

# 自治医科大学先端医療技術開発センター シンポジウム2017



平成25年度文部科学省採択 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
平成29年度文部科学省採択 共同利用・共同研究拠点形成事業

## マウスからヒトへ：大型動物を利用する橋渡し研究

研究代表者：先端医療技術開発センター長 花園豊

日 時

2017年11月20日 月 13:00-17:15

場所：自治医科大学医学教育研究棟1階 講堂  
栃木県下野市薬師寺3311-1



## ご挨拶

自治医科大学先端医療技術開発センター  
センター長・教授  
花園 豊



時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。自治医科大学先端医療技術開発センターシンポジウム2017を平成29年11月20日(月)、本学にて開催する運びとなりました。ご労をおとりいただいた教職員の方々に心より感謝申し上げます。

本センターでは積極的に外部資金を調達して、ブタを利用したユニークな研究を進めています。本シンポジウムではその最新の成果をご披露いたします。

本センターの研究課題「マウスからヒトへ～大型動物を利用する橋渡し研究」は、平成25年度文科省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業に採択されました。早いもので、本年度がその最終年度になります。本シンポジウムはその最終報告会の意味合いがあります。

おかげさまで、本センターのブタ利用研究は内外より高い評価をいただき、本年度、国との共同利用・共同研究拠点としての認定を受けました(\*). 3カ年計画で拠点形成事業が始まっています。本シンポジウムはそのキックオフ・ミーティングの意味合いがあります。

ブタは、疾患モデル動物として注目を集めています。本センターでは今後、さまざまな疾患モデルブタを作っていくと考えています。そこで、本シンポジウムでは、ブタモデルを作るための諸技術に関して学外のスペシャリストを2名お招きしてご講演いただきます。

ブタが実験動物の主役に躍り出る日はそう遠くない、と私は信じています。ブタは食べて旨いだけではないのです。

\*本センターでは研究課題を広く全国から公募しています。

<http://www.jichi.ac.jp/cdamt/>



先端医療技術開発センターシンポジウム 平成 29 年 11 月 20 日 (月)

13:00 ~ 13:10 永井学長 開会の挨拶

第1部 未来の医療 その1 技術編 (座長:國田教授、阿部講師)

13:10 ~ 13:30 花園 豊教授 「ピッグモデル」で読み解く次世代医療:再生医療・ゲノム医療・腸内細菌医療を中心に (20分)

13:30 ~ 13:45 遠藤仁司教授 ブタでのヒト臓器作製に向けた細胞技術

13:45 ~ 14:00 西村 智教授 光イメージングをマウスからヒト臨床へ (15分)

14:00 ~ 14:15 北山丈二教授 ピッグで拓く未来の8K内視鏡手術 (15分)

14:15 ~ 14:30 休憩 (15分) 集合写真撮影

第2部 未来の医療 その2 疾患治療編 (座長:杉本教授、魚崎講師)

14:30 ~ 14:45 岡本宏明教授 ピッグで見つけたE型肝炎ウイルス:治療に向けて (15分)

14:45 ~ 15:00 村松慎一教授 脳に届くAAVベクター:中枢神経変性疾患に対する遺伝子治療の開発 (15分)

15:00 ~ 15:15 黒尾 誠教授 リンと腎不全とピッグ:マウスではできないピッグ腎不全モデルを用いた新規治療法の開発 (15分)

15:15 ~ 15:30 大森 司教授 血友病のピッグモデルとゲノム編集治療 (15分)

15:30 ~ 15:45 休憩 (15分)

第3部 大学院特別講義 (座長:國田教授、長尾学内准教授)

15:45 ~ 16:25 真下知士先生 (大阪大学准教授)  
ゲノム編集技術によるモデル動物開発研究 (40分)

16:25 ~ 16:30 休憩 (5分)

16:30 ~ 17:10 吉岡耕治先生 (農業・食品産業技術総合研究機構ユニット長)  
モデルブタ作出のための生殖補助技術 (40分)

17:10 ~ 17:15 篠田副学長 閉会の挨拶

【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・先端医療技術開発センター・花園 豊



【略歴】

1986年3月 東京大学医学部医学科卒業  
1992年3月 東京大学大学院医学系研究科修了（医学博士）  
1993年8月 東京大学医学部第3内科 助手  
1995年8月 アメリカ国立保健衛生研究所（NIH）客員研究員  
1998年8月 自治医科大学 講師  
2003年4月 同大学 助教授  
2007年4月 同大学 教授  
2015年4月 同大学 先端医療技術開発センター センター長

【研究紹介・その他】

専門は、血液学・再生医学・実験動物学。iPS 細胞やゲノム編集技術の実用化をめざして、大型動物（ピッグ・ヒツジ・サル）を用いてマウスからヒトへの「橋渡し」研究を進めている。日本血液学会評議員、日本遺伝子治療学会評議員、日本再生医療学会評議員、日本異種移植研究会世話人、日本先進医工学ブタ研究会世話人。1999 年持田記念医学薬学振興財団研究奨励賞、1999 年千里ライフサイエンス振興財団奨励研究、2000 年日本血液学会奨励賞。毎朝 6 時自転車出勤、毎日 2 キロ泳いでいる。

【発表論文】

1. Hara H, Shibata H, Nakanno K, Abe T, Uosaki H, Ohnuki T, Hishikawa S, Kunita S, Watanabe M, Nureki O, Nagashima H, Hanazono Y. Production and rearing of germ-free X-SCID pigs. *Exp Anim* in press.
2. Abe T, Kono S, Ohnuki T, Hishikawa S, Kunita S, Hanazono Y. A swine model of acute thrombocytopenia with prolonged bleeding time produced by busulfan. *Exp Anim* 2016; 65(4): 345-351.
3. Mizukami Y, Abe T, Shibata H, Makimura Y, Fujishiro SH, Yanase K, Hishikawa S, Kobayashi E, Hanazono Y. MHC-matched induced pluripotent stem cells can attenuate cellular and humoral immune responses but are still susceptible to innate immunity. *PLoS One* 2014; 9(6):e98319.
4. Watanabe M, Nakano K, Matsunari H, Matsuda T, Maehara M, Kanai T, Kobayashi M, Matsumura Y, Sakai R, Kuramoto M, Hayashida G, Asano Y, Takayanagi S, Arai Y, Umeyama K, Nagaya M, Hanazono Y, Nagashima H. Generation of immunodeficient pigs from somatic cells genetically engineered to lack IL2 receptor gamma chain gene by zinc finger nuclease-encoding mRNA. *PLoS One* 2013;8(10):e76478.
5. Fujishiro S, Nakano K, Mizukami Y, Azami T, Arai Y, Matsunari H, Ishino R, Nishimura T, Watanabe M, Abe T, Furukawa Y, Umeyama K, Yamanaka S, Ema M, Nagashima H, Hanazono Y. Generation of naive-like porcine induced pluripotent stem cells capable of contributing to embryonic and fetal development. *Stem Cells Dev* 2013; 22(3): 473-482.

