

153 犬の遺伝性疾患に対するゲノム編集治療法の開発

宮脇 慎吾

**【目的】** 多くのイヌの遺伝性疾患において原因遺伝子が不明であるため、根本的な治療法はない。著者は、近年急速に進歩している CRISPR/Cas9 をはじめとするゲノム編集技術を用いて、ゲノムレベルでイヌの遺伝性疾患をゲノム編集マウスで再現することにより、遺伝子多型が生体に与える影響をゲノム編集マウスにより評価してきた。本研究では、イヌの遺伝性疾患を再現したゲノム編集マウスを利用して、ゲノム編集によるイヌの疾患の遺伝子治療法を開発することを目的とする。これによって、現在治療法のないイヌの遺伝性疾患の治療につながると考える。

**【方法】** 本研究では、イヌの先天性血液凝固疾患を対象として、その原因遺伝子の特定から、遺伝子治療法の確立までを実施した。具体的には、罹患犬から原因遺伝子の特定、CRISPR/Cas9 を用いた原因遺伝子を再現するマウスの作製、活性化部分トロンボプラスチン時間 (Activated Partial Thromboplastin Time : APTT) 試験による再現マウスの血液学的臨床検査、肝臓の RT-PCR による再現マウスの分子生物学的表現型解析、病的スプライシングを補完する遺伝子治療のための先天性遺伝子変異の導入実験を実施した。

**【結果】** はじめに、血液凝固異常症を呈する犬の家系を同定し、全ゲノム解析によりその原因遺伝子変異の候補を抽出した。抽出した候補には、遺伝子のイントロンのスプライシング部位に生じた一塩基多型が存在した。次に、抽出した変異をゲノム編集により再現したマウスの作製に成功し、そのマウスの血液凝固検査により、イヌの症例と同様に、再現マウスの血液凝固試験の結果が延長することを見出した。疾患再現マウスの肝臓をサンプリングし、RT-PCR による遺伝子発現解析を実施したところ、病的なスプライシング変化が生じていることが明らかになった。最後に、病的なスプライシングにより生じたフレームシフトをインフレームにする変異を新たに導入したマウスを作製した。現在、このマウスで表現型がレスキューされているかを検証しているところである。今後、インフレーム変異の導入により血液凝固の異常がレスキューできた場合には、AAV などを使った後天的なゲノム編集により遺伝子治療が可能かを検証し、将来的にはイヌの症例において、実験的な遺伝子治療を実施する予定である。

ゲノム編集によるイヌの遺伝性疾患の原因遺伝子の同定と遺伝子治療法の開発

