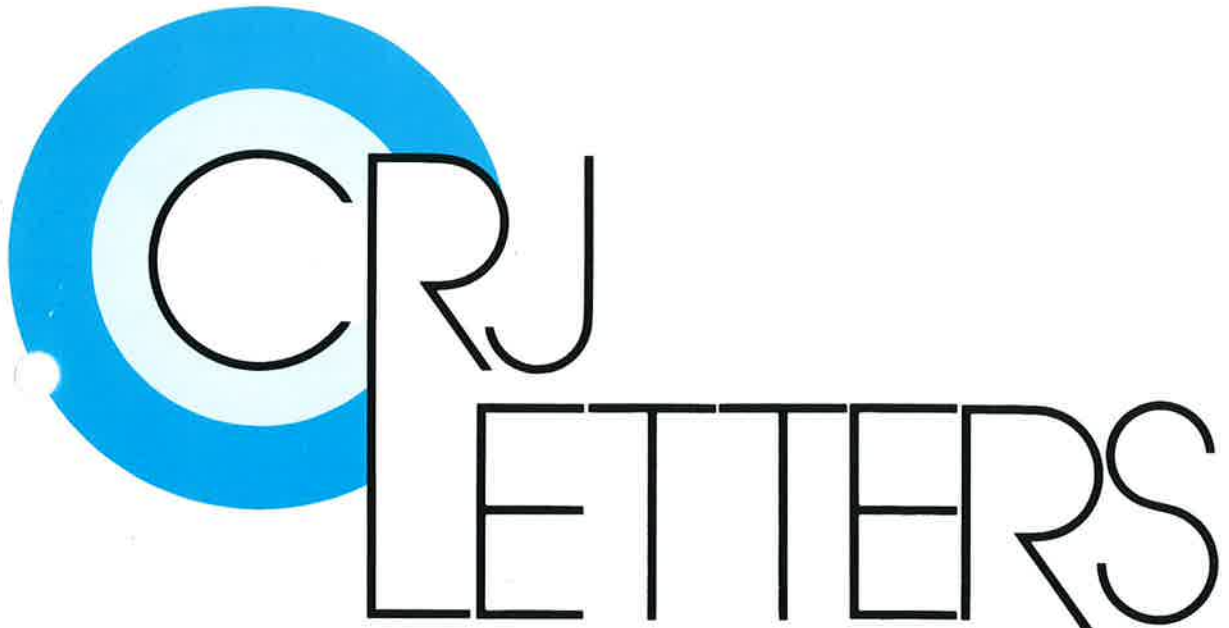


Vol.3 No.1

April 1990



CRJ LETTERS

— 卷頭論文 —

日本におけるトランスジェニック疾患モデルマウスの現状

Charles River
Japan Inc.  FROM THE
HAND OF THE
VETERINARIAN
TO RESEARCH

日本におけるトランスジェニック疾患モデルマウスの現状

熊本大学医学部遺伝医学研究施設 教授 山村 研一

緒言

ヒト疾患モデルマウスの作製は、従来飼育中における自然突然変異によるか、あるいは放射線や突然変異誘発剤による誘発突然変異によっていた。これらの方法により多くのモデルマウスが確立され、原因遺伝子の染色体へのマッピングが行われてきた。また、これらのマウスを用い疾患の病態の解析が進められてきた。しかしながら、その原因遺伝子自体の同定は困難であり、そのためヒトの疾患と同一であるかどうかすら不明なものが多い。この点において、従来のモデルマウスの限界があった。

近年になり組み換えDNA技術が進歩し、これがマウス初期胚の操作技術にも導入され、1980年にYale大学のGordonらが初めて単離した遺伝子をマウス受精卵に注入し、それが組み込まれたトランスジェニックマウスの作製に成功した。この方法を用いれば、ヒトと同一の分子機構で発病する疾患モデルマウスを作製できるし、あるいは既存のモデルマウスに遺伝子を導入することにより病因の同定や、病態解析を行うことができる。

本稿においては、トランスジェニックマウス作製法の現状およびその応用例について述べ、更に最近話題となっている標的遺伝子組み換え技術についても述べてみたい。

トランスジェニックマウス作製法

現在3つの方法が知られている(図1)。第1は、受精卵の前核中にDNAをマイクロインジェクションする方法である。第2は、8細胞期胚に組み換えレトロウイルスを感染させ、あらかじめ組み込んでおいた遺伝子を導入する方法である。第3



