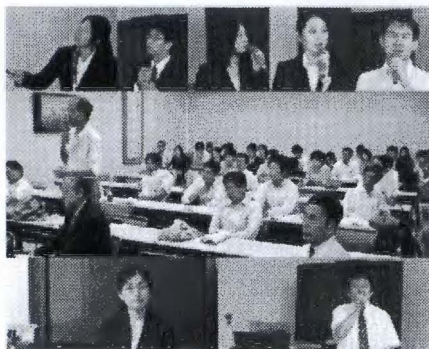


研究会だより

第63回岡山実験動物研究会

平成24年6月29日(金)午後1時30分から午後5時30分まで岡山大学教育学部・本館407号室(4階)で河田哲典先生(大学院・教育学研究科)のお世話で開催された。はじめに、会長の三谷恵一先生から開会のあいさつがあり、その後一般講演1に移った。一般講演1は「スックスにおけるスクラーゼ活性有無によるスクロースの嗜好性と摂取の影響」と題して小田千寿江氏ら(岡山理科大・理・動物)が講演され、一般講演2は「草食性小型哺乳類の餌資源利用戦略—とくにロシアハタネズミのVFA利用性について—」と題して城ヶ原貴通先生ら(岡山理科大・理・動物)が講演され、司会は福田勝洋先生(岡山理科大・特担教授)が担当された。続いて、一般講演3は「バルバの低温耐性に関する研究—とくに日内休眠とUCP1について—」と題して小林淳宏氏ら(岡山理科大・理・動物、愛知学院大・歯・解剖、KCOM)が、一般講演4は「酸化ストレスにより発症するアカタラセミアマウスにおける糖尿病について」と題して上村若菜氏ら(岡山理科大・大学院理学研究科、岡山理科大・理学部)が講演され、司会は矢田範夫氏(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門鹿田施設)が担当された。つぎに、一般講演5は「アマミトゲネズミの24時間行動観察」と題して望月春佳氏ら(岡山理科大・理・動物、森林総合研究所)が講演され、一般講演6は「アマミトゲネズミの野外調査(生息密度と行動範囲の推定)」と題して城ヶ原貴通先生ら(岡山理科大、森林総研、宮崎大、北海道大院、京都大院)講演され、司会は国枝哲夫先生(岡山大・大学院環境生命科学研究科)が担当された。一般講演が終了後、休憩を取った後に、事務局から会務報告があった。なお、会務報告は平成24年度第1回理事会の記載内容



写真上段：岡山理科大学の一般講演者の皆様
(小田氏、小林氏、上村氏、望月氏、城ヶ原先生)
中段：聴講者の皆様
下段：特別講演の平山晴子先生(左)と安藤元紀先生(右) 岡山実験動物研究会HPより

(88頁)を参照下さい。会務報告終了後、特別講演に移った。特別講演1は「脊髄を介するグレリンの大腸運動促進作用」と題して平山晴子先生(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門)が講演され、司会は高橋純夫先生(岡山大・大学院自然科学研究科)が担当された。続いて、特別講演2は「物質輸送における細胞間連携の重要性：心臓組織および内耳血管条組織を例として」と題して安藤元紀先生(岡山大・大学院教育学研究科)が講演され、司会は河田哲典先生(岡山大・大学院教育学研究科)が担当された。

講演会終了後、岡山大生協ピーチユニオンで懇親会が持たれ、講師の先生方を囲んで会員相互の親睦を深めた。

一般講演1

スックスにおけるスクラーゼ活性有無によるスクロースの嗜好性と摂取の影響

○小田千寿江・城ヶ原貴通・織田銑一
岡山理科大・理・動物

【はじめに】スクラーゼは、スクロースを加水分解し、グルコースとフルクトースを生成する消化酵素の1つである。ヒトでは、スクラーゼあるいはスクラーゼ・イソマルターゼ複合体の先天異常としてイヌイットの例が知られている。また、ヒトにおけるスクラーゼ活性の欠損では、糖類の摂取により下痢や腹痛などの症状を呈す。

食虫目トガリネズミ科は、ジネズミ亜科とトガリネズミ亜科に大別される。一般に、ジネズミ亜科はスクラーゼ活性を有し、トガリネズミ亜科はスクラーゼ活性を欠損している。しかし、ジネズミ亜科であるスックスには、活性を持つ個体と活性を持たない個体の両方が存在している。本研究では、スックスにおけるスクラーゼ活性の有無によりスクロース摂取時の影響に差異が認められるかどうか、嗜好性ととも確認し、スクラーゼ活性が生体に与える影響について体重を基に検討した。

【材料・方法】実験には、岡山理科大学理学部動物学科で飼育繁殖しているスックスのうち、スクラーゼ活性があるKAT系統ならびに個体間で活性の有無が異なるNAG系統を用いた。

はじめに、NAGに10%スクロース溶液を与え、24時間後に摂取量と体重を計測し、スクラーゼ活性欠損個体の選抜を行った。以降の実験には、KATと選抜したNAGの2群を用いて摂取量および体重に関する系統間の比較を行った。次に、スックスのスクロースに対する嗜好性を調べるため、嗜好試験を行った。嗜好試験は、濃度の異なるスクロース溶液(3%, 5%, 7%, 10%)と水の両方を与え、24時間後に摂取量と体重を計測した。最後に、嗜好試験に用いた4種類の濃度のスクロース溶液を別々に与え、24時間後に摂取量と体重を計測した。なお、すべての対照群としては、水のみを与えたものを用いた。

【結果・考察】対照群は、全ての試験において全個体の体重が増加した。

嗜好試験について、KATでは全ての濃度において水よりスクロース溶液の摂取量が有意に多かった ($p < 0.01$)。また、スクロース溶液の摂取量は、濃度があがるにつれ増加したが、10%溶液は7%溶液と同程度の摂取量であった。体重は、全ての濃度で投与前と有意な差は認められなかった。一方、NAGでは、KATほど差はみられなかったが、3、5、7%溶液ではスクロース溶液を、10%溶液では水の方を多く摂取した。また、体重については、7%溶液で他の濃度より減少した。

スクロース溶液のみの投与試験について、KATでは3、5、7%溶液でスクロース溶液摂取量が増加したが、10%溶液では急激に減少した。体重は、全ての濃度において投与前と有意な差は認められなかった ($p > 0.05$)。一方、NAGでは5%溶液までのスクロース溶液摂取量が増加したが、7%と10%では摂取量が減少した。体重は、スクロース溶液の濃度が上がるにつれて減少傾向を示した。

