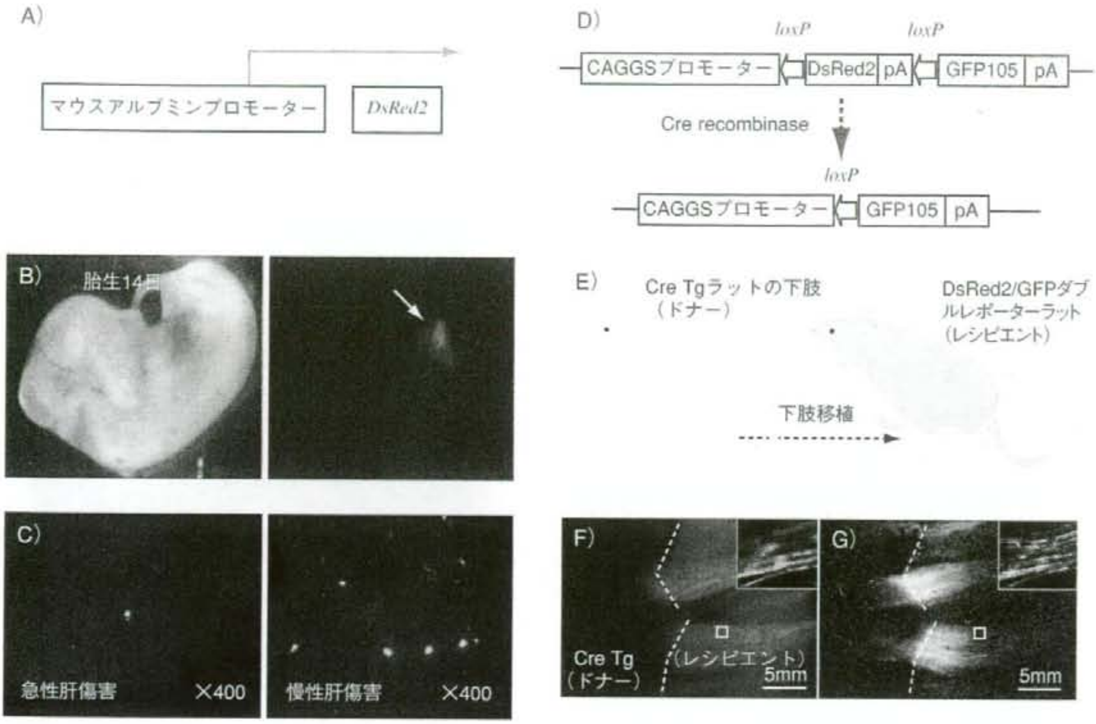

図2　Alb-DsRed2 Tgラットと Cre/loxP（DsRed2/GFP）によるダブルレポーターラット
A）Alb-DsRed2 Tgラットはマウスアルブミンプロモーター下でDsRed2を肝特異的に発現する．B）DsRed2の肝特異的発現は胎生14日から観察される．右図は560nmの励起光下でDsRed2の蛍光を観察（矢印は肝臓）．C）四塩化炭素による肝傷害ラットにAlb-DsRed2 Tgラットの骨髄細胞を門脈内投与した．急性肝傷害と比較すると慢性肝傷害では骨髄細胞細胞に由来するDsRed陽性アルブミン産生細胞が増数する（投与後60日目で約60倍）．D）DsRed2/GFPによるダブルレポーターの模式図．Creの作動によりDsRed2が除去され，GFPが発現する．E）Cre-Tgラットの左下肢（ドナー）をDsRed2/GFPによるダブルレポーターラット（レシピエント）に移植する際の模式図．F）移植直後ではDsRed2の蛍光が観察される．点線は境界を示す．G）移植4週間後では筋肉が融合し（Creが作動），レシピエントとの融合部でGFPの蛍光が観察される．点線は境界を示す（文献1より転載）

光原理に基づく場合は生体に「基質」を投与することで細胞内エネルギー（ATP）に依存した光を捕捉することができ，細胞生存と共役した画像イメージが得られる．すなわち，個体内における特徴的な生物現象をフォトン数により定量的に観察ができる．また，生体に与える侵襲も最小限であるため，再生移植治療モデルの長期的な観察に優れている．このような視点から開発されたのが，基質（ルシフェリン）存在下で全身が発光するルシフェラーゼ-Tgラットである（図3A，B）[11]．

骨髄に由来する間葉系幹細胞（mesenchymal stem cell：MSC）は，その分化能に加え，分離・培養が容易であるため，再生医療への応用が期待されている．さらに，投与されたMSCは種々の傷害臓器（腫瘍部位を含む）に蓄積する性質があり，その利点を活かした研究が行われている[12]．この利点は，ES細胞（embryonic stem cell）の利用とは異なり，繰り返しMSCを用いても奇形種を発生しないことがあげられる[13][14]．

このような再生医療への応用を試験する目的では，ルシフェラーゼ-Tgラットを起点としたバイオプローブの組合わせはさまざまな再生医学研究に重要な情報をもたらす．例えば，ルシフェラーゼ-TgラットとLacZ-Tgラットを交配したhemizygous-double Tgラットは「時間-空間的解析」が可能な系といえる．すなわち，この系ではルシフェラーゼ発光とβ-gal染

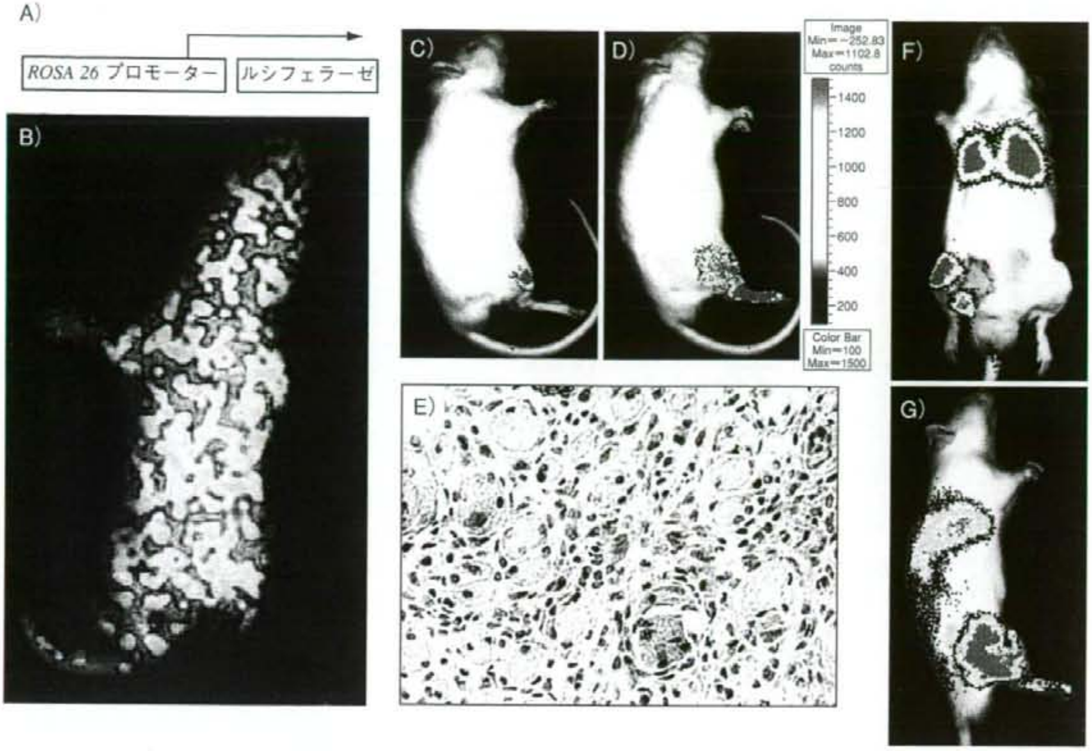

図3　ルシフェラーゼ/LacZ-ダブルTgラットに由来する間葉性幹細胞の傷害部位への集積　MOVIE

A）ホタル・ルシフェラーゼはROSA26プロモーター下で作動する．B）D-ルシフェリン（基質）存在下で全身がルシフェラーゼ発光するROSA26/Luc-LEW Tgラット（生後7日目）．Photon Imager（Biospace Lab社）によるリアルタイム画像解析．C）D）ラット下肢筋をcardiotoxinで傷害し，24時間後にルシフェラーゼ/LacZ-ダブルTgラットに由来するMSC（1×10^6個）を筋肉内（C）もしくは大腿動脈経由（D）で接種した．大腿動脈経由のMSC投与により傷害された下肢筋肉に強いルシフェラーゼ発光が観察される．ルシフェラーゼ発光はIVIS® Imaging System（Xenogen社）によって解析した．E）Dにおける組織標本（MSC接種後10日目）をβ-gal染色（400倍）．F）同様にラット下肢筋をcardiotoxinで傷害し，やや大量のMSC（2.4×10^6個）を大腿動脈経由で接種した．傷害された下肢筋肉へのMSC集積とともに，末梢毛細血管を通過したMSCは，再循環し一過性に肺に蓄積する（接種後30分の画像）．G）Fの側面画像（文献12より転載）

色が可能となる[12]．ラット下肢筋肉をcardiotoxinで傷害し，上記のダブルTgラット由来のMSCを局所注射し，局部でのMSCの存在は観察されるものの，傷害を受けた下肢筋肉全体をカバーする程のものではなかった（図3C）．対照的に，ラット下肢を支配する大腿動脈経由でカテーテル法を用いてMSCを導入すると，効率よく下肢全体にMSCを供給することができた（図3D，E）[12]．これらの結果は，MSCのような幹細胞を臓器特異的に移植する手段として経動脈的供給が優れていることを示唆している．その一方で，過剰のMSCは末梢毛細血管を通過し，再循環し一過性に肺に蓄積する実験結果も明らかになり（図3F，G），医療応用においてはMSC投与による副作用（肺塞栓）の発現に配慮すべきであることが示唆された．

