C57BL/6J マウスを用いた高脂肪食摂取による肥満モデルの評価

― 普通食及び高脂肪食摂取時の比較 ―

2003 年 10 月

試験機関：　株式会社　メルシャン クリンテック

このデータは株式会社　メルシャン クリンテックのご好意によりご提供頂きました。

日本チャールス・リバー株式会社

表題

高脂肪食摂取による C57BL/6J マウスにおける肥満モデルの評価

目的

C57BL/6J マウスに高脂肪食摂取させ肥満マウスモデルを作製する

高脂肪食飼料調製

高脂肪飼料の組成は武田らの報告（1999 年）に従い、作製する（組成は下表参照）。普通食群には、市販のマウス用粉末飼料（MF、オリエンタル酵母工業）を用いる。

組成物	高脂肪食
牛脂	400
コーンスターチ	100
グルコース	90
AIN-76™ ミネラル混合	40
AIN-76™ ビタミン混合	10
カゼイン	360

単位：g/kg　diets

AIN-76：オリエンタル酵母工業社の組成を使用

実験動物

雄性 4 週齢の　SPF/VAF　C57BL/6J マウス（日本チャールス・リバー株式会社）を計 14 匹、8 日間予備飼育して実験に供する。マウスは予備飼育期間および実験期間を通して室温 24±3℃、相対湿度 55±15％のＳＰＦバリア飼育室（照明時間 8 時～18 時、換気回数 18 回／時）で飼育する。

マウスは 2～3 匹／ケージとし、普通飼料または上記高脂肪食飼料をマウス用粉末給餌器（CL-0920、日本クレア）にて与える。飼料の補充は週 2 回(毎週月曜日、木曜日)行う。なお、マウスを粉末飼料に慣れさせるため、予備飼育期間中に市販の普通粉末飼料を与える。飲料水は滅菌蒸留水を給水瓶で自由に与える。また、マウスの個体識別にはイヤーパンチ法を用いる。

群構成

高脂肪食摂取期間：　１２週間

動物数：７匹／群

群構成：以下に示す

群 No.	被験物質	動物数
1	普通飼料	7
2	高脂肪食飼料	7

観察および検査項目

1）一般状態

毎日１回症状を観察する。

2）体重

体重計にて体重を測定する。体重測定日は、試験開始日（0 週目）、１週後、２週後、３週後、４週後、５週後、６週後、７週後、８週後、９週後、１０週後、１１週後および１２週後とする。

3）飼料摂取量

毎週月曜日、木曜日の２回飼料摂取量を測定し、新しい飼料を補充する。飼料摂取量は、各群毎に g／day／mouse で表す。

4）糞の採取

飼育終了前日（24 時間前）にマウスを代謝ケージに入れ、試験群毎に排泄された糞の重量を測定する。測定後の糞は－30℃で凍結保存する。

5）解剖、採血および臓器重量測定

飼育終了後、各群全てのマウスについてエーテル麻酔下でヘパリン Na 添加の注射筒を用いて、心臓より採血する。採血後直ちに、遠心分離により血漿を分離し、得られた血漿は－80℃に凍結保存する。ついで、肝臓および生殖器周囲脂肪組織を採取し、生理食塩液で洗浄した後、ろ紙で水分を取り除き重量を測定する。

肝臓については、肝臓中脂質分析のためため－80℃に凍結保存する（今回の試験では保存のみ行う）。

6）血漿中脂質測定

血漿中のトリグリセライド、総コレステロールおよび遊離脂肪酸測定は、市販の酵素法によるキット（トリアシルグルセロール E-テストワコー、コレステロール E-テストワコー、NEFA-テストワコー：和光純薬工業）を用いて行う。

統計処理

得られた各種データ（飼料摂取量を除く）は群毎の平均値±標準誤差で示す。陰性対照群（群 No. 1）に対する各群の統計的有意差を検定するため、解析ソフト（Stat View, Abacus Inc., USA）を用いて検定（2 群間の検定、Student の t 検定を使用）を行い群間の比較を行う。統計的有意差は $p<0.05$ の場合を有意であるとする。

