

# 日 生 研 究 所

2014年(平成26年)3月号 第60巻 第2号(通巻585号)

## 挨拶・巻頭言

男女雇用機会均等法制定後を考える  
.....草 薙 公 一 (2)

## 獣医病理学研修会

第53回 No. 1077 イノシシの肺  
.....動物衛生研究所・山口県中部家畜  
保健衛生所 (3)

## 発表論文紹介

NIBS系ミニブタを仮腹動物として用いた  
同系統体細胞クローンミニブタ及び  
 $\alpha 1, 3$ -ガラクトース転移酵素遺伝子  
ノックアウトマサチューセッツ総合病院  
ミニブタの作出.....島 津 美 樹 (4)

## 学会参加記

The 6th Asian Pig Veterinary Society  
Congress 2013.....堤 信 幸 (9)

## お知らせ

編集後記..... (12)



**NIBS**

一般財団法人 日本生物科学研究所

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

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



## 男女雇用機会均等法制定後を考える

草薙 公一

男女雇用機会均等法は1985年に制定され今年で29年目を迎える。その間女性の社会進出は一層進み、結婚・出産後も働き続ける女性が増え組織を支える存在となっている。研究分野においても例外ではなく政府の調査によると女性研究者は1982年より増え続け、2013年3月時点で12万7800人、研究者に占める割合も14.4%となり共に過去最多となった。当然のことであるが、それに伴い家庭での男性の役割にも変化が現れ、仕事と家庭生活を両立させる「ワーク・ライフ・バランス」を大切にする男性が増えたとのことである。この背景には男女雇用機会均等法施行後に生まれた子供たちが社会人となり、また学校で家庭科が必修となった世代が社会の中核になり始めた影響が表れているとの意見もある。性別を意識することが少なくなった世代が新しい生活環境を育て始めていることは確かであろう。また、高度成長期には主流だった専業主婦世帯数が減少し1997年には共働き世帯に逆転されるという状況も現れた。そこには厳しい経済情勢も重なり男性一人の家を支える事が難しくなったという現実も見え隠れするが、これも別の視点から察すると女性の社会的活躍のきっかけであったかも知れない。

こうした状況の下、今後も女性の活躍する場面が更に広がることが考えられる。社会活動の中では人材の多様化は技術革新創出や企業競争力強化に直結すると言われる。この意味からも女性への期待は更に強くなるものと考えられる。事実、総務省の労働力調査では子育てによる離職者が多い35～44歳の女性のうち就業者と求職者が占める割合（労働力率）が2013年に初めて7割を超えたことが報告された。この世代の労働力率をいかに上げるかが中長期的経済成長へ繋がるとし、日本経済が競争力を持ち続けるには女性の一層の活躍が不可欠になっているようである。

政府も新成長戦略の一環として女性の活躍を後押しする就労支援策を検討している。25歳～44歳の女性就業率の引き上げを検討し、出産を機に離職する女性の就業率を改善しようとしている。働きながら子育てをする女性への支援策拡大である。産休中の社員の代替人材確保への経費助成拡大と個人への所得補償とを合わせて育休取得を促すとともに、待機児童解消への保育所の整備拡大を図ることにより女性の社会進出を支援しようとしている。更に2020年までに指導的地位にいる人の3割を女性にするとした女性の就業継続を国際的に表明するなど、女性の活躍が経済成長戦略の力となることへの期待が示された。

企業においても女性ならではの視点、アイデアを生かそうとする試みが増えている。女性登用などの情報を開示することによって男女関係なく能力を評価するというイメージをアピールし、優秀な人材を集める動きが始まっている。こうした状況の背景には仕事と家庭の調和が必要であり、育児休暇の延長、短時間勤務・フレックスタイム制度導入など女性が働きやすい職場環境の整備が進められている。

しかしながらこうした推進例が認められる一方で、育児休暇取得などの妨げとなる現実も存在する。国立社会保障・人口問題研究所の調査では第一子出産を機に退職する女性は6割を超えている。そこには育休が取りにくいこと、職場での両立への応援雰囲気がないことが挙げられており、管理職を始めとして職場の意識改善をさらに促す必要性が認められる。今後、改善を推し進めるにあたっては政治には社会が変わりやすくなる土壌育成の役割が、企業には制度だけでなく意識を改革する努力が求められる。男女による社会への関わり方は時代や環境によって変わる。様々な価値観を認め合う寛容さが広角な視点を育み、そこから派生する広がり社会の多様性を創造する。個々の私生活への関わり方は別に考えるとして、組織内での仕事という観点からはこうした考えを持ち続けることは大切なことである。社会の価値観は突然変わるものではなく少しずつの積み重ねによって成り立っている。それぞれの場面で、その状況を考慮しながら変えようとする努力を続けることがより良き展開へ繋がると信じたい。

