

厚生省  
神経疾患研究委託費

筋ジストロフィー症動物の生産・  
開発に関する研究

野村班

昭和54年度研究報告書

昭和55年3月

## 研究報告書の作成にあたり

去る昭和43年、厚生省心身障害研究助成金「筋ジストロフィー症の成因と治療に関する研究」・冲中班が結成されて以来、その班員として「筋ジストロフィーマウスの飼育管理および生産」を分担させて頂きました。さらに昭和53年度からは、厚生省神経疾患研究委託費筋ジストロフィー症研究班の第一班、「筋ジストロフィー症の基礎的研究」班（江橋班長）のうち、「筋ジストロフィー症動物の生産・供給およびモデル動物の開発」を分担課題として担当してきました。また昭和54年度より、筋ジストロフィー症研究班の第五班として、「筋ジストロフィー症動物の生産・開発に関する研究」班として独立し、私がお班長としてお世話をさせて頂いております。

この班の目的は、1) 各班の諸先生方がこの研究に用いられる筋ジストロフィー症モデル動物の大量生産・供給、2) 新しい筋ジストロフィー症モデル動物の開発・改良、3) 筋ジストロフィー症動物の飼育管理方法の検討、であります。これらの目的を達成するために、私ども第五班の努力は当然のことながら、同時に、動物を使う側からの情報（例えば供給動物の評価、問題提起、新しいモデル動物の要望等）のフィードバックが是非とも必要であります。この点に関し、この筋ジストロフィー症研究班員の諸先生方には、常々御協力頂き感謝しておりますが、なお今後一層の御協力をお願い申し上げる次第であります。

ここに昭和54年度研究報告書の作成にあたり、厚生省当局者、国立神経センター、日本筋ジストロフィー協会ならびに班員、協力者各位の御努力、御協力に対し深く感謝いたします。

昭和55年3月

班長 野 村 達 次

# 目 次

I. 筋ジストロフィー症に関する文献調査	
1. 筋ジストロフィー症に関する文献 .....	1
野村達次	
2. 筋ジストロフィー症の疾患モデル動物 .....	8
—ヒトの神経・筋疾患のモデルとなる可能性をもつマウスの突然変異形質—	
江崎孝三郎	
II. 筋ジストロフィー症動物の生産と飼育管理方法の研究	
1. 筋ジストロフィーニワトリの生産と飼育管理に関する研究 .....	15
水谷誠	
2. 筋ジストロフィーニワトリ飼育用アイソレータの開発 .....	24
斉藤宗雄	
III. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発	
1. 鳥類における筋ジストロフィー症研究用疾患モデル系統の開発 .....	31
近藤恭司	
2. ニワトリ筋ジストロフィー症の遺伝分析 .....	41
—特にキャリア鶏浅胸筋の組織学的、酵素組織化学的研究—	
菊池建機	
3. 鳥類における神経・筋疾患モデル動物の開発 .....	52
水谷誠	
4. 遺伝性前外側下腿筋萎縮マウス .....	62
江崎孝三郎	

# I. 筋ジストロフィー症に関する文献調査

## 1. 筋ジストロフィー症に関する文献調査(1978)

野村 達次\*

筋ジストロフィー症モデル動物の開発研究の一環として「疾患モデル動物」「哺乳類・トリ類における筋ジストロフィーとその近縁筋疾患」ならびに「筋ジストロフィーとその近縁筋疾患に関する動物実験」についての、文献調査をおこなっている。それらの中、筋ジストロフィーに関する文献(1978)を以下に紹介する。

### Mice

Montgomery, A. & Swenarchuk, L.: Further observations on myelinated axon numbers in normal and dystrophic mice. *J. Neurol. Sci.*, 38, 77-82, 1978.

Rasminsky, M., Kearney, R.E., et al.: Conduction of nervous impulses in spinal roots and peripheral nerves of dystrophic mice. *Brain Res.*, 143, 71-85, 1978.

Burch, T.G. & Law, P.K.: Normal development of muscle fibers and motor end plates in dystrophic mice. *Exp. Neurol.*, 58, 570-4, 1978.

Harris, J.B. & Ribchester, R.R.: Neuromuscular transmission is adequate in identified abnormal dystrophic muscle fibers. *Nature*, 271(5643), 362-4, 1978.

Mrak, R.E. & Baskin, R.J.: Calcium transport and phosphoenzyme formation in dystrophic mouse sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Med.*, 19, 47-70, 1978.

Okada, E., Mizuhira, V., Kubota, T. & Nakamura, H.: Abnormalities of the sciatic nerves of dystrophic mice with reference to the large U-axons. *J. Neurol. Sci.*, 35, 1-14, 1978.

Monckton, G. & Marusyk, H.: The incorporation of isotopes into proteins of normal and dystrophic mouse heart and skeletal muscle. *J. Neurol. Sci.*, 35, 135-46, 1978.

---

\* (財)実験動物中央研究所

- Souweine, G., Rolland, M.O., et al.: Erythrocyte ghost (NA+ K+) ATPase activity in mice with hereditary muscular dystrophy (Strain C57BL/64J/dy). *J. Neurol.* 217, 183-9, 1978.
- Daniel, P.M., Pratt, O.E. & Spargo, E.: Storage and homoeostatic functions of the skeletal muscles in muscular dystrophy. *J. Physiol. (Lond)*, 275, 41-42, 1978.
- Slater, C.R. & Wolf, A.F.: Abnormal reinnervation of muscles in dystrophic mice. *J. Physiol. (Lond)*, 275, 73-74, 1978.
- Stephens, H.R., Nadeau, D. & Sandborn, E.B.: Absorption and distribution of sodium (2-14C) barbital in tissues of normal and dystrophic mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 56, 76-82, 1978.
- Dju, M.Y. & Yeu, T.F.: Uric acid metabolism in homozygous and heterozygous muscular dystrophic mice. *Am. J. Physiol.*, 234, E241-5, 1978.
- Rayburn, H.B. & Peterson, A.C.: Naked axon in myodystrophic mice. *Brain Res.*, 146, 380-4, 1978.
- Grouse, L.D., Nelson, P.G., et al.: Measurements of gene expression in tissues of normal and dystrophic mice. *Exp. Neurol.*, 59, 470-8, 1978.
- McHanwell, S.: Abnormal transport of horseradish peroxidase from the medial gastrocnemium muscle in dystrophic mice. *J. Physiol. (Lond)*, 277, 81-82, 1978.
- Mrak, R.E. & Baskin, R.J.: Ultrastructure of dystrophic mouse sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Med.*, 19, 277-93, 1978.
- Law, P.K.: Reduced regenerative capability of minced dystrophic mouse muscles. *Exp. Neurol.*, 60, 231-43, 1978.
- Atwood, H.L. & Kwan, I.: Dystrophic and normal mice show age-dependent divergence of muscle sodium concentrations. *Exp. Neurol.*, 60, 386-92, 1978.
- Enomoto, A. & Bradley, W.G.: Therapeutic trials in muscular dystrophy. 1. Gold in murine dystrophy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 41, 404-7, 1978.
- Katyare, S.S., Challberg, M.D., et al.: Energy coupling in liver mitochondria from dystrophic mice: Differential sensitivity of

oxidative phosphorylation and  $Ca^{2+}$  uptake to  $K^+$ . *Metabolism*, 27, 761-9, 1978.

Raminsky, M.: Ectopic generation of impulses and cross-talk in spinal nerve roots of "dystrophic" mice. *Ann. Neurol.*, 3, 351-7, 1978.

Waxman, S.G., Bradley, W.G. & Hartwig, E.A.: Organization of the axolemma in amyelinated axons: A cytochemical study in dy/dy dystrophic mice. *Proc. R. Soc. Lond. (Berl.)*, 201(1144), 301-8, 1978.

Kagawa, T., Chikata, E., Tani, J. & Tsutamune, T.: In vitro myogenesis of the mononucleate cells derived from regenerating muscles of adult dystrophic mice. *Dev. Biol.*, 65, 526-30, 1978.

Jaros, E. & Bradley, W.G.: Development of the amyelinated lesion in the Ventral root of the dystrophic mouse. Ultrastructural, quantitative and autoradiographic study. *J. Neurol. Sci.*, 36, 317-39, 1978.

Libelius, R., Jirmanova, I., Lundquist, I. & Thesleff, S.: Increased endocytosis with lysosomal activation in skeletal muscle of dystrophic mouse. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 37, 387-400, 1978.

Sung, S.C.: Soluble cholinesterase of muscle from dystrophic and normal mice. *Life Sci.*, 23, 69-73, 1978.

Beitner, R., Haberman, S., et al.: The Levels of cyclic GMP and glucose 1,6-diphosphate, and the activity of phosphofructokinase, in muscle from normal and dystrophic mice. *Biochim. Biophys. Acta*, 542, 537-41, 1978.

Wiggins, R.C. & Morell, P.: Myelin of the peripheral nerve of the dystrophic mouse. *J. Neurochem.*, 31, 1101-5, 1978.

Stirling, C.A.: A simple method for maintaining relative positions of separate tissue elements during processing for electron microscopy. *J. Microsc.*, 114, 107-9, 1978.

Schorr, E.E., Arnason, B.G., et al.: Treatment of mouse muscular dystrophy with the protease inhibitor pepstatin. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 37, 263-8, 1978.

## Chickens

Clark, S.W., Peckham, R.W. & Rudolph, F.B.: Enzymes of the purine nucleotide cycle in muscles from normal and dystrophic chickens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 158, 406-9, 1978.

Thakar, J.H.: Studies on isolated mitochondria from muscles of normal and dystrophic chickens. *Biochem. Med.*, 19, 108-17, 1978.

Stracher, A., McGowan, E.B. & Shafiq, S.A.: Muscular dystrophy: Inhibition of degeneration in vivo with protease inhibitors. *Science*, 200 (4337), 50-1, 1978.

Hanna, S.D. & Baskin, R.J.: Comparison of the (CA<sup>2+</sup> +MG<sup>2+</sup>)-ATPase proteins from normal and dystrophic chicken sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Acta*, 540, 144-50, 1978.

Crowe, L.M. & Baskin, R.J.: Freeze-fracture of intact sarcotubular membranes. *J. Ultrastruct. Res.*, 62, 147-54, 1978.

Missirlis, Y.F., Kohn, I.L., et al.: Alterations in erythrocyte membrane material properties: A marker of the membrane abnormality in human and chicken muscular dystrophy. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 20, 189-203, 1978.

Ashmore, C.R., Vigneron, P., et al.: Simultaneous cytochemical demonstration of muscle fiber types and acetylcholinesterase in muscle fibers of dystrophic chickens. *Exp. Neurol.*, 60, 68-82, 1978.

Wilson, F.J., Camiscoli, D., et al.: Immunohistochemical and ultrastructural distribution of antibodies to troponin-C and troponin-I in normal and dystrophic chicken skeletal muscle. *J. Histochem. Cytochem.*, 36, 258-66, 1978.

Butterfield, D.A. & Leung, P.K.: Erythrocyte membrane fluidity in chicken muscular dystrophy. *Life Sci.*, 22, 1783-8, 1978.

Bains, B.S. & Watson, A.R.: Nutritional myopathy -- A cause of ataxia in broiler chickens. *Nz. Vet. J.*, 26, 31-2, 1978.

Jensen, L.S., Page, R.K., Wilson, S.P. & Huston, T.M.: Muscular dystrophy in broiler breeder hens: Effect of temperature. *Poult. Sci.*, 75, 729-34, 1978.

Sketelj, J., McNameee, M.G. & Wilson, B.W.: Effect of denervation on the molecular forms acetylcholinesterase in normal and dystrophic chicken muscles. *Exp. Neurol.*, 60, 624-9, 1978.

Hudecki, M.S., Pollina, C., et al.: Effect of exercise on chickens with hereditary muscular dystrophy. *Exp. Neurol.*, 61, 65-73, 1978.

Havia, P., Shaffer, R.H., Peterson, D.W. & Clifford, A.J.: Hepatic purine enzyme profiles and uric acid overproduction in muscular dystrophy and in inherited tophaceous gout. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 158, 332-6, 1978.

Beringer, T.: Stereologic analysis of normal and dystrophic avian alpha myofibers. *Exp. Neurol.*, 61, 380-94, 1978.

Entrikin, R.K., Patterson, G.T., et al.: Righting, ability and skeletal muscle properties of phenytoin-treated dystrophic chickens. *Exp. Neurol.*, 61, 650-63, 1978.

#### Rabbits

Dahlin, K.J., Chan, A.C., et al.: Rehabilitating effect of vitamin E therapy on the ultrastructural changes in skeletal muscles of Vitamin E deficient rabbits. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, 94-9, 1978.

Takamori, M., Hazama, R., et al.: Active state properties of denervated and immobilized muscle: Comparison with dystrophic muscle. *Neurology (Minneapolis)*, 28, 603-8, 1978.

Chou, A.C., Broun, G.O. Jr., et al.: Abnormalities of iron metabolism and erythropoiesis in Vitamin E deficient rabbits. *Blood*, 52, 187-95, 1978.

Parry, D.J. & Montpetit, V.J.: Histochemical changes in fast and slow muscles of nutritionally dystrophic rabbits. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 37, 231-43, 1978.

Heffron, J.J., Chan, A.C., et al.: Decreased phosphorylative capacity and respiratory rate of rabbit skeletal muscle mitochondria in Vitamin E dystrophy. *Int. J. Biochem.*, 9, 539-43, 1978.



### Hamsters

Booth, F.W.: Inability of myoglobin to increase in dystrophic skeletal muscle during daily exercise. *Pfluegers. Arch.*, 373, 175-8, 1978.

Nakatsu, K., Morison, J. & Edmonds, J.: Proteolysis in dystrophic hamster diaphragm and abdominal muscle. *Experientia*, 34, 318-9, 1978.

### Guinea pigs

Schorr, E.E., Arnason, B.G., et al.: Treatment of mouse muscular dystrophy with the protease inhibitor pepstatin. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 37, 263-8, 1978.

### Rats

Libby, P. & Goldberg, A.L.: Leupeptin, a protease inhibitor, decreases protein degradation in normal and diseased muscles. *Science*, 199(4328), 534-6, 1978.

### Monkeys

Adornato, B.T., Engél, W.K. & Foidart-Desalle, M.: Elevations of hemopexin levels in neuromuscular disease. *Arch. Neurol.*, 35, 577-80, 1978.

### Sheep

Cheema, A.H. & Gilani, S.H.: Cardiac myopathies in neonatal Lambs: Histological and histochemical studies. *Biol. Neonate*, 34, 84-91, 1978.

Geary, M.R., Done, S.H. & Drew, R.A.: White muscle disease in the differential diagnosis of clinical pneumonia (Letter). *Vet. Rec.*, 102, 535, 1978.

### Horses

Caple, I.W., Edwards, S.J., et al.: Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition. *Aust. Vet. J.*, 54- 57-60, 1978.

二種以上の動物

Blosser, J.C. & Appel, S.H.: Properties and distribution of mammalian skeletal muscle guanylate cyclase. Alterations in denervated and dystrophic muscle. *J. Biol. Chem.*, 253, 3088-93, 1978.

Barnard, E.A. & Barnard, P.J.: Therapeutic effect of 5-Hydroxytryptamine antagonists on inherited muscular dystrophy in the chicken and hamster. *J. Physiol. (Lond)*, 278, 29-30, 1978.

Bradley, W.G. & Fulthorpe, J.J.: Studies of sarcolemmal integrity in myopathic muscle. *Neurology (Minneap.)*, 28, 670-7, 1978.

Silman, I., Lyles, J.M. & Barnard, E.A.: Intrinsic forms of acetylcholinesterase in skeletal muscle. *Febs. Lett.*, 94, 166-70, 1978.

Borum, P.R., Park, J.H., Law, P.K. & Roelops, R.I.: Altered tissue carnitine levels in animals with hereditary muscular dystrophy. *J. Neurol. Sci.*, 38, 113-21, 1978.

Steinschneider, A.: Glucose in vertebrate skeletal muscle proteins. *Biochem. Biophys. Acta*, 536, 64-9, 1978.

## 2. 筋ジストロフィー症の疾患モデル動物

— ヒトの神経・筋疾患のモデルとなる可能性  
をもつマウスの突然変異形質 —

江 崎 孝三郎\*

研究協力者 水岡吾郎\*, 庄司陽子\*

ヒト疾患の病因の解明と治療方法の研究には、それらの疾患のモデルとなる実験動物が必須である。しかし、このようなモデル動物はきわめて限られた疾患について見出され、利用されているにすぎない。たとえば、モデル動物の開発が比較的進んでいる筋ジストロフィー症についてみても、マウス、ゴールデンハムスター、ニワトリに発見されたある種の神経、筋異常動物が注目され、利用されているにすぎない。

一方、マウスにおいては、350をこえる突然変異形質が発見されているにもかかわらず、これらの異常動物の多くは遺伝学的あるいは生物学的興味のもとに報告されているにすぎず、医学研究のためのモデル動物としての検討はほとんどされていない。

ここでは、マウスに見出されている突然変異形質のうち、神経・筋異常に関するものについての要約を紹介し、筋ジストロフィー症のモデルとしての評価がなされることを期待する。

なお、見出しの英語はそれぞれの異常の遺伝子名を、( )内は遺伝子記号を示している。遺伝子名は異常の発見された時にその外見的症状などから命名されたものが多いため、かならずしも異常の種類、内容を適確に表現していない場合があるので注意する必要がある。

Active avoidance learning (*Aal*) : Olivero, A., *et al.* (1973) *Physiol. & Behav.*, 11: 497

Absence of corpus callosum (*ac*) : 常染色体上の劣性遺伝子支配、脳梁が部分的あるいは全く欠損している。しかし、通常のマウスではみられない線維路——縦脳梁索が存在する。遺伝的に同一と考えられる類似の異常がBALB/c および 129/J 系統にみられる。King, L.S. (1936) *J. Comp. Neurol.*, 64: 337

Audiogenic seizure prone (*asp*) : Collins, R.L., *et al.* (1968) *Science*, 162: 1137

Ataxia (*ax*) : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモでは生存力は低く、両性とも生殖不能である。生後2週までは運動過剰で、3週齢頃から3ヶ月齢頃にかけて麻痺が進む。特徴としては、振せん、運動失調、四肢の衰弱がある。中枢神経系では、脊髄後角の白質に変性、神経膠症、巣状壊死が認められる。脳梁、海馬、前交連および脳幹は小さい。Lyon, M.F. (1955) *J. Hered.*,

\* (財) 実験動物中央研究所

46 : 77

**Bouncy (bc)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。致死性はなく、ホモの少数は生殖可能である。ホモでは体型が小さく、10日令頃から運動開始時にはげしい振せんを起す。歩行、走行は可能であるが、後肢の運動失調が前肢よりひどい。Lane, P. W. (1969) *Mouse News Letter*, 40 : 30

**Chlorpromazin avoidance (Cpz)** : Castellano, C., *et al.* *Psychopharm.*, 34 : 309

**Cribriform degeneration (Cri)** : Green, E. L., *et al.* (1972) *Science*, 176 : 800

**Dancer (Dc)** : 常染色体上の半優性遺伝子支配。ホモは口蓋裂、口唇裂のために出生時に死亡する。ヘテロは生存力、生殖能力ともに正常である。回転運動、頭つき行動などの異状を呈するが、表現度は不完全である。つんぼではない。前庭部の骨・膜迷路の障害にともなう、卵形のう斑の欠損が認められる。Deol, M. S., *et al.* (1966) *J. Embryol. exp. Morphol.*, 16 : 543

**Disoriented (Do)** : 常染色体上の半優性遺伝子支配。ホモでは行動および平衡性が非定向的で、離乳時までに死亡する。ヘテロは軽症のものでは歩行時の迷い行動から重症のものでは苦しそうな動作、hand-standingをおこなうものまで種々の症状を示す。Dickie, M. M. (1968) *Mouse News Letter*, 39 : 27

**Distonia musculorum (dt)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後7~10日に尾をもって持ち上げた時に後肢をにぎる動作をする。肢の過度の伸長、屈曲を交互にくり返す運動失調がみられる。麻痺は明らかでない。ホモの多くのものは離乳時までに死亡するが、数ヶ月生存するものもある。組織学的には神経系の広範囲な退行性変性が認められる。Duchen, L. W., *et al.* (1964) *Brain*, 87 : 367

**Ducky (du)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは正常のものより体型がやゝ小さく、生存力も劣る。性成熟まで生存したオスは生殖可能であるが、能力は低い。メスはほとんど生殖不能。よたよた、よろめき歩きをし、側方へたおれる傾向がある。時折発作を起す。Snell, G. D. (1955) *J. Hered.*, 46 : 27

**Tropid (du<sup>td</sup>)** : Duckyと同じ遺伝子座の異なる突然変異。ホモはきわめて緩慢な動きをする。あおむけになって、口や肢をふるわせる。立位の時には片足をあげたり、ふるわせることがある。生存可能で、生殖能力もある。Dickie, M. M. (1965) *Mouse News Letter*, 32 : 45

**Dystrophia muscularis (dy)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後3週頃より後肢の筋の進行性の弱化和麻痺を発症する。ヒトの進行性筋ジストロフィーのモデルとして広く使用されている。Michelson, A. M., *et al.* (1955) *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 41 : 1079

Exploratory activity (*Exa*): Oliverio, A., *et al.* (1973) *Physiol. & Behav.*, 10 : 893

Falter (*fa*): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後10日頃より発症し、左右にゆれるように歩く。症状はしだいに重くなり、20日齢までに全例死亡する。Yoshida, T.H. (1960) *Ann. Rept. Nat. Inst. Genetics, Japan*, 10 : 27

Hotfoot (*ho*): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモのオスは生殖能力をもつが、メスは生殖不能。肢を急激にはたきような行動を示す。水中を泳がせると、胸を拡げ、体軀をまるめて肢を急速に動かす。Dickie, M.M. (1966) *Mouse News Letter*, 34 : 30

Hydrocephalic polydactyl (*hpy*): Hollander, W.F. (1966) *Amer. Zool.*, 6 : 588

Hydrocephalus-1 (*hy-1*): 絶滅したと思われる。

Hydrocephalus-2 (*hy-2*): 絶滅したと思われる。

Hydrocephalus-3 (*hy-3*): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモになっても表現度は不完全。重度の水頭症を示す個体は生後4~5週で死亡する。ほとんど症状を現わさず、生存し、生殖能力をもつ個体もある。発症した個体の側脳室、第3脳室は拡張し、中脳水道、第4脳室にもわずかに障害が認められる。水頭症はクモ膜下と軟膜の分化の異常によって、クモ膜下領域に障害が起ることによるものと考えられる。Berry, R.J. (1961) *J. Pathol. Bacteriol.*, 81 : 157

Jittery (*ji*): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後10~16日に筋の運動失調を、続いて数日以内にてんかん様の発作を起す。運動失調と発作がひどくなると、採食不能となり、通常4週齢までに死亡する。脳白質の多くの胞性変性が報告されている。Harman, P.J. (1950) *Anat. Rec.*, 106 : 304 (Abster.)

