化因子として、phospholipase Czeta (PLC ζ) が知られている。最近、genome 編集技術を用いて BDF1 系統を遺伝的背景とする PLC ζ 遺伝子欠損マウス (*Plcz1*^{-/-}) が作製された。この *Plcz1*^{-/-} マウスは、産子数は減るものの完全な不妊にはならなかったことから、PLC ζ の機能についてはさらに検討する必要がある。本研究では、近交系である C57BL6/J マウスを用いて *Plcz1*^{-/-} 欠損マウスを作製し、解析した。

【方法】

大阪大学より分与された *Plcz1*^{-/-} マウスを C57BL6/J マウスに6世代以上戻し交配を行い、C57BL6/J 系統を遺伝的背景とする *Plcz1*^{-/-} マウスを作製した。得られた *Plcz1*^{-/-} 雄マウス (12週齢以上) を野生型の雌マウス (8週齢以上) と交配し、妊孕性を確認した。また *Plcz1*^{-/-} 雄マウス (12週齢以上) の精子を用いて、野生型雌マウスから得られた卵と体外受精を行い、受精率およびその後の胚発生率を調べた。動物実験は麻布大学動物実験委員会 (170324-9) の承認を得て行った。

【結果】

妊孕性の実験において、*Plcz1*^{-/-} マウス由来の平均産子数は約0.2匹であり、*Plcz1*^{+/-} マウス (約6.3匹) と比較して著しい妊孕性の低下が認められた。その理由を明らかにするため、体外受精して受精率を確認したところ、*Plcz1*^{-/-} マウス精子をもちいた受精率は約70%であり、野生型マウス精子を用いた受精率約90%と有意差のない高い割合であった。しかし、*Plcz1*^{-/-} マウス精子由来の受精卵の正常受精率 (2前核) は、約30%であり、野生型マウス精子由来の約90%と比べて著しく低下していた。

【結論】

以上のことから、C57BL6/J を遺伝的背景とした *Plcz1*^{-/-} マウスでは、PLC ζ は卵活性化因子として極めて重要であること、また *Plcz1*^{-/-} 雄マウスの低妊孕性の原因は、体精子受精によることが明らかとなった。

【研究成果】

論文

1. Birth of offspring from spermatid or somatic cell by co-injection of PLC ζ -cRNA
Hirose N, Wakayama S, Inoue R, **Ito J**, Ooga M, Wakayama T.
Reproduction. 2020 Aug; 160(2): 319-330. doi: 10.1530/REP-20-0054
2. Phospholipase C ζ (PLC ζ) versus postacrosomal sheath WW domain-binding protein (PAWP): Which molecule will

survive as a sperm factor?

Nakai M, **Ito J**, Suyama A, Kageyama A, Tobar Y, Kashiwazaki N.

Anim Sci J. 2020 Jan; 91(1): e13345. doi: 10.1111/asj.13345.

3. Production of mouse offspring from inactivated spermatozoa using horse PLC ζ mRNA

Yamamoto Y, Hirose N, Kamimura S, Wakayama S, **Ito J**, Ooga M, Wakayama T.

J Reprod Dev. 2020 Feb 14; 66(1): 67-73. doi: 10.1262/jrd.2019-043. Epub 2019 Dec 18.

○プロジェクトNo. P17－03

研究テーマ

化学物質の毒性発現機序に関する研究

研究期間：2017年4月1日～2020年3月31日

プロジェクト班長：和久井 信

プロジェクト班員：村上 賢

プロジェクト班員：高木 敬彦

プロジェクト班員：猪股 智夫

Intero di(*n*-butyl) phthalate delays spermatogenesis in adult rats

ABSTRACT

Phthalates are plasticizers that confer flexibility and transparency to plastics, but they readily contaminate the body and the environment. Di(*n*-butyl) phthalate (DBP), now regarded as an endocrine disruptor. Our previous study demonstrated that in utero experiment of DBP induced low testosterone levels in rats. The stability of the duration of the cycle of the seminiferous epithelium was determined by investigating incorporation of 5-bromodeoxyuridine (BrdU) into S phase germ cells of normal and in utero 100 mg/kg DBP exposed SD rats. On day 9 or 17 weeks old, 100 mg/kg of BrdU was given intraperitoneally; 3 hours later one testis was removed, and the remaining testis was excised 12 days later. BrdU was localized in davidson-fix, paraplast-embedded testes using immunogold silver staining, and sections were counterstained with periodic acid Schiff and hematoxylin to permit identification of the spermatogenic stages. DBP significantly reduced the frequency of stage VII tubules and increased the frequency of stage IX and stage X tubules. Furthermore, by 12 days later, BrdU-positive germ cells were seen in 26% or 17% of stage IX control tubules, whereas in DBP-treated rats BrdU-labeled germ cells were not present in stage IX tubules and the calculated duration of the spermatogenic cycle was significantly increased in the DBP administrated animals (9 weeks old: DBP group 12.76 ± 0.09 vs. control group 12.31 ± 0.008 days; 17 weeks old: DBP group 12.90 ± 0.07 vs. control group 12.40 ± 0.05 days). These findings demonstrate that the duration of the cycle of the seminiferous epithelium can be altered experimentally in the adult Sprague-Dawley rat in utero DBP injection. Moreover, duration of them it was typically at older rats group.

Materials and Methods

Animals, chemicals, and experiment design

Di(*n*-butyl)phthalate (DBP; 99.8% pure) was obtained from Tokyo Kasei Kogyo Co. (Tokyo, Japan). Eight-week-old time-mated, female Sprague-Dawley rats (F0 = 20) were procured from Japan SRL Co. (Shizuoka, Japan) on gestation day 0, the day copulation was confirmed. Ten (10) pregnant females were used for the control treatment group and an additional ten pregnant rats received the DBP (100 mg/Kg/day) dosing; therefore, each treatment group comprised 50 male offspring. Upon arrival, to ensure equal weight distribution among groups, animals were assigned into treatment groups using body weights. The dams were housed individually in polycarbonate cages with wood chips as bedding.

Animals were housed in a HEPA-filtered, mass-air-displacement room maintained on a 12-hr light-dark cycle at 22 ± 2 °C and $55\% \pm 5\%$ relative humidity and fed a conventional diet (MF, Oriental Yeast, Tokyo, Japan). All experimental procedures were conducted under Animal Care and Used Committee approval at Azabu University School of Veterinary Medicine. We followed the guidelines set by the National Institutes of Health and Public Health Service Policy on the Humane Use and Care of Laboratory Animals. Pregnant rats (n = 10 per group) were treated intragastrically (i.g.) with 100 mg/Kg/day DBP (Tokyo Kasei Kogyo Co.) in corn oil (Nacalai Tesque Inc., Tokyo, Japan) or with an equivalent volume of corn oil (control group; ~0.5 ml/animal, i.g.) on days 12 through 21 post-conception. The phthalate dose was chosen based on several previous studies describing adverse effects on fetal rats at the level of 100 mg/Kg/day (Mylchreest et al.

2002, Barlow and Foster 2003, Motohashi et al. 2016a,b). The offspring were sexed at birth, and litters were randomized mathematically reduced on day one so that each dam (n = 10 per treatment group) was left with ten offspring (five males and females per dam). Weaning was performed on day 21 postpartum, and then males were placed three per cage.

Bromodeoxyuridine (BrdU) incorporation

At the day of 9 or 17 weeks old of treatment BrdU was administered. Three hours later the left testis was removed under ether sedation as described previously (Rosiepen94). After on day 12 days and 3 hr., the animals were anesthetized using CO2 and decapitated. Testis and epididymal weight were recorded. Each testis was immersion- fixed in Davidson fluid for 2 days, dehydrated, embedded in paraffin (Lancaster, Oxford), and cut at 4µm.

The immunolocalization procedure has been described in detail previously (Rosiepen94). Briefly, sections were exposed to HCL for denaturation of DNA in a microwave oven (60% of maximal power for 7 minutes), and DNA was digested using trypsin. BrdU was visualized by means of a monoclonal antibody against BrdU (Dako Diagnostica) and the immunogold-silver staining method. Sections were counter stained with period acid Schiff (PAS) and hematoxylin to allow the identification of spermatogenic stages according to the criteria of Leblond and Clermont 52.

Cycle duration was determined as described earlier (Rosipen 1994). For each animal one transverse testicular cross section from the equatorial region was evaluated. These sections contained 500-800 seminiferous tubule cross sections, and all tubules per testicular cross section were analyzed. The number of tubules in a certain spermatogenic stage (stage frequency) and the number of tubules of a certain stage having BrdU labeled cells (staining frequency) was determined. If cycle duration is exactly 12 days, the percentage of seminiferous tubules of a given stage containing labeled cells of a certain type would be the same at 3 hours and 12 days 3 hours. If the BrdU label at the second time point was present in an earlier, or later, stage relative to the reference time point, the time differences were estimated on the basis of stage and staining frequencies of the involved stages. Thus, the actual duration represents 12 days plus or minus the time difference. For example, the duration of the cycle for one rat was calculated as follows: in the 3 hours testis, 100% of stage IX tubules (stage IX frequency was 3.12%) displayed the most advanced BrdU labeled cells. At 12 days 3 hours, the label had progressed to 36.44% of stage VIII tubules (stage VIII frequency was 7.66%). The time difference was calculated by the formula: time difference =

$\{(100 - 36.44^a) \times 7.66^b + (100^c \times 3.12^d)\} / 100 = 9.14\%$, where ^a is staining frequency of stage VII tubules at 12day3hours, ^b is the stage frequency of Stage VIII at 12 days 3 hours, ^c is the staining frequency of stage IX tubules at 3hours, and ^d is the stage frequency of stage IX tubules at 3 hours. Thus, the most advanced labeled cells did not encompass a full cycle by a time lapse of 7.98%. That is, the duration of the spermatogenic process was 7.98% longer than 12 days, i.e. 12.95 days.

Results

The most advanced BrdU label was encountered in stages VII~X. Thus, the frequency of these stages was determined at both time points (Tables 1-2). In DBP-treated rats, the frequency of stage VII was significantly reduced on at the day 9 or 17 weeks old and at on both the 12 days after them; stage VIII frequency was reduced at on both the 12 days after the day 9 or 17 weeks old. Stage IX frequency had increased significantly on at the day 9 or 17 weeks old and at on both the 12 days after them, whereas the frequency of stage X was elevated on at the day 9 or 17 weeks old and at on both the 12 days after them.

The staining frequencies for stages VII~X, i.e., the proportion of respective stages exhibiting the BrdU label, are listed in Tables 1-2. By on at the day 9 or 17 weeks old the staining frequency was significantly lower in stages VII and VIII but was higher in stage IX and X in the DBP treated group compared to the vehicle group. In contrast to the vehicle group, the BrdU label did not reach stage IX in the DBP group at on both the 12 days after the 9 or 17 weeks old.

The calculated duration of the cycle of the seminiferous epithelium was 12.31 ± 0.008 days in 9 weeks old control group, and 12.40 ± 0.056 days in 17 weeks old control group, and significantly longer in DBP groups; 12.76 ± 0.093 and 12.90 ± 0.076 respectively (Tables 1-2).

Discussion

The aim of the present investigation was to clarify whether the duration of the cycle of the adult rats seminiferous epithelium can be manipulated experimentally in the in utero DBP injected.

The duration of seminiferous epithelium cycle in SD rats was estimated to be the 12 day interval, were 12.49 ± 0.05 days (Rosiopen et al. 1994), and 12.37 ± 0.05 days (Rosiopen et al. 1995) in a previous studies using BrdU methods. In the present study the duration of seminiferous epithelium cycle in SD rats was 12.31 ± 0.008 or 12.40 ± 0.056 respectively. The most advanced labelled cells, 3hr after injection BrdU were the preleptotene and the leptotone spermatocytes of stage VII-X. This result is similar to that described using $[^3\text{H}]$ thymidine and autoradiography (Clermont and Harvey 1965).

The present study has replicated previous data on the stage frequency, and effects on in utero DBP injection group. but the more significant finding is that the duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the adult rat can be occurred without disruption and disorganization of the seminiferous epithelium. Cycle duration was control was significant increase into DBP group 12.76 ± 0.093 days at 9 weeks old, and was control was significant increase into DBP group 12.90 ± 0.076 days at 17 weeks old. Moreover it has also been reported that the duration of the cycle is shorter in young rats (Clermont and Petery 1957) and mice (Kluin et al. 1982, Janca et al. 1986) than in elder animals. In the present study also the duration of the cycle of the rats seminiferous epithelium was significantly shorter at 9 weeks old than 17 weeks old rats.

The entire spermatogenic process requires four spermatogenic cycles in the rat, and, hence, total duration of spermatogenesis increased from 50 to 54 days under the influence of DBP. These findings demonstrate that the duration of the spermatogenic cycle of the adult rat can be manipulated. DBP significantly reduced the frequency of stage VII tubules and relatively increased the frequency of stage IX and stage X tubules. How does DBP prolong the duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the adult rat? We currently do not know the answer to that question, but several possibilities can be discussed. An endocrine cause for the observed effects of DBP on cycle length is likely because DBP significantly diturbe the hypothalamic-pituitary-testicular axis (T secretion reduced).

The most advanced germ cells carrying the BrdU label in the DBP group rats were preleptotene and leptotene spermatocytes in stages VIII~X. The present study could be assumed that DBP prevented the development of these cells beyond stage VII.

The alterations of Leydig cells coincided with the appearance of spermatogenic alterations (Motohashi et al. 2016a,b). Our favored speculation is that DBP has affected Leydig cells function and might have changed an intrinsic program growing the timing of the delopment of germ cells and spermatogenic stages.

In rats, the use of BrdU made it possible to calculate the duration of the cycle of the seminiferous tubules (Ehmcke et al. 2005). It was also determined to be a uesful method for evaluating cellular proliferation in somatic cells and the cell cycle in spermatogonia and spermatocytes (Monesi 1962). BrdU was used in this study to demonstrate well defined areas of labeling, such as speckles, which clearly distinguish the nuclear regions that do not incorporate BrdU, thus permitting high resuolution images.

