

06. システム発生・再生医学研究部

部長:高田 修治

【ミッション・目標】

システム発生・再生医学研究部では、ヒトの発生と発達の過程で生じる異常の成立機序の解明、予防、診断・治療の開発という当研究所のミッションを遂行するため、従来の分子細胞生物学、分子遺伝学的手法やポストゲノムシーケンシングアプローチにより様々な病態の解明や疾患の原因遺伝子の同定を目指す。同時に、成育医療研究センター内の他部と協力してポストゲノムシーケンシング研究手法やディープラーニング等の人工知能を開発、導入していく。

上記の目標を達成するため、生殖腺形成をモデルに遺伝子発現データベースの構築や今まで解析が困難であった分子機構の解明に臨んでいる。また、遺伝子の配列で規定されない遺伝子発現の機構（エピジェネティクス）や新しい遺伝子カテゴリーにあたるマイクロ RNA の解析においても、ノックアウトマウスの作製や発現データベースの構築などにより解析を行い、片親性ダイソミーや性分化疾患、不妊症をはじめとする疾患の病態解明を進めている。

【研究プロジェクト】

分子生物学・遺伝学的手法とバイオインフォマティクスなどのポストゲノムシーケンシングアプローチを駆使した研究を推進し、生殖腺の形成や機能維持の分子メカニズムやその破綻が原因となる不妊症や性分化疾患の病態の研究を進めている。さらに疾患モデルとなる細胞や動物の迅速かつ正確な作製法の開発にも取り組んでいる。次世代シーケンサーから得られるデータの解析や疾患モデルとなる細胞や動物の作製に関しては、研究所内外にその技術の提供を行っている。

1. マウス生殖腺における遺伝子発現データベースの構築
2. ゲノムインプリンティングを受ける遺伝子の発現制御の解析
3. 疾患の原因となる可能性のある組織特異的マイクロ RNA の同定と機能解析
4. 転写因子 SOX9 をコードする遺伝子の発現調節機構の解析
5. TALEN および CRISPR によるゲノム編集技術のモデルマウス作製への応用
6. 次世代シーケンサーから得られる配列データの解析パイプライン構築

[研究体制]

部 長:高田修治

室 長:岡村浩司(組織工学研究室 平成24年8月~)

室 長:乾雅史(ゲノム機能研究室 平成24年8月~平成29年3月)

研 究 員:原聡史(平成26年4月~)、寺尾美穂(平成28年9月~)

共同研究員:秋野亮介(昭和大学)、浅原弘嗣(東京医科歯科大学大学院教授)、上村桂志朗(東京医科歯科大学大学院)、岡安春佳(東京医科歯科大学大学院)、小川湧也(東京医科歯科大学大学院)、加藤朋子(東京都医学総合研究所)、菊池咲希(東京バイオテクノロジー専門学校)、佐藤友美(横浜市立大学大学院教授)、佐藤勇太(日本大学)、柴田拓海(東京バイオテクノロジー専門学校)、田崎秀尚(加藤レディースクリニック)、辻敦美(東京医科歯科大学大学院)、土屋育(東邦大学)、浜田万里果(東京医科歯科大学大学院)、濱野繭(東邦大学)、平林美果(東京バイオテクノロジー専門学校)、福岡正也(日本大学)、松本征仁(順天堂大学准教授)、宮本夏帆(北里大学)、村松あかり(東京医科歯科大学大学院)

研究補助員:泉久保樹音

[共同研究体制]

1. ロシア連邦 Endocrinology Research Centre・Head Anatoly Tiulpakov(ゲノム編集による性分化疾患の原因解明)
2. 東邦大学理学部・講師 後藤友二(X染色体の不活性化の制御メカニズムに関する分子遺伝学的研

