

実験動物としてのウズラの有用性

Utilization of the Japanese quail as an experimental animal

高橋 慎司・清水 明・川嶋 貴治
Shinji Takahashi, Akira Shimizu and Takaharu Kawashima

国立環境研究所・環境研究基盤技術ラボラトリー生物資源研究室
National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, JAPAN

SUMMARY

The Japanese quail has been familiar to our Japanese from ancient era (Heian, 1,000). In Edo era (1603-1868), male quails were housed in Samurai class as a pet of "Singing bird" to encourage his mind. After that, these birds were domesticated for poultry under the policy of Meiji government, JAPAN. However, the Japanese quail as an experimental animal was lately paid attention in the U.S.A after 1950. Since 1960 in Japan, the Japanese quail has been improved for an experimental animal by using the domesticated ones. The National Institute for Environmental Studies (NIES) has exploited the Japanese quail as a useful experimental animal for environmental science by cooperating with Tohoku University since 1980.

By the way, the Japanese quail (*Coturnix japonica*) was selected for high (H) and low (L) antibody production to Newcastle disease virus (NDV) vaccine more than 50 generations. And H and L quails had been reached the plateau of NDV-HI (Haemo-agglutinin Inhibition) titer at 24th generation. The structure of major histocompatibility complex (MHC) genes of the H and L quails was examined and found that each line was independent MHC homozygous line.

During the selection experiment, these H and L quails were examined in their utilization as an experimental animal for Environmental Science as follows:

- 1) The reproductive traits such as egg weight, egg production, hatchability declined in H and L line quails, and H line became extinct at 53 generation due to inbreeding depression. However, L line has been bred as inbred quail for avian experimental animal, because of hatchability recovery happened at 43 generation.
- 2) Among the 4 species (mice, rat, hamster, quail), the Japanese quail showed highest sensitivity to NO₂. On the contrary, the sensitivity to O₃ was lowest in quails. It has been suggested that toxic mechanisms of those gases are different from one another.
- 3) The environmental hormone (Endocrine disrupting chemicals, EDCs) was examined in the hybrid egg of quails in accordance with the OECD guideline. These results demonstrate that EDCs such as DDT, Dieldrin and TBTO will damage the reproductive organs and make the egg shells thin in adult female.

In conclusion, these quails are useful not only as a pilot animal of poultry, but also as an experimental animal for environmental studies.

1. はじめに

ニホンウズラ (Japanese quail, *Coturnix japonica*, ウズラと略) は、日本原産の鳥であり、明治時代に世界に先駆けて家禽化され、我が国では主に採卵用に約 650 万羽飼養されているが、実験用ウズラは少ない。ウズラの実験動物化は 1950 年頃に米国で始まり、我が国では 1966 年より精力的に推進されてきた。ウズラの特徴は、性成熟に達するまで孵化後約 6 週齢と短く、小型で、産卵能力が高く、体質が強健であり、密飼いにも耐えるなど、実験動物としてマウス・ラットに匹敵する特性が認められるが、一方、近交系の作出は困難とされている。

最近、OECD (経済開発協力機構) は鳥類生態影響試験用としてのウズラの有用性を認め、化学物質のリスク評価用動物に推奨している。ウズラは、化学物質のリスク評価用として従来から使用されている

ボブホワイトの性成熟期間 (約 6 ヶ月) より短いため、化学物質の次世代影響試験に最適であることが世界的に認められてきている。また、野生ウズラがアフリカから北欧まで広く世界に生息することなどから、環境指標動物としての有用性も高く、野鳥へのリスク評価の外挿も容易と考えられている。

国立環境研究所 (NIES) 動物実験施設では、環境科学研究用実験動物としてのウズラの有用性に注目し、1980 年以来ウズラの実験動物化を行ってきた。現在、5 系統の NIES ウズラで遺伝的・微生物的純化を推進しており、これまでに各種の環境汚染物質暴露に対して再現性の高い感受性試験結果が得られている。