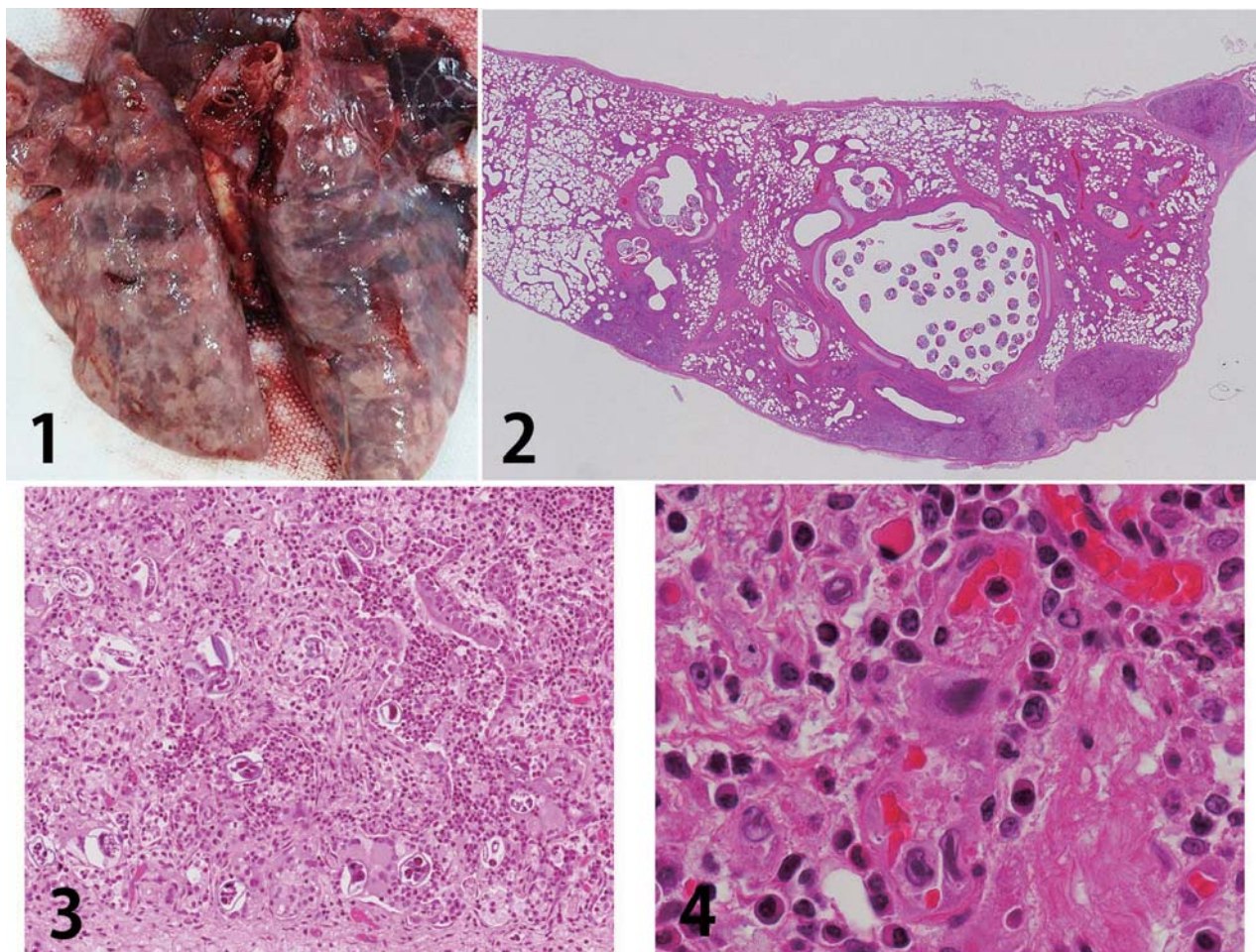
さて、わが身の周りを改めて見回した時、絶えず変化が訪れ、それに対応することが求められる現実気づかされる。組織も然りであり、その変化に遅れずしっかり対応することを迫られる。そのためには意識改革が求められ、外部から全く異なる考えが導入され刺激的に展開していく選択肢が選ばれることもある。一方これと同様の意味からは内なる多様性の登用も考慮されるべきであり、若手と共に女性の更なる登用も選択肢の大きな柱として捉えるべきであろう。相方ともに今までとは異なる価値観や手法を受け入れる選択肢であり今までに見えなかったものが現れ、新たなステップを切り開く可能性が期待できる。外からノウハウを求める事が真であるとすれば内なる可能性に同等の期待を注ぐこともまた真である。

どの選択肢の組み合わせをもって変化への対応とするのか、トップの熟慮そして長期シナリオに基づいた冷静な決断が不可欠である。

(副理事長)

## イノシシの肺

第 53 回獣医病理学研修会 No. 1077 動物衛生研究所・山口県中部家畜保健衛生所



**動物：**ニホンイノシシ、雌、年齢不明（体重約 8 kg）。  
**臨床事項：**衰弱し流涎を呈する本個体を山麓で発見した。翌日、死亡したため、病性鑑定を実施した。  
**剖検所見：**被毛粗剛、削瘦、体表に多数のタイワンカクマダニの寄生、肺全葉に小葉性の暗赤色巢（図 1）、腹腔にフィブリン析出、肝臓に硬結と胆管拡張、胃底部にドロレス顎口虫による出血と潰瘍が認められた。  
**組織所見：**気管支と細気管支腔内に *Metastrongylus* 属の形態に一致する豚肺虫の成虫が多数寄生し、粘膜上皮の線毛消失・剥離、粘液滲出、好酸球や好中球の滲出が認められ、周囲に無気肺化した肺小葉が分布していた（図 2）。これらの肺小葉の細気管支および肺胞内には吸引された多数の含子虫卵と幼虫が存在し、肺胞内に好酸球、好中球、マクロファージ、多核巨細胞が浸潤し、間質は線維化とリンパ球・形質細胞浸潤により肥厚していた（図 3）。一部の含子虫卵の卵殻に好酸性棍棒体の形成、細気管支上皮に重層扁平上皮化生が認められた。さらに、毛細血管や小静脈、小動脈の内皮細胞に好塩基性核内封入体の形成、核と細胞の巨大化、血管内腔の狭窄（図 4）が認められ、一部に線維素析出と出血を伴っていた。これらの封入体は肺炎病変がなく肺胞構造が明瞭な肺小葉よりも、寄生虫性肺炎により無気肺化した肺小

葉に多く認められた。同様の封入体は肺の細気管支上皮と肺胞上皮、肝臓の肝細胞やクッパー細胞、血管内皮細胞、腎臓髄質の血管内皮細胞等にも認められた。これらの封入体を持つ細胞は抗豚サイトメガロウイルス抗体による免疫染色に陽性を示し、透過型電子顕微鏡でヘルペスウイルスの形態を示すウイルス粒子が認められた。  
**診断：**イノシシの肺における豚肺虫性気管支肺炎ならびに豚サイトメガロウイルスによる血管内皮細胞の巨細胞性封入体を伴う間質性肺炎  
**考察：**本例は豚肺虫、ドロレス顎口虫、豚腎虫等の寄生による呼吸障害や栄養障害等で衰弱し免疫不全に陥ったため、豚サイトメガロウイルス感染症を惹起した可能性が考えられた。また、豚肺虫の幼虫による血管の傷害と巨細胞性封入体形成による循環障害等によって肺の間質性炎が増悪したと考えられた。（谷村信彦）

