

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460502

研究課題名(和文)筋ジストロフィーの遺伝子治療を目指した免疫寛容誘導法の検討

研究課題名(英文) Investigation of immune tolerance induction method for gene therapy of muscular dystrophy

研究代表者

喜納 裕美(早下裕美)(Hayashita-Kinoh, Hiromi)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：60532728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、筋ジストロフィーなどの遺伝性疾患に対する根治療法としてAAVベクターを用いた遺伝子治療の際に問題となっている免疫応答についての検討を行った。CXMDJ(筋ジストロフィー犬)を用い、生後に遺伝子治療を行うことを目標として若齢犬に間葉系幹細胞(MSCs)をAAVと併用投与することで、AAV由来の遺伝子の発現が保たれるか見た。まず正常犬を用いてAAV-LucとMSCの併用投与したところ transgeneの発現減弱は遅くなることがわかった。CXMDJに対し、MSC併用で治療遺伝子発現ベクター(AAV-uDys)を全身性投与し、病態の経過を観察した。結果、病態の進行が非常に緩やかであった。

研究成果の概要(英文)：Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a severe congenital disease due to mutations in the dystrophin gene. Supplementation of dystrophin using rAAV has promise as a treatment of DMD, however, host immune responses against the vector as well as transgene products have been denoted in the clinical studies. Here, we transduced rAAV9-microdystrophin(uDys) with MSCs to DMD dog to investigate the therapeutic effects of an rAAV-uDys under conditions of immune tolerance. MSCs and rAAV9-Luc/rAAV9-uDys were intravenously injected into the normal or CXMDJ dog at 8 weeks old. Seven days after injection, MSCs were systemically injected again. At 8 days after 1st injection, rAAV9-Luc/rAAV9-uDys was intramuscularly or intravenously injected into the same dog. Administration of rAAV following MSCs treatment resulted in higher expression of transgene, compared to the rAAV transduction alone. The CXMDJ treated with MSCs and rAAV9-uDys showed functional improvement than other DMD dogs of same age.

研究分野：生化学

キーワード：遺伝子治療 筋ジストロフィー 免疫応答 間葉系幹細胞 疾患モデル

## 1. 研究開始当初の背景

筋ジストロフィーは臨床的に筋萎縮と筋力低下、病理学的には筋線維の壊死・変性・再生を伴う進行性の遺伝性筋変性疾患である。筋ジストロフィーのうちでも最も頻度が高く、最重症を呈する Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)については、現在のところ薬物投与による対処療法が主であり、根治療法は存在しない。治療研究として現在では日本でも治験の始まりつつあるエクソン・スキッピング療法(Anthony K, Hum. Gene Ther. Methods. 2012)、薬剤によるリードスルー療法(Pichavant C, et al., Mol. Ther. 2011)、iPS(Kazuki Y, et al., Mol. Ther. 2010)や骨髄間質性細胞(MSCs)(Nitahara-Kasahara Y, et al., Mol. Ther. 2012)を用いた細胞補充療法などの先進的な試みがなされているが、そのうちのひとつとしてウイルスベクターを用いた遺伝子治療を挙げることが出来る。

遺伝子治療に用いられるウイルスベクターにはアデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)などがあるが、AAV は非病原性であること、アデノウイルスなどと比較して炎症を伴う組織傷害が弱いこと、神経や筋肉で長期間の発現が可能であることから、安全性が高いウイルスベクターとして有用であると思われる。また実際に、既に国内において神経変成疾患のひとつであるパーキンソン氏病を対象に、AAV を用いた治験(Muramatsu S. et al., Mol. Ther. 2010)が行われている。

筋ジストロフィーの原因はジストロフィン遺伝子の変異または欠失によりジストロフィンタンパク質が欠損することによる。したがって、欠損したジストロフィン遺伝子をウイルスベクターで補充することにより、筋ジストロフィーマウス疾患モデル(mdx マウス)では表現形の改善が可能となっている(Shin JH et al., Gene Ther. 2011)。イヌ筋ジストロフィー疾病モデル(CXMD<sub>J</sub>)でも AAV ベクターを用いた補充療法がジストロフィン発現の回復に有効である(Wang Z et al., Mol. Ther. 2012., Koo T et al., J Gene Med. 2011) ことが示された。

