

04. 成育遺伝研究部

部長：小野寺 雅史

【ミッション・目標】

成育遺伝研究部の最大のミッションは、小児の難治性遺伝性疾患に対する「遺伝子医療」の確立である。次世代シーケンサーを始めとする遺伝学的解析の急速な進歩は、小児の遺伝子疾患の病態の解明に大きな進歩をもたらし、さらに近年の遺伝子治療技術の発展は、従来の治療法では根治が困難であった疾患に対して新たな治療法の開発につながった。

一方で、これらの疾患の多くは、進行性かつ不可逆的な経過をとることが多く、より高い治療効果を得るためには、発症前または発症早期の治療の開始が極めて重要である。このような背景から、当研究部では、小児遺伝性疾患患者の予後の向上を最大の目的として、未知の病態の解明、新生児スクリーニング法による早期発見・診断、遺伝子細胞治療などの最先端医療の開発を目指して活動を行なっている。

新生児スクリーニングにおいては、先天性免疫異常症の中でも最も緊急性の高い重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency: SCID）に対するスクリーニングが2024年度より公費負担となったが、我々はこれらに先駆けて2019年より全国の提携医療機関におけるオプショナルスクリーニングとしてSCIDスクリーニングを実施している。また、企業との共同開発であるSCIDスクリーニング試薬の開発・販売を通して、引き続きSCIDスクリーニングの普及を行っていく。

遺伝子・細胞治療に関しては、基礎研究から臨床応用まで、研究所・病院・臨床研究センターが一体となり実施している。これまでに先天性免疫異常症（アデノシン・デアミナーゼ欠損症、慢性肉芽腫症、Wiskott-Aldrich 症候群）に対する造血幹細胞遺伝子治療の臨床試験を実施しており、これらの経験・知識を基にゲノム編集などの新規のモダリティによる遺伝子治療法の開発も行っている。さらに、近年臨床応用が進むアデノ随伴ウイルスベクターに関しても、ニーマンピック病C型、遺伝性網膜ジストロフィに対する遺伝子治療法の開発を企業との連携の下行っている。また、遺伝子細胞治療の急速な発展を背景として、2019年に当研究部の経験を基に国立成育医療研究センター内に遺伝子細胞治療推進センター

（Gene and Cell Therapy Promotion Center: GCP センター）が設立された。国立成育医療研究センターにおける遺伝子治療実施のための体制整備のほか、遺伝子治療関連企業の支援業務などを通じて、国内の遺伝子細胞治療の推進を目指している。

このように当研究部は日本における「遺伝子医療」の発展を見据えた様々な研究活動を行なっているほか、小児内科系専門診療部免疫科および小児がんセンターにおける併任業務として原発性免疫不全症の診断・治療にも積極的にあたっている。各研究内容に関しては下記の研究概要を参照されたい。

【研究プロジェクト】

1. 小児の難治性遺伝病に対する ex vivo 遺伝子・細胞治療法の確立
 - 1) 慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床試験
 - 2) Wiskott-Aldrich 症候群に対する遺伝子治療臨床試験
 - 3) 造血幹細胞遺伝子治療のための新規レンチウイルスベクターの開発
2. 小児の難治性遺伝病に対する in vivo 遺伝子治療法の確立
 - 1) 遺伝子治療ベクタープラットフォームパイロットプロジェクト（PaVe-GT）
 - 2) 神経疾患に対する新規 in vivo 遺伝子治療の開発
3. ゲノム編集による先天性免疫異常症への遺伝子治療法の開発
 - 1) 新規スクレアーゼによるゲノム編集遺伝子治療の開発
 - 2) DNA 切断によらないゲノム編集法による遺伝子治療の開発
4. 遺伝子治療への応用を目指した新規デリバリー技術の開発
5. 重症複合免疫不全症（SCID）の新生児スクリーニングの普及
 - 1) SCID スクリーニングの普及に向けた活動
 - 2) スクリーニングキットの開発

6. 遺伝子細胞治療推進センターにおける活動
 - 1) 小児に対する細胞治療の実施
 - 2) 遺伝子治療の安全性や有効性の評価（市販後の安全性や有効性の評価）
 - 3) 遺伝子治療のレギュレーション（カルタヘナ法）に関する研究
7. 原発性免疫不全症の病態解析や新規治療法の有効性評価
 - 1) 原発性免疫不全症の病態解析
 - 2) ADA 欠損症に対する PEG-ADA 製剤の治験の実施と有効性の評価
8. 先天性血小板減少症の中央診断システムの構築など

【研究体制】

構 成 員

部 長：小野寺雅史

室 長：内山徹

流動研究員：安田徹

非常勤職員：三浦茜(～R6 年 3 月)、森下真由(R6 年 4 月～)、石川百合子(R6 年 12 月～)、安藤由希子、枝澤佳織(～R6 年 3 月)、志村真里香(～R5 年 3 月)、秋葉由美、峰岸知子、菊池亜美花(～R6 年 3 月)、國里ゆき子(R5 年 7 月～)、渡邊永子(R6 年 5 月～)、佐井田友紀(R6 年 6 月～)

共同研究員：中國正祥、岡田真由美(～R6 年 3 月)、河合利尚、城下友義、大山直子、國島信二、開山麻美、五十嵐勉、小林舞香、池田康博、中島英規(R5 年 4 月～)、矢吹真菜(R5 年 4 月～)、森谷邦彦(R5 年 4 月～)、立石昇一朗(R5 年 7 月～)、金子結(R6 年 2 月～)、佐藤智典(R6 年 2 月～)

病院医師：石川尊士、岡井真史(～R6 年 3 月)、藤森健太郎(R5 年 4 月～)

事 務：橋井晶子、近藤直子、桜山ちづる、松本佳代(R5 年 1 月～)、竹田絢(R6 年 8 月～)

【国際共同研究】

1. National Institutes of Health (米国) Harry Malech 博士：先天性免疫異常症に対する遺伝子治療
2. National Institutes of Health (米国) John Tisdale 博士：新規ウイルスベクターの開発
3. San Raffaele Telethon Institutes for Gene Therapy (イタリア) Alessandro Aiuti 博士：先天性免疫異常症に対する遺伝子治療

【国内共同研究】

1. 研究所

梅澤明弘再生医療センター・センター長、阿久津英憲部長（生殖医療）、清河信敬部長、大木健太郎室長（小児血液・腫瘍）、深見真紀部長（分子内分泌）、要匡部長（ゲノム医療）、高田修治部長（システム発生・再生医療）、中村和昭室長（薬剤治療）、秦健一郎部長、中林一彦室長（周産期病態）、今留謙一室長（高度先進医療研究室）
2. 病院

松本公一小児がんセンター・センター長、石黒精教育研修センター・センター長、窪田満統括部長、新井勝大診療部長（小児内科系専門診療部消化器科）
3. 臨床研究センター

斉藤和幸センター長、中村秀文主幹（企画運営部）、栗山猛室長、佐古まゆみ室長（開発推進部）、瀧本哲也室長、小林徹室長（データ管理部）
4. センター外（国内）

東京大学大学院理工系研究科	濡木理教授
慶應義塾大学理工学部	佐藤智典教授
東京医科歯科大学小児科	森尾友宏教授
筑波大学医学医療系小児科	高田英俊教授
東京大学小児科	加藤元博教授
大阪大学高等共創研究院	中田慎一郎教授

【企業との共同研究】

1. Emendo Biotherapeutics 社（米国）：新規ゲノム編集法の開発
2. 積水メディカル株式会社（国内）：新生児スクリーニングの開発
3. タカラバイオ 株式会社（国内）：神経疾患に対する遺伝子治療法の開発
4. Eurus Therapeutics 社（国内）：新規ゲノム編集法の開発

【研究の概要】

1. 小児の難治性遺伝性疾患に対する ex vivo 遺伝子・細胞治療法の確立

1) X 連鎖慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療臨床研究

これまでの研究成果

慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease: CGD）は、NADPH オキシダーゼの異常によって活性酸素が産生されず、細菌や真菌（カビ）の殺菌が障害される疾患である。NADPH オキシダーゼを構成する gp91^{phox} の変異による X 連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）が最も多く、約 80% を占める。根治的治療は造血細胞移植であるが、HLA 一致ドナーが不在の患者に対して、造血幹細胞遺伝子治療の開発が進められてきた。我々は米国国立衛生研究所（NIH）の Harry Malech 博士との共同研究の下、レトロウイルスベクターによる遺伝子治療臨床研究の準備を進め、2012 年 6 月に厚生労働大臣の承認ののち、2014 年 7 月に 20 代の X-CGD 患者に対して造血幹細胞遺伝子治療を実施した。投与後 2 週間より末梢血に遺伝子導入細胞の出現が認められ、治療抵抗性であった感染病巣の消失など高い治療効果が認められた。しかし、治療後 32 ヶ月に骨髄異形成症候群（MDS）を発症したことから、父親をドナーとする造血細胞移植を速やかに実施し、7 年を経過して再発なく経過している。