そこで、今回は NIES ウズラのこれまでの系統造成の経過と、それらを用いた MHC 遺伝子解析、大気汚染ガス感受性試験及び環境ホルモン感受性試験で得

られた結果について紹介し、今後の研究展開について述べる。

2. 環境科学研究のための近交系ウズラの作出

近交系ウズラの系統造成

実験用ウズラは日本生物科学研究所（日生研、NIBS）、大学などで系統維持されているが、血縁関係の明確なウズラ系統は少ない。マウス・ラットなどの哺乳類実験動物は、近交系を作出するために兄妹交配が採用されているが、鳥類の場合は兄妹交配を20世代以上続けることは困難である。そこで、NIESでは、循環交配（Rotational Cross）により徐々に近交係数を上昇させる方法でウズラを近交化し、1980年以來、現在まで5系統のNIESウズラで遺伝的・微生物的純化を推進している。その中で、ニューカッスル病ウイルス不活化ワクチンに対する抗体産生能（NDV-HI抗体産生能と略）の高（High、H）及び低（Low、L）方向へ選抜したウズラ系統の造成の経緯について初めに示す。

NDV-HI抗体産生能の高（ H_1 ）系・低（ L_1 ）系への1回目の選抜実験は、1969年から東北大学農学部で実施されたが、両系統とも繁殖能力の急激な低下のため、系統の維持が困難となり、1975年に選抜8世代目で中止した。そこで、高橋らは2回目の選抜を東北大学で9世代まで行い、引き続き1980年からNIESで50世代以上に亘って選抜を継続し、循環交配により閉鎖系近交集団（ H_2 及び L_2 系）として維持してきた。なお、 L_2 系は現在まで68世代を更新しており、世界的にも高度な近交系ウズラと考えられる。なお、 H_2 系は53世代で絶滅し、次世代を維持することはできなかった。

近交退化と雑種強勢

近交系ウズラ（ H_2 及び L_2 系）の52世代に亘る平均孵化率を解析した結果、 H_2 系は長期低落（絶滅型）を示した。一方、 L_2 系は38世代までは H_2 系と同様の低落傾向を示したが、それ以降は孵化率の上昇（回復型）を示した。すなわち、近交系ウズラは同じ基礎集団から出発したにも拘わらず、20年以上の選抜によって絶滅型と回復型に分離した。また、両系統とも孵化率低下の要因となる胚発生中止（胚死亡）率では発生初期死亡率は減少するものの、発生後期死亡率は増減を繰り返した。なお、死ごもり率の推移には一定の傾向は認められなかった。

次に、 H_2 及び L_2 系ウズラの繁殖能力の推移について各繁殖形質ごとに比較した結果、孵化率以外にも産卵率・卵重などが選抜世代に伴って減少する傾向が認められた。近交退化の指標として取り上げた適応度指数（Fitness Index, FI：産卵率×受精率×孵化率×育成率）及び3形質から算出する簡易な適応度指数（FIa：産卵率×受精率×孵化率）についても検討したが、FIaはFIと同じように推移したことより、FIaでも総合的な繁殖能力の退化量の指

標になることが示された。

なお、近交系ウズラ（絶滅型： H_2 系・回復型モデル： L_2 系）の38世代までの選抜途中でのデータを用いて遺伝解析した結果、遺伝的荷重は両系とも3以下の値が推定された（木村正雄 岐阜大学名誉教授からの私信）。この値はこれまで報告された家禽ウズラの値（5～6）と比較して少なく、近交の過程で劣性致死遺伝子が淘汰されたことが推察された。

ウズラの近交退化現象はSittmann *et al.* (1966)¹¹ によってはじめて検討が加えられ、その結果、兄妹交配によって近交世代を進めた場合、受精率、孵化率、育成率に著しい退化現象が現れ、近交系の作出は3世代で困難になることが認められている。新城ら(1971)²⁾ は近交係数10%増加あたりの各生産形質の退化量を検討し、受精率4.4%、孵化率5.6%、育成率5.1%、産卵数1.7個、卵重0.12g低下することを報告した。Kawahara (1972)³⁾ は受精率9.1%、孵化率11.3%、産卵率7.4%、卵重0.03gの低下を認めた。その後も、多くの国内外の研究者によって検討が加えられ、いずれも受精率、孵化率、育成率などの繁殖形質に著しい退化現象がみられたことが報告されている（猪ら, 1985⁴⁾; 佐藤, 1992⁵⁾）。

