

第6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22年11月5日(金)

午後12時50分~5時5分

総評会館

千代田区神田駿河台3-2-11 TEL03-3253-1771



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：〒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: 090-7924-2398 FAX: 0424-68-9178
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6回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会

日時：2010年11月5日(金) 12:50~17:05

場所：総評会館 404号室〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台3-2-11

(東京メトロ千代田線新御茶ノ水駅B3出口0分) TEL: 03-3253-1771 FAX: 03-3253-1765

会長：油田正樹(武蔵野大学教授)

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

受付：12:30から

12:50~13:00 会長あいさつ並びに平成22年度研究助成金贈呈 油田正樹(武蔵野大学)

平成21年度研究助成者講演

座長 嶋田 努(武蔵野大学)

13:00~13:30 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

宮田茂雄(武蔵野大学)

13:30~14:00 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

大藏直樹(帝京大学)

教育講演

座長 常山幸一(富山大学)

14:00~15:00 糖尿病動物研究のヒトへのトランスレーション

- 神経障害から膵島病変まで -

八木橋操六(弘前大学)

15:00~15:10

休憩

一般講演

座長 河田登美枝(武蔵野大学)

15:10~15:40 TSOD マウスの脂肪組織の炎症性変化 - インスリン抵抗性との関わりについて -

多河典子¹⁾、常山幸一²⁾、清長大輔¹⁾、小林吉晴¹⁾(神戸薬科大学¹⁾、富山大学²⁾)

15:40~16:10 TSOD マウスの病態発症における褐色脂肪細胞の関与

嶋田 努(武蔵野大学)

座長 渡邊泰雄(日本薬科大学)

16:10~16:40 TSOD マウスにおける異常鉄沈着の病理組織学的検討:(予備検討)

常山幸一、西田健志(富山大学)

16:40~17:00 TSOD、TSNO、DIAR マウスの遺伝モニタリング用マイクロサテライトマーカーセットの開発

山本酉子¹⁾、佐々木敬幸²⁾、田沢秀憲²⁾、穴戸真央¹⁾、玉川友理¹⁾

若園邦子¹⁾、熊谷博行¹⁾(メルシャンクリンテック¹⁾、動繁研²⁾)

17:00 ~ 17:05 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 4,500 円)

あらた野 神田店

東京都千代田区神田淡路町 2-4-6 (都営新宿線小川町駅 A3 出口より徒歩 1 分)

TEL: 03-3253-3939

平成 22 年度 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会研究費助成者

TSOD マウスの肥満発症の成因解明に関する研究

神戸薬科大学 病態生化学研究室 多河 典子

TSOD マウス脾臓における過剰鉄沈着のメカニズム解析

富山大学大学院 医学薬学研究部 西田 健志

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

宮田 茂雄

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所

視床下部は全身のエネルギー状態を感知して摂食行動を調節する脳部位であり、視床下部に存在する神経ペプチド（摂食関連ペプチド）はその機能の中心的役割を担っている。単一遺伝子変異を背景とする 2 型糖尿病モデル動物の摂食調節機能は破綻しており、視床下部において摂食関連ペプチド発現量の変化と顕著な過食を呈する。Tsumura Suzuki Obese Diabetes (TSOD) マウスも過食を呈することが報告されているが、視床下部における摂食関連ペプチド発現量との関連性については不明である。そこで本研究では、TSOD マウスの視床下部における摂食関連ペプチド遺伝子発現量について、Tsumura Suzuki Non Obesity (TSNO) マウスと比較検討し、TSOD マウスの過食との関連性について評価した。また、2 型糖尿病モデルとして繁用されている *db/db* マウスとその対照群である *db/+* マウスについても同様に解析し、TSOD マウスの所見と比較検討した。

実験には、1 ヶ月齢、3 ヶ月齢、7 ヶ月齢および 12 ヶ月齢の雄性 TSOD マウスと TSNO マウス、および 3 ヶ月齢の雄性 *db/db* マウスと *db/+* マウスを用いた。視床下部に存在する摂食関連ペプチドのうち 20 種について、リアルタイム PCR 法により定量的な cDNA 発現量の解析を行った。

