

研究会だより

第71回岡山実験動物研究会例会

平成28年6月25日(土)午後1時30分から午後5時40分まで就実大学図書館5階A Vホールで工藤季之先生・古林呂之先生(就実大薬学部)のお世話で開催された。

この日は土曜日で、さらに天候が心配されたが、受付で記帳された参加者数は34名であった。

国枝哲夫会長による開会のあいさつの後、一般講演が行われた。一般講演1は「ラット脳下垂体隆起部の新規生理機能の探索」と題して相澤清香先生ら(岡山大院自然科学研究科生物科学専攻・埼玉大院理工学研究科生命科学系専攻)が講演され、司会は松山 誠先生(重井医学研究所分子遺伝部門)が担当された。

一般講演2は「マウス子宮内膜におけるTGF- β 遺伝子の発現制御」と題して吉田すみれさんら(岡山大院自然科学研究科)が講演され、司会は目加田和之先生(岡山理科大学)が担当された。

一般講演3「カフェインによる鼻炎抑制作用について」と題して辻本まどかさんら(ノートルダム清心女子大人間生活学部食品栄養学科・岡山大院医歯薬学総合研究科)が講演され、司会は目加田和之先生が続けて担当された。

一般講演4は「ウシ精巣からの精原幹細胞採取の試み」と題して永原知樹氏ら(岡山大院環境生命科学研究科)が講演され、一般講演5は「ブタ卵母細胞中のミトコンドリア細胞内分布の変化」と題して、葛原大貴氏ら(岡山大院環境生命科学研究科)が講演され、2題の司会は工藤季之先生(就実大薬学部)が担当された。

一般講演5が終了した後、休憩を取った。

その後、事務局から会務報告があった。なお、会務報告は平成28年度第1回理事会の記載内容(55~56頁)を参照下さい。

会務報告後、特別講演1に移った。

特別講演1は「ラットを用いた薬物の経鼻吸収実験と吸収動態解析」と題して古林呂之先生(就実大薬学部薬物動態学研究室)が講演され、司会は林 泰資先生(ノートルダム清心女子大院人間生活学研究科)が担当された。

特別講演2は「ニワトリの食欲調節機構に関するこれまでの研究と今後の展望」と題して本田和久先生(神戸大院農学研究科)が講演され、司会は竹内 栄先生(岡山大院自然科学研究科)が担当された。



本研究会 HP より引用

上段左より 相澤先生、吉田氏、辻本氏
下段左より 永原氏、葛原氏、古林先生、
本田先生

その後、就実大学V館地下カフェテリアに会場を移して懇親会が持たれた。はじめに、国枝哲夫会長のあいさつがあった後、名誉会員の倉林譲先生から乾杯のご発声があり、講師、参加者、会員相互の親睦、交流を深めた。閉会のあいさつは平成27年3月に就実大学を定年退職され、就実大学名誉教授の須藤鎮世先生がなされた。研究会例会及び懇親会は世話役の工藤季之先生・古林呂之先生並びに学生さんのご協力で、無事執り行うことができた。

なお、閉会のあいさつをされた須藤先生は平成19年11月30日(金)、ピュアリティまきびで開催された第54回研究会で「性決定機構・性判別の研究から出発して ~マウス、トゲネズミ、ウシ等に関するトピックス~」と題して特別講演をなされており、その要旨は会報第25号12-19頁(平成21年3月発行)に掲載されている。

一般講演1

ラット脳下垂体隆起部の新規生理機能の探索

相澤清香¹、坂井田初季²、坂田一郎²、坂井貴文²、御輿真穂¹、竹内栄¹、高橋純夫¹
¹ 岡山大学大学院自然科学研究科生物科学専攻、² 埼玉大学大学院理工学研究科生命科学系専攻

哺乳類の脳下垂体は、神経性下垂体の後葉と腺性下垂体の前葉、中葉、そして隆起部から構成される。隆起部は、下垂体前葉が口吻側へ伸び、正中隆起の下を覆うようにして存在する薄い細胞層である。本研究では隆起部の生理的役割を明らかにすることを目標としているが、隆起部は非常に微小な組織であるため研究が行い難く、いまだその生理機能が明らかになって

いない。隆起部にはメラトニン受容体が高発現していることが古くから知られており、さらには生物時計を作り出す時計遺伝子の発現に日内リズムが認められ、それは光環境の変化に依存することから、隆起部は外部環境の日周的、季節的なメッセージを生体内へ仲介する重要な役割をもつのではないかと考えられてきた。また実験動物として用いているラットの隆起部は甲状腺刺激ホルモン産生細胞と濾胞星状細胞から構成されることが古くより知られている。

