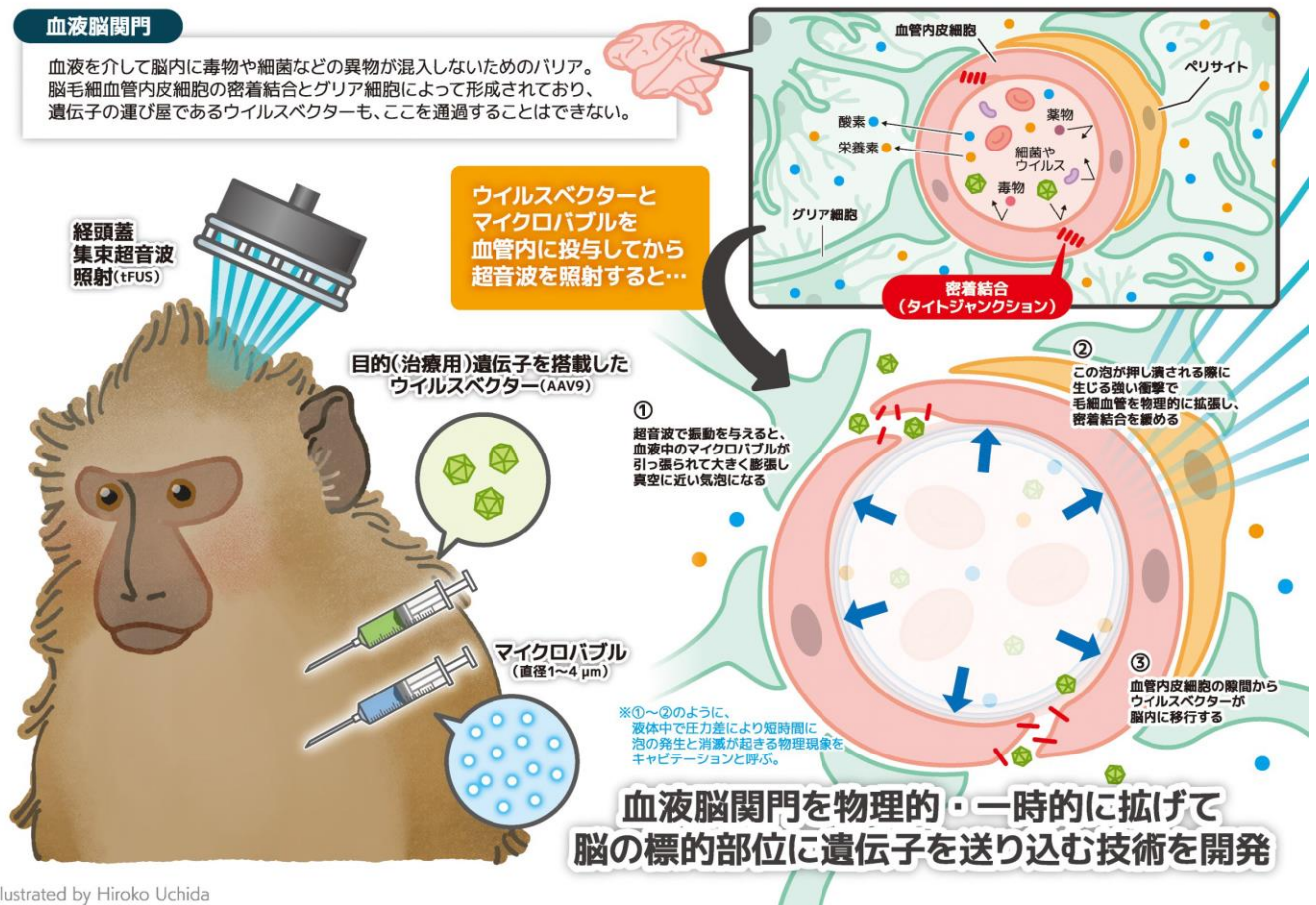


# 血液脳関門開放術による遺伝子治療法の開発

—身体を傷つけない脳疾患の治療を目指して—

## 概要

これまでは脳疾患の治療を行う際に、開頭手術により直接、脳の病変部位に治療用の薬剤等を注入したり、特定の脳領域に電極を刺入して電気刺激や電気凝固を施したりしていました。今回、京都大学ヒト行動進化研究センター 高田昌彦特任教授と井上謙一同助教は、スペイン・神経科学統合センター（HM CINAC）の Jose Obeso 教授の研究グループと連携し、新規に開発したウイルスベクターと経頭蓋集束超音波照射を利用したベクターデリバリー手法により、血液脳関門を物理的かつ一時的に開放して、血管内投与したベクターを脳の目標部位に局所的に導入し、外来遺伝子を発現させることにサルにおいて成功しました。このことは、非侵襲的に特定の脳領域に選択的な遺伝子導入を可能にする画期的な手法が確立されたことを示しており、今後、この技術が実用的なレベルにまで発展することによって、遺伝子治療技術を飛躍的に進展させ、特にパーキンソン病などの神経疾患に対する安全な治療法の開発に大きく寄与することが期待されます。本成果は、2023年4月20日（日本時間、午前3時）に米国の国際学術誌「*Science Advances*」にオンライン掲載されました。



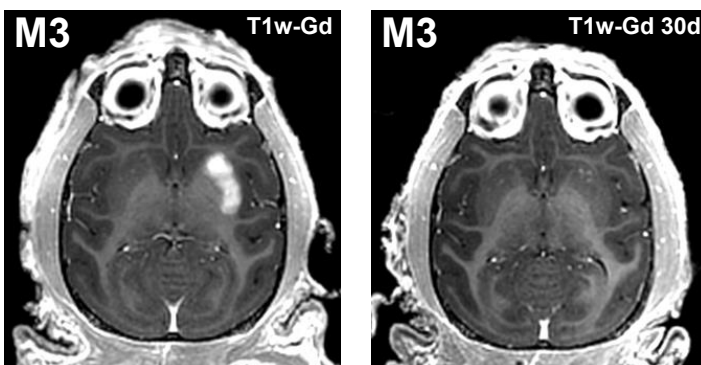
## 1. 背景

これまで脳疾患の治療を行う際に、開頭手術により直接、脳の病変部位に治療用の薬剤等を注入したり、特定の脳領域に電極を刺入して電気刺激や電気凝固を施したりしていました。近年、遺伝子治療研究分野では、神経疾患の治療のためにウイルスベクター（注1）の血管内投与による全脳的な遺伝子導入手法に期待が集まっており、ベクターの脳への移行を妨げる血液脳関門（BBB；注2）を越えるような遺伝子導入ベクターの開発が精力的に進められてきました。特に最近、9型のアデノ随伴ウイルスベクター（AAV9ベクター）やその改変型がBBBを越えて脳に目的遺伝子を導入できることが示され、マウスでは血管内投与で全脳的な神経細胞（ニューロン）への遺伝子導入が可能であることが報告されました。しかしながら、これらのベクターはサルをはじめ霊長類の脳ではうまく機能せず、未だ全脳的なニューロンへの遺伝子導入には至っていません。本研究プロジェクトでは、ヒトに近縁なモデル動物であり、感覚・運動・認知などの様々な脳機能を支える神経回路に関する知見が集積されているサル類（マカクザル）において、新規に開発したウイルスベクターと経頭蓋集束超音波照射（tFUS）を利用したベクターデリバリー手法により、非侵襲的な霊長類脳への遺伝子導入を実現し、その技術を実用的なレベルで確立することを目的としています。

## 2. 研究手法・成果

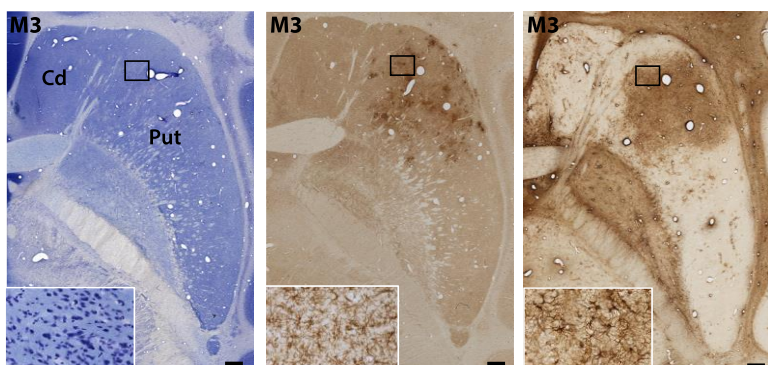
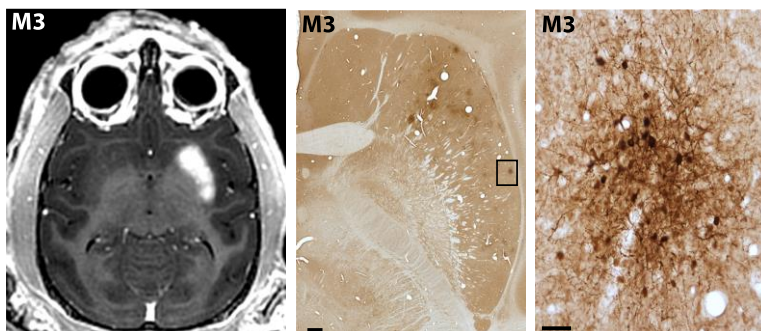
本研究プロジェクトでは、血管内投与によりサル脳への外来遺伝子導入に成功したキャプシド（注3）改変型 AAV9 ベクターと、tFUS とマイクロバブル（微小な泡）を組み合わせて BBB を一過性に開放する技術を用いて、特定の脳領域に選択的かつ非侵襲的にニューロンへの遺伝子導入を実現する先端技術を開発しました。この技術開発については、tFUS を利用したヒトパーキンソン病治療の第一人者である、スペイン・神経科学統合センター（HM CINAC）の Jose Obeso 教授の研究グループと連携して実施しました。具体的には、tFUS 装置を使用し、前もって静脈を介して血液中に送り込んだマイクロバブルに超音波を当て、そのバイブレーション・キャビテーション効果により特定の部位の BBB を物理的かつ一時的に広げて、血管内投与した AAV ベクターを脳の目標部位に局所的に注入し、目的遺伝子の発現を確認しました。

以下に典型例（M3）を用いて研究内容を説明します。



左の写真は、造影剤であるガドリニウムを血管内投与して BBB が開放されたサルの脳部位（白いところ）を示す MRI 画像です。左は開放直後で、目標部位である被殻（注4）に限局して比較的広範囲に BBB が開放されていることがわかります。他方、右は開放後 30 日目で BBB がすでに閉鎖しているため、ガドリニウムの沈着は認められません。

右の写真は、MRI 画像（左）で示された BBB の開放部位とほぼ同じレベルの被殻の免疫組織化学染色像で、スライスした脳組織を GFP（AAV9 ベクターに搭載されたレポーター）に対する抗体で染色したものです。右は中央の四角で囲んだ部位の拡大写真で、多数のニューロンに GFP が発現している（目的遺伝子が導入されている）ことがわかります。



左の写真は、上の GFP 染色像とほぼ同じレベルの被殻の組織標本で、右は細胞構築を示すニッスル染色像、中央は炎症性ミクログリアの集積を示す Iba1 抗体による免疫組織化学染色像、右はアストログリアの集積を示す GFAP 抗体による免疫組織化学染色像で、それぞれ左下は四角で囲んだ部位の拡大写真です。これらのデータから多少の局所的な炎症は認められるものの、組織損傷は認められないことがわかります。

以上の結果は、tFUS とウイルスベクターの血管内投与により、非侵襲的に特定の脳領域に選択的な遺伝子導入を可能にする手法をサルにおいて確立したことを示しており、今後、この技術が実用的なレベルにまで発展し、近い将来に臨床応用できることが期待されます。

### 3. 波及効果、今後の予定

特定の脳領域に選択的かつ非侵襲的な遺伝子導入を実現する本研究プロジェクトの成果は、遺伝子治療技術を飛躍的に進展させ、特にパーキンソン病などの神経疾患に対する安全な治療法の開発に大きく寄与することが期待されます。今後は、実際に霊長類の疾患モデルにおいて、この技術が有効であることを検証するとともに、最終的にはウイルスベクターに搭載するプロモータ（注5）などを利用した遺伝子発現制御技術と組み合わせることによって、特定の脳領域の特定のニューロン群に対してより安全な遺伝子操作をおこなうことを可能にする基盤技術を確認したいと考えています。

### 4. 研究プロジェクトについて

- ・ 国立研究開発法人日本医療研究開発機構、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、新規ウイルスベクターシステムを用いた霊長類脳への遺伝子導入技術に関する研究開発・JP22dm0207077
- ・ 日本学術振興会、特別推進研究、発達障害に関わる神経生物学的機構の霊長類的基盤の解明・19H05467

#### <用語解説>

注1：ウイルスベクター 遺伝子情報の運び屋

注2：血液脳関門 血液を介して脳に毒物や細菌などの異物が混入しないためのバリア

注3：キャプシド ウイルスゲノムを取り囲むタンパク質の殻

注4：被殻 大脳基底核を構成する線条体の一部で、黒質からドーパミン入力を受ける

注5：プロモータ ゲノムから遺伝子が転写される際、その開始に関与する遺伝子上流領域

#### <研究者のコメント>

ウイルスベクターの開発を除いて、本研究プロジェクトに関する主要な実験は経頭蓋集束超音波照射装置が完備されているスペインの神経科学統合センターで実施していたため、COVID-19によって日本とスペインの往来が困難になり、2年間以上にわたって研究を中断せざるを得なくなったが、ようやくここまで到達できた。今後は近い将来の臨床応用を目指して、この技術を実用的なレベルに発展させ、パーキンソン病などの神経疾患に対する安全な遺伝子治療法の確立に貢献したい。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：BBB opening with focused ultrasound in nonhuman primates and Parkinson's disease patients: targeted AAV vector delivery and PET imaging (経頭蓋集束超音波照射による血液脳関門開放術：特定の脳領域への選択的アデノ随伴ウイルスベクター導入)

著者：Blesa J, Pineda-Pardo JA, Inoue K, Gasca-Salas C, Balzano T, del Rey NL-G, Reinares-Sebastian A, Esteban-Garcia N, Rodriguez-Rojas R, Marquez R, Ciorraga M, del Alamo M, Garcia-Cañamaque L, de Aguiar SR, Rachmilevitch I, Trigo-Damas I, Takada M, Obeso JA

掲載誌： *Science Advances*

DOI：10.1126/sciadv.adf4888