



## 全身で緑色蛍光タンパク (GFP) を発現する 遺伝子改変カニクイザルの作製

(霊長類を用いたアルツハイマー病などの難病研究に道)

JST さきがけ「iPS 細胞と生命機能」および本学神経難病研究推進機構の研究事業の一環として、本学動物生命科学研究センター清田弥寿成特任助教、依馬正次教授、小笠原一誠センター長らの研究グループは、公益財団法人実験動物中央研究所応用発生学研究センター・佐々木えりかセンター長との共同研究により、霊長類であるカニクイザルで遺伝子改変動物の作製に成功しました。GFP を発現するカニクイザルの報告は世界初です。

この成果は、4月25日（月）（日本時刻 18:00）付けで、Nature 姉妹誌「Scientific Reports」誌にオンライン掲載されます。

### POINT

- ・ マウスやラットなどのげっ歯類モデルでは、アルツハイマー病といった神経難病やインフルエンザといった感染症などでヒトの病態を再現できない例が多く、非ヒト霊長類モデルの開発が求められてきた。
- ・ そこで、本学では、1990年代から、カニクイザルを使用した発生工学技術の開発を進め、人工繁殖法を確立、計画的に繁殖を継続してきた。
- ・ 今回、全身で GFP を発現するカニクイザルの作出に世界で初めて成功した。
- ・ また、安定的に遺伝子組換えカニクイザルを作出する実験系を確立した。
- ・ これにより、アルツハイマー病などのヒト難病モデルカニクイザルの作製が可能になると期待される。

(別紙 1) 内容詳細

#### 《本件に関する問い合わせ先》

滋賀医科大学 企画課（担当：叶・奥村）

TEL：077-548-2012

e-mail：hqqkouhou@belle.shiga-med.ac.jp

## (別紙1) 内容詳細

### 全身で GFP を発現するトランスジェニックカニクイザルの作製

**【要旨】** 現在、遺伝子操作が容易なげっ歯類を用いて多くの疾患モデルが作製されています。しかしパーキンソン病やアルツハイマー病などの一部のモデルではヒトでの病態を再現できない例が報告されています。そこでよりヒトに近い非ヒト霊長類の疾患モデルの開発が求められています。2001年に霊長類初の\*トランスジェニックアカゲザルの作出が報告されており、同一グループからハンティントン病モデルアカゲザルが2008年に作出され、カニクイザルでは2グループからの報告がありますが、日本ではトランスジェニックコモンマーモセットの作出が報告されているのみであり、トランスジェニックカニクイザルの作出例はありません。動物生命科学研究センターでは\*\*レンチウイルスベクター法によって全身でGFPを発現する世界初のトランスジェニックカニクイザルの作出に成功しました。

(4月25日付け「Scientific Reports」誌に掲載予定)

**【研究の背景と経緯】** これまで遺伝子改変が容易なげっ歯類を用いて多くのヒト疾患モデル動物が開発されてきました。しかし、げっ歯類モデルではヒト病態を再現できない例がインフルエンザを含め報告されているため、よりヒトの病態を忠実に再現できる非ヒト霊長類モデルの開発が期待されていました。特に旧世界霊長類は胚や胎盤の構造、内分泌・代謝、さらには血清、血液成分の多くがヒトに類似しているため、得られたデータのヒトへの外挿が比較的容易だと考えられます。実験動物用の旧世界霊長類としては、アカゲザルが挙げられますが、繁殖に季節性があるため、年間を通じて繁殖可能なカニクイザルの有用性が高いと考えられます。2001年に霊長類初のトランスジェニックアカゲザルの作出が報告されており、同一グループからハンティントン病モデルアカゲザルが2008年に作出された。他にアカゲザルでは2例の報告があり、カニクイザルでは1グループからの報告があります。日本では公益財団法人実験動物中央研究所により、トランスジェニックコモンマーモセットの作出が報告されていますが国内ではこの一例のみであり、トランスジェニックカニクイザルの作出例は報告されていませんでした。そこで滋賀医科大学動物生命科学研究センターの依馬正次教授と公益財団法人実験動物中央研究所応用発生学研究センターの佐々木 えりか センター長らの研究グループは、遺伝子改変霊長類の作出法を研究し、その確立に成功しました。

**【研究の内容】** 本研究グループは、滋賀医科大学動物センターが長年かけて確立したカニクイザルの発生工学的手法と人工繁殖、哺育技術を基盤にして、公益財団法人実験動物中央研究所の佐々木 えりか センター長との共同研究により初めて遺伝子改変カニクイザルを作出しました。

