

臨床応用が始まったAAVベクターを用いた遺伝子治療

自治医科大学 小児科学
山形 崇倫

<内容>

- 脊髄性筋萎縮症に対するオナセムノゲン アベパルボベク
- AAVベクターを用いた遺伝子治療における有害事象
- AADC欠損症に対する遺伝子治療臨床研究
- 国内外での遺伝子治療の開発状況
- 自治医科大学で臨床応用を目指している小児神経疾患に対する遺伝子治療

脊髄性筋萎縮症に対するオナセムノゲン アベパルボベク

< 脊髄性筋萎縮症 >

原因: 5q13上のSMN (survival motor neuron)1

遺伝子異常による脊髄前角運動神経細胞死

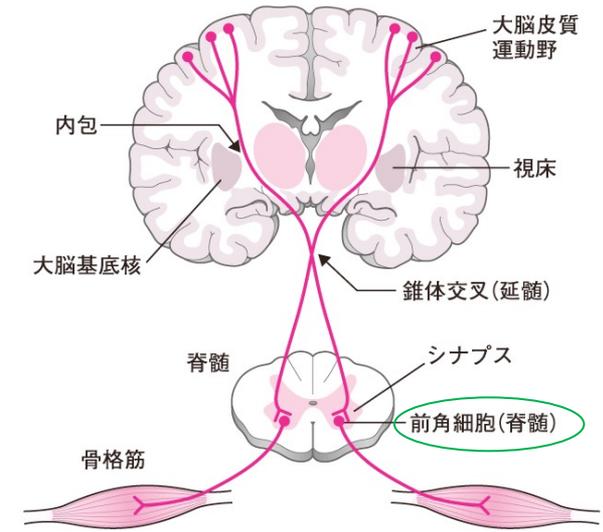
症状: 進行性の筋萎縮、筋力低下。知能正常

I型 (Werdnig-Hoffman病): 乳児期早期に発症
数か月で動けなくなり、2歳までに呼吸不全で
死亡

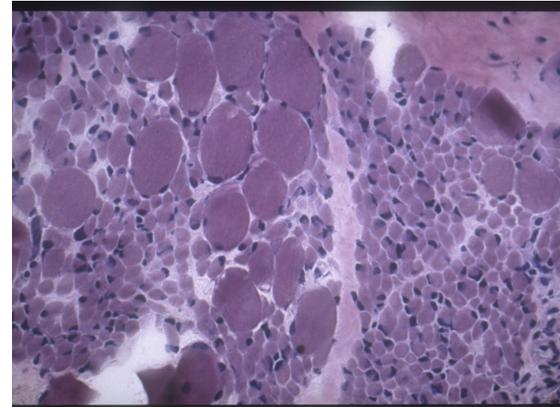
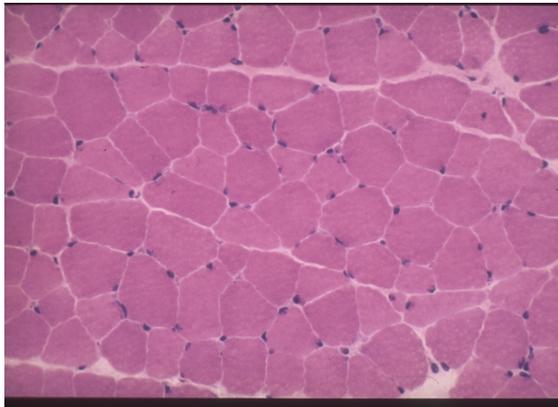
II型: 乳児期後半から幼児期に発症。坐位まで

III型 (Kugelberg-Welander病): 学童期以降発症。歩行可能

治療: 呼吸不全に対する対応のみ



正常
HE染色



SMA type I
HE染色

SMAの病型分類

発症時期・重症度により I 型・II 型・III 型・IV 型に分類
臨床的重症度は **SMN2 遺伝子コピー数** に依存

< SMAの病型分類とSMN 遺伝子 >

型	発症の時期	最高運動機能	生命予後	SMN1コピー数	SMN2コピー数
I	0～6カ月齢	坐位不可	2歳未満	0	2、3
II	7～18カ月齢	坐位まで	2歳から成人期	0	3
III	18カ月齢以降	独歩可 その後歩行困難に	通常 of 寿命	0	(3)、4
IV	成人	独歩可能	通常 of 寿命	0	4～6

< SMA 1型 (Werdnig Hoffman病) >

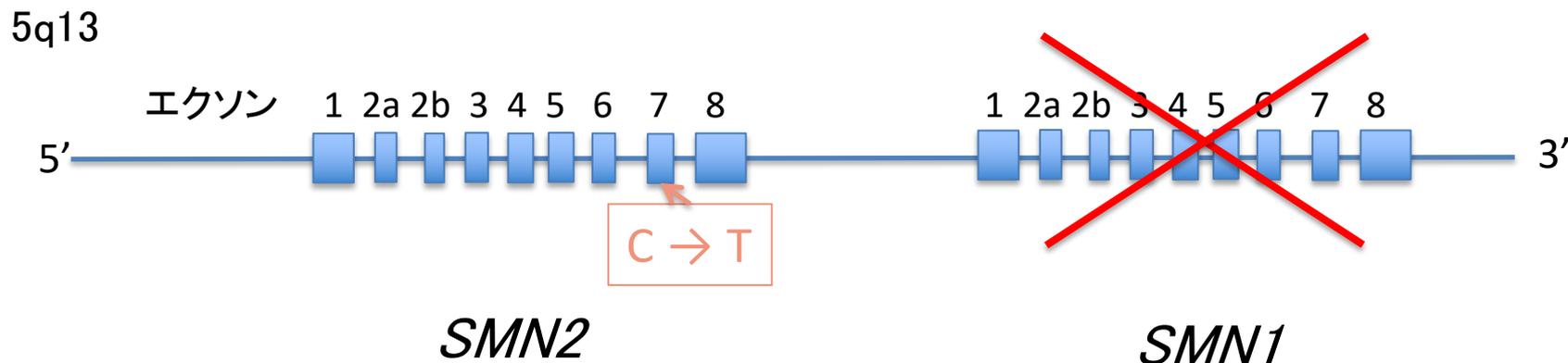
生後数週から数か月に、筋力・筋緊張低下発症し、進行
舌、手の筋で見られやすい**線維束性攣縮** (fasciculation)
体幹・近位筋中心の筋力低下で発症、徐々に遠位部、脳神経核も障害
呼吸機能低下、嚥下、咀嚼、発声も低下
知能正常



SMAの病因 *SMN1* 遺伝子と*SMN2* 遺伝子

SMN1 遺伝子の両アレルの欠失により発症

まれに塩基置換により発症する例あり



1塩基変異によりエクソン7がスプライスで外され十分機能する蛋白が出来ない

SMA患者で欠失

完全長SMNタンパクは10%程度発現

重症度は、*SMN2*のコピー数に相関



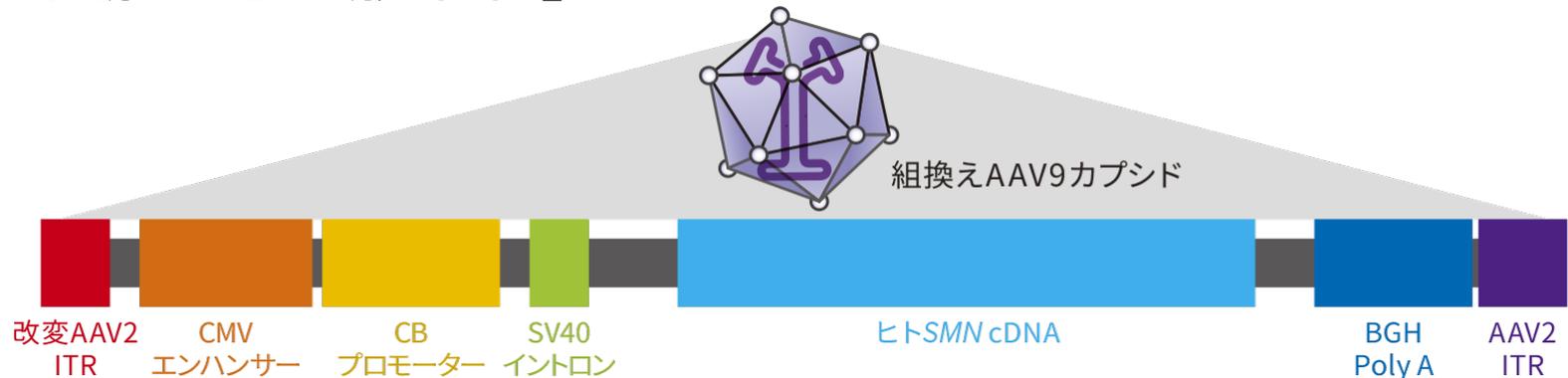
Onasemnogene abeparvovec (ゾルゲンスマ®)

SMAに対する9型アデノ随伴ウイルスベクター (AAV9)を用いた
遺伝子補充療法

2020年3月に承認され、同5月に薬価収載

1回の静注 1×10^{14} vg/kg 1億6700万円

治療適応「2歳未満」



変更AAV2 ITR(自己相補型 ITR)	CMVエンハンサー/CBプロモーター	ヒトSMN cDNA
変更ITRは二本鎖DNA形成を促進し ¹⁾ 、従来の一本鎖AAVゲノムよりも早い遺伝子発現が可能である	CMVエンハンサー/CBプロモーターによって、導入遺伝子が恒常的に発現される	細胞核内に導入されたヒトSMN cDNAからmRNAが転写され、完全に機能するSMNタンパク質を発現する

AAV2: アデノ随伴ウイルス2型、AAV9: アデノ随伴ウイルス9型、BGH Poly A: ウシ成長ホルモンポリアデニル化シグナル、CB: ニワトリβ-アクチン、CMV: サイトメガロウイルス、ITR: 逆位末端反復配列、SV40: シミアンウイルス40

Powell SK. et al.: Discov Med. 1(4), 2015.
Foust KD. et al.: Nat Biotechnol. 27, 2010.

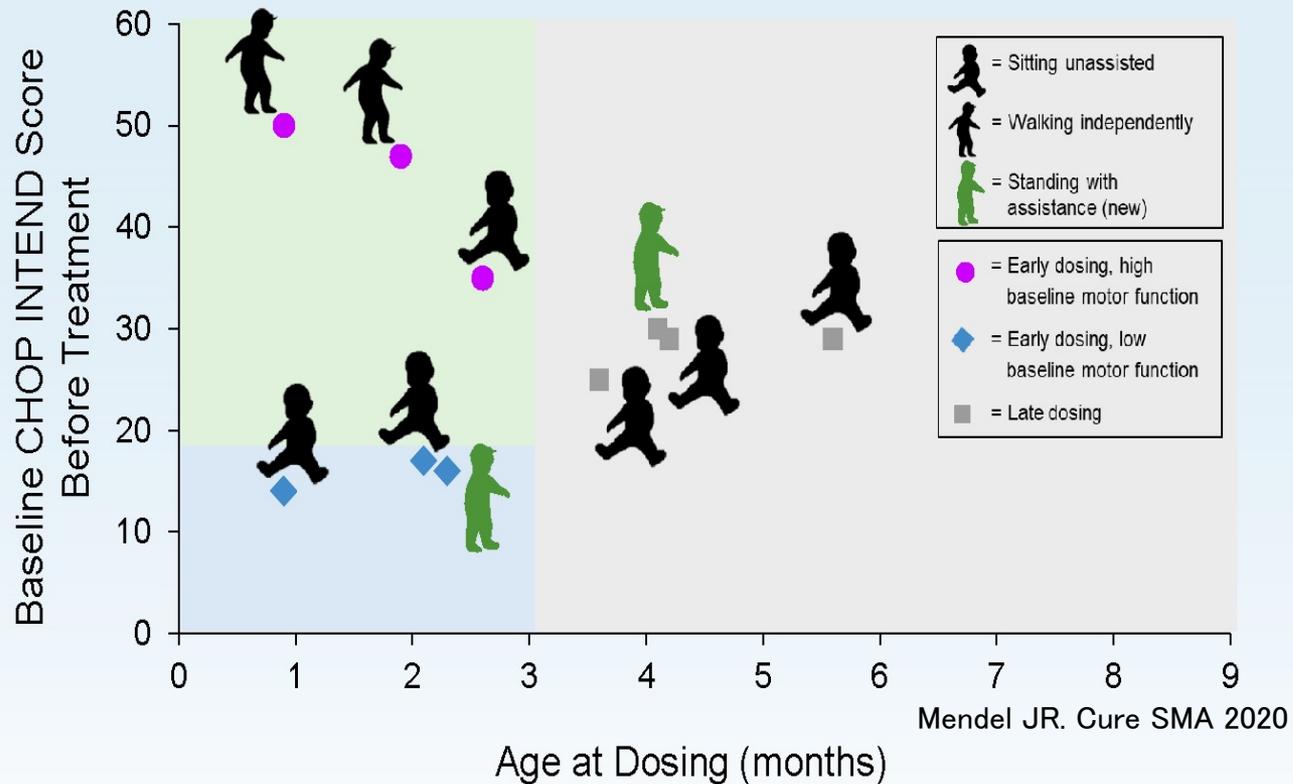
Foust KD, Kaspar BK. In: Spinal Muscular Atrophy: Disease Mechanisms and Therapy. Academic Press. p.313-323, 2017.

より作図

1) McCarty DM. et al.: Mol Ther. 16(10), 1648, 2008.