しかし、2010 年に Mendel らが 6 名の DMD 患者に対して行った AAV-minidystrophin 筋肉内投与の治験の結果(Mendel, NEJM, 2010) から、治療遺伝子特異的 T 細胞が上昇、すなわち投与した治療遺伝子に対する免疫反応が起こりうるということが明らかとなった。DMD 患者では欠損または変異したジストロフィンタンパク質しか持っておらず、このため正常なジストロフィンタンパク質は異物とみなされる。ベクターから発現した治療遺伝子は生体の免疫反応により、CD4 陽性または CD8 陽性の T 細胞により攻撃を受け、発現が減弱していくことが動物実験では明らかになっている(Ohshima et al., Mol. Ther. 2009)。同様の懸念が血友病の遺伝子治療(AAV-hF.IX)でも挙

がっており、治療遺伝子やベクターに対する生体の免疫反応が、治療遺伝子の発現を低下させることが障害となる。これを回避するために、従来では免疫抑制剤の投与が試みられており、免疫抑制下では治療遺伝子の発現は比較的長期にわたって安定であることがわかっている。しかし、長期にわたる免疫抑制剤投与は副反応もあり、決して患者にとって望ましいとは言い切れない。

そこで本研究では遺伝子治療を行う際に障壁となる免疫反応を、治療遺伝子もしくはベクターに対する免疫寛容を誘導することで回避し、治療遺伝子を長期にわたって安定して発現可能にするための方法を検討することを目的とした。

## 2. 研究の目的

遺伝子治療を行う際に障壁となる免疫反応を、治療遺伝子もしくはベクターに対する免疫寛容を誘導することで回避し、治療遺伝子を長期にわたって安定して発現可能にするための方法を検討する。

## 3. 研究の方法

平成 26 年度

- (1) 免疫寛容誘導個体作出のためのシステム構築(MSC 採取・増殖、経口カプセル形状検討)
- (2) AAV ベクターに対する後天的免疫寛容獲得個体作出 (AAV ベクター, MSC 投与)
- (3) 免疫寛容獲得個体の解析

(1) 免疫寛容誘導個体作出のためのシステム構築

- ① 正常犬より MSC を採取のち CD271(+) の細胞を分離し、移植時必要量まで増殖させる
- ② 精製・増殖した MSC の細胞表面マーカーの確認
- (2) AAV ベクターに対する後天的免疫寛容獲得個体の作出

- ① 同腹のイヌ新生仔から採血を行い、リンパ球の精製、AAV ベクターに対する中和抗体価を測定
- ② ベクターに対する中和抗体価が低いイヌを用いて、MSC とベクターの同時投与による寛容誘導を行う

(3) (2) で作出した免疫寛容誘導個体の解析

- ① AAV に対する反応性を各個体の全血からリンパ球を単離し AAV を曝露したのちの免疫応答を経時的に確認
- ② ある程度の発現が見込まれる時期に生検を行い、外来遺伝子または治療遺伝子の発現を確認

(2) の寛容誘導実験を行う際は、まず正常犬とマーカータンパク質を発現する AAV ベクター(AAV-Luc) の組み合わせで行う。(3) で解析を行って十分に寛容が誘導出来ていれば、翌 26 年度より同様のプロトコルを用いて、CXMD<sub>J</sub> と治療遺伝子(小型化ジストロフィン:  $\mu$ Dys)

