

独立行政法人 国立循環器病研究センターにおけるミニブタの使用状況
国立循環器病研究センター
動物実験管理室 室長 塩谷恭子

1. はじめに。

独立行政法人 国立循環器病研究センターの動物実験におけるミニブタとの関わりの歴史は2000年のジャパンファームクラウン研究所の設立時にさかのぼります。

当時の研究者は実験動物としてのミニブタの解剖学的・組織学的・形態学的な人への外挿に未知数の可能性を感じ尽力し、これにより、実験動物としてのクラウン系ミニブタの安定供給への扉が開かれました。臓器移植・再生医療の研究にミニブタが最適であることから、ミニブタを対象に研究が開始されました。

そして現在、当センターにおけるミニブタの使用状況は年度の研究計画により左右されますが、年間50から100頭で推移します。実験系はそのほとんどがミニブタの利点を生かした慢性実験です。使用されるミニブタは、クラウン系、NIBS系そしてゲッチングンミニブタです。

当センターでは、画像診断医学部・再生医療部・生体医工学部・循環動態制御部という医工学部門でミニブタが使用され、医療機器開発・再生医療開発・画像診断技術開発に重要な役割を担っています。

2. 当センターにおいてなぜミニブタが必要なのでしょうか？

まず、解剖学的な心臓の形態・構造・大きさ・硬度等がヒトに類似している点、さらに心血管系の分岐・構造・血管の弾力性等が類似し、ヒトに外挿可能な血管径の血管が複数存在するかということです。

例えば、医療機器の開発について、その医療材料の段階の研究であればミニブタが研究に供されることはありません。その研究が進み、開発された医療材料によって作成された医療機器に対する研究を行う時点において初めてミニブタの必要性が生まれるのです。

ヒトのための医療機器は、ヒトに使用される大きさと実験動物での検討を始めます。このため、ステントを留置する場合等はそれを適応とするヒトと同じ径の血管が必要であり、ミニブタはその条件を満たすことができるのです。そのうえで3カ月・6か月・12か月という留置期間を必要とする慢性実験においては体重の変化の少ない、急激な成長を伴わないミニブタが最適なのです。

3. ミニブタを利用してみて。

ミニブタはとてもフレンドリー、そして温厚で担当者を認識します。また、ハンドリングしやすく、採血等もトレーニングにより無麻酔で保定・実施可能で、実験動物への複数回に及ぶ麻酔による負担も軽減できます。バスケットボールを追いかけてながら運動し、ブラシを見せればお腹を見せて横たわり、ブラッシングをねだる。ケージの洗浄時には飼育室内で自由に動き回り、担当者の掛け声と共にケージ内に帰る。このように飼養作業担当者の立場からも非常に扱いやすい、優れた実験動物といえます。ただ、物覚えも非常に優れているため注射器等の取り扱い等には十分注意が必要です。

