

研究課題別 中間評価結果

1. 研究課題名： 脊髄小脳変性症の根治的遺伝子治療法の開発

2. 研究代表者： 平井 宏和(群馬大学 大学院医学系研究科 教授)

3. 研究概要：

本研究の目的は、脊髄小脳変性症(SCA)モデルマウスを作出し、さきがけ研究で開発した *In vivo* のプルキンエ細胞に効率的かつ特異的に外来遺伝子を発現させる方法を用いて CRAG をはじめとするユビキチン・プロテアソーム系促進分子を機能障害・変性に陥っているプルキンエ細胞に導入することにより、プルキンエ細胞の変性・アポトーシスを防ぐことが可能かどうかを明らかにすることである。

SCA モデルマウスを作出し、運動失調を示すこれらマウスの小脳プルキンエ細胞に、レンチウイルスベクターを用いて CRAG やその他の遺伝子を発現させ、運動失調の状態を経時的に観察した。さらに、マウスを灌流固定し小脳切片を作製した後、免疫組織染色を行いプルキンエ細胞の形態および、細胞内凝集塊の状態を観察した。その結果、モデルマウスは生後4週の時点で顕著な運動失調を示し、プルキンエ細胞の核内、細胞質内には多数の凝集塊が見られた。生後 80 日の段階では、プルキンエ細胞内に多数の inclusion body が観察された。そこで、生後 4 週のモデルマウスの小脳皮質に CRAG 発現レンチウイルスベクターを導入した。導入 4 週後で有意な、8 週後ではさらに顕著な運動失調の改善が見られた。小脳切片を作製プルキンエ細胞を観察したところ、CRAG を発現しているプルキンエ細胞では inclusion body がほとんど消失していた。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

脊髄小脳変性症(SCA)のモデルマウスの作製、マウスの機能解析、プルキンエ細胞選択性を持つレンチウイルスベクターの作製、およびCRAG発現によるマウスの病態改善の研究を実施した。

プルキンエ細胞に特異性の高いベクターの開発、CRAG発現ウイルスをSCAモデルマウスに接種することによる運動失調の改善等、高い成果が得られており、研究の進展は順調である。

シナプス伝達、シナプス可塑性の解析による、運動失調の細胞レベルでのメカニズムの解明、他の治療用遺伝子の導入等、今後の研究計画はいずれも適当である。

4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

類似研究と比し、レンチウイルスによる神経細胞での遺伝子発現は効率が良く、プルキンエ細胞への特異性も顕著である。レンチウイルスベクターは将来の脳科学研究に必要不可欠なツールで

あり、レンチウイルスベクターに利用可能な細胞特異性を持つ小型プロモーターの同定に成功したことは大きな成果である。また論文発表、特許出願等においても優れている。レンチウイルスベクターを用いて神経細胞の特定サブセットに遺伝子を導入する技術を発展させており、波及効果の点でインパクトが高い。

CRAGをSCAモデルマウスに導入することにより運動失調が改善されたことの科学的・技術的インパクトが大きい。プルキンエ細胞に特異的なベクターが出来れば更にインパクトは高まると期待出来る。

レンチウイルスベクターを用いた小脳核の病態モデルマウスの作製は、小脳核の機能の観点から、臨床のみならず基礎神経科学における重要な知見となることが期待される。

しかし、AAV ベクターを用いたプルキンエ細胞への効率的な遺伝子導入法の確立については、困難が予想される。

4-3. 総合的評価

ウイルスベクターに利用しやすい小型プロモーターを開発したことはウイルスベクターの利用価値を高めるもので波及効果が大きい。プルキンエ細胞に特異性の高いベクターの開発およびCRAG 発現ウイルスをSCAモデルマウスに接種することによる運動失調の改善等の成果は非常に優れている。しかし、AAV ベクターを用いたプルキンエ細胞への効率的な遺伝子導入法の確立については、困難が予想される。また、実際の治療への応用に際しては具体性が欲しいところである。