薬効・安全性評価ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
畑田　出穂（群馬大学生体調節研究所・教授）

ゲノム、エピゲノム編集疾患モデル動物の作出支援-マウスモデル

補助事業分担者（所属・職名）
堀居　拓郎（群馬大学　生体調節研究所・准教授）、森田　純代（群馬大学　生体調節研究所・ 研究所講師）、小林 良祐（酪農学園大学獣医学類獣医解剖学ユニット・ 講師）

概要

【支援】
独自技術を用いて以下３つの支援を行っている。

①Flox, KI, KOマウス高速作出支援 (独自技術：Sci Rep. 2017)
②エピゲノム疾患モデルマウス支援(独自技術： Nat Biotechnol)
③KO、KIラット作出支援(独自技術： Sci. Rep. 2014)　隣のポスター参照

【高度化】より迅速かつ効率的な疾患モデル動物作製のため以下の３つの高度化を行っている。

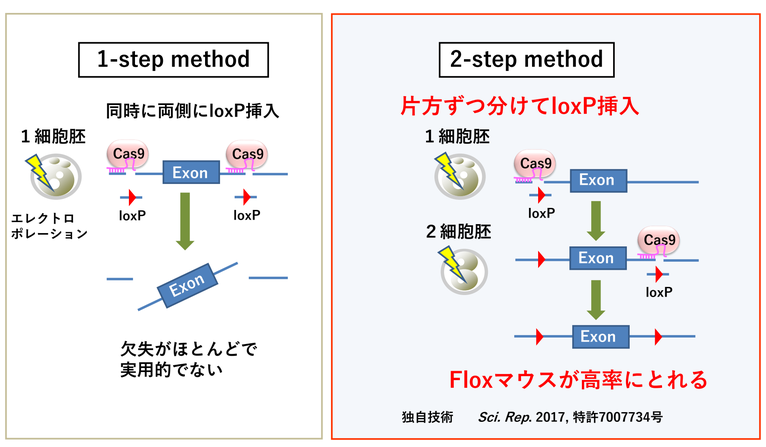
①Conditional KOマウス作出法の高効率化
②エピゲノム疾患動物の高度汎用化、
③In vivoゲノム編集による癌モデルマウス開発と創薬標的遺伝子試験

支援の内容

支援①　Flox, KI, KOマウス高速作出

独自に開発した2ステップ法では、loxPを受精卵と2細胞胚で片方ずつ挿入することでエクソン欠失を抑え、従来の1ステップ法より効率よくFloxマウスを作製できる。

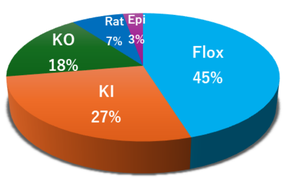
2ステップ法で効率的にFloxマウスを作製



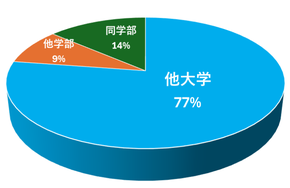
支援の成果

遺伝子改変マウス作製支援　累計１８３件

疾患モデル別分類



所属別分類

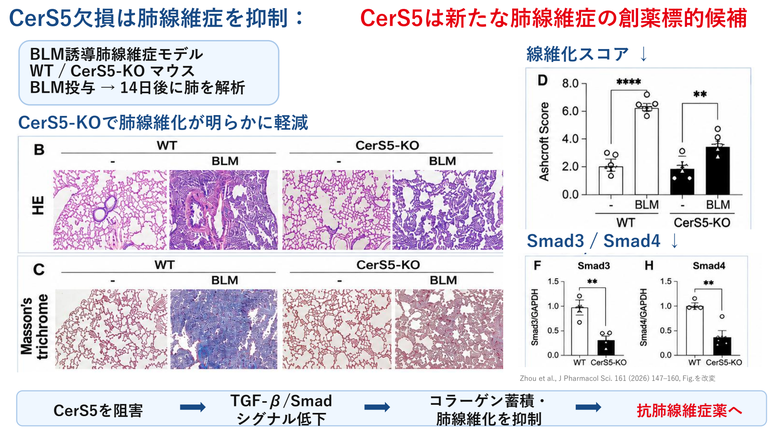


支援先
これまでの１８３件の内訳



CerS5欠損は肺線維症を抑制：CerS5は新たな抗肺線維症の創薬標的候補
（中村浩之、千葉大学大学院薬学研究院・教授）

肺線維症ではTGF-β/Smadシグナルにより線維化が進行する。CerS5抑制によりヒト肺線維芽細胞の線維化マーカーとSmadシグナルが低下し、CerS5-KOマウスでも肺線維症が軽減した。以上より、CerS5はIPFの新たな創薬標的となる可能性が示された(Zhou Y *et al*. *J Pharmacol Sci*. 2026 Aug;161(4):147-160)。



