

第 5 回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会

講演要旨集



TSODマウス



TSNOマウス

平成 21 年 11 月 6 日 (金)
午後 12 時 50 分 ~ 5 時
東京八重洲ホール
日本橋 3-4-13 TEL 03-3201-3631



TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会

TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会は、TSOD(肥満・糖尿病)マウスの研究を通じて生活習慣病(肥満症、糖尿病、代謝疾患など)に関する学術研究および学術情報等の交換を行うことにより、医学、実験動物学、栄養学、薬学、医療技術等の進歩をはかり、もって世界における学術の発展とヒトならびにその他動物の健康増進に寄与することを目的として活動いたします。

この目的を達成するため、次のような事業を行います。

- (1) TSOD(肥満・糖尿病)マウスを用いる基礎研究の促進
- (2) 会員の研究成果の収集と情報提供
- (3) 国内外の関係学術団体との連絡および提携
- (4) 学術集会等の開催
- (5) その他、本会の目的を達成するために必要な事業

本研究会は学術集会等を開催し会員の意見を研究会運営に取り入れ、またその結果を踏まえて研究者の必要情報を提供する努力をいたします。

TSOD マウスの会員価格購入は申込書を動繁研に提出するのみとなりました。
TSOD マウス研究会研究費助成がはじまります。詳細は規程をご覧ください。

事務局: 東京都西東京市新町 1-1-20
武蔵野大学薬学研究所生薬療法学研究室内
TEL:090-7924-2398 FAX0424-68-9178
E-mail: sasaki@iar.or.jp

TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会ホームページより

第5回 TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会情報交換会

日時:2009年11月6日(金) 12:50~17:00

場所:東京八重洲ホール 701会議室 東京都中央区日本橋3丁目4番13号

TEL03-3201-3631 FAX03-3274-5111

会長:今井一洋(武蔵野大学副学長)

副会長:高橋和明(日本獣医生命科学大学名誉教授)

参加費:無料

12:30~ 受付

12:50~12:55 会長あいさつ並びに平成21年度研究助成金贈呈 今井一洋(武蔵野大学)

座長 嶋田 努(武蔵野大学)

12:55~13:30 招待講演 体内時計と肥満

大石勝隆(産総研生物機能工学研究部門 生物時計研究グループ)

座長 赤瀬智子(東京大学)

13:30~14:00 2型糖尿病モデルマウスTSODの内臓脂肪組織中 11位水酸化ステロイド脱
水素酵素1型活性 多河典子¹⁾、嶋田努²⁾、油田正樹²⁾、小林吉晴¹⁾

(神戸薬大¹⁾、武蔵野大学²⁾)

座長 常山幸一(富山大学)

14:00~14:30 高脂肪食環境要因負荷による TSOD マウスの特性変化

嶋田 努(武蔵野大学)

14:30~15:00 臨床試験と TSOD 試験での比較:エノキタケ抽出物の内臓脂肪減少効果を基
盤として 渡邊泰雄¹⁾、久保光志²⁾、堀 祐輔³⁾、脇 能広¹⁾、茅野大介¹⁾

(日本薬科大学薬理¹⁾、生薬分析学²⁾、統合医療センター³⁾)

15:00~15:15 休憩

座長 河田登美枝(武蔵野大学)

15:15~15:45 自然発症 NASH-肝細胞癌モデルマウスとしての TSOD マウスの有用性

常山 幸一¹⁾、藤本 誠²⁾ (富山大学病理¹⁾、和漢²⁾)

座長 宮田茂雄(武蔵野大学)

15:45~16:30 教育講演 視床下部性肥満のモデル動物

井上修二(桐生大学)

16:30~16:55 総合討論

座長 油田正樹(武蔵野大学)

16:55~17:00 閉会あいさつ

高橋和明(日本獣医生命科学大学)

17:30~19:30 懇親会(会費5,000円)

プラスリトウヨウ

〒103-0027 東京都中央区日本橋1-2-10 東洋ビル TEL03-3271-0003

平成 21 年度 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会研究費助成者

TSOD マウスを用いた肥満による血中 PAI-1 上昇と脂肪組織 PAI-1 の関連解明

帝京大学 薬学部 大藏 直樹

TSOD マウスの視床下部を中心としたエネルギー代謝調節機構の解析

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所 宮田 茂雄

体内時計と肥満

大石勝隆

産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 生物時計研究グループ

地球上のほぼ全ての生物には体内時計が存在し、行動や様々な生理機能の日内リズムを制御している。90年代後半には、我々ヒトを含む哺乳類においても、時計遺伝子と呼ばれる一連の遺伝子群によって体内時計のリズム発振が制御されていることが明らかとなってきた。哺乳類における体内時計の中樞は、脳内視床下部の視交叉上核(SCN)に存在している。時計遺伝子の発現は、時計中樞である SCN のみならず、肝臓や心臓、腎臓、脂肪組織、末梢白血球などのほとんどの組織において認められ、末梢時計の存在が考えられている。

DNA マイクロアレイによる網羅的な発現遺伝子解析から、転写因子であり、時計分子である CLOCK は、肝臓において脂肪酸の合成・代謝に関わっている可能性が考えられ、実際に *Clock* 遺伝子の変異マウスにおいては、高脂肪食負荷による肥満形成に有意な差異が認められる。興味深いことに、*Clock* 遺伝子変異による肥満傾向には、大きな系統差が存在し、B6系統では肥満が促進されるのに対して、ICR 系統では、肥満が抑制されることが報告されている。CLOCK とヘテロ二量体を形成する BMAL1 分子は、脂肪細胞の分化において重要な役割を担っており、BMAL1 欠損マウスにおいては、脂肪委縮に伴う極度な体重減少が認められる。さらに、*Clock* や *BMAL1* 遺伝子の変異マウスにおいては、グリコーゲン合成やインスリン抵抗性においても有意な差異が報告されており、末梢時計は、糖・脂質代謝において様々な役割を担っているものと考えられる。

PPAR は、長鎖脂肪酸を内在性リガンドとする核内受容体で、肝臓や心臓、骨格筋などにおいて脂肪酸代謝やケトン体合成を調節している。我々は、時計遺伝子が、PPAR の転写調節を介して脂質代謝の概日リズムを制御している一方で、PPAR のアゴニストであり、高脂血症(脂質代謝異常症)治療薬として用いられているフィブラート系薬剤が、体内時計に作用して活動のリズムに影響することを報告してきた。また最近になって、飢餓状態を模倣するケトンダイエットによって、PPAR の活性化とともに体内時計の位相が顕著に前進することを発見した。これらの知見は、体内時計と脂質代謝系には、PPAR を介したフィードバック機構が存在する可能性を示している。

肥満及び過食に伴う摂食行動(リズム)の変化は従来よく知られているが、その因果関係は未だ解明されていない。時計遺伝子の機能欠損は、何らかの形で肥満形成に関与していることは明らかだが、個体レベルでの行動リズムを介した影響とともに、末梢臓器における様々な代謝関連遺伝子の発現制御を介した影響が大きいものと考えられる。本講演では、ここ数年の間に報告された様々な知見を広くご紹介させていただきたいと考えている。

2 型糖尿病モデルマウス TOSD の内臓脂肪組織中 11β 位水酸化ステロイド脱水素酵素 1 型活性

多河 典子¹⁾、嶋田 努²⁾、油田 正樹²⁾、小林 吉晴¹⁾
神戸薬科大学 病態生化学研究室¹⁾、武蔵野大学 薬学部²⁾

【目的】11β 位水酸化ステロイド脱水素酵素 1 型(11β-HSD1)は、末梢細胞内で不活性型グルココルチコイド(GC、齧歯類:11-dehydrocorticosterone;ヒト:cortisone)を活性型 GC(齧歯類:corticosterone;ヒト:cortisol)に変換するステロイド代謝酵素である(図1)。活性型GCは前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化を誘導し、脂肪蓄積を促進する。一方、Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes (TSOD) マウスは、中等度の肥満を呈し遺伝的に糖尿病を自然発症する 2 型糖尿病のモデルマウスとして 1992 年に確立された。本研究では TSOD マウスの肥満ならびに 2 型糖尿病発症に対する 11β-HSD1 の関与について検討した。

【方法】TSODと対照群 Tsumura, Suzuki, Non-Obesity (TSNO)マウス(いずれも 12 週齢, n = 8)の腸間膜脂肪、精巣周囲脂肪および皮下脂肪組織の 11β-HSD1 活性を測定した。また糖・脂質代謝、肝・腎機能、血圧、内臓脂肪量を測定した。

【結果】血糖、インスリン、中性脂肪、コレステロールおよび血圧は TSOD の方が TSNO より有意に高値であった(P<0.01 ~ 0.001)。肝・腎機能は TSOD で有意な低下が認められた(P<0.01 ~ 0.001)。また、皮下脂肪組織の 11β-HSD1 活性は両者間で差はなかったが、内臓脂肪組織では TSOD で高い活性が認められた(P<0.001)。さらに内臓脂肪組織の 11β-HSD1 活性はインスリン(P<0.05)、内臓脂肪量(P<0.001)およびBMI(P<0.001)と有意な正の相関がみられた。

【考察】TSOD マウスの肥満、2 型糖尿病の発症には内臓脂肪組織中の 11β-HSD1 活性の上昇も一つの重要な要因となっていることが示唆された。

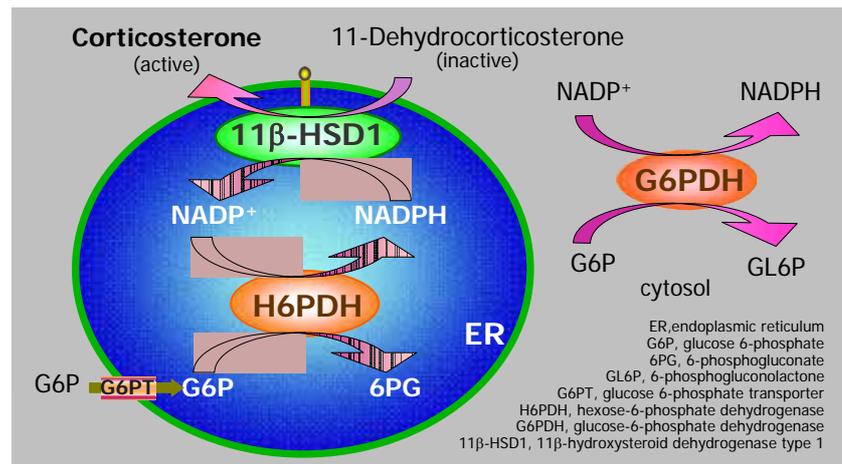


図1 脂肪細胞中の 11β-HSD1 と H6PDH

11β-HSD1 は脂肪細胞の小胞体に共存する H6PDH により供給される NADPH を補酵素として用い、11-dehydrocorticosterone を corticosterone に変換している。

