

12. 実験動物管理室

室長： 津村 秀樹

【ミッション・目標】

実験動物管理室は、動物実験において感染症が発生しない衛生的な飼育管理を実施指導し、動物福祉に配慮した飼育、実験環境を提供する。また、実験動物委員会を通じて適正な動物実験や法規についての最新情報の入手に努め、実験動物講習会やホームページなどを通して情報提供する。さらに所長による動物実験実施状況や規程の自主点検を平成28年4月に受けた。研究支援としては、遺伝子改変動物の作製支援、胚保存や動物の清浄化を積極的に推進する。また、研究面では遺伝子改変マウスを利用し、細胞融合の機序を検討している。

【研究プロジェクト】

1. 膜蛋白 CD98 の解析
2. 網膜色素変性マウスのゲノム編集治療

[研究体制または研究支援体制]

常勤職員

室 長：津村秀樹

研 究 員：進導美幸

業務委託動物飼育技術員：

(株・JAC)：仲丸聡、鍵本千秋、竹澤久美子、藤田律子、佐藤敦、亀山里香、林明日香、永井美紗、山本 紗生、後藤大輝

[学外共同研究体制]

中部大学健康保健学部 伊藤康彦教授 (CD98 の分子機構)

昭和大学歯学部 高見正道教授 (破骨細胞の研究)

【研究の概要】

1. 膜蛋白 CD98 の解析

CD98 の生理機構についてはアミノ酸のトランスポーター、リンパ球の活性化因子、細胞融合制御因子、接着因子との関連性などが報告されている。それらの機能をさらに解析するために CD98 のノックアウトマウスを作製したが、胎生致死であったため詳細な働きは不明であった。また、受精や胎盤においても、細胞融合は重要なイベントでありそれに CD98 が関与しているという報告もある。それらを解析するため、コンディショナルノックアウトマウスを作製し検討した。その結果、マクロファージの細胞融合に重要な働きを示した。また、破骨細胞の分化にも CD98 分子が関係している結果を得え、論文発表した。さらに、CD98 関連分子(Slc7a5, Slc1a5)のノックアウトマウスも作製した。現在、解析中である。

2. 網膜色素変性マウスのゲノム編集治療

CBA マウスは遺伝的に網膜色素変性症を発生する。原因遺伝子は Pde6b (ホスホジエステラーゼ 6B) の1塩基置換により発症すると報告されている。CRISPR/Cas9 により、この変異を正常にもどし、実験動物としての CBA マウスの再評価を行う。目的通り組換わったマウ

スが得られれば、それを系統化し、網膜の構造、行動観察を実施する。

【業務活動】

1. 講習会の実施

新規利用者に対して動物実験利用者講習会を実施し、2年間で合計91名の職員や共同研究員が受講した。内容は3Rの精神に沿って動物愛護法と実験動物の飼養と管理に関する基準の概要を説明し、動物福祉の精神を持って実験が遂行されるよう指導している。また、動物施設は共同利用施設であり、その使用ルールが定められており、その実際の手順も説明している。

実験動物利用者講習会日程

平成27年2月5日(木) 午後1時10分
 平成27年3月5日(木) 午後1時10分
 平成27年4月3日(金) 午後1時10分 (2階セミナー室)
 平成27年5月1日(金) 午後1時10分
 平成27年6月5日(金) 午後1時10分
 平成27年7月6日(月) 午後1時10分
 平成27年9月3日(水) 午後1時10分
 平成27年10月6日(火) 午後1時10分
 平成27年11月5日(木) 午後1時10分
 平成27年12月7日(月) 午後1時10分
 平成28年2月5日(金) 午後1時10分
 平成28年3月7日(月) 午後1時10分
 平成28年4月5日(火) 午後1時10分 (2階セミナー室)
 平成28年5月9日(月) 午後1時10分
 平成28年6月7日(火) 午後1時10分
 平成28年7月6日(水) 午後1時10分
 平成28年9月8日(木) 午後1時10分
 平成28年10月5日(水) 午後1時10分
 平成28年11月7日(月) 午後1時10分
 平成28年12月6日(火) 午後1時10分

