

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2022

課題番号：18KK0307

研究課題名（和文）ヒトiPS細胞由来肝細胞の動物生体内大量培養システムの構築

研究課題名（英文）In vivo mass culture system of human iPS cell-derived hepatocytes

## 研究代表者

真下 知士（Mashimo, Tomoji）

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：80397554

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：ピッツバーグ大学により作成されたiPS-Heps培養プロトコールを利用して、ゲノム編集により作製した免疫不全ラットの肝臓に細胞移植することで、動物肝内でヒトiPS-Hepsの大量培養に成功した。ラット肝臓内から増殖したiPS-Hepsを回収することを目的として、自殺遺伝子としてiCasp9を導入した免疫不全ラットを作製したが、ラット肝臓細胞死を確認することはできなかった。一方、Sirpa遺伝子、Kit遺伝子をノックインした超重症免疫不全ラットの作製に成功した。これら超重症免疫不全ラットの肝細胞を細胞死させることで、ヒトiPS-Heps細胞のみを免疫不全ラットの生体内で生成する方法を確立する。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Bioreactorとしてラット肝臓内でiPS-Hepsを成熟させ、ヒト肝細胞を大量に作り出す方法を確立する。肝不全に対する革新的新規治療法を開発するだけでなく、創薬でのヒト肝細胞の大量利用を実現する。

研究成果の概要（英文）：Using the iPS-Heps culture protocol developed by the University of Pittsburgh, we were able to culture a large number of human iPS-Heps cells in the livers of immunodeficient rats through cell transplantation. To recover a significant amount of proliferated iPS-Heps from within the rat liver, we generated immunodeficient rats transgenic with iCasp9 as a suicide gene, but we were unable to confirm cell death in the rat liver. Instead, we successfully produced severe immunodeficient rats with a knock-in of human SIRPA or KIT genes. By inducing the death of hepatocytes in these severe immunodeficient rats, we will establish a method to exclusively generate human iPS-Heps cells in vivo within immunodeficient rats.

研究分野：実験動物学、ゲノム編集学

キーワード：ヒト肝細胞 iPS細胞 免疫不全ラット ゲノム編集 肝移植

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、ゲノム編集技術：ジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN) を世界に先駆けラット受精卵に導入することにより、*Il2rg* 遺伝子をノックアウトした免疫不全ラットの作製に成功した (Mashimo *et al PLoS One* 2010)。この免疫不全ラットにヒト胎児由来の肝細胞を移植することで、ヒト肝細胞を体内に保有したヒト肝キメララットの作製にはじめて成功した (Mashimo *et al Cell Rep* 2012)。

ピッツバーグ大学において作成した iPS-Heps を免疫不全ラットに細胞移植したところ、これまで報告されているプロトコールでは iPS-Heps はほとんど増殖しなかったが (図 1 右)、新しく開発したプロトコールでは、ラットの肝内において増殖を認め、移植 90 日後には約 60~70% の再分布を認めた (図 1 左)。この方法では、1 匹のラットより約  $50 \times 10^6$  の肝細胞を回収することが可能であり、FACS

解析では 60% がヒト由来の肝細胞であった。肝機能解析では、ヒト CYP などの肝細胞成熟マーカーの発現が認められたことから、世界で初めてラット体内において成熟した iPS-Heps を創り出すことに成功した (特許出願済 No.04064, USA)。

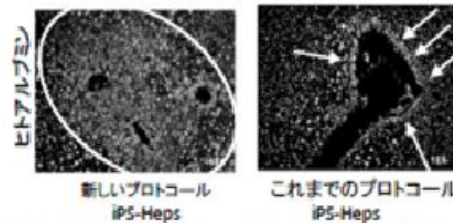


図 1 プロトコール別 iPS-Heps ( $5 \times 10^6$ ) 移植後 60 日目のラット肝内での iPS-Heps 増殖能の比較  
左) 新しいプロトコール iPS-Heps (○で囲んだ範囲)  
門脈周囲から中心静脈にまで iPS-Heps に置換 (50-60% 再分布)  
右) これまでのプロトコール iPS-Heps (矢印で示した範囲)  
門脈周囲単層のみ iPS-Heps に置換 (2-5%)

