



平成 23 年 10 月 13 日

各 位

会 社 名 ディナベック株式会社  
代表者氏名 代表取締役社長 長谷川 護  
本社所在地 茨城県つくば市大久保 6 番  
問 合 せ 先 取締役管理部長 谷田洋平  
電 話 番 号 029-877-5155 (代表)

**重篤な遺伝性疾患の患者 iPS 細胞を用いた遺伝子修復療法に関する  
Nature 誌論文掲載につきまして**

ディナベック株式会社（本社：茨城県つくば市、代表取締役社長：長谷川護）、英国ケンブリッジ大学、サンガー研究所および 米サンガモ・バイオサイエンシーズ社（本社：カリフォルニア州）は、 $\alpha 1$  アンチトリプシン欠損症という重篤な遺伝性疾患について、患者の細胞から iPS 細胞を作製し、その病因遺伝子の変異部分を人工的に修復したのちに患者に戻して治療する技術を開発し、マウスでその有効性を示すことに成功しました。他の遺伝性疾患の根本治療になる新しい技術であり、その成果が Nature 誌（10 月 12 日、電子版）に掲載されることとなりました。

$\alpha 1$  アンチトリプシン欠損症(A1ATD)は、欧米で 1500-5000 人に 1 人の割合で発症し、全世界で 340 万人の患者と 一億人以上のキャリアーがいるとされる常染色体劣性遺伝病です。新生児から肝機能障害を発症し、小児期から成人に至る迄に肝硬変、肺気腫等が発生、平均寿命は 50 数年です。病因は、タンパク質分解酵素阻害剤である A1AT に見いだされ、A1AT 遺伝子の単独または複数の点変異によりアミノ酸が変化して A1AT が機能を失うことによります。結果として、体内のタンパク質分解酵素が異常活性化して肺が破壊され肺気腫を誘発し、また、変異 A1AT 自身がポリマー化して肝細胞内に蓄積し肝機能を障害します。現在のところ非常に高価で生涯続けなくてはならない組換え蛋白質 A1AT の補充療法があり、肝硬変の場合には肝臓移植が行なわれています。しかし肝移植はドナー不足や免疫抑制剤による重い副作用が問題です。

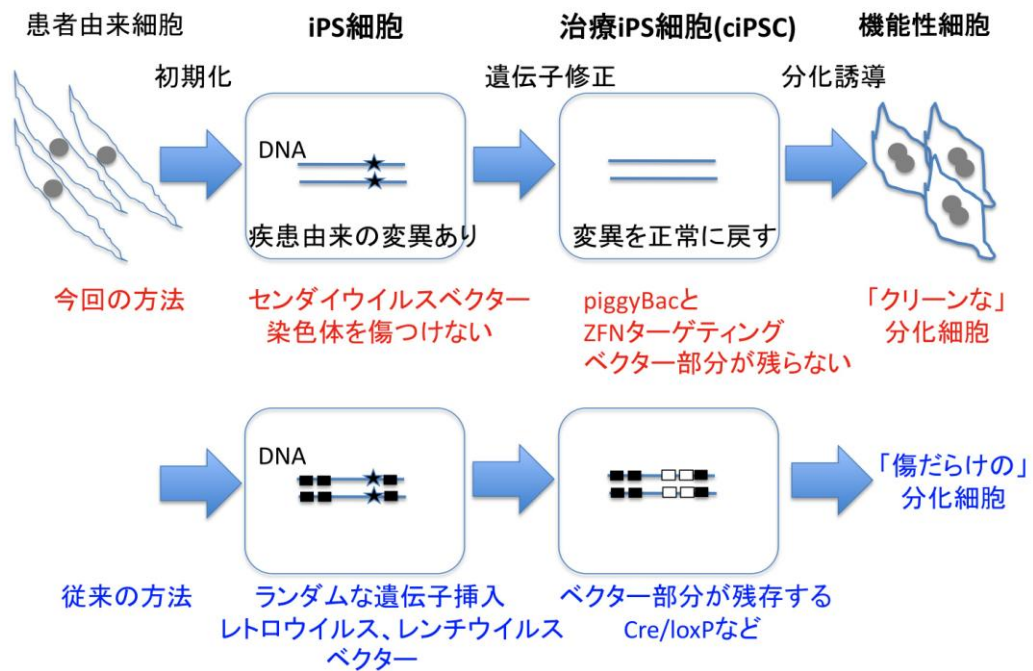
これを根本的に解決するため、我々は今注目されている人工多能性幹細胞(iPS 細胞)を活用して体外で患者細胞の変異遺伝子を修復し、患者に細胞移植で戻す新しい治療法の開発を目指しました。この場合、患者の iPS 細胞を作製する時に患者の染色体が傷つかないこと、またそれ

に用いたベクターや核初期化遺伝子が細胞に残存しないことが重要です。そのために、今回の研究では当社が開発したセンダイウイルスベクターが採用され、首尾よくこれらの問題のない患者 iPS 細胞の作製に成功しました<sup>1)</sup>。

