

腎臓における細胞内情報伝達系の解析 と新規治療法の開発

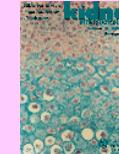
疾患モデル教育研究センター

ハイテク・リサーチ・センター整備事業 期間中の報告(1)

欧米誌に4編掲載



KI 2003
cAMP/BRAF/ERK
ADPKD
Impact factor = 5.302



KI 2003
cAMP/BRAF/ERK
Cy
Impact factor = 5.302



JASN 2005
Cy AR
Impact factor = 7.240



JASN 2006
PCK HWI
Editorial
Impact factor = 7.240

ハイテク・リサーチ・センター整備事業 期間中の報告(2)

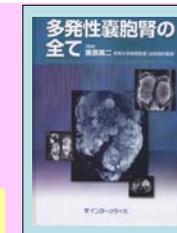
国際腎臓学会、米国腎臓学会、アジア小児腎臓学会、
国際分子遺伝学会にて報告。

World Congress of Nephrology, Singapore, Singapore (2005)
World Congress of Nephrology, Berlin, Germany (2003)
American Society of Nephrology 39th Annual Meeting & Scientific Exposition,
San Diego, CA USA (2006)
American Society of Nephrology 38th Annual Meeting & Scientific Exposition,
Philadelphia, PA USA (2005)
American Society of Nephrology 37th Annual Meeting & Scientific Exposition,
St. Louis, MO USA (2004)
American Society of Nephrology 36th Annual Meeting & Scientific Exposition,
San Diego, CA USA (2003)
American Society of Nephrology 35th Annual Meeting & Scientific Exposition,
Philadelphia, PA USA (2002)
Congress of Asian Society for Pediatric Research, Tokyo, Japan (2005)
20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and
11th FAOBBM Congress, Kyoto, Japan (2006)

ハイテク・リサーチ・センター整備事業 期間中の報告(3)

和文本の共同執筆者として。

動物のPKD遺伝子変異 pp.40-47.
生活上の注意点 pp.326-329.
多発性嚢胞腎の全て
東原英二 (監修) インターメディカ、東京 (2006)



患者さんの会で、研究内容を紹介。

多発性嚢胞腎財団日本支部 PKDFCJ 2006年6月
「多発性嚢胞腎の最新情報」: 水を積極的に飲むとPKDの進行を抑制できる?

ほかに和文雑誌に、研究内容紹介。

多発性嚢腎症モデル 細胞 35(1):18-21. (2003)
多発性嚢胞腎 Annual Review 2003 腎臓 122-128. (2003)

本成果報告会では総括して以下の3点について簡単に報告。

(Q1) 嚢胞腎の上皮細胞では、どんな情報伝達異常が起きているのか？

KI 2003 ADPKD初代培養細胞 KI 2003 Cyラット

(Q2) 他に病気の進行を悪化させる細胞情報伝達系があるのか？

JASN 2005 Cyラット AR

(Q3) 嚢胞腎の悪化を抑えるためには？

JASN 2006 PCKラット HWI Editorial

まずはじめに、、、

(Q1) 嚢胞腎の上皮細胞では、
どんな情報伝達異常が起きているのか？



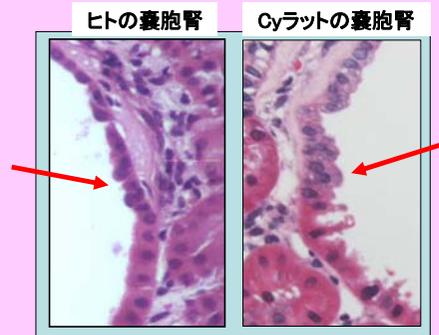
KI 2003
cAMP/Braf/ERK
Cy
Impact factor = 5.036

**Cyclic AMP activates B-Raf and ERK
in cyst epithelial cells from autosomal-
dominant polycystic kidneys**

*Shizuko Nagao, Tamio Yamaguchi, DARREN P. WALLACE,
FRANCK A. BELIBI, BENJAMIN D. COWLEY, JR., JILL C. PELLING, and
JARED J. GRANTHAM*
Shizuko Nagao and Tamio Yamaguchi contributed equally to this work.
Kidney International, Vol. 63 1983–1994, 2003

