

【総説】

老化研究におけるコモンマーモセットの可能性

佐々木 えりか

公益財団法人 実験動物中央研究所 マーモセット研究部

要約

霊長類の実験動物は、様々な疾患に対する新規治療法、新薬開発における前臨床研究モデルとして用いられている。なかでもコモンマーモセットは小型の霊長類で、ヒトに似た生物学的、行動学的特徴を持ちつつ、高い繁殖力、扱いやすさなど実験動物に適した特徴をもつユニークな動物である。コモンマーモセットの疾患モデルは、薬物誘導性、外科的手法、遺伝子改変などにより作製することが可能であり、げっ歯類ではヒトの病態を再現する事が困難な精神・神経疾患研究のモデルとして良く用いられている。近年は、iPS細胞を用いた再生医療の前臨床にも用いられるようになってきている。そこで本稿では、コモンマーモセットのモデルとしての特徴とこれまでに開発されてきたコモンマーモセットの疾患モデル動物作製法などを紹介しつつ基礎老化研究におけるモデルとしての今後可能性について考察する。

1. はじめに

霊長類のモデル動物は、遺伝的、生理学的、解剖学的にヒトに近い基礎研究のみならず、新薬、新規治療法開発における有効性・安全性を検証する前臨床研究に用いられている。霊長類のモデル動物としては、アカゲザル、カニクイザル、コモンマーモセット (*Callithrix jacchus*:以下マーモセット) などがある。霊長類は、真猿類と原猿類に分類され、更に真猿類は、旧世界ザル、新世界ザルに分類される。新世界ザルは、約2600～2700万年前に旧世界ザルから分岐し、亜熱帯環境に適応した結果、旧世界ザルのマカク属とは異なる様々な生物学的特徴を持つようになったと考えられている[1]。また、旧世界ザルは、約2300万年前に、オナガザル上科とヒト上科に分岐した。現在世界的に、ヒト上科の霊長類は、侵襲的な医学研究には使用しない方向に進んでいる(図1)。本稿では、我々がモデル動物としての開発を行なっているマーモセットについて紹介する。

2. マーモセットの生物学的特徴と実験動物としての有用性

マーモセットは、体長(頭胴長)約20cm、体重が約350g～500gとラット程度の体の大きさで、耳の周りに白い毛ブサを持ち、尻尾は縞模様で約25cmと頭胴長よりも長いという特徴を持つ(図2)。またマーモセットのオスとメスは体格や外貌にはほぼ違いは認められない。

マーモセットの原産地はブラジル北東沿海部であるが、マーモセットは好奇心が強く、環境適応力が高いため、近年はペットとして飼育されていたマーモセットが逃げたり、捨てられたりして野生環境下で繁殖しブラジル南部まで生息域が広がっている。欧米では、霊長類を用いた動物実験が困難であると考えられているが、実際には霊長類以外に代替できない研究では霊長類の実験動物の使用が認められている。実際に実験動物としてのマーモセットのコロニーは、イギリス、ドイツ、オランダ、スイス、フランス、アメリカなどの欧米諸国に存在している。PubMedで“marmoset”と検索すると1919年に最初の論文が発表されているが、その筆者は野口英世先生で、黄熱病の病原体と誤認されていたレプトスピラ菌の感染実験の報告である[2]。ただし実際に用いられているのは、ノドジロオマキザルというサルである。マーモセットが実験動物として本格的に使用されるようになるのは1960年代になってからである。我が国では、1980年代に英国からマーモセットを輸入し、現在国内で入手可能なマーモセットの大部分はこれらのマーモ