TSNO マウスと比較し、TSOD マウスの体重は 1~12 ヶ月齢の全ての月齢で有意に増加していた。TSOD マウスの血糖値は 3 ヶ月齢で軽度の上昇しており、7 ヶ月齢以降で顕著となった。TSOD マウスの血中トリグリセリド値は 3 ヶ月齢および 7 ヶ月齢で有意に増加しており、血中総コレステロール値は 3~12 ヶ月齢で有意に増加していた。3~12 ヶ月齢の TSOD マウスの摂食量は同月齢の TSNO マウスと比べて有意に増加していたが、1 ヶ月齢では両群間に差は認められなかった。解析した 20 種の摂食関連ペプチドのうち、TSOD マウスの視床下部において発現量の変化が認められた遺伝子は 6 種（*agouti*-related protein、*galanin*、*melanin concentrating hormone*、*nesfatin*、*neuropeptide-Y*、*pro-opiomelanocortin*）であった。なかでも、摂食抑制ペプチドである *nesfatin* の cDNA 発現量は、3~12 ヶ月齢の TSOD マウスの視床下部において有意に減少しており、過食を呈する月齢と相関していた。*db/db* マウスの視床下部では、*db/+* マウスと比べて、*neuropeptide-Y* および *agouti*-related protein cDNA 発現量の有意な増加と、*cocain- and amphetamine-regulated transcript* cDNA 発現量の有意な減少が認められた。

TSOD マウスの糖尿病病態は加齢と共に進行し、過食は 3 ヶ月齢以降に認められた。また、TSOD マウスの視床下部において複数の摂食関連ペプチドの cDNA 発現量に変化が認められた。なかでも、*nesfatin* cDNA 発現量の減少は、TSOD マウスが過食を呈する月齢と相関していたことから、TSOD マウスに過食を誘発する一因である可能性が考えられる。また、TSOD マウスの視床下部において発現変化していた摂食関連ペプチド遺伝子は *db/db* マウスとは異なることから、TSOD マウスは *db/db* マウスとは異なるメカニズムで過食が誘発されると推察された。

平成 21 年度研究助成者講演

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 との関連解明

大藏 直樹
帝京大学 薬学部

【背景・目的】

プラスミノゲンアクチベーターインヒビター(PAI-1)は血栓溶解反応を阻害するため、血中の PAI-1 の上昇は血栓症の発症と深く関わると考えられる。近年は血管内皮細胞だけでなく、脂肪細胞や肝細胞などによる PAI-1 産生が見出され、肥満や糖尿病などの生活習慣病患者の血中 PAI-1 の上昇と血栓症発症との関連が注目されている。しかし、脂肪やその他の組織での PAI-1 産生がどの程度血中 PAI-1 の上昇や血栓形成に関与するかは不明な点が多い。組織の PAI-1 産生については、動物組織の mRNA 発現量や、培養組織が産生する PAI-1 抗原量を調べた研究はみられるものの、組織の PAI-1 抗原量と血中 PAI-1 抗原量との関連を検討した研究はみられない。そこで、本研究では、TSOD マウス、*ob/ob* マウスおよび高脂肪食摂取マウスなどの肥満マウスを用い、肥満と血中 PAI-1 の関連についての検討を行った。また、肥満・糖尿病時には血液凝固系の異常がみられ、血栓症を起こしやすくなることから、本研究では TSOD マウスと TSNO マウスの血液凝固系についても比較検討を行った。

【結果・考察】

TSOD マウス、*ob/ob* マウス、高脂肪食マウスで比較した結果、どの肥満マウスも血中の PAI-1 抗原量は有意に増加していた。臓器の PAI-1 抗原量については、すべての肥満マウスにおいて、脂肪組織の産生量が著しく高いことがわかった。このことは、肥満マウスの脂肪細胞は、正常マウスと比較して、大量の PAI-1 を産生していることを示すと考えられる。特に *ob/ob* マウスは脂肪の割合が著しく高いため、血中の PAI-1 が他の肥満マウスと比較して著しく高い値を示すことも予想したが、血中の PAI-1 の上昇は他の肥満マウスと大きな違いはみられなかった。このことと脂肪細胞が血液と接していないことを考え合わせると、脂肪組織で産生された PAI-1 が大量に血中に移行し、血中の PAI-1 濃度上昇貢献する可能性は低いと思われる。

一方、他の臓器で比較してみると、肥満マウスでは心臓や肝臓でも PAI-1 量が増加していたことから、肥満による血中 PAI-1 量の増加に、これらの組織で増加した PAI-1 の寄与も重要であると考えられる。

