



# NewsLetter

自治医科大学 地域医療オープン・ラボ

2023  
MAY  
特別号

## キャプシド発現タイミングを調整した アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター産生システムの開発

分子病態治療研究センター-遺伝子治療研究部の大庭賢二講師、瀬原吉英講師、小澤敬也客員教授、水上浩明教授、タカラバイオ株式会社からは、キャプシドタンパク質の発現タイミングを調節した AAV ベクター産生システムを開発し、このシステムが効率良く AAV ベクターを産生できることを明らかにしました。この研究成果は、iScience 誌に掲載されました(Online Ahead of Print; 2023 年 3 月 23 日、正式公開; 2023 年 4 月 21 日. PCT 特許出願申請済)。

今回、iScience 誌に掲載された研究成果について、大庭氏に研究の背景と意義を伺いました。

論文名 : Adeno-associated virus vector system controlling capsid expression improves viral quantity and quality

著者 : Kenji Ohba\*, Yoshihide Sehara, Tatsuji Enoki, Junichi Mineno, Keiya Ozawa, Hiroaki Mizukami

\* Corresponding author

掲載誌 : iScience 2023;26(4): 106487. doi: 10.1016/j.isci.2023.106487

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004223005643>

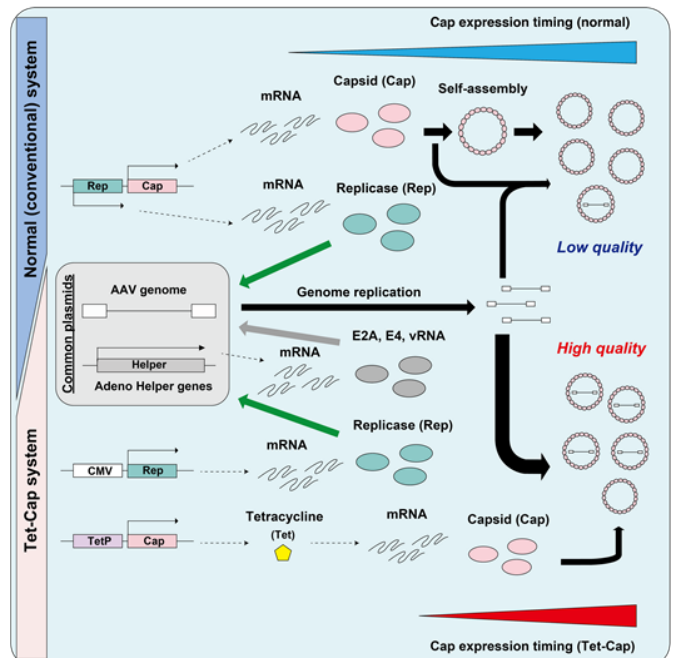
### Q1. アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターとは？

アデノ随伴ウイルス(Adeno-associated virus; AAV)ベクターは、ウイルスベクターの 1 種です。ウイルスベクターは、ウイルスがもつ毒性をできるだけ取り除き、ウイルスを器(ベクター)として、目的の遺伝子を標的の細胞に届けるツールとして改変されたものです。レンチウイルスベクターやアデノウイルスベクターなどが広く使われていますが、元となる AAV がヒトに対する病原性が非常に低いことやベクター由来の DNA がヒトのゲノムに組み込まれる頻度が比較的少ないことから、世界的に安全性の高いベクターとして遺伝子治療を中心に多数の臨床試験で用いられています。

### Q2. 今回の研究を行うまでの経緯は？

私はこれまでに様々な分野で研究を行ってきましたが、大きなベースはウイルス学です。2018 年末に赴任してから AAV の研究を始めましたが、既に臨床応用がされている現行の AAV ベクターにおいて、まだ数多くの問題点があることが指摘されていました。その中で、AAV ベクターの産生時に非常に多く生じる中空粒子(ゲノムを持たない空の粒子; empty vector)は、不必要な免