我々のこれまでの検討により、隆起部における甲状腺刺激ホルモン発現には日内リズムが見られ、それは暗期に松果体より分泌されるメラトニンにより抑制的に制御されることで形成されていることを明らかにした。さらに隆起部の甲状腺刺激ホルモン産生細胞は、甲状腺刺激ホルモンだけでなく、ペプチドホルモンであるニューロメジンUも高発現しており、明期に高く暗期に低くなる日内リズムを示すことを明らかにした。また、レーザーマイクロダイセクションを用いて隆起部を回収しマイクロアレイ解析をしたところ、その他にも多くの因子を産生している可能性が示唆された。隆起部は解剖学的に脳底に位置し、直接に脳脊髄液に接している。そのため、これら隆起部で産生される甲状腺刺激ホルモン、ニューロメジンUなどといった因子は、直接に脳脊髄液中に放出され、脳に作用している可能性を考えている。

一般講演 2

マウス子宮内膜における TGF- β 遺伝子の発現制御

吉田すみれ, 相澤清香, 御輿真穂, 竹内 栄
高橋純夫
岡山大学大学院自然科学研究科

[研究背景・目的] マウスの子宮内膜は単層の上皮細胞と多層の間質細胞によって構成されている。子宮内膜上皮細胞と間質細胞の増殖は、発情周期(排卵周期)に伴い変動している。子宮内膜間質細胞の増殖は卵巣ステロイドホルモンである Estradiol-17 β (E2) と Progesterone (P4) によって協調的に促進されるが、その詳細なメカニズムは不明である。そこで、培養した子宮内膜間質細胞の増殖を促進することが本研究室で明らかになっている TGF- β s (トランスフォーミング成長因子- β s) に注目した。本研究では、E2 や P4 を投与したマウスの子宮内膜細胞における TGF- β 遺伝子の発現変化を解析することによって、

子宮内膜間質細胞の増殖メカニズムの解明を試みた。

[方法]はじめに子宮における TGF- β の mRNA 発現変化を明らかにするため、E2 や P4 を投与したマウスの子宮における TGF- β s の mRNA 発現を Real-Time PCR によって解析した。次に、子宮内膜間質細胞特異的な TGF- β s の mRNA 発現変化を明らかにするため、培養した間質細胞に E2 や P4 を投与し、TGF- β s の mRNA 発現を解析した。

[結果] 子宮に発現する TGF- β ファミリーである TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 のうち、ホルモン投与により子宮において mRNA 発現が増加したのは TGF- β 1 と TGF- β 2 であった。さらに TGF- β 2 の mRNA は、培養した子宮内膜間質細胞においてもホルモン投与により増加した。両実験における TGF- β 2 の mRNA は E2 単独投与、E2 及び P4 投与により有意に増加し、E2 単独投与のとき最も増加した。

[考察] 本実験から、E2 や P4 による子宮内膜細胞の増殖制御を担う因子は TGF- β 2 である可能性が強く示された。先行研究より、子宮内膜間質細胞の増殖は E2 と P4 によって促進されるが、E2 のみによっては促進されない。しかしながら本実験において、子宮内膜間質細胞の増殖促進効果を持つ TGF- β 2 の mRNA は、E2 単独投与によって最も増加した。これらの結果から、TGF- β 2 が子宮内膜間質細胞の増殖促進に関与していることに加えて、子宮内膜における TGF- β 2 の作用発現には P4 が必要であることが示唆された。

一般講演 3

カフェインによる鼻炎抑制作用について

辻本まどか¹, 佐伯綾希子¹, 城山明花¹,
春名香里¹, 秀浦麻友¹, 北村弥生¹,
杉本幸雄², 白神俊幸¹, 林 泰資¹

¹ノートルダム清心女子大学・人間生活学部・食品栄養学科, ²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系)

【目的】コーヒーや緑茶の主成分であるカフェインは抗アレルギー作用を有し、この作用はマスト細胞からのヒスタミン遊離抑制作用などに基づくことが報告されている。最近我々は、コーヒー成分の機能性を研究する中で、カフェインが卵白アルブミンによって感作した鼻炎モデルマウスのアレルギー症状を抑制することを観察した。カフェインは、マスト細胞への作用のほかに幾つかの薬理作用を有することから、本研究ではカフェインの鼻炎抑制作用について、新たな作用機序を検索することを試み

