

第29回 日本遺伝子細胞治療学会学術集会

The 29th Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy

飛躍する遺伝子治療
—産官学で乗り越える
未来への架け橋—

Program & Abstracts

会期

2023.9.11月・13水

会場

大阪国際会議場

大会長

望月 秀樹

(大阪大学大学院 医学系研究科
神経内科学講座)

The 29th Annual Meeting of
Japan Society of Gene and Cell Therapy
JSGCT2023

Program & Abstracts

Date

September 11–13, 2023

Venue

Osaka International Convention Center

5-3-51 Nakanoshima Kita-ku, Osaka city, Osaka 530-0005, Japan

JSGCT Committee

JSGCT2023 President
Hideki Mochizuki

JSGCT2023 Vice- President
Naoki Hosen

Member of the JSGCT Committee

Chairman of the Board of Director (BOD)
Ryuichi Morishita

Vice Chairman of BOD

Takashi Okada & Akihiro Kume & Toshiyoshi Fujiwara & Yoshikazu Yonemitsu

President-Elect

Masahiro Toda

Members of BOD

Yasuhiro Ikeda, Eriko Uchida, Masafumi Onodera, Makoto Otsu, Yumi Kanegae, Katsuto Tamai, Tomoki Todo, Masahiro Toda, Hiroyuki Nakai, Koichi Nakao, Hironori Nakagami, Yoza Nakazawa, Takafumi Nakamura, Hiroshi Fukuhara, Hiroyuki Mizuguchi, Shin-ichi Muramatsu, Hideki Mochizuki, Takanori Yamagata, Ei Yamada, Masato Yamamoto

JSGCT2023 Scientific Committee Chair: Hideki Mochizuki

Makoto Otsu, Takashi Okada, Akihiro Kume, Katsuto Tamai, Hironori Nakagami, Takafumi Nakamura, Yasutomo Nasu, Hiroyuki Mizuguchi, Yoshikazu Yonemitsu, Atsushi Watanabe

JSGCT2023 Secretariat Office (Secretary General: Seiichi Nagano)

Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine
2-2 Yamadaoka, Suita, OSAKA, 565-0871, JAPAN
E-mail: jsgct2023@c-linkage.co.jp <https://www.c-linkage.co.jp/jsgct2023/>

Japan Society of Gene and Cell Therapy Administrative Office

Secretary General
Makoto Otsu

Vice Secretary General
Yumi Kanegae, Hironori Nakagami

ご挨拶

第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会を2023年(令和5年)9月11日(月)から13日(水)までの3日間、大阪国際会議場にて開催させていただきます。今回は、“飛躍する遺伝子治療 - 産官学で乗り越える未来への架け橋”というテーマにしました。遺伝子細胞治療では、これまで血液疾患、癌、小児代謝性疾患が中心ですが、神経難病である脊髄性筋萎縮症に対する遺伝子治療も、米国および日本でも上市されました。早期治療介入が重要とされており、発症例のみならず未発症例であっても発症前投与が可能になりました。難攻不落の神経難病を担当していたものとして、その治療効果は驚くほどでした。しかし、1回投与の治療薬として大変高額な薬価を呈しております。これは、産業界とアカデミアが、切磋琢磨して克服しなければならない大きなハードルです。また、規制に関しても行政やPMDAなどとも多くの議論が必要です。本学術集会では、それぞれ十分議論できるような有意義なプログラムを構築しております。また、本学術集会から、日本遺伝子細胞治療学会の新たに設立された委員会の一つである、学術・プログラム委員会が主体となって企画するセッションを設けております。具体的には、ASGCT、ESGCTとの共催プログラム、日本再生医療学会、日本核酸医薬学会など他学会との共催プログラムを多く企画しました。さらに、学会企画として、経産省、文科省、厚労省、PMDA など行政のセッションも新たに加えました。また、前回大会で森下理事長から、来年度に向けて認定制度を米満認定制度委員長中心に設立されました。ご案内をご覧ください。大変充実したプログラムと新しい企画をお楽しみください。遺伝子治療が多くの患者さんに届くよう、アカデミアだけではなく、行政、企業が一体となって、未来への架け橋となる学術集会を目指しますので、どうぞ宜しくお願いいたします。

2023年9月吉日

第29回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
大会長 望月 秀樹
(大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 教授)

Welcome Message form the President



Welcome to JSGCT2023 in OSAKA, JAPAN!

It is my great pleasure to announce the 29th Annual Meeting of the Japan Society of Gene and Cell Therapy being held at the Osaka International Convention Center for three days from Monday, September 11 to Wednesday, September 13, 2023.

The theme of this meeting is “Gene Therapy Making a Leap Forward – A Bridge to the Future through Cooperation between Industry, Government and Academia.” Gene and cell therapy has so far been centered on blood diseases, cancers, and metabolic disorders, but gene therapy for spinal muscular atrophy, an intractable neurological disease, was also launched in the US and Japan. Early intervention for spinal muscular atrophy is considered important, as medication has become possible even in pre-onset cases. These therapeutic results came as a surprise to me as a doctor who was in charge of cases concerning unapproachable, intractable neurological disorders. However, the single-dose remedy is extremely expensive. This is a big hurdle that must be cleared by the industry and academia through hard work. In addition, regulations must be well discussed with the government, PMDA, and other agencies. This meeting will develop meaningful programs to enable sufficient discussions between stakeholders. In addition, starting from this meeting, sessions will be organized by the Scientific Program Committee, a new committee established by JSGCT. Specifically, we will have programs co-hosted with ASGCT and ESGCT as well as programs co-hosted with the Japanese Society for Regenerative Medicine, the Nucleic Acids Therapeutics Society of Japan, and other societies. Sessions involving PMDA and other administrative agencies, such as METI, MEXT, and MHLW are added as JSGCT special programs. Furthermore, as proposed in the previous meeting by Dr. Morishita, the chairman of JSGCT, a certification system is to be established by the Certification System Committee chaired by Dr. Yonemitsu during the next fiscal year. Please enjoy the very fulfilling and new programs. Aiming to be an academic society that provides a bridge to the future, we will join our efforts not only with academia, but also the government and businesses in order to make gene therapy accessible to many patients, and we will highly appreciate your kind support.

With my warmest regards,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'H. Mochizuki'. The signature is fluid and cursive, written in a professional style.

Hideki Mochizuki, MD, PhD
President of JSGCT2023
Professor, Department of Neurology,
Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, JAPAN

お知らせ

■ 会期

2023年9月11日（月）～13日（水）

■ 会場

大阪国際会議場（グランキューブ大阪）
〒530-0005 大阪府大阪市北区中之島5丁目3-51
<https://www.gco.co.jp/access/>

■ 参加登録

「オンライン参加登録」のみとなります。

※現地会場での、現金での参加登録費のお支払いはお受けいたしかねます。

事前にオンラインでの参加登録をお済ませの上、ご来場ください。

参加カテゴリー	事前	通常
	2023年8月8日（火）～ 8月31日（木）11：59	2023年8月31日（木）正午～ 9月13日（水）17：00
会員	12,000円	15,000円
非会員	20,000円	30,000円
大学院生	3,000円	
学生（学部生） ^{*1}	無料	
懇親会 ^{*2} （日程：9月12日（火） 夕方）	5,000円（定員に達し次第、終了いたします）	

*1 学生（学部生）の方は、学会期間 [2023年9月11日（月）～13日（水）] に有効な学生証の提示が必要です。

*2 すべてのカテゴリーの方がお申込みいただけます。

参加人数に制限がございますので、ご希望の方はお早目にお申込みください。

※参加費に含まれるもの：参加証明書、領収書、プログラム抄録集(PDF)

■ お支払い方法

お支払いはクレジットカード決済のみとなります。

VISA、MasterCard、JCB、AMEX、Diners Clubをご利用いただけます。

■ 受付時間

受付場所： 大阪国際会議場 10F ホワイエ

受付時間： 9月11日（月） 8：15～18：00

9月12日（火） 8：00～17：00

9月13日（水） 7：15～17：00

参加登録方法：「オンライン参加登録」のみとなります。

支払方法： クレジットカードのみ

※現地会場での、現金での参加登録費のお支払いはお受けいたしかねます。

必ず事前にオンラインでの参加登録をお済ませの上、ご来場ください。

あらかじめ、参加登録完了通知メールに記載のURLよりネームカードをダウンロード・印刷の上、当日ご来場時に忘れずにご持参ください。

■ PMDA個別相談

場 所：大阪国際会議場 8F 801

受付時間：9月12日（火） ※時間は面談申込者に個別にご案内します。

主 催：医薬品医療機器総合機構

参加申込：2023年8月9日（水）～8月25日（金）まで

■懇親会

日 時：9月11日(月) 19：00～20：30
会 場：レストラン「グラントック」(大阪国際会議場 12F)
会 費：5,000円
定 員：100名

※オンライン参加登録システムよりお申し込みください。

なお、残席がある場合は現地会場の総合案内にて追加申し込みを受け付けます。

■理事会

日 時：9月11日(月) 8：30～9：20
会 場：第3会場(大阪国際会議場 10F 1008)

■評議員会

日 時：9月11日(月) 13：30～14：10
会 場：第1会場(大阪国際会議場 10F 1001-1003)

■総会

日 時：9月12日(火) 12：35～13：25
会 場：第1会場(大阪国際会議場 10F 1001-1003)

■企業展示

日 時：9月11日(月) 9：00～18：30
9月12日(火) 8：30～18：30
9月13日(水) 8：30～17：00
会 場：企業展示会場(大阪国際会議場 10F 1004-1007)

■モーニングセミナー、ランチョンセミナー、イブニングセミナーについて

整理券の配布はございません。セミナー開始時間に直接会場へお越しください。

なお、席数にはかぎりがございますので、予めご了承ください。

■クローク

場 所：大阪国際会議場 10F 1010
受付時間：9月11日(月) 8：15～20：00
9月12日(火) 8：00～21：00
9月13日(水) 7：15～17：30

■ 演者の皆様へ

- ・ Plenary Session :
1演題あたり、発表12分、個別質疑3分（計15分）です。
発表言語：日本語・英語どちらでも可能です。
スライド：日本語・英語どちらでも可能です。
※当日、ご発表内容をもとに学術・プログラム委員並びに褒章委員会にて審査を行い、学会賞を選出します。
受賞演題は9月12日(火)の総会にて表彰します。
- ・ Oral Session（一般演題）：
1演題あたり、発表8分、個別質疑2分（計10分）です。
発表言語：日本語・英語どちらでも可能です。
スライド言語：日本語・英語どちらでも可能です。
- ・ 指定演題：
セッションの時間配分、並びに発表言語は個別にご案内します。
- ・ 同時通訳はございません。
- ・ プレゼンテーションデータ作成用のアプリケーションソフトウェアは、PowerPoint 2007/2010/2013/2016/2019にしてください。
- ・ Macintosh PowerPointでプレゼンテーションデータを用意しておいた場合は、表示上の問題を回避するために、Windows ベースの環境でプレゼンテーションが正しく機能するか、ご自身の PC を持参してください。
- ・ 画面レイアウト崩れを防ぐため、使用フォントは下記のとおりでございます。
日本語……MSゴシック、MSPゴシック、MS明朝、MSP明朝
英 語……Arial、Arial Black、Helvetica、Century、Century Gothic、Times New Roman
- ・ ご発表者全員の利益相反（COI）状態の開示をお願い申し上げます。
演題発表時：発表スライドに利益相反（COI）状態を開示下さい。
※日本遺伝子細胞治療学会利益相反(COI)規定細則についてはこちらをご確認ください。
口頭発表の場合は、タイトルスライドの後にCOIの状態を開示したスライドをPowerPointプレゼンテーションに含めてください。（様式を学会ホームページ<https://www.c-linkage.co.jp/jsjct2023/coi.html> からダウンロードすることができます）
- ・ コンピュータウイルスの拡散を防ぐために、アップデートしたアンチウイルスソフトウェアを使用して、事前にプレゼンテーションファイルをスキャンしてください。

■ PC受付

- ・ 発表者はご自身の発表時間の45分前までに、下記PC受付にして試写をお済ませください。
場 所：大阪国際会議場 10F ホワイエ
時 間：9月11日（月） 8：15～19：00
9月12日（火） 8：00～17：00
9月13日（水） 7：15～17：00
- ・ 発表データはUSBフラッシュメモリに保存してご持参ください。
- ・ OSおよびアプリケーションソフトは、Windows 10、PowerPoint 2007/2010/2013/2016/2019でございます。
- ・ PowerPointプレゼンテーションにリンクされているすべてのビデオクリップを、1つのフォルダに保存してください。ビデオファイルはWMVまたはMPEG1、MPEG4である必要があります
- ・ Macintoshを使用している場合、またはPowerPointプレゼンテーションに動画が含まれている場合は、自分のPCとバックアップデータをご持参ください。
- ・ お預かりしたデータは、学会終了後、消去いたします。

■ PC本体持ち込みの際のお願い

- ・ Macintoshをご使用の方は、ご自身のパソコンをお持ち込みください。
- ・ 省電力設定とスクリーンセーバーは、あらかじめ解除しておいてください。
- ・ 会場で用意するPC ケーブルコネクタの形状は、D-sub 15pin（ミニ）またはHDMIです。
変換コネクタを必要とする場合には必ずご自身でお持ちください。
- ・ PC 受付にて動作確認後、セッション開始30分前までにPCをご自身で各会場左手前方のPC オペレーター席へお持ちください。
- ・ 発表終了後、PCオペレーター席にてPCをお返しいたします。

アクセス

会場：大阪国際会議場

■京阪中之島駅より

会場まで徒歩すぐ

■JR 大阪駅より

- タクシーにて会場まで約10分

■JR 新大阪駅（東海道新幹線）より

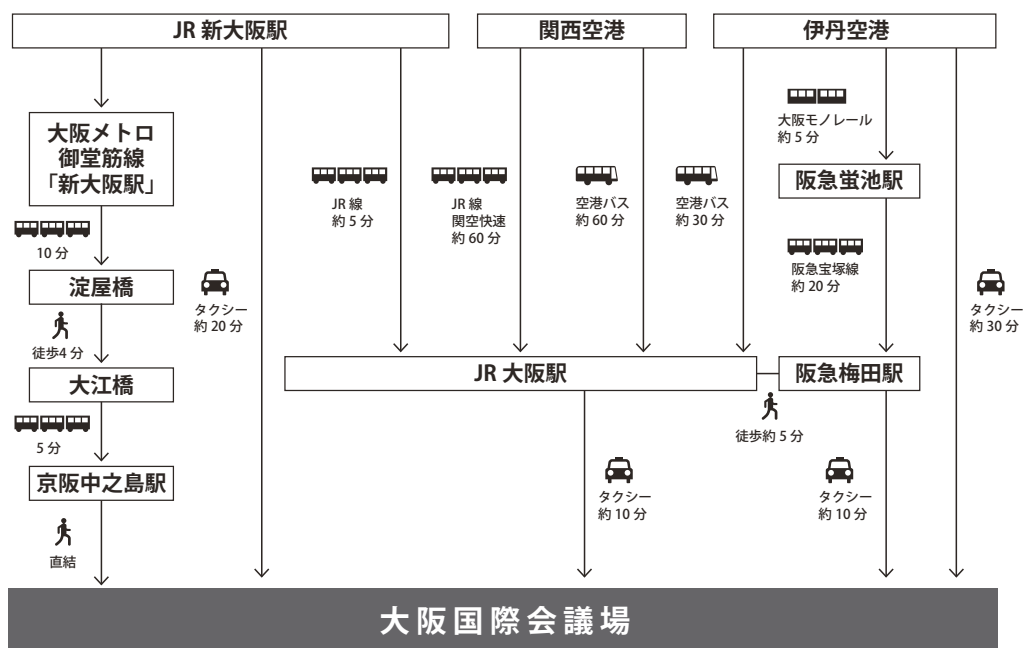
- タクシーにて会場まで約 20 分
- JR 在来線にて JR 大阪駅まで約 5 分

■関西国際空港より

- タクシーにて会場まで約 60 分
- JR 線関空快速にて JR 大阪駅まで約 60 分
- 空港バスにて JR 大阪駅まで約 60 分

■伊丹空港より

- タクシーにて会場まで約 30 分
- 空港バスにて JR 大阪駅まで約 30 分
- 大阪モノレールにて蛸池駅まで約 5 分
蛸池駅より阪急宝塚線にて梅田駅まで約 20 分



周辺案内図

大阪国際会議場

〒530-0005
大阪市北区中之島5丁目3-51
Tel : 06-4803-5555

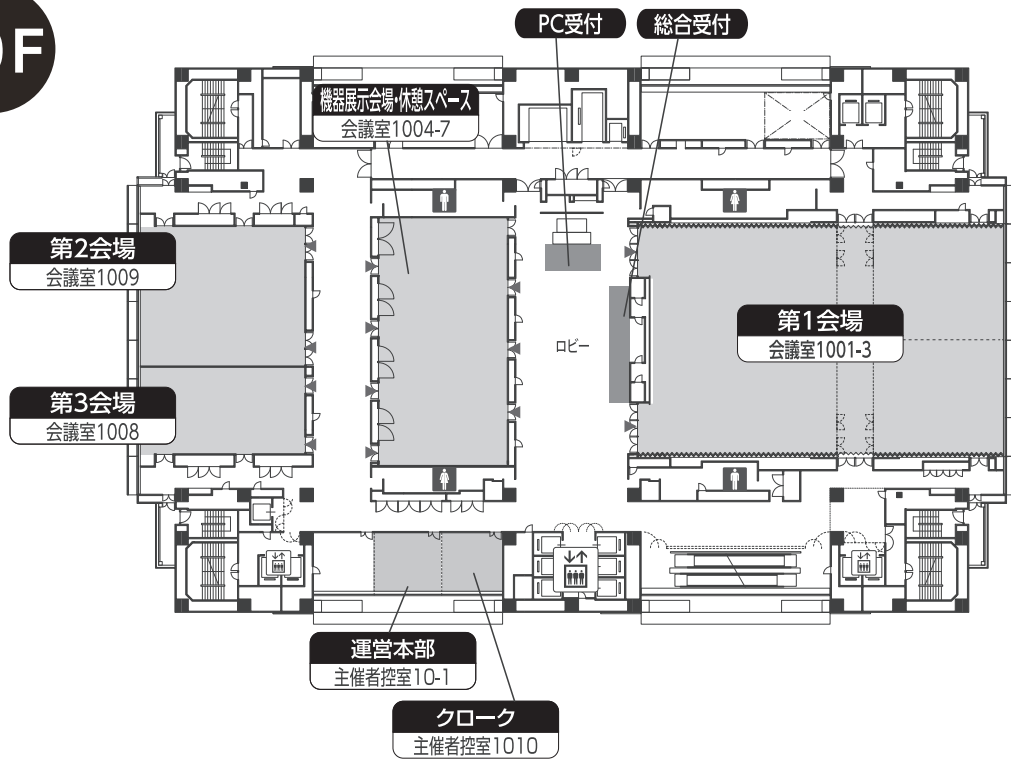


会場への交通案内

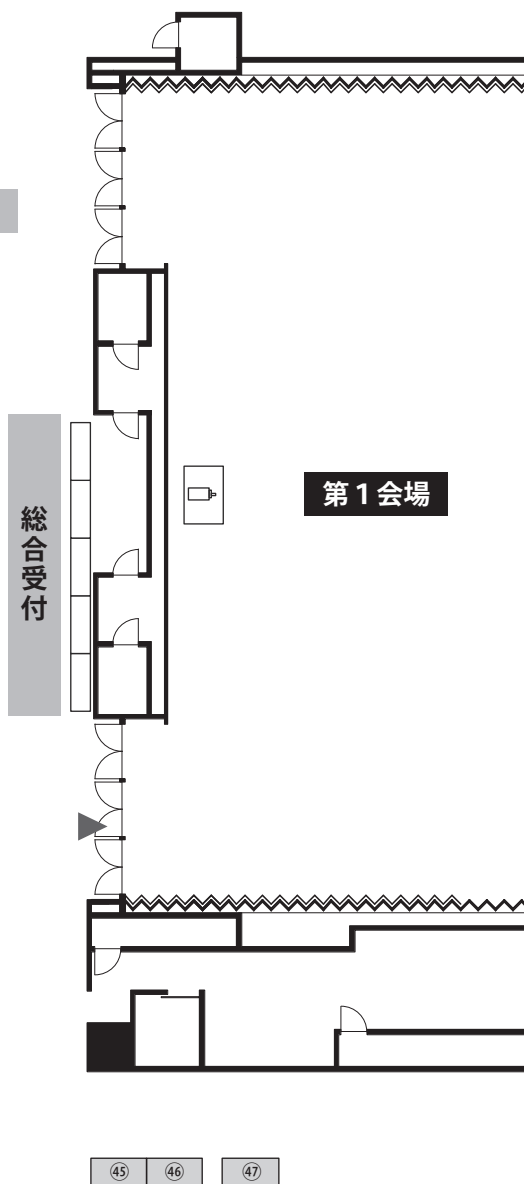
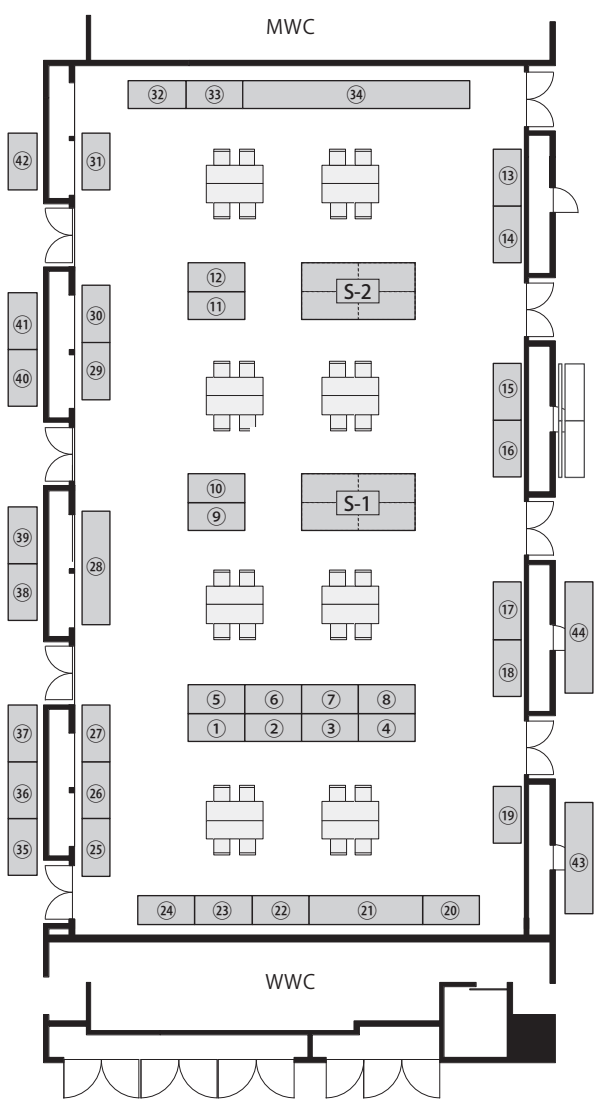
- 新大阪からお越しの場合
大阪メトロ御堂筋線「新大阪」駅より
「淀屋橋」駅へ(約10分)
京阪中之島線(「大江橋」駅)
に乗り換え(徒歩4分)
- 京阪電車中之島線
「中之島(大阪国際会議場)」駅
2番出口すぐ
- JR環状線「福島」駅
徒歩15分
- JR東西線「新福島」駅
2、3番出口 徒歩10分
- 阪神電鉄「福島」駅
3番出口 徒歩10分
- 地下鉄「阿波座」駅
中央線1番、千日前線9番出口
徒歩15分

フロアマップ

10F



10F



- ①タカラバイオ株式会社
- ②バイオ・ラッドラボトリーズ株式会社
- ③ベクタービルダー・ジャパン株式会社
- ④株式会社島津製作所
- ⑤株式会社ユー・メディコ
- ⑥キャタレント・ジャパン株式会社
- ⑦メディリッジ株式会社
- ⑧株式会社アールピーエム
- ⑨ネッパジーン株式会社
- ⑩キコーテック株式会社
- ⑪ピンポイントフォトニクス株式会社
- ⑫株式会社WuXi AppTec Japan
- ⑬H.U.セルズ株式会社
- ⑭株式会社聖路加エスアールエル先端医療研究センター
- ⑮株式会社エービー・サイエックス
- ⑯ザルトリウス・ジャパン株式会社
- ⑰ベックマン・コールター株式会社
- ⑱メイワフォーシス 株式会社
- ⑲PMDA紹介ブース

- ⑳ArcticZymes Technologies ASA
- ㉑Polyplus
- ㉒Explorer Associates
- ㉓株式会社エムエステクノシステムズ
- ㉔日本新薬株式会社
- ㉕インビボサイエンス株式会社
- ㉖PHC株式会社
- ㉗株式会社新日本科学
- ㉘株式会社スクラム
- ㉙株式会社リコー
- ㉚アンチエインドラプス株式会社
- ㉛株式会社ダイセル
- ㉜東ソー株式会社
- ㉝アゼンタ株式会社
- ㉞サーモフィッシャーサイエンティフィック
- ㉟ダイタン株式会社
- ㊱Bio-Techne (プロテインシンプル、ACD、R&D Systems、NOVUS、TOCRIS)
- ㊲株式会社ゾー・サーチ

- ㊳Charles River Laboratories, Inc.
- ㊴MDPI - Academic Open Access Publishing since 1996
- ㊵株式会社Visualix
- ㊶株式会社 キアゲン
- ㊷片山化学工業株式会社
- ㊸ホライゾン・ディスクカバー株式会社
- ㊹Cytiva
- ㊺株式会社ベリタス
- ㊻アズワン株式会社
- ㊼株式会社エヌ・ティー・エス

- [S-1]ミルテニーバイオテック株式会社
- [S-2]ロンザ株式会社

日程表

1日目 2023年9月11日 (月)

	第1会場 10F 1001-1003	第2会場 10F 1009	第3会場 10F 1008
8:00			
30			
9:00			
30	9:25~9:30 開会式		
10:00	9:30~10:00 理事長講演 座長：望月 秀樹 演者：森下 竜一		
30	10:00~10:30 特別講演1 座長：森下 竜一、望月 秀樹 演者：加藤 勝信		
11:00	10:30~11:30 Plenary Session 座長：大津 真、鐘ヶ江裕美	10:50~12:20 シンポジウム1 「Cancer Gene Therapy」 座長：大木健太郎、中沢 洋三 演者：中沢 洋三 辻 真博 柳生 茂希 川真田 伸	
30	11:30~12:20 教育講演1 「これからのPMDA」 座長：山口 照英 演者：山本 晴子		11:20~12:10 Oral Session I 「Viral vectors 1」 座長：櫻井 文教、曾田 泰
12:00			
30	12:25~13:25 ランチョンセミナー1 座長：大津 真、澤 芳樹 演者：柳生 茂希 共催：MaxCyte, キコーテック株式会社	12:25~13:25 ランチョンセミナー2 座長：久米 晃啓 演者：荒川 玲子、吉田 路子 共催：バイオジェン・ジャパン株式会社	12:25~13:25 ランチョンセミナー3 座長：米満 吉和 演者：Michelle Hussong 共催：Cytiva
13:00			
30	13:30~14:10 評議員会		
14:00			
30	14:15~15:45 日本再生医療学会共同企画 座長：米満 吉和、玉井 克人 演者：玉井 克人 澤 芳樹 岡野 栄之 米満 吉和	14:15~15:45 シンポジウム2 「Onvolytic virus and cell-based therapy」 座長：藤原 俊義、水口 裕之 演者：北村 洋平 金谷 信彦 櫻井 文教 中村 貴史	14:15~15:15 Oral Session II 「Neurogenic」 座長：池田 康博、三宅 弘一
15:00			
30	15:45~17:15 シンポジウム3 「規制」 座長：久米 晃啓、内田恵理子 演者：松本 潤 真木 一茂 櫻井 陽	15:45~17:15 English シンポジウム4 「Neuromuscular Disorders」 座長：村松 慎一、José A. Obeso 演者：Alvin Luk 郭 伸 村上 良子 Alexander P. Murphy	15:25~16:35 Oral Session III 「Cancer 1」 座長：粕谷 英樹、久保 秀司
16:00			
30	17:15~18:45 English ASGCT/ESGCT/JSGCT ジョイントシンポジウム 座長：笠原 典之、中村 貴史 演者：Jeffrey Scott Chamberlain Hildegard Büning 森下 竜一	17:15~18:45 English シンポジウム5 「Genetic Diseases」 座長：小林 博司、右田 真、Nathalie Cartier 演者：松本 多絵 小島 華林 嶋田 洋太 内山 徹 内田 直也	16:40~17:50 Oral Session IV 「Immune/Cardiovascular/ Regenerative medicine/Others」 座長：峰野 純一、内堀 亮介
17:00			
30	18:00		17:55~18:45 スポンサードセミナー 座長：戸田 達史 演者：岡田 随象 共催：株式会社スクラム
18:00			
30	18:50~19:30 イブニングセミナー1 座長：櫻井 文教 演者：内山 徹 共催：バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社	18:50~19:30 イブニングセミナー2 座長：岡田 尚巳 演者：辻 融、秋山 栞里 共催：ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社	18:50~19:30 イブニングセミナー3 座長：村松 慎一 演者：齊藤 利雄 共催：中外製薬株式会社
19:00			
30			

2日目 2023年9月12日 (火)

	第1会場 10F 1001-1003	第2会場 10F 1009	第3会場 10F 1008	個別相談 8F 801
8:00				
30	8:15~8:55 モーニングセミナー1 座長：望月 秀樹 演者：奥野 龍禎 共催：アレクシオンファーマ合同会社	8:15~8:55 モーニングセミナー2 座長：宮村 敦 演者：Angela Zhang 共催：ネッパジーン株式会社	8:15~8:55 モーニングセミナー3 座長：長野 清一 演者：永井 義隆 共催：田辺三菱製薬株式会社	
9:00	9:00~10:30 副会長企画シンポジウム 司会：保仙 直毅、小澤 敬也 演者：保仙 直毅 玉田 耕治 新井 康之 金子 新	9:00~9:45 English 海外招請講演1 座長：大橋 十也 演者：Nathalie Cartier	9:00~10:10 Oral Session V 「Viral vectors 2」 座長：小戔健一郎、水上 浩明	
10:00		9:45~11:15 English 核酸医薬シンポジウム 座長：小比賀 聡、小泉 誠 演者：佐藤 秀昭、小比賀 聡 秋田 英万、小泉 誠	10:10~10:50 Oral Session VI 「Genetic Diseases」 座長：嶋田 洋太、内山 徹	
30	10:30~11:20 English 海外招請講演2 座長：衛藤 義勝 演者：Hildegard Büning 共催：アンジェス株式会社			
11:00				
30	11:30~12:30 ランチョンセミナー4 座長：中森 雅之 演者：安東由喜雄 共催：Alnylam Japan 株式会社	11:30~12:30 ランチョンセミナー5 座長：藤原 弘 演者：保仙 直毅 共催：ミルテニーバイオテック株式会社	11:30~12:30 ランチョンセミナー6 座長：小野寺雅史 演者：内山 進 高木 良智 共催：株式会社シンプロジェン	
12:00				
30	12:35~13:25 総会 学会賞等 表彰			
13:00				
30	13:30~14:10 対談セッション 座長：望月 秀樹 演者：江本 孟紀			
14:00				
30	14:10~15:00 English 海外招請講演3 座長：望月 秀樹、貴島 晴彦 演者：José A. Obeso	14:20~15:50 シンポジウム6 「non viral vector・先端医療」 座長：中神 啓徳、戸田 達史 演者：山本 剛史 上村 顕也 中神 啓徳 朝野 仁裕	14:20~15:20 Oral Session VII 「Viral vectors 3」 座長：三谷幸之介、白川 利朗	
15:00				
30	15:00~16:30 大会長特別企画1 「日本の優れた遺伝子治療研究シーズを世界市場の創薬イノベーションに繋げるために何が必要か？」 座長：梶井 靖、寺尾 寧子 演者：梶井 靖、真下 知士 高橋 健、藤本 利夫 池浦 義典	15:50~17:20 日本ウイルス学会共同企画 「加速する新たなウイルスベクター開発の最前線」 座長：中村 貴史、朝長 啓造 演者：小森園 亮 小林 剛 岩崎 正治 大倉 喬	15:20~16:20 Oral Session VIII 「Cell therapy 1」 座長：大嶺 謙、池田 裕明	
16:00				
30	16:30~17:20 教育講演2 「国内の遺伝子治療を俯瞰して思うこと」 座長：島田 隆 演者：小野寺雅史		16:20~17:30 Oral Session IX 「Viral vectors 4」 座長：岡本 幸子、瀬原 吉英	
17:00				
30	17:20~18:50 大会長特別企画2 「行政」 座長：望月 秀樹、小野寺雅史 演者：釜井 宏行 佐野 圭吾 下田 裕和 大木健太郎	17:20~18:50 English シンポジウム7 「Vector Development」 座長：岡田 尚巳、中井 浩之 演者：Kiyotake Ishikawa John Fraser Wright Rachael A Potter	17:30~18:40 Oral Session X 「Regulatory science」 座長：岡崎 利彦、内田恵理子	
18:00				
30				
19:00				
30				

9:00~18:00
PMDA個別相談

Time Table

※19:00~20:30 懇親会 (大阪国際会議場 12F グラントック)

3日目 2023年9月13日 (水)

	第1会場 10F 1001-1003	第2会場 10F 1009	第3会場 10F 1008
8:00	7:45~8:25 モーニングセミナー4 座長：石井亜紀子 演者：高橋 正紀 共催：アルジェニクスジャパン株式会社	7:45~8:25 モーニングセミナー5 座長：笠原 優子 演者：丸山 雄介 共催：ザルトリウス・ジャパン株式会社	7:45~8:25 モーニングセミナー6 座長：中井 浩之 演者：Kathrin Schneider 共催：Revvity, Inc.
9:00	8:35~9:25 English 海外招請講演4 座長：村松 慎一、戸田 正博 演者：Adrian P Kells	8:35~10:05 English シンポジウム8 「癌」 座長：那須 保友、福原 浩 演者：粕谷 英樹 小賤健一郎 青木 一教 山本 正人	8:35~9:35 Oral Session XI 「Viral vectors 5」 座長：松坂 恭成、佐々木 勉
10:00	9:25~10:25 ディベート 再生医療と遺伝子治療 座長：久保田 文 演者：高橋 良輔 望月 秀樹	10:05~10:55 English 特別講演2 (スポンサード) 座長：森下 竜一 演者：David Baram 共催：アンジェス株式会社	9:35~11:05 遺伝子治療における遺伝カウンセリング 座長：渡邊 淳、中國 正祥 演者：中國 正祥 渡邊 淳 土屋 実央 奥山 虎之
11:00	10:25~11:55 大会長特別企画3 「遺伝子治療、再生医療— 臨床現場からの声」 座長：小野寺雅史、望月 秀樹 演者：上田 敬博 加藤 有紀 新井 康之 本橋 裕子	10:55~12:25 English 日本遺伝子細胞治療学会-日本小児神経学会 (JSGCT-JSCN) ジョイントシンポジウム 「遺伝性神経・筋疾患に対する遺伝子治療」 座長：小坂 仁、山形 崇倫 演者：加藤 光広 齋藤 伸治 小牧 宏文 村松 一洋 中山 東城	11:10~12:20 Oral Session XII 「Gene editing and other gene transfer technologies and stem cells」 座長：大森 司、花園 豊
12:00			
13:00	12:30~13:30 ランチョンセミナー7 座長：榎 竜嗣 演者：行方 和彦 共催：タカラバイオ株式会社	12:30~13:30 ランチョンセミナー8 座長：山形 崇倫 演者：木水 友一、藤波 芳 共催：ノバルティス ファーマ株式会社 ジーンセラピー事業部 メディカル部	12:30~13:30 ランチョンセミナー9 座長：小坂 仁 演者：梶井 靖 鈴木 匡 共催：武田薬品工業株式会社
14:00	13:35~15:05 ゲノム編集学会合同企画 司会：鐘ヶ江裕美、北島 康司 演者：大森 司 鈴木啓一郎 北島 康司 堀田 秋津	13:35~15:05 若手シンポジウム 「多分野の若手研究者が拓く 次世代の遺伝子治療」 司会：大津 真、上村 顕也 演者：三浦 浩美 富樫 朋貴 石神 育歩 山本 武範	13:35~14:55 Oral Session XIII 「Cancer 2」 座長：田澤 大、西川 智之
15:00	15:05~15:55 教育講演3 「ヒトゲノム編集と遺伝子治療の 倫理的課題とガバナンス」 座長：長野 清一 演者：加藤 和人	15:05~16:35 English シンポジウム9 「ベクター製造」 座長：岡崎 利彦、内山 進 演者：和田美加子 内田 和久 平井 悠吾 内山 進	15:00~15:50 Oral Session XIV 「Cell therapy 2」 座長：諸富 洋介、村橋 睦了
16:00	15:55~16:45 教育講演4 「遺伝子・細胞治療を具現化するオルガノイド」 座長：森下 竜一 演者：武部 貴則		
17:00	16:45~ 閉会式		
18:00			
19:00			

Time Table

General Information

■ Meeting Schedule

Monday, September 11, 2023 - Wednesday, September 13, 2023

■ Venue

Osaka International Convention Center (OICC)
5-3-51 Nakanoshima Kita-ku, Osaka city, Osaka 530-0005, Japan
<https://www.gco.co.jp/en/traffic-access/>

■ Registration Fee

Category	Early Registration Deadline: noon on Aug. 31 st (JST)	Standard registration From Aug. 31 st to 17:00 on Sep. 13 th (JST)
JSGCT Member	12,000 JPY	15,000 JPY
Non Member	20,000 JPY	30,000 JPY
Graduate Student	3,000 JPY	
Student *1	Free	
Get Together*2 Date: Evening on Sep.12 (Tue.)	5,000 JPY	

*1 Student needs to adduce verification card.

*2 All categories can apply. The number of participants is limited. Please apply as soon as possible.

※Registration Fee Includes: Certificate of Attendance, Receipt, Abstract Book (PDF)

■ Method of Payment

Method of Payment: Credit Card only (VISA, MasterCard, JCB, AMEX, Diners Club is accepted).

■ Registration Hours

Registration desk is located at 10F Lobby.

September 11 (Mon.) 8:15-18:00

September 12 (Tue.) 8:00-17:00

September 13 (Wed.) 7:15-17:00

How to register: Online registration only

Method of Payment: Credit Card only (VISA, MasterCard, JCB, AMEX, Diners Club is accepted).

※In order to prevent crowding at reception, please register to participate through the online registration system on the JSGCT2023 website in advance.

■ JSGCT Get Together:

Date: 19:00-20:30, September 12 (Tue.)

Venue: Grande Toque, 12F, OICC

Ticket: 5,000 yen

※Tickets are available at the Registration Desk onsite as long as seats are available.

■ PMDA consultation meeting:

Venue: Room 801, 8F, OICC

Hours: 19:00-20:30, September 12 (Tue.)

Hosted by Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

※Registration has already closed.

■ JSGCT Board Meeting

Date: Monday, September 11, 8:30-9:20

Venue: Room 3 (1008, 10F, OICC)

■ JSGCT Councilors Meeting:

Date: Monday, September 11, 13:30-14:10

Venue: Room 1 (Room 1001-1003, 10F, OICC)

■ JSGCT General Assembly

Date: Tuesday, September 12, 12:35-13:25

Venue: Room1 (Room 1001-1003, 10F, OICC)

※Please note that ALL JSGCT members participating on-site are requested to attend this meeting.

■ Exhibition

The Exhibition room is on Room 1004-1007, 10F, OICC.

September 11 (Mon.) 9:00-18:00

September 12 (Tue.) 9:00-17:30

September 13 (Wed.) 8:30-13:30

■ Luncheon Seminars / Morning Seminars / Evening Seminars

No tickets are required to participate in Luncheon, Morning, and Evening Seminars.

Admission is on a first-come, first-served basis.

Please visit the session room directly if you want to participate.

■ Cloak

Cloak is located at 10F Lobby.

Be sure to keep valuables in your possession at all times.

September 11 (Mon.) 8:15-18:00

September 12 (Tue.) 8:00-17:00

September 13 (Wed.) 7:15-17:00

■ Instructions for speakers in oral presentation

1. The language for oral presentation is either Japanese or English.
2. The time allocation for oral presentations is 10 minutes (8 min presentation, 2 min Q&A).
3. Simultaneous interpretation will not be provided.
4. Application software for preparing presentation data should be PowerPoint 2007/2010/2013/2016/2019.
5. If you have prepared your presentation data on a Macintosh PowerPoint, please check that your presentation functions correctly in a windows-based environment, or bring your own PC in order to avoid display problems.
6. Use standard font (e.g. Arial, Helvetica, Times, Times New Roman) in preparing your presentation to avoid conversion errors.
7. All authors required to disclose any conflict of interest with sponsoring companies.
For oral presentations, please include the slide disclosing the state of COI in your PowerPoint presentation after your title slide.
(You can download sample template from Call for Abstract page on your website
<https://www.c-linkage.co.jp/jsget2023/coi.html>)
8. To avoid the possible spread of computer viruses, please scan your presentation files beforehand with updated anti-virus software.

■ PC Preview Section

1. Please bring your presentation data in a USB flash memory on your own laptop PC, at least 30 minutes prior to your presentation to the PC Preview Section to complete review of presentation data.
2. On-site operating system will be Windows 10, PowerPoint 2007/2010/2013/2016/2019.
3. Please place all video clips linked with the PowerPoint presentation into a single folder. Video file should be WMV or MPEG1, MPEG4.
4. If you are using a Macintosh Powerpoint presentation with moving images, please bring your own device and back-up data to make your presentation.
5. Presentation data loaded on the conference PC will be completely deleted after your presentation by our staff.

PC Preview Desk is located at 10F.

< Opening hours >

September 11 (Mon.) 8:15-19:00

September 12 (Tue.) 8:00-17:00

September 13 (Wed.) 7:15-17:00

■ Laptop users

1. Macintosh users are requested to bring your own device.
2. Please turn off any sleep functions and screen savers beforehand.
3. Cable connector used at the venue for image output is D-sub 15 pin connector or HDMI. Please bring your own connector conversion adapter if necessary.
4. After checking your data at the PC Preview Section, please bring your PC to the “Operating Desk” near the speakers’ podium in the session rooms.
5. Please pick up your PC at the Operation Desk after your presentation.

Venue: Osaka International Convention Center (OICC)

■ From Keihan Nakanoshima Station

Next to Exit No. 2 of Keihan Nakanoshima Station

■ From JR Osaka Station

- About 10 min. by Taxi

■ From Shin-Osaka Shinkansen (Bullet Train) Station

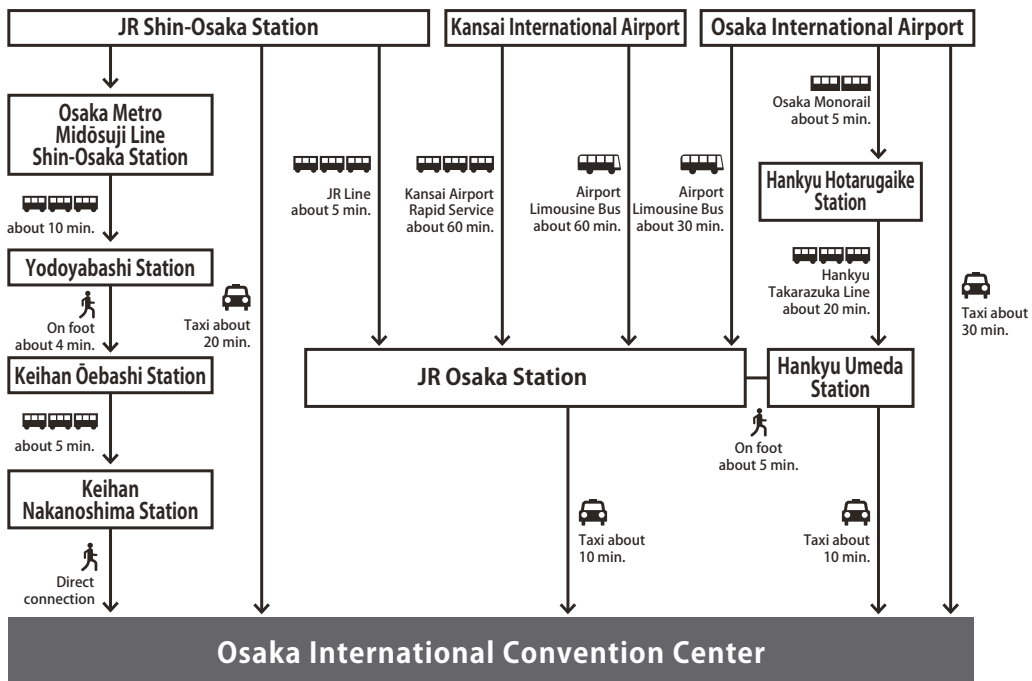
- About 20 min. by Taxi
- Transfer to the JR local line, and disembark at Osaka Station (approx. 5 min.)

■ From Kansai International Airport

- About 60 min. by Taxi
- About 60 min. to Osaka Station on the JR Line (Kansai Airport rapid service)
- About 60 min. to the Osaka Station by airport limousine bus

■ From Osaka International Airport (Itami Airport)

- About 30 min. by Taxi
- About 30 min. to the Osaka Station by airport limousine bus
- About 5 min. to the Hotarugaik Station by Osaka Monorail From Hotarugaik Station, About 20 min. to the Umeda Station by Hankyu Takarazuka Line

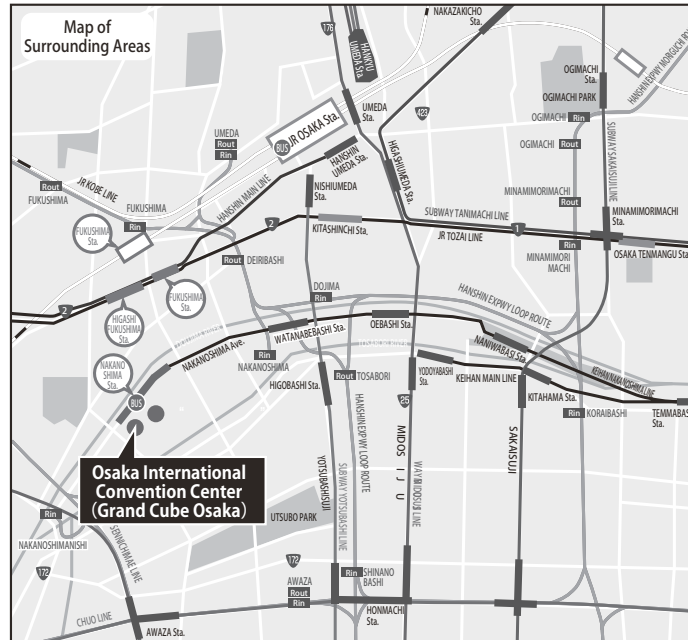


Map of Surrounding Areas

Osaka International Convention Center

5-3-51, Nakanoshima Kita-ku, Osaka 530-0005 JAPAN

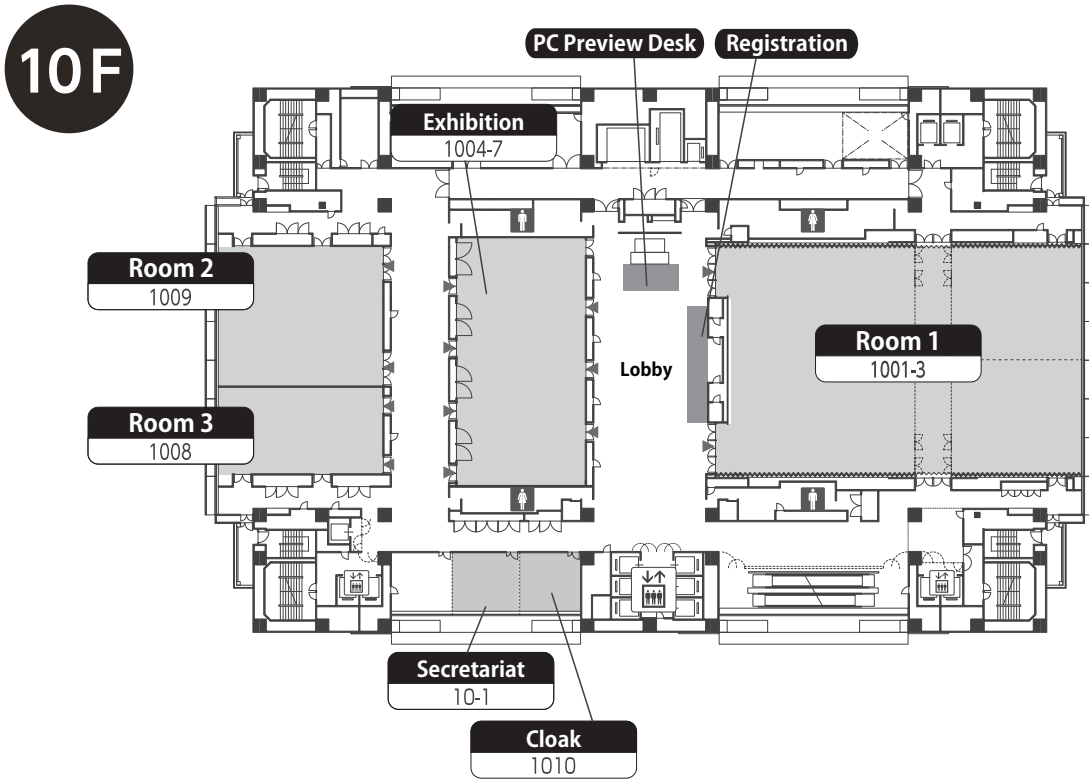
TEL : +81-(0)6-4803-5555



Nearest stations guide

- **From Shin-Osaka Station:**
Get on Osaka Metro Midōsuji Line Shin-Osaka Station, and get off at Yodoyabashi Station. Walk to the Keihan Oebashi Station and get on the train to Keihan Nakanoshima Station.
Osaka International Convention Center is next to Exit No.2 of Keihan Nakanoshima Station
- **JR Loop Line:** 15-min. walk from Fukushima Station.
- **JR Tozai Line:** 10-min. walk from Exit No.2 or No.3 of Shin-Fukushima Station.
- **Hanshin Railway:** 10-min. walk from Exit No.3 of Fukushima Station.
- **Subway:** 15-min. walk from Exit No.1 of the Central Line or Exit No.9 of the Sennichimae Line of Awaza Station.

Floor Map



Time Table

Day 1 September 11(Mon.)