3 ラット大腸がんの生体内イメージング

腫瘍細胞動態の個体内での可視化は，1990年代のがん研究の中で重要な課題の1つであった．特に，がん転移を実験的に評価するためには，「転移」という事象の性格から，「モデル動物」での評価が不可欠である．現在，がん細胞に遺伝子として安定に導入されたバイオプローブ（GFPやルシフェラーゼ）の蛍光や

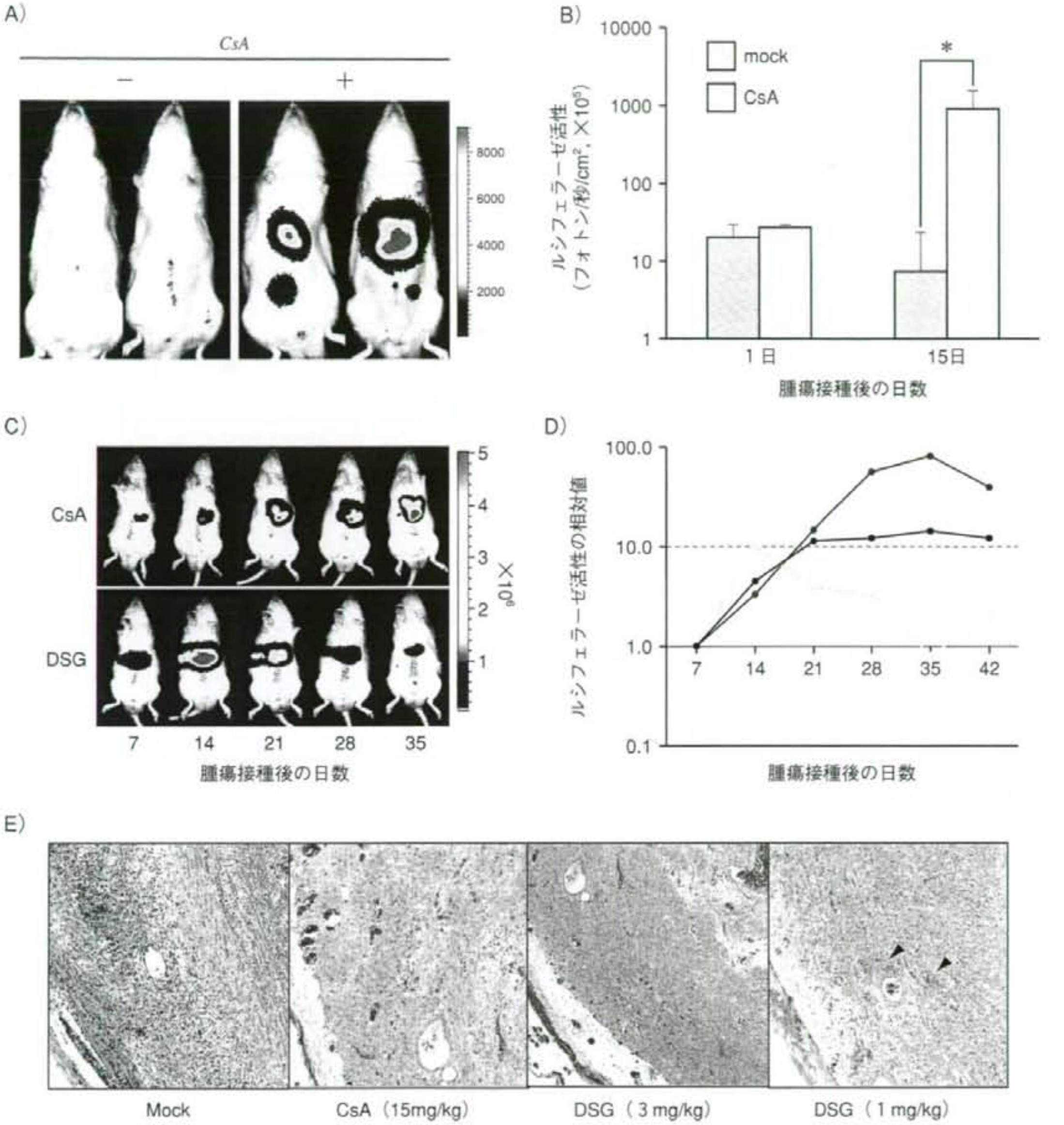

図4　CsAによるラット大腸がん細胞の進展とその制御

A) CsA (15mg/kg/day) 存在下におけるRCN-H4-Luc大腸がん細胞の進展様式. CsA存在下では顕著な腫瘍由来のルシフェラーゼ発光が観察される. B) Aにおけるルシフェラーゼ活性の定量化. IVIS® Imaging System (Xenogen社) による解析. C) F344ラットにRCN-H4-Luc大腸がん細胞を門脈内に接種し, Lewisラットの心臓を異所性に頸部に移植. CsA (15mg/kg/day) もしくはDSG (3 mg/kg/day) 投与によりRCN-H4-Luc細胞の動態をルシフェラーゼ発光にてモニターした. D) Cにおけるルシフェラーゼ発光を相対値として示した結果. ─●─ : CsA, ─●─ : Mock, 　: DSG. (各群n= 5). E) 移植後42日目における移植心の病理組織像. CsA (15mg/kg/day) もしくはDSG (3 mg/kg/day) では心筋組織へのリンパ球浸潤は観察されない. DSG (1 mg/kg/day) では軽度のリンパ球浸潤が観察される (◄) (文献19より転載)