スクロース溶液の摂取量から糖摂取量を算出したところ、KATでは濃度が上がるにつれて糖摂取量が増加したが、NAGでは7%溶液までの糖摂取量が増加し、10%溶液では減少した。

このことから、スクラーゼ活性の有無にかかわらず、シクスはスクロース溶液に対する嗜好性を示す事が明らかとなった。また、体重と糖摂取量については、KATで溶液の濃度が上がるにつれて糖摂取量が増加したが、体重の有意な変化は認められなかった。スクラーゼ活性を持たないNAGでは、7%溶液で糖摂取量がピークとなり、7%、10%溶液で体重の減少が著しかった。

今回の実験では、NAGの中から明確にスクラーゼ活性がある個体を見いだすことができなかった。そのため、遺伝的背景の異なる2系統を用いて実験を行ったので、同系統内で再試験を行うことが今後の課題として考えられる。そこで、今後の計画としてはKATとNAGを交配し、遺伝的背景の同じ系統を作成していき、今回と同様の試験を行っていく。

一般講演2

草食性小型哺乳類の餌資源利用戦略

〜とくにロシアハタネズミのVFA利用性について〜

平井洗次、○城ヶ原貴通、織田銃一
岡山理科大学理学部動物学科

<背景>

草食性動物は、その消化管の形態から前胃発酵動物と後腸発酵動物に大別される。前胃発酵動物では、前胃部内で嫌気性微生物による揮発性脂肪酸(VFA)を産生し、エネルギー源として利用している。一方、後腸発酵動物は、後腸部でVFAを産生し利用している。VFAをエネルギー源として利用するには、大量の飼料摂取とその貯蔵が必要であるため、草食

性動物は大型哺乳類が多く、比較的小さなウサギ、ヌートリアなどは盲腸動物である。しかし、小型哺乳類の中にもハタネズミのような草食性を示すものが存在する。ハタネズミ属は、北半球に広く分布しており、属内に60種以上が知られている。ハタネズミ属は、小型の哺乳類でありながら草食性であり、VFA産生を行っていることが報告されている。そこで、実験室内での飼育繁殖が容易なロシアハタネズミのVFA利用について検討し、草食性小型哺乳類の餌資源利用戦略に関する考察を行った。

<材料および方法>

糖の利用性について検討するため、糖負荷試験を行った。糖負荷試験は、腹腔内投与ならびに経口投与を行った。VFAの利用性については、VFA吸収において中心的な役割を果たすモノカルボン酸輸送担体(MCT1)に注目し、ロシアハタネズミMCT1アミノ酸部分配列の推定を行った後、遺伝子発現解析を実施した。なお、全実験の対照群としてマウス(Slc:ICR)を用いた。

<結果・考察>

マウスにおける糖負荷試験では、腹腔内・経口投与ともに血糖値が著しく上昇した。一方、ロシアハタネズミでは、経口投与で血糖値の上昇が抑制された。

MCT1特異的プライマーを用いてcDNAを得た後、本配列を他種動物と比較したところ、高い相同生が得られ、ロシアハタネズミMCT1部分配列を得た。本プライマーを用いて、消化器官各部位ならびに脳におけるMCT1発現について解析したところ、ロシアハタネズミでは前胃部ならびに盲腸、後腸部に加え、脳において発現していることが明らかとなった。これらのことから、ハタネズミ属は、VFAをエネルギー源として利用し、前胃発酵動物、後腸発酵動物の両機構を獲得することで草食性小型哺乳類でありながら北半球に広く分布することが可能になったと考えられる。

一般講演3

バルバの低温耐性に関する研究

〜とくに日内休眠とUCP1について〜

○小林淳宏¹・城ヶ原貴通¹・子安和弘²・

Orin B. Mock³・織田銃一¹

¹岡山理大・理・動物、²愛知学院大・歯・解剖、³KCOM

<はじめに>バルバ(ヒメコミトガリネズミ: *Cryptotis parva*)は、メキシコ中南部からアメリカ北東部に生息する食虫目トガリネズミ科トガリネズミ亜科に属する動物である。トガリネズミ科は、寒帯・亜寒帯に生息するトガリネズミ亜科と熱帯・亜熱帯に生息するジネズミ亜科とに大別され、耐寒性に差があるとされている。実際に、ジネズミ亜科に属するシクスは、8℃以下の低温環境に耐性を持たない。その要因としては、脱共役タンパク質(UCP1)の機能不全と1日の間に数時間体温を低下させる不可避な日内休眠が関係している。これに対し、耐寒

性を持つとされるトガリネズミ亜科のバルバのUCP1と日内休眠については調べられていない。そこで、トガリネズミ亜科に属するバルバの低温耐性評価と日内体温変動の有無、UCP1の精査からトガリネズミ亜科の低温に対する適応性の検討を行った。

<方法>低温曝露試験には、2-3ヶ月齢の雄を用い、常温群(n=5)と低温群(n=12)を設定した。低温群は、低温環境に馴化(常温から4℃まで2日で1℃ずつ低下)させた馴化群(n=6)、馴化させなかった非馴化群(n=6)とした。全群において4℃にて30日間の低温曝露試験を行い、体重、摂水量は2日おきに、摂餌量は毎日、体温は毎日朝夕2回、それぞれ測定した。日内休眠の指標として、日内体温を測定した。日内体温の測定は、常温群(n=6)ならびに低温群(n=1)それぞれ1時間おきに24時間、同様の試験を5回行った。全実験の対照動物にはマウスを用いた。これらに加え、バルバUCP1アミノ酸配列の推定を行い、他の動物種と比較した。

<結果・考察>低温曝露試験の結果、バルバは4℃の低温試験において生存した。しかし、低温群における脱落個体は、馴化群で1個体、非馴化群で2個体であった。馴化群の生存率(83%)は非馴化群(66%)よりも高かった。これらから、バルバは低温耐性を持ち、馴化期間により耐寒性を高めると示唆された。バルバの日内体温は、スunksのような規則的な温度低下は認められず、日内休眠を行っていないことが示唆された。このことから低温耐性には日内休眠が関与していると推察された。バルバUCP1は、得られた塩基配列でBLAST解析を行ったところ、他種のUCP1と高い相同性を示した。また、バルバUCP1アミノ酸配列は、UCP1の機能上重要とされる147番目のアミノ酸残基が、低温耐性動物であるマウスなどとは異なり、低温不耐性であるスunksと同じであった。このことから、低温耐性にはUCP1が直接関与していないことが示唆された。また、スunksは、低温刺激と高脂肪食により耐寒性が増すとされている。実際にバルバの餌は、スunksのものより高脂肪である。よって、トガリネズミ亜科の低温耐性はUCP1の機能的要因のみならず、日内休眠や栄養条件などの他の要因が複合的に関係していると推察される。

