

ライフサイエンスの展開と実験動物

猪 貴 義

岡山実験動物研究会名誉会員

岡山実験動物研究会創立15周年という記念すべき会にご招待をいただき、発表の機会をいただきましたことは、まことにありがたく、佐藤会長をはじめ関係者に厚くお礼申しあげます。

岡山実験動物研究会は、今より15年前に、岡山大学を中心として、川崎医科大学、岡山理科大学、ノートルダム清心女子大学、(株)林原生物化学研究所、重井医学研究所などの動物実験と実験動物に関係する諸先生方と話し合っ設立した会であります。当時、学部や大学の枠を越えて、お互いの持っている情報を交換し、重要とみられる問題について徹底的に討論し、それぞれの研究の進展をはかることを希っておりました。その後、迂余曲折はありましたが、会は順調に発展を遂げ、現在では特色のある地方研究会として、関係者の注目を集めております。今後、一層の発展を遂げられます様祈念致します。

間もなく21世紀を迎えますが、生命に関する科学は、生物学、医学、薬学、農学、生物工学などの個別科学の境界を越えて、life science、bioscience、biotechnologyなど総合科学技術の時代に入ってきました。

岡山実験動物研究会のように専門を異にする研究者・技術者集団による情報交換と、会員相互による熱心な討論は、今後、ますます重要となり、そこから得られる成果は計り知れないものとみられます。

本日は、1997年7月28日、わが国の科学技術会議が公表した「ライフサイエンスに関する研究開発基本計画について」の資料が手に入りましたので、21世紀に向けて展開されるlife scienceの概要と、life scienceの進展に深い関わりを持つ実験動物について紹介したいと存じます。

今後10年程度を見据えたlife scienceの重要領域と課題

表1は、life scienceに関する研究開発基本計画のうち、「今後10年程度を見据えたlife scienceの重要領域と課題」を整理してまとめたものです。第1には、独創的知見を産み出す基礎科学研究の領域で、1)には、分析的視点に立った研究の重要性があげられています。分析的視点とは、生命現象を分子

レベルで解明することで、例としては、遺伝子、ゲノム、タンパク質の立体構造と機能の解析、応用技術として遺伝子改変動物の作出があげられています。遺伝子改変動物とは、transgenic、gene targeting 等によるDNA組換え利用技術の応用による動物の作出であります。

2)としては、総合的視点に立った研究の重要性があげられています。生物個体における生命現象が分子や細胞の有機的、かつ、階層的な協調・連携のシステムとして理解し解析にあたる必要性のあること、その具体例として、生体分子複合系、免疫系、内分泌系、脳・神経系、生体防御、疾病発症、発生分化、生態系、生物圏等の重要な課題があげられています。

3)としては、情動的視点に立った研究があげられております。具体例としては、分子・細胞・個体・個体群レベルにおける生物情報の解析、生物進化及び生物の多様性についての解明があげられております。情動的視点ではレベルという言葉を用いて、それぞれのレベルに立った分析的研究と、レベルを統合した総合的研究の重要性が指摘されています。

4)としては、ゲノム科学、脳科学、医療技術等の研究推進にとって必要不可欠とみられる先端的な計測・分析技術の開発が重要であることが指摘されています。

第2としては、社会的・経済的ニーズに対応する研究開発の領域として、a)生活者のニーズに対応し、安心して暮らせる潤いのある社会の構築があげられています。

1)として、疾病の克服と健康の維持・増進に関する研究開発があげられ、癌、循環器病疾患等を含む医学、薬学分野の当面する重要課題が示されています。説明を要する項目として新興・再興感染症がありますが、これにはエイズ、エボラ出血熱、狂牛病、O157、世界各国の努力にもかかわらず依然として猛威をふるっているマラリヤ等があげられています。また、薬剤耐性をもった結核菌を含む各種の病原性細菌、ウイルスの再興感染症の研究と対策の必要性があげられています。

薬学に関する分野としては、創薬技術の開発、医薬品、食品、化学物質等の有効性、安全性評価法

表1 ライフサイエンスに関する研究開発基本計画について
(1997年7月28日, 科学技術会議)