発光を小動物の体内で追跡する方法は非常に魅力的な手段となっている[15][16]．われわれの研究室では，がんの生体内イメージングには後者のルシフェラーゼをプローブとした系を用いている．

例えば，F344由来ラット大腸がん細胞株にルシフェラーゼを組込んだRCN-H4-Luc細胞[17]をラット門脈内に注射し，転移性肝がんモデルを作製すると，がんの進展の様子が基質を投与するだけで容易に観察することができる（図4）．このラットモデルの特徴は，がん細胞接種直後から1週間にかけてルシフェラーゼ活性は低値を示し，2週間以降ややルシフェラーゼ活性が上昇するものの，急激な腫瘍進展には至らないことである．しかし，60日以降になって腫瘍進展がみられる個体が出現しはじめることから，肝臓に接種されたRCN-H4-Luc細胞のほとんどは死滅するものの，わずかに残存する細胞は休眠状態になる．そこで，がん休眠を解除する非特異的免疫抑制薬サイクロスポリンA（CsA，15mg/kg/day）を投与すると，約2週間ですべての担癌ラットで著しいルシフェラーゼ活性の上昇（約100倍）が観察された（図4B）．興味深いことに，肝臓以外に腸管膜リンパ節にも顕著なルシフェラーゼ活性が描出され（図4A），組織学的にもリンパ節転移を確認することができた．さらに進行すると肺転移を来たす．したがって，RCN-H4-Luc細胞は肝臓において休眠状態になるユニークな特徴をもっているとともに，CsAはがん休眠状態を解除し，遠隔転移を促進することをイメージング手法で解析することができた．

臨床における臓器移植では，CsAやFK506などに代表されるカルシニューリンインヒビターが免疫学的拒絶反応をコントロールできる「key drug」である．しかしながら，宿主の免疫抑制による *de novo* 発がん，あるいは潜在しているがん細胞の増殖を促進することが強く懸念されている[18]．そこで，CsAで促進されるがん進展モデルにおいて，がんの進展を制御しながら異系（allogeneic）ラットに由来する移植心臓※2の生着延長を図る実験を行った．図4C，Dに示すように，CsAの連続投与によりRCN-H4-Luc細胞に由来するフォトン数は増加していくものの，免疫抑制効果と抗腫瘍効果を併せもつ15-deoxyspergualin（DSG）を用いると腫瘍由来のフォトン数は減少していく[19]．実際，移植心の拍動を維持しながら拒絶反応を抑制していることが組織学的にも示されている（図4E）．これらの結果は，モデル動物を用いたルシフェラーゼ·イメージングは種々の治療評価系として有効に作用することを示唆するものであり，抗体医薬を含めた新規化合物の個体にスクリーニングや創薬研究の促進に応用されるものと考えられる．

> **※2　ラット異所性心移植**
>
> 簡便性と機能評価（心拍動）の点で，免疫抑制剤の評価，新規の免疫抑制法，臓器保存法の開発などに用いられる．ドナー心をレシピエントラットの頸部に移植する方法．カフを用いる方法や血管縫合を行う方法（手縫い）などがある．

おわりに

バイオプローブを用いた細胞レベルでの研究は，これまで観察されてきた生物現象を分子間同士の相互作用を「光」として捉えることにも成功している[20]．しかしながら，生体内で起こる複雑な事象を試験管内での実験結果や細胞培養系のみで捉えることでは決して十分とはいえない．革新的なイメージング技術の進歩によって，細胞の運命を生きた個体内で追跡しうる優れた方法が利用できるようになった現在では，分子動態を生きた個体内の細胞挙動として機能的に捉えることが必要になりつつある．現在のイメージングに用いられる実験モデル動物はマウスが主であるが，研究の方向性によってはわれわれのように「ラット」を主に用いることもできる．特に，再生医学研究やがん転移に限らず，生命現象の中には生きた個体内でしか観察できない事象も多い．細胞治療を基盤とした再生医学研究におけるラットのバイオイメージングはユニークな系といえる．われわれが開発してきたTgラットやモデル系が広く生命科学の分野において有効利用され，革新的な研究に貢献できれば幸いである．

謝辞

本研究の一部は，厚生労働科学研究費補助金「政策創薬等総合研究事業」，「エイズ対策研究事業」及び「創薬基盤推進研究事業（生物資源研究）」によって成されたものである．また，本研究にご協力·ご助言していただいた諸先生方，並びに臓器置換研究部の教室員の皆様に深謝いたします．

