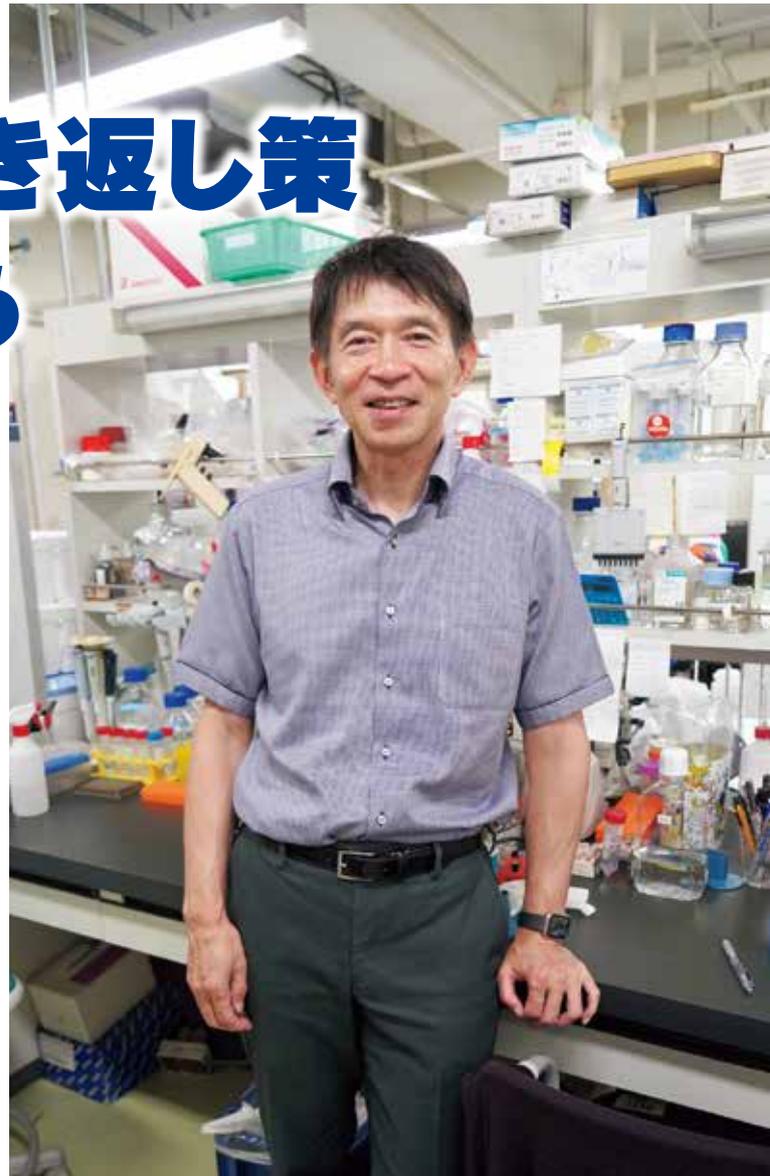


遺伝子治療薬開発

欧米勢への巻き返し策 今なら間に合う



決意

難病に対する新規の遺伝子治療製剤をわが国から生み出すには、遺伝子治療の研究と並行して、あるいは先んじてウイルスベクターの開発研究が不可欠です。新規のウイルスベクター開発と特許出願が増えてくると、必然的にアカデミアや製薬企業からの遺伝子治療研究への参入が進むからです。

欧米とは違った切り口で、わが国が独自のウイルスベクターツール開発を切り開く余地は十分に残されています。

どう頑張っても追いつけないほど差が開く前に、独創的な目標設定で欧米を上回る成果を出したいと思っています。

未来先端研究機構ウイルスベクター開発研究センター長
大学院医学系研究科脳神経再生医学分野 教授

平井 宏和

ひらい ひろかず

ウイルスベクター開発研究が不可欠

— 前半のインタビュー(2~6ページ)において、欧米で難病の遺伝子治療薬が相次いで開発、承認されていること、その背景に長年の地道な基礎研究があること、さらに、近年、遺伝子治療分野に研究者、企業が続々と参入していることなどを紹介していただきました。わが国が出遅れてい

る一つの例として、米国遺伝子細胞治療学会の会員が約6,300人なのに対し、日本遺伝子細胞治療学会の会員がようやく300人を超えた程度であることに衝撃をうけました。遺伝子治療の主要な方法の一つがウイルスベクターを使った遺伝子導入法ですが、わが国でウイルスベクター

開発に取り組む研究者の数が欧米に比べて圧倒的に少ないことを考えると、すそ野を広くすることも重要だと思いますが…。

全くその通りだと思います。アメリカの遺伝子細胞治療学会の大会では、ウイルスベクターの開発に関する発表があふれるようにあります。そしてその数は年々増えています。

アカデミアでウイルスベクター開発が進むと、そこ

からスピンアウトしたベンチャーが立ち上がります。たとえばAAVのカプシド開発に特化するアメリカのベンチャーとしては、Voyager Therapeutics、Dyno Therapeutics、Capsida Therapeuticsなどがあり、今年の学会でも先端的な成果をこれでもかというくらいに発表していました。これらの中から近い将来、革新的な遺伝子治療製剤が生まれるのは間違いないと思います。

ウイルスベクター開発に特化した支援強化を！

— 欧米に追い付き、最前線で競うためには何が必要ですか。わが国における創薬イノベーション実現の策はありますか。

難病に対する新規の遺伝子治療製剤をわが国から生み出すには、遺伝子治療の研究と並行して、あるいは先んじてウイルスベクターの開発研究が不可欠です。新規のウイルスベクター開発と特許出願が増えてくると、必然的にアカデミアや製薬企業からの遺伝子治療研究への参入が進むからです。

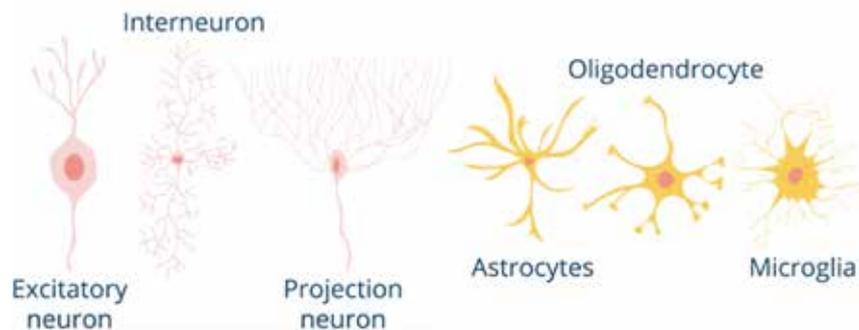
そのため、ウイルスベクター開発に特化した支援強化が望まれます。幸いなことに、先ほど上げたアメリカのベンチャー企業を含めて、欧米の研究チームの多くは同様の「流行の」研究テーマで競っています。

そこで、欧米とは違った切り口で、わが国が独自のウイルスベクターツール開発を切り開く余地は十分に残されています。ただしそれほど時間があるわけではありません。どう頑張っても追いつけないほど差が開く前に、欧米とは違う角度から独創的な目標設定で欧

【平井教授の研究の歩み】特定の細胞群だけに、外から遺伝子を届けて働かせる

静脈注射1回で脳の難病が治癒！ 平井宏和教授はこうした夢のような治療法の実現に挑戦している。研究テーマは、① 脳内の狙った細胞種に効率よく遺伝子を運び、その細胞種だけで導入遺伝子を働かせるウイルスベクターの開発、② ウイルスベクターを用いた脳の難病に対する遺伝子治療法の実現—の2つである。

平井教授の研究の大きな成果は、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを使って霊長類 (マーマセット) 脳内のニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなど特定の細胞群だけに、外から遺伝子を届けて働かせることができるようにしたこと。この技術で脳の難病を治療できることを証明するのが次の課題である。血管内腔と脳の間にあるバリア (血液脳関門) を透過する AAV ベクターの開発も進めている。霊長類の血液脳関門を通り抜け、脳内で狙った細胞に優先的に感染し、目的とする種類の細胞だけで導入遺伝子が働く AAV ベクターの開発が完成すれば、世界中のさまざまな基礎・臨床研究が大きく加速する、という。



米を上回る成果を出したいと思っています。

— 脳の研究をはじめたきっかけは何ですか？

私はもともと臨床医で、難病の治療法研究を行いたくて内科学系大学院に進みました。しかし大学院の生活は研修医の頃と変わらず、空いた時間に研究するというスタイルでした。難病の根本的な治療法の開発研究に専念したいという思いが次第に強くなり、博士課程2年目から神経生理学講座へ移動し、電気生理学を使って脳の研究をはじめました。

1994年に博士号を取得後、ドイツ・フランクフルトのマックスプランク脳研究所に留学し、ここではじめて細胞へ遺伝子導入する技術があるのを知りました。リン酸カルシウムとプラスミドDNAを混ぜて細胞にふりかけたり、アフリカツメガエルの卵にガラス針でmRNAを注入したりと、当時は物理化学的な遺伝子導入でしたが、将来の大きな可能性を感じました。

— ウイルスベクターの研究はどういった経緯で始められたのですか。

ドイツから帰国して理化学研究所の伊藤正男先生

のラボに所属しました。伊藤先生は小脳研究の世界的権威で、私は小脳が制御する運動学習の分子メカニズムを明らかにする研究を開始しました。この過程で、プルキンエ細胞という小脳の大型のニューロンに遺伝子導入したいと考え、当時の理研で使える様々な方法を試しましたが、うまく行きませんでした。

2001年に米国テネシー州メンフィスのセントジュード小児研究病院に留学し、ここで後に遺伝子治療の父と呼ばれるArthur W. Nienhuis先生が、レンチウイルスベクターを血液疾患の遺伝子治療研究に使っているのを知りました。また、私の所属していた発達神経生物学部門の部長であったJames I Morgan先生は、プルキンエ細胞だけで働くL7プロモーターを発見していました。そこで2003年に米国から科学技術振興機構(JST)の「さきがけ」研究者として帰国し、金沢大学でレンチウイルスベクターとプルキンエ細胞特異的L7プロモーターを組み合わせ、プルキンエ細胞だけに遺伝子発現させる研究、その技術をプルキンエ細胞が変性する脊髄小脳失調症の遺伝子治療に応用する研究を開始しました。

AAVは様々な脳疾患の治療に使える可能性

— AAVベクターはいつから使われているのですか。

改良を重ね、L7プロモーターを搭載したレンチウイルスベクターで、マウスのプルキンエ細胞だけに極めて効率的に遺伝子発現できるようになりました。そこでヒトへの臨床応用を考えて、マウスよりはるかに大型のマカクザルで実験を2007年ごろに行いました。小脳変性症で治療効果を得るには小脳の広い領域のプルキンエ細胞に遺伝子発現させる必要があります。

しかし、マカクザルの小脳に注入したレンチウイルスは脳実質内で広がらず、遺伝子発現は小脳の一部に留まっていました。この結果を見て、マカクザルよりさらに大きな小脳をもつヒト(脊髄小脳失調症患者)の遺伝子治療には使えないと考えました。

そこでウイルス径がレンチウイルスの5分の1で、

ウイルスの中でも最小クラスのAAVベクターを2008年ごろから使用するようになりました。AAVベクターを小型の新世界ザルであるマーモセットの脳脊髄液内に投与すると、小脳から大脳皮質にかけて広い脳領域で遺伝子発現が観察できました。AAVを使うと小脳に限らず、様々な脳疾患の治療に使える可能性が出てきました。

— 今後、遺伝子治療の対象となり得る脳の難病にはどのようなものがありますか。

神経変性疾患、難治性てんかん、自閉症、統合失調症などがあります。神経変性疾患にはアルツハイマー型認知症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、脊髄小脳変性症などが含まれます。いずれも根本的な治

療法が見つかっていません。

— これらの難病が発症する原因はわかっているのですか。

例えばアルツハイマー型認知症ではβアミロイドの蓄積など、毒性のあるタンパク質が加齢とともに少しずつ溜まってくることで、それにより細胞死へと至ることが原因であると言われています。