長期経過

Maintenance of Motor Milestones Demonstrate the Durability of the Effect of Onasemnogene Apeparvovec in the Therapeutic Dose Cohort

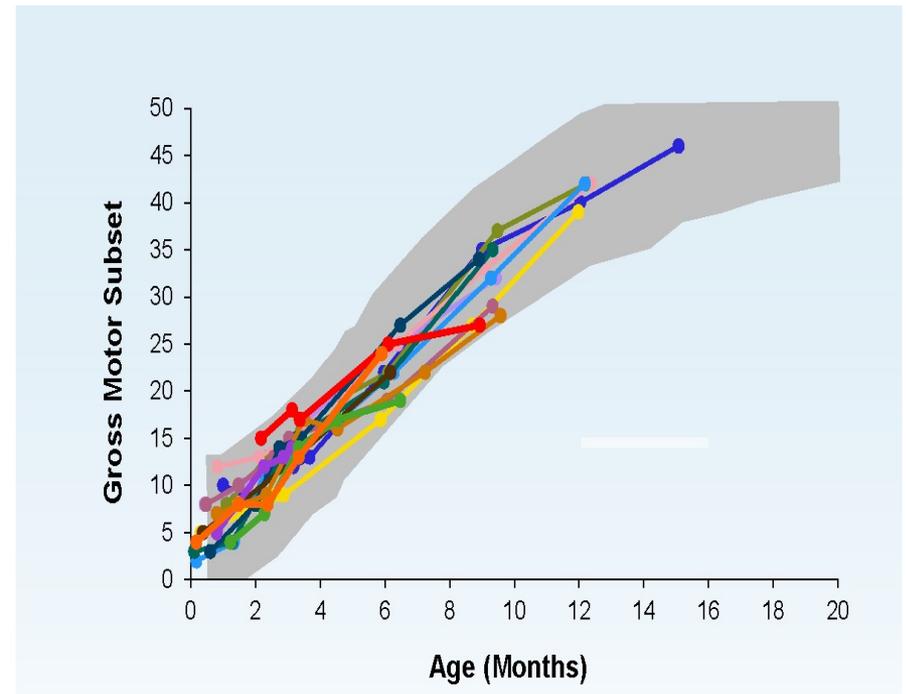
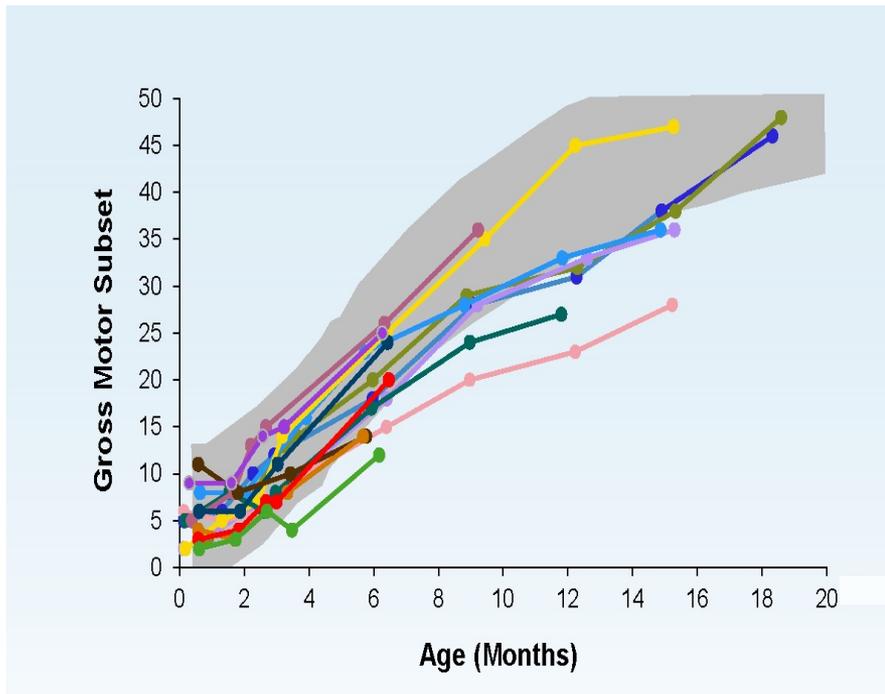


発症前から治療実施した患者の治療経過

SPRINT; phase III 治験結果

SMN2が2コピーの患者

SMN2が3コピーの患者



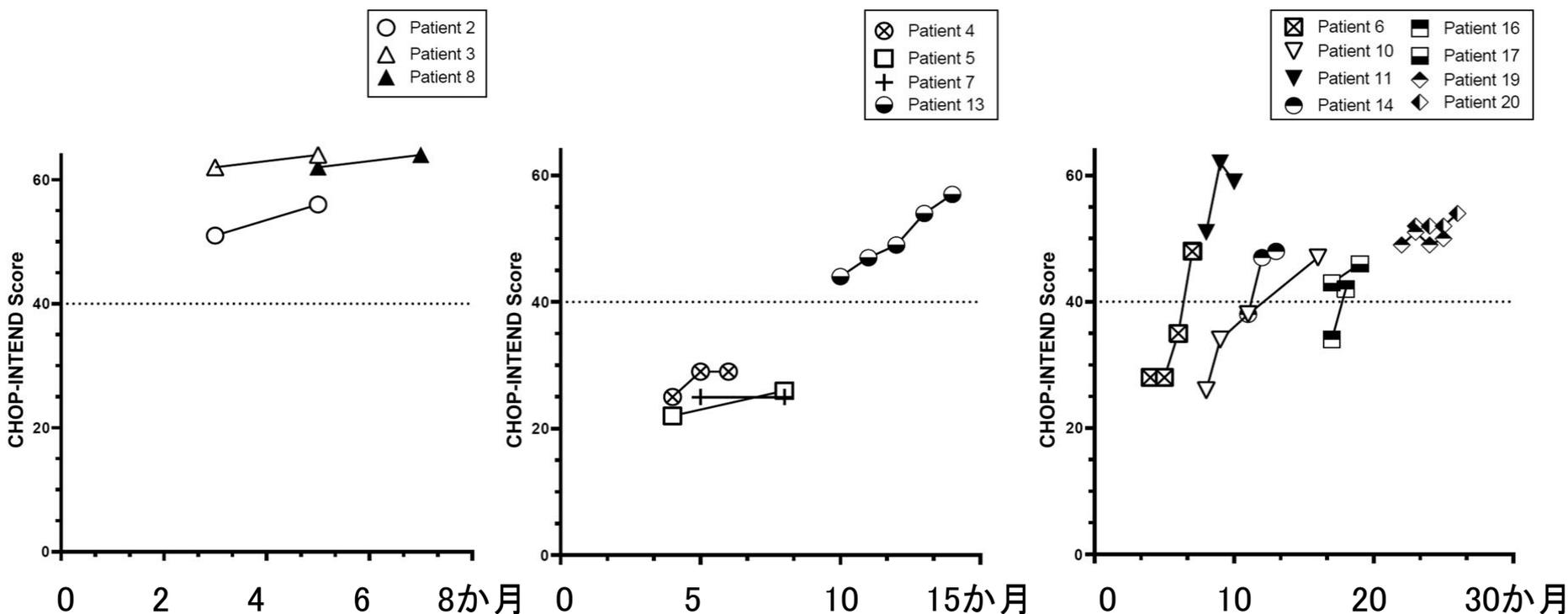
グレーが正常発達レベル



Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy: Safety and Early Outcomes

Waldrop MA, et al. Pediatrics. 2020;146:e20200729.

<CHOP INTENDED Scoreの推移>



発症前に治療
新生児スクリーニング

発症後に治療
ヌシネルセンなし

発症後に治療
ヌシネルセン後

オナセムノゲン治療 自験例

【病歴】 生後6か月から寝返りが可能になったが、身体が柔らかく、抱っこしにくいと家族は感じていた。

生後7か月から寝返りをしなくなった。

生後10か月時、筋力低下、筋緊張低下を主訴に当科紹介受診。

【神経所見】 筋緊張低下、筋力低下あり
四肢末端と舌に線維束攣縮あり

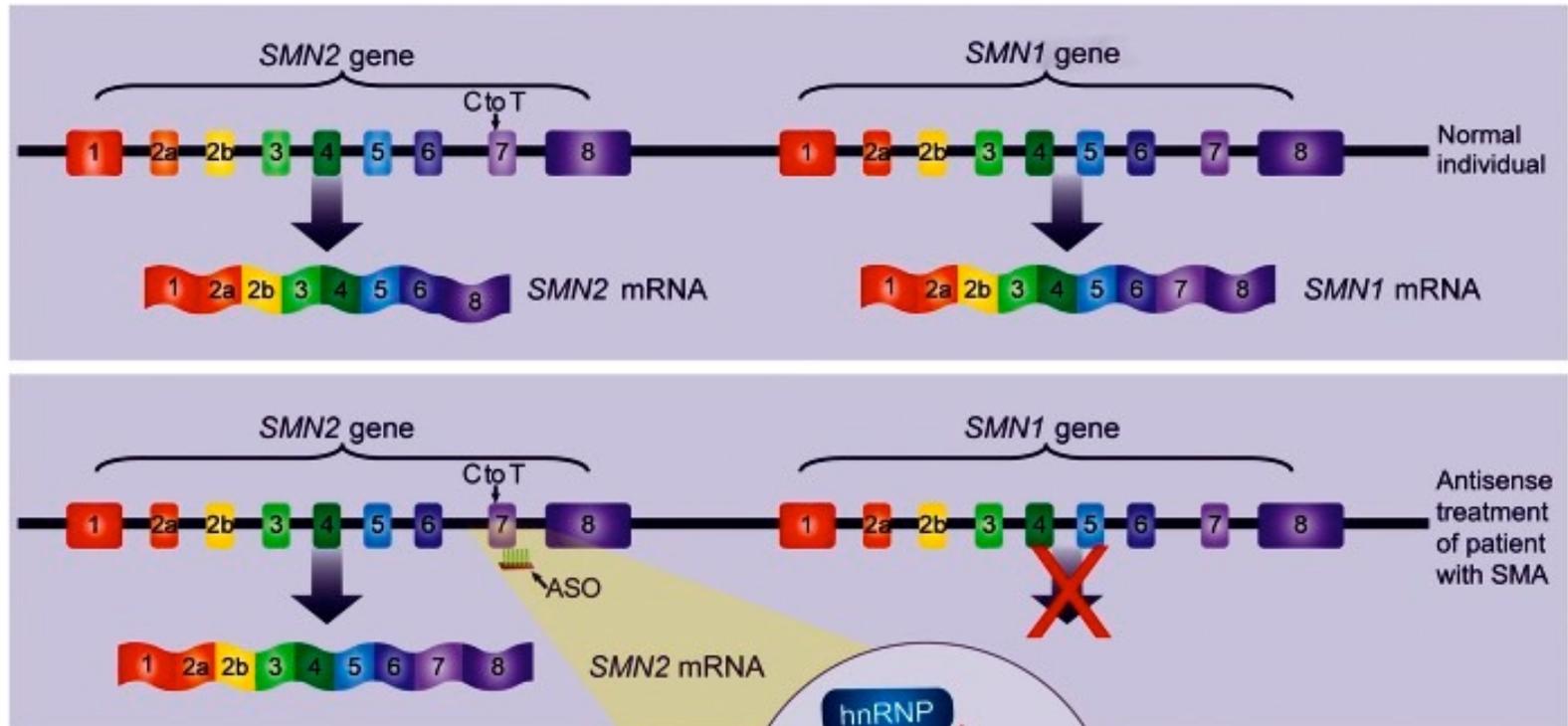
【遺伝子検査】 SMN1 0コピー
SMN2 3コピー

【治療】 0歳11か月からヌシネルセン治療を開始
計6回髄注（ヌシネルセン最終は1歳9か月）

ヌシネルセン

SMN1に隣接してSMN1の複製であるSMN2が存在

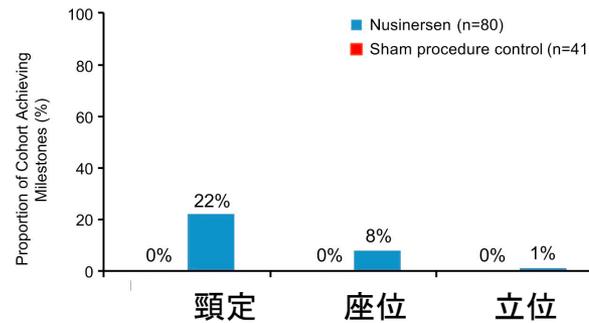
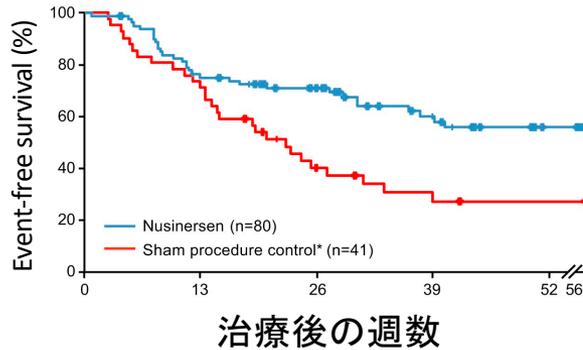
SMN2は塩基変異によりエクソン7がスプライスされ蛋白形成されない



アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) 髄注し、SMN2のエクソン7 スプライスを適正化し蛋白作製

ヌシネルセンナトリウム (スピンラザ®)

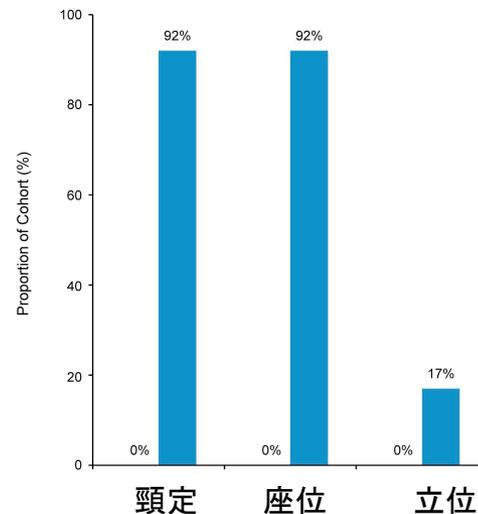
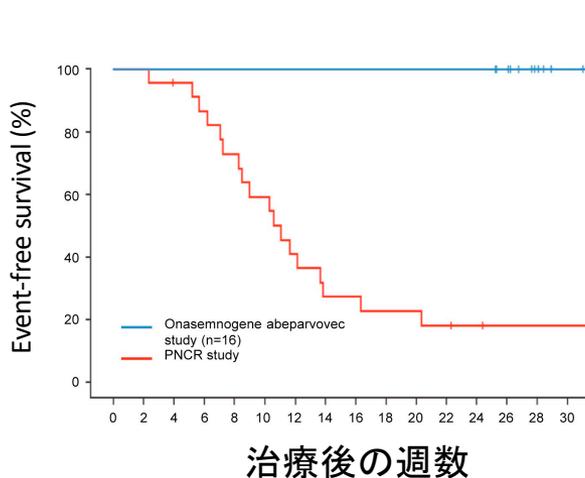
乳児型には初回、2週、4週、9週、以降4ヵ月毎に髄注
1本12mg 932万円; 1年目 約4千万円、2年目以降 3千万円



R.S. Finkel, E. Mercuri, B.T. Darras, *et al.*
Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy
N Engl J Med, 377 (2017), pp. 1723-1732

ゾルゲンスマ

2歳未満 1回点滴静注 1億6707万円



Al-Zaidy SA, Mendell JR.
From Clinical Trials to Clinical Practice:
Practical Considerations for **Gene**
Replacement **Therapy** in SMA Type 1.
Pediatr Neurol. 2019;100:3-11.

