

実験動物研究施設

教授：嘉糠 洋陸 寄生虫感染と衛生動物学
講師：櫻井 達也 分子寄生虫学

教育・研究概要

I. アフリカトリパノソーマと宿主およびベクターとの相互作用に関する研究

アフリカトリパノソーマ症はツェツェバエ (*Glossina* spp.) によって媒介される人と家畜の致死性の原虫感染症である。アフリカトリパノソーマ原虫は、細胞表面蛋白質の高頻度な抗原変異により宿主の免疫を回避する。このため、アフリカトリパノソーマ症に有効なワクチンは存在しない。原虫の発育ステージ間の細胞分化は、アフリカトリパノソーマ症制御法を開発する上で有望な標的と目されるが、その分子メカニズムは未解明である。我々は全発育ステージの *in vitro* 培養が可能な *Trypanosoma congolense* を用いて、ベクターステージから宿主ステージへの細胞分化の分子メカニズムの解明を目指している。ベクターステージであるメタサイクリック型を分離し、血流型への細胞分化を誘導した。表現型の変化を指標に細胞分化を確認しながら経時的に原虫細胞を回収した後、蛋白質発現の質的・量的な変動を LC-MS/MS を用いて網羅的に解析した。その結果を基に、プロテオミクス統計解析ソフトウェアを用いた解析を実施し、発現に変動が認められた蛋白質をピックアップした。細胞分化の進行に伴い発現量に変化が認められた蛋白質には、鉄イオンの取り込みに関与すると予想される蛋白質やミトコンドリアの電子伝達系に関係すると予想される蛋白質などがあったが、生物機能未知な蛋白質も相当数存在した。今後、これらの局在や生物機能等に関する詳細な解析を実施し、アフリカトリパノソーマ原虫の細胞分化の分子メカニズム解明に向けた研究を展開していく予定である。

II. コモンマーモセットの術後悪心嘔吐に関する研究

コモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) は、霊長類でありながら小型で、繁殖効率もよく高度な社会性をもったユニークな実験動物である。他の動物種同様にマーモセットにおいても多くの実験系で麻酔が必須となるが、マーモセットでは麻酔合併症として導入時および覚醒時にしばしば嘔吐が認められる。こうした半覚醒下での嘔吐は誤嚥性肺炎などの致命的な病態につながるため、確実なコントロール

が必要である。そこでまず我々は、多変量解析によるマーモセットにおける術後悪心嘔吐 (Post Operative Nausea and Vomiting: PONV) のリスク因子の探索を行った。その結果、雌、若年、全身麻酔、Isoflurane の使用、長時間麻酔の 5 項目において、有意な PONV 発症率の増加を認めた。またこれらのリスク因子の重複によっても PONV 発症率は増加した。これらのリスク因子はヒトに類似しており、マーモセットにおける PONV がヒトと類似した機序で起きている可能性が示唆された。現在は機序の異なる数種の制吐剤による嘔吐のコントロール法を検討している。

III. アミノ酸摂取量の調整によるマラリア制御の可能性

マラリアは最も重要な寄生虫感染症の 1 つであり、薬剤耐性株の出現などから新規予防・治療法の確立が強く望まれている。マラリア原虫はアミノ酸合成経路の大部分を欠損しており、増殖に必要なアミノ酸の一部を感染宿主の血漿から得ている。宿主とマラリア原虫との相互作用についての理解を深めるため、我々は宿主の血漿に含まれる遊離アミノ酸の網羅的な組成(血漿アミノグラム)をメインパラメータとし、栄養学的知見に基づくマラリア制御の可能性を検討している。脳性マラリアのモデルマウス C57BL/6J を用いたこれまでの解析から、イソロイシン欠損食の投与による血漿アミノグラムの変化により、脳に寄生する原虫数は変化しないにも関わらず、マウスの生存率が上昇する結果を得ている (=脳性マラリアアトランス)。興味深いことに、Evans blue 法を用いた脳性マラリアの重症度解析において、通常食投与群とイソロイシン欠損食投与群の間で有意な差は認められなかった。しかし、核磁気共鳴画像法を用いた解析から、イソロイシン欠損食の投与は、嗅球におけるマラリア原虫感染赤血球の集積に起因する炎症反応に対して抑制効果を有することを見出した。これらの結果は、アミノ酸を介する脳性マラリア発症機構の存在を示唆するものである。現在はマウスモデルを用いて、イソロイシン欠損状態が宿主血球細胞の形態および脳性マラリアの重症度に与える影響について検討している。

