

糖尿病および肥満モデル動物の評価結果

1. はじめに

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社では肥満を伴う糖尿病モデル動物として ZDF-*Lepr^{fa}*/CrlCrljBKS.Cg-*Dock7^m* +/+ *Lepr^{db}*/J, Crlj:ZUC-*Lepr^{fa}*, B6.V-*Lep^{ob}*/J および C57BL/6J-DIO を国内生産しております。2010年5月に、これら動物の病態に関する指標を評価いたしましたので報告いたします。

2. 目的

病態モデル動物の特性を評価する為

3. 供試動物

マウス	系統名	一般名	雌雄	週齢	匹数	体重(g)
JAX® Mice Strain B6.V- <i>Lep^{ob}</i> /J		ob	♂	5	5	31.9~34.9
				7	15	42.8~45.8
JAX® Mice Strain BKS.Cg- <i>Dock7^m</i> +/+ <i>Lepr^{db}</i> /J		db	♂	5	5	28.1~30.1
				7	15	38.3~41.1
C57BL/6J-DIO (JAX® Mice Strain C57BL/6J に高脂肪食を給餌したモデル)		B6J-DIO	♂	5	5	17.8~20.0
				7	15	23.6~25.6

ラット

	系統名	一般名	雌雄	週齢	匹数	体重(g)
	Crlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	Zucker	♂	5	5	122~132
	ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /CrlCrlj	ZDF	♂	5	5	122~144

4. 飼育環境

・飼料

飼料名	製造元	組成		滅菌方法	給餌系統
特注飼料	オリエンタル酵母工業株式会社	粗蛋白質	19.2%	110°C, 30分 オートクレーブ 処理滅菌	ob
		粗脂肪	10.0%		
		粗繊維	2.5%		
		粗灰分	8.0%		
		可溶性無窒素	52.0%		
特注飼料	オリエンタル酵母工業株式会社	粗蛋白質	18.0%	110°C, 30分 オートクレーブ 処理滅菌	db
		粗脂肪	6.0%		
		粗繊維	5.0%		
		粗灰分	8.0%		
		可溶性無窒素	53.8%		

D12492	Research Diets, Inc.	蛋白質	20kcal%	γ 線照射滅菌	B6J-DIO
		炭水化物	20 kcal%		
		脂肪	60kcal%		
CRF-1	オリエンタル酵母工業株式会社	粗蛋白質	21.6%	107°C, 30分 オートクレーブ 処理滅菌	Zucker
		粗脂肪	5.3%		
		粗繊維	2.8%		
		粗灰分	6.0%		
		可溶性無窒素	55.7%		
Purina5008	PMI Nutrition International, Inc	粗蛋白質	23.5%	γ 線照射滅菌	ZDF
		粗脂肪	6.5%		
		粗繊維	3.8%		
		粗灰分	6.8%		
		可溶性無窒素	49.4%		

・摂餌条件

マウス：採血 16 時間前より絶食させた。

ラット：試験終了まで常時自由摂餌させた。

- ・飲水：5μm カートリッジフィルターを通過させた水道水を、紫外線照射装置によって殺菌後、自動給水装置にて自由摂取させた。

・ケージ

マウス：ポリカーボネイト製平底ケージ（株式会社夏目製作所），W220×D320×H135（mm）

ラット：ポリカーボネイト製平底ケージ（株式会社夏目製作所），W260×D420×H180（mm）

- ・ケージ当たりの収容匹数：マウス；5 匹 ラット；1 匹

- ・床敷：ホワイトフレーク

- ・温度：23°C（許容範囲：20～26°C）

- ・湿度：50%（許容範囲：30～70%）

- ・照明：6:00～18:00（明）、18:00～6:00（暗）

本試験は病態および高脂肪食給餌モデルの複数のモデル動物による評価試験になりますので、上記の飼料を含めた飼育環境情報がお役に立てば幸いです。

5. 方法

・評価週齢

6,8,10 および 12 週齢

・体重測定

電子天秤（PB3001、メトラー・トレド（株））を用いて、午前 8 時～12 時に測定した。

・摂餌量測定

電子天秤（PB3001、メトラー・トレド（株））を用いて、給餌前後の重量を測定し、動物数で除して 1 匹当たりの 1 日の平均摂餌量を算出した。測定は午前 8～12 時に行った。