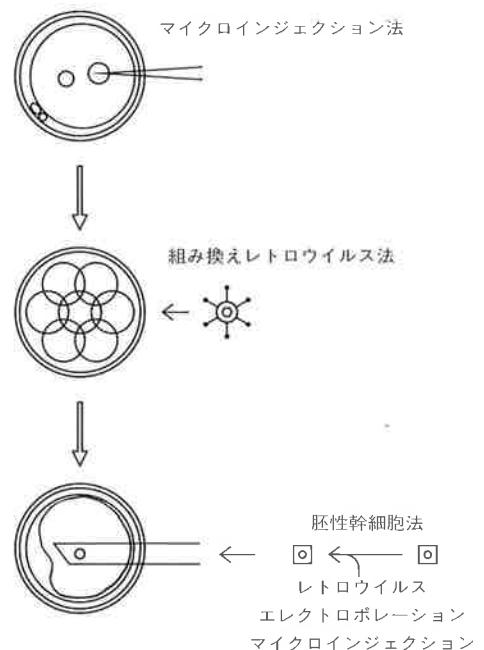
著者プロフィール

医学博士。1973年、信州大学医学部卒業。1978年、大阪大学大学院(医学部博士課程)修了後、富山医科薬科大学助手を経て、米国エール大学生物学科に2年間留学。大阪大学医学部第4内科助手、同講師を歴任後、1986年より現職。研究テーマは発生遺伝学。趣味はドライブ、ウインドサーフィン、スキーなど。

は、全能性を有する胚幹細胞(Embryonic stem cell; E S cell)にあらかじめ遺伝子を導入しておき、これをレシピエントである他の胞胚に注入し、まずキメラを作製する方法である。各々の方法の長所と欠点はいろいろあるが、簡単にまとめると、マイクロインジェクション法では方法の習得に時間がかかり、マイクロマニプレーター等の設備を揃える必要があるものの、再現性が良く確実であり、最もよく用いられる方法である。組み換えレトロウイルス法は、組み換えレトロウイルス作製に時間と労力を必要とするが、8細胞期胚への感染そのものは容易である。ES細胞法は、ES細胞の培養維持がかなり難しく、キメラマウス作製ができてでも生殖細胞に分化せず、次の世代でトランスジェニックマウスがとれないこともある。しかし、遺伝子導入そのものは電気穿孔法等が使え、容易である。また最後に述べるように、標的遺伝子組み換えがこのES細胞を用いて行えるので注目されている。

いずれの方法を用いるにしても、一つのポイントは、導入した遺伝子を効率良く発現させなければならないことである。このために明らかとなっ

図1 トランスジェニックマウス作製法



たことが2点ある。第1は、導入しようとする遺伝子を単離する際に用いたベクターは可能な限り完全に除去することである¹⁾。第2は、遺伝子の効率良い発現のためにはイントロンが必要なことである²⁾。もしcDNAを用いる時にはイントロンを挿入しておくことが必要となり、図2にそのためのベクターの一例を示した。

ヒト疾患モデルマウス作製への応用

トランスジェニックマウスの系を用いてのヒト疾患モデルマウス作製の目的は、2つあると考えられる。第1は、ヒトと同一の分子機構で発症するモデルマウスの作製であり、第2は、発症に至る病態解析を行うことである。第1の場合は、ヒトから単離した遺伝子を正常マウスに導入し発症させるものである。第2の場合は、その作製したモデルマウスを用いて病態解析を行うか、あるいは既存のモデルマウスに遺伝子を導入して病態解析を行うこともできる。本稿では、正常マウスにヒト遺伝子を導入しそのモデルマウス作製とともに病態解析を行った例と、既存モデルマウスに遺伝子を導入し病態解析を行った例について記述したい。

1) 新しい疾患モデルマウス作製

アミロイドーシスは、細胞外あるいは細胞内にアミロイド物質が沈着する疾患の総称である(表1)。アミロイド蛋白の80~90%を占める主成分は各疾患により異なっているが、10~20%はアミロイドP成分(AP)といわれるもので、これは血清アミロイドP成分(SAP)と同一のものであり、かつ各疾患共通のものである。これら疾患の中で優性遺伝病が2種類あり、家族性アミロイドポリニューロパシー(Familial amyloidotic polyneuropathy: FAP)と家族性アルツハイマー病である。アルツハイマー病の原因遺伝子は第21番染色体上に存在することが分っているが、その実体は不明である。FAPは、熊本県と長野県に2つの大きな家系が存在し、既にその原因遺伝子も単離解

図2 イントロンを含むベクター

プロモーターおよびcDNAは、目的に応じて入れ換えることができる



析されている。この原因遺伝子を導入することにより、モデルマウスの作製を試みた。

①FAPについて

常染色体優性遺伝病であり、全身の細胞外にアミロイド沈着をきたし、末梢神経及び自律神経障害を主徴とする疾患である。発症はおよそ20~45才で、個人により差が大きい。いったん発症すると10~20年の経過で死亡に至る。沈着しているアミロイド蛋白の主成分は変異トランスサイレチン(TTR)分子であり、日本人型の場合、第30番目のアミノ酸であるバリンがメチオニンに置換している。各国においてこれ迄異なった部位のアミノ酸置換が見出されている(文献3参照)。いずれにしても、1つのアミノ酸置換によって物理化学的性質がかわり、沈着しやすくなっていると考えられる。