4. 国立循環器病研究センターにおけるミニブタを使用した研究紹介。

1) . 陳旧性心筋梗塞モデルの作成

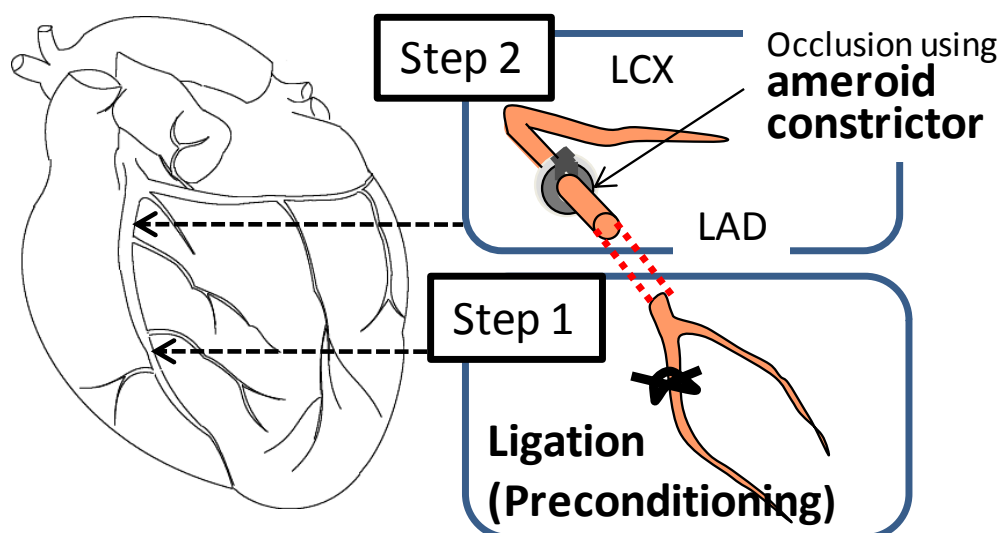
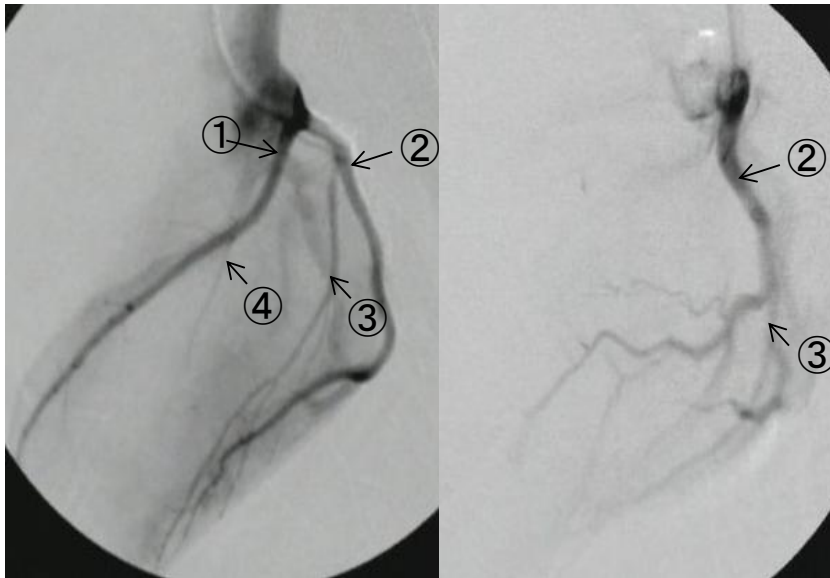


図 1

ミニブタを使った陳旧性心筋梗塞症の作成技術の概要を紹介しましょう。深麻酔・人工呼吸下で開胸します。細動を回避する preconditioning としてまず左冠動脈前下行枝末梢部 (LAD #9) の第2分枝直後を結紮します。(図1 Step1) このおよそ20分後に基枝部にアメドイドリングを装着します。(図1 step2) アメドイドリングが水分を徐々に吸収し、内側のカゼインコアが膨張することにより、中心の穴が時間をかけて、狭くなっていき、ゆっくりと血管を閉塞させてゆくことができます。この手順で心筋梗塞症作成を行うことにより、非常に高い生存率で陳旧性心筋梗塞モデルを作成することが可能になりました。(Teramoto et al., J Nucl Med, 2010)

健常ミニブタ (NIBS系)

左前下行枝閉塞後



- ①左前下行枝
- ②回旋枝
- ③鈍角枝
- ④対角枝

図 2

前述の処置に基づいて作成した陳旧性心筋梗塞症を有するミニブタ (NIBS 系) の血管造影画像を示します。左の健常ミニブタに比べて、左前下行枝基枝部 (図 2 ①) での完全閉塞が確認できます。