Jimpy (*ji*): 性染色体上の劣性遺伝子支配。ヘミのオスは生後20~40日で死亡する。従って、ホモのメスを作成することはできない。異常オスは静止している時には症状を現わさないが、動こうとする時にふるえを起す。この症状は生後2週頃よりみられる。中枢神経ではミエリンが著しく欠乏し、白質の細胞は無極性の脂質を、スダン親和性の強い原形質顆粒のかたちで含んでいる。Sidman, R.L., *et al.* (1964) *Science*, 144 : 309

Myelin synthesis deficiency (*jp<sup>msd</sup>*): Jimpyと同じ遺伝子座の異なる突然変異。Meier, H. (1970) *Exp. Brain Res.*, 10 : 512

Lucher (*Lo*): 常染色体上の半優性遺伝子支配。ヘテロでは後軀を左右にたおれるようにする独特なゆれがみられる。ふるえはみられないが、体軀を上下に動かす。症状は生後12~14日からみられ、加齢とともに顕著になる。ホモは生後間もなく死亡するが、著明な異常は認めえない。Phillips, R.J.S. (1960) *J. Genetics*, 57 : 35

Lrthargic (*lh*): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは動きの間に休息をとり、背をまるめて、最初は前肢を、次いで後肢を上げる動作をする。前肢をちぢめてじっとしていることもある。

両性とも生殖能力はあるが、寿命は短い。Dickie, M.M. (1964) *Mouse News Letter*, 30 : 30

*Lizard (lz)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモでは生後14日頃より症状が現れ、後肢の部分的麻痺と全身の筋組織の振せんがみられる。これらの異常は神経原性ではなく、筋原性であろうと考えられている。ホモのメスの少数は妊娠し、分娩もすることもあるが、哺乳はしない。ホモのオスは生殖不能であるが、精子形成は正常である。Mossis, T. (1966) *Mouse News Letter*, 34 : 27

*Muscle deficient (mdf)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは縫工筋、外側広筋、大腿直筋の筋線維の著しい退行性変性および前肢筋群の軽度の萎縮がみられる。組織学的、組織化学的観察および血清C PKの測定値からみて、この筋萎縮は、慢性的な末梢神経病の2次的影響によるものと考えられる。Womsck, A., *et al.* (1977) *Mouse News Letter*, 56 : 40

*Muscular dysgenesis (mdg)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモでは骨格筋の正常な発達はみられず、生存して生れてくることはない。最初の障害は胎生13日に認められる。この時期に浮腫が起り、横紋筋の筋原細胞の異常分化が起る。続いて、すべての骨格筋細胞の退行性変性が起る。出生時に胸郭、四肢には筋がほとんど認められない。心筋、平滑筋、神経組織は正常である。Gluechshon-Waelsch, S. (1963) *Science*, 142 : 1269. Pai, A.C. (1965) *Develop. Biol.*, 11 : 82

*Moterend-plate disease (med)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後10日頃より発症し、歩行の不安定、左右へのゆれ、頭を上下へ動かすなどの症状を呈する。その後2~3日で筋の弱화는顕著になり、後肢を体軀の後にひきずるようにして動く。症状はしだいに進行し、重症のものでは生後19~23日に、通常は26~29日に死亡する。この異常は神経・筋伝達の進行性の退行によって起るものと考えられる。Duchem, L.W. (1970) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 33 : 238

*Myodystrophy (myd)* : Lane, P.W., *et al.* (1976) *J. Hered.* 67 : 135

*Nervous (nr)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは正常の同腹子と比較して体型が小さい。生後3.5週頃より活動がやゝ活発になり、よろめき歩きをし、飼育ケージの壁面に立った時に倒れやすくなる。症状は数週間やゝ進行し、その後変化がみられなくなる。生存力はほぼ正常であり、両性とも生殖力があるけれども、その能力は低い。Green, M.C. (1967) *Mouse News Letter*, 37 : 33

*Obstructive hydrocephalus (oh)* : Borit (1972) *Acta Neuropath.*, 21 : 316

*Opisthotonus (opt)* : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後10日頃に、立時および歩行時に平衡を失なうようになる。15~10日齢には側方への転倒、著しい反弓緊張などの症状がみられ、離乳時までにはすべてのものが死亡する。Lane, P.W. (1972) *Mouse News Letter*, 47 : 36

*Purkinje cell degeneration (pcd)* : Mullen, R.J., *et al.* (1976) *Proc.*

Nat. Acad. Sci., 73 : 208

**Quaking (*qk*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後 10 ~ 12 日頃より、歩行時に振せんを起す。この振せんは後半身において顕著にみられる。成体では発作を起すこともある。オス、メスともに生殖可能であるが、オスの能力は低い。中枢神経系にはミエリンの著しい障害が認められる。軸索や灰白質の細胞は正常である。Sidman, R. L., *et al.* (1964) *Science*, 144 : 309

**Quivering (*qv*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモの離乳までの生存率は正常であるが、寿命は短かく、多くのものは 5 ヶ月齢以前に死亡する。オスは生殖不能であるが、メスは分娩・哺育する。ホモは運動失調、後肢の麻痺を呈する。尾を持ってもち上げた時に、後肢を握る症状がみられ、オスでは陰茎の強直が起る。脳、脊髄、神経根には組織学的な異常は認められず、尿中アミノ酸も正常である。血清タン白、血清コリンエステラーゼについても症状と関連した変化は明らかでない。Yoon, G. H. (1962) *Neurology*, 12 : 423

**Reeler (*rl*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは後半身を真直に保つことができず、歩行時や走行時にはしばしば横転する。生存率は低く、オスは生殖不能で、メスもほとんど生殖不能である。知的にも異常があると思われる。大脳皮質、小脳皮質および海馬の組織、成層が破壊されている。小脳は正常のものより小さいが、単位重量当りのコリンエステラーゼ活性は正常の約 2 倍である。Hamburgh, M. (1963) *Develop. Biol.*, 8 : 165

**Staggerer (*sg*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは通常生後 4 週までに死亡するが、成熟時まで生存するものもある。ホモはよろめき歩き、中程度の振せん、低血圧を呈し、体型は小さい。小脳皮質は未発達で、顆粒細胞は著しく少ない。Purkinje 細胞は不整一になっている。Sidman, R. L., *et al.* (1962) *Science*, 137 : 610

**Shambling (*shm*)** : Green, E. L. (1967) *J. Hered.* 58 : 64

**Swaying (*sw*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは起立不能で、まっすぐに前方へ歩くことができない。動こうとする時には、左右にゆれながら、後肢を中心に右まわり、左まわりと回転する。小箱に入れた時には、壁にもたれるようにして、壁にそって前進する。Lane, P. W. (1967) *Mouse News Letter*, 36 : 38

**Sprawling (*swl*)** : Duchon, L. W. (1975) *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 1 : 89

**Tumbler (*tb*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモはカニのような歩行をする。前方に進もうとするときには、とんぼ返り、ひっくり返り、飛びあがりをする。泳ぐことはできるが、ロープにつかまることができない。ホモでも多くのものは生存し、生殖可能である。Dichie, M. M. (1965) *Mouse News Letter*, 32 : 43

**Tottering (*tg*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモの生存力は正常で、オス、メスともに生殖可能であるが、能力は低い。生後 2 週頃より間歇的な急発作を起す。後半身に障害があり、よろよろした歩行をする。Green, M. C., *et al.* (1962) *J. Hered.*, 53 : 233

**Leaner (*tg<sup>la</sup>*)** : *tg* と同じ遺伝子座の異なる突然変異。ホモの多くのものは生存し、生殖

能力をもつ。症状は生後10日頃より現われ、成体では体軀の不安定と、体軀、四肢の筋の異常な緊張がみられる。小脳虫部皮質ではニューロンの退行性変性がみられる。Sidman, R.L. (1965) *Mouse News Letter*, 32: 37

Rolling-Nagoya ( $tg^{roll}$ ):  $tg$ と同じ遺伝子座の異なる突然変異。ホモは後肢の安定性にとぼしく、前進する時に体軀の動揺をくり返す。症状は生後10~14日に発現し、その後数週間進行する。小脳の低形成がみられる。Oda, S., *et al.* (1976) *Ann. Rept. Envir. Med, Nagoya Univ.*, 27: 193

Tipsy ( $ti$ ): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生存し、生殖能力もある。生後1週頃よりウサギ様の歩行をする。その後、前軀を左右に動かす動作をみせ、よろめいたり、つまずいたりする。老齢になると症状の程度に差がみられるようになり、多少回復するものもみられる。Searle, A. G. (1961) *Genet. Res.* 2: 122

Tremulous ( $tm$ ): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモの最も顕著な症状は振せんである。けいれんを起すことはない。オス、メスとも生殖不能である。脳抽出の上澄液中のリン酸クレアチンおよびリボースの濃度が正常のものより高い。血清コリンエステラーゼ、血清 $\beta$ グロブリン濃度は正常より低く、血清アルブミン濃度は高い。Yoon, C.H., *et al.* (1963) *J. Hered.*, 54: 202

Teetering ( $tn$ ): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後25~30日頃より、ぎこちない、かん慢で不安定な動作をする。死亡直前にはやせおとろえ、四肢を広げて横たわる。生後5~6週で死亡する。Lane, P.W. (1962) *Mouse News Letter*, 27: 38

Trembler ( $Tr$ ): 常染色体上の優性遺伝子支配。ホモとヘテロは区別できない。3~4週齢時に死亡率が高くなるが、水分の多い飼料を与えると死亡率が低くなる。生後3週頃より、けいれん性の麻痺が発現し、刺激を与えるとけいれんを起す。1~2週後になるとけいれんは無くなり、頭部の振せんが現われる。成体になると麻痺がみられるが顕著ではない。脳、脊髄の組織学的異常は認められない。Falconer, D.S. (1951) *J. Genetics*, 50: 192

Twirler ( $Tw$ ): 常染色体上の半優性遺伝子支配。ヘテロは頭を振り、回転運動をするが、聴覚には異常が認められない。生存率、生殖能力は正常である。半規管の外形異常および耳石の減少や欠損をとまう内耳の形態異常がみられる。ホモでは、口唇裂、口蓋裂をとまない、出生時に死亡する。Lyon, M.F. (1958) *J. Embryol. exp. Morphol.*, 6: 105

Vibrator ( $vb$ ): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモでは生後10日頃より全身の連続的なふるえが発現し、離乳時まで全例死亡する。Lane, P.W. (1965) *Mouse News Letter*, 32: 47

Vacillance ( $vc$ ): 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後14日頃より歩行時または後軀を動かす時にはげしい振せんを起す。加齢とともに、振せんおよび不安定性は消失し、カモの様な歩行をする。正常なものより体軀は小さく、おとなしい。筋力は正常のものよりかなり弱い。中枢神経系に組織学的異常は認められない。Sirlin, J.L. (1956) *J. Genet.* 54: 42



**Waddler (*wd*)** : 常染色体の劣性遺伝子支配。ホモは生後 1 4 日頃より後軀を左右に動かし、臀部を床におろすことが多い。症状の進行はみられず、振せんや麻痺もみられない。Yoon, C.H., *et al.* (1963) *J. Hered.*, 54 : 202

**Writher (*wh*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後 1 2 日頃から四肢で起立することが不能となり、その後体軀にけいれんが現われる。発症したものは離乳前に死亡する。Kelly, E.M. (1953) *Mouse News Letter*, 8 (*suppl.*) : 15

**Wabblers-lethal (*wl*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後 1 2 日頃から不安定な歩行をし、歩行時には振せんを起す。通常 4 週齢までに死亡する。組織学的には、中枢神経系にミエリンの変性がみられる。ミエリンの異常な神経管では維管束間のグリアに萎縮がみられる。Dickie, M.M., *et al.* (1952) *J. Hered.*, 43 : 283. Anderson, F.D., *et al.* (1961) *Neurology*, 11 : 676

**Wobblers (*wr*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモは生後 3 ~ 4 週より発症し、振せんおよび前肢の握力低下がみられる。障害は前肢および頸部の筋で顕著である。組織学的には、頭部、頸部、前肢の筋萎縮が後肢より著明で、進行性の運動神経支配除去がみられる。大脳皮質の細胞には異常はみられない。Duchen, L.W. (1966) *J. Physiol.*, 183 : 53p

**Weaver (*wv*)** : 常染色体上の劣性遺伝子支配。ホモの症状は *sg* や *rl* マウスに類似しているが、対立形質ではない。性成熟まで生存することはなく、脳の形態では小脳の低形成がみられる。Lane, P.W. (1964) *Mouse News Letter*, 30 : 32

#### 参 考 資 料

- 1) *Biology of the Laboratory Mouse*, E.L. Green (edt.) 1966, Mc Graw-Hill Book Company, New York
- 2) *Mouse News Letter*, No. 60, 1979

## II. 筋ジストロフィー症動物の生産と飼育管理方法の研究

### 1. 筋ジストロフィーニワトリの 生産と飼育管理に関する研究

水谷 誠\*, 江橋節郎\*\*  
研究協力者 布谷鉄夫\*

前年度に引き続き筋ジストロフィーニワトリ (NH-413) および対照正常ニワトリ (NH-412) の種卵の生産をおこなうとともに、ふ卵および雛の飼育についての標準および実験手技について検討した。

#### 1. NH-412 およびNH-413 の維持と種卵の生産

種卵の生産コロニーとしてはNH-412系雄10、雌20合計30羽、NH-413系雄10、雌40合計50羽をそれぞれ維持している。本年度は約10,000個の種卵を生産し、生産コロニーの更新を1回行った。

当所における現在および導入時の受精率・ふ化率を表1に示した。導入時と現在の受精率・ふ化

表1. 現在および導入時の受精率・ふ化率の比較

ライン名	現 在		導 入 時	
	受精率	ふ化率	受精率	ふ化率
NH-412	84	83	78	59
NH-413	65	58	90	61

率を比較すると、NH-412系においては受精率・ふ化率ともに向上しているが、NH-413系においては受精率・ふ化率ともに低下がみられ、特に受精率における低下が著しい。これらは調査した時点のニワトリの月齢が導入時のものは若く(7~8カ月齢)、現在のものは老齢(12~13カ月齢)のためかもしれない。また、NH-413系はNH-412系よりも老齢による受精率の低下が著しいのかもしれない。今後調査する必要があると思われる。

NH-412・NH-413 両系には老齢に伴ない痛風を発症する個体がある(図1)。痛風の発症には性差がみられ、雌にくらべて雄に多発する。NH-412系の雄には痛風を発症する個体がかなり出現する。このため、種雄は少し多めに維持せねばならない。なぜならば、痛風を発症した雄は射精能力が悪くなるからである。NH-413系の雄においても痛風はみられるが、NH-412系より発症

\* (財)日本生物科学研究所

\*\* 東京大学医学部薬理学教室

個体の頻度は低い。NH-412系 の雌においても痛風個体の出現することがあるが、雄に比較して低頻度である。これには雌における産卵生理の関与が考えられる。

## 2. 入卵から中・大雛までの飼育管理

ニワトリを実験に使う場合、次の事項は大切となる。

- (1) ふ卵器の管理
  - (2) 貯卵および入卵
  - (3) 検卵
  - (4) ハッチャーおろし
  - (5) 雛出し
  - (6) 幼・中・大雛の飼育管理
  - (7) 個別識別
  - (8) 日常の飼育管理における動物観察の要点
  - (9) ニワトリのつかみ方
  - (10) ニワトリの麻酔・殺処分
- 以下、順次項目別に説明する。

### (1) ふ卵器の管理

大切な業務の1つである。朝・夕ふ卵器内の温度(37.8℃)、湿度(60%内外)、水盤の水量、転卵(4~6回/日)の有無を観察し、ふ卵日誌に記録する。ふ化後、ヒナの綿毛・殻で水盤・床が汚れるのでその都度清掃し、水盤の水をとりかえる。ふ卵器内の消毒は定期的にホルマリンくん蒸する(ホルマリン:過マンガン酸カリは2:1でよい)。水盤に入れる薬品(エンピロン:三共化成工業)も市販されている。

### (2) 貯卵および入卵

i) 貯卵: 13~15℃に保たれた、冷暗所に貯蔵する。貯卵期間は2週間以内とする。

ii) 入卵: 入卵とは種卵をふ卵器に入れることをいう。卵台には卵の鈍端を上にして、系統・ライン別に置く。ふ卵(入卵)記録を必ずつける。ふ卵記録の1例を表2に示す。入卵日は1週間の特定の曜日を決めておくとよい。

### (3) 検卵

図2に示したようなニワトリ用検卵器を用い、入卵後5日と12日の2回行なう。検卵器で卵をみると、受精卵は胚および血管がすけてみえるが、無精卵は卵黄の形がぼんやりみえるだけである。

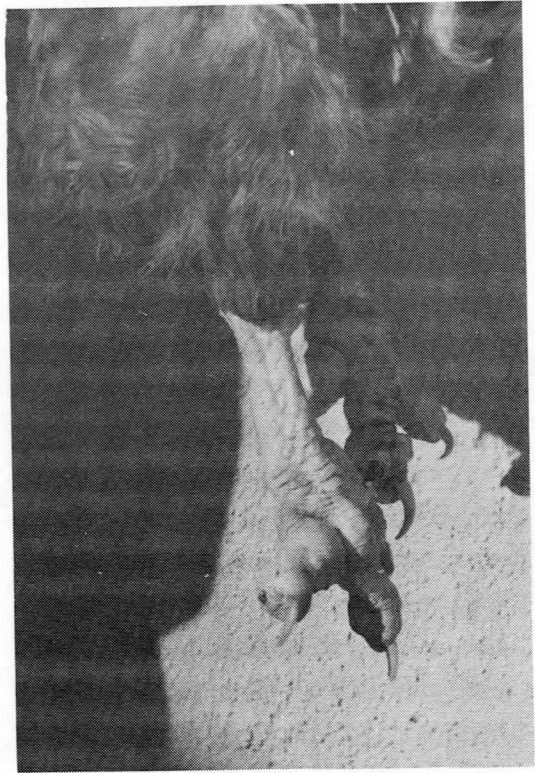


図1. NH-413系における痛風(雄)

表2. ふ卵記録の例

系統・ ライン名	ケージ番号	交配個体 番号		入卵数	第1回 検卵		第2回 検卵 中	受精卵数	翼帯番号	備考
		♂	♀		無*	中**				
412	closed	colony		100	20	4	6	70	1~40	
413		"		100	30	5	5	60	41~73	
GSN/2	31	1001×1008		13	2	0	1	10	74~81	

\*無精卵 \*\*発育中止卵

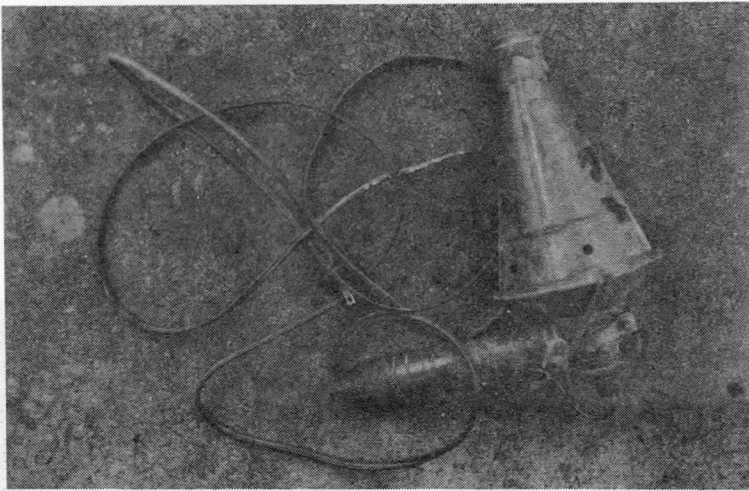


図2. ニワトリ用検卵器

中止卵は血管が切れていたり、異常な黒い線あるいは点がみえる。

(4) ハッチャーおろし

入卵後18日にふ化棚(ハッチャー)に受精卵を卵台より移す作業をいう。この時、図3に示したような仕切りをつけたハッチャーを用い、ケージ別あるいは系統・ライン別に置く。

(5) 雛出し

雛がほとんどふ化する入卵22日目に行なう。ふ化した雛を個体識別し、育雛器へ移す。

1週間単位で行なうふ卵業務内容例を示すとつぎのとおりである。

月……ハッチャーおろし	木……入卵
火……検卵(第1回目・第2回目)	金……雛出し
水……なし	土……なし

(6) 幼・中・大雛の飼育管理

i) 幼雛(1~28日齢)の飼育管理:市販の運動場付育雛器がよい。育雛器を設置する部屋の

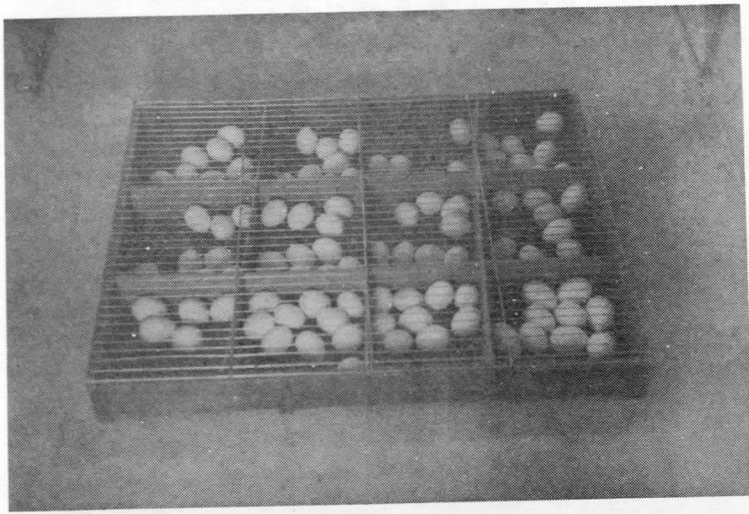


図3. ニワトリ系統別ふ化棚（ハッチャー）

室温は15～20℃に保ち、育雛器の熱源室は32℃に保つ。初生雛の餌づけは熱源室内および運動場の熱源室に近いところの1部に新聞紙をしき、その上に餌をまく。飲水器は市販の飲水器を熱源室と運動場にひとつずつ置く。同時に、育雛器付属の餌トヨ、水トヨにも給餌・給水する。ふつうは3～4日後には、餌トヨの餌を雛がつついた形跡がみられるが、1週間くらいは水・餌ともに育雛器内にも置く。給餌・給水は朝夕2回行なう。朝の給水時には給水器を洗滌する。

ii) 中・大雛（29～140日齢）の飼育管理：市販の中・大雛ケージ（図4）を用いる。ケージを設置する部屋の室温は10℃以下にならないよう注意する。給餌・給水は幼雛と同様、朝・夕2回行なう。とくに朝の給水時には水トヨを洗滌する。