さらに、本研究では血糖値が高い状態が続くことによる血液凝固系の異常が TSOD マウスで観察できるかどうかを検討した。しかし、PT や APTT は TSOD と TSNO 間で有意な差はみられず、フィブリノーゲン、プロトロンビン、凝固第 X 因子なども、TSOD と TSNO 間で差はみられなかった。今回の検討で使用した 13 週齢のマウスは、糖尿病の初期状態であるため、凝固系や凝固制御系に大きな異常がみられず血栓が出来やすい状態にはないと思われる。

糖尿病動物研究のヒトへのトランスレーション
- 神経障害から膵島病変まで -

八木橋 操六

弘前大学大学院 医学研究科 分子病態病理学講座

糖尿病動物モデルの有用性は、糖尿病の成因の解明や特徴的合併症の発症機序の解明に用いられることであり、それらの研究基盤を背景に新しい治療法の開発が可能となることであろう。そこでは、用いる動物モデルがヒト糖尿病の病態を忠実に反映しているのか、あるいは全く別の次元にあるのか、研究成果のヒト疾病へのトランスレーションへの課題が残されている。とくに糖尿病が多様な病因から起こる高血糖症候群であることを考慮すると、研究の目的や結果の解釈について慎重な判断が必要とされよう。合併症の中で最も頻度が高いとされる神経障害をとってみても、ヒト糖尿病とげっ歯類モデルとは根本的な解剖学的、生化学的違いがあり、従って病変形成機序も異なってくる。神経障害に対して多くの薬剤が開発され、動物モデルでは効果がみられたにも拘わらず、大半の臨床治験で失敗に終わっている。その理由は、おそらく実験結果の解釈あるいは治験デザインの組み方の誤りによるものかも知れない。その克服のために多くの遺伝子改変動物を用いた研究も行われているが、その実験結果の解釈においても同じような誤謬が発生する可能性も大きい。ヒト糖尿病での神経障害の評価がいまだコンセンサスのない状態のまま、治験での薬剤評価をする困難さも加わっている。一方、最近インクレチン製剤が臨床応用され、糖尿病治療が大きく変化しつつある。インスリン分泌促進に加え、膵島保護作用が謳われており、糖尿病の根本治療に迫る時代が到来した感さえある。とまれ、ここでも、ヒト糖尿病での発症から進展の膵島病変が必ずしも完成されたものではないことを考慮すると、糖尿病動物から得られた貴重なデータも慎重な解釈が必要となってくる。本講演では、限られた時間ではあるが、動物モデルから得られたデータが正しくヒト糖尿病へと応用されるための問題点について例を挙げ、ディスカッションしてみたい。

TSOD マウスの脂肪組織の炎症性変化 —インスリン抵抗性との関わりについて—

多河 典子¹⁾、常山 幸一²⁾、清長 大輔¹⁾、小林 吉晴¹⁾
神戸薬科大学¹⁾、富山大学大学院²⁾

【目的】肥満時の脂肪組織では慢性炎症ととらえられる変化が生じていることが知られている。また、肥満した脂肪組織からは TNF α 、IL-1、IL-6 などの炎症性サイトカインが分泌されていることも報告されている。さらに肥満脂肪組織ではマクロファージの浸潤が増加していることも明らかになってきた。一方、慢性炎症時には、血管新生が認められるが、血管新生は肥満とも密接に関連している。今回、我々は自然発症肥満・糖尿病モデルマウスである TSOD マウスについて肥満の発症と脂肪組織マクロファージの浸潤や血管新生の加齢に伴う病理学的変化との関わりについて調べたので報告する。

【方法】TSOD と TSNO マウス (4、6、8、10、12、14 週齢) の精巣周囲脂肪組織の加齢に伴う組織学的変化を調べた。すなわち、ヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色、活性型マクロファージ表面抗原 F4/80 の免疫染色、走査型電子顕微鏡、共焦点顕微鏡による観察を行った。尚、走査型電子顕微鏡と共焦点顕微鏡用の脂肪組織は、その組織表面の状態を観察するため、切片を作製せずに、組織を固定後、直接表面を観察した。同時に、血糖、血中インスリンおよび脂肪組織重量を測定しさらに、脂肪組織の TNF α 、MCP-1 の mRNA 発現をリアルタイム PCR で測定した。

