

第 32 回東北動物実験研究会 講演要旨集

日時：令和 3 年 12 月 3 日（金） 13：30 ～ 17：30

場所：弘前大学医学部コミュニケーションセンター



写真提供：弘前市

主催：東北動物実験研究会

共催：実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部

主管：第 32 回東北動物実験研究会実行委員会

第 32 回東北動物実験研究会プログラム

(敬称略)

日時：令和 3 年 12 月 3 日

場所：弘前大学 医学部コミュニケーションセンター

- | | |
|---------------------|---------------|
| 1. 役員会 (動物実験施設多目的室) | 12:45 ~ 13:30 |
| 2. 総会 (1階 会議室 A、B) | 13:30 ~ 14:00 |
| 3. 研究会 (1階 会議室 A、B) | 14:05 ~ 17:30 |
| 1) 開会の辞 | 14:05 ~ 14:15 |
| 2) 講演会 | 14:15 ~ 17:30 |

講演 I 14:15 ~ 15:10

座長：原田 伸彦 (東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

「脂肪細胞分化関連因子によるがん細胞の転移制御機構の解明」

西塚 誠 (弘前大学農学生命科学部 食料資源学科 食品化学物質安全学分野)

講演 II (日本実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部共催) 15:20 ~ 16:15

座長：成田 浩司 (弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

「環境科学技術研究所における低線量率放射線連続照射マウスの生物影響研究と
研究を支える実験動物施設」

山内 一己 (公益財団法人 環境科学技術研究所 生物影響研究部)

講演 III 16:30 ~ 17:25

座長：古市 達哉 (岩手大学農学部共同獣医学科実験動物学研究室)

「黄色ブドウ球菌病原性の研究における動物実験の貢献」

浅野 クリスナ (弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座)

3) 閉会の辞 17:25 ~ 17:30

講演要旨

講演 I

脂肪細胞分化関連因子によるがん細胞の転移制御機構の解明

弘前大学農学生命科学部 食料資源学科 食品化学物質安全学分野

西塚 誠

原発巣から転移巣へのがん細胞の転移には、上皮系の細胞形態が間葉系へと変化する上皮間葉転換（EMT）と呼ばれる細胞形態の変化が重要である。EMT はがん細胞の転移だけでなく、抗がん剤に対する抵抗性惹起にも寄与することが明らかになっていることから、がんの治療やがん患者の QOL の改善をめざすうえで、EMT の分子メカニズムを明らかにすることが極めて重要である。しかしながら、その制御機構については未だ不明な点が多く残っている。

我々は脂肪細胞分化の制御メカニズムの解明をめざし、分化初期過程に発現が増加する遺伝子群を単離し、その機能について解析を進めてきた。その中でも、新規遺伝子として単離した factor for adipocyte differentiation 104 (fad104)は、脂肪細胞分化にとどまらず、がん細胞の浸潤、転移を含む様々な生理機能に関与する非常に興味深い遺伝子であることをこれまでに報告している。

Fad104 は、fibronectin type III ドメインの 9 回繰り返し構造を持ち、小胞体に局在するタンパク質である。脂肪細胞分化初期に一過性の発現増加を示し、脂肪細胞分化を促進する役割を担うことを明らかにした。また、ノックアウトマウスを作製し解析した結果、fad104 欠損マウスは肺形成不全により出生直後に死亡することを見出した。さらに、fad104 欠損マウスは頭蓋骨形成に異常を呈することに加え、骨分化過程において fad104 が Smad1/5/8 との相互作用を介して BMP-Smad シグナルを抑制し、骨分化を強力に阻害する機能を有することを明らかにした。上記検討結果に加え、fad104 が Samd3 のリン酸化レベルを減弱させることにより、EMT の進展を抑制し、がん細胞の浸潤ならびに転移を阻害する能力を有することも明らかにした。

