

日生研おより

第 69 卷 第 4 号(通巻 629 号) 2023 年(令和 5 年)10 月

挨拶・巻頭言

どうする?地球温暖化

.....佐々木伸雄(2)

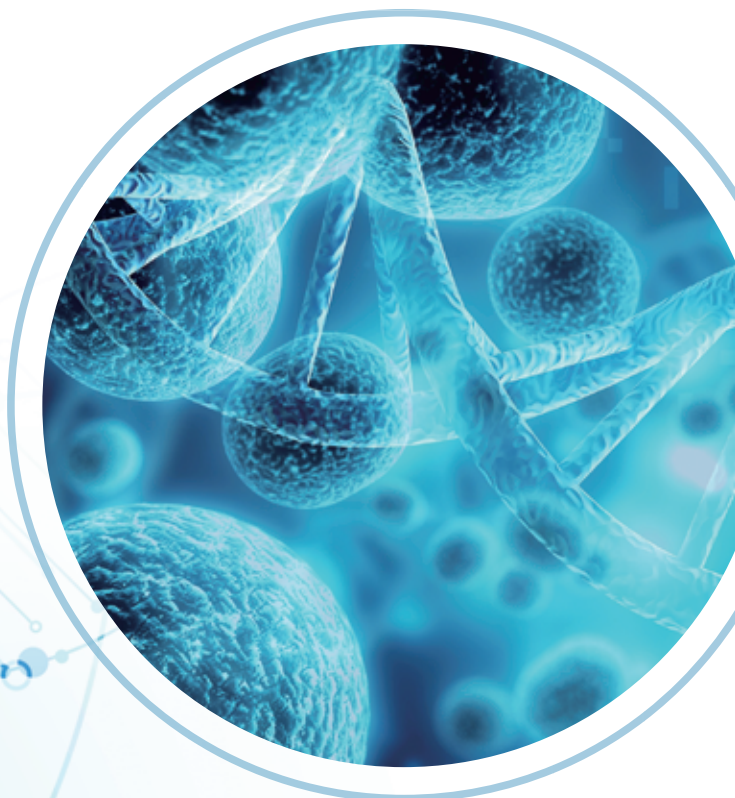
レビュー

狂犬病 Neglected Tropical Diseases
and One Health

.....西園 晃(3)

ネコのメルケル細胞癌の起源および
パピローマウイルスによる発癌機構に
関する研究

.....伊藤宗磨(10)



どうする？地球温暖化

佐々木伸雄

この夏は暑い。毎日汗を拭きながらの生活である。この原稿を書いている8月前半で東京の猛暑日はすでに例年の日数を超え、最も暑い夏だそうである。本文の内容に対し、何を言っているの、と思われる方もいると思う。暑さボケということでご勘弁いただきたい。

SDGsや地球温暖化の抑制という言葉が巷に溢れて久しい。地球温暖化に関しては、二酸化炭素等の増加をいかに防止し、21世紀末における気温上昇をどのように抑制するかが最重要課題である。これらについてはすでに膨大な量の文章や情報が書かれ、子供でも必ず知っている。今や経済も企業もこの言葉をキーワードとして用い、それに沿った形での活動を考えないと生き残れないそうである。

確かに台風の威力は強くなっているようであり、過去数年を見てもハリケーン、サイクロンの被害は以前より激しい。今年の夏には、暑さと雨の少なさにより、アメリカのアリゾナ砂漠では100年以上前から生えているサボテンが枯れた、というニュースも出ていた。さすがのサボテンも自身の体内に蓄えていた水分が枯渇したのかもしれない。

すでに南極や北極の水の量は減少傾向にあり、太平洋やインド洋の海拔1メートル程度の島々は水没の危機に晒されている。ヒマラヤやアラスカなどの氷河も年々減少し、大規模な土砂崩れも心配されている。世界の海岸線は徐々に後退し、そこに住む住民は移動を余儀なくされると心配される。

私のような臍曲がりには、本当に地球が温暖化するのか、地球にはまだまだわかっていないことも多いのに、そんなに簡単に予想できるのか、とってしまう。約1万年前の最終氷河期の後はかなり温暖な気候が続き、現在より海水面は高かったという。縄文時代の海岸線は今よりもかなり内陸側にあった。青森の三内丸山遺跡は結構内陸にあるが、当時は現在より海に近かったのではないかと推測されている。

海流や海水温は気候に大きな影響がある。これらに対する両極の影響は強い。深い海の海流である深海流は両極から流れ出る氷の量に影響されるという。最近かなり解析が進んでいるとはいえ、地球そのものもまだまだわからないことだらけである。

地球の気温に最も大きな影響を及ぼす太陽の活動はどうか。もう20年位前になるが、ある天文学者が、通常11年周期で変動する黒点活動が異常に弱くなっていると書いていた。黒点は観測が容易であって、ガリレオ・ガリレイの時代から記録があるそうである。その時の黒点活動は、17世紀後半に見られたマウンダー極小期に類似するとしており、その時代は、ロンドンには冬にはテムズ川が氷結するほどの寒い時期（小氷期）であった。今後同様な気象状況になりうる、とその本は予測していたが、実際には全く同じような暑さが続いた。最近同様の説（2030年代に小氷期が来る）が出されているが、そのような気候が実際に出現するかどうかは全くわからない。しかし、地球の気候に対する太陽の影響という要因は常にあると思われる。

とはいえ、少なくとも夏の日本は熱帯～亜熱帯である。徐々に温暖化は進んでいるようである。東京でもまだ数は少ないとは言え、最近ではクマゼミが鳴いており、また湘南地域に多い台湾リスもそろそろ東京に進出するのでは、と言われている。日本の南西地域に多いマダニが媒介する重症熱性血小板減少症（SFTS）も少しずつ北上している。まあ、これはイノシシ、鹿の増加が大きな原因かもしれないが。今後の地球環境の変化により、このような地域により発生率の異なる感染症が、家畜の世界でも増加してくるかもしれない。それらに対する対策も常に頭に入れた活動が要求されているようである。

(評議員)

狂犬病 Neglected Tropical Diseases and One Health

西園 晃 (大分大学 医学部 微生物学講座)

狂犬病は狂犬病ウイルスの感染によって引き起こされるウイルス性脳炎で、発症後の有効な治療法は無く致死率はほぼ100%である。また、ヒトを含めた全ての哺乳動物が感染し発症しうる代表的な人獣共通感染症の一つである。発症を予防する方法は確立されているが、未だに発症後の有効な治療法は無い。

狂犬病ウイルスはモノネガウイルス目ラブドウイルス科リッサウイルス属に属する弾丸状の形状をしたウイルスである。狂犬病ウイルス以外のリッサウイルスも狂犬病ウイルスと同様の病原性を有するとされている。ウイルス遺伝子は12 kbpの非分節RNAゲノム、マイナス鎖であり、5つの構造タンパク質の情報がコードされている (N、P、M、G、L 遺伝子)。G タンパク質はN型糖鎖が付加されたタンパク質で、エンペロープ上に露出しており、ウイルスと宿主の細胞表面レセプターへの吸着に重要な働きを有している。また、G タンパク質はワクチンにより誘導される中和抗体のターゲットとしても重要である。伴侶動物や家畜をはじめ、全ての哺乳動物が狂犬病ウイルスに感受性を有するが、中でもイヌがヒトへの狂犬病を媒介する最も重要な感染源となる。野生動物では、キツネ、スカンク、アライグマ、コヨーテ、コウモリが重要な感染源となり得る。特にコウモリは、リッサウイルスの媒介動物としても重要である。狂犬病ウイルスの伝播は通常、感染動物の咬傷により成立する。ウイルスは咬傷部位から体内に侵入後、末梢の筋肉細胞等で増殖し、その後末梢神経より軸索を介して逆行性に中枢神経

