

第 30 回東北動物実験研究会

講演要旨集



日時：令和元年 12 月 13 日（金） 13：30 ～ 17：20

場所：岩手医科大学 内丸メディカルセンター入院棟

主催：東北動物実験研究会

共催：実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部

主管：第 30 回東北動物実験研究会実行委員会

古市達哉（委員長・岩手大学）

金子武人（岩手大学）

若井 淳（岩手医科大学）

高橋智輝（岩手医科大学）

第30回東北動物実験研究会

日時：令和元年12月13日

場所：岩手医科大学 内丸メディカルセンター 入院棟（旧循環器医療センター）

役員会（3階 会議室） 12:00～13:00

総会（9階 第一講義室） 13:00～13:30

研究会（9階 第一講義室） 13:30～17:20

懇親会（左近 盛岡市中央通2-1-31） 18:30～20:30
（東北動物実験研究会、日本実験動物技術者協会奥羽・東北支部合同）

○研究会会場から懇親会会場までの地図（徒歩6分程度）



研究会プログラム

(敬称略)

開会の辞 13:30 ~ 13:35

講演会

講演Ⅰ (第415回日本実験動物技術者協会本部共催講演) 13:35 ~ 14:10

座長: 古市 達哉 (岩手大学農学部共同獣医学科実験動物学研究室)

【国際宇宙ステーション (ISS) 「きぼう」 実験棟でのマウス宇宙実験の概要】

高橋 智 (筑波大学生命科学動物資源センター／トランスボーダー医学研究センター)

講演Ⅱ 14:45 ~ 15:35

座長: 古市 達哉 (岩手大学農学部共同獣医学科実験動物学研究室)

【遺伝子改変マウスを用いたインスリン産生膵β細胞におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの機能解析】

高橋 巖 (岩手医科大学薬学部臨床医化学分野)

講演Ⅲ 15:50 ~ 16:40

座長: 若井 淳 (岩手医科大学医歯薬総合研究所実験動物医学研究部門)

【マウス・ラット生殖技術の開発とゲノム編集・バイオリソースへの応用】

金子 武人 (岩手大学大学院理工学研究科自然・応用科学専攻／理工学部化学・生命理工学科)

講演Ⅳ 16:40 ~ 17:15

座長: 若井 淳 (岩手医科大学医歯薬総合研究所実験動物医学研究部門)

【実験動物メダカの生殖幹細胞移植による遺伝資源保全】

関 信輔 (秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門)

閉会の辞 17:15 ~ 17:20

講演要旨

講演I (第 415 回 日本実験動物技術者協会本部共催講演)

国際宇宙ステーション (ISS) 「きぼう」 実験棟でのマウス宇宙実験の概要

高橋 智

筑波大学 医学医療系

生命科学動物資源センター／トランスボーダー医学研究センター センター長

私達は、宇宙航空研究開発機構 (JAXA)、大阪大学、東京大学、東京医科歯科大学、岐阜大学、産業技術総合研究所と共同で、国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟において、宇宙でのマウス飼育実験を行なった。「きぼう」には、世界でも日本だけが有する遠心機能付き生物実験装置があり、その装置を用いて 35 日間のマウス長期飼育を達成した。この長期飼育は、軌道上での人工 1G 重力環境 (AG) と微小重力環境 (μ G) の同時飼育を行ったもので、純粋にマウスへの重力影響を比較できる世界初の宇宙実験である。今回長期飼育された 12 匹の雄マウスは、平成 28 年 7 月 19 日 (日本時間) に米国フロリダ州より打ち上げられ、8 月 27 日米国カリフォルニア州に全数健康な状態で地球に帰還した。その後、筑波大学と大阪大学の連携により、宇宙の AG と μ G との環境で飼育して帰還したそれぞれのマウスを親とした次世代 (F1) が誕生した。F1 マウスの誕生に加え、宇宙滞在した親マウスの身体の変化の一次評価を終了している。脂肪組織の増加や脚の筋肉量の有意な減少、骨量の著明な減少など、高齢者の身体の機能低下 (サルコペニア) に似た兆候が μ G 飼育マウスで観察されている。また、地上帰還直後の μ G 飼育マウスでは、前庭系の機能異常 (宇宙酔い) が認められた。その後の遺伝子発現解析およびエピジェネティック解析から、宇宙環境応答の遺伝子発現変化の詳細を解析している。講演では、今回の実験の概要と解析結果について説明したい。

