

## 2021 年度研究助成報告書

2022 年 3 月 31 日

NPO 法人レット症候群支援機構

代表理事 谷岡 哲次 殿

氏名 神保 恵理子 ㊞

1. 研究課題 Rett 症候群に対する MECP2 発現調節等を介した遺伝子治療法開発
2. 研究期間 2021 年 4 月 1 日 ～ 2022 年 3 月 31 日
3. 研究（経過・成果）の概要

*MECP2* は、メチル化された DNA に結合する。その機能により、標的遺伝子が多く、多大な影響力を持つと考えられている。*MECP2* が関与する主な疾患は、機能喪失変異を持つレット症候群と *MECP2* の重複を持つ *MECP2* 重複症候群である。現時点の治療法の主体は対症療法であるが、本研究は、これらの *MECP2* の遺伝子異常を原因とする疾患に対し、正常遺伝子を正常範囲内で発現させることで機能回復を得る積極的な治療法の開発を目的としている。本年度は、レット症候群のモデル *MECP2* 欠損マウスを用いたアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターによる *MECP2* 遺伝子導入を行った。

遺伝子治療用ベクターには、神経細胞への移行に優れた AAV.GTX ベクターに神経特異的な発現プロモーター、*MECP2* 遺伝子と導入領域を可視化する蛍光緑色蛋白質の遺伝子 *AcGFP* を搭載した。投与部位には、ブタ脳でのベクター導入結果を踏まえ、マウス投与部位を大槽に決定した。その結果、マウスへの AAV ベクターの投与( $1 \times 10^{11}$ vg/匹)では、*AcGFP* により導入領域のモニタリングが可能となり、*MECP2* の発現範囲が明らかとなった。特に海馬、小脳、大脳皮質には多く発現していた。また、大槽投与では、脳脊髄液循環により広範囲に脳外側に導入される一方、脳内側には導入しにくいという特徴を持つことがわかった。

主に女兒に見られるレット症候群は、*MECP2* の変異と、各細胞の X 染色体上に *MECP2* が存在することによる細胞単位のランダムな不活化現象

が分子病態の理解を複雑にしている。これまで、レット症候群の研究では、雄を対象とした実験が比較的多く報告されてきた。その理由として、①マウスはヒトに比べて表現型(症状)が緩やかであり、遺伝子異常を持つ雄が生存可能である。②雄には X 染色体の不活性化がなく、早期に症状が表れ、データ再現性が得やすいことがあげられる。我々は、疾患により近い現象を捉えるために、雄(+/*y* 型, -/*y* 型)だけでなく、雌(+/+型, +/-型)についても解析を行った。

*MECP2*-AAV ベクターを雄(野生+/*y* 型, ヘミ-/*y* 型)および雌(野生+/*+*型, ヘテロ+/-型)に投与し、ロータロッド、オープンフィールド、スリーチャンパーテスト等による障害の評価を行った。その結果、これらのマウス行動変化をモニター可能にし、条件を設定することができた(雄は約 6 週令、雌約は 12 週令)。雌 +/-型、雄 -/*y* 型マウスでは、AAV ベクターによる行動障害の改善が観察され、寿命の約 2 倍程度の延伸が見られた。雄よりもさらに表現型が穏やかである雌についても行動障害の改善傾向を示したが、雄と比較して顕著な差は観察されなかった。雄(+/*y* 型)および雌(+/*+*型)では、正常量に AAV ベクター導入による *MECP2* 量が付加されたことにより、両性別ともに多動性の異常を示した。このことから、マウスにおいてもヒトと同様、表現型の異常を示さない一定の *MECP2* 発現量の範囲が存在することが明らかになった。

今後は、まず、AAV ベクター遺伝子導入による組織および細胞、行動、生存の評価、さらに個体数を増やして解析する。また、雌雄を対象として AAV ベクター投与量を変化させ、*MECP2* 発現量および発現脳領域と改善効果の相関の解析、雌におけるモザイク現象と AAV ベクターによる改善効果との相関についての検討を予定している。



