



ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」

第17回ラットリソースリサーチ研究会

講演抄録集

令和6年1月26日（金） 13:00 – 17:30



第17回 ラットリソースリサーチ研究会 プログラム

第1部

座長： 守田 昴太郎（京都大学）

ラットリソース

1. はじめに：第5期 NBRP ラットと Cre ラットの特性解析 13:00-13:15
浅野 雅秀
京都大学大学院 医学研究科 附属動物実験施設
2. 東大医科学研究所におけるラットリソースについて 13:15-13:45
石田 紗恵子
東京大学医科学研究所 実験動物研究施設 先進動物ゲノム研究分野
3. 抗インヒビンモノクロー抗体の投与によるリッターサイズと繁殖効率への効果 13:45-14:15
持田 慶司
理化学研究所 バイオリソース研究センター 遺伝工学基盤技術室
4. アルポート症候群モデルラットとその治療法の探索 14:15-14:45
～ゲノム編集技術と複数のラットシステムを用いた分子遺伝学的解析～
松山 誠
重井医学研究所 分子遺伝部門

休憩 14:45-15:00

第2部

座長： 成瀬 智恵（京都大学）

ラットリサーチ

- | | |
|---|-------------|
| 5. ラットにおける見知らぬ個体間の親和行動
清川 泰志
東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医動物行動学研究室 | 15:00-15:30 |
| 6. ニューロメジンU欠損ラットを用いた新規機能の探索
相澤 清香
岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域 | 15:30-16:00 |
| 7. ゲノム編集ラットモデルを用いた肺高血圧研究
澤田 博文
三重大学医学部附属病院 小児科 | 16:00-16:30 |
| 8. 再生医療の非臨床試験を見据えた免疫不全筋ジストロフィーモデル
ラットの開発
櫻井 英俊
京都大学 iPS 細胞研究所・臨床応用研究部門 | 16:30-17:00 |
| 9. 総合討論
座長 浅野 雅秀 | 17:00-17:30 |

抄 録

1. はじめに：第5期 NBRP ラットと Cre ラットの特性解析

浅野 雅秀

京都大学大学院医学研究科 附属動物実験施設

ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)は2002年にスタートし、文科省やAMEDの支援を受けて5年ごとのプロジェクトとして、ラットリソースの体系的な「収集・保存・提供」を行ってきました。世界最大規模のラットリソースセンターとして、2023年12月時点で984系統を収集し、約1,600件を国内外に提供してきました。皆様からのご支援をいただき、2022年度から第5期をスタートすることができました。第5期は引き続き真下先生の東大医科研と吉木先生の理研BRCが分担機関として参加し、特に東大医科研は重症免疫不全ラットに加えてCreラットの保存と提供も行うこととなりました。

2023度からは基盤技術整備プログラムのご支援をいただき、「Creドライバーラットの網羅的/局所的/機能的な解析技術の開発」を始めています。代表機関(京都大学・浅野)は「機能的な解析技術の開発」として、行動解析やMRI解析を行います。分担機関(東京大学・真下先生)は「網羅的な解析技術の開発」として、網羅的な発現解析を行います。もう一つの分担機関(愛知医科大学・松下先生)は「局所的な解析技術の開発」として、AAVベクターを用いることで交配を行わず、局所的な発現解析を行います。Creドライバーラットの多面的な特性解析を実施し、高品質のラットの提供を行います。すでに、11種類(21系統)のCreドライバーラットが提供可能となっており、特性解析の結果が系統情報として順次追加されていきます。皆様にとって有用なCreドライバーラットを揃えて参りますので、どうぞNBRPラットから有用なラットを入手して、研究を発展させていただければと願っています。

MEMO

2. 東大医科学研究所におけるラットリソースについて

石田 紗恵子

東京大学医科学研究所 実験動物研究施設 先進動物ゲノム研究分野

ラットは、生理・薬理学的研究、移植研究、神経科学研究等において古くからマウスと補完的に用いられてきた。ラットはマウスに比べて約 10 倍大きいことから、一度に得られるサンプル量が多く、投与や外科的処置の容易さにも利点がある。また、比較的知能が高いため、行動学的実験に好まれて用いられている。ラットは ES 細胞の樹立が困難であったが、近年のゲノム編集の登場により、遺伝子組換え個体の作製が容易になった。我々は効率的なゲノム編集方法を独自に開発し、これまでに複数種の免疫不全ラットの作製に成功している。