令和 5 年・令和 6 年の研究成果

発がんに至った原因として、ベクター挿入部位解析を実施し、がん原遺伝子である *MECOM* へのレトロウイルスベクターの挿入を同定した。また、12 ヶ月の時点ですでに単一クローン（*MECOM* への挿入クローン）による造血となっていたことから、発がんにおける付加変異の存在が考えられ、全ゲノムシーケンス解析によって *WT1* 遺伝子の両アレルの欠損を同定した。また、発がんには *APOBEC3* によるレトロウイルスベクターの不活化なども関与しており、遺伝子治療における発がんの複雑な発症メカニズムが明らかとなった（論文掲載）。

2) Wiskott-Aldrich 症候群に対する遺伝子治療医師主導治験

これまでの研究成果

Wiskott-Aldrich 症候群（WAS）は、X 染色体に存在する *WAS* 遺伝子の変異によって発症し、易感染性、血小板減少、湿疹の 3 主徴の他に、自己免疫疾患や悪性疾患も合併する。感染症や出血による死亡と、悪性疾患の発症から根治的治療には造血細胞移植が必要であるが、HLA 一致ドナーが不在の場合や年長児（5 歳以降）ではその成績が低下する。2010 年よりレンチウイルスベクターによる遺伝子治療（第 I/II 相試験）が 2010 年にイタリアの Aiuti 博士（TIGET: The San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy）によって開始された。2022 年に 23 例の結果が報告され、ほぼ全ての症例で症状の改善を認め、また 5 年以上の経過を経て白血病の発症は認められず、高い有効性と安全性が示されている。当研究部では Aiuti 博士らの協力のもと、日本における遺伝子治療医師主導治験の計画を立て、PMDA との対面助言を経て、2017 年 10 月に当センター IRB にて臨床プロトコルの承認、同年 11 月に治験計画届の提出を行った。その後、協力企業の事情から、患者は 2019 年 10 月に TIGET において遺伝子導入を実施し、現在当研究部にてフォローを行っている。

令和 5 年・令和 6 年の研究成果

患者は、遺伝子治療前は高用量の TPO 受容体作動薬によって血小板数が 2 万/mm³ 程度を推移していたが、治療後 5 年を経過し、TPO 受容体作動薬を使用せずに 6-7 万/mm³ 程度を維持している。またベクター挿入部位解析でも、特定のクローンのみの増殖を認めず、有効性と安全性の両方において高い効果が確認されている。

3) 造血幹細胞遺伝子治療のための新規レンチウイルスベクターの開発

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターによる *in vivo* 遺伝子治療の急速な拡大に対して、レンチウイルス (LV) ベクターによる遺伝子治療は臨床試験において高い治療効果を示したものの、対象疾患の頻度などから世界的に承認申請・販売の段階で停滞している。一方で、遺伝子治療を必要とする患者が存在すること、またその有効性は確かなものであることから、国内における LV ベクターによる造血幹細胞遺伝子治療の再開を目指して開発を開始した。

令和5年・令和6年の研究成果

米国 NIH (John Tisdale 博士) との共同開発として、先天性免疫異常症であるアデノシン・デアミナーゼ (ADA) 欠損症に対するレンチウイルスベクターの開発を開始した。新規のプロモーターによる ADA 発現ベクターを構築し、ADA 欠損症患者細胞を用いた評価では、海外の臨床試験に用いられたベクターに比べて高い遺伝子発現が認められた。また、ADA 欠損症患者細胞を用いた解析でも、ベクターの導入によって細胞内の核酸代謝異常の正常化が確認された。臨床応用を目指して、今後、疾患マウスモデルを用いた POC の取得を行う予定である。

2. 小児の難治性遺伝病に対する *in vivo* 遺伝子治療法の確立

1) 遺伝子治療ベクタープラットフォームパイロットプロジェクト (PaVe-GT)

これまでの研究成果

遺伝子治療の開発においては、ベクター製造施設の整備や一部大型動物による非臨床試験の必要性などもあって従来の医薬品開発に比べてコスト面での負担が大きい。一方で、疾患ごとに搭載する (治療用) 遺伝子は異なるもののベクター自体は構造が共通であることから、米国 NIH では複数の疾患に対して共通のウイルスベクターを用いることで開発の加速化を図る「遺伝子治療ベクタープラットフォームパイロットプロジェクト: Platform vector gene therapy (PaVe-GT)」が立ち上げられた。我々も、2021 年より国内における遺伝子治療のプラットフォーム開発研究として日本版 PaVe-GT を立ち上げ、レーバー先天盲を標的疾患として、5 年の計画としてベクター開発から非臨床試験、医師主導治験までを行う予定である。

令和5年・令和6年の研究成果

臨床試験で用いるアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの構築を完了し、現在動物モデルを用いた非臨床 POC の取得を行っている。また同時に関連企業 (CDMO) での GMP 製造への移行も実施中であり、今後は CRO における非臨床安全性試験を予定している。

2) 神経疾患に対する新規 *in vivo* 遺伝子治療の開発

令和5年・令和6年の研究成果

近年、ヒトにおいて抗体価が低く、組織指向性が高い AAV カプシドが複数開発され、静脈内投与による *in vivo* 遺伝子治療の開発が進んでいる。しかし、その指向性は絶対ではなく、神経・筋組織において高い導入効率を得るには高用量のベクター投与が必要であることから、結果として肝臓への集積による重度の肝障害を引き起こすことがわかっている。

これらの問題を克服するため、タカラバイオ社が開発した神経への高い指向性を示す新規カプシド (Cere AAV) を用いた新規の遺伝子治療法の開発を行っている。小脳プルキンエ細胞をはじめとする神経細胞の脱落を特徴とするニーマンピック病 C 型 (NPC) を標的疾患とし、マウスモデルを用いた評価では、新規カプシドによる AAV ベクターは、従来の報告に比べて 1/10 程度のベクターにより神経細胞への高い導入効率を示した。また CereAAV 投与後のマウスでは極めて優れた治療有効性 (運動機能、寿命の正常化) を認め、現在、臨床応用に向け開発を進めている。

3. ゲノム編集による原発性免疫不全症への遺伝子治療法の開発

1) 新規 CRISPR スクレアーゼによるゲノム編集法の確立

これまでの研究成果

先天性免疫異常症の中でもウイルスベクターによる付加型遺伝子治療では治療が困難な X 連鎖高 IgM 症候群 (XHIM) に対してゲノム編集による遺伝子治療法の開発を行っている。

XHIM は T 細胞上の CD40L の欠損により、B 細胞における免疫グロブリンのクラススイッチが阻害される疾患である。CD40L は活性化 T 細胞上にのみ発現し、従来のウイルスベクターによる恒常的 (強) 発現は、遺伝子導入細胞のがん化を引き起こすことから、ゲノム編集技術による生理的発現の回復が有効と考えられる。末梢の T 細胞の機能不全であることから、Cas9 スクレアーゼを用いたゲノム編集技術による T 細胞遺伝子治療の開発を行い、XHIM 患者 T 細胞と CD40L ノックアウトマウスを用いた解析では、ゲノム編集後の T 細胞における CD40L の生理的発現制御とそれに伴う機能の回復を確認している (論文投稿中)。

令和 5 年・令和 6 年の研究成果

Cas9 スクレアーゼによる結果を基に、アンジェス社より提供を受ける新規の CRISPR スクレアーゼ (OMNI スクレアーゼ) によるゲノム編集を実施中である。OMNI スクレアーゼは従来の Cas9 に比較して極めて低いオフターゲット特性を持ち、安全面において高い優位性を示す。XHIM 患者の T 細胞に対する OMNI スクレアーゼによるゲノム編集では、Cas9 と同等の高い編集効率と CD40L の発現を認め、また発現する CD40L の機能 (CD40 へのシグナルの伝達) も確認できた。有効性と安全性の両立が可能であることから、現在、製造を含めた非臨床関連の開発を実施している。

