

第7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 23 年 11 月 11 日（金）

13:00～17:05

総評会館

千代田区神田駿河台 3-2-11 TEL03-3253-1711



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7回 TSOD（肥満・糖尿病）マウス研究会情報交換会

日時：2011年11月11日（金） 13:00～17:05

場所：総評会館 502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）TEL03-3253-1771FAX03-3253-1765

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

12:30～ 受付

13:00～13:15 会長あいさつ並びに平成23年度研究助成金贈呈 油田正樹（武蔵野大学）

平成22年度研究助成者講演

座長 嶋田 勉（武蔵野大学）

13:15～13:45 TSOD マウス脾臓における過剰鉄沈着のメカニズム解析

西田健志（富山大）

13:45～14:15 TSOD マウスの肥満発症の成因解明に関する研究

多河典子（神戸薬科大）

一般講演

座長 宮田茂雄（武蔵野大学）

14:15～14:45 幼若および成熟雄 TSOD マウスにおける摂食関連ホルモンの分泌およびレプチン抵抗性 ○藤平篤志1、三上隼人2、児嶋修一3、天尾弘実2、佐々木敬幸4、外尾亮治4、篠田元扶1（1 獨協医大・実験動物、2 日獣大、3 獨協医大・薬理学、4 動繁研）

14:45～15:15 雌性 TSOD マウスの病態解明

嶋田 努（武蔵野大学）

15:15～15:30

休憩

座長 藤平篤志（獨協医大）

15:30～15:50 TSOD マウスの生産管理基準と品質の維持

田沢秀憲、小野寺美紀（動繁研）

教育講演

座長 常山幸一（富山大学）

16:00～17:00 アディポネクチン研究の最前線

山内敏正（東京大学）

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）

TEL03-3253-3939

平成 23 年度 TSOD（肥満・糖尿病）マウス研究会研究費助成者

メタボリックシンドローム（MS）モデルマウスにおける加齢性皮膚変化

東海大学 健康科学部 赤瀬智子

モデル動物 TSOD マウスを用いた肥満・糖尿病の口腔（舌）発がんへの関与

株式会社東海細胞研究所 所長 田中卓二

TSOD マウス脾臓における異常鉄沈着のメカニズム解析

西田 健志・常山 幸一

富山大学大学院 医学薬学研究部 病理診断学講座

【背景】

メタボリックシンドロームは肥満を契機に全身に多彩な疾患を惹起する 21 世紀の国民病である。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。その発生機序には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、いまだ全容の解明には至っていない。酸化ストレスの発生要因の一つに過剰な遷移金属の存在が想定されている。一般に生体内の鉄は厳密にコントロールされているが、そのバランスが崩れた鉄過剰状態は活性酸素による細胞障害を生じ、生体に様々な悪影響を与えると考えられている。これまでの病理組織学的検索において、自然発症肥満・2 型糖尿病モデル動物である TSOD マウスの脾臓には著明な鉄沈着が認められており、その過剰な鉄が局所の酸化ストレスを亢進し NASH の発症進展に関与している可能性が示唆される。そこで本研究では、TSOD マウスにおける異常鉄沈着のメカニズムを明らかにするために、TSOD マウスおよび対照 (TSNO) マウスから経時的に主要臓器ならびに血清を採取し、病理組織学的および生化学的に検討した。

【方法】

TSOD マウスと TSNO マウスを 8, 16, 24、および 32 週齢時に各群 5 匹ずつ sacrifice し、主要臓器 (脳、唾液腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、腸管、内臓脂肪、骨髓) の摘出と採血を行った。摘出臓器から病理組織切片を作製し、HE 染色、ベルリンブルー (鉄) 染色、および鉄代謝関連分子 (ヘプシジン)、炎症性サイトカイン (IL-6、TNF- α)、酸化ストレスマーカー (カルボニル化タンパク質) 等の各種免疫染色を実施した。また、採取した血清は ELISA 法に供し、フェリチン、IL-6、およびヘプシジンの各血中濃度を測定した。

【結果】

TSOD マウスでは 8 週齢時にすでに脾臓に過剰な鉄沈着が認められ、成長とともにその程度は亢進した。一方、TSNO マウスの脾臓の鉄沈着はどの週齢もごくわずかに認められるだけであった。TSOD マウスでは、脾臓以外の臓器 (肝臓、腎臓、内臓脂肪) に軽微な鉄沈着を認める個体も散見されたが、TSNO マウスでは認められなかった。免疫染色において、TSOD マウスでは脾臓や内臓脂肪のマクロファージで IL-6 の発現が認められ、酸化ストレスマーカーであるカルボニル化タンパク質も膵臓、内臓脂肪で発現が認められた。一方、脾臓ではカルボニル化タンパク質の発現は認められなかった。血清フェリチンおよび血清ヘプシジン濃度は、どの週齢においても TSOD マウスの方が高値であった。血清 IL-6 濃度は 16、32 週齢の TSOD マウスの 20% で高値を示した。

【考察】

生体内の鉄代謝は厳密に制御されているが、TSOD マウスでは8週齢より早い段階から鉄代謝の逸脱が生じていると推測される。TSOD マウスでは免疫染色において、脾臓や内臓脂肪で炎症性サイトカインである IL-6 の発現亢進が認められたが、血清中の IL-6 濃度は個体によりばらつきがあり、高値を示したのは一部のみであった。一方、鉄代謝関連分子であるヘプシジンの血清濃度は TSOD マウスで常に高値を示したことから、TSOD マウスでは炎症の有無にかかわらず常にヘプシジンの産生が亢進しており、その結果網内系(脾臓)マクロファージからの鉄放出が抑制されている状態であると考えられた。脾臓では常に過剰な鉄が存在する状態であるにもかかわらず、予想に反して酸化ストレスマーカーであるカルボニル化タンパク質の発現が認められなかった。マクロファージ内に貯留した鉄は局所における酸化ストレス亢進に関与していないと考えられ、マクロファージにより細胞毒性が抑制されている状態と推測された。

TSOD マウスの肥満発症の成因解明に関する研究

多河 典子

神戸薬科大学・病態生化学研究室

【目的】

肥満した脂肪組織からは、IL-6 や $\text{TNF}\alpha$ などの炎症性サイトカインが産生・分泌され、これらのサイトカインは遠隔組織で炎症シグナルを活性化し、インスリン抵抗性や動脈硬化などの慢性炎症性疾患を惹起すると考えられている。また、脂肪組織の肥大化には、脂肪の過剰な合成促進、あるいは分解の低下による脂肪蓄積が起因すると考えられる。脂肪組織での脂質の代謝は、triglyceride (TG) から diacylglycerol (DG)、さらに monoacylglycerol (MG) へと代謝され、最終的に遊離脂肪酸と glycerol へと分解される。それぞれのステップは、adipose triglyceride lipase (ATGL)、hormone-sensitive lipase (HSL)、及び monoacylglycerol lipase (MAGL) によって触媒されている。本研究では、TSOD マウスの肥満発症に脂肪組織の炎症性変化が寄与していること、さらに脂肪組織における脂肪分解障害が関わっていることを明らかにすることを目的として行った。