免疫不全ラットは、ヒト iPS 細胞、がん細胞等の移植研究、再生医療、創薬研究、さらにヒト化動物研究などに利用される有用なモデル動物である。その一方、日和見感染など通常の動物では問題にならない微生物に感染することから、その安全な維持管理、提供、開発には、学術的知識とノウハウが必須である。そこで我々は、この免疫不全ラットをナショナルバイオリソース (NBRP) ラットの分担機関として、国内外の研究者に提供している。我々の東京大学医科学研究所 動物実験施設では、空調や温湿度が厳格に制御された SPF 飼育室/個別換気ケージシステム/バイオバブル室で免疫不全ラットシステムの維持・繁殖を行っており、遺伝学的モニタリング、微生物学的モニタリングによる安定的かつ高品質なラットリソースの提供が可能である。また、凍結胚精子による永続的な保存を行い、一部を理研 BRC でのバックアップ保存している。免疫不全ラットの提供件数は近年急激に増加しており、成果論文も続々と報告されている。

また、昨年度から開始された第 5 期 NBRP 事業では研究者のニーズに応じて、Cre ドライバーラットの基盤技術整備も行っている。Cre-loxP システムを利用して組織・時期特異的に遺伝子発現を制御できる Cre ドライバーラットは、ラットにおいては種類が十分ではなく、Cre 発現情報も不十分である。そこで、ゲノム編集により開発された様々な Cre ドライバーラットをレポーターラットと交配して発現評価解析を行うとともに、提供を開始している。得られた発現解析のデータはデータベースとして整備し、HP 上で順次公開する予定である。

東京大学医科学研究所が取り扱うラットリソースと、ラット研究発展のための取り組みを、我々の最近の研究成果と併せてご紹介する。

MEMO

3. 抗インヒビンモノクロー抗体の投与によるリッターサイズと繁殖効率への効果

持田慶司¹, 守田昂太郎², 森田健斗², 笹岡佳生², 長谷川歩未¹, 遠藤整³, 浅野雅秀², 小倉淳郎^{1,4}

¹理化学研究所, ²京都大学, ³東海大学, ⁴筑波大学

インヒビンは卵巣内の顆粒膜細胞から分泌されるホルモンであり、視床下部に作用してFSHの分泌を抑制することで固有の排卵数を調整している。1996年以降、インヒビンの抗血清 (Anti-Inhibin Serum, AIS) を用いてハムスター、ウシ、ウマ、マウス、ラット等幅広い動物種で過排卵効果が報告されてきた。我々はインヒビンのモノクローナル抗体 (Anti-Inhibin Monoclonal Antibody, AIMA) を作製して、まずはマウスでの効果を検討した。代表的な C57BL/6 系統へ AIS を投与すると 30-60 個と非常に多くの排卵が得られたのに対して、AIMA では約 25 個とマイルドな過排卵効果が見られた。雄と交配させることで産子数が 1.4 倍(8.6 匹 vs 12.4 匹)に増加することが分かった。通常の eCG および AIS では産子数は増加しなかった。そこで、体内電気穿孔(i-GONAD)法によるゲノム編集を試みると、産子数が 1.5 倍(4.8 匹 vs 7.3 匹)に増加した。更に高齢マウスへ AIMA を投与すると産子数が 2 倍、繁殖効率が 5.3 倍に改善された。

次に Wistar ラットを用いて効果を検証した。過排卵効果としては対照群で 14.1 個に対して eCG 投与群で 62.6 個、AIMA 投与群で 18.4 個/匹だったが、交配後の生存産子数はそれぞれ 11.8 匹、8.0 匹、17.1 匹/腹であり、AIMA 投与により 1.4 倍に増加した。AIMA 投与後の産子の体重は、出生後 1.5 週齢以降で対照群と同等であることが確認された。THA(Tokai High Avoider)系統で 1.5 倍、参考例として F344 系統で 2.0 倍と有意な増加が見られた。BN 系統では 1.2 倍と有意ではなかったが、交配率および妊娠率がそれぞれ 1.3 倍、2.0 倍に改善され、使用雌あたりの繁殖効率 (交配率 x 妊娠率 x 出生数) は 2.7 倍(2.3 匹 vs 6.1 匹)であった。