	Room 1 10F 1001-1003	Room 2 10F 1009	Room 3 10F 1008
8:00			
30			
9:00			
30	9:25-9:30 Opening Remarks		
10:00	9:30-10:00 JSGCT Chairman's Lecture Chair:Hideki Mochizuki Speaker:Ryuichi Morishita		
30	10:00-10:30 Special Lecture 1 Chairs:Ryuichi Morishita / Hideki Mochizuki Speaker:Katsunobu Kato		
11:00	10:30-11:30 Plenary Session Chairs:Makoto Otsu Yumi Kanegae	10:50-12:20 Symposium 1 「Cancer Gene Therapy」 Chairs:Kentaro Ohki / Yozo Nakazawa Speakers: Yozo Nakazawa Masahiro Tsuji Shigeki Yagyu Shin Kawamata	
30	11:30-12:20 Educational Lecture 1 「PMDA's Vision for the Future」 Chair:Teruhide Yamaguchi Speaker:Haruko Yamamoto		11:20-12:10 Oral Session I 「Viral vectors 1」 Chairs:Fuminori Sakurai / Yasushi Soda
12:00			
30	12:25-13:25 Luncheon Seminar 1 Chairs:Makoto Otsu / Yoshiaki Sawa Speaker:Shigeki Yagyu (MaxCyte, Inc. & Kiko Tech., Ltd)	12:25-13:25 Luncheon Seminar 2 Chair:Akihiro Kume Speakers:Reiko Arakawa / Michiko Yoshida (Biogen Japan Ltd.)	12:25-13:25 Luncheon Seminar 3 Chair:Yoshikazu Yonemitsu Speaker:Michelle Hussong (Cytiva)
13:00			
30	13:30-14:10 JSGCTG Councilor's meeting		
14:00			
30	14:15-15:45 The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program Chairs:Yoshikazu Yonemitsu / Katsuto Tamai Speakers: Katsuto Tamai Yoshiaki Sawa Hideyuki Okano Yoshikazu Yonemitsu	14:15-15:45 Symposium 2 「Onvolytic virus and cell-based therapy」 Chairs:Toshiyoshi Fujiwara / Hirouki Mizuguchi Speakers: Yohei Kitamura Nobuhiko Kanaya Fuminori Sakurai Takafumi Nakamura	14:15-15:15 Oral Session II 「Neurogenic」 Chairs:Yasuhiro Ikeda / Koichi Miyake
15:00			
30	15:45-17:15 Symposium 3 「Regulation」 Chairs:Akihiro Kume / Eriko Uchida Speakers: Jun Matsumoto Kazushige Maki Akira Sakurai	15:45-17:15 English Symposium 4 「Neuromuscular Disorder」 Chairs:Shin-ichi Muramatsu / José A. Obeso Speakers: Alvin Luk Shin Kwak Yoshiko Murakami Alexander P. Murphy	15:25-16:35 Oral Session III 「Cancer 1」 Chairs:Hideki Kasuya / Shuji Kubo
16:00			
30	17:15-18:45 English ASGCT / ESGCT / JSGCT Joint Symposium Chairs:Noriyuki Kasahara / Takafumi Nakamura Speakers: Jeffrey Scott Chamberlain Hildegard Büning Ryuichi Morishita	17:15-18:45 English Symposium 5 「Genetic Diseases」 Chairs:Hiroshi Kobayashi / Makoto Migita / Nathalie Cartier Speakers: Tae Matsumoto Karin Kojima Yohta Shimada Toru Uchiyama Naoya Uchida	16:40-17:50 Oral Session IV 「Immune / Cardiovascular / Regenerative medicine / Others」 Chairs:Junichi Mineno / Ryosuke Uchibori
17:00			
30			17:55-18:45 Sponsored Seminar Chair:Tatsushi Toda Speaker:Yukinori Okada (Scrum Inc.)
18:00			
30	18:50-19:30 Evening Seminar 1 Chair:Fuminori Sakurai Speaker:Toru Uchiyama (Bio-Rad Laboratories K.K.)	18:50-19:30 Evening Seminar 2 Chair:Takashi Okada Speakers:Toru Tsuji / Shiori Akiyama (Sartorius Stedim Japan K.K.)	18:50-19:30 Evening Seminar 3 Chair:Shin-ichi Muramatsu Speaker:Toshio Saito (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)
19:00			
30			

Day 2 September 12(Tue.)

	Room 1 10F 1001-1003	Room 2 10F 1009	Room 3 10F 1008	PMDA 8F 802
8:00				
30	8:15-8:55 Morning Seminar 1 Chair: Hideki Mochizuki Speaker: Tatsusada Okuno (Alexion Pharma GK)	8:15-8:55 Morning Seminar 2 Chair: Atsushi Miyamura Speaker: Angela Zhang (Nepa Gene Co., Ltd.)	8:15-8:55 Morning Seminar 3 Chair: Seiichi Nagano Speaker: Yoshitaka Nagai (Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)	
9:00		9:00-9:45 English Invited Lecture 1 Chair: Toya Ohashi Speaker: Nathalie Cartier	9:00-10:10 Oral Session V 「Viral vectors 2」 Chairs: Ken-ichiro Kosai / Hiroaki Mizukami	
30	9:00-10:30 Vice-Presidential Special Program Chairs: Naoki Hosen / Keiya Ozawa Speakers: Naoki Hosen Koji Tamada Yasuyuki Arai Shin Kaneko	9:45-11:15 English Nucleic Acids Therapeutics Related Program Chairs: Satoshi Obika / Makoto Koizumi Speakers: Hideaki Sato Satoshi Obika Hidetaka Akita Makoto Koizumi	10:10-10:50 Oral Session VI 「Genetic Diseases」 Chairs: Yohta Shimada / Toru Uchiyama	
10:00				
30	10:30-11:20 English Invited Lecture 2 Chair: Yoshikatsu Eto Speaker: Hildegard Büning (AnGes, Inc.)			
11:00				
30	11:30-12:30 Luncheon Seminar 4 Chair: Masayuki Nakamori Speaker: Yukio Ando (Alnylam Japan K.K.)	11:30-12:30 Luncheon Seminar 5 Chair: Hiroshi Fujiwara Speaker: Naoki Hosen (Miltenyi Biotec K.K.)	11:30-12:30 Luncheon Seminar 6 Chair: Masafumi Onodera Speakers: Susumu Uchiyama Yoshinori Takagi (Synplogen Co., Ltd.)	
12:00				
30				
13:00	12:35-13:25 General Assembly			
30				
14:00	13:30-14:10 Dialogue Session Chair: Hideki Mochizuki Speaker: Takenori Emoto			
30	14:10-15:00 English Invited Lecture 3 Chairs: Hideki Mochizuki / Haruhiko Kishima Speaker: José A. Obeso	14:20-15:50 Symposium 6 「non viral vector・Advanced medicine」 Chairs: Hironori Nakagami / Tatsushi Toda Speakers: Takeshi Yamamoto Kenya Kamimura Yoshihiro Asano Hironori Nakagami	14:20-15:20 Oral Session VII 「Viral vectors 3」 Chairs: Kounosuke Mitani / Toshiro Shirakawa	
15:00	15:00-16:30 Presidential Special Program 1 「What is missing to bring distinguish research seeds of related gene therapy in Japan into clinical innovations in the global market?」 Chairs: Yasushi Kajii / Yasuko Terao Speakers: Yasushi Kajii Tomoji Mashimo Takeshi Takahashi Toshio Fujimoto Yoshinori Ikeura	15:50-17:20 The Japanese Society of Virology Joint Program Chairs: Takafumi Nakamura / Keizo Tomonaga Speakers: Ryo Komorizono Takeshi Kobayashi Masaharu Iwasaki Takashi Okura	15:20-16:20 Oral Session VIII 「Cell therapy 1」 Chairs: Ken Ohmine / Hiroaki Ikeda	
16:00				
30	16:30-17:20 Educational Lecture 2 Chair: Takashi Shimada Speaker: Masafumi Onodera		16:20-17:30 Oral Session IX 「Viral vectors 4」 Chairs: Sachiko Okamoto / Yoshihide Sehara	
17:00				
30	17:20-18:50 Presidential Special Program 2 「Policy initiatives from the Ministries and AMED for gene and cell therapy in Japan」 Chairs: Hideki Mochizuki / Masafumi Onodera Speaker: Hiroyuki Kamai Keigo Sano Hirokazu Shimoda Kentaro Oki	17:20-18:50 English Symposium 7 「Vector Development」 Chairs: Takashi Okada / Hiroyuki Nakai Speakers: Kiyotake Ishikawa John Fraser Wright Rachael A Potter	17:30-18:40 Oral Session X 「Regulatory science」 Chairs: Toshihiko Okazaki / Eriko Uchida	
18:00				
30				
19:00				
30				

9:00-18:00
PMDA

※19:00 - 20:30 Get Together (Osaka International Convention Center 12F Grandetoque)

Day 3 September 13(Wed.)

	Room 1 10F 1001-1003	Room 2 10F 1009	Room 3 10F 1008
8:00	7:45-8:25 Morning Seminar 4 Chair: Akiko Ishii Speaker: Masanori Takahashi (argenx Japan K.K.)	7:45-8:25 Morning Seminar 5 Chair: Yuko Kasahara Speaker: Yusuke Maruyama (Sartorius Japan K.K.)	7:45-8:25 Morning Seminar 6 Chair: Hiroyuki Nakai Speaker: Kathrin Schneider (Revvity, Inc.)
9:00	8:35-9:25 English Invited Lecture 4 Chairs: Shin-ichi Muramatsu / Masahiro Toda Speaker: Adrian P Kells	8:35-10:05 English Symposium 8 「Cancer」 Chairs: Yasutomu Nasu / Hiroshi Fukuhara Speakers: Hideki Kasuya Kenichiro Kosai Kazunori Aoki Masato Yamamoto	8:35-9:35 Oral Session XI 「Viral vectors 5」 Chairs: Yasunari Matsuzaka / Tsutomu Sasaki
10:00	9:25-10:25 Debate Session Chair: Aya Kubota Speakers: Ryoosuke Takahashi Hideki Mochizuki	10:05-10:55 English Special Lecture 2 Chair: Ryuichi Morishita Speaker: David Baram (AnGes, Inc.)	9:35-11:05 Genetic Counseling in Gene Therapy Chairs: Atsushi Watanabe / Masayoshi Nakakuni Speakers: Masayoshi Nakakuni Atsushi Watanabe Mio Tsuchiya Torayuki Okuyama
11:00	10:25-11:55 Presidential Special Program 3 「Implementation of gene and cell therapy products. Voice from Clinical Sites」 Chairs: Masafumi Onodera / Hideki Mochizuki Speakers: Takahiro Ueda Yuki Kato Yasuyuki Arai Yuko Shimizu-Motohashi	10:55-12:25 English The Japanese Society of Child Neurology Joint Program Chairs: Hitoshi Osaka / Takanori Yamagata Speakers: Mitsuhiro Kato / Shinji Saito Hirofumi Komaki / Kazuhiro Muramatsu Tojo Nakayama	11:10-12:20 Oral Session XII 「Gene editing and other gene transfer technologies and stem cells」 Chairs: Tsukasa Ohmori / Yutaka Hanazono
12:00			
13:00	12:30-13:30 Luncheon Seminar 7 Chair: Tatsuji Enoki Speaker: Kazuhiko Namekata (Takara Bio Inc.)	12:30-13:30 Luncheon Seminar 8 Chair: Takanori Yamagata Speakers: Tomokazu Kimizu / Kaoru Fujinami (Novartis Pharma K.K. Gene Therapies Business Unit Medical Division)	12:30-13:30 Luncheon Seminar 9 Chair: Hitoshi Osaka Speakers: Yasushi Kajii Tadashi Suzuki (Takeda Pharmaceutical Company Limited)
14:00	13:35-15:05 The Japanese Society for Genome Editing Joint Program Chairs: Yumi Kanegae / Yasuji Kitabatake Speakers: Tsukasa Ohmori Keiichiro Suzuki Yasuji Kitabatake Akitsu Hotta	13:35-15:05 Young investigators session 「Explore a new era of gene therapy」 Chairs: Makoto Otsu / Kenya Kamimura Speakers: Hiromi Miura Tomoki Togashi Ikuho Ishigami Takenori Yamamoto	13:35-14:55 Oral Session XIII 「Cancer 2」 Chairs: Hiroshi Tazawa / Tomoyuki Nishikawa
15:00	15:05-15:55 Educational Lecture 3 Chair: Seiichi Nagano Speaker: Kazuto Kato	15:05-16:35 English Symposium 9 「Vector manufacturing」 Chairs: Toshihiko Okazaki / Susumu Uchiyama Speakers: Mikako Wada Kazuhsa Uchida Yugo Hirai Susumu Uchiyama	15:00-15:50 Oral Session XIV 「Cell therapy 2」 Chairs: Yosuke Morodomi / Mutsunori Murahashi
16:00	15:55-16:45 Educational Lecture 4 Chair: Ryuichi Morishita Speaker: Takanori Takebe		
17:00	16:45- Closing Remarks		
18:00			
19:00			



Program

プログラム

理事長講演(J)

9月11日(月) 9:30~10:00 第1会場

座長：望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

CL. 遺伝子細胞治療の現状と将来

森下 竜一 (大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学)

特別講演1(J)

9月11日(月) 10:00~10:30 第1会場

座長：森下 竜一 (大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学)

望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

SL1. コロナ禍乗り越え、新たな時代に

加藤 勝信 (厚生労働大臣)

特別講演2(E)

共催：アンジェス株式会社

9月13日(水) 10:05~10:55 第2会場

座長：森下 竜一 (大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学)

SL2. OMNITM Triple-platform technology - Removing the barriers in CRISPR-based gene editing therapy

David Baram (EmendoBio, Inc., USA)

対談セッション(J)

9月12日(火) 13:30~14:10 第1会場

座長：望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

演者：江本 孟紀 (元参議院議員)

大会長特別企画1(J)

—日本の優れた遺伝子治療研究シーズを世界市場の創薬イノベーションに繋げるために何が必要か?—

9月12日(火) 15:00~16:30 第1会場

座長：梶井 靖 (武田薬品工業株式会社)

寺尾 寧子 (武田薬品工業株式会社)

SP1-1. グローバルファーマが期待するこれからの遺伝子治療技術

梶井 靖 (武田薬品工業株式会社)

SP1-2. 日本からのゲノム編集技術革新：C4Uの挑戦

真下 知士 (東京大学医科学研究所)

SP1-3. アカデミックシーズとしての遺伝子治療技術をグローバル戦略製品に繋げるカギ

高橋 健 (キャタリスパシフィック)

SP1-4. エコシステムを通じて革新的技術の産業化を加速する

藤本 利夫 (アイパークインスティテュート株式会社)

指定討論者：池浦 義典 (アクセリード株式会社)

大会長特別企画2 (E)

—行政—

9月12日(火) 17:20~18:50 第1会場

座長：望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)
小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター)

SP2-1. 文部科学省における再生・細胞医療・遺伝子治療の研究開発支援の取組み
釜井 宏行 (文部科学省 ライフサイエンス課)

SP2-2. 再生医療等安全性確保法の改正について ~ in vivo 遺伝子治療の観点から~
佐野 圭吾 (厚生労働省 医政局 研究開発政策課 再生医療等研究推進室)

SP2-3. 遺伝子治療分野の産業化に向けた経済産業省の取組について
下田 裕和 (経済産業省 商務・サービスグループ 生物化学産業課)

SP2-4. AMED における遺伝子細胞治療事業の現状と今後の方向性
大木健太郎 (日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療事業部 遺伝子治療研究開発課)

大会長特別企画3 (J)

—遺伝子治療、再生医療—臨床現場からの声—

9月13日(水) 10:25~11:55 第1会場

座長：小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター)
望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

SP3-1. 再生医療による救急医療最前線 ~自家培養表皮による広範囲重症熱傷の治療戦略~
上田 敬博 (鳥取大学医学部附属病院高度救命救急センター)

SP3-2. JACC® を用いた自家培養軟骨移植：膝関節軟骨損傷に対する治療の進化
加藤 有紀 (亀田メディカルセンター スポーツ医学科)

SP3-3. CAR-T 細胞療法の光と影~現場での期待と疲弊
新井 康之 (京都大学医学部附属病院)

SP3-4. 実臨床現場での遺伝性神経筋疾患の遺伝子治療
本橋 裕子 (国立精神・神経医療研究センター)

副会長企画シンポジウム (J)

9月12日(火) 9:00~10:30 第1会場

座長：保仙 直毅 (大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学)
小澤 敬也 (自治医科大学医学部 難治性疾患遺伝子細胞治療開発講座)

PSP1. 血液がんに対する CAR-T 細胞の新規標的抗原の同定
保仙 直毅 (大阪大学大学院医学系研究科)

PSP2. 固形がん治療を目指した新たな CAR-T 細胞技術の進展
玉田 耕治 (国立大学法人山口大学)

PSP3. CAR-T のトリセツ~「細胞療法運用学」の観点から見た来し方行く末
新井 康之 (京都大学医学部附属病院)

PSP4. iPS 細胞を用いた同種 CAR-T 細胞治療の開発
金子 新 (京都大学 iPS 細胞研究所/筑波大学トランスポーター医学研究センター)

ディベート 再生医療と遺伝子治療 (J)

9月13日(水) 9:25~10:25 第1会場

座長：久保田 文 (日経バイオテック)

演者：高橋 良輔 (京都大学医学研究科臨床神経学)
望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

ASGCT/ESGCT/JSGCT ジョイントシンポジウム (E)

9月11日 (月) 17:15~18:45 第1会場

座長：笠原 典之 (Departments of Neurological Surgery and Radiation Oncology, University of California)
中村 貴史 (鳥取大学医学部医学科 ゲノム医療学分野)

JS-1. Next generation gene therapies for Duchenne muscular dystrophy (DMD)

Jeffrey Scott Chamberlain (University of Washington School of Medicine)

JS-2. How to empower current gene and cell therapy approaches by next generation AAV vectors

Hildegard Büning (Hannover Medical School, Hannover, Germany)

JS-3. Plasmid DNA-based Gene Therapy: From Regenerative Medicine to Vaccine

森下 竜一 (大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学)

海外招請講演 1 (E)

9月12日 (火) 9:00~9:45 第2会場

座長：大橋 十也 (東京慈恵会医科大学 医学部看護学科 健康科学疾病治療学)

IL1. Cholesterol Pathway Gene Therapy to treat Neurodegenerative Diseases

Nathalie Cartier (Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), France)

海外招請講演 2 (E)

共催：アンジェス株式会社

9月12日 (火) 10:30~11:20 第1会場

座長：衛藤 義勝 (東京慈恵会医科大学)

IL2. Improving efficacy and safety of AAV vectors for in vivo gene therapy

Hildegard Büning (Hannover Medical School, Hannover, Germany)

海外招請講演 3 (E)

9月12日 (火) 14:10~15:00 第1会場

座長：望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

貴島 晴彦 (大阪大学大学院医学系研究科 脳神経外科)

IL3. Focal brain delivery of gene therapy via blood brain barrier opening in neurodegenerative diseases

José A. Obeso (Fundación HM Hospitales. Universidad CEU-San Pablo, Spain)

海外招請講演 4 (E)

9月13日 (水) 8:35~9:25 第1会場

座長：村松 慎一 (自治医科大学 神経遺伝子治療)

戸田 正博 (慶應義塾大学医学部 脳神経外科)

IL4. A GENE THERAPY DELIVERED GROWTH FACTOR APPROACH TO TREATING PARKINSON'S DISEASE AND MULTIPLE SYSTEM ATROPHY

Adrian P Kells (Asklepios BioPharmaceutical, Inc. (AskBio))

教育講演 1 (J)

9月11日 (月) 11:30~12:20 第1会場

座長：山口 照英 (金沢工業大学 加齢医工学先端技術研究所)

ED1. これからの PMDA

山本 晴子 (国立循環器病研究センター)

教育講演2 (J)

9月12日 (火) 16:30~17:20 第1会場

座長：島田 隆 (日本医科大学)

ED2. 国内の遺伝子治療を俯瞰して思うこと

小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター)

教育講演3 (J)

9月13日 (水) 15:05~15:55 第1会場

座長：長野 清一 (大阪大学大学院医学系研究科 神経難病認知症探索治療学 寄付講座)

ED3. ヒトゲノム編集と遺伝子治療の倫理的課題とガバナンス

加藤 和人 (大阪大学大学院医学系研究科・医の倫理と公共政策学分野)

教育講演4 (J)

9月13日 (水) 15:55~16:45 第1会場

座長：森下 竜一 (大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学)

ED4. 遺伝子・細胞治療を具現化するオルガノイド医療

武部 貴則 (東京医科歯科大学統合研究機構／大阪大学大学院医学系研究科 器官システム創生学)

日本再生医療学会 共同企画 (J)

9月11日 (月) 14:15~15:45 第1会場

座長：米満 吉和 (九州大学大学院薬学研究院)
玉井 克人 (大阪大学大学院医学系研究科)

RM-1. Development of regeneration-inducing gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa

玉井 克人 (大阪大学大学院医学系研究科)

RM-2. Development of iPS regenerative therapy using iPS derived cardiac cell patch

澤 芳樹 (大阪警察病院)

RM-3. 遺伝子導入神経幹細胞を用いた中枢神経系機能再生への試み

岡野 栄之 (慶應義塾大学医学部)

RM-4. 我々が開発を進める他家細胞製剤：その生物学的特性と製造原料 (末梢血単核球) 調達スキーム

米満 吉和 (九州大学大学院薬学研究院)

核酸医薬シンポジウム (E)

9月12日 (火) 9:45~11:15 第2会場

座長：小比賀 聡 (国立大学法人 大阪大学大学院薬学研究科)
小泉 誠 (第一三共株式会社 モダリティ研究所)

NA-1. 核酸医薬品の進歩：個別化遺伝子治療の新たな潮流

佐藤 秀昭 (ルクサナバイオテック株式会社)

NA-2. アンチセンス核酸への応用を目指した人工核酸の開発

小比賀 聡 (大阪大学大学院薬学研究科)

NA-3. 核酸/RNA 創薬を加速する DDS 基盤としての環境応答性脂質様材料 (ssPalm) の開発

秋田 英万 (東北大学)

NA-4. Exon skipping therapeutic strategy using 2'-O,4'-C-ethylene-bridged nucleic acid (ENA) oligonucleotides

小泉 誠 (第一三共株式会社 モダリティ研究所)

日本ウイルス学会 共同企画 (J)

—加速する新たなウイルスベクター開発の最前線—

9月12日 (火) 15:50~17:20 第2会場

座長：中村 貴史 (鳥取大学医学部医学科 ゲノム医療学分野)
朝長 啓造 (京都大学医生物学研究所)

JSV-1. ボルナウイルスベクターを用いた遺伝子細胞治療薬の開発
小森園 亮 (京都大学医生物学研究所 RNA ウイルス分野)

JSV-2. 分節型二本鎖 RNA ウイルスベクターの開発研究における最近の進展
小林 剛 (大阪大学 微生物病研究所)

JSV-3. 外来遺伝子発現量を調節可能な新規 LCMV ベクター開発の分子基盤
岩崎 正治 (大阪大学 微生物病研究所)

JSV-4. 光制御可能な組換え牛パラインフルエンザウイルス 3 型の作出
大倉 喬 (国立感染症研究所ウイルス第三部)

ゲノム編集学会合同企画 (J)

9月13日 (水) 13:35~15:05 第1会場

座長：鐘ヶ江裕美 (東京慈恵会医科大学)
北畠 康司 (大阪大学大学院医学系研究科 小児科)

GE-1. ゲノム編集を用いた遺伝子治療 ~ Overview
大森 司 (自治医科大学 大学生化学講座)

GE-2. 生体内遺伝子ノックイン技術を用いた新規遺伝子治療法の開発
鈴木啓一郎 (大阪大学)

GE-3. ゲノム編集をもちいたダウン症候群の遺伝子治療法の開発
北畠 康司 (大阪大学大学院医学系研究科 小児科)

GE-4. CRISPR-Cas3 による巨大 DNA 欠失誘導と DMD 適応変異の拡張
堀田 秋津 (京都大学 iPS細胞研究所)

日本遺伝子細胞治療学会-日本小児神経学会 (JSGCT-JSCN) ジョイントシンポジウム (E)

—遺伝性神経・筋疾患に対する遺伝子治療—

9月13日 (水) 10:55~12:25 第2会場

座長：小坂 仁 (自治医科大学小児科学)
山形 崇倫 (栃木県立リハビリテーションセンター)

1. Future perspectives on gene therapy for genetic epilepsy
加藤 光広 (昭和大学医学部小児科学講座)

2. Gene therapy for intellectual disability, autism and imprinting disorders
齋藤 伸治 (名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野)

3. Gene therapy for hereditary neuromuscular diseases
小牧 宏文 (国立精神・神経医療研究センター)

4. Development for Gene therapy of Neurodegenerative Diseases
村松 一洋 (自治医科大学)

5. Establishing a Model for N-of-1 Oligonucleotide Therapeutics: Prospect and Challenge in Japan
中山 東城 (東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 脳神経病態学分野)

遺伝子治療における遺伝カウンセリング (J)

9月13日 (水) 9:35~11:05 第3会場

座長：渡邊 淳 (金沢大学附属病院 遺伝診療部・遺伝医療支援センター)
中国 正祥 (国立成育医療研究センター/遺伝子細胞治療推進センター/臨床研究センター)

GC-1. 遺伝子細胞治療の課題に対する遺伝カウンセリング

中国 正祥 (国立成育医療研究センター/遺伝子細胞治療推進センター/臨床研究センター)

GC-2. 遺伝カウンセリング・遺伝/ゲノム医療の現状と動向

渡邊 淳 (金沢大学附属病院 遺伝診療部・遺伝医療支援センター)

GC-3. 治療可能な遺伝性疾患における遺伝カウンセリングの役割と課題：製薬企業所属 認定遺伝カウンセラーの視点から

土屋 実央 (アミカス・セラピューティクス株式会社)

GC-4. 新生児スクリーニングにおける早期診断・介入について

奥山 虎之 (埼玉医科大学 ゲノム医療科)

シンポジウム1 (J)

–Cancer Gene Therapy–

9月11日 (月) 10:50~12:20 第2会場

座長：大木健太郎 (日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療事業部 遺伝子治療研究開発課)
中沢 洋三 (信州大学医学部小児医学教室)

S1-1. CAR-T 細胞のアカデミア創薬の現状と課題

中沢 洋三 (信州大学医学部小児医学教室)

S1-2. 遺伝子治療、再生医療の新展開

辻 真博 (科学技術振興機構 研究開発戦略センター)

S1-3. CAR-T 細胞療法の社会実装を目指したアカデミアとバイオテックの連携 - 日本発 CAR-T 細胞の非臨床開発から治験に向けた取り組み

柳生 茂希 ((株) A-SEEDS/信州大学 学術研究・産学官連携推進機構)

S1-4. CAR-T 製剤開発における CDMO の役割

川真田 伸 (株式会社サイト・ファクト)

シンポジウム2 (J)

–Onvolytic virus and cell-based therapy–

9月11日 (月) 14:15~15:45 第2会場

座長：藤原 俊義 (岡山大学学術研究院 医歯薬学域 消化器外科学)
水口 裕之 (大阪大学大学院 薬学研究科)

S2-1. 癌性髄膜炎に対する幹細胞治療

北村 洋平 (慶應義塾大学医学部脳神経外科)

S2-2. 悪性黒色腫軟膜播種に対する抗がんウイルスを用いた新規遺伝子改変間葉系幹細胞治療の開発

金谷 信彦 (岡山大学病院 消化管外科)

S2-3. 35 型アデノウイルスを基盤とした新規腫瘍溶解性ウイルスの開発

櫻井 文教 (大阪大学大学院薬学研究科)

S2-4. 次世代腫瘍溶解性ワクシニアウイルスの開発

中村 貴史 (鳥取大学医学部医学科 ゲノム再生医学講座 ゲノム医療学分野)

シンポジウム3 (J)

—規制—

9月11日 (月) 15:45~17:15 第1会場

座長：久米 晃啓 (自治医科大学)

内田恵理子 (国立医薬品食品衛生研究所)

S3-1. 遺伝子治療用製品等の開発促進に向けた PMDA の取組みと最近の承認状況

松本 潤 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部)

S3-2. 遺伝子治療用製品等の開発における非臨床安全性評価の留意点

真木 一茂 (医薬品医療機器総合機構)

S3-3. カルタヘナ法運用の最新状況と遺伝子組み換え生物の品質管理について

櫻井 陽 (独立行政法人医薬品医療機器総合)

シンポジウム4 (E)

—Neuromuscular Disorders—

9月11日 (月) 15:45~17:15 第2会場

座長：村松 慎一 (自治医科大学 神経遺伝子治療)

José A. Obeso (HM CINAC (Centro Integral de Neurociencias), Madrid, Spain)

S4-1. Advances and Challenges of Next-Generation CRISPR 4.0 Gene-Editing Technology for Neurological Diseases

Alvin Luk (HuidaGene Therapeutics, Inc.)

S4-2. Gene Therapy for ALS

Shin Kwak (Division of Neurology, Tokyo Medical University)

S4-3. Establishment of a mouse model of inherited PIGO deficiency and therapeutic potential of AAV-based gene therapy

Yoshiko Murakami (Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

S4-4. A Roche reflection on our experiences with gene therapy in Duchenne muscular dystrophy

Alexander P. Murphy (Roche Products Ltd, Welwyn Garden City, UK)

シンポジウム5 (E)

—Genetic Diseases—

9月11日 (月) 17:15~18:45 第2会場

座長：小林 博司 (東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 遺伝子治療研究部)

右田 真 (日本医科大学武蔵小杉病院 小児科)

Nathalie Cartier (Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), Paris, France)

S5-1. 低ホスファターゼ症に対する新規治療薬 (遺伝子治療薬: ARU-2801) の有効性と安全性の検討

松本 多絵 (日本医科大学小児科学)

S5-2. AAV によるニーマンピック C 型の遺伝子治療

小島 華林 (自治医科大学 小児科学)

S5-3. レンチウイルスベクターによるライソゾーム病の遺伝子治療

嶋田 洋太 (東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 遺伝子治療研究部)

S5-4. 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療

内山 徹 (国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 疾患遺伝子構造研究室)

S5-5. レンチウイルスベクターによる鎌状赤血球症の造血幹細胞遺伝子治療

内田 直也 (National Institutes of Health)

シンポジウム6 (J)

— non viral vector・先端医療—

9月12日 (火) 14:20~15:50 第2会場

座長：中神 啓徳 (大阪大学医学系研究科)
戸田 達史 (東京大学大学院医学研究科 神経内科学)

- S6-1 核酸ナノテクノロジーのアンチセンス法への応用**
山本 剛史 (長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 (薬学系))
- S6-2. ハイドロダイナミック遺伝子導入法の遺伝子治療・動物モデル作製への応用**
上村 顕也 (新潟大学医学部医学科総合診療学講座)
- S6-3. 生活習慣病・難治性疾患を標的とした新規ワクチン開発**
中神 啓徳 (大阪大学大学院医学系研究科健康発達医学寄附講座)
- S6-4. 機能喪失型心筋症への遺伝子治療開発**
朝野 仁裕 (国立循環器病研究センター)

シンポジウム7 (E)

—Vector Development—

9月12日 (火) 17:20~18:50 第2会場

座長：岡田 尚巳 (東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野)
中井 浩之 (Oregon Health & Science University)

- S7-1. Promoting clinical translation of cardiac gene therapy**
Kiyotake Ishikawa (Mount Sinai)
- S7-2. Development of Recombinant AAV for Human Gene Therapy: Vector Design and Manufacturing Strategies to Reduce Immune Responses**
John Fraser Wright (Stanford University School of Medicine)
- S7-3. The safety and efficacy of pre-treatment with imlifidase prior to adeno associated virus (AAV)-based gene therapy in non-human primates with pre-existing anti-AAVrh74 antibodies**
Rachael A Potter (Sarepta Therapeutics, Inc., Cambridge, MA, USA)

シンポジウム8 (E)

—Cancer—

—癌—

9月13日 (水) 8:35~10:05 第2会場

座長：那須 保友 (岡山大学 学長)
福原 浩 (杏林大学医学部)

- S8-1. Alteration of the surrounding immunological tumor environment by Oncolytic viruses.**
Hideki Kasuya (Nagoya University Graduate School of Medicine, Cancer Immune Therapy Center)
- S8-2. Clinical trials and next-generation technology development of Survivin-responsive conditionally replicating adenovirus targeting and treating with multiple factors (Surv.m-CRA)**
Ken-ichiro Kosai (Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences / Kagoshima University Hospital)
- S8-3. The Role of Myeloid-derived Suppressor Cells in Construction of Immune Suppressive Tumor Microenvironment of Pancreatic Cancer**
Kazunori Aoki (National Cancer Center Research Institute)
- S8-4. Oncolytic Adenoviruses for Pancreatic Cancers**
Masato Yamamoto (University of Minnesota)

シンポジウム9(E)
-Vector manufacturing-
-ベクター製造-

9月13日(水) 15:05~16:35 第2会場

座長：岡崎 利彦 (大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター)
内山 進 (国立大学法人大阪大学大学院 工学研究科生物工学専攻)

S9-1. GMP viral vector manufacturing for academia R&D

Mikako Wada (Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

S9-2. Quantitative analysis of GOI and impurity nucleic acids of AAV viral vectors by droplet digital PCR

Kazuhisa Uchida (Kobe University Graduate School of Science, Technology and Innovation)

S9-3. Establishment of new human amniotic epithelial cell lines for scalable production of recombinant adeno-associated viral vectors for gene therapy

Yugo Hirai (Chitose Laboratory Corp. / Manufacturing Technology Association of Biologics)

S9-4. Analytical development and quality control of AAV vectors

Susumu Uchiyama (Osaka University / U-Medico, Inc.)

若手シンポジウム(J)

-多分野の若手研究者が拓く次世代の遺伝子治療-

9月13日(水) 13:35~15:05 第2会場

座長：大津 真 (北里大学医療衛生学部)
上村 顕也 (新潟大学医学部 総合診療学講座)

YS-1. ゲノム編集 ”見える化” を目指したレポーターマウスの開発

三浦 浩美 (東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学)

YS-2. プロテインC欠損マウスに対する新生児ゲノム編集治療

富樫 朋貴 (自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門)

YS-3. 腫瘍溶解性ウイルス製剤であるレオウイルスによる脱線維化効果

石神 育歩 (大阪大学大学院薬学研究科)

YS-4. AAV ベクターを用いた遺伝子治療用製品に関する規制科学研究

山本 武範 (国立医薬品食品衛生研究所)

一般演題 (口演)

Plenary Session (E or J)

9月11日 (月) 10:30~11:30 第1会場

座長：大津 真 (北里大学医療衛生学部)
鐘ヶ江裕美 (東京慈恵会医科大学)

PS-1. AAV9 カプシドの中和抗体を回避する血液脳関門透過型 AAV2 変異体 BR1N
川畑 勇人 (群馬大学大学院医学系研究科脳神経再生医学分野)

PS-2. 中間型の患者を含む AADC 欠損症に対する遺伝子治療の長期予後について
溝部万里奈 (自治医科大学 小児科学)

PS-3. 新規改変型 AAV.GT5 ベクターの血友病 B 遺伝子治療への応用
柏倉 裕志 (自治医科大学 医学部 生化学講座)

PS-4. 家族性 LCAT 欠損症を対象とした ex vivo 脂肪細胞遺伝子治療の first in human 試験
黒田 正幸 (千葉大学医学部附属病院 未来開拓センター)

Oral Session I (E or J)

Viral vectors 1

9月11日 (月) 11:20~12:10 第3会場

座長：櫻井 文教 (大阪大学大学院薬学研究科)
曾田 泰 (東京大学 定量生命科学研究所 ALA 先端医療学社会連携部門)

O1-1. Coxsackievirus A11 はヒト非小細胞肺癌を完全退縮させる免疫賦活化腫瘍溶解性ウイルス療法である
谷 憲三朗 (東京大学 定量生命科学研究所 ALA 先端医療学社会連携部門)

O1-2. 中和抗体回避能を有したヘキソン・ファイバー改変アデノウイルスベクターシステムの開発
塩田 葵 (大阪大学大学院薬学研究科 分子生物学分野)

O1-3. ミクログリア選択的遺伝子発現アデノ随伴ウイルスベクターの開発
今野 歩 (群馬大学大学院 医学系研究科)

O1-4. ポリマー被覆 AAV は、脳への HIFU によって肝障害、腎障害を防いで、特異的に遺伝子導入が可能になる。
喜納 宏昭 (公益財団法人川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター)

O1-5. アデノ随伴ウイルスベクターの静脈内投与による脳内細胞種特異的な遺伝子発現法の開発
平井 宏和 (群馬大学大学院医学系研究科)

Oral Session II (E or J)

Neurogenic

9月11日(月) 14:15~15:15 第3会場

座長：池田 康博(宮崎大学医学部 眼科学)
三宅 弘一(日本医科大学 遺伝子治療学講座)

02-1. Cell therapy for the chronic stage of ischemic stroke with bone marrow-derived inducible microglia-like cells in mice
Bach Ngoc Nguyen (Department of Neurology, Shiga University of Medical Science)

02-2. AAV.GT5、AAV.GTX ベクターによるマウス固有毛細胞への遺伝子導入
野田 昌生(自治医科大学耳鼻咽喉科頭頸部外科)

02-3. 蛋白質翻訳機能の促進による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法の開発
平木 友理(大阪大学大学院医学系研究科神経難病認知症探索治療学)

02-4. ニーマンピック病C型における免疫系による神経変性制御
安田 徹(日本医科大学)

02-5. スフェロイド神経培養におけるCa²⁺振動に対する塩誘導性キナーゼ SIK の影響
佐々木 勉(大阪大学大学院医学系研究科神経内科学)

02-6. Duchenne 型筋ジストロフィーに対するビルトラルセン投与経験
齊藤 利雄(国立病院機構大阪刀根山医療センター)

Oral Session III (E or J)

Cancer 1

9月11日(月) 15:25~16:35 第3会場

座長：粕谷 英樹(名古屋大学大学院医学系研究科 癌免疫治療研究室)
久保 秀司(兵庫医科大学 先端医学研究所)

03-1. 腫瘍溶解性ワクシニアウイルスの抗腫瘍免疫応答は細胞融合の誘導と免疫活性化因子の送達により相乗的に強化される
中武 大夢(鳥取大学医学部医学科 ゲノム医療学分野)

03-2. 2'3'-cGAMP は HSV1 の腫瘍溶解性ウイルス C-REV による腫瘍免疫治療効果を相乗的に促進する
Patricia Angela Alvero Siball (名古屋大学 大学院医学系研究科 国際医学教育学 癌免疫治療研究室)

03-3. 腫瘍溶解性ウイルスに感染した間葉系幹細胞による抗腫瘍効果の解析
松村 繁(名古屋大学 大学院医学系研究科 国際医学教育学 癌免疫治療研究室)

03-4. ハムスター膵癌モデルでの IFN-alpha 発現腫瘍溶解性アデノウイルス + ゲムシタビン + ナブパクリタキセル + 放射線療法
法の基礎的検討
篠田 崇平(山口大学医学部消化器内科学)

03-5. 胃がんに対する増殖型レトロウイルスベクターを用いた細胞死誘導型がんウイルス療法
久保 秀司(兵庫医科大学 先端医学研究所 分子遺伝治療学部門)

03-6. 受容体標的化腫瘍溶解性 HSV (RR-oHSV) への syn 変異の導入による抗腫瘍効果の増強
鈴木 拓真(東京薬科大学)

03-7. 膵臓癌の誘導するがん関連線維芽細胞サブタイプに対する腫瘍融解アデノウイルスの治療効果
永井 康雄(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器外科学)

Oral Session IV (E or J)

Immune / Cardiovascular / Regenerative medicine / Others

9月11日(月) 16:40~17:50 第3会場

座長：峰野 純一 (タカラバイオ株式会社)

内堀 亮介 (自治医科大学医学部難治性疾患遺伝子細胞治療開発講座)

- 04-1. レオウイルスは、IPS-1 非依存的に CD8 陽性 T 細胞の腫瘍内浸潤を促進する
櫻井 文教 (大阪大学大学院薬学研究科)
- 04-2. HEK293 細胞を使用した多様な AAV 血清型に対する中和抗体測定法の開発
綿野 亮太 (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)
- 04-3. 肥大型心筋症モデルマウスに対する遺伝子治療と病的リモデリングの抑制
魚崎 英毅 (自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部)
- 04-4. 歯周組織への bmp-2 遺伝子導入による歯槽骨再生
山本(河井)まりこ (関西女子短期大学)
- 04-5. リゾリン脂質アシル転移酵素 LPLAT10 の肝臓特異的な高発現は、グルコース依存性インスリン分泌を促進する
清水かほり (大阪大谷大学 薬学部)
- 04-6. AAV ベクターによる肝遺伝子発現を増強するイントロン配列の同定
大森 司 (自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門)
- 04-7. 細胞外小胞を用いた AAV ベクターによる新規ワクチンモダリティ開発
松坂 恭成 (東京大学 医科学研究所)

Oral Session V (E or J)

Viral vectors 2

9月12日(火) 9:00~10:10 第3会場

座長：小賤健一郎 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 遺伝子治療・再生医学分野)

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)

- 05-1. CAR-T 細胞の抗腫瘍効果を高め CRS リスクを低減させるオールインワンレンチウイルスベクターの開発
槇 いづみ (タカラバイオ株式会社 基盤技術開発センター)
- 05-2. 新規アフィニティーリガンドを利用した AAV9 の高品質精製・定量システムの開発
高木 淳一 (大阪大学蛋白質研究所)
- 05-3. 浮遊 HEK293 細胞に適した AAV ベクター高産生用完全合成培地
竹市 華帆 (タカラバイオ株式会社)
- 05-4. キャプシドの発現タイミングを調整した効率良いアデノ随伴ウイルスベクター産生システム
大庭 賢二 (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)
- 05-5. Adenovirus Purification Method Using Scalable System with Single Use Anion Exchange Fiber Chromatography Capsule
山本 正人 (University of Minnesota)
- 05-6. 大規模製造に向けたゾーナル超遠心による短時間高精度組換えアデノ随伴ウイルスベクター精製法の開発
和田美加子 (東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野)
- 05-7. 高品質な AAV ベクターの製造
福原 充子 (株式会社ユー・メディコ)

Oral Session VI (E or J)

Genetic Diseases

9月12日(火) 10:10~10:50 第3会場

座長：嶋田 洋太 (東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 遺伝子治療研究部)
内山 徹 (国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 疾患遺伝子構造研究室)

- 06-1. Blmtm3Brd/tm3Brd マウス造血幹細胞におけるゲノム不安定性マーカーの特定
～ Bloom 症候群に発生する血液腫瘍を遺伝子治療で予防する前臨床試験～
野口 和寛 (金沢大学附属病院小児科)
- 06-2. 改変型 NEU1 及びヒト CTSA 遺伝子同時搭載 AAVPHP.eB を用いた NEU1 欠損症に対する遺伝子治療
福池 凜 (徳島大学大学院薬学研究科)
- 06-3. 中枢神経移行型酵素発現 AAV によるライソゾーム病中枢神経症状に対する遺伝子治療
松島 小貴 (東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 遺伝子治療研究部)
- 06-4. X 連鎖高 IgM 症候群の CD40L 遺伝子変異に対するゲノム編集技術を用いた T 細胞標的遺伝子修復治療法の開発
三浦 茜 (国立成育医療研究センター成育遺伝研究部)

Oral Session VII (E or J)

Viral vectors 3

9月12日(火) 14:20~15:20 第3会場

座長：三谷幸之介 (埼玉医科大学 医学部ゲノム応用医学)
白川 利朗 (神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学分野)

- 07-1. Development of PSMA-targeted Oncolytic Adenovirus for Treatment of Prostate Cancer
佐藤-ダールマンみずほ (University of Minnesota)
- 07-2. TBI-2001 製造用レトロウイルスベクターの品質試験における凝集体分析及び gag/pol DNA 断片残留試験
松下 直樹 (タカラバイオ株式会社)
- 07-3. アデノ随伴ウイルス (AAV) の腫瘍選択性を向上させる環状ペプチドリガンド導入三元系複合体の開発
松平 望 (東京工業大学生命理工学院生命理工学系)
- 07-4. ワクチン応用に向けたヒト 35 型アデノウイルスベクターの改良
大西 里佳 (阪大院薬)
- 07-5. synNotch 技術を用いた組換えアデノウイルスベクターは膀胱癌マウスモデルにおいて腫瘍増殖を抑制した
RUHAN A (神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学分野)
- 07-6. ラッソグラフト法による受容体指向性 AAV の創製：個体レベルでの評価、血液脳関門透過の実現、
そして受容体探索法の開発
渡邊 哲史 (大阪大学蛋白質研究所分子創製学)

Oral Session VIII (E or J)

Cell therapy 1

9月12日(火) 15:20~16:20 第3会場

座長：大嶺 謙 (自治医科大学 内科学講座血液学部門／難治性疾患遺伝子細胞治療開発講座)
池田 裕明 (長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍医学分野)

- 08-1. Retronectin[®]/OKT3 刺激法を用いて2日間で製造した CAR-T 細胞は 高い細胞傷害活性および細胞増殖能を示す
植村久美子 (タカラバイオ株式会社)
- 08-2. Combination therapy of chimeric antigen receptor T cell therapy and an HSV-1-based oncolytic virus expressing the tumor antigen for the CAR T cells
Mona Alhussein Aboalela (Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan)
- 08-3. ゲノム編集 iPS 細胞を用いた悪性脳腫瘍・再生医療に対する遺伝子幹細胞療法の展望
田村 亮太 (慶應義塾大学医学部 脳神経外科)
- 08-4. piggyBac 法による新規リガンド型 IGF1R CART の開発
三島 修治 (信州大学医学部 外科学教室呼吸器外科学分野)
- 08-5. Ligand-based, piggyBac-engineered CAR-T cells targeting EGFR are safe and effective against non-small cell lung cancers
Thanayavi Chinsuwan (Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand)
- 08-6. デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する羊膜由来間葉系細胞の新たな治療標的
笠原 優子 (東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学)

Oral Session IX (E or J)

Viral vectors 4

9月12日(火) 16:20~17:30 第3会場

座長：岡本 幸子 (タカラバイオ株式会社基盤技術開発センター)
瀬原 吉英 (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)

- 09-1. アデノ随伴ウイルスベクターにおけるカプシドタンパク質の化学量論比改善および粒子均一化
大西 一幸 (大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻)
- 09-2. Fix-bed バイオリアクターでのレンチウイルスベクター産生用新規培地の開発
小谷 朋弘 (タカラバイオ株式会社 CDMセンター第5部)
- 09-3. マーモセット大脳皮質における9種の AAV カプシドベクターの発現細胞種解析
松崎 泰教 (群馬大学大学院医学系研究科)
- 09-4. 連続 AAV 高生産法のためのスケーラブルなフローエレクトロポレーション法
永井 洋一 (富士フイルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所)
- 09-5. スナネズミ海馬における野生型 AAV の細胞指向性の比較
瀬原 吉英 (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)
- 09-6. 脳指向性 CereAAV の脳指向性遺伝子導入メカニズムの解析
田中 佳典 (タカラバイオ株式会社)
- 09-7. 生体内における無毒化ヘルペスウイルスベクターの特性解析
宮川世志幸 (日本医科大学 生化学・分子生物学 (分子遺伝学))

Oral Session X (E or J)

Regulatory science

9月12日(火) 17:30~18:40 第3会場

座長：岡崎 利彦 (大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター)
内田恵理子 (国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部)

O10-1. ドロップレットデジタル PCR 法を用いたアデノ随伴ウイルスベクターのゲノムタイター定量試験における検体前処理条件が定量値に及ぼす影響の評価と前処理手順の最適化
齋藤 俊介 (株式会社シンプロジェン、医療ビジネスユニット)

O10-2. mRNA 医薬の品質評価手法に関する研究
山本 武範 (国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部)

O10-3. ゲノム編集技術を利用した遺伝子治療用製品のオフターゲット変異予測法に関する調査
山下 拓真 (国立医薬品食品衛生研究所)

O10-4. AAV ベクターゲノムの NGS 解析 (ロングリード解析)
安益公一郎 (タカラバイオ株式会社)

O10-5. 高耐久性アデノ随伴ウイルス受容体の開発と AAV ベクター分析への応用
吉田 浩平 (東ソー株式会社 ライフサイエンス研究所)

O10-6. Quantification of full and empty particles of Adeno-Associated Virus vectors by a novel Dual Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay (dFLISA)
Sereirath Soth (Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University)

O10-7. アデノ随伴ウイルスベクター試料に含まれる粒子成分の包括的評価
丸野 孝浩 (株式会社ユー・メディコ)

Oral Session XI (E or J)

Viral vectors 5

9月13日(水) 8:35~9:35 第3会場

座長：松坂 恭成 (東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野)
佐々木 勉 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学講座)

O11-1. タンジェンシャルフローろ過を用いた AAV ベクターの新規精製法の開発
恒川 雄二 (東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野)

O11-2. Fabry 病モデルマウスにおける AAV9 ベクター全身投与による遺伝子治療
林 夢夏 (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)

O11-3. AAV ベクターに搭載可能な短く強力な抑制性ニューロン特異的 GAD67 プロモーターの開発
深井 悠貴 (群馬大学医学系研究科 脳神経再生医学分野)

O11-4. 組換え型アデノ随伴ウイルスベクターの産生における統合型プラスミドの開発
西村 勇哉 (株式会社シンプロジェン 医療ビジネスユニット)

O11-5. A novel cross-species AAV capsid demonstrating enhanced upper and lower motor neuron transduction with high specificity
Hiroyuki Nakai (Capsigen Inc. / Oregon Health & Science University School of Medicine)

O11-6. Platform process development and scale-up of rAAV manufacturing in suspension-based system with single-use technologies
Rachael Lake Hardison (Forge Biologics)

Oral Session XII (J)

Gene editing and other gene transfer technologies and stem cells

9月13日(水) 11:10~12:20 第3会場

座長：大森 司 (自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門)
花園 豊 (自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部)

O12-1. 高効率かつ安全な超多重ガイドRNA 発現アデノベクターの開発と供給：がん、肝炎、新型コロナ、オートファジー、
遺伝病のゲノム編集治療研究への応用
中西 友子 (順天堂大・疾患モデル)

O12-2. 超分子複合体を基盤とした全身投与可能な Cas9-sgRNP RNP 送達システムの開発
本田 雄士 (東京工業大学)

O12-3. 遺伝子治療への応用を目指した核内安定型 LbCas12a の開発
塚本 智仁 (大阪大学大学院薬学研究科)

O12-4. 放電プラズマ遺伝子導入法の細胞医療への可能性
田村 亮太 (愛媛大学大学院理工学研究科)

O12-5. 放電プラズマ遺伝子導入法による 1 型糖尿病の治療法の確立のためのインスリン発現制御
佐伯 拓哉 (愛媛大学大学院理工学研究科)

O12-6. 三次元培養法を用いたヒト間葉系幹細胞の腫瘍溶解性ウイルスキャリア細胞としての機能解析
助川 誠 (日本医科大学 分子遺伝学)

O12-7. 先天代謝性異常症 iPS 細胞由来神経細胞のシナプス機能異常とその分子メカニズム
江良 択実 (熊本大学 発生医学研究所 幹細胞誘導分野)

Oral Session XIII (E or J)

Cancer 2

9月13日(水) 13:35~14:55 第3会場

座長：田澤 大 (岡山大学病院 新医療研究開発センター)
西川 智之 (大阪大学大学院医学系研究科 先進デバイス分子治療学)

O13-1. 第三世代がん治療用ヘルペスウイルスを用いた口腔・食道重複癌に対する新規治療法の検討
須河内昭成 (大阪大学大学院歯学研究科)

O13-2. イヌ悪性腫瘍に対する細胞死誘導型がんウイルス療法
福田 (園田) 絵観子 (兵庫医科大学 先端医学研究所 分子遺伝治療学部門)

O13-3. SALL4 プロモーター制御性腫瘍溶解性アデノウイルスは in vitro および in vivo においてラブドイド腫瘍の増殖を抑制する
吉田 秀樹 (京都府立医科大学大学院医学研究科 小児科学)

O13-4. 腫瘍融解ウイルス療法は MDR1 発現の抑制を介して膵臓がんのパクリタキセル抵抗性を改善する
井上 弘章 (岡山大学病院 医歯薬学総合研究科 消化器外科学)

