

## Functional Analysis of MeCP2 Mutations Associated with Rett Syndrome Using Transient Expression Systems

Shinichi KUDO, Yoshiko NOMURA<sup>1)</sup>, Masaya SEGAWA<sup>1)</sup>, Naoyuki FUJITA<sup>2)</sup>, Mitsuyoshi NAKAO<sup>3)</sup>, Joanna DRAGICH<sup>3)</sup>, Carolyn SCHANEN<sup>3)</sup> and Masahide TAMURA

Brain & Development, **23**, S165-S173 (2001)

レット症候群は生後半年から1歳半ころに発症する重度の精神発達遅滞を伴う疾患で女兒の1万人から1万5千人に1人に発症する頻度の高い遺伝子疾患である。この疾患の原因遺伝子が最近 MeCP2 遺伝子であることが判明した。レット症候群の患者でみられる変異が MeCP2 の本来の機能にどのような影響を及ぼすかを理解することは、レット症候群の病態を解明する上での手がかりになる。MeCP2 は二つの機能ドメインを持ち、一つはメチル化 CpG に結合するメチル化結合ドメイン (MBD) で、もう一つはヒストン脱アセチル化酵素をリクルートする Sin3A と結合

する転写抑制ドメイン (TRD) である。報告されている変異の中でミスセンス変異の多くは、この二つのドメイン内でみられ、特に MBD 内での変異の割合は多い。MBD 内のミスセンス変異の MeCP2 機能への影響を把握するため、培養細胞を用いた遺伝子導入発現系を開発して解析を行った。

<sup>1)</sup> 瀬川小児神経学クリニック

<sup>2)</sup> 熊本大学医学部

<sup>3)</sup> Department of Human Genetics, University of California at Los Angeles

## Functional Characterisation of MeCP2 Mutations Found in Male Patients with X Linked Mental Retardation

Shinichi KUDO, Yoshiko NOMURA<sup>1)</sup>, Masaya SEGAWA<sup>1)</sup>, Naoyuki FUJITA<sup>2)</sup>, Mitsuyoshi NAKAO<sup>3)</sup>, Sara HAMMER<sup>3)</sup>, Carolyn SCHANEN<sup>3)</sup>, Itaru TERAJ and Masahide TAMURA

J. Med. Genet., **39**, S132-136 (2002)

MeCP2 の遺伝子変異は、Rett 症候群以外の疾患の患者でも見つかっており、X染色体性の精神発達遅滞を伴う男性患者においても報告された。これらの患者では MBD 内の変異として137番目の Glu から Gly と140番目 Ala から Val のアミノ酸変異が確認された。これらの変異に関して、開発した二つの機能解析系を用いて解析を行ったところ、140番目の変異では、メチル化 DNA に対しての転写抑制活性は完全に維持されており、137番目の変異ではわずかに転写抑制活性の低下がみられる程度であった。また、マウス細胞のヘテロクロマチン親和性についても140番と137番目の変

異は共に明らかな点状の像を示し、親和性は維持されていた。これらの遺伝性の精神発達遅滞を伴う男性患者での MeCP2 の変異は、その機能への影響がレット症候群の場合と比較して軽度であるため、Rett 症候群とは異なる病態を呈する成因となっている可能性が示唆された。

<sup>1)</sup> 瀬川小児神経学クリニック

<sup>2)</sup> 熊本大学医学部

<sup>3)</sup> Department of Human Genetics, University of California at Los Angeles

## Rett 症候群変異の MeCP2機能への影響

Functional Significance of MeCP2 Mutations in Patients with Rett Syndrome

工藤 伸一

Shinichi KUDO

脳と発達, 34, 224-229 (2002)

Rett 症候群の患者の約 8 割に MeCP2 の変異が見つまっている。こうした変異による MeCP2 機能への影響を知るための遺伝子導入発現系を用いた機能解析法を概説した。転写抑制機能への影響は, *Drosophila* 細胞に変異蛋白質を発現して同時に導入したレポーター遺伝子の転写活性を測定することで解析し, ヘテロクロマチン親和性に対する影

響は, 蛍光標識した変異蛋白質をマウス細胞で発現してメチル化 CpG に富むヘテロクロマチンへの集積性から判定する方法である。これら二つの方法で得られた変異の影響は, Genotype と Phenotype との関係を理解する上で有用であることが明らかとなった。

