

動物実験でのエピソードあれこれ

大阪労災病院 樂木 宏実

疾患モデル動物に限らず動物実験はヒトの病態を研究する上で多くの情報を与えてくれます。動物で有効な治療法がヒトでは効かないという例も多いですが、ヒトとの違いを理解することで病態の理解が進むことも多いです。私自身が関わった動物実験系は限られますがそれでも振り返ってみると実に多くのことを学びました。研究の四方山話として幾つか紹介させていただきます。

Ex vivo での研究の始まり

初めての動物実験は、ラットの腸間膜動脈の灌流実験系でした(図1)。恩師の中丸光昭先生がご留学先であるバンダービルド大学の故稲上正先生の研究室から持ち帰られた系で、腸間膜動脈にカニューレションして腸管断端で腸間膜ごと切り出した末梢動脈を灌流します(図1)。精緻な実験系で、灌流圧モニタ、電気刺激、灌流液に分泌されるアミノ酸のカラムによる抽出、動脈組織のホモジネートと多くの情報を経時的に得ることができました。研究は先輩方のお手伝いが主でしたが、血管壁レニン-アンジオテンシン系(RA系)が末梢血管抵抗の調節に関与していることを証明している実感があり研究の面白さを感じました(図2)。

同時期に、ラットの腎臓皮質を粗い篩(ふるい)から細かい篩で順番にすり濾すことで傍糸球体装置がついた状態での糸球体を単離したもので浮遊実験系を作製し、当時発見されたエンドセリンがレニン分泌抑制に働くことを明らかにしました。過去の論文にかかれた手順を順番になぞるだけの実験系でしたが、初期は試行錯誤しました。

最初に出会った2つの実験系がいずれも ex vivo の系であり単純化された実験であったために比較的安定した結果を得ることができたことは幸運でした。

○目次

巻頭言	P1
理事会報告	P3
お知らせ	P6

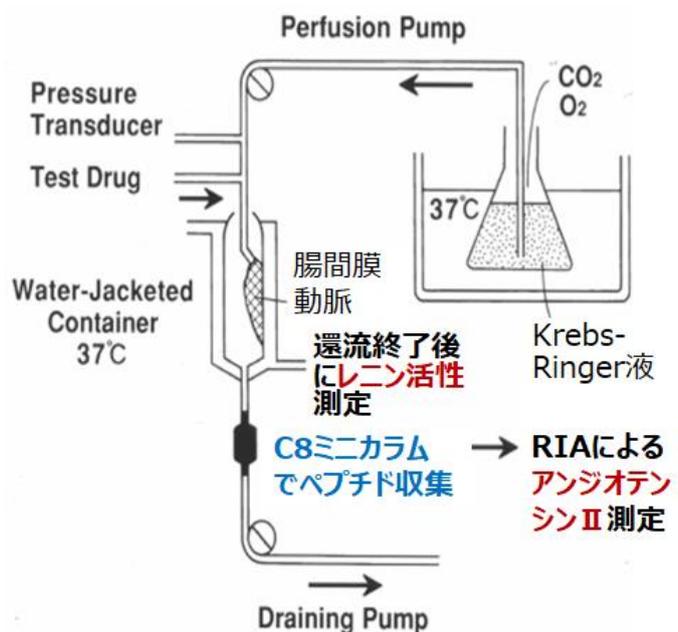


図1. 腸間膜動脈の灌流実験系(著者作図)

血管傷害モデルとヒトの動脈硬化

1989年の米国留学直前に Science 誌にラットの血管障害モデルでの内膜増殖を ACE 阻害薬が抑制するという論文が発表され (Powell JS, et al.)、留学時に血管壁 RA 系の再狭窄への

関与を研究するきっかけになりました。研修医時代に、バルーンによる冠動脈血管形成術 (当時の呼称は PTCA) 後の 3 割程度に再狭窄が生じる問題に困っていたので、臨床的にも興味を持って研究に臨みました。膨らませたバルーンを引き抜く際に内皮細胞をずるずると物理的に引きはがす操作で、最初は頸動脈にバルーンを入れることができず、胸腹部の大動脈を傷害しました。大動脈分枝部内の内皮細胞が大動脈内を少しずつ覆うために大動脈の部位によって内膜増殖がバラつくことが難点で、結局、頸動脈の傷害に切り替えました。研究成果は、内膜傷害後に形質転換して増殖型になった血管平滑筋細胞が内膜増殖の主役で、平滑筋細胞が増殖型になることで ACE を発現するようになり、その発現抑制で内膜増殖を抑えることができるというものでした (図 2)。ただ、ヒトの動脈硬化巣のようにマクロファージ主体の粥腫病変ではなく、留学から帰国

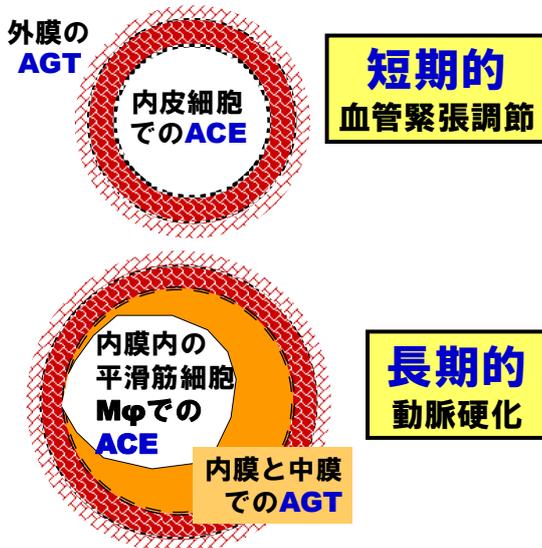


図 2. 血管壁レニン-アンジオテンシン系の発現と役割

AGT: アンジオテンシノーゲン、ACE: アンジオテンシン変換酵素 (著者作図)