「点検・評価」

1. 施設

実験動物研究施設では、*in vivo* 研究に不可欠な実験動物の飼育管理だけにとどまらず、洗練された動物実験環境の提供を研究者に行い、またさらに動

物実験の立案や手技などに関するコンサルテーションに応じている。2018年度の実験動物研究施設利用登録者は、臨床系19講座、基礎系14講座、総合医科学研究センター15部門等からあわせて806名(2019年3月31日時点)であり、前年度と比べて約50名増加した。この傾向は数年来続いており、本学で実施される医科学研究において、実験動物研究施設の果たす役割と重要性が年々増していることを表していると考えられる。当施設では、本学の研究者が動物実験を行うためのコアファシリティとして、多様化するin vivo研究技術や実験動物種の飼養に対応すると同時に、実験動物福祉の基本理念である3Rsの精神に則って、より少ない動物数で低侵襲的に高機能な解析が実施可能な環境の整備を推し進めている。嘉糠洋陸施設長の指示のもと、櫻井達也講師が中心となって、高性能in vivoイメージング機器群や実験動物用麻酔器等の実験機器の使用環境の整備と動物飼育室・実験室の拡充を推し進め、施設の高機能化を図っている。2018年度は、ユーザーの利便性のさらなる向上のために、動物実験に使用する一般的な消耗品の提供を開始するとともに、実験機器・動物実験室のWeb予約システムを構築した。また、ユーザー対応の充実の一環として、新規施設利用者に対する施設利用説明会(2009年度より開催)を2回、動物実験に不慣れな研究者を対象とした基礎的な動物実験手技の技術講習会(2010年度より開催)を4回開催した。

2. 教育

大学院医学研究科では、共通カリキュラムにおいて実験動物学の講義および動物実験実習を担当したほか、大学院生の要望に応じ各自の研究課題の中で必要な動物実験の計画立案や手技の指導を随時行った。学部教育について、櫻井講師が、コース研究室配属で配属となった2名の医学部生(3年生)を担当し、6週間にわたり実験を実施したほか、コース外国語Ⅲのユニット「医学英語専門文献抄読Ⅰ」でも2名の医学部生(3年生)を担当し、科学論文の読み方、特に構成や特有の英語表現等について解説した。また、医学部生(3年生)を対象としたコース臨床基礎医学のユニット「寄生虫と感染」の講義およびユニット「寄生虫学実習」の一部を担当した。医学生が研究室配属や選択実習において動物実験に関わる機会が増えていることなどから、今後も施設教員が医学科カリキュラムに積極的に参加し、持てる専門知識・能力を発揮することで、引き続き学部教育に貢献していくことが望まれる。

また、当施設専任教員は、獣医学の専門知識を有

する委員として本学動物実験委員会の運営に参画し、動物実験委員長の統轄下に、本学動物実験規程に基づいて行われる動物実験教育訓練および動物実験計画審査の講師・審査員を担当した他、随時、動物実験計画申請者からのコンサルテーションに応じた。

3. 研究

研究概要に示したように、施設教員が各々の専門領域の下で研究活動を展開した。また、施設利用者との共同研究も積極的に行い、学会発表等を行った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Sombié A¹⁾, Saiki E, Yaméogo F¹⁾, Sakurai T, Shirozu T²⁾, Fukumoto S²⁾ (² Obihiro Univ Agriculture Veterinary Med), Sanon A¹⁾, Weetman D³⁾, McCall PJ³⁾ (³ Liverpool Sch Tropical Med), Kanuka H, Badolo A¹⁾ (¹ Université Ouaga 1 JKZ). High frequencies of F1534C and V1016I kdr mutations and association with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Somgandé (Ouagadougou), Burkina Faso. *Trop Med Health* 2019; 47: 2.

III. 学会発表

- 1) 小泉 誠. (口頭) 慈恵医大におけるマーマセットを用いたトランスレーショナル研究の実際. 第4回東京慈恵会医科大学・東京理科大学合同シンポジウム. 東京, 9月.