・採血方法

マウス；30 mg/kg のペントバルビタールナトリウム（共立製薬株式会社）を腹腔内投与後、深麻酔下にて腹大静脈より採血した。HbA1c は EDTA-2K を適量入れた容器、その他の項目は無処理容器に採取した。また、血清および血漿の分離については、遠心分離機にて行い、HbA1c は 2,000rpm, 2 min

で分離した赤血球部分，その他の項目は 3,000rpm，10 min で分離した上清（血清）を用いた。
 ラット；無麻酔下で鎖骨下静脈より採血を行った。HbA1c は EDTA-2K を適量入れた容器，
 その他の項目は無処理容器に速やかに分取した後，血清および血漿の分離を行った。

【測定項目および測定方法】

血糖値	ヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法 ^{※1}
ヘモグロビン A1C (HbA1C)	ラテックス凝集法 ^{※1}
トリグリセライド (TG)	GPO/POD 法 ^{※1}
総コレステロール (Tcho)	CHOD/DAOS ^{※1}
LDL コレステロール (LDL)	酵素的測定法 ^{※1}
インスリン	ELISA サンドイッチ法 ^{※2}
レプチン	ELISA サンドイッチ法 ^{※3,4}

※1 自動分析装置 AU 400 (ベックマン・コールター・バイオメディカル株式会社)

※2 インスリン測定キット (株式会社森永生科学研究所)

※3 マウスレプチン測定キット (株式会社森永生科学研究所) : ob, db, B6J-DIO

※4 ラットレプチン測定キット(株式会社森永生科学研究所) : Zucker, ZDF

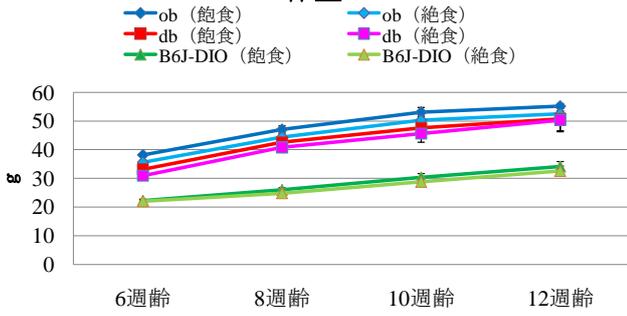
【試験デザイン】

動物種	導入時週齢	順化：1週間	飼育期間：3週間	飼育期間：5週間	飼育期間：7週間
マウス	5週齢(n=5)	6週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 全採血 (安楽死処分)			
	7週齢 (n=15)	8週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 全採血 (安楽死処分)			
		継続飼育 →	10週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 全採血 (安楽死処分)		
		継続飼育 →	継続飼育 →	12週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 全採血 (安楽死処分)	
ラット	5週齢(n=5)	6週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 部分採血	8週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 部分採血	10週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 部分採血	12週齢 (n=5) 体重測定 摂餌量測定 部分採血 (安楽死処分)

以上

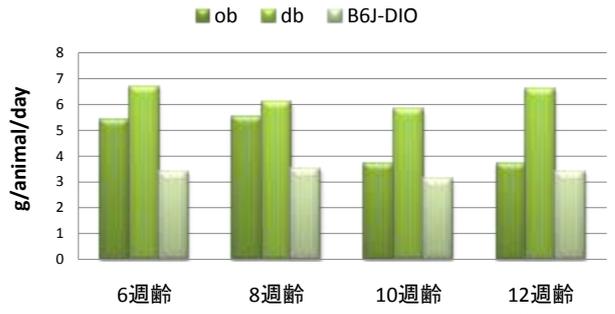
結果 (マウス)