2. 動物実験計画申請書の審査

研究所内で行われる動物実験はすべて動物実験計画書を提出しなくてはならない。平成27年1月～平成28年12月には新規課題9件、継続課題53件を審査承認した。

3. 微生物モニタリング

当施設の小動物モニタリング項目は下記の通りである。実験に影響を与える感染症は発生

しなかったが、2年の間にA飼育室で不顕性感染である未同定原虫4件、緑膿菌が1件検出され、飼育環境の改善に努めた。

1) 細菌

Citrobacter rodentium
 Corynebacterium kutscheri
 Mycoplasma pulmonis
 Pasteurella pneumotropica
 Salmonella spp
 Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌)
 Mycoplasma pulmonis
 Helicobacter hepaticus
 Helicobacter bilis

2) ウイルス

Clostridium piliforme
 Ectromelia virus
 Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)
 Mouse hepatitis virus
 Sendai virus
 Mouse norovirus

3) 寄生虫

消化管内原虫
 蟯虫
 外部寄生虫

4. 遺伝子改変動物の作製支援と胚保存

平成27年1月8日 薬剤 PLP1-Cre 受精卵凍結
 平成27年1月14日 薬剤 AVP-EGFP 受精卵融解移植
 平成27年1月15日 薬剤 Cyth2 KI 受精卵凍結
 平成27年1月22日 薬剤 Cyth2 F/F 受精卵凍結
 平成27年1月23日 再生医療 N9 受精卵融解移植
 平成27年1月29日 薬剤 Wnt1-Cre 受精卵凍結
 平成27年2月5日 RI KO Galectin9/B6 受精卵凍結
 平成27年2月12日 RI C57BL/6-Tg(TCR-OT-I)Cbn IVF、移植
 平成27年2月19日 再生医療 OTCD-scid hetero 受精卵凍結
 平成27年3月24日 薬剤 Evi2b line3 受精卵凍結

