

平成24年度
愛知県高等学校文化連盟
自然科学専門部講習会

医学、生命科学領域において
用いられる実験動物としての
マウスについて学ぼう！

実験動物の役割

藤田保健衛生大学
疾患モデル教育研究センター
長尾静子(枝澄香)

1

実験動物の定義

研究、試験、教育、製造に重要であるとして
その目的のために飼育慣らされ
繁殖・生産される動物

実験動物

マウス、ラット、ウサギ等

2

医学、生命科学領域において
実験動物で何を調べることができるか？

生物の解明・・・生物とはいかなるものか？

病因解明・・・どうして病気になるのか？

病態解明・・・どうして病気が悪化するのか？
(遺伝、生活習慣、?)

治療方法の開発・・・どのようにすれば、
治療できるか？(薬、手術、?)

治療方法の確立・・・どのようにすれば、
効果的に治療できるか？

3

実験動物として用いられるマウスは、
古くから愛玩用動物として飼育されていた。



Exp Anim. 2012;61(1):25-33.
Japanese wild mice: a rich resource for new disease models.
Matsushima Y.

4

由来:

欧州系愛玩用マウス
アジア系愛玩用マウス

実験動物として
のマウス

解析方法:

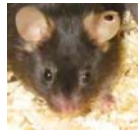
ミトコンドリアDNAの制限酵素多型
マイクロサテライトDNA多型

* 日本固有の愛玩用マウスからも
実験動物としてのマウスの系統が
確立されている。

マウスは、ネズミ科ハツカネズミ属の中の
ハツカネズミ *Mus musculus* (ムス ムスクルス)

5

DBAマウス
最初の近交系として
Jackson研究所で
樹立された。



毛色: Dilute brown (aabbCCdd)

特長・用途

聴性発作を起こしやすい(聴覚試験研究)
赤血球数が多い
比較的低血圧
心臓の石灰沈着が見られる

6

実験動物としてのマウスは、
系統(strain)と呼ばれる名前が付いている

C57BL/6



Black

マウスの全ゲノム
解析に使用された

ICR (CD-1)



Albino

今日、お付き合い
してくれるマウス

マウスの特徴

体重: 20 - 40g 雄 > 雌
体長: 7cm
尾長: 7cm

染色体 2n=40
雑食性、夜行性

性周期 4-6日
妊娠期間 21日 ← 約20日
哺乳期間 21日 ← …ハツカネズミ
寿命 2-2.5年

日本では、ラットも愛玩用動物として飼育されていた。

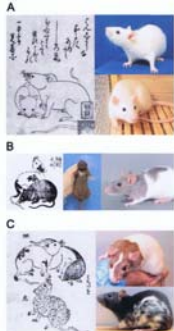
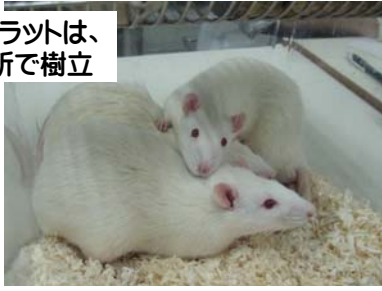


Fig. 2. Newly bred rat that are introduced in Ibaraki on subarctic.
A) Left: Illustration of a black-eyed white with Agouti. It is said that progenitor family shows like a white rat in their home at a corner of pond bank. Upper right: the black-eyed white color can be observed in rat that are heterozygous for the *Agouti* mutation. The 12.9 kb deletion in the proximal 5' region of the rat *Agouti* gene results in defects in balance to pigment differentiation and originates. As a result, melanocytes are not distributed in their follicles (19). Melanocytes in the eye can develop without expressed *Agouti* and the eyes of rat that are heterozygous for the *Agouti* mutation are pigmented. Lower right: the black-eyed white *Agouti* rat is a wonder color that was made based on information contained in Ibaraki's rat-clubhouse. The *Agouti* mutation can control the recessive dominant black eye (*Black eye*) mutation. The *Agouti* mutation is dominant only in the presence of the heterozygous state allele mutation (1). B) Left: Illustration of a spotted rat (red and a black face rat) (Ibaraki). Color of the mouse-shaped white spot, which is like the black face rat, can be observed in a group of *Agouti* and *Black eye* rats. This type of pattern is thought to occur when the multiple genes involved in producing white spots are combined. Therefore, it is difficult to fix the phenotype. Right: *Agouti* mutation that is spreading white spotted mutation. The banded pattern can be realized by selecting in both directions toward more black and/or toward more white (1). Note that the *Agouti* rat controls the grey mutation and dominates the coat color pigmentation in silver rat (2). C) Left: Illustration of a spotted rat (black, cracked ear (right), and blue eye (left)). Upper right: a cracked ear when the white spot increases the height of the ear. This type of rat is found in the Ibaraki rat-clubhouse (Ibaraki) (1). Note the different colors of the eyes. This color may possibly be used as a marker of rat heterozygosity. Lower right: the open coat color pattern is present in descendants of a red and black rat that carries the dominant mutation (8).