H_2 及び L_2 系ウズラの50世代での近交係数について集団の有効な大きさから算出してみると、いずれの系統も70%の値を超えることが推定されている（Takahashi *et al.*, 2004⁶⁾）。しかしながら、 H_2 系、 L_2 系ともこれまで報告されたウズラの近交退化量（近交係数10%増加当たり）に比較して繁殖能力低下の程度は少なかった。特に、 L_2 系では38世代付近のボトルネックの後に、孵化率が向上しており、 L_2 系での繁殖能力は現在でも高い値を維持している。このことより、 L_2 系ではさらに近交化を推進することが可能であると考えられる。

今後、 L_2 系ウズラの血統関係のデータベースより、個体毎の近交係数を求めるとともに血縁関係を解析することにより、遺伝的寄与率の高い個体（スーパーウズラ）が抽出される可能性がある。これら一連の系統造成プロセスの解析により、絶滅回避のための最適ペアリングやスーパーウズラの特徴（繁殖能力、抗体産生能など）を明らかにし、今後は希少鳥類の絶滅回避への救済策を提示したい。

雑種強勢に関する研究の一環として、49世代目の H_2 及び L_2 系を用いて、近交系間交雑による雑種化を試みた。その結果、特定の組合わせを除いて雑種強勢は発現しなかった。このことから、近交化が進み近交退化が顕著になった時点では雌雄の遺伝的相性が重要となり、雌雄の遺伝的組合せの良否によって雑種強勢の発現が左右されると考えられる。すなわち、最良のヘテロシス効果を得るためには、雌雄の遺伝構成を最適化することが必要となる。また、遺伝構成が異なっているとみられる他集団ウズラ（秋田県産放鳥用）雄と L_2 系雌とを雑種化した場合では孵化率の向上がみられ、これは遺伝的多様性の増加に起因したと考えられた。一方、行動的相性が

問題となり、放鳥雄のツツキなどによりL₂系雌の6割に産卵の低下が認められ、雄の気性、攻撃性などが問題とされた。そこで、近交化した鳥類集団の繁殖能力を回復させる場合は、相性 (Nicking) を事前に診断することが重要となり、しかも遺伝的相性と行動的相性の良い雌雄を見極めて組合せ・交配することが、繁殖率向上の必要条件とみられる。

鳥類が絶滅する兆候のひとつとして、卵殻が薄くなり破卵が増加し、最終的には孵化しなくなることが挙げられる。H₂及びL₂系でも、近交に伴い卵重が有意に軽くなっている。特に、H₂系はL₂系よりも卵重が軽いばかりでなく、卵形が不安定になったり、軸対称性に異常が現れるなど、絶滅の兆候が現われている様子が伺えた。また、H₂系は勿論のことL₂系でも家系によって孵化率にバラツキが認められ、これらの原因のひとつとして卵殻形成の異常が考えられた。L₂系雌での卵形質の調査結果より、卵殻強度は卵殻厚・卵殻重と正の相関があり、また卵殻質 (ポア構造) とも関連することが示された。卵殻強度は個体差が大きく、しかも同じ雌からの卵でも産卵日により異なることが認められているが、遺伝要因 (鶏卵では遺伝率が約30%と推定) の関与も示唆されている。そこで、近交系ウズラの卵形質を向上させるには、卵殻強度の高い値 (平均1kg/cm²以上) を示す家系から雌を個体選抜するとともに雄の後代検定を行い、遺伝的に卵殻強度の高い家系を作出することが有効とみられる。

また鳥類の絶滅過程では、繁殖集団の有効な大きさが小さくなり、近交係数の上昇や大きな遺伝的浮動が起こり、それに環境変動に対する適応力の低下が加わり、近交退化が急速に進んでいくと考えられる。そこで、希少動物種の絶滅を回避するためには、環境に適応しながら自家繁殖が可能なレベルまで集団の有効な大きさを回復させることは有効な手段と考えられ、今後の重要な研究課題と考えられる。

