

実験動物の開発—特に遺伝学的手法について

永 井 次 郎

Animal Research Institute, Agriculture Canada, Ottawa, Canada

はじめに

実験動物について考える場合には、第1に研究の目的に適した実験動物を開発し、改良する。第2には新しく開発・改良された動物を維持し、生産する。第3には実験動物をうまく利用するの3つの場面がある。平たく言うならば、「つくる」、「ふやす」、「つかう」ということになる。開発・改良すなわち「つくる」場合には、遺伝・育種学的知識が必要であり、生産すなわち「ふやす」場合には繁殖、飼養、衛生、飼育管理などの知識が必要である。利用するすなわち「つかう」場合は実験計画や各種の動物実験法の知識を必要とする。本日、話を進める主な内容は、実験動物の開発、特にその遺伝的手法を中心とするが、「つくる」話だけではなく、「ふやす」、「つかう」話についても若干ふれてみたい。遺伝・育種、または、遺伝の開発というと、とかく統計数式がでてきてわかりにくいとみられているが、むつかしくないように、できるだけわかりやすく話したい。

つ く る

つくる場合にまづ考えなければならないことは、表現型 (phenotype) と遺伝子型 (genotype) との関係である。表現型とは実験動物が示す各種の反応値のように、われわれが目で確認できる外部に表現される形質であり、遺伝子型とは表現型を決定するとみられる遺伝子の型である。もちろん外部から確認することはできない、表現型より推定されるものである。実験動物の開発を進める場合、表現型と遺伝子型とが100%関係するときには、問題は簡単である。例えば、マウスの毛色のalbino, black, brown, agouti などの質的形質 (非連続的変異形質) は表現型と遺伝子型とが100%関係するから、表現型で選抜してゆけば遺伝子型も同

時に選抜され、目的とする動物を開発することが可能である。ところが、体の大きさ、体重、産子数、乳量、血液中のコレステロール、インターフェロンの産生量などの量的形質 (連続変異形質) では、表現型と遺伝子型とが100%関係しているとは考えられない。従って、この場合には、われわれは表現型 (P) の決定は遺伝子の効果 (G) と環境の効果 (E) を考える。すなわち、 $P = G + E$ を考える。この場合の環境とは温度、湿度、飼料、音、光、その他の飼育管理環境を考える。

つくる場合の材料としては、実験動物の近交系、雑種系 (F_1)、クローズドコロニーなどある。実験動物をつくる過程においてミュータント (突然変異系統) が出現するが、これも遺伝の開発の材料となる。

つくる場合に、さらに検討しておくことは、実験動物についての特徴を整理しておくことである。特徴は、特性、形質、能力ともよばれるが、各種実験動物の特徴を予めよく調べておくことが大切である。特徴がわかればそれらの長所と欠点がわかり、開発・改良の方向が明確となる。

つ く り 方

古い時代に行なわれてきた「つくり方」の方法としては、動物について特徴を調べ、すぐれた個体をみつけ、それらを交配し、子を生ませるといった方法が毎世代くりかえされてきた。しかし、新しい方法としては、第1に、開発目標を予め決定する。例えば、インターフェロンの産生量の多いハムスターとか、インターフェロン産生量についてハムスター集団のバラツキ (分散variance) を小さくするとか、成長が速いとか、産子数が多く、離乳率が高いとか、具体的目標を設定することである。第2には、開発目標にあげた特徴が遺伝形質であるかどうか、さらに、遺伝支配の割合を検

討することである。第3には、つくり方をデザインすることである。すなわち、材料、選抜の方法、選抜を進める過程での有効な交配方法などについて検討し、計画することである。第4には、遺伝改良を進めた結果について予測することである。すなわち、何世代進めたならば、どの程度の遺伝的改良をすすめることができるかを予測することである。古い方法ではやっていればなんとかなるであろうといった考えがあったが、新しい手法では、開発が計画的に進められると同時に、遺伝的改良の結果を予測するということが可能となった点があげられる。最近、Biotechnologyに関連して、新しい手法が検討され、開発されてきている。

ふ や す

ふやすということは、中核となるストックを維持しながら、実験に使用するための実験動物をふやすことである。この意味において、このストックは生産系、繁殖系とも考えられる。動物の繁殖率は種、品種、系統によってかなり異なるので、動物をふやす場合には、実験動物の繁殖率を十分に検討しておく必要がある。

また、繁殖する動物について考えなければならないのは、その動物に、ある特徴を常に維持させながらふやしていくのか、それともその特徴はあまり問題にせず、一般的能力（例えば強健性、飼料効率など）の高いものを維持させ、ふやしていくかということである。両方の特徴を同時に維持させ、これを生産していく場合には、そのための繁殖方法があったとしても経済的に負担が大きい場合には、それぞれの特徴をもった系統を維持し、必要に応じてこれらの系統を交配し、実験に使用する動物を作出することになる。

実験動物の生産方式は、第1に需要に応えるものであり、更に経済的でなければならない。動物の種類、数量、品質、その他の要求に応えるもので、効率よく生産できる生産方式が必要である。