既に遺伝子も単離され構造解析が行われた結果、アミノ酸変異に相当する塩基置換も明らかとなっている^{4,5)}。また、遺伝子は主として肝臓で発現しているが、脳の脈絡叢、網膜等でも発現していることが明らかとなっている。第30番目のバリンをコードするGTGの最初のGがAに置換しATGとなることにより、この部位に新たなNsi I切断部位が出現する。従ってDNAをNsi Iで切断することによりDNA診断が簡単にできる。これ迄調べられた限りでは日本におけるFAP患者は全員ヘテロ接合体であり、1つの正常と1つの異常遺伝子を持つことが明らかとなった。従って、このFAPの主たる原因は変異TTR遺伝子の存在であることは間違いがない⁶⁾。しかしながら、なぜ発症年齢が個体により大きくずれるのかとか、アミロイド沈着機構等も不明であり、多くの発症過程における疑問点が残されている訳である。発症年齢のずれは、変異TTR遺伝子以外の要因の関与を示唆しており、この要因の解析は極めて重要である。なぜなら、この要因をコントロールできれば、発症を60才以降にまで遅らせることができる

表1 アミロイドーシスの分類

Systemic		
Primary	: Ig L chain	+SAP
Secondary	: SAA	+SAP
FAP	: vTTR	+SAP
Amyloidosis with multiple myeloma	: Ig L chain	+SAP
Localized		
Endocrine - thyroid	: precalcitonin	+SAP
NIDDM	: amylin	+SAP
Alzheimer disease	: β protein	+SAP
Senile	: TTR?	



かも知れないからである。こういった解析を行うことを最終目標とし、まずヒトFAP患者と同様なアミロイド沈着や症状が出現するトランスジェニックマウスを作製できるかどうかを検討した。

②基本的戦略

ヒトでの発症年齢が20才以後であり、マウスの寿命は2～3年である所から、とにかく可能な限り発現量を高くしたいと考えた。そこで2種類のプロモーターを用いることにした。第一は、自身のプロモーターで、血中の濃度からみてそれ自身かなり強力なプロモーターと考えたからであり、0.6-hMet30と名付けた。これは上流域約600塩基対を含み、第30番目がバリンからメチオニンに置換しているためである。第二はメタロチオネインプロモーターを含むもので、MT-hMet30と名付けた。2種類のプロモーターを用いたもう一つの理由は、FAPモデルマウス作製と同時にアミロイド沈着機構も明らかにしたかったからであるが、これについては、他を参照していただきたい。

ヒトでの発症年齢が大きくなるということ、hMet30以外の他の要因が関与しているかも知れず、従って他の遺伝的要因の影響をさけるため、近交系マウスであるC57BL/6(B6)マウスを用いることにした。

③遺伝子発現とアミロイド沈着

0.6-hMet30遺伝子は予想通り、本来発現している肝臓や卵黄のうでRNAを検出した。また発生段階における発現をみたが、マウスTTR遺伝子と同じ時期に発現してくることが分かった。しかしながら、その発現量はmRNAレベル、血清レベルともマウスの約1/10にしかすぎなかった。これらの結果は、この用いた断片内に組織特異性および時期特異性を決定するDNA領域が含まれていることを示唆している⁷⁾。

MT-hMet30は、やはり予想通り種々の組織で発現した。総血中濃度は0.6-hMet30の場合と大差なく1～5 mg/dlであった。

両系統におけるアミロイド沈着の有無を病理学的診断基準に従って判定した。即ち、コンゴ赤で染色され、この時偏光顕微鏡下で黄緑色の偏光があり、特徴的な電顕所見である。また、hMet30がアミロイドとして存在しているかどうかは、抗ヒトTTR抗体を用いた免疫組織化学的方法で解析した。結果は表2に示す如く、いずれの系統においても種々の組織で沈着し、年齢とともに沈着量

は増大した。沈着開始時期の違い、および同時期で比較するとMT-hMET30系の方が沈着量が多い理由は、大部分hMET30からなる四量体の量がMT-hMet30系の方で多いからであり、この四量体がアミロイド沈着に重要であることを示唆している。各組織におけるアミロイドの分布もヒトFAP患者と類似し、特に腎や心においては沈着量も多く、FAP患者の死因が腎不全・心不全である事実とよく一致していた。しかしながら、FAP患者では必発の末梢神経組織では全く沈着が認められず、この点の解析が必要であろう⁸⁾。

2)既存モデルマウスを用いた病態解析

NOD(non-obese diabetic)マウスは塩野義の牧野らによって開発されたヒトI型糖尿病のモデルマウスである⁹⁾。生後3～4週に膵ラ氏島へのリンパ球浸潤(膵島炎)が始まり、20週迄には80～90%以上のマウスがこの膵島炎を持つ。膵島炎により完全にβ細胞が破壊されると糖尿病に至るが、その頻度は雌で80%、雄で20%と考えられている。免疫学的解析から、自己免疫性の機序により発症することが明らかとなっている。一方、交配実験における遺伝解析から、2つの遺伝子座が膵島炎の発症に関与すると考えられている¹⁰⁾。このうちの一つは、第17番染色体のH-2座位にあることが明らかとなった¹¹⁾。そこで、H-2座位のどの遺伝子座が膵島炎の原因であるかをトランスジェニックマウスを作製して解析することを試みた。

