

臨床遺伝学公開シンポジウム 2017

「リソソーム病研究 臨床遺伝学の挑戦」

日時： 2017年12月14日(木) 13:00～17:45

場所： 明治薬科大学
総合教育研究棟 フロネシス 8111 講義室

2017年12月14日

明治薬科大学 臨床遺伝学講座

目次

臨床遺伝学公開シンポジウム 2017 開催に際して	1
プログラム	2
演題 1: 私たちのファブリー病研究の進展について報告します 明治薬科大学 臨床遺伝学講座 櫻庭 均	3
演題 2: ファブリー病のミスセンス変異と機能的多型の違いは？ 明治薬科大学 生体機能分析学研究室 月村 考宏	4
演題 3: 血漿 Lyso-Gb3 はファブリー病の診断と治療経過の確認に役立っています 日本人の基準値設定と患者試料の測定 明治薬科大学 生体機能分析学研究室 兎川 忠靖	5
演題 4: Innovation Big Wave がもたらす迅速・簡易診断の未来 東京都医学総合研究所 分子医療プロジェクト 芝崎 太	6
演題 5: GLA 遺伝子に起こりうる全てのミスセンス変異に関する酵素蛋白質のモデル構造を 作成しデータベース化しました 北海道情報大学 医療情報学部 齋藤 静司	7
演題 6: ザンドホッフ病モデルマウスにおいて、活性化アストロサイトに A_{2A} 受容体が発現 誘導し、 A_{2A} 受容体を遮断すると活性化ミクログリアの数が減少することを発見しました 明治薬科大学 薬理学研究室 小川 泰弘	8
演題 7: 中枢神経症状を伴うリソソーム病の治療法開発を進めています 徳島大学大学院 薬科学教育部 創薬生命工学分野 伊藤 孝司	9
演題 8: リソソーム酵素を生産するための細胞を作っています 産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門 千葉 靖典	10
演題 9: mRNA を体内に直接投与する遺伝子治療を研究しています 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 位高 啓史	11
演題 10: ヒト iPS 細胞のゲノム DNA 配列を自在に編集し新しい疾患の治療法の開発を 目指しています 東京都医学総合研究所 再生医療プロジェクト 宮岡 佑一郎	12
演題 11: 希少疾患治療薬開発のモデルとしてのライソゾーム病 —現状と将来展望— 脳神経疾患研究所附属 先端医療研究センター&遺伝病治療研究所 衛藤 義勝	13

臨床遺伝学公開シンポジウム 2017 開催に際して

明治薬科大学 臨床遺伝学講座
教授 櫻庭 均

臨床遺伝学講座では、2009年の開設以来、毎年3月に、ささやかながらシンポジウムの形でその年度の研究成果を公開して参りました。あいにく、講座責任者が昨年未より予期せぬ病気の療養のため長期間休まざるを得なくなり、今年3月に予定されていたシンポジウムの開催を延期させて頂きました。今、責任者復帰により、講座は、改めてその体制を整え、リソソーム病の病態解明と診断・治療法の開発を目的とした研究のための再スタートを切りたいと思っています。「リソソーム病研究 臨床遺伝学の挑戦」をテーマとした、このシンポジウム 2017 では、講座スタッフ、共同研究をして頂いている方々や御指導いただいている先生方の研究発表を基に議論し、リソソーム病研究の更なる発展を目指したいと思います。どうぞ、皆様の変わらぬ御指導、ご鞭撻をお願いします。

また、本講座の運営に多大なご支援を頂いている大日本住友製薬株式会社様とサノフィ・ジェンザイム様に感謝致します。

臨床遺伝学講座研究スタッフ

臨床遺伝学		生体機能分析学	
教授	櫻庭 均	教授	兎川 忠靖
客員教授	伊藤 孝司	助教	月村 考宏
	千葉 靖典		
	川島 育夫		
	川村眞智子		
研究技術員	田中 利絵		
	大塚 智子		
	佐藤 温子		
	志賀 智子		
秘書	田中聖恵子		
経理	池田 範子		

