

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 インキュベートタイプ (LEAP)
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,
Leading Advanced Projects for medical innovation, LEAP

研究開発課題名： (日本語) 発生原理に基づく機能的立体臓器再生技術の開発
(英語) Generation of Functional Organs using Developmental Niche

研究開発担当者 (日本語) 東京大学医科学研究所 教授 中内啓光

所属 役職 氏名： (英語) The Institute of Medical Science, Professor, Hiromitsu Nakauchi.

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究： (日本語) 発生・分化・初期化機構の解明と制御による臓器再生に向けた研究開発
開発課題名： (英語) Interspecies organogenesis for generation of functional organs.

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医科学研究所 教授 中内啓光

所属 役職 氏名： (英語) The Institute of Medical Science, Professor, Hiromitsu Nakauchi.

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

本プロジェクトの目指すところは、ヒト臓器の作製を、大動物を利用することによって実現することであり、これが現実すれば、人類の健康福祉に多大な貢献をするとともに、新産業の創出に繋がる。本プロジェクトでは、臓器形成の時間的、空間的動作原理に基づき、遺伝子工学的手法で大動物体内に作りだした発生ニッチを利用してヒト臓器を作出することを最終的な目的とし、これを実現するための技術的成立性を証明・提示することを目指すと同時に、研究成果の事業化に向けた活動も並行して実施してゆく。本プロジェクトは東京大学医科学研究所を中核機関とし、明治大学農学部、生理学研究所、JA 全農飼料畜産中央研究所の4機関の連携のもと行われている。

1. 東京大学医科学研究所(研究代表者 中内啓光)グループの成果

本グループでは主にマウスおよび、ラットを用い、多能性幹細胞からの臓器作製を実現するための実証実験、課題の洗い出し、およびそれを克服するための新規技術開発を担当している。本年度は、非げっ歯類キメラ（ウサギーウサギ、チンパンジーマウス）の作製を試み、いずれも胎生期であるがキメラ動物の作製に成功した。また、異種キメラが成立する条件の解析において、異種キメラ成立を阻む障壁の存在が明らかになり、これらを解決することで、さらに効率の良い非げっ歯類キメラの作製および臓器作製の実現が期待できる。

2. 明治大学農学部(長嶋比呂志)グループの成果

本グループでは、ブタを用いて、胚盤胞補完による異種臓器作成を実現することを目的とする。また胚盤胞補完を介さないアプローチとして、臓器欠損ブタ胎仔への多能性幹細胞や前駆細胞の注入による臓器形成、疾患モデルブタの開発等にも取り組んでいる。本年度は、(1) Platinum-TALEN および CRISPR/cas9 mRNA の受精卵細胞質注入によるブタの SALL1 遺伝子ノックアウト(KO)を行い、腎臓欠損の表現型を持つ胎仔の作出およびヘテロ SALL1-KO 産仔の作出と育成に成功した。(2) ブタの FLK1 遺伝子 KO による血管不形成、HEX 遺伝子 KO による肝臓欠損の表現型を確認し、その後クローン胚を用いた胚盤胞補完により表現型を正常化し得ることを示した。(3) bc12 遺伝子を発現するチンパンジーiPS 細胞が、ブタ胚への注入後に初期胎仔期(胎齢 18 日)まで生存し得ることを確認した。(4) Pdx1-Hes1 遺伝子を発現する膵臓形成不全ブタ産仔の人工飼育に成功した。(5) マルフアン症候群モデルブタの系統化に成功し、家系内での病態発現動態を追跡した他、DMD-KO ブタ(デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデル)、OTC-KO ブタ(先天性代謝異常症モデル)、IL2RG-KO ブタ(SCID)などの X 連鎖疾患モデルの変異キャリア雌を獲得し、系統化が進んだ。(6) ヘテロ IL2RG-KO 雌を妊娠末期に帝王切開し、新生仔を SPF 環境下で人工乳により飼育することに成功した。(7) ROSA26、GalT、CMHA 遺伝子などを標的に、CRISPR/cas9 によるブタ細胞への遺伝子ノックインに成功した。

3. 生理学研究所(平林真澄)グループの成果

本グループでは、胚盤胞補完法を利用して臓器欠損モデル体内で同種・異種の臓器を再生させ、移植した再生臓器の生理的機能を検証する。加えて、半数体 ES 細胞を用いた変異 DNA ライブラリーの作製も行い、ラット病態モデルコンソーシアムを整備する。本年度は、血管欠損になると考えられる Flk1 遺伝子ヘテロ変異ラットを作製し、系統化することに成功した。異種胚盤胞補完においては、胸腺欠損ラット内で再生されたマウス胸腺に存在する上皮細胞がラットの幼若リンパ球に対して免疫教育能を有する可能性を示唆した。また腎臓欠損ラットの体内に、マウス ES 細胞に由来する緑色蛍光が一様に分布する腎臓ができることも明らかにした。