これまでの事実として、

(1) 嚢胞腎では上皮細胞の増殖が顕著である。



(1) 嚢胞腎では上皮細胞の増殖が顕著である。

(2) 嚢胞性腎疾患モデルである pcyマウスの初期嚢胞の内液には、高い濃度のcAMPが存在する。

そこで、、、

嚢胞腎においてcAMPが細胞増殖にどのように関わるかを、

正常な腎臓

正常な腎臓から得た初代培養の上皮細胞と

ヒト嚢胞腎

嚢胞腎由来の上皮細胞を用いて確認した。

Fujita Health University 9

2つの仮説をたてた。

増殖因子受容体細胞増殖系

(1) 正常な腎臓の上皮細胞では、cAMPは、PKAを介し、増殖因子受容体の細胞増殖系を、抑制する。

Fujita Health University CAMHD 10

増殖因子受容体細胞増殖系

(2) 嚢胞腎の上皮細胞では、cAMPは、PKAとXXXを介して増殖因子受容体の細胞増殖系を、促進する。

Fujita Health University CAMHD 11

そこで、正常な腎上皮細胞にcAMP (8-Br-cAMP)を作用させると、

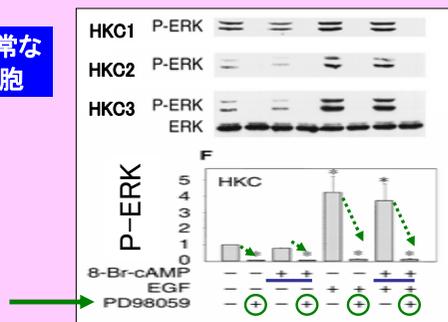
HKC: 正常な腎上皮細胞

P-ERKがわずかに減少し、

Fujita Health University CAMHD 12

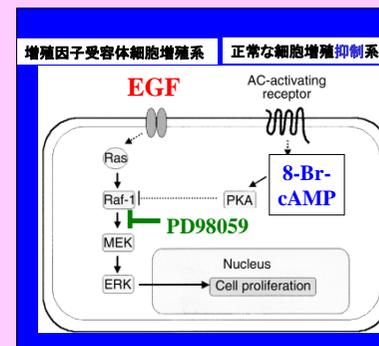
MEK inhibitor PD98059を作用させると、

HKC: 正常な
腎上皮細胞



cAMP (8-Br-cAMP)の有無に関わらず、P-ERKが減少した。

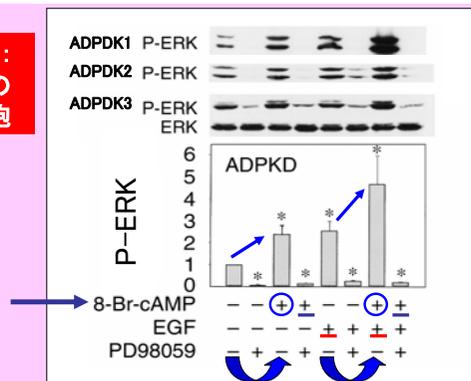
つまり、正常な腎上皮細胞では、



cAMPは増殖因子受容体細胞増殖系のRaf-1/MEKを抑制する。

一方、cAMPを嚢胞腎の上皮細胞に作用させると、

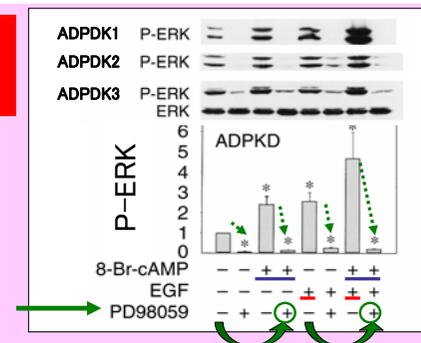
ADPKD:
嚢胞腎の
上皮細胞



正常な腎上皮細胞の反応とは異なり、P-ERKが増加した。

MEK inhibitor PD98059を作用させると、

ADPKD:
嚢胞腎の
上皮細胞

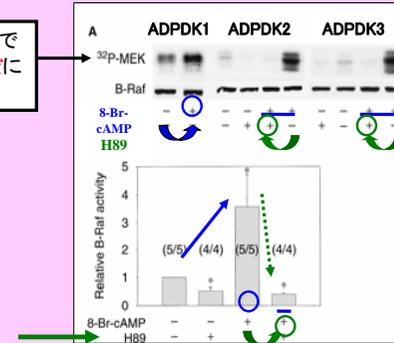


cAMP (8-Br-cAMP)の有無に関わらずP-ERKは、減少した。

cAMPの有無に関わらずMEK inhibitorの抑制効果があるのに、
 正常な腎臓の上皮細胞ではcAMPがERK活性(P-ERK)を抑制し、
 嚢胞腎の上皮細胞ではcAMPがERK活性(P-ERK)を促進することから、
 嚢胞腎において、(Raf-1以外の)Raf family(B-Raf)がcAMPの情報伝達系に関わらないかを調べた。

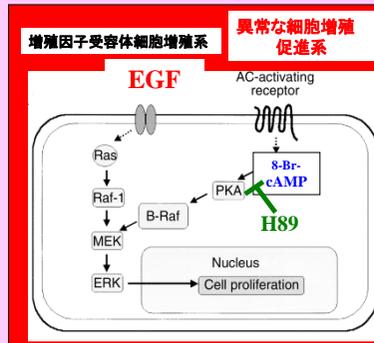
嚢胞腎の腎上皮細胞にcAMPを添加したうえで、
 PKA inhibitor H9を作用させると、

MEK kinase値でリン酸化B-Rafに相当



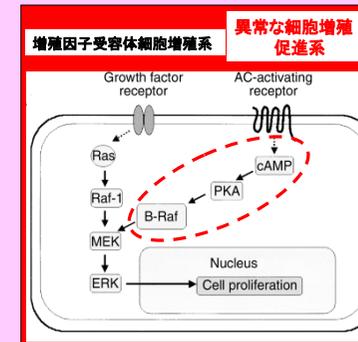
cAMPによって促進されたMEK Kinase値(リン酸化B-Rafに相当)が、PKA inhibitorであるH9で減少した。

つまり、嚢胞腎の上皮細胞ではcAMPによって



増殖因子受容体の細胞増殖系が促進され、

そのcAMPの細胞増殖促進は、“PKA/B-Raf”がMEK/ERKを活性化するという異常な情報伝達系によって生じることが明らかとなった。



では、疾患モデル動物でも“異常な細胞情報伝達系cAMP/PKA/B-Raf/MEK/ERK”が嚢胞腎の細胞増殖促進に関与するか否かを、

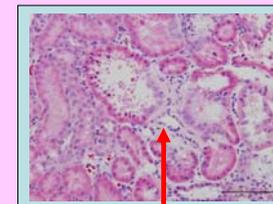
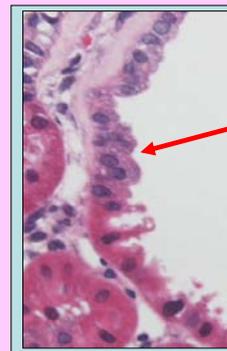


KI 2003
cAMP/BRaf/ERK
Cy
Impact factor = 5.036

Renal activation of ERK in rats with autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD)

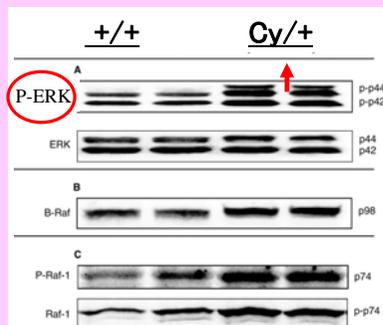
Shizuko Nagao, Tamio Yamaguchi, Masatomo Kusaka, Robin L. Maser, Hisahide Takahashi, Benjamin D. Cowley, Jr., and Jared J. Grantham
Kidney International Volume 63 Issue 2 Page 427- 2003

