

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、難治性の小児遺伝性疾患に対する遺伝子医療の確立である。近年の次世代シーケンサーなどによる遺伝子研究の進歩に伴って、これらの疾患における原因遺伝子の特定や病態の解明が一気に加速している。遺伝子・病態解析に基づいた診断技術及び治療技術が多く疾患でなされるようになった現在、次の目標としてより早期の診断及び細胞・遺伝子治療法などの最先端医療の確立が挙げられる。

不可逆的変化を伴うこれらの疾患では、発症前もしくは発症早期に診断を行うことは極めて重要であり、特に治療法が存在する疾患においては新生児スクリーニングの確立と実施が強く望まれている。また、従来の治療法では対応が難しい疾患に対して、治療遺伝子の導入による遺伝子治療は以前から研究され、現在その有効性は確固たるものとなっている。このような背景から、成育遺伝研究部では、特に原発性免疫不全症を対象として、定量 PCR や FRET 法による新生児スクリーニングの確立と実施、根治的治療として造血幹細胞移植が実施できない患者に対する造血幹細胞遺伝子治療法の確立を最大の目標として活動している。新生児スクリーニングでは、最も緊急性の高い重症複合免疫不全症（SCID）を対象にし、T細胞の新生の際に産生される T cell receptor excision circles (TREC) によるスクリーニングを当センター出生の新生児に対して開始しており、今後の全国展開を見据えた測定技術、精度管理の確立が進行中である。

造血幹細胞遺伝子治療の開発と実施に当たって、様々な分野での専門知識を有する医師や研究者が参画する nation-wide の遺伝子治療実施体制の構築を目指している。当研究部では原発性免疫不全症のなかで最も頻度の高い慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease: CGD）、特に gp91^{phox} 遺伝子に変異を持つ X 連鎖慢性肉芽腫症（X-CGD）に対する造血幹細胞遺伝子治療を以前より計画し、平成 26 年 7 月に第一例目を実施した。治療前に存在した治療抵抗性の感染病巣の消失などその効果が認められ、現在も安全性を含めた慎重な経過観察が行なわれている。また、同じく原発性免疫不全症のひとつである Wiskott-Aldrich 症候群に関しても医師主導治験として遺伝子治療の準備を行っており、2017 年の実施を目指している。

なお、当研究部では将来の我が国における遺伝子・細胞治療の発展を見据えた基礎研究ならびに病院生体防御系内科部免疫科における併任業務をもって原発性免疫不全症の診断・治療に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. 原発性免疫不全症に対する遺伝子・細胞治療法の確立
 - 1) X-CDG に対する遺伝子治療臨床研究の実施
 - 2) Wiskott-Aldrich 症候群に対する遺伝子治療臨床試験（治験）の実施
 - 3) 遺伝子治療におけるレトロウイルスベクター挿入に関する解析
 - 4) ゲノム編集技術による遺伝子治療法の開発
2. TREC による原発性免疫不全症の新生児スクリーニング法の開発
3. 原発性免疫不全症の原因解明に向けた研究
 - 1) 原発性免疫不全症患者における遺伝子診断
 - 2) iPS 細胞を用いた原発性免疫不全症の病態解明
 - 3) 原発性免疫不全症の患者細胞における機能評価
4. レトロウイルスベクターにおける転写制御の解明
5. ADA 欠損症に対する未承認薬 ADAGEN の治験に向けた研究

【研究体制】

構 成 員

部 長：小野寺雅史

室 長：河合利尚、内山徹

流動研究員：安田徹、

任期付常勤職員：川本恵

非常勤職員：八木田万里、市田悠、高橋シリラット、三浦茜、林恵美子、渡辺信之、横山みどり、田中壽子、峰岸知子、枝澤佳織

共同研究員：岡田真由美、齋藤優実、南部明華、斉藤志穂、渡辺摩周、山口裕崇

病院医師：中澤裕美子、後藤文洋、田村英一郎

事 務：橋井晶子、徳永祥子、安藤由希子、柳井香織

【共同研究体制】

1. 研究所

藤本純一郎臨床研究センター・センター長、清河信敬部長（血液・腫瘍）、梅澤明弘部長、阿久津英憲室長（生殖・細胞医療）、秦健一郎部長、中林一彦室長（周産期病態）、田上昭人部長、

