

北関東医学会奨励賞

ウイルスベクターによる生体脳への遺伝子導入

篠原洋一郎¹

1 群馬県前橋市昭和町 3-39-15 群馬大学医学部附属病院眼科

文献情報

投稿履歴：

受付 令和元年11月21日

採択 令和元年12月5日

論文別刷請求先：

篠原洋一郎

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-15
群馬大学医学部附属病院眼科

電話：027-220-8342

E-mail: shinohara@gunma-u.ac.jp



はじめに

ウイルスベクターは生体への遺伝子導入のツールとしてきわめて重要である。特にアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは、非病原性であり、非分裂細胞にも高効率に外来遺伝子を発現させることができるため、神経科学分野で多用されている。眼科領域でもレーベル先天盲など遺伝性網膜疾患への治療としてすでに臨床応用されている。本稿では、我々がこれまでに行ってきたウイルスベクターの研究について紹介する。

細胞腫特異的プロモーター

AAV にはパッケージ限界があり、大きな遺伝子の搭載が難しい。サイズの小さいプロモーターがあれば、大きな遺伝子の発現が可能であるが、一般的に細胞腫特異的プロモーターはサイズが大きい。我々はウイルスベクターを用いてアストロサイト特異的に遺伝子発現するプロモーター (GFAP プロモーター) について解析し、2.0 kb から 0.3 kb まで短鎖化しても小脳でのアストロサイト特異性は 90% 程度に保たれていることを報告した。¹ 一方で 0.3 kb の GFAP プロモーターは、大脳皮質でアストロサイト特異性を維持するにはウイルスベクターを投与される動物種とプロモーターの動物種を合わせる必要があるとわかった。またニューロン特異的に遺伝子発現するプロモーター (NSE

プロモーター) においても、ニューロン特異性を司る重要な領域を解明し、AAV と NSE プロモーターを用いた小脳プルキンエ細胞と介在ニューロンへの遺伝子発現パターンを明らかにした。² 以上のように、我々は AAV に搭載可能で生体脳にアストロサイト・ニューロン特異的な遺伝子発現を可能とするコンパクトなプロモーター開発し、さらには小型の霊長類であるマーモセットにおいても細胞腫特異的な遺伝子導入に成功した。

AAV-PHP.B ベクター

これまで AAV による遺伝子導入は脳定位固定下での局所投与が一般的であったが、2016 年に成体マウスの血液脳関門を透過することができる AAV-PHP.B (PHP.B) ベクターが登場し、静脈注射で中枢神経系へ高効率かつ広範囲に遺伝子導入が可能となった。しかし、PHP.B は静脈注射で遺伝子導入するため、血中の中和抗体 (NAb) の影響を受ける。つまり、一度 PHP.B を静脈投与したマウスでは PHP.B カプシドに対する中和抗体が産生されるため、一般的に同一個体に 2 回目の PHP.B を用いた遺伝子導入をすることができない。我々は PHP.B に対する中和抗体がどの程度の期間で産生されているのかを詳細に解析した。すると PHP.B 静脈注射後 1 日目から徐々に NAb を産生し始め、3 日後には 2 回目の PHP.B 静脈注射による脳内への遺伝子導入はほぼ阻害されることを報告した。³ また、静

脈注射だけではなく PHP.B の脳への局所注射でも中和抗体が産生されることを見出した。一方, NAb が産生されたマウスであっても脳に局所投与することで NAb による免疫を回避して, 遺伝子導入できることを明らかにした。

おわりに

細胞種特異的プロモーターと AAV-PHP.B を組み合わせることで, 脳の特異細胞群の効率的な遺伝子改変を可能となり, 脳の生理機能や中枢神経疾患の病態解明, 遺伝子治療の研究がますます加速していくと考えられる。しかしながら, PHP.B は霊長類の血液脳関門を透過できない⁴ など課題もあるため, トランスレーショナルを見据えてさらなる AAV 開発が期待される。

謝辞

令和元年度北関東医学会奨励賞を頂くにあたり, 北関東医学会役員の方, 本研究のご指導を頂いた群馬大学大

学院医学系研究科脳神経再生医学平井宏和教授, 北関東医学会奨励賞にご推薦頂いた眼科学秋山英雄教授をはじめ, 両教室員の方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

1. Shinohara Y, Konno A, Takahashi N, Matsuzaki Y, Kishi S, Hirai H. Viral Vector-Based Dissection of Marmoset GFAP Promoter in Mouse and Marmoset Brains. *PLoS One* 2016; 11: e0162023.
2. Shinohara Y, Ohtani T, Konno A, Hirai H. Viral Vector-Based Evaluation of Regulatory Regions in the Neuron-Specific Enolase (NSE) Promoter in Mouse Cerebellum In Vivo. *Cerebellum* 2017; 16: 913-922.
3. Shinohara Y, Konno A, Nitta K, et al. Effects of Neutralizing Antibody Production on AAV-PHP.B-Mediated Transduction of the Mouse Central Nervous System. *Mol Neurobiol* 2019; 56: 4203-4214.
4. Matsuzaki Y, Konno A, Mochizuki R, et al. Intravenous administration of the adeno-associated virus-PHP.B capsid fails to upregulate transduction efficiency in the marmoset brain. *Neuroscience Letters* 2018; 665: 182-188.