高脂肪食環境要因負荷による TSOD マウスの特性変化

嶋田 努

武蔵野大学 薬学部

【背景】近年の肥満患者急増の背景には、食の欧米化や交通手段の発達、ストレスなどの環境要因による関与が知られている。一方、肥満をはじめ種々の代謝性疾患の発症原因には遺伝子多形いわゆる遺伝背景の関与が報告されている。これまでに泉らは QTL マッピング法を用い、TSOD マウスは体重・血糖値・インスリン値・脂肪量や脂肪細胞のサイズを支配する遺伝子座に変異があることを報告している。また、我々は GeneChip 解析を行った結果、TSOD マウスおよび対照マウスである TSNO マウス間において糖・脂質代謝に関わる遺伝子発現に変化がみられることを本会第 4 回情報交換会において報告した。つまり TSOD マウスは多因子遺伝性のモデル動物であり、種々の Phenotype には遺伝背景の関与が考えられている。

【目的】TSOD マウスおよび TSNO マウスに、環境要因としてウエスタンダイエット食(WTD)を負荷し、遺伝的要因に対する環境要因の影響を検討した。群構成としては、TSNO マウスに普通食および WTD を摂取させた群をそれぞれ TSNO-MF 群および TSNO-WTD 群、同様に TSOD マウスに普通食および WTD を摂取させた群をそれぞれ TSOD-MF 群および TSOD-WTD 群とし、各飼料を 1 ヶ月齢から 12 ヶ月齢まで自由摂取させた。

【結果】体重推移は TSNO マウス群、TSOD マウス群ともに WTD 負荷により同程度(10~20%増)の増加を示した。内臓脂肪および皮下脂肪量推移は TSNO マウス群・TSOD マウス群とともに WTD 負荷により高い推移を示し、TSOD-MF 群の内臓脂肪においては 6 ヶ月齢をピークにその後低下したが、その他の群は経時的に増加し続けた。12 ヶ月齢の解剖時に摘出した脂肪組織の特徴的な変化としては、TSOD-WTD 群における腎周囲脂肪および肩甲骨間脂肪の蓄積が TSOD-MF 群と比較し著しく増加していることであり(それぞれ 3 倍および 2 倍)、CT 解析においても同様な結果が示された。血中生化学検査値は、TSNO マウス群において WTD により総コレステロール値のみが増加したが、TSOD マウス群では WTD により血糖値、総コレステロール値が増加しており、逆にトリグリセリド値は低下していた。血压に関しては TSOD-WTD 群においてのみ有意な高値を示した。肝中脂肪率を X 線 CT により解析した結果、TSNO-MF 群に比べ TSNO-WTD 群で継続的に高い推移を示し、TSNO-WTD 群は TSOD-MF 群と同程度の推移を示した。TSOD-WTD 群は TSOD-MF 群より 2 倍以上の肝中脂肪率を示したが、6 ヶ月齢をピークとしその後低下した。12 ヶ月齢の肝臓病理像は、TSNO-MF 群と比較し TSNO-WTD 群で Steatosis や Lobular inflammation の増加が見られた。TSOD-MF 群は Steatosis、Lobular inflammation および Hepatocyte ballooning が観察され、TSOD-WTD 群ではさらに Dysplastic nodule および Hepatocellular Carcinoma が観察された。

【考察】代謝性疾患の遺伝背景を持たない TSNO マウスに環境要因として WTD を負荷した場合、肥満は発症するがその他の合併症は発症しにくく、遺伝的要因を持つ TSOD マウスは環境要因の暴露によって肝障害や高血圧等病態がさらに増悪することが示された。

臨床試験と TSOD 試験での比較:

エノキタケ抽出物の内臓脂肪減少効果を基盤として

Comparison between Results from Clinical Studies and Animal Studies Using by
TSOD based on effects of *Flammulina Velutipes* (Curt.: Fr.) Sing Extracts
on Visceral Fat decreases

渡邊泰雄¹⁾、久保光志²⁾、堀 祐輔³⁾、脇 能広¹⁾、茅野大介¹⁾

日本薬科大学医療薬学科薬理学分野¹⁾、日本薬科大学漢方薬学科生薬分析学分野²⁾、
日本薬科大学統合医療センター³⁾

1. エノキタケ抽出物の体脂肪低減効果(臨床試験)

エノキタケ抽出物(キノコキトサン)は、エノキタケの熱水抽出物とその抽出残渣をアルカリ処理して得られた成分から成り、 β -グルカン、植物性キトサンおよび複合糖質などが主に含まれている。

これまでに行われた少人数のヒト臨床試験の結果、エノキタケ抽出物(キノコキトサン)は、脂肪吸収抑制効果と脂肪燃焼促進効果を有していることが示唆されている。今回、幅広い年齢層の男女を用いた二重盲検法による用量設定試験および有効性試験を行った。

用量設定試験

30歳以上59歳以下、BMIが25以上、体重が100kg以内の日本人男女の、計46名(男性:34名女性:12名)を選抜し、本試験の被験者とした。摂取期間は8週間とし、エノキタケ抽出物を200mg、400mg、800mgあるいはコントロール品を1日1回1包摂取させた。試験の結果、体重ではコントロール群は試験前後で変化が認められなかったのに対し、エノキタケ抽出物では200mg、400mgおよび800mg群で、それぞれ平均で1.8%、0.9%および1.7%の減少が認められた。体脂肪率では全群で経時的な減少が認められたが、エノキタケ抽出物摂取によりコントロール群と比較して約1.5倍の脂肪減少効果が認められた。CTを用いた画像解析においても脂肪減少の効果が確認され、特に400mg以上の摂取群で内臓脂肪の有意な減少効果が確認された。さらに、400mg群で総コレステロール、LDLコレステロールおよび遊離脂肪酸の経時的な減少が見られ、胆汁酸およびコレステロールの排泄促進効果を有することも示唆された。一方、摂取後2週間においても各測定値は大きな変動も無く維持され、リバウンド現象は認められなかった。これらの結果を総合的に判断すると、脂肪減少効果および摂取の容易さなどから、エノキタケ抽出物の400mg群の有用性が最も高いと考えられた。

有効性試験

30歳以上59歳以下、BMIが25以上、体重が100kg以内の日本人男女の、計76名(男性:57名女性:19名)を選抜し、本試験の被験者とした。摂取期間は12週間とし、エノキタケ抽出物を400mg含有する試験飲料あるいはプラセボ飲料を1日1本350ml摂取させた。その結果、試験飲料は12週間連続摂取することによりBMI25以上の被験者の体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、ウエスト周囲径および体脂肪面積を有意に減少させることが明らかとなった。特に、体重、BMI、ウエスト周囲径およびCTによる内臓脂肪面積では摂取前後の変化率で

プラセボ飲料群と試験飲料群の群間で有意差が認められ、試験飲料の減量効果および内臓脂肪減少効果がより明確となった。体重の平均減少量は 1.0kg であり、その内訳は、除脂肪量の試験開始時 55.9kg に対して 0.3kg(0.54%)と、体脂肪量の試験開始時の 21.3kg に対して 0.7kg(3.3%)であった。それぞれの減少率から考えると、除脂肪量の減少率は体脂肪量の 5 分の 1 に過ぎず、エノキタケ抽出物は過剰な体脂肪を選択的に減少させる効果を有する一方で、筋肉や骨などの体組成成分については大きな影響を与えないことが示唆された。すなわち、肥満傾向の強いヒトに対して、より強い脂肪減少効果を示す可能性が示唆された。また、ウエスト周囲径においても、有意な群間差は認められなかったものの摂取開始時と比較して有意な減少が認められた。一方、プラセボ飲料群では全試験期間を通して体構造への影響は見られず、試験前後の値を比較しても変化は認められなかった。また、摂取終了後 4 週間経過すると、これらの測定値が、摂取開始時の値に穏やかに戻っていく傾向の有ることが示唆された。このことは、エノキタケ抽出物の内臓脂肪減少効果の可逆性と同時に、その有効性をさらに明らかに示している。本試験の結果を総括すると、エノキタケ抽出物含有茶飲料は BMI25 以上の肥満被験者に対して、内臓脂肪減少効果を有していることが明らかとなった。

2. TSODマウスを用いたエノキタケ抽出物の脂質代謝改善作用の検討

エノキタケ抽出物の体脂肪に対する有効性の報告は、ヒト試験で実証されているが疾患モデル動物等での検討は成されていない。一方、数種のメタボリック症候群モデル動物が提唱されているが、その中でも TSOD マウスは従来と異なって白色系の肥満型糖尿病モデル動物として注目を浴びている。我々も、TSOD マウスを 対照群(10 ml/kg, p.o.) エノキタケ抽出物低用量群(50 mg/kg, p.o.) エノキタケ抽出物高用量群(500 mg/kg, p.o.) エノキタケ抽出物質含有複合脂肪酸群(5 mg/kg, p.o.)の 4 群に分類し 30 日間連続強制経口投与を行ない内臓脂肪ならびに血液検査、アディポネクチン、レプチン等の変動を検索した。結果として、エノキタケ抽出物高用量群や複合脂肪酸群で副睾丸脂肪組織重量、総コレステロール値、中性脂肪値等に有意な減少が認められ、しかも、脂肪組織中のアディポネクチンやレプチンに明らかな改善効果が認められた。これらの成績は、エノキタケ抽出物が疾患モデル動物でも同様に脂質代謝異常症での改善効果を有することを示唆するものである。付記するに、高用量群(ヒトでの服用量とほぼ同量)と、複合脂肪酸群(高用量にほぼ同量含有されている複合脂肪酸量)で同程度の有意な効果が認められた結果はエノキタケ抽出物の脂質代謝異常症における効能発現に含有される複合脂肪酸が関与することを示唆し、従来までの成績を裏付けるものと考えられる。

3. 結語

エノキタケ抽出物(キノコキトサン)は、ヒトならびに疾患モデル動物において脂質代謝改善効果を有した。しかも、これらの結果は相同性があり、TSOD マウスを脂質代謝異常症の基礎研究に用いることは、ヒト試験での効能効果を確実に推測できる手段と成りえると思われる。

自然発症 NASH-肝細胞癌モデルマウスとしての TSOD マウスの有用性

常山 幸一¹⁾、藤本 誠²⁾

富山大学大学院 医学薬学研究部 病理診断学¹⁾

富山大学大学院 医学薬学研究部 和漢診療学²⁾

NAFLD/NASH の疾患モデルはいくつか報告されているが、その多くは脂質代謝に関連する遺伝子改変モデルや、特殊な食餌で誘導されるものであり、ヒトに近い経過で発症・進展するモデル動物の開発が期待される。我々は最近、生後0日齢のICRマウスにグルタミン酸ナトリウムを皮下注射して誘発するオスのMSGマウスが、肥満や2型糖尿病を背景に、ヒトNASHに極めて近い肝病変を形成すること、及び、12ヶ月齢以降、高率に肝腫瘍を発症することを報告した。また、昨年の本会において、オスのTSODマウスが6ヶ月齢で、**脂肪変性**(中心静脈周囲肝細胞の胞体内に微小脂肪滴出現)、**炎症性変化**(中心静脈周囲の肝細胞の風船様腫大とマロリー体の出現)、**線維化**(軽微な中心静脈周囲線維化)等を発症し、NASHとしての特徴を有する事、さらに12ヶ月齢で、小型肝細胞の集簇巣や、脂肪変性を呈する異型肝細胞の集簇などからなる肝腫瘍が60%以上出現し、重篤なものはヒトの肝細胞癌の特徴を備えている事を報告した。今回、14ヶ月齢以降の高齢TSODマウスを用いて、肝病変の性状を詳細に検討した。

