

創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム



疾患研究とモデル動物



国立感染症研究所
獣医科学部第四室長
まつだ じゅんいちろう
松田 潤一郎

ご紹介有難うございました。

スライド1をご覧ください。

私は国立感染症研究所の獣医科学部第四室、実験動物開発室とっておりますが、そこで動物の開発を担当しております。今回はこのような場所で、私たちの研究の内容をお話できることを大変うれしく存じます。関係者の皆様、本当に有難うございます。

スライド2をご覧ください。

今、堀先生からもご紹介頂きましたように、ゲノム研究における実験動物の重要性は、ヒトゲノム、動物のゲノム、それがこういったゲノム医学、或いはゲノム創薬につながるためには、どうしても疾患モデル動物といった個体の研究

が必要になってきます。現在では、遺伝子操作でいろいろな動物をつくることができますし、或いは自然発症の動物でもそれは自然に出たもので、やはり貴重なものであります。こういったものを使って、個体レベルの研究をするということが非常に重要になってきております。

スライド3をご覧ください。

私たちの研究室は先程来からお話がありますように、来年4月に独立行政法人医薬基盤研究所というところの中で研究資源部門が設立されますが、その中の小動物を担当するというところで、移行することになっております。


現在、私たちのところでは、ヒトゲノムから創薬或いはゲノム医学、こういった間を取り持つということで、疾患モデルの開発。それには、今いいましたような発牛工学或いは自然発症の非常に貴重な系統、そういったものを多数系統維持しておりますし、それを更に凍結保存して、いつでも使えるようにします。貴重な系統が途絶えないようにする。そういった研究も兼ねてやっております。

スライド1

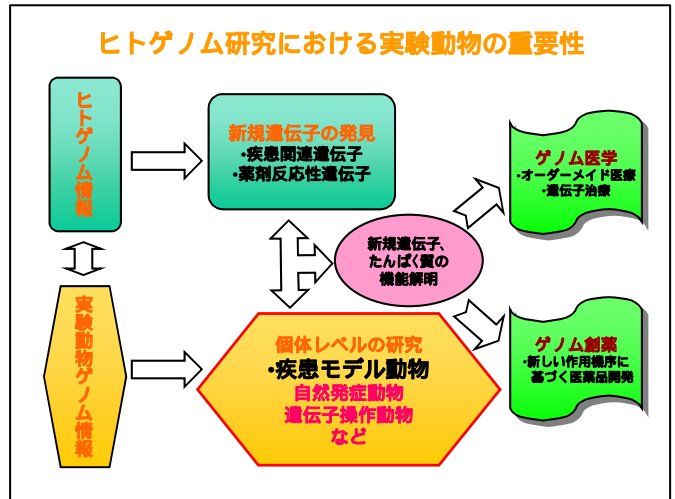
2004.11.15
創薬基盤技術の開発に関するシンポジウム

疾患研究とモデル動物

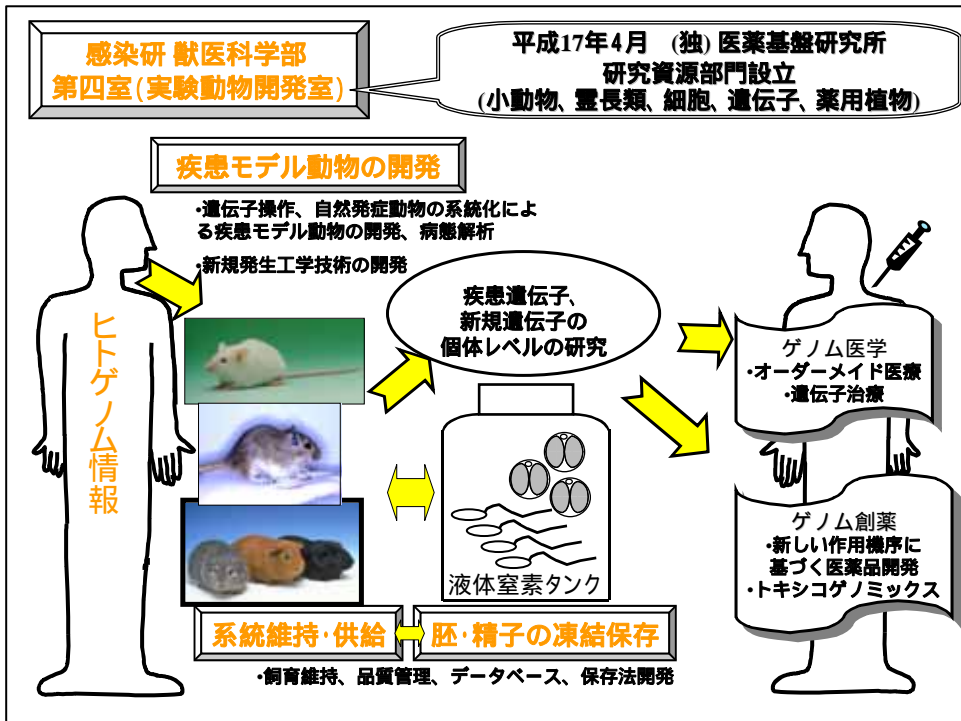
国立感染症研究所 獣医科学部 第四室(実験動物開発室)
松田 潤一郎



スライド2



スライド3

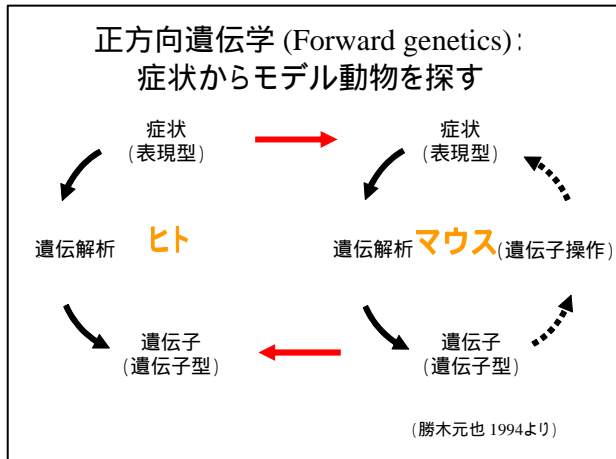


スライド4をご覧ください。

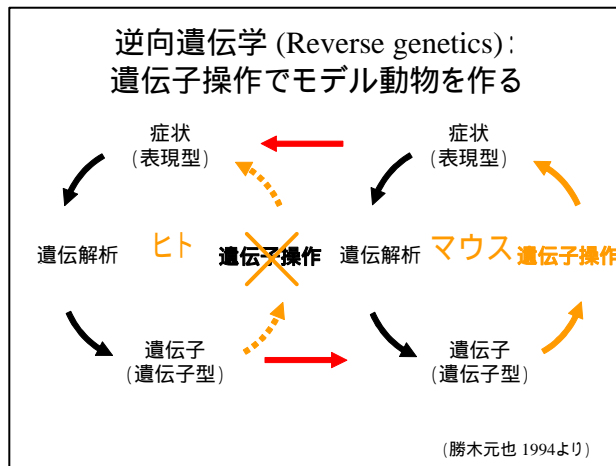
今までいわゆる症状からマウスを調べて、ヒトの病気に似たような症状を持っているマウス、それを調べて遺伝解析をするという、いわゆる

正方向の遺伝学、そういったものが主流でありまして、実際これも実に重要であります。今いました自然発症のモデル動物はこういった型であるわけです。実際、どんどん病気の動物が

スライド4



スライド5



できないかということで、ENUミュータージェネシスという研究が進んでおります。

スライド5をご覧ください。

一方でヒトの疾患の遺伝子が分かってくれば、一応遺伝子操作がかなり自由にできるならマウスということで、マウスを代表的に書いておりますが、遺伝子操作をして、それで病態をつくります。表現型をつかって、それでまたヒトのモデルとなるかどうかということを調べます。こういった両方向からのアプローチがあります。これはともに非常に重要なことであります。

スライド6をご覧ください。

私は今回、「疾患研究とモデル動物」ということでお話させていただきますが、実際に私たちが携わってきた研究を紹介させて頂いて、それに少し代えさせて頂きたいと思っております。

一つ目としては、逆方向の遺伝学に相当するのですが、いろいろな遺伝子进行操作してモデル動物をつくります。そして更には、治療法の開発に持っていったという例としてご紹介したいと思います。私たちが研究を行っているいくつかの疾患群がありますが、一つがGM1 ガングリオシドーシスという疾患です。これはリソゾーム蓄積症で、古典的な先天代謝異常症です。

スライド7をご覧ください。

スライド6

**遺伝子操作による
ヒト疾患モデルマウスの作製と
中枢神経系をターゲットとした治療法開発
- GM1-ガングリオシドーシス -**

リソゾーム病には非常に多種類の疾患群があります。全部いわゆる蓄積症でありまして、リソゾームは生体内で高分子物質を多数の酸性で効きます加水分解酵素で、順次、低分子に分解していくそういう酵素ですが、リソゾームの中の酵素が欠損しますと、さまざまなリソゾームの蓄積症が起こります。主にその蓄積物質によって、スフィンゴ脂質の蓄積症からムコ多糖症、それから糖タンパクの代謝異常症、或いは糖尿病とこういった疾患群に分かれるのですが、非常に多種多様なものがあります。私たちが研究しているのは、このスフィンゴ脂質の蓄積症であります。こういった研究を行うにあたって、やはり現在ではマウス。ここで赤で書いてあるのがそうですが、ノックアウトマウスが非常に貴重な研究のモデルとなっています。

スライド8をご覧ください。

これは簡単な代謝経路なのですが、ガングリオシドーシスとGM1。この末端のガラクトースを分解する酵素でありますリソゾームのGM1 ベータ・ガラクトシダーゼという酵素がありますが、これが欠損しますと、このGM1が全身に溜まります。ただ、主に脳に大変多量にありますので、全身性の疾患ではありませんが、中枢性の疾患がメジャーであります。それで、多様ないろいろなこういった代謝経路のそれぞれの酵素が欠損しますと、様々なリソゾーム性の蓄積症が起きるということです。

スライド9をご覧ください。

これは典型的なGM1 - ガングリオシドーシスの例であるヒトの乳児型症例です。高度の精神運動発達遅延を示す神経変性疾患を研究しております。GM1の蓄積を特徴とし、酸性ガラクトシダーゼの欠損症であり、常染色体の劣性遺伝病であります。

スライド10をご覧ください。

このGM1 ガングリオシドーシスは、広くいいますと、ガラクトシドーシスという言い方をしますが、ガラクトシダーゼの欠損症という意味です。それには、そういった中枢症状を主とするものから、骨格系のほうの異常もありますが、非常に多様だということです。そして、発症年齢もその変異酵素がどういう異常酵素であるかということによって、乳児型から幼児型、成人型と、生後まもなく死亡するものからアダルトで発症するといったものまで非常に多様な疾患群であります。

スライド11をご覧ください。

これがその病気の区分ですけれども、まず、私たちがこういったモデル動物を作成しようというときにあたりまして、まずはそのノックアウトマウスをつくることを考えました。このノックアウトマウスは、私たちが研究を開始した時点ではまだありませんでしたし、マウスのモデルは適当なものがありませんでしたので、まずこれをつくることから始めました。

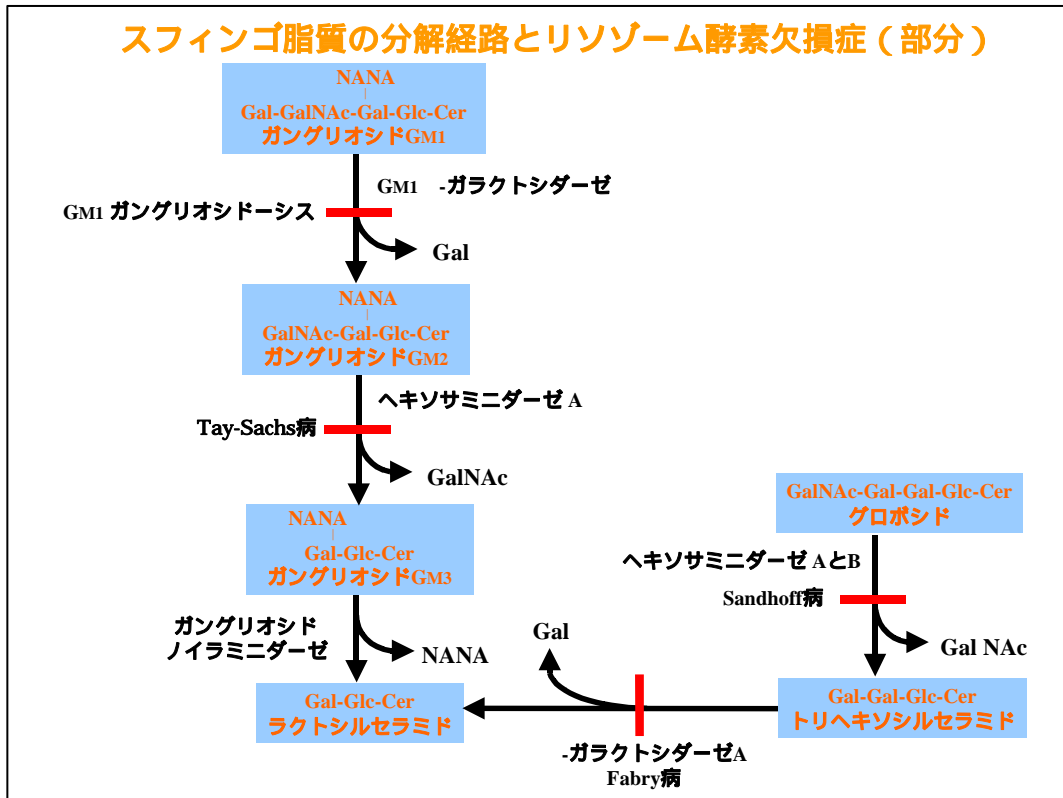
主なリゾーム病の動物モデル

疾患	土壌菌産物由来 土壌菌	動物種別	動物種別	動物種別
スフィンゴ糖代謝異常症				
GM1-ガングリオシトシス		ガングリオシト GM1	・ガラクトシダーゼ	猫、犬、牛、羊、 マウス
GM2-ガングリオシトシス		ガングリオシト GM2	・ヘキソサミンダーゼ ・ヘキソサミンダーゼ 活性化蛋白	犬、 マウス 猫、 マウス 犬、 マウス
Try-Sansho病(鼠)			A AB	
AB型			sep-ABC/D	エミュー、 マウス
スフィンゴ糖脂質酸化蛋白 (SAP) 欠損症		ラクトシラセラミド他	スフィンゴシセラミダーゼ コレステロール輸送関連タンパク	水、猫、 マウス マウス 、犬、猫
Niemann-Pick病				
A型		スフィンゴシセラミド	コレステロール輸送関連タンパク	水、猫、 マウス マウス 、犬、猫
C型		コレステロール、スフィンゴシセラミド		マウス
Fabry病		セラミドトリヘキソシト	・ガラクトシダーゼ	マウス
Krabbe病		ガラクトシラセラミド	ガラクトシラセラミダーゼ	犬、 マウス 、猫、羊
Gaucher病		グルコシラセラミド	グルコシラセラミダーゼ	犬、 マウス
異状性蛋白質血症 (MID)		スルファチド	アリルフルクトシダーゼ A	ミンク、 マウス
ガラクトシリアーシス		シアル酸含有オリゴ糖	保護蛋白 / ガラクトシダーゼ	羊、 マウス
ムコ多糖症 (MPS)				
MPS I (Hunter/Scheele病)		グリコサミノグリカン	・L-イドロナーゼ	水、猫、 マウス
MPS II (Hunter病)		グリコサミノグリカン	イソロネーゼ、スルファターゼ	水、 マウス
MPS IIIA (Sanfilippo A病)		グリコサミノグリカン	・N-スルファターゼ	犬
MPS IIIB (Sanfilippo B病)		グリコサミノグリカン	・N-アセチルグルコシダーゼ	エミュー、 マウス
MPS IIB (Sanfilippo B病)		グリコサミノグリカン	・N-アセチルグルコシダーゼ	山羊
MPS VI型 (Maroteaux-Lamy病)		グリコサミノグリカン	アリルフルクトシダーゼ B	猫、ラット、犬、 マウス マウス 、犬、猫
MPS VII型 (Sly病)		グリコサミノグリカン	・グルコシダーゼ	
糖タンパク質代謝異常症				
マンノシトシス		マンノース含有オリゴ糖	・マンノシダーゼ	牛、猫
マンノシトシス		マンノース含有オリゴ糖	・マンノシダーゼ	山羊、牛
フコシトシス		フコース含有オリゴ糖	・フコシダーゼ	犬
アス/バルチルグルコサミン血症		アス/バルチルグルコサミン	アス/バルチルグルコサミンダーゼ	マウス
シアルトシス		シアル酸含有オリゴ糖	・シアルダーゼ	羊、 マウス
ガラクトシアリトシス		シアル酸含有オリゴ糖	保護蛋白	マウス
糖原病				
糖原病 Ⅴ(Pompe病)		グリコーゲン	・グリコシダーゼ	牛、犬、羊、猫、ウズラ、 マウス

~~マウス~~：自然発症モデルマウス

~~マウス~~：ノックアウトマウス

スライド 8




スライド 9

GM1-ガングリオシドーシス

- ✖高度の精神運動発達遅延を示す神経変性疾患
- ✖特異な顔貌、肝脾腫、骨形成不全
- ✖典型例(乳児型)では6か月齢以内に発症し、2年以内に死亡
- ✖ガングリオシドGM1の蓄積を特徴とする典型的なリソゾーム蓄積症
- ✖酸性 -ガラクトシダーゼ欠損
- ✖常染色体劣性遺伝病

ヒト乳児型症例



スライド10



スライド11

-ガラクトシドーシスの4臨床型				
臨床型	GM1- ガングリオシドーシス			モルキオB病
	乳児型	幼児型	成人型	
経過	急性	亜急性	慢性	慢性
発症時期	0-6 ヶ月	6-20 ヶ月	3才-30才	5-10才
死亡年齢	0-2才	3-20才	20才以上	20才以上
障害臓器	全般		特定臓器	
	中枢神経、 内臓、骨軟骨 その他		中枢神経	大脳基底核
残存活性	0-1 %	2%	3-7 %	2-4 %
遺伝子変異	多種類	R201C	I51T	W273L
マウスモデル	-Gal KO		AK	FK

スライド12をご覧ください。

私のバックグラウンドはもともと繁殖学でありまして、特に予研・感染研に移りましてから、実験動物のほうの発生工学というのを主としてやってきました。ES細胞を使って、ターゲットしたES細胞を8細胞期胚に入れてキメラをつくることで、そのジャームラインにノックアウトされた遺伝子をつないで、ノックアウトマ

ウスをつくるのを10年以上前に始めたわけです。その当時はまだまだできる研究室・ラボが少なかったもので、いろいろ苦労したのですがうまく作成することができました。

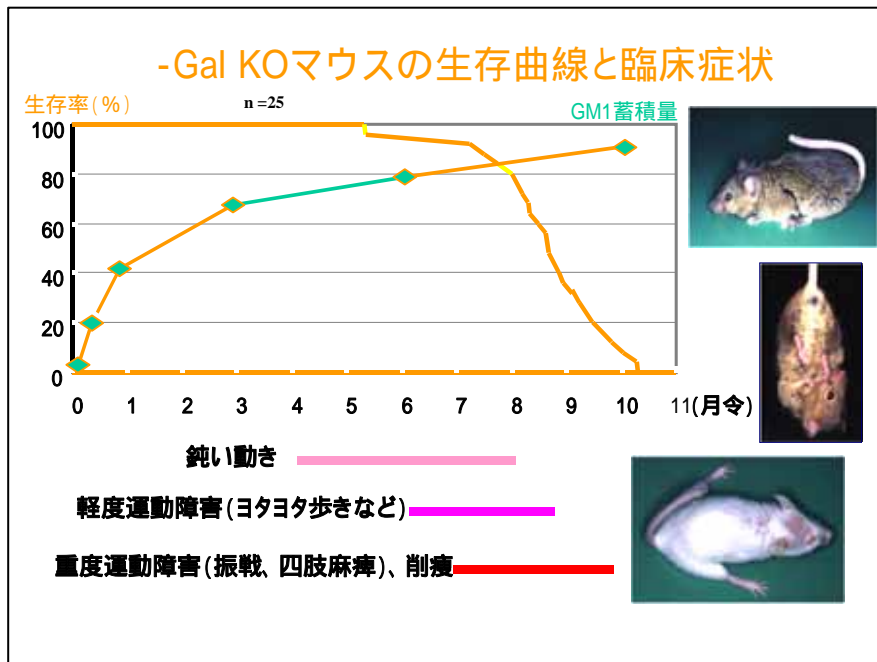
スライド13をご覧ください。

実際に、その全くのヌルのノックアウトをま

スライド12



スライド13



だいたい6ヵ月令・7ヵ月令・8ヵ月令ぐらい、このあたりから死亡していきます。だいたい110ヵ月令ぐらいまでに死んでしまいます。その間、こういったいろいろな運動障害とか、四肢の麻痺、振戦、削瘦といった形で神経症状を呈する疾患モデルができました。