スケジュール

21日前	両親への説明、同意取得	薬剤部と打ち合わせ
14日前	血液検査(血小板、肝機能、 抗AAV9抗体)	調製場所の確保
10日前	検査結果、投与条件の最終確認 発注	薬剤部に報告 スケジュールの確認
前日	入院、体調確認 PSL1mg/kg内服開始(24時間前)	納品、薬剤部で2-8℃で保管
当日	末梢点滴ルート確保 点滴静注	薬剤調製
翌日	体調確認後、退院	

* PSL プレドニゾン

ステロイドは、前日から 1mg/kg/d 1回内服を1か月継続し漸減

カルタヘナ法

(遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律)

遺伝子治療においては、患者さんに使用した治療用ベクターが周囲の人や動物、次世代に伝わらないかの確認

「第一種使用等」

環境中への拡散を防止しないで行う使用等

「第一種使用規程」、「生物多様性影響評価書」を提出し、
主務大臣の承認を受ける

→ 臨床応用はこちら

「第二種使用等」

環境中への拡散を防止しつつ行う使用等

拡散防止措置を必ず執るよう規定

→ ベクターの作製など、研究室レベルの作業

調整

引用：ゾルゲンスマドクターズマニュアル（2020年3月作成）

Onasemnogene Abeparvovecの調製手順 - カルタヘナ法対応

本品の取り扱いに際しては、適切な個人用防護服を着用し作業してください。
本品の取扱いは、各施設の「無菌操作法に関する規程」に準拠した無菌操作で実施するようにしてください。

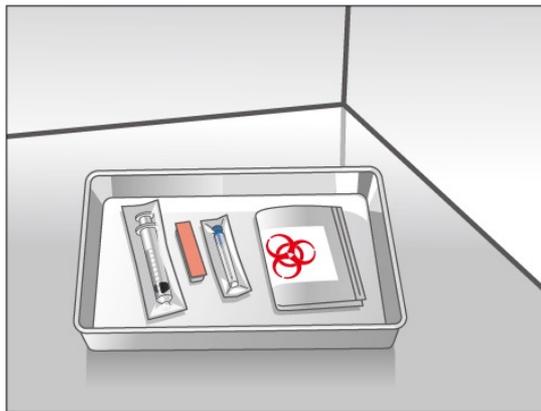


(1) 調製前にバイオセーフティキャビネット（BSC）を次亜塩素酸ナトリウム等で拭いてください。

(2) 本品バイアル及び調製に必要な器具（投与用シリンジ、注射針、シリンジキャップ等）を次亜塩素酸ナトリウム等で拭いてBSCへ設置してください。

注意

- ❖ 投与量に合わせて適切な投与用シリンジを選択してください。
- ❖ 注射針は適切なサイズを選択してください。（推奨針：18ゲージ）
- ❖ バイアルには表示容量より多めに本品が充填されています。採取後の残液は、カルタヘナ法第一種規程及び医療機関で定められている各医療機関の「医療廃棄物管理規程」に従って廃棄してください。
- ❖ 総投与量は可能な限り、0.1mLの精度で正確に計量してください。
- ❖ 総投与量は必要に応じて最も近い整数に切り上げてください。



カルタヘナ法への対応

- 投与後、病室内はガウン、手袋着用
- 患者の体液や排泄物が付着したものは、ビニール袋に二重に入れ、感染性廃棄物として処理
- リネン類も他の患者とは分けて所定の袋に入れて処理

❖ 患者の排泄物等の指導について

本品投与後、患者の排泄物等に一時的に本品ベクターが含まれる。患者の家族又は介護者に、本品投与4週間後までは、排泄物等を適切に処理するために手指衛生の実施を指導してください。

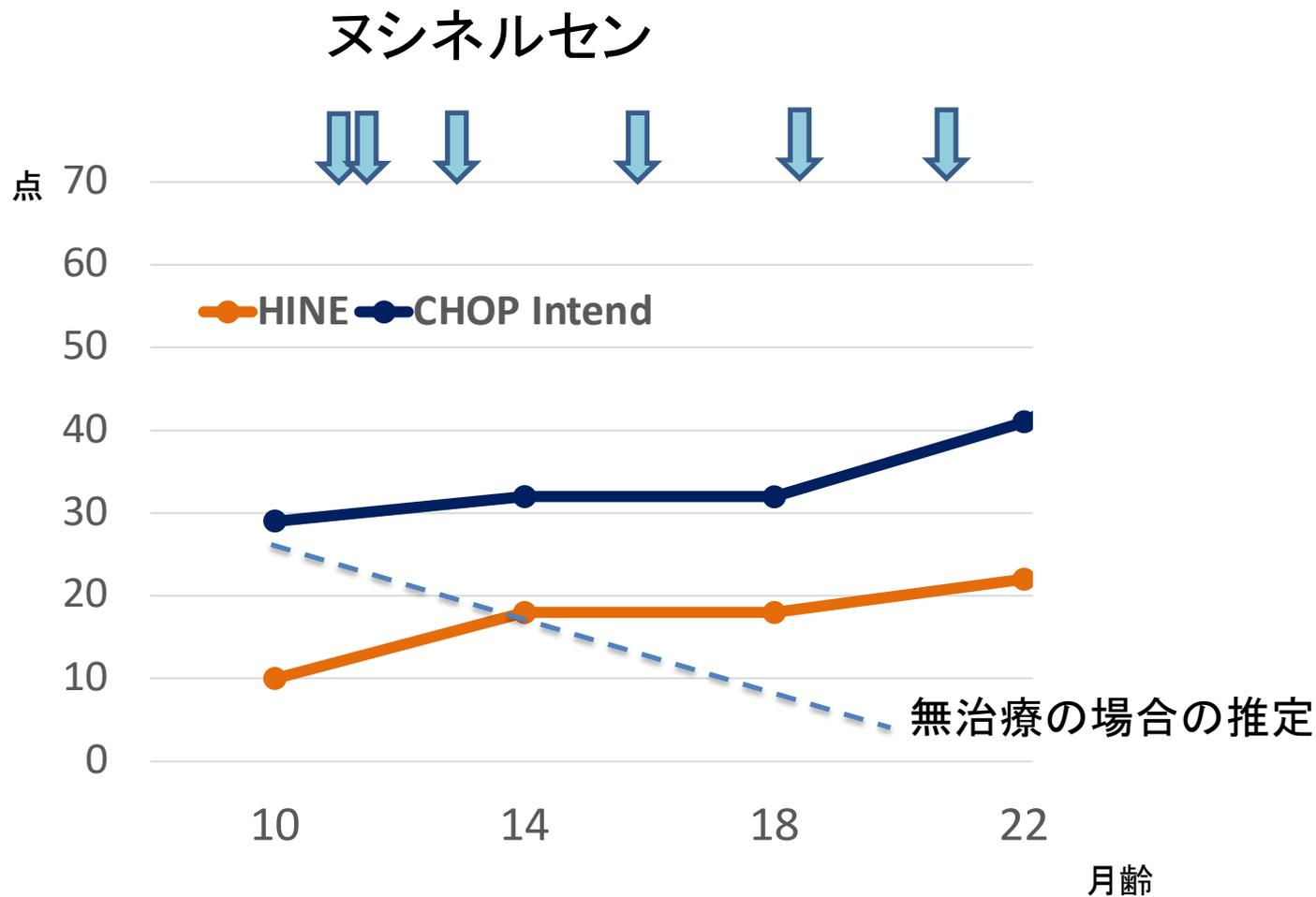
- ❖ CL-101試験で申請用量が投与された5例を対象に、体内からの本品ベクター排出試験を実施した結果、高濃度のウイルス排出は唾液及び尿中で24時間程度までに、一方糞便では投与30日後までに消失すると考えられました。このため、体液・排泄物の管理は、本品投与4週間後まで適切に実施することが必要な旨を患者の家族または近親者に指導してください。

自宅でも、投与後4週間は同様の対応をお願いした。

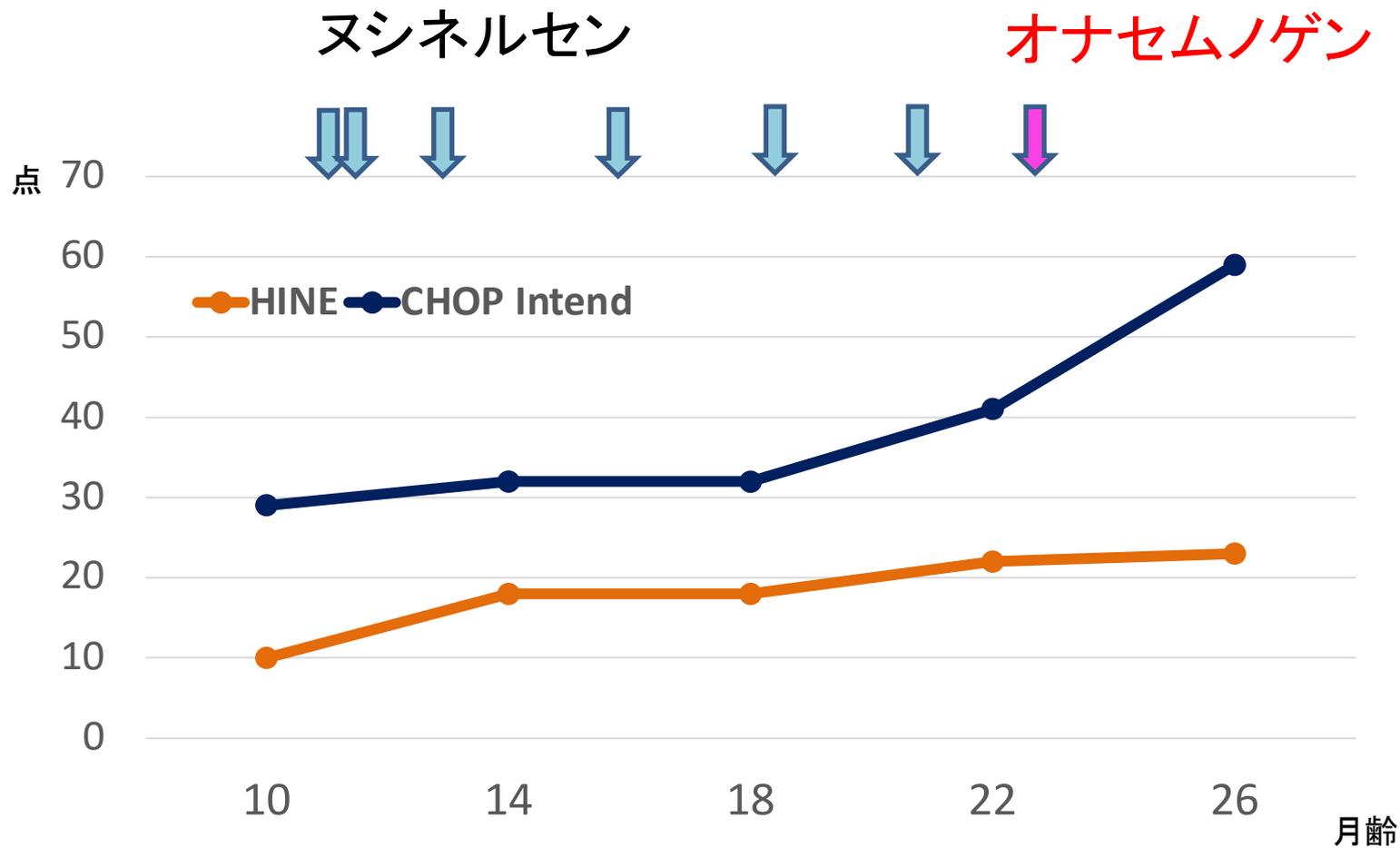
オムツ交換時 ビニール手袋着用

オムツやおしりふきはビニール袋を二重にして捨てる

治療結果； 運動発達スコアの変化



治療結果； 運動発達スコアの変化



有害事象：肝機能障害と血小板減少

2日目：退院

4日目：夜から38度台の発熱

5日目：朝には解熱

7日目：外来受診

AST/ALT 218/123 (U/I)

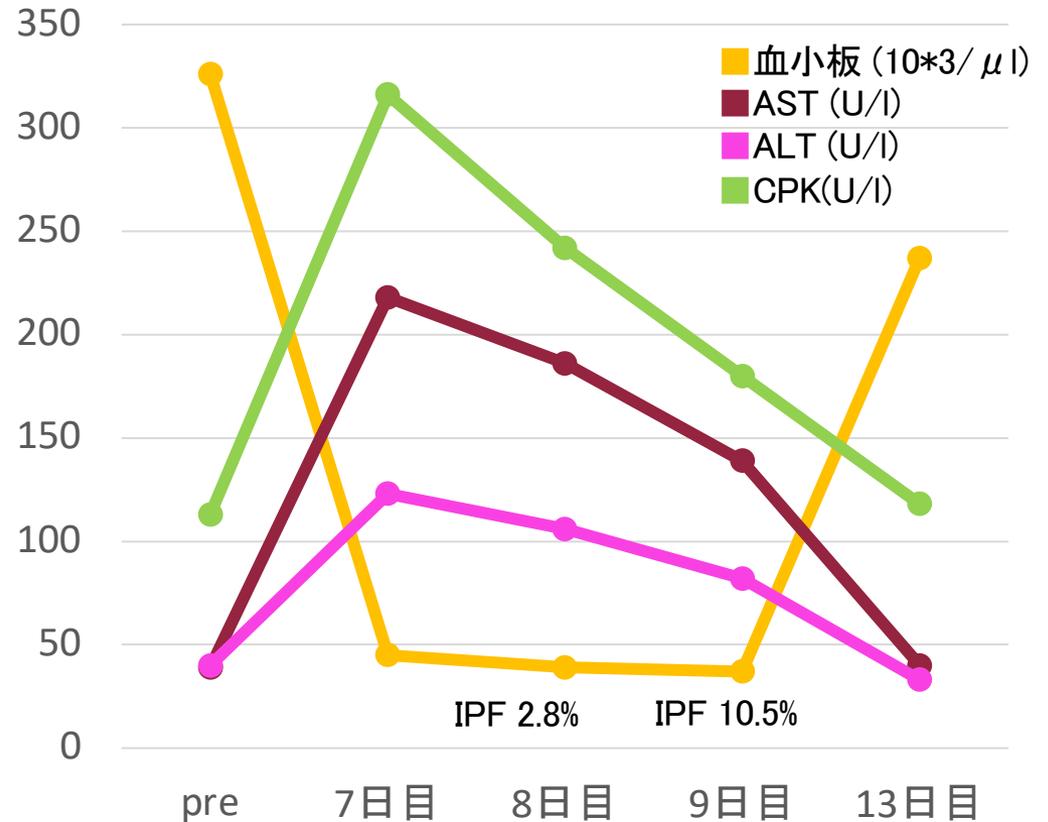
血小板4.5万

8日目：血小板3.9万、IPF ※ 2.8%

9日目：血小板3.7万、IPF 10.5%

13日目：すべてのデータは正常化

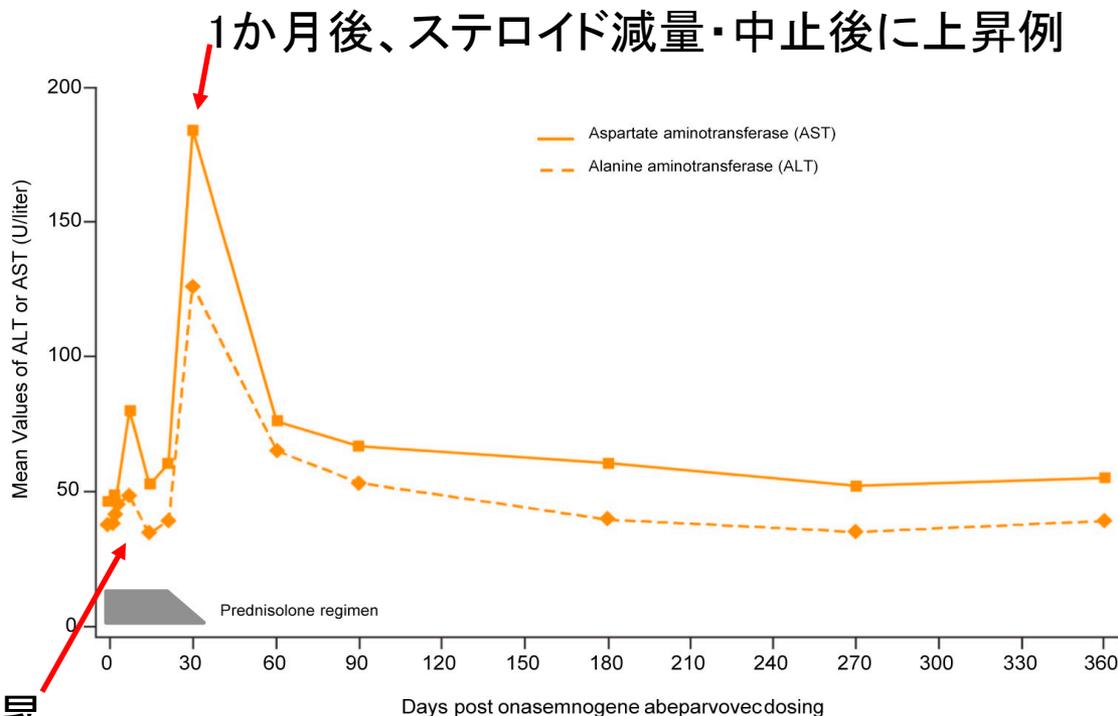
※IPF（幼弱血小板比率）
血小板産生能を反映



オナセムノゲン治療での有害事象報告

- ① 肝機能障害
- ② 血小板減少

アメリカでの治療における肝機能障害の経過



治療1週間後に上昇

ほとんどは治療変更せずに3か月以内に自然軽快

治療後4-7日後前後の発熱、肝機能障害、血小板減少等
治療後1か月前後の肝機能障害

* 血栓性微小血管障害症が世界で5例報告。死亡例、血漿交換実施例も。
3例は直前に感染症罹患

Al-Zaidy SA, et al. *Pediatr Neurol.* 2019;100:3-11.

Chand DH, et al. *J Pediatr* 2020;S0022-3476(20)31466-9.

ミオチューブラーミオパチーに対するAAVベクターを用いた治療

ASPIRO Phase 1/2 Gene Therapy Trial In X-Linked Myotubular Myopathy (XLMTM): Update on Preliminary Safety and Efficacy Findings.

Shieh PB. et al. アメリカ遺伝子細胞治療学会(2019)での報告

- XLMTM ; MTM1 (myotubularin)遺伝子変異
- 治療用ベクター ; rAAV8-Des-hMTM1
- 5歳以下、6例 (1×10^{14} vg/kg)
1例 (3×10^{14} vg/kg),
- 全例で筋力、呼吸が改善
嚥下、摂食可能
ほぼ正常レベルになった児も
全例座位可
1例這い、2例は支え立ち
3例は呼吸器から離脱

ASPIRO Cohort 1 (1×10^{14} vg/kg) & Cohort 2 (3×10^{14} vg/kg): Baseline and Follow-up.

Patient Information		Neuromuscular Assessment		Respiratory Assessments		Biopsy	
Cohort (C) / Patient (Pt) #	Age at Baseline (years)	CHOP INTEND: Baseline / Last Report	Δ From Baseline	MIP (cm H ₂ O): Baseline / Last Report	Δ From Baseline	VCN per diploid genome	MTM1 expression vs. Normal
C1 / Pt1	0.8	29 / 56 (Wk 48)	+27 (93%)	33 / 89 (Wk 24)	+56 (170%)	6.2 (Wk 24)	~120%
C1 / Pt2	4.1	45 / 64 (Wk 48)	+19 (42%)	44 / 112 (Wk 48)	+68 (155%)	7.1 (Wk 24)	~250%
C1 / Pt3	2.6	34 / 34 (Wk 36)	0 (0%)	26 / 70 (Wk 24)	+44 (170%)	2.7 (Wk 24)	~80%
C1 / Pt4 (Control)	4.0	49 / 47 (Wk 36)	-2 (-4%)	58 / 46 (Wk 24)	-12 (-21%)	NA	NA
C1 / Pt5	1.0	36 / 53 (Wk 24)	+17 (47%)	14 / 78 (Wk 24)	+64 (457%)	2.2 (Wk 24)	~52%
C1 / Pt6	0.8	39 / 52 (Wk 16)	+13 (33%)	35 / 87 (Wk 12)	+52 (149%)	NA	NA
C1 / Pt7	0.9	43 / 53 (Wk 16)	+10 (23%)	29 / 68 (Wk 12)	+39 (134%)	NA	NA
C2 / Pt8	1.2	36 / 55 (Wk 4)	+19 (53%)	31 / 67 (Wk 4)	+36 (116%)	NA	NA

X連鎖性ミオチューブラーミオパチー遺伝子治療治験で3例死亡

News in Brief **High-dose AAV gene therapy deaths** *Nature Biotechnology* **38**, 910 (2020), etc

(内容)

- ・ AAV8を用い、 1×10^{14} vg/kgと 3×10^{14} vg/kgの2群で治験
 - ・ 全例で筋力改善。ほぼ正常レベルになった児も。
呼吸が改善し、呼吸器から離脱例もあるなど、有効性が高かった。
- ・ 高用量の3/17例が死亡。
治療4-6週間後に、重度肝障害から敗血症、消化管出血により死亡。
- ・ 3例は肝胆道系の疾患があったが、他の14例も同様の肝機能異常あり。

(考察)

- ① ミオチューブラーミオパチーは肝紫斑病のリスク等、肝障害を起こしやすい。
- ② 共通点は、高年齢で体重も重い。 3×10^{14} vg/kgの高用量で大量になる。
- ③ 脊髄性筋萎縮症に対するゾルゲンスマ(AAV9)の治療量 1×10^{14} vg/kg
肝障害、血小板減少等発症発症。免疫学的機序が推定、ステロイドで軽減。

→ 大量のウィルスベクターの静注が問題か？

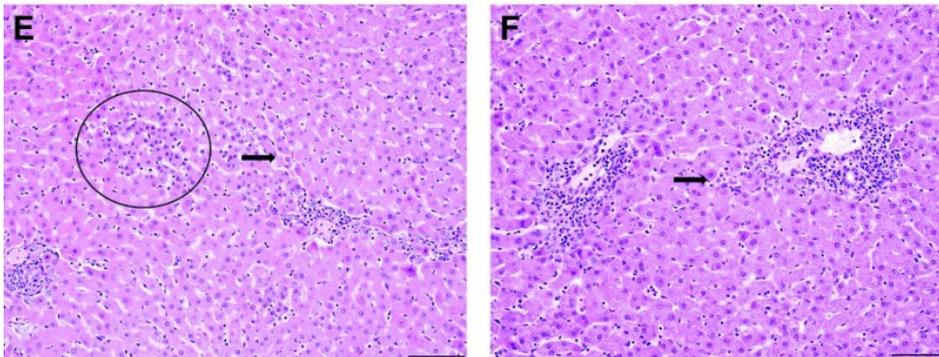
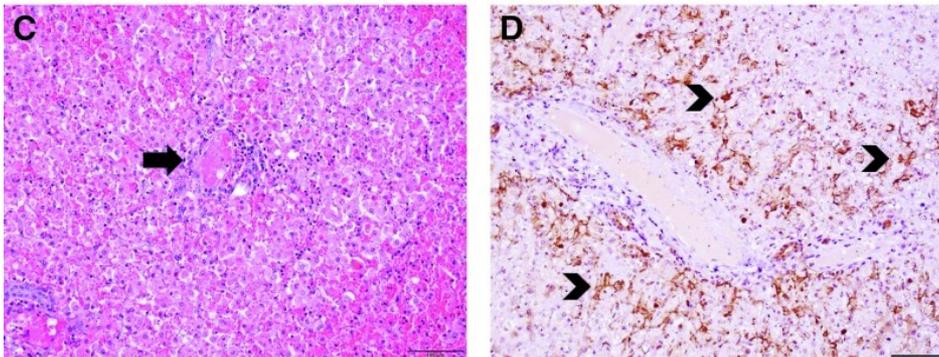
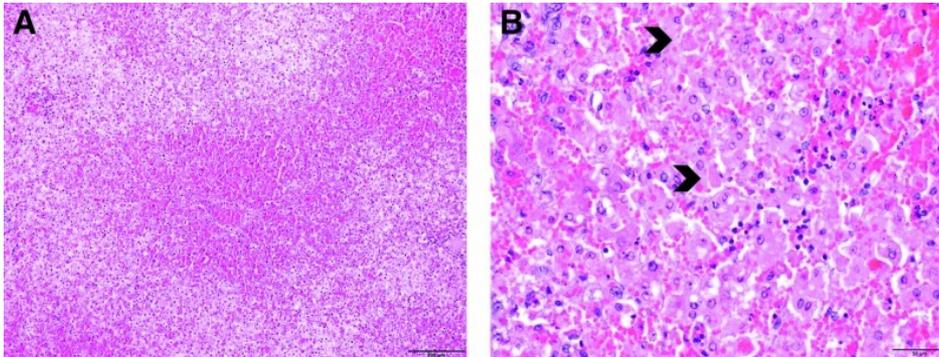
1×10^{14} vg/kgが限界？

FDAは一時治験を止めていたが、再開が許可された

サルへのSMN導入AAVベクター全身投与による解析結果

Severe Toxicity in Nonhuman Primates and Piglets Following High-Dose Intravenous Administration of an Adeno-Associated Virus Vector Expressing Human SMN

Hinderer C, et al Hum Gene Ther . 2018;29:285-298.