一般講演 4

酸化ストレスにより発症するアカタラセミアマウスにおける糖尿病について

○上村若菜¹、藤原悠基²、松岡伸児²、前田あやみ¹、竹本和憲²、織田統一¹、益岡典芳¹

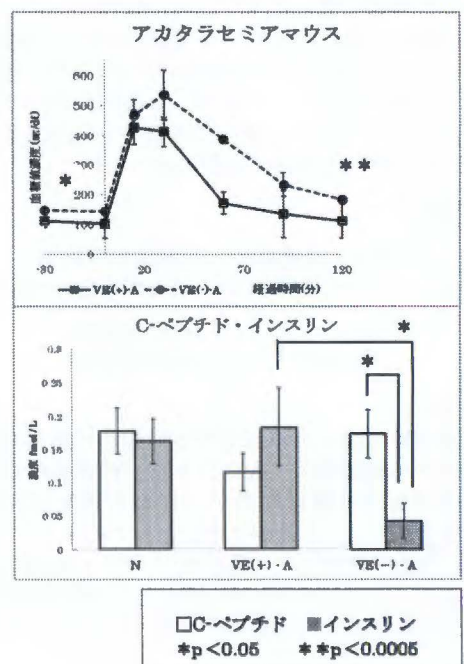
¹岡山理科大学大学院理学研究科

²岡山理科大学理学部

【発表要旨】

カタラーゼとは活性酸素の一つである過酸化水素を酸素に分解する酵素であり、生体内における活性は強い。しかし、カタラーゼ活性が極めて少ないヒ

トが知られており、無カタラーゼ血液症(アカタラセミア)と呼ばれている。アカタラセミアのヒトでは酸化ストレス傷害を受けやすいとされ、糖尿病の発症率が高いことを報告されたが、その詳細は明確ではない。その発症メカニズムなどを解明する目的で我々の研究室は研究を開始し、カタラーゼ活性とアロキサン投与による糖代謝の変化の関係を報告した。(Clinica.Chimica.Acta 407(2009)43-46) この報告において、アロキサンによる膵臓β細胞の傷害メカニズムは過酸化水素が生成され、カタラーゼ活性が低いアカタラセミアマウスでは糖尿様を発症することを明らかにした。この報告で使用されたアロキサンは還元剤と反応することにより過酸化水素またはスーパーオキシドを生成し、体内に入った場合は選択的に膵臓を傷害することが知られている。還元型グルタチオンとのin vitro反応では過酸化水素だけが検出された。(スーパーオキシド<0.0003%)また、マウスへのアロキサンの投与量の増加に伴って、血糖値の上昇がみられた。実験動物は、Feinsteinらにより確立された低カタラーゼ活性をもつ(アカタラセミア)マウス C3H/AnIcS^oCS^o、および正常マウス C3H/AnIcS⁺CS⁺を使用した。各マウスの空腹時血糖値の測定からカタラーゼ活性が低いだけでは糖代謝の異常が起こらないことも示唆された。さらに、正常マウスに比べアカタラセミアマウスの血糖値の増加が著しく、グルコース負荷試験(GTT)を行った結果、各マウスにおいて有意な増加みられ、さらにアロキサン投与をしたマウスにおいては糖尿病様のグルコース耐糖曲線が示された。これによりカタラーゼ活性の低いマウスは正常なマウスに比べアロキサン投与による酸化ストレスで糖尿病になりやすいことが報告された。また、アロキサン投与をしたアカタラセミアマウスの膵臓組織より正常マウスと比べてラ



氏島β細胞の減少が確かめられた。これらの結果から、アロキサンによる膵臓β細胞の傷害メカニズムは活性酸素の一つである過酸化水素が生成され、カタラーゼ活性が低いと糖尿病を発症し易いことが報告された。そこで本研究では、抗酸化作用をもつビタミンEが酸化ストレス傷害を抑制し、糖尿病の発症に対する予防効果につながるのではないかと考え研究を行った。アカタラセミアマウス、正常マウス(週齢12週)を各2群に分けた全4群を実験までの15週間ビタミンE補充食またはビタミンE欠乏食飼料と水を自由摂取させた。ビタミンE欠乏食を15週間自由摂取させたことにより、血中8-OHdG濃度が増加、過酸化脂質は有意に増加したことにより体内ビタミンE量の欠乏を確認できた。アロキサン投与後のGTTの結果、ビタミンE欠乏食アカタラセミアマウスのみ耐糖能異常と血中インスリン濃度の有意な低下を示した。また、組織学的にもビタミンE欠乏食においてアカタラセミアマウスの膵臓ラ氏島β細胞の減少を観察した。しかし、正常マウスではビタミンE欠乏食と補充食の差はほとんどみられなかった。これらの結果より、アロキサン投与による糖尿病は過酸化水素を分解するカタラーゼ活性が関与している。また、ビタミンE摂取の発症メカニズムの詳細は不明だが、ビタミンEを充分補充することで生体膜の維持とともに、酸化ストレスで生じる過酸化水素による血中インスリン濃度低下を防ぐことができると推測している。このことは、ビタミンEの十分な補給により、酸化ストレスによる糖尿病の発症予防が出来ると考えている。今後はインスリン負荷試験、ビタミンE補給によるβ細胞の酸化ストレス傷害の予防メカニズム、C-ペプチド濃度等について研究を進めていく予定である。

一般講演5

アマミトゲネズミの24時間行動観察

○望月春佳¹・城ヶ原貴通¹・山田文雄²

¹岡山理科大・理・動物, ²森林総合研究所

<はじめに>アマミトゲネズミ (*Tokudaia osimensis*) は、国指定天然記念物、環境省RDB絶滅危惧IB類に指定されており、奄美大島だけに生息する日本固有種である。本種は、雌雄ともにXO型染色体を持ち、その特徴より、近年世界的に広く知られるようになった。しかし、本種の生息状況をはじめとした基礎的情報は、非常に限られている。現在我々は、本種の生息域外飼育を行っており、遺伝資源保全に向けた繁殖を目指している。これまでアマミトゲネズミの繁殖を試みた例は2例あるが、いずれも繁殖には至らなかった。本種の繁殖期は9月から12月とされている。そこで、アマミトゲネズミの生息域外繁殖に向けた基礎的資料の蓄積として、明暗条件の違いによる活動量の変化について調べた。

