

論文審査の結果の要旨

Enzyme replacement in the CSF to treat metachromatic leukodystrophy in mouse model using single intracerebroventricular injection of self-complementary AAV1 vector

Self-complementary AAV1 ベクターの脳室内注入による異染色性白質
ジストロフィーモデルマウス脳脊髄液中への酵素補充療法

日本医科大学大学院医学研究科 神経病態解析学分野
大学院生 廣中 浩平

Scientific Reports 5, 13104; doi: 10.1038/srep13104 (2015)
(平成 27 年 8 月 18 日 Web 掲載)

異染色性白質ジストロフィー(MLD)はライソゾーム酵素の一つであるアリルスルファターゼ A (hASA)の欠損により、その基質であるスルファチドが脳白質や腎などの臓器に蓄積する先天性代謝異常疾患である。ライソゾーム酵素は血液脳関門を通過できないため、中枢神経系に hASA を届ける手段として、MLD 患者に対する脳脊髄液(CSF)への hASA 酵素補充療法の治験が行われている。本研究は、アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを脳室内に投与して脳内の様々な細胞への遺伝子導入を行い、hASA を CSF 中に持続的に分泌させる酵素補充療法を、モデルマウスを使った実験で検討している。

まず、治療ベクター規格の候補を検討すべく、1) self-complementary (sc) AAV と single-stranded (ss) AAV の比較実験及び 2)血清型(serotype) 1 と 9 の比較実験を行った。hASA タンパク質をコードした遺伝子をもつ AAV ベクターをそれぞれマウスの右側脳室に単回投与し、2 週間後に解析した結果、脳室上衣細胞及び脈絡叢にて hASA の発現及び CSF 中に hASA の分泌を認めた。また、組織の抗体染色における hASA の発現強度及び CSF 中の hASA 濃度は scAAV1 投与群が有意に高かった。この結果をもとに、scAAV1 を治療ベクターに選んだ。

異種タンパク質である hASA に対する抗体産生を抑制すべく、免疫寛容誘導処置を行った MLD モデルマウスの右側脳室に、scAAV1 を単回投与し 12 週間後に脳内のスルファチド濃度を定量した結果、同週齢の未治療群と比較し低下傾向を認めた。また、scAAV1 投与群の CSF 中の hASA 濃度及び血清 anti-hASA 抗体価の推移をみた結果、血清抗体価の上昇とともに CSF 中の hASA 濃度は低下していた。

本研究の条件ではマウスの hASA に対する免疫寛容誘導の効果が不十分であり、CSF 中への hASA 分泌は短期間しか維持できなかったが、脳内のスルファチド濃度は低下傾向を示した。今後、免疫寛容誘導条件の最適化や、すでに霊長類で効果を確認している免疫抑制剤の応用により hASA 分泌をより長期間維持することができれば、この遺伝子治療による持続的酵素補充療法は有効な治療法になり得ると考えられた。

申請者は中枢神経系への遺伝子導入方法、治療ベクター規格の検討、免疫応答への対応など MLD の治療を行う上で課題となる問題点に対し、それぞれ予備実験を行うことで、この治療法の有用性を検証しており、医学研究者として十分な学識をもつことを示した。

第二次審査では、脳室上衣細胞を遺伝子導入のターゲットにする妥当性、AAV ベクター投与に対する細胞性及び液性免疫応答、ライソゾーム酵素の cross-correction 機構、臨床応用への課題などについて質疑があったが、いずれも的確な回答を行った。本研究は重篤な神経症状を伴うライソゾーム病に対して、遺伝子治療による中枢神経系への持続的酵素補充療法の実現性を検証する道を開いたものであり、学位(医学博士)論文として十分に価値あるものと認定した。