系に侵入し、脳内に達する (15~100 mm/day)。ウイルスは脳内全域で増殖し、その結果ウイルス性脳炎が惹起される。狂犬病の臨床症状を形作る特徴的な神経症状と致死性の病原性は中枢神経の形態的な細胞破壊を伴わないことが多い。その後ウイルスは神経を介して遠心性に全身へと拡がる。感染末期には、感染発症動物の唾液中に排出され、咬傷を介して次の宿主に感染する。咬傷以外の感染経路として、エアロゾルの吸入、角膜移植や臓器移植などの非定型的事例の報告も知られている [18]。

1. 狂犬病の疫学

狂犬病は、アジア・アフリカを中心に世界中で毎年約5万人以上が感染・死亡し、その大半は10歳以下の小児であるといわれている。また、多くは都市からは離れた農村地域での報告である [7]。これらの理由から公衆衛生上重大な問題として、World Health Organization (WHO) には (顧みられない) Neglected Tropical Diseases の一つに挙げられている。主にヒトへの感染源になるのは、アジア・アフリカではイヌやネコなどの伴侶動物、欧州・北米・南米ではコウモリ、キツネ、アライグマなどの野生動物である。我が国においては、明治から昭和初期まで慢性的にイヌ由来の狂犬病が流行していたが、昭和25年の狂犬病予防法の制定によって国内の狂犬病は昭和31年に制圧された。日本のような狂犬病清浄国はまれであることは忘れてはならない。従って、海外渡航時における健康管理やワクチン接

種、輸入感染症医療においては、この疾患が発生する可能性があることを常に頭に念頭に入れておくべきである。実際に 2006 年には京都市と横浜市で、2020 年には豊橋市で帰国後に狂犬病を発症した輸入感染症例が報告されている [20]。また、2013 年にはこれまで狂犬病清浄国であった台湾でイタチアナグマから狂犬病ウイルスが検出されたことから、野生動物についても監視体制が必要であると考えられる [8]。

2. ヒトの狂犬病の臨床症状

狂犬病罹患動物からの咬傷や引っ掻き傷などにより咬傷を受けると平均して 2~3 か月の潜伏期間の後に、曝露部位の搔痒感、食欲減退、風邪様症状などの前駆症状が現れる。これらの進行は曝露部位とその重症度、あるいは曝露された動物種に依存する。急性神経症状期 (2~10 日) には、狂犬病の典型的症状と言われる恐水症状や恐風症、唾液の過剰分泌、幻覚症状、高熱、麻痺などのいわゆる「狂騒型」の臨床症状をたどり、最終的には誤嚥性肺炎や呼吸不全、心筋障害、不整脈などにより 100% が死に至る。2 割程度では明らかな急性症状を呈さずに失禁や麻痺などから昏睡に至る「麻痺型」の病型を呈する場合もある。

3. 狂犬病の診断

狂犬病の診断は大きく生前診断と死後診断に分けられる。生前診断では、病歴聴取 (流行地域における動物咬傷歴および渡航歴)、画像診断 (MRI で T2 高信号、EEG で徐脈)、実験室内診断 (皮膚生検組織や角膜印圧検体の蛍光染色法、唾液からの reverse transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法) などが挙げられる。死後診断法と

しては、剖検脳を用いた組織学的所見 (免疫組織学的観察、蛍光抗体法)、ウイルス分離 (マウス神経芽細胞株 (Neuroblastoma cell) を用いた培養、乳飲みマウスへの脳内接種)、脳組織からの RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の増幅、Immunochromatographic test による抗原検出などである。抗狂犬病中和抗体の有無を確認する方法として WHO や World Organization for Animal Health (WOAH) は Fluorescent Antibody Virus Neutralization Test (FAVN) や Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) を推奨しており [16, 27]、主に狂犬病ワクチン接種後に中和抗体価の上昇を確認する場合や動物へのワクチン接種などの狂犬病対策を評価する目的で実施される。しかし、これらの方法は細胞培養、生きたウイルスの使用、バイオセーフティへの配慮などを考慮する必要があり、限られた実験室でしか実施できない [2, 17]。Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) は、中和抗体の予測に利用可能な唯一の方法であり、ウイルス中和検査よりも安全かつ容易に実施できる検査法であるが、キットが比較的高価であり、ウイルス中和検査に代わる完璧な検査法ではないとされている [23]。Immunochromatographic test の原理を応用した、Rapid Neutralizing Antibody detection test (RAPINA) 法は、狂犬病ウイルスの G タンパク質特異的抗体を間接的に測定するもので、簡便、迅速、安価な検査法である。そのため、高度なスキルや洗練された機器を必要とせず、高感度、迅速かつ簡便に実施することができる [11, 15]。

4. 狂犬病の予防法 (曝露前と曝露後)

この不治の病に対抗する医学面からのアプローチは 19 世紀にルイ・パスツールによって確立され、現在もその基本はほとんど変わっていない。1955

年頃からは動物の神経組織から分離したウイルスを用いて孵化鶏卵や培養細胞で作製したワクチンが開発され、現在ではヒト2倍体細胞ワクチン(HDCV)、精製ペロ細胞ワクチン(PVRV)、精製鶏胎児線維芽細胞由来ワクチン(PCECV)が組織培養型狂犬病ワクチンとして世界的に流通している。いずれのワクチンも、WHOの国際基準では1バイアル当たり2.5 IU(国際単位)以上の抗原量を含有していることになっている[27]。

狂犬病は潜伏期が比較的に長いので、曝露後でも潜伏期間中にワクチンを複数回接種して免疫を賦与することで発症を阻止することが可能であり、曝露後発症予防法(Post-Exposure Prophylaxis: PEP)と呼ばれる。狂犬病(疑)動物に咬まれる等の場合には、WHOの指針に従い、曝露の程度に応じ組織培養不活化ワクチンの複数回接種を行う。WHOでは曝露の程度が「カテゴリーⅡ」曝露以上のPEPは、傷口の洗浄に加えてワクチン接種をするよう推奨している。一般的なPEPのレジュームは、ワクチン1アンプルを0、3、7、14日目に筋肉内に1カ所ずつ計4回接種する方法(筋肉内接種法)、0.1 mLを0、3、7日目に皮内に2カ所ずつ計3回接種する方法(皮内接種法)、および1アンプルを0日に2カ所の筋肉内接種後、7、21日目に1カ所筋肉内接種するザグレブ法である[19]。皮内接種法はわずか0.1 mLのみの投与量であるが、筋肉内接種1.0 mLと同等の有効性を有しているとされている[27]。アジア諸国では、咬傷患者が多く訪れる診療施設において費用対効果が高い方法として採用されている。重症咬傷、すなわち皮膚を貫通する咬傷やひっかき傷、粘膜や傷のある皮膚をなめられることによって曝露される「カテゴリーⅢ」曝露にはワクチン接種に加えて、抗狂犬病免疫グロブリン(Rabies Immunoglobulin: RIG)の投与も必要である。RIGの接種は、ワクチン接種による抗体の上昇以前に感