連絡先：佐々木えりか 〒210-0821

神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12

TEL：044-201-8545

FAX：044-201-8541

E-mail：esasaki@ciea.or.jp

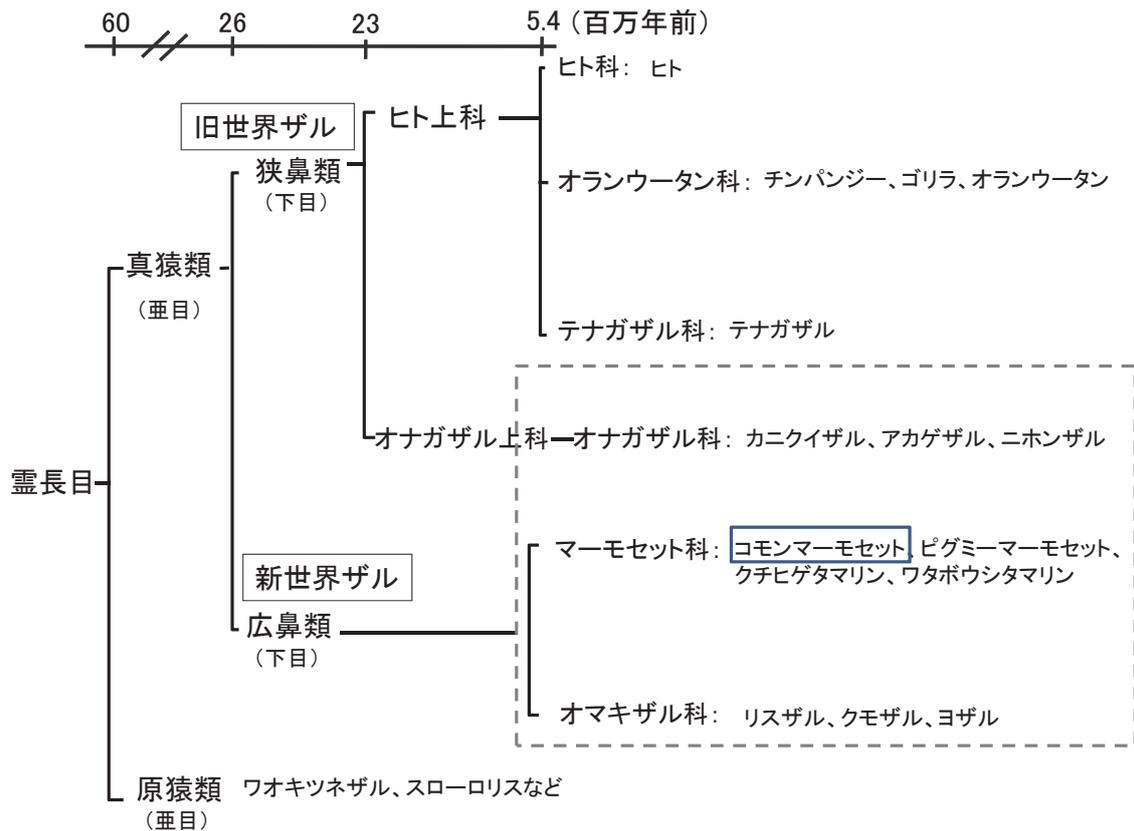


図 1



図 2

セツの子孫である。

マーマセツトは小型であるため飼育や実験での取扱いが比較的容易であるが、その一方で小型のためマーマセツトの推定全血量は 21 ml しかなく、反復採血が必要となる薬動態試験や毒物動態学試験に向かないとされてきた。また、これまで小動物用の手術道具や研究用デバイスが少なく、多様な疾病のモデルを作製し、その解析を行なうというニーズに充分対応できていなかった。しかしながら近年マウスでも、できるだけ非侵襲的の手法を用いた動物実験を行なう事が推奨されるようになり、小動物用の様々な手術道具、研究用デバイスが開発され、これらをマーマセツトにも流用可能となってきた。また少量の血液での生化学血清検査も可能となり、マーマセツトでも薬動態試験や毒物動態学試験も可能となっている。実際に、欧州では世界 2 位、3 位の大手製薬会社