## Role of C-Terminal Region of HA-33 Component of Botulinum Toxin in Hemagglutination

Yoshimasa SAGANE<sup>1)</sup>, Hirokazu KOUYUCHI<sup>1)</sup>, Toshihiro WATANABE<sup>1)</sup>, Hiroyuki SUNAGAWA, Kaoru INOUE<sup>2)</sup>, Yukako FUJINAGA<sup>2)</sup>, Keiji OGUMA<sup>2)</sup> and Tohru OHYAMA<sup>1)</sup>

Bio. Bio. Res. Com., 288, 650-657 (2001)

*Clostridium botulinum* D型1873株とC型 Yoichi 株の産生するプロジェニター毒素から得られた1種類のサブコンポーネントである血球凝集素 (HA-33) は, C及びD型参照株のそれより少し小さい分子サイズであるが, 他のコンポーネントの大きさに違いがないことが, SDS-PAGE を用いて見いだされた。すなわち, HA-33のN-及びC-末端シーケンス分析に基づき, 両株のHA-33蛋白において特異的なサイトでC-末端から33アミノ酸残基の欠落があることが見いだされた。両株のプロジェニター毒素は, 参照株毒

素の血球凝集力価<sup>2)</sup>よりずっと低い血球凝集力価<sup>2)</sup>かそれ以下の弱い血球凝集活性を示すが, 赤血球に吸着することはできない。これらの結果はHA-33の短いC-末端部分が, ボツリヌスプロジェニター毒素の血球凝集活性において重要な役割を果たしていることを示す。さらに, シーケンスモチーフの探索により, HA-33のC-末端部分は炭化水素認識サブドメインを持っていることが推測された。

<sup>1)</sup> 東京農業大学生物生産学部

<sup>2)</sup> 岡山大学医学部

# Spontaneous Nicking in the Nontoxic-Nonhemagglutinin Component of the *Clostridium botulinum* Toxin Complex

Yoshimasa SAGANE<sup>1)</sup>, Toshihiro WATANABE<sup>1)</sup>, Hirokazu KOUGUCHI<sup>1)</sup>, Hiroyuki SUNAGAWA, Shigehiro OBATA<sup>2)</sup>, Keiji OGUMA<sup>3)</sup> and Tohru OHYAMA<sup>1)</sup>

Bio. Bio. Res. Com., **292**, 434-440 (2002)

*Clostridium botulinum* D型4947株によって産生された毒素複合体から非毒素-非血球凝集素 (NTNHA) 標品を蛋白分解酵素フリーの条件下で、単独の形と神経毒 (NT) / NTNHA 複合体の形で調製できた。両調製物質の NTNHA はスポンテニアスにニックの入った NTNHA となり、15-と115-kDa フラグメント及び特異的部分でいくつかのアミノ酸の削減を生じることが長時間培養の SDS-PAGE で認められた。しかし、NT/NTNHA/血球凝集素 (HA)

複合体は同じ条件下でニックの入らない一本鎖のペプチドのままであった。NTNHA 調製物に少量のニック型の物が含まれていることから、NTNHA のニック型は精製の残物と/あるいは NTNHA がインタクト NTNHA をそれ自身の切断酵素活性によってニックを入れたことが考えられる。

<sup>1)</sup> 東京農業大学生物生産学部

<sup>2)</sup> キンダ化学工業株式会社

<sup>3)</sup> 岡山大学医学部

## *In Vitro* Reconstitution of the *Clostridium botulinum* Type D Progenitor Toxin

Hirokazu KOUGUCHI<sup>1)</sup>, Toshihiro WATANABE<sup>1)</sup>, Yoshimasa SAGANE<sup>1)</sup>, Hiroyuki SUNAGAWA and Tohru OHYAMA<sup>1)</sup>