References

- Albro, P.W. (1987). The biochemical toxicology of di-(2-ethylhexyl) and related phthalate: testicular atrophy and hepatocarcinogenesis. *Rev Biochem Toxicol* **8**, 73-119.
- Autian, J. (1973). Toxicity and health threats of phthalate esters: review of the literature. *Environ Health Perspect* **4**, 3-26.
- Barlow, N.J., and Foster, P.M.D. (2003). Pathogenesis of male reproductive tract lesions from gestation through adulthood following in utero exposure to di(n-butyl) phthalate. *Toxicol Pathol* **32**, 319-410.
- Clermont, Y and Petery, B. (1957). Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am J Anat* **100**, 241-267.
- Clermont, Y., Leblond, C.P., and Messier, B. (1959). Duuree du cycle de pepithelium seminal du rat. *Arch Anatomie*

Microsc **48**, 37-56.

- Clermont, Y. and Harvey, S.C. (1965). Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats. *Endocrinol* **76**, 80-89.
- Clermont, Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* **32**, 198-236.
- Ehmcke, J., Simorangkir, D.R., and Schlatt, S. (2005). Identification of the starting point for spermatogenesis and characterization of the testicular stem cells in adult male rhesus monkeys. *Hum Reprod* **20**, 1185-1193.
- Gratzner, H.G., Pollack, A., Ingram, D.J., and Leif, R.C. (1976). Deoxyribonucleic acid replication in single cells and chromosomes by immunologic techniques. *J Histochem Cytochem* **24**, 34-39.
- Gratzner, H.G. (1982) Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* **218**, 474-475.
- Hermo, L., Pettetier, R., Cyr, D., and Smith, C. (2010). Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part I: background to spermatogenesis, spermatogonia, and spermatocytes. *Microsc Res Tech* **73**, 241-278.
- Hess, R.A., Schaeffer, D.J., Eroschenko, V.P. and Keen, J.E. (1990). Frequency of the stages of the seminiferous epithelium in the rat. *Biol Reprod* **43**, 517-524.
- Jaeger, R.J., and Rubin, R.J. (1972). Migration of a phthalate ester plasticizer from polyvinyl chloride blood bags into stored human blood and its localization in human tissues. *N Engl J Med* **287**, 1114-1118.
- Janca, F.C., Jost, L.K. and Everspn, D.P. (1986). Mouse testicular and sperm cell development characterized from birth to adult hood by dual parameter flow cytometry. *Boil Reprod* **34**, 613-623.
- Kluin, P.H.M., Kramer, M.F., and de Rooij, D.G. (1982). Spermatogenesis in the immature mouse proceeds faster than the adult. *In J Androl* **5**, 282-294.
- Lake, B.C., Phillips, J.C., Linnell, J.C., and Gangolli, S.D. (1977). The in vitro hydrolysis of some phthalate diesters by hepatic and interstitial preparations from various species. *Toxicol Appl Pharmacol* **39**, 239-248.
- Leblond, C.P. and Clermont, Y. (1952). Definition of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann NY Acad Sci* **55**, 548-573.
- Mentlein, R., and Butte, W. (1989). Hydrolysis of phthalate esters by purified rat and human liver carboxylesterases. *Biochem Pharmacol* **38**, 3126-3128.
- Morstyn, G., Hsu, S.M., Kinsella, T., Gratzner, H., Russo, A., and Mitchell, J.B. (1983). Bromodeoxyuridine in tumors and chromosomes detected with a monoclonal antibody. *J Cl Invest* **72**, 1844-1850.
- Monesi, V. (1962). Autoradiographic study of DNA synthesis and the cell cycle in spermatogonia and spermatocytes of mouse testis using tritiated thymidine. *J Cell Biol* **14**, 1-18.
- Motohashi, M., Wempe, M.F., Mutou, T., Takahashi, H., Kansaku, Ikegami, M., N., Inomata, T., Asari, M., and Wakui, S. (2016a). Male rats exposed *in utero* to di(n-butyl) phthalate: age-related changes in Leydig cell smooth endoplasmic reticulum and testicular testosterone-biosynthesis enzymes/proteins. *Reprod Toxicol* **59**, 139-146.
- Motohashi, M., Wempe, M.F., Mutou, T., Okayama, Y., Kansaku, N., Takahashi, H., Ikegami, M., Asari, M., and Wakui, S. (2016b). *In utero*-exposed di(n-butyl) phthalate induce dose dependent, age-related changes of morphology and testosterone-biosynthesis enzymes/associated proteins of Leydig cell mitochondria in rat. *J Toxicol Sci* **41**, 195-206.
- Mylchreest, E., Sar, M., Wallace, D.G., and Foster, P.M. (2002). Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl) phthalate. *Reprod Toxicol* **16**, 19-28.
- Perey, B., Clermont, Y., and Leblond, C.P. (1961). The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *Am J Anat* **108**, 47-77.
- Rosa, C., Kavlock, R.L., Lucier, G., Mac, M.J., Melillo, J., Melnicck, R.L., Sinks, T., and Walton, B.T. (1998). The U.S. federal framework for research on endocrine disrupters and an analysis of research programs supported during fiscal Year

1996. *Environ Health Perspect* **106**, 105-113.
- Research and Statistics Department Minister's Secretariat. (2000). Yearbook of Chemical Industries Statistics in 1999. *Ministry of International Trade and Industry*, Tokyo pp.142-145.
- Rosipen, G., Weinbauer, G.F., Schlatt, S., Behre, H.M., and Nieschlag, E. (1994). Duration of the cycle of the seminiferous epithelium, estimated by 5-bromodeoxyuridine technique, in laboratory and feral rats. *J Reproduct Fertility* **100**, 299-306.
- Rosipen, G., Chapin, R.E., and Weinbauer, G.F. (1995). The duration of the cycle of seminiferous epithelium is altered by administration of 2,5-hexanedione in the adult Sprague-Dawley rat. *J Androl* **16**, 127-135.
- Thomas, J.A., Darby, T.D., Wallin, R.F., Garvin, P.J., and Martis, L. (1978). A review of the biological effects of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Tox Appl Pharmacol* **45**, 1-27.

共同利用施設部門

共同利用各施設部門

【研究部門】

生物科学総合研究所における研究部門は独自の研究活動を担い、原則として3年以内の時限課題を遂行する複数の研究班（生物科学総合研究所研究プロジェクト）から構成される。

各研究班は、研究所専任教員及び時限専任教員と学内の教員（研究班長、研究班員、研究班友）で構成されるが、必要に応じて学外研究員及び客員研究員も、協力研究員として参加している。

また、研究プロジェクト班長は、生物科学総合研究所ワークショップ講演会の参加を義務付けている。

なお、研究班のリーダーは原則として専任教員が当たる。

【各施設部門】

生物科学総合研究所における各施設を管理する部門であり、共同利用施設部門は以下の施設がある。

なお、毎年、生物科学総合研究所施設利用者に対し、説明会を開催している。

○動物実験施設

生物科学総合研究所内にて動物を飼育する場合は、「外部から病気を持ち込まない」という防疫目的のために、動物の微生物学的グレード（動物がクリーンな状態を示すグレード）はSPFレベル以上でなければならない（イヌを除く）。

また、生物科学総合研究所の動物実験施設には、マウス・ラット・ハムスター等、齧歯類を中心とした小動物、イヌ・ネコ・ウサギ・モルモットを中心とした中動物を飼育するエリアがある。

○検疫動物飼育施設

生物科学総合研究所内にて動物を飼育する場合は、専門の実験動物供給業者（2019年度生物科学総合研究所施設利用者説明会資料の23ページに記載）が生産場から適切な輸送手段を経て搬入されたものに限り搬入できる。

ただし、他の研究機関から譲渡された動物を生物科学総合研究所内の施設での飼育を希望する場合は、あらかじめ新たな動物の搬入が可能か否かを確認した上で、原則として1週間前までに搬入届けを事務室に提出し、導入する動物を検疫動物飼育施設にて検疫することになっている。

なお、検疫期間は以下のとおりである。

<検疫期間>

◆マウス・ラット・ハムスター類 4週間以上

（微生物クリーニングをするか、又はおとり動物と同居4週間後おとり動物の微生物モニタリングの結果で判断する。）

◆モルモット・ウサギ 4週間

◆イヌ・ネコ 2週間以上

（イヌは、検疫期間中に狂犬病ワクチンを接種するか又は注射済票を添付）

◆ニワトリ・ウズラ等 2～9週間

（卵殻を消毒した卵を、持ち込む場合を除く）

○SPF動物実験施設

SPF動物実験施設は、主にマウス・ラットなどのSPF動物（特定病原体が存在しないことを確認）を対象とした飼育施設（2階8室）あり、本施設外からの物品の持込やヒトの入域を制限し、無菌的な飼育環境を維持している。

また、マウス・ラットは、クリーンラック内に収容され、二重の感染防御に努めている。

○Clean 動物飼育施設

Clean 動物飼育施設では、マウス・ラット・ハムスター・モルモット・ウサギ等を対象とした動物飼育施設（2階10室）であり、特にマウス・ラットについては、クリーンラック内に収容し、二重の感染防御に努めている。また、搬入される飼育動物は、すべて SPF 動物である。

○Conventional 動物飼育施設

Conventional 動物飼育施設は、イヌ・ネコを対象とした動物飼育施設（3階3室）であり、実験用に生産された動物のみの飼育を行っている。

○感染実験施設

感染実験施設は、感染実験を目的とした動物の飼育施設（3階16室）、実験室（3階1室）及び洗浄室が設備されている。

感染実験施設では、各種実験動物を用いて病原体（ウイルス・細菌・寄生虫）の感染実験や継代が行われ、感染症の発症機序、診断、治療、予防に関する研究が行われている。

また、本感染実験施設では、病原体の感染実験施設からの漏出及び屋外からの侵入を遮断するため、本施設内すべての器具器材は滅菌処理される。

○化学物質毒性実験施設

本実験施設は、マウス・ラットを対象とした動物飼育施設（3階3室）、低温環境及び高温環境が設定できる飼育実験室（3階2室）を備え、専用のマウス・ラット兼用陰圧飼育ラックが設備されている。

本実験施設では、内分泌攪乱物質や発癌性物質を始めとする多くの化学物質に関し、人や動物に及ぼす影響、並びに環境に及ぼす影響についての研究が進められている。

また、搬入される飼育動物は、すべて SPF 動物である。

各動物実験施設には、バイオハザード及びケミカルハザード担当者を配置し、細心の注意が払われている。

○水生生物飼育施設

水生生物飼育施設は、爬虫類以下の脊椎動物や貝類など軟体動物、水生植物などを個別の環境条件で飼育・実験するための施設である。

生物科学総合研究所本館とは別棟に位置する。個々に温度・照明の調節管理ができる飼育室4室と共通利用できる前室、ユニット型低温室1室からなる。

○ラジオアイソトープ実験施設

ラジオアイソトープ実験施設は、12部室から構成されており、各々の部屋は、各種トレーサー実験、ラジオイムノアッセイ法によるホルモン量の測定、生理活性物質定量、動物個体への放射線標識化合物投与による代謝実験、組換え体を用いた機能活性の評価、ウイルスの分離と性状解析等を行っている。

本実験施設の設備は、ラジオアイソトープを用いる代謝実験室のほか、動物飼育室、ラジオアイソトープ測定室などがある。

本実験施設の機器備品は、液体シンチレーションカウンター、 γ -カウンター、安全キャビネットなどがある。

なお、ラジオアイソトープ実験施設は、法律及び規則に基づいた正しい放射性同位元素の使用と厳密な管理の上に機能運営されている。

○遺伝子組換え実験施設

遺伝子組換え実験施設は、BSL 1と2に対応したバイオハザードレベルの実験が可能で、本学の遺伝子組換え研究を支援するためのものである。本学遺伝子組換え実験安全委員会が主催する遺伝子組換え実験のための教育訓練を受けた教員もしくは学生がこの施設を利用できる。

平成 30 年度生物科学総合研究所実験施設利用費及び実験動物飼育状況

平成 30 年度生物科学総合研究所実験施設の飼育利用費（図 1）及び実験動物飼育状況（図 2）は、次のとおりである。

(図 - 1) 生物科学総合研究所実験施設利用費一覧

2019 年 4 月現在

利用場所	種類	利用者 (円/日) (ケージ・水槽等)	1 ケージ当たり 最大収容匹数	内 訳 (円)	
				基本料金	飼料費
S P F	マウス	16	3	10	6
	ラット	30	3	20	10
	ウサギ	47	1	30	17
ク リ ー ン	マウス	11	3	5	6
	スナネズミ	17	3	10	7
	ハムスター	24	2	15	9
	ラット	20	3	10	10
	モルモット	17	2	10	7
	ウサギ	31	1	17	14
毒 性	マウス	11	3	5	6
	スナネズミ	17	3	10	7
	ハムスター	24	2	15	9
	ラット	20	3	10	10
	モルモット	17	2	10	7
	ウサギ	31	1	17	14
コ シ ョ ナ ル	ネコ	30	1	17	13
	イヌ	70	1	45	25
感 染	マウス	11	3	5	6
	スナネズミ	17	3	10	7
	ハムスター	24	2	15	9
	ラット	20	3	10	10
	モルモット	17	2	10	7
	ウサギ	31	1	17	14
	ネコ	30	1	17	13
	イヌ	70	1	45	25
	ニワトリ	21	1	13	8
	ヒナ (3週令まで)	20	4	12	8
	両生類 (実験動物化 されている アフリカツメガエル) 魚類	5	-	5	-
検 疫	ネコ	30	1	17	13
	イヌ	70	1	45	25
水 生 生 物	両生類・魚類等	5	-	5	-
	貝類 (大型水槽)	10	-	10	-
	貝類 (小型水槽)	5	-	5	-

