

NIBS LETTER 2011 JANUARY
No. 566

日生研おより

2011年(平成23年)1月号 第57巻第1号(通巻566号)

挨拶・巻頭言

年頭のご挨拶

.....上田 進 (2)

獣医病理学研修会

第50回 No.1001 イヌの口腔内腫瘍

.....岩手大学獣医病理学研究室 (3)

第50回 No.1003 ネコの小腸

.....北海道大学比較病理学教室 (4)

第50回 No.1015 タヌキの小脳・延髄

.....岐阜大学獣医病理学教室 (5)

第50回 No.1017 イヌの胸背部皮膚

.....帯広畜産大学家畜病理学教室 (6)

レビュー

近年のミニブタの利用状況について

.....齋藤敏樹 (7)

学会参加記

21st International Pig Veterinary

Society Congress.....竹山夏実 (12)

お知らせ

訃報.....(16)



NIBS

財団法人 日本生物科学研究所

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

<http://nibs.lin.gr.jp/>

年頭のご挨拶

上田 進

謹んで新年のご挨拶を申し上げます。旧年中は皆様方に一方ならぬご指導、ご支援を頂き、衷心より感謝申し上げます。

昨年は宮崎県で口蹄疫の発生があり、およそ 29 万頭もの家畜が殺処分され、1000 億円以上にのぼる直接被害を出すという未曾有の事態が生じました。被害に遭われた農場の方々には衷心よりお見舞い申し上げますとともに、患畜の殺処分に当たられた関係各位に敬意を表する次第です。動物の生命を守るためにワクチンを研究開発している我々にとって、大きな衝撃を受けたのは家畜を殺すために口蹄疫ワクチンが使用されたことです。現地で殺処分に当たられた獣医師の方々も、本来動物を生かすための獣医学が口蹄疫感染家畜を前にして、何ら役に立たないことに大いなるディレンマを痛感されたのではないのでしょうか。国境を超えて感染が拡大する越境性動物疾病は、貿易上の優位性を保つため殺処分が行われています。一方、口蹄疫より伝染力ならびに致死率も高い牛疫は、仄聞するところ今年中にも撲滅宣言が出されるようです。牛疫の根絶には当研究所創設者の一人、中村稔治博士の開発された弱毒生ワクチンが多大な貢献を果たしたことは我々の誇りとするところであります。また、日本国内に限ってみれば、ワクチン接種によって豚コレラは撲滅され豚コレラ清浄国となっています。

このような越境性動物疾病の侵入をいかにして防ぐかは、主たる感染経路である汚染した動物、畜産物、人などの往来頻度にも注目する必要があるのではないのでしょうか。日本の貿易構造の変化をみると、1990 年に対米貿易比重が 27.4%、対アジア貿易比重が 30.0%であったのが、2009 年には対米貿易比重が 13.5%、対アジア貿易比重が 49.6%となっており、日本の貿易構造はアジアに軸足をおきつつあるようです。また、日本人の出国者をみると、1995 年には米国へ 475 万人が、中国には 87 万人が出国していますが、2009 年には米国へは 292 万人と減少し、中国へは 332 万人と大幅に上昇しています。また訪日外国人をみても、1995 年には米国から 54 万人、中国からは 22 万人であったのが、2009 年には米国から 70 万人、中国からは 101 万人と訪日外国人も欧米からアジアへと変化してきています。

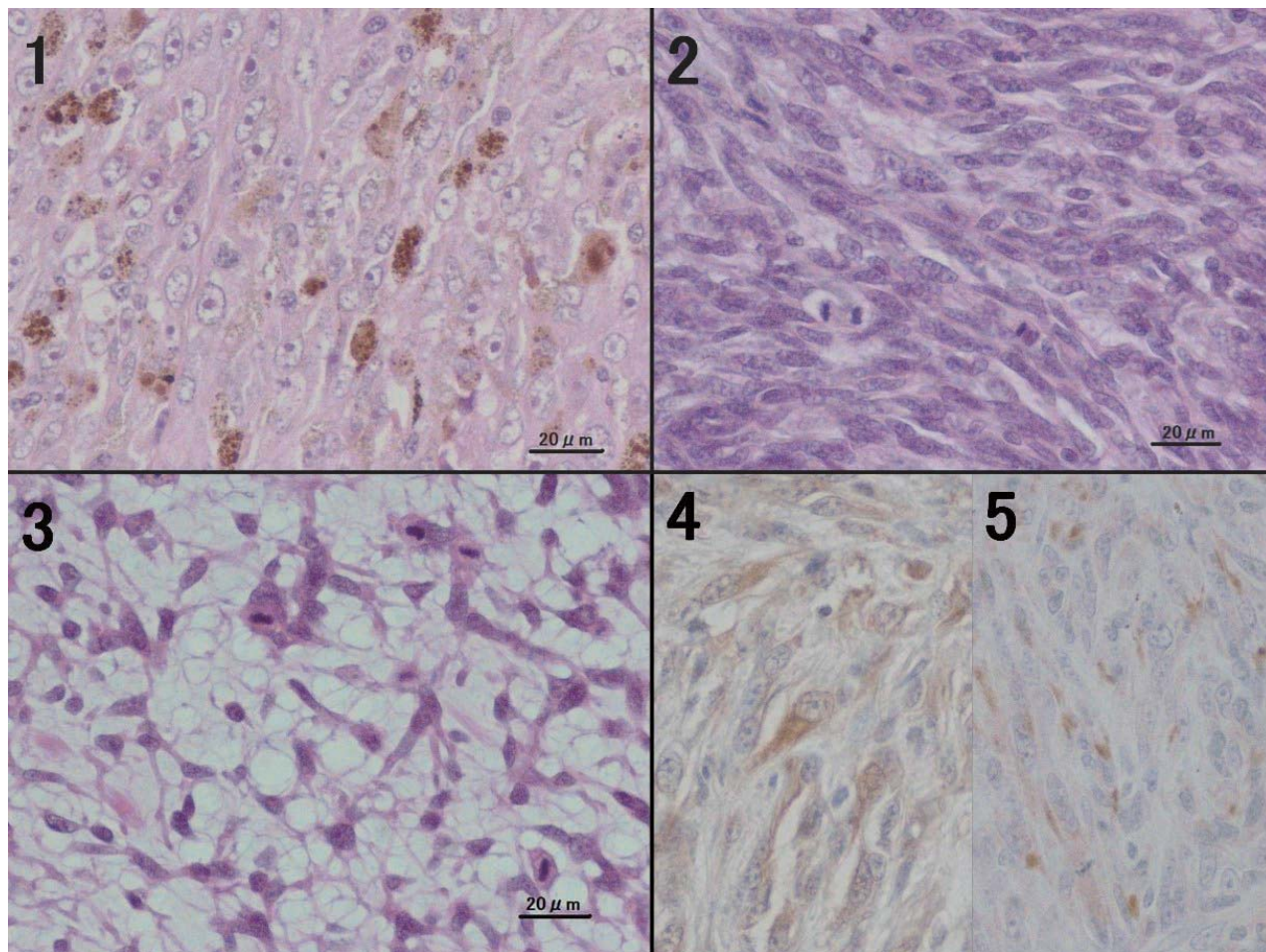
このような物資や人の往来の変化とワクチンの有効性を考慮すると、口蹄疫の血清型が多様であることは承知の上で、一国ではもはや防疫は困難でありアジア全体で防疫圏を作ることも考える必要があるように思われます。幸いにして今や口蹄疫感染家畜と口蹄疫ワクチン接種家畜とを識別するのに精製ウイルスワクチンを使用することができます。ウイルスの増殖時に作られる非構造タンパクに対する抗体を検出することによって感染による抗体か、ワクチン接種による抗体なのか識別が可能となっています。そしてマーカーワクチンの開発も進められているようです。このような世界情勢の中で、日本の口蹄疫ワクチンの研究開発は大幅に遅れているのが実情でしょう。物資や人の往来頻度が増大すれば、検疫にも自ずから限界があり、今後侵入してくる可能性は否定できません。発生の度にこのような家畜の大量殺処分は、経済的にも動物福祉の観点からも難しいと思われます。経済圏構想については盛んに議論されていますが、防疫圏についても是非とも実現に向けて議論を進める必要があるように思われます。

昨年は閉塞感の漂う一年でしたが、今年は明るく輝く年であってほしいとお願いいたしております。皆様方のご活躍とご健勝をお祈りするとともに、重ねてご指導ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

(理事長)

イヌの口腔内腫瘍

岩手大学獣医病理学研究室 第50回獣医病理学研修会 No.1001



動物：イヌ，ビーグル，雄，13歳。

臨床事項：2008年3月に右頬上顎臼歯付近の口腔内腫瘍を主訴に開業医を受診。腫瘍は切除され，病理組織学的に血管周皮腫と診断されたが，2009年5月，同部位に再発兆候が見られはじめ，同年11月に腫瘍の再摘出手術が行われた。