O13-5. マウス膵癌モデルにおける増殖型レトロウイルスベクターを用いたプロドラッグ活性化遺伝子治療と抗 PD-1 抗体の併用療法
丹羽 弘貴 (北海道大学大学院医学研究院消化器外科学教室 II)

O13-6. I 型インターフェロン発現腫瘍溶解性アデノウイルスは、正常免疫・増殖許容性膵癌モデルにおいて全身性抗腫瘍免疫
を誘導する
猪子 和穂 (Division of Basic and Translational Research, Department of Surgery, University of Minnesota)

O13-7. 免疫刺激性遺伝子改変コクサッキーウイルス B 群 3 型と PD-L1 阻害薬との併用治療による抗腫瘍効果の増強
相良 京 (東京大学)

O13-8. Metformin and the oncolytic HSV C-REV combination promote antitumor efficacy in a bilateral pancreatic cell
cancer subcutaneous model
Mohamed Abdelmoneim (Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University,
Nagoya, Japan / Department of Surgery II, Graduate School of Medicine, Nagoya University,
Japan / Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University,
Zagazig, Egypt)

Oral Session XIV (E or J)

Cell therapy 2

9月13日（水） 15:00～15:50 第3会場

座長：諸富 洋介（九州大学薬学研究院革新的バイオ医薬創成学）
村橋 陸了（東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター 悪性腫瘍治療研究部）

O14-1. CIS ノックアウトヒト同種 NK 細胞の膠芽腫に対する抗腫瘍効果

中澤 務（奈良県立医科大学脳神経外科）

O14-2. 自動培養装置を活用した CAR-T 製造法の開発と製造コスト削減

小原 惇（タカラバイオ株式会社CDMセンター）

O14-3. 高活性 NK 様細胞の凍結融解後抗腫瘍活性維持メカニズムの解明

忻 雨夫（九州大学）

O14-4. 難治性固形腫瘍に対する GAIA-102 の治療効果とそのメカニズムの解明

鄭 思拓（九州大学薬学研究院革新的バイオ医薬創成学）

O14-5. Next generation cytogenomics with optical genome mapping: quality assessment for cell bioprocessing

Nandita Mullapudi (Next generation cytogenomics with optical genome mapping: quality assessment for cell bioprocessing)

共催セミナー

ランチョンセミナー1

(MaxCyte, キコーテック株式会社)

9月11日(月) 12:25~13:25 第1会場

座長: 大津 真 (北里大学 医療衛生学部 医療検査学科 血液学研究室)
澤 芳樹 (大阪大学大学院医学系研究科/大阪警察病院 院長)

LS1. ビギーバックトランスポゾン法を用いた CAR-T 細胞療法の開発と臨床応用
柳生 茂希 (信州大学 学術研究・産学官連携推進機構)

ランチョンセミナー2

(バイオジェン・ジャパン株式会社)

9月11日(月) 12:25~13:25 第2会場

座長: 久米 晃啓 (自治医科大学附属病院 臨床研究センター)

LS2-1. 基礎研究から治験、保険取載に至った脊髄性筋萎縮症治療薬
荒川 玲子 (国立国際医療研究センター病院 臨床ゲノム科)

LS2-2. 細胞モデルからみる脊髄性筋萎縮症の病態解析と治療
吉田 路子 (京都市立病院 小児科)

ランチョンセミナー3

企業取り組み・技術的な特長について紹介
(Cytiva)

9月11日(月) 12:25~13:25 第3会場

座長: 米満 吉和 (九州大学大学院薬学研究院 バイオ医薬創成学)

LS3. ELEVECTA: 高いスケラビリティを保有しかつ宿主細胞 DNA の封入の低減により安全性が向上した次世代 AAV 製造技術
Michelle Hussong (ウイルスベクター 分子生物学・分析部門長、ゲノミック メディシン、Cytiva、ドイツ)

ランチョンセミナー4

(Alnylam Japan 株式会社)

9月12日(火) 11:30~12:30 第1会場

座長: 中森 雅之 (山口大学大学院医学系研究科 臨床神経学講座)

LS4. 21世紀の疾患: 遺伝性 ATTR アミロイドーシスの病態解明と最新治療、そして未来に向けて
安東由喜雄 (長崎国際大学薬学部アミロイドーシス病態解析学分野/熊本大学)

ランチョンセミナー5

(ミルテニーバイオテック株式会社)

9月12日(火) 11:30~12:30 第2会場

座長: 藤原 弘 (三重大学大学院医学系研究科 個別化がん免疫治療学)

LS5. CAR-T 細胞療法の研究と臨床開発~アカデミアにおける manufacturing の話題も含めて~
保仙 直毅 (大阪大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学講座)

ランチョンセミナー6

(株式会社シンプロジェン)

9月12日(火) 11:30~12:30 第3会場

座長: 小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター)

LS6-1. ウイルスベクターの品質分析の現状と展望

内山 進 (国立大学法人大阪大学大学院 工学研究科生物工学専攻)

LS6-2. 浮遊細胞用バイオリアクターを用いた AAV ベクター生産培養プロセス開発

高木 良智 (株式会社シンプロジェン 医療ビジネスユニット)

ランチョンセミナー7

(タカラバイオ株式会社)

9月13日(水) 12:30~13:30 第1会場

座長: 榎 竜嗣 (タカラバイオ株式会社)

LS7. 遺伝子治療による神経保護と再生

行方 和彦 (公益財団法人 東京都医学総合研究所)

ランチョンセミナー8

(ノバルティス ファーマ株式会社 ジーンセラピー事業部 メディカル部)

9月13日(水) 12:30~13:30 第2会場

座長: 山形 崇倫 (栃木県立リハビリテーションセンター 小児科)

LS8-1. ゴルゲンスマ投与の実際 - 脊髄性筋萎縮症の早期治療の重要性 -

木水 友一 (大阪母子医療センター 小児神経科)

LS8-2. 遺伝性網膜ジストロフィーに対する遺伝子治療

藤波 芳 (独立行政法人国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター視覚研究部 視覚生理学研究室)

ランチョンセミナー9

(武田薬品工業株式会社)

9月13日(水) 12:30~13:30 第3会場

座長: 小坂 仁 (自治医科大学小児科学)

LS9-1. 創薬オープンイノベーションを推進する T-CiRA プログラム

梶井 靖 (武田薬品工業株式会社 R&D ジャパンリージョン)

LS9-2. NGLY1 欠損症の治療法の開発を目指して

鈴木 匡 (国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部 鈴木糖鎖代謝生化学研究室)

モーニングセミナー1

(アレクシオンファーマ合同会社)

9月12日(火) 8:15~8:55 第1会場

座長: 望月 秀樹 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学)

MS1. 胸腺腫合併重症筋無力症の発症機構について

奥野 龍禎 (大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学)

モーニングセミナー2

(ネッパジーン株式会社)

9月12日(火) 8:15~8:55 第2会場

座長: 宮村 敦 (ネッパジーン株式会社)

MS2. RNA-脂質ナノ粒子を用いた T 細胞および CD34+ 造血幹前駆細胞の遺伝子エンジニアリング

Angela Zhang (Cell and Gene Therapy Product Management, Precision NanoSystems)

モーニングセミナー3

(田辺三菱製薬株式会社)

9月12日(火) 8:15~8:55 第3会場

座長: 長野 清一 (大阪大学大学院医学系研究科 神経難病認知症探索治療学)

MS3. ALS に対する核酸医薬の開発と最新の話題

永井 義隆 (近畿大学 医学部 脳神経内科)

モーニングセミナー4

(アルジェニクスジャパン株式会社)

9月13日(水) 7:45~8:25 第1会場

座長: 石井亜紀子 (独立行政法人国立病院機構いわき病院)

MS4. 重症筋無力症の病態と新たな治療アプローチ

高橋 正紀 (大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻/生体病態情報科学講座 臨床神経生理学)

モーニングセミナー5

(ザルトリウス・ジャパン株式会社)

9月13日(水) 7:45~8:25 第2会場

座長: 笠原 優子 (東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野)

MS5. 分子間相互作用解析装置による AAV キャプシドの迅速・正確な定量法

丸山 雄介 (ザルトリウス・ジャパン株式会社 フィールドアプリケーションサイエンティスト)

モーニングセミナー6

(Revvity, Inc.)

9月13日(水) 7:45-8:25 第3会場

座長: 中井 浩之 (Department of Molecular and Medical Genetics, Oregon Health & Science University)

MS6. Towards Developing Best-In-Class rAAV Vectors: Guidance for a successful Go-to Market Gene Therapy Strategy

Kathrin Schneider (Revvity Gene Delivery, SIRION Biotech)

イブニングセミナー1

(バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社)

9月11日(月) 18:50~19:30 第1会場

座長: 櫻井 文教 (大阪大学大学院薬学研究科 分子生物学分野)

ES1. 小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の開発

内山 徹 (成育医療センター 成育遺伝研究部 疾患遺伝子構造研究室)

イブニングセミナー2

ザルトリウスによる遺伝子・細胞治療薬製造向けソリューションおよび HEK 培地

(ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社)

9月11日(月) 18:50~19:30 第2会場

座長: 岡田 尚巳 (東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター)

ES2-1.

辻 融 (ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社 営業部・フィールドアプリケーションスペシャリスト)

ES2-2.

秋山 葉里 (ザルトリウス・ステディム・ジャパン株式会社 営業部・フィールドアプリケーションスペシャリスト)

イブニングセミナー3

(中外製薬株式会社)

9月11日(月) 18:50~19:30 第3会場

座長: 村松 慎一 (自治医科大学 オープンイノベーションセンター神経遺伝子治療部門)

ES3. 脊髄性筋萎縮症治療の進歩

齊藤 利雄 (国立病院機構 大阪刀根山医療センター 小児神経内科)

スポンサードセミナー

(株式会社スクラム)

9月11日(月) 17:55~18:45 第3会場

座長: 戸田 達史 (東京大学 大学院医学系研究科 神経内科学)

SS. 遺伝統計学による疾患病態解明とゲノム創薬

岡田 随象 (東京大学大学院医学系研究科遺伝情報学 / 大阪大学大学院医学系研究科遺伝統計学 / 理化学研究所生命医科学研究センター システム遺伝学チーム)

JSGCT 教育プログラム 2023

JSGCT教育プログラム2023

- | | | | |
|---|----------|---------------|------|
| 1. 遺伝子細胞治療の定義と歴史
小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター) | 9月10日(日) | 10:00 ~ 11:00 | 第2会場 |
| 2. ゲノム組み込み型ウイルスベクター
小野寺雅史 (国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター) | 9月10日(日) | 11:00 ~ 12:00 | 第2会場 |
| 3. 染色体非組み込み型ウイルスベクター (アデノウイルス・AAV)
岡田 尚巳 (東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野) | 9月10日(日) | 13:00 ~ 14:00 | 第2会場 |
| 4. CAR-T 細胞療法：基礎と臨床
保仙 直毅 (大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学) | 9月10日(日) | 14:00 ~ 15:00 | 第2会場 |
| 5. 腫瘍融解ウイルス製剤の臨床開発の経験
藤原 俊義 (岡山大学学術研究院 医歯薬学域 消化器外科学) | 9月10日(日) | 15:15 ~ 16:15 | 第2会場 |
| 6. 総合討論
久米 晃啓 (自治医科大学附属病院臨床研究センター企画開発部) | 9月10日(日) | 16:15 ~ 16:45 | 第2会場 |

Program

JSGCT Chairman's Lecture (J)

Date: Sep. 11, 9:30–10:00, Room 1

Chair: Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

CL. Current Status and Details of Gene and Cell Therapy

Ryuichi Morishita (Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University)

Special Lecture 1 (J)

Date: Sep. 11, 10:00–10:30, Room 1

Chairs: Ryuichi Morishita (Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University)

Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

SL1.

Katsunobu Kato (Minister of Health, Labour and Welfare)

Special Lecture 2 (E)

(AnGes, Inc.)

Date: Sep. 13, 10:05–10:55, Room 2

Chair: Ryuichi Morishita (Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University)

SL2. OMNITM Triple-platform technology - Removing the barriers in CRISPR-based gene editing therapy

David Baram (EmendoBio, Inc., USA)

Dialogue Session (J)

Date: Sep. 12, 13:30–14:10, Room 1

Chair: Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

Speaker: Takenori Emoto (Former member of the House of Councilors)

Presidential Special Program 1 (J)

–What is missing to bring distinguish research seeds of related gene therapy in Japan into clinical innovations in the global market?–

Date: Sep. 12, 15:00-16:30 Room 1

Chairs: Yasushi Kajii (R&D Japan Region, Takeda Pharmaceutical Company Limited)

Yasuko Terao (R&D Japan Region, R&D Regional & Business Operations, Takeda Pharmaceutical Company Limited)

SP1-1. Gene therapy technologies to be expected by global pharma in the future

Yasushi Kajii (Takeda Pharmaceutical Company Limited)

SP1-2. Genome editing technology innovation : from Japan to Global

Tomoji Mashimo (The University of Tokyo, Institute of Medical Science)

SP1-3. The success key to develop academia- oriented gene therapy technologies to global innovative products

Takeshi Takahashi (Catalys Pacific)

SP1-4. Building ecosystem to accelerate commercialization of innovative technology

Toshio Fujimoto (iPark Institute, Co. Ltd.)

Panelist: Yoshinori Ikeura (Axcelead, Inc.)

Presidential Special Program 2 (E)

–Policy initiatives from the Ministries and AMED for gene and cell therapy in Japan–

Date: Sep. 12, 17:20–18:50, Room 1

Chairs: Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

Masafumi Onodera (Gene & Cell Therapy Promotion Center, National Center for Child Health and Development)

SP2-1. MEXT's R&D promotion for regenerative medicine and cell and gene therapy

Hiroyuki Kamai (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT))

SP2-2. Amendment of the Act of the Safety of Regenerative Medicine related to in vivo gene therapy

Keigo Sano (Office for Promotion of Regenerative Medicine, Research and Development Policy Division, Health Policy Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare.)

SP2-3. The METI's policy in the field of the cell and gene therapy

Hirokazu Shimoda (Bio-Industry Division, Commerce and Service Industry Policy Group, METI)

SP2-4. The Current Status and Future Direction of Gene and Cell Therapies on AMED projects

Kentaro Oki (Japan Agency for Medical Research and Development)

Presidential Special Program 3 (J)

–Implementation of gene and cell therapy products. Voices from Clinical Sites–

Date: Sep. 13, 10:25–11:55, Room 1

Chairs: Masafumi Onodera (Gene & Cell Therapy Promotion Center, National Center for Child Health and Development)

Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

SP3-1. Forefront of critical care by regenerative medicine ~Treatment strategies for extensive burns using autologous cultured epidermis

Takahiro Ueda (Tottori University Faculty of Medicine)

SP3-2. Utilization Experience of JACC® : Advancing Cartilage Injury Treatment in the Knee Joint

Yuki Kato (Department of Sports Medicine, Kameda Medical Center)

SP3-3. Lights and shadows in CAR-T cell therapy - Expectation and exhaustion of the clinical team

Yasuyuki Arai (Kyoto University Hospital)

SP3-4. Gene therapy for hereditary neuromuscular diseases in real clinical practice

Yuko Shimizu-Motohashi (National Center of Neurology and Psychiatry)

Vice-Presidential Special Program (J)

Date: Sep. 12, 9:00–10:30, Room 1

Chairs: Naoki Hosen (Department of Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine)

Keiya Ozawa (Department of Molecular Biology, Jichi Medical University)

PSP1. Identification of new targets for CAR-T cell therapy against hematological cancers

Naoki Hosen (Osaka University Graduate School of Medicine)

PSP2. Recent advances of CAR-T cell technology for the treatment of solid cancers

Koji Tamada (Yamaguchi University Graduate School of Medicine)

PSP3. How to use CAR-T cell therapy in practice ? The past and the future from the view point of Cytotherapy Operation Science

Yasuyuki Arai (Kyoto University Hospital)

PSP4. Development of allogeneic iPSC-derived Regenerative CAR-T cell therapy

Shin Kaneko (Center for iPSC cell Research and Application, Kyoto University / Transborder Medical Research Center, University of Tsukuba)

Debate Session (J)

Date: Sep. 13, 9:25–10:25, Room 1

Chair: Aya Kubota (Nikkei Business Publications, Inc.)

Speaker : Ryosuke Takahashi (Kyoto University Graduate School of Medicine)

Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium (E)

Date: Sep. 11, 17:15–18:45, Room 1

*Chairs: Noriyuki Kasahara (Departments of Neurological Surgery and Radiation Oncology University of California)
Takafumi Nakamura (Division of genomic Medicine, Tottori University Faculty of Medicine)*

JS-1. Next generation gene therapies for Duchenne muscular dystrophy (DMD)

Jeffrey Scott Chamberlain (*University of Washington School of Medicine*)

JS-2. How to empower current gene and cell therapy approaches by next generation AAV vectors

Hildegard Büning (*Hannover Medical School, Hannover, Germany*)

JS-3. Plasmid DNA-based Gene Therapy: From Regenerative Medicine to Vaccine

Ryuichi Morishita (*Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University*)

Invited Lecture 1 (E)

Date: Sep. 12, 9:00–9:45, Room 2

Chair: Toya Ohashi (The Jikei University School of Nursing, Department of Human Health Science and Therapeutics)

IL1. Cholesterol Pathway Gene Therapy to treat Neurodegenerative Diseases

Nathalie Cartier (*Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), France*)

Invited Lecture 2 (E)

(AnGes, Inc.)

Date: Sep. 12, 10:30–11:20, Room 1

Chair: Yoshikatsu Eto (Advanced Clinical Research Center, Southern Tohoku Institute for Neuroscience/ Prof. (Emeritus) Tokyo Jikei University School of Medicine)

IL2. Improving efficacy and safety of AAV vectors for in vivo gene therapy

Hildegard Büning (*Hannover Medical School, Hannover, Germany*)

Invited Lecture 3 (E)

Date: Sep. 12, 14:10–15:00, Room 1

*Chairs: Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)
Haruhiko Kishima (Department of Neurosurgery, Osaka University Graduate School of Medicine)*

IL3. Focal brain delivery of gene therapy via blood brain barrier opening in neurodegenerative diseases

José A. Obeso (*Fundación HM Hospitales. Universidad CEU-San Pablo, Spain*)

Invited Lecture 4 (E)

Date: Sep. 13, 8:35–9:25, Room 1

*Chairs: Shin-ichi Muramatsu (Division of Neurological Gene Therapy, Jichi Medical University)
Masahiro Toda (Department of Neurosurgery, Keio University School of Medicine)*

IL4. A GENE THERAPY DELIVERED GROWTH FACTOR APPROACH TO TREATING PARKINSON'S DISEASE AND MULTIPLE SYSTEM ATROPHY

Adrian P Kells (*Asklepios BioPharmaceutical, Inc. (AskBio)*)

Educational Lecture 1 (J)

Date: Sep. 11, 11:30–12:20, Room 1

Chair: Teruhide Yamaguchi (Kanazawa institute of technology)

ED1. PMDA's Vision for the Future

Haruko Yamamoto (*National Cerebral and Cardiovascular Center*)

Educational Lecture 2 (J)

Date: Sep. 12, 16:30–17:20, Room 1

Chair: Takashi Shimada (Nippon Medical School)

ED2. What I think about as overviewing current gene therapy in Japan

Masafumi Onodera (*Gene & Cell Therapy Promotion Center, National Center for Child Health and Development*)

Educational Lecture 3 (J)

Date: Sep. 13, 15:05-15:55 Room 1

Chair: Seiichi Nagano (*Department of Neurotherapeutics, Osaka University Graduate School of Medicine*)

ED3. Ethics and governance of human genome editing and gene therapy

Kazuto Kato (*Graduate School of Medicine, Osaka University*)

Educational Lecture 4 (J)

Date: Sep. 13, 15:55–16:45, Room 1

Chair: Ryuichi Morishita (*Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University*)

ED4. Organoid based regenerative therapy

Takanori Takebe (*Osaka University / Tokyo Medical and Dental University*)

The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program (J)

Date: Sep. 11, 14:15–15:45, Room 1

Chairs: Yoshikazu Yonemitsu (*Kyushu University Graduate School of Pharmaceutical Sciences*)

Katsuto Tamai (*Osaka University Graduate School of Medicine*)

RM-1. Development of regeneration-inducing gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa

Katsuto Tamai (*Osaka University Graduate School of Medicine*)

RM-2. Development of iPS regenerative therapy using iPS derived cardiac cell patch

Yoshiki Sawa (*Osaka Police Hospital*)

RM-3. Challenges for Stem Cell Gene Therapy for CNS Disorders

Hideyuki Okano (*Department of Physiology, Keio University School of Medicine*)

RM-4. GAIA-NK: Its biological properties and current supply chain of PBMC sources

Yoshikazu Yonemitsu (*Kyushu University Graduate School of Pharmaceutical Sciences*)

Nucleic Acids Therapeutics Related Program (E)

Date: Sep. 12, 9:45–11:15, Room 2

Chairs: Satoshi Obika (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences Osaka University*)

Makoto Koizumi (*Modality Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.*)

NA-1. Advancing Oligonucleotide Therapeutics: Unveiling a New Era of Precision Gene Medicines

Hideaki Sato (*Luxna Biotech Co., Ltd.*)

NA-2. Development of Nucleic Acid Derivatives for Application to Antisense Oligonucleotides

Satoshi Obika (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University*)

NA-3. Development of intracellular environment-responsive lipid-like material (ssPalm) as a DDS platform for the acceleration of nucleic acid/RNA-based medication

Hidetaka Akita (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University*)

NA-4. Exon skipping therapeutic strategy using 2'-O,4'-C-ethylene-bridged nucleic acid (ENA) oligonucleotides

Makoto Koizumi (*Modality Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.*)

The Japanese Society of Virology Joint Program (J)

Date: Sep. 12, 15:50–17:20, Room 2

Chairs: Takafumi Nakamura (Division of genomic Medicine, Tottori University Faculty of Medicine)
Keizo Tomonaga (Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University)

JSV-1. Ex vivo gene-cell therapy using bornavirus vector

Ryo Komorizono (Lab. of RNA viruses, Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University)

JSV-2. Recent advances in the development of segmented double-stranded RNA virus vectors

Takeshi Kobayashi (Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

JSV-3. Molecular basis for the development of a novel LCMV vector capable of controlling foreign gene expression

Masaharu Iwasaki (Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

JSV-4. Generation of a photocontrollable recombinant bovine parainfluenza virus type 3

Takashi Okura (Department of Virology 3, National Institute of Infectious Diseases)

The Japanese Society for Genome Editing Joint Program (J)

Date: Sep. 13, 13:35–15:05, Room 1

Chairs: Yumi Kanegae (Jikei University of Medicine)

Yasuji Kitabatake (Osaka University Graduate School of Medicine)

GE-1. Gene editing for gene therapy ~ Overview

Tsukasa Ohmori (Department of Biochemistry, Jichi Medical University)

GE-2. Development of novel gene therapy via in vivo gene knock-in technology

Keiichiro Suzuki (Osaka University)

GE-3. Development of gene therapy for Down syndrome using genome editing technology

Yasuji Kitabatake (Osaka University Graduate School of Medicine)

GE-4. Induction of gigantic deletion and expansion of applicability to DMD by CRISPR-Cas3

Akitsu Hotta (Center for iPS cell Research and Application, Kyoto University)

The Japanese Society of Child Neurology Joint Program (E)

Date: Sep. 13, 10:55–12:25, Room 2

Chairs: Hitoshi Osaka (Jichi Med Univ, Dept of Pediatrics)

Takanori Yamagata (Tochigi Prefectural Rehabilitation Center)

1. Future perspectives on gene therapy for genetic epilepsy

Mitsuhiro Kato (Department of Pediatrics, Showa University School of Medicine)

2. Gene therapy for intellectual disability, autism and imprinting disorders

Shinji Saito (Department of Pediatrics and Neonatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)

3. Gene therapy for hereditary neuromuscular diseases

Hifumi Komaki (National Center of Neurology and Psychiatry)

4. Development for Gene therapy of Neurodegenerative Diseases

Kazuhiro Muramatsu (Jichi Medical University)

5. Establishing a Model for N-of-1 Oligonucleotide Therapeutics: Prospect and Challenge in Japan

Tojo Nakayama (Neurology and Neurological Science Tokyo Medical and Dental University)

Genetic Counseling in Gene Therapy (E or J)

–Genetic counseling and gene therapy–

Date: Sep. 13, 9:35–11:05, Room 3

*Chairs: Atsushi Watanabe (Division of Clinical Genetics and Support Center for Genetic Medicine, Kanazawa University Hospital)
Masayoshi Nakakuni (National Center for Child Health and Development)*

GC-1. Genetic counseling for issues of gene therapy

Masayoshi Nakakuni (*National Center for Child Health and Development*)

GC-2. Current status and trend of genetic counseling and genetic/genomic medicine

Atsushi Watanabe (*Division of Clinical Genetics and Support Center for Genetic Medicine, Kanazawa University Hospital*)

GC-3. Roles and issues in genetic counseling for treatable genetic diseases: From the perspective of Certified Genetic Counselors in the pharmaceutical industry

Mio Tsuchiya (*Amicus Therapeutics K.K.*)

GC-4. Significance of early and pre-symptomatic diagnosis following early intervention by newborn screening

Torayuki Okuyama (*Saitama Medical University*)

Symposium 1 (J)

–Cancer Gene Therapy–

Date: Sep. 11, 10:50–12:20, Room 2

*Chairs: Kentaro Ohki (Japan Agency for Medical Research and Development)
Yozo Nakazawa (Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine)*

S1-1. Academic drug discovery of CAR-T cells: current status and issues

Yozo Nakazawa (*Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine*)

S1-2. New Developments in Gene Therapy and Regenerative Medicine

Masahiro Tsuji (*JST-CRDS*)

S1-3. Translating Japanese CAR-T Cell Therapeutics into Clinical Practice

- From Academic Breakthroughs to Promising Clinical Trials in Collaboration with Biotech Venture

Shigeki Yagyu (*Shinshu University Innovative Research & Liaison Organization*)

S1-4. Role of the CDMO in CAR-T Product Development

Shin Kawamata (*Cyto-Facto inc.*)

Symposium 2 (J)

–Oncolytic virus and cell-based therapy–

Date: Sep. 11, 14:15-15:45 Room 2

*Chairs: Toshiyoshi Fujiwara (Okayama University, Institute of Academic and Research, Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences)
Hiroyuki Mizuguchi (Graduate School and School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)*

S2-1. Stem cell therapy for leptomeningeal disease

Yohei Kitamura (*Department of Neurosurgery, Keio University School of Medicine*)

S2-2. Gene edited and engineered stem cell based virotherapy for melanoma leptomeningeal metastasis

Nobuhiko Kanaya (*Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences*)

S2-3. Development of a novel oncolytic adenovirus composed of an adenovirus serotype 35

Fuminori Sakurai (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University*)

S2-4. Next-generation oncolytic vaccinia virus

Takafumi Nakamura (*Tottori University Faculty of Medicine*)

Symposium 3 (J)

–Regulation–

Date: Sep. 11, 15:45-17:15 Room 1

*Chair: Akihiro Kume (Jichi Medical University Hospital, Clinical Research Center)
Eriko Uchida (National Institute of Health Sciences)*

S3-1. PMDA's efforts to promote the development of gene therapy products and recent approval status

Jun Matsumoto (*Pharmaceuticals and Medical Devices Agency*)

S3-2. Points to consider on non-clinical safety assessment for gene therapy products

Kazushige Maki (*Pharmaceuticals and Medical Devices Agency*)

S3-3. Update on the implementation of the Cartagena Act and the points of quality control of Living Modified Organisms

Akira Sakurai (*Pharmaceuticals and Medical devices Agency*)

Symposium 4 (E)

–Neuromuscular Disorder–

Date: Sep. 11, 15:45–17:15, Room 2

*Chairs: Shin-ichi Muramatsu (Division of Neurological Gene Therapy, Jichi Medical University)
José A. Obeso (Fundación HM Hospitales. Universidad CEU-San Pablo, Spain)*

S4-1. Advances and Challenges of Next-Generation CRISPR 4.0 Gene-Editing Technology for Neurological Diseases

Alvin Luk (*HuidaGene Therapeutics, Inc.*)

S4-2. Gene Therapy for ALS

Shin Kwak (*Division of Neurology, Tokyo Medical University*)

S4-3. Establishment of a mouse model of inherited PIGO deficiency and therapeutic potential of AAV-based gene therapy

Yoshiko Murakami (*Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University*)

S4-4. A Roche reflection on our experiences with gene therapy in Duchenne muscular dystrophy

Alexander P. Murphy (*Roche Products Ltd, Welwyn Garden City, UK*)

Symposium 5 (E)

–Genetic Diseases–

Date: Sep. 11, 17:15–18:45, Room 2

*Chairs: Hiroshi Kobayashi (Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine)
Makoto Migita (Nippon Medical School Pediatrics)
Nathalie Cartier (Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), France)*

S5-1. Efficacy and Safety of a Novel Therapeutic Agent (Gene Therapy drug: ARU-2801) for the Treatment of Hypophosphatasia

Tae Matsumoto (*Department of Pediatrics, Nippon Medical School*)

S5-2. Gene therapy for patients with Niemann-Pick disease type C1 (NPC1) using AAV.GTX-NPC1

Karin Kojima (*Dept. of Pediatrics, Jichi Medical University*)

S5-3. Gene therapy for lysosomal storage diseases using lentiviral vectors

Yohta Shimada (*Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine*)

S5-4. Gene therapy for inborn errors of immunity

Toru Uchiyama (*Division of Molecular Pathogenesis, Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development*)

S5-5. Hematopoietic stem cell-targeted gene therapy with lentiviral vectors to treat sickle cell disease

Naoya Uchida (*National Institutes of Health*)

Symposium 6 (J)

–non viral vector • Advanced medicine–

Date: Sep. 12, 14:20–15:50, Room 2

Chair: *Hironori Nakagami (Osaka University Graduate School of Medicine)*

Tatsushi Toda (Department of Neurology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

S6-1. Application of DNA nanotechnology for Antisense Therapeutics

Takeshi Yamamoto (*Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University*)

S6-2. Applicability of Hydrodynamic Gene Delivery Procedure to Gene Therapy and Animal Disease Model Development

Kenya Kamimura (*Department of General Medicine, Niigata University School of Medicine*)

S6-3. Development of Gene Therapy for Loss-of-function Cardiomyopathy

Yoshihiro Asano (*Director of Genomic Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center/Osaka University*)

S6-4. Development of therapeutic vaccine for common diseases and intractable diseases

Hironori Nakagami (*Osaka University Graduate School of Medicine*)

Symposium 7 (E)

–Vector Development–

Date: Sep. 12, 17:20–18:50, Room 2

Chairs: *Takashi Okada (Center for Gene & Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)*

Hiroyuki Nakai (Oregon Health & Science University)

S7-1. Promoting clinical translation of cardiac gene therapy

Kiyotake Ishikawa (*Mount Sinai*)

S7-2. Development of Recombinant AAV for Human Gene Therapy: Vector Design and Manufacturing Strategies to Reduce Immune Responses

John Fraser Wright (*Stanford University School of Medicine*)

S7-3. The safety and efficacy of pre-treatment with imlifidase prior to adeno associated virus (AAV)-based gene therapy in non-human primates with pre-existing anti-AAVrh74 antibodies

Rachael A Potter (*Sarepta Therapeutics, Inc., Cambridge, MA, USA*)

Symposium 8 (E)

–Cancer–

Date: Sep. 13, 8:35–10:05, Room 2

Chairs: *Yasutomo Nasu (Okayama University)*

Hiroshi Fukuhara (Kyorin University)

S8-1. Alteration of the surrounding immunological tumor environment by Oncolytic viruses.

Hideki Kasuya (*Nagoya University Graduate School of Medicine, Cancer Immune Therapy Center*)

S8-2. Clinical trials and next-generation technology development of Survivin-responsive conditionally replicating adenovirus targeting and treating with multiple factors (Surv.m-CRA)

Kenichiro Kosai (*Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences / Kagoshima University Hospital*)

S8-3. The Role of Myeloid-derived Suppressor Cells in Construction of Immune Suppressive Tumor Microenvironment of Pancreatic Cancer

Kazunori Aoki (*National Cancer Center Research Institute*)

S8-4. Oncolytic Adenoviruses for Pancreatic Cancers

Masato Yamamoto (*University of Minnesota*)

Symposium 9 (E)

–Vector manufacturing–

Date: Sep. 13, 15:05–16:35, Room 2

Chairs: Toshihiko Okazaki (Medical Center for Translational Research Osaka University Hospital)
Susumu Uchiyama (Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University)

S9-1. GMP viral vector manufacturing for academia R&D

Mikako Wada (Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

S9-2. Quantitative analysis of GOI and impurity nucleic acids of AAV viral vectors by droplet digital PCR

Kazuhisa Uchida (Kobe University Graduate School of Science, Technology and Innovation)

S9-3. Establishment of new human amniotic epithelial cell lines for scalable production of recombinant adeno-associated viral vectors for gene therapy

Yugo Hirai (Chitose Laboratory Corp.)

S9-4. Analytical development and quality control of AAV vectors

Susumu Uchiyama (Osaka University / U-Medico, Inc.)

Young investigators session (J)

–Explore a new era of gene therapy–

Date: Sep. 13, 13:35–15:05, Room 2

Chairs: Makoto Otsu (Kitasato University School of Allied Health Sciences)
Kenya Kamimura (Department of General Medicine Niigata University School of Medicine)

YS-1. Development of Reporter Mice for “Visualization” of Genome Editing.

Hiromi Miura (Department of Molecular Life Science, Division of Basic Medical Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine)

YS-2. Neonatal genome editing for protein C deficiency in mice

Tomoki Togashi (Department of Biochemistry, Jichi Medical University School of Medicine)

YS-3. Anti-fibrotic effects of oncolytic reovirus on liver fibrosis

Ikuho Ishigami (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

YS-4. Devision of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences

Takenori Yamamoto (Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences)

Oral Session

Plenary Session (E or J)

Date: Sep. 11, 10:30–11:30, Room 1

*Chairs: Makoto Otsu (Kitasato University School of Allied Health Sciences)
Yumi Kanegae (Jikei University of Medicine)*

PS-1. A blood-brain barrier-penetrating AAV2 capsid variant BR1N that evades neutralizing antibodies against AAV9 capsid protein

Hayato Kawabata (*Department of Neurophysiology & Neural Repair, Gunma University Graduate School of Medicine*)

PS-2. Long-term efficacy of gene therapy for AADC deficiency, including patients with a moderate phenotype.

Marina Mizobe (*Department of Pediatrics, Jichi Medical University*)

PS-3. Gene Transduction with the Engineered AAV Vector AAV.GT5 for Hemophilia B Gene Therapy

Yuji Kashiwakura (*Department of Biochemistry, Jichi Medical University*)

PS-4. First in human clinical study of ex vivo gene therapy using autologous adipocytes for familial LCAT deficiency syndrome

Masayuki Kuroda (*Center for Advanced Medicine, Chiba University Hospital*)

Oral Session I (E or J)

Viral vectors 1

Date: Sep. 11, 11:20–12:10, Room 3

Chairs: Fuminori Sakurai (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

Yasushi Soda (Laboratory of ALA Advanced Medical Research, Institute for Quantitative Biosciences, The University of Tokyo)

O1-1. Cocksackievirus A11 is an Immunostimulatory Oncolytic Virus that Induces Complete Tumor Regression in a Human Non-Small Cell Lung Cancer

Kenzaburo Tani (*Laboratory of ALA Advanced Medical Research, Institute for Quantitative Biosciences, The University of Tokyo*)

O1-2. The development of hexon and fiber modified adenovirus vector system that evades innate immunity to adenovirus serotype 5

Aoi Shiota (*Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Osaka, Japan*)

O1-3. Development of microglia-targeting AAV vectors

Ayumu Konno (*Gunma University Graduate School of Medicine*)

O1-4. Targeted Gene Delivery to the Brain with Smartly-Polymer Coated Adeno-associated Virus 9 (AAV9) Assisted by High Intensity Focused Ultrasound Enhances Safety and Efficacy

Hiroaki Kinoh (*Innovation Center of NanoMedicine*)

O1-5. Development of AAV vectors that enable brain cell type-specific transgene expression after the intravenous infusion

Hirokazu Hirai (*Gunma University Graduate School of Medicine*)

Oral Session II (E or J)

Neurogenic

Date: Sep. 11, 14:15–15:15, Room 3

Chairs: Yasuhiro Ikeda (Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki)
Koichi Miyake (Department of Gene Therapy, Nippon Medical School)

- O2-1. Cell therapy for the chronic stage of ischemic stroke with bone marrow-derived inducible microglia-like cells in mice**
Bach Ngoc Nguyen (Department of Neurology, Shiga University of Medical Science)
- O2-2. Efficient transduction of mice inner hair cells with AAV.GT5 and AAV.GTX vectors**
Masao Noda (Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, Jichi Medical University)
- O2-3. Development of a novel treatment for amyotrophic lateral sclerosis by promoting protein translation function**
Yuri Hiraki (Department of Neurotherapeutics, Osaka University Graduate School of Medicine)
- O2-4. Modulation of neurodegeneration by peripheral immune system in Niemann-Pick disease type C**
Toru Yasuda (Nippon Medical School)
- O2-5. Effect of salt-inducible kinase on Ca²⁺ oscillations in spheroid neuronal cultures**
Tutomu Sasaki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)
- O2-6. Experience with administration of virtolarsen for Duchenne muscular dystrophy**
Toshio Saito (National Hospital Organization Osaka Toneyama Medical Center)

Oral Session III (E or J)

Cancer 1

Date: Sep. 11, 15:25–16:35, Room 3

Chairs: Hideki Kasuya (Nagoya University, Cancer Immune therapy center)
Shuji Kubo (Laboratory of Molecular and Genetic Therapeutics, Institute for Advanced Medical Sciences, Hyogo Medical University)

- O3-1. Anti-tumor immune responses of oncolytic vaccinia virus are synergistically enhanced by induction of cell-cell fusion and delivery of multiple immunomodulators**
Motomu Nakatake (Division of Genomic Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Tottori University, Yonago, Japan)
- O3-2. Combination Therapy of HSV-1 based Oncolytic Virotherapy with STING activator 2'3'-cGAMP Synergistically Amplifies Systemic Anti-Tumor Immunity**
Patricia Angela Alvero Siball (Cancer Immune Therapy Research Center, International Medical Education, Nagoya University, Graduate School of Medicine)
- O3-3. Oncolytic virus-infected-mesenchymal stem cells contribute to the enhanced antitumor immunity**
Shigeru Matsumura (Cancer Immune Therapy Research Center, International Medical Education, Nagoya University, Graduate School of Medicine)
- O3-4. Interferon-expressing oncolytic adenovirus. + chemoradiation inhibited tumor growth in a hamster pancreatic cancer model**
Shuhei Shinoda (Department of gastroenterology and hepatology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine)
- O3-5. Suicide gene therapy using retroviral replicating vectors for gastric cancer**
Shuji Kubo (Laboratory of Molecular and Genetic Therapeutics, Institute for Advanced Medical Sciences, Hyogo Medical University)
- O3-6. Augmentation of anti-tumor effects of receptor-retargeted oncolytic HSV (RR-oHSV) through introduction of syn mutations**
Takuma Suzuki (Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences)
- O3-7. Therapeutic potential of oncolytic adenovirus against cancer-associated fibroblast phenotypes induced by pancreatic cancer cells**
Yasuo Nagai (Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan)

Oral Session IV (E or J)

Immune/Cardiovascular/Regenerative medicine/Others

Date: Sep. 11, 16:40–17:50, Room 3

Chairs: Junichi Mineno (Takara Bio Inc.)

Ryosuke Uchibori (Division of gene and cell therapy for intractable diseases, Department of Medicine, Jichi Medical University)

O4-1. Reovirus induces tumor infiltration of CD8+ T cells in an IPS-1-independent manner

Fuminori Sakurai (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

O4-2. Development of a neutralizing antibody assay for different AAV serotypes using HEK293 cells

Ryota Watano (Division of Genetics Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O4-3. Gene Therapy for Hypertrophic Cardiomyopathy Model Mice

Hideki Uosaki (Division of Regenerative Medicine, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O4-4. Alveolar bone regeneration following bmp-2 gene transfer into the periodontal tissue

Mariko Kawai (Kansai Women's Collage)

O4-5. Liver-specific overexpression of lysophospholipid acyltransferase 10 (LPLAT10) increases glucose-dependent insulin secretion

Kahori Shimizu (Pharm., Osaka Ohtani Univ.)

O4-6. Identification of an intron sequence to enhance the liver transduction by AAV vector

Tsukasa Ohmori (Department of Biochemistry, Jichi Medical University)

O4-7. New modality of vaccine by AAV vector and extracellular vesicle

Yasunari Matsuzaka (Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

Oral Session V (E or J)

Viral vectors 2

Date: Sep. 12, 9:00–10:10, Room 3

Chairs: Kenichiro Kosai (Department of Gene Therapy and Regenerative Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences.)

Hiroaki Mizukami (Division of Genetic Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O5-1. Development of an all-in-one lentiviral vector that enhances the antitumor effect of CAR-T cells and reduces the risk of CRS and ICANS

Izumi Maki (Technology Development Center, Takara Bio Inc.)

O5-2. Development of quantification and purification system for AAV9 particles using a novel affinity ligand

Junichi Takagi (Institute for Protein Research, Osaka University)

O5-3. Chemically Defined and High-Yield AAV Vector production medium for suspension HEK293 based cell lines

Kaho Takeichi (Takara Bio Inc.)

O5-4. Efficient adeno-associated virus vector production system through controlling capsid expression timing

Kenji Ohba (Division of Genetic Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O5-5. Adenovirus Purification Method Using Scalable System with Single Use Anion Exchange Fiber Chromatography Capsule

Masato Yamamoto (University of Minnesota)

O5-6. Large-scale purification of functional recombinant adeno-associated virus with short-term ultracentrifugation in a zonal rotor (14/50)

Mikako Wada (Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

O5-7. High-quality AAV vector manufacturing

Mitsuko Fukuhara (U-Medico Inc.)

Oral Session VI (E or J)

Genetic Diseases

Date: Sep. 12, 10:10–10:50, Room 3

*Chairs: Yota Shimada (Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine)
Toru Uchiyama (Division of Molecular Pathogenesis, Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development)*

O6-1. Identification of Genomic Instability Markers in Hematopoietic Stem Cells of Blmtm3Brd/tm3Brd Mice for Pre-clinical Trial of Lentiviral Gene Therapy to Prevent Hematological Malignancies in Bloom Syndrome Patients
Kazuhiro Noguchi (*Department of Pediatrics, Kanazawa University Hospital, Kanazawa, Japan*)

O6-2. Gene therapy for NEU1 deficiencies using AAVPHP.eB carrying modified NEU1 and the human CTSA.
Rin Fukuike (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tokushima University*)

O6-3. In vivo Gene therapy for lysosomal storage diseases mediated by AAV vector carrying BBB-penetrable enzyme
Saki Matsushima (*Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences The Jikei University School of Medicine*)

O6-4. Site-specific gene editing of mutated CD40L in T cells for treating the X-linked hyper-IgM syndrome
Akane Miura (*Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development*)

Oral Session VII (E or J)

Viral vectors 3

Date: Sep. 12, 14:20-15:20 Room 3

*Chairs: Kounosuke Mitani (Saitama Medical University)
Toshiro Shirakawa (Kobe University Graduate School of Science, Technology and Innovation, Division of Advanced Medical Science)*

O7-1. Development of PSMA-targeted Oncolytic Adenovirus for Treatment of Prostate Cancer
Mizuho Sato-Dahlman (*University of Minnesota*)

O7-2. Aggregation analysis and testing for residual gag/pol DNA fragment as quality testing for retroviral vector used for TBI-2001 manufacturing
Naoki Matsushita (*TAKARA BIO INC.*)

O7-3. Development of cyclic peptide ligand installed ternary complex to improve tumor selectivity of Adeno Associated Virus (AAV)
Nozomi Matsudaira (*Tokyo Institute of Technology School of Life Science and Technology Department of Life Science and Technology*)

O7-4. Improvement of human adenovirus serotype 35 vector for vaccine application
Rika Onishi (*Grad. Sch. of Pharm. Sci., Osaka Univ.*)

O7-5. A recombinant adenovirus vector containing the synNotch receptor gene inhibits tumor growth of bladder cancer in a mouse xenograft model
RUHAN A (*Advanced Medical Science, Graduate School of Science, Technology and Innovation, Kobe University*)

O7-6. Creation of receptor-targeting AAV capsids by LassoGraft: in vivo efficacy, endowment of blood-brain barrier permeability, and development of a receptor exploration method
Satoshi Watanabe (*Laboratory for protein synthesis and expression, Institute for Protein Research, Osaka University*)

Oral Session VIII (E or J)

Cell therapy 1

Date: Sep. 12, 15:20–16:20, Room 3

Chairs: Ken Ohmine (Division of Hematology, Department of Medicine / Division of Gene and Cell Therapy for Intractable Disease, Jichi Medical University)

Hiroaki Ikeda (Dept. Oncology, Nagasaki Univ. Grad. Sch. Biomed. Sci.)

O8-1. CAR-T cells manufactured in 2 days with Retronectin®/OKT3 stimulation method showed high cytotoxicity and cell proliferation capacity

Kumiko Uemura (Takara bio inc.)

O8-2. Combination therapy of chimeric antigen receptor T cell therapy and an HSV-1-based oncolytic virus expressing the tumor antigen for the CAR T cells

Mona Alhussein Aboalela (Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan)

O8-3. Gene therapy using genome-edited iPS cells for malignant brain tumor and regenerative medicine

RYOTA TAMURA (Department of Neurosurgery, Keio University School of Medicine)

O8-4. The development of non-viral, ligand-dependent IGF1R chimeric antigen receptor T cells

Shuji Mishima (Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine)

O8-5. Ligand-based, piggyBac-engineered CAR-T cells targeting EGFR are safe and effective against non-small cell lung cancers

Thanyavi Chinsuwan (Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand)

O8-6. New therapeutic targets in amnion derived-mesenchymal stromal cells treated mouse model of Duchenne muscular dystrophy

Yuko Kasahara (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

Oral Session IX (E or J)

Viral vectors 4

Date: Sep. 12, 16:20–17:30, Room 3

Chairs: Sachiko Okamoto (TAKARA BIO INC.)

Yoshihide Sehara (Division of Genetic Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O9-1. Enhancement of recombinant adeno-associated virus activity by improved stoichiometry and homogeneity of capsid protein assembly

Takayuki Onishi (Osaka University, Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering)

O9-2. Development of novel media for lentiviral vector production in fix-bed bioreactors

Tomohiro Kotani (TAKARA BIO INC.)

O9-3. Comparative analysis of nine AAV capsid vector-expressing cell types in the cerebral cortex of the marmoset

Yasunori Matsuzaki (Gunma University Graduate School of Medicine)

O9-4. Scalable Flow-Through Electroporation for high yield Continuous rAAV production

Yoichi Nagai (BioScience & Engineering Laboratory, FUJIFILM Corporation)

O9-5. Evaluation of tropism of wild-type adeno-associated virus in gerbil hippocampus

Yoshihide Sehara (Division of Genetic Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University)

O9-6. Mechanism analysis of CereAAVTM mediated gene transfer for effective targeting to brain.

Yoshinori Tanaka (TAKARA BIO INC.)

O9-7. Characterization of non-toxic herpes simplex virus-based vectors in vivo

Yoshitaka Miyagawa (Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, Tokyo, Japan)

Oral Session X (E or J)

Regulatory science

Date: Sep. 12, 17:30–18:40, Room 3

Chairs: Toshihiko Okazaki (*OSAKA University Hospital*)
Eriko Uchida (*National Institute of Health Sciences*)

O10-1. Investigation of Pre-analytical Preparation Parameters to Impact on Adeno-associated Virus Vector Genome Titration by Droplet Digital PCR and Optimized Pretreatment Procedure

Shunsuke Saito (*Synplogen Co., Ltd., Medical Business Unit*)

O10-2. Regulatory science research on quality evaluation methods for mRNA drugs

Takenori Yamamoto (*Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences*)

O10-3. Survey of methods for the prediction of off-target mutations caused by genome editing technology-based gene therapy products

Takuma Yamashita (*National Institute of Health Sciences*)

O10-4. Genome population sequencing of human Cell-Produced Recombinant Adeno-Associated Viruses by long-read sequencing

Koichiro Aya (*TAKARA BIO INC.*)

O10-5. Development of highly durable adeno-associated virus receptor and application to AAV vector analysis

Kouhei Yoshida (*Tosoh Corporation, Life Science Research Laboratory*)

O10-6. Quantification of full and empty particles of Adeno-Associated Virus vectors by a novel Dual Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay (dFLISA)

Sereirath Soth (*Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University*)

O10-7. Comprehensive evaluation of particle components in adeno-associated virus vector samples

Takahiro Maruno (*U-Medico Inc.*)

Oral Session XI (E or J)

Viral vectors 5

Date: Sep. 13, 8:35–9:35, Room 3

Chairs: Yasunari Matsuzaka (*Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo*)

Tsutomu Sasaki (*Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine*)

O11-1. Development of a novel purification method for AAV vectors using tangential flow filtration

Yuji Tsunekawa (*Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo*)

O11-2. Gene therapy for Fabry mice by systemic administration of AAV9 vectors

Yuka Hayashi (*Division of Genetic Therapeutics, Center for Molecular Medicine, Jichi Medical University*)

O11-3. Development of compact and robust inhibitory neuron-specific GAD67 promoter available for AAV vectors

Yuuki Fukai (*Department of Neurophysiology and Neural Repair, Gunma University Graduate School of Medicine*)

O11-4. Development of all-in-one plasmids for the production of recombinant adeno-associated virus vector

Yuya Nishimura (*Medical Business Unit, Synprogen Co., Ltd.*)

O11-5. A novel cross-species AAV capsid demonstrating enhanced upper and lower motor neuron transduction with high specificity

Hiroyuki Nakai (*Capsigen Inc. / Oregon Health & Science University School of Medicine*)

O11-6. Platform process development and scale-up of rAAV manufacturing in suspension-based system with single-use technologies

Rachael Lake Hardison (*Forge Biologics*)

Oral Session XII (E or J)

Gene editing and other gene transfer technologies and stem cells

Date: Sep. 13, 11:10–12:20, Room 3

Chairs: Tsukasa Ohmori (Department of Biochemistry, Jichi Medical University)
Yutaka Hanazono (Jichi Medical University)

O12-1. Development and supply of efficient and safe adenovirus vectors expressing highly-multiplex guide RNAs of CRISPR/Cas9: application to studies of genome-editing therapy of cancer, hepatitis, SARS-CoV-2, autophagy and genetic diseases.

Tomoko Nakanishi (Juntendo Univ., Ctr. for Biomed. Res. Resources)

O12-2. Systemically applicable Cas9-sgRNP RNP delivery systems based on supramolecular complexes.