本発表では、fad104 がもつ多彩な生理機能とともに、我々がこれまでに明らかにした fad104 以外の脂肪細胞分化関連因子によるがん細胞の EMT 制御メカニズムについても紹介する予定です。

講演 II（日本実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部共催）

環境科学技術研究所における低線量率放射線連続照射マウスの生物影響研究と 研究を支える実験動物施設

公益財団法人 環境科学技術研究所 生物影響研究部

山内 一己

公益財団法人 環境科学技術研究所（環境研）は、日本原燃の核燃料再処理事業に伴い環境中に放出される放射性物質の環境や生物への影響を研究するために、青森県六ヶ所村に平成 2（1990）年に設立された。われわれ生物影響研究部は、マウスを用いて低線量率の放射線を長期間照射したときの影響を解析している。始めに行った寿命試験では、3つの線量率（0.05 mGy/日、1 mGy/日、20 mGy/日）のガンマ線をマウスに 400 日照射した際の寿命に対する影響を解析した。この 3つの線量のうち、20 mGy/日で 400 日間（総線量 8Gy）を照射したマウスの平均寿命は、照射をしていないマウスと比較して雄雌ともに約 100 日の寿命の短縮が見られた[1]。高線量率（たとえば 1Gy/分）で総線量 8Gy をマウスに照射すると 30 日までに半数のマウスが死ぬため、総線量を同じでも低線量率放射線と高線量率放射線ではマウスへの影響が大きく異なることが明らかとなった。

低線量率放射線連続照射では、細胞や DNA に生じる損傷が小さく活性酸素種（ROS）による影響が大きいとされる。このため低線量率放射線連続照射中に ROS を消去する薬剤をマウスに与えることで、放射線照射による短くなった寿命を元に戻すことが出来ないか検討した。20 mGy/日の線量率のガンマ線を 400 日間照射する間に、抗酸化剤（NAC）を飲水として与えた場合、通常の水を与えた群と比べて 55 日の平均寿命の延長が見られた。放射線を当てないマウスでは、通常水群と NAC 水群で寿命に大きな差は見られなかったことから、低線量率放射線の生物影響は NAC による低減出来ることを明らかとした[2]。次に餌のカロリーを 30%減少させて飼育するカロリー制限実験を行った。カロリー制限実験では生後 8 週齢の 20 mGy/日の 400 日間の低線量率放射線連続照射の開始より死ぬまで標準カロリー餌として 95 kcal/週/匹とカロリー制限餌として 65 kcal/週/匹で飼育した。低線量率放射線連続照射の通常餌で飼育したマウスでは平均寿命は 1010 日でありカロリー制限では 1258 日であることから、カロリー制限により 185 日の寿命の延長が見られた[3]。以上の 2つの研究は低線量率放射線連続照射による生物影響は、外部からの要因によりその影響が変化修飾出来ることを示している。

これら研究では、マウスの飼育開始より死亡まで、実験群によっては1,500日以上飼育しなければいけない。また寿命による比較を行わなければならないため、多くのマウスを感染などから防ぐため清浄空間で飼育する必要がある。このため環境研では、2つの建物にSPF環境下で低線量率放射線照射施設を持っている。この2つの建物のマウスのSPF飼育規模は、2720ケージであり低線量率放射線照射は同時に501ケージ照射することが出来、マウスの低線量率放射線照射施設としては世界最大の規模である。また最近では、野生型マウスのみならず遺伝子改変マウスを用いた研究が増えている。遺伝子改変マウスを導入・大量繁殖や系統維持を行うためには、胚操作技術が必要であるため平成22(2010)年より胚操作技術の導入を行った。これらの立ち上げや現在までの生殖工学について報告したい。

本研究は、青森県からの受託事業により得られた成果の一部である。

参考文献

- [1] Tanaka et al., Radiat Res 2003; 160:376-9..
- [2] Yamauchi et al., Int J Radiat Res 2019; 17(1):67-73
- [3] Yamauchi et al. Radiat Res 2003; 192:451-455.

