

イベリアトゲイモリという選択肢 —マウス施設で扱える新しい非哺乳類モデル—

鳥取大学 大林 徹也

はじめに

実験動物をめぐる状況は、少しずつ変わってきている。マウスやラットなどのげっ歯類が、生命科学研究や安全性評価を支える重要な実験動物であることは、これからも変わらない。一方で、研究目的に応じて、魚類、両生類、培養細胞、オルガノイドなどを組み合わせる流れも強まっている。

その代表例がゼブラフィッシュである。透明な胚を多数得やすく、遺伝子操作にも適していることから、発生学、毒性学、創薬研究など、幅広い分野で利用されている。非哺乳類モデルは、既存の実験系に新しい視点を加える存在として、研究や評価の場に定着しつつある。

では、ゼブラフィッシュに続く非哺乳類モデルとして、どのような動物を考えることができるだろうか。本稿では、その一つの選択肢として、イベリアトゲイモリを紹介する。本種は四肢と肺をもつ有尾両生類であり、発生・再生研究で用いられてきた動物である。近年では、飼育、繁殖、体外受精、ゲノム編集、ゲノム情報の整備が進み、実験動物として扱うための基盤も整いつつある。

本稿では、イベリアトゲイモリを、既存の実験動物施設の設備や管

理の考え方を活かしながら導入できる新しい非哺乳類モデルとして取り上げる。マウス施設で培われてきた飼育管理、記録管理、系統管理の発想を応用しながら、本種をどのように活用できるのか、その特徴と今後の可能性を述べたい。

1. いま、非哺乳類モデルを考える意味

安全性評価や薬効評価では、げっ歯類を中心とする哺乳類モデルが長く使われてきた。これらの動物が、生命科学研究や医薬品開発を支えてきたことは間違いない。しかし、発生過程を連続的に観察したい、再生現象を見たい、候補物質の影響を早い段階で拾いたいなど、研究目的によっては、哺乳類モデルに加えて別の実験系を組み合わせることが有効な場合がある。

この考え方は、RussellとBurchが提唱した3Rs^[1]を重視する近年の流れとも合っている。医薬品の生殖発生毒性評価に関するICH S5 (R3)でも、従来の哺乳類試験を前提としつつ、代替法の利用や評価戦略の柔軟化が示されている^[2]。非哺乳類モデルは、既存の試験系に新しい情報を加え、必要に応じて次の評価につなげるための選択肢として位置づけることができる。

非哺乳類モデルの中でも、胚や初期幼生を用いる評価系は、代替法として大きな意味をもつ。EU Directive 2010/63/EUでは、科学目的で使用される動物の保護対象として、生きた非ヒト脊椎動物のうち独立して摂餌する幼生以降が含まれると整理されている^[3]。したがって、魚類や両生類では、独立して摂餌できるようになる前の胚・幼生を用いる評価系は、少なくともEU指令上は成熟個体を用いる動物実験とは異なる位置づけにある。この点は、ゼブラフィッシュ胚を用いた評価系が、代替法の一つとして広く発展してきた背景にもなっている。

ゼブラフィッシュは、非哺乳類モデルが研究や評価の中心になり得ることを示した代表的な動物である。胚が透明で観察しやすく、多数の胚を得やすく、遺伝子操作にも適していることから、発生学、毒性学、疾患モデル、創薬研究など、幅広い分野で利用されている^[4]。

ただし、非哺乳類モデルの選択肢はゼブラフィッシュだけではない。魚類で見やすい現象もあれば、魚類では扱いにくい課題もある。四肢の形成、肺を含む形態、四肢動物としての再生、発生過程での器官形成などを考える場合には、魚類とは異なるモデルが必要にな

