

岡田尚巳（神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 遺伝子治療技術開発室長）が第16回日本遺伝子治療学会学術集会において第1回遺伝子治療研究奨励賞を受賞（2010年7月）

【研究課題】

AAV ベクター作製法の開発と神経筋疾患に対する遺伝子治療

【要旨】

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは炎症反応を生じにくく、生体内での長期発現が可能で安全性も高い。ところが、AAV ベクターは精製操作が煩雑であり、純度の高いベクターを大量に調製することが困難なため、実験動物を用いた前臨床的試験や計画的な臨床試験の妨げとなっている。今後 AAV を利用した様々な神経筋疾患や遺伝性疾患に対する臨床研究が見込まれ、効率的な作製システムや、GMP 準拠品質のベクター調製系開発が急務である。このため、ベクター宿主細胞、機能強化型ヘルパープラスミド、ガス交換システムを用いた大規模遺伝子導入法 (Okada *et al.*, Hum. Gene Ther., 2005) および高規格のイオン交換精製技術 (Okada *et al.*, Hum Gene Ther., 2009、特願 2005-314476) を独自に開発し、優れた効率で高純度のベクターを調製することに成功した。さらに、従来は AAV ベクターによる遺伝子導入が困難と考えられた組織においても、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を用いた発現増強作用と作用機構を検証し (Okada *et al.*, Mol. Ther., 2006; 特願 2005-505834、PCT/JP2004/005166)、AAV ベクターを用いた遺伝子発現の対象が広がった。

高純度ベクターを利用した神経疾患や脳機能解析への応用として、脳卒中モデルである SHR-SP において炎症制御療法の効果を実証した (Nomoto *et al.*, Gene Ther., 2009)。また、マーモセットの運動野・線条体・黒質やアカゲザル一次視覚野・外側膝状体における順行性・逆行性感染経路の様式を明らかにした (投稿中)。

筋疾患治療への応用としては、デュシェンヌ型筋ジストロフィーのモデル動物である筋ジストロフィー犬を利用した治療実験を行い、AAV ベクターの感染で自然免疫系が活性化されることを、世界に先駆け見出した (Ohshima, *et al.*, Mol Ther, 2009)。このことから、組織傷害が少なく樹状細胞への暴露が低い静脈灌流法の有効性を予測し証明した。この方法により、短縮型治療遺伝子マイクロ・ジストロフィンを長期間発現させ、良好な病理所見を得ることに成功した。さらに、マイクロ・ジストロフィンを、9 型 AAV ベクターを用いて *mdx* マウスに全身投与し、発現様式、心電図所見、病理所見、超音波検査所見の評価を行った。心筋での遺伝子発現は 1 年半以上持続し、心筋の線維化や左心不全が劇的に改善した (投稿中)。

また、様々な遺伝性疾患に対する現行の蛋白質補充療法は極めてコストが高く、中和抗体による治療効果の低下やアナフィラキシーショックの頻度も高い。このため、イヌやマーモセットを用いて AAV や遺伝子産物に対する経口トレランスを応用した蛋白質補充療法の開発を推進している。