(7) 個体識別

図5に示したような市販のニワトリ用翼帯あるいは脚帯を用いる。翼帯は初生雛か

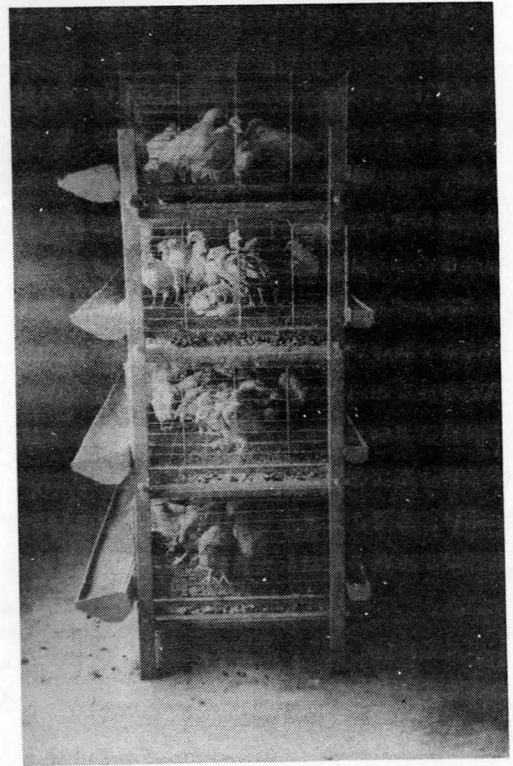


図4. 中・大雛用ケージの例

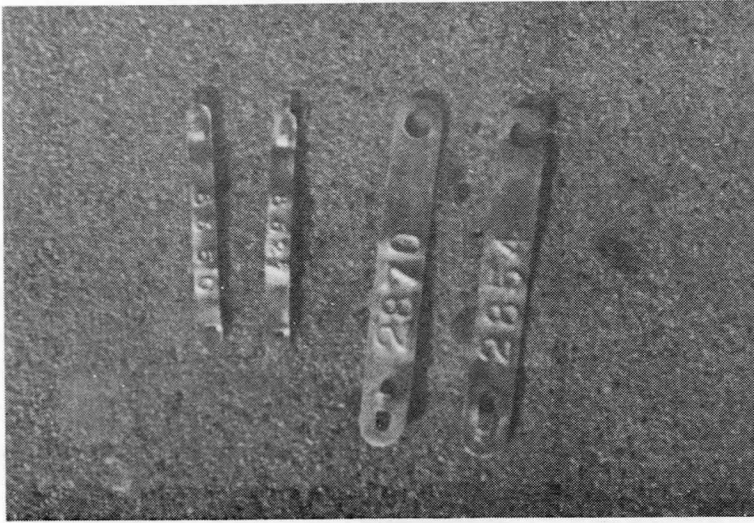


図5. ニワトリ用翼帯および脚帯

らの個体識別に用い、脚帯は中雛以上のニワトリの個体識別に用いる。成鶏用の翼しょうなどもあるが現在あまり使われていない。

#### 個別識別の実際

i) 初生雛：翼帯を左右どちらか一方の脚にまきつけ、1～2週齢時に脚からとりはずし左右どちらか一方の翼につけかえる(図6)。脚にまきつける時、注意することはできる限り丸くまくことである。角のついたまき方をすると雛が大きくなった時、脚に翼帯がくいこみ血行障害をおこすことがある。また、翼につけかえる際もできる限り丸い輪をつくるようにする。輪がつぶれて翼膜を圧迫すると血行障害をおこし翼帯がとれてしまうことがある。

ii) 中・大雛：脚帯を左右どちらか一方の脚につける。雛が小さい時、脚帯がぬげ落ちないように調節する。雛の成長につれ脚帯が脚にくいこまないよう時々調節する。

#### (8) 日常の飼育管理における動物観察の要点

動物観察の主眼は異常鶏の早期発見にある。このため、ニワトリの主な感染病については一通りの知識を身につけておく必要がある。病鶏の外見による一般的症状としては、じっと立ったまま眼を閉じ、翼羽・尾羽をたれ、肛門付近がよごれていることが多く、異常な呼吸をするなどがある。

観察時期は給餌・給水の時がよい。健康鶏は先を争って食べるが病鶏はじっと動かずにいるか、動いても動作がにぶい。

#### 動物観察の実際

i) 朝・夕の給餌・給水量の確認：食餌量・飲水量が低下した場合はその原因を早急に調査する。原因としては次のことが考えられる。

a. 水トヨ・餌トヨへ雛がくびを出すためのすき間がせまい。



a. 脚にまきつけたもの

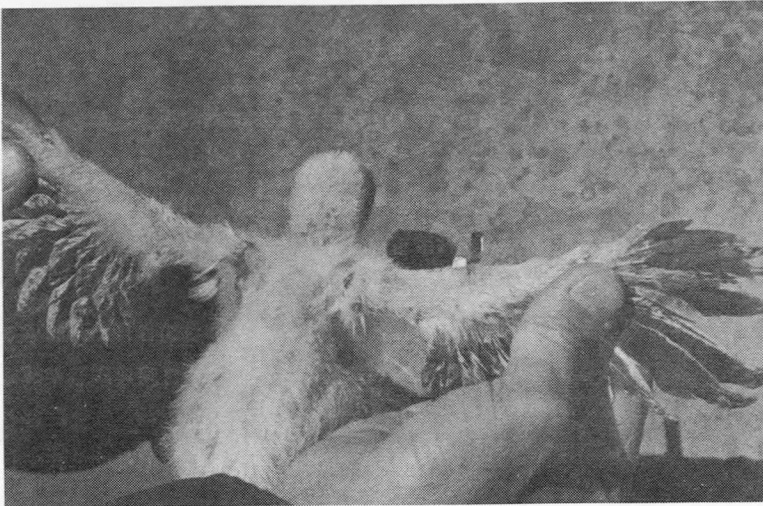
b. 動物を新しいケージに移動した時、この場合は1時的なものである。しかし、2日も3日も続くようであれば、他に原因があるはずであるから調査する。よくある原因はウォーターカップなどを使用している時、水の場所がわからず、体力を消耗してしまうことである。こんな時は朝・夕ウォーターカップから水をあふれさすようにしてニワトリに教えればよい。

ii) 系統別あるいはライン別の飼育：系統あるいはラインが2系統以上の場合には少なくとも中雛時期から系統別に飼育すべきである。系統によって活力、食餌量、飲水量が異なり、一緒に飼育すれば弱い系統の維持はますます困難になる。

異常鶏出現時には系統差などがわかりやすく遺伝性か否かの判断あるいは病気に対する感受性・低抗性の判断のめやすとなる。

iii) 年齢別に注意する具体例

a. 幼雛：ふ化後1週間は毎日観察する。



b. 翼につけかえたもの

図6. 翼帯のつけ方(初生雛)

ケージの金アミに足をひっかけて、ひどい時は餓死するものもあるので注意を要する。糞が肛門の周囲にくっついて糞づまりをおこしている個体を見つけたら脱糞してやる。下痢をおこしているものはすぐ病気の専門家にみてもらう。

b) 中・大雛：密飼い（定数以上のトリを一ケージで飼育すること）すると尾羽のつけ根や翼羽のつけ根をつつかれ出血している個体が出現することがある（カニバリズム）。このような個体を見つけたら隔離し、単飼い（1羽のみ飼うこと）し回復させる。

(9) ニワトリのつかみ方

i) 一羽のつかみ方

ニワトリの年齢によってつかみ方は次の2つに分かれる。

a) 初生雛から2～3週齢まで：図7のように翼を体にびったりつけて背からわしづかみにする。



図7.  
初生雛から2～3週齢までのニワトリのつかみ方



図8.  
4週齢から成鶏までのつかみ方



b) 4週齢から成鶏まで：図8のように左手の平を上にしてニワトリの前方から腹側に入れ、ひとさし指と中指の間にニワトリの両脚を固定し、左腕に体を支える。右手はトリの背に軽くおき両翼を固定する。

## ii) 2羽以上のつかみ方

鶏群の移動の時など

に使うつかみ方である。右手でニワトリの片脚をつかみ、左手に移す。左手にはつかめるだけつかむ。短距離移動する場合は右手でニワトリの体を下から支えるようにして運べばよい。多数羽を長距離移動する場合は輸送用ケージ(図9)に入れて移動

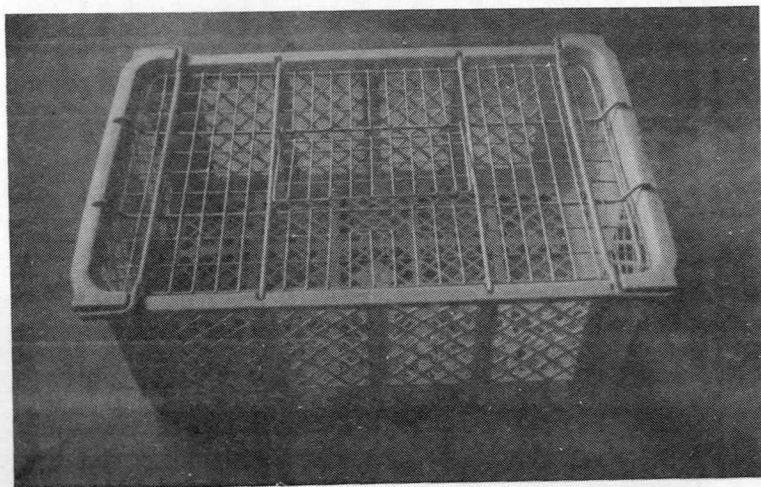


図9. ニワトリの輸送用ケージ



図10. ニワトリの悪いつかみ方

する。

図10のように、両翼をかさねるようにしてつかむと、幼・中・大雛の骨はやわらかく、おれることがよくあるのでこのような持ち方はやめるべきである。ましてや、片翼のみでつりさげるような持ち方はもつてのほかである。

最後に、NH-413系のニワトリのケージからの出し方についてのべる。筋ジストロフィーを発症し、翼があがらないため脚をつかんでケージから出すと翼がケージにかかり出すことができない。そこで、NH-413系に限り、頸部をつかんで頭から出す方法がよいと思われる。

## (10) ニワトリの麻酔・殺処分

i) 麻酔：ペントバルビタールを用いて行なった麻酔テストの結果を表3に示す。適量

は静脈注射で15~25mg/Kgと思われる。しかし、個体差があるため注射後眠らなければ追注する。この時、追注量は5mg以内にする。

表3. ペントバルビタールによる麻酔試験(静注)  
供試鶏 GSN/2系

ペントバルビタール量 x mg/Kg	検査数	死亡数	生存数	非睡眠数	睡眠率(%)	死亡率(%)
15	5	0	5	4	20	0
20	5	1	4	1	80	20
25	5	0	5	0	100	0
30	5	1	4	0	100	20
35	5	2	3	0	100	40
40	5	5	0	0	100	100

ii) 殺処分: ペントバルビタールの深麻酔による。表3に示したごとく、ニワトリの致死量は静注で40mg/Kgである。

## 2. 筋ジストロフィーニワトリ飼育用 アイソレータの開発

齊 藤 宗 雄\*

最近、筋ジストロフィーマウスと併行して筋ジストロフィーチキンを使う研究者が増えてきている。

筋ジストロフィーチキンは、胸筋が弱いために倒れると起きあがれない、また感染症に弱く、動物実験の場ではコクシジウム症と思われる病気によって斃死するが多い。このことは、筋ジストロフィーチキンをを用いた動物実験の障害となるばかりでなく、その成績をしばしば狂わせる。このような状況にかんがみ、われわれは筋ジストロフィーチキンを安全に飼育する管理方式と、その装置について検討する。

本年度は、筋ジストロフィーチキンの飼育状況と問題点、ならびにその対策、特にニワトリ用アイソレータについて検討を加えた。

### 1. 飼育管理の現状

筋ジスチキンの飼育管理は、維持繁殖と動物実験を目的としたものに大別される。

#### (1) 繁殖、生産施設の現状

現在、筋ジスチキンの維持生産は、山梨県小淵沢の八ッ岳高原にある、財団法人日本生物科学研究所実験動物研究所でおこなわれている。ここの筋ジスチキンの飼育舎は木造トタン屋根で、感染防御施設（例えばSPF動物舎）としては充分とはいえない。しかしながら、i) 周囲に人家は少なく、ii) ニワトリの飼育場がない、iii) 外来者が極めて少ない、iv) 搬入物品の汚染に注意を払っているのが現状である。筋ジスチキンはこのような飼育環境で、5年にわたって維持繁殖が事故なくおこなわれている。このように、飼育室周辺の環境は疾病感染の予防に、かなりの効果を持つことが明らかである。

なお、同研究所においては、同上実験動物研究所で白血病フリーチキンの多量生産もおこなわれている。

#### (2) 動物実験施設での現状

筋ジスチキンの動物実験は、各地の研究室でいろいろな飼育管理がおこなわれている。現状調査は筋ジスチキンを比較的多数使い、飼育管理状況の記録が比較的確な研究所を対象に、その状態を調査した。

飼育室は、通常白色レグホン種を用いた実験がおこなわれているニワトリ用飼育実験室で、昭和54年10月より筋ジスチキン用にその1角と洗濯室をあてている。飼育室は空調機付きで温度、湿度ともにコントロールされている。(図1) 飼育器材は筋ジス専用とし、他のニワトリとの共

\* (財) 実験動物中央研究所



図1. 動物実験用飼育室の一例

用を避けた。飼育管理者はニワトリ用の専任者をあてた。

筋ジストロフィーの実験は、供給された筋ジストロフィー卵を孵卵器で孵化させ、飼育室内の育雛器で育成する。実験用ケージには10週で移し実験に供する。

数回にわたっておこなわれた実験では、孵化率の著しい低下、幼鶏の死亡、成鶏の血便が多発する。このような現象はコクシジウム症に典型的である。

数週間にわたるこの研究所の飼育管理状況を表1に示す。

日生研水谷らによれば、日本の産業用ニワトリのほとんどがコクシジウムに汚染されており、動物実験に使用されるニワトリも、その流用であることから例外とはいえない。この研究所のコクシジウム汚染は濃厚で、使用前に部屋の消毒、器材の隔離などに留意してもコクシジウム症の発生は抑えられなかった。

全ての動物実験室が、この例と同様とはいえないが、多くの筋ジストロフィー飼育室は、

表1. 動物実験室における、筋ジストロフィーの飼育経過の1例

週	飼 育 経 過
0	飼育室の消毒 但し白レグとの同居は避けられず
1	検卵 (受精率 dy/dy 94.2%, +/dy 80.2%)
2	孵化 (孵化率 dy/dy 33%, +/dy 86%)
3	育すう器に移す
4	
5	白レグに血便が発生
6	幼ニワトリが多数死亡
7	幼ニワトリの死亡が続き、成ニワトリの血便も続く
8	
9	
10	実験を再スタートするため、全ニワトリの処分を指示

飼育者の週報を参考にした。 1979. 10 ~ 1979. 12

ニワトリ用飼育室があてられ、過去ニワトリを飼育したとか、隣室や同室にニワトリが飼育されている場合、産業用ニワトリの汚染状況から類推して、動物実験室のコクシジウム汚染は極めて濃厚である。筋ジスチキンをういた動物実験の現場では、コクシジウム症が大きな障害となっていると推察される。

繁殖場でコクシジウムフリーに維持されている事実が存在することから考えると、動物実験の場でのコクシジウム症も解決できないことではないと信ずる。

なお、産業用ニワトリのコクシジウム症対策は、市販飼料中に抗コクシジウム剤が混入されているので問題になっていない。

## 2. 実験動物の微生物的飼育管理

実験動物の感染防御は、日生研でおこなわれている繁殖場のように、汚染のない区域で飼育するか、感染経路を断った飼育が必要である。

動物飼育において、予想される感染経路は、①動物それ自身、②飼育器具器材、③作業者および実験者、④空気の流れ、にまとめられる。

実験動物界で広く普及しているSPF動物施設(Barrier systemと呼ぶこともある、図2)

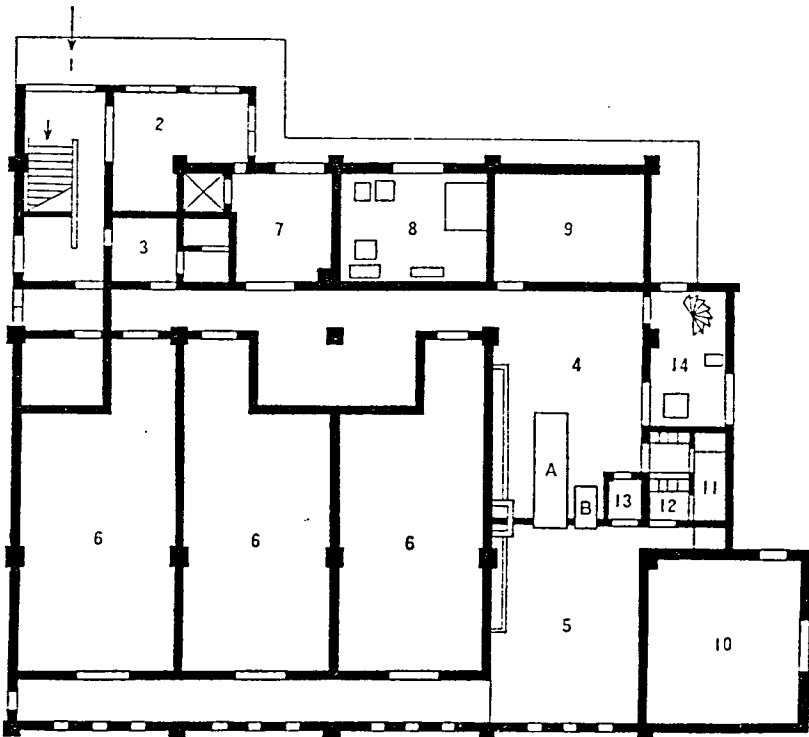


図2. SPF動物舎の一例 (財)実験動物中央研究所・野川生育所平面図 (野村, 1962)  
(注) A 自動ケージ洗浄機 B 両扉オートクレーブ

- 1.入口 2.オフィス 3.ロッカー室 4.洗浄室 5.準備室 6.動物飼育室 7.出荷室  
8.ボイラー室 9.倉庫 10.変電室 11.シャワー室 12.更衣室 13.飼育柵洗浄室 14.ポンプ室

では、SPFとして信頼のおける動物を、感染のない経路で搬入する。飼育器材はすべて両扉のオートクレーブを用いる。その方法は外側（汚染側）の扉を開け器材を入れ、高圧蒸気滅菌後、内側（清浄側）の扉を開け滅菌済器材を搬入する。作業者ならびに実験者は、外更衣室で全裸となり、シャワーを浴び、内更衣室で滅菌済作業衣を着用する。空気は高性能フィルターを通して空調した空気が送られる。飼育室の床、壁、天井、扉などは、消毒が確実におこなえる構造とする。

このようなSPF動物舎は、マウス・ラットを始めとする感染防御飼育室として広く利用され、その効果が確認されている。しかしながら、SPF動物舎は建物全体を清浄とするため、施設は新設するか大改造が必要である。これには莫大な費用を要する。また少量多目的の実験に使用する場合、実験者や器材の出入が頻繁となり、清浄度の維持が困難である。したがって、SPF動物舎は、繁殖あるいは多量の動物を用いる毒性実験などに用いられている。

無菌動物飼育装置ビニールアイソレータは、感染を確実に絶つことのできる簡易飼育装置である。この装置は1956年P. C. Trexlerの考案によるものである。（図3）その概要は、動物

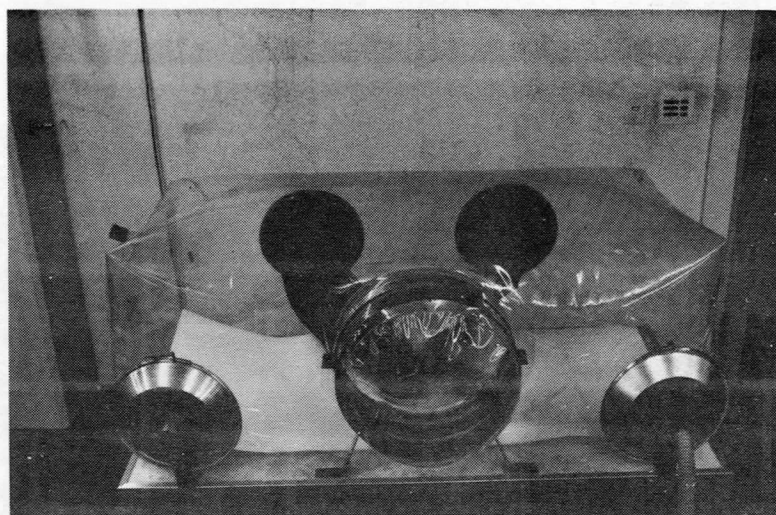


図3. 無菌動物（マウス・ラット用）飼育用アイソレータ

間口1,200mm, 奥行600mm, 高さ600mm

を1,200mm×600mm×600mmほどの大きさの袋に収容する。空気は細菌を完全にろ過できるフィルターでろ過し、送気する。排気は同じ性能のフィルターを通す。飼料その他飼育器材は特殊滅菌缶に入れて高圧蒸気滅菌し、2重扉の物品搬入口より搬入する。飼育操作はビニール袋に密着したゴム手袋を通しておこなう。通常動物収容匹数は、マウス30匹、ラット10匹種である。ニワトリの収容匹数は未検討であるが、本体が軟質ビニールフィルムであるので、いろいろな型のものを製作することは比較的容易である。

このように、ビニールアイソレータは微生物感染を確実に絶つことができる。小数の動物を対象

とする実験には、大きさも適当で、その目的に合わせて特別な寸法を加工することも容易であり、価格も比較的安価である。実験台サイドに置くことも可能である。以上のようなことから、筋ジストロフィー動物実験用飼育装置としては、ビニールアイソレータ方式が適当と考える。

### 3. ニワトリ用ビニールアイソレータ

ニワトリは、マウス・ラットに比べ体型が大きく、飼料や水の摂取量も多い、これに伴ない排泄量も著しく多い。また、羽が抜け換わる時期には、多量の羽が抜け落ちる。通常ニワトリの飼育は、全面金網ケージで、その側面に自動給餌給水装置を付け、排泄物は下に落とし、集めるか流すようにしている。

そこで、ニワトリ用ビニールアイソレータは、次のような条件が具備されなければならない。①ニワトリの収容できる大きさであること、②飼料や水の搬入が容易であること、③排泄物の処理が容易であること、④送気及排気量が充分であること、などである。

われわれは、過去SPFニワトリ育成研究に協力し、いくつかのニワトリ用アイソレータを設計し製作した、その例を紹介する。

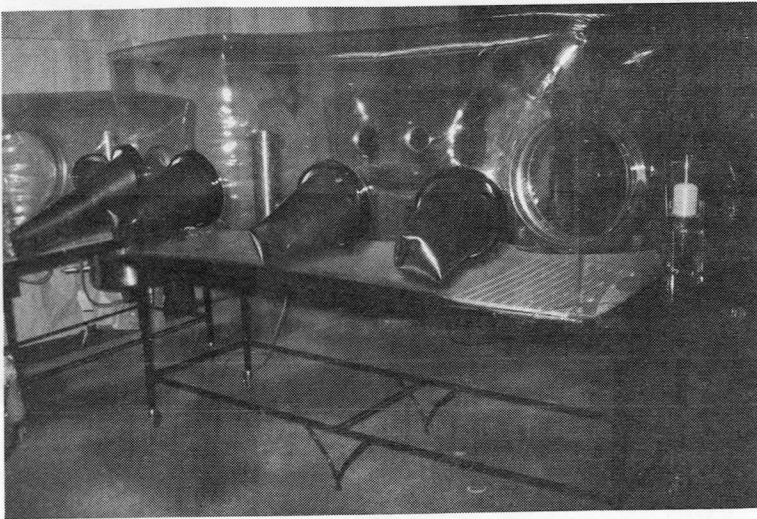


図4. ニワトリ用大型アイソレータ

図4に最初設計製作したアイソレータを示した。これは、ニワトリの大きさを考慮しビニール本体を $2,000\text{ mm} \times 600\text{ mm} \times 800\text{ mm}$ 、物品搬入口を直径 $450\text{ mm}$ と大きくした。これに伴ない、フィルターを2個、排気トラップを2個、手袋を2双取付けた。ニワトリはアイソレータ内でケージ飼育し、飼料や水の搬入、ならびに汚物の搬出はマウス・ラットと同様におこなった。このアイソレータは、従来マウス・ラット用を大型にしたのみであったため、水の供給と排泄物処理が困難

であり、充分な効果は発揮されなかった。

NIH, USAにおいて使用している、白血病フリー卵採取用アイソレータを図5に示す。

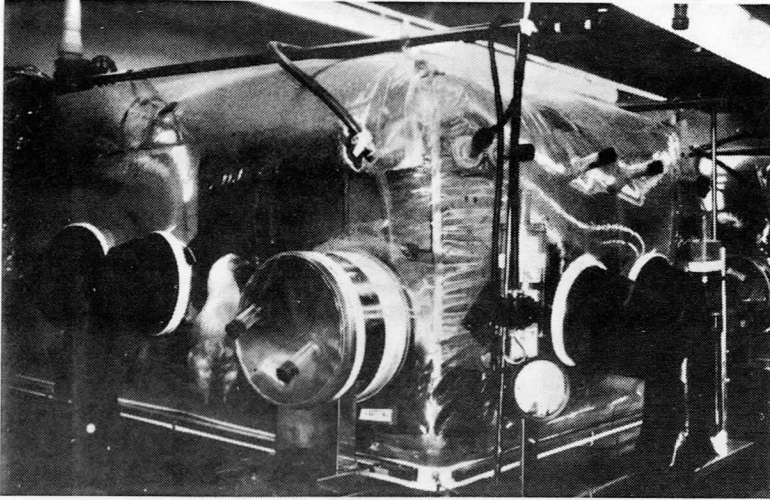


図5. 白血病フリー卵採取用アイソレータ (NIH, U.S.A.)