※ 飼育室の動物飼育は、自主飼育管理を基本とする。

(図 - 2) 平成 31 年度実験動物飼育状況一覧

飼育月	動 物 種									合 計 (匹数)	
	マウス	ラット	ウサギ	イヌ	ハネ ネズミ	タ ミ	ネコ	ニワトリ	ウズラ		水生 動物
4月	2,722	267	1	18	0	1	0	0	0	234	3,243
5月	2,618	245	1	18	0	1	0	0	0	232	3,115
6月	2,402	269	4	18	0	1	0	0	0	229	2,923
7月	2,512	305	4	17	0	1	0	0	0	243	3,082
8月	2,636	163	4	13	0	1	0	0	0	242	3,059
9月	2,751	264	4	13	0	1	4	0	0	244	3,281
10月	2,698	406	4	13	0	1	0	0	0	247	3,369
11月	2,866	398	4	13	0	1	7	0	0	247	3,536
12月	2,815	352	4	13	0	1	0	0	0	246	3,431
1月	2,807	234	4	13	0	1	0	0	0	242	3,301
2月	2,962	223	10	12	10	1	0	0	0	240	3,458
3月	2,263	172	4	11	8	1	0	0	0	238	2,697
合計 (匹数)	32,052	3,298	48	172	18	12	11	0	0	2,884	38,495

・各月の匹数は各月 15 日現在の飼育匹数を示す。

・水生生物飼育エリア

生物科学研究所における水生動植物（貝類・カエル・イモリ・ホテイアオイ等）を飼育する施設及び低温飼育室（13℃）と常温飼育室（23℃）がある。

テーマ別活動状況

○ No. 19—01

研究テーマ マウスモデルを用いた動物肥満細胞腫の新たな治療薬の可能性について

使用申請者 岡本まり子

2019年度の研究概要と成果

我々はこれまでに *in vitro* の実験においてマウス肥満細胞腫細胞が膜型エストロゲン受容体 GPER のアゴニスト G-1 により細胞死を誘導することを見出した。しかし *in vivo* においても G-1 が腫瘍特異的に細胞死を誘導するかどうかについてはまだわかっていない。そのためこの点についてマウスモデルを作製し検討していくことにした。マウス肥満細胞腫細胞 P815 は細胞傷害活性測定における標的細胞として古くから使用されているが *in vivo* での報告はごく数報でありそれもマウス腹腔内投与のみで皮下投与実験はなされていない。そこで P815 をその由来マウス系統である DBA2 マウス皮下に移植しイヌ肥満細胞腫のマウスモデル作成を試みた。マウス大腿皮下に $2.5 \sim 5 \times 10^6$ の P815 を移入したところ、約 10 日後に大腿部に腫瘍が確認された。そして G-1 の投与より効果が認められたものの課題が多く検討が必要である。

研究成果報告

学会発表 1 潮崎日名子・マウス肥満細胞腫における GPR30 活性化は細胞のアポトーシスを誘導する。その 1・麻布大学研究三昧・2019 年 9 月 23 日・麻布大学・ポスター発表

学会発表 2 潮崎日名子・マウス肥満細胞腫における GPR30 活性化は細胞のアポトーシスを誘導する。その 2・麻布大学研究三昧・2019 年 9 月 23 日・麻布大学・ポスター発表

○ No. 19—02

研究テーマ Babesia gibsoni 原虫の維持（家畜伝染病学実習）

使用申請者 須永藤子

学内共同実験者 長井 誠

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

獣医学科 5 年 家畜伝染病学実習の「ピロプラズマ、アナプラズマの診断」項目で、バベシア ギブソニー感染血液を用いるため、その原虫を維持した。

研究成果報告

なし

○ No. 19—03

研究テーマ バベシア ローダニー原虫の継代維持（家畜伝染病学実習で使用）

使用申請者 須永藤子

学内共同実験者 長井 誠

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

獣医学科5年 家畜伝染病学実習の「ピロプラズマ、アナプラズマの診断」項目で、バベシア ローダニー感染血液を使用するため原虫を継代維持した。

研究成果報告

なし

○ No. 19—04

研究テーマ 旋毛虫（トリヒナ）幼虫の継代および感染動物の作製（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 黄 鴻堅

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

旋毛虫（トリヒナ）の幼虫を小型実験動物に感染させ継代維持した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○ No. 19—05

研究テーマ 多包虫 *Echinococcus multilocularis* の継代および感染動物の作製（寄生虫学実習用）

使用申請者 黄 鴻堅

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

多包虫の二次包虫を小型実験動物に投与した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○ No. 19—06

研究テーマ ウイルスの病原性獲得要因の解析

使用申請者 田原口智士

2019年度の研究概要と成果

FAdV JM1/1 株（血清型 1）と血清型 1~9 の各株との相同性を比較し、相同性の高い L1 遺伝子の 52K を選択した。次に JM1/1 株の組換え 52K タンパク質を合成し、これをウサギに免疫することで抗 52K 抗体を得た。この抗体を用いたウエスタンブロットと蛍光抗体法によって、各種血清型の FAdV に対する交差性を確認した。さらに日本各地の農場で採取された鶏の野外血清を検体として抗 52K 抗体を用いた蛍光抗体中和試験を行い、従来の中和試験との相関性を検討した。抗 52K 抗体は、今回使用した血清型 1~8a のすべての FAdV を検出することができた。また、野外血清における蛍光抗体中和試験では、従来の中和試験による結果との間に高い相関性があることが示された。以上のことから抗 52K 抗体は FAdV の各種血清型に対して交差性をもち、疫学調査のための蛍光抗体中和試験に応用が可能であることが示唆された。

研究成果報告

学会発表 1 押尾 麻貴、Thanasut Khompakorn、久木田 理樹、小林 広子、橋本 康太、藤野 寛、田原口 智士、52K は鶏アデノウイルスの診断抗原として蛍光抗体中和試験に応用可能である・日本中医学会・2019年9月・筑波・高等発表

○ No. 19—07

研究テーマ ウイルスの病原性獲得要因の解析

使用申請者 田原口智士

2019年度の研究概要と成果

鶏アデノウイルス感染したCK細胞の核蛋白を抽出し、BALB/cマウスに免疫した。免役したマウスの脾臓から得られた細胞とP3U1を細胞融合した。鶏アデノウイルスを抗原に細胞融合した培養上清をELISAでスクリーニングしたが、培養上清には、目的の抗体を含むクローンは存在しなかった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—08

研究テーマ ウイルスの病原性獲得要因の解析

使用申請者 田原口智士

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

2019年度は、19-08で鶏を使用した感染実験は行わなかった。

研究成果報告

なし

○No. 19—09

研究テーマ 抗マウスノロウイルス活性物質の検索および効果判定

使用申請者 田原口智士

学内共同実験者 小林真名

学内共同実験者 松田由衣

2019年度の研究概要と成果

我々はノロウイルスの代替ウイルスであるネコカリシウイルス (FCV) とマウスノロウイルス (MNV) を用いてアガリクスの抗カリシウイルス効果について調査した。in vivo でのアガリクスの効果を調べるため、3%アガリクス露地栽培含有のエサを与えたマウスに MNV を感染させた。MNV 感染3日後と5日後はコントロール群とアガリクス群を比較して有意な差が認められなかったが、MNV 感染7日後において、アガリクス含有のエサを与えられたマウスの糞はコントロールと比較してウイルスの排出量を減少させた。

研究成果報告

学会発表1 小林 真名、元井 益郎、元井 章智、田原口 智士、藤野 寛、松田 由衣, アガリクスブラジリエンス KA21 による抗カリシウイルス効果, 日本中うい学会・2019年9月. 筑波・. 口頭発表

○No. 19—10

研究テーマ クマササエキスおよびアガリクスエキスの抗ウイルス活性

使用申請者 田原口智士

2019年度の研究概要と成果

2019年度は、19-10でマウスを使用した感染実験は行わなかった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—11

研究テーマ 猫カリシウイルス (FCV) ワクチン開発に伴う野外ウイルスの変異について

使用申請者 田原口智士

2019年度の研究概要と成果

ネコカリシウイルス持続感染猫からのウイルス分離を行ったが、変異を確認することは出来なかった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—12

研究テーマ 登攀性捕食者となるヘビに対する新型電気柵の有効性評価

使用申請者 塚田英晴

利用実験エリア 水生

2019年度の研究概要と成果

ヘビに対する電気柵の効果を検討するため、フィーダー線型電気柵を巻いたポールをヘビに登らせる実験を行った。野生由来のアオダイショウ 8 匹、およびシマヘビ 4 匹を供試し、弱電圧から徐々に電圧をあげる形で試験を繰り返し、5 回連続して登攀失敗した時点で“忌避効果あり”と判断した。その結果、12 匹中 10 匹において、電圧が 1.9–7.1 kV で忌避効果が確認された。しかしながら、2 匹のシマヘビでは忌避効果が確認されず、このうちの 1 匹は最大電圧の 8.5 kV でさえもポールに登ることに成功した。以上の結果から、フィーダー線型電気柵はヘビ類の登攀行動の抑制に一定の効果を有することは示されたものの、確実な忌避効果を確認するには至らなかった。ヘビ類の登攀行動を抑制するのに必要な電気刺激の下限値を決定するためには、より大きな電気出力条件での追加実験の必要性が明らかとなった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—13

研究テーマ ピレノシン A の抗腫瘍効果の検証

使用申請者 紙透伸治

学内共同実験者 佐原弘益

2019 年度の研究概要と成果

ピレノシン A は培養細胞に対して単極紡錘体というユニークな現象を引き起こし、がん細胞の増殖を抑制する。そこで本研究ではがん細胞を移植したヌードマウスを用いて、ピレノシン A が抗腫瘍効果を示すかどうかを検証した。ヌードマウスにヒト肺がん細胞 A549 を皮下注射し、固形腫瘍形成させた。その後 2 群に分け、生理食塩水に溶かしたピレノシン A を 0, 20 mg/kg の投与量で 14 日間毎日腹腔内に投与し、腫瘍の体積を測定した。ピレノシン A 処理により腫瘍サイズの増加を抑制する傾向が見られ、35 日目以降から有意な差を示した。また、ピレノシン A 投与による顕著な体重の変化は見られなかった。以上の結果から、ピレノシン A は、顕著な毒性がなく抗腫瘍効果を示すことが明らかになった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—14

研究テーマ 広東住血線虫 *Angiostrongylus cantonensis* の継代および感染動物の作製（寄生虫学実習で使用する）

使用申請者 黄 鴻堅

利用実験エリア 感染エリア

2019 年度の研究概要と成果

広東住血線虫をラットなどの小型実験動物に感染させ継代維持した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—16

研究テーマ マウスにおける社会認知機構の解明

使用申請者 茂木一孝

学内共同実験者 菊水健史

学内共同実験者 野元謙作

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019年度の研究概要と成果

動物の共感能力に関わる重要な神経部位を見出した。マウスでは、それまで一緒に飼育されていたマウスが電気によるフットショックを受けるのを見ると、自身はフットショックを受けていないにも関わらず恐怖反応である「すくみ行動」を示すことが知られている。つまり、恐怖という情動が伝染すると考えられる。このペアマウスがフットショックを受けているのを見ているマウス脳内の前帯状皮質に着目し、その神経活動をファイバーフォトメトリ法にて観察したところ、ペアマウスがフットショックを受けた際に活性化することを見出した。前帯状皮質が恐怖の情動伝染に関与することが示唆された。

研究成果報告

学会発表 1 加藤 梨沙、町田 暁洋、野元 謙作、廣井 昇、茂木 一孝、菊水 健史・Tbx1 遺伝子ヘテロ欠損自閉症モデルマウスにおけるコミュニケーション能力の解析・日本神経科学学会・2019年7月・新潟・ポスター発表

学会発表 2 野元 謙作、中村 月香、村山 花子、永井 一成、都田 真由子、茂木 一孝、小出 剛、菊水 健史・前部帯状皮質は観察恐怖表出を制御する・日本神経科学学会・2019年7月・新潟・ポスター発表

○No. 19—17

研究テーマ 鞭虫の継代および感染動物の作製（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 平 健介

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

鼠鞭虫を小型実験動物に感染させ継代維持した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—18

研究テーマ 鶏コクシジウムの継代および感染動物の作製（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 平 健介

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

鶏コクシジウムを実験鶏に感染させ継代維持した。これらのコクシジウム原虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いるコクシジウム原虫は非感染性のステージを用い、外部への拡散が起こらないよう十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—19

研究テーマ 回虫類幼虫の感染動物の作製（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 平 健介

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

回虫類の虫卵を小型実験動物に投与し幼虫を宿主体内で維持した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—20

研究テーマ 肝蛭の継代および感染動物の作製（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 平 健介

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

肝蛭をラットおよびウサギに感染させ継代維持した。この寄生虫を獣医寄生虫学実習の教材として用いた。なお、教材として用いる寄生虫検体はホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—21

研究テーマ 吸虫類の中間宿主貝の飼育（寄生虫学実習で使用）

使用申請者 平 健介

利用実験エリア 水生生物エリア

2019年度の研究概要と成果

吸虫類の中間宿主である淡水性巻貝を飼育・維持し、肝蛭などの吸虫類の生活環を確保した。また、これらの巻貝は、獣医寄生虫学実習の教材として用いられた。なお、教材として用いる巻貝や寄生虫検体は必要に応じてホルマリン固定等を行い、バイオリスク対策における十分な配慮・処置を行った。