**参考文献：**

1. 入部 忠・大谷研文・宮崎綾子・芝原友幸・谷村信彦. 2013. 野生イノシシにみられた豚サイトメガロウイルス感染症. 日本獣医師会雑誌 66(4) : 243-247.
2. 芝原友幸・関口真樹・宮崎綾子・田島明子・清水眞也・久保正法. 2012. 豚サイトメガロウイルス病の診断. 日本獣医師会雑誌 65(6) : 429-435.

## 発表論文紹介

# NIBS 系ミニブタを仮腹動物として用いた 同系統体細胞クローンミニブタ及び $\alpha 1, 3$ -ガラクトース転移酵素遺伝子ノックアウト マサチューセッツ総合病院ミニブタの作出

島津美樹

## 背景

2000年の体細胞クローンブタの作出成功以降 [1, 2]、核移植技術は遺伝子組換えブタ研究に用いられるようになり [3-6]、その作出効率は1-2%である [7]。

ブタは妊娠期間が114日間と比較的短く魅力的な繁殖特性を示し、加えて、解剖学的・生理学的特徴がヒトに非常に類似していることから生物医学研究分野において重要な動物である [8]。特に、ミニブタはその大きさと取り扱い易さから魅力的である。マサチューセッツ総合病院 (MGH) ミニブタは成熟時の体重が最大で120 kgを呈するが、500 kgを超す家畜ブタと比べヒトに近いと言えよう。このようなミニブタの優位性から、体細胞クローン及び遺伝子組換えミニブタの研究が行われるようになった [5, 6, 9-20: 仮腹動物として家畜ブタを利用した報告, 13, 14, 21: ミニブタを利用した報告]。一方、一般財団法人日本生物科学研究所 (以下、日生研) では、1993年に新規系統であるNIBS系ミニブタ・コロニーを確立し [22]、以後、同系統ミニブタの繁殖生産を行っている。

本研究は、NIBS系ミニブタを仮腹個体として用いた場合の同系統体細胞クローンミニブタの作出、更には、 $\alpha 1, 3$ -ガラクトース転移酵素遺伝子ノックアウト (以下、GalT-KO) MGH ミニブタの作出を目的に実施した。

## 材料及び方法

## 供試動物

1-5才齢の23頭のNIBS系ミニブタを仮腹動物に供試した。動物のケアと取扱いは日生研実験動

物福祉並びに動物実験管理に関する規程に従った。

## ドナー細胞

妊娠30日齢のNIBS系ミニブタ胎子 (1頭) 由来の線維芽細胞 (2-8代継代) 並びにGalT-KO MGH ミニブタ新生子 (1頭、雄) からサンプリングした肺由来線維芽細胞 (3-10代継代) をそれぞれドナー細胞に用いた。

## レシピエント卵子

食肉センターから採材したブタ卵巣から卵子を回収した後、Kooらの報告に従い [23]、卵子の体外成熟培養、更に、体外成熟卵子の裸化处理を行い、レシピエント卵子を準備した。

## 核移植

マイクロマニピュレーターを用いて核移植操作を行った。再構築した胚に対して、直流パルスを用いた電気刺激及び6-ジメチルアミノプリンによる化学物質刺激 [24] を施した。

## 胚移植

島津らの報告に従い [25]、ミニブタの発情を人為的にコントロールした。開腹下にあるミニブタの片側の卵管膨大部に少量の培地と共にクローン胚を挿入することで、移植を行った。

## 遺伝子診断

得られたすべての子ブタは、NIBS系体細胞クローンミニブタ又はGalT-KO MGH ミニブタであることを証明するために遺伝子を解析した。

## 結果

## NIBS系体細胞クローンミニブタの作出

13頭 (5頭の死産子を含む) のNIBS系体細胞クローンミニブタの作出に成功し、その効率は1.0%を示した (表1. (A))。なお、得られた子ブタはす

表1 (A)NIBS系体細胞クローンミニブタと(B)GalT-KO MGH ミニブタの作出効率

No. of embryos	Average no. of embryos transferred	No. of surrogates	No. (%) of surrogates delivered	No. of offspring	No. (%) of offspring /embryos
(A) 1312	119.3 ± 17.1 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	5 (45.5)	13 <sup>c</sup>	13/1312 (1.0)
(B) 1953	162.8 ± 19.4 <sup>a</sup>	12 <sup>b</sup>	5 (41.7)	6 <sup>d</sup>	6/1953 (0.3)

