

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：ALS に対する新規治療技術の創出

2. 研究開発代表者：山梨裕司（東京大学医科学研究所）

3. 研究開発の成果

近年の臨床研究や疾患モデル研究の進展により、呼吸を含む重篤な運動機能障害を呈するALSにおいて神経筋接合部（NMJ）の形成不全の重要性が示されつつある。NMJの形成は筋特異的な受容体型チロシンキナーゼMuSKによって制御されるが、代表者らは独自に単離したDok-7がMuSKの細胞内領域に直接作用し、活性化することがNMJ形成シグナルの駆動に必須であることや、その異常がNMJの形成不全と重篤な運動機能障害を呈する先天性筋無力症（DOK7-CMS）の原因であることを発見した（*Science* 312: 1802-1805, 2006; *Science* 313: 1975-1978, 2006）。さらに、Dok-7の過剰発現が個体のNMJ形成を高度に増強することを発見し（*Science Signal.* 2: ra7, 2009）、Dok-7の発現増強が、NMJ形成不全による運動機能障害に対する新規治療技術の創出に貢献し得ると考えた。そこで、本研究ではALSに対する新規治療技術の創出を目指し、NMJ形成増強治療に関する非臨床POCの取得を主たる目的とした。既に、先行研究としてアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いたヒトDOK7遺伝子発現ベクター（AAV-D7）によるNMJ形成シグナルの人為的な増強に成功し、DOK7型筋無力症と、常染色体優性エメリー・ドレフュス型筋ジストロフィーに対する2種のモデルマウスについて、AAV-D7の発症後の投与によるNMJ拡張、運動機能改善、生存期間延長の各治療効果を実証している（*Science* 345: 1505-1508, 2014）。以上の経緯と初年度の成果を踏まえ、以下の各項目の研究を実施し、それぞれに記載の成果を得た。

（1）動物モデルを用いた研究

本研究がヒト疾患に対する新規治療技術の創出を目指すことに鑑み、先行研究に用いた組織特異性の低いプロモーターや、ヒトDok-7の発現解析を容易にするための蛍光タンパク質による標識を排除した、治験・治療にも使用可能なベクター開発を進めた。その結果、当初予定の筋特異的なプロモーターに成体マウスでの低発現という問題を発見し、他の筋特異的なプロモーター候補群から、筋特異性と成体マウスでの発現レベルの両者において本研究に適するプロモーターを決定した。また、当該プロモーターにより蛍光タンパク質標識のないヒトDok-7を発現するベクター作出し、そのNMJ形成増強活性を確認した。さらに、当該ベクターを用いた非臨床試験に適する実験条件を策定し、世界基準のガイドライン（*Nature* 507: 423-425, 2014; *Amyotroph. Lateral Scler.* 11: 38-45, 2010）に沿った厳格な試験に基づく非臨床試験（げっ歯類）の実施を可能にした。同時に、非げっ歯類を用いた予備的な試験を進め、有効性・安全性等の非臨床試験に必要なデータを集積した。

（2）規制・知財対応

本研究を支える特許は研究代表者らによって既に日本および米国で成立し（特許 第5339246号; 米国特許 US8222383）、欧州で審査中である。そこで、昨年度に引き続き、本件特許に対する競合調査を実施し、特に競合する特許が無いことを確認した。また、本研究が目指す治療技術の創出に必要な治験相談については、PMDAとの薬事戦略相談・事前面談を行い、対面助言を非臨床・安全と製造について行うための論点整理を行うと共に、ベクター製造に関する研究機関・企業情報の収集を開始した。さらに、企業導出に向けた交渉も積極的に推進した。