

非ヒト霊長類における発生工学の歴史

富岡 郁夫

信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所代謝ゲノミクス部門

要約 非ヒト霊長類はヒトに近い存在であるため、特に医学分野においては重要な実験動物である。これまでマウスを用いて多くの疾患モデル動物が開発され、医学研究の発展に多大な貢献をしてきたが、ヒトとげっ歯類では生理や形態が大きく異なるため、薬効評価や疾患症状の解析、疾患バイオマーカーの開発には不向きであった。そのため、よりヒトに近い非ヒト霊長類を用いた疾患モデルの開発が熱望されている。近年、非ヒト霊長類においてヒト疾患を再現した世界初のトランスジェニック個体が作出され、さらにごく最近では標的遺伝子改変個体の作出も報告された。これにより、今後さらに多くの非ヒト霊長類を用いた疾患モデルが作出されることが予想される。優れたモデル動物は疾患克服の鍵であり、非ヒト霊長類における発生工学の発展は革新的治療法の開発に繋がるだろう。

キーワード：非ヒト霊長類，発生工学，実験動物，トランスジェニック，標的遺伝子改変

I. 序 論

ヒトと同じ霊長目に属するサル類は非ヒト霊長類 (Non-human primate) と呼ばれ、研究分野においては極めてヒトに近いデータを提供する貴重な実験動物である。

非ヒト霊長類は遺伝的にヒトと近縁であるため生理学的数値もヒトに近く、薬物の代謝試験や生殖毒性試験に用いられる。また、高次脳機能を持つことから、行動学や心理学、運動生理学研究に、さらに形態学的にヒトに近いことから脳研究やイメージング研究にも用いられ、特に医学分野では様々なヒト疾患のモデルとして不可欠な存在である。しかし、絶滅が危惧されること、飼育作業や設備に莫大な労力とコストを必要とすること、さらに生命倫理の問題などから限られた研究施設でのみ用いられている実験動物である。そのため研究の裾野は狭く、多くの分野で基礎的な実験技術がまだまだ発展途上である。

一方、実験動物界のスーパースターと言えまざるマウスを思い浮かべる人が多いと思うが、マウスは飼育が容易で設備も低コストであり、ヒトと同じ哺乳類である。繁殖力が高く世代交代も早いと多くの研究分野で用いられ、結果、研究の裾野は広がり哺乳類における多くの革新的技術が開発されてきた動物である。なにより、マウスをスーパースターに

のし上げた技術が個体の遺伝子操作と ES 細胞の樹立であろう。個体の遺伝子操作についていくつか報告はあるが、注目すべきは Jaenisch *et al.*により報告されたウイルスを介したマウス受精卵への遺伝子導入¹⁾と、Gordon *et al.*により報告されたマウス受精卵前核への直接遺伝子導入²⁾である。哺乳類でも他種・外来の遺伝子を導入でき、さらにそれらが機能する事がわかり、トランスジェニック技術の幕が明けた。そして1981年、Evans & Kaufman によりマウス ES 細胞が樹立された³⁾。ES 細胞は、自己複製能、無限の増殖能、およびキメラ形成能（特に生殖系列細胞への寄与）を持つ細胞という3つの定義があり、ES 細胞の遺伝子操作をおこなうことで遺伝子改変個体の作出が可能となった。それまでは個体の遺伝子操作をおこなうためには受精卵を直接操作することが必要だったため、外来遺伝子の導入という単純なトランスジェニック技術しか適用できなかったが、ES 細胞の樹立により培養細胞レベルで様々な遺伝子操作をおこなえるようになり、標的遺伝子のノックアウトやノックインといった高度な遺伝子操作が可能となった。二重らせん構造の発見に始まった遺伝子工学が、ES 細胞の樹立により花開いた瞬間である。

非ヒト霊長類においてもマウスで開発された技術に追いつく事ができれば、医学の革新的な発展に貢献できることは間違いない。本稿では、非ヒト霊長類における発生工学の発展を中心に概説する。