ビニール本体の大きさは約 $1,800\text{ mm} \times 1,200\text{ mm} \times 1,500\text{ mm}$ で、ニワトリはビニールや手袋を破かないよう嘴や爪を切って、アイソレータ内に放飼いする。アイソレータの中央には育雛と採卵両用のケージを置く、給水ならびに洗滌水は外部よりホースで滅菌された水を送る。排泄物は多量の洗滌水と共に逆流を防止したトラップによって排出する。送風量はビニール本体に取付けた圧力計によってコントロールされる。飼育操作は、他のアイソレータ同様手袋を通しておこない、物品の搬出入も他のアイソレータ同様におこなう。この飼育方法は、嘴と爪を切り、ニワトリをアイソレータ内で放飼いできることが特徴である。また、滅菌水の給水、排泄物の流水トラップによる搬出など合理化が画られている。

NIH, USAのアイソレータを参考にして、近年製作したSPFニワトリ用アイソレータを図6に示した。

ビニール本体はマウス・ラット用のものを使い、その底に直径約 $10\text{ cm}$ の塩ビパイプを取付け、その先端をU字形に曲げ流水トラップとした、台とスノコは木製である。水は別途に滅菌したものをアイソレータ内に送るようにした。飼料は2重蓋付きの給餌器をアクリルで製作した。物品搬入口は、マウス・ラットと同じである。ニワトリは嘴と爪を切って放飼いすることによって3~5羽の飼育が可能となり、現在SPFニワトリ飼育実験に用いられている。

このように、ニワトリ用アイソレータは、各地でいろいろなものが製作使用されている。しかしながら、維持繁殖を目的とするものが多く、動物実験を目的としたものは少ない。そこで、筋ジス



チキン用アイソレータは、過去のものを参考にし、コクシジウム感染防御し実験に使い易いニワトリ用アイソレータを設計製作し、その実用化を画りたい、このことによって、筋ジスチキン飼育管理は確立するものと思う。

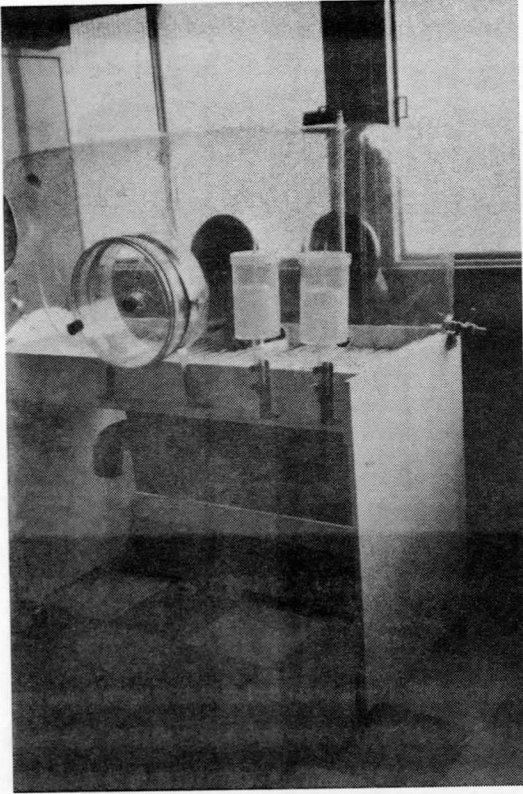


図6. SPFニワトリ用アイソレータ

### Ⅲ. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発

#### 1. 鳥類における筋ジストロフィー症 研究用疾患モデル系統の開発

近 藤 恭 司\*

##### 1. 実験動物としての鳥類

実験動物は、“研究に重要であるとして飼いなされ、合目的に育成・繁殖・生産された動物”と定義されているが、この定義の中にある“研究”という言葉は極めて漠然とした概念であり、また“動物”という言葉も広い範囲を含んでいてまとめにくいことである。こゝで表題に掲げたように、動物を鳥類ということに限定し、研究ということは、“筋ジストロフィー症研究用”に定めると、極めて具体性のあることとなる。しかし、どのような鳥がこの研究に有用かという問に対しては、答は容易ではないであろう。ヒトと鳥との類似性、あるいは鳥類という動物における研究をもって、ヒトという一種の動物の生物現象を解析してゆくことの意味合、これらはどのように整理されるべきか。この問題は、動物実験からヒトへの外挿という基本問題でもあり、後に“広義の育種 — 比較生物学的実験動物の開発”として論ずる。

“筋ジストロフィー症研究用”という方は一般論としては“疾患モデル動物育成”となる。その“疾患モデル動物”を討議してみると、“ヒトの疾患に類似の症状を示す動物”ということではあるが、実際には必ずしも症状をあらわさなくとも、その疾患の研究に役立つようなものを包含した方が便利である。そう考えると、筋ジストロフィーという疾患をやゝ広く解釈し、神経筋疾患、およびそれに関連すると推定される代謝異常の鳥、特にそのような症状を自然発症的にあらわす鳥類系統を育成するという考えにまとめられるであろう。このような考えは“狭義の育種 — 遺伝的統御”と呼んでおく。

##### 1-1) 広義の育種 — 比較生物学的実験動物の開発

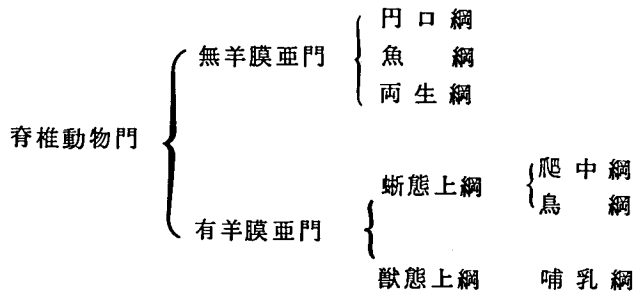
こゝで哺乳類の実験動物をはなれて、鳥類をとりあげたということは、鶏で常染色体性劣性の遺伝子 am ( abnormal musculing ) が発見され<sup>1)</sup>、筋ジストロフィーの疾患モデル動物として役立っているという歴史的経過による面が大きい、基本にもどって、医学研究における鳥類実験動物の意味を論じておく必要がある。

動物分類学からみると表1のように、爬虫類・鳥類・哺乳類は有羊膜類 ( Amniota ) に入り、以下に示すような共通性をもっている。

- (i) 発生が羊膜・羊水の中で行われ、尿質の排泄や呼吸は尿膜によって行われる。
- (ii) 鰓裂を生ずるが、鰓呼吸を営まない。
- (iii) 孵化あるいは出産後は、肺で呼吸し、泌尿の働きは後腎による。

\*名古屋大学農学部

表1. 脊椎動物の分類



動物実験での研究結果をヒトへ外挿するには、動物学的共通点と相違点を整理して論をすゝめなければならないが、その意味からは上記の有羊膜類という共通点は重要であろう。

一方実験動物の意義は、“発生から成長段階、性成熟、老化というような動物の一生すべてが観察できること”であり、われわれの手もとで繁殖できることが基本条件である。上記の有羊膜類の中の共通点も発生学的に論じられているが、実験動物技術からみれば、“繁殖なくして発生学なし”である。

動物の本質は発生を知ることによってはじめて理解できる所が多い。ところで発生をしらべるといふ立場をとると、哺乳類と鳥類では、その研究効率是非常に差が大きく、鳥類の方が有利である。例えば、致死遺伝子による現象を観察する場合に、マウスやラットならば、その遺伝子についてヘテロの♀♂を交配して、その♀すなわち母体を剖検する為、常にヘテロの個体を育成する“増殖群”を用意しておかなければ研究を進行させ難い。このような増殖群を維持することは容易ではなく、かなり実験動物生産の専門的知識が必要となる。ニワトリならば、ヘテロの♀♂が用意できれば、その卵を孵卵器に入れて発生をしらべてゆけばよいのであって、個体(卵)ごとに観察ができ、母鶏が卵を生みうる年月そのままに仕事を続けることができる。鳥類実験動物は発生学的にみるのに有利ということは特筆すべきであろう。

次に神経・筋の働きに焦点をあてると、鳥類の飛翔という運動は特徴的である。鳥類といっても、その飛翔能力には種類による差が著しい。どのような鳥を実験動物として選ぶべきか、また実際に選びうるか、ということはむづかしい議論となる。唯、こゝで注意を払いたいのは、産業的に用いられている鶏の飛翔能力は極度に退化させられている、ということである。しかし後に述べるように、鶏の中にも飛翔能力・運動能力の正常な系統を育成することは可能である。

#### 1-(2) 狭義の育種 — 遺伝的統御・系統育成

産業的に使用されている鶏種は、正常の運動能力を持っているか否か疑問であると述べた。これは筋ジストロフィー症研究の上からは重要な問題であろう。このような問題を整理してゆくことは、“同一種の中の遺伝子組成(広義の遺伝子型)の差”を取扱うことで、まさに狭義の育種である。

鳥類の実験動物としての系統育成という立場をとるとき、第一に注意しなければならないことは、

マウス・ラットなどのように、兄妹交配を20世代以上継続させて遺伝子組成からみてホモ性の高い系統（近交系）を育成することは極めて困難（不可能？）で、鳥類で兄妹交配を代々続けると数世代で絶滅する。従って、鳥類で近交系と呼ぶ場合には、マウスのように厳密なものではなく、かなりヘテロ性が残っているものである。

次に注意すべきことは、血液型の研究についてである。鶏では同種免疫によって、A, E, B, C, D, L, N, H, I, J, K, P および R といったシステムが分析されていて、B が Major Histocompatibility System として重要である<sup>2)</sup>。この B システム抗原性について、表2のような特異性が示されたりして、マウスの H-2 やヒトの HLA に対比されるものではあるが、これらの記号は国際的に共通なものではなく、表3のように国（研究者）によってやゝずれがある。日本では岡田（広島大学）を規準としている<sup>8)</sup>。

表2. Chart of B (MHS) Specificities

Anti-gens	Individual Antigenic Factors																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
B 1					5	6	7	8	9			12	13	14							21			24	25	26	27	28
B 2	1	2	3	4					9				13	14							21				25		27	
B 9		2		4			7	8		10	11	12	13	14	15			18		20	21							
B 10			3	4				8							15	16	17	18			21			24			26	27
B 13				4		6					11	12	13		15		17		19	20		22						
B 17					5	6	7	8	9	?	?	?	?	?	?						?	?	22				26	27

After Hála et al. (1974) and unpublished results (K. Hála)<sup>2)</sup>

研究上、臓器移植を行う場合、同じ型の鶏がえにくく不便が多い（表4参照）。他の家畜（牛、馬、豚）では、抗血清の国際同定試験が行われているし、マウスの H-2 など勿論国際的にはつきりしているわけであるが、鳥類の中で一番進んでいる鶏でも、このような欠点を持つ。ウズラを始として他の家禽でも国際間の同定は行われていない。

am 遺伝子をもつ鶏の NH-413 系なども、B システム等についてこれから整理してゆかなければならない。しかし、そのような精密なことではなく、実験動物としての鶏の系統ということを一一般の立場からもう少し整理しておく必要がある。

マウス・ラットなどでは、品種という分類段階は用いられていないが、鶏では家禽化されるに伴って、卵用、肉用、卵肉兼用というような使用目的に従う大分類が生じ、さらにそれぞれの分類の中に、“人間の利用できる性能について、ある程度の統一性をもつ動物群で世代を重ねてもその統一性を維持できるもの”がつくられ、それぞれ品種名がつけられている<sup>4)</sup>。

鶏の系統という場合には、品種内のさらに小さな繁殖集団をいうが、マウスなどのように厳密な

表3. ニワトリ血液型遺伝子記号の比較 (岡田 1971)<sup>8)</sup>

(Aシステム)															
岡田(日本)	A <sup>r</sup>	A <sup>H</sup>	A <sup>P</sup>												
McDermid(英国)	A <sup>s</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>6</sup>												
Briles(米国)	A <sup>s</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>4</sup>												
(Bシステム)															
岡田	B <sup>A</sup>	B <sup>BM</sup>	B <sup>C</sup>	B <sup>S</sup>	B <sup>O</sup>	B <sup>K</sup>	B <sup>L</sup>	B <sup>M</sup>	B <sup>MD</sup>						
McDermid	B <sup>11</sup>	B <sup>2</sup>	B <sup>6</sup>	B <sup>14</sup>	B <sup>7</sup>	B <sup>9</sup>	B <sup>38</sup>	B <sup>13</sup>	B <sup>1</sup>	B <sup>14</sup>	B <sup>12</sup>	B <sup>19</sup>	B <sup>1</sup>	B <sup>2</sup>	B <sup>8</sup>
Briles	B <sup>4</sup>	B <sup>6</sup>	B <sup>7</sup>	B <sup>10</sup>	B <sup>22</sup>	B <sup>3</sup>	B <sup>24</sup>	B <sup>9</sup>	B <sup>2</sup>						B <sup>2</sup>
(Dシステム)															
岡田	D <sup>9</sup>	D <sup>8</sup>													
Oosterlee(オランダ)	D <sup>3</sup>	D <sup>2</sup>													
Briles	D <sup>3</sup>	D <sup>2</sup>													
(Eシステム)															
岡田	E <sup>B</sup>	E <sup>U</sup>													
Oosterlee	E <sup>2</sup>	E <sup>2</sup>													
Briles	E <sup>2</sup>	E <sup>2</sup>													

表4. Chicken Lines for the MHS (B)

Line	Charact.	Bsystem	Place	Citation
CA	Inbred. WL	B <sup>1</sup>	1964. Prague	Hašek et al.
CC	"	B <sup>2</sup>	"	"
IA	"	B <sup>88</sup> , B <sup>89</sup>	1938. Reaseheath	Gilmour
IB	"	B <sup>13</sup>	1964. Prague	Hála et al.
WA	Inbred Cuckoo Leg	B <sup>84</sup> , B <sup>85</sup>	1938. Reaseheath	Gilmour
WB	from WA	B <sup>10</sup>	1964. Prague	Hála et al.
F	Inbred Silky Leg	B <sup>17</sup>	1963. Prague	"
X	Closed flock WL	B <sup>12</sup> , B <sup>21</sup>	Thornbers	Mc Dermid
Y	"	B <sup>2</sup> , B <sup>14</sup>	"	"
G	Partially inbred	B <sup>1</sup> , B <sup>2</sup>	Iowa State Un.	Schierman & Nordskog
-	Closed. WL	9 alleles	広島大	
BM-C	Black Minorca	B <sup>A</sup>	名大・日生研	
NG-N	Nagoya	B <sup>B</sup>	"	
WL-G	W.L.	B <sup>O</sup> , B <sup>M</sup>	"	

Hála(1977)<sup>2)</sup> および 近藤(1972)<sup>4)</sup> より作成。

近親交配を行っているものではない。従っていずれの系統もその起源となっている品種を重要視しておく必要がある。

## 2. 比較生物学的意味での鳥類の実験動物化 — 広義の育種 —

有羊膜類としての共通性と、卵生、飛翔というような特色からみて鳥類実験動物は、筋ジストロフィー症研究の場として有用なものと考えられる。

しかし、鳥類の中からどの種を選ぶのが妥当かということは議論のあるところであろう。哺乳類について論ずる時には、ヒトとの類似性という分類学上の筋道がたてられるが、表1のように、哺乳類(ヒト)と鳥類とは系統樹的にみて別の枝となり、基本的に比較の立場をとるならば、爬虫類までも含めて考えなければ意味が乏しくなる。従って現段階では鳥類の中から実験動物としての種を選ぶならば、なるべく分類学的に離れた数種の鳥を選定することと、次に論ずる“狭義の育種”の可能な鳥という配慮によってきめざるをえない。そうなると、入手可能な家禽の範囲から手をつけることになる<sup>5)</sup>。家禽ということは、生産可能という意味も含むわけである。

### 1) ガンカモ目、ガンカモ科(アヒルおよびガチョウ)

水禽と呼ばれている家禽で、日本での産業的基盤は低いが入手可能であり、卵で入手し孵化することもできる。特にアヒルには、品種も多いし、常時解卵しているところでは、ミュータントも発見されていると推定される。鶏よりもリンパ系の発達がよく、免疫学的には注目すべき鳥類である。飛翔能力は退化著しい。

バリケンと呼ばれる鳥は、多くの書物に、アヒルの一品種のように記されているが、アヒルとは近縁・別種の鳥である。日本では家禽としては用いられてはいない。

### 2) キジ目

この目には家禽および家禽に類した飼鳥が多い。キジ科に属するものに、鶏、ウズラの他に、キジ、コウライキジ、キンケイ、インドクジャクなど広く飼育されている。鶏、ウズラについては後述する。

ミフウズラという鳥は、ウズラと混同され易いが、これはツル目であって分類学上はかなり異なる鳥である。

この目のホロホロチョウ科のホロホロチョウ、シチメンチョウ科のシチメンチョウも共に産業的に用いられている家禽である。

### 3) ハト目、ハト科、ドバト(ジュズカケバト)

ドバトは、伝書鳩と同一種の動物で、各地に野生化している。飛翔にかけては完全な鳥であり、喉嚢乳をもって子を育てるという特徴がある。人工育雛は容易ではない。

ジュズカケバトは、野生のキジバトと同一種の動物で、手品師の用いるギンバトがこれに属する。共に筋肉の働きという意味からは重視すべき鳥であろう。

### 4) オウム目、オウム科(セキセイインコ)

極めてポピュラーな飼鳥で、飼育も容易であり、羽色の変異も多い。

5) スズメ目、キンバラ科 (ブンチョウ、ジュウシマツ)、アトリ科 (カナリヤ)

これらは、いずれもポピラーな飼鳥で、飼育も容易である。特にブンチョウは、原産地はインドネシアであるが、日本で広く飼育されていて、白文鳥の毛色変異も日本で生じた突然変異である。常染色体性、優性白で劣性致死を伴う。また地域的には野生化しているブンチョウもある。

以上の鳥類は、家禽や飼鳥として日本にあって、入手可能なものである。しかし、実験動物としての整備はされていない。今後、神経・筋の働きという観点から、飛翔能力の完全な鳥、退化している鳥など相互に比較しつつ、種類を選定して、次の“狭義の育種”によって、疾患モデル動物育成に進む必要がある。

### 3. 鶏、ウズラにおける疾患モデル系統の育成 — 狭義の育種 —

疾患モデル系統育成の方式は、マウス・ラットのように完成されている実験動物では、表5のような手法で行う。すなわち、ポリジーン的体質を扱う場合には、1の方式となる。(a)の適応試験ならば、“該当の疾患を診断する規準”をきめて、維持されている種々の近交系についてテストして、系統間差が明瞭か否かしらべてゆく。差が明らかで特徴のある系統が発見されれば、疾患モデルたりにするわけである。

また、これらの適応試験の結果から、必要に応じて種々の交雑群をつくり、育種素材として、目的の方向に淘汰選抜を行って、新たな疾患モデル系統育成をはかる(表5の1の(b))のが常法である。

表5. 疾患モデル系統の育種方式

#### 1. ポリジーン的遺伝体質を基本とする手法

##### (a) 適応試験法

目的とする疾患をしらべる方法を定め、既存の多くの近交系について特性や系統間差異をしらべる。

##### (b) 淘汰選抜法

上記の系統間差異をもとに、種々の交雑群をつくり、それらを育種素材として、淘汰選抜を代々継続し、目的の系統をつくる。

#### 2. 主遺伝子を基盤とする手法

##### (a) ミュータント系育成

遺伝子記号をもって示しうるような遺伝子(主遺伝子)が特徴ある症状を示す場合である。最初の主遺伝子は偶然な発見による所が多い。

##### (b) 遺伝子導入法

上記のような主遺伝子を既存の近交系に導入して、遺伝的背景の異なる系統を育成する。

### 3-1) 鶏における種々の品種・内種の検討

鶏では、上記の適応試験を実施するような実験動物としての系統は用意されていないし、前にも述べたように近交系と呼ばれているものも、マウスなどとは多少意味を異にする。また筋ジストロフィーというような疾患は、生存上著しく不利なものであるから一般には存在しない筈である。しかし、前節で論じたように、神経・筋等の働きを考える上で検討すべき鶏種はかなり多い。特に日本には、日本鶏と呼ばれる品種が多く、独特の体質をもつ鶏種にはめぐまれている。<sup>6)</sup>