4. JA 全農飼料畜産中央研究所(普川一雄)グループの成果

本研究グループでは、主にヒトの造血系を有するヒト化モデルブタの開発を目的とする。具体的には、経子宮移植技術と遺伝子組換えブタ作出技術を組み合わせることによって、最終目的である造血系ヒト化モデルブタの作出を試みる。本年度はブタの造血系欠損誘導を行なう遺伝子組換えブタ細胞株を新たに2種類樹立し、体細胞核移植によりプロトタイプの造血系欠損モデルブタの作出と脾臓や生時体重の低下について確認した。また、プロトタイプのブタ胎仔を作出し、該遺伝子組換えブタ胎仔由来細胞株を得た。さらに、経子宮移植によるヒト造血系補完の基礎試験として、通常のブタ胎仔を用いてヒト CD34 陽性前駆細胞の子宮内胎仔移植を6腹分行ない、ブタ胎仔への移植部位とヒト造血細胞の血液キメリズムの検出系の検討を実施した。

The ultimate goal of this project is to generate human organs in large animals. Successful completion of this project will directly contribute to the health and welfare of mankind, besides creating avenues for commercial ventures. Using the temporal and spatial principals of organ development, we envision to demonstrate a proof of concept study for generation of human organs in large animals. We will also shows the feasibility of this technology towards commercialization. This project is performed in collaboration with four institutions, Institute of Medical Science, The University of Tokyo (as core institution), Meiji University's Faculty of Agriculture, National Institute for Physiological Science, and JA ZEN-NOH, Central Research Institute for Feed and Livestock.

1. Progress of Institute of Medical Science, The University of Tokyo (Project Leader: Hiromitsu Nakauchi)

We were responsible to materialize the generation of organs from pluripotent stem cells and streamline the technical difficulties incurred during this process. We will also develop new technologies to overcome these problems, primarily using rodent models. In this fiscal year, we have successfully generated non-rodent early stage embryonic chimeras between rabbit – rabbit and chimpanzee - mouse. Moreover, we identified specific interspecies barriers that hinder chimera generation. We strongly believe that by overcoming these barriers, we can significantly improve the generation of non-rodent interspecies chimeras and interspecies organogenesis.

2. Progress of Meiji University Faculty of Agriculture (Hiroshi Nagashima)

The purpose of this group is to realize the production of heterologous organs by blastocyst complementation in pigs. In this fiscal year, they succeeded in knocking-out several genes relating to organ/tissue generation by genome editing. As an alternate approach to blastocysts complementation, they are also working on organ generation by conceptus complementation using surgical injection of pluripotent or progenitor stem cells into organogenesis deficient swine fetuses. In the trial of generating interspecific chimerism, chimpanzee iPS cells were shown to survive after blastocyst injection in porcine early fetuses. In the development of disease model pigs, a line of Marfan syndrome model was established. Artificial reproduction of disease models including muscular dystrophy, congenital metabolic disorder, and SCID was achieved.

3. Progress of National Institute for Physiological Science (Masumi Hirabayashi)

Dr Hirabayashi's group used blastocyst complementation method to generate allogeneic and xenogenetic organs in the organ-deficient rat models. Post transplantation of these organs, they will perform long-term studies to examine their physiological function. Furthermore, they are generating DNA libraries from haploid embryonic stem (ES) cells, to develop a consortium for disease modeling using rats. In this fiscal year, they successfully obtained vessel deficient rats by knocking-out Flk1 gene. They also generated xenogenetic mouse thymus and kidneys in Foxn1-knocked-out (KO) rats and Sall1-KO rats, respectively. Interestingly, xenogenetic chimeric rats carrying mouse thymus had a certain T-cell population in their peripheral lymphocytes.

4. Progress of JA ZEN-NOH, Central Research Institute for Feed and Livestock (Kazuo Fukawa)

The purpose of this research group is to develop a humanized model pig having human hematopoietic system. Specifically, they are attempting to create above humanized pig model by combining in utero transplantation technique and recombinant DNA technologies. In this fiscal year, we firstly obtained two new genetically modified pig somatic cells for inducing deficiency of pig hematopoietic system using both gene editing and gene targeting techniques. Secondly, we generated prototype neonatal piglets for hematopoietic deficient model by somatic cell nuclear transfer, and we confirmed that their body weights and spleen sizes were smaller than normal neonatal piglets. We also produced prototype pig fetuses and isolated porcine fetal fibroblasts from them. Moreover, as the basic trial to complement human hematopoietic system in the pig body by in utero human hematopoietic stem cell transplantation, we examined the transplantation site on pig fetus and the detection method of human blood chimerism in pig blood through 6 times in utero human CD34 positive progenitor cell transplantation experiments using wildtype pig fetus.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 3件、国際誌 13件)

1. Yamaguchi, T., Sato, H., Kato-Itoh, M., Goto, T., Hara, H., Sanbo, M., Mizuno, N., Kobayashi, T., Yanagida, A., Umino, A., Ota, Y., Hamanaka, S., Masaki, H., Rashid, S. T., Hirabayashi, M. and Nakauchi, H. Interspecies organogenesis generates autologous functional islets. *Nature*. (2017). 542:191-196.
2. Tajima, Y., Ito, K., Umino, A., Wilkinson, A. C., Nakauchi, H. and Yamazaki, S. Continuous cell supply from Krt7-expressing hematopoietic stem cells during native hematopoiesis revealed by targeted in vivo gene transfer method. *Sci Rep*. (2017).7:40684.
3. Yanagida, A., Nakauchi, H. and Kamiya, A. Generation and In Vitro Expansion of Hepatic Progenitor Cells from Human iPS Cells. *Methods Mol Biol*. (2016). 1357:295-310.
4. Yanagida, A., Mizuno, N., Yamazaki, Y., Kato-Itoh, M., Umino, A., Sato, H., Ito, K., Yamaguchi, T., Nakauchi, H. and Kamiya, A. Investigation of bipotent differentiation of hepatoblasts using inducible diphtheria toxin receptor-transgenic mice. *Hepatol Res*. (2016).46:816-28.
5. Wu, J., Greely, H. T., Jaenisch, R., Nakauchi, H., Rossant, J. and Belmonte, J. C. Stem cells and interspecies chimaeras. *Nature*. (2016).540:51-59.
6. Tarusawa, E., Sanbo, M., Okayama, A., Miyashita, T., Kitsukawa, T., Hirayama, T., Hirabayashi, T., Hasegawa, S., Kaneko, R., Toyoda, S., Kobayashi, T., Kato-Itoh, M., Nakauchi, H., Hirabayashi, M., Yagi, T. and Yoshimura, Y. Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. *BMC Biol*. (2016). 14:103.
7. Otani, S., Kakinuma, S., Kamiya, A., Goto, F., Kaneko, S., Miyoshi, M., Tsunoda, T., Asano, Y., Kawai-Kitahata, F., Nitta, S., Nakata, T., Okamoto, R., Itsui, Y., Nakagawa, M., Azuma, S., Asahina, Y., Yamaguchi, T., Koshikawa, N., Seiki, M., Nakauchi, H. and Watanabe, M. Matrix metalloproteinase-14 mediates formation of bile ducts and hepatic maturation of fetal hepatic progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. (2016). 469:1062-8.
8. Masaki, H., Kato-Itoh, M., Takahashi, Y., Umino, A., Sato, H., Ito, K., Yanagida, A., Nishimura, T., Yamaguchi, T., Hirabayashi, M., Era, T., Loh, K. M., Wu, S. M., Weissman, I. L. and Nakauchi, H. Inhibition of Apoptosis Overcomes Stage-Related Compatibility Barriers to Chimera Formation in Mouse Embryos. *Cell Stem Cell*. (2016). 19:587-592.
9. Kaneko, S., Kakinuma, S., Asahina, Y., Kamiya, A., Miyoshi, M., Tsunoda, T., Nitta, S., Asano, Y., Nagata, H., Otani, S., Kawai-Kitahata, F., Murakawa, M., Itsui, Y., Nakagawa, M., Azuma, S., Nakauchi, H., Nishitsuji, H., Ujino, S., Shimotohno, K., Iwamoto, M., Watashi, K., Wakita, T. and Watanabe, M. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatic cell lines as a new model for host interaction with hepatitis B virus. *Sci Rep*. (2016). 6:29358.
10. Hayama, T., Yamaguchi, T., Kato-Itoh, M., Ishii, Y., Mizuno, N., Umino, A., Sato, H., Sanbo, M., Hamanaka, S., Masaki, H., Hirabayashi, M. and Nakauchi, H. Practical selection methods for rat and mouse round spermatids without DNA staining by flow cytometric cell sorting. *Mol Reprod Dev*. (2016). 83:488-96.

11. Hara, H., Goto, T., Takizawa, A., Sanbo, M., Jacob, H. J., Kobayashi, T., Nakauchi, H., Hochi, S. and Hirabayashi, M. Rat Blastocysts from Nuclear Injection and Time-Lagged Enucleation and Their Commitment to Embryonic Stem Cells. *Cell Reprogram.* (2016). 18:108-15.
12. Goto, T., Hara, H., Nakauchi, H., Hochi, S. and Hirabayashi, M. Hypomorphic phenotype of Foxn1 gene-modified rats by CRISPR/Cas9 system. *Transgenic Res.* (2016). 25:533-44.
13. Durruthy-Durruthy, J., Wossidlo, M., Pai, S., Takahashi, Y., Kang, G., Omberg, L., Chen, B., Nakauchi, H., Reijo Pera, R. and Sebastiano, V. Spatiotemporal Reconstruction of the Human Blastocyst by Single-Cell Gene-Expression Analysis Informs Induction of Naive Pluripotency. *Dev Cell.* (2016). 38:100-15.
14. 山口智之. バイオ医薬品と再生医療 将来展望. バイオ医薬品と再生医療. 2016, 263-267.
15. 入口翔一、山口智之. 閉鎖系高速細胞解析分離. 細胞の特性計測・操作と応用. 2016, 203-213.
16. 山口智之、佐藤秀征、中内啓光. 異種の動物の体内において自己の多能性幹細胞に由来する機能的な膵島が作製された. ライフサイエンス新着論文レビュー. 2017, DOI: 10.7875/first.author.2017.018

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 幹細胞ニッチ：細胞から臓器へ, 口頭, 中内啓光, 東京免疫フォーラム, 2017/3/23, 国内.
2. 異種動物内で作出した iPS 細胞由来膵島の移植による根治的糖尿病治療, 口頭, 中内啓光, 第16回日本再生医療学会総会, 2017/3/8, 国内.
3. Inter-species Organogenesis: Generation of Mouse Islets in Rats for Long-term, Immunosuppression-free Glycemic Control in Diabetic Mice, 口頭, 中内啓光, Keystone Symposia, 2017/1/12, 国外.
4. From Stem Cells to Organs: Exploiting the organ niche for interspecies organogenesis, 口頭, 中内啓光, Erasmus MC workshop, 2016/11/23, 国外.
5. Stem Cell Niche for Cells and Organs, 口頭, 中内啓光, BMS Seminar Series UCSF, 2016/11/9, 国外.
6. From Stem Cells to Organs: Exploiting the organ niche for interspecies organogenesis, 口頭, 中内啓光, 26th Annual Beckman Symposium on Stem Cells and Regenerative Medicine, 2016/11/4, 国外.
7. Use of iPSC technology for personalized medicine, 口頭, 中内啓光, EMBL-Stanford Conference: Personalized Health, 2016/11/2, 国外.
8. Stem Cell niche--from cells to organs, 口頭, 中内啓光, 7th Annual Stem Cell Biology and Regenerative Medicine Retreat, 2016/9/27, 国外.
9. ヒトの臓器を動物で作る：国境を跨いだ挑戦, 口頭, 中内啓光, 2016/7/24, 国内.
10. Organs niche for Generation of Functional Organs from iPS Cells, 口頭, 中内啓光, Chinese American Biopharmaceutical Society (CABS) Organ Transplantation Workshop, 2016/6/18, 国外.
11. From Stem Cells to Organs: Exploiting the organ niche for interspecific organogenesis, 口頭, 中内啓光, “Advances in Organogenesis and Tissue Engineering Symposia” at John Hopkins University, 2016/5/25, 国外.