受理日 2015年11月6日

採択日 2016年1月28日

Ⅱ. 実験動物としての非ヒト霊長類

霊長類は大きく分けて、真猿類と原始的な霊長類である原猿類に分かれる。真猿類はさらに、ユーラシア・アフリカ大陸で進化した旧世界ザルとアメリカ大陸で進化した新世界ザルとに分けられる。ヒトや類人猿、研究によく用いられる大型のサル（マカクサル類）は旧世界ザルに属し、筆者らが研究に用いたマーモセットは新世界ザルに属する（図1）。

ここで少しマーモセットについて紹介する。マーモセットは南米アマゾン川流域を原産とし、熱帯乾燥林に生息する非絶滅危惧種のサルである。大きな特長として小型であること、最も繁殖効率の良い霊長類の一種であることが挙げられる。小型という点に関して、マーモセットは成体でも体長はおよそ20cm～25cm、体重は300g～400gであることから、マカクサル類に比べ飼育やハンドリングが容易であり、特に製薬企業など創薬分野から熱い視線が向けられている。というのも、初期開発段階の薬剤はリットルあたり数千万円するものがほとんどで、イヌや大型の霊長類で薬効試験をおこなうためには莫大な費用がかかってしまう。一方でマーモセットはオスのラット程度の大きさであり、かつ霊長類ということから、少量の薬剤でヒトに類似した結果が得られるためである。また、小型とはいえ脳の大きさはげっ歯類と比較し大きく、構造もヒトに近いことからMRI (Magnetic resonance imaging) やPET (Positron emission tomography) などのイメージ

ング解析にも適しており、ごく最近では日本の脳研究プロジェクトに採用された動物である⁴⁾。高い繁殖効率に関して、性成熟はオスでおよそ1年、メスでおよそ1年半、妊娠期間は平均145日で、霊長類では珍しく1回の出産で2頭から3頭の子供を産む。さらに出産後すぐに妊娠し年に2回出産できることから、マカクサル類に比べ圧倒的に繁殖効率が高く、その結果、世界中に多くの飼育コロニーを持ち、マーモセットを用いた論文数は年々増加している。

前述した通り、非ヒト霊長類はヒトに近い存在であるため、特に医学分野においては極めて重要な実験動物である。これまでは生殖工学・遺伝子工学技術が進んでいるマウスにおいて多くの疾患モデルが開発され、疾患の発症メカニズムの解明や治療法開発研究に多大な貢献をしてきた。しかしながら、ヒトとげっ歯類では形態や生理・代謝経路が大きく異なるため、薬効・薬物動態評価や部位特異的な症状の解析、疾患バイオマーカー開発には不向きであった。その一例としてサリドマイド事件がある。当時、鎮静・睡眠薬として処方されていたサリドマイドはマウスを用いて安全性が確認されていたが、妊婦が服用することで胎児に奇形が生じることが報告された。その後の研究で、マーモセットやマカクサル類においても同様にサリドマイドを服用することで胎仔に奇形が生じることが報告され⁵⁾、非ヒト霊長類を用いた動物実験の重要性が再確認された。また、神経変性疾患研究においても非ヒト霊長類を用いた前臨床研究の必要性が叫ばれている。アルツハイマー病などの神経変性疾患は晩発性であるため、マウ

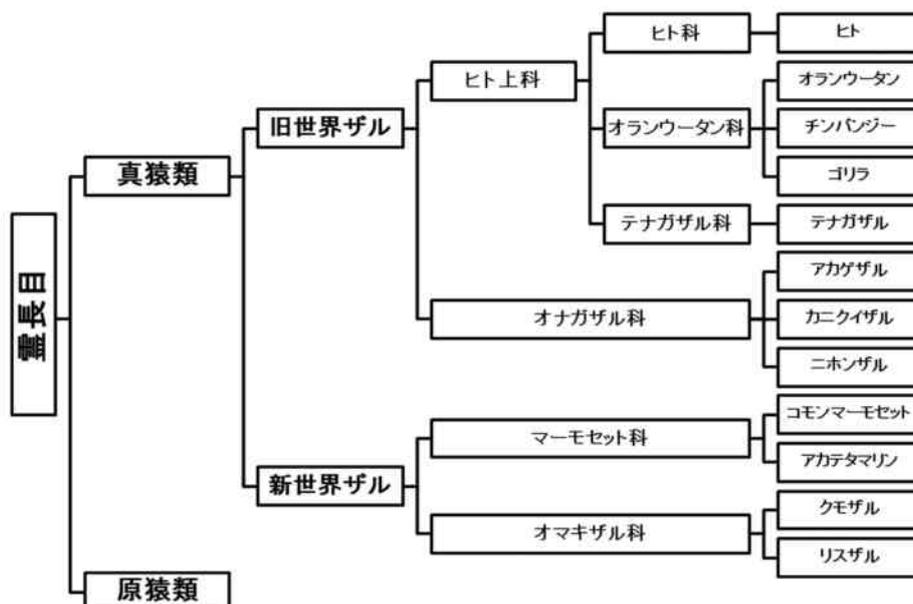


図1 霊長類の系統図

スなどの寿命内（約2年）では分子レベルでの病態は進行していても、最終的な神経症状・病理像の完成にまで至っていなかった。そのため、晩発性の神経変性疾患の病態を再現するためには、げっ歯類より長寿命であり、かつ脳構造や代謝経路がヒトに近い非ヒト霊長類の疾患モデルの開発が必要である。

このように非ヒト霊長類はヒトの疾患病態を忠実に再現することができ、前臨床研究において不可欠な実験動物となっている。

Ⅲ. 胚性幹 (ES) 細胞と人工多能性幹 (iPS) 細胞

ヒトを含めた霊長類において、初めてES細胞と呼ばれる細胞が樹立された種はアカゲザル⁶⁾で1995年の事である。樹立されたES細胞は、未分化細胞のマーカであるアルカリフォスファターゼ、SSEA-3 (Stage-specific embryonic antigen 3), SSEA-4, TRA-1-60, そしてTRA-1-81陽性であり、免疫不全マウスに移植することで三胚様全ての細胞へと分化できることが証明された。しかしながらこの時点で、樹立されたES細胞はES細胞ではなくES“様”細胞という認識が一般的であった。なぜなら、マウスES細胞には前述した3つの定義があり、アカゲザルES細胞は最も重要と言われる生殖系列細胞に寄与できるキメラ形成能を証明できていなかったためである。翌年、マーモセットにおいてもES細胞の樹立が報告された⁷⁾が、やはりキメラ形成能を証明できずES様細胞という認識であった。そして1998年、iPS細胞作出への契機にもなったヒトES細胞の樹立が報告された⁸⁾。ここで報告されたヒトES細胞も、これまでに報告されたアカゲザルやマーモセットのES様細胞と同様に扁平で増殖も比較的遅く、マウスのそれとは異なるものであった。しかし、ヒトにおいてキメラ形成能を証明する術はなく、キメラ形成能を除く2つの定義を満たしているということでES細胞として認知された。その後、カニクイザルにおいてもES細胞は樹立された⁹⁾が、現在に至るまで生殖系列に寄与できるキメラ形成能を持った霊長類ES細胞は報告されていない。一方、2007年にマウスと霊長類のES細胞の違いを示唆する論文が発表され、霊長類ES細胞はマウスES細胞に比べ分化の進んだキメラ形成能を持たない、いわゆるエピステム型のES細胞であると結論付けられた^{10,11)}。いずれにせよ霊長類ES細胞も三胚様全ての細胞へと分化できることから、再生医療への応用が期待された。

ES細胞を再生医療に応用するにあたり、解決しなければならないハードルの一つに生命倫理の問題があった。ES細胞は受精卵から作出されるため、生命の萌芽を破壊するという点である。この点を解決したのが2006年にマウスで報告されたiPS細胞¹²⁾である。ES細胞で発現している複数の遺伝子を体細胞へ導入することでES細胞と同様の細胞を樹立することに成功し、この翌年、ヒトにおいてもiPS細胞が樹立された^{13,14)}。非ヒト霊長類においては2008年にアカゲザル¹⁵⁾で、2010年に著者らの報告も含めマーモセット^{16,17)}でiPS細胞の樹立が発表された。著者らはマウスで用いられた4つの遺伝子 (Oct-3/4, Sox2, Klf4, およびc-Myc) に加えLin28遺伝子を導入することでマーモセットiPS細胞の樹立に成功し、それらは霊長類ES細胞と同様に未分化細胞のマーカ (アルカリフォスファターゼ, SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60, およびTRA-1-81) を発現していた (図2)。さらに体外培養系において神経への分化誘導にも成功し、次章で述べるトランスジェニック技術を用いたヒト疾患モデルマーモセットと組み合わせることで、前臨床研究の実験系構築の可能性が広がった。