体重



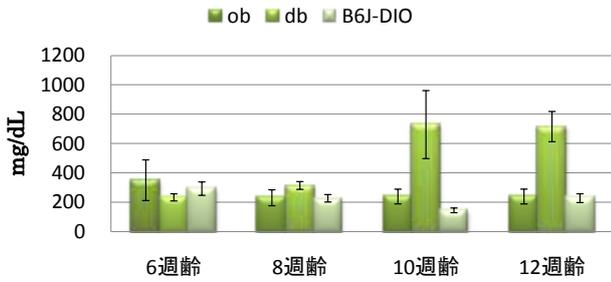
系統名	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	0.55	1.23	1.65	0.88
	絶食	0.80	1.01	1.77	1.04
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	0.71	1.74	2.91	4.08
	絶食	0.57	1.74	3.00	4.08
C57BL/6J-DIO	飽食	0.53	0.67	1.32	1.73
	絶食	0.38	0.73	1.34	1.72

摂餌量



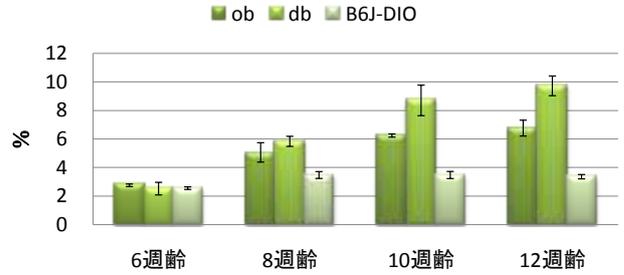
系統名	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	5.4	5.5	5	5
B6.V-Lep ^{ob} /J	絶食	6.7	6.1	5.8	6.6
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	5	5	5	5
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	絶食	3.4	3.5	3.1	3.4
C57BL/6J-DIO	飽食	5	5	5	5
C57BL/6J-DIO	絶食	3.4	3.5	3.1	3.4

血糖値



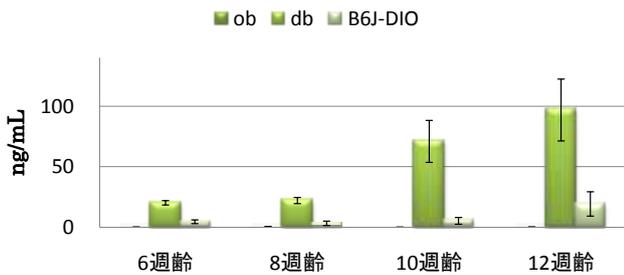
系統	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	138.6	54.3	50.0	50.6
	絶食	45.6	25.5	16.2	29.9
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	24.4	26.5	232.0	103.3
	絶食	45.6	25.5	16.2	29.9
C57BL/6J-DIO	飽食	292	226	144	227
	絶食	45.6	25.5	16.2	29.9

HbA1c



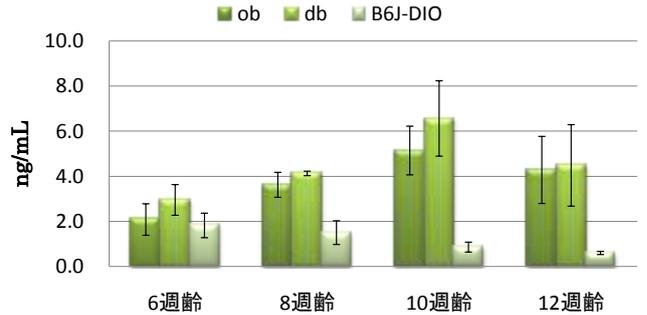
系統	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	2.8	5.1	6.2	6.8
	絶食	0.09	0.68	0.11	0.55
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	2.5	5.8	8.7	9.7
	絶食	0.44	0.35	1.07	0.69
C57BL/6J-DIO	飽食	2.6	3.5	3.5	3.4
	絶食	0.09	0.24	0.25	0.15

レプチン



系統	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	0.13	0.17	0.00	0.18
	絶食	1.81	2.56	17.35	25.56
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	20.2	22.0	70.9	96.8
	絶食	1.81	2.56	17.35	25.56
C57BL/6J-DIO	飽食	4.5	3.2	5.2	19.2
	絶食	1.58	1.82	2.80	10.04