2) DNA 切断によらない新規のゲノム編集法による遺伝子治療の開発

令和 5 年・令和 6 年の研究成果

① NICER 法 (a method for correcting heterozygous mutations that employs multiple nicks (MNs) induced by Cas9 nickase and a homologous chromosome as an endogenous repair template)。

Cas9 などのスクレアーゼによるゲノム編集では、DNA の二本鎖切断 (double strand break : DSB) に起因する染色体異常が報告されている。これらの課題を克服するため、2023 年度より、大阪大学 (中田慎一郎教授) との共同開発として、Cas9 ニッカーゼによるゲノム編集法 (NICER 法) を用いた遺伝子治療の開発を開始した。NICER 法では、ヘテロ変異を標的として、変異アレルに特異的なニッカーゼと、正常・変異アレル共通のニッカーゼを同時に投与することで、正常アレルを鋳型とした変異アレルの修復が可能である。先天性免疫異常症の中でも、常染色体顕性遺伝である STAT3 遺伝子変異による高 IgE 症候群 (HIES) や複合ヘテロ接合性変異によるアデノシン・デアミナーゼ欠損症 (ADA 欠損症) を標的として、患者細胞を用いた開発では 5-10% の効率で変異の修復が可能であった。現在、疾患マウスを用いてその有効性を評価中である。

② Base editing (塩基編集) による方法

DSB を用いないゲノム編集として Base editing を用いた HIES に対する遺伝子治療法の開発も進めている。ヒトと同様の症状 (IgE レベルの上昇、皮膚の異常、T 細胞機能の低下) を示す STAT3 変異マウスを作製し、adenine base editor (ABE) を用いた T 細胞の変異修復を試みたところ、80% 以上の効率で変異の修復が達成された。造血幹細胞遺伝子治療の開発を目標として、現在、造血幹細胞に対する変異の修復を進めている。

4. 遺伝子治療への応用を目指した新規デリバリー技術の開発

令和 5 年・令和 6 年の研究成果

ゲノム編集による遺伝子治療の発展から、現在、ウイルスベクターを用いないデリバリー技術の開発が高く求められている。慶應大学 (佐藤智典教授) との共同開発として、脂質ナノ粒子、多糖ナノ粒子による遺伝子治療用核酸のデリバリー技術の開発を開始した。肝臓の細胞株 (HepG2 や HuH7) への高い核酸 (DNA、RNA) 導入が認められており、現在、実験動物を用いて静脈投与による生体内分布を評価中である。また、多糖ナノ粒子に関しては、その組成など含めて共同特許の出願を進めている。

5. 重症複合免疫不全症 (SCID) の新生児スクリーニング法の開発

1) SCID スクリーニングの普及に向けた活動

これまでの研究成果

重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency: SCID）は、T細胞の欠損を中心としてB細胞やNK細胞の異常を伴い、出生後早期からウイルス、細菌、真菌に対して易感染性を示す疾患群である。救命には造血細胞移植が必須であるが、重度感染症の発症後は成績が大きく低下する。胸腺でのT細胞の分化過程において環状DNAであるTREC（T cell receptor excision circles）が産生され、このTRECを測定することでT細胞の新生を評価できることから、欧米では多くの国でSCIDスクリーニングが行われている。日本では導入が遅れ2024年度より全国で公費負担が開始されたが、我々はそれに先駆けて2015-2018年に当センターにて出生し、同意を得られた約1千人の新生児に対して、SCIDスクリーニングを行っている。また、これらの経験を基に2019年4月よりオプショナルスクリーニングとして、全国の提携医療機関においてSCIDスクリーニングを開始しており、当研究部は開始時よりスクリーニング陽性者に対する精査を担当している。

令和5年・令和6年の研究成果

オプショナルスクリーニングとして、開始から2024年までに約11万件のスクリーニングを実施している。また53件がスクリーニング陽性（TRECの低値）であったため、これらの症例に対してフローサイトメトリー（FCM）などによる免疫能の精査を実施している。

2) スクリーニングキットの開発

これまでの研究成果

SCIDスクリーニングの普及には検査方法や精度の管理が大きな壁となることから、関連企業とともにリアルタイムPCR法によるスクリーニングキットの開発を行なった。従来の方法における紙血からのDNA抽出工程を省略し、反応液に紙血のパンチ片を直接添加することで測定が可能である。大規模検体を用いた複数回の精度検定を行い、2020年12月より販売している。

令和5年・令和6年の研究成果

2024年度よりSCIDスクリーニングの公費負担が開始され、東京都をはじめとする複数都県において我々が開発した測定キットが使用されている。今後も様々な形で国内のスクリーニングの普及に貢献を行なっていく。

6. 遺伝子細胞治療推進センターにおける活動

成育遺伝研究部における遺伝子細胞治療の経験を基に、2019年に遺伝子細胞治療推進センターが設立された。国内の遺伝子細胞治療の推進を目的とし以下の活動を行なっている。

1) 小児に対する細胞療法の実施

① キメラ抗原受容体（Chimeric antigen receptor: CAR）T細胞（CAR-T細胞）

令和5年・令和6年の研究成果

現在、当センターでは難治性白血病に対する遺伝子細胞治療としてCAR-T細胞療法を実施している。CAR-T細胞は、患者より採取したT細胞にCARを導入することで製造されるが、当研究部は細胞調製室において末梢血単核球の調製業務を担当している。2024年度までに15例の難治性白血病患者（保険診療）と1例のリンパ腫患者（治験）の細胞調整を行なっている。また患者自身のT細胞が原材料となることから、アフエレーシス時の細胞の状態（疲弊や老化）と治療有効性の関連に関する臨床研究による解析を実施中である。

② HLA 半合致ドナーからの TCRab/CD19 除去造血幹細胞移植法の確立

これまでの研究成果

造血細胞移植を必要とする造血不全または先天性免疫異常症患者において、血縁や骨髄、臍帯血バンクドナーとHLAが適合しない場合は少なくない。その一方で両親をドナーとするHLA半合致移植（ハプロ移植）では重症の移植片対宿主病（GVHD）を発症する可能性が高く、従来は敬遠されてきた。近年、造血幹細胞を保持しつつGVHDの直接の原因となるT細胞のみを除去する移植法が実施されるようになり、当研究部も小児がんセンターとの共同開発として、臨床用細胞分離機器であるミルテニー社のCliniMACS plusを使用したT細胞除去ハプロ移植法の開発を行っている。複数回の予備試験を経て、2022年10月に染色体の脆弱

性を原因とするファンconi貧血患者に対して同移植法を実施した。患者は、GVHDの発症なく順調に経過しており、その有効性に関して論文報告した。

令和5年・令和6年の研究成果

当移植法の保険収載を目標として、2023年より特定臨床研究を開始し、引き続き当研究部が移植細胞の調整（TCRab-T細胞の除去）を担当している。これまでにSCID患者1名、ファンconi貧血患者1名に対して実施し、いずれの患者も順調に経過している。また2025年度より医師主導治験が開始される予定であり、細胞調整に関するSOPの作成および精度管理をミルテニー社とともに進めている。

2) 遺伝子治療の安全性や有効性の評価（市販後の安全性や有効性の評価）

令和5年・令和6年の研究成果

ヒトにおける抗体価の低いカプシドを有するAAVベクターの開発されたことで、現在、神経・筋疾患などに対して大量のAAVベクターを静脈内に投与するin vivo遺伝子治療が展開されている。一方で、ヒトと動物での免疫システムの違いから、従来の非臨床試験（動物試験）ではわからなかった免疫毒性（臓器障害）が報告されるようになり、実際の遺伝子治療患者における解析の重要性が再認識されている。当センターおよび関連病院の患者を対象としたサイトカインの網羅的解析では、AAVベクターに対する自然免疫の活性化などが判明しており、これらの結果を基に、協力医療機関や関連団体（製薬企業なども含めた）とのワーキンググループを立ち上げた。今後も患者検体の解析を通して、遺伝子治療患者における安全性評価と患者管理に関する指針の確立を目標に活動を行っていく。

