

19. 動物管理室

室長 山田靖子

概要

動物管理室は戸山庁舎、村山分室の動物管理区の管理運営を担っている。平成16年度はこれまで感染研の中央経費より半額が補助されていた研究用動物の飼育に係わる経費が、全額使用者負担となった。これに伴い、戸山庁舎で使用している放射線滅菌飼料の見直しを行い、質はなるべく落とさずコストダウンを行った。平成16年度末に獣医科学部第4室が基盤研(大阪)に移転するのに伴い、動物管理区内で同室が飼育していた系統マウスおよび機材が搬出された。村山分室では、平成16年11月にユニセフワクチンに関してWHOの査察を受けたが、動物飼育管理について特に指摘は受けなかった。筑波霊長類センターの改築に伴う同施設の飼育可能頭数減少のため、村山分室で可能な範囲で霊長類を受け入れ、飼育を行った。

人事では平成16年5月より座本綾が研究員として着任し、平成17年3月に山田保利が定年退官を迎えた。

動物管理室の研究は、昨年度に引き続いたテーマで行われた。実験動物の感染症に関する研究では、人獣共通感染症であるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの抗体検査を微生物モニタリング項目に加えられるよう、研究を進めた。また、免疫不全マウスのマウス肝炎ウイルスへの感受性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モデルとして -ガラクトシダーゼノックアウトマウスの研究を行った。重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究では、実験動物の中で発症が確認されているフェレットのウイルスリセプターについて研究が行われた。

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当している。平成16年度は新規に動物実験を行う研究者を対象に、隔月に動物実験委員会の全所対象の講習会を開催した。平成16年度に申請された動物実験計画は266件であった。

動物管理区の利用状況

戸山庁舎と村山分室の動物管理区において、新規に施設を利用する研究者を対象に講習会を行っている。各施設の利用登録者数は平成17年3月31日現在、戸山庁舎401人、村山分室187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

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 (全所)
4月5日	戸山	27	0	37
6月2日	戸山	21	0	30
7月13日	村山	0	5	0
7月14日	村山	0	5	0
8月2日	戸山	11	0	15
8月18日	村山	0	3	0
10月5日	戸山	11	0	15
12月1日	戸山	5	0	11
1月5日	戸山(臨時)	1	0	0
2月1日	戸山	5	0	9
合計		81	13	117

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)

(網康至、須崎百合子、松野久美子、滝本一広、田原口元子、座本綾、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)

動物管理室

微生物モニタリング

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	0/372	0/2	0/10	0/196	0/75	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/372	0/2	0/10	0/196	0/75	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	0/372	0/2	0/10	10/196	0/75	1/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	16/372	0/11	15/55	55/196	6/75	63/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/372			0/196		
パストレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/372			0/196		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/372			0/196		
マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/372			0/196		
ウサギパストレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/75	0/96
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/75	0/96
溶血連鎖球菌	Streptococcus zoepidemicus	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	0/372	0/2	0/10	0/196	0/75	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/372			0/196		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/372			0/196		
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/372					
スピロククレウス (ヘキサミタ)	Spirochucleus muris (Hexamita muris)	鏡検	0/372					
ネズミ盲腸蟻虫	Syphacia spp.	鏡検	0/372					
ネズミ大腸蟻虫	Aspicularis tetraptera	鏡検	0/372					
嚢尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/372					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/372					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/372					
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				

業績

調査・研究

・実験動物の感染症に関する研究

-1 マストミス、スナネズミのリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)に対する感受性と抗体検出

LCMV は、人獣共通感染症の原因として重要である。自然宿主であるマウス、ハムスター同様、マストミス、スナネズミも LCMV に対し感受性があるかを検討した。マストミス、スナネズミから LCMV 感染血清を得、組換え LCM-NP を抗原とした ELISA で抗 LCMV 抗体を検出した。二次抗体に抗マウス IgG、抗ラット IgG を使用することにより、マストミス、スナネズミ共に LCMV に対する特異抗体が検出され、LCMV に対する感受性が示唆された。

[滝本一広、田原口元子、森川 茂¹⁾、山田靖子⁽¹⁾ ウイルス 1 部)]

-2 陽性コントロールとしての組換え LCM-NP 免疫血清の反応性について

組換え LCM-NP 免疫血清が LCMV 感染血清の代わりに陽性コントロールとして使用できるかを検討した。マウス、ハムスター、マストミス、スナネズミから得た組換え LCM-NP 免疫血清と、各動物から得た LCMV 感染血清との反応性を ELISA で比較したところ、全動物種において感染血清とほぼ同等の強い反応を示し、感染血清の代替として使用可能であることが示唆された。

[滝本一広、田原口元子、森川 茂¹⁾、山田靖子⁽¹⁾ ウイルス 1 部)]