文献

1) Murakami, T. & Kobayashi, E.：J. Biomed. Opt., 10：1-10, 2005
2) Hammer, R. E. et al.：Cell, 63：1099-1112, 1990
3) Mullins, J. J. et al.：Nature, 344：541-544, 1990
4) Lippincott-Schwartz, J. & Patterson, G. H.：Science, 300：87-91, 2003
5) Inoue, H. et al.：Biochem. Biophys. Res. Commun., 329：289-296, 2005
6) Mothe, A. J. et al.：J. Histochem. Cytochem., 53：1215-1226, 2005
7) Francis, J. S. et al.：Exp. Neurol., 205：177-189, 2007
8) Kimura, A. et al.：Stem Cells, 25：115-124, 2007
9) Sato, Y. et al.：Biochem. Biophys. Res. Commun., 311：478-481, 2003
10) Sato, Y. et al.：Biochem. Biophys. Res. Commun., 319：1197-1202, 2004
11) Hakamata, Y. et al.：Transplantation, 81：1179-1184, 2006
12) Hara, M. et al.：J. Autoimmun., 30：163-171, 2008
13) Park, I. H. et al.：Nature, 451：141-146, 2008
14) Poh, K. K. et al.：Int. J. Cardiol., 117：360-364, 2007
15) Hoffman, R. M.：Nat. Rev. Cancer., 5：796-806, 2005
16) Negrin, R. S. & Contag, C. H.：Nat. Rev. Immunol., 6：484-490, 2006
17) Ohsawa, I. et al.：Transplantation, 81：1558-1567, 2006
18) Buell, J. F. et al.：Transplantation, 80：S254-264, 2005
19) Ohsawa, I. et al.：Transplantation, 84：424-428, 2007
20) Ozawa, T.：Anal. Chim. Acta., 556：58-68, 2006

<筆頭著者プロフィール>

村上　孝：自治医科大学分子病態治療研究センター（臓器置換研究部）准教授．1992年群馬大学医学部卒業．'97年東京大学大学院医学系研究科修了（吉田光昭教授），博士（医学）．日本学術振興会特別研究員（がん），自治医科大学助手（皮膚科），米国立がん研究所留学を経て2003年より現所属（小林英司教授）講師，'07年より現職．*in vitro*から*in vivo*研究に拡張できるイメージング用の細胞資源を充実させることが当面の目標．

総　説

蛍光発生トランスジェニック・ラットがもたらすイノベーション

Color-Engineered Rats and Luminescent Imaging: Innovation to Visualize Biological Processes

村上孝*，小林英司
自治医科大学分子病態治療研究センター臓器置換研究部

Takashi Murakami, Eiji Kobayashi
Division of Organ Replacement Research, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University

Abstract

The rat represents an excellent mammalian model for broadening medical knowledge, and a wealth of information on its physiology has been obtained from its use as an experimental organism. Its ample body size allows various surgical manipulations that cannot be performed on a mouse. Many rat models mimic human diseases and have therefore been used in a variety of biomedical studies. In an effort to create specifically designed rats for new biomedical research and the field of regenerative medicine, we developed an engineered rat system on the basis of transgenic technology and have succeeded in establishing unique rats that possess genetically encoded color probes. In this review, we describe the potential of the photogenic transgenic rat that expresses fluorescent and/or luminescent proteins, and focus on the characteristic migration of MSCs to injury and tumor sites. In addition, we will discuss an efficient delivery method for targeting the injured site. Synergized with modern advances in optical imaging, the photogenic rat system provides innovative preclinical tools and a new platform on which to further our understanding of matters concerning stem cell biology.

Key words

Transgenic rat, Transplantation, Stem cell, *In vivo* imaging.

1. はじめに

われわれの研究の出発点は臓器移植にあり，「移植された臓器や組織がどのような運命をたどるのか」，また「移植臓器の生着を如何に延長させることができるか」が大きな焦点であった．心臓や肝臓などの実質臓器を安定して顕微鏡下手術（マイクロサージェリー）により移植できる実験動物のサイズは「ラット」にある[1]．ラットは，マウスと比べて体サイズが10倍も大きいため，特定部位へのカテーテル挿入など，臨床医学で利用される種々の技術を応用することができる．われわれは，実際の医療応用への視点から「医療技術を模倣できる動物資源」に注目し，移植・再生医療を模倣できるモデル動物の実験を行なってきた．本稿では，われわれがこれまで行なってきた蛍光・発光ラットのモデルとバイオイメージング技法を用いた研究を紹介する．

2. トランスジェニックラット・システム

実験動物としての歴史では、マウスよりもラットの方が早く医学研究に応用されてきた背景があり，特に薬理学や脳神経科学の分野におけるラットの実験データは現在の臨床医学・薬学研究の基礎となっている

* 自治医科大学分子病態治療研究センター
〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311－1
takmu@jichi.ac.jp

[1]．ラットにトランスジェニック技術が応用されたのは1990年代初めになる[2][3]．これまでトランスジェニック（Tg）・ラットの作製では，受精卵膜がマウスのものに比べて脆弱なため，その作製効率が悪いとされていた．しかし，高度なマイクロインジェクション技術が安定して行なわれるようになり，現在では高率に遺伝子導入個体を得ることができるようになった．発現されるタンパク質の性質に依存するものの，1匹のTgラットを得るためには少なくとも100個の受精卵にマイクロインジェクションが必要とされる．また，広範な組織に発現可能なプロモーターを有するベクターが用いられても，組み込まれた染色体の位置やコピー数などの要素によって，発現する臓器や発現量も異なる性質がある．したがって，広い用途でのTgラットのライン化は必ずしも容易ではない．