【結果】

HE染色：精巣周囲の脂肪細胞はTSNOでは8週齢頃から、TSODでは6週齢頃から脂肪細胞の腫大が認められた。死滅した脂肪細胞をマクロファージが取り囲むように観察される、crown-like structure (CLS) は各週齢についてTSNOでも観察されたが、TSODではTSNOよりも明らかにその数が増加していた。また、14週齢のTSODでは他の週齢では見られない血管の存在も確認された。

F4/80免疫染色：活性型マクロファージの細胞膜表面抗原であるF4/80の免疫染色を行った。その結果、TSNOではいずれの週齢でもCLSは散見される程度であったが、TSODでは6週齢からCLSが認められるようになり、加齢と共に増加していた。

走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察：各週齢の精巣周囲脂肪組織をSEMで観察した。4週齢のTSNOで滑らかな細胞表面が認められたが、TSODでは滑らかさが失われ、TSNOの脂肪細胞とは明らかに異なっていた。さらに、TSODでは10週齢頃からTSNOでは認められない、細胞表面を一面に覆う繊維状の絨毯が観察された。

共焦点顕微鏡による観察：マクロファージ (F4/80)、血管 (内皮細胞) および脂肪 (BODIPY 他) を染色し観察した。その結果、4週と6週齢ではTSNOよりTSODの脂肪細胞の方が若干大きく認められたが、12週齢以降ではTSNOの脂肪細胞の大きさはTSNOより顕著に腫大しているのが観察された。また、12週と14週齢のTSODではTSNOに比べ、明らかな毛細血管の新生が多く認められた。さらに、マクロファージの浸潤はTSNO、TSODとも8週齢から観察された。しかし、TSNOではそれ以降14週齢までマクロファージの浸潤は増加しなかったが、TSODでは週齢と共に著しく増加しているのが認められた。また、これら浸潤したマクロファージは脂肪細胞に多数接着し、貪食している様子が観察された。

血中インスリン、血糖、脂肪組織重量およびMCP-1、TNF α のmRNA発現：上記の各週齢で病理組織学的観察を行ったTSNOとTSODについて、血中インスリン、血糖、脂肪組織重量を測定した。その結果、TSNOに比較して、TSODでは、血糖値が6週齢より高値となり、血中インスリン値は4週齢以降で上昇が認められた。また、TSODの精巣周囲、

腸間膜、皮下および褐色脂肪組織重量はいずれも4週齢以降で、TSNOより著しい増加が認められた。さらに、精巣周囲脂肪組織のMCP-1およびTNF α のmRNA発現量を調べたところ、TSNOでは14週齢までMCP-1とTNF α の発現量はほとんど変動しなかったが、TSODでは6週齢以降でMCP-1発現量の著しい増加が認められ、TNF α の発現は10週齢以降から増加が認められた。

【まとめ】TSODマウスの肥満発症は毛細血管の新生とマクロファージの浸潤による炎症性変化を伴うことが明らかとなった。これらの脂肪組織の変化がインスリン抵抗性を惹起し、糖尿病発症の一つの原因になっているのではないかと考えられた。尚、血糖、血中インスリン、脂肪組織重量やMCP-1、TNF α のmRNA発現については今後さらに検体数を増やし検討する予定である。

TSOD マウスの病態発症における褐色脂肪細胞の関与

嶋田 努

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所

褐色脂肪細胞は、白色脂肪細胞と異なり交感神経系の支配のもと脂肪酸を酸化分解して熱を産出するエネルギーの消費組織である。ヒトの場合では、これまで褐色脂肪細胞は新生児には確認されても成人ではほとんど確認されておらず、褐色脂肪細胞と肥満の関係が疑問視されており、褐色脂肪細胞に注目した医薬品の開発が遅れていた。しかし、近年の研究により褐色脂肪細胞でエネルギー産出に参与する脱共役蛋白質（Uncoupling protein：UCP）類似蛋白質がヒトの白色脂肪細胞においても見られることや、FDG-PET（2-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography）解析によって成人においても褐色脂肪細胞が肩部や胸椎部位に認められることが明らかになってきており、肥満に関する研究材料として褐色脂肪細胞が最近注目されてきている。

多因子遺伝性の肥満2型糖尿病モデル動物であるTSODマウスは、対照動物であるTSNOマウスと比較し、肩甲骨間の脂肪量が多いこと、また褐色脂肪細胞の白色化が確認されており、TSODマウスの病態原因の1つとして褐色脂肪細胞の関与が示唆されてきた。そこで、TSODマウスおよびTSNOマウスの褐色脂肪細胞を用い、TSODマウス病態発症における褐色脂肪細胞の関与について検討を行った。