表1. 主要脊椎動物モデルとしてのマウス、ゼブラフィッシュ、アカハライモリ、イベリアトゲイモリの比較

分類	哺乳類	魚類	両生類有尾目	両生類有尾目
種	マウス	ゼブラフィッシュ	アカハライモリ	イベリアトゲイモリ
入手方法	専門ブリーダー	NBRP/ZIRC等	野外採集個体为中心	NBRP (広島大学)
飼育環境	陸棲	水棲	水陸両棲	終生水棲
飼育温度	23±3℃	28.5℃前後	18~24℃	23±3℃
性成熟に要する期間	2か月	10~12週	2~3年	♂6か月以降、 ♀9か月以降
体長・体重 (成体)	7 cm程度、20~30 g	3~5 cm、0.3~0.5 g	10 cm前後、3~12 g	20 cm程度、30~60 g
1回での採卵 (産仔) 数	8~10匹	100~300個程度	20~40個	150~600個
産卵期 (繁殖期)	通年	通年	春	通年
大量繁殖	可能	容易	困難	体外受精で可能
ゲノムサイズ	約2.7 Gb	約1.4 Gb	約37 Gb	約20 Gb
ゲノム編集	高効率、低キメラ率	高効率、 F0はモザイクあり	可能	高効率、低モザイク率、 F0解析可能
遺伝子データベース	充実	充実	あり	あり
遺伝的コントロール	近交系・クローズド コロニー等が確立	複数の標準系統あり	限定的	近交化進行中 (兄妹交配13~14世代)
病原微生物 コントロール	基準・ モニタリング体制が確立	モニタリング体制あり (施設差あり)	未整備又は限定的	構築中

数値は代表値であり、系統、性別、および飼育条件によって変動する。イベリアトゲイモリの値は、著者らの飼育条件に基づく。

る。その候補として、有尾両生類は重要である^[5]。

もっとも、有尾両生類であれば、どの種でも実験動物として使いやすいわけではない。安定して飼育できること、計画的に繁殖できること、実験条件をそろえやすいこと、遺伝子改変が可能であること、そして既存施設で扱いやすいことが求められる。こうした条件を満たす有尾両生類として、イベリアトゲイモリは有力な選択肢になりつつある。

2. 両生類の中で、なぜイベリアトゲイモリなのか

イベリアトゲイモリは、もともと発生・再生研究で用いられてきた有尾両生類である。イモリ類は四肢、尾、心臓などを再生する能力をもち、再生研究の対象として注目されてきた。本種を用いる意義も、まずは有尾両生類ならではの

の高い再生能力を研究できる点にある^[5,6]。

一方で、これまで研究で利用されてきたモデル動物であっても、そのままマウスのように実験動物として扱えるとは限らない。安定した飼育、計画的な繁殖、必要な時期の胚や個体の供給、由来や飼育履歴の記録管理があって、初めて継続的な実験動物として利用しやすくなる。

日本で有尾両生類というと、アカハライモリを思い浮かべる研究者も多い。アカハライモリは、日本の発生学・再生研究を支えてきた重要な動物である。一方で、実験動物として継続的に利用するという点では、性成熟までに時間がかかること、計画繁殖や安定供給が容易ではないことなどの制約もある^[5]。

これに対して、イベリアトゲイモリは実験室内で維持しやすい。

本種は終生水棲であり、陸場を含む複雑な飼育環境を必要としない。また、イモリ類としては大型で、実験室内では通常20 cm程度であり、30 cm近くに達することもある。採卵、採精、外観観察、個体識別、行動観察を行いやすい点も、実験動物として大きな利点である。

さらに、本種は実験室内で繁殖させやすく、体外受精によって多数の胚を計画的に得ることができる^[5,7]。一定数の胚を同じ発生段階でそろえられることは、発生研究や毒性評価で重要である。近年は、TALENやCas9 RNPを用いたゲノム編集も報告され、F0世代で表現型を解析できる^[8,9]。ゲノム情報の整備も進み、2025年には20.3 Gbの染色体スケール・ゲノムアセンブリが公表された^[10,11]。