を発現するベクター投与の組み合わせで行う。

平成 27 年度、28 年度

(4) 後天的に寛容を誘導後、治療遺伝子を導入した筋ジストロフィー動物モデルの解析

①経時的に生化学的解析（血清クレアチンキナーゼ値、血液生化学）

②経時的に血清中の AAV ウィルスに対する中和抗体価の測定

③経時的に骨格筋の生検を行い、その免疫組織学的解析ないし、病理解析

④ ③の生検で得られた標本に対し、マーカー遺伝子ならびに治療遺伝子の発現解析

⑤寛容誘導個体について、③で治療遺伝子の発現が十分でなかった場合、ウィルスベクターの再投与

⑥寛容誘導個体について、経時的に DMD 病態のグレーディングによる評価、行動量測定、心機能測定

#### 4. 研究成果

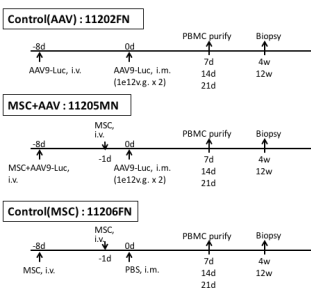
(1) 免疫寛容誘導個体作出のためのシステム構築

項目(1)については、共同研究を行っている企業からヒト正常 MSC の提供を受けることが出来たことから、正常犬由来の MSC ではなく、ヒト由来の MSC で項目(2)以下の検討を行った。

(2) AAV ベクターに対する後天的免疫寛容獲得個体の作出と解析

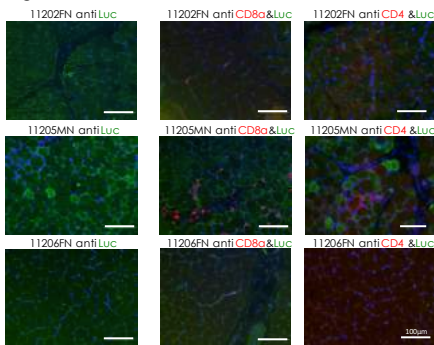
①局所投与

Fig.1



同腹の正常犬に対し MSC と AAV9-Luc を同時に投与することで寛容を誘導し、AAV9-Luc を左右の前脛骨筋に局所投与した。Fig.1 に投与スケジュールを示す。

Fig.2

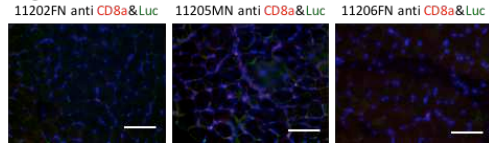


投与から 4 週後に筋生検を行い、免疫組織染色を用いて transgene の発現を確認した結果、

寛容誘導を行った個体 11205MN では局所投与を行った AAV 由来の Luciferase の発現が観察できたが、MSC 非投与個体の 11202FN では Luc の発現は確認出来なかった。さらに、抗 CD4 抗体および抗 CD8 抗体を用いて組織像を確認したところ、11205MN でのみ CD4, CD8 陽性の細胞浸潤が見られた (Fig. 2)。

また、投与から 12 週後に反対側の前脛骨筋を筋生検し免疫組織染色をしたところ、4 週後と同じく 11205MN のみわずかに transgene の発現と、Luc が発現している筋の周辺に CD8 陽性細胞を確認した (Fig. 3)。

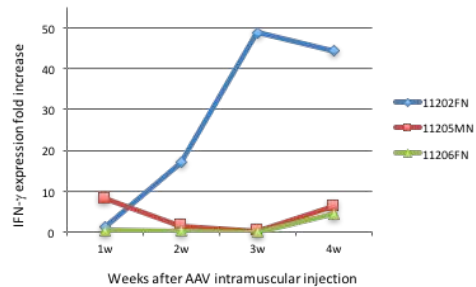
Fig.3



このことから MSC を併用した個体においては MSC 非投与の個体に比較して transgene の発現が長期間維持されていたことがわかった。

経時的に PBMC を採取し、単離精製した PBMC の培養液中に AAV を添加して個体の AAV に対する免疫応答を検討したところ、免疫寛容を誘導した個体 (11205MN, MSC+AAV) では、IFN- $\gamma$  の発現が抑制されているようであった (Fig. 4)。