研究成果報告

なし

○ No. 19—22

研究テーマ 社会環境変化による行動神経発達メカニズムの解明

使用申請者 茂木一孝

学内共同実験者 菊水健史

2019年度の研究概要と成果

授乳期後半の社会環境によって、成長後に不安行動が増加する際の神経メカニズムの一端を明らかにした。マウスを通常よりも早期に離乳すると、そのことで副腎皮質から過剰に分泌されるグルココルチコイドが脳内の前頭前皮質の受容体に作用し、成長後の不安行動が増加することを明らかにした。また、その幼少期グルココルチコイドによる不安増加は、前頭前皮質の脳由来神経栄養因子の永続的な発現低下によって引き起こされる可能性も見出した。

幼少期に母から受ける撫で刺激と成長後の皮膚バリア機能の関連を明らかにした。幼少期に早期離乳されたマウスは、成長後に自身の産んだ子マウスに示す撫で行動が低下する。このことを利用して、幼少期に母から受ける撫で刺激が少なかったマウスを解析し、幼少期に受ける撫で刺激が少ないと成長後に皮膚のバリア機能が増大することを見出した。母子関係が皮膚の機能発達に影響することが示唆された。

研究成果報告

論文1 T. Kikusui, N. Kanbara, M. Ozaki, N. Hirayama, K. Ida, M. Tokita, N. Tanabe, K. Mitsuyama, H. Abe, M. Yoshida, M. Nagasawa, K. Mogi. Early weaning increases anxiety via brain-derived neurotrophic factor signaling in the mouse prefrontal cortex. *Scientific Reports* 9(1): 3991 (2019)

論文2 T. Sakamoto, Y. Ishio, Y. Ishida, K. Mogi, T. Kikusui. Low maternal care enhances the skin barrier resistance of offspring in mice. *PloS ONE* 14(7): e0219674 (2019)

学会発表1 柳 佑実、久世 明香、茂木 一孝、菊水 健史・早期離乳が成長後の社会行動発現に及ぼす影響・日本獣医学会・2019年9月・つくば・ポスター発表

学会発表2 二川 夏実、田村 奏美、神谷 麻愛、久世 明香、茂木 一孝、菊水 健史・マウスにおける母性行動形質の次世代伝承・日本獣医学会・2019年9月・つくば・ポスター発表

○ No. 19—23

研究テーマ 腸内細菌叢による行動神経系の変化の解析

使用申請者 菊水健史

学内共同実験者 茂木一孝

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

マイクロバイオーーム組成は神経行動の発達に極めて重要な役割を果たしている。しかし、複雑な社会的文脈におけるマウスの社会性におけるマイクロバイオーームの役割についての情報は限られている。生後21日目まで無菌（GF）マウスを無菌環境で飼育した後、SPFマウスのいる部屋に移動させた。生後9週齢で、3匹のGFマウスと3匹のSPFマウスについて集団社会行動を計測した。GFマウスはSPFマウスに比べてアリーナの中心部で過ごす時間が少なく、個体間距離が長くなっていた。また、GFマウスはSPFマウスに比べて脳由来神経栄養因子（BDNF）が減少し、前頭前野のΔFosB mRNAが増加していた。また、GFマウスとSPFマウスでは腸内細菌叢の組成に差があったが、離乳後に同居している場合には腸内細菌叢の組成は同等となり、行動やBDNF、ΔFosB mRNA発現の群間差は消失した。これらの結果は、細菌群集が発達期に社交性や不安に関与する神経系を変調させることを示しており、同種生物との相互作用を通じて、社交性や不安がマイクロバイオーーム環境に応じて形成されうることを示唆している。

研究成果報告

論文1 Itsuka Kamimura, Ryou Kaneko, Hidetoshi Morita, Kazutaka Mogi, Takefumi Kikusui. Microbial colonization history modulates anxiety-like and complex social behavior in mice, *Neurosci. Res.*; S0168-0102 (19) 30542-5. 2020.

○ No. 19—24

研究テーマ 糖鎖機能の解明に関する研究

使用申請者 山下 匡

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019年度の研究概要と成果

研究概要

生体膜を構成する脂質であり機能ドメインとして脂質ラフトを形成するガングリオシドは、スフィンゴ糖脂質に1つ以上のシアル酸が付加したものである。シアル酸の初期発生に対する関与を明らかにする。

研究成果

STGAL5 KO/B4GALNT1 DKO マウスの産子数を解析したところ、生後0日 (P0) においてDKO マウスは観察されなかった。胎児の解析により、DKO マウスの生存が確認された。一方、ST8SIA1/B4GALNT1 DKO マウスはP0において産仔が観察された。しかしこのDKO マウスは、ST8SIA1/B4GALNT1 WT、ST8SIA1 KO/B4GALNT1 ダブル Het の同腹子と比較して、生存率が有意に低下した。以上のことから、2種類のDKO マウスの分子的な差異は、シアル酸1分子が存在するかしないかの違いであり、ガングリオシドを構成するシアル酸はマウスの初期発生に必須であることが示唆された。

研究成果報告

学会発表1 船戸このか、永根大幹、村田拓馬、古川玲美、森元美紗子、山下匡 ガングリオシドGM3のシアル酸は初期発生に必須である 第162回日本獣医学会学術集会 2019年9月10日～12日 つくば 口演発表

○ No. 19—25

研究テーマ 疾患における糖鎖・糖脂質合成酵素の役割の解明

使用申請者 永根大幹

学内共同実験者 山下 匡

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019 年度の研究概要と成果

本年度では、腫瘍組織には腫瘍細胞だけではなく血管、線維芽細胞、免疫細胞など正常細胞が多数含まれる。近年、腫瘍の悪性度に腫瘍細胞だけではなく、これら正常細胞も関与していることが報告されている。

本年度は腫瘍の血管内皮細胞と T 細胞において糖脂質の機能を解析し、以下の 3 つの結果を得た。

- 1) 腫瘍血管においてスフィンゴミエリンは内皮細胞のアポトーシスを抑制することで血管新生に関与すること
 - 2) ガングリオシド GM3 は対照的に、血管内皮細胞の MAPK 経路を抑制することで血管新生を抑制すること
- 以上の内容は現在、論文投稿中である。

研究成果報告

学会発表 1 鈴木 美羅, 永根 大幹, 中西 勇貴, 山下 匡

血管内皮細胞の糖脂質ガングリオシド GM3 は腫瘍血管新生を制御する

第 162 回日本獣医学会学術集会 2019 年 9 月 10 日

学会発表 2 佐藤 沙菜, 永根 大幹, 上家 潤一, 山下 匡

スフィンゴミエリン合成酵素の発現は血管新生に関与する

第 162 回日本獣医学会学術集会 2019 年 9 月 10 日

学会発表 3 清水 琢音, 永根 大幹, 村田 拓馬, 川島 永子, 圓尾 拓也, 吉岡 千恵, 山下 匡

腫瘍内低酸素はガングリオシド合成経路を介して腫瘍細胞の放射線感受性を制御する

第 72 回日本酸化ストレス学会学術集会 2019 年 6 月 29 日

○ No. 19—26

研究テーマ Sertoli cell proliferation in spermatogenic seminiferous tubes with low dose in utero DBP exposure rats

使用申請者 和久井 信

2019年度の研究概要と成果

Phthalate exposure impairs testis function, whether phthalates affect Sertoli cell development is not well understood. I investigated testicular Sertoli cell number and proliferation in rat spermatogenic seminiferous tubes with *in utero* exposed to DBP. I suggested that in utero DBP exposure rats induced to increase number of SC after peri-puberty periods was adaptive response to maintain the spermatogenesis affected by low levels of testicular testosterone

研究成果報告

なし

○ No. 19—27

研究テーマ 食品素材が性機能におよぼす作用

使用申請者 折戸謙介

2019年度の研究概要と成果

以前行ったラットの実験において、食品素材のオピエースが性機能増強作用を有することを確認した（特許出願済）。海綿体をラットから単離し、オーガンバス（マグヌス管）に懸垂した。単離海綿体は、アドレナリン α 作動薬フェニレフリンによる収縮に対して電気刺激を与えると、頻度依存性の弛緩反応を引き起こした。この電気刺激に対して、オピエースを添加した結果、弛緩反応の増強は認められなかった。この結果より、オピエースの海綿体神経刺激による海綿体血流増加促進作用には、一酸化窒素放出増強作用は関与していないことが示唆された。

研究成果報告

なし

○ No. 19—28

研究テーマ ラットにおける電鍼治療効果メカニズム解明

使用申請者 折戸謙介

利用実験エリア SPF エリア

2019年度の研究概要と成果

ラットの脊髄損傷モデルにおいて、電気生理学的評価（体性誘発電位：SEP）と行動評価にて電鍼刺激が神経機能回復効果を有することを明らかにした。この電鍼の効果は、リドカインで坐骨神経伝導を麻痺させると消失した。また脊髄損傷後に、神経順行性トレーサー試薬である Biotinylated dextran amine（BDA）を大脳運動感覚皮質に注入し、脊髄に到達したBDAを免疫染色して確認した。電鍼による脊髄神経再生作用については、本試験の解析結果をもとに評価し、論文投稿した。

研究成果報告

論文1 Song M, Chen W, Kamiie J, Okuno S, Orito K. Electroacupuncture improves neuronal function by stimulation of peripheral nerve uplink conduction in rats with spinal cord injury. J Tradit Chin Med 39(4) 509-515. (2019)



○ No. 19—29

研究テーマ 廃用性萎縮モデルマウスの新たな評価方法確立と筋萎縮発生メカニズムの解明

使用申請者 折戸謙介

利用実験エリア SPF エリア

2019年度の研究概要と成果

長期間骨格筋を使用しないときに筋に生じる萎縮である廃用性筋萎縮は、ヒト臨床においては、ギプス固定後や様々な病気による臥床安静後に発症する。筋タンパク質の合成 / 分解調整の破たんや活性酸素産生などが筋萎縮に関与しているといわれているが、その短期・中長期的発症メカニズムやその予防策・治療法については不明な点が多い。この点に着目して、当研究室で開発したマウス筋力測定装置にて、廃用性筋萎縮マウスモデルの病態定量化を目指して実験を実施することにした。本年度は、廃用性萎縮を惹起する尾懸垂モデル方法を確立した。

研究成果報告

なし

○ No. 19—30

研究テーマ センダイウイルス抗原接種 IgA 腎症マウスモデルの病理発生機序の解明

使用申請者 相原尚之

利用実験エリア 感染エリア

2019 年度の研究概要と成果

センダイウイルスの感染による IgA 腎症マウスモデルが報告されている。本研究は、不活化済センダイウイルス抗原を用いることで、感染によらない IgA 腎症マウスモデルを確立し、その病理発生機序を解明することを目的としている。2019 年度は複数のアジュバントを用いた不活化センダイウイルス抗原経鼻接種試験を実施した。抗原接種群では、鼻腔粘膜へのリンパ球の浸潤と糸球体への IgA 沈着を確認し、IgA 腎症の病態が部分的に再現された。今後、免疫刺激の条件を検討し、IgA 腎症の病態モデルとして確立を目指す。

研究成果報告

なし

○ No. 19—31

研究テーマ ラット脂肪組織幹細胞を用いた分化経路の検討

使用申請者 滝沢達也

学内共同実験者 田中和明

2019 年度の研究概要と成果

ラットの皮下脂肪組織から脂肪組織幹細胞 (ASCs) を採取し、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるバルプロ酸 (VPA) で事前処理した後、既報により神経細胞へ分化誘導すると、神経細胞への分化が著しく促進され、神経細胞分化に伴い、神経細胞マーカーの発現増加と同時に、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の誘導が観察され、NO が産生されていた。この NO 産生を抑制すると、神経分化は抑制され、NO により活性化される可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) を抑制しても、神経分化は抑制された。さらに、sGC により産生される環状グアノシンーリン酸 (cGMP) の類似体により ASCs の神経分化は促進された。このことから、VPA によるラット ASCs の神経分化に iNOS-NO-sGC 経路が関与していることが示された (Okubo et al., Nitric Oxide, 2019)。

研究成果報告

論文 1 Okubo T, Fujimoto S, Hayashi D, Suzuki T, Sakaue M, Miyazaki Y, Tanaka K, Usami M, Takizawa T, Valproic acid promotes mature neuronal differentiation of adipose tissue-derived stem cells through iNOS-NO-sGC signaling pathway, Nitric Oxide, Dec 1; 93: 1-5, (2019)

学会発表 1 藤本真理、並木湧佑、宮崎陽子、田中和明、滝沢達也・硫化水素はバルプロ酸により誘導されるラット脂肪組織幹細胞の神経分化に関与する・第 92 回日本生化学会・2019 年 9 月・横浜・ポスター発表

学会発表 2 小田夕里彩、林智菜実、林大希、宮崎陽子、田中和明、滝沢達也・バルプロ酸はアルギニン代謝物アグマチンを介してラット脂肪組織幹細胞の神経分化を促進する・第 42 回日本分子生物学会・福岡・2019 年 12 月・ポスター発表

○ No. 19—32

研究テーマ 組織・細胞における NO/H₂S 産生とその調節機構の検討

使用申請者 滝沢達也

学内共同実験者 田中和明

2019年度の研究概要と成果

ラット子宮では一酸化窒素 (NO) が産生されていることが知られている。近年、NO と硫化水素 (H₂S) の相互作用が報告されていることから、ラット子宮における H₂S 合成酵素 (Cbs, Cse, 3Mst, Cat) 遺伝子の経日的発現を検討してきた。子宮筋層及び子宮頸管において、Cbs mRNA 発現は非妊娠及び卵巣摘出群 (OVX) と比較して、それぞれ妊娠 13 日、妊娠 17 日をピークとなり、その前後の時期と比較して有意に増加していた。特に子宮筋層における Cbs mRNA 発現は非妊娠と比較し、妊娠 17 日は数十倍の発現増加が見られ、その後、妊娠 21 日で急激に減少していた。Cbs タンパク質発現では妊娠 13 日をピークに有意な増加が見られていた。これらの結果より、ラット子宮平滑筋の弛緩と収縮の調節に CBS を介した H₂S 産生が関与している可能性が示唆されていた。2019 年度は、両者の相互作用を検討したいと考えていたが、実験希望の学生が少なく、実施には至らなかった。

研究成果報告

なし

使用申請者 恩田 賢

学内共同実験者 風間 啓

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

利用実験エリア RI 実験施設エリア

2019 年度の研究概要と成果

副甲状腺ホルモン (PTH) と副甲状腺ホルモン関連タンパク質 (PTHrP) は G タンパク質結合型受容体である PTH1 型受容体 (PTH1R) へのシグナルを介して、筋萎縮の原因となることが知られている。そこで、非ふるえ熱産生を引き起こすサルコリピンと、筋萎縮原因遺伝子とされる FBXO32 の遺伝子発現の有無を牛において検討した。その結果、FBXO32 とサルコリピンの遺伝子は今回用いた全ての筋肉サンプルで発現していた。PTHrP は F1 子牛の健康な右側大腿四頭筋のみでわずかな発現を認めたが、他の部位では認めなかった。また、PTH1R はホルスタイン種成雌牛ではその遺伝子発現が認められなかったが、関節炎 F1 子牛では認められ、筋萎縮した左側後肢の大腿四頭筋で、右側健康肢よりも発現が多かった。これらのことより、牛においても筋萎縮にユビキチン・プロテアソーム系のたんぱく質分解が関与していることが明らかとなった。

研究成果報告

論文 1 Reiichiro Sato, Kazutaka Yamada, Yasunori Shinozuka, Hideharu Ochiai and Ken Onda, Gas-filled urachal abscess with a pinging sound in a heifer calf. *Veterinarni Medicina*, 64(08): 362-366 (2019).