今後10年程度を見据えたライフサイエンスの重要領域と課題

1. 独創的な科学的知見を産み出す基礎科学研究の領域
 - 1) 種々の生命現象を、分子レベルで解明する分析的視点に立った研究
例): 遺伝子の探索, 遺伝子改変動物の作出, ゲノム解析, タンパク質の立体構造と機能との相関等
 - 2) 生物個体における生命現象を分子や細胞が有機的, 階層的に協調・連携したシステムと理解し、より高次の統合視点に立った研究
例): 生体分子複合系, 免疫系, 内分泌系, 脳・神経系, 生体防御, 疾病発症, 発生・分化, 生態系, 生物圏等の解析
 - 3) 膨大な生物情報の持つ意義を理解しようとする情報的視点に立った研究
例): 分子・細胞・個体・個体群レベルにおける生物情報の解析, 生物進化及び生物多様性についての解明
 - 4) 先端的な計測・分析技術等の開発に関する研究
例): ゲノム科学, 脳科学, 医療技術等
2. 社会的・経済的ニーズに対応する研究開発の領域
 - a) 生活者のニーズに対応し安心して暮らせる潤いのある社会の構築のために
 - 1) 疾病の克服と健康の維持・増進に関する研究開発
例): 癌, 循環器病疾患, 神経・精神疾患, 自己免疫・アレルギー疾患, 加齢と老化, 新興・再興感染症, 小児難病, 病因遺伝子の解明, 人工臓器・臓器移植, 創薬技術等の開発, 医薬品, 食品, 化学物質等の有効性, 安全性評価法の確立等
 - 2) 人口の少子高齢化に対する研究開発
例): 生理的老化, 病的老化, 老化制御, 機能回復・治療技術, 生殖障害
 - b) 人間と地球・自然との共存と人類社会の維持的発展のために
 - 1) 自然環境の解明とその保全に関する研究開発
例): 生物の多様性の保全, 自然生態系の保全技術, 地球規模の変動が生態系の保全に及ぼす影響
 - 2) 食料の持続的生産に関する研究開発
例): バイオテクノロジーを用いた食料の質的改善や増産技術, 各種動植物のゲノム解析, 動植物の機能の解明とその利用, 環境保全に配慮しつつ持続的生産を可能とする作物・家畜の生産技術
 - c) 経済的フロンティアの拡大と新産業の創出のために
例): ヒトDNAの機能と構造解析の研究開発, 脳機能の理解に基づく情報処理システム, バイオセンサー, バイオマテリアル, バイオマイクロマシン, バイオエレクトロニクス, バイオリアクター等

の確立等があげられています。

2)として、社会問題ともなってきた人口の少子化、高齢化に関する研究開発があげられ、少子化については生殖障害の研究、特に、最近注目を集めている環境ホルモン様物質による生殖障害の解明が指摘されています。老化に関しては、老化を生理的老化と病的老化に区別し、老化制御機構の解明が重要とみられています。

b)として、人間が地球・自然との共存をはかるために、自然環境の解明とその保全に関する研究開発、ならびに、食料の持続的生産に関する研究開発の重要性が指摘されています。この分野は主として、環境科学と農学が荷うものであり、食料生産の具体例として、biotechnologyを用いた増進技術の開発、各種動植物のゲノム解析、機能の解明とその

利用、環境保全に配慮した持続的生産体制の確立が重要であることが指摘されています。

c)として、経済フロンティアの拡大と新産業の創出として、生物のもつ諸機能を有効に活用した新産業の発展に期待が寄せられています。具体例としては、バイオセンサー(探知器)、バイオマテリアル(新素材)、バイオマイクロマシン、バイオエレクトロニクス(電子工学)、バイオリアクター等があげられています。

Life science研究開発の推進方策

次に、「ライフサイエンスに関する研究開発基本計画」において実験動物がどのように位置づけられ、評価されているかについて説明します。

表2 ライフサイエンス研究開発の推進方策

1. 研究開発基盤の整備
 - a) 研究用材料の開発・保存・供給体制の整備・充実
 - 1) 実験動植物
 - 先端的基礎研究に必要な実験動植物の開発・保存・供給が重要
 - 特に、ヒトの疾患モデル動物が重要
 - 2) 生物遺伝資源・遺伝子資源
 - 遺伝学的に特異な生物、生態的に重要な地位を占める生物、国際協力の観点から保存が必要とされる生物の遺伝子資源の保存が重要
 - b) 知的情報交流の拡大とデータベースの整備
2. 産学官連携
3. 国際協力
4. 研究者及び研究支援者の養成と確保
 - 研究者としては、特に、独創的な発想を産み出す若手研究者の養成確保、研究支援者としては、特に、ゲノムの塩基配列の決定、タンパク質の高次構造の決定、大型研究設備の保守・運営、実験動物の開発・維持等を実施する優れた研究支援者の育成と確保が急務
5. 研究開発投資