講演の最後に、筑波大学生命科学動物資源センターのゲノム編集を用いた遺伝子改変マウスの受託作製サービスについても紹介したい。

参考文献

Shiba D, Mizuno H, Yumoto A, Shimomura M, Kobayashi H, Morita H, Shimbo M, Hamada M, Kudo T, Shinohara M, Asahara H, Shirakawa M, **Takahashi S**. Development of new experimental platform 'MARS'-Multiple Artificial-gravity Research System-to elucidate the impacts of micro/partial gravity on mice. **Sci Rep**. 2017 Sep 7;7(1):10837. doi: 10.1038/s41598-017-10998-4.

Mao XW, Byrum S, Nishiyama NC, Pecaut MJ, Sridharan V, Boerma M, Tackett AJ, Shiba D, Shirakawa M, **Takahashi S**, Delp MD. Impact of Spaceflight and Artificial Gravity on the Mouse Retina: Biochemical and Proteomic Analysis. **Int J Mol Sci**. 2018 Aug 28;19(9). pii: E2546. doi: 10.3390/ijms19092546.

講演II

遺伝子改変マウスを用いたインスリン産生膵β細胞におけるヘパラン硫酸の機能解析

○高橋 巖、那谷耕司

岩手医科大学 薬学部 病態薬理学講座 臨床医化学分野

構造多様性とそれに伴う生体内での様々な役割のため、糖鎖は核酸やタンパク質に次ぐ第3の生命鎖と称されているが、糖鎖構造の複雑性が構造や機能の解析の障害となっており、核酸・タンパク質に比較してその研究は進んでいない。ヘパラン硫酸 (HS) は、グルクロン酸と *N*-アセチルグルコサミンの二糖繰返し構造からなる直鎖の高分子多糖 (糖鎖) であり、コアタンパク質に結合した HS プロテオグリカンの形で細胞外基質や細胞膜上に存在し、生理活性物質と相互作用することで各種シグナルを調整している。この HS の合成酵素をコンベンショナルにノックアウト (KO) したマウスは胎生致死となることから、HS が初期発生に重要な役割を担っていることが明らかとなっている。我々はマウス成獣の膵臓ランゲルハンス島 (ラ島) β細胞 (膵β細胞) に HS が局所的に発現していることを見出し、膵β細胞特異的に HS 合成酵素を欠損させたコンディショナル KO を作製し解析することにより、ラ島の形態形成や膵β細胞増殖、インスリン分泌機能に HS が関与していることを明らかにしている^[1]。

上記のように、HS のインスリン分泌機能への関与が明らかになったものの、HS の土台となるコアタンパク質については不明であった。HS のコアタンパク質は現在十数種類報告されているが、我々はマウス膵β細胞由来の培養細胞である MIN6 細胞を用いて解析を行ったところ、インスリン分泌に関与しているコアタンパク質が Syndecan-4 (Sdc4) であることを同定している^[2]。さらに Sdc4 KO マウスにおける耐糖能を解析したところ、C57BL/6J 系統の 8 週齢雄 KO マウスにおいてインスリン分泌障害と耐糖能異常が検出されたが、ICR 系統の Sdc4 KO マウスでは耐糖能に異常は認められなかった。そこで、ICR 系統の Sdc4 KO マウスに、膵β細胞を選択的に傷害するストレプトゾトシン (STZ) を投与したところ、Sdc4 KO マウスでは野生型マウスに比較して随時血糖値が著しく上昇しており、インスリン分泌の低下や膵β細胞数の減少が確認されたことから、Sdc4 KO マウスでは STZ による膵β細胞の傷害が野生型よりも高度であると考えられた。国際マウス表現型解析コンソーシアムにおいても C57BL/6N 系統の Sdc4 KO マウスにおける糖代謝の異常は報告されていないので、マウスの系統間における表現型の差異が認められるものの、上記の結果から Sdc4 がマウスの生体においても膵β細胞の機能の維持に関与していることが明らかとなった。

