

Title	Improvement of Skeletal Lesions in Mice with Mucopolysaccharidosis Type VII by Neonatal Adenoviral Gene Transfer.
Sub Title	ムコ多糖症粗型モデルマウスの骨格異常は生後早期のアデノウイルスベクター全身投与で改善する
Author	金治, 有彦(Kanaji, Arihiko)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.46-
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0046">http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0046</a>

# Improvement of Skeletal Lesions in Mice with Mucopolysaccharidosis Type VII by Neonatal Adenoviral Gene Transfer.

(ムコ多糖症VII型モデルマウスの骨格異常は生後早期の  
アデノウイルスベクター全身投与で改善する)

金 治 有 彦

## 内容の要旨

ムコ多糖症VII型 (MPSVII) は、リソゾーム酵素の一つであるβ-グルクロニダーゼ (GUSB) 蛋白の先天性欠損により発症する常染色体劣性遺伝病である。臨床的には肝脾腫、精神運動発育遅滞、角膜混濁、難聴、骨格異常などの多彩な症状がみられ、病理組織学的にはリソゾームの腫大による空胞変性がほとんどの罹患臓器で認められる。最近、鎌田らは生後早期のMPSVIIモデルマウス (MPSVIIマウス) に対してヒトβ-グルクロニダーゼ遺伝子を発現するアデノウイルスベクター (AxCAhGUS) を静注したところ、特徴的な頭蓋骨変形が改善されたことを報告した。本研究はMPSVIIマウスに対してAxCAhGUSの経静脈的全身投与を行い、骨・関節病変に対する治療効果について生化学的、病理組織学的に評価することを目的とした。

成長終了後のMPSVIIマウスに対する効果を評価する目的で、生後12週齢以上のMPSVIIマウスの尾静脈より $1 \times 10^8$ pfuのAxCAhGUSを投与した。AxCAhGUS静注後7日後に軟骨組織を採取し4-MU法によるGUSB活性の定量を行ったところ、正常B6系マウスの約1.5倍以上に相当する高い活性が関節軟骨に認められた。しかしこのGUSB活性はAxCAhGUSが直接、関節軟骨に導入されたことによるものではなく、マンノース6リン酸受容体を介するcross-correctionによるものであった。次に生後早期のMPSVIIマウスに対する治療の効果を評価する目的で、生後24時間以内のMPSVIIマウスに浅側頭静脈から $1 \times 10^7$ pfuのAxCAhGUSを静注し、以下の検討を行った。1. 生化学的検討: AxCAhGUS静注後40日目に関節軟骨のGUSB活性定量を行ったところ、正常値の3倍以上の極めて高い活性が認められた。またPCR法により、ウイルス由来のDNAが関節軟骨に集積していることが明らかとなり、AxCAhGUSが関節軟骨に導入されていることが示された。2. 形態学的検討: 無治療のMPSVIIマウスでは低身長、平坦な顔貌、長管骨の短縮といった特徴的な骨格異常が認められたが、AxCAhGUS投与後140日目のマウスではこれらの異常はほぼ完全に正常化され、外見では正常のマウスと見分けることは不可能であった。また病理組織学的には生後早期に治療を受けたMPSVIIマウスでは無治療のMPSVIIマウスと比較して、関節軟骨、軟骨下骨、成長軟骨における空胞変性細胞が明らかに減少していた。

以上の検討より、MPSVIIマウスの骨・関節病変は生後早期にアデノウイルスベクターを全身投与することにより改善されることが確認された。この結果から、アデノウイルスベクターを用いた新生仔期の遺伝子治療をヒトムコ多糖症VII型に対して臨床応用することにより、特徴的な成長障害や骨格異常は改善される可能性があることが示唆された。

## 論文審査の要旨

ムコ多糖症VII型 (MPSVII) は、β-グルクロニダーゼ (GUSB) 蛋白の先天性欠損により発症する常染色体劣性遺伝病である。本研究はMPSVIIモデルマウス (B6/MPSVII) に対してヒトGUSB遺伝子を発現するアデノウイルスベクター (AxCAhGUS) の経静脈的全身投与を行い、骨・関節病変に対する効果について検討することを目的とした。まず生後12週齢以上のB6/MPSVIIの尾静脈より $1 \times 10^8$ pfuのAxCAhGUSを静注したところ、AxCAhGUS投与後7日目の関節軟骨において正常B6系マウスの約1.5倍に相当するGUSB活性が認められた。しかしこのGUSB活性はAxCAhGUSが直接関節軟骨に導入されたことによるものではなく、マンノース6リン酸受容体を介するcross-correctionによるものであった。次に生後24時間以内のB6/MPSVIIの浅側頭静脈より $1 \times 10^7$ pfuのAxCAhGUSを静注したところ、AxCAhGUS投与後30日目の関節軟骨において正常値の3倍以上に相当する高いGUSB活性が認められた。このGUSB活性はPCR法により、cross-correctionによるものだけでなくAxCAhGUSが直接関節軟骨に導入されたことによる効果であることが示唆された。また病理組織学的評価では、無治療のB6/MPSVIIと比較して、生後早期にAxCAhGUS投与されたB6/MPSVIIでは関節軟骨、成長軟骨、軟骨下骨の空胞変性細胞が明らかに減少していることが明らかとなった。以上の結果から、B6/MPSVIIの骨・関節病変は生後早期にアデノウイルスベクターを全身投与することにより改善されることが確認された。

審査では、生後早期にAxCAhGUSを投与されたマウスで関節軟骨に遺伝子が導入されたとする根拠がPCR法のみでの検討で適切かどうかについて質問がなされた。これに対し顕微鏡を用いて厳密に軟骨組織の摘出を行ったため、滑膜など他の組織の混入はないと考えているが、PCR法は鋭敏な検査であるためin situ hybridizationなど他の手法を用いた検討も行うべきであったと回答された。また単一の酵素活性の評価のみで病理組織学的な改善のメカニズムを説明できるのかと質問された。これに対してMPSVIIはGUSBの先天性欠損により発症するため、骨・関節軟骨病変の改善はGUSB活性の上昇によると考えられるが、改善のメカニズムを解明するという点では他の因子を含めて詳細に検討すべきであったと回答された。最後に骨病変の病理組織学的所見について、もう少し詳細に記載すべきであると指摘された。

以上のように、本研究はさらに検討すべき点を残しているが、MPSVIIの骨・関節病変がアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療により改善されることを証明した点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭  
病理学 岡田 保典 分子生物学 清水 信義  
先端医科学 河上 裕  
学力確認担当者: 北島 政樹、岡田 保典  
審査委員長: 岡田 保典

試問日: 平成16年3月29日