

## 平成 23 年度日本獣医生命科学大学若手研究者研究支援経費 (研究成果報告書)

### 1. 骨髄単核細胞自家移植を用いた 脊髄再生治療法の獣医臨床開発

研究代表者 獣医学部獣医学科

獣医外科学教室 講師 原田恭治

#### 研究実績の概要

我々は、骨髄由来間葉系幹細胞などを用いた脊髄再生に関する臨床研究を 2003 年より実施してきた。交通事故を原因とする脊髄損傷症例に対して自家骨髄由来間葉系幹細胞の移植術を用いた検討では、術後回復の兆候や程度が症例ごとにさまざまな結果を示し、治療効果を十分に評価することが難しかった。脊髄損傷の程度や移植時期を統一した検討が必要と考え、ミニチュア・ダックスフントの椎間板ヘルニア・グレード 5 (最も重症なカテゴリ) 36 症例を対象とした、自家骨髄単核細胞移植術の臨床試験を実施した。その結果、細胞を移植しなかったコントロール群 (46 症例) の回復率が 56.5% であったのに対して、骨髄単核細胞を移植した群の回復率は 91.6% と有意に高い回復率を示した。犬の椎間板ヘルニア・グレード 5 症例に対する既存の外科的治療の回復率は他の多くの研究者が 50%~60% と報告しているため、自家骨髄単核細胞移植術は同様の疾患に対する新たな治療法として期待できる。本研究の成果は、医学分野からも注目を集め、我々が犬に実施したプロトコールと同様の内容が人症例へも応用され、厚生労働省の治験認可を経て、田附興風会 医学研究所 北野病院における臨床試験が開始された。このような、獣医学から医学への橋渡しとなる研究は世界でも珍しく、重要性が高いものと評価されている。

また、本研究で使用した骨髄単核細胞の一部をサンプルとしてフローサイトメトリーを用いた cell population の検査を行ったところ、造血幹細胞、間質細胞、マクロファージ、リンパ球、血管内皮前駆細胞などを含むヘテロな細胞集団であることが確認された。さらに、RT-PCR 法を用いた生化学的検査により、移植した骨髄単核細胞中に発現する HGF の mRNA が高値を示した。これらの結果から、脊髄損傷部へ移植された骨髄単核細胞は、さまざまな細胞およびそれらが分泌するサイトカインが直接的・間接的に作用し、脊髄の再生および保護効果を示すものと示唆された。

#### 研究発表

[雑誌論文]

Katsutoshi Tamura, Autotransplanting of Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells for Complete Cases of Canine Paraplegia and Loss of Pain Perception, Secondary

to Intervertebral Disc Herniation, *Experimental and Clinical Transplantation*, **3**, 263-272. 2012, doi:10.6002/ect.2011.0151.

Hidetaka Nishida, Safety of Autologous Bone Marrow Stromal Cell Transplantation in Dogs with Acute Spinal Cord Injury, *Veterinary Surgery*, **41**, 437-442. 2012, doi:10.1111/j.1532-950X.2011.00959.x

[学会発表]

田村勝利, M. ダックスフントの胸腰部椎間板ヘルニア症例 (グレード 5) に対する自家骨髄細胞移植の効果 (第 2 報). 第 82 回 獣医麻酔外科学会, 2011 年 6 月, 大宮.

田村勝利, M. ダックスフントの胸腰部椎間板ヘルニア症例 (グレード 5) に対する自家骨髄細胞移植の臨床効果の検討 (第 2 報), 第 152 回 日本獣医学会, 2011 年 9 月, 大阪.

田村勝利, パネルディスカッション: 整形外科領域への再生医療の応用—神経再生—「椎間板ヘルニアを原因とする脊髄損傷に対する骨髄由来細胞移植の脊髄再生医療」, 第 83 回 獣医麻酔外科学会, 2011 年 12 月, 名古屋.

糸井崇将, 葉箸の穿通性外傷により四肢不全麻痺を呈した猫の 1 症例, 第 82 回 獣医麻酔外科学会, 2011 年 6 月, 大宮.

#### 研究内容, 研究成果に関する web ページ

[http://www.kitano-hp.or.jp/section/keisei/kenkyu\\_keisei/index.html](http://www.kitano-hp.or.jp/section/keisei/kenkyu_keisei/index.html)

### 2. フェロモンによる繁殖制御機序, 生殖隔離機構の解明

研究代表者 獣医学部獣医学科

比較動物医学教室 助教 中田友明

#### 研究実績の概要

性フェロモンが動物の繁殖に関わる重要な因子の 1 つであり、その利用によって動物の繁殖、特に希少な野生動物の人為的繁殖計画や、水産・畜産分野における高効率化を図る取り組みが行われ始めています。ただし、その作用機序や、性フェロモン自体の個体差、系統差がいかなる生物学的機序によっているかは未解明の課題であり、今後性フェロモンを効率的に動物繁殖に利用する際に極めて重要な情報であるといえます。代表者は最近、両生類で性行動を直接誘起する性フェロモン (ソデフリン) に、地域変異があり、その差異によって繁殖相手の選択と行動の発現率が大きく影響されることを見出しました。これはフェロモンの分子進化が生殖隔離ひいては種分化の主な原因となり

得ることを示唆する初めてのデータでした。本研究は、性フェロモンによる生殖制御・隔離機構を解明するため、主に以下の3つの研究項目について遂行しました。

A. 性フェロモン受容体の分子生物学的同定と発現調節機構の生理学的解明

受容体の同定を可能にする技術として、生きた神経細胞の神経活動を観察できる設備と、フェロモン受容神経細胞を採取する技術を開発し、現在同定したフェロモン受容細胞中に発現する受容体の解明を進めています。

B. フェロモン作用中枢の神経回路の組織学的、生理学的解明

フェロモン作用中枢を組織化学的に可視化する技術を導入し、フェロモン神経回路と内分泌との関係の上で、エストロゲンとプロラクチンが中心的な役割を担っている事が示唆されました。

C. フェロモン受容機構（受容体発現・フェロモン神経回路）の種間・個体群間での解析

個体群間でみられる、フェロモン作用の差異が感覚細胞レベルでも観察できる事を認めました。これは、種間・地域間でのフェロモン作用の違いに、フェロモン受容体タンパク質とフェロモン分子の共進化が関わっている可能性を示唆するものでした。

#### 研究発表

〔学会発表〕

中田友明, アカハライモリ *Cynops pyrrhogaster* の嗅覚受容体の組織化学的構造, 日本味と匂学会第45回大会, 2011年10月, 金沢.

中田友明, 『アカハライモリにおける2種類の嗅覚受容体の組織構造』, 日本行動神経内分泌研究会/鼻嗅研究会合同集会, 2011年7月, 東京.

Fumiyo Toyoda, Tomoaki Nakada, Involvement of multiple hormones in the newt reproductive behavior, 8<sup>th</sup> International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, 2011年6月, 愛知.

Fumiyo Toyoda, Tomoaki Nakada, 雄イモリ腹腺由来ステロイドの雌誘引作用, 日本動物学会第82回大会, 2011年9月, 北海道.

Fumiyo Toyoda, Tomoaki Nakada, ステロイド性の雌イモリ誘引フェロモン, 第36回日本比較内分泌学会大会, 2011年11月, 東京.

Fumiyo Toyoda, Tomoaki Nakada, Abdominal gland-derived steroids act cooperatively with sodefrin to attract female newt, 第89回日本生理学会, 2012年3月, 長野.

〔図書〕

Abba J. Kastin 監修, Acad Press, Handbook of Biologically Active Peptides, 2012, 近刊.

### 3. 消化管運動機能改善薬（プロキネティクス）の多面的作用の可能性について

研究代表者 獣医学部

獣医保健看護学科 講師 藤澤正彦

#### 研究実績の概要

選択的セロトニン5-HT<sub>4</sub>受容体作動薬（クエン酸モサプリドなど）は消化管運動機能改善薬として知られており、吐き気や胸痛、腹痛など器質的障害を伴わない消化管の不定愁訴を改善する薬として使用されている。一方、代表的な器質的障害として消化管粘膜障害があり、ピロリ菌感染や胃酸過多、NSAID潰瘍などが挙げられる。除菌療法や胃酸分泌コントロールなどが効果を示す一方、「消化管運動機能」を改善することで様々な器質的障害改善に寄与できないか？という目的で本研究はスタートした。しかし、同作動薬の胃腸管粘膜障害に対する予防・治療効果の有無についての報告は少ない。研究代表者らは過去に、①5-HT<sub>4</sub>受容体介在性のNSAID誘発性潰瘍軽減効果を確認（藤澤ら, 2010）、②5-HT<sub>4</sub>受容体介在性の抗炎症作用（腸閉塞モデル）を確認（土田ら, 2011）しているが、粘膜、神経、リンパ系、筋層など腸という複雑系の中での同作動薬の役割は多岐にわたるものと考えられる。今回、我々は以下の2つの知見を得た。すなわち、①NSAID（インドメタシン, IM）誘発性胃潰瘍において、低用量のクエン酸モサプリド（Mos, 0.03mg/kg）を混合経口投与し、8時間後の胃潰瘍面積を測定したところIM単独投与群と比較して有意に減少、潰瘍予防効果が確認された。②システアミン（Cys）誘発性十二指腸潰瘍モデルにおいて、Mos投与により潰瘍予防効果ではなく、潰瘍治療促進効果が確認された。現在、二つの粘膜障害モデルにおいて、5-HT<sub>4</sub>受容体刺激による局所での抗炎症作用の有無や消化管運動機能とのバランスなど、胃腸管粘膜防御・修復機構に対する同作動薬の関連の詳細について考察している。

#### 研究発表

〔雑誌論文〕

Tsuchida, Y, Hatao, F, Fujisawa, M, Murata, T, Kaminishi, M, Seto, Y, Hori, M, Ozaki, H., Neuronal stimulation with 5-hydroxytryptamine 4 receptor induces anti-inflammatory actions via  $\alpha$ 7nACh receptors on muscularis macrophages associated with postoperative ileus, GUT, **60**, 638–647, 2011, doi:10.1136/gut.2010.227546

〔学会発表〕

井上亜耶, 藤澤正彦, 河村裕樹, 袴田陽二, セロトニン5HT<sub>4</sub>受容体刺激による十二指腸潰瘍治療効果の可能性について, 第1回動物保健看護系大学協会学術発表会, 平成24年3月4日, 日本獣医生命科学大学.