以上から、AIMA 投与によりマウスおよびラットでリッターサイズおよび繁殖効率が増加することが実証された。特にラットでは用いた 4 系統のすべてで効果が認められたことから、幅広く有効な方法だと考えられ、高齢動物や交配成績の良くない個体、計画的な繁殖やラットでの i-GONAD 実験等にも繁殖効率の改善が期待される。

MEMO

4. アルポート症候群モデルラットとその治療法の探索

～ゲノム編集技術と複数のラット系統を用いた分子遺伝学的解析～

松山 誠

重井医学研究所 分子遺伝部門

アルポート症候群(Alport syndrome)は予後不良の進行性遺伝性腎疾患であり、5千～1万人に1人の割合で発症する。その病態の原因は、腎臓の糸球体基底膜を構成する細胞外マトリックスのIV型コラーゲンの異常である。アルポート症候群はX染色体連鎖型と常染色体型に分類され、X染色体連鎖型の原因遺伝子がCOL4A5、常染色体型の原因遺伝子が第2染色体上のCOL4A3、COL4A4である。アルポート症候群ではその約8割がX染色体連鎖型で最も多く、X染色体を1本しか持たない男性の場合、病態は重篤なもので10代後半から20代前半で末期腎不全へと進行する。しかし、腎症進行のメカニズムは不明な点が多く、根本的な治療法は未だ確立していない。

そこで私たちは、X染色体に存在するCol4a5遺伝子を欠損させたラットを作製し、アルポート症候群モデルラットとなり得るか検討した。ラットはWKY系統を使用し、Col4a5欠損ラットの作製には、私たちが開発した新しいゲノム編集法 rGONAD (Rat Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery)法を用いた。rGONAD法は、体外に受精卵を取り出すことなく、卵管内にある着床前の受精卵の細胞膜に微細な穴を開け、細胞外の核酸・タンパクを受精卵に入れることでゲノム編集を行う手法で、簡便に遺伝子改変ラットを作出できる。この手法で作製したCol4a5欠損ラットを用いて解析した結果、早期より尿蛋白・血尿が認められた。また組織化学的な観察を行うと、糸球体の線維化が確認できた。雄は18週齢から死亡し始め、28週齢までに全個体が死亡した(平均死亡週齢22.4週)。以上のことから、Col4a5欠損ラットは、アルポート症候群の病態を再現しており、アルポート症候群モデルラットと有用であることが示唆された。

本講演では、新たに rGONAD 法を用いて作製した WKY 系統以外の Col4a5 欠損ラットの腎臓病の進行度の違いや、それら複数系統の遺伝子改変ラットを用いた分子遺伝学的解析について報告を行う予定である。

参考文献

- 1) Kobayashi T *et al.*, **BMC Biotechnol.** 18(1): 19, 2018
- 2) Namba M *et al.*, **Dev Growth Differ.** 63(8): 439-47, 2021
- 3) Namba M *et al.*, **Sci Rep.** 11(1): 20836, 2021

MEMO

5. ラットにおける見知らぬ個体間の親和行動

清川泰志

東京大学・大学院農学生命科学研究科・獣医動物行動学研究室

同種他個体に対する社会行動は、2つの独立した要因に影響される。1つは相手個体との馴染み度合いであり、動物は馴染みのある個体に対して特異的な親和行動を示す。もう1つは相手個体との社会的類似性であり、相手個体が自分と同じグループに属する場合には、たとえ見知らぬ個体であっても特異的な親和行動を示す。これまで馴染み度合いが親和行動に与える影響に関しては研究が進められているものの、特にヒト以外の動物において、社会的類似性の重要性に対する理解が進んでいないのが現状である。

ヒトにおいて人種や民族性が社会的類似性を生み出す代表的なグループであることから、ラットでは系統が社会的類似性を生み出すグループになることが考えられた。そこで我々は、被験ラットとして Wistar 系統のラットを用い、提示するラットとして Wistar 系統の見知らぬラットや、Wistar 系統が 3/4 含まれている Sprague-Dawley (SD) 系統の見知らぬラット、Wistar 系統が半分含まれている Long-Evans (LE) 系統の見知らぬラット、Wistar 系統とは独立して確立された Fischer344 (F344) 系統の見知らぬラットを用い、3つの実験系において系統の影響を検討することで、ラットにおける社会的類似性に関する研究を進めてきた。