生きた細胞を励起光下で観察できる蛍光タンパク質は，細胞動態観察のみならず細胞内タンパク質の挙動を観察する「biological light probe」として現代のバイオサイエンスを支える重要なアイテムになっている[4]．実際，赤橙色や青色などの蛍光タンパク質との組み合わせにより，細胞機能を「色分け」することができる．傷害を受けた組織の機能的回復を目指す再生医学研究では，移植した細胞や組織の運命を追跡する研究は応用的な医療技術への方向性を決める重要な律速段階となる．したがって，細胞機能を「色分け」し，移植細胞が機能回復にどのように関与するか評価できるシステムは極めて重要な意味をもつ．生体イメージング技術が著しく発展の結果，応用的なバイオ研究を目指す研究者にとっては，種々のバイオプローブを持つトランスジェニックラットの利用価値は高く，移植された細胞や組織の動態を「光」として追跡することが可能である．臓器移植研究への必要性から始まった「color-engineered rat」（**Table 1**）の開発も進み、9種類が再生医学を含む様々な研究分野に利用されている．

Table 1 Color-engineered rat colonies.

Strain	Promoter	Marker protein
Wistar	CAGGS[a]	GFP[b]
Lewis	CAGGS	GFP
Lewis	Albumin	GFP
Dark Agouty	CAGGS	LacZ (β-garactosidase)
Lewis	ROSA26	LacZ (β-garactosidase)
Wistar	Albumin	DsRed2[c]
Wistar	CAGGS	DsRed2, GFP (in Cre/LoxP system)
Lewis	ROSA26	Luciferase[d]
Lewis	ROSA26	DsRed monomer

[a], cytomegalovirus enhancer/chicken β-action promoter; [b], green fluorescent protrein (*Aequorea victoria*); [c], DsRed (*Discosoma*); [d], luciferase from the firefly (*Photinus pyralis*)

われわれの作製したGFP-Tgラットは中枢神経系などで輝度が強く，神経前駆細胞を用いた再生医学研究に応用されている[5-7]．例えば，胎生14.5日から作製した神経前駆細胞は，脳質内に投与すると実験的脳梗塞部位に集積する性質がある．この主な神経前駆細胞の細胞集積には走化性因子受容体であるCXCR4やsphingosin-1- phosphate（S1P）受容体の関与を示唆する結果が得られている[1,8]．

また，われわれは肝特異的にDsRed2（赤橙色）を発現するラット[9]やCre/LoxP（DsRed2/GFP）ラットなども開発している[10]．アルブミンプロモーターで作動するAlb-DsRed2ラットから骨髄細胞を採取し，肝傷害を加えたラットに門脈投与すると，骨髄細胞が傷害肝内でアルブミン産生細胞に変化している様子が観察される（**Fig. 1**）．特に，この肝内でアルブミン産生細胞の増加は慢性肝傷害で顕著となる．さらに，Cre/LoxP（DsRed2/GFP）ダブルレポーターラットを用いると，切断下肢を移植した際の筋肉の融合が可視化され，DsRed2からGFPの発現変化が観察することが可能となる[10]．しかし，これらの蛍光タンパク質を用いた個体内での細胞・組織動態が観察できるようになるまでには，特定の生物現象が時間的に決定されている必要がある．

3．Double-Tgラット作製とその応用

前述の蛍光タンパク質の検出には励起光源を必要とするが，発光タンパク質の「光」を指標に評価する系がある．例えば，ホタル由来のルシフェラーゼは，高感度で組織透過性と定量性に優れる光（フォトン）を発生し，目的とする細胞や組織における遺伝子発現をリアルタイムに追跡することを可能にする．生体を透過する最適な光（600nm）が得られるルミネセンス法は検出感度と定量性の点で非常に有利である．この発光原理に基づく場合は生体に「基質」を投与することで細胞内エネルギー（ATP）に依存した光を捕捉することができ，細胞生存と共役した画像イメージが得られる．すなわち，個体内における特徴的な生物現象を