がマーマセツトを用いた安全性試験で承認された医薬品が複数存在する。

更に近年では、マーマセツトが小型であることが逆にメリットとなる場合もある。胚性幹 (ES) 細胞、人工多能性幹 (iPS) 細胞を用いた再生医療の開発では、臨床研究開始前にげっ歯類および非げっ歯類を用いた有効性・安全性を検証する前臨床研究が必要となるが、大量の分化細胞を準備することが困難である場合が多い。膝蓋移植を例にすると、マーマセツトであればマウスに必要な移植細胞数の約 15 倍、マカクザルの場合には約 600 倍必要であると言われている。マウスに必要な移植細胞数の約 15 倍であれば、大量培養用の機材を準備しなくても ES 細胞・iPS 細胞から分化誘導した膝蓋を準備することは可能な範囲内であろう。同様に新薬開発においても、少量の薬物で有効性・安全性の検証が可能である。

マーマセツトは、他の霊長類と比較すると高い繁殖効率を持つことが知られている。マーマセツトは、通年繁殖であり、メスの性周期は、約 28 日である。表 1 に示すように、オスは約生後 1 年、メスは約 1 年半で性成熟に達し (マカクザルは 3 ~ 5 年)、妊娠期間は約 145 日である。マーマセツトは通常、双仔、三つ仔を出産し、出産後約 2 週間で次の妊娠が成立し、年に 2 回出生するため、一頭のメスから年間 4 ~ 6 頭の新生仔が得られる。この性成熟の早さ、産仔数の多さは、実験動物として安定供給を実現するために重要であると共に、遺伝子改変モデル作製に適した特徴でもある。マーマセツトでは月経出血は認められず、したがって閉経もないため生涯を

表1 マウス、マーモセット、マカクザルにおける繁殖学的特徴の比較

動物種	マウス	マーモセット	マカクザル
性成熟	8週	1年	3~4年
産仔数/回	6~8匹	2~3匹	1頭
妊娠期間	20日	145~148日	175~180日
分娩間隔	20~28日	154~157日	約550日
年間産仔数	36~48匹	4~6匹	<1匹
生涯分娩回数	5~6産	20~30産	10~12産
生涯産仔数(概算)	36~48匹	40~80匹	10~12匹

通じて妊娠、出産が可能である。国内でマーモセットを販売している日本クレア株式会社では、16.8歳で34回の出産で合計72頭の新生仔を産んだという記録がある[3]。この高い繁殖能力により、マーモセットは霊長類でありながら実験群およびコントロール群それぞれに性別・年齢・体重を揃えた個体を複数等用いた実験を反復して行うことが比較的容易となっている。また同腹仔は、子宮内で胎盤が融合し臍帯を通して血液（おそらく造血幹細胞）が交換されるため血液キメラとなり、この血球は、ほぼ一生同腹仔の体内で産生されるため、同腹仔同士は組織移植が可能である[4,5]。

マーモセットはラット程度の大きさであるが、脳はラットの3~4倍の体積があり、前頭前野、運動野および運動前野が発達している。更にマウスでは認められない弓状束、鉤状束、下縦束、上縦束、下前頭後頭束などの連合繊維が存在するなどヒトの脳と共通の構造、機能を多く兼ね備えており、行動学的にもマカクザルよりもヒトに似ている点が多くあり、脳科学研究のモデルとしての利用が最も多い[6-9]。また前述したように小型のマーモセットは、多能性幹細胞を用いた再生医療の前臨床研究に適しているため、糖尿病、緑内障、肝障害などの疾病研究にも用いられている。

3. 解析ツールの開発状況

動物実験は、モデル動物の生理学的状態を解析するための解析ツールが欠かせない。

特に近年はモデルの解析、モデル動物の作製には、ゲノム情報が必須であるが、米国の Washington University St. Louis School of Medicine Genome Sequencing Center から報告されたマーモセットのゲノム情報に加え、残されていた未読の部分について我々の研究チームがマーモセットゲノム情報のアップデートとして報告した[10,11]。また主要臓器の完全長 cDNA ライブラリーが作製されており、17,232 contig に対応する約 247,000 クローンの EST クローンが理化学研究所バイオリソースセンターより提供されている[12]。さらに、マーモセットの薬物代謝の特徴を明かにするためシトクローム P450 の解析も進んでおり、薬理学研究における有用性の開発も進められている[13]。