1つ目の実験系は社会的緩衝と呼ばれる現象であり、同種他個体が居るとストレスが緩和する現象である。被験ラットは、見知らぬ Wistar ラット、SD ラットおよび LE ラットが居ると社会的緩衝を示す一方で、見知らぬ F344 ラットが居ても社会的緩衝を示さないことが明らかになった。2つ目の実験系は社会的選好性である。被験ラットは、見知らぬ Wistar ラット、SD ラットおよび LE ラットを、見知らぬ F344 ラットより選好することが明らかになった。また見知らぬ Wistar ラット、SD ラット、LE ラット間に選好性に差はなく、単独でいるよりは見知らぬ F344 ラットを選好することも確認された。3つ目の実験系はストレス認識である。被験ラットは、見知らぬ Wistar ラットや SD ラットのストレスを認識できる一方で、見知らぬ LE ラットや F344 ラットのストレスは認識できないことが明らかになった。

以上のことから、被験ラットはそれぞれの系統に対して異なる程度の社会的類似性を認識しており、その程度に応じて異なる親和行動を示していることが考えられた。すなわち、見知らぬ Wistar ラットおよび SD ラットに対しては強い類似性を認識しているため、3つの親和行動を示す。一方で見知らぬ LE ラットに対しては中程度の類似性しか認識していないため、ストレス認識以外の2つの親和行動を示す。そして見知らぬ F344 ラットに対しては弱い類似性しか認識していないため、いずれの親和行動も示さず群居性のみを示すのである。現在、それぞれの親和行動を調節する神経化学物質を探索することで、社会的類似性を生み出す神経化学機構を明らかにしようとしている。

MEMO

6. ニューロメジン U 欠損ラットを用いた新規機能の探索

相澤清香

岡山大学学術研究院 環境生命自然科学学域

ラットの脳下垂体の隆起部ではペプチドホルモン・ニューロメジン U (NMU) が発現する。我々はこれまでに下垂体隆起部の NMU 発現が、明期に高く暗期に低い概日リズムを刻むことを明らかにした。しかしながらその生理的役割はいまだ不明である。そこで本研究ではラットにおける内因性 NMU の機能解明を目的に、F344 系統ラットから NMU 欠損ラットを作製して解析を進めてきた。

ラットでの投与実験や遺伝子改変マウスを用いた多くの先行研究から、NMU は強力な摂食抑制作用を持つことが示されている。そのため、我々が作製した NMU 欠損ラットは、摂食制御に異常を示すこと、例えば昼夜問わずに摂食をするような摂食リズムの乱れといった影響を期待していた。しかしながら予想に反して、NMU 欠損ラットの摂食リズムに異常はみられず、摂食量にも変化がなかった。さらに NMU 欠損マウスでの報告とは異なり、肥満にもならなかった。内因性 NMU の脳内発現部位を確認したところ、ラットではマウスとは異なり、間脳視床下部の弓状核や腹内側核といった摂食制御に重要な神経核での NMU 発現は認められず、NMU 発現は隆起部に限定的であった。以上より内因性 NMU の機能はマウスとラットで異なることが示された。

予想外となった上述の結果を学術誌にて報告したものの¹⁾、ラットにおける内因性 NMU の機能は不明であったため、引き続き様々な角度から NMU 欠損ラットを解析した。すると思いかげず、回転カゴを走る「輪まわし活動」に異常が見られた。一般にラットは暗期にのみ輪まわし活動を行うことが知られている。我々の作製した NMU 欠損ラットも暗期に主に輪まわし活動を行うが、その輪まわし活動量は野生型ラットに比べて著しく減少していた。さらにこの影響は雌ラットでは見られず雄ラットのみで観察されたことから、性ステロイドホルモンとの関連が示唆された。そこで雄ラットの血中テストステロン値を ELISA で測定したところ、野生型ラットの血中テストステロン値は明期にピークを有する概日リズムを示すのに対し、NMU 欠損ラットは概日リズムが失われていた。さらに、NMU 欠損ラットにテストステロンの慢性投与を行ったところ、輪まわし活動量は野生型ラットと同程度まで増加することも明らかになった。テストステロン生成は、視床下部-下垂体-精巣 (HPG 軸) の視床下部のキスペプチン、GnRH、下垂体前葉の黄体形成ホルモンにより主な制御を受ける。現在は、NMU 欠損ラットでみられたテストステロン値の異常のメカニズムの解明に向けて HPG 軸に着目した解析を進めている。本研究ではラットを用いて NMU の機能解析を行った。その結果、内因性 NMU がテストステロン生成の概日リズム形成に関与するとともに、活動の制御にかかわるとの新規機能をもつことが示された。