肉眼初見：6×4.5×2 cm。表面は不整で一部黒色を呈し，断面は黒色と白色領域が明瞭に区分されていた。

組織所見：腫瘍内では，主に3つの特徴的組織像が観察された。類上皮細胞型領域（図1）では，1～数個の明瞭な核小体を有する円形から卵円形の大型核と，褐色色素の沈着を伴う豊富で多形な好酸性細胞質を有する細胞が充実性に増殖し，有糸分裂像は中等度観察された。紡錘形細胞型領域（図2）では，粗雑で少量のクロマチンを有する卵円形から楕円形核の紡錘形細胞が，束状，杉綾模様状，花むしろ状に増殖し，有糸分裂像は高頻度に観察された。粘液基質産生領域（図3）では，クロマチンに富む小型の核を有する星芒状の細胞が増殖し，間質では弱好塩基性の粘液様基質が豊富に認められ，有糸分裂像は中等度に観察された。免疫組織化学的に腫瘍細胞

は，S-100（図4），Vimentinに陽性，Melan-A（図5）に一部陽性を示し，3つの領域共に同様の染色態度であった。電顕的には，HE標本でメラニン色素の観察されなかった紡錘形腫瘍細胞の細胞質内において，高電子密度の球形構造物がごくわずかに観察された。

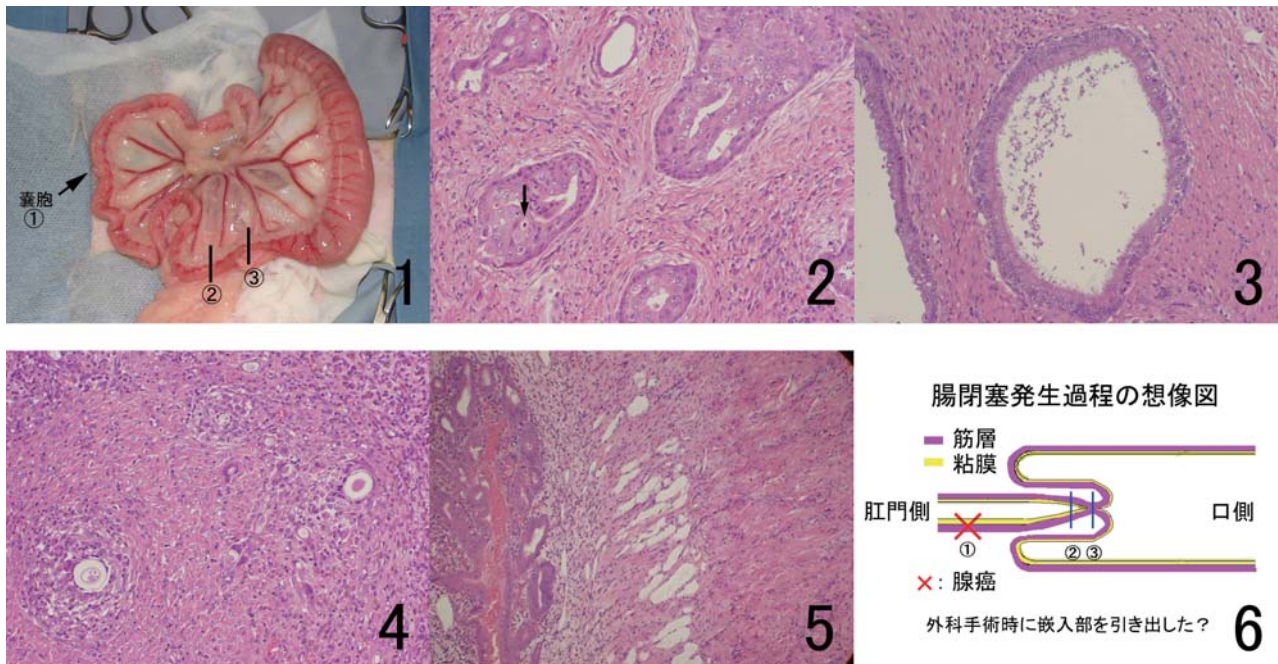
診断：イヌの口腔内悪性黒色腫 Canine oral malignant melanoma

考察：イヌの口腔内における悪性黒色腫は，組織学的に類上皮細胞型，紡錘形細胞型，2つの型の混合型の3つのパターンに分類され，さらに，骨や軟骨形成，粘液基質の産生を伴うものも報告されている。本症例では，明らかな骨や軟骨形成は観察されなかったものの，同一腫瘍内に，類上皮細胞型，紡錘形細胞型および間質に粘液基質の産生を伴ったそれぞれの領域が比較的境界明瞭に認められた。一方，初回摘出腫瘍では，紡錘形細胞による疎な増殖が見られ，一部では犬の血管周皮腫で特徴的な血管を中心とした紡錘形細胞の同心円状増殖パターンを示しており，1回目と2回目に摘出された腫瘍における組織像が全く異なっていた。

（山口遼作・佐々木淳）

ネコの小腸

北海道大学比較病理学教室 第50回獣医病理学研修会 No. 1003



動物：ネコ，雑種，雌，15歳。

臨床事項：1ヶ月ほど前に突然の嘔吐を示し，以後水および餌をまったく自発摂取しなかった。エコー検査で胃から空腸にかけて多量の液体が貯留し，空腸に狭窄部が認められた。強制給餌で維持されていたが，発症から約1ヶ月後に試験開腹され，空腸狭窄部とその遠位（肛門側）小腸壁に新たに発見された嚢胞が切除され，病理組織検査に供された。なお，本例は手術後数日で死亡し，剖検は許されなかった。図1は手術時の小腸の写真で，右側が口側，中央が狭窄部。提出標本の採材部位を番号で示した。壁内嚢胞はV字切除されたため，①は嚢胞を含む小腸壁の一部である。

組織所見：①の嚢胞を含む空腸壁には，強い異型性のある腺上皮細胞で内張りされた大小の嚢胞が浸潤性増殖しており（図2），上皮細胞の有糸分裂像（↓）が散在していた。一部の嚢胞の上皮細胞は腺腔側表面に明瞭な絨毛を有していた（図3）。以上の所見から，本病変は由来不明の腺癌と診断された。③の空腸横断切片では内腔が異物（大部分は毛）肉芽腫と多数のヘモジデリン貪食マクロファージを含む肉芽組織で埋められ，完全閉塞していた（図4）。粘膜は消失し，粘膜固有層と粘膜下組織の著明な線維化と瘢痕収縮のため，空腸は細くなっていた。その他，うっ血と腸間膜との線維性癒着が認めら

れた。また，研修会の席上で，筋層の一部が不連続であることが指摘された。②の空腸横断面では，陰窩深部の粘膜上皮細胞の消失（腸陰窩の短縮），粘膜固有層および粘膜下組織の水腫並びに線維化が著明であった（図5）。提出標本③の口側では空腸は拡張し，粘膜固有層と粘膜下組織の水腫性肥厚が著明であった。③の肛門側では，腸陰窩の短縮，粘膜固有層・粘膜下組織の水腫と線維化が徐々に軽くなっていた。

診断：由来不明の空腸壁内腺癌と空腸閉塞

考察：腺癌の由来については，肺癌の転移，絨毛上皮生 ciliated metaplasia を伴う空腸原発腺癌，中皮腫，および過誤芽腫などが考えられるが，肺癌の転移の可能性が最も高い。提出例に見られた小腸の完全閉塞に一致する症例報告は見当たらなかった。完全閉塞の原因については，腫瘍転移に伴って腸蠕動異常が生じ，ゆるい腸重積が1ヶ月以上にわたって継続したため，嵌入部先端（断面③）で最も強い乏血が起こり，空腸壁の線維化と完全閉塞に到ったと推測された。