3. 近交系ウズラを用いたMHC遺伝子解析

主要組織適合性遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) は、脊椎動物での獲得性免疫機構及び自然免疫機構において重要な役割を担っていることが知られている。鳥類は、液性免疫担当器官としてファブリシウム嚢 (Bursa of Fabricius, BF) を持ち、また細胞免疫の中核器官としての胸腺は頸椎に対称して存在しているため、肉眼での摘出も容易であるなど、免疫応答機構の解明には哺乳類より有利な面を持っている。しかも、鳥類は生物の進化を研究する上で哺乳類の次にランキングされており、特に免疫応答機構の進化的研究を行う上で重要な位置にある。

現在、動物のMHC解析は東海大学医学部 (猪子研究室) を中心として進められており、これまでのMHCの生物進化論的考察によると、ウズラはニワトリよりも野鳥に近いとみられている。MHC (クラスI・II・IV) の遺伝解析から、ニワトリは1万年前より家禽化

されたためMHC遺伝構成は単純になり過ぎているが、ウズラのMHCは野鳥と同様に多型性に富むため免疫応答機構の進化を解明するのに有用であることが示唆された (Shiina *et al.*, 1995)⁷⁾。

NDV-HI抗体産生能の高低を指標として50世代以上に亘り選抜されたH₂系、L₂系ウズラは、既に抗体価がプラトーに達しているため、抗体産生能に関与する遺伝子 (クラスII) が各々ホモ化していることが期待できる。そこで、東海大学医学部の協力を得てH₂及びL₂系ウズラのMHCの遺伝構成が均一か否かにより、両系統の遺伝学的純化の程度について検証した。

Shimizu *et al.* (2004)⁸⁾ はH₂系、L₂系ウズラを用いてMHCクラスIIのB遺伝子をゲノム解析した結果、系統内では全ての個体がホモ化していることを報告した。また、小山村 (1993)⁹⁾ はMHC遺伝子のサザン解析を行い、H₂及びL₂系ウズラのRFLPバンドパターンは系統間で大きく異なるものの、系統内では全例が同一であることを明らかにした。

これらのMHC遺伝子解析より、H₂及びL₂系ウズラはMHCのHomozygous Lineであることが確認され、高度なレベルでの遺伝的純化が裏付けられた。今後、H₂及びL₂系ウズラでのMHCの多型性や遺伝的均一性と免疫応答機構の関係について解明することは重要な課題である。

4. 大気汚染ガス感受性試験

一般に、鳥類のガス感受性は高いと言われているが、定量的な暴露実験を行った報告はない。NIESでは高性能暴露チャンバーを使用した大気汚染ガスの暴露実験が可能のため、主な大気汚染ガスのひとつである二酸化窒素 (NO₂) とオゾン (O₃) のガス感受性を鳥類と哺乳類で比較した。

NO₂の20ppmを3日間暴露した結果、ウズラはハムスター・マウス・ラットに比べて著しく高いNO₂感受性を示し、雌雄とも約半日で96%が死亡した。なお、ハムスターは約2日半で70~80%死亡するものの、マウスは雌雄とも全く死亡しなかった。これに対してO₃の5ppmを4日間暴露した場合、マウス・ラットは2日以内に100%死亡し、ハムスターは4日で82%死亡したのに対して、ウズラは極めて感受性が低く、4日で10%が死亡したに過ぎなかった。

すなわち、動物のガス感受性はガスの種類によって大きく異なり、NO₂とO₃ではウズラへの毒性発現機序が全く異なることを明らかにした (詳細は、岡山実験動物会報第9号を参照)。今後、各動物種における様々な環境汚染ガスの毒性発現機構の解明が望まれる。