【方法】

- 1) 脂肪組織の炎症性変化について TSOD と TSNO マウス (4, 6, 8, 10, 12, 14 週齢) の精巣上体脂肪組織の加齢に伴う組織学的変化をヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色、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て調べた。同時に、脂肪組織の MCP-1、F4/80、 $\text{TNF}\alpha$ 、ATGL、HSL、adipose phospholipase A_2 (AdPLA₂)、comparative gene identification-58 (CGI-58) 及び perilipin A の mRNA 発現を real-PCR で測定した。さらに、血糖、血中インスリンおよび脂肪組織重量も合わせて測定した。
- 2) 脂肪組織における脂肪分解活性について DMEM 培地中で精巣上体脂肪組織片 (75 mg) にイソプロテレノール (ISO, 5 μM) を作用させ、遊離するグリセロールを定量し、脂肪分解活性を TSOD と TSNO で評価した。また、TSNO 及び TSOD (12 週齢) の精巣上体脂肪組織 (75 mg) をアセトン中でホモジナイズし、脂質抽出分画中の TG、DG 及び MG を薄層クロマトグラフィー (TLC) で定量した。さらに、精巣上体脂肪組織の lysate を調製し、HSL の Western Blotting (WB) を行い HSL タンパク質の発現を TSOD と TSNO で比較した。

【結果】

- 1) ヘマトキシリン-エオシン (HE)染色 精巣上体脂肪細胞は TSNO では 8 週齢頃から、TSOD では 6 週齢頃から腫大が認められた。また、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 TSNO では観察されない血管の存在も確認された。
- 2) F4/80 の免疫染色 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。
- 3) 走査型電子顕微鏡 (SEM)による観察 各週齢の精巣上体脂肪組織を 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。
- 4) 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肥大して認められたが、12 週齢以降では TSOD 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、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。
- 5) 血中インスリン、血糖及び脂肪組織重量 上記の各週齢の血中インスリン、血糖及び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 の精巣上体、腸間膜、皮下及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。
- 6) 精巣上体脂肪組織 MCP-1、F4/80、TNF α 、ATGL、HSL、AdPLA₂、CGI-58 及び perilipin A mRNA 発現量の検討 精巣上体脂肪組織の MCP-1 および TNF α の mRNA 発現量を調べたところ、TSNO では 14 週齢までこれらの発現量はほとんど変化が認められなかったが、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。次に、加齢による ATGL 及び HSL の mRNA 発現量の変動を調べた。TSOD の ATGL 及び HSL mRNA 発現量は、TSNO に比べ 4 週齢では有意な上昇が認められたが、8、12、14 週齢では有意な低下が認められた。また、TSOD の perilipin A mRNA は、TSNO に比べ 4 週齢では有意な上昇が認められたが、14 週齢では有意に低下し、HSL mRNA の変動と同様の傾向がみられた。CGI-58 の mRNA 発現量は、TSNO に比べ TSOD は 8 週齢では有意に低下したが、4、12、14 週齢では有意な上昇が認められた。さらに、AdPLA₂ の mRNA 発現量は、TSNO に比べ TSOD は 12、14 週齢で有意な上昇が認められた。
- 7) 精巣上体脂肪組織内 HSL タンパク質の発現 (WB による解析) TSOD の HSL タンパク

質発現は TSNO に比べ有意に減少していた。

- 8) ISO 刺激下における脂肪分解活性 脂肪細胞で脂肪分解が起こるためには、まず ATGL、HSL 及び MAGL が活性化されなければならない。アドレナリン作動薬が、 β -アドレナリン受容体 (β -adrenergic receptor, β -AR) に結合すると、G タンパクを介した adenylylate cyclase (AC) が共役して、cAMP を増加させ、protein kinase A (PKA) を活性化する。PKA は HSL をリン酸化して、HSL を脂肪油滴上にトランスローケートさせ、脂肪分解を活性化する。脂肪油滴表面を覆っているタンパク質の perilipin もまた PKA により、リン酸化され結合していた CGI-58 を解離する。解離した CGI-58 は ATGL に結合し、ATGL は CGI-58 の結合により活性化される。

TSOD と TSNO の脂肪組織における TG の代謝、すなわち脂肪分解活性を比較するため、精巢上体脂肪組織の β -AR を ISO により刺激して、遊離される glycerol 量を定量し脂肪分解活性を比較した。TSNO では ISO 刺激により遊離した glycerol 量は、有意に増加したが、TSOD では非刺激時と差を認めず、脂肪分解活性の低下が認められた。

