

新動薬情報

○●2017年度 第4号●○



一般財団法人生物科学安全研究所

RESEARCH INSTITUTE FOR ANIMAL SCIENCE IN BIOCHEMISTRY & TOXICOLOGY

目 次**文献抄訳****【薬物動態】**

猫に経口投与したプラジクアンテルとパモ酸ピランテル合剤の薬物動態・・・・・・・・・・ 1

【感染症】

高ウイルスロード妊娠牛における牛白血病ウイルスの子宮内感染・・・・・・・・・・ 2

家猫のネコヘルペスウイルス1型に対する抗体応答は年齢とともに高まる・・・・・・・・ 3

ピレスロイド系殺虫剤耐性蚊によるマラリアの伝播に対するピペロニルブトキシド処理持続性殺虫蚊帳及び室内長期残留性殺虫スプレーの単独或いは併用の効果：2x2 要因計画クラスタランダム化比較試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4

生野菜サラダ表面における微生物汚染率に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6

【環境影響】

豚糞尿の堆肥化過程での多剤耐性遺伝子及び微生物相の変動に対するクロルテトラサイクリンの影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7

【その他】

セイヨウミツバチの飼料中天然及び合成外因性化学物質に対する行動応答・・・・・・・・ 8

犬の肝胆道系疾患におけるバイオマーカーとしてのマイクロRNA・・・・・・・・・・ 9

3R 戦略の再考：AnimalTestInfo 情報の深い考察は *in vivo* 生体医学研究の透明性を高める・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11

ペルフルオロアルキル化合物と減量食事制限に対応した体重変化及び安静時代謝率との関係を調べた前向き研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12

臍組織の脱細胞化のための自動凍結融解サイクルーパイロット試験・・・・・・・・・・ 12

トピックス

卵殻のナノ構造を明らかにする・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14

国民全体の健康度をあげたい？ 健康管理にかけられるお金を減らし社会福祉を充実させなさい・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14

腸内細菌のための分子料理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15

トイレのハンドドライヤー：それがいかに不快なものかを示すもう一つの研究・・・・ 16

ラベンダーオイルやティーツリーオイルには内分泌かく乱物質が含まれているかもしれない・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 17

編集後記

題字：野田 篤（執行役員）

文献抄訳

薬物動態

猫に経口投与したプラジクアンテルとパモ酸ピランテル合剤の薬物動態

Pharmacokinetics of praziquantel and pyrantel pamoate combination following oral administration in cats.

A. Arion, et al.

J. Feline Med. Surg., doi: 10.1177/1098612X17734065 (2017)

〔緒言〕

プラジクアンテル及びピランテルは、過去十数年間家畜において駆虫薬として使用されてきた。蠕虫感染症は、世界的に多くの人々、特に経済的貧困層に発生し、動物及びヒトにとって大きな健康上の問題となっている。犬と猫は、コンパニオンアニマルとして人畜共通寄生虫の媒介、そしてヒトに特異的な寄生虫の分布範囲を拡大する要因ともなっている。プラジクアンテルの薬物動態は、犬、サル、羊及びラットで、また、ピランテルとの併用では、水牛及び犬における報告がある。ピランテルの薬物動態は、ヒト、豚、馬及びロバでの報告がある。しかしながら、両薬剤を併用した場合の薬物動態データは非常に限られており、猫におけるデータは報告されていない。

本研究は、プラジクアンテルとピランテルの合剤を単回経口投与した猫における血中濃度プロファイルを確立し、薬物動態学的データを算出することを目的として行った。このデータにより、投与量を最適化して副作用を最小限に抑えられることが期待される。

〔方法〕

体重 2 kg、年齢 1.8～3.6 歳の 22 匹の临床上健康な猫を導入し、プラジクアンテル 8.5 mg/kg 及びピランテル 100 mg/kg を単回経口投与した。投与後 0(投与前)、0.5、1、1.5、2、4、8、12、24、36 及び 48 時間に採血した。この血液を 480×g で 10 分間遠心分離して上清を血漿試料とした。血漿試料 200 μL に内部標準(インダパミド)を加えて攪拌し、10 分間 4,300×g で遠心分離後、上清を高速液体クロマトグラフ質量分析計 (HPLC/MS) に 5 μL 注入した。試料の希釈には 0.2% ギ酸溶液を使用した。直線性は、20～400 ng/mL(相関係数>0.9978) の濃度範囲で確認された。Kinetica ソフトウェアプログラムを用いてノンコンパートメントモデルにおける薬物動態パラメータを求めた。統計解析には SPSS を用い、消失及び吸収の半減期について、調和平均値を算出した。データはシャピロ - ウィルク検定を用いて正規性、ルビーン検定を用いて等分散性を評価した。

〔結果〕

プラジクアンテル及びピランテルの血漿中濃度は投与後 12 時間で検出下限未満となり、消失半減期($t_{1/2\lambda z}$)はそれぞれ 1.07 及び 1.36 時間であった。プラジクアンテルの最高血中濃度(C_{max})は、 $1.14 \pm 0.61 \mu\text{g/mL}$ 、最高血中濃度到達時間(T_{max})は 1.22 ± 0.49 時間であった。ピランテルの C_{max} は、 $0.11 \pm 0.66 \mu\text{g/mL}$ 、 T_{max} は 1.91 ± 1.19 時間であった。

ピランテルはパモ酸塩としての吸収はほとんどされず、寄生線虫の成虫が存在する消化管内で長く留まって効果を発揮していることが示唆された。プラジクアンテルは急速に吸収されており、到達した血中濃度がこの種において効果的であり、かつ安全であることを示していた。

これらの駆虫薬は、長期間使用した場合に耐性の問題が生じることが知られているが、代替となる新しい治療法にかかるコストや非経口投与の危険性が高い地域では、寄生虫駆除に大きな役割を果たすと考えられる。

◎ 昨今猫のペット数が犬を追い抜いたが、薬物動態データをもとに安全に薬を使用出来るのは、望ましいことだ。
(吉崎 まり子)

感染症

高ウイルスロード妊娠牛における牛白血病ウイルスの子宮内感染

Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load.

