

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 研究分担者	大津 真 (東京大学医科学研究所・准教授) 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・助教)
研究報告書	
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。MPS II 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の開発を行なっている。造血幹細胞を標的としたレンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療はモデルマウスの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に IDS 遺伝子を発現させ、この効果が確認出来た。今回は臨床応用に向けて使用するレンチウイルスベクターの最適化を行なう研究を行っている。3つのウイルスベクターを構築し(特許の関係で詳細は省く)モデルマウスを用いて造血幹細胞を標的とした遺伝子治療を行い、最適なベクターを選択出来た。平行して前処置法もより弱いものを検討したが、結果としては脳障害を治療するためには強力な前処置が必要である事も判明した。以上より、非臨床試験に向かうべく特許申請を行い、プラスミドベクターのマスターセルバンクの作成を終了した。また、選択されたベクターを用いてヒト骨髓由来細胞株である KG-1a 細胞への遺伝子導入し、遺伝子導入効率測定方法の検討も行なった。その結果、DNaseI 処理を併用した定量 PCR 法が非常に導入効率を検討する上で優れていることが判明した。ヒト造血幹細胞(CD34 陽性細胞)に本ベクターで遺伝子治療を行ったところ用量依存性にベクターコピー数は増し、MOI100 で 13 コピー/cell の導入効率を得た。またもう 1 つのモデルマウスとしてヒト造血幹細胞が移植可能なマウスを作成した。ワイルドタイプの CD34 陽性細胞の移植を行い数%の移植効率を得ている。	