

Parkinson 病の遺伝子治療*

村松 慎一**

Key Words : adeno-associated virus, dopamine, cognitive impairment, business model

(神経治療 32 : 99-102, 2015)

はじめに

免疫不全を呈する adenosine deaminase 欠損症の患児を対象として、米国 NIH において世界初の遺伝子治療が 1990 年に実施されて以来 20 年以上が経過した。しかし、当初の熱狂的な期待に反して、目立った成果はなかなか得られなかった。むしろ、この間、1999 年には肝動脈内に大量のアデノウイルスベクターを投与した ornithine transcarbamylase 欠損症の青年が全身性炎症反応症候群により亡くなった事例¹⁾ や X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-SCID) に対する遺伝子治療でレトロウイルスベクターの染色体への組込により原癌遺伝子が活性化し白血病が発生した事例²⁾ などが報告され、遺伝子治療は新興の再生医学に先端医療における主役を交代したように見えた。しかし、最近、神経細胞に効率よく遺伝子を導入し長期発現できるアデノ随伴ウイルス adeno-associated virus (AAV) ベクターを応用することにより、Parkinson 病、血友病³⁾、網膜色素変性症⁴⁾ などに対する臨床試験で有望な結果が得られている。さらに、lipoprotein lipase 欠損症の遺伝子治療用製剤としてこの酵素遺伝子を搭載した AAV ベクターが欧州において市販品として認可され⁵⁾、遺伝子治療をビジネスとするベンチャー企業も設立されてきた。

本稿では、これまでに実施された Parkinson 病に対する遺伝子治療の臨床研究を概観し、自験プロトコールで得られた結果を中心に現況と課題を考察する。

I. AAV ベクター

Parkinson 病に対する遺伝子治療の臨床研究では、AAV ベクターと equine infectious anemia virus (EIAV) ベク

Table 1 Characteristics of adeno-associated viral (AAV) vectors

- ・ Efficient and long-term expression of transgenes in neurons.
Minimum immune or inflammation reactions in the brain.
- ・ One-time treatment is enough for most diseases.
Need a new business model.
- ・ Cross blood- or meningeal-brain barriers.
Useful for global transduction of the central nervous system.
- ・ Safe and easy to handle.
Derived from non-pathogenic viruses, stable in conventional environments.

ターの 2 種類が使用されている。AAV は単鎖 DNA ウイルスで哺乳類では 100 種類以上の型が分離されているが、いずれもヒトに対する病原性はない。非分裂細胞である神経細胞に効率よく目的の遺伝子を導入し、炎症や免疫反応による組織障害を生じることなく長期間 (10 年間以上) 発現させることができる。核内に挿入された治療用遺伝子は染色体に組み込まれずエピソームに存在するため安全性が高い。ベクターは温度や pH による影響を受けにくく長期間保存しても活性の低下はほとんどない。最近、血液・脳関門、髄液・脳関門を通過して広範な中枢神経領域に遺伝子導入可能な改良型 AAV ベクターも開発されている (Table 1)⁶⁾。AAV はゲノムサイズが 4.7kb 程度のため、4kb 以上の cDNA は搭載できないが、一つの細胞に複数の AAV ベクターが感染するので、同時に 2 種類以上の遺伝子を導入することができる。従来、ベクターの作製はプラスミドのトランスフェクションによる

* Gene Therapy for Parkinson Disease.

** 自治医科大学神経内科学, 東京大学医科学研究所遺伝子・細胞治療センター Shin-ichi MURAMATSU : Division of Neurology, Jichi Medical University ; Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