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、Bioreactor として、ラット肝臓内で iPS-Heps を成熟させ、大量に作り出す方法を確立することである。これまでも iPS-Heps をマウスに移植した報告はあるが、我々の結果のように大量に iPS-Heps が肝内で再分布した報告はなく、移植後に isolation できた報告もない。今回の新たなプロトコールによる iPS-Heps は、免疫不全ラット体内でのみ増殖し、この iPS-Heps と免疫不全ラットの組み合わせのみが、大量に成熟した iPS-Heps を創出する。

## 3. 研究の方法

新しいヒト iPS-Heps のプロトコールを用いて iPS-Heps を作成し、それを *iCasp9* 遺伝子導入免疫不全ラットに移植し、ラット肝細胞を含まないヒト iPS-Heps のみを大量に回収する方法を確立する。

動物モデルの作出: 我々はゲノム編集 CRISPR/Cas9 技術を使った効率的なノックイン法を開発している (Yoshimi *et al. Nat Commun* 2016)。本技術を使って肝臓特異的発現 ALB プロモーター *iCasp9* 遺伝子をノックインした免疫不全ラットを作製した。

ゲノム編集技術により *Il2rg* 遺伝子ノックアウトラットに加えて、*Rag2* 遺伝子をノックアウトすることにより、さらに重度免疫不全ラットを作製した。最終的に、これらラットを交配することにより、*Il2rg Rag2 iCasp9* 免疫不全ラットを作出した。

ヒト iPS-Heps の作成方法: ヒト iPS 細胞を内胚葉に分化させ、HGF、DMSO にて 10 日間培養し、ヒト iPS-Heps を作成した。分化後の細胞の HNF4 $\alpha$ 、FOXA2、アルブミン等の発現量を免疫染色および qPCR を用いて評価し、iPS-Heps の分化能を確認した。

ヒト iPS-Heps 細胞の移植: 完成した *Il2rg Rag2 iCasp9* 免疫不全ラットの肝臓内にヒト iPS-Heps を経門脈的に細胞移植した。ラット肝臓をコラゲナーゼ処理し、移植した肝細胞を回収する。この

肝細胞に *iCasp9* を活性化し、ラット肝細胞を選択的にアポトーシスを誘導する。回収したヒト iPS-Heps をヒト特異的 HLA 抗体にて染色後、FACS にて解析し、ヒト iPS-Heps の回収率を評価した。

#### 4 . 研究成果

動物モデルの作出:

代表研究者真下と分担研究者吉見の東京大学医科学研究所移転に伴い、大阪大学でゲノム編集技術 CRISPR-Cas9 により作製した Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットの繁殖維持コロニーを移動した。東京大学において、SPF 飼育室内でバイオバブルによる Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットコロニーの繁殖維持に成功した (Miyasaka Y, et al. *PLoS One*. 2022 17(8):e0272950)。我々が開発したゲノム編集による効率的なノックイン法 Combi-CRISPR により (Yoshimi K, et al. *Hum Genet*. 2021 140(2):277-287)、肝臓特異的発現 *iCasp9* 遺伝子のノックインラットを作製し、Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットと交配したが、自殺遺伝子 *iCasp9* の発現誘導は確認されなかった。一方で、Combi-CRISPR 法によりヒト *Sirpa* ノックインおよびヒト *Kit* ノックインラットの作製に成功した。Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットと交配することで超重症免疫不全ラットコロニーの作製を行っている。

バイオバブル飼育環境において、Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットコロニーの繁殖維持を行った。*Sirpa* ノックイン、*Kit* ノックインラットの作製を行った。今後は、単純疱疹ウイルス 1 型チミジンキナーゼ (TK) を発現するノックインラットを作製し、重度免疫不全ラットを交配して、Bioreactor として肝細胞欠失重度免疫不全ラット系統の確立を行う。

ヒト iPS-Heps の作成:

九州大学の分担研究者らは、ピッツバーグ大学医学部病理学講座に併設された肝臓研究センターにて iPS-Heps の分化方法を習得した。はじめに、線維芽細胞、リンパ球から iPS 細胞の作成方法を確立した。さらに、ヒト iPS 細胞を内胚葉に分化させ、HGF、DMSO にて 10 日間培養し、ヒト iPS-Heps を作成した。分化後の細胞の HNF4 $\alpha$ 、FOXA2、アルブミン等の発現量を免疫染色および qPCR を用いて評価し、iPS-Heps の分化能を確認した。ピッツバーグ大学では、肝細胞特異的転写因子の発現に着目して、HNF4 $\alpha$ 、FOXA2 の発現量が成熟肝細胞とほぼ同レベルにあるヒト iPS-Heps 細胞を分化、培養する新たなプロトコルを確立した (Takeishi K, et al. *Cell Rep*. 2020 31(9):107711)。

ヒト iPS-Heps 細胞の移植:

九州大学に Il2rg,Rag2 ダブルノックアウトラットを輸送して、九州大学においてヒト肝細胞の移植実験を行った。ヒト肝細胞が移植された免疫不全ラットにおいて血中ヒトアルブミンの発現が確認され、ヒト高い生着率の実現に成功した。このプロトコルにより作成した iPS-Heps を免疫不全ラットに細胞移植したところ、ラットの肝臓内において約 60~70%のヒト iPS-Heps 細胞の増殖が認められた。ヒト iPS-Heps 細胞が、マウスあるいはラット肝内で非常に高効率に培養できた世界で初めてプロトコルであり、ピッツバーグ大学と一緒に特許出願および論文に取り纏めた (Takeishi K, et al. *Cell Rep*. 2020 31(9):107711)。

過去 3 年間において、新型コロナ感染拡大による米国渡航制限や国内移動が困難なこともあり、研究の進捗に影響を与えている。世界的な新型コロナ対応が落ち着いた段階で、東京大学および九州大学の研究者が、ピッツバーグ大学、クイーンズランド工科大学、ソウル大学の研究者と協力して、さらに効率

的な iPS-Heps の作成方法、分化能評価方法等についての研究を推進する。完成したラット肝細胞自殺超重症免疫不全ラットの肝臓内にヒト iPS-Heps を経門脈的に細胞移植することで、ヒト肝細胞を大量に作り出す方法の確立を目指す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計40件（うち査読付論文 29件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 21件）

