

40 優性変異を持つ遺伝性疾患に対する根本的治療法の開発	鈴木 啓一郎
------------------------------	--------

**【目的】** 先天的な遺伝子変異により発症する遺伝病として 6,000 以上の疾患名がすでに報告されており、10,000 以上の遺伝性疾患が存在すると推測されている。一方で、そのほとんどが根治する可能性がなく有効な治療法が存在しない難治性遺伝病である。近年、ゲノムの標的配列のみを特異的に切断・改変するタンパク質『人工 DNA 切断酵素』が開発され、標的遺伝子の破壊（遺伝子ノックアウト）や、外からの遺伝子挿入（遺伝子ノックインや遺伝子修復）など、様々な細胞種・生物種で自由自在にゲノム配列をデザイン・改変する『ゲノム編集』技術が開発されてきた。特に近年では、CRISPR/Cas9 の開発によってゲノム DNA の任意の部位に切断を容易に加えることが可能となったが、切断部位への遺伝子ノックインや遺伝子置換には、細胞が有する DNA 修復機構の一種である『相同組換え修復』が用いられてきた。しかし、相同組換え修復によるゲノム編集には高い細胞分裂活性が必要であるため、生理的に細胞分裂を行っていないほとんどの生体内の細胞への応用は非常に困難であった。このような背景の中、筆者は非分裂細胞でも活性のある「非相同末端結合」経路を利用した標的遺伝子の改変手法を独自に開発し、生体内、特に非分裂細胞である神経、筋肉、網膜における標的ゲノム配列を自由に改変する世界初の技術を開発し、HITI (Homology-Independent Targeted Integration) と名付け、実際に遺伝性疾患である網膜色素変性症のモデルラットに対して視覚機能障害の治療効果が得られた (Suzuki et al, Nature 2016)。しかしながら、既存の HITI 法では、任意の配列をゲノム標的部位に挿入することはできても、原因変異を取り除くことは出来ないという大きな問題点があり、治療可能な標的は遺伝子の一部が欠落している欠失変異のみであった。本研究では、自ら開発した HITI 技術を更に発展させることで、従来の遺伝子治療法の治療対象とならない『Gain of function (優性遺伝子変異)』を治療可能とする新規ゲノム編集技術の確立を目指す。

**【方法】** 優性変異を持つエクソンの前のイントロンに以降のエクソンとイントロンと 3' UTR を結合した『mini-gene』を HITI 法により挿入する『イントロンノックイン法』を考案し、優性変異の治療を試みた。具対的な実験系として、生体内での DNA 導入に優れているアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターに遺伝子治療用『mini-gene』を持たせ、これを *Lmna* 遺伝子座に優性変異を持ち病的に老化が促進する早老症 (プロジェリア症候群) マウスに静脈注射し、優性点突然変異の遺伝子修復による治療効果を検討した。

**【結果】** 本研究過程で、新規の遺伝子改変機構 (oaHDR: one-armed Homology-directed repair) を発見し、これらの方法を組み合わせた新規のゲノム編集法「SATI: intercellular linearized Single homology Arm donor mediated intron-Targeting Integration」の開発に成功した。さらに本技術を用いることで、プロジェリア症候群モデルマウスに対し、複数の組織や臓器で同時にゲノム編集を行い、全身性のゲノム編集治療に成功した (Suzuki et al, Cell Res 2019)。今後本技術がさらに改良されることで、成人の神経・心臓・筋肉・網膜など様々な組織または全身に異常を持つ数多くの難治性遺伝病に対し、その原因となる異常遺伝子を病変部位で直接修復する医療への応用へ繋がることを期待している。

優性変異を持つプロジェリア症候群モデルマウスのゲノム編集治療

