

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591004

研究課題名（和文）幹細胞による神経筋疾患の遺伝子治療

研究課題名（英文）Gene and stem cell therapies for neuromuscular disorders

研究代表者

木村 円（KIMURA EN）

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60433025

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は“神経筋難病の幹細胞/遺伝子治療法の開発”、特に難病・筋ジストロフィーをターゲットに定め、病的骨格筋に治療用蛋白質 “dystrophin”を導入する(replacement therapy)ことである。治療研究に用いるウイルスベクターの作成及びその機能の確認をおこなった：マーカー遺伝子(LacZ, eGFP)、複数の短縮型dystrophinとdystrophin/eGFP fusion 遺伝子、骨格筋への特異的分化誘導を促す因子(Myod, Pax7)などである。CMV, RSV, CAGなどの非特異的プロモーター以外に、骨格筋特異的なHuman Skeletal a-actin gene promoter (HSA), CK6 (modified Creatinin Kinase promoter 6), MHCK7などを用いた。2) 調節型myoDをマウス由来線維芽細胞に導入し、ex vivoおよびin vivoで骨格筋への分化誘導を行い、mdxマウスへの短縮型dystrophin遺伝子導入に成功した。(19. Kimura et al 2008) 3) 作成した治療用ベクターをモデル動物 (mdxマウス) に直接筋注した。長期的な発現を確認し、特に生理学的評価として骨格筋の収縮性・耐性の評価としてspecific forceとcontractionに対する耐性試験を行った。(11. Kimura et al 2010) 4) またプロモーターの調節領域の詳細な検討のために、それぞれの発現カセットを含むベクターを用いTgMラインを作成した。骨格筋、心筋、多臓器の発現活性を検討し、プロモーター領域の組み合わせによる治療応用の可能性を提言した。(2. Suga et al 2011)

研究成果の概要（英文）：

Goal of this study is development of new gene and cell therapy approach for neuro-muscular disorders. Especially we focus on muscular dystrophies and try to establish dystrophin replacement therapy. 1) We have generated series of viral vectors for gene delivery: containing maker genes, LacZ and eGFP, various short version of dystrophin with or without eGFP fusion gene, skeletal muscle specific transcriptional factors, MyoD, Pax3, and Pax7. To drive these genes of interest, we have also prepared series of promoter sets, ubiquitous promoters: CMV, RSV, and CAG, and skeletal muscle specific promoters: Human Skeletal a-actin gene promoter (HSA), CK6 (modified Creatinin Kinase promoter version 6), and MHCK7. 2) We successfully presented ‘cell-fate control therapy model’ of DMD: Fibroblasts derived from mdx mouse tail were transduced with a myoD-ER(T) gene, which is regulatable myoD, then myo-converted with Tamoxifen ex vivo as well as in vivo, to have ‘new muscle cells’ to supply a therapeutic micro-dystrophin protein in mdx mouse muscles (19. Kimura et al 2008). 3) We have also reported at least two year period of dystrophin gene expression after in vivo direct delivery with lentiviral vector into mdx mouse muscle, In this case, we demonstrated pathological and physiological function were recovered after dystrophin gene replacement and delivered gene were stably exist in muscle satellite cells which were muscle specific stem cells (11. Kimura et al 2010). 4) We have also generated Lv-mediated transgenic mouse to analyze promoter cassettes for therapeutic gene expression. In these animals, we have checked gene expression levels in various tissues such as skeletal muscle, heart, and others, also shown fiber type variations of gene expression in skeletal muscles (2. Suga et al 2011).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計

2008年度	1,400,000円	420,000円	1,820,000円
2009年度	1,200,000円	360,000円	1,560,000円
2010年度	1,000,000円	300,000円	1,300,000円
年度			
年度			
総計	3,600,000円	1,080,000円	4,680,000円

研究分野： 医歯薬学  
 科研費の分科・細目： 内科系臨床医学・神経内科  
 キーワード：(1) 幹細胞 (2) 神経筋疾患 (3) 筋ジストロフィー (4) 遺伝子治療 (5) 移植・再生医療

### 1. 研究開始当初の背景

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)は頻度が高く(1人/3,000~3,500新生男児)、20~30歳頃までに呼吸不全、心不全で死亡する予後不良の筋ジストロフィーである。当該研究はこの難治性疾患の根本治療を実現するための前段階研究の一部である。

