

2023 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	宝田剛志
研究機関名	岡山大学
所属部署名	学術研究院医歯薬学域 医学系
役職名	教授
研究課題名	四肢ヒト化マウスの開発によるがん研究のイノベーション
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

**研究成果の概要**

本研究では、「ヒト多能性幹細胞による生体医工学」×「がん研究（肉腫）」×「生殖工学（胚盤胞補完法）」といった、別々の分野の取り組みを融合させ、四肢ヒト化マウスを作製し、同所性のヒト肉腫モデルを構築することを目的としている。本目的を達成するためには、まず、肉腫の起源となるヒト肢芽間葉系細胞およびその分化系譜上の細胞に、人為的摂動（Perturbation、融合遺伝子の導入、がん抑制遺伝子の抑制など）を加えることで、ヒト発がん過程（＝肉腫化）を再現することが必要である。このことで、どのような起源細胞がどのような遺伝子異常が加わることで悪性化するのかを理解でき、その悪性過程を分子レベルで紐解くことができる。この点において本年度は、肉腫の起源となるヒト肢芽間葉系細胞を利用したヒト肉腫のバイオエンジニアリングを実施した。ヒト iPS 細胞株に、PiggyBac Transposon システムを利用した薬剤（ドキシサイクリン）誘導性がん遺伝子発現システムを構築した。これらの遺伝子改変ヒト iPS 細胞株より肢芽間葉系細胞に誘導し、拡大培養させ、研究用細胞ストックを作製することに成功した。また、同ストックから各種間葉系細胞（骨芽細胞、軟骨細胞、腱靭帯細胞、線維芽細胞など）へと誘導し、分化前/中途/後など各ステップにおいて、ドキシサイクリンの添加などの人為的な摂動を加えたところ、特定の条件にて肉腫化を in vitro で再現することに成功した。また、四肢ヒト化マウスを作製するにあたり、四肢間葉系系譜が欠損するマウスを作出し、当該マウスの体外受精（IVF）により胚盤胞を得る必要がある。本年度は、候補遺伝子を抽出し、これらの遺伝子を CRISPR/Cas9 にて受精卵期に欠損させ、in vitro にて胚盤胞まで成長させる実験系を構築することに成功した。