中村和昭室長（薬剤治療）、瀧本哲也室長（臨床研究センター）、掛江直子室長（成育政策科学）

2. 病院

奥山虎之部長（臨床検査部）、石黒精部長、中舘尚也医長、土田尚医員（総合診療部）、新井勝大医長、森哲也医長（内科系専門診療部）、松本公一（センター長）

3. センター外（国内）

東京大学医科学研究所 田原秀晃教授、中内啓光教授、大津真助教

北里大学医学部 望月秀樹教授

明治大学農学部 長嶋比呂士教授

筑波大学臨床医学系 須磨崎亮教授、福島敬講師

産業技術総合研究所 中西真人博士

【研究の概要】

1. 原発性免疫不全症に対する遺伝子・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の実施

原発性免疫不全症のひとつである慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease: CGD）は、NADPH オキシダーゼ産生酵素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 オキシダーゼ産生酵素の構成タンパク質である gp91^{phox} に異常ある X連鎖慢性肉芽腫症（X-linked chronic granulomatous disease: X-CGD）がその約 80% を占める。患者は、幼少期から重症感染症に加え、不完全な殺菌による細菌・真菌の残存に対して過剰な炎症性サイトカインが放出されることで、腸管や肝臓、肺などに肉芽腫を形成する。根治療法は HLA 適合ドナーからの造血幹細胞移植であるが、HLA が不一致の場合にはその成績は悪く、また、たとえ適当なドナーが存在したとしても重度な感染症罹患により適切な前処置が行えず、移植自体が行えない症例もある。当研究部では、造血幹細胞移植が行えない X-CGD 患者に対し、自家造血幹細胞（CD34 陽性細胞）に対してレトロウイルスベクターによる正常 CYBB 遺伝子（gp91^{phox} をコードする）を導入し、再び、患者に投与する造血幹細胞遺伝子治療を実施している。レトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞遺伝子治療は、様々な原発性免疫不全症に対して有効な治療成績を上げているが、その一方で、X連鎖重症複合免疫不全症（SCID-X1）でみられたような重大な有害事象（白血病）の発症も報告されている。このことを踏まえて、本遺伝子治療臨床研究の実施に関しては、症例ごとに患者の risk and benefit balance を十分に考慮し、血液学、免疫学、遺伝子治療学を専門とする多くの医師、研究者が参画する nation-wide project として行なっている。なお、本研究は「厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成

基盤研究事業) (平成 25～27 年度)」を受けて行われている。

- ・実施承認までの経過

平成 22 年 5 月より当センター遺伝子治療臨床研究審査委員会での審議が開始され、平成 23 年 2 月に承認を受けた。その後審査の場が厚生労働省厚生科学審議会科学技術部会に移り、平成 24 年 3 月 28 日開催の厚生科学審議会科学技術部会にて本遺伝子治療臨床研究は了承された。同年 6 月 14 日付けで厚生労働大臣にて本遺伝子治療臨床研究は承認された。

- ・遺伝子治療臨床研究に向けた Dry Run と GMP 準拠 CPC の設置

実際の遺伝子治療臨床研究において用いられるレトロウイルスベクターを用いた造血幹細胞への遺伝子導入法を確定するために、研究所 5 階に細胞調製室 (Cell Processing Center: CPC) を設置し、臍帯血由来 CD34 陽性細胞を用いた遺伝子導入実験を行った。臍帯血由来単核球より CliniMacs を用いて CD34 陽性細胞を分離し、閉鎖培養システムにて外来遺伝子を導入した。その結果、Cell viability が 90%を超え、遺伝子導入効率も 70%を超えている。このような Dry Run を複数回行い、これら一連の流れを文書化した SOP (standard operating procedure) を作成した。使用するウイルスベクターは本研究の共同研究者である米国国立衛生研究所 (NIH) の Malech 博士が作製した MFGSgp91 であり、臨床応用のため品質評価書とともに、米国より入手したものである。

- ・患者の選定と遺伝子治療の実施

20 代の造血幹細胞移植ドナー不在 X-CGD 患者が対象患者として選択され、平成 26 年 3 月 10 日に一次同意を取得後、4 月 3 日遺伝子治療臨床研究評価判定委員会の承認を経て、5 月 29 日最終同意が取得された。作成した臨床プロトコールに従い、患者末梢血より顆粒球コロニー刺激因子により動員された造血幹細胞 (CD34 陽性細胞) が採取され、MFGSgp91 により 70%の効率で遺伝子導入が行われた。ブスルファンによる骨髄非破壊的前処置の後に、7 月 22 日に遺伝子導入細胞 (CD34 陽性細胞にして $6.2 \times 10^6/\text{kg}$) が患者に投与された。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、またそれに伴い、治療抵抗性であった感染病巣の縮小が得られ、遺伝子導入の有効性が確認された。現在遺伝子治療より 2 年を経過し、有害事象は認められていないものの、欧米での報告に一致して患者末梢血における遺伝子導入細胞の減少が認められている。一方で、治療前と比較して感染症に対する治療反応性は保たれており、患者は通院での経過観察が可能となっている。以上のことから、感染症に対する遺伝子導入細胞の効果が明らかとなっている。

2) Wiskott- Aldrich 症候群に対する遺伝子治療臨床研究の実施

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は、易感染性、血小板減少、湿疹を 3 主徴とし、その他に自己免疫疾患や悪性疾患も合併する原発性免疫不全症である。その原因は X 染色体に存在する WAS 遺伝子であり、細胞骨格やシグナル伝達に関与している。感染症や出血による死亡、悪性疾患の発症から根治的治療である造血幹細胞移植が必要と考えられており、HLA 一致同胞が存在する場合や、HLA 一致非血縁ドナーで 1 歳までに移植が行なわれた場合にはその成績は良好である。一方、年長で HLA 不完全一致ドナーによる移植の場合にはその予後が悪くなり、造血幹細胞遺伝子治療の対象疾患のひとつとして考えられている。2006 年～2009 年にドイツで行なわれたレトロウイルスベクターによる遺伝子治療では、その有効性が示されたものの SCID-X1 と同様に白血病の発症が報告された。これを踏まえて、安全性を高めた自己不活型の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。現在までに 7 例に施行され、ほぼ全ての症例で症状の改善を認めている。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。この結果を踏まえて、当研究部は、Aiuti 博士らの協力のもと、日本における医師主導治験を開始すべく現在計画中である。これまでに GlaxoSmithKline (GSK) 社との契約締結にて、ウイルスベクター、治験概要書 (IB)、治験薬概要書 (IMPd) 及びプロトコールを入手した。さらに、タカラバイオ社における複数回の Dry Run を実施し、遺伝子導入法の確立と、遺伝子導入細胞の品質評価を行なった。これらのデータをもとに、PMDA との対面助言を複数回行い、現在は平成 29 年度の第一例目の実施に向けて、鋭意準備をおこなっている。なお、本事業は「厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業、平成 25～27 年度)、日本医療研究開発機構研究費(難治性疾患実用化研究事業、平成 28～30 年度)」の助成を受けて行われている。

3) 遺伝子治療におけるレトロウイルスベクター挿入に関する解析

レトロウイルスやレンチウイルスベクターなどの染色体挿入型ベクターによる遺伝子治療では、その有効性や安全に関する評価を行うにあたり、遺伝子導入効率や挿入されたウイルスベクター(プロウイルス)のコピー数、染色体上の挿入部位の特定が必須である。成育遺伝研究部では、造血幹細胞遺伝子治療を受けたアデノシンデアミナーゼ欠損症患者に対して、デジタルドロップレット PCR 及び次世代シーケンサーを用いて、遺伝子導入細胞におけるベクター挿入の詳細な解析を実施している。

遺伝子治療の有効性には、治療遺伝子の増殖優位性(選択優位性)の有無と、これに伴った遺伝子導入細胞の生着が大きく関係している。各血球分画(及びリンパ球分画)においてその増殖優位性は大きく異なってくることから、患者における遺伝子導入細胞の分布は極めて複雑となり、

その詳細な解析は、遺伝子治療の有効性の評価に大変重要である。これらを目的として、デジタルドロップレット PCR (BioRad) による遺伝子レベルでの遺伝子導入細胞の定量法を確立した。この方法では1個のドロップレットに解析対象の細胞1個を封入し、ドロップレット内での細胞融解とベクター配列に対する蛍光 PCR を行なう。蛍光ドロップレット数を測定することで対象細胞群の中の遺伝子導入細胞数の絶対定量が可能となる。この方法を用いて、遺伝子治療を受けた ADA 欠損症患者2名を解析したところ、T 細胞のほぼ全てでベクターの挿入が検出されたのに対し、B 細胞やNK 細胞では10-20%の細胞にのみベクターの挿入が認められた。また、骨髄の CD34 陽性分画では、いずれの症例も2%前後の導入細胞しか存在せず、造血幹細胞レベルでの遺伝子導入細胞の十分な正着は認められなかった。

次に、患者の遺伝子導入細胞におけるプロウイルスの挿入部位解析を実施した。従来の Linear amplification mediated PCR (LAM-PCR)を用いた解析法では、制限酵素処理などのバイアスが大きくなることから、より網羅的な解析法として次世代シーケンサー (イルミナ社 HiSeq システム) による遺伝子挿入部位解析法を確立した。レトロウイルスベクター内の配列に対して相補的なベイトを設計しキャプチャーした後、PCR によりライブラリーを作製し配列の解析を行なうことで、従来の LAM-PCR 法を上回るより多くのデータの取得が可能となった。この技術を用いて ADA 欠損症患者2名の末梢血単核球におけるベクター挿入部位解析を行なったところ、各患者ともベクター挿入のほとんどが数個の遺伝子に限られていることが判明した。現在これらのベクター挿入が遺伝子導入細胞の生着に与える影響を解析中である。また、一人目の患者では、挿入部位のパターンが、T 細胞、B 細胞、NK 細胞共に共通していたことから、末梢におけるこれらの遺伝子導入細胞が共通の前駆細胞から出現していることが明らかとなった。本研究は「厚生労働科学研究費補助金 (医薬品等審査迅速化事業) (平成 24~28 年度)」の助成を受けて行われている。

4) ゲノム編集技術による遺伝子治療法の開発

造血幹細胞遺伝子治療では、遺伝子導入後の細胞 (造血幹細胞) が分裂後も遺伝子を発現する必要があることから染色体挿入型ウイルスベクターが用いられるが、これらは上述のように染色体へのベクター挿入変異を引き起こす可能性を抱えている。また、遺伝子の発現はベクター内に組み込まれた外因性プロモーターによることから、非生理的な遺伝子発現をもたらす危険も懸念されている。近年の Crispr/Cas9 などのヌクレアーゼによる切断と相同組換えによるゲノム編集技術は、変異遺伝子の直接の修復を可能にした。ベクターの挿入変異の危険性を回避でき、またゲノム上の内因性プロモーターによる生理的発現となることから、次世代の遺伝子治療として研究が進められている。当研究部でも現在、X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (Btk 遺伝子) 及び X 連鎖高 IgM 症候群 (CD40L 欠損症) を対象に、ゲノム編集技術による遺伝子治療の開発を行な

っている。これらの疾患では、遺伝子の厳密な生理的発現制御が必要となることから、従来のウイルスベクターに替わる新規の治療法が求められている。Crispr/Cas9 と造血細胞への遺伝子導入に優れた6型アデノ随伴ウイルスベクターを用いて開発が進んでいる。本研究は「厚生労働科学研究費補助金（医薬品等審査迅速化事業）（平成24～28年度）」の助成を受けて行われている。

2. TRECによる原発性免疫不全症の新生児スクリーニング法の開発

重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency : SCID）は、T細胞の分化障害を中心として、B細胞やNK細胞の異常を伴う症候群である。生下時より重度のウイルスや細菌、真菌感染症を発症し、迅速な確定診断と造血幹細胞移植が施行されない場合には致死経過となる。胸腺におけるT細胞新生の際に、T細胞受容体遺伝子の再構成がおこり、TREC（T cell receptor excision circles）と呼ばれる環状DNAが産生される。このTRECはT細胞の新生能を示し、定量PCRによる測定が可能である。また、乾燥ろ紙血での測定も可能であることから、TRECによる新生児スクリーニングは、米国のほぼ全ての州において実施され、その有効性が報告されている。現在当研究部では、SCIDスクリーニングの普及に向け、測定技術や精度管理の確立を行なっている。まず3.3mmのろ紙血パンチからDNAを抽出し、プローブを利用して定量PCRにて測定する。3.3mmパンチには3μlの血液が含まれることから、1μlあたりのコピー数として算出した。予備研究の結果から、TRECのカットオフ値を40コピー/μlと設定し、平成27年度から当センターにおける正常体重出生児を対象にこれまでに544検体の解析を行なった。その中で1名の陽性患者を特定し、1ヶ月後の再検査にてリンパ球数の上昇とそれに伴うTREC値の上昇を認め、一過性のリンパ球減少症と診断した。ている。またより簡便な方法として、FRET法による測定及び精度管理の構築も開始しており、今後予定する大規模なスクリーニングに向けて準備中である。なお、本研究の一部は「厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）（平成25～27年度）」の助成を受けて行われている。

3. 原発性免疫不全症の原因解明に向けた研究

1) 原発性免疫不全症患者における遺伝子診断

原発性免疫不全症は、好中球、リンパ球、単球など免疫担当細胞の機能異常により、正常な免疫反応が誘導されなくなることで、易感染性や自己免疫疾患を誘発する難治性の疾患である。現在300を超える原因遺伝子が同定されており、適切な医療のためには迅速かつ正確な診断法の確立が望まれている。当研究部は、部長小野寺が病院生体防御系内科部免疫科の医長を、室長河合と内山が同免疫科の医員を併任し、病院医師の後藤文洋と中澤裕美子とともに積極的にこれら免

疫患者の診療に当たっており、倫理審査委員会の承認の下で遺伝子解析による確定診断を行っている。また、免疫不全における遺伝子解析の対象疾患の拡大に対応すべく、従来のサンガー法によるシーケンスに加え、周産期病態研究部の協力のもと次世代シーケンスを用いた **SCID** の原因 28 遺伝子のターゲットリシーケンスやエクソーム解析を積極的に行なっている。

2) iPS 細胞を用いた原発性免疫不全症の病態解明

近年の次世代シーケンス技術などの発達により、原発性免疫不全症の原因遺伝子の数は常に増えており、詳細な病態解析が必要な疾患も多くなっている。これらの病態解析ツールとして、産業技術総合研究所、中西真人博士との共同研究のもと、センダイウイルスベクターによる疾患特異的 iPS 細胞の樹立を行なっている。X 連鎖重症複合免疫不全症、アデノシン・デアミナーゼ欠損症、慢性肉芽腫症、Bloom 症候群、PEX 症候群、毛細血管拡張性小脳失調症、Wiskott-Aldrich 症候群、活性化 PI3K δ 症候群などの免疫不全症患者からの iPS 細胞の樹立を行なっており、今後はこれら iPS 細胞を疾患の病態解明に役立てたいと考えている。

3) 原発性免疫不全症の患者における機能評価、病態解析

原発性免疫不全症には、従来の獲得免疫や食細胞の機能低下を呈する疾患だけでなく、自己炎症性疾患や自然免疫の異常を呈する疾患も含まれるようになった。また、幅広い疾患において免疫学的機序が病態の主体を担うことも明らかとなり、狭義の免疫不全症以外の疾患でも免疫学的解析が必要とされるようになった。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で承認された「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」（研究責任者 小野寺雅史）の研究手順を遵守し、フローサイトメトリー解析（FACS）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。FACS 解析は、当研究部内にフローサイトメトリーコアを設置し、常時患者血液の解析を行なっている（平成 27 年 268 検体、平成 28 年 396 検体）。さらに、免疫不全症患者の網羅的遺伝子解析（「免疫機能異常症における遺伝的要因の検索、研究責任者 小野寺雅史」）にも取り組んでおり、次世代シーケンサーによる候補遺伝子の同定に基づく、iPS 細胞やマウスモデルを利用した解析を通じて、新規原因遺伝子の特定を目指している。