以上のことから、Sdc4 をコアタンパク質とする HS プロテオグリカンがマウス生体内におけるインスリン分泌機能の維持に重要な役割を果たしているものと考えられた。

[1] Takahashi et al., Biochem.Biophys.Res.Comm.,2009, [2] Takahashi et al., Mol.Cell.Endocrinol.,2018

講演III

マウス・ラット生殖技術の開発とゲノム編集、バイオリソースへの応用

金子武人

岩手大学大学院理工学研究科自然・応用科学専攻

岩手大学工学部化学・生命理工学科

ゲノム編集技術は、遺伝子改変の強力なツールとしてあらゆる生物種に利用されている。マウスやラットにおいてもゲノム編集技術を用いて既に多くの遺伝子改変系統が作出され研究に用いられている。ゲノム編集技術の急速な発展により遺伝子改変動物の作製は、これまで以上に迅速化が求められている。さらに、系統化された多くの動物を遺伝資源として確実に保存することが重要である。演者はこれまで、マウス・ラットのバイオリソース業務に携わり、これらの実験動物に必要な生殖技術の開発を行ってきた。その中でも、エレクトロポレーション法を用いた簡易な遺伝子改変動物作製法（テイク法）の開発や液体窒素不要のフリーズドライ精子保存法による長期遺伝資源保存の実用化等の研究は、これまでの方法とは異なる新しい方法として利用されている。本講演では、これらの新しい生殖技術の開発と現状および応用例などを紹介する。また、本講演では、多くの動物実験施設等の研究支援業務に応用していただくために、文献では伝わりにくい技術的な情報や技術研修会の様子等についても紹介する予定である。

参考資料

1. Kaneko T. Genome Editing in Mouse and Rat by Electroporation. *Methods Mol Biol.* 1630:81-89, 2017.
2. Kaneko T. Simple sperm preservation by freeze-drying for conserving animal strains. *Methods Mol Biol.* 1239:317-29, 2015.
3. Kaneko T, Mashimo T. Creating knockout and knockin rodents using engineered endonucleases via direct embryo injection. *Methods Mol Biol.* 1239:307-15, 2015.
4. 岩手大学動物生殖・発生学研究室 HP (<http://web.cc.iwate-u.ac.jp/~takehito/index.html>)

講演IV

実験動物メダカの生殖幹細胞移植による遺伝資源保全

関 信輔

秋田大学 バイオサイエンス教育・研究サポートセンター 動物実験部門

小型魚類はヒトの遺伝子組成との共通部分も多く、維持管理コストが哺乳動物に比べて圧倒的に低いことから、実験動物としての価値が高く、世界各地で医学・薬学研究に活用されている。また、脊椎動物の基本的体制を備えた最も古い動物群であるため脊椎動物の進化を考える上でも重要な存在である。さらに、その特徴（多産、胚が透明、胚の早い発生、短い世代交代）から、遺伝学・発生学研究の脊椎動物モデルとして用いられている。胚は母体外で受精・発生するため、体外操作が容易であり、胚へのマイクロインジェクションによる外来遺伝子の導入やゲノム編集がおこなわれている。