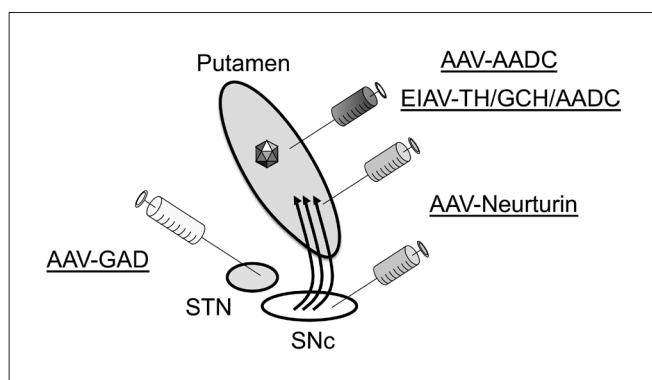


Fig. 1 Current strategies of gene therapy for Parkinson's disease
Abbreviations : AADC, aromatic L-amino acid decarboxylase ; AAV, adeno-associated virus ; EIAV, equine infectious anemia virus ; GAD, glutamic acid decarboxylase ; GCH, guanosine triphosphate cyclohydrolase I ; TH, tyrosine hydroxylase ; SNc, substantia nigra pars compacta ; STN, subthalamic nucleus

方法が主体であったが、バキュロウイルスを応用した方法により good manufacturing practice (GMP) レベルの高力価 AAV ベクターを量産することが可能になった⁷⁾。EIAV はレンチウイルスの一種で、AAV より搭載できる cDNA のサイズが大きいことが利点である。神経細胞への遺伝子導入に使用されるが、発現効率は AAV より低い。ヒトには病原性がない。

II. 3 種類の戦略

Parkinson 病に対する遺伝子治療としては、1. 被殻の神経細胞にドパミン合成系酵素の遺伝子を導入しドパミン産生能を回復する、2. 被殻と黒質緻密部で神経栄養因子の glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) や neurturin の遺伝子を発現させて黒質緻密部のドパミン神経細胞の変性を抑制する、3. 抑制性神経伝達物質 GABA の合成に必要なグルタミン酸脱炭酸酵素の遺伝子を視床下核に導入して機能を調整する、という 3 種類の戦略がある (Fig. 1)。

1. ドパミン合成能の回復

ドパミンはアミノ酸のチロシンから L-dopa を経て合成されるが、その際にチロシン水酸化酵素 (tyrosine hydroxylase : TH), guanosine triphosphate cyclohydrolase I (GCH), 芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 (aromatic L-amino acid decarboxylase : AADC) の 3 種類の酵素が働く。第一の戦略は、これらの酵素の cDNA を搭載した AAV ベクターを、変性を免れた被殻の神経細胞に注入しドパミンを合成する。AADC のみを発現させ、経口投与した L-dopa からドパミンへの変換を促進する方法についての臨床研究が日米で実施され、遺伝子治療 6 ヶ月後の評価で、自治医大の 6 人ではオフ時の UPDRS 運動スコアが 46% 改善した。また、AADC に結合する [¹⁸F]fluoro-L-

m-tyrosine (FMT) をトレーサーとした positron emission tomography (PET) で被殻の FMT 集積が 56% 増加した⁸⁾。米国でもほぼ同様の改善効果が得られている⁹⁾。自治医大の長期観察では、認知機能低下の合併例を除き運動機能の改善効果と FMT 集積の増加は 5 年後にも持続していた。遺伝子導入 41 ヶ月に心不全で亡くなった例の剖検脳で被殻の神経細胞における AADC の発現が確認された。

EIAV ベクターを使用して、TH, GCH, AADC の 3 種類の遺伝子を被殻に導入する遺伝子治療の臨床試験が欧州で行われ、1 年後に平均 30% の運動症状の改善効果が得られた¹⁰⁾。

なお、被殻への AADC 遺伝子導入が運動機能の改善に有効なことは台湾で実施した AADC 欠損症に対する遺伝子治療でも報告された¹¹⁾。

2. 神経保護効果

神経栄養因子の neurturin 遺伝子を搭載した AAV ベクターを被殻に注入する臨床試験では、12 ヶ月後の運動症状は偽手術を行った対照群と有意差がなかった。しかし、18 ヶ月後まで追跡した 30 人では遺伝子治療群で軽度の運動症状の改善効果が認められた¹²⁾。剖検では黒質緻密部の神経細胞のうち neurturin の発現は 5% 以下に留まっていた¹³⁾。既に黒質線条体路の変性脱落が進行しており軸索輸送障害も生じているためと推察された。そのため、被殻と同時に黒質緻密部にも遺伝子導入する臨床研究も実施されている¹⁴⁾。