4. レトロウイルスベクターにおける転写制御の解明

レトロウイルスは感染宿主において、遺伝子配列変化の伴わない後天的修飾（エピジェネティクス）によりその転写が制御されている。転写の抑制は **gene silencing** とよばれ、その機序はウイルスゲノムのメチル化と調節性転写因子の結合によりなされる。**Kruppel associated box**

containing zinc finger proteins (KRAB-ZFPs) ファミリーに属する ZFP809 は、N 末端に KRAB ドメイン、C 末端に 7 個の zinc finger (ZF) ドメインを有し、レトロウイルス内の抑制性転写因子結合部位である primer binding site (PBS) 内の negative responsible element (NRE) へ結合することで転写を抑制することがわかっているが、その詳細は不明であった。我々はまず、ZFP809 の KRAB ドメインの N 末端が KAP1 と作用することで、KAP1 依存性の遺伝子発現の抑制を起こすことを明らかにした。また、7 個の ZF ドメインにおいては、3-5 番目の ZF が PBS 配列への結合に最も重要であると判明した。さらに、各 ZF をつなぐリンカー配列内のスレオニンもしくはセリンをアラニンに置換することで(リン酸化変異)、ZFP809 の細胞の核内の局在が変化し、発現抑制能力が低下することがわかった。以上の研究を通じ、ZFP809 による遺伝子発現制御における各ドメインの関与を明らかにした。

4. ADA 欠損症に対する未承認薬アダジェンの治験に向けた研究

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。遺伝的に ADA が欠損する患者ではサルベージ回路の障害によって有害物質である dATP が全身に蓄積する。特に胸腺においてリンパ球が障害を受けるため、ADA 欠損症患者では生下時より重症複合免疫不全の病態を呈してしまう。造血幹細胞移植が唯一の根治的治療であるが、これまでの報告から HLA 一致血縁ドナーが不在の場合には、良好な移植成績が得られないことが多い。1986 年にウシ由来の ADA をポリエチレン・グリコールにて包埋した PEG-ADA (ADAGEN) が開発され、1990 年に FDA で承認を受けた後は米国をはじめとする海外で現在まで 150 名を越える患者が ADAGEN を酵素補充療法として受けており、移植ドナーが不在の ADA 患者に対する治療として確立されている。一方で我が国では依然として未承認薬であり、生物製剤であることから高額 (4,200 ドル) であり一般的な使用は未だ困難である。そのため、たとえ HLA 一致血縁ドナーが不在の場合でも、危険性が高い HLA 不一致の造血幹細胞移植を選択せざるを得ない状況になっている。

このような背景から、厚生労働省が開催した未承認薬使用問題検討会議に ADAGEN を申請し、平成 24 年 3 月 23 日に開催された会議において「医療上の必要性の高い未承認薬点適応外薬」として承認された。これまでに当センター病院免疫科にて診療中の ADA 欠損症患者 1 名に対して、ADAGEN の投与を続け、重症感染症などを回避することが可能であった。また、2016 年には、出生後早期に診断された 3 ヶ月の ADA 欠損症患者に対して、同じく ADAGEN の投与を行い、重症感染症発症前のリンパ球の回復傾向が認められた。このような経過を経て、2016

年度より帝人ファーマによるリコンビナント PEG-ADA (STM-279) の治験に参加しており、ADA 欠損症に対する酵素補充療法の医薬品承認申請を目指している。

【平成 27 年度研究業績】

1. 論文

[英文原著]

1. Otsu M, Yamada M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Hatano N, Toita N, Takezaki S, Okura Y, Kobayashi R, Matsumoto Y, Tatsuzawa , Tsuchida F, Kato S, Kitagawa M, Mineno J, Hershfield MS, Bali P, Candotti F, Onodera M, Kawamura N, Sakiyama Y, *Ariga T: Treatment Outcomes in Two Japanese Adenosine Deaminase-Deficiency Patients Treated by Stem Cell Gene Therapy with No Cytoreductive Conditioning. *Journal of Clinical Immunology* 2015; 35: 384-398.
2. Torii D, *Konishi K, Watanabe N, Goto S, Tsutsui T, Gementogenic potential of multipotential mesenchymal stem cells purified from the human periodontal ligament. *Odontology*. 2015; 103(1); 27-35.
3. Yoshida W, Tomikawa J, Inaki M, Kimura H, Onodera M, Hata K, *Nakabayashi K. An Insulator Element Located at the Cyclin B1 Interacting Protein 1 Gene Locus Is Highly Conserved among Mammalian Species. *PLoS One*. 2015; 10: e0131204.
4. Takeuchi Y, Takeuchi E, Ishida T, Onodera M, Nakauchi H, *Otsu M: Curative haploidentical BMT in a murine model of X-linked chronic granulomatous disease. *International Journal of Hematology* 2015; 102: 111-120.
5. *Kawai T, Arai K, Harayama S, Nakazawa Y, Goto F, Maekawa T, Tamura E, Uchiyama T, Onodera M: Severe and Rapid Progression in Very Early-Onset Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis. *Journal of Clinical Immunology*. 2015; 35(6):583-8.
6. Ichida Y, Utsunomiya Y, Yasuda T, Nakabayashi K, Sato T, *Onodera M. Functional domains of ZFP809 essential for nuclear localization and gene silencing. *PLoS One*. 2015; 10, e0139274.
7. Ichida Y, Utsunomiya Y, Tomikawa J, Nakabayashi K, Sato T, *Onodera M: Long time-course monitoring of ZFP809-mediated gene silencing in transgene expression driven by promoters containing MLV-derived PBS. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2015; 7:1-7.

8. Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T, Goto F, Watanabe N, Maekawa T, Ishigro A, Okuyama, T, Otsu M, Yamada M, Hershfield MS, Ariga T, *Onodera M: Effects of enzyme replacement therapy on immune function in ADA deficiency patient. **Clinical Immunology** **2015**; 161: 391-393.

[和文総論]

1. Kawai, T: A therapeutic approach towards chronic granulomatous disease. *Japanese Journal of Clinical Immunology*. 2014;37(6):437-446
2. 川本恵, 小野寺雅史: 造血幹細胞遺伝子治療の最近の進歩 *Annual Review 血液* 2015 中外医学社 48-55, 2015
3. 河合利尚: 慢性肉芽腫症、小児内科、東京医学社、2015
4. 河合利尚: Blau 症候群と若年発症サルコイドーシス、2015、リウマチ科、科学評論社

2. 学会発表

[国際学会 招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

該当なし

[国内学会 招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

1. 河合利尚: **慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療**、講演、第5回遺伝病遺伝子治療フォーラム, 東京, 2015/1/15
2. 内山徹: 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植、講演、第5回遺伝病遺伝子治療フォーラム, 東京, 2015/1/15
3. 小野寺雅史 「原発性免疫不全症に対する新たな治療法の展開」 第11回九州免疫フォーラム (H27.2.28 福岡)
4. 小野寺雅史 「クスリとしての遺伝子治療」 第14回日本再生医療学会総会・日本遺伝子治療学会ジョイントシンポジウム (H27.3.21 東京)
5. 小野寺雅史 成育が取り組む免疫不全症の新たな治療法 第6回北海道免疫不全症研究会特別講演 H27.6.20 札幌
6. 講演 小野寺雅史 我が国における遺伝子治療薬の治験実施とその課題 技術情報協会医薬品・医療機器セミナー H27.7.29 東京
7. 小野寺雅文 Hematopoietic stem cell gene therapy for primary immunodeficiency. 第77回

日本血液学会学術集会、シンポジウム、2015年10月16日、金沢

[国際学会一般演題]

1. Kawai T: Therapeutic application of subcutaneous immunoglobulin replacement therapy in secondary hypogammaglobulinemia, The 11th congress of ASPR 2015, Osaka. 2015.4.11
2. Tomono T, Hirai Y, Okada H, Chiyo T, Simada T, Onodera M, Okada T: Efficient scalable purification of rAAV1 using ion-exchange and gel-filtration chromatography to avoid ultracentrifugation procedure. The 18th Annual Meeting of American Society of Gene and Cell Therapy, New Orleans, LA. 2015.5.13-16
3. Igarashi Y, Uchiyama T, Wanatabe N, Nakazawa Y, Otsu M, Ariga T, Onodera M. A novel tracking system of transgene using droplet-based single cell PCR in hematopoietic stem cell gene therapy. European Society of Gene and Cell Therapy and Finnish Society of Gene therapy Collaborative Congress. Helsinki, 18/09/2015
4. Onodera M. Gene Therapy for primary immunodeficiencies in Japan. European Society of Gene and Cell Therapy and Finnish Society of Gene therapy Collaborative Congress. Helsinki, 18/09/2015

[国内学会一般演題]

7件

【平成27年度研究費】

公的研究費（研究代表者）

- 1) 厚生労働省 医薬品等審査迅速化事業（革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業） 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発にむけた安全性、有効性評価法の確立・ガイドライン作成・人材育成（代表）小野寺雅史（34,000,000円）
- 2) H27年度日本医療研究開発機構研究費 成育疾患克服等総合研究事業 国際共同治験に基づく小児稀少難病に対する遺伝子・細胞治療の実施とその支援体制の整備（代表）小野寺雅史、（分担）内山 徹（90,000,000円）
- 3) 日本医療研究開発機構研究費 創薬基盤推進研究事業 慢性肉芽腫症腸炎に対する小児用サリドマイド製剤の実用化に向けた研究（代表）河合利尚（H27年度50,000,000円）
- 4) 日本学術振興会科学研究費助成金 慢性肉芽腫症における炎症制御以上の機序および遺伝子治療に関する検討（代表）河合利尚（1,200,000円）

- 5) 日本学術振興会科学研究費補助金 若手研究 B 免疫不全症への遺伝子治療に向けた FV ベクターによる長期造血幹細胞への遺伝子導入 (代表) 内山徹 (1,200,000 円)

公的研究費 (研究分担者)

