

新動薬情報

○●2023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**論文紹介****【感染症】**

ヨーロッパ腐蛆病発症群から見つかった新菌種「*Paenibacillus melissococcoides*」は腐蛆病の病態と関わっているか? 1

【新技術】

ライム病に対する mRNA ワクチンの開発 2

【環境影響】

ナノプラスチックは根から取り込まれて植物に蓄積する 3

【その他】

ワクモに対するイベルメクチン及びアリシンの殺ダニ効果の検討 5

セイヨウミツバチのミツバチヘギイタダニ抵抗性にはミツバチ幼虫の形質が関与している 6

学習・記憶には脳における Ca^{2+} /カルモジュリン依存性タンパク質リン酸化酵素 II の構造変化が重要である 7

セクレトームを用いた犬の認知症の新しい治療法 9

小動物のリホーミング-オランダ・ユトレヒト大学での取り組み- 10

トピックス

手話に科学用語を吹き込む試み 12

遺伝子編集で豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス耐性にした豚の肉が市場に流通する日は近い? 13

米国環境保護庁が動物実験廃止の目標期限を撤廃 14

敵対的ネットワークモデル「Animal GAN」は動物実験を代替できるか? 15

編集後記 16

論文紹介

感染症

ヨーロッパ腐蛆病発症群から見つかった新菌種「*Paenibacillus melissococcoides*」は腐蛆病の病態と関わっているか？

ミツバチの幼虫が罹患する病気にはアメリカ腐蛆病 (AFB) とヨーロッパ腐蛆病 (EFB) があり、どちらも養蜂産業界で重大な経済的損失を引き起こします。AFB の原因菌は *Paenibacillus larvae* で、EFB の原因菌は *Melissococcus plutonius* です。*Paenibacillus* 属の菌はこれまでに 270 種類以上が報告されており、土壌、植物、ミミズ、ヒトや昆虫から見つかっています。特にこれまでにミツバチ材料から分離された *Paenibacillus* 属菌は *P. larvae* を含め 7 種が知られていますが、そのうち腐蛆病に関連する菌種としては *P. larvae* のほか *P. alvei* と *P. dendritiformis* が知られています。*P. alvei* と *P. dendritiformis* は、AFB ではなく *M. plutonius* を原因とする EFB 発症群から 2 次感染菌として見つかっています。*P. alvei* は実験上では、幼虫への単独感染で致死させることがわかっていますが、蜂群での影響はまだ不明です。また *P. dendritiformis* については、まだ感染試験自体が行われていません。

この論文は、2020 年 6 月にスイスの EFB 発症蜂群から分離された *Paenibacillus* 属菌 3 菌株について、性状解析及び遺伝子解析の結果から新たな菌種ではないかと提案した報告です。研究者たちは、スイス国ベルン、ロイティゲンの EFB 発症蜂群で、育児蜂が分泌したゼリーから *M. plutonius* 増殖用の培地を用い、嫌気培養で発育し、*M. plutonius* とは異なる形状を示したコロニー形状を示す 3 菌株を分離しました。いずれの株も 16S rRNA の遺伝子解析では *P. dendritiformis* や *P. thiaminolyticus* とは 98% 以上の高い類似性を示したものの、全ゲノム遺伝子の比較では類似性はそれぞれ 92% 及び 91% と、同種と判断すべき 95% ラインを下回っていました。さらに分離菌 3 株と既知株 (*P. dendritiformis* 及び *P. thiaminolyticus*) との生化学的な性状の比較を行ったところ、オキシダーゼ、グリセロール要求性やマンノース要求性において差異が認められました。これらのことから本論文では、分離菌株を *Paenibacillus* 属の新たな菌種「*Paenibacillus melissococcoides*」として提案しています。

今回の提案が認められれば、腐蛆病に関連する菌種として *Paenibacillus* 属は *P. larvae*、*P. alvei* 及び *P. dendritiformis* の 3 菌種に加え 4 菌種目となります。病原性の有無にかかわらずミツバチに関係する *Paenibacillus* 属菌は、計 8 種となります。

ミツバチの疾病は個体での発症という側面だけでなく、「超個体」である蜂群レベルでの発症についても考慮する必要があります。近年、腐蛆病発症のない蜂場や蜂群からも、腐蛆病原因菌の *P. larvae* 及び *M. plutonius* の遺伝子が検出されると報告されてい

ます。これらミツバチ関連 *Paenibacillus* 属菌や *M. plutonius* が、個体及び蜂群とどのような関係を持っているのかを解明するために、今後の研究が期待されます。

紹介論文書誌情報

Paenibacillus melissococcoides sp. nov., isolated from a honey bee colony affected by European foulbrood disease.