ヒトの嚢胞腎と同様に、上皮細胞の増殖が顕著であり、

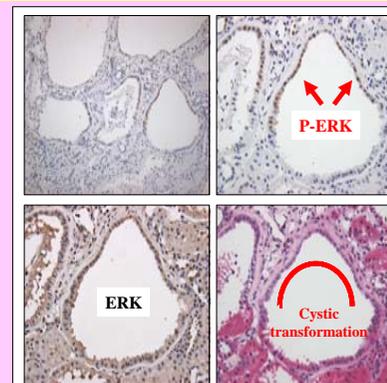


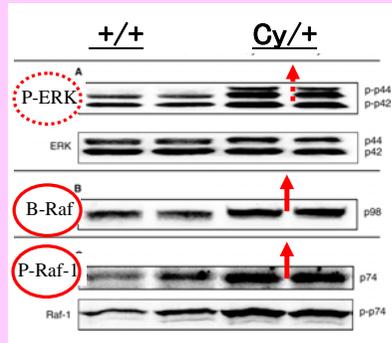
初期嚢胞でも細胞増殖像が、顕著にみられるCyラットで確認した。

Western Blot 解析によって、Cyラットでは、ヒト嚢胞腎で活性化する情報伝達系の蛋白質であるP-ERK (ERKの活性)が増加し、

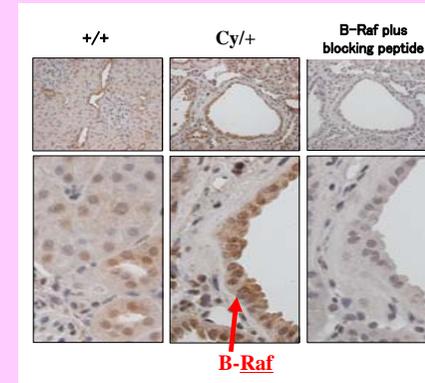


免疫組織化学染色によって、そのP-ERK (ERKの活性)の発現は、嚢胞上皮細胞で顕著であることが認められた。

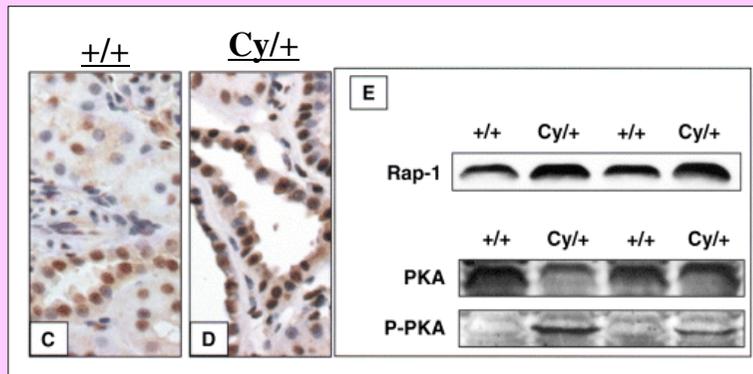




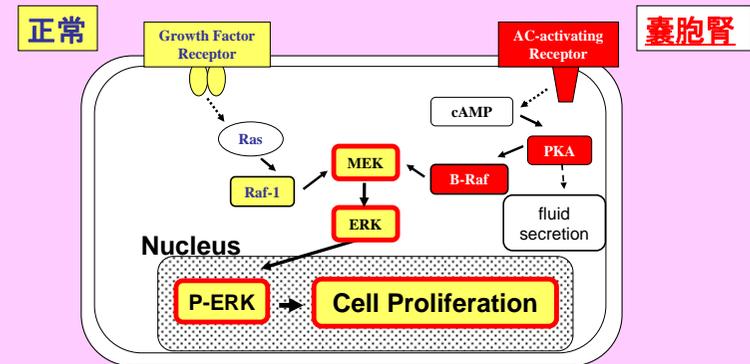
また、**B-Raf**と**P-Raf-1**も発現が増加し、



嚢胞上皮細胞では、特に、**B-Raf**の発現が確認された。



PKAの活性(**P-PKA**)も嚢胞上皮細胞で増加した。



つまり、疾患モデル動物であるCyラットの腎臓でも、**cAMP/PKA**が、**B-Raf**を介して増殖因子受容体の細胞増殖系を**促進**することが明らかとなった。

増殖因子受容体細胞増殖系

増殖因子受容体細胞増殖系

これらのことは、ヒトと疾患モデル動物の**正常な腎臓の上皮細胞**では、cAMPはPKAを介して増殖因子受容体の細胞増殖系を抑制するが、**嚢胞腎**では、cAMPはPKA/B-Rafを介してMEK/ERK細胞増殖伝達系を**促進**することを示す。

Fujita Health University CAMHD 29

嚢胞腎では異常な細胞情報伝達系が出現することがわかったので、

(Q2) 他に病気の進行を悪化させる細胞情報伝達系があるかを調べた。

Androgen Receptor Pathway in Rats with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

SHIZUKO NAGAO, MASATOMO KUSAKA, KAZUHIRO NISHII, TOHRU MARUNOUCHI, HIROKI KURAHASHI, HISAHIDE TAKAHASHI, JARED GRANTHAM

J Am Soc Nephrol. 16(7):2052-62. 2005

JASN 2005
Cy AR
Impact factor = 7.240

Fujita Health University CAMHD 30

これまでの事実として、

(1) 嚢胞腎を含むほとんどの腎臓疾患で、男性の方が重篤に進行しやすい。

Fujita Health University CAMHD 31

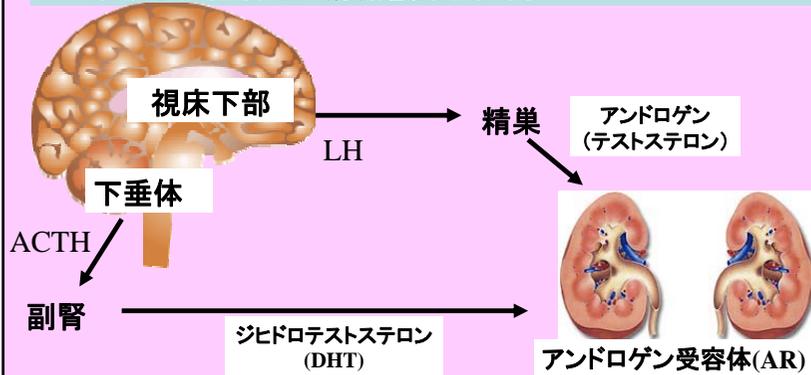
(2) Cyラットでも、雌に比して雄の方が嚢胞腎の進行が重篤である。

Cyラットにおける性別の特性

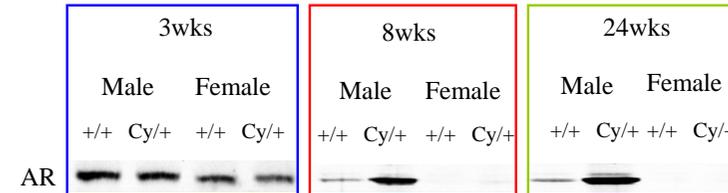
	Male		female
PKD progression <small>(Kidney weight, SUN level, histology)</small>	severer	>>	milder
To Renal failure	faster	>>	slower
Life span	shorter (>12 months)	<<	longer (18 months<)