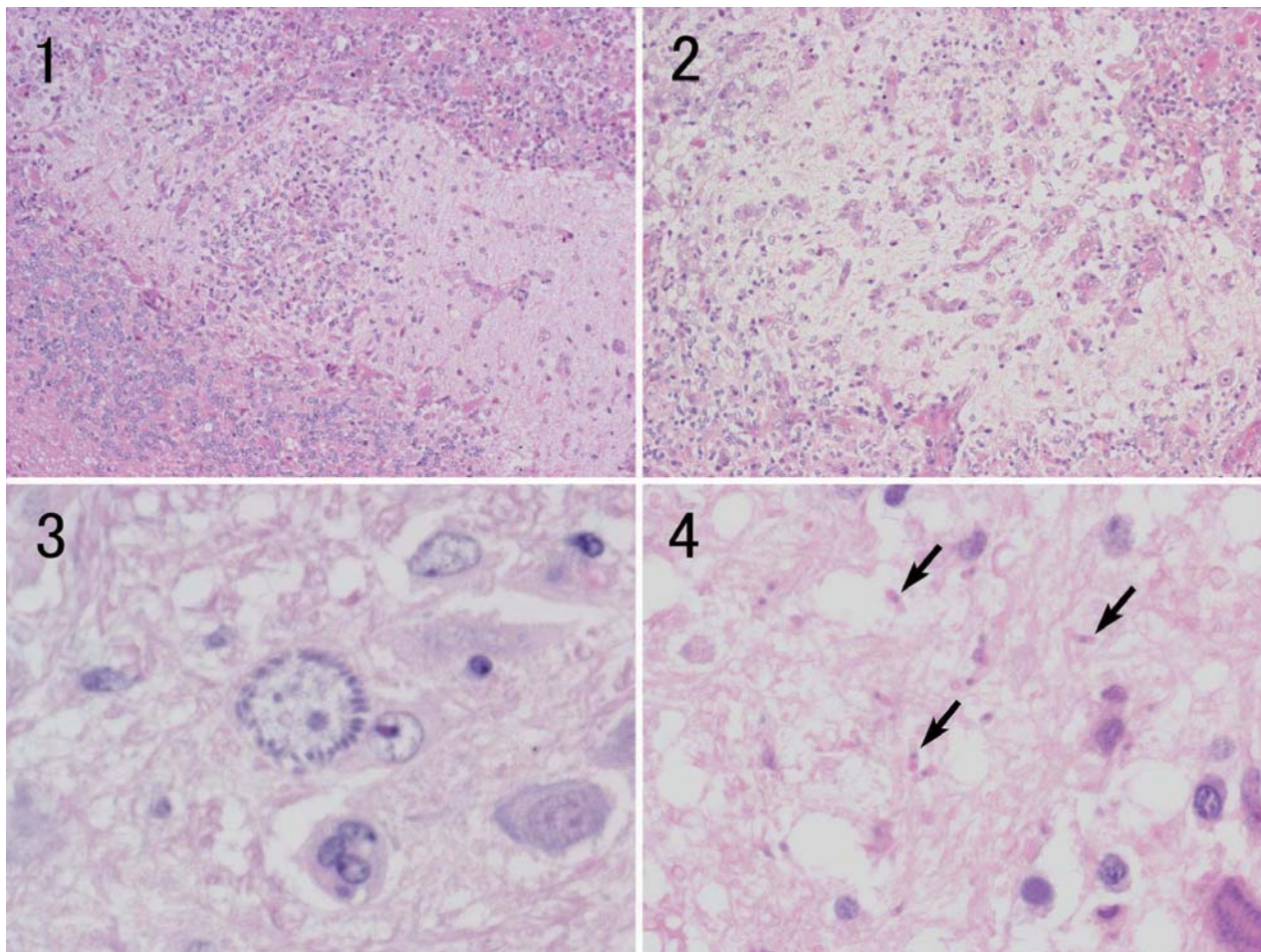
（梅村孝司）

参考文献：

Brown, C. C., Baker, D. C. and Baker, I. K. 2007. Alimentary system. pp. 94-97. In: Pathology of Domestic Animals, 5th ed. (Maxie, M. G. ed), Saunders, Philadelphia.

タヌキの小脳・延髄

岐阜大学獣医病理学教室 第50回獣医病理学研修会 No. 1015



動物： ホンドタヌキ，雄，亜成獣。

臨床事項：岐阜市内で保護され，本学野生動物救護センター（現・野生動物管理学研究センター）に搬入された。衰弱，削瘦しており，右斜頸，振戦，チック等の神経症状が認められた。X線検査では左肘関節の変形が認められたが，頭部に異常は認められなかった。血液検査で中等度の貧血（PCV 25%），尿検査で尿糖が認められた。ジステンパー簡易検査キットではウイルス抗原陰性であった。搬入翌日に安楽殺され，剖検された。

剖検所見：肉眼的に脳に著変は認められなかった。その他，右大腿部筋間に膿瘍，肺に多数の白色斑（径 1-2 mm）が認められたほか，腎臓は左右とも黄白色を呈し，腫大していた。鉤虫と眼虫の寄生も認められた。脊髄は検索しなかった。

組織所見：小脳では主に分子層と髄膜において，マクロファージ，リンパ球，形質細胞，好中球，好酸球等の巣状から瀰漫性の浸潤がみられた（図 1）。また，実質が粗鬆化し，新生血管が目立つ領域も存在した（図 2）。延髄では主に灰白質の血管周囲や実質において，小脳と同様の炎症細胞浸潤がみられた。これらの病変内あるいは周囲において原虫のシズント（図 3）やシズントから放出されたメロゾイト（図 4，矢印）が観察された。免

疫染色では，原虫は *Toxoplasma gondii* や *Neospora caninum* に陰性で，*Sarcocystis cruzi* に対して弱いながらも交差反応を示した。18S rRNA 遺伝子の塩基配列解析では，マガン由来の *Sarcocystis* sp. と最も高い相同性を示した。

参考所見：同様の病変は大腦や間脳でも認められたが，比較的軽度であった。また，舌，横隔膜，大腿部の筋肉において *Sarcocystis* sp. のサルコシストが認められた。その他，類脂質肺炎，非化膿性間質性腎炎，空回腸の粘膜固有層における好酸球浸潤がみられたが，原虫との関連は認められなかった。

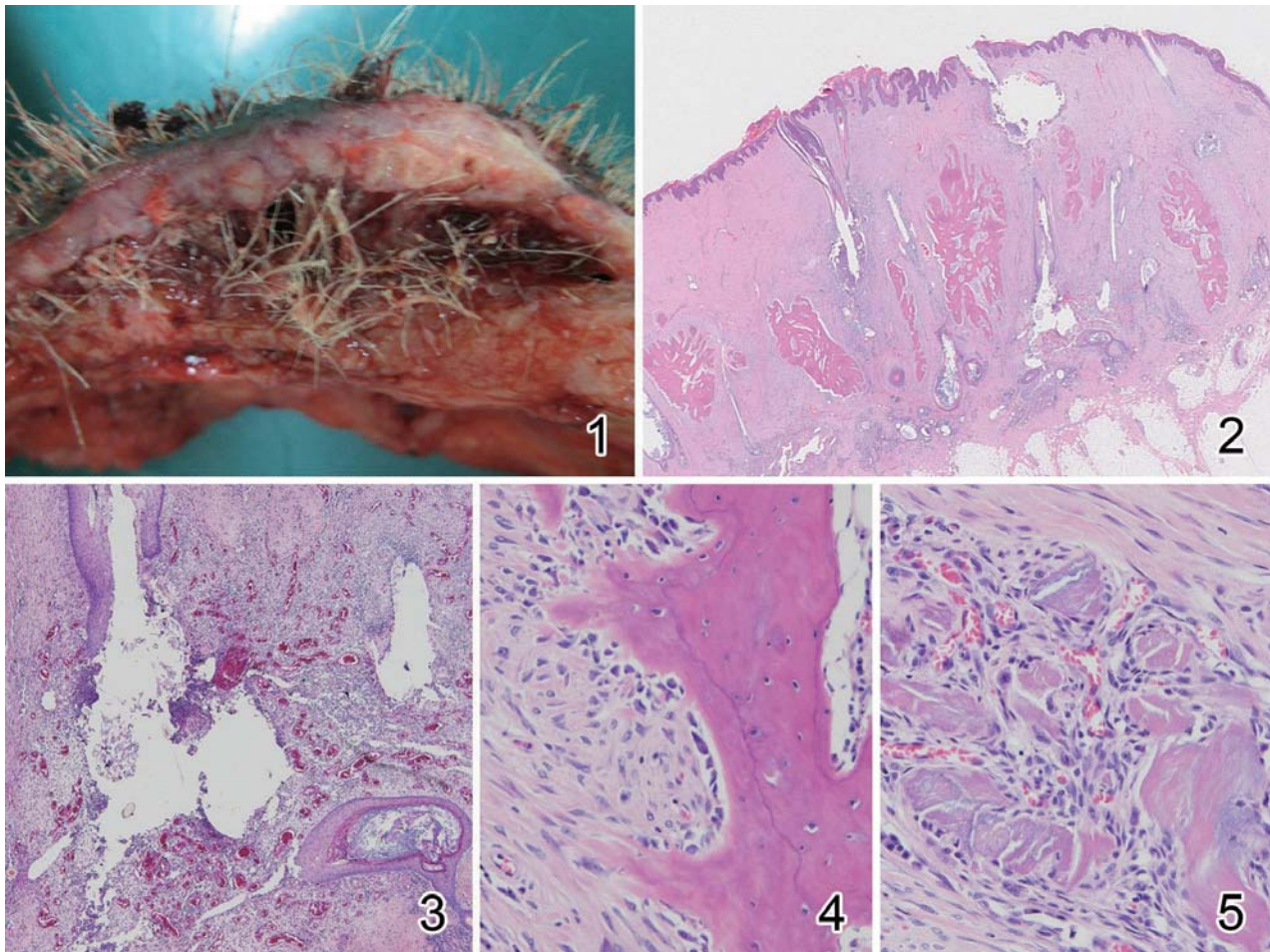
診断： *Sarcocystis* sp. による原虫性髄膜脳炎

考察：原虫性脳炎の原因としては *Toxoplasma* や *Neospora*，*Sarcocystis* 等が知られている。本症例の原虫は形態学的，免疫学的に *Sarcocystis* と一致した。*Sarcocystis* 脳炎はさまざまな動物種で報告されているが，タヌキでは本症例が初めてである。原虫の種レベルでの同定はできていないが，遺伝子解析によりマガン由来の未同定種と近縁であることが示された。今後，脳で観察されたシズントと横紋筋で観察されたサルコシストが同一種のものであるかどうかについても明らかにする必要がある。

（久保正仁・柳井徳磨）

イヌの胸背部皮膚

帯広畜産大学家畜病理学教室 第 50 回獣医病理学研修会 No. 1017



動物：イヌ，ラブラドル・レトリバー，雌，8歳。
臨床事項：本例は2004年頃から様々な部位に皮膚炎を発症し，その度にステロイドの処方を受けていた。2008年10月15日，頸背部から胸背部の膿皮症様皮膚病変を主訴に某動物病院を受診した。3ヶ月以上にわたりステロイドおよび抗生剤による治療が続けられたが，病変は尾根部にまで拡大し，掻痒症状も高度となった。その後も治療による改善はみられず，2009年2月4日に頸背部から尾根部の病変部皮膚の切除手術が行われた。
肉眼所見：切除部皮膚は全域にわたって高度に肥厚しており，硬度を増していた。肥厚した真皮内には表皮自壊部と連続し，血様膿汁を容れた嚢胞が形成されていた。同嚢胞内には被毛も確認された。また，真皮内には直径2～3mm大の白色骨様結節が多数存在していた（図1）。
組織所見：高度に肥厚した真皮の中層から深層にかけて，不整な骨組織が多巣性に形成されていた（図2）。皮膚付属器は主に骨形成層下に存在しており，毛包の拡張，崩壊，およびそれに起因する高度の炎症が認められた（図3）。炎症性細胞は好中球，マクロファージ，形質細胞等が主体であり，結合組織の増生も認められた。骨組織辺縁部には骨芽細胞様の多角形細胞が配列しており（図4），一部では破骨細胞様の多核巨細胞も観察された。

骨組織内腔に脂肪組織が存在する部もみられた。また，炎症性細胞浸潤を伴う膠原線維への石灰沈着が一部で認められ（図5），骨組織と連続するものも観察された。

診断：慢性毛包炎・毛包周囲炎を伴う皮膚骨腫

考察：本例の臨床および病理像は，医原性の高グルココルチコイド血症に伴って稀に発症するとされる皮膚骨腫と一致するものであった。皮膚骨腫は非腫瘍性病変であり，真皮における多巣性の骨形成を特徴とし，膠原線維の石灰沈着，すなわち皮膚石灰沈着症を伴うことが多いとされる。骨形成の機序は不明であるが，線維芽細胞などの間葉系細胞の骨化生により生じるものと考えられている。本例では長期にわたるステロイドの投与に加え，慢性皮膚炎および掻痒感に伴う自傷行為が持続的な刺激要因として関与した結果，間葉系細胞の骨化生が起り，多巣性の骨形成に至ったものと推察された。

（小山憲司・古林与志安）

参考文献：

Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J. and Affolter, V. K. 2005. Skin diseases of the dog and cat, clinical and histopathologic diagnosis, 2nd ed, Blackwell Science Ltd, Oxford.

近年のミニブタの利用状況について

齋藤敏樹

はじめに

ここ4～5年、国内の実験用小型ブタ（ミニブタ）の使用数は年々増加している。これまでミニブタはイヌ、サルに続く第三の非齧歯類として、何度か研究者の注目を集めた時期はあったが、医学・生物学研究の分野でなかなか広まることは無かった。しかし、近年実験動物福祉が定着し、さらに2010年9月8日にEUの欧州議会において科学実験で霊長類の使用を原則禁止とする法案が可決された事をうけて、これまでになくミニブタが注目を集めている。EUおよび米国では、既に安全性試験等で相当数（年間約8,000頭）のミニブタが使用されており、ようやくその波が我が国にも少しずつ押し寄せてきたように感じる。

今回、改めて当研究所で開発したNIBS系ミニブタについて紹介するとともに、最近の利用状況について報告する。

1. ブタとミニブタ

ブタ (*Sus scrofa domestica*) は、ヨーロッパにおいてイノシシから作出された食肉用家畜である。代表的な品種としてヨークシャー、ランドレースなどがあげられ、成時体重は270～320 kgに達する。



Fig. 1 NIBS系ミニブタ

1900年以後、医学・生物学研究分野にとどまらず様々な分野でブタの使用が広まってきた。しかし、家畜ブタは入手し易く安価であるものの、その大きさゆえの取り扱いにくさ、施設の確保、飼料の問題などがあり、1950年代以後ミニブタの開発が進められてきた。一般にミニブタとは成熟時（12ヶ月齢）の体重が100 kg以下のものとされている¹⁾。

開発されたミニブタの系統は、米国で開発されたシンクレア系、ユカタン系、NIH系、ドイツで開発されたゲッチンゲン系、国内で開発されたクラウン系、そして当研究所のNIBS系などがある。NIBS系ミニブタは、6ヶ月齢で約20 kg、成熟時（12ヶ月齢）の体重は約30 kgに達し、肌色の皮膚、白毛色を有する (Fig. 1)。

2. NIBS系ミニブタについて

当研究所では、1967年にピットマンムーア系を米国より導入後、実験動物用ミニブタとして維持してきた。しかし、この系統は成熟個体で約70 kgに達し、体毛および皮膚の色が有色であったため実験動物としては不利な条件が多かった。そこで、1988年に台湾小耳種を導入し、さらにCSKリサーチパークよりミニブタの分与を受け、これら3種類のミニブタを起源とする小型、白毛色で成熟個体で約30 kg、若齢成獣（6ヶ月齢）で体重約20 kgのミニブタの開発を目指した。その後、約10年に渡る造成を経て白毛色、皮膚が肌色の小型で均整がとれたミニブタの作出に成功した。作出したミニブタの性質は温順であり、安定した繁殖成績が得られたことから、1998年にNIBS系ミニブタと命名した。一部のコロニーではあるが、ブタ主要組織適合抗原 (Swine leukocyte antigen, SLA) クラスII領域 (DRBI (D/D), DQA (D/D), DQB (SO9あるいはS10/S10) 座位) がホモに固定されていることも判明した。

微生物学的検査は年4回、Table 1に示す22項目

について検査を実施し、陰性であることを確認している。その他、豚サーコウイルス (1, 2 型), サイトメガロウイルス, E 型肝炎ウイルスについても不定期 (年 1 ~ 2 回) で検査を実施している。繁殖・飼育施設はコンベンショナル環境であるが微生物学的検査で陰性を確認していることから、微生物学的グレードをクリーンと定めている。バリアー施設にて SPF ミニブタのコロニーも有しているが、まだ供給体制の確立には至っていない。

NIBS 系ミニブタの体重, 体型, 繁殖成績, 血液学的および血液生化学的検査成績, 薬物代謝酵素活性等の背景データ²⁾, 薬物誘発性 QT 延長の評価³⁾が報告されている。

3. NIBS 系ミニブタの利用分野

NIBS 系ミニブタの利用分野は、安全性試験, 代謝・薬物動態試験, 皮膚刺激性試験といった医薬品開発, 再生医療, 異種あるいは同種移植, 循環器系あるいは肝・腎機能をターゲットとした医療用デバイスの開発, 医師の手術トレーニングなど多岐にわたっているが、主に非臨床試験受託機関, 製薬会社,

医療機器会社において医薬品および医療用デバイスの開発に利用されている。これらが NIBS 系ミニブタの年間使用頭数の約 7 割を占めている。

医薬品開発においては、ヒトと構造が類似していることから皮膚試験の占める割合が多い。医療用デバイスとしては、冠動脈ステント, 内視鏡, 透析装置などの開発に利用されている。当研究所でも外科用 X 線テレビジョン装置を使用した循環不全モデルミニブタ作出を検討している (Fig. 2)。これまでは主に家畜ブタが利用されてきたが、微生物学的に制御された NIBS 系ミニブタの使用頭数は着実に増えている。特に医薬品開発の分野では SPF ミニブタの要望が多い。

1995 年から 2007 年までの実験動物の総販売数 (Table 2) をみると、ブタ (ミニブタを含む) の販売数は年々減少しており、2007 年度で年間約 1,300 頭が販売されている。しかしながら、NIBS 系ミニブタの年間使用頭数は逆に増加していること (Fig. 3), PubMed 等で検索してみるとミニブタを用いた論文は年々増えていることから、ブタ (ミニブタを含む) の販売数は減少しているもののミニブタの使用頭数は逆に増加傾向にあると考えられる。その理