- 9) 薄層クロマトグラフィー(TLC)による脂肪組織内中性脂肪の定量 脂肪組織での脂肪分解を評価するため、TG、DG、MG を TLC により定量を行った。12 週齢の TSNO 及び TSOD の精巢上体脂肪組織のアセトン抽出分画を調製し、TLC に適用したところ、標準品の TG 展開位置に一致したところに TSOD、TSNO 共にスポットが明瞭に検出された。また、DG 展開位置には TSOD でのみスポットが認められた。両群で MG の展開位置にスポットは検出されなかった。さらに、これらの TLC 上のスポットをスキャナーで取込み、Sion Image で解析したところ、TG 量は TSOD、TSNO とも差を認めなかったが、DG 量は TSOD で TSNO に比し、有意に増加していた。

【考察】

HE 染色、F4/80 免疫染色、SEM 及び共焦点顕微鏡による結果は TSOD の脂肪組織では炎症性変化を引き起こし、それは加齢と共に増大することを示していた。さらに、MCP-1、F4/80 及び TNF α の mRNA は TSOD で有意に増加し、上記組織学的観察結果を支持している。一方、ISO 刺激により分泌される glycerol 量は TSOD で TSNO に比し低下していた。また、TSOD の HSL mRNA と HSL タンパク質発現は共に有意に減少しさらに、TSOD の脂肪組織内に DG の顕著な貯留が認められた。これらの結果は、TSOD の脂肪組織では HSL レベルが低下し、脂肪分解が停滞していることを示唆している。

【結語】

TSOD マウスの肥満発症は脂肪組織での慢性炎症の発現と、脂肪分解活性の障害が要因になっていると考えられた。

一般講演

幼若および成熟雄 TSOD マウスにおける摂食関連ホルモンの分泌およびレプチン抵抗性

○ 藤平 篤志¹、三上 隼人²、児嶋 修一³、天尾 弘実²、佐々木 敬幸⁴、外尾 亮治⁴、篠田 元扶¹

¹ 獨協医科大学・実験動物センター、² 日獣大・実験動物学、³ 獨協医大・薬理学、⁴ (財) 動物繁殖研究所

【研究背景および目的】肥満型Ⅱ型糖尿病モデルとして確立された Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes (TSOD) マウスは多因子性遺伝であり、過食、高血糖、高インスリン血症およびインスリン抵抗性を示すことが報告されている。一方で、TSOD マウスにおける摂食抑制ホルモンの分泌調節に関する研究は高レプチン血症について本情報交換会で報告されているが、レプチン以外の摂食抑制ホルモンに関して週齢変化を含めた詳細な報告は存在しない。本研究では摂食抑制作用を示すレプチン、ペプチド YY (PYY) および Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) について幼若および成熟 TSOD 雄マウスを用いて血中濃度を測定し、これら摂食抑制ホルモンの分泌と過食の関連性について検討した。また、レプチンに関しては絶食負荷に対する分泌低下反応およびレプチン投与による摂食抑制反応についても検討を加えた。

【材料および方法】雄性 TSOD マウスおよび対照として Tsumura, Suzuki, Non Obesity (TSNO) マウスを用い、4、8、12 および 16 週齢時に飽食条件で断頭により採血を行った。また、12 週齢の TSNO および TSOD マウスに絶食負荷 (18 時間) した後断頭により採血を行った。レプチン、PYY および GLP-1 の血中濃度は酵素免疫測定法により測定した。レプチン投与実験では 12 週齢の TSNO および TSOD マウスを用い、レプチン (1 および 2mg/kg) 投与 6、12 および 24 時間後に摂食量を定量した。