子をふやすということは同時に親の遺伝子型を評価することである。すなわち、仔の能力が揃ってすぐれている場合には、その仔の両親の遺伝子型はすぐれている。逆に、仔の能力が揃って劣っている場合には、その両親の遺伝子型も劣ってい

るということである。仔についての記録や資料を分析し、両親の遺伝子型を評価し、遺伝的にすぐれた子孫を残す親について検討する必要がある。「ふやす」という計画をくりかえす過程で「つくる」ということもあわせて考え、検討することが大切である。

つ か う

動物を実験に使用する場合、まず動物の単価が低いこと、さらに、その動物が使いやすいことが要求される。また、動物を使用する場合、特定の系統を必要とするのかどうか、特性をよく把握して使用することが大切である。

個体群にみられる反応値は、特性値として、平均値とばらつき（分散）で表わされる。先に述べたように、反応値(P)＝遺伝子型(G)＋環境の効果(E)で表わされる。もしGとEが相加的に働くとすれば、反応値の分散 V_P 、遺伝分散 V_G 、環境分散 V_E の間の関係は $V_P = V_G + V_E$ となる。実験の精度と関係して、動物実験を行なう場合、その動物がどのような遺伝制御を受けているのか、環境制御されているのかということが問題となる。たとえば、ある実験においてある反応を検討する場合、近交系を使用するのがよいのか、クローズドコロニーを使用するのがよいのかということを考えてみる。近交系をクローズドコロニーと比較した場合、 V_G が小さいから V_P も近交系の方が小さいとはいえず、逆に近交系の方がクローズドコロニーよりも V_P が大きい場合もある。反応値のばらつきがどの程度のものであるかをあらかじめおさえた上で、どのような遺伝制御を受けた動物をこの実験に使用すべきかを決定する必要がある。

いま単価が一定の2つの動物群(A, B)を考え、A群とB群間である特徴の平均が異なるとする。分散が小さければ両群間に統計的に有意差のあることは明らかであるが、分散が大きい場合には、A, B 2群間の差は有意でないという結論のでてくることがある。この差を有意にするには、実験精度を高めるための方策について十分検討しておくことが大切である。すなわち、使用する動物数をふやす、飼育環境条件を一定にする、さらに、動物実験条件について検討する必要がある。

インターフェロン生産のための実験動物の開発 についての遺伝学的手法

一例としてインターフェロンを有効に生産するための実験動物の開発について考えてみる。

Ball-1細胞を新生ハムスターに移殖——腫瘍塊形成——Ball-1細胞の回収——インターフェロン生産という一連の過程がある。この場合、実験動物の側からみるといろいろの問題が生じる。

A. 何故ハムスターを使用するのか、別の種は考えられないのか？

B. 何故ゴールデンハムスターを使用するのか？

C. 実験動物についてどのような維持法を採用するのか？ ここでいう維持法とは、どのような微生物制御、環境制御を行ない、どのような交配法 (inbreeding, outbreeding, crossbreeding) を採用するのかを検討する。

D. どの位、グループ間に違いがあるのか？ こゝで、グループ間の違いというのは、litter 間の違いや、父親を異にする litter 間の違いなどを用いるのであるが、これは遺伝的な違いを問題にしている。能力として腫瘍の重さ、数、インターフェロンの生産量のデータを集積し、これが家系間で違いがあるかどうかを検討する。グループ間の違いを検討するには、統計的手法として分散分析法がよい。

遺伝・育種を考える場合、まず第1にデータを集積する。第2にこれを血統 (pedigree) に対応させて分析する。第3に、そうすることにより育種的评价を推定することができる。

E. いかに、有効に系統を作成するか？ インターフェロン生産性の高い動物を効率よく生産するための選抜法、交配法を考える。

次に実験動物の開発についての遺伝的手法である遺伝率の推定、選抜効果とその予測及び選抜方法について説明する。

遺伝率の推定：表型値における遺伝の関与度を遺伝率 (heritability: h^2) といい、この値は、表型分散に対する遺伝分散の割合、即ち、 $h^2 = V_G / V_P$ で表わされる。遺伝率はある特徴の遺伝支配の割合を示すだけでなく、選抜方法の基準を与え、選抜の効果を予測させる推定値である。

選抜効果とその予測：インターフェロン生産量について、あるばらつきをもつハムスター集団を考えてみる。インターフェロン生産に対応する個体数を取り頻度分布を描くと図1 (下図) に示すよ

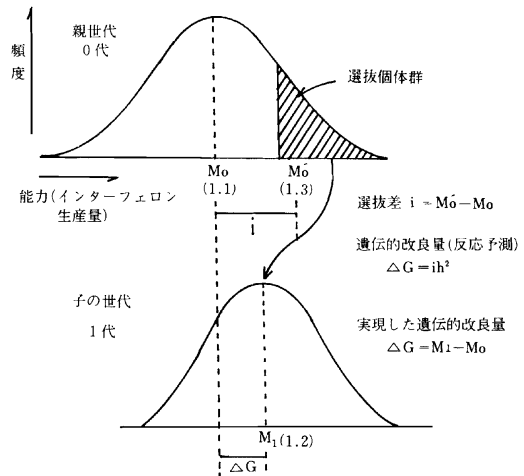


図1. インターフェロン生産における選抜の効果

うになる。いま、この集団を親集団 (繁殖基礎集団) としてインターフェロン生産量の高いハムスターを選抜する場合を考える。この集団から次代の仔をとるための選抜親集団として、ある基準値以上のインターフェロン生産量を示す個体群 (図中の斜線の部分) を選抜する。選抜前の親集団のインターフェロン生産量の平均を M_0 、選抜後の集団のインターフェロン生産量の平均を M_0' とする。次に、選抜された親集団を交配して得られた次代の子集団でのインターフェロン生産量の平均を M_1 とする。

ここで、選抜の効果は選抜前の親集団の平均から次代の子集団平均への変化として表わされる。この変化を1代当りの選抜反応 (R)、あるいは、1代当りの選抜的改良量 (ΔG) といい、 $\Delta G = M_1 - M_0$ で示される。一方、選抜反応は遺伝率と選抜差が明らかであれば、予測することができる。選抜差 (i) とは、選抜された親集団が選抜前の親集団に比べてどの程度すぐれているかを示す値のことで、 $i = M_0 - M_0'$ で示される。遺伝的改良量は、 $\Delta G = ih^2$ という関係があるので、インターフェロン生産量の遺伝率が推定され、選抜差がわかれば、次代で予測される選抜反応の期待値としての遺伝的改良量を推定できる。この値と、実際

に次代で実現した遺伝的改良量とを比較し、もし期待通りの値が得られなければ、その予測について修正を加え、1, 2代選抜をくり返すことにより、インターフェロン生産量がどの程度まで増加するかを正確に予測することができる。

図1の()内の数値はインターフェロン生産量について1代当りの遺伝的改良量を示したものである。選抜前の親集団平均 $M_0=1.1$ 億単位、選抜後の集団平均 $M_1=1.3$ 億単位、次代の子の平均 $M_2=1.2$ 億単位であったとする。実現した遺伝的改良量は、

$$\Delta G = M - M_0 = 1.2 - 1.1 = 0.1 \text{ 億単位}$$

いまインターフェロン生産量の遺伝率が $h^2 = 0.5$ とすれば、遺伝的改良量の期待値は

$$\Delta G = (M_1 - M_0) \times h^2 = (1.3 - 1.1) \times 0.5 = 0.1 \text{ 億単位}$$

この場合、期待通りの結果が得られたことになる。

選抜方法：選抜方法は個体選抜と家系選抜に大別される。こゝでは、次の3つの方法について考えてみる。

個体選抜：インターフェロン生産量を個体毎に測定し、すぐれた個体を選抜し選抜の世代を重ねる。インターフェロンを測定した個体が繁殖に使用でき、繁殖率が高く、遺伝率の高い場合に有効な方法である。

家系選抜：選抜の基準としてきょうだい平均のすぐれた家系を残し、選抜する。遺伝率の低い場合に有効である。

きょうだい選抜：各家系のきょうだいの一部を残し、残りの同腹のきょうだいについてインターフェロンの生産量を測定し、残したきょうだいについて、きょうだい平均のすぐれた家系の子を選抜する。個体毎にインターフェロン生産量を測定できない場合、測定できたとしても、その個体を繁殖に使用できない場合に有効な方法である。

先に述べた選抜効果の例は個体選抜の場合であるが、各種選抜法においてもそれぞれ選抜効果を予測することができる。選抜法の選択は、選抜目標にあげた形質を個体毎に測定できるかできないか、また、測定できたとしてもその個体を繁殖に使用できるかできないかによって決定される。図2はこの過程を模式的に示したものである。選抜

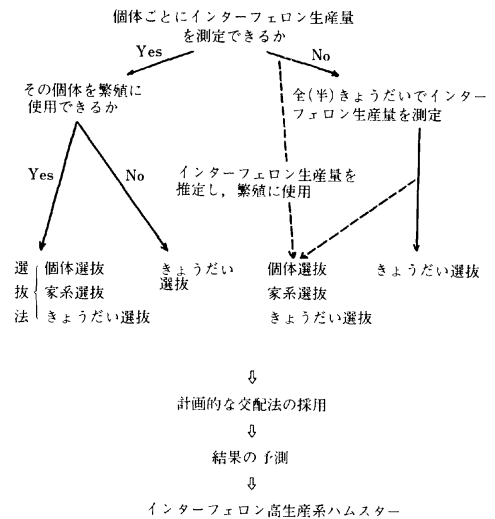


図2. インターフェロン生産量の高いハムスターの作出過程

法の選択と、計画的な交配法の採用によってインターフェロン生産量の高いハムスターを作出することができる。

以上、実験動物の開発、特に遺伝学的手法について、インターフェロン高生産系ハムスターを作出する問題を例として解説した。これには、単に「つくる」だけでなく、「ふやす」、「つかう」という面からの問題も含むことを明らかにした。今後、実験動物を開発する場合、現存する実験動物の種、系統だけでなく、目的に応じて新しい系統を積極的に育種開発していくことが重要である。

(岡山実験動物研究会会員)