Table 1 微生物学的検査項目

病原体	検査方法
日本脳炎ウイルス	HI
豚ゲタウイルス	HI
豚パルボウイルス	HI
豚伝染性胃腸炎ウイルス	SN
豚流行性下痢症ウイルス	SN
豚オーエスキー病ウイルス	SN
豚コレラウイルス	ELISA
豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス	ELISA
アクチノバシラス・ブルロニューモニエ (1 型)	菌分離
アクチノバシラス・ブルロニューモニエ (2 型)	菌分離
アクチノバシラス・ブルロニューモニエ (5 型)	菌分離
ヘモフィルス・パラスイス (2 型)	菌分離
ヘモフィルス・パラスイス (5 型)	菌分離
ボルデテラ・ブロンキセプチカ	菌分離
パスツレラ・ムルトシダ	菌分離
豚丹毒菌	菌分離
マイコプラズマ・ハイオニューモニエ	菌分離
トキソプラズマ	菌分離
豚肺虫	鏡検
豚回虫	鏡検
大腸バランチジウム	鏡検
サルモネラ菌	菌分離

HI: Haemagglutination inhibition

SN: Serum neutralization

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

Table 2 実験動物の年間総販売数 (匹数)

動物種	1995年	1998年	2001年	2004年	2007年
マウス・ラット	10,034,695	9,812,055	8,708,608	8,812,943	6,208,830
遺伝子改変マウス	762	1,677	2,744	15,232	23,682
ブタ (ミニブタを含む)	2,079	3,081	1,829	1,358	1,301
イヌ	22,646	17,634	17,838	12,759	12,376
サル	1,951	1,584	2,155	2,248	3,462

(社) 日本実験動物協会, 2008)

由としてミニブタは家畜ブタに比較して取扱い易いこと、微生物学的に制御されていること、背景データが報告されていることが挙げられる。

4. 飼育管理

最近、ミニブタの飼育管理方法、環境条件等についての問い合わせが多く寄せられている。本項では



Fig. 2 冠動脈造影

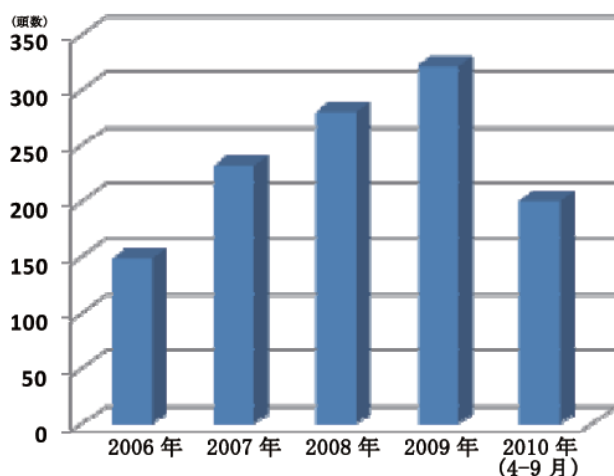


Fig. 3 NIBS系ミニブタの使用頭数の推移

ミニブタの一般的な飼育管理方法、環境条件について触れさせて頂く。あくまでも動物実験のための条件であることをご承知願いたい。また、実験動物福祉の観点からエンリッチメント使用も考慮すべきである。

1) ケージ

実験施設で使用するケージは主に単飼ケージを使用することになるであろう。推奨されるケージサイズについては、NRC基準 (Table 3)⁴⁾、ECC基準⁵⁾などがあるので参考にして頂きたい。床はイヌと同じスーパーコートを使用するが、床を支えるための補強を行う必要がある。

2) 温湿度

実験に用いられるミニブタの月齢は様々であろうが、温度は概ね18～28℃にコントロールできれば問題はないと考えられる。相対湿度は、温度範囲が適切にコントロールされていれば神経質になる必要はなく20～80%にコントロールできれば十分であろう。

3) 飼料

ブタの栄養要求量については、日本飼養標準⁶⁾あるいは米国のNRC標準⁷⁾に記載されているが、家畜ブタ (肉用) が対象であり不断給餌により最大の飼料効率を得ることが目的であり、そのままミニブタに適用することはできない。ミニブタの栄養要求量⁸⁾は、家畜ブタの栄養要求量を基に検討されており、繊維分を増加する等の変更を加えたミニブタ用飼料が開発されている。当研究所でもNIBS系ミニブタ作出と平行して育成用 (離乳以後) かつ実験用として給餌可能なミニブタ用飼料を開発し、日生研株式会社にてミニブタ用飼料 (商品名: NS) として販売している。給餌量であるが、ミニ

ブタは不断給餌を行うと脂肪蓄積を起こすことから制限給餌はやむを得ない。給餌量は使用する飼料、ケージサイズによっても異なるので原則として各施設で定めるべきである。

Table 3 推奨される飼育スペース

動物数	体重 (kg)	床面積 (m ²)
1	< 15	0.72
	15 - 25	1.08
	25 - 50	1.35

4) 飲料水

水道法水質基準を満たす水質であれば問題無い。給水バルブはイヌと同じものでも使用可能であるが、ミニブタは力が強い家畜ブタで使用されている小型サイズの物の方が良い。

5) 実験手技

ミニブタは、その解剖学的、生理学的特徴から様々な実験手技（前大静脈内カテーテル留置、連続静注、胆汁採取など）が実施できる。その反面、ハンドリング、採血、経口投与、麻酔などの基本的手技の習熟が必要である。基本的なハンドリング、実験手技については「ミニブタ実験マニュアル」¹⁾、「The Laboratory Swine」⁸⁾に詳細に分かり易く記載されている。

5. NIBS系ミニブタの新規利用分野

1) 遺伝子改変ミニブタの開発

現在、遺伝子改変ブタの開発が様々な研究機関で進められており、当研究所においてもクローン技術を用いた遺伝子改変ミニブタの開発を進めている。これまで報告されたモデルブタとしては、Galactose-*a* 1.3-galactose ノックアウト (GALKO) ブタ、ヒト DAF (Decay accelerating factor) 導入ブタやヒト MCP (Membrane cofactor protein) 導入ブタ、狭心症モデルブタ、高脂血症や糖尿病モデルブタ等がある。Table 4 に報告されている遺伝子改変ブタの一覧を示す。異種移植モデル、心血管系モデル、医薬品開発モデル、ヒト疾患モデル等が数多く作出されている。

2) 再生医療・異種移植

再生医療分野においては、当研究所でも再生歯あるいは軟骨膜（膝関節）、臍島細胞、肝細胞、心筋細胞等の移植実験が行われている。この分野でのミニブタの使用例はまだまだ少ないのが現状であるが、数年前より使用例は確実に増えてきており、今後も増加するものと考えている。異種移植分野においては、超急性拒絶反応の抑制とその後に続く拒絶反応への対応のために、前項に記した遺伝子改変ブタが使用されている。前者には GALKO ブタ、後者には

Table 4 報告されている遺伝子改変ブタ⁹⁾より引用

Gene	Type*	Function	Use
CD46: Membrane cofactor protein (MCP) ^{97,98}	A	Complement inhibitor	Xenotransplantation
CD55: Decay accelerating factor (DAF) ⁹⁹	A	Complement inhibitor	Xenotransplantation
CD59 ¹⁰⁰	A	Complement inhibitor	Xenotransplantation
1,4-N-acetylglucosaminyl-transferase III ¹⁰¹	A	Reduce alpha-Gal epitopes from forming	Xenotransplantation
Alpha-1,3-galactosyltransferase ^{90,102}	KO	Prevent alpha-Gal epitopes from forming	Xenotransplantation
Alpha-1,2-fucosyltransferase ¹⁰³	A	Reduce alpha-Gal epitopes from forming	Xenotransplantation
Human leukocyte antigen II, DP/DQ ¹⁰⁴⁻¹⁰⁶	A	Prevent xenograft rejection	Xenotransplantation
Enhanced fluorescent proteins ^{15,42,72,107,108}	A	Tracking of cells	Many basic science uses
Thymidine kinase ⁸⁹	A	Liver-specific	Hepatocyte growth and transplantation
Cytosine deaminase ⁸⁸	A	Liver-specific	Hepatocyte growth and transplantation
Endothelial cell nitric oxide synthase (eNOS) ¹⁰⁹	A	Overexpress eNOS	Cardiovascular studies
Endothelial cell nitric oxide synthase (eNOS) ¹¹⁰	KO	Eliminate eNOS	Cardiovascular studies
Human alpha and beta hemoglobin ¹¹¹	A	Human hemoglobin production	Pharmaceutical
Protein C ¹¹²	A	Human protein C	Pharmaceutical
Coagulation factor VIII ¹¹³	A	Treat hemophiliacs	Pharmaceutical
Coagulation factor IX ¹¹⁴	A	Treat hemophiliacs	Pharmaceutical
Rhodopsin ¹¹⁵	A	Produce defective rhodopsin	Model of retinitis pigmentosa
Cystic fibrosis transmembrane receptor ¹¹⁰	KO	Produce defective CFTR	Model of cystic fibrosis
Heat shock protein 70.2 ¹¹⁶	A	Protect against heat stress	Production agriculture
Growth hormone ¹¹⁷⁻¹²⁰	A	Improve growth and carcass quality	Meat production
Insulin like growth factor I (IGFI) ¹²¹	A	Improve growth and carcass quality	Meat production
Alpha-lactalbumin ¹²²	A	Improve milk quality	Increase weaning weight of piglet
Phytase ¹²³	A	Improve phosphorous utilization	Decrease pollution
Huntington ¹²⁴	A	Expand a CAG trinucleotide repeat	Model of Huntington disease
Delta 12 fatty acid desaturase ¹²⁵	A	Plant gene expression in a pig	Meat quality