臨床遺伝学公開シンポジウム 2017 プログラム

「リソソーム病研究 臨床遺伝学の挑戦」

- 13:00-13:10 開会の辞
挨拶 (大学) 石井啓太郎 (明治薬科大学 学長)
挨拶 (法人) 奥山 徹 (明治薬科大学 理事長)
進行説明 櫻庭 均
- 13:10-13:50 私たちのファブリー病研究の進展について報告します
明治薬科大学 臨床遺伝学講座 櫻庭 均
- 13:50-14:10 ファブリー病のミスセンス変異と機能的多型の違いは？
明治薬科大学 生体機能分析学研究室 月村 考宏
- 14:10-14:30 血漿 Lyso-Gb3 はファブリー病の診断と治療経過の確認に役立っています
日本人の基準値設定と患者試料の測定
明治薬科大学 生体機能分析学研究室 兎川 忠靖
- 14:30-14:50 Innovation Big Wave がもたらす迅速・簡易診断の未来
東京都医学総合研究所 分子医療プロジェクト 芝崎 太
- 14:50-15:10 GLA 遺伝子に起こりうる全てのミスセンス変異に関する酵素蛋白質の
モデル構造を作成しデータベース化しました
北海道情報大学 医療情報学部 齋藤 静司
- 15:10-15:20 休憩
- 15:20-15:40 ザンドホッフ病モデルマウスにおいて、活性化アストロサイトに A_{2A} 受
容体が発現誘導し、A_{2A} 受容体を遮断すると活性化ミクログリアの数が
減少することを発見しました
明治薬科大学 薬理学研究室 小川 泰弘
- 15:40-16:00 中枢神経症状を伴うリソソーム病の治療法開発を進めています
明治薬科大学 臨床遺伝学客員教授、徳島大学大学院 薬科学教育部
創薬生命工学分野 伊藤 孝司
- 16:00-16:20 リソソーム酵素を生産するための細胞を作っています
明治薬科大学 臨床遺伝学客員教授、産業技術総合研究所 千葉 靖典
- 16:20-16:40 mRNA を体内に直接投与する遺伝子治療を研究しています
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 位高 啓史
- 16:40-17:00 ヒト iPS 細胞のゲノム DNA 配列を自在に編集し新しい疾患の治療法の
開発を目指しています
東京都医学総合研究所 再生医療プロジェクト 宮岡 佑一郎
- 17:00-17:40 希少疾患治療薬開発のモデルとしてのライソゾーム病
ー現状と将来展望ー
脳神経疾患研究所付属 先端医療研究センター&遺伝病治療研究所
衛藤 義勝
- 17:40-17:45 閉会の辞
- 17:50-19:00 懇親会 (厚生棟 1F 食堂)

私たちのファブリー病研究の進展について報告します

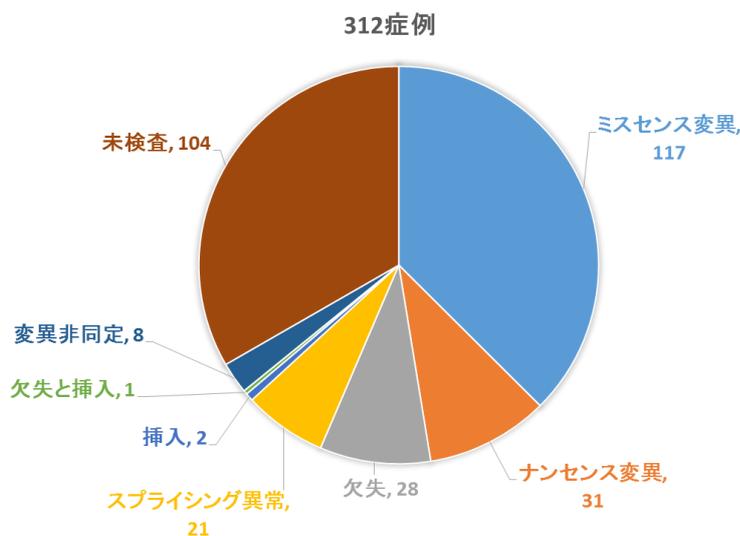
櫻庭 均¹、兎川忠靖²、月村考宏²、田中利絵¹、大塚智子¹、志賀智子¹、佐藤温子¹、
田中聖恵子¹、池田範子¹、齋藤静司³、大野一樹^{4,5}、川島育夫^{1,6}

¹ 明治薬科大学 臨床遺伝学、² 明治薬科大学 生体機能分析学、
³ 北海道情報大学 医療情報学部、⁴ (株) カタリスト、⁵ 東京工業大学 情報生命博士教育院、
⁶ (公財) 東京都医学総合研究所 細胞膜

ファブリー病は、 α -ガラクトシダーゼ A (GLA) の活性低下により、体内にグロボトリアオシルセラミド (Gb3) やグロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3) などの糖脂質が蓄積する X 染色体性遺伝病です。本症では、典型的な症状として、四肢疼痛、低汗症、被角血管腫、角膜混濁、腎障害、脳血管障害や心障害などがみられますが、患者さんの性別および遺伝子変異の違いにより、臨床像に多様性が認められ、診断が難しい症例が存在します。私たちは、血清や白血球の GLA 活性測定、血漿の Lyso-Gb3 および尿 Gb3 の測定、GLA 遺伝子の解析を組み合わせたファブリー病診断システムを構築し、これまでに 300 例以上の日本人ファブリー病症例を診断しました。また、その原因となる GLA 遺伝子変異は、多様であります (図)、日本人患者では M296I, R112C や R112H などのミスセンス変異や IVS4+919 G> C や IVS3-1 G> A などのスプライシング異常が多いという特徴があることがわかりました。こうした情報をファブリー病データベース (<http://fabry-database.org/>) で公開し、ファブリー病に関連する研究者や臨床医に役立てています。