表2は、「life science研究開発の推進方策」を示したものでありますが、実験動物は研究開発基盤のうち、研究用材料の開発・保存・供給体制の整備・充実の項目にあげられています。すなわち、先端的基礎研究の推進には、優良な実験動植物の開発・保存・供給が重要であり、特にヒト疾患のモデル動物が重要であることが指摘されています。

実験動物は life science 研究にとって、いわば科学的真理を生み出す基盤となるもので、この実験動物の材料が研究にとって不相当であれば、実験結果を誤った結論に導き、研究の進歩・発展を著しく阻害することになってまいります。従って、life scienceの推進にとっては、それぞれの研究目的に適した良質の実験動物の開発・保存・供給という問題が大変重要となってまいります。この課題は、実験動物の開発・生産にあたる研究者が、動物実験を実施する研究者と協力して解決にあたる必要があります。

また、life science研究開発の推進方策の4として、研究者及び研究支援者の養成と確保があげられています。特に、ゲノムの塩基配列の決定、タンパク質の高次構造の決定、大型研究設備の保守・運営、実験動物の開発・維持等を実施する優れた研究支援者の養成と確保が急務であるとしております。

わが国においては、実験動物の開発・維持にあたる優れた研究者、技術者が依然として不足している状況にあり、この問題を解決するための具体的方策が検討されなければならない時期にきております。

ヒト疾患モデル動物の開発

先に述べましたように、life scienceの研究推進にとって、特に、ヒト疾患モデル動物の開発が重要であることがあげられています。後で、国立精神

経センターの菊地建機先生より、ヒト疾患モデル動物について詳細にわたり紹介がありますが、私からは、ヒト疾患モデル動物の開発の概要と具体的例として、私が岡山大学農学部在任中にとりあげた「Alloxan誘発糖尿病の高発症系と低発症系の開発」について説明いたします。

表3は、ヒト疾患モデル動物の開発が重要となってきた背景を示したものです。

第1には、biomedical researchからの要請があげられます。医学は人道上の立場から人体実験が禁止されていますが、もしも、ヒト疾患と類似したモデル動物があれば、このヒト疾患モデル動物を使って、その疾患の原因、発症機構、治療・予防についての究明が可能となり、ヒト疾患モデル動物の果たす役割はきわめて大きくなります。既にDubosは「われわれが注意深く動物を観察すれば、必ずや、ヒト疾患と類似のモデル動物を見つけ出すことが可能である」と述べています。このようにヒト疾患モデル動物の開発はbiomedical researchからの要請が強いことがあげられます。

第2には、新薬の開発の分野における有効性と安全性の評価としてのモデル動物の利用があります。

第3、第4には諸外国において、また、わが国において、1970年代以降に登場してきたlife science、さらに、1980年以降に登場してきたbioscience、biotechnology分野の利用があげられます。

表3 ヒト疾患モデル動物の開発が重要となってきた背景

1. Biomedical researchからの要請
2. 新薬の開発における有効と安全性についての評価
3. 1970年以降におけるlife scienceの登場
4. 1980年以降におけるbioscience, biotechnologyの登場

表4 ヒト疾患モデル動物の開発法

1. 放射線または突然変異誘起物質の投与によって突然変異率の上昇をはかる
2. 既存の各種実験動物のうちから病的遺伝子を探索する
3. 既存の各系統を交雑した後に、近親交配を行い、生存上不利とみられる病的劣性遺伝子を浮上させる
4. 選抜育種によって目的とする病的形質を発現する系統を育成する
5. 既存の近交系に特定の病的遺伝子をもつ系統を交雑し、病的遺伝子を導入した後、毎世代病的遺伝子の存在をチェックしながら、近交系への戻し交配(back cross)を続け、congenic strainを作出する
6. 遺伝子工学的手法によって病的遺伝子の導入をはかる

表4は、ヒト疾患モデル動物の開発法を示したものです。

第1には、放射線または突然変異誘起物質によるmutant系（突然変異系統）の作出であります。しかし、このような方法による突然変異は一般に方向性がなく、どのような突然変異体が出現するか不明である欠点があります。

第2には、長年にわたって実験動物の種や系統を維持してゆく過程で、稀にmutantが出現してまいります。この中に、ヒト疾患モデル動物として有用な個体を見出す場合があります。このようなヒト疾患となるmutantを繁殖親として使い、ヒト疾患のモデルとなる遺伝子を固定して作出する方法があります。

第3には、野生系、または、既存の系統を交雑し、F₁、F₂、F₃と世代を進めると形質が分離するので、病的劣性遺伝子がホモの表現型となり、浮上してきます。この病的劣性形質を遺伝的に固定して疾患モデル動物を作出する方法があります。

第4には、選抜育種によって目的とする病的形質を示す系統を開発する方法があります。この方法は新しい系統を作出するのに長年月を要しますが、確実な方法です。特に、単一なgeneによってコントロールされている疾患ではなく、多数遺伝子(polygene)によってコントロールされている多因子疾患、例えば、高血圧、脳卒中、高脂血症、糖尿病などの疾患モデル動物の作出には、この選抜育種法によって開発された多数の系統があります。

第5には、既存の近交系に特定の病的形質をもった系統を交配した後、毎世代、病的遺伝形質の存在をチェックしながら、親となった近交系の方向に戻し交配を継続すると、約8回以上の戻し交配によって、病的遺伝子以外は親の近交系と同じ遺伝子構成をもったcongenic strainが作出されます。このcongenic strainを親となった近交系と比較することによって、病的遺伝子の発症機構をつかむことができるので、きわめて有効な疾患モデル動物となります。

第6としては、遺伝子工学的手法によって、病的遺伝子を導入する方法で、transgenic mouse、gene-targetting法を利用したknockout mouseを始

めとして、ここ10数年間において目覚ましい進歩を遂げた分野であります。

既に、諸外国において、また、わが国において開発された多数のヒト疾患モデル動物があり、それぞれの関係分野において利用されています。特にわが国で開発され、国際的にも有名となった系統としては、循環器病では、京都大学医学部岡本教授らによって開発された自然発症高血圧ラットのSHR、高血圧、脳卒中を示すSHRSPラット、その他があり、糖尿病モデルとしては塩野義製薬の牧野らによって開発されたNOD系統があります。また、近年、アメリカのJackson研究所のDr. Edward, H. Leiterによって糖尿病のNew Mouse Modelとして諸外国に紹介されたAlloxan誘発糖尿病の高発症系のALS系と低発症系のALR系があります。ALS系とALR系については後述しますが、岡山大学農学部猪らによって、1980年～1990年に至る10年の歳月をかけて選抜育種法によって開発された系統であります。また、高脂血症を示す系統としてWHHL系ウサギがあります。このウサギは神戸大学医学部の渡辺教授らによって開発されたもので、家族性高コレステロール血症を示すモデル動物で、ノーベル賞医学・生理学賞の研究者に使用され、有名となりました。

その他、免疫疾患、筋萎縮病、癌、脳・神経疾患、眼疾患、血液疾患などを含むヒト疾患モデル動物が開発され、目下、開発過程にあるモデル動物も多数みられます。しかし、ヒト疾患と類似性の高いモデル動物が依然として少ない現状からみて、今後の開発に多くの期待がかけられています。

図1は、筆者が岡山大学農学部在任中、研究室のスタッフ、学部学生、大学院学生と協同で行った「Alloxan誘発糖尿病の高発症系(ALS系)と低発症系(ALR系)の成績であります。横軸に選抜世代、縦軸に糖尿病発症率を示しています。Alloxanは特定の化学構造式をもった物質であります。この物質を尾静脈を通して注入すると、膵臓でinsulinを産生するラ氏島のβ細胞が選択的に破壊されて、糖尿病を誘発することが知られ、古くから実験的糖尿病研究に使用されてきています。