研究内容, 研究成果に関する web ページ

<http://tlo.nms.ac.jp/researcher/1553.html>

#### 4. 野生・希少小型動物種の凍結生殖細胞からの 個体作出に関する研究

研究代表者 応用生命科学部動物科学科  
動物生殖学教室 講師 岡田幸之助

##### 研究実績の概要

これまで実験動物（マウス・ラット）で発展してきた精子凍結保存技術をハタネズミ属（ユーラシアハタネズミ、ロシアハタネズミ、ホンドハタネズミ）に応用して、ハタネズミ属における精子凍結保存法の確立を目的とした。また、凍結精子の個体への発生能を確認するため、最も動物に対するストレスが低いと考えられる外科的人工授精法（子宮頸管経由法）を用い、凍結-融解精子を子宮角内へ移植して産仔作出を試みた。

精子運動性、生存性、精子核の損傷レベル、および卵活性化能から評価した場合、過去に調べたユーラシアハタネズミとホンドハタネズミと同様に、ロシアハタネズミ精子の凍結保存においてもマウス精子の手法が有効であることが示された。最終的に3種のハタネズミ属で精子凍結保存の可能性を示せたことから、準絶滅危惧種を含む同属の種においても十分適用できると考えられる。この結果は、動物遺伝資源としてのハタネズミ属の種保存の一つの道を切り開くこととなる。

次に、本属の精子凍結保存技術をさらに確固たるものにするべく、ホンドハタネズミにおいて凍結-融解精子からの産仔作出を試みた。新鮮精子を用いて人工授精した場合、自然交配と遜色ない割合で仔を得られることが示された。次に凍結-融解精子を移植したところ、産仔作出に成功したが、産仔数は新鮮精子と比べて低かった。この原因として、凍結-融解精子の運動性の低さが第一の要因としてあげられる。このため、1) 凍結保護剤の改良が必要、2) 凍結-融解精子の運動性をできる限り回復させる処理が必要、といった課題が浮かび上がった。

今後、前述の問題を解決しつつ、ユーラシアハタネズミとロシアハタネズミにおいても、凍結-融解精子からの産仔作出を試み、作出産仔数の上昇を目指していく。

##### 研究発表

[学会発表]

影山敦子, 佐藤香織, 小野寺信, 牛島 仁, 岡田幸之助, ロシアハタネズミ (*Microtus rossiaemeridionalis*) 精子の凍結-融解後の DNA 損傷レベルおよび卵活性化能, 第 104 回日本繁殖生物学会大会, 2011 年 9 月, 岩手県盛岡市.

#### 5. ラクトフェリンの酸性ホスファターゼ活性に 着目した細胞内シグナリングの解明

研究代表者 応用生命科学部食品科学科  
乳肉利用学教室 講師 三浦孝之

##### 研究実績の概要

申請者はナチュラルチーズの熟成に関わる研究の中で、乳中の微量タンパク質であるラクトフェリン (LF) が酸性ホスファターゼ (AcP) 活性を有する事を発見・報告した。LF は、「抗菌性」や「抗ウイルス性」など幅広い機能性を有する乳中の成分として健康食品や医療への応用など様々な分野で注目されているが、その多機能性ゆえにどのような作用機作が働いているかは明らかにされてない。申請者は上述した LF の AcP 活性が LF の多機能性の一部に関与すると考え、本研究テーマを立案した。

LF に関する研究は進展が目覚ましく、近年では原料乳から調製した精製ラクトフェリンに微量のラクトフェリン結合タンパク質が共存している可能性が指摘されるようになった。例えば、既に共存タンパク質として同定されている RNase はリン酸エステル結合を解離させる働きを持つことから、これらの分子があたかも酸性ホスファターゼ活性として振る舞う可能性が考えられる。したがって、本研究では研究計画を確実に実行するため、高速液体クロマトグラフィーシステムを用い、生乳から精製したラクトフェリンおよび市販ラクトフェリン試薬に AcP 活性分子が共存しているかどうかを検討した。

ウシ乳由来の精製 LF 画分から複数のクロマトグラフィーによって AcP 分子を精製したところ精製度 90704 倍に達する高純度精製に成功した。該当する AcP 分子の N 末端アミノ酸配列を調べたところ AAAAATTPAPML-RFFAVDI の配列を得た。この配列 (19 残基) はホモロジー検索によってウテロフェリン様タンパク質と 83% の相同性を示すことが示された。

ウテロフェリンは豚子宮内分泌液から単離され、酒石酸耐性型ホスファターゼ (TRAP) に属するタンパク質として同定された分子である。ウテロフェリンの酵素特性の多くは申請者が示してきた実験結果と一致していることから、生乳中の主要 AcP 分子は LF ではなく TRAP ファミリーに属する新たな分子である可能性を示した。この成果を国際誌に報告するとともに引き続き LF と新規に発見した AcP との関わりについて研究を継続している。

##### 研究発表

[雑誌論文]

S. Yamaguchi, T. Miura, A. Baba, R. Akuzawa, One milk acid phosphatase completely separates from the purified lactoferrin fraction, and belongs to the mammalian purple acid phosphatase (PAP) family, **23**, 86-90. 2012.