J. Bio. Chem., **277**(4), 2650-2656 (2002)

*Clostridium botulinum* D型4947株は蛋白分解作用を受けない完全型として、異なったサイズの2種類のプロジェニター毒素 (MとL) を産生する。M毒素は神経毒素 (NT) と非毒素-非血球凝集素 (NTNHA) で構成されているのに対し、L毒素はM毒素と血球凝集素 (HA-70, HA-17, HA-33) によって構成されている。HA-70サブコンポーネントと HA-33/17混合体は変成剤の存在下でクロマトグラフィーによりL毒素からほぼ単一の形で得られた。著者らは、純化したM毒素、HA-70と HA-33/17を混合してL毒素を再構成することに初めて成功した。再構成したL毒素とネイティブのL毒素はゲル濾過、PAGE プロファイル、

血球凝集活性、赤血球への吸着活性、マウスへの経口毒力などの諸性状が全く同一であった。トリプシン処理によりニックを持つ NTNHA で構成されたM毒素は HAサブコンポーネントと一緒にしてもL毒素を再構成することが出来なかったのに対し、プロテアーゼ処理したL毒素はM毒素と HA サブコンポーネントに乖離することが出来なかった。これらの結果から、著者らはM毒素が最初に NT と NTNHA の会合により形成され、その後 HA-70と HA33/17の会合によってL毒素へ変換されると結論づけた。

<sup>1)</sup> 東京農業大学生物生産学部

## Therapeutic Effect of Anti-TNF- $\alpha$ Antibody and Levofloxacin (LVFX) in a Mouse Model of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Infection

Emiko ISOGAI<sup>1)</sup>, Hiroshi ISOGAI<sup>2)</sup>, Kimiharu HIROSE<sup>1)</sup>, Toru KUBOTA<sup>2)</sup>,  
Koichi KIMURA<sup>2)</sup>, Nobuhiro FUJII<sup>2)</sup>, Shunji HAYASHI<sup>3)</sup>, Koichi TAKESHI  
and Keiji OGUMA<sup>4)</sup>

Comparative Immunol., Microbiol. & Infect. Dis., **24**, 217-231 (2001)

マウスに腸管出血性大腸菌 O157を感染させ、抗 TNF- $\alpha$  抗体投与による感染防御効果を調べた。抗 TNF- $\alpha$  抗体単独投与群では感染による症状の発現及び組織学的な変化は観察されなかったが、糞便中に少量の O157が証明された。本抗体に LVFX を併用した場合には糞便中の O157は完全に除去されたので、両者の併用により良好な治療結果が得られると考える。

<sup>1)</sup> 北海道医療大学歯学部

<sup>2)</sup> 札幌医科大学医学部

<sup>3)</sup> 自治医科大学医学部

<sup>4)</sup> 岡山大学医学部

## Phylogenic Diversity and Similarity of Active Sites of Shiga Toxin (stx) in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Isolates from Human and Animals

H. ASAKURA<sup>1)</sup>, S. MAKINO<sup>1)</sup>, H. KOBORI<sup>1)</sup>, M. WATARAI<sup>1)</sup>,  
T. SHIRAHATA<sup>1)</sup>, T. IKEDA and K. TAKESHI

Epidemiol. Infect., **127**, 27-36 (2001)

ヒト及び動物由来志賀毒素産生性大腸菌の毒素遺伝子の解析を行った。stx 1 及び stx 2 遺伝子を基本に系統樹を作成したところ、ウシ、カモメ、ハエ由来株はヒト由来株に類似し、ヒツジ及びシカ由来株は遺伝学的に独立した系統

であることが判明した。しかし、いずれの株も活性のある毒素を産生するので、ヒトに病原性があると考えられる。

<sup>1)</sup> 帯広畜産大学畜産学部

## A Simple and Sensitive Detection System for *Bacillus anthracis* in Meat and Tissue

H. I. CHEUN<sup>1)</sup>, S. MAKINO<sup>1)</sup>, M. WATARAI<sup>1)</sup>,  
T. SHIRAHATA<sup>1)</sup>, I. UCHIDA<sup>2)</sup> and K. TAKESHI

J. Appl. Microbiol., **91**, 1-6 (2001)

食肉及び組織中の炭疽菌の検出法を確立するために、本菌の新鮮培養液を段階希釈し、各希釈液を食肉に接種後、鋳型 DNA を調製して PCR を行った。その結果、標的とした毒素遺伝子及び莢膜遺伝子が増幅され、各増幅断片は制限酵素処理により予想されたサイズのフラグメントに切

断されることを確認した。本 PCR システムによる結果は BCA 寒天を用いた培養試験の結果と完全に一致した。

<sup>1)</sup> 帯広畜産大学畜産学部

<sup>2)</sup> 独立行政法人動物衛生研究所

## Detection of Anthrax Spores from the Air by Real-Time PCR

S. MAKINO<sup>1)</sup>, H. I. CHEUN<sup>1)</sup>, M. WATARAI<sup>1)</sup>, I. UCHIDA<sup>2)</sup>  
and K. TAKESHI

Letters in Appl. Microbiol., **33**, 237-240 (2001)

炭疽菌によるエアロゾル汚染防止対策の一環として、炭疽菌芽胞を大気と共に吸引してメンブランフィルターに回収し、その検出をリアルタイム PCR で行った。本システムにより、 $10^0$  個の芽胞を 1 時間以内に検出することがで

き、その結果は培養試験による結果と完全に一致した。

<sup>1)</sup> 帯広畜産大学畜産学部

<sup>2)</sup> 独立行政法人動物衛生研究所

# HPLCによる茶中のアゾキシストロビンの定量

Determination of Azoxystrobin in Tea by HPLC

長南 隆夫

Takao CHONAN

食品衛生学雑誌, 42(4), 249-251 (2001)

タンニンの除去にアルミナカラムを用いる茶中のアゾキシストロビン (殺菌剤) の残留分析法を検討した。試料に水を加えて膨潤させた後、アセトンで抽出し、抽出液をアルミナカラムへ注入した。流出液をアセトン濃度が約60%となるように減圧濃縮し、C18カラムへ注入した。流出液に塩化ナトリウム溶液を加え、酢酸エチル-*n*-ヘキサン(1:1)で抽出後、フロリジルカラム及びシリカゲルカラムで精製して試験溶液を調製した。試験溶液を紫外検出器付き HPLC

で分析した。

試験溶液のクロマトグラム上に妨害ピークは認められず、添加回収率は90.2%であった。

本法は液-液分配時のエマルジョンが認められず、回収率も良好であり、食品衛生法の残留基準値に対応できることから、茶中のアゾキシストロビンの厚生労働省告示分析法として平成13年7月24日官報に告示された。

## フラボノイド類のUV, 電気化学およびアルミニウムキレート化蛍光 検出法によるHPLC分析の比較

Comparison of Photometric, Electrochemical and Post-column Fluorescence Detection for  
the Determination of Flavonoids by HPLC

斉藤 明子      杉澤 彩子<sup>1)</sup>      梅垣 敬三<sup>1)</sup>

Akiko SAITO, Ayako SUGISAWA<sup>1)</sup> and Keizo UMEGAKI<sup>1)</sup>

食品衛生学雑誌, 42(3), 174-178 (2001)

HPLCを利用したフラボノイドの分析におけるUV, 電気化学及びアルミニウムキレート化蛍光検出法の検出感度を10種類のフラボノイドを用いて比較検討した。電気化学検出法はアピゲニンを除く9種のフラボノイドについて適用可能で、その検出限界はUV検出器の200~400倍であった。ポストカラム蛍光検出法はその構造中に3-ヒドロキシル

基及び4-ケト体を有するフラボノールに関してのみ適用可能であったが、その検出限界はUV検出器の10~200倍であった。本分析法を用いて、ヒト血清中のフラボノールの分析に関する若干の検討も行った。

<sup>1)</sup> 独立行政法人 国立健康・栄養研究所

## アイヌ民族の伝承有用植物に関する調査研究（第6報） 白老ウペウ考

Studies on Wild Plants Traditionally Used by the Ainu People (Part VI)  
Examination on Medicinal Plant “Upew” in Shiraoi

姉帯 正樹 村木 美幸<sup>1)</sup> 安田 千夏<sup>1)</sup> 南 収

Masaki ANETAI, Miyuki MURAKI, Chika YASUDA and Osamu MINAMI

アイヌ民族博物館研究報告, 7, 1-7 (2001)

アイヌ民族は特有の強い臭気を有するセリ科植物の根を“ウペウ”と称し、あらゆる病気に効き、特に風邪、腹痛、二日酔いの特効薬と考えていた。文献調査などから、ウペウは特定の一つを指すのではなく、地域によって異なる多種類のセリ科植物の根であることが示唆された。