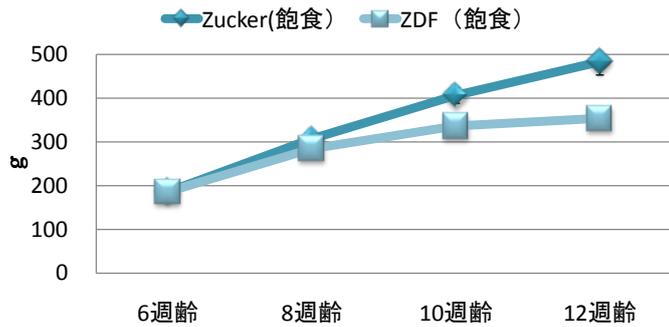
インスリン



系統	条件	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lep ^{ob} /J	飽食	2.1	3.6	5.1	4.3
	絶食	0.70	0.55	1.08	1.49
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	飽食	3.0	4.1	6.6	4.5
	絶食	0.68	0.10	1.67	1.81
C57BL/6J-DIO	飽食	1.8	1.5	0.9	0.6
	絶食	0.54	0.52	0.22	0.07

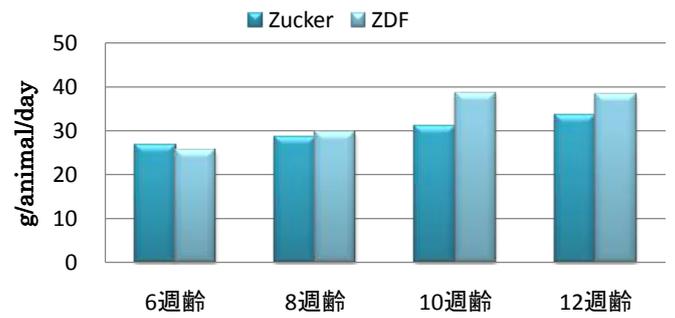
結果 (ラット)

体重



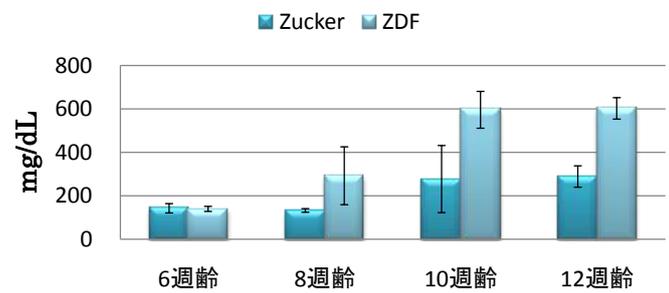
系統名	摂餌条件	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	186.4	307.4	406.4	483.6
		標準偏差	1.14	9.84	17.64	30.61
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	186.2	285.0	336.4	354.0
		標準偏差	7.33	14.02	9.71	13.06

摂餌量



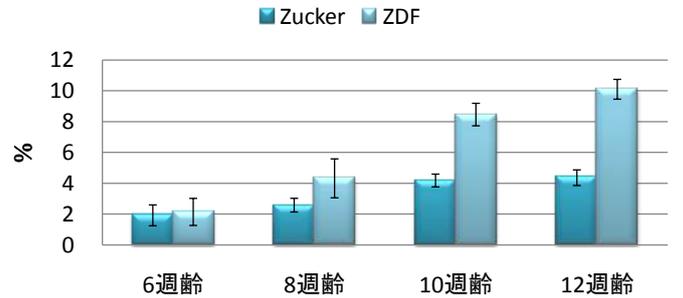
系統名	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	n	5	5	5	5
	平均値	26.7	28.6	30.8	33.4
	標準偏差	0.68	0.44	0.41	0.51
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	n	5	5	5	5
	平均値	25.5	29.6	38.7	38.3
	標準偏差	0.88	1.26	0.73	0.64

血糖値



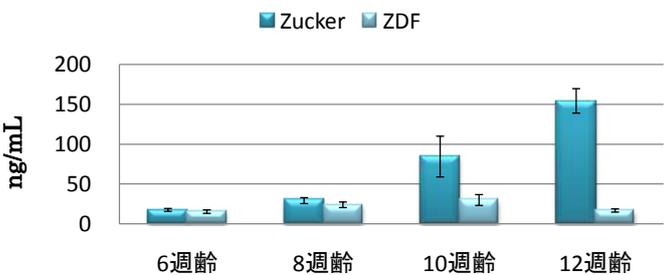
系統	条件	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	143	133	277	289
		標準偏差	21.5	8.6	154.4	49.3
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	140	293	596	603
		標準偏差	11.7	133.3	84.9	49.4