肥満をはじめ、糖・脂質代謝異常等を発症する12週齢のTSODマウスおよびTSNOマウスの褐色脂肪組織について検討したところ、TSODマウスではTSNOマウスと比較し褐色脂肪組織の白色化が進んでおり、また、遺伝子解析を行ったところ、UCP1 mRNAの有意な低下、 β 3-adrenergic receptor（b3-AR）mRNAの低下傾向が観察された。引き続き4週齢の病態をまだ発症する前のTSODおよびTSNOマウスから初代前駆褐色脂肪細胞を単離し、増殖後、分化誘導剤にて成熟化した褐色脂肪細胞を作成した。TSNOマウスの前駆褐色脂肪細胞は、培養するにつれ増殖し、また分化も順調に進み成熟化した褐色脂肪細胞が得られたが、一方TSODマウスではTSNOマウスと比較し増殖スピードが遅く、また成熟化した細胞も少なかった。両マウスの褐色脂肪細胞における各種遺伝子発現の差異を確認したところ、TSODマウスではUCP1、b3-AR mRNA発現をはじめ、分化マーカーであるperoxisome proliferator activated receptor（PPAR） γ 、PPARG-coactivator-1（PGC1）mRNA発現の著しい低下が認められた。また、アディポサイトカインにおいては、TSODマウスにおいて善玉であるadiponectin mRNA発現の著しい低下が認められ、一方、悪玉であるTumor necrosis factor（TNF）- α mRNA発現の上昇が観察された。

以上より、TSODマウスの病態発症原因とひとつとして褐色脂肪細胞の異常があり、その要因としては褐色脂肪細胞のエネルギー消費系機構が低下していること、また、褐色脂肪細胞の前駆細胞から成熟化する過程において異常があることが示唆された。

TSOD マウスにおける異常鉄沈着の病理組織学的検討：(予備検討)

常山 幸一、西田 健志

富山大学大学院 医学薬学研究部 病理診断学

【背景】メタボリックシンドローム (MS) は、内臓脂肪蓄積を端緒として、糖尿病、高脂血症、高血圧、動脈硬化、非アルコール性脂肪性肝障害 (NAFLD) 等がドミノ倒しのようにならに発症・進展する全身性疾患である。発症メカニズムとして内臓脂肪が産生する種々の炎症性サイトカインや、酸化ストレスの関与が注目されているが、遺伝子背景・環境要因に基づくヒトの病態は複雑であり、未だ全容の解明には至っていない。TSOD マウスは肥満・2型糖尿病、高脂血症を自然発症する MS モデル動物であり、複雑な MS の病態解析や治療効果解析に有用な新規モデル動物として注目されている。我々はこれまでに、オスの TSOD マウスが4ヶ月齢で NAFLD を発症し、その後ほぼ全例が肝細胞癌を発症する事を報告したが、その際の基礎検討で、TSOD マウスの脾臓に著明な鉄沈着が認められること、に気付いた。生体内の鉄代謝は厳密にコントロールされているが、臓器・器官での貯蔵鉄が増加すると、局所での酸化ストレスが亢進し、MS の病態を促進する可能性が示唆される。今回、TSOD マウスの異常鉄沈着のメカニズムを解明するため、TSOD マウス、および対照 (TSNO) マウスの主要臓器の鉄沈着の程度を経時的に解析した。

【対象と方法】肝病変の病理組織学的解析用に供した TSOD マウス (:6ヶ月齢、12ヶ月齢) と対照マウス (TSNO マウス、 :6ヶ月齢、12ヶ月齢) の全身臓器を再検討し、ベルリンブルー染色と画像解析で鉄沈着の程度を評価した。また、酸化ストレスマーカー (4HNE, Trx1) や、鉄代謝調節分子 (ヘプシジン)、炎症性サイトカイン (IL-6) 等を免疫組織学的に検討し、鉄沈着との関連性を解析した。