参考文献 : 1) Yokogi, K. *et al.*: Neuromedin U-deficient rats do not lose body weight or food intake. *Sci. Rep.*, 12, 17472 (2022)

MEMO

7. 演題名 ゲノム編集ラットモデルを用いた肺高血圧研究

澤田博文

三重大学医学部 小児科学

背景

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は、閉塞性肺血管病変(PVD)による肺血管抵抗の上昇を特徴とする重篤で進行性の疾患であり、右心不全を引き起こし、最終的には死に至る。PAHの動物モデルには、主にラット、マウスが用いられる。ラットでは、(1)慢性低酸素暴露、(2)植物毒素モノクロタリン(MCT)投与、(3)血管内皮増殖因子受容体阻害薬SU5416(Sugen)/慢性低酸素暴露によるモデルが用いられ、特に後者2モデルは、進行性の高度肺高血圧を呈することから、病態解析に使用される。一方、マウスでも3モデルの作成が報告されるが、マウスではラットと同様の進行性高度肺高血圧は認められない。PAHの主要な遺伝的発症要因である骨形成因子受容体2型(PMPR2)シグナルの役割は、遺伝子改変マウスを用いて広く研究されてきた。しかし、ヒトPAHの進行性の特徴をマウスで再現することは困難であるため、進行性PAHにおける役割の評価は困難であった。ラットでは、MCTの投与により、進行性で致死的なPAHが誘導され、SU5416注射後の慢性低酸素への曝露により、ヒトPAHに特徴的な肺病理が再現される。CRISPR/Cas9により *Bmpr2* 変異およびケモカイン受容体欠失ラットを作製し、PMPR2と炎症・血管リモデリングの病態における役割を、これらのラット肺高血圧モデルで検討した。

1. *Bmpr2* 変異ラットの解析

Bmpr2 のエクソン1における一塩基挿入(以下、+44insGと記載する。)を、CRISPR/Cas9を用いて作製し、無治療とホスホジエステラーゼ(PDE)5型阻害剤であるタダラフィルの投与下でのMCT投与後のPAH、PVD、生存率を評価した。

(1) *Bmpr2* 変異ラットでは、MCT投与後、高度の肺血管病変による肺高血圧により生存率が低下する。

MCT注射後4週目の生存率は+44insGラットで有意に低下した。+44insGラットでは右室肥大(RV/[LV+S])および肺動脈(PA)の内側壁厚(MWT)が増加していた。+44insGラットの肺動脈において、野生型と比較して、Ki67陽性細胞の増加(増殖の亢進)、成熟平滑筋細胞表現型マーカーの減少および未熟平滑筋細胞表現型マーカーの増加(平滑筋脱分化)が示された。タダラフィルを投与された+44insGラットは、野生型と比較して、RV/(LV+S)、遠位PAの%MWTおよびRV心筋線維症が増加し、生存率が悪化した。

(2) *Bmpr2* 変異ラットでは、MCT投与後の右室機能も低下する。

MCT投与後後期で評価した右室収縮率(RV-fractional area change : FAC)および心係数(cardiac index、CI)は、*Bmpr2* 変異ラットがWTよりも有意に低かった、RVSPは同等であったが、全肺抵抗指数は高かった。タダラフィルを投与したラットにおいて、*Bmpr2* 変異ラットは、MCT後30日のRVSPおよびTPRIに有意差はないにもかかわらず、WTと比較して、RV-FACが有意に低く、RV心筋線維症がより重症であった。

2. C-Cモチーフケモカイン受容体(CCR)2欠損ラットの解析

(1) *Ccr2* 欠損ラットでは MCT 投与後の肺高血圧が抑制される。

Ccr2(-/-)は、MCT 投与 3 週後のラットの RVSP、血管周囲マクロファージ浸潤を減少させた。

(2) *Ccr2* 欠損ラットでは MCT 投与後の肺炎症性分子発現が広範に抑制され、血管内皮アポトーシス、血管平滑筋増殖との関連が示唆された。

同様に、*Ccr2*(-/-)は、MCT 投与ラットの肺において、炎症性サイトカイン/ケモカインの mRNA 発現の増加、BMPR2 シグナルの低下、内皮アポトーシスの増加、PDE5 発現の減少を逆転させた。