Y. Sajiki, et al.

J. Vet. Med. Sci., **79**(12), 2036-2039 (2017)

地方病性牛白血病はレトロウイルス科デルタレトロウイルス属の牛白血病ウイルス (BLV) によって引き起こされる感染症である。BLV 感染牛の大部分は無症状であるが、感染牛の 30% が持続性リンパ球増多症を、1~5% が致命的なリンパ腫又はリンパ肉腫を発症する。現在、BLV 感染症に対する有効な治療法やワクチンが存在しないため、日本における BLV 感染牛は増加しており、その主な感染ルートとして持続性リンパ球増多症などの血中プロウイルスロードの高い感染牛からの水平及び垂直感染が考えられている。しかし、妊娠牛の子宮内における BLV の垂直感染の詳細な伝達メカニズムは解明されていないことから、著者らは BLV の子宮内感染メカニズムを自然分娩牛及び帝王切開分娩牛を用いて解析した。

無症状感染妊娠牛 2 頭及び持続性リンパ球増多症の妊娠牛 1 頭から自然分娩で生まれた子牛の初乳摂取前の血液及び、持続性リンパ球増多症の妊娠牛 1 頭及び地方病型白血病の妊娠牛 1 頭から帝王切開で生まれた子牛の出産直後の血液を採取し、BLV 感

染及び BLV 抗体について検査した。さらに帝王切開牛においては、切開時の母牛の羊水、胎盤及び臍帯血を採取し BLV プロウイルスロードを測定した。その結果、高ウイルスロードである持続性リンパ球増多症牛から生まれた子牛は子宮内感染していたが、低ウイルス量である無症候感染牛 2 頭から生まれた子牛は感染していなかった。一方、帝王切開牛では高ウイルスロードである持続性リンパ球増多症及び地方病型白血病牛から生まれた子牛のいずれもが BLV に感染しており、検出された BLV-env 遺伝子配列は母牛と産子の間で完全に一致した。さらに、帝王切開時に採材した胎盤及び臍帯血からも BLV が検出されたが、羊水からは検出されなかった。以上から、子宮内感染の伝達メカニズムは羊水の嚥下などによるものではなく、臍帯及び胎盤血であると考えられた。一方、BLV 抗体は感染が認められた全ての子牛に認められた。一般に、牛では母体の抗体は胎盤を介して胎子に移行せず、妊娠 3~4 カ月程度で胎子は免疫能力を獲得することが知られている。著者らの研究でも初乳未摂取の子牛から BLV 抗体を検出しており、妊娠中期以降に子宮内感染が起きた可能性が示されたが、帝王切開を実施した持続性リンパ球増多症の母牛は妊娠初期には既に高ウイルスロードであったことから、BLV が妊娠初期に胎子に感染した可能性も考えられる。しかし、この子牛が妊娠初期に牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスに感染した子牛の場合と同様の免疫寛容を示さなかった理由は不明である。このように、BLV に関して不明なところも未だに多く、さらなる BLV 伝達メカニズムの解明に関する研究が必要である。

以上、BLV の子宮内感染の証拠を示した最初の報告である。日本では、BLV に感染した妊娠牛の多くが高ウイルスロードを示しており、これは BLV 感染が野外で常態化していることを示している。BLV の清浄化には、若齢牛の BLV 感染を予防して垂直感染を減少させることが極めて重要である。

◎BLV の清浄化を目的として平成 27 年 4 月に農水水産省から「牛白血病に関する衛生ガイドライン」が発出されている。BLV の清浄化にはさらなるメカニズムの解明も必要になるが、その最新の知見を関係者が知り、適切な対策を実施することも重要である。
(中島 隆二)

家猫のネコヘルペスウイルス1型に対する抗体応答は年齢とともに高まる

The domestic cat antibody response to feline herpesvirus-1 increases with age.

W. Michael, et al.

Vet. Immunol. Immunopathol., **188**, 65-70 (2017)

[緒言]

ヘルペスウイルスは、終生感染を持続し、再活性化による再発という特徴をもつ。

疫学調査によると、多くの家猫がネコヘルペスウイルス 1 型 (FHV-1) に感染しているが、FHV-1 に対する抗体応答の強さやその持続性はよくわかっていない。今回紹介する研究では、猫血清中抗 FHV-1 抗体価測定用 ELISA を開発するとともに、これを用いて横断的コホート (cross-sectional cohort) の抗 FHV-1 抗体価を測定した。

[方法と結果]

1. FHV-1 を感染させた猫由来培養細胞のライセートを抗原とした抗 FHV-1 抗体価測定用 ELISA 系を確立した。この系を用いて、血清中抗体は、ヘルペスウイルス後期遺伝子 (late, L) がコードするタンパク質を強く認識し、前初期遺伝子 (immediate early, IE) 産物はほとんど認識しないことを確認した。
2. 抗猫IgM、IgG及びIgA抗体を二次抗体としたELISAによる解析で、FHV-1が誘導した免疫グロブリンはIgGにクラススイッチしていることが明らかになった。
3. 横断的コホートである、年齢、性別、ワクチン歴の異なる100匹の飼い猫の血清サンプルの抗FHV-1抗体価を測定した。抗体価に雌雄差はみられなかったが、抗体価と猫の年齢には正の相関が見られた。一方、最終ワクチン接種からの期間と抗体価には相関は見られなかった。また、ワクチン接種回数が3回以上のグループは、1回或いは未接種のグループより有意に抗FHV-1抗体価が高かったが、その差は僅かであった。

[考察とまとめ]

現在、FHV-1に対する推奨ワクチンプログラムは、初回免疫後3年毎に追加接種するというものだが、今回の研究データはこれを支持するものであり、さらに長期の接種間隔となってもFHV-1に対して十分な防御効果が得られる可能性を示している。

◎ 現在日本では家猫のワクチンは、1年毎の追加接種が主流だが、FHV-1だけでなくFPLV、FCVについてもこのようなデータが集まれば、接種間隔を伸ばしていくことも可能かもしれない。
(神代 淑子)

ピレスロイド系殺虫剤耐性蚊によるマラリアの伝播に対するピペロニルブトキシド処理持続性殺虫蚊帳及び室内長期残留性殺虫スプレーの単独或いは併用の効果：2x2要因計画クラスターランダム化比較試験

Effectiveness of a long-lasting piperonyl butoxide-treated insecticidal net and indoor residual spray interventions, separately and together, against malaria transmitted by pyrethroid-resistant mosquitoes: a cluster, randomised controlled, two-by-two factorial design trial.

