

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）

分担研究報告書

アデノ随伴ウイルスベクターに対する中和抗体と遺伝子治療への影響に関する検討  
研究分担者 水上浩明 自治医科大学分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部  
教授

研究要旨 AAVベクターを用いた遺伝子治療の効果に影響することが懸念される因子として代表的なものである、ベクターに対する中和抗体に関して検討を行った。肝臓への遺伝子導入に際しては中和抗体の有無は効果に直結したが、パーキンソン病臨床研究における中枢神経系への遺伝子導入に際しては、中和抗体は効果に影響を与えていなかった。抗体価が非常に高い場合の影響に関しては検討できておらず、この点は今後の課題といえる。また、日本人全体としては中和抗体の陽性率は約3割で、年齢による大きな違いがあり、若年層では低下する傾向が認められた。

### A. 研究目的

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いた遺伝子治療法の成功例が増えてきており、有効性と安全性に関する情報が蓄積してきた。一方、AAVベクターに対する中和抗体が存在する場合には、血液中への通常の投与方法では効果が得られないことが懸念されている。本研究ではこのようなベクターに対する中和抗体の問題につき検討し、遺伝子治療を確実に実施することを目的とした。

### B. 研究方法

・パーキンソン病遺伝子治療臨床研究における中和抗体と治療効果の解析：2007年から本学で実施されたパーキンソン病遺伝子治療臨床研究に関して、結果を改めて解析すると共に、保存されていたサンプルを必要に応じて最新の高感度測定法を用いて再測定した。

・血友病遺伝子治療前臨床研究における中和抗体と治療効果の解析：実験対象となったサルの遺伝子導入前の中和抗体を測定し、治療効果との関連を検討した。また、医薬基盤研・霊長類医科学研究センターのカニクイザル188頭に関して中和抗体陽性率を検討した。

・日本人における中和抗体陽性率の解析：日本国内の健常者85人、血友病患者59人を対象

とした解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、非病原性のAAVに由来するベクターの開発とその応用を目指したものであり、周辺環境および実験従事者の安全性に関して、倫理的な問題が生ずることは基本的にないものと考えている。マウスを用いた動物実験は自治医大で実施するが、動物倫理面（動物愛護上の配慮など）を含めて自治医大動物実験指針規定に沿って行った。医薬基盤研・霊長類医科学研究センターとの共同研究として実施するサルの実験では、国立感染症研究所「動物実験ガイドライン」および霊長類医科学研究センター「サル類での実験遂行指針」を遵守して行った。また、ヒトサンプルの取扱いに際しては非連結匿名化を行い、測定結果と本人が関連づけられないように配慮した上で実施した。

### C. 研究結果

・パーキンソン病遺伝子治療臨床研究における中和抗体の解析：本臨床研究の対象となった6名の治療前の中和抗体の状況は、2名が陰性、2名が弱陽性、2名が中等度陽性であった。治療前の中和抗体の力価と治療効果の間には関連を認めなかった。また、注入後の

中和抗体は全例で陽性となっており、全例で2週間後に力価の上昇が認められ、半年後にも上昇した状態は続いていた。

・血友病遺伝子治療の前臨床研究における中和抗体と治療効果の解析：この検討では8型のベクターを末梢静脈から注入した。対象となったサルでの遺伝子導入前の中和抗体は3例で陽性、4例で陰性であった。中和抗体陰性例では全例で治療域に達する凝固第 因子濃度が得られた。一方、中和抗体陽性例では効果を認めた個体はなかった。また、医薬基盤研・霊長類医科学研究センターのカニクイザルでは、8型に対する中和抗体陽性率は71.3%であった。

・日本人における中和抗体陽性率の解析：日本国内の健常者85人、血友病患者59人を対象とした測定したところ、いずれのグループでも約3割が陽性との結果を得た。この結果を更に年齢別に検討したところ、年代が下がるにつれて陽性率が下がる傾向が認められた。

#### D. 考察

AAVベクターを用いる遺伝子治療に際してはさまざまな組織が標的となっており、中枢神経系への遺伝子導入には2型が好適で、神経細胞に特異性の高い効果が得られる。肝臓を標的とする場合には静脈内投与で効果が期待できる8型が最も有望と考えられている。一方で、サルでは8型に対する中和抗体の陽性率が高く、中和抗体が存在する場合には遺伝子導入に成功していない。一般に中枢神経系を標的にする場合のように組織に直接注入する際には血液中への投与に比べて中和抗体の影響は受けにくいと考えられており、今回の検討結果もこの説を支持するものである。中和抗体の力価が非常に高い場合には影響する可能性があるが、今のところ詳細は不明である。中和抗体の測定法に関しては我々も改良を加えてきており、世界的に見ても最も鋭敏な検出法として確立できたものと考えられる。日本人における陽性率に関してはこれまで検討されていなかったが、いずれの血清型においても陽性率は約3割であり、他の先進

諸国と大きな差はなかった。若年層で陽性率が低くなっている理由は明らかではないが、A型肝炎ウイルスなどでも同様の事象が認められており、公衆衛生の改善、特に下水道の整備による経口感染の減少が影響している可能性がある。今後の追跡調査が必要であるが、この傾向は遺伝子治療の効果が期待できる対象が増えることを意味しており、AAVベクターを用いた遺伝子治療を広く進めていく上で有利な知見である。

台湾で12月に行われたAADC国際シンポジウムでは台湾のAADC症例において中和抗体陽性率が極めて低いことが話題となった。台湾全体における中和抗体陽性率のデータがないので正確な議論は出来ないが、他の国々と同等と仮定すると、幼少時における同年代の子ども達からの感染の機会が少ないことが影響しているのではないかと思料される。

#### E. 結論

AAVを用いた遺伝子治療法に影響しうる因子として治療前の中和抗体につき検討した。肝臓に対する遺伝子治療の際には中和抗体の存在により効果の著明な減弱が認められたが、中枢神経系を対象とした場合には影響は明らかでなかった。高力価の場合には影響する可能性があることから、今後もこの点に留意しつつ、臨床への展開を進めていきたい。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tsukahara, T., Iwase, T., Kawakami, K., Iwasaki, M., Yamamoto, C., Ohmine, K., Uchibori, R., Teruya, T., Ido, H., Yasushi, S., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Nakamura, M., Brentjens, R., Ozawa, K.: The Tol2 transposon system mediates the genetic engineering of T-cells with CD19-specific chimeric antigen receptors for B-cell malignancies. **Gene Ther**, *in press*.

Mimuro, J., Mizukami, H., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa,

S., Sakai, M., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K., Sakata, Y.: Prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. **J Med Virol**, 86:1990-7, 2014.

## 2. 学会発表

Mizukami, H.: “Immune responses in hemophilia gene therapy” in Symposium II, Genetic diseases. The 20<sup>th</sup> Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy, Tokyo, August 6-8, 2014.

Mizukami, H., Mimuro, J., Ohmori, T., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa, S., Sakai, M., Uchibori, R., Tsukahara, T., Urabe, M., Kume, A., Madoiwa, S., Sakata, Y., Ozawa, K.: Age-related eligibility of hemophilia gene therapy using AAV vectors. The 76<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Osaka, Oct. 31-Nov. 2, 2014.

## H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし