

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390212

研究課題名（和文） 重篤な遺伝病に対する周産期遺伝子治療

研究課題名（英文） Perinatal gene therapy for severe genetic diseases

研究代表者

島田 隆 (SHIMADA TAKASHI)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20125074

研究成果の概要（和文）：遺伝性神経脱髄疾患である異染性白質ジストロフィー（MLD）と、遺伝性骨系統疾患である低フォスファターゼ症（HPP）のモデルマウスを使い、アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）による胎児/新生児遺伝子治療の可能性を検討した。新生児 MLD マウスに AAV ベクターを静脈内投与すると、ベクターは血液脳関門（BBB）を越えて中枢神経系に侵入し、広範囲な脳組織への遺伝子導入が認められた。その結果、モデルマウスの神経症状が改善した。HPP モデルマウスの胎児の腹腔内に AAV ベクターを投与する実験では、出生児の骨形成不全の改善と生存期間の延長が認められた。これらの結果は周産期の遺伝子治療が重篤な遺伝病の治療法として有用であることを示している。

研究成果の概要（英文）：We investigated the feasibility of prenatal/neonatal gene therapy of both metachromatic leukodystrophy (MLD) and hypophosphatasia (HPP) model mice using adeno-associated viral (AAV) vectors. After intravenous injection of AAV vector into neonatal MLD mice, global gene transfer into the brain across the BBB and long term gene expression without immune reaction were detected. Significant improvement of neurological symptoms was observed after treatment. The fetuses of HPP mice underwent transuterine intraperitoneal injection of AAV vector. Live-born mice showed improved mineralization, phenotypic correction and prolonged survival. These data demonstrated that systemic injection of AAV vector in the perinatal period is an effective strategy for the treatment of severe genetic diseases such as MLD and HPP.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：遺伝子、遺伝子治療、遺伝病

1. 研究開始当初の背景

ある種の遺伝病では、既に胎生期から病態が進行しているため出生直後或いは胎児期の治療が必要である。現在、胎児治療として胎児輸血、母体経由の薬物療法、子宮内外科

手術などが限られた対象疾患に試みられているが、遺伝子治療は行われていない。2000年に米国組換えDNA委員会(RAC)から出された「胎児遺伝子治療の科学、医学、倫理に関するレポート」では、胎児遺伝子治療の有

用性ととも、将来の臨床応用に向けた動物実験の必要性を強調している (Hum Gene Ther (2000)11:1211)。しかし、胎児遺伝子治療の研究は技術的制約もありほとんど進んでいない。最近、 β -Thalassemia のモデルマウスに対するレンチウイルスベクターの投与実験が報告されたが、長期発現は得られていない (PNAS (2007)104:9007)。出生後の新生児遺伝子導入についてはいくつかのモデルマウスの実験が報告されており (Gene Ther (2005) 12:1405, MolTher.(2004)9:866)、我々も最近、Fabry 病モデルマウスの新生児治療に成功している (Mol Genet Mtab (2009) 96:91)。しかし、ベクターの体内動態や脳神経系への治療効果などについての詳細な検討は行われていない。

胎児の遺伝子治療を最終的にヒトで行うかどうかは倫理性や Risk/Benefit の評価も含めた慎重な議論が必要であるが、そのためには動物実験系での前臨床研究データの蓄積が不可欠である。マウスの実験系で全てをカバーすることはできないが、基礎データとしては極めて重要であり、その後更に霊長類も含めた大型動物での検証実験が必要であると考えている。

現在、行われている重篤な遺伝病に対する遺伝子治療の臨床研究では以下のような問題点が明らかになっている。①診断時に既に不可逆的な病理変化が起きている場合が多い。②血液脳関門(BBB)のため、中枢神経系の非侵襲的治療ができない。③ベクター粒子や発現タンパク質分子に対する免疫反応により長期発現が達成できない。