<sup>a</sup> 平均 ± 標準偏差

<sup>b</sup> 胚移植時の仮腹ミニブタの卵巣には発育卵胞または排卵点が認められた。

<sup>c</sup> 5頭の死産を含む子ブタの娩出時体重は 351 ± 85.17 g であり、すべて雌であった。

<sup>d</sup> 4頭の死産を含む子ブタの娩出時体重は 330 ± 108.6 g であり、すべて雄であった。

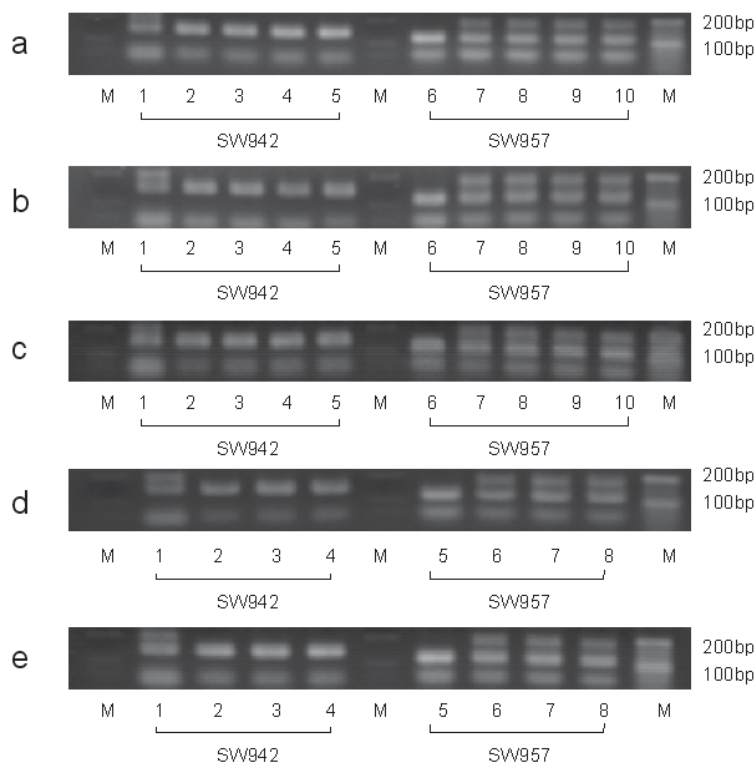


図1 NIBS系体細胞クローンミニブタに関するマイクロサテライトマーカーによるPCR解析

(a-c) 1, 6: 仮腹ミニブタゲノムDNA、2-4, 7-9: クローンミニブタゲノムDNA、5, 10: ドナー細胞のゲノムDNA  
(d, e) 1, 5: 仮腹ミニブタゲノムDNA、2, 3, 6, 7: クローンミニブタゲノムDNA、4, 8: ドナー細胞のゲノムDNA

べて雌であった。

マイクロサテライトマーカーによる解析から、すべての子ブタはクローンであることが証明された(図1)。また、生後間もない同腹のクローンミニブタ3頭を示した(写真1)。得られた13頭の娩出時の体重は 351 ± 85.17 g であった。

#### GalT-KO MGH ミニブタの作出

6頭(4頭の死産子を含む)のGalT-KO MGH ミニブタの作出に成功した(表1.(B))。娩出時の体重は 330 ± 108.6 g を示し、作出効率は0.3%であった。死産子を除いた2頭中1頭(GalT-KO #3)は種動物として使用する予定であるため、11ヶ月齢となった現在も飼育を継続している(写真2)。残

りの1頭(GalT-KO #4)は、4及び6ヶ月齢時に片腎ずつをドナーとしてそれぞれ1頭ずつのカニクイザルに異種移植を行った。カニクイザルはGalT-KO ミニブタ腎に拒絶反応を示すことなく、移植後14日までの血中クレアチニン濃度は正常値範囲内であった(山田ら未発表データ)。

死産子2頭(GalT-KO #1, 2)、GalT-KO #3及びGalT-KO #4の組織サンプルをPCRにて診断(図2.(A))、残りの死産子2頭(GalT-KO #5, 6)は、肺組織のパラフィン包埋切片を免疫組織化学法により診断(図2.(B)-(D))することで、完全にGalTがノックアウトされていることを確認した。



写真1 生後間もない同腹のNIBS系体細胞クローンミニブタ3頭（頭部マーカー識別個体：380g、背部識別個体：380g、識別無し個体：420g）



写真2 10ヶ月齢時のGalT-KO MGH ミニブタ #3

## 考察

本研究結果から、ミニブタは体細胞クローン及び新規遺伝子組換え個体の仮腹動物として有用であり、作出個体をSPF施設、GLP施設等の限られたスペースにおいて容易に導入できることも有用であると考えられる。

一般に、クローン（ミニ）ブタ作出のための仮腹動物には、その子宮の大きさ及び産子数の多さから家畜ブタが用いられている[14]。NIBS系ミニブタの産子数は4.2頭であり[22]、ほかの系統ミニブタの5から7頭[25-28]と比較して少ない。しかし、本研究におけるNIBS系体細胞クローンミニブタの作出効率（約1%）は、家畜ブタを仮腹動物に用いた場合の報告（1-2%）[7]と同様の値であり、ほかの系統ミニブタを用いた場合（0.2-0.9%）[14、21]に比べ高い数値を示した。更に、GalT-KO

MGH ミニブタの作出においても、家畜ブタを仮腹動物に用いた場合のGalT-KO MGH ミニブタ作出効率（0.2%）[6]と比較してわずかながら高い0.3%であった。我々は、クローン胚のステージに仮腹ミニブタの発情周期を同期化させるために、プロジェステロン様合成ステロイド剤をミニブタに処方し、その同期化の精度を高めることが可能となった結果、このような高い成績を得ることができたものと考えている。

クローン動物研究において、ウシでは出生時の巨大化及び胎盤の奇形[29-31]、一方、マウスでは胎盤の巨大化[32]が報告されているが、我々の研究では、死産子を含めすべてのクローン個体に異常は認められなかった。NIBS系体細胞クローンミニブタの娩出時の体重（ $351 \pm 85.17$  g）は、同系統コロニー内の雌個体データ（ $403 \pm 75.3$  g、未発表データ）と同様な値であった。