た。このために、ヒスタミン誘発鼻炎モデルマウスを作製し、中枢興奮薬としてのカフェインの作用に着目して検討した。

【方法】6週齢のBALB/c系雌性マウスを使用した。生理食塩水に溶解したヒスタミンをマウスに点鼻し、ヒスタミン誘発鼻炎モデルマウス作製のためのヒスタミン投与量を決定した。カフェインは、生理食塩水に溶解して腹腔内投与あるいは点鼻投与した。60分後にヒスタミンを点鼻投与して、くしゃみと鼻かき回数を観察した。また、カフェイン投与から60分後にマウスを断頭し、血漿を採取した。血漿中のコルチコステロンとアドレナリン・ノルアドレナリン濃度を、それぞれ、EIAキットとHPLC-ECDを用いて測定した。

【結果と考察】ヒスタミン点鼻量の検討の結果、本研究では1 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$ のヒスタミン溶液2 μl を鼻炎モデルマウス作製に使用した。カフェインを腹腔内投与すると、ヒスタミン点鼻による鼻かきとくしゃみ回数は減少した。しかし、カフェインを点鼻投与した場合は、鼻炎症状に効果を示さなかった。一方、カフェインの腹腔内投与は、血漿中のコルチコステロンおよびアドレナリン・ノルアドレナリン濃度を増加させた。これらのホルモンは、抗アレルギー作用を示すことから、カフェインの鼻炎抑制作用にはマスト細胞への作用のほか、これらのストレス関連ホルモンの関与が考えられる。

一般講演 4

ウシ精巣からの精原幹細胞採取の試み

永原知樹、若井拓哉、舟橋弘晃
岡山大学大学院環境生命科学研究科

【目的】精原幹細胞は、精子形成を半永久的に遂行するために必要不可欠な細胞であり、未分化な精原細胞中に混在しており、自己複製能および精原細胞への分化能を合わせて持っている。また、精原幹細胞の胚盤胞内への注入によって、生殖系列キメラを産生することが可能であることが報告されており、ES細胞が未樹立の家畜種で特異的遺伝子ノックアウト個体作出への適用が期待されている。しかし、精巣中の精原幹細胞の割合は0.02~0.03%と極めて少ないことが推定されており、精巣から効率よく精原幹細胞を単離する手法の確立が課題となっている。そこで本研究では、ウシ精巣から精原幹細胞を効率良く採取する方法の検討を行った。

【方法】精巣は4~6ヶ月齢の雄ウシから採取した。採取した精巣は白被膜を除去後に精細

管を細切し、各種酵素(1 mg/ml collagenase、1 mg/ml hyaluronidase、1 mg/ml trypsin、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DNase)処理を行った。得られた細胞懸濁液を70 μm 径及び40 μm 径のフィルターを用いてろ過分離後に、Differential Plating (DP)による体細胞除去処理を行い、不連続密度勾配遠心法(Percoll法)によって精原細胞を濃縮した。実験1:酵素処理液へのhyaluronidase添加が精原細胞濃縮前の生存細胞数に及ぼす影響を検討した。実験2:hyaluronidaseを含む酵素懸濁液での処理後、異なる濃度勾配(A 20%/28%/40%の3段階:B 20%/28%/30%/40%の4段階)を用いたPercoll法が生存精原細胞の採取効率に及ぼす影響について検討した。精原細胞の生存はTrypan Blue染色により評価した。実験3:実験1及び2で検討した条件下で分離した精原細胞を未分化マーカーであるOct-3/4の発現に対して同抗体を用いて免疫蛍光染色を行い、採取した精原細胞中のOct-3/4陽性細胞の含有率を調べた。

【結果】実験1:hyaluronidase添加区の生存細胞数($9.72 \pm 1.51 \times 10^5$ cells/ml)は、無添加区のそれ($4.33 \pm 0.32 \times 10^5$ cells/ml)より有意に高かった($P < 0.05$)。実験2:Percollの濃度勾配A法の28/40%分画から $2.48 \pm 0.80 \times 10^3$ cells/ml、B法の28/30%分画および30/40%分画からそれぞれ $3.82 \pm 0.64 \times 10^3$ cells/mlおよび $1.78 \pm 0.62 \times 10^3$ cells/mlの生存精原細胞を回収することができたが、A法とB法での生存精原細胞採取効率に有意な差はなかった($P > 0.05$)。実験3:採取した生存精原細胞中に占めるOct-3/4陽性細胞率は、hyaluronidaseを含む酵素処理後に $8.7 \pm 1.1\%$ であったのに対して、DPによる体細胞除去処理後には $14.7 \pm 4.5\%$ 、Percoll法による濃縮分離後にはB法の28/30%分画で $75.5 \pm 5.8\%$ および30/40%分画で $50.8 \pm 12.5\%$ であった。

以上の結果から、若齢ウシ由来の精細管を細切して得た懸濁液をhyaluronidase含有酵素混和液にて処理後に、DPによる体細胞除去処理を行い、更に4段階(20%/28%/30%/40%)のPercoll法による濃縮分離を実施することによって、未分化精原細胞を効率よく採取できることが明らかになった。今後は、Oct-3/4だけでなく精原幹細胞特有の抗体も用いてさらなる同定とこれらによって得られた精原幹細胞の継代培養系の確立を目指す予定である。

一般講演 5

ブタ卵母細胞中のミトコンドリア細胞内分布の変化

葛原大貴、若井拓哉、舟橋弘晃
岡山大学大学院環境生命科学研究科

【目的】哺乳動物胚の体外生産には、主に直径 3-6 mm の中卵胞 (MF) 由来卵丘細胞-卵母細胞複合体 (COCs) が用いられる。しかし卵巣中には、直径 3 mm 未満の小卵胞 (SF) がより多く存在するものの、それら由来 COCs 中の卵母細胞の体外成熟 (IVM) 能は、MF 由来のそれらより低いことが知られている。哺乳動物の健全な卵成熟には、卵核胞期 (GV 期) から第二減数分裂中期 (MII 期) への減数分裂の進行 (核成熟) と、それに同調して起こる細胞質の変化 (細胞質成熟) が必要である。しかし、それらは独立した事象であることが示されており、核成熟が完了しても、細胞質成熟が不完全な場合、十分な発生能が得られないことが知られている。細胞質成熟は、細胞小器官の局在・機能変化を伴い、特にエネルギー生産に関わるミトコンドリアの変化は重要であると考えられる。本研究では、細胞質成熟との関連から、異なる直径の卵胞に由来する卵母細胞中のミトコンドリアが IVM 前後でその局在をどのように変化させるかを観察した。

【材料および方法】屠場由来ブタ卵巣表層の MF および SF から採取した COCs を実験に使用した。GV 期卵母細胞は採卵直後のものを、MII 期卵母細胞は 44 時間の IVM 培養後に第 1 極体の放出を確認したものを実験に供した。卵母細胞周囲の卵丘細胞と透明帯を除去し、卵母細胞のミトコンドリア及び DNA をそれぞれ MitoTracker Green-FM と Hoechst 33342 で染色後、共焦点レーザー走査型蛍光顕微鏡下で観察した。

【結果】卵母細胞質のミトコンドリアの局在は、4 つのパターンに分類できた (I ; 細胞膜直下のみに分布、II ; 細胞膜周辺に分布、III ; 細胞膜周辺に偏在、IV ; 細胞質全体に分布)。COCs 採取直後の SF 由来 GV 期卵母細胞では、パターン I に分類される割合 (31.6 ± 12.8%) が MF 由来卵母細胞のそれ (56.7 ± 23.3%) に比べ有意に低かった ($P < 0.05$)。また、パターン III に分類された SF 由来卵母細胞の割合 (34.6 ± 3.1%) が MF 由来のそれら (15.0 ± 7.9%) より有意に高かった ($P < 0.05$)。この時期には、パターン IV のミトコンドリア局在を示す卵は観察されなかった。IVM 培養後の MII 期卵母細胞では、パターン I、II、IV で、MF 及び SF 由来卵間に有意差は認められなかったが、パターン III に分類された SF 由来成熟卵母細胞の割合 (28.3

± 8.2%) が MF 由来卵のそれ (40.0 ± 10.5%) よりも有意に低かった ($P < 0.05$)。MF 由来成熟卵母細胞の多く (43.7 ± 8.7%) は、パターン II に局在していた。

以上の結果から、MF 由来卵母細胞と SF 由来卵母細胞のミトコンドリア細胞内局在には大きな隔たりがあることが明らかになった。また、MF 由来卵母細胞が SF 由来卵母細胞より高い成熟能及び受精後の初期発生能を示すことから、GV 期卵母細胞では、細胞膜直下にミトコンドリアが局在し、MII 期には細胞膜周辺に局在することが重要と考えられる。今後、卵細胞質内ミトコンドリアの局在を指標にした IVM 培養系の改良が、卵母細胞の細胞質成熟を更に促進し、体外受精卵由来の産仔生産効率を高めることが期待される。

特別講演 1

ラットを用いた薬物の経鼻吸収実験と 吸収動態解析

古林呂之

就実大学 薬学部薬学科

鼻腔粘膜の表面積は三つの鼻甲介により拡大されており、呼吸の際、外部から吸気する空気は鼻甲介に接触することで体温の 75% 程度まで加温される。これは、鼻粘膜下に毛細血管網が発達しているが故の機能であるが、この豊富な血流は薬物吸収にとっても好条件となっている。さらに鼻粘膜から吸収された薬物は消化管及び門脈を介さずに全身循環血中に移行するため初回通過効果を受けやすい薬物の投与部位として、また、比較的分子量の大きな薬物についても良好な吸収を示すことからペプチド性医薬品などの投与部位として注目されてきた。鼻腔への投与は注射のように投与時の痛みを伴わず、投与自体が簡便なことから、要介護患者や嚥下困難な高齢患者及び消化器疾患等で経口摂取できない患者に対して介護者による投与が可能であり、患者の QOL 改善を考える上でも有用な投与方法である。