**第 27 回 日本獣医生命科学大学学術交流会**  
(平成 23 年 9 月 17 日)

**特 別 講 演**

1. 犬の肥満細胞腫に対する分子標的療法  
盆子原誠 (日獣大・獣医学科 獣医臨床病理学教室・准教授)
2. 国産山羊産品の需要検証と市場開発及び生産システムの構築に関する研究  
小澤壯行 (日獣大・動物科学科 システム経営学教室・准教授)

特別講演

犬の肥満細胞腫に対する分子標的療法

盆子原誠

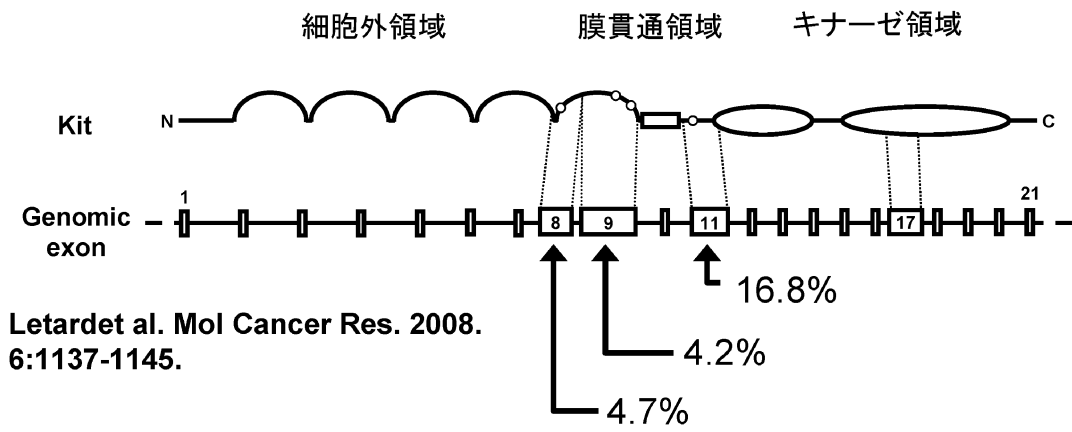
(日獣大・獣医学科 獣医臨床病理学教室 准教授)

【要約】 KIT 蛋白は c-kit 遺伝子にコードされる膜型のチロシンキナーゼ受容体であり，幹細胞因子（SCF）の結合によりチロシンのリン酸化を介して肥満細胞の分化・増殖を誘導する。犬の肥満細胞腫では c-kit に変異を有していることがあり，この変異 c-kit から作り出された変異 KIT は SCF の結合なしにチロシンがリン酸化する。この恒常的な KIT のリン酸化すなわち KIT の異常な活性化は特定の肥満細胞腫において腫瘍の発生・増悪機序となっている。イマチニブは KIT のチロシンリン酸化を阻害する分子標的薬であり，異常に活性化した KIT を抑制することで抗腫瘍効果を現す。このシンポジウムでは，KIT 変異と肥満細胞腫の発生機構について概説し，イマチニブによる治療を実施した症例について紹介する。

【分子標的薬イマチニブとは】 分子標的薬とは，癌の発生原因となった変異分子あるいは癌細胞の増殖の鍵となる物質を選択的に阻害したり，癌細胞が持つ特有の分子を標的

として攻撃したりする薬の総称である。分子標的薬は腫瘍細胞に対して選択性を有することから，治療において高い抗腫瘍効果と低い副作用が期待されている。分子標的薬の標的分子は，主にチロシンキナーゼ型受容体や細胞表面分子であり，標的分子を攻撃する物質としては低分子化合物やモノクローナル抗体などがある。モノクローナル抗体はヒト化抗体であるため動物への適用は難しいが，低分子化合物は動物への適用が可能である。イマチニブはチロシンキナーゼ型受容体を阻害する低分子化合物型分子標的薬の代表的存在であり，人において慢性骨髄性白血病（CML）や消化管間質腫瘍（GIST）などの治療成績を飛躍的に向上させた。現在では CML や GIST をはじめ，いくつかの腫瘍で標準的治療薬として用いられている。

【イマチニブの作用機構】 イマチニブは人の CML の治療薬として開発された薬である。CML では染色体の間で相互転座が起こり，フィラデルフィア染色体と呼ばれる特殊



グレード	Downing et al.			Webster et al.			Zemke et al.			頻度 (%) (ITD+Del)
	n	ITD (+)	頻度 (%)	n	ITD (+)	頻度 (%)	n	ITD (+)	Del (+)	
I	11	1	(9)	8	0	(0)	24	0	0	(0)
II	77	42	(55)	45	4	(9)	58	4	4	(14)
III	17	9	(53)	7	5	(71)	6	4	0	(67)