2014年9月、世界初のヒトiPS細胞の臨床応用が実施された¹⁸⁾。眼科疾患の一つである滲出型加齢黄斑変性を対象に患者iPS細胞由来網膜色素上皮シートを移植した臨床研究であり、今後、iPS細胞の再生医療への応用が増加するのは間違いない。サリドマイド事件のような悲劇を1つでも減らすために、慎重な前臨床研究、特に非ヒト霊長類を用いた前臨床研究は不可欠であろう。

Ⅳ. トランスジェニック技術

非ヒト霊長類におけるトランスジェニック技術の幕開けは、2001年のChang *et al.*による報告であった¹⁹⁾。この報告では、アカゲザルの成熟卵子にウィルスを介しGFP遺伝子を導入しており、3頭の産仔の獲得に成功している。しかしながら、GFP遺伝子がDNAおよびRNAレベルで検出できたという結果にとどまり、導入遺伝子の生殖系列細胞への寄与も確認できず、未完成と言わざるを得ない結果であった。そして2008年、マイルストーンと言える報告がYang *et al.*により発表されたハンチントン病モデルのトランスジェニックアカゲザルの作出である²⁰⁾。この報告ではハンチントン病原因遺伝子をウィルスを介して受精卵へと導入し個体を得る事に

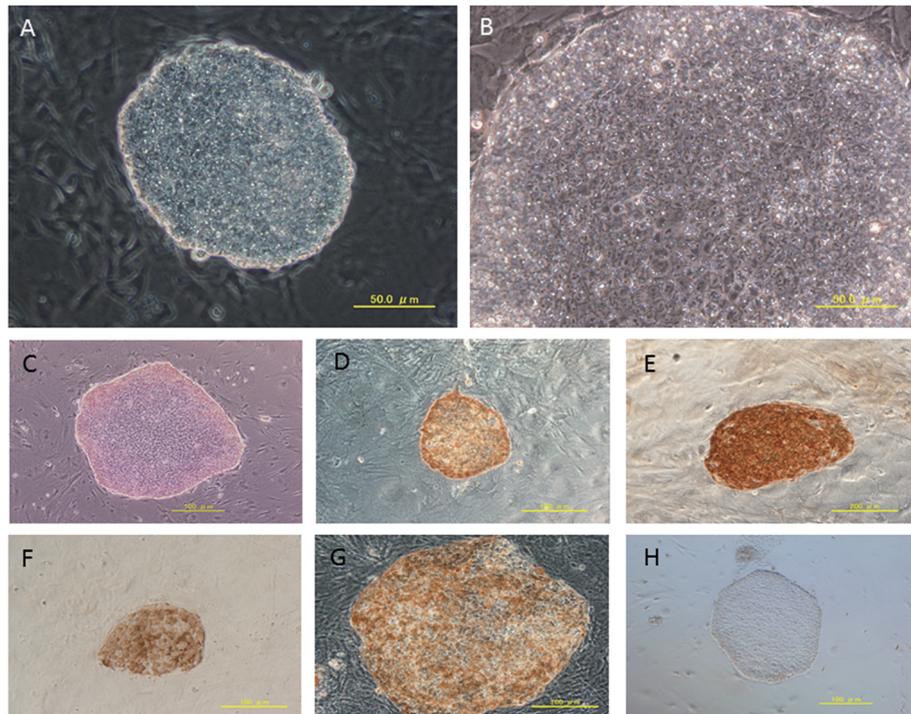


図2 マーモセット iPS 細胞と未分化細胞マーカーの検出

マーモセット iPS 細胞 (A) とその拡大像 (B)。マーモセット iPS 細胞はアルカリフォスファターゼ活性陽性 (C), SSEA-3陽性 (D), SSEA-4陽性 (E), TRA-1-60陽性 (F), および TRA-1-81陽性 (G) であったが, SSEA-1陰性 (H) であった。(Tomioka *et al.* 2010¹⁶⁾ Figure 1を一部修正して引用)

