

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

脳クレアチン欠乏症候群の病態解明に対する研究

分担研究者 小坂仁 自治医科大学小児科 教授

昨年度に引き続きクレアチントランスポーター欠損症同様の小児期発症のトランスポーター疾患である、グルコーストランスポーター1型欠損症( GLUT1DS )の治療研究を行った。GLUT1DS は、脳組織への糖輸送障害が原因の疾患であり、根本治療を目指し、アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus; AAV) ベクターを用いて、GLUT1DS モデルマウス (GLUT1<sup>+/-</sup>マウス) に対する遺伝子治療開発を試みた。AAV-GLUT1 脳室内投与後、外因性 GLUT1 蛋白は、大脳皮質、海馬、視床において、主として血管内皮細胞に発現し、有意な運動機能改善および髄液糖上昇を認めた。小児期遺伝性神経疾患は、それぞれの症例数は 100 例前後と希少で種類の多い疾患からなり、Glut1 欠損症の治療成功は同様のクレアチントランスポーター欠損症への路を拓くものと考えられる。

研究協力者

中村幸恵 自治医科大学小児科

A . 研究目的

小児期発症の遺伝性神経難病は根本的治療がなく、それぞれの罹患患者数は 100 名未満であるが、数百種類にのぼり、合計での罹患患者数は数千人にのぼり、大きなアンメット・メディカル・ニーズとなっている。アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは、神経細胞に効率よく遺伝子導入し長期発現させることが可能である。これら遺伝性神経疾患は遺伝子機能喪失変異による発症が多く、AAV ベクターが共通の治療戦略として最適であると考えた。そのさきがけとして本邦での罹患者が比較的多く、レジストリが整備され、治験・企業化が可能であるグルコーストランスポーター 1 (Glucose transporter ; 1Glut1)欠損症の治療に取り組んだ。使用する改変型 AAV ベクターは血液脳関門・髄液脳関門を通過し、広範な中枢神経領域に治療用遺伝子を送達するために開発してきた。このベクターを使用して、筋萎縮性側索硬化症や Tay-Sachs 病などの遺伝子治療法の開発が先行している。Glut1 欠損症では、機能解析系の作成にも成功し、最適なプロモーターを選定し、特許出願するとともにモデルマウスの治

療により、生化学的異常（髄液糖低値）、症状の消失（運動失調の消失）に成功しており、GLUT1DS 治療研究を本年度も引き続き、動物モデルで行い、この治療を成功させることで、今後クレアチントランスポーター欠損症に適応することを目指した。

B . 研究計画・方法（概要）

今年度は、ヒト GLUT1 promoter 領域 (305 塩基対) を用いた、*SLC2A1* cDNA 組込 AAV ベクター (AAV-GLUT1) を作成し、6 週齢 GLUT1<sup>+/-</sup>マウスに合計  $6.5 \times 10^{10}$  vg/匹を脳室内投与した。投与後、脳組織における *GLUT1* mRNA および蛋白発現、運動機能評価 (rota-rod test)、髄液糖測定を行った。同時に、6 週齢マウスに AAV-GLUT1 (合計  $7.8 \times 10^{11}$  vg/匹) を心腔内投与し、脳室内投与および心腔内投与における主要臓器分布を確認した。

C . 研究結果

AAV-GLUT1 脳室内投与後、外因性 GLUT1 蛋白は、大脳皮質、海馬、視床において、主として血管内皮細胞に発現し、有意な運動機能改善および

髄液糖上昇を認めた。脳室内投与群は、脳以外の主要臓器における外因性 GLUT1 発現を認めず、心腔内投与群では、肝および筋組織に外因性 GLUT1 発現を認めた。

Tatsushi Onaka, Sumio Ohtsuki, Tetsuya Terasaki, Takanori Yamagata. The ASGCT 20th Annual Meeting, May10 2017, Washington DC

#### D. 結論

GLUT1DS モデルマウスに対して、新たに GLUT1 promoter 領域 AAV ベクターを用いたマウスモデルの治療に成功した。クレアチントランスポーター欠損症も、同様のトランスポーターの遺伝子異常であり、遺伝子治療の適用により根本治療は可能であると考ええる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakamura S, Muramatsu SI, Takino N, Ito M, Jimbo EF, Shimazaki K, et al. Gene therapy for Glut1-deficient mouse using an adeno-associated virus vector with the human intrinsic GLUT1 promoter. The journal of gene medicine. 2018:e3013.
2. Nakamura S, Osaka H, Muramatsu SI, Takino N, Ito M, Aoki S, et al. Gene therapy for a mouse model of glucose transporter-1 deficiency syndrome. Mol Genet Metab Rep. 2017;10:67-74.

##### 2. 学会発表

Gene therapy for Glut1-deficient mouse using AAV vector with the human intrinsic GLUT1 promoter.

Sachie Nakamura, Hitoshi Osaka\*, Shin-ichi Muramatsu, Naomi Takino, Mika Ito, Shiho Aoki, Eriko F. Jimbo, Kuniko Shimazaki, Tatsushi Onaka, Sumio Ohtsuki, Terasaki Tetsuya, Takanori Yamagata. 第23回日本遺伝子細胞治療学会学術集会 2017-07-20 岡山  
Gene therapy for a mouse model of glucose transporter-1 deficiency syndrome.

Sachie Nakamura, Hitoshi Osaka, Shin-ichi Muramatsu, Naomi Takino, Mika Ito, Shiho Aoki, Eriko F. Jimbo, Kuniko Shimazaki,