

人類の健康を陰で支える動物たち

—疾患モデル動物の紹介—

Laboratory Animals Contributed to Human Health
—Presentation of Disease Animal Models—

森本 正敏*
Masatoshi Morimoto

* 福岡女学院看護大学

超高齢化社会を迎えるわが国では、医療費の削減が叫ばれている。その医療費の中でも医療用医薬品が占める割合が多い。なぜ医療用医薬品は高価なのか。近年医薬品に対する支出を抑えるためにジェネリック医薬品の処方推奨されている。ジェネリック医薬品については、添加物や剤形の問題があり、医師の間でもいろいろと意見が異なるようである。

新薬の開発には多大な経費（数百億円）と10年を超える開発期間が必要とされている。ジェネリック医薬品は開発費が大きく削減されているので安価になる。この新薬の開発には動物が貢献している。よく知られているのは、非臨床試験での安全性試験（催奇形試験）である。1950年代に起こったサリドマイド薬害事件を覚えているだろうか。ドイツの製薬企業が、鎮静・催眠薬として開発したもので、「妊婦さんや小児が安心して飲める安全無害な薬」として発売された。しかし、奇形（アザラシ肢症を代表とする）とサリドマイドとの因果関係が明らかになると欧州各国で製造・販売が中止された。日本は、それから遅れること1年で製造・販売が中止された。この間に日本では多くの被害者を出すことになった。サリドマイドも安全試験を行っていたが、マウスとラットのみで、これらの動物には奇形が起らなかった。その後の実験で、ウサギやサルにはヒトと同様の奇形が生じることが明らかになった。これから、非臨床試験が厳しくなった。我々が飲む薬が安全であるために、動物は貢献している。体内に留置するカテーテルの類やステントなども動物に留置することにより、その安全性が確かめられている。

人類の病気は、たくさんある。治療法が確立され

ていない病気（難病）も多く存在する。製薬企業の研究者や製薬企業以外の研究者は、病気がどうして起こるのかを研究する。倫理上ヒトでは研究できないので、培養細胞（in vitro）や生きた動物（in vivo）で研究する。新薬の候補はたくさん挙げられるが、in vitroで候補を絞っていく。絞られた候補の化学物質の効果検定をin vivoで行う。臨床試験にいたるまで、多くの経費と年数が必要になる。国際的なメガファーマーに日本が太刀打ちできない理由のひとつである。

治療法の確立や新薬の開発のような研究に使われる動物を実験動物という。実験動物を大きく分類すると、実験動物、家畜、野生動物の3つに分類される。現在は一部家畜も使用するが、生産および飼育環境が制御されている動物を狭義の実験動物として扱っている。コンパニオンアニマルと異なり、実験動物は研究のために生産される動物であり、健康でなければならない。開発途上の新薬の候補を、このような健康な実験動物に使用しても目的の疾患に効果があるかどうかは分からない。そのため目的の疾患に似た症状を持つ動物を選択する必要がある。これが実験動物の中でも、疾患モデル動物という実験動物である。

2003年にヒトのゲノム（塩基配列）解析が終了した。人類は疾患と遺伝子の関係が明らかになり、大きく医療が進歩し、難病が克服されると大きな期待を持った。ヒトに最も近いとされているチンパンジーのゲノム解析も完成した。チンパンジーとヒトの塩基配列は約30億対で、ヒトとチンパンジーのDNAは約99%同じであるという報告がなされた。しかし、その後の解析技術の進歩で、ヒトとチンパ

ンジーの DNA の違いはもっとあるという報告がなされた。染色体では、ヒトが 23 対、チンパンジーは 24 対である。ヒトのゲノム解析の終了後まもなくマウスのゲノム解析も終わった。マウスの染色体は 20 対で、塩基配列は約 25 億対である。マウスではヒトと共通する遺伝子は全体の 99%と報告された。ヒトの疾患に関する遺伝子も多く見つかった。なぜマウスという小さなネズミの DNA 解析がこのように早く進んだのか。実験動物のカテゴリーの中で、マウスは特別な位置を占めている。

人類は多くの人種があり、遺伝的に多様性がある。ヒトのゲノムが解析されたと書いたが、それはある一部のヒトの解析であり、全てのヒトのゲノムが解析されたことではない。基礎研究では遺伝的に均一な動物が求められる。テーラーメイド医療が求められているように、薬の効果には個人差がある。同じ薬を投与しても利く患者さんと利かない患者さんがいる。その原因が遺伝子の違いと考えられている。遺伝子が均一な動物を使用することが研究データの信頼性を優位なものにする。遺伝子が均一な動物といえばクローン動物が挙げられる。クローン動物を多数作ればいいのだが、技術的にも経済的にも困難である。初めてのクローン動物、羊のドリーで話題になり、その後多くの種類の動物でクローンがつくられた。クローン動物は費用対効果を考えると、割に合わない技術のようである。我々のグループはウサギのクローンにトライしたが、成功せず断念した。