AAVhu68 expressing human SMN
サルに 2×10^{14} GC/kg静注

3例中1例が肝障害、低体温、低血糖
等でショック状態に

→ サイトカインストーム

肝病理所見

広範囲の急性肝細胞壊死
フィブリン蓄積と塞栓

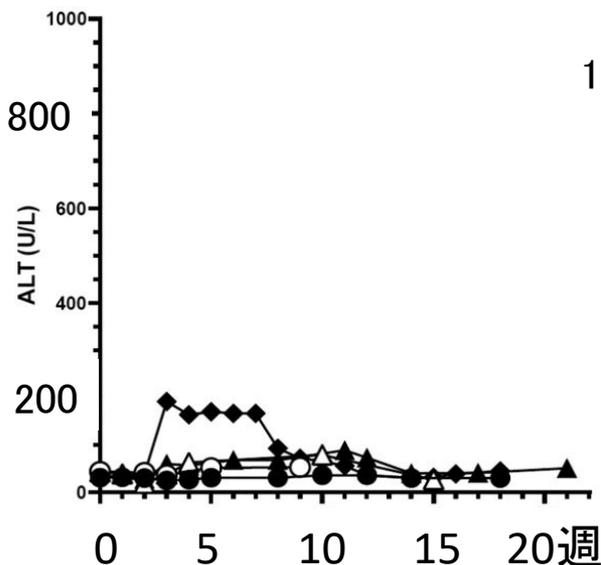
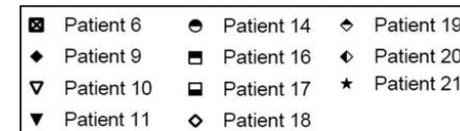
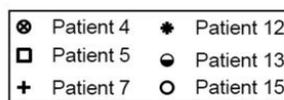
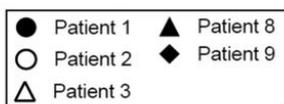
他の2例(E, F)
症状はなし

門脈域周辺に細胞浸潤、
肝細胞壊死と再生所見

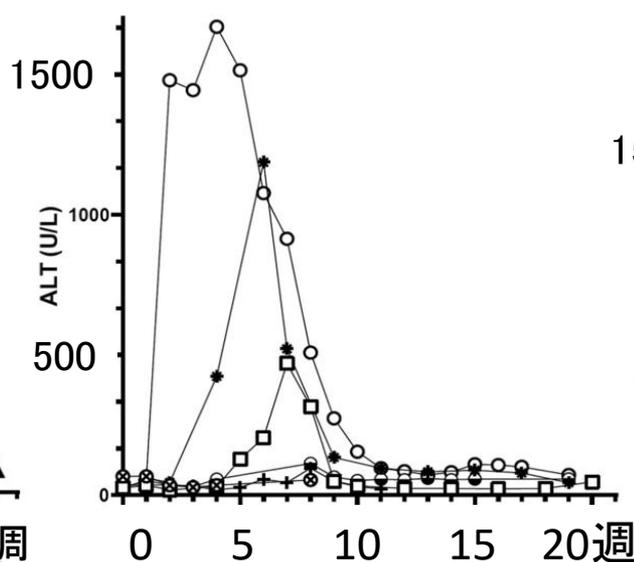
Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy: Safety and Early Outcomes

Waldrop MA, et al. Pediatrics. 2020;146:e20200729.

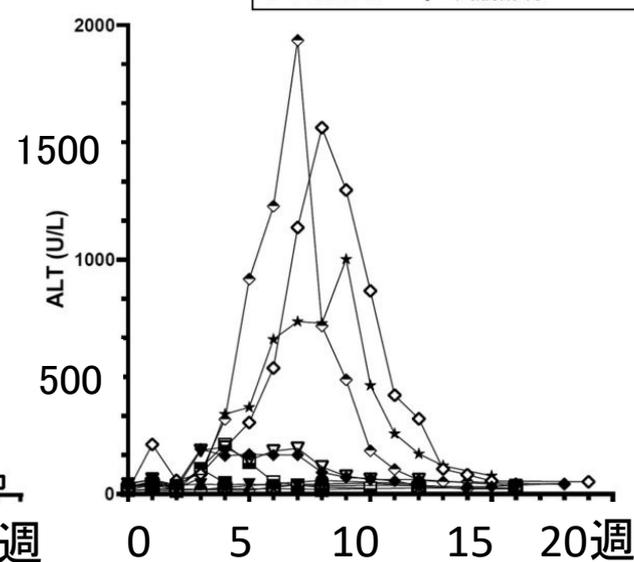
<ALT値の推移>



発症前に治療
新生児スクリーニング



発症後に治療
ヌシネルセンなし

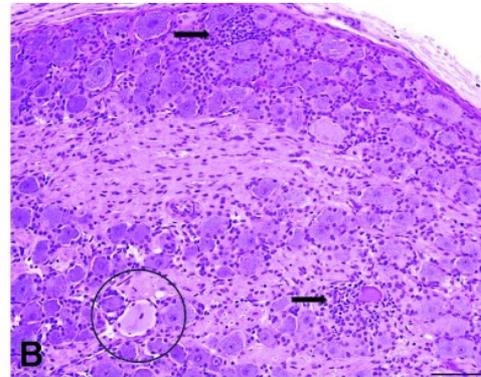
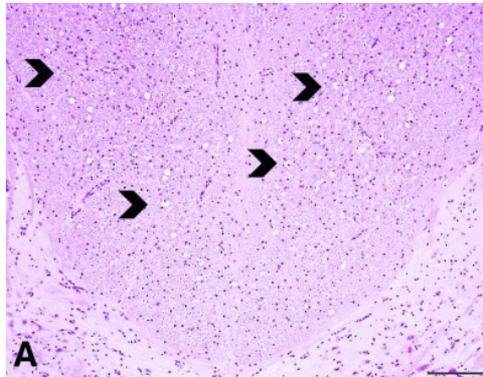


発症後に治療
ヌシネルセン後

もう一つの課題； 脊髄後根神経節変性

Severe Toxicity in Nonhuman Primates and Piglets Following High-Dose Intravenous Administration of an Adeno-Associated Virus Vector Expressing Human SMN

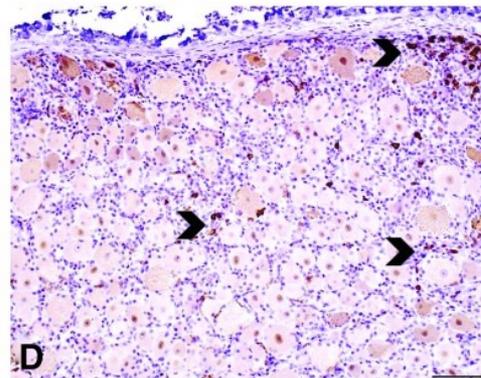
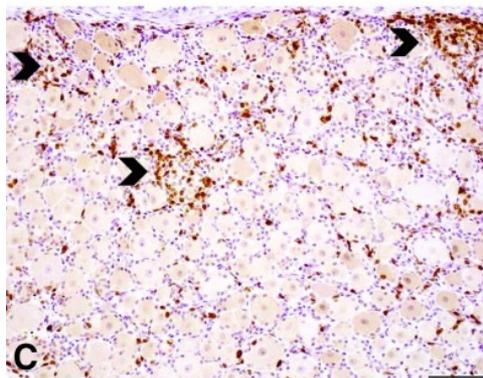
Hinderer C, et al. Hum Gene Ther. 2018;29:285-298.



サルへのSMN導入AAVベクター
全身投与による解析結果

A; 脊髄後索軸索障害
ミエリン鞘の腫大

B; 後根神経節変性
軽度の神経細胞変性
chromatolysis 中心性溶解



C; CD-3陽性T細胞浸潤
D; CD-20陽性B細胞浸潤
T細胞浸潤が多い

- ・サルに対するAAV9ベクター髄注で検出。静注でも。
一過性の炎症細胞浸潤、時に細胞死・変性
髄注で後根神経節に高濃度のベクター、末梢神経にもベクター入り、後根神経節へベクターに対する反応、発現遺伝子に対する反応など

(Hordeaux J, et al. Adeno-Associated Virus-Induced Dorsal Root Ganglion Pathology. Hum Gene Ther. 2020、他)

オナセムノゲン治療の特徴

- **1回の静脈注射で治療効果**

長期的な運動機能の維持、改善

⇔ 逆に、中和抗体が出来るため、**再治療不可**

- 筋力低下が進行してからでは、その機能レベルの維持のみ

→ **早期診断し、発症前からの早期治療が必須！**

- 肝機能障害、血小板減少の有害事象あり。

→ 発症前、新生児期治療例では発症が少ないという報告

(Waldrop MA, et al. 2020)



早期の治療、発症前治療のために**新生児スクリーニングが必須！**

- SMAと重症免疫不全症 → realtime PCR法でスクリーニング可
- 日本でも数県でろ紙血を用いた新生児マススクリーニング開始
- **小児神経学会でSMAマススクリーニング検討ワーキンググループ立ち上げ** → 促進と課題の検討

AADC欠損症に対する遺伝子治療 臨床研究

AADC欠損症(OMIN608643)とは

芳香族アミノ酸脱炭酸酵素

Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)

をコードする遺伝子の変異により発症する

常染色体劣性遺伝性疾患

患者数（死亡例を含む）

- 世界で 140例程度
- 台湾の患者が約1/3

（81% はIVS6 +4 A>Tの同一変異 — 蛋白産生不可）

- 日本で 8 例

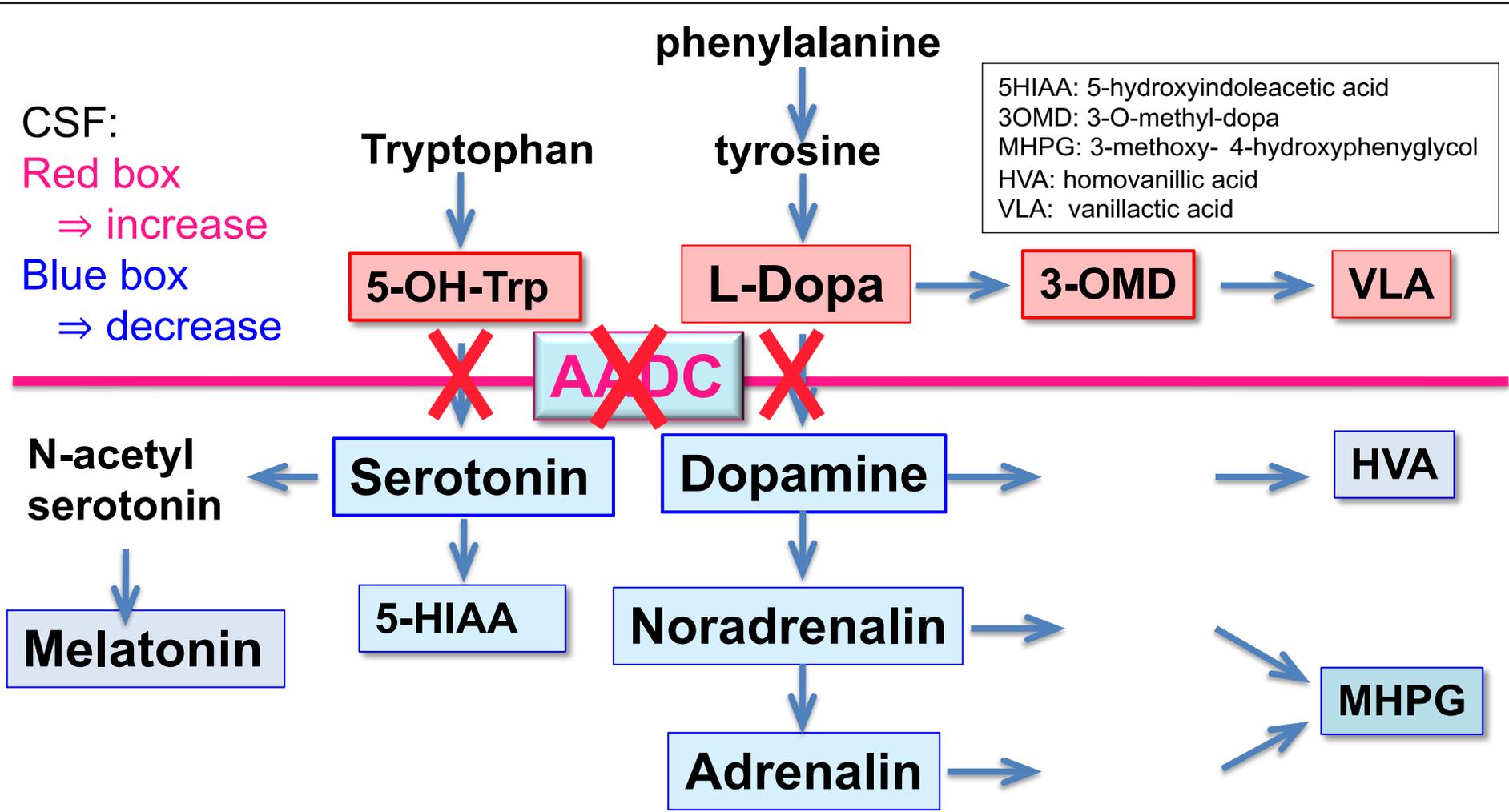
- Brun L, et al. Neurology 2010
- Hwu WL, et al. JIMD Rep. 2017
- Wassenberg T, et al. Orphanet J Rare Dis 2017
- Kojima K, et al. Brain. 2019

Aromatic L-amino acid decarboxylase

AADC: 芳香族アミノ酸脱炭酸酵素

CSF:
Red box
⇒ increase
Blue box
⇒ decrease

5HIAA: 5-hydroxyindoleacetic acid
3OMD: 3-O-methyl-dopa
MHPG: 3-methoxy- 4-hydroxyphenyglycol
HVA: homovanillic acid
VLA: vanillactic acid