マーモセットの細胞表面抗原はヒトの抗体に交差す

るものが多く、市販のヒト細胞膜表面抗原に対する抗体との交差性を調べた文献が幾つか発表されている[14-16]。しかしながら、CD34、CD45、c-Kit などヒトの抗体と交差性を示さないマーモセットの細胞表面抗原も存在し、これらに対する抗体の作製も行われている[17,18]。

4. マーモセットを用いた老化研究モデルの可能性

1) マーモセットの老化について

現在、基礎老化研究のモデルとしてのマーモセット有用性は、まだまだ未知数であるが、前述したように比較的発達した脳を持つため、老化に関連する脳神経疾患のモデルとしては、しばしば用いられている。マーモセットの寿命は、飼育条件下で平均7~8年で、長寿の個体では16~21年の生存も報告されるなど、平均寿命は飼育環境にも大きく左右される[3,19-21]。Abbott は、8歳から老齢マーモセットと定義している[22]。これは霊長類の中では比較的、寿命が短い方であり、アカゲザルの寿命は約40年、カニクイザルの寿命は約25年と言われている。しかしながら平均寿命が2年程度のマウスと比べれば、ヒトに似た老化が観察されることが期待される。

実際、米国 New England Primate Center において2004年~2009年に飼育されていた6歳以下のマーモセットの死因は、精神的な外傷、腸炎、敗血症と細菌性感染症が主であるのに対し、6歳以降の死因の主なもの、腫瘍、慢性腎不全、アミロイドーシス、糖尿病であった[21]。また米国の Southwest National Primate Research Center の2002年~2011年の調査では、6才以下のマーモセットの死因は、過敏性大腸炎、アミロイドーシス、壊死性大腸炎であったのに対し、6才以上では、過敏性大腸病、腎炎、心筋症とアミロイド症と報告されている[19]。一方、日本で飼育されているマーモセットでは、慢性腎不全、糖尿病などは認められていないが、飼育条件などの違いによるものと考えられる。

また老齢マーモセットの脳では自然発症的に、脳血管へのアミロイド沈着や β -アミロイドプラークなどが認められるが、神経原繊維変性は認められていない[23,24]。これまでマーモセット脳内に β -アミロイドを含む脳ホモジェネートを注入したアルツハイマーモデル

作製なども試みられているが、やはり神経原繊維変性は認められていない [23-25]。

2) モデル作製について

a) パーキンソン病モデル

老化に関連する疾患の一つとしてパーキンソン病が挙げられるが、パーキンソン病は、ドーパミン産生神経の変性によりドーパミンの産生が減少して、ふるえ、不働、筋硬直、姿勢保持障害、無表情などの症状を呈する疾患である。多くは、弧発性であるが、家族性のものもあり、多くの原因遺伝子も特定されている。マウスでは、様々な遺伝子改変によるパーキンソン病モデルが作製されており、パーキンソン病様の運動機能障害は認められているが、ドーパミン神経の変性は認められていないため、よりヒトに近い霊長類を用いたパーキンソン病モデルが求められている [26]。マーモセットでは、6-hydroxydopamine (6-OHDA) もしくは 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine (MPTP) を投与する薬剤誘導モデルが作製されており、薬効試験などに用いられている。いずれの方法も、自発運動の低下（無動の指標）、振戦などパーキンソン病の特徴的な症候が認められる。6-OHDA は、活性酸素の産生により 6-OHDA が自己酸化することにより神経変性が生じると考えられている。一方、1980 年代にドーパミン神経毒として発見された MPTP は、血液脳関門を通過してモノアミン酸化酵素 B によって 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+) へ酸化され、ドーパミントランスポータを介して黒質線条体のドーパミン神経へ取り込まれ、ミトコンドリア電子伝達系酵素複合体 I の活性が阻害されることにより、ATP 産生能が低下して神経細胞死が生じると考えられている [27, 28]。6-OHDA によるモデル作製は定位脳手術が必要なのにに対し、MPTP は腹腔内、皮下投与などでモデルの作製が可能である [26, 29]。Hikishima らは、MPTP 投与によるマーモセットパーキンソン病モデルは、多数のマーモセット脳の MRI 画像から作製された標準脳とモデルマーモセットの脳画像を比較することによって、黒質の体積が減少していることを示した [30]。近年、パーキンソン病患者でも同様の検査を行っており、今後 MPTP モデルを用いた前臨床研究に有用な技術と期待される。

