

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K11128

研究課題名（和文）次世代シーケンサーを利用した高速ゲノム編集マウスでの老化の不妊症原因遺伝子の解明

研究課題名（英文）Identification of infertile genes in aging mice using genome editing method

研究代表者

水上 洋一（Mizukami, Yoichi）

山口大学・大学研究推進機構・教授

研究者番号：80274158

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：先進国で少子高齢化が進行し、高齢出産が増加している。高齢者は卵巣に卵子があるにも関わらず不妊になっており、老化による排卵障害の解明が重要だと考えられている。高齢マウスの卵巣での全遺伝子発現を性周期毎に解析した結果、排卵ホルモン応答初期に活性化される酵素経路が大幅に低下していることが明らかになった。そこで、簡便にKOマウス作製が可能な画期的な技術であるGONAD法でのゲノム編集技術を用いて、酸化還元酵素を始めとする排卵障害の候補遺伝子群を欠失したマウスを作製し、出産数や卵巣組織を観察することで老化による排卵障害を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界の先進国では少子高齢化が進行し、このため労働力不足を補うため、女性が社会進出し、晩婚化・不妊症の増加を招き、労働力人口は負のスパイラルに陥っている。女性の卵巣に存在する卵子は、出生前に造られ、高齢でも卵子（原始卵胞）は卵巣に存在しており排卵機能の制御によって高齢出産は可能である。実際に世界大戦直後の日本では50歳代で数千人が出産していた。卵巣の老化シグナル経路を分子レベルで解明し、排卵シグナル経路を回復することで理論上、卵巣に卵子が存在している限り100歳を越える高齢でも妊娠が可能である。

研究成果の概要（英文）：The declining birth rates and aging population is occurring in advanced countries, including Japan, leading to an increase in late childbirth. Despite having eggs in their ovaries, elderly women are experiencing infertility, and understanding the mechanisms of ovulation disorders caused by aging is essential for addressing infertility. We discovered that the oxidative stress response pathway, activated during the early phase of the ovulation hormone response, is significantly reduced by analyzing the whole gene expression in the ovaries of aged mice at each sexual cycle. Based on this data, they conducted ovarian cell profiling analysis in aging mice and elucidated the genes and cells responsible for ovulation disorders. GONAD method, which enables simple generation of knockout mice through genome editing was used, and they clarified the mechanisms of ovulation disorders caused by aging.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：不妊 老化 全遺伝子解析 ゲノム編集マウス

1. 研究開始当初の背景

世界の先進国では少子高齢化が進行し、中でも日本の少子高齢化は最も顕著である。このため労働力不足を補うため、女性が社会進出し、晩婚化・不妊症の増加を招き、労働力人口は負のスパイラルに陥っている。労働力問題を解決するには高齢者でも安心して出産できる科学技術の提供が求められる。現代社会では、老化は自然現象と解釈され多くの研究者は薬剤開発の対象から除外してきた。しかし、老化の制御は、高齢化に伴うがんや心筋梗塞など多くの疾患の発症抑制につながり健康的に活動できる期間を延長できる最も有効な手段である。私たちは老化現象の中でも晩婚化・少子化に直結する卵巣老化に注目した。女性の卵巣に存在する卵子は、出生前に造られ、2次性徴に伴って卵子が成熟し排卵を始める。その後、35歳前後から急激に排卵が低下し、高齢での不妊の原因になっているが、卵子(原始卵胞)は卵巣に存在しており排卵機能の制御によって高齢出産は可能である。実際に世界大戦直後の日本では50歳代で数千人が出産していた。最近、卵巣の若返り治療として脂肪などで癒着した卵巣の細切化が行われている。この細切が細胞シグナル経路を刺激しPI3キナーゼの活性化が卵の成熟排卵を促すと言われている。実際に臨床でも実施されているが、非特異的なシグナルが活性化されるため、胎児への影響が懸念されている。但し、この手法で妊娠成立の報告があり、特定のシグナル経路活性化が排卵の回復に直結することを示唆している。しかし、この卵巣老化によるシグナル経路を網羅的に解析した研究はなく、シグナル経路の全容は全く不明のままである。卵巣の老化シグナル経路を分子レベルで解明し、排卵シグナル経路を回復することで理論上、卵巣に卵子が存在している限り100歳を越える高齢でも妊娠が可能である。