高度化における研究背景・目的

疾患の病態解明や創薬標的の検証には、遺伝子改変マウスを用いた生体での機能解析が不可欠である。しかし、Conditional KOマウスの作製には時間と労力を要し、細胞で見出された創薬標的候補を生体で迅速に検証する技術も十分ではない。また、癌や代謝疾患等ではエピゲノム異常も重要な病因となる。そこで本高度化では、①KI効率向上によるConditional KOマウス作製の高効率化、②エピゲノム編集マウスとin vivo導入技術による時空間特異的エピゲノム編集、③in vivo多重ゲノム編集による癌モデル作製と創薬標的候補の迅速な生体内検証系の確立を目指す。これらにより、疾患モデル作製から創薬標的のin vivo検証までを迅速化し、創薬研究を加速する。

高度化の成果

高度化①　Conditional KOマウス作出法の高効率化

新規53BP1阻害剤でFlox作製効率 2.8倍

Floxマウス作製のさらなる効率化を目的にKI促進因子を探索し、新規53BP1阻害剤がKI効率を向上させることを見出した。2ステップ法の受精卵および2細胞胚の両段階で同阻害剤を添加した結果、従来法と比較してFloxマウス作製効率を2.8倍に向上させることに成功した。一方、2細胞胚のみへの添加では効果は認められなかった。本改良法を今後のFloxマウス作製支援に活用する。

新規53BP1阻害剤を用いてFloxマウス作製の効率化を実証



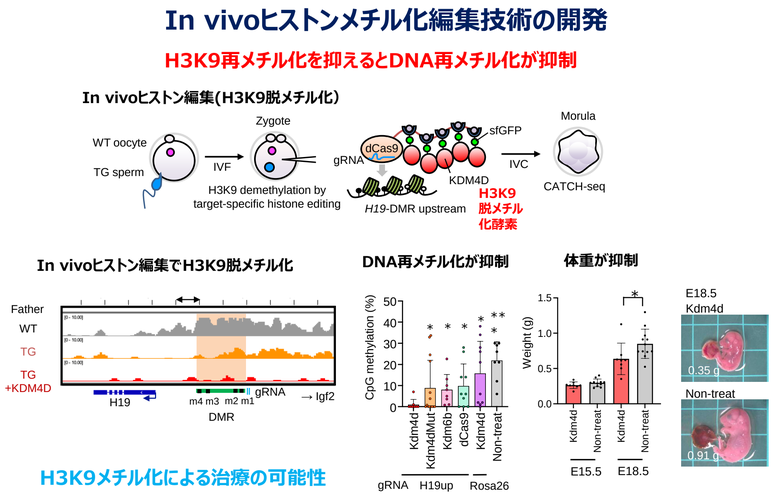
高度化②　エピゲノム疾患動物の高度汎用化

胚・生体への直接導入で時空間特異的in vivo編集を実証

LNPやin vivoエレクトロポレーションを用いて、編集因子を生体内へ直接導入し、従来の交配を介さず迅速に疾患モデルを作製する技術の開発を進めた。その発展として、受精後の特定時期にエピゲノムを直接操作するin vivoヒストン編集技術を確立した。H19-DMRを脱メチル化したSRSモデルにおいて、受精卵へdCas9-SunTag-KDM4Dを導入してH3K9me3を選択的に除去すると、その後のDNAメチル化回復が阻害され、胎児の発育遅延が増悪した。これにより、生体・胚へ編集因子を直接導入することで疾患関連分子の機能を迅速にin vivo検証できる基盤技術を確立した (Horii T *et al. Nat Commun*. 2025 Dec 25;16(1):11200)。