*A: gene addition; KO: gene knockout

DAF ブタや MCP ブタなどが知られている。

また、SLA クラス I および II ハプロタイプが解析され、SLA 固定ブタが開発されている。免疫反応のバラツキが少なく免疫機能の解析に有用と考えられている。SLA 固定ブタとしては米国の NIH 系ミニブタが有名であるが、国内においては SLA 固定デュロック種（家畜ブタ）、クラウン系ミニブタがある。NIBS 系においてもクラス II ハプロタイプが判明しているコロニーを有している。

この分野では医薬品開発分野と共に SPF 動物の要望が高く、SPF ミニブタの生産コロニーの確立が課題である。

3) 非侵襲的検査方法の利用

MRI (Magnetic resonance imaging) を用いて、医薬品の薬効評価あるいは生体デバイスの新たな評価系にミニブタを利用する研究も進んでいる。Fig. 4a～e に NIBS 系ミニブタの脳の MRI 画像を示す（岩手医大、遠山先生ご提供）。医薬品などの生体へ及ぼす影響をリアルタイムで観察できることに加え、

ヒトとミニブタ両者のデータを比較検討することにより有用な情報が短時間で得られることから、医薬品開発、特に臨床応用において汎用性の高い検査方法となるであろう。

最後に

国内における最近の NIBS 系ミニブタの利用動向について紹介したが、当研究所では実験用ミニブタの利用分野を広げるために、今後も背景データの蓄積とそれをベースにした試験系の構築を積極的に進めていく予定である。1998 年に OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) ガイドライン (TG409) にミニブタが非齧歯類の選択肢の一つとして加わり、2005 年には 3rd European Congress of Toxicologic Pathology において *Mini-pigs in Toxicology* がトピックとして取り上げられており¹⁰⁾、EU および米国では医薬品開発においてミニブタは非臨床試験を実施する上で不可欠な動物種となっている。今後国内でも非臨床試験における

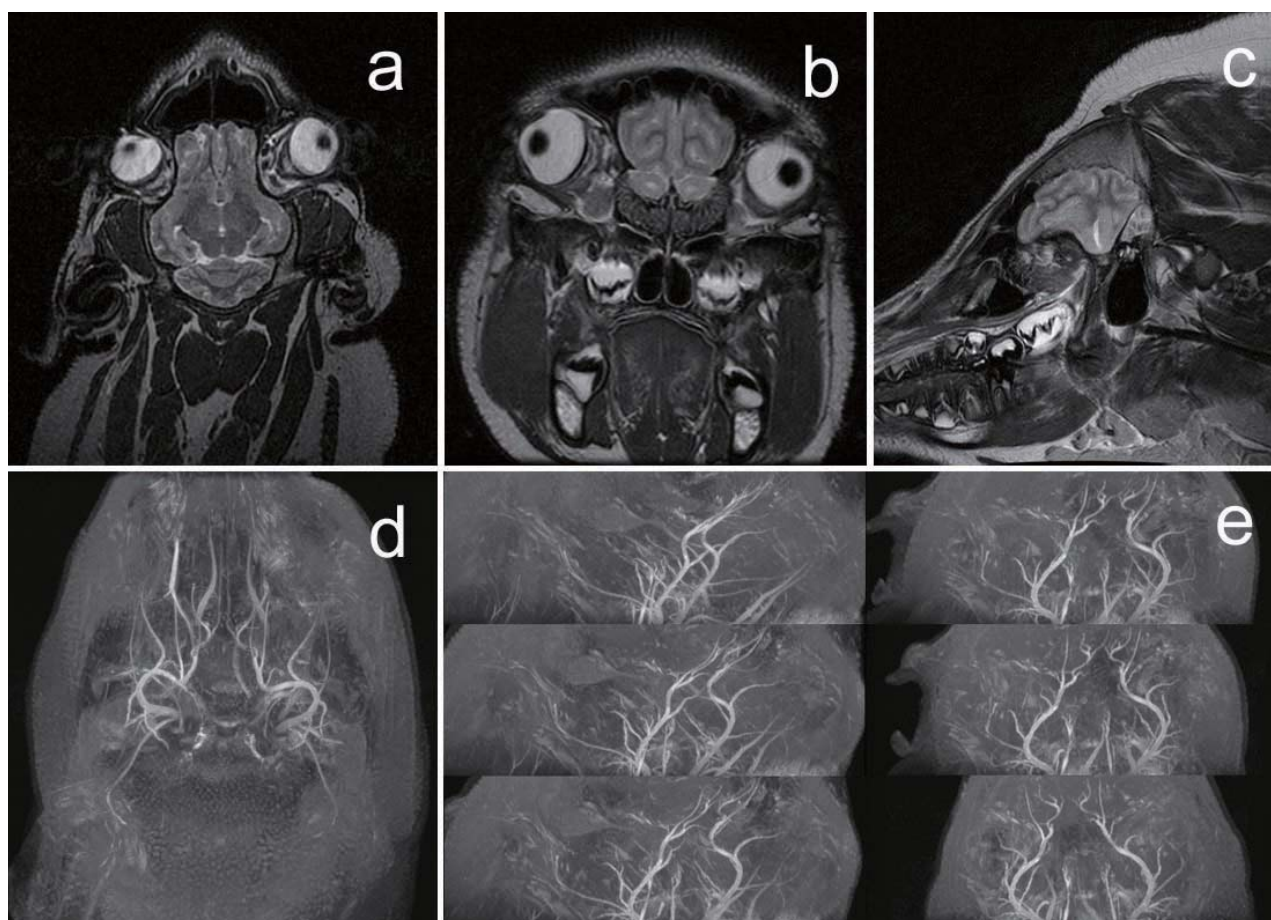


Fig. 4 a: 水平断面（頭頂部より），b: 垂直断面（頭部正面より；頭頂～顎），c: 垂直断面（頭部側面より；鼻～顎），d: 脳血管，e: 脳血管（3次元）

ミニブタの使用は徐々に拡大していくと思われる。このような状況を踏まえ、本稿が医学・生物学的分野の研究者の方がミニブタを使用する際の参考になれば幸いである。

参考文献

1. ミニブタ実験マニュアル(株) 2000 エスエルエー研究所, 2000.
2. 佐野, アニテックス, 2008. **20**:17-22.
3. Kano, M., Toyoshi, T., Iwasaki, S., Kato, M., Shimizu, M. and Ota, T. 2005. QT PRODACT: Usability of miniature pigs in safety pharmacology studies: Assessment for drug-induced QT interval prolongation. *J. Pharmacol. Sci.* **99**: 501-511.
4. National Research Council. 1996. Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press. WA.
5. European Communities Council. 1986. Directive regarding the protection of animals used for experimental and other scientific procedures. Directive 86/609/EEC.
6. 日本飼養標準・豚. 2005. 農林水産省農林水産技術会議事務局編, 中央畜産会.
7. National Research Council. 1998. Nutrient requirements of swine. National Academy Press. WA.
8. Bollen, P. J. A. *et al.* 2010. The Laboratory Swine (Second Ed.). CRC Press. New York.
9. Somatic cell nuclear transfer. 2007. Advances in experimental medicine and biology. **591**: Springer. New York.
10. Svendsen, O. 2005. The minipig in toxicology. *Exp. Toxicol. Pathol.* **57**: 335-339.

学会参加記

21st International Pig Veterinary Society Congress

場所: Vancouver, British Columbia, Canada

期間: 2010年7月18日～21日

竹山夏実

1. 学会会場

立春までひと月を切るこの季節には、夏の日射しが懐かしく思い起こされます。しかしながら、昨年の夏は「あたたかな」という表現からかけ離れた猛暑日の連続であったことの記憶も新しいのではないのでしょうか。7月17日、この猛暑の始まりを知らせる梅雨明け宣言を聞いたのが、第21回国際養豚獣医学会(International Pig Veterinary Society Congress; IPVS)に参加するために搭乗した機内ニュースでした。

本学会が開催されたバンクーバーは北緯約49度に位置するカナダ西岸の主要商業および観光都市です。北海道最北端の宗谷岬でもやっと北緯45度ですから、バンクーバーの冬の厳しさが伺い知れます。転じて季節は夏、街から遠く見える山脈に万年雪は残るものの、土産物店に並んだ冬季オリンピック名残の防寒具に違和感を覚えるほどに、街は爽やかな

青空と風に包み込まれていました。English BayとCoal Harbourに囲まれた街の中心部は、どちらの方向へも30分も歩けば内湾にぶつかってしまうほどの広さでしたが、快適な気候も理由か、様々な国籍の観光客が集まり活気を見せていました。