ITD: エクソン11重複配列挿入変異, Del: エクソン11欠失変異

な染色体の形成が見られる。そこから作られるタンパク質はBCR/ABLと呼ばれ、恒常的なチロシンキナーゼ活性を有し、これがCMLの発生メカニズムと考えられている。イマチニブは、このBCR/ABLのチロシンキナーゼを選択的に阻害する低分子化合物として開発され、CML患者で劇的に治療成績を上げた。また、イマチニブは人のGISTにおいても高い抗腫瘍効果を示す。CMLと異なり、GISTではKITがイマチニブの標的分子となる。KITはc-kit遺伝子にコードされるIII型のチロシンキナーゼ受容体で、幹細胞因子(SCF)の結合により、二量体を形成し、チロシンのリン酸化を介して細胞の分化・増殖などを誘導する。正常なKITはSCFの結合により、はじめてチロシンのリン酸化が引き起こされる。GISTでは、しばしばc-kitエクソン11に変異が発生しており、これによりKITの細胞膜近傍領域のアミノ酸配列が変化し、SCFの結合なしにチロシンのリン酸化が起こる。この恒常的な自己リン酸化、すなわち細胞増殖シグナルの恒常的な伝達が細胞の腫瘍性増殖を引き起こすと考えられている。GISTにおいて、イマチニブはKITのATP結合部位(ATPポケット)に入り込み、ATPの結合を阻害することでリン酸化を抑制する。これにより増殖シグナルが絶たれ、標的細胞は増殖が停止し細胞死が引き起こされる。

【肥満細胞腫とc-kit変異】Letardら<sup>1)</sup>の報告では、犬の肥満細胞腫191頭中、26.3%の症例で変異が認められている。変異のタイプは様々であるが、c-kitエクソン11(16.8%)に好発し、ついでエクソン8(4.7%)およびエクソン

9(4.2%)で認められる。これらの変異は人のGISTと同様にKITの恒常的な自己リン酸化を引き起こすことが示されており、いずれも腫瘍細胞増殖の重要なメカニズムと考えられている。

c-kitエクソン11の変異と組織グレードの関連についてはいくつかの論文で検討されている<sup>2),3),4)</sup>。いずれの論文でも検査に用いたグレードIIIの症例数は少ないが、これらの報告からグレードが高くなる程c-kitの変異を有している割合が多いと考えられる。一方、グレードIではほとんどの場合、変異を有していないと考えられる。

【犬の肥満細胞腫におけるイマチニブの効果】肥満細胞腫の犬21症例にイマチニブ(10mg/kg SID)を投与し、腫瘍の反応を評価した<sup>5)</sup>。21症例中、10症例でイマチニブの投与により腫瘍の著しい縮小が認められ(CRあるいはPR)、11症例では明らかな効果は見られなかった。21症例中、c-kitエクソン11の変異は5症例で検出された。これら変異を有する5症例では、5症例すべてで効果が見られた。

また、興味深い事に変異が認められなかった16症例中5症例においても、変異が見られた症例と同様に腫瘍の縮小が認められた。以上の結果から、c-kitに変異が見られる場合はイマチニブの効果が期待できると考えられる。また、c-kitの変異が検出されない症例でもイマチニブの効果が見られる場合があり、これらの症例では他のリン酸化亢進を引き起こす異常があると考えられる。さらに近年、c-kitエクソン8およびエクソン9<sup>6)</sup>に変異を有する症例そ

Patients and responses to imatinib mesylate

Case	Tumor Size <sup>a</sup> (cm)	Location	Multiplicity	Histologic Grade	Lymph Node		Prior Treatment/s	Exon 11 ITD Mutation	Response	
					Metastasis	Mastocytemia <sup>b</sup>			Day 7	Day 14
1	1.2	E	S	II	-	-	Surgery/VBL/CCNU/prednisolone	Y	-	CR
2	6.1	T	M	III	N	N	Surgery	Y	PR	PR
3	23.5	N/T/I	M	C	Y	N	ND	Y	PR	PR
4	12.2	T	S	II	Y	N	Surgery/VBL/prednisolone	Y	PR	PR
5	6.0	T	S	C	Y	-	Prednisolone	Y	-	PR
6	7.2	N/T/E	M	C	Y	Y	ND	N	PR	PR
7	9.1	T/I	M	II	Y	-	Surgery/prednisolone	N	-	PR
8	10.5	N	M	III	Y	Y	Surgery/prednisolone	N	PR	PR
9	2.5	T/E	M	II	-	N	ND	N	PR	PR
10	19.8	H	S	C	Y	N	ND	N	PR	PR
11	8.0	N/E	M	C	Y	Y	ND	N	SD	SD
12	25.3	T/I/E	M	C	Y	Y	Surgery	N	SD	-
13	4.0	N	S	II	Y	N	Surgery	N	SD	-
14	5.4	N/T/E	M	II	Y	N	Surgery	N	PD	-
15	8.7	T/I/E	M	C	-	Y	Surgery	N	PD	PD
16	2.5	H	M	III	Y	Y	Surgery	N	SD	-
17	1.0	N	S	C	-	N	ND	N	SD	-
18	4.7	E	M	C	Y	N	ND	N	SD	-
19	2.0	E	S	II	N	N	ND	N	SD	SD
20	7.5	T/E	M	C	Y	N	ND	N	SD	SD
21	9.0	T	S	C	N	N	ND	N	SD	SD

f, female; m, male; H, head; N, neck; T, trunk; I, inguinal region; E, extremity; S, solitary; M, multiple; C, cytology; Y, yes; N, no; -, not examined; VBL, vinblastine; CCNU, lomustine; ND, not done; Y, yes; N, no; CR, complete remission; PR, partial remission; SD, stable disease; PD, progressive disease; -, not examined; ND, not done.

<sup>a</sup> Sum of the longest diameters.

<sup>b</sup> Examined by buffy coat analysis.

れぞれ1症例においてイマチニブの効果が見られた。このことから、これらの変異を有する場合においてもイマチニブは有益ではないかと考えられた。

【イマチニブに対する耐性】肥満細胞腫のイマチニブに対する耐性に関しては、今のところまとまった報告はなされていない。イマチニブによる治療過程において耐性を経験することは多く、犬では治療初期に顕著な効果を現すが1ヶ月程度で耐性が見られることもある。人のGISTではc-kitの二次変異が耐性獲得の主要なメカニズムであることが知られているが、犬および猫の肥満細胞腫におけるイマチニブ耐性獲得のメカニズムは今のところ不明である。これまで二次変異の存在を検索したが、少なくとも我々が調べた範囲では二次変異は見つかっていない。今後、耐性獲得メカニズムの解明が必要と考えられる。また耐性の獲得をできるだけ避け、さらに治療効果を向上させる上でも他の抗癌剤と組み合わせた多剤併用プロトコールを確立することが重要と考えられる。

#### 【引用文献】

- 1) LETARD, S., YANG, Y., HANSENS, K., et al. Gain-of-function mutations in the extracellular domain of KIT are common in canine mast cell tumors. *Mol Cancer Res.* **6** : 1137-1145, 2008.
- 2) DOWNING, S., CHIEN, M.B., KASS, P.H., et al. Prevalence and importance of internal tandem duplications in exons 11 and 12 of c-kit in mast cell tumors of dogs. *Am J Vet Res.* **63** : 1718-1723, 2002.
- 3) WEBSTER, J.D., YUZHASIYAN-GURKAN, V., KANEENE, J.B., et al. The role of c-KIT in tumorigenesis: evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia* **8** : 104-1011, 2006.
- 4) ZEMKE, D., YAMINI, B., YUZHASIYAN-GURKAN, V. Mutations in the juxtamembrane domain of c-KIT are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Vet Pathol.* **39** : 529-535, 2002.
- 5) ISOTANI, M., ISHIDA, N., TOMINAGA, M., et al. Effect of tyrosine kinase inhibition by imatinib mesylate on mast cell tumors in dogs. *J Vet Intern Med.* **22** : 985-988, 2008.
- 6) YAMADA, O., KOBAYASHI, M., SUGISAKI, O., et al. Imatinib elicited a favorable response in a dog with a mast cell tumor carrying a c-kit c.1523A>T mutation via suppression of constitutive KIT activation. *Vet Immunol Immunopathol.* 2011 in press.

## 国産山羊産品の需要検証と市場開発及び生産システムの構築に関する研究

小澤壯行

(日獣大・動物科学科 システム経営学教室 准教授)

【はじめに】手元に一冊の古ぼけた本がある。その背表紙には「山羊詳説」(村上榮著, 養賢堂刊)と煤けた金文字で記されている。昭和16年(1941年)11月、ちょうど太平洋戦争開始の一ヶ月前に刊行されたこの書籍の巻頭言に、7年間に亘る本研究の端緒がある。

平成14年の夏休みにふと開いたこの本の序言には次のような記述があった。『乳用山羊の飼育の盛んなこと全国の双壁と言われる長野、群馬の両県の実情に付て観るに山羊は他の家畜が農業用家畜として飼育せられるのとは異なって、従来主として養蚕地方又は山村に於ける栄養、保健の為という見地から、農家の自覚に基づいて自発的に飼育して来たものである。即ち山羊乳は農山村に於ける育児用として、また一般人の栄養補給用として欠くべからざる必需品となっておるのであって、この事実は正に農山村の生活やその保健衛生等を論ずるものにとって厚生上見落とすことのできない事柄であると思う』(著者注:本文は旧仮名遣い)。若干冗長な引用であったが村上が記すように、

今を遡ること60有余年前の戦前・戦中期日本における山羊飼養は「盛況」であり、それは「農家の自覚に基づいて自発的に」飼育された家畜であったことがわかる。さらに栄養補給用物資として「欠くべからざる必需品」であり、このことは「厚生上見落とすことができない」事実であることも指摘している。まさに当時の日本人の貴重な動物性蛋白質供給源として、山羊が食料生産に占める地位は今からすれば隔世の感があることに驚愕した。そしてこの本との出会いが筆者を、連続2回、6年間に亘る科研費受給「山羊産品の生産システム確立に関する実証的研究」と「乳用山羊飼育は定着するか?—山羊ミルク生産システムの実証的研究—」へと導くこととなる。

さて、全国40万haにも上る耕作放棄地の解消および食料自給率の向上には、喫緊の対策を講じる必要がある。この点に関しては、飼料自給率向上を柱とした畜産業が大きな役割を担っていることに多言を要しない。

食料・農業・農村白書では、今後のわが国畜産業の展開

方向として『地域の条件や経営実態に応じた多様な経営展開を推進し、生産コストの削減や省力化を図ることが必要』としながら『具体的には、耕作放棄地や転作田、林地等の放牧による有効活用』が強く示唆されている。

