

## 研究課題別 事後評価結果

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. 研究内容および成果：

脊髄小脳変性症(SCA)の根治的遺伝子治療法の確立を目指し、変異遺伝子産物の凝集塊をユビキチン・プロテアソーム系促進分子を用いて分解するベクター系を検討した。以下の手順で研究を進め、SCAモデルマウス系の遺伝子治療で、世界で初めて大きな運動機能改善を確認することに成功した。

1)SCAモデルマウスの作出と解析

プルキンエ細胞特異的L7プロモーターを用いて、プルキンエ細胞限局で変異SCA遺伝子を発現するトランスジェニックマウス(SCAモデルマウス)の作出に成功した。SCAモデルマウスは小脳が著しく萎縮しており、生後3週より強い運動失調を示した。モデルマウスのプルキンエ細胞層は大きく配列が崩れ、不規則な3~4層になり、樹状突起の発達も大きく阻害されていた。

2)SCAモデルマウスの遺伝子治療

ユビキチン・プロテアソーム系を介して凝集体を分解する蛋白質CRAG(CRAM-Associated GTPase)を発現するレンチウイルスベクターを作製し、生後25日のSCAモデルマウスの小脳に接種した。接種2週間後で有意な、8週間にはさらに顕著な運動失調の改善が見られた。CRAGを発現するプルキンエ細胞は配列が大きく改善して1層になっており、樹状突起の伸長も認められた。さらに変異遺伝子産物の凝集塊も大幅に減少していた。

3)サルを用いたSCA遺伝子治療の基礎実験

ヒトの小脳はマウスに比べてはるかに大きく、解剖学的構造も異なる。本遺伝子治療法の臨床応用に向けてヒトに近いカニクイザルを用いて、小脳プルキンエ細胞に効率的かつ広範囲に遺伝子発現させるためのウイルス投与方法と投与量について検討した。小脳にMSCV(Murine stem Cell Virus)プロモーター制御下でGFPを発現するレンチウイルスベクターを接種し、2週間後に観察したところ、GFP発現の多くはバグマングリアおよび星状細胞等の介在ニューロンにおいてであり、プルキンエ細胞では十分な発現は見られなかった。使用したプロモーターの特異性に問題があったと思われるので、プルキンエ細胞特異的L7プロモーターへの変更を進めている。

4)レンチウイルスベクター感染の安全性検討

生後0日のラット小脳へのウイルスの投与方法を確立し、レンチウイルスベクターの感染が神経細胞に与える影響を検討した。高力価ウイルスベクターの感染で、プルキンエ細胞の樹状突起の発達はわずかに抑制を受けたが、電気生理学的には全く影響が見られず、ほとんど障害性がないことが確認された。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績

発表論文: (邦文) 8件 / (英文) 15件

口頭発表: (国内) 30件 / (海外) 4件

特許出願: (国内) 1件 / (海外) 1件

SCA の遺伝子治療法の確立を目指して研究を進め、疾患モデルマウスに、レンチウイルスベクターを用いて CRAG 遺伝子を小脳プルキンエ細胞に発現させ、原因蛋白質を分解することによって症状を改善させることに成功するという大きな成果を上げた。また、ラットの小脳への接種でウイルスベクターの安全性確認も進めており、今後霊長類での小脳特異的発現ベクターの安全性が確認されれば、臨床応用への可能性が膨らむ。一流誌への掲載を含む論文発表および特許出願も適切になされている。根治療法の無い難病を克服する画期的な治療方法確立につながる成果であり、今後の展開が期待される。

##### 4-2. 成果の科学技術への貢献

根治療法がない難病の、レンチウイルスベクターを用いる新規遺伝子治療法であり、病気の進行を食い止めるだけに留まらず、改善も可能であることを示した点は医科学に大きなインパクトを与えるものである。原因蛋白質凝集塊の分解を目指した新しいアイデアは治療効果が期待され、独創的な方向性を持つ研究として重要性である。ポリグルタミン病として類似するハンチントン病の例等、競合する研究は多いが、脳の特異細胞での特異的、効率的な遺伝子発現の技術とその応用において研究の先駆的である。

##### 4-3. その他特記事項(受賞等)

プレス発表

【Nature の論文に関して】 2007年2月8、9日 国内各紙に掲載

【EMBO Reports の論文に関して】

2008年3月14日英国 Nature Publishing Group よりプレスリリース

国内各紙、英国の GUARDIAN、米国の AMERICA'S DAILY、イランの TEHRAN TIMES 等に掲載

その他

Euro-ataxia(ヨーロッパの運動失調症支援団体の機関誌)の Newsletter に総説掲載