## 「ピッグモデル」で読み解く次世代医療

自治医科大学・先端医療技術開発センター

花園 豊

私どもの研究室では、マウスのような齧歯類では出来ない実験、あるいは、たとえ出来てもその結果をヒトに外挿するのが難しい実験を見つければ、それをピッグで出来ないか試みている。本シンポジウムではこれらの実験をいくつか紹介したい。

**iPS 細胞の同種移植：**私どもは、ピッグの iPS 細胞をいち早く樹立し（藤城ら *Stem Cells Dev* 2013）、組織適合抗原（MHC）合致のピッグ iPS→ピッグ同種移植の実験を行った。その結果、iPS 細胞とレシピエントの MHC を合わせれば、T・B 細胞を介する adaptive immunity は抑えられても、未分化の iPS 細胞は innate immunity（NK 細胞・補体）を免れず強く傷害されることがわかった（水上ら *PLoS One* 2014）。したがって移植片に iPS 細胞が混入しても体内では排除されて（従前心配されている）奇形腫形成はまず起こらないと予想される。マウスには MHC 合致同種移植の系がないことを考えると、ピッグのこの系は、京都大学山中教授らが進めている「他人（同種）の」 iPS 細胞治療の忠実なモデルになるだろう。

**食生活と腸内細菌：**私どもは、妊娠ピッグから無菌的に新生仔を分娩し、それを一定期間、無菌的に飼育する技術を実現している（原ら *Exp Anim* 印刷中）。さらに、この無菌ピッグに対してヒト糞便移植を行い、ヒト腸内細菌定着ピッグの作出に成功した（原ら論文準備中）。ピッグはマウスと異なりヒトと同じものを食すことができるため、ヒトの食生活と腸内細菌叢の相互関係をピッグで再現する実験系を構築できると考えている。

**SCID ピッグ：**無菌ピッグの飼育ノウハウを活用すれば、SCID ピッグの無菌的飼育を実現できる。以前、私どもは明治大学長嶋教授と SCID ピッグを作出した（渡邊ら *PLoS One* 2013）。最近、この SCID ピッグの繁殖と 3ヶ月にわたる無菌飼育に成功した（原ら *Exp Anim* 印刷中）。今後、SCID ピッグをレシピエントに用いて、ヒトの組織やガンの移植実験、およびヒトの造血・免疫系を再構築する実験が可能になる。SCID ピッグは、SCID マウスに比べると、サイズや生理学的パラメーターがヒトに近い。したがって、SCID ピッグから得られるデータは、ヒトへの外挿や翻訳がしやすいと期待される。

-----  
<<メモ>>

### 【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・医学部生化学講座機能生化学部門・遠藤仁司



### 【略歴】

1985年 3月 東北大学医学部 卒業  
1990年 4月 日本学術振興会特別研究員  
1991年 3月 東北大学大学院医学研究科 修了（医学博士）  
1991年11月 自治医科大学生化学第一講座 助手  
1994年 8月 自治医科大学生化学第一講座 講師  
2003年 4月 自治医科大学生化学講座機能生化学部門 助教授  
2005年 4月 自治医科大学生化学講座機能生化学部門 教授  
2009年 4月 同大学 実験医学センター センター長（兼任）  
～2011年 6月

### 【研究紹介・その他】

専門は、生化学・細胞生物学。特にミトコンドリアなどのエネルギー代謝。核-ミトコンドリア連係と病態の関連を探索している。また微小環境と幹細胞の関連を探索している。  
日本生化学会 評議員・代議員。1996年 細胞科学研究財団 研究助成。

### 【発表論文】

1. Mashiko T, Sakashita E, Kasashima K, Tominaga K, Kuroiwa K, Nozaki Y, Matsuura T, Hamamoto T, and **Endo H**. Developmentally regulated RNA-binding protein 1 (Drb1) /RNA-binding motif protein 45 (RBM45), a nuclear-cytoplasmic trafficking protein, forms TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43)-mediated cytoplasmic aggregates. *J Biol Chem*. 2016; 291: 14996-15007.
2. Kasashima K and **Endo H**. Interaction of human TFAM in mitochondria: its involvement in the dynamics of mitochondrial DNA nucleoids. *Genes to Cells*, 2015; 20:1017–1027.
3. Yamamoto S, Nagao Y, Kuroiwa K, Hakamata Y, Ichida M, Saito-Ohara F, Tominaga K, and **Endo H**. Rapid selection of XO embryonic stem cells using Y chromosome-linked GFP transgenic mice. *Transgenic Res*. 2014; 23: 757–765.
4. Kasashima K, Nagao Y, and **Endo H**. Dynamic regulation of mitochondrial genome maintenance in germ cells. *Reprod Med Biol*, 2014; 13 (1): 11-20.
5. Tucker EJ, Wanschers BFJ, Szklarczyk R, Mountford HS, Wijeyeratne XW, van den Brand MAM, Leenders, A. M., Rodenburg, R. J., Reljic, B., Compton, A. G., Frazier, A. E., Bruno, D. L., Christodoulou J, **Endo H**, Ryan MT, Nijtmans LG, Huynen MA, and Thorburn DR. Mutations in the UQCRC2-Interacting Protein, UQCRC2, Cause Human Complex III Deficiency Associated with Perturbed Cytochrome b Protein Expression. *PLoS genetics*, 2013; 9(12): e1004034.
6. Akimoto C, Sakashita E, Kasashima K, Kuroiwa K, Tominaga K, Hamamoto T, and **Endo H**. Translational repression of the McKusick-Kaufman syndrome transcript by unique upstream open reading frames encoding mitochondrial proteins with alternative polyadenylation sites. *Biochem Biophys Acta*. 2013; 1830: 2728-2738.