これらの薬物誘導性モデルは、パーキンソン様の症候の再現に有用であるが、薬物誘導によって急激にドーパミン神経を変性させてしまうため、パーキンソン病の患者で認められるゆっくりとした病態の進行、パーキンソン病の発症原因と考えられているレヴィ小体の形成などについては再現されない。そこで Kirik らは、変異遺伝子が家族性パーキンソン病の原因遺伝子の一つとなる α -synuclein 遺伝子を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを用いて、マーモセットの脳の黒質における α -synuclein の片側性の過剰発現モデルを作製した。その結果、野生型遺伝子および変異遺伝子のいずれもウイルスベクターの注入が行われた半脳の黒質緻密部のドー

パミン神経細胞内の α -synuclein の封入体の形成と細胞数減少および線条体のドーパミン神経繊維の減少が示された。また運動機能障害は、ウイルスベクター投与後の 6 週間後から認められ 16 週間続き、MPTP 投与モデルよりも症候の発症が遅いこと、 α -synuclein の封入体が認められたことからパーキンソン病患者の運動機能障害を発症する前の症候に近いことが示唆されている。

一方、人為的に作製したモデルではないが、Kobayashi らは、6 歳のマーモセットの嗅球において、 α -synuclein の凝集体が形成されていることを見いだした [31]。近年ヒトのパーキンソン病の超初期では嗅球が障害され嗅覚障害が報告されており、マーモセットでも同様の加齢による変化を示唆しているのではないかと考察している。

b) 遺伝子改変モデル

2009 年に我々の研究グループは、マーモセットの受精卵にレンチウイルスベクターを用いて GFP 遺伝子を導入し、GFP の発現が認められた胚のみを仮親の子宮に移植することで 5 頭の遺伝子改変マーモセット産仔を得、更に 5 頭中 4 頭が様々な体細胞で GFP が発現すること、次世代の個体にも導入遺伝子が伝達し、機能することを示した [32]。また、同様に CMV プロモータもしくはシナプシンプロモータの下流に、緑色蛍光タンパク (EGFP)、カルモジュリン (CaM)、ミオシン軽鎖フラグメント (M13) を遺伝子工学的に結合させたカルシウムインジケータである GCaMP を連結したレンチウイルスベクター導入したトランスジェニックマーモセットの作製も報告されている [33]。GCaMP は細胞内のカルシウム濃度の変化を可視化するタンパク質であり、このマーモセット生体内の神経細胞の活動を 2 光子顕微鏡で観察可能にするもので、脳の高次機能を構築している神経回路を理解するために有用であると期待されている。このレンチウイルスベクターによるトランスジェニックマーモセット作製法は、安定して作出効率が高いこと、安定して導入遺伝子が伝達することから、今後、老化研究に有用なモデル作出にも貢献できると考える。

遺伝子改変マウスモデルでは、標的遺伝子ノックアウト・ノックインモデルが多く用いられている。標的遺伝子ノックアウト・ノックインモデルの作製には、ホストの胚盤胞期の受精卵に注入するとホスト胚と生殖系キメラ形成する能力を持つ ES 細胞もしくは iPS 細胞（以下、両者を併せて多能性幹細胞と略す）胞が必要となる [34]。しかしながらマウス、ラット以外の動物種では、キメラ形成能を持つ多能性幹細胞は樹立されていない。このキメラ形成能を持つ多能性幹細胞は、naïve 型多能性幹細胞と呼ばれている。マーモセットにおいても ES 細胞、iPS 細胞のいずれも樹立が複数報告されている [35-40]。しかしながらこれらの多能性幹細胞は、キメラ形成能を持たない。その理由としてキメラ形成能を持つマウス ES 細胞は、着床前の胚盤葉上層細胞と同様の性質を持つが、マウス、ラット以外の動物種の多能性幹細胞は、着床後の胚盤葉上層細胞と類似の性質を持つため、着床

