

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390383

研究課題名（和文）アデノ随伴ウイルスベクターを応用した脳神経疾患に対する細胞遺伝子療法

研究課題名（英文）AAV vector-mediated cell and gene therapy for neuronal diseases

研究代表者

岡田 尚巳（OKADA TAKASHI）

独）国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・遺伝子疾患治療研究部・室長

研究者番号：00326828

研究代表者の専門分野：脳神経外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：AAV ベクター、遺伝子治療、神経疾患

1. 研究計画の概要

悪性神経膠芽腫および動脈硬化症に対する治療蛋白質の長期補充療法を実現するため、(1)新規 AAV ベクター作製システムおよび(2)ベクター産生型細胞の移植による治療遺伝子増幅システムの開発を計画した。

2. 研究の進捗状況

新規強イオン交換膜を利用し、ベクター中に含まれる中空粒子の除去効率を格段に高め、極めて純度の高いベクターを調製する技術を開発し（Okada *et al.*, Hum. Gene Ther. 2009）、研究室における標準的なベクター作製システムとして実用化を達成した。この応用として、脳卒中モデルである SHR-SP ラットや、肺高血圧症ラットにおいて、ベクター系による蛋白質補充療法を応用した炎症制御療法の効果を実証した（Nomoto T. *et al.*, Gene Ther, 16:383-91, 2009、Ito T. *et al.*, Circ Res, 101: 734-741 2007 ほか）。ベクター系を応用した細胞治療に関しては、間葉系幹細胞の悪性神経膠芽腫への集積性を証明し、病巣標的化ベクター産生細胞を開発した。実際に、このベクター産生細胞を用いて動物モデルの腫瘍組織内における遺伝子増幅と治療効果の増強作用を証明した（Okada *et al.*, Front Biosci 13: 1887-1891, 2008、Uchibori *et al.*, J Gene Med 11: 373-81, 2009）。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

（理由）

当初の研究計画は若干の修正が必要であったが、予想以上の十分な成果と知見が得られた。成果は国際専門雑誌に多数受理された他、招待講演などでも国際的に高い評価を得た（International Society for Cell and Gene Therapy of Cancer など）。また論文発表に先立って特許出願を行い、社会への情報発信につとめた。今後、GMP 準拠規格のベクター作製システムや標的精度の高いベクター産生型細胞の開発が期待される。

4. 今後の研究の推進方策

悪性神経膠腫、難治性てんかん、および脳血管障害に対する治療成績をさらに改善させるため、外科的治療の際に持続的遺伝子導入法を併用する新規治療蛋白質補充療法の開発が強く期待される。AAV やその産生細胞を治療に用いると、安全で持続的な蛋白質補充療法の実現が可能となる。その基盤技術として、(1)独自の高純度ベクター作製システムの開発、および(2)ベクター産生型幹細胞の移植による治療遺伝子増幅システムの開発を引き続き推進する。これらの技術の応用として、悪性神経膠腫の再発予防、難治性てんかんの治療、および、クモ膜下出血後の脳血管れん縮の予防に関し、モデル動物を用いた治療実験を行い、臨床応用に向けた課題の抽出と有効性・安全性の評価を推進する。

5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計20件)

1. Okada, T., Nonaka-Sarukawa, M., Uchibori, R., Kinoshita, K., Hayashita-Kinoh, H., Nitahara-Kasahara, Y., Takeda, S., Ozawa, K. Scalable purification of AAV1 and AAV8 vectors using dual ion-exchange adsorptive membranes. Hum Gene Ther, 20:1013-1021, 2009. 査読有

2. Nomoto, T., Okada, T., Shimazaki, K., Yoshioka, T., Nonaka-Sarukawa, M., Ito, T., Takeuchi, K., Katsura, K.I., Mizukami, H., Kume, A., Ookawara, S., Ikeda, U., Katayama, Y. and Ozawa, K. Systemic delivery of IL-10 by an AAV vector prevents vascular remodeling and end-organ damage in stroke-prone spontaneously hypertensive rat. Gene Ther, 16:383-91, 2009. 査読有

3. Ito, T., Okada, T., Miyashita, H., Nomoto, T., Nonaka-Sarukawa, M., Uchibori, R., Maeda, Y., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Takahashi, M., Ikeda, U., Shimada, K. & Ozawa, K. :Interleukin-10 Expression Mediated by an Adeno-Associated Virus Vector Prevents Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension in Rats. Circ Res, 101: 734-741 2007. 査読有

〔学会発表〕(計43件)

1. 岡田尚巳 : Scalable purification of AAV1 and AAV8 vectors using dual ion-exchange adsorptive membranes, 日本遺伝子治療学会第1回遺伝子治療研究奨励賞 受賞講演 第16回日本遺伝子治療学会学術集会、平成22年7月1日、宇都宮、栃木県総合文化センター

2. 岡田尚巳 : ベクター産生型骨髄間質細胞を利用した遺伝子治療、日本薬学会第130年会 平成22年3月30日、岡山、岡山コンベンションセンター

3. 岡田尚巳, 喜納裕美, 笠原優子, 岡田浩典, 武田伸一 : AAV ベクターを用いた筋ジストロフィーに対する遺伝子治療, 日本人類遺伝学会第54回大会、平成21年9月24日、

東京、グランドプリンスホテル高輪

4. 岡田尚巳 : Development of AAV vector production system and therapeutic approaches for Duchenne muscular dystrophy, 熊本大学グローバルCOEリエゾンラボ研究会 平成21年11月11日、熊本、熊本大学

5. 岡田尚巳 : 生活習慣病・神経筋疾患に対する細胞遺伝子治療の開発、第12回小児分子内分泌研究会 平成20年7月5日、小樽、ヒルトン小樽

〔図書〕(計3件)

1. Okada T., Takeda S: Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. In, A Guide to Human Gene Therapy (ed. by Roland W. Herzog and Sergei Zolotukhin), World Scientific, NJ. (in press)

2. Okada, T., Takeda, S.: Advances in molecular therapy research on dystrophin-deficient muscular dystrophy. In, Gene Therapy and Regulation (ed. by Roger Bertolotti), World Scientific, NJ. (in press)

3. Okada, T. Vector-producing Mesenchymal Stem Cells for Cancer Gene Therapy. In, Gene Therapy and Cancer Research Focus. (ed. by R.N. Campbell), Nova Science Publishers, Inc., New York, pp. 9-17., 2008.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

1.
名称 : 組換えアデノウイルス迅速構築システム
発明者 : 岡田尚巳
権利者 : ヒューマンサイエンス振興財団
種類 : 特許
番号 : 特願 2008-330838
出願年月日 : 平成20年12月25日出願
国内外の別 : 日本