SKD1のdominant negative変異体(SKD1E235Q)は動物細胞において酵母におけるClass E vps変異体と同様な表現型を示す」日本分子生物学会 (2001年12月)

今村加奈子、藤田英明、田中嘉孝、内村聖子、梅月雄介、奈良篤樹、吉森保、林崎良英、河合純、姫野勝 「SKD1 結合蛋白質群 SBPs(SBP1, 2, 3)の機能解析」日本分子生物学会 (2001年12月)

梅田篤、田中嘉孝、藤田英明、姫野勝「Niemann-Pick病type C細胞におけるリソソーム機能解析」日本薬学会九州支部大会 (2001年12月)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

ライソゾーム性筋疾患の病態解明と治療法開発に関する研究

異なる血清型のAAVベクターによるacid maltase遺伝子導入の比較検討

分担研究者　辻野　精一　国立精神・神経センター
神経研究所疾病研究第５部室長
研究協力者　水上　浩明、小澤　敬也
自治医科大学遺伝子治療研究部

研究要旨：アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは非分裂細胞への遺伝子導入効率に優れ、かつ免疫原性が低く野生型ウイルスでさえ病原性がないという点から遺伝子治療に用いるベクターとして期待されている。最近その血清型により生物種、組織の遺伝子導入効率が異なることが知られるようになってきた。一方、ライソゾーム性筋疾患のひとつであるacid maltase(AM)欠損症には重篤な病型があるがその治療法はいまだ確立されていない。今回異なる血清型のAAVベクターによるAMノックアウトマウス(KOM)へのAM遺伝子導入の比較検討したところ従来用いていた2型に対し5型の効率が非常によくAM-KOMを用いた遺伝子治療研究に有用と思われた。

A. 研究目的

AM欠損症には重篤な病型があるがその治療法はいまだ確立されていない。将来的な遺伝子治療を目指してAAVベクターの血清型によるAM遺伝子導入発現効率を比較検討した。

B. 研究方法

ヒトの培養線維芽細胞(Fb)およびAM-KOMのFbと胴体筋組織に3種の血清型のAM発現またはLacZ発現AAVベクター(AAV2, AAV3, AAV5)で遺伝子導入した後酵素活性を測定し、染色するなどの方法により解析した。モデル動物の取り扱いに関しては必要以上の苦痛を与えないよう十分配慮した。

C. 研究結果

ヒトのFbには3種の血清型AAV-AMはほぼ同様にAM活性を発現したが、AM-KOMのFbではAAV5-AMとAAV3-AM (5>3)がAAV2-AMに比べ明らかに効率が良かった。またAM-KOMの*in vivo*筋組織においてもAAV5-AMがAAV2-AMに比べ著明に効率が良かった。LacZをマーカーとしても同様の結果を得た。

D. 考察

AAV5はAM-KOMに対する遺伝子導入発現効率が従来用いていたAAV2に比べ格段に良く、AAV5-AMを用いたマウスでの治療実験が期待できた。

E. 結論

少なくともこのAM-KOMのストレインではFbでも筋組織でもAAV5の感受性が高く遺伝子治療研究に有用と思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Miyamoto T. Kanazawa N. Kato S, Kawakami M. Inoue Y. Kuhara T. Inoue T, Takeshita K, Tsujino S.
Diagnosis of Japanese patients with HHH syndrome by molecular genetic analysis: a common mutation, R179X.
J Hum Genet 46: 260-262, 2001.

Miyamoto T. Kanazawa N. Hayakawa C, Tsujino S.
A novel mutation, P126R, in a Japanese patient with HHH syndrome.
Pediatric Neurology 26: 65-7, 2002

Shiroma N. Kanazawa N. Izumi M. Sugai K, Fukumizu M. Sasaki M. Hanaoka S. Kaga M, Tsujino S.
Diagnosis of Alexander disease in a Japanese patient by molecular genetic analysis.
J Hum Genet 46: 579-582, 2001.

大矢寧、森田浩之、小川雅文、埜中征哉、辻野精一、川井充
顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー類似の筋罹患分布を示した成人型酸性マルターゼ欠損症の1例
臨床神経学 第41巻、390-396、2001

2. 学会発表

辻野精一、宮本健、水上浩明、小澤敬也、Nina Raben：AAV ベクターを用いた acid maltase 遺伝子導入の検討，第42回日本神経学会総会 平成13年5月11日 東京

金澤直美、井原健二、斉藤豊和、辻野精一
Acid maltase遺伝子新規ナンセンス変異とアミノグリコシド系抗生物質の読み飛ばし効果の検討
第44回日本先天代謝異常学会 平成13年11月8日 久留米

