

実験動物研究施設

教授：大川 清 がんの生化学，病態医化学
(兼任)
講師：古市 達哉 実験動物学，疾患モデル動物

教育・研究概要

I. 新規 II 型コラーゲン遺伝子 (*Col2a1*) 変異マウスの同定

理化学研究所で展開されている ENU マウスミュータジェネシスプロジェクトにおいて，新規の II 型コラーゲン遺伝子 (*Col2a1*) 変異マウス (M856 マウス) を同定した。M856 マウスは *Col2a1* 遺伝子の C 末端プロペプチドコード領域にミスセンス変異 (c.4406A>C, p.Asp1469Ala) を持ち，この変異はヒトの骨系統疾患であるトランス型扁平椎異形成症 (PLSD-T) の原因となるミスセンス変異 (p.Asp1469His) に対応する位置にある。M856 ホモ接合体は胎生致死となり，重度の扁平椎，腸骨低形成，四肢短縮等の PLSD-T と類似の骨格異常を示したことから，M856 マウスは PLSD-T のモデル動物として期待できる。

II. *Cant1* ノックアウトマウスの作製

Desbuquois 骨異形成症 (DBQD) は高度の低身長，多発性関節脱臼，特徴的な顔貌異常，手指の変形等を特徴とする常染色体劣性遺伝形式の骨系統疾患である。最近，DBQD の原因遺伝子として *CANT1* (Calcium activated nucleotidase 1) が報告され，我々も DBQD と診断された 7 症例に *CANT1* 遺伝子変異を同定し，*CANT1* の機能消失が DBQD の原因であることを示した。*CANT1* はカルシウム要求性のヌクレオチダーゼであり，主に ATP, ADP を AMP に加水分解する酵素活性を有することが *in vitro* の実験で示されているが，生体内での役割・機能は全く不明である。そこで *CANT1* 遺伝子欠損マウスを作製する実験を計画した。遺伝子トラップ法によって作製された遺伝子破壊 ES 細胞ライブラリーから，5'-RACE, inversed PCR 法によって *CANT1* 遺伝子が破壊された ES 細胞を選抜した。

III. *Mus musculus molossinus* ならびに *Phodopus* ハムスターを用いた実験用系統の開発と有用性探索

近年の多岐にわたる医科学研究領域からの需要に

対応するためには，未開発の遺伝的資源から実験動物を育成する必要があると考えられる。そこで，従来の実験用マウスと遺伝的な隔たりが大きい日本産野生マウス (*Mus musculus molossinus*) から独自に育成した近交系の維持と改良，ならびに多様な実験動物確保のために非ネズミ亜科の *Phodopus* ハムスター等から実験用系統の開発を試み，これらの有用性探索を行っている。

日本産野生マウスは，一般に用いられる実験用マウスとは異なる亜種に分類され，従来の実験用マウスと異なる特性を多くもつ。当研究施設では，大阪府にて捕獲された野生個体から育成された近交系を維持しつつ，これを起源として，既存近交系をドナーあるいはレシピエントとしたコンジュニック系統あるいはコンソミック系統を試みている。育成されたコンソミック系統において，骨格あるいは代謝の異常が疑われる系統が得られており，現在解析中である。

また，生化学第二講座との共同研究として，維持している *molossinus* マウス由来近交系の一つ；MSKR をドナー系統に用い，ポリアミンの負の調節因子；アンチザイム 1 遺伝子 (以下 *AZI*) をノックアウトしたアリルをもつコンジュニック系統と，*AZI* ノックアウトアリルをもつ C57BL/6J 系統由来第 10 番染色体をもつコンソミック系統を完成した。これら遺伝的背景を変更した系統を用いて *AZI* ノックアウトアリルのヘテロ接合体同志から産子を得ると，それぞれ異なった *AZI* ホモ接合体死亡率が観察される。現在この現象を生じさせる要因を引き続き探索中である。

Phodopus ハムスターは，従来実験動物として用いられてきたシリアンハムスターとは別属の小型ハムスターであり，実験動物として好適な種である事が判明している。我々はすでに，この属のハムスターでは世界初となる近交系を確立した。現在さらに新たな近交系の育成，すでに確立した近交系を基礎にした改良系統の育成，マイクロサテライトマーカーの開発など実験動物としての基盤を引き続き整備している。この種からの疾患モデル開発として，黒尿症を発症する家系を発見し家系分析を行うとともに，確立した近交系で胃腫瘍が発症することを確認し，解析を開始している。

IV. モデルマウス；NC/Nga 系統を用いた，アトピー性皮膚炎治療薬の探索

熱帯医学講座との共同研究で，当研究施設にて経代維持しているアトピー様皮膚炎好発系統である

NC/Nga 系統を用いた、新規アトピー性皮膚炎治療薬の探索等を行っている。

〔点検・評価〕

1. 施設

実験動物研究施設では、*in vivo* 研究に不可欠な実験動物の飼育管理だけにとどまらず、研究者に洗練された動物実験環境の提供を行い、動物実験の立案や手技などに関するコンサルテーションに応じている。平成22年度の実験動物研究施設利用登録者は、臨床系15講座および基礎系11講座とその他部門からあわせて173名であった。また、平成21年度より開始した新規施設利用者に対する施設利用説明会を平成22年度も引き続き開催し、平成22年度からは動物実験初心者を対象とした技術講習会の開催を新たに開始した。

2. 教育

大学院医学研究科では、共通カリキュラムにおいて実験動物学の講義および動物実験実習を担当したほか、大学院生の要望に応じ各自の研究課題の中で必要な動物実験の計画立案や手技の指導を随時行った。

また、当施設専任教員は本学動物実験委員会の委員として、動物実験委員長の統轄下に動物実験計画書の予備審査や変更審査の主査等を担当して委員会運営に参画し、本学動物実験規定に基づいて行われる動物実験教育訓練講師を担当した他、随時、動物実験計画申請者に対するコンサルテーションに応じた。

3. 研究

研究概要に示したように、施設教職員が各々の専門領域の下で研究活動を展開した。また、施設利用者との共同研究も積極的に行い、学会発表や論文公表を行った。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Watanabe Y, Takeuchi K, Higa Onaga S, Sato M, Tsujita M, Abe M, Natsume R, Li M, Furuichi T, Saeki M, Izumikawa T, Hasegawa A, Yokoyama M, Ikegawa S, Sakimura K, Amizuka N, Kitagawa H, Igarashi M. Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase-1 is required for normal cartilage development. *Biochem J* 2010; 432(1) : 47-55.
- 2) Furuichi T, Dai J, Cho TJ, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Baynam G, Nagai T, Miyake N, Matsumoto N, Ohashi H, Unger S, Superti-Furga A, Kim OH, Nishimura G, Ikegawa S. CANT1 mutation is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant. *J Med Genet* 2011; 48(1) : 32-7.
- 3) Okada I, Hamanoue H, Terada K, Tohma T, Megarbane A, Chouery E, Abou-Ghoch J, Jalkh N, Cogulu O, Ozkinay F, Horie K, Takeda J, Furuichi T, Ikegawa S, Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, Matsumoto N, Saitou H. SMO1 is essential for ocular and limb development in humans and mice. *Am J Hum Genet* 2011; 88(1) : 30-41.
- 4) Wada A, Ohkawa K, Tsudzuki M (Hiroshima University). Establishment and genetic characterization of the new inbred strain originated from *Phodopus campbelli*. *Exp Anim* 2010; 59(3) : S50.
- 5) Wada A, Ohkawa K, Tsudzuki M (Hiroshima University). Sequencing of the attractin gene in the black coat color mutant *Phodopus campbelli*. *Genes Genet Sys* 2010; 85(6) : 457.

III. 学会発表

- 1) 古市達哉, 榊屋啓志, 村上智彦, 鈴木智広, 今泉和則, 大川 清, 若菜茂晴, 池川志郎. ENU ミュータジェネシスによる新規II型コラーゲン遺伝子 (*Col2a1*) 変異マウスの同定. 第150回日本獣医学会学術集会. 帯広, 9月.
- 2) 和田あづみ, 大川 清, 都築政起 (広島大). *Phodopus campbelli* から育成された新規近交系の遺伝学的基礎特性. 第57回日本実験動物学会総会. 京都, 5月.
- 3) 和田あづみ, 大川 清, 都築政起 (広島大). *Phodopus campbelli* の黒色被毛突然変異体における attractin 遺伝子塩基配列. 日本遺伝学会第82回大会. 札幌, 9月.

V. その他

- 1) 古市達哉, 大川 清, 池川志郎. 糖スクレオチド輸送体 SLC35D1 の機能不全は、マウスとヒトにおいて重度の骨格異常を引き起こす. 第127回成医学会総会. 東京, 10月.
- 2) 古市達哉. 遺伝子改変マウスから見いだされた骨格異常を伴う新規トランスポーター病とその分子病態解析. 第38回北陸実験動物研究会. 富山, 10月.
- 3) 和田あづみ, 金井孝夫 (東京女子医科大), 大川 清, 都築政起 (広島大). *Phodopus campbelli* 由来近交系に発見された胃癌発症例. 第108回関西実験動物研究会. 京都, 12月.