3) 遺伝子治療のレギュレーション（カルタヘナ法）に関する研究

これまでの研究成果

日本における遺伝子組換えAAVベクターの使用には、カルタヘナ法の第一種使用規定の下、適切な患者管理が必要である。AAVベクターはカプシドや投与方法によって、体内（体液中）におけるウイルスの残存や排出も異なってくる。特に大量の全身投与においては、1年を経過して血中にベクターゲノムが検出されるとされるが、実際にこれらが感染性を持つウイルス粒子であるかは不明である。このように、適切な患者管理のための指針の作成には、ウイルスの残存や排出に関する正確な評価が必要とされる。

令和5年・令和6年の研究成果

当センターにおいてin vivo遺伝子治療を行った患者の血液を用いて、高感度PCR法による解析を行ったところ、治療後1年では、AAVベクターゲノムの断片は同定されるものの、完全長のベクターゲノムは検出されなかった。また、生物学的な評価を目的として、ウイルス感染に抑制的に働く糖鎖を破壊したウイルス高感受性感染細胞を樹立した。この細胞は、極めて少量のAAVベクターに対しても感染性を示すことから、in vivo遺伝治療患者の排出液（尿や唾液など）における感染性の微量ウイルスの検出にも有用と考えられる。これらの結果を基に、高感度PCRや高感受性細胞を用いた組換えウイルスの第一種使用における適切な患者管理の指針の作製を進めている。

7. 先天性免疫異常症の病態解析や新規治療法の有効性評価

1) 先天性免疫異常症の病態解析

これまでの研究成果

原発性免疫不全症は、好中球、リンパ球、単球など様々な免疫担当細胞の機能異常が原因で引き起こされ、現在400を超える原因遺伝子が同定されている。また、その他の疾患においても免疫学的機序が病態の主体を担うことも明らかとなり、幅広い疾患において免疫学的解析が必要とされるようになった。我々は、当センターおよび外部の関連施設の患者に対して、当センター倫理委員会承認された「先天性免疫不全症の診断ならびに病態解析に関する研究」の研究手順を遵守し、フローサイトメトリー解析（FCM）やサイトカイン・ケモカイン解析、細胞株の樹立などを通して免疫学的な細胞機能評価を実施している。特にFCM解析

では、当研究部内にフローサイトメトリーコアを設置し、常時患者検体の解析を行なっている。

令和5年・令和6年の研究成果

解析数は2023年：152検体、2022年：88検体である。また遺伝子解析においては、これまでに引き続き、日本免疫不全・自己炎症学会との連携の下、免疫不全関連400遺伝子の解析、全エクソーム解析を通して免疫不全症患者の診断を積極的に実施している。

2) ADA欠損症の診断およびPEG-ADA製剤の有効性の評価

これまでの研究成果

アデノシン・デアミナーゼ（ADA）は、細胞分裂の際に生ずる核酸代謝産物のデオキシアデノシンをデオキシイノシンに変換する代謝酵素である。ADAが欠損することで毒性代謝物であるdATPが蓄積し、患者はSCIDの病態を呈する。ADA欠損症は他のSCIDと異なり酵素補充療法が存在し、海外においてはウシ由来のADAをポリエチレン・グリコールにて包埋したPEG-ADA（ADAGEN）製剤による治療が実施され効果が認められてきた。このような経緯から我が国では2016年より帝人ファーマによるPEG化リコンビナントADA（PEG-rADA）の治療が当センターを中心に実施され、2019年にレブコビとして承認・販売となった。このように酵素補充療法が存在することから、SCIDの中でもADA欠損症は早期に診断する必要があるため、当研究部は国内で唯一、ADA活性の測定を実施していることから、ADA欠損症の診断・検査を引き受けている。

令和5年・令和6年の研究成果

2023年から2024年にかけて、3名のADA欠損症患者を新たに診断した。うち1名は新生児期の発症で、迅速に酵素補充療法が開始された。2名は成人患者であり、これまで原因不明の低ガンoglobulin血症として治療されていたが、ADA活性の低下から遺伝子検査によってADA欠損症と診断された。これらの患者含めて、現在までに8名のADA欠損症患者が酵素補充療法を受けており、患者における酵素補充療法の有効性（免疫病態の改善）に関して現在投稿中である。また、酵素補充療法は造血細胞移植ドナーが不在のADA欠損症患者に対して唯一の治療選択肢となる一方で、海外では長期の使用が部分的な免疫能の低下によるウイルス感染や、自己免疫を引き起こすなども報告されている。このような状況からPEG-rADAによる長期的な免疫構築能に関して、市販後臨床研究を行っており、ADA欠損症患者に対する治療指針の確立を目指している。

8. 先天性血小板減少症の中央診断システムの構築など

令和5年・令和6年の研究成果

先天性血小板減少症・異常症は、血小板の産生・機能に関連する遺伝子の異常によって引き起こされる遺伝性の疾患である。慢性・難治性の免疫性血小板減少症（ITP）の10%程度が本症であると言われており、長期のステロイド投与や脾臓摘出などの誤った治療を受けている可能性がある。2019年より国立成育医療研究センターに先天性血小板減少症・異常症の疾患レジストリとハイスループット遺伝子解析システムによる中央診断システムを構築し、当研究部は検体の収集と遺伝子解析を担当している。2024年までに264人の血小板減少症患者を解析し、144人の患者（55%）において原因遺伝子を同定している。MYH9のような難聴や腎疾患を合併する疾患、Wiskott-Aldrich症候群などの造血細胞移植が必要な疾患のほか、ETV6、ANKRD26などの今後悪性疾患を合併する可能性のある遺伝子異常も同定しており、現在も全国の難治性の血小板減少症・異常症患者の解析を実施中である。

【令和5年研究業績】

1. 誌上発表

(1) 英文原著

1. Uchiyama T, Kawai T, Nakabayashi K, Nakazawa Y, Goto F, Okamura K, Nishimura T, Kato K, Watanabe N, Miura A, Yasuda T, Ando Y, Minegishi T, Edasawa K, Shimura M, Akiba Y, Sato-Otsubo A, Mizukami T, Kato M, Akashi K, Nunoi H, Onodera M. Myelodysplasia after clonal hematopoiesis

- with APOBEC3-mediated CYBB inactivation in retroviral gene therapy for X-CGD. *Mol Ther.* 31: 3424-3440, 2023.
2. Yamazaki N, Ohira M, Takada S, Ohtake A, Onodera M, Nakanishi M, Okuyama T, Mashima R. Enhanced osteoblastic differentiation of parietal bone in a novel murine model of mucopolysaccharidosis type II. *Mol Genet Metab Rep.* 2023 Nov 11;37:101021.
 3. Yasuda T, Uchiyama T, Watanabe N, Ito N, Nakabayashi K, Mochizuki H, Onodera M. Peripheral immune system modulates Purkinje cell degeneration in Niemann-Pick disease type C1. *Life Sci Alliance.* 2023 Jun 27;6(9):e202201881
 4. Onodera M, Uchiyama T, Ariga T, Yamada M, Miyamura T, Arizono H, Morio T. Safety and efficacy of elapegedemase in patients with adenosine deaminase deficiency: A multicenter, open-label, single-arm, phase 3, and postmarketing clinical study. *Immun Inflamm Dis.* 2023 Jul;11(7):e917.
 5. Irikura R, Nishizawa H, Nakajima K, Yamanaka M, Chen G, Tanaka K, Onodera M, Matsumoto M, Igarashi K. Ferroptosis model system by the re-expression of BACH1. *J Biochem.* 2023 Apr 24:mvad036.
 6. Mashima R, Ohira M, Okuyama T, Onodera M, Takada S. A novel mucopolysaccharidosis type II mouse model with an iduronate-2-sulfatase-P88L mutation. *Sci Rep.* 13:7865, 2023.
 7. Shirai R, Osumi T, Keino D, Nakabayashi K, Uchiyama T, Sekiguchi M, Hiwatari M, Yoshida M, Yoshida K, Yamada Y, Tomizawa D, Takae S, Kiyokawa N, Matsumoto K, Yoshioka T, Hata K, Hori T, Suzuki N, Kato M. Minimal residual disease detection by mutation-specific droplet digital PCR for leukemia/lymphoma. *Int J Hematol.* 2023.
 8. Tomosaka D, Isoda T, Mitsui N, Nishimura A, Uda K, Uchiyama T, Yamashita M, Kamiya T, Endo A, Takagi M, Imai K, Cawan MJ, Morio T, Kanegane H. Successful TCRab/CD19-depleted hematopoietic stem cell transplantation for a patient with artemis deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol.* 45: e285-e289, 2023.
 9. Mashima R, Ohira M, Okuyama T, Onodera M, Takada S. A novel mucopolysaccharidosis type II mouse model with an iduronate-2-sulfatase-P88L mutation. *Sci Rep.* 2023 May 15;13(1):7865.
 10. Kouno H, Kunishima S, Takebe J, Uchiyama T, Kaname T, Ishiguro A. Measurement of immature platelet fraction is useful in the differential diagnosis of MYH9 disorders. *Int J Lab Hematol.* 2023
 11. Kaizuka A, Tokuda Y, Morooka S, Gocho Y, Funaki T, Uchiyama T, Hirai Y, Yasumi T, Maekawa T, Kubota M, Ishiguro A. Pediatric Hemophagocytic lymphohistiocytosis after concomitant administration of SARS-CoV-2 vaccine and influenza vaccine. *J Infect Chemother.* 2023 Aug 30:S1341-321X(23)00201-5
 12. Komeno Y, Uchiyama T, Kawano F, Kurihara Y, Kurokawa M, Ohara O, Kunishima S, Ishiguro A. Inherited macrothrombocytopenia due to a novel splice donor site mutation in ITGB3. *Ann Hematol.* 2023 102: 2947-2949.
 13. Ishikawa T, Uejima Y, Okai M, Shiga K, Shoji K, Miyairi I, Kato M, Morooka S, Kubota M, Tagaya T, Tsuji S, Aoki S, Ide K, Niimi H, Uchiyama T, Onodera M, Kawai T. Melting temperature mapping method in children: Rapid identification of pathogenic microbes. *J Infect Chemother.* 2023 Nov 28:S1341-321X(23)00301-X.
 14. Takeuchi I, Tanase-Nakao K, Ogawa A, Sugawara T, Migita O, Kashima M, Yamazaki T, Iguchi A, Naiki Y, Uchiyama T, Tamaoki J, Maeda H, Shimizu H, Kawai T, Taniguchi K, Hirata H, Kobayashi M, Matsumoto K, Naruse K, Hata K, Akutsu H, Kato T, Narumi S, Arai K, Ishiguro A. Congenital anaemia associated with loss-of-function variants in DNA polymerase epsilon 1. *J Med Genet.* 2023