疾患ごとに傷害を受ける部位や細胞の種類が異なります。たとえば、アルツハイマー型認知症では大脳皮質や海馬のニューロン、筋萎縮性側索硬化症では脊髄の運動ニューロン、てんかんや自閉症では(脳の興奮を抑える)抑制性ニューロンなどです。アルツハイマー病では、不良品タンパク質を取り込んで分解するミクログリアの性質が変化し、βアミロイドを貪食しなくなるだけでなく、有害因子も放出して病状を進めることもわかっています。てんかんでは抑制性ニューロンの働きが相対的に落ちて、脳が過剰興奮の状態になることで発作が起きます。

アルツハイマー型認知症	ミクログリア
パーキンソン病	ミクログリア
脳卒中	ミクログリア・アストロサイト
多系統萎縮症	オリゴデンドロサイト
脊髄小脳変性症	プルキンエ細胞
てんかん	抑制性ニューロン
自閉症	抑制性ニューロン

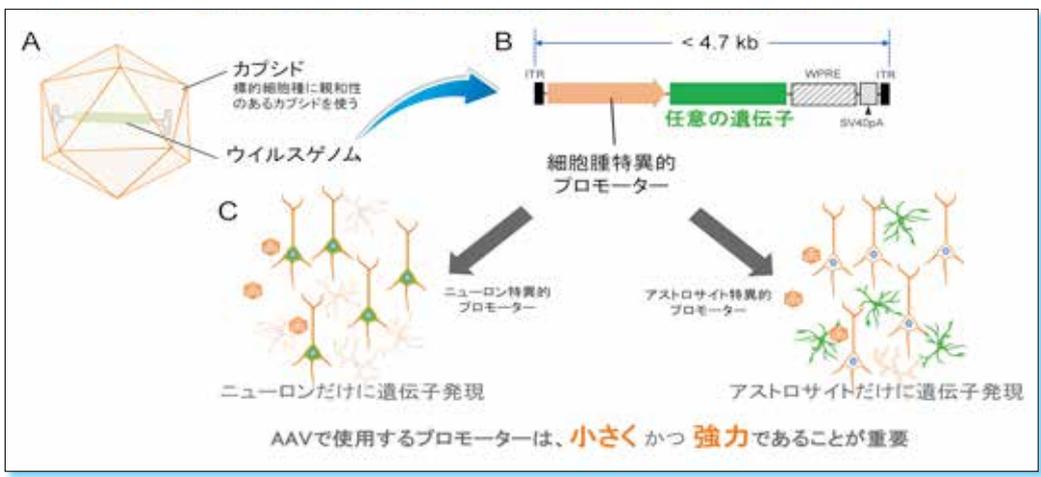
表1 脳疾患の発症・進行に関与し、治療の鍵となり得る細胞種

そこで、疾患の発症、病態に関与する細胞種に外から治療効果のある遺伝子を導入して、変化した細胞の状態を元に戻すことで病気を治療できる可能性があります(表1)。

— それで脳の特定の細胞種に外から遺伝子を導入し働かせるという研究につながるのですか。研究のポイントはこういったところですか。

まず、狙った細胞種(標的細胞種)によく感染するカプシド(AAVの殻)を使うことです。よく研究されている野生のAAVは13種類ありますが、それぞれ感染しやすい組織や細胞種が異なります。標的細胞種に感染しやすいカプシドを選ぶか、自分で変異を導入して作る必要があります。我々もカプシド開発は行なっていますが、カプシドだけで感染する細胞種を限定するのは困難です。

そこで次に重要なのがゲノムに組み込むプロモーターです。プロモーターの働きで導入遺伝子が転写され、機能するようになります(図1B)。標的細胞種だけで働くプロモーター(細胞種特異的プロモーター)があれば、AAVが標的細胞種以外に感染しても導入遺伝子は働きません(図1C)。ここで問題になるのが、プロモーターの大きさと強さです。AAVはウイルスの中でも最小クラスであるため、ゲノムは4.7kb以下という制限があり、あまり大きなプロモーターは搭載できません(図1B)。弱いプロモーターだと、導入遺伝子も十分に機能しません。



しかし、一般的に細胞種特異的プロモーターは非常に長く、プロモーター活性も弱いことが知られており、これを改良して短く、強い細胞種特異的プロモーターを作り出すことが課題となります。

図1 AAVベクターを使って、狙った細胞種だけに遺伝子を発現させる方法

将来はアルツハイマー型認知症治療へ

研究
成果

- ▶ 抑制性ニューロン特異的プロモーターを発明
- ▶ てんかん、自閉症、統合失調症の治療を目指す

— ウイルスベクターを用いた研究の成果、論文などについてお聞きします。

私たちの研究室ではAAVに搭載可能で、アストロサイト、小脳プルキンエ細胞、ミクログリアで働く細胞種特異的プロモーターを開発してきました(図2)。2021年には抑制性ニューロン特異的GAD65プロモーターを報告しました。ただし、これは2.5kbと大きく、またプロモーター活性も弱いものでした。

私たちは最近、従来のプロモーターの6分の1以下のサイズで、プロモーター活性も強い抑制性ニューロン特異的cmGAD67プロモーターを開発しました(図3)。

抑制性ニューロンの異常はてんかん、自閉症、統合失調症の原因となりますが、私たちは、今回の発明を難治性てんかんの治療に使うことを考えています。てんかんの患者は日本に100万人程度いますが、そのうちの30万人以上は薬で発作を抑えきれいていません。てんかん発作は抑制性ニューロンの機能が相対的に弱まり、興奮が過剰になることで起こります(図4)。

そこで今回の発明である抑制性ニューロン特異的プロモーターを利用し、抑制性ニューロンの機能を強めるAAVベクターをてんかんモデルマウスに静脈投与したところ、てんかんの症

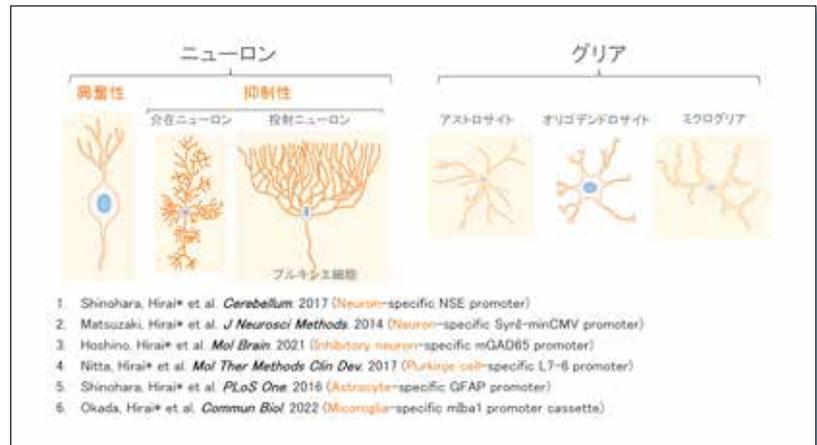


図2 AAVベクターで使える細胞種特異的プロモーターの開発

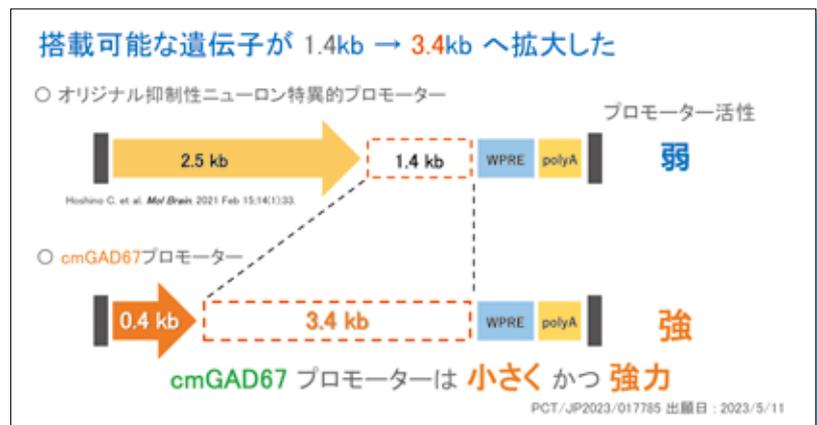


図3 cmGAD67 プロモーター

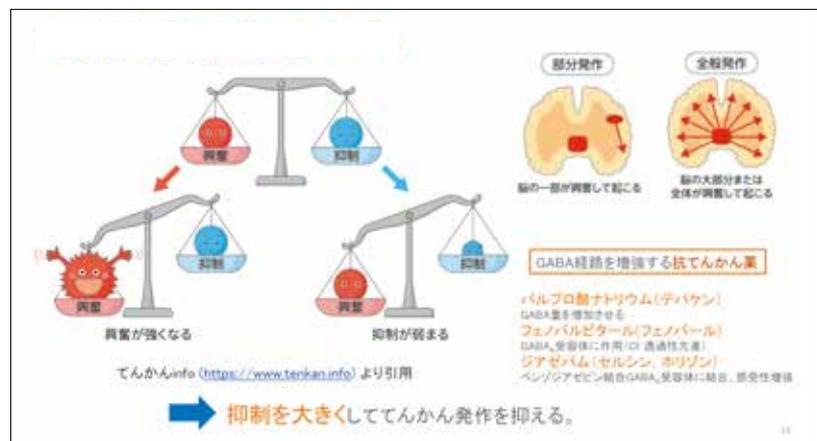


図4 てんかんが起こるメカニズム

状を顕著に抑えることに成功しました。現在、この遺伝子治療法が霊長類のマーマセットでも有効であることを証明する実験を行なっています。てんかんで

うまく行けば、次に自閉症や統合失調症、さらに開発済みのミクログリア特異的AAVを使ってアルツハイマー型認知症の治療などへ進めたいと考えています。

AMED 革新脳で日本の研究に貢献

国の脳プロジェクト／ウイルスベクターコアの大きな成果

- ▶ ベクター開発通じ研究対象が脳全体に拡大
- ▶ アルツハイマー病、難治性てんかん遺伝子治療法開発も視野に

— 先生はウイルスベクターに関する研究ではJST「さきがけ」の後、様々な外部研究資金を受けています。助成額5,000万円以上の大型のものでは、JST「SORST」、科学研究費補助金・若手研究(S)、内閣府「最先端・次世代研究開発支援プログラムNEXT」、日本医療研究開発機構(AMED)「国家課題対応型研究開発推進事業—革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト(革新脳)」があります。AMEDの「革新脳」プロジェクトでは、2014～16年に支援を受けたの続き、2017年から「アデノ随伴ウイルスベクターを用いた生体マーマセット中枢神経系の細胞種特異的遺伝子ノックダウン／ノックアウト法の開発」という課題に取り組んできました。そして2018年からはこの革新脳のプログラム遂行のなかで、「革新脳ウイルスベクターコア」の資金も獲得されています。

言い換えると、世界トップレベルの先生ご自身の研究を進めながら、一方で、他の大学・研究機関からウイルスベクター開発を受託されてわが国の脳神経科学研究に貢献されました。革新脳ウイルスベクターコアに携わって先生の研究は変わりましたか。

AAVベクターが脳科学研究において、インパクトある成果を生み出す強力なツールであることを改めて実感しました。群馬大学の平井研が供給したウイ

ルスベクターを使って、革新脳から nature、nature neuroscience、nature biomedical engineering、Neuron など超一流ジャーナルに多くの論文が採択されました。共同研究も広がり、58報の論文が出版されました。

以前は私の研究は小脳にとどまっていたのですが、さまざまなAAVベクターの開発を通じて、研究対象が脳全体に広がり、アルツハイマー病や難治性てんかんなど患者数の多い疾患をターゲットとする遺伝子治療法の開発も視野に入るようになりました。

— 脳機能ネットワーク全容解明プロジェクトのなかで、先生の研究の意義は？

最先端のウイルスベクターツールを日本の多くの神経科学研究者に届けたこと、それによりわが国の脳神経科学研究の発展に研究ツールの面から大きく貢献できたことです。さらに開発したウイルスベクターが、生命科学研究に留まらず、さまざまな脳の難病に対する遺伝子治療ベクターとして使用できる可能性が出て来たことは、予期していなかった成果だと思っています。

日本のアカデミアには遺伝子治療用のAAVベクターの開発を専門とする研究者がほとんどいないため、日本の遺伝子治療を支えるしっかりした土台はありませんでした。AMED革新脳の研究を通して、少しでも土台作りに貢献できたと思います。