染局所におけるウイルスの中和を期待して行われるもので、0日目のワクチン接種と同時期に行わなければならない。ヒト抗狂犬病免疫グロブリン(Human Rabies Immunoglobulin: HRIG)の用量は20 IU/kgで、ウマ抗狂犬病免疫グロブリン(Equine Rabies Immunoglobulin: ERIG)は用量40 IU/kg投与である。しかし、現実にはRIG製剤は高価であること、流通が十分ではないことなどの理由から、世界的に不足しているのが現状である[1]。また、ERIGはHRIGに比べてかなり安価であるが、副反応がみられるという欠点がある。曝露前予防法(Pre-Exposure Prophylaxis: PrEP)は、獣医師や狂犬病ワクチン製造工場従事者、研究者あるいは洞窟探検家など定期的に高い曝露リスクにある者に行うことが勧められるが、一般の渡航者や海外居住者では曝露リスクに応じたPrEPの推奨を行うべきであろう。

5. 狂犬病根絶に向けた対策(One Health)

狂犬病を撲滅するためには、咬傷曝露を受けたヒトへの対策のみならず、動物への対策の両面から成る“One Health”の取り組みが欠かせない。イヌはヒトの狂犬病の重要な感染源であることから、野犬・放浪犬の摘発・淘汰、イヌの登録制度・ワクチン接種制度の確立、イヌへの効果的なワクチン免疫方法の開発、ワクチンや狂犬病診断に対する獣医師への指導などは最も重要な対策の一つである。動物用狂犬病ワクチンは、家畜やペット用として非経口用ワクチン(注射用ワクチン)と野生動物や放浪犬用として経口用ワクチン(Oral Rabies Vaccine: ORV)が用いられている[16]。日本国内で流通している動物用狂犬病ワクチンは、狂犬病TCワクチン「KMB」(KMバイオロジクス株式会社)、狂犬病ワクチン-TC(株式会社微生物科学研究所)、日

生研狂犬病 TC ワクチン（日生研株式会社）、松研狂犬病 TC ワクチン（松研薬品工業株式会社）である。いずれも HmLu 細胞培養狂犬病ウイルス RC・HL 株を 10 mL（1 バイアル）あたり $10^{8.5}$ TCID₅₀ 以上含有した不活化注射用ワクチンである。諸外国では動物へのワクチン接種は 3 年毎に行っているが、我が国では、毎年のワクチン接種が義務付けられている。過去の日本でのイヌの抗体保有調査では、2 回以上のワクチン接種で 97.8% が有効抗体価（0.5 IU/mL）以上であり、97.9~100% が 2 年目以降も有効値以上を持続していた [22]。ヨーロッパ諸国やアメリカでは、伴侶動物への注射用ワクチンのほか、ORV により野生動物の狂犬病をコントロールしている。ORV は 1978 年にスイスで初めて使用されてから現在までに 11 種類が開発・改良され、野生動物の狂犬病を効果的に抑制してきた [21]。このような背景から、将来的には、放浪犬の狂犬病コントロールへの応用が期待されている [3, 21]。しかし、動物へのワクチンのみでは、ワンヘ

ルスの取り組みは不十分である。狂犬病流行国の多くは Low and Middle-Income Country (LMIC) であり、政府による動物ワクチンへの予算確保自体が困難な場合が多い。我々は、より効率的に動物の狂犬病診断からヒトへの曝露後治療を行うためのシステム構築を目的に、2018 年から「フィリピンにおける狂犬病排除に向けたワンヘルス・アプローチ予防・治療ネットワークモデル構築」を進めている（図 1）。これまでにストローを用いた脳サンプルの採取方法と Immunochromatographic test を組み合わせた安全、迅速かつ簡便な診断方法の開発 [13] と情報共有システムを用いて獣医系診断ラボ、地域の保健担当者、地域住民とを連携させたネットワークシステムを開発し、担当者らと共に対象地域で実装してきた。さらに、対象地域における KAP (Knowledge, Attitude and Practices) 調査 [4] や狂犬病疑い動物の疫学調査 [12] により得られた情報を基に、教育資材の作成を進めている。