後にはヒトの病理標本での RA 系発現の研究や、単球からマクロファージへの形質転換による ACE 発現増強の研究を展開しました。ヒトの PTCA 後再狭窄に対して ACE 阻害薬の抑制効果がないことも大規模臨床研究で示されたことを含めて、実験動物での結果とヒトの臨床への応用との違いを見極めることの大切さを学びました。モデルが持つ意味合いをヒトのどの様な病態に当てはめることが可能かの見極め、薬物の用量の妥当性検証などです。

余談ですが、スタンフォード大学では、術後のラットは専用の地下通路を使って動物専用の集中治療室に集められ翌朝まで管理されていました。ラットの状態が悪くなると夜間でも自宅に電話が来て対応を尋ねられるという状況で、徹底した動物保護とそのためのシステムに驚きました。

動物実験の創意工夫

最近では遺伝子改変マウスが比較的入手しやすい、あるいは

クリエイティブ・コモンズ 表示 4.0 国際 ライセンス

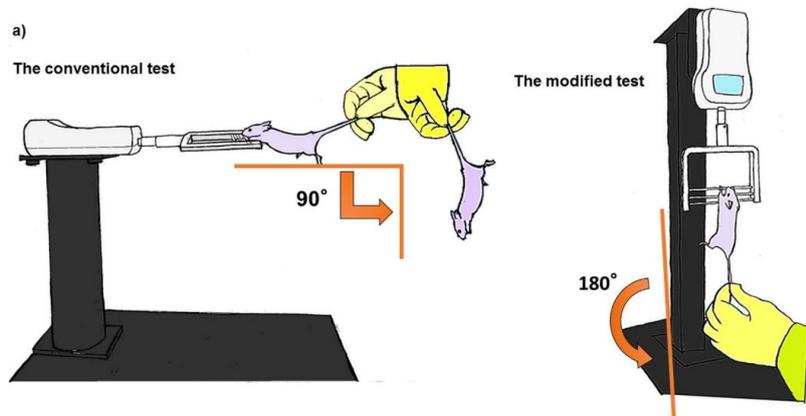


図 3. マウスの握力測定法 (左: 従来法、右: 改善法) Takeshita H, et al. Sci Rep. 7: 42323 (2017)

作製可能な状況になりましたが、その表現型の解析においては常に創意工夫が求められます。大阪大学時代の教室員の研究で感心した創意工夫を二つ紹介します。

一つは握力の測定です。マウスがバーを掴んだ状態で尾側に引っ張ってバーから前趾が離れる時の張力を測定します。オリジナルはマウスを水平に引っ張るのですが、垂直に引っ張ることで測定値のばらつきが小さくなり経時的変化を捉えることができました(図 3, Takeshita H, et al. Sci Rep. 2017)。

もう一つは脳組織を傷つけず(血液混入がない)、できるだけ多くの脳脊髄液を採取したいという目的達成のために工夫された方法です。脳槽(大槽)の表面にある硬膜に小さな穴をあけ、特殊な硬膜ポートを造設することで髄液回収チューブを安定的に固定し、ポンプで持続吸引することで持続的に脳脊髄液を回収できます(図 4, Nakajima T, et al. Fluids Barriers CNS. 2022)。

いずれも目的を達成するための必要性が生んだ創意工夫ですが、研究者にとっての必要は発明の母と言えるエピソードです。

モデル動物が示してくれることを人の病態につなげるために研究者が持つべき心として、失敗は成功の母、必用は成功の母という言葉をあげて巻頭言とさせていただきます。

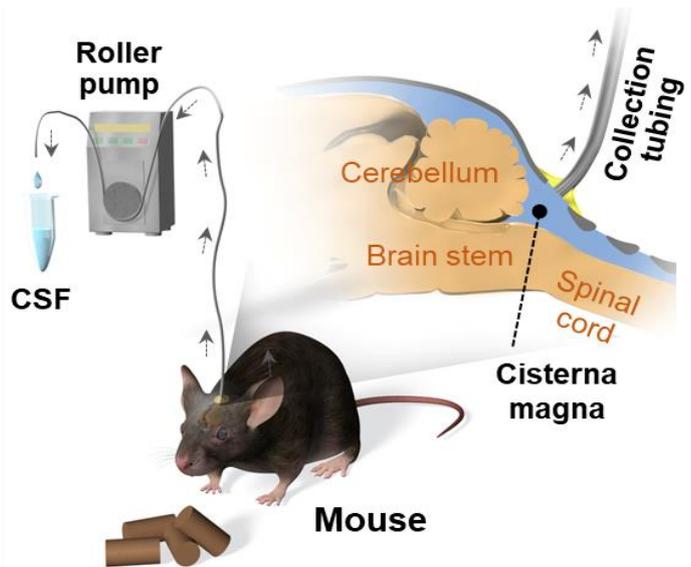


図4. 慢性硬膜ポートプラットフォーム
Nakajima T, et al. Fluid and Barriers of the CNS 19, 31 (2022)