鼻粘膜上皮層は、多数の繊毛を有する繊毛細胞、繊毛を持たない非繊毛細胞、粘液を分泌する杯細胞などから構成され、鼻粘膜表面は杯細胞から分泌される糖タンパク質 (ムチン) を含有する粘液層で覆われている。この粘液層は、繊毛細胞の繊毛が周期的に繰り返す前後運動を駆動として外鼻孔から咽頭方向に移動する。繊毛細胞による粘液層の移動は mucociliary clearance (MC) と呼ばれ、鼻腔内に侵入した病原体や花粉などのアレルゲン、埃などを咽頭から消化管へ移行させる、あるいは痰として排

平成 28 年 12 月 9 日(金)午後 1 時 30 分から午後 5 時 40 分まで加計学園 50 周年記念ホール(岡山理科大学)で愛甲博美先生、目加田和之先生のお世話で開催された。

受付で記帳された参加者数は学生諸氏を含めて 48 名であった。今回は特別講演 1 に愛甲博美先生の授業の受講者(一年次学生) 50 名が参加された。

会長の国枝哲夫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 1 は「腸内フローラ研究におけるノトバイオオート技術の貢献と進展」と題して森田英利先生(岡山大学院環境生命科学研究科・動物応用微生物学)が講演された。司会は理事の山下広美先生(岡山県立大・保健福祉学部・栄養学科)が担当された。

特別講演 1 終了後、15 分間の休憩を取った。その後、会長から会務報告があった。その詳細は平成 28 年度第 2 回理事会(56~58 頁)の記載内容をご覧ください。続いて、中四国地区動物実験施設連絡協議会世話人の樫木勝巳先生(本研究会理事)から 12 月 16 日(金)に岡山大学自然科学生命科学研究支援センター動物資源部門鹿田施設 1 階多目的研修室で開催される中四国地区動物実験施設連絡協議会の開催趣旨や企画内容などについて紹介があった。

その後、特別講演 2 が行われた。「遺伝子改変マウスを利用した生体内間葉系幹細胞の階層性の理解」と題して宝田剛志先生(岡山大学院医歯薬学総合研究科・組織機能修復学分野)が講演された。司会は常務理事の安藤元紀先生(岡山大学院教育学研究科・細胞生理学研究室)が担当された。



本研究会 HP より引用

上段左より 国枝会長、森田先生、宝田先生、織田先生、中段 会場の聴講者
下段の左右 例会後の懇親会で織田先生と...
下段中央 国枝会長から織田先生への花束贈呈

記念講演は「ミュータント系実験動物育種と野生動物の実験動物化」と題して元岡山実験動物研究会会長の織田銃一先生(元岡山理科大学教授)が講演された。司会は会長の国枝哲夫先生(岡山大学院環境生命科学研究科・動物遺伝学)が担当された。講演終了後、国枝会長から織田先生に花束が贈呈された。

その後、岡山市内の素晴らしい夜景が見渡せる岡山理科大学 A2 号館 8 号館ラウンジに会場を移して懇親会が持たれた。はじめに、国枝哲夫会長からあいさつと乾杯の発声があり、講師、参加者、会員相互の親睦、交流を深めた。閉会のあいさつは前会長で記念講演をされた織田銃一先生がなされた。研究会例会、懇親会ともに岡山理科大学の教職員、学生諸氏の皆様方のご協力、ご参加をいただいたお蔭で、盛会のうちに行うことができた。

特別講演 1

腸内フローラ研究におけるノトバイオオート技術の貢献と進展

森田英利

岡山大学大学院環境生命科学研究科
動物応用微生物学

SPF (Specific Pathogen Free) あるいはコンベンショナルな環境下で飼育された実験動物を用いた研究により偉大で有益な成果が報告されてきた。一方、常在細菌がフローラを形成しているマウスでは、経口投与した細菌(細菌フローラ)が定着しなかったり、経口投与した細菌(細菌フローラ)のみの影響かどうかを判定することが困難な場合があるため、腸内フローラ研究における大きな障害となっていた。ノトバイオオートマウスとは無菌(Germ-free)マウスにアイソレータの中で特定の細菌のみを植菌し細菌フローラをもつマウスであるが、ノトバイオオートマウスを用いることで、生体に対する腸内フローラの影響に関する研究が蓄積してきた。