このような本種の実験動物としての基盤整備には、日本の研究グ



図1 イベリアトゲイモリの発生・成長過程と成体サイズの比較
イベリアトゲイモリにおける胚発生期から成体期までの代表的な発育段階を示す。A：受精後2日目の原腸胚（ステージ10-13）、B：受精後3日目の初期神経胚（ステージ13-14）、C：受精後4日目の初期尾芽胚（ステージ22）、D：受精後5日目の尾芽胚（ステージ28、心臓拍動が確認される）、E：受精後6日目の尾芽胚（ステージ30、鰓の突出が認められる）、F：受精後7日目の尾芽胚（ステージ31-32、血液循環が確認される）、G：孵化初期個体（11日齢、全長11 mm、摂餌開始期）を示した。孵化後の発育段階として、H：初期幼生（40日齢、全長23 mm）、I：後期幼生（18週齢、全長55 mm）、J：幼体（20週齢、全長65 mm）、K：成体（12-24か月齢）を示した。Lには、体サイズおよび外部形態の比較対象として成体アカハライモリを示した。スケールバー：A-F, 2 mm；K, L, 50 mm。

ループも大きく関わってきた。広島大学両生類研究センターの林らは、イベリアトゲイモリを用いた分子遺伝学的実験系の整備を進め、ゲノム編集や体外受精を含む実験基盤の発展に貢献してきた。著者らも、本種を実験動物施設で扱うことを想定し、飼育、繁殖、幼生管理、麻酔・安楽死、苦痛カテゴリー、微生物管理などの周辺技術の整備を進めてきた^[12,13]。

すなわち、イベリアトゲイモリは、単に海外で用いられてきた有尾両生類を導入するというより、日本国内で実験動物としての利用基盤が整備されてきたモデルとして位置づけることができる。飼育できる、殖やせる、胚を計画的に得られる、ゲノム編集が使える。そして、施設で管理するための技術も整いつつある。こうした条件がそろってきたことが、本種を新

しい実験動物として考えるうえでの大きな魅力である。

3. マウス施設で扱える、というのはどういう意味か

本稿の副題にある「マウス施設で扱える」とは、既存の実験動物施設にある設備や、マウス飼育で培われてきた管理の考え方を活かしながら導入できる、という意味

である。イベリアトゲイモリは水棲両生類であり、マウスとはまったく異なる動物である。しかし、個体を識別し、由来を記録し、飼育履歴を残し、繁殖を計画的に管理するという実験動物施設の基本的な考え方は、本種にも応用できる。

イベリアトゲイモリは終生水棲であり、基本的には水を入れた容

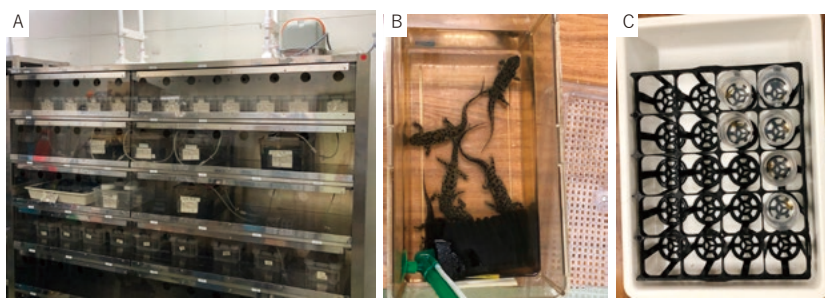


図2 イベリアトゲイモリの飼育設備および飼育方法
イベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*) の飼育に用いた設備および飼育方法を示す。A：既存のマウス用ラックおよびマウス用ケージを転用した飼育ラック。自動給水部にポンプを設置することで、ラック内のケージにエアレーションを供給可能とした。B：成体の飼育例。水質維持を目的としてフィルターを使用することで水交換頻度の低減が可能であるが、フィルターの使用は必須ではない。C：幼生の飼育例。変態前の幼生では共食いおよび咬傷が認められることがあるため、個別飼育を基本とした。

器で飼育する。大型の水槽設備を必ずしも必要とせず、プラスチック容器やマウスケージを利用した飼育も可能である。飼育に必要な温度や明暗周期も、一般的な実験動物施設の管理条件から大きく外れるものではない。そのため、既存の飼育室やラックを活用しながら、比較的小さな規模から飼育を始めることができる。