2. 研究の目的

そこで、私たちは、若齢と老齢のマウスを排卵刺激後の卵巣の全遺伝子発現の時間経過を解析し、老化による変動遺伝子約2万種類のビッグデータを主成分解析した。その結果、老齢マウスの卵巣では、排卵誘発ホルモンの応答初期で顕著な遺伝子群の発現変動が観察された。ホルモン応答初期に変動した遺伝子群をパスウェイ解析した結果、性染色体由来のオーファン受容体で活性化される遺伝子が大幅に低下していることが明らかになった。そこで、私たちは、これまでに確立した次世代シーケンス技術を駆使し、卵巣を構成する細胞毎にホルモン応答に対する全遺伝子発現の変動を解析し、老化による排卵障害メカニズムを解明する。さらにKOマウス作製期間を大幅に短縮できるGONAD法を組合せることで動物個体レベルでの卵巣老化の分子メカニズムを明らかにする。これまで老化研究では、線虫など下等モデル生物が中心であり、哺乳類での全遺伝子を解明した研究は全く報告がない。私たちの研究は世界でも類をみない画期的な研究手法であり、この研究は多くの人たちに朗報をもたらすと確信している。老化による排卵機能低下に関与する遺伝子群を解明するため、若齢・老齢マウスをホルモン刺激後、卵巣から卵胞を取り出しレーザーマイクロダイセクションで細胞毎の次世代シーケンス解析を行い、老化卵巣組織内の細胞プロファイリング・排卵障害のキーとなる遺伝子を同定し、さらに独自に開発したGONAD法を用いてゲノム編集マウスを作製し老化による排卵障害の標的遺伝子を解明することを主な目的にして解析を実施した。

3. 研究の方法

(老齢マウス) 卵巣の老化を b-gal 活性を指標に測定し 48 週齢のマウスを用いる。このマウスは排卵数が大幅に減少しているが、完全に消失しておらずヒトの 40 歳前後に相当する。

(卵巣組織から細胞分離) 6 週齢の若齢マウス(n=4)と 48 週齢の老齢マウス(n=4)を用いてホルモン刺激後、性周期期間である 4 日間連続して卵巣を摘出し、コラゲナーゼなど酵素を組合せ卵胞に分離する。パラホルムアルデヒドで固定後、連続切片作製を大学病院附属施設に委託する。作製された切片を細胞の形態から卵子、夾膜細胞、顆粒膜細胞、間質細胞に分類し、レーザーマイクロダイセクションで切り出した。

(細胞遺伝子プロファイリング)各細胞切片から RNA を抽出し同時に細胞を区別するため、バーコード配列を導入し、次世代シーケンスライブラリー作製した。

(次世代シーケンス解析) 今回のサンプルでは固定によって断片化された微量の RNA を用いるため、IonS5 による SAGE 解析および Nova-seq による RNA-seq 解析を行った。この手法では全遺伝子の特定の領域だけを 1 本のチューブ内で均一に増幅させ、次世代シーケンサーで解析した。

(データ解析)次世代シーケンスデータの発現解析はこれまでに確立した方法で行った。転写産物毎のカウントデータ(TPM)を各細胞毎に主成分分析で分析し大きく変動した時間帯を確定する。その後、Volcano Plot から明確に活性化された遺伝子群をピックアップし IPA データベース(現有)によるパスウェイ解析を行った。