- 1) 日本医療研究開発機構研究費 難治性疾患実用化研究事業 GATA2 欠損症由来 iPS 細胞を用いた新規分化因子の同定 (分担) 小野寺雅史 (1,000,000 円)
- 2) 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診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立に関する研究 (分担) 小野寺雅史 (1,000,000 円)
- 3) 日本医療研究開発機構研究費 医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業) メディカル・ゲノムセンター等におけるゲノム医療実施体制の構築と人材育成に関する研究 (分担) 小野寺雅史 (0 円)
- 4) 日本医療研究開発機構研究費 難治性疾患実用化研究事業 小児科・産科領域疾患の大規模遺解析ネットワークとエピゲノム解析拠点整備 (分担) 小野寺雅史 (0 円)
- 5) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業) 自己炎症性疾患とその類縁疾患の診断基準、重症度分類、診療ガイドライン確立に関する研究 (分担) 河合利尚 (600,000 円)

【特許】 該当なし

【その他 (教育活動・広報など)】

[研究・教育活動]

- 1) 小野寺雅史 厚生科学審議官遺伝子治療臨床研究作業委員会委員
- 2) 小野寺雅史 筑波大学人間総合科学研究科 非常勤講師
- 3) 小野寺雅史 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 専門委員
- 4) 小野寺雅史 東京医科歯科大学 連携大学院教授
- 5) 小野寺雅史 大阪大学第二特定認定再生医療等委員会 委員
- 6) 小野寺雅史 薬事・食品衛生審議会 再生医療等製品・生物由来技術部会臨時委員
- 7) 河合 利尚 東京慈恵会科大学 小児科学講座 分子免疫学講座 非常勤講師
- 8) 内山 徹 東北大学医学部 小児科学講座 非常勤講師

[広報など]

なし

[学会等の活動]

1) 小野寺雅史 日本遺伝子治療学会 理事

[栄誉・表彰] 該当なし

[社会活動] 該当なし

[海外活動] 該当なし

[研究所運営への貢献]

- 1) 小野寺雅史 遺伝子組換え実験安全委員会 委員
- 2) 小野寺雅史 倫理予備審査委員会基礎医学研究部会 副部会長
- 3) 小野寺雅史 研究所バイオバンク細胞管理室長

[その他] 該当なし

【平成 28 年度研究業績】

1. Ichida Y, Utsunomiya Y, *Onodera M: Effect of the linkers between the zinc fingers in zinc finger protein 809 on gene silencing and nuclear localization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016; 471: 533-538.
2. Obayashi N, *Arai K, Nakano N, Mizukami T, Kawai T, Yamamoto S, Shimizu H, Nunoi H, Shimizu T, Tang J, Onodera M: Leopard skin-like colonic mucosa: A novel endoscopic finding of chronic granulomatous disease-associated colitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016; 62: 56-59.
3. Ichida Y, Utsunomiya Y, *Onodera M: The third to fifth zinc fingers play an essential role in the binding of ZFP809 to the MLV-derived PBS. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016; 469: 490-494.
4. Tomono T, Hirai Y, Okada H, Adachi K, Ishii A, Shimada T, Onodera M, Tamaoka A, *Okada T: Ultracentrifugation-free chromatography-mediated large-scale purification of recombinant adeno-associated virus serotype 1 (rAAV1). *Molecular Therapy Methods and clinical Development*. 2016; 3: 15058.
5. Nagaya M, Watanabe M, Kobayashi M, Nakano K, Arai Y, Asano Y, Takeishi T, Umeki I, Fukuda T, Yashima S, Takayanagi S, Watanabe N, Onodera M, Matsunari H, Umeyama K, *Nagashima H. A transgenic-cloned pig model expressing non-fluorescent modified Plum. *Journal of Reproduction and Development*. 2016; 62(5); 511-520.

6. Kawano Y, *Nakae J, Watanabe N, Kikuchi T, Tateya S, Tamori Y, Kaneko M, Abe T, Onodera M, Itoh H. Colonic Pro-Inflammatory Macrophages Cause Insulin Resistance in an Intestinal Ccl2/Ccr2-Dependent Manner. *Cell Metabolism*. 2016; 24: 295-310.
7. Ikawa Y, Uchiyama T, Jagadeesh GJ, *Candotti F. The long terminal repeat negative control region is a critical element for insertion oncogenesis after gene transfer into hematopoietic progenys with Moloney murine leukemia viral vectors. *Gene therapy*. 2016; 23(11):815-818.
8. Okuno M, Kasahara Y, Onodera M, Takubo N, Okajima M, Suga S, Watanabe N, Suzuki J, Ayabe T, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Yokota I, Kikuchi T, Amemiya S, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Ogata T, *Fukami M, Sugihara S. Nucleotide substitutions in CD101, the human homolog of a diabetes susceptibility gene in non-obese diabetic mouse, in patients with type 1 diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*. 2016 (in press)
9. Naiki Y, Miyado M, Horikawa R, Katsumata N, Onodera M, Pang S, Ogata T, *Fukami M. Extra-adrenal induction of Cyp21a1 ameliorates systemic steroid metabolism in a mouse model of congenital adrenal hyperplasia. *Endocrine Journal*. 2016; 63: 897-904.