5. 環境ホルモン感受性試験

ウズラでの鳥類生態毒性試験法の国際標準化

NIES動物実験施設では、鳥類での環境ホルモン (内分泌攪乱化学物質、EDCs) などのリスク評価を行う

ために、実験鳥類（ウズラ・ボブホワイト）を用いて生態影響試験法の国際標準化を行うことが要請されている。そこで、OECD（経済開発協力機構）の鳥類生態毒性試験法（食餌毒性試験 No.205・繁殖毒性試験 No.206）を参考にしながら、ウズラでの環境ホルモン感受性試験法を整備した。最初に、市販のウズラ用配合飼料成分を基にして、植物性ホルモン低減化飼料（Phytoestrogen Low Diet, PLD）をオリエンタル酵母工業㈱との共同研究で開発し、次に幼雛・中雛・大雛・成ウズラ用の標準飼育管理マニュアル（Standard Operating Procedure, SOP）を作成した。また、NIES ウズラ系統のなかから白卵系（WE系、日生研由来）、伴性褐色羽装系（Br系、ブラジル由来）及びNDV-HI抗体産生能低応答系（L₂系、国環研由来）を選択し、系統間交雑等による規格種卵の供給体制を整えた。なお、ウズラ用飼育器材の開発・改良は継続して行い、OECDガイドラインでの鳥類生態毒性試験に適合させた環境ホルモン感受性試験法のインフラを整備した。

ウズラ発生卵での環境ホルモンスクリーニング手法の開発

NIES維持系統であるBr（伴性褐色羽装系）雄×WE（白卵系）雌からのF₁種卵（白卵）を用い、環境ホルモンをスクリーニングする新規手法を開発した。発生0・10日令のウズラ規格種卵（10±1g）を用いて合成女性ホルモン（ジエチルスチルベストロール、DES）、農薬（PCB、DDT、BHC）などの投与試験を実施した。

Kamata *et al.* (2010)¹⁰⁾ は、この試験法の有効性を国際的に明らかにし、ウズラ発生卵が環境ホルモンのスクリーニングに極めて有効であり、被験物質の卵内投与により、雌雄生殖器の異常や卵殻が薄くなること等を明らかにした。

この際、DESを陽性対照群とすることにより、化学物質の環境ホルモン作用（環境リスク）を量的に評価することが可能となったので、種卵へのDES投与によりF₁ウズラ雌に出現した卵管異常、卵殻質の脆弱化等の判定によるウズラ胚の発生異常の量-反応関係について詳細に明らかにする予定である。

成ウズラでの環境ホルモンスクリーニング

ニトロフェノール類はディーゼル排気粒子（DEP）や農薬（フェニトロチオン）などに含まれているが、最近、環境ホルモン作用のあることが指摘されている。今回は、3-メチル-4-ニトロフェノール（PNMC）を成ウズラに投与した結果、PNMCがエストロゲン作用と抗アンドロゲン作用を示すこと、またウズラのPNMCの感受性（LD₅₀）はマウス・ラットより2倍以上高いことが明らかにされた（李ら、2004）¹¹⁾。

カワウ（ペリカン目・ウ科に分類される鳥類の一種）などの甲状腺機能低下は、ダイオキシン類の蓄積が原因であることが報告されているが、その作用機序は明確にされていない。そこで、ダイオキシンに

よる鳥類の甲状腺の機能低下と生殖能力・免疫応答に及ぼす影響を明らかにするために、L₂系ウズラを用いて検証した。まず、甲状腺機能を実験的に低下させるため、甲状腺ホルモンを抑制する機能を持つ2-メルカプト-1-メチルイミダゾール（メチマゾール）をL₂系雄ウズラ（15週令）に4週間飲水投与した。その結果、体重と精巣重量が有意に低下し、副腎重量は有意に増加した。また、血中のテストステロン・コルチコステロン・インヒビン濃度はメチマゾール投与区で有意に低下することがわかった。さらに、メチマゾール投与区ではSRBC（Sheep Red Blood Cell）抗体産生能も有意に低下した。このように、ウズラでの実験的な甲状腺機能低下は性腺・副腎皮質・免疫応答の機能低下をもたらすことが検証されたことより、前述のカワウの知見と併せて考察すると、ダイオキシンは鳥類の甲状腺機能さらには生殖、免疫応答にも影響を与える可能性があることが示唆された（齋田ら、2004）¹²⁾。今後は、ダイオキシンのウズラの生体に及ぼす直接的な影響について明らかにする必要がある。