現在鶏肉を生産しているのはブロイラーと総称される一群の鶏種で、これは品種ではなく、交雑群に属する。これらの鶏は入手し易いが、生産する会社によって鶏種は異なり、研究用には不適當である。而も異常な程成育を早くし体重が増加するように育種された鶏で、筋肉そのものが正常の働きをなしているか否か疑問である。ブロイラー生産を行う種鶏の種々の系統について、筋ジストロフィー症研究の立場から適応試験を試みることは意味があるかもしれないが、産業的問題がかわるので困難であろう。

こゝで正常な神経・筋の働きとは何か、という設問が出されるであろう。その答は恐らく野鶏を中心に考えなければならないであろうが、野鶏（赤色野鶏、灰色野鶏など）は動物園等に飼育されてはいるが、家禽と異なり飼育しにくく動物実験にはむかない鶏である。しかし、日本には家禽から逃げて半野生化している鶏がいる。特に山口県の徳地地鶏は長年月野生状態で生息しているものであるが、これを捕獲して飼育している人々もいるようである。これらは正常の神経筋をもつ系統の候補であろう。

そのような地鶏とは別に、闘鶏用の鶏は、はげしい闘争に耐えるように改良されている鶏で、神経・筋の能力はすぐれている筈である。闘鶏の方式には、脚に闘具（小刀など）を付ける方式と、そのような闘具を付けずに闘わせる方式と2種類があり、前者の代表の品種が薩摩鶏で、後者の代表が軍鶏（シャモ）である。闘具をつける闘鶏は刀で切る形なので本来の鶏の動きとはやゝ異なると思われる。正常の神経・筋の働きをしらべようとする立場や、スポーツ医学研究用実験動物という意味からはシャモのように闘具をつけない品種の方が研究目的にかなっているであろう。この方式の闘鶏は、地方々々で多少の差があるようであるが、特別の土俵の中で1時間以上にわたって闘い続ける。従って、この闘鶏に用いられるシャモは平常訓練をうけているわけで、訓練の効果等に対してもしらべうる形である。今後研究に利用すべき品種である。

筋肉に特性があると推定される鶏に烏骨鶏がある。これは中胚葉性の組織にメラニン色素が沈着する為、筋肉や骨膜等が黒色を帯びる鶏で、烏骨鶏という名称もその特色からきている。欧米では羽毛の特色からSilky（絹毛、羽軸の形成が悪い）と呼ばれているが、烏骨鶏の原産地は中国と考えられていて、欧米では珍らしい品種である。日本には徳川時代から入っていて、各地で趣味人に飼われている。この品種には、羽毛の上で黒色、白色などの別があり、それぞれ内種（品種の中の細分類）をなしている。この烏骨鶏は、筋肉の生理、色素発現などの点から検討すべき品種であろう。

チャボの類も日本独特の品種で、多くの内種にわかれている。明らかに矮性の奇形で、骨格や筋



の発育が異常に早くとまるものと思われるが、研究はあまりなされていないし、未知のところが多い。

このように、日本独特の品種は30種をこえるし、特色のある鶏が多い。Biomedicalの立場から検討すれば、種々の疾患モデルとして利用できるものと思われる。

表5の1(b)の考えに従えば上記のような品種をもととして、淘汰選抜によって系統育成をはかる手法に入るわけであるが、筋ジストロフィー症研究用系統をこの方式によって育成することは、現段階では、論じないでよいであろう。

### 3-2) 主遺伝子 am を基盤とする手法

鶏が、筋ジストロフィー症の疾患モデルとして用いられるようになった主な理由は、前述したように筋ジストロフィー症類似の症状を示す am 遺伝子が発見されたからであり、このことはよく知られていることである。このような主遺伝子のある場合の育種は、表5の2にあたるわけで、実験動物育種としては定まった方式がある。

すなわち、主遺伝子による症状の発現といっても、常にその遺伝子以外の多くの遺伝子の作用を受けているものであり、1系統のみの観察から症状総べての論議をすることは危険である。従って、主遺伝子を種々の異なる近交系に導入して、遺伝的背景をかえた数系統を育成して、平行的に研究に用いる、という方式をとるものである(表5の2(b))。

以上のことは、実験動物で実施される方式であるが、この鶏ではどのようにすべきか、ということになる。am 遺伝子は、ニューハンプシャー種の中で発見され、NH-413系として研究に用いられている。前節でのべたように鶏では、マウス・ラットのように育成された近交系はないが、品種はそれぞれに特色をもっているから、異なる品種(品種をもととした系統)に am 遺伝子を導入して、症状の発現がどのように変化するかをみる必要がある。

NH-413系は、ニューハンプシャー種の中の系統であるから、卵肉兼用種としての遺伝的体質をもつ。(すなわち am 遺伝子は、ニューハンプシャー種の遺伝的背景のもとで発現する。)まず卵用種の白色レグホーンが候補としてあげられる。白色レグホーンは多産であり、生産も容易となる筈であり、体質もニューハンプシャーとはかなり異なる。この遺伝子導入の育種は菊池<sup>3)</sup>が担当している。

またもう一つの特異な系統として、エジプトのファイオミ種に起源をもつGSN系に導入を行っている<sup>7)</sup>。この系統は、マレック病に対して耐性がある等の特色によって、産業的な意味よりも、研究的な目的で輸入された品種で、輸入当初から実験動物としての取扱いを受けているものである。

これらの am 遺伝子導入鶏は、順次年度進行と共に研究に用いられるであろう。同様の育種の意味から、筋骨の発達のよい闘鶏用のシャモに導入することや、肉用の品種(系統)に am 遺伝子を導入しておくことも考えるべきである。

am 遺伝子以外に、新たな突然変異遺伝子の発見も必要であるが、このような神経・筋異常の疾患をもつ個体は、自然的にも人為的にも淘汰される運命にあり、産業の場で発見されたとしても、それが維持され、研究用に分析されるチャンスは極めて少ないものである。特に、発見後の遺伝子分

析や、それを維持する研究は、人と設備と飼育費等に問題が多く、系統育成を行うのは容易なことではない。そのような、ミュータント発見とその後の飼育の面からみると、ウズラの実験動物としての価値は注目に値する。

### 3-(3) 疾患モデルとしてのウズラの利用

ウズラは、“広義の育種”のところで述べたように、キジ目、キジ科に属する鳥で、鶏に近い種類で両者の間には雑種（但しF1のみ）ができる。また鶏と異なる点として、日本にも野生種が分布していて、この野生のウズラは鶏のように留鳥ではなく一種の渡鳥で、南北に移動する。この野生種を捕獲してケージ内にとじこめ、家禽化することも可能であり、また逆に健全な飼うウズラを野外にならして野生化することも可能である。完全に野生化できると、移動してゆく。

ウズラの家禽としての使用は、日本が独自の地位をしめていて、豊橋市はウズラ産業の中心をなし、専業のウズラ飼育業者（卵と肉）も多く、ウズラ専門の孵卵業者、雛の雌雄鑑別師も存在する。従って孵化した雛の大量の観察も可能である。産業の場では、異常のみられる個体は淘汰されるわけであるが、鶏に比べて、飼育場所は小さくてよく、また飼料費なども少なくてすむので、ミュータント発見後の研究は可能である。

ウズラには、鶏にみられるような種々の品種はなく、今のところ一品種とみなしうる。今までに種々のミュータント（主として羽色について）が分析されているが<sup>9)</sup>、産業的に用いられるものではなく、実験動物としての標試遺伝子として利用されている。（表6参照）

表6. ニホンウズラの突然変異遺伝子（若杉 1978）<sup>9)</sup>

I. 伴性劣性遺伝子	14. 矮小首曲がり <i>cn</i>
1. 伴性白、不完全アルビノ <i>al(sw)</i>	15. コンドロディストロフィ <i>ch</i>
2. シナモン、赤目ブラウン <i>c(reb)</i>	IV. 常染色体性優性遺伝子および 不完全優性遺伝子
3. ブラウン <i>b</i>	16. 赤色卵 <i>R</i>
II. 常染色体性劣性遺伝子	17. 黒色羽毛 <i>+<sup>D</sup></i>
4. 斑入り白 <i>p</i>	18. シルバー B ( <i>S</i> )
5. パンダ <i>s</i>	19. 白色羽装 <i>W</i>
6. パフ <i>pk</i>	20. 黄色致死遺伝子 <i>Y</i>
7. 淡色羽色	21. 黒色初毛致死遺伝子 <i>Bh</i>
8. 白色卵 <i>we</i>	V. 複数の遺伝子によって支配されている形質
9. スターゲイジング <i>sg</i>	22. 首曲がり
III. 常染色体性劣性致死遺伝子	23. Wry neck
10. 先天性ロッコ <i>lo</i>	24. Downless
11. 完全アルビノ <i>a</i>	
12. 白色初毛 <i>c</i>	
13. ミクロメリア（短肢） <i>m</i>	

行動異常の個体や、致死遺伝子も種々知られているし、新たに見出されることも多い。これらが、筋ジストロフィー症の研究にどのように役立つかは、今後の問題である。疾病を研究する側からの協力と評価が望まれるところである。

#### 4. ま と め

実験動物としての鳥類は、卵生という点と飛翔という運動性に特色がある。従って比較生物学的立場から巾ひろく鳥類をしらべる必要がある。具体的に使用可能なものは、水禽、キジ目の家禽類、ハト類に、飼い鳥の小鳥類である。

狭義の筋ジストロフィー症の疾患モデル系統育成の立場からは、特殊な性質をもつ日本鶏の種々の品種の検討に手をつけるべきであらうし、主遺伝子 am の利用としては、遺伝子導入の方式による遺伝的背景の異なる系統の育成を急ぐべきである。

また am 遺伝子以外の新しいミュータントを発見し、系統化してゆく立場からは、ウズラを注目すべきである。

#### 文 献

- 1) Asmundson, V.S., and L.M. Julian : Inherited Muscle Abnormality in the Domestic Fowl. J. Hered. 47. p 248~252. 1956.
- 2) Hala, K. : The Major Histocompatibility System of the Chicken. The Major Histocompatibility System in Man and Animals. Editor Dietrich Götze, New York, p291~312 1977.
- 3) 菊池建機 : 筋ジストロフィー鶏新株の開発——白色レグホーン種との  $F_1$ ,  $B_1$  鶏について、筋ジストロフィー症の基礎的研究 : 江橋班昭 5 3 年度報告書、p 82~87、1979.
- 4) 近藤恭司 : 実験動物としてのニワトリ。実験動物学各論、田嶋嘉雄編集、朝倉書店、p 286~309. 1972.
- 5) 近藤恭司 : 免疫学研究と実験動物。実験動物の開発、田嶋嘉雄編集、医歯薬出版、p 27~51. 1978.
- 6) 三井高遂監修、小山七郎編集 : 日本鶏大鑑、ペットライフ社、1979.
- 7) 野村達次 : モデル動物の生産と開発。筋ジストロフィー症の基礎的研究 : 江橋班昭 5 3 年度研究報告書、p 79~81. 1979.
- 8) 岡田育穂 : 鶏の血液型。家畜の血液型とその応用、佐々木清綱編集、養賢堂、p 203~221. 1971.
- 9) 若杉 昇 : ニホンウズラの突然変異遺伝子保存、遺伝、32、p 40~44. 1978.

## 2. ニワトリ筋ジストロフィー症の遺伝分析

— 特にキャリア鶏浅胸筋の組織学的、酵素組織化学的研究 —

菊池建機\*

研究協力者 大和田修一\*、秋葉敏夫\*

石浦章一\*\*、埜中征哉\*\*

### 研究目的

昨年度は筋ジストロフィー鶏（以下Dys鶏と略）413ラインと白レグ鶏との雑種1代（ $F_1$ ）、 $F_1$ 鶏と白レグ鶏との戻し交配1代（以下 $B_1$ と略）鶏においてDys鶏の有する筋ジストロフィー遺伝子（以下Dys遺伝子と略）の導入する過程を、flip test、体各部位の測定、浅胸筋の組織病変を指標として解析した<sup>1)</sup>。その結果 $B_1$ 鶏での biopsy test と体尺測定の結果から、異常鶏と正常鶏の分離比が雌雄に関係なくほぼ1:1に分離した。またヘテロタイプの $F_1$ でほぼ全例に浅胸筋組織に病変を認めた。 $F_1$ 鶏、 $B_1$ 鶏に出現する異常鶏は稀に flip test 陽性となる場合があるが、大部分は陰性であり、浅胸筋組織病変の進行もホモタイプのDys鶏に比して軽度である点から、これらの交配においてDys遺伝子のキャリア鶏（以下Car鶏と略）が介在していることが予想された。本年度はこれらCar鶏の種々の交配における出現率を再吟味すると同時に、Car鶏浅胸筋組織の病変を組織学、酵素組織化学的に検討し、ホモタイプのDys鶏のそれらと比較した。

### 実験材料および方法

実験鶏はライン413 Dys鶏、 $F_1$ （♂）×WL（♀）より作出した $B_1$ 鶏、 $B_1$ 鶏のキャリア同志の交配（ $B_1C$ × $B_1C$ ）による鶏群を用いた。少数ではあるが $F_2$ 鶏についても検討した。孵卵、育雛条件は前年度と同様であり、雛の育成に用いた幼雛用、中雛用の飼料は、市販の完全配合飼料を用いた。

$B_1$ 鶏群は孵化後37（17羽）、51（12羽）、70（9羽）、86（17羽）、98（3羽）日令で $B_1C$ × $B_1C$ 鶏群は79（9羽）、93（6羽）、112（7羽）、126（9羽）、140（4羽）日令で、 $F_2$ 鶏は79（13羽）、93（10羽）日令で放血屠殺した。

浅胸筋は上腕骨稜に近い部位から組織を採取、ブアン固定後パラフィン包埋し、7μ切片を作製した。切片はhematoxylin-eosin（H-E）染色で病理組織標本を作製し、前回同様正常および異常鶏を判定した。Dys鶏は孵化後4（4羽）、30（2羽）、51（2羽）、4ヶ月（5羽）、1年（2羽）令を供試した。また $B_1C$ 、Dys鶏の1年鶏は国立神経センターで病理標本作製を協力していただいた。

今回酵素組織化学的検索を加えるため、筋組織をドライアイスアセトンにて急速凍結、10μク

\* 東北大学農学部

\*\* 国立武蔵療養所神経センター疾病研究第一部

リオスタート切片を作製し、H-E, succinic dehydrogenase (SDH), NADH-TR, acetylcholin esterase (AchE), myosin ATPase (pH 4.2, pH 10.3 前処理)を行った。

血清CPK活性の測定のため、前述のB<sub>1</sub>鶏群、当大学で抽出されたDys鶏とB<sub>1</sub>正常鶏間交配(B<sub>1</sub>N × B<sub>1</sub>N)で作出された鶏群が、放血屠殺直前に、翼下静脈より採血し、血清が分離された。血清は国立神経センターへ凍結搬送され、測定の御協力をいただいた。分析はADPを測定するNAD<sup>+</sup>法によった<sup>2)</sup>。

## 実 験 結 果

### 1. Car 鶏浅胸筋の組織学的所見とDys 鶏のそれとの比較

Dys 鶏の浅胸筋組織所見は51日令にみられるように筋線維の大小不同が目立ち、小径線維も多く、大径から小径への変動が大である(図1-c)。巨大線維ともいえる線維の顕著な肥大は4ヶ月令で目立つ。4ヶ月、1年令では結合織増生や脂肪化が著しく、線維間の間隙も大となる(図2-a)。51日令ではこの間隙は狭く、線維は密に配列している。線維胞体内の空胞形成、筋線維崩壊等はこの日令でしばしば出現するが、splitting fiberやring fiberはその後の日令で一層顕著となる。線維核の増加もDys 鶏の特徴であるが、中心核の増加に先立ち、初期には線維周辺核の増殖が目立つ。51日令では特にこの傾向がある。しかし4ヶ月、1年鶏では線維内中心核の多核化が顕著である(図2-a)。

種々の交配で得られるヘテロタイプのCar 鶏浅胸筋の組織病変はホモタイプのDys 鶏とは多くの類似点や相異点を指摘できる。この特徴は今回の実験では世代間に差を認めなかった。

- (1) 肥大線維が周辺の多数の小径線維の中に散在する。小径から大径への中間サイズの線維がDys 鶏に比して極めて少ない。
  - (2) 肥大線維の核は初期には周辺に、加齢とともに中心核が出現するが、この出現時期はDys 鶏に比して遅延を認める(図2-c)。
  - (3) 肥大線維周辺の小径線維の多核化はDys 鶏と同様急激に進行する。1年鶏では異常な中心核の増加を認める(図1-e, 図2-c)。
  - (4) 筋線維の崩壊像、空胞形成は個体により差はあるが、一般に稀である。
  - (5) ring fiber、核の同心円配列が1年鶏でしばしば認められる(図2-c)。
- 以上の浅胸筋病変像を下にCar 鶏は正常鶏やDys 鶏から比較的早期(37日令)で判定できる。

### 2. Car 鶏浅胸筋の酵素組織化学的所見とDys 鶏のそれとの比較

Dys 鶏浅胸筋でSDH, NADH-TR反応を観察すると、孵化後早期に高活性の筋線維が多数出現する。線維の肥大化も同時に進行し、まずこれらの活性が高まる。散在する小径線維は低活性を維持する(図1-d)。これら酸化還元酵素はミトコンドリアの酵素活性や局在性をよく反映するが、Dys 鶏の肥大線維の胞体内 di formazan 顆粒のサイズや配列は加齢とともに不規則にな

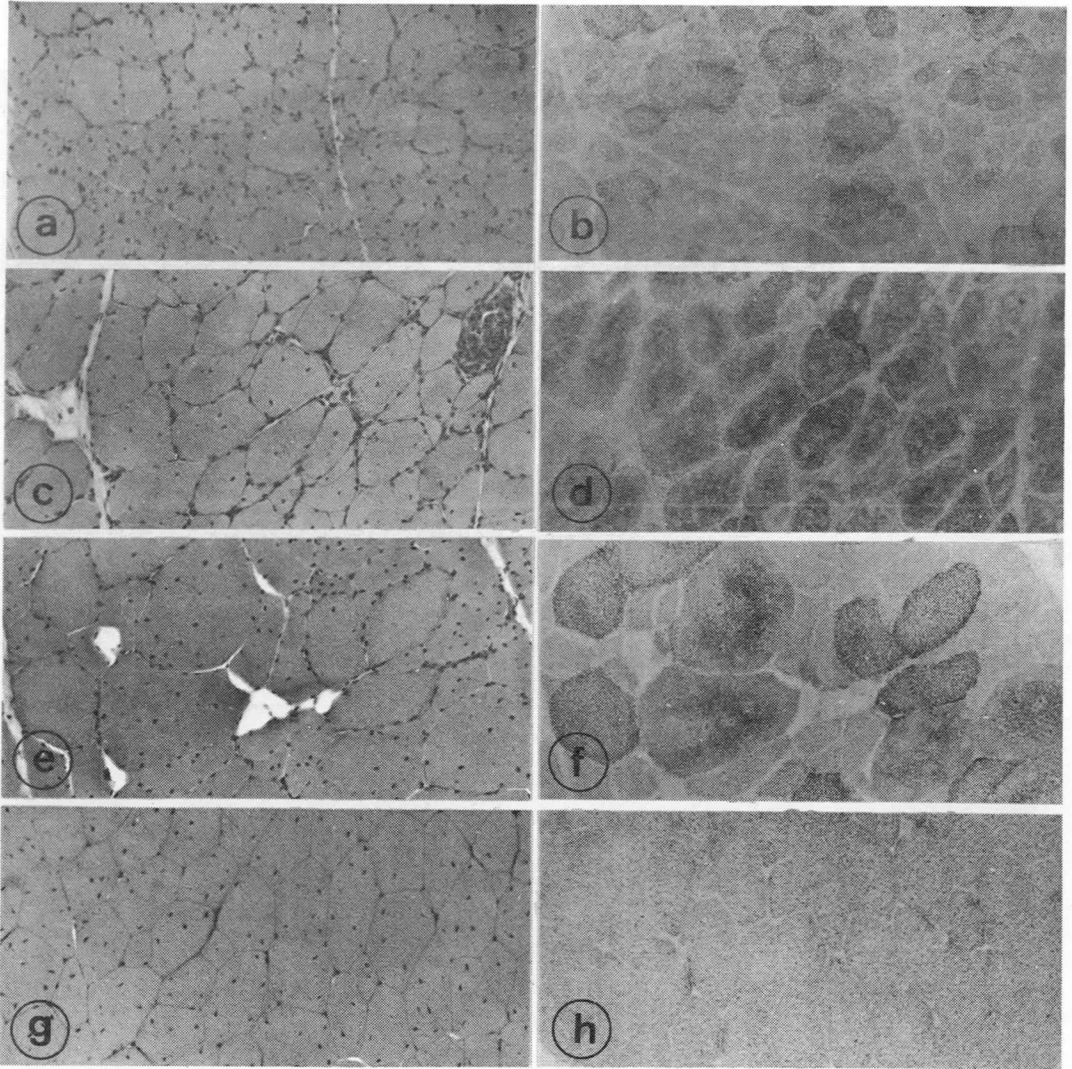


図1. 孵化後51日令Car鶏(a, b)、Dys鶏(c, d)、126日令Car鶏(e, f)、正常鶏(g, h)の浅胸筋組織像、x150

51日令のCar鶏浅胸筋にはSDH高活性と低活性の筋線維が混在する。高活性の線維は肥大する傾向がある(a, b)。51日令のDys鶏では線維大小不同が目立つ。大径線維のSDH活性は高く、di formazan顆粒の配列は不規則(c, d)。126日令でのSDH高活性線維は肥大が著しく、線維の多核化が進行(e, f)。126日令正常鶏には病変をみとめない。a, c, e, g : H-E染色、b, d, f, h : SDH染色。