【結果および考察】本研究で検討した 3 つの摂食抑制ホルモンの血中濃度は TSNO 群に比べて TSOD 群で有意な高値を示した。血中濃度の上昇を示す時期に関しては各種ホルモンで異なり、レプチンは 8 週齢以降、PYY は 12 週齢以降、GLP-1 では 16 週齢でのみ TSOD 群で血中濃度の有意な上昇が認められた。また、絶食負荷に反応して TSNO マウスではレプチン分泌の著しい抑制が認められたが、TSOD マウスでは絶食を負荷してもレプチン分泌の有意な抑制は認められなかった。更にレプチン投与による摂食抑制試験では TSNO マウスで認められた摂食抑制効果が TSOD マウスでは消失することが確認された。これらの結果から、TSOD マウスでは本研究で検討した摂食抑制ホルモンに対する抵抗性により過食となる可能性が示唆され、レプチンに関しては分泌調節機構にも異常が生じていると推察された。

雌性 TSOD マウスの病態解明

嶋田 努

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所

一般的に女性は男性と比較し内臓脂肪蓄積型の肥満になりにくく、それに伴いメタボリックシンドロームの罹患率も低いことが知られている。しかし、閉経後には脂肪の分布が皮下脂肪から内臓脂肪型に変わり、種々の代謝性疾患を発症しやすくなる。

雄性 TSOD マウスは、多因子遺伝性の背景を持つ自然発症肥満 2 型糖尿病モデル動物であり、代謝性疾患の病態基盤や治療薬の開発研究に大きな功績を残してきた。一方、TSOD マウスの性差に関しては、「雄のみに糖尿病が発生する」ことのみ報告されており、雌性 TSOD マウスの病態における情報はこれまでに少なかった。そこで今回、雌性 TSOD マウスにおける病態を検討すべく、雌性 TSOD/TSNO マウスの経時的な病態変化および卵巣摘出による病態変化について検討したので、報告する。

1 ヶ月齢の雄性および雌性 TSOD/TSNO マウスを通常食にて 11 ヶ月間飼育し、最終的に 12 ヶ月齢まで飼育した。雄性 TSOD マウスの体重変動は、1 ヶ月齢より急激な体重増加を示したが、6 ヶ月でプラトーに達した。一方、雌性 TSOD マウスの体重変動は、TSNO マウスと比較し 1 ヶ月齢よりわずかに高い体重値推移を示したが、6 ヶ月齢以降より急激に体重値が増加し、12 ヶ月齢まで増加し続けた。また、雄性 TSOD マウスと比較し雌性 TSOD マウスは、筋重量（骨格筋、平滑筋）が少なく、一方、脂肪重量は多かった。12 ヶ月齢マウスの脂肪重量の内訳としては、雄性 TSOD マウスでは肩甲骨間の皮下脂肪（褐色脂肪を含む）に多く蓄積したが、雌性 TSOD マウスでは生殖周囲脂肪の蓄積が多く認められた。生化学検査値において雌性 TSOD マウスは、雌性 TSNO マウスと比較し糖代謝異常は強く認められなかったが、雄性 TSOD マウスと同様に脂質代謝異常が認められた。さらに、12 ヶ月齢雌性 TSOD マウスにおいて高血圧が認められた。以上より、雌性 TSOD マウスは、生殖器周囲脂肪の蓄積を中心とした肥満を発症すること、また、脂質代謝異常および高血圧症状を発症することが認められた。

雌性 TSOD マウスで認められた病態とエストラジオールの関連性を検討するため、雌性 TSOD/TSNO マウスの卵巣摘出群(OVX)を作成し、sham 群と比較した。その結果、TSNO および TSOD マウスとともに OVX 群で体重推移が増加した。また、TSOD-OVX 群はインスリン値の上昇が認められたが、その他の生化学検査値において TSOD マウスおよび TSNO マウス間で顕著な変化は見られなかった。以上より、OVX による病態変化は両マウスでほぼ同様であったことから、病態発症とエストラジオールの関連性は TSOD および TSNO マウスにおいて同程度であることが示された。