6. 今後の研究展開

国立環境研究所（NIES）において、遺伝学および微生物学的に制御されたウズラは、様々な環境科学研究の実験材料として利用されてきた。特に、長期循環交配による近交系ウズラ系統が造成されたことで、マウスやラット等の哺乳類実験動物に匹敵する鳥類実験動物としてのウズラの価値は高く評価されている。NIES近交系ウズラは、環境汚染物質の鳥類への影響を評価するための試験系に用いられるだけでなく、近交退化や雑種強勢といった生命現象を実験的に解析するための有用なバイオリソースとして利用できることを示した。30年以上の歳月を費やして実験動物化に成功したこのウズラは、今後、生物に共通した普遍原理を解明するためのモデル生物としての役割を果たすことを一層期待されており、多くの研究分野における実験材料として、その需要は高まるものと予想される。

鳥類は卵殻内で胚発生の大部分が進行することから、母体内で胎盤を介して発生する哺乳類とは異なり、発生過程の観察は格段に容易である。古くはアリストテレスによって発生学研究の材料としてニワトリ胚が用いられたことから、生物の‘形づくり’を知るためのモデル動物として、鳥類胚が用いられてきた長い歴史がある。その結果、形態学ならびに奇形学に関する知見は、他の動物種に比べて圧倒的に豊富である。また、孵卵後のいかなる発生段階の胚を得ることができ、卵殻に小さな穴を開けることで、そこから微量注入や移植などの胚操作も容易であるため、実験発生学の進展に大きく寄与してきた。特筆すべきは、DNAの組織化学染色であるフォイルゲン染色に、ニワトリ細胞とウズラ細胞とで反応性の違いがあることが発見されたことである（Le Douarin, 1973）¹³⁾。この発見によって、発生生物学上の根本命

題である未分化細胞の発生能を解析するために、ニワトリ胚とウズラ胚との間で細胞移植操作によるキメラ動物の作出という新たな発生工学技術が考案された (Le Douarin and Teillet, 1974¹⁴⁾; Le Lièvre and Le Douarin, 1975¹⁵⁾)。ニワトリ・ウズラのキメラ個体において、細胞の発生運命を解析できるという、この画期的な手法を用いることで、高等動物の神経系や免疫系などがどのように発生してくるかを明らかにしたことはよく知られている (Le Douarin, 1988)¹⁶⁾。このように、ウズラはニワトリと同様に、発生生物学研究分野においては、実験動物としての有用性は広く認識されている。

近年、実験動物の維持管理のための膨大なコストと設備の削減が求められ、動物福祉の観点からも実験動物数の削減、培養細胞などを用いた *in vitro* 実験系への転換が提唱され始めている。その中でも、とりわけ生殖発生毒性試験などは、ヒト胚 (胎児) で臨床試験を行うことは倫理的に不可能であると同時に、次世代個体への影響を調べる必要があることから、動物実験以外の試験法はほとんどないとされている。そこで、動物個体を、いわゆる丸ごと使用することの代替として、我々は、*in vitro* と *in vivo* の中間に位置する鳥類胚 (*in ovo*) 試験系の可能性に期待している。実験動物化された近交系ウズラであっても、ほぼ毎日産卵するため、受精卵 (胚) を得るために母体を傷つける必要がない点は注目に値する。将来、三次元構造である胚 (胎児) を、試験管内で発生させ、形態形成異常や発育不全などの観察を可能にする動物胚の体外培養法が確立されれば、迅速かつ効率的に生殖発生毒性試験を行うことが可能となるであろう。