①NODマウスのH-2領域

図3-aに示したように、NODのクラスIは他の系統のいずれかと同じであり、特徴的といえるものはない。しかし、クラスIIについては、2つの特徴があることが明らかとなった。マウスではクラスII分子には2種類あり、I-AとI-Eと呼ぶ。いずれもαとβサブユニットからなっている。機能としてはヒトHLAと同じであり、基本的

表2 トランスジェニックマウスにおけるアミロイド沈着

	6ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	24ヶ月
脳	-	-	-	-
心臓	-	~+	+~#	##
消化管	~+	+~##	##~##	##
腎臓	~+	~+	##~##	##
皮膚	-	~#	+	#
末梢神経	-	-	-	-

には胸腺において自己のクラスIIを認識しえるT細胞の選択と、末梢において外来抗原をこのT細胞に提示し、この外来抗原に対する免疫応答をおこさせる役割を担っている。言い換えれば、胸腺におけるT細胞の選択と末梢における抗原提示の過程を通して、外来抗原に対する免疫応答をコントロールしていると考えられる。NODマウスにおいては、まずI-Eが表現されておらず¹¹⁾、これはE_g遺伝子に欠失があるためである。I-Aは他のマウスに比し、極めてユニークであることが明らかとなった(図3-b)。McDevittらは¹²⁾NODのA_g、A_β鎖遺伝子を単離し、塩基配列を決定した。その結果、A_gはdハプロタイプと同一であるが、A_βのβ1ドメインがユニークであることを明らかにした。特に第56、57番目のアミノ酸が他のマウスではPro-Aspであるのに、NODではHis-Serとなっていることを明らかにした。この第57番目のアミノ酸の変異は、ヒトI型糖尿病患者にみられるHLADQβ鎖の変異¹³⁾と同一であることが分かり、注目をあびている。

以上のことから、NODマウスにおける膵島炎発症の一つの要因がこのクラスII分子の特有さに起因すると考えられた訳である。そこで、I-Eの欠損が膵島炎の原因の一つであるかどうかを検討するため、I-Eを発現させることを試みた。

②NODマウスにおけるI-Eの発現とその効果

NODマウスではE_g鎖は細胞内に産生されているので、E_gの遺伝子を導入し発現させればI-Eとして細胞表面に表現されることが期待された。そこで、BALB/Cマウスより単離したE_g遺伝子をNODマウスの受精卵に導入し、トランスジェニックマウスを作製した。その結果、E_g遺伝子は発現し、E_g^{NOD}とともにI-E^{d/NOD}として細胞表面に効率よく発現することが明らかとなった。また、リンパ球混合反応等で、免疫学的機能も有することが明らかとなった。そこで生後19週に、これらトランスジェニックマウスにおける膵島炎の発生の有無を解析したが、全例において膵島炎は発生しなかった(表3)。この結果は、NODにおけるI-Eの欠損が明らかに膵島炎の発生に関与することを示唆している^{14,15)}。

以上のように、トランスジェニックマウスの系は、一つの遺伝子が疾患の発症にどのように重要な役割を果しているのかを明確に解析できる。

新しい胚操作技術

1974年にBrinsterが、1975年にIllmenseeとMintzが奇形癌腫(Terato carcinoma)由来の細胞(Embryonal carcinoma cell:EC細胞)を、他の胚盤胞内に注入することによりキメラマウスが作製できること、即ちEC細胞が体を構成する種々の細胞に分化しうることを明らかにした^{16,17)}。更に、このEC細胞がキメラ個体の中で生殖細胞に分化し、次の世代もとれることが示された¹⁸⁾。しかしその後、生殖細胞にも分化しうるEC細胞がとれず、再現性に乏しかった。1980年代に入り、胚盤胞から直接in vitroで多分化能を持つ細胞が確立され^{19,20)}、これはEK(Evans-Kaufmanの頭文字をとったもの)¹⁹⁾またはES(Embryonic stem)細胞と呼ばれるようになった。このES細胞は再現よ

図3 NODマウスのH-2領域の特徴

a. H-2 haplotype of NOD mouse

	K	I				D
		A _β	A _α	E _β	E _α	
C57BL/6	b	b	b	b	(-)	b
NOD	d	d*	d	(+)	(-)	b
BALB/c	d	d	d	d	d	d

b. A_β chain of NOD mouse

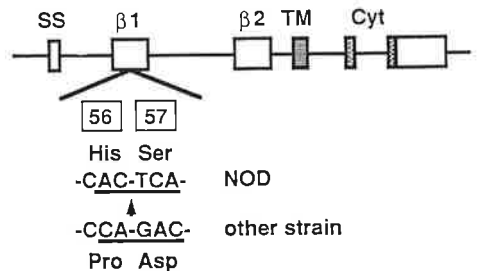


表3 NOD-E_gトランスジェニックマウスにおけるラ氏島炎の阻止

	性	マウスの数	I-E発現	ラ氏島炎(%)
トランスジェニックマウス	♀	11	(+)	0
	♂	14	(+)	0
同胞マウス	♀	16	(-)	14(88%)
	♂	14	(-)	12(86%)