Fig.4

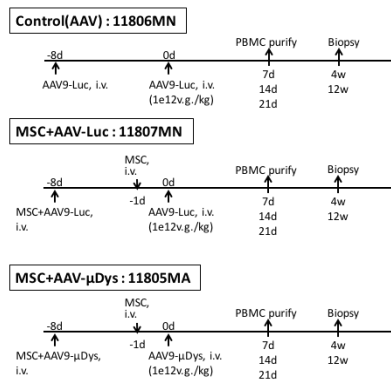


以上のことから、AAV の局所投与を行う際に MSC を併用することで、免疫寛容誘導が可能であることを示唆していると思われる。

②全身性投与

生後 11 週齢、同腹の正常犬 2 頭と筋ジストロフィー犬 1 頭に対し

Fig.5

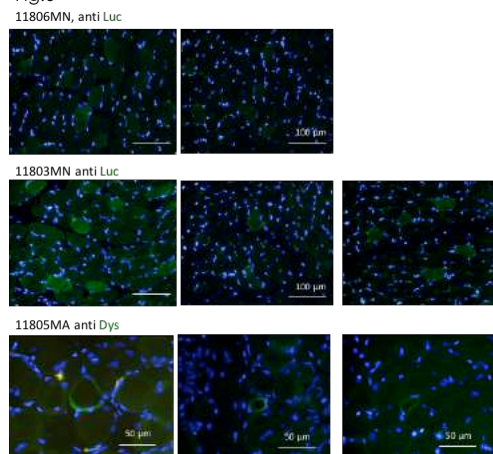


MSC と AAV-Luc/AAV- $\mu$ Dys を同時に投与することで寛容を誘導したの

ち、AAV9-Luc/AAV9- $\mu$ Dys  $2 \times 10^{12}$  v. g. /kg BW を経静脈投与した。Fig. 5 に投与スケジュールを示す。

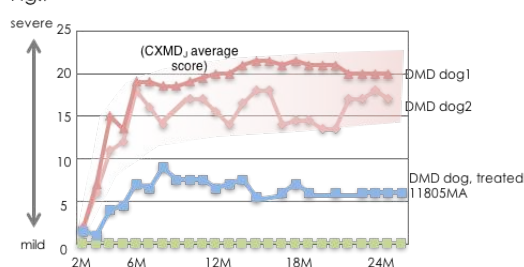
経時的に投与群から PBMC を単離し、AAV ベクターで再度刺激し、免疫応答を検討した。投与から 4 週後の時点で側頭筋を生検し、transgene の発現と組織像における細胞浸潤を確認した。投与後 4 週で側頭筋の筋生検を行い、transgene の発現を確認したところ、MSC 非投与個体 11806MN では transgene の発現が見られなかったが、11803MN では Luc の発現が確認された (Fig. 6)。

Fig.6



AAV9- $\mu$ Dys 投与個体は  $\mu$ Dys の治療効果検討のために、1 ヶ月ごとに病態評価を行った。AAV9- $\mu$ Dys を MSCs と併用で経静脈投与した患犬は他のシリーズの患犬と比較して病態の進行が緩やかであった (Fig. 7)。

Fig.7



## 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 11 件)

1. Intra-amniotic rAAV-mediated microdystrophin gene transfer improves canine X-linked muscular dystrophy and may induce immune tolerance, H. Hayashita-Kinoh, Yugeta N, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Okada T, Takeda S *Mol. Ther.*, 23(4), 627-637, (2015) DOI: 10.1038/mt.2015.5.
2. Dystrophic mdx mice develop severe cardiac and respiratory dysfunction following genetic ablation of the anti-inflammatory cytokine IL-10,

Nitahara-Kasahara Y, H. Hayashita-Kinoh, Chiyo T, Nishiyama A, Okada H, Takeda S, Okada T, *Human Mol. Genet.*, 23(15), 3990-4000, (2014) DOI: 10.1093/hmg/ddu113.

3. Improved Transduction of Canine X-Linked Muscular Dystrophy with rAAV9-Microdystrophin by Introducing Immune Tolerance, H. Hayashita-Kinoh, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 24, S150, (2016) DOI:10.1016/S1525-0016(16)33187-2.