以上より、雌性 TSOD マウスは、雄性 TSOD マウスと同様、肥満、脂質代謝異常および高血圧症状など代謝性疾患を発症することが認められた。また病態発症の要因としてエストラジオールの寄与は少ないことが示唆された。

一般講演

TSOD 系マウスの生産管理基準と品質の維持

田沢 秀憲・小野寺 美紀
財団法人動物繁殖研究所

TSOD 系マウスは、db マウスや、ob マウスと同様、2 型の糖尿病病態を呈する肥満糖尿病モデル動物である。しかし、db マウスや ob マウスの病態が単一遺伝性によるものであるのに対し、TSOD 系マウスは、多因子遺伝性であるため、病態の発現は多くの要因によって左右される。そのため、TSOD 系マウスの特性を一定水準で維持するには、体重、血糖値、尿糖の出現時期など、複数のパラメータを厳密に規定する必要がある。しかしながら一般販売を目的とする大量生産場に事細かな選抜基準を導入するのはきわめて難しく、効率的な方法を確立する必要がある。

過去において、系統を作出する段階で血糖値を重視するあまりに繁殖がうまくいかなかったこと、また生産販売を委託した業者で、作業の効率上から体重のみを指標にしたため糖尿病病態が消失してしまったことなど、体重と血糖値をいかにコントロールするかが本系統を維持する上でもっとも重要な課題である。

そこで我々は、8 週齢の時点で、種雄候補全ての動物の体重と血糖値を測定し、血糖値を体重値で除した値が一定の範囲内 (3.6~4.6) の個体のみを種雄として用いる方法で 2009 年より大量生産を開始した。

本報告は、上記方法で生産された TSOD 系マウスが本来の特性を維持しているかについて、4 群 (A~D 群) の種雄動物から生産された雄性動物を用い 16 週齢時に、体重、血糖値ならびに尿糖出現の有無について調べた。さらに、新たな特性検査の方法として糖負荷試験を実施すべくその方法について検討した。

【16 週齢時の特性検査】

16 週齢時の体重値は、A 群が 60.0g、B 群が 59.3g、C 群が 58.9g ならびに D 群が 58.3g であった。

血糖値は、A 群が 290.2mg/dL、B 群が 307.2mg/dL、C 群が 286.2mg/dL ならびに D 群が 294.1mg/dL であった。

また、尿糖の出現率は、A 群が 64.2%、B 群が 67.3%、C 群が 62.2% ならびに D 群が 63.2% であった。

これらの成績から、生産された TSOD 系マウスについては、肥満と糖尿病病態が一定水準で特性が維持されていることが伺われた。8 週齢時の血糖値を体重で除した値が 3.6 から 4.6 になる種雄の選抜方法は、TSOD 系マウスの特性が維持される繁殖方法であると考えている。

【糖負荷試験】

11 週齢で受託部門に導入した 10 匹の TSOD 系雄性マウスにおける。12 週齢時の糖負荷試験では、120 分血糖値が $451.6 \pm 62.3 \text{ mg/dL}$ と高値を示し全例に耐糖能異常が認められた。今後、TSOD 系マウスの品質モニタリングとして糖負荷試験 120 分値を採用することも検討し、よりよい動物の生産を行っていきたい。

アディポネクチン研究の最前線

山内 敏正

東京大学大学院医学系研究科 糖尿病・代謝内科

日本人の糖尿病患者数激増の原因は、民族としてのインスリン分泌低下の遺伝素因に(1)、高脂肪食や運動不足による肥満・インスリン抵抗性要因の増大が加わったためと考えられている。肥満によるメタボリックシンドロームや動脈硬化の発症・増悪は、脂肪細胞肥大化に伴うTNF α やFFA、MCP-1等の炎症を惹起する悪玉のアディポカインの増加と、アディポネクチン(Ad)等の抗炎症作用を有する善玉アディポカインの低下によって引き起こされると考えられている。