用いた材料はクローズドコロニーのICR系マウスであり、投与量はED50値である♀ 47 mg/kg、♂ 45

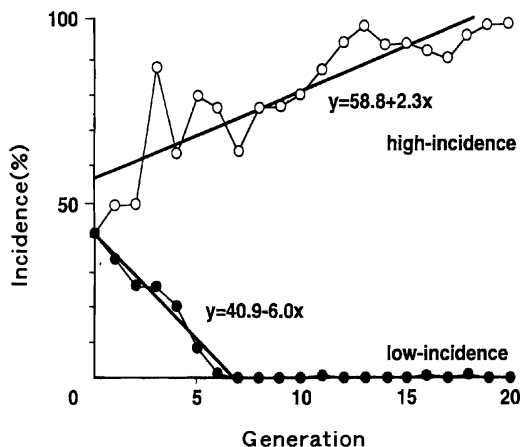


図1 Changes in incidences of alloxan-induced diabetes

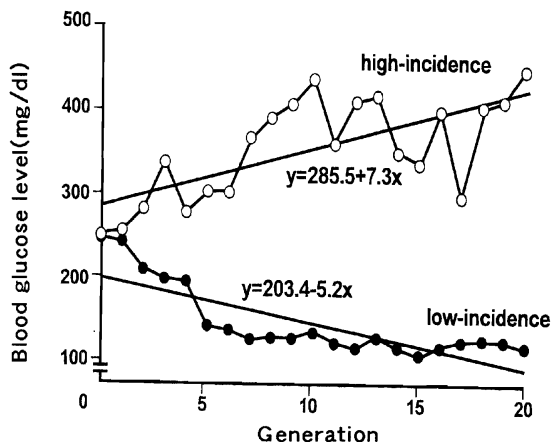


図2 Changes in blood glucose level of alloxan treated mice

mg/kgであります。選抜は、高発症系 (ALS系) では、糖尿発症率の高い家系を毎世代選抜し、低発症系 (ALR系) では、糖尿発症率の低い家系を毎世代選抜する家系選抜法を採用しました。

選抜効果は、ALS系では選抜10世代頃まで発症率は急速に高まり、それ以後は緩やかな増加を示し、選抜20代で98.9%に達しました。また、逆方向に選抜した低発症系のALR系では、選抜7世代までに発症率は急速に低下し、8世代以降は全く発症しなくなりました。

図2は、選抜過程にあるALS系とALR系の血糖値を示したもので、ALS系は選抜世代が進むに従って血糖値が上昇し、ALR系では、7世代以降において横ばい状態になりました。

これらの両系統については、病理組織学的検討、糖負荷試験、血中insulin量、血清生化学的定量等について検討が加えられましたが、両系統間で糖尿病態に関する特性において明らかに差のあることが確認されました。また、標識遺伝子として、生化学・免疫学的遺伝子の30座位について検討したところ、両系統間で7座位について違いのあることが明らかにされました。

このように、Alloxan誘発糖尿病として開発された高発症系のALS系は、糖尿病の自然発症の限界点に到達したとみられますが、残念ながら自然発症が確認されなかったことから、次にALS系とALR系に肥満遺伝子 (Ay) をもつマウスの系統を交雑し、congenic strainを作出して検討を加えることにいたしました。この仕事は博士課程に在学した第一製薬の関口らによって行われましたが、ALS系にAy遺伝子

が導入されたALS-Ay系と、ALR系にAy遺伝子が導入されたALR-Ay系では、糖尿病態において明らかな差を示し、特に、ALS-Ay系では、重篤な糖尿病の自然発症が確認され、新しいタイプの糖尿病モデル動物として利用できる見通しが出てまいりました。

大変喜ばしいことは、この分野の遺伝学者として高名な、アメリカのJackson研究所のDr. Edward, H. Leiterが、われわれが開発したALS系とALR系マウスを糖尿病の新しいモデルとして国際学会において紹介したことです。現在、この両系統はDr. Leiterとその共同研究者によって遺伝子レベルの解析に入り、染色体上の遺伝子座位に違いがあることが明らかにされ、この分野の関係者から、今後の発展に期待が寄せられています。

ヒト疾患モデル動物の開発は、現在、遺伝子工学的手法を用いたtransgenic mouseやknockout mouseの開発に興味と関心が移ってきておりますが、本日は話したように、polygeneによってコントロールされている主要な多因子疾患モデル動物の開発には、選抜育種法やcongenic strainによる遺伝子導入法が確実であり、有効であります。この機会に、選抜育種法やcongenic strainの作出によって、ヒト疾患モデル動物の開発が可能であることを知っていただき、この分野にも関心を持っていただければ、幸いに存じます。

終わりに、岡山実験動物研究会のますますのご発展と、会員皆様の一層のご活躍を祈念して、講演を終わらせていただきます。(創立15周年記念、第34回岡山実験動物研究会記念講演より採録)