

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号	2023B-17						
研究開発課題名	Ex vivo 遺伝子治療における高精度のゲノム解析による安全性と有効性の評価方法の確立						
分類*	<input type="checkbox"/> ①	<input checked="" type="checkbox"/> ②	<input type="checkbox"/> ③	<input type="checkbox"/> ④	<input type="checkbox"/> ⑤	<input type="checkbox"/> ⑥	<input type="checkbox"/> ⑦
区分	<input type="checkbox"/> A	<input checked="" type="checkbox"/> B	<input type="checkbox"/> C	<input type="checkbox"/> E	<input type="checkbox"/> S		
主任研究者	所属	成育遺伝研究部					
	役職	室長					
	氏名	内山 徹					
実施期間	2023年 4月 1日 ~ 2024年 3月 31日						

※分類は下記①～⑦より選択

- ① 日本の成育分野の疾患の研究の基盤となる研究
- ② 診断、治療及び予防法の開発に関する研究
- ③ 発症機序や病態の解明等を行う研究
- ④ 診断や治療のための基準の開発等に関する研究
- ⑤ 患児・者のQOL向上に結びつく研究
- ⑥ 研究的視点や技術をもつ医療従事者を育てるための研究
(プロトコル作成のフェージビリティ研究)
- ⑦ 政策提言に結びつく研究

成果の概要

患者から採取した細胞に体外で遺伝子を導入・改変する“ex vivo”遺伝子治療には、原発性免疫不全症への造血幹細胞遺伝子治療や難治性白血病への CAR-T 細胞療法などがあり、多くの患者で効果を認めている。一方で遺伝子導入・改変におけるウイルスベクターによる挿入変異、ゲノム編集によるオフターゲット効果や染色体の欠失・転座は、白血病などの造腫瘍性の原因となり、海外においても重要な検討課題となっている。本開発では、実際の遺伝子治療患者のサンプルを用いることで、より臨床開発に即した造腫瘍性の解析法を確立し、日本の ex vivo 遺伝子治療法における安全性評価の技術基盤の確立を目標とする。

1. ウイルスベクターの挿入部位解析法の開発

これまでに確立しているキャプチャー法による挿入部位同定に加えて HTLV-1 感染症における挿入部位解析法として報告された RAISING (Rapid Amplification of Integration Site without Interference by Genomic DNA contamination) 法を応用した手法を確立した。

2. ゲノム編集技術における腫瘍性の解析

オフターゲット解析法として、Guide-seq 法、CIRCLE-seq 法を確立し、開発中であるゲノム編集による遺伝子治療 (非臨床試験) における造腫瘍性の評価法として SOP を作成中である。

3. 遺伝子治療患者の解析

当センターでの遺伝子治療後 32 ヶ月で白血病を発症した慢性肉芽腫症 (CGD) 患者を解析し、遺伝子治療における白血病の発症機序を明らかにした。LTR キャプチャー法によって *MECOM* 遺伝子へのベクター挿入を同定した一方で、治療後 12 ヶ月の時点ですでに当該クローンだけのモノクローナルな造血となっていたことから、白血病の発症には二次的な遺伝子変化の存在が考えられた。全ゲノム解析の結果、がん抑制遺伝子 (*WT1*) の欠損が同定され、遺伝子治療における白血病の多段階機序として、米国遺伝子細胞治療学会の機関誌 (*Molecular Therapy*) に発表した。

4. 安全性評価の指針の発出

上記の解析を通じて、*ex vivo* 遺伝子治療における造腫瘍性解析の重要性とその解析方法に関して発信を行っていく。