成功しており, 驚くべきことに得られた産仔は神経症状を発症し, 病理解析の結果, ヒト病理像を再現していることが分かった。発症動物は生後間もなく劇性症状から死亡し次世代を得ることはできなかったが, ヒトの疾患を再現した世界初のトランスジェニック非ヒト霊長類として注目された。一方, トランスジェニック非ヒト霊長類において初めて次世代の獲得に成功した報告が2009年のマーモセットである²¹⁾。GFP 遺伝子をウィルスを介し受精卵へと導入し, ファウンダーとなるトランスジェニック動物の作出に成功した。さらに, 生殖補助技術を用いファウンダーマーモセットの配偶子と野生型の配偶子を体外受精させることで次世代のトランスジェニック動物を作出することに成功し, GFP 遺伝子が伝播し機能していることが確認された。この研究ではファウンダー個体の誕生から次世代の獲得に至るまでおよそ2年弱であった。一方で, 前述のハンチントン病モデルアカゲザルの中には発症しなかったトランスジェニック個体が存在し, その個体から次世代の作出が報告されたのが7年後の2015年であった²²⁾ことから, トランスジェニック個体を系統化するという点ではマーモセットに大きなメリットがあると言える。

超高齢化社会に入った現在, アルツハイマー病など神経変性疾患の克服は喫緊の課題であり, ヒトの疾患病態を忠実に再現できる非ヒト霊長類モデルの開発が熱望されている。これまでに非ヒト霊長類において系統化されたヒト疾患モデルは存在しないが, ごく最近, 著者らはトランスジェニック技術を用いて神経変性疾患の1種であるポリグルタミン病モデルマーモセットの作出に成功した (投稿中)。得られた動物は正常に発育した後, 緩徐行性の神経症状を発症し, さらに配偶子に導入遺伝子が伝播していることが分かった。系統化に成功すれば, 神経症状を発症する前から検出可能な疾患バイオマーカーの開発や創薬研究に用いることができ, 革新的な医療技術の開発に繋がる可能性がある。

V. 標的遺伝子改変技術

これまで標的遺伝子改変技術は, キメラ形成能を持つ ES 細胞が存在しない動物種にとっては非常に困難なものであった。しかし, ZFN (Zinc Finger Nuclease) や TALEN (transcription activator-like effector nuclease)^{23,24)}といった人工ヌクレアーゼを用いた標的遺伝子改変技術に続き, 2013年に

は革新的と言える CRISPR/Cas システムを用いた標的遺伝子改変技術が開発された^{25,26)}。これらの技術は受精卵に直接適用することができるため、ES細胞が存在しない種でも標的遺伝子改変動物の作出が可能となり、非ヒト霊長類においても標的遺伝子改変個体の作出が2014年から相次いでいる^{27,28)}。特に CRISPR/Cas システムは、ZFN や TALEN のように標的遺伝子に結合するタンパクを必要とせず、標的遺伝子の相同配列を持つ短鎖 RNA (ガイド RNA) を作製するだけでよいため、極めて簡便に標的遺伝子改変をおこなえるようになった。その結果、CRISPR/Cas システムを用いて標的遺伝子改変した非ヒト霊長類は2014年の報告²⁹⁾を皮切りに、2015年には既に3報報告された³⁰⁻³²⁾。従来のトランスジェニック技術では導入遺伝子の数や発現量をコントロールできず、ヒト疾患モデルとしては限界があったが、標的遺伝子改変技術は疾患本来の遺伝子の欠損や変異を挿入できるため、より忠実に疾患病態を再現したモデル動物の作出が可能である。現在も CRISPR/Cas システムなど標的遺伝子改変技術の改良は続けられており、今後、さらに多くの標的遺伝子改変した非ヒト霊長類が作出されることは間違いない。