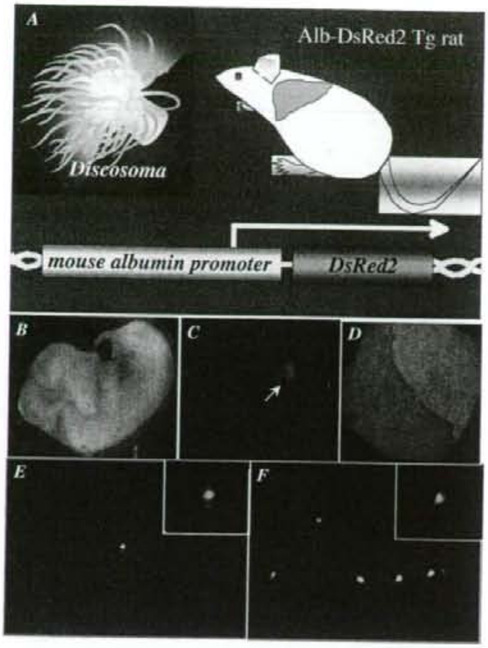

Fig. 1 Alb-DsRed2 transgenic rats. (A) Representative scheme of liver-specific DsRed2 expression in the Alb-DsRed2 Tg rat and the mouse albumin/enhancer promoter. (B) A representative embryo of an Alb-DsRed2 Tg rat at 14.5 embryonic days after gestation. (C) Liver-specific DsRed2 expression was observed in (B) under 560nm excitation light. (D) A representative adult liver (4 weeks old) of an Alb-DsRed2 Tg rat. DsRed2 expression under 560nm excitation light. (F) Differentiation of BMDCs derived from Alb-DsRed2 Tg rats into albumin-producing cells with acute liver injury using CCl_4 and 2-AAF (xinjury using CCl4 and 2-AAF) ×400 original magnifi400 original magnification). The upper-right panel represents a high-power view) ×1000 original magnification). (F) Chronic liver injury by repeated administration of CCl_4 induced differentiation of BMDCs from Alb-DsRed2 Tg rats into albumin-producing cells (×400 original magnification). The upper-right panel represents a high-power view (×1000 original magnification).

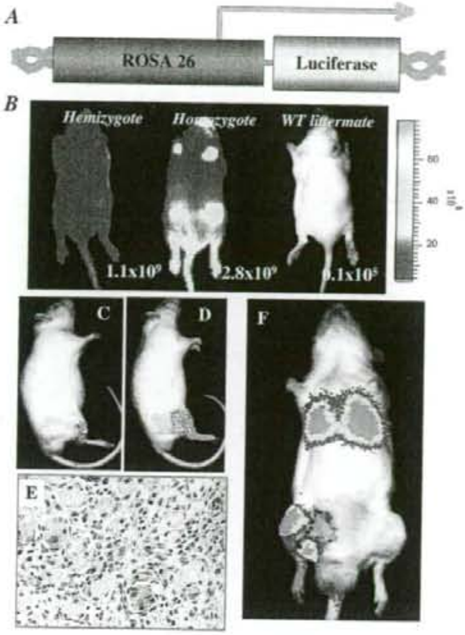

Fig. 2 *In vivo* luciferase imaging of injected MSCs from luciferase/LacZ double Tg LEW rats. (A) Representative scheme of the transgene composition. The transgene consists of the ROSA26 promoter and a firefly luciferase gene. (B) Representative luminescent images of luc-Tg rats. Luciferase activity in the luc-Tg homozygote rat was almost twice that of the hemizygote rat. The value in the right lower corner represents total photons per animal (photons/sec). (C, D) Degeneration of the right tibial muscle of LEW rats was induced by treatment with 0.3 mL of cardiotoxin (10 μM) 24 hr before MSC injection. Luciferase/LacZ MSCs (1×10^6) were injected into either tibial muscle (C) or the right femoral artery (D) of muscle-injured rats, and MSC-derived photons were monitored using IVIS™ (Xenogen). (E) Accumulation of luciferase/LacZ MSCs in the injured muscle at 10 days post-injection (β-gal staining). MSCs injected through the femoral artery. Original magnification ×400. (F) Relatively higher number of luciferase/LacZ MSCs (2.4×10^6) injected into the femoral artery of rats pretreated with cardiotoxin to induce muscle injury. Significant photons were observed in the lung and injured limb at day 0 post-injection (30 min).

フォトン数により定量的に観察ができる．また，生体に与える身襲も最小限であるため，再生移植治療モデルの長期的な観察に優れている．このような視点から開発されたのが，基質（ルシフェリン）存在下で全身が発光するルシフェラーゼ-Tgラットである（**Fig. 2A** and **2B**）[11]．

骨髄に由来する間葉系幹細胞（mesenchymal stem cell: MSC）は，その分化能に加え，分離・培養が容易であるため，再生医療への応用が期待されている．さらに，投与されたMSCは種々の傷害臓器（腫瘍部位を含む）に蓄積する性質があり，その利点を活かした研究が行なわれている[12]．この利点は，ES細胞

(embryonic stem cell) の利用とは異なり，繰り返しMSCを用いても奇形種を発生しないことが挙げられる[13)14)]．このような再生医療への応用を試験する目的では，ルシフェラーゼ-Tgラットを起点としたバイオプローブの組み合わせは様々な再生医学研究に重要な情報をもたらす．例えば，ルシフェラーゼ-TgラットとLacZ-Tgラットを交配したhemizygous-double Tgラットは「時間-空間的解析」が可能な系といえる．すなわち，この系ではルシフェラーゼ発光とβ-gal染色が可能となる[12)]．ラット下肢筋肉をcardiotoxinで傷害し，上記のダブルTgラット由来のMSCを局所注射し，局部でのMSCの存在は観察されるものの，傷害を受けた下肢筋肉全体をカバーするには至らなかった(**Fig. 2C**)．対照的に，ラット下肢を支配する大腿動脈経由でカテーテル法を用いてMSCを導入すると、効率よく下肢全体にMSCを供給することができる（**Fig. 2D** and **2E**）[12)]．これらの結果は、MSCのような幹細胞を臓器特異的に移植する手段として経動脈的供給が優れていることを示唆している．その一方で、過剰のMSCは末梢毛細血管を通過し，再循環し一過性に肺に蓄積する実験結果も明らかになり（**Fig. 2F**），医療応用においてはMSC投与による副作用（肺塞栓）の発現に配慮すべきであることが示唆されている．