<材料・方法>観察には、奄美大島で捕獲し、本学で飼育している成獣のアマミトゲネズミ雌雄各3個

体を用いた。明暗条件は、12L12D(明期8:00~20:00)ならびに18L6D(明期2:00~20:00)とした。観察は、ビデオカメラ(アクシスコミュニケーションズ社製P1343)の動体検知機能を用い、それぞれ連続72時間の活動を記録することで行った。活動量の解析には、観察した72時間の内、1日目の19:00から3日目の19:00までの48時間分を用いた。また、12L12Dから18L6Dへの変更時には、馴化期間として1週間設けた。明暗条件以外の飼育条件は、室温は25±2度とし、飼料と水は自由摂取とした。

<結果・考察>全個体の48時間での平均総検知回数は、12L12Dで787回(暗期:784回,明期:3回),18L6Dで639回(暗期:604回,明期:35回)であった。総検知回数ならびに暗期における検知回数は12L12Dの方が多かったが、明期では18L6Dの方が多かった。全個体の平均活動パターンは、12L12Dでは暗期の後半に、18L6Dでは暗期の前半にピークを示した。しかし、各個体の活動パターンを見ると、18L6Dで、わずかに明期での活動を示す個体や、日により暗期の後半に活動のピークを示す個体も見られた。また、12L12Dでは、暗期の前半、後半のどちらでもピークを示さない個体が見られた。このように、個体や日による活動パターンに差はあるが、本種の活動は暗期に依存しており、オキナワトゲネズミ(*Tokudaia muenninki*)の報告と類似していた。このことから、アマミトゲネズミは完全な夜行性を示していることが明らかになった。今後は、6L18Dの明暗条件下において、同様の実験を行い活動量の変化を調べる。その後、明暗条件の変化が繁殖に影響があるかを調べるために、明暗条件を変えながら、精巣や膣口などの生殖器の観察を行う予定である。

一般講演6

アマミトゲネズミの野外調査 (生息密度と行動範囲の推定)

○城ヶ原貴通¹・山田文雄²・越本知大³・木戸文香⁴・望月春佳¹・塩野崎和美⁵・黒岩麻里⁴

¹岡山理科大・²森林総研・³宮崎大・⁴北海道大院・⁵京都大院

【はじめに】

トゲネズミ属*Tokudaia*はわが国の固有属で沖縄島(オキナワトゲネズミ*T. muenninki*)、徳之島(トクノシマトゲネズミ*T. tokunoshimensis*)及び奄美大島(アマミトゲネズミ*T. osimensis*)に生息する。本属は国の天然記念物に指定され、オキナワトゲネズミは絶滅危惧IA類(CR)、アマミトゲネズミ(トクノシマトゲネズミも含む)は絶滅危惧IB類(EN)である。これまで本属に関する基礎的情報は非常に限られており、生息状況なども含め不明な点が多かった。しかし近年、我々研究グループの沖縄島や徳之島における継続的な調査ならびに奄美大島におけるマングース防除事業での混獲データの蓄積により、その生息状況が徐々に明らかになりつつある。しかし、これまでの調査は、分布調査がその中心であり、

本属のその他の基礎的情報は未だに少ない。また近年、奄美大島におけるマングース防除事業の畏へのアマミトゲネズミの混獲が増加し（2010年度はのべ1788回）、混獲範囲も島南部の広範囲に及び、本種の混獲がマングース防除の障害の一つとなっている。そこで、効率的なマングース防除に向けた基礎資料ならびに本種の生息状況に関する基礎資料蓄積を目的として、アマミトゲネズミの生息密度と行動範囲推定を行った。

【材料および方法】

調査地はマングース防除事業の混獲に基づき、本種が比較的高密度で生息していると推察される地点に100m×100mの方形区を設定し、区内にトラップを10m間隔で設置し、6晩連続で実施した。各トラップは、夕方までに設置し、翌朝見回った。捕獲個体は外部形態計測とマイクロチップ挿入などの処置後にその場で放獣した。生息密度推定には、①Peterson法、②Lincoln-Peterson法および③Jolly-Seber法を用いた。個体ごとの1日あたりの移動距離および行動範囲は、それぞれ2日連続で捕獲された個体のトラップ間距離および3カ所以上で捕獲された個体のトラップ間距離から推定した。

【結果と考察】

全調査期間で33個体（オス14、メス19）、のべ99回（オス36、メス63）の捕獲があり、再捕獲率は66.67%、CPUE（capture per unit effort）は16.5であった。生息密度（頭数/ha）は、各推定法により① 34.05 ± 14.92 、② 31.11 ± 13.19 、③ 77.10 ± 54.28 と算出され、おおむね1haあたり30-35個体が生息していると推定された。捕獲された個体は、外部形態計測値より全て成獣と判断されたが、繁殖の兆候を示す個体は存在しなかった。また、1日あたりの移動距離は平均20.07m（最大66.00m、最小0.00m）、行動範囲は平均 234.46m^2 （最大 726.61m^2 、最小 14.55m^2 ）であり、本種の有効畏範囲は約8.6mであった。行動範囲を雌雄別にみると、雄は平均 263.10m^2 、雌は平均 205.83m^2 であり、雄の方が広い行動範囲を持っていたが、雌の中には 726.61m^2 の行動範囲を持つ個体も存在した。また、各個体間の行動範囲の重なりは、雄間では少ないのに対し、雌間では多かった。

アマミトゲネズミの行動範囲は、15m四方程度であり、近縁なアカネズミ（ $750-1,900\text{m}^2$ ）とくらべ、かなり狭く、高密度で生息していることが明らかとなった。しかし、アカネズミの生息密度、行動圏などは、繁殖期などにより季節的に変化することが知られている。今後は、生息密度のなる地域や季節変化などに着目した調査を行い、より詳細な本種の生息特性を明らかにするとともに、他の島のトゲネズミとの比較についても行き、本属の保全に向けた種差も含めた総合的な調査を行っていく必要がある。

特別講演1

脊髄を介するグレリンの大腸運動促進作用

平山晴子

消化管運動は、その壁内のよく発達した消化管内に神経系により直接制御されている。しかし、中枢神経系による制御も決して無視できない。これまで、消化管運動に対する中枢からの影響を評価できる *in vivo* の実験系を用い、グレリンが脊髄腰仙髄部の排便中枢に作用し大腸運動を亢進させることが報告されている。グレリンは胃から主に放出されるペプチドホルモンであり、成長ホルモン分泌促進や食欲亢進といった作用がよく知られている。グレリンは、3番目のセリン残基が脂肪酸修飾されているという特徴を持ち、この修飾がグレリン受容体を介した作用発現には必須である。本研究においては、脂肪酸修飾の有無の影響を含め、グレリンの脊髄における大腸運動促進メカニズムを明確にすることを目的とした。