講演III

黄色ブドウ球菌病原性の研究における動物実験の貢献

弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座

浅野 クリスナ

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は増殖の過程でブドウ状の構造を形成するグラム陽性菌である。黄色ブドウ球菌は多くのヒトの鼻腔内や皮膚上に無害に存在している。しかし、鼻腔や皮膚の組織が損傷を受けると、細菌が傷口から侵入し感染症を引き起こすことがある。黄色ブドウ球菌の中には、毒素性ショック症候群毒素-1 (TSST-1) などの毒素を菌外に産生し、生命も脅かすショック症状(毒素性ショック症候群)を引き起こすものがある。その感染症治療には抗生物質が用いられるが、菌は抗生物質に対する耐性を持つことがある。特にメチシリン耐性の黄色ブドウ球菌は methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) と呼ばれ、治療が極めて困難であることから医療の現場で問題となっている。このため黄色ブドウ球菌感染症の予防と治療には、抗生物質投与に加え新しい戦略が必要で、それには黄色ブドウ球菌と宿主(ヒト)との間の相互作用や感染メカニズムをより明らかにすることが重要である。

ヒト感染症治療を目的とした研究を進める上で、動物モデルは、感染メカニズムだけでなく、宿主との相互作用、特に免疫反応を研究するための重要なツールである。この講演の前半では、我々が確立した黄色ブドウ球菌の子宮感染モデルマウスについて紹介する。タンポンを使用する女性で、ごく稀に黄色ブドウ球菌感染による致死的な毒素性ショック症候群がみられるが、メカニズムは不明だった。我々は本動物モデルにより、黄色ブドウ球菌で汚染されたタンポンから菌が子宮内に侵入した後、分泌される毒素の TSST-1 が子宮腔内で菌の増殖を促進すること、さらに菌体ではなく TSST-1 のみが血流に乗り、他の臓器に到達して全身の炎症を引き起こすことを見出した。これらにより、タンポンを使用している生理中の女性の毒素性ショックと黄色ブドウ球菌 TSST-1 の関係を明らかにすることができた。

この講演の後半では、現在進めている黄色ブドウ球菌由来細胞外小胞の研究について紹介する。ヒトの細胞や細菌を含めたほとんどすべての生きた細胞は、細胞外小胞 (extracellular vesicle; EV) と呼ばれる脂質膜で出来た小さな粒子を分泌していることが知られている。この中にはタンパク質、核酸、脂質などの生理活性分子が含まれ、脂質膜によ

り分解酵素などから保護されている。さらに脂質膜表面に分布して機能するタンパク質もあり、これらにより細胞外小胞は、生理活性分子を離れた目的の細胞などに送り届けることで様々な機能を持つことが近年明らかになってきた。黄色ブドウ球菌の細胞外小胞 (SaEV) の存在も分かっており、病原因子の運搬や宿主との相互作用の機能を持つと考えられる。しかしそれらの詳細はまだ明らかになっていない。

我々はマウスモデルを用いた研究で、SaEV が感染宿主の免疫を刺激し、炎症反応やアレルギー反応に関連することを見出した。これは、SaEV をマウスに投与すると Th2 関連免疫反応と IgE 介在性アレルギーが引き起こされることや、この後 MRSA 感染を加えると、免疫の過剰応答による高炎症性ショックが発症することから明らかになった。本研究では、さらに黄色ブドウ球菌の保菌とアレルギー発症の関連性に焦点を当て、そのメカニズムにおいて SaEV が関わることを初めて明らかにしようとしている。

上記の我々の研究を例として、動物実験、およびこれを支える動物実験施設は、ヒト疾病の基礎研究さらに臨床研究の遂行には極めて重要であるといえる。

第 32 回東北動物実験研究会実行委員会

実行委員長 成田 浩司（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

委員 一戸 一晃（公益財団法人 環境科学技術研究所）

委員 白濱 育美（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