写真1:バンクーバー市街の景観
左端の建物がコンベンションセンター

学会の全行程が取り行われたコンベンションセンターは、Coal Harbour に位置しており（写真1）、屋根には一面に芝が敷き詰められていて、夏には建物内の温度を下げる働きをするとともに、バンクーバーの景観を穏やかなものにする効果もあるようでした。建物内は木の材質を生かした壁や天井に、海をイメージする濃淡のある青を基調とした配色になっており、こちらは研究成果の発表や意見交換のために遠路諸外国から集まってきた養豚専門家の気持ちを十分に落ち着かせてくれるものであったことでしょう（写真2）。

2. 学会構成

学会全体を俯瞰してみると、大会長である Dr. Ernest Stanford の述べる “Sharing ideas – Advancing pig health” という主旨に則り、家畜豚を健康に生

産するために我々が取り組むべきことに軸が置かれたプログラム構成が行われていました。筆者の主観も含めて本学会の専門を大きく分割すると、「疾病（の予防）」「臨床（現場での診断、治療）」「育種（の向上）」という3つの異なる分野に分けられるようでした。Welcome reception の1日を除くと3日間という短い開催期間の中で、口頭発表が274演題、6つの会場に別れて分野別に発表が行われました。表1に、口頭演題のセッション毎のタイトルを、学会プログラムより日本語訳して掲載しています。1セッションに4～6演題が含まれ、演者発表後には常に活発な討論が行われていました。口頭発表の他ポスター発表もありましたが、こちらは実に887演題と膨大な数があり、会場の要所に設置されたパソコンを利用した電子閲覧方式を採用していたためか（演題数を考えると紙面掲載が無理なのは当然なのでしょうが）、発表者との直接的な討論は少し難し

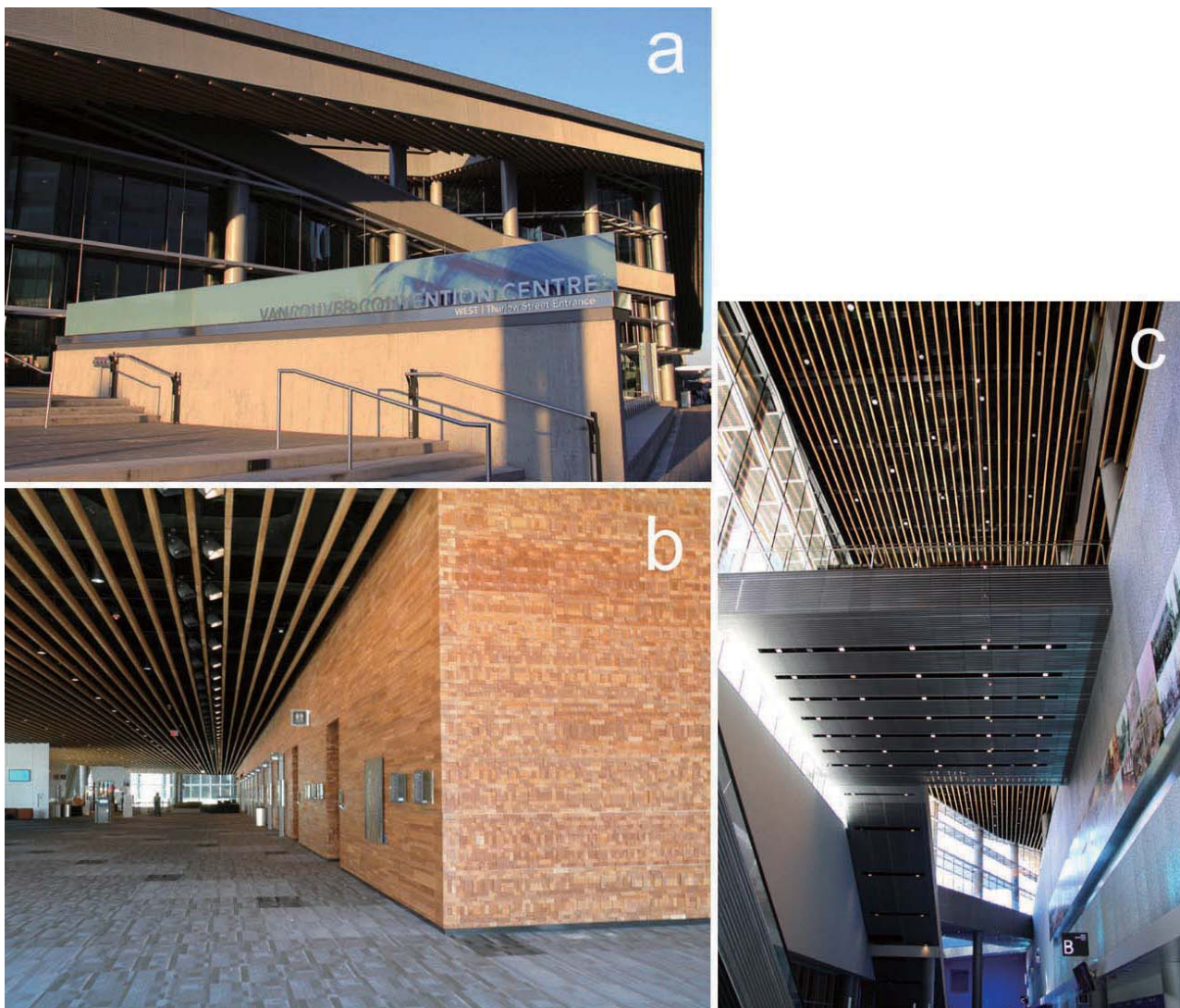


写真2：IPVS 2010 が行われたコンベンションセンター a：入口の前景，b：口頭発表が行われた会場の集まる2F，c：企業ブースが集まる地階，壁と天井に木材を使用

表 1 : IPVS 2010 口頭発表のプログラム

	Room A	Room B	Room C	Room D	Room E	Room F
7/19						
session1	臨床;皮膚疾患	PCVの分子生物学	栄養・肥育1	繁殖;母豚管理	薬理・治療1	パンデミックインフルエンザ1
session2	臨床;疾病	PCVの臨床	栄養・肥育2	繁殖;精子・種豚管理	薬理・治療2	豚インフルエンザ1
7/20						
session1	臨床;腸管疾病	PCVの診断	公衆衛生;抗生剤耐性	繁殖;分娩・新生豚	呼吸器疾病;M.hyo 1	PRRSの診断・免疫
session2	臨床;毒素/欠乏/EMC	PCVの制御1	公衆衛生;MRSA	繁殖;母豚管理	呼吸器疾病;M.hyo 2	PRRSの疫学
session3	臨床;母豚管理・疾病	PCVの制御2	公衆衛生;サルモネラ	繁殖;種豚管理	呼吸器疾病1	PRRSの診断
session4	臨床;新生豚管理	PCVの制御3	公衆衛生	繁殖;母豚管理・発育不良	呼吸器疾病2	PRRSのモニタリング
7/21						
session1	臨床;母豚疾病	ウイルス疾病;豚コレラ	腸管疾病;肥育豚1	動物福祉;行動	パンデミックインフルエンザ2	PRRSの制御1
session2	臨床;疾病制御	ウイルス疾病;その他	腸管疾病;肥育豚2	動物福祉;鎮痛・麻酔	豚インフルエンザ2	PRRSの制御2
session3	臨床;経済	PCV;概論	腸管疾病;新生/離乳豚	福祉・畜舎;分娩	パンデミックインフルエンザ3	疾病調査

かったようです。

開催国がカナダであったことも影響してか、本学会での発表者は北米（アメリカ・カナダ）所属が約半数を占めており、次いで欧州諸国が多く、アジア・南米・オセアニア・アフリカからの発表は少数に留まっていました。この割合を重要視すると、本学会の International の意味合いは、あくまでも北米、ヨーロッパを中心とした養豚業のトレンドを示したものとも言えるでしょう。しかしながら、世界の養豚業における情報や対策が、これらの国々から先駆けて発信されることもまた事実であり、学会で公表される最新の知見は現在の動向を知る良い手掛かりになると思われます。

また、IPVS が畜産獣医臨床に近い学会であることから、治療薬・予防薬等を開発・販売する企業が全面的に学会をバックアップしており、同時にそれらの企業が新薬の公表や有効性の成績についても IPVS の場で最初に養豚専門家へ向けて発表することが印象的でした。

3つの専門分野に分類したうち、現在の私の専門と関連性の深い「疾病」について本学会で得られた情報を、少し詳しく記述してゆきたいと思います。

3. 学会発表内容—疾病について—

再び表1に示した口頭発表演題のセッションに着目してみると、全体の構成の中で、「Porcine Circovirus 2 (PCV2)」、 「Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)」、 「Swine Influenza Virus」という3つの病原性微生物の発表が大部分を占める事が見てとれます。2年に1回しか開催されない国際学会であり、幅広い疾病名が挙げられるものと考えていただければ最初はこの構成に

少し戸惑いを覚えました。

しかしながら、既に前回の IPVS 学会（南アフリカ）や、2009年つくばで開催された APVS (Asian Pig Veterinary Society) 学会（日生研たより平成22年5月号に学会参加記掲載）から、これら3疾病が着目される傾向が認められていました。以前から浸潤している豚細菌性呼吸器疾病の豚胸膜肺炎やマイコプラズマ肺炎等への対策に続き、新しい疾病に注目が集まるのは当然の事かもしれません。