実験にはWistar系雄ラットを用い、大腿動脈に設置したカテーテルから α クロラロースとケタミンの混合液を持続投与することにより、安定した麻酔状態を維持した。目的とする大腸運動測定部位の吻側および肛門側へカニューレを挿入後、肛門側へ圧トランスデューサーを接続し大腸内腔の圧変化を記録するとともに、蠕動運動により肛門側へ送り出された液量を測定し、大腸の運動性を評価した。

グレリンの脊髄腰仙髄部への投与により、大腸蠕動運動の亢進が認められた。一方、グレリンの静脈内投与によって大腸運動は変化せず、胃から分泌されたグレリンが血流を介して作用しているのではないことが示された。RT-PCRを用い、脊髄排便中枢におけるグレリンおよびグレリン受容体のmRNAの発現を確認した。これらの結果から、グレリンが脊髄において産生され作用している可能性が示唆された。

また、グレリンの脊髄腔内投与は、骨盤神経からの神経支配を受ける遠位結腸の蠕動を亢進させたが、近位結腸の運動性には変化を及ぼさなかった。骨盤神経切断後のグレリン投与では遠位結腸の蠕動亢進は認められず、グレリンは脊髄排便中枢に作用し骨盤神経を経由して、遠位結腸の蠕動亢進を惹起することが明らかとなった。

グレリンの脂肪酸修飾を持たない型であるデスアシルグレリンを脊髄腔内へ単独投与したところ、大腸運動に変化は認められなかった。しかし、グレリンと同時にデスアシルグレリンを投与すると、グレリンで誘発された大腸蠕動運動亢進が一過性に抑制された。これらの結果より、グレリンの脂肪酸修飾は大腸運動に対する作用発現に必須であること、また、これらのペプチドが脊髄排便中枢において相互に影響している可能性が示唆された。

本研究の結果より、グレリンは脊髄において産生され作用する神経伝達物質様の働きにより排便中枢を活性化させ、骨盤神経を経由し大腸蠕動運動を亢進させることが明らかになった。また、グレリンの脂肪酸修飾の有無の調節により、大腸運動に強弱を

つけている可能性が示唆された。本研究で明らかにした脊髄を介するグレリンの大腸運動促進作用の、生理的な役割や病態との関係については非常に興味深く、今後の検討課題である。

特別講演 2

物質輸送における細胞間連携の重要性：心臓組織および内耳血管条組織を例として

安藤元紀

岡山大学大学院教育学研究科・細胞生理学研究室

多細胞生物における統合的な生理機能において、細胞どうしのコミュニケーションは重要な役割を果たす。特に、外部環境の変化に対応した急性期の生体反応には、細胞膜に存在する膜輸送体を介した物質輸送機構が関係しており、その機能の破綻は深刻な病態を引き起こす。本講演では、演者がこれまでに携わってきた研究課題の中で心臓組織と内耳組織を事例として、組織特異的な機能には細胞どうしの巧妙な連携のしくみが備わっていることについて紹介する。

近年、重篤な心疾患における病態進行や致死性不整脈発生に循環器系の神経性調節の破綻が深く関わっていることが明らかとなってきた。一つ目の研究課題では、迷走神経の電気刺激により心筋梗塞急性期に誘発される致死性不整脈の発生頻度が劇的に抑えられること、その作用機序は迷走神経刺激による心筋細胞どうしの細胞間連絡に関わるギャップ結合タンパク質のリン酸化制御であること、について報告する。加えて、細胞工学的手法を用いて心筋細胞初代培養系から心筋リングを作成し持続的な伸展刺激を加えることにより、リング全体が同期して収縮・弛緩を繰り返す自動興奮性を有するようになること、その再同期のしくみは線維芽細胞を仲立ちとしたギャップ結合を介する間接的な心筋細胞どうしの電氣的ネットワークの再構築によることを示す。迷走神経刺激による心筋組織の保護作用は、アセチルコリンによる細胞間連絡の制御と細胞生存シグナルの増強作用に等しいことが判明した。

内耳蝸牛血管条は、エネルギーを大量に消費しながら活発なイオン輸送を行い、生体内において極めて特殊な細胞外環境である内リンパ液の産生に関与し（内リンパ直流電位の生成： $+80$ mV、高 K^+ 液の産生： 150 mM K^+ ）、その機能不全は直ちに難聴を引き起こす。二つ目の研究課題では、血管条組織の生理機能がそのユニークな組織構築と密接に関連していることを報告する。ギャップ結合による細胞間連絡、密着結合による組織の極性、および個々の細胞に局在する膜輸送体分子（イオン輸送体）の連携により、血管条特異的な機能が発現していることを示す。また、血管条細胞は、心筋細胞や脳神経細胞と同様に、虚血に対して極めて脆弱でありグリコーゲンなどのエネルギー源の貯蔵も少ないことから、そのエネルギー供給システム（糖輸送経路）の解明が重要とな

るが、その全体像は明らかとなっていない。血管条組織における糖輸送機構について、最近の知見を交えて紹介する。

心臓組織と内耳組織を事例として、細胞間の物質輸送や情報伝達の連携のしくみについてまとめた。組織特異的な生理機能を理解するためには、個々の細胞に発現している膜輸送体分子の同定だけではなく、その組織構築や高次構造など細胞どうしの連携のしくみに着目した解析を進める必要がある。今後も小さな研究室ならではの利点（機動力）を生かして、教員・学生が一丸となって、「生」きものの「理」の解明に挑んでいきたい。

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

創立30周年記念 第64回岡山実験動物研究会

平成24年11月30日（金）午後1時30分から午後5時30分までピュアリティまきびで日本生物工学西日本支部の協賛で開催された。本研究会は創立30周年を迎えることから、特別講演、招待講演、記念講演各1題と参加者全員による記念写真撮影を企画した。はじめに、会長の三谷恵一先生から開会のあいさつがあり、その後特別講演に移った。特別講演は「岡山実験動物研究会30年のあゆみ」と題して佐藤（岡山大学農学部・本会名誉会員）が講演し、司会は倉林 譲先生（岡山大学医学部客員研究員、本会名誉会員）が担当された。特別講演終了後、記念写真撮影を行った。写真撮影は理事の嶋村三智也氏が担当された。休憩後、会務報告（総会）があった。会務報告は平成24年度第2回理事会の記載内容（89頁）を参照下さい。総会では次期の会長に織田鉄一先生（岡山理科大学・理学部動物学科・教授）が選任され、理事、常務理事、監事の名前が紹介された。