ラ氏島炎の有無は生後19週齢で解析した

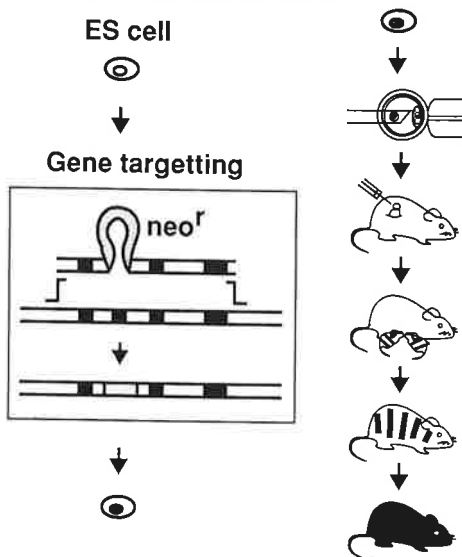


くキメラ個体内で生殖細胞に分化することが示され^{21,22)}、更にこれを用い標的遺伝子組み換えをおこしうることが示され²³⁾、現在に至っている。標的遺伝子組み換え技術は2つに分けて考えられるので、それに従って、以下解説したい。

1) 既知遺伝子への標的組み換え

既に単離された遺伝子を用いて、それが本来存在している染色体上の座位で組み換えをおこさせる技術であり(図4)、これを相同遺伝子組み換え(homologous recombination)と呼ぶ。通常遺伝子を電気穿孔法等でES細胞に導入すると、ランダムな位置に組み込まれるものもあるし、相同組み換えをおこすものもある。今必要なのは、相同組み換えをおこしたものを選択したいのであり、このための工夫がいろいろなされている。最も理想的には、相同組み換えの頻度を高めて、例えばランダム組み込みとの比率を10%に迄もっていければ、相同組み換えをおこした細胞のみを選択する必要はないであろう。しかし現在のところ、平均すると0.1%前後と言われており、何らかの選択法が用いられている。最も簡単な方法について説明する。例えば、ある遺伝子の第2~第4エクソン部分のみを単離し、第3エクソンの部分を弱いプロモーターの付いたneo遺伝子に置き換えておく。この様にして、この遺伝子に変異を導入するとともにneo耐性の性質を付加できる訳である。もしこのまま導入すれば、ランダム組み込みも相同組み換えでもneo耐性となる。しかし例え

図4 相同遺伝子組み換え法の概略



ば、neo遺伝子内の3'側にあるpoly Aシグナルをとってしまうとどうなるであろうか。ランダム組み込みでは正常な位置から転写開始するものの終結点は異なり、正常な翻訳がおこる可能性が低くなる。一方、相同組み換えがおこればその遺伝子の3'側にはpoly Aシグナルが存在し、そこで転写終結する。このように、相同組み換えがおこった時のみneoを産生する確率を高くしておけば、その細胞を選択できる可能性も高くなる。いったん相同組み換えをおこしたES細胞を手に入れば、それを他の胚盤胞に注入してキメラマウスを作製すれば良い。この方法の問題点については後に述べるが、少なくとも成功例が数例報告されている²⁴⁻²⁷⁾。

2) 未知遺伝子への標的組み換え

基本的には挿入突然変異として知られている概念であるが、ES細胞を用いることにより、より意図的に標的組み換えをおこす方法が考えられている^{28,29)}。これはエンハンサートラップもしくは遺伝子トラップと言われている方法である(図5)。導入したDNAが偶然にある遺伝子の中に組み込まれることを利用するもので、組み込まれた時にその導入したDNA中の遺伝子が発現するように工夫しておく訳である。このため、発現したことがすぐ検出できるマーカー遺伝子を準備する必要があるが、通常は大腸菌由来のlac Zが使われている。これは組織化学的方法で染色し、簡単にその発現を解析できるからである。

エンハンサートラップ法では、弱いプロモーターの下流にこのlac Zを接続する。これは、ある遺伝子のエンハンサーの近傍に組み込まれた時に、このエンハンサーの影響下にlac Zが発現することを期待できるからである。しかし、遺伝子はしばしば、組み込まれた染色体上の位置効果を受けるので、発現したからといって必ずしもエンハンサーが存在するとは限らない。