TSODマウスの内訳は14ヶ月齢8匹、15ヶ月齢10匹、16ヶ月齢3匹、17ヶ月齢2匹の計23匹。いずれもホルマリン固定パラフィン包埋標本を作成し、HE染色、ト銀染色、アザン染色を用いて病理形態学的評価と線維化の検索を施行した。NASHの程度はNASスコアを用いて評価し、肝腫瘍の有無は1mm間隔の全割標本を作成して肉眼的に確認した後、腫瘍を含む切片を標本とした。腫瘍成分に関しては、免疫組織学的に肝細胞癌マーカー(Glypican-3)を含む種々の分子の発現も併せて検討した。

高齢TSODマウスではNASスコアが3以上のものが9/23例(39%)と若年TSODマウスに比して減少していた。一方、1個以上の肝腫瘍の出現を見るものは18/23例(78%)であり、高頻度の肝腫瘍の出現が確認された。核異型、構造異型や浸潤傾向を有し、ヒトの肝細胞癌のクライテリアに合致しうる肝腫瘍は7/23例(30%)で認められ、その殆どが肝細胞癌マーカーであるGlypican-3や、GABA受容体などを異常発現していた。これらの肝細胞癌マーカーは、肝細胞癌の診断基準を満たさない肝腫瘍にも種々の程度に出現していた事から、TSODマウスに出現する肝腫瘍は、**前癌病変～肝細胞癌までの種々の段階を示しているもの**と推測された。ヒトではNASHの末期に肝癌が発症すると、背景病変が軽快することが知られている(burn-out NASH)。高齢TSODマウスの腫瘍背景肝もNASスコアは改善傾向が見られる事から、**高齢TSODマウスは、自然発症NASH-肝細胞癌モデルとして、肝腫瘍の自然経過の解析に有用なモデルになりうる**と考えられた。

視床下部性肥満のモデル動物

井上修二

桐生大学 医療保健学部

視床下部性肥満モデルとは 1940 年に Hetherington & Ranson が腹内側核 (VMH) を破壊すると肥満が作成できると同定して以来 VMH 破壊による肥満動物と考えられていたが、現在では室傍核 (PVN)、弓状核 (ARH) の破壊や VMH と外側核 (LH) の神経線維の切断によっても作成できることがわかって来た。最近我々は PVH と ARH の線維結合の切断 (両 VMH 間の破壊) によっても視床下部性肥満モデルが作成できることを見出した。

視床下部性肥満の成因は自律神経の緊張の変化を主因とする VMH 破壊性肥満と過食を主因とする PVH 破壊、ARH 破壊、VMH-LH 切断、PVN-ARH 切断性肥満に大別される。

視床下部性肥満の中で VMH 破壊肥満はユニークな肥満で VMH 破壊による自律神経緊張変化のうちの迷走神経活動上昇によって迷走神経が密に分布する腹部臓器 (胃、小腸、肝、膵) の細胞増殖をきたす。この細胞増殖が胃、十二指腸では胃病変の防御因子の増強による抗潰瘍作用や、潰瘍治癒促進作用、膵細胞増殖による抗糖尿病作用、肝細胞再生作用などによる創薬に結びつく可能性があると考えられる。

第3回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会記録

開催日時：平成19年8月10日(金)午後1時~5時30分

開催場所：アルカディア市ヶ谷(私学会館)

〒102-0073 千代田区九段北4-2-25

演題名：

TSOD マウスの開発研究の経緯	鈴木 亘(武蔵野大学・(株)ツムラ)
TSOD マウスを用いた漢方方剤のメタボリックシンドローム予防効果の検討	嶋田 努・油田正樹(武蔵野大学)
TSOD マウスの遺伝学的解析	泉 哲郎(群馬大学)
遺伝性糖尿病モデル(TSOD)と実験的糖尿病モデル(MSG)について	飯塚生一((株)ツムラ)
メタボリックシンドロームモデル動物に出現する非アルコール性脂肪性肝障害(NAFLD)の病理学的特徴	常山幸一(富山大学)
糖尿病モデル動物の必要性和問題点	後藤由夫(東北大学)

第3回交換会記録

TSOD マウスの開発研究の経緯

鈴木 亘

(武蔵野大学 薬学研究所・株式会社ツムラ ツムラ研究所)

Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes (TSOD)マウスは、演者らによって、15年前に自然発症2型糖尿病モデルマウスの系統として作出(1992年)された。TSODマウスの開発研究は、異常個体(肥満・尿糖)の発見(1984年)から始まり、現在の動物供給体制(供給機関:財団法人動物繁殖研究所)で供給されるまでの20年の期間行われた。この期間に異常個体を用いた系統作出(1992年)や病態解明の研究報告等(1989年~)を共に、動物供給体制構築の検討(1996年~1999年)も行われた。その後、動物供給体制が確立(2004年~)された。翌年、TSODマウスの研究を通じて生活習慣病(肥満症、糖尿病、代謝疾患など)に関する学術研究および学術情報等の交換を行うことにより、医学、実験動物学、栄養学、薬学、医療技術等の進歩をはかり、世界における学術の発展とヒトならびにその他動物の健康増進に寄与することを目的にTSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会は設立(2005年)された。

TSODマウスの系統作出にあたって、演者らは他の肥満糖尿病マウス等に見られる問題点(対照系統の不在、繁殖能力の低下、雄性の闘争、血糖値の高齢時低下、低い合併症率など)を克服した系統の作出を目標に行った。その結果、対照系統としてTsumura, Suzuki, Non Obesity (TSNO)マウスを作出(1992年)し、TSODマウスでは妊娠率70~80%の繁殖能力保持と雄性の複数長期飼育を可能にした。更に、TSODマウスの主な糖尿病の特徴として、雄性のみに高率な肥満と高血糖、高インスリン血症、高脂血症等が12ヶ月齢でも確認されている。その他、合併症として末梢神経障害による後肢運動機能異常が14ヶ月齢から認められ、加齢と共に高率で重篤化が起きることや12ヶ月齢以降に軽度の腎障害も認められている。この結果は、TSODマウスにおいて、他の肥満糖尿病マウス等に見られる問題点の目標をほぼ克服できた。その最大理由は、量的形質の主に体重値と尿糖値を指標に目的を達成するた

めの制限範囲の基準値を設け、種親の選抜で制御した結果である。既に、TSOD マウスの QTLs(量的形質関連遺伝子)解析が行われ、肥満型糖尿病に関する複数の遺伝子座が明らかになり、ヒトに類似した多因子性遺伝であることが証明された。

最近では、メタボリックシンドロームのキープレイヤーとして注目されている内臓脂肪組織の蓄積量が TSOD マウスでは多く、皮下脂肪組織の蓄積量は比較的少ないことが報告されている。この結果は他の球状の肥満体型を呈する糖尿病マウス(内臓・皮下脂肪組織の蓄積量が多い欧米人の肥満体型)とは異なり、TSOD マウスは樽状の肥満体型が特徴で、東洋人の肥満体型に類似している。そのため内臓脂肪組織の蓄積量を指標に、メタボリックシンドロームのモデル動物としての研究報告が増加している。

今後、TSOD マウスはヒトに類似する病態が多い疾患モデル動物であることから、多種の研究に利用され、ヒトの健康を守るための研究に貢献できることが期待される。

第3回交換会記録

TSOD マウスを用いた漢方方剤のメタボリックシンドローム予防効果の検討

嶋田 努・油田正樹

(武蔵野大学 薬学研究所)

【目的】メタボリックシンドローム(MS)は、内臓脂肪の蓄積を病態基盤とし、糖尿病・脂質代謝異常・高血圧などを重複して発症する症候群であり、最終的に動脈硬化や虚血性心疾患・脳疾患などの発症につながることから予防の重要性が訴えられている。TSOD マウスは自然発症により肥満体を呈し、糖尿病・脂質代謝異常・高血圧などをはじめ種々の MS 諸症状を呈することから、治療薬や食品等の MS に対する予防的、治療的検討を行える有用なツールと考えている。現代医療においては MS の諸症状に対して抗糖尿病薬、高脂血症薬、降圧薬などが使われるが、漢方薬も古来いわゆる肥満に対する処方はいくつかあり、患者の証に応じて使い分けられている。本研究ではその中から使用頻度の高い大柴胡湯、防風通聖散、防己黄耆湯を選び、MS の諸症状に対する予防効果を検討した。

【方法】MS モデルマウスとして TSOD マウス、対照群として TSNO マウスを用い、大柴胡湯、防風通聖散および防己黄耆湯を 1、3%になるように普通飼料 MF に混和し 2ヶ月間自由摂取させた。経時的に体重、内臓・皮下脂肪量、摂餌量を測定し、試験最終日に糖負荷試験、血圧測定、疼痛試験等を行った。

【結果】大柴胡湯は、TSOD マウスにおいて体重および内臓・皮下脂肪量に対するの抑制効果は弱いものの、耐糖能異常、高血圧および末梢神経障害に対しては有意な予防効果を示した。TSNO マウスに対しては、特異な変化は与えなかった。防風通聖散では、TSOD マウスにおいて経時的な体重、内臓・皮下脂肪量の蓄積が抑制され、また、耐糖能異常、高血圧および末梢神経障害に対しても有意な予防効果が確認された。TSNO マウスにおいては、大柴胡湯と同様変化は見られなかった。一方、防己黄耆湯では、TSOD マウスにおいて経時的な体重抑制効果、皮下脂肪蓄積に対する抑制効果、空腹時血糖の低下・脂質代謝異常の改善認められたが、内臓脂肪蓄積抑制効果、耐糖能異常および末梢神経障害に対する効果は見られなかった。また、TSNO マウスにおいても、体重増加抑制作用とくに皮下脂肪・内臓脂肪の蓄積抑制効果が見られた。

【考察】MS は、余剰なエネルギーの蓄積により発症する症候群であると考えられ、漢方医学の診断方法である『証』で判断すると所謂『実証』の状態にあると考えられる。本研究で MS 諸

症状に対する予防薬として手ごたえがあったのは 3 処方のうち大柴胡湯および防風通聖散であり、これらの処方はいずれも『実証』に対する漢方薬である。一方、防己黄耆湯は『虚証』の患者に使われる処方であり、本実験においても抗肥満効果は確認されたが、MS の予防効果は強いものではなかった。以上より、MS 予防に対しては防風通聖散および大柴胡湯が有用であることが示唆された。

