

平成10年度厚生科学研究費補助金
(ヒトゲノム・遺伝子治療 研究事業) 報告書

研究課題「ADA欠損症における遺伝子治療臨床研究」

(課題番号 : H10-ゲノム-029)

北海道大学医学部小児科
総括責任者 小林 邦彦

(総括・分担・総合) 研究報告書

ADA欠損症における遺伝子治療臨床研究

主任研究者 小林 邦彦 北海道大学医学部小児科

研究要旨

我々はアデノシンデアミナーゼ欠損症患者に対する遺伝子治療を平成7年8月から平成9年3月まで実施した。患者免疫機能の改善が確認されたことから、その後遺伝子導入細胞の投与を一時中断し、酵素補充療法、諸検査を継続しながら、患児免疫機能の総合的評価、導入遺伝子の体内動態の検討、遺伝子治療に関わる安全性の評価を行った。その結果、治療中断後2年間の経過観察でも遺伝子治療の持続的な有効性と安全性を再確認した。末梢血T細胞の寿命は限られているため、今後も患児の慎重な経過観察とさらに長期間の客観的評価が重要である。

A. 研究目的

「アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療臨床研究実施計画書」に基づいて平成7年8月から平成9年3月まで遺伝子治療を実施し、患児の免疫機能が再建された。本研究は、遺伝子治療中断後に、ADA酵素補充療法を継続しながら遺伝子治療の有効性、安全性について長期的、客観的評価を行うことを目的とした。さらに、恒久的な免疫機能の再建を目指して血液幹細胞を標的とした遺伝子治療の実用化に向けた基礎研究も合わせて目的とした。

B. 研究方法

1) ADAGENによるADA酵素補充療法(週1回、1バイアル筋肉内注射)を継続した。2) 遺伝子治療中断後の患者の臨床経過、一般血液生化学検査、リンパ球機能検査、増殖性レトロウイルス検査、遺伝子導入細胞の検索等を経時的に実施した。3) 臍帯血CD34陽性細胞へのADA遺伝子導入基礎実験として、フィブロネクチン、Flt3リガンド等を使用した場合の遺伝子導入効率を幹細胞コロニー形成法、半定量PCR法等で判定した。

C. 研究結果

平成9年3月で遺伝子治療を一時中断し、その後はADA酵素補充療法を継続しながら、患児の免疫機能の評価、導入遺伝子の体内動態の検討、遺伝子治療に関わる安全性の評価等を行い以下の結果を得た。

1) 患児の末梢血リンパ球数は、引き続き1,000/ μ l前後を維持している。2) 患児の末梢血で一時的に増加していたCD8陽性T細胞の比率が次第に正常化してきている。3) 患児末梢血単核球で導入遺伝子が継続して検出されている。4) 患児末梢血単核球でのADA活性は8~10単位(機能的に有効なレベル)を維持している。5) 患児の免疫学的検査では、遅延型皮膚反応、同種血球凝集素価や各種ワクチンに対する特異抗体反応などが正常レベルに維持されている。静注用グロブリン製剤の定期的投与は中止しているが、血清免疫グロブリン値はほぼ正常域を維持している。6) T細胞機能検査でもほぼ正常反応を認めている。7) これまでに特別な副作用は認められていない。8) 増殖性レトロウイルス検査は全て陰性であった。9) 患児は普通の学校生活を送りながら感染症の重症化もなく良好に経過して

いる。10) 臍帯血CD34陽性細胞へのADA遺伝子導入基礎実験では、フィブロネクチン、Flt3リガンドの併用により相加的な遺伝子導入効率の上昇が確認された。

D. 考察

遺伝子治療治療中断後比較的長期間の効果と安全性が確認されたが、今回の治療の標的細胞である末梢血T細胞の寿命を考慮すると、治療効果の持続には限界があると考えられる。そこで、今後も慎重な経過観察が重要であり、効果が減弱してきた場合の具体的な治療法の検討も必要である。そのひとつの可能性として、血液幹細胞を標的とした遺伝子治療の臨床応用に向けた基礎研究も重要と考えられる。

E. 結論

レトロウイルスベクターを用いて末梢血T細胞を標的とした今回の遺伝子治療臨床研究では、治療中断後2年間の経過観察により遺伝子治療の持続的な有効性と安全性が確認された。また、血液幹細胞への遺伝子導入法としてフィブロネクチン、Flt3リガンドの有用性を確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawamura N, Ariga T, Ohtsu M, Yamada M, Tame A, Furuta H, Kobayashi I, Okano M, Yanagihara Y, Sakiyama Y: Elevation of serum IgE level and peripheral eosinophil count during T lymphocyte-directed gene therapy for ADA deficiency: implication of Tc2-like cells after gene transduction procedure. *Immunol Letter* 64: 49-53, 1998
- 2) Onodera M, Ariga T, Kawamura N, Kobayashi I, Ohtsu M, Yamada M, Tame A, Furuta H, Okano M, Matsumoto S, Kotani H, McGarrity GJ, Blaese RM, Sakiyama Y: Successful peripheral T-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe deaminase deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Blood* 91: 30-36, 1998
- 3) Egashira M, Ariga T, Kawamura N, Miyoshi O, Niikawa N, Sakiyama Y: Visible integration of the adenosine deaminase (ADA) gene into the recipient genome after gene therapy. *Am J Med Genet* 75: 314-317, 1998

2. 学会発表

第28回日本免疫学会総会: ADA遺伝子治療中断後の導入遺伝子及び免疫機能の推移(1998年12月)