F. Ory, et al.

Int. J. Syst. Evol. Microbiol., doi:10.1099/ijsem.0.005829 (2023)

(中村 佳子)

新技術

ライム病に対する mRNA ワクチンの開発

ライム病はスピロヘータ科のボレリア属菌によるヒトの感染症です。菌を保有するマダニによって媒介されます。感染初期にはマダニ刺咬部に遊走性紅斑が見られるとともに、インフルエンザ様の症状が見られます。後期になると慢性の関節痛や重度の皮膚障害が見られます。世界的に感染症例が報告されていますが、特に欧米では症例が多く、対策が求められています。

かつては、ボレリア属菌がダニ腸内にいる時に発現するリポタンパク質である Outer surface protein A (OspA) を免疫原としたワクチンがありました。しかしながら、2002年に販売を停止されて以降、ライム病ワクチンは世に出ていません。

今回紹介する論文では mRNA ワクチンの技術を使ったライム病ワクチンの開発を試みています。mRNA ワクチンとは、抗原タンパク質をコードする mRNA を細胞内に送達し、目的のタンパク質を産生させることで免疫を獲得させるという技術です。

筆者らは、*B. burgdorferi* B31 株由来の OspA をコードする mRNA (OspA-mRNA) を脂質ナノ粒子 (Lipid NanoParticle; LNP) で包含した mRNA ワクチンを作製しました。このワクチンを Balb/c マウスに接種し種々の方法でワクチンの効果を検証しています。マウス接種の対照としてルシフェラーゼをコードする mRNA (Luc-mRNA) LNP 及び組換え OspA タンパク質を用いています。

まず、筆者らは OspA-mRNA LNP をマウスの筋肉内に単回接種しました。接種から 12 日後に脾臓細胞のフローサイトメトリーにより、OspA 特異的な CD4⁺ 及び CD8⁺ の T 細胞応答を評価しました。結果、OspA-mRNA LNP 接種群で、対照群に比べ有意な OspA 特異的な T 細胞応答が確認されました。

続いて、筆者らは OspA-mRNA LNP を初回接種から 4 週間後に追加接種し、ブースター効果を検証しました。初回接種から 2、4、8、16 さらに 24 週目に採血し、OspA 特

異的な IgG 抗体を ELISA によって評価しました。結果、OspA-mRNA LNP 接種群で初回接種 2 週間後及び 4 週間後に OspA 特異的な IgG 抗体活性が確認され、4 週目の追加接種後は、24 週目でも高い抗体価の維持が確認されました。

最後に、OspA-mRNA LNP をマウスに接種し、4 週間後に *B. burgdorferi* N40 株を皮下接種する感染攻撃試験を実施しました。攻撃 25 日後に膀胱、心臓、膝関節及び耳介皮膚を採材して DNA を抽出し、ボレリア菌の *flagellin* 遺伝子をターゲットにした qPCR によって菌定量を行いました。定量値は、マウス β -アクチン遺伝子の定量値によって正規化され、評価されました（以降、正規化後の数値を「細菌負荷」と呼びます）。この結果、OspA-mRNA LNP 接種マウス由来の組織全てで細菌負荷が対照群よりも低い結果となりました。

ライム病の治療法には早期の抗生剤の接種が有効と言われています。しかしながら、初期症状によりインフルエンザ等のウイルス感染症と判断されることで治療が遅れ、その結果、重症化・慢性化する例が報告されています。有効な予防薬があれば、治療の遅れを回避できます。本論文はマウスであるものの、OspA-mRNA LNP のワクチンとしての効果を実証されています。新しいライム病ワクチンとして期待できるのではないのでしょうか。

紹介論文書誌情報

Development of an mRNA-lipid nanoparticle vaccine against Lyme disease.

M. Pine, et al

Mol. Ther., **31**(9), 2702-2714 (2023)

(谷山 俊之)

環境影響

ナノプラスチックは根から取り込まれて植物に蓄積する

現代社会はプラスチックに依存しており、近年目に見えないプラスチックによる環境汚染の懸念が高まっています。一般的に 5 mm 以下の大きさのプラスチックはマイクロプラスチックと呼ばれますが、マイクロプラスチックよりさらに細かい 0.001 m (1 nm) ~ 0.1 μ m (100 nm) 程度の大きさのナノプラスチックも環境中に多く存在しているのではないかと考えられています。洗顔料や歯磨き粉などのスクラブ剤として意図的に使用されているマイクロプラスチックが下水処理を通り海へ排出され、またプラスチックごみが紫外線や波の作用で劣化・破砕されて微粒子となり、海洋中へと移動することなどから生じる海洋汚染が、国際的にクローズアップされています。

農業分野でもビニールハウスやトンネルの被覆資材、育苗トレイ、ポット、被覆肥料

のカプセルなどが破碎されたプラスチック微粒子の作物への影響が懸念されています。ご紹介する論文では、マイクロプラスチックよりさらに細かいナノプラスチックの食用植物への取り込み及び分布を調査し、ナノプラスチックの蓄積に関するメカニズムや傾向を明らかにしました。試験には食用ハーブであるコショウソウを使用しました。