学会発表 1 小川いづみ、興柁一成、竹田湊一郎、風間啓、佐藤礼一郎、恩田賢。牛におけるトリプトファンとその代謝産物の生理的意味。第 162 回日本獣医学会学術集会 (講演要旨集 453 ページ)。2019 年 9 月 11 日。茨城県・つくば市。口演発表。

学会発表 2 風間啓、佐藤礼一郎、西尾卓真、永根大幹、杉田和俊、新井佐知子、恩田賢。乳牛の胎盤における副甲状腺ホルモン関連タンパク質と新生子牛血液中のミネラル濃度の関係。第 162 回日本獣医学会学術集会 (講演要旨集 453 ページ)。2019 年 9 月 11 日。茨城県・つくば市。口演発表。

学会発表 3 興柁一成、小川いづみ、竹田湊一郎、風間啓、佐藤礼一郎、恩田賢。周産期ホルスタイン種乳牛におけるキヌレニン代謝産物の特徴。第 162 回日本獣医学会学術集会 (講演要旨集 453 ページ)。2019 年 9 月 11 日。茨城県・つくば市。口演発表。

学会発表 4 加地永理奈、風間啓、佐藤礼一郎、恩田賢。牛の全身における非視覚型光受容オプシン 3 遺伝子の発現。第 162 回日本獣医学会学術集会 (講演要旨集 455 ページ)。2019 年 9 月 11 日。茨城県・つくば市。口演発表。

学会発表 5 宮川遙、田山稜、風間 啓、恩田 賢。ウシ乳腺上皮培養細胞 (MAC-T) のカルシウム濃度変化に対する副甲状腺ホルモン関連タンパク質 (PTHrP) 遺伝子の発現変動。乳腺・泌乳研究会第 50 回研究集会 (講演要旨集 XX ページ)。2019 年 12 月 7 日。東京大学・動物医療センター。口演発表。

学会発表 6 風間啓、恩田賢。セロトニン添加によるウシ乳腺組織由来培養細胞 (MAC-T) の副甲状腺ホルモン関連タンパク質遺伝子発現量の変化。乳腺・泌乳研究会第 50 回研究集会 (講演要旨集 YY ページ)。2019 年 12 月 7 日。東京大学・動物医療センター。口演発表。

○ No. 19—36

研究テーマ $\Delta 6$ 不飽和化酵素欠損マウスの人工飼育による各脂肪酸の必須性に関する研究

使用申請者 守口 徹

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019 年度の研究概要と成果

多価不飽和脂肪酸組成の異なる人工乳を作製し、出生 2 日齢より人工哺育したマウスを 9 週齢から、自発運動量、運動協調性試験、水迷路試験等の行動試験を実施して脳機能を評価している。

飼育期間中の成長は、以前の実験と同様、アラキドン酸 (ARA) を含む群で Wild type (WT) 群と同等の体重増加が、ドコサヘキサエン酸 (DHA) のみを含む群では体重増加の抑制が観察されている。行動試験後、解剖して血液と脳を採取している。現在、行動試験の統計学的に評価可能な 1 群 $n=10$ となるよう交配を繰り返し雄性ホモ (-/-, KO) マウスを作製し、実験を繰り返している。それと平行し、組織の脂肪酸分析や行動試験の解析を行っている。

研究成果報告

学会発表 1 Moriguchi T and Harauma A, ARA and DHA functions in $\Delta 6$ desaturase knockout mice: Teasing apart their separate functions using artificial rearing, Satellite 2: Arachidonic and docosahexaenoic acids in infant development, Satellite Symposium, The 13th meeting of the international society for the study of fatty acids and lipids, Oral, May 27-31 (2018) Las Vegas, USA

○ No. 19—37

研究テーマ 糖尿病モデルマウスを用いた発酵ニンジンの評価

使用申請者 守口 徹

2019 年度の研究概要と成果

糖尿病誘発性物質 (ストレプトゾトシン, STZ) を 80 mg/10 ml/kg で連続 2 日 (2 回) の腹腔内投与し、投与後 2 週目以降、血糖値 150~200 mg/dL で安定する軽度の糖尿病モデルマウスを用いて、朝鮮ニンジン (未処理) エキス、または朝鮮ニンジン発酵エキスの抗糖尿病作用を検討した。

血糖値の変動や血液分析値から未処理のエキスの方が良好な結果を示した。通常、サポニンの吸収率を上げるために糖鎖を切断するような発酵処理を行うが、前回の被験物中サポニン量は他文献の検体量よりも少なく、発酵の程度が強すぎて有効成分のサポニンまで分解していた可能性が考えられた。現在、発酵条件を調整して、吸収しやすいサポニン量を高めようとしている。被験物ができ次第、前回同様の条件で有効性を検討する予定である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—38

研究テーマ 母乳と ω 3系脂肪酸が新生仔期の消化管アレルギーに与える影響について

使用申請者 守口 徹

2019年度の研究概要と成果

成獣のプロトコルを基本とした、新生仔でも評価に耐えうる条件、①感作期間、②アジュバント、③抗原（今回は卵白アルブミンを用いた）の投与容量の検討を行った。その後、食餌性 ω 3系脂肪酸欠乏マウスの新生仔で、2つの異なる養育環境を設定し、各々の個体の消化管アレルギーについて評価した。

A. 母獣養育条件下において、今回の感作、評価方法では、 ω 3系脂肪酸の有無による下痢症状の程度の違いはなく、回腸の病理検査においても細胞表皮の炎症や肥厚などに大きな違いは確認できなかった。B. 人工哺育条件下においては、 ω 3系脂肪酸欠乏群で下痢症状のスコア値が高く、脾臓細胞のIFNやIL-4に対する反応が高い傾向にあった。

母子免疫の影響をあまり受けられない環境下では、 ω 3系脂肪酸は食物アレルギーを低減する可能性がある。今回、人工哺育で得られた新生仔の個体数が少なかったため、今後、匹数を増やして再評価する必要がある。

研究成果報告

なし

○ No. 19—39

研究テーマ 自発症てんかんを有するNERラットの電気生理学的検討

使用申請者 井上真紀

2019年度の研究概要と成果

てんかんモデルラットNER系の発作発現とLTPの発現しやすさを検討している。発作直後と発作5日後、発作10日後でLTPを起こさせるテタヌス刺激の強度を変えて測定している。少量テタヌス刺激では、発作直後、と10日後とてLTP発現に有意な差があった。発作によってLTP発現機構が動的に変化していると考えられるが、現在、大量刺激の場合を実験中である。

研究成果報告

なし

○ No. 19-40

研究テーマ 海水からサンゴ礁共生生物（サンゴ・イソギンチャク）への微量金属摂取プロセス

使用申請者 伊藤彰英

2019年度の研究概要と成果

海水からサンゴ礁共生生物への微量金属摂取プロセスを検討するために高温水槽（31℃）と常温水槽（24℃）内でアザミサンゴを飼育し、海水に微量金属イオンを添加して飼育実験を行った。添加する微量金属イオンは Fe, Zn, Cu, Mn とし、水槽中で ppb レベルになるよう添加した。微量金属を添加して一定時間経過後にアザミサンゴを褐虫藻と軟体組織に分離し、ICP-MS で微量金属を測定したところ、常温時と高温時で元素ごとに摂取プロセスが違うことが示唆された。常温時と高温時の比較から、Fe, Zn, Cu については褐虫藻への摂取が確認され、高温時に減少することが確認された。一方、高温時の Mn は常温時よりも褐虫藻及び軟体組織に摂取され、褐虫藻は常温時と比べると 144 時間から 192 時間に顕著に摂取されていた。このことから、Mn はサンゴに 144 時間以上の高温ストレスがかかり弱り始めると、海水から褐虫藻に摂取されやすくなる可能性が示唆された。

研究成果報告

なし

○ No. 19-41

研究テーマ イヌ CD44 バリエントフォーム分子に対するモノクローナル抗体作成

使用申請者 佐原弘益

学内共同実験者 田辺 敦

学内共同実験者 伊藤あおば

2019年度の研究概要と成果

【目的】 本研究ではイヌ CD44v8-10 の分子レベルでの発現を調べるために、モノクローナル抗体を作成することを目的とする。組換え抗原タンパク質をタイターマックス（フナコシ社）によって乳化させ、近郊系マウス（BALB/c）の腹腔に免疫して、イソフランによる吸入麻酔下で安楽死させ、採血と脾臓摘出を行う。摘出した脾臓細胞はラットミエローマ細胞と融合し、ハイブリドーマを作成する。 【結果】 本年度は7頭の近郊系マウス（BALB/c）を用いて、抗原投与を投与し、免疫を行い、安楽死後脾臓を摘出した。脾臓細胞とミエローマ細胞との融合を行いハイブリドーマ作成を試みたが、イヌ CD44v8-10 を認識するハイブリドーマを樹立することは出来なかった。

研究成果報告

学会発表 1 Tanabe A, Ichige J, Kawanami A, Yamaga H, Sahara H. The role of CD44 variant and xCT in therapy resistance of canine tumors. 1.78th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sep 26-28, 2019, Kyoto. Poster

学会発表 2 Tanabe A, Tazawa H, Furuya A, Ichige J, Kawanami K, Yamaga H, Sahara H Functional analysis of CD44 variants and xCT in canine cancer cells. 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sep 27-29, 2018, Osaka. ポスター発表

○ No. 19—42

研究テーマ 哺乳動物の癌化形質に関連する遺伝子の解析

使用申請者 佐原弘益
学内共同実験者 田辺 敦
学内共同実験者 山我仁志
学内共同実験者 市毛樹梨
学内共同実験者 小林奈々

2019年度の研究概要と成果

【目的】 癌化形質に関与した遺伝子の発現動態を解析するために、ヌードマウスにヒト腫瘍細胞ならびにそれらに遺伝子改変を加えた腫瘍細胞を移植し、イソフランによる吸入麻酔下で安楽死させたヌードマウスから腫瘍を回収し、固形癌の癌化形質に関わる遺伝子群の発現を調べる。さらには、病理組織科学や免疫組織科学などの形態学的解析においても癌化関連遺伝子の機能を解析する。【結果】 26頭のヌードマウスを用いて、癌細胞を乳腺に移植して、肺転移モデルの実験を行い、転移モデルの作出に成功した。

研究成果報告

学会発表 1 Yamaga H, Tanabe A, Ichige J, Kawanami A, Sahara H. The role of RNA helicase YTHDC2 in malignant transformation of breast tumor cells. 78th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Sep 26-28, 2019, Kyoto. Poster

○ No. 19—43

研究テーマ 哺乳動物の移植拒絶抗原遺伝子の提示機構解析

使用申請者 佐原弘益
学内共同実験者 田辺 敦
学内共同実験者 河南輝大
学内共同実験者 小出智子

2019年度の研究概要と成果

【目的】 骨髄由来の抗原提示細胞における主要組織適合性複合体 MHC class II 分子拘束性に提示される、内在性の自己抗原がどの細胞小器官内にて処理されるのかを明らかにする。そのため、近郊系マウス (C57BL/6J や B6C3F1 など) をイソフラン麻酔下で安楽死させ、骨髄細胞を採取、培養し、実験に用いた。それらの骨髄細胞は抗原提示細胞として T 細胞アッセイに用いたり、cDNA ライブラリーの作成に用いたり、抗原の細胞内局在をレーザーコンフォーカル顕微鏡で調べることに用いた。【結果】 本年度は B6 マウスを 6 頭、B6C3F14 頭を使用して、抗原の細胞内局在を調べた。

研究成果報告

なし

○ No. 19—44

研究テーマ 異物代謝酵素を含んだ細胞内画分の調製

使用申請者 関本征史

2019年度の研究概要と成果

雄性SDラットに異物代謝酵素を誘導する薬剤 (β ナフトフラボン、フェノバルビタール) を投与後、と殺し、異物代謝酵素を含んだ細胞内画分 (S9) を調製した。このラット S9 を、ヒトやイヌ S9 とともに用い、その異物代謝酵素活性を測定するとともに、間接変異原性物質の代謝活性化への影響を Ames 試験により検討した。その結果、ラット S9 とヒト、イヌ S9 間では異物代謝酵素活性および変異原性物質の代謝活性化能に相違が見られることがわかった。