前の胚盤葉上層細胞に生着できずにキメラとならないと考えられている。実際にマウスの着床後胚から胚盤葉上層細胞由来の幹細胞 (EpiSC) を樹立すると、3 胚葉へ分化する能力はもつもののキメラ形成能を持たないことが報告されている [41-43]。実際この EpiSC の細胞学的性質である未分化維持に必要な FGF シグナルや単一細胞への乖離に耐性がないこと、X 染色体の不活化などは、マーモセットのみならずヒトの多能性幹細胞とよく似ている [44, 45]。現在、多くの幹細胞研究者がヒトを含む霊長類の naïve 型の多能性幹細胞の樹立に向けて研究を行っているが、実際に生殖系キメラ形成能を持ち、マウスのように標的遺伝子ノックアウト・ノックインモデルの作製が可能な多能性幹細胞はまだ樹立されていない。そのため、トランスジェニックマーモセット作製法は確立されたものの標的遺伝子ノックアウト・ノックインモデルの作製は作製できていなかった。

このような状況を打開したのがゲノム編集技術である。ゲノム編集によるモデル動物作製では、受精卵の遺伝子を直接破壊することにより、キメラマウスのように次世代の子孫を得なくても、第 1 世代の個体で標的遺伝子ノックアウトの解析が可能というメリットがある。一方で、2 細胞期以降の受精卵でゲノム編集がなされると、ノックアウトされた標的遺伝子と野生型の遺伝子の混在 (モザイク状態) により、目的の表現型を示さなくなる可能性もある。実際、2014 年に、カニクイザルやアカゲサルの受精卵にゲノム編集を行った標的遺伝子ノックアウトサルの作製が報告されているが、これらのサルはモザイク状態であるため目的の表現型が示されていない [46, 47]。霊長類の場合、繁殖効率が良いマーモセットでも次世代を得るためには、性成熟までの期間と妊娠期間を含めて約 2 年半かかるため、始祖世代でモザイクを回避して表現型を呈する個体を得ることが重要である。そこで我々は、マーモセットの受精卵をゲノム編集することで標的遺伝子ノックアウトマーモセットの作製が可能か、さらにモザイク状態となるかどうかを検証するシステムを確立した。

具体的には、インターロイキン 2 受容体共通 γ 鎖 (IL-2rg) 遺伝子を標的とした人工ヌクレアーゼ HiFi-Zinc Finger Nuclease (HiFi-ZFN)、eHiFi-ZFN および platinum Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALEN) を受精卵に注入し、8 細胞期程度まで培養して各割球に分離した後、割球毎にゲノム改変の有無および改変遺伝子の配列解析を行うことにより、個々の受精卵内のモザイク率を明らかにする方法である。この方法によって目的遺伝子である IL2 受容体共通 γ 鎖遺伝子をノックアウトし、免疫不全マーモセットを得る事に成功した [48]。この方法は Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats / CRISPR-associated 9 (CRISPR/Cas9) にも応用可能である。

おわりに

マーモセットモデルの基礎老化研究への有用性は、まだまだ未知数な点が多いが、薬物誘導性、外科的手法などのモデル作製法に加え、遺伝子改変モデルの作製も可能となっており、工夫次第で老化研究モデルとして新たな展開が期待される。現在、マーモセット脳的全容解明を目指す「革新的技術による霊長類の神経回路機能全容解明プロジェクト」において、マーモセットの各発達段階の構造マップおよび機能マップの作製が行なわれており、脳の老化研究を行なう上での基盤となるであろう。新規ユーザーがいきなりマーモセット個体を扱うことはハードルが高いかもしれないが、現在、国内の様々なマーモセット研究ネットワークを通じて、組織サンプル、培養細胞、cDNA クローンなどが入手可能なので、是非、利用していただきたい。