遺伝子トラップ法ではプロモーターは用いず、スプライスアクセプターをlac Zの上流につないでおく。もしこれがある遺伝子の中に組み込まれると、まずその遺伝子自体の転写がおこった時、このlac Zも含んだ形でmRNAが産生される。そのあとスプライシングがおこるが、lac Zの前にスプライスアクセプターがついているので、その5'側でこのスプライシングがおこり、lac Zのコード

領域はそのままmRNA中に残る。このmRNAからいわゆる融合蛋白として翻訳されることになる訳がある。従って、この場合、この融合蛋白がlac Zとしての活性を保持していることが前提となる。

3) ES細胞を使う問題点

現在、既にいくつかの研究室で相同遺伝子組み換えをおこしたES細胞由来の子孫がとれているが、まだ困難な点が残っている。それを列挙すると、次のようになる。

- ① ES細胞の確立およびその維持が、まだ困難である。
- ② 相同遺伝子組み換えの頻度は各遺伝子について同一でなく、非常に困難なものもある。
- ③ 相同遺伝子組み換えを行って、なおかつ生殖細胞に分化できる場合が、まだ少ない。

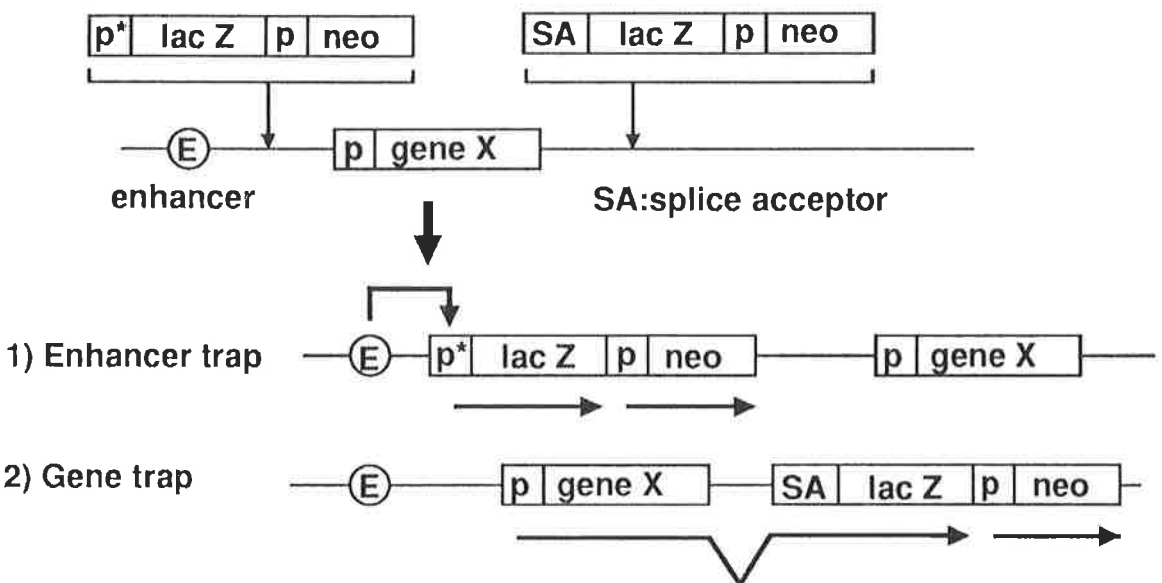
以上、ES細胞を用いた標的遺伝子組み換えにおいては操作の各ステップにおいて、まだ克服すべき問題点が山積している。しかし、多くの研究者の努力によって少しずつ改良されつつあり、おそらくここ数年間にはかなり容易に標的遺伝子組み換えができるようになると思われる。もしこれが可能になると、あらゆる種類のモデルマウスの作製が可能となるので、大変重要な技術であると言える。

文献

1. Chada,K., Magram,J., Raphael,K., Radice, G., Lacy,E. and Costantini,F. :Nature 314,377 (1985)
2. Brinster,R.L., Allen,J.M., Behringer,R.R., Gelinas,R.E. and Palmiter,R.D. :Proc. Natl. Acad.Sci.USA. 85,836 (1986)
3. Araki,S. :Brain Dev. 6,128 (1984)
4. Mita,S., Maeda,S., Shimada,K. and Araki,S. :Biochem. Biophys. Res. Commun. 124,558 (1984)
5. Sasaki,H., Sakaki,Y., Matsuo,H., Goto,I., Kuroiwa,Y., Sahashi,I., Takahashi,A., Shinoda,T., Isobe,T., Takagi,Y. :Biochem. Biophys. Res Commun. 125,636 (1984)
6. Shimada,K., Maeda,S., Wakasugi,S., Murakami,T., Araki,S. and Yamamura, K. :Enzyme 38,65 (1987)
7. Yamamura,K., Wakasugi,S., Maeda,S., Inomoto,T., Iwanaga,T., Araki,K., Miyazaki,J. and Shimada,K. :Dev.Genet. 8, 195 (1987)