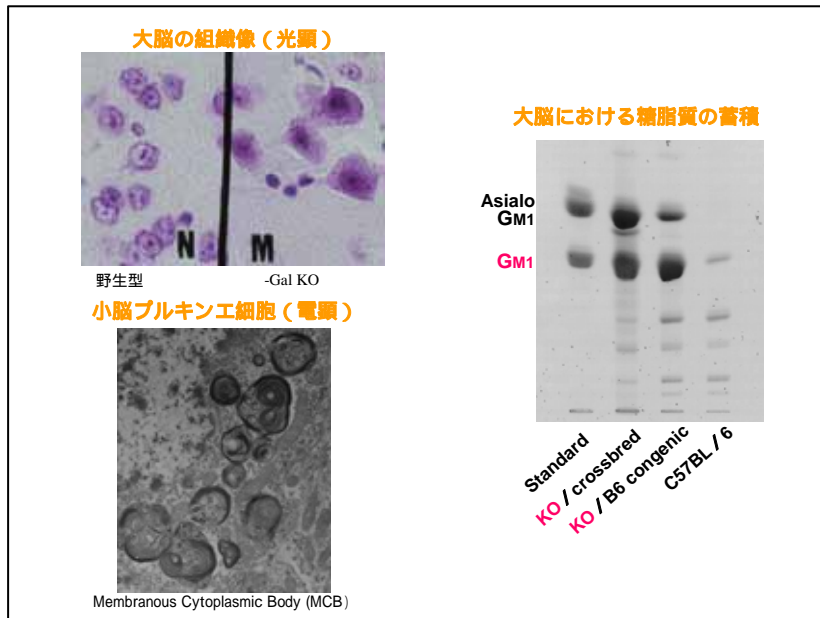
一方、蓄積症ですので、GM1の脳の蓄積で

すが、これは仮の単位ですけれども、このようにどんどんと蓄積が進行するに伴って症状が発症する。こういったモデルができました。

スライド14をご覧ください。

実際にその病理を見ますと、脳の神経細胞に蓄積が明らかですし、小脳のプルキンエ細胞で

スライド14



スライド15

-ガラクトシドーシスの4臨床型				
臨床型	GM1-ガングリオシドーシス			モルキオB病
	乳児型	幼児型	成人型	
経過	急性	亜急性	慢性	慢性
発症時期	0-6ヶ月	6-20ヶ月	3才-30才	5-10才
死亡年齢	0-2才	3-20才	20才以上	20才以上
障害臓器	全般		特定臓器	
	中枢神経、 内臓、骨軟骨 その他	中枢神経	大脳基底核	骨軟骨
残存活性	0-1%	2%	3-7%	2-4%
遺伝子変異	多種類	R201C	I51T	W273L
マウスモデル	-Gal KO	BK	AK	FK

は典型的なタマネギ状の蓄積物質が認められます。生化学的にもたGM1の蓄積とGM1のアシアロ体であるアシアロGM1も蓄積してきました。臨床学的にも、或いは生化学的にも病理学的にもオーセンティックな、ヒトの疾患を表す疾患モデルができました。これを用いて、いろいろと病気の解明であるとか、パソジェネシ

スとかの解明にも非常に役に立っているわけです。

スライド15をご覧ください。

それでノックアウトマウスは私たちのところが世界で初めてできたのですが、それ以外にも先程お示しましたようないろいろな多様な形

の病態があります。それにはいろいろな遺伝子変異が報告されています。治療ということを考えると、このノックアウト、ヌルの場合は結局は遺伝子治療か或いは何らかの形で骨髄移植をするとしても、とにかく酵素を入れてあげなければならないのですが、中枢の治療ということはなかなか難しいわけです。それで私たちはこのヌルではなくて、ヌルの中にこのような人の変異型のある程度酵素活性のあるような遺伝子を入れることを考えました。

スライド16をご覧ください。

これが今までGM1 ガングリオシドーシスの病気で見つかった遺伝子変異です。いろいろな遺伝子変異があるのですが、ヌルのもの、乳児型のものはいろいろ多様なものがあります。それに対して、幼児型のものではこういったR201Cがアルギニンがシステインになっています。こういったアミノ酸変異のものが日本では多く見られます。成人型のものとしては、I51Tといったものが多く認められています。こう

スライド16

いったものを今度トランスジェニックによって、ノックアウトマウスに入れて、ヌルの中に残存活性のある酵素を持っているマウスをつくらうとしました。

スライド17をご覧ください。

それが、一応私たちはヒト型GM1-ガングリオシドーシスのモデルマウスというような言い方をしているのですけれども、ヌルのマウス、それにトランスジェニックを用いて、成人型のヒトの変異、例えば、I51T、或いは幼児型の変異R201Cの変異、こういったものをトランスジェンで導入して、ヒト型のモデルマウスをつくりました。

スライド18をご覧ください。

今回お話するのはこのR201Cという幼児型のモデルマウスです。このR201Cの変異を持つ酵素は非常に不安定でありまして、これは全身で発現しているのですけれども、実際これがノックアウトでGM1の蓄積を見ますと、こうい

-ガラクトシドーシスの各臨床型と遺伝子変異

日本人

GM1-ガングリオシドーシス

乳児型:	症例数
Dup1103 / Dup1103	1
Dup1103 / ?	1
Y316C / G494C	1
G123R / Dup288	1
R49C / ?	1
R457Ter / T457Ter	1

幼児型:	症例数
R201C / R201C	2
R201C / ?	4
Sp16 / Sp16	1

成人型:	症例数
I51T / ?	1
I51T / R457Q	1
I51T / I51T	18

モルキオB病

Y83H / R482C	1
--------------	---

コーカソイド

GM1-ガングリオシドーシス

乳児型:	症例数
R482H/R482H	6
R482H/?	1
R208C/R208C	2
R208C/K577R	2
R208C/?	2

幼児型:	症例数
Sp16 / ?	1
R590H/R208C	1
E632G/R208C	1
R201H/P263S	1


成人型:	症例数
T82M/T82M	1
T82M/Sp11	2

モルキオB病

W273L/W273L	2
W273L/R482H	2
W273L/W509C	1
W273L/?	3

スライド17

ヒト型GM1-ガングリオシドーシス モデルマウスの作製法



残存酵素活性を持つ
ヒト型モデルマウス

➤ KOマウス + ヒト成人型変異 -Gal T(I51T)
= 成人型モデル: AK12, AK34

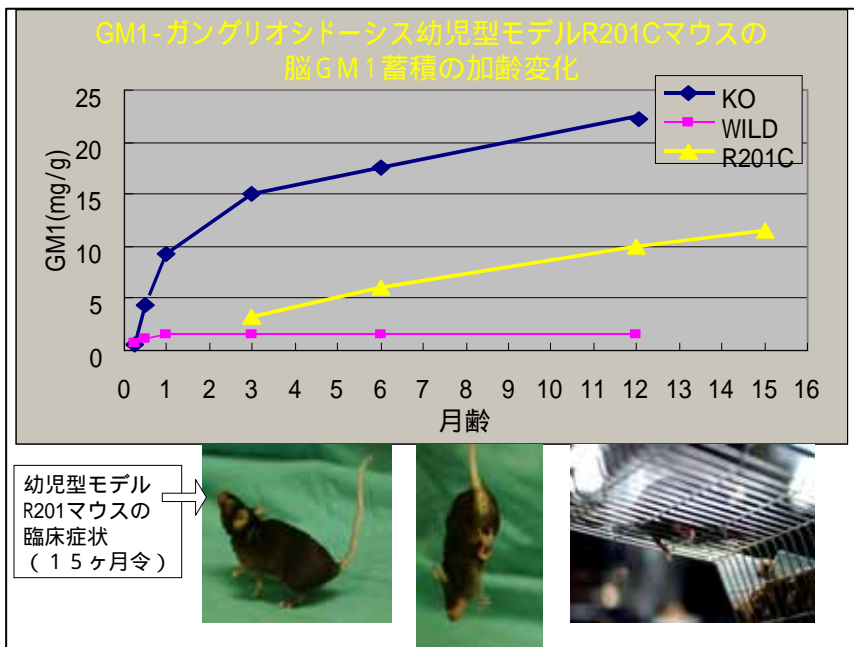
➤ KOマウス + ヒト幼児型変異 -Gal Tg(R201C)
= 幼児型モデル: BK48, BK127