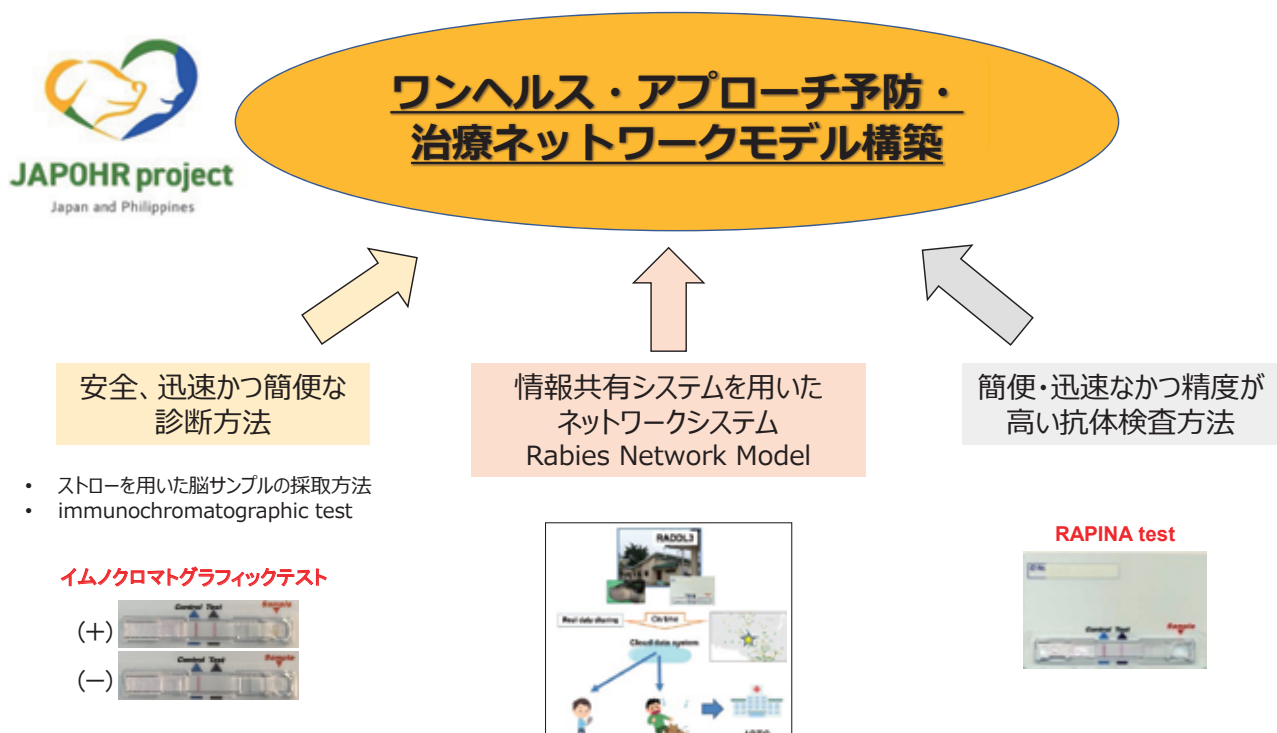


図1 「フィリピンにおける狂犬病排除に向けたワンヘルス・アプローチ予防・治療ネットワークモデル構築」の概要

6. 狂犬病発症後の治療に関する試み

前述した通り、狂犬病は一度発症すると致死的な感染症であり、効果的な治療方法は現在までに確立されていない。唯一、抗狂犬病生物製剤を使用せず人為的に昏睡状態を作り出し抗ウイルス剤を投与する、いわゆるミルウォーキープロトコルにより狂犬病から生還した患者が報告されているが [24]、その後の多くの症例が失敗に終わったため、現在では使用を中止することが提案されている [9]。現在我々は、抗ウイルス薬である T-705 (6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide) が狂犬病の PEP として利用できないか検討を進めている。T-705 は、favipiravir として知られ、インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス化合物として最初に発見され [6]、その後、幅広い RNA ウイルスに対する活性が示されるようになった [5]。宿主細胞の酵素によって T-705-リボフラノシル-5'-トリフォスフェート (T-705-RTP) に変換されるプリンアナログで、ウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼに対して chain termination や変異原として作用すると予測されている [6]。近年、T-705 の曝露後投与がウエストナイルウイルスおよび西部ウマ脳炎ウイルスに有効であることも報告されている [10, 14]。我々は T-705 の狂犬病ウイルスに対する抗ウイルス効果を検討し、T-705 がマウス神経芽細胞腫細胞において、ウイルスの増殖を効果的に抑制すること、また狂犬病ウイルス感染マウスに T-705 を 300 mg/kg/day の用量で接種 1 時間後から 7 日間経口投与すると、罹患率および死亡率が有意に改善することから、狂犬病ウイルスに対して抗ウイルス効果があることを明らかにしてきた [25, 26]。このことから、RIG の代替治療法として期待され、今後はより実用的な使用方法についても検討を進めていくつもりである。

基礎医学、疫学の側面から、さらには予防・治療へ向けた臨床的側面までも包含した総合的研究を紹介した。先に述べたように、狂犬病は典型的な Neglected Tropical Diseases である。現在 WHO、Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)、WOAH、Global Alliance for Rabies Control (GARC) は、2030 年までにイヌを介した狂犬病を撲滅するため、各国を支援している。狂犬病のような人獣共通感染症は動物への対策や咬傷患者への治療など、その制御と予防は煩雑である。したがって、医療・獣医療・行政など多部門にわたる One Health アプローチは、本疾患の撲滅のためにも必要不可欠な取組みである。

参考文献

1. Bourhy, H., Goudal, M., Mailles, A., Sadkowska-Todys, M., Dacheux, L. and Zeller, H. 2009. Is there a need for anti-rabies vaccine and immunoglobulins rationing in Europe? *Euro Surveill.* 14 : 19166.
2. Cliquet, F., Aubert, M. and Sagné, L. 1998. Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. *J. Immunol. Methods* 212 : 79-87.
3. Cliquet, F., Guiot, A. L., Aubert, M., Robardet, E., Rupprecht, C. E. and Meslin, F. X. 2018. Oral vaccination of dogs : A well-studied and undervalued tool for achieving human and dog rabies elimination. *Vet. Res.* 49 : 61.
4. Dizon, T. J. R., Saito, N., Inobaya, M., Tan, A., Reñosa, M. D. C., Bravo, T. A., Endoma, V., Silvestre, C., Salunga, M. A. O., Lacanilao, P. M. T., Guevarra, J. R., Kamiya, Y., Lagayan, M. G. O., Kimitsuki, K., Nishizono, A. and Quiambao, B. P. 2022. Household survey on owned dog population and rabies knowledge in se-

- lected municipalities in Bulacan, Philippines : A cross-sectional Study. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **16** : e0009948.
5. Furuta, Y., Komeno, T. and Nakamura, T. 2017. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **93** : 449-463.
 6. Furuta, Y., Takahashi, K., Kuno-Maekawa, M., Sangawa, H., Uehara, S., Kozaki, K., Nomura, N., Egawa, H. and Shiraki, K. 2005. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49** : 981-986.
 7. Hampson, K., Coudeville, L., Lembo, T., Sambo, M., Kieffer, A., Attlan, M., Barrat, J., Blanton, J. D., Briggs, D. J., Cleaveland, S., Costa, P., Freuling, C. M., Hiby, E., Knopf, L., Leanes, F., Meslin, F. X., Metlin, A., Miranda, M. E., Müller, T., Nel, L. H., Recuenco, S., Rupprecht, C. E., Schumacher, C., Taylor, L., Vigilato, M. A. N., Zinsstag, J., Dushoff, J. and Global Alliance for Rabies Control Partners for Rabies Prevention 2015. Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **9** : e0003709.
 8. Huang, A. S., Chen, W. C., Huang, W. T., Huang, S. T., Lo, Y. C., Wei, S. H., Kuo, H. W., Chan, P. C., Hung, M. N., Liu, Y. L., Mu, J. J., Yang, J. Y., Liu, D. P., Chou, J. H., Chuang, J. H. and Chang, F. Y. 2015. Public Health Responses to Reemergence of Animal Rabies, Taiwan, July 16-December 28, 2013. *PLoS ONE* **10** : e0132160.
 9. Jackson, A. C. 2013. Current and future approaches to the therapy of human rabies. *Antiviral Res.* **99** : 61-67.
 10. Julander, J. G., Smee, D. F., Morrey, J. D. and Furuta, Y. 2009. Effect of T-705 treatment on western equine encephalitis in a mouse model. *Antiviral Res.* **82** : 169-171.
 11. Manalo, D. L., Yamada, K., Watanabe, I., Miranda, M. E. G., Lapiz, S. M. D., Tapdasan, E., Petsoponsakul, W., Inoue, S., Khawplod, P. and Nishizono, A. 2017. A Comparative Study of the RAPINA and the Virus-Neutralizing Test (RFFIT) for the Estimation of Anti-rabies-Neutralizing Antibody Levels in Dog Samples. *Zoonoses Public Health* **64** : 355-362.
 12. Mananggit, M. R., Kimitsuki, K., Saito, N., Garcia, A. M. G., Lacanilao, P. M. T., Ongtangco, J. T., Velasco, C. R., Rosario, M. V. D., Lagayan, M. G. O., Yamada, K., Park, C.-H., Inoue, S., Suzuki, M., Saito-Obata, M., Kamiya, Y., Manalo, D. L., Demetria, C. S., Quiambao, B. P. and Nishizono, A. 2021. Background and descriptive features of rabies-suspected animals in Central Luzon, Philippines. *Trop. Med. Health* **49** : 59.
 13. Mananggit, M. R., Manalo, D. L., Saito, N., Kimitsuki, K., Garcia, A. M. G., Lacanilao, P. M. T., Ongtangco, J. T., Velasco, C. R., del Rosario, M. V. A., Lagayan, M. G. O., Yamada, K., Park, C. H., Inoue, S., Suzuki, M., Saito-Obata, M., Kamiya, Y., Demetria, C. S., Quiambao, B. P. and Nishizono, A. 2021. Lateral flow devices for samples collected by straw sampling method for postmortem canine rabies diagnosis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **15** : e0009891.
 14. Morrey, J. D., Taro, B. S., Siddharthan, V., Wang, H., Smee, D. F., Christensen, A. J. and Furuta, Y. 2008. Efficacy of orally administered T-705 pyrazine analog on lethal West Nile virus infection in rodents. *Antiviral Res.* **80** : 377-379.
 15. Nishizono, A., Yamada, K., Khawplod, P., Shiota, S., Perera, D., Matsumoto, T., Wimalaratne, O., Mitui, M. T. and Ahmed, K. 2012. Evaluation of an improved rapid neutralizing antibody detection test (RAPINA) for qualitative and semiquantitative detection of ra-