(2) 英文総説・原著

該当なし

(3) 和文総説

1. 小野寺雅史. 慢性肉芽腫症 (CGD) . 137-141 原発性免疫不全症候群 診療の手引き (改訂第2版) 2023 年
2. 小野寺雅史. 9) プリンスクレオシド・ホスホリラーゼ欠損症. 265-268 別冊日本臨床 血液症候群 (第3版) 2023 年
3. 小野寺雅史. 11) アデノシン・デアミナーゼ欠損症. 2279-283 別冊日本臨床 血液症候群 (第3版) 2023 年
4. 小野寺雅史. 第IV章 遺伝子治療とは. 210-215 小児科学 日本医師会雑誌 152 巻 特別号 (1) 2023 年

5. 小野寺雅史. 患者細胞採取における医療機関での実施体制 - 原材料採取・調製時の品質担保について -. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 54:100-105, 2023
6. 小野寺雅史. 第52章 遺伝子治療. 1194-1207 小児科学 第11版 加藤元博編、2023年
7. 小野寺雅史. 我が国の遺伝子治療の現状と課題、そしてその対策について. バイオサイエンスとインダストリー 81, 52-58, 2023
8. 内山徹. CAR-T細胞の製造における課題. 実験医学 Vol.4-No.2: 177-182, 2023
9. 内山徹. 造血幹細胞遺伝子治療—原発性免疫不全症. 日本医師会雑誌 第152巻(1):248-252
10. 内山徹. レトロウイルス、レンチウイルスベクター—特徴から臨床応用まで. 医学のあゆみ Vol. 285 No5: 321-327

(4) 著書

1. 内山徹. 遺伝子治療開発研究ハンドブック 第1章 Ex vivo 遺伝子治療, 第1節 5. Genotoxicity. 日本遺伝子細胞治療学会編集, 株式会社エヌ・ティー・エス.
2. 内山徹. ゲノム編集の最新技術と医薬品・遺伝子治療・農業・水産物・有用物質生産への活用 第3章 遺伝子治療におけるゲノム編集技術の活用と課題対策 第5節 ゲノム編集技術による遺伝子治療の開発. 技術情報協会
3. 内山徹. 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療. 臨床免疫・アレルギー科 第80巻 662-670 2023

2. 学会発表

(1) 国際学会講演・シンポジウム・招待講演

1. Masafumi ONODERA. Safety and efficacy evaluation for gene therapy products. 2023 Korea-Japan Joint Symposium on Gene Therapy in Inborn Errors of Immunity. Soul. 2023.2.25 (口頭)
2. Toru Uchiyama. Gene Therapy for chronic granulomatous disease in Japan. 2023 Korea-Japan joint symposium on gene therapy for inborn errors of immunity. Korea. 2023.2.25 (口頭)
3. Toru Uchiyama. Experience of gene therapy clinical trial for Wiskott-Aldrich syndrome in Japan. 2023 Korea-Japan joint symposium on gene therapy for inborn errors of immunity. Korea. 2023.2.25 (口頭)
4. Toru Uchiyama. Development of gene therapy for inborn errors of immunity using targeted genome editing. 2023 Korea-Japan joint symposium on gene therapy for inborn errors of immunity. Korea. 2023.2.25 (口頭)
5. Masafumi ONODERA. Current status of gene therapy in Japan. The 6th international forum of lysosomal diseases: workshop 6: gene therapy for LSD. Tokyo. 2023.4.1 (口頭)
6. Toru Uchiyama. A sc-ddPCR vector tracing in ADA-SCID stem cell gene therapy. Bio-Rad Droplet Digital PCR World 2023. Bangkok, Thailand. 2023.6.9 (口頭)
7. Toru Uchiyama. Gene-based monitoring in gene therapy for intractable diseases in Childhood. Bio-Rad Droplet Digital PCR World 2023. Bangkok, Thailand. 2023.6.9 (口頭)
8. Masafumi ONODERA. Current Status and Future Prospects of Gene Therapy for Inherited Diseases. Human Genetics Asia 20023. Tokyo. 2023.10.12 (口頭)

(2) 国際学会一般演題発表

該当なし

(3) 国内学会講演・シンポジウム・招待講演・教育講演・特別講演

1. 小野寺雅史. 遺伝子治療用製品の安全性・有効性に対する特異的評価系とは. 再生医療産業化フォーラム 2023 in 日本橋. 東京. 2023.1.25.
2. 小野寺雅史. アデノシン・デアミナーゼ欠損症の最新の診断と治療法. 第6回日本免疫不全・自己炎症学会総会 学術集会 モーニングセミナー. 東京. 2023.2.12
3. 小野寺雅史. In vivo 遺伝子治療ウイルスベクターから非ウイルスベクターへ. 第22回日本再生医療学会総会. 京都. 2023.3.23
4. 内山徹. 原発性免疫不全症に対する酵素補充療法と遺伝子治療の現状と展望. 第6回日本免疫不全・自己炎症学会総会 学術集会 共催シンポジウム 1. 東京. 2023.2.11

5. 内山徹. 先天性血小板減少症・異常症の網羅的診断法とレジストリの構築. 第17回日本血栓・止血学会学術標準化委員会 SCC シンポジウム. 東京. 2023.2.18
6. 小野寺雅史. 血液・免疫・代謝疾患に対する ex vivo 遺伝子治療. 第31回 日本医学界総会 2023 東京. 東京. 2023.4.23
7. 小野寺雅史. どうする日本の遺伝子治療. Link-J&成育共催セミナー vol.2 成育(小児・周産期)医療分野のビジネスマッチング. 東京. 2023.7.14
8. 小野寺雅史. 遺伝子細胞治療の定義と歴史. JSGCT 教育プログラム. 大阪. 2023.9.10
9. 小野寺雅史. ゲノム組み込み型ウイルスベクター. JSGCT 教育プログラム. 大阪. 2023.9.10
10. 小野寺雅史. 国内の遺伝子治療を俯瞰して思うこと. 第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会教育講演2. 大阪. 2023.9.12
11. 内山徹. Gene therapy for inborn errors of immunity. 第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会シンポジウム. 大阪. 2023.9.11
12. 内山徹. Development of gene and cell therapy for intractable diseases in childhood. 第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会 イブニングセミナー. 大阪. 2023.9.11
13. 小野寺雅史, 内山徹. 遺伝子治療用ベクター製造プロセスのプラットフォーム化プロジェクト 日本版 PaVe-GT. BioJapan2023 スポンサーセミナー. 東京. 2023.10.13
14. 内山徹. 小児希少疾患に対する遺伝子治療. 第46回日本小児遺伝学会学術集会 特別企画シンポジウム. 那覇. 2023.12.9