Yuto Honda (Tokyo Institute of Technology)

O12-3. Generation and gene therapy application of LbCas12a system with improved stabilization by nuclear localization

Tomohito Tsukamoto (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

O12-4. Potential of Discharge Plasma Gene Transfer Methods for Cell therapy

Ryota Tamura (Department of Electrical and Electronic Engineering, Ehime University)

O12-5. Regulation of Insulin Expression for the Establishment of a Treatment for Type 1 Diabetes Mellitus in Discharge Plasma Gene Transfer Method

Takuya Saiki (Department of Electrical and Electronic Engineering, Ehime University)

O12-6. Functional Analysis of Human Mesenchymal Stem Cells as Oncolytic Virus Carrier Cells in Three-Dimensional Culture

Makoto Sukegawa (Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, Tokyo, Japan)

O12-7. Study of molecular mechanism for abnormal synaptic function in disease-derived neurons

Takumi Era (Dept of Cell modulation, Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University)

Oral Session XIII (E or J)

Cancer 2

Date: Sep. 13, 13:35–14:55, Room 3

Chairs: Hiroshi Tazawa (Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital)

Tomoyuki Nishikawa (Department of Device Application for Molecular Therapeutics, Graduate School of Medicine, Osaka University)

O13-1. Novel Treatment for Oral and Esophageal Duplication Cancer Using Triple-mutated HSV-1

Akinari Suguchi (Graduate School of Dentistry, Osaka University)

O13-2. Cell death-inducing cancer virotherapy for canine malignancies using retroviral replicating vector

Emiko Fukuda (Laboratory of Molecular and Genetic Therapeutics, Advanced Medical Science, Hyogo Medical University)

O13-3. SALL4 promoter-controlled oncolytic adenovirus inhibits rhabdoid tumors growth in vitro and in vivo

Hideki Yoshida (Department of Pediatrics, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto, Japan)

O13-4. Oncolytic virotherapy improves resistance to paclitaxel in pancreatic cancer by suppressing MDR1 expression

Hiroaki Inoue (Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan)

O13-5. Retroviral replicating vector-mediated prodrug activator gene therapy and anti-PD-1 antibody combination therapy in a murine pancreatic cancer model

Hiroki Niwa (Department of Gastroenterological Surgery II, Hokkaido University Graduate School of Medicine)

O13-6. Oncolytic adenovirus armed with type I interferon elicits systemic antitumor immunity in immunocompetent replication-permissive pancreatic cancer models

Kazuho Inoko (Division of Basic and Translational Research, Department of Surgery, University of Minnesota)

O13-7. Combination therapy of immunostimulatory CVB3 and PD-L1 blockade works to enhance anti-tumor efficacy

Miyako Sagara (The University of Tokyo)

O13-8. Metformin and the oncolytic HSV C-REV combination promote antitumor efficacy in a bilateral pancreatic cell cancer subcutaneous model

Mohamed Abdelmoneim (Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan)

Oral Session XIV (E or J)

Cell therapy 2

Date: Sep. 13, 15:00–15:50, Room 3

Chairs: Yosuke Morodomi (R&D Laboratory for Innovative Biotherapeutics Science Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University)

Mutsunori Murahashi (The Jikei University School of Medicine)

O14-1. Antitumor effects of CIS-knockout human allogeneic NK cells in GBM

Tsutomu Nakazawa (Department Neurosurgery, Nara Medical University)

O14-2. Development of CAR-T manufacturing method utilizing automated culturing system and cost reduction in manufacturing

Jun Kohara (CDM Center, Takara Bio Inc.)

O14-3. Mechanism for Maintained Antitumor Activity of Cryopreserved Thawed High-Activity NK-like Cells

Yufu Xin (Kyushu University)

O14-4 Antitumor effect of GAIA-102 on refractory tumors and its underlying mechanism

Situo Zheng (R&D Laboratory for Innovative Biotherapeutics Kyushu university)

O14-5. Next generation cytogenomics with optical genome mapping: quality assessment for cell bioprocessing

Nandita Mullapudi (Bionano)

Corporate Seminar

Luncheon Seminar 1

(MaxCyte, Inc. & Kiko Tech., Ltd)

Date: Sep. 11, 12:25–13:25, Room 1

Chair: Makoto Otsu (Division of Hematology, Department of Medical Laboratory Sciences, Kitasato University School of Allied Health Sciences)

Yoshiki Sawa (Osaka University Graduate School of Medicine / Osaka Police Hospital)

LS1. Development and Clinical translation of piggyBac transposon CAR-T cell therapy

Shigeki Yagyu (*Shinshu University, Innovative Research & Liaison Organization*)

Luncheon Seminar 2

Research and Clinical Experience of Genetic Disorders – Development of Nucleic Acid Medicine for Spinal Muscular Atrophy
(Biogen Japan Ltd.)

Date: Sep. 11, 12:25–13:25, Room 2

Chair: Akihiro Kume (Jichi Medical University Hospital, Clinical Research Center)

LS2-1. Development of Therapeutic Drug for Spinal Muscular Atrophy – From Basic Research to Clinical Trials and Insurance Coverage

Reiko Arakawa (*Center Hospital of the National Center for Global Health and Medicine, Department of Genomic Medicine*)

LS2-2. Pathology and Treatment of Spinal Muscular Atrophy Viewed Through a Patient-derived Cell Model

Michiko Yoshida (*Kyoto City Hospital, Department of Pediatrics*)

Luncheon Seminar 3

(Cytiva)

Date: Sep. 11, 12:25–13:25, Room 3

Chair: Yoshikazu Yonemitsu (R&D Laboratory for Innovative Biotherapeutics, Kyushu University Graduate School of Pharmaceutical Sciences)

LS3. ELEVECTA, the next generation of AAV manufacturing that combines high scalability and increased safety by reducing encapsidated host cell DNA

Michelle Hussong (*Head of Molecular Biology and Analytics, Viral Vectors - Genomics Medicine, Cytiva, Germany*)

Luncheon Seminar 4

(Alnylam Japan K.K.)

Date: Sep. 12, 11:30–12:30, Room 1

Chair: Masayuki Nakamori (Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine)

LS4. A disease in 21st century: ATTRv amyloidosis, its pathogenesis, therapies, and perspective

Yukio Ando (*Department of Amyloidosis Research, Nagasaki International University, Kumamoto University*)

Luncheon Seminar 5

(Miltenyi Biotec K.K.)

Date: Sep. 12, 11:30–12:30, Room 2

Chair: Hiroshi Fujiwara (Department of Personalized Cancer Immunotherapy, Graduate School of Medicine, Mie University)

LS5. Research and Clinical Development of CAR-T Cell Therapy -including manufacturing in Academia-

Naoki Hosen (*Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Osaka University*)

Luncheon Seminar 6

(Synplogen Co., Ltd.)

Date: Sep. 12, 11:30–12:30, Room 3

Chair: Masafumi Onodera (Gene & Cell Therapy Promotion Center, National Center for Child Health and Development)

LS6-1. Current status and perspectives of analytical development for viral vectors

Susumu Uchiyama (Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University)

LS6-2. Cell culture process development for AAV vector production in HEK293 suspension cells

Yoshinori Takagi (Medical Business Unit, Synplogen Co., Ltd.)

Luncheon Seminar 7

(Takara Bio Inc.)

Date: Sep. 13, 12:30–13:30, Room 1

Chair: Tatsuji Enoki (Takara Bio Inc.)

LS7. Gene therapy for neuroprotection and axon regeneration.

Kazuhiko Namekata (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science)

Luncheon Seminar 8

(Novartis Pharma K.K. Gene Therapies Business Unit Medical Division)

Date: Sep. 13, 12:30–13:30, Room 2

Chair: Takanori Yamagata (Department of Pediatrics, Tochigi Rehabilitation Center)

LS8-1. Our experience of gene replacement therapy with Zolgensma : Importance of early treatment for spinal muscular atrophy

Tomokazu Kimizu (Department of Pediatric Neurology, Osaka Women's and Children's Hospital)

LS8-2. Gene therapy for Inherited retinal dystrophy

Kaoru Fujinami (Laboratory of Visual Physiology, Division of Vision Research, National Institute of Sensory Organs, National Hospital Organization Tokyo Medical Center)

Luncheon Seminar 9

(Takeda Pharmaceutical Company Limited)

Date: Sep. 13, 12:30–13:30, Room 3

Chair: Hitoshi Osaka (Department of Pediatrics, Jichi Medical University)

LS9-1. Driving pharmaceutical open innovation by T-CiRA program

Yasushi Kajii (R&D Japan Region, Takeda Pharmaceutical Company Limited)

LS9-2. Toward finding a cure for NGLY1 deficiency

Tadashi Suzuki (Glycometabolic Biochemistry Laboratory, RIKEN Cluster for Pioneering Research, RIKEN)

Morning Seminar 1

(Alexion Pharma GK)

Date: Sep. 12, 8:15–8:55, Room 1

Chair: Hideki Mochizuki (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

MS1. Pathogenesis of thymoma-associated myasthenia gravis

Tatsusada Okuno (Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine)

Morning Seminar 2

(Nepa Gene Co., Ltd.)

Date: Sep. 12, 8:15–8:55, Room 2

Chair: Atsushi Miyamura (Nepa Gene Co., Ltd.)

MS2. Cell and Gene Therapy Product Management, Precision NanoSystems

Angela Zhang (Cell and Gene Therapy Product Management, Precision NanoSystems)

Morning Seminar 3

(Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation)

Date: Sep. 12, 8:15–8:55, Room 3

Chair: Seiichi Nagano (Department of Neurotherapeutics, Osaka University Graduate School of Medicine)

MS3. Development of nucleic acid therapeutics for ALS and latest topics in ALS treatment

Yoshitaka Nagai (Department of Neurology, Kindai University Faculty of Medicine)

Morning Seminar 4

(argenx Japan K.K.)

Date: Sep. 13, 7:45–8:25, Room 1

Chair: Akiko Ishii (National Hospital Organization Iwaki Hospital, Japan.)

MS4. Pathophysiology and new therapeutic approaches in myasthenia gravis

Masanori Takahashi (Department of Clinical Laboratory and Biomedical Sciences, Division of Health Sciences, Osaka University Graduate School of Medicine, Japan)

Morning Seminar 5

(Sartorius Japan K.K.)

Date: Sep. 13, 7:45–8:25, Room 2

Chair: Yuko Kasahara (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

MS5. High-throughput and accurate AAV Capsid quantitation using biomolecular interaction analysis

Yusuke Maruyama (Sartorius Japan K.K. Field Application Scientist)

Morning seminar 6

(Revvity, Inc.)

Date: Sep. 13, 7:45–8:25, Room 3

Chair: Hiroyuki Nakai (Department of Molecular and Medical Genetics, Oregon Health & Science University)

MS6. Towards Developing Best-In-Class rAAV Vectors: Guidance for a successful Go-to Market Gene Therapy Strategy

Kathrin Schneider (Department of Molecular and Medical Genetics, Oregon Health & Science University)

Evening Seminar 1

(Bio-Rad Laboratories K.K.)

Date: Sep. 11, 18:50–19:30, Room 1

Chair: Fuminori Sakurai (Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Japan.)

ES1. Development of gene and cell therapy for intractable diseases in childhood

Toru Uchiyama (Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development, Japan.)

Evening Seminar 2

HEK Media and Manufacturing portfolio for Gene and Cell Therapy offered by Sartorius

(Sartorius Stedim Japan K.K.)

Date: Sep. 11, 18:50–19:30, Room 2

Chair: Takashi Okada (Center for Gene & Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

ES2-1.

Toru Tsuji (Sartorius Stedim Japan K.K. Sales department, Field Application Specialist)

ES2-2.

Shiori Akiyama (Sartorius Stedim Japan K.K. Sales department, Field Application Specialist)

Evening Seminar 3

(CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)

Date: Sep. 11, 18:50–19:30, Room 3

Chair: Shin-ichi Muramatsu (Division of Neurological Gene Therapy, Center for Open Innovation, Jichi Medical University)

ES3. Advances in Treatment of Spinal Muscular Atrophy

Toshio Saito (*Division of Child Neurology, Department of Neurology, National Hospital Organization Osaka Toneyama Medical Center*)

Sponsored Seminar

(Scrum Inc.)

Date: Sep. 11, 17:55–18:45, Room 3

Chair: Tatsushi Toda (Department of Neurology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

SS. Statistical genetics elucidates disease biology and drug discovery

Yukinori Okada (*Department of Genome Informatics, Graduate School of Medicine, the University of Tokyo / Department of Statical Genetics, Osaka University Graduate School of Medicine / Laboratory for Systems Genetics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences*)

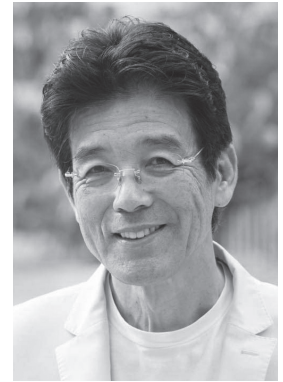


Dialogue Session

Curriculum Vitae

略歴

名前 江本 孟紀
所属 元参議院議員



略歴

1947 (昭和22) 年7月22日 高知県生まれ
1963年 4月 高知商業高校入学
1966年 4月 法政大学経営学部入学
1970年 4月 熊谷組入社 (社会人野球)
1971年 2月 東映フライヤーズにドラフト外で入団
1971年 12月 南海ホークスへ移籍、16勝をマーク
※1973年日本シリーズ出場 (南海VS巨人)
1976年 12月 阪神タイガースへ江夏投手とのトレードで移籍
1981年 8月 阪神タイガース退団
☆プロ通算成績 (投手) 113勝126敗19セーブ、開幕投手6回、オールスター出場4回 (5回選出)
1992年 7月 参議院議員初当選
1994年 日本プロ野球OBクラブを立ち上げ事務局長に就任
1998年 4月 文部科学省より公益法人としての認可を取りつけ、プロ野球OBクラブは社団法人全国野球振興会へ
1998年 7月 参議院議員再選
2001年 1月 参議院初代内閣委員長 (~9月)
※その他、文教科学委員会理事、環境委員会、外交防衛委員会、災害対策特別委員会理事、国会等の移
転に関する特別委員会理事等を歴任
※野球振興議員連盟事務局長、スポーツ議員連盟役員、校庭緑化 (芝生化) 議員連盟、憲法調査推進議
員連盟他
2004年 1月 大阪府知事選挙出馬後、参議院議員を離職
2004年 11月 アメリカ独立リーグ初の日本人チーム「サムライベアーズ」立ち上げに協力
2005年 11月 クラブチーム「京都ファイアーバース」を立ち上げ、監督に就任~2006年8月
2006年 3月 クラブチーム選抜メンバー「Club チャレンジニッポン!」を結成しアメリカ遠征
2007年 4月 タイ国ナショナルベースボールチーム総監督に就任し北京五輪アジア予選に出場
2010年 7月 参議院議員選挙比例区で出馬
2010年 4月 法政大学スポーツ健康学部「スポーツと政治」「スポーツ政策論」講師~2014年3月
2015年 10月 四国アイランドリーグplus「高知ファイティングドッグス球団」総監督に就任
2017年 11月 秋の叙勲で旭日中綬章受章
2021年 3月 YouTube「エモやんの、人生ふらーりツマミグイ」開設

現在

- プロ野球解説者
- フジテレビ 関係『プロ野球中継』『プロ野球ニュース』
- ニッポン放送『ショウアップナイター』
- サンケイスポーツ『エモやんの舌好調』『週刊エモト(関東版)』 etc
- 四国アイランドリーグPlus「高知ファイティングドッグス球団」総監督
- 高知県観光特使

著書

「プロ野球を10倍楽しく見る方法」	KKベストセラーズ	※約500万部売り上げベストセラー
「マンガ日本政治入門」	あおば出版	
「野球バカは死なず」	文春新書 (2018.4)	
「人生9回裏の戦い方」	竹書房 (2019.11)	
「超一流 プロ野球大論」	徳間書店 (2020.3)	
「己も国も自信を持たなきゃ」	WAC (2021.7.15)	
「阪神タイガースぶっちゃけ話」	清談社Publico (2021.11.1)	計81冊



JSGCT Chairman's Lecture

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 森下 竜一

所属 大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学

研究分野 gene therapy, cardiovascular disease, aging



学歴

昭和62年 大阪大学医学部 卒業

平成3年 大阪大学医学部大学院（老年病講座）卒業

職歴

平成4年 アメリカ循環器学会特別研究員

平成10年 大阪大学助教授大学院医学系研究科遺伝子治療学

平成15年 大阪大学教授大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学

平成15年 知的財産戦略本部本部員（2007年任期満了：本部長内閣総理大臣）

平成25年 内閣府 規制改革会議委員（安倍内閣）

平成25年 内閣官房健康・医療戦略本部（本部長 安倍晋三）戦略参与

平成25年 大阪府特別参与・大阪市特別参与

平成30年 内閣府 規制改革推進会議委員（安倍内閣）

令和2年 大阪府特別顧問・大阪市特別顧問

令和3年 2025大阪関西万博大阪府市パビリオン総合プロデューサー

令和3年 内閣府健康・医療戦略推進事務局 健康・医療戦略参与

最近の関連出版物・論文

Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Tai JA, Nishikawa T, Yamashita K, Sakaguchi N, Yoshida S, Baba S, Chang CY, Shimamura M, Okamoto S, Amaishi Y, Chono H, Mineno J, Rakugi H, **Morishita R**, Nakagami H. Intradermal administration of DNA vaccine targeting Omicron SARS-CoV-2 via pyro-drive jet injector provides the prolonged neutralizing antibody production via germinal center reaction. *Scientific Research* (in press) Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Sawai M, Chang CY, Tai JA, Nishikawa T, Yamashita K, Sakaguchi N, Yoshida S, Baba S, Shimamura M, Okamoto S, Amaishi Y, Chono H, Mineno J, Rakugi H, **Morishita R**, Yamamoto M, Nakagami H. Modified DNA vaccine confers improved humoral immune response and effective virus protection against SARS-CoV-2 delta variant. *Scientific Reports* (in press) Nakagami H, Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Nakagami F, Hamaguchi S, Yoshida H, Okuno H, Yoshida S, Nakamaru R, Yokoyama S, Fujimoto T, Hongyo K, Akeda Y, **Morishita R**, Tomono K, Rakugi H. Phase I Study to Assess the Safety and Immunogenicity of an Intradermal COVID-19 DNA Vaccine Administered Using a Pyro-Drive Jet Injector in Healthy Adults. *Vaccines* 2022 Aug 30;10(9):1427. doi: 10.3390/vaccines10091427. Fukami H, Morinaga J, Nakagami H, Hayashi H, Okadome Y, Matsunaga E, Kadomatsu T, Horiguchi H, Sato M, Sugizaki T, Kuwabara T, Miyata K, Mukoyama M, **Morishita R**, Oike Y. Vaccine targeting ANGPTL3 ameliorates dyslipidemia and associated diseases in mouse models of obese dyslipidemia and familial hypercholesterolemia. *Cell Reports Medicine* 2021;2:100446 Nakagami H, Ishihama T, Daikyōji Y, Sasakura C, Yamada E, **Morishita R**. Brief report on a phase I/IIa study to assess the safety, tolerability, and immune response of AGMG0201 in patients with essential hypertension. *Hypertension Research* 2022 Jan;45(1):61-65. doi: 10.1038/s41440-021-00755-6.

遺伝子細胞治療の現状と将来

森下 竜一

大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学

遺伝子細胞治療は、新型コロナウイルスに対するワクチン開発に、アデノウイルスベクター、mRNA技術、プラスミドDNA技術が使用され、急速に実用化が進んできた。海外のみならず、国内においても、従来の創薬技術を超えたこれらの新規モダリティの重要性が認識され、第二期健康医療戦略にその重要性が指摘され、政府全体で研究開発の支援の取り組みが行われている。しかし、これら新規モダリティを実用化するためのハードルは高く、1) アカデミアでの基礎研究、2) 基礎研究から臨床への実用化の橋渡し、3) 実用化を担うバイオベンチャーや製薬企業、など多くのプレーヤーが必要にもかかわらず、国内での状況は極めて立ち遅れている。日本遺伝子細胞治療学会では、遺伝子細胞治療技術を国民のために普及させていくことを目的として、認定医制度を2023年より開始し、今後認定施設など国民のために有効かつ安全な遺伝子細胞治療技術を普及するための活動を進めていく予定である。本講演では、現状を紹介しながら、学会や日本政府の取り組みなどを紹介したい。

Gene and cell therapy has been rapidly put into practical use using adenovirus vectors, mRNA technology, and plasmid DNA technology in the development of vaccines against the new coronavirus. The importance of these new modalities beyond conventional drug discovery technologies has been recognized, not only overseas, but also in Japan. Their importance has been pointed out in the Second Health and Medical Strategy of Japan Government, and the efforts are being made throughout the government to support research and development. However, the hurdles to clinical application of these new modalities are still high, and despite the need for many players such as 1) basic research in academia, 2) bridging the practical application from basic research to clinical practice, and 3) bio-ventures and pharmaceutical companies that are responsible for clinical application, the situation in Japan is extremely lagging. The Japan Society for Gene and Cell Therapy (JSGCT) has started a certified medical doctor system in 2023 with the aim of disseminating gene and cell therapy technology for the public, and plans to promote the activities to disseminate effective and safe gene and cell therapy technology for the public, such as certified facilities. In this lecture, I would like to introduce the current situation and the efforts of JSGCT and Japan governments.



Special Lecture 1

Curriculum Vitae

略歴

名前 加藤 勝信

所属 厚生労働大臣

職歴

昭和54年 3月 東京大学経済学部卒業
4月 大蔵省入省

昭和59年 7月 国税庁広島国税局倉吉税務署長

平成6年 4月 農林水産省農林水産大臣秘書官

平成7年 6月 大蔵省大臣官房企画官
10月 加藤六月衆議院議員秘書

平成12年 12月 川崎医療福祉大学 客員教授

平成15年 11月 衆議院議員当選（初当選）

平成17年 9月 衆議院議員当選（当選2回）

平成19年 8月 内閣府大臣政務官

平成21年 8月 衆議院議員当選（当選3回）
10月 自由民主党厚生労働部会部会長

平成22年 9月 自由民主党副幹事長

平成23年 10月 自由民主党政務調査会事務局長

平成24年 10月 自由民主党総裁特別補佐、広報本部報道局長
12月 衆議院議員当選（当選4回）
12月 内閣官房副長官

平成26年 5月 内閣官房内閣人事局長（初代）兼務
12月 衆議院議員当選（当選5回）

平成27年 10月 一億総活躍担当、女性活躍担当、再チャレンジ担当、拉致問題担当、国土強靱化担当、
内閣府特命担当大臣（少子化対策 男女共同参画）

平成28年 8月 一億総活躍担当、働き方改革担当、女性活躍担当、再チャレンジ担当、拉致問題担当、
内閣府特命担当大臣（少子化対策 男女共同参画）

平成29年 8月 厚生労働大臣、働き方改革担当大臣、拉致問題担当大臣
10月 衆議院議員当選（当選6回）
11月 厚生労働大臣、働き方改革担当大臣、拉致問題担当大臣 再任

平成30年 10月 自由民主党総務会長

令和元年 9月 厚生労働大臣、働き方改革担当大臣

令和2年 9月 内閣官房長官、沖縄基地負担軽減担当、拉致問題担当

令和3年 10月 衆議院議員当選（当選7回）
11月 自由民主党税制調査会小委員長、社会保障制度調査会長

令和4年 8月 厚生労働大臣





Special Lecture 2

Abstract & Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Name David Baram

Affiliation EmendoBio, Inc., USA



Dr. David Baram co-founded EmendoBio and has served as its President & CEO since that time. Under his leadership, David has taken EmendoBio from the pre-seed stage through multiple financing rounds and a successful acquisition in 2020. Prior to EmendoBio, David co-founded multiple biotech companies and a seed-stage incubator in which he was responsible for technological innovation, entrepreneurship and financing. David lead the negotiation and execution of a broad range of deals including mergers & acquisitions, out-licensing, and in-licensing, fundraising over \$500 million in private and public rounds, and serving as a member of the board of directors for several biotech companies. David is an inventor of over thirty patents. He completed his Ph.D. studies at the Weizmann Institute of Science under Nobel Laureate Dr. Ada Yonath.

OMNI™ Triple-platform technology - Removing the barriers in CRISPR-based gene editing therapy

David Baram¹, Liat Rockah¹, Milit Marom¹, Shira Warszawski¹, Nir Hecht¹, Nir Shpak¹, Rivkah Rogawski¹, Shir Weber¹, Veronica Moskovicz¹, Bar Dagan¹, Tami Khazma¹, Maya Noff¹, Nir Shahar¹, Dotan Omer¹, Roy Sirkis¹, David C. Dale², Asael Herman¹, Rafi Emmanuel¹ and Lior Izhar¹

¹ EmendoBio, Inc., New York, USA

² Department of Medicine, University of Washington, Seattle, WA, USA

CRISPR-based gene editing has shown great potential for treating genetic disorders, but it faces several limitations. These include off-target effects and difficulties in achieving accurate allele-specific editing, required for treating diseases caused by dominant negative mutations. Attempts to design high-fidelity CRISPR-Cas systems often result in insufficient editing levels, due to a tradeoff between specificity and activity. Moreover, given the narrow repertoire of protospacer adjacent motifs (PAMs), accessible targets are limited, and a particular nuclease cannot fit all desired applications. To overcome these challenges, we have developed the OMNI™ triple-platform technology that combines a discovery pipeline, advanced protein-engineering capabilities, and extensive computational and machine learning tools.

Through in-silico analysis of metagenomic databases, we have discovered numerous novel nucleases with diverse PAMs that are active in mammalian cells with 86% genomic coverage. Leveraging our powerful engineering platform, which include semi-rational, rational, and machine-learning-assisted design approaches, we have identified specific sequence variations that optimized the performance of our novel nucleases, breaking the specificity-activity tradeoff. This engineering strategy has resulted in up to a 20-fold increase in nuclease activity and the elimination of persistent off-target effects.

Our proprietary engineered nucleases exhibit highly efficient and precise editing, even at single-nucleotide differences, with no detectable off-target effects. In this abstract, we highlight the performance of our triple-platform technology in two of our leading clinical programs: severe congenital neutropenia and ASCVD-related hypercholesterolemia. These examples demonstrate how our diverse toolbox of nucleases, coupled with a state-of-the-art protein design pipeline, is harnessed to generate tailored, efficient, and safe gene editing therapeutic compositions.



Invited Lecture 1

Abstract & Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Name	Nathalie Cartier
Affiliation	Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), 75013, Paris, France
Field of Research	Cell and gene therapy for neurodegenerative diseases



Education

Medical Doctor, Paris Descartes University ; specialized in Pediatrics

Professional Experience

Medical experience

Neuropediatrics (St Vincent de Paul Hospital Paris), 1990-2014

Co-PI Gene therapy trials (Adrenoleukodystrophy, Metachromatic Leukodystrophy)

Research Experience

Research Director at Inserm

Head of NeuroGencell lab (U1127, ICM) -2021

Main domains of research :

Pathophysiology and Modelling neurodegenerative diseases

Cell and Gene Therapy for neurodegenerative diseases from preclinical proof of concept to clinical applications.

Pioneering work leading to first clinical trial using HIV-derived vector (*Science* 2009).

Co-PI in gene therapy Phase I/II clinical trials for Adrenoleukodystrophy (2006-2009; FDA approved product 2022 *Skysona*, Bluebird Bio) and Metachromatic Leukodystrophy

current position : Senior Vice-President Neurobiology, Askbio, CNS Sector Lead, AskBio Paris Site Head (Paris brain institute)

Teaching experience

- University Paris Descartes :

Professor: biotherapies

Direction of the Master course: Biotherapy course Genetics

- **University Paris Saclay:** Direction of Translational Research in Neurosciences (DIU)

- International University Programs :

Direction of The European Spring Schools in Biotherapies

Visiting Professor, University of Massachusetts Medical School : Gene therapy

Recent Related Publications (5 Papers)

Restoring brain cholesterol turnover improves autophagy and has therapeutic potential in mouse models of spinocerebellar ataxia.

Nóbrega C, Mendonça L, Marcelo A, Lamazière A, Tomé S, Despres G, Matos CA, Mehmet F, Langui D, den Dunnen W, de Almeida LP, **Cartier N***, Alves S*.

Acta Neuropathol. 2019 Nov;138(5):837-858. doi: 10.1007/s00401-019-02019-7. Epub 2019 Jun 14.

CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease.

Kacher R, Lamazière A, Heck N, Kappes V, Mounier C, Despres G, Dembitskaya Y, Perrin E, Christaller W, Sasidharan Nair S, Messent V, **Cartier N**, Vanhoutte P, Venance L, Saudou F, Néri C, Caboche J, Betuing S.

Brain. 2019 Aug 1;142(8):2432-2450. doi: 10.1093/brain/awz174.

The cholesterol 24-hydroxylase activates autophagy and decreases mutant huntingtin build-up in a neuroblastoma culture model of Huntington's disease.

Nóbrega C, Conceição A, Costa RG, Koppenol R, Sequeira RL, Nunes R, Carmo-Silva S, Marcelo A, Matos CA, Betuing S, Caboche J, **Cartier N***, Alves S*.

BMC Res Notes. 2020 Apr 10;13(1):210. doi: 10.1186/s13104-020-05053-x.PMID: 32276655

Pikuleva IA, **Cartier N**.

Cholesterol Hydroxylating Cytochrome P450 46A1: From Mechanisms of Action to Clinical Applications.

Front Aging Neurosci. 2021 Jul 8;13:696778. doi: 10.3389/fnagi.2021.696778. eCollection 2021.PMID: 34305573

Hematopoietic stem cell transplantation chemotherapy causes microglia senescence and peripheral macrophage engraftment in the brain.

Sailor KA, Agoranos G, López-Manzaneda S, Tada S, Gillet-Legrand B, Guerinot C, Masson JB, Vestergaard CL, Bonner M, Gagnidze K, Veres G, Lledo PM, **Cartier N**.

Nature Medicine. 2022 Mar;28(3):517-527. doi: 10.1038/s41591-022-01691-9.. PubMed PMID: 35190726.

Cholesterol Pathway Gene Therapy to treat Neurodegenerative Diseases

Nathalie Cartier¹, Sandro Alves¹, Louis-Habib Parsai¹, Enejda Subashi¹, Emilie Rey¹, Farah Chali¹, Clevio Nobrega², Luis Pereira di Almeida²

¹ Asklepios BioPharmaceutical, Inc, Institut du Cerveau (ICM), France

² Department of Biomedical Sciences and Medicine, University of Algarve

In the last two decades, gene therapy for neurological diseases has made considerable progress in both genetic (lysosomal diseases, SMA) and complex multifactorial diseases like Parkinson's and Alzheimer's disease (AD). Gene therapy is not only providing functional copies of genes implicated in monogenic disorders but can address more broadly common pathophysiological mechanisms. By restoring severely affected metabolic pathways, such approaches aim to improve brain cell function and survival. Importantly these new generation gene therapy strategies can target both rare genetic and frequent complex multifactorial diseases. A single gene therapy product could be used for several indications.

We identified brain cholesterol metabolism dysfunction as a central common mechanism associated with neurodegenerative diseases (NDDs). This link was particularly evidenced for AD and Huntington's disease (HD) in human patients and in mouse models. We demonstrated that Cholesterol 24 hydroxylase enzyme (CYP46A1), the key enzyme of brain cholesterol metabolism, allows efflux of cholesterol from the brain and controls cholesterol content in membranes, with major effect on membrane exchanges, synaptic transmission, and multiple cellular functions, and is a major player in neuronal stress response. We demonstrated that AB-1001 AAV-CYP46A1 gene therapy efficiently ameliorates symptoms of Huntington's disease but also improves mouse models of other polyglutamine expansion diseases (eg, spinocerebellar ataxias). A phase I/II clinical trial is scheduled for HD patients. We further demonstrated how AB-1001 AAV-CYP46A1 gene therapy may broadly improve severe cellular metabolism defects associated with NDDs, particularly Alzheimer's disease, allowing insight into the pathophysiology of these diseases and particularly the role of astrocytes in disease progression and treatment. This pathway approach could facilitate the development of therapeutic strategies for very rare diseases.



Invited Lecture 2

Abstract & Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Name	Hildegard Büning
Affiliation	Hannover Medical School, Hannover, Germany
Field of Research	Dr. Büning has a long-standing expertise in the area of viral vector development and infection research. Key competences include cell entry (transductional), transcriptional and genomic targeting of Adeno-Associated Viral (AAV) vectors, vaccine development, and characterization of the AAV-host interaction including immune recognition.



Education

1988-1993: Study of Biology, University of Münster and Ludwig-Maximilians University (LMU) of Munich, Germany

1997: PhD (Dr. rer. nat.), Faculty of Chemistry and Pharmacy at the LMU Munich, Germany

2008: Habilitation in “Molecular Medicine”, Faculty of Medicine of the University of Cologne, Germany

2015: Professor for Infection Biology of the Gene Transfer, Hannover Medical School (MHH), Germany

Professional Experience

1997-2003: Post-doctoral Fellow, Gene Center of the LMU Munich, Germany

2004-2015: Research Group Leader, Laboratory for AAV Vector Development, University of Cologne, Germany

Since 2015: Research Group Leader, Laboratory for Infection Biology & Gene Transfer, MHH, Germany

Since 2017: Deputy Director, Institute of Experimental Hematology, MHH, Germany

Recent Related Publications (5 Papers)

Franke A.C., R. Hardat, L. Prager, M. Bentler, M. Demeules, P. John-Neek, N.M. Jäschke, T.C. Ha, U.T. Hacker, S. Adriouch, H. Büning. Capsid-modified adeno-associated virus vectors as novel vaccine platform for cancer immunotherapy. *Ther. Methods Clin. Dev.* (2023), 29: 238-253. Meumann N., Cabanes-Creus, M. Ertelt, R. Gale Navarro, J. Lucifora, Q. Yuan, K. Nien-Huber, A. Abdelrahman, X.-K. Vu, L. Zhang, A.-C. Franke, C. Schmithals, A. Piiper, A. Vogt, M. Gonzalez-Carmona, J.T. Frueh, E. Ullrich, P. Meuleman, S.R. Talbot, M. Odenthal, M. Ott, E. Seifried, C.T. Schoeder, J. Schwäble, L. Lisowski, H. Büning. Novel Adeno-Associated Virus (AAV) Serotype 2 Capsid Variants for Improved Liver-Directed Gene Therapy. *Hepatology* (2023), 77(3):802-815. Rode L., C. Bär, S. Gross, A. Rossi, N. Meumann, J. Viereck, N. Abbas, K. Xiao, I Riedel, A. Gietz, K. Zimmer, M. Odenthal, H. Büning, T. Thum. AAV capsid engineering identified two novel variants with improved in vivo tropism for cardiomyocytes. *Mol. Ther.* (2022): 30(12):3601-3618. Pavlou M., C. Schön, L. M. Occelli, A. Rossi, N. Meumann, R. F. Boyd, J. T. Bartoe, J. Siedlecki, M. J. Gerhardt, S. Babutzka, J. Bogedein, J. E. Wagner, S. G. Priglinger, M. Biel, S. M. Petersen-Jones, H. Büning, S. Michalakis. Novel AAV capsids for intravitreal gene therapy of photoreceptor disorders. *EMBO Mol. Med.* (2021): 13(4): e13392. Hösel M., A. Huber, S. Bohlen, J. Lucifora, G. Ronzitti, F. Puzzo, F. Boisgerault, U.T. Hacker, W.J. Kwanten, N. Klötting, M. Blüher, A. Gluschko, M. Schramm, O. Utermöhlen, W. Bloch, F. Mingozzi, O. Krut, H. Büning. Autophagy determines efficiency of liver-directed gene therapy with adeno-associated viral vectors. *Hepatology.* (2017): 66 :252-265.

Improving efficacy and safety of AAV vectors for in vivo gene therapy

Hildegard Büning

Hannover Medical School, Hannover, Germany

Vectors based on adeno-associated viruses (AAV) are the most widely used delivery system for in vivo gene therapy. So far seven AAV vector-based gene therapies have received market approval by the European Medicinal Agency (EMA) and/or the Food & Drug Administration (FDA). They are all applied as in vivo gene therapy either locally or intravenously for the treatment of monogenic diseases. In addition, the impressive number of human clinical trials exploring AAV vectors to treat disease related to liver, eye, the central nervous system or muscle allows to assume that further market approvals are to be expected soon. Despite this success, several limitations need to be addressed to unlock the full potential of the AAV vector system. They are related to 1) prevalence of pre-existing neutralizing antibodies due to exposure to the wild-type virus, 2) de novo induction of immune responses, 3) high vector doses that are applied to overcome pre- and post-entry barriers towards AAV vector-mediated transductions and 4) loss of vector particles in off-target tissues.

In response to these challenges next generation AAV vectors are developed delivering improved vector genomes within tailored capsids. Here, we will focus on reporting examples on how both rational as well as AAV peptide display library-based approaches are improving the efficacy and target selectivity of AAV vectors. However, not in all conditions, engineering strategies are required. Targeted manipulation of key limiting steps in cell transduction – identified by in-depth characterization of the vector-host interaction – also showed promise particularly for improving the performance of AAV vectors in the liver.



Invited Lecture 3

Abstract

Focal brain delivery of gene therapy via blood brain barrier opening in neurodegenerative diseases

José A. Obeso

Fundación HM Hospitales. Universidad CEU-San Pablo



Low-intensity focused ultrasound (FUS) combined with microbubbles offers a controlled and non-invasive way to transiently disrupt the endothelial tight junctions of the blood-brain barrier (BBB), potentially facilitating therapeutic agents delivery to specific targets in the brain. Early attempts in rats suggested that high-intensity FUS can be adjusted to induce a transient thermal BBB disruption without lesion (Mesiwala et al., 2002). Soon after this, transient BBB opening was safely achieved by means of low-intensity FUS combined with ultrasound contrast agent (i.e. microbubbles) in rabbits, rodents and primates.

Clinically, BBB-opening has been carried out to facilitate chemotherapy of glioblastoma multiforme and to deliver gene therapy for breast brain metastasis (Meng et al 2021). In neurodegenerative diseases it has been tested in patients with Alzheimer's disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis and Parkinson's disease.

In the mice with overexpression of amyloid-beta BBB-opening reduces amyloid deposition, possibly by activating the microglia (Leinenga and Gotz, 2015). This finding provided the rationale for the first clinical trial on safety and feasibility of FUS BBB opening in Alzheimer's disease (Lipsman et al., 2018) which has now been expanded by several groups. A modest reduction in amyloid (by PET) has been consistently encountered in AD and PD-dementia patients (Gasca et al. 2021; Pineda-Pardo et al, 2022). Openings have been well tolerated and generally not accompanied by major abnormalities of magnetic resonance imaging signal. Accordingly, BBB opening in humans with neurological disorders appears viable and safe. There is no significant therapeutic impact of the opening per se unlike the findings in the mice amyloid model. Thus, the real challenge currently is to optimize the delivery of therapeutic agents.

Our research is currently focused in Parkinson's disease. Recently (in collaboration with Prof. Takada and Dr. Inoue, Kyoto University, Inuyama), we reported the intracerebral vector delivery of adeno-associated virus serotype 9 vectors (AAV-9) into the putamen of macaque monkeys. The posterior putamen and the substantia nigra pars compacta are the brain regions where dopamine occurs first and most intensively.

in Parkinson's disease. Neuronal green fluorescent protein expression was observed specifically in these regions with confirmed blood-brain barrier opening.

In 3 PD patients and in one monkey blood-brain barrier opening was followed by ¹⁸F-Choline uptake in the putamen and midbrain regions based on positron emission tomography. This indicates focal and cellular binding of molecules that otherwise would not enter the brain parenchyma.

The less-invasive nature of BBB opening methodology is one feasible and already available approach to achieve focal brain delivery of therapeutic agents. Specifically, for gene therapy the penetration, transfection and expression mechanisms need to be improved to achieve therapeutic doses.



Invited Lecture 4

Abstract

A GENE THERAPY DELIVERED GROWTH FACTOR APPROACH TO TREATING PARKINSON'S DISEASE AND MULTIPLE SYSTEM ATROPHY

Adrian P Kells¹, Amber D Van Laar¹, Waldy San Sebastian¹, Massimo S Fiandaca¹, Krystof S Bankiewicz^{1,2}

¹ Asklepios BioPharmaceutical, Inc. (AskBio)

² The Ohio State University Wexner Medical Center



Growth factors hold considerable promise for disease modification in adult-onset neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease (PD). There currently exists a significant unmet medical need for patients with neurodegenerative disorders to prevent or slow disease progression. Glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF) is necessary for the development and maintenance of the dopaminergic network which selectively degenerates in PD patients leading to a loss of dopamine, a key neurotransmitter involved in motor control, and associated with many of the cardinal clinical manifestations of PD.

Although multiple clinical trials with localized brain delivery of neuronal growth factors have been performed in PD patients, the results have been mixed. It has been rationalized that improving administration with MRI-monitored convection enhanced delivery (CED) might overcome the limitation of insufficient target coverage to achieve clinical improvements in motor function.

GDNF, and its homolog neurturin, have garnered significant attention as *in vivo* gene therapy candidates for PD. However, only AAV2-GDNF (AB-1005) is currently active in gene therapy trials for PD and Multiple System Atrophy (MSA). A Phase 1b study utilizing MRI-guided bilateral putaminal delivery of AAV2-GDNF in patients with mild or moderate stages of PD has completed enrollment (NCT04167540). A Phase 1 study evaluating AAV2-GDNF in early stage MSA patients is actively recruiting (NCT04680065).

In the Phase 1b PD study, AAV2-GDNF has so far demonstrated an encouraging safety profile where the neurosurgical dosing procedure was well tolerated, and all participants have completed 12+ months of clinical follow-up. Mean putamen coverage was >60% and comparable between mild and moderate cohorts. No serious adverse events were associated with AAV2-GDNF. Reported adverse events primarily occurred peri-operatively or were related to underlying PD.

Participants in the mild cohort (<5 years since clinical diagnosis of PD and MDS-UPDRS Part III OFF score ≤ 32 ; n=6) demonstrated stability in the performance of motor tasks of daily living and clinical motor examination as assessed by MDS-UPDRS Parts II and III respectively at baseline, 6 and 12 months. Patient-reported motor diaries demonstrated a modest decrease in Good ON time (<1hr hour).

Participants in the moderate cohort (≥ 4 years since clinical diagnosis of PD and MDS-UPDRS III OFF score 33–60; n=4) reported improvements of $30 \pm 16\%$ in MDS-UPDRS Part II and $43 \pm 8\%$ in Part III OFF state at 12 months. Motor Diary Good ON time improved by 2.2 ± 0.2 hours.

Although the placebo effect limits interpretation of small open-label studies such as this, these preliminary findings suggest potential stabilization in the mild cohort and possible early improvements in the moderate cohort. Further longitudinal evaluation and a controlled study is planned to confirm these initial findings.



Educational Lecture 1

Abstract & Curriculum Vitae

これからのPMDA

略歴

名前 山本 晴子

所属 国立循環器病研究センター

研究分野 神経内科（脳卒中学）、レギュラトリーサイエンス

学歴
1988年 大阪大学医学部卒業



職歴

1991年より国立循環器病センター脳血管内科レジデント。1995年にスイス・ローザンヌ大学病院神経内科留学。1997年より大阪大学医学部第一内科勤務を経て、2000年に国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センター（現：医薬品医療機器総合機構）にて新薬審査業務に従事、2002年より内閣府科学技術政策担当へ出向（総合科学技術会議事務局）。2003年より国立循環器病センター脳血管内科、2005年より同センター臨床研究開発部臨床試験室長。2010年より国立循環器病研究センター先進医療・治験推進部長。2014年より理事長特任補佐兼任。2020年10月より医薬品医療機器総合機構医務管理監・理事長特任補佐。2023年4月より国立循環器病研究センターデータサイエンス部長、現在に至る。同年6月より医薬品医療機器総合機構理事長特別補佐（委嘱）。

最近の関連出版物・論文

Yamamoto H, Kusakabe T, Takahashi. M. A different case of Penumbra: A Japanese framework for safe and expedited access to high-risk medical devices. (Letters) JAMA Int Med 2022; 182: 569-570. Miyoshi T, Kato A, Yasukochi S, Takahashi S, Ho M, Yamamoto H, Inuzuka R, Kim SH, Sakamoto K, Kobayashi T. Pediatric Medical Devices – Survey of Pediatric Cardiologists and Cardiovascular Surgeons in Japan. Circulation Reports. 2021; 3 :153-160. Fukuda-Doi M, Yamamoto H, Koga M, Doi Y, Qureshi AI, Yoshimura S, Miwa K, Ishigami A, Shiozawa M, Omae K, Ihara M, Toyoda K. Impact of renal impairment on intensive blood pressure-lowering therapy and outcomes in intracerebral hemorrhage: Results from ATACH-2. Neurology. 2021 31;97(9):e913-e921. Koga M, Yamamoto H, Inoue M, Asakura K, Aoki J, Hamasaki T, Kamiyama K, Iwama T, Nakase T, Yakushiji Y, Igarashi S, Nagakane Y, Takizawa S, Okada Y, Doijiri R, Tsujino A, Ito Y, Ohnishi H, Inoue T, Takagi Y, Hasegawa Y, Shiokawa Y, Sakai N, Osaki M, Uesaka Y, Yoshimura S, Urabe T, Ueda T, Ihara M, Kitazono T, Sasaki M, Oita A, Yoshimura S, Fukuda-Doi M, Miwa K, Kimura K, Minematsu K, Toyoda K, for the THAWS Trial Investigators. Thrombolysis with alteplase at 0.6 mg/kg for stroke with unknown time of Onset. A randomized controlled trial. Stroke 2020; 51: 1530-1538. Thomalla G, Boutitie F, Ma H, Koga M, Ringleb P, Schwamm LH, Wu O, Bendszus M, Bladin CF, Campbell BCV, Cheng B, Churilov L, Ebinger M, Endres M, Fiebich JB, Fukuda-Doi M, Inoue M, Kleinig TJ, Latour LL, Lemmens R, Levi CR, Leys D, Miwa K, Molina CA, Muir KW, Nighoghossian N, Parsons MW, Pedraza S, Schellinger PD, Schwab S, Simonsen CZ, Song SS, Thijs V, Toni D, Hsu CY, Wahlgren N, Yamamoto H, Yassi N, Yoshimura S, Warach S, Hacke W, Toyoda K, Donnan GA, Davis SM, Gerloff C. Intraenous alteplase for stroke with unknown time of onset guided by advanced imaging: systematic review and meta-analysis of individual patient data. Lancet 2020; 396: 1574-1584.

これからのPMDA

山本 晴子

¹ 国立循環器病研究センター

医薬品医療機器総合機構（PMDA）は、2001年に閣議決定された特殊法人等整理合理化計画を受けて、国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センター、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構及び財団法人医療機器センターの一部の業務を統合し、独立行政法人医薬品医療機器総合機構法に基づいて2004年4月1日に設立された。PMDAは、（1）医薬品等の健康被害救済、（2）医薬品、医療機器、再生医療等製品などの品質、有効性および安全性にかかる承認審査、（3）市販後における安全性に関する情報の収集、分析、提供を行う安全対策の3つの役割を通じて、国民保健の向上に貢献することを目的としている。これら3つの業務を一体として行う公的機関は世界中でPMDAのみである。日本では1948年に制定された薬事法（当時）に基づいて薬事規制が行われてきたが、規制対象である医薬品・医療機器等の技術進歩や社会情勢の変化の速さに合わせるように、2000年以降数年に1度法改正が行われ、2013年にはついに法律の名称までもが変更された（薬機法）。法改正毎にPMDAの担当業務も増加・多様化している。それに対応するため、当初256名だった正規職員数は現在は定員数1060名（欠員あり）と18年間でほぼ4倍になった。PMDAは今も変化し続けており、現在は国際化、特にアジア諸国との連携の強化、リアルワールドデータの活用など多様な科学的課題に対応し、自らの研究遂行能力を高めるためのレギュラトリーサイエンス関連部門の強化、業務運営効率化や専門人材育成などを重点的に進めている。2024年の設立20周年を前に、「真の世界3大規制当局」を目指して更なる進化に向かっている。



Educational Lecture 2

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 小野寺 雅史

所属 国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター

研究分野 小児難治性疾患に対する遺伝子治療開発、
遺伝子治療関連の規制等



学歴

昭和61年3月 北海道大学医学部卒業
平成6年3月 博士号(医学)取得(北海道大学)

職歴

昭和61年4月 北海道大学医学部小児科勤務
平成6年10月 米国国立衛生研究所 visiting fellow
平成10年4月 科学技術振興事業団 研究員
平成13年4月 筑波大学臨床医学系血液内科 講師
平成20年3月 国立成育医療センター研究所・成育遺伝研究部・室長
平成21年4月 国立成育医療センター研究所・成育遺伝研究部・部長
平成22年4月 国立成育医療研究センター病院・免疫科・医長
令和2年4月 国立成育医療研究センター・遺伝子細胞治療推進センター・センター長

最近の関連出版物・論文

1. Irikura R, et al. Ferroptosis model system by the re-expression of BACH1. *J Biochem.* 2023 Apr 24;mvad036. doi: 10.1093/jb/mvad036.
2. Naiki Y, et al. AAV-mediated gene therapy for patients' fibroblasts, iPS cells, and a mouse model of congenital adrenal hyperplasia. *Hum Gene Ther* 33: 801-809, 2022.
3. Uchiyama T, et al. Nonconditioned ADA-SCID gene therapy reveals ADA requirement in the hematopoietic system and clonal dominance of vector-marked clones. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development* 23: 424, 2021
4. Ohira M, et al. Production of therapeutic iduronate-2-sulfatase enzyme with a novel single-stranded RNA virus vector. *Genes Cells.* 2021 Sep 4. doi: 10.1111/gtc.12894.
5. Kataura T, et al. A chemical genomics-aggrephagy integrated method studying functional analysis of autophagy inducers. *Autophagy* 17:1856-1872, 2021

国内の遺伝子治療を俯瞰して思うこと

小野寺 雅史

国立成育医療研究センター遺伝子細胞治療推進センター

現在、米国を中心に難治性疾患に対する遺伝子細胞治療が盛んに開発され、その総数は2023年の段階で3500件近くあり、また、製造販売承認された遺伝子治療用製品も先進国に限って*in vivo* 遺伝子治療で12製品、chimeric antigen receptor T細胞療法（CAR-T細胞療法）を中心とした*ex vivo* 遺伝子治療で11製品ある。しかし、これら開発された遺伝子治療用製品の多くは海外で開発されたもので、国内においては慢性動脈閉塞症に対するコラテジュエン[®]と悪性神経膠腫に対するデリタクト[®]の条件期限付き承認2製品のみであり、国内の遺伝子治療製品の開発の遅れが大きく指摘されているところである。

さて、遺伝子治療用製品の開発工程は通常の医薬品の開発工程とほぼ同様に、(1) シーズ検索、(2) 製造法・品質規格の決定、有効性（概念実証 proof of concept, POC）確認を含む非臨床安全性試験と治験の実施、(3) 市販後調査を含めた製造販売後の対応に大別されるが、国内での遺伝子治療の開発の遅れはこの何処に起因するのであろうか。演者はこれまで30年以上遺伝子治療の開発に関わってきたが、その原因は非臨床試験を含めた臨床試験で使用される品質が担保された遺伝子治療製品の製造にあると考える。

そこで本セミナーではこれまでの経験を踏まえ現在の国内の遺伝子治療開発工程を俯瞰し、そこでの問題点を明らかにしてその解決策を皆さんと論議したい。今後の日本の遺伝子治療の発展のため忌憚りの無い意見を期待する。



Educational Lecture 3

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 加藤 和人

所属 大阪大学大学院医学系研究科・医の倫理と公共政策学分野

研究分野 医学研究倫理、ELSI(倫理的・法的・社会的課題),
新規医科学技術のガバナンス、患者・市民参画



学歴

1984年 京都大学理学部卒業

1989年 京都大学大学院理学研究科博士課程生物物理学専攻修了

職歴

1990年 英国Cambridge大学動物学教室研究員 (Sir John Gurdon教授研究室)

1991年 英国Cambridge大学Wellcome/CRCがん・発生生物学研究所研究員 (Sir John Gurdon教授研究室)

1993年11月 JT生命誌研究館研究員

2001年 京都大学人文科学研究所・文化研究創成研究部門・助教授

2004年 京都大学大学院生命科学研究科・生命文化学分野・併任

2006年 京都大学大学院生命科学研究科・生命文化学分野・兼任

2007年 京都大学人文科学研究所・准教授 (～2012年)

2008年 京都大学物質-細胞統合システム拠点連携准教授

2012年 大阪大学大学院医学系研究科・医の倫理と公共政策学分野・教授 (～現在)

2019年 大阪大学・総長補佐 (～現在)

最近の関連出版物・論文

Tatsuki Aikyo, Atsushi Kogetsu, Kazuto Kato, Stakeholder Involvement in the Governance of Human Genome Editing in Japan. *Asian Bioethics Review* 2023 10.1007/s41649-023-00251-8

Kazuto Kato: the ethics of editing humanity. *Bull World Health Organ*, 2021, 99: 616-617.

World Health Organization (WHO Expert Advisory Committee on Developing Global Standards for Governance and Oversight of Human Genome Editing). "Human genome editing: Position paper." (2021).

加藤 和人, ヒトゲノム編集のガバナンスと分野横断型協働の果たす役割. *生命倫理* 30(1) 4-14 2020

加藤 和人, 小門 穂, 濱川 菜桜. ヒト受精卵を対象とするゲノム編集に関する規制の動向. *医学のあゆみ* 273(9) 902-908 2020

ヒトゲノム編集と遺伝子治療の倫理的課題とガバナンス

加藤 和人

大阪大学大学院医学系研究科・医の倫理と公共政策学分野

ヒトや生物のゲノムをこれまでになく正確に、簡便に操作できるゲノム編集技術は、生命科学や医学分野の基礎研究と応用に向けた有用な技術として広く利用されている。基礎研究が発展すると同時に、疾患で苦しむ患者に利益をもたらす新規の治療法開発に向けた研究が進むことが期待されている。こうした期待が広がると同時に、ゲノム編集技術をヒトに利用する際には、様々な倫理的・社会的課題が生じることが技術の利用の広がりとともに認識されてきている。それらの課題に対して、研究コミュニティ、各国政府、そして国際機関(WHOほか)などのさまざまな関係者・関係機関が検討を行い、具体的に対応したり、提案を行ったりしてきている。

ゲノム編集の倫理的・社会的課題を考える際には、その対象が世代を超えた遺伝子改変を伴うものか (Heritable Human Genome Editing, HHGE と呼ばれる)、体細胞を対象にしたものかによって、議論が大きく異なる。HHGE については、2018年に香港で開催された第2回ヒトゲノム編集国際サミットにおいて、中国の研究者が受精卵の段階で遺伝子に編集を加え、HIV (ヒト免疫不全ウイルス) に感染しにくくした双子の女児を誕生させることに成功したと発表し、世界中で大きく議論となった。世代を超えた遺伝子改変は、現時点では技術面に問題があることと社会的議論が十分でないため禁止すべきと考えられているが、将来技術が成熟した際にどうすべきかという議論も始まっている。一方、体細胞対象のゲノム編集技術の利用については、倫理的な課題としてHHGEほどの大きな問題があるとは考えられていないが、高額になると予想される新しい治療が果たして世界各国で利用できるようになるのか、というアクセスや公平性の課題などが議論になっている。

本講演では、ヒトゲノム編集に関する倫理的課題と対応のあり方 (ガバナンスの構築) について歴史的経緯と最近の検討状況について紹介する。

Genome editing technology, which enables the manipulation of human and biological genomes with unprecedented precision and ease, is now widely used as a useful technology for basic research and applications in the life sciences and medicine. It is expected that research will also advance toward the development of novel therapies that will benefit patients suffering from diseases. At the same time, it is becoming increasingly recognized that the use of genome-editing technology in humans poses various ethical and social challenges. The research community, national governments, international organizations (WHO, etc.), and various other parties and organizations concerned have been discussing these issues, and have made specific responses and proposals.

When considering ethical and social issues of genome editing, the debate differs greatly depending on whether the subject involves heritable genetic modification (referred to as Heritable Human Genome Editing, HHGE) or whether it involves somatic cells. HHGE became a major topic of discussion around the world after a researcher in China reported the birth of twin girls who were less susceptible to HIV (human immunodeficiency virus) by editing their genes at the fertilized egg stage at the 2nd International Summit on Human Genome Editing held in Hong Kong in 2018. Heritable genetic modification is currently considered to be prohibited due to technical problems and insufficient social discussions, but discussions have begun on what should be done when the technology matures in the future. On the other hand, the use of genome editing technology for somatic cells is not considered to pose as difficult ethical problem as HHGE, but there is debate over access and fairness issues, such as whether the new treatment, which is expected to be expensive, will really be available in all countries of the world.

This presentation will introduce the historical background and recent discussions on the ethical issues and how to respond to them (establishment of governance) regarding human genome editing.



Educational Lecture 4

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前	武部 貴則
所属	大阪大学 大学院医学系研究科 器官システム創生学 東京医科歯科大学 統合研究機構 シンシナティ小児病院 オルガノイドセンター シンシナティ小児病院 消化器部門・発生生物学部門 横浜市立大学 先端医科学研究センター コミュニケーション・デザイン・センター
研究分野	再生医学、幹細胞生物学、移植外科学、コミュニケーションデザイン学



学歴

2011年3月 横浜市立大学医学部医学科卒業

職歴

2011年	横浜市立大学 臓器再生医学 助手
2013年	横浜市立大学 臓器再生医学 准教授
2014年	スタンフォード大学 幹細胞生物学研究所 客員准教授
2015年	シンシナティ小児病院 消化器部門・発生生物学部門 准教授 (現職)
2016年	Takeda-CiRA Jointプログラム 研究責任者 (現職)
2017年	シンシナティ小児病院 オルガノイドセンター 副センター長 (現職)
2018年	横浜市立大学 先端医科学研究センター 教授
2018年	東京医科歯科大学 統合研究機構 教授 (現職)
2018年	横浜市立大学 コミュニケーション・デザイン・センター センター長 (現職)
2019年	横浜市立大学 特別教授 (現職)
2023年	大阪大学 大学院医学系研究科 教授 (現職)

最近の関連出版物・論文

1. Kawakami E, Saiki N, Yoneyama Y, Moriya C, Maezawa M, Kawamura S, Kinebuchi A, Kono T, Funata M, Sakoda A, Kondo S, Ebihara T, Matsumoto H, Togami Y, Ogura H, Sugihara F, Kawakami E, Saiki N, Yoneyama Y, Moriya C, Maezawa M, Kawamura S, Kinebuchi A, Kono T, Funata M, Sakoda A, Kondo S, Ebihara T, Matsumoto H, Togami Y, Ogura H, Sugihara F, Okuzaki D, Kojima T, Deguchi S, Vallee S, McQuade S, Islam R, Natarajan M, Ishigaki H, Nakayama M, Nguyen C-T, Kitagawa Y, Wu Y, Mori K, Hishiki T, Takasaki T, Itoh Y, Takayama K, Nio Y, **Takebe T***. Complement factor D targeting protects endotheliopathy in organoid and monkey models of COVID-19. *Cell Stem Cell*, in press.
2. Kimura M, Iguchi T, Iwasawa K, Dunn A, Thompson WL, Yoneyama Y, Chaturvedi P, Zorn A-M, Wintzinger M, Quattrocchi M, Watanabe-Chailland M, Zhu G, Fujimoto M, Kumbaji M, Kodaka A, Gindin Y, Chung C, Myers RP, Subramanian M-G, Hwa V, **Takebe T***. En masse organoid phenotyping informs metabolic-associated genetic susceptibility to NASH. *Cell*, 185(22):4216-4232.e16, 2022.
3. Koido M, Kawakami E, Fukumura J, Noguchi Y, Ohori M, Nio Y, Nicoletti P, Aithal GP, Daly AK, Watkins PB, Anayama H, Dragan Y, Shinozawa T, **Takebe T***. Polygenic architecture informs potential vulnerability to drug-induced liver injury. *Nature Medicine*, 26, 1541–1548, 2020. *Featured at BioWorld and Genetic Engineering & Biotechnology News (GEN)*
4. Koike H, Iwasawa K, Ouchi R, Maezawa M, Giesbrecht K, Saiki N, Ferguson A, Kimura M, Wendy T, Wells J, Zorn A, **Takebe T***, Mode I ling human hepato-biliary-pancreatic organogenesis from the foregut-midgut boundary. *Nature*, 574(7776):112-116, 2019.
5. Camp JG, Sekine K, Gerber T, Loeffler-Wirth H, Binder H, Gac M, Kanton S, Kageyama J, Damm G, Seehofer D, Belicova L, Bickle M, Barsacchi R, Okuda R, Yoshizawa E, Kimura M, Ayabe H, Taniguchi H, **Takebe T***, Treutlein B*: Multilineage communication regulates human liver bud development from pluripotency. *Nature*, 546, 533–538 2017.

遺伝子・細胞治療を具現化するオルガノイド医療

武部 貴則^{1,2,3,4,5}

¹ 大阪大学 大学院医学系研究科 器官システム創生学

² 東京医科歯科大学 統合研究機構

³ シンシナティ小児病院 オルガノイドセンター

⁴ シンシナティ小児病院 消化器部門・発生生物学部門

⁵ 横浜市立大学 先端医科学研究センター コミュニケーション・デザイン・センター

多能性幹細胞より立体的な器官の誘導を試みる研究の多くは、器官発生過程で生じる多細胞間の時空間相互作用を人為的に再現するアプローチが取られてきた。すなわち、胚性幹細胞 (ES) 細胞や人工誘導性多能性幹 (iPS) 細胞などの培養系において、胎児期における器官形成で生じるキーイベントを再構成することによって、「自己組織化 (Self-organization)」を刺激することを通じて中枢神経系や消化管を始めとしてさまざまなオルガノイド創出が報告されてきた。われわれのグループでも、肝臓創出を目指す多能性幹細胞研究において、血管、神経、間質細胞、免疫細胞といった恒常性に必須の役割を担う多細胞系からなる複雑なオルガノイド創出法を報告してきた (Nature, 2013; Cell Stem Cell, 2015; Nature, 2017; Cell Metab, 2019)。さらに、肝胆膵領域を一括して再生するという多臓器再生という概念を生み出すことなどを通じて、肝疾患患者を対象とした創薬や、ゲノム医療、移植医療開発を目指した研究に関する成果へと展開してきた (Nature, 2019; Nat Med, 2020; Cell, 2022)。本講演では、医薬品開発や再生医療応用などオルガノイドを用いて臨床医学への実質的還元を目指す新潮流、オルガノイド医学 (Organoid Medicine) 研究の最前線について議論したい。



Presidential Special Program 1

Abstract & Curriculum Vitae

What is missing to bring distinguish research seeds of related gene therapy in Japan into clinical innovations in the global market?

略歴

名前 梶井 靖

所属 武田薬品工業株式会社

研究分野 Neuropsychopharmacology
Molecular and cognitive neuroscience
Stem cell science



学歴

B.A. The University of Tokyo, Department of Agriculture
M.A. Graduate School, The University of Tokyo, Department of Agriculture
Ph.D. Graduate School, The University of Tokyo, Department of Agriculture

職歴

Department of Mental Disorder Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry
Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation
AbbVie GK
Novartis Pharma K.K.
Takeda Pharmaceutical Company Limited

最近の関連出版物・論文

Brain region networks for the assimilation of new associative memory into a schema. *Mol Brain* **15**, 24, 2022.
Reversibility of motor dysfunction in the rat model of NGLY1 deficiency. *Mol Brain* **14**, 91, 2021.
Post-marketing surveillance of fluvoxamine maleate used long-term in patients with social anxiety disorder in Japan. *Drugs - Real World Outcomes* **1**, 7-19, 2014.
Identification of a developmentally-regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene *mrt3* in the neocortex. *Eur Neuropsychopharmacol* **24**, 1687-97, 2014.
Targeting kynurenine aminotransferase II in psychiatric diseases: promising effects of an orally active enzyme inhibitor. *Schizophr Bull* **40**, S152-S158, 2014.

グローバルファーマが期待するこれからの遺伝子治療技術

梶井 靖^{1,2}

¹ 武田薬品工業株式会社

² 早稲田大学

医薬品の主流は永らく有機化学合成によって創生された低分子医薬品であったが、1990年代から2000年代初頭にかけて、細胞表面のシグナル伝達分子を標的とするモノクローナル抗体に代表される高分子医薬品が治療効果の高い分子標的治療を実現する手段として台頭し、また、ホルモン作用を持つペプチドや特定の遺伝子発現を直接的に制御できる核酸も中分子医薬品として実用化されるようになった。さらに近年では、細胞を製剤化して治療に用いる細胞治療やex vivoおよびin vivoの遺伝子治療が登場し、これら多様なモダリティ（治療薬実現手段）を駆使した画期的な創薬によって、これまでは難病として治療手段が限定的だった疾患に対しても効果の高い治療戦略を提示し得る時代となっている。こうしたモダリティ多様化において、単一遺伝子の機能不全が原因となっている難病に対するin vivo遺伝子補充療法は一部の難治性小児疾患に対して劇的な治療効果を示したが、創薬戦略全体として評価した場合、現行のウイルスベクターを用いた遺伝子治療製剤はグローバルファーマにとって必ずしも事業性が高いモダリティとは言えない状況となっている。治療製剤としての良好なプロファイルを持ちながら、優れた標的選択性を伴う遺伝情報制御によって高い治療効果を発揮する技術が必要とされているが、その実現には多様なオープンイノベーションが不可欠である。

略歴

名前 真下 知士
所属 東京大学医科学研究所



日本からのゲノム編集技術革新：C4Uの挑戦

真下 知士

東京大学医科学研究所

ゲノム編集はバイオサイエンスや医薬開発研究の‘革命’的技術である。ゲノム編集ツールの開発、エピゲノム編集、遺伝子転写調節、細胞スクリーニングなどに、次々と研究開発利用がなされている。大学、研究機関や製薬企業、ベンチャーによる、ゲノム編集を使った遺伝子治療、細胞治療、創薬の開発競争が激しくなっている。一方で、ゲノム編集に関する規制やガバナンス、リスクマネジメントなども重要な検討課題である。本シンポジウムでは、我々が最近開発した日本発の新規ゲノム編集ツールCRISPR-Cas3について紹介する。また、CRISPR-Cas3を使った新型コロナウイルスの迅速診断法CONANについても紹介したい。CRISPR-Cas3は、生命科学分野の基盤技術になり得る成果として、農水産業における品種改良、遺伝子治療、再生医療での新規治療法開発など、幅広い産業分野においての活用が期待されている。

略歴

名前 高橋 健
所属 キャタリスパシフィック

アカデミックシーズとしての遺伝子治療技術をグローバル戦略製品に繋げるカギ

高橋 健

キャタリスパシフィック

略歴

名前 藤本 利夫

所属 アイパークインスティテュート株式会社

研究分野 医薬品研究開発

学歴

京都大学医学部卒 神戸大学経営学修士

**職歴**

1994年 京都大学 医学部卒 医師。京都大学呼吸器外科およびその関連病院を経て、ドイツルアーランドクリニック、フライブルグ大学、米国メイヨークリニックなど複数の国で胸部外科医として勤務する。2006-2017年日本イーライリリー株式会社にて研究開発本部長執行役員、取締役副社長を歴任。17年12月、武田薬品工業株式会社湘南ヘルスイノベーションパークのジェネラルマネジャーに着任後、18年4月に湘南ヘルスイノベーションパークを開所、21年1月より22年12月まで同社グローバルパブリックアフェアーズヘッドを兼務。2023年4月、アイパークインスティテュート株式会社設立に伴い代表取締役就任。

エコシステムを通じて革新的技術の産業化を加速する

藤本 利夫

アイパークインスティテュート株式会社

世界では遺伝子治療薬が次々に世に出てきている。2023年7月時点で、米国において約30の遺伝子細胞治療製品が承認されており、なかでもIn-vivo製品の多くは希少遺伝子疾患を対象とし、ex-vivo製品の多くはCAR-T治療製品など血液癌を対象としている。最近ではデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する初めての遺伝子治療薬が迅速承認されている。一方で多くの遺伝子治療製品は日本に拠点をもたない新興企業により開発されているため、日本で薬事承認を得るのが困難な状況である。研究開発においても日本は後れをとっている。世界のin-vivoパイプラインの57%は米国で開発され、10%弱のフランス、英国が続き、日本は約2%となっている。さらに日本の遺伝子治療製品は日本国内でのみ条件付きで承認されていることも多く、事業化が困難な状況にある。革新的医薬品のドラッグロスを防ぎ、さらに日本の遺伝子治療研究を活性化していくとともに製品のガラパゴス化を防ぐにはいかなる施策が必要なのであろうか。産官学が連携するエコシステムの観点から考察し討議したい。



Presidential Special Program 2

Abstract & Curriculum Vitae

Policy initiatives from the Ministries and
AMED for gene and cell therapy in Japan

略歴

名前 釜井 宏行

所属 文部科学省 ライフサイエンス課

文部科学省における再生・細胞医療・遺伝子治療の研究開発支援の取組み

釜井 宏行

文部科学省 ライフサイエンス課

略歴

名前 佐野 圭吾

所属 厚生労働省 医政局 研究開発政策課 再生医療等研究推進室

研究分野 レギュラトリーサイエンス

学歴

2009年3月 兵庫医科大学 医学部 医学科 卒業

2022年3月 近畿大学大学院 医学研究科 修了

職歴

2009年4月 近畿大学医学部奈良病院 臨床研修医

2011年4月 近畿大学医学部奈良病院 血液内科 助教

2014年4月 近畿大学医学部附属病院 血液・膠原病内科 助教

2018年4月 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 新薬審査第五部 審査員

2021年4月 厚生労働省 医薬・生活衛生局 血液対策課 課長補佐

2022年10月 厚生労働省 医政局 研究開発政策課 再生医療等研究推進室 室長

再生医療等安全性確保法の改正について ～in vivo 遺伝子治療の観点から～

佐野 圭吾

厚生労働省 医政局 研究開発政策課 再生医療等研究推進室

「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」（以下「再生医療等安全性確保法」という）は、再生医療等技術に対する国民の高い期待に応えるため、再生医療等の迅速かつ安全な提供を図ることを目的に、平成25年11月20日に成立し、平成26年11月25日から施行された法律であり、本邦において再生医療等を提供しようとする者が講ずべき措置や、再生医療等に用いる特定細胞加工物の製造についての制度等を定めている。

再生医療等安全性確保法の附則第2条において「施行5年以内に、規定に検討を加え、所用の措置を講ずること」されていることから、厚生労働省としては、令和元年7月より、厚生科学審議会再生医療等評価部会等の審議会等に諮りつつ、再生医療等安全性確保法の法改正について検討を行ってきたところである。継続して行ってきたこれらの検討の結果を踏まえ、令和4年6月3日には、「再生医療等安全性確保法施行5年後の見直しに係る検討のとりまとめ」（以下「とりまとめ」という）を公表した。

当該とりまとめにおいては、法改正を行う上で検討すべき内容の一つとして、細胞加工物を用いない遺伝子治療、所謂*in vivo* 遺伝子治療に対する規制を再生医療等安全性確保法の範疇に含めることを検討することとされている。既に現行の再生医療等安全性確保法では、細胞加工物を用いる遺伝子治療、所謂*in vivo* 遺伝子治療については、規制の対象となっているものの、*in vivo* 遺伝子治療については、再生医療等安全性確保法の対象外となっている。現状の*in vivo* 遺伝子治療についての概要等について説明するとともに、とりまとめの公表の後に引き続き検討を行った内容を踏まえ、*in vivo* 遺伝子治療に係る再生医療等安全性確保法施行5年後の見直しについて解説する。

略歴

名前 下田 裕和

所属 経済産業省 商務・サービスグループ 生物化学産業課

学歴

1999年3月 東京工業大学工学部電子物理工学科卒業

職歴

1999年4月 通商産業省入省（機械情報産業局電子機器課）
その後、技術協力、製品安全、防衛庁出向、サイバーセキュリティ、IT推進等の担当部署を歴任。

2011年4月 内閣官房原子力経済被害対応室参事官補佐

2012年6月 経済産業省製造産業局生物化学産業課総括補佐

2014年6月 同 商務流通保安グループ政策企画委員（局内筆頭補佐）

2015年6月 同 商務情報政策局政策企画委員（局内筆頭補佐）

2016年6月 日本貿易振興機構サンフランシスコ事務所次長

2020年7月 経済産業省大臣官房情報システム厚生課長

2022年7月 経済産業省商務・サービスグループ生物化学産業課長

遺伝子治療分野の産業化に向けた経済産業省の取組について

下田 裕和

経済産業省 商務・サービスグループ 生物化学産業課

細胞・遺伝子治療の技術は、臨床現場における新たな治療の選択肢や創薬ツールとして、市場の急速な拡大が予想されている分野である。希少疾患等のアンメットニーズの解消に加えて、がん、アルツハイマー等の多様な分野で根治治療までの効果も期待されている。しかしながら、細胞・遺伝子治療の分野はまだ周辺技術が未成熟で課題も多い。本講演では、経済産業省としてこれまで行ってきた遺伝子治療で用いられるウイルスベクターの製造技術確立に向けた支援や、細胞治療に必要な培養技術の高度化など、実用化に向けた基盤技術開発に関する取り組みを説明するとともに、今後の取組の方向性についても紹介する。

略歴

名前 大木 健太郎

所属 日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療事業部
遺伝子治療研究開発課



学歴

1998年3月 山口大学医学部卒業

職歴

1998年6月 千葉大学小児科入局
1999年4月 国保旭中央病院小児科 医員
2001年4月 帝京大学市原病院小児科 病院助手
2004年4月 千葉県こども病院血液腫瘍科 医員
2005年4月 千葉大学医学部小児科 医員
2008年4月 東京大学小児科入局
2011年4月 群馬県立小児医療センター血液腫瘍科 部長
2015年4月 国立成育医療研究センター小児血液・腫瘍研究部 室長
2023年4月 AMED 再生・細胞医療・遺伝子治療事業部遺伝子治療研究開発課 課長

AMED における遺伝子細胞治療事業の現状と今後の方向性

大木 健太郎

日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療事業部 遺伝子治療研究開発課

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）は、健康・医療戦略及び医療分野研究開発推進計画に基づき、文部科学省、厚生労働省及び経済産業省と連携・協働して、遺伝子・細胞療法の早期の実用化に向けて、倫理と安全性に配慮しつつ、遺伝子・細胞療法の基礎研究から前臨床研究、臨床応用までを切れ目なく一貫して支援している。遺伝子・細胞療法に関わる本格的な第一期事業の発足からまもなく6年が経過するところで、基礎・応用研究が進み、多くの新規シーズが開発され、臨床研究や治験に移行しつつある。本講演では、AMEDの細胞医療・遺伝子治療に係る研究開発支援の取組の概要と、これまでの成果や今後の方向性について紹介する。



Presidential Special Program 3

Abstract & Curriculum Vitae

遺伝子治療、再生医療－臨床現場からの声

略歴

名前 上田 敬博

所属 鳥取大学医学部附属病院高度救命救急センター

研究分野 extensive burns,trauma,IVR,cultured epidermis autograft

**学歴**

1999年 近畿大学医学部卒業

2010年 兵庫医科大学大学院（生体応答制御系救急集中治療医学）

2013年 同大学院修了

職歴

1999年 東神戸病院内科研修医

2001年 大阪府立千里救命救急センター レジデント

2003年 兵庫医科大学救命救急センター医員

2004年 神鋼加古川病院循環器科 医師

2005年 江戸川病院循環器科 医師

2006年 兵庫医科大学救急災害医学講座助教

2010年 兵庫医科大学大学院（生体応答制御系救急集中治療医学）

2014年 同 救命救急センター 副センター長

2014年 医学博士 熱傷センター 副センター長

2016年 RobertWoodJohnson University Hospital Acute Care Surgery (Trauma services)

2017年 兵庫医科大学救急災害医学講座学講師

2018年 近畿大学医学部救急医学講座講師

2020年 鳥取大学医学部附属病院救命救急センター 教授

2022年 鳥取大学医学部附属病院高度救命救急センター 教授

最近の関連出版物・論文

Japanese Society for Burn Injuries (JSBI) Clinical Practice Guidelines for Management of Burn Care (3rd Edition)
April 2022Acute Medicine & Surgery 9(1)

The Results of a Phase III Clinical Trial for a Novel Enzymatic Debridement Agent KMW-1 in Japanese Patients with Deep Dermal Burn and Deep Burn. http://dx.doi.org/10.34366/jburn.48.1_1

Vascular Endothelial Repair and the Influence of Circulating Antiplatelet Drugs in a Carotid Coil Model.Journal of Central Nervous System DiseaseVolume 13, January-December 2021

Estimation of Postcardiac Arrest Interval Based on Atrial Cavity Density in Postmortem Computed Tomography. January 2022Yonago Acta Medica 65(1)

A simple scoring system based on neutrophil count in sepsis patients.Medical Hypotheses 82(3)2014DOI: 10.1016/j.mehy.2014.01.007

再生医療による救急医療最前線 ～自家培養表皮による広範囲重症熱傷の治療戦略～

上田 敬博

鳥取大学医学部附属病院高度救命救急センター

広範囲重症熱傷の救命は2009年自家培養表皮の保険適応以降向上しつつある。我々は広範囲重症熱傷の治療のストラテジーを作成し、標準化した治療を行っている。受傷直後に健常皮膚を採取し、3～4週後に自家培養表皮が供給されるまでは、受傷早期のデブリードマンと同部への人工真皮貼付による真皮構築を促し、かつ全身管理を行っている。自家培養表皮移植後の自施設の生命予後は良好である。2019年7月に起きた放火事件の容疑者は90%を超える熱傷面積で予測死亡率は高かったが救命し得た。その後さらに熱傷面積が大きな熱傷患者も同様の治療で救命し得た。自施設のストラテジーを紹介し、再生医療による救命医療への貢献と展望を述べる。また母床構築に対して自家皮膚採取・粉碎細胞を噴霧することで良好な真皮構築と自家培養表皮の生着の向上に努めており合わせて紹介する

略歴

名前 加藤 有紀

所属 亀田メディカルセンター スポーツ医学科

研究分野 整形外科 / スポーツ整形外科 / 膝関節外科 /
膝関節軟骨修復に関する研究 / 膝関節解剖

**学歴**

1992年 愛光学園高等学校 卒業

1998年 日本大学医学部卒業、医師免許取得

2004年 医学博士（日本大学大学院医学研究科博士課程外科系整形外科学分野専攻）
（論文：日本人屍体膝における外側円板状メニスクスについて）

職歴

1998年 4月 日本大学医学部卒業

1998年 4月 日本大学医学部整形外科学教室入局

2004年 3月 日本大学医学部大学院修了

2006年 4月 日本大学医学部付属板橋病院 整形外科 助教

2008年 4月 米国ピッツバーグ大学 医学部 整形外科 留学（客員研究員）

2016年 10月 亀田メディカルセンター スポーツ医学科 医長

2018年 8月 亀田メディカルセンター スポーツ医学科 部長 就任 現在に至る

最近の関連出版物・論文

1. Shinohara M, Akagi R, Watanabe A, Kato Y, Sato Y, Morikawa T, Iwasaki J, Nakagawa K, Akatsu Y, Ohtori S, Sasho T. Time-Dependent Change in Cartilage Repair Tissue Evaluated by Magnetic Resonance Imaging up to 2 years after Atelocollagen-Assisted Autologous Cartilage Transplantation: Data from the CaTCh Study. *Cartilage*. 1-13, 2022.
2. Kato Y, Yanada S, Morikawa H, Okada T, Watanabe M, Takeuchi S. Effect of Platelet-Rich Plasma on Autologous Chondrocyte Implantation for Chondral Defects: Results Using an In Vivo Rabbit Model. *Orthop J Sports Med*. 10(3), 2022.
3. Kato Y, Chavez J, Yamada S, Hattori S, Takazawa S, Ohuchi H. A Large Knee Osteochondral Lesion Treated Using a Combination of Osteochondral Autograft Transfer and Second-Generation Autologous Chondrocyte Implantation. *Regenerative Therapy*, 2019.
4. Shirata T, Kato Y. Can intra-articular injection of freeze-dried platelet-derived factor concentrate regenerate articular cartilage in the knee joint? *Regenerative Therapy* 11, 5-7, 2019.
5. Kato Y, Yamada S, Hattori S, Takazawa S, Ohuchi H. Combined autologous chondrocyte implantation and meniscus reconstruction for large chondral defect in the lateral compartment due to discoid lateral meniscus tear: A case report. *Regenerative Therapy*, 2019.

JACC[®]を用いた自家培養軟骨移植：膝関節軟骨損傷に対する治療の進化

加藤 有紀

亀田メディカルセンター スポーツ医学科

若年層に対する膝関節への関節鏡所見において、膝関節における軟骨損傷の頻度は約60%であったとの報告もある。また、一般の方に比較し、アスリートにおいてはさらにその頻度は増すとされている。膝関節軟骨損傷の治療においては早期に外科的な修復術を行えばスポーツ復帰率も高い。しかし、実際には受傷早期の膝軟骨損傷に対しては消極的な保存方法が選択されることが多い。膝関節の軟骨損傷は長期経過で変形性膝関節症へと進展してしまう。我々が実際に手術を検討する際には、広範囲軟骨欠損となる場合が多々あり、治療に難渋する。1994年にBrittbergらにより、臨床的に確立された第一世代の自家培養軟骨細胞移植が報告された。軟骨細胞の足場（スキヤホールド）を用いた第二世代の自家培養軟骨移植も開発されている。米国のMACIと日本のJACCが第二世代の自家培養軟骨移植製品として使用され、比較的安定した臨床成績が報告されている。2012年のPMDAの認可後の2013年に保険収載されたJACCによる自家培養軟骨移植は、未だ国内年間200例程度しか行われておらず、潜在的な軟骨損傷の頻度に比較して極めて少ない。日本で唯一の自家培養軟骨製品であるJACCの治療成績の向上のためにさらなる普及が必須である。

Among young individuals who undergo knee arthroscopy for various reasons, there is a 60% likelihood of concomitant knee joint cartilage injury. Athletes are believed to experience a higher frequency of cartilage injuries compared to the general population. While prompt surgical intervention offers a high success rate for resuming sports activities, conservative approaches are often preferred, especially for early-stage injuries. This cautious approach stems from the risk of cartilage damage progressing to degenerative knee conditions. Surgical consideration often comes when cartilage defects are advanced, complicating treatment. In 1994, Brittberg et al. introduced the clinically established first-generation autologous chondrocyte implantation (ACI). A second-generation technique utilizing chondrocyte-seeded scaffolds, represented by products like MACI[®] in the U.S. and JACC[®] in Japan, demonstrates relatively stable clinical outcomes. Despite JACC[®]'s approval by PMDA in 2012 and subsequent insurance coverage in 2013, its usage remains limited, with approximately 200 annual cases, contrasting the potentially higher incidence of cartilage injuries. In order to advance the treatment of knee joint cartilage damage, it is expected to improve the treatment results of JACC, the only autologous cultured cartilage product in Japan.

略歴

名前 新井 康之

所属 京都大学医学部附属病院

研究分野 造血器腫瘍、造血幹細胞移植、細胞療法、臨床疫学



学歴

平成12年3月31日 私立洛星高等学校 卒業

平成18年3月24日 京都大学医学部医学科 卒業

平成27年3月27日 京都大学大学院医学研究科 博士課程 修了

職歴

平成18年4月1日 田附興風会 医学研究所 北野病院 初期研修医

平成20年4月1日 財団法人 倉敷中央病院 (血液内科) 後期研修医

平成27年5月4日 米国国立衛生研究所 (博士研究員)・日本学術振興会 海外特別研究員

平成30年4月16日 京都大学医学部附属病院 (血液内科) 医員

平成30年11月1日 京都大学医学部附属病院 (輸血細胞治療部) 助教

令和元年8月1日 京都大学医学部附属病院 (検査部・細胞療法センター) 助教

令和3年10月1日 同 病院講師

令和5年4月1日 同 細胞療法センター 副センター長

最近の関連出版物・論文

Jo T, Yoshihara S, Okuyama Y, Arai Y, et al. Risk factors for CAR-T cell manufacturing failure among DLBCL patients: A nationwide survey in Japan. *Br J Haematol.* 2023;10.1111/bjh.18831.

Wada F, Jo T, Arai Y, et al. T-cell counts in peripheral blood at leukapheresis predict responses to subsequent CAR-T cell therapy. *Sci Rep.* 2022;12(1):18696.

Nakamura N, Arai Y, Kitawaki T, et al. Decreased serum phosphate levels are a useful biomarker to predict occurrence and severity of cytokine release syndrome in chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Br J Haematol.* 2023;200(1):e1-e3.

Yamasaki-Morita M, Arai Y, Ishihara T, et al. Relative hypercoagulation induced by suppressed fibrinolysis after tisagenlecleucel infusion in malignant lymphoma. *Blood Adv.* 2022;6(14):4216-4223.

Jo T, Yoshihara S, Hada A, Arai Y, et al. A Clinically Applicable Prediction Model to Improve T Cell Collection in Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Transplant Cell Ther.* 2022;28(7):365.e1-365.e7.

Arai Y, Choi U, Corsino CI, et al. Myeloid Conditioning with c-kit-Targeted CAR-T Cells Enables Donor Stem Cell Engraftment. *Mol Ther.* 2018;26(5):1181-1197.

Lights and shadows in CAR-T cell therapy - Expectation and exhaustion of the clinical team

Yasuyuki Arai

Kyoto University Hospital

There exist practical challenges of implementing CAR-T cell therapy as a novel approach to cancer immunotherapy. Unlike traditional clinical practices, the use of CAR-T therapy involves numerous departments, adding complexity to its operational management. A key requirement is the establishment of an effective system for information integrating and progress monitoring, as most patients are referred from other hospitals.

Another important aspect involves the distribution of the raw material (lymphocytes obtained by apheresis) from the hospital to the manufacturing factory. Ensuring quality control and maintaining a sufficient workforce for preparation of the material are critical tasks in this process. There is also a need to address the issue of variability in product quality, with some instances of manufacturing failure or out-of-specification products.

Predicting therapeutic outcomes remains a challenge, raising questions about the cost-effectiveness of CAR-T therapy in the clinical setting. The discrepancy between insurance reimbursement rates and actual costs also comes into focus. The economic viability of hospitals implementing this treatment modality remains a point of discussion.

Moreover, there is a need for protocols to handle deviations from standard procedures. In the current state, hospitals have been left largely to their own devices to identify these issues and find appropriate solutions or compromises. This situation underlines the need for more comprehensive guidelines and support systems to effectively incorporate CAR-T therapy into mainstream clinical practice.

In the context of these trajectories, we have come to recognize that the "operational optimization" of cell therapies like CAR-T extends beyond the realm of business improvement and efficiency, and requires a more comprehensive, scientific perspective. We now view this as a separate discipline worthy of being called "cytotherapy operation science," and we are energetically pursuing research into operational details that form the backbone of this discipline.

Looking forward, we anticipate further advancements in this field through true collaboration involving not only hospitals both internally and externally ("academia"), but also pharmaceutical companies that manufacture and sell cytotherapy products ("industry"), and regulatory authorities that grant approvals ("government"). We would like to discuss how the concept of CAR, which originated from basic research in our country, led to the development of CAR-T cells, and how it is used daily in insured medical treatment, along with the history and potential for future development in this field.

略歴

名前 本橋 裕子

所属 国立精神・神経医療研究センター

研究分野 神経筋疾患

**学歴**

2000年 横浜市立大学医学部卒業

2023年 横浜市立大学大学院医学研究科卒業

職歴

2000-2005年 国立国際医療研究センター小児科研修医, レジデント

2005-2007年 心身障害児総合医療療育センター小児科医員

2007-2010年 国立精神・神経医療研究センター脳神経小児科レジデント

2010年 国立精神・神経医療研究センター神経研究所遺伝子疾患治療研究部流動研究員

2011-2012年 Research Fellow, Boston Children's Hospital, Boston, MA

2012-2014年 Postdoctoral associate, University of Minnesota, Medical School, Department of Neurology

2014-現在 国立精神・神経医療研究センター脳神経小児科医員, 医長

最近の関連出版物・論文

- 1) Muscle impairment in MRI affect variability in treatment response to nusinersen in patients with spinal muscular atrophy type 2 and 3: A retrospective cohort study. Shimizu-Motohashi Y, Chiba E, Mizuno K, Yajima H, Ishiyama A, Takeshita E, Sato N, Oba M, Sasaki M, Ito S, Komaki H. Brain Dev. 2023 Mar;45(3):161-170. doi: 10.1016/j.braindev.2022.11.002. Epub 2022 Nov 29.
- 2) Highly sensitive screening of antisense sequences for different types of DMD mutations in patients' urine-derived cells. Takizawa H, Takeshita E, Sato M, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Mori-Yoshimura M, Takahashi Y, Komaki H, Aoki Y. J Neurol Sci. 2021 Apr 15;423:117337. doi: 10.1016/j.jns.2021.117337.
- 3) Hyperglycemic Crisis in Patients With Mitochondrial Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes (MELAS). Toki T, Shimizu-Motohashi Y, Komaki H, Takeshita E, Ishiyama A, Saito T, Mori-Yoshimura M, Sumitomo N, Hirasawa-Inoue A, Nakagawa E, Nishino I, Goto YI, Sasaki M. Pediatr Neurol. 2021 Jan;114:1-4. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2020.09.013.
- 4) Renal dysfunction can occur in advanced-stage Duchenne muscular dystrophy. Motoki T, Shimizu-Motohashi Y, Saito I, Komaki H, Ishiyama A, Aibara K, Jogamoto T, Tezuka Y, Kawabe M, Makino A, Nagatani K, Tatara K, Kuwabara K, Kikuchi C, Fukuda M, Ishii E, Eguchi M. Muscle Nerve. 2020 Feb;61(2):192-197. doi: 10.1002/mus.26757.
- 5) Inhibition of FLT1 ameliorates muscular dystrophy phenotype by increased vasculature in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. Verma M, Shimizu-Motohashi Y, Asakura Y, Ennen JP, Bosco J, Zhou Z, Fong GH, Josiah S, Keefe D, Asakura A. PLoS Genet. 2019 Dec 26;15(12):e1008468. doi: 10.1371/journal.pgen.1008468.

実臨床現場での遺伝性神経筋疾患の遺伝子治療

本橋 裕子

国立精神・神経医療研究センター

遺伝性神経筋疾患とは、脊髄前角細胞、末梢神経、神経筋接合部や骨格筋を病変の首座とし、筋力低下を呈する遺伝性の疾患を指す。これらは希少難治性疾患であるが、脊髄性筋萎縮症（SMA）を始めとした遺伝性筋疾患に対する遺伝子治療薬、核酸医薬品、低分子化合物といった新規治療法の開発が目覚ましい。

SMAはSMN1遺伝子のバリエーションが原因で、脊髄前角細胞の変性・脱落により、進行性の筋力低下を認める。2020年5月には日本で、Onasemnogene abeparvovec（Novartis）が2歳未満のSMAに対して承認された。同薬剤はアデノ随伴ウイルス（AAV）をベクターとして用い、SMNタンパク質をコードする遺伝子を導入する疾患修飾薬である。実臨床では、SMAにおいて、呼吸や運動機能の維持もしくは向上、などの効果が見られている。その他、Duchenne型筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、X連鎖性ミオチューブラーミオパチーの遺伝子治療の臨床試験が国内外で進められており、今後我々は遺伝子治療を日常的に行うことになるかもしれない。

一方で、遺伝子治療薬について、長期的な有効性や安全性について十分な情報があるとは言えず、また、疾患に特異的な有害事象が発生するかは不明である。そのため、疾患の特性や自然歴をよく理解して薬剤投与に臨む必要がある。さらに、投薬後にどのような変化が得られたかを評価し続けることも極めて重要である。

AAVを使用するため、本邦では遺伝子組換え生物等を使用する際の規制措置を講じたカルタヘナ法を遵守する必要がある。当センターでは遺伝子治療を安全に実施するために遺伝性神経筋疾患診療を専門とする医師、看護師、薬剤師、検査技師、栄養士、リハビリテーション科を始めとする多職種によるチームを結成し、投薬と評価を行っている。当センターでの取り組みをご紹介します。



Vice-Presidential Special Program

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 保仙 直毅

所属 大阪大学大学院医学系研究科

研究分野 血液学、腫瘍免疫学

**学歴**

平成6年 大阪大学医学部卒業

平成9年 大阪府立成人病センターレジデント（血液内科）

平成10年 大阪大学大学院医学系研究科博士課程入学

平成14年 博士号（内科学）取得（大阪大学）

職歴

平成6年 大阪大学医学部附属病院研修医

平成7年 大阪通信病院第二内科医員

平成14年 NTT西日本大阪病院内科医員（血液内科）

平成15年 大阪大学医学部附属病院血液・腫瘍内科医員

平成16年～19年 スタンフォード大学医学部ポスドク研究員

平成19年～令和元年 大阪大学大学院医学系研究科癌幹細胞制御学寄附講座准教授

平成21年～25年 大阪大学大学院医学系研究科生体情報科学准教授兼任

令和2年～ 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学教授
大阪大学免疫フロンティア研究センター免疫細胞治療学教授（兼任）

最近の関連出版物・論文

Hasegawa, K., et al. *Sci Transl Med* 14:eaax7706, 2022
Hosen, N., et al. *Nat Med* 23:1436-1443, 2017.
Wagner, K.D., et al. *Nat Commun* 5:5852, 2014.
Hosen, N., et al. *Leukemia* 26:2135-2141, 2012
Hosen, N., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:11008-11013, 2007.

血液がんに対する CAR-T 細胞の新規標的抗原の同定

保仙 直毅

大阪大学大学院医学系研究科

CAR-T細胞の開発にはその標的となるがん特異的抗原が必ず必要である。しかし、がんで特異的に発現する遺伝子やタンパク質の探索は精力的に行われ、もはや新たなものは残されていないと考えられている。われわれは、グリコシル化、複合体形成、立体構造の変化などの翻訳後の変化によって形成されるがん特異抗原が存在するのであればそれらは見逃されているのではないと考え、その様ながん特異的抗原の同定を目指して研究を続けてきた。その成果として、二つの骨髄腫特異的抗体とそれが認識する抗原構造を明らかにしてきた。一つは、骨髄腫細胞で恒常的に活性化が見られるインテグリン $\beta 7$ の活性型構造を特異的に認識するMMG 4 9抗体である(Nat Med 2017)。また、最近、CD98hcという比較的広汎に発現する蛋白質を認識するが、骨髄腫に特異的に結合するR8H283抗体をどうていし、その特異性の原因がCD98 h cの糖鎖修飾の違いに起因する可能性を示した(Sci Transl Med 2022)。いずれも CAR-T細胞としての開発を進めており、特に前者は既に治験を実施中である。

略歴

名前 玉田 耕治

所属 国立大学法人山口大学

研究分野 がん免疫療法

**学歴**

1992年 3月 九州大学医学部卒業

1998年 3月 九州大学大学院医学研究科外科系専攻修了

職歴

1992年 6月 労働福祉事業団総合脊損センター泌尿器科 医師

1993年 6月 九州大学医学部附属病院泌尿器科 研修医

1998年 4月 米国メイヨークリニック医学部 博士研究員

2002年 10月 同上, Assistant Professor

2005年 8月 米国ジョージア州ホプキンス大学医学部 Assistant Professor

2008年 9月 米国メリーランド州立大学医学部 Associate Professor

2011年 5月 山口大学医学系研究科・免疫学 教授

2016年 8月 東京大学医科学研究所 委嘱教授 (兼任)

最近の関連出版物・論文

- 1.Sasaki T, Sakoda Y, Adachi K, Tokunaga Y, Tamada K, Therapeutic effects of anti-GM2 CAR-T cells expressing IL-7 and CCL19 for GM2-positive solid cancer in xenograft model. *Cancer Med.*, 2023 Apr. doi: 10.1002/cam4.5907. Online ahead of print.
- 2.Tokunaga Y, Sasaki T, Goto S, Adachi K, Sakoda Y, Tamada K, Enhanced Antitumor Responses of Tumor Antigen-Specific TCR T Cells Genetically Engineered to Produce IL7 and CCL19, *Mol Cancer Ther.* 2022 Jan;21(1):138-148, doi:10.1158/1535-7163.MCT-21-0400.
- 3.Goto S, Sakoda Y, Adachi K, Sekido Y, Yano S, Eto M, Tamada K. Enhanced anti-tumor efficacy of IL-7/CCL19-producing human CAR-T cells in orthotopic and patient-derived xenograft tumor models. *Cancer Immunol Immunother.* 2021 Sep;70(9):2503-2515. doi: 10.1007/s00262-021-02853-3. Epub 2021 Feb.
- 4.Nakajima M, Sakoda Y, Adachi K, Nagano H, Tamada K. Improved survival of CAR-T and tumor-specific T cells caused by anti-PD-1 scFv-producing CAR-T cells. *Cancer Sci.* 2019 Oct;110(10):3079-3088. doi:10.1111/cas.14169.
- 5.Adachi K, Kano Y, Nagai T, Okuyama N, Sakoda Y, Tamada K. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat. Biotechnol.* 2018 Apr;36(4):346-351. doi:10.1038/nbt.4086.

固形がん治療を目指した新たなCAR-T細胞技術の進展

玉田 耕治

国立大学法人山口大学

最新のがん免疫療法として、遺伝子改変T細胞を利用した治療技術の開発が世界的に進展している。腫瘍特異性を付与するための手法として、腫瘍特異的なT細胞受容体やキメラ抗原受容体 (Chimeric Antigen Receptor: CAR) が利用されており、特にCAR-T細胞療法はB細胞性急性リンパ性白血病を始めとする造血器腫瘍に対して極めて優れた治療効果を発揮することが示され、我が国を含めた世界各国で承認されている。一方で、現在のCAR-T細胞技術には克服すべき問題点も多く存在している。例えば、がん細胞に特異性の高い標的分子が必要であることやサイトカイン放出症候群の発症、寛解後に再発する症例の存在などである。また、CAR-T細胞療法は固形がんに対しては未だ十分な治療効果を示すことが出来ていない点も大きな課題である。我々はCAR構造にさまざまな技術改良を加えることで、これらの課題を克服する次世代型CAR-T細胞療法の開発に取り組んでいる。その一つとして、T細胞の増殖や生存を高めるサイトカインであるIL-7とT細胞や樹状細胞の遊走を誘導するCCL19を同時に発現するCAR-T細胞を開発し、これらが固形がんマウスモデルにおいて優れた治療効果を示すことを見出した。さらには、その免疫学的メカニズムとしてクロスプレゼンテーション及びエピトープスプレッディングによる内在性免疫応答の誘導が重要であることを明らかにした。本講演では我々の試みを紹介すると同時に、遺伝子改変技術を利用したがん免疫細胞療法の課題と将来展望について概説する。

略歴

名前 新井 康之

所属 京都大学医学部附属病院

研究分野 造血器腫瘍、造血幹細胞移植、細胞療法、臨床疫学

**学歴**

平成12年3月31日 私立洛星高等学校 卒業

平成18年3月24日 京都大学医学部医学科 卒業

平成27年3月27日 京都大学大学院医学研究科 博士課程 修了

職歴

平成18年4月1日 田附興風会 医学研究所 北野病院 初期研修医

平成20年4月1日 財団法人 倉敷中央病院 (血液内科) 後期研修医

平成27年5月4日 米国国立衛生研究所 (博士研究員)・日本学術振興会 海外特別研究員
https://drew.jp/jsjct29_shitei/abstract/view.php/2/2

平成30年4月16日 京都大学医学部附属病院 (血液内科) 医員

平成30年11月1日 京都大学医学部附属病院 (輸血細胞治療部) 助教

令和元年8月1日 京都大学医学部附属病院 (検査部・細胞療法センター) 助教

令和3年10月1日 同 病院講師

令和5年4月1日 同 細胞療法センター 副センター長

最近の関連出版物・論文

Jo T, Yoshihara S, Okuyama Y, Arai Y, et al. Risk factors for CAR-T cell manufacturing failure among DLBCL patients: A nationwide survey in Japan.
 Br J Haematol
 . 2023;10.1111/bjh.18831.

Wada F, Jo T, Arai Y, et al. T-cell counts in peripheral blood at leukapheresis predict responses to subsequent CAR-T cell therapy.
 Sci Rep
 . 2022;12(1):18696.

Nakamura N, Arai Y, Kitawaki T, et al. Decreased serum phosphate levels are a useful biomarker to predict occurrence and severity of cytokine release syndrome in chimeric antigen receptor T-cell therapy.
 Br J Haematol
 . 2023;200(1):e1-e3.

Yamasaki-Morita M, Arai Y, Ishihara T, et al. Relative hypercoagulation induced by suppressed fibrinolysis after tisagenlecleucel infusion in malignant lymphoma.
 Blood Adv
 . 2022;6(14):4216-4223.

Jo T, Yoshihara S, Hada A, Arai Y, et al. A Clinically Applicable Prediction Model to Improve T Cell Collection in Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy.
 Transplant Cell Ther
 . 2022;28(7):365.e1-365.e7.

Arai Y, Choi U, Corsino CI, et al. Myeloid Conditioning with c-kit-Targeted CAR-T Cells Enables Donor Stem Cell Engraftment.
 Mol Ther
 . 2018;26(5):1181-1197.

CAR-Tのトリセツ～「細胞療法運用学」の観点から見た来し方行く末

新井 康之

京都大学医学部附属病院

CAR-T細胞療法が保険診療として使えるようになり、4年が経過しようとしています。私は、血液内科医として、実際にCAR-Tを投与するとともに、細胞療法センターに所属するスタッフとして、細胞の調製や管理にも関わっています。また、以前、研究室で新しいCAR-Tを作ってマウスに投与していました。そのような立ち位置から見ると、CAR-T細胞療法は「チーム医療の最たるもの」であると感じています。

そのようなチーム医療を円滑に行うためには、何がカギになるのでしょうか。手順を遵守した上で効率化したり、院内部門間あるいは治療施設間での連絡を十分に行ったりすることで、最善の細胞を最良のタイミングで投与することを目指す「運用面での最適化」が極めて重要であると考えています。ご紹介元の先生方のご協力や、院内各部門スタッフの多大な努力もあって、着実に症例集積とデータ解析を進め、最適な運用を目指した試行錯誤を行ってきました。その甲斐もあり、京都大学におけるCAR-T細胞療法は、当初の「お祭り騒ぎ」から「日常診療」へと変貌しました。このような軌跡の中で、CAR-Tなど細胞療法の「運用最適化」は、業務改善や効率化の範疇を超え、より俯瞰的なサイエンスの見地からの対応が望ましい内容と認識するに至りました。もはやこれは「細胞療法運用学」とも言うべきひとつの学問と考え、運用上の細かい事項に関する検討もこの学問の骨格をなす研究と位置づけて精力的に取り組んでいます。

今後、関連する学会を通じた医療機関内外での連携（学）だけではなく、製造販売を行う製薬会社（産）、さらには許認可を行う規制当局（官）も巻き込んだ、真の産官学連携を行うことで、本領域はさらに発展すると期待されます。本邦での基礎研究に端を発するCARという概念が、どのようにCAR-T細胞の開発に繋がり、保険診療として日々用いられているか、歴史とこれからの発展の可能性についてお話ししたいと思います。

略歴

名前 金子 新

所属 京都大学iPS細胞研究所
筑波大学トランスボーダー医学研究センター

研究分野 幹細胞生物学、免疫学、血液学

**学歴**

1995年 筑波大学医学専門学群（現医学群医学類）卒
2002年 筑波大学医学研究科博士課程修了

職歴

1995年 筑波大学附属病院内科レジデント
2002年 日本学術振興会 特別研究員（PD）
2003年 筑波大学 臨床医学系 講師（血液病態制御医学）
2005年 サンラファエレ研究所（ミラノ）研究員
2008年 東京大学 医科学研究所 特任助教（幹細胞治療分野）
2009年 東京大学 医科学研究所 助教（幹細胞治療分野）
2012年 京都大学 iPS細胞研究所 准教授
2022年 筑波大学 臨床医学域 教授（クロスアポイントメント）
2022年 京都大学 iPS細胞研究所 教授

最近の関連出版物・論文

Ueda, T., et al. (2023). Optimization of the proliferation and persistency of CAR T cells derived from human induced pluripotent stem cells. *Nature biomedical engineering*, 7(1), 24–37.