## 微小環境を用いた再樹立法による多能性幹細胞の高品質化技術 - 動物性集合胚を用いた異種間キメラ形成をめざして -

自治医科大学・生化学講座機能生化学部門  
遠藤 仁司

多能性幹細胞を用いて異種間のキメラ胚を作製し、臓器原基または臓器幹細胞を作製・供給することは再生医療の重要な要素である。それには異種間で生着性があり、かつキメラ形成能を維持した高品質の幹細胞を臓器形成の出発細胞とする必要がある。ブタ、サル、ヒトの多能性幹細胞はプライム型であり、これをナイーブ化するために種々の培地条件検討や遺伝子導入等の方法が報告されてきた。しかし、細胞群としては多様に混在している場合が多く、必ずしも均一な細胞集団として高品質化されていない。本研究では、内部細胞塊 (ICM) への共局在性を利用した細胞のクローニング技術（再樹立法）を開発し、異種間でキメラ形成可能な高品質化をブタ iPS 細胞で試みた。

赤色蛍光タンパク質を発現するブタ iPS 細胞（藤城ら *Stem Cells Dev* 2013）を、マウス ICM 等を用いて高度に選別しモノクローナル化した高品質の多能性幹細胞を樹立した。本法により樹立した細胞は形状が良好なコロニーを形成した。この再樹立したブタ iPS 細胞をマウス胚盤胞に移入したところ、高い確率で胚盤胞の ICM に寄与した。このキメラ胚をマウス子宮に移植すると、E9.5、E10.5、E11.5 の異種間キメラマウス胚を複数採取できた。E9.5、E10.5 の胎仔および羊膜にて赤色蛍光を確認した。ブタのミトコンドリア DNA を PCR で解析したところ胎仔では 6/10、羊膜では 5/10 の割合で検出できたことから、再樹立後の細胞のキメラ形成能は極めて高いことがわかった。再樹立後の細胞を用いて RNA-Seq 解析を行うと、比較的均一な遺伝子発現パターンが観察された。コア型多能性転写因子（OCT4、NANOG）の発現増加のみならず、ナイーブ型転写因子（TBX-3、ESRRB）の有意な発現増加が確認できた。また、2 細胞期に発現する ZSCAN4 の発現も増加していた。さらに、X 染色体における H3K27me3 のエピジェネティックパターンはより未分化な状態を示した。以上より、再樹立したブタ iPS 細胞は初期胚により近い状態に高品質化されており、均一な状態で維持されていることが示された（PCT/JP2015/078699）。

このような高品質化技術は、これまでのナイーブ化技術（初期化遺伝子の導入や各種培養液組成の開発等）と競合するものではなくむしろ補完するものと思われる。今後、ヒト iPS 細胞等を用いた動物性集合胚への応用が期待される。

<<メモ>>

### 【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・分子病態研究部・西村智



### 【略歴】

- 1999年3月 東京大学医学部医学科卒業  
2007年3月 東京大学大学院 医学博士課程修了  
内科学専攻 東京大学附属病院、榊原記念病院で  
内科研修を行った後、東京大学循環器内科に入局し  
基礎研究に従事する。  
2006年4月 日本学術振興会特別研究員 DC2、  
2007年4月 日本学術振興会特別研究員 PD、  
2008年11月 東京大学医療ナノテク人材育成ユニット特任助教、  
2009年4月 東京大学 TSBMI 特任助教、  
2011年9月 東京大学 TSBMI 特任准教授、  
2013年8月 自治医科大学 分子病態研究部 教授（現職）  
2017年11月 LighteS CTO 兼務 （光技術ベンチャー会社最高技術顧問）

### 【研究紹介・その他】

光は、高い時空間解像度、低侵襲性から生体理解に有力なツールであり、広くバイオイメージングが行われるようになってきている。さらに、光を使った全細胞計測など、包括的な生体理解への要求も高まっている。その先にある、光診断・治療を考えると、単なるイメージングを超えて、実時間での介入光制御が必要になっている。

ミクロとマクロを両立し、大きな生体サンプルのなかで細胞レベルでのスキャンを行うために、「てもちくん」を開発した。時間的にも、短時間の摂動から、長時間にわたる病態まで捉えるために、「ろぼちやくん」を開発した。他にも、「全波長くん」「円錐くん」「よこどりくん」などの呼称でよばれるイメージングデバイスを開発し、それぞれ特許申請を済ませている。このように時空間でのイメージングの広さを求め、我々は、現在生体に特化したスケーラブルなシステムを日々開発している。

### 【発表論文】

1. Nishimura S, et al. *J Cell Biology* 2015;209(3):453-66.
2. Nishimura S, et al. *Diabetes*, 2014;63(12):4154-64
3. Nakamura S, „, Nishimura S, Eto K *Cell Stem Cell*, 2014;14(4):535-48
4. Nishimura S, et al. *Cell Metabolism*. 2013; 18, 759-766.
5. Nishimura S, et al. *Blood*. 2012;119(8):e45-56.

特許申請 多数（うち筆頭申請者として数件）

## 光イメージングをマウスからヒト臨床へ

自治医科大学・分子病態治療研究センター・分子病態研究部  
西村 智

近年のバイオイメージング技術の進歩、西村らの開発している独自光路と設計デバイスにより、生体内部でも時間・空間解像度の高い画像解析が可能になっている。その恩恵はマウスだけでなくウサギ・ブタでも運用実績があり、ヒトでの臨床研究も始まりつつある。無染色・赤外可視光ハイブリッドデバイスでは生体への侵襲性がほぼゼロであり、なおかつ、システムの小型化により明日にも外来で運用できるレベルである。最小化したシステムは当初、「手持ちくん」の仮名だったが、もはや「ペンシルくん」の仮名に変わっており、マジックと変わらないサイズである。しかし、このサイズでも顕微鏡と同程度の解像度を達成している点は特筆すべきであろう。手作りプロトタイプをごらんになりたいかたはラボまで是非。さらに、レーザーを用いた一光子共焦点と4/8K CMOS、ロボット技術を融合し、蛍光・発光・反射光同時観察を組み合わせたイメージングプラットフォームを作成した。愛称「ロボチャくん」で、テレビに出るのが好きな様子である（僕は苦手、こちらも見学大歓迎）。生体で解像度を追求するためには、ステピング・サーボモータ・ピエゾ素子等を組み合わせ、検体の積極的な動的制御を行い、一細胞レベルの超長時間・高速イメージングを達成している。広視野・高解像度の両立、無限ズーム光路系により（無限大ズーム比率顕微鏡としてやはり国内外特許申請中）、マクロ・ミクロのすべてのニーズをカバーしており、基礎的イメージングツールのハイエンドとして運用を行っている。