参考文献

武田忠明、錦織孝史、住吉真帆、韓　立坤、奥田拓道：サケ鼻軟骨由来コンドロイチン硫酸の抗肥満作用とその機序、日本栄養・食糧学会誌、52 (6)、381-386、1999

図1　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製（体重変化）

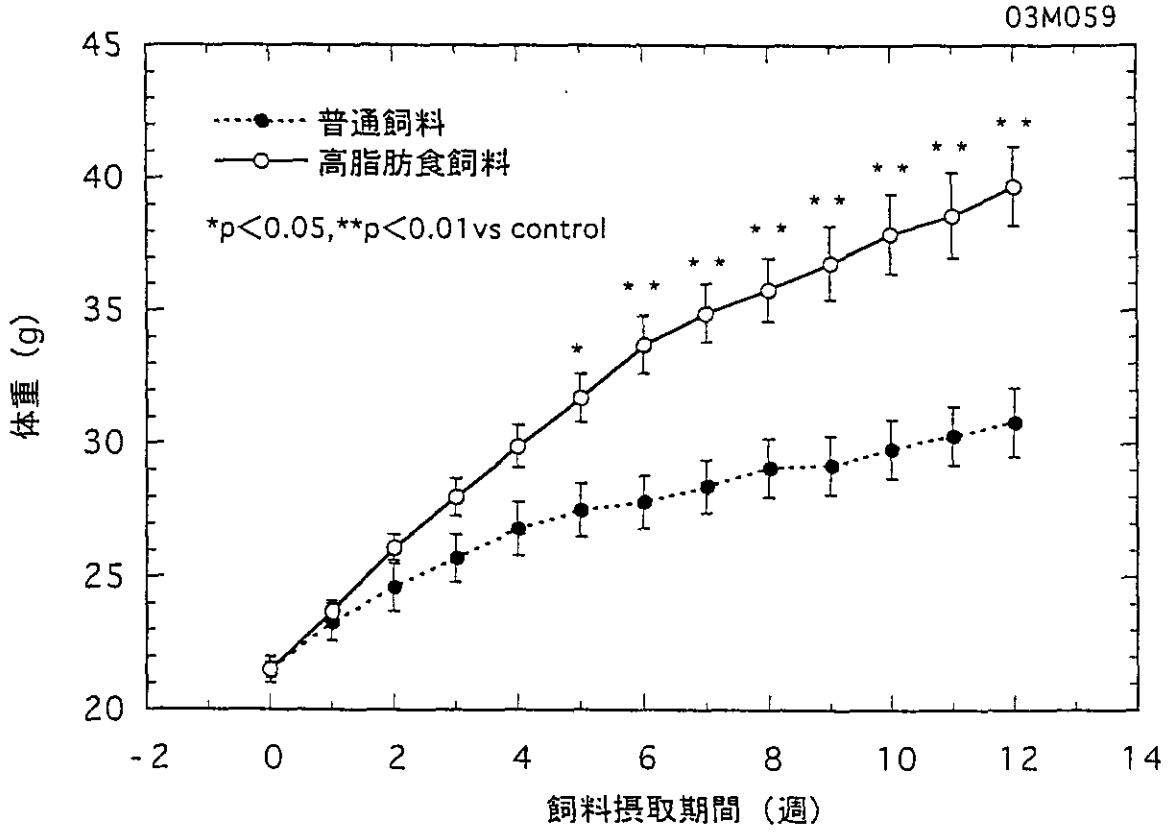

図2　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製（脂肪重量及び肝臓重量）

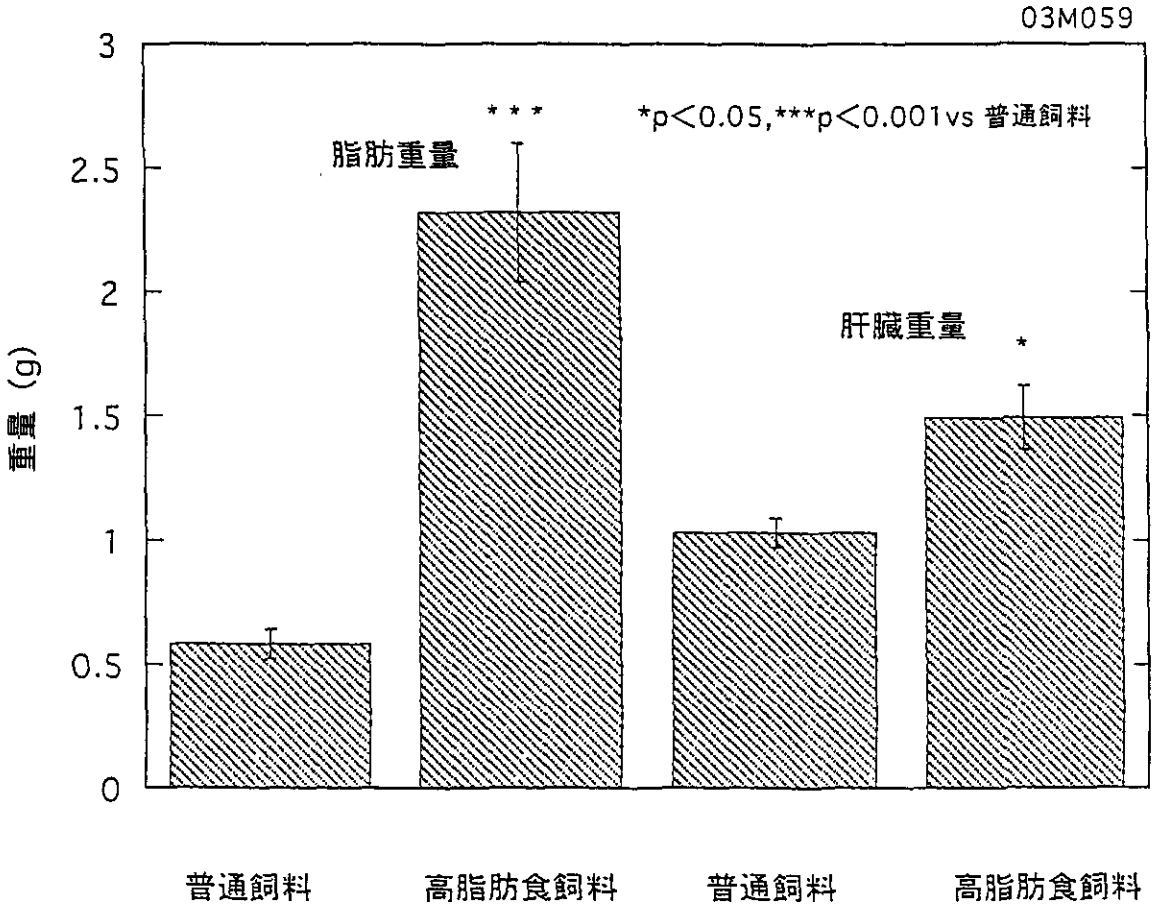

図3　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製（脂肪及び肝臓重量、相対重量）

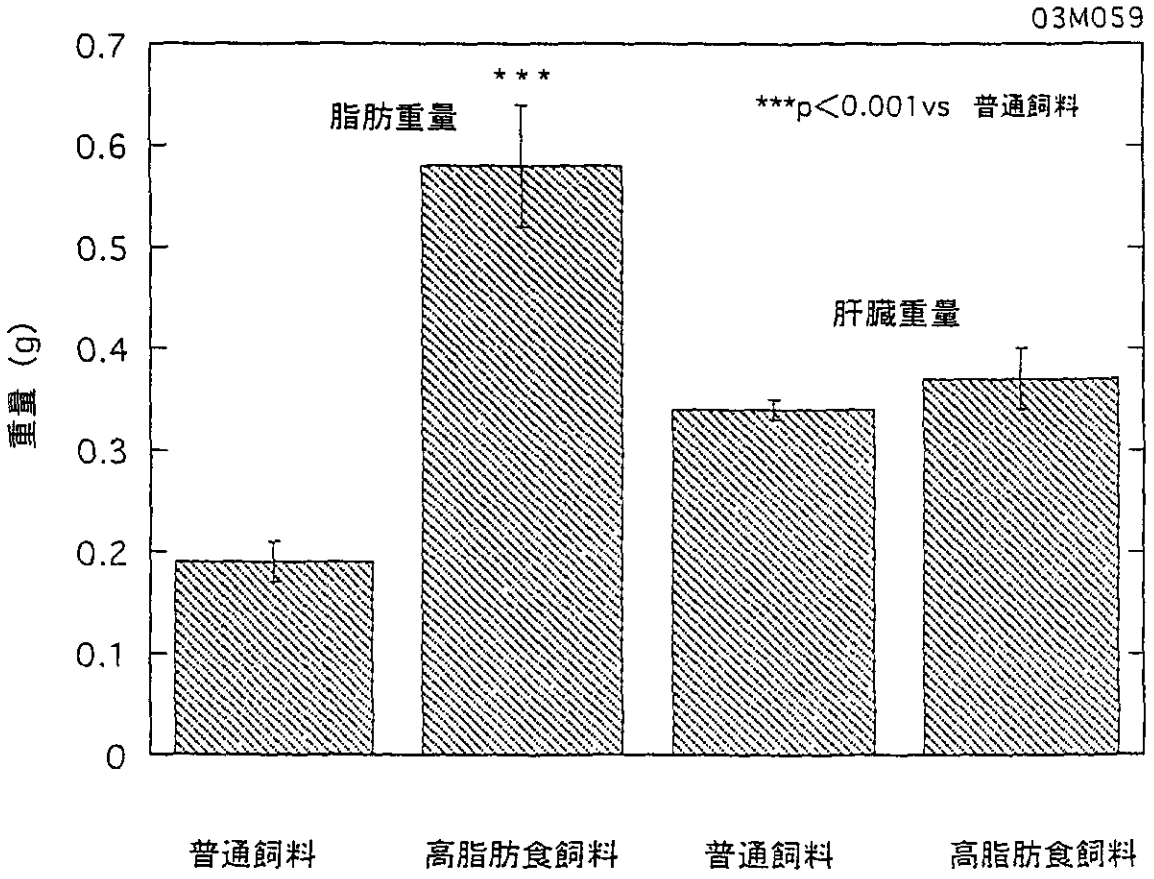