4. バイオイメージングの展望

様々なバイオプローブ開発が進み[15)]，細胞レベルでの研究は，これまで観察されてきた生物現象を分子間同士の相互作用を「光」として捉えることにも成功している[16)17)]．しかしながら，生体内で起こる複雑な事象を試験管内での実験結果や細胞培養系のみで捉えることでは決して充分とはいえない．革新的なイメージング技術の進歩によって，細胞の運命を生きた個体内で追跡しうる優れた方法が利用できるようになった現在では，分子動態を生きた個体内の細胞挙動として機能的に捉えることが必要になりつつある．生命現象の中には生きた個体内でしか観察できない事象は多く，細胞治療を基盤とした再生医学研究におけるラットのバイオイメージングはユニークな系と考えられる．我々が開発してきたTgラットやモデル系が広く生命科学の分野において有効利用され、革新的な研究に貢献できれば幸いである．

謝辞：本研究の一部は，厚生労働省科学研究費補助金「政策創薬等総合研究事業」,「エイズ対策研究事業」および「創薬基盤推進研究事業（生物資源研究）」によってなされたものである．また，本研究にご協力・ご助言していただいた諸先生方，ならびに臓器置換研究部の教室員の皆様に深謝いたします．

文献

1) Murakami T, Kobayashi E: Color-engineered rats and luminescent LacZ imaging: a new platform to visualize biological processes. J Biomed Opt 2005; 10: 41204 (1-10).
2) Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD: Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. Cell. 1990; 63: 1099-1112.
3) Mullins JJ, Peters J, Ganten D: Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene. Nature 1990; 344: 541-544.
4) Lippincott-Schwartz J, Patterson GH: Development and use of fluorescent protein markers in living cells. Science 2003; 300: 87-91.
5) Inoue H, Ohsawa I, Murakami T, Kimura A, Hakamata Y, Sato Y, Kaneko T, Takahashi M, Okada T, Ozawa K, Francis J, Leone P, Kobayashi E: Development of new inbred transgenic strains of rats with LacZ or GFP. Biochem Biophys Res Commun 2005; 329: 288-295.
6) Kulbatski I, Mothe AJ, Keating A, Hakamata Y, Kobayashi E, Tator CH: Oligodendrocytes and radial glia derived from adult rat spinal cord progenitors: morphological and immunocytochemical characterization. J Histochem Cytochem. 2007; 55: 209-222.
7) Francis JS, Olariu A, Kobayashi E, Leone P: GFP-transgenic Lewis rats as a cell source for oligodendrocyte replacement. Exp Neurol. 2007; 205: 177-189.
8) Kimura A, Ohmori T, Ohkawa R, Madoiwa S, Mimuro J, Murakami T, Kobayashi E, Hoshino Y, Yatomi Y, Sakata Y: Essential roles of sphingosine 1-phosphate/1P1 receptor axis in the migration of neural stem cells toward a site of spinal cord injury. Stem Cells 2007; 25: 115-124.
9) Sato Y, Igarashi Y, Hakamata Y, Murakami T, Kaneko T, Takahashi M, Seo N, Kobayashi E: Establishment of Alb-DsRed2 transgenic rat for liver regeneration research. Biochem Biophys Res Commun 2003; 311: 478-481.
10) Sato Y, Endo H, Ajiki T, Hakamata Y, Okada T, Murakami T, Kobayashi E: Establishment of Cre/LoxP recombination system in transgenic rats. Biochem Biophys Res Commun 2004; 319: 1197-1202.
11) Hakamata Y, Murakami T, Kobayashi E: "Firefly rats" as an organ/cellular source for long-term in vivo bioluminescent imaging. Transplantation 2006; 81: 1179-1184.
12) Hara M, Murakami T, Kobayashi E: In vivo bioimaging using photogenic rats: fate of injected bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. J Autoimmun 2008; 30:163-171.
13) Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, Lerou PH, Lensch MW, Daley GQ: Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. Nature 2008; 451: 141-146.
14) Poh KK, Sperry E, Young RG, Freyman T, Barringhaus KG, Thompson CA: Repeated direct endomyocardial transplantation of allogeneic mesenchymal stem cells: safety

of a high dose, "off-the-shelf", cellular cardiomyoplasty strategy. Int J Cardiol 2007; 117: 360-364.
15) Miyawaki A: Innovations in the imaging of brain functions using fluorescent proteins. Neuron 2005; 48: 189-199.
16) Paulmurugan R, Umezawa Y, Gambhir SS: Noninvasive imaging of protein-protein interactions in living subjects by using reporter protein complementation and reconstitution strategies. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002; 99: 15608-15613.
17) Ozawa T: Designing split reporter proteins for analytical tools. Anal Chim Acta 2006; 556: 58-68.