

6) 筋ジストロフィーマウスおよびチキンの飼育管理と生産

- I. 筋ジストロフィーマウスの人工授精についての検討
- II. 筋ジストロフィーマウスの生産・供給
- III. 筋ジストロフィーチキンの飼育管理および生産

野村達次*

研究協力者 江崎孝三郎* 横山峰介*
倉益茂美** 梅沢英彦**

I. 筋ジストロフィーマウスの人工授精についての検討

筋ジストロフィーマウスはヒトの筋ジストロフィー症のモデル動物として重要な役割をもつものである。筆者らはマウスの卵巣移植技術などを開発するとともに、筋ジストロフィーマウスの生産方法を確立し、本症マウスの供給をおこなってきた。しかし、本症についての研究の進展にともない、筋ジストロフィーを発症した動物のみでなく、発症前の動物および胎仔が必要とされるようになった。筋ジストロフィー遺伝子をヘテロに持つオス・メスの交配によって生産をおこなった場合には、出生してくる子の $\frac{1}{4}$ がdy遺伝子を持つにすぎなく、しかもそれらの動物を発症前に正常動物と区別できないために、研究を進めるうえで大きな障害となっている。

dy 遺伝子をホモに持つ動物のみを生産するためには、筋ジストロフィーを発症しているオス・メスを交配させる必要があるけれども、性成熟に達した動物は症状が進行しているために自然交配させることは不可能である。

そこで発症マウスの卵巣を正常マウスに移植した後に、発症マウスの精子を人工授精することになる。ここで、卵巣移植技術はすでに確立されているので、今回は人工受精技術を検討した。

材料および方法

1. 正常マウスを用いた実験：ICRおよびCF#1マウスを用いた。性成熟に達したメスマウスにPMSの2~4IUを腹腔内投与し、その48時間後にHCGの4IU、を腹腔内投与して排卵を惹起させた。オスマウスの精巣上体尾部よりも採取した精子を Krebs-Ringer-Bicarbonate の修正液で精子数が約 $200 \times 10^3 / \text{mm}^3$ になるように稀釈し、この精子液の0.05~0.1mlを上記メスマウスの子宮内にHCG投与3~6時間後に注入した。精子液を注入されたメスマウスを、あらかじめ精管結紮し無精子精液となったことが確認されているオスと同居させ、交尾をおこなわせた。交尾が成立したメスについては、オスと別居し妊娠の成立、分娩などを観察した。交尾が成立しなかったメスの1部のものについては精子液注入の翌日に剖検し、受精卵の有無を観察した。

2. 筋ジストロフィーマウスを用いた実験：

*実験動物中央研究所

**日生研

dy遺伝子をヘテロにもつC57BL/6 J-dy/+メスマウスおよびdy遺伝子をホモにもち筋ジストロフィーを発症しているC57BL/6 J-dy/dyオスマウスを用いた。メスマウスに対するホルモン処置、精子液の注入、精子液注入後の観察方法などは前記1.の場合と同様である。しかし、精子液は精子数が $90 \sim 100 \times 10^3/\text{mm}^3$ になるように調整した。

実験成績

1. 正常マウスを用いた実験成績：強制排卵をおこなった34匹のメスマウスに人工授精をおこなった後、精管結紮オスマウスと同居させたところ、23匹で交尾がおこなわれ、そのうち16匹で妊娠が成立し、分娩がおこなわれた。交尾が成立しなかった11匹のうち8匹については分娩予定日まで観察したけれども妊娠は成立しなかった。残りの3例については人工授精の翌日に剖検したところ、全例に受精卵が観察された。

2. 筋ジストロフィーマウスを用いた実験成績：強制排卵をおこなった10匹のC57BL/6 J-dy/+メスマウスに人工授精をおこない、精管結紮オスマウスと同居させたところ、全例で交尾が成立した。しかし、妊娠の成立したマウスは得られなかった。

考 察

筋ジストロフィー発症前および胎生期のdy遺伝子ホモのマウスを効率良く得る目的でマウスの人工授精法を検討した。まず、基本的技術を検討するために、正常の動物を用いて人工授精をおこなった後、精管結紮オスマウスと同居させたところ、34匹中23匹(68%)に交尾が成立し、そのうち16匹(70%)が妊娠した。すなわち、人工授精をおこなった動物の約50%が妊娠した。この値は十分に高い値であるとは云えないけれども、PMS投与量や人工授精時期の検討、人工授精技術の習得を合せておこなった点を考慮すると一応満足できる値と考えられた。

交尾が成立しなかった全例で妊娠が成立しなかったけれども、剖検をした3例の全例に受精卵が観察された。このことからみて、交尾不成立の不妊は、排卵・受精の失敗によるものではなく、交尾刺げきを受けなかったために、受精卵の着床がおこなわれなかったものと考えられる。

以上の基礎的検討をおこなった後、筋ジストロフィーマウスを用いて人工授精をおこなった。精管結紮オスマウスと同居させたところ全例で交尾が成立したにもかかわらず妊娠動物を得ることはできなかった。この原因については検索中であるが、筋ジストロフィーを発症しているオスマウスから採取できる精子の数が少ないことが原因の一つであると考えられる。今後さらに検討を進めねばならない。

要 約

胎生期および発症前のdy遺伝子ホモのマウスを効率良く得る目的で人工授精法を検討した。正常マウスを用いた人工授精においては約50%の成功率で妊娠動物を得ることができた。しかし、筋ジストロフィーマウスにおいては妊娠動物を得ることができなかった。この原因は筋ジストロフィーオスマウスの精子数が少ないことによるものと考えられる。

II. 筋ジストロフィーマウスの生産・供給

前年度に引き続き筋ジストロフィーマウスを生産し各班員に供給した。なお、地方班員への動物の空輸方法について検討中であったが、輸送箱などの改良ができ、航空会社が実験動物輸送に便宜をはかってくれるようになったこと、当研究所が川崎市に移転したことなどから、航空機による地方への輸送を開始した。

胎生期および発症前のマウスについては、dy遺伝子をヘテロに持つオス・メスの交配によるものを少数供給した。dy遺伝子をホモに持つ胎仔等の作出方法は検討中である。

III. 筋ジストロフィーチキンの飼育管理 および生産

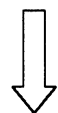
カリフォルニア大学で維持しているジストロフィーチキン(304, 200系)を入手する準備を進めていたが、家禽輸入についての検疫手続きの困難さ、先方の種卵の準備ができないなどの問題があって未だ入手できていない。し

かし、検疫手続きもようやく終り、また最近になって、カルホルニア大学で同一起源をもつ新しいジストロフィーチキンの系統(412, 413)が確立したとの連絡を受けた。そこで従来入手予定にしていた系統(304, 200)を変更し、新しい系統を輸入することにした。昭和51年3月までに輸入できる予定である。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



.筋ジストロフィーマウスの人工授精についての検討

筋ジストロフィーマウスはヒトの筋ジストロフィー症のモデル動物として重要な役割をもつものである.筆者らはマウスの卵巣移植技術などを開発するとともに,筋ジストロフィーマウスの生産方法を確立し,本症マウスの供給をおこなってきた.しかし,本症についての研究の進展にともない,筋ジストロフィーを発症した動物のみでなく,発症前の動物および胎仔が必要とされるようになった.筋ジストロフィー遺伝子をヘテロに持つオスメスの交配によって生産をおこなった場合には,出生してくる子の 1/4 が dy 遺伝子を持つにすぎなく,しかもそれらの動物を発症前に正常動物と区別できないために,研究を進めるうえで大きな障害となっている.