1987年にKunkel等が分子生物学的手法にて原因遺伝子ジストロフィンを同定し、根本治療は近い将来に可能であろうと楽観的に予測されてきた。しかし約20年近く経過した今でも根本治療は実現していない。歴史的には、筋ジストロフィーに対する細胞移植研究は1989年に始まり現在も臨床研究が行われているが十分な効果は得られていない。遺伝子治療研究は1990年代に始まり実験動物(マウス)レベルでは極めて良好な結果を得ており、2006年にはヨーロッパと米国において合成oligo、AAV vectorを用いた臨床治療研究が始まっている。しかしながらこれらの治療の効果は一過性であるとされ、長期的に生命予後を改善するために安定した遺伝子導入と骨格筋幹細胞への応用を急がねばならない。イタリアのCossuのグループは、骨格筋の微小血管周囲に存在する壁細胞由来の細胞を用い経動脈的に投与し、実験動物(マウス、イヌ)レベルで、一定の治療効果を上げている。また本邦においては国立精神神経センターの武田らによって、筋衛星細胞、骨髄幹細胞などの治療応用を目指し精力的に研究が進められている。

### 2. 研究の目的

我々は“**神経筋難病の幹細胞/遺伝子治療法の開発**”を大目標として掲げている。具体的な目的として、難病・筋ジストロフィーをターゲットに定め、病的骨格筋に治療用蛋白質 “dystrophin”を導入する(replacement therapy)ことである。特に導入遺伝子を半永久的に発現できるレンチウイルスベクターを用い、かつ骨格筋特異的幹細胞および間葉系幹細胞を利用した方法は、他の方法に比べて独創的かつ有利である。また、将来的に他のタイプの筋ジストロフィーや神経筋疾患への広い応用が期待される点で、意義が大きいと考えられる。

### 3. 研究の方法

本研究は大きく2つのパートに分かれる。  
 a) レンチウイルスベクターの作成、モデル動物にウイルスベクターを直接投与(*in vivo*)し、

骨格筋幹細胞(骨格筋衛星細胞 satellite cell・壁細胞 pericyte)に治療用遺伝子(ジストロフィン遺伝子)を導入し長期間(1年間)の遺伝子発現を観察し、病理学的、生理学的機能評価により有効性を検討する。

b) 骨格筋、骨髄間質および他の末梢組織(脂肪組織、臍帯など)由来の幹細胞をモデルマウスより採取し *ex vivo* 遺伝子治療を行う。培養幹細胞は骨格筋細胞への分化を誘導し、血管内、骨格筋、もしくは心臓に直接注入し、病理学的、生理学的な機能評価を行うことを計画している。

具体的手順として、

- (1) マーカー遺伝子(*LacZ*, *eGFP*)、複数の短縮型 *dystrophin* と *dystrophin/eGFP fusion* 遺伝子、骨格筋への特異的分化誘導を促す因子(*MyoD*, *Pax7* など)を発現カセットにサブクローンする。シーケンシング、HEK293細胞などで蛋白を発現し、FACS、western blotting、免疫染色などで確認後に、Lentivirus vector 作成用カセットに挿入する。発現カセット(プラスミド)の作成段階において、塩基配列の解析、制限酵素サイトの予想、サンプルの管理等にコンピューターをもちいる。
- (2) 発現コントロールはCMV, RSV, CAGなどの非特異的プロモーター以外に、骨格筋特異的な Human Skeletal  $\alpha$ -actin gene promoter (HSA), CK6 (modified Creatinin Kinase promoter 6), CK7 などをもちいる。プラスミドを大量精製後、パッケージング用プラスミド2種(pCMV-VSVG-RSV-Rev, pCAG-HIVgp: 三好等の方法)、ないし3種(pRSV-REV, pCMV-VSVG, pRRLsin.cPPT-X-PRE: Naldini等の原法)とともに HEK293T細胞にトランスフェクションし、超遠心法によってウイルス液を濃縮精製し、力価をチェックする。この際に十分量の培地と血清が必要となる。
- (3) 直接、モデル動物 (*mdx* マウス) に接種する。接種方法として a) 直接筋注、b) 静脈内注入、c) 動脈内投与を予定している。接種後4週、4ヶ月、1年(および2年)を観察期間として、治療効果を判定する。
- (4) 全例で骨格筋病理標本を作製しHE染色、mGomori染色など通常の染色方法に加え、抗 *dystrophin* 抗体染色(dys2, 6-20,