研究成果報告

- 学会発表 1 樋口友里、清水英喜、橋本知子、遠藤治、稲葉一穂、松野研司、関本征史. 新規抗変異原 AK-01 の構造的要因の探索. 第 46 回日本毒性学会学術総会年会、2019 年 6 月 26-28 日、徳島、謝辞あり
- 学会発表 2 関本征史、兼島公香、並木萌香、高橋波輝、遠藤治. イヌ S9 による発がん性芳香族アミンの代謝活性化：ヒトおよびラット S9 との比較. 第 6 回アジア環境変異原学会・日本環境変異原学会第 48 回大会合同大会 (ACEM/JEMS 2019)、2019 年 11 月 18-20 日、東京、謝辞あり

○ No. 19—45

研究テーマ 家畜感染症制御に関する研究

使用申請者 村上裕信
学内共同実験者 向当遼太郎
学内共同実験者 秋山隼人
学内共同実験者 東久保唯
学内共同実験者 国師 滯
学内共同実験者 北澤彩乃
学内共同実験者 丸山迪郎
学内共同実験者 知念ふじの
学内共同実験者 佐藤文暁

2019年度の研究概要と成果

本研究では、伝播性および病原性に関連する牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) ゲノムの遺伝的特徴を探索した。伝播性に関連する遺伝的特徴を明らかにするために、1農場で飼養されている全ての BLV 感染牛から分離したウイルスのゲノム配列を調べた。その結果、伝播性に関与するウイルス産生能力が高い株と低い株で複数の遺伝的特徴が認められた。次に、ウイルス産生能力の異なる2株を用いてウイルスの各領域を組換えたキメラウイルスおよび点変異導入株を解析した結果、175番目の塩基がC(175C株)およびT(175T株)であると、それぞれ高および低ウイルス産生株であることが明らかとなった。また、ネットワーク解析から175C株が175Tよりも伝播性の高い株であることが示唆された。一方、この塩基置換とウイルスの病原性に相関が得られなかったことから、病原性に関与する遺伝的特徴は異なると考えられた。

研究成果報告

- 論文1 Murakami H, Todaka H, Uchiyama J, Sato R, Sogawa K, Sakaguchi M, Tsukamoto K. A point mutation to the long terminal repeat of bovine leukemia virus related to viral productivity and transmissibility. *Virology* 537: 45-52. (2019)
- 論文2 Uchiyama J, Murakami H, Sato R, Mizukami K, Suzuki T, Shima A, Ishihara G, Sogawa K, Sakaguchi M. Examination of the fecal microbiota in dairy cows infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Microbiology* 240. (2020)

○ No. 19—46

研究テーマ 人工飼育により成長したマウスの情動についての研究

使用申請者 守口 徹

2019年度の研究概要と成果

C57BL/6J 雌性マウスを生後2日齢より母獣から離して人工乳で人工哺育し、成長後のマウスの早期母仔分離による母性行動への影響について検討している。

今回、育児環境による違いを検討するため、通常飼育の①母獣群、人工哺乳による②人工飼育群、授乳は人工乳による人工哺育を行い、それ以外の時間は仮母獣に付けて世話をさせる③人工飼育＋仮母獣群を設定した。また、②人工飼育群の人工乳に④オキシトシンや⑤母乳由来の乳酸菌（ラクトバチルス・ロイテリ菌 *Lactobacillus reuteri*）を添加し、④や⑤素材の有用性についても検討した。離乳後、4週齢時より仔回収試験などの行動試験を行い、現在、組織の分析値と合わせて解析中である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—47

研究テーマ マウスを用いた天然物由来食品素材の機能性評価

使用申請者 守口 徹

2019年度の研究概要と成果

天然物由来食品素材（紅茶葉、金柑、なた豆）を粉末にし粉末精製飼料（AIN-93M）に3%（w/w）混合して、Crj:CD-1（ICR）系雄性マウス6週齢時より約1ヶ月摂取させ、血液生化学的評価を行い、その潜在的な有効性を検討した。

体重変化と共に内臓脂肪量ならびに血液生化学指標を評価し、紅茶葉には肥満予防効果と糖尿病耐性が期待された。また、金柑、なた豆にも紅茶葉には及ばないものの同様の作用が期待された。加えて、金柑には、筋肉の損傷や炎症を抑える働きを示す可能性も示された。これらのことは、疾患モデルやストレス負荷条件の精度を高めることにより、より明確に言及できるものと考えられた。

研究成果報告

なし

○ No. 19—48

研究テーマ 犬の消化器疾患における腸内細菌叢—腸上皮細胞間相互作用の解明

使用申請者 五十嵐寛高

学内共同実験者 三宅司郎

学内共同実験者 内山淳平

2019年度の研究概要と成果

全身麻酔下で十二指腸粘膜の内視鏡下生検を行い、同時に糞便検体を採取した。得られた十二指腸粘膜および糞便検体は、今後表面プラズモン共鳴イムノセンサーを用いて解析することで、腸上皮細胞と腸内細菌叢との相互作用に関する健常コントロールデータとして使用していく予定である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—50

研究テーマ 情動伝染の麻酔感受性におよぼす影響

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

本研究では他個体とのインタラクションが、周術期における麻酔感受性や術後疼痛にどのような影響をおよぼすか検討し、動物実験や医療分野における周術期管理の向上に向けた基盤情報を提供することを目的とする。まず、同居個体の有無が周術期に及ぼす影響を評価するため、単独飼育と群飼育において麻酔感受性ならびに術後の疼痛レベルを比較した。その結果、単独飼育時には群飼育時と比較して麻酔感受性の低下、術後疼痛が亢進することが明らかとなった。次に、周術期において痛みの情動伝染が成立するか検討を行った。その結果、開腹手術の実施時において痛みの情動伝染が成立することが明らかとなった。

研究成果報告

学会発表 1 同居動物の存在が麻酔感受性・術後疼痛に与える影響. 日本獣医学会学術集会. 2020年9月. 口頭発表

○No. 19—51

研究テーマ マウスにおける長時間イソフルラン吸入麻酔に関する研究

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

本研究では長時間のイソフルラン吸入麻酔の特性について検討した。C57BL / 6J マウス 24 匹を、維持麻酔濃度 1.4% 群 (約 1.0 MAC)、1.6% 群 (約 1.15 MAC)、1.8% 群 (約 1.3 MAC)、2.0% 群 (約 1.5 MAC) の 4 群に振り分け、イソフルランを 6 時間吸入させた。各個体におけるバイタルサインの変動と覚醒時間、死亡率を評価検討した。その結果、いずれの群のマウスにおいても、麻酔関連死は認められなかった。直腸温度の低下は 2.0% 群で顕著であった。いずれの群でも呼吸回数の顕しい低下を認め、この低下は濃度依存性であった。一方、SPO2 や心拍数はいずれの群でも 6 時間後まで比較的安定していた。本研究では、いずれの濃度でも死亡個体を認めなかったが、濃度依存性の呼吸抑制を認めていることから、長時間麻酔をかける際には、目的に応じて麻酔濃度をできる限り低く調整することが必要であると考えられる。すなわち、不動化を目的とする場合は 1.4% 前後、外科処置を伴う場合は 2.0% 前後に調整することが推奨される。

研究成果報告

学会発表 1 バイタルサインを指標としたマウスにおけるイソフルラン長時間麻酔の特性. 日本実験動物技術者協会総会. 2019. ポスター発表

○No. 19—52

研究テーマ ラットにおける術後の疼痛レベルに関する研究

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

本研究では、ラットにおける代表的な麻酔法における術後疼痛の発現動態を検証した。各麻酔 (ケタミン / キシラジン、メデトミジン / ミダゾラム / ブトルファノール、イソフルラン) 下で開腹手術を行い、術後の疼痛レベルを Rat Grimace Scale と尿中コルチコステロンを指標に評価した。その結果、いずれの麻酔群でも疼痛は 24 時間以上持続したが、各時間での疼痛レベルの値や推移は麻酔法ごとでの特性が見られた。本研究で得られた知見は、ラットの術後における疼痛管理を適切に実施する上での基礎情報として有用であると考えられた。

研究成果報告

学会発表 1 各麻酔法が術後疼痛の発現動態に及ぼす影響. 日本実験動物学会総会. 2020. (誌面開催)

○ No. 19—53

研究テーマ デクスメデトミジンをベースとしたラットにおける新規バランス麻酔の確立

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

デクスメデトミジンは $\alpha 2$ 受容体作動薬であり、心肺への副作用が比較的少なく、安定した鎮静催眠作用と鎮痛効果を併せ持つ薬剤である。本研究ではラットにおいて、デクスメデトミジン / ミダゾラム / ブトルファノール (D/M/B) による新規バランス麻酔を確立した。SD ラットに各用量の D/M/B を投与し、麻酔時間や覚醒時間、麻酔深度、バイタルサインを評価した。その結果、D/M/B はラットにおいて安定した麻酔深度を得ることができるとともに、バイタルサインへの影響も許容範囲であることから、ラットの新たな注射麻酔法として有用であると考えられた。本麻酔法は従来の注射麻酔よりも作用持続時間が長く、さらにアチパメゾール投与により麻酔時間を調節することができる。デクスメデトミジンの用量は 0.05 mg/kg を基準とし、手術侵襲や麻酔時間に応じて増減することで、幅広い用途の麻酔に応用できると考えられた。

研究成果報告

学会発表 1 デクスメデトミジンをベースとしたラットにおける新規バランス麻酔の確立. 2019. 日本獣医学会学術集会. 口頭発表

○ No. 19—54

研究テーマ 環境中化学物質曝露がアレルギー病態に及ぼす影響評価

使用申請者 福山朋季

利用実験エリア 化学物質毒性エリア

2019年度の研究概要と成果

本研究では、エストロゲン受容体 (ER) の活性化がアレルギー病態に及ぼす影響について調査する目的で、ER α アゴニストである PPT および ER β アゴニストである DPN をイミキモドの反復投与により誘発したマウス乾癬モデルに経口投与し、その病態に及ぼす影響について調査した。結果、PPT 投与により痒み行動、皮膚の厚さ、耳介リンパ節中 T 細胞より産生される IL-17 および IL-22 産生量がコントロールと比較して有意に増加した。一方、DPN 投与群では変化が認められなかった。以上の結果は、乾癬病態が ER α の活性化により増悪化される影響を示唆していた。

研究成果報告

学会発表 1 岩野伶南、岩下直樹、福山朋季・エストロゲン受容体アゴニストである PPT および DPN がイミキモド誘発マウス乾癬モデルの病態に及ぼす影響について・日本免疫毒性学会・2019年9月・北九州・口頭発表

○ No. 19—55

研究テーマ マウスにおける表皮色素細胞の分布決定因子同定に関する研究

使用申請者 坂上元栄

学内共同実験者 小澤秋沙

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019 年度の研究概要と成果

動物の体表には模様があり、その模様は種によって異なる。組織学的には色素細胞の有無もしくは細胞密度によって模様相違が説明されている。しかしながら、その模様を決定する色素細胞の有無及び細胞密度を決定する機序は明らかとなっていない。本研究では、その機序を解明することを目的として、模様を持つマウス JF-1/Ms と色素芽細胞、色素幹細胞、色素細胞に発現する Dct-lacZ トランスジェニックマウスを用いて実験を行い、これらの細胞の局在が明らかとなった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—56

研究テーマ 神経膠細胞の機能に関する研究

使用申請者 坂上元栄

学内共同実験者 小澤秋沙

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

2019 年度の研究概要と成果

グリア線維性タンパク (GFAP) のプロモータを持つ Enhanced green fluorescent protein (EGFP) 遺伝子を導入した C57BL/6CrSlc-Tg(GFAP-EGFP)09Shb トランスジェニックマウスから星状膠細胞等の神経膠細胞の初代培養を行い、遺伝子発現への制御因子の直接関与等を検討することを目的として研究を行う予定であった。しかし、このマウスのホモと思われる個体で妊孕性がない可能性があったことが、昨年度判明し、現在、妊孕性について詳細に確認中である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—57

研究テーマ EL 系統由来コンジェニック系統を用いた、てんかんモデルマウスの研究

使用申請者 田中和明

学内共同実験者 滝沢達也

2019 年度の研究概要と成果

マウス EL 系統の 2 番染色体および 9 番染色体に存在するてんかん発作感受性 QTL 領域を B6 系統に導入した 3 つのコンジェニック系統を用いて以下の実験を行った。ペンチレンテトラゾール (PTZ) 単回投与 (50 mg / kg 腹腔) により、全身性の発作を誘発した。PTZ 投与 1 時間後、3 時間後、24 時間後の 3 つの時点で、それぞれ 5 個体ずつペントバルビタールの過剰投与による安楽殺後に脳の組織を採取し、RNA 抽出用の組織保存液に浸漬した。この組織を用いて大発作後の脳内での遺伝子発現の系統差を解析する準備を行っていた時点で、コロナ伝染病の発生により実験の休止を余儀なくされた。並行して、遺伝子資源の保存のために理化学研究所バイオリソースセンター (マウス) に、コンジェニック系統の寄託を行った。これらの系統に対して RBRC10973、RBRC1097 および、RBRC10975 の RCBRC 番号が割り振られた。

研究成果報告

なし

○ No. 19—58

研究テーマ 転写因子 GATA3 を含むクロマチンタンパク質複合体の構造、機能、免疫疾患の病態機序への関与の解析

使用申請者 宮武昌一郎

2019 年度の研究概要と成果

GATA3 変異マウスは 2 系統あり、自己免疫性皮膚炎を発症する $\Delta 1$ GATA3 変異と皮膚炎を発症しない $\Delta 2$ GATA3 変異がある。MHC classII 欠失を導入すると、 $\Delta 1$ GATA3 変異の皮膚炎が憎悪したことから、皮膚炎には MHC classII による免疫チェックポイントが関与することが示された。皮膚炎を発症しない $\Delta 2$ GATA3 変異に MHC classII 欠失を導入したところ、皮膚炎が発症した。このことから $\Delta 2$ GATA3 変異においても皮膚炎発症の素因を持っているが、免疫チェックポイントによる抑制機構が作用している状態では、皮膚炎発症は抑制されていることが明らかになった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—59