平成 27 年 3 月 26 日 RI C57BL/6-Tg(TCR-OT-I)Cbn IVF、移植
 平成 27 年 4 月 10 日 薬剤 Cyth2-KI 受精卵融解移植
 平成 27 年 4 月 22 日 RI C57BL/6-Tg(TCR-OT-I)Cbn 受精卵融解移植
 平成 27 年 6 月 17 日 薬剤 PLP1-Cre 受精卵融解移植
 平成 27 年 6 月 18 日 薬剤 Evi2b line2 受精卵凍結
 平成 27 年 6 月 25 日 薬剤 Evi2b line5 受精卵凍結
 平成 27 年 7 月 3 日 周産期 ICR IVF
 平成 27 年 7 月 8 日 薬剤 V1aR f/f 精子凍結保存
 平成 27 年 7 月 8 日 薬剤 PLP1-Cre 受精卵融解移植
 平成 27 年 7 月 9 日 周産期 B6:129S4-Dnmt3b IVF、移植
 平成 27 年 7 月 16 日 分子内分泌 Actb3'-FLPe・C57BL/6N mouse IVF、移植
 平成 27 年 7 月 23 日 RI C57BL/6-Tg(TCR-OT-I)Cbn 受精卵融解移植
 平成 27 年 8 月 4 日 薬剤 Evi2b line1
 平成 27 年 8 月 6 日 薬剤 Fyn SH1 Tg BDF1xBDF1 受精卵凍結
 平成 27 年 8 月 13 日 分子内分泌 B6N-Cbx2 tm1a(KOMP)Wtsi/H KO mouse(MRC sperm)
 IVF、移植
 平成 27 年 8 月 28 日 免疫アレルギー TLR3 KO 受精卵融解移植
 平成 27 年 9 月 2 日 免疫アレルギー Ormdl3 KO 精子凍結保存
 平成 27 年 9 月 3 日 薬剤 Evi2b line4 受精卵凍結
 平成 27 年 10 月 1 日 薬剤 HSP60 Tg line22 受精卵凍結
 平成 27 年 11 月 12 日 分子内分泌 Sf1 Mut 受精卵凍結
 平成 27 年 11 月 19 日 分子内分泌 Flox2 Mut 受精卵凍結
 平成 27 年 12 月 10 日 薬剤 V1aR f/f 受精卵凍結
 平成 27 年 12 月 15 日 薬剤 PLP1-Cre 受精卵凍結
 平成 27 年 12 月 17 日 薬剤 PLP1-Cre 受精卵凍結
 平成 28 年 1 月 7 日 再生医療 K065_pPB-Alb-Stop-DTA-CAG-ERT2CreERT2-imCherry Tg 作製
 平成 28 年 1 月 15 日 再生医療 K065_pPB-Alb-Stop-DTA-CAG-ERT2CreERT2-imCherry Tg 作製
 平成 28 年 2 月 2 日 薬剤 Rnd2 cKO 受精卵凍結
 平成 28 年 2 月 4 日 薬剤 Rnd2 cKO 受精卵凍結
 平成 28 年 2 月 12 日 薬剤 GFAP-Cre; B6. Cg_Tg(Gfap - cre)77.6Mvs/2J 精子凍結保存
 平成 28 年 2 月 12 日 薬剤 GFP-TOMATO; B6.129(Cg)-Gt(ROSA)26Sor<tm4(ACTB - tdTomato, -EGFP)Luo>/J 精子凍結保存
 平成 28 年 2 月 22 日 周産期 Klf14(neo+)-/- 精子凍結保存
 平成 28 年 2 月 26 日 再生医療 K065_pPB-Alb-Stop-DTA-CAG-ERT2CreERT2-imCherry Tg 作製
 平成 28 年 3 月 4 日 再生医療 K065_pPB-Alb-Stop-DTA-CAG-ERT2CreERT2-imCherry Tg 作製
 平成 28 年 3 月 10 日 周産期 Klf14(neo-)-/- 受精卵凍結
 平成 28 年 3 月 11 日 周産期 Klf14(neo-)+/- IVF、移植
 平成 28 年 3 月 13 日 周産期 Klf14(neo-)+/- 移植
 平成 28 年 3 月 23 日 成育遺伝 Ku 809 精子凍結保存
 平成 28 年 3 月 23 日 薬剤 GFP-TOMATO; B6.129(Cg)-Gt(ROSA)26Sor<tm4(ACTB - tdTomato, -EGFP)Luo>/J 精子凍結保存

平成 28 年 3 月 29 日 薬剤 GFP-TOMATO; B6.129(Cg)-Gt(ROSA)26Sor^{tm4}(ACTB-tdTomato, -EGFP)Luo>/J 受精卵凍結