AADC欠損症の主要症状

運動障害を主体とした症状

眼球偏位発作（注視けいれん; Oculogyric crisis）

ジストニア 眼球上転発作に続くことも多い

随意運動の障害 — 手足をうまく動かせない

筋緊張低下

長期臥床のため、関節拘縮、筋萎縮なども
重度知的障害など。

自律神経機能障害

心拍・血圧の調整障害、発作性発汗、唾液分泌増加
てんかん、低血糖、情緒不安定、睡眠障害 等の合併も。

* 病型分類

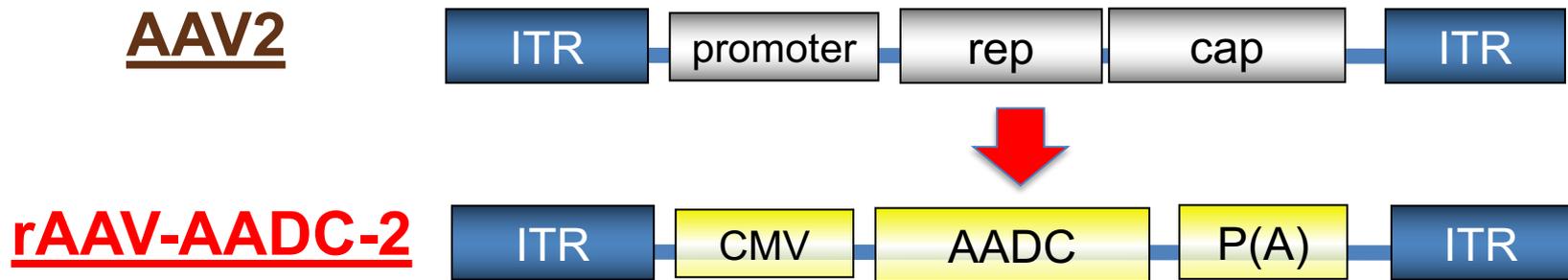
重症型（80%） ほとんどが頸定が得られず、生涯臥床状態

中間型（15%）

軽症型（5%） ジストニア、知的障害等があるが歩行可能

遺伝子治療用ベクター

AAV2 : アデノ随伴ウィルス 2型



AAV由来の塩基配列は両端のITR (inverted terminal repeat) 以外を除去し、以下と置換

CMV promoter/enhancer

ヒト AADC 遺伝子

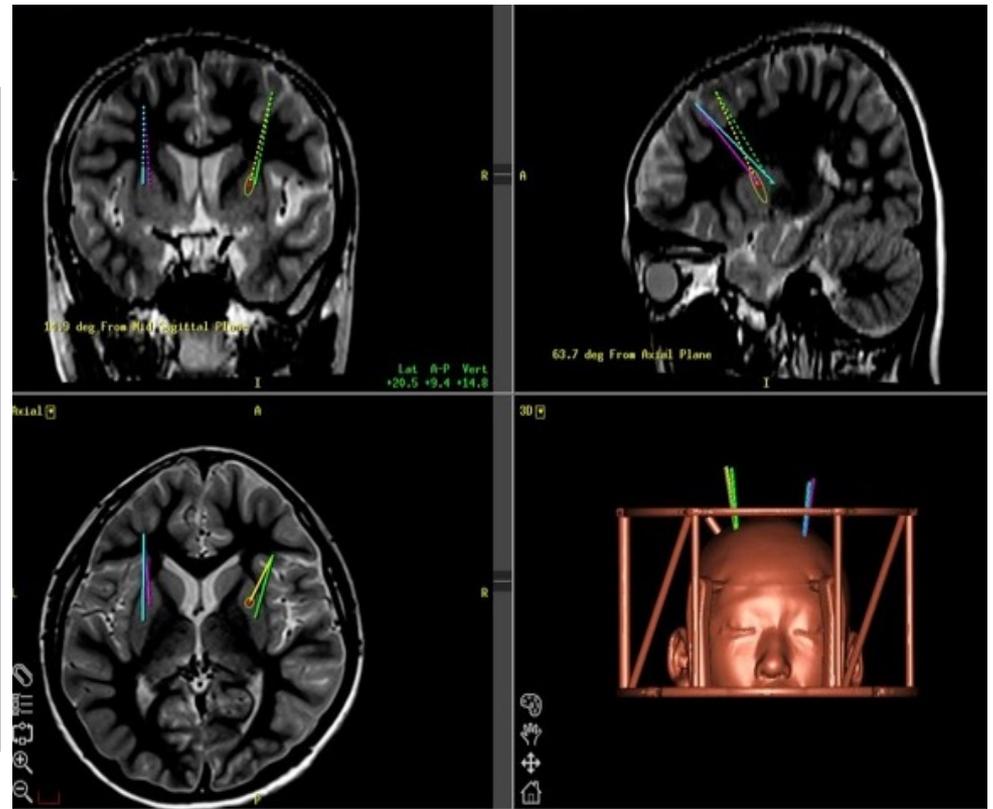
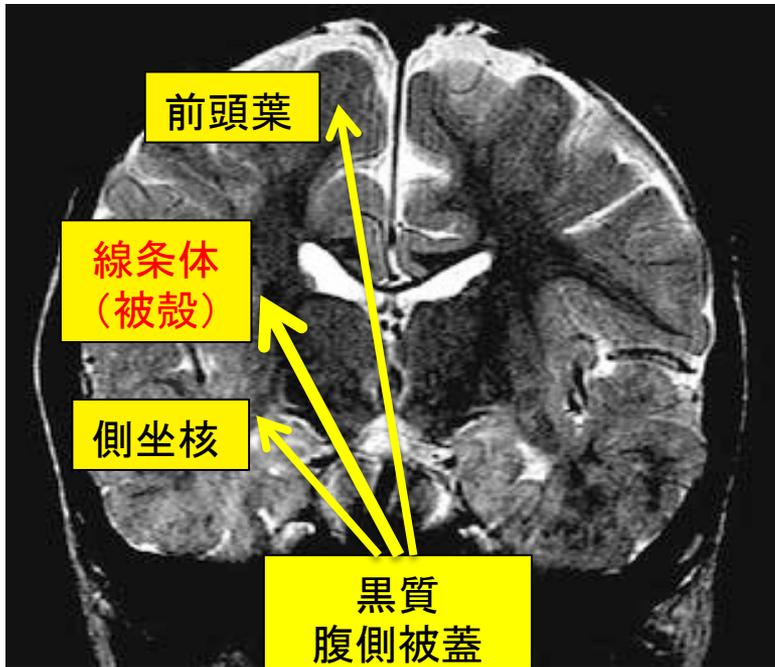
human β globin intron

Poly A signal form human growth hormone (hGH PA)

* GMP レベルの rAAV-AADC-2 をタカラバイオ社で作製

治療経路

定位脳手術により 脳内(被殻)にベクターを注入
脳の局所に注入すればいい疾患
AADC欠損症はドパミン系の主体の被殻への注入で効果



hAADC-AAVベクター

両側被殻 各2か所ずつ

注入量 : 50 μ l / points 計 200 μ l (2×10^{11} vector genome)

遺伝子治療実施患者背景

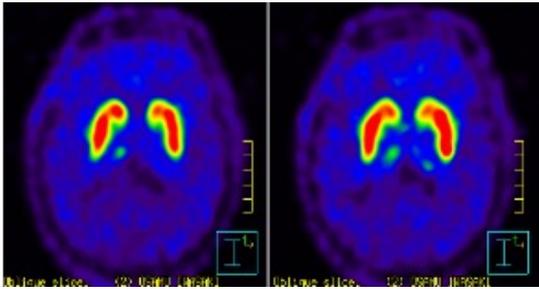
		重症度	症状	DDC変異	
1	15y 男	重症型	胃瘻、唾液過多、発汗過多、 気管切開、ジストニア、OGC	p.(Ala110Glu)/ Unknown	2015.6.29
2	12y 女	重症型	胃瘻、唾液過多、発汗過多、 ジストニア、OGC	(同胞)	2015.7.27
3	5y 女	中間型	MAO 阻害薬で運動機能改善 臥床状態→支持歩行、OGC	p.(Trp105Cys)/ p.(Pro129Ser)	2015.11.16
4	19y 男	重症型	経鼻胃管、唾液過多、発汗過多、 ジストニア、てんかん、NIPPV	p.(Try369Cys)/ IVS6+4A>T	2016.1.25
5	10y 男	重症型	胃瘻、唾液過多、ジストニア、OGC (オーストラリア人)	IVS6+4A>T/ IVS6+4A>T	2017.2.13
6	4y 男	重症型	唾液過多、発汗過多、 ジストニア、OGC	p.(Tyr79Cys)/ p.(Asp252Gly)	2017.7.10
7	7y 女	重症型	唾液過多、発汗過多、ジストニア、OGC (ロシア人)	p.(Pro87Leu)、 p.(Trp267Arg)	2018.2.12
8	4y 男	重症型	胃瘻、唾液過多、ジストニア、OGC (カンボジア人)	IVS6+4A>T/ IVS6+4A>T	2018.11.26

FMT-PET

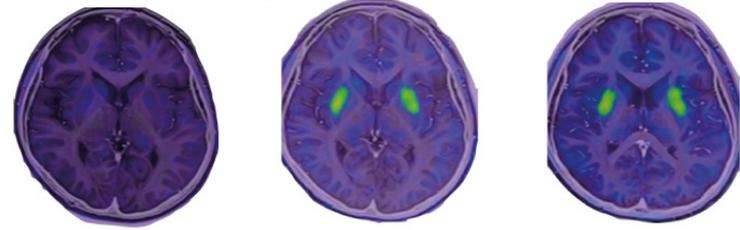
FMT (6-[¹⁸F] fluoro-m-tyrosine) : AADCの特異的トレーサー

(A) 治療前 (B) 6か月 (C) 2年

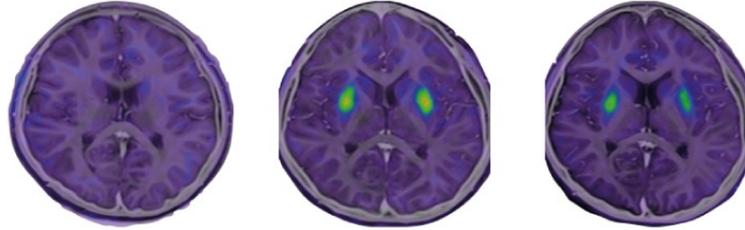
正常



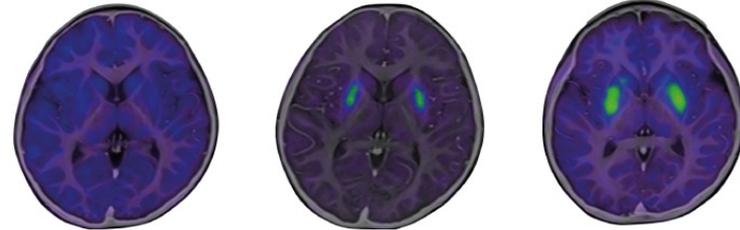
Patient 1



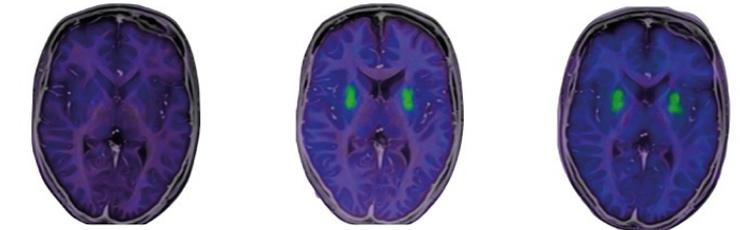
Patient 2



Patient 3



Patient 4



* 5年後も同様に発現持続

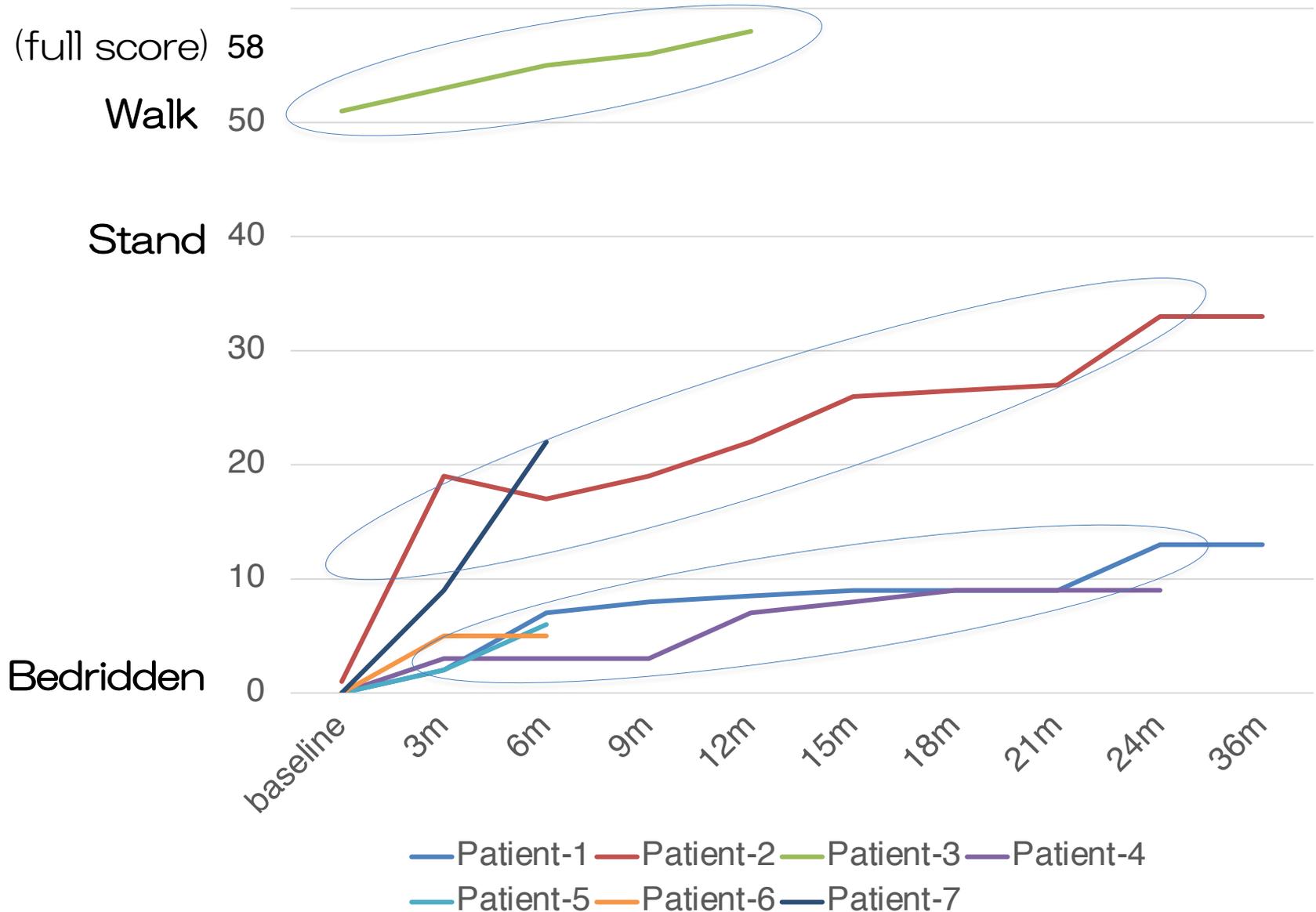
Kojima K, et al. Brain. 2019

臨床経過 (運動・自律神経機能)