植物へのナノプラスチックの取り込みと蓄積を調べるため、3日齢のコショウソウ苗木を10 µg/L~100 mg/Lの5濃度の公称直径0.100 µm (100 nm)の蛍光ポリスチレンナノ粒子を含む養液で12日間水耕栽培しました。そして、植物に取り込まれたポリスチレンナノ粒子の分布や粒子数を共焦点レーザー顕微鏡で観察・定量しました。その結果、養液中のポリスチレンナノ粒子濃度に依存して植物中のポリスチレンナノ粒子数も増加していました。茎や葉よりも根への蓄積がはるかに高く、根の先端と側根、根や毛根の表面、根の中心柱に沿ってポリスチレンナノ粒子が取り込まれて蓄積し、根から葉の気孔までの上向きの水分の流れ（蒸散流）に沿って上方へと移動する様子が確認されました。ポリスチレンナノ粒子は根の組織内に均一に分散しているのではなく、凝集したポリスチレンナノ粒子が蒸散流経路を塞いで、粒子の上方への移行が妨げられていました。

また、著者らはポリスチレンナノ粒子の取り込み・蓄積が種子の発芽と植物の成長に与える影響を調査しました。上述の条件と同様に10 µg/L~100 mg/Lの5濃度の蛍光ポリスチレンナノ粒子を含む養液で12日間水耕栽培されたコショウソウの根の長さや重量、側根の総数、芽の高さや重量を確認しました。その結果、ポリスチレンナノ粒子と直接接触している根の発育に及ぼす影響が大きい結果となりました。発芽に関しては、現実的な濃度レベルよりも高濃度の100 mg/Lポリスチレンナノ粒子を含む養液で種子を水耕栽培し、2日後に発芽した種子の数を数えたところ、蓄積したポリスチレンナノ粒子により発芽率が約39%低下しました。

この研究において、ナノプラスチックが植物の根から吸収され、蓄積したナノプラスチックが発芽率と成長に影響を与えることが明らかとなったことから、ナノプラスチックによる土壤汚染についても関心を深めていきたいと感じました。

紹介論文書誌情報

Quantification of nanoplastic uptake and distribution in the root, stem and leaves of the edible herb *Lepidium sativum*.

H. Sahai, et al.

Sci. Total. Environ., doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.168903 (2024)

(長谷川 彩子)

その他**ワクモに対するイベルメクチン及びアリシンの殺ダニ効果の検討**

ワクモは鳥類に寄生する外部寄生虫で、殺ダニ剤による防除が行われていますが、当局の規制の強化のため、使用できる薬剤が制限されているのに加え、薬剤耐性を持つワクモの報告も増えています。天敵を用いた生物学的製剤やワクチン、エッセンシャルオイルなどでもワクモへの殺虫効果は得られていますが、いずれも実用化には至っていません。また、いくつかの防除法を複合して利用する総合的害虫管理も注目されており、一つでも多くの新規防除法開発が望まれています。イベルメクチンはアタマジラミに、アリシンはコナダニの一種に有効であることは報告されていますが、ワクモへの影響は不明でした。今回ご紹介する論文は、ワクモに対するイベルメクチン及びアリシンの有効性を検討したものです。

有効性の試験では、ろ紙に各濃度又は組み合わせの薬剤を塗布し、ワクモに接触させて経過時間ごとの死亡率を判定しました。その結果、イベルメクチン単体では、濃度依存的に死亡率は上がり、最高濃度(1 mg/mL)では2時間後 12.11%、24時間後 64.21%、48時間後 91.32%、5日目で100%となり、0.5 mg/mLでは、2時間後 6.67%、24時間後 31.67%、48時間後 71.67%、5日目で93.33%、7日目で98.33%でした。アリシン単体では最高濃度(1mg/mL)では2時間後 15.00%、24時間後 23.00%、48時間後 29.00%、5日目で35.00%、7日目で44.00%となり、0.5 mg/mLでは、2時間後 5.00%、24時間後 11.67%、48時間後 15.00%、5日目で25.00%、7日目で30.00%でした。イベルメクチンはアリシンより殺虫効果が高いものの、残留やコストの観点から、併用による相乗効果を確認しました。その結果、イベルメクチン 0.5 mg/mL とアリシン 0.5 mg/mL の併用は、2時間後 38.33%、24時間後 73.33%、48時間後 90.00%、5日目で100%となり、5日以内に完全にワクモを防御し、それぞれ単剤でのワクモの死亡率を上回りました。イベルメクチンは、無脊椎動物の神経細胞や筋肉細胞に存在するグルタミン酸開閉型塩化物イオン受容体に作用して麻痺を引き起こすことが知られており、アリシンは、昆虫の神経伝達物質受容体を阻害することにより、窒息死を引き起こすことが知られています。そこで、クロライドチャネルを遮断する被験物質の存在下で、イベルメクチン及びアリシンの併用による試験を実施したところ、殺虫効果を減弱させたことから、イベルメクチン及びアリシンはワクモの生理学的プロセスに影響を及ぼす可能性が示唆され、今後更にメカニズムの解明が必要と考えられました。

本報告は、ワクモに対するイベルメクチン及びアリシンの有効性を明らかにし、併用することでより強力な殺虫効果が得られることを示しました。ワクモに対する防除法について、課題は残るものの、実用化につながる研究の発展が望まれると共に、本試験のように薬剤を併用する等の工夫をし、低コストで安全性が高く、効果的な防除法

が開発されることも期待できます。

紹介論文書誌情報

Poultry red mite eradication potential of ivermectin and allicin combination treatment.