(4) 国内学会一般演題

1. 三浦茜, 安田徹, 石川百合子, 山田全毅, 枝澤佳織, 中林一彦, 志村真里香, 安藤由希子, 今留謙一, 小野寺雅史, 内山徹. X連鎖高IgM症候群のCD40L遺伝子変異に対するゲノム編集技術を用いたT細胞を標的とする遺伝子治療法の開発 第31回日本医学会総会 6NC リトリートポスターセッション 東京 2023.4.21~23. (ポスター発表)

【理事長賞受賞】

2. Toru Yasuda, Toru Uchiyama, Hideki Mochizuki, Masafumi Onodera. Modulation of neurodegeneration by peripheral immune system in Niemann-Pick disease type C. 第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会, 2023.9.11~13. (口頭)

(5) 特許

1. 米国特許 出願番号: 16/421,295
「ドロップレットデジタルPCRシステムを利用した単一細胞(シングルセル)PCR法」

【研究費】

公的研究費(研究代表者)

〔国立研究開発法人日本医療研究開発機構〕

1. 小野寺雅史 医薬品等規制調和・評価研究事業「in vivo 遺伝子治療における患者検体を用いたAAVベクター由来遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性評価系の開発」(2022年度~2024年度)
8,000千円;直接経費(2023年度)
2. 内山徹 再生医療実用化研究事業「X連鎖高IgM症候群に対するゲノム編集によるT細胞遺伝子治療の治験実施に向けた準備と体制の構築」(2022年度~2024年度)
30,000千円;直接経費(2023年度)
3. 内山徹 難治性疾患実用化研究事業「超高精度遺伝子修復法による原発性免疫不全症に対する新規遺伝子治療法の開発」(2023年度~2025年度)
11,500千円;直接経費(2023年度)

〔文部科学省研究費〕

1. 内山徹 日本学術振興会 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C) (一般) 「1型高IgE症候群に対する塩基編集と変異アレルの除去による新規遺伝子治療法の開発」(2022年度～2024年度)
1,000千円; 直接経費(2023年度)
2. 三浦茜 日本学術振興会 学術研究助成基金助成金 若手研究「アンジェルマン症候群のUBE3A アンチセンス転写抑制による新規遺伝子治療の開発」(2021年度～2025年度)
800千円; 直接経費(2023年度)

〔成育医療研究開発費〕

1. 2022E-3 小野寺雅史 「小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の実装化に向けた体制整備」(2022年～2024年)
12,150千円; 直接経費, 主任一括(2023年度)
2. 2023B-17 内山徹 「Ex vivo 遺伝子治療における高精度のゲノム解析による安全性と有効性の評価方法の確立」(2023年～2025年)
3,913千円; 直接経費(2023年度)

〔JH 研究環境整備支援費〕

1. 三浦茜 6NC リトリートポスターセッション理事長賞副賞
300千円; (2023年度)

公的研究費 (研究分担者)

〔国立研究開発法人日本医療研究開発機構〕

1. 小野寺雅史 難治性疾患実用化研究事業「乾燥ろ紙血プロテオーム解析を用いた原発性免疫不全症診断の効率化研究」(2022年度～2024年度) 研究代表者: 八角高裕 (京都大学)
600千円; 直接経費(2023年度)
2. 小野寺雅史 再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム「遺伝性免疫異常症に対する新規遺伝子修正治療の研究開発」(2023年度～2025年度) 研究代表者: 森尾友宏 (東京医科歯科大学)
3,000千円; 直接経費(2023年度)
3. 小野寺雅史 経済産業省・再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業 「遺伝子・細胞治療用ベクターのプラットフォーム製造技術開発」
74,479千円; 直接経費(2023年度)

〔文部科学省科学研究費〕

1. 小野寺雅史 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (C) (一般) 「先天性副腎皮質過形成に対する in vivo 遺伝子治療のための AAV ベクター開発」 研究代表者: 内木康博 (国立成育医療研究センター) (2022年度～2024年度)
100千円; 直接経費(2023年度)
2. 内山徹 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (B) (一般) 「ヒト胎盤・子宮内膜細胞のゲノム空間配置解明と疾患ゲノム研究への応用」 研究代表者: 中林一彦 (国立成育医療研究センター) (2022年度～2024年度)
700千円; 直接経費(2023年度)

〔厚生科学研究費〕

1. 小野寺雅史 厚生労働省 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 「原発性免疫不全症候群の全国診療体制確立、移行医療体制構築、診療ガイドライン確立に関する研究」 研究代表者: 森尾友宏 (東京医科歯科大学) (2023年度～2025年度)
1,000千円; 直接経費 (2023年度)

〔成育医療研究開発費〕

1. 内山徹 2022A-2 内山「難治性急性 GVHD の幹細胞治療有効性向上を目指す研究」研究代表者;阿久津英憲（国立成育医療研究センター）(2022 年度～2024 年度)
500 千円（主任一括計上のうち 配分額）(2023 年度)

私的研究費（研究代表者）

1. 内山徹 テルモ生命科学振興財団 研究助成金 「相同組換え修復を用いた免疫不全症への改変造血幹細胞の開発」
2,000 千円（2022 年度～2023 年度）

【その他】

〔ガイドライン〕

内山徹

1. 原発性免疫不全症候群 診療の手引き 第 1 章 複合免疫不全 B アデノシン・デアミナーゼ欠損症 日本免疫不全・自己炎症学会編集, 診断と治療社.

〔教育活動〕

小野寺雅史

1. 東京医科歯科大学 連携大学院教授

〔社会貢献〕

小野寺雅史

1. 厚生科学審議官遺伝子治療臨床研究作業委員会 委員
2. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 専門委員
3. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 課題評価委員
4. 大阪大学第二特定認定再生医療等委員会 委員
5. 厚生労働省薬事・食品衛生審議会 再生医療等製品・生物由来技術部会 委員
6. 日本免疫不全自己炎症学会 副理事長
7. 日本遺伝子細胞治療学会 副理事長

内山徹

1. 日本小児血液・がん学会 血小板委員会 委員
2. 厚生科学審議会専門委員（遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会）

〔栄誉・表彰〕

1. 三浦茜 第 31 回 日本医学会総会 6NC リトリート ポスターセッション 理事長賞

〔研究所運営への貢献〕

小野寺雅史

1. 遺伝子組換え実験委員会 委員
2. 倫理審査委員会 委員
3. 研究所バイオバンク細胞管理室長
4. 輸血療法委員会 副委員長

内山徹

1. 倫理委員会基礎部会 委員

〔倫理委員会承認研究課題〕

1. 乾燥ろ紙血を用いた免疫不全症のスクリーニング法の開発

2. 免疫機能異常症における遺伝的要因の探索
3. ヒト臍帯血を用いたヒト血液細胞の機能解析とその臨床応用を目指した基礎的研究
4. 先天性免疫不全症の診断並びに病態解析に関する研究
5. 肝炎後再生不良性貧血の病態解析に関する研究
6. 肝障害患者の免疫病態解析に関する研究
7. Ex vivo 遺伝子細胞治療における遺伝子導入細胞の動態および体内への影響に関する影響
8. In vivo 遺伝子治療におけるウイルスベクターの検出及び免疫反応の評価系のための基礎的研究
9. アデノシン・デアミナーゼ (ADA) 欠損症に対するレブコビ®を用いた酵素補充療法の安全性・有効性に関する長期フォローアップ研究