PCV について Dr. C. Fossum (Swedish University of Agriculture Sciences) が、PRRSV については Dr. J. C. Herring (South Dakota State University) が、発見から今日の予防対策に至るまでの過程をセッションの冒頭の基調講演にて発表されました。いずれのウイルスも1990年代に同定され、歴史は浅いにも関わらず、Iowa State University のホームページに公開されている Swine Disease Trends (US) にも示されるように、発見以降2000年代にかけて診断件数が急増しています。PCV2 については2006年に北米およびヨーロッパでワクチンが販売されてからある程度の年月が経過し、臨床現場からの成績のフィードバックが行われていました。PCV2 ワクチンの効果は、血中中和抗体価等でも評価できますが、それ以上に大規模養豚場において重要な数値は、損耗率並びに血中ウイルス量の軽減であると言えます。PCV2 に起因する疾病の高頻発時期は2~3ヶ月齢であり、これに対応したワクチンプログラムの調整が検討されていました。PCV2 の移行抗体が消失する時期は3~10週齢にばらつきがあるため、肥育期の早い段階で PCV2 感染が起こるケースでは母豚投与型ワクチンが効果を発揮するようでした。一方で3~6週齢の子豚へのワクチン接種は、肥育期中盤でのウイルス感染における血中ウイルス量を

低下させるデータがあり、各養豚場の状況に応じたワクチンの使い分けが望ましいと考えられます。

PCV2の診断に関して興味を持ったものが、血中の特異的IgGおよびIgMを測定するELISA法です。ワクチンによりプライミングがなされている個体では、野外株感染で速やかなIgG上昇が見られるのに比して、非免疫個体では初期免疫応答としてIgMサブクラスが産生されてくるため、2者間の見分けが可能になるというものでした。他の感染症診断への応用が期待できるかもしれません。

PCV2関連疾病の被害は、ワクチンの開発により大幅に改善されてきていますが、更に豚の生産向上を計るためにワクチンの改良も日進月歩です。有効性が担保されたPCV2ワクチン単体での効果に相乗して、現行のマイコプラズマ肺炎ワクチンを用時混合、子豚に対して1回投与する用法が承認されてきており、今後は呼吸器複合疾病ワクチンの多種混合化が開発競争の一端を担うものと思われます。PCV2+*M. hyopneumoniae*に加え、次の標的となるPRRSワクチンの混合化も既に臨床試験を終えている段階にありそうです。

単独感染ではヒトの症状に類似して軽い発熱や発咳を示し、1～2週間程度で回復に向かう豚インフルエンザですが、同時に呼吸器複合疾病の病原因子として着目され、疫学、血清学的調査が継続して行われていました。今回の学会において特に豚インフルエンザに関連する演題が多かった理由は、2009年にヒトで流行したパンデミックインフルエンザが豚インフルエンザウイルスH1N1由来であったからでしょう。英国、アメリカ、スウェーデン等における2009年の養豚場の疫学調査では、特に冬季に（おそらくヒトからの伝播で）パンデミック

H1N1が豚に感染していることが示されました。このパンデミックH1N1は、従来豚に浸潤していたH1N1亜型と抗原性が類似しているため、従来型のH1N1に試験感染した群ではパンデミックH1N1への感染軽減が認められる報告もありました。また、アメリカUSDAでは豚に対するパンデミックH1N1ワクチンの条件付き承認を得ており、この新規ワクチンが防御抗体惹起に有用であるとのことでした。豚インフルエンザの疫学は鳥インフルエンザ以上に、ヒトインフルエンザにも深く繋がりを持つため、今後も継続的な調査、防疫対策が必要になると思われます。

4. 学会の締めくくり

3日間は瞬く間に過ぎ、最終日は午後16時より閉会式を兼ねた全員参加型の会議が行われました。4年後の学会開催地を巡り、アイルランド、メキシコ、スペインの3カ国が各々の国の魅力をアピールし、歓声と黄色い紙の飛び交う中（写真3a）、アイルランドを僅差で下したメキシコが開催の権利を獲得しました。2012年のIPVS開催国、韓国の大会長Dr. Won Hyung Leeと、Dr. Ernest Stanfordが固い握手とともに見せた笑顔は（写真3b）、参加した面々が新しい情報や友好を携えて各国に戻り、養豚業界を発展的な方向へ導く道を切り開いてくれると信じてのものかも知れません。

「事件は会議室ではなく、現場で起きているもの」とは、多くの日本人が知る俳優演じる警察官がドラマの中で使う名台詞ですが、今回国際学会へ参加して、このように感じました。自身の行っている研究が臨床現場ではどのような位置づけにあるのか、ど



写真3：閉会式の風景

a：2014年開催国を決定するための投票

b：2012年のIPVS開催地である韓国の大会長Dr. Won Hyung Lee（左）と本学会大会長のDr. Ernest Stanford（右）

のような評価を受けるものであるのか、あるいは今後研究すべきことは何なのか、そういった疑問の答えを探して現場（学会や養豚場）に出てゆく事が、時には必要なのではないのでしょうか。

最後に日本国内における豚疾病の発生を調べてみました。平成 22 年 10 月 11 日発行の家畜衛生週報に記載された、平成 21 年度の豚伝染性疾病の発生報告件数を抜粋させていただきます。国内の呼吸器系伝染性疾病の発生件数上位 4 疾病は胸膜肺炎、PCV 関連疾病、パストレラ肺炎、マイコプラズマ病となっており、細菌性疾病も依然として報告にあげられることが見て取れます。また、消化器系伝染性疾病の発生件数上位 4 疾病は大腸菌症、増殖性腸

炎、ロタウイルス病、サルモネラ症であり、それほど致死率の高い疾病でないとはいえ、発生件数としては呼吸器疾病に準ずるものもあります。北米、ヨーロッパが global trend とはいえ、日本の養豚の形態や環境は、未だそれらとは若干異なり、問題となる病原体、その亜型も全てが一致するとは限りません。また、現在問題とされている PCV 関連疾病が終息した後に浮上してくるに違いない新たな疾病にも、身構えてゆくべきでしょう。

国際学会で得た知識の一部を「Global」から「Regional」な視点に移し替え、研究に着手していければと考えています。

(研究員)

訃報

石崎良太郎先生を偲んで

石崎良太郎先生（日本獣医畜産大学名誉教授）におかれましては、2010 年 10 月 13 日ご逝去されました（享年 82 歳）。心から哀悼の意を表し、ご冥福をお祈り申し上げます。

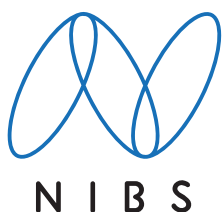
先生は東京大学農学部獣医学科をご卒業後、1952 年に東京大学農学部獣医学科家畜微生物学教室にご任官され、1954 年から 1969 年 8 月までは農林水産省家畜衛生試験場にてご奉職されました。1969 年 9 月から 1977 年 8 月までは米国ノースカロライナ州デューク大学医学部腫瘍ウイルス研究室にて研究に励まれ、1977 年 9 月からは日本獣医畜産大学分子腫瘍学研究室に教授として獣医学教育の任に就かれました。その間、トリ白血病ウイルス、馬鼻肺炎ウイルス、日本脳炎ウイルスなどウイルス感染症に関わる研究と研究者のご指導に力を注がれました。なかでもトリ白血病ウイルスを代表とするレトロウイルスと発癌遺伝子及び発癌機構に関する研究では、オンコジーンとヒト癌との関係を究明するなど多大な業績を残されました。

先生は日本獣医畜産大学にてご教鞭を執られる傍ら、1980 年から本研究所の理事（4 期）および評議員（7 期）として研究所の運営にご尽力頂き、1989 年からは 20 年間の長期に亘って本研究所の主任研究員として研究課題の推進に多大なるご指導を賜りました。分子生物学の発展という時代背景もあって、新たな技術を応用した分子遺伝学的アプローチを積極的に取り組む研究姿勢は、若手研究者の意欲触発に多大な影響を与えました。また、本研究所研究会の席上で先生から賜りました数多くのご助言には、研究員は多くのことを学んだに違いありません。

ここに改めて石崎先生の偉大なご功績を偲び、謹んでご冥福をお祈り申し上げます。

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊(隔月 1 回発行)
 (通巻 566 号) 平成 22 年 12 月 25 日印刷 平成 23 年 1 月 1 日発行(第 57 巻第 1 号)
 発行所 財団法人 日本生物科学研究所
 〒198-0024 東京都青梅市新町 9 丁目 2221 番地の 1
 TEL : 0428(33)1056(企画学術部) FAX : 0428(33)1036
 発行人 林 志鋒

編集室 委員/黒田丹(委員長), 竹山夏実, 鈴木敬之
 事務/企画学術部
 印刷所 株式会社 精興社
 (無断転載を禁ず)



—— テーマは「生命の連鎖」——
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士の揮毫