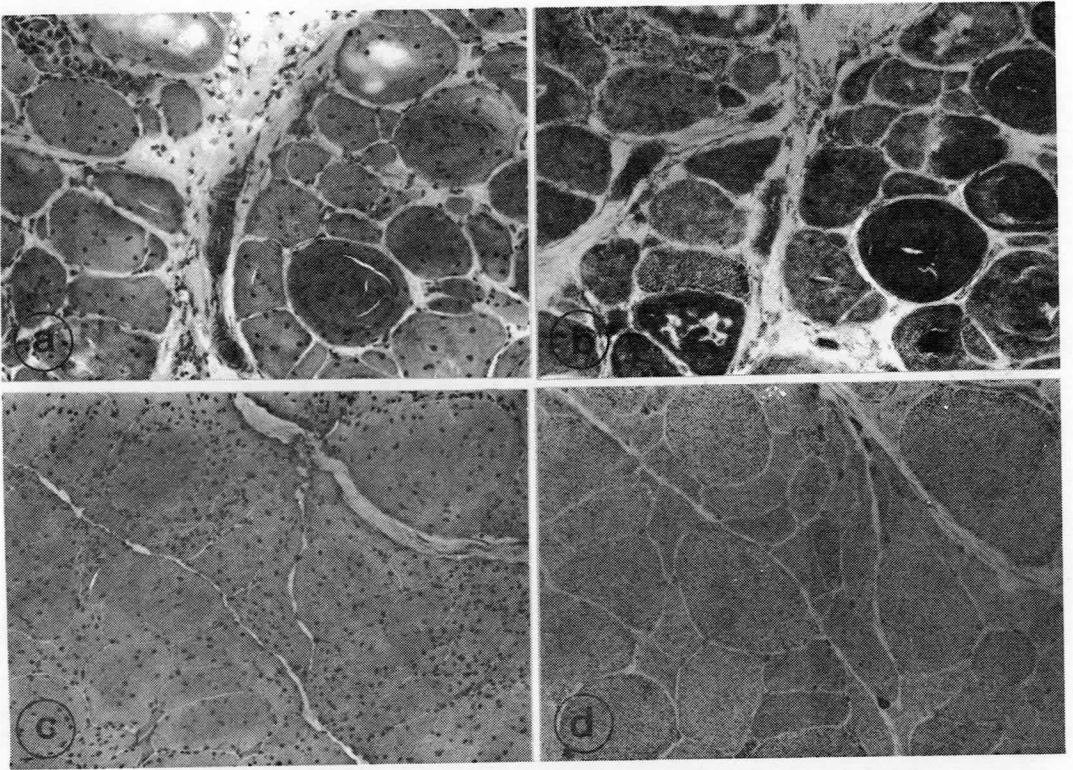


図2. 孵化後1年令Dys鶏(a, b)、Car鶏(c, d)の浅胸筋組織像、x150

1年令のDys鶏には線維の崩壊、splitting、大小不同がみられ、ring fiber もしばしば出現(a)。NADH-TR反応は全体的に高活性(b)。Car鶏では線維の肥大と多核化が目立つ(c)。NADH-TR反応はDys鶏に比して活性が低いが、di formazan顆粒の大きさや配列は不規則(d)。a, c: H-E染色、b, d: NADH-TR染色。

り、それらの数も増加している。

一方ヘテロタイプのCar鶏では孵化後早期(37日令)に散在する大径線維を認めるが、それらのSDH活性は、まわりの小径線維に比して顕著に高い。myosinATPase反応に異常がないので、いわゆる $\alpha$ R型線維<sup>3)</sup>に近い酵素反応を有する。大径線維の肥大は加齢とともに進行するが、線維胞体内di formazan顆粒のサイズや配列が高活性の割には規則的で、とりわけ異常を認めない。4ヶ月(126日)令のCar鶏のSDH活性を図1-fに示した。ここでは肥大線維の一部で胞体内di formazan顆粒のサイズや配列に異常を認める。しかしSDH低活性の小径線維に加えて、非常に高活性であるが正常レベルの $\alpha$ R型線維に似た大径線維も示されている。ここで興味のあるのは線維核の局在性とSDH反応の関係である。SDH活性異常の肥大線維は中心核の増加をみる(図1-f)。図1-hは同日令の同じ鶏群から抽出された正常鶏浅胸筋を示している。H-E染

色(図1-g)、SDH染色(図1-h)ともにCar鶏に比して組織像に異常を認めない。

1年令のDys鶏浅胸筋にはさらにSDH, NADH-TR活性の高い筋線維が出現する。しかしdi formazan顆粒の大きさや、不規則配列は顕著で、しばしばmoth eaten fiberの形態を呈する。ring fiberは強い反応を示す傾向がある(図2-b)。

1年令のCar鶏浅胸筋はDys鶏に比してこれらの線維内活性は全体的に低い。小径、肥大線維とも酵素活性が高い場合も、低い場合もあり、線維径と酸化還元酵素活性の間にあった一定の傾向はみられなくなる。小径線維は角ばっており、肥大線維周辺で群を形成する場合が多く、いわゆるangular fiberの形態に似ている。他には線維内核の著しい増加で、Dys鶏とほぼ同程度の変化が肥大線維でみられる。また小径線維の多核化はDys鶏のそれをはるかに凌駕している(図2-c, d)。この小径線維の多核化はすでに4ヶ月令で認められる(図1-e, f)。

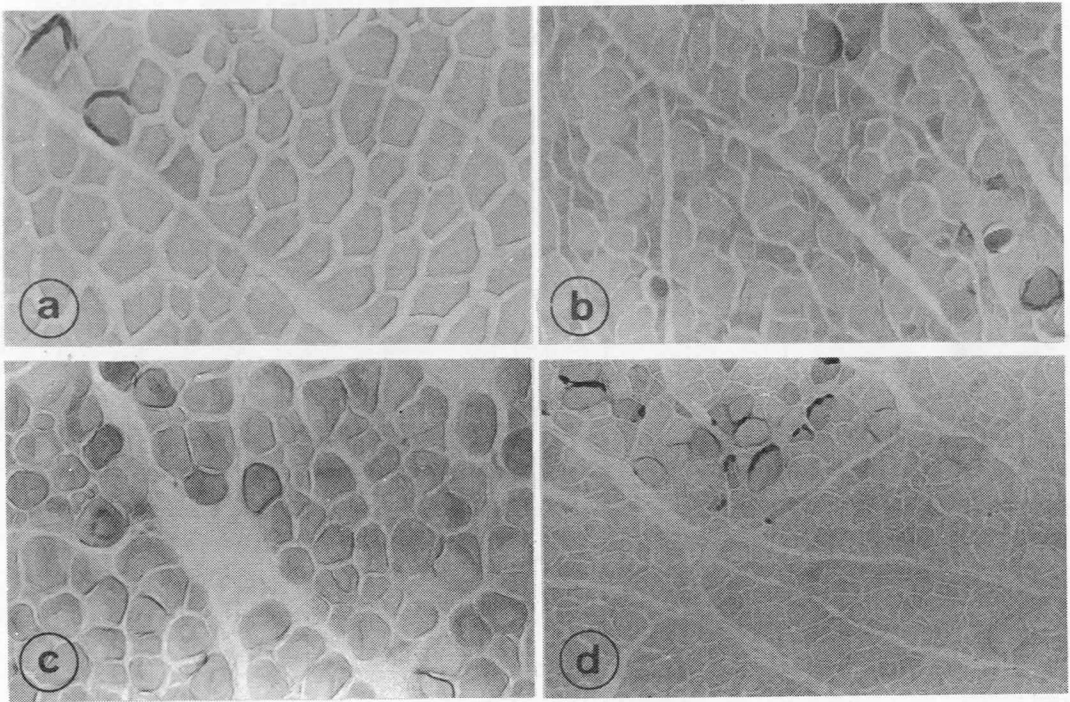


図3. 孵化後93日令正常鶏(a)、79日令Car鶏(b)と51日令Dys鶏(c)、Car鶏(d)の浅胸筋AchE反応、x100

正常鶏のAchE活性は神経筋終板(MEP)で高いが(a)、Dys鶏ではMEP部に加えて線維胞体内にdiffuseしたAchE活性をみる(c)。Car鶏は小径、肥大線維ともにMEP部に強い活性をみるが、肥大線維周辺の小径線維胞体内にAchEがdiffuseして高活性をみる(b, d)。

図3-aは93日令 $B_1C \times B_1C$ 鶏群から抽出された正常鶏の浅胸筋組織のAchE反応である。



AchE 活性は神経筋終板 (MEP) に限局しており、線維内に diffuse (拡散) した酵素反応を示さない。79日令の Car 鶏では肥大線維と周辺に多数の小径線維を認めるが、両者では AchE 活性部位に著しい相異がある。特に小径線維の MEP 以外の線維胞体内に diffuse し高活性の AchE 反応は Car 鶏浅胸筋線維の特徴としてあげられる。この AchE 活性は Car 鶏群の個体により若干の強弱はあるが傾向は変わらない (図 3 - b)。今回 51日令の Car 鶏浅胸筋でこの傾向をみとめた (図 3 - d)。小径線維の胞体内 AchE は肥大線維に比して高活性となっている。同日令の Dys 鶏の AchE 活性を図 3 - c に示した。この時期の殆んどの大、小径線維に AchE 活性が胞体内に diffuse して反応している。

### 3. 血清 CPK 活性の測定

Dys 鶏を育種改良するためには Car 鶏を正常鶏や Dys 鶏から容易に識別分離する方法が必要で

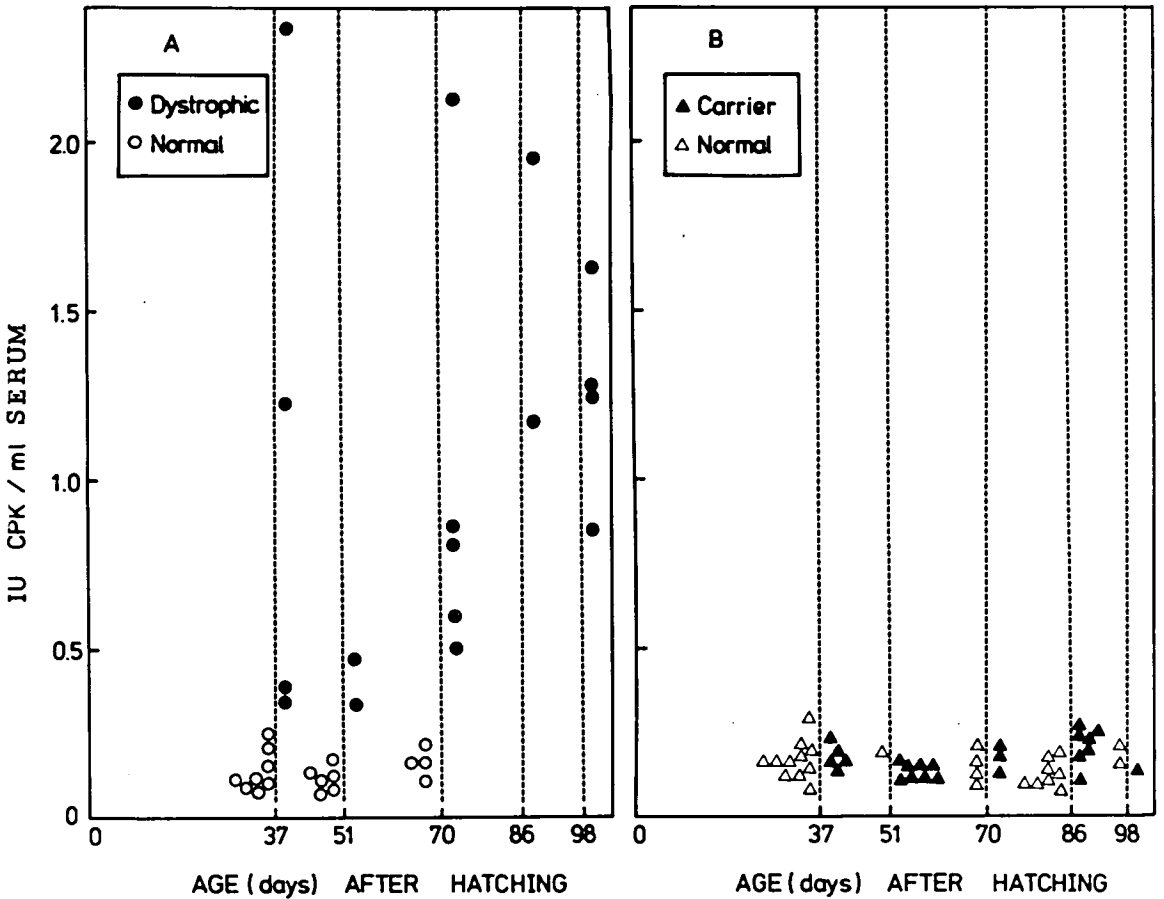


図 4. Dys 鶏 ( $B_1 C \times B_1 C$  鶏群より抽出) と正常鶏 ( $B_1 N \times B_1 N$ ) (A), Car 鶏 ( $B_1$  鶏群より抽出) と正常鶏 ( $B_1$  鶏群より抽出) (B) における血清 CPK 活性値の経日的変化

ある。このスクリーニングのため前回は浅胸筋の biopsy test や体尺測定を用いたが前者は確実であるが手間がかかり、後者は変動が大きすぎる欠点がある。今回筋ジストロフィー症にともなう筋細胞膜の破損または疾患に特異的な膜透過性を示す指標とされる血清 CPK 活性の測定を試みた。

図 4 - A は  $B_1C \times B_1C$  鶏群から抽出した Dys 鶏 (WL) と正常鶏同志  $B_1N \times B_1N$  鶏群から抽出した正常鶏 (WL) との間で加齢にともなう血清 CPK 活性を比較したものである。正常鶏は平均値が 3 7 日齢 (0.1406)、5 1 日齢 (0.1176)、7 0 日齢 (0.1637) で加齢による値の変化がみられない。Dys 鶏 (WL) では数値に大きな変動を示すが、加齢とともに顕著に上昇する。雄雌では平均して雄の活性値が高く、数値の変動の原因となっている。

Car 鶏の血清 CPK 活性値を正常鶏のそれと比較したのが図 4 - B である。各日令での数値の分布を両者で比較すると、今回測定した孵化後日令では明瞭な分離をみとめない。しかし日令によっては一羽しか測定していない場合があり、さらに詳しく検討したい。

#### 4. ニワトリ筋ジストロフィー症の遺伝分析

表現型の記号は従来用いられている Dys 遺伝子 am を用いている。しかし Dys 鶏の判定は flip test では識別不可能 (特に早期には) な場合が多いので我々は浅胸筋の組織病変を表現型の指標として判定している。表 - 1 の  $B_1$  鶏群での成績は前回の成績を追加している。その結果、80羽のうち正常鶏 (+/+) は 43羽、Car 鶏 (+/am) は 37羽が得られた。 $\chi^2$  (chi-square) 検定により分離比を推定したところ、 $P = 0.5$  となり、1 : 1 の分離は適合していた。Car 鶏同志 ( $B_1C \times B_1C$ ) の交配では 67羽のうち正常鶏 (+/+) 18羽、Car 鶏 (+/am) 33羽、Dys 鶏 (am/am) 16羽に分離していた。同様に  $\chi^2$  検定で 1 : 2 : 1 の分離は適合していた。

#### OFFSPRING FROM +/am $\times$ +/+ MATINGS

Values	Number of Normal (+/+)	Number of Carrier (+/am)	Total
Observed	43	37	80
Expected	40	40	80

$\chi^2 = 0.45$

#### OFFSPRING FROM +/am $\times$ +/am MATINGS

Values	Number of Normal (+/+)	Number of Carrier (+/am)	Number of Dystrophic (am/am)	Total
Observed	18	33	16	67
Expected	16.75	33.50	16.75	67

$\chi^2 = 0.134$

表 1. Dys 遺伝様式の適合性と分離比の検定。  $B_1$  鶏群 (上表),  $B_1C \times B_1C$  鶏群 (下表)

前述したように、Car鶏の浅胸筋組織病変はホモタイプのDys鶏とは本質的に異なる進行を示し、臨床的にflip test陰性的の場合が多く、病変として筋線維の崩壊像が稀である点から、Dys鶏と正常鶏の中間的症候を示すので、Dys遺伝子は不完全優性遺伝と解釈される。

## 考 察

鶏の骨格筋は浅胸筋、後広背筋(PLD)、上腕二頭筋等に代表されるfast twitch筋と頸部、脚部に局在する骨格筋のslow twitch筋に大きく分類される。それ以外に前広背筋(ALD)に代表されるslow tonic筋がある。筋線維はアルカリ側前処理のmyosin ATPaseで高活性の $\alpha$ 型と、低活性で酸側前処理のmyosin ATPaseに高活性の $\beta$ 型線維である。この反応はALD筋のslow tonic筋線維にはあてはまらない。 $\alpha$ 型線維は酸化還元酵素(SDH, NADH-TR)に高活性の $\alpha R$ 型と低活性の $\alpha W$ 型に細分される。 $\beta$ 型線維は一般に $\beta R$ 型線維とされ、この酸化還元酵素は高活性である<sup>4)</sup>。

鶏の浅胸筋は $\alpha W$ と $\alpha R$ 型の2種筋線維で構成されているが、後者は3~4週令で大部分のものが $\alpha W$ 型線維へ移行する。浅胸筋の表層部は $\alpha W$ 型が大部分で、深部へゆくほど $\alpha R$ 型を含んでいる。Dys鶏浅胸筋では $\alpha R$ 型線維のカテゴリーに入る線維が孵化後おそくまで多数観察される点が正常鶏の場合とちがう点である。またDys鶏の場合、これら $\alpha R$ 型線維は加齢にともない肥大を示す。

一方Car鶏浅胸筋で観察された肥大線維はDys鶏のそれと酸化還元酵素反応において類似している。しかしDys鶏にみられるdi formazan顆粒の大小不同、一部消失、配列の不整等はCar鶏の場合かなり遅れて現われる。また肥大を示すが比較的正常的な酵素反応を示す線維と、異常を示す肥大線維が混在する傾向があり、段階的発症過程を示すことが多い。

線維径の分布はDys鶏とCar鶏では相異がある。Dys鶏では小径から大径線維へ連続した分布を示し、径の変動巾が大である。しかしCar鶏では大径線維群と小径線維群が2つのグループに分離する。この点はMcMurtry et al (1972)<sup>5)</sup>が6週令のDys鶏、ヘテロF<sub>1</sub>鶏、正常鶏の浅胸筋で線維径の出現状態を描いており、その分布に2頂点(bimodality)のあることを指摘しており、我々の観察とよく一致している。

酸化還元酵素と筋線維核の局在性との関連は興味がある。線維内中心核の異常増殖の原因や核の由来については未だ明瞭ではないが、線維基底膜下に局在する衛星細胞(satellite cell)の増殖と分化、それに付随する再生反応と密接な関係にあるとされている<sup>6)</sup>。Dys鶏の多核化は孵化後加齢とともに進行するが、正常鶏は33、40日令でPlateauに達する<sup>6)</sup>。筋線維の肥大現象は多核化に並行して顕著となるが、同時にミトコンドリア依存の酸化還元酵素の活性や反応部位に不整が出現する傾向がある。

Car鶏の肥大線維が多核化するのとは酵素反応に異常を示す時期と同様、Dys鶏のそれに比して遅れる。そして肥大した大径線維でも核が周辺にのみ位置するものが混在する。この種の肥大線維はSDH, NADH-TR活性が高いが、その反応性は正常slow twitch筋に多く含まれる $\alpha R$ 型

線維の形態をよく維持している。

Dys 鶏では fast twitch 筋の中でも  $\alpha$ W 型線維が  $\alpha$ R 型線維より早期に、しかも選択的に発症する<sup>4)</sup>。前述したように正常浅胸筋では早期に胚期の  $\alpha$ R 型から成熟分化にともない  $\alpha$ W 型へ移行するが、Dys 浅胸筋ではこの移行がスムーズに起らない。Ashmore et al (1971) はこれを筋の成熟分化過程の障害と考えている<sup>4)</sup>。今回我々も酸化還元酵素活性と核の局在性から筋線維が  $\alpha$ W 型へ移行した時の発症を観察している。

肥大線維周辺の小径線維は Dys 鶏と同様に酸化還元酵素活性は低いが、AChE 活性は逆に高い。特に神経筋終板 (MEP) 以外の線維胞体内への diffuse が顕著である。これらは散在する肥大線維の間で押し込められたように角ばった形態を有する。Car 鶏浅胸筋の小径線維のこの特徴は加齢にともない顕著となるが、これらが Dys 鶏浅胸筋にみられる AChE 高活性で線維胞体内に diffuse 反応を示す肥大線維と質的に同じか、差があるかは今回明らかにできなかった。

鶏胚発生初期 (10 日令以前) では myotube と神経終末との連結が不十分で、myotube 胞体内に AChE 活性が diffuse して認められる。しかし孵卵 12 日令頃から MEP 形成が進み、同時に AChE 活性は MEP 部へ限局するようになる。<sup>7) 8)</sup> 孵化後 2 週令の間に、AChE 活性は胚期の約 1/30 に減ずる。この AChE の量的変化や付随する質的 (isozyme pattern) 変化の異常が Dys 鶏にみられることから、ニワトリ筋ジストロフィー症に神経原性の要因が指摘されている<sup>9)</sup>。また脊髄前角細胞の変化から Dys 鶏の神経原性を主張する報告もある<sup>10)</sup>。

一方 Dys 鶏と正常鶏の筋を交叉移植すると、たとえ宿主が正常でも Dys 移植筋の再生過程で Dys 病変を認めることが多いことから<sup>11)</sup>、また同じ移植で、一本の再生筋線維に Dys 筋由来の細胞と正常筋由来の細胞を細胞融合によりとりこませ SDH 活性を指標に Dys 病変をみると、正常宿主の神経により支配された再生筋線維にモザイク状の酵素活性が認められたことから、筋細胞自身に潜在的異常があるとする報告もある<sup>12)</sup>。

今回 Car 鶏でみられた小径線維 (angular fiber) は AChE 活性が胞体内に diffuse している点で異常であるが、酸化還元酵素活性は逆に低く、正常な  $\alpha$ W 型線維の形態を有しているため、Dys 鶏肥大線維とは質的に異っている可能性がある。特に発症後期 (4 ヶ月、1 年令) でみられる異常とも思われる小径線維の多核化は前述した再生反応の一つと思われるが、今後酵素反応との関係を明らかにしてゆきたい。

今回行なった Dys 遺伝子の遺伝分析は昨年度の結果を裏づけるものであった。Chung et al (1960)<sup>13)</sup> は Dys 鶏と白レグ鶏間で種々の交配実験を実施し、Car 鶏の介在を示唆している。また最近カリフォルニア大 Dr. B.W. Wilson の報告でもヘテロタイプの鶏に筋ジストロフィー症を認めるので、Dys 遺伝は相互優生 (codominant) 遺伝と解釈した方が正確であるとしている<sup>14)</sup>。これらの報告は、今回我々が得た結果を支持するものである。しかし Car 鶏を flip test で完全に把握できない現状では、ホモタイプ Dys 鶏が常染色体性劣性遺伝子により発症するという解釈も誤りではない。