12. Stem Cell Niche – From Cells to Organs, 口頭, 中内啓光, University of Southern California, 2016/5/17, 国外.
13. Stem cell niche from cells and organs, 口頭, 中内啓光, Stower's Li Lab, 2016/5/4, 国外.
14. Interspecific Blastocyst Complementation: Can Patient-specific Islets of Langerhans be Generated in Pigs?, 口頭, 中内啓光, Keystone Symposium, 2016/3/14, 国外.
15. 異種動物体内での膵臓再生～次世代再生医療に向けて～, 口頭, 山口智之, 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2016/5/21, 国内.
16. A unique system to assess the in vivo lineage potentials of developmentally-advanced cells by blastocyst injection, 口頭, 正木英樹, International Society for Stem Cell Research 2016 annual meeting, 2016/6/23, 国外.
17. Apoptosis-resistant primed pluripotent stem cells can contribute to chimera formation upon injection into pre-implantation embryo, 口頭, 正木英樹, British Society for Developmental Biology 2016 Autumn meeting, 2016/8/29, 国外.
18. Inhibition of apoptosis overcomes stage-related compatibility barriers to chimera formation, 口頭, 正木英樹, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内.
19. 異種環境内における多能性幹細胞の発生限界, 口頭, 山口智之, 第 16 回日本再生医療学会総会, 2017/3/9, 国内.
20. 異種動物体内での膵臓再生と膵島移植, 口頭, 山口智之, 第 44 回膵・膵島移植研究会, 2017/3/11, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 仙台第二高等学校 研究室訪問 研究紹介, 正木英樹, 2016/8/3, 国内.
2. 東京都立多摩科学技術高等学校 研究室訪問 研究紹介, 正木英樹, 2017/3/17, 国内.
3. 日本 IDDM ネットワーク 研究室訪問 研究紹介, 山口智之, 2017/2/8, 国内.
4. 秋田県立由利中学校 講演, 正木英樹, 2017/10/23, 国内.
5. 講演, 中内啓光, AMED 革新的先端研究開発支援事業 LEAP 協賛シンポジウム 「iPS 細胞と未来の医療～細胞から臓器へ～」, 2017/3/6, 国内.
6. 中内啓光 「科学技術・学術審議会 生命倫理・安全部会 特定胚等研究専門委員会 (95 回)」において、有識者として研究の最新状況を解説、2016/10/26, 国内 (文部科学省)

(4) 特許出願

非公開希望

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 インキュベートタイプ (LEAP)
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation, Leading Advanced Projects for medical innovation, LEAP

研究開発課題名： (日本語) 発生原理に基づく機能的立体臓器再生技術の開発
(英語) Generation of Functional Organs using Developmental Niche

研究開発担当者 (日本語) 全国農業協同組合連合会 飼料畜産中央研究所 上士幌種豚育種研究室
室長 普川一雄

所属 役職 氏名： (英語) Pig Breeding Laboratory, Central Research Institute for Feed and Livestock, ZEN-NOH (National Federation of Agricultural Cooperative Associations), Manager, Kazuo Fukawa

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 異種造血系補完ブタの開発
開発課題名： (英語) Development for interspecies chimeric pig in hematopoiesis

研究開発分担者 (日本語) 全国農業協同組合連合会 飼料畜産中央研究所 上士幌種豚育種研究室
室長 普川一雄

所属 役職 氏名： (英語) Pig Breeding Laboratory, Central Research Institute for Feed and Livestock, ZEN-NOH (National Federation of Agricultural Cooperative Associations), Manager, Kazuo Fukawa

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東京大学医科学研究所・幹細胞治療研究センター・中内啓光 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
- (4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業インキュベートタイプ (LEAP)
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,
Leading Advanced Projects for medical innovation, LEAP

研究開発課題名： (日本語) 発生原理に基づく機能的立体臓器再生技術の開発
(英語) Generation of Functional Organs using Developmental Niche

研究開発担当者 (日本語) 長嶋比呂志 農学部 教授
所属 役職 氏名： (英語) Hiroshi Nagashima Professor, School of Agriculture

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 大型動物モデル開発
開発課題名： (英語) Development of the large animal models

研究開発分担者 (日本語) 長嶋比呂志 農学部 教授
所属 役職 氏名： (英語) Hiroshi Nagashima Professor, School of Agriculture

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東京大学医科学研究所・幹細胞治療研究センター・中内啓光 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 5 件、著書（分担）1 件）

1. Umeyama K, Watanabe K, Watanabe M, Horiuchi K, Nakano K, Kitashiro M, Matsunari H, Kimura T, Arima Y, Sampetean O, Nagaya M, Saito M, Saya H, Kosaki K, Nagashima H, Matsumoto M. Generation of heterozygous fibrillin-1 mutant cloned pigs from genome-edited foetal fibroblasts. *Scientific Reports*. 2016, 6:24413.
2. Uchikura A, Matsunari H, Nakano K, Hatae S, Nagashima H. Application of hollow fiber vitrification for cryopreservation of bovine early cleavage stage embryos and porcine morula-blastomeres. *Journal of Reproduction and Development*, 62(2):219-223, 2016.
3. Nagaya M, Matsunari H, Kanai T, Maehara M, Nakano K, Umeki I, Katsumata Y, Kasai Y, Sakai R, Kobayashi M, Honda K, Abe N, Watanabe M, Umeyama K, Nagashima H. An effective new cryopreservation procedure for pancreatic islets using hollow fiber vitrification. *Hormone and Metabolic Research*. 2016, 48(8):540-549.
4. Nagaya M, Watanabe M, Kobayashi M, Nakano K, Arai Y, Asano Y, Takeishi T, Umeki I, Fukuda T, Yashima S, Takayanagi S, Watanabe N, Onodera M, Matsunari H, Umeyama K, Nagashima H. A transgenic-cloned pig model expressing non-fluorescent modified plum. *Journal of Reproduction and Development*. 2016, 62(5):511-520.
5. Umeyama K, Nakajima M, Yokoo T, Nagaya M, Nagashima H. Diabetic phenotype of transgenic pigs introduced by dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1 α . *Journal of Diabetes and its Complications*, 2017, 31:796-803.
6. 松成ひとみ, 長嶋比呂志. 動物体内でヒト臓器をつくる. *医学のあゆみ*. 2016, 257(11):1146-1150.
7. 渡邊将人, 長嶋比呂志. ブタでのゲノム編集. *実験医学増刊*. 2016, 34(20):175-179.
8. Kobayashi E, Enosawa S, Nagashima H. Experimental hepatocyte transplantation in pigs. *Methods in Molecular Biology*. 2017, 1506:149-160.

- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 人工組織のガラス化保存の現状と今後の可能性, 招待講演, 長嶋比呂志, 前原美樹, 勝俣佑紀, 内倉鮎子, 松村和明, 佐藤正人, 松成ひとみ, 第55回日本生体医工学会大会, 26-28 Apr 2016, 富山, 国内.

2. ゲノム編集ブタにおけるヘテロ変異fibrillin-1遺伝子の後代への伝達と発現, ポスター, 梅山一大, 渡辺航太, 渡邊将人, 堀内圭輔, 中野和明, 北城雅照, 松成ひとみ, 長屋昌樹, 松本守雄, 長嶋比呂志, 第63回日本実験動物学会総会, 18-20 May 2016, 川崎, 国内.
3. ホモ変異型fibrillin-1遺伝子を有するブタの表現型, ポスター, 梅山一大, 新井良和, 中野和明, 内倉鮎子, 渡邊将人, 松成ひとみ, 齋藤正寛, 佐谷秀行, 松本守雄, 長屋昌樹, 大鐘潤, 長嶋比呂志, 第48回日本結合組織学会学術大会, 24-25 Jun 2016, 長崎, 国内.
4. Combining breeding and advanced reproduction techniques for regenerative medicine, 招待講演, Nagashima H, Plant and Animal Genome Asia 2016, 6-8 Jun 2016, Singapore, Singapore, 海外.
5. 動物のゲノム編集とその医学応用, 招待講演, 長嶋比呂志, 日本ビタミン学会第68回大会, 17-18 Jun 2016, 富山, 国内.
6. Growing human organs in pigs - a dream or reality?, 招待講演, Nagashima H, Matsunari H, 18th International Congress of Animal Reproduction, 26-30 Jun 2016, Tours, France, 海外.
7. Pig model of rare monogenic diseases, 招待講演, Nagashima H, 18th International Congress of Animal Reproduction, SALAAM-Workshop, 28 Jun 2016, Tours, France, 海外.
8. Genotyping and cryopreservation of in vitro produced porcine embryos, 口頭, Uchikura A, Umeki I, Umeyama K, Watanabe M, Nakano K, Matsunari H, Hatae S, Asano Y, Nagashima H, 18th International Congress on Animal Reproduction, 26-30 Jun 2016, Tours, France, 海外.
9. Genetically modified pigs with ornithine transcarbamylase deficiency produced by genome editing and somatic cell cloning, 口頭, Matsunari H, Watanabe M, Fukuda T, Yashima S, Takeishi T, Asano Y, Hatae S, Uchikura A, Nakano K, Umeyama K, Nagaya M, Enosawa S, Umezawa A, Nagashima H, 18th International Congress on Animal Reproduction, 26-30 Jun 2016, Tours, France, 海外.
10. ブタ卵へのPlatinum TALEN RNA 注入によるSALL1遺伝子ノックアウト, ポスター, 中野和明, 渡邊将人, 八島紗耶香, 内倉鮎子, 高柳就子, 松成ひとみ, 梅山一大, 長屋昌樹, 佐久間哲史, 山本卓, 長嶋比呂志, 日本ゲノム編集学会第1回大会, 7-8 Sep 2016, 広島, 国内.
11. ブタにおけるゲノム編集技術を用いた遺伝子ノックアウト, ポスター, 渡邊将人, 松成ひとみ, 中野和明, 梅山一大, 高柳就子, 長屋昌樹, 宮川周士, 花園豊, 中内啓光, 長嶋比呂志, 日本ゲノム編集学会第1回大会, 7-8 Sep 2016, 広島, 国内.
12. 非蛍光化Plum蛋白を発現する遺伝子導入クローンブタの作出, ポスター, 渡邊将人, 長屋昌樹, 小林美里奈, 中野和明, 新井良和, 浅野吉則, 武石透輝, 梅木育磨, 福田暢, 八島紗耶香, 高柳就子, 渡辺信之, 小野寺雅史, 松成ひとみ, 梅山一大, 長嶋比呂志, 第109回日本繁殖生物学会, 12-15 Sep 2016, 神奈川, 国内.
13. Generation of human organs in pigs, 招待講演, Nagashima H, Matsunari H, 4th German Stem Cell Network Conference, 12-14 Sep 2016, Hannover, Germany, 海外.
14. FBN1遺伝子変異を有するマルファン症候群モデルブタ由来の脱分化脂肪細胞株 (DFAT) 樹立と特性解析, 口頭, 酒井成貴, 信末博行, 有馬好美, 梅山一大, 長嶋比呂志, 佐谷秀行, 貴志和生, 第25回日本形成外科学会基礎学術集会, 15-16 Sep 2016, 大阪, 国内.