- bies neutralizing antibody in humans and dogs. *Vaccine* 30 : 3891–3896.
16. OIE 2018. Chapter 2.1.17. Rabies (Infection with Rabies Virus and Other Lyssaviruses). In : Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018.
 17. Smith, J. S., Yager, P. A. and Baer, G. M. 1973. A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. *Bull. World Health Organ* 48 : 535.
 18. Srinivasan, A., Burton, E. C., Kuehnert, M. J., Rupprecht, C., Sutker, W. L., Ksiazek, T. G., Paddock, C. D., Guarner, J., Shieh, W. J., Goldsmith, C., Hanlon, C. A., Zoretic, J., Fischbach, B., Niezgodna, M., El-Feky, W. H., Orciari, L., Sanchez, E. Q., Likos, A., Klintmalm, G. B., Cardo, D., LeDuc, J., Chamberland, M. E., Jernigan, D. B. and Zaki, S. R. 2005. Transmission of Rabies Virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients. *N. Engl. J. Med.* 352 : 1103–1111.
 19. States, M., Strategic, W. H. O., Group, A. and Members, E. 2010. Rabies vaccines. WHO position paper. Relevé épidémiologique hebdomadaire / Section d'hygiène du Secrétariat de la Société des Nations = Weekly epidemiological record / Health Section of the Secretariat of the League of Nations. 85 : 309–320.
 20. Tobiume, M., Sato, Y., Katano, H., Nakajima, N., Tanaka, K., Noguchi, A., Inoue, S., Hasegawa, H., Iwasa, Y., Tanaka, J., Hayashi, H., Yoshida, S., Kurane, I. and Sata, T. 2009. Rabies virus dissemination in neural tissues of autopsy cases due to rabies imported into Japan from the Philippines : immunohistochemistry. *Pathol. Int.* 59 : 555–566.
 21. Wallace, R. M., Cliquet, F., Fehlner-Gardiner, C., Fooks, A. R., Sabeta, C. T., Setién, A. A., Tu, C., Vuta, V., Yakobson, B., Yang, D. K., Brückner, G., Freuling, C. M., Knopf, L., Metlin, A., Pozzetti, P., Suseno, P. P., Shadomy, S. v., Torres, G., Vigilato, M. A. N., Abela-Ridder, B. and Müller, T. 2020. Role of Oral Rabies Vaccines in the Elimination of Dog-Mediated Human Rabies Deaths. *Emerg. Infect. Dis.* 26 : 1–9.
 22. Watanabe, I., Yamada, K., Aso, A., Suda, O., Matsu-moto, T., Yahiro, T., Ahmed, K. and Nishizono, A. 2013. Relationship between virus-neutralizing antibody levels and the number of rabies vaccinations : A prospective study of dogs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 66 : 17–21.
 23. Welch, R. J., Anderson, B. L. and Litwin, C. M. 2009. An evaluation of two commercially available ELISAs and one in-house reference laboratory ELISA for the determination of human anti-rabies virus antibodies. *J. Med. Microbiol.* 58 : 806–810.
 24. Willoughby, R. E., Tieves, K. S., Hoffman, G. M., Ghanayem, N. S., Amlie-Lefond, C. M., Schwabe, M. J., Chusid, M. J. and Rupprecht, C. E. 2005. Survival after treatment of rabies with induction of coma. *N. Engl. J. Med.* 352 : 2508–2514.
 25. Yamada, K., Noguchi, K., Kimitsuki, K., Kaimori, R., Saito, N., Komeno, T., Nakajima, N., Furuta, Y. and Nishizono, A. 2019. Reevaluation of the efficacy of favipiravir against rabies virus using in vivo imaging analysis. *Antiviral Res.* 172 : 104641.
 26. Yamada, K., Noguchi, K., Komeno, T., Furuta, Y. and Nishizono, A. 2016. Efficacy of Favipiravir (T-705) in Rabies Postexposure Prophylaxis. *J. Infect. Dis.* 213 : 1253–1261.
 27. WHO expert consultation on rabies : third report. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>.

ネコのメルケル細胞癌の起源および パピローマウイルスによる発癌機構に関する研究

伊藤宗磨

はじめに

本稿は筆者が大学院在籍時に行った研究をまとめたものである。

1915年、山極勝三郎と市川厚一がコールタールを用いた人工癌の発生に成功して以来、発癌メカニズムの研究は絶え間なく続けられ、化学物質・放射線・物理的刺激・ウイルスなど様々な因子が発見されてきた [16]。腫瘍を誘発するウイルスは腫瘍ウイルスと呼ばれ、直接的あるいは間接的に宿主細胞を発癌に導く。メルケル細胞ポリオーマウイルス (Merkel cell polyomavirus : MCPyV) は2008年に発見された腫瘍ウイルスの一種で、ヒトの皮膚にメルケル細胞癌と呼ばれる稀な神経内分泌癌を誘発する [1]。メルケル細胞癌は皮膚の機械受容器であるメルケル細胞に類似した性質をもつことから命名されたものの、その起源については線維芽細胞や上皮幹細胞など様々な説が提唱されている。ヒトを除く動物においてメルケル細胞癌はネコで報告が多く、予後不良の高悪性度腫瘍とされるが、その病理発生は不明である [4, 14]。

同じく腫瘍ウイルスとしてはパピローマウイルスがよく知られており、ヒトの子宮頸癌や乳頭腫を代表とした様々な動物種の腫瘍発生に関わっている。パピローマウイルスのライフサイクルは上皮細胞のターンオーバーと密接に連動する [5, 21]。初期の感染部位である表皮あるいは粘膜の基底層では潜伏感染状態にあり、表層に向けて細胞が分化及び分裂するに従ってウイルスの増幅が進行し、娘細胞へと

ウイルスが分配されていく。最表層の角質には多数のビリオンが産生され、落屑とともに外界へ放出される。宿主ゲノムへのウイルスゲノム DNA の組み込みが発癌の引き金となり、それによりウイルスの複製機構や遺伝子発現調節機構が破綻し、ウイルスのもつ癌遺伝子 (E6 及び E7) の安定的な高発現がもたらされる [5, 21]。E6 と E7 はそれぞれ宿主の腫瘍抑制タンパク質である p53 と pRb を不活化することで細胞の異常増殖やアポトーシスの抑制を招き、腫瘍化に至らしめる。また、pRb 不活化のフィードバックとして、感染細胞では p16 タンパク質の発現が増加することが知られている。

筆者はこれまでネコのメルケル細胞癌の起源及び発癌機構を解明すべく、東京大学大学院博士課程にて研究に取り組み、発癌におけるパピローマウイルスとの関連性を明らかにした [7, 8, 9]。本稿ではその研究成果について概要を紹介する。

ネコのメルケル細胞及びメルケル細胞癌の組織学的検索

メルケル細胞は幅広い脊椎動物に存在する触覚受容細胞である。通常は表皮の基底層に散在し、ときにクラスター状に集簇して触盤 (touch dome) と呼ばれる構造を形成する。ヒトを除く哺乳類では触毛 (いわゆるヒゲ) に多く分布し、触覚センサーとして重要な役割を担っていると考えられている [12]。ネコの触毛を組織学的に検索した結果、外毛根鞘に空胞状の細胞質をもつメルケル細胞が多数並び、基底側には末梢神経が走行していた (写真 1)。

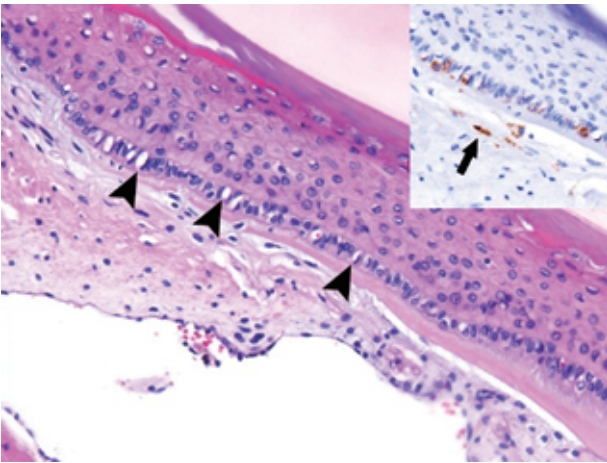


写真1 触毛に分布するメルケル細胞
外毛根鞘の基底層に空胞状の細胞質をもつメルケル細胞が散在する(矢頭)。免疫染色において、メルケル細胞及び基底側に走行する末梢神経(矢印)が Synaptophysin に陽性を示す(挿入図)。

免疫組織化学的にメルケル細胞はサイトケラチン(CK) 18やCK20などの上皮細胞マーカー、及び Synaptophysin や CD56などの神経内分泌細胞マーカーに陽性を示し(写真1)、上皮細胞と神経内分泌細胞の性質を併せ持っていた。特にCK20は皮膚組織においてメルケル細胞で特異的に発現が認められた。

ネコのメルケル細胞癌において、腫瘍細胞は上皮細胞と神経内分泌細胞のマーカーを発現し、細胞質に神経内分泌顆粒を有するなど、メルケル細胞と類似の特徴を有していた(写真2)。腫瘍細胞は充実性、索状あるいは胞巣状など多彩な増殖パターンを示し、基底細胞癌やリンパ腫との鑑別に苦慮するケースがみられた。メルケル細胞癌の診断において、ヒトではCK20が有用なマーカーとされており、免疫組織化学的には核近傍でのドット状の陽性像が特徴である[1]。それに対し、ネコでは約60%の症例がCK20に陰性あるいは弱陽性であり(写真2)、診断の際にはCK20のみならず複数の上皮細胞及び神経内分泌細胞のマーカーを組み合わせることで評価することが重要と考えられた。またCK20陽性の腫瘍細胞は細胞質全体にCK20が遍在しており、ヒトとの細胞

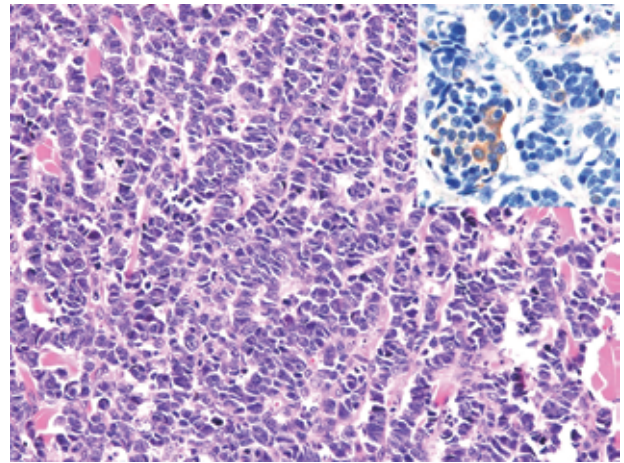


写真2 メルケル細胞癌
弱好塩基性の腫瘍細胞が索状に増殖する。免疫染色において、一部の腫瘍細胞がサイトケラチン20に陽性を示す(挿入図)。

レベルの種差が示された。

上述の通りメルケル細胞とメルケル細胞癌は共通の特徴を有するものの、ヒトのメルケル細胞癌はメルケル細胞に由来しないと考えられている。その理由の1つとして、メルケル細胞が分布する表皮と腫瘍組織に連続性がみられないことが挙げられる[15]。これはネコのメルケル細胞癌でも同様で、腫瘍組織は表皮とは連続せず、真皮や皮下組織に主座していた。一方、腫瘍細胞はCK19やp63など皮膚の幹細胞マーカーに陽性を示すことから[14]、その発生源として真皮にある毛包の上皮幹細胞が考えられた。

ヒトのメルケル細胞癌の約80%はMCPyV、約20%は紫外線(UV)が原因であるとされ、前者では腫瘍細胞にウイルスDNAが組み込まれており、恒常的にウイルスの腫瘍抗原が発現している[1]。しかしながら、ネコのメルケル細胞癌からMCPyVの遺伝子及び抗原は検出されず、その関連性は否定的であった。一方、興味深いことにネコのメルケル細胞癌の周囲ではウイルス性局面、ボーエン病様上皮内癌(Bowenoid *in situ* carcinoma: BISC)、扁平上皮癌などの皮膚病変が高頻度に併発していた。ウ

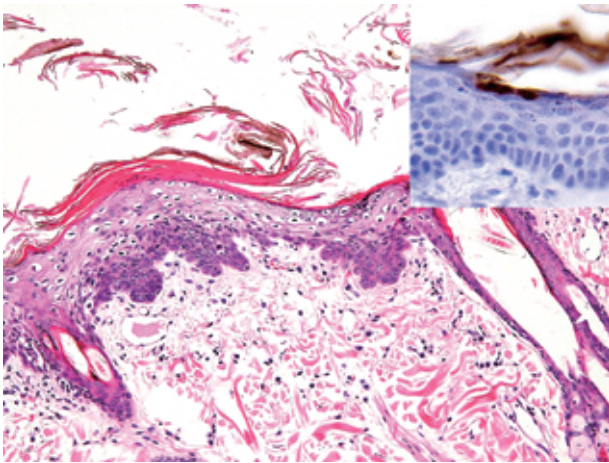


写真3 ネコパピローマウイルス2型 (FcaPV2) 感染によるウイルス性局面
表皮の肥厚及び角化亢進が生じ、ケラチノサイトの配列不整、細胞質の空胞化 (Koilocyte)、粗大なケラトヒアリン顆粒が観察される。免疫染色により顆粒層の核内及び角質層に FcaPV2 のカプシド抗原が検出される (挿入図)。

ウイルス性局面、BISC、扁平上皮癌はネコパピローマウイルス (*Felis catus papillomavirus*: FcaPV) によって引き起こされる連続した病変と考えられている [10]。ウイルス性局面は封入体を除くウイルス性の細胞変化を伴った異形成 (前癌病変) を指し、病巣からはカプシド抗原が検出される (写真3)。BISC はより進行した状態で、基底膜を超えない異型ケラチノサイトの増殖を特徴とし、カプシド抗原はほとんど検出されない。

ネコのメルケル細胞癌の発癌機構におけるパピローマウイルスの関与

FcaPV 関連病変とメルケル細胞癌が同時発生するという現象から、「ネコのメルケル細胞癌の発生にパピローマウイルスが関与する」という仮説が導かれた。パピローマウイルスによる腫瘍発生の因果関係の証明には、1) 腫瘍におけるウイルス DNA の存在、2) ウイルスの腫瘍性タンパク質と宿主の腫瘍抑制タンパク質との相互関係、3) 腫瘍におけるウイルス癌遺伝子の転写活性を検証することが提唱されている [2]。

