

## 課題C「独創性の高いモデル動物の開発」

先端的遺伝子導入・改変技術による脳科学研究のための独創的霊長類モデルの開発と応用

### 1) 研究課題名

「遺伝子改変コモナーモセットによるヒト神経疾患モデルの開発」

### 2) 研究代表機関名 / 研究代表者名

慶應義塾大学医学部生理学教室 岡野 栄之

### 3) 目的

学校法人慶應義塾では、本大学で確立したトランスジェニック法を適用し、ドミナント・トランスジーンを導入によるパーキンソン病およびALSモデル動物の作出を目指す。さらに、より幅広い疾患モデルの作出を可能にするため、新たなベクターを用いた受精卵への遺伝子導入法の開発、および遺伝子ターゲティング技術の開発を行う。また、7テスラMRIを用いた神経伝導路の非侵襲的描出法をさらに高度化させ、コモナーモセット神経系の解剖学的構造についての基礎データを収集し、データベースを構築することを目指す。

### 4) 概要

慶應グループでは、これまで一貫してコモナーモセットにおける発生工学的技術を開発してきた。その結果、我々は組み換えレンチウイルスによる受精卵への遺伝子導入法を確立し、世界初のトランスジェニックコモナーモセットの作成に成功した。この遺伝子改変技術を用いることにより、ヒト疾患の霊長類モデルを確立できる可能性が非常に高くなった。本研究では、確立されたトランスジェニック法を適用しやすい、ドミナント・トランスジーンを導入によるパーキンソン病およびALSモデル動物の作出を目指す。さらにより幅広い疾患モデルの作出を可能にするために、新たなベクターを用いた受精卵への遺伝子導入法の開発、および遺伝子ターゲティング技術の開発を行う。また、7テスラMRIを用いた神経伝導路の非侵襲的描出法をさらに高度化させ、コモナーモセット神経系の解剖学的構造についての基礎データを収集し、データベースを構築することを目指す。

本研究は前人未踏の領域への挑戦であるが、トランスジェニックコモナーモセットを作成できるのは世界で我々のみであり、一致団結し全力でミッションを遂行したい。

#### 1. ALSおよびパーキンソン病モデル動物の作成

ALS患者の運動ニューロンにみられる封入体の構成因子として知られるTDP-43は、家族性ALSの原因遺伝子の一つと考えられており、優性遺伝性ALSおよび孤発性ALSにおいて遺伝子点突然変異が発見されている。またパーキンソン病の原因遺伝子の一つと考えられているLRRK2は、優性遺伝性パーキンソン病において最も高頻度に変異がみられる遺伝子である。TDP-43、LRRK2ともにユビキタスな発現様式であるうえ、遺伝子のサイズも大きくないことから、これまでに確立された遺伝子導入法を適用しやすい。レンチウイルスを用いたヒト変異型TDP-43およびLRRK2遺伝子の導入により変性疾患モデル動物の作出を行う。

## 2. 新たなベクターを用いた受精卵への遺伝子導入法の開発

レンチウイルスを用いた遺伝子導入法では導入できる遺伝子の大きさに制約があり、大きなサイズの cDNA やゲノム DNA の導入は不可能である。今後、モデル動物作成の対象となるヒト疾患を拡大するにあたって、新しいベクターによる受精卵への遺伝子導入法の開発が不可欠である。本計画では、トランスポゾンベクター ( Tol2、 P B ) を用いて、培養細胞および受精卵にサイズの大きい遺伝子を導入する技術を開発する。

## 3. マーモセット脳科学のための画像技術の開発とデータベースの構築

水分子の拡散に着目した拡散テンソル MRI を用いることにより神経軸索走行を可視化することが可能であり、これまでに我々はマウス損傷脊髄内の皮質脊髄路における神経軸索走行の描出に成功している。さらに q-space imaging ( Q S I ) という拡散 MRI の先進技術を用いることで、細胞構造のサイズをマイクロメートル単位で示すことが可能となった。本研究では、マーモセット胎仔から成体までの脳発達 MRI アトラスの作成を目標とする。現有のシステムとこれまでの経験をもとに胎児計測のため専用の MRI システムを構築し、大脳皮質、白質、脳室等の形態・容積変化をまとめた脳発達形態 MRI アトラスを作成する。また神経走行を反映する拡散テンソル MRI を発展させ、新たに高精度神経走行描出法を開発し、脳発達神経追跡アトラスの作成を目指す。

## 5 ) 実施体制 :