研究テーマ マンソン裂頭条虫の各発育・成熟段階における石灰小体の組織学的再検討

使用申請者 栗林尚志

学内共同実験者 川上 泰

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

マンソン裂頭条虫を感染させたビーグル犬における C-reactive protein (CRP) 血清濃度の経時的変化について検討した。ビーグル犬へプレロセルコイド幼虫を飼料に混合し経口投与した。採血は、投与前、投与1、2、3、4、7、10 および14日後に橈側皮静脈から、各時点0.5 mL行った。CRPの血清濃度は、ELISAにより測定した。消化管内においてマンソン裂頭条虫が成熟することが確認されたが、CRPの血清濃度に変化は認められなかった。マンソン裂頭条虫の感染は、CRP濃度が大きく変化するほどの炎症刺激を惹起していないと考えられた。

研究成果報告

なし

○ No. 19—60

研究テーマ 空気清浄機の殺ウイルス作用の検討

使用申請者 田原口 智士

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

2019年度は、19-60で3-I-57室を使用した実験は行わなかった。

研究成果報告

なし

○No. 19—61

研究テーマ カビ毒（デオキシニバレノール及びその類縁体）のマウス免疫系に及ぼす影響の検出

使用申請者 三宅司郎

学内共同実験者 福山朋季

利用実験エリア 化学物質毒性エリア

2019年度の研究概要と成果

本研究では、アカカビである *Fusarium* 属菌から産生されるカビ毒の一種で、トウモロコシや麦類といった穀類をベースとした食品に頻りに汚染が見られるデオキシニバレノール（DON）のアレルギー疾患に対する影響を調査した。Th2型ハプテンである2,4-トルエンジイソシアナートを反復経皮投与する事で作製したアレルギー性皮膚炎モデルマウスを用いた検討では、高用量のDON（0.3, 1 mg/kg）を急性的に投与する群および低濃度のDON汚染小麦（3.3 mg/kg小麦）を反復経口投与する群のいずれにおいても、耳介厚がDON濃度依存的に有意に増加し、耳介リンパ節中のヘルパーT細胞数、樹状細胞数、IgE陽性B細胞数もDON投与群で対照群と比較して有意に増加した。皮膚組織中の角化細胞由来サイトカインであるIL-33およびTSLP量もDON投与群で対照群と比較して有意に増加していた。以上の結果から、DON曝露がマウスモデルにおいてアレルギー症状を直接的に増悪させていることが示唆された。

研究成果報告

- 学会発表1 相原亮太、大河原冬彩、森本 藍、岩下直樹、三宅司郎、福山朋季・デオキシニバレノールの短期曝露が皮膚アレルギー症状に及ぼす影響について—in vitro および in vivo における解析—・日本マイコトキシン学会・2019年8月・宇都宮・口頭発表
- 学会発表2 大河原冬彩、相原亮太、森本 藍、岩下直樹、宮坂 篤、久城真代、三宅司郎、福山朋季・デオキシニバレノール汚染小麦の亜急性経口投与がアレルギー性皮膚炎モデルマウスに及ぼす影響について・日本マイコトキシン学会・2019年8月・宇都宮・ポスター発表
- 学会発表3 T. Fukuyama, T. Ookawara, R. Aihara, A. Morimoto, M. Kushiro, S. Miyake, Y. Sugita-Konishi・A possible involvement of Mycotoxin exposure in the development of allergic diseases・Mycotoxin Forum・2020年1月・バンコク・口頭発表

○No. 19—63

研究テーマ 母ラットへの高脂肪食とタウリンの給与が産子の体脂肪量と脂肪酸代謝に及ぼす影響

使用申請者 勝俣昌也

2019年度の研究概要と成果

2019年度は生物科学総合研究所の利用は無かった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—64

研究テーマ オオサンショウウオ雄の生殖生理におけるプロジェステロンの生理機能

使用申請者 松井久実

2019年度の研究概要と成果

オオサンショウウオから検出されたプロジェステロン類似物質の生殖腺における機能を追跡するため、2018年度に三重県名張市から本学に交雑種・雄5個体の譲渡を受けたが、どの個体も顕著な精巣収縮があり、繁殖時期を迎えても清掃の発達および精子形成は確認できなかった。飼育を継続し個体のコンディション向上に務めたが、当初の研究計画を実施するための実験条件前提を整えることは叶わなかった。2020年1月に最後の個体のエンドポイントを迎えたことで実験終了とした。

研究成果報告

なし

○ No. 19—65

研究テーマ マウスにおける犬の腸内細菌叢から分離した細菌の抗アレルギー性の検討

使用申請者 阪口雅弘

学内共同実験者 福山朋季

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

健常犬群から分離した異なる2種の乳酸菌(A, B)について、NCマウスダニ抗原誘発アトピー性皮膚炎モデルおよびBALB/cマウスダニ抗原誘発喘息モデルを用いて、その抗アレルギー性を評価した。アレルギーモデル作製前にA菌とB菌をマウスに2週間経口投与し、アレルギーでアレルギー症状を誘発して、そのアレルギー症状の変化をコントロール(無投与)群と比較した。A菌とB菌群ともにアトピー性皮膚炎症状の発現がコントロール群と比較して弱く、近傍リンパ節中の免疫担当細胞数、リンパ球培養上清中および組織中のアレルギーに関連したサイトカインも、A菌とB菌投与群でコントロール群と比較して有意に低かった。血清中IgE抗体もA菌とB菌投与群でコントロール群と比較して低値に抑えられており、A菌とB菌がアレルギーに対する抑制効果を持つことが明らかとなった。

研究成果報告

なし

○ No. 19—66

研究テーマ イヌの細胞株を用いたアミノ酸、コリンの輸送活性の解析

使用申請者 落合秀治

利用実験エリア 組み換え DNA エリア

利用実験エリア RI 実験施設エリア

2019 年度の研究概要と成果

コリンは生体のすべての細胞にとって必須分子であり、細胞膜の構成成分であるリン脂質の前駆体と神経伝達物質であるアセチルコリンの前駆体として使用されている。イヌのコリン輸送体の分子構造が不明であったことが、犬のコリン輸送体 1.2.3.4.5 について、アミノ酸配列を明らかにし、組織分布について検討した。

研究成果報告

なし

○ No. 19—67

研究テーマ ホテイアオイ（野生株）の馴化に関する研究

使用申請者 久松 伸

利用実験エリア 水生生物エリア

2019 年度の研究概要と成果

現在、水生生物であるホテイアオイの環境分野での応用を試みるために、無菌化してあるホテイアオイへの遺伝子導入法の検討を計画している。仮にこの無菌ホテイアオイの形質転換体が得られた場合、将来的にはその形質転換体を非無菌環境下で栽培する必要があるため、遺伝子を組換えていない無菌ホテイアオイを用いて、非無菌環境下でも良好に成長・栽培ができるよう水生生物施設内で非無菌環境下における馴化と栽培条件の検討を行っている。これまで数種類の LED 光源を使用し、その光源からの距離を変化させることで光量の違いを検討してきたが、栽培中に発生する藻の影響によりホテイアオイの生育が著しく阻害されてしまうため、水槽内の水を頻繁に交換する等の対策を行った。形質転換したホテイアオイは植物工場などでの栽培を視野に入れており、浄化装置などを導入すると栽培コストがかかることから、低コストで藻の発生を防ぐ方策を引き続き検討していく。

研究成果報告

なし

○ No. 19—68

研究テーマ ウイルス感染における糖鎖の役割

使用申請者 藤野 寛

学内共同実験者 田原口智士

学内共同実験者 山下 匡

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

これまでの研究により、糖鎖合成酵素を欠損した培養細胞ではインフルエンザウイルス増殖が妨げられることが判明していた。しかしながら、生体で同様の検討を行った所、糖鎖合成酵素を欠くにも関わらず、培養細胞の結果とは異なりウイルスの増殖が増強される可能性が示唆された。今後は、単にウイルス増殖のみでなく宿主の免疫等を含めてどのような現象が起きているか確認する予定である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—69

研究テーマ 外来遺伝子を発現するボルナ病ウイルスベクターの利用と作製

使用申請者 藤野 寛

学内共同実験者 田原口智士

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

外来性遺伝子としてルシフェラーゼを挿入したボルナ病ウイルスを作成し、微生物由来化合物のウイルスに対する影響を検討した。その結果、複数のウイルス増殖抑制あるいは促進を促す化合物をピックアップすることが出来た。ボルナ病ウイルスの増殖を促進させる化合物はウイルスの感染を早く広げる作用が示唆されており、今後ウイルスベクター開発において有用だと考えられる。

研究成果報告

学会発表 1 塚脇 理聡子、大下 瑤子、紙透 伸治、藤野 寛、田原口 智士・ボルナウイルスの増殖に影響を及ぼす微生物由来化合物の探索・日本獣医学会・2019年9月・つくば・口演発表

○No. 19—70

研究テーマ アデノウイルスの鶏に対する病原性の解析

使用申請者 田原口智士

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

初生ひなにフクロウアデノウイルスを感染させたが、感染の成立を立証することが出来なかった。ウイルス力価が低かったことから、高いウイルス価にしたウイルスを用いて再度試験を行う。

研究成果報告

なし

○No. 19—71

研究テーマ 消化管運動ペースメーカー細胞における生存・障害シグナルの探索

使用申請者 梶 典幸

2019年度の研究概要と成果

一酸化窒素の合成阻害が消化管ペースメーカー細胞の生存に及ぼす影響を検討した。マウスに一酸化窒素合成阻害薬であるL-NAMEを2週間にわたって飲水投与した結果、胃および空腸におけるペースメーカー細胞の密度が低下することが分かった。一方、結腸における細胞密度には変化がなかった。また、健常時におけるペースメーカー細胞の増殖を免疫染色により観察したところ、ペースメーカー細胞の増殖は主に神経の周囲で生じていることが分かった。神経は消化管における一酸化窒素の産生細胞であることから、消化管ペースメーカー細胞の生存には神経由来の一酸化窒素が必要であることが示唆された。

研究成果報告

なし

○ No. 19—72

研究テーマ ラットのアルコール性肝障害モデルにおける腸内細菌叢の変化

使用申請者 曾川一幸
学内共同実験者 安達 明
学内共同実験者 伊藤 智
学内共同実験者 矢野彩音
学内共同実験者 石崎直人

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

4週齢のSD系雄性ラットをLieber-Decarli手法により、アルコール含有液体飼料あるいはその等カロリーを炭水化物で置換したコントロール液体飼料で8週間のpair-feedingを行い、腸内細菌叢解析及び門脈血の血液培養を行った。腸内細菌叢解析において、小腸・大腸では*Clostridium* sp.、*Morganella* sp.、*Proteus* sp.でコントロール群よりもアルコール群で増加がみられ、門脈血の血液培養において、8週間飲酒させたラット全てに*Clostridium difficile*が分離された。我々は胃内に摂取した*C. difficile*が腸管内で定着し、門脈血で同定されるかについて、ラットモデルを作製し検証することを目的とした。肝臓組織のHE染色による病理組織像では、投与後15日の感染群において少数であるが脂肪滴沈着を認めた。感染群の小腸における腸内細菌叢の*Clostridium* sp.存在比率は、投与後3日、6日、9日、12日、15日で、それぞれ $0.0 \pm 0.0\%$ 、 $0.6 \pm 0.1\%$ 、 $3.2 \pm 0.1\%$ 、 $8.4 \pm 0.1\%$ 、 $18.6 \pm 1.0\%$ であった。門脈血の血液培養では感染群で投与後12日、15日で*C. difficile*が分離された。*C. difficile*感染ラットモデルにおいて、小腸で定着・増殖することで門脈血に存在し、肝障害を起こす可能性が示唆された。

研究成果報告

論文1 藤縄美咲、石毛崇之、曾川一幸. ラットのアルコール性肝障害モデルにおける腸内細菌叢に関する検討. アルコールと医学生物学. 38: 23-26 (2019).