会員の矢田範夫氏から2013（平成25）年9月27日～28日に岡山（倉敷市）で開催される「日本実験動物技術者協会第47回総会 in 晴れの国 岡山」の案内、新しいポスターの紹介があった。

その後、長年、本研究会の発展のためにご貢献、ご尽力された会長の三谷恵一先生が2013年から名誉会員に推薦、推戴されるとの紹介があり、新会長の織田鉄一先生から花束が贈呈された。

招待講演は「実験用ラット研究の進展」と題して芹川忠夫先生（京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設・教授）が講演され、司会は西川 哲先生（京都薬科大学動物研究センター）が担当された。続いて、記念講演が行われ、「安全の科学とリスクコミュニケーション」と題して唐木英明先生（倉敷芸術科学大学・学長）が講演され、司会は国枝哲夫先生（岡山大学大学院環境生命科学研究科・農学部）が担当された。

記念講演終了後、同会場で懇親会が持たれ、講師

の先生方を囲んで会員相互の親睦を深めることができ、創立 30 周年記念に相応しい会であったと思います。

研究会終了後、本会理事の嶋村三智也氏(㈱クラレ・くらしき研究所)に撮影していただいた記念写真は本会理事の山下光治氏(㈱エイチ・エス・ピー)によって焼き増しされ、年内(2012年)に参加者全員に送付することができました。この記念写真は会報の最初の頁に掲載されている。記念写真の撮影、プリントを担当していただいた嶋村三智也氏と山下光治氏に心から厚くお礼申し上げます。

特別講演

岡山実験動物研究会 30 年のあゆみ

佐藤勝紀

岡山大学農学部・本会名誉会員

日本には現在 11 の地区研究会があり、独自の活動が展開されている。東海実験動物研究会(前身:東海実験動物談話会、1983 名称変更)は 1965(昭和 40)年 8 月と最も早く、関西実験動物研究会は実験動物集談会(昭和 55~58 年)を前身として 1984(昭和 59)年 3 月に設立された。東海、静岡、信州、岡山、関西、九州、琉球、東北、筑波、北陸、北海道の順で設立された。

本会は猪 貴義氏(岡山大名誉教授・本会名誉会員)、永井 廣氏(岡山大名誉教授)、倉林 譲氏(現岡山大学医学部客員研究員・前岡山大学医学部附属動物実験施設・前森ノ宮医療大保健医療学部教授・本会名誉会員)が呼びかけ人となり、1982(昭和 57)年 12 月 7 日に岡山郵便貯金会館(現メルパルク OKAYAMA)で発足した。本会は大学や学部、研究機関の枠を越えて、実験動物と動物実験に関心ある方々の集まりの場として、また知識と情報の交換の場として、それぞれの研究の発展と地域における科学の進展に寄与することを目的として設立された。

初代会長の猪 貴義氏(上記)、2代目の田坂賢二氏(岡山大名誉教授・本会名誉会員)、3代目の栗本雅司氏(前㈱林原生物化学研究所藤崎研究所長・本会名誉会員)、4代目の佐藤(本会名誉会員)、5代目の倉林 譲氏(上記)、6代目の三谷恵一氏(岡山大・環太平洋大名誉教授・現本会会長)のリードの下で、理事・常務理事・監事が中心となって企画し、会運営がなされた。この 30 年間に 64 回の研究会と 2 回の特別講演会の開催及び 28 号の研究会報の発行を行った。研究会は平成 2 年以降、夏(6~7 月)と冬(11~12 月)に定期的に年 2 回開催している。夏期は会員持ち回り会場で一般講演や賛助会員による講演を中心に、また冬期は公共施設の会場で特別講演・招待講演・記念講演などを中心に企画し、実施した。記念の研究会(創立 15・20・30 周年、30・40 回など)では記念講演・招待講演・特別講演など記念大会に相応しい企画を行った。さらに、シンポジウム、フォーラム、交見会、教育講演、見学会などを企画した。これま

でのユニークな講演企画として、モンゴル恐竜、自然と生物、動物園、食品・機能性・生理活性、医療・治療、実験動物技術者資格取得・認定制度、倫理問題などの話題提供が挙げられる。

本会の活動が長い期間にわたって維持、継続できたことは会員の絶え間ない声援、協力とともに賛助会員の絶大なる援助、支援の賜物であり、さらに岡山県産業振興財団(前岡山県新技術振興財団)の共催・後援及び日本生物工学会西日本支部の協賛を頂いたことが大きい。

本会の HP は嶋村理事の努力で 2007(平成 19)年に新設され、研究会の案内や講演要旨、会報の掲載内容、本会の概要など容易に閲覧できるようになっている。

研究会報は年に 1 回発行され、第 19 号(2002)から英文で裏表紙が作成されている。会報のバックナンバーは 2009(平成 21)年に製本(1~13 号と 14~24 号の分冊)を行い、事務局に保管するとともに国会図書館に寄贈した。三谷会長の尽力で、会報の掲載論文は岡山大学学術成果リポジリー等へのコンテンツ登録、公開がなされている。最近、医学中央雑誌(医中誌)の収載誌登録とデータベース収録されることになり、科学技術振興機構(JST)からもデータベース収録、公開のための会報寄贈の依頼があった。

招待講演

実験用ラット研究の進展

芹川忠夫

京都大大学院医学研究科附属動物実験施設

実験用ラットは医学生物学等における多様な基礎研究や医薬品等の開発研究あるいは安全性試験に活用されている。また、選抜育種法によって、高血圧、糖尿病、てんかん等の有用な多くの疾患モデルラットが開発されており、それらを利用したヒト疾患の発症機構、予防法、治療法についての研究が行われている。さらに、下記のごとく、新たな革新的技術により遺伝子改変ラットの作製が可能となった。我が国には、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat、平成 14 年度に発足)という優れたラットの収集・保存・提供システムが整備・運用されている。については、NBRP-Rat に加えて、遺伝子改変ラットの開発と解析の国家拠点を設立して、生命科学の基礎と応用研究の効果的な推進を図るべきであろう。

1) ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) ミュータジェネシス法

ENU ミュータントアーカイブ KURMA (Kyoto University Rat Mutant Archive、1 個体あたり約千個の点突然変異をもつ雄の F344 ラットから採取した DNA と凍結精子の 1 万頭分のセット)を整備して、標的遺伝子変異をスクリーニングする MuT-POWER 法と顕微授精法により、ヒト疾患に関わる遺伝子変異と類似の遺伝子変異をもつ新規のモデルラットを開発している。このシステムにより、てんかんのモデル

としては、全般でんかん熱性けいれんプラスというヒト疾患を標的として、*Scn1a* 遺伝子変異のミスセンス変異 (N1417H) をもつ熱性けいれんモデルラット、および常染色体優性側頭葉てんかん (ADLTE) を標的疾患として、*Lgi1* 遺伝子のミスセンス変異 (L385R) をもつ音誘発性てんかんモデルラットを開発した。他に、家族性大腸がんの原因遺伝子である *Apc* 遺伝子にナンセンス変異 (S2523X) をもち、アゾキシメタン+デキストラン硫酸の大腸ガン誘発試験系において、顕著な大腸ガン感受性を示す KAD (Kyoto *Apc* Delta) ラット、LDL レセプターのリガンド結合部位にミスセンス変異 (C160S) をもつ *Ldlr* 変異ラット、あるいはレプチン遺伝子にナンセンス変異 (Q92X) をもつ肥満ラットを作製した。

2) ZFN (Zinc Finger Nuclease) 法

ZFN は、Zinc finger モチーフとヌクレアーゼ機能ドメインからなる人工キメラタンパク質であり、配列特異的に DNA を切断できる。我々は、ZFN をラットの受精卵に導入することにより、*Il2rg* 遺伝子をノックアウトした X-SCID ラット (X 連鎖重症複合免疫不全症のモデル)、*Prkdc* 遺伝子をノックアウトした SCID ラットを作製した。

記念講演

安全の科学とリスクコミュニケーション

唐木英明

倉敷芸術科学大学

1. 科学技術創造立国

独創的、先端的な科学技術を開発し、これによって新産業を創出し、社会・経済の一段の飛躍を期すること、そして人口、食料、環境、エネルギー等、人類の将来に立ちほだかる諸問題の解決のために科学技術の成果を役立てることが求められている (科学技術基本法 1995)。

その一方で科学技術の応用はリスクを伴う。公害問題、牛海綿状脳症 (BSE)、福島第一原発事故等、科学技術の応用に伴うリスクの顕在化が大きな問題になり、その軽減も緊急の課題である。

2. 経済対策と安全対策の分離

従来は、科学技術の利用推進による経済の活性化と「安全対策」すなわちリスク管理を同一の行政が担当していた。しかし、BSE 問題 (2001) は経済の活性化が優先されて安全対策が軽んじられた結果であるという批判があり、食品安全基本法 (2003) によって安全対策の一部であるリスク評価機能を内閣府食品安全委員会に移し、経済の活性化とリスク管理は従来通り厚生労働省・農林水産省等が担当することになった。

福島第一原発事故 (2011) も再度同じ問題を提起し、経済の活性化と切り離して安全対策 (リスク評価とリスク管理) が環境省原子力規制委員会に移された (原子力規制委員会設置法 2012)。

リスク評価と管理は性格が異なり、どちらの方法

がより良いものであるのかは議論を要する。

3. 安全の科学の必要性

リスク管理策の策定と実施は、行政が原案を作成し、政治がこれを決定する。この時に参考にされるのは、科学に基づくリスク評価・国民感情・国際貿易動向・経済への影響・技術的可能性・費用対効果・その他の項目である。

これらの項目のうち、科学者 (自然科学者) が関与するのはリスク評価だけである。一方、これらの項目のすべてをある程度満足させるようなリスク管理策を作るという極めて困難な作業は、本来は人文社会科学の援助が必要な分野であるにもかかわらず、現実には行政官だけでこれを行なっている。リスク管理策策定を支援する安全の科学 (レギュラトリーサイエンス) の確立が求められている。

4. リスクコミュニケーションの必要性

原発事故以来、「科学の見直し論」が盛んだ。例えば、科学が原発の「安全神話」を支えていたという認識は、科学「盲信」を「不信」に変えたという指摘、今後、科学は文化の視点を持ち、精神性を取り戻すべきであり、倫理・社会学が科学の在り方を示すべきであるなどの論調である (例えば日本経済新聞 2012. 4. 14 文化欄)。

この議論のためには科学技術の応用とリスク評価とリスク管理の違いを明確にすることが必要である。科学技術の応用の政策判断は自然科学と人文社会科学の協力が必要である。リスク評価は中立と公正を保つために個人的な思想、信条を排して科学だけに基づいて行われる。リスク管理は関係者の利害の調整という政治の作業であり、リスク管理策の決定に当たって、科学者は政策決定に有用な助言を与える役割に徹し、政策決定を制約することはない。このような科学と行政と政治の役割分担の議論も必要である。

※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※※

平成 24 年度第 1 回理事会

平成 24 年 6 月 29 日 (金) 12:30 から 13:00 まで岡山大学教育学部本館 407 号室で開催された。

①平成 23 (2011) 年度の活動報告

○研究会を 2 回開催: 第 61 回研究会は 7 月 1 日 (金) 13:30 から 17:30 まで岡山理科大学第十学舎 5 館 11052 教室で福田勝洋先生・浅田伸彦先生 (岡山理科大学) のお世話で開催された。特別講演 2 題、賛助会員による講演 1 題、一般講演 1 題、懇親会が企画された。

○会報の発行・公開: 第 27 号会報が 5 月に発行され、同月に会員への送付された。第 27 号までの会報は岡山大学学術成果リポジトリにコンテンツ登録および電子ジャーナルとして公開された。

○名誉会員の推挙: 第 62 回研究会 (平成 23 年 11 月 25 日開催) の総会で名誉会員の推戴式が行われ、三谷恵一会長から倉林 譲先生 (前森ノ宮医療大学保健医

平成 24 年度第 2 回理事会

平成 24 年 11 月 25 日 (金) 12:30 から 13:00 まで
ピュアリティまきび (研究会会場) で開催された。

①平成 24 年度の活動報告

○研究会は 2 回開催。第 63 回研究会は 6 月 29 日 (金)13:30 から 17:30 まで岡山大学教育学部本館 407 号室で河田哲典先生 (岡山大・大学院教育学研究科) のお世話で開催された。一般講演 6 題、特別講演 2 題および懇親会が企画された。第 64 回研究会は創立 30 周年を記念して、日本生物工学会西日本支部協賛で 11 月 30 日 (金) 13:30 から 17:30 までの予定で、ピュアリティまきびで開催されている。特別講演 1 題、招待講演 1 題、記念講演 1 題、記念写真撮影、懇親会が企画され、参加者全員の記念写真撮影は特別講演終了後に行われる。

