

19. 動物管理室

室長 山田靖子

概要

浅野敏彦前室長が平成 14 年度をもって定年退官され、平成 15 年 4 月 1 日より山田靖子が室長に就任した。動物管理室は戸山庁舎、村山分室の動物管理区の運営管理を行っているが、従前のシステムを踏襲し、1 年間大過なく維持された。平成 15 年 7 月よりバイオセーフティー管理室の管理下で村山分室 6 号棟に新たに BSL3 動物区が稼働し、それまで施設が限られたため制約のあった村山分室での BSL3 動物実験が行いやすくなった。平成 16 年 1 月より田原元子が研究員として着任し、平成 16 年 3 月に中山一栄主任研究官が定年退官を迎えた。

動物管理室の研究は、昨年度に引き続き実験動物の感染症に関する研究、モデル動物の開発研究が進められた。平成 15 年当初に流行した重症急性呼吸器症候群(SARS)の原因ウイルスが動物管理室で研究を行っているマウス肝炎ウイルス(MHV)と同じコロナウイルスであったため、所内で協力して行った SARS ウイルス研究の一部を担当した。

国際協力に関しては、平成 15 年 11 月の 1 ヶ月間、タイ国立衛生研究所より Ms.Sae-lim Benjama が「ワクチンの動物接種」の研修で村山分室に滞在し、血液安全性研究部とともに対応した。

所内委員会のひとつである動物実験委員会は感染研で行われる動物実験計画を動物の愛護・福祉の観点から審査するために設置されているが、動物管理室はその事務局を担当している。昨今、実験動物の福祉の向上は世界的な時流である。今年度は、実験動物の福祉の概念を動物実験実施者に理解してもらうため全所を対象とした講習会を行い、また動物実験計画書の審査は愛護・福祉が主目的となるよう大きく修正された。改変に伴う申請者のとまどい、委員会として討議すべき事例などの問題は起きたが、動物の愛護・福祉を目標とした動物実験委員会の改革第一歩を踏み出した 1 年であった。

動物管理区の利用状況

平成 14 年度末に行われた動物実験委員会の全所対象の講習会受講者は戸山 225 人、村山 121 人、筑波 48 人、ハンセン 19 人(合計 413 人)であり、平成 15 年度に申請された動物実験計画は 229 件であった。また、戸山庁舎と村山庁舎の動物管理区における施設利用登録者数は平成 16 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 402 人、村山庁舎 174 人である。

I 実験動物施設利用者講習会および動物実験講習会

開催月日	開催場所	受講者数 (新規)		
		施設利用 (戸山)	施設利用 (村山)	動物実験
4月4日	戸山	35	0	49
4月25日	戸山(臨時)	1	0	0
5月1日	戸山(臨時)	5	0	5
5月19日	戸山(臨時)	1	0	0
6月4日	戸山	14	0	25
6月10日	村山	0	6	0
6月12日	村山	0	2	0
6月18日	戸山(臨時)	0	0	7
7月16日	戸山(臨時)	1	0	0
8月5日	戸山	11	0	22
9月4日	村山	0	2	0
11月19日	村山	0	1	0
10月6日	戸山	10	0	22
12月2日	戸山	9	0	13
1月14日	村山	0	14	0
1月6日	戸山(臨時)	1	0	0
2月4日	戸山	5	0	10
合計		93	25	154

イタリック文字は英語講習会(外国人等)を含む

動物管理室

II 微生物モニタリング

戸山庁舎、村山分室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。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。(空欄は検査を実施していない)

