

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：分子病態に基づく神経変性疾患の遺伝子治療開発
2. 研究開発代表者：村松 慎一（学校法人 自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門）
3. 研究開発の成果

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と脊髄小脳失調症(SCA)は、国内患者各 9 千人、3 万人の神経変性疾患で、病勢の進行を止める治療はない。本研究は、孤発性 ALS と SCA1 型(SCA1)の病因的分子異常の正常化を目指した遺伝子治療法を開発する。ALS は働き盛りの壮年層を数年で死に至らしめ、SCA は若年より運動失調を呈するため治療法の開発は喫緊の課題である。ALS では、運動ニューロンにおいて RNA 編集酵素 adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) の発現が低下し、グルタミン酸 AMPA 受容体の GluA2 サブユニットが未編集型となっている。この変化は ALS に特異的な分子異常であり運動ニューロン死の原因である。また、SCA 1 型 (SCA1)では、DNA 構造調節蛋白質 high-mobility group box 1 (HMGB1) が減少し DNA 修復障害により神経細胞死を生じる。研究代表者は、血管内投与により広範な中枢神経領域の神経細胞に遺伝子を送達可能なアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの開発に成功している (特許 第 5704361 号)。研究分担者とともに、このベクターを種々の神経変性疾患の分子病態モデル動物に応用して遺伝子治療の効果を報告してきた。ALS では、上記の孤発性 ALS の病因的分子異常を再現する ADAR2 のノックアウトマウスに、ADAR2 遺伝子を搭載した AAV ベクターを単回静脈投与し、進行性の運動ニューロン死と運動機能低下を阻止できることを示した。SCA1 では、HMGB1 遺伝子を搭載した AAV ベクターを病態モデルである変異 Ataxin1 ノックインマウスの小脳表面の髄液腔に投与し、運動機能の改善と生存期間の著明な延長を得た。本研究では、これらの ALS と SCA1 の分子病態に基づいた遺伝子治療を世界に先駆けて臨床応用する。

平成 27 年度は、PMDA との事前相談および対面助言を実施し、生物由来原料基準に適合した GMP グレードの AAV-ADAR2 ベクターをバキュロウイルス法により製造開始した。安定して AAV ベクターを供給するため、マスターセルバンク(MCB)とマスターウイルスバンク(MVB)を作製した。AAV ベクターの精製においては、アフィニティークラム、イオン交換カラムなどを使用して最適な工程を検討した。イオン交換カラムと超遠心を組み合わせて高純度のベクターが得られる条件を策定した。試験製造では 4.93×10^{13} vector genome の最終産物が得られ、その結果を参考として品質基準を策定した。また、iPS 細胞、モデル動物を使用して非臨床試験を実施し、安全性および有効性を判定した。SCA1 患者由来の iPS 細胞を使用して HMGB 1 を発現する AAV ベクター (AAV-HMGB1) の治療効果の解析を行った。SCA1-iPS 細胞では正常 iPS 細胞に比較して神経細胞への分化効率が悪く、分化した神経細胞の神経突起長の短縮、分岐の減少、スパイン密度の減少がある。これらの表現型を指標に、AAV-HMGB1 の SCA1-iPS 細胞に対する治療効果を確認したところ、いずれの表現形質においても AAV-HMGB1 による改善が認められた。