【結果】TSOD マウスでは6ヶ月齢で脾臓に著明な鉄沈着が認められ、12ヶ月齢では更に鉄沈着の程度が亢進していた。一方、TSNO マウスでは若干の鉄沈着を見るのみであった。TSOD マウスでは、脾臓以外の臓器 (肝臓、膵臓、腎臓、内臓脂肪) においても、ごくわずかな鉄沈着が認められたが、TSNO マウスでは鉄沈着は殆ど認められなかった。免疫染色では、TSOD マウス脾臓の鉄貪食マクロファージは Trx や IL-6 を発現しており、内臓脂肪の crown-like structure を形成するマクロファージや肝臓の Kupffer 細胞と同様の発現パターンを示した。

【考察】生体内の鉄動態は厳密に調整されているが、TSOD マウスでは何らかの原因でその逸脱が生じていると推測される。今回の予備的検討で、TSOD マウスは、病初期から脾臓への著明な鉄沈着を示すが、他臓器への鉄沈着は軽微であること、脾臓のマクロファージや内臓脂肪に集簇するマクロファージ、肝臓の Kupffer 細胞が炎症性サイトカインである IL-6 を産生するとともに、抗酸化能を有する Trx1 を発現し、自らを酸化ストレスから保護していること、が明らかとなった。造血器障害・溶血亢進でも網内系への鉄沈着が生じるが、TSOD マウスでは肝臓での鉄沈着が軽微であり、脾臓に特異的に鉄沈着が認められた事から、異なる機序が推測される。我々は、予備検討の結果から、「慢性炎症に伴いマクロファージが活性化し IL-6 などの炎症性サイトカインを産生 血中ヘプシジン量

が亢進 網内系（脾臓）マクロファージからの鉄放出の抑制」との仮説を考えている。活性化マクロファージは自らを酸化ストレスから守る機序を有し、結果として炎症反応が遷延化している可能性がある。今後は、血清や各種臓器におけるマクロファージ活性化と鉄代謝関連分子の変化をより詳細に経時的に解析し、TSOD マウスの病態機序を明らかにする。

TSOD、TSNO、DIAR マウスの遺伝モニタリング用 マイクロサテライトマーカの開発

山本 酉子¹⁾、佐々木 敬幸²⁾、田沢 秀憲²⁾、穴戸 真央¹⁾、玉川 友理¹⁾、
若園 邦子¹⁾、熊谷博行¹⁾

株式会社メルシャンクリンテック環境検査センター¹⁾、財団法人動物繁殖研究所²⁾

【目的】TSOD(Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes)マウス、TSNO(Tsumura, Suzuki, Non Obesity)マウス、DIAR (Ddy, Institute for Animal Reproduction)マウスは、アウトブリードの ddY マウス(ドーケン、茨城)を起源とする近交系である。TSOD は、8 週齢における体重とそれ以降の尿糖出現を指標にして選抜飼育され、自然発症 2 型糖尿病のモデル動物として利用されている。TSOD は、雄のみに肥満・高血糖・高インスリン血症・高脂血症の高率な発症と、合併症として末梢神経障害などが認められる。又、内臓脂肪組織の蓄積量が多く、メタボリックシンドロームのモデル動物として近年利用されている。一方、TSNO と DIAR は肥満、糖尿病共に発病しない。

これら近交系の系統の遺伝学的品質を保証するには、定期的な遺伝モニタリングが必須である。遺伝モニタリングを行うには、基準となる遺伝プロファイルの作成が必要となる。今回、TSOD、TSNO および DIAR について、マイクロサテライトマーカを用いた遺伝モニタリング用マーカセットの選定を試みた。また、ddY マウスの多型についても、同様に検査し、3 系統の近交系マウスにおける ddY のアレルの保有率についても検討した。

【方法】TSOD、TSNO、DIAR は動物繁殖研究所より、ddY、C57BL/6J、129X1/SvJ は日本エスエルシーより雄雌各 4~6 匹を入手し、脾臓または尾から DNA を抽出した。TSOD、TSNO、DIAR に関するマイクロサテライトマーカの情報は非常に少ないため、C57BL/6 マウスと 129 マウスで多型が認められ、かつ 4%ゲル上で目視判定が可能であるマイクロサテライトマーカを 100 個選択した。このマーカを用い、PCR 法で増幅後、アガロースゲルに電気泳動し、臭化エチジウムにより検出した。

【結果および考察】今回調べた 100 個のマイクロサテライトマーカでは良好な PCR 産物が得られ、アレルを判定することができた。また、各近交系には多型は認められなかった。3 系統のいずれかの系統間で多型を示したものは 47 個あった。TSOD と TSNO 間で 31 個、TSNO と DIAR 間で 30 個、TSOD と DIAR 間では 35 個の多型が認められた。また、多型を示したマーカは各染色体に少なくとも 1 個以上存在した。