実際の管理では、マウスラックに飼育容器を並べ、個体番号、系統、雌雄、繁殖履歴、給餌・換水記録などを管理することができる。マウス用の設備をそのまま使うというより、施設にすでにある設備と管理手順を、水棲両生類に合わせて応用するという発想である。この点は、専用の両生類施設を新たに整備しなければ導入できない動物とは異なる。

もちろん、水棲両生類として注意すべき点はある。水質、換水、給餌後の汚れ、逃亡防止、幼生期の共食い、変態期の管理などは、マウスとは異なる管理項目である。特に水を使う動物である以上、給餌後の水質悪化や容器の清掃は重要である。また、遺伝子改変個

体を扱う場合には、通常個体以上に逃亡防止や系統管理を徹底する必要がある。

それでも、これらの多くは特別な大型設備を必要とするというより、日常管理の手順を整えることで対応できるものである。イベリアトゲイモリは、マウス施設で培われてきた飼育管理、記録管理、系統管理の発想を活かしながら導入を検討できる有尾両生類モデルといえる。

4. 実際に飼ってみると、どこがやりやすくて、どこにコツがいるのか

イベリアトゲイモリは、成体であれば比較的飼いやすい動物である。水を入れた容器で飼育でき、市販の配合飼料もよく食べる。日常管理は、給餌、換水、個体確認が中心であり、基本的な流れを決めてしまえば、マウス施設の中でも管理しやすい。特別な大型水槽設備を前提としなくても、容器、ラック、記録管理の仕組みを整えることで、比較的小規模から導入できる点は本種の大きな利点である。

一方で、イベリアトゲイモリの

飼育は、発生段階によって管理の要点が大きく変わる。胚、幼生、変態期、幼体、成体では、使用する水、餌、飼育密度、水深、観察すべき異常が異なる。特に幼生期から変態期にかけては、成長差、共食い、咬傷、水質悪化、餌の切り替えが問題になりやすい。著者らは、これらの内容を標準飼育プロトコルとして別にまとめている^[12]。本稿では、その要点を表2に示す。

実際に飼育していて重要だと感じるのは、水深よりも底面積を重視することである。本種は水底で過ごすことが多く、深い水槽に多くの水を入れるよりも、底面積のある容器に適切な数で収容した方が、個体の状態を確認しやすい。幼生期から幼体期にかけては、個体同士の接触を減らすことが、共食いや咬傷の予防にもつながる。サイズ差が目立つ場合には、早めに分けて飼育することが望ましい。

給餌と換水は、別々の作業ではなく一連の管理として考えるとよい。幼生にはブラインシュリンプを与えるが、食べ残しや死んだブラインシュリンプを放置すると、短時間で水質が悪化する。給餌後

表2. イベリアトゲイモリの発生段階別飼育管理の要点

発生段階	管理の要点	注意点
胚期	浅い水深で管理し、死亡卵や白濁卵を早めに取り除く。体外受精卵では、脱ゼリー処理後に希釈ホルトフレーター液などで管理する。	死亡卵を放置すると水質悪化やカビの原因になる。
幼生前期	摂餌開始後はブラインシュリンプを与える。摂餌後は水質を確認し、必要に応じて換水する。	餌不足にしないことと、水を汚さないことを両立させる。
幼生後期	低密度で飼育し、サイズ差が出たら分ける。底面積を確保した容器で管理する。	成長差が大きくなると、共食いや咬傷が起こりやすい。
変態期	外鰓の退縮と肺呼吸への移行を確認しながら、清潔な水環境を維持する。ブラインシュリンプから配合飼料へ切り替える。	水質悪化や感染の影響を受けやすい。食べているかどうかをよく見る。
幼体	配合飼料を中心に管理する。成長差が残る場合は、必要に応じて分けて飼う。	逃亡防止のため、蓋をして管理する。
成体	配合飼料で維持できる。雌雄、由来、採卵履歴、繁殖記録を管理する。	採卵に用いるメスは十分に給餌し、必要に応じて休ませる。

に摂餌の状態を確認し、その後に換水する流れにしておく、餌を十分に与えることと水質を保つことを両立しやすい。胚や幼生を用いる評価系では、発生段階、観察期間、水質、死亡胚の除去などをそろえることが、動物福祉だけでなくデータの再現性にも関わる。