これまでに、子宮内で発生する哺乳類胚の体外培養は試みられてきたが (New, 1978¹⁷⁾; Hsu, 1979¹⁸⁾)、成功率が低く、操作が煩雑で、妊娠全期間の培養に成功していない。他方、鳥類胚の培養も比較的古くから試みられており、Perry (1988)¹⁹⁾ は、代理の卵殻を用いることにより、1細胞期から孵化までの全期間の胚培養法の開発に成功した。しかしながら、卵殻を用いない完全な *in vitro* 鳥類胚培養法は確立されていない。最近、Kawashima *et al.* (2005)²⁰⁾ は、人工容器と人工膜を用いて、放卵直後の受精卵 (胚盤葉) から胚形成が完了する孵卵約3日までの鳥類胚培養法の開発に成功した。この胚培養法はニワトリ胚およびウズラ胚の両方に適用可能で、現在、鳥類初期発生をリアルタイムかつ連続観察を可能にする撮影技術の開発にも取り組んでいる。今後、鳥類において、受精から孵化までの胚発生の可視化技術が完成すれば、発生初期の化学物質暴露と胚発生および次世代の生殖機能との関連性についての総合的な評価が可能となるだけでなく、近交退化に起因する発生初期での胚死亡、形態異常および発生遅延等について表現レベルでの詳細な解析が可能となる。胚発生ならびに次世代の生殖能に及ぼす環境要因と遺伝的要因を解析するための実験系を確立した場合、

それを用いた様々な基礎・応用研究が考えられるが、それらの実験再現性を確保するために、近交系ウズラ系統を開発した意義も再び確認されるであろう。

環境科学研究は、極めて幅広い領域にわたっており、学際的色彩が強い反面、現象を実験的に証明することが困難な場合が少なくない。それにも関わらず、環境問題は今や地球規模で起っており、それらを鋭敏に感知し、環境汚染の拡大を未然に防止する方策の確立が早急に望まれている。環境問題における因果関係が複雑であればあるほど、地道な実験的解析による知見の蓄積と試験結果からその意味を外挿することが重要となる。鳥類胚は、胚形成期の実験操作に優れ、化学物質の暴露の時期、頻度、継続時間について、母体の影響を排除した胚への直接的な定量が可能という大きな利点があり、催奇性物質等による異常を迅速に検知できる可能性を示した。今後、ウズラゲノムの解析が進めば、分子生物学的手法を用いた遺伝子発現等の解明が可能となる。ポストゲノム時代に生命現象の根本原理を追究するベーシックサイエンスと安全な環境を保全するレギュラトリーサイエンスの両方を見据えつつ、今回、環境科学研究用に開発したNIES近交系ウズラの有用性が広がっていくことを期待している。

7. おわりに

鳥類は環境の変化に鋭敏であることが知られており、レーシェル・カーソン女史は「沈黙の春」で、農薬などの環境汚染物質の影響で「春になっても鳥は鳴かない」ことを告発したことは、余りにも有名である。しかしながら、野鳥での環境汚染物質の生態影響評価は環境要因・遺伝背景が複雑なため、定量的にそのリスクを評価することが困難である。このような背景の下で、化学物質のみを定量的に評価するとともに、その次世代影響について解析する鳥類毒性試験法の必要性が増してきており、世界的にウズラへの関心が高まりつつある。NIESでは、ウズラの遺伝的・微生物的純化を継続しているが、特に L_2 系ウズラは近交化が最も進んでおり (循環交配で68世代を更新中)、最新のゲノム解析技術や発生工学技術を駆使することで、生態影響評価や近交退化現象の解明などのモデル動物として、新たな展開が期待されている。

最後に、本稿を纏めるに当たって適切な御助言と校正をいただいた、岡山大学名誉教授の佐藤勝紀先生に深謝するとともに、特別講演に招待していただいた岡山実験動物研究会の皆様方に御礼を申し上げます。

引用文献

- 1) Sittmann, K., Abplanalp H. and Fraser RA. (1966) Inbreeding depression in Japanese quail. *Genetics*, 54: 371-379.
- 2) 新城明久・水間 豊・西田周作 (1971) 日本ウズラにおける近交退化に関する研究. 日本家禽会