胎児期或いは新生児期の遺伝子治療では、早期治療であるという点に加え、組織の未熟性のために成体のもつ様々な防御機構を逃れて十分な遺伝子導入と遺伝子発現が期待できる。実際に我々が行った Fabry 病マウスの実験でも出生直後にベクターを投与した場合は、抗体の産生が抑制され、治療タンパク質の長期発現が達成できている。又、新生児期に AAV ベクターを静脈注射した場合、相当量のベクターが BBB を通過して脳の実質内に侵入している予備実験の結果を得ている。これらの結果は新生児期或いは胎児期の遺伝子導入により、遺伝子治療の多くの問題を解決できる可能性を示唆している。

ArylsulfataseA (ASA) の遺伝的欠損症である異染性白質ジストロフィー (MLD) はサルファチドが神経系細胞に蓄積し脱髄をきたす遺伝性神経疾患である。TNALP (組織非特異型アルカリフォスファターゼ) の欠損症である低フォスファターゼ症(HPP)は骨形成不全、成長障害、痙攣発作を主症状とする遺伝性骨系統疾患である。いずれも重篤な遺伝性疾患であり、有効な治療法はない。我々の教室では、これらの疾患に対する遺伝子治

療研究を進めると共に、付属病院遺伝診療科において診断やカウンセリングも担当している。遺伝子治療の可能性は重篤な遺伝病の患者や家族にとって大きな希望であり、一歩でも実現に近づけることは我々研究者の責務であると痛感している。我々のグループは技術面と倫理面から包括的に新生児/胎児遺伝子治療の研究を進められる数少ない研究機関である。前臨床動物実験を精力的に推進することと平行して、患者会や学内倫理委員会での議論も開始し、近い将来の胎児/新生児遺伝子治療を目指したい。

2. 研究の目的

周産期の胎児或いは新生児に対する遺伝子治療の可能性について、その有効性、安全性、倫理性について包括的に検証する。胎児期/新生児期の遺伝子治療は、現在の遺伝子治療技術が抱える多くの問題を解決できる可能性をもつ重要なアプローチである。しかし、その技術的困難さに加え、安全性や倫理性についての検討がほとんど行われていない。本プロジェクトでは重篤な遺伝病である MLD と HPP のモデルマウスを対象に胎児/新生児遺伝子治療の有効性と安全性を実験的に検証することを主要目的とする。更に、新生児未熟児医療を担当している小児科医や、遺伝カウンセリング専門医も参加し胎児/新生児治療に対する患者家族の意見も参考に倫理的問題についての議論を開始し、将来のヒトでの臨床研究に結びつけようというものである。

3. 研究の方法

①AAV ベクターの作製：AAV ベクターに GFP 遺伝子或いは ASA 遺伝子を組み込んだ AAV-GFP 及び AAV-ASA ベクターを作製した。TNALP の C 末端に 10 分子のアスパラギン酸を付加した骨親和性 TNALP-D10 の cDNA を構築した。又、比較のため GPI により細胞膜に結合する野生型 TNALP (TNALP-N)、Flag タグをもつ可溶性 TNALP (TNALP-F) の cDNA を構築した。これらの組換えベクターはベクタープラスミド、パッケージプラスミド、ヘルパープラスミドのトリプルトランスフェクション法により作製し、Iodixanol の密度勾配遠心により精製濃縮した。

②MLD マウスの遺伝子治療：AAV ベクターを MLD マウスの新生児 (生後 1 日) の頸静脈、或いは成体 (8 週齢) の尾静脈に投与した。12 から 18 ヶ月後に脳組織を解析した。ASA タンパク質は免疫組織染色及び ELISA 定量法で、サルファチドは Alcian blue 染色及び TLC 展開後に定量した。運動機能は Balance Beam Test で評価した。

③HPP マウスの遺伝子治療: 新生児遺伝子治療としては、出生直後の HPP マウス (1-2 日齢) の経静脈からウイルスベクターを投与し、血中 ALP 濃度測定、体重測定、レントゲンでの骨化評価を経時的に行った。ベクターの体内分布は qPCR で、ALP の骨内分布は活性染色で調べた。

胎児遺伝子治療としては、妊娠マウスを開腹し、妊娠 15 日目のマウス胎児の腹腔内に子宮外からウイルスベクターを注射した。その後、自然分娩で娩出した新生児について解析を行った。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は日本医科大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

4. 研究成果

①新生児マウスに対する AAV ベクターの全身投与: 新生児期に AAV-GFP ベクターを投与したマウスの脳組織を 4 週令で解析したところ、広範囲な遺伝子導入を認めた。特に嗅球、大脳皮質、視床下部、脳幹部、脊髄で強く発現していた。脳表面での遺伝子発現と共に深部での遺伝子発現も認められた。サブタイプでは 9 型による遺伝子導入が最も高率であった。脳組織での遺伝子発現は少なくとも 18 ヶ月まで認められた。6 週齢マウスに同様に AAV ベクターを静脈注射した実験では脳内での遺伝子発現は確認できなかった。

免疫組織学的解析結果から遺伝子導入された細胞はほとんど NeuN 陽性の神経細胞であったが、一部に GFAP 陽性のアストロサイトも認められた。脊髄では後索の上向性線維に強い遺伝子発現が認められ後根神経節への遺伝子導入が考えられた。又、ChAT 陽性運動ニューロンへの遺伝子導入も確認された。

②MLD モデルマウスの新生児遺伝子治療: 始めに AAV-ASA ベクター静注後の AAV ベクターと ASA タンパク質の体内動態を検討した。成体 MLD マウスに AAV-ASA を投与するとベクターゲノム及び ASA タンパク質は肝臓や筋肉では認められたが、脳内では認められなかった。一方、新生児 MLD マウスに投与した場合は肝臓や筋肉だけでなく脳内でもベクターゲノム及び ASA の発現を認めた。又、ASA の血中動態を調べたところ、成体にベクターを投与した場合は、血中 ASA は一時的に高値になるが直ぐに減少し検出限界以下になった。コントロールとして行った成体免疫不全マウス (NOD-SCID) への投与実験では血中への ASA タンパク質の長期分泌が認められた。一方、新生児にベクターを静注した場合は長期間 ASA 活性が血中で認められた。これらのマウスの抗 ASA 抗体を測定したところ、ベクターを成体に投与し

た場合は ASA に対する抗体が作られていたが、新生児に投与した場合は抗体の産生は認められなかった。これらの結果は、AAV ベクターが新生児の BBB を通過して脳内に侵入し脳組織に感染できることを示している。更に、新生児期にベクターを投与することで ASA タンパク質に対する抗体産生が抑制される免疫寛容が誘導できることを示唆している。

次に、MLD マウスの新生児遺伝子治療実験を行った。新生児期に AAV-ASA を静注後、18 ヶ月の時点で Balance Beam Test を行ったところ、無治療 MLD マウスと比較して顕著な運動機能の改善を認めた。その後、脳組織の解析を行ったところ、ASA タンパク質の長期の発現と、サルファチドの著明な減少を認めた。これらの生化学的、組織学的改善は脳だけでなく脊髄でも認められた。

③HPP モデルマウスの新生児遺伝子治療: 未治療の HPP マウス (TNALP-/-) は出生後、体重が増加せず痙攣を繰り返すようになり平均 18 日で死亡した。生後 1 日未満の新生児 HPP マウスに AAV-TNALP-D10 を静脈注射したところ高い血中 ALP 値が持続し、痙攣は完全に抑制され、外見や運動機能もコントロールマウスと差を認めなかった。寿命は少なくとも 9 ヶ月以上延長した。

qPCR によりベクターの臓器分布を調べたところ心臓、筋肉で最も高い値が得られた。肝臓や骨組織では低い値しか得られなかった。レントゲンによる骨化の評価では、WT マウスに比較して未治療の HPP マウスでは中手骨や指骨の短縮や二次骨化中心の欠損などが認められたが、治療後のマウスにおいては明らかな骨化の改善が認められた。遺伝子治療により長期生存したマウスはレントゲン写真上 WT マウスとの差は認められなかった。

④TNALP の構造の違い: AAV-TNALP-D10、AAV-TNALP-F、AAV-TNALP-N を新生児 HPP マウスに注射し治療効果を観察した。AAV-TNALP-D10 及び AAV-TNALP-F の投与群はいずれも高い血中 ALP 値を持続し (1.20 ± 0.70 ; 5.70 ± 2.57 U/ml)、前者では 6/7 のマウスが、後者では 7/9 のマウスが少なくとも 56 日まで生存した。一方、AAV-TNALP-N 投与群では ALP 値は低値で (0.14 ± 0.02 U/ml)、5/17 のマウスのみが 56 日以上生存した。

骨組織の ALP 活性染色において未治療の HPP マウスでは全く活性が認められなかったが、AAV-TNALP-D10 により治療したマウスでは骨梁周囲に ALP 活性が認められた。AAV-TNALP-F 及び AAV-TNALP-N により治療されたマウスでは骨梁の ALP 活性は認められなかった。

(4)胎児遺伝子治療: 妊娠 15 日目のマウス胎児の腹腔に AAV-TNALP-D10 を投与後、

HPP マウスでは痙攣は完全に抑制され、生後 8 週までの観察期間中、野生群とほぼ同等の発育を認めた。また、治療後 HPP マウスの血漿 ALP 活性は無治療 HPP マウスと比較して有意に上昇し、X 線撮影では骨の成長および骨密度の増加を肉眼的に確認できた。組織学的な解析 (前脛骨の ALP 活性染色) では、骨・軟骨組織で ALP 活性が陽性となっていることを確認した。

胎児期治療後の体内でのベクター分布を定量 PCR で解析したところ、心臓、肝臓、骨格筋、腹壁、骨・軟骨、脳でベクターのコピー数上昇を認めた。

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 21 件)

1. Fujita, A., Migita, M., Ueda, T., Ogawa, R., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2010) Hematopoiesis in regenerated bone marrow within hydroxyapatite scaffold. *Pediatr. Res.* 68:35-40
2. Igarashi, T., Miyake, K., Masuda, I., Takahashi, H., Shimada, T. (2010) Adeno-associated vector (type 8)-mediated expression of soluble Flt-1 efficiently inhibits neovascularization in a murine choroidal neovascularization model. *Hum. Gene Ther.* 21:631-637
3. Miyake, N., Miyake, K., Karlsson, S., Shimada, T. (2010) Successful treatment of metachromatic leukodystrophy using bone marrow transplantation of HoxB4 overexpressing cells. *Mol. Ther.* 18:1373-1378
4. Yasuniwa, Y., Izumi, H., Wang, K-Y., Shimajiri, S., Sasaguri, Y., Kawai, K., Kasai, H., Shimada, T., Miyake, K., Kashiwagi, E., Hirano, G., Kidani, A., Akiyama, M., Han, B., Wu, Y., Ieiri, I., Higuchi, S., Kohno, K. (2010) Circadian disruption accelerates tumor growth and angiostromagenesis through a Wnt signaling pathway. *PloS ONE* 5:e15330
5. Yamamoto, S., Orimo, H., Matsumoto, T., Iijima, O., Narisawa, S., Maeda, T., Millán, J., Shimada, T. (2011) Prolonged survival and phenotypic correction of *Akp2*^{-/-} hypophosphatasia mice by lentiviral gene therapy. *J. Bone Miner. Res.* 26:135-142
6. Kato, S., Kobayashi, K., Inoue, K., Kuramochi, M., Okada, T., Yaginuma, H., Morimoto, K., Shimada, T., Takada, M., Kobayashi, K. (2011) A lentiviral strategy for highly efficient retrograde gene transfer by pseudotyping with fusion envelope glycoprotein. *Hum. Gene Ther.* 22:197-206
7. Kubodera, T., Yamada, H., Anzai, M., Ohira, S., Yokota, S., Hirai, Y., Mochizuki, H., Shimada, T., Mitani, T., Mizusawa, H., Yokota, T. (2011) *In Vivo* Application of an RNAi Strategy for the Selective Suppression of a Mutant Allele. *Hum. Gene Ther.* 22:27-34
8. Watanabe, A., Karasugi T, Sawai H, Banyar Tang Naing, Ikegawa S, Orimo H, Shimada, S. (2011) Prevalence of c.1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet* 56:166-168
9. Mayra, A., Tomimitsu, H., Kubodera, T., Kobayashi, M., Piao, W., Sunaga, F., Hirai, Y., Shimada, T., Mizusawa, H., Yokota, T. (2011) Intraperitoneal AAV9-shRNA inhibits target expression in neonatal skeletal and cardiac muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 405:204-209
10. Miyake, N., Miyake, K., Yamamoto, M., Hirai, Y., Shimada, T. (2011) Global gene transfer into the CNS across the BBB after neonatal systemic delivery of single-stranded AAV vectors. *Brain Res.* 1389:19-26
11. Matsumoto, T., Miyake, K., Yamamoto, S., Orimo, H., Miyake, N., Odagaki, Y., Adachi, K., Iijima, O., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2011) Rescue of Severe Infantile Hypophosphatasia Mice by AAV Mediated Sustained Expression of Soluble Alkaline Phosphatase. *Hum. Gene Ther.* 22:1355-1364
12. Isotani, M., Miyake, K., Miyake, N., Hirai, Y., Shimada, T. (2011) Direct comparison of four adeno-associated virus serotypes in mediating the production of anti-angiogenic proteins in mouse muscle. *Cancer Invest.* 29:353-359

13. Kato, S., Kuramochi, M., Takasumi, K., Kobayashi, K., Inoue, K., Takahara, D., Hitoshi, S., Takenaka, K., Shimada, T., Takada, M., Kobayashi, K. (2011) Neuron-Specific Gene Transfer through Retrograde Transport of Lentiviral Vector Pseudotyped with a Novel Type of Fusion Envelope Glycoprotein. *Hum. Gene Ther.* 22:1511-1523
 14. Nihira, T., Yasuda, T., Hirai, Y., Shimada, T., Mizuno, Y., Mochizuki, H. (2011) Adeno-associated viral vector-mediated gene transduction in mesencephalic slice culture. *J Neurosci Methods.* 201:55-60
 15. Takasu, K., Sakai, A., Hanawa, H., Shimada, T., Suzuki, H. (2011) Overexpression of GDNF in the Uninjured DRG Exerts Analgesic Effects on Neuropathic Pain Following Segmental Spinal Nerve Ligation in Mice. *J. Pain* 12:1130-1139
 16. Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Takatori, M., Dan, K., Inokuchi, K., Shimada, T. (2012) AAV-8 vector expressing IL-24 efficiently suppresses tumor growth mediated by specific mechanisms in MLL/AF4-positive ALL model mice. *Blood* 119:64-71
 17. Sugano, H., Matsumoto, T., Miyake, K., Watanabe, A., Iijima, O., Migita, M., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2012) Successful gene therapy *in utero* for lethal murine hypophosphatasia. *Hum. Gene Ther.* 23:399-406
 18. Miyake, K., Miyake, N., Yamazaki, Y., Shimada, T., Hirai, Y. (2012) Serotype-independent method of recombinant adeno-associated virus (AAV) vector production and purification. *J Nippon Med Sch.* 79:394-402
 19. Igarashi, T., Miyake, K., Asakawa, N., Miyake, N., Shimada, T., Takahashi, H. (2013) Direct Comparison of Administration Routes for AAV8-Mediated Ocular Gene Therapy. *Current Eye Res.* in press
 20. Uchida, N., Hanawa, H., Yamamoto, M., Shimada, T. (2013) 5'-HS4 core insulator blocks promoter interference in the lentivirus vector including the MSCV-U3 and EF1 α double internal promoters. *Hum. Gene Ther.* in press
 21. Komiyama, H., Miyake, K., Asai, K., Mizuno, K., Shimada, T. Cyclical mechanical stretch enhances degranulation and IL-4 secretion in RBL-2H3 mast cells. *Cell Biochem. Function* in press
- [学会発表] (計 18 件)
- 1) Watanabe, A., Naing BT, Sawai H, Karasugi T, Kondo H, Ikegawa S, Orimo H, Shimada, T. Genotype frequency of 1559T deletion (1559delT) in the TNSALP gene and clinical significance of hypophosphatasia in Japan. 2010 ACMG Annual Clinical Genetics Meeting. 2010. 3. Albuquerque, NM
 - 2) Miyake N, Miyake, K., Asakawa N, Yamamoto M, Shimada, T. Long term correction of biochemical and neurological abnormalities of MLD model mice by systemic neonatal injection of serotype 9. 13th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2010.5 Washington, DC
 - 3) Matsumoto T, Yamamoto S, Orimo H, Miyake, K., Miyake N, Narisawa S, Millán JL, Fukunaga Y, Shimada, T. AAV Vector Mediated Enzyme Replacement Therapy of Hypophosphatasia (HPP) Model Mice. 13th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2010.5 Washington, DC
 - 4) Miyake N, Miyake, K., Asakawa N, Okabe M, Yamamoto M, Shimada, T. Global gene transfer in the CNS and phenotypic correction of MLD model mice by systemic neonatal injection of serotype 9 AAV vector. European Human Genetics Conference 2010. 2010. 6 Gothenburg, Sweden
 - 5) Sugano H, Miyake N, Endo A, Miyake, K., Shimada, T. Systemic injection of AAV type 9 *in utero* facilitates global gene expression in the CNS. 18th European Society of Gene and Cell Therapy Annual Congress. 2010.10 Milano, Italy
 - 6) Sugano H, Miyake N, Endo A, Miyake, K., Shimada, T. Systemic injection of AAV type 9 *in utero* facilitates global gene expression in the CNS. International workshop of lysosomal storage disease. 2010.12 Prague, Czech

- 7) Matsumoto, T., Miyake, K., Miyake, N., Orimo, H., Narisawa, S., Millán, J.L. Fukunaga, Y., Shimada, T. Successful Treatment of Hypophosphatasia Model Mice by a Single Intramuscular Injection of AAV Type 8 Vector Expressing Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5 Seattle, WA
- 8) Sugano, H., Matsumoto, T., Miyake, K., Watanabe, A., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. Fetal Gene Therapy for Lethal Murine Hypophosphatasia. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011. 5 Seattle, WA
- 9) Igarashi, T., Miyake, K., Asakawa, N., Shimada, T., Takahashi, H. Direct Comparison of Administration Routes for AAV 8 Mediated Ocular Gene Therapy. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5. Seattle, WA
- 10) Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Intrathecal Administration of Type 9 AAV Vector Expressing Arylsulfatase A Is Effective for Reduction of Sulfatide Storage but Not for Correction of Neurological Deficits in Adult Metachromatic Leukodystrophy Model Mice with Overt Neurological Symptoms. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5. Seattle, WA
- 11) Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Inokuchi, K., Shimada, T., Dan, K. A single injection of AAV-8 vector expressing IL-24 efficiently suppresses tumor growth mediated by multiple anti-tumor mechanisms in MLL/AF4 positive ALL model mice. 2011 European Hematology Association Congress. 2011.6. London
- 12) Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Gene therapy of adult MLD model mice by intrathecal administration of type 9 AAV vector. 15th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2012. 5. Philadelphia, Pennsylvania
- 13) Shimada T : Gene therapy for lethal

murine hypophosphatasia. 6th International Alkaline Phosphatase And Hypophosphatasia Symposium. Huningue, Alsace, France May 16-19, 2012

- 14) Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. AAV9 mediated gene therapy of MLD model mice. 20th Annual Meeting of the European Society of Gene & Cell Therapy. 2012.10. Versailles, France

〔図書〕 (計 3 件)

1. Miyake, K., Shimada, T. (2011) Development and application of HIV vectors pseudotyped with HIV envelopes. *Viral Gene Therapy* (Edited by Ke Xu) p.355-370, InTech
2. Watanabe, A., Orimo, H., Takeshita, T., Shimada, T. (2012) Prenatal diagnosis of severe perinatal (lethal) hypophosphatasia. *Prenatal Diagnosis - Morphology Scan and Invasive Methods* (Edited by Richard Choy) InTech. in press
3. Miyake, K., Shimada, T. (2013) Development of muscle directed systemic cancer gene therapy. *Gene Therapy/Book 1* (Edited by Ming Wei) InTech. in press

6. 研究組織

(1)研究代表者

島田 隆 (SHIMADA TAKASHI)
日本医科大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：20125074

(2)連携研究者

三宅 弘一 (MIYAKE KOICHI)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90267211

右田 真 (MIGITA MAKOTO)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：50256963

渡邊 淳 (WATANABE ATSUSHI)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10307952