ウペウは白老町でも古くから家の周りで栽培され、現在

でも何軒かの家で植栽している程重要な薬草であるが、和名には混乱が見られた。著者らは野本家、松永家、岡田家に伝わる薬草ウペウを、その形態などからカラフトニンジン（セリ科）の根と同定した。さらに、その成分などから医薬品としての可能性に言及した。

<sup>1)</sup> 財団法人アイヌ民族博物館

## 白芷の調製法と化学的品質評価（第2報） HPLC法によるフロクマリン類8種の同時定量

Preparation and Chemical Evaluation of Angelica dahurica Root (Part II)  
Simultaneous Determination of Eight Furanocoumarins by HPLC

姉帯 正樹

Masaki ANETAI

医薬品研究, 33(3), 203-209 (2002)

白芷<sup>びやくし</sup>中のフロクマリン類8種をHPLCを用いて同時定量し、基原植物及び入手年の明らかな北海道産白芷と入手年の明らかな輸入品の品質を化学的に比較した。

その結果、ヨロイグサを基原とする北海道産白芷は psoralen, xanthotoxin, bergapten, byak-angelicol, oxypeucedanin, imperatorin, phellopterin, isoimperatorin

を含有しており、主成分は oxypeucedanin であった。また、最近輸入された中国産、韓国産白芷及び中国産杭白芷にもこれらの8成分が含有されており、成分の本質的な差は認められなかった。しかし、長期間室温保存した試料は byak-angelicol 及び oxypeucedanin 含量が極めて低い傾向にあり、これらは保存中に分解した結果と考えられた。

# Potentiometric Responses of Polymeric Liquid Membranes Based on Hydrophobic Chelating Agents to Metal Ions

Yasoo ITOH, Yoshihisa UEDA, Ayumi HIRANO<sup>1)</sup>, Masao SUGAWARA<sup>1)</sup>,  
Koji TOHDA<sup>2)</sup>, Hideo AKAIWA<sup>3)</sup> and Yoshio UMEZAWA<sup>2)</sup>

Anal. Sci., 17(5), 621-627 (2001)

液膜イオンセンサーの感応物質として用いる各種キレート試薬の疎水性が、金属イオンに対する電位応答に及ぼす効果について調べた。キレート試薬として、オキシソルボン、ジチゾン、ピリジルアゾナフトール及びそれらの長鎖アルキル誘導体、ならびに一連の *N*-アルキルカルボニル-*N*-フェニルヒドロキシルアミン類を用いた。疎水性の高いキレート試薬を含む膜で  $Zn^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$  などに対し大きな電位応答が得られた。一方、疎水性が低い試薬では、有意な電位応答は得られなかった。電位応答挙動、界面張力測定などの

結果から、膜電位発生モデルを提案した。キレート試薬の高い疎水性は、試薬陰イオンが膜/溶液界面にとどまることを可能とする。試薬陰イオンによる金属イオンの選択的取り込みによって界面での電荷分離が達成され、結果として電位応答が生起する。

<sup>1)</sup> 日本大学文理学部

<sup>2)</sup> 東京大学大学院理学系研究科

<sup>3)</sup> 群馬大学・学長

## アトピー性皮膚炎および喘息患者宅の専門家による室内環境調査

A Survey of Indoor Environment on Residences of Atopic Dermatitis and Asthma Patients

西尾千恵子<sup>1)</sup>      渡辺 一彦<sup>2)</sup>      横山 幸弘<sup>3)</sup>  
小林 智      前林十三男<sup>4)</sup>      上原 弘三<sup>5)</sup>

Chieko NISHIO, Kazuhiko WATANABE, Yukihiro YOKOYAMA,  
Satoshi KOBAYASHI, Tomio MAEBAYASHI and Kozo UEHARA

札幌市医師会医学会誌, 26, 233-234 (2001)