本講演では、演者が関与しノトバイオオートマウスを用いた下記の研究成果について紹介する。

①プロバイオティクス乳酸菌のつくる抗菌物質ロイテリンの *in vivo* 検出¹⁾

Lactobacillus reuteri JCM 1112 の全ゲノムを解析し本菌株のもつロイテリンの産生経路を明らかにした上で、無菌マウスに、ロイテリンの産生遺伝子破壊株と親株をそれぞれ経口投与した。それらの盲腸内容物から NMR 法によりロイテリンを *in vivo* 検出した。

- ②腸管出血性大腸菌 0157 による腸管バリア機能増強による感染防御²⁾

Bifidobacterium の比較ゲノム解析から 0157 感染防御に関する遺伝子群を推定した。その遺伝子破壊株によるノトバイオームマウスを作出し、0157 感染防御と酢酸の関与を認めた。

- ③17 菌株のヒト腸内細菌による制御性 T (Treg) 細胞の形成³⁾

ヒト腸内フローラを経口投与したノトバイオームマウスを用いた実験により、生体における Treg 細胞の形成にヒト腸内細菌叢の 17 菌株が関与していることを確認した。

- ④17 型ヘルパーT (Th17) 細胞がヒト腸内細菌によって誘導されるメカニズム⁴⁾

生体での Th17 細胞の形成には、細菌の腸管接着による刺激が必須条件であることを、ノトバイオームマウスを用いた研究により明らかにした。

【文献】

- 1) Morita H, Toh H, Hattori M *et al*, Comparative genome analysis of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum* reveal a genomic island for reuterin and cobalamin production, *DNA Research*, **15**: 151-161 (2008).
- 2) Fukuda S, Morita H, Ohno H *et al*, Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate, *Nature*, **469**: 543-547 (2011).
- 3) Atarashi K, Morita H, Honda K *et al*, Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature*, **500**: 232-236 (2013).
- 4) Atarashi K, Morita H, Honda K *et al*, Th17 cell induction by adhesion of microbes to intestinal epithelial cells, *Cell*, **163**: 367-380 (2015).

特別講演 2

遺伝子改変マウスを利用した生体内間葉系幹細胞の階層性の理解

宝田剛志

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
組織機能修復学分野

組織幹細胞の階層性 (hierarchy) や系譜 (lineage) の分子理解は、組織の形成/恒常性維

持、その破綻による病態を理解することや、ES/iPS 細胞を利用した目的細胞に向けての適切な分化誘導技術の構築に必須である。間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell, MSC) は、間葉系細胞(骨、軟骨、脂肪組織)を構成する細胞への多分化能を有する組織幹細胞である。従来の MSC 研究では、骨髄や脂肪組織等から回収した細胞を培養皿上にて増殖させ、その細胞を MSC として研究に使用している。この実験系では、生体内の MSC の性質が再現しているとは言い難く、MSC の個体レベル (*in vivo*) での性質の多くは謎に包まれている。つまり、MSC からの各分化細胞への階層性/系譜の分子的理解は、造血幹細胞のそれとは異なり、ほとんど進んでいないと言える。この現状では、間葉系組織の再生医療や、間葉系組織の恒常性破綻による病態を真に理解することは難しい。

生体の MSC を理解するには、MSC にて決定的に必須な因子を人為的に個体レベルで操作する技術が必要である。私達は、MSC での骨芽細胞分化に必須の因子である Runx2 (Runt-related transcription factor-2) に注目した。Runx2 全身性欠損マウスでは、間葉系組織である骨が全く形成されず、出生後まもなく死亡する。つまり、特定の細胞にて Runx2 遺伝子を欠損させることのできるマウスを開発すれば、どのような MSC が骨を形成するのに必須なのかを個体レベルで調べることができると考え、Cre/loxP システムを利用した Runx2^{lox} マウスを独自に開発した。同マウスでの遺伝学的解析とフローサイトメトリー改正を組み合わせた解析結果から、Prx1 と Scal が共陽性な MSC が最も幹細胞性の高い MSC であり、まず Scal 陰性となり、次に Prx1 陰性な Osterix 陽性細胞となり、そして成熟した骨芽細胞となる、という骨形成への分化過程の詳細を明らかにした。また、Prx1⁺Scal⁺ 細胞から Prx1⁺Scal⁺Osx⁺ 細胞になる段階までの間に、Runx2 が骨形成のうえで必須の働きを持つことが分かった。つまり、「生体内」での MSC 細胞生物学的な特徴(どのような MSC が、どのような系列をたどり、どのような細胞となり、どのような機能を有するのか)の一端が見えてきた。本講演では「間葉系幹細胞」を題材として、幹細胞の階層性/系譜の分子理解、その知見を踏まえた創薬・再生医療への展望について紹介したい。