VI. 結 論

マウスに遅れること約30年、初めてトランスジェニック個体が作出された非ヒト霊長類は、標的遺伝子改変まで可能となった。発生工学の発展は日進月歩であり、非ヒト霊長類においても自由に遺伝子編集できる日は近い。そうなれば、難病と言われている多くの疾患について忠実にヒトの疾患病態を再現したモデル動物を作出でき、革新的な治療法が開発されることが期待できる。特に神経変性疾患について、超高齢化社会へと突入した日本では患者数が着実に増加しており、その克服が国をあげての課題となっている。また、複雑化する社会の中で罹患者が急激に増加している精神疾患も、特定遺伝子の変異や欠損が原因であることが分かってきた。これらの人類特有ともいえる疾患に関しては、長寿命かつ高度な脳機能を有する非ヒト霊長類を用いた疾患モデルが必要不可欠である。優れたモデル動物はトランスレーショナルリサーチを支える柱となり、今後の医学の発展に大きく貢献するだろう。

VII. 謝 辞

本稿における著者の研究の一部は、(独)日本学術振興会科学研究費補助金・若手研究(B)(26870884)、厚生労働科学研究委託費・創薬基盤推進研究事業(26-005)、精神・神経疾患研究開発費(23-9)、および武田医学研究助成の一環としておこなわれた。研究を遂行するにあたりご助力頂いた国立精神・神経医療研究センター神経研究所の関和彦博士ならびに永井義隆博士、慶応義塾大学の佐々木えりか博士ならびに岡野栄之博士に深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Jaenisch R. Germ line integration and Mendelian transmission of the exogenous Moloney leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 1260-4.
- 2) Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 7380-4.
- 3) Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-6.
- 4) Cyranoski D. Marmosets are stars of Japan's ambitious brain project. *Nature* 2014; 514: 151-2.
- 5) Poswilllo DE, Hamilton WJ, Sopher D. The marmoset as an animal model for teratological research. *Nature* 1972; 239: 460-2.
- 6) Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Becker RA, Hearn JP. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7844-8.
- 7) Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Hearn JP. Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts. *Biol Reprod* 1996; 55: 254-9.
- 8) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
- 9) Suemori H, Tada T, Torii R, Hosoi Y, Kobayashi K, Imahie H, Kondo Y, Iritani A, Nakatsuji N. Establishment of embryonic stem cell lines