||

乳児型モデル

- ✖ -Gal 活性ほぼ完全欠損
- ✖ 重篤な神経症状
- ✖ 7~10ヶ月令で死亡
- ✖ 脳での顕著なGM1蓄積

スライド18

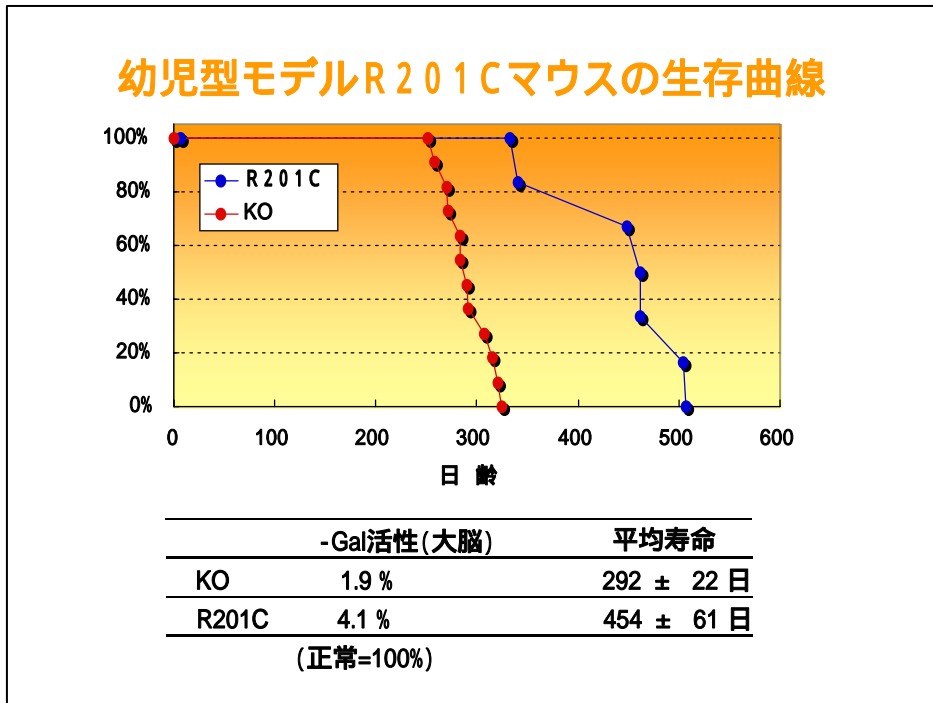


うふうに非常に急激に増えるのです。それに比べて約3分の1程度しかGM1の蓄積が見られない。こういったマウスができました。臨床症状を見ましても、ノックアウトに比べてかなりマイルドな臨床症状を示すというマウスができました。

スライド19をご覧ください。

これが幼児型のモデルマウスの生存曲線です。ノックアウトでは300日ぐらいまでに死亡するのですが、このマウスでは500日までぐらい、平均しますと、450日程度です。150日程度平均寿命が延びています。それに対して、大脳

スライド19



の - ガラクトシダーゼの活性を見ますと、ノックアウトでは若干残存活性のように見えますけれども、基本的にヌルです。それに対して、変異型の酵素が出ているために、これはヒト型の酵素ですが、若干上がっている。この若干の上がりがこの寿命を若干延ばしていると、こういったおもしろいマウスといいますが、ヒト型の幼児型モデルに相等するようなマウスができました。これを用いて、少し治療法ということを試しています。

スライド20をご覧ください。

これは共同研究でやってありますが、国際医療福祉大学の鈴木 義之先生との共同研究をずっとやっています。低分子の化合物で中枢神経系を目指した治療法の開発ということで、少し研究を続けております。ケミカルシャペロンといっているのですが、背景としては、先程も申しましたが、リソゾームの蓄積症で中枢神経の障害に対してはなかなかいい方法がありません。私たちも実はアデノとかいろいろ試してみたのですが、なかなかそれでうまくいき

ません。一方、欠損酵素も阻害剤が低濃度では変異酵素を安定化する、これをケミカルシャペロンといっておりますが、あとでちょっとご説明いたしますが、こういったものが考えられて、これをモデルマウスで試してみようということをやっております。

インビトロのスクリーニング、これはヒトの患者さんの細胞であるとか、或いは私たちがつくったノックアウトマウスの線維芽細胞にヒトの変異型の遺伝子を入れたそういったモデル細胞でいろいろな低分子の化合物、阻害剤をいろいろと検討した中で、新しい化合物NOEVをマウスの固体の系で評価しました。この新規の化合物に関しては、生化学工業のご協力を得ていろいろとスクリーニングができました。

その中でこのNOEVというのは非常に強力な - ガラクトシダーゼの阻害剤です。競合的な阻害剤で、しかしながら試験管内では阻害剤ですけれども、細胞内すなわちモデル細胞を使いますと、低濃度では酵素活性を復元する。こういう作用があることが分かりました。

スライド20

ヒト幼児型モデルR201Cマウスを評価系として用いた 新規低分子化合物による 中枢神経系を目指した治療法開発 -Chemical Chaperone法-

背景:

◆リソゾーム蓄積症の治療法として、酵素補充療法、骨髄移植などが試みられているが中枢神経系の障害には無効。

◆欠損酵素の阻害剤が低濃度では変異酵素を安定化する (Chemical Chaperone)との報告あり, in vitro screeningで得られた新規化合物(NOEV)をマウスで評価した。

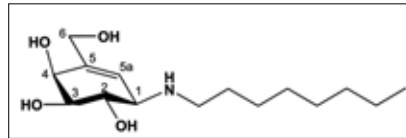
NOEV = N-octyl-4-epi- -valienamine

MW = 287.4

NOEVは、新たに有機合成された、低分子化合物

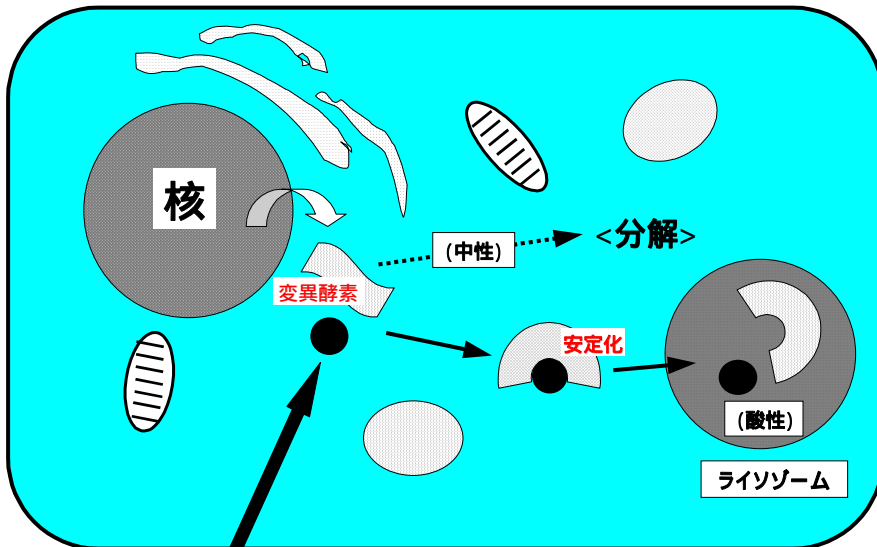
試験管内: β -Galの強力な阻害剤(競合的 - 高濃度: $IC_{50} = 0.2\mu M$)

細胞内: 酵素活性を復元(低濃度)



スライド21

ケミカルシャペロン療法の原理 (遺伝性ライソゾーム病)



低分子化合物 = ケミカルシャペロン

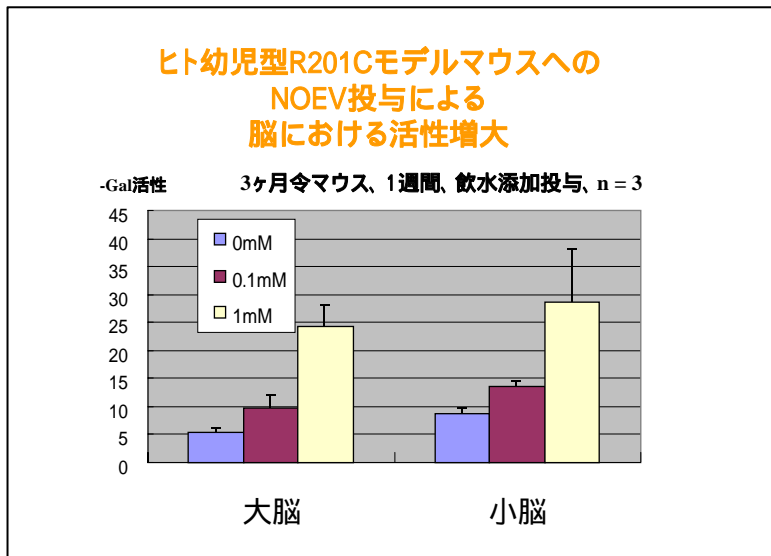
原因: 鈴木義之(国際医療福祉大学)

スライド21をご覧ください。

これがそのケミカルシャペロン療法の原理ということなのですが、この変異酵素、もともとこの変異酵素に活性がなければ、このケミカルシャペロンの方法はうまくいかないので、活性はあるのですが、うまくライソゾームへ運ばれない。すなわち、変異型ですので安定化せずに、少なくともこの細胞質中性の状態ではホールディング、立体構成がうまくできなくて分解されます。しかしながら、こういった低分子化合物、競合阻害剤ですけれども、そういったものを与えてやると、おそらくアクティブサイトに作用して安定化します。何らかの形でホールディングとか、タンパクとして安定化してライソゾームへ運ばれる。ライソゾームへ運ばれますと、酸性の条件化でこれが離れて活性を表します。こういったことを国際医療福祉大学の鈴木 義之先生が、もともとは ガラクトシダーゼの欠損症でありますファブリ病でいろいろと研究なさっておられて、私たちとコラボレーションで、私たちは - ガラクトシダーゼのほうでいろいろと研究を進めているわけです。これを試したところです。

スライド22をご覧ください。

スライド22

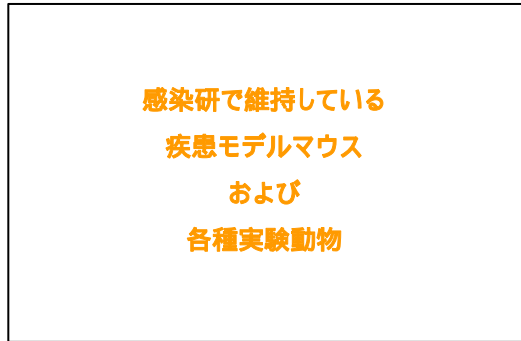


実際にこのNOEVを、これは短期間のトリアルで、まだこれからやるべきことがいろいろとあるのですが、このモデルマウス、ヒト型の幼児型R201C変異タンパクを発現しているマウスに1週間、飲水で1ミリモル程度を飲ませますと、大脳での活性或いは小脳での活性が非常に高まる。リソゾーム病の治療に関しましては、ある程度活性が復活すれば、実際にこのマウスは1年半ぐらい生きるわけですが、マウスでいえば、あと1年ぐらい生きれば天寿を全とうするかということになります。ヒトでも幼児型で数%、酵素活性の残存活性があるのですけれども、それに対して数%+、要するに、7~8%或いは10%ぐらいまで残存活性が上がれば、恐らく一生発症しません。蓄積症ですので、一生発症しないようなところまで持っていけるのではないかとということで、非常に期待される成果だったわけです。

スライド23をご覧ください。

これは実際に、X-Gal染色でNOEVの飲水投与の効果を見た結果ですけれども、実際に神経細胞で酵素活性の上がり確かめられました。

スライド25



スライド26



パク質が関与する遺伝病への応用というものが期待されると思っております。

スライド25をご覧ください。

一応、今までがいろいろな遺伝子改変を使って非常に有効に使われたモデルなのですが、あと少し時間を頂いて、私たち感染研で維持している疾患モデル動物及び各種実験動物ということで、少し紹介させて頂きたいと思いません。

スライド26をご覧ください。

これは先程のGM1-ガングリオシドーシス

のマウスですが、それ以外にも私たちの研究室では貧毛のモデルマウスやELてんかんマウスを維持しています。ELは世界的にも広く使われていると思いますが、こういったモデルマウスをオリジナルに開発してきています。それからICGNマウス(ネフローゼマウス)、この三つは自然発症のもので、病気の解明に非常に有効な、このようなマウスを開発してきています。それからこれはある種のシアル酸の転移酵素のトランスジェニックをつくっている中からたまたま出たのですけれども、恐らく拡張型と思われる心筋症を呈して、半年以内には死ぬようなそういったマウスもできてきています。自



スライド27

動物種	系統	由来
ゴールデンハムスター <i>Mesocricetus auratus</i>	HAW	医科研
スナネズミ <i>Meriones unguiculatus</i>	MOG（野生色） MGS/Sea（野生色） MGS/ldr（野生色） MGR（野生色） MG-B（黒色） MG-W（白色）	実中研 成和 愛知県心身障害者コロニー 愛知県心身障害者コロニー 日本医大 日本医大
マストミス <i>Praomys coucha</i>	MST（野生色） MCC（シャモア色） MWC（野生色） RI-7（シャモア色） RI-M（野生色）	遺伝研（感染研近交化） 医科研 医科研 感染研 感染研
モルモット <i>Cavia porcellus</i>	No.2 No.13 C4D JY-1 JY-2 JY-3 JY-4 JY-7 JY-9 JY-10 JY-G Weiser-Maples	日本生物科学研究所 米国NIH 国立がんセンター 感染研 感染研 感染研 感染研 感染研 感染研 感染研 感染研 感染研 資生堂研究所

*現在モルモットの維持生産は、所外委託中

スライド28

スナネズミ [*Meriones unguiculatus*]

用途: 脳梗塞、てんかん、寄生虫感染、細菌感染等のモデルとして有用

【発生工学的な利用】

可能: 過排卵誘起、人工授精、胚移植、胚凍結保存

困難: 体外胚培養、体外受精

然発症もノックアウトもトランスジェニックもすべてそうですけれども、非常に貴重ですので、今現在までにこれらのマウスを中心に、胚の凍結保存或いは精子の凍結保存をしております。

マウスが今まで中心だったのですが、私たちのところではマウス以外のものもやはりいろいろなモデルになるのではないかと考えています。今までヒトのゲノム、その次マウス、その次ラットということで、哺乳類でいえばそうなのですが、そういったものが分かってきています。

スライド27をご覧ください。

それ以外にもやはり比較生物学的にも非常に貴重だということで、いくつかの動物種、マウス以外の動物種の系統を維持しております。

スライド28をご覧ください。

その中で、スナネズミ、これは循環器病センターなんかでもけっこう使われているのではないかと思うのですが、脳梗塞とかてんかん、或いは寄生虫の感染、細菌感染のモデルとして使われています。このような毛色変異があるものをいくつか持っております。

スライド29をご覧ください。



スライド29

それからマストミスは、もともとラッサウイルスの自然宿主ということで知られている動物ですけれども、胃がんとか或いは私たちのところで見つけたのでは代謝異常とか、感染症のモデルとして使われます。マストミスは数系統ありまして、マウス以外でも非常に貴重ではないかというように考えております。

スライド30をご覧ください。

モルモットも感染研という前に予研、国立予防衛生研究所といった時代からいくつかの近交系を維持しております。詳細は述べませんが、

マストミス [*Praomys coucha*]



用途: 胃がん、脂質代謝異常、免疫異常、細菌やウイルス感染等のモデルとして有用

[発生工学的な利用]

可能: 体外胚培養、胚移植、胚凍結保存

困難: 過排卵誘起、体外受精

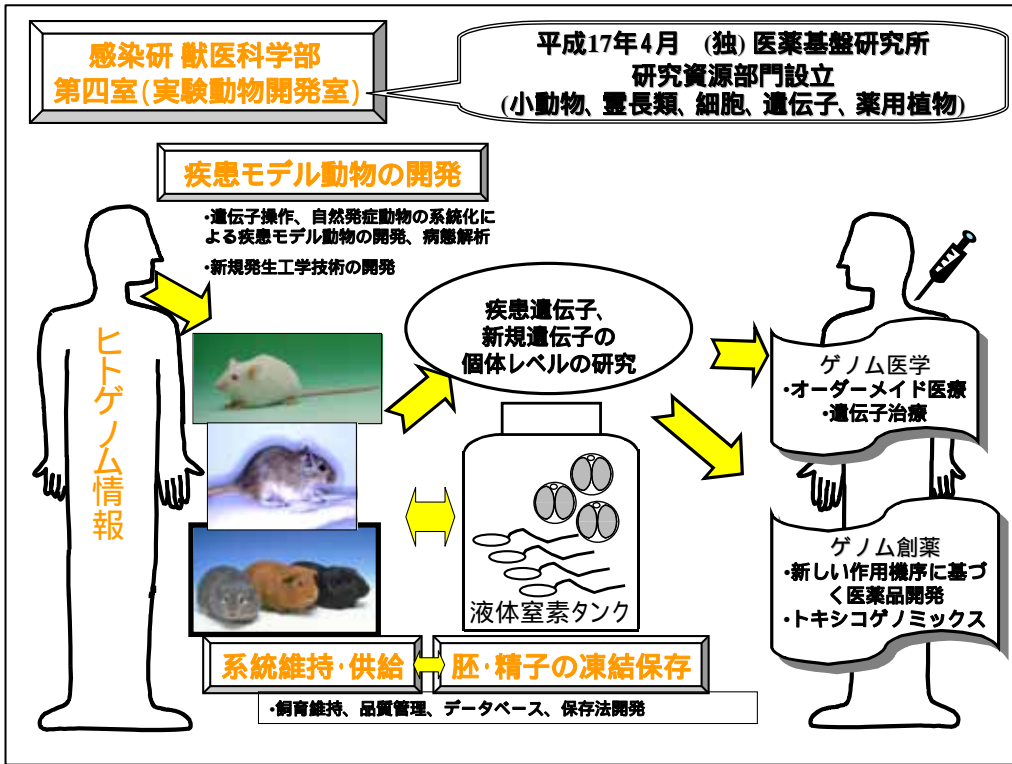
スライド30

モルモット [*Cavia porcellus*]

- 実験動物の代名詞
- Wrightによる遺伝学的研究の材料
- 結核に対する感受性が高い
レセプター分子CD1がグループ1, 2あり、ヒトに類似。
マウス、ラットはグループ2のみ。
- ビタミンCを体内合成出来ない
- 遅延型アレルギーやアナフィラキシーなど免疫学分野で利用される
- 補体力価が高い
- 医薬品抗原性否定試験に多用される
- 着床形式・胎盤構造がヒトに類似
- 完全性周期(ヒト、哺乳類家畜に類似)



スライド31

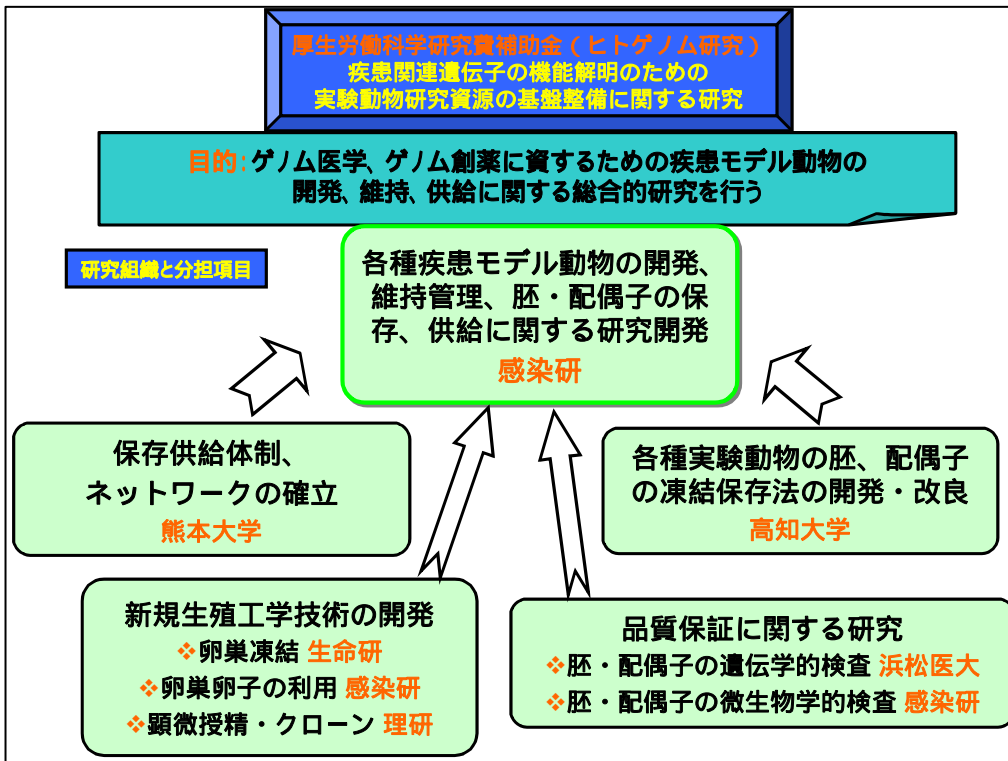


スライド32

基盤研における実験動物開発事業の概要(案)

- (1) 新たな疾患モデル動物の開発と病態解析、関連技術の開発
 - 新規疾患モデル動物の作製
ゲノム情報に基づき、遺伝子改変など発生工学を応用
 - 疾患モデル動物(遺伝子改変、自然発症)の病態解析・遺伝子解析、有用性の検討
 - 新規の発生工学的手法を開発
より効率良く疾患モデル動物を作出する
- (2) 動物の生体での系統維持、収集および供給
 - 疾患モデル動物など貴重な実験動物の飼育繁殖・系統維持
マウス、スナネズミ、マストミス、ハムスター、モルモットなど
 - 適切な飼育法の開発(とくに疾患モデル動物は、飼育が困難な系統が多い)
 - 必要なモデル動物の収集
 - 供給体制の整備
 - データベース化
- (3) 実験動物の胚、配偶子の凍結保存
 - 胚、精子などを凍結保存(マウスなどの研究資源を効率よく保存維持)
 - 胚、配偶子の安定した凍結保存法を確立
とくにスナネズミなどマウス以外の実験動物(凍結法未確立)

スライド33



結核に対する感受性が高いというのは前から知られております。こういった面でもいろいろと分子レベルの面で分かってきて、今後も非常にこれはおもしろい動物だということに私たちは思っています。

スライド31をご覧ください。

最後になりますが、先程と同じスライドですが、基盤研に行きまして、その中で研究資源部門を担当するというので、ヒトゲノムの情報からゲノム創薬・ゲノム医学に役立つような、基盤研の中でも基盤と申しますが、そういったもので私たちはできるだけ役だつてがんばっていきたく思っております。

スライド32をご覧ください。

一応簡単に書きましたが、基盤研での実験動物開発事業の概要ということですが、やることはこういった新たな疾患モデル動物の開発、病態解析、それで、先程のノックアウトを

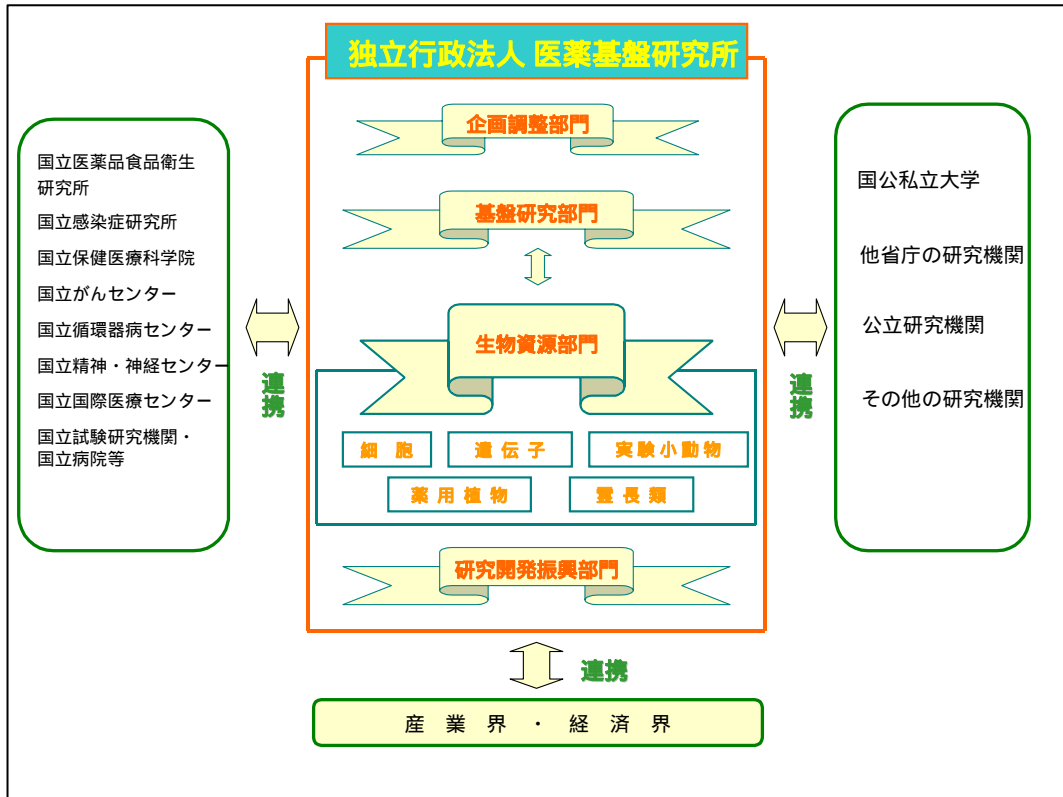
つくるのは昔は大変だったのですが、今はルーティンでできています。そしてそれらに関連するより効率よくモデル動物をつくるような発生工学、そういったものも含めて、是非発展させていきたいと思っています。

それと、動物の生体での系統維持・収集及び供給ということで、マウスも非常に重要です。それ以外の動物も今後重要になってくるであろうということで、いろいろ系統維持をして、それで供給も含めてデータベース化するようなことも含めて、今後やっていきたいと思っています。胚の保存とか配偶子の保存に関しても、いろいろとマウスの中でも実は胚保存・精子の保存というのは系統差がありまして難しいので、そのような技術開発も含めて研究を進めていきたいと思っています。

スライド33をご覧ください。

現在、厚生労働省のほうのヒトゲノムの研究班ということで、疾患関連遺伝子の機能解明の

スライド34



スライド35

- ### 共同研究者
- | | |
|--|---|
| <p>国際医療福祉大学
鈴木義之</p> <p>鳥取大学
生命機能研究支援センター
難波栄二
医学部
大野耕策</p> <p>国立精神・神経センター神経研究所
伊藤雅之</p> <p>慶応義塾大学
理工学部
小川誠一郎</p> <p>米国NIH
Roscoe O. Brady</p> <p>生化学工業
飯田真己</p> | <p>国立感染症研究所
獣医科学部
第四室（実験動物開発室）
鈴木治 高野薫 野口洋子
山本美江 小浦美奈子
山田・内尾こずえ 栗朋子 竹川奈穂
松原純子 大島章弘 松田潤一郎</p> <p>第二室
野口章
動物管理室
滝本一広</p> |
|--|---|

ための実験動物研究資源の基盤整備に関する研究ということで、研究班を立ち上げております。

今、申しましたように、いろいろとこれからほんとに実験動物は非常に重要な位置を占めてくると考えております。やはり自然のものを含めて、創薬とか疾患の研究には欠かせないものです。それにはいろいろなネットワークや品質管理も含めた、或いは新たな研究として発生工学の技術の開発も含め、こういった研究班の皆さん方のお力を借りながら研究を進めているところです。

スライド34、35をご覧ください。

基盤研ですが、生物資源部門には、細胞・遺伝子・小動物・植物・霊長類の5つのものがこういった形で一つの研究所に集まるというのは非常に有意義なことだと思いますし、これからはこれらのネットワークとか、いろいろなものを生かして、相互協力をしながら生物資源部門を発展させていきたいと思っています。もちろん基盤研の中の様々な研究部門との共同研究もいろいろと進めて、皆様のお知恵をお借りしながら、そしてご協力を得ながら、今後実験動物・疾患モデル動物のほうの開発を進めていきたいと思っています。

ご静聴有難うございました。

（会場質問1）

ケミカルシャペロンの治療法の件で、おもしろいと思って聞かせて頂いたのですが、実際に、ガラクトシダーゼのサブストレートを使いまして、治療効果が上がるのかどうか、いわゆるサブストレートの類似の確かNOEVとか説明されましたが、これを使ってうまく構造が揺らいでるものがある程度安定化して、リソゾームに運ばれて、そこで外れて、それで少しの酵素活性を発揮することで治療効果があると、こういうふうにおっしゃられたのですが、実際にサブストレートの累進ではなくて、実際のサブストレートを与えることでの治療効果がよもっと上がるのではないかと、いうように思ったのですが、どうでしょうか。

（回答）

そういう実験は実はすでになされていて、

ガラクトースを大量に入れますと、やはり酵素活性を若干上げるというデータが、vitro実験ではあります。ただし、その場合、非常に大量ですので、要するにヒトに投与するとか、或いは動物に投与することはとてもできないということで、それでこういった強力なインヒビターということで、それを少量・低濃度で使うということを考えてきたわけです。実際にそれは可能性はあるというような実験はあります。

（会場質問2）

R201Cの変異についてだけこれは有効なのですか。それともほかの変異に関してもある程度、要するに、構造の揺らぎがあることですぐ壊されてしまうような場合ではなくて、ライソゾームにある程度タンパクがいるような状態。そして、サブストレートとうまく結合することで、構造がうまくライソゾームに運ばれるような状態になるような典型的なそういう変異の状態ではない限りはなかなかうまくいかないかのではないかと思うのですが、そのへんはどうなのでしょう。

（回答）

実際に、vitroの系ではいくつかの変異で、先程お示ししましたI51Tとかその他の変異でもある程度効くというのは分かっています。数倍上がります。取りあえず、このR201Cをvivoで試したのは、vitroの系でも一番効果があった、5倍ぐらいあったということで、一番可能性があるのではないかなと思いました。しかし、ほかの変異でも、これが効くものがあります。

（堀先生からの質問）

今のところ、疾患モデルで何種類ぐらいのものを目標として保存していかれるというような、そういう計画はございますでしょうか。

（回答）

まだ具体的な数はなかなか難しいのですけれども、疾患モデルを中心に、なるべくニーズに合うような形で保存して、それを情報として、また発信して、データベース化していくというようなことを考えております。