一方、わが国における従来の畜産生産システムでは高度経済成長期に「選択的拡大」の名目の下に急速に展開した乳用牛および肉用牛に代表される大家畜飼育および養豚、養鶏等の中小家畜、家禽飼育がそのメインストリームとなる反面、山羊に代表される農家庭先飼育家畜が衰退する事態を招来した。その結果、わが国畜産は土地と乖離し「加工型畜産」と揶揄されるような状況に陥ってしまっている。農業白書が示唆する『地域の条件や経営実態に応じた多様な経営展開』からは大きくかけ離れてしまった実情にあることは否めない。

このような悲惨な状況を打破し、農業白書の目指すところに到達するには、わが国の国土・風土に合致した新しい畜産生産システムの確立とそれに呼応した家畜（山羊）の選択が不可欠である。つまり、現行で個別分散的に営農展開がなされている「新しい」山羊飼養の事例を集積し、同時に未知の分野の基礎研究を固め、両者をシステムとして確立させる方法論と具体的手順の開拓が急務となっている。

このたび筆者は、平成23年梅野信吉賞という本学の誇りある賞を受けることができた。選考・審査にあたられた諸先生方には心から感謝を申し上げたい。同時に本賞の受賞は私の人生において大きな喜びでもある。本学においてこの「古くて新しい家畜」である山羊の研究が許され、僅かながらも我が国畜産業に貢献できたことを嬉しく思っている。

以下にはこの間、筆者が手掛けた山羊研究の概要を示した。少しでも読者各位がこの愛すべき家畜に興味を抱いてくださり、参考文献に記した論文にお目通しいただいたら筆者として望外の喜びである。

**【研究の概要】** 山羊はいわゆる「貧者の牛」と称されるように、経済的に発展途上にある地域において牛に代替される家畜として広く飼養されている。わが国においても山羊は戦前および戦後回復期において、農村生活のみならず都市住民においても有用な家畜として重要視されてきた。しかし、その後の専門的畜産経営の展開過程において山羊飼養は過去の遺物的存在とされ、代わって相対的に安価な輸入穀物飼料に支えられたウシ、ブタ、ニワトリを代表される家畜・家禽にその地位を譲って久しい。

しかし、平成の世の中に入って小さな変化が生じつつある。それは山羊飼養の見直しと若干の頭数回復である。この背景には山羊乳の組成が母乳に相似していること及びエ

スニックフードとしての山羊産品需要の高まりがある。しかるにこの動きと相反して、山羊産品の市場化に向けての需要測定と商品開発及びマーケティングに係る実証研究が少ないため、経営確立へ隘路となっている現状がある。

本研究はこの山羊産品の需要開発に係る基礎的な知見を得るとともに、将来的に畜産経営として成立しうるだけの市場性が存在することについて実証的に明らかにした。この一連の研究成果は以下のとおりである。

#### 1) 消費者の山羊産品受容性に関する研究

山羊飼養が畜産経営として確立するには、その主産物たる山羊肉および山羊乳の商品としての需要度を把握することが不可欠である。そこで山羊肉と山羊乳に関してそれぞれの消費者受容性を把握するための調査ならびに官能試験を実施した。

山羊肉に対する消費者（主婦層 n=98）の関心は「家庭消費では一般的ではない未知の食肉であるが、適切な価格および購入機会が提供されれば、購入してみたい」と回答する者が過半であることが示され、潜在的な山羊肉需要の存在が検証された（文献①）。この結果を踏まえて上記主婦層の子弟に該当する20代層（n=172）に対して山羊肉の官能試験を実施したところ、過半の被験者が食味で「普通」以上の評価を下した。さらに部位別では牛肉、豚肉等と同様にヒレ肉、ロース肉、モモ肉の順位で受容度の優位性が示され、山羊肉においてもいわゆる「上位部位」の嗜好性が高いことが示された（文献②）。これに加えて、これら被験者へのアンケート実施と都内に営業する全ての沖縄料理店に対する山羊肉料理販売実績調査結果を精査した結果、1) 未利用資源の利用による山羊肉肥育方法の確立による風味の改善、2) いわゆる日本型食生活に合致した山羊肉を用いた新たなレシピ開発が山羊肉需要を喚起するには必須であることを明らかにした（文献③）。

同様に山羊乳に対する消費者受容性の把握について、いわゆる中産階級世帯（n=275）に対してアンケートを実施したところ、1) 3割の回答者が若齢期に山羊乳の飲用経験があり、2) 山羊乳飲用への関心は高いものの、購買意欲が脆弱であることが示された。これらの結果を踏まえて、山羊乳は牛乳に代替する競合飲料として位置づけるべきでなく、むしろその栄養特性を活かした乳製品へと加工することにより、消費者へ販売訴求すべきであることを提言した（文献④）。

#### 2) 自給飼料給与を基本として製造された国産山羊産品受容性の比較検討

自給飼料基盤の拡充による飼料自給率の向上は喫緊の社会的課題であり、とりわけ山羊飼養において放牧システム導入による経営コスト削減効果は、ニュージーランド酪農



経営との比較において明らかである（文献⑤）。これを踏まえ、山羊製品の作出に係る畜産経営モデル策定においても、我が国畜産形態の代名詞である「加工型畜産形態」と同じ轍を踏まないように配慮することが肝要となる。そこで国産山羊全粉乳をイ）放牧飼養による山羊乳利用、ロ）配合飼料給与による山羊乳利用によるものの2種類を製造した。またこれら国産山羊粉乳と競合関係にあると思慮されるハ）米国産およびニ）ニュージーランド産の市販山羊全粉乳を実験区に、ホ）牛乳を対照区として中産階級主婦層（n=31）に対して官能試験を実施した。その結果、国産山羊粉乳品の嗜好性が有意に低く、とりわけ放牧飼養によるものが、その独特な生草の風味に起因して低い評価を得ることとなった。このことを踏まえると、いわゆる自給飼料（放牧）多給による山羊乳の直接飲用形態による家庭への消費普及は、山羊が生理的に有する臭いと生草給餌に依る風味から困難と言わざるをえず、新たに山羊乳を利用した商品展開の必要性が認められた（文献⑥）。