平成 28 年 5 月 17 日 薬剤 CD69 KO(hetero) 受精卵凍結

平成 28 年 5 月 25 日 RI gfap-gp120 精子凍結保存

平成 28 年 5 月 27 日 再生医療 OTCD/scid 受精卵凍結

平成 28 年 5 月 31 日 周産期 Klf14(neo-)+/- 受精卵凍結

平成 28 年 6 月 7 日 薬剤 CD69 KO(hetero) 受精卵凍結

平成 28 年 6 月 16 日 周産期 Klf14(neo-)+/- 受精卵凍結

平成 28 年 6 月 16 日 成育遺伝 MoMLV-Ku0 受精卵凍結

平成 28 年 6 月 28 日 薬剤 CD69 Tg line007 受精卵凍結

平成 28 年 6 月 30 日 薬剤 CD69 Tg line006 受精卵凍結

平成 28 年 7 月 1 日 RI B6/Foxp3 受精卵凍結

平成 28 年 7 月 1 日 RI CD8 tg 受精卵凍結

平成 28 年 7 月 5 日 周産期 Klf14(neo-)+/- 受精卵融解移植

平成 28 年 7 月 6 日 薬剤 CD38 KO 受精卵融解移植

平成 28 年 7 月 7 日 周産期 Klf14(neo-)+/- 受精卵融解移植

平成 28 年 7 月 12 日 成育遺伝 MoMLV-Ku0 受精卵凍結

平成 28 年 7 月 14 日 薬剤 CD69 KO(hetero) 受精卵凍結

平成 28 年 7 月 27 日 薬剤 B6.D2-Pmp22 受精卵融解移植

平成 28 年 8 月 4 日 薬剤 miSH2B1 Tg 受精卵凍結

平成 28 年 8 月 5 日 システム発生 Scx-CreL-Tg 受精卵凍結

平成 28 年 8 月 9 日 薬剤 B6.129(SJL) - O_{xtr} < tml.1Wsy>rJ (OXTRf/f) 受精卵凍結

平成 28 年 8 月 24 日 薬剤 CNPase-Cre 受精卵融解移植

平成 28 年 9 月 28 日 薬剤 CNPase-Cre 受精卵融解移植

平成 28 年 9 月 28 日 分子内分泌 Prrx1-Cre、Actb-FLPe、Frt-rec MRC 精子凍結保存

平成 28 年 10 月 13 日 システム発生 Mkx KO 受精卵凍結

平成 28 年 10 月 18 日 システム発生 Rosa-DTA 受精卵凍結

平成 28 年 10 月 19 日 RI RAG2/BALBc 受精卵融解移植

平成 28 年 11 月 2 日 薬剤 CD38 KO 精子凍結保存

平成 28 年 12 月 15 日 システム発生 ScxCre-ERT2 受精卵凍結

平成 28 年 12 月 20 日 システム発生 Rosa26-tdtomato 受精卵凍結

5. 空調設備点検・整備実施日・出来事

平成 27 年 1 月 16 日 空調機 1 系統 No.1 スプレーポンプ異音発生

平成 27 年 1 月 21 日 B エリア 高圧蒸気滅菌器 (E0) 整備 (アベーター緊急排気配管よりサビ水)

平成 27 年 1 月 22 日 空調機 1 系統 No.1 スプレーポンプ故障

平成 27 年 1 月 30 日 B エリア 高圧蒸気滅菌器 (E0) 整備 (モーターバルブ交換)

平成 27 年 2 月 4 日 A エリア 高圧蒸気滅菌器法定点検

平成 27 年 2 月 4 日 D エリア 高圧蒸気滅菌器法定点検

平成 27 年 2 月 10 日 動物施設 非常時誘導灯バッテリー交換

平成 27 年 2 月 13 日 動物施設 汚水槽清掃

平成 27 年 3 月 2 日 B エリア 高圧蒸気滅菌器故障 (シーケンサー・外缶給蒸モーターバルブ)