In vivoヒストンメチル化編集技術の開発

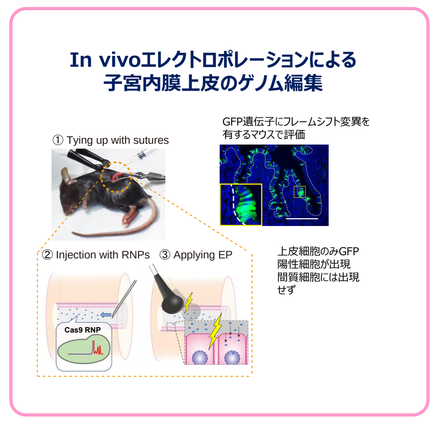
H3K9再メチル化を抑えるとDNA再メチル化が抑制

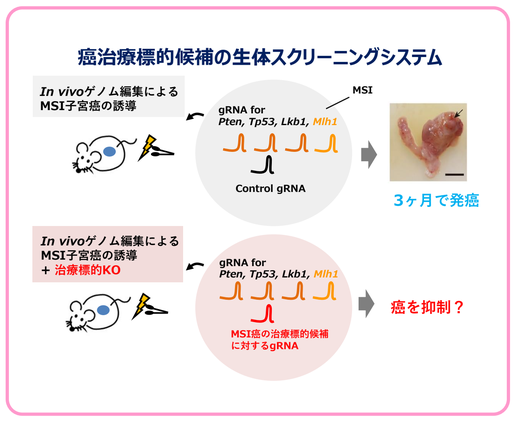


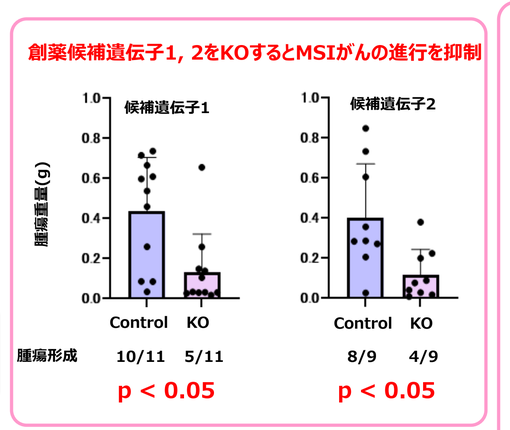
高度化③ In vivoゲノム編集による癌モデルマウスと創薬標的遺伝子試験

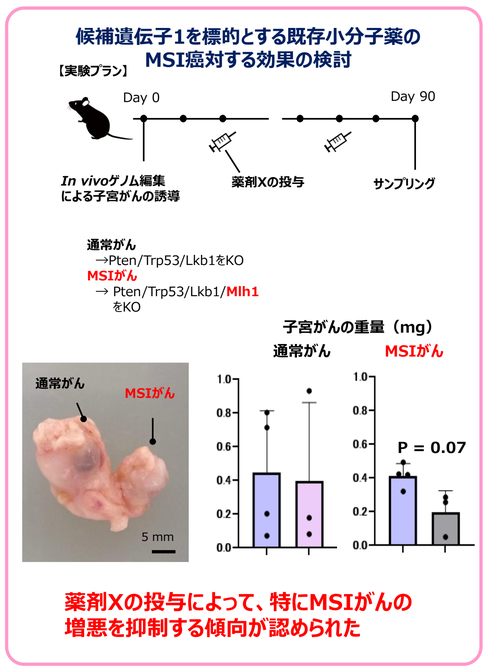
候補遺伝子KOでMSI癌形成を抑制、薬剤でも抑制傾向

CRISPR/Cas9による多重KOで、約3か月で子宮体癌を誘導する迅速癌モデルを確立した。本系を創薬標的候補のin vivo検証に応用し、Myc KOで妥当性を確認した。さらに、MSI癌で高依存性が予測された2候補遺伝子のKOにより腫瘍形成が大幅に抑制され、候補遺伝子1を標的とする既存薬もMSI癌を抑制する傾向を示した（P=0.07）。本系により、創薬標的検証から薬剤評価までを迅速化できる。









今後の発展

高効率Flox作製 → in vivoゲノム・エピゲノム編集 → 多重編集癌モデルによる創薬候補試験
疾患モデル作製 → 創薬標的のin vivo検証 → 薬効評価

本発表に関して、開示すべき利益相反（COI）はありません。