表1-1　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　（体重個別データ）

03M059

被験物質	個体番号	体重(g)							
		0 wk	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	5 wk	6 wk	7 wk
普通飼料	1-1	21.4	23.3	25.6	27.6	28.7	29.6	29.7	29.6
	1-2	22.7	24.7	26.3	26.6	27.9	29.3	29.6	30.3
	1-3	23.8	26.5	28.5	30.0	31.2	32.0	32.4	33.1
	1-4	20.0	21.7	22.4	23.5	24.8	25.4	25.8	26.1
	1-5	21.2	22.8	23.3	24.0	24.8	25.6	25.6	26.3
	1-6	21.3	23.1	24.1	25.2	26.0	26.3	26.6	27.6
	1-7	20.0	21.3	22.3	23.2	24.5	24.6	25.0	25.9
高脂肪食飼料	2-1	22.4	25.4	28.0	29.9	32.5	34.7	37.0	38.1
	2-2	20.8	23.2	25.1	26.7	28.2	30.5	33.2	33.9
	2-3	22.5	24.7	27.6	30.8	33.1	35.8	37.6	39.1
	2-4	21.0	22.8	24.9	26.6	29.2	31.3	32.7	35.6
	2-5	20.4	22.0	24.6	26.6	28.6	30.2	33.8	34.0
	2-6	22.5	24.2	27.2	28.5	29.7	30.5	31.8	32.9
	2-7	21.1	23.4	25.3	26.7	28.0	29.2	29.5	30.7