H-300 等の抗体を使用)、GFP(直接観察、必要に応じて抗 GFP 抗体を使用)、dystrophin 関連タンパク(a-, b-dystroglycan, sarcoglycan complex, syntrophin, nNOS など)を染色し評価する。治療した筋組織から骨格筋幹細胞を分離し、遺伝子導入効率、筋再生能などを評価する。

- (5) また生理学的評価として骨格筋の収縮性・耐性の評価として specific force と contraction に対する耐性試験を行う。一部の個体については横隔膜に対する評価を行う。
- (6) *ex vivo gene therapy* のモデルとして、幹細胞移植を計画している。*mdx* マウスから骨髄、骨格筋、結合組織、脂肪組織、血管由来の幹細胞を培養分離する。従来の間葉系幹細胞培養の方法を参考にし、培地、growth factor に modification を加えた独自の方法で行う。
- (7) *ex vivo* 治療: 各 Lentiviral vector は MOI 10-50 の条件で1種ないし2種を同時に用いて遺伝子導入を行う。Southern blot 法および Q-PCR 法(マーカーを持つベクターの場合は FACS、X-gal 染色(APT 染色)、Western blot 法)によって確認後、移植実験に移る。
- (8) MyoD や Pax7 cDNA を modify したコンストラクトを持つ Lentiviral vector により dystrophin vector と同時に治療(遺伝子導入)し骨格筋への分化誘導、分裂増殖のドライブを考えている。この場合は免疫染色、Western blotting に加えて、導入遺伝子の機能評価を分化率、増殖率をみることで行う。
- (9) モデル動物(*mdx* マウス)に自家移植を行う。投与経路は、静脈内(尾静脈)、動脈内(大動脈)、直接筋肉注射による。基本的に免疫抑制剤は使用しない。ただし培地に薄く含まれるウシ血清に対する免疫反応が予想されるために、注入前後のみに FK506 の通常の投与方法でコントロールを行う。
- (10) 検討項目は、骨格筋・心筋組織における病理学的な改善点、運動生理学的治療変化として骨格筋の収縮力、行動解析を行い検討する(前述)。

#### 4. 研究成果

まず、治療研究に用いるウイルスベクターの作成及びその機能の確認をおこなった: マーカー遺伝子(*LacZ*, *eGFP*)、複数の短縮型 *dystrophin* と *dystrophin/eGFP fusion* 遺伝子、骨格筋への特異的分化誘導を促す因子(*MyoD*, *Pax7*)などである。CMV, RSV, CAG などの非特異的プロモーター以外に、骨格筋特異的な Human Skeletal a-actin gene promoter (HSA), CK6 (modified Creatinin Kinase promoter 6), MHCK7 などを用いた。すべての発現カセット、ウイルスベクターは予想される発現を確認できた。

(2) 調節型 *myoD-ER(T)* をマウス由来線維芽細胞に導入し *ex vivo* および *in vivo* で tamoxifen による骨格筋への分化誘導に成功した。これを

移植治療を目指したモデルの応用し、*mdx* マウス骨格筋への短縮型 *dystrophin* 遺伝子導入に成功した。(19. Kimura et al 2008)

(3) 作成した治療用ベクターLvHSA $\square$ dys/eGFP を *mdx mouse* 骨格筋に直接筋注した。長期的な発現を確認し、特に生理学的評価として骨格筋の収縮性・耐性の評価として specific force と contraction に対する耐性試験を行い、病理学的のみならず生理学的に骨格筋機能が回復していることが確認できた。(11. Kimura et al 2010)

(4) またプロモーターの調節領域の詳細な検討のために、それぞれの発現カセットを含むベクターを用い TgM ラインを作成した。最初に MSCV プロモーターを用いたカセットで骨格筋、心筋、多臓器の発現活性を検討した。骨格筋の筋線維タイプによる発現の違いを明らかにした: type I, IIA > IID/X > IIB。これらの治験に基づき、プロモーター領域の組み合わせによる治療応用の可能性を提言した。(2. Suga et al 2011)

#### 5. 主な発表論文等

(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 19 件)