1. 著者名 Tahara Mayu, Higurashi Norimichi, Hata Junichi, Nishikawa Masako, Ito Ken, Hirose Shinichi, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Okano Hirotaka James	4. 巻 14
2. 論文標題 Developmental changes in brain activity of heterozygous Scn1a knockout rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2023.1125089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsushita Natsuki, Kato Shigeki, Nishizawa Kayo, Sugawara Masateru, Takeuchi Kosei, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Kobayashi Kazuto	4. 巻 3
2. 論文標題 Highly selective transgene expression through the flip-excision switch system by using a unilateral spacer sequence	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100393 ~ 100393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2022.100393	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sugiyama Yuma, Harada Tanenobu, Kamei Yuka, Yasuda Tomoharu, Mashimo Tomoji, Nishikimi Akihiko, Maruyama Mitsuo	4. 巻 174
2. 論文標題 A senolytic immunotoxin eliminates p16-positive T cells and ameliorates age-associated phenotypes of CD4+ T cells in a surface marker knock-in mouse	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experimental Gerontology	6. 最初と最後の頁 112130 ~ 112130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exger.2023.112130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Luo Yaguang, Akatsuka Shinya, Motooka Yashiro, Kong Yingyi, Zheng Hao, Mashimo Tomoji, Imaoka Tatsuhiko, Toyokuni Shinya	4. 巻 114
2. 論文標題 BACE1 haploinsufficiency impairs iron metabolism to promote chrysotile induced mesothelioma via ferroptosis resistance	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1423 ~ 1436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15705	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 MORI Masayuki, DAI Jian, MIYAHARA Hiroki, LI Ying, KANG Xiaojing, YOSHIMI Kazuto, MASHIMO Tomoji, HIGUCHI Keiichi, MATSUMOTO Kiyoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Cyba and Nox2 mutant rats show different incidences of eosinophilia in the genetic background- and sex-dependent manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.22-0122	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohmori Iori, Ouchida Mamoru, Imai Hirohiko, Ishida Saeko, Toyokuni Shinya, Mashimo Tomoji	4. 巻 175
2. 論文標題 Thioredoxin deficiency increases oxidative stress and causes bilateral symmetrical degeneration in rat midbrain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 105921 ~ 105921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2022.105921	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kaimori Jun-Ya, Kikkawa Yamato, , Mashimo Tomoji, Sekiguchi Kiyotoshi, Nakaya Akihiro, Nomizu Motoyoshi, Isaka Yoshitaka	4. 巻 7
2. 論文標題 A heterozygous LAMA5 variant may contribute to slowly progressive, vinculin-enhanced familial FSGS and pulmonary defects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.158378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hieu Hoang Trung, Tanaka Miyuu, Kuwamura Mitsuru, Mashimo Tomoji, Serikawa Tadao, Kuramoto Takashi	4. 巻 72
2. 論文標題 The rat Downunder (Du) coat color mutation is associated with eye anomalies and embryonic lethality and maps to a 3.9-Mb region on chromosome 3	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 88 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.22-0086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsushita Natsuki, Nishizawa Kayo, Kato Shigeki, Iguchi Yoshio, Fukabori Ryoji, Takeuchi Kosei, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Kobayashi Kazuto	4. 巻 381
2. 論文標題 Catecholaminergic cell type-specific expression of Cre recombinase in knock-in transgenic rats generated by the Combi-CRISPR technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience Methods	6. 最初と最後の頁 109707 ~ 109707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneumeth.2022.109707	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimi Kazuto, Takeshita Kohei, Kodera Noriyuki, Shibumura Satomi, Yamauchi Yuko, Omatsu Mine, Umeda Kenichi, Kunihiro Yayoi, Yamamoto Masaki, Mashimo Tomoji	4. 巻 13
2. 論文標題 Dynamic mechanisms of CRISPR interference by Escherichia coli CRISPR-Cas3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-32618-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyasaka Yoshiki, Wang Jinxi, Hattori Kosuke, Yamauchi Yuko, Hoshi Miho, Yoshimi Kazuto, Ishida Saeko, Mashimo Tomoji	4. 巻 17
2. 論文標題 A high-quality severe combined immunodeficiency (SCID) rat bioresource	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0272950	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Yuzuki, Kubota Jo, Nishimura Yukiko, Nagata Kento, Nishimura Mayumi, Daino Kazuhiro, Ishikawa Atsuko, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Kokubo Toshiaki, Takabatake Masaru, Inoue Kazumasa, Fukushi Masahiro, Arai Masami, Saito Mitsue, Shimada Yoshiya, Kakinuma Shizuko, Imaoka Tatsuhiko	4. 巻 113