15. Platinum TALENによるブタSALL1遺伝子ノックアウト, ポスター, 中野和明, 渡邊将人, 八島紗耶香, 内倉鮎子, 高柳就子, 松成ひとみ, 梅山一大, 長屋昌樹, 佐久間哲史, 山本卓, 長嶋比呂志, 第4回日本先進医工学ブタ研究会, 7-8 Oct 2016, 三島, 国内.
16. 疾患モデルブタ・ミニブタ開発の現状と展望, 招待講演, 長嶋比呂志, 第4回日本先進医工学ブタ研究会, 7-8 Oct 2016, 三島, 国内.
17. 変異型fibrillin-1遺伝子を有するブタの上行大動脈の病理解析, ポスター, 梅山一大, 新井良和, 中野和明, 内倉鮎子, 渡邊将人, 松成ひとみ, 齋藤正寛, 木村徳宏, 渡邊航太, 堀内圭輔, 北城雅照, 有馬好美, サンペトラオルテア, 小崎健次郎, 佐谷秀行, 松本守雄, 長屋昌樹, 大鐘潤, 長嶋比呂志, 第57回日本脈管学会総会, 13-15 Oct 2016, 奈良, 国内.
18. OTC遺伝子ヘテロ変異雌ブタの雄産仔におけるOTCD発症, ポスター, 松成ひとみ, 渡邊将人, 福田暢, 八島紗耶香, 内倉鮎子, 中野和明, 梅山一大, 絵野沢伸, 梅澤明宏, 長嶋比呂志, 第58回日本先天代謝異常学会, 27-29 Oct 2016, 東京, 国内.
19. ROSA26-targeted knock-in using CRISPR/Cas9 system in pigs, ポスター, Watanabe M, Sakai R, Umeyama K, Takayanagi S, Nakano K, Matsunari H, Ikawa M, Miyagawa S, Nagashima H, The 29th Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology, 9-12 Nov 2016, Kobe, 国内.
20. クローン動物と遺伝子改変, 招待講演, 長嶋比呂志, 染色体学会第67回年会(市民講座), 3 Nov 2016, 東京, 国内.
21. X染色体欠失(XO)変異体ブタの特徴, ポスター, 松成ひとみ, 松本莉奈, 福田暢, 八島紗耶香, 内倉鮎子, 中野和明, 高柳就子, 渡邊将人, 梅山一大, 長嶋比呂志, 第50回日本小児内分泌学会学術集会, 16-17 Nov 2016, 東京, 国内.
22. SALL1遺伝子ノックアウトブタの腎形成不全と胚盤胞補完, ポスター, 松成ひとみ, 渡邊将人, 中野和明, 内倉鮎子, 八島紗耶香, 梅山一大, 長屋昌樹, 西中村隆一, 中内啓光, 長嶋比呂志, 第16回日本再生医療学会総会, 7-9 Mar 2017, 仙台, 国内.
23. Duchenne型筋ジストロフィーモデルブタのキメリズムによる救済, 口頭, 長嶋比呂志, 松成ひとみ, 黒目麻由子, Kessler B, Wuensch A, Klymiuk N, 中野和明, 内倉鮎子, 八島紗耶香, 福田暢, 齋藤ほたる, 渡邊将人, 梅山一大, 長屋昌樹, Wolf E, 第16回日本再生医療学会総会, 7-9 Mar 2017, 仙台, 国内.
24. ガラス化体外受精胚を用いた疾患モデルブタの作出, 口頭, 内倉鮎子, 中野和明, 松成ひとみ, 八島紗耶香, 宮城萌衣, 岡本一駿, 長嶋比呂志, 日本畜産学会第122回大会, 27-29 Mar 2017, 神戸, 国内.
25. 異種臍島移植に必要なDPFブタの国内生産に向けての取り組み, 招待講演, 長嶋比呂志, 第16回日本再生医療学会総会, 7-9 Mar 2017, 仙台, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 医農工連携研究最前線 クローンブタに託す最先端医療, 長嶋比呂志, 明治大学校友会世田谷区地域支部総会, 23 Apr 2016, 国内.

