

研究室紹介



ゲノム医学研究センター 遺伝子治療部門
三谷 幸之介



当研究部門は、平成15年に私がUCLAより着任して、ゲノム医学研究センターでは最後にスタートしました。さて、遺伝子治療について、多くの方は、実際の臨床応用にはまだ遠いイメージを持たれているかもしれませんが、しかし、欧米では研究が進んで臨床における成功例が増えてきていますし、日本においてもいくつかの臨床試験が成功しています。私自身は、約20年前にバイラー医科大学でこの研究分野に入って以来、特定の疾患を対象とするよりも、より一般的なテーマとして、治療用遺伝子を人間の身体や細胞に導入するためのいわゆるベクター技術の開発に携わっています。その過程で大きな転機となったのは、アデノウイルスベクターを免疫原性などの点で大幅に改善した、ヘルパーウイルスを利用してふやすアデノウイルスベクター (helper-dependent adenoviral vector; HDAdV) の開発でした。ポストドク時代はほとんど休みを取らず、夢中になって実験をしましたが、今でも交流の深い優秀な研究仲間を始めとした優れた研究環境を提供し、また本質的に重要な研究テーマに対して辛抱強く取り組ませてさせてくれたボス (Tom Caskey 博士) のおかげで、充実した4年間を過ごすことが出来ました。あの素晴らしい経験は、私が大学院卒業後に日本に留まっていたら100%不可能だったでしょう。ポストドク終了後は2年間東大医学部の寄附講座で研究をしましたが、講座の閉鎖に伴い再び米国 UCLA に今度は assistant professor として赴任しました。その時の決め手がポストドク時代のベクター開発の業績でした。UCLA での Principal Investigator としての仕事は、日本では考えられないくらいのプレッシャーとストレスだらけでしたが、35歳にして自分の研究室を持つことが出来ましたし、私は基本的に他人とは違うことをするのが好きなので、それもまた良い経験でした。その後、9.11の後のアメリカを二分する様な変容を見て、この国に一生暮らすのは無理だなと強く感じ

ていたところ、当時ゲノムの所長(現名誉所長)の村松正實先生に熱心にお誘いいただいて、埼玉医大にお世話になることにしました。

さて、埼玉医大に来てからの研究について、主要論文に沿って紹介します。そもそも、ポストドク時代に HDAdV を開発した目的は、それまでのベクターよりも優れた遺伝病治療用ベクターの開発でした。当時は研究所の上の階に、遺伝子ターゲティング (gene targeting; GT) の大家である Allan Bradley 博士 (現サンガー研究所所長) がいたので、HDAdV を利用した GT による効率の良い遺伝子修復はその頃からの課題でした。埼玉医大着任後の最優先のプロジェクトとして、HDAdV を用いてマウス ES 細胞における GT を試みたところ、従来のエレクトロポレーションよりも 20~30 倍高い効率で見出しました¹⁾。その後、京大でヒト ES 細胞が樹立され、またそれらの細胞での GT が非常に困難であるということで HDAdV を利用してみたところ、やはりこれまでの方法よりも ~300 倍高い効率で GT が得られることを見出しました²⁾。一方、他の研究グループがアデノ随伴ウイルス (AAV) 由来のベクターもヒト細胞での GT に適していると報告しました。方法論の研究では、他法との比較なしに自分の方法だけ用いて長所を強調するような研究には、あまり意味がありません。そこで AAV ベクターと HDAdV とを比較したところ、ヒト ES 細胞で高発現している遺伝子では AAV は効率よいものの、それ以外では HDAdV が優れていることがわかりました³⁾。さて、GT を利用した遺伝子修復治療を考えた場合、標的となるヒト細胞は、iPS/ES 細胞などの多能性幹細胞もしくは造血幹細胞などの組織幹細胞です。両者に長所と短所がありますので、造血細胞での遺伝子修復のモデルとして、ファンconi 貧血患者由来 B 細胞に対して AAV ベクターを用いて病因変異

の直接の修復を試み(この例ではHDAdVは低効率でした)、細胞数千個に1つという極めて高頻度での修復に初めて成功しました⁴⁾。このように私達の研究室では、色々な方法を駆使することで、世界をリードする形で、様々な細胞・応用例で高い効率で遺伝子修復が可能であることを示してきました。しかし、現実には、GTよりも高い頻度でランダムな染色体部位へのベクターの組み込みが起こり、それは細胞癌化などの副作用を引き起こします。レトロウイルスなどのベクターは、遺伝子内に組み込まれて問題を起こしやすいことが報告されていました。そこでアデノウイルスベクターについて調べたところ、遺伝子内部に組み込まれる傾向はありませんでした²⁾。さらに、この現象がアデノウイルス特異的な二本鎖DNA一般に見られることかを明らかにするため、プラスミドDNAの染色体組み込み部位の特徴について検討し、遺伝子領域に入る傾向がわずかながらあることを明らかにしました⁵⁾。一方、アデノウイルスベクターの基は子供に気管支炎を起こす5型ですが、臨床問題を起こすのは、眼科疾患を起こす37型などのウイルスです。しかし、37型などの培養細胞での増殖能力は5型に遙かに劣ります。ベクター改良にはウイルスそのものの性質をもっと知る必要があると考え、5型と37型の培養細胞における増殖能を規定する要因を調べました⁶⁾。

私の研究方針として、単にある方法が優れていることを示すだけでなく、他の方法とも比較して長所短所を理解し、かつその生物学的な意味を理解したいと考えています。そのことによって、方法論の根本的な改良が可能になると考えるからです。遺伝子治療はあらゆる医学的知識を組み合わせることで初めて成功します。今では、あらゆる疾患が遺伝子治療の対象として考えられていますし、新しいアイデア次第で、さらによいプロトコルを確立できるかもしれません。私達の研究もまだまだ未熟ですが、基礎・臨床を問わず本学の多くの先生とご一緒に、この分野の発展に貢献する様なユニークな研究を進めたいと願っています。どうぞ今後ともご指導、ご鞭撻を賜りますよう、よろしく

お願いいたします。

主要論文

- 1) Ohbayashi F, Balamotis MA, Kishimoto A, Aizawa E, Diaz A, Hasty P, Graham FL, Caskey CT, Mitani K. Correction of chromosomal mutation and random integration in embryonic stem cells with helper-dependent adenoviral vectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:13628-33.
- 2) Suzuki K, Mitsui K, Aizawa E, Hasegawa K, Kawase E, Yamagishi T, Shimizu Y, Suemori H, Nakatsuji N, Mitani K. Highly efficient transient gene expression and gene targeting in primate embryonic stem cells with helper-dependent adenoviral vectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:13781-6.
- 3) Mitsui K, Suzuki K, Aizawa E, Kawase E, Suemori H, Nakatsuji N, Mitani K. Gene targeting in human pluripotent stem cells with adeno-associated virus vectors. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;388:711-7.
- 4) Paiboonsukwong K, Ohbayashi F, Shiiba H, Aizawa E, Yamashita T, Mitani K. Correction of mutant Fanconi anemia gene by homologous recombination in human hematopoietic cells using adeno-associated virus vector. *J Gene Med* 2009;11:1012-9.
- 5) Suzuki K, Ohbayashi F, Nikaido I, Okuda A, Takaki H, Okazaki Y, Mitani K. Integration of exogenous DNA into mouse embryonic stem cell chromosomes shows preference into genes and frequent modification at junctions. *Chromosome Res* 2010;18:191-201.
- 6) Adachi K, Mitani K. Insufficient accumulation of viral late mRNAs restricts the replicative cycle of human adenovirus type 37 in A549 cells. *Arch Virol* 2009;154:1401-7.