平成 27 年 3 月 9 日 Bエリア 高圧蒸気滅菌器整備（シーケンサー・外缶給蒸モーターバブル）
 平成 27 年 3 月 18 日 Bエリア 高圧蒸気滅菌器故障（元蒸気減圧弁他）
 平成 27 年 3 月 25 日 動物施設 消防設備点検
 平成 27 年 3 月 25 日 空調機 2 系統整備
 平成 27 年 5 月 18 日 EOG 環境検査
 平成 27 年 5 月 25 日～28 日 空調機 定期点検・整備
 平成 27 年 5 月 27 日 Cエリア 洗浄室シンク修理
 平成 27 年 6 月 5 日 Cエリア 洗浄室コンセント・電話・エアコンコントロールパネル破損（コンセント・電話のみ交換）
 平成 27 年 6 月 8 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器故障（シーケンサー）
 平成 27 年 6 月 15 日～18 日 空調機 空調制御機器点検（A・Bエリア）
 平成 27 年 7 月 2 日 動物施設 汚水槽清掃
 平成 27 年 7 月 3 日～5 日 Bエリア EOG 緊急排気排気配管工事
 平成 27 年 7 月 7 日 空調機 3 系統整備（インバーター交換）
 平成 27 年 7 月 9 日 Cエリア 洗浄室エアコンコントロールパネル交換
 平成 27 年 7 月 30 日～31 日 空調機 空調制御機器点検（C・Dエリア）
 平成 27 年 8 月 21 日～22 日 Aエリア 洗浄室ケージワッシャー整備
 平成 27 年 8 月 24 日 Bエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 27 年 8 月 24 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 27 年 8 月 25 日 空調機 1 系統整備（No. 1 スプレーポンプ交換）
 平成 27 年 9 月 7 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器整備（シーケンサー交換）
 平成 27 年 9 月 18 日 動物施設 消防設備点検
 平成 27 年 10 月 15 日 動物施設 建築設備点検（排煙機）
 平成 27 年 10 月 20 日 Aエリア CS5Evo ケージ交換ステーション初年度点検
 平成 27 年 11 月 4 日 空調機 1 系統整備（電磁弁交換）
 平成 27 年 11 月 16 日～17 日 空調機 定期点検・整備
 平成 27 年 11 月 30 日 EOG 環境検査
 平成 27 年 12 月 1 日 Bエリア 前室UV灯故障（安定器）
 平成 27 年 12 月 3 日 Bエリア 高圧蒸気滅菌器整備
 平成 27 年 12 月 3 日 Cエリア 洗浄室ケージワッシャー整備
 平成 27 年 12 月 7 日 Aエリア 高圧蒸気滅菌器故障（内缶高圧異常）
 平成 27 年 12 月 8 日 Aエリア 高圧蒸気滅菌器整備（内缶・外缶給蒸モーターバブル交換）
 平成 28 年 1 月 20 日 Aエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 28 年 1 月 20 日 Dエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 28 年 1 月 20 日 Bエリア バイオバブルビニール補修
 平成 28 年 1 月 21 日 Bエリア EOG 真空ポンプオーバーホール
 平成 28 年 1 月 21 日 Cエリア バイオバブルビニール補修
 平成 28 年 1 月 25 日 Bエリア 飼育室天井水漏れ（空調機 1 系統排気ダクトより）
 平成 28 年 2 月 8 日 動物施設 汚水槽清掃
 平成 28 年 2 月 18 日 Bエリア 飼育室天井水漏れ・ダクト配管補修工事
 平成 28 年 2 月 23 日 Cエリア 洗浄室ケージワッシャー蒸気漏れ
 平成 28 年 2 月 24 日 Cエリア 洗浄室ケージワッシャー整備
 平成 28 年 2 月 25 日 空調機 空調制御機器点検

平成 28 年 3 月 16 日 動物施設 消防設備点検
 平成 28 年 3 月 17 日 Aエリア バイオバブルビニール補修
 平成 28 年 3 月 17 日 Aエリア 飼育ラックキャスター交換
 平成 28 年 3 月 29 日 動物施設 バイオバブル用ファン納品 (一部交換)
 平成 28 年 4 月 13 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器用運搬台車 (柱亀裂) 破損・修理
 平成 28 年 4 月 20 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器用運搬台車 (柱亀裂) 破損・修理
 平成 28 年 4 月 22 日 動物施設 インターロック修理
 平成 28 年 4 月 28 日 Dエリア 高圧蒸気滅菌器機械室内水漏れ (キャットウォーク内蒸気配管結合部位より)
 平成 28 年 5 月 17 日 Cエリア 洗浄室内コンセント及び水道増設工事
 平成 28 年 5 月 30 日 EOG 環境検査
 平成 28 年 6 月 26 日 空調用冷却機故障
 平成 28 年 6 月 28 日～29 日 空調機 空調制御機器点検 (A・Bエリア)
 平成 28 年 7 月 10 日 Aエリア 更衣室内洗面所排水高圧洗浄
 平成 28 年 7 月 25 日 Aエリア 飼育室内当室圧異常
 平成 28 年 7 月 27 日～28 日 空調機 空調制御機器点検 (C・Dエリア)
 平成 28 年 8 月 22 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 28 年 8 月 22 日 Aエリア バイオバブルビニール補修
 平成 28 年 8 月 23 日 Bエリア 高圧蒸気滅菌器法定点検
 平成 28 年 8 月 23 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器整備 (給水圧力スイッチ・圧力計交換)
 平成 28 年 8 月 23 日 Cエリア バイオバブルビニール補修
 平成 28 年 8 月 30 日 Cエリア 高圧蒸気滅菌器整備 (水漏れ)
 平成 28 年 9 月 8 日 動物施設 消防設備点検
 平成 28 年 11 月 4 日～10 日 空調機 空調制御機器更新・調整工事
 平成 28 年 11 月 20 日 動物施設 防火・防災点検
 平成 28 年 11 月 28 日 EOG 環境検査
 平成 28 年 11 月 29 日 空調機 1 系統 CP-1 ポンプ故障 (過負荷)
 平成 28 年 12 月 12 日～19 日 空調機 定期点検・整備
 平成 28 年 12 月 15 日 動物施設 建築設備点検
 平成 28 年 12 月 17 日～18 日 A・C・Dエリア 高圧蒸気滅菌器整備 (排水配管等更新)