Fujita Health University CAMHD 32

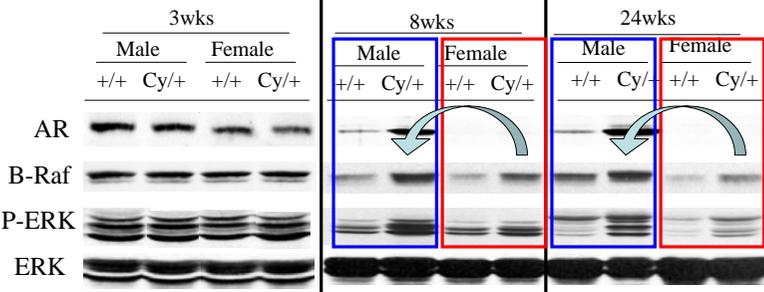
(3) 視床下部/下垂体から産生される刺激ホルモンによって分泌される**アンドロゲン(テストステロン)**や**ジヒドロテストステロン(DHT)**は、腎臓で**アンドロゲン受容体(AR)**と複合体を形成し細胞核内に情報を伝達する。



そこで、Cyラットの病態進行にアンドロゲンが関与しているかを調べるために、**アンドロゲン受容体(AR)**を検出した。



+/+ラットの腎臓では幼若期(3週齢)以降、発現が低下するが、Cy/+ではARの発現が加齢と共に増加した。



一方、雌に比して雄の発現が高いという現象は、ARと同様にB-RafとP-ERKでも見られた。

そこで、**囊胞腎**における**アンドロゲンの影響**を見るために、**CyラットにCastrationかOvariectomy**を施して、**ジヒドロテストステロン(DHT)**の投与を行った。

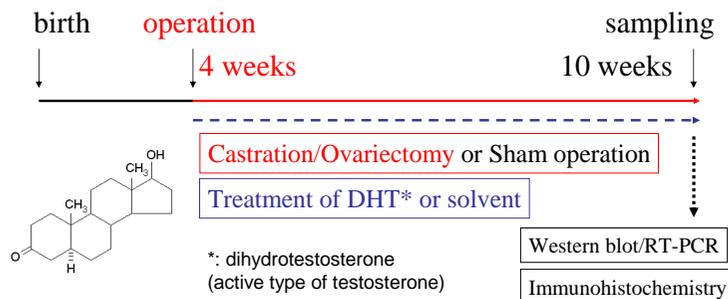


Table 2. Renal response to gonadectomy^a

No.	Surgery	Treatment	Genotype	Gender	N	腎体重比	SUN値
						K/B (g/100 g)	SUN (mg/dl)
1	Sham	Vehicle	+/+	M	7	0.70 ± 0.01	22.6 ± 0.6
2	Castration	Vehicle	+/+	M	3	0.62 ± 0.01 NS	24.1 ± 0.2 NS
3	Castration	DHT	+/+	M	3	0.81 ± 0.01 ^b	22.0 ± 0.5 ^b
4	Sham	Vehicle	Cy/+	M	6	2.15 ± 0.04	38.8 ± 1.1
5	Castration	Vehicle	Cy/+	M	5	1.35 ± 0.01 ^c	28.5 ± 1.8 ^c
6	Castration	DHT	Cy/+	M	6	2.12 ± 0.08 NS	32.2 ± 1.5 ^b
7	Sham	Vehicle	+/+	F	3	0.69 ± 0.02	22.0 ± 2.0
8	Ovariectomy	Vehicle	+/+	F	3	0.58 ± 0.01 NS	22.8 ± 0.3 NS
9	Ovariectomy	DHT	+/+	F	3	0.85 ± 0.01 NS	24.1 ± 0.5 NS
10	Sham	Vehicle	Cy/+	F	6	1.08 ± 0.02	24.9 ± 2.3
11	Ovariectomy	Vehicle	Cy/+	F	5	1.21 ± 0.03 ^c	26.0 ± 1.1 NS
12	Ovariectomy	DHT	Cy/+	F	5	1.67 ± 0.05 ^b	25.1 ± 0.8 NS

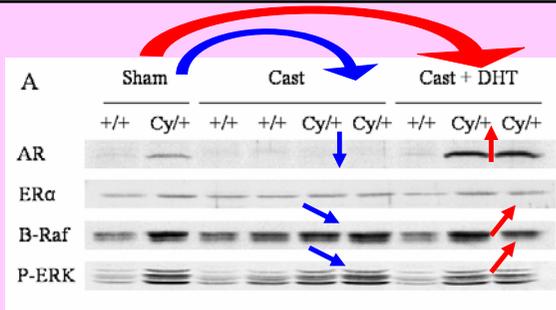
Castrationによって、腎体重比とSUN値が減少し、Cyラットの病態の進行は抑制された。

Table 2. Renal response to gonadectomy^a

No.	Surgery	Treatment	Genotype	Gender	N	腎体重比	SUN値
						K/B (g/100 g)	SUN (mg/dl)
1	Sham	Vehicle	+/+	M	7	0.70 ± 0.01	22.6 ± 0.6
2	Castration	Vehicle	+/+	M	3	0.62 ± 0.01 NS	24.1 ± 0.2 NS
3	Castration	DHT	+/+	M	3	0.81 ± 0.01 ^b	22.0 ± 0.5 ^b
4	Sham	Vehicle	Cy/+	M	6	2.15 ± 0.04	38.8 ± 1.1
5	Castration	Vehicle	Cy/+	M	5	1.35 ± 0.01 ^c	28.5 ± 1.8 ^c
6	Castration	DHT	Cy/+	M	6	2.12 ± 0.08 (NS)	32.2 ± 1.5 (NS)
7	Sham	Vehicle	+/+	F	3	0.69 ± 0.02	22.0 ± 2.0
8	Ovariectomy	Vehicle	+/+	F	3	0.58 ± 0.01 NS	22.8 ± 0.3 NS
9	Ovariectomy	DHT	+/+	F	3	0.85 ± 0.01 NS	24.1 ± 0.5 NS
10	Sham	Vehicle	Cy/+	F	6	1.08 ± 0.02	24.9 ± 2.3
11	Ovariectomy	Vehicle	Cy/+	F	5	1.21 ± 0.03 ^c	26.0 ± 1.1 NS
12	Ovariectomy	DHT	Cy/+	F	5	1.67 ± 0.05 ^b	25.1 ± 0.8 NS

