

ID No.	1010
研究課題名	ムコ多糖症 II 型の造血幹細胞を標的とした遺伝子治療法の前臨床試験
研究代表者	大橋 十也 (東京慈恵会医科大学・教授)
研究組織	
受入教員	大津 真 (東京大学医科学研究所・准教授)
研究分担者	小林博司 (東京慈恵会医科大学・准教授)
	嶋田 洋太 (東京慈恵会医科大学・助教)
	樋口 孝 (東京慈恵会医科大学・助教)
	和田 美穂 (東京慈恵会医科大学・大学院生)
研究報告	<p>本研究の目的はムコ多糖症II型(MPS II)の造血幹細胞を標的とした遺伝子治療法を開発する事である。ムコ多糖症II型はIduronate-2-sulfatase(IDS)の欠損によりグリコサミニグリカンが全身に蓄積する疾患である。骨病変、中枢神経病変、心病変(心筋、弁)などを呈する医疾患である。現在、酵素補充療法が主に現在行なわれているが毎週の酵素補充が必要なこと、中枢神経系、骨への効果が限定的である事が大きな問題点である。我々は、この点を克服すべく造血幹細胞を標的とした遺伝子治療法を開発を行っている。造血幹細胞への遺伝子導入はレンチウイルスベクターを用いると中枢神経系に効果がある事を既に明らかにしている。ただし、この場合はウイルスプロモーターを用いて強力的にIDS遺伝子を発現させ、この効果が確認出来た。研究の目的は癌遺伝子活性化による挿入変異を回避するためにウイルスプロモーターではなくcellularプロモーターを用いて同様の効果があるかをマウスMPSIIモデルとヒト細胞が移植可能なMPS IIモデルマウスの2系統で検討することである。前者はマウス、後者はヒト造血幹細胞へ遺伝子を導入する。今年度の進捗は以下の通りである。</p> <p>1) 今年度は挿入変異に対し、より安全性を高めるためウイルスプロモーターではなくcellularプロモーターであるPGKプロモーターでIDSを発現するレンチウイルスベクターを作成した。293細胞でのIDSの発現を確認後、MPS IIマウスの造血幹細胞に感染、致死量の放射線を照射したMPS II型マウスに移植した。PGKプロモーターを用いても、293細胞ではIDSの活性上昇はウイルスプロモーターを使用した場合と同程度の活性上昇を認めた。本ベクターを用いてモデルマウス造血細胞(Lineage⁻細胞)にIDS遺伝子を導入し、致死量の放射線照射をしたモデルマウスに移植したところ、移植4週後の血清でIDS酵素活性の上昇が認められた。ただ、ウイルスプロモーターを使用した場合と比べ活性の上昇は少なかった。現在、造血幹細胞への遺伝子導入効率などを検討すると共に移植マウスで血清中IDS活性の経過を追っている。</p> <p>2) 脳機能に関しては現在、どの行動試験が良いかの検討を当該試験に精通している慈恵医大神経科学部と共同で検討を行ない、行動実験の項目を決定した。</p> <p>3) ヒト造血幹細胞が移植可能なマウスに関しては、NOGマウス(NOD/scidマウスと数種のサイトカインレセプター共通ドメインであるIL-2レセプターγ鎖ノックアウトマウスを掛け合わせた)の受精卵でCRISPR/Cas9の方法によりIDS遺伝子をノックアウトしたマウスを得た。2系統においてIDS活性の低下が認められた。現在2系統のマウスがあり表現系を解析中である。今後、ヒトCD34陽性細胞を標的とした遺伝子治療を行う予定である。</p>