被験物質	個体番号	体重(g)				
		8wk	9wk	10wk	11wk	12wk
普通飼料	1-1	30.3	30.8	31.1	31.7	32.3
	1-2	30.8	30.9	31.1	32.1	32.4
	1-3	34.8	34.3	35.3	35.4	36.7
	1-4	27.0	27.1	27.6	27.5	27.5
	1-5	26.3	26.6	27.1	27.0	27.1
	1-6	27.7	27.6	28.0	28.8	30.0
	1-7	27.0	27.3	28.1	29.4	29.3
高脂肪食飼料	2-1	39.2	40.0	41.2	42.5	44.1
	2-2	33.9	35.0	36.0	36.1	37.8
	2-3	40.5	42.4	44.3	45.3	46.1
	2-4	37.0	38.4	39.0	39.7	40.4
	2-5	35.2	36.0	37.2	37.8	38.2
	2-6	32.0	33.8	34.3	34.4	35.4
	2-7	33.0	32.0	33.5	34.2	35.8

表1-2　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　（体重総括データ）

03M059

被験物質		体重(g)							
		0 wk	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	5 wk	6 wk	7 wk
普通飼料	Mean	21.5	23.3	24.6	25.7	26.8	27.5	27.8	28.4
	S.E.	0.5	0.7	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0
高脂肪食飼料	Mean	21.5	23.7	26.1	28.0	29.9	31.7	33.7	34.9
	S.E.	0.3	0.4	0.5	0.7	0.8	0.9	1.1	1.1
	p	NS	NS	NS	NS	NS	<0.05	<0.01	<0.01

被験物質		体重(g)				
		8wk	9wk	10wk	11wk	12wk
普通飼料	Mean	29.1	29.2	29.8	30.3	30.8
	S.E.	1.1	1.1	1.1	1.1	1.3
高脂肪食飼料	Mean	35.8	36.8	37.9	38.6	39.7
	S.E.	1.2	1.4	1.5	1.6	1.5
	p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

NS：有意差なし

表2-1　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　（飼料摂取量個別データ）

03M059

ケージNo	被験物質	項目	0.5 wk	1 wk	1.5 wk	2 wk	2.5 wk	3 wk	3.5 wk	4 wk	4.5 wk	5 wk
1	普通飼料	給餌量(風袋込み)	492	480	470	472	478	484	478	484	470	481
		残量(風袋込み)	438	435	418	437	420	441	417	436	409	442
		摂餌量	54	45	52	35	58	43	61	48	61	39
		のべ動物数	12	9	12	9	12	9	12	9	12	9
		g/day/head	4.5	5.0	4.3	3.9	4.8	4.8	5.1	5.3	5.1	4.3
1'		給餌量(風袋込み)	463	469	456	462	462	462	460	455	455	462
		残量(風袋込み)	419	430	421	439	433	437	425	432	430	442
		摂餌量	44	39	35	23	29	25	35	23	25	20
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	5.5	6.5	4.4	3.8	3.6	4.2	4.4	3.8	3.1	3.3
1"		給餌量(風袋込み)	502	483	476	482	481	491	473	477	467	474
		残量(風袋込み)	473	457	443	450	448	458	441	451	441	453
		摂餌量	29	26	33	32	33	33	32	26	26	21
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	3.6	4.3	4.1	5.3	4.1	5.5	4.0	4.3	3.3	3.5
		群平均	4.5	5.2	4.3	4.3	4.3	4.8	4.6	4.6	4.0	3.8
2	高脂肪食飼料	給餌量(風袋込み)	441	440	461	476	478	500	491	480	480	483
		残量(風袋込み)	410	420	435	453	450	477	460	455	450	461
		摂餌量	31	20	26	23	28	23	31	25	30	22
		のべ動物数	12	9	12	9	12	9	12	9	12	9
		g/day/head	2.6	2.2	2.2	2.6	2.3	2.6	2.6	2.8	2.5	2.4
2'		給餌量(風袋込み)	441	449	470	487	487	500	505	500	509	500
		残量(風袋込み)	424	438	452	473	471	486	484	486	470	485
		摂餌量	17	11	18	14	16	14	21	14	39	15
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	2.1	1.8	2.3	2.3	2.0	2.3	2.6	2.3	4.9	2.5
2"		給餌量(風袋込み)	439	442	470	487	489	506	499	497	495	507
		残量(風袋込み)	423	429	451	473	472	488	479	480	476	490
		摂餌量	16	13	19	14	17	18	20	17	19	17
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	2.0	2.2	2.4	2.3	2.1	3.0	2.5	2.8	2.4	2.8
		群平均	2.3	2.1	2.3	2.4	2.2	2.6	2.6	2.7	3.1	2.6