N. Protopopoff, et al.

The Lancet, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30427-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30427-6) (2018).

サブサハラアフリカなどではマラリアが猛威を振るっており、多くの子供の命が失われています。マラリアの防圧にはベクターである蚊の防除が重要なことから、殺虫剤処理した蚊帳や室内長期残留性殺虫スプレーが使用されています。しかし、これらの使用により殺虫剤に抵抗性を持つ蚊が増加したことから、その対応法も研究されてきました。蚊の駆除に広く用いられているのはピレスロイド系殺虫剤ですが、ピレスロイド耐性蚊が増加しています。ピレスロイド耐性蚊はピレスロイドを分解するシトクロム P450 (CYP) 活性が高いので、CYP 活性を阻害するピペロニルブトキシド (PBO) とピレスロイドの 2 薬剤で処理した蚊帳が開発されました。PBO の作用により耐性蚊の CYP 活性が阻害されるので、耐性蚊のピレスロイドに対する感受性が高まるというメカニズムです。一方、室内噴霧スプレーについても、ピレスロイドではなく有機リン系殺虫剤を用いた室内長期残留性殺虫スプレーが開発されています。こちらについては、有機リン剤 (ピリミホスメチル) の長期残留性を高めるため、マイクロカプセルに内包した製剤が開発されています。これらの新しい資材の有効性についての検討もされていますが、試験条件が限られていることから、その結果もまちまちでした。この論文の著者たちは、タンザニアをフィールドとして、標準的な持続性殺虫処理蚊帳 (ピレスロイドのみ)、PBO 処理した持続性殺虫処理蚊帳 (PBO+ピレスロイド)、標準的持続性殺虫処理蚊帳と室内長期残留性殺虫スプレーの併用、PBO 処理持続性殺虫処理蚊帳と室内長期残留性殺虫スプレーの併用の 4 種の介入法について、大規模な 2x2 要因計画クラスターランダム化比較試験を実施しました。その結果、PBO 処理持続性殺虫処理蚊帳の使用は標準的な蚊帳使用に比べて有意に子供のマラリアによる死亡率を低下させることが明らかになりました。また、室内長期残留性殺虫スプレーの使用も、使用しなかった場合より有意に子供のマラリアによる死亡率を低下させました。以上のことから、新しく開発された PBO 処理持続性殺虫処理蚊帳と室内長期残留性殺虫スプレーの有効性が確認できました。しかし、PBO 処理持続性殺虫処理蚊帳と室内長期残留性殺虫スプレーを併用しても、相加作用は見られませんでした。この原因として、有機リン剤のピリミホスメチルは蚊の CYP によって代謝活性化されて蚊に毒性を示す物質なので、蚊帳に使用されている PBO で CYP が阻害され、ピリミホスメチルが代謝活性化されなかったためだろうと考察しています。

◎ WHO はマラリア対策に力を入れているのですが、最近これが行き詰っているようで、マラリア患者が増加傾向にあるようです (<https://www.nature.com/news/rise-in-malaria-cases-sparks-fears-of-a-resurgence-1.23046>)。蚊帳や殺虫剤スプレーが有効なことは分かっているのですが、これらの使用率が低下しているようです。これらの資材の使用率が低下している原因の解析も含め、総合的な対応が必要です。一方、マイクロカプセルは、直径がマイクロメートルオーダーのカプセル本体 (壁材) の材質とその中に閉じ込める物質 (芯物質) の組み合わせで、多様な資材が開発され

ているようで、医薬品、香料、農薬などの徐放性製剤にも利用されており、液体や固体の個体粉末化も可能だそうです。今後ますます応用分野が広がるかもしれません。

(宮崎 茂)

生野菜サラダ表面における微生物汚染率に関する研究

A study on prevalence of microbial contamination on the surface of raw salad vegetables.

S. K. Mritunjay, et al.

3Biotech., 7(1), 13 (2017)

近年、健康的な食生活として生野菜サラダ(raw salad vegetables, RSV)の摂取が推奨されているが食中毒菌感染の一因ともなり得る。本研究では RSV の微生物学的品質や細菌病原体の汚染率の情報が無いインドのダンバット市で市販の未洗浄 RSV 表面上の細菌汚染状況を調査した。

RSV の原料となる胡瓜、トマト、人参、コリアンダー、キャベツ、ビート、ラディッシュ、ほうれん草の各 60 検体、合計 480 検体を別々の日及び別の小売業者から 2013 年 7 月から 2014 年 6 月に収集した。検査項目は好気性一般菌、低温菌、酵母、カビ、大腸菌群及び病原微生物の大腸菌 O-157 : H7、リステリア・モノサイトゲネス及びサルモネラ属菌であった。

検出された好気性一般菌数は、2.0~9.6 log cfu/g の範囲で平均 6.1 log cfu/g であった。ほうれん草が最も高く、キャベツが最も低かった。インドや他国で摂取の指標として上限値 5.0 log cfu/g を全検体の 85.4%が超えていた。高い平均数は保管中及び販売店で管理不良によるもので、汚染源は人、動物及び灌漑用水だと考えられる。

低温菌数の傾向は好気性一般菌と同様であった。低温保存は低温菌の成長を促進するが、一般菌も増殖する可能性はある。本研究においてその傾向は観察された。

大腸菌群は全検体から検出され、3.0~7.8 log cfu/g の範囲の平均数であった。葉もの野菜ではほうれん草が最も高く、葉の密度及び表面積により肥料や灌漑用水に接触しやすいと細菌汚染を受ける。さらに生産、輸送、保管及び小売り業者での衛生状態も細菌汚染に寄与している可能性がある。

酵母及びカビ数は 0.3~5.5 log cfu/g の範囲と検出率は低いが、カビは種類によりマイコトキシンを生産するか、アレルギーを誘発する恐れがある。

大腸菌は全体の 16.7%から検出された。しかし、キャベツからは検出されず、ほうれん草が最も高かった。汚染の可能性としては、収穫したほうれん草の鮮度を保つための家庭雑排水の散水、汚染した水で灌漑した農地での栽培などが挙げられる。