第 3 回交換会記録

TSOD マウスの遺伝学的解析

泉 哲郎

(群馬大学生体調節研究所 遺伝生化学分野)

我々は、多因子遺伝性肥満・糖尿病モデルマウス TSOD と、対照マウス Balb/cA の F2 交雑集団を、QTL マッピング法により解析することにより、体重・血糖値などを制御する量的形質遺伝子の同定を目指している。これまでマウス第 1、2、11 番染色体上に候補遺伝子座を見出し、その遺伝子領域に関するコンジェニック・マウスを作製して、当該遺伝子領域を狭めている。そのうち第 2 染色体上に存在し、体重を制御すると考えられる遺伝子領域を、遺伝子同定が可能な範囲までに狭めることに成功した。本遺伝子は、特に脂肪重量に影響を及ぼし、当該領域のコンジェニック・マウスは対照マウスに比し、体重の差以上にアディポーズ・インデックスに大きな差を示した。現在、責任遺伝子の解明に向けて研究を進めている。

第 3 回交換会記録

遺伝性糖尿病モデル(TSOD)と実験的糖尿病モデル(MSG)について

飯塚生一

(株式会社ツムラ ツムラ研究所)

遺伝性糖尿病モデル< TSOD マウス >

TSOD マウスは、肥満を伴う 2 型糖尿病モデル動物で、雄にのみ発症することが知られている。6 ヶ月齢ですでに高血糖、高インスリン血症を呈し、特に高インスリン血症は 18 ヶ月齢になっても認められる。臍島は 6 ヶ月齢以降重度に肥大し、B 細胞の肥大、増殖による影響であることが明らかとなっている。これらの変化は、強いインスリン抵抗性の持続の結果、インスリン分泌が亢進し、B 細胞が増殖したものと考えられる。

他のモデル動物と比べて最も特徴的な TSOD マウスの合併症として、末梢神経症があげられる。高齢 TSOD マウスの外見的特徴は、削瘦、腹部膨満、陰茎の突出などである。これらの動物では、膀胱に多量に尿が貯留し、神経性の排尿障害に陥っていると考えられる。坐骨神経では、有髄神経線維の変性、減数、神経束内の線維化が著しく、脱髄線維(節性脱髄)や髄鞘の再生も認められる。糖化後期反応生成物(AGE)は、坐骨神経束内の血管壁に陽性反応が認められ、神経症の成因の 1 つにグリケーションの影響が考えられる。HbA_{1c}は 6 ヶ月齢以降で高く、腎臓にも糸球体を中心に高血糖の影響が確認されている。

実験的糖尿病モデル< MSG マウス >

MSG マウスは、生後 0 日齢の ICR マウスに Monosodium Glutamate (MSG)を投与することにより誘発できる重度の肥満モデル動物である。近年、肥満の進行に伴って 2 型糖尿病を発症することが明らかとなり、糖尿病モデル動物としての有用性も期待されている。MSG を投与した直後の視床下部では、弓状核や腹内側核などに傷害が誘発され、摂食をコントロールで

きない状態にあると推測される。血中のグルコースおよびインスリンは3ヶ月齢頃より高く、耐糖能の異常も確認されている。血中総コレステロールや中性脂肪も同様に3ヶ月齢頃より高くなり、高血糖・高脂血症の状態が12ヶ月齢頃まで持続する。脂肪の蓄積部位は、主に肩甲骨間を中心とする皮下に蓄積し、褐色脂肪も白色化する。肥満の程度は雄の方が若干強く、諸臓器の肥満による影響も雄の方が強い。

TSOD マウスとMSG マウスとの類似性および相違点

TSOD マウスとMSG マウスの病態の類似点として、どちらも肥満を呈する2型糖尿病を発症する点、褐色脂肪の白色化などエネルギー代謝の低下が示唆される点などがあげられる。相違点としては、TSOD マウスで糖尿病性合併症が比較的強く認められるのに対して、MSG マウスでは12カ月齢の時点ではその兆候はこれまでに認められていない。また、脂肪の蓄積部位についても両マウスともに高血糖・高脂血症・高インスリン血症であるにもかかわらず、TSOD マウスでは内臓に著明に蓄積し、MSG マウスでは皮下での蓄積が目立った。どちらの動物も肥満2型糖尿病動物として似たような経過をとるが、糖尿病性合併症の起こりやすさの違い、脂肪代謝の違いなど大きく異なる点があり、様々な変化の発症メカニズムを考察する上で興味を持たれる。

第3回交換会記録

メタボリックシンドロームモデル動物に出現する非アルコール性

脂肪性肝障害(NAFLD)の病理学的特徴

常山幸一

(富山大学 医学薬学研究部)

最近、飲酒歴がないにもかかわらず、アルコール性肝障害に類似した肝脂肪沈着を特徴とする種々の慢性肝障害を引き起こす疾患の存在が明らかとなり、非アルコール性脂肪性肝障害(Non-alcoholic fatty liver disease :NAFLD)と名付けられ注目されている。NAFLD患者の多くは糖尿病、肥満、高脂血症などのいわゆるメタボリックシンドロームを背景とすることから、メタボリックシンドロームの肝臓での表現系とも考えられている。ウイルス肝炎に起因する肝硬変・肝癌患者が着実に減少しているのに反し、メタボリックシンドローム予備軍は国内でも数千万人と推測され、今後NAFLD患者数が右肩上がりに増加するのは確実である。NAFLDはウイルス肝炎等に比して早い段階で肝硬変や肝細胞癌の発症に至ることが知られており、21世紀の主たる肝臓病と位置づけられ、発症機序の解明や予防・治療法の確立が待たれている。

NAFLDの疾患モデルはいくつか報告されているが、その多くはレプチン等の遺伝子改変モデルやコリン・メチオニン欠乏食など特殊な食餌によるものであり、糖尿病や肥満、高脂血症を背景とした、ヒトのNAFLDに近い新しい疾患モデルの開発が期待される。我々は糖代謝に関連する多機能分子であるガレクチン3を欠損したマウスに、ヒトのNAFLDに類似する肝病変が出現することを報告した。ガレクチン3欠損マウスはヒトNAFLDに特徴的な線維化を呈さないが、長期飼育すると高率に肝細胞癌を発症した。また、中心性肥満・糖尿病モデルマウスであるMSGマウスにもヒトNAFLDに極めて類似する肝病変の出現を認めた。MSGマウスでは肝脂肪沈着や炎症像に加え、特徴的な中心静脈周囲の線維化も出現し、長期間飼育すると高率に肝腫瘍を発症した。MSGマウスはメタボリックシンドロームを背景としたNAFLDの発症機序の解明に最適な解析モデルの一つと考えられた。今回、ガレクチン3欠

損マウス、MSG マウス、及び SHR/NDmcr-cp ラットや高脂肪食投与ラット等、他のメタボリック シンドロームモデルの肝病変について病理組織学的特徴を中心に紹介する。

第3回交換会記録

糖尿病モデル動物の必要性と問題点

後藤由夫

(東北大学 名誉教授)

糖尿病の病態は Mering と Minkowski の膵摘から偶然発見された。20 世紀になって催糖尿病ホルモン注射などによっても起こることが次々に発見されたが、いずれもそれらは二次性糖尿病に対応するもので一次性糖尿病に対応するものではなかった。1950 年に肥満高血糖マウスが発見され ob/ob マウスとして系統維持された。その頃にチャニーズハムスターの糖尿病が見出され関心が高くなった。1960 年代になると prediabetes の研究が盛んになり、糖尿病の経過を知ろうとする欲求が高まった。このような状況下に自然発症糖尿病が次々発見、あるいは作製されて、糖尿病の理解が急速に進んだ。特に BB ラット、NOD マウスの発見は自己免疫性糖尿病の理解に大きな貢献をした。近年は gene targeting 手法により多くの異常が作製されている。

糖尿病動物の分類はいろんな角度から行われるが、表はその一つの試みである。さて、糖尿病には未解決の多くの問題があるが、それらについて考えを述べたい。

表 糖尿病動物の分類

二次性実験的糖尿病

膵摘 全摘 部分切除

化学的膵摘(アロキサソ、STZ)

催糖尿病ホルモン投与性

gene targeting 法

中枢性

ウイルス感受性(SWR/J、CD1 マウス:EMC・M 株)

一次性糖尿病(自然発症)

高エネルギー食性:サンドラット

散発発現性:ob/ob、KK、OLETF、TSOD、Akita、SDT

低耐糖能群選択交配:GK、Cohen、NSY

自己免疫性:BB、NOD

第 4 回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会記録

日時:平成 20 年 11 月 28 日(金) 13:00~17:00

場所:東京八重洲ホール 日本橋 3-4-13

演題名:

メタボリック症候群モデル動物としての TSOD の指向性: Trend of TSOD as an animal model of metabolic syndrome

渡邊泰雄¹⁾、脇 能広¹⁾、茅野大介¹⁾、渋谷郁夫²⁾、山本知広²⁾、篠田有希²⁾、
浜屋忠生³⁾、栗原昭一³⁾ (日本薬科大学¹⁾、アサヒ飲料²⁾、リコム³⁾)

TSOD マウスの週齢による心機能変化

河田登美枝¹⁾、仲澤幹雄²⁾、嶋田 努¹⁾、油田正樹¹⁾(武蔵野大学¹⁾、新潟大学²⁾)

Salacia reticulata による脂肪蓄積抑制効果の作用メカニズムの解明

原沢友紀子(金沢大学)

MSG 誘発肥満糖尿病(ICR-MSG) マウスと TSOD マウスの病態関連性について

佐々木敬幸(動物繁殖研究所)

TSOD マウスの肝病変:非アルコール性脂肪性肝炎モデルとしての有用性

常山幸一¹⁾、藤本 誠²⁾(富山大学・病理¹⁾、富山大学・和漢²⁾)

TSOD マウスの網羅的遺伝子解析と ICR-MSG マウスの脂肪肝に対する

Salacia reticulata の効果

嶋田 努(武蔵野大学)

第 4 回交換会記録

メタボリック症候群モデル動物としての TSOD の指向性:

Trend of TSOD as an animal model of metabolic syndrome

渡邊泰雄¹⁾、脇 能広¹⁾、茅野大介¹⁾、渋谷郁夫²⁾、山本知広²⁾、
篠田有希²⁾、浜屋忠生³⁾、栗原昭一³⁾

日本薬科大学医療薬学科薬理薬物治療学分野¹⁾、アサヒ飲料(株)商品開発研究所²⁾、リコム(株)³⁾

内臓脂肪症候群(メタボリックシンドローム)は、現在、最も名前の知られている疾患の一つである。この症候群が大きく取り上げられている理由として、心血管病や代謝異常による疾患を減らすことによって医療費削減を狙うことが挙げられる。そのため、マスコミで大きく扱うことで「健康」への国民の自覚が増えることを狙っている。事実、如何に内臓脂肪を減らすことが大事であるかが一般的になり、医薬品に頼ることなく、食事制限、運動の継続、そして、機能性食品に内臓脂肪減少を求める成人が多くなってきた。