(GONAD 法による KO マウスの作製) 研究分担者である大塚らによって開発された GONAD 法はこれまで数年を要した KO マウスの作製を 1 日で行う画期的な技術である。実験は標的遺伝子に対する tracrRNA および crRNA を IDT に合成を依頼すると共に CAS9 タンパク質を購入する。発情期にあるマウスを交配させ、翌日にプラグを確認した後、プラグ確認日の夕方にチオペンタール麻酔下に背中側から卵巣を引き出し、卵管にキャピラリーを通してハイブリダイズした tracrRNA/crRNA と CAS9 タンパク質を注入した。注入直後に *in vivo*での電気穿孔法(現有)で卵管内に存在している受精卵に直接ゲノム編集を行った。その後、縫合し麻酔から覚めるまで保温した。この技術について大塚教授に直接指導を受けた結果、50%以上の割合で受精卵への遺伝子導入に成功した。これらの技術を用いて候補となっている酸化還元酵素を中心に KO マウスを作製し卵巣老化遺伝子を解明した。

(標的遺伝子欠失の確認) マウスの尻尾からゲノム DNA を抽出し、目的遺伝子の 750bp 程度を PCR で増幅し、増幅産物のサイズを確認すると共に両端からシーケンスを行い、遺伝子の欠失を確認した。

(卵巣老化遺伝子の確認) 目的遺伝子が欠失したマウスを交配させ、出産数を確認する。同時に卵巣を摘出し、HE 染色から成熟卵胞をカウントし b-gal アッセイで卵巣老化の進行をコントロールマウスと比較検討した。

4. 研究成果

GONAD 法は、妊娠 13.5 日目の同一腹仔マウスで 1 回目(66.6%)、2 回目(87.5%)で遺伝子改変マウスの作製に成功した。老齢マウスの卵巣の HE 染色による観察の結果、発育卵胞数に週齢の差に認められなかった。一方で新生黄体数は、hCG 投与後 24h で若齢と比べて老齢で有意に減少し、排卵応答の低下が確認された。主成分解析の結果、PC1 軸は週齢に関連する遺伝子が分類され PC2 軸はタイムコースに関連する遺伝子が分類された。排卵応

答低下に関連する hCG 投与直後の変動遺伝子経路は、若齢では解毒系経路、老齢ではヒスタミン分解経路が検出された。排卵刺激後の発情周期中のマウスの老化卵巣におけるメッセンジャーRNA (mRNA) 発現でのマーカー遺伝子の解析結果は周期中の若いマウスでは二次卵胞の数が大幅に減少していたが、卵胞の数は老齢マウスではほぼ同等だった。発現したすべての遺伝子のうち 141 個の遺伝子は、排卵刺激後の若いマウスの卵巣で有意に増加し、48 時間後に急速に減少した。老齢マウスでは、刺激後の一過性の遺伝子発現が若年マウスに比べて減少した。若いマウスの卵胞形成の初期段階で活性化される遺伝子セットを用いた経路解析により、酸化還元酵素経路が卵胞刺激ホルモンと黄体形成ホルモン/ヒト絨毛性ゴナドトロピンによって活性化されることが明らかになった。還元酵素の mRNA は二次卵胞期に補充された膜細胞層に局在しており、若齢マウスのレダクターゼ活性は老齢マウスよりも有意に高かった。i-GONAD 法で作製された 遺伝子改変マウスは発情周期の延長を示した。このマウスの卵巣における全トランスクリプトーム解析により、性ホルモン関連遺伝子経路の低下が実証された。これらのデータは、卵巣の老化によって起こる酸化還元経路の低下が発情周期の延長に関与していることを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 25件）