ここで登場するのがマウスである。実験動物として利用されているマウスは、近交系と命名されている。実験動物学の定義では、「兄妹交配あるいは親子交配を 20 代繰り返して確立される」とされている。マウスの妊娠期間は 20 日、哺乳期間も 20 日、生後 8 週齢で妊娠可能である。産まれて放置していると、ケージの中は次のマウスの新生児でいっぱいになることがある。鼠算方式で増える。したがって離乳後はオスとメスに分けて飼育しなければならない。私は学生の頃ハムスターを用いて研究したが、長期の休みに帰省して大学に戻ってきたら、ハムスターの赤ちゃんだらけで大変なことになっていたことを経験した（給餌と給水は当番制）。他に近交系が確立されている動物種としてはラットだが、

系統数はごく少数である。ヒトでは近親結婚が禁止されている国が多いが、動物も兄妹交配あるいは親子交配を繰り返すと奇形の発生率が高くなり、不妊動物が増え繁殖率も悪くなる。マウスはこの障害が出ない。研究に使われているマウスのほとんどが近交系である。マウスではヒトと共通する遺伝子は全体の 99%であるという報告もあり、遺伝子の研究にはマウスが多用されている。

実験動物を長期自家繁殖していると、時々おかしな状態を示す動物が出現する。代表的な例では、糖尿病ラットの発見がある。飼育者がいつもケージの床敷が濡れていることに気がつき、自動給水装置の故障と思い給水瓶に交換した。翌日飼育室を見に行くと給水瓶はからになり、床敷が濡れていた。給水瓶は正常だった。飼育者は糖尿病のことを思い出し、血糖値を測定すると高血糖を示していた。このラットを選抜繁殖し、糖尿病ラットを確立した。この他にも、高血圧ラット、肥満ラット、脂質代謝異常マウス、糖尿病マウスでは、1 型モデル (NOD マウス、BB ラット、LETL ラット、KDP ラット)、2 型モデル (GK ラット、OLETF ラット、Zucker fatty ラット、Wistar fatty ラット、Dahl ラット、KK-Ay マウス、NON マウス、NSY マウス、TSOD マウス、db/db マウス) が研究に使用されている。これらの多くは日本で見つかったものである。ヒトと類似の高血圧、脳卒中を自然発症する高血圧自然発症ラット (SHR)、脳卒中易発症ラット (SHRSP) は 20 世紀後半 (1963 年、1973 年) 岡本耕造京都大学名誉教授・青木久三博士はじめ、京都大学医学部病理学教室により開発された (<http://www.japan-shr.org/kinenhi.html> 参照)。免疫不全マウス、ヌードマウス、その他にも多くの病気を示すラットやマウスが見つかり、それらは疾患モデルラットおよびマウスとして、系統保存されている。これらは突然変異で生じるものであり、偶然見つかった例である。疾患に興味のない飼育者では見逃していたと思われる。疾患モデル動物は、このほかにもウサギやブタでも見つっている。偶然見つかった突然変異マウスで、SAM マウスという珍しいマウスがいる。Senescence-Accelerated Mouse (老化促進マウス) の略である。数系統が見つっているが、寿命が約 18 ヶ月 (普通のマウスは 24 ヶ月以

上生存する)である。生後12ヶ月で老化の徴候を示す。老化促進の他に、免疫不全、アミロイドーシス、記憶障害、白内障を症状として持つ系統もみつがっている。このマウスは、京都大学結核胸部疾患研究所病理部門(現再生医化学研究所再生誘導研究分野)でみつがった(<http://www.samrc.jp/SAMmouse.htm> 参照)。

次に、高脂血症のモデル動物として有名なWHHLウサギの起源となる突然変異ウサギの発見の経緯を紹介する(<http://www.med.kobe-u.ac.jp/iea/gaiyou-1.html> 参照)。渡辺嘉雄神戸大学医学部附属動物実験施設前教授はオスの日本白色種ウサギ(100日齢)を用いて給餌を毎日の制限給餌から隔日に変更することがウサギの血清生化学パラメーターに与える影響を検討した。その実験に使用したウサギの中に血清総コレステロール値が正常ウサギの約10倍の高値を示すウサギを発見した。このウサギの高コレステロール血症は一時的なものではなかったことから、渡辺前教授は突然変異による高脂血症と判断し、系統開発を開発した。高脂血症ウサギを「異常動物」として無視せずに系統開発に取り組んだことは渡辺前教授の先見性を表している。1973年は、後にノーベル賞を受賞したGoldstein JLとBrown MSがLDL receptor pathway 仮説を提唱した年であり、現在世界中で高コレステロール血症の第一選択肢として使用されているスタチンを国内製薬会社の研究グループが世界で最初に発見した年でもあった。どちらの研究にも、WHHLウサギが貢献した。