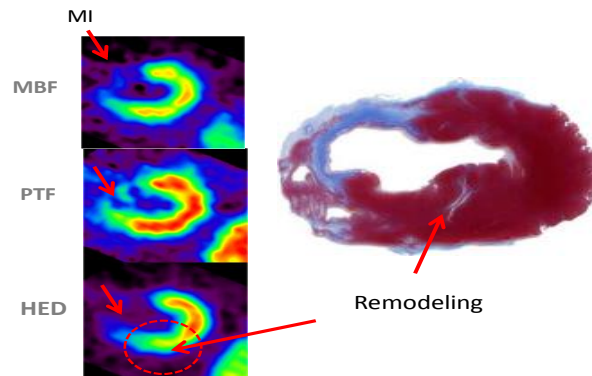


図 3

前述の処置に基づいて作成した陳急性心筋梗塞を有するミニブタ (NIBS 系) の心筋 PET 画像を示します。MBF : 局所心筋血流量画像、PTF : water-perfusible tissue fraction すなわち残存灌流組織分画、HED : ノルエピネフリン reuptake を反映する hydroxiephedrine 画像、および同スライスの HE 染色画像を示します。

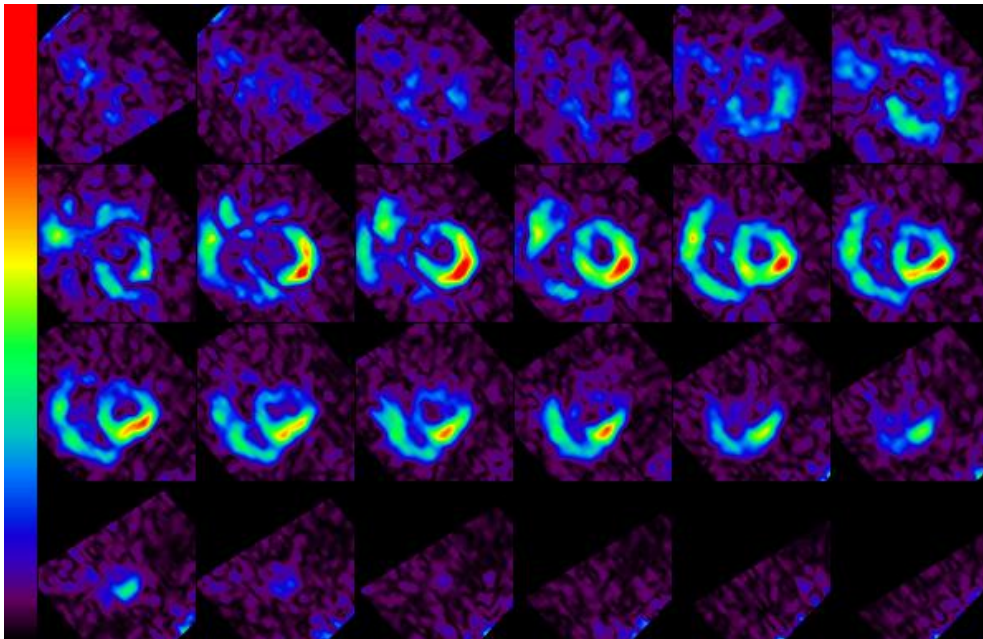


図 4

心筋梗塞作製 1 ヶ月後の梗塞部位 (PET 評価) を示します。このように、梗塞部位を PET 評価にて判定した後、それぞれの研究テーマに沿って研究を進めます。このように PET 評価を行うことにより、研究の再現性と信頼性の確保を担保できます。