小型魚類であるメダカは、日本人にとって馴染み深い生物であるとともに、日本発の実験動物として注目されている。哺乳類以外での近交系はめずらしいものであるが、メダカは江戸時代から飼育されてきたこともあり、ユニークな表現型を示す近交系（雄 赤色 雌 白色）を含む多数の近交系が樹立されている。一方、日本や東南アジアに生息している野生メダカは人間活動による生息地（水田など）の激減により、絶滅危惧種に指定されているという側面もある。これら近交系や野生地域集団の雌雄ゲノムを完全に保存するためには、精子とともに卵子や初期胚の凍結が望まれる。しかし、サイズの小さな精子の凍結は可能であるが、サイズの巨大な卵子や初期胚の凍結法は全く開発されておらず、すべて継代により系統維持されている。継代飼育は、異なる系統間の混入、病原体への感染、転位因子による系統の変質などの問題を抱えており、遺伝資源の保存という観点からは適切な方法とはいえない。そこで、新たなメダカ遺伝資源保存法を開発するために、精子および卵子の両者へ分化可能な生殖細胞（精原細胞）に着目した。すなわち、精原細胞を含む精巣まるごとをガラス化保存し、融解後に代理親へ移植することで、代理親に凍結生殖細胞由来の精子・卵子を生産させ、凍結した生殖細胞由来のメダカ個体作出に成功した。さらに、ドナーとして近交系、絶滅危惧種である野生地域集団、あるいは低妊性系統を用いたところ、代理親両親の交配からドナー生殖細胞由来の次世代のみを得ることに成功した。近交系の保存、絶滅危惧種の保全、および不妊系統の大量生産に応用可能である。

本研究により、卵子の凍結保存が不可能であるメダカにおいて、雌雄ゲノムを保持する生殖細胞を凍結し、個体を作成することに成功した。本研究で開発した一連の技術は、我が国で開発された研究上有用なメダカバイオリソースを半永久的に保存し、必要に応じて安定供給する上で大きなブレイクスルーになった。また、同様の戦略は、卵子の凍結が不可能な種（ゼブラフィッシュあるいはアフリカツメガエル）の重要系統を保存する方法への応用が期待される。

謝 辞

第 30 回東北動物実験研究会開催にあたり、下記の企業よりご支援をいただきました。ここに、厚く御礼申し上げます。

【ご協賛企業】

オリエンタル酵母工業株式会社

共立医科器械株式会社

有限会社 熊谷重安商店

テクノプラスト・ジャパン株式会社

株式会社 夏目製作所

日本クレア株式会社

【広告費掲載企業】

共立医科器械株式会社

テクノプラスト・ジャパン株式会社

株式会社 夏目製作所

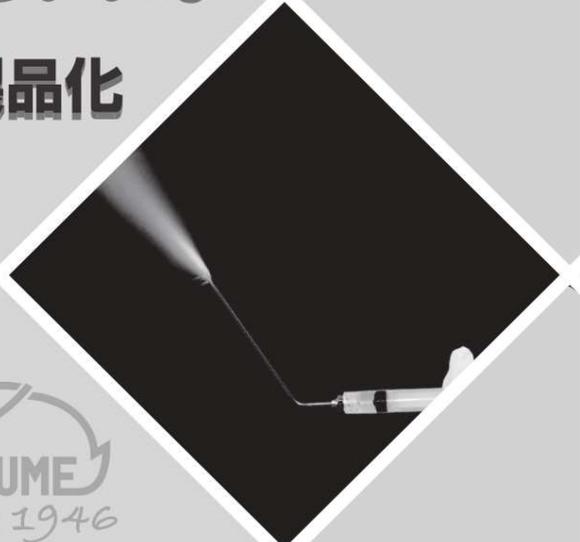
日本クレア株式会社

(五十音順、敬称略)