これらの突然変異を固定するためには、育種学の知識(遺伝学的統御)と長い時間を必要とする。自然発症疾患モデル動物とは、遺伝的に固定した表現型を示すミュータントである。突然変異体によっては生殖能力がないものがある。特にホモ型に多く、その場合はヘテロ型で維持する。これらの突然変異動物は多数の遺伝子が関与していることが想像される。遺伝子を操作する技術の確立が、偶然性と長期間が必要な自然発症型から、必然性と短期間の疾患モデル動物の作出を可能にした。

遺伝子操作技術は大きく2つの技術に分類された。ひとつめは目的遺伝子を挿入する(トランスジェニック)方法で、トランスジェニック(以下、TGとする)

動物、ふたつめは目的遺伝子の機能を破壊する方法で、ノックアウト(以下、KOとする)動物である。TG動物は、マイクロインジェクション法を使用する。KO動物はES細胞(胚性幹細胞)を使用する。

我々がこれまで行ってきた研究を紹介する。死因の上位を占める脳血管障害、心臓血管障害、動脈瘤破裂は、引き金となっている動脈硬化が生活習慣病(高血圧、高脂血症、肥満、糖尿病、これらを死の四重奏と呼んでいる)により引き起こされる。我々は、生活習慣病に関係する多くの遺伝子をウサギの受精卵に注入し、TGウサギを作成し、病理学的変化を調べることにした。

ウサギをヒトの疾患モデルへの利用として考えた場合、一番大きな生理学的特徴のひとつは脂質代謝がマウスに比べてヒトに近いということである。たとえば、リポ蛋白分画についてみると、マウスではHDLが主体であるが、HDLは善玉コレステロールと称され、抗動脈硬化に働く。このため、マウスでは非常に動脈硬化を惹起するのが困難である。また、マウスでは体が小さいため、心臓の冠状動脈などの病変の観察はほとんど不可能で、大動脈においてさえその観察は難しい。それに対してウサギでは、血中のリポ蛋白分画はヒトと同じくLDL主体である。また、コレステロール食に敏感で、動脈硬化を容易に誘導することができる。それから、体の大きさから、冠状動脈の詳細な観察も可能である。これらはTGウサギを考えた場合も大きな利点の一つとなる。しかし、ウサギを使うことには困難さもある。移植胚あたりのTGウサギの産仔数は、約0.3%である。つまり、1,000個DNAを注入した受精卵を移植して、やっと3匹のTGウサギを得ることができる。1匹のメスウサギには約30個の受精卵を移植するので、仮親は30匹準備しなければならない。ヒトでの遺伝子の中には、ウサギにトランスジーンすると致死的なものもあるようである。多くの遺伝子がかかわる疾患の研究は大変な労力と研究費が必要になる。

ではKOウサギはどうかというと、ウサギのES細胞が確立していないため、KOウサギを作成することは不可能である。2008年にラットのES細胞が樹立された。2009年にウサギのES細胞も樹立された。さあこれからKOウサギを作るぞとい

うころに、新しい技術が報告された。それが、ゲノム編集技術である。1996年にZFN (zinc-finger nuclease) 法、2010年にTALEN (transcription activator-like effector nuclease) 法、2012年にCRISPR/Cas9 (clusterd regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR-associated genes9) 法が報告された。これらは、人工制限酵素を用いて任意のゲノム配列を置換、挿入、削除することが可能である。

KO動物は遺伝子のなかに薬剤耐性遺伝子を挿入して、遺伝子の機能を止める方法であるが、ゲノム編集は、傷ついたDNAは自ら修復するという性質を利用しており、複数の遺伝子の機能を止めることも可能である。欠損遺伝子を挿入することも可能である。この技術は臨床応用されるようでもある。

ヒトに近いサルを研究に用いるためには倫理的問題、非常に高価なため研究費の問題、輸入に頼るため輸送や検疫の問題があり、ハードルが高かった。しかし、マカク属と同類(真猿類)のコモンマーモセットは小型で繁殖が容易であるという利点を生かし、コモンマーモセットのゲノム編集による疾患モデル動物の作成が進んでいる (http://www.amed.go.jp/news/release_20160701.html 参照)。今後、医薬品の開発に大きく貢献すると思われる。またiPS細胞とゲノム編集を組み合わせ、臨床応用することが山中伸弥教授からも公表されている。ゲノム編集は既に米国においてAIDS治療のため臨床応用されている。この技術がこれからの主流になりそうである。

最新のマウス、ラット、サルの情報については、文部科学省が実施している、ナショナルバイオリソースプロジェクト (<http://www.nbrp.jp/>) を参照されたい。

最新の話題については、次回に紹介する。

参考図書

- 森脇和郎 監修 自然発症疾患モデル動物 中山書店 1999
森脇和郎 監修 小さくて頼もしいモデル動物 羊土社 2014