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ．　研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名: 論文タイトル名, 発表誌名 巻号: ページ, 出版年
1) Nishino I, Fu J, Tanji K, Yamada T, Shimojo S, Koori T, Mora M, Riggs JE, Oh SJ, Koga Y, Sue CM, Yamamoto A, Murakami N, Shanske S, Byrne E, Bonilla E, Nonaka I, DiMauro S, Hirano M: Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). Nature 406: 906-910, 2000
2) Tanaka Y, Guhde G, Suter A, Eskelinen EL, Hartmann D, Lullmann-Rauch R, Janssen PM, Blanz J, Figura K, Saftig P: Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice. Nature 406: 902-906, 2000
3) Yamamoto A, Morisawa Y, Verloes A, Murakami N, Hirano M, Nonaka I, Nishino I: Infantile autophagic vacuolar myopathy is distinct from Danon disease. Neurology 57: 903-905, 2001
4) Nishino I, Yamamoto A, Sugie K, Hirano M, Nonaka I: Danon disease and related disorders. Acta Myologica 20: 120-124, 2001
5) Nishino I, Hirano M, DiMauro S: LAMP-2 deficiency. Structural and Molecular Basis of Skeleta Muscle Diseases (Karpati G ed.) pp142-144, ISN Neuropath Press, Basel, 2002
6) 西野一三: Danon 病. 骨格筋症候群. 日本臨牀 別刷 領域別症候群シリーズ 36: 225-229, 2001
7) 西野一三: 過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー. 骨格筋症候群. 日本臨牀 別刷 領域別症候群シリーズ 36: 230-232, 2001
8) 西野一三: 心筋症とミオパチー. 日本小児科学会雑誌 105: 671-680, 2001
9) Ozawa E, Nishino I, Nonaka I: Sarcolemmopathy: muscular dystrophies with cell membrane defects. Brain Pathol 11: 218-230, 2001
10) Ikemoto-Tsuchiya K, Nishino I, Kawai M, Morimatsu M, Nonaka I: A new form of muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities. Muscle Nerve 24: 1710-1711, 2001
11) 田中嘉孝, 藤田英明: リソソーム膜蛋白質の機能. 蛋白質核酸酵素 46: 2133-2139, 2001
12) 宮本健, 辻野精一: 酸性マルターゼ欠損症. 骨格筋症候群. 日本臨牀 別刷 領域別症候群シリーズ 36: 8-13, 2001
13) Shiroma N, Kanazawa N, Izumi M, Sugai K, Fukumizu M, Sasaki M, Hanaoka S, Kaga M, Tsujino S: Diagnosis of Alexander disease in a Japanese patient by molecular genetic analysis. J Hum Genet 46: 579-582, 2001
14) Umeda T, Kouchi Z, Kawahara H, Tomioka S, Sasagawa N, Maeda T, Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K: Limited proteolysis of filamin is catalyzed by caspase-3 in U937 and Jurkat cells. J Biochem 130: 535-542, 2001

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷

1) Nishino I, Fu J, Tanji K, Yamada T, Shimojo S, Koori T, Mora M, Riggs JE, Oh SJ, Koga Y, Sue CM, Yamamoto A, Murakami N, Shanske S, Byrne E, Bonilla E, Nonaka I, DiMauro S, Hirano M: Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease) …… 27

2) Tanaka Y, Guhde G, Suter A, Eskelinen EL, Hartmann D, Lullmann-Rauch R, Janssen PM, Blanz J, Figura K, Saftig P: Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice …… 32

3) Yamamoto A, Morisawa Y, Verloes A, Murakami N, Hirano M, Nonaka I, Nishino I: Infantile autophagic vacuolar myopathy is distinct from Danon disease …… 37

4) Nishino I, Yamamoto A, Sugie K, Hirano M, Nonaka I: Danon disease and related disorders …… 40

5) Nishino I, Hirano M, DiMauro S: LAMP-2 deficiency …… 45

6) 西野一三: Danon 病 …… 48

7) 西野一三: 過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー …… 53

8) 西野一三: 心筋症とミオパチー …… 56

9) Ozawa E, Nishino I, Nonaka I: Sarcolemmopathy: muscular dystrophies with cell membrane defects …… 66

10) Ikemoto-Tsuchiya K, Nishino I, Kawai M, Morimatsu M, Nonaka I: A new form of muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities …… 79

11) 田中嘉孝, 藤田英明: リソソーム膜蛋白質の機能 …… 81

12) 宮本健, 辻野精一: 酸性マルターゼ欠損症, 骨格筋症候群 …… 88

13) Shiroma N, Kanazawa N, Izumi M, Sugai K, Fukumizu M, Sasaki M, Hanaoka S, Kaga M, Tsujino S: Diagnosis of Alexander disease in a Japanese patient by molecular genetic analysis …… 94

14) Umeda T, Kouchi Z, Kawahara H, Tomioka S, Sasagawa N, Maeda T, Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K: Limited proteolysis of filamin is catalyzed by caspase-3 in U937 and Jurkat cells …… 98

20010649

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。