- 究)
3. 株式会社ニッポンジーン研究本部分子診断試薬部・部長 伊澤真樹 (ゲノム編集の簡易化に関する研究)
 4. 横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科・教授 佐藤友美 (生殖腺機能に関する遺伝子の変異マウス作成)
 5. 京都府立医科大学大学院医学研究科・教授 五條理志 (ミトコンドリア病モデルマウスの作製)
 6. 九州大学大学院医学研究院・教授 諸橋憲一郎 (性分化機構解明のためのゲノム編集マウス作製)
 7. 慶應義塾大学医学部・教授 長谷川奉延 (MIRAGE 症候群: ゲノム編集による疾患モデルマウスの作成と病態解明)
 8. 慶應義塾大学医学部・特任助教 浅田礼光 (ミトコンドリア病モデルマウスの作製)
 9. 慶應義塾大学医学部・准教授 久保亮治 (皮膚科領域の疾患に関するモデルマウス作製)
 10. 国立成育医療研究センター研究所ゲノム医療研究部・部長 要匡 (肝細胞内輸送障害により胆汁うっ滞を生じる希少疾患の病態解析と治療法探索、モデル動物を用いた再発性肝細胞障害を来す未確立希少疾患の病態解析と治療法探索)
 11. 国立成育医療研究センター病院高度感染症診断部・部長、研究所高度先進医療研究室・独立室長 今留謙一 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 12. 国立成育医療研究センター再生医療センター生殖医療研究部・部長 阿久津英憲 (生殖細胞可視化のためのマウス作製)
 13. 国立成育医療研究センター病院眼科・医長、研究所視覚科学研究室・室長 東範行 (遺伝解析とヒトiPS細胞由来視神経細胞を用いた小児の視神経障害の病態と治療の研究)
 14. 国立成育医療研究センター研究所実験動物管理室・室長 津村秀樹 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 15. 国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部・部長 秦健一郎 (インプリンティング関連疾患の病態解析と治療法探索、未確立遺伝子関連疾患の病態解析と治療法探索)
 16. 国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部・室長 中林一彦 (成育疾患の病因・病態解明のためのゲノムワイド解析技術の確立)
 17. 国立成育医療研究センター研究所小児血液・腫瘍研究部・部長 清河信敬 (BCOR-ITD 変異腫瘍モデルの探索と特性解析)
 18. 国立成育医療研究センター研究所小児血液・腫瘍研究部・研究員 上野瞳 (BCOR-ITD 変異腫瘍モデルの探索と特性解析)
 19. 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部・室長 鏡雅代 (14 番染色体 miRNAs クラスターの機能の解明: 胎盤発育、肝芽腫発症に着目して)
 20. 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部・部長 深見真紀 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 21. 国立成育医療研究センター病院内科系専門診療部・医師 内木康博 (AAV ベクター及び iPS 細胞による非侵襲的な副腎皮質過形成症の遺伝子治療開発)
 22. 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部・研究員 福井由宇子 (クロマチン制御因子と希少疾患-新規原因遺伝子の探索と病的意義の解明)
 23. 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部・室長 鳴海覚志 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 24. 国立成育医療研究センター病院臨床検査部・部長 奥山虎之 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 25. 広島大学大学院医歯薬保健学研究院・准教授 金子雅幸 (神経分化関連遺伝子のシグナル調節機構)
 26. 滋賀医科大学神経難病研究センター・部門長、特任准教授 森雅樹 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
 27. 順天堂大学大学院医学研究科・教授、難病の診断と治療研究センター・センター長 岡崎 康司 (生体内における膵島細胞作出法の開発とその解析)
 28. 昭和大学医学部・教授 関沢明彦 (ダウン症発症モデルに関する研究)
 29. 鳥取大学大学院医学系研究科、染色体工学研究センター・准教授 香月康宏 (性染色体連鎖遺伝子の機能解析)
 30. 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授 浅原弘嗣 (ゲノム編集に関する研究)

31. 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・講師 鹿島田健一 (性分化の分子機構解析)
32. 東京医科大学医学部・講師 諏訪内浩紹 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
33. 東京大学医学部・講師 森田啓行 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
34. 東京大学大学院医学系研究科・連携教授 間野博行 (マイクロ RNA の発現解析)
35. 東京大学大学院総合文化研究科・教授 佐藤守俊 (ゲノム編集の光制御)
36. 東京都医学総合研究所再生医療プロジェクト・研究員 加藤朋子 (性分化関連遺伝子の機能解析)
37. 東京都立小児総合医療センター臨床研究部・院長 長谷川行洋 (46, XY 性分化疾患新規遺伝子の同定)
38. 東京農業大学生物資源ゲノム解析センター・准教授 小林久人 (ゲノムインプリンティングに関する研究)
39. 東京薬科大学生命科学部・教授 山内淳司 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
40. 浜松医科大学医学部・教授 緒方勤 (ゲノム編集によるモデルマウス作製)
41. 北海道大学大学院理学研究院・教授 黒岩麻里 (有胎盤哺乳類における SRY 遺伝子に依存しない新しい性決定機構の解明)
42. 北里大学理学部・教授 伊藤道彦 (性分化関連遺伝子の機能解析)
43. 明治大学農学部・専任講師 乾雅史 (ゲノム編集に関する研究)
44. 理化学研究所バイオリソース研究センター・室長、筑波大学大学院生命環境科学研究科・教授 小倉淳郎 (ゲノムインプリンティングに関する研究)
45. 和歌山県立医科大学医学部・教授 山田源 (性分化関連遺伝子の発現制御に関する研究)
46. 宮崎大学農学部・准教授 西野光一郎 (ヒト iPS 細胞の分類と DNA メチル化ビッグデータ解析)
47. 金沢大学学際科学実験センター・准教授 堀家慎一 (ヒト iPS 細胞のクロマチン高次構造解析)
48. 東北大学大学院歯学研究科・准教授 犬塚博之 (ヒト iPS 細胞のエピキトーム解析)

【研究の概要】

1. マウス生殖腺における遺伝子発現データベースの構築

胎仔期生殖腺は精巣にも卵巣にも分化できるポテンシャルがあり、性決定遺伝子の発現により雌雄特異的な転写ネットワークが開始し、精巣または卵巣へと分化していく。すなわち、雌雄で特異的な転写制御が精巣、卵巣形成に必要である。また、精巣が形成されることにより内生殖器、外生殖器、体全体が雄へと分化するため、精巣、卵巣分化を理解することにより、その破綻として性分化疾患の原因を解明することが可能となる。そのため、我々は胎仔期生殖腺の雌雄で特異的な転写ネットワークの解明を目指している。これまでにマウスゲノムに存在するほぼすべての転写因子・転写コファクター約 1520 個の Whole-mount in situ hybridization (WISH) を用いた発現解析から 160 の雌雄で発現量が異なる遺伝子を同定している。これらのうち、雌で発現の高い 18 遺伝子すべてを標的に、ゲノム編集技術によりノックアウトマウスを作出したが、単独の遺伝子のノックアウトでは性分化疾患様の表現型を示すものはなかった。次に雄で発現が高く、過去にノックアウトマウスが作製されており、かつ産仔数の減少などの生殖関連の表現型が報告されている 11 遺伝子についてノックアウトマウスを作製し、胎仔期生殖腺の解析を行った。3 遺伝子については正常な生殖腺が観察されたが、1 遺伝子は若干雌様の胎仔期精巣が観察されたため、その表現型の確定作業を行っている。残りの 7 遺伝子については現在解析中である。