病原微生物である大腸菌 O-157 : H7、リステリア・モノサイトゲネス、サルモネラ属菌及びエグジゴバクテリウム属菌の検出率は全試料中 44 検体 (9.2%)であった。

大腸菌 O-157 : H7 は、ビート、ほうれん草から検出された。

リステリア・モノサイトゲネスは、トマト、胡瓜、人参、ラディッシュ、ほうれん草から検出され、サルモネラ属菌はトマト、胡瓜、人参、ラディッシュ、コリアンダー、ビート、ほうれん草から検出されたが、いずれの菌も、ダンバッド市では RSV の摂取に関連した症例報告はない。

野菜の微生物汚染の原因は、汚染水による洗浄や灌漑であり、伝播リスク抑制には食品販売者、加工業者及び消費者による衛生管理の徹底が必要である。また、政府は継続的に野菜販売業者の衛生管理状態を監視する必要がある。

◎ 生野菜を摂取する生活は健康を維持する上で、今後増加していくと考えられる。衛生状態を維持するために今後も継続して監視し、衛生状態の向上を続けていくことが望まれる。
(宮澤 和歌子)

環境影響

豚糞尿の堆肥化過程での多剤耐性遺伝子及び微生物相の変動に対するクロルテトラサイクリンの影響

Effects of chlortetracycline on the fate of multi-antibiotic resistance genes and the microbial community during swine manure composting.

Z. Chen, et al.

Environ. Pollut., **237**, 977-987 (2018)

家畜の成長促進、生産性の向上、疾病予防のために微量元素や抗生物質を含む飼料添加物が広く使用されている。しかし、投与された抗生物質の 70-90%は糞尿中に排泄されるため、堆肥中にこれらの薬剤が残留すると、環境中の微生物の多様性に影響を及ぼしたり、作物を介してヒトへ薬剤耐性菌が伝播することが懸念される。飼料添加物として利用されている抗生物質の中で、テトラサイクリン類（TC 類；テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン及びクロルテトラサイクリン（CTC））は最も広く使用されている薬剤の一つである。本研究では、豚糞尿に CTC をスパイクし、(1) 90 日間の堆肥化中の複数の残留抗生物質の減衰、(2) 堆肥化中の薬剤耐性遺伝子（ARG）の相対存在量（RA）の変動、及び(3)複数の残留抗生物質存在下で ARG と微生物群との相関を解析した。今回使用した糞尿中には CTC、スルファメトキサゾール（SMZ）、エンロフロキサシン（ENR）及びエリスロマイシン（ERY）が含まれており、そこにさらに CTC を 2 濃度で添加した 3 種の糞尿を用いて堆肥化実験を実施した。

堆肥化の進行状況及び堆肥としての品質には、CTC 添加による影響はなかった。堆

肥化により SMZ と ERY の濃度は速やかに低下し、堆肥化の 2 日目には検出されなくなった。ENR も発酵温度の上昇に伴って減少した。CTC は、CTC 無添加及び低濃度添加では堆肥化開始後 35 日に、高濃度添加では 45 日には検出されなくなった。堆肥化中の抗生物質の減衰には、温度、pH、水分及び堆肥化過程の微生物の変化が重要であると考えられた。

TC 耐性遺伝子の RA は CTC 濃度に依存した。高濃度 CTC が TC 耐性遺伝子の水平伝播を促進している可能性が示唆された。スルホンアミド耐性遺伝子の RA は、TC 耐性遺伝子の RA よりも低かった。マクロライド耐性遺伝子の RA はさらに低く、これはマクロライド系抗生物質の使用量が他の薬剤に比べ少ないことによると考えられた。キノロン耐性遺伝子は堆肥化を通じて減少しており、堆肥化がキノロン抵抗性遺伝子を減少させるのに有効であると考えられた。

微生物相の構成及びその堆肥化中の変動は、CTC 無添加及び低濃度添加ではほぼ同様であったが、高濃度 CTC 堆肥のみ微生物相が大きく異なっており、CTC 濃度が微生物相にも影響を及ぼしていることが確認された。

今回の検討では、堆肥化過程で糞尿中の抗生物質が劇的に減少し、3 つの堆肥の RA はすべて未処理の糞尿よりも低かった。このような結果は、堆肥化が、糞尿中抗生物質の環境リスクを低減させる効果的な方法であることを示している。

◎この結果では、豚糞尿に含有するテトラサイクリン、スルホンアミド、キノロン及びマクロライド耐性遺伝子が堆肥中での大部分が減少したことを示していた。しかし、糞中に残留した抗生物質の濃度が堆肥化における ARG の変動の唯一の原因であるという結果ではなく、堆肥化中に微生物群が変動していくことが ARG にバリエーションができる主な要因であった。堆肥化における、残留薬物も耐性遺伝子も、ヒトに影響を及ぼさないようにさらに研究していくことが必要であると感じた。(薄井 典子)

その他

セイヨウミツバチの飼料中天然及び合成外因性化学物質に対する行動応答

Behavioral responses of honey bees (*Apis mellifera*) to natural and synthetic xenobiotics in food.

L-H. Liao, et al.

Sci. rep., 7(1), 15924 (2017)