DHT (ジヒドロテストステロン) 投与によって、腎体重比とSUN値はshamのレベルまで戻った。

これらは、アンドロゲン(テストステロン)が嚢胞腎の病態に関与することを示す。



ARの発現は、Castrationで顕著に減少し、DHT投与で顕著に増加した。

一方、B-RafとP-ERKの発現は、CastrationとDHT投与の影響を受けたが緩やかであった。

別に、嚢胞腎におけるアンドロゲン(テストステロン)の影響を見るために、CyラットにFlutamide (FLT; 抗アンドロゲン剤)を投与した。

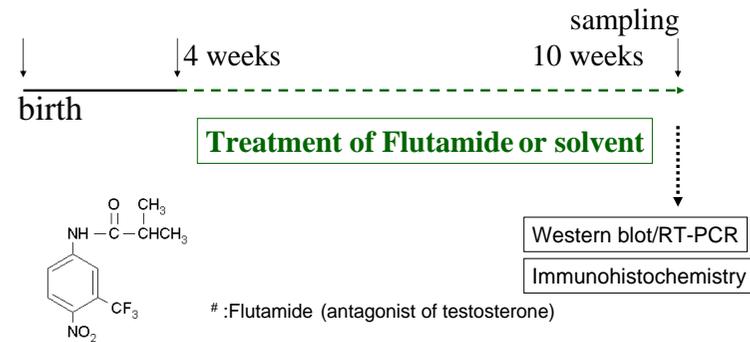


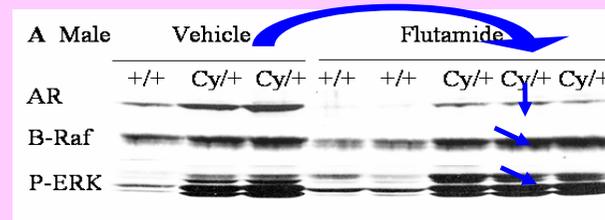
Table 4. Effect of flutamide on kidney weight and SUN in sham-operated rats*

No.	Treatment	Genotype	Gender	N	K/B (g/100 g)	SUN (mg/dl)
1	Vehicle	+/+	M	7	0.70 ± 0.01	22.6 ± 0.6
2	FLT	+/+	M	3	0.66 ± 0.02 NS	26.3 ± 2.5 NS
3	Vehicle	Cy/+	M	6	2.15 ± 0.04	38.8 ± 1.1
4	FLT	Cy/+	M	4	1.71 ± 0.04 ^b	33.8 ± 1.3 ^b
5	Vehicle	+/+	F	3	0.69 ± 0.02	24.9 ± 2.3
6	FLT	+/+	F	4	0.62 ± 0.01 NS	23.0 ± 0.4 NS
7	Vehicle	Cy/+	F	6	1.08 ± 0.02	24.9 ± 2.3
8	FLT	Cy/+	F	3	1.14 ± 0.02 NS	26.0 ± 1.8 NS

* Data are mean ± SE. Age 10 wk. FLT, flutamide.
^b 1 versus 2, 3 versus 4, 5 versus 6, 7 versus 8; P < 0.01.
^c 1 versus 2, 3 versus 4, 5 versus 6, 7 versus 8; P < 0.03.

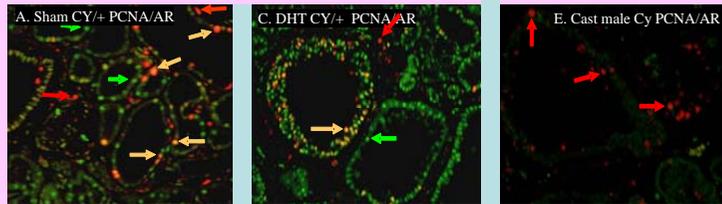
FLT(抗アンドロゲン剤)の投与によって、腎体重比とSUN値が減少し、Cyラットの病態の進行は抑制された。これは、**アンドロゲン(テストステロン)**が嚢胞腎の病態に関与することを示す。

Effect of flutamide on AR, B-Raf and P-ERK expression.



FLTの投与によって、ARの発現は顕著に低下した。一方、B-RafとP-ERKの発現は、CastrationとDHT投与の影響を受けたが緩やかであった。

そこで、ERKとARの2つの情報伝達系の関係を調べるために、



Green arrows, AR alone Red arrows, PCNA and P-ERK
 yellow-orange arrows, AR, PCNA and P-ERK.

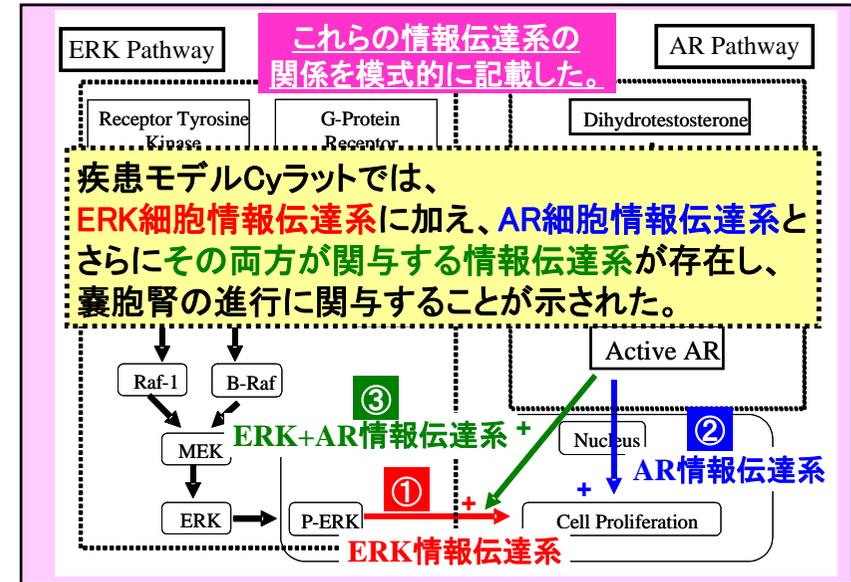
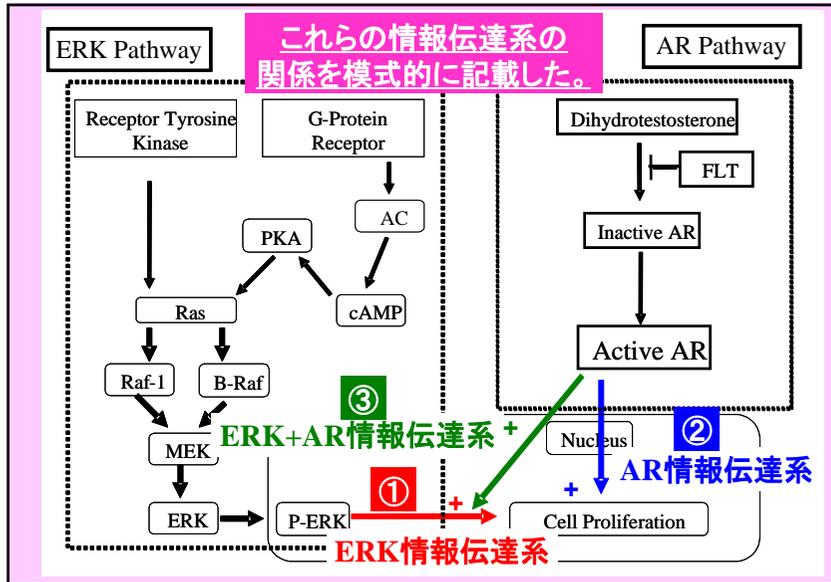
PCNA、P-ERKとARの三重染色を行った。