2) .心筋 PET 画像の極座標表示プログラムの開発

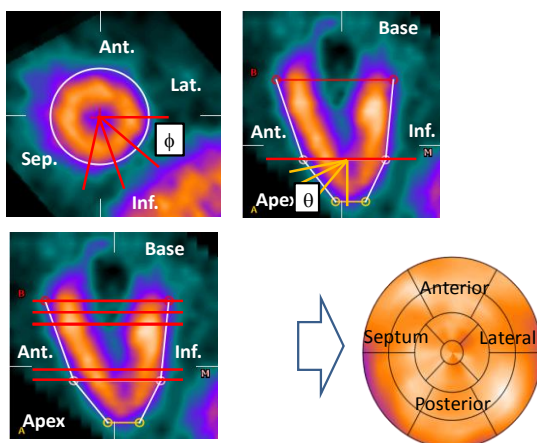


図 5

組織血流量、残存組織、交感神経機能などの有機的解析を可能にするためのプログラムの概要を紹介します。

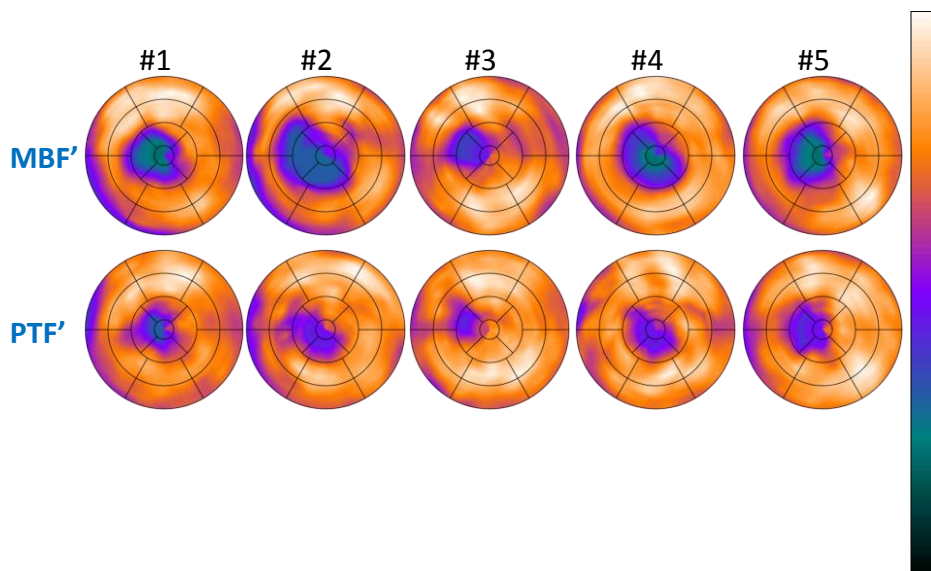


図 6

図 6 は ^{15}O -標識水と PET を用いて作成した局所心筋血流量画像 (Myocardial Blood Flow, MBF、上図) と灌流組織分画画像 (Water-Perfusible Tissue Fraction, PTF, 下図) です。心尖部における血流量低下領域は概して残存組織欠損領域よりも広いことが確認できます。MBF 画像の変化から血流改善治療の効果が評価でき、また PTF 画像の変化から梗塞領域の改善効果が判定できます。PET 検査の中では比較的検査時間が短く、また炎症などの影響を受けにくいので急性期から慢性期疾患のモデル動物病態評価に応用できる点が利点です。