Wang, B., et al. (2021). Generation of hypoimmunogenic T cells from genetically engineered allogeneic human induced pluripotent stem cells. *Nature biomedical engineering*, 5(5), 429–440.

Iriguchi, S., et al. (2021). A clinically applicable and scalable method to regenerate T-cells from iPSCs for off-the-shelf T-cell immunotherapy. *Nature communications*, 12(1), 430.

Xu H, and Wang B, et al. (2019). Targeted Disruption of HLA Genes via CRISPR-Cas9 Generates iPSCs with Enhanced Immune Compatibility. *Cell Stem Cell*, 24(4),566-578

Minagawa, A., et al. (2018). Enhancing T Cell Receptor Stability in Rejuvenated iPSC-Derived T Cells Improves Their Use in Cancer Immunotherapy. *Cell stem cell*, 23(6), 850–858.

iPS細胞を用いた同種CAR-T細胞治療の開発

金子 新^{1,2}

¹ 京都大学 iPS細胞研究所

² 筑波大学トランスボーダー医学研究センター

一部のがん治療に免疫学的アプローチが有用であることが明らかになり、医療として急速な普及を見せている。CAR-T細胞による自家遺伝子治療はその一例であるが、自家細胞を用いた製品であるがゆえの欠点を持つことも指摘されている。我々は同種iPS細胞をCAR-T細胞のソースとして用いることでその欠点が解消される可能性があると考え、臨床応用のための技術開発を継続している。

今回のシンポジウムでは、iPS細胞からのT細胞誘導の基本と臨床製造への最適化、固形腫瘍への治療効果を向上させるため遺伝子改変、同種iPS細胞由来のCAR-T細胞への免疫学的拒絶反応を軽減するゲノム編集などの技術について紹介する。



ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium

Abstract & Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Name Jeffrey Scott Chamberlain

Affiliation University of Washington School of Medicine

Field of Research Muscle Disease, Gene Therapy, Protein Engineering, Muscle gene expression

**Education**

B.A. Biochemistry, Rice University, Houston, Texas USA (1978)
 PhD. Biochemistry, University of Washington, Seattle, Washington (1985)

Professional Experience

Post-doctoral Fellow, Molecular Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, 1985-1990
 Assistant, Associate, Full-professor, Dept. of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor Michigan, USA 1990-2001
 Professor and McCaw Chair, Depst. of Neurology, Medicine and Biochemistry, University of Washington, Seattle Washington USA 2001-present

Recent Related Publications (5 Papers)

Ramos JN, Hollinger K, Allen JM, Hauschka SD and Chamberlain JS: Development of novel micro-dystrophins with enhanced functionality. *Mol Ther* 2019; 27:623-635. doi: 10.1016/J.ymthe.2019.01.002.

Bengtsson NB, Crudele JM, Klaiman JM, Halbert CL, Hauschka SD and Chamberlain JS: Comparison of dystrophin expression following gene editing and gene replacement in an aged preclinical DMD animal model. *Mol Ther* 2022; 30:2176-2185, doi:10.1016/j.ymthe. 2022.02.003. PMC9171147.

Birch SM, Lawlor MW, Conlon TJ, Guo L-J, Crudele JM, Hawkins EC, Nghiem PP, Ahn M, Meng H, Beatka MJ, Fickau BA, Prieto JC, Styner MA, Struharik MJ, Shanks K, Brown KJ, Golebiowski D, Bettis AK, Balog-Alvarez CJ, Clement N, Coleman KE, Corti M, Pan X, Hauschka SD, Gonzalez JP, Morris C, Schneider JS, Duan D, Chamberlain JS, Byrne BJ and JN Kornegay: Assessment of systemic AAV-microdystrophin gene therapy in the GRMD Model of Duchenne muscular dystrophy. *Sci Trans Med* 2023;15:eab01815.

Chamberlain JS, Robb M, Braun S, Brown KJ, Danos O, Ganot A, Gonzalez-Alegre P, Hunter N, McDonald C, Morris C, Tobolowsky M, Ziolkowski O and Duan D: Micro-dystrophin expression as a surrogate endpoint for Duchenne muscular dystrophy clinical trials. *Human Gene Ther* 2023; 34: 404-415. DOI: 10.1089/hum.2022.190.

Tasfaout H, Christine L. Halbert HL, Allen JA, Reyes TR, Grimm D, Hauschka SD and JS Chamberlain: Split intein-mediated protein *trans*-splicing to express large dystrophins. submitted, and in researchgate. DOI:10.21203/rs.3.rs-2924001/v1

Next generation gene therapies for Duchenne muscular dystrophy (DMD)

Jeffrey Scott Chamberlain, Hichem Tasafout

University of Washington School of Medicine

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is caused by defective expression of dystrophin, which is encoded on the largest known gene (2.2 MB). Our previous studies led to the identification of AAV vectors as a vehicle that can systemically deliver genes to muscles bodywide. However, AAV can carry at most 5 kb of DNA, a limitation we and others partially overcame via structure/function studies of dystrophin to develop “micro-dystrophins” (proteins $\sim 1/3^{\text{rd}}$ the size of dystrophin). Delivery of micro-dystrophins (μDys) under control of muscle-restricted enhancer/promoter elements derived from the muscle creatine kinase (MCK) gene can halt and reverse dystrophic pathology in animal models for DMD. Our first generation AAV-MHCK7-H2 μDys vector was recently approved by the FDA for marketing by Sarepta. Unfortunately, this early vector has not proven to be as robust in the clinic as in animal models due to AAV dose limitations and the small size of μDys . We have been developing improved vectors able to deliver dystrophins more than twice as large as μDys , including the full-length 427 kDa muscle isoform of dystrophin. The larger protein size enables inclusion of additional functional domains. This new system relies on dual (or triple) vector delivery of partial dystrophin sequences carrying split-inteins, which leads to covalent joining of the protein fragments (exteins) into larger proteins inside muscle cells. Using newer myotropic AAVs we achieve higher levels of mini- and full-length dystrophins after systemic delivery to dystrophic mice and rats using total vector doses 1/10th those being used currently in the clinic. This split intein system leads to more complete functional correction of dystrophy in young and old animals compared with μDys .

CURRICULUM VITAE

Name	Hildegard Büning
Affiliation	Hannover Medical School, Hannover, Germany
Field of Research	Dr. Büning has a long-standing expertise in the area of viral vector development and infection research. Key competences include cell entry (transductional), transcriptional and genomic targeting of Adeno-Associated Viral (AAV) vectors, vaccine development, and characterization of the AAV-host interaction including immune recognition.

**Education**

1988-1993: Study of Biology, University of Münster and Ludwig-Maximilians University (LMU) of Munich, Germany

1997: PhD (Dr. rer. nat.), Faculty of Chemistry and Pharmacy at the LMU Munich, Germany

2008: Habilitation in “Molecular Medicine”, Faculty of Medicine of the University of Cologne, Germany

2015: Professor for Infection Biology of the Gene Transfer, Hannover Medical School (MHH), Germany

Professional Experience

1997-2003: Post-doctoral Fellow, Gene Center of the LMU Munich, Germany

2004-2015: Research Group Leader, Laboratory for AAV Vector Development, University of Cologne, Germany

Since 2015: Research Group Leader, Laboratory for Infection Biology & Gene Transfer, MHH, Germany

Since 2017: Deputy Director, Institute of Experimental Hematology, MHH, Germany

Recent Related Publications (5 Papers)

Franke A.C., R. Hardat, L. Prager, M. Bentler, M. Demeules, P. John-Neek, N.M. Jäschke, T.C. Ha, U.T. Hacker, S. Adriouch, H. Büning. Capsid-modified adeno-associated virus vectors as novel vaccine platform for cancer immunotherapy. *Ther. Methods Clin. Dev.* (2023), 29: 238-253. Meumann N., Cabanes-Creus, M. Ertelt, R. Gale Navarro, J. Lucifora, Q. Yuan, K. Nien-Huber, A. Abdelrahman, X.-K. Vu, L. Zhang, A.-C. Franke, C. Schmithals, A. Piiper, A. Vogt, M. Gonzalez-Carmona, J.T. Frueh, E. Ullrich, P. Meuleman, S.R. Talbot, M. Odenthal, M. Ott, E. Seifried, C.T. Schoeder, J. Schwäble, L. Lisowski, H. Büning. Novel Adeno-Associated Virus (AAV) Serotype 2 Capsid Variants for Improved Liver-Directed Gene Therapy. *Hepatology* (2023), 77(3):802-815. Rode L., C. Bär, S. Gross, A. Rossi, N. Meumann, J. Viereck, N. Abbas, K. Xiao, I Riedel, A. Gietz, K. Zimmer, M. Odenthal, H. Büning, T. Thum. AAV capsid engineering identified two novel variants with improved in vivo tropism for cardiomyocytes. *Mol. Ther.* (2022): 30(12):3601-3618. Pavlou M., C. Schön, L. M. Occelli, A. Rossi, N. Meumann, R. F. Boyd, J. T. Bartoe, J. Siedlecki, M. J. Gerhardt, S. Babutzka, J. Bogedein, J. E. Wagner, S. G. Priglinger, M. Biel, S. M. Petersen-Jones, H. Büning, S. Michalakis. Novel AAV capsids for intravitreal gene therapy of photoreceptor disorders. *EMBO Mol. Med.* (2021): 13(4): e13392. Hösel M., A. Huber, S. Bohlen, J. Lucifora, G. Ronzitti, F. Puzzo, F. Boisgerault, U.T. Hacker, W.J. Kwanten, N. Klötting, M. Blüher, A. Gluschko, M. Schramm, O. Utermöhlen, W. Bloch, F. Mingozzi, O. Krut, H. Büning. Autophagy determines efficiency of liver-directed gene therapy with adeno-associated viral vectors. *Hepatology.* (2017): 66 :252-265.

How to empower current gene and cell therapy approaches by next generation AAV vectors

Hildegard Büning

Hannover Medical School, Hannover, Germany

Gene and cell therapy has entered clinical reality. A constantly increasing number of gene addition therapies for monogenic diseases are becoming available as market approved “drugs”. Similarly, cancer immunotherapy using T cells equipped with chimeric antigen receptors (CAR) has changed how patients with CD19-positive lymphoma/leukemia or BCMA-positive multiple myeloma are treated. To empower current gene and cell therapy approaches delivery tools are constantly improved. Here, we report how vectors derived from the adeno-associated virus (AAV) can be engineered to reduce innate immune and to attenuate adaptive immune responses elicited upon vector administration. Furthermore, we report on a novel vaccine platform, the antigen decorated AAV vectors. These vectors encode for a target antigen, while the capsid of the vectors is used as scaffold for displaying antigens as proteins. A single administration induced a potent antigen-specific adaptive immune response which protected mice from tumor growth after subcutaneous challenge with antigen-positive tumor cells. As final example, we will report on our efforts to develop AAV vectors for in vivo transduction of hematopoietic stem and progenitor cells.

略歴

名前 森下 竜一

所属 大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝子治療学

研究分野 gene therapy, cardiovascular disease, aging



学歴

昭和62年 大阪大学医学部 卒業

平成3年 大阪大学医学部大学院（老年病講座）卒業

職歴

平成4年 アメリカ循環器学会特別研究員

平成10年 大阪大学助教授大学院医学系研究科遺伝子治療学

平成15年 大阪大学教授大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学

平成15年 知的財産戦略本部本部員（2007年任期満了：本部長内閣総理大臣）

平成25年 内閣府 規制改革会議委員（安倍内閣）

平成25年 内閣官房健康・医療戦略本部（本部長 安倍晋三）戦略参与

平成25年 大阪府特別参与・大阪市特別参与

平成30年 内閣府 規制改革推進会議委員（安倍内閣）

令和2年 大阪府特別顧問・大阪市特別顧問

令和3年 2025大阪関西万博大阪府市パビリオン総合プロデューサー

令和3年 内閣府健康・医療戦略推進事務局 健康・医療戦略参与

最近の関連出版物・論文

Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Tai JA, Nishikawa T, Yamashita K, Sakaguchi N, Yoshida S, Baba S, Chang CY, Shimamura M, Okamoto S, Amaishi Y, Chono H, Mineno J, Rakugi H, **Morishita R**, Nakagami H. Intradermal administration of DNA vaccine targeting Omicron SARS-CoV-2 via pyro-drive jet injector provides the prolonged neutralizing antibody production via germinal center reaction. *Scientific Research* (in press) Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Sawai M, Chang CY, Tai JA, Nishikawa T, Yamashita K, Sakaguchi N, Yoshida S, Baba S, Shimamura M, Okamoto S, Amaishi Y, Chono H, Mineno J, Rakugi H, **Morishita R**, Yamamoto M, Nakagami H. Modified DNA vaccine confers improved humoral immune response and effective virus protection against SARS-CoV-2 delta variant. *Scientific Reports* (in press) Nakagami H, Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Nakagami F, Hamaguchi S, Yoshida H, Okuno H, Yoshida S, Nakamaru R, Yokoyama S, Fujimoto T, Hongyo K, Akeda Y, **Morishita R**, Tomono K, Rakugi H. Phase I Study to Assess the Safety and Immunogenicity of an Intradermal COVID-19 DNA Vaccine Administered Using a Pyro-Drive Jet Injector in Healthy Adults. *Vaccines* 2022 Aug 30;10(9):1427. doi: 10.3390/vaccines10091427. Fukami H, Morinaga J, Nakagami H, Hayashi H, Okadome Y, Matsunaga E, Kadomatsu T, Horiguchi H, Sato M, Sugizaki T, Kuwabara T, Miyata K, Mukoyama M, **Morishita R**, Oike Y. Vaccine targeting ANGPTL3 ameliorates dyslipidemia and associated diseases in mouse models of obese dyslipidemia and familial hypercholesterolemia. *Cell Reports Medicine* 2021;2:100446 Nakagami H, Ishihama T, Daikyouchi Y, Sasakura C, Yamada E, **Morishita R**. Brief report on a phase I/IIa study to assess the safety, tolerability, and immune response of AGMG0201 in patients with essential hypertension. *Hypertension Research* 2022 Jan;45(1):61-65. doi: 10.1038/s41440-021-00755-6.

Plasmid DNA-based Gene Therapy: From Regenerative Medicine to Vaccine

Ryuichi Morishita

Department of Clinical Gene Therapy, School of Medicine, Osaka University



The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program

Abstract & Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Name Katsuto Tamai

Affiliation Osaka University Graduate School of Medicine

Field of Research Dermatology, stem cell biology, regeneration-inducing medicine, gene therapy



Education

1986 M.D. Hirosaki University School of Medicine
1990 Ph.D. Hirosaki University Graduate School of Medicine

Professional Experience

1990 Instructor, Dept. of Dermatology, Hirosaki University
1996 Assistant Professor, Dept. of Dermatology, Hirosaki University
1999 Associate Professor, Dept. of Dermatology, Hirosaki University
2003 Associate Professor, Dept. of Gene Therapy Science, Osaka University
2010 Professor, Dept of Stem Cell Therapy Science, Osaka University

Recent Related Publications (5 Papers)

Kikuchi Y, Tamakoshi T, Ishida R, Kobayashi R, Mori S, Ishida-Yamamoto A, Fujimoto M, Kaneda Y, Tamai K. Gene-modified blister fluid-derived mesenchymal stromal cells for treating recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol.* 2023 Jun 9:S0022-202X(23)02332-1. doi: 10.1016/j.jid.2023.05.021.

Takaki S, Shimbo T, Ikegami K, Kitayama T, Yamamoto Y, Yamazaki S, Mori S, Tamai K. Generation of a recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse model with patient-derived compound heterozygous mutations. *Lab Invest.* 2022 Feb 12;102(6):574-580. doi: 10.1038/s41374-022-00735-5.

Has C, Bauer JW, Bodemer C, Bolling M, Bruckner-Tuderman L, Diem A, Fine JD, Heagerty A, Hovnanian A, Marinkovich P, Martinez AE, McGrath JA, Moss C, Murrell DF, Palisson F, Schwieger-Briel A, Sprecher E, Tamai K, Uitto J, Woodley DT, Zambruno G, Mellerio JE. Consensus re-classification of inherited epidermolysis bullosa and other disorders with skin fragility. *Br J Dermatol.* 2020 Oct;183(4):614-627. doi: 10.1111/bjd.18921.

Tamai K, Uitto J. Stem Cell Therapy for Epidermolysis Bullosa-Does It Work? *J Invest Dermatol.* 2016 Nov;136(11):2119-2121. doi: 10.1016/j.jid.2016.07.004.

Tamai K, Yamazaki T, Chino T, Ishii M, Otsuru S, Kikuchi Y, Iinuma S, Saga K, Nimura K, Shimbo T, Umegaki N, Katayama I, Miyazaki J, Takeda J, McGrath JA, Uitto J, Kaneda Y. PDGFR α -positive cells in bone marrow are mobilized by HMGB1 to regenerate injured epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:6609-6614, 2011. Epub 2011 Apr 4.

Development of regeneration-inducing gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa

Katsuto Tamai

Osaka University Graduate School of Medicine

Recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB) is a severe intractable skin disease caused by genetic dysfunction of type VII collagen (Col7), which anchor the epidermal basement membrane to the underlying dermal matrix of the skin. RDEB patients daily generate severe burn-like blisters and intractable ulcers on the skin from beginning of their birth, and eventually develop scar-related severe complications such as pseudo-syndactyly (complete fusion of digits), esophageal stenosis, and cicatricial squamous cell carcinoma that may cause early demise. We previously reported that the necrotic epidermal cells in the blistered skin released abundant nuclear proteins including high mobility group box 1 (HMGB1) into the peripheral blood in RDEB mice and patients for recruiting mesenchymal stem cells (MSCs) from bone marrow to the blistered skin via circulation. Single cell transcriptome analysis indicated that the HMGB1-mobilized MSCs in the RDEB mouse blood had a significant transcriptional similarity to the ectoderm-derived mesenchymal stem cells in bone marrow, designated as PaS cells, which had previously been characterized as a neural crest-lineage cells using protein zero (P0) lineage-tracing mice. The P0 lineage-tracing mice showed that the HMGB1-induced circulating MSCs were also P0-lineage cells, suggesting that PaS cells in bone marrow would be targets of HMGB1 to mobilize them into the circulation. The HMGB1-induced MSCs in the blistered skin suppressed inflammation and fibrosis by inactivating inflammatory macrophages and promoted regeneration of the degenerated epidermis by increasing epidermal stem cells. Under these backgrounds, we started to develop regeneration-inducing gene therapy targeting MSCs in the blister fluid of RDEB patients by lentivirus-mediated Col7 gene induction. Practically, we isolated ~1.0 ml blister fluid from Col7-null RDEB patients, mixed with MSC-culture medium, and cultured to expand the blister fluid-derived MSCs (bf-MSCs). The bf-MSCs exhibited potent self-renewal activity to maintain linear expansion in culture. We then develop a lentiviral vector harboring human EF1 promoter-Col7 gene. The Col7-lentiviral vector efficiently transduced Col7 gene into the Col7-null bf-MSCs, about 30% of the cultured cells at MOI 1.0. The Col7 gene-transduced bf-MSCs efficiently expressed Col7 at the cutaneous basement membrane zone when transplanted into the blister on the skin equivalent composed of the RDEB patient-derived Col7-null keratinocytes and fibroblasts, which had been transplanted onto the back of immune deficient mice. Electron microscopic study demonstrated that the bf-MSC-derived Col7 assembled into the anchoring fibrils, which functionally anchor the basement membrane to the dermal matrix in the RDEB patient skin equivalent. The RDEB skin equivalent did not show any blister formation after intra-blister inoculation of the Col7-transduced bf-MSCs even when the blister-inducing mechanical stress was applied. Currently, we are in the process of preparing clinical trial of the regeneration-inducing gene therapy for RDEB patients.

略歴

名前 澤 芳樹

所属 大阪警察病院

Development of iPS regenerative therapy using iPS derived cardiac cell patch

澤 芳樹

大阪警察病院

略歴

名前 岡野 栄之
所属 慶應義塾大学医学部

研究分野 再生医療, 神経生物学, 神経疾患

学歴

1983年 慶應義塾大学医学部卒業
1988年 医学博士 (慶應義塾大学)

職歴

1985年 大阪大学蛋白質研究所・助手
1989年 Johns Hopkins University School of Medicine・ポスドク研究員
1992年 東大医科研・助手
1994年 筑波大学基礎医学系・教授
1997年 大阪大学医学部・神経機能解剖学教授・教授
2001年 慶應義塾大学医学部・生理学教室 (～現在に至る)
2022年 Visiting Professor, Massachusetts Institutes of Technology

最近の関連出版物・論文

1. Morimoto S, Takahashi S, Ito D, Daté Y, Okada K, Kato C, Nakamura S, Ozawa F, Chyi CM, Nishiyama A, Suzuki N, Fujimori K, Kondo T, Takao M, Hirai M, Kabe Y, Suematsu M, Jinzaki M, Aoki M, Fujiki Y, Sato Y, Suzuki N, Nakahara J; Pooled Resource Open-Access ALS Clinical Trials Consortium; Okano H. Phase 1/2a clinical trial in ALS with ropinirole, a drug candidate identified by iPSC drug discovery. **Cell Stem Cell**. 30(6):766-780, 2023.
2. Hashimoto S, Nagoshi N, Shinozaki M, Nakanishi K, Suematsu Y, Shibata T, Kawai M, Kitagawa T, Ago K, Kamata Y, Yasutake K, Koya I, Ando Y, Minoda A, Shindo T, Shibata S, Matsumoto M, Nakamura M, Okano H*. Microenvironmental modulation in tandem with human stem cell transplantation enhances functional recovery after chronic complete spinal cord injury. **Biomaterials**. 295:122002, 2023.
3. Okano H*: A combined stem-cell-gene therapy strategy for ALS. **Nature Medicine** 28(9): 2022
4. Kawai M, Imaizumi K, Ishikawa M, Shibata S, Shinozaki M, Shibata T, Hashimoto S, Kitagawa T, Ago K, Kajikawa K, Shibata R, Kamata Y, Ushiba J, Koga K, Furue H, Matsumoto M, Nakamura M, Nagoshi N, Okano H*: Long-term Selective Stimulation of Transplanted Neural Stem/Progenitor Cells for Spinal Cord Injury Improves Locomotor Function. **Cell Reports**, 37(8):110019, 2021.
5. Fujimori K, Ishikawa M, Otomo A, Atsuta N, Nakamura R, Akiyama T, Hadano S, Aoki M, Saya H, Sobue G, Okano H* Modeling sporadic ALS and identification of a potential therapeutic agent in iPSC-derived motor neurons. **Nature Medicine** 24(10):1579-1589, 2018.

Challenges for Stem Cell Gene Therapy for CNS Disorders

Hideyuki Okano

Department of Physiology, Keio University School of Medicine

Our research group has been devoted to the development of regenerative medicine for spinal cord injuries using neural precursor cells derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs), and we are currently advancing clinical studies for subacute spinal cord injuries. On the other hand, for more challenging cases like chronic spinal cord injuries showing stronger treatment resistance and other refractory neurological disorders, enhancing the therapeutic capabilities of transplanted cells has become a critical strategy, along with cutting-edge BMI and rehabilitation approaches.

Globally, to enhance the therapeutic potential of transplanted cells, there is ongoing progress in ex vivo gene therapy involving the introduction of genes encoding functional molecules into neural precursor cell transplants. Our group has used chemogenetics to transplant iPSC-derived neural precursor cells expressing excitatory DREADD (hM3Dq) into spinal cord injury mice. By stimulating the transplanted cells for an extended period, we observed an increase in gene expression related to synapses, leading to significant motor function recovery through neural circuit reconstruction. Based on these findings, we believe that introducing functional genes into transplanted cells can induce and maintain stable improvements in cellular function through neural circuit reconstruction after transplantation.

Currently, we are developing ex vivo gene therapy for central nervous system disorders, including spinal cord injuries, using neural stem cells carrying functionally engineered genes such as 1. optogenes, 2. designer genes, and 3. nutrition and modification-related genes, which represent the cutting-edge advancements in neuroscience. We would like to present a glimpse of our progress in this area.

略歴

名前 米満 吉和

所属 九州大学大学院薬学研究院

研究分野 Gene and cell therapy
Cancer immunology and immunotherapy



学歴

1996 Ph.D., Dr. of Medical Science, Kyushu University
1990 M.D., Faculty of Medicine, Kyushu University

職歴

2020.10 - present Executive Assistant to the President of Kyushu University
2009.10 - present Professor, R&D Laboratory for Innovative Biotherapeutics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University
2009. 9 Professor, Department of Gene Therapy, Graduate School of Medical Science, Chiba University
2006. 3 Associate Professor, Department of Pathology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University
2004. 10 Senior Assistant Professor and Labo Director, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University
2003. 5. Assistant Professor, Department of Pathology, Kyushu University Hospital
1999.4 Research Associate, Department of Gene Therapy, Imperial College School of Medicine at the National Heart and Lung Institute, London, UK (The Wellcome Trust Fellow)
1997.10 Staff surgeon in vascular surgery unit, Department of Surgery II, Kyushu University Hospital
1992. 3 Staff surgeon in General Surgery, Kyushu Central Hospital
1991. 3 Resident in Department of Surgery II, and Emergency and Critical Care Medicine, Kyushu University Hospital
1990.4. Passed the Examination of National Board

我々が開発を進める他家細胞製剤：その生物学的特性と製造原料（末梢血単核球）調達スキーム

米満 吉和

九州大学大学院薬学研究院

我々が開発したGAIA-NK（開発コード：GAIA-102）は、現在3つの適応疾患を対象に第I相あるいは第I/II相治験が進められており、複数の症例において標的腫瘍塊の縮小などの効果を示唆する所見を認めている。

GAIA-102はその培養工程においてHLA/KIRミスマッチの組み合わせとなるように、1バッチにつき複数（3～4名）の健常人の他家末梢血単核球から培養が開始され、いわゆるライセンス過程をたどるため、KIR発現がほとんど無く強力な抗腫瘍活性を示す。更には凍結・解凍による細胞数の減少および活性の低下を防ぐための工夫がなされており、解凍後に点滴剤に注入後、直ぐに点滴投与が可能なoff-the-shelf製剤としてデザインされている。

国内では、この他家末梢血単核球の供給が安定的に出来ないことから、我々は現在、欧米の企業数社と契約し、①特定のHLA/KIR遺伝子型を有するドナープールを事前遺伝子検査にて構築し、②必要時にアフエレーシスによる採血を行い、③米国FDAがclinical gradeとして了承した品質で、④適切なwindow periodでの感染症検査を合格した末梢血を製造原料として使用している。既に計200名程度のドナープールの構築に成功しており、現在では治験遂行においては、安定的な供給が可能となっている。

本シンポジウムでは、GAIA-102の特性と治験の進行状況、そして免疫系細胞を活用した再生医療等製品の製造に必要な末梢血のサプライチェーン構築における我々の経験を踏まえ、今後国内で整備すべき課題について議論したい。



Nucleic Acids Therapeutics Related Program

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 佐藤 秀昭

所属 ルクサナバイオテック株式会社

研究分野 Oligonucleotide therapeutics, Antisense drug development, Nucleic acid chemistry application

**学歴**

1997/04-2004/02 **Kyoto University**, Graduate School of Agriculture Applied Life Sciences PhD course (Withdrawal from the Doctoral Program with the Completion of Course Requirements)

1995/04-1997/03 Shinshu University, Graduate School of Agriculture Bio Bioscience and Biotechnology

職歴

In March 2004, after leaving Kyoto University Graduate School of Agriculture, Department of Applied Life Sciences, I joined Gene Design Co., Ltd. as a researcher. After working as the general manager of Technical Service and Marketing Division and executive officer, I became the business director and acted as a counter to the acquisition by Ajinomoto. I was involved in the launch and management of nucleic acid medicine CDMO business, GMP manufacturing project management for nucleic acid medicine, joint research with universities, and initial clinical trials of malaria vaccines. I launched Luxna Biotech Co., Ltd., a start-up company from Osaka University (Co-founder Professor Satoshi Obika), and assumed the position of President in February 2018, and currently serves as President and CEO. I'm secretary of the Regulatory Science Subcommittee of the Nucleic Acid Therapeutics Society of Japan.

Professional: Oligonucleotide process chemistry, Oligonucleotide therapeutics development, RNA therapeutics

最近の関連出版物・論文

Development of Nonaggregating Poly-A Tailed Immunostimulatory A/D Type CpG Oligodeoxynucleotides Applicable for Clinical Use. Taiki Aoshi, Yasunari Haseda, Kouji Kobiyama, Hirotaka Narita, Hideaki Sato, Hirokazu Nankai, Shinichi Mochizuki, Kazuo Sakurai, Yuko Katakai, Yasuhiro Yasutomi, Etsushi Kuroda, Cevayir Coban, and Ken J. Ishii Journal of Immunology Research Volume 2015, Article ID 316364, A Novel PEGylation Method for Improving the Pharmacokinetic Properties of Anti-Interleukin-17A RNA Aptamers Haruta K, Otaki N, Nagamine M, Kayo T, Sasaki A, Hiramoto S, Takahashi M, Hota K, Sato H, Yamazaki H. Nucleic Acid Ther. 2017 Feb;27(1):36-44 Stable and transient transformation, and a promoter assay in the selective lignin-degrading fungus, Ceriporiopsis subvermispora. Honda Y, Tanigawa E, Tsukihara T, Nguyen DX, Kawabe H, Sakatoku N, Watari J, Sato H, Yano S, Tachiki T, Irie T, Watanabe T, Watanabe T. AMB Express. 2019 Jun 24;9(1):92. 糖部架橋型人工核酸の創薬応用とルクサナバイオテックの事業展開 佐藤秀昭 核酸医薬学会会誌2021年 p 58-65

Advancing Oligonucleotide Therapeutics: Unveiling a New Era of Precision Gene Medicines

Hideaki Sato

Luxna Biotech Co., Ltd.

核酸医薬は承認薬が17品目を数え、作用メカも mRNA 分解型のアンチセンス医薬 (Gapmer) 及び siRNA、mRNA スプライス制御型のアンチセンス医薬 (SSO)、自然免疫活性化剤の CpG-ODN など幅広く、いよいよ実用化に差し掛かったといえる。遺伝子変異疾患へのアプローチについては、遺伝子治療も大きな役割を期待され承認薬も顕在化しており、それぞれの役割を整理して考え適切もしくは補完しうる治療法として確立すべきと考える。本プレゼンテーションでは、遺伝子治療、核酸医薬、低分子医薬の3剤が存在する、脊髄性筋萎縮症治療と、遺伝子治療、核酸医薬、が存在するデシェンヌ型筋ジストロフィー症治療について、モダリティ間の比較を論じる。次にルクサナバイオテックが目指している核酸医薬の創薬アプローチについて述べる。

当社は大阪大学薬学研究科小比賀教授らのグループにより発明された4種の人工核酸の生物学的な特徴を見出し、適切な応用システムを構築し、製薬会社やアカデミアとの共同創薬を行っている。特に Gapmer と言われる mRNA 分解型アンチセンス医薬を神経疾患に応用させるために重要な要素となる、神経毒性の回避について、当社人工核酸のうち架橋型人工核酸の GuNA-tBu 及び DNA 型人工核酸の 5'-cp を活用することにより、大幅な改善が得られることを見出してきた。また GuNA-tBu については、これまで承認薬に活用されている 2'-MOE 修飾に比較し、脳の広範囲において mRNA 分解が改善することも見出し、これらの成果を Gapmer の構造最適化に活用している。本プレゼンテーションでは人工核酸が核酸医薬の最適化をもたらすことを、実例を挙げて紹介し、核酸医薬による遺伝子変異疾患や過剰発現している mRNA に対する治療可能性について論じると共に、当社の開発実例として Gapmer アンチセンス医薬を用いた脊髄損傷治療薬の開発状況について述べる。

In the realm of gene medicine, oligonucleotide therapeutics have emerged as a groundbreaking solution, with 17 approved treatments showcasing remarkable potential. These therapies operate through diverse modes of action, encompassing mRNA-degrading antisense drugs (Gapmers) and siRNA, mRNA splice switching oligonucleotide drugs (SSO), and the natural immunity activator CpG-ODN. As this field reaches the pinnacle of practical application, gene therapy is anticipated to revolutionize the approach to gene mutation diseases, with approved drugs demonstrating promising efficacy.

In this presentation, we delve into a comparative analysis of therapeutic modalities for treating spinal muscular atrophy, featuring gene therapy, nucleic acid medicine, and small molecule drugs, alongside Duchenne muscular dystrophy treatment, which incorporates gene therapy and SSO. The spotlight then shifts to Luxna Biotech's visionary drug discovery approach for oligonucleotide therapeutics.

Luxna Biotech, in partnership with Professor Satoshi Obika's team from Osaka University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, has identified four artificial nucleic acids with unique properties. They have developed application systems for joint drug discovery efforts, particularly focusing on avoiding neurotoxicity when using Gapmers to treat neurological diseases. Bridged artificial nucleic acid GuNA-[t-Bu] and DNA artificial nucleic acid 5'-cp have shown promising results in this area, surpassing the performance of existing approved drugs like 2'-MOE modification.

We take this opportunity to showcase real-life applications of artificial nucleic acids, demonstrating their potential to optimize oligonucleotide therapeutics. This includes discussions on treating genetic mutation diseases and addressing overexpressed mRNAs using these novel therapies. Furthermore, we provide insights into the development progress of Gapmer drugs for spinal cord injury treatment.

This presentation embodies the relentless pursuit of transforming the landscape of medicine through cutting-edge oligonucleotide therapeutics. The collaborative synergy between academia and industry brings forth a new era of precision gene medicines, holding the promise of unprecedented advancements in treating genetic disorders and neurological conditions.

略歴

名前 小比賀 聡

所属 大阪大学大学院薬学研究科

研究分野 生物有機化学, 核酸化学, 核酸医薬



学歴

1990年3月 大阪大学薬学部製薬化学科卒業

1992年3月 大阪大学大学院薬学研究科薬品化学専攻博士前期課程修了

1998年2月 博士(薬学)(大阪大学)

職歴

1992年4月 大阪大学薬学部助手

2002年5月 カリフォルニア大学サンタバーバラ校化学科博士研究員 (T. C. Bruice教授、2003年3月まで)

2004年10月 科学技術振興機構 (JST) さきがけ研究員 (兼務、2008年3月まで)

2006年4月 大阪大学大学院薬学研究科助教授

2008年8月 大阪大学大学院薬学研究科教授

2009年8月 大阪大学臨床医工学融合研究教育センター教授 (兼任)

2013年5月 医薬基盤・健康・栄養研究所創薬支援デザイン研究センター人工核酸スクリーニングプロジェクト 招へいプロジェクトリーダー (兼任、2023年3月まで)

2023年4月 大阪大学薬学研究科長・大阪大学薬学部長

最近の関連出版物・論文

T. Yamaguchi, N. Horie, H. Aoyama, S. Kumagai, S. Obika, *Nucleic Acids Res.*, **2023**, in press. doi.org/10.1093/nar/gkad608Y. Sakurai, T. Yamaguchi, T. Yoshida, M. Horiba, T. Inoue, S. Obika, *J. Org. Chem.*, **202**, *88*, 154-162.T. Osawa, Q. Ren, S. Obika, *Molecules*, **2022**, *27*, 8501.T. Takegawa-Araki, S. Kumagai, K. Yasukawa, M. Kuroda, T. Sasaki, S. Obika, *J. Med. Chem.*, **2022**, *65* 2139-2148.T. Yoshida, K. Morihiro, Y. Naito, A. Mikami, Y. Kasahara, T. Inoue, S. Obika, *Nucleic Acids Res.*, **2022**, *50*, 7224-7234.

Development of Nucleic Acid Derivatives for Application to Antisense Oligonucleotides

Satoshi Obika^{1,2}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

² Institute for Open and Transdisciplinary Research Initiatives, Osaka University

Oligonucleotide therapeutics hold great promise as a treatment for rare and intractable diseases due to their distinct mechanism of action and the relatively short timeline from identifying disease-causing genes to creating drug candidates. Various types of oligonucleotide therapeutics exist, including antisense oligonucleotides, siRNA, CpG oligonucleotides, and nucleic acid aptamers. Although these oligonucleotide therapeutics differ in structural aspects such as single/double strand and DNA/RNA composition, modified nucleic acids are utilized in all marketed oligonucleotide therapeutics, highlighting the crucial role of chemistry in their development.

We have developed "bridged nucleic acids" in which the 2' and 4' positions of nucleosides are covalently bridged in order to improve the binding affinity to the target RNA. The strategic incorporation of bridged nucleic acids at specific sites within antisense oligonucleotides significantly enhances their binding affinity to the target RNA. Moreover, by further modifying the chemical structure of bridged nucleic acids, we have successfully modified other properties and functionalities while preserving the high binding affinity to target RNA. Currently, we are designing, synthesizing, and evaluating antisense oligonucleotides based on these bridged nucleic acids for the treatment of several intractable diseases.

To further improve the efficacy and safety of antisense oligonucleotides, we are also developing new chemical modifications and artificial nucleic acids other than the introduction of bridged structures between the 2' and 4' positions of nucleosides. For example, 5'-cp, in which a cyclopropyl group is introduced on the 5' carbon of a nucleoside, is highly resistant to nucleases and shows greater *in vivo* stability than phosphorothioate (PS) linkages, which are often used in conventional antisense oligonucleotides. Interestingly, the introduction of 5'-cp into antisense oligonucleotides instead of the PS modification has shown a significant improvement in safety while maintaining high efficacy.

In this presentation, I would like to provide an overview of the chemical modifications employed in oligonucleotide therapeutics and showcase the design, synthesis, and functions of the latest nucleic acid derivatives that we are currently developing.

略歴

名前 秋田 英万
 所属 東北大学
 研究分野 Drug Delivery System



学歴

1993年4月 東京大学薬学部 入学
 1997年3月 東京大学薬学部薬学科 卒業
 1997年4月 東京大学大学院薬学系研究科修士課程 入学
 1999年3月 東京大学大学院薬学系研究科修士課程 生命薬学専攻 修了
 1999年4月 東京大学大学院薬学系研究科博士後期課程 入学
 2002年3月 東京大学大学院薬学系研究科博士後期課程 生命薬学専攻 修了

職歴

2001年4月 日本学術振興会特別研究員 (DC2) (杉山雄一研究室)
 2002年4月 日本学術振興会特別研究員 (PD) (杉山雄一研究室)
 2002年7月 北海道大学大学院薬学研究科 助手 (原島秀吉研究室)
 2006年4月 北海道大学大学院薬学研究院 助教 (配置換え)
 2010年10月 北海道大学大学院薬学研究院 准教授 (原島秀吉研究室)
 2016年4月 千葉大学大学院薬学研究院 教授
 2022年4月 東北大学大学院薬学研究科 教授

所属学会

日本DDS学会、日本薬剤学会、日本薬学会、遺伝子デリバリー研究会、日本リンパ学会、日本核酸医薬学会、アメリカ遺伝子治療学会

受賞歴

2006年5月 Outstanding Paper Award in 1st Chapel Hill Drug Conference and Tenth Liposome Research Days Conference
 2007年2月 第13回 コニカミノルタ画像科学奨励賞受賞
 2007年12月 平成19年度 日本薬学会北海道支部 奨励賞
 2010年5月 日本薬剤学会第25年会 奨励賞
 2010年11月 第4回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム ベストプレゼンテーション賞
 2011年3月 平成23年度 日本薬学会 奨励賞
 2013年7月 第5回日本DDS学会 奨励賞
 2015年1月 第24回インテリジェント材料・システムシンポジウム 高木賞
 2015年3月 平成26年度 北海道大学 研究総長賞
 2016年2月 油脂技術優秀論文 優秀賞
 2016年3月 平成27年度 北海道大学 研究総長賞
 2020年3月 令和元年度 日本薬学会 学術振興賞
 2020年5月 第13回 日本DDS学会水島賞
 2021年2月 油脂技術優秀論文 優秀賞
 2023年4月 令和5年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 科学技術賞 (開発部門)

最近の関連出版物・論文

Tanaka H, Hagiwara S, Shirane D, Yamakawa T, Sato Y, Matsumoto C, Ishizaki K, Hishinuma M, Chida K, Sasaki K, Yonemochi E, Ueda K, Higashi K, Moribe K, Tadokoro T, Maenaka K, Taneichi S, Nakai Y, Tange K, Sakurai Y, Akita H*. Ready-to-Use-Type Lyophilized Lipid Nanoparticle Formulation for the Postencapsulation of Messenger RNA. ACS Nano. 17(3):2588-2601 (2023) Sakurai Y, Yoshikawa K, Arai K, Kazaoka A, Aoki S, Ito K, Nakai Y, Tange K, Furihata T, Tanaka H, Akita H. siRNA delivery to lymphatic endothelial cells via ApoE-mediated uptake by lipid nanoparticles. J Control Release 353:125-133 (2023) 【Cover Artに選出】 Gomi M, Sakurai Y, Sato M, Tanaka H, Miyatake Y, Fujiwara K, Watanabe M, Shuto S, Nakai Y, Tange K, Hatakeyama H, Akita H*. Delivering mRNA to Secondary Lymphoid Tissues by Phosphatidylserine-Loaded Lipid Nanoparticles. Adv Healthc Mater. e2202528 (2022) Tanaka H, Takata N, Sakurai Y, Yoshida T, Inoue T, Tamagawa S, Nakai Y, Tange K, Yoshioka H, Maeki M, Tokeshi M, Akita H*. Delivery of Oligonucleotides Using a Self-Degradable Lipid-Like Material. 13(4):544 (2021) doi: 10.3390/pharmaceutics13040544. Tanaka H, Takahashi T, Konishi M, Takata N, Gomi M, Shirane D, Miyama R, Hagiwara S, Yamasaki Y, Sakurai Y, Ueda K, Higashi K, Moribe K, Shinsho E, Nishida R, Fukuzawa K, Yonemochi E, Okuwaki K, Mochizuki Y, Nakai Y, Tange K, Yoshioka H, Tamagawa S, Akita H* Self-degradable Lipid-like Materials based on "Hydrolysis accelerated by the intraParticle Enrichment of Reactant (HyPER)" for Messenger RNA Delivery. Adv Funct Mater. 30: 1910575 (2020) doi: 10.1002/adfm.201910575

Development of intracellular environment-responsive lipid-like material (ssPalm) as a DDS platform for the acceleration of nucleic acid/RNA-based medication

Hidetaka Akita

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

Nucleic acid-based drug promises to be a key technology for the personalized medication. In this presentation, I propose that an intracellular environment-responsive lipid like material; an SS-cleavable and pH-activated lipid-like material (ssPalm) may contribute to innovation of RNA-based medicine. This material forms a lipid nano particle (LNP) that has a neutral charge at physiological pH. A series of these molecules mount dual sensing motifs that can respond to the intracellular environment; positively charged tertiary amines responsible for an acidic compartment (endosome/lysosome) for membrane destabilization, and disulfide bonding that can be cleaved in reducing environment (cytosol) are described.

One of the applications for materials such as these is RNA vaccine. We developed a directly s.c. injectable RNA vaccine based on a vitamin E-scaffold ssPalm (ssPalmE). This system is applicable for the vaccine against *Toxoplasma gondii*. From the viewpoint of mechanism of action, it was revealed that the LNP (ssPalmE) itself acted as adjuvant regardless of the presence or absence of IVT-mRNA. Of note, this immune-stimulative activity is highly dependent on the hydrophobic structure: the replacement of vitamin E unit to the acyl chains (i.e., oleic acid or myristic acid) diminished.

Meanwhile, the development of an RNA delivery system for protein complementation or gene knockdown via i.v. or topical administration, a less immune-stimulative ssPalm is needed. In attempt to develop a less-immune-stimulative hydrophobic scaffold, we employed oleic acid as a hydrophobic scaffold. In this presentation, we further employ the self-degradable linker. In this reaction, concentrated hydrophobic thiols that are produced by the cleavage of the disulfide bonds in the LNPs drive an intraparticle nucleophilic attack to the phenyl ester linker, which results in further degradation. The material is useful for the delivery of mRNA, as well as Antisense Oligonucleotide (ASO). In this presentation, we will show the application of this LNP for in vivo antibody production, and for the tolerance-inducible RNA vaccine.

略 歴

名前 小泉 誠

所属 第一三共株式会社 モダリティ研究所

Exon skipping therapeutic strategy using 2'-O, 4'-C-ethylene-bridged nucleic acid (ENA) oligonucleotides

Makoto Koizumi

Modality Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

A wide variety of modified oligonucleotides have been chemically synthesized. Modified oligonucleotides with sequence-specific binding, high binding affinities of single-stranded RNA (ssRNA), and high nuclease-resistant properties are applicable for nucleic acid-based technologies, such as antisense oligonucleotides (ASO), small interfering RNA (siRNA) and CRISPR-Cas systems. Various sugar- or phosphate-modified nucleotides have been developed for functional nucleic acid-based technologies. Among them, 2'-O,4'-C-methylene-bridged nucleic acids, which were named as 2',4'-BNA/LNA, were a breakthrough in this field. 2',4'-BNA/LNA modified oligonucleotides have a greater hybridizing ability to ssRNA and single-stranded DNA (ssDNA), compared with natural RNA and DNA oligonucleotides. Furthermore, we reported that oligonucleotides modified with 2'-O,4'-C-ethylene-bridged nucleic acids (ENA) have a binding affinity to ssRNA similar to those modified with 2',4'-BNA/LNA. Moreover, ENA-modified oligonucleotides exhibit much higher nuclease resistance in plasma than those modified with 2',4'-BNA/LNA.

Oligonucleotides modified with ENA have appropriate properties for antisense therapeutics *in vivo*. ENA oligonucleotides work effectively as RNase H-dependent antisense oligonucleotides, known as gapmers, and splice modulators such as exon skipping antisense oligonucleotides. This presentation will describe exon skipping therapeutic strategy using ENA oligonucleotides for genetic disease such as Duchenne muscular dystrophy (DMD).



The Japanese Society of Virology Joint Program

Abstract & Curriculum Vitae

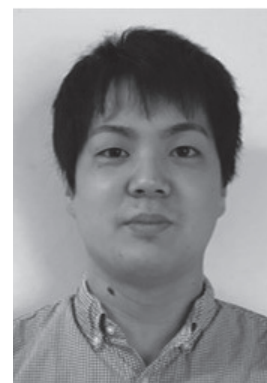
加速する新たなウイルスベクター開発の最前線

略歴

名前 小森園 亮

所属 京都大学医生物学研究所 RNAウイルス分野

研究分野 ウイルス学、ウイルスベクター、遺伝子治療、細胞治療



学歴

京都大学大学院生命科学研究科博士後期課程修了（博士：生命科学）

職歴

2017年4月-2020年3月 日本学術振興会 特別研究員DC1
2020年4月-2022年3月 京都大学ウイルス・再生医科学研究所 特定研究員
2022年4月-現在 京都大学医生物学研究所 特定助教

最近の関連出版物・論文

- Ryo Komorizono, Kan Fujino, Susanne Kessler, Solveig Runge, Takehiro Kanda, Masayuki Horie, Akiko Makino, Dennis Rubbenstroth and Keizo Tomonaga. Reverse genetics of parrot bornavirus 4 reveals a unique splicing of the glycoprotein gene that affects viral propagation. *Jornal of Virology*, in press, 2023.
- Mako Yanai, Madoka Sakai, Ryo Komorizono, Akiko Makino, Keizo Tomonaga. Stability of Borna disease virus based episomal vector under physical and chemical stimulation. *Microbiol & Immunol*, 2021
- Ryo Komorizono, Yukiko Sassa, Masayuki Horie, Akiko Makino, Keizo Tomonaga. Evolutionary Selection of the Nuclear Localization Signal in the Viral Nucleoprotein Leads to Host Adaptation of the Genus Orthobornavirus. *Viruses*, 2020
- Madoka Sakai, Yoko Fujita, Ryo Komorizono, Takehiro Kanda, Yumiko Komatsu, Takeshi Noda, Keizo Tomonaga, Akiko Makino. Optimal Expression of the Envelope Glycoprotein of Orthobornaviruses Determines the Production of Mature Virus Particles. *Journal of Virology*, 2020
- Yumiko Komatsu, Chiaki Tanaka, Ryo Komorizono, Keizo Tomonaga. In vivo biodistribution analysis of transmission competent and defective RNA virus-based episomal vector. *Sci Rep*, 2020

ボルナウイルスベクターを用いた遺伝子細胞治療薬の開発

小森園 亮¹、吉澄 志磨¹、朝長 啓造^{1,2,3}

¹ 京都大学医生物学研究所 RNAウイルス分野

² 京都大学大学院生命科学研究科 生体動態制御学

³ 京都大学大学院医学研究科 分子ウイルス学

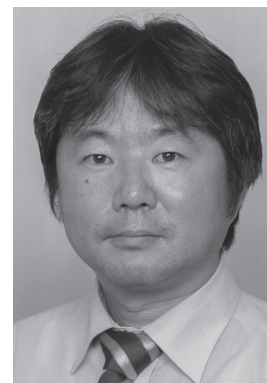
多くのRNAウイルスは細胞質内で複製し細胞傷害性を強く示す一方で、ボルナウイルスは細胞核内を複製の場とし細胞傷害性なしに持続感染を成立させる。またボルナウイルスはレトロウイルスやレンチウイルスのように宿主ゲノムへのインテグレーションを引き起こさず、細胞分裂時も染色体とともに娘細胞へウイルスゲノムを分配することで持続感染を維持する。私たちは、このエキセントリックなウイルス性状に着目し、遺伝子治療および遺伝子細胞治療への応用を目的としたボルナウイルスベクター“REVec”を開発した。上記のようなウイルス性状から、REVecはゲノム汚染なしに半永続的に目的遺伝子を発現することができ、核内RNAが任意のRNAを持続的に発現する自己複製型ウイルスベクターと言い換えることができる。またREVecは、他のウイルスベクターと比較しiPS細胞や間葉系幹細胞(MSC)など幹細胞への導入効率および発現持続性が高く、導入後も幹細胞の分化誘導を阻害しないことから、特に遺伝子改変幹細胞を用いたex vivo遺伝子細胞治療薬への応用に適したウイルスベクターである。REVecを導入したMSCをin vivoへ移植した結果、生着後も目的遺伝子の発現を維持しており、REVecに搭載した分泌型酵素や成長因子、一本鎖抗体等の機能的タンパク質の発現が生体内で長期間確認された。さらに、人工アプタザイムをベクターに搭載することで、薬剤濃度依存的に遺伝子発現のスイッチON (AC174アプタザイム) およびOFF (PIF5, GuaM8HDVアプタザイム) を自在に制御でき、導入細胞からのベクター排除も可能である。このREVec遺伝子改変幹細胞を用いたex vivo遺伝子細胞治療プラットフォームは、その高い導入効率と発現持続性から、従来の細胞治療より大幅に上回る薬効と高い安全性が期待できる。

略歴

名前 小林 剛

所属 大阪大学 微生物病研究所

研究分野 分節型二本鎖RNAウイルス（レオウィルス科）における増殖機構の解明およびワクチンベクター開発



学歴

1996年 酪農学園大学 酪農学部 獣医学科 卒業

1996年 北海道大学大学院 医学研究科博士課程 入学

1999年 大阪大学大学院 医学系研究科博士課程 転学

2000年 大阪大学大学院 医学系研究科博士課程 修了

職歴

2000年 大阪大学 微生物病研究所 助手

2003年 Vanderbilt大学（米国テネシー州）博士研究員

2008年 京都大学 ウィルス研究所 助教

2012年 大阪大学 微生物病研究所 特任准教授

2016年 大阪大学 微生物病研究所 准教授

2020年 大阪大学 微生物病研究所 教授

最近の関連出版物・論文

Yamasaki M, Kanai Y, Wakamura Y, Kotaki T, Minami S, Nouda R, Nurdin JA, Kobayashi T. Characterization of Sialic Acid-Independent Simian Rotavirus Mutants in Viral Infection and Pathogenesis. *J. Virol.* 97:e01397-22. 2023.