J. Kang, *et al.*

Vet. Med. Sci., 9(3), 1292-1296 (2023)

(井上 貴裕)

セイヨウミツバチのミツバチヘギイタダニ抵抗性にはミツバチ幼虫の形質が関与している

ミツバチヘギイタダニ (*Varroa destructo*) (以下ダニ) はバロア症の原因であり、ミツバチが幼虫から蛹に変態するために巣房に蓋をする (有蓋蜂児) 直前の時期に巣房内に入り込み、羽化するまでの間に繁殖し、蜂児の体液を吸います。ダニは、これにより蜂児は発育障害を引き起こします。このダニの元来の宿主はトウヨウミツバチですが、セイヨウミツバチによる養蜂がアジア地域など、トウヨウミツバチの生息地域にもたらされ、それにともないダニはセイヨウミツバチ群にも寄生するようになりました。欧州や北米では新たな宿主である野生のセイヨウミツバチ群がほぼ絶滅状態に陥るほど、ダニは蔓延しました。セイヨウミツバチはダニに対する感受性が高く蜂群崩壊の主要な要因となっていますが、効果的な防除法はありません。一方、ダニに対する抵抗性が高いセイヨウミツバチ蜂群が存在します。今回ご紹介する論文は、新しいダニ対策を検討するため、一部の蜂群で見られるダニ抵抗性のメカニズムを解析したという報告です。

抵抗性獲得にはいくつかの要因が考えられますが、この論文では幼虫が出す揮発性物質 (フェロモン) が関与しているかどうか検討しました。研究者たちは、ダニ抵抗性セイヨウミツバチ蜂群の有蓋蜂児に成虫が接触しないよう、金網ケージ又はメッシュで有蓋蜂児を囲い、その影響を解析しました。

その結果、ダニ抵抗性セイヨウミツバチ蜂群では、成虫の有蓋蜂児に対する接触の有無にかかわらず、ダニに対して抵抗性を示すことが明らかとなりました。そのため、研究者たちは幼虫が出す揮発性物質によって、ダニの繁殖が抑制されているのではないかと考察しました。この可能性を検証するため、さらなる研究が進行中です。ダニに対するミツバチの適応戦略を解明することで、抵抗性遺伝形質の選抜育種に役立ちます。

これまで、ダニが寄生した有蓋蜂児を成虫が選択的に除去してダニを物理的に駆除するという説や、逆にダニに寄生され出房できない蜂児の巣房は成虫が蓋を開けずにダニを封じ込めるなどの説を聞いたことがありました。しかし、成虫ではなく、幼虫が

ダニの繁殖を抑える蜂群が存在することに驚きました。

紹介論文書誌情報

Host brood traits, independent of adult behaviours, reduce *Varroa destructor* mite reproduction in resistant honeybee populations.

N. Scaramella et al.

Int. J. Parasitol., 53(10), 565-571(2023)

(原田 真理子)

学習・記憶には脳における Ca^{2+} /カルモジュリン依存性タンパク質リン酸化酵素 II の構造変化が重要である

脳の機能は、電気信号を発生して情報をやり取りする神経細胞のネットワークによって成り立っています。その神経細胞間の接合部分はシナプスと呼ばれ、私たちの学習・記憶においても重要な役割を果たしています。

シナプスでは、神経細胞同士の間には 20 nm ほどの隙間（シナプス間隙）が空いており、電気信号が情報を送る側であるシナプス前部に伝わることで、神経伝達物質のグルタミン酸がシナプス間隙へ放出され、情報を受け取る側であるシナプス後部のグルタミン酸受容体（GluR）に結合し、再び電気的な信号として神経細胞ネットワークを流れていきます。このような刺激を繰り返し受けたシナプスでは、シナプス後部の GluR が増加し、伝達性が持続的に高まる長期増強（long term potentiation ; LTP）と呼ばれる現象が起こり、これが細胞レベルでの学習・記憶の基礎と考えられています。

LTP のカスケードは次のように知られています。

- ② 神経興奮により、シナプス後部へ Ca^{2+} が流入する。
- ② カルモジュリンキナーゼ（ Ca^{2+} /カルモジュリン依存性タンパク質リン酸化酵素 II ; CaMKII）が活性化（構造変化）する。
- ③ 活性化型 CaMKII がリン酸供給源である ATP へ結合する。
- ④ 次いで基質である GluR へ結合し、GluR をリン酸化する。
- ⑤ CaMKII と結合した細胞内 GluR が細胞膜上へ移動し、シナプス後膜の GluR が増加する。

このように、同じ強さのシナプス前刺激でも、シナプス後部の GluR が増えることによって、より強い反応を引き起こすことができます。このカスケードからわかるように、CaMKII の活性化は LTP のトリガーとなっており、重要な役割を果たしていることが指摘されていました。事実、CaMKII の ATP 結合部位を変異させたマウスの実験から、CaMKII のリン酸化活性の消失は LTP の消失につながることも示され、この考

えは通説となっています。

しかし、今回紹介する論文は、CaMKIIはLTPに必須であるが、リン酸化活性ではなく、CaMKIIの活性化に伴う構造変化によりGluRと持続的に結合することがシナプス伝導性を高めるという内容です。