2. 論文標題 Brca1L63X /+ rat is a novel model of human BRCA1 deficiency displaying susceptibility to radiation-induced mammary cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3362 ~ 3375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15485	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kong Yingyi, Akatsuka Shinya, Motooka Yashiro, Zheng Hao, Cheng Zhen, Shiraki Yukihiro, Mashimo Tomoji, Imaoka Tatsuhiko, Toyokuni Shinya	4. 巻 54
2. 論文標題 BRCA1 haploinsufficiency promotes chromosomal amplification under Fenton reaction-based carcinogenesis through ferroptosis-resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 102356 ~ 102356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.redox.2022.102356	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakashima Chisa, Doi Hiromi, Nakajima Saeko, Mashimo Tomoji, Oga Toru, Ishida-Yamamoto Akemi, Honda Tetsuya, Ishida Yoshihiro, Otsuka Atsushi, Kabashima Kenji	4. 巻 71
2. 論文標題 Filaggrin-deficient rats generated using zinc-finger nucleases spontaneously exhibit dry scaly skin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 545 ~ 547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2022.04.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohmori Iori, Ouchida Mamoru, Shinohara Masakazu, Kobayashi Kiyoka, Ishida Saeko, Mashimo Tomoji	4. 巻 63
2. 論文標題 Novel animal model of combined generalized and focal epilepsy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Epilepsia	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/epi.17295	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kabwe Jane Chanda, Sawada Hirofumi, Mitani Yoshihide, Oshita Hironori, Tsuboya Naoki, Zhang Erquan, Maruyama Junko, Miyasaka Yoshiki, Ko Hideyoshi, Oya Kazunobu, Ito Hiromasa, Yodoya Noriko, Otsuki Shoichiro, Ohashi Hiroyuki, Okamoto Ryuji, Dohi Kaoru, Nishimura Yuhei, Mashimo Tomoji, Hirayama Masahiro, Maruyama Kazuo	4. 巻 23
2. 論文標題 CRISPR-mediated Bmpr2 point mutation exacerbates late pulmonary vasculopathy and reduces survival in rats with experimental pulmonary hypertension	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Respiratory Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12931-022-02005-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Jiang Weiru, Kakizaki Toshikazu, Fujihara Kazuyuki, Miyata Shigeo, Zhang Yue, Suto Takashi, Kato Daiki, Saito Shigeru, Shibasaki Koji, Ishizaki Yasuki, Isoda Koji, Yokoo Hideaki, Obinata Hideru, Hirano Touko, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Yanagawa Yuchio	4. 巻 36
2. 論文標題 Impact of GAD65 and/or GAD67 deficiency on perinatal development in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202101389R	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyagawa Shuji, Watanabe Masahito, Nagashima Hiroshi, Sato Kazuki, Kogata Shuhei, Toyama Chiyoshi, Masahata Kazunori, Kamiyama Masafumi, Yamamoto Riho, Eguchi Hiroshi, Maeda Akira, Yoshimi Kazuto, Mashimo Tomoji, Okuyama Hiroomi	4. 巻 54
2. 論文標題 Study of the CRISPR/Cas3 System for Xenotransplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 522 ~ 524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2021.09.070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lahr Christoph A., Landgraf Marietta, Wagner Ferdinand, Cipitria Amaia, Moreno-Jimenez Ines, Bas Onur, Schmutz Beat, Meinert Christoph, Cavalcanti Amanda Dos Santos, Mashimo Tomoji, Miyasaka Yoshiki, Holzapfel Boris M., Shafiee Abbas, McGovern Jacqui A., Hutmacher Dietmar W.	4. 巻 158
2. 論文標題 A humanised rat model of osteosarcoma reveals ultrastructural differences between bone and mineralised tumour tissue	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116018 ~ 116018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2021.116018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Gurumurthy Channabasavaiah B., O'Brien Aidan R., . . . Mashimo Tomoji, Mizuno Seiya, Zhu Hao, Kasperek Petr, Liaw Lucy, Miano Joseph M., Burgio Gaetan	4. 巻 22
2. 論文標題 Response to correspondence on "Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation"	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13059-021-02320-3	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 石田紗恵子、真下知士	4. 巻 Vol.29 No.1
2. 論文標題 受精卵のゲノム編集	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY	6. 最初と最後の頁 31-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujihara Kazuyuki, Sato Takumi, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Yanagawa Yuchio	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic deletion of the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase alters conditioned fear behavior in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 340 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujihara Kazuyuki, Yamada Kazuo, Ichitani Yukio, Kakizaki Toshikazu, Jiang Weiru, Miyata Shigeo, Suto Takashi, Kato Daiki, Saito Shigeru, Watanabe Masahiko, Kajita Yuki, Ohshiro Tomokazu, Mushiake Hajime, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Yasuda Hiroki, Yanagawa Yuchio	4. 巻 10