---

<<メモ>>

【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・消化器外科学部門・臨床研究支援部  
北山丈二



【略歴】

1984年3月	東京大学医学部医学科卒業
1993年3月	東京大学第一外科 助手
1994年5月	Harvard Medical School, The Center for Blood Research, Postdoctoral Fellow
1997年4月	東京大学腫瘍外科 助手
1999年12月	東京大学腫瘍外科 講師
2009年11月	東京大学腫瘍外科 准教授
2015年10月	自治医科大学消化器外科学部門・臨床研究支援センター教授

【研究紹介・その他】

専門は、消化器外科、癌に対する集学的治療の実践。臨床応用を意識したトランスレーショナルリサーチを積極的に行ってきました。近年、基礎研究にて難治性のスキルス胃癌腹膜播種に対するタキサンの腹腔内化学療法の有用性を見出し、一般診療での普及を目指した臨床試験から薬事承認に至るまでの一連の作業を経験、アカデミアにおける新規治療法の開発を推進する上で、優れた臨床研究支援システムを構築することの重要性を実感している。日本日本消化器外科学会評議員、日本胃癌学会評議員、日本DDS学会評議員、日本成人病学会理事。趣味は歴史探訪。

【発表論文】

1. Yamaguchi H, Satoh Y, Ishigami H, Kurihara M, Yatomi Y, **Kitayama J**. Peritoneal Lavage CEA mRNA Levels Predict Conversion Gastrectomy Outcomes after Induction Chemotherapy with Intraperitoneal Paclitaxel in Gastric Cancer Patients with Peritoneal Metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2017 Jul 19 Online.
2. **Kitayama J**: Intraperitoneal chemotherapy against peritoneal carcinomatosis: current status and future perspective. *Surg Oncol.* 23(2):99-106,2014
3. Tsuji S, Kawasaki Y, Furukawa S, Taniue K, Hayashi T, Okuno M, Hiyoshi M, **Kitayama J**, Akiyama T. The miR-363-GATA6-Lgr5 pathway is critical for colorectal tumourigenesis. *Nature Commun.* 5:3150;1-12, 2014
4. Yamaguchi H, **Kitayama J**, Ishigami H, Emoto S, Yamashita H, Watanabe T: A phase 2 trial of intravenous and intraperitoneal paclitaxel combined with S-1 for treatment of gastric cancer with macroscopic peritoneal metastasis. *Cancer.* 15;119(18):3354-8,2013
5. **Kitayama J**, Ishikawa M, Yamashita H, Soma D, Miyato H, Nagawa H. Hyaluronic acid is a useful tool for intraoperative sentinel node detection in gastric cancer surgery. *Surgery.* 2007;141:815-20

## ピッグモデルを用いた消化器癌に対する新規治療法の開発

自治医科大学・消化器外科学部門・臨床研究支援部

北山 丈二

侵襲を伴う外科的治療法をヒトに応用するためには、大動物を用いた実験系での安全性と有効性の検証が必須である。消化器外科領域における臨床応用を見据えたピッグモデルでの検討例をいくつか紹介する。

- (1) 4K/8K 内視鏡手術：解像度の高い光学システムを用いることによって、目的とする臓器組織の微細構築や血流状況を観察することが可能になり、術中の腸管虚血の程度や微小転移の診断に有用であることが示唆された。
- (2) 胆管ステント：胆管狭窄に対してニッケルフリーステントを使用することで、胆管壁の組織反応が低下し、線維化による再狭窄の防止につながる可能性が示唆された。
- (3) センチネルリンパ節生検：乳がん、皮膚がん等では、原発巣の領域リンパ管が最初に流入するリンパ節を同定し、そこに転移を認めない症例に対して標準リンパ節郭清を省略する縮小手術が標準となってきた。一方、消化器癌では内臓脂肪のためセンチネルリンパ節の同定が困難なケースが多く標準化に至っていないが、トレーサー色素にヒアルロン酸を添加する事で同定率の向上が期待できると考えられた。
- (4) 逆行性リンパ管内化学療法の開発（予定）：腹部多発リンパ節転移を伴う切除不能消化器癌に対して、胸管内にカテーテルを挿入、逆行性に抗癌剤を持続投与することにより、転移部に対する選択的薬剤投与が可能となり、抗腫瘍効果の向上と毒性の軽減が期待できる。以前、同系腫瘍を持つラットを用いて検討したが、安定したカニュレーションの挿入および留置が困難であったため断念したという経緯があるが、適切なピッグモデルを用いれば十分検討可能であると考える。

---

<<メモ>>

【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学 感染・免疫学講座ウイルス学部門・岡本宏明



【略歴】

1979年3月	東北大学医学部卒業
1979年4月	いわき市立総合磐城共立病院内科医員
1983年4月	自治医科大学（予防生態学）研究生
1985年1月	自治医科大学（予防生態学）助手
1987年3月	医学博士号（自治医科大学）取得
1987年10月	自治医科大学（予防生態学）講師
2000年4月	自治医科大学（予防生態学・分子病態治療研究センター分子ウイルス学研究部併任）助教授
2003年4月	自治医科大学（感染・免疫学講座ウイルス学部門）教授（現職）

【研究紹介・その他】

専門は肝炎ウイルス・肝炎関連ウイルスの分子疫学・診断学・分子ウイルス学。「肝炎ウイルスの撲滅」を目指して、基礎研究、臨床研究、基礎と臨床の橋渡し研究、厚生労働行政に資する研究、肝疾患が多いアジアの国々との共同研究、未同定ウイルスの探索などの研究を行っている。日本ウイルス学会評議員、日本肝臓学会評議員、国際ウイルス命名委員会（ヘルペウイルス科、アネロウイルス科）委員。1997年 第1回日本肝臓学会賞（織田賞）受賞、2000年 ISI Citation Laureates Award 受賞、2008年 第44回小島三郎記念文化賞受賞。英文原著論文432編、総被引用件数26,950件、h-index=78(Clarivate Analytics社調査、2017年10月28日現在)。