この研究では、シナプス刺激によるCa²⁺流入が無い状態でも光の刺激で活性化するCaMKII(photoactivatable CaMKII; paCaMKII)を使用しています。中でも、GluRへの結合部位とATP結合部位を不活化させたpaCaMKIIを使用することで、CaMKIIのGluR結合活性と、リン酸化活性を分離してLTPへの作用を調べています。

まず、paCaMKIIを発現したシナプスでは、光を当てると電気刺激なしでLTPを誘導することが可能です。次に、この分子のGluR結合部位の変異と、ATP結合部位の変異を別々に導入してLTPへの影響を調べたところ、GluR結合部位の変異ではCaMKIIのリン酸化活性は維持されるが、LTP誘導ができなくなりました。その一方、ATP結合部位の変異では、リン酸化活性は消失したものの、LTP誘導は正常に行われることを発見しました。即ち、LTPにCaMKIIのリン酸化活性は必要ないということです。

この発見が本研究のポイントで、あとはこの発見をいくつかの方法で再検証しています。1つ挙げると、CaMKII選択的なリン酸化活性阻害剤「AS283」を用いた実験です。AS283はCaMKIIのATP結合部位に競合するため、CaMKIIのGluR結合を阻害することなく、リン酸化活性を阻害できます。AS283を用いた阻害実験からも、LTP誘導にCaMKIIのリン酸化活性が必要ないことは確かめられました。活性化したCaMKIIは基質となるタンパク質のリン酸化だけでなく、自己リン酸化によって自己阻害がかからなくなり、活性状態が持続することが知られています。面白いのはCaMKIIの自己阻害ドメインである自己リン酸化部位に変異を導入したマウスでは、AS283を作用させると、変異で失われていたLTP誘導能が回復する点です。活性型CaMKIIのGluR結合がLTP誘導に重要であると考察していた筆者らにとって、自己リン酸化部位に変異を導入したマウスでは、自己阻害を解除できない(=活性状態を維持できない)ためLTP誘導は障害されるはずなので、この結果は意外でした。この現象に関する追加実験の結果、AS283はCaMKIIの自己リン酸化部位にも競合し自己阻害を亢進する方向に働きますが、GluR結合部位のリン酸化によるGluR結合阻害をブロックすることでCaMKIIとGluRの結合を強めるため、自己リン酸化阻害によるLTP阻害を回避できると筆者らは結論付けています。これらの結果から、LTP誘導に必要なのはCaMKIIのリン酸化活性よりも、活性型に構造変化したCaMKIIがGluRに結合することであると明らかになりました。

CaMKIIはリン酸化活性以外にもCa²⁺/カルモジュリン結合タンパク質として、神経過剰興奮時には細胞内に過剰に流入したCa²⁺をトラップする制御機能や、シナプス後膜直下のタンパク質複合体(シナプス後肥厚)を形成する構造タンパク質としての機能など様々な機能を持っているので、CaMKIIのどの機能がどの生体機能の調節に関与

しているか判断が難しい中、CaMKIIのリン酸化活性と構造的機能を区別した研究は初めてで、新しい記憶・学習メカニズムや記憶障害モデル動物開発の可能性が伺えます。今回の知見から、記憶障害の原因物質として有名なアミロイドβやタウタンパクなどがCaMKIIの構造的機能にどのように影響しているのか、今後の研究に期待します。

紹介論文書誌情報

LTP induction by structural rather than enzymatic functions of CaMKII.

J. E. Tullis, et al.

Nature, 621(7977), 146-153(2023)

(惟村 美紅)

セクレトームを用いた犬の認知症の新しい治療法

伴侶動物の高齢化に伴い認知症（認知機能不全症候群）が急増しており、米国で実施された調査によると11歳以上の犬の14%～60%に発症しているそうです。犬の認知症はヒトのアルツハイマー型に類似しており、脳血管障害、脳萎縮などの神経病理学変化を示し、病気の進行に伴い徐々にコミュニケーション能力を失い、認知能力の低下によって日常生活に支障をきたすようになります。治療法としては生活環境の見直しや飼い主による日常生活の介助が中心になります。認知症治療薬や抗不安薬などが処方されることもありますが、現時点では根本的な治療薬はありません。その原因の1つに、必要な量の治療薬が血液脳関門を通過できないこと（薬物送達機構の欠如）が挙げられます。

そこで、著者らは近年報告が増加している動物やヒト由来の幹細胞のセクレトーム療法（培養上清液を用いた無細胞療法）と適切なドラッグデリバリーを組み合わせれば強力な生理活性分子を最も必要とされる中枢神経系に直接送達できると考えました。これらの最新の研究成果を確認するため、牛臍帯由来間葉系幹細胞、培養上清液、タンパク質、薬物送達、認知機能障害、ナノ粒子、キトサン、デリバリー、アルツハイマー病、ヒドロゲルなどのキーワードを採用して、PubMedに取り上げられた多数の文献、関連する論文や引用文献などについて包括的に検索しました。