HbA1c



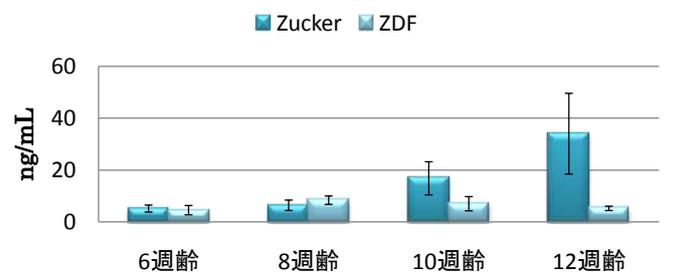
系統	条件	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	1.9	2.6	4.2	4.4
		標準偏差	0.68	0.44	0.41	0.51
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	2.1	4.3	8.5	10.1
		標準偏差	0.88	1.26	0.73	0.64

レプチン



系統	条件	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	17.4	29.0	84.4	154.4
		標準偏差	1.80	3.73	25.59	15.39
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	15.2	23.8	29.8	16.6
		標準偏差	2.18	3.51	6.83	2.07

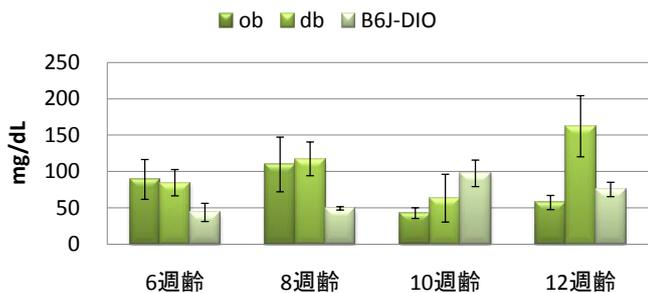
インスリン



系統	条件	項目	6週齡	8週齡	10週齡	12週齡
Ctrlj:ZUC- <i>Lepr^{fa}</i>	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	5.1	6.4	16.8	34.0
		標準偏差	1.35	2.01	6.38	15.56
ZDF- <i>Lepr^{fa}</i> /Ctrlj	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	4.5	8.4	7.0	5.2
		標準偏差	1.80	1.61	2.74	0.84

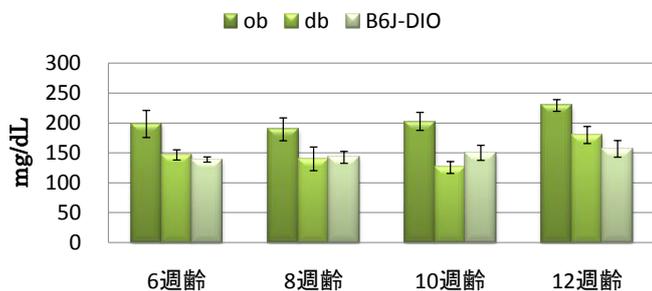
結果
(マウス)

TG



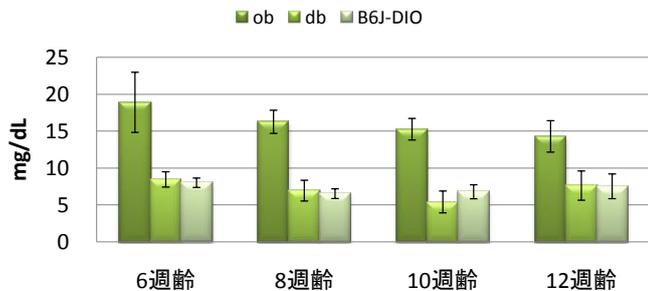
			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lepr ^{ob} /J	絶食	n	4	4	4	4
		平均値	89.0	109.6	42.6	57.2
		標準偏差	27.41	37.66	7.33	9.76
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	絶食	n	4	3	5	5
		平均値	84.5	117.3	63.2	162.2
		標準偏差	18.14	23.18	32.89	42.08
C57BL/6J-DIO	絶食	n	5	5	5	5
		平均値	43.6	49.2	97.4	75.2
		標準偏差	12.52	2.28	18.28	9.88