記念講演

ミュータント系実験動物育種と野生動物の実験動物化

織田 銑一

科大学)で開催された。

1. 平成 28(2016)年度の活動報告と活動計画
①研究会の開催(2回) 第 71 回例会(会員持ち回り会場)は 6 月 25 日(土)13:30~17:40、就実大学図書館 5 階 AV ホールで工藤季之先生・古林呂之先生のお世話で開催された。一般講演 5 題・特別講演 2 題・懇親会が企画された。第 72 回例会は 12 月 9 日(金)13:30~17:40、加計学園 50 周年記念館ホール(岡山理科大学)で愛甲博美先生・目加田和之先生のお世話で開催され、特別講演 2 題、記念講演 1 題・懇親会が企画されている。

②研究会報第 32 号の発行と第 33 号の編集

第 32 号の岡山大学学術成果リポジリー等へのコンテンツ登録及び公開、文献情報誌の医中誌刊行会、JST 知識基盤情報部への贈呈(5月)、第 33 号の編集、平成 29 年 4 月発行予定、記念講演・特別講演要旨、寄稿、施設めぐり、参考資料、賛助会員による広告などの原稿募集、施設めぐりは岐阜大学生命科学総合研究支援センターの二上英樹先生に原稿を依頼。

③投稿規定の改正

現行: 8. 会報の発行予定月は 9 月の年 1 回とし、6 月末日を原稿提出の締切とする。
改正案: 8. 会報の発行予定月は 4 月の年 1 回とし、1 月末日を原稿提出の締切とする。

④会員の異動(6月24日~12月8日)

入会: 宝田剛志氏(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・組織機能修復学分野)
河邊憲司氏(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・組織機能修復学分野)
退会: 河本泰生氏(元岡山大学農学部)
坂口 英氏(岡山大学名誉教授・元岡山大学農学部)
清水憲二氏(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・分子遺伝学分野)
高橋正侑氏(ノートルダム清心女子大学名誉教授)
山本敏男氏(岡山大学名誉教授・元歯学部教授)
渡辺良弘氏(高塚ライフサイエンス(株))

⑤次期(平成 29 年~30 年度)役員を選任

次期役員を選任については下記の会則に則って行い、平成 28 年度第 2 回拡大常務理事会(10 月 26 日)及び第 2 回理事会(12 月 9 日)で討議がなされた。その結果、役員のお多くは留任となったが、常務理事の山本敏男氏は退職・退会のため退任されることになり、監事の高橋純夫氏も退任のご希望が出された。

高橋氏の後任については、理事の互選によ

り選出される予定である。新たに理事として竹内 栄氏及び常務理事に安藤元紀氏が選出された。

会則

第 6 条(役員): 本会に次の役員をおく。

1. 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)
2. 監事 2 名
3. 評議員 若干名

第 7 条(役員を選任): 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(役員の任期): 本会の役員の任期は 2 年とし、再選は妨げない。

平成 29~30 年度 岡山実験動物研究会役員

会 長

国枝哲夫(岡山大・大学院環境生命科学研究所・動物遺伝学・教授)

理 事

愛甲博美(岡山理科大・理学部・動物学科・教授)

石井 猛(岡山理科大・工学部・教授)

工藤季之(就実大・薬学部・薬学科・准教授)

紅林淳一(川崎医科大・中央研究センター・医用生物研究ユニット・ユニット長)

嶋村三智也(株クラレ・くらしき研究センター・構造・物性研究所・主管)

竹内 栄(岡山大・大学院自然科学研究科・生体統御学分野・教授)

松山 誠(重井医学研究所・分子遺伝部門・室長)

樫木勝巳(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・教授)

山下光治(株エイチ・エス・ピー・取締役・研究開発部長)

山下広美(岡山県立大・保健福祉学部・栄養学科・教授)

常務理事

秋山耕陽(岡山大・自然生命科学研究支援センター・動物資源部門津島南施設・助教)

安藤元紀(岡山大・大学院教育学研究科・細胞生理学研究室・教授)

河田哲典(岡山大・大学院教育学研究科・家政教育講座・教授)

杉本幸雄(岡山大・大学院医歯薬学総合研究科・国際共同創薬基盤センター・准教授)

内藤一郎(今治明德短期大学・ライフデザイン学科・教授)

古本佳代(倉敷芸術科学大・生命科学部・生命動物科学科・准教授)

三上崇徳(川崎医科大・中央研究部・中央研究

センター・技術員)

目加田和之(岡山理科大学・理学部・動物学科・准教授)

矢田範夫(岡山大・自然科学研究支援センター・動物資源部門・技術専門職員)