Table 6. Co-localization of AR and P-ERK in Cy/+ renal cells (% of PCNA expressing cells)^a

	Gender	Disease Severity	AR	P-ERK	AR + P-ERK	PCNA Only
Low androgen effect						
sham	F	+	0	90	0	10
castration	F	+	0	73	0	27
FLT	F	+	0	83	0	17
castration	M	+	0	79	0	21
FLT	M	+	0	78	0	22
mean			0	80.6	0	19.4
High androgen effect						
sham	M	+++	16	32	46	5
DHT	M	++++	18	23	51	8
DHT	F	+++	4	54	38	4
mean			12.7	36.4	45	5.7

^a PCNA, proliferating cell nuclear antigen.

細胞増殖の指標であるPCNAが陽性である細胞のP-ERKとARの発現を確認した結果、PCNA陽性でP-ERK陽性の細胞(ERK細胞情報伝達系)に加えPCNA陽性でAR陽性の細胞(AR細胞情報伝達系)とさらに両伝達系共に関与している情報伝達系が、認められた。



次に

(Q3) 嚢胞腎の悪化は抑えられるのか？

Increased Water Intake Decreases Progression of Polycystic Kidney Disease in the PCK Rat
 Shizuko Nagao,* Kazuhiro Nishii,* Makoto Katsuyama,‡ Hiroki Kurahashi, §Tohru Marunouchi, Hisahide Takahashi,* and Darren P. Wallace†
 J Am Soc Nephrol 17: 2220–2227, 2006.

JASN
 ASSESS

JASN 2006 PCK HWI Editorial
 Impact factor = 7.240

Editorial
 Water for ADPKD? Probably, Yes
 Vicente E. Torres
 Division of Nephrology and Hypertension, Mayo Clinic, Rochester.

Fujita Health University CAMHD 47

視床下部

下垂体

AVP

糸球体

尿管

尿細管

腎臓

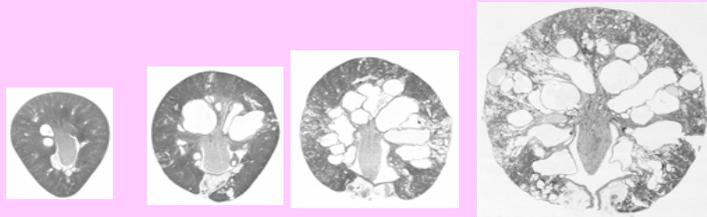
これまでの事実として

(1) 視床下部から分泌されたAVP(バソプレシン: 抗利尿ホルモン)は、腎臓の集合管に存在するAVP2受容体に作用して水分の再吸収を促進する。

(2) 嚢胞腎の初代培養細胞において、合成AVPであるDDAVPが、cAMPを介して細胞増殖を促進する。

Fujita Health University CAMHD 48

(3) 嚢胞腎疾患モデルであるPCKラットでは、
嚢胞が集合管から発生し、加齢と共に**集合管由来嚢胞**
が腎臓全体に波及する。



Fujita Health University

CAMHD

49

そこで、視床下部で産生されるAVPの分泌を抑制する
ために、集合管由来嚢胞が発生するPCKラットに
5%グルコース溶液を自由摂取させた。

5%グルコース溶液は、わずかに甘味を感じる程度



Kidney weight SUN AVP Urine osmolality
Western blot Immunohistochemistry

Fujita Health University

CAMHD

50

Genotype	Treatment	N	Water intake (mL)	Urine Volume (mL)	Urine Osm (mosmol/kg)	Urinary AVP (pg/mg creatinine)
Male	PCK CONT	8	18 ± 1	18 ± 2	1088 ± 96	257 ± 22
	PCK HWI	10	68 ± 5**	58 ± 5**	232 ± 47**	114 ± 46**
	+/+ CONT	8	10 ± 5	9 ± 1	1498 ± 130	160 ± 19
	+/+ HWI	8	94 ± 26*	91 ± 10**	197 ± 73**	88 ± 38
Female	PCK CONT	10	18 ± 3	16 ± 2	982 ± 74	435 ± 83
	PCK HWI	8	63 ± 9**	49 ± 8**	284 ± 52**	111 ± 59**
	+/+ CONT	7	13 ± 5	12 ± 1	1559 ± 211	335 ± 49
	+/+ HWI	10	107 ± 10**	80 ± 11**	131 ± 25**	31 ± 4**

Statistical differences between HWI and control (CONT) rats (either +/+ or PCK) were determined by one-way analysis of variance *P < 0.05, ** P < 0.01.

水を積極的に飲んだ(High water intake :HWI) PCKラットでは、**AVPの分泌が抑制**された。(希釈されたわけではないことを示すため、creatinine値で補正した。)
(尿中AVP量は血中AVP量を反映することが報告されている。)

Fujita Health University

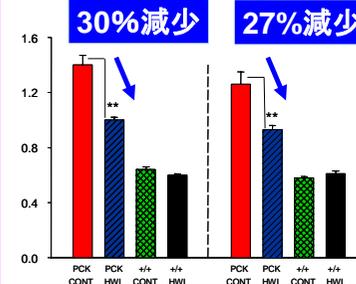
CAMHD

51

また、疾患の進行の指標である**腎体重比(% BW)**が、
雌雄ラット共に、**減少**した。
(摂餌量と体重には差がないので、糖を摂取したための影響はない。)
(IGF受容体の発現の変化もなかった。)

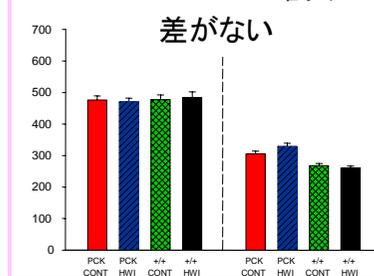
A. 腎体重比(% BW)