○会報第 28 号の発行 (4 月)、会員への送付 (5 月)、総頁数 87、岡山大学学術成果リポジトリ等へのコンテンツ登録および公開 (延長・継続) 会報第 29 号の編集 2013 (平成 25) 年 4 月発行予定 創立 30 周年記念号の編集企画として記念写真掲載 (最初の頁)、名誉会員・会員・実験動物関係者などからの特別寄稿、研究会の 30 年間のあゆみ (講演会の開催日時・場所・講演内容および研究会報内容の紹介など) を予定している。その他、賛助会員による広告掲載

○文献情報のデータベース収録・公開:岡山大学学術成果リポジトリ等に加えて、特定非営利活動法人医学中央雑誌 (医中誌) 刊行会 (9 月 24 日) 及び科学技術振興機構 (JST) (10 月 2 日) からデータベース収録と公開の依頼があり、承諾した。

○役員を選任 平成 25 年～26 年度 役員名は 98 頁に記載の組織・会則「岡山実験動物研究会役員」を参照下さい。

会則 第 6 条 (役員) 第 7 条 (役員を選任) 第 9 条 (役員任期)

第 6 条 本会に次の役員をおく。

理事 15 名以上 25 名以内 (うち会長 1 名及び常務理事若干名)

監事 2 名 評議員 若干名

第 7 条 会長及び常務理事は理事の互選によりこれを定める。理事は正会員の互選により選出された者とする。監事及び評議員は理事会が選出し、会長がこれを委嘱する。

第 9 条 本会の役員任期は 2 年とし、再選は妨げない。

○名誉会員の推挙: 三谷恵一先生 (本研究会会長、岡山大学名誉教授・IPU 環太平洋大学) は本会会長を 3 期 6 年間 (平成 19 年 1 月 1 日～平成 24 年 12 月 31 日) 務められた。三谷先生は長年、理事ならびに会長として本会の発展に大きく貢献なされたことから名誉会員に推挙されることになった。但し会長の任期は 2012 (平成 24) 年 12 月 31 日までのことから、新会長の織田純一先生から翌年 (2013 年) 1 月に表彰状をお送りすることになった。総会では名誉会員の紹介と花束贈呈を行う。

会則 第 5 条 (会員) 本会の会員は次の通りとする

1. 正会員 2. 賛助会員 の項は割愛。

3. 名誉会員 本会の発展に功労があった者で、理事会の承認を経て推薦された者とする。

○ホームページの更なる充実

HP のアドレス:

<http://okayamaexpanim.sharepoint.com/Pages/default.aspx>

○会員の異動 (11 月 20 日現在)

入会: 石原すみれ氏 (岡山大・自然生命科学件研究支援センター・動物資源部門・津島北施設・技能補佐員)

退会: 干場純治氏 (前岡山大・自然生命科学件研究支援センター・動物資源部門・助教)

○日本実験動物技術者協会 第 47 回総会 in 晴れの国 岡山 (平成 25 年 9 月 27 日～28 日、川崎医療福祉大学で開催、本研究会理事の矢田範夫氏が大会事務局担当) に全面的な協力

○理事会の開催 (2 回) 第 63 回 (6 月 29 日)、第 64 回 (11 月 30 日) 研究会開催日

○常務理事会の開催 (2 回) 5 月 10 日、10 月 24 日

②平成 24 (2012) 年度 (1 月 1 日～11 月 21 日) の会計収支中間報告: 収入の部として前年度繰越金 476,045 円、会費 66,000 円、賛助会費 270,000 円、寄付金 (倉林 譲先生) 5,000 円、寄付金 (河田哲典先生) 12,707 円、寄付金 (三谷恵一先生) 340 円、日本生物工学会西日本支部協賛金 0 円、郵便貯金利子 33 円となり、収入総額 830,125 円、一方、支出の部として印刷費 (第 28 号会報) 159,978 円、通信費 35,290 円、第 63 回研究会謝金 20,000 円、補助 40,000 円、第 64 回研究会謝金・補助はいずれも 0 円、雑費 15,959 円となり、支出総額は 271,227 円で、残高は 558,898 円。

③平成 25 (2013) 年度の活動計画

○研究会の開催 (2 回): 第 65 回研究会は会員持ち回り会場 6 月 28 日 (金) 13:30:～17:30 (案) 会場: 未定 (平成 25 年 4～5 月開催の拡大常務理事会で検討) 一般講演を中心として特別講演 1 題などを企画する予定。第 66 回研究会は 11 月 29 日 (金) 13:30～17:30 公共施設 (案) で、特別講演・賛助会員による講演など計 3～4 題、懇親会を企画する。

○会報第 29 号の発行 (3 月)、会員への送付 (4 月)、第 30 号の編集を行う。

○岡山大学学術成果リポジトリ等へのコンテンツ登録および公開 (継続)

○文献情報誌「医学中央雑誌」「科学技術振興機構 JST」への会報寄贈・データベース収録

○ホームページの更なる充実

○会員の拡大

○日本実験動物技術者協会 第 47 回総会 in 晴れの国 岡山 (平成 25 年 9 月 27 日～28 日、川崎医療福祉大学) に全面的な協力

○理事会の開催 (2 回) 第 65 回、第 66 回研究会開催日

○常務理事会の開催 (2 回) 4 月下旬～5 月上旬、10

月上・中旬予定

○日本実験動物学会・地区研究会などとの連携・協力、情報交換

第2回理事会以降の活動と会計報告

今年1月初めに本研究会の名誉会員、三谷恵一先生へ表彰状が贈られた。会報第29号の原稿依頼、編集作業を行い、3月上旬に印刷所へ製本を依頼した。

荒川健佑氏(岡山大・大学院環境生命科学研究所)が3月に入会された。

前頁記載の第2回理事会の会計収支中間報告に追加、変更のあった項目と金額のみを下記に示す。

会費 71,000 円で、収入総額は 835,125 円となった。一方、通信費 42,970 円、第 64 回研究会の謝金 60,000 円、補助 100,112 円、雑費 21,137 円となり、支出総額は 444,197 円となり、残高は 390,928 円となった。

今年に入って、平成 24 年度の会計収支報告が作成された。平成 25(2013)年 3 月 8 日に監事の高橋純夫先生、菊永茂司先生により会計監査を受けた。