

# 第4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20年11月28日(金)  
午後1時~5時  
東京八重洲ホール  
日本橋3-4-13 TEL03-3201-3631



## 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。

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4回 TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会情報交換会

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 301号室 日本橋3-4-13 TEL03-3201-3631

会長:今井一洋(武蔵野大学薬学研究所長)

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

13:00~13:10 会長あいさつ 今井一洋(武蔵野大学)

座長 外尾亮治(動物繁殖研究所)

13:10~13:50 メタ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<sup>1)</sup>、脇能広<sup>1)</sup>、茅野大介<sup>1)</sup>、渋谷郁夫<sup>2)</sup>、山本知広<sup>2)</sup>、篠田有希<sup>2)</sup>、  
浜屋忠生<sup>3)</sup>、栗原昭一<sup>3)</sup> (<sup>1)</sup>日本薬科大学、<sup>2)</sup>アサヒ飲料、<sup>3)</sup>リコム)

座長 赤瀬智子(東京大学)

13:50~14:20 TSOD マウスの週齢による心機能変化

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

14:20~14:50 *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)

14:50~15:05 休憩

座長 藤本 誠(富山大学)

15:05~15:30 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)

15:30~16:00 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<sup>1)</sup>、藤本 誠<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>富山大学・病理、<sup>2)</sup>富山大学・和漢)

座長 秋元敏雄(日本医大)

16:00~16:30 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)

座長 油田正樹(武蔵野大学)

16:30~16:55 総合討論

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 4,500 円)

焼酎ダイニング 零 八重洲 1-4-3 TEL03-5203-0900

## 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<sup>1)</sup>、脇能広<sup>1)</sup>、茅野大介<sup>1)</sup>、渋谷郁夫<sup>2)</sup>、山本知広<sup>2)</sup>、  
篠田有希<sup>2)</sup>、浜屋忠生<sup>3)</sup>、栗原昭一<sup>3)</sup>

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

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。

本研究会では、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果効果においても発表するつもりである。

## TSOD マウスの週齢による心機能変化

河田登美枝<sup>1)</sup>、仲澤幹雄<sup>2)</sup>、嶋田 努<sup>1)</sup>、油田正樹<sup>1)</sup>

武蔵野大学・薬学研究所<sup>1)</sup>、新潟大学医学部・保健学科<sup>2)</sup>

**[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<sup>G</sup>-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<sub>max</sub>およびdP/dt<sub>min</sub> 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、3μg/kg)による降圧反応は両群間に差がなく、10μg/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。

# *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マウスの腸間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) <sup>\*1</sup>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<sup>\*2</sup>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- $\gamma$  : peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$

主に脂肪細胞に発現しており、脂肪滴蓄積に関する遺伝子(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- $\gamma$  により転写活性化される。

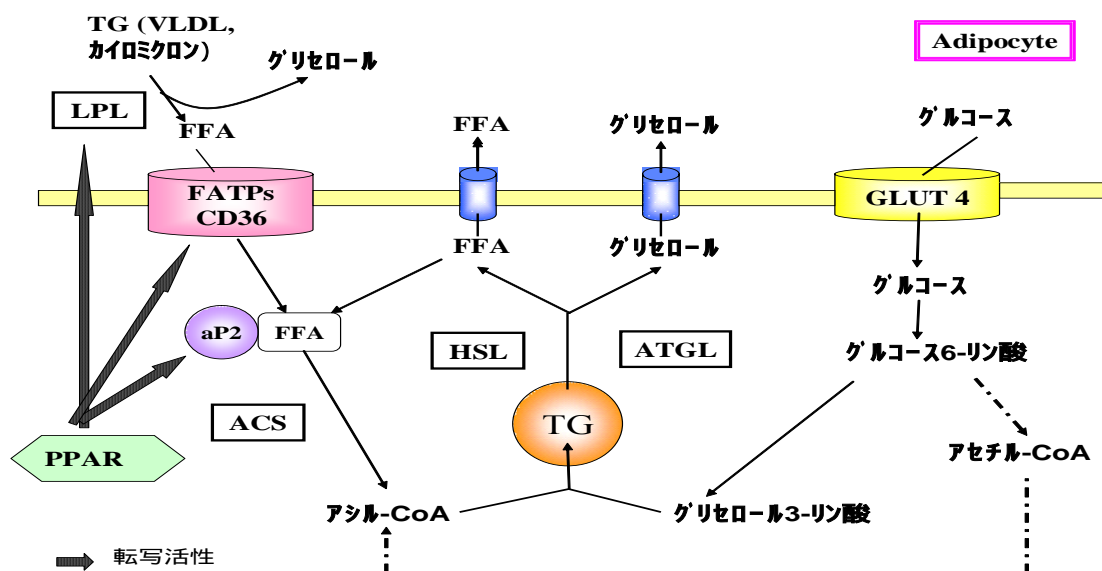


Fig. 脂肪細胞における脂肪合成と分解

# 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

## 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<sup>1)</sup>、藤本 誠<sup>2)</sup>

富山大学大学院 医学薬学研究部 病理診断学<sup>1)</sup>

富山大学大学院 医学薬学研究部 和漢診療学<sup>2)</sup>

「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<sup>1,2)</sup>。

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、両マウスから摘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ボ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 は肝硬変や肝臓に進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<sup>1-2)</sup>、さらにヒトNAFLD/NASH病変と非常に似た症状を呈する<sup>3)</sup>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, 鈴木巨, 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**