1. Ishizaki M, Maeda Y, Kawano R, Suga T, Uchida Y, Uchino K, Yamashita S, **Kimura E**, Uchino M. Rescue from respiratory dysfunction by transduction of full-length dystrophin to diaphragm via the peritoneal cavity in in utrophin/dystrophin double knockout mice. *Molecular Therapy, in press. 2011*
2. Suga T, **Kimura E**<sup>‡</sup>, Morioka Y, Ikawa M, Li S, Uchino K, Uchida Y, Yamashita S, Maeda Y, Chamberlain JS, Uchino M. Muscle fiber type-predominant promoter activity in lentiviral-mediated transgenic mouse. *PLoS ONE*, 6(3): e16908, 2011
3. Ikeda T, **Kimura E**, Hirano T, Uchino M. The association between dermatomyositis and papillary thyroid cancer: A case report. *Rheumatology International, in press. 2011*
4. Yamashita S, Ueda A, Hirahara T, **Kimura E**, Hirano T, Uchino M. Fulminant myelopathy following neurogenic proximal weakness associated with human T-cell lymphotropic virus type I infection. *Internal Medicine, in press. 2011*
5. Mori A, Yamashita S, Uchino K, Suga T, Ikeda T, Takamatsu K, Ishizaki M, Koide T, **Kimura E**, Mita S, Maeda Y, Hirano T, Uchino M. Derlin-1 overexpression ameliorates mutant SOD1-induced endoplasmic reticulum stress by reducing mutant SOD1 accumulation.

- Neurochemistry International, in press. 2011*
6. **Kimura E**<sup>‡</sup>, Hirano T, Yamashita S, Hirai T, Uchida Y, Maeda Y, Uchino M. Cervical MRI of subacute myelo-optico-neuropathy. *Spinal Cord*, 49, 182-185, 2011
  7. Miura A<sup>†</sup>, Kumabe Y<sup>†</sup>, **Kimura E**<sup>‡</sup>, Yamashita S, Ueda A, Hirano T, Uchino M. Diffusion and ADC-map images detect ongoing demyelination on subcortical white matter of an Adult Metachromatic Leukodystrophy patient with autoimmune Hashimoto thyroiditis. *BMJ Case Reports*; 10.1136/bcr.01.2010.2631, 2010
  8. **Kimura E**<sup>‡</sup>, Goto H, Migita A, Harada S, Yamashita S, Hirano T, Uchino M. An adult Norovirus-related encephalitis/encephalopathy with mild clinical manifestation. *BMJ Case Reports*; 10, 1136/bcr.03.2010.2784, 2010
  9. Sakaguchi H, Yamashita S, Miura A, Hirano T, Hirahara T, **Kimura E**, Terasaki T, Maeda Y, Uchino M. A novel GJB1 frameshift mutation produces a transient CNS symptom of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Journal of Neurology*, 258: 284-90, 2010
  10. Kawano Y<sup>†</sup>, Nakama T<sup>†</sup>, Hata H<sup>‡</sup>, **Kimura E**<sup>‡</sup>, Maruyoshi N, Uchino M, Mitsuya H. Successful Treatment with Rituximab and Thalidomide of POEMS Syndrome Associated with Waldenstrom Macroglobulinemia. *Journal of the Neurological Sciences*, 297(1-2): 101-4, 2010