【発表論文】

1. Nagashima S, Takahashi M, Kobayashi T, Tanggis, Nishizawa T, Nishiyama T, Primadharsini PP, **Okamoto H.** Characterization of the quasi-enveloped hepatitis E virus particles released by the cellular exosomal pathway. *J Virol.* 2017; 91(22):e00822-17.
2. Primadharsini PP, Miyake M, Kunita S, Nishizawa T, Takahashi M, Nagashima S, Tanggis, Ohnishi H, Kobayashi T, Nishiyama T, Jirintai S, **Okamoto H.** Full-length genome of a novel genotype 3 hepatitis E virus strain obtained from domestic pigs in Japan. *Virus Res.* 2017; 240: 147-153.
3. Nagashima S, Kobayashi T, Tanaka T, Tanggis, Jirintai S, Takahashi M, Nishizawa T, **Okamoto H.** Analysis of adaptive mutations selected during the consecutive passages of hepatitis E virus produced from an infectious cDNA clone. *Virus Res.* 2016; 223: 170-180.
4. Nagashima S, Jirintai S, Takahashi M, Kobayashi T, Tanggis, Nishizawa T, Kouki T, Yashiro T, **Okamoto H.** Hepatitis E virus egress depends on the exosomal pathway, with secretory exosomes derived from multivesicular bodies. *J Gen Virol.* 2014; 95(Pt 10): 2166-2175
5. Takahashi M, **Okamoto H.** Features of hepatitis E virus infection in humans and animals in Japan. *Hepatol Res.* 2014; 44(1): 43-58. (日本肝臓学会 High Citation 賞受賞)

## ピックで見つけた E 型肝炎ウイルス

自治医科大学 感染・免疫学講座ウイルス学部門

岡本宏明

E 型肝炎ウイルス(HEV)は人獣共通感染ウイルスであり、国内外を問わず、飼育ブタでは HEV 感染がほぼ蔓延状態にある。ブタは HEV に感染しても肝炎を発症しないが、ヒトへの HEV 感染の重要な reservoir であり、HEV に関する知見はヒトとブタの両者に有用である。本プロジェクトの 5 年間の研究成果のなかで、特に以下の 3 つについて紹介したい。

**ワクチン：**HEV の感染予防に供されるワクチンはまだ開発されていない。そこで不活化 HEV ワクチンの開発を目指した HEV 粒子の大量生産法に関する検討を行った。世界に先駆けて確立した感染培養系を用い、HEV の継代培養を行うことで約 100 倍の増殖能を獲得した HEV 飼化株を樹立することに成功し、その飼化に関わるウイルス変異を特定することができた。

**抗 HEV 薬：**HEV に特異的な治療薬はまだ開発されていない。そこで、HEV の培養系を用い、FDA 承認薬剤並びに各種抗ウイルス薬を含む約 700 種類の既存薬剤のなかから顕著な抗 HEV 効果を示す薬剤を 6 種類見出した。それら 6 種類の薬剤のなかには他疾患に対する投与が国内で承認されている薬剤も含まれており、実臨床への応用が期待される結果である。

**HEV の増殖機構と粒子形態：**これまで不明であった HEV の感染細胞内での輸送機構及び放出機構を解析し、細胞内に存在する多胞体(multivesicular body: MVB)の脂質膜に覆われながら内腔に出芽し、エクソソーム分泌経路を介して、細胞を破壊することなく(エクソソームに成りまして)放出されるというユニークな HEV の放出機構を明らかにした。加えて、膜(エンベロープ)に覆われて放出された HEV 粒子の、電子顕微鏡像を含めた性状を明らかにした。

---

<<メモ>>

【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・東洋医学部門/神経内科学部門・村松 慎一



【略歴】

1983年 自治医科大学 医学部卒  
1991年 自治医科大学 大学院卒  
1992年 群馬県長野原町僻地診療所長  
1995年 米国 NIH, NHLBI, Visiting Associate  
1997年 自治医科大学 神経内科学 助手  
2008年 同 地域医療学センター 東洋医学部門 特命教授  
同 内科学講座 神経内科学部門 特命教授（兼任）  
2014年 東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 特任教授（兼任）

【研究紹介・その他】

筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、アルツハイマー病、血友病、小児の先天代謝異常症などに対する遺伝子治療を開発している。遺伝子治療の実用化を推進するためベンチャー企業、(株)遺伝子治療研究所を設立した。2001年日本遺伝子治療学会賞、2009年米国遺伝子治療学会 top abstract、2011年 TAKARA Bio Award

【発表論文】

1. Chien YH, Lee NC, Tseng SH, Tai CH, Muramatsu S, Byrne BJ and Hwu WL: Safety and efficacy of AAV2 gene therapy in patients with aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: An open-label interventional trial. *Lancet Child & Adolescent Health*, *in press*.
2. Fu K, Miyamoto Y, Otake K, Sumi K, Saika E, Matsumura S, Sato N, Ueno Y, Seo S, Uno K, Muramatsu S and Nitta A: Involvement of the accumbal osteopontin-interacting transmembrane protein 168 in methamphetamine-induced place preference and hyperlocomotion in mice. *Sci Rep*, *in press*.
3. Sehara Y, Fujimoto K, Ikeguchi K, Katakai Y, Ono F, Takino N, Ito M, Ozawa K, and Muramatsu S: Persistent expression of dopamine-synthesizing enzymes 15 years after gene transfer in a primate model of parkinson's disease. *Hum Gene Ther Clin Dev*, 28(2):74-79, 2017.
4. Miyazaki Y, Du X, Muramatsu S and Gomez C M: A miRNA-mediated therapy for SCA6 blocks IRES-driven translation of the *CACNA1A* second cistron. *Sci Transl Med*, 8(347):347ra94, 2016.
5. Higashida H, Yokoyama S, Tsuji C and Muramatsu S: Neurotransmitter release: vacuolar ATPase V0 sector c-subunits in possible gene or cell therapies for Parkinson's, Alzheimer's, and psychiatric diseases. *J Physiol Sci*, 67(1):11-17, 2016.

## 脳に届く AAV ベクター

自治医科大学・東洋医学部門/神経内科学部門

村松 慎一

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは、神経細胞に効率よく遺伝子を導入し、長期間（サルの実験で 15 年以上）発現が持続する。基礎研究領域では、Optogenetics における光感受性チャネル分子の発現や、*in vivo* ゲノム編集における CAS9 導入ベクターとしても頻用されている。遺伝子治療では、これまでパーキンソン病、血友病、網膜色素変性症など 183 件の臨床試験が実施されているが、ベクターに起因する重篤な有害事象は報告されていない。

私たちは、血液脳関門・髄液脳関門を通過し中枢神経の広範な領域に遺伝子導入可能な AAV ベクターを開発した。このベクターを応用して、筋萎縮性側索硬化症(ALS)や脊髄小脳失調症(SCA)に対する遺伝子治療の治験を計画している。弧発性 ALS には、RNA 編集酵素 ADAR2 を運動ニューロンで発現することにより、グルタミン酸 AMPA 受容体の GluA2 サブユニットの編集率を回復し運動ニューロンの変性を抑制し病状の進行を緩和する。SCA1 では、DNA 構造調節蛋白質 HMGB1 の遺伝子を搭載した AAV ベクターを髄腔内投与する。SCA6 では異常に伸張した CAG リピート配列を含む転写因子  $\alpha$ 1ACT の産生を選択的に抑制する miR-3191-5p を発現させて、Purkinje 細胞の脱落を抑制する。これらの遺伝子治療の臨床応用に先立ち、ヒトとほぼ同様の長さの脊髄を持つブタを使った実験は、ベクターの必要投与量や分布を予測する上で重要である。