2. 論文標題 CRISPR/Cas9-engineered Gad1 elimination in rats leads to complex behavioral changes: implications for schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-020-01108-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayase Yoneko, Amano Shigeru, Hashizume Koichi, Tominaga Takashi, Mashimo Tomoji, Serikawa Tadao, Sekine Akihiro, Nakagawa Eiji, Takeshita Eri, Yoshikawa Takeo, Waga Chikako, Inoue Ken, Goto Yu-ichi, Nabeshima Yoichi, Ihara Nobuo, Yamakawa Kazuhiro, Taya Shinichiro, Hoshino Mikio	4. 巻 8
2. 論文標題 Down syndrome cell adhesion molecule like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-01082-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Yuki, Uemura Risa, Tanaka Miyuu, Izawa Takeshi, Yamate Jyoji, Kuramoto Takashi, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Yamamoto Takashi, Serikawa Tadao, Kuwamura Mitsuru	4. 巻 70
2. 論文標題 PHF24 is expressed in the inhibitory interneurons in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 137 ~ 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.20-0105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Odongoo Batbayar, Ohara Hiroki, Ngarashi Davis, Kaneko Takehito, Kunihiro Yayoi, Mashimo Tomoji, Nabika Toru	4. 巻 43
2. 論文標題 Pathophysiological significance of Stim1 mutation in sympathetic response to stress and cardiovascular phenotypes in SHRSP/lzm: In vivo evaluation by creation of a novel gene knock-in rat using CRISPR/Cas9	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Hypertension	6. 最初と最後の頁 34 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10641963.2020.1797085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashikawa Yoshiko, Hayashi Ryuhei, Tajima Masaru, Okubo Toru, Azuma Shohei, Kuwamura Mitsuru, Takai Naofumi, Osada Yasuyuki, Kunihiro Yayoi, Mashimo Tomoji, Nishida Kohji	4. 巻 10
2. 論文標題 Generation of knockout rabbits with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using CRISPR/Cas9	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66780-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeishi Kazuki, Collin de l'Hortet Alexandra, Wang Yang, Handa Kan, Mashimo Tomoji, Fox Ira J., Soto-Gutierrez Alejandro	4. 巻 31
2. 論文標題 Assembly and Function of a Bioengineered Human Liver for Transplantation Generated Solely from Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107711 ~ 107711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cellrep.2020.107711	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 真下知士・吉見一人	4. 巻 第10巻第4号(通巻34号)
2. 論文標題 ゲノム編集医療 - 技術開発・治療応用戦略を中心に、特集コーディネーター	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 遺伝子医学	6. 最初と最後の頁 1-176
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 服部晃佑、吉見一人、松下夏樹、小林和人、真下知士	4. 巻 -
2. 論文標題 効率的なゲノム編集ラットの作製方法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 マウス・ラットモデル作製・解析プロフェッショナル. あなたの研究をステップアップさせる最新・最適手技. 先端モデル動物支援プラットフォーム(AdAMS)	6. 最初と最後の頁 54-63
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山内祐子、真下知士	4. 巻 78巻
2. 論文標題 高血圧関連疾患モデル動物作製の現状と展望	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨牀増刊号「高血圧学(上)」	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 宮坂佳樹、真下知士	4. 巻 Vol.273(9)
2. 論文標題 ゲノム編集技術を用いた遺伝子改変ラットの作製	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ「ゲノム編集の未来」	6. 最初と最後の頁 785-794
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakazawa Yuka, Hara Yuichiro, Oka Yasuyoshi, Komine Okiru, et al.	4. 巻 180
2. 論文標題 Ubiquitination of DNA Damage-Stalled RNAPII Promotes Transcription-Coupled Repair	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1228 ~ 1244.e24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Konishi Shizuka, Tanaka Natsuki, Mashimo Tomoji, Yamamoto Takashi, Sakuma Tetsushi, Kaneko Takehito, Tanaka Miyuu, Izawa Takeshi, Yamate Jyoji, Kuwamura Mitsuru	4. 巻 69
2. 論文標題 Pathological characteristics of Ccdc85c knockout rats: a rat model of genetic hydrocephalus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 26 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.19-0005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Tomoaki, Yokota Takafumi, Okuzaki Daisuke, Uno Yoshihiro, Mashimo Tomoji, Kubota Yoshiaki, Sudo Takao, Ishibashi Tomohiko, Shingai Yasuhiro, Doi Yukiko, Ozawa Takayuki, Nakai Ritsuko, Tanimura Akira, Ichii Michiko, Ezo Sachiko, Shibayama Hirohiko, Oritani Kenji, Kanakura Yuzuru	4. 巻 13
2. 論文標題 Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Contributes to the Development of Definitive Hematopoiesis in the Fetal Liver	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2019.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Jinxi, Dang Ruihua, Miyasaka Yoshiki, Hattori Kousuke, Torigoe Daisuke, Okamura Tadashi, Tag-El-Din-Hassan Hassan T., Morimatsu Masami, Mashimo Tomoji, Agui Takashi	4. 巻 14