Nurdin JA, Kotaki T, Kawagishi T, Sato S, Yamasaki M, Nouda R, Minami S, Kanai Y, Kobayashi T. N-Glycosylation of Rotavirus NSP4 Protein Affects Viral Replication and Pathogenesis. *J. Virol.* 97:e01861-22. 2023.

Nouda R, Minami S, Kanai Y, Kawagishi T, Jeffery JA, Yamasaki M, Kuwata R, Shimode H, Maeda K, Kobayashi T. Development of an entirely plasmid-based reverse genetics system for 12-segmented double-stranded RNA viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 118:e2105334118. 2021.

Kanai Y, Kawagishi T, Matsuura Y, Kobayashi T. *In vivo* live imaging of oncolytic mammalian orthoreovirus expressing NanoLuc luciferase in tumor xenograft mice. *J. Virol.* 93:e00401-19. 2019.

Kanai Y, Komoto S, Kawagishi T, Nouda R, Nagasawa N, Onishi M, Matsuura Y, Taniguchi K, Kobayashi T. Entirely plasmid-based reverse genetics system for rotaviruses. *Natl. Acad. Sci. U S A* 114:2349-2354. 2017.

分節型二本鎖RNA ウイルスベクターの開発研究における最近の進展

小林 剛

大阪大学 微生物病研究所

レオウイルス科に属するウイルスは9~12分節の二本鎖RNAをゲノムに持つ非エンベロープウイルスである。レオウイルス科ウイルスは哺乳類だけでなく、鳥類、魚類、節足動物、植物等に感染し、医学、獣医学、農学領域で重要なウイルスが多数含まれている。ヒトに感染するウイルスとして、哺乳類レオウイルス、ロタウイルス、コロラドダニ熱ウイルス等が知られている。哺乳類レオウイルスは10本の分節型二本鎖RNAゲノムを有し、ヒトを始め多くの哺乳類に感染するが、ほとんどが不顕性感染であり病原性は極めて低い。哺乳類レオウイルスは腫瘍細胞で選択的に効率よく増殖することから、がんウイルス療法を目的とした腫瘍溶解性ウイルスとしての研究が進められている。11分節二本鎖RNAゲノムを持つロタウイルスは乳幼児に下痢症を引き起こす。ロタウイルスについては、優れた経口生ワクチンが実用化されているが、いまだ世界で年間約15万人の乳幼児がロタウイルス感染によって亡くなっていることから、公衆衛生上極めて重要なウイルスである。

レオウイルス科においては多分節の二本鎖RNAという複雑なゲノム構造のため、他のウイルス科に比べ、これまで組換えウイルスの人工合成技術（リバースジェネティクス系）の開発が遅れていた。しかし、近年、哺乳類レオウイルスやロタウイルス等において、実用的なリバースジェネティクス系が確立され、ウイルス増殖機構の解明が進められるとともに、ウイルスベクターとしての開発研究も進められている。本講演では、我々の研究成果を中心に、二本鎖RNAウイルスベクターの開発研究における最近の展開を紹介する。

略歴

名前 岩崎 正治

所属 大阪大学微生物病研究所

研究分野 ウイルス学、免疫学、ワクチン学、RNA生物学



学歴

2010年 九州大学大学院医学系学府博士課程修了 博士(医学)取得 (MD-PhDコース)
(指導教官:柳雄介教授)

2012年 九州大学医学部医学科卒業 医師免許取得

職歴

2012年 米国スクリプス研究所 リサーチアソシエイト (メンター: Juan C. de la Torre教授)
第一三共生命科学研究振興財団 海外留学奨学研究助成 (2012-2014)
かなえ医薬振興財団 海外留学助成金 (2013-2014)
日本学術振興会 海外特別研究員 (2014-2016)

2015年 米国スクリプス研究所 シニアリサーチアソシエイト

2017年 米国スクリプス研究所 スタッフサイエンティスト

2018年 大阪大学微生物病研究所 特任准教授 (PI)

2021年 大阪大学感染症総合研究教育拠点 (CiDER) 兼任

2022年 大阪大学ワクチン開発拠点先端モダリティ・DDSセンター (CAMaD) 兼任

2022年 大阪大学先導的学際研究機構 (OTRI) RNAフロンティアサイエンス部門 兼任

最近の関連出版物・論文

M. Hashizume, A. Takashima, and **M. Iwasaki**

A small stem-loop-forming region within the 3'-UTR of a non-polyadenylated LCMV mRNA promotes translation.
J Biol Chem. 298:101576. **2022**

Y. Cai[#], **M. Iwasaki**[#] ([#], co-first authors), D. Motooka, D. X. Liu, S. Yú, K. Cooper, R. Hart, R. Adams, T. Burdette, E. N. Postnikova, J. Kurtz, M. St. Claire, C. Ye, J. H. Kuhn, L. Martínez-Sobrido, and J. C. de la Torre.

A Lassa Virus Live-Attenuated Vaccine Candidate Based on Rearrangement of the Intergenic Region.
mBio. 11:e00186-20. **2020**

M. Iwasaki, B. Cubitt, B. M. Sullivan, and J. C. de la Torre

The High Degree Of Sequence Plasticity Of The Arenavirus Non-Coding Intergenic Region (IGR) Enables The Use Of A Non-Viral Universal Synthetic IGR To Attenuate Arenaviruses.

J Virol. 90:3187-3197. **2016**

M. Iwasaki, N. Ngo, B. Cubitt, J. R. Teijaro, and J. C. de la Torre

General Molecular Strategy For Development Of Arenavirus Live-Attenuated Vaccines.

J Virol. 89:12166-12177. **2015**

M. Iwasaki, N. Ngo, B. Cubitt, and J. C. de la Torre

Efficient Interaction between Arenavirus Nucleoprotein (NP) and RNA-Dependent RNA Polymerase (L) Is Mediated by the Virus Nucleocapsid (NP-RNA) Template.

J Virol. 89:5734-5738. **2015**

外来遺伝子発現量を調節可能な新規LCMVベクター開発の分子基盤

岩崎 正治

大阪大学微生物病研究所

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) には長期間の細胞性免疫を誘導する特性があり、がん免疫療法のウイルスベクターとしての利用が期待されている。LCMVは、S、L分節の2つの一本鎖マイナス鎖RNAをゲノムにもつ。S分節にはヌcleoプロテイン (NP) 及び糖タンパク質前駆体 (GPC) 遺伝子が、L分節にはL及びZ遺伝子がコードされている。LCMV mRNA (vmRNA) は5'末端にcap構造を持つが、3'末端はポリA付加を受けない特徴がある。我々はLCMVの転写複製活性をレポーター遺伝子の発現量で評価するミニゲノムアッセイを用いた実験で、ウイルスゲノムの遺伝子間領域 (IGR) に由来する、ポリA付加を受けない3'-UTRがvmRNAの翻訳効率を制御することを発見した。さらにIGRを改変し、ウイルスタンパク質発現バランスを破綻させることでウイルスを弱毒化できることを明らかにした。vmRNAのUTR配列でZsGreen (ZsG) 遺伝子のORF配列を挟んだ配列をもつvmRNA様RNA (vImRNA) を用いたレポーターアッセイにより、翻訳効率の高いNP mRNAのORF直下のごく狭い領域 (proximal region, PR) の配列及びその2次構造が翻訳を促進することを明らかにした。ZsG遺伝子直下のPR配列を改変した組換えLCMVを作製したところ、vImRNAレポーターアッセイの結果と一致したZsG発現量の変化が見られた。すなわち、PR配列を改変することで、搭載した外来遺伝子発現量を調節できることが明らかになった。vmRNA翻訳制御メカニズムのより詳細な解明を進め、外来遺伝子発現量と弱毒化の程度を細かく調節 (fine-tuning) した安全で効果的な新規LCMVベクター開発の実現に貢献したい。

略歴

名前 大倉 喬

所属 国立感染症研究所ウイルス第三部

研究分野 分子ウイルス学



学歴

2002 私立 啓光学園高等学校 卒業

2002 北里大学 獣医畜産学部 動物資源科学科 入学

2006 北里大学 獣医畜産学部 動物資源科学科 卒業

2006 北里大学大学院 感染制御科学府 感染制御・免疫学履修コース 修士課程 入学

2008 北里大学大学院 感染制御科学府 感染制御・免疫学履修コース 修士課程 修了

2009 北里大学大学院 感染制御科学府 感染制御・免疫学履修コース 博士課程 入学

2012 北里大学大学院 感染制御科学府 感染制御・免疫学履修コース 博士課程 修了

職歴

2008 アイリスオーヤマ株式会社 入社 応用研究部 研究員

2009 アイリスオーヤマ株式会社 退職

2012 筑波大学 医学医療系 環境微生物学研究室 (竹内 薫准教授) 入職 博士研究員

2014 筑波大学 医学医療系 環境微生物学研究室 退職

2014 (米国) ノースウエスタン大学 分子生物科学部門/ハワード・ヒューズ医学研究所 (Robert Lamb教授) 入職 research associate

2018 (米国) ノースウエスタン大学 分子生物科学部門/ハワード・ヒューズ医学研究所 (Robert Lamb教授) 退職

2018 ワクチノーバ株式会社 入社 開発統括部 上級研究員-主任研究員

2021 ワクチノーバ株式会社 開発統括部 退職

2021 厚生労働省 国立感染症研究所 入職 主任研究官

最近の関連出版物・論文

Okura T*, Tahara M., Otsuki N., Sato M., Takeuchi K., Takeda M. Generation of a photocontrollable recombinant bovine parainfluenza virus type 3. *Microbiol Immunol.* (2023) Apr;67(4):204-209. doi: 10.1111/1348-0421.13052 Iwata-Yoshikawa N., Kakizaki M., Shiwa-Sudo N., Okura T., Tahara M., Fukushi S., Maeda K., Kawase M., Asanuma H., Tomita Y., Takayama I., Matsuyama S., Shirato K., Suzuki T., Nagata N., Takeda M. Essential role of TMPRSS2 in SARS-CoV-2 infection in murine airways. *Nat Commun* (2022) 13: 6100-022-33911-8. Okura T., Shirato K., Kakizaki M., Sugimoto S., Matsuyama S., Tanaka T., Kume Y., Chishiki M., Ono T., Moriishi K., Sonoyama M., Hosoya M., Hashimoto K., Maenaka K., Takeda M. Hydrophobic Alpha-Helical Short Peptides in Overlapping Reading Frames of the Coronavirus Genome. *Pathogens* (2022) 11: 877. doi: 10.3390/pathogens11080877. Okura T., Otomo H., Suzuki S., Ono Y., Taneno A., Oishi E. Efficacy of a novel in ovo-attenuated live vaccine and recombinant vaccine against a very virulent infectious bursal disease virus in chickens. *J Vet Med Sci* (2021) 83: 1686-1693. Okura T., Otomo H., Taneno A., Oishi E. Replication kinetics of turkey herpesvirus in lymphoid organs and feather follicle epithelium in chickens. *J Vet Med Sci* (2021) 83: 1582-1589. Okura T*, Taneno A., Oishi E. Cell-to-Cell Transmission of Turkey Herpesvirus in Chicken Embryo Cells via Tunneling Nanotubes. *Avian Dis* (2021) 65: 335-339.

光制御可能な組換え牛パラインフルエンザウイルス3型の作出

大倉 喬¹、田原 舞乃¹、大槻 紀之¹、佐藤 守俊^{2,3}、竹内 薫⁴、竹田 誠⁵

¹ 国立感染症研究所ウイルス第三部

² 東京大学大学院総合文化研究科

³ 神奈川県立産業技術総合研究所

⁴ 筑波大学医学医療系

⁵ 東京大学大学院医学系研究科

近年、光照射により細胞およびタンパク質のダイナミクスを制御するオプトジェネティクス（光遺伝学）分野が急速に発展している。光を吸収すると構造が変化する光受容体の改良型“マグネット”は、青色光照射時にヘテロ二量体を素早く形成し、照射停止時では解離する可逆的特性を有する。一方、SARS-CoV-2といったウイルス性呼吸器感染症や遺伝子治療研究分野において、牛パラインフルエンザウイルス3型（BPIV3）やセンダイウイルス（SeV）は、ワクチンベクター、遺伝子導入ウイルスベクターとして臨床応用での期待が高まっている。しかしながら、それらウイルスの増殖を厳密に制御することは困難であり、一旦感染が成立すると感染個体内で無秩序に増殖し、宿主の免疫応答によって排除されるまで体内に残存する。従って、ウイルスベクターとして接種した場合に、予期せぬ部位あるいはタイミングでウイルスが増殖し、副反応を呈することが懸念される。この問題を解決し、より高い安全性、利便性を担保するためBPIV3、SeVのポリメラーゼ内のヒンジ領域に光スイッチタンパク質であるマグネットを組込むことで、ウイルス遺伝子の発現や増殖のスイッチオン/オフが光照射によって可能かを検証した。当該領域を含む周辺の複数箇所にマグネット遺伝子をそれぞれ挿入したウイルスゲノムcDNA発現プラスミドを作製し、リバースジェネティクスにより組換えウイルスの回収を行ったところ、光応答性機能が付与された組換えウイルス（rBPIV3-L-Mag3）の作出に成功した。rBPIV3-L-Mag3は青色光照射によりウイルスタンパク質の発現およびウイルスの増殖のオン/オフができ、さらに青色光照射領域を限定することで局所的なウイルス増殖をもコントロールすることができた。すなわち、光照射によって必要な部位に必要な時にのみウイルスの増殖をコントロールすることができるため、今後の臨床応用での安全性が飛躍的に向上することが示された。



The Japanese Society for Genome Editing Joint Program

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 大森 司

所属 自治医科大学生化学講座
自治医科大学遺伝子治療研究センター

研究分野 遺伝子治療、ゲノム編集、血栓止血学、生化学



学歴

1994年 自治医科大学医学部卒業

職歴

1994年～2003年 山梨県内の病院・診療所に勤務

2004年 自治医科大学分子病態治療研究センター分子病態研究部 助教

2007年 同 講師

2015年 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門 准教授

2017年 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門 教授
現在に至る。

最近の関連出版物・論文

- 1) Hiramoto T, Kashiwakura Y, Hayakawa M, Baatartsogt N, Kamoshita N, Abe T, Inaba H, Nishimasu H, Uosaki H, Hanazono Y, Nureki O, and Ohmori T. PAM-flexible Cas9-mediated base editing of a hemophilia B mutation in induced pluripotent stem cells. *Communications Medicine* 2023;3:56. doi.org/10.1038/s43856-023-00286.
- 2) Baatartsogt N, Kashiwakura Y, Hiramoto T, Hayakawa M, Kamoshita N, and Ohmori T. Successful liver transduction by re-administration of different adeno-associated virus vector serotypes in mice. *J Gene Med.* 2023 Mar 27:e3505. doi: 10.1002/jgm.3505.
- 3) Kashiwakura Y., and Ohmori T. Genome editing of murine hepatocytes by AAV vector-mediated expression of Cas9 *n vivo*. *Methods in Molecular Biology* 2023;2637:195-211.
- 4) Kashiwakura Y, Baatartsogt N, Yamazaki S, Nagao A, Amano K, Suzuki N, Matsushita T, Sawada A, Higasa S, Yamasaki N, Fujii T, Ogura T, Takedani H, Taki M, Matsumoto T, Yamanouchi J, Sakai M, Nishikawa M, Yatomi Y, Yada K, Nogami K, Watano T, Hiramoto T, Hayakawa M, Kamoshita N, Kume A, Mizukami H, Ishikawa S, Sakata Y, and Ohmori, T. The seroprevalence of neutralizing antibodies against the adeno-associated virus capsids in Japanese hemophiliacs. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development* 2022;27:404-414. doi.org/10.1016/j.omtm.2022.10.014.
- 5) Reiss UM, Mahlangu J, Ohmori T, Ozalo MC, Srivastava A, Zhang L. Hemophilia gene therapy – Update on New country initiatives. *Haemophilia* 2022;28:61-67.

ゲノム編集を用いた遺伝子治療 ～ Overview

大森 司^{1,2}

¹ 自治医科大学化学講座

² 自治医科大学遺伝子治療研究センター

近年、先天性の難治性疾患に対する遺伝子治療が注目されている。国内においても、脊髄性筋萎縮症に対するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターをもちいた遺伝子治療薬が承認され、実臨床で利用されるようになった。また、先天性の血液凝固因子欠乏症である血友病に関しても、一部の AAV ベクターを利用した薬剤が EMA や FDA の承認を得た。現段階で、ヒト疾患治療に行われる遺伝子治療は、主に染色体 DNA はそのまま、機能的な遺伝子を発現させる手法で行われている。一方で、ゲノム編集は染色体ゲノムに直接的にアプローチする手法である。一度ゲノム編集した細胞は永続的に、その効果が持続することが期待される。2020 年のノーベル化学賞にも選ばれた CRISPR-Cas9 の開発が基礎研究だけでなく、ゲノム編集治療をも現実的なものにした。欧米では、Cas9 mRNA と sgRNA を包埋した脂質ナノ粒子を静脈投与することで肝臓のゲノム編集が可能になり、トランスサイレチンアミロイドーシスの患者において血中のトランスサイレチンレベルを 80% 以上も低下させた。また、 β ヘモグロビン異常症では、造血幹細胞において、胎児ヘモグロビンと成人ヘモグロビンのスイッチをになう *BCL11A* をゲノム編集で破壊することで、 β ヘモグロビン異常症患者においても胎児ヘモグロビンが発現し、貧血が改善したことが報告されている。その他にも塩基編集など、新しい技術の応用が日進月歩で進み、実際にヒト臨床試験に利用されてきている。本講演では、Overview としてゲノム編集治療の一般論を概説するとともに、自身の研究室の成果である血友病やプロテイン C 欠損症に対するゲノム編集について最近のデータを紹介したい。

略歴

名前 鈴木 啓一郎

所属 大阪大学

研究分野 ゲノム編集



学歴

2000年3月 埼玉大学理学部生体制御学科卒業

2002年3月 埼玉大学大学院理工学研究科生体制御学専攻修士課程修了

2005年3月 埼玉大学大学院理工学研究科生物環境科学専攻博士課程修了

職歴

2006-2009 埼玉医科大学医学部ゲノム医学研究センター・特任研究員

2009-2010 埼玉医科大学医学部ゲノム医学研究センター・助教

2010-2016 Salk Institute for Biological Studies・Research associate

2016-2017 Salk Institute for Biological Studies・Senior Research associate

2017-現在 大阪大学高等共創研究院・特命教授

最近の関連出版物・論文

Hatanaka, F., **Suzuki, K.**, Shojima, K., Yu J., Takahashi, Y., Sakamoto, A., Prieto, J., Shokhirev, M., Esteban, C.R., Nun?ez-Delicado, E. and Izpisua Belmonte J.C. Therapeutic strategy for spinal muscular atrophy by combining gene supplementation and genome editing. *bioRxiv* 2023 Kuwayama, R., **Suzuki, K.**, Nakamura, J., Aizawa, E., Yoshioka, Y., Ikawa, M., Nabatame, S., Inoue, K.I., Shimmyo, Y., Ozono, K., Kinoshita, T. and Murakami, Y. Establishment of mouse model of inherited PIGO deficiency and therapeutic potential of AAV-based gene therapy. *Nat Commun* 13, Article number: 3107 (2022) **Suzuki, K.**[#] Yamamoto, M., Hernandez-Benitez, R., Li, Z., Wei, C., Soligalla, R.D., Aizawa, E., Hatanaka, F., Kurita, M., Reddy, P., Ocampo, A., Hishida, T., Sakurai, M., Nemeth, A.N., Nuñez Delicado, E., Campistol, J.M., Magistretti, P., Guillen, P., Esteban, C.R., Gong, J., Yuan, Y., Gu, Y., Liu, G.H., López-Otín, C., Wu, J., Zhang, K. and Izpisua Belmonte, J.C. Precise *in vivo* genome editing via single homology arm donor mediated intron-targeting gene integration for genetic disease correction. *Cell Res* 29, 804–819 (2019)[#]Corresponding author **Suzuki, K.**[#] and Izpisua Belmonte, J.C. *In vivo* genome editing via the HITI method as a tool for gene therapy. *J Hum Genet* 63, 157-164 (2018)[#]Corresponding author **Suzuki, K.**, Tsunekawa, Y., Hernandez-Benitez, R., Wu, J., Zhu, J., Kim, J. E., Hatanaka, F., Yamamoto, M., Araoka, T., Li, Z., Kurita, M., Hishida, T., Li, M., Aizawa, E., Guo, S., Chen, S., Goebel, A., Soligalla, R.D., Qu, J., Jiang, T., Fu, X., Jafari, M., Esteban, C.R., Berggren, T., Lajara, J., Nuñez, E., Guillen, P., Campistol, J.M., Matsuzaki, F., Liu, G.H., Magistretti, P., Zhang, K., Callaway, E.M., Zhang, K. and Izpisua Belmonte, J.C. *In vivo* genome editing via CRISPR-Cas9 mediated homology-independent targeted integration. *Nature* 540, 144-149 (2016)

生体内遺伝子ノックイン技術を用いた新規遺伝子治療法の開発

鈴木 啓一郎

大阪大学

突然変異が原因となり生体機能に多大な影響を及ぼすがんや遺伝病など遺伝子疾患は¹⁰⁰⁰⁰種以上存在すると推測されているが、現状で有効な治療法は少なく、対症療法が主である。近年の生命科学技術の発展により自由に細胞を加工することが可能となり、これまで成し得なかった創薬開発や根治療法の確立が期待されている。CRISPR-Cas⁹を始めとする人工DNAヌクレアーゼの登場により、ゲノムの標的遺伝子を操作する『ゲノム編集』技術が急速に進歩し、多種多様な細胞・生物種のゲノム配列を選択的に改変することが可能となった。我々のグループは、生体内の組織で標的ゲノム配列に外来DNAを挿入する遺伝子ノックイン技術HITI (Homology-Independent Targeted Integration) 法やSATI (intercellular linearized Single homology Arm donor mediated intron-Targeting Integration) 法を開発し、従来法では不可能であった生きたままのマウスの脳や筋肉を含む様々な組織・器官で標的配列を自由に組み込む事を可能とした。その応用例として、網膜色素変性症モデルラットの網膜内で疾患の原因遺伝子変異をHITI法により直接修復を行なった結果、視覚障害の部分的な回復が見られた。また、SATI法により全身でゲノム編集治療を行うことで、優性突然変異を有する早老症モデルマウスで見られる老化現象の緩和や、短縮した寿命を延長することに成功した。最近では、従来の遺伝子補完治療の効率上昇とゲノム編集治療による持続性の双方の獲得を狙い、遺伝子補完治療法と生体内遺伝子ノックイン法を組み合わせたHITI-TE法やGene-Duet法の開発に成功し、より長期的に有効な遺伝子治療法となる可能性を示した。

略歴

名前 北畠 康司

所属 大阪大学大学院医学系研究科 小児科

研究分野 小児科学、幹細胞医学、ゲノム編集、ダウン症候群



学歴

1995年 大阪大学医学部医学科卒業
2004年 京都大学大学院医学研究科博士課程修了

職歴

1995年 大阪大学医学部附属病院小児科
2004年 ジョンズホプキンス大学神経科研究員
2009年 大阪大学大学院医学系研究科小児科特任助教
科学技術振興機構さきがけ研究員（兼業）
2020年 大阪大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター准教授

最近の関連出版物・論文

Kawatani K et al. *Commun Biol* 14:4(1)730 (2021)
Hirata K et al. *Sci Rep* 10(1):14047 (2020)
Nawa N et al. *PLOS ONE* 14(7):e0219592 (2019)
Banno K et al. *Cell Rep* 15:1228-41(2016)

ゲノム編集をもちいたダウン症候群の遺伝子治療法の開発

北畠 康司

大阪大学大学院医学系研究科 小児科

ゲノム編集技術の発明は生命科学に新たな波をもたらし、さまざまな難治性疾患の病態解明と治療法開発につながるのではないかと期待されている。ダウン症候群は700人に1人と高い頻度で発症し知的障害や認知症などの中枢神経症状が問題となるがその治療法はまだない。私たちはダウン症特異的iPS細胞にゲノム編集技術を組み合わせることで、その神経病態の発症メカニズムについて研究を行ってきた。1人のダウン症新生児の臍帯血から樹立した21トリソミーiPS細胞をもとに、21番染色体そのものの選択的除去、ダウン症重要領域（Down syndrome critical region）とされる4Mb配列の欠失、*XIST*をもちいた可逆的な21番染色体の不活化誘導など多様なゲノム編集を施すことにより、遺伝子背景（genetic background）を共有したisogenicな細胞パネルを樹立した。これらを神経・アストロサイトへと分化誘導することで、ダウン症神経前駆細胞の増殖低下、神経分化異常、アストロサイトの増殖亢進、炎症反応の異常活性化など多様な病的状態をコピー数依存的に引き起こす重要遺伝子として、*DYRK1A*を同定することができた。さらに新規のゲノム編集技術であるCRISPR-Cas3に注目し、アレル特異的SNPと組み合わせることで、*DYRK1A*の発現量制御を行うことに成功している。現在、デリバリーシステムの開発によりマウスの脳室内投与を進め、ダウン症候群の知的障害に対する初めての遺伝子治療法の開発を目指している。

略歴

名前 堀田 秋津

所属 京都大学 iPS細胞研究所

研究分野 幹細胞遺伝子工学

学歴
2006年 名古屋大学 工学研究科 生物機能工学専攻 工学博士（遺伝子工学）

**職歴**

2006-2010年 トロント小児病院 博士研究員

2010-2016年 京都大学 iPS細胞研究所 (CiRA) 初期化機構研究部門 特定拠点助教

2010-2014年 JST さきがけ研究員 兼任

2016-2022年 京都大学 iPS細胞研究所 (CiRA) 未来生命科学開拓部門 特定拠点講師

2016年-現在 T-CiRAプログラム 堀田プロジェクト プロジェクトリーダー 兼任

2019-2021年 文部科学省 ライフサイエンス課 生命倫理・安全対策室 学術調査官 兼任

2022年-現在 京都大学 iPS細胞研究所 (CiRA) 臨床応用研究部門 准教授（現職）

最近の関連出版物・論文

Delivery of CRISPR-Cas tools for in vivo genome editing therapy: Trends and challenges Taha EA, Lee J, Hotta A. J Control Release. 2022 Feb;342:345-361. doi: 10.1016/j.jconrel.2022.01.013.

Low immunogenicity of LNP allows repeated administrations of CRISPR-Cas9 mRNA into skeletal muscle in mice Kenjo E, Hozumi H, Makita Y, Iwabuchi KA, Fujimoto N, Matsumoto S, Kimura M, Amano Y, Ifuku M, Naoe Y, Inukai N, Hotta A. Nat Commun. 2021 Dec 8;12(1):7101. doi: 10.1038/s41467-021-26714-w.

Efficient ssODN-Mediated Targeting by Avoiding Cellular Inhibitory RNAs through Precomplexed CRISPR-Cas9/sgRNA Ribonucleoprotein Kagita A, Lung MSY, Xu H, Kita Y, Sasakawa N, Iguchi T, Ono M, Wang XH, Gee P, Hotta A. Stem Cell Reports. 2021 Apr 13;16(4):985-996. doi: 10.1016/j.stemcr.2021.02.013.

Extracellular nanovesicles for packaging of CRISPR-Cas9 protein and sgRNA to induce therapeutic exon skipping Gee P, Lung MSY, Okuzaki Y, Sasakawa N, Iguchi T, Makita Y, Hozumi H, Miura Y, Yang LF, Iwasaki M, Wang XH, Waller MA, Shirai N, Abe YO, Fujita Y, Watanabe K, Kagita A, Iwabuchi KA, Yasuda M, Xu H, Noda T, Komano J, Sakurai H, Inukai N, Hotta A. Nat Commun. 2020 Mar 13;11(1):1334. doi: 10.1038/s41467-020-14957-y.

Targeted Disruption of HLA Genes via CRISPR-Cas9 Generates iPSCs with Enhanced Immune Compatibility Xu H, Wang B, Ono M, Kagita A, Fujii K, Sasakawa N, Ueda T, Gee P, Nishikawa M, Nomura M, Kitaoka F, Takahashi T, Okita K, Yoshida Y, Kaneko S, Hotta A. Cell Stem Cell. 2019 Apr 4;24(4):566-578.e7. doi: 10.1016/j.stem.2019.02.005.

CRISPR-Cas3 による巨大DNA 欠失誘導とDMD 適応変異の拡張

堀田 秋津、北 悠人

京都大学 iPS細胞研究所

ゲノム編集技術を用いた遺伝子変異治療法を開発するためには、ゲノム編集酵素の特性に合わせた変異修復手法と標的組織への送達がカギとなる。我々はこれまで、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を標的疾患として、CRISPR-Cas9を用いた微小塩基欠失誘導を介した単一エクソンのスキッピングにより、ジストロフィン遺伝子のタンパク質読み枠を修復する手法を開発して来た。但し、この方法では最も変異タイプの多いエクソン(51, 53, 45など)を標的としたとしても、8-13%程度のDMD患者にしか適応することが出来なかった。一方で、アンチセンス核酸領域では、エクソン45から55まで複数のエクソンを同時にスキッピングさせることで、様々な変異パターンを持つ60%以上のDMD患者に適応可能なマルチエクソンスキッピング法が報告されているものの、ゲノム編集でこれを実現するには、340 kb以上の領域に点在するエクソン45-55領域の欠失を誘導する必要があった。そこで我々は、長鎖切断が得意なCRISPR-Cas3に着目し、これをペアで使用することで、340 kbを超えるゲノムDNAの切断誘導が可能であることを見出した。様々な変異パターンを持つ3名のDMD患者由来のiPS細胞を用いて検証した他、オフターゲット変異の解析も実施した。単一のゲノム編集方法で、多くの患者に適応可能となれば、患者自身のiPS細胞を介したEx vivo遺伝子治療戦略がより現実的なものとなる。ゲノム編集技術を用いた治療展開の展望と課題について議論できれば幸いである。

To develop gene therapies using genome editing technology, it is essential to have mutation repair methods that are tailored to the characteristics of genome editing enzymes and target diseases. In Duchenne muscular dystrophy (DMD), we have previously developed a method to repair the protein reading frame of the dystrophin gene by single exon skipping via induction of small deletions using CRISPR-Cas9. However, this method could only be applied to about 8-13% of DMD patients, even when targeting the most frequently mutated exons (e.g., 51, 53, 45). On the other hand, a multi-exon skipping method that can be applied to more than 60% of DMD patients with various mutation patterns by simultaneously skipping multiple exons from exons 45 to 55 has been reported in the antisense nucleic acid field. However, to achieve this by genome editing, it was necessary to induce deletions in the exons 45-55 genomic region, which is more than 340 kb in length. Therefore, we focused on the CRISPR-Cas3 system, which is specialized in long-range deletion. By using the Cas3 in pairs, we were able to successfully induce gigantic deletion in genomic DNA exceeding 340 kb. We validated this "dual-Cas3" system in iPS cells derived from three DMD patients with various mutation patterns, and also validated off-target mutations by whole genome sequencing. Since our single genome editing method can be adapted to many patients, ex vivo gene therapy strategies via the patient's own iPS cells will become more feasible. I would like to discuss the prospects and challenges of therapeutic development using genome editing technology.



The Japanese Society of Child Neurology Joint Program

Abstract & Curriculum Vitae

略歴

名前 加藤 光広

所属 昭和大学医学部小児科学講座
昭和大学病院てんかん診療センター

研究分野 小児神経学、脳形成障害、てんかん性脳症、介在ニューロン病、睡眠障害



学歴

1988年 山形大学医学部卒

職歴

1988年 山形大学医学部 小児科
1990年 松戸市立病院 新生児科
1991年 鳥取大学医学部 脳神経小児科
1992年 北九州市立総合療育センター 小児科
1993年 国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第2部
1995年 国立療養所米沢病院
1997年 山形大学医学部 小児科
2001年 シカゴ大学人類遺伝学講座
2003年 山形大学医学部 小児科 復職
2015年 昭和大学医学部 小児科

最近の関連出版物・論文

Fujita A, Kato M, Suganao H, et al. An integrated genetic analysis of epileptogenic brain malformed lesions. *Acta Neuropathol Commun* 2023;11(1): 33.

Kato M, Kada A, Shiraishi H, et al. Sirolimus for epileptic seizures associated with focal cortical dysplasia type II. *Ann Clin Transl Neurol* 2022, DOI: 10.1002/acn3.51505.

Miyatake S*, Kato M*, Kumamoto T, et al. De novo *ATPIA3* variants cause polymicrogyria. *Sci Adv*. 2021, Mar, 7(13): doi:10.1126/sciadv.abd2368. (*co-first author)

Aoto K, Kato M, Akita T, et al. *ATP6V0A1* encoding the $\alpha 1$ -subunit of the V0 domain of vacuolar H(+)-ATPases is essential for brain development in humans and mice. *Nat Commun* 2021;12(1): 2107.

Kato M. *STXBPI* Encephalopathy. In: Shorvon S, Guerrini R, Schachter S, Trinka E eds, *The Causes of Epilepsy*. 2nd ed. United Kingdom: Cambridge University Press:202-205, 2019

Future perspectives on gene therapy for genetic epilepsy

Mitsuhiro Kato^{1,2}

¹ Department of Pediatrics, Showa University School of Medicine

² Epilepsy Medical Center, Showa University Hospital

Epilepsies are self-limited or pharmacoresponsive in most. Unfortunately, some are intractable, causing cognitive and motor deficits. Many of them develop in childhood, and are called “developmental and epileptic encephalopathy” (DEE). DEE includes unique epilepsy syndromes such as Ohtahara syndrome, West syndrome, and Dravet syndrome, as well as clinically unclassified epilepsies. A causative gene can be identified in about half of DEEs, regardless of clinical diagnosis. One-hundred ten causative genes for DEE are registered in OMIM. In addition, more than 200 genes have been identified in association with epilepsy. Along with expectations for gene therapy, clinical trials of drug repositioning are conducted as disease-modifying therapy (DMT), such as mTOR inhibitors to reduce the frequency of epileptic seizures. Focal cortical dysplasia type II, which shows specific histopathological findings, has increased mTOR activity, as well as tuberous sclerosis complex, due to a gain-of-function mutation in the *MTOR* gene itself. We conducted an investigator-initiated clinical trial with the mTOR inhibitor, sirolimus, for FCD type II and demonstrated a reduction in epileptic seizures over time. Epilepsies to which gene therapy could be applied are rare diseases. To develop gene therapy, patient registry is another key issue to succeed clinical trials.

CURRICULUM VITAE

Name Shinji Saitoh

Affiliation Department of Pediatrics and Neonatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Field of Research Pediatric neurology, genetics

**Education**

MD (1985) and PhD (1993) from Hokkaido University, Sapporo, Japan

Professional Experience

1985, Pediatrician at Hokkaido University and related hospitals, Sapporo, Japan
 1991, Research fellow at Nagasaki University, Nagasaki, Japan
 1992, Post doctoral fellow at Florida University, Florida, USA
 1993, Research associate at Case Western Reserve University, Ohio, USA
 1995, Lecturer at Hokkaido University, Sapporo, Japan
 2011, Professor at Nagoya City University, Nagoya, Japan

Recent Related Publications (5 Papers)

- 1) Otsuji S, Nishio Y, Tsujita M, Rio M, Huber C, Antón-Plágaro C, Mizuno S, Kawano Y, Miyatake S, Simon M, van Binsbergen E, van Jaarsveld RH, Matsumoto N, Cormier-Daire V, J Cullen P, **Saitoh S**, Kato K. Clinical diversity and molecular mechanism of VPS35L-associated Ritscher-Schinzel syndrome. *J Med Genet.* 2023;60:359-367.
- 2) Fujimoto M, Nakamura Y, Iwaki T, Sato E, Ieda D, Hattori A, Shiraki A, Mizuno S, **Saitoh S**. Angelman syndrome with mosaic paternal uniparental disomy suggestive of mitotic nondisjunction. *J Hum Genet.* 2023;68:87-90.
- 3) Negishi Y, Kurosawa K, Takano K, Matsubara K, Nishiyama T, **Saitoh S**. A nationwide survey of Schaaf-Yang syndrome in Japan. *J Hum Genet.* 2022;67:735-738.
- 4) Yamaguchi N, Suzuki A, Yoshida A, Tanaka T, Aoyama K, Oishi H, Hara Y, Ogi T, Amano I, Kameo S, Koibuchi N, Shibata Y, Ugawa S, Mizuno H, **Saitoh S**. The iodide transporter Slc26a7 impacts thyroid function more strongly than Slc26a4 in mice. *Sci Rep.* 2022;12:11259.
- 5) Kato K, Miya F, Oka Y, Mizuno S, **Saitoh S**. A novel missense variant in CUL3 shows altered binding ability to BTB-adaptor proteins leading to diverse phenotypes of CUL3-related disorders. *J Hum Genet.* 2021;66:491-498.

Gene therapy for intellectual disability, autism and imprinting disorders

Shinji Saitoh

Department of Pediatrics and Neonatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Recent advancements in genetic technologies, especially next generation sequencing, have unveiled underpinnings of intellectual disability and autism. In Japan, Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD) since 2015 has analyzed more than 10,000 samples using exome sequencing. Diagnostic yield of IRUD is reported to be approximately 30-40%. A recent study by Miyake et al. reported a 16.3% of diagnostic yield by exome sequencing for autism. These breakthroughs enable identification of genetic causes in a substantial number of patients with these conditions.

The intricate functionality of brain contributes to the complexity of intellectual disability and autism, resulting in a large number of causative genes. This gene diversity spans neuronal development, gene regulation, structure, enzyme and metabolism, causing a challenging landscape for therapeutic development. Notably, diagnoses often occur after abnormal brain structure and neuronal network are established, posing hurdles for effective interventions. “Gene targeted therapies” including gene therapies, gene editing, and antisense oligonucleotide (ASO) therapies, hold promise in treatment of these conditions. Enzyme replacement therapies effectively address metabolic-related intellectual disability and autism, providing a potential starting point. Imprinting disorders, like Angelman syndrome (AS), offers models for ASO or gene therapies development. ASO therapy for AS advances to human trial, while gene therapies remain in animal studies partly due to narrow therapeutic windows.

In summary, advance of genetic technologies reveals genetic basis of intellectual disability and autism. The intricate functionality and diverse causative genes challenge therapeutic development. Promising gene-targeted strategies, exemplified by ASO in AS, offer potential paths forward. Overcoming challenges is crucial for advancing therapies to benefit patients with these conditions.

CURRICULUM VITAE

Name Hirofumi Komaki

Affiliation National Center of Neurology and Psychiatry

Field of Research Pediatrics, Child Neurology, Myology



Education

Doctor of Medicine, 1990, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

Professional Experience

Chief Pediatrician, Department of Child Neurology, NCNP (2010-2018)

Director, Muscular Disease Center, NCNP (2009-present).

Director, Department of Clinical Research Promotion, NCNP (2015-2021)

Director General, Translational Medical Center, NCNP (2018-present) Divisional Director, Clinical Research & Education Promotion Division, NCNP (2021-present)

Director, Department of Child Neurology, NCNP (2023-present)

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Ishizuka T, **Komaki H**, Asahina Y, Nakamura H, Motohashi N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Yonee C, Maruyama S, Hida E, Aoki Y. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-089/NCNP-02 for skipping of exon 44 in patients with Duchenne muscular dystrophy: Study protocol for a phase I/II clinical trial. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2023;43(2):277-286.
2. **Komaki H**, Takeshima Y, Matsumura T, Ozasa S, Funato M, Takeshita E, Iwata Y(7), Yajima H, Egawa Y, Toramoto T, Tajima M, Takeda S. Viltolarsen in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients: A phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(12):2393-2408.
3. **Komaki H**, Maegaki Y, Matsumura T, Shiraishi K, Awano H, Nakamura A, Kinoshita S, Ogata K, Ishigaki K, Saitoh S, Funato M, Kuru S, Nakayama T, Iwata Y, Yajima H, Takeda S. Early phase 2 trial of TAS-205 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(2):181-190.
4. **Komaki H**, Nagata T, Saito T, Masuda S, Takeshita E, Sasaki M, Tachimori H, Nakamura H, Aoki Y, Takeda S. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med.* 2018;10(437):eaan0713. Shimizu R, Ohata M, Tachimori H, Kimura E, Harada Y, Takeshita E, Tamaura A, Takeda S,
5. **Komaki H**. Expectations and anxieties of Duchenne muscular dystrophy patients and their families during the first-in-human clinical trial of NS-065/NCNP-01. *Brain Dev.* 2020 Apr;42(4):348-356.

Gene therapy for hereditary neuromuscular diseases

Hirofumi Komaki

National Center of Neurology and Psychiatry

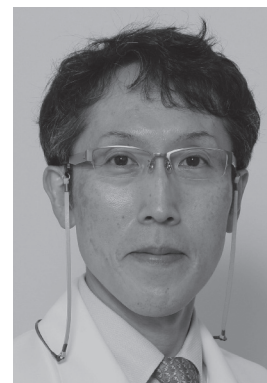
Active clinical development is underway for childhood-onset neuromuscular diseases (NMDs), mainly Duchenne muscular dystrophy (DMD) and spinal muscular atrophy (SMA). Some drugs for NMDs have received pharmaceutical approval. It is expected that the prognosis of these diseases, which had a poor prognosis, can be greatly changed by using new drugs based on standard care and treatment. Many childhood-onset NMDs are diseases caused by single-gene mutations, and the development of drugs that act on genes using gene therapy using low-molecular-weight compounds, antisense oligonucleotides, and gene therapy have received the most attention. Gene therapies with adeno-associated virus (AAV) vectors for NMDs have made great progress, and the onasemnogen abeparvovec-xioi is used worldwide. Clinical trials using five different AAVs for Duchenne muscular dystrophy, congenital myopathy (MTM1), and Pompe disease are currently underway. These clinical trials highlight the specific challenges associated with gene therapy for NMDs and the associated toxicities posed by these inherent challenges. Understanding both the determinants of efficacy and the mechanisms of toxicity is important for the development of gene therapy for NMD patients.

略歴

名前 村松 一洋

所属 自治医科大学

研究分野 小児科学、神経科学、遺伝子治療



学歴

1998年： 群馬大学医学部卒業

2004-2008年： 群馬大学大学院医学系研究科博士課程

2005-2008年： 日本学術振興会特別研究員DC1

職歴

1998-2003年： 日本赤十字社医療センター小児科・新生児未熟児科

2003-2004年： 群馬大学附属病院小児科

2008-2009年： 群馬大学附属病院小児科

2009-2015年： 群馬大学大学院医学系研究科助教

2011-2013年： Dept. Neurology, Philipps University Marburg, Germany

2015-2016年： 群馬大学大学院医学系研究科部内講師

2016-2017年： 群馬大学附属病院講師

2017-2022年： 自治医科大学小児科・遺伝子治療研究センター准教授

2023年-現在： 自治医科大学小児科教授

最近の関連出版物・論文

Koshu K, Muramatsu K, Maru T, et al. Neonatal onset of Niemann-Pick disease type C in a patient with cholesterol re-accumulation in the transplanted liver and inflammatory bowel disease. *Brain Dev.* 2023;S0387-7604(23)00107-9. doi: 10.1016/j.braindev.2023.06.006.

Hayashi, Y, Sehara, Y, Watano, R, et al. Therapeutic strategy for Fabry disease by intravenous administration of adeno-associated virus 2 or 9 in α -galactosidase A-deficient mice. *J Gene Med.* 2023;e3560. doi:10.1002/jgm.3560

Tsukida K, Muramatsu SI, Osaka H, Yamagata T and Muramatsu K. *WDR45* variants cause ferrous iron loss due to impaired ferritinophagy associated with NCOA4 and WIPI4 reduction. *Brain Commun.* 2022;4(6),fcac304,https://doi.org/10.1093/braincomms/fcac304.

Muramatsu K, Muramatsu SI. Adeno-associated virus vector-based gene therapies for pediatric diseases. *Pediatr Neonatol.* 2022; S1875-9572(22)00213-3. doi: 10.1016/j.pedneo.2022.09.004.

Kurokawa Y, Osaka H, Kouga T, Jimbo E, Muramatsu K, Nakamura S, Takayanagi Y, Onaka T, Muramatsu SI, Yamagata T. Gene Therapy in a Mouse Model of Niemann-Pick Disease Type C1. *Hum Gene Ther.* 2021;32(11-12):589-598. doi: 10.1089/hum.2020.175.

Development for Gene therapy of Neurodegenerative Diseases

Kazuhiro Muramatsu

Jichi Medical University

Recently, the development of gene therapy has advanced dramatically targeting for the hereditary rare and intractable diseases, especially in the neuronal and metabolic diseases. Notably, for spinal muscular atrophy (SMA), gene therapy has transitioned beyond mere conceptualization to practical implementation, emerging as a central treatment strategy due to its marked efficacy. In 2022, we initiated clinical trials for aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) deficiency, building on comprehensive clinical research. Furthermore, promising outcomes have been attained in nonclinical studies concerning glucose transporter 1 (GLUT1) deficiency, GM₂-gangliosidosis, and Niemann-Pick disease type C, setting the stage for upcoming clinical trials.

Conversely, global progress in gene therapy development for pediatric neurodegenerative diseases remains limited worldwide. We have categorized autophagy-related disorders as conditions directly involving autophagy dysfunction, encompassing SENDA/BPAN (*WDR45* variant) and Vici syndrome (*EPG5* variant). SENDA/BPAN is in the spectrum of Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA), characterized by brain iron deposition, notably in the substantia nigra and globus pallidus. In 2013, we identified it as an autophagy dysfunction-related disorder. However, the relationship between autophagy dysfunction and abnormal iron metabolism remained unexplored. The role of WIPI4 remains enigmatic and under investigation. Our research demonstrates that the *WDR45* variant leads to impaired utilization of ferrous iron (active iron) due to impaired degradation of ferric iron (stored iron). Additionally, we've evidenced the efficacy of AAV vector-mediated gene transfer in vitro in mitigating these phenotypes.

Nevertheless, early diagnosis remains a predominant challenge in addressing such disorders, given that commencing treatment during initial stages optimizes therapeutic outcomes. Our endeavors encompass not solely the advancement of disease treatments, but also the development of screening tests to facilitate early diagnosis.

As of now, no curative treatment exists for SENDA/BPAN. With the invaluable support of AMED and other institutions, we are conducting preclinical investigations to address these pressing concerns. This involves unraveling the pathophysiology using patient-derived cells and animal models. During this symposium, we will present the outcomes of these dedicated efforts.

略歴

名前

中山 東城

所属

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 脳神経病態学分野
核酸・ペプチド創薬治療研究センター (TIDE)



Establishing a Model for N-of-1 Oligonucleotide Therapeutics: Prospect and Challenge in Japan

Tojo Nakayama^{1,2}, Hiroya Kuwahara¹, Tetsuya Nagata^{1,2}, Takanori Yokota¹,

¹ Neurology and Neurological Science Tokyo Medical and Dental University

² Nucleotide and Peptide Drug Discovery Center (TIDE)

Individualized medicine (N-of-1 therapeutics) using established technology behind oligonucleotides has been advancing rapidly in the United States for rare diseases with severe prognoses. Most of these are individuals with congenital disorders caused by genetic abnormalities with no effective treatment. In Japan, through genome analysis technology, the national project Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD) has significantly contributed to the genetic diagnosis of thousands of undiagnosed patients with rare diseases. On the other hand, the N-of-1 therapeutics requires coordination between patients, researchers, healthcare professionals, industry, and regulatory authorities. Regulatory models and social consensus are also needed to be implemented in Japan. Considering these circumstances, we launched a drug discovery center (TIDE Center) to centralize the nucleotide drug development process from basic research through clinical trials. We further organized a multidisciplinary research team to aim for the N-of-1 drug development as a research project, which was newly supported by the national AMED this year. The research team gathered essential experts to proceed with N-of-1 drug development and establish a system from disease and patient registry to candidate nucleic acid drug derivation in one go. Our goal is to achieve the first case of nucleic acid treatment for patients with rare genetic diseases in Japan. We hope to create a national infrastructure and a model for individualized nucleic acid drug development to ultimately contribute to the medical and social needs of the rare disease community.



Genetic Counseling in Gene Therapy

Abstract & Curriculum Vitae

Genetic counseling and gene therapy

略歴

名前 中國 正祥

所属 国立成育医療研究センター 遺伝子細胞治療推進センター
臨床研究センター

研究分野 Genetic counseling, Pediatric drug development and
pharmacovigilance



学歴

2014 M.P.H, CGC Department of Medical Ethics/Medical Genetics, Kyoto University

2012 B.S.Pharm Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, Fukuyama University

職歴

2019-Present Gene & Cell Therapy Promotion Center, National Center for Child Health and Development

2018-Present Department of Multicenter Collaboration, Center for Clinical Research, National Center for Child Health and Development

2016-2018 Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development

2014-2016 Department of Pharmaceuticals, National Center for Child Health and Development

最近の関連出版物・論文

1. Nakakuni M, Onodera M. National Survey on Clinical Practice of Gene Therapy using Adeno-associated Virus Vector -The Actual Status and Hurdle on Clinical Practice in Gene therapy for Spinal Muscular Atrophy-. Jpn J Clin Pharmacol Ther. 2022; 53(6): 217-224.
2. Nakakuni M, Katsumoto S, Akiyama N, Kuriyama T. Review on Role of Genetic Counseling in Clinical Trials for Drug Development. Jpn J Genet Counsel. 2021; 42(1)93-101.