3. 視床下核の機能調整

本来興奮性の視床下核の神経細胞に抑制性神経伝達物質 GABA の合成に必要なグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD-65/GAD-67) の遺伝子を導入し、深部脳刺激と同様の機能調整効果を期待する遺伝子治療法である。AAV ベクターを使用した臨床試験では、1 年後の評価で偽手術群に比べて運動機能の改善効果が認められた¹⁵⁾。 [¹⁸F] fluorodeoxyglucose (FDG) をトレーサーとした PET では一次運動野とそれに隣接した外側前運動皮質で FDG の集積が増加していた¹⁶⁾。

III. 課題と展望

上記の 3 種類の戦略のうち、神経栄養因子の遺伝子導入は進行した Parkinson 病では効果が期待できない。そのため、PET や遺伝子解析による早期診断が望まれる。神経栄養因子には細胞増殖作用があるため、グリア細胞などに遺伝子導入された場合の腫瘍発生の有無を長期間観察する必要がある。さらに、黒質への遺伝子導入は定位脳手術のリスクを増加させる。視床下核への遺伝子導入では、偽手術群との間で有意差が得られたが、注入部位が不適切などの理由で解析から除かれた症例が複数存在し、対照群より治療群の症例数が少ない結果になっている。今後、さらに多数例での検討が必要と考えられるが、このプロトコールのスポンサーの Neurologix 社は倒産している。AAV ベクターでは導入した遺伝子の発現が長期間、持続するため、通常の薬物治療と異なるビジネス

モデルを構築する必要がある¹⁷⁾。ドパミン合成系酵素の遺伝子導入が最も単純な方法と考えられる。この方法では、長期臥床により拘縮などを呈していない限り、進行例でも運動機能の改善が期待できる。前回の自治医大の臨床研究では、米国 Avigen 社製のベクターを使用した。現在、国産の GMP レベルの AAV ベクターを使用して、安全性の確認を主目標とした臨床研究を予定している。また、症状の日内変動と不随意運動を抑制することを目標に TH, GCH, AADC の 3 種類の酵素遺伝子を導入し持続的にドパミンの産生を行う遺伝子治療を計画している。Parkinson 病の 70% では認知機能低下を合併するとの報告がある。前回、AADC 遺伝子治療を実施したうちの 2 例で認知機能障害が出現しそれに伴い運動機能が低下した。この認知機能低下に対しては、血管内または髄腔内投与により脳と脊髄の広範な領域の神経細胞に遺伝子導入可能な改変型 AAV ベクターの開発に成功しており、Aβ を分解する酵素 neprilysin の遺伝子をこのベクターに搭載して、定位脳手術時に髄腔内に同時に投与することも考えられる¹⁸⁾。