Exp Anim. 2011;60(1):1-6.
Yoso-tama-no-kakehashi, the first Japanese guidebook on raising rats.
Kuramoto T.

実験動物としてのラットは、
米国Wistar研究所で樹立



ネズミ科

クマネズミ属

クマネズミ *Rattus rattus* 屋根裏

トブネズミ *Rattus norvegicus* 床下

(ラットウス ノルヴェギクス)

10

ラットの特徴

体重:雄 300-700g

雌 200-400g

体長:20-25cm

尾長:15-20cm

雑食性、夜行性

染色体 2n=42

性周期 4-6日

妊娠期間 21日

哺乳期間 21日

寿命 2-3年

11

動物実験の重要性

結核の診断、予防と治療

結核菌に感染しやすくツベルクリンに
対する反応がヒトに近いモデル

糖尿病の病態解明とその治療

疾患モデル動物を用いて治療方法の開発

1型糖尿病(インシュリン依存型)

2型糖尿病(インシュリン非依存型(抵抗性))

明日の幸せは健康から 実験動物に感謝をこめて
動物実験関係者のための連絡協議会準備委員会編

12

動物実験の重要性

パーキンソン病の病態解明とその治療

実験動物を用いた大脳基底核の
神経ネットワークの解析

がんの病態解明とその治療

がん動物を用いた抗がん剤の開発

明日の幸せは健康から 実験動物に感謝をこめて
動物実験関係者のための連絡協議会準備委員会編

13

動物実験の重要性

脱毛症治療に光

…幹細胞移植で無毛マウスが発毛



読売新聞2012年4月18日から抜粋

14

動物実験の重要性

網膜色素変性症の治療

ウイルスベクター（運び屋）に特定の
遺伝子を組み込んで目に注射する。
動物実験では5年以上効果が続くことが
確認されており、来春から臨床研究。

朝日新聞デジタル 2012年6月31日7時41分

15

動物実験の重要性

ノーベル医学・生理学賞 2012

山中伸弥博士 京都大学iPS細胞研究所

「十分な動物実験なしでいきなり人間というのは、私たちの考えからはあり得ない」。
 さらに「国内でも慎重に安全性、有効性を動物実験で検討してきた。いくつかの病気では、来年くらいから患者にお願いして行う臨床研究が始まるかなという段階だ」と説明した。朝日新聞デジタル 2012年10月13日1時19分

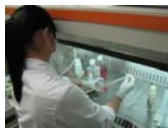
過去に奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センターに在籍

16

iPS細胞の未来：基礎研究から臨床試験へ

人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell)

iPS細胞



iPS細胞の確立
分化、臓器？

前臨床試験



症状の回復
がん化しない

臨床試験



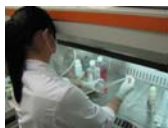
臨床応用

6因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, p53shRNA) プラスミド

17

治療薬の開発：基礎研究から臨床試験へ

培養細胞



メカニズム
スクリーニング

前臨床試験



効果と毒性

臨床試験



臨床応用

18

法律を守って、動物を用いた研究を行う。

- 動物の愛護及び管理に関する法律
- 実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準
- 研究機関における動物実験等の実施に関する基本指針 (文部科学省)
- 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針
- 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン (日本学術会議)

反対意見にも耳を傾け、対応をする。

19

動物の愛護及び管理に関する法律 (2012年改正)

皆さんにとって
身近な出来事としては、



国民が遵守しなければならない法律
ペット
展示動物 (動物園等)
実験動物等
実験動物や動物実験に関しては、
第41条に記載

20

実験動物 (疾患モデル動物) の種類

- 自然発症疾患モデル動物
- 誘発疾患モデル動物
- 遺伝子組換え動物

21

疾患モデル動物の種類
自然発症疾患モデル動物
 ……繁殖・飼育している際に、発見され疾患をもった動物として系統を樹立し維持。

BALB/cマウス → **nu/nu** → ノドマウス BALB/c-**nu/nu**マウス



特長・用途
 免疫学、薬理学の分野
 網内系器官が大きい
 モノクローナル抗体の作製
 毛色: Albino (AAbbcc)

特長・用途
 無胸腺、無毛
 T細胞機能欠如
 ヒト癌細胞の移植

http://www.crj.co.jp/product/domestic12.html http://www.crj.co.jp/product/domestic22.html 22