遺伝子細胞治療の課題に対する遺伝カウンセリング

中國 正祥

国立成育医療研究センター 遺伝子細胞治療推進センター 臨床研究センター

近年、がんや遺伝性疾患等、幅広い疾患領域に対し遺伝子細胞治療が開発され、患者はもとより一般市民もこの新規治療に対する関心や期待を高めている。また、昨今、国内に新たに導入された新生児スクリーニングは、これまで治療法がないとされた難治性の遺伝性疾患に対し発症前の遺伝子治療の実施を可能としている。

遺伝カウンセリングはこれまで遺伝子診断における患者や家族への情報提供や心理社会的支援を基盤とする医療行為を提供してきたが、このような診断法・治療法の台頭は遺伝性疾患に対する遺伝カウンセリングの在り方を変え、今まさに遺伝子治療特有の課題に対しても対応することが求められている。具体的には、遺伝学的検査前の治療情報の提供と意思決定支援、乳児・小児期に遺伝子治療を受けた患者の成長発達に伴う変化や成人期での次世代への遺伝的影響等の懸念がある。このような課題に対し遺伝カウンセリングで如何に患者家族に情報提供を行い、支援していくかを検討すべき時期に来ていると思われる。

本セッションでは、現状の遺伝カウンセリングや遺伝医療の動向を概説し、遺伝カウンセリングにおける遺伝子治療特有の課題の整理とその対応策検討に向けた議論をしたい。

略 歴

名前 渡邊 淳

所属 金沢大学附属病院 遺伝診療部・遺伝医療支援センター

研究分野 遺伝子診療, 遺伝カウンセリング, 遺伝医学教育

**学歴**

1988年 日本医科大学医学部卒
1996年 日本医科大学大学院修了(医学博士)

職歴

1988年 日本医科大学小児科
1996年 米国NIH客員研究員
1998年 日本医科大学分子遺伝学
2011年 准教授
2013年 日本医科大学附属病院遺伝診療科部長
2014年 日本医科大学附属病院ゲノム先端医療部部長
2018年10月より金沢大学附属病院遺伝診療部特任教授・部長(専任)
2020年11月 同病院遺伝医療支援センターセンター長
2021年4月 福井大学客員教授. 現在に至る.

最近の関連出版物・論文

「診療・研究にダイレクトにつながる遺伝医学」, 「基礎から学ぶ遺伝看護学」

遺伝カウンセリング・遺伝／ゲノム医療の現状と動向

渡邊 淳

金沢大学附属病院 遺伝診療部・遺伝医療支援センター

原因遺伝子が判明し疾患の発症メカニズムが明らかになる単一遺伝子疾患が増えてきた。これらの疾患において治療は基づく原因に広がり、遺伝子細胞治療もその1つになってきた。遺伝学的検査で疾患の確定診断が得られた場合には、当該疾患の経過や予後、療養とともに治療法に関する情報を十分に提供することと、2022年に改定されたものの医療者も関わる日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に追記された。

遺伝／ゲノム医療の対象である小児期に発症する単一遺伝子疾患の多くは潜性（劣性）遺伝形式をとるため、患児の両親にとっては、診断前後からさまざまなことに直面する。まず、家系内に患児以外の罹患者はいないことがほとんどであり、「どうして」といった戸惑いが生じる。治療薬がある疾患においては、両親の受容も踏まえながら早急に治療に繋げたるように治療開始や、同じ疾患でも複数の治療薬がある場合には選択・変更のタイミングも考慮が必要である。治療開始が小児期でも、児の成長に伴い疾患の患児本人の受容等への移行期（トラジション）やきょうだいへの対応も求められる。また、治療薬があり児で治療の経験がある両親にとって、リスクがある次子への対応も異なってくる。近年、新生児マススクリーニング検査が拡大され、治療薬がある疾患が対象となってきた。新生児マススクリーニングで診断された時期は、未病期（発症前）であり同胞に罹患者もいないため、重症度の予測が難しい場合もある。治療薬開始のタイミングの予測は発症時とは異なり新たな視点が必要となる。両親・患児や家族にとって、この長期的でさまざまな状況の受け入れにおいてサポート・支援は医療の1つとして求められ、遺伝カウンセリングはその1つである。

本講演では、遺伝カウンセリング・遺伝／ゲノム医療の現状と最近の動向を紹介し、遺伝子細胞治療における課題を検討する機会としたい。

略歴

名前 土屋 実央

所属 アミカス・セラピューティクス株式会社

研究分野 臨床遺伝、遺伝カウンセリング、パブリックヘルス



学歴

2021年1月 京都大学大学院医学系研究科 社会健康医学系専攻 医療倫理学
博士（社会健康医学）学位取得

2014年3月 京都大学大学院医学系研究科 社会健康医学系専攻
医療倫理学・遺伝医療学（遺伝カウンセラーコース）修了

職歴

2018年7月-現在 アミカス・セラピューティクス株式会社 メディカルアフェアーズ部

2014年4月-2018年7月 サノフィ株式会社 サノフィジェンザイム メディカル本部

最近の関連出版物・論文

Inagaki N, Tsuchiya M, Otani K, Nakayama T. Shared decision making between patients with Fabry disease and physicians in Japan: An online survey. *Mol Genet Metab Rep.* 2022;32:100899.

治療可能な遺伝性疾患における遺伝カウンセリングの役割と課題：製薬企業所属 認定遺伝カウンセラーの視点から

土屋 実央

アミカス・セラピューティクス株式会社

製薬企業では、自社医薬品の対象領域・疾患に対する情報提供、疾患啓発、エビデンス創出等による早期診断および治療への貢献を目指した活動を行っている。対象が遺伝性疾患となる場合には、早期診断・治療に寄与出来るかという観点に加えて、不変性、共有性、予測性といった遺伝情報の特性を考慮しながら、患者家族が適切なタイミングで医学的・心理社会的側面双方からの支援が受けられるよう、活動内容を検討する必要がある。そのためにはまず、対象の疾患における診療の中で遺伝カウンセリングがどのような役割を担うべきかを理解することが重要となる。遺伝子治療における遺伝カウンセリングの役割については現在のところ十分に研究が実施されていない状況のため、患者家族の遺伝子治療に対する心理社会的課題および情報ニーズを把握することを目的として探索的に文献調査を行ったところ、治療方針の選択の際に患者が懸念する項目として、遺伝子治療の長期的な安全性やリスクに関する不確実性（Uncertainty）が挙げられた。この点については遺伝カウンセリングを通じた情報提供が有用となる可能性があり、遺伝子治療における遺伝カウンセリング特有の役割になりうると考えられた。

本パートでは、治療可能な遺伝性疾患に対して、製薬企業所属の認定遺伝カウンセラーとして実施してきたこれまでの活動内容を概観しながら、遺伝子治療における遺伝カウンセリングで想定される役割および今後の課題について、前述の文献調査の結果等を踏まえながら考察する。

略歴

名前 奥山 虎之

所属 埼玉医科大学 ゲノム医療科

研究分野 先天代謝異常症、小児科学、分子遺伝学



学歴

1983年 3月 慶應義塾大学医学部卒業

職歴

1983年 5月 慶應義塾大学病院小児科研修医

1988年 1月 慶應義塾大学医学部小児科助手

1990年 10月 セントルイス大学分子生物学教室研究員

1994年 1月 ワシントン大学医学部血液腫瘍科リサーチアソシエート

1995年 6月 国立小児病院（現国立成育医療研究センター）小児科医長
先天異常研究部奇形研究室長を併任

2002年 3月 国立成育医療研究センター遺伝診療科医長

2007年 8月 国立成育医療研究センター臨床検査部統括部長

2011年 2月 東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座 客員教授

2017年 4月 東京医科歯科大学医学部 臨床教授（現在に至る）

2020年 3月 日本先天代謝異常学会 理事長

2022年 4月 埼玉医科大学 ゲノム医療科 特任教授（現在に至る）

2022年 4月 国立成育医療研究センター遺伝診療センター医師（現在に至る）

最近の関連出版物・論文

Seo JH, Kosuga M, Hamazaki T, Shintaku H, Okuyama T. Impact of intracerebroventricular enzyme replacement therapy in patients with neuronopathic mucopolysaccharidosis type II. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2021 Feb 27;21:67-75.

Okuyama T, Eto Y, Sakai N, Nakamura K, Yamamoto T, Yamaoka M, Ikeda T, So S, Tanizawa K, Sonoda H, Sato Y. A Phase 2/3 Trial of Pabinafusp Alfa, IDS Fused with Anti-Human Transferrin Receptor Antibody, Targeting Neurodegeneration in MPS-II. *Mol Ther.* 2021 Feb 3;29(2):671-679.

Kosuga M, Mashima R, Hirakiyama A, Fuji N, Kumagai T, Seo JH, Nikaido M, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Okuyama T (C). Molecular diagnosis of 65 families with mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome) characterized by 16 novel mutations in the IDS gene: Genetic, pathological, and structural studies on iduronate-2-sulfatase. *Mol Genet Metab.* 2016 Jul;118(3):190-7.

Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T. Japan Elaprase((R)) Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab.* 2010 Jan;99(1):18-25.

新生児スクリーニングにおける早期診断・介入について

奥山 虎之

埼玉医科大学 ゲノム医療科

希少遺伝性疾患の治療法の進歩は著しい。酵素補充療法、造血幹細胞移植などが有効な疾患は多数ある。これに遺伝子治療が加わることにより、治療できる疾患は今後ますます増加すると考えられる。しかし、多くの疾患に共通しているのは、どんなに優れた治療法でも、発症早期あるいは発症前に導入しないと、十分な治療効果は得られないという現実である。我々は、発症前に当該疾患を有する患者を診断するために、有償で希望者に提供するオプションスクリーニングを2019年に開始した。対象疾患は、脊髄性筋萎縮症 (SMA)、原発性免疫不全症候群 (SCID)、副腎白質ジストロフィー (ALD)、ムコ多糖症I型 (MPSI)、MPSII、MPSIVA、MPSVI、ファブリー病、ポンペ病である。すでに、SMAでは、遺伝子治療が標準治療となっているが、その他の疾患も、遺伝子治療の開発が進んでいる。これまでに約8万人の新生児をスクリーニングし、精査ののち、11人の発症前患者 (ファブリー病6、MPSII 2、ポンペ病2、SMA1) を発見し、専門医による適切なフォローを行っている。オプションスクリーニングの対象疾患は、すべて単一遺伝性疾患である。対象疾患の一つであるファブリー病は、X連鎖性疾患であり、女性保因者の発症頻度も高い。オプションスクリーニングで、男児のファブリー病が診断された場合母親が未発症保因者の場合が多い。新生児スクリーニングが、母親の早期診断・発症前診断につながることもあり、そのような家族解析においては、適切な遺伝カウンセリングが不可欠である。



Symposium 1

Abstract & Curriculum Vitae

Cancer Gene Therapy

略歴

名前 中沢 洋三
所属 信州大学医学部小児医学教室
研究分野 CAR-T細胞療法、小児血液・腫瘍学



学歴

平成 8 年 旭川医科大学医学部医学科 卒業
平成 15 年 信州大学大学院医学研究科 修了 (医学博士)

職歴

平成 8 年 信州大学医学部附属病院小児科
平成 16 年 信州大学医学部小児医学講座・助手
平成 19 年 ベイラー医科大学細胞・遺伝子治療センター
平成 23 年 信州大学医学部附属病院小児科・助教
平成 26 年 信州大学医学部附属病院小児科・講師
平成 28 年 信州大学医学部小児医学教室・教授
平成 31 年 信州大学医学部遺伝子・細胞治療研究開発センター (CARS)・センター長 (兼任)

最近の関連出版物・論文

Yagyu S, Nakazawa Y. piggyBac-transposon-mediated CAR-T cells for the treatment of hematological and solid malignancies. *Int J Clin Oncol*. 2023 Jun;28(6):736-747. Yagyu S, Mochizuki H, Yamashima K, Kubo H, Saito S, Tanaka M, Sakamoto K, Shimoi A, Nakazawa Y. Lymphodepleted non-human primate model for the assessment of acute on-target and off-tumor toxicity of human CAR-T cells. *Clin Transl Immunology*. 2021;10(6):e1291. Hasegawa A, Saito S, Narimatsu S, Nakano S, Nagai M, Ohnota H, Inada Y, Morokawa H, Nakashima I, Morita D, Ide Y, Matsuda K, Tashiro H, Yagyu S, Tanaka M, Nakazawa Y. Mutated GM-CSF-based CAR T-cells targeting CD116/CD131 complexes exhibit enhanced anti-tumor effects against acute myeloid leukemia. *Clin Transl Immunology*. 2021;10(5):e1282. Nakamura K, Yagyu S, Hirota S, Tomida A, Kondo M, Shigeura T, Hasegawa A, Tanaka M, Nakazawa Y. Autologous antigen-presenting cells efficiently expand piggyBac transposon CAR-T cells with predominant memory phenotype. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021;21:315-324. Morokawa H, Yagyu S, Hasegawa A, Tanaka M, Saito S, Mochizuki H, Sakamoto K, Shimoi A, Nakazawa Y. Autologous non-human primate model for safety assessment of piggyBac transposon-mediated chimeric antigen receptor T cells on granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor. *Clin Transl Immunology*. 2020;9(11):e120.

CAR-T細胞のアカデミア創薬の現状と課題

中沢 洋三

信州大学医学部小児医学教室

米国で開発された血液がんを対象とするCD19 CAR-T細胞とBCMA CAR-T細胞の5製品が国内で承認され、血液がんの治療戦略は大きく変革した。今後は固形がんを対象とするCAR-T細胞および他家製品の登場が期待される。演者らの研究開発グループは、piggyBacトランスポゾンを用いた非ウイルスCAR-T細胞の製造基盤とリガンド型CARの設計技術を組み合わせた、日本発のCAR-T細胞の開発を行っている。現在、信州大学病院では骨髄系腫瘍を対象とするGMR CAR-T細胞と肉腫・婦人科腫瘍を対象とするHER2 CAR-T細胞の医師主導治験と治験製品製造を行っている。さらに、固形がんを対象とするEPHB4 CAR-T細胞の医師主導治験の開始が見込まれており、同院では治験製品製造の準備が進んでいる。これら3件の医師主導治験はいずれもAMED事業の支援を受けて臨床開発が進められてきた。一方、承認取得のために必須となる製薬企業との連携は難航している。

本シンポジウムでは、演者らが日本発のCAR-T細胞の実用化を目指し、シーズ探索からfirst-in-human医師主導治験までワンストップで行ってきたアカデミア創薬の経験を基に、日本におけるCAR-T細胞の臨床開発の課題を提起したい。

略 歴

名前 辻 真博
所属 科学技術振興機構 研究開発戦略センター

遺伝子治療、再生医療の新展開

辻 真博

科学技術振興機構 研究開発戦略センター

20世紀後半以降のライフサイエンス研究の急速な進展が、今日に至る医療産業の発展の原動力となっていることは論を待たない。世界の医薬品市場は、直近30年間で5倍以上の規模に拡大し、2030年までを視野に入れると、2010年以降に次々と登場した新しいタイプのモダリティの存在感の高まりが目覚ましい。わが国はその潮流に対応できておらず、危機的状況にある。本講演では、それらライフサイエンス研究、および多様化する創薬モダリティ研究開発について、遺伝子治療・再生医療を中心に、これまでの歴史と現在の状況、今後の展望を申し上げたい。

略歴

名前 柳生 茂希

所属 (株) A-SEEDS
信州大学 学術研究・産学官連携推進機構

研究分野 遺伝子細胞治療、小児科学



学歴

2000年 3月 京都府立医科大学医学部医学科卒業
2009年 3月 京都府立医科大学大学院医学研究科卒業 博士（医学）取得

職歴

2000年 4月 京都府立医科大学附属病院研修医
2001年 4月 大津市民病院小児科
2003年 4月 京都市西京区役所健康づくり推進課（京都市立病院 小児科 兼務）
2005年 4月 京都府立医科大学附属病院
2009年 4月 京都府立与謝の海病院小児科
2011年 4月 京都府立医科大学小児科学教室 助教
2013年 2月 米国 ベイラー医科大学 博士研究員
2015年 8月 京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学 助教
2018年 4月 京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学 講師（学内）
2022年 4月 信州大学 学術研究・産学官連携推進機構 教授（特定雇用）

最近の関連出版物・論文

1. **Yagyu S***, Nakazawa Y. piggyBac-transposon-mediated CAR-T cells for the treatment of hematological and solid malignancies. *Int J Clin Oncol*. <https://doi.org/10.1007/s10147-023-02319-9>, 2023
2. Suematsu M, **Yagyu S***, Yoshida H, Osone S, Nakazawa Y, Sugita K, Imamura T, Iehara T. Targeting FLT3-specific chimeric antigen receptor T cells for acute lymphoblastic leukemia with KMT2A rearrangement. *Cancer Immunol Immunother*. doi: 10.1007/s00262-022-03303-4. 2022
3. Suematsu M, **Yagyu S***, Nagao N, Kubota S, Shimizu Y, Tanaka M, Nakazawa Y, Imamura T. PiggyBac Transposon-Mediated CD19 Chimeric Antigen Receptor-T Cells Derived From CD45RA-Positive Peripheral Blood Mononuclear Cells Possess Potent and Sustained Antileukemic Function. *Front. Immunol*. 13:770132. doi: 10.3389/fimmu.2022.770132, 2022
4. Tomida A, **Yagyu S***, Nakamura K, Kubo H, Yamashima K, Nakazawa Y, Hosoi H, Iehara T. Inhibition of MEK pathway enhances the antitumor efficacy of chimeric antigen receptor T cells against neuroblastoma. *Cancer Sci* 112(10):4026-4036. 2021
5. **Yagyu S***, Mochizuki H, Yamashima K, Kubo H, Saito S, Tanaka M, Sakamoto K, Shimoi A, Nakazawa Y. Lymphodepleted non-human primate model for the assessment of acute on-target and off-target toxicity of human CAR-T cells. *Clin Transl Immunol* 10(6):e1291, 2021

CAR-T細胞療法の社会実装を目指したアカデミアとバイオテックの連携 - 日本発CAR-T細胞の非臨床開発から治験に向けた取り組み

柳生 茂希^{1,2}

¹ (株) A-SEEDS

² 信州大学 学術研究・産学官連携推進機構

日本におけるCAR-T細胞の開発は、長く欧米の後塵を拝してきたが、現在は大手製薬企業やバイオベンチャーが競ってCAR-T細胞開発に参入してきており、近い将来、わが国発の新規CAR-T細胞の製品化も期待される。われわれは、アカデミア研究者として非ウイルス遺伝子改変CAR-T細胞の研究開発を進め、非ウイルス遺伝子改変法を用いた独自の細胞製造技術を開発し、血液腫瘍、固形腫瘍に対する高い薬効を証明してきた。一方で、多くのアカデミア研究者は、CAR-T細胞製剤の臨床効果を証明するための早期相試験構築や、治験に供する製品製造における規制対応などの経験に乏しく、治験製品の非臨床開発が臨床実装に向けた大きなハードルとなる。さらに、CAR-T細胞製品開発におけるコストや技術面での課題は大きく、企業の参入リスクは高いことから、アカデミアでの早期相開発が余儀なくされることも多く、ここにわが国のCAR-T細胞療法の臨床実装におけるValley of Deathが存在すると考える。

CAR-T細胞開発では、通常の医薬品開発とは異なり、原料である末梢血単核球のみならず製造過程によっても製品の品質に高い不均質性が生じることから、最終製品に対する試験のみではなく、製品の製造における管理を含めた品質管理戦略の構築が重要となる。また、開発品の安全性を担保しつつ、Mode of Action、薬効を証明するための治験デザイン構築も必須となる。そのため、開発者であるアカデミア研究者、細胞加工製品の非臨床開発者、治験デザインを構築する臨床開発者が互いに理解し、密に連携することが、CAR-T細胞の臨床実装に向けた第一歩となる。

本講演では、アカデミア発のCAR-T細胞の臨床実装における課題を整理するとともに、非ウイルス遺伝子改変CAR-T細胞の臨床実装に向けて、アカデミアと大学発バイオテックがどのように連携し、治験製品製造と医師主導治験を構築したかについて、われわれの経験を紹介する。

略歴

名前 川真田 伸

所属 株式会社サイト・ファクト

研究分野

京都大学から医学病理系（血液内科）博士号の学位を取得、1998年からNovartis社の幹細胞研究、Systemix社及びスタンフォード大学医学部の博士研究員として、ヒト白血病マウスモデルの開発とそのモデルを用いた遺伝子細胞治療開発に従事。2002年（公財）先端医療振興財団（現在の（公財）神戸医療産業都市推進機構：FBRI）に移り、幹細胞分化モデルの研究、治療用細胞の安全性評価、治療用細胞の開発と製造に従事。2015-2022年に細胞療法開発センター長に就任。細胞療法研究開発センターではNovartis社のCAR T製剤の技術移管の後、治験製造（2019年）及び商用製造（2020年～）を実施。2023年に株式会社サイト・ファクトの代表取締役就任。同社では細胞製造業を競争力ある事業として成立させるため自動細胞製造システムの開発とPhama4.0を目指した細胞製造における管理ソフトの研究開発を行っている。



CAR-T 製剤開発における CDMO の役割

川真田 伸

株式会社サイト・ファクト

CAR-T 製剤の開発が大学や研究機関などの Academia 発の Bioventure (BV) が主体で進められる場合において、CDMO は以下の点に留意しながら治験薬製造を進めることが求められている。

薬事開発における出口の設定の確認：どの段階で開発プロジェクトを製薬企業に渡すのか、ゴールの設定の確認 BV 本体と CRO および CDMO/CMO の役割分担の明確化と確認 前臨床試験の確認、製造プロトコル、評価系の設定、CQA の設定の確認 GMP 製造とのギャップ分析 の実施 プロセス開発の要否確認と、必要な場合その範囲とゴールの設定とプロセス開発の実施

このように CAR-T 製剤の開発はまだまだ発展途上にあるため、CDMO は BV にある既存の SOP に沿った治験薬製造に特化・傾注するだけでなく、BV と伴走しながら、プロジェクト開発全体の範囲と役割を明確する能力が求められる。何よりも BV と各開発段階における作業区分におけるタイムラインと内容の設定と、ゴールを明示することで商用製造に向けた道筋を BV と共有する役割を CDMO が担う必要があること本講演で紹介する。



Symposium 2

Abstract & Curriculum Vitae

Onvolytic virus and cell-based therapy

略歴

名前 北村 洋平

所属 慶應義塾大学医学部脳神経外科

研究分野 脳腫瘍の集学的治療

**学歴**

2004年 慶應義塾大学医学部卒業
2014年 博士（医学・慶應義塾大学）

職歴

2012年 日野市立病院脳神経外科医員
2013年 栃木県済生会宇都宮病院脳神経外科医員
2016年 ハーバード大学医学部マサチューセッツ総合病院放射線科リサーチフェロー
2017年 ハーバード大学医学部ブリガム&ウィミンズ病院脳神経外科リサーチフェロー
2019年 東京都済生会中央病院脳神経外科医員
2022年 慶應義塾大学医学部脳神経外科助教

最近の関連出版物・論文

Moleirinho S, Kitamura Y, Borges PSGN, Auduong S, Kilic S, Deng D, Kanaya N, Kozono D, Zhou J, Gray JJ, Revai-Lechtich E, Zhu Y, Shah K. Fate and Efficacy of Engineered Allogeneic Stem Cells Targeting Cell Death and Proliferation Pathways in Primary and Brain Metastatic Lung Cancer. *Stem Cells Transl Med.* 2023 Jul 14;12(7):444-458.

Kanaya N, Kitamura Y, Lopez Vazquez M, Franco A, Chen KS, van Schaik TA, Farzani TA, Borges P, Ichinose T, Seddiq W, Kuroda S, Boland G, Jahan N, Fisher D, Wakimoto H, Shah K. Gene-edited and -engineered stem cell platform drives immunotherapy for brain metastatic melanomas. *Sci Transl Med.* 2023 May 31;15(698):eade8732.

Kitamura Y, Kanaya N, Moleirinho S, Du W, Reinshagen C, Attia N, Bronisz A, Revai Lechtich E, Sasaki H, Mora JL, Brastianos PK, Falcone JL, Hofer AM, Franco A, Shah K. Anti-EGFR VHH-armed death receptor ligand-engineered allogeneic stem cells have therapeutic efficacy in diverse brain metastatic breast cancers. *Sci Adv.* 2021 Mar 3;7(10):eabe8671.

癌性髄膜炎に対する幹細胞治療

北村 洋平¹、金谷 信彦^{2,3}、Susana Moleirinho³、田村 亮太¹、植田 良¹、佐々木 光^{1,4}、Khalid Shah³、戸田 正博¹

¹慶應義塾大学医学部脳神経外科

²岡山大学医学部消化管外科

³ブリガム&ウィミンズ病院脳神経外科

⁴東京歯科大学市川総合病院脳神経外科

固形癌の癌性髄膜炎は、全癌患者の約5%に発生し、潜在的には年間5万人が新たに罹患していると考えらる、非常に予後不良な病態である。全脳・脊髄照射や抗癌剤の髄腔内投与が治療選択肢となりうるが、効果は限定的であり、癌性髄膜炎に対する新たな治療戦略の開発は急務である。我々は、幹細胞を使用した治療が、中枢神経系に転移しやすい癌種である、乳癌、肺癌、悪性黒色腫による癌性髄膜炎に対する効果的な治療選択肢となる可能性があることを報告してきた。癌性髄膜炎に対する幹細胞を利用した治療戦略の最大の利点は、癌性髄膜炎が脳脊髄液腔という隔てるものがない一つの連続した空間の中に癌細胞が広がっている状態であり、幹細胞の腫瘍向性や遊走性といった特徴が発揮されやすいという点や、薬剤の髄腔内注射を繰り返し行うことは患者にとって侵襲的な処置となりうるが、幹細胞は1回の投与によって脊髄腔内に治療物質を持続的に分泌することができ、局所での高い治療物質の濃度を維持できる点などである。我々は、上皮成長因子受容体 (EGFR) と細胞死受容体 (DR) を同時に標的とするタンパク質を分泌する幹細胞が、トリプルネガティブ乳癌と非小細胞肺癌の癌性髄膜炎に対して有効であることを報告し、さらに、腫瘍溶解性ヘルペスウイルス、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、免疫チェックポイント受容体 PD-1 に対する一本鎖可変領域断片 (scFv) を分泌する幹細胞が悪性黒色腫の癌性髄膜炎に有効であることを報告してきた。幹細胞療法は将来的に癌性髄膜炎の新たな治療選択肢となる可能性があると考えられ、ここに報告する。

略歴

名前 金谷 信彦

所属 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器外科学
ハーバード大学医学部大学院
ブリガム・アンド・ウィメンズ病院 脳神経外科

研究分野 Oncolytic virus, Gene edited and engineered cell based therapy, Gastroenterological surgery, Cancer, Brain metastasis



学歴

M.D., Ph.D.

2015–2020 Graduate Student, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Science, Okayama, Japan

2004–2010 Department of Medicine, Okayama University, Okayama, Japan

2000–2003 Okayama Prefectural Kurashiki Kojoike High School, Kurashiki, Japan

職歴

2023.4- Clinical Fellow, Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

2019-2023.3 Research fellow, Center for Stem and Translational Immunotherapy (CSTI), Department of Neurosurgery, Brigham and Women's hospital, Harvard medical school, Boston, MA, USA

2018–2019 Clinical Fellow, Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

2017–2018 Director, Medical Affairs Division, Okayama Juvenile Training School, Okayama, Japan

2015–2016 Clinical Fellow, Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

2012–2015 Senior Resident, Department of Surgery, Iwakuni Clinical Center, Iwakuni, Japan

2011–2012 Junior Resident, Iwakuni Clinical Center, Iwakuni, Japan

2010–2011 Junior Resident, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

最近の関連出版物・論文

Kanaya N, Kitamura Y, Lopez Vazquez M, Franco A, Chen KS, van Schaik TA, Farzani TA, Borges P, Ichinose T, Seddiq W, Kuroda S, Boland G, Jahan N, Fisher D, Wakimoto H, Shah K. Gene-edited and -engineered stem cell platform drives immunotherapy for brain metastatic melanomas. *Science Translational Medicine*. 15(698), 2023. Kitamura Y, **Kanaya N**, Moleirinho S, Du W, Reinshagen C, Attia N, Bronisz A, Revai Lechtich E, Sasaki H, Mora JL, Brastianos PK, Falcone JL, Hofer AM, Franco A, Shah K. Anti-EGFR VHH-armed death receptor ligand-engineered allogeneic stem cells have therapeutic efficacy in diverse brain metastatic breast cancers. *Science Advances*. 7(10), 2021. **Kanaya N**, Kuroda S, Kakiuchi Y, Kumon K, Tsumura T, Hashimoto M, Morihiro T, Kubota T, Aoyama K, Kikuchi S, Nishizaki M, Kagawa S, Tazawa H, Mizuguchi H, Urata Y, Fujiwara T. Immune Modulation by Telomerase-Specific Oncolytic Adenovirus Synergistically Enhances Antitumor Efficacy with Anti-PD1 Antibody. *Molecular Therapy*. 28(3):794-804. 2020. **Kanaya N**, Kuroda S, Kakiuchi Y, Takeda S, Kikuchi S, Noma K, Yoshida R, Umeda Y, Teraishi F, Nishizaki M, Kagawa S, Fujiwara T. Surgical technique of suprapancreatic D2 lymphadenectomy focusing on the posterior hepatic plexus for advanced gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg*. 407(2):871-877. 2022. Shirakawa Y, Tazawa H, Tanabe S, **Kanaya N**, Noma K, Koujima T, Kashima H, Kato T, Kuroda S, Kikuchi S, Kagawa S, Katsui K, Kanazawa S, Urata Y, Fujiwara T. Phase I dose-escalation study of endoscopic intratumoral injection of OBP-301 (Telomelysin) with radiotherapy in oesophageal cancer patients unfit for standard treatments. *Eur J Cancer*. 153:98-108. 2021.

Gene edited and engineered stem cell based virotherapy for melanoma leptomeningeal metastasis

Nobuhiko Kanaya^{1,2}, Shinji Kuroda¹, Toshiyoshi Fujiwara¹, Khalid Shah²

¹ Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences

² Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard medical School

Advanced melanoma has a high propensity to metastasize to the brain. Leptomeningeal metastasis (LM) is one of the severe clinical conditions in brain metastasis (BM) and results in poor prognosis. Recently, phase II clinical studies with anti-PD-1 antibody were performed, however the clinical outcome of patients with LM is very limited due to poor penetration of anti-PD-1 antibodies into the cerebrospinal fluid. Therefore, there is an urgent need to develop novel therapies for LM. Oncolytic herpes simplex virus (oHSV) that selectively replicate in tumor cells and induce an antitumor effect via oncolysis and production of neoantigens are among the recently approved therapies for patients with melanoma in the US. However, virus neutralization, and inefficient extravasation are the major barriers to the effective systemic delivery of oHSV to target brain metastatic lesions. To counter these problems, we have previously shown that oHSV-loaded mesenchymal stem cells (SC) home extensively to multiple metastatic tumor deposits in the brain, deliver oHSV locally, and have therapeutic efficacy in melanoma BM mouse models. Although promising, however, the immunosuppressive tumor microenvironment of BM which prevents efficient anti-tumor immune responses is yet to be explored. We first established and characterized PTEN deficient melanoma LM mouse models and show that LM tumors are more immunosuppressive compared to primary melanoma and therefore mimics the clinical settings. Next, we developed a multimodal approach by creating tumor-tropic allogeneic twin (T) SCs: one for producing oHSV and the other one engineered with knockout of Nectin-1 (N1) receptor (N1KO) to acquire resistance to oHSV and releasing immunomodulators. Utilizing mouse models of brain metastatic PTEN deficient melanomas, we showed that the twin SCs releasing oHSV and GM-CSF (TSC-G) exhibited greater therapeutic efficacy when compared with the existing oncolytic viral therapeutic approaches. Importantly, locoregional delivery of SC-oHSV with SC^{N1KO} releasing both GM-CSF and single-chain variable fragment (scFv) anti-PD-1 (TSC-G/P) had therapeutic efficacy in both syngeneic and patient derived-humanized LM mouse models via the activation of antitumor immune response. Our findings provide a novel allogeneic SC based immunotherapy with oHSV against melanomas and a roadmap towards clinical application particularly for LM.

略歴

名前 櫻井 文教

所属 大阪大学大学院薬学研究科

研究分野 遺伝子治療学、薬物動態学、分子生物学



学歴

1996年3月 京都大学薬学部製薬化学科卒業

1998年3月 京都大学大学院薬学研究科博士前期課程修了

2001年3月 京都大学大学院薬学研究科博士後期課程修了 (博士 (薬学))

職歴

2001年4月 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 賃金職員

2001年10月 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 リサーチレジデント

2003年4月 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 研究員

2005年4月 独立行政法人医薬基盤研究所 遺伝子導入制御プロジェクト 研究員

この間2009年1~12月 テキサス大学ダラス校サウスウエスタンメディカルセンターに博士研究員として留学 (Dr. David Corey)

2010年4月 大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野 准教授 (現在に至る)

2013年4月 大阪大学大学院薬学研究科核酸医薬規制評価科学分野・准教授 (兼任) (2017年3月末まで)

2014年8月 文部科学省 学術調査官 (非常勤) (2016年7月末まで)

最近の関連出版物・論文

1. Eguchi M[#], Hirata S[#], Ishigami S, Shuwari N, Tachibana M, Tanuma M, Kasai A, Hashimoto H, Ogawara K, Mizuguchi H, **Sakurai F***. Pre-treatment of oncolytic reovirus improves tumor accumulation and intratumoral distribution of PEG-liposomes. *J. Control Rel.*, 354: 35-44. (2023)
2. Ono R, Nishimae F, Wakida T, **Sakurai F***, Mizuguchi H*. Effects of pre-existing anti-adenovirus antibodies on transgene expression levels and therapeutic efficacies of arming oncolytic adenovirus. *Sci Rep.* 12: 21560. (2022)
3. Ono R, Takayama K, **Sakurai F***, Mizuguchi H*. Efficient antitumor effects of a novel oncolytic adenovirus fully composed of species B adenovirus serotype 35. *Mol Ther Oncolytics* 20: 399-409. (2021)
4. Shimizu K[#], **Sakurai F****, Iizuka S, Ono R, Tsukamoto T, Nishimae F, Nakamura SI, Nishinaka T, Terada T, Fujio Y, Mizuguchi H*. Adenovirus vector-induced IL-6 promotes leaky adenoviral gene expression, leading to acute hepatotoxicity. *J Immunol.* 206: 410-421. (2021)
5. Hotani T, Mizuguchi H, **Sakurai F***. Systemically administered reovirus-induced downregulation of hypoxia inducible factor-1 α in subcutaneous tumors. *Mol Ther Oncolytics.* 12: 162-172. (2018)

35型アデノウイルスを基盤とした新規腫瘍溶解性ウイルスの開発

櫻井 文教¹、小野 良輔¹、水口 裕之^{1,2,3,4,5}

¹ 大阪大学大学院薬学研究科

² 医薬健栄研

³ 大阪大学MEIセンター

⁴ 大阪大学先導

⁵ 大阪大学CiDER

現在、一般に使用されている腫瘍溶解性アデノウイルス (OAd) は、C群に属する5型アデノウイルス (Ad5) を基本骨格としている。しかし5型腫瘍溶解性アデノウイルス (OAd5) に関しては、成人の多くがAd5に対する中和抗体を有すること、Ad5の感染受容体であるCoxsackievirus-adenovirus receptor (CAR) が悪性度の高いがん細胞で発現低下していることなどの問題点が指摘されている。そこで我々は、B群に属する35型アデノウイルス (Ad35) に着目した。Ad35は、成人における中和抗体保持率が20%以下と低く、また感染受容体としてCD46を認識する。CD46はヒトでは赤血球を除くすべての細胞で発現しており、特に悪性度の高いがん細胞で高発現している。従ってAd35は、OAd5の問題点を克服可能な基本的特性を有していると考え、Ad35を基盤とした腫瘍溶解性アデノウイルス (OAd35) を開発した (Ono *et al.*, *Mol. Ther. Oncolytics*, 2021)。OAd35は各種ヒトがん細胞株に対し、OAd5と同等以上の殺細胞効果を示した。さらにOAd35は、ヒトがん細胞株を皮下移植した担癌マウスに対してもOAd5と同等以上の腫瘍増殖抑制効果を示した。しかしながら、OAd35投与後の腫瘍内のウイルスゲノム量を測定したところ、OAd5と比較し、1000倍以上低いものであった。従って、ウイルス増殖以外の要因がOAd35の抗腫瘍効果に寄与していると考え、免疫細胞の関与を検討したところ、OAd35投与群ではNK細胞の腫瘍内浸潤ならびに活性化が顕著に誘導されていた。本講演では、OAd35の抗腫瘍効果におけるNK細胞の関与についてさらに紹介する予定である。

略歴

名前 中村 貴史

所属 鳥取大学医学部医学科 ゲノム再生医学講座 ゲノム医療学分野



研究分野 His research interests include 1) oncolytic virotherapy, 2) viral vector development, 3) cancer immunotherapy, 4) viral entry and fusion for infection, and 5) tumor biology. He has published over 50 articles including major academic journals such as Nature Biotechnology, Science Translational Medicine, Molecular Therapy, Cancer Research and Clinical Cancer Research, and has registered over 15 patents. Recently, he has been focusing on translating his next-generation oncolytic vaccinia viral vectors into clinic.

学歴

He graduated School of Life Science (1997) and Graduate School of Medical Sciences (2001) at Tottori University, and was received his PhD from Tottori University (2001).

職歴

He joined Professor Stephen J. Russell laboratory in molecular medicine program at Mayo Clinic, Rochester, MN, USA as a postdoctoral research fellow (2002 - 2004) and research associate (2004 - 2005). He worked as Sakigake Researcher (2006 - 2009) and Project Associate Professor at The University of Tokyo (2009 - 2012), and as Associate Professor at Tottori University (2012 - 2023), Japan. In 2023, he was appointed as Professor in the Division of Genomic Medicine, Tottori University Faculty of Medicine, Japan.

最近の関連出版物・論文

1. Horita K, Kurosaki H, Nakatake M, Kuwano N, Oishi T, Itamochi H, Sato S, Kono H, Ito M, Hasegawa K, Harada T, Nakamura T: LncRNA UCA1-mediated Cdc42 signaling promotes oncolytic vaccinia virus cell-to-cell spread in ovarian cancer. *Mol Ther Oncolytics* 13:35–48, 2019.
2. Nakatake M, Kurosaki H, Kuwano N, Horita K, Ito M, Kono H, Okamura T, Hasegawa K, Yasutomi Y, Nakamura T: Partial deletion of glycoprotein B5R enhances vaccinia virus neutralization escape while preserving oncolytic function. *Mol Ther Oncolytics* 14:159-171, 2019.
3. Nakao S, Arai Y, Tasaki M, Yamashita M, Murakami R, Kawase T, Amino N, Nakatake M, Kurosaki H, Mori M, Takeuchi M, Nakamura T: Intratumoral Expression of IL-7 and IL-12 Using an Oncolytic Virus Increases Systemic Sensitivity to Immune Checkpoint Blockade. *Sci Transl Med* 12:eaax7992, 2020.
4. Nakatake M, Kuwano N, Kaitsurumaru E, Kurosaki H, Nakamura T: Fusogenic oncolytic vaccinia virus enhances systemic antitumor immune response by modulating the tumor microenvironment. *Mol Ther* 29:1782-1793, 2021.
5. Kurosaki H, Nakatake M, Sakamoto T, Kuwano N, Yamane M, Ishii K, Fujiwara Y, Nakamura T: Anti-Tumor Effects of MAPK-Dependent Tumor-Selective Oncolytic Vaccinia Virus Armed with CD/UPRT against Pancreatic Ductal Adenocarcinoma in Mice. *Cells* 10:985, 2021.

Next-generation oncolytic vaccinia virus

Takafumi Nakamura

Tottori University Faculty of Medicine

Vaccinia virus, once widely used for smallpox vaccine, has been genetically engineered and used as an oncolytic virus for cancer virotherapy. The therapeutic index is successfully enhanced by stricter tumor-specific viral replication, stronger oncolytic potency, and optimized induction of antitumor immunity. Two viral proteins VGF and O1 contribute to viral replication and spread by activation of EGFR-dependent MAPK/ERK pathway. VGF- and O1-deleted vaccinia virus (MDRVV) inhibited pathogenic viral replication in normal cells without impairing therapeutic replication in tumor cells. Recently, fusogenic vaccinia virus (FUVAC) was discovered during plaque purification of the MDRVV. FUVAC has a nonsense mutation in the viral gene K2L, whereas other viral genomes are maintained in the MDRVV. FUVAC exerted more potent antitumor immune responses by modulating the tumor microenvironment than non-fusogenic vaccinia virus MDRVV. Furthermore, simultaneous expression of immune-modulating genes in FUVAC augmented the antitumor activity via inducing potent and durable antitumor immune responses following viral oncolysis. Single-cell analysis of tumor microenvironment revealed new insight to therapeutic response of the armed FUVAC. Thus, FUVAC would be better therapeutic platform as a next-generation oncolytic vaccinia virus and have the potential to overcome oncolytic virus-resistant tumors which limit the clinical benefits due to tumor heterogeneity and the complexity of tumor microenvironment.



Symposium 3

Abstract & Curriculum Vitae

規制

略歴

名前 松本 潤

所属 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部

遺伝子治療用製品等の開発促進に向けたPMDAの取組みと最近の承認状況

松本 潤

独立行政法人医薬品医療機器総合機構 再生医療製品等審査部

医薬品医療機器総合機構（PMDA：Pharmaceuticals and Medical Devices Agency）は、医薬品・医療機器・再生医療等製品の開発段階から市販後にわたって、品質、有効性及び安全性を確保するための業務に取り組んでいる。PMDA 再生医療製品等審査部では、遺伝子治療用製品を含めた再生医療等製品に関する開発相談・承認審査等を通じて、これら製品の早期の実用化に貢献している。本講演では、国内での臨床試験開始に必要な品質・非臨床試験に関する助言を行うRS戦略相談など、再生医療等製品の開発促進に向けたPMDAの取組みを紹介するとともに、国内における再生医療等製品の最近の開発動向、承認状況などを発表する。

略歴

名前 真木 一茂

所属 医薬品医療機器総合機構

研究分野 毒性学

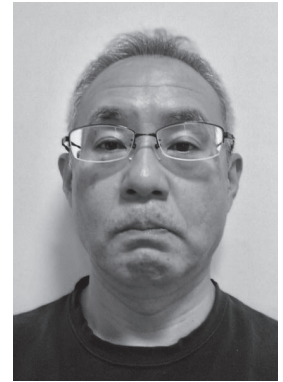
学歴

平成 5 年 北海道大学獣医学部獣医学科 卒業平成 5 年 北海道大学獣医学部獣医学科
卒業

平成 9 年 東京大学大学院医学系研究科病因病理学専攻博士課程 修了

職歴

令和 5 年～ 上級スペシャリスト（毒性）



遺伝子治療用製品等の開発における非臨床安全性評価の留意点

真木 一茂

医薬品医療機器総合機構

2014年11月に医薬品医療機器等法が施行されて以来、本邦では遺伝子治療用製品等として、プラスミドベクター及びウイルスベクターを用いた4つの遺伝子治療用製品、並びにCART細胞として5つの細胞加工製品が条件期限付きを含めて製造販売承認されている。これらの開発では、いずれも「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」や、「ヒト（自己）由来細胞や組織を加工した医薬品又は医療機器の品質及び安全性の確保に関する指針」等を踏まえ、非臨床安全性が評価されている。しかしながら、当該指針の冒頭に示されているように、遺伝子治療用製品は、製品の種類や特性、さらに臨床での適用が多種多様であり、またこの分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であることから、一律にこれらの指針を適用することは適切ではなく、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが求められている。例えば、米国では、これまで宿主染色体への組込みリスクが示されてこなかったアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを用いた製品でも、あらためて当該リスク評価の必要性が議論され、また、CART細胞については、医療経済性及び患者へのアクセス向上の観点から、ゲノム編集技術の導入による自家から他家の切り替え、すなわち、他家細胞由来のHLAを改変しGVHDを回避するユニバーサルCART細胞の開発や、ナノキャリアを用いて患者の生体内でCAR導入細胞を生成させる*in vivo* 遺伝子治療の開発が進められていることから、これまで以上に、関連する情報を収集し、個々の製品の特性を理解した上での対応が必要になっている。

本発表では、PMDAにおける遺伝子治療用製品等の非臨床安全性評価に関する基本的な考え方を概説し、これまでの助言や審査経験をふまえた*ex vivo* 及び*in vivo* 遺伝子治療用製品等の開発における留意点についてご紹介する。

略歴

名前 櫻井 陽

所属 独立行政法人医薬品医療機器総合

研究分野 ウイルス学
レギュラトリーサイエンス (バイオ品質)



学歴

1998年 京都大学薬学部 卒業

2001年 京都大学大学院理学研究科 修士課程 修了

2004年 北海道大学大学院理学研究科 博士課程 修了

職歴

2004年 ウィスコンシン大学マディソン校 博士研究員

2007年 警察庁 科学警察研究所 非常勤研究員

2009年 公益財団法人 東京都医学総合研究所 常勤研究員

2013年 同 主任研究員

2014年 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 ワクチン等審査部 審査専門員

2017年 同 ワクチン等審査部 主任専門員

2019年 同 ワクチン等審査部 審査役補佐

2020年 同 再生医療製品等審査部 審査役補佐

2021年 同 スペシャリスト (バイオ品質担当) 現職

最近の関連出版物・論文

1. Yoshiaki Maruyama, Akira Sakurai, Shinichi Noda et al. PMDA Review of Sakigake Designation Products — Oncolytic virus therapy with Delytact Injection (teserpaturev) for malignant glioma **The Oncologist**. 2023 Mar 14 (2023)
2. Akira Sakurai, Seiichi Kanzaki, and Futaba Honda Japanese Pharmaceutical Regulations of Engineered Viral Vectors for Medical Use Compared with those in the United States and the European Union **Clin Pharmacol Ther**. Nov 20 (2022). doi: 10.1002/cpt.2788.
3. Yoshiaki Maruyama, Akira Sakurai, Masaki Kasai et al. Current status and future perspective of gene therapy products in Japan **Cell & Gene Therapy Insights** 7(3), 131-140 (2021)
4. 小川孝、櫻井陽、吉田智志 他 感染症の予防を目的とした組換えウイルスワクチンの開発に関する考え方 **医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス**, Vol. 51 No.12 658-668 (2020)
5. Akira Sakurai, Takashi Ogawa, Jun Matsumoto et al. Regulatory aspects of quality and safety for live recombinant viral vaccines against infectious diseases in Japan **Vaccine** 37 (43), 6573-6579 (2019)

カルタヘナ法運用の最新状況と遺伝子組み換え生物の品質管理について

櫻井 陽

独立行政法人医薬品医療機器総合

本邦の薬機法に定義される「再生医療等製品」について、2014年施行の薬事法改正以降に複数の品目が承認されてきた。承認された再生医療等製品の中で「遺伝子治療用製品」に該当する品目は4製品あり、そのうちの3製品はウイルスをベースとする遺伝子組換え生物等（LMO/GMO）を主成分とする。また、一般的に*ex vivo* 遺伝子治療と呼ばれるCAR-T細胞などは、薬機法上は「ヒト細胞加工製品」に分類されるが、このような*ex vivo* 遺伝子治療の製造にはウイルスをベースとする遺伝子組換え生物等を用いることが多い。

遺伝子組換え生物等を治験・製造販売に用いるには、その使用方法に応じて「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（カルタヘナ法）の規制に従う必要がある。ウイルスをベースとする遺伝子組換え生物等を主成分とする遺伝子治療用製品については、その使用は環境への放出を制限することに限界がある環境（開放系）で用いるため、カルタヘナ法の第一種使用規程（使用方法）の承認を受ける必要がある。また、このような遺伝子治療用製品の製造や遺伝子組換え生物等を用いるCAR-T細胞などの製造は環境への放出を制限した製造所（閉鎖系）で行うため、製造所の二種使用における拡散防止措置の確認を受ける必要がある。

カルタヘナ法の規制については、開発の律速と非難されてきたが、2019年以降に運用を大幅に改善し、現時点では同様の法体系を有する欧州と遜色ない処理速度へと到達している。また、審査におけるサポートとなる情報についてもPMDAのウェブサイトによく公開している。本公演では、現時点でのカルタヘナ法の運用を紹介するとともに、遺伝子組換え生物の視点からの品質管理についても簡潔に解説する。



Symposium 4

Abstract & Curriculum Vitae

Neuromuscular Disorders

CURRICULUM VITAE

Name Alvin Luk

Affiliation HuidaGene Therapeutics, Inc.

Field of Research

Education



Professional Experience

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Zhang HN., et al., An engineered xCas12i with high activity, high specificity, and broad PAM range. *Protein & Cell* 2023 Jun 28; 14(7): 538-543.
2. Tong HW., et al., High-fidelity Cas13 variants for targeted RNA degradation with minimal collateral effects. *Nature Biotechnology* 2023 Jan; 41(1): 108-119.
3. Chen GF, et al., CRISPR-based therapeutic gene editing for Duchenne muscular dystrophy: advances, challenges and perspectives. *Cells* 2022 Sep; 11(99): 2964.
4. Gao YX, Gao KX, and Yang H. CRISPR/Cas: a potential gene-editing tool in the nervous system. *Cell Regeneration* 2020 Dec; 9:12.
5. Yang H. and Patel DJ. CasX: a new and small CRISPR gene-editing protein. *Cell Research* 2019 May; 29(5): 345-346.

Advances and Challenges of Next-Generation CRISPR 4.0 Gene-Editing Technology for Neurological Diseases

Alvin Luk, Dong Yang, GuoLing Li, Tong Li, Xuan Yao, LinYu Shi, Hui Yan

HuidaGene Therapeutics, Inc.

Neurodevelopmental and neurodegenerative disorders are among the greatest public health challenges as many lack disease-modifying treatments. A major reason for this lack in effective therapies is our limited understanding of the disease mechanisms and appropriate therapeutic targets translating from animals to humans. Over the last decade, advances in genome sequencing have enabled the identification of genes associated with the risk of many neurological disorders. The bacterial clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) system can be used in experimental disease models to precisely edit and manipulate genomes and to control the expression levels of genes, offering the potential to understand human genetics and cure genetic disease as never before. Scientific aspects of employing CRISPR technology for gene-editing therapeutic applications will be discussed, focusing on specific disease indications that highlight both potentials and challenges. At HuidaGene Therapeutics, we have independently-developed novel CRISPR-based Cas13 and Cas12 systems for RNA- and DNA-editing therapies, respectively, to treat neurological diseases.

For the CRISPR RNA-editing, we have developed high-fidelity Cas13Y with guide-RNAs (hfCas13Y-g *MECP2*) targeting *MECP2* duplication syndrome (MDS), which is a rare, fatal childhood neurodevelopment disorder characterized by duplication or triplication of the *MECP2* genes. Our humanized MDS transgenic mice data suggest efficient knockdown of the *MECP2* expression and reversal to the normal level after the intracerebroventricular injection. Importantly, humanized MDS mice injected with hfCas13Y-g *MECP2* had a notable increase in median lifespan when compared to littermates injected with PBS. For the DNA-editing, we engineered the natural Cas12i variant to develop the high-fidelity CRISPR-Cas12 (hfCas12Max) with high editing efficiency and specificity. Here, we report the use of a single adeno-associated virus (AAV) carrying hfCas12Max and guided RNA targeting human dystrophin gene for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DMD). Our *in-vivo* results in humanized DMD mouse model show that hfCas12Max efficiently restores dystrophin expression in heart, diaphragm, and tibialis anterior and rescues motor functions. In addition to our DMD-exon51 program, we also report the development of single-guide RNA using our hfCas12Max gene-editing platform to target huntingtin gene (hfCas12Max-g *HTT*). Our findings suggest sufficient knockdown of *HTT* and significant improvement of motor functions in knock-in