表2-2　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　（飼料摂取量個別データ）

ケージNo	被験物質	項目	5.5 wk	6 wk	6.5 wk	7 wk	7.5 wk	8 wk	8.5 wk	9 wk	9.5 wk	10 wk
1	普通飼料	給餌量(風袋込み)	480	480	471	477	477	481	484	484	484	486
		残量(風袋込み)	426	443	409	439	424	445	430	445	430	443
		摂餌量	54	37	62	38	53	36	54	39	54	43
		のべ動物数	12	9	12	9	12	9	12	9	12	9
		g/day/head	4.5	4.1	5.2	4.2	4.4	4.0	4.5	4.3	4.5	4.8
1'		給餌量(風袋込み)	466	455	470	470	470	470	470	470	470	472
		残量(風袋込み)	441	435	432	448	448	453	446	453	448	453
		摂餌量	25	20	38	22	22	17	24	17	22	19
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	3.1	3.3	4.8	3.7	2.8	2.8	3.0	2.8	2.8	3.2
1"		給餌量(風袋込み)	483	480	470	470	470	470	470	470	470	471
		残量(風袋込み)	454	457	443	449	443	450	442	450	445	449
		摂餌量	29	23	27	21	27	20	28	20	25	22
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	3.6	3.8	3.4	3.5	3.4	3.3	3.5	3.3	3.1	3.7
		群平均	3.8	3.8	4.4	3.8	3.5	3.4	3.7	3.5	3.5	3.9
2	高脂肪食飼料	給餌量(風袋込み)	487	475	476	470	494	495	496	493	497	495
		残量(風袋込み)	459	446	444	449	464	470	466	466	466	470
		摂餌量	28	29	32	21	30	25	30	27	31	25
		のべ動物数	12	9	12	9	12	9	12	9	12	9
		g/day/head	2.3	3.2	2.7	2.3	2.5	2.8	2.5	3.0	2.6	2.8
2'		給餌量(風袋込み)	499	506	497	491	494	494	500	496	494	495
		残量(風袋込み)	480	486	477	474	475	479	481	481	476	477
		摂餌量	19	20	20	17	19	15	19	15	18	18
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	2.4	3.3	2.5	2.8	2.4	2.5	2.4	2.5	2.3	3.0
2"		給餌量(風袋込み)	504	504	492	492	490	491	490	493	498	493
		残量(風袋込み)	485	485	471	473	471	473	468	475	479	474
		摂餌量	19	19	21	19	19	18	22	18	19	19
		のべ動物数	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6
		g/day/head	2.4	3.2	2.6	3.2	2.4	3.0	2.8	3.0	2.4	3.2
		群平均	2.4	3.2	2.6	2.8	2.4	2.8	2.5	2.8	2.4	3.0

表2-3　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　(飼料摂取量個別データ)