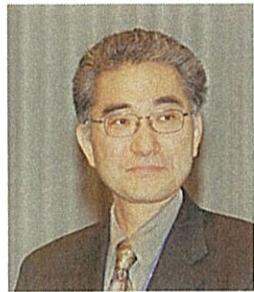
AAV ベクターは、1 回の投与で生涯続く効果が期待できる。このことは大きな福音であるが、従来の製薬と異なる新たなビジネスモデルの構築が必要となっている。ベクター単価を低減するため、製造方法の改良も進んでいく。これらの最新の状況を報告する。

---

<<メモ>>

### 【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・分子病態治療研究センター・抗加齢医学研究部  
黒尾 誠



### 【略歴】

- 1985年 東京大学医学部医学科卒業  
1991年 学位取得（東京大学・医学博士）  
1998年 テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター病理学・助教授  
2006年 テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター病理学・准教授  
2012年 テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター病理学・教授  
2013年 自治医科大学・分子病態治療研究センター・抗加齢医学研究部・教授

### 【研究紹介・その他】

1997年、老化が加速する突然変異マウスの原因遺伝子として Klotho 遺伝子を同定。1998年に渡米（テキサス州ダラス）。Klotho 蛋白がリン恒常性維持に必須のホルモンの受容体であることを発見。「リンが老化を加速する」という概念に至り、現在、そのメカニズムについて研究中。2013年に帰国。趣味は日本史と日本酒とバラエティ番組。

### 【発表論文】

1. **Kuro-o M**, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R & Nabeshima Y. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997, 390 (6655), 45-51.
2. Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P, McGuinness OP, Chikuda H, Yamaguchi M, Kawaguchi H, Shimomura I, Takayama Y, Herz J, Kahn CR, Rosenblatt KP & **Kuro-o M**. Suppression of Aging in Mice by the Hormone Klotho. *Science*. 2005, 309 (5742), 1829-1833.
3. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Baum MG, Schiavi S, Hu MC, Moe OW & **Kuro-o M**. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem*. 2006, 281 (10), 6120-6123.
4. Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Goetz R, Eliseenkova AV, Mohammadi M & **Kuro-o M**.  $\beta$ Klotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007, 104 (18), 7432-7437.
5. Hu MC, Shiizaki K, **Kuro-o M** & Moe OW. Fibroblast growth factor 23 and klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu Rev Physiol*. 2013, 75 503-533.

## リンと腎不全とピッグ

自治医科大学・分子病態治療研究センター・抗加齢医学研究部

黒尾 誠

腎不全で血液透析を受けている患者の血中には、CPP (Calciprotein particle) と呼ばれるコロイド粒子が出現する。CPPとはリン酸カルシウムと血清蛋白 Fetuin-A の複合体で、あたかも「病原体」のように自然免疫反応や細胞障害を誘導する活性がある。最近の臨床研究で、血中 CPP レベルが慢性炎症や血管石灰化の重症度と相関することが報告されたが、未だ因果関係は証明されていない。そこで我々は、CPP が透析患者の生命予後を悪化させる「病原体」であるという仮説、すなわち「CPP 病原体説」を証明し、CPP を透析医療の新たな治療標的として正当化することを目指している。本研究では、「CPP 吸着カラム」を作成し、透析回路に接続して血中から CPP を除去すれば、慢性炎症や血管石灰化が治療できることを、ミニブタ血液透析モデルを用いて実証することを目標としている。

CPP 吸着体としてリン酸カルシウム結晶に特異的に結合するビスホスホネートを固相化したセルロース担体を作成した。この吸着体を血液透析患者の血清に投入すると、血清中の CPP を 90%以上除去できることが *in vitro* の実験で確認されたので、この吸着体をカラムに充填し、CPP 吸着カラムを作成した。

ミニブタ（4頭）の両腎を摘出して腎不全を導入後、CPP 吸着カラム使用群（2頭）と非使用群（2頭）に割り振り、週3回の血液透析を行って1ヶ月維持した。この間、定期的に採血し、「CPP の出来難さ」の指標である「T50 時間」を測定したところ、CPP 吸着カラム使用群で顕著な延長を認め、CPP の出来難い血液になっていることが分かった。ちなみに、透析患者を対象とした臨床研究では、「T50 時間」が短縮すると血管石灰化や生命予後が悪化することが報告されている。

今後はミニブタの頭数を増やして再現性を確認し、統計的有意差をもって CPP 吸着カラムの有効性を証明する予定である。成功すれば、「CPP 病原体説」が証明されるだけでなく、CPP 吸着カラムが透析医療の新たなデバイスとして使用される可能性がある。

---

<<メモ>>

【所属機関・講座・氏名】

自治医科大学・医学部生化学講座病態生化学部門・大森 司



【略歴】

1994年3月 自治医科大学卒業

1994年より 2004年まで山梨県内の病院・診療所に勤務

1996年より 山梨医科大学 臨床検査医学講座 研究生

2004年5月 自治医科大学分子病態治療研究センター分子病態研究部 助教

2007年11月 同 講師

2015年4月 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門 准教授

2017年4月 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門 教授

【研究紹介・その他】

血栓止血学一般、特に血友病に対する遺伝子治療の開発を行っている。血液科医員として血友病患者・血栓症患者の診療も行い、患者ニーズを基礎研究に活かすように心がけている。日本血液学会では、プログラム委員、教育企画委員、臨床血液編集委員、診療委員、代議員；日本血栓止血学会では代議員、ありかた委員、保険診療委員を務める。平成12年日本血栓止血学会学術奨励賞、平成18年 血液血管オルビス最優秀賞、平成19年 血液血管オルビス優秀賞、平成29年 日本血液学会国際シンポジウム Oral Presentation Award Platinum。最近では趣味のロードバイクに乗る時間が短いのが悩み。