一方、慢性的に不足している移植臓器の供給を克服するための我々のアプローチは異種臓器移植研究である[33、34]。ブタの発情周期（21日間）及び妊娠期間（114日間）はヒトに比べ短く、生理学的・解剖学的な類似点も多い。これらの優位性から、異種臓器移植研究においてブタが最も多く用いられてきたが、家畜ブタの臓器はヒトに比較して明らかに大きい。そのため、近交系MGH ミニブタ・コロニーが確立され、35年以上の歳月を掛けて維持・改良されてきた[8、34]。しかし、ブタ臓器をドナーとして異種移植に用いた場合の超急性拒絶反応の主要な原因は $\alpha 1, 3$ -ガラクトースと呼ばれる糖鎖構造が異種抗原となることにある[35、36]。そのため、2つの研究グループが2002年にGalT-KO（ミニ）ブタの作出に成功した[4-6]。更に、GalT-KO MGH ブタの腎臓をヒビに異種移植した場合、超急性拒絶反応が認められないことが実証された[37]。これまでの報告では、GalT-KO（ミニ）ブタ作出のための仮腹動物はすべて家畜ブタが用いられていたが[4-6、20、38]、我々は、仮腹動物に初めてミニブタを用いてGalT-KO ミニブタの作出に成功した。結果でも触れたが、GalT-KO ミニブタの腎臓をカニクイザルに異種移植したところ、3週間以上超急性または加速性・液性／血管性拒絶反応を示すことなく正着した（山田ら未発表データ）。

本研究で、我々はNIBS系ミニブタを仮腹動物と

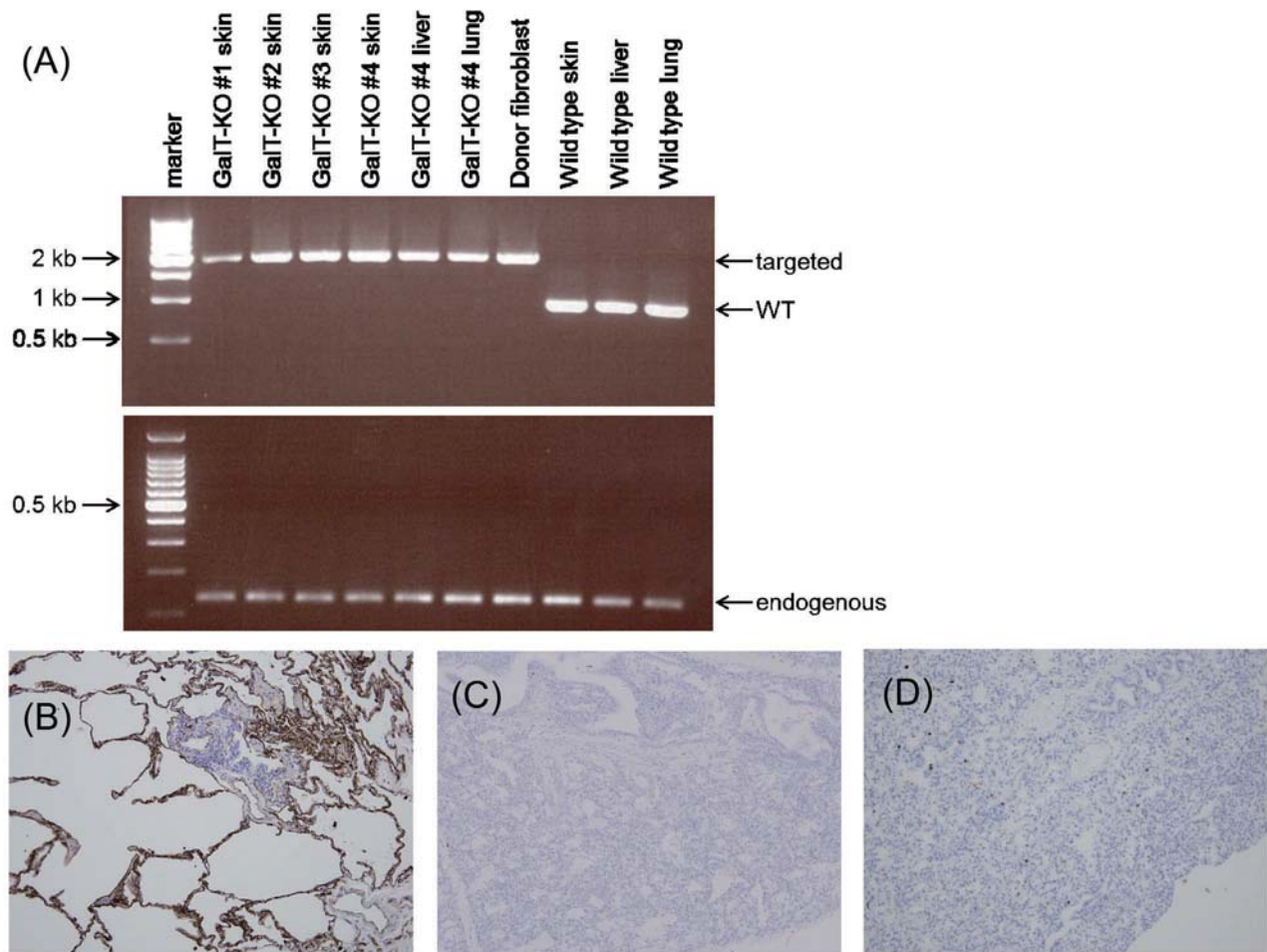


図 2

(A) Gal - KO MGH ミニブタに関する PCR 解析

(B - D) Gal - KO MGH ミニブタに関する免疫組織化学法による解析

肺組織のパラフィン包埋切片をインソレクチン B4 にて染色したところ、wild - type の肺胞内皮及び血管内皮、気管支線毛細胞がポジティブであったのに対し (B)、Gal - KO MGH ミニブタ #5 (C) 及び #6 (D) ではネガティブであった。

して使用した核移植によるミニブタ・クローニング技術を確立し、同技術により、初めて GalT-KO MGH ミニブタの作出に成功した。ミニブタ・クローニング技術を用いることで、作出個体を SPF 施設、GLP 施設等の限られたスペースに導入することが可能となることから、本技術は有用であると考えられる。