1. 著者名 Matsumura Takuro, Ohta Yasuharu, Taguchi Akihiko, Hiroshige Syunsuke, Kajimura Yasuko, Fukuda Naofumi, Yamamoto Kaoru, Nakabayashi Hiroko, Fujimoto Ruriko, Yanai Akie, Shinoda Koh, Watanabe Kenji, Mizukami Yoichi, Kanki Keita, Shiota Goshi, Tanizawa Yukio	4. 巻 534
2. 論文標題 Liver-specific dysregulation of clock-controlled output signal impairs energy metabolism in liver and muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 415 ~ 421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.066	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 Xu Wenxi, Watanabe Kenji, Mizukami Yoichi, Yamamoto Yoshinari, Suzuki Takuya	4. 巻 712
2. 論文標題 Hydrogen sulfide suppresses the proliferation of intestinal epithelial cells through cell cycle arrest	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 109044 ~ 109044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2021.109044	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 Shimizu Fumitaka, Ogawa Ryo, Mizukami Yoichi, Watanabe Kenji, Hara Kanako, Kadono Chihiro, Takahashi Toshiyuki, Misu Tatsuro, Takeshita Yukio, Sano Yasuteru, Fujisawa Miwako, Maeda Toshihiko, Nakashima Ichiro, Fujihara Kazuo, Kanda Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 GRP78 Antibodies Are Associated With Blood-Brain Barrier Breakdown in Anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disorder	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 e1038 ~ e1038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/NXI.0000000000001038	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 Harada Koji, Ferdous Tarannum, Fujiwara Rieko, Watanabe Kenji, Mizukami Yoichi, Mishima Katsuaki	4. 巻 23
2. 論文標題 An elemental diet protects mouse salivary glands from 5-fluorouracil-induced atrophy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2022.13298	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 Harada Koji, Takenawa Takanori, Ferdous Tarannum, Mizukami Yoichi, Mishima Katsuaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Elemental diet directly affects chemotherapy-induced dermatitis and raw wound areas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 209 ~ 215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2020.2050	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 Kohnno Michiaki, Kobayashi Shigeki, Yamamoto Takeshi, Yoshitomi Ryosuke, Kajii Toshiro, Fujii Shohei, Nakamura Yoshihide, Kato Takayoshi, Uchinoumi Hitoshi, Oda Tetsuro, Okuda Shinichi, Watanabe Kenji, Mizukami Yoichi, Yano Masafumi	4. 巻 3
2. 論文標題 Enhancing calmodulin binding to cardiac ryanodine receptor completely inhibits pressure-overload induced hypertrophic signaling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications 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) 10.1038/s42003-020-01443-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 Isayama Keishiro, Watanabe Kenji, Okamoto Mariko, Murata Tomoaki, Mizukami Yoichi	4. 巻 20
2. 論文標題 Standardization of an LNA-based TaqMan assay qPCR analysis for Aspiculuris tetraptera DNA in mouse faeces	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Microbiology	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/s12866-020-02053-6	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 Harada Koji, Ferdous Tarannum, Watanabe Kenji, Mizukami Yoichi, Mishima Katsuaki	4. 巻 45
2. 論文標題 Effects of an elemental diet, Elental(R), may differ between healthy oral cells and oral cancer cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 738 ~ 751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2020.7896	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 Miura Hiromi, Imafuku Jurai, Kurosaki Aki, Sato Masahiro, Ma Yongjie, Zhang Guisheng, Mizutani Akiko, Kamimura Kenya, Gurumurthy Channabasavaiah B., Liu Dexi, Ohtsuka Masato	4. 巻 24
2. 論文標題 Novel reporter mouse models useful for evaluating in vivo gene editing and for optimization of methods of delivering genome editing tools	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 325 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2021.03.003	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 Gurumurthy Channabasavaiah B., Saunders Thomas L., Ohtsuka Masato	4. 巻 35
2. 論文標題 Designing and generating a mouse model: frequently asked questions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 76 ~ 76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7555/JBR.35.20200197	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 Gurumurthy Channabasavaiah B., Quadros Rolan M., Richardson Guy P., Poluektova Larisa Y., Mansour Suzanne L., Ohtsuka Masato	4. 巻 15
2. 論文標題 Genetically modified mouse models to help fight COVID-19	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 3777 ~ 3787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-020-00403-2	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 Kobayashi Yukari, Aoshima Takuya, Ito Ryota, Shinmura Ryota, Ohtsuka Masato, Akasaka Eri, Sato Masahiro, Takabayashi Shuji	4. 巻 9
2. 論文標題 Modification of i-GONAD Suitable for Production of Genome-Edited C57BL/6 Inbred Mouse Strain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 957 ~ 957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9040957	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 Sato Masahiro, Miyagasako Rico, Takabayashi Shuji, Ohtsuka Masato, Hatada Izuho, Horii Takuro	4. 巻 9
2. 論文標題 Sequential i-GONAD: An Improved In Vivo Technique for CRISPR/Cas9-Based Genetic Manipulations in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 546 ~ 546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9030546	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 Yamauchi Akihiro, Tone Takahiro, Sugimoto Koji, Seok Lim Hong, Kaku Taiichi, Tohda Chihiro, Shindo Takayuki, Tamada Koji, Mizukami Yoichi, Hirano Eiichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Porcine placental extract facilitates memory and learning in aged mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food Science & Nutrition	6. 最初と最後の頁 2995 ~ 3005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/fsn3.1156	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 Iijima Y, Tanaka M, Suzuki S, Hauser D, Tanaka M, Okada C, Ito M, Ayukawa N, Sato Y, Ohtsuka M, Scheiffele P, Iijima T.	4. 巻 22