今回使用したほとんどのマーカにおいて、3 系統に ddY で見いだされたアレルの何れかがみられた (TSOD : 96 個、TSNO : 94 個、DIAR : 98 個)。この様に非常に高い割合で ddY アレルのいずれかを保有していたことから、3 系統はそれぞれ ddY 由来の近交系であることが遺伝子レベルでも確認できたと考えられる。

TSOD、TSNO、DIAR の遺伝モニタリングを効率的に実施するために、多型を示すマーカを各染色体から 1 個ずつ計 20 マーカを選択した。今後、これらのマーカを用いて遺伝学的品質保証を行う予定である。

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

TSOD マウスの開発研究の経緯 鈴木 亘(武蔵野大学・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)

招待講演

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(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)

招待講演

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)午後1時~5時

場所：東京八重洲ホール 日本橋3-4-13

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 マウスの過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5回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会記録

日時：2009年11月6日(金)午後12時50分～5時

場所：東京八重洲ホール 東京都中央区日本橋3丁目4番13号

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)

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⁾)

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)

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⁾)

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⁾)

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)

懇親会会場



あらた野 神田店

東京都千代田区神田淡路町 2-4-6 (都営新宿線小川町駅 A3 出口より徒歩 1 分)

TEL: 03-3253-3939

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
- ^{*} 血液採血はヘパリン採血を推奨します



キット内容

- (A) 抗インスリン抗体(マウス/ラット) 200 μ g/ml ~ 300 μ l / 1本
- (B) 標準インスリン(マウス/ラット) 200 μ g/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**

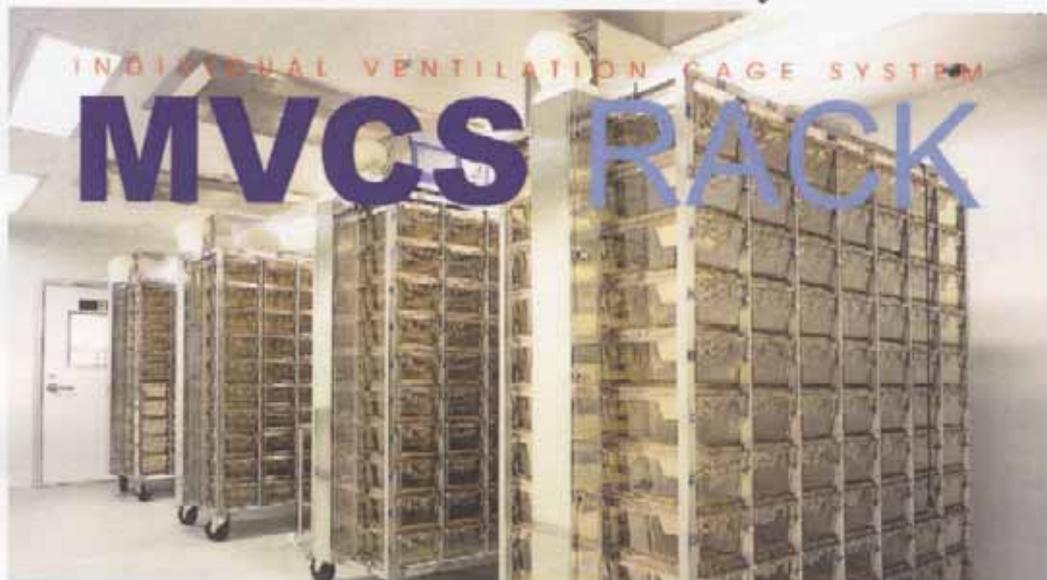
(E-mail) syc-info@shibayagi.co.jp

〒377-0007 群馬県渋川市石原1062番地1

TEL.0279-25-0279 FAX.0279-23-0313

(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、陽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/>

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**

高出力型

- 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 東京都三鷹市芝礼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

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ひと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-I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^{db}*/+*Lep^{db}*

C57BLKS/J IAR-m+/+*Lep^{db}*

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

第 6 回 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会情報交換会講演要旨集

発行 2010 年 11 月 5 日

編集・発行 TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会
〒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: 090-7924-2398 FAX: 0424-68-9178