アトピー性皮膚炎、喘息の患者で、悪化因子として室内環境が疑われた13例について、主治医と研究会（アトピー性皮膚炎など室内環境が関係する疾患への対策研究会・北海道）のメンバーが住宅を訪問し調査を行った。3例の喘息例が新築、改装で悪化し、トルエン、キシレンの高値が確認されたことから VOC が誘因と推測された。アトピー性皮膚炎5例に新築、改装で皮膚の悪化が認められたが、ベークアウト等で改善した。アトピー性皮膚炎や喘息の悪化因子として VOC が考えられた。ダニ抗原は、絨毯、綿

製布団、布製ソファーに多かった。ダニ対策で喘息は改善したが、アトピー性皮膚炎については皮疹との関係については確認できなかった。臨床経過から2例の成人型アトピー性皮膚炎では、心因性要因の関与が大きいと考えられた。

<sup>1)</sup> 西尾皮膚科医院

<sup>2)</sup> 渡辺一彦小児科医院

<sup>3)</sup> SET 建築設計事務所

<sup>4)</sup> (株)青山プリザーブ

<sup>5)</sup> (株)シントーファイン

# The Influence of Indoor Air on Personal Exposure to Volatile Organic Compounds and Its Risk Estimation

Yuko SOMA<sup>1)</sup>, Hideko SONE<sup>1)</sup>, Akiko TAKAHAGI<sup>2)</sup>, Kazuhiro ONIZAWA<sup>2)</sup>,  
Toyotoshi UEDA<sup>2)</sup> and Satoshi KOBAYASHI

Journal of Risk Research, 5, 105-117 (2002)

揮発性有機化合物18種類について、東京とつくばにおいて個人暴露量調査を行い、個人暴露量と一般大気濃度及び室内空気濃度の関係を比較した。また、個人暴露量の値から健康リスク評価を行ったところ、水道水の塩素消毒や漂白殺菌剤として使用される次亜塩素酸塩により生成される

クロロホルム、タバコ煙や自動車排気ガス由来のベンゼン及び防虫剤や消臭剤として使用されているパラジクロロベンゼンに注意を要することが示された。

<sup>1)</sup> 国立環境研究所

<sup>2)</sup> 明星大学理学部

# Analysis of the Change in Dominant Phytoplankton Species in Unstratified Lake Oshima-Ohnuma Estimated by a Bottle Incubation Experiment

Keishi TAKANO, Yasushi ISHIKAWA<sup>1)</sup>, Hidetoshi MIKAMI<sup>1)</sup>, Syuhei BAN<sup>2)</sup>,  
Takehito YASHIDA<sup>2)</sup>, Tetsuhiro AONO<sup>2)</sup>, Kazushi IMADA<sup>3)</sup>, Ryohei YASUTOMI<sup>3)</sup>,  
Katsumi TAKEUCHI<sup>3)</sup> and Shuji HINO<sup>4)</sup>

Limnology, 2, 29-35 (2001)

1996年5～7月に、渡島大沼において、優占植物プランクトンの細胞密度を測定し、さらにボトル培養実験によりそれらの成長速度を見積り、春から夏への植物プランクトン優占種変化に関わる要因を明らかにすることを試みた。4、5月に *Asterionella gracillima* が優占種となったが、その成長速度は5月には比較的低く、その後、細胞密度が低下し、この主な原因は栄養塩の不足であることが示唆された。6月後半から *Melosira granulata* の成長速度が増加し、

優占種となった。*M. granulata* は水深6mでも成長速度が高いことから、深層で生存できることと、湖が成層を形成しないことで再懸濁により有光層に存在できる状況が同種の成長に適していることが考えられた。

<sup>1)</sup> 北海道環境科学研究センター

<sup>2)</sup> 北海道大学大学院水産学研究科

<sup>3)</sup> 北海道立水産孵化場

<sup>4)</sup> 山形大学理学部

# Molecular Characterization of *Cryptosporidium* Isolates Obtained from Human and Bovine Infections in Japan

Kenji YAGITA<sup>1)</sup>, Shinji IZUMIYAMA<sup>1)</sup>, Hiroshi TACHIBANA<sup>2)</sup>, Gouta MASUDA<sup>3)</sup>,  
Motohiro ISEKI<sup>4)</sup>, Koji FURUYA, Yosuke KAMEOKA<sup>1)</sup>, Toshiro KUROKI<sup>5)</sup>,  
Tadashi ITAGAKI<sup>6)</sup> and Takuro ENDO<sup>1)</sup>