この遺伝子改変カニクイザルの作出では、未受精卵の囲卵腔へウイルスベクターを注入して GFP をコードする遺伝子を導入しました (図 1 B)。遺伝子を導入した未受精卵はヒトの不妊治療でも用いられている細胞質精子注入法(ICSI)で受精させ、数日間培養を行い、GFP を発現した受精卵だけを選んでカニクイザルの仮親の子宮へ移植しました。この方法により、生まれてきた 2 頭のカニクイザル全てが遺伝子改変カニクイザルであること (図 2)、そのうち 1 頭は、さまざまな体細胞で外来遺伝子が均一に発現していることが確認されました。

従来方法 (図 1 A) である受精卵ではなく、より早い段階である未受精卵にウイルスベクターを注入したことで、産まれた子が均一に GFP を発現する遺伝子改変カニクイザルの作出を可能にしました。

### 【今後の展開】

本研究で確立したカニクイザルの遺伝子改変技術を用いて家族性アルツハイマー病の原因遺伝子である変異型 APP( $\beta$ -amyloid precursor protein)を導入した家族性アルツハイマー病モデルカニクイザルを作製し、治療法開発研究などへの貢献が期待されます。また、さまざまな細胞、臓器移植研究に使用可能な移植免疫寛容 GFP カニクイザルの作製を行い、大学の中期目標である神経難病研究、総合がん医療推進研究、生活習慣病、サルを用いた再生医学研究に役立てていきたいと考えています。

### 【参考図】

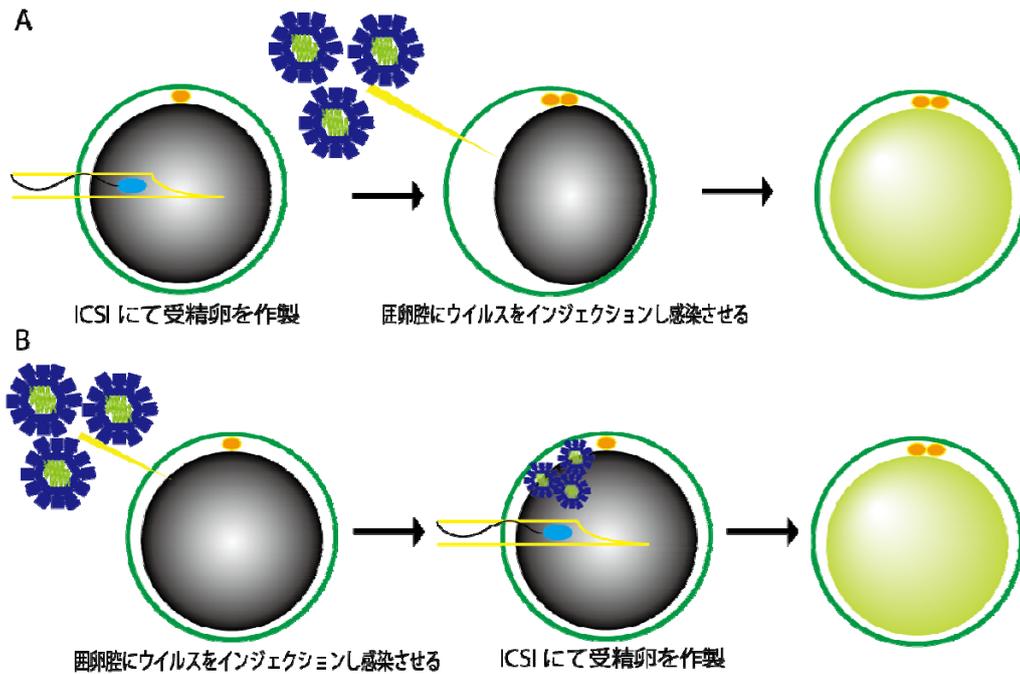


図1 カニクイザル卵子への GFP 遺伝子導入方法



図2. GFP を発現するカニクイザル(左、Tg)と野生型カニクイザル(右、WT)

## 【用語解説】

### \*トランスジェニック

目的とする機能を持つ外来遺伝子を人為的に導入した動物。

### \*\*レンチウイルスベクター

ウイルス遺伝子の一部を欠損させ病原性が発現しないようにたウイルス遺伝子に、目的の遺伝子を組み込んだウイルスを用いて、細胞などに目的の遺伝子を導入する方法。ウイルスが感染する際に、宿主の染色体にウイルス遺伝子を組み込む性質を利用したもの。