雄ラット 雌ラット



B. 体重 (g)

雄ラット 雌ラット

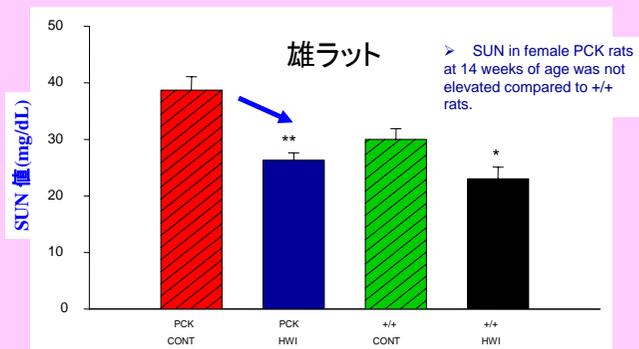


Fujita Health University

CAMHD

52

腎機能がすでに低下している雄ラットで、腎機能の指標であるSUN 値(mg/dL)の改善が認められた。

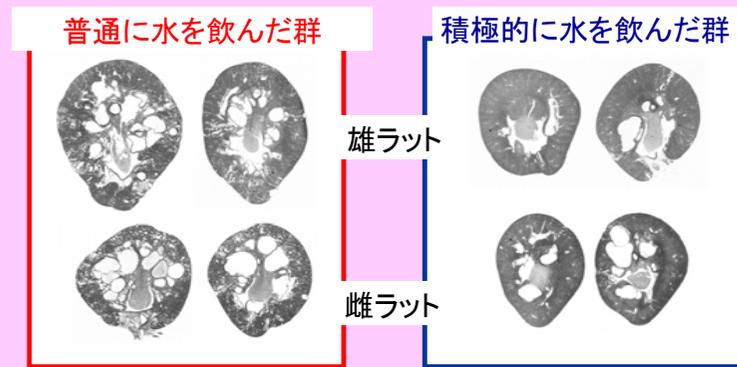


Fujita Health University

CAMHD

53

腎臓組織では、囊胞の発生が抑制され、

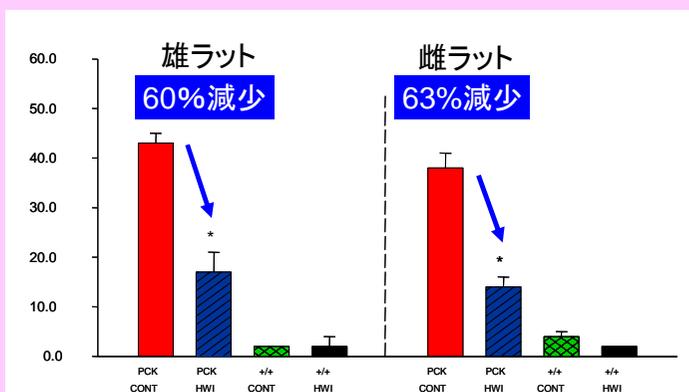


Fujita Health University

CAMHD

54

細胞増殖の指標であるPCNA陽性細胞数も、雌雄ラット共に減少した。



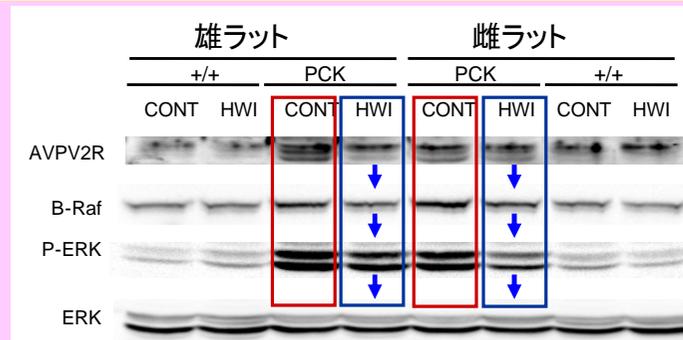
Analysis was performed on tissue sections collected from all regions of the kidney

Fujita Health University

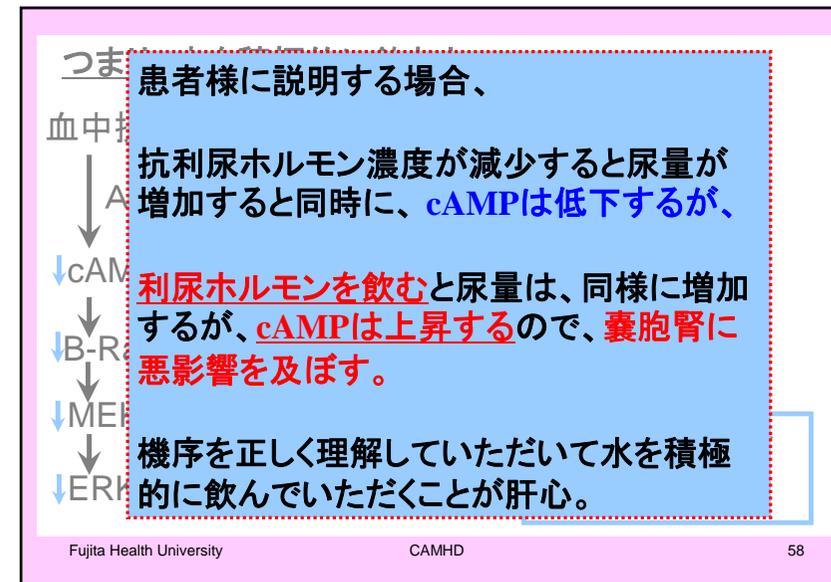
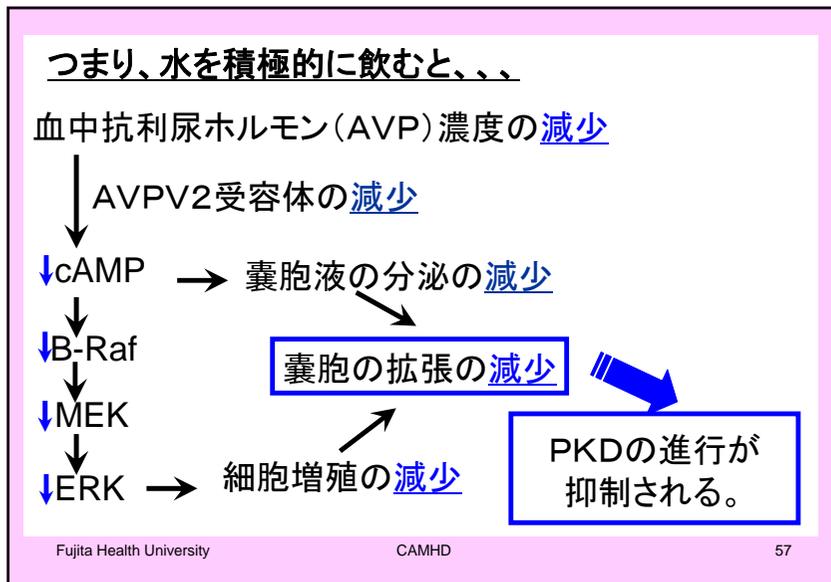
CAMHD