このような世情を踏まえて、余分な内臓脂肪減少の研究が盛んになり基礎医学分野では発現機序を求める研究や治療のための手段の研究に適切な動物モデルの確保が必要となってきた。従来までに、肥満タイプでしかも糖尿病様症状を呈する所謂 2 型モデル動物は種々報告されている。我々も、数種類の市販されている 2 型糖尿病モデル動物を使用した研究を行ってきた。しかし、いずれも実際の臨床症状・所見と比較すると何らかの問題点があった。

今回、初めて TSOD マウスを用いて、機能性食品の肥満症、2 型糖尿病に対する効果効能の検索を行った。TSOD マウスは、C57BL/6J を起源とした他のモデルマウスと異なって 3 ヶ月以上の飼育においても全身症状のみならず内臓組織に炎症や腫瘍細胞の発生を見ることが

は無かった。さらに、レプチン欠損マウスの同週齢 ob/ob と比較して体重増加や内臓脂肪蓄積量は同様であるが、TSOD は、総コレステロール量、LDL 値は全例に確実に有意な増量、且つ、中性脂肪においても顕著な増量が認められる。しかし、ob/ob の血糖上昇は顕著ではない。同様に、db/db と比較すると、体重増加は TSOD の方が顕著であり、血糖上昇は当然 db/db で認められるが TSOD においても著明な血糖上昇が認められる。付記するに、db/db は血糖上昇により死亡する例がある。血清インシュリン値は、TSOD や ob/ob では高いが、db/db では正常マウスと変わらない。そして、TSOD では、血清レプチン値の上昇、アディポネクチン値の低下も生じている。これらインシュリンやレプチンの上昇は、結果的に各々の受容体感受性低下(脱感受性)を誘発している。さらに、TSOD はヒトで認められる肥満に伴う肝機能異常(NASH 様所見)が現れる。このように、成長した(進行した?)TSOD での所見は他の疾患モデルマウスと比較して、ヒトでの内臓脂肪症候群のそれらと類似であることが判る。

このようなヒトに近い内臓脂肪症候群モデルと考えられる TSOD マウスを用いて、ヒト試験では、ある程度の臨床効果を見出している機能性食品の作用機序を検索するための検索を行った。結果として、従来の疾患モデルマウスを使用した研究では求められなかった成績が得られている。

本研究では、上記を基盤として、我々が実際に測定した各種 2 型糖尿病モデル動物での成績を TSOD で得られた基礎的成績と比較してみたい。さらに、興味ある機能性食品の実際の効能効果においても発表するつもりである。

第 4 回交換会記録

TSOD マウスの週齢による心機能変化

河田登美枝¹⁾、仲澤幹雄²⁾、嶋田 努¹⁾、油田正樹¹⁾

武蔵野大学・薬学研究所¹⁾、新潟大学医学部・保健学科²⁾

[目的] 糖尿病は心血管疾患の危険因子として知られ、心不全患者の 40%が糖尿病に罹患している事より、糖尿病は心不全の発症あるいは悪化因子の一つとして考えられている。本研究では、2 型糖尿病モデルマウス、Tsumura Suzuki Obese Diabetes (TSOD)の心機能を経時的に測定し、加齢による心機能の変化を検討した。

[方法] TSOD の対照として、同系統で糖尿病を発症しない Tsumura Suzuki Non Obesity (TSNO)を用いた。明らかな肥満および高血糖を示す 7ヶ月、12ヶ月および 18ヶ月齢のマウスを使用して心機能の測定を行った。全ての実験は、1.5%イソフルラン、98%酸素で麻酔し、自発呼吸下に行った。超音波診断装置による心エコー図にて、左心室駆出率(EF)および左心室内径短縮率(FS)を測定した。カテーテルトランスデューサを左心室内に挿入し、左心室内圧(LVP)、左心室拡張終期圧(EDP)および左心室内圧の一次微分(dP/dt)を測定した。

7ヶ月齢のTSODおよびTSNOマウスを用い、acetylcholine (ACh)静脈内投与による血圧下降反応と、NO合成酵素阻害剤であるN^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 処理による血圧反応を指標にして、血管内皮機能についての検討を行った。

[結果] 7~18ヶ月齢において、体重、glucose、血漿Insulin、Triglycerideは、TSODの方がTSNOより高値を、T-cholesterolは 7、12ヶ月齢においてTSODの方が高値を示した。しかし、LVPは7ヶ月齢にて、EF、FSは7、12ヶ月齢にて、dP/dt_{max}およびdP/dt_{min} は、7~18ヶ月齢においてTSNOよりTSODが高値を、体重に対する心重量は、TSODの方がTSNOより低い値を

示し、全ての月齢において、心不全症状は認められなかった。膵臓および腎臓では、糖尿病性の病変が認められたが、心臓では 18 ヶ月齢においても、異常所見は認められなかった。L-NAMEの昇圧反応およびL-NAME処置前のAch(1, 3 μ g/kg)による降圧反応は両群間に差がなく、10 μ g/kgのAchによる血圧下降は、むしろTSODの方が強かった。L-NAME処置によりAchによる降圧反応は抑制されたが、抑制程度はTSODとTSNO間に差が認められなかった。以上の結果より、TSODの血管内皮細胞の障害は少ない事が示唆される。

[考察] TSOD マウスにおいては、加齢によっても心不全の発症は認められなかった。TSODでは血管内皮細胞の機能が維持されているため、虚血障害は起こらず、心不全に至らないと考えられる。

第4回交換会記録

Salacia reticulata による脂肪蓄積抑制効果の作用メカニズムの解明

原沢友紀子

金沢大学大学院自然科学研究科

メタボリックシンドローム(MS)は内臓脂肪の蓄積により生じたインスリン抵抗性を基盤として、肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症を複数合併するマルチリスクファクター症候群である。日本では、中年男性の2人に1人がMSまたはMS予備軍と考えられており、MSの予防・治療法の開発が急務となっている。また、平成20年4月からMS対策として40歳以上の者に特定健康診査・特定保健指導が開始されたことから、社会の健康維持、増進への関心は一層高まっている。

Salacia reticulata はスリランカの伝統生薬であり、アーユルヴェーダ医学において糖尿病の初期治療、リウマチ、淋病に用いられていた。これまでに、*S. reticulata* 抽出成分に、血糖上昇抑制作用、抗肥満作用、肝保護作用、抗酸化作用があることが知られている。我々は、自然発症肥満2型糖尿病モデル動物であるTSODマウスに*S. reticulata* 熱水抽出物であるコタラヒムエキス末(KEP)を3%混合した飼料を摂餌させることで、顕著な体重増加や内臓脂肪蓄積を抑制し、種々の代謝性疾患を改善することを報告した(TSOD研究会第2回情報交換会)。しかしながら、対照マウスであるTSNOマウスにおいても体重増加抑制が見られたことから、KEPの至適投与量を知ることを含め、低濃度混餌における効果を検討した。

MS諸症状が未発症の4週齢のTSODマウスおよびTSNOマウスに、KEPを0.3%、1%となるよう普通飼料に混餌した飼料を2ヶ月間自由摂取させたところ、TSODマウス対照群と比較し、TSODマウスKEP両投与群において、体重増加、食後血糖上昇、内臓・皮下脂肪蓄積、脂質代謝異常等に、用量依存かつ有意な抑制効果が認められた。また、血圧の上昇抑制傾向や腸間膜内臓脂肪サイズの減少が見られた。一方、TSNOマウスKEP1%投与群では、対照群と比較して体重増加抑制作用などが見られたが、KEP0.3%投与群では有意な差は見られなかった。これは、KEP低用量混餌により、健常動物に影響を与えず、病態動物に対してのみ改善効果を示すことが示唆された。

前述したとおり、TSODマウスにおいて顕著な体重増加抑制、内臓脂肪蓄積抑制、脂肪細胞サイズの肥大化抑制が確認された。脂肪細胞は従来、過剰なエネルギーを中性脂肪として貯蔵し、肥大化や数が増加することにより肥満が引き起こされると考えられている。しかし、近年では、肥満が単なる脂肪細胞の形態変化だけでなく、肥大化した脂肪細胞より分泌される種々のサイトカインや生理活性物質が、インスリン抵抗性を引き起こし、肥満やMSの基盤

病態として存在することが明らかになってきた。

そこで、KEPの脂肪組織に対する作用メカニズムの解明を試みるため、顕著な変化が見られたTSODマウスの腸管膜内臓脂肪組織の遺伝子変化の解析を行った。その結果、脂肪細胞での脂肪滴蓄積に重要な役割を担っているペルオキシソーム核内受容体(PPAR)^{*1}の発現低下が見られた。また、脂肪細胞の分化マーカーであるaP2^{*2}の発現も低下していたことから、KEPにより脂肪細胞の分化が抑制され、脂肪滴の蓄積が抑制されたことが考えられた。KEPの脂肪細胞に対するより詳細な検討を行うため、マウス脂肪前駆細胞である3T3-L1細胞を用いて*in vitro*における作用の検討を行った。3T3-L1細胞は、インスリン、デキサメタゾンなどの分化誘導剤により分化が促進され、細胞内に脂肪滴が蓄えられることから、医薬品の開発に汎用されるモデル細胞である。分化前の3T3-L1細胞にKEP処置すると、分化誘導後4日目および8日目で成熟脂肪細胞数の減少や脂肪滴の肥大化抑制、TG含量の蓄積抑制を確認できた。

以上より、KEPは脂肪組織内において脂肪細胞の分化を抑制し、脂肪滴の蓄積や脂肪細胞の肥大化を抑制させることが示唆された。今後は、3T3-L1での脂肪細胞分化に関与するタンパクの遺伝子発現やタンパク発現を、より深く検討していく予定である。