監事

林 泰資(ノートルダム清心女子大・大学院人間生活学研究科・教授)

⑥第 71 回研究会例会の開催案内及び参考資料「地区研究会の活動紹介」の別刷りを日本実験動物学会・中四国の動物実験施設の関係者、各地区研究会に配付し、例会への参加を呼びかけた。第 72 回研究会例会及び第二回中四国地区動物実験施設連絡協議会開催の案内についても県内の大学、中四国の動物実験施設の関係者に配布した。上記の研究会例会、連絡協議会の開催案内や企画内容については HP に掲載した。

⑧理事会・常務理事会の開催(各 2 回)

理事会 6 月 25 日(土)、12 月 9 日(金)

常務理事会 4 月 27 日(水、10 月 26 日(水))

⑨その他

公私立大学実験動物施設協議会(公私動協)の加入大学(新規入会)(2016 年)

○ノートルダム清心女子大学 8 月 10 日付

○美作大学・美作大学短期大学部動物実験室 8 月 23 日付

2. 平成 28(2016)年度の会計収支中間報告

1 月 1 日～12 月 7 日までの会計収支中間報告は収入の部として前年度繰越金 464,790 円、会費(50 人 104 口)104,000 円、賛助会費 8 社)240,000 円、寄付金 0 円、郵便貯金利子 13 円、収入総額は 808,803 円となり、一方、支出の部として、印刷費(第 32 号会報)171,990 円、通信費 57,168 円、第 71 回例会謝金 20,000 円、補助 55,000 円、第 72 回例会謝金・補助 0 円、雑費 3,306 円、支出総額 307,464 円で、残高は 501,339 円である。なお、雑費の内訳は振替手数料(8 社)940 円、収入印紙(7 枚)1,400 円、振替用紙印字サービス 452 円、振替受払通知票再発行料 514 円である。

3. 平成 29(2017)年度の活動計画

①研究会例会の開催(2 回) 第 73 回例会(会員持ち回り会場)は 7 月 7 日(金) 13:30～17:40 まで岡山大学農学部講義室(予定)で松山 誠先生(重井医学研究所)のお世話で開催を予定。一般講演を中心として、特別講演、懇親会などを企画する。

第 74 回例会は 12 月 1 日(金)又は 8 日(金)を候補日とし、岡山理科大学で愛甲博美先生、

目加田和之先生のお世話で開催を予定している。特別講演、記念講演、懇親会などを企画する。

②研究会報第 33 号の発行・送付及び第 34 号の編集 原稿提出の締切は平成 29 年 1 月末日。

③会員の拡大

④学生、院生、若手の研究者・技術者が研究発表できる機会を作る。

⑤ホームページの維持・充実

⑥近隣大学・動物実験施設、関連学会、地区研究会などとの連携協力、情報交換

⑦理事会・常務理事会の開催(各 2 回)

第 72 回研究会例会以降の活動報告

特別講演、記念講演の講師の先生方に講演要旨を依頼し、また会員にも寄稿を依頼した。施設めぐりについては岐阜大学の二上英樹先生に寄稿の依頼をした。参考資料「地区研究会の活動紹介」の作成のために、HP にまだ掲載されていない企画内容などについては事務局に問合せを行い、返答をいただいた。

第 73 回例会は松山 誠先生(重井医学研究所)のお世話で平成 28 年 7 月 7 日(金)に開催されることが決まった。会場の都合により岡山大学農学部の講義室で行うことを予定している。また、例会後の懇親会会場を予約した。

第 74 回例会の会場予約は岡山理科大学の目方和之先生にお願いしたが、すでに会場の先約があったため、12 月上旬の開催ができず、11 月 17 日(金)に加計学園 50 周年記念ホール(岡山理科大学)で開催することになった。

2 月 8 日開催の常務理事会(メール会議)で、監事の高橋純夫氏の後任として常務理事の河田哲典氏が推挙、選任された。平成 29 年～30 年の岡山実験動物研究会役員については、本会報(65 頁)の「組織・会則」をご覧ください。

第 72 回研究会例会以降の会計報告

平成 28(2016)年度の会計中間報告に変化のあった項目と金額のみを下記に示す。収入額は会費(53 人/115 口)115,000 円、寄付金(愛甲博美先生・目加田和之先生)9,000 円で、収入総額は 8,289,803 円、一方、支出額は通信費 58,008 円、第 72 回例会補助 50,000 円、雑費 8,706 円(記念講演の花束代 5,400 円が加算)で、支出総額は 363,704 円となり、残高は 465,099 円となった。前年度とほぼ同額を繰越すことになった。

平成 29(2017)年 1 月 11 日(水)に監事の先生方によって会計監査が行われた。