本講演では、ファブリー病の診断・治療法開発のための私たちの研究の進展について報告します。

図. 私たちの研究室で同定した日本人ファブリー病患者の遺伝子変異



ファブリー病のミスセンス変異と機能的多型の違いは？

月村考宏¹、重永雅志¹、佐藤温子²、田中利絵²、齋藤静司³、兎川忠靖¹、櫻庭 均²

¹ 明治薬科大学 生体機能分析学、² 明治薬科大学 臨床遺伝学、

³ 北海道情報大学 医療情報学部

ファブリー病は、 α -ガラクトシダーゼ A (GLA) の遺伝子に変異があることで、GLA 活性が顕著に低下し、本来 GLA がリソソームで分解している糖脂質グロボトリアオシルセラミド (Gb3) やグロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3) が分解されずに蓄積してしまう X 染色体性の遺伝病です。GLA 遺伝子変異は 900 種類以上報告されており、遺伝子変異と臨床症状は密接な関係があることが知られています。近年、日本では E66Q、海外では R118C、A143T、D313Y が、アミノ酸置換が起こるにもかかわらずファブリー病を引き起こさない機能的多型である可能性が極めて高いと報告されました。私達は、ミスセンス変異と同じようにアミノ酸置換が起きているにもかかわらず、なぜ機能的多型はファブリー病を引き起こさないのか疑問に思いました。そこで、病気と病気ではないものの境界を解明するために、遅発型ファブリー病のミスセンス変異の中でも特に臨床症状が軽い R112H、N215S、M296I と機能的多型 E66Q、R118C、A143T、D313Y について、蛋白質レベルで比較してみました。

各 GLA を安定発現するメタノール資化性酵母株を作製し、その培養液から GLA を精製しました。精製した GLA の酵素学的パラメーター (Km、Vmax) は、ほとんど同じ値を示しました。また、中性及び酸性条件下における熱安定性を調べたところ、遅発型 GLA の方が機能的多型と考えられる GLA よりも中性条件下で不安定であることがわかりました。

このように蛋白質レベルで解析することで、ファブリー病の分子病態がよりわかるようになります。

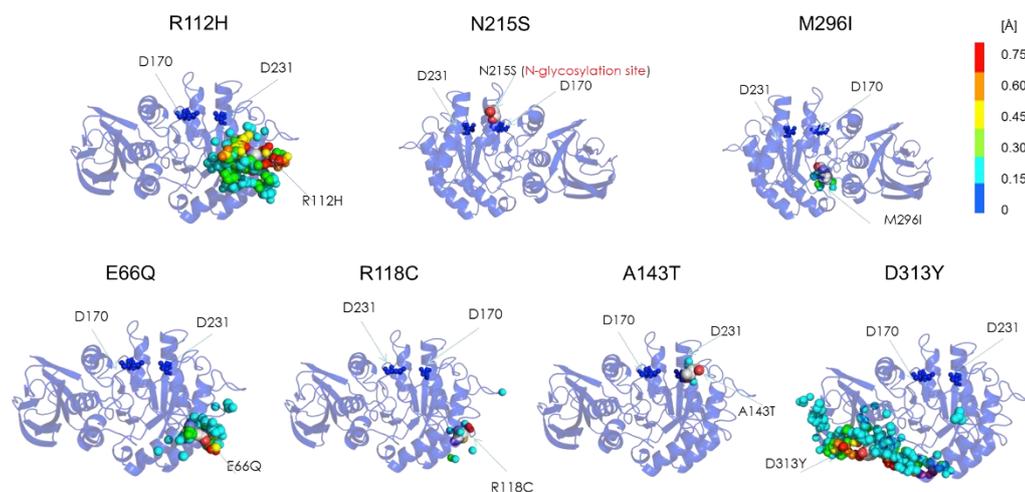


図. 各 GLA の立体構造変化の予測図

血漿 Lyso-Gb3 はファブリー病の診断と治療経過の確認に役立っています 日本人の基準値設定と患者試料の測定

兎川忠靖¹、月村考宏¹、若村友太郎²、加藤 浩²、田中利絵³、志賀智子³、櫻庭 均³

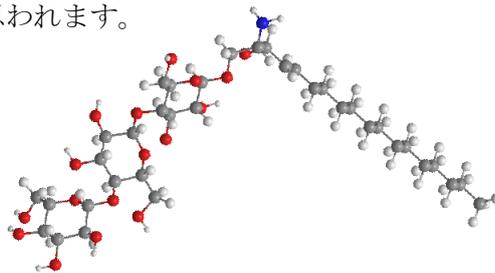
¹ 明治薬科大学 生体機能分析学、² 大日本住友製薬（株）メディカルアフェアーズ部、

³ 明治薬科大学 臨床遺伝学

血漿中のグロボトリアオシルスフィンゴシン(Lyso-Gb3、図)は、ファブリー病のバイオマーカーとして注目され、診断と治療経過の確認に寄与しています。臨床遺伝学講座では、当初 HPLC 蛍光測定法を用いてきましたが、最近ではより高感度なタンデム MS による血漿 Lyso-Gb3 の高感度測定法を確立し、ファブリー病の確定診断、特に女性の診断においては、遺伝子変異情報などと合わせて重要な測定項目となっています。しかし、有用性の高まりとともに、僅かな濃度増加をどのように判断するか、戸惑う症例も少なくありません。そこで、血漿 Lyso-Gb3 のバイオマーカーとしての精度を高めるために、我々は日本人における血漿 Lyso-Gb3 の基準値を初めて設定し、これを生かしたファブリー病患者血漿 Lyso-Gb3 濃度レベルの評価を行いました。

初めに、日本人健常者 100 名（男性 49, 女性 51；事前に被験者として適当と判断された志願者）について血漿中 Lyso-Gb3 濃度および α -ガラクトシダーゼ活性を測定しました（臨床研究 UMIN000016854）。続いてファブリー病患者 61 名（男性 34, 女性 27；リプレガルの特定使用成績調査に参加した患者）の酵素補充治療前後の血漿を試料として同様の測定を行いました（臨床研究 UMIN000017152）。