^{*1}PPAR- γ : peroxisome proliferator-activated receptor- γ

主に脂肪細胞に発現しており、脂肪滴蓄積に関与する遺伝子(LPL, FATP etc)の転写を活性化。

^{*2}aP2 (A-FABP) : adipocyte-fatty acid-binding protein

脂肪細胞における分化マーカー。脂肪細胞に特異的に発現しており、脂肪酸と結びつく。PPAR- γ により転写活性化される。

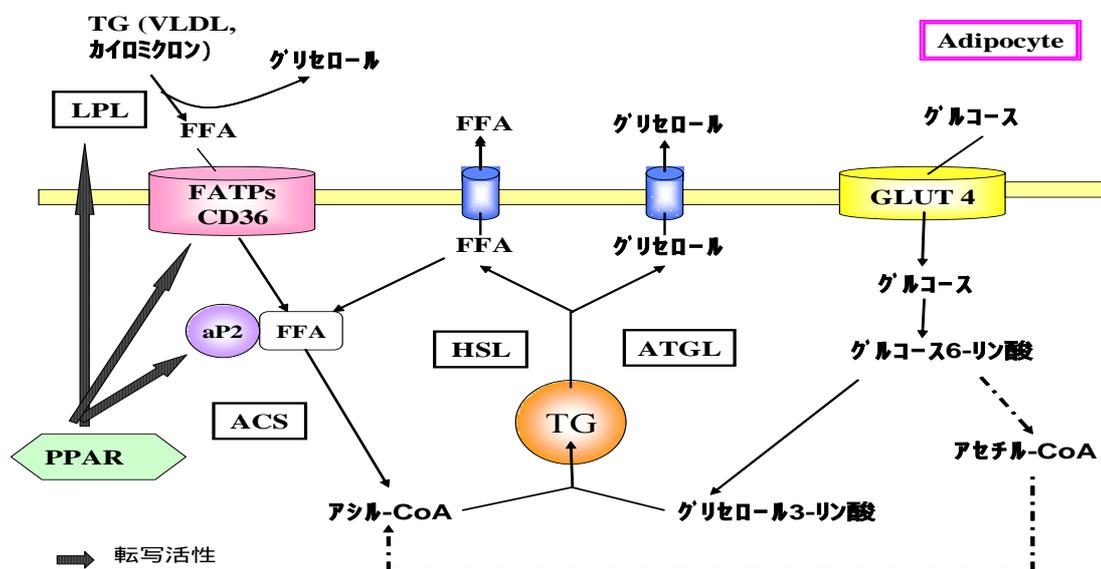


Fig. 脂肪細胞における脂肪合成と分解

MSG 誘発肥満糖尿病(ICR-MSG)マウスと TSOD マウスの病態関連性について

佐々木敬幸

財団法人動物繁殖研究所

Olney[1](1969年)は Monosodium Glutamate (MSG)をマウスに皮下投与することで、肥満を初めて誘発させた。その後、正常なマウス・ラットに MSG が投与され、容易に肥満を誘発させることが報告されている。最近では新生子 Crj:CD-1(ICR)マウスに MSG 2mg/g を 5 日間反復皮下投与が施されて、2 型糖尿病を発症することが Nagata ら[2] (2006 年)によって報告されている。我々はその ICR-MSG マウスを用いて、更に重篤な糖尿病病態のモデル動物を開発することを目的に、MSG 投与方法を変えて検討している。その結果、ICR-MSG マウスに過食・肥満・高血糖・高インスリン血症・高脂血症・内臓脂肪組織蓄積・肩甲骨間褐色脂肪組織の肥大と白色脂肪化等がみられ、我々はこれらの病態が TSOD マウスの主な病態と極めて類似していることに注目している。

ICR-MSG マウスの肥満の成因は、新生子の不完全な血液脳関門を通過した MSG が視床下部の腹内側核や弓状核の細胞を破壊することが報告されている[3]。そのため ICR-MSG マウスの肥満は視床下部の異常が原因である。

一方、TSOD マウスの肥満の成因についてはまだ明らかにされていない。今までの主な知見として、過食・内臓脂肪組織重量の増加・自発運動の低下などが確認されている。更に、遺伝解析の QTLs 解析では体重に関係する遺伝子座として染色体 2(Nidd5)と染色体 1(Nidd6)が報告[4]されている。しかし、我々は TSOD マウスの重要な肥満の成因として視床下部の異常を推測している。その根拠として、TSOD マウスにも肩甲骨間褐色脂肪組織の肥大と白色脂肪化が認められている[5]ことから、制御している視床下部の腹内側核・弓状核の異常を推測している。また、血中レプチン濃度が高値でありながら肥満を呈することからも、視床下部に存在するレプチンレセプターの異常の可能性もあると推測している。高橋ら[6]は、TSOD マウスの肩甲骨間褐色脂肪組織と副腎におけるノルエピネフリン含有量を測定し、低交感神経活性と低副腎髄質活性があり、エネルギー代謝に関わる交感神経系ならびに交感神経-副腎髄質系の機能障害が認められると報告している。すなわち、それらを制御している視床下部に異常があることが推測できる。

今後、TSOD マウスの肥満成因の各根拠については、詳細な精査が必要である。TSOD マウスの成因機序・病態解析には、ICR-MSG マウスの病態特徴や成因の知見が重要な点であると考えられる。

[1] W.J. Olney. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*, 164, 719-721, 1969

[2] M. Nagata, W. Suzuki, S. Iizuka, M. Tabuchi, H. Maruyama, S. Takeda, M. Aburada, K. Miyamoto. Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induce by monosodium glutamate. *Experimental Animals*, 55, 109-115, 2006

[3] H.T. Bergen, T.M. Mizuno, J. Taylor, C.V. Mobbs. Hyperphagia and weight gain after gold-thioglucose: relation to hypothalamic neuropeptide Y and proopiomelanocortin. *Endocrinology*, 139, 4483-4488, 1998

[4] I. Hirayama, Z. Yi, S. Izumi, I. Arai, W. Suzuki, Y. Nagamachi, H. Kuwano, T. Takeuchi, T.

Izumi. Genetic analysis of obese Type 2 diabetes in the TSOD mouse. Diabetes, 48, 1183-1191, 1999

[5] 鈴木亘, 宇田克也, 脇能広, 椎崎一宏, 坂本賢二, 藤井祐一, 細谷英吉, 若林克巳. ddy系に出現した尿糖を伴う肥満マウスの制限食による影響について. 糖尿病動物, 5, 226-234, 1991

[6] A. Takahashi, M. Tabuchi, W. Suzuki, S. Iizuka, M. Nagata, Y. Ikeya, S. Takeda, T. Shimada, M. Aburada. Insulin resistance and low sympathetic nerve activity in the Tsumura Suzuki obese diabetic mouse: a new model of spontaneous type 2 diabetes mellitus and obesity. Metabolism Clinical and Experimental, 55, 1664-1669, 2006

第4回交換会記録

TSOD マウスの肝病変: 非アルコール性脂肪性肝炎モデルとしての有用性

常山 幸一¹⁾、藤本 誠²⁾

富山大学大学院 医学薬学研究部 病理診断学¹⁾

富山大学大学院 医学薬学研究部 和漢診療学²⁾

「病は時代を映す鏡」と言われるが“メタボリック症候群”は、飽食の21世紀を生きる我々が直面する深刻な課題である。メタボリック症候群は全身に多彩な疾患を惹起するが、肝臓での表現型は**非アルコール性脂肪性肝障害 (NAFLD)**と呼ばれ、その重篤型である**非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)**は肝硬変、肝細胞癌へ進展する難治性進行性疾患である。NASHはごく近い将来にC型慢性肝炎を抑え、肝疾患の原因No.1になることが確実視されており、“21世紀の肝臓病”とも呼ばれ、病態解明や治療法の開発が希求されている。

NAFLD/NASHの疾患モデルはいくつか報告されているが、その多くは脂質代謝に関連する遺伝子改変モデルや、特殊な食餌で誘導されるものであり、ヒトに近い経過で発症・進展するモデル動物の開発が期待される。我々は最近、生後0日齢のICRマウスにグルタミン酸ナトリウムを皮下注射して誘発するオスのMSGマウスが、肥満や2型糖尿病を背景に、ヒトNASHに極めて近い肝病変を形成することを報告した。今回、オスのTSODマウスと、対照であるTSNOマウスを6ヶ月齢、12ヶ月齢でsacrificeし、肝組織像を病理学的に解析した。

TSODマウスは6ヶ月齢で**脂肪変性**(中心静脈周囲肝細胞の胞体内に微小脂肪滴出現)、**炎症性変化**(中心静脈周囲の肝細胞の風船様腫大とマロリー体の出現)、**線維化**(軽微な中心静脈周囲線維化)を認め、病理学的に程度は軽いものの、NASHとしての特徴を有すると考えられた。6ヶ月齢ではすでに肥満、2型糖尿病を発症していることから、TSODマウスはメタボリック症候群を背景にNASHを自然発症するモデル動物として有用と考えられた。一方、12ヶ月齢では、**脂肪変性**(大滴性脂肪変性が不規則に散在)、**炎症性変化**(不規則に肝細胞の風船様腫大とマロリー体が出現し、好中球も散在)、**線維化**(中心静脈周囲線維化)が確認されるものの、程度は6ヶ月齢よりも軽く、NASHの診断が困難なものが多かった。その一方で、小型肝細胞の集簇巣や、脂肪変性を呈する異型肝細胞の集簇などからなる結節性病変が60%に出現した。ヒトではNASHの末期に肝癌が発症すると、背景病変が軽快することが知られている。TSODマウスはNASHの自然経過を模倣している可能性があり、内臓脂肪や膵臓など他臓器の病態解析と併せた、より詳細な経時的観察が必要と考えられた。

TSOD マウスの網羅的遺伝子解析および
ICR-MSG マウスの脂肪肝に対する *Salacia reticulata* の効果

嶋田 努

武蔵野大学 薬学部

< TSOD マウスの網羅的遺伝子解析 >

TSODマウスは、体重と尿糖を指標に兄妹交配を繰り返すことにより得られた近交系の自然発症肥満2型糖尿病モデル動物である。TSODマウスは種々の病態を自然発症することから病態発症の背景には遺伝要因が大いに影響していることが考えられる。これまでに泉らによってTSODマウスをQTLマッピング法により解析することにより、体重・血糖値・インスリン値・脂肪量や脂肪細胞のサイズを支配する遺伝子座に変異があることが報告されている^{1,2)}。

本研究では、TSOD マウスの遺伝背景を検証する方法として網羅的遺伝子解析が可能な Gene Chip 解析法を用い検討を行った。実験動物としては十分に肥満体やインスリン抵抗性を発症している3カ月齢のTSODマウスおよび対照マウスであるTSNOマウスを用い、両マウスから抽出した肝臓および腸間膜脂肪を、Affymetrix Genechip®によりExpression Array解析を行った。

肝臓においては、TSNOマウスに比べTSODマウスで2倍以上増加するプローブは2553個、2倍以上低下したプローブは1648個、同様に腸間膜脂肪においてTSNOマウスに比べTSODマウスで2倍以上増加するプローブは2163個、2倍以上低下したプローブは1935個であった。今回はその中でも糖・脂質代謝に関わる経路について詳細に報告する。肝臓においては、解糖系に関わる遺伝子群の減少、糖新生に関わる遺伝子群の増加、TCAサイクルに関わる遺伝子群の一部増加、コレステロール合成に関わる遺伝子群の増加、遊離脂肪酸合成に関わる遺伝子群の増加、脂肪のβ酸化に関わる遺伝子群の増加等がみられた。一方腸間膜脂肪においては、解糖系に関わる遺伝子群の減少、続くTCAサイクルに関わる遺伝子群の減少、コレステロール合成に関わる遺伝子群の減少、遊離脂肪酸合成に関わる遺伝子群の減少、脂肪のβ酸化に関わる遺伝子群の減少等がみられた。