-3 マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割の解明

ウイルス感染におけるマスト細胞の役割について解明する目的で、遺伝的にマスト細胞を欠損する WBB6F1-W/W^v マウスおよびそのコントロール+/+マウスにマウス肝炎ウイルス(MHV)を感染させ、生存率を比較した。また、感染マウスの臓器内においてウイルス増殖を比較するため、MHV の検出を試みた。MHV 感染によって、W/W^v マウスは、+/+マウスと比較して、致死率が高く生存率が低下することが明らかになった。臓器内

のウイルス増殖は、接種後 1 週目では、W/W^v と+/+マウス共に各臓器で検出されたが、ウイルス量は全臓器において W/W^v マウスの方が著しく多かった。2 週目の W/W^v マウスでは、脳以外の臓器でウイルス量は減少し、3 週目では脳のみで増加し検出された。2 週目以降+/+マウスでは、ウイルスは検出されなかった。

(田原口元子、山田靖子)

・モデル動物の開発

-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とともに中枢神経への持続感染モデル作出を目的として、カニクイザルを用いて、感染末梢単核細胞を、同一個体の視床に接種した。このうち 1 頭において、感染約 100 週後も、高力価の血清中麻疹ウイルス中和抗体、抗麻疹ウイルス IgM 抗体、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。また、麻疹ウイルスに対する T 細胞反応を、特異的刺戟における細胞内 IFN の産生頻度で検出したところ、他の個体より高値を示した。これらの結果は、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)

-2 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 GM1/GA1 合成酵素遺伝子を導入した -ガラクトシダーゼ KO マウス (ライン # 116) の大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。遺伝子導入 KO マウスと KO マウスとで、大脳、肝臓のいずれにおいても GM1 およびアシアロ GM1 の含有量に変化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⁾、高野 薫¹⁾ (1) 獣医科学部)]

・重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

-1 フェレット ACE2 の同定と SARS-CoV レセプターとしての機能

フェレットの、SARS 関連コロナウイルス (SARS-CoV) ウイルスレセプターと考えられるアンギオ

テンシン変換酵素 2 (ACE2) について調べた。フェレット ACE2 は全長 805 アミノ酸残基で、既に報告のあるヒトおよびマウスとのホモロジーは 80.88%と 76.43%であった。また、配列中には 17 残基のシグナル配列や C 末端上流の膜貫通領域などが含まれていた。次に、フェレット ACE2 の恒常的発現細胞を作製し、SARS-CoV を感染させたところ、培養上清中のウイルス価は非発現細胞より明らかに高く、FeACE2 が SARS-CoV のレセプターとして機能することが示唆された。

(座本 綾、田原口 元子、山田 靖子)

発表業績一覧

・ 誌上発表

-1 欧文

(1) Li TC, Suzaki Y, Ami Y, Dhole TN, Miyamura T, Takeda N. (2004): Protection of cynomolgus monkeys against HEV infection by oral administration of recombinant hepatitis E virus-like particles. *Vaccine*, 22:370-7.

(2) Uda A, Tanabayashi K, Yamada YK, Akari H, Lee YJ, Mukai R, Terao K, and Yamada A. (2004): Detection of 14 alleles derived from the MHC class I A locus in cynomolgus monkeys. *Immunogenetics*, 56: 155-163.

-2 和文

(1) 網 康至(2004): 麻疹ウイルスによる動物脳炎モデル作成の試み。 *NEUROINFECTION*, 9: 75-78.

(2) 山田靖子(2004): 実験動物とウイルス。日本実験動物学会ニュース、5-7.

(3) 山田靖子(2004): 実験動物における人獣共通感染症。 *Medical Corner*, 115(2), 19-22.

(4) 山田靖子(2004): 人と動物の共通感染症 実験動物。 *Pharma Medica*, 22(11), 55-58.

・ 学会発表

-1 国内学会、等

(1) 滝本一広、中山一栄、山田靖子：マウス・ラット以外の小型齧歯類実験動物におけるセンダイウイルスに対する感受性と抗体検出法の検討。第 51 回日本実験動物学会総会、平成 16 年 5 月、長崎。

(2) 山田靖子：実験動物における人獣共通感染症。ラ

ジオ短波メディカル・コーナー、平成 16 年 5 月 9 日放送。

(3) 山田靖子、水谷哲也、高橋一朗、福士秀悦、西條政幸、倉根一郎、森川 茂：SARS-CoV の継代感染による変異ウイルスの出現。第 52 回日本ウイルス学会、平成 16 年 11 月、横浜。

(4) 山田靖子：動物・人の健康と獣医師 - 実験動物の立場から -。日本獣医師会学会年次大会、平成 17 年 2 月、新潟。

(5) 座本綾、田口文広、福士秀悦、森川茂、杉山広、田原口元子、山田靖子：フェレット ACE2 の同定と SARS-CoV、レセプターとしての機能。第 139 日本獣医学学会学術集会、平成 17 年 3 月、和光市。