Parasitol. Res., 87, 950-955 (2001)

*Cryptosporidium* ポリスレオニン遺伝子のPCR/RFLP分析により、わが国で分離されたヒト由来 *Cryptosporidium* 22株は、ヒト型 *C. parvum* (genotype 1), 動物型 *C. parvum* (genotype 2), トリ型 *C. meleagridis* (genotype 3) の3遺伝子型に明瞭に型別された。ヒト由来 genotype 3の *C. meleagridis* 分離株は、*Cryptosporidium* 18S rRNA 遺伝子のシーケンス分析により同定され、その存在が本邦で初めて確認された。

<sup>1)</sup> 国立感染症研究所

<sup>2)</sup> 東海大学医学部

<sup>3)</sup> 東京都立駒込病院

<sup>4)</sup> 金沢大学医学部

<sup>5)</sup> 神奈川県衛生研究所

<sup>6)</sup> 岩手大学農学部

# Higher Sensitivity in Induction of Apoptosis in Fibroblast Cell Lines Derived from LEC Strain Rat to Ultraviolet B Radiation

Masanobu HAYASHI<sup>1)</sup>, Taku HAMASU<sup>1)</sup>, Maiko TURUKAME<sup>1)</sup>,  
Daiji ENDOH<sup>1)</sup> and Toyo OKUI

J. Vet. Med. Sci., 63(7), 709-713 (2001)

LEC ラット由来線維芽細胞の UVB に対する感受性をコロニー形成法を用いて調べた結果、LEC ラット細胞は WKAH ラット細胞に比べて UVB に対して高い感受性を示した。D37値から LEC ラット細胞では WKAH 細胞の1.5倍以上高い感受性が認められた。ラジカルスクベンジャーとして働く0.5MDMSOの存在下で細胞にUVBを照射するとLEC, WKAH細胞ともにUVB照射のみと比べて生存率に大きな違いは認められなかった。この結果からUVB照射によって生じるフリーラジカルはUVB誘発細胞死に

はあまり関与しないと考えられる。LEC ラット細胞においてUVB照射後のアポトーシスをフローサイトメーターで検出したところ、照射線量に依存して増加した。一方、WKAH ラット細胞ではUVB照射後アポトーシスの増加は認められなかった。これらの結果からLEC ラット細胞のUVBに対する高い感受性はUVB誘発アポトーシスに依拠していることが示唆された。

<sup>1)</sup> 酪農学園大学獣医学部

# No Significant Differences Were Observed in the Amounts of DNA Strand Breaks Produced by Copper between Male and Female Liver Cells of Long-Evans Cinnamon (LEC) Strain Rats

Masanobu HAYASHI<sup>1)</sup>, Tomoko KUGE<sup>1)</sup>, Daiji ENDOH<sup>1)</sup>, Kenji NAKAYAMA,  
Jiro ARIKAWA<sup>2)</sup>, Akira TAKAZAWA<sup>3)</sup> and Toyo OKUI

J. Vet. Med. Sci., **63**(10), 1109-1113 (2001)

肝炎を自然発症する LEC ラットの肝細胞に蓄積する銅による酸化損傷と考えられる DNA 単鎖切断の量をコメント法で検出した。LEC ラットの肝臓では4週齢でコントロールとして用いた WKAH の30倍の銅が蓄積していた。4週齢から15週齢では雄、雌ともに週齢に依存して肝臓の銅の蓄積量は増加したが、WKAH ラットでは週齢による増加は認められなかった。LECラットの肝臓での DNA 単鎖

切断の量は10週から15週齢まで週齢に依存して急激に増加した。肝炎発症は雌が雄に比べて頻度が高いことが報告されているが、肝細胞における雌の DNA 単鎖切断の量は雄に比べて大きな違いは認められなかった。

<sup>1)</sup> 酪農学園大学獣医学部

<sup>2)</sup> 北海道大学大学院医学研究科

<sup>3)</sup> 北海道大学大学院理学研究科

# Hepatic Iron Accumulation Is Not Directly Associated with Induction of DNA Strand Breaks in the Liver Cells of Long-Evans Cinnamon (LEC) Rats