疾患モデル動物の種類
自然発症疾患モデル動物

正常な腎臓 → **T1841G** → 多発性嚢胞腎

ATCAGGGCAGCCTCATCA TCA TCA T
 85
 イソロイシン

ATCAGGGGAGCAGCATCA TCA TCA T
 セリン

1841番目のT(チミン)がG(グアニン)に

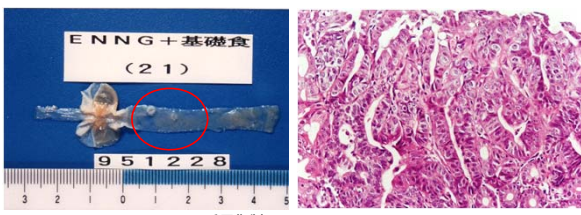


疾患モデル動物の種類
誘発疾患モデル動物
 ……薬剤や手術等により、病気を誘発。

E N N G + 基礎食 (21)

9 5 1 2 2 8

千原作製



疾患モデル動物の種類

遺伝子組換え動物

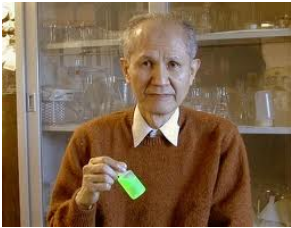
…トランスジェニック動物

(受精卵に外来遺伝子を導入)

25

ノーベル化学賞 2008
下村脩博士

緑色蛍光タンパク質
(GFP; Green Fluorescent Protein)
オワンクラゲから発見

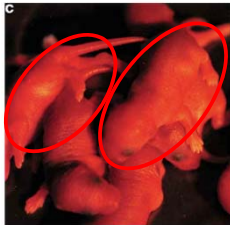


http://48084562.at.webry.info/200908/article_4.html

http://www.47news.jp/feature/topics/2008/10/post_20.html

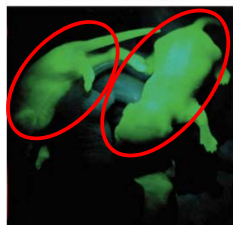
26

M. Okabe et al / FEBS Letters 407 (1997) 313-319



GFPマウス

315



M.Okabe et.al /FEBS Letters 407(1997)313-319

27

疾患モデル動物の種類

遺伝子組換え動物

- … **ノックアウト動物**
(特定の遺伝子を破壊したES細胞を
受精卵(初期胚)に導入)

28

ノーベル医学生理学賞 2007

ジーンターゲットング(相同組換えの応用)
をES細胞に用いることで **ノックアウトマウス**の
作製が可能になった。

相同組換え法の開発



Mario R. Capecchi
カベッキ博士



Oliver Smithies
スミティーズ博士



Martin J. Evans
エヴァンズ博士

<http://www.chem-station.com/chemistnews/2007/10/2007-2.html>

29

ES細胞の樹立

実験動物(疾患モデル動物)

- 自然発症疾患モデル動物
- 誘発疾患モデル動物
- 遺伝子組換え動物

これらの実験動物を用いて、動物実験を行う。

30

動物実験の定義

実験処置によって**動物が示す反応**を観察し、その反応を通して加えた実験処置がヒトにどのような効果をもたらすかを推測することにある。**(外挿)**

動物の反応の**再現性**が重要！

そのためには、実験動物の**遺伝学的統御**と**微生物学的統御**が必要。
動物実験結果は、反復実験において同じ成績が得られなければならない。

31

遺伝学的統御：

分類	定義
近交系	兄妹交配または親子交配を20世代以上継続、確立した系統
クローズドコロニー	5年以上外部から種動物を導入せず、閉鎖集団で繁殖を続けた群
ミュータント系	遺伝子記号で示される遺伝子型を特性とする系統、または選抜淘汰で特定の遺伝形質を維持できる系統
交雑群	2種類の系統間で交配した群

32

微生物学的統御：

SPF動物を使用する。

SPF (Specific Pathogen Free) の定義：

特に**指定された**微生物(細菌、ウイルス等)や寄生虫の**いない**状態

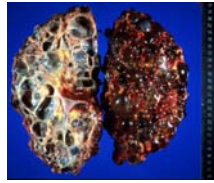
人獣共通感染症や動物が病気になる感染症に罹患していない、きれいな動物

このように、**遺伝学的及び微生物学的統御された**実験動物を用いて、動物実験を行う。

33

応用例

・病態解明



正常腎

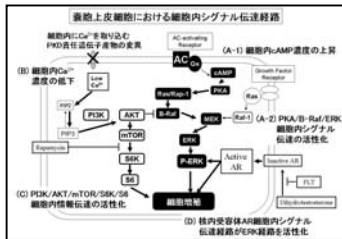


多発性嚢胞腎症: 米国PKD Foundation 公式ホームページより
PKD (polycystic kidney disease)