幼体から成体になると、配合飼料を中心に維持できる。生き餌に頼らずに飼育できる点は、実験動物として大きな利点である。一方で、成体では雌雄、由来、採卵履歴、繁殖記録をきちんと管理する必要がある。特に採卵に用いる雌は、十分に給餌し、必要に応じて休ませることが望ましい。

逃亡防止も、最初から組み込んでおくべき管理項目である。本種は終生水棲であり、頻繁に容器をよじ登る動物ではないが、蓋をして管理することが基本である。さらに、ゲノム編集がしやすい動物であるため、今後は遺伝子改変個体を扱う場面も増えると考えられる。通常個体であっても遺伝子改変個体であっても、外部に出さない管理と系統の取り違えを防ぐ記録管理を、飼育開始時から整えておく必要がある。

このように、イベリアトゲイモリの飼育は、特別な技術だけで成り立つものではない。むしろ、発生段階に応じた飼育密度、餌、換水、観察、記録管理を丁寧に積み重ねることが重要である。マウス施設で培われてきた「個体を管理し、記録を残し、異常を早く見つける」という考え方を、水棲両生類に合わせて応用することで、本種は実験動物として安定して扱え

るようになる。

5. 代替法としての活用と今後の展望

イベリアトゲイモリは、発生・再生研究で用いられてきた有尾両生類であるが、実験動物として見た場合には、発生学、毒性評価、遺伝子機能解析、微生物管理、麻酔・安楽死、動物福祉など、さまざまな分野で利用を検討できる余地がある。なかでも、胚・幼生を用いた評価系は、非哺乳類モデルを活用するうえで重要な方向性の一つである。

本種は体外受精によって多数の胚を得ることができ、同じ発生段階の胚を一定数そろえやすい。胚は比較的大きく、発生に伴う形態変化も観察しやすい。したがって、正常発生の観察だけでなく、化学物質や医薬品候補物質が発生に与える影響を調べる材料としても利用しやすい。ゼブラフィッシュ胚を用いた評価系に近い発想で扱える一方で、イベリアトゲイモリは四肢と肺をもつ四肢動物である。四肢、体幹、外鰓、肺呼吸への移行など、魚類とは異なる発生過程を観察できる点に特徴がある。

安全性評価の分野では、発生初期に現れる形態変化や発育遅延を観察する評価系としての活用が考えられる。特に、独立して摂餌を開始する前の胚・幼生を用いて、発生遅延、形態異常、心拍、浮腫、体軸形成、外鰓やバランスの形成などを整理できれば、3Rsの観点からも有用な情報を提供できる可能性がある。ゼブラフィッシュ胚を用いた評価系とは異なる、四肢動物としての

特徴を活かした補完的な評価系として検討する余地がある。

遺伝子機能解析の面でも、本種には発展性がある。イベリアトゲイモリでは、TALENやCas9 RNPを用いたゲノム編集が報告されており、F0世代で表現型を解析できる。世代時間の長い有尾両生類において、F0世代で直接解析できることは大きな利点である。今後は、発生や再生過程を可視化するレポーター系統、毒性応答を検出する評価系、特定の器官形成に着目した解析系などへの展開も考えられる。

一方で、本種を実験動物として利用していくには、飼育しやすい、殖やしやすいという特徴だけでなく、周辺技術の整備も重要である。発生段階の標準化、麻酔・安楽死、微生物管理、個体識別、記録管理などは、飼育の安定性だけでなく、研究データの再現性にも関わる。両生類では、温度、水質、発生段階、種差によって反応が変わるため、哺乳類とは異なる点を踏まえた管理法を整えていく必要がある。

本種を試してみたい場合、国内ではナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) ツメガエル・イモリを介して、広島大学両生類研究センターからリソースを入手することができる。遺伝的背景が管理された個体を利用できるため、発生、再生、毒性評価などの研究において、条件をそろえた検討を始めやすい点も重要である。このように、国内でリソースの整備と分与体制が進んでいることは、本種を実験動物として普及させていくうえで大きな強みである。