図1. 従来法と本研究の AAV 産生システムの違い



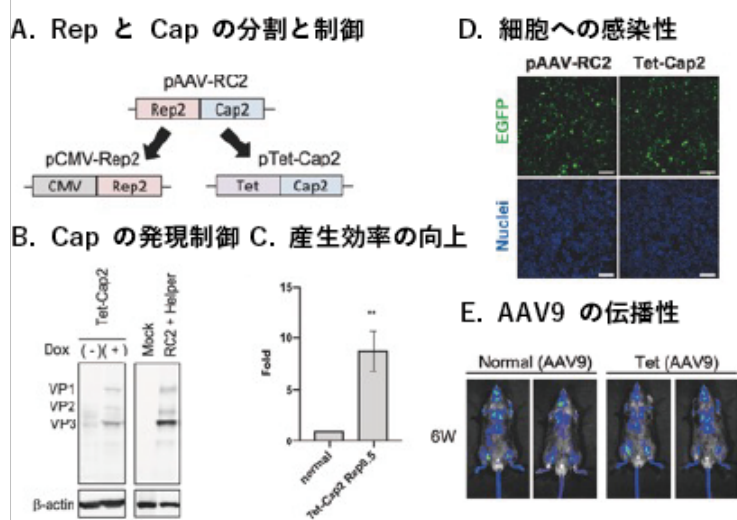
疫反応や副作用を誘発するため、臨床使用する前に取り除く必要があります。この工程が、製造コストの増加につながり、結果として非常に高額な薬価が設定される一因となっています。そこで、効率良く、質の高い AAV ベクターを産生できるシステムが求められています。この点に対し、様々なウイルスを扱ってきたウイルス学者としての視点から、ウイルスのキャプシド(Capsid)はタンパク質の特性から self-assemble する機能を有している点に着目しました。つまり、必要なコンポーネントが十分にできあがる前に、キャプシドは産生されると直ぐに粒子形成をはじめ、これが結果として空の粒子を作ってしまう。このウイルス本来の性質を考慮して、AAV ベクターシステムの改変を行うアプローチを行いました (図 1)。

### Q3. 今回のような研究成果が得られたのですか？

本研究では、AAV のプロモーターで制御されてレプリケース(Replicase; Rep)/キャプシド(Capsid; Cap)遺伝子が発現するようになっている 1つのプラスミドから、それぞれを分離し、Rep 発現は CMV プロモーターで制御、Cap 発現はテトラサイクリン依存性プロモーター(TetP)で制御できるようにしました (図 2A)。その結果、Cap の発現を遅らせることで広く市販されている AAV ベクターシステムに比べて、効率よく AAV ベクターが産生できるようになりました (図 2B, C)。この効率の向上は、Rep 発現様式の変化と Cap 発現タイミングの調節による相加的効果によるものでした。この改変は、殆どの AAV ベクターのセロタイプに対しても有効で、多様なセロタイプで AAV ベクターの生産性の向上がみられました。また、AAV ベクターの産生システムの改変は、AAV ベクターの細胞に対する感染性、ならびにマウスにおける *in vivo* の標的臓器に対する伝播能にも影響を与えませんでした (図 2D, E)。

以上のように新たな AAV ベクター産生システムは AAV ベクターの性質に大きな影響を与えず、多様なセロタイプで効率良く AAV ベクターを産生できることがわかりました。(国際特許(PCT) 出願済)

図 2. 本研究で作製された AAV ベクターシステム



### Q4. 今後、どのような展開が期待されますか？

この研究によって、AAV ベクターの産生効率が向上することから、製造コストなどの削減が期待でき、将来的な AAV ベクターを用いた治療の薬価を抑えることができることが期待されます。また本研究で開発されたシステムは、従来システムでは解析できなかった分子機構の解析や、さらなる AAV ベクター産生システムの改変を可能としています。既に新たなシーズを得ており、一層の発展が今後期待されます。

【発行】

自治医科大学地域医療オープン・ラボ