## 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  
なお、正会員は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。
- (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

### (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



「TSOD（肥満・糖尿病）マウス研究会」正会員入会申込書

申込日： 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	〒
勤務先 TEL	勤務先 FAX
メールアドレス	
研究内容	

ご入会に際しましては「会則」をご覧ください。

正会員のお申し込みは、この用紙にご記入いただき、FAX もしくは郵送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内  
 Tel: 090-7942-2398  
 Fax: 0424-68-9178  
 メールアドレス: sasaki@iar.or.jp

## モデル動物入手の手順概略

### 【必要書類】

- |                   |      |
|-------------------|------|
| ( a ) 動物提供依頼書     | 資料 1 |
| ( b ) 確約書         | 資料 2 |
| ( c ) 実験プロトコール申請書 | 資料 3 |

### 【入手手順】

#### 1. 書類提出

モデル動物の入手希望者は、上記 3 種類の必要書類( ( a ) 「動物提供依頼書」、( b ) 「確約書」及び( c ) 「実験プロトコール申請書」)を作成し、TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会事務局(以下、事務局という)に FAX または郵送にて提出する。

#### 2. 研究会審査

TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会は、入手希望者の提出書類に基づき、試験実施の適正性と提供協力の可否を検討し、本研究会会長がその審査結果を文書にて入手希望者に連絡する。試験内容の適正性に疑義がある場合は、入手希望者と協議する。

#### 【動物提供却下事由例】

「確約書」の不備

他の入手希望者の実験プロトコールとの重複

#### 3. 動物注文受諾通知と動物の発送

研究会審査での提供承認後、事務局が動物の出荷を(財)動物繁殖研究所に依頼する。  
(財)動物繁殖研究所は入手希望者に、動物とともに「受諾・送付書」及び「受領書」を送付する。

#### 4. 動物の受領と支払い

入手希望者は動物受領後、「受領書」に記名・捺印し、事務局に送付する。  
入手希望者は、動物代金を(財)動物繁殖研究所の指定口座に振り込む。

#### 5. 試験結果の報告

入手希望者は実験終了後、その結果の報告書(論文、発表要旨など)を、事務局に送付する。

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内  
Tel:090-7942-2398  
Fax:0424-68-9178  
メールアドレス:sasaki@iar.or.jp

(資料1)

## 動物提供依頼書

貴研究会からのモデル動物の提供を次のように依頼いたします。

1. 目的・研究内容

別紙「実験プロトコール申請書」に記載済

2. 希望数

系統名	匹数	週齢	備考
TSNO		週齢	
TSOD		週齢	

3. 希望納入日： 平成\_\_18\_\_年\_\_月\_\_日ごろ

4. 動物受入施設

所在地：〒\_\_\_\_\_

受入施設名：\_\_\_\_\_

受取者：\_\_\_\_\_

TEL：\_\_\_\_\_ FAX：\_\_\_\_\_

E-mail：\_\_\_\_\_

5. 申込者連絡先

所在地：〒\_\_\_\_\_

所属：\_\_\_\_\_

受領者：\_\_\_\_\_

TEL：\_\_\_\_\_ FAX：\_\_\_\_\_

E-mail：\_\_\_\_\_

6. 確約書の遵守：本動物の提供を受けるに際しては、「確約書」を遵守いたします。

7. その他の希望事項：\_\_\_\_\_

以上

(資料2)

## 確 約 書

平成 18 年 月 日

TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会 殿

研究目的: \_\_\_\_\_

研究期間: 平成 18 年 月 日 より 平成 18 年 月 日まで

使用機関(施設)名: \_\_\_\_\_

使用責任者: \_\_\_\_\_ 印

使用者: \_\_\_\_\_ 印

(以下、「本研究」といいます)

系統名: TSNO \_\_\_\_\_ 匹数( ) 約 \_\_\_\_\_ 匹

系統名: TSOD \_\_\_\_\_ 匹数( ) 約 \_\_\_\_\_ 匹

(以下、「本件動物」といいます)

貴研究会より本研究のため別紙「動物提供依頼書」により入手する本件動物の使用に関して、以下の記載事項を守ることを確約いたします。

- . 本件動物及びこれに付随する情報を本研究の目的のためにのみ使用し、それ以外の目的には一切使用いたしません。
- . 貴研究会の書面による同意がない限り、本件動物を第三者に譲渡いたしません。
- . 本研究において本件動物を使用する際には最新の注意を払うとともに、万一何らかの事故が発生したとしても、貴研究会には何らのご迷惑をおかけいたしません。
- . 本研究が終了したときは、すみやかに本研究の結果(抄録、論文等)を文書で貴研究会に報告いたします。
- . 本確約書に定めのない事項又は本確約書の各条項の解釈に疑義を生じた場合は、両者誠意をもって協議し定めることとします。

以上

(資料3)

## 実験プロトコール申請書

平成 18 年 月 日

表 題： \_\_\_\_\_

研究目的： \_\_\_\_\_

研究担当者： \_\_\_\_\_

研究期間： 平成 18 年 月 日 ~ 平成 18 年 月 日

研究計画：

1. 動物実験施設名： \_\_\_\_\_

2. 使用動物

系統名： TSNO 週齢： 週齢 匹数( )： 匹

系統名： TSOD 週齢： 週齢 匹数( )： 匹

3. 実験群構成：

TSNO： 週齢； 匹、

TSOD： 週齢； 匹

4. 測定項目

---

**TSOD (肥満・糖尿病) マウス研究会**

会長承認可否連絡欄

承認	保留	却下
----	----	----

平成 年 月 日

会長名： \_\_\_\_\_ 印

備考： \_\_\_\_\_

(別紙1)

## TSOD マウスの供給について

TSOD (Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes) マウスは1984年ドーケン株式会社由来の ddY 系マウスに基づく肥満を伴う2型糖尿病モデルとして株式会社ツムラの研究所で開発樹立されました。

TSOD マウスは1997年から、糖尿病の発症機序の解明などの研究用として国内の先生方のご要望で一部ご提供申し上げております。しかしながら、供給量に限りがありますので、必ずしもご希望に添えない場合もあることをご承知頂きまして、下記の要領で綿密な実験計画を立てられ有効なご利用をお願い申し上げる次第です。

尚、特殊な動物ですので「TSOD マウス取り扱い基準」(別紙2)をよくご理解のうえ、お取り扱いの程お願い申し上げます。

本マウスを用いた研究が、肥満・糖尿病等に関わる基礎研究の発展並びに治療の進歩にお役に立てればと念じております。

### A 供給体制

1. (財)動物繁殖研究所から SPF 動物として供給する。
2. 供給動物の週齢は、8週齢～12週齢に限る。  
上記週齢以外の動物の供給は別途相談に応ずる。
3. 雌の供給は行わない。

### B 申し込み手順

1. 動物提供依頼書(資料1)、確約書(資料2)、実験プロトコール申請書(資料3)を TSOD(肥満・糖尿病)マウス研究会事務局(以下、「事務局」という)に提出する。
2. 承認の可否は、事務局から会長承認可否欄(「実験プロトコール申請書」下部)によって連絡する。
3. 動物代金は、動物入手後、動物価格表(別紙)に基づき、(財)動物繁殖研究所に支払う。
4. 研究結果の報告(データ、抄録、論文等)は事務局に提出する。

なお、お問い合わせ等は、下記までご連絡をお願いいたします。

TEL : 029-897-0631 FAX : 029-897-0633

E-mail : sasaki@iar.or.jp

(財)動物繁殖研究所

## TSOD マウス取り扱い基準

### 輸送：

1. 輸送箱の収容匹数は、1箱あたり5～7匹とする。
2. 輸送に際しては、十分な餌と水分（給水ボトル、寒天等）を補給する。
3. 輸送に際してはできるだけ専用空調車の使用が望ましいが、困難な場合は短時間の輸送（航空機等）を心がける。

### 搬入：

1. 到着次第直ちに恒温・恒湿にコントロールされた動物飼育室に収容し、十分な餌と水を与えてください。
2. 搬入された動物の健康状態を十分に観察してください。

### 飼育：

TSOD マウスは市販されている飼料（MF：オリエンタル酵母）と水を十分に摂取させ、呼吸器系や消化器系等の疾患に罹患しなければ特別な事をしなくても糖尿病を維持します。但し、糖尿病の進展に従い糞尿が多くなるので床敷の交換を頻繁に行い清潔に保つように心がけてください。

以上、TSOD マウスは通常の飼育方法で維持すればほぼ全例で糖尿病が進展しますが、自然発症動物であるため、重症度が個体によって若干異なる可能性がありますので、実験開始前には必ず動物の糖尿病状態を確認して使用してください。