ケージNo	被験物質	項目	10.5 wk	11 wk	11.5 wk	12 wk
1	普通飼料	給餌量(風袋込み)	488	480	491	504
		残量(風袋込み)	424	455	446	469
		摂餌量	64	25	45	35
		のべ動物数	15	6	12	9
		g/day/head	4.3	4.2	3.8	3.9
1'		給餌量(風袋込み)	484	477	480	492
		残量(風袋込み)	457	466	453	476
		摂餌量	27	11	27	16
		のべ動物数	10	4	8	6
		g/day/head	2.7	2.8	3.4	2.7
1"		給餌量(風袋込み)	485	482	481	491
		残量(風袋込み)	451	468	456	470
		摂餌量	34	14	25	21
		のべ動物数	10	4	8	6
		g/day/head	3.4	3.5	3.1	3.5
		群平均	3.5	3.5	3.4	3.4
2	高脂肪食飼料	給餌量(風袋込み)	497	485	491	490
		残量(風袋込み)	462	462	462	465
		摂餌量	35	23	29	25
		のべ動物数	15	6	12	9
		g/day/head	2.3	3.8	2.4	2.8
2'		給餌量(風袋込み)	494	494	499	493
		残量(風袋込み)	474	482	479	479
		摂餌量	20	12	20	14
		のべ動物数	10	4	8	6
		g/day/head	2.0	3.0	2.5	2.3
2"		給餌量(風袋込み)	491	487	487	490
		残量(風袋込み)	467	475	466	471
		摂餌量	24	12	21	19
		のべ動物数	10	4	8	6
		g/day/head	2.4	3.0	2.6	3.2
		群平均	2.2	3.3	2.5	2.8

表3-1 C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製（脂肪および肝重量、絶対重量）

03M059

被験物質	個体番号	脂肪			肝臓		
		重量(g)	Mean S.E.	p	重量(g)	Mean S.E.	p
普通飼料	1-1	0.75	0.58 0.06	-	1.11	1.03 0.06	-
	1-2	0.53			1.07		
	1-3	0.72			1.24		
	1-4	0.45			0.86		
	1-5	0.45			1.04		
	1-6	0.41			1.12		
	1-7	0.73			0.80		
高脂肪食飼料	2-1	2.65	2.32 0.28	<0.001	1.42	1.49 0.13	<0.05
	2-2	2.06			1.20		
	2-3	3.27			1.95		
	2-4	2.88			2.00		
	2-5	2.58			1.26		
	2-6	1.10			1.43		
	2-7	1.71			1.14		

表3-2　C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製　(脂肪および肝重量、相対重量)

03M059

被験物質	個体番号	体重 (g)	脂肪				肝臓			
			重量(g)	比重量 (g)	Mean S.E.	p	重量(g)	比重量 (g)	Mean S.E.	p
普通飼料	1-1	32.3	0.75	0.23			1.11	0.34		
	1-2	32.4	0.53	0.16			1.07	0.33		
	1-3	36.7	0.72	0.20			1.24	0.34		
	1-4	27.5	0.45	0.16	0.19	-	0.86	0.31	0.34	-
	1-5	27.1	0.45	0.17	0.02		1.04	0.38	0.01	
	1-6	30.0	0.41	0.14			1.12	0.37		
	1-7	29.3	0.73	0.25			0.80	0.27		
高脂肪食飼料	2-1	44.1	2.65	0.60			1.42	0.32		
	2-2	37.8	2.06	0.54			1.20	0.32		
	2-3	46.1	3.27	0.71			1.95	0.42		
	2-4	40.4	2.88	0.71	0.58	<0.001	2.00	0.50	0.37	NS
	2-5	38.2	2.58	0.68	0.06		1.26	0.33	0.03	
	2-6	35.4	1.10	0.31			1.43	0.40		
	2-7	35.8	1.71	0.48			1.14	0.32		

NS:有意差なし　　比重量は体重10g当りに換算

表4 C57BL/6Jマウスを用いた肥満モデル動物の作製(血漿生化学検査)

	総コレステロール mg/dl		遊離脂肪酸 mEq/L		トリグリセライド mg/dl	
	普通飼料	高脂肪食飼料	普通飼料	高脂肪食飼料	普通飼料	高脂肪食飼料
個体No.1	96.7	133.9	0.325	0.517	62.3	50.5
2	71.9	145.4	0.425	0.568	38.7	68.7
3	85.1	129.7	0.324	0.435	42.6	54.8
4	66.1	138.8	0.504	0.676	24.9	36.7
5	79.3	124.0	0.517	0.491	28.8	40.6
6	82.6	152.3	0.478	0.859	40.6	53.5
7	69.4	143.8	0.708	0.508	50.5	44.6
平均	78.7	138.3	0.47	0.58	41.2	49.9
S.E.	4.0	3.7	0.05	0.05	4.8	4.0
p		<0.001		NS		NS