1000人に1人に発症(ダウン症候群と同程度)
腎臓と肝臓に内液を貯留した嚢胞を多数発症。
臨床症状は、40-50歳に見られることが多い。
治療方法が確立されていない。
患者の半数が腎不全(腎透析、移植)

34

疾患モデル動物を用いて、
多発性嚢胞腎症の病態解明のために、
細胞内シグナル伝達経路を解析する。



臨床応用に寄与する。

35

ClinicalTrials.gov
A service of the U.S. National Institutes of Health

臨床試験 (治験)

CCB Safety Study in Treatment of Hypertension of ADPKD

The recruitment status of this study is unknown because the information has not been verified recently.

Verified October 2007 by Kyoto University
Recruitment status was: Not yet recruiting

Sponsor:
Kyoto University

original article

長尾、西井、吉原
の共同研究

Calcium channel inhibition accelerates polycystic kidney disease progression in the Cy/+ rat

S Nagao^{1,2,6}, K Nishii^{1,6}, D Yoshihara^{1,2}, H Kurahashi¹, K Nagaoka^{3,4}, T Yamashita⁵, H Takahashi¹, T Yamaguchi^{2,5}, JP Calvet² and DP Wallace²

細胞内Ca²⁺濃度の低下はPKDの進行に悪影響を与えるので、強力な降圧剤であるCCBは、PKD患者の病態進行を悪化させる懸念がある。

ClinicalTrials.gov 臨床試験 (治験)
 A service of the U.S. National Institutes of Health

High Water Intake to Slow Progression of Polycystic Kidney Disease

The recruitment status of this study is unknown because the information has not been verified recently.

Verified July 2009 by New York University School of Medicine
 Recruitment status was Active, not recruiting

Sponsor:
 New York University School of Medicine

ClinicalTrials.gov Identifier:
 NCT00784030

First received: October 31, 2008
 Last updated: July 10, 2009
 Last verified: July 2009
 History of Changes

Increased Water Intake Decreases Progression of Polycystic Kidney Disease in the PCK Rat 長尾、西井の共同研究

Shizuko Nagao,¹ Kazuhiro Nishii,² Makoto Katsuyama,¹ Hiroki Kurahashi,³ Tohru Marunouchi,³ Hisahide Takahashi,⁴ and Darren P. Wallace⁵

¹Education and Research Center of Animal Models for Human Diseases, ²Division of Molecular Genetics, and ³Division of Cell Biology, Fujita Health University, Toyoake, Aichi, Japan; ⁴Kidney Institute, University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas; and ⁵Charles River Japan Inc., Atsugi, Kanagawa, Japan

内在性パソプレッシンを抑制すると、PKDの進行を抑制する。

・移植実験
臓器移植

レシピエント (肝線維症で移植を受けるラット)

移植手術完了直後のラット

胆管
 門脈
 肝下部下大静脈

森田施術

ドナーラットから摘出した肝臓

38

・行動解析

Y字型迷路試験

モリス水迷路試験

放射状迷路試験

ロータロッド試験

マウス・ラット実験ノート
 中差高 北田一博 藤本高志 編 羊土社 39

・抗体作製

ウサギから作製されたポリクロナール
マウスから作製されたモノクロナール
(ラットやウサギから作製されたモノクロナール等)

抗原抗体反応による検出

免疫組織染色

Western blot解析

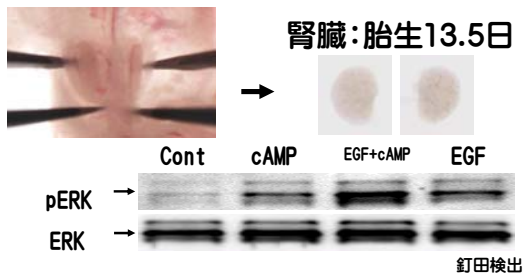
ELISA (酵素結合抗体法)

40

・材料の採取

器官培養:

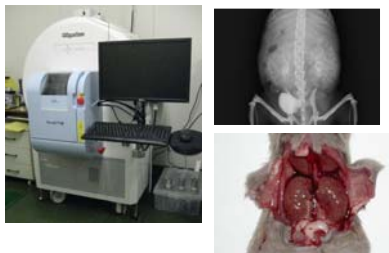
生体から臓器を分離培養する。
臓器そのものの性質や機能を調べる。



釘田検出

・in vivo イメージング
形態イメージング

X線CT (X線コンピュータ断層撮影)



羽根田撮影

42

実験動物や動物実験が果たす役割を
理解した上で、実際にマウスを触って
みましょう！

43