次ぎに、得られた患者 iPS 細胞が持つ異常な A1AT 遺伝子の修復を試みました。その方法として、サンガモ・バイオサイエンス社の DNA 鎖中の特定の配列を認識してその傍の二重鎖 DNA を切断する機能がある「ジンクフィンガー遺伝子 (ZFN)」という遺伝子を搭載したプラスミドベクターと、ピギーバック (piggyBac) という切り出し可能な特殊なベクターに正常遺伝子の一部と抗生物質への耐性を与える遺伝子を同時搭載した「遺伝子修正用ベクター」を患者 iPS 細胞に同時に導入しました。用いた ZFN は患者染色体上の A1AT 遺伝子変異部分の直近を認識して DNA を切断するように設計しました。この切断が起こると細胞の DNA 修復機構が働き、遺伝子修正用ベクター上の正常遺伝子の一部と抗生物質耐性遺伝子はその切断箇所、つまり異常 A1AT 遺伝子の中に組換えによって入り込むことが期待されました。抗生物質に耐性になった細胞の中には、狙ったとおり遺伝子修正用ベクターの一部が目的の位置に組み込まれたものがあり、A1AT 遺伝子は正常なものに置き換っていました。その後、ピギーバックシステムによって抗生物質耐性遺伝子を切り出すことができ、余計な配列を持たず、完全に修復された A1AT 遺伝子をもつ患者 iPS 細胞を得ることができました (体外での患者細胞の遺伝子修復の成功)。

この iPS 細胞は多分化能を保持しており、大量に増やすことや肝細胞に分化させることができました。このようにして得た遺伝子修復されたヒト A1ATD 患者肝細胞を、マウスの肝臓に移植すると肝臓全体に分布するとともに正常に機能して蛋白質分解酵素を阻害することも判りました。

この新しい方法は、遺伝性疾患患者さんの細胞を体外で染色体を障害することなく遺伝子治療して遺伝子機能を修復し、それを患者さんに戻して治療するという画期的なもので、A1ATD 治療に留まらず、その他多くの遺伝性疾患の治療に大きな希望を与えるものと考えられます (図)。



【原著論文名】

Targeted gene correction of  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells.  
 K Yusa, S. T Rashid, H S-Marchand, I Varela, P-Q Liu, D E. Paschon, E Miranda, A Ordóñez, N Hannan, F Rouhani, S Darche, G Alexander, S J. Marciniak, N Fusaki, M Hasegawa, M C. Holmes, J P. Di Santo, D A. Lomas, A Bradley and L Vallier.

【参考】

1) センダイウイルスベクターによるヒト iPS 細胞の作製：センダイウイルスベクターは当社が開発した純国産ベクターで、細胞質で増殖する RNA ベクターであり、外来遺伝子の高発現と染色体を傷つけないことを最大の特徴とする。当社はこのベクターを使ったヒト iPS 細胞の高効率作製法を最近報告し、さらに、iPS 細胞誘導後は容易に細胞から除くことが可能な温度感受性ベクターも開発、下記のように報告している。

- Fusaki et al., Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. Proc. Jpn. Acad., Ser. B 85 (2009) 348-362
- Ban et al., Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., early edition (2011) 5<sup>th</sup> Aug.

2) piggyBac : イラクサギンウワバ (*Trichoplusia ni*) という蛾の 1 種から見つかったトランスポゾンで遺伝子発現ベクターとして利用されている。TTAA 配列をターゲットとして染色体に組み込まれ、同配列を認識する transposase によって切り出すことが可能である。

3) ZFN ターゲティング : ZFN とは Zinc Finger Nucleases のことで、ジンクフィンガードメインと DNA 切断ドメインから成る人工制限酵素である。ジンクフィンガードメインは任意の DNA 塩基配列を認識するように改変可能で、これによってジンクフィンガーヌクレアーゼが複雑なゲノム中の特定の配列を標的としてその部分に DNA 切断を起こすことが可能となる。染色体 DNA に切断などの傷がつくと細胞自身の DNA 修復機構が働き、その部分で組換えが起こり易くなる。これを利用することで、ZFNs はさまざまなモデル生物においてゲノム DNA の編集(genome editing)を可能にする。この標的配列を利用した染色体への遺伝子挿入方法を ZFN ターゲティングと言う

## 会社概要

### ディナベック株式会社

設立 : 2003 年 9 月 5 日

資本金 : 20 億円

代表者 : 代表取締役社長 長谷川 護 (はせがわ まもる)

本社所在地 : 〒300-2611 茨城県つくば市大久保 6 番 テクノパーク大穂

従業員数 : 24 名 (2011 年 9 月 1 日現在)

事業内容 : 遺伝子医薬品、細胞工学事業、バイオ製品の研究開発と販売等

URL : <http://www.dnavec.co.jp/>