その結果、犬のアルツハイマー型認知症の治療法として、牛臍帯由来間葉系幹細胞培養上清液を用いたセクレトーム療法が有力な候補に挙がりました。生理活性分子が中枢神経に到達すれば、ニューロンの再生を刺激し、ニューロンの炎症やアポトーシスの抑制、アミロイドβの沈着防止が期待できます。

キトサンは、エビ、カニなどの甲殻類の外骨格、キノコや酵母などに由来する天然ポリマーで、その高密度のコロイド粒子は生体適合性に優れており、ドラッグデリバリー

一の分野で注目を集めています。コロイド粒子の大きさは、1 nm~1000 nm の範囲で作製が可能ですが、文献を精査したところ、200 nm 前後のキトサンヒドロゲルナノ粒子がドラッグデリバリーとして最適で、血液脳関門を通過した後、中枢神経系に生理活性分子を持続的に放出できることが明らかになりました。

以上のように、最新の研究報告を精査した結果から、犬の認知症の治療には牛臍帯由来間葉系幹細胞培養上清液を用いたセレクトーム療法にドラッグデリバリーとしてキトサンヒドロゲルナノ粒子を組み合わせる方法が最適だと結論しました。

セレクトームやエクソソーム、ドラッグデリバリーは最近注目を集め、難病治療に新たな希望をもたらしていますが、それらの治療メカニズムについてはまだ完全に解明されておらず、安全性についても十分な注意が必要と思われます。また、犬の認知症の病態や治療法に関する研究を発展させることは、ヒトの認知症モデルとしての可能性を秘めており、私たちにとっても身近な疾病である認知症の有効な治療法の開発にも期待したいと思います。

紹介論文書誌情報

Chitosan hydrogel nanoparticle enhance therapeutic effect of bovine umbilical mesenchymal stem cell conditioned medium on canine cognitive dysfunction or canine Alzheimer's like mediated by inhibition of neuronal apoptotic.

H. Wihadmadyatami, et al.

Open Vet. J., **13**(12), 1504-1516 (2023)

(橋爪 昌美)

小動物のリホーミング -オランダ・ユトレヒト大学での取り組み-

リホーミングとは、実験に用いられた動物が家庭に引き取られることをいいます。欧州議会及び欧州委員会は、2010年に発出した実験動物の保護に関する指令(2010/63/EU)の中でリホーミングについて明文化しています。EUの他、オーストラリアでも可能な限り実験動物のリホーミングを考慮する必要があると Australian code for the care and use of animals for scientific purposes において規定されています。ただし、EU、オーストラリアともに、動物の健康状態に問題がないこと、動物の健康を守るための適切な措置が講じられていることを前提としています。EUではさらに、リホーミング前に動物が社会化されていること、動物の去勢、公衆衛生への配慮、組換え動物を対象から排除すること等も前提条件としています。

リホーミングは主に犬や猫といった大型のコンパニオンアニマルを重視することが多く、英国では The Animal (Scientific Procedures) Act 1986 で犬や猫に焦点を当ててい

ます。米国 FDA はその内容を公開していませんが、内部ポリシーにおいて犬、猫、ウサギ、モルモット、数種類の家畜をリホーミングの対象としており、そこにはマウスやラットなどの小動物が含まれていないそうです。

ここで、小動物向けのリホーミングプログラムを作成したユトレヒト大学の Van Loo 氏らの論文を紹介します。論文にはリホーミングの方針、リホーミング時の契約、動物を飼う上での推奨事項、健康チェック、動物の輸送、フォローアップやフィードバック等について書かれています。彼女らはそれに基づいて小動物のリホーミングについてパイロットスタディを 2019 年から 4 年間行い、マウス約 450 匹、ラット約 1,100 匹等の健康な小動物をリホーミングしました。リホーミング後に実施したアンケート調査では、アルビノ動物の光や病原体に対する感受性、里親が病気の兆候を認識することが困難である可能性等が判明したため、彼女らはアルビノの光や免疫に関する特性について健康証明書に含めたり、病気の兆候がわかるようなビデオを作成したりする等の取り組みを追加し、リホーミングプログラムを改善しました。

彼女らは、実験に用いられた脊椎動物は平等に扱われるべきとして、オランダ国内外の機関とこのプログラムを積極的に共有しています。さまざまな動物種をリホーミングすることは容易ではありませんが、犬や猫といったコンパニオンアニマルと同様の機会が小動物にも与えられるべきではないでしょうか。

紹介論文書誌情報

Why All Healthy Laboratory Animals Should Be Rehomed, No Matter How Small.