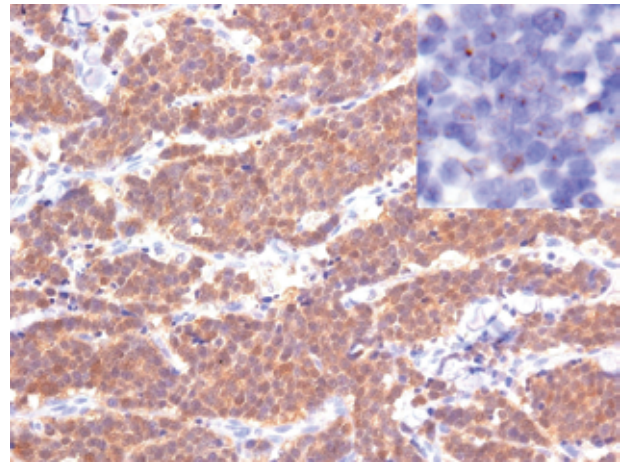


写真4 ネコパピローマウイルス2型 (FcaPV2) 陽性メルケル細胞癌
免疫染色において、腫瘍細胞の核及び細胞質が p16 に強陽性を示す。また FcaPV2 の癌遺伝子を標的とした DNA *in situ* hybridization により、腫瘍細胞の核に点状シグナルが検出される (挿入図)。

PCR の結果、21/22 例 (96%) の腫瘍サンプルからネコパピローマウイルス2型 (*Felis catus papillomavirus type 2*: FcaPV2) の特異遺伝子が検出された。しかし、FcaPV2 は健常個体にも広く感染しているため [11]、PCR のみでは無症候性感染を否定できない。そこで、これら FcaPV2 陽性メルケル細胞癌についてパピローマウイルスの癌遺伝子により生じるタンパク質発現の変化 (pRb 及び p53 の抑制 /p16 の活性化) を免疫組織化学的に解析したところ、腫瘍細胞における pRb と p53 の低発現及び p16 の高発現が示された (写真4)。この発現傾向は併発する FcaPV 関連腫瘍でも認められた。また FcaPV2 癌遺伝子に対する DNA *in situ* hybridization (ISH) によって腫瘍細胞の核に点状のシグナルが検出され (写真4)、さらに RNA ISH により腫瘍細胞における FcaPV2 癌遺伝子の mRNA 発現が確認された。ISH のシグナルパターンはウイルスゲノムの状態に相関することがわかっており、ウイルスの増殖感染が活発な部位ではび慢性、扁平上皮癌などの腫瘍組織では点状のパターンがみられ、それぞれウイルスのエピソーム状態及び組み込み状

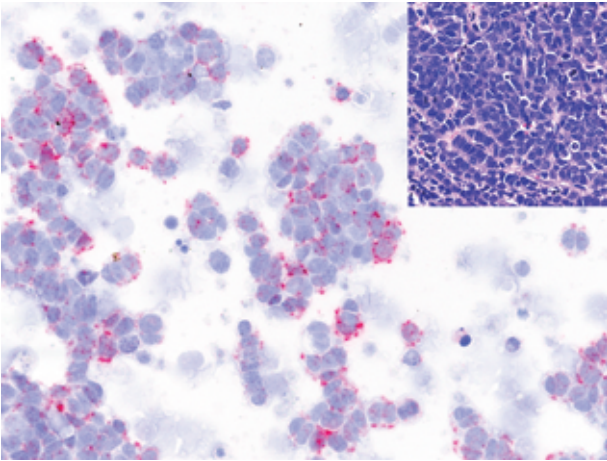


写真5 ネコパピローマウイルス2型 (FcaPV2) 陽性メルケル細胞癌由来培養細胞株 RNA *in situ* hybridization によって培養細胞に FcaPV2 癌遺伝子である E6 及び E7 の mRNA が検出される。免疫不全マウスへの細胞移植により形成された腫瘍組織では、原発腫瘍と類似した組織学的特徴が観察される (挿入図)。

態を表す [3]。DNA ISH により腫瘍細胞ゲノムへの FcaPV2 ゲノムの組み込みが示唆されたことから、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を実施した結果、検索した 2/2 例で宿主ゲノムにおけるウイルス DNA の挿入が確認された。さらにウイルス性局面では FcaPV2 のカプシド抗原が検出されたのに対し、メルケル細胞癌ではカプシド抗原及びビリオンは認められず、腫瘍細胞において FcaPV2 の増殖感染が成立していないことが示された。

FcaPV2 陽性メルケル細胞癌と対照的に、FcaPV2 陰性メルケル細胞癌の 1 例では p53 の高発現が認められた。また本例では p53 のミスセンス変異が見出され、*in silico* 解析により変異によるタンパク質機能への影響が示唆された。ヒトの MCPyV 陰性メルケル細胞癌では p53 高発現及び p53 変異が高率にみられ、UV 暴露を原因とする DNA 損傷により発癌に至るとされている [13]。ヒトと同様、FcaPV2 陰性メルケル細胞癌では遺伝子変異が発癌要因となっている可能性が考えられた。

以上の結果から、ネコのメルケル細胞癌の 96% で FcaPV2 感染が確認され、ウイルス DNA の組み

込みとウイルス癌遺伝子による腫瘍抑制タンパク質の阻害が発癌に強く関与することが示唆された。

メルケル細胞癌由来培養細胞の *in vitro* 及び *in vivo* 解析

メルケル細胞癌の動物種差及びネコにおけるパピローマウイルスの関与を *in vitro* 及び *in vivo* で追及するため、FcaPV2 陽性及び FcaPV2 陰性のメルケル細胞癌から培養細胞株を樹立し、先行研究で作出されたイヌのメルケル細胞癌及びヒトの MCPyV 陽性メルケル細胞癌由来細胞株と比較解析した。なお、イヌの細胞株に関しては PCR によりパピローマウイルスは検出されなかった。

細胞の成長様式について、*in vitro* でネコとヒトのウイルス陽性細胞株は浮遊型、ネコとイヌのウイルス陰性細胞株は接着型の成長を示した。ヒトのメルケル細胞癌において、ウイルス陽性細胞株は浮遊型、ウイルス陰性細胞株は接着型の成長を示す傾向があるため [6]、ネコのメルケル細胞癌由来培養細胞における成長様式の違いには腫瘍ウイルスの感染が関与すると考えられた。CK20 の細胞内分布は、ヒトの細胞株はドット状のパターンを示したのに対し、ネコとイヌの細胞株では細胞質全体に遍在しており、先述した生体内での分布様式と一致していた。これら細胞株を免疫不全マウスに移植したところ、接種部位に一致して腫瘍が形成された。腫瘍組織は形態的及び免疫組織化学的にメルケル細胞癌の特徴を有しており (写真 5)、細胞株の腫瘍形成能が *in vivo* でも確認された。

先述と同様に、PCR、ISH 及び免疫組織化学によりネコの細胞株におけるパピローマウイルスの関与を検索した結果、FcaPV2 陽性の培養細胞及び移植腫瘍においてウイルス癌遺伝子の存在と発現 (写真 5) 並びにウイルス癌遺伝子によるタンパク質発現の変化 (pRb 及び p53 の抑制 / p16 の活性化) が認

められた。このことから、*in vitro* 及び *in vivo* でも組み込まれた FcaPV2 癌遺伝子が機能し、腫瘍抑制タンパク質の抑制を介して細胞増殖に寄与していることが示され、ネコのメルケル細胞癌における FcaPV2 の関与が裏付けられた。