(3) *Ccr2* 欠損ラットは生存率が改善し、機序として肺動脈平滑筋脱分化の抑制が示唆された。

生存解析において、*Ccr2*(-/-)は MCT 投与ラットの生存率を改善した。*Ccr2*(-/-)は、培養肺動脈平滑筋細胞における CCL2 誘発性の増殖および脱分化を抑制した。

(4) *Ccr2* 欠損ラットでは肺高血圧治療薬の相乗効果により生存率を改善した。

タダラフィルは、MCT を投与した *Ccr2*(-/-)ラットの生存率をさらに改善した。

3. 臨床へのトランスレーション：

(1) *Bmpr2* 変異ラットの解析

遺伝性 PAH の治療成績を最適化のため、本 *Bmpr2* 変異モデルを用いた前臨床研究を進めることが可能である。平滑筋脱分化、右室繊維化をターゲットとした新規治療の可能性が示唆される。

(2) *Ccr2* 欠損ラットの解析

Ccr2 欠損が PAH の発症を抑制し、PDE5 阻害薬タダラフィルとの相乗効果を示すことを示した。これらの所見は、従来肺血管拡張薬に抵抗性の難治性 PAH 患者において、CCR2 が治療標的となる可能性を示唆している。

結語：

ラットでの遺伝子改変は、肺高血圧研究の新たな世界を拓く技術であり、組織特異的な遺伝子改変などが使用可能となれば、それらを用いて、肺高血圧研究領域の未解明の課題に向け利用したいと考えている。

MEMO

8. 再生医療の非臨床試験を見据えた免疫不全筋ジストロフィーモデルラットの開発

櫻井 英俊

京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門 櫻井研究室

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は、DMD 遺伝子の変異によりジストロフィンタンパク質が欠損することで発症し、10 歳代で車椅子、20 歳代で人工呼吸器管理、40 歳代で死亡に至る極めて予後不良な筋疾患である。現在でも根治的な治療法はなく、ステロイド剤が歩行期間の延長をもたらす治療薬として第一選択薬として使用されている。また特定の遺伝子変異に対して遺伝子治療の一種であるエクソンスキップ製剤が承認され、病態の進行抑制に有効であると報告があるなど、治療法開発には一定の進捗がある。しかし、どちらも根治的な治療法ではなく、完全長ジストロフィンを生産できる細胞移植治療に根治療法としての大きな期待が寄せられている。DMD モデルマウスを用いた細胞移植治療研究では、骨格筋の幹細胞であるサテライト細胞を直接罹患筋に移植することで治療に成功している。しかしながら、DMD モデルマウスは DMD 患者と比較して軽症で寿命も野生型と変わらず、呼吸機能障害や心機能障害といった表現型を示さないことから、「マウスで効果があっても患者で効果のない治療研究」が多発しているという問題点が指摘されてきた。

ゲノム編集技術の一般化とともに、受精卵へのゲノム編集によるモデルラット作出が進展し、DMD モデルについても 2014 年に日本のグループとフランスのグループから、それぞれ CRISPR/Cas9、TALEN を活用し DMD モデルラット樹立が報告された。どちらの報告も DMD モデルラットは体格が小さく運動機能低下が顕著であり、筋病所見も DMD 患者と同程度に壊死筋線維や線維化、脂肪化を認めた。また心筋症も認め、ヒトの臨床像に近いモデルとして、病態解析や薬効評価に活用されている。

我々はヒト iPS 細胞由来の骨格筋幹細胞を分化誘導することに成功し、免疫不全 DMD モデルマウスを用いて細胞治療の有効性を見出してきた。一方で、マウスを用いた研究成果には臨床外挿性が乏しいとい懸念があり、来るべき非臨床試験に向けて臨床外挿性の高いモデル動物を用いる必要性から、CRISPR/Cas9 で作出された DMD モデルラットとヌードラットを交配し、免疫不全 DMD モデルラットを作出した。

この免疫不全 DMD モデルラットは、寿命が短く運動機能低下が顕著であり、血清 CK や尿中タイチンといったバイオマーカーも極めて高値で、筋病理も重度の線維化や脂肪化を認め、心筋症も認めるなど、DMD 患者と同等な表現型を示した。またヒト不死化筋芽細胞株の移植により、細胞の生着とヒト由来ジストロフィンの再生を認め、ヒト細胞のレシピエントとしても活用できることを明らかにした。今後、このモデルを用いてヒトに移植する細胞量の投与実験など、非臨床試験の実施に向けた基礎データを蓄積する。

MEMO