P. L P Van Loo, et al.

Animals (Basel), doi: 10.3390/ani13172727. (2023)

(小川 友香)

トピックス

手話に科学用語を吹き込む試み

科学を志す聴覚障害者にとって、手話は大切なコミュニケーション手段ですが、手話には科学に関する用語や語彙が不足していることが多く、研究や科学教育がスムーズに行えない原因となりかねません。

今回ご紹介するのは、手話に科学用語や概念を取り込む活動をしているインド手話 (Indian Sign Language ; ISL) 教育者の取り組みです。

自身も聴覚障害者であり、幼少期から科学に興味はあったものの、その内容を十分に理解するのに苦労した経験を持つ手話教育者 Digvijay Singh 氏は、インドの科学産業研究評議会 (Council of Scientific and Industrial Research) の微生物技術研究所 (Institute of Microbial Technology) に在籍し、分子生物学の研究者や手話の専門家と協力して、科学用語を説明するための手話用語やコンテンツを作成しています。

科学のアウトリーチビデオやその他のコンテンツを ISL に変換するという作業の際には、ISL 辞書に載っていない用語が出てきたら、アメリカ手話 (American Sign Language) などを調べて、該当する手話があるか確認します。ない場合は、説明しようとしている用語の形と機能を表す手話を新たに開発します。例えば「バクテリア」という単語は、片手の 4 本の指でバクテリアの表面にある毛の構造を表現し、もう片方の手で尾のような鞭毛の動きを示すことで表現します。

また、学校にも赴き、教師や学生向けにワークショップも実施するなど、精力的に活動しています。

インド手話は、1990 年代に標準化された言語として登場したばかりで、科学、技術、工学、数学分野においてはまだ十分な手話が無い状況です。

今後のますますの活動が期待されます。

では、日本の状況はどうか。今まで、気に留めていませんでしたが、科学技術の発展のために多くの科学者の卵に門戸が開かれるように、自国の動きにも注目していきたいと感じました。

紹介情報名

Adding scientific signs to Indian Sign Language will create a more inclusive field for deaf students.

Nature, CAREER FEATURE, 2024 年 2 月 28 日情報

doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-024-00611-w>

(山崎 晶子)

遺伝子編集で豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス耐性にした豚の肉が市場に流通する日は近い？

豚繁殖・呼吸障害症候群（Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome ; PRRS）は、PRRS ウイルス（PRRSV）による豚の感染症で、世界的に広く蔓延し、我が国の養豚業へも大きな被害を与えています。

農場で家畜感染症を清浄化するため、農場の衛生管理の徹底、動物のオールイン・オールアウト、ワクチンの有効活用などの対策がとられていますが、PRRS や牛ウイルス性下痢（BVD）などは、農場の清浄化が難しい感染症です。

最近、遺伝子編集技術を応用したウイルス耐性家畜の作出に関する研究が盛んに行われており、新動薬情報 2023 年度第 1 号では、BVD ウイルスのレセプタータンパク質 CD46 を遺伝子編集技術で不活化した牛の作出についてご紹介しました。

PRRSV に対しても、遺伝子編集技術を応用して豚の細胞表面の PRRSV レセプターである CD163 の機能を不活化して、PRRSV 耐性豚を作出しようという研究が複数の研究機関で行われてきました。

今回ご紹介するのは、遺伝子編集で PRRSV 耐性にした豚の肉が市場に流通する日が近づいているという情報です。

英国の Genus 社は、米国ミズーリ大学の Randall Prather 教授が開発した遺伝子編集による豚の CD163 機能不活化技術のライセンスを受け、作出した遺伝子編集豚から、豚肉の商業生産用の 4 系統の品種を作りました。Genus 社は、作出した PRRSV 耐性豚から生産した豚肉の商業販売について、米国 FDA から承認を得るために提出すべき資料を準備中とのことです。また、米国は多くの国へ豚肉を輸出しているのので、輸入国の規制当局から承認を得るための作業も進めており、コロンビアの規制当局からは 2023 年 10 月に前向きな回答を得たそうです。

遺伝子編集技術を応用して作出された家畜の生産物の安全性が確認されても、これらが市場で受け入れられるかどうかという大きな問題もありますが、遺伝子編集でウイルス耐性を獲得した家畜の実用化が近づいていることは確かでしょう。

紹介情報名

Poised to be first widely consumed gene-edited animals, virus-resistant pigs trot toward market.

Science, News 2024 年 2 月 23 日情報

<https://www.science.org/content/article/poised-be-first-widely-consumed-gene-edited-animals-virus-resistant-pigs-trot-toward>

（宮崎 茂）

米国環境保護庁が動物実験廃止の目標期限を撤廃

化学物質の安全性評価などさまざまな毒性研究には、げっ歯類など多くの実験動物が使われています。一方動物福祉の観点から、生体模倣システム（Micro Physiological System, MPS）などの *in vitro* の試験法、定量的構造活性相関（Quantitative Structure-Activity Relationship, qSAR）などによる *in silico* の評価法、リードアクロスによる毒性の推計など、新しいアプローチによる安全性評価手法（New Approach Methodologies, NAMs）の研究が進んでおり、一部は実用化されています。

各国・各地域の規制当局やリスク評価機関も、動物実験への依存を減らすための取り組みを進めています。米国では、ヒト用医薬品の承認申請にあたって必要な非臨床試験としての有効性と安全性の確認における動物実験の義務を廃止する法案が 2022 年に成立したことは、新動薬情報 2022 年度第 4 号でご紹介しました。