ミツバチの生態にはまだまだ不明な点が多いのですが、今回、外因性化学物質に対するセイヨウミツバチの反応に関して興味ある論文が報告されました。外勤バチは、

蜂群が要求する食料を、採蜜可能な花の開花状況に応じて集める必要があり、その選択には外勤バチの味覚が重要な役割を果たしていると考えられています。セイヨウミツバチの味覚に関する遺伝子数は、一般的な昆虫の 1/6 程度であることが分かっていますが、天然或いは合成化学物質の識別能力は高いことが報告されています。この論文の著者たちは、3 m x 20 m x 3 m の大きなフライトケージを用いて、外勤バチが砂糖水と砂糖水に種々の化学物質を添加した飼料のどちらにより高い嗜好性を示すか、自然に近い状況で詳細に解析しました。まず、植物に含まれるフラボノイドやフェノール化合物について調べたところ、フラボノイドの一種であるケルセチンを 0.01 mM ~ 0.5 mM 添加した砂糖水に対してより多く訪れ、その砂糖水を多く摂取することが分かりました。一方、クリシンやピノセムブリンというフラボノイドに対しては拒否反応を示したそうです。ケルセチンは、甘露、ハチミツ、プロポリスなどに多く含まれているフラボノイドで、クマホスなどの殺虫剤（殺ダニ剤）の解毒に関与しているミツバチのシトクロム P450 分子種（CYP9Q1, CYP9Q2 及び CYP9Q3 など）を誘導することが知られており、ミツバチの健康にはプラスの作用を持っていると考えられている物質です。合成化学物質については、除草剤のアトラジン及びグリフォサート、殺菌剤（防カビ剤）のボスカリド、クロロタロニル及びプロクロラズについて検討しました。その結果、グリフォサート（10 ppb）或いはクロロタロニル（0.5 ppb）添加砂糖水には嗜好性を、プロクロラズ（10~100 ppb）には拒否反応を示しました。セイヨウミツバチがネオニコチノイド農薬に嗜好性を持つことが既に報告されていますが、今回の検討の結果からも、セイヨウミツバチが嗜好性を示す農薬があり、これらの農薬を積極的に摂取してしまう可能性があることが明らかになりました。

◎セイヨウミツバチがある種の農薬を積極的に摂取してしまうのであれば、これまでのリスク評価を見直す必要があります。化学物質の生態影響評価の難しさと今後の研究の必要性を示す情報です。
(宮崎 茂)

犬の肝胆道系疾患におけるバイオマーカーとしてのマイクロ RNA

Use of serum microRNAs as biomarker for Hepatobiliary diseases in dogs.

K. Dirksen, et al.

J. Vet. Intern. Med., **30**(6), 1816-1823 (2016)

早期に病気を発見し、自分の病気にあった薬で治療することは誰もが望むところだろう。それを手助けしてくれるものの1つがバイオマーカーだ。バイオマーカーとは血液、尿や組織中に含まれるタンパク質や遺伝子などの生体内物質で、病気の変化や治療に対する反応に相関し、指標となるものをいう。例えば、血中のコレステロール

値や血糖値は動脈硬化や糖尿病に対するバイオマーカーの1つである。病気の有無や薬の有効性を予測する際に有用なバイオマーカーは数多くあり、マイクロ RNA もその1つである。

マイクロ RNA とは RNA のうち、タンパク質へ翻訳されず、他の遺伝子の発現を調節する機能を備えた RNA である。既にいくつかの腫瘍や関節リウマチ、アルツハイマー型認知症などで病態に関連するマイクロ RNA が発見されており、バイオマーカーや新たな治療薬としての役割が期待されている。

今回、血清中のマイクロ RNA を調べることで、犬の肝胆道系疾患の診断にマイクロ RNA をバイオマーカーとして用いることが出来るかについて研究した論文を紹介する。犬において日常よく出会う肝胆道系疾患はおおよそ肝実質性疾患、胆道系疾患、脈管系疾患、腫瘍性疾患の4つに分類できる。しかしながら、これらの疾患からくる臨床症状は類似したものが多く、現在行うことが出来る血液生化学検査のみでは正確な診断に至らない場合もあり、画像診断や生検が確定診断として必要になってくることが少なくない。こうした精密検査のツールの1つとして新たにマイクロ RNA が知られるようになるかもしれない。

肝胆道系疾患を有する46頭の犬と11頭の健常犬から血清を採取し、リアルタイムPCRを用いて血清中のマイクロ RNA である miR-21、miR-122、miR-126、miR-148a、miR-200c、miR-222 を定量した。有する疾患により、急性肝炎 (AH)、慢性肝炎 (CH)、胆嚢粘液嚢腫 (MU)、胆道炎・胆道閉塞 (BI)、先天性門脈体循環シャント (CPSS)、肝細胞腺腫 (HCA)、肝細胞癌 (HCC)、リンパ腫 (L) の群に分け血清中の各マイクロ RNA 濃度を比較した。対照群の各マイクロ RNA の血清濃度と比較して、HCC 群では miR-21、miR-122、miR-200c、miR-222 の上昇、MU 群では miR-21、miR-122、miR-222 の上昇、CH 群では miR-21、miR-122、miR-126 の上昇、L 群では miR-21、miR-122 の上昇、AH 群と BI 群では miR-122 のみの上昇が認められた。CPSS 群と HCA 群では対照群と比較して差は認められなかった。血清中の特定のマイクロ RNA を調べることで肝胆道系疾患を肝実質性疾患、胆道系疾患、腫瘍性疾患に区別して特定できる可能性が示唆された。これにより犬における肝胆道系疾患を診断する上で侵襲性の少ない新たなツールとなることが期待される。

◎ マイクロ RNA を用いたこの検査は採血だけで行うことが出来るため、実現すれば検査におけるリスクと侵襲性が非常に小さく、肝胆道系疾患の分類・診断において非常に有用なものとなることが期待される。しかし、あくまでも補助的な診断ツールということ念頭に置いて、マニュアル的な診療にならないように注意したい。(柳 充紘)

3R 戦略の再考 : *AnimalTestInfo* 情報の深い考察は *in vivo* 生体医学研究の透明性を高める

Rethinking 3R strategies: Digging deeper into *AnimalTestInfo* promotes transparency in *in vivo* biomedical research.