【令和 6 年研究業績】

1. 誌上発表

(1) 英文原著

1. Shibata H, Nakajima D, Konno R, Hijikata A, Higashiguchi M, Nihira H, Shimodera S, Miyamoto T, Nishitani-Isa M, Hiejima E, Izawa K, Takita J, Heike T, Okamura K, Ohnishi H, Ishimura M, Okada S, Yamashita M, Morio T, Kanegane H, Imai K, Nakamura Y, Nonoyama S, Uchiyama T, Onodera M, Nishikomori R, Ohara O, Kawashima Y, Yasumi T. A Non-targeted Proteomics Newborn Screening Platform for Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2024 Oct 25;45(1):33. PMID: 39453496
2. Klapwijk JC, Del Rio Espinola A, Libertini S, Collin P, Fellows MD, Jobling S, Lynch AM, Martus H, Vickers C, Zeller A, Biasco L, Brugman MH, Bushmann FD, Cathomen T, Ertl HCJ, Gabriel R, Gao G, Jadowsky JK, Kimber I, Lanz TA, Levine BL, Micklethwaite KP, Onodera M, Pizzurro DM, Reed S, Rothe M, Sabatino DE, Salk JJ, Schambach A, Themis M, Yuan J. Improving the Assessment of Risk Factors Relevant to Potential Carcinogenicity of Gene Therapies: A Consensus Article. *Hum Gene Ther*. 35: 527-542, 2024 PMID: 39049734 .
3. Ishikawa T, Uejima Y, Okai M, Shiga K, Shoji K, Miyairi I, Kato M, Morooka S, Kubota M, Tagaya T, Tsuji S, Aoki S, Ide K, Niimi H, Uchiyama T, Onodera M, Kawai T. Melting temperature mapping method in children: Rapid identification of pathogenic microbes. *J Infect Chemother*. 30: 475-480, 2024.
4. Iguchi A, Uchiyama T, Fujimori K, Gocho Y, Sakaguchi H, Deguchi T, Tomizawa D, Imadome KI, Onodera M, Matsumoto K. HLA-haploidentical T-cell receptor $\alpha\beta$ T/B-cell-depleted stem cell transplantation for Fanconi anemia. *Int J Hematol*. 119: 334-337, 2024.
5. Fujimori K, Ikenobe N, Gocho Y, Uchiyama T, Deguchi T, Sakaguchi H, Tomizawa D, Takeuchi I, Shimizu H, Arai K, Ishiguro A, Matsumoto K, Iguchi A. Hematopoietic stem cell transplantation in two sisters with bone marrow failure associated with POLE gene variants. *Pediatr Blood Cancer*. 2024 May;71(5):e30919.
6. Ikawa Y, Nakamura T, Fujino N, Uchiyama T, Ishiguro A, Takenaka M, Sakai Y, Noguchi K, Fujiki T, Wada T. A case of MYH7 and MYH9 genes variants with cardiomyopathy and macrothrombocytopenia. *Clin Case Rep*. 2024 Feb 1;12(2):e8304.
7. Sakamoto A, Uchiyama T, Kaname T, Iguchi A, Ohara O, Ishimura M, Onum M, Kunishima S, Ishiguro A. Diagnostic delay of MYH9-related disorder in Japan. *Br J Haematol*. 2024 Jun;204(6):2400-2404.
8. Nagoshi R, Sakamoto A, Imai T, Uchiyama T, Kaname T, Kunishima S, Ishiguro A. Bernard-Soulier syndrome caused by a novel GP1BB variant and 22q11.2 deletion. *Int J Hematol*. 2024 Jul;120(1):142-145.
9. Ishikawa T, Nishimura K, Okamoto N, Akamine K, Inoue N, Irabu H, Kato K, Keino H, Kojima M, Kubo H, Maruyama K, Mizuta M, Shabana K, Shimizu M, Sugita Y, Takakuwa Y, Takanashi S, Takase H, Umezayashi H, Umezawa N, Yamanishi S, Yamazaki K, Yashiro M, Yasumi T, Mori M. Efficacy and safety of tumor necrosis factor inhibitors for systemic juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. *Modern Rheumatology*. 2024 35(1):174-184
10. Nishimura K, Ishikawa T, Okamoto N, Akamine K, Inoue N, Irabu H, Kato K, Keino H, Kojima M, Kubo H, Maruyama K, Mizuta M, Shabana K, Shimizu M, Sugita Y, Takakuwa Y, Takanashi S,

- Takase H, Umebayashi H, Umezawa N, Yamanishi S, Yamazaki K, Yashiro M, Yasumi T, Mori M. Efficacy and safety of abatacept for systemic juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. *Modern Rheumatology*. 2024 35(1):167-173
11. Shoji K, Hikino K, Saito J, Matsui T, Utano T, Takebayashi A, Tomizawa D, Kato M, Matsumoto K, Ishikawa T, Kawai T, Nakamura H, Miyairi I, Terao C, Mushiroda T. Pharmacogenetic implementation for CYP2C19 and pharmacokinetics of voriconazole in children with malignancy or inborn errors of immunity. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2024 30(12):1280-1288.
 12. Sakamoto A, Uchiyama T, Futatsugi R, Ohara O, Iguchi A, Kaname T, Hikosaka M, Ono H, Kunishima S, Ito S, Ishiguro A. Platelet changes and bleeding symptoms in children, adolescents, and adults with 22q11.2 deletion syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 2024 71(11):e31292.
 13. Tsuda S, Sakamoto A, Kawaguchi H, Uchiyama T, Kaname T, Yanagi K, Kunishima S, Ishiguro A. Novel biallelic GNE variants identified in a patient with chronic thrombocytopenia without any symptoms of myopathy. *Ann Hematol*. 2024 Nov 22. Epub ahead of print. PMID: 39576359
 14. Hamanaka S, Uchiyama T, Kaname T, Matsui M, Yoshihashi H, Makimoto A, Yuza Y, Ishiguro A. X-linked Thrombocytopenia with Normal Wiskott-Aldrich Syndrome Protein Expression in Lymphocytes and a Novel Wiskott-Aldrich Syndrome Protein Gene Variant: A Case Report and Brief Review of the Literature. *J Pediatr Clin Pract*. 2024 14:200128
 15. Tsuda S, Sakamoto A, Kawaguchi H, Uchiyama T, Kaname T, Yanagi K, Kunishima S, Ishiguro A. Novel biallelic GNE variants identified in a patient with chronic thrombocytopenia without any symptoms of myopathy. *Ann Hematol*. 2024 Nov 22

(2) 英文総説・著書

該当なし

(3) 和文総説

1. 内山徹. ITP に対する薬の使い方～リツキシマブ～. *小児科診療* vol 87 No.5 583-586, 2024.
2. Ishiguro A, Uchiyama T, Sakamoto A, Kunishima S. [Developments of high-throughput sequencing-based diagnosis of congenital thrombocytopenia/platelet disorders in a registry study]. *Rinsho Ketsueki*. 2024;65(8):747-755. Japanese

(4) 著書

該当なし

2. 学会発表

(1) 国際学会講演・シンポジウム・招待講演

1. Masafumi ONODERA. Current status of cell and gene therapy in the world. 8th DIA Cell and Gene Therapy Products Symposium in Japan. Tokyo. 2024.1.16. (口頭)
2. Masafumi ONODERA. Gene Therapy for Pediatric Hereditary Neurological Disorders. The 14th International Symposium of Gunma University Initiative for Advanced Research. Takasaki. 2024.2.14. (口頭)
3. Masafumi ONODERA. Current status of cell and gene therapy for intractable genetic diseases. The 7th international forum of lysosomal diseases. Tokyo. 2024.7.12 (口頭)
4. Masafumi ONODERA. Development Status and Future Challenges for Gene Therapy Products. 9th DIA Cell and Gene Therapy Products Symposium in Japan. Tokyo. 2024.12.11. (口頭)

(2) 国際学会一般演題発表

該当なし

(3) 国内学会講演・シンポジウム・招待講演・教育講演・特別講演

1. 小野寺雅史. 原発性免疫不全症の診断と治療の現状、今後の展望. IEI (先天性免疫異常症) Forum 関西. 大阪. 2024.2.3.
2. 小野寺雅史. 遺伝子治療用ベクターの製造プロセスのプラットフォーム化プロジェクト日本版 PaVe-G.T 東京. 2024.4.17

3. 小野寺雅史. 遺伝子細胞治療の基礎知識. 第66回 日本小児神経学会学術集会. 名古屋. 2024.5.30
4. 内山徹. 難治性疾患に対するゲノム編集の医療応用. 日本ゲノム編集学会 第9回大会. 大阪. 2024.6.19.
5. 小野寺雅史. 我が国の遺伝子治療の課題とその解決策 製造・規制に主軸を置いた新たな展望. 第23回メルクバイオフィォーラム 2024. 東京. 2024.9.19
6. 内山徹. Gene therapy for inborn errors of immunity. 第30回日本遺伝子細胞治療学会. 横浜. 2024.7.18
7. 内山徹. 染色体挿入型ウイルスベクターによる造腫瘍性. 第71回日本ウイルス学会学術集会 シンポジウム. 名古屋. 2024.11.5