4. Transient Ultrasound-Mediated Microbubble-Assisted Modulation of Blood-Brain Interface in Adult Common Marmoset to Improve rAAV-Mediated Brain Transduction, Okada H, Ishibashi H, Masuda C, H. Hayashita-Kinoh, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Endo-Takahashi Y, Kato K, Negishi Y, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 24, S134, (2016) DOI:10.1016/S1525-0016(16)33146-X.

5. Cell Therapeutic Approach Using Dental Pulp Stromal Cells for Duchenne Muscular Dystrophy, Nitahara-Kasahara Y, Kuraoka M, H. Hayashita-Kinoh, Masuda C, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 24, S93, (2016) DOI:10.1016/S1525-0016(16)33047-7.

6. Improved Transduction of Canine X-Linked Muscular Dystrophy With rAAV9-Microdystrophin By Using MSCs Pretreatment, H. Hayashita-Kinoh, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 23, S158, (2015) DOI:10.1016/S1525-0016(16)34009-6.

7. Mesenchymal Stromal Cells Can Ameliorate the Progressive Phenotype of Dog with Duchenne Muscular Dystrophy, Nitahara-Kasahara Y, H. Hayashita-Kinoh, Kuraoka M, Chiyo T, Okada H, Tsumita N, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 23, S159, (2015) DOI: 10.1016/S1525-0016(16)34011-4.

8. Blood-Brain Interface Opening by Ultrasound in Adult Common Marmoset to Induce Brain Pathology With rAAV, Okada H, Ishibashi H, Masuda C, H. Hayashita-Kinoh, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Endo-Takahashi Y, Kato K, Negishi Y, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 23, S142, (2015) DOI: 10.1016/S1525-0016(16)33966-1.

9. Immune Tolerance Induction in Canine X-Linked Muscular Dystrophy With rAAV9-Microdystrophin Transduction, H. Hayashita-Kinoh, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 22, S197, (2014) DOI:

10.1038/mt.2015.5.

10. Skeletal Muscle Engraftment of Mesenchymal Stromal Cells Is Augmented by IL-10, Nitahara-Kasahara Y, H. Hayashita-Kinoh, Chiyo T, Okada H, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 22, S154, (2014) DOI: 10.1016/S1525-0016(16)35417-X.

11. Induction of Local OPMD Histopathology in Common Marmoset by rAAV1 and 8-Mediated Transduction, Okada H, Ishibashi H, H. Hayashita-Kinoh, Chiyo T, Masuda C, Nitahara-Kasahara Y, Takeda S, Okada T. *Mol. Ther.*, 22, S52, (2014) DOI: 10.1016/S1525-0016(16)35152-8.

[学会発表](計 17 件)

1. 笠原優子, 倉岡睦季, 喜納裕美, 島津苑子, 増田千明, 高橋有紀, 今川究, 平戸徹, 武田伸一, 岡田尚巳 歯髄幹細胞を用いた筋ジストロフィーに対する細胞治療, 第 16 回日本再生医療学会総会, 仙台, 2017 年 3 月 8 日

2. 岡田尚巳, 喜納裕美, 笠原優子, 倉岡睦季, 岡田浩典, 石井亜紀子, 今川究, 平戸徹, 武田伸一, DMD に対する遺伝子細胞治療の基盤技術開発 - AAV ベクターを用いた DMD 遺伝子治療と免疫寛容誘導, 精神・神経疾患研究開発費 28-6「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」研究班班会議, 口演, 2016 年 12 月 8 日 NCNP, 小平

3. 岡田浩典, 石橋英俊, 喜納裕美, 増田千明, 笠原優子, 武田伸一, 岡田尚巳 AAV ベクターを用いた PABPN1 優性阻害変異体発現によるマーモセット眼咽頭筋型ジストロフィーモデルの作製 第 2 回日本筋学会学術集会, 2016 年 8 月 5 日

4. Akiko Ishii, Hironori Okada, Hiromi Hayashita-Kinoh, Jin-Hong Shin, Takashi Okada, Shin'ichi Takeda, Effective Microdystrophin Expression in Non-Human Primate Muscle with AAV Type 8 Vectors under Immune Suppression, The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy, Oral Presentation, 2016 年 7 月 29 日, Toranomon Hills forum, 東京