引用文献

1. Mansfield, K., Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 53: 383-92, 2003.
2. Noguchi, H., Etiology of Yellow Fever : Iii. Symptomatology and Pathological Findings in Animals Experimentally Infected. *J Exp Med* 29: 585-96, 1919.
3. Nishijima, K., et al., Life span of common marmoset (*Callithrix jacchus*) at CLEA Japan breeding colony. *Biogerontology* 13: 439-43, 2012.
4. Yaguchi, M., et al., Transplantation of dendritic cells promotes functional recovery from spinal cord injury in common marmoset. *Neurosci Res* 2009.
5. Picus, J., W.R. Aldrich, and N.L. Letvin, A naturally occurring bone-marrow-chimeric primate. I. Integrity of its immune system. *Transplantation* 39: 297-303, 1985.
6. Mitchell, J.F. and D.A. Leopold, The marmoset monkey as a model for visual neuroscience. *Neurosci Res* 93: 20-46, 2015.
7. Chaplin, T.A., et al., A conserved pattern of differential expansion of cortical areas in simian primates. *J Neurosci* 33: 15120-5, 2013.
8. Bendor, D. and X. Wang, The neuronal representation of pitch in primate auditory cortex. *Nature* 436: 1161-5, 2005.
9. Robbins, T.W. and A.C. Roberts, Differential regulation of fronto-executive function by the monoamines and acetylcholine. *Cereb Cortex* 17 Suppl 1: i151-60, 2007.
10. Sato, K., et al., Resequencing of the common marmoset genome improves genome assemblies and gene-coding sequence analysis. *Sci Rep* 5: 16894, 2015.
11. Consortium, M.G.S.a.A., The common marmoset genome provides insight into primate biology and

- evolution. *Nat Genet* 46: 850-7, 2014.
12. Tatsumoto, S., et al., Development and Characterization of cDNA Resources for the Common Marmoset: One of the Experimental Primate Models. *DNA Research* 20: 255-262, 2013.
 13. Uno, Y., S. Uehara, and H. Yamazaki, Utility of non-human primates in drug development: Comparison of non-human primate and human drug-metabolizing cytochrome P450 enzymes. *Biochemical Pharmacology* In Press 2016.
 14. Brok, H.P., et al., An extensive monoclonal antibody panel for the phenotyping of leukocyte subsets in the common marmoset and the cotton-top tamarin. *Cytometry* 45: 294-303, 2001.
 15. Neubert, R., et al., Cross-reactivity of antihuman monoclonal antibodies with cell surface receptors in the common marmoset. *Life Sci* 58: 317-24, 1996.
 16. Riecke, K., et al., Cross-reactivity of antibodies on thymic epithelial cells from humans and marmosets by flow-cytometry. *J Med Primatol* 29: 343-9, 2000.
 17. Izawa, K., et al., Hematopoietic activity of common marmoset CD34 cells isolated by a novel monoclonal antibody MA24. *Exp Hematol* 32: 843-51, 2004.
 18. Kametani, Y., et al., Development of monoclonal antibodies for analyzing immune and hematopoietic systems of common marmoset. *Exp Hematol* 37: 1318-1329, 2009.
 19. Ross, C.N., et al., Aging Phenotypes of Common Marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Aging Res* 2012: 567143, 2012.
 20. Salmon, A.B., Moving toward 'common' use of the marmoset as a non-human primate aging model. *Pathobiol Aging Age Relat Dis* 6: 32758, 2016.
 21. Tardif, S.D., et al., The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR J* 52: 54-65, 2011.
 22. Abbott, D.H., et al., Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. *Comp Med* 53: 339-50, 2003.
 23. Maclean, C.J., et al., Naturally occurring and experimentally induced beta-amyloid deposits in the brains of marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Neural Transm (Vienna)* 107: 799-814, 2000.
 24. Palazzi, X., R. Switzer, and C. George, Natural occurrence of amyloid-Abeta deposits in the brain of young common marmosets (*Callithrix jacchus*): a morphological and immunohistochemical evaluation. *Vet Pathol* 43: 777-9, 2006.
 25. Baker, H.F., et al., Experimental induction of beta-amyloid plaques and cerebral angiopathy in primates. *Ann N Y Acad Sci* 695: 228-31, 1993.
 26. Eslamboli, A., Marmoset monkey models of Parkinson's disease: which model, when and why? *Brain Res Bull* 68: 140-9, 2005.
 27. Davis, G.C., et al., Chronic Parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Res* 1: 249-54, 1979.
 28. Langston, J.W., et al., Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219: 979-80, 1983.
 29. Yun, J.W., J.B. Ahn, and B.C. Kang, Modeling Parkinson's disease in the common marmoset (*Callithrix jacchus*): overview of models, methods, and animal care. *Lab Anim Res* 31: 155-65, 2015.
 30. Hikishima, K., et al., Voxel-based morphometry of the marmoset brain: In vivo detection of volume loss in the substantia nigra of the MPTP-treated Parkinson's disease model. *Neuroscience* 300: 585-92, 2015.
 31. Kobayashi, R., et al., alpha-Synuclein aggregation in the olfactory bulb of middle-aged common marmoset. *Neurosci Res* 106: 55-61, 2016.
 32. Sasaki, E., et al., Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 459: 523-7, 2009.
 33. Park, J.E., et al., Generation of transgenic marmosets expressing genetically encoded calcium indicators. *Sci Rep* 6: 34931, 2016.
 34. Zijlstra, M., et al., Germ-line transmission of a disrupted beta 2-microglobulin gene produced by homologous recombination in embryonic stem cells. *Nature* 342: 435-8, 1989.
 35. Debowski, K., et al., Non-viral generation of marmoset monkey iPS cells by a six-factor-in-one-vector approach. *PLoS One* 10: e0118424, 2015.
 36. Muller, T., et al., A novel embryonic stem cell line derived from the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) exhibiting germ cell-like characteristics. *Human Reproduction* 24: 1359-1372, 2009.
 37. Hanazawa, K., et al., Minimally invasive transabdominal collection of preimplantation embryos from the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Theriogenology* 78: 811-816, 2012.
 38. Sasaki, E., et al., Establishment of novel embryonic stem cell lines derived from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Stem Cells* 23: 1304-13, 2005.
 39. Tomioka, I., et al., Generating induced pluripotent stem cells from common marmoset (*Callithrix jacchus*) fetal liver cells using defined factors, including Lin28. *Genes Cells* 15: 959-69, 2010.
 40. Thomson, J.A., et al., Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts. *Biol Reprod* 55: 254-9, 1996.

