

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06469

研究課題名(和文) 老化・がん化耐性ハダカデバネズミの実験動物化に関する基盤整備

研究課題名(英文) Development of a laboratory animal platform for senescence- and cancer-resistant naked mole-rat

研究代表者

中條 佳見(河村佳見)(Chujo, Yoshimi (Kawamura Yoshimi))

熊本大学・大学院先導機構・助教

研究者番号：20505044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ハダカデバネズミはマウスと同程度の大きさながら、老化・がん化耐性を持つ最長寿命齧歯類(最大寿命37年)であり、新規の老化・がん化予防法開発のための実験動物としての需要が、近年急速に高まっている。しかし、ハダカデバネズミは繁殖個体が限定される真社会性動物であるため、繁殖効率が低く、また、野生動物であるため微生物学的統御がなされていない・遺伝的均一性が不明といった問題があり、いまだ個体を扱った研究の普及には程遠い状況にある。本研究では、ハダカデバネズミを実験動物として広く普及させるために、微生物学および遺伝学的統御、繁殖法の改善などの実験動物化に関する基盤整備を目的として研究を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ハダカデバネズミは老化・がん化耐性という有用な特徴から、使用を希望する研究者が非常に増えている状況である。本研究課題で実施した微生物学および遺伝学的統御、繁殖法の改善により、ハダカデバネズミの実験動物化への基盤整備が可能となった。今後、より多くの研究者がハダカデバネズミ研究に参入することが可能となり、社会的関心の高い抗がん化・抗老化研究の全国的な発展が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：The naked mole-rat is the longest-lived rodent with a maximum lifespan of more than 37 years, although its body mass is similar to that of the laboratory mouse. Because the naked mole-rats exhibit a delayed aging phenotype and cancer resistance, they are recently drawing attention as experimental animals for the development of new anti-aging and cancer prevention methods. However, naked mole-rats are eusocial animals with low reproductive efficiency due to their limited number of reproductive individuals. Moreover, because they were relatively recently captured from the wild, there is no microbial control and genetic uniformity is unknown. In this study, we conducted research on the microbiological and genetic control and improved breeding methods to make the naked mole-rat as a widely used laboratory animal.

研究分野：発生工学

キーワード：ハダカデバネズミ 実験動物

1. 研究開始当初の背景

ハダカデバネズミ (Naked mole-rat、デバ、図 1) は、アフリカに生息し、哺乳類では極めて珍しいアリやハチに似た真社会性をもつ小型の齧歯類である。マウスと同等の大きさながら異例の長寿 (最大寿命 37 年) であり、加齢に伴う死亡率の上昇が認められず、生存期間の約 8 割の間は老化の兆候 (活動量・繁殖能力・心血管機能の低下等) を示さない、老化耐性哺乳類である。さらに腫瘍形成がほとんど確認されていないがん化耐性の特徴をもつ (Buffenstein et al., J. Comp. Physiol, 2008, Ruby et al., eLife, 2018)。これらの特徴からデバは、新しい観点からの老化・がん化予防方法の開発のための新たな実験動物として非常に有効である。

長寿命(最大寿命37年)
老化耐性・発がん耐性



図 1.ハダカデバネズミ(デバ)

我々の研究室は、2011 年からデバの飼育を開始した日本で唯一の飼育・研究機関であり、現在約 1000 匹 (2022 年現在) を維持・繁殖している。申請者らは、デバ iPS 細胞特異的な腫瘍化耐性機構や (Miyawaki, Kawamura, et al., Nat. Commun., 2016)、デバ特異的な細胞死による老化細胞除去機構 (Kawamura, et al., リバイス中) などを発見してきた。世界的にも、ゲノム解読が完了し (Kim et al., Nature, 2011)、デバ細胞が分泌する高分子ヒアルロン酸が細胞の形質転換耐性に寄与しているという報告 (Tian et al., Nature, 2013) 等がなされており、デバは新たな抗老化・抗がん化方法開発のための重要なツールとなってきている。しかしながら、現在行われているデバ研究は、培養細胞レベルの解析や、次世代シーケンスを用いた *in silico* 解析が大半を占めており、個体に直接介入した実験はいまだ数少ないのが現状である。その主な原因として、まず、デバの飼育・繁殖が難しいこと、さらに繁殖個体が女王・王のみに限られる真社会性の繁殖様式 (図 2)、SPF 化や発生工学的技術基盤が全く確立されていないことが挙げられる。世界的に見てもデバの繁殖に継続して成功している研究室は限られており、さらには 2005 年の法改正により野生齧歯類であるデバを輸入することは実質不可能になった。これらのことから、我が国でデバ研究を推進するためには、日本中の研究者がデバを簡便に実験動物として扱えるように基盤技術を整備することが必須である。

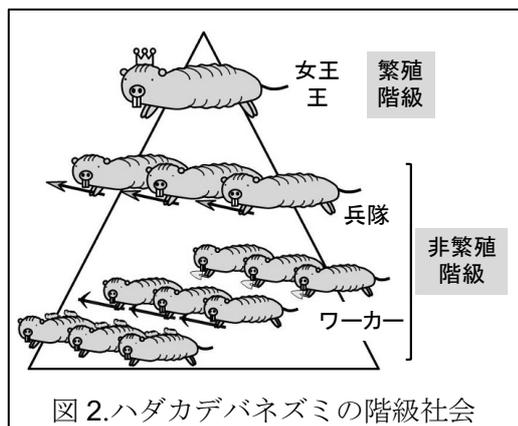


図 2.ハダカデバネズミの階級社会

2. 研究の目的

本研究では、老化・がん化耐性齧歯類であるデバを実験動物として広く普及させることを目的に、抗生物質による微生物学的統御、遺伝学的統御を目標とした遺伝的均一性の評価、ならびに繁殖効率を上昇させるための技術開発を行った。

3. 研究の方法

(1) デバへの抗生物質投与

メトロニダゾールを含む抗生物質カクテルを細断した野菜類に混ぜ、デバに経口摂取させた。

(2) マイクロサテライトマーカー解析

Ingram, et al., *Mol Ecol.*, 2015 および Chau, et al., *Zoo Biol.*, 2018 で報告された 18 種のマイクロサテライトマーカープライマーを作製した。デバの尾部や皮膚から組織を回収し、ゲノム抽出、genotyping を行った。

(3) 排卵時期の決定とホルモン投与による排卵誘導法の開発

ヒト診断用のイムノアッセイ装置を利用して尿中の性ホルモン変動を解析した。また、ホルモン投与を行い、それに伴うデバの性ホルモンの変動を解析し、排卵の有無を卵管および子宮灌流により検証した。また、ホルモン投与による卵巣の形態変化を調べるために、パラフィン切片を作製、HE 染色を行い解析した。また、排卵誘導後の交尾行動を調べるために膣スミアの採取・観察を行った。

4. 研究成果

(1) デバへの抗生物質投与

デバは HEPA フィルターを通した空気を循環し、陽圧に維持されている清浄環境で飼育している。しかし、微生物モニタリングの結果、唯一消化管原虫が陽性となっており、動物施設にある解析機器の使用や、他施設への個体の譲渡に支障をきたしている。そこで、ニトロイミダゾール系薬剤のメトロニダゾールを、食餌に混ぜて経口摂取させた。その結果、5 日を経過したところで体重が 20% 以上低下したため、投与を中止した。デバとこれらの原虫が共生関係にある可能性も考えられることから、抗生物質投与による駆除は困難である可能性が考えられた。

(2) マイクロサテライトマーカー解析

実験動物において遺伝的統御がなされていることは、研究の再現性の上で非常に重要である。デバは真社会性で近親交配を行うため、コロニー内の血縁度が高いことが報告されていた (Reeve, et al., *PNAS.*, 1990) が、近年、デバの生息域にある Athi 川 (アフリカ) の南部と北部で遺伝的多様性に差があり、近親交配によって血縁度が上昇している可能性に疑問が呈された (Ingram, et al., *Mol Ecol.*, 2015)。我々のデバは岡ノ谷一夫研究室、上野動物園ならびに埼玉県こども動物自然公園から譲渡していただいたものであるが、そのルーツがアフリカのどの地域であるかは不明である。また、今後デバの発生工学的技術基盤を整備するために胚移植法の開発も検討しているが、その際ドナーおよびレシピエントと移植胚由来産仔の親子関係を明らかにするためにも遺伝的多様性を解析する必要がある。そこで、コロニー内およびコロニー間の遺伝的多様性を知るために、マイクロサテライトマーカーを用いた解析を行った。

既報にあったマイクロサテライトマーカーを検出するプライマーのうち、遺伝的多様性をよりよく反映していると考えられる 7 種を検討した。その結果、4 つのプライマーについて本研究室のデバで多様性が見られた。また、アメリカから譲渡されたデバについても違いが見られた。胚移植実験を行う際には、マイクロサテライトマーカーに差のあるデバ同士を使用すると良いと考えられる。

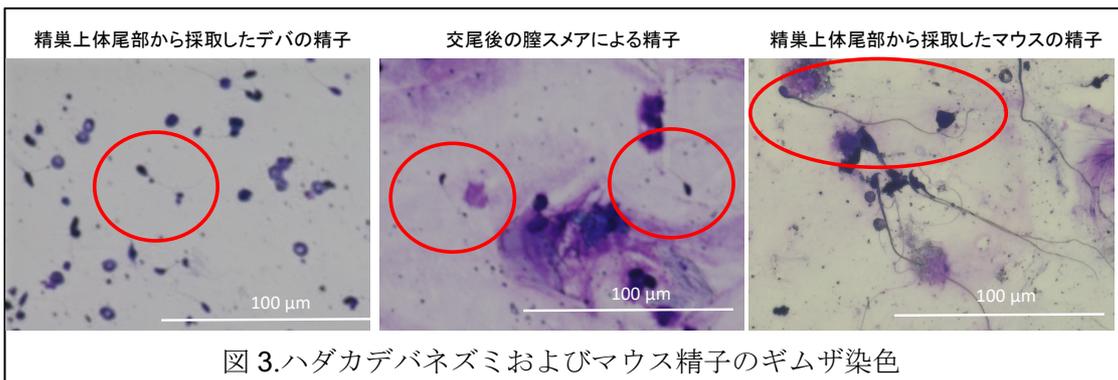
(3) 排卵時期の決定とホルモン投与による排卵誘導法の開発

デバの性周期は約 34 日と非常に長いため、解析や介入操作が困難である。そこで性周期を人為的に同期化することで、計画的な研究の実施が可能になると考えた。まずデバの性周期

を把握するために、短時間でホルモン濃度を測定できるヒト診断用のイムノアッセイ装置を用いて、尿中性ホルモン濃度の変化をリアルタイムで測定する系を立ち上げた。

排卵時期を決定するために、上記ヒト診断用のイムノアッセイ装置を利用して尿中の性ホルモンを測定した結果、周期的な変動を検出できた。さらに本装置は即日に結果が得られるため、ホルモン変動をリアルタイムで解析することができた。しかし、正確な排卵時期を決定するために重要な Luteinizing Hormone (LH) サージは検出できなかった。ハダカデバネズミはマウス、ラットよりモルモットに近い齧歯類であるため、モルモット用の LH 検出 ELISA kit や既報 (Faulkes, et al., J Reprod Fertil., 1990) にあるような LH bioassay 法も検討したが、検出に数日を要するため、リアルタイムでのホルモン解析には不向きであることから、これらの方法は断念した。

また、ハダカデバネズミの精子を観察するために、雄の精巢上体尾部から精子を採取した結果、精子の運動能が低いことがわかった。これはこれまでの報告 (van der Horst, et al., BMC Evol Biol., 2011) と一致する。また、マウスと比較して尾部が非常に細く短くなっており、ギムザ染色した際の視認性が著しく低いことがわかった (図 3)。これまでに交尾行動後の雌ハダカデバネズミの膣スミアをギムザ染色した際に、精子を見つけることができなかったが、今回の結果をもとに詳細に観察したところ、ごく少数の精子が含まれていることが判明した (図 3)。少ない精子でどのように受精を実現しているのか非常に興味深いが、



交尾の判定に膣スミア法を用いることは観察に時間がかかりすぎることから困難であると考えられる。今後、交尾の判定にはビデオ撮影などのシステムを立ち上げる必要がある。

この他、飼育法やオスメスのお見合い方法の検討、ホルモンによる刺激などでデバの繁殖効率が改善し、3年間で個体数を約 300 匹から 1000 匹へと増加させることができた。今後、デバの実験動物化を進める上で重要な成果であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Oka Kaori, Fujioka Shusuke, Kawamura Yoshimi., et al.	4. 巻 5
2. 論文標題 Resistance to chemical carcinogenesis induction via a dampened inflammatory response in naked mole-rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03241-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamura Yuki, Kawamura Yoshimi, Oiwa Yuki, Oka Kaori, Onishi Nobuyuki, Saya Hideyuki, Miura Kyoko	4. 巻 41
2. 論文標題 Isolation and characterization of neural stem/progenitor cells in the subventricular zone of the naked mole-rat brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-021-00182-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Buffenstein R, Amoroso V, Andziak B, Avdieiev S, Azpurua J, Barker AJ, Bennett NC, Brieno-Enriquez MA, Bronner GN, Coen C, Delaney MA, Dengler-Crish CM, Edrey YH, Faulkes CG, Frankel D, Friedlander G, Gibney PA, Gorbunova V, Hine C, Holmes MM, Jarvis JUM, Kawamura Y, et al.	4. 巻 97
2. 論文標題 The naked truth: a comprehensive clarification and classification of current 'myths' in naked mole rat biology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological Reviews	6. 最初と最後の頁 115 - 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/brv.12791	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Shunichi, Nohara Shizuka, Nishikawa Yuki, Suzuki Yusuke, Kawamura Yoshimi, Miura Kyoko, Tomonaga Keizo, Ueda Keiji, Honda Tomoyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Characterization of an active LINE-1 in the naked mole-rat genome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84962-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Oiwa Yuki, Oka Kaori, Yasui Hironobu, Higashikawa Kei, Bono Hidemasa, Kawamura Yoshimi, Miyawaki Shingo, Watarai Akiyuki, Kikusui Takefumi, Shimizu Atsushi, Okano Hideyuki, Kuge Yuji, Kimura Kazuhiro, Okamatsu-Ogura Yuko, Miura Kyoko	4. 巻 10
2. 論文標題 Characterization of brown adipose tissue thermogenesis in the naked mole-rat (<i>Heterocephalus glaber</i>), a heterothermic mammal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-74929-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawamura Yoshimi, Oka Kaori, Takamori Mayuko, Sugiura Yuki, Oiwa Yuki, Fujioka Shusuke, Homma Sayuri, Miyawaki Shingo, Narita Minoru, Fukuda Takaichi, Suematsu Makoto, Bono Hidemasa, Okano Hideyuki, Miura Kyoko	4. 巻 -
2. 論文標題 Senescent cell death as an aging resistance mechanism in naked mole-rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.07.02.155903	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大岩祐基, 岡香織, 河村佳見, 三浦恭子	4. 巻 72
2. 論文標題 活性酸素種による組織幹細胞の老化と長寿・老化耐性齧歯類ハダカデバネズミの抗老化戦略	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 177 - 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 河村佳見, 三浦恭子	4. 巻 52
2. 論文標題 ハダカデバネズミ 新しい老化モデル動物	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 594 - 597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山村祐紀, 岡香織, 河村佳見, 三浦恭子	4. 巻 51
2. 論文標題 ハダカデバネズミの抗老化メカニズム	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 糖尿病・内分泌代謝科	6. 最初と最後の頁 310 - 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 河村佳見, 三浦恭子	4. 巻 273
2. 論文標題 新しい老化モデル動物・ハダカデバネズミ	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 663 - 669
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 河村佳見, 大岩祐基, 宮脇慎吾, 三浦恭子	4. 巻 37
2. 論文標題 最長寿齧歯類ハダカデバネズミにおける細胞老化の機能解明に向けて	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1761 1765
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 河村佳見
2. 発表標題 Unique response of cancer- and senescence-resistant rodent "Naked mole-rat" to cellular senescence induction.
3. 学会等名 第94回日本生化学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河村佳見
2. 発表標題 Unique response of cancer- and senescence-resistant rodent “Naked mole-rat” to cellular senescence induction.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

熊本大学 大学院生命科学研究部 老化・健康長寿学講座
<https://debalab.org/>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------