1959 年江橋等<sup>15)</sup> によつてはじめられた進行性筋ジストロフィー症患者の血清 CPK 活性の測

定による患者の早期診断、保因者発見に関する一連の研究は、Dys鶏の遺伝分析にも応用できる。今回我々は正常白レグ遺伝子導入の過程で抽出されたホモタイプDys鶏と正常鶏、およびCar鶏の血清CPK活性を孵化後比較的早期に経目的に測定した。

その結果Dys鶏は早期に活性値は正常域をはるかに越えた値を示すことがわかった。ライン413鶏と412鶏の血清CPK活性値は江橋らによって経目的に測定されている<sup>16)</sup>が、今回のNAD<sup>+</sup>法で得た数値を無機リン酸法で得た前者と比較(5,500倍)すると極めてよく一致している。ライン413Dys鶏は血清CPK値の大きな変動が指摘されている<sup>17)</sup>がこの点も類似している。この変動は主に雄鶏の活性値が異常に高い場合が多いので起るのであり、雌雄別々に測定するとその変動はかなり改善される。

ヘテロタイプのCar鶏の血清CPK活性の測定はHolliday et al(1965)<sup>18)</sup>の報告がある。彼等は10, 16ヶ月令Car鶏の血清で測定し、Car鶏の活性値は有意に正常鶏に比して高値を示すと報告している。その活性値は変動が大きく、ある場合は正常値、ある場合はDys鶏の値に達する。また活性値と筋組織病変の進行とは密に関連し、高い活性値の場合、時にはCar鶏とDys鶏の組織像を識別できないと報告している。Car鶏の血清aldolase, glutamate-oxaloacetate transaminase活性も正常鶏より高いとする報告もある<sup>13)</sup>。

今回我々は孵化後早期にCar鶏をスクリーニングし遺伝分析の一助とする目的で、およそ1から3ヶ月令でCar鶏の血清CPK活性を測定したが、活性値を正常域から明瞭に分離できなかった。この原因はCar鶏浅胸筋の組織病変がこの時期では軽度であり、特に筋線維崩壊像が殆んどみられず、肥大線維、小径線維ともに膜系の異常による肉漿酵素の血中へのleakageが起っていないことや、浅胸筋以外の筋組織に異常がなかったことなどが推定される。

#### 引用文献

- 1) 菊池建機 : 筋ジストロフィー鶏新株の開発——白色レグホン種とのF<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>鶏について(江橋班) 53年度研究報告書、pp. 82—87。
- 2) Traner, M.L. & Gilvarg, C. : Creatine and creatine kinase measurement, J. Biol. Chem., 234:3201, 1959.
- 3) Ashmore, C.R. & Doerr, L. : Comparative aspects of muscle fiber types in different species, Exp. Neurol., 31: 408, 1971.
- 4) Ashmore, C.R. & Doerr, L. : Postnatal development of fiber types in normal and dystrophic skeletal muscle of the chick, Exp. Neurol., 30: 431, 1971.
- 5) McMurtry, S.L., L.M. Julian & Asmundson, V. S. : Hereditary muscular dystrophy of the chicken, Arch. Path., 94: 217, 1972.
- 6) 中村晴臣 : 筋ジストロフィー骨格筋の再生反応(三好班) 53年度研究報告書、pp. 25-29.
- 7) Mumenthaler, M. & Engel, W.K. : Cytological localization of choli-

- nesterase in developing chick embryo skeletal muscle, *Acta Anat.*, 47 : 274, 1961.
- 8) Kikuchi, T. & Ashmore, C.R. : Developmental aspects of innervation of skeletal muscle fibers in the chick embryo, *Cell tiss Res.*, 171 : 233, 1976.
  - 9) Wilson, B.W., M.A. Kaplan, W.C. Merhoff & Mori, S.S. : Innervation and the regulation of acetylcholinesterase activity during the development of normal and dystrophic chick muscle, *J. Exp. Zool.*, 174 : 39, 1970.
  - 10) Sansone, F.M. & Lebeda, F.J. : A histochemical study of cervical motor neurons and the posterior latissimus dorsi muscle in normal and dystrophic chickens. *J. Morphol.*, 147 : 155, 1975.
  - 11) Linkhart, T.A., G.W. Yee, P.S. Nieberg & Wilson, B.W. : Myogenic defect in muscular dystrophy of the chicken, *Dev. Biol.*, 48 : 447, 1975.
  - 12) Kikuchi, T., L. Doerr & Ashmore, C.R. : A possible mechanism of phenotypic expression of normal and dystrophic genomes on succinic dehydrogenase activity and fiber size within a single myofiber of muscle transplants, *J. Neurol. Sci.*, 45 : 273, 1980.
  - 13) Chung, C.S., N.E. Morton & Peter, H.A. : Serum enzymes and genetic carriers in muscular dystrophy, *Am. J. Human Genet.*, 12 : 52, 1960.
  - 14) Wilson, B.W., W.R. Randall, G.T. Patterson & Entrikin, R.K. : Major physiology and histochemical characteristics of inherited dystrophy of the chicken, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 317 : 224, 1979.
  - 15) Ebashi, S., Y. Toyokura, H. Momoi & Sugita, H. : High creatine phosphokinase activity of sera of progressive muscular dystrophy, *J. Biochem.*, 46 : 103, 1959.
  - 16) 江橋節郎他 : ジストロフィーチキンについての予備的観察、筋ジストロフィー症の病因の究明に関する研究(沖中班) 51年度研究報告書、pp. 9-14.
  - 17) 萩原康子、小沢鉄二郎 : 筋ジストロフィー症チキンにおける血清 creatine kinase 活性の経日変動、*医学のあゆみ*、107 : 629, 1978.
  - 18) Holliday, T.A., V.S. Asmundson & Julian, L.M. : Plasma creatine phosphokinase activity of chickens with hereditary muscular dystrophy, *Enzymol. biol. clin.*, 5 : 209, 1965.

### 3. 鳥類における神経・筋疾患モデル動物の開発

水 谷 誠\*  
研究協力者 布 谷 鉄 夫\*

近年マウス・ラットにおいては多くの疾患モデル動物が開発され、いろいろな分野で多くの新しい知見が得られている。しかし、ニワトリ・ニホンウズラを含む鳥類における疾患モデルとしてはアメリカにおいて開発された筋ジストロフィー鶏および最近わが国において開発された特発性側彎症モデル動物としてのニホンウズラがある程度である。

鳥類はマウス・ラットのような哺乳類と異なり、胎児期の観察が容易であるばかりでなく、多数の個体を同時に実験に供試できるという利点をもっている。

本研究はNH-413の筋ジストロフィー遺伝子“am”を遺伝的背景の異なる他の系統に導入するとともにニワトリあるいはニホンウズラにおいて神経・筋疾患モデル動物となる可能性のあると思われる異常について検討し、遺伝的形質についてはそれを固定することを目的として実施された。

#### 1. 筋ジストロフィー遺伝子(am)のGSN/2系(ファヨウミ種)への導入

ニューハンプシャー種のam遺伝子を他の品種のGSN/2系に導入すること、すなわち遺伝的背景をかえることは筋ジストロフィー症の発症週齢あるいは症状の程度に変化のおこることが期待される。NH-413系のam遺伝子をGSN/2系に導入する方法としてはクロスバッククロスあるいはクロスインタークロスの方法がある。

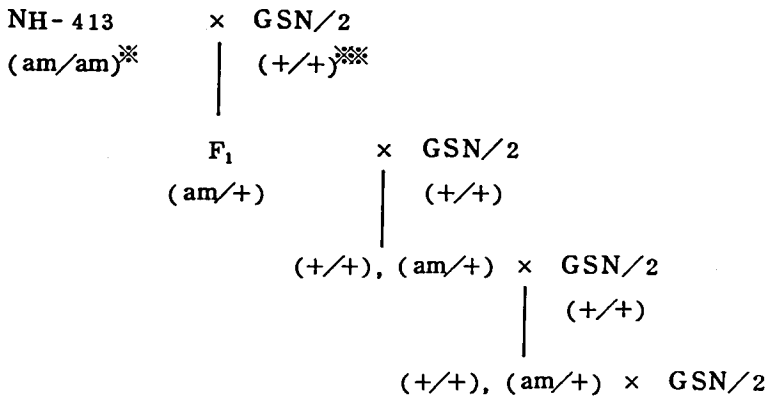


図1. クロスバッククロス方式

※遺伝子型    ※※野生型(正常遺伝子型)

\* (財)日本生物科学研究所

クロスバッククロス方式とは図1に示したように、NH-413 (遺伝子型 am/am) × GSN/2 (遺伝子型 +/+) の F<sub>1</sub> (遺伝子型 am/+) を GSN/2 系にもどし交配 (back cross) して得られた子 (+/+ と am/+ が 1 : 1 の比率に出現する) のヘテロ (am/+) 個体を選抜し、再び GSN/2 系にもどし交配する方式である (東北大・農・菊池建機班員)。この方式ではヘテロ (am/+) 個体を選抜をする際、フリップテストでは +/+ と am/+ の区別ができないため、am/am 個体との交配を行ない、その子に筋ジストロフィー鶏 (am/am) が出現するか否かにより判断する (後代検定) 必要がある。そこで、著者は第2の方式であるクロスインタークロス方式 (図2) を用いた。すなわち、NH-413 (雄・遺伝子型 am/am) × GSN/2 (雌・遺伝子型 +/+) の F<sub>1</sub> (遺伝子型 am/+) を作出し、F<sub>1</sub> × F<sub>1</sub> の交配を行ない F<sub>2</sub> をとる。F<sub>2</sub> においては遺伝子型 +/+, am/+, am/am の各個体が 1 : 2 : 1 の比で出現する。この F<sub>2</sub> のなかの am/am 個体 (筋ジストロフィー症鶏) の雄と GSN/2 系の雌を交配し、再び F<sub>1</sub> (am/+) を作出する。この F<sub>1</sub> 同士の交配を再び行ない F<sub>2</sub> を作出し、F<sub>2</sub> のなかのホモ個体 (am/am) の雄を GSN/2 に交配する。このような交配をくりかえし行ない、NH-413 系の am 遺伝子を GSN/2 系に導入する。

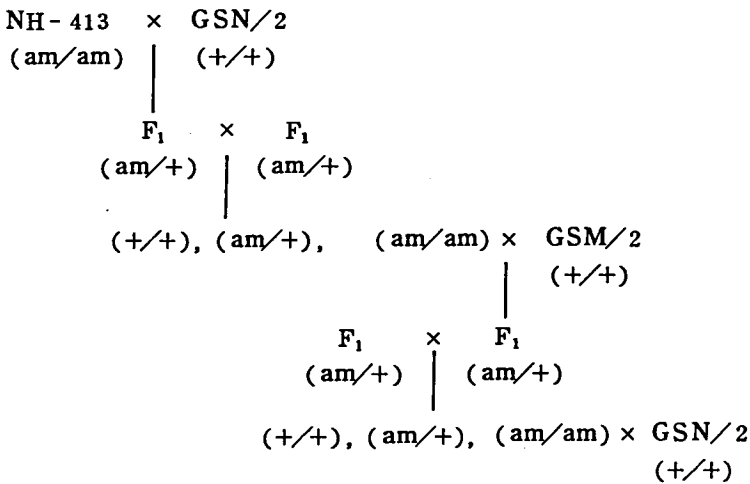


図2. クロスインタークロス方式

現在、クロスインタークロスを4回行ない、ヘテロ同士の交配から am/am 個体を作成している。GSN/2 am系 (GSN/2 系に am 遺伝子を導入している系統) の羽装に関しては黄色型 (GSN/2 型) と茶色型 (NH-413 型) が分離している。この茶色の羽装を支配する遺伝子は NH-413 系由来で、性染色体性の劣性遺伝子である。この遺伝子を用いれば、初生時に雛の羽装により雌雄鑑別 (autosexing) が可能となる。すなわち、茶色型と黄色型の2系統を GSN/2 am 系において確立後、茶色型 (♂) × 黄色型 (♀) の交配を行なえば、初生雛は雄がすべて黄色型、雌はすべて茶色型になる。



GSN/2 am系はいまだ作出途上であるため、体重曲線については未調査であるが、成鶏時の体重の比較を表1に示した。表からも明らかなように、GSN/2 am系はコントロール系であるGSN/2系とほぼ同じ体重であり、NH-412系あるいはNH-413系の約 $\frac{1}{2}$ とかなり小型のため取り扱いが容易である。

表1. NH-413, NH-412, GSN/2, GSN/2 am各系の成鶏体重の比較 (Kg)

系 統	雄	雌
NH-412	3.5	3.0
NH-413	3.0	2.4
GSN/2	1.6	1.2
GSN/2 am	1.6	1.2

GSN/2 am系のフリップテストによる筋ジストロフィーの発症週齢は7~10週齢で413系の2~5週齢に比較して遅くなっている。今後、クロスインタークロスをひきつづき行ない、筋ジストロフィーの発症週齢の変化を調査する予定である。

最後にGSN/2系の特性についてのべる。

- (1) GSN/2系はNH-412あるいはNH-413に比較してかなり小型であるので飼育管理および取り扱いが容易である。
- (2) 血液型に関しては当所において作製した19の抗血清に対する反応性が固定しており、ニワトリの主組織適合性遺伝子でもある、Bシステムに関しても単一の血液型に固定している。
- (3) 正常ニワトリの細胞中に存在するニワトリ白血病ウイルスのgroup specific antigen (gs 抗原) が陰性に固定している。
- (4) ニワトリ白血病ウイルスのサブグループA-Eに対する感受性はBに抵抗性(C/B)であり、AとEには部分的に抵抗性である。
- (5) ベータ型欠損ラウス肉腫ウイルスに感染性を与える宿主細胞因子Chf (Chick helper factor) 活性は陽性に固定している。
- (6) マレック病に対して抵抗性である。
- (7) ジャガイモの植物性凝集素 (PHA) により識別される血液型に関して固定している。
- (8) 同種自然凝集素により識別される血液型に関して固定している。

このような特性からGSN/2系を選び“am”遺伝子の導入を行なっている。

## 2. 中枢神経系、とくに大脳における血管変性ならびに頸部脊髄神経の変性・脱落により特徴づけられるニワトリの系統 (AN系)

臨床的にこれら異常鶏 (AN系) はいずれも突然、頭部および頸部を前内方に螺旋状に折り曲げてうずくまる (重症の個体は同時に後ずさりする) 発作をくり返す。このような発作は外的の聴覚および視覚刺激などを与えることにより容易に発現し、普通15~30秒間継続するが回復すれば、頸部が少し前内方にまがっている程度で一見正常に戻る。異常鶏のほとんどのものは6週齢頃に発症するが、ふ化時すでに発症している個体もある。発作は加齢とともに軽減するが完治することはないようである。増体率、産卵率、受精率に異常は認められず、正常に自然交配も可能である。し

かし、水を多く飲むためか、水を飲むのに頸が曲がっているためか、飲みにくいのか、ウォーターカップの水をこぼす程度が他の系統のニワトリに比較してひどい傾向がある。

1974年8月、当所で維持しているPNP系において、上述の臨床症状を示す個体が3例出現した。その後の出現状況を観察した結果、この形質が遺伝的と思われた。そこで、1975年2月この形質を固定する目的でPNP系およびFs系（Full sib matingを行なっている系統）を起源としてくびまがり系（AN系）の作出を開始した。AN系の作出には図3に示したような3 pairのローテーションシステムを用い、異常鶏同士の交配で継代を行なった。1975年2月より1979年12月までに9世代の継代を行なった。継代当初は異常鶏同士の交配から異常鶏の出現する頻度は低く、60%程度であった（4カ月齢までの調査結果）。しかし、最近の調査によると、異常鶏の出現頻度は90%とかなり高く、症状もひどいものが出ている。発症月齢はほとんどの個体が1.5カ月齢（6週齢）であるが、ふ化時すでに発症しているものからふ化後3カ月齢で発症するものまでいろいろである。上述の異常鶏の出現頻度調査において正常鶏としてみなされた個体は5カ月齢以後発症するものであったかもしれない。今後、AN系の実験供試鶏が3～4カ月齢になった時点で、発症鶏・未発症鶏を問わずすべて病理学的検索を行ない、以下にのべる組織学的変化が認められるか否かを調査したいと思っている。

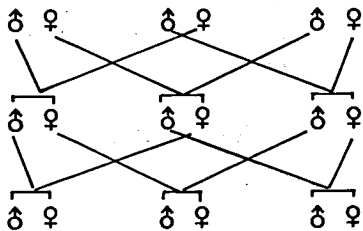


図3. 3 pairによるローテーションシステム

本疾患の詳細な病理学的検索に関しては、本稿では省略し、主要な組織学的変化についてのみのべる。本疾患は中枢神経系、とくに大脳における血管変性ならびに頸部脊髄神経の変性・脱落により特徴づけられ、それらはいずれも特徴的な臨床症状に密接に関連する所見と考えられた。このうち、大脳で認められた血管変化は全例に共通して認められ、発作を起す直接的基因になん

らかの関連性があるものと推察された。また、脊髄神経病変は病歴の古いものに多発し、強い傾向があり、それら変化が頸部脊髄神経に集中していることなどから、発作のくり返しに伴う二次的变化とみなされた。

本疾患の遺伝性に関しては、AN系が確立された事実から遺伝的であると思われる。そこで、この形質の遺伝様式を調査するため、BM-C系（♂）×AN系（♀）の交配を行なったところ、F<sub>1</sub>は6カ月齢までの観察では正常であった。この結果は本疾患を支配している遺伝子が劣性遺伝子であることを示している。なお、BM-C系は当所における10年間の維持期間中、1例も本疾患を発症しなかった系統である。今後、AN系（♂）×BM-C系（♀）、F<sub>1</sub>（BM-C×AN）×AN系（♀）、AN系（♂）×F<sub>1</sub>（♀）、F<sub>1</sub>×F<sub>1</sub>の各交配を行ない、詳細な遺伝子分析を行なう予定である。

疾患モデルとしての可能性についても検討を加えたいと思っている。

### 3. 糖原病モデル動物としてのニホンウズラの系統の育種

1976年4月当所において維持しているニホンウズラの一系統PNN系に両翼が体にロックされているかのように、上にあがらない雄（発見時月齢：6カ月齢）1羽を発見した（図4）。この

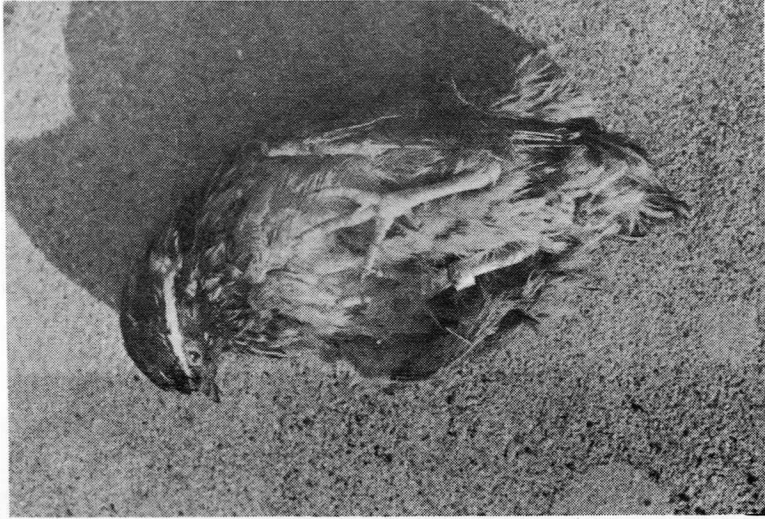


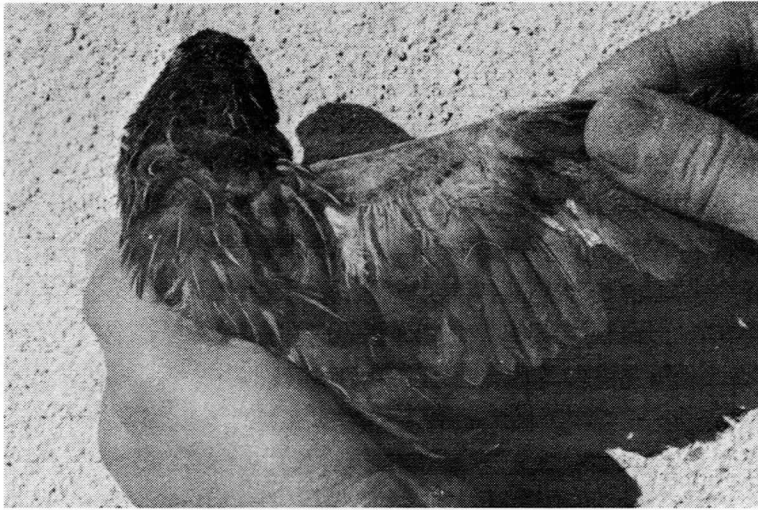
図4. 糖原病ウズラ（雄）

特徴は筋ジストロフィー病ニワトリのそれと似ていた。この形質が遺伝的か否かを検索するため、正常な雌を交配し、 $F_1$ を8羽作出した。この8羽はすべて正常であった。つぎに、 $F_1$ 同士の交配あるいはもどし交配を行ない、合計53羽の子を得た。この53羽は6週齢時に調査したが、すべて正常であり、異常ウズラは出限しなかった。そこで、これらの子を起源としてRWクローズドコロニーを作出し、異常ウズラの発見時月齢の6カ月齢まで観察するとともにクローズドコロニーを継代し、異常ウズラが出現するか否かを検索することにした。筋ジストロフィーニワトリあるいは異常ウズラとも両翼のあがり方も悪いが、翼膜の開き方も悪い。正常なニホンウズラあるいはニワトリにおいても図5に示したように翼膜の開き方が良い個体と悪い個体が存在することを見出した。そこで、RWクローズドコロニーにおいて、1977年2月より翼膜の悪い方向への選抜を開始した。一方、異常ウズラの授精能力が不能となったため、東京大学医学部江橋研究室へ病理学的検索を依頼したところ、この検体が都の臨床研に委託された。そこにおいて、この異常ウズラが筋ジストロフィーであると判定され、CPKの値も他の正常ウズラより高いことがわかった。しかし、その後この異常ウズラは糖原病であることが判明した。

RWクローズドコロニーにおいて、1977年2月から1979年12月までに雄4・雌1合計5羽の糖原病ウズラを得ることができたが、発見時の月齢に関しては雄4羽はそれぞれ6カ月齢、8カ月齢、9カ月齢、6カ月齢であり、雌1羽は一番若齢で3カ月齢であった。このように、糖原病を発症するウズラには雄が多く雌が少ないようである。このことは、ニワトリにおいて痛風を発



a. 悪いもの



b. よいもの

図5. 翼膜の開き方のよいもの悪いもの(ウズラ)