イベリアトゲイモリは、まだ完成されたモデル動物ではない。しか

し、飼育、繁殖、体外受精、ゲノム編集、ゲノム情報の整備に加え、実験動物施設で扱うための飼育管理や周辺技術の整備も進みつつある。日本国内で蓄積されてきた飼育・繁殖・管理技術を基盤として、イベリアトゲイモリが、日本から発信できる新しい非哺乳類モデルとして広がっていくことを期待したい。

参考文献

- [1] Russell WMS, Burch RL. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen; 1959.
- [2] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH S5(R3): Detection of Reproductive and Developmental Toxicity for Human Pharmaceuticals. 2020.
- [3] European Parliament and Council of the European Union. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;L276:33-79.
- [4] Siddiqui S, Siddiqui H, Riguen E, Nomikos M. Zebrafish: A Versatile and Powerful Model for Biomedical Research. *BioEssays*. 2025;47(12):e70080. doi:10.1002/bies.70080.
- [5] Joven A, Elewa A, Simon A. Model systems for regeneration: salamanders. *Development*. 2019;146(14):dev167700. doi:10.1242/dev.167700.
- [6] Hayashi T, Yokotani N, Tane S, Matsumoto A, Myouga A, Okamoto M, Takeuchi T. Molecular genetic system for regenerative studies using newts. *Dev Growth Differ*. 2013;55(2):229-236. doi:10.1111/dgd.12019.
- [7] Joven A, Kirkham M, Simon A. Husbandry of Spanish ribbed newts (*Pleurodeles waltl*). *Methods Mol Biol*. 2015;1290:47-70. doi:10.1007/978-1-4939-2495-0_4.
- [8] Hayashi T, Sakamoto K, Sakuma T, et al. Transcription activator-like effector nucleases efficiently disrupt the target gene in Iberian ribbed newts (*Pleurodeles waltl*), an experimental model animal for regeneration. *Dev Growth Differ*. 2014;56(1):115-121. doi:10.1111/dgd.12103.
- [9] Suzuki M, Hayashi T, Inoue T, et al. Cas9 ribonucleoprotein complex allows direct and rapid analysis of coding and noncoding regions of target genes in *Pleurodeles waltl* development and regeneration. *Dev Biol*. 2018;443(2):127-136. doi:10.1016/j.ydbio.2018.09.008.
- [10] Elewa A, Wang H, Talavera-López C, et al. Reading and editing the *Pleurodeles waltl* genome reveals novel features of tetrapod regeneration. *Nat Commun*. 2017;8(1):2286. doi:10.1038/s41467-017-01964-9.
- [11] Brown T, Mishra K, Elewa A, et al. Chromosome-scale genome assembly reveals how repeat elements shape non-coding RNA landscapes active during newt limb regeneration. *Cell Genom*. 2025;5:100761. doi:10.1016/j.xgen.2025.100761.
- [12] 大林徹也, 大西弘志, 林利憲. 実験動物としてのイベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*) の標準飼育プロトコル. *実験動物技術*. 2026;61 (6月号):23-29.
- [13] 大林徹也, 花井幸次. 両生類実験における苦痛カテゴリーの評価 — 種差・成長段階差を考慮した実験処置の整理 —. *実験動物技術*. 2026;印刷中.

(日動協ホームページ、LABIO21
カラーの資料の欄を参照)

実験動物の血液検査受託サービス

お客様の分析ラボとして
信頼性の高いデータを提供いたします

生化学検査

マウスでも検査可能な微量検体 (80 μ L ~)
迅速な結果報告 (最短検体到着より 2 営業日)

ステロイドホルモン検査

LC-M/MS を用いた高感度分析
最大 27 種のステロイドホルモンを一斉分析

マルチプレックス検査

Luminex を用いて最大 49 種のタンパク質を一斉分析
微量検体 (50 μ L) で分析可能

新薬 新発見

New drug New discovery

迅速で充実した研究開発

＼HP はこちらから／



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部リサーチソリューション部
TEL : 03-3968-1192