東北動物実験研究会



あつたらしいな
を製品化



<http://www.nazme.co.jp>

株式会社 夏目製作所



2019

クオリティーの向上



人がいる、
心がある、
医療に貢献。

ISO 9001:登録企業



Registered
to ISO 9001



誠実・医療に奉仕

共立医科器械株式会社

●本社	〒020-0013 岩手県盛岡市愛宕町15-9	TEL (019) 623-1205 (代)	FAX (019) 653-5301
水沢支店	〒023-0826 岩手県奥州市水沢中田町4-38	TEL (0197) 25-6221 (代)	FAX (0197) 25-6223
さんりく営業所	〒026-0046 岩手県釜石市桜木町1-6-41	TEL (0193) 23-0491 (代)	FAX (0193) 23-0976
八戸支店	〒039-1166 青森県八戸市根城3-18-3	TEL (0178) 43-2923 (代)	FAX (0178) 44-1957
弘前営業所	〒036-8062 青森県弘前市大字青山4-20-3	TEL (0172) 55-5081	FAX (0172) 55-5082
青森営業所	〒030-0811 青森県青森市青柳1-8-19	TEL (017) 718-3205	FAX (017) 718-3206
六ヶ所営業所	〒039-3212 青森県上北郡六ヶ所村大字尾駸字野附1-35	TEL (0175) 71-1170	FAX (0175) 71-1171
秋田営業所	〒010-0041 秋田県秋田市広面字川崎107-3	TEL (018) 884-7464	FAX (018) 884-7465
共立サポートセンター	〒020-0813 岩手県盛岡市東山2-3-12	TEL (019) 652-8988	FAX (019) 623-4161
矢巾営業所	〒028-3609 岩手県紫波郡矢巾町医大通二丁目1番12号	TEL (019) 613-6771	FAX (019) 613-6772

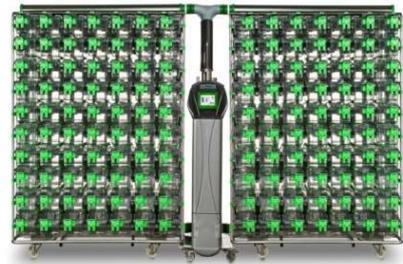
■医療機器 ■医療情報システム ■病・医院諸設備 ■理化学分析機器
■バイオテクノロジー機器 ■環境分析機器 ■実験動物機器

<http://www.kmic.co.jp/>

IVC (マウス・ラット)



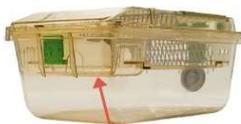
- FELASAとILAR (ガイドライン) に準拠したフロアエリア
マウス: 501cm³ ラット: 904cm³
- ケージに送り込まれる風は超微風速で動物にストレスを与えない設計
- 静音設計の給排気装置は独立式で、動物に振動が伝わらない構造
- マウスケージには、豊富なエンリッチメント:



メゾネット



マウスハウス



ロフト



バルコニー



アクティブホイール



2階建てラットIVC



- RSPCA (英国動物虐待防止協会) に準拠したフロアエリア・ケージ高さ
- 動物福祉の観点による、広い2階建てのラット用IVCケージ
- 集団生活を習性とするラットにとって理想的な広さの空間
- ラットが好む立ち姿勢やジャンプといった行動が自由にできる設計
※RSPCAのガイドラインに世界で初めて準拠した時代の先を行くケージです。



洗浄機



- 万能型洗浄機・キャビネット型洗浄機は、ロードントケージや給水ボトル、ウサギケージ、その他アクセサリ類などを1台で洗浄可能
- 洗浄物の中に入れてスタートをするだけで、わずか5分で万能型洗浄機は88ケージ、キャビネット型洗浄機は28ケージ(マウス5匹飼育基準)を洗浄可能
- 環境に配慮し、洗浄水とリンス水を再利用することで消費水量を大幅にカット
- 洗浄工程中に洗浄機に人が張り付いている必要が無く、1人でのオペレーションが可能
- 万能型洗浄機は上記記載の洗浄対象物他、大動物ケージ、飼育ラック、運搬台車を洗浄することが可能で、さらにオプションを搭載すれば、ガス滅菌チャンバーとしても使用可能



万能型洗浄機

キャビネット型洗浄機

新しい発見を 変わらない品質で

私たち日本クレアは、生命のあらゆる可能性を探求し発展させる基盤として、動物愛護のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。



マウス・ラット

● Closed Colony

- マウス Jcl:ICR
- ラット Jcl:SD, Jcl:Wistar
BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)

● MCH (Multi Cross Hybrid)