B. Bettina. et al.

PLoS Biol., **15**(12), e2003217 (2017). doi: 10.1371/journal.pbio.2003217

欧州の人たちは動物福祉に強い関心を持っていますが、その一方で、多くの市民が動物実験に関する情報が十分提供されていないと感じているようです。EU では、動物実験の目的や動物実験によって生じる動物への影響についての透明性を高めるため、EU 指令 (European Directive 2010/63/EU) によって、計画している研究で行う動物実験について、研究の目的や得られる利益、想定される動物への危害、使用する動物種とその数、3R の原則についてのコンプライアンスの検証等について、専門用語を使わずに作成した概要 (nontechnical summary, NTS) を報告するよう研究者に義務付けています。また、加盟国はこれを匿名化して公開することになっています。ドイツでは連邦リスク評価研究所 (BfR) がこの業務を担当しており、だれもが簡単にこの情報にアクセスできるよう、*AnimalTestInfo* というデータベースとしてウェブ上で公開しています。このデータベースには、1 年あたり 2,900 件という膨大な情報が収載されています。German Centre for the Protection of Laboratory Animals (Bf3R) の研究者たちは、ドイツでどのような目的でどのような動物実験が行われているのか明らかにするため、このデータベース情報を系統的に解析しました。動物数などは定量的なデータとして収載されていますが、「自由記載欄」(free-text fields) の情報の分類には困難が伴います。そこで彼らは、WHO が規定した疾病に関する分類コード (International Classification of Diseases and Related Health Problems, ICD) に従って、情報を分類・解析しました。その結果、研究対象 (target groups) のおよそ 80% はヒトの疾患研究であり、その中でも腫瘍、神経系、循環器系の疾患に関する研究が多く行われていることなどが、定量的に明らかになりました。さらに、腫瘍に関する研究の中でも臓器によって動物実験の頻度が異なることなども分かりました。このような解析結果から、代替法を優先的に検討すべき分野も明らかになると、研究者は考察しています。

◎ この研究は、NTS データベースの適切な解析により、大きな科学的知見が得られることを示しています。データベースのさらなる充実とその解析により、行われている動物実験に透明性が高まるとともに、動物福祉のためにとるべき手段 (代替法開発など) がより明確になるでしょう。 (宮崎 茂)

ペルフルオロアルキル化合物と減量食事制限に対応した体重変化及び安静時代謝率との関係を調べた前向き研究

Perfluoroalkyl substances and changes in body weight and resting metabolic rate in response to weight-loss diets: A prospective study.

G. Liu, et al.

PLoS Med., 15(2), e1002502. doi: 10.1371/journal. 2018

アルキル基の水素を全てフッ素に置換したペルフルオロアルキル化合物（PFASs）は、「くっつかない」性質があることから、調理器具のテフロン加工やファーストフード包装材などに広く用いられていますが、ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）やペルフルオロオクタン酸（PFOA）は内分泌かく乱作用があること、これらを使うプラントの労働者の血中から高濃度に検出されたこと、また環境中からも広く検出されることから、これら 2 つの物質の製造や使用が制限されています。しかし、PFASs は今でも広く用いられています。一方、先進諸国では肥満が大きな問題となっており、長期間減量を維持させるために、短期間での体重減少を如何に持続させるか、多くの取り組みが行われています。この論文を発表した研究者たちは、内分泌かく乱作用が知られている PFASs が体重のコントロールにどのような影響を及ぼすか検討しました。肥満成人の 2 年間にわたる減量食による体重減少トライアルで、血漿 PFASs 濃度と体重変動及び安静時代謝率（RMR）との関連を調べました。その結果、血漿 PFASs 濃度の高い女性では、体重のリバウンドが大きいことが分かりました。また、PFASs の中でも PFOA と PFOS の血漿濃度は、最初の 6 カ月の RMR の低下及び被験者が体重を回復する 6 カ月から 24 カ月の間の RMR 回復率の低下との相関が認められました。以上の結果は、PFASs が食事制限後の RMR の上昇を抑制することで、体重のリバウンドを大きくしている可能性を示唆しています。

◎興味ある研究成果ですが、血漿 PFASs の由来がファーストフード包装材である可能性も高く、PFASs ではなく単純にファーストフードの摂食量の多さがリバウンドに影響している可能性もあります。更に詳細な解析が必要でしょう。さしあたっては、PFASs に神経質になるより、食生活をより良くすることの方がはるかに重要です。

（宮崎 茂）

腱組織の脱細胞化のための自動凍結融解サイクルーパイロット試験

Automated freeze-thaw cycles for decellularization of tendon tissue - a pilot study.

S. P. Roth, et al.

BMC Biotechnol., 17(1), 13 (2017)

脱細胞化処理された腱組織は、*in vitro* 研究用の三次元培養スキャホールドとしてだけでなく、筋肉や骨格の欠損部再建のためのグラフトベースとして臨床応用が期待されている。

著者らは、液体窒素を冷媒とするプログラムフリーザー（PLANER® Kryo 360-1.7）を用いて凍結融解サイクルを自動反復する方法により、馬の浅指屈筋腱の脱細胞化を試みた。冷却加熱速度が異なる2条件（50°C/分及び20°C/分）を設定し、いずれも到達最高温度は+20°C（解凍持続時間：10分間）、到達最低温度は-80°C（凍結持続時間：3分間）で、従来法である手動による凍結融解サイクルの反復の場合と比較した。凍結融解処理した全ての腱組織は、洗浄及び浸透効果による細胞融解を誘発するため、低張液（蒸留水）中で48時間、さらに1% Triton X-100を含有するTris緩衝液（pH7.6）中で48時間インキュベートして脱細胞化を完了させた。その後、蒸留水による洗浄、抗生物質添加組織培養液やPBSへの浸漬等の工程を経てから所定の検査を行った。脱細胞化の是非は、病理組織標本の核残留数及びDNA含有量を測定して判定した。また、細胞適合性については、脱細胞化腱組織をスキャホールドとして同種異系の脂肪組織由来間葉系幹細胞（AT-MSC）の三次元培養を行って確認した。

自動凍結融解サイクル処理で作製した腱組織の脱細胞化の程度には、従来法である手動による方法の場合と差異がないことを確認した。いずれの脱細胞化した腱組織にも約2%の核残留と13%のDNA残留が認められた。また、自動凍結融解サイクル処理において、冷却加熱速度が異なる2条件で比較したが、両者に差はなかった。脱細胞化腱組織をスキャホールドとした細胞培養では、自動及び手動の場合のいずれも培養に成功した。

腱組織のような大型のサンプルの脱細胞化には、凍結融解サイクルの反復工程を自動化することが不可欠である。将来、腱組織の移植片を医学及び獣医学領域においてGMP条件下で量産するためにも、その工程を標準化することが重要である。

◎ドイツのライプツィヒ大学獣医学部の研究者たちが主体となって実施した実験で、著者らは脱細胞化のための凍結融解サイクル反復の自動化について検討した初めての論文だと主張しています。馬の浅指屈筋腱は、機能、構造及び病理学的特徴がヒトのアキレス腱と類似しているため、再生医療や最近の脱細胞化技術を伴う組織工学的な研究の材料として注目されています。今回のような表面活性剤による処理等を併用した脱細胞化に関する論文は他にも多数ありますが、必ずしも期待通りの結果が得られていないことも多く、まだまだ検討の余地がありそうです。将来、脱細胞化の重要な工程の一つである凍結融解サイクルが標準化できれば、関連する研究が大きく進展することが期待できると思います。（橋爪 昌美）

トピックス**卵殻のナノ構造を明らかにする**

Cracking eggshell nanostructure.