2. 再生医療研究最前線：長寿社会の次ぎに何を望むのか!?, 長嶋比呂志, 第55回東京兵庫県人会ふるさとひょうごふれあいセミナー, 20 Jun 2016, 国内.
3. 難治性疾患・希少疾患を再現する遺伝子改変ブタ開発の現状と展望ーブタを用いたトランスレーショナルリサーチの可能性ー, 招待講演, 長嶋比呂志, 神戸再生医療勉強会(第4回), 22 Nov 2016, 神戸, 国内.
4. ブタを用いた再生医療研究最前線, 招待講演, 長嶋比呂志, 日本技術士会平成28年12月期農業部会講演会, 3 Dec 2016. 東京, 国内.
5. ブタをプラットフォームとする再生医療研究, 招待講演, 長嶋比呂志, AMED革新的先端研究開発支援事業LEAP協賛シンポジウム「iPS細胞と未来の医療～細胞から臓器へ～」, 6 Mar 2017, 東京, 国内.

(4) 特許出願

非公開希望

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業 インキュベートタイプ (LEAP)
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,
Leading Advanced Projects for medical innovation, LEAP

研究開発課題名：(日本語) 発生原理に基づく機能的立体臓器再生技術の開発
(英語) Generation of Functional Organs using Developmental Niche

研究開発担当者 (日本語) 生理学研究所 准教授 平林 真澄
所属 役職 氏名：(英語) National Institute for Physiological Sciences, Associate Professor,
Masumi Hirabayashi

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 小動物胚盤胞補完により異種の体内で再生する臓器の機能検証
開発課題名：(英語) Functional analysis of organs regenerated by interspecies blastocyst
complementation in rodents

研究開発分担者 (日本語) 生理学研究所 准教授 平林 真澄
所属 役職 氏名：(英語) National Institute for Physiological Sciences, Associate Professor,
Masumi Hirabayashi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東京大学医科学研究所・幹細胞治療研究センター・中内啓光 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 2件）

1. Hara H, Goto T, Takizawa A, Sanbo M, Jacob HJ, Kobayashi T, Nakauchi H, Hochi S, Hirabayashi M. Rat blastocysts from nuclear injection and time-lagged enucleation and their commitment to embryonic stem cells. Cellular Reprogramming. 2016, 18, 108-115.
2. Goto T, Hara H, Hochi S, Nakauchi H, Hirabayashi M. Hypomorphic phenotype of Foxn1 gene-modified rats by CRISPR/Cas9 system. Transgenic Research. 2016, 25, 533-544.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 腎発生関連遺伝子 Sall1 をノックアウトしたラットの表現型解析, ポスター, 後藤 哲平, 原 弘真, 保地 眞一, 中内 啓光, 平林 真澄, 神奈川県 (第63回日本実験動物学会), 2016/5/19, 国内.
2. 雄性発生胚ならびに雌性発生胚からの半数体ラット ES 細胞株の樹立, ポスター, 原 弘真, 後藤 哲平, 滝澤 明子, Melinda DWINELL, 保地 眞一, 中内 啓光, 平林 真澄, 神奈川県 (第63回日本実験動物学会), 2016/5/19, 国内.
3. Haploid ES cell lines derived from androgenetic and parthenogenetic rat blastocysts, ポスター, Hirabayashi M, Hara H, Goto A, Takizawa A, Dwinell MR, Hochi S, Nakauchi H, San Diego, CA, USA (The 49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction), 2016/7/18, 国外.
4. Mouse thymus generated in Foxn1 mutant rats by blastocyst complementation, ポスター, Goto T, Hara H, Sato H, Hochi S, Nakauchi H, Hirabayashi M, San Diego, CA, USA (The 49th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction), 2016/7/19, 国外.
5. 膵臓欠損ラット体内で再生したマウス iPS 細胞由来膵島の糖尿病誘発モデルマウスへの移植, 口頭, 後藤 哲平, 山口 智之, 佐藤 秀征, 原 弘真, 小林 俊寛, 中内 啓光, 平林 真澄, 神奈川県 (第109回日本繁殖生物学会大会), 2016/9/14, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし