

## 総括報告書

1. 研究開発課題名：AADC欠損症の遺伝子治療臨床研究
2. 研究開発代表者：山形 崇倫（自治医科大学 小児科学）
3. 研究開発の成果

本研究の目的は、AADC欠損症患者に対し臨床研究として遺伝子治療を実施することと、他の神経疾患に対する遺伝子治療法を開発することで、以下の研究を実施した。

## (1) AADC欠損症の遺伝子治療臨床研究

## ① AADC欠損症の遺伝子治療実施

- ・平成25年度は、遺伝子治療様のベクターをGMPレベルで作製した。ベクターは、アデノ随伴ウイルス(AAV)2型ベクターを用い、ウイルス遺伝子をヒトAADC遺伝子とCMVプロモーターで置換した。ベクター作製はタカラバイオ社に委託し、製品の純度等、精度の検証開始した。また、遺伝子治療の研究計画書を作製し、学内の倫理委員会に申請し、承認を得た。
- ・平成26年度は、ベクターの精度検証を継続し、培養細胞およびマウス脳での遺伝子発現、dopamine産生能力を確認した。遺伝子治療実施計画書等を厚生労働省科学審査部に提出し、承認を得た。遺伝子治療実施のための院内体制を整備した。
- ・平成27年度は、AADC欠損症患者4名に、両側被殻に定位脳手術でベクターを注入する遺伝子治療を実施した。4例とも、ジストニアの消失と運動機能の改善が得られた。また、FMT-PETで被殻でのAADCの発現を確認した。軽度の舞蹈病様運動が一過性に出現したのみで、大きな有害事象はなかった。症例1は15歳男子で、治療前は臥床状態で、随意運動が不可能だったが、治療後4か月で、少し支えての座位が可能になり、合目的運動が出来始めている。症例2は12歳の女子。臥床状態から、1か月後に寝返り、2か月で座位可能、3か月以降歩行器での歩行が少しずつ伸びている。症例3は5歳の女児。AADC欠損症と診断後、MAO抑制薬等で、臥床状態から支え歩行が可能になったが、独歩には至らず、遺伝子治療実施した。3か月後頃から、数m独立歩行が可能になった。症例4は19歳の男性で、臥床状態で随意運動は不可能だったが、治療後2か月であるが、随意運動が出始めている。AAVを用いた遺伝子治療は安全で有効だった。

## ② 診断と治療のガイドライン作成

- ・平成25年度は、AADC欠損症の診断方法として、これまで、症状と髄液中のカテコールアミン代謝産物の測定でなされていたが、新たに、血漿でのL-dopaからdopamineの産生量を指標とした酵素活性測定方法と、遺伝子変異検出方法を確立した。
- ・平成26年度、27年度と、依頼された患者に対して酵素活性測定、遺伝子解析による診断を実施した。1例、新規患者を診断した。また、診断と治療の手引きの原案を作成した。

## (2) 他の神経疾患に対する遺伝子治療法開発

AADC欠損症以外の小児遺伝性神経疾患に対する遺伝子治療法の開発研究として、GLUT1欠損症およびHunter症候群に対する遺伝子治療法開発研究を行った。

## ① GLUT1欠損症の遺伝子治療法開発

平成25年度は、AAV9にGLUT1遺伝子でのSLC2A1を挿入した、AAV9-hSLC2A1ベクターを作製した。平成26年度から27年度にかけて、AAV9-hSLC2A1を、GLUT1<sup>+/+</sup>マウス(6週齢)の腹腔内、あるいは両側側脳室に注入し、脳における遺伝子導入によるGLUT1の発現をRT-PCRおよびウエスタンブロッティングで確認した。組織免疫染色では、腹腔内投与では、脳全体の神経細胞にまばらに発現しており、脳室内注入は、刺入経路の周辺組織に沿って側脳室周辺の大脳皮質および海馬に強発現していた。また、Rota-rod testで運動機能の改善が得られている。

## ② Hunter症候群の遺伝子治療法開発

平成27年度から研究開始した。AAV9を用い、ヒトIDS、サイトメガロウイルスプロモーターを挿入した、AAV9 CMV IDS Myc-DDkを作製。また、モデル動物として、IDSのノックアウトマウスを使用し解析系を確立した。