EurekaAlert!, 2018年3月30日情報

https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2018-03/mu-cen032318.php

卵の殻は発育中の胎子を守るためのもので、そのための十分な強度を持っていますが、ヒナが孵化する際には壊れやすいものである必要があります。鳥類は進化の過程で最適な強度の卵殻を得たのですが、その秘密についての重要な知見が、Science Advances 誌に報告されました (<http://advances.sciencemag.org/content/4/3/eaar3219>)。卵殻の微細構造を観察するためには、薄切という作業が必須でしたが、これまでの方法では卵殻の薄切は困難だったそうです。そこで彼らは、新しく開発した "focused-ion beam sectioning system" を使って卵殻を薄切し、電子顕微鏡や原子間力顕微鏡で観察しました。卵殻は、カルシウムなどのミネラルとタンパク質からなる無機物と有機物の複合体ですが、今回の研究で、オステオポンチンというタンパク質とミネラルの複合体からなるナノ構造が、卵殻の強度を決定していることが明らかになりました。また、鶏胎子は発育に必要なカルシウムを卵殻から得ており、孵卵中に卵殻からのミネラルの供給と孵化のための卵殻の脆弱化が同時進行していることも明らかになりました。また、彼らはミネラルの結晶とオステオポンチンから卵殻を再構成することにも成功したそうです。研究紹介ビデオが YouTube で公開されていますので、こちらをご覧ください (<https://www.youtube.com/watch?v=SA1EEUk7Kx8&feature=youtu.be>
<https://www.youtube.com/watch?v=3DSA1EEUk7Kx8&feature=youtu.be>)

◎ 卵殻にひびが入ったりすると、卵が食中毒細菌で汚染する可能性が高まりますので、未受精卵の卵殻の強度は食品の安全性確保の点からも重要です。産卵鶏の育種において卵殻のナノ構造が重要な選択因子になるかもしれません。 (宮崎 茂)

国民全体の健康度をあげたい？ 健康管理にかけるお金を減らし社会福祉を充実させなさい

Want a healthier population? Spend less on health care and more on social services.

EurekaAlert!, 2018年1月22日情報

https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2018-01/cmaj-wah011618.php

平均収入，教育の程度，そして居住環境などを向上させるための社会福祉を充実さ

せることにより、病気や悪質な衛生状態の根本原因を解決することができます。しかし、先進諸国では個人の健康管理に多くの予算を使っており、政府は国民全体の健康度を維持しつつ、このコストを抑制する方法を模索しています。最近、社会福祉の充実が社会全体の健康度向上に大きく寄与するけれども、健康管理にお金を割いても同じような効果は得られないという、カナダでの研究成果が報告されました。

この研究では、カナダの10の州における1981年から2011年までの社会福祉及び健康管理予算と社会レベルでの健康状態との関連を、避けることのできる死亡、乳幼児の死亡及び平均余命をエンドポイントとして解析しました。その結果、カナダではこの30年の間に、健康管理関連予算が社会福祉予算の10倍も増加していることがわかりました。一方、健康管理予算1ドルあたりの社会福祉予算の割合を増加させることにより、社会レベルでの健康状態が向上することも明らかになりました。もし政府が健康管理予算1ドルあたり1セントの割合で社会福祉予算を増加させると、平均余命は5%延長し、避けることのできる死亡は3%減少するそうです。この研究を実施した研究者は、全体の予算額を増加させることなく、健康管理予算と社会福祉予算の割合を変えていくことで、社会レベルでの健康度を効率よく向上できると主張しています。

◎ 医療費の増大は日本だけの問題ではなく、多くの国の悩ましい課題でしょう。人の命とお金を天秤にかけることはできないかもしれませんが、コストを意識することは重要です。例えば、多くの国で甲状腺がんの有病率が上がっているのは過剰診断によるもので、多くの事例は手術で摘出する必要のないものであることなどは、医療費が効率的に使われていない事例の一つでしょう。 (宮崎 茂)

腸内細菌のための分子料理

Molecular cuisine for gut bacteria.

EurekaAlert!, 2018年3月19日情報

https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2018-03/embl-mcf031218.php

私たちの腸内に生息している多くの細菌は、私たちの健康に大きな影響を及ぼしていると考えられています。しかし、これら腸内細菌が生息するためにどのような食料を必要としているか、どのように栄養素を代謝しているかはほとんど分かってはいません。最近、組成の明らかな19種の培地での、ヒトの主要な腸内細菌や感染症などの原因菌計72菌種、96株の増殖特性を明らかにした論文がNature Microbiology誌に報告されました (<http://www.nature.com/articles/s41564-018-0123-9>)。これらの細菌の栄養嗜好性や栄養素の代謝能力を明らかにする過程で、ある種の細菌がムチン（消化管上皮などから分泌される粘性のある糖タンパク質）を代謝する能力を持っていることが

明らかになりました。これらの細菌は、消化管を保護しているムチンを分解することにより、炎症や感染の成立に寄与している可能性があります。また、別の細菌は培地に含まれるアミノ酸や短鎖脂肪酸によって増殖が阻害されることが分かりました。これらの細菌にとっては、栄養豊富な培地はかえって有害である可能性があります。さらに、分類学上近縁な細菌でも全く異なる栄養要求性を持っている細菌があることもわかりました。細菌の遺伝学的近縁性だけでは栄養成分の代謝能は推測できないようです。

◎次世代シーケンサーの進歩で、腸内細菌のメタゲノム解析などは容易になりましたが、実際に培養して細菌の機能を解析することは、腸管マイクロバイオームの機能解析に欠かせません。この論文は腸内細菌の増殖のための料理法が載った料理本といえます。ヒト腸管マイクロバイオームの構造や機能を解析するための、有力なツールとなるでしょう。

(宮崎 茂)

トイレのハンドドライヤー：それがいかに不快なものかを示すもう一つの研究

Bathroom Hand Dryers: Another Study Shows How Gross They May Be.