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	0/374	0/17	0/43	0/194	0/74	0/92
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/374	0/3	0/8	0/194	0/74	0/92
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/374	0/17	0/43	7/190	0/74	1/92
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	3/374	0/17	5/43	96/190	18/74	55/92
腸粘膜肥厚症	Citrobacter rodentium	培養	0/374			0/194		
パストツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/374			0/194		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/374			0/194		
マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/374			0/194		
ウサギパストツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/17			0/74	0/92
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/17	0/43		0/74	0/92
溶血連鎖球菌	Streptococcus zooepidemicus	培養			0/43			0/92
肺炎球菌	Streptococcus pneumoniae	培養			0/43			0/92
センダイウイルス	Sendai virus (HVJ)	血清反応	0/374	0/3	0/8	0/194	0/74	0/92
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/374			0/194		
エクトメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/374			0/194		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/374					
スピロスクレウス (ヘキサミタ)	Spironucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/374					
ネズミ盲腸蟻虫	Syphacia spp.	鏡検	0/374					
ネズミ大腸蟻虫	Aspicularis tetraptera	鏡検	0/374					
囊尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/374					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/374					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/374					
コクシジウム	Eimeria caviae, Eimeria spp.	鏡検		0/3	0/8			
囊尾虫	Cysticercus pisiformis	剖検・肉眼所見		0/3				
ウサギ疥癬ダニ	Psoroptes cuniculi	鏡検		0/3				

(網 康至、須崎百合子、松野久美子、滝本一広、中山一栄、田原元子、星谷 武、増子芳郎、山田保利、大池正明、吉岡利夫、小川敏雄、山田靖子)

研究業績

I 実験動物の感染症に関する研究

I-1 希少実験動物のセンダイウイルスに対する感受性と抗体検出法の検討

センダイウイルス(HVJ)の宿主域は広く、マストミス、スナネズミ、ハムスターも汚染の可能性があり、HVJの検査が必要である。当管理室では、CF法を用いてマストミス、スナネズミ、ハムスターの抗体検査を行っているが、CF法は感度が低いという短所がある。これら希少実験動物のHVJ感染血清を得、HVJに対する感受性を調べると共に、高感度で簡便なELISA法による抗HVJ抗体の検出を試みた。マストミス、ハムスターでは、二次抗体としてProtein Gを使用することにより明確な特異反応を示した。スナネズミはELISAでの特異反応が弱かったので、CF法で抗HVJ抗体産生を確認した。

(滝本一広、中山一栄、山田靖子)

II モデル動物の開発

II-1 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同一個体の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た。そのうちの1頭は、脳脊髄液中にウイルス中和抗体を検出し、持続的な血清中の高中和抗体価の維持され、抗麻疹ウイルスIgM抗体が持続して検出された。これらの結果は、この個体において中枢神経内に麻疹ウイルスが持続感染していることを示唆するものと考えられる。

(網 康至、須崎百合子)

II-2 低分子化合物のGM1 ガングリオシドーシス治療効果

22週齢のBK48マウス(GM1ガングリオシドーシス幼児型ヒトβ-ガラクトシダーゼ変異酵素を発現するβ-GalKOマウス)に、酵素還元効果が認められているガラクトース類似低分子物質0.5mM、0.1mM、0.02mMを飲水に混ぜて5週間投与し、脳のGM1、アシアロGM1含有量を非投与群と比較することにより、その治療効果について検討したが、GM1、アシアロGM1含有量に差は認められなかった。

[滝本一広、松田潤一郎¹、鈴木 治¹、山本美江¹(¹獣医科学部)]

II-3 GM1 合成酵素高発現マウスの糖脂質解析

ガングリオシド合成能を高めるために作出されたGM1/GA1合成酵素遺伝子導入マウスの脳および肝臓におけるGM1、アシアロGM1の含有量を生化学的に検索した。GM1は、肝臓では調べた4ラインのうち3ラインで発現が認められたが、脳では含有量に変化は認められなかった。アシアロGM1は、脳、肝臓ともに検出限界以下だった。

[滝本一広、松田潤一郎¹、鈴木 治¹、山本美江¹、高野 薫¹(¹獣医科学部)]

III 重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

III-1 SARS ウイルスの遺伝子変異に関する研究

香港より分与されたSARSウイルスから感染研で作成されたシードについてSタンパク下流の遺伝子配列を解析したところ、シードウイルスには非構造タンパク8aに2塩基の欠失があることが判明した。また、SARSウイルスを高い感染価で連続して継代した各継代歴のウイルスについて遺伝子変異の出現を解析したところ、Sタンパク下流の遺伝子配列に3箇所の変異が認められ、Eタンパク231塩基中の24塩基の欠失が主な変異であった。S、M、Nの主要構造タンパクには変異は認められなかった。