【発表論文】

1. **Ohmori T**, Nagao Y, Mizukami H, Sakata A, Muramatsu S, Ozawa K, Tominaga S, Hanazono Y, Nishimura S, Nureki O, and Sakata Y. CRISPR/Cas9-mediated genome editing via postnatal administration of AAV vector cures haemophilia B mice. *Sci Rep*. 2017;7:4159
2. **Ohmori T**, Mizukami H, Ozawa K, Sakata Y, and Nishimura S. New approaches to gene and cell therapy for hemophilia. *J Thromb Haemost*. 2015;13:S133-S142 (invited review).
3. Kashiwakura Y, **Ohmori T**, Mimuro J, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, Ozawa K, Sakata Y. Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia*. 2014;20:e40-44.
4. Kashiwakura Y, Mimuro J, Onishi A, Iwamoto M, Madoiwa S, Fuchimoto D, Suzuki S, Suzuki M, Sembon S, Ishiwata A, Yasumoto A, Sakata A, **Ohmori T**, Hashimoto M, Yazaki S, Sakata Y. Porcine model of hemophilia A. *PLoS One*. 2012;7:e49450.
5. Kashiwakura Y, **Ohmori T**, Mimuro J, Yasumoto A, Ishiwata A, Sakata A, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, Ozawa K, and Sakata Y. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells expressing coagulation factor ameliorates hemophilic arthropathy in factor VIII-deficient mice. *J Thromb Haemost*. 2012;10:1802-1813.

## 血友病のピッグモデルとゲノム編集治療

自治医科大学・医学部生化学講座病態生化学部門

大森 司

血友病は血液凝固第 VIII 因子、または第 IX 因子異常による遺伝性出血疾患である。近年、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療が新たな治療として注目されている。AAV ベクターは凝固因子産生部位である肝臓への遺伝子導入効率が高く、1 回の経静脈投与により、長期にわたり肝臓での遺伝子発現が可能である（論文 2）。我々は、このような従来の遺伝子治療法に加えて、より効果的・実践的な治療ストラテジーの開発を続けていく。血友病患者の致死的出血が予防できる現在では、繰り返す関節出血による関節障害が QOL (生活の質) を阻害する最も重要な因子である。この関節障害を予防・治療するために、凝固因子を産生する間葉系幹細胞を関節内に投与する細胞治療法を提唱した（業績 5）。また、次世代の遺伝子治療として、AAV ベクターと CRISPR/Cas9 を組合せ、ゲノム編集によって血友病マウスの出血傾向を改善することに成功した（論文 1）。さらに血友病細胞治療に iPS 細胞の応用も視野にいれている（論文 3）。これらのマウスで開発した遺伝子細胞治療法をヒトに外挿するためには、よりヒトに近い動物での評価が重要である。我々は、カニクイザルを用いて、遺伝子細胞治療の効果、安全性を検討している。しかし、検証に用いるカニクイザルは野生型で出血傾向を示さないため、治療による止血効果が評価できない。そこで、マウスからヒトをつなぐモデル動物としてブタに着目した。ブタ凝固第 VIII 因子は、ヒト血友病治療にも使用される程、その生理機能はヒト第 VIII 因子と類似している。2012 年、農業生物資源研究所（現 農研機構 動物機能改変ユニット）との共同研究で、クローン技術によって血友病ピッグモデルの作製に成功した（論文 4）。出生した血友病ブタは、重度の出血傾向をしめし、この出血傾向はヒト凝固因子製剤の投与により改善した。血友病ブタは、血友病マウスや自然発症血友病イヌでは認めない血友病性関節症を呈する点でヒト血友病に類似した。本報告では、血友病に対する遺伝子治療の開発状況、特にゲノム編集を中心概説し、今後の血友病研究開発における血友病ピッグモデルの有用性と発展性について言及したい。

---

<<メモ>>

【所属機関・講座・氏名】

大阪大学医学系研究科・附属共同研ゲノム編集センター／  
附属動物実験施設・真下知士



【略歴】

1994年3月 京都大学農学部畜産学卒業  
1994年4月 京都大学大学院人間・環境学研究科  
2000年3月 同大学院 博士（人間環境学）  
2000年4月 フランス・パストール研究所免疫学講座 研究員  
2003年1月 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 産学連携研究員  
2003年11月 同大学 特任准教授  
2015年4月 大阪大学大学院医学系研究科附属動物実験施設 准教授  
2017年4月 同大学 附属共同研ゲノム編集センター センター長

【研究紹介・その他】

専門は、実験動物学、動物遺伝学、ゲノム編集、ラットリソース。研究テーマは、哺乳動物におけるゲノム編集、ヒト細胞／ゲノムによるヒト化動物の作製。現在、日本ゲノム編集学会の副会長、日本実験動物学会理事、関西実験動物研究会庶務幹事、国立大学法人動物実験施設協議会の幹事。2003年日本実験動物学会奨励賞、2007年岡本研究奨励賞、IMGC 2007 Award。研究を楽しむことをモットーにしている。

【発表論文】

1. Yoshimi K, Kunihiro Y, Kaneko T, Nagahora H, Voigt B, **Mashimo T.** ssODN-mediated knock-in with CRISPR-Cas for large genomic regions in zygotes. *Nat Commun.* 7:10431, 2016
2. Yoshimi K, Kaneko T, Voigt B, **Mashimo T.** Allele-specific genome editing and correction of disease-associated phenotypes in rats using the CRISPR-Cas platform. *Nat Commun.* 5:4240, 2014
3. **Mashimo T.**: Gene targeting technologies in rats: Zinc finger nucleases, transcription activator-like effector nucleases, and clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *Dev Growth Differ.* 56(1):46-52, 2013, Review
4. **Mashimo T.**, Takizawa A, Kobayashi J, Kunihiro Y, Yoshimi K, Ishida S, Tanabe K, Yanagi A, Tachibana A, Hirose J, Yomoda J, Morimoto S, Kuramoto T, Voigt B, Watanabe T, Hiai H, Tateno C, Komatsu K, Serikawa T. Generation and Characterization of Severe Combined Immune Deficient Rats. *Cell Reports* 2(3):685-94, 2012
5. **Mashimo T.**, Takizawa A, Voigt B, Yoshimi K, Hiai H, Kuramoto T, Serikawa T. Generation of knockout rats with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using zinc-finger nucleases. *PLoS One* 5(1):e8870. 2010

## ゲノム編集技術によるモデル動物開発研究

大阪大学医学系研究科附属共同研ゲノム編集センター／附属動物実験施設

真下知士

ゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 を利用することで、短期間、低成本、高効率に遺伝子改変動物を作製できるようになった。CRISPR-Cas9 は、コンストラク作製等の準備が非常に簡単で、一度に複数の遺伝子をノックアウトしたり、一本鎖 DNA (ssODN) を共利用することで、SNP 置換、数十塩基挿入、数 kb 欠失といった様々なノックイン動物が簡単に作製できる (Yoshimi *et al.* *Nat Commun* 2014)。さらに、長鎖一本鎖 DNA (lssDNA) を利用した GFP レポーター遺伝子のノックインや、ssODN を ‘のり’ のように利用した 2H2OP 法による大きなサイズのゲノム領域のノックインも可能になっている (Yoshimi *et al.* *Nat Commun* 2016)。また、最近、我々は lssDNA を利用することで、コンディショナルノックアウトの超簡単作製法 CLICK を開発した（論文投稿中）。

また、マウスだけでなくラット、ブタ、サルなどのモデル動物でもゲノム編集が可能になったことから、様々な動物でのヒト疾患モデルの開発が行われている。我々も最近、ゲノム編集技術を用いてラット・ウサギにおいて免疫不全動物を作製し、ヒト細胞を移植したヒト化動物の開発研究を行っている。本シンポジウムでは、これらゲノム編集技術の利用方法、ゲノム編集により我々が開発した再生医療研究に役立つさまざまな疾患モデル動物について紹介する。

---

<<メモ>>

### 【所属機関・講座・氏名】

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・  
動物衛生研究部門・病態研究領域・吉岡耕治



### 【略歴】

1991年3月 北海道大学獣医学部獣医学科 卒業  
1991年4月 農林水産省 家畜衛生試験場 研究員  
2000年9月 学位取得 博士（獣医学）北海道大学  
2002年11月 スウェーデン農業大学 客員研究員  
2004年4月 (独)農業・生物系特定産業技術研究機構 動物衛生研究所 臨床繁殖研究室長  
2006年4月 (独)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 上席研究員  
2016年4月 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 繁殖  
障害ユニット長

### 【研究紹介・その他】

専門は、獣医繁殖学。家畜の繁殖障害、家畜ブタの胚体外生産・胚移植、発情同期化などの生殖補助技術や IoT を活用した生体センシング家畜繁殖管理システムの実用化を目指した研究を進めている。日本獣医学会理事（2008～）、日本繁殖生物学会評議委員（2009～）、獣医事審議会専門委員（2015～2017）。2005 年文部科学大臣表彰若手科学者賞、2008 年畜産技術協会賞、2010 年日本繁殖生物学会学術賞。

### 【発表論文】

1. Mito T, **Yoshioka K**, Noguchi M, Yamashita S, Misumi K, Hoshi T, Hoshi H. Birth of piglets from in vitro-produced porcine blastocysts vitrified and warmed in a chemically defined medium. *Theriogenology*, 83:1314–1320, 2015.
2. Sakurai M, Suzuki C, **Yoshioka K**. Effect of knockout serum replacement supplementation to culture medium on porcine blastocyst development and piglet production. *Theriogenology*, 83:679–686, 2015.
3. Somfai T, **Yoshioka K**, Tanihara F, Kaneko H, Noguchi J, Kashiwazaki N, Nagai T, Kikuchi K. Generation of live piglets from cryopreserved oocytes for the first time using a defined system for in vitro embryo production. *PLoS One*, 9:e97731, 2014.
4. **Yoshioka K**, Noguchi M, Suzuki C. Production of piglets from in vitro-produced embryos following non-surgical transfer. *Anim Reprod Sci*, 131:23–29, 2012.
5. **Yoshioka K**. Development and application of a chemically defined medium for the in vitro production of porcine embryos. *J Reprod Dev*, 57:9–16, 2011.
6. **Yoshioka K**, Suzuki C, Onishi A. Defined system for in vitro production of porcine embryos using a single medium. *J Reprod Dev*, 54:208–213, 2008.
7. **Yoshioka K**, Suzuki C, Itoh S, Kikuchi K, Iwamura S, Rodriguez-Martinez H. Production of piglets derived from in vitro produced blastocysts fertilized and cultured in chemically defined media: effects of theophylline, adenosine and cysteine during in vitro fertilization. *Biol Reprod*, 69:2092–2099, 2003.
8. **Yoshioka K**, Suzuki C, Tanaka A, Anas MKI, Iwamura S. Birth of piglets derived from porcine zygotes cultured in a chemically defined medium. *Biol Reprod*, 66:112–119, 2002.

## モデルブタ作出のための生殖補助技術

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門

吉岡 耕治

家畜ブタにおける繁殖は、年間子豚離乳頭数を最大として、養豚の生産性を向上するために行われている。ウシでは生殖補助技術として、凍結精液による人工授精はもとより、発情・排卵周期の同期化、胚移植、胚の体外生産、凍結保存などがヒトよりも早くから実用化され、商業ベースで行われてきた。一方、家畜ブタではウシに比べ個体価値（価格）の低さや生理学、解剖学的な差異からのこれらの研究開発が進んでいなかった。しかし、ブタの生殖補助技術は、近年めざましく発展しており、生殖細胞の超低温保存、胚の体外生産や非外科的胚移植技術が開発され、これらによる子ブタ生産も可能になっている。

一方、実験用（ミニ）ブタの飼養管理は、形質の齊一な個体を安定的に供給することが必要であり、比較的クローズドな環境で飼養されることからも動物の計画生産や系統の維持のために生殖補助技術を活用することは有効であると考えられる。また、ゲノム編集技術等による遺伝子組み換えブタの作出においては生殖細胞を一時的に体外に取り出す必要もあり、周辺技術として生殖補助技術の活用が必要となる。

われわれはこれまでに、発情周期を営むブタの発情同期化法として、プロスタグラジン（PG） $F_{2\alpha}$ を黄体期に頻回投与したり、持続性エストラジオール製剤を1回投与することで偽妊娠を誘起した後に PGF $2\alpha$ を投与して、黄体を退行させ発情を誘起する方法を開発している。

胚生産に関しては、ブタ胚の体外生産に必要な各種培地やガラス化保存液キットを開発している。これらは動物由来成分を含まない完全合成培地として市販されており、品質の安定性や安全性の面からも有用であると考えられる。また、家畜ブタ用であるが、子宮深部注入カテーテルも市販化しており、非外科的胚移植技術の開発に取り組んでいる。さらにガラス化保存した卵子や胚由来の子ブタ生産にも成功しており、これらの一連の技術は、実験用ブタの計画生産や系統維持にも活用可能であると考えられ、生産効率の向上に貢献することが期待される。

---

<<メモ>>

