

実験用マウス系統とその有用性について

1 はじめに

マウスは、実験動物の中でも特別の存在といえる。ヒトとほぼ同様の生理機能をもった哺乳動物でありながら、受精から誕生まで約 20 日、次世代誕生まで約 2-3 ヶ月という短い世代時間は、研究テーマを設定する上で大きな魅力といえる。また体は約 20-30g と小さく温厚なため扱いやすく、限られた空間で効率的な飼育が可能である。さらに繁殖率が高いことは、系統維持や実験に必要な個体数を確保しやすいなど多くの利点がある。なかでも特筆すべき点は、近交系マウス (inbred strain, 遺伝的性質が均一なマウス系統のこと) を主体とする多種多様なマウス系統 (strain) の存在である。また体外受精や胚操作などの生殖工学的な手法や遺伝子操作技術が各種開発されたことにより、トランスジェニックマウス (transgenic mouse)、ノックインマウス (knock-in mouse) やノックアウトマウス (knock-out mouse) といった遺伝子改変マウスも多数作出されており、今や生命科学の発展に必要不可欠な存在となっている。今回の技術情報では、様々な研究分野で利用されている実



ddY

国立予防衛生研究所 (現・感染症研究所) で系統化された非近交系マウス。繁殖能力が高く、発育も良好なことから、日本では、各種研究・生物検定に広く使用されている。

験用マウス系統とその有用性について紹介する。

2 実験用マウス系統の種類と特徴

マウスには遺伝的に統制された実験用マウス系統が多数存在している。実験用マウス系統はクローズドコロニー (closed colony) と近交系に大別され、その遺伝的性質や維持方法、使用目的は異なる。

クローズドコロニーとは、個体ごとに遺伝的なばらつきをもつ (近交化されていない) が、5 年以上外部からの動物 (遺伝子) の移入がなく、特定の集団内でのみ維持されている個体群である。そのため集団内で保有される遺伝子多型の頻度は一定の範囲内に抑えられている。各個体の遺伝的性質にはばらつきはあるが、系統としては固有の遺伝的性質を示すことから、ヒトなどの個体間の遺伝子型が不均一な集団のモデルとして、薬物の検定試験などに使用される。代表的なクローズドコロニー系統マウスには、ddY 系統や ICR 系統がある。国内で実施される麻痺性貝毒やフグ毒のマウス毒性試験には ddY 系統が使用されている¹⁾。



ICR

産仔数の多い個体を選択交配し作出された非近交系マウス。比較のおとなしく扱いやすい。体型が大きいことから世界的に安全性・薬理薬効試験など各種研究試験などに広く使用されている。

一方、近交系とは、兄妹交配によりほぼすべての遺伝子座 (genetic loci) がホモ接合体 (homozygote, 遺伝子座が AA, aa のように同じ対立遺伝子からなる状態のこと。ちなみに Aa はヘテロ接合体 (heterozygote) という) になった個体群である。理論上、兄妹交配を繰り返すと 20 世代目には遺伝子座の 98.7 %が 40 世代目には 99.98 %がホモ接合体となる。そのため、精度の高い遺伝子機能の解析や再現性の高い実験が可能であり、後述する遺伝子改変マウスの背景系統としても使用されている。世界で最も利用されている C57BL/6 系統をはじめとして、現在では 450 系統以上もの近交系が樹立されている。近交系は、ある特定の形質 (trait) に注目して選抜交配が行われ作出されている。例えば、乳がんを高発症する個体から近交化した C3H 系統、逆にがん発症率の低い個

体から近交化した CBA 系統などがある。また近交化の過程で、劣勢遺伝子がホモ接合化されることで疾患などが表面化することがある。C3H 系統は盲目であり、DBA/2 系統は難聴である。

以上のように系統ごとに特徴的な表現型 (phenotype) がみられるため、実験目的にあわせたマウス系統を選択する必要がある。各系統の表現型については Jackson 研究所の Mouse Phenome Database²⁾を用いることで詳細に比較することができる。近交系マウスから派生した系統には、コンジェニック系統 (congenic strain)、リコンビナントコンジェニック系統 (recombinant congenic strain)、リコンビナントインブレット系統 (recombinant inbred strain)、コンソミック系統 (consomic strain) 等がある。



C57BL/6

初めて全遺伝子解析されたマウス系統。標準近交系として遺伝子改変動物の遺伝背景として広く利用される。目の疾患や、脱毛が発生しやすい。Th1側の免疫反応が強い。自然発症腫瘍の発生頻度が低い。



A

がんに対する感受性が高く、乳腺がんや肺腫瘍の発生率が高い系統。抗原性試験に使用される。



BALB/c

行動実験に用いるために作出された系統。複数の亜系統が存在し、亜系統間で遺伝的・行動的に大きく異なる。Th2側の免疫反応が強い。モノクローナル抗体作成に利用される。



C3H

乳がんの発症率が高い仔を選択交配することで作出された系統。肝がんの発生率が高く、高齢期に乳がんも発症する。離乳時までにはほぼ盲目になる。



DBA/2

若齢で聴音発作を起こす。また加齢にともない、ヒトの遺伝性緑内障に似た目の異常を示す。生産効率が悪い。



AKR

内在性レトロウイルス (マウス白血病ウイルス) によるリンパ性白血病を高率に発症する。

3 突然変異マウス (突然変異系統)

突然変異マウス (mutant mouse) とは、特定の遺伝子または染色体上に突然変異 (mutation) を生じたマウスのことである。突然変異マウスのほとんどは、選抜交配により近交化され、突然変異遺伝子 (突然変異染色体) を有する近交系 (突然変異系統) として利用されている。突然変異系統のうちで最も重要なものの1つに、疾患モデルマウスがある。疾患モデルマウスとは、癌、糖尿病、高脂血症などヒトの疾患に類似の症状を示すマウス系統をいう。

これらの系統は、病因の解明や治療技術の発展のために役立っている。突然変異系統には、自然発生突然変異系統と、化学変異原 (突然変異を誘発する化学物質) を用いて人工的に点突然変異を誘発した変異マウス系統 (例: N-ethyl-N-nitrosourea, ENU 誘発突然変異マウス系統)³⁾ が存在する。自然発生突然変異系統には、胸腺を欠損するヌードマウス、T細胞およびB細胞を欠損する SCID マウスなどある。一方、ENU 誘発突然変異マウス系統から、網羅的表現解析により、ヒト疾患と類似の症状を示すマウス系統が多数発見されている。これらの新規ヒト疾患モデルマウスについては、理化学研究所バイオリソースセンター (理研 BRC)³⁾ のホームページから情報を得ることができる。



BALB/cSlc-nu/nu

近交系BALB/cに戻し交配によりnu遺伝子を導入したBALB/cのヌードマウス(遺伝子: *Foxn1^{nu}*)。胸腺とT細胞機能欠如しているため、移植片拒絶が起こりにくい。

免疫不全マウスには、ヌードマウスの他に、SCIDマウス、IL-2R γ ノックアウトマウス、Rag欠損マウス等が存在し、欠損する免疫系がそれぞれ異なっている。現在では、これらの免疫不全マウスの特徴を組み合わせることで、重度免疫不全マウスの開発が行われている。

4 遺伝子改変マウス

1) トランスジェニックマウス

トランスジェニックマウスとは、マウスゲノムに外来遺伝子を人為的に導入し、発現させたマウスのことである。宿主が通常保有しないタンパク質 (例、ヒト型レセプター分子、GFP (green fluorescent protein)をはじめとする蛍光タンパク等)、野生型 (正常型) あるいは変異型のタンパク質を過剰に発現させることができる。組織特異的なプロモーターや時期特異的なプロモーターを使うことにより、より複雑な遺伝子発現の制御も可能となる。



C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)C14-Y01-FM1310sb

緑色蛍光タンパクであるEGFPをほぼ全身に発現させたトランスジェニックマウス(グリーンマウス)。

GFPを発現している細胞は、UVもしくは青色光照射により緑色蛍光を発する。

採取細胞(EGFP陽性細胞)を、野生型マウスへ移植すると、緑色蛍光を指標として移植細胞の動向を把握できる。写真の右の3匹がUV照射により緑色蛍光を発している。

2) ノックインマウス

ノックインマウスとは、トランスジェニックマウスと同様ゲノムに外来遺伝子を人為的に導入したマウスであるが、トランスジェニックマウスでは、外来遺伝子がランダムに導入されているのに対し、ノックインマウスでは特定の遺伝子座に外来遺伝子が挿入されている。例えば、ある遺伝子の内部にレポーター遺伝子 (蛍光タンパク等の遺伝子) を導入し、レポーター遺伝子の挙動を観察することで、当該遺伝子の発現する場所や時期を解析することができる。

3) ノックアウトマウス

ノックアウトマウスとは、内在性の遺伝子が破壊されたマウスの総称である。特定の内在性遺伝子を破壊することにより、その遺伝子の機能を欠失させることができる。ES 細

胞を用いた相同遺伝子組換え法 (homologous recombination) により、多数のノックアウトマウスが作出された。2013 年には、CRISPR/Cas9 システム⁴⁾⁵⁾を中心とするゲノム編集技術 (genome editing) がマウスにも実用化され、より自由な遺伝子改変が可能になっている。従来の方では年単位の時間を要していたノックアウトマウスの作成を、CRISPR/Cas9 システムでは月単位で実施することが可能になっている。ゲノム編集技術の普及により、簡便化、効率化、低コスト化が実現している。



NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)

Scid mutation および IL2R γ ノックアウトによる重度免疫不全マウス。

ヒト由来組織および細胞の移植後の生着が良く、ヒトの細胞・組織・臓器を有する「ヒト化マウス」の作製に利用されている。

国際マウス表現型解析コンソーシアム (International Mouse Phenotyping Consortium: IMPC)⁶⁾では、同一遺伝的背景でのすべての遺伝子ノックアウトマウスについて国際的標準プロトコールに基づいた網羅的な表現型解析検査を行いデータのカタログ化をおこなっている。統一した実験および統計の方法を用いて解析されているため、データ間の定量的な比較が可能となっている。このデータベースを参照することにより、各遺伝子の不活性化によりどのような表現型が観察されるのか、ネガティブデータ (遺伝子の不活性化によって変化が見られなかった表現型) を含めて網羅的に知ることができる。解析された系統のマウスは全て、理研 BRC への申込みで入手できる。

IMPC には、現在、日本の理化学研究所バイオリソースセンターを含む世界の主要 18 研究機関 (2018 年 1 月現在) が参画している。すべての遺伝子 (約 20,000 個) のノックアウトマ

ウスを参画機関で分担して製作し、2021 年までに、すべての遺伝子ノックアウトマウスについて、胎仔期及び成体期の表現型解析検査を行うことを目指している。

5 実験用マウスの微生物学的清浄度

マウスには、様々な微生物や寄生虫に感染し、なかにはマウスの状態を変化させる微生物 (例、ティザー菌、マウス肝炎ウイルス、ネズミ盲腸蟻虫) や、ヒトに感染する微生物 (サルモネラ、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス) がある。実験には、特定の病原微生物や寄生虫が存在しない (Specific Pathogen Free, SPF) マウス個体を実験に使用することが薦められている。SPF については世界的に統一された基準がなく、SPF 基準に取り上げられる微生物リストは各動物飼育施設やブリーダーによって異なる。実験用マウスには、SPF マウスの他にも、微生物や寄生虫を全く保有しない無菌マウス (germfree mouse, 既存の検出方法で微生物や寄生虫が検出されないマウス) や、無菌マウスに既知の微生物を 1 種類もしくは数種類定着させたノトバイオトマウス (gnotobiotic mouse, 保有している微生物が明確なマウス) が存在する。マウスに症状を引き起こす微生物の詳細については、実験動物中央研究所 ICALAS モニタリングセンターの HP⁷⁾が参考になる。

6 マウスバンクシステム

新規に作製したマウス系統等は、マウスバンクに寄託することができる。寄託された系統は凍結胚・精子として液体窒素タンクに保存される (生体で保存される場合もある)。このシステムの利点として、マウスの飼育維持費の削減や災害発生時のバックアップ等があげられる。保存されたマウスに関する情報は web 上で公開され、原則として世界中の研究者が利用できる。国内の代表的なマウスバンクには、理研 BRC²⁾ および熊本大学 Center for Animal Resources & Development (CARD)⁸⁾がある。

7 おわりに

これまでに多種多様な実験用マウス系統が開発され、幅広い研究分野で利用されている。マウスを用いた動物実験は今や生命科学の発展に必要不可欠ではあるが、同時に動物福祉の精神を尊重し倫理的に行うことを忘れてはならない。出来る限り少ない動物数で信頼できる科学データを得るためにも、マウス系統の特徴を理解し、実験目的に適したマウス系統を選択することが大切だと考える。本技術情報が、その一助になることを期待したい。

8 参考文献及び写真の提供元

- 1) 食品衛生検査指針 理化学編 2015、公益社団法人日本食品衛生協会、2015
- 2) Jackson 研究所 Mouse Phenome Database <http://phenome.jax.org/>
- 3) 理研バイオリソースセンター (RIKEN BRC) http://mus.brc.riken.jp/ja/catalogue_gsc
- 4) Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F: Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 339:819-823, 2013
- 5) Wang H, Yang H, Shivalila CS, Dawlaty MM, Cheng AW, Zhang F, Jaenisch R: One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 153:910-918, 2013
- 6) 国際マウス表現型解析コンソーシアム (International Mouse Phenotyping Consortium: IMPC) <http://www.mousephenotype.org/>
- 7) 実験動物中央研究所 ICALAS モニタリングセンター <https://www.iclasmonic.jp/index.html>
- 8) 熊本大学 生命資源研究・支援センター動物資源開発研究施設 (Center for Animal Resources & Development: CARD) <http://card.medic.kumamoto-u.ac.jp/card/japanese/mousebank/index.html>
- 9) 小出 剛 編: マウス実験の基礎知識 第2版、オーム社、2013
- 10) 伊川 正人, 高橋 智, 若菜 茂晴 / マウス表現型解析スタンダード編: マウス表現型解析スタンダード、羊土社、2016
- 11) 伊川 正人: ゲノム編集がひらく遺伝子改変マウスの未来 <http://leading.lifescience.db.jp/3-e008/>
- 12) 日本エスエルシー株式会社よりマウス写真 (ddy, ICR, A, C3H, DBA/2, AKR, BALB/cSlc-nu/nu) を提供して頂きました。
- 13) 愛知医科大学奥村正直博士よりマウス写真 (NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ, C57BL/6, BALB/c) を提供して頂きました。
- 14) 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所よりマウス写真 (C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)C14-Y01-FM1310sb) を提供して頂きました。

(文責: 生物学部医動物研究室 海野明広)

愛知衛研技術情報 第41巻第1号 平成30(2018)年 3 月 27 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】

所 長 室 :	052-910-5604	生物学部長 :	052-910-5654
次 長 :	052-910-5683	ウイルス研究室 :	052-910-5674
研 究 監 :	052-910-5684	細菌研究室 :	052-910-5669
総 務 課 :	052-910-5618	医動物研究室 :	052-910-5654
企画情報部長 :	052-910-5619	衛生化学部長 :	052-910-5638
健康科学情報室 :	052-910-5619	医薬食品研究室 :	052-910-5639
		生活科学研究室 :	052-910-5643

代表 FAX : 052-913-3641