健常者全体の血漿 Lyso-Gb3 濃度は 0.53 ± 0.09 nmol/L（平均 \pm 標準偏差）、その基準範囲は $0.35 \sim 0.71$ nmol/L であり、男女別及び年齢別のサブグループ間で、明確な差は見られませんでした。一方、患者群の治療前と治療開始 6 ヶ月後の測定値は、男性患者では、夫々、 125 ± 62 及び 44 ± 25 nmol/L(古典型)、 11 ± 12 及び 6 ± 4 nmol/L(遅発型)を、女性患者では、夫々、 12 ± 8 及び 9 ± 5 nmol/L を示しました。患者群の治療前の値は明らかに高値であり、その多くは治療後に減少しました。しかし、抗 GLA 抗体陽性の患者群においては、血漿 Lyso-Gb3 値はいったん減少した後に再び増加する傾向を認めました。酵素補充療法は Lyso-Gb3 の蓄積をかなり抑えることが明らかですが、中和抗体の産生する症例があることも認められ、今後の大きな課題であると思われます。



グロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3)

Innovation Big Wave がもたらす迅速・簡易診断の未来

○芝崎 太¹、大保木啓介¹、梶原直樹¹、野村奈美¹、遠藤典子¹、中野早知栄^{1,2}、
小林行治²、兎川忠靖³、月村考宏³、櫻庭 均⁴、小出 徹⁵

¹ (公財) 東京都医学総合研究所 分子医療プロジェクト、² シンセラ テクノロジーズ(株)、
³ 明治薬科大学 生体機能分析学、⁴ 明治薬科大学 臨床遺伝学、⁵ 東京バイオマーカー イノベ
ーション技術研究組合 (TOBIRA)

私達の回りでは、ここ数年で劇的な技術革新(innovation) の大波 (Big Wave) が押し寄せ
ているのを実感する今日この頃です。19 世紀半ば、蒸気機関の開発から始まった第一次産
業革命、それに引き続き電力の利用と大量生産の第 2 次産業革命、IT とコンピューターに
よる第 3 次産業革命がありました。現在起こっている人工知能、ロボット、IoT、ビッグ
データなどによる第 4 次産業革命が怒濤のように様々な分野に浸透しつつあります。サイ
エンス分野でも再生医療、ゲノム編集、AI による診断・創薬、プレシジョン・メディシン
に加え、抗がん剤オプジーボや抗肝炎薬ハーモニーなどの画期的な治療薬が話題を集めて
います。

現在注目されている次世代シーケンサーを用いた癌のゲノム医療 (プレシジョン・メデ
ィシン) は、遺伝子の網羅的解析により得られた個人別の遺伝子プロファイリングにより、
開発された (つつある) 画期的な抗がん剤の選別を行うことで、治療効果を飛躍的に向上さ
せており、「癌の根治」も一部の癌では早期ならば可能となりました。そのために早期発見
の重要性がますます増してきています。一方、多剤耐性菌や高病原性ウイルス感染症などで、
今後 2050 年までに 1,000 万人の犠牲者が、アジア・アフリカでであることを WHO が警鐘を
発しています。この感染症の犠牲者を一人でも少なくすること、あるいは撲滅するためには、
やはり迅速で、安価な早期診断が必須となります。

これらの背景の中で私達は、東京都の病院群 (7,800 床)、TOBIRA 関連企業との産官学医
連携にて次世代の診断法の開発を行ってきました。これまでに各種の癌、季節性や高病原性
インフルエンザ、加齢性筋萎縮症、尿路感染症、Fabry 病等に関して開発し、一部のキット
は研究試薬として、あるいは PMDA の認可を得て診断薬として販売されています。

Fabry 病に関しては、櫻庭先生、兎川先生との共同研究にて、(1) MUSTag 法による血中
の GLA 蛋白質の定量測定にて、各亜型を含む Fabry 病の高感度診断法を開発しました、ま
た、(2) ファブリー病の酵素補充療法の際に、血清中の抗 GLA 抗体(IgG)量を、簡便且つ迅
速に測定できる「GLA-IgG イムノクロマト」を開発してきました。

本発表では、これまでの技術を総括し、開発した診断法をさらに応用することで、各遺伝
病の初期診断や病態予測、治療への貢献に関する展望を議論できればと考えています。

GLA 遺伝子に起こりうる全てのミスセンス変異に関する酵素蛋白質モデル構造を作成しデータベース化しました

齋藤静司¹、大野一樹^{2,3}、櫻庭 均⁴

¹北海道情報大学 医療情報学部、²株式会社カタリスト、³東京工業大学、

⁴明治薬科大学 臨床遺伝学

Fabry 病では、責任遺伝子 GLA のどの部位がどのように変異するかによって臨床症状が様々に異なり、近い将来、変異に応じた有効な治療が可能になると期待されます。我々は、これまでに知られている GLA 遺伝子の多様な変異と疾患及び変異体構造モデルに関する情報を fabry-database.org というウェブサイトで公開しています。ここには現在のところ、延べ 1989 の変異情報が登録されています。

我々の研究グループでは、上記データベース作成及び更新と共に、主に GLA (遺伝子産物 α -ガラクトシダーゼ A) の変異体構造の観点から、変異と疾患の関係性について考察し、診断や病態解明への貢献を模索してきました。

Fabry 病に関わる新たな変異は多く見つかっており、更にこれからも見つかるのではと予想されます。新しく追加される変異の種類が多くなるにつれて、報告された変異の中で解析を行うよりも、コンピュータの中で、全ての変異が起こり得るとして「ありえる変異全体」について解析するほうが、変異と疾患についてのより一般的な知識や仮説を導き出すことができるのではないかと考えました。

このような考えのもと、「ありえる変異全体」の中で症状既知の変異がどういった位置にあるのかを知ること、変異全体のデータを用いて変異と疾患の新たな関係性について模索することを目標に解析を行っています。

構造の観点からはミスセンス変異が問題なので、今回は「ありえるミスセンス変異全体」の構造モデルについて考えることにしました。発表では、変異全体の統計解析結果、全変異データベースの利用等についてもお話できればと思います。

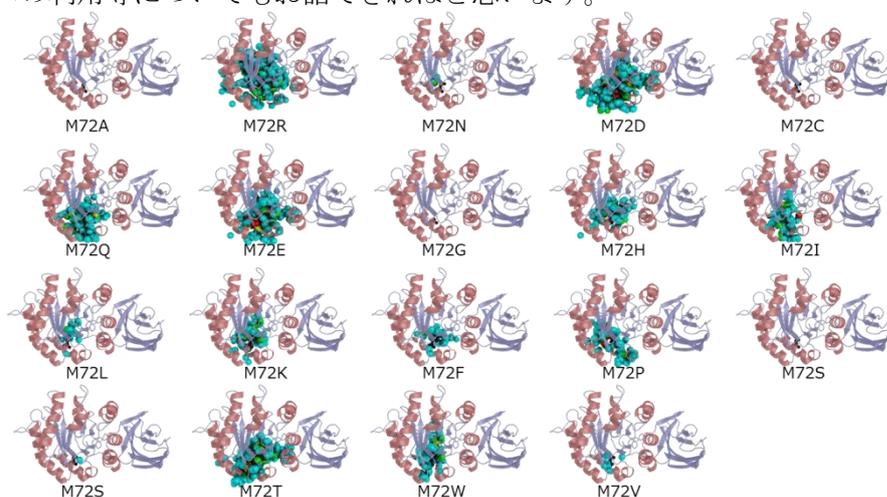


図. 全変異体構造モデル構造の例(M72). 構造変化が大きい部分を強調表示している。

ザンドホッフ病モデルマウスにおいて、活性化アストロサイトに A_{2A} 受容体が発現誘導し、A_{2A} 受容体を遮断すると活性化ミクログリアの数が減少することを発見しました

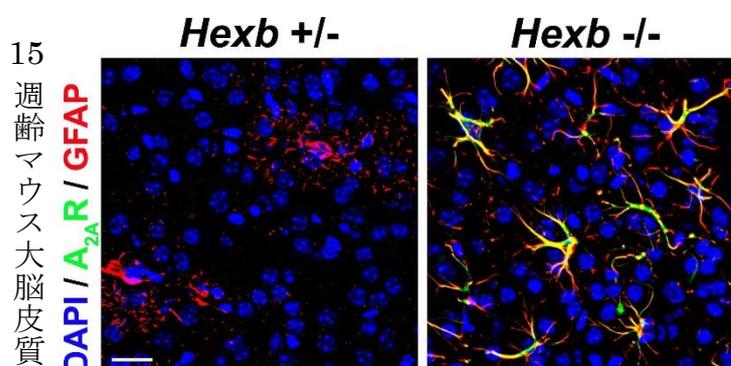
小川泰弘¹、古澤栄梨¹、齊藤貴洋¹、櫻庭 均²、大石一彦¹

¹ 明治薬科大学 薬理学、² 明治薬科大学 臨床遺伝学

ザンドホッフ病 (SD) は、*Hexb* 遺伝子の変異により GM2 ガングリオシドなどが主としてニューロンに蓄積し、進行性の神経障害を起こす遺伝病です。その症状は、精神運動発達の遅延や退行、運動障害などの神経系の症状を示しますが、そのメカニズムは不明な点が多く残っています。そのため、私たちは、SD モデルマウスである *Hexb* 遺伝子欠損 (*Hexb*^{-/-}) マウスを用いて発症期前からの解析を行ってきました。その結果、私たちは SD モデルマウスの早期異常として、発症に先駆けてアストロサイト及びミクログリアの活性化が観察されること、さらに免疫抑制剤である FTY720 を用いて免疫系の活性化を抑制することで運動機能障害を改善することを報告してきました。

今回、私たちは、発症期での活性化したアストロサイトにおいて A_{2A} 受容体が発現してくることを発見しました。A_{2A} 受容体は、アデノシン受容体ファミリー (A₁、A_{2A}、A_{2B}、A₃) に属しており、薬の標的分子として重要な G タンパク質共役型受容体の 1 つです。そこで A_{2A} 受容体遮断薬である Istradefylline を投与し解析した結果、Istradefylline は GFAP 強陽性のアストロサイトの数に影響を及ぼすことなく、活性化ミクログリアの数を減少させることを明らかにしました。

FTY720 や Istradefylline は、既に臨床で用いられている薬物です。今回の結果は、酵素補充療法や基質抑制療法、遺伝子治療などを補助する新規治療薬として有用であると考えられます。



中枢神経症状を伴うリソソーム病の治療法開発を進めています

伊藤孝司¹、辻 大輔¹、西岡宗一郎¹、田中優希²、日高 朋²、月本 準²、渡邊綾佑²、
田中裕大¹、堀井雄登¹、宇野マイケル新太郎¹、大西恭哉²、五百磐俊樹²、真板宣夫³、
広川貴次⁴、小川泰弘⁵、大石一彦⁵、兎川忠靖⁶、櫻庭 均⁷

¹徳島大学 大学院医歯薬学研究部、²薬学部 創薬生命工学、³徳島大学 先端酵素学研究所、
⁴産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター、⁵明治薬科大学 薬理学、
⁶明治薬科大学 生体機能分析学、⁷明治薬科大学 臨床遺伝学

40 種ほど知られているリソソーム病は、リソソーム内への糖質や脂質などの過剰蓄積を伴います。また半数以上の疾患や症例では、脳内の基質蓄積により中枢神経症状が発症します。近年、主に末梢症状を示すリソソーム病に対する根本治療法として、正常ヒト酵素遺伝子を恒常発現する哺乳類細胞株で製造する組換え酵素製剤を、患者静脈内に定期・継続的に投与する「酵素補充療法」が、国内外で 10 種の疾患に対して臨床応用されています。しかし静脈内投与された組換え酵素は、血液脳関門 (Blood-Brain Barrier, BBB) を透過できないため、中枢神経症状に対してはほとんど有効性を示しません。

一方、組換え酵素製剤を患者の髄腔内または脳室内投与する治験が、ムコ多糖症 (MPS) I、II、IIIa 等の中枢神経症状を示すリソソーム病に対して実施され、2017 年 4 月に米国 FDA により、神経セロイドリポフスチノーシス 2 型に対する治療薬 Brineura(セルリポナーゼアルファ)が承認されました。また最近、J-Brain Cargo (JCR ファーマ社) を利用し、脳血管内皮細胞表面のトランスフェリンレセプター (TfR) をデリバリー標的とする抗 TfR 抗体とイズロン酸 2-スルファターゼとの融合酵素を静脈内投与することにより、BBB を透過させる技術が開発され、治験 (Phase I/II) が進行中です。

私達は、これまで治療法がない、リソソーム性 β -ヘキソサミニダーゼ (Hex) A ($\alpha\beta$ 二量体) 欠損症、テイ-サックス病 (TSD) 及びザンドホッフ病 (SD) に対する新規治療法を開発する目的で、GM2 ガングリオシド (GM2) 分解能をもつ改変型 HexB ($\beta\beta$ 二量体) を発現する改変型 Hex β 鎖遺伝子を創製してきました。また改変型 HexB を高発現する CHO 細胞株の樹立と組換え酵素の精製、SD モデルマウス脳室内投与による有効性を明らかにしてきました 1)。本講演ではこれまでの取り組みと今後の展開について紹介させていただきます。

1) Kitakaze, K., et al. *J. Clin. Invest.*, 126, 1691-1703 (2016).

リソソーム酵素を生産するための細胞を作っています

藤田盛久¹、喜多島敏彦^{1,2}、高暁 冬¹、○千葉靖典^{2,3}

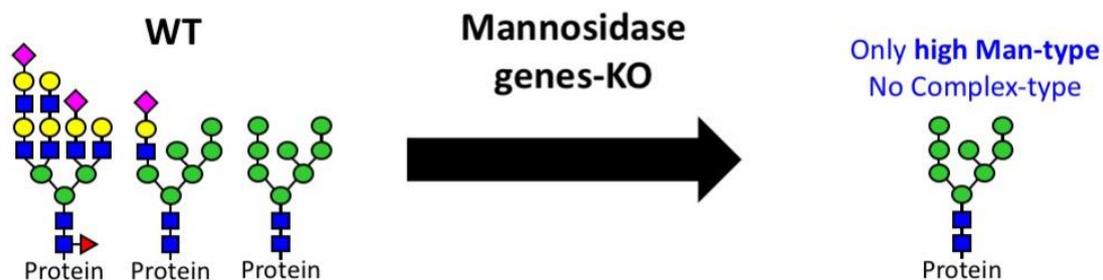
¹江南大学 生物工程学院、²産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門、

³明治薬科大学 臨床遺伝学

酵素補充療法に用いるリソソーム酵素の多くは、タンパク質部分に付加する糖鎖によって細胞に結合し、細胞内へ取り込まれます。このため、酵素を生産する細胞の糖鎖生成機構を改良し、より取り込みやすい糖鎖構造にすることが重要です。私たちはこれまでに酵母を用いて酵素補充療法に適したリソソーム酵素の生産を検討してきました。そしてマンノース 6-リン酸の含量を増やした α -ガラクトシダーゼや β -ヘキササミニダーゼの生産に成功してきました。また酵素法を用いて糖鎖を付け替える検討も行ないました。

酵母による生産は低コストであり、ウイルス感染の心配もない優良な生産宿主ですが、現在、酵素補充療法用酵素の多くが動物細胞で生産されています。そこで動物細胞での糖鎖構造の制御を目指し、糖鎖関連遺伝子の破壊により糖鎖構造を均一化することを検討しています。