症する個体に雄が多く雌が少ないという現象と同様、糖原病ウズラにおいても雄に多く発症することは雌における産卵生理が関係しているのかもしれない。すなわち、雌においては糖原病になる遺伝的要因を保持していても、体内に蓄積されるはずのグリコーゲンが卵に蓄積され、産卵により体外に出されるため雄に比較して発症例が少ないのかもしれない。しかし、1羽のみ発症した雌が3ヵ月齢と一番若齢であったことは興味深いことである。今後、雌の糖原病ウズラの発症月齢を検索

したい。

糖原病の発症月齢が雄において6～9カ月齢とウズラの繁殖可能な年齢の後期であるため、発症後に子をとることはかなり困難である。そこで、RWクローズドコロニーを継代するには、あらかじめ若齢時にすべてのpairからの子を取り、親が老齢になるまで観察し老齢時糖原病を発症したウズラのpairからの子を重点的に後代に残すようにせざるをえない。この方法は時間と手間がかかりかならずしもよい方法とはいえない。若い時期に糖原病となるウズラを判別できるならば、子を多くとることができ遺伝的分析も容易になる。そこで、糖原病ウズラのCPK値が高いことに着眼し、まだ糖原病を発症していない3カ月齢時のRWクローズドコロニーの雄14、雌11 合計25羽の血清を採取し、CPK値の測定を国立武蔵療養所神経センターへ依頼した。結果は表2に示したように、コントロール系(PSP系：現在まで糖原病ウズラが出現せず、翼膜の開きもよい系統)およびRWクローズドコロニーともに雄の値より雌の値が高い傾向がみられた。これは雌の産卵と

表2. RWクローズドコロニーおよびコントロール系のCPK値(無機リン酸測定法)

(単位: Kuby単位)

コントロール			R W		
脚帯番号	♂	♀	脚帯番号	♂	♀
2819	19.3		3704*	42.6	
3016	0.4		2349	16.5	
3101	18.4		2528	3.9	
3148	49.6		2568	28.4	
3195	18.7		2782	15.1	
3276	22.4		2964	1.2	
3014		20.8	3008	9.2	
3147		65.3	3025	7.9	
3274		47.0	3027	13.0	
			3254	9.8	
			3635	23.6	
			3696	19.1	
			3698	24.6	
			3700	5.4	
			2940		45.6
			3124		61.6
			3163		47.0
			3172		7.9
			3288		190.5
			3290		48.7
			3297		34.3
			3424		99.4
			3559		46.5
			3731		125.7
			6924		9.4

※糖原病個体

関係があるものと思われる。雄のCPK値はコントロール系がRWより高く、雌のCPK値は逆にRWがコントロール系より高い傾向がみられる。今後、測定例数を増加すれば興味深い結果が得られるかもしれない。RWクローズドコロニーの雄でCPK値が最も高かった個体（個体番号：3704）が9カ月齢において糖尿病を発症しはじめ、12カ月齢で完全に翼があらなくなった。コントロール系においても1例CPK値の高い個体が見られたが、CPK値による若齢時の糖尿病ウズラの選抜は有望であると思われる。

その後、同様の試験をRWクローズドコロニーの雄41、雌29合計70羽において神経センターで調査していただいた結果、表3に示したごとく、前回の結果と異なり雄と雌において明瞭なCPK値の差は観察されなかった。また、この調査個体のなかで1個体の雄（個体番号：9280）

表3. RWクローズドコロニーのCPK値（NAD法）

（単位：インターナショナル単位）

雄		雌			
脚帯番号	CPK値	脚帯番号	CPK値		
4881	0.047	9356	0.013	9426	0.057
4893	0.032	9357	0.036	9408	0.066
4840	0.041	9361	0.021	9414	0.035
4960	0.021	9332	0.021	4834	0.038
4904	0.032	9377	0.017	4871	0.036
4999	0.021	9306	0.035	4873	0.039
4377	0.035	9356	0.049	4874	0.042
4957	0.042	9311	0.042	4978	0.064
4906	0.039	9323	0.030	4958	0.070
4950	0.030	9325	0.036	4978	0.050
4975	0.056	9434	0.019	4955	0.036
7321	0.014	9424	0.026	4939	0.039
9185	0.036	9410	0.056	5000	0.045
9145	0.038			6186	0.021
9193	0.026			9138	0.089
9141	0.020			9147	0.035
9080	0.042			9187	0.032
9009	0.054			9084	0.059
9273	0.055			9235	0.018
9265	0.053			9255	0.023
9241	0.024			9279	0.026
9280※	0.041			9226	0.034
9231	0.042			9214	0.034
9225	0.030			9247	0.041
9245	0.087			9260	0.041
9221	0.056			9237	0.047
9281	0.036			9278	0.039
9225	0.030			9331	0.024
				9307	0.065

※糖尿病個体

が6カ月齢において糖原症を発症した。しかし、今回のCPK値は他の糖原病を発症しないウズラとの間にCPKの差がみられなかった。これは、前回のCPK値の測定法（無機リン酸を測定する方法）と今回の測定法（NAD法）が異なるためかもしれない。今後は無機リン酸を測定する方法で糖原病ウズラの選抜を行なうとともに糖原病において欠損していると思われる酵素の調査を神経センターの協力を得て行ない、できる限りの選抜手段を駆使して糖原病ウズラの系統化を行ないたい。

最後に糖原病を発症する形質が遺伝的であるか否かということであるが、著者は遺伝的であると確信している。遺伝様式はニワトリの筋ジストロフィー遺伝子amのように単一の遺伝子によるものと異なり、複雑な遺伝様式をとるものと思われる。その基礎となる観察結果としては、これまでRWクローズドコロニーにおいてのみ糖原病ウズラが出現し、他の系統においては出現していないことおよびRWクローズドコロニー内の1 pair から糖原病ウズラ2羽が出現したことなどである。

#### 4. 特発性側彎症の疾患モデルとして可能性のあるニホンウズラCN系について

図6に示したごとく、頸部が横に曲がっているウズラが時々出現していた。そこで、1976年

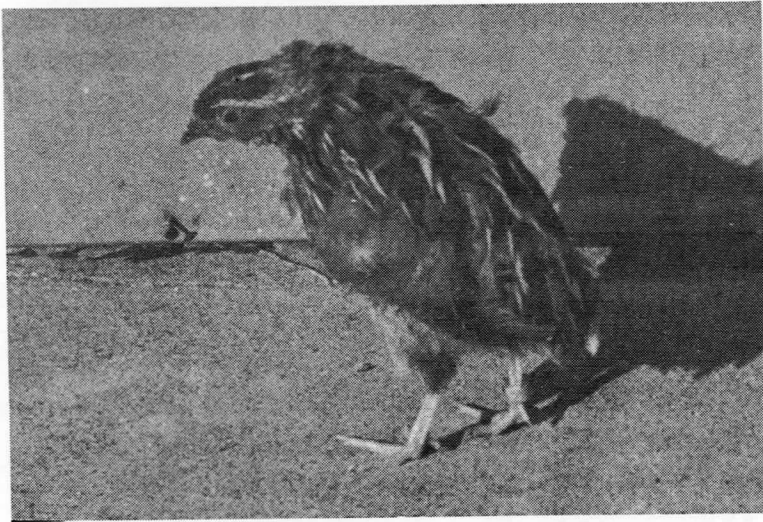


図6. 特発性側彎症モデルとして可能性のあるCN系ウズラ

6月これら異常ウズラの系統化を開始した。1977年3月異常ウズラ同士の交配が可能となり、CN系と命名した。その後、異常ウズラ同士の交配で現在（1979年12月）まで維持されているがその間に得られた若干の知見について以下にのべる。

ふ化時、肉眼的に異常ウズラと正常ウズラの区別はかなりむずかしい。しかし、2～3週齢時では容易に判別可能となる。

頸部が右に曲がるか左に曲がるかの形質が遺伝的か否かを検索するため、右に曲がっているもの

同士の交配を行ない、子の頸部の曲がり方を観察した結果、子には右に曲がっているものと左に曲がっているものとの両方が出現し、遺伝的か否かは不明であった。今後、左に曲がっているもの同士の交配を行なう予定である。

CN系の産卵率・受精率・ふ化率および異常ウズラの出現率を1978年1月～3月まで調査した。結果は表4に示したごとく、受精率が正常系(WE系)にくらべて少し悪いようである。

表4. CN系の産卵率、受精率、ふ化率および異常ウズラの出現率

系 統	産卵率	受精率	ふ化率	出現率
CN	60.3	45.8	51.5	32.7
WE	66.5	82.4	53.6	<1

CN系の病理学的検索を行なったが、病因と思われるような異常は認められず、疾患モデルとしての有用性もわからず、ただ維持しているのみであった。

1979年10月慶大整形外科の土方らが実験動物に報告した「特発性側彎症の疾患モデルとしての日本ウズラSQOHM」はその臨床症状および遺伝様式がCN系と全く同様であった。この報告により、CN系が特発性側彎症のモデル動物として可能性のあることがはじめて判明し、今後のCN系の維持に勇気づけられたしだいである。

## 文 献

- 1) 土方貞久・市原真仁・中井定明・鶴飼茂：特発性側彎症の疾患モデルとしての日本ウズラSQOHM—その作出と検討—, 実験動物, 28(4), 581—584, 1979.
- 2) 水谷誠：わが国における筋萎縮症ニワトリの繁殖, 実験動物, 26(3), 288—289, 1977.
- 3) 小田良助：鶏の孵化と育成, 養賢堂, 1966.
- 4) 鶏友社編集部編：養鶏養豚用施設・機械器具要覧。
- 5) 田嶋嘉雄編：実験動物学, 技術編・朝倉書店
- 6) 菊池建機：筋ジストロフィー鶏新株の開発—白色レグホン種とのF<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>鶏について—昭和53年度厚生省委託研究「筋ジストロフィー症の基礎的研究」報告書。
- 7) 石浦章一：CPK, 日本臨床, 37巻・夏季増刊号, 500—502。
- 8) 松井高峯：ウズラにおける糖原病類似疾患について1, 全身臓器における組織所見 第88回日本獣医学会講演要旨集, 146, 1979.
- 9) 黒田静夫ら：ウズラにおける糖原病類似疾患について2, 筋組織における電顕的観察 第88回日本獣医学会講演要旨集, 147, 1979.



# 遺伝性前外側下腿筋群萎縮マウス

江崎 孝三郎<sup>1)</sup>

研究協力者 安田幸雄<sup>1)</sup> 中村昌宏<sup>2)</sup>

林 宏<sup>2)</sup> 小野啓郎<sup>2)</sup>

遠山正弥<sup>3)</sup>

マウスの遺伝性筋異常としては、*dystrophia muscularis* (遺伝子記号 *dy* および *dy*<sup>2J</sup>)<sup>1,2)</sup>, *muscular degeneration* (*mdg*)<sup>3)</sup>, *myodystrophy* (*myd*)<sup>4,5)</sup>, *muscle defect* (*mdf*)<sup>6)</sup> および *motor end-plate disease* (*med*)<sup>7)</sup> などが報告されている。

*Dystrophia muscularis* (*dy*) は 1955 年に Michelson<sup>1)</sup> によって報告されたもので、この遺伝子をホモにもつマウスは生後 2 週頃より後肢のけいれん性麻痺と進行性筋萎縮を発症することから、ヒトの進行性筋ジストロフィー症のモデルとして広く利用されている。また、この遺伝子座には、1970 年に Meier<sup>2)</sup> によって新しい突然変異が発見され、*dy*<sup>2J</sup> と命名されている。

*Muscular dysgenesis* (*mdg*) は 1963 年に Glueckson-Waelsch<sup>3)</sup> によって報告されたもので、この遺伝子をホモにもつマウスは、胎生期の 13 日頃から骨格筋に障害が現れ、出生時には全身が浮腫になっている。しかし、心筋および平滑筋に異常はみられない。

*Myodystrophy* (*myd*) は 1969 年 froggy (*fg*) として報告された<sup>4)</sup> 突然変異であるが、1976 年に Lane<sup>5)</sup> によって *myodystrophy* と改名された。この異常は生後 12~15 日に体格が小さいこと、尾を持ってもち上げた時に後肢の位置が異常であることによって判別できる点では *dy* マウスと類似している。しかし、*dy* マウスの筋異常が後肢に認められるのに対し、*myd* マウスでは全身の骨格筋に巣性病変が認められる点で *dy* マウスとは異なっている。

*Muscle defect* (*mdf*) は 1977 年に Womart<sup>6)</sup> によって報告されたもので、縫工筋、外側広筋および大腿直筋の著明な萎縮を示すものである。

筆者らは CF#1 マウスを近親交配している過程で、筋疾患に起因すると推定された歩様異常を示す個体を発見し、この異常の遺伝的支配ならびに解剖、組織学的検索をおこなったのでその成績を報告する。

## 1. 異常マウス発見の経過

起源となった動物は、実験動物中央研究所が 1967 年に Carworth Inc., U. S. A. より導入し、クローズドコロニーで維持していた CF#1 マウスである。1968 年に卵白アルブミン投与によるアナフィラキシーに感受性の高い系統 (CAS) を育成するために兄妹交配が開始された。

1976 年兄妹交配第 2 1 代の 1 腹の産仔 6 匹 (♀ 4、♂ 2) のうちメス 2 匹に歩様異常が発見さ

1) (財) 実験動物中央研究所, 2) 大阪大学医学部整形外科, 3) 大阪大学高次神経研究所

れた。これらのメス2匹を同腹の正常オスと交配したところ、一方の交配の組から生れたオス3匹、メス2匹のうち、オス、メス各1匹がメス親と同様な異常を示した。そこで以後は同腹の異常メス×正常オスまたは正常メス×異常オスの交配の組合せによってこの異常を保存している。

## II. 異常マウスの外見的症状

出生時には、異常仔の後肢は棒状で、内側に回転し、いわゆる内反尖足を呈している。成長にともない、足関節の背面への自動的屈折と足指の伸展が困難になり、後肢をひきずるように下垂足歩行をおこなう(写真1)。しかし、関節の拘縮は認められない。

異常マウスの成長は同腹の正常マウスと比較してやゝ遅く、低体重である。加齢にともない症状は次第に悪化するが顕著ではない。また、症状の発現程度には個体差がみられる。

繁殖はメス・オスともに可能であるが、オスの生殖能力は比較的早期に低下する傾向がみられる。これは、加齢にともない症状の悪化によって、オスの交尾行動が困難になるためと推測される。

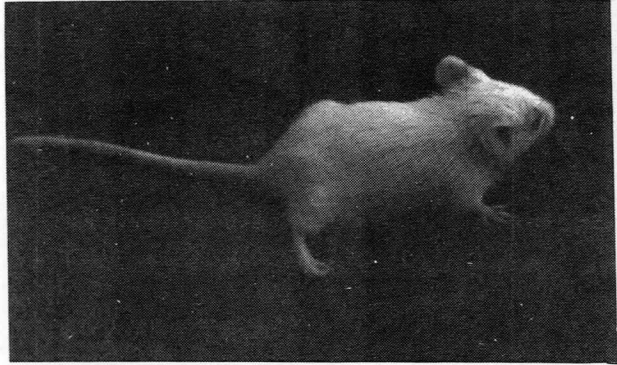


写真1. 腓骨筋萎縮マウス

## III. 解剖ならびに組織学的特徴

### i 骨格系

内臓を除去し、剥皮した後95%エタノールで固定した体軀を2%KOHで透明化し、骨格をalizerin red Sで染色した後水洗、風乾して骨格標本を作製した。

骨格の異常は後肢にのみ認められた。異常マウスにおいては、腓骨および脛骨の発育が正常マウスより悪く、距骨の腓骨関節面の角度に異常がみられた。すなわち、正常動物の距骨・腓骨関節面は中線に対しほぼ直角であるのに対し、異常動物では約60°の角となり、趾面が内反している。また、一部の個体では足根骨の癒合がみられた。

しかし、これらの異常はいずれも一次的なものではなく、後述の前外側下腿筋群の萎縮に起因する2次的変化であると考えられる。

### ii 骨格筋の異常

解剖学的には、腓骨前外側に存在する前外側下腿筋群すなわち、前脛骨筋、長母趾伸筋、長趾伸筋、長腓骨筋、短腓骨筋、第4趾腓骨筋および第5趾腓骨筋の発達が極めて悪い。Hematoxylin-Eosin染色によって組織学的にみると、前外側下腿筋群は小経の筋線維で構成され、著明な萎縮および高度の脂肪変性が認められる(写真2)。

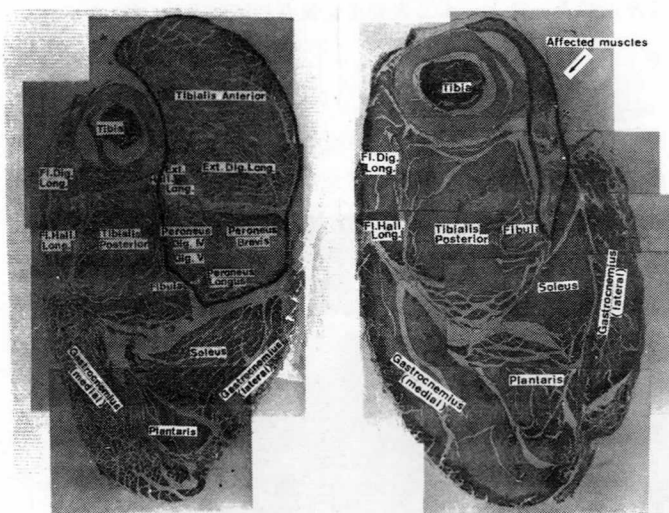


写真2. マウスの下腿筋群  
左：正常，右：腓骨筋萎縮

### iii 末梢神経の異常

解剖学的に坐骨神経の走行をみると、総腓骨神経に異常がみられる。外見的に軽症の個体では総腓骨神経が細くなっているのが認められ、重症の個体ではそれが欠損している。しかし、脛骨神経および腓腹神経は正常である。外見的に重症の個体を、オスミウム酸固定、トルイジンブルー染色によって組織学的に観察すると、大転子の位置、大腿末梢部のいずれにおいても総腓骨神経は認められない。

一方、前外側下腿筋群をコリンエステラーゼ染色によって検索したところ、脂肪変性をまぬ

がれた筋線維にはコリンエステラーゼ染色陽性を示す神経筋終板が認められた。

## IV. 遺伝的支配についての検索

### i 同系内での交配実験

異常マウスどうしの交配からは異常マウスのみが得られた。前述の系統維持のための交配、すなわち同腹の異常マウスと正常マウスの交配からは、異常マウスと正常マウスがほぼ1:1の割合で得られた。

### ii 近縁の系統との交配実験

異常マウスをそれと同一血縁の正常マウスの系統(CAS)と交配し、 $F_1$ 、 $F_2$ および $F_1$ と異常マウスとのもどし交配における異常発現を観察した。その結果、 $F_1$ 世代においては正常マウスのみが得られた。 $F_2$ 世代においては79匹中18匹に異常が観察された。また、 $F_1$ と異常マウスのもどし交配で得られた仔においては、18匹中9匹に異常がみられた。これらの異常マウスの発現頻度は、この異常が常染色体上の1個の劣性遺伝子によって支配されていると仮定した時の理論的分離比、すなわち、 $F_2$ においては3:1、もどし交配においては1:1に良く一致している。

### iii 他系統との交配実験

異常マウスとC3H/Heマウスとの交配をおこない、 $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_1$ と異常マウスとのもどし交配および $F_1$ とC3H/Heとのもどし交配における異常マウスの発現を観察した。 $F_1$ 世代および $F_1$ とC3H/Heとのもどし交配で得られた仔においては異常マウスは発現しなかった。 $F_2$ 世代およ

びF<sub>1</sub>と異常マウスのもどし交配で得られた仔では、正常個体と異常個体が分離して出現した。しかし、異常個体の発現頻度は、この異常が1個の劣性遺伝子による支配と仮定した時の理論的発現頻度より低かった。また、異常個体においても、異常の程度が極めて軽症のもの、片側性のものなど表現に種々のバラツキがみられた。

## V. 考 察

CF #1 マウスを近親交配している過程で発見された歩様異常を示すマウスについて、解剖、組織学的検索をおこなったところ、この異常は総腓骨神経の退縮または欠損による前外側下腿筋群の神経原性の萎縮によることが明らかになった。これらのことから、この異常はヒトの Charcot-Marie Tooth 型筋萎縮症あるいは Warding-Hofmann 病のモデル動物となる可能性が考えられる。

一方、前外側下腿筋群は萎縮しているけれども明らかに存在していること、脂肪変性をまぬがれた筋においては神経筋終板が認められる点から考えると、総腓骨神経が発生の過程で退縮を起した可能性、あるいはこの筋群の一部が総腓骨神経以外の神経、例えば脛骨神経の分枝によって代行的に支配されている可能性などが考えられる。これらの点に関してはさらに詳細な検索をする必要がある。

また、遺伝的支配を分析するための交配実験によって、この異常は常染色体上の1個の劣性遺伝子によって強く支配されているけれども、その表現度は他の遺伝子、すなわち遺伝的背景に影響されるものと推定された。この主遺伝子を *peroneal muscle atrophy*、遺伝子記号 *pma* と命名する。

なお、この遺伝子の表現度が遺伝的背景によって影響されることは、この異常をヒト疾患のモデルとして利用するとき、種々の程度の症状を示す動物を作出できる可能性をもつものと考えられる。

## 文 献

- 1) Michelson, A. M. et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 41 : 1079 (1955)
- 2) Meier, H. et al., Life Sci., 9 : 137 (1970)
- 3) Gluechshon-Waelsh, S., Science, 142 : 1269 (1963)
- 4) Lane, P. W., Mouse News Letter, 40 : 30 (1969)
- 5) Lane, P. W., et al., J. Hered., 667 : 135 (1976)
- 6) Womsck, A., et al., Mouse News Letter, 56 : 40 (1977)
- 7) Duchem, L. W., J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 33 : 238 (1970)

昭和54年度第五班（野村班）名簿

区 分	氏 名	所 属 機 関 名 所 在 地	電 話 番 号
班 長	野 村 達 次	財団法人 実験動物中央研究所 〒 213 川崎市高津区野川 1430	044-755-5441
幹 事	近 藤 恭 司	名古屋大学農学部家畜育種学 〒 464 名古屋市千種区不老町	052-781-5111
	江 崎 孝三郎	財団法人 実験動物中央研究所 〒 213 川崎市高津区野川 1430	044-755-5441
班 員	江 橋 節 郎	東京大学医学部薬理学 〒 113 東京都文京区本郷 7-3-1	03-812-2111
	菊 池 建 機	東北大学農学部家畜形態学 〒 980 仙台市堤通雨宮町 1-1	0222-72-4321
	水 谷 誠	財団法人 日本生物科学研究所 〒 409-16 山梨県北巨摩郡小淵沢町上笹尾	055136-2333
	斉 藤 宗 雄	財団法人 実験動物中央研究所 〒 213 川崎市高津区野川 1430	044-755-5441
運 営 幹 事	中 尾 博 文	財団法人 実験動物中央研究所 〒 213 川崎市高津区野川 1430	044-755-5441