一方、米国環境保護庁（Environmental Protection Agency, EPA）は、哺乳動物を使用する研究の実施及び同研究への助成支給を 2035 年までに廃止するという計画を放棄すると発表したそうです。EPA はこの計画を 2019 年に発表しましたが、科学者の中にはヒトや野生生物に害を及ぼす可能性のある化学物質の安全性を評価する際の最終基準は依然として動物であると主張する意見も多く、科学者の間でも見解が分かれていました。今回の EPA の「期限撤廃」についても、科学的な根拠がないまま定められた期限の撤廃を歓迎する意見と、動物実験への依存が続いてしまうのではないかと危惧する意見があるようです。

目標の確実な達成のために期限を定めることは重要ですが、その設定には根拠が必要です。しかし、2019 年に期限を設定した時の EPA 長官の Wheeler 氏は、家族の動物愛と、16 年以内に新技術が動物実験を完全に置き換えることができるという信念が期限設定の動機だと説明しています。一方、EPA の担当者は「期限撤廃」に関するサイエンス誌の取材に対し、動物実験に代わる研究に引き続き取り組んでおり、恣意的に定められた期限を撤廃してもその決意は変わっていない、と述べたそうです。

米国では今回の EPA の「期限撤廃」がさまざまな議論を呼んでいるようですが、NAMs 研究が着実に進んで行くことを期待します。

紹介情報名

EPA scraps plan to end mammal testing by 2035

Science, News 2024 年 1 月 12 日情報

<https://www.science.org/content/article/epa-scraps-plan-end-mammal-testing-2035>

（宮崎 茂）

敵対的生成ネットワークモデル「Animal GAN」は動物実験を代替できるか？

動物実験で得られたデータは、医薬品の開発において化学物質や医薬品のリスクや安全性を評価する上で極めて重要なものですが、動物愛護の観点から、動物実験代替法の手法として QSAR、リードアクロス、IATA などの活用が世界的に推進されているのは周知のところではあります。

今回ご紹介するのは、さらに一歩進んだ手法で動物実験の代わりとなり得る可能性のある「Animal GAN」です。GAN（Generative Adversarial Network：敵対的生成ネットワーク）とは、AI が学習したデータを元に、新たなデータを作り出す生成モデルの一種です。GAN は、例えるなら、入力データの偽物を作り出すシステムと、その偽物を見破るウソ発見器のようなシステムの 2 つの要素で構成されており、この流れを繰り返すことで、生成データをよりリアルなデータに近づけることができます。Animal GAN はこの仕組みを利用して、動物実験データのある化学物質と構造が似ている化学物質の毒性を推定し、実在しないデータを生成することができます。このように、動物実験を実施せずとも動物実験によって得られるデータを作成することができるため、未試験の化学物質の毒性を評価するための代替法として役立つ可能性があります。

Animal GAN の手法は、従来の動物実験データから、化学物質への曝露（化学物質の用量、曝露期間などの組み合わせ）と臨床病理所見（臨床化学や血液学的測定値など）のパターン・傾向を分析し、あらかじめ定義された用量と治療期間で、医薬品や化学物質の臨床病理プロファイルを作成するというものです。

実際、化学物質の毒性について、Animal GAN のデータは動物実験によって得られたデータと同等の結果を示しました。また、特異体質性薬物誘発性肝障害など、少数に限られた患者のみにしか認められず、従来の動物実験では再現できない薬物毒性について、Animal GAN は、動物実験データを作成することで、従来の動物実験ではほぼ確実に特定できないまれな毒性学的事象を検出することが可能で、動物実験によって得られるデータのヒトへの外押が可能となりました。

AnimalGAN は、動物実験の 3R の原則（Replacement：動物の苦痛の軽減、Reduction：使用数の減少、Refinement：代替法の活用）においても、大きな一歩となり得ることが期待されます。

<https://www.nature.com/articles/s41467-023-42933-9>

Nature 2023 年 11 月 6 日情報

（山崎 晶子）

編集後記

新動薬情報、2023 年度第 4 号をお届けします。

世界の主要 64 カ国を対象に「経済実績」「政府の効率性」「ビジネスの効率性」「インフラ」の 4 項目の評価を元に発表される世界競争力ランキングで、2023 年、日本は過去最低となる 35 位となりました。1 位デンマーク、2 位アイルランド、3 位スイスといった結果となっていますが、経済規模は小さくとも、強力で効率のよい制度があり、市場参入に長けた国が上位に入っているとの見方もあるようです。2023 年度第 3 号の編集後記で、OECD（経済協力開発機構）による 15 歳の子ども対象の国際学力調査において、世界の中でも日本の子どもがトップレベルであるという快進撃をお伝えしたばかりなので、この低迷する結果は気がかりです。

順位ばかりを論じるつもりはありませんが、日本の強みと認識されている、質の高いインフラや教育水準、熟練労働力からなる人的資本などを上手に昇華させる仕組み作りを論じていく必要があります。

2023 年度も最後の号となりました。来期も心機一転、リニューアルした姿をお見せできることができれば、と思っております。

編集委員長 山崎 晶子

新動薬情報 2023 年 第 4 号

編集：新動薬情報編集委員会

編集委員 委員長 山崎 晶子

委員 宮崎 茂、山田 俊治、永根 麻子、中村 佳子、伴瀬 恭平、
水谷 恵子、長谷川 彩子