2. 論文標題 SAM68-Specific Splicing Is Required for Proper Selection of Alternative 3' UTR Isoforms in the Nervous System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 318 ~ 335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.11.028.	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 Gurumurthy Channabasavaiah B., O'Brien Aidan R., Quadros Rolan M., Adams John, Alcaide Pilar, Ayabe Shinya, Ballard Johnathan, Batra Surinder K., Beauchamp Marie-Claude, Becker Kathleen A., Bernas Guillaume, Ohtsuka Masato他	4. 巻 20
2. 論文標題 Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation	5. 発行年 2019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/s13059-019-1776-2	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 Gurumurthy Channabasavaiah B., Sato Masahiro, Nakamura Ayaka, Inui Masafumi, Kawano Natsuko, Islam Md Atiqul, Ogiwara Sanae, Takabayashi Shuji, Matsuyama Makoto, Nakagawa Shinichi, Miura Hiromi, Ohtsuka Masato	4. 巻 14
2. 論文標題 Creation of CRISPR-based germline-genome-engineered mice without ex vivo handling of zygotes by i-GONAD	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 2452 ~ 2482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-019-0187-x	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 Ohtsuka Masato, Sato Masahiro	4. 巻 61
2. 論文標題 i-GONAD: A method for generating genome edited animals without ex vivo handling of embryos	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 306 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12620	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 Ibi Miho, Horie Sawa, Kyakumoto Seiko, Chosa Naoyuki, Yoshida Mariko, Kamo Masaharu, Ohtsuka Masato, Ishisaki Akira	4. 巻 38
2. 論文標題 Cell-cell interactions between monocytes/macrophages and synovioyte-like cells promote inflammatory cell infiltration mediated by augmentation of MCP-1 production in temporomandibular joint	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	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) 10.1042/BSR20171217	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 Kobayashi Tomoe, Namba Masumi, Koyano Takayuki, Fukushima Masaki, Sato Masahiro, Ohtsuka Masato, Matsuyama Makoto	4. 巻 18
2. 論文標題 Successful production of genome-edited rats by the rGONAD method	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Biotechnology	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12896-018-0430-5	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 Sato Masahiro, Ohtsuka Masato, Nakamura Shingo, Sakurai Takayuki, Watanabe Satoshi, Gurumurthy Channabasavaiah B.	4. 巻 41
2. 論文標題 In vivo genome editing targeted towards the female reproductive system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Pharmacal Research	6. 最初と最後の頁 898 ~ 910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12272-018-1053-z	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 Takabayashi Shuji, Aoshima Takuya, Kabashima Katsuya, Aoto Kazushi, Ohtsuka Masato, Sato Masahiro	4. 巻 8
2. 論文標題 i-GONAD (improved genome-editing via oviductal nucleic acids delivery), a convenient in vivo tool to produce genome-edited rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-30137-x	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 Saiga Rino, Hoshino Masato, Takeuchi Akihisa, Uesugi Kentaro, Naitou Katsuko, Kamijo Akemi, Kawabe Noboru, Ohtsuka Masato, Takizawa Shunya, Mizutani Ryuta	4. 巻 -
2. 論文標題 Synchrotron radiation microtomography of brain hemisphere and spinal cord of a mouse model of multiple sclerosis revealed a correlation between capillary dilation and clinical score	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Comparative 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) 10.1002/cne.24544	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 Shingo, Ishihara Masayuki, Watanabe Satoshi, Ando Naoko, Ohtsuka Masato, Sato Masahiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Intravenous Delivery of piggyBac Transposons as a Useful Tool for Liver-Specific Gene-Switching	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19113452	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 Sakurai Takayuki, Kamiyoshi Akiko, Ohtsuka Masato, Gurumurthy Channabasavaiah B., Sato Masahiro, Shindo Takayuki	4. 巻 1874
2. 論文標題 Isolation and Analysis of a Genome-Edited Single-Hepatocyte from a Cas9 Transgenic Mouse Line	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 257-271
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8831-0_15	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 Watanabe Kenji, Yamamoto Shigeru, Sakaguti Syuiti, Isayama Keishiro, Oka Masaaki, Nagano Hiroaki, Mizukami Yoichi	4. 巻 8
2. 論文標題 A novel somatic mutation of SIN3A detected in breast cancer by whole-exome sequencing enhances cell proliferation through ER expression	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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/s41598-018-34290-1	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 Harada Koji, Ferdous Tarannum, Mizukami Yoichi, Mishima Katsuaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Elemental diet inhibits pro-inflammatory cytokine production in keratinocytes through the suppression of NF- B activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 361-368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2018.6440	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 -