(4) 国内学会一般演題

1. 坂本淳, 内山徹, 國 伸治, 要匡, 下之段秀美, 児嶋ひとみ, 井 晶裕, 石黒精. ANKRD26 関連血小板減少症の巨核球形態評価と機能解析. 日本血栓止学会. 2024.6.13 (口頭)
2. Toru Yasuda, Ayumu Konno, Hirokazu Hirai, Toru Uchiyama, Masafumi Onodera. Gene therapy for a mouse model of Niemann-Pick disease type C1 by systemic delivery of AAV2 mutant, 第30回日本遺伝子細胞治療学会学術集会. 横浜 2024.7.16~18 (口頭)
3. Toru Yasuda, Toru Uchiyama, Hideki Mochizuki, Masafumi Onodera. Effect of α -synuclein on neurodegeneration in Niemann-Pick disease type C. 第47回日本神経科学大会. 福岡 2024.7.24~27 (口頭)

(5) 特許

内山徹

1. 国際出願番号 PCT/JP2020/034398
「リアルタイム PCR による核酸検出方法」
共願人：積水メディカル株式会社
2. 特許／登録番号 11,254,975 (米国)
「ドロップレットデジタル PCR システムを利用した単一細胞（シングルセル）PCR 法」

【研究費】

公的研究費（研究代表者）

〔国立研究開発法人日本医療研究開発機構〕

1. 小野寺雅史 医薬品等規制調和・評価研究事業「in vivo 遺伝子治療における患者検体を用いた AAV ベクター由来遺伝子治療用製品の品質・有効性・安全性評価系の開発」(2022 年度～2024 年度)
8,000 千円;直接経費(2024 年度)
2. 内山徹 再生医療実用化研究事業「X 連鎖高 IgM 症候群に対するゲノム編集による T 細胞遺伝子治療の治験実施に向けた準備と体制の構築」(2022 年度～2024 年度)
30,000 千円; 直接経費(2024 年度)
3. 内山徹 難治性疾患実用化研究事業「超高精度遺伝子修復法による原発性免疫不全症に対する新規遺伝子治療法の開発」(2023 年度～2025 年度)
12,000 千円; 直接経費(2024 年度)

〔文部科学省研究費〕

1. 内山徹 日本学術振興会 学術研究助成基金助成金 基盤研究 (C) (一般) 「1 型高 IgE 症候群に対する塩基編集と変異アレルの除去による新規遺伝子治療法の開発」(2022 年度～2024 年度)
1,000 千円; 直接経費(2024 年度)

〔成育医療研究開発費〕

1. 2022E-3 小野寺雅史 「小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の実装化に向けた体制整備」(2022 年～2024 年)
12,150 千円; 直接経費, 主任一括(2024 年度)
2. 2023B-17 内山徹 「Ex vivo 遺伝子治療における高精度のゲノム解析による安全性と有効性の評価方法の確立」(2023 年～2025 年)
4,455 千円; 直接経費(2024 年度)

公的研究費 (研究分担者)

〔国立研究開発法人日本医療研究開発機構〕

1. 小野寺雅史 難治性疾患実用化研究事業「乾燥ろ紙血プロテオーム解析を用いた原発性免疫不全症診断の効率化研究」(2022 年度～2024 年度) 研究代表者: 八角高裕 (京都大学)
600 千円; 直接経費(2024 年度)
2. 小野寺雅史 再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム「遺伝性免疫異常症に対する新規遺伝子修正治療の研究開発」(2023 年度～2025 年度) 研究代表者: 森尾友宏 (東京医科歯科大学)
3,000 千円; 直接経費(2024 年度)
3. 小野寺雅史 経済産業省・再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業 「遺伝子・細胞治療用ベクターのプラットフォーム製造技術開発」
33,341 千円; 直接経費(2024 年度)

〔文部科学省科学研究費〕

1. 小野寺雅史 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (C) (一般)「先天性副腎皮質過形成に対する in vivo 遺伝子治療のための AAV ベクター開発」研究代表者: 内木康博 (国立成育医療研究センター) (2022 年度～2024 年度)
100 千円; 直接経費(2024 年度)
2. 内山徹 日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 (B) (一般)「ヒト胎盤・子宮内膜細胞のゲノム空間配置解明と疾患ゲノム研究への応用」研究代表者: 中林一彦 (国立成育医療研究センター) (2022 年度～2024 年度)
100 千円; 直接経費(2024 年度)

〔厚生科学研究費〕

1. 小野寺雅史 厚生労働省 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 「原発性免疫不全症候群の全国診療体制確立、移行医療体制構築、診療ガイドライン確立に関する研究」研究代表者: 森尾友宏 (東京医科歯科大学) (2023 年度～2025 年度)
1,000 千円; 直接経費 (2024 年度)

〔成育医療研究開発費〕

1. 内山徹 2022A-2 内山 「難治性急性 GVHD の幹細胞治療有効性向上を目指す研究」研究代表者: 阿久津英憲 (国立成育医療研究センター) (2022 年度～2024 年度)
1,000 千円; 直接経費(2024 年度)

〔JH 横断的研究推進費〕

1. 内山徹 横断的研究推進費「核酸代謝異常に基づく疾患の横断的な代謝プロファイル構築とバイオマーカー探索、遺伝子細胞治療基盤の開発」
5,000 千円; 直接経費 (2024 年度)

【その他】

〔ガイドライン〕

小野寺雅史

1. ヒト由来の間葉系幹細胞若しくは間葉系間質細胞を原料とするヒト細胞加工製品の条件及び期限付承認並びにその後の有効性評価計画に関する評価指標（2024年（令和6年）3月29日医薬機審発 0329 第4号）<https://www.pmda.go.jp/files/000267915.pdf>
2. 再生医療等製品に係る条件及び期限付承認並びにその後の有効性評価計画策定に関するガイダンスについて（2024年（令和6年）3月29日 医薬機審発 0329 第3号）
<https://www.pmda.go.jp/files/000267914.pdf>
3. 標的特異性を有する in vivo 遺伝子治療の開発における留意事項 – in vivo CAR-T の開発など（2024年7月4日）<https://www.pmda.go.jp/files/000269351.pdf>

[教育活動]

小野寺雅史

1. 東京医科歯科大学 連携大学院教授

[社会貢献]

小野寺雅史

1. 厚生科学審議官遺伝子治療臨床研究作業委員会 委員
2. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 専門委員
3. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 課題評価委員
4. 大阪大学第二特定認定再生医療等委員会 委員
5. 厚生労働省薬事・食品衛生審議会 再生医療等製品・生物由来技術部会 委員
6. 日本免疫不全自己炎症学会 副理事長

内山徹

1. 日本小児血液・がん学会 血小板委員会 委員
2. 日本遺伝子細胞治療学会・評議員
3. 厚生科学審議会専門委員（遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会）

[研究所運営への貢献]

小野寺雅史

1. 遺伝子組換え実験委員会 委員
2. 倫理審査委員会 委員
3. 研究所バイオバンク細胞管理室長
4. 輸血療法委員会 副委員長

内山徹

1. 倫理委員会基礎部会 委員
2. 倫理審査委員会 委員
3. 細胞提供予備審査委員 委員

[倫理委員会承認研究課題]

1. 乾燥ろ紙血を用いた免疫不全症のスクリーニング法の開発
2. 免疫機能異常症における遺伝的要因の探索
3. ヒト臍帯血を用いたヒト血液細胞の機能解析とその臨床応用を目指した基礎的研究
4. 先天性免疫不全症の診断並びに病態解析に関する研究
5. Ex vivo 遺伝子細胞治療における遺伝子導入細胞の動態および体内への影響に関する影響
6. In vivo 遺伝子治療におけるウイルスベクターの検出及び免疫反応の評価系のための基礎的研究
7. アデノシン・デアミナーゼ（ADA）欠損症に対するレブコビ®を用いた酵素補充療法の安全性・有効性に関する長期フォローアップ研究
8. ゲノム編集による遺伝子治療法開発に向けた患者細胞を用いた基礎研究