- 3) . ミニブタ羊膜由来 MSC シート作成と
ミニブタ羊膜由来 MSC シート移植

ミニブタ羊膜由来MSCシート作製

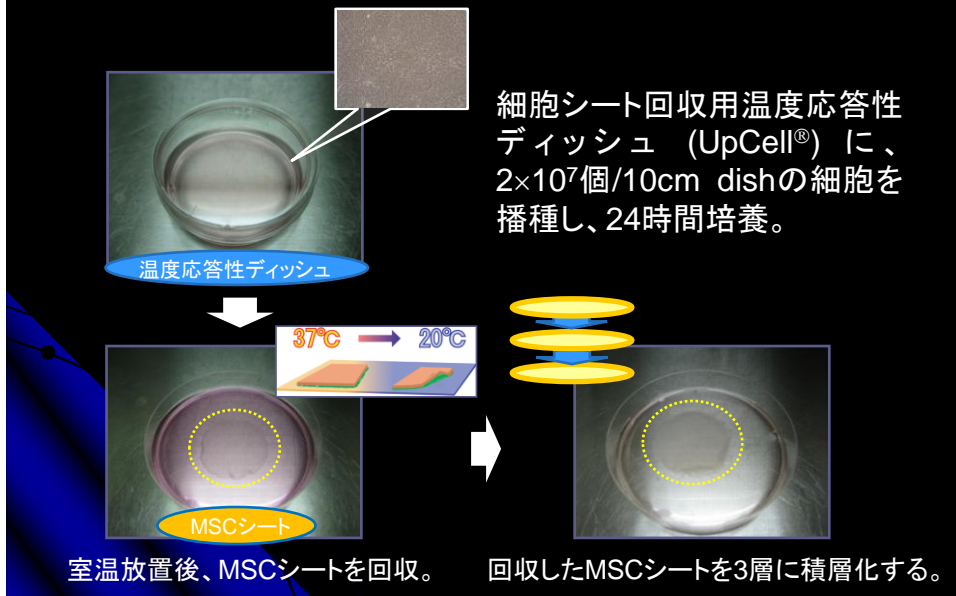


図 7

ミニブタの羊膜より MSC シートと図 7 の要領で作成します。
作成したミニブタ羊膜由来 MSC シートを 1) で紹介した陳旧性心筋梗塞症作成後 4 週間経過したミニブタに移植し、3 か月間、PET・エコー・心臓カテーテルによる心機能改善効果の評価等検討します。(図 8)

ミニブタ羊膜由来MSCシートの移植

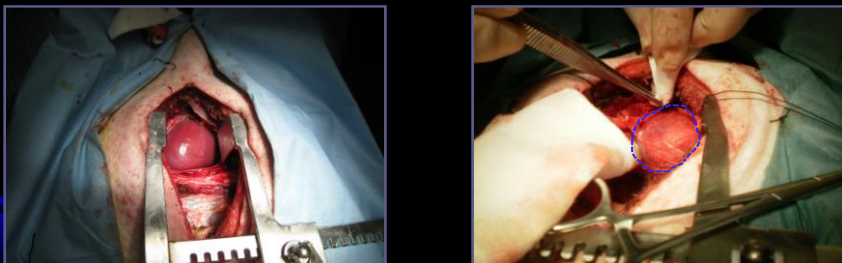


図 8

さらに前臨床試験として、左冠動脈結紮による急性心筋梗塞モデルに対する血管新生治療の確立として、核酸医薬品による血管新生促進や生理活性ペプチドによる血管新生促進に対する研究を開始しています。

左冠動脈狭窄による虚血性心不全モデルに対する心筋再生治療の確立として間葉系幹細胞の心筋内移植に対する研究、間葉系幹細胞由来細胞シートによる心筋再生等もミニブタを対象として研究しています。これらの技術はヒトへの適応へと発展しています。

また、高コレステロール・高脂肪負荷食を給餌することにより、動脈硬化を発症させて研究に使用することもあります。この場合には体毛への着色や体表のウェット化を伴うため、飼養技術者の負担は増加しますが、ヒトの動脈硬化像に近い状態を呈します。この状態からステント・人工血管等の研究開発に展開してゆきます。

このようにステント・人工弁等の医療機器の研究開発や、再生医療の前臨床試験、病態判定基準の策定研究などに幅広くミニブタが利用されています。

5. 国立循環器病研究センターにおける実験動物としてのミニブタの今後。

このようにさまざまな研究開発からトランスレーショナルリサーチにミニブタは非常に重要な役割を担っています。このことから、今後当センターにおけるミニブタの需要は高くなることが予想されます。しかしながら、著しく成長はしないというものの体重は40から60kgあります。実験動物の管理と使用に関する指針の第8版では体重50kgまでで1.35m²、50kg以上100kgまでで2.16m²を推奨値とされています。既存の限られた飼育スペースをいかに有効に使用するか、研究数を積み重ねるためには研究者の研究計画の立て方も重要になります。

さらに業界の皆様にはミニブタの安定供給にご尽力いただきますよう、心よりお願いいたします。誠に勝手なお願いですが、口蹄疫の教訓として、同系統のミニブタが異なった複数の地方の生産所で生産され供給を維持できる体制の確立を検討していただければと思います。

トランスレーショナルリサーチ研究と臨床の橋渡しのみならず、実験動物とヒトの橋渡しとしてミニブタが今後さらに発展することを希望いたします。