2. ゲノムインプリンティングを受ける遺伝子の発現制御の解析

ヒトでは受精時に精子と卵子からそれぞれ一組の染色体、遺伝子が受け継がれるが、いくつかの遺伝子に関しては父方あるいは母方から受け継がれたときにしか発現が起らない。すなわち染色体に親の性の由来が記録され、この現象はゲノムインプリンティング (GI) と呼ばれている。GI は脊椎動物では哺乳類のみ存在し、胎児、胎盤の正常な発生や癌化などにも関与し、GI を受ける遺伝子が正常に発現することが胎児、胎盤の発育に必要な不可欠であると報告されてきた。我々は GI を受ける遺伝子の発現調節機構の解明を目指し、マウス 12 番染色体/ヒト 14 番染色体上の GI の制御に最も重要であるゲノムの配列 (IG-DMR) に着目し、その中で制御の中心となる配列のスクリーニングをゲノム編集による欠失マウス作製により行っている。その結果、IG-DMR 中の 216 bp のタンデムリピート配列 (Rep) を父方由来で欠損したマウスは母方アレルのエピゲノム状態になった。すなわち、この Rep は父方アレルのインプリント状態を規定する

配列であることが明らかとなった。次にマウスで明らかとなった IG-DMR の機能配列がヒトでも同様である可能性を検討した。マウスで同定した Rep は 24 塩基の 7 回繰り返し構造であるが、ヒトでは 18 塩基の 9 回繰り返し構造であり (hRep)、IG-DMR 中のそれぞれ同様の位置に存在していることから、機能の類似性が考えられた。しかし、Rep の単位ユニット中の機能配列は ZFP57 結合配列であると考えられるが、hRep には ZFP57 結合配列は存在しない。そのため、Rep と hRep を入れ換えたヒト化マウスによる hRep の機能解析を行った。ゲノム編集により作製したヒト化マウスは正常に出生し成獣となった個体、胎生致死、成長遅延など、成長が多様であった。その原因はマウス 12 番染色体上の GI 領域のエピゲノム状態であると考えられるため、成長の程度とメチル化、遺伝子発現の相関を検討したところ、正の相関が見られた。また、Rep には直接 ZFP57 が結合し、さらに ZFP57 に TRIM28、TRIM28 に DNA メチルトランスフェラーゼ、ヒストンメチル化酵素などが結合することで機能することが明らかとなっているため、ヒト化マウスを用いて hRep に ZFP57、TRIM28 に結合する可能性をクロマチン免疫沈降法で検討した。その結果、ZFP57 は結合しないが、TRIM28 の結合は表現型に正相関した。すなわち、hRep には ZFP57 以外の何かが結合し、そこに TRIM28 が結合することで機能していることが明らかとなった。この未同定の分子はヒトの IG-DMR が機能する際のキー分子であるため、今後同定を目指す。これにより新たな GI の分子メカニズムの発見やヒト 14 番染色体片親性ダイソミーの病態解明へと発展させていきたい。

3. 疾患の原因となる可能性のある組織特異的マイクロ RNA の同定と機能解析

ノンコーディング RNA の一種であるマイクロ RNA は組織特異的に発現し、個体発生、細胞の分化、増殖、癌化、再生など多様な生命現象に関与していることが明らかとなっている。疾患への関与も報告され、治療のための標的分子としても注目されている。我々は臨床検体や哺乳類の胎児の組織といった微量サンプルから得られるマイクロ RNA の発現プロファイリング法を確立しており、その方法を次世代シーケンサーに應用することによりマウスの発生時期と成獣の 21 の組織からマイクロ RNA 発現プロファイルを同定した。このデータを元に、組織特異的マイクロ RNA、精巣と卵巣でのみ発現しているマイクロ RNA を 1 つと複数の精巣特異的に発現しているマイクロ RNA を見出した。これらのマイクロ RNA は性分化疾患や不妊に関与している可能性が考えられるため、ノックアウトマウスの作製による解析を行った。その結果、その中の 1 つのマイクロ RNA で、成獣の精巣と卵巣で表現型が確認された。現在、そのマイクロ RNA の生殖腺形成と生殖腺での機能について詳細な検討を行っている。

4. 転写因子 SOX9 をコードする遺伝子の発現調節機構の解析

転写因子 SOX9 をコードする遺伝子もしくは近傍の変異や転位は、手足が短く屈曲し全く石灰化しないなどの特徴を持ち、遺伝型が雄性 XY の患者の約 2/3 で雌性への性転換が見られるヒト先天性骨奇形症候群 Campomelic dysplasia を引き起こす原因である。すなわち、SOX9 は軟骨、精巣の組織形成に重要である。しかし、SOX9 遺伝子の発現調節機構は、発現調節に関わるエンハンサーがその周辺 2 Mb のどこに存在するか不明なため解明が困難であった。我々は Campomelic dysplasia の病態解明や性分化疾患の原因解明、確定診断法の開発を目指している。