- from cynomolgus monkey blastocysts produced by IVF or ICSI. *Dev Dynam* 2001 ; 222 : 273-9.
- 10) Brons IG, Smithers LE, Trotter MW, Rugg-Gunn P, Sun B, Chuva de Sousa Lopes SM, Howlett SK, Clarkson A, Ahrlund-Richter L, Pedersen RA, et al. Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature* 2007 ; 448 : 191-5.
 - 11) Tesar PJ, Chenoweth JG, Brook FA, Davies TJ, Evans EP, Mack DL, Gardner RL, McKay RD. New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature* 2007 ; 448 : 196-9.
 - 12) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006 ; 126 : 663-76.
 - 13) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007 ; 131 : 861-72.
 - 14) Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007 ; 318 : 1917-20.
 - 15) Liu H, Zhu F, Yong J, Zhang P, Hou P, Li H, Jiang W, Cai J, Liu M, Cui K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts. *Cell Stem Cell* 2008 ; 3 : 587-90.
 - 16) Tomioka I, Maeda T, Shimada H, Kawai K, Okada Y, Igarashi H, Oiwa R, Iwasaki T, Aoki M, Kimura T, et al. Generating induced pluripotent stem cells from common marmoset (*Callithrix jacchus*) fetal liver cells using defined factors, including Lin28. *Genes Cells* 2010 ; 15 : 959-69.
 - 17) Wu YH, Zhang Y, Mishra A, Tardif SD, Hornsby PJ. Generation of induced pluripotent stem cells from newborn marmoset skin fibroblasts. *Stem Cell Res* 2010 ; 4 : 180-8.
 - 18) Kamao H, Mandai M, Okamoto S, Sakai N, Suga A, Sugita S, Kiryu J, Takahashi M. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application. *Stem Cell Reports* 2014 ; 2 : 205-18.
 - 19) Chan AW, Chong KY, Martinovich C, Simerly C, Schatten G. Transgenic monkeys produced by retroviral gene transfer into mature oocytes. *Science* 2001 ; 291 : 309-12.
 - 20) Yang SH, Cheng PH, Banta H, Piotrowska-Nitsche K, Yang JJ, Cheng EC, Snyder B, Larkin K, Liu J, Orkin J, et al. Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. *Nature* 2008 ; 453 : 921-4.
 - 21) Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, Tomioka I, Sotomaru Y, Hirakawa R, Eto T, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 2009 ; 459 : 523-7.
 - 22) Moran S, Chi T, Prucha MS, Ahn KS, Connor-Stroud F, Jean S, Gould K, Chan AW. Germline transmission in transgenic Huntington's disease monkeys. *Theriogenology* 2015 ; 84 : 277-85.
 - 23) Miller JC, Tan S, Qiao G, Barlow KA, Wang J, Xia DF, Meng X, Paschon DE, Leung E, Hinkley SJ, et al. A TALE nuclease architecture for efficient genome editing. *Nat Biotechnol* 2011 ; 29 : 143-8.
 - 24) Zhang F, Cong L, Lodato S, Kosuri S, Church GM, Arlotta P. Efficient construction of sequence-specific TAL effectors for modulating mammalian transcription. *Nat Biotechnol* 2011 ; 29 : 149-53.
 - 25) Cong L, Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science* 2013 ; 339 : 819-23.
 - 26) Mali P, Yang L, Esvelt KM, Aach J, Guell M, DiCarlo JE, Norville JE, Church GM. RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 2013 ; 339 : 823-6.
 - 27) Liu H, Chen Y, Niu Y, Zhang K, Kang Y, Ge W, Liu X, Zhao E, Wang C, Lin S, et al. TALEN-mediated gene mutagenesis in rhesus and cynomolgus monkeys. *Cell Stem Cell* 2014 ; 14 : 323-8.
 - 28) Liu Z, Zhou X, Zhu Y, Chen ZF, Yu B, Wang Y, Zhang CC, Nie YH, Sang X, Cai YJ, et al. Generation of a monkey with MECP2 mutations by TALEN-based gene targeting. *Neurosci Bull* 2014 ; 30 : 381-6.
 - 29) Niu Y, Shen B, Cui Y, Chen Y, Wang J, Wang L, Kang Y, Zhao X, Si W, Li W, et al. Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell* 2014 ; 156 : 836-43.

- 30) Chen Y, Cui Y, Shen B, Niu Y, Zhao X, Wang L, Wang J, Li W, Zhou Q, Ji W, et al. Germline acquisition of Cas9/RNA-mediated gene modifications in monkeys. *Cell Res* 2015 ; 25 : 262-5.
- 31) Chen Y, Zheng Y, Kang Y, Yang W, Niu Y, Guo X, Tu Z, Si C, Wang H, Xing R, et al. Functional disruption of the dystrophin gene in rhesus monkey using CRISPR/Cas9. *Hum Mol Genet* 2015 ; 24 : 3764-74.
- 32) Kang Y, Zheng B, Shen B, Chen Y, Wang L, Wang J, Niu Y, Cui Y, Zhou J, Wang H, et al. CRISPR/Cas9-mediated Dax1 knockout in the monkey recapitulates human AHC-HH. *Hum Mol Genet* 2015.
-

Reproductive Technologies in Non-human primates

Ikuo TOMIOKA

Department of Interdisciplinary Genome Sciences and Cell Metabolism, Institute for Biomedical Science, Interdisciplinary Cluster for Cutting Edge Research, Shinshu University.

Summary

Non-human primates have contributed to medical science as a valuable experimental animal because of their genetic similarities to human. Although many rodent models of human diseases have been produced and contributed to the development of medical science, rodent models have limitations in evaluation of drug efficacy and developing disease biomarkers because of the differences mainly in physiologies and morphologies between humans and rodents. Therefore, production of non-human primate models for human diseases is eagerly anticipated. Recent study shows successful generation of the transgenic non-human primates with pathologies which mimics human patient and the gene modified non-human primates. In future, various kinds of gene modified non-human primates will be produced, and modeling a human disease in non-human primates opens new avenues toward accelerating human disease research.

Key words : Non-human primate, Reproductive technology, Experimental Animal, Transgenic, Gene targeting