以上

(財)動物繁殖研究所

### 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 (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)



## TSOD マウスの開発研究の経緯

鈴木 巨

(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回研究会記録

#### 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回研究会記録

#### 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回研究会記録

#### 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。睪島は 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<sub>1c</sub>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回研究会記録

#### 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 回研究会記録

#### 糖尿病モデル動物の必要性和問題点

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。その頃にチャイ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(アロキサン、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

---

## 懇親会会場

懇親会会場  
焼酎ダイニング零

東京駅

研究会会場  
東京八重洲ホール



焼酎ダイニング 零 八重洲 1-4-3 TEL03-5203-0900

実験動物用X線CT

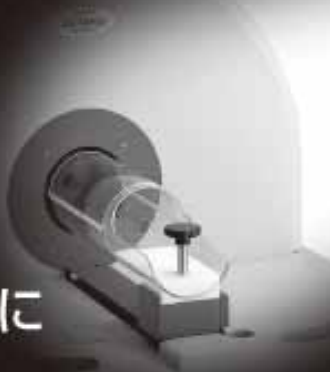
# LA theta™

LCT-100/LCT-200

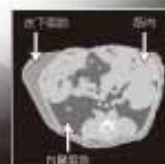
## 新たなる 実験動物のために

アロカは実験動物の研究用に、ラットやマウス等を生体のまま長期に渡って、安全に観察できる小形実験動物用X線CTを開発しました。

- 高速多断面撮影が可能
- 自由な設置場所
- 撮影視野の切り換えが可能
- 同一機体の長期的観察
- 多機能搭載



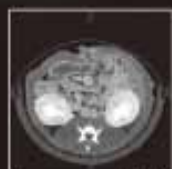
マウス全身像



脂肪解析



骨密度解析



肝臓造影



腎臓造影



左脳造影造影

# ALOKA

## アロカ株式会社

[www.aloka.co.jp](http://www.aloka.co.jp)

〒181-8622 東京都三鷹市牛丸8丁目22番1号 メディカルシステム営業部 (0422)45-5121

## 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。

お問い合わせは弊社営業担当、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](mailto: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<sup>®</sup>インスリン-マウス (Hタイプ) レビス<sup>®</sup>インスリン-ラット (Hタイプ)

## レビス<sup>®</sup>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 $\mu$ l) で測定可能 (血清、血漿<sup>\*</sup>、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) 抗原コート96ウェルプレート-96ウェル(8 $\times$ 12)/1枚
- (B) 標準インスリン溶液(マウス/ラット)/200ng/ml-300 $\mu$ 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 $\mu$ l/1本
- (E) ペルオキシダーゼ-アビジン結合薬- 200 $\mu$ l/1本
- (F) 発色液(TMB)-----12ml/1本
- (H) 反応停止液(1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)-----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](mailto: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、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。

ISHIHALA 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

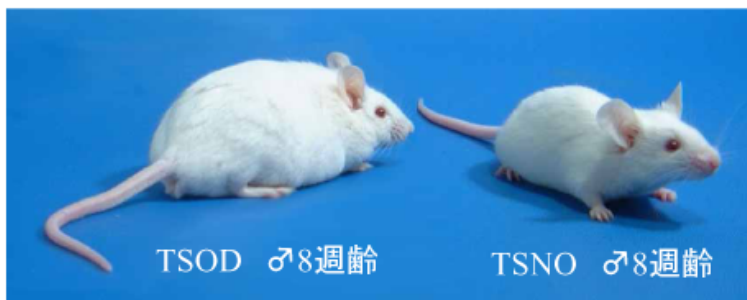
FAX 03-3928-1463

E-mail [info@ishihala.co.jp](mailto:info@ishihala.co.jp)

URL <http://www.ishihala.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

### ●活動内容

- 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

### ●入会・動物購入お問い合わせ先

#### 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

私たちのバイオリソースを  
医薬品開発・研究推進に活用ください。



- 1 TSOD® Mouse (肥満 2 型糖尿病モデル)
- 2 TSNO® Mouse (TSOD®の対照動物)
- 3 MSG Mouse (薬物誘発肥満 2 型糖尿病モデル)
- 4 C57BLKS/J Iar -+/Lepr<sup>db</sup>/+Lepr<sup>db</sup>
- 5 C57BLKS/J Iar -m+/+Lepr<sup>db</sup>
- 6 C57BLKS/J Iar -m+/m+
- 7 Iar:IVCS Mouse

- 8 Iar:Wistar-Imamichi Rat
- 9 WIAR Rat
- 10 Iar:Long-Evans Rat
- 11 Iar:Copenhagen Rat
- 12 Iar:Beagle
- 手術動物供給
- 生物材料供給
- 受託飼育
- 受託試験



**IAR** 財団法人動物繁殖研究所 <http://www.iar.or.jp/>

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