図5 エンハンサー及び遺伝子トラップ法の概略

p*:弱いプロモーター, SA:スプライスアクセプター





8. Shimada,K., Maeda,S., Murakami,T., Nishiguchi,S., Tashiro,F., Yi,S., Wakasugi,S., Takahashi,K. and Yamamura, K. :Mol Biol, Med. 6,333 (1989)
9. Makino,S., Kunimoto,K., Muraoka,Y., Mizushima,Y., Katagiri,K. and Tochino, Y. :Exp. Anim. 29,1 (1980)
10. Makino,S., Muraoka,Y., Kishimoto,Y. and Hayashi,Y. :Exp. Anim. 34,425 (1985)
11. Hattori,M., Buse,J.B., Jackson,R.A., Glimcher,L., Dorf,M.E., Minami,M., Makino,S., Moriwaki,K., Kuzuya,H., Imura, H., Strauss,W.M., Seidman,J.G. and Eisenbarth,G.S. :Science 231,733 (1986)
12. Acha-Orbea,H. and McDevitt,H.O. :Proc. Natl. Acad.Sci.USA. 84,2435 (1987)
13. Todd,J.A., Bell,J.I. and McDevitt,H.O. : Nature 329,599 (1987)
14. Nishimoto,H., Kikutani,H., Yamamura, K. and Kishimoto,T. :Nature 38,432 (1987)
15. Uehira,M., Uno,M., Kürner,T., Kikutani, H., Mori,K., Inomoto,T., Ueda,T., Miyazaki,J., Nishimoto,H., Kishimoto,T. and Yamamura,K. :Internat. Immunol. 1,209 (1989)
16. Brinster,R.L. :J.Exp.Med. 140,1049 (1974)
17. Mintz,B. and Illmensee,K. :Proc.Natl. Acad.Sci.USA. 72,3585 (1975)
18. Stewart,T.A. and Mintz,B. :Proc.Natl. Acad.Sci.USA. 78,6314 (1981)
19. Evans,M.J. and Kaufman,M.H. :Nature 292,154 (1981)
20. Martin,G.R. :Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 78,7634 (1981)
21. Bradley,A., Evans,M., Kaufman,M.H. and Robertson,E. :Nature 309,255 (1984)
22. Gossler,A., Doetschman,T., Korn,R., Serfling,E. and Kemler,R. :Proc.Natl.Acad. Sci.USA. 83,9065 (1986)
23. Thomas,K.R. and Capecchi,M.R. :Cell 51, 503 (1987)
24. Thompson,S., Clarke,A.R., Pow,A.M., Hooper,M.L. and Melton,D.W. :Cell 56, 313 (1989)
25. Schwartzberg,P.L., Goff,S.P. and Robertson,E.J. :Science 246,799 (1989)
26. Koller,B.H., Hagemann,L.J., Doetschman,T., Hageman,J.R., Huang,S., Williams,P.J., First,N.L., Maeda,N. and Smithies,O. :Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 86, 8927 (1989)
27. Zijlstra,M., Li,E., Sajjadi,F., Subramani, S. and Jaenisch,R. :Nature. 342,435 (1989)
28. Allen,N.D., Cran,D.G., Barton,S.C., Hettle,S., Reik,W. and Surani,M.A. :Nature 333,852 (1988)
29. Gossler,A., Joyner,A.L., Rossant,J. and Skarnes,W.C. :Science 244,463 (1989)



日本チャールス・リバーからのお知らせ

アメリカで発生したEbola virus感染症

1989年10月にフィリピンからアムステルダム経由でニューヨーク JFK空港に到着した貨物の中にEbola virusに感染したサル (Cynomolgus monkeys) がいたことが発端となった。これらのサルは、Hazleton Research Products(Reston, Virginia)の検疫施設に持ち込まれ、そこで発症、11月に特発性の斃死が認められた。当初はSimian Hemorrhagic Fever (SHF) と考えられていたが、その後、Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (Ft. Dectrick, Frederick, Maryland)へ送られてきたspleen, liverからSHFのほかにFiloviridae科に属するEbola virusが検出、同定された(レストン株と呼称)。この時点でCDCはアメリカ国内の各輸入業者に対し、本病がアメリカ国内で初めて確認されたことを発表するとともに、この病気の歴史的背景およびBiohazard classの疾病であることから、サルの取扱いにあたって人に感染する可能性があるため、予防措置をとる必要がある事を指示した。この報告を受けて、WHO, IATA, ニューヨーク州政府がそれぞれ対策を講じた。

1) CDCは1990年1月19日にMMWR誌に今回の事件と、当面のサルの取扱い(輸送と検疫)に関するガイドラインを発表するとともに、3月15日には「Ebola virus infectionはあなたの従業員の健康に危険をおよぼす」と題し

て通知した。

これらの報告、通知等の概要は:

- 1) 各種のサルがいろいろな国から入っており、血清学的に抗体の調査を行った結果、約10%がこのレストン株に感染している事が証明された。
- 2) Army Medical Research Inst. で11月～12月に分離されたレストン株を試験的にサルに接種したところ、斃死した2頭に典型的Ebolaによる出血病変が認められた。
- 3) 感染したロットのサルと接触のあったアメリカ人173名について疫学的調査と抗体調査を行った。1人から抗体が検出されたが、Ebolaの発病を示唆する報告はなかった。さらに、45名のサル取扱い者に対するフィリピンでの調査でも1人の抗体陽性者が見つかった。ただし、ここでも直接サルの管理に係わった人に本病の発症はなかった。
- 4) 各輸入業者の施設に対し、2月より3月初めに新しいガイドラインの実施状況が査察された。具体的には海外からの伝染病の持ち込み、感染、伝播を予防するために必要な隔離(31日間)、検疫内容に問題がないかが重視された。この時点でCDCとして、上記の内容に該当しない場合は輸入業者としての登録を取り消すことを決定し、

Ebola Hemorrhagic Feverについて

- 1) 人での発生……………ザイール (1976)、スーダン (1976, 1979)
本病の流行は限られた地域で発生。感染者との濃厚接触、病院での注射器等による直接接触により伝播。
サルでの発生……………米国バージニア州レストン (1989/11)
- 2) 臨床症状……………人間＝疲労感、頭痛、高熱、筋肉～関節の痛み、咽頭炎、皮膚および眼の黄色化、下痢、腹痛、皮膚の発赤。
潜伏期間は5～9日(平均2～15日)(サルも同じ)
サル＝発熱、沈鬱、昏睡～斃死。
肝臓およびその他臓器からの出血、体腔内に血液が貯溜。
- 3) 伝播様式……………空気伝染の証拠はない。サルの間での伝播は不明。
- 4) ウイルス学的分類…1本鎖RNAウイルス、形態は糸状、Filoviridae科に属する。
- 5) 血清学的分類……………検査方法＝蛍光抗体法、ELISA
アフリカ由来：ザイール株、スーダン株は人に対し致死的。
アメリカ由来：レストン株の人に対する病原性は不明。
- 6) 治療方法……………治療薬およびワクチンはまだない。

Cynomolgus monkeysのアメリカ国内への輸入に対し、暫定的に禁止する措置となった（3月22日）。

II) ニューヨーク州政府はアメリカ国内へ輸入される80%がJFK空港を経由する点を重視し、厳しい措置をとった。輸入には、原産国およびアメリカ国内での各々60日間の検疫期間の

設置とfilovirusに対する抗体検査の結果が陰性であることが義務づけられ、その対象はカニクイ、アカゲ、ミドリザルへと広げられた。

III) IATAはWHOの指導をうけて、加盟している航空会社はフィリピン産のサルの取扱いを拒否するよう決めた。

～BN(Brown Norway)ラットの生産を開始いたします～

日本チャールス・リバー株式会社では、米国チャールス・リバー社よりBNラットを導入し、日本での生産・販売を開始する予定です。このBNラットは、米国チャールス・リバー社が1977年オランダのRadiobiology Instituteから導入し、米国にて生産販売してきた動物に由来します。主な利用分野は、①老化研究、②臓器移植が考えられ、以下簡単にご紹介いたします。

①老化研究分野

本格的な高齢化社会を迎え、老化のモデル動物の要求が高まっています。より良いモデル動物の開発は多くの研究室で精力的に進められていますが、現在のところ老化のモデル動物として、加齢ラットが主に使用されています。一般的には、F344ラットが中心であり、弊社でも12ヵ月齢から24ヵ月齢のF344ラットを供給しております。

米国では、NIA (National Institute for

Aging) が中心となり、加齢ラット、マウスを使用し、老化研究を展開しています。使われている系統は、ラットではF344、BN、およびそれらのF1で、マウスはヌードを含めた各種近交系およびそのF1が使われています。日本でも老化研究分野で広くBNラットが使用されることが予測されます。

②臓器移植分野

基礎および臨床研究において臓器移植は著しく進歩してきました。弊社は、臨床研究用にはブタを、基礎研究用には近交系ラット (F344、LEW等) を供給してきましたが、これにBNラットが加わることとなります。

	BN/Crj	SHR/NCrj	WKY/NCrj	F344/DuCrj	LEW/Crj
RT1A	n	k	l	l	i
RT2	a	b	a	a	a

《非売品》

CRJ LETTERS Vol. 3 No. 1 (通巻第5号)

この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発行日：平成2年4月20日

発行所：日本チャールス・リバー株式会社

〒222 横浜市港北区新横浜3-19-5

新横浜第二センタービル

電話045(474)9340

企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社

制作：株式会社ティ・ティ・アイ



日本チャールス・リバー株式会社

●弊社の英文社名は **Charles River Japan, Inc.** です。

動物についてのお問合せ、ご注文先

国内飼育動物	☎045(474)9350	ファックス045(474)9351
輸入動物	☎045(474)9333	ファックス045(474)9341