動物細胞の Asn 結合型糖鎖は主に高マンノース型、混成型、複合型からなり、多種多様な糖鎖構造を有しています。私たちは糖鎖合成の初期に作用する α 1,2-マンノシダーゼ遺伝子を破壊することで高マンノース型糖鎖のみを有する細胞の作出を試みました。CRISPR/Cas9法によるゲノム編集を行ない、7つある α 1,2-マンノシダーゼ遺伝子について破壊を行ないました。細胞とレクチンとの結合を指標に評価を行い、最終的に高マンノース型糖鎖のみをもつ細胞株を得ることが出来ました。得られた細胞を用いて α -ガラクトシダーゼや酸性リパーゼを発現し、酵素を用いて糖鎖切断を行ないました。その結果、高マンノース型糖鎖に特異的に作用する酵素で切断できることがわかりました。現在、詳細な糖鎖構造解析を進めているところですが、高マンノース型糖鎖が増えることにより、マンノース 6-リン酸の含量も増加することが期待されます。



mRNA を体内に直接投与する遺伝子治療を研究しています

位高啓史^{1,3}、松井秋倫²、柳原歌代子²、Sam Crowley^{1,3}、内田智士^{2,3}、片岡一則³

¹東京医科歯科大学 生体材料工学研究所、²東京大学大学院 医学系研究科、

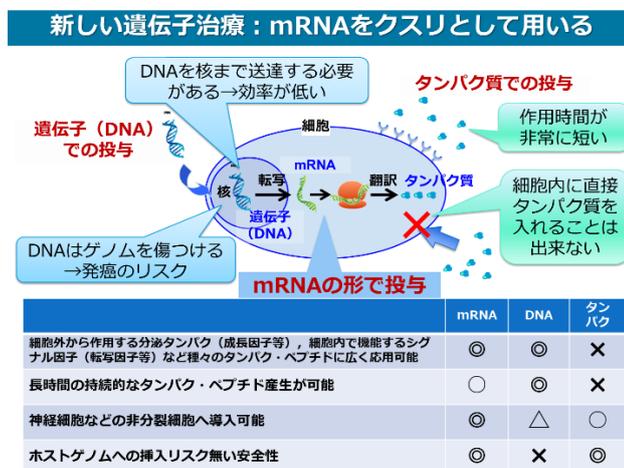
³川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター

メッセンジャーRNA (mRNA) を治療用タンパク質を発現させるための医薬品として用いるという発想は、古くは 1980 年代から論文があり、当時既に *in vivo* 投与も行われています。一方、DNA と異なり、mRNA 医薬は現在のところ臨床応用されたものはありません。何故これまで用いられなかったかということ、一言で言えば発現が非常に低かったからです。mRNA は非常に不安定で、細胞外では自然免疫機序を介した強い免疫原性もあります。

一方、本来 mRNA は細胞内に普遍的・恒常的に存在する物質です。生体はどのように自己 mRNA と外来 mRNA を区別しているのでしょうか？まだはっきりした答えは分かっていませんが、むしろ明確な仕組みは無いとも考えられています。物質として外来 mRNA を認識するわけではなく、mRNA の細胞内局在がポイントである可能性が高い、すなわち、あらゆるところに mRNA が存在すると、それが集中的に攻撃されるという仕組みと考えられています。

従って、mRNA を医薬品として用いるためには、細胞内の「然るべきところ」に mRNA を送り届けばよいということになり、まさにドラッグデリバリーシステム (DDS) の出番となります。実用的な DDS を確立すれば、mRNA を用いた遺伝子治療はすぐにも現実のものとなるかもしれません。

mRNA を用いる利点などは下の図にまとめました。講演では、この mRNA 生体内送達する DDS の概略、および mRNA を用いてこれまで行った動物での治療実験などをご紹介します、将来の適応や問題点などを議論したいと思います。



ヒト iPS 細胞のゲノム DNA 配列を自在に編集し新しい疾患の治療法の開発を目指しています

加藤朋子、高橋剛、許絲茵、宮岡佑一郎

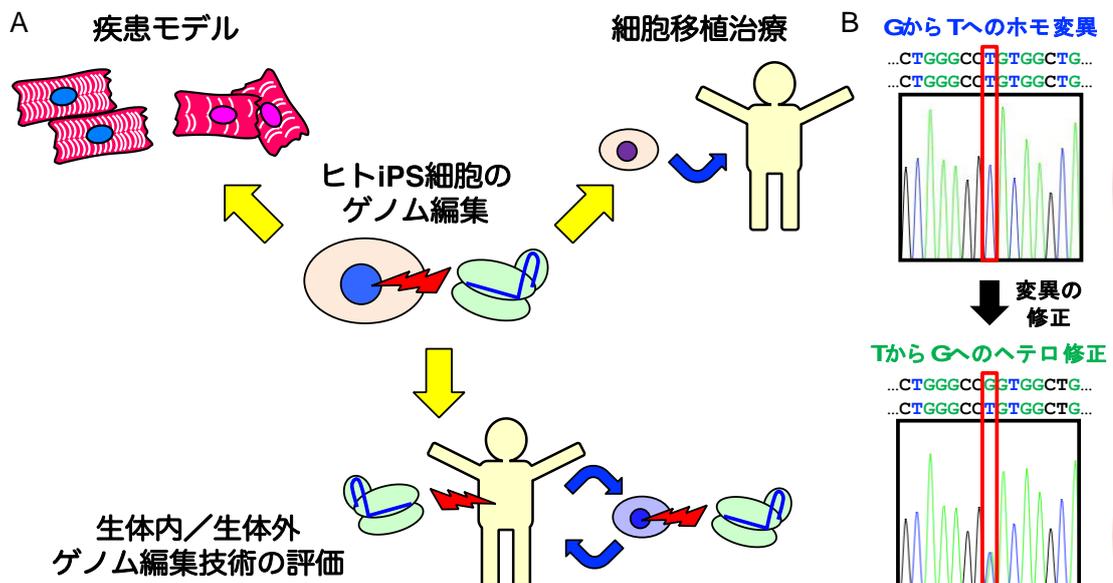
(公財) 東京都医学総合研究所 再生医療

いかなる細胞種にも分化する能力を持つヒト iPS 細胞は、患者自身の細胞を使う自家移植や、免疫拒絶反応を起こしにくい遺伝的背景を持つ細胞を使う移植など、新たな細胞移植治療への道を切り拓きつつあります。さらに、近年発展しているゲノム編集技術によって、自在に iPS 細胞のゲノム DNA 配列を改変することで、より多様な形での iPS 細胞移植治療が可能になると考えられます。また、iPS 細胞への変異の導入による疾患モデルの作製や、生体内あるいは生体外ゲノム編集技術の iPS 細胞での評価など、iPS 細胞のゲノム編集は疾患の治療法開発に非常に有効なアプローチです (図 A)。

私達は、特に一塩基置換に着目して研究を進めています。ヒトゲノムは 30 億塩基対の DNA からなりますが、高感度なデジタル PCR をゲノム編集結果の検出に用いることにより、30 億塩基中の一塩基だけを置換した iPS 細胞を単離する技術を開発しました。この技術を使い、患者由来 iPS 細胞の点変異を修正することにも成功しています (図 B)。

さらに私達は、このデジタル PCR 技術を応用して、様々なゲノム編集条件がもたらす編集結果を検出し、細胞移植に利用できるような効率と正確性を持つ最適なゲノム編集条件の確立を目指しています。こうしたゲノム編集技術を確立することができれば、変異を修正した iPS 細胞や、欠損した酵素などを発現する iPS 細胞などを用いた移植治療に大きく貢献できると期待されます。

図. 治療法開発のための私達のアプローチと患者由来 iPS 細胞の変異を修正した例



希少疾患治療薬開発のモデルとしてのライソゾーム病

—現状と将来展望—

衛藤 義勝

一般財団法人 脳神経疾患研究所 先端医療研究センター&遺伝病治療研究所

ライソゾーム病は約2万近くの遺伝性希少疾患の内、最も治療の開発が進んでいる遺伝病であります。ご承知のようにライソゾームの酸性水解酵素は60種以上知られており、遺伝的な酵素欠損により、脂質、ムコ多糖やたんぱく質等の物質がライソゾーム—オートファジー系に蓄積します。臨床症状としては、肝脾腫、心肥大、骨症状、中枢神経障害等多彩な症状が見られます。病因、病態に関しては、酵素欠損に基づく基質の細胞内蓄積、細胞膜異常、細胞内シグナル伝達障害、オートファジー系の異常やこれらに伴うプロテアーゼ活性化およびミトコンドリア系の異常等、連鎖的な細胞内代謝障害を来します。また、マクロファージの活性化に伴う種々のサイトカインの放出から組織の炎症反応を起こします。このようにライソゾーム病の病態は複合的であり、治療法も単に酵素欠損を補うだけでは十分な治療効果を挙げられません。

本講演では、ライソゾーム病の治療法として現在実用化している1) 酵素補充療法並びに治療効果と問題点、2) 細胞治療として造血幹細胞治療の効果と限界、3) 低分子治療薬として基質合成抑制治療薬の適応と効果、4) 化学シャペロン治療薬の適応症、5) 遺伝子治療薬の最近の進歩等についてお話し致します。また、酵素治療薬に対する抗体産生並びに抗体に対する治療、サイトカイン血症に対する治療の試み、更にライソゾーム病の多くは中枢神経障害を合併することから、ライソゾーム病の中枢神経系に対する治療法の開発、特に髄腔内酵素補充療法、脳血液関門を通過するキメラ酵素治療薬、低分子治療薬、*ex vivo* 並びに *in vivo* 遺伝子治療薬の開発、核酸治療薬など今後のライソゾーム病に対する新しい治療展開を含めお話し致します。

協力企業



交通・アクセス



徒歩の場合

- ・西武池袋線「秋津」駅下車 …… 約12分
- ・JR武蔵野線「新秋津」駅下車 …… 約17分

タクシー利用の場合

- ・西武池袋線「清瀬」駅から …… 約10分
- ・JR武蔵野線「新秋津」駅から …… 約10分

(注)西武池袋線秋津駅には、タクシー乗り場はありません。

明治薬科大学 臨床遺伝学講座

発行日 平成 29 年 12 月 14 日

発行元 明治薬科大学

〒204-8588

東京都清瀬市野塩 2-522-1

TEL: 042-495-8923 (ダイヤルイン)

TEL: 042-495-8611 (代表)