本稿は Xenotransplantation 2013; 20(3) : 157-164 に掲載された論文を編集・日本語訳したものである。

#### 参考文献

1. ONISHI A, IWAMOTO M, AKITA T *et al.* 2000. *Science* **289** : 1188-1190.
2. POLEJAEVA IA, CHEN SH, VAUGHT TD *et al.* 2000. *Nature* **407** : 86-90.
3. ZAIDI A, SCHMOECKEL M, BHATTI F *et al.* 1998. *Transplantation* **65** : 1584-1590.
4. DAI Y, VAUGHT TD, BOONE J *et al.* 2002. *Nat. Biotechnol.* **20** : 251-255.
5. KOLBER-SIMONDS D, LAI L, WATT SR *et al.* 2004. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101** : 7335-7340.
6. LAI L, KOLBER-SIMONDS D, PARK K *et al.* 2002. *Science* **295** : 1089-1092.
7. LAI L, PRATHER RS. 2003. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **1** : 82.
8. SACHS DH. MHC Homozygous miniature swine. *In* : SWIN-DLE MM, MOODY DC, PHILLIPS LD, eds. *Swine as Models in Biomedical Research*. Ames, IA: Iowa State University Press, **1992** : 3-15.

9. AHN KS, KIM YJ, KIM M *et al.* 2011. *Theriogenology* **75** : 933–939.
10. ESTRADA JL, COLLINS B, YORK A *et al.* 2008. *Cloning Stem Cells* **10** : 287–296.
11. HOSHINO Y, UCHIDA M, SHIMATSU Y *et al.* 2005. *Cloning Stem Cells* **7** : 17–26.
12. KAWARASAKI T, UCHIYAMA K, HIRAO A *et al.* 2009. *J Biomed Opt* **14** : 054017.
13. KOO OJ, PARK HJ, KWON DK *et al.* 2009. *Zygote* **17** : 203–207.
14. KUROME M, ISHIKAWA T, TOMII R *et al.* 2008. *J. Reprod. Dev.* **54** : 156–163.
15. LEE SL, KANG EJ, MAENG GH *et al.* 2010. *J. Reprod. Dev.* **56** : 256–262.
16. LIU HB, LV PR, HE RG *et al.* 2010. *Cell Re-program* **12** : 543–550.
17. LI Y, LIU J, DAI J *et al.* 2010. *Reprod. Domest. Anim.* **45** : 608–613.
18. MIYOSHI K, INOUE S, HIMAKI T *et al.* 2007. *Mol. Reprod. Dev.* **74** : 1568–1574.
19. HAO YH, YONG HY, MURPHY CN *et al.* 2006. *Transgenic Res.* **15** : 739–750.
20. ZHAO J, ROSS JW, HAO Y *et al.* 2009. *Biol. Reprod.* **81** : 525–530.
21. WAKAI T, SUGIMURA S, YAMANAKA K *et al.* 2008. *Cloning Stem Cells* **10** : 249–262.
22. NUNOYA T, SHIBUYA K, SAITOH T *et al.* 2007. *J. Toxicol. Pathol.* **20** : 125–132.
23. KOO OJ, JANG G, KWON DK *et al.* 2008. *Theriogenology* **70** : 1111–1118.
24. IM GS, SAMUEL M, LAI L *et al.* 2007. *Mol. Reprod. Dev.* **74** : 1158–1164.
25. SHIMATSU Y, UCHIDA M, NIKI R *et al.* 2004. *Vet. Rec.* **155** : 633–635.
26. BOUCHARD G, MCLAUGHLIN RM, ELLERSIECK MR *et al.* 1995. *Lab. Anim. Sci.* **45** : 408–414.
27. CONLEY AJ, JUNG YC, SCHWARTZ NK *et al.* 1988. *J. Reprod. Fertil.* **82** : 595–601.
28. PANEPINTO LM, PHILLIPS RW, WHEELER LR *et al.* 1978. *Lab. Anim. Sci.* **28** : 308–313.
29. HILL JR, ROUSSEL AJ, CIBELLI JB *et al.* 1999. *Theriogenology* **51** : 1451–1465.
30. KATO Y, TANI T, TSUNODA Y. 2000. *J. Reprod. Fertil.* **120** : 231–237.
31. WELLS DN, MISICA PM, TERVIT HR. 1999. *Biol. Reprod.* **60** : 996–1005.
32. WAKAYAMA T, YANAGIMACHI R. 1999. *Nat. Genet.* **22** : 127–128. 35.
33. SACHS DH, SYKES M, ROBSON SC *et al.* 2001. *Adv. Immunol.* **79** : 129–223.
34. SACHS DH. 1994. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **43** : 185–191.
35. GALILI U, RACHMILEWITZ EA, PELEG A *et al.* 1984. *J. Exp. Med.* **160** : 1519–1531.
36. GALILI U. Anti-alpha galactosyl (anti-Gal) antibody damage beyond hyperacute rejection. *In*: COOPER DKC, KEMP E, PLATT JL, WHITE DJG, eds. Xenotransplantation. Heidelberg: Springer, 1997 : 95–103.
37. YAMADA K, YAZAWA K, SHIMIZU A *et al.* 2005. *Nat. Med.* **11** : 32–34.
38. COWAN PJ, CHEN CG, SHINKEL TA *et al.* 1998. *Transplantation* **65** : 1599–1604.