Pt.		運動				不随意運動		自律神経機能障害		
		頸定	座位	歩行	把握	ジストニア	OGC	発汗	唾液過多	下痢
1	BL	-	-	-	-	+++	+++	++	+++	+
	2y	+	+	±	+	-	+	±	-	+
2	BL	-	-	-	-	+++	+++	++	+++	-
	2y	+	+	±	++	-	+	-	-	-
3	BL	+	+	±	+	-	++	±	-	-
	2y	+	+	++	++	-	±	-	-	+
4	BL	-	-	-	-	+	+	++	+++	-
	2y	+	+	-	+	-	-	-	-	-
5	BL	-	-	-	-	+++	+++	++	++	-
	1y	+	±	-	+	-	+	-	±	-
6	BL	-	-	-	-	+++	+++	+	+	-
	6m	+	±	-	±	-	+	±	-	-
7	BL	-	-	-	-	++	++	+	+	-
	6m	+	+	-	++	-	+	-	-	-
8	BL	-	-	-	-	+++	+++	+	++	-
	6m	+	±	-	±	-	+	±	±	-

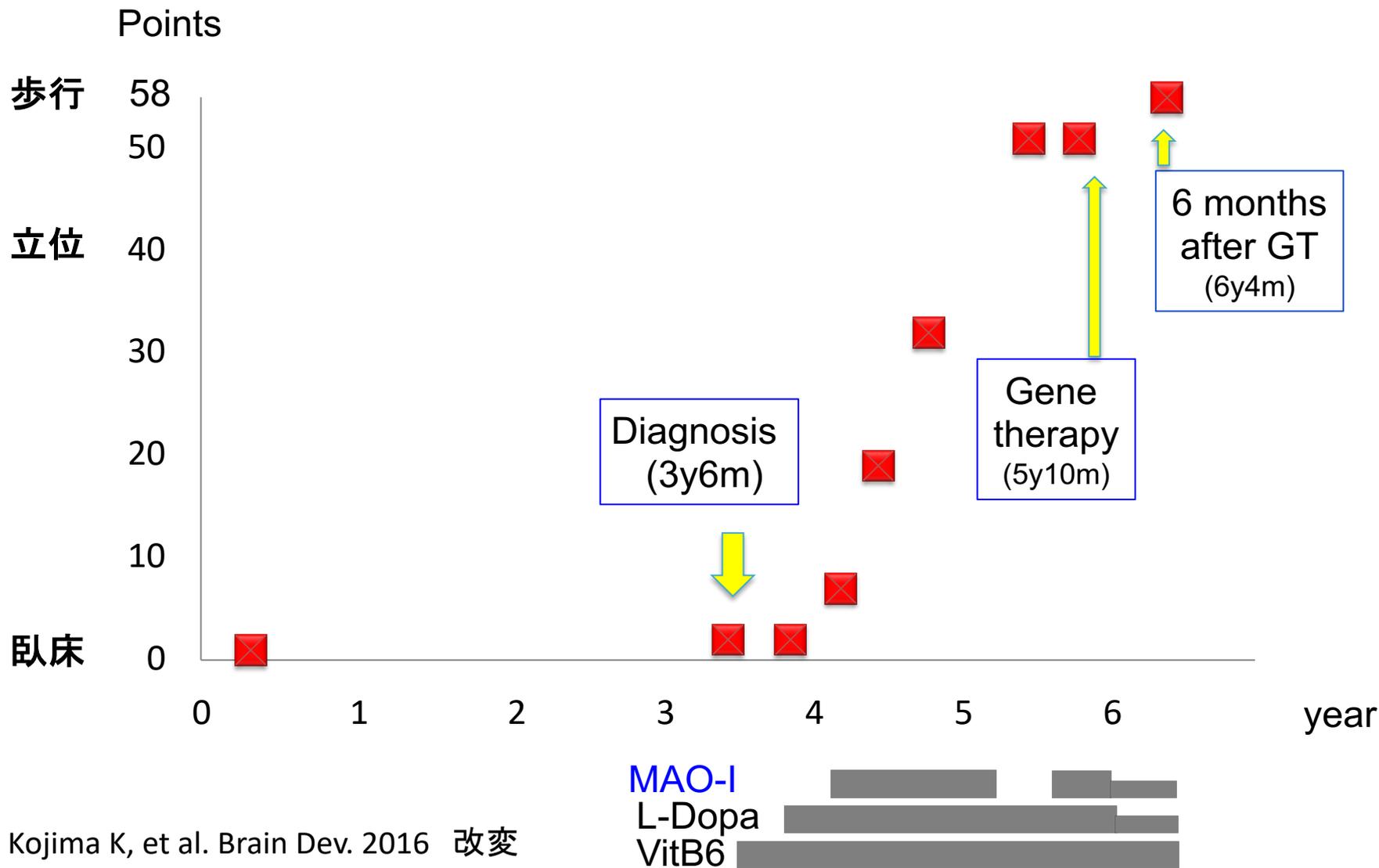
BL: baseline, OGC; ocurogyric crisis

Alberta Infant Motor Scale : AIMS



Patient 3 (中間型)

Alberta Infant Motor Scale : AIMS

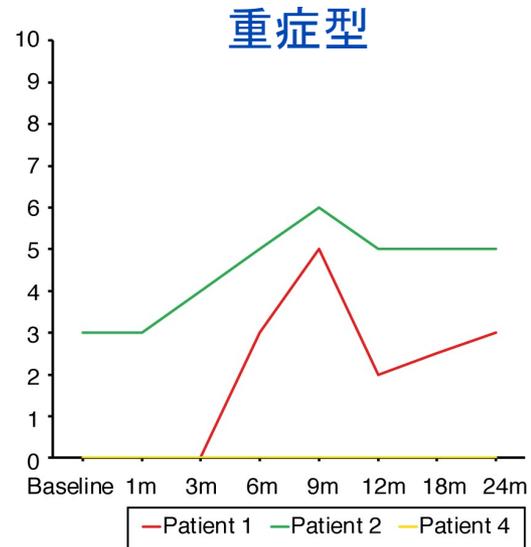
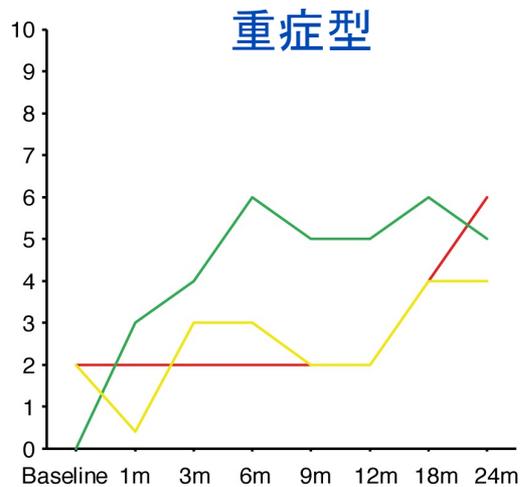
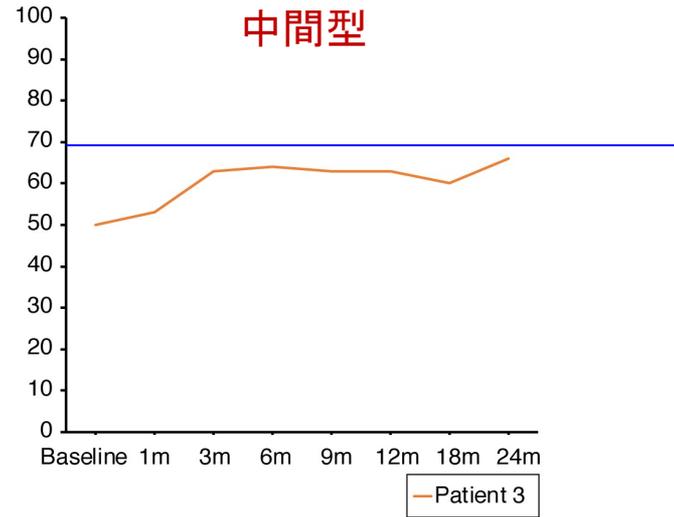
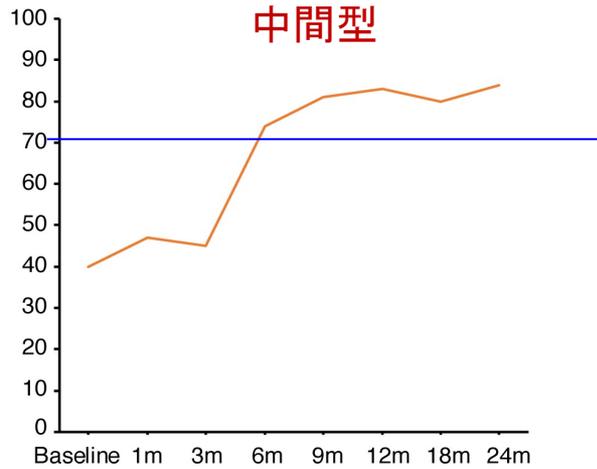


新版K式発達検査

言語—社会性

認知—適応

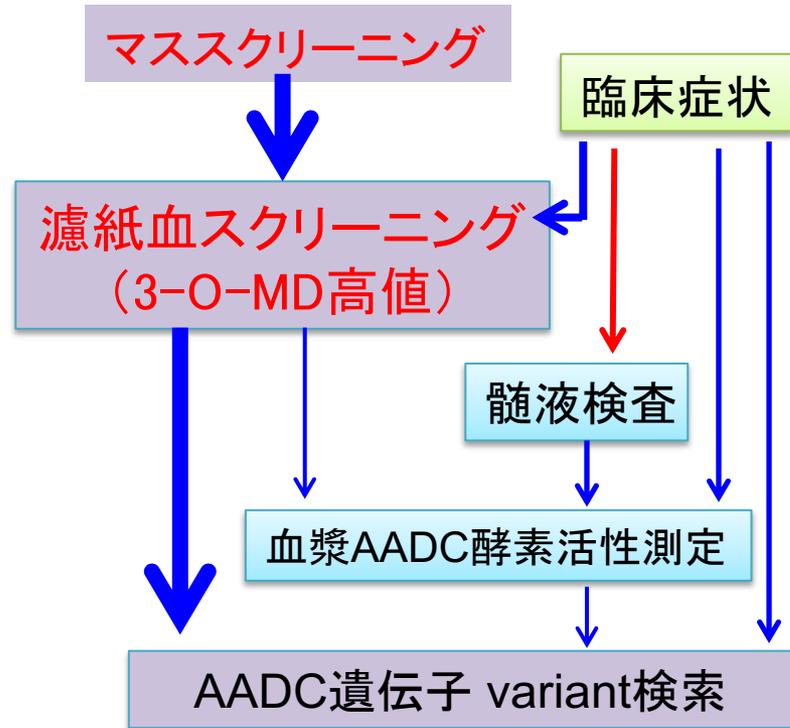
70



3-Oメチルドーパをろ紙血で測定するスクリーニング法

小坂先生

<診断のフローチャート>



これまで、髄液で
L-DOPA、5HTP上昇、HVA、5HIAA減少
等のカテコールアミン代謝産物測定で診断

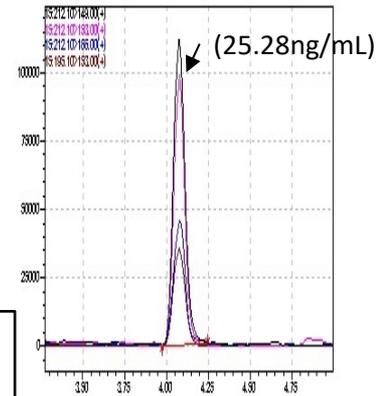
スクリーニングから遺伝子診断へ

乾燥ろ紙血によるスクリーニング

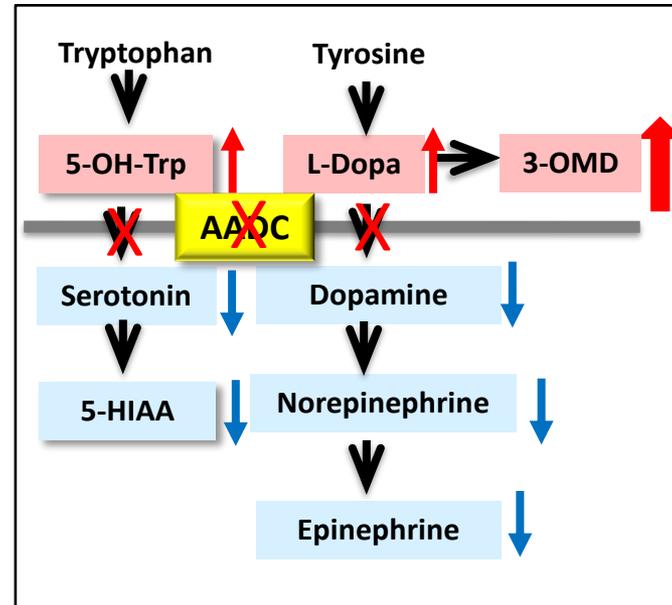
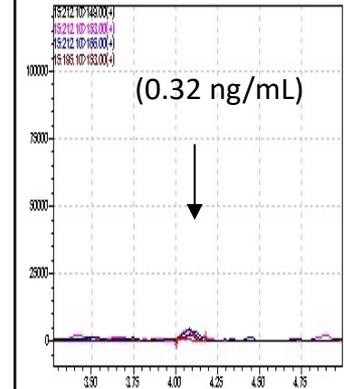
3-O-Methyldopaの上昇を確認



AADC deficiency



control



国内外での遺伝子治療の開発状況

現在、世界的に多くの疾患で遺伝子治療の臨床応用一治験が始まっている。

日本ではまだまだ

ライソゾーム病に対する遺伝子治療の開発例

(Clinical Trial Gov., ASGCT 2021)

<MPS I>

- ・ レンチウィルスを用いCD34+造血幹細胞に α -L-iduronidase cDNA遺伝子導入
- ・ RGX-111 AAV9 を用い、 α -L-iduronidase 発現ベクターを大槽に導入
 1×10^{10} と 5×10^{10} GC/g brain mass of RGX-111

<MPS II>

- ・ AAV9 を用い、iduronate-2-sulfatase発現ベクターを大槽注入。5歳以上
 6.5×10^{10} から 2.0×10^{11} GC/g brain mass. Regenxbio Inc.

