

# 革新的なプロモーターを開発 国際特許に

小さくてウイルスベクターに搭載可能、性能も強力

## 【概要】

- ・ウイルスベクターを使って治療用の遺伝子を狙った細胞に届ける際、重要な役割を果たすのが「プロモーター」です。プロモーターは、ウイルスが目的の細胞に到達したあと、治療用遺伝子のスイッチを入れて働かせる役割を担っています。
- ・一方で、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは、ウイルスの中でも非常に小さいため、大きなプロモーターを搭載することができません。また、たとえ搭載できても、スイッチの力が弱いと、治療用遺伝子が十分に働かないという課題がありました。
- ・平井教授の研究チームは、従来と同じように抑制性ニューロンでだけ働く特性を保ちながら、大きさは6分の1以下、働きは3倍という、非常に高性能な新しいプロモーター (cmGAD67プロモーター) を開発しました。
- ・このプロモーターの優れた点は、
  - ① 小さく、AAVベクターに無理なく搭載できること
  - ② 遺伝子を強く働かせることができること
  - ③ 抑制性ニューロンでだけ働く高い特異性をもつことの3点です。小さくて、強くて、狙いが正確という点で、非常に性能の高い技術です。
- ・脳の中には、神経の働きを高める興奮性ニューロンと、それを抑える抑制性ニューロンがあります。抑制性ニューロンは、GABAなどの物質を放出して興奮を抑え、脳が過剰に興奮しないようバランスを取っています。この働きが乱れると、てんかんや自閉症、統合失調症などの病気につながる可能性があります。
- ・抑制性ニューロンでだけスイッチが入るプロモーターと、抑制性ニューロンの働きを高める治療用遺伝子を組み合わせたウイルスベクターを使うことで、標的となる抑制性ニューロンだけの機能を高める治療が可能になります。これにより、てんかんなどの病気の治療につながる事が期待されています。
- ・この技術については日本で特許を出願しており、さらに科学技術振興機構 (JST) の海外特許出願支援制度を利用して、米国、欧州、中国でも特許出願を行い、審査が進められています。

## 従来の6分の1以下のサイズ

### —— 開発したプロモーターは？

**平井** 私たちが開発したのは、抑制性ニューロン特異的 cmGAD67 というプロモーターです。従来のプロモーターと同様、抑制性ニューロン特異性は保ちつつ、サイズは6分の1以下で、プロモーター活性も強いものです (図4)。

ニューロンは神経細胞のこと。抑制性ニューロンは、神経ネットワークの興奮性を抑え、過剰な活動を防ぐ働きをします。具体的には、神経伝達物質の GABA やグリシンを放出して、他の神経細胞の興奮を抑制する信号を送ります。この信号が情報の同期性を制御したり、不必要な情報をブロックしたりするなどして、脳が正常に機能します。

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、今回の発明をまず、難治性てんかんの治療に使うことにしています。

#### — プロモーターの役割は？

**平井** ウイルスベクターを開発する際には、まずどの細胞を狙うのかを決め、その細胞に入りやすいウイルスを選びます。AAVでは、ウイルスの外側の殻(カプシド)が、どの細胞に入りやすいかを決める重要な役割を持っています。

これまでによく研究されている自然由来のAAVは約13種類あり、それぞれ感染しやすい臓器や細胞の種類が異なります。そのため、目的とする細胞に入りやすいタイプを選ぶか、必要に応じて性質を変えた新しいタイプを作る必要があります。

私たちも新しいカプシドの開発を進めていますが、カプシドだけで感染する細胞の種類を完全に限定することは難しいのが現状です。

そこで次に重要になるのが、ウイルスの中に組み込むプロモーターです。プロモーターは、運ばれてきた遺伝子を実際に働かせるためのスイッチの役割を果たします(図5B)。

もし、特定の細胞でだけスイッチ

が入る「細胞特異的プロモーター」を使えば、たとえウイルスが別の細胞に入ったとしても、遺伝子は働きません(図5C)。つまり、狙った細胞でだけ治療の効果を発揮させることができます。このとき重要になるのが、プロモーターの大きさと強さです。

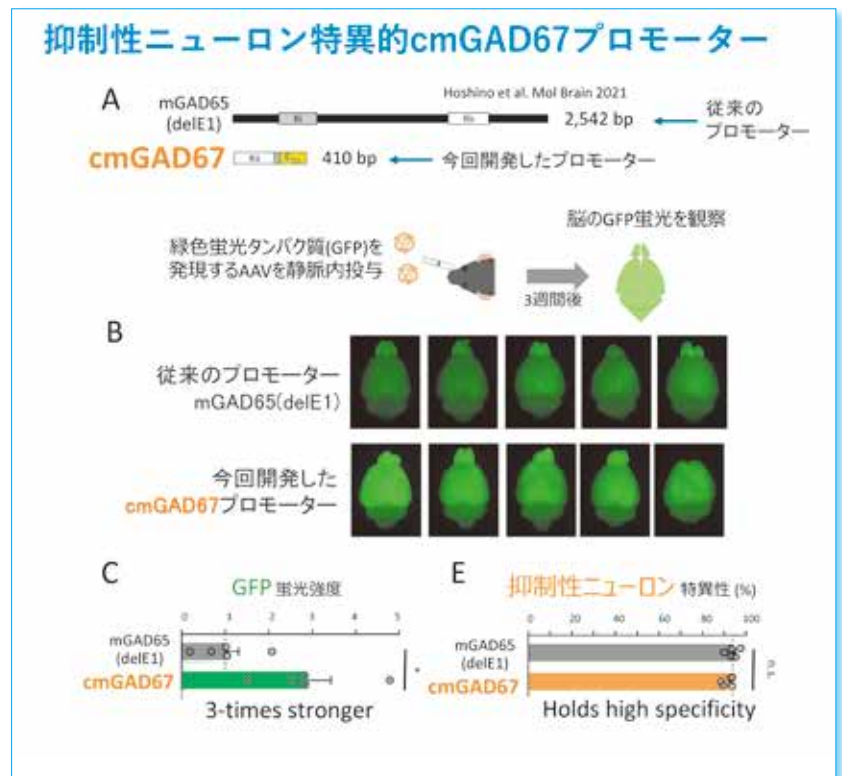


図4

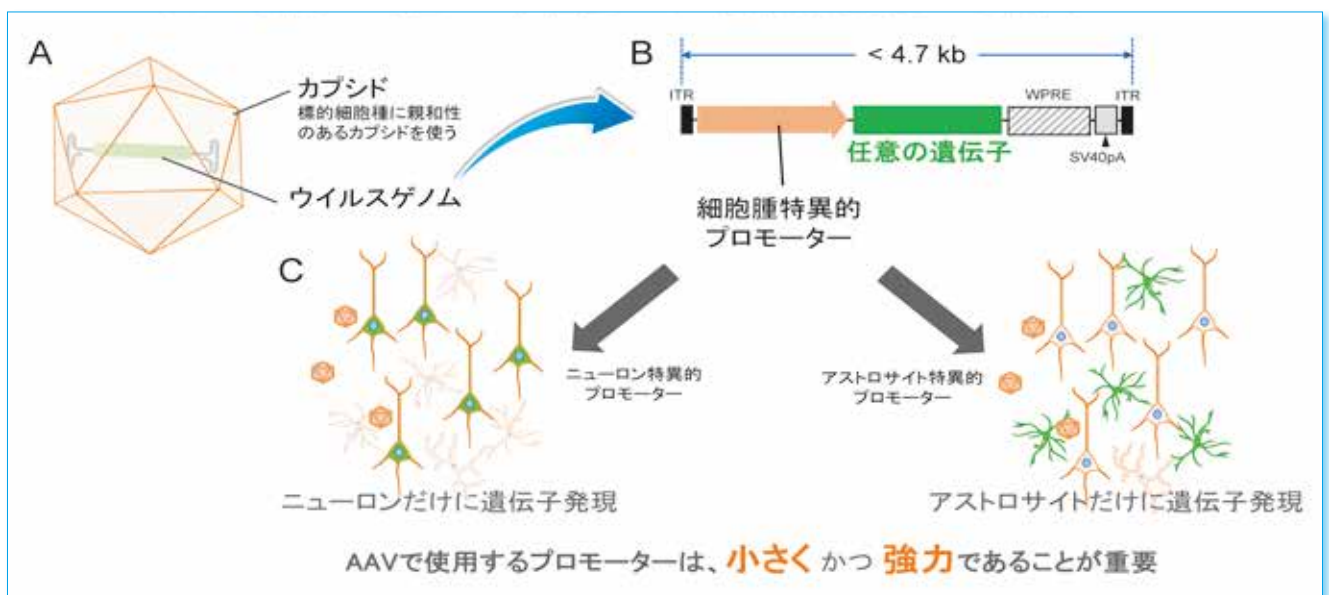


図5

## プロモーター活性が強い

—— ウイルスベクターに組み込める外来遺伝子の容量の問題ですね。

平井 AAVは、ウイルスの中でもとても小さい種類のため、中に入れられる遺伝情報の量に4.7kbまでという限りがあります※。そのため、あまり大きなプロモーター(遺伝子のスイッチ)を組み込むことはできません(図5B)。また、スイッチの力が弱いと、運ばれた遺伝子が十分に働かないという問題もあります。

一方で、特定の細胞でだけ働く「細胞特異的プロモーター」は、一般に長くて働きが弱いことが知られています。このため、小さくても強く、しかも狙った細胞でだけ働くプロモーターを開発することが、大きな課題となっていました。

※ kb(キロベース)とは、遺伝子の長さや情報量を表す単位です。AAVというウイルスはとても小さいため、中に入れられる遺伝情報の量が「約4.7kb(4,700文字分)」までと決まっています。

—— 「小さいこと」と「強さ」がポイントになるわけですね。

平井 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(表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。

さらに研究を続けた結果、今回の大きな発明に至りました。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プロモーターです(図4)。

このプロモーターについて、まず日本で特許を出願しました。

## JSTの支援受ける

—— この抑制性ニューロン特異的プロモーターの特許について教えてください。

平井 まず、日本で特許を出願した後、科学技術振興機構(JST)が実施している「海外特許出願支援制度」に申請しました。この制度では、書類審査やプレゼンテーションによる審査を経て採択されると、海外で特許を出願するための費用を支援してもらうことができます。また、出願する国や地域の数も、審査を踏まえて決められます。

私たちが開発したcmGAD67プロモーターについての申請は無事に採択され、米国、欧州、中国への特許出願を支援してもらえることになりました。この特許は、日本での審査において、新しさ(新規性)や技術的な進歩性が認められており、海外でも特許として成立する可能性が高いと考えています。

今回、この特許技術を基盤として、薬が効きにくい難治性てんかんに対する遺伝子治療用ウイルスベクター製剤の開発に挑戦していきます。

標的細胞種	プロモーター	サイズ (kb)	由来	論文
小脳プルキンエ細胞	L7-6	0.8	マウス	Nitta, Hirai* et al. <i>Mol Ther Methods Clin Dev.</i> 2017 Addgene: Plasmid #126462
汎ニューロン	rNSE	1.2	ラット	Shinohara, Hirai* et al. <i>Cerebellum.</i> 2017
	rSynI-mCMV	1.2	ラット	Matsuzaki, Hirai* et al. <i>J Neurosci Methods.</i> 2014
抑制性ニューロン	mGAD65(delE1)	2.5	マウス	Hoshino, Hirai* et al. <i>Mol Brain.</i> 2021 . Addgene: Plasmid #177316
	cmGAD67	0.4	マウス	Fukai, Konno, Hirai* et al. <i>BioRxiv</i> , 2025 Addgene: Plasmid #245935
アストロサイト	gfa2	0.3, 0.6	マウス マーマゼット	Shinohara, Hirai* et al. <i>PLoS One.</i> 2016
ミクログリア	Iba1 (WPRe-miR.T.)	1.7	マウス	Okada, Hirai* et al. <i>Commun Biol.</i> 2022 Addgene: Plasmid #190163
	Iba1 (miR.T.-WPRe-miR.T.)	1.7	マウス	Aoki, Hirai* et al. <i>Cell Rep Methods.</i> 2025 Addgene: Plasmid #226475

表2 平井研究室で開発された、AAVベクターに搭載して使用できる細胞種特異的プロモーター