## 学会参加記

## The 6th Asian Pig Veterinary Society Congress 2013

堤 信幸

2013年9月23日から25日にベトナム、ホーチミン市において開催されたThe 6th Asian Pig Veterinary Society Congress (APVS) 2013に参加しましたので、その概要を報告いたします。今回は、日本養豚開業獣医師協会 (JASV) 主催によるAPVS2013参加ツアーに同行し、獣医師の先生、農場の経営者、ワクチンメーカーなど計29名の方々とご一緒させていただきました (写真1)。学会はタンソンニャット国際空港から車で15分もかからないホワイトパレスコンベンションセンターで開催されました (写真2、3)。ホワイトパレスはホーチミン市の中心街からは離れていましたが、主要なホテルからはシャトルバスが運行されアクセスに不自由はなかったようです。我々が宿泊したタンソンニャットホテルは会場から徒歩5分ほどの距離で、隣にはスーパーもあり非常に快適に過ごせました。また、毎朝会場に向かうときに活気あふれるバイクの渋滞を見ることができ、経済成長が著しいベトナム

ムを肌で感じる事が出来ました。

学会の概要を紹介します。発表演題は307演題で、口頭発表が69題、ポスター発表が238題でした。発表者の参加国数は26カ国で、79.1%がアジアから、15.9%がヨーロッパから、4.3%がアメリカから、0.7%がオーストラリアからでした。参加者数は1265人で、学生は少なく24人だったそうです。学会の参加者は31カ国から集まったと発表されました。次に、研究トピックについて紹介します。豚のウイルス病に関する演題が最も多く31.5%を占めていました。続いて養豚に関するケースレポートが13.9%、生産性に関する演題が12.2%、細菌病及び寄生虫病に関する演題が11.8%、繁殖に関する演題が8.8%、研究室内での試験に関する演題が7.6%、食の安全に関する演題が2.5%でした。

個別に見ますと、病気に関しては、風土病や世界へ拡散している新興、再興感染症、口蹄疫のコント



写真1 JASV ツアー参加者の集合写真



写真2 ホワイトパレス入り口



写真3 出展ブース会場

ロールに対する国を超えた協力の必要性、アジアの養豚における呼吸器複合病の重要性、豚流行性下痢ウイルス (PEDV)、*Lawsonia intracellularis*、*Isospora suis*、*Balantidium coli* などの消化器系疾患や病気の伝播メカニズムについてなどでした。病気の治療、予防に関しては、抗生物質の利用と耐性菌、ハーブ抽出物質の抗菌性、マンナンオリゴ糖、生菌疾病を抑制するためのバクテリオファージの利用やカビ毒をコントロールするための非病原性真菌の利用についてなどでした。病気のコントロールに関しては、ワクチンを用いた清浄化プログラム、組換えタバコを用いた Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) ワクチンやサブユニットワクチン、多価ワクチンなどの新しいワクチンの提案、その他ワクチンの安定性、安全性や有効性、病気をモニタリングするための簡単なキットの必要性、養豚場の管理やバイオセキュリティー、動物の移動の危険性、小規模養豚場からの病気の伝播、養豚業における管理者と現場とのコミュニケーションについて

などでした。生産や繁殖に関しては、免疫系を賦活化する栄養学、動物の行動、精液希釈液の活用、精子に含まれるウイルスや種付けにおける病気の伝播についてでした。食の安全に関しては、PigRISK Vietnam を用いた病気のリスク軽減と小規模養豚農家における食の安全性の向上、*Salmonella Weltevreden*、*Campylobacter*、*Streptococcus suis* などの食べ物に由来する病原体、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の罹患率、農場から市場における HACCP、農場から屠畜場における動物愛護についてでした。

以下に簡単ではありますが、興味深かった発表を紹介いたします。PRRSV に関する演題は多数ありましたが、その中からイタリア Parma university の Paolo Martelli 氏が発表した PRRSV INFECTION : Immunity and control を紹介します。1990 年代に行われた PRRS ウイルス調査では、ヨーロッパ型同様に北米型においても遺伝子型に高い多様性がみられ、これはランダムな突然変異と組換えによる変異の蓄積であると考えられた。ある豚から次の豚へ感染したときに優勢な再分離株に違いがみられたことから、*in vivo* での増殖において突然変異が起き、そのランダムな突然変異が蓄積することで遺伝的な多様性が獲得されることが示唆された。実験条件下においては、MA-104 細胞に 2 つの異なる PRRSV を共感染させると組換えが認められたが、*in vivo* では観察されなかったことから、組換えによる変異は野外では一般的ではないことが示唆された (Yuan *et al.*, 1999, Murtaugh *et al.*, 2002)。遺伝的な多様性は診断法やワクチンの有効性に関係すると考えられるが、表現形が近いということが必ずしも地理的な近さやウイルスの潜在的な由来、臨床転帰と相関しておらず、また、遺伝的に非常に近縁な株が明確な疫学的繋がりが無いのに地理的に離れた地域から分離されることもあることから、更なる研究が必要であると考えられる。株間の交差防御を予測する遺伝学的な情報は十分には得られておらず、現在のところ、遺伝子配列情報は遺伝子型についての情報のみである。そのため遺伝子配列の相同性を調べても、病原性や抗原性の相違について、またはウイルスの免疫惹起能や感染に対する交差防御の有無についての情報は得られない。

PRRS の野外株は自然免疫を高めることなく、全

ての週齢の豚に感染することができる。液性免疫に関しては、PRRSVに対する抗体が感染5～7日後に測定できるレベルに上がってきて、14日後には陽転する。しかし、IgMとIgGの応答は中和抗体価とは相関しておらず、ウイルス中和試験では感染4週後まで中和抗体が検出されない。細胞性免疫に関しては、感染4週後から強いリンパ球の増殖がみられる。IFN- $\gamma$ 産生細胞は免疫3週後から現れ、NK細胞や細胞傷害性T細胞も同様の動態を示す。現在のところ、表現形の特徴と遺伝子型の関連は見つかっていないため、免疫応答という点においては遺伝子配列の相同性の高低よりも、免疫系の何らかの因子を刺激する株かどうかの方が重要だと思われる。つまり、PRRSV株によって中和抗体の誘導能は異なり、さらに、ウイルスの排除に大きな役割を果たしていると考えられる細胞性免疫においても、産生されるサイトカインのパターンやIFN- $\gamma$ 産生細胞の誘導能が異なることが分かっている (Diaz *et al.*, 2008; Diaz *et al.*, 2012; Ferrari *et al.*, 2013; Baumann *et al.*, 2013)。

PRRS ワクチンについてよくある疑問は、1. PRRS ワクチンは費用効率が低いのか？ 2. 今使われているワクチンは有効なのか？ である。疑問1. に対する答えは Yes であり、現在使われている弱毒生ワクチンは費用効率が低い。疑問2. については No であり、残念ながら我々が思っているほどワクチンは効いていないということである。母豚のワクチン戦略としては、未感作の集団をなくすために3カ月ごとに免疫を行い、妊娠期の60日目と産後6日目に母豚にワクチンを接種する6-60法により免疫を高める（一方、Zoetisは6-60法は有効でない述べている。）ことを推奨する。PRRS ワクチンの効果としては、ワクチン株は現在の野外株とは一致しておらず、完全な防御を賦与することは出来ないが、ウイルス血症の期間を短縮し、ウイルスの排出を抑制することができる。また、症状を抑えることが出来るため、バイオセキュリティー上、導入した雌豚の馴致にも役立つと考えられる。母豚の免疫応答については、肥育豚とは異なり完全には分かっていないが、PRRSV 感染の影響をコントロールするという目的においてワクチンは十分に助けとなりうる。

PRRSV ヨーロッパ株ワクチンはイタリアで分離

された野外株の感染を防いだ (Stadejek *et al.*, 2005)。また、PRRS ワクチンは複数の株が感染した豚の集団にも効果があった (Cano *et al.*, 2007)。Martelliら (2009) は、イタリア分離株と同じクラスターに属する野外株が自然感染した豚におけるワクチンの効果を以下の方法で調べた。筋肉内投与群、皮内投与群、対照群の3群を設定し、免疫後80日齢でPRRSと豚マイコプラズマ肺炎が陽性の豚房に移動して同居飼育した。野外株とワクチン株のORF5の相同性は84.7%であった。その結果、一般臨床症状と呼吸器臨床症状の総合スコアにおいて、ワクチンの有効性は70%と判定された。また、細胞傷害性T細胞におけるIFN- $\gamma$ のRNA量を比較したところ、対照群に比べて両ワクチン群の14日と21日での発現量が有意に高かった。

当研究所からはTOHO研究員が” Genetic characterization and protective immunity of ApxIIA and ApxIII of *Actinobacillus pleuropneumoniae*” を口頭で、著者が” Characterization of the recently isolated *erysipelothrix rhusiopathiae* and the effect of commercial *erysipelas* vaccines” をポスターで発表しました (写真4)。また、日生研株式会社はブース展示を行いました (写真5)。学会初日に荷物が届かないというトラブルがありましたが、ポスターや手持ちで運んでいたパンフレットでなんとか対応し、2日目以降は滞りなく展示を行うことが出来ました。ブースには開催地であるベトナムを始めとし、中国、フィリピン、台湾など各国の参加者が訪れ、多くの質問を受けたようです。学会以外では、学会

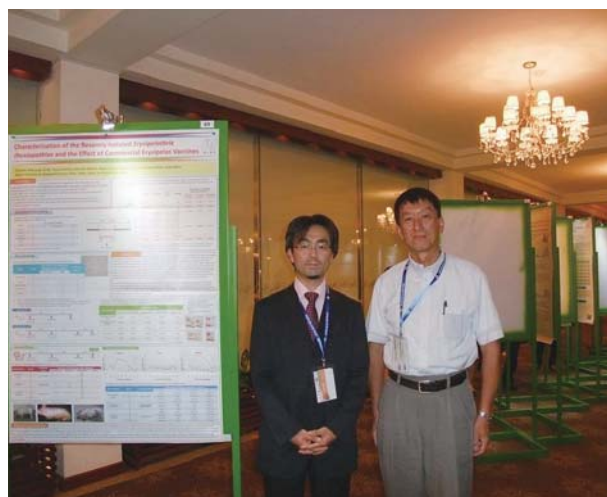


写真4 吳克昌先生と筆者

前日に JASV ツアー参加者を対象としてエコファーマ・あすか製薬合同セミナーが開催されました。エコファーマの石垣氏が発表されたベトナムの養豚事情については、現地情報の収集のために事前視察を行って作成されており、非常に詳細で有益な発表でした。JASV ツアーにてミトー方面の視察もあり(写真 6)、学会会場のあったホーチミン市周辺だけでなく、農村地帯やメコン川流域など様々な地域を見学することが出来ました。視察でも多くの写真を撮ったのですが紙面の都合により断腸の思いで割愛させていただきます。次回の APVS は 2015 年にフィリピンにて開催されます。後進たちが参加し、研究成果を発表できるようアドバイスをしつつ、自分も 2 年間で新たなデータを積み重ねて参加できるように切磋琢磨したいと思います。最後になりましたが、このような有益なツアーを企画していただいた JASV の先生方にお礼を申し上げ筆を置くことに致します。



写真 5 日生研出展ブース前にて



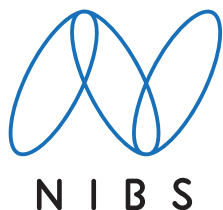
写真 6 メコン川での淡水魚養殖の様子

## 編集後記

春光うらかな季節となりました。皆様におかれましてはいかがお過ごしでしょうか。

さて今年度の編集委員で行ってまいりました編集作業も、今号を持って終了致します。不慣れな点から行き届かない部分が多々ありましたことを、この場をお借りし深くお詫び申し上げます。次年度は、「大嶋 篤」「今井 孝彦」「川原 史也」が編集を担当致します。読者の皆様におかれましては、季節柄どうかご自愛ください。今後とも、引き続き日生研たよりを御愛読賜りますよう、宜しくお願い申し上げます。

(編集委員長)



—— 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

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊(隔月 1 回発行)  
(通巻 585 号) 平成 26 年 2 月 25 日印刷 平成 26 年 3 月 1 日発行(第 60 巻第 2 号)  
発行所 一般財団法人 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 岩田 晃  
編集室 委員/山下 龍(委員長)、大嶋 篤、堤 信幸  
事務/企画学術部  
印刷所 株式会社 精興社  
(無断転載を禁ず)