〔学会発表〕 計24件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 伊賀瀬 雅也, 岩谷 直, 酒井 和紀, 渡邊 健司, 水上 洋一, 水野 拓也
2. 発表標題 犬のリンパ球における5-アミノレブリン酸のIL-17産生増強作用
3. 学会等名 第164回日本獣医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水上 洋一
2. 発表標題 山口県バーチャルラボ構想について
3. 学会等名 第1回山口県バーチャルラボ勉強会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 A. Nakatsuka, T. Esumi, Y. Mizukami, K. Watanabe, H. Itamura
2. 発表標題 Transcriptome analysis in the pulp of 'Saijo' persimmon during storage at low temperature
3. 学会等名 第9回国際かき学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤 潤、福田信治、渡邊健司、水上洋一、佐山浩二
2. 発表標題 高濃度トレハロースを用いた自家細胞由来3次元皮膚シート作製法開発
3. 学会等名 第120回日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊 健司、山本 滋、前田 訓子、坂口 修一、諫山 慧士朗、岡 正朗、永野浩昭、水上 洋一
2. 発表標題 乳癌組織で検出された転写抑制因子SIN3A変異体は核外移行しエストロゲン受容体を増加させ増殖を促進する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 諫山 慧士朗 , 渡邊 健司 , 坂口 修一 , 村田 智昭 , 水上 洋一
2. 発表標題 FJ2050加齢に伴って変化する子宮遺伝子群のトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川田泰伸、川田順子、水上洋一
2. 発表標題 活性型ビタミンDが骨格筋量に影響を与えるメカニズム
3. 学会等名 第67回日本透析医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水上 洋一 畑中千春 中川真喜子 西村愛代 渡邊 健司
2. 発表標題 ロボット分注装置を用いた新型コロナウイルスPCR検査の迅速解析方法の開発
3. 学会等名 第32回日本医学看護学教育学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村愛代 渡邊 健司 前田 訓子 山本 滋 諫山 慧士朗 永野浩昭 水上 洋一
2. 発表標題 臨床分離乳癌組織の網羅的遺伝子解析とデータベース分析への応用
3. 学会等名 第32回日本医学看護学教育学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諫山慧士朗、渡邊健司、村田智昭、水上洋一
2. 発表標題 糞便における迅速で高感度なネズミ大腸ギョウチュウ検査法の開発
3. 学会等名 第61回日本生化学会中国四国支部会2020年7月13日広島大学主催 リモート会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊健司、山本滋、前田訓子、坂口修一、岡正朗、永野浩昭、水上洋一
2. 発表標題 乳癌患者から検出したミトコンドリアDNAの体細胞変異は自然免疫受容体パスウェイを活性化する
3. 学会等名 第61回日本生化学会中国四国支部会2020年7月13日広島大学主催 リモート会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上幸江、伊豫田拓也、沖田直之、宮本崇文、水上洋一、赤木玲子
2. 発表標題 ヒト白血病細胞株HL60の分化に伴うヘムオキシゲナーゼ-1誘導変化
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊健司、山本滋、前田訓子、坂口修一、八木美佳子、康東天、岡正朗、永野浩昭、水上洋一
2. 発表標題 乳癌患者から検出したミトコンドリアDNA体細胞変異発現細胞の全転写産物解析
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大塚正人
2. 発表標題 i-GONAD: A Method for Generation of Genome Edited Animals without Ex vivo Handling of Embryos