3) 山羊産品市場開拓に係る製品開発およびマーケティング

前述の1) および2) の結果を踏まえると、山羊産品はその潜在的受容は存在するものの、新たな製品開発とマーケティング手法の確立が必須であることが確認されたことより、新たな製品の一環として、水の代替として山羊乳を使用した石けんを製造し、その受容性および実効性について20代前半女性29名を被験者として試験を行った。その結果、山羊乳配合による皮膚水分含有率への直接的な影響は認められなかったものの、使用感の上昇が認められたため、山羊産品製造開発の一助として石けんが有効であることの方向性が示唆された（文献⑦）。さらに新たな山羊乳製品としてミルクジャムを製造開発し、これを官能試験に供したところ（n=394）、市販の牛ミルクジャムよりも有意に評価が劣ったものの、被験者の7割以上が山羊ミルクジャムの総合評価に「普通」以上と下していることから、今後山羊ミルクジャムの商品化が十分に実効性を有するものであることが示唆された（文献⑧）。その際、山羊乳が有する栄養成分の優位性を十分告知することが、消費者の受容意識を醸成させることも明らかにした（文献⑨）。また山羊肉に関しては、名称を「シェパード・ミート」として商品展開することを提言した。実際に沖縄県下では同名称の利用による山羊肉の流通が広範に行われている（文献⑩）。

以上、梅野信吉賞受賞対象となったこれら一連の研究成実は、全国に点在し次第にその数を増やしつつある山羊飼養者が、従来の「余暇副業的山羊飼養者」から「専門的畜産経営者」として転換する道筋を示唆するものである。今

後の山羊飼養の広がりが待たれてならない。

【謝辞】本研究の遂行にあたっては、本邦で唯一の山羊飼養研究機関である独立行政法人家畜改良センター茨城牧場長野支場の関係者に心から御礼を申し上げます。皆様のお力添えなしには何一つ研究を進めることができませんでした。さらに本学とも学術提携関係にあるニュージーランド・マッセイ大学のHugh Blair教授、Nicolas Villalobos-Villalobos准教授には、山羊飼養先進国の立場から貴重なご助言と英文校閲を頂きました。また何よりも山羊研究をテーマとして取り上げ、種々の研究協力、アドバイスをくださった西谷次郎先生および当教室の素敵で優秀な学生諸君に衷心より感謝します。

#### 【参考文献】

- ① OZAWA, T., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2004. A survey of goat meat acceptability in Japan. *The Proceedings of New Zealand Society of Animal Production* **64**, 208-211.
- ② OZAWA, T., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2005. Is goat meat acceptable to Japanese youth? The first goat meat taste survey in Japan. *The Proceedings of New Zealand Society of Animal Production* **65**, 256-260.
- ③ OZAWA, T., NISHITANI, J., ODAKE, S., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2005. Goat meat acceptance in Japan : Current situation and future prospects. *Animal Science Journal* **76** (4), 305-312.
- ④ OZAWA, T., MUKUDA, K., FUJITA, M., NISHITANI, J. 2009. Goat milk acceptance and promotion methods in Japan—The questionnaire survey to middle class households—. *Animal Science Journal* **80** (2), 212-219.
- ⑤ OZAWA, T., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2005. Dairy farming financial structures in Hokkaido, Japan and New Zealand. *Animal Science Journal* **76** (4), 391-400.
- ⑥ OZAWA, T., TAKADA, R., NISHITANI, J., FUJITA, M., BLAIR, HT. 2010. A comparative analysis of acceptance by Japanese females and price for goat milk from different sources. *Animal Science Journal* **81** (2), 271-275.
- ⑦ 小澤壯行, 田口雄一, 木口怜香, ヒュー・ブレア, 藤田 優, 西谷次郎. 2007. ヤギ乳石けんの実効性と将来性—乳用ヤギ飼育定着のために—. 関東畜産学会報 **第58巻1号**, 1-6.

- ⑧ 小澤壯行, 平井智恵, LOPEZ-VILLALOBOS, N., 西谷次郎. 2010. 山羊ミルクジャムの試作と受容性—新たな山羊産品による需要開発—. 日本畜産学会報 **第81巻 第2号**, 199-205.
- ⑨ OZAWA, T., NISHITANI, J., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2008. The Acceptability of Goat Milk to Young Japanese Adults. *Journal of Applied Animal Research* **33**, 113-116.
- ⑩ OZAWA, T., LOPEZ-VILLALOBOS, N., BLAIR, HT. 2006. “Chevre meat” (goat meat) impressions and taste responses by Japanese. *The Proceedings of New Zealand Society of Animal Production* **66**, 360-362.