【平成 27 年研究業績】

1. 論文発表

[原著論文 (欧文)]

1) Ihara N, Akihiro U, Onami N, Tsumura H, Inoue E, Hayashi S, Sago H, *Mizutani S. Partial rescue of mucopolysaccharidosis type VII mice with a life long engraftment of allogeneic stem cells in utero. Congenital Anomalies (Kyoto). 2015 Feb;55(1):55-64.

2) Torii T, Miyamoto Y, Yamamoto M, Ohbuchi K, Tsumura H, Kawahara K, Tanoue A, Sakagami H, *Yamauchi J. Arf6 mediates Schwann cell differentiation and

myelination. Biochemical and Biophysical Research Communications 2015 Sep 25;465(3):450-7.

3) Torii T, Miyamoto Y, Yamamoto M, Ohbuchi K, Tsumura H, Kawahara K, Tanoue A, Sakagami H, *Yamauchi J. Data supporting Arf6 regulation of Schwann cell differentiation and myelination. Data Brief. 2015 Oct 3;5:388-95.

4) Kurihara T, Arimochi H, Bhuyan ZA, Ishifune C, Tsumura H, Ito M, Ito Y, Kitamura A, Maekawa Y, *Yasutomo K. CD98 Heavy Chain Is a Potent Positive Regulator of CD4+ T Cell Proliferation and Interferon- γ Production In Vivo. PLoS One. 2015 Oct 7;10(10):e0139692.

【公的研究費】

文部科学省科学研究費補助金基盤B

着床前期胚における「ゲノムの若返り」機構の解明 浜谷班：連帯研究者 津村秀樹 50万円

【その他（教育活動・広報など）】

[研究所運営への貢献]

津村 秀樹. 研究所麻薬・毒劇物等管理委員長

[社会活動]

津村 秀樹. 三重大学実験動物委員会委員

津村 秀樹. 日本実験動物学会評議委員

津村 秀樹. 厚生労働省関係動物実験施設協議会会長

【平成28年研究業績】

1. 論文発表

[原著論文（欧文）]

1) Nishio Y, Fujino M, Cai S, Kitajima Y, Saito T, Tsumura H, Ito M, Ito Y, Nagahara Y, *Li XK. Impaired CD98 signaling protects against graft-versus-host disease by increasing regulatory T cells. Transplant Immunology. 2016 Mar;35:34-9.

2) Tsumura H, Ito M, Takami M, Arai M, Li XK, Hamatani T, Igarashi A, Takada S, Miyado K, Umezawa A, *Ito Y. Conditional deletion of CD98hc inhibits osteoclast development. Biochemistry and Biophysics Reports, Volume 5, March 2016, Pages 203-210

【公的研究費】

獲得無し

【その他（教育活動・広報など）】

[研究所運営への貢献]

津村 秀樹. 研究所麻薬・毒劇物等管理委員長

[社会活動]

津村 秀樹. 三重大学実験動物委員会委員

津村 秀樹. 日本実験動物学会評議委員

津村 秀樹. 厚生労働省関係動物実験施設協議会会長