2. 論文標題 Null mutation of the endothelin receptor type B gene causes embryonic death in the GK rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0217132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0217132	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下知士	4. 巻 54
2. 論文標題 疾患モデルラットの国内外トレンド	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験動物技術	6. 最初と最後の頁 91-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉見一人、真下知士	4. 巻 -
2. 論文標題 ラット受精卵でのゲノム編集	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学別冊 ゲノム編集実験スタンダード	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 15.山内祐子、吉見一人、真下知士	4. 巻 78
2. 論文標題 免疫不全ラットの開発と利用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 LABIO21実験動物としてのラットの有用性	6. 最初と最後の頁 16-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下 知士	4. 巻 45
2. 論文標題 ゲノム編集技術によるモデル動物の作製	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 メディカル・サイエンス・ダイジェスト	6. 最初と最後の頁 17-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 23件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集が拓く疾患モデル研究の最先端
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集技術の最新動向
3. 学会等名 第21回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 次世代型ゲノム編集技術の開発
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集が拓く疾患モデル研究
3. 学会等名 第17回北海道実験動物研究会(HALAS)学術集会 特別講演（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 脳神経疾患・モデルの開発
3. 学会等名 日中ハイレベル研究者交流会～パブリックヘルスと生命システム科学～（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集とヒト化動物
3. 学会等名 実験動物に感謝する集い（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集技術の開発や新しいモデル動物の開発動向などについて
3. 学会等名 日本実験動物協同組合(JCALA)の研修会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 遺伝子編集が拓く疾患モデル研究のフロンティア
3. 学会等名 第56回高血圧関連疾患モデル学会学術総会、理事長企画／未病栄養シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 CRISPR-Cas3がもたらす新たなゲノム編集基盤技術
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナー「ゲノム編集がもたらす革新と更なる展望」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 CRISPR-Cas3: a new tool for genome editing and nucleic acid detection
3. 学会等名 The 15th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences ~Cutting Edge of Biomedical and Metabolic Sciences~ (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 New CRISPR Technology for Genome Editing
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会Genome editing: CRISPR, Stem cells, and Beyond (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集技術とその医療応用: 基礎技術的視点から
3. 学会等名 第2回 Translational and Regulatory Sciences Symposium (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 新規ゲノム編集ツール、遺伝子改変ラット、ヒト化動物の未来
3. 学会等名 第144回関西実験動物研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集による疾患モデルの作製
3. 学会等名 第53回日本実験動物技術者協会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集と重症免疫不全ラットの開発について
3. 学会等名 第90回信州実験動物研究会秋期勉強会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集研究の進展と医工薬への応用
3. 学会等名 関西大学・大阪医科大学・大阪薬科大学医工薬連環科学教育研究機構研究セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 動物生命科学におけるゲノム編集技術の利用
3. 学会等名 TARAセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mashimo T
2. 発表標題 CRISPR/Cas9-mediated genome editing in zygotes
3. 学会等名 The 9th International Forum on Laboratory Animal Science &Technology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ラットにおける最先端生殖工学技術
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の最新技術動向
3. 学会等名 第24回国立大学法人動物実験施設協議会高度技術研修会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 マウス・ラットモデル作成の新展開
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉見 一人、真下知士
2. 発表標題 マウス・ラットにおけるゲノム編集技術の現状
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 CRISPR-mediated genome engineering and its application in animal models
3. 学会等名 22nd US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference, Adeno-associated Virus-Mediated Gene Therapy Gene Therapy（招待講演） （国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 トランスレーショナルリサーチにおけるゲノム編集への期待と限界
3. 学会等名 塩見雅志准教授退職記念祝賀会・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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  
<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/animal-genetics/index.html>  
東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター先進モデル動物作製コア  
[https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public\\_html/index.html](https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public_html/index.html)  
重症免疫不全 (SCID) ラット  
<http://www2.med.osaka-u.ac.jp/gerdc/srpo>  
[https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public\\_html/index.html](https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public_html/index.html)  
大阪大学大学院医学系研究科実験動物学講座  
<http://www.texas-osaka-u.jp/lab/>  
大阪大学大学院医学系研究科附属共同研ゲノム編集センター  
<http://www2.med.osaka-u.ac.jp/gerdc/>  
重症免疫不全 (SCID) ラット  
<http://www2.med.osaka-u.ac.jp/gerdc/srpo/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉見 一人  (Yoshimi Kazuto)  (50709813)	東京大学・医科学研究所・講師   (12601)	
研究分担者	武石 一樹  (Takeishi Kazuto)  (50733713)	九州大学・大学院・助教   (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	ピッツバーグ大学		