41. Tesar, P.J., et al., New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature* 448: 196-9, 2007.
42. Brons, I.G., et al., Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature* 448: 191-5, 2007.
43. Guo, G., et al., Klf4 reverts developmentally programmed restriction of ground state pluripotency. *Development* 136: 1063-9, 2009.
44. Rossant, J., Stem cells and early lineage development. *Cell* 132: 527-31, 2008.
45. Nichols, J. and A. Smith, Naive and primed pluripotent states. *Cell Stem Cell* 4: 487-92, 2009.
46. Liu, H., et al., TALEN-mediated gene mutagenesis in rhesus and cynomolgus monkeys. *Cell Stem Cell* 14: 323-8, 2014.
47. Niu, Y., et al., Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell* 156: 836-43, 2014.
48. Sato, K., et al., Generation of a Nonhuman Primate Model of Severe Combined Immunodeficiency Using Highly Efficient Genome Editing. *Cell Stem Cell* 19: 127-38, 2016.

Marmoset, disease model, genetic modification,

Erika Sasaki

Central Institute for Experimental Animals Department of Marmoset Research

Abstract

Non-human primates offer excellent, precise preclinical study systems for assessing the safety and efficacy of new therapies and drugs. The common marmoset (*Callithrix jacchus*) is a useful experimental animal in biomedical research because of its similarity to humans, high reproductive efficiency, and easy handling. Currently, to produce disease model common marmosets, drug inducible, surgical methods and genetically modified models are available for not only brain and neuronal disease but also in regenerative medicine using iPS cells. In this chapter, biological features of the common marmoset and several established disease models using marmosets will be introduced to consider as a new model for biomedical gerontology.