  11. Yamashita S, Mori A, **Kimura E**, Mita S, Maeda Y, Hirano T, Uchino M. DJ-1 forms complexes with mutant SOD1 and ameliorates its toxicity. *Journal of Neurochemistry*, 113(4): 860-70, 2010
  12. **Kimura E**, Li S, Gregorevic P, Fall BM, Chamberlain JS. Dystrophin delivery to muscles of *mdx* mice using lentiviral vectors leads to myogenic progenitor targeting and stable gene expression. *Molecular Therapy*, 18(1): 206-13, 2010
  13. Yamashita S, Migita A, Hayashi K, Hirahara T, **Kimura E**, Maeda Y, Hirano Y, Uchino M. Amyotrophic lateral sclerosis in a patient with Kartagener syndrome. *Amyotrophic lateral sclerosis*, 11(4): 402-4, 2010
  14. Fukuoka H, Hirai T, Okuda T, Shigematsu Y, Sasao A, **Kimura E**, Hirano T, Yano S, Murakami R, Yamashita Y. Comparison of the Added Value of Contrast-Enhanced 3D Fluid-Attenuated Inversion Recovery and Magnetization-Prepared Rapid Acquisition of Gradient Echo Sequences in Relation to Conventional Postcontrast T1-Weighted Images for the Evaluation of Leptomeningeal Diseases at 3T. *AJNR Am J Neuroradiol.*, 31(5): 868-73, 2010
  15. Yamashita S, **Kimura E**, Hirano T, Uchino M. Tumefactive multiple sclerosis. *Internal Medicine*, 48(12): 1113-4, 2009
  16. Yamamoto F, Yamashita S, Yamamura A, Watanabe M, **Kimura E**, Yamashita T, Hirano T, Uchino M. Abnormal spinal MRI findings in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 111(7): 624-8, 2009
  17. Yamashita S<sup>‡</sup>, **Kimura E**<sup>‡</sup>, Yamamoto F, Migita A, Kanda E, Mita S, Teramoto H, Uchino M. Flexor-dominant myopathic phenotype in patients with His46Arg substitution in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. *Journal of the Neurological Sciences*, 281(1-2): 6-10, 2009
  18. **Kimura E**<sup>‡</sup>, Okamoto S, Uchida Y, Hirahara T, Ikeda T, Hirano T, Uchino M: A reversible lesion of the corpus callosum splenium with adult influenza-associated encephalitis/encephalopathy: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 2(1): 220, 2008
  19. **Kimura E**, Han JJ, Li S, Fall BM, Ra J, Haraguchi M, Tapscott SJ, Chamberlain JS. Cell-lineage Regulated Myogenesis for Dystrophin Replacement: a Novel Therapeutic Approach for Treatment of Muscular Dystrophy. *Human Molecular Genetics*, 17(16): 2507-17, 2008
- [学会発表] (計 36 件)
1. Suga T, **Kimura E**, Morioka Y, Ikawa M, Uchino K, Koide T, Uchida Y, Yamashita S, Maeda Y, Li S, Chamberlain JS, Uchino M: Muscle fiber type-predominant promoter activity in lentiviral-mediated transgenic mouse. 18th Annual Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy, Oct 22-25, 2010, Milan, Italy
  2. **Kimura E**, Uchino K, Suga T, Koide T, Uchida Y<sup>†</sup>, Maeda Y, Yamashita S,

- Chamberlain JS, Uchino M: Lentiviral vector mediated delivery of full-length dystrophin for gene therapy of muscular dystrophy. 15<sup>th</sup> International Congress of the World Muscle Society, Oct 12-16, 2010, Kumamoto, Japan. Kumamoto Citizens' Hall
3. 中間達也, 渡邊聖樹, 本田省二, 平原智雄, 岡本定久, **木村 円**, 内野 誠: クリプトコッカス性髄膜炎に対する Ommaya Reservoir. 第15回日本神経感染症学会総会, 2010. Oct 8-9, 福島ビューホテル
  4. 米持康寛, 本田省二, 平原智雄, 植田明彦, 渡邊聖樹, **木村 円**, 平野照之, 内野 誠, 山本文夫, 橋本洋一郎, 中道一生: ー神経サルコイドーシスの経過中に発症した進行性多巣性白質脳症 (PML) の1例ー. 第15回日本神経感染症学会 Oct 5-6, 2010, 福島ビューホテル
  5. 内野克尚, **木村 円**, 菅 智宏, 小出達也, Han JJ, Li S, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: 幹細胞治療による骨格筋再生と筋ジストロフィーの治療研究. 第28回日本神経治療学会総会, July 15-16, 2010, 横浜, パシフィコ横浜
  6. 堀 寛子, 平原智雄, 植田明彦, 本田省二, 渡邊聖樹, 山下 賢, **木村 円**, 山下太郎, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠, 有馬寿之: 再発性フィッシュヤー症候群に対するステロイド・ciclosporin の効果. 第28回日本神経治療学会総会. July 15-16, 2010, 横浜, パシフィコ横浜
  7. **Kimura E**, Uchino K, Suga T, Ishizaki M, Koide T, Uchida Y, Maeda Y, Yamashita S, Chamberlain JS, Uchino M: Lentiviral vector mediated delivery of full-length dystrophin for gene therapy of muscular dystrophy. 13<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Gene and Cell Therapy, May 19-22, 2010, Washington DC, USA.
  8. Ishizaki M, Suga T, **Kimura E**, Maeda Y, Uchino M: Transduction of full-length dystrophin to diaphragm ameliorates respiratory dysfunction in severe dystrophic mouse. 13<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Gene and Cell Therapy, May 19-22, 2010, Washington DC, USA.
  9. 菅 智宏, **木村 円**, 内野克尚, 小出達也, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, 内野 誠: Lentiviral vector を用いた Duchenne 型筋ジストロフィー遺伝子治療研究. 第51回日本神経学会総会, May 20-22, 2010, 東京, 東京国際フォーラム
  10. 山下 賢, 森 麗, **木村 円**, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠: DJ-1 は変異 SOD1 と相互作用し、神経毒性を軽減する. 第51回日本神経学会総会 May 20-22, 2010, 東京, 東京国際フォーラム
  11. **Kimura E**, Uchino K, Suga T, Ishizaki M, Koide T, Maeda Y, Uchino M: Full-dystrophin packaging in Lentiviral vector for a gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. 17<sup>th</sup> Annual Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy, Nov 20-25<sup>th</sup>, 2009, Hannover, Germany.
  12. Ishizaki M, Suga T, **Kimura E**, Maeda Y, Uchino M: Transduction of full-length dystrophin to diaphragm ameliorates respiratory dysfunction in severe dystrophic mouse. 17<sup>th</sup> Annual Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy, Nov 20-25<sup>th</sup>, 2009, Hannover, Germany.
  13. **Kimura E**, Suga T, Ishizaki M, Uchino K, Uchida Y, Maeda Y, Chamberlain JS, Uchino M: *Mdx* diaphragm muscle as a target of dystrophin gene therapy. 14<sup>th</sup> International congress of the World Muscle Society, Sep 9-12<sup>th</sup>, 2009, Geneva, Switzerland.
  14. Yamashita S, **Kimura E**, Yamamoto F, Migita A, Mita S, Teramoto H, Uchino M: Flexor-dominant myopathic phenotype in patients with His46Arg substitution in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. 14<sup>th</sup> International congress of the World Muscle Society, Sep 9-12<sup>th</sup>, 2009, Geneva, Switzerland.
  15. **Kimura E**, Ishizaki M, Uchino K, Suga T, Koide T, Maeda Y, Li S, Chamberlain JS, Uchino M: Viral vectors mediated dystrophin gene therapies for muscular dystrophy models. The 8<sup>th</sup> French-Japanese Workshop on Muscular Dystrophy, July 3-4<sup>th</sup>, 2009, Paris, France.
  16. **木村 円**, 菅 智宏, 内野克尚, 小出達也, Han JJ, Li S, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: 幹細胞治療による骨格筋再生と筋ジストロフィーの治療研究. 第27回日本神経治療学会総会, June 11-12, 2009, 熊本市市民会館
  17. 菅 智宏, **木村 円**, 内野克尚, 小出達也, Han JJ, Li S, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: Lentiviral vector を用いた Duchenne 型筋ジストロフィー遺伝子治療研究. 第27回日本神経治療学会総会, June 11-12, 2009, 熊本市市民会館
  18. 中間達也, **木村 円**, 河野 和, 畑 裕之, 丸吉夏英, 阪本徹郎, 山下 賢, 平野照之, 内野 誠: リツキシマブとサリドマイドが著効した IgM $\lambda$  型 原発性マクログロブリン血症に伴う POEMS 症候群の1例. 第27回日本神経治療学会総会, June 11-12, 2009, 熊本市市民会館

19. 前田 寧, 石崎雅俊, **木村 円**, 内野 誠: 筋ジストロフィー根本治療に向けての骨髄間質由間葉系幹細胞へのウイルスベクターによる遺伝子操作. 第27回日本神経治療学会総会, June 11-12, 2009, 熊本市市民会館
20. 石崎雅俊, 河野亮子, 菅 智宏, 内田友二, **木村 円**, 前田 寧, 内野 誠: 筋ジストロフィーモデルマウスの呼吸機能解析及び横隔膜への完全長*dystrophin*導入による呼吸機能改善. 第27回日本神経治療学会総会, June 11-12, 2009, 熊本市市民会館
21. **木村 円**, 内野克尚, 菅 智宏, 小出達也, 石崎雅俊, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: 骨格筋幹細胞をターゲットとした Duchenne muscular dystrophy の治療研究. 第50回日本神経学会総会, May 20-22, 2009, 仙台国際センター
22. 山下 賢, 森 麗, **木村 円**, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠: DJ-1 による変異 SOD1 毒性の軽減効果に関する検討. 第50回日本神経学会総会, May 20-22, 2009, 仙台国際センター
23. 前田 寧, 石崎雅俊, 菅 智宏, **木村 円**, 内野 誠: 横隔膜へのジストロフィン導入による筋ジストロフィーモデルマウスの呼吸機能改善効果. 第50回日本神経学会総会, May 20-22, 2009, 仙台国際センター
24. 河野 和, 星乃光有, **木村 円**, 畑 裕之, 満屋裕明 (熊本大学医学部血液内科): リツキシマブ, サリドマイド併用が奏功した原発性マクログロブリン血症合併 POEMS症候群 第7回日本臨床腫瘍学会学術集会. Mar 20-21, 2009, 名古屋国際会議場
25. 右田明恵, 岡本定久, **木村 円**, 菺原義弘<sup>1</sup>, 山村明子, 平原 智雄, 中島 誠, 渡邊聖樹, 山下 賢, 山下太郎, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠: 肥厚性硬膜炎と脳梗塞を呈したアスペルギルス症の1剖検例. 第13回日本神経感染症学会総会 Oct 10-11, 2008, 日本大学会館
26. 平原智雄, 山村明子, 岡本定久, 渡邊聖樹, 中島 誠, 山下 賢, **木村 円**, 山下太郎, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠: 腓管内乳頭腫を合併した辺縁系脳炎の2例. 第13回日本神経感染症学会総会 Oct 10-11, 2008, 日本大学会館
27. 東家幸美, 大串幹, 本田佳子, 中島誠, **木村 円** (熊本大学リハビリテーション部): 球脊髄性筋縮症に対する摂食嚥下アプローチ. 第14回日本摂食・嚥下リハビリテーション学会学術集会, Sep 13-14, 2008, 千葉, 幕張メッセ
28. **木村 円**, 菅 智宏, 内野克尚, 小出達也, Han JJ, Li S, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: 骨格筋幹細胞をターゲットにした筋ジストロフィー遺伝子治療研究. 第26回日本神経治療学会総会, June 26-27, 2008, 新横浜プリンスホテル
29. 菅 智宏, **木村 円**, 内野克尚, 小出達也, 石崎雅俊, 阪本徹郎, 内田友二, 山下 賢, 前田 寧, 内野 誠: 骨格筋幹細胞をターゲットとした *dystrophin* 遺伝子導入. 第26回日本神経治療学会総会, Jun 26-27, 2008, 新横浜プリンスホテル
30. 渡邊 聖樹, **木村 円**, 日野洋健, 山下太郎, 前田 寧, 平野照之, 内野 誠: Tacrolimus が無効で cyclosporine が有効であった血管炎症候群の2例. 第26回日本神経治療学会総会, June 26-27, 2008, 新横浜プリンスホテル
31. 内野克尚, **木村 円**, 菅 智宏, 小出達也, 前田 寧, Li S, Chamberlain JS, 内野 誠: Lentiviral mediated gene therapies for Duchenne muscular dystrophy model. 第14回日本遺伝子治療学会総会, Jun 12-14, 2008, 札幌, 北海道医科大学
32. 石崎雅俊, 河野亮子, 前田 寧, 内田友二, **木村 円**, 内野 誠: 新世代アデノウイルスベクターを用いた横隔膜への *dystrophin* 導入 第49回日本神経学会総会, May15-17, 2008, パシフィコ横浜
33. 河野亮子, 石崎雅俊, 阪本徹郎, 小出達也, 内田友二, **木村 円**, 前田 寧, 内野 誠: 筋ジストロフィーモデルマウスの骨格筋への完全長 *dystrophin* 導入の効果. 第49回日本神経学会総会, May15-17, 2008, パシフィコ横浜
34. 阪本徹郎, 有馬寿之, **木村 円**, 前田 寧, 内野 誠: 中枢神経における *dystrophin* の局在に関する検討. 第49回日本神経学会総会, May 15-17, 2008, パシフィコ横浜
35. **木村 円**, Han JJ, Li S, Fall B, Gregorevic P, Haraguchi M, Meuse L, 菅 智宏, 内野克尚, 内田友二, 前田 寧, Chamberlain JS, 内野 誠: Lentiviral vector を用いた Duchenne muscular dystrophy の治療研究. 第49回日本神経学会総会, May 15-17, 2008, パシフィコ横浜
36. 山下 賢, 森 麗, **木村 円**, 前田 寧, 平野 照之, 内野 誠: 変異 SOD1 の小胞体内蓄積をターゲットとした家族性 ALS の遺伝子治療開発. 第49回日本神経学会総会, May 15-17, 2008, パシフィコ横浜

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 円 (KIMURA EN)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 60433025