



アルツハイマー病モデルカニクイザル作成に成功

—非ヒト霊長類を用いたアルツハイマー病研究に道—

滋賀医科大学動物生命科学研究センター清田弥寿成特任講師、依馬正次教授、神経難病研究センター西村正樹教授、守村敏史助教、遠山育夫理事らの研究グループは、カニクイザルの遺伝子改変によるアルツハイマー病モデル個体の作成に成功しました。

本学では、1990年代から、カニクイザルを用いた発生工学技術の開発を進め、人工繁殖法や効率的な遺伝子組み替え技術の応用開発をしてきました。今回、これらを駆使し、家族性アルツハイマー病の家系内に見出される変異を有する原因遺伝子を発現させたモデルカニクイザルの作成に至ったものです。

家族性アルツハイマー病の患者では、老人斑、神経原線維変化の順に脳病理が進行しますが、老人斑のみでは認知症の症状はほとんど出現しないことが知られています。

すなわち、老人斑から神経原線維変化へ進展するメカニズムを解明し、それを防ぐことが治療法の開発につながると考えられます。

しかし、モデルマウスでは、老人斑は形成するも神経原線維を形成せず、治療法の開発への障害の一つになっていました。これに対して、遺伝子構造がヒトに近似したサルでは、ヒトと同じく老人斑から神経原線維変化へ進展すると考えられており、アルツハイマー病の発症メカニズムを解明し、治療法の開発に役立つと期待されます。

本成果は、4月1日（水）、アルツハイマー病の専門誌「Journal of Alzheimer's Disease」オンラインに掲載されました。

POINT

- ・ 家族性アルツハイマー型認知症で認められる Swedish, Arctic, Iberian 変異を導入した APP 遺伝子を発現させたアルツハイマーモデルカニクイザルの作成に世界で初めて成功した。
- ・ 本手法で出産に至った8頭のカニクイザルの内、6頭が遺伝子改変カニクイザルであった。
- ・ よりヒトに近い霊長類でアルツハイマーモデルが作成されたことから、今後使用可能となれば前臨床研究が大きく前進するものと期待される。

本件について、次の説明会で説明いたしたく、ご参集いただければ幸いです。

○日 時：令和2年4月13日（月）14：00から

○場 所：滋賀県庁、記者会見室

○説明者：滋賀医科大学動物生命科学研究センター 依馬 正次（えま まさつぐ）

神経難病研究センター 西村 正樹（にしむら まさき）

内容・詳細の照会先	滋賀医科大学動物生命科学研究センター 依馬 正次 TEL：077-548-2332 e-mail：mema@belle.shiga-med.ac.jp
本件発信元	滋賀医科大学総務企画課 叶、岸 TEL：077-548-2012 e-mail：hqkouhou@belle.shiga-med.ac.jp

(別紙) 内容詳細

アルツハイマー病モデルカニクイザルの作成

【要旨】

アルツハイマー病(AD)は認知症に占める割合が最も高く、その病因を理解することは治療法や診断法の改善につながります。マウスを用いてヒト APP 遺伝子を過剰発現やノックインしたモデルが作成されています。マウスではアミロイドの沈着などは見られますが患者の脳で見られるような病理所見 (neurofibrillary tangles や神経細胞の喪失など) は見られません。これはヒトとマウスの病因や寿命の違いが一因であると考えられます。

本学動物生命科学研究センターでは、非ヒト霊長類であるカニクイザルで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(Seita et al., 2016)。さらに改良を加えることで、効率に外来遺伝子を全身性に高発現するトランスジェニックカニクイザルの作出に成功しております(Seita et al., 2019)。

この手法を用い、家族性アルツハイマー病家系に見られる変異を導入した APP 遺伝子を過剰発現するカニクイザルモデルの作成に成功し、2頭の生存産仔を得ています。これらの非ヒト霊長類ADモデルは、認知症やADの病因研究に非常に有用であると考えられます。

(4月1日、「Journal of Alzheimer's Disease」誌オンライン (DOI: 10.3233/JAD-191081) に掲載)

【研究の背景と経緯】

現在まで、多くのヒト疾患モデル動物が、遺伝子改変が容易なげっ歯類を用いて開発されてきました。しかし、げっ歯類モデルではインフルエンザなどのヒト病態を再現できない例が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チントン舞踏病モデルアカゲザルが2008年に作出されました。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、2016年に本学動物生命科学研究センターの清田弥寿成特任講師と依馬正次教授の研究グループがトランスジェニックカニクイザルの作成に成功しています。さらに遺伝子改変霊長類の作出法をさらに改良し、外来遺伝子を高発現する遺伝子組換えカニクイザル作成法の開発に成功しました(Seita et al., 2019)。今回この手法を用いて非ヒト霊長類ADモデルの作成に成功しました。

【研究の内容】

本研究グループは、本学動物生命科学研究センターが長年かけて確立したカニクイザルの発生活工学的手法と人工繁殖、哺育技術により、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、Swedish, Arctic, Iberian 変異を導入した APP 遺伝子と GFP をコードする遺伝子を導入しました。遺伝子を導入した未受精卵を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 8 頭のカニクイザルのうち 6 頭が遺伝子改変カニクイザルであることが確認されました。

【今後の展開】

本研究で作成した、変異型 APP (β-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継続的に注意深く観察し、実際にヒト AD 病態を再現出来るか検討する予定です。

【参考図】

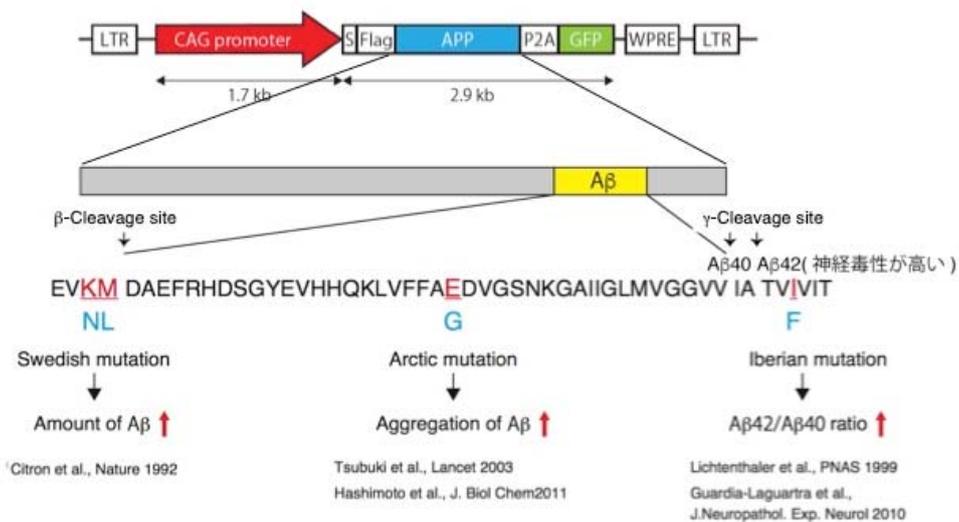


図 1. 導入した遺伝子の構築図



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

【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。

****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し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。