<MPS IIIA>

- ・ AAV10 Human SGSH and SUMF1 cDNAs 脳に6経路で穿刺し、各経路2か所で注入
- ・ scAAV9.U1a.hSGSH $0.5, 1, 3 \times 10^{13}$ vg/kg静注
- ・ LYS-SAF302 AAVrh10-h.SGSHを脳実質に注入

<MPS IIIB>

- ・ rAAV2/5-hNAGLU 脳実質16か所に注入 各 2.4×10^{11} vg (計 4×10^{12} vg).
- ・ rAAV9.CMV.hNAGLU 静注

<MPS VI>

- ・ AAV8 を用い、肝で発現。 6×10^{11} gc/kg \rightarrow 2×10^{12} と 2×10^{11} gc/kg
* 角膜に直接ベクターを注入する治療の臨床研究

ライゾーム病、代謝異常に対する遺伝子治療の開発例 (Clinical Trial Gov., ASGCT 2021)

<GM1>

- AAVrh.10 大槽内注入
- AAV9を用い静注

<GM2>

- AAV9 を用い、HEXAとHEXB両遺伝子を組み込み、髄注

<Gaucher病>

- AVR-RD-02 CD34+ 造血幹細胞に遺伝子導入

<Pompe病>

- AAV9 を用い、Late-Onset Pompe Disease

<Fabry病>

- 4D-310; AAVを用いた治療
- ST-920, AAV2/6 Human Alpha Galactosidase 静注

<OTC欠損症、糖原病I型>

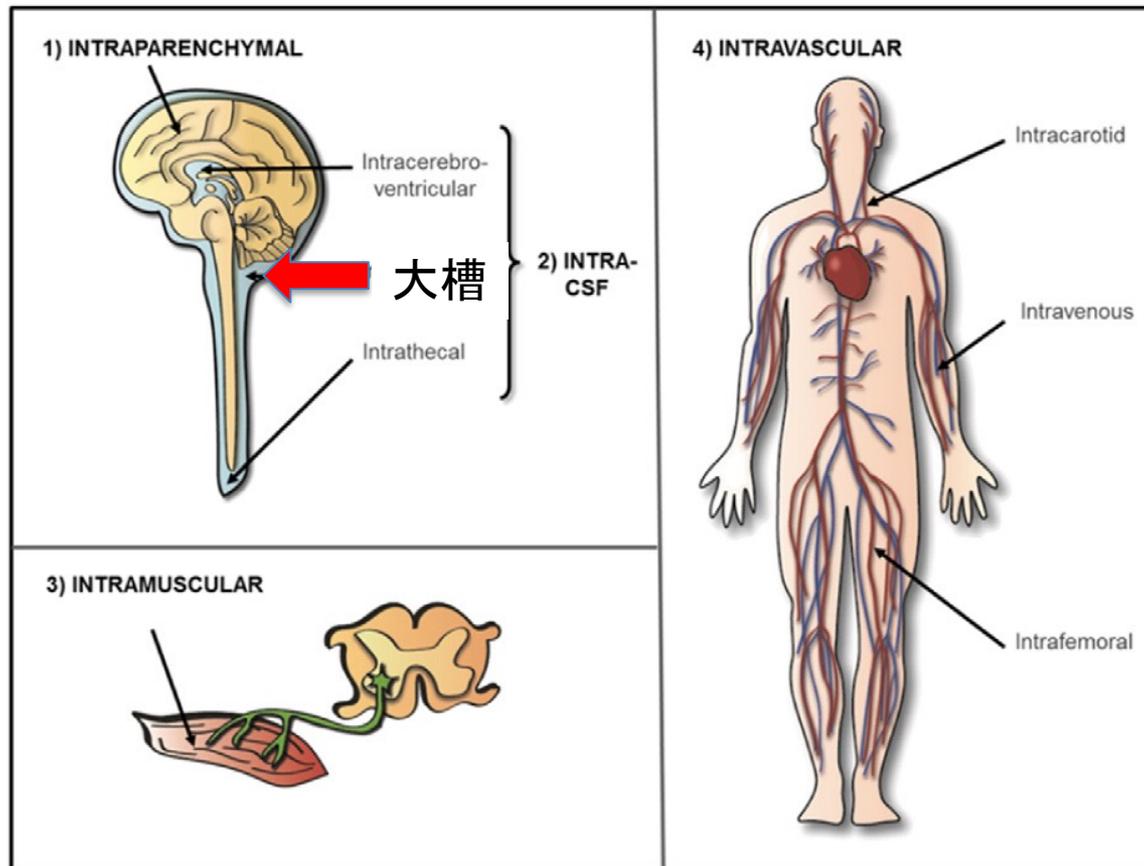
- AAV8を用い、肝に遺伝子導入する治療
青年から成人対象

神経変性疾患 — 神経セロイドリポフスチノーシス(Batten病)、
Canavan病、他

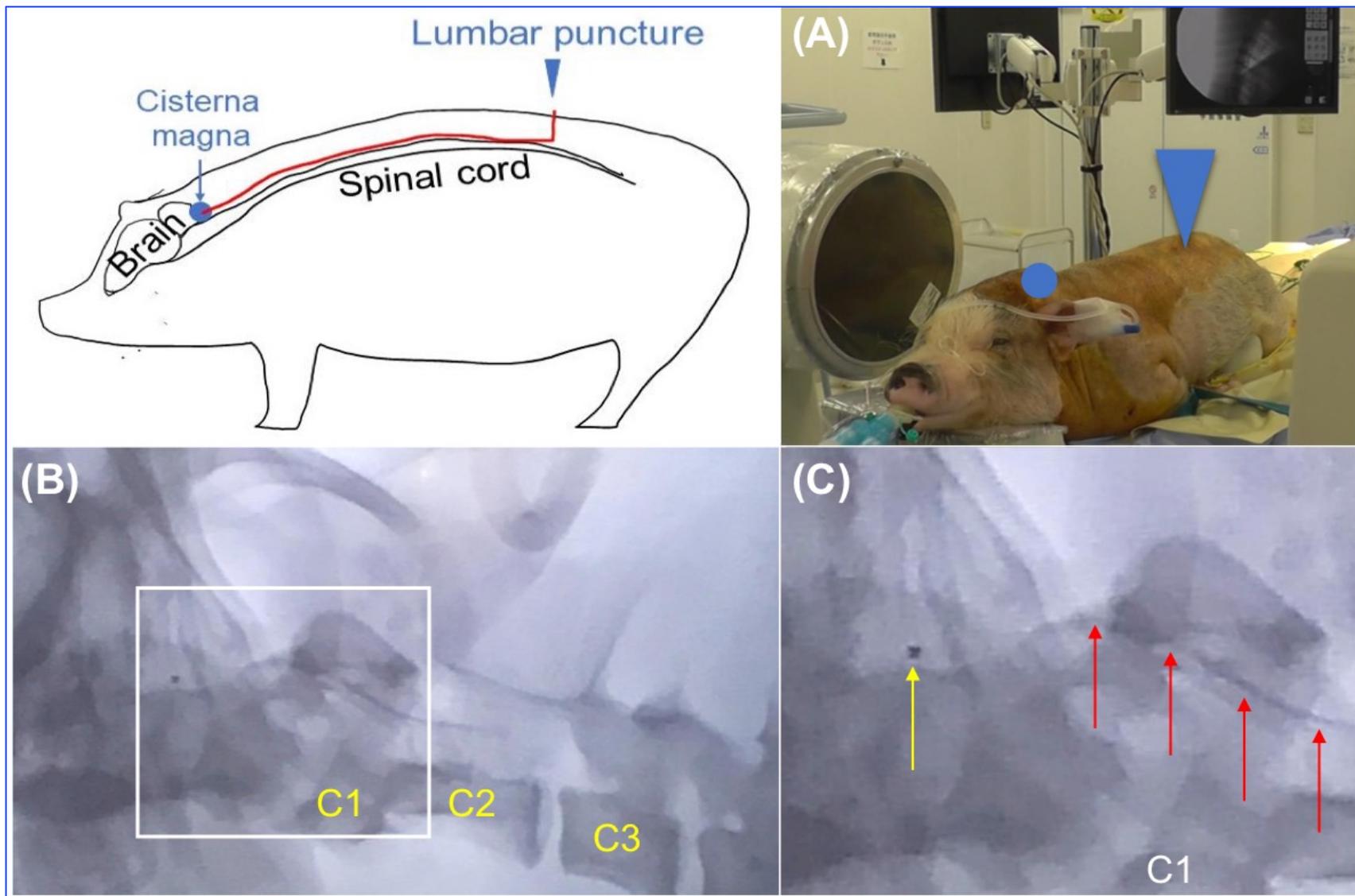
筋疾患 — Duchenne型筋ジストロフィー、他

脳に広汎に導入するには？

AAV9など、髄注、静注で 脳へ移行
静注では大量のベクターが必要 → 有害事象、コスト



腰椎穿刺によりカテーテルを大槽まで進める (バクロフェン髄注療法の実用)



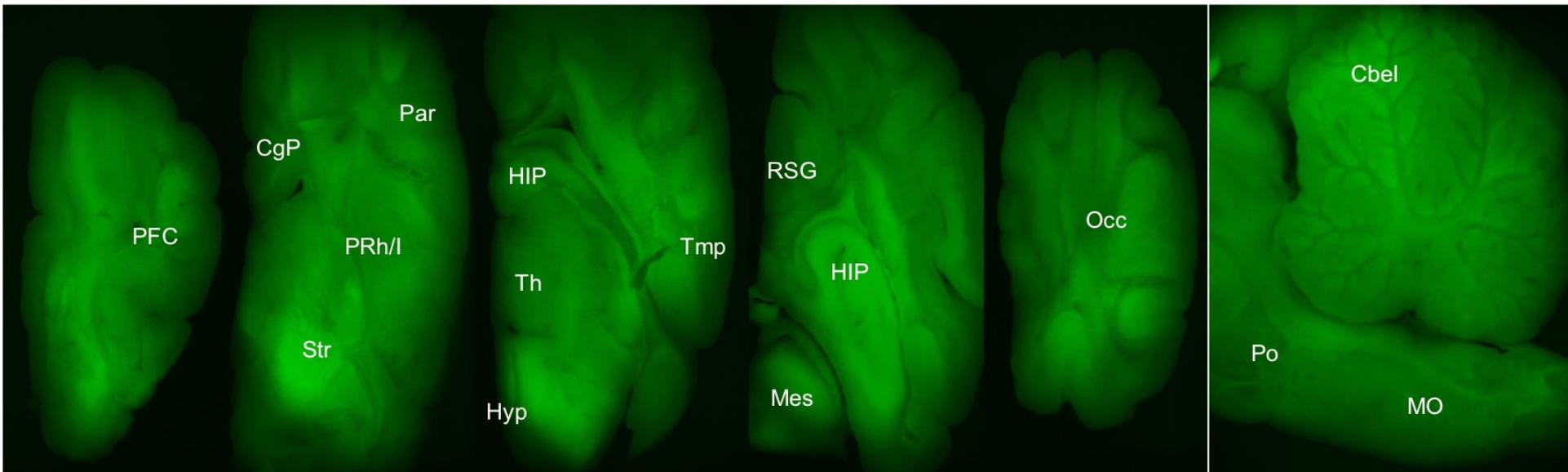
大槽へ注入したAAVベクターの脳内での発現

(A) AAV-GFP



(A) coronal sections of cerebral hemisphere

(B) sagittal section of cerebellum



自治医科大学で臨床応用を目指している 小児神経疾患に対する遺伝子治療

非臨床試験実施中	GLUT1欠損症 (Nakamura S. et al. 2019, 2021) Niemann-Pick病C型 (Kurokawa Y. et al. 2021)
協力	Tay-Sachs病 (徳島大学 伊藤先生開発)
非臨床試験準備中	OTC欠損症 (肝ターゲット)
鋭意開発中	オートファジー病 Rett症候群 他

* 一緒に治療法開発・医師主導治験を行っていただける方募集！
治験コーディネーター、CRC、他