学会発表1 矢野彩音、石毛崇之、伊藤智、安達明、塚本篤士、石崎直人、古畑勝則、曾川一幸・ラットの*Clostridium difficile*感染モデルにおける腸内細菌叢に関する検討・アルコール医学生物学研究会・2020年1月・東京・口演発表

○ No. 19—73

研究テーマ X線透過法による鉍物種判別手法の開発

使用申請者 中野和彦

利用実験エリア RI 実験施設エリア

2019年度の研究概要と成果

デュアルエネルギー X線透過法による、鉍物種の迅速かつ簡便な判別手法を検討した。小型 X線管と半導体検出器を組み合わせて自作した X線透過装置を用いて、自然界に存在する 13種の代表的な鉍物種に対し、照射する X線のエネルギーを 25 kV~50 kV の管電圧で段階的に変化させて X線を照射し、X線透過度を測定した。それぞれの X線のエネルギーに対する X線透過度の関係を自然対数で近似し、その傾きを「鉍物種の透過度の傾き」と定義し、13種の鉍物種について、鉍物種の透過度の傾きを縦軸に、鉍物種の実効原子番号を横軸にプロットした結果、鉍物種の実効原子番号と透過度の傾きには高い相関関係が見られた。このことから、デュアルエネルギー X線透過法により、鉍物種の判別が可能であることが示された。

研究成果報告

学会発表 1 中野和彦, 宮園尋士, 山田一孝, 伊藤彰英:「デュアルエネルギー X線透過法による鉍物種判別手法の開発」, 第 55 回 X線分析討論会, コラッセふくしま, 福島, 2019 年 10 月 (ポスター発表)



○ No. 19—74

研究テーマ *Rhizopus oryzae* 水抽出物の抗アレルギー効果の検討

使用申請者 鈴木武人

利用実験エリア 化学物質毒性エリア

2019年度の研究概要と成果

Rhizopus oryzae 水抽出物 (RU) は免疫担当細胞の調節作用やイヌにおける皮膚炎症状の改善が報告されているが、両者を関連付ける研究はない。そこで本研究では、アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いて、RU の抗アレルギー効果を検討した。

ピクリルクロライドで皮膚炎を誘発した NC/Nga マウスに、RU を 1mg/g (体重) / 日の用量で 10 日間経口投与した。RU 投与群では皮膚炎スコア、血中 IgE 濃度ともに対照群に対し低下傾向を示し (P=0.12)。血中 IL-4 濃度は RU 投与群で有意に低下した (P<0.05)。ヘルパー T 細胞は、RU 投与群で対照群に対し Th2 細胞数が有意に減少 (P<0.05)、Th1 細胞数が有意に増加した (P<0.05)。さらに当該マウスの行動を撮影装置により録画し、搔爬行動の回数と時間を定量化したが、両群間で有意な差は認められなかった。

搔爬行動に変化が認められなかったため、症状の悪化と相関するとされている皮膚病変部における NGF 濃度の測定などを行い、RU の作用メカニズムについて更に検討を加えたい。

研究成果報告

なし

○No. 19—76、19—85

研究テーマ 担癌ラットにおけるナノ粒子の抗腫瘍効果に関する投与パラメータとその作用機序の検討

使用申請者 折戸謙介

利用実験エリア SPF エリア

2019年度の研究概要と成果

担癌ラットにおけるナノ粒子の抗腫瘍効果メカニズム解明のため、本年度はラット由来乳腺癌細胞をラット皮下に投与し、癌組織発育の経時的変化を観察すると共に、ナノ粒子の投与時期の最適化を行った。

研究成果報告

なし

○No. 19—77

研究テーマ 創傷治癒を促進する新規光治療の探索

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

特許等知的財産申請予定のため記載せず

研究成果報告

なし

○ No. 19—78

研究テーマ 麻酔感受性に関わる環境因子の同定とエピゲノム解析

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

本研究では、マウスにおいて飼育環境と麻酔感受性の関連性を検討した。C57BL/6J 妊娠マウスの産仔を各環境下で飼育し、ストレスレベルをコルチコステロン濃度と Tail suspension test によって評価した。また、イソフルラン吸入麻酔下における麻酔感受性を麻酔導入時間、MAC、バイタルサインを指標に評価した。まず、単独飼育と群飼育におけるストレスレベルと麻酔感受性を検討したところ、単独飼育ではストレスレベルが有意に上昇し、麻酔導入時間の延長が認められた。次に、環境エンリッチメントの使用が麻酔感受性に与える影響を検討したところ、有意な変化を認めなかった。最後に、慢性ストレスモデルマウスにおいて麻酔感受性を評価した。慢性ストレスモデルマウスでは尿中コルチステロン濃度の上昇がみられ、麻酔導入時間、MAC、心拍数が有意に上昇した。以上のことから、生育環境がマウスの麻酔感受性に影響を及ぼし、特にストレスレベルが麻酔感受性に影響することが示唆された。

研究成果報告

学会発表1 イソフルランの麻酔感受性に対する飼育環境の影響,2020,日本実験動物学会総会(誌面開催)

○ No. 19—79

研究テーマ 糖尿病性胃不全麻痺モデルの確立を目指した新規2型糖尿病モデル動物の解析

使用申請者 梶 典幸

2019年度の研究概要と成果

自然発症型2型糖尿病モデルラットである WBN/Kob-Lepr^{fa} (WBKDF) ラットにおける糖尿病性胃不全麻痺 (DGP) の発生を調べた。胃排出能は ¹³CO₂ 呼気試験法を用いて測定した。糖尿病発症前の5週令において、胃排出能は WBKDF ラットと対照群の Wistar ラットの間で顕著な差はみとめられなかった。糖尿病を発症した4週後にあたる14週令において WBKDF ラットの胃排出能は Wistar ラットに比べて顕著に遅延していた。さらに20週令においても WBKDF ラットの胃排出遅延が認められ、14週令よりも顕著であった。以上の結果から、WBKDF ラットは比較的安定して糖尿病による胃排出遅延を呈することが示され、DGP モデルとしての有効性が示唆された。

研究成果報告

なし

○ No. 19—80

研究テーマ 術後イレウスモデルにおけるフザプラジブナトリウムの治療効果

使用申請者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

フザプラジブナトリウムはLFA-1阻害薬であり、好中球や単球などの炎症細胞に作用し、血管壁への接着を阻害することで細胞浸潤を抑制する新しいタイプの抗炎症薬である。フザプラジブナトリウムは動物薬として昨年認可を受け（ブレンダZ、日本全薬）、犬の急性膵炎の治療に用いられている。本研究では、術後イレウスモデルマウスにおいてフザプラジブナトリウムの抗炎症効果ならびに消化管運動障害予防効果を検証し、本薬剤の新たな臨床応用の可能性を検証する。現在のところ、フザプラジブナトリウムは術後炎症に対して一定の抗炎症効果を示すことが示されている。今後はフザプラジブナトリウムのイレウスの改善効果を検証する予定である。

研究成果報告

なし

○ No. 19—81

研究テーマ ウシ胎盤における副甲状腺ホルモン関連タンパク質の役割

使用申請者 風間 啓

学内共同実験者 恩田 賢

利用実験エリア RI 実験施設エリア

2019年度の研究概要と成果

副甲状腺ホルモン関連タンパク質（PTHrP）が乳牛の胎盤を介したカルシウム（Ca）輸送に関与しているかを調べるため、帝王切開を実施した乳牛21例について、母牛、新生子牛の血液中PTHrP、Ca濃度を測定した。母牛の血液中PTHrP濃度は検出限界以下だったが、新生子牛の血液からはPTHrPが検出された。また、血液中Ca濃度は母牛よりも新生子牛で有意に高かった。さらに、新生子牛の血液中PTHrP濃度はCa濃度と有意な負の相関が認められた。また、帝王切開時に母胎盤、胎子胎盤を採取し、PTHrP、カルシウム感受受容体（CaSR）の遺伝子発現をリアルタイムPCR法により解析した。PTHrPは母胎盤で、CaSRは胎子胎盤でそれぞれ有意に高い遺伝子発現を認めた。以上のことから、胎子胎盤のCaSRが胎子の血液中Ca濃度を感知し、母胎盤由来のPTHrPがウシ胎盤におけるCa輸送を調節している可能性があった。

研究成果報告

学会発表1 風間啓、佐藤礼一郎、西尾卓馬、永根大幹、杉田和俊、新井佐知子、恩田賢・乳牛の胎盤における副甲状腺ホルモン関連タンパク質と新生子牛血液中のミネラル濃度の関係・日本獣医学会・2019年9月・つくば・口頭発表

○ No. 19—82、19—87

研究テーマ 食品成分の機能性の有無の評価

使用申請者 澤野祥子

2019年度の研究概要と成果

筋細胞は一度成熟筋線維まで分化した後は、死にもせず増殖もしない静的な性質を有する一方で、その後の環境の変化に応じてサイズ（筋肥大・筋萎縮）や細胞の代謝特性と収縮特性（筋線維タイプ）をダイナミックに変える動的な性質を有する。本研究では、筋肥大、筋線維タイプ（MyHC1, 2A, 2X, 2B）の変換及び筋萎縮の抑制という観点から、食品成分（ショウガ粉末など）が筋線維の構成要素に及ぼす影響を、たんぱく質レベルで解析することを目的として、マウスに8週間食品成分を摂取させた。摂取後のマウスを屠殺・解剖し、骨格筋を採取した。

現在、筋組織からRNA・たんぱく質を抽出し、食品成分摂取による影響を評価しているところである。

研究成果報告

なし

○ No. 19—84

研究テーマ 歯周病治療薬に関する研究

使用申請者 福山朋季

2019年度の研究概要と成果

2019年度の本研究では、犬の歯周病菌として知られている *Porphyromonas gulae* (*P. gulae*) の保有、歯周病病態の進行そして残菌数の相関について、一般動物病院に来院した犬を対象に疫学的調査を実施した。首都圏の5動物病院に来院した225犬について、3つの年齢層（50ヵ月齢以下、50～100ヵ月齢、100ヵ月齢以上）に分類し、*P. gulae* の遺伝子型分類 (*fimA* A, B, C)、歯周病スコア (stage 1～4)、残菌数を調査した。結果、全ての年齢層において歯周病スコアは *fimA* タイプが A<B<C の順で重症化し、重症化に伴って残菌数も減少する結果となった。また、年齢が進むにつれ歯周病スコア、*fimA* type C の保有割合、残菌数が悪化する事が示唆された。

研究成果報告

福山朋季・歯周病の問題点と分野別の取り組み「4.免疫疾患・免疫不全症と歯周病」・CAP2020年1月号特集・

○ No. 19—86

研究テーマ HGF（肝細胞増殖因子）の感染性角膜炎モデルにおける角膜癒痕抑制効果

使用申請者 高橋広樹

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

家兎緑膿菌感染性角膜炎モデルを作成し、肝細胞増殖因子（HGF）点眼による角膜癒痕抑制効果を検討した。家兎緑膿菌感染性角膜炎モデルの作成に成功し、HGFの角膜癒痕抑制効果が確認された。今後、様々な重症度の家兎緑膿菌感染性角膜炎モデルを作成し、HGF点眼が最も効果的な角膜炎の重症度を検討する。

研究成果報告

なし

○ No. 19—88

研究テーマ マウスの肝臓、筋肉ならびに脂肪組織より調製した初代培養細胞を用いた代謝調節機構の解明

使用申請者 村上 賢

学内共同実験者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

マウスの各臓器（肝臓、筋肉、脂肪組織）を採材し、RNA抽出、cDNA作製を行い、代謝調節等に関与する遺伝子群の発現を、定量的リアルタイムRT-PCRにより解析した。論文化に向けて、さらにデータを蓄積していく。マウスの門脈または心臓からコラゲナーゼ溶液による灌流を行い、肝臓を切除して肝細胞を回収し、培養を試みた。しかし、十分な生細胞を得ることができず、初代培養細胞を確立することができなかった。手法を再検討する。

研究成果報告

なし

○ No. 19—89

研究テーマ ラットの肝臓、筋肉ならびに脂肪組織より調製した初代培養細胞を用いた代謝調節機構の解明

使用申請者 村上 賢

学内共同実験者 塚本篤士

2019年度の研究概要と成果

ラットの各臓器（肝臓、筋肉、脂肪組織）を採材し、RNA抽出、cDNA作製を行い、代謝調節等に関与する遺伝子群の発現を、定量的リアルタイムRT-PCRにより解析した。論文化に向けて、さらにデータを蓄積していく。ラットの門脈または心臓からコラゲナーゼ溶液による灌流を行い、肝臓を切除して肝細胞を回収し、培養を試みた。しかし、十分な生細胞を得ることができず、初代培養細胞を確立することができなかった。手法を再検討する。

研究成果報告

なし

○ No. 19—90

研究テーマ ハタネズミを用いた海産植物飼料の給与試験

使用申請者 水野谷 航

利用実験エリア 感染エリア

2019年度の研究概要と成果

実験を開始するにあたり、ハタネズミの飼育施設導入のために以下の検疫を実施した。2020年1月にハタネズミを日本獣医生命科学大学から搬入し、原虫の駆虫のため、7日間、検疫エリアで0.02 mg/ml イベルメクチン水溶液を飲水投与した。その後通常飼育で2週間経過後に微生物モニタリングに供した。モニタリングの結果、依然ハタネズミで原虫（*Octomitus intestinalis* と *Chilomastix bethencourti*）が検出された。なお同ラックで飼育したおとりマウスは全て陰性であったため、同一ラック内で伝播はしないようであった。ハタネズミは、イベルメクチン投与期間中と投与直後は大きな異常は見られなかったが、その後2020年3月末まで徐々に体重が減少したことから、イベルメクチンにより、食道のうや消化管内の原虫バランスが変化し、植物性飼料の栄養利用効率が低下している可能性が考えられた。

研究成果報告

なし

「麻布大学バイオセキュリティ」 教育講演

2019年5月27日（月）にコロンビア大学 感染免疫センター／ロッキーマウンテン研究所の奥村 敦先生を招聘し、教育講演を実施しました。「日本でも今後直面する感染症輸入感染症の脅威」と題して、Collaborative Cross マウスを用いたエボラ出血熱の宿主の感受性遺伝子、耐性遺伝子の最新の知見を報告するとともに、中東呼吸器症候群、ラッサ熱の最新の情報について、わかりやすく説明していただきました。

麻布大学バイオセキュリティ 教育講演

日本でも今後直面する 感染症輸入感染症の脅威

講師：奥村 敦

コロンビア大学 感染免疫センター/
ロッキーマウンテン研究所 微生物研究室

日時：2019年5月27日（月） 18：00－20：00

場所：麻布大学 8号館 8601講義室

**共催：麻布大学 附置生物科学総合研究所
附属動物管理センター
動物実験委員会
病原体等安全管理委員会
遺伝子組換え実験安全委員会
感染症対策委員会**

*本講演は麻布大学大学院 獣医学研究科・環境保健学研究科の大学院特別講義の一環になっていますが、学部生等の受講も歓迎いたします。

麻布大学附置生物科学総合研究所 紀要第 30 号

(作成基準日：平成 31 年 4 月 1 日現在)

発行所 〒 252-5201
神奈川県相模原市中央区淵野辺 1-17-71
麻布大学附置生物科学総合研究所
TEL 042-754-7111 (内線 2216・2416・2420)
FAX 042-754-9930

発行者 所長 佐原 弘益
編集責任者 落合 秀治
担当事務 新 篤志・青野 和憲



No. 30