[山田靖子、水谷哲也¹、高橋一朗²(¹ウイルス1部、²遺伝子資源室)]

発表業績一覧

I 誌上発表

I-1 欧文

- (1) Matsuda J, Suzuki O, Oshima A, Yamamoto Y, Noguchi A, Takimoto K, Itoh M, Matsuzaki Y, Yasuda Y, Ogawa S, Sakata Y, Nanba E, Higaki K, Ogawa Y, Tominaga L, Ohno K, Iwasaki H, Watanabe H, Brady RO, Suzuki Y. (2003): Chemical chaperone therapy for brain pathology in GM1-gangliosidosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100:15912-17.

- (2) Oyanagi M., Kato A., Yamada YK, and Sato NL. (2004): Detection of MHV-RNAs in mouse intestines and in filter dust in mouse room ventilation duct by modified RT-nested PCR. *Experimental Animals*, 53:37-41.
- (3) Izumi Y, Ami Y, Matsuo K, Someya K, Sata T, Yamamoto N, Honda M. (2003): Intravenous inoculation of replication-deficient recombinant vaccinia virus Dis expressing simian immunodeficiency virus gag controls highly pathogenic simian-human immunodeficiency virus in monkeys. *J Virol.*, 77:13248-56.
- (4) Kaizu M, Ami Y, Nakasone T, Sasaki Y, Izumi Y, Sato H, Takahashi E, Sakai K, Shinohara K, Nakanishi K, Honda M. (2003): Higher levels of IL-18 circulate during primary infection of monkeys with a pathogenic SHIV than with a nonpathogenic SHIV. *Virology*, 313:8-12.
- (5) Kaizu M, Sato H, Ami Y, Izumi Y, Nakasone T, Tomita Y, Someya K, Takebe Y, Kitamura K, Tochikubo O, Honda M. (2003): Infection of macaques with an R5-tropic SHIV bearing a chimeric envelope carrying subtype E V3 loop among subtype B framework. *Arch Virol.*, 148:973-88.

I-2 和文

- (1) 長縄聰、泉泰之、高橋清実、佐藤成大、藤崎茂巳、藤崎恭大、三谷満昭、網康至、中村正彦、本多三男、仲宗根正、朽久保修、北村勝彦 (2003):メタロエンドペプチダーゼ-F の HIV に及ぼす影響。日本エイズ学会誌 5:1-7.

- (2) 山田靖子 (2004) : 動物のコロナウイルス感染症。 *Medical Corner*, 114(3): 3-6.

II 学会発表

II-1 国内学会、等

- (1) 滝本一広、山本美江、野口 章、竹川奈穂、鈴木 治、野口洋子、高野 薫、小浦美奈子、伊藤雅之、松田潤一郎:GM1 ガングリオシドーシス幼児型ヒトβ-ガラクトシダーゼ変異酵素を発現するモデルマウスの病態解析。第50回日本実験動物学会総会、平成15年5月、大宮。
- (2) 網 康至:麻疹ウイルスによる動物脳炎モデル作成の試み。シンポジウム「亜急性硬化性全脳炎(SSPE)現状と展望」第8回日本神経感染症学会学術集会、平成15年10月、宇部。
- (3) 網 康至:カニクイザルの子宮内膜炎。第8回サル疾病国際ワークショップ、平成15年12月、筑波。
- (4) 吉野直人、兼清 優、染谷健二、松尾和浩、網 康至、佐藤成大、山本直樹、本多三男:リコンビナント Dis ワクチンの経粘膜接種への応用。第17回日本エイズ学会、平成15年11月、神戸。
- (5) 山田靖子:コロナウイルスについて。SARSに関する技術講習会、平成15年5月、東京。
- (6) 山田靖子:コロナウイルスについて。第2回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム、平成15年5月、東京。
- (7) 山田靖子:動物のコロナウイルス感染症。ラジオ短波メディカル・コーナー、平成15年12月14日放送。
- (8) 山田靖子:実験動物の微生物汚染検査法について。第29回日本実験動物技術者協会関東支部懇話会、平成16年2月、さいたま市。