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会、ISHR U45企画セッション（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊 健司、山本 滋、坂口 修一、岡 正朗、永野 浩昭、水上 洋一
2. 発表標題 転写抑制因子SIN3A変異体の核外移行はエストロゲン受容体発現上昇を介して乳がん細胞の増殖を促進する
3. 学会等名 第6回山口大学生命医工学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 諫山慧士朗、渡邊健司、村田智昭、大塚正人、水上洋一
2. 発表標題 加齢卵巢の低排卵応答に関連する遺伝子ネットワーク
3. 学会等名 第6回山口大学生命医工学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 諫山慧士朗、渡邊健司、坂口 修一、大塚正人、水上洋一
2. 発表標題 次世代シーケンスとGONAD法を用いた卵巢老化における排卵機能低下の原因遺伝子の解明
3. 学会等名 第60回日本生化学会中国四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊 健司、山本 滋、坂口 修一、岡 正朗、水上 洋一
2. 発表標題 乳癌患者から検出したミトコンドリアDNAの体細胞変異は乳がん細胞の増殖を促進する
3. 学会等名 第60回日本生化学会中国四国支部例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上洋一
2. 発表標題 次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の解明
3. 学会等名 第2回 山口東京理科大 病態生化学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊 健司、山本 滋、坂口 修一、岡 正朗、永野 浩昭、水上 洋一
2. 発表標題 Cancer hot spot panel を用いた乳がん組織gDNAのがん遺伝子ホットスポット領域における変異の検出
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上洋一、諫山慧士朗、渡邊 健司
2. 発表標題 糞便における迅速で精度の高いネズミ大腸ギョウチュウ検査法の開発
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上洋一、諫山慧士朗、渡邊健司、村田智昭、大塚正人
2. 発表標題 加齢に伴って低下する排卵機能に關与する遺伝子の解明-GONAD法によるゲノム編集マウスの作製-
3. 学会等名 第59回日本生化学会中四国支部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上洋一、渡邊健司、山本滋、坂口修一、岡正朗、永野浩昭
2. 発表標題 乳癌患者から検出した転写抑制因子SIN3Aの体細胞変異は核外移行によってエストロゲン受容体の発現を誘導する
3. 学会等名 第59回日本生化学会中四国支部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上洋一、渡邊健司、山本滋、坂口修一、岡正朗、永野浩昭
2. 発表標題 乳癌組織で検出された転写抑制因子SIN3A変異体は核外移行することでエストロゲン受容体を介して増殖を促進する
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 METHODS AND COMPOSITIONS FOR IN SITU GERMLINE GENOME ENGINEERING	発明者 OHTSUKA Masato 他2名	権利者 ネブラスカ大学、東海大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/US2018/047748	取得年 2018年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

山口大学遺伝子実験施設
http://gene.yamaguchi-u.ac.jp
遺伝子実験施設
http://gene.yamaguchi-u.ac.jp
遺伝子実験施設
http://gene.yamaguchi-u.ac.jp/

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	大塚 正人 (Ohtsuka Masato) (90372945)	東海大学・医学部・教授 (32644)	

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
---------	---------