ヒトの性分化疾患症例で共通して欠失している 32.5 kb の領域 (XYSR) に着目しその中からエンハンサーの同定を目指した。そのため、このゲノム領域内を少しずつ欠損した (ネステッドデリション) 一連の生きたマウスを一度に作製する技術を開発し、進化上の配列の保存性なども利用することで、711 bp の責任配列 (エンハンサー) を同定した。さらに 711 bp 内に複数の gRNA を設計し、より小さな欠失で性分化疾患となるマウスを順次作製していき、責任配列を 9 bp まで絞り込んだ。さらに、過去に報告したゲノム編集で 1 塩基置換を誘導する方法を用いて、責任配列を 1 塩基にまで絞ることに成功した。今後この結果を基に、責任配列に結合する分子の同定を通して、SOX9 の発現調節機構を解明する。

5. TALEN および CRISPR によるゲノム編集技術のモデルマウス作製への応用

当研究部では TALEN および CRISPR によるゲノム編集技術を導入し、迅速かつ簡便に疾患モデルマウスを作製する系を確立した。TALEN や CRISPR の設計・合成からマウス受精卵への導入、マウスの解析まで一貫して研究部内で行うため短時間、低コストにモデルマウスを用いた解析が行えるようになった。単純なノックアウトだけでなく塩基配列の微小な置換や欠失、挿入など様々な応用技術の開発も進めている。将来的には、ほぼすべての小児の遺伝性の疾患をそのまま細胞やモデルマウスで再現できる実験系の確立を目指しており、現在これらの技術を共同研究として他の研究部に提供している。

近年我々は 70 kb の重複を、マウスの系統間の配列の違いを利用して誘導する方法を開発した。また、変異により胎生致死となる遺伝子の変異アレルは、一般に使われている受精卵のゲノム編集による方法では作製することはできない。2 細胞期胚の片側の細胞の核にゲノム編集することで、胎生致死となることを避けつつ、効率良く変異アレルを作成する方法を樹立した。さらに、2 細胞期胚の片側の細胞の核に ssODN と共にゲノム編集ツールを導入することで、SNP を誘導することに成功した。この方法により、変異により胎生致死となる遺伝子の変異アレルを効率良く作製することが可能となった。

6. 次世代シーケンサーから得られる配列データの解析パイプライン構築

本研究所に導入された計算機システム HA8000/RS210 クラスターを最大限に活用し、次世代シーケンサー、マイクロアレイ等から得られるデータを処理するパイプラインソフトウェア群を構築した。全エクソーム解析をはじめとして、全ゲノム、遺伝子発現、DNA メチル化、ヒストン修飾、クロマチン高次構造、miRNA による遺伝子発現制御ネットワークの解析、さらには *de novo* アセンブリ、遺伝子治療ベクターの挿入部位決定、転座など構造変異の検出等、他研究部から依頼されるデータ処理も行い成果を上げている。本センターが希少・未診断疾患イニシアチブ IRUD の拠点に指定されたこともあり、10 ギガビット/秒の機器間専用ネットワーク等のハードウェアのさらなる整備も行って、特に全エクソーム解析については年間 1000 検体以上を処理する体制を整えた。また最新 GPU を搭載したディープラーニング専用テクニカルサーバ SR24000/DL1 を導入し、生命科学および医療ビッグデータの学習高速化を可能にし、本センターの AI ホスピタル事業にも貢献している。開発したソフトウェア、および整備したハードウェアやシステムの取り扱い説明ドキュメントをまとめてオンライン公開しており、センター内の研究環境を大きく向上させることができた。

【平成29年研究業績】

下線は研究実施時点において国立成育医療研究センター研究所システム発生・再生医学研究部に在籍している研究者を示す。

*は、責任著者を示す。

1. 論文発表

[原著論文 (欧文)]

1. *Inui M, Tamano M, Kato T, *Takada S. CRISPR/Cas9-mediated simultaneous knockout of Dmrt1 and Dmrt3 does not recapitulate the 46,XY gonadal dysgenesis observed in 9p24.3 deletion patients. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2017; 9: 238-244.
2. Igarashi M, Takasawa K, Hakoda A, Kanno J, Takada S, Miyado M, Baba T, Morohashi KI, Tajima T, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Sekido R, Ogata T, Kashimada K, *Fukami M. Identical NR5A1 missense mutations in two unrelated 46,XX individuals with testicular tissues. *Human Mutation*. 2017; 38(1): 39-42.
3. Hirabayashi S, *Ohki K, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yaguchi A, Terada K, Saito Y, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fujimura J, Hino M, Kinoshita A, Kakuda H, Kurosawa H, Kato K, Kajiwara R, Moriwaki K, Morimoto T, Nakamura K, Noguchi Y, Osumi T, Sakashita K, Takita J, Yuza Y, Matsuda K, Yoshida T, Matsumoto K, Hata K, Kubo M, Matsubara Y, Fukushima T, Koh K, Manabe A, Ohara A, Kiyokawa N. ZNF384-related fusion genes consist of a subgroup with a characteristic immunophenotype in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2017; 102(1): 118-129.
4. Sakaki M, Ebihara Y, Okamura K, Nakabayashi K, Igarashi A, Matsumoto K, Hata K, Kobayashi Y, *Maehara K. Potential roles of DNA methylation in the initiation and establishment of replicative senescence revealed by array-based methylome and transcriptome analyses. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171431.
5. Saito T, Hara S, Tamano M, Asahara H, *Takada S. Deletion of conserved sequences in IG-DMR at Dlk1-Gtl2 locus suggests their involvement in expression of paternally expressed genes in mice. *The Journal of Reproduction and Development*. 2017; 63(1): 101-109.
6. Kato T, Hara S, Goto Y, Ogawa Y, Okayasu H, Kubota S, Tamano M, Terao M, *Takada S. Creation of mutant mice with megabase-sized deletions containing custom-designed breakpoints by means of the CRISPR/Cas9 system. *Scientific Reports*. 2017; 7(1): 59.
7. *Kagami M, Matsubara K, Nakabayashi K, Nakamura A, Sano S, Okamura K, Hata K, Fukami M, *Ogata T. Genome-wide multilocus imprinting disturbance analysis in Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome. *Genetics in Medicine*. 2017; 19(4): 476-482.
8. Hara S, Terao M, *Takada S. A protocol for production of mutant mice using chemically synthesized crRNA/tracrRNA with Cas9 nickase and FokI-dCas9. *Bio-protocol*. 2017; 7(11): e2340.
9. Kajiwara K, Tanemoto T, Wada S, Karibe J, Ihara N, Ikemoto Y, Kawasaki T, Oishi Y, Samura O, Okamura K, Takada S, Akutsu H, Sago H, Okamoto A, *Umezawa A. Fetal therapy model of myelomeningocele with three-dimensional skin using amniotic fluid cell-derived induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*. 2017; 8(6): 1701-1713.
10. Murakami M, *Yoshimoto T, Nakabayashi K, Nakano Y, Fukaishi T, Tsuchiya K, Minami I, Bouchi R, Okamura K, Fujii Y, Hashimoto K, Hata KI, Kihara K, Ogawa Y. Molecular characteristics of the KCNJ5 mutated aldosterone-producing adenomas. *Endocrine-Related Cancer*. 2017; 24(10): 531-541.

[総説 (欧文)]

1. Kato T, *Takada S. In vivo and in vitro disease modeling with CRISPR/Cas9. *Briefings in Functional Genomics*. 2017; 16(1): 13-24.

[著書 (和文)]

1. 高田修治. ゲノム編集技術: ゲノム配列を自在に書き換える技術【COLUMN】. 編著・関沢明彦, 佐村修, 四元淳子, 周産期遺伝カウンセリングマニュアル 改訂2版, 中外医学社, 2017; 181-183
2. 高田修治. ゲノム編集. 難病研究 up-to-date -臨床病態解析と新たな診断・治療法開発をめざして-; 第4章 難病の治療法(各論); 8. ゲノム編集 (松原洋一編) 遺伝子医学MOOK 32号, メディカルドゥ, 2017; 245-250

2. 学会発表

[招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]
該当なし

[一般演題発表]

1. Kanzaki S, Wakabayashi M, Takada S, Sekita Y, Kimura T. Physiological roles of the genes expressed during maternal zygotic transition. 15th Stem Cell Research Symposium; Poster Session, Tokyo, JAPAN. 5月26-27日(27日), 2017.
2. Hara S, Kato T, Takada S. Production of mice carrying large deletions via microinjection of fertilized eggs using the CRISPR/Cas9 system. 4th World Congress of Reproductive Biology (WCRB2017); Poster Session 1, Okinawa, JAPAN. 9月27-29日(28日), 2017.
他、国内学会18演題

【公的研究費】

[科学研究費補助金]

1. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「Sox9の生殖腺遠位エンハンサーの同定と機能解析」
高田修治 (研究代表者), 150万円
2. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「iPS細胞誘導によるクローン性を利用したドライバーおよびパッセンジャー変異の検出」
岡村浩司 (研究代表者), 120万円
3. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「性分化関連遺伝子におけるポリコム標的ゲノム領域の機能解明 (研究代表者: 福井由宇子)」
高田修治 (研究分担者), 35万円
4. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「網羅的ゲノム解析に基づく性分化疾患の発症機序の解明 (研究代表者: 五十嵐麻希)」
高田修治 (研究分担者), 20万円
5. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「AAVベクター及びiPS細胞による非侵襲的な副腎皮質過形成症の遺伝子治療開発 (研究代表者: 内木康博)」
高田修治 (研究分担者), 15万円
6. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「46,XY性分化疾患新規遺伝子の同定 (研究代表者: 長谷川行洋)」
高田修治 (研究分担者), 70万円
7. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 若手研究 (B)
「ヒト配列ノックインマウスを用いたIG-DMRによるインプリント制御機構の解析」

原聡史 (研究代表者), 190 万円

8. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 難治性疾患実用化研究事業
「IRUD-P で発見された希少疾患原因遺伝子のゲノム編集技術を用いた分子病態解明と治療・予防法の探索 (研究開発担当者: 松原洋一)」
高田修治 (研究開発分担者), 代表一括 (2,000 万円)
9. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
「Primed 型ヒト iPS 細胞の Naïve 化/腫瘍化/分化指向性を規定するエピゲノムネットワークの解析 (研究開発代表者: 西野光一郎)」
岡村浩司 (研究開発分担者), 340 万円

[財団、その他]

1. ノボ ノルディスク ファーマ株式会社 寄付 2017 年度 Research Aid
「POI1F1 の変異 isoform により成長障害をきた病態の解明、および、GH・PRL 産生腫瘍治療における Pou1f1 変異 isoform での治療の試み」
高田修治 (申請者), 100 万円
2. 成育医療研究開発費 (28-12)
「新規ヒトゲノム参照配列 GRCh38 および日本人基準配列を活用したゲノム変異診断」
岡村浩司 (主任研究者), 63 万円
3. 成育医療研究開発費 (29-11)
「ゲノム編集による疾患の原因遺伝子同定や病態解明のための基盤技術開発」
高田修治 (主任研究者), 900 万円 (班全体: 1,000 万円)
4. 成育医療研究開発費 (28-2)
「遺伝解析とヒト iPS 細胞由来視神経細胞を用いた小児の視神経障害の病態と治療の研究 (主任研究者: 東範行)」
高田修治 (分担研究者), 100 万円
5. 成育医療研究開発費 (29-17)
「クロマチン制御因子と希少疾患-新規原因遺伝子の探索と病的意義の解明- (主任研究者: 福井由宇子)」
高田修治 (分担研究者), 15 万円

【その他 (教育・広報など)】

[教育活動]

1. 岡村浩司. 脊椎動物プロモータ領域の DNA メチル化と遺伝子発現制御. 京都大学メディカルイノベーションセンター SK プロジェクトセミナー; 講演, 京都. 2月23日, 2017.
2. 高田修治. ゲノム編集とその DOHaD 関連事項への応用. DOHaD 寺子屋セミナー; 基調講演, 東京. 6月17日, 2017.
3. 高田修治. 哺乳類の性決定、性分化の分子機構. 北里大学理学部; 生物科学特月講義 IV, 神奈川. 10月13日, 2017.
4. 高田修治. 東邦大学理学部 非常勤講師 (発生物学).
5. 高田修治. 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 連携教授 (NCCHD 成育医学).
6. 高田修治. 東京医科歯科大学医学部 非常勤講師 (遺伝学概論).
7. 乾雅史. 東京大学大学院総合文化研究科 非常勤講師 (生命環境科学特別講義 X VII).
8. 乾雅史. 東京大学教養学部 非常勤講師 (高次生命機能特論 VI).

9. 乾雅史. 埼玉大学理学部 非常勤講師 (基礎生体機能学) .
10. 乾雅史. 東京医科歯科大学医学部 非常勤講師 (細胞生物学概論) .

[社会活動・貢献]

1. 高田修治. NEDO 分野横断的公募事業に係る事前書面審査員 (ピアレビュー) .
2. 高田修治. 日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員、国際事業委員会書面審査員・書面評価員.
3. 高田修治. 日本学術振興会卓越研究員候補者選考委員会書面審査員.
4. 高田修治. Scientific Reports Editorial Board.

[受賞]

1. Hara S, et al. The JRD Outstanding Paper Award in 2016 : 「Microinjection-based generation of mutant mice with a double mutation and a 0.5 Mb deletion in their genome by the CRISPR/Cas9 system」 The Society for Reproduction and Development (SRD) 第 110 大会総会, Okinawa, JAPAN. 9月26日, 2017.

[研究所運営への貢献]

1. 高田修治. リサーチコンシェルジュ. メディカルゲノムセンター運営委員会ゲノム解析診断部門 (委員) . ビデオ教育委員会 (委員) . 予算委員会 (委員) . 研究所情報システム部会 (委員) . 研究企画調整委員会 (委員) . 施設整備・共同研究区域管理委員会 (副委員長) . 研究所「第4回 non-MD のキャリアパスを考える」講演会開催 (10月16日, 2017) .
2. 岡村浩司. 倫理予備審査委員. 省エネ推進プロジェクト委員.

【平成30年研究業績】

下線は研究実施時点において国立成育医療研究センター研究所システム発生・再生医学研究部に在籍している研究者を示す。

*は、責任著者を示す。

1. 論文発表

[原著論文 (欧文)]

1. *Steward O, Matsudaira Yee K, Farris S, Pirbhoy PS, Worley P, Okamura K, Okuno H, Bito H. Delayed degradation and impaired dendritic delivery of intron-lacking *EGFP-Arc/Arg3.1* mRNA in *EGFP-Arc* transgenic mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018; 10: 435.
2. Takasawa K, Igarashi M, Ono M, Takemoto A, Takada S, Yamataka A, Ogata T, Morio T, Fukami M, *Kashimada K. Phenotypic variation in 46,XX disorders of sex development due to the NR5A1 p.R92W variant: a sibling case report and literature review. *Sexual Development*. 2018; 11(5-6): 284-288.
3. Katoh-Fukui Y, Yatsuga S, Shima H, Hattori A, Nakamura A, Okamura K, Yanagi K, Iso M, Kaname T, Matsubara Y, *Fukami M. An unclassified variant of *CHD7* activates a cryptic splice site in a patient with CHARGE syndrome. *Human Genome Variation*. 2018; 5: 18006.
4. Okuno M, Ayabe T, Yokota I, Musha I, Shiga K, Kikuchi T, Kikuchi N, Ohtake A, Nakamura A, Nakabayashi K, Okamura K, Momozawa Y, Kubo M, Suzuki J, Urakami T, Kawamura T, Amemiya S, Ogata T, Sugihara S, *Fukami M. Protein-altering variants of PTPN2 in childhood-onset Type 1A diabetes. *Diabetic Medicine*. 2018; 35(3): 376-380.
5. *Inui M, Mokuda S, Sato T, Tamano M, Takada S, *Asahara H. Dissecting the roles of miR-140 and its host gene. *Nature Cell Biology*. 2018; 20(5): 516-518.
6. Osumi T, Tsujimoto SI, Tamura M, Uchiyama M, Nakabayashi K, Okamura K, Yoshida M, Tomizawa D, Watanabe A, Takahashi H, Hori T, Yamamoto S, Hamamoto K, Migita M, Ogata-Kawata H, Uchiyama T, Kizawa H, Ueno-Yokohata H, Shirai R, Seki M, Ohki K, Takita J, Inukai T, Ogawa S, Kitamura T, Matsumoto K, Hata K, Kiyokawa N, Goyama S, *Kato M. Recurrent *RARB* translocations in acute promyelocytic leukemia lacking *RARA* translocation. *Cancer Research*. 2018; 78(16): 4452-4458.
7. Saito T, Hara S, Kato T, Tamano M, Muramatsu A, Asahara H, *Takada S. A tandem repeat array in IG-DMR is essential for imprinting of paternal allele at the Dlk1-Dio3 domain during embryonic development. *Human Molecular Genetics*. 2018; 27(18): 3283-3292.
8. Tsuji-Hosokawa A, *Kashimada K, Kato T, Ogawa Y, Nomura R, Takasawa K, Lavery R, Coschiera A, Schlessinger D, Harley VR, Takada S, Morio T. Peptidyl arginine deiminase 2 (Padi2) is expressed in Sertoli cells in a specific manner and regulated by SOX9 during testicular development. *Scientific Reports*. 2018; 8(1): 13263.
9. *Narumi-Kishimoto Y, Araki N, Migita O, Kawai T, Okamura K, Nakabayashi K, Kaname T, Ozawa Y, Ozawa H, Takada F, Hata K. Novel *SIN3A* mutation identified in a Japanese patient with Witteveen-Kolk syndrome. *European Journal of Medical Genetics*. 2018; pii: S1769-7212(18)30312-4. doi: 10.1016/j.ejmg.2018.09.014.
10. Ogawa Y, Terao M, Hara S, Tamano M, Okayasu H, Kato T, *Takada S. Mapping of a responsible region for sex reversal upstream of Sox9 by production of mice with serial deletion in a genomic locus. *Scientific Reports*. 2018; 8(1): 17514.
11. *Ohki K, Kiyokawa N, Saito Y, Hirabayashi S, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fukushima K, Hasegawa D, Fukushima H, Imai M, Kajiwara R, Koike T, Komori I, Matsui A, Mori M, Moriwaki K, Noguchi Y, Park MJ, Ueda T, Yamamoto S, Matsuda K, Yoshida T, Matsumoto K, Hata K, Kubo M, Matsubara Y, Takahashi H, Fukushima T, Hayashi Y, Koh K, Manabe A, Ohara A. Clinical and molecular characteristics of *MEF2D* fusion-positive precursor B-cell acute lymphoblastic

leukemia in childhood, including a novel translocation resulting in *MEF2D-HNRNP1H* gene fusion. *Haematologica*. 2018; doi:10.3324/haematol.2017.186320.

[総説 (欧文)]

1. Hara S, *Takada S. Genome editing for the reproduction and remedy of human diseases in mice. *Genome editing for the reproduction and remedy of human diseases in mice. Journal of Human Genetics*. 2018; 63(2): 107-113.

2. 学会発表

[招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

シンポジウム

1. Takada S. Identification of a sis-regulatory sequence that mediates Sox9 expression in mouse embryonic gonads. International Workshop for Sex Development Supported by the Grant-in aid for Scientific Research on Innovative Areas “Sex Spectrum”, Tokyo, JAPAN. 7月23日, 2018.

ワークショップ

1. 青砥早希, 岡村浩司. オリゴヌクレオチドの位置関係と畳み込みニューラルネットワークを利用したプロモーター配列の解析. 第41回日本分子生物学会年会; 1PW1-12 普遍性を施行した研究; 1PW1-12-3, 神奈川. 11月28-30日(28日), 2018.
2. 高田修治. ゲノム編集技術によるマウス胎児期生殖腺における Sox9 の発現をシスに調節する配列の探索. 第41回日本分子生物学会年会; 2PW1-12 脊椎動物の性決定、性分化の分子機構; 2PW1-12-6, 神奈川. 11月28-30日(29日), 2018.

[一般演題発表]

1. Tsuji-Hosokawa A, Kato T, Ogawa Y, Nomura R, Takasawa K, Harley VR, Morio T, Takada S, Kashimada K. SOX9 and DOXL2 antagonistically regulate peptidyl arginine deiminase 2 (Padi2) expression during testicular development. ENDO 2018; Session P15-1- Male Reproductive Endocrinology- Basic and Clinical, Illinois, USA. 3月17-20日(18日), 2018.
 2. Naiki Y, Miyado M, Hasegawa Y, Horikawa R, Takada S, Pang S, Katsumata N, Fukami M. Induction of CYP21A2 with AAV vector for gene therapy of CAH. ENDO 2018; Session P25- Female Reproductive Endocrinology- Transgender, Sex Determination, and H..., Illinois, USA. 3月17-20日(19日), 2018.
- 他, 国内学会 18 演題

[その他]

1. 黒岩麻里, 高田修治. オーガナイザー. 第41回日本分子生物学会年会; ワークショップ[2PW1-12]脊椎動物の性決定、性分化の分子機構, 神奈川. 11月29日, 2018.

【公的研究費】

[科学研究費補助金]

1. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「Sox9の生殖腺遠位エンハンサーの同定と機能解析」
高田修治 (研究代表者), 110万円
2. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「iPS細胞誘導によるクローン性を利用したドライバーおよびパッセンジャー変異の検出」
岡村浩司 (研究代表者), 150万円
3. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)

- 「網羅定ゲノム解析に基づく性分化疾患の発症機序の解明（研究代表者：五十嵐麻希）」
高田修治（研究分担者），20万円
4. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「AAV ベクター及び iPS 細胞による非侵襲的な副腎皮質過形成症の遺伝子治療開発（研究代表者：内木康博）」
高田修治（研究分担者），10万円
 5. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「46, XY 性分化疾患新規遺伝子の同定（研究代表者：長谷川行洋）」
高田修治（研究分担者），35万円
 6. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「14 番染色体 miRNAx クラスターの希望の解明:胎盤発育、肝芽腫発症に注目して（研究代表者：鏡雅代）」
高田修治（研究分担者），25万円
 7. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「BCOR-ITD 変異腫瘍モデルの作出と特性解析（研究代表者：上野瞳）」
高田修治（研究分担者），10万円
 8. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「神経分化に関与するユビキチンリガーゼ RNF182 の mTORC1 シグナル調節機構（研究代表者：金子雅幸）」
高田修治（研究分担者），30万円
 9. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C)
「MIRAGE 症候群: ゲノム編集による疾患モデルマウスの作成と病態解明（研究代表者：長谷川奉延）」
高田修治（研究分担者），20万円
 10. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究助成基金助成金 若手研究 (B)
「ヒト配列ノックインマウスを用いた IG-DMR によるインプリント制御機構の解析」
原聡史（研究代表者），140万円
 11. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 難治性疾患実用化研究事業
「IRUD-P で発見された希少疾患原因遺伝子のゲノム編集技術を用いた分子病態解明と治療・予防法の探索（研究開発担当者：松原洋一）」
高田修治（研究開発分担者），代表一括 (2,000万円)
 12. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
「Primed 型ヒト iPS 細胞の Naïve 化/腫瘍化/分化指向性を規定するエピゲノムネットワークの解析（研究開発代表者：西野光一郎）」
岡村浩司（研究開発分担者），600万円

[財団、その他]

1. ノボ ノルディスク ファーマ株式会社 寄付 2018年度 Research Aid
「POI1F1 の変異 isoform により成長障害をきたす病態の解明と GH・PRL 産生腫瘍治療の POI1F1 変異 isoform による治療の検討」

- 高田修治（申請者），20万円
2. 成育医療研究開発費（28-12）
「新規ヒトゲノム参照配列 GRCh38 および日本人基準配列を活用したゲノム変異診断」
岡村浩司（主任研究者），82万円
 3. 成育医療研究開発費（29-11）
「ゲノム編集による疾患の原因遺伝子同定や病態解明のための基盤技術開発」
高田修治（主任研究者），995万円（班全体：1,105万円）
 4. 成育医療研究開発費（30-28）
「ヒト IG-DMR におけるインプリント制御の分子機構の解析」
原聡史（主任研究者），117万円
 5. 成育医療研究開発費（28-2）
「遺伝解析とヒト iPS 細胞由来視神経細胞を用いた小児の視神経障害の病態と治療の研究（主任研究者：東範行）」
高田修治（分担研究者），100万円
 6. 成育医療研究開発費（29-17）
「クロマチン制御因子と希少疾患-新規原因遺伝子の探索と病的意義の解明-（主任研究者：福井由宇子）」
高田修治（分担研究者），10万円

【その他（教育・広報など）】

[教育活動]

1. 高田修治. ゲノム編集による性分化疾患原因解明に向けたアプローチ. 2017 年度 大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 研究会『ゲノム医科学とバイオインフォマティクスの接点と集学研究』“Front edge and fusion of genomic medicine and bioinformatics”, 静岡. 3月28日, 2018.
2. 高田修治. ゲノム編集を用いた成育医療研究基盤の構築. 東京薬科大学公開セミナー 大学院生命科学研究所「細胞神経生理学特論」特別講義, 東京. 5月8日, 2018.
3. 高田修治. Dlk1-Dio3 領域のインプリントを制御する IG-DMR 内の機能配列の同定. 第25回システム発生・再生医学分野セミナー「宇宙・マイクロ RNA・エピジェネティクスから見た骨の形作り」, 東京. 8月20日, 2018.
4. 高田修治. 哺乳類の性決定、性分化の分子機構. 北里大学理学部「生物科学特別講義 IV」, 神奈川. 10月19日, 2018.
5. 高田修治. 哺乳類の性決定、性分化の分子機構. 東京理科大学基礎工学部・生物工学科「発生工学」環境生命セミナー, 東京. 12月17日, 2018.
6. 高田修治. 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 連携教授 (NCCHD 成育医学).
7. 高田修治. 東邦大学理学部 非常勤講師 (発生生物学).

[社会活動・貢献]

1. 高田修治. NEDO 分野横断的公募事業に係る事前書面審査員 (ピアレビュー).
2. 高田修治. Scientific Reports Editorial Board.

[情報発信]

1. 高田修治. ヒトの疾患原因変異を持つマウスを作る. 国立成育医療研究センターだより 2018 Vol. 13 初冬号; 研究開発のトピックス; 研究所. 2018 ; p10.

[研究所運営への貢献]

1. 高田修治. リサーチコンシェルジュ. メディカルゲノムセンター運営委員会ゲノム解析診断部門 (委員). ビデオ教育委員会 (委員). 予算委員会 (委員). 研究所情報システム部会 (委員). 研究企画調整委員会 (委員). 施設整備・共同研究区域管理委員会 (副委員長). 研究所「第5回 non-MD のキャリアパスを考える」講演会開催 (11月20日, 2018).
2. 岡村浩司. 倫理予備審査委員. 省エネ推進プロジェクト委員. 研究所グリーンプロジェクトチーム代表.

[倫理委員会承認研究課題]

1. 原因不明遺伝子関連疾患の全国横断的症例収集・バンキングと網羅的解析. 受付番号: 926, 申請者: 松原洋一. (共同研究者: 高田修治).