TCHO



			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lepr ^{ob} /J	絶食	n	4	5	5	5
		平均値	198.3	189.4	202.6	229.2
		標準偏差	22.69	19.11	15.08	9.76
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	絶食	n	4	3	5	5
		平均値	146.5	140.0	125.4	179.8
		標準偏差	8.54	19.80	9.93	14.27
C57BL/6J-DIO	絶食	n	5	5	5	5
		平均値	138.8	142.4	150.0	156.6
		標準偏差	4.38	9.94	12.59	13.89

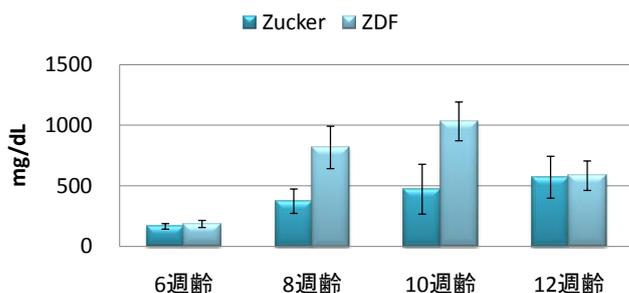
LDL



			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
B6.V-Lepr ^{ob} /J	絶食	n	4	5	5	5
		平均値	18.9	16.3	15.3	14.3
		標準偏差	4.07	1.56	1.47	2.13
BKS.Cg-Dock7 ^m +/+Lepr ^{db} /J	絶食	n	4	3	5	5
		平均値	8.5	6.9	5.4	7.6
		標準偏差	1.04	1.41	1.48	1.98
C57BL/6J-DIO	絶食	n	5	5	5	5
		平均値	8.0	6.5	6.8	7.5
		標準偏差	0.63	0.66	0.95	1.67

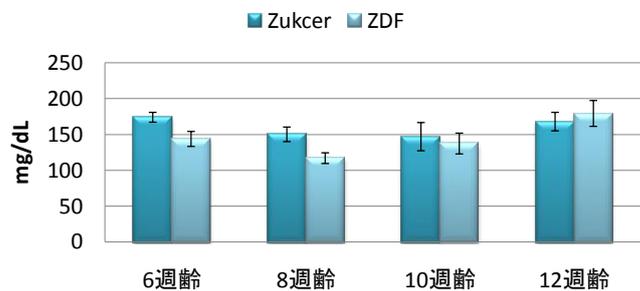
(ラット)

TG



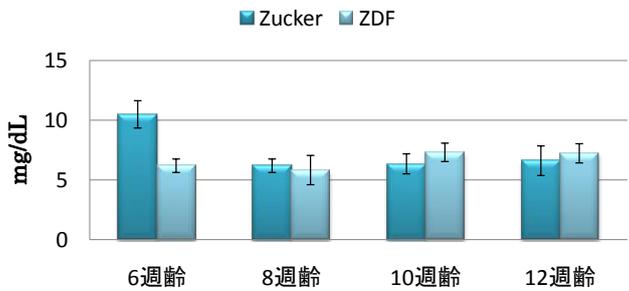
			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
Crij:ZUC-Lepr ^{fa}	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	164.6	372.6	471.6	570.4
		標準偏差	22.60	100.87	205.69	173.14
ZDF-Lepr ^{fa} /CriCrij	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	184.4	816.6	1031.4	583.0
		標準偏差	29.25	175.16	159.84	121.51

TCHO



			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
Crij:ZUC-Lepr ^{fa}	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	174.0	150.2	147.0	168.0
		標準偏差	6.89	10.18	19.61	12.92
ZDF-Lepr ^{fa} /CriCrij	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	143.8	117.0	137.4	179.4
		標準偏差	10.45	7.52	14.52	18.02

LDL



			単位: mg/dL			
系統	条件	項目	6週齢	8週齢	10週齢	12週齢
Crij:ZUC-Lepr ^{fa}	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	10.5	6.2	6.3	6.6
		標準偏差	1.14	0.56	0.84	1.24
ZDF-Lepr ^{fa} /CriCrij	飽食	n	5	5	5	5
		平均値	6.2	5.8	7.3	7.2
		標準偏差	0.56	1.23	0.77	0.80