- マウス MCH(ICR)/Jcl

● Inbred

- マウス C3H/HeNjcl, C3H/HeJjcl^{*1}
C57BL/6Njcl, C57BL/6Jjcl^{*1}
BALB/cAjcl, BALB/cByJjcl^{*1}
FVB/Njcl, DBA/2Jjcl^{*1}, 129^{+/+}/Svjcl
- ラット F344/Jcl

● 疾患モデル

免疫不全モデル

- マウス BALB/cAjcl-nu
C.B-17/1cr-scld Jcl
NOD/Shijic-scld Jcl
ALY[®]/Nscjcl-aly^{*2}
- ラット F344/Njcl-rnu

1型糖尿病モデル

- マウス NOD/Shijcl

2型糖尿病モデル

- マウス KK/Tajcl, KK-A⁺/Tajcl
BKS.Cg-m+/+Lepr^{db}/jcl^{*1}
- ラット GK/Jcl, SDT/Jcl, SDT fatty/Jcl

アスコルビン酸合成能欠如モデル

- ラット ODS/Shijcl-od

● 疾患モデル

網膜変性疾患モデル

- ラット RCS/Jcl-rdy

関節リウマチモデル

- マウス SKG/Jcl

外用保湿剤・外用殺菌消毒薬効果検証モデル

- マウス NOA/Jcl^{*2}

● 遺伝子改変動物

短期発ガン性試験モデル

- マウス CByB6F1-Tg (HRAS)2Jic

乳腺がん高感受性モデルラット

- ラット Hras128/Jcl^{*3}

膵がん高感受性短期発がんモデルラット

- ラット Kras301/Jcl^{*3}

生体恒常性維持機構解析モデル

- マウス α -Klotho KO/Jcl^{*2}

- マウス klotho/Jcl^{*3}

アレルギーモデル

- マウス OVA-IgE/Jcl (卵アレルギー)^{*2}
TNP-IgE/Jcl (化学物質アレルギー)^{*2}

● Hybrid

- マウス B6C3F1/Jcl, B6D2F1/Jcl

● Germfree

- マウス MCH(ICR)/jcl[Gf], C57BL/6Njcl[Gf]
BALB/cAjcl[Gf]

その他の取り扱い動物

● (公財) 実験動物中央研究所維持系統

● サル類

- マーモセット Jcl:C.Marmoset(jic) (国内生産)

実験動物用飼料

一般動物用飼料 / 家畜・家禽試験用飼料 / 放射線滅菌飼料 / 特殊実験用配合飼料 / 成分分析

器具・器材

飼育ケージ / 飼育機・ラック / 自動飼育システム / クリーンエアシステム / バイオハザード対策システム / 空調設備・排水処理システム / 管理・実験機器 / 施設計画コンサルティング

受託業務

微生物学的クリーニング / 遺伝子改変マウスの作製 / モノクローナル抗体作製 / 受精卵採取・凍結処理 / 凍結受精卵の供給 / 系統維持及び生産 / 各種処置動物作出 / マイクロバイオーム研究のサポート / 各種受託試験 他

関連業務

動物輸出入 / 微生物モニタリング / 遺伝子モニタリング / 各種データ / 情報サービス

業務提携

Physiogenex社(仏): 代謝性疾患領域に特化した薬効薬理試験受託サービス
(株)ジービーシー研究所: イメージングマウスの作製サービス

*1 *This substrain is at least (a number>20 by definition) generations removed from the originating JAX[®] Mice strain and has NOT been re-infused with pedigreed stock from The Jackson Laboratory.*

*2 凍結受精卵による維持 *3 維持系統につき、原則、余剰動物からの出荷



www.CLEA-Japan.com

東京A D部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7050(代)
大阪A D部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7101(代)
【動物・飼料のご注文先: AD受注センター TEL.03-5704-7123】
東京器材部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7600(代)
大阪器材部 〒564-9953 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7105(代)
札幌出張所 〒063-0849 札幌市西区八軒九条西10-4-28 TEL.011-631-2725(代)
仙台出張所 〒983-0014 仙台市宮城野区高砂1丁目30-24 TEL.022-352-4417(代)