以上より、TSOD マウスの糖代謝に関わる遺伝背景には肝臓・腸間膜脂肪ともに糖燃焼系に関わる遺伝子群の低下、糖新生に関わる遺伝子群の増加が観察され、血糖値上昇傾向にあることが示唆された。一方、脂質代謝に関わる遺伝背景には肝臓において合成分解の代謝能の亢進が、脂肪において合成分解の代謝能の低下がみられ、組織によって遺伝子変動が異なっていることが示された。

1. I. Hirayama, Z. Yi, S. Izumi, I. Arai, W. Suzuki, Y. Nagamachi, H. Kuwano, T. Takeuchi, T. Izumi. Genetic analysis of obese diabetes in the TSOD mouse. *Diabetes*. 48(5), 1183-91, 1999
2. S. Mizutani, H. Gomi, I. Hirayama, T. Izumi. Chromosome 2 locus Nidd5 has a potent effect on adiposity in the TSOD mouse. *Mamm Genome*. 17(5):375-84. 2006

< ICR-MSG マウスの脂肪肝に対する *Salacia reticulata* の効果 >

内臓脂肪の蓄積はインスリン抵抗性を惹起し、糖・脂質代謝異常、高血圧を発症するメタリックシンドロームの病態基盤となり、動脈硬化や近年注目されてきている非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) や非アルコール性脂肪肝炎

(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)の発症につながる。NAFLD/NASHは肝硬変や肝癌に発展することが知られており、早期発見・早期治療の重要性が謳われている。しかし、現在NAFLDやNASHに対する確立した治療薬や予防薬はなく、予防薬や治療薬の開発が急務となっている。

新生児ICRマウスにMonosodium Glutamate (MSG)を皮下注射したICR-MSGマウスは、肥満2型糖尿病症状をはじめ脂質代謝異常、インスリン抵抗性を発症し^{1,2)}、さらにヒトNAFLD/NASH病変と非常に似た症状を呈する³⁾ことから、種々の代謝性疾患やNAFLD/NASHの医薬品の開発や病態基盤研究において有用であると考えられる。

スリランカの原住民によって糖尿病の初期症状や皮膚症、リウマチに対して古くから効果があるとされている*Salacia reticulata* (*S. reticulata*)は、当研究室のTSODマウスを用いた検討で非常に強い抗肥満効果・インスリン抵抗性改善作用をはじめ糖・脂質代謝異常改善作用、肝中脂質量の有意な低下作用を示した。そこで本研究ではまだ脂肪肝を発症していない3カ月齢のICR-MSGマウスに*S. reticulata*を0.25%および0.5%になるように混餌した飼料を2ヶ月間自由摂取させ、*S. reticulata*の脂肪肝に対する効果を検討した。

MSGを処置していないNormal群と比較し、ICR-MSG群では有意な体重増加を初め内臓脂肪・皮下脂肪蓄積、肝肥大・脂肪肝を呈した。一方、*S. reticulata*処置群では有意な体重増加の抑制効果をはじめ、皮下脂肪の蓄積抑制効果、肝肥大・脂肪肝抑制効果が見られた。以上より、*S. reticulata*には脂肪肝抑制効果がみられたことから、NAFLD/NASH発症予防に対して有望な素材であることが示された。

1. Mitsunobu Nagata, Wataru Suzuki, Seiichi Iizuka, Masahiro Tabuchi, Hirofumi Maruyama, Shuichi Takeda, Masaki Aburada, and Ken-ichi Miyamoto, Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induce by monosodium glutamate. *Experimental Animal*, 55(2), 109-115, **2006**
2. 永田光信, 鈴木亘, 飯塚生一, 丸山博文, 嶋田努, 油田正樹, Monosodium Glutamate 誘発による新たな肥満2型糖尿病モデルマウス. *薬理と治療(JPT)*, 34(7), 795-802, **2006**
3. Yuko Nakanishi, Koichi Tsuneyama, Makoto Fujimoto, Thucydides L. Salunga, Kazuhiro Nomoto, Jun-Ling An, Yasuo Takano, Seiichi Iizuka, Mitsunobu Nagata, Wataru Suzuki, Tsutomu Shimada, Masaki Aburada, Masayuki Nakano, Carlo Selmi, M. Eric Gershwin, Monosodium glutamate (MSG): A villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *Journal of Autoimmunity*, **30**, 42-50, **2008**

懇親会会場



ブラッスリトウヨウ

〒103-0027 東京都中央区日本橋 1-2-10 東洋ビル TEL03-3271-0003

TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会会則

(名称)

第1条 本会は、TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会と称する。

(目的)

第2条 本会は、TSOD(肥満・糖尿病)マウス(以下、TSOD マウスという)の研究を通じて生活習慣病(肥満症、糖尿病、代謝疾患など)に関する学術研究および学術情報等の交換を行うことにより、医学、実験動物学、栄養学、薬学、医療技術等の進歩をはかり、もって世界における学術の発展とヒトならびにその他動物の健康増進に寄与することを目的とする。

(事業)

第3条 本会は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) TSOD マウスを用いる基礎研究の促進
- (2) 会員の研究成果の収集と情報提供
- (3) 国内外の関係学術団体との連絡および提携
- (4) 学術集会等の開催
- (5) その他、本会の目的を達成するために必要な事業

(会員)

第4条 本会の会員は次の通りとする。

- (1) 正会員 本会の目的に賛同し、規定の会費を納入し、TSOD マウスを用いる学術研究を行う個人
- (2) 賛助会員 本会の目的に賛同し、規定の会費を納入した法人
なお、正会員ならびに賛助会員はTSOD マウスおよびTSNO マウス(同系由来対照マウス)を研究会価格で購入することができる。

(入退会)

第5条 本会の正会員になろうとする者は、所定の入会申し込み書を本会に提出し、理事会の承認を得なければならない。

2. 本会の目的に賛同し賛助会員になろうとする者は、所定の入会申し込み書を本会に提出し、理事会の承認を得なければならない。
3. 会員が退会しようとするときは、本会に退会届書を提出しなければならない。

(会費)

第6条 本会の会費は、正会員5,000円、賛助会員一口50,000円とする。

2. 会費は年額とし、毎会計年度内に全額納入するものとする。
3. その年次の会費を1ヵ年滞納した者は、原則としてその次の年度より退会したものと取り扱う。
4. 顧問は会費を納めることを要しない。
5. 既納の会費はいかなる理由があってもこれを返却しない。

(資格の喪失)

第7条 会員は次の理由によって、その資格を喪失する。

- (1) 退会したとき
- (2) 死亡、若しくは失踪宣告を受け、または本会が解散したとき

(賛助会員)

第8条 賛助会員は、本会が発行する資料等の配布を受けるほか、理事会が認める場合には、本会の事業に参加することができる。

(役員)

第9条 本会に次の役員をおく。

- (1) 理事 5名以上15名以内
- (2) 監事 2名以内

(役員を選任)

第10条 理事及び監事は、総会において会員のうちから選任する。ただし、賛助会員からの理事数は正会員からの理事数の3分の1を超えないものとする。また、理事と監事は相互に兼ねることはできない。

2. 理事のうちから会長1名、副会長1名を互選する。

(役員職務)

第11条 会長は本会を代表し、本会を総理する。

2. 副会長は会長を補佐し、事業の企画、実施を統轄する。会長に事故があるとき、または欠けたときは、副会長がその職務を代理し、またはその職務を執行する。
3. 理事は、理事会を組織し、業務を執行する。
4. 監事は、本会の業務および財産状況を監査し、これを理事会および総会に報告する。

(役員報酬)

第12条 役員報酬は原則として支給しない。

(役員任期)

第13条 役員任期は2年とする。

2. 補充として選任された役員任期は前任者の残存期間とする。
3. 役員再任は妨げない。
4. 役員はその任期終了後も後任者が就任するまでは、その職務を行う。

(顧問)

第14条 顧問は、学識経験者のうちから、理事会の承認を経て、会長が委嘱することができる。

(会議)

第15条 定例総会は毎年1回開く。ただし、理事会が必要と認めるとき、または正会員の5分の1以上の要請があったときは、臨時総会を開くことができる。

2. 総会は、正会員ならびに賛助会員をもって構成し、その5分の1以上(委任状を含む)の出席をもって成立する。
3. 総会の議決は、出席者(委任状を含む)の過半数をもって決する。
4. 総会の議長は、会長があたる。

5. 総会の議決では可否同数のときは議長がこれを決する。

第 16 条 理事会は次に掲げる事項を審議する。

- (1) 事業計画及び収支予算
 - (2) 事業報告及び収支決算
 - (3) 会則の変更
 - (4) 解散及び合併
 - (5) その他、本会の事業、運営に関する重要事項
2. 理事会は会長が召集し、毎年 1 回以上開催する。会長が必要と認めるとき、または理事の 3 分の 1 以上から理事会招集の要請があったときは、会長は 20 日以内に召集しなければならない。
3. 理事会の議長は会長とする。
4. 理事会は、理事現在数の 3 分の 2 以上(委任状を含む)出席しなければ会議を開き、審議することができない。
5. 理事会の議事は、出席理事の過半数をもって決し、可否同数の時は議長の決するところによる。

(事務局)

第 17 条 本会の事務を処理するため、事務局を武蔵野大学薬学研究所に置く。

2. 事務局に事務局職員若干名を置く。
3. 事務局及び職員に関する事項は、理事会の議決を経て、会長が別に定める。

(業務の執行)

第 18 条 本会の業務の執行方法については、理事会で定める。

(議事録)

第 19 条 本会は、会議、打ち合わせについて、議事録を作成し、事務局に保管しなければならない。

(監事の業務)

第 20 条 監事は、総会において、本会の財務と業務の監査結果について報告しなければならない。また、その職務上必要と認めるときは、その名において総会を召集することができる。

(資産及び会計)

第 21 条 本会の資産は、会費のほかに寄付金品、事業に伴う資産収入、その他収入をもって構成する。

2. 資産管理は、理事会の決議に基づき会長が行う。
3. 本会の会計年度は、毎年 4 月 1 日に始まり、翌年 3 月 31 日に終了する。
4. 本会の収支決算は、会計年度終了後 3 ヶ月以内に監事の監査を受けた上、総会の承認を得なければならない。

第 22 条 この会則及び本会は、総会において出席正会員及び賛助会員の 4 分の 3 以上の同意を得なければ変更及び解散することができない。

2. 本会は、解散のときに存する残余財産は、決議を得て類似の目的を有する公益法人に寄付するものとする。

(会則の変更)

第 23 条 この会則の変更について必要な事項および施行について必要な事項は、理事会が定める。

(附則)