5. Hiromi Hayashita-Kinoh, Yuko Nitahara-Kasahara, Mutsuki Kuraoka, Hironori Okada, Kiwamu Imagawa, Katsuhiko Tachibana, Shin'ichi Takeda, Takashi Okada, Systemic Administration of rAAV9-microdystrophin with MSCs Pre-treatment Improves Transgene Expression and Phenotype in CXMD<sub>J</sub>, The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy, Oral Presentation, 2016 年 7 月 28 日, Toranomon Hills forum, Tokyo

6. Yuko Nitahara-Kasahara, Mutsuki Kuraoka, Hiromi Hayashita-Kinoh, Aki Nakamura-Takahashi, Chiaki Masuda, Kiwamu Imagawa, Katsuhiko Tachibana, Shin'ichi

Takeda, Takashi Okada. Cell Therapeutic Approach Using Dental Pulp Stromal Cells for Duchenne Muscular Dystrophy, The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy, Oral Presentation, 2016 年 7 月 28 日, Toranomon Hills forum, Tokyo

7. Hironori Okada, Hidetoshi Ishibashi, Chiaki Masuda, Hiromi Hayashita-Kinoh, Tomoko Chiyo, Yuko Nitahara-Kasahara, Yoko Endo-Takahashi, Koichi Kato, Yoichi Negishi Shin'ichi Takeda, Takashi Okada., Interface in Adult Common Marmoset to Improve rAAV-mediated Brain Transduction, ASGCT 19th Annual Meeting, Poster Presentation 2016 年 5 月 6 日, Washington DC, USA

8. Hiromi Hayashita-Kinoh, Yuko Nitahara-Kasahara, Hironori Okada, Tomoko Chiyo, Kiwamu Imagawa, Katsuhiko Tachibana, Shin'ichi Takeda, Takashi Okada Improved Transduction of Canine X-Linked Muscular Dystrophy with rAAV9-Microdystrophin by Introducing Immune Tolerance, ASGCT 19th Annual Meeting, Poster Presentation, 2016 年 5 月 5 日, Washington DC, USA

9. Hiromi Hayashita-Kinoh, Nitahara-Kasahara, Hironori Okada, Kiwamu Imagawa, Katsuhiko Tachibana, Shin'ichi Takeda, Takashi Okada Improved transduction of canine X-linked muscular dystrophy with rAAV9-microdystrophin by MSCs pre-treatment, The 13th International Congress of Human Genetics, Poster presentation 2016 年 4 月 6 日, 国立京都国際会館, 京都

10. Yuko N. Kasahara, Hiromi Hayashita-Kinoh, Nana Tsumita, Chiaki Masuda, Hironori Okada, Shin'ichi Takeda, Takashi Okada., Exacerbation in the IL-10 Deficient Dystrophic Mice and an Anti-inflammatory strategy with Mesenchymal Stromal Cells, The 13th International Congress of Human Genetics, Poster presentation 2016 年 4 月 6 日, 国立京都国際会館, 京都

11. 精神・神経疾患研究開発費 25-5「筋ジストロフィーモデル動物を用いた新たな治療法の開発」研究班班会議, 招待発表, 2015 年 12 月 9 日 NCNP, 小平 喜納裕美, 笠原優子, 岡田浩典, 弓削田直子, 今川究, 立花克彦, 武田伸一, 岡田尚巳 AAV ベクターを用いた筋ジストロフィー犬に対する遺伝子治療と免疫寛容誘導

11. Okada H, Ishibashi H, Masuda C, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Endo-Takahashi Y, Kato K, Negishi Y, Takeda S, Okada T., Ultrasound-mediated transient modulation of blood-brain interface in adult common marmoset to induce brain pathology with rAAV, The 21<sup>st</sup> Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Plenary Session, July 24, 2015, Osaka

12. Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Kuraoka M,

Chiyo T, Okada H, Tsumita N, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. Mesenchymal stromal cells ameliorate progressive phenotype of Duchenne muscular dystrophy in dog, The 21<sup>st</sup> Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Plenary Session, July 24, 2015, Osaka

13. Ishii A, Okada H, Hayashita-Kinoh H, Shin J. H., Okada T, Takeda S, Feasible Gene Transduction in Non-Human Primate Muscle with Recombinant AAV Following Immunomodulation, The 21<sup>st</sup> Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Oral Presentation, July 25, 2015, Osaka

14. Hayashita-Kinoh H, Nitahara-Kasahara Y, Okada H, Chiyo T, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T, Improved transduction of canine X-linked muscular dystrophy with rAAV9-microdystrophin by MSCs pretreatment, The 21<sup>st</sup> Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Poster Presentation, July 25, Osaka

8. Okada H, Ishibashi H, Masuda C, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Endo-Takahashi Y, Kato K, Negishi Y, Takeda S, Okada T. Blood-Brain Interface Opening by Ultrasound in Adult Common Marmoset to Induce Brain Pathology With rAAV. 18th Annual Meeting of American Society of Gene & Cell Therapy, New Orleans, Louisiana, May 14, 2015

9. Hayashita-Kinoh H, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. Improved Transduction of Canine X-Linked Muscular Dystrophy With rAAV9-Microdystrophin By Using MSCs Pretreatment. 18th Annual Meeting of American Society of Gene & Cell Therapy, New Orleans, Louisiana, May 14, 2015

10. Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Kuraoka M, Chiyo T, Okada H, Tsumita N, Imagawa K, Tachibana K, Takeda S, Okada T. Mesenchymal Stromal Cells Can Ameliorate the Progressive Phenotype of Dog with Duchenne Muscular Dystrophy. 18th Annual Meeting of American Society of Gene & Cell Therapy, New Orleans, Louisiana, May 14, 2015

11. Hiromi Hayashita-Kinoh, Hironori Okada, Yuko Nitahara-Kasahara, Tomoko Chiyo, Naoko Yugeta, Takashi Okada, Shin'ichi Takeda, Immune Tolerance Induction of Canine X-Linked Muscular Dystrophy with Fetal rAAV-Microdystrophin Transduction. The 20th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Oral Presentation 2014年8月6日~8月8日, 東京

12. Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Takeda S, Okada T. rAAV1 and 8-mediated induction of local OPMD histopathology in common marmoset. The 20th Annual Meeting of Japan

Society of Gene Therapy (JSGT2014) Tokyo, Aug 6,2014

13. Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Tsumita N, Chiyo T, Okada H, Takeda S, Okada T. Engraftment of mesenchymal stem cells is effectively associated by IL-10 in skeletal muscle. The 20th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy (JSGT2014) Tokyo, Aug 8,2014

14. Ishii A, Okada H, Hayashita-Kinoh H, Shin Jin-Hong, Okada T, Takeda S. Effective microdystrophin expression in non-human primate muscle with rAAV type 2/8/9 vectors following immune suppression. The 20th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy (JSGT2014) Tokyo, Aug 6, 2014

15. Hiromi Hayashita-Kinoh, Yuko Nitahara-Kasahara, Hironori Okada, Naoko Yugeta, Takashi Okada, Shin'ichi Takeda Immune Tolerance Induction in Canine X-Linked Muscular Dystrophy with rAAV9-Microdystrophin Transduction. ASGCT 17th Annual Meeting, Oral Presentation 2014年5月21日~5月24日, Washington DC, USA

16. Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Masuda C, Nitahara-Kasahara Y, Takeda S and Okada T. Induction of local OPMD histopathology in common marmoset by rAAV1 and 8-mediated transduction. American Society of Gene and Cell Therapy 17th Annual Meeting DC, May 21-24,2014

17. Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Okada H, Takeda S, Okada T. Skeletal muscle engraftment of mesenchymal stromal cells is augmented by IL-10. American Society of Gene and Cell Therapy 17th Annual Meeting, DC, May 23,2014

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

喜納(早下) 裕美 (Hayashita-Kinoh, Hiromi)

日本医科大学 大学院医学系研究科 社会連携講座 細胞遺伝子治療学・助教

研究者番号 : 60532728