

## 新規開発血管平滑筋指向性 AAV ベクターによる脳小血管病治療

瀬原吉英

自治医科大学 分子病態治療研究センター 遺伝子治療研究部

## 【研究の背景】

アデノ随伴ウイルス(adeno-associated virus, AAV)ベクターは、安全で効率の良い遺伝子導入ツールとして研究・臨床の現場において広く使われている。1965 年、AAV はアデノウイルスの近傍に存在するウイルスとして発見され、その後の研究で病原性がないことが明らかになり、研究対象としての関心は薄れていった。しかし、遺伝性疾患を中心とした遺伝子治療の開発が進むとともに、病原性を持たないという特徴がベクターとしての利点と認識されるようになった。AAV はエンベロープを持たないウイルスで、最外層はカプシドと呼ばれるタンパク質で構成される。このカプシドのアミノ酸配列によって臓器・細胞種への遺伝子導入効率(指向性、tropism)が規定される点が興味深い。そこで、本研究においては、このカプシド配列を人工的に変化させることにより、血管平滑筋への指向性を高めた新規 AAV ベクターを開発する。

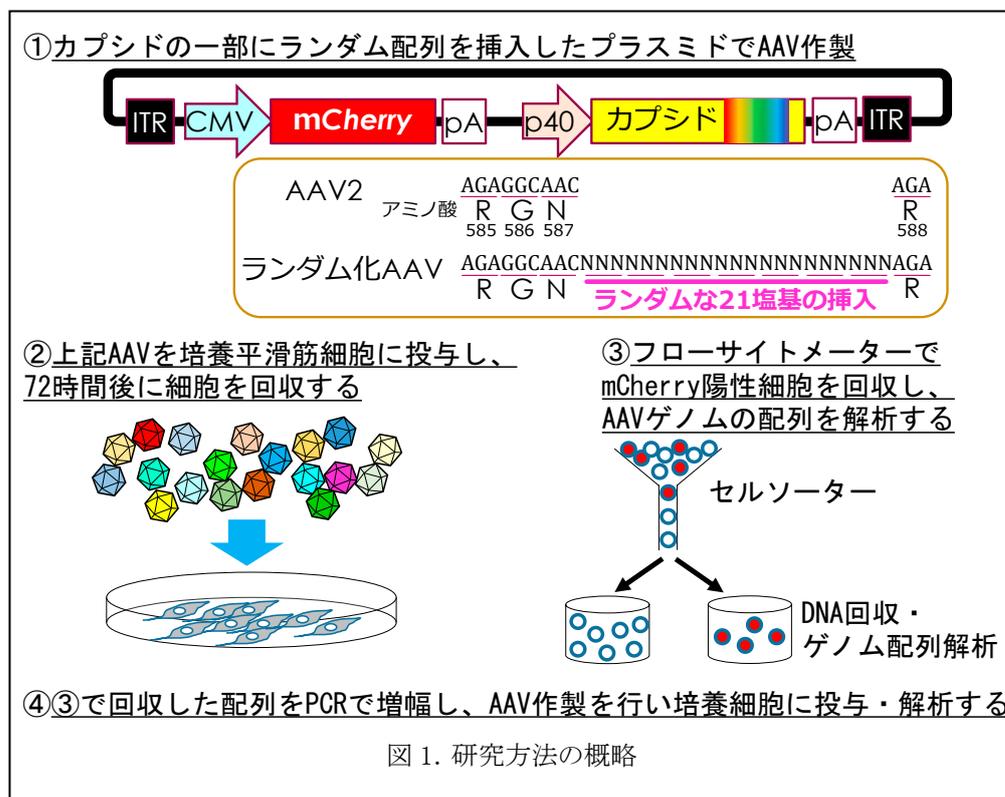
## 【目 的】

野生株 AAV のカプシド配列を人工的に改変し、血管平滑筋への指向性を高めた新規 AAV ベクターを開発する。

## 【方 法】

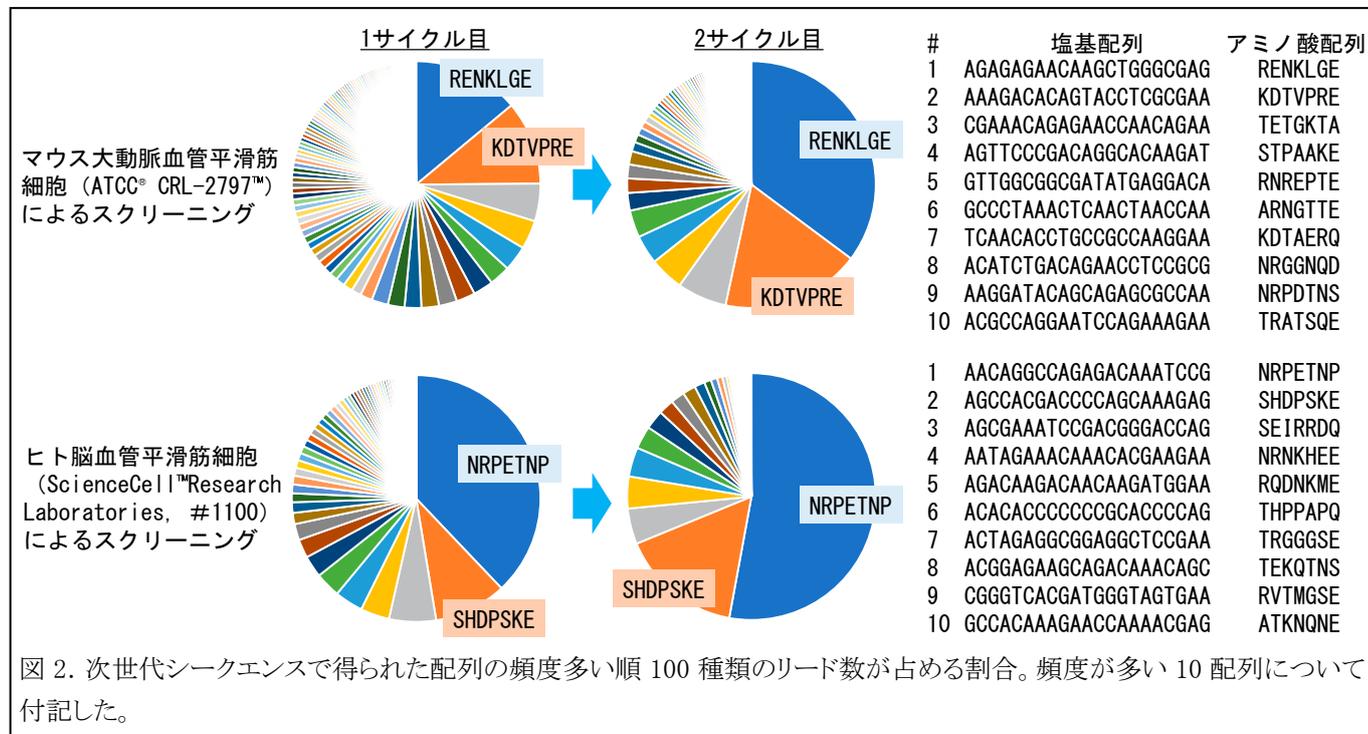
AAV は自然界に約 100 種類以上の血清型が同定されており、臓器や細胞種への指向性が異なる。それぞれの血清型によって指向性の差異が生じるのは、アミノ酸配列が相同でない領域(variable region, VR)によると考えられる。

本研究では特に、AAV の立体構造において外方へ突出する部位である VR-III に着目し、そこにランダムな 7 アミノ酸を挿入した AAV を作製する。培養細胞でのスクリーニングを行い、候補 AAV を実際に動物へ投与し検証する(図 1)。



## 【結 果】

次世代シーケンスの結果により、1 サイクル目のスクリーニング(【方法】における図 1-③)で得られた配列の上位 2 つの配列は、2 サイクル目のスクリーニング(【方法】における図 1-④)においてさらに多いリード数を占める傾向が見られた(図 2)。特定の配列において多く見られたモチーフは認めなかった。また、ヒトとマウスの培養細胞で共通して見られるモチーフも認めなかった。



## 【考 察】

AAV は種によって指向性が異なることが明らかになっているため、今後はヒトへの応用を目指し霊長類での検証を行う。ヒト培養細胞でのスクリーニング結果上位 1~3 位について得られた配列を挿入した AAV ベクターを投与し、各臓器での指向性を確認する。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

脳の小血管に病態の主座がある疾患群を脳小血管病と呼び、2010 年に Pantoni が発表した 6 種類の分類が現在も用いられている。Type 1 は動脈硬化性で、日常的にもっともよく見られるものである。Type 3 は遺伝性の脳小血管病であり、単一遺伝子異常の疾患が多い。中でも最多は cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarct and leukoencephalopathy (CADASIL、皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体優性脳動脈症)であり、東アジアで有病率の高い重要な疾患である。本邦で研究が進んでいる cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical ischaemic strokes and leukoencephalopathy (CARASIL、禿頭と変形性脊椎症を伴う劣性遺伝性白質脳症)とともに血管平滑筋に病態の主座があると考えられており、血管平滑筋への遺伝子導入ツール開発の必要性は高い。これらの病態解明に伴い本研究開発が役立てられるよう研究開発を継続する。

## 【参考・引用文献】

1. Deverman BE, Pravdo PL, Simpson BP, Kumar SR, Chan KY, Banerjee A, Wu WL, Yang B, Huber N, Pasca SP, Gradinaru

- V. Cre-dependent selection yields AAV variants for widespread gene transfer to the adult brain. *Nat Biotechnol.* 34(2):204-9. 2016. doi: 10.1038/nbt.3440.
2. Chuapoco MR, Flytzanis NC, Goeden N, Christopher Oceau J, Roxas KM, Chan KY, Scherrer J, Winchester J, Blackburn RJ, Campos LJ, Man KNM, Sun J, Chen X, Lefevre A, Singh VP, Arokiaraj CM, Shay TF, Vendemiatti J, Jang MJ, Mich JK, Bishaw Y, Gore BB, Omstead V, Taskin N, Weed N, Levi BP, Ting JT, Miller CT, Deverman BE, Pickel J, Tian L, Fox AS, Gradinaru V. Adeno-associated viral vectors for functional intravenous gene transfer throughout the non-human primate brain. *Nat Nanotechnol.* 18(10):1241-1251. 2023. doi: 10.1038/s41565-023-01419-x.
3. Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol.* 9(7):689-701. 2010. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70104-6.