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織や団体は以下の通り。

報酬：(株) 遺伝子治療研究所

文 献

- 1) Wilson JM : Lessons learned from the gene therapy trial for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab* 96 : 151-157, 2009
- 2) Pike-Overzet K1, van der Burg M, Wagemaker G et al : New insights and unresolved issues regarding insertional mutagenesis in X-linked SCID gene therapy. *Mol Ther* 15 : 1910-1916, 2007
- 3) Nathwani AC, Reiss UM, Tuddenham EG et al : Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *N Engl J Med* 371 : 1994-2004, 2014
- 4) Wojno AP, Pierce EA, Bennett J : Seeing the light. *Sci Transl Med* 5 : 175fs8, 2013
- 5) Bryant LM, Christopher DM, Giles AR et al : Lessons learned from the clinical development and market authorization of Glybera. *Hum Gene Ther Clin Dev* 24 : 55-64, 2013
- 6) Iida A, Takino N, Miyauchi H et al : Systemic delivery of tyrosine-mutant AAV vectors results in robust transduction of neurons in adult mice. *Biomed Res Int* 2013 : 974819, 2013
- 7) Mietzsch M, Grasse S, Zurawski C et al : OneBac : platform for scalable and high-titer production of adeno-associated virus serotype 1-12 vectors for gene therapy. *Hum Gene Ther* 25 : 212-222, 2014
- 8) Muramatsu S, Fujimoto K, Kato S et al : A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease. *Mol Ther* 18 : 1731-1735, 2010
- 9) Christine CW, Starr PA, Larson PS et al : Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease. *Neurology* 73 : 1662-1669, 2009
- 10) Palfi S, Gurruchaga JM, Ralph GS et al : Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease : a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet* 383 : 1138-1146, 2014
- 11) Hwu WL, Muramatsu S, Tseng SH et al : Gene therapy for aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Sci Transl Med* 4 : 134ra61, 2012
- 12) Marks WJ Jr, Bartus RT, Siffert J et al : Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease : a double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Neurol* 9 : 1164-1172, 2010
- 13) Bartus RT, Baumann TL, Brown L et al : Advancing neurotrophic factors as treatments for age-related neurodegenerative diseases : developing and demonstrating "clinical proof-of-concept" for AAV-neurturin (CERE-120) in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 34 : 35-61, 2013
- 14) Bartus RT, Baumann TL, Siffert J et al : Safety/feasibility of targeting the substantia nigra with AAV2-neurturin in Parkinson patients. *Neurology* 80 : 1698-1701, 2013
- 15) LeWitt PA, Rezai AR, Leehey MA et al : AAV2 GAD gene therapy for advanced Parkinson's disease : a double-blind, sham-surgery controlled, randomised trial. *Lancet Neurol* 10 : 309-319, 2010
- 16) Feigin A, Kaplitt MG, Tang C et al : Modulation of metabolic brain networks after subthalamic gene therapy for Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 : 19559-19564, 2007
- 17) Brennan TA, Wilson JM : The special case of gene therapy pricing. *Nat Biotech* 32 : 874-876, 2014
- 18) Iwata N, Sekiguchi M, Hattori Y et al : Global brain delivery of neprilysin gene by intravascular administration of AAV vector in mice. *Sci Rep* 3 : 1472, 2013

Gene Therapy for Parkinson's Disease

Shin-ichi MURAMATSU

Division of Neurology, Jichi Medical University ;
Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

More than 20 years have passed since the first gene therapy was reported for the treatment of a rare immune-compromising disease, namely adenosine deaminase deficiency. Despite initial enthusiastic expectations, gene therapy has so far provided little benefit for patients until recently. Some drawbacks related to this therapy include lethal events associated with severe immune reaction against a high dose adenovirus vector and leukemia caused by insertional mutagenesis of early-generation retrovirus vectors which hamper the rapid growth of the field. Nevertheless, the development of better vectors, in particular those based on adeno-associated viruses (AAV), have now led to successful results of clinical studies for hemophilia, congenital retinal blindness, and Parkinson's disease (PD). Three different strategies have been applied in clinical trials of gene therapy for PD as follows : 1. Gene delivery of dopamine-synthesizing enzymes into the putamen to restore the local production of dopamine. 2. The expression of genes encoding neurotrophic factors in the putamen and the substantia nigra to halt degeneration. 3. The transduction of the subthalamic nucleus by introducing the glutamic acid decar-

boxylase gene to modulate the neural activities to thereby obtain similar effects of deep brain stimulation. The results of clinical studies on the above three strategies show these procedures to be both well-tolerated and promising. In our clinical study for advanced PD, the AAV vector-mediated gene transfer of the aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) into the putamen resulted in an alleviation of motor symptoms, along with an increased dopaminergic activity on positron emission tomography. The efficacy of this approach was also confirmed when this therapy was administered for children with AADC deficiency in Taiwan. We recently developed new AAV vectors that can cross the blood- or meningeal-brain barriers. These vectors are expected to be utilized in the future to treat non-motor symptoms, including dementia, in which broad areas of brain must be transduced. Since the one-time treatment with AAV vectors can enable patients to achieve the lifetime expression of transgenes, novel business models which are different from those currently in use by pharmaceutical companies should be established.