総括

これら一連の研究結果に基づき、ネコのメルケル細胞癌は FcaPV2 感染を主因とするウイルス誘発腫瘍であると結論付けた。パピローマウイルスは基本的に上皮幹細胞を標的として感染するため、FcaPV2 が発癌要因であるということはメルケル細胞癌が毛包幹細胞に由来するという仮説を支持するものである。以上を踏まえ、ネコのメルケル細胞癌の病理発生を次のように考察した。FcaPV2 は皮膚の創傷や毛包開口部を門戸として毛包の上皮幹細胞に感染し、宿主ゲノムに FcaPV2 遺伝子が組み込まれる。そこからウイルス癌遺伝子が恒常的に発現し、宿主の腫瘍抑制タンパク質を阻害することで感染細胞の異常増殖が誘起され、メルケル細胞癌が発生する。また、FcaPV2 は表皮基底細胞に感染し、同様の機序により扁平上皮癌などの FcaPV2 関連病変を併発する。ネコのメルケル細胞癌は再発や転移を頻発する悪性腫瘍であるが、今後は FcaPV2 感染に照準を合わせた治療や予防が有効な戦略となることが期待される。また本研究の知見は、長らく議論されてきた同腫瘍の起源に迫る手がかりとなり、ネコと同じくヒトのメルケル細胞癌が上皮幹細胞に由来することを支持するものであった。ヒトではポリオーマウイルス、ネコではパピローマウイルスを原因とする点でメルケル細胞癌は特異な腫瘍であり、本研究の成果はウイルス発癌において比較病理学的に重要な知見であると考えられる。

引用文献

1. Becker, J. C., Stang, A., DeCaprio, J. A., Cerroni, L., Lebbé, C., Veness, M., and Nghiem, P. 2017. Merkel cell carcinoma. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 3 : 17077.
2. Boscolo-Rizzo, P., Pawlita, M. and Holzinger, D. From HPV-positive towards HPV-driven oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Cancer. Treat. Rev.* 42 : 24-29.
3. Cooper, K., Herrington, C. S., Stickland, J. E., Evans, M. F. and McGee, J. O. 1991. Episomal and integrated human papillomavirus in cervical neoplasia shown by non-isotopic in situ hybridisation. *J. Clin. Pathol.* 44 : 990-996.
4. Dohata, A., Chambers, J. K., Uchida, K., Nakazono, S., Kinoshita, Y., Nibe, K., and Nakayama, H. 2015. Clinical and pathologic study of feline Merkel cell carcinoma with immunohistochemical characterization of normal and neoplastic Merkel cells. *Vet. Pathol.* 52 : 1012-1018.
5. Doorbar, J., Egawa, N., Griffin, H., Kranjec, C. and Murakami, I. 2015. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev. Med. Virol.* 25 Suppl 1 : 2-23.
6. Gravemeyer, J., Lange, A., Ritter, C., Spassova, I., Song, L., Picard, D., Remke, M., Horny, K., Sriram, A., Gambichler, T., Schadendorf, D., Hoffmann, D. and Becker, J. C. 2021. Classical and variant Merkel cell carcinoma cell lines display different degrees of neuroendocrine differentiation and epithelial-mesenchymal transition. *J. Invest. Dermatol.* 141 : 1675-1686. e4.
7. Ito, S., Chambers, J. K., Mori, C., Sumi, A., Omachi, T., Nakayama, H., and Uchida, K. 2021. Comparative in vitro and in vivo studies on feline, canine, and human

- Merkel cell carcinoma. *Vet. Pathol.* 58 : 276–287.
8. Ito, S., Chambers, J. K., Sumi, A., Omachi, T., Haritani, M., Nakayama, H. and Uchida, K. 2023. Genomic integration and expression of *Felis catus* papillomavirus type 2 oncogenes in feline Merkel cell carcinoma. *Vet. Pathol.* 60 : 21–34.
 9. Ito, S., Chambers, J. K., Sumi, A., Yamashita-Kawaniishi, N., Omachi, T., Haga, T., Nakayama, H. and Uchida, K. 2022. Involvement of *Felis catus* papillomavirus type 2 in the tumorigenesis of feline Merkel cell carcinoma. *Vet. Pathol.* 59 : 63–74.
 10. Munday, J. S. and Thomson, N. A. 2021. Papillomaviruses in domestic cats. *Viruses.* 13 : 1664.
 11. Munday, J. S. and Witham, A. I. 2010. Frequent detection of papillomavirus DNA in clinically normal skin of cats infected and noninfected with feline immunodeficiency virus. *Vet. Dermatol.* 21 : 307–310.
 12. Ramírez, G. A., Rodríguez, F., Quesada, Ó., Herráez, P., Fernández, A. and Espinosa-de-Los-Monteros, A. 2016. Anatomical mapping and density of Merkel cells in skin and mucosae of the dog. *Anat. Rec (Hoboken)*. 299 : 1157–1164.
 13. Sihto, H., Kukko, H., Koljonen, V., Sankila, R., Böhlting, T. and Joensuu, H. 2011. Merkel cell polyomavirus infection, large T antigen, retinoblastoma protein and outcome in Merkel cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 17 : 4806–4813.
 14. Sumi, A., Chambers, J. K., Doi, M., Kudo, T., Omachi, T., and Uchida, K. 2018. Clinical features and outcomes of Merkel cell carcinoma in 20 cats. *Vet. Comp. Oncol.* 16 : 554–561.
 15. Yang, J. F. and You, J. 2022. Merkel cell polyomavirus and associated Merkel cell carcinoma. *Tumour Virus Res.* 13 : 200232.
 16. 谷山弘行, 酒井洋樹, 松田一哉, 渋谷久, 渋谷淳, 三好宣彰, 斑目広郎, 尾崎清和, 御領政信. 2013. 腫瘍. pp 185–223. 「動物病理学総論第3版 (日本獣医病理学会 編)」. 文永堂出版. 東京.
(研究員)

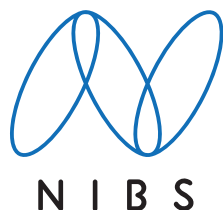
お詫びと訂正

前号の日生研たより（第 69 巻第 3 号（通巻 628 号）、令和 5 年 7 月 1 日発行）の記載に誤りがございました。正しくは以下のとおりでございます。

P.7 図 4 縦軸メモリ（誤）4 6 8 10 12 →（正）4 5 6 7 8

P.8 参考文献 引用番号（誤）1 →（正）5
 （誤）2 →（正）10
 （誤）3 →（正）2
 （誤）4 →（正）1
 （誤）5 →（正）9
 （誤）7 →（正）8
 （誤）8 →（正）3
 （誤）9 →（正）7
 （誤）10 →（正）4

弊所ウェブサイト（<http://nibs.lin.gr.jp/publication/>）に、訂正版を掲載いたしました。読者の皆様並びに関係の皆様にご迷惑をおかけしましたこととお詫び申し上げます。



—— 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による揮毫です。

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊（年 4 回発行）
 （通巻 629 号） 令和 5 年 9 月 25 日印刷 令和 5 年 10 月 1 日発行（第 69 巻第 4 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)1520（経営企画部） FAX：0428(31)6166
 URL：http://nibs.lin.gr.jp/
 発行人 土屋耕太郎

編集室 委 員／河島奈悠（委員長）、高橋真理、高井亮輔
 事 務／経営企画部

印刷所 株式会社 精興社
 （無断転載を禁ず）