Masanobu HAYASHI<sup>1)</sup>, Tomoko KUGE<sup>1)</sup>, Daiji ENDOH<sup>1)</sup>, Kenji NAKAYAMA,  
Jiro ARIKAWA<sup>2)</sup>, Akira TAKAZAWA<sup>3)</sup> and Toyo OKUI

Exp. Anim., **51**(1), 43-48 (2002)

肝炎を自然発症する LEC ラットにおいて DNA 単鎖切断に及ぼす銅の蓄積の影響を調べた。LEC ラットの肝臓において銅と鉄は4週齢から15週齢に蓄積した。低鉄食で飼育したラットでは鉄の蓄積は認められなかったが、銅の蓄積は普通食のラットと同様認められた。肝細胞の DNA 単鎖切断の量は comet 法を用いて検出した。テールが認められた細胞の頻度とテールの長さの平均値を求めたところ、

低鉄食を与えた LEC ラットの肝細胞と普通食を与えた LEC ラットの間にはほとんど違いは認められなかった。これらの結果から LEC ラットの肝細胞における DNA 損傷の誘発には鉄の蓄積は関与していないことが示唆された。

<sup>1)</sup> 酪農学園大学獣医学部

<sup>2)</sup> 北海道大学大学院医学研究科

<sup>3)</sup> 北海道大学大学院理学研究科

## Hypoxia and Etanidazole Alter Radiation-Induced Apoptosis in HL60 Cells but Not in MOLT-4 Cells

Osamu INANAMI<sup>1)</sup>, Kiyoshi SUGIHARA<sup>1)</sup>, Toyo OKUI, Masanobu HAYASHI<sup>2)</sup>,  
Mitsuhiko TSUJITANI<sup>1)</sup> and Mikinori KUWABARA<sup>1)</sup>

Int. J. Radiat. Biol., 78(4), 267-274 (2002)

培養細胞において放射線照射誘発アポトーシスに対する低酸素状態での照射の影響を検討した。HL60及びMolt-4細胞を空气中及び低酸素下で15GyのX線を照射した。放射線増感剤としてEtanidazoleを用いた。アポトーシスの検出は核の形態観察と電気泳動によるラダーの検出により行った。HL60細胞では低酸素下での照射ではアポトーシスによる細胞死が減少し、カスパーゼ8、9及び3の活性誘導も減少した。低酸素下でEtanidazoleはX線誘発アポトーシスとカスパーゼの活性を高めた。しかし、Molt-4細胞ではEtanidazoleの影響は認められなかった。この

2細胞におけるX線誘発DNA二重鎖切断(DSB)は低酸素下での照射ではともに空气中での照射に比べて有意に減少した。低酸素下でEtanidazoleはX線誘発DSBを増加させた。これらの結果からHL60においてはX線誘発アポトーシスはDSBによって引導されること、Molt-4では他の損傷が引き金になってアポトーシスが誘発されることが示唆された。

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院獣医学研究科

<sup>2)</sup> 酪農学園大学獣医学部

## First Report of *Trichinella nativa* in Red Foxes (*Vulpes vulpes schrencki*) from Otaru City, Hokkaido, Japan

Alebel E. YIMAM<sup>1)</sup>, Yuzaburo OKU<sup>1)</sup>, Nariaki NONAKA<sup>1)</sup>, Hirofumi SAKAI<sup>1)</sup>,  
Yasuyuki MORISHIMA<sup>1)</sup>, Kayoko MATSUO<sup>1)</sup>, Giuseppe La ROSA<sup>2)</sup>, Edoardo POZIO<sup>2)</sup>,  
Kinpei YAGI and Masao KAMIYA<sup>1)</sup>

Parasitology International, 50, 121-127 (2001)

北海道小樽市で捕獲された43頭のキタキツネと9頭のタヌキについて、筋肉中のトリヒナ線虫の寄生状況を調べた。そのうち5頭のキツネからトリヒナ線虫の一種 *Trichinella nativa* の幼虫が検出された。この発見は、北海道でキタキツネが、トリヒナ線虫の野外型の生活環維持の重

要な宿主であることを示唆している。北海道におけるキタキツネからの *T. nativa* の寄生報告は、最初のものである。

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院獣医学研究科

<sup>2)</sup> Institute Superiore di Sanità, Italy