[和文総論]

1. 小野寺雅史 我が国の遺伝子治療実施に関する現状 *Pharmstage* 15: 29-35, 2016.
2. 小野寺雅史 遺伝性疾患に対する遺伝子治療 *BioIndustry* 32: 41-48, 2015.
3. 小野寺雅史 IPEX 症候群 *小児科診療* 79 suppl 205, 2016
4. 小野寺雅史 慢性肉芽腫症 *遺伝子医学 MOOK30* 141-145, 2016

2. 学会発表

[国際学会 招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

該当なし

[国内学会 招待講演・特別講演・シンポジウム・ワークショップ]

1. Uchiyama T: Hematopoietic stem cell gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome. 第22回日本遺伝子治療学会学術集会、シンポジウム、2016. 7. 28, 東京

[国際学会一般演題]

1. Kawai T, Okamura K, Yagita M, Goto F, Nakazawa Y, Uchiyama T, Nakabayashi K, Nunoi H, Harry Malech, Onodera M: A Gene Therapy Clinical Study of a Patient with X-linked Chronic Granulomatous Disease, The 19st Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy, Washington DC. 2016.5.4-7
2. Nakakuni M. A PBPK model of phenytoin after intravenous administration of fosphenytoin sodium in Japanese pediatric patients. World Conference on Pharmacometrics 2016. Brisbane, Australia. 2016.8.21-24

[国内学会一般演題]

9件

【公的研究費】

公的研究費（研究代表者）

- 1) 日本医療研究開発機構研究費 難治性疾患実用化研究事業 原発性免疫不全症に対する ex vivo 遺伝子・細胞治療の治験実施体制の構築と人材育成に関する研究(代表)小野寺雅史、(分担)内山 徹 (59,930,000 円)
- 2) 日本医療研究開発機構研究費 医薬品等規制調和・評価研究事業遺伝子治療におけるカルタヘナ法の第一種使用規程の考え方に関する研究（代表）小野寺雅史（123,000,000 円）
- 3) 厚生労働省 医薬品等審査迅速化事業（革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業） 遺伝性難病に対する遺伝子治療薬の臨床開発にむけた安全性、有効性評価法の確立・ガイドライン作成・人材育成（代表）小野寺雅史（34,000,000 円）
- 4) 日本医療研究開発機構研究費 創薬基盤推進研究事業 慢性肉芽腫症腸炎に対する小児用サリドマイド製剤の実用化に向けた研究（代表）河合利尚（50,000,000 円）
- 5) 日本学術振興会科学研究費助成金 慢性肉芽腫症における炎症制御以上の機序および遺伝子治療に関する検討（代表）河合利尚（1,200,000 円）
- 6) 日本学術振興会科学研究費補助金 若手研究 B 免疫不全症への遺伝子治療に向けた FV ベクターによる長期造血幹細胞への遺伝子導入（代表）内山徹（1,600,000 円）

公的研究費（研究分担者）

- 1) 日本医療研究開発機構研究費 難治性疾患実用化研究事業 GATA2 欠損症由来 iPS 細胞を用いた新規分化因子の同定（分担）小野寺雅史（988,000 円）
- 2) 平成 27-28 年度厚生労働省 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

- 免疫不全症候群の診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立に関する研究（分担）小野寺雅史（800,000円）
- 3) 日本医療研究開発機構研究費 難治性疾患実用化研究事業 小児科・産科領域疾患の大規模遺解析ネットワークとエピゲノム解析拠点整備（分担）小野寺雅史（0円）
- 4) 日本医療研究開発機構研究費 医療技術実用化総合研究事業（臨床研究・治験推進研究事業）メディカル・ゲノムセンター等におけるゲノム医療実施体制の構築と人材育成に関する研究（分担）小野寺雅史（0円）
- 5) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）自己炎症性疾患とその類縁疾患の診断基準、重症度分類、診療ガイドライン確立に関する研究（分担）河合利尚 700,000円

【特許】 該当なし

【その他（教育活動・広報など）】

[研究・教育活動]

- 1) 小野寺雅史 厚生科学審議官遺伝子治療臨床研究作業委員会委員
- 2) 小野寺雅史 筑波大学人間総合科学研究科 非常勤講師
- 3) 小野寺雅史 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 専門委員
- 4) 小野寺雅史 東京医科歯科大学 連携大学院教授
- 5) 小野寺雅史 大阪大学第二特定認定再生医療等委員会 委員
- 6) 小野寺雅史 薬事・食品衛生審議会 再生医療等製品・生物由来技術部会臨時委員
- 7) 河合 利尚 東京慈恵会科大学 小児科学講座 分子免疫学講座 非常勤講師
- 8) 内山 徹 東北大学医学部 小児科学講座 非常勤講師

[広報など]

なし

[学会等の活動]

- 2) 小野寺雅史 日本遺伝子治療学会 理事

[栄誉・表彰] 該当なし

[社会活動] 該当なし

[海外活動] 該当なし

[研究所運営への貢献]

- 4) 小野寺雅史 遺伝子組換え実験安全委員会 委員
- 5) 小野寺雅史 倫理予備審査委員会基礎医学研究部会 副部長
- 6) 小野寺雅史 研究所バイオバンク細胞管理室長

[その他] 該当なし