55

Western Blot解析によって、AVPV2R、B-RafおよびP-ERKの発現の減少を確認した。



これらのことは、積極的に水を飲むことによって、B-Rafが関与するERK細胞情報伝達系が抑制されることを示す。



本成果報告会では総括して以下の3点について簡単に報告。

(Q1) 嚢胞腎の上皮細胞では、どんな異常が起こっているのか？
 (A1) **cAMP/PKA/B-Raf/MEK/ERK**という異常な情報伝達系が出現する。
KI 2003 ADPKD初代培養細胞 KI 2003 Cyラット

(Q2) 他に病気の進行を悪化させる細胞情報伝達系がある？
 (A2) 視床下部/下垂体から産生される刺激ホルモンによって分泌される**アンドロゲン(テストステロン)の受容体を介する細胞情報伝達系が関与する。**
JASN 2005 Cyラット AR

(Q3) 嚢胞腎の悪化は抑えられるのか？
 (A3) 視床下部から分泌される**内在性抗利尿ホルモンの分泌を抑制すれば、病態の悪化を抑制**できる。
JASN 2006 PCKラット HWI Editorial

Fujita Health University CAMHD 59

ハイテクフロンティアで整備されたSPF飼育室の運用状況

疾患モデル教育研究センター

Fujita Health University CAMHD 60

文部科学省
 ハイテク・リサーチ・センター整備事業
 の支援によって1997年に
 SPF飼育室が設置され、
 研究活動に活用されている。

SPF飼育室で維持されている遺伝子改変動物

TGマウス……27系統

KOマウス……13系統

2002年から2005年の疾患モデル教育研究センターを
 利用して報告された脳神経系業績は、
 インパクト係数3以上が18編、総数が45編であった。

疾患モデル教育研究センターを利用した脳神経系業績一覧	
Journal name	No.
Journal of Neuroscience	3
Journal of Biological Chemistry.	1
STROKE	1
Journal of Neurochemistry	3
Genes to Cells	1
European Journal of Neuroscience	1
Neuroscience	1
Journal of Neuroendocrinology	2
Journal of Neuroscience Research	3
Mechanisms of development	1
Developmental dynamics	1
Impact factor 3<	18
Impact factor 3> 1<	19
Impact factor 1>	8
Total	45



詳細は、利用者の協力を得て、
 紀要2005にまとめた。

SPF飼育室の利用希望者は多いので、

「本学にしか種動物がいない」か
「再度入手することが困難である」という
マウスを飼育する場合と限定した。

(SPF飼育室を利用できない場合は、
別に定めた専用の飼育室を利用。)

SPF飼育室の運用に当たっては、

「特に指定された微生物・寄生虫のいない動物」
を飼育するので、以下の5つに関する厳格な管理
が重要。

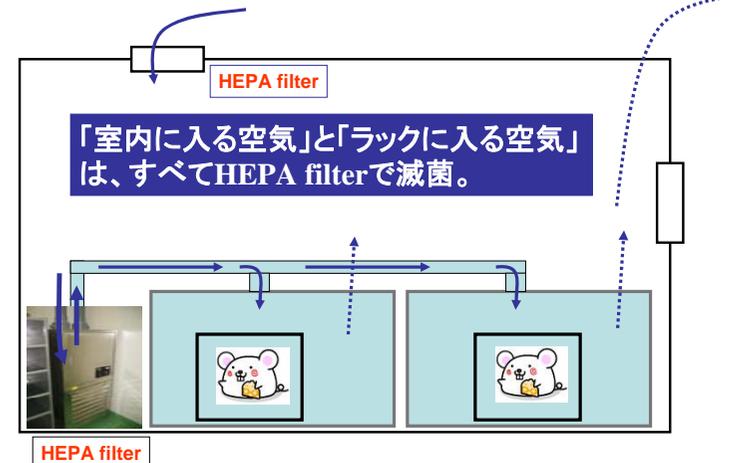
- (1) ヒトの出入りの管理
- (2) 空気の管理
- (3) 水の管理
- (4) 飼育機材(ケージ、ふた、給水ビン)の管理
- (5) 排気と搬出

(1) ヒトの出入りの管理



入室は特定の教育訓練を受けた者だけに限定。
指定の白衣を着用。
エアシャワーを浴びて入室。

(2) 空気の管理



(3) 水の管理



給水ビンで与える飲水は滅菌した水とする。

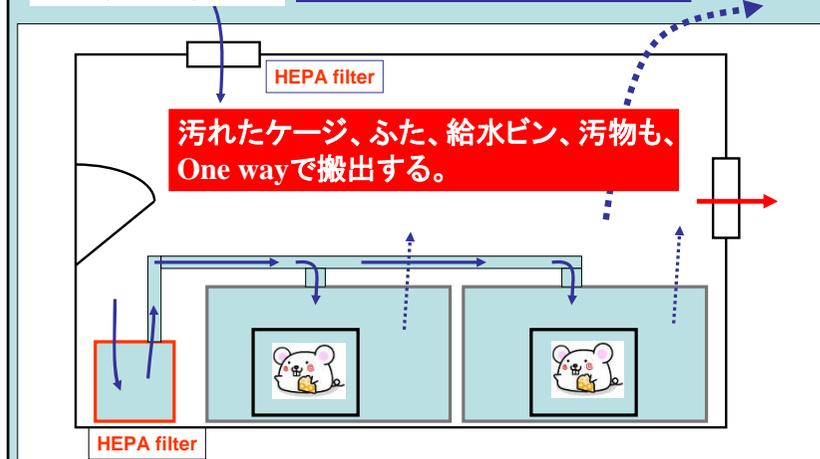
(4) 飼育機材(ケージ、ふた、給水ビン)の管理



飼育機材(ケージ、ふた、給水ビン)はすべてEOG滅菌する。

(5) 排気と搬出

空気は、One wayで排気する。



SPF飼育室の厳格な運用管理には、

- (1) 利用者への啓蒙
- (2) 多くの労力
- (3) 多くの消耗品
- (4) 大型機器のメンテナンス

が必要。

ハイテクフロンティアで整備された**SPF飼育室**は、厳格な運用管理や維持経費がかかる施設ではあるが、**利用状況や業績を鑑み、十分有益に活用されている**と考える。