Forbes, 2018年4月13日情報

<https://www.forbes.com/sites/brucelee/2018/04/13/bathroom-hand-dryers-another-study-shows-how-gross-they-may-be/#1887fa716237>

公共トイレの多くには、熱風を送って手を乾かすハンドドライヤーが備えられており、皆さんもよく使っておられると思います。しかし、ハンドドライヤーは手に残っている微生物をまき散らすので、衛生的とは言えないようです。このことを示す論文報告がいくつかあるようですが、最近のForbes電子版は、また一つ新しい論文が

Applied and Environmental Microbiology 誌に発表されたことを紹介しています

(<http://aem.asm.org/content/84/8/e00044-18.abstract>)。この論文の著者たちが、大学の医療センターのトイレ36カ所で30秒間ハンドドライヤーを動かし、浮遊細菌を平板法で調べたところ、平板当たり平均18~60コロニーが検出されたそうです。しかし、ハンドドライヤーノズルの細菌汚染はほとんどなかったそうです。また、同じ場所でハンドドライヤーOFFの状態では2分間暴露した時のコロニー数は1以下だったそうです。検出された菌の中には、この建物の実験室で大量の胞子を扱っていた枯草菌も検出されたそうです。更に、HEPAフィルターを使ったハンドドライヤーでも、コロニー数はおよそ1/4になったものの、一定数の細菌が検出されたそうです。別の研究([http://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(14\)00246-1/fulltext](http://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(14)00246-1/fulltext))では、乳酸菌をトレーサーとして被験者の手に付着させ、手洗い後にハンドドライヤー

を使った時のトイレ内の乳酸菌数を調べたところ、ある程度予想されたことですが、多くの乳酸菌が検出されたそうです。トイレの後で手を洗っても、多くの人はいい加減な洗い方なので、ハンドドライヤーを使うことによって、手についている微生物（或いは微量の糞便）を直接まき散らすことになってしまうのでしょうか。ペーパータオルで拭いた場合は、トレーサー乳酸菌の飛散はほとんどなかったそうです。

◎ どうも、トイレのハンドドライヤーは微生物をまき散らす装置のようです。ポケットにしまう湿ったハンカチも決して衛生的とはいえないでしょうが、細菌をまき散らすことにはならず、他人への迷惑にはならないでしょう。一番衛生的なのはペーパータオルということでしょう。 (宮崎 茂)

ラベンダーオイルやティーツリーオイルには内分泌かく乱物質が含まれているかもしれない

Chemicals in lavender and tea tree oil appear to be hormone disruptors.

米国内分泌学会 (Endocrine Society) 2018年3月17日情報

<https://www.endocrine.org/news-room/2018/chemicals-in-lavender-and-tea-tree-oil-appear-to-be-hormone-disruptors>

様々な植物から抽出したエッセンシャルオイル（精油）が、アロマセラピーや補完代替療法などの目的で用いられています。いわゆるナチュラル志向の高まりから、石けん、ローション、シャンプー、洗濯洗剤などに使用するエッセンシャルオイルの需要が増えているようです。しかし、新動薬情報でたびたび取り上げているように、「天然だから安全」という考え方は間違いです。ラベンダーオイルやティーツリーオイル（オーストラリアなどに自生するフトモモ科コバノブラシノキ属植物の精油）に含まれる化学物質と少年の乳房が異常に発達する思春期前女性化乳房症との関連を示す新たな知見が、2018年3月にアメリカのシカゴで開催された米国内分泌学会で報告されました。ラベンダーオイルやティーツリーオイルの局所使用者に思春期前女性化乳房症が観察され、使用を中止すると症状が改善することから、これらのオイルとこの疾病との関連が指摘されており、これらのオイルにはエストロゲン作用や抗アンドロゲン作用があることも確認されていました。今回、アメリカ NIEHS (National Institute of Environmental Health Science, 国立環境衛生科学研究所) の研究者たちは、この2種のエッセンシャルオイルに含まれる8種の化学物質がエストロゲン作用や抗アンドロゲン作用を持っていることを確認しました。彼らは、他の少なくとも65種類のエッセンシャルオイルからも内分泌かく乱物質が検出されていることから、エッセンシャルオイルを使用するときには、効果と毒性に関する全ての科学的根拠に留意すべ

きであると注意喚起しています。

◎ 私たちの身の回りには多くの植物があり、私たちの健康に有用な化学物質を含んでいますが、同時に有害な物質も多く含んでいます。エッセンシャルオイルはこれらの化学物質の粗抽出液ですから、その利用にあたっては、十分な科学的検証が必要です。

(宮崎 茂)

編集後記

送別会、歓迎会、お花見などこの時期は飲む機会が多くなるものですが、お酒好きには耳の痛い？論文 "Risk thresholds for alcohol consumption: combined analysis of individual-participant data for 599912 current drinkers in 83 prospective studies" が Lancet 誌に発表されました。この論文は 100 人以上の共著者からなる非常に大規模な前向き研究で、日本からも千葉県衛生研究所の研究者が参加しています。論文の結論は、循環器系へのリスクを考慮し、アルコールの 1 週間当たりの摂取量を 100 g 以下に引き下げるべきだということです。ちなみに日本では、「節度ある適度な飲酒」として、1 日平均純アルコールで約 20 g 程度（1 週間で 140 g）という数値を厚生労働省が出しています。日本をはじめ多くの先進国の研究者が参加した研究ですので、広く世界中の人たちに当てはまる数字だと思います。ただ、アルコールの過剰摂取によるリスクをどう判断するかは、個人の判断です。いずれにしても、お酒は楽しく飲みたいものです。この論文はフリーアクセスですので、興味ある方はご一読ください。

編集委員長 宮崎 茂

新動薬情報 2017 年 第 4 号

編集：新動薬情報編集委員会

編集委員 委員長 宮崎 茂

委 員 山本 譲、橋爪 昌美、丸山 賀子、永田 尚子、小濱 純、
中村 佳子、佐藤 彩乃、柳 充紘