- 誌, 8: 231-237.
- 3) Kawahara T. (1972) Inbreeding depression in Japanese quail. Annual Report of National Institute of Genetics. 23: 126-127
 - 4) 猪 貴義:研究代表者 (1985) 日本ウズラを用いた近交退化の原因追及に関する研究. 文部省科学研究費 昭和 58-59 年度 一般研究 (B) 研究成果報告書.
 - 5) 佐藤勝紀 (1992) 近交退化を示したニホンウズラ初期胚の生化学的解析. 文部省科学研究費 平成 2-3 年度 一般研究 (C) 研究成果報告書.
 - 6) Takahashi, S. and Inooka, S. (2004) Selective breeding for antibody production to Newcastle disease virus vaccine in Japanese quail. II Simposio Inter-national Congresso Brasileiro, 2, 165-174.
 - 7) Shiina T., Ando A., Imanishi T., Kawata H., Hanzawa K., Gojobori T., Inoko H. and Watanabe S. (1995) Isolation and characterization of cDNA clones for Japanese quail (*Coturnix japonica*) major histocompatibility complex (Mhc Coja) class I molecules. Immunogenetics, 42:213-216.
 - 8) Shimizu, S., Shiina, T., Hosomichi, K., Takahashi, S., Koyama, T., Onodera, T., Kulski, J. and Inoko, H. (2004) MHC class II B gene sequences and expression in quails (*Coturnix japonica*) selected for high and low antibody responses. Immunogenetics, 56, 280-291.
 - 9) 小山卓美, 三浦克洋, 高橋慎司 (1993) NDV-HI 抗体産生能によって選抜したニホンウズラ (H₂系, L₂系) は MHC-homozygous line である. (第 87 回日本家禽学会講演要旨集, 70)
 - 10) Kamata, R., Shiraishi, F., Nakajima, D., Takahashi, S. and Shimizu, A. M. (2010) Evaluation of the impact of in-ovo exposure to Dicofol on avian production. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 29, No. 10, 2316-2322.
 - 11) 李 春梅・高橋慎司・種田晋二・鎌田和之・林 秀幸・森 洋樹・斎田栄理奈・渡辺 元・鈴木 明・田谷一善 (2004) ディーゼル排気微粒子 (DEP) に含まれる 3-メチル-4-ニトロフェノール (PNMC) の雄ウズラの生殖機能への影響. 第 29 回鳥類内分泌研究会 (29th Annual Meeting of Japanese Avian Endocrinology, 43-44)
 - 12) 斎田栄理奈・李 春梅・高橋慎司・鈴木 明・渡辺 元・田谷一善 (2004) 甲状腺機能低下ニホンウズラにおける性腺機能および副腎機能. 第 29 回鳥類内分泌研究会 (29th Annual Meeting of Japanese Avian Endocrinology, 45-46)
 - 13) Le Douarin NM. (1973) A biological cell labeling technique and its use in experimental embryology. Dev Biol. 30, 217-222.
 - 14) Le Douarin NM and Teillet MA. (1974) Experimental analysis of the migration and differentiation of neuroblasts of the autonomic nervous system and of neurectodermal mesenchymal derivatives, using a biological cell marking technique. Dev Biol. 41: 162-184.
 - 15) Le Lièvre CS and Le Douarin NM. (1975) Mesenchymal derivatives of the neural crest: analysis of chimaeric quail and chick embryos. J Embryol Exp Morphol. 34: 125-154.
 - 16) Le Douarin NM. (1988) The Claude Bernard lecture, 1987. Embryonic chimeras: a tool for studying the development of the nervous and immune systems. Proc R Soc Lond B Biol Sci. 235: 1-17.
 - 17) New DAT. (1978) Whole-embryo culture and the study of mammalian embryos during organogenesis. Biol Rev Camb Philos Soc. 53: 81-122.
 - 18) Hsu YC. (1979) In vitro development of individually cultured whole mouse embryos from blastocyst to early somite stage. Dev Biol. 68: 453-461.
 - 19) Perry MM (1988) A complete culture system for the chick embryo. Nature 331:70-72.
 - 20) Kawashima T, Kumata K, Tamaki Y, Kuwana T and Hashimoto K (2005) An Avian Embryo Culture System for Embryogenesis Using an Artificial Vessel: Possible Conservation Benefits in the rescue and Management of Endangered Avian Species, Zoo Biology, 24: 519-529.