1. 本会則は平成 17 年 1 月 27 日より施行する。
2. 平成 17 年 4 月 4 日改訂
3. 平成 21 年 6 月 12 日改訂

TSOD（肥満・糖尿病）マウス研究会研究費助成規程

- 第1条 TSOD（肥満・糖尿病）マウス研究会（以下「本会」という）は、TSOD マウス研究の育成を図るため、申請会員に対し、予算の範囲内において助成金を交付する。
- 第2条 助成金交付申請書の様式は、様式第1号のとおりとする。
2 前項の研究申請書の提出期限は、研究実施年度の5月31日までとする。
ただし、平成21年度に限り7月末日までとする。
- 第3条 本会の理事会において研究申請書を審議する。
交付決定通知書の様式は、様式第2号のとおりとする。
- 第4条 前条の交付決定通知書を受領した申請会員は、速やかに様式第3号の請求書を本会に提出するものとする。
2 本会は、前項の請求書を受領したときは、速やかに申請会員に助成金を交付するものとする。
- 第5条 助成金を受領した会員は、本会会長から要求があったときは、研究の遂行状況について当該要求に係る事項を書面で本会会長に報告しなければならない。
- 第6条 前条の実績報告書の様式は、様式第4号のとおりとする。
2 前項の実績報告書の提出期限は、助成研究完了後30日以内とする。
3 本会の理事会において前項の報告書を審議し研究内容が不十分と判断された場合、助成金の返還を求めることがある。
- 第7条 助成金を受領した会員は、助成研究に係る収入及び支出等を明らかにした帳簿を備え、助成研究完了後30日以内に当該収入及び支出等についての証拠書類を本会に提出しなければならない。
- 第8条 この規程に定めるもののほか、研究費助成に関し必要な事項は、理事会で定める。
- 附 則
この規程の改廃は、理事会の議を経て行う。
この規程は、平成21年6月12日から施行する。

「TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会」正会員・賛助会員入会申込書

年 月 日

お名前		
所属施設		
所属名 または学部名		
役職名など		
勤務先住所	〒	
電話番号	勤務先 TEL	勤務先 FAX
メールアドレス		
研究目的		

ご入会に際しましては「会則」をご覧ください。
 正会員・賛助会員(該当に を付ける)のお申し込みは、この用紙にご記入いただき、
 FAX もしくはメールにて下記事務局までご送付いただきますようお願い申し上げます。
 入会申し込みいただきますと、理事会審査の後、事務局より(1)「入会承認書」および(2)会
 費振込方法のご案内を送付させていただきます。尚、正会員の年会費は 5,000 円、賛助
 会員の年会費は 50,000 円となっております。
 本研究会の会計年度は 4 月 1 日から翌年 3 月 31 日までとなっております。

お申し込み先およびお問い合わせ先

TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会
 事務局: 〒202-8585 東京都西東京市新町 1-1-20
 武蔵野大学薬学研究所生薬療法学研究室内
 Tel: 090-7942-2398
 Fax: 0424-68-9178
 メールアドレス: sasaki@jar.or.jp

新たなる 動物実験のために

実験動物用X線CT装置 **LA theta™**
ラシータ



実験動物用X線CT装置 **LCT-100Lite** 汎用型

- 生体マウスを100 μ mで断層撮影。
- 骨密度解析・内臓脂肪解析可。



実験動物用X線CT装置 **LCT-200**

高画質型

- 生体マウスを最小24 μ mで断層撮影。
- 骨密度・内臓脂肪解析可。
- 腫瘍研究に最適です。

ALOKA
illuminate the change

アロカ株式会社 www.aloka.co.jp

〒181-8622 東京都三鷹市北礼6-22-1 計測システム営業部 TEL.0422-45-5131

オリエンタル酵母の特注飼料

肥満モデル作製用High Fat Diet

HFD-60



昨年弊社では、新型の成型機を導入することにより特注飼料の成型性をアップすることが可能となりました。この度お客様からのニーズにお答えし、これまで粉末品で供給させていただいていた高脂肪配合の『脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料』を固型品にて新発売いたします。

何卒ご愛顧いただきますようお願い申し上げます。

お問合せは弊社営業担当、もしくは下記までご連絡下さい。

オリエンタル酵母工業株式会社 バイオ事業本部 ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 TEL 03-3968-1192 FAX 03-3968-4863
URL <http://www.oyc-bio.jp> E-mail fbi@oyc.co.jp



オリエンタル酵母工業株式会社

高濃度のインスリン測定
培養液・高インスリン血症検体等の測定に最適

Shibayagi
レビスシリーズ

研究用試薬

レビス[®]インスリン-マウス (Hタイプ) レビス[®]インスリン-ラット (Hタイプ)

レビス[®]インスリン-マウス (Hタイプ) インスリン-ラット (Hタイプ) の特長

- 緩衝液に色 (青色) が付いており、分注済みウェルの確認が容易
- 測定範囲: 500~100,000pg/ml
- 短時間 (反応時間: 3時間) で測定可能
- 微量な検体 (標準操作法は 10 μ l) で測定可能 (血清、血漿^{*}、培養液)
- 高い測定精度と再現性
- ^{*} 血糖採血はヘパリン採血を推奨します



キット内容

- (A) 高濃度用 96 ウェルプレート-96 ウェル (8 \times 12)/1 枚
- (B) 標準インスリン製剤 (マウス/ラット)/200ng/ml-300 μ l/1 本
- (C) 緩衝液 (青色)-----60ml/1 本
- (D) ビオチン結合抗インスリン抗体- 200 μ l/1 本
- (E) ペルオキシダーゼ-アビジン結合物- 200 μ l/1 本
- (F) 発色液 (TMB)-----12ml/1 本
- (H) 反応停止液 (1M H₂SO₄)-----12ml/1 本
- (I) 濃縮洗浄液 (10x)-----100ml/1 本

お問合せは下記へ

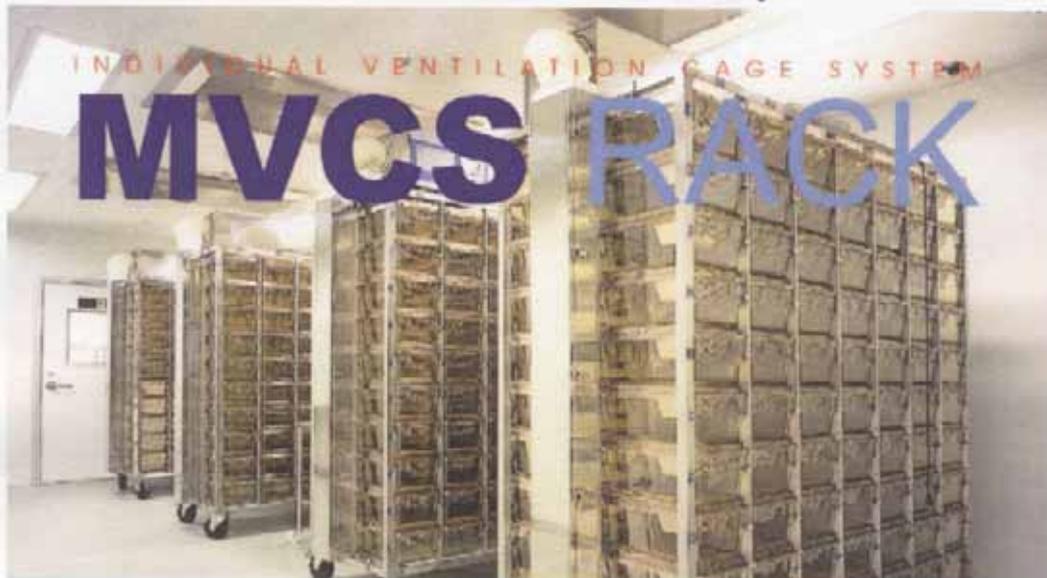
株式会社 **シバヤギ**

〒377-0007 群馬県渋川市石原1062番地1
TEL.0279-25-0279 FAX.0279-23-0313

(E-mail) syc-info@shibayagi.co.jp

(URL) <http://www.shibayagi.co.jp>

For The Metabolic S. Study



TG、ノックアウト、キメラマウスなど貴重で高価な実験動物の健康を守り、理想的な環境で快適な飼育が出来ます。メタボリックシンドロームにはバッチリです。

特徴 1、隔圧も陰圧も使用できます。

2、安全対策万全。

3、作業性容易。

ISHIHARA CO., LTD.

株式会社イシハラ

〒177-0053 東京都練馬区関町南3丁目9番33号

TEL 03-3928-6157

FAX 03-3928-1463

E-mail info@ishihara.co.jp

URL <http://www.ishihara.co.jp/>

TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会

TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会は、TSODマウスの研究を通じて生活習慣病(肥満症、糖尿病、代謝疾患など)に関する学術研究および学術情報等の交換を行うことにより、医学、実験動物学、栄養学、薬学、医療技術等の進歩をはかり、もって世界における学術の発展とヒトならびにその他動物の健康増進に寄与することを目的として活動いたします。



TSOD・TSNOマウスの普及
研究会価格により財団法人動物繁殖研究所から供給されます。
TSOD・TSNOマウスを用いた基礎研究の促進
情報交換会の開催

TSODマウスの特性
体重60~70gに達する重度の肥満、
過食、高血糖、高インスリン血症
(ラ氏島肥大)、高脂血症など
糖尿病の合併症として
18ヶ月齢頃より、神経障害、
軽度な腎症等が認められる
QTL遺伝解析により多因子性糖尿病
モデルとされる
対照動物としてTSNOマウス

事務局：〒202-8585東京都西東京市新町1-1-20

武蔵野大学薬学研究所生薬療法学研究室内

Tel : 090-7942-2398 Fax : 0424-68-9178

Mail : sasaki@iar.or.jp

URL <http://www.iar.or.jp/TSOD/index.html>

Institute for Animal Reproduction

IAR 財団法人動物繁殖研究所

<http://www.iar.or.jp/>

疾患モデル動物開発と実験動物の生産・高い実験技術の提供により、科学の進展に貢献します



LECラット



TSODマウス TSNOマウス



IAR : ビーグル

ラット
IAR : Wistar(Wistar-Imamichi)

IAR : Long-Evans

IAR : Copenhagen

WIAR (W-ラット近交系)

LEC (肝炎・肝癌モデル)

LEA (LECのコントロール)

マウス (糖尿病・肥満等)
C57BLKS/J IAR-+*Lep^{flb}/+Lep^{flb}*
C57BLKS/J IAR-m+/+*Lep^{flb}*

C57BLKS/J IAR-m+/+m+

TSOD (自然発症肥満)

TSNO (TSODのコントロール)

MSG (薬物誘発肥満)

イヌ
IAR : ビーグル

実験技術

受託飼育 (Tg・KO動物)

受託試験

手術動物・生物材料提供

技術講習・レンタルラボ



モデル動物作製

〒300-0134 茨城県かすみがうら市深谷1103 TEL:029-897-0631 FAX:029-897-0633

info@iar.or.jp