

平成11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)

北海道大学医学部遺伝子治療講座  
総括責任者 嶋山幸雄

# (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 崎山 幸雄 北海道大学医学部遺伝子治療

### 研究要旨

アデノシンデアミナーゼ(ADA)欠損症患者に対する遺伝子治療は平成7年8月から平成9年3月まで実施された。遺伝子治療によって免疫機能の改善が確認されて、遺伝子導入細胞の投与は中断されている。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が酵素補充療法を継続しながら解析された。治療中断後3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が再確認された。末梢血T細胞の生存期間は限られるため、今後も慎重な経過観察とさらに長期間の客観的評価が重要と考える。

### 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月まで遺伝子治療が実施された。本研究は、遺伝子治療の中断後に遺伝子治療の有効性、安全性について酵素補充療法を継続しながら長期的、客観的評価を行うことを目的とした。さらに、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が経時的に実施された。3) 臍帯血CD34陽性細胞へのADA遺伝子導入基礎実験として、新規レトロウイルスベクターPG13/ADA(MPSV)、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半定量PCR法等で判定した。

### C. 研究結果

1. 遺伝子治療後はADAGEN14.4単位/kg体重の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) ADAEGNIは遺伝子治療前25単位/kg体重/週から14.4単位/kg体重/週に減量が可能になった。2) 中断後の末梢血リンパ球数は、500~1,000/ $\mu$ L前後を維持している。3) 導入遺伝子は末梢血単核球の5~10%に継続して検出されている。4) 末梢血単核球中ADA活性は5~10単位を維持し、抗CD3抗体による試験管内刺激によって20~30単位に増加を認める。5) 特異抗体の上昇、正常域の血清免疫グロブリン値を維持して静注用グロブリン製剤の定期的投与は中止している。6) 特別な副作用は認められていない。7) 増殖性レトロウイルス検査は全て陰性であった。8) 患児は普通の学校生活を送りながら易感染性もなく良好に経過している。

2. 臍帯血CD34陽性細胞へのADA遺伝子導入基礎実験では、PG13/ADA(MPSV)を用いてフィブロネクチン、Flt3リガンド、TPO、SCF、IL-6の併用により

LASNに比して30~40倍の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、3年間の効果と安全性が確認されたが、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、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

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3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新規レトロウイルスベクターとフィブロネクチン、Flt3リガンド、SCF、TPO、IL-6の有用性が示唆された。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Yuki Yoshi Yanagihara, Keiichi Kajiwara, Takehiro Koshio, Yuji Basaki, Koichi Ikezawa, Miyuki Mori, Kazuo Akiyama, Nobuaki Kawamura, Yukio Sakiyama: Production of IL-4 and expression of CD40 ligand by human CD8+T cells. J Allergy Clin Immunol 103:s405-11, 1999

2) Nobuaki Kawamura, Tadashi Ariga, Makoto Ohtsu, Ichiro Kobayashi, Masafumi Egashira, Norio Niikawa, Kunitiko Kobayashi, Yukio Sakiyama: In vivo kinetics of transduced cells in peripheral T cell-directed gene therapy: role of CD8+ cells in improved immunological function in an adenosine deaminase(ADA)-SCID patient. J Immunol., 163:2256-2261, 1999

#### 2. 学会発表

崎山幸雄：遺伝子治療の現況—アデノシンデアミナーゼ欠損症の経験—、特別講演、第18回日本歯科薬物療法学会、札幌市、1999

崎山幸雄：シンポジウム：遺伝子治療の現状と将来、アデノシンデアミナーゼ欠損症における遺伝子治療、第73回日本薬理学会年会、東京都、2000