我々は、肥満ではAdが低下して脂肪組織において酸化ストレスが増加することによって、ケモカインであるMCP-1が発現誘導され、活性化されたM1マクロファージが浸潤してきて、肥大化した脂肪細胞と相互作用することによって、TNF α やFFA、MCP-1等の炎症を惹起する悪玉のアディポカインの発現・分泌が協調的・統一的に増加してくることを報告した(2)。Ad低下が病態形成において極めて重要な意義を有することは、既知の液性因子の中で、Ad低下が将来の2型糖尿病発症の最も良い予知マーカーになることから裏付けられている。我々は、肥満で低下しているAdを(3)補充することが、AMPK(4)やPPAR α を活性化し、肝臓や骨格筋における脂肪酸燃焼促進等により、治療法となる事を示した(5)。

次に、特異的結合を指標にした発現クローニング法により、Ad受容体(AdipoR)1とAdipoR2を同定した(6)。さらにメタボリックシンドロームのモデルマウスにおいてはAdipoRの発現量が低下していること、逆にAdipoR1或はAdipoR2のメタボリックシンドロームモデルマウス肝臓での過剰発現は、それぞれAd依存的にAMPK、PPAR α 経路を活性化し、インスリン抵抗性、耐糖能障害を改善させることを示した(2)。骨格筋においては、Ad/AdipoR1が、運動を模倣するような効果を発揮している事を見出している(7)。

診断への応用として、高分子量(HMW)Adが高活性型であることを明らかにして(8)、その測定系を開発し、メタボリックシンドローム診断の良い指標となる事を示した(9)。治療への応用として、PPAR γ 作動薬がHMW-Adを増加させる事、及びその事が抗糖尿病作用に重要である事を示した。さらにPPAR α 作動薬がAdipoRを増加させる事、及び野菜・果物に含まれるオスモチンが骨格筋細胞においてAdipoRを介してAMPKを活性化しうる事を示した(10)。

AdipoR作動薬の開発が世界で大いに期待されている。

(文献) (1) *Nat.Genet.*42:864, 2010. (2) *Nat.Med.*13:332, 2007. (3) *Nat.Genet.*30:221, 2002. (4) *Nat.Med.*8:1288, 2002. (5) *Nat.Med.*7:941, 2001. (6) *Nature* 423:762, 2003. (7) *Nature* 464:1313, 2010. (8) *J.Biol.Chem.* 278:40352, 2003. (9) *Diabetes Care* 29:1357, 2006. (10) *Mol Cell*, 17: 171, 2005.

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 β 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）

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

平成21年度研究助成者講演

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）

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

糖尿病動物研究のヒトへのトランスレーション

ー神経障害から膵島病変までー

八木橋操六（弘前大学）

一般講演

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

○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⁾）

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）

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)

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⁾)

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. 役員の再任は妨げない。
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たとき、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。会長が必要と認めたとき、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たときは、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

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

実験動物用 イムノアッセイキット をお届けします

マウス、ラット内分泌物質を
微量検体、短時間、高感度な
ELISAで測定可能

お問い合わせは、下記までご連絡ください



レビス インスリン-マウス
(Hタイプ)



レビス 高分子アディポネクチン-
マウス/ラット



レビス GLP-1 (Active)

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 役立つアドレスです

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

シバヤギ

検索

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ヒトならびにその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

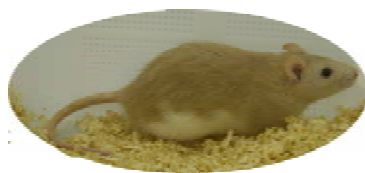
URL <http://www.iar.or.jp/TSOD/index.html>

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-⁺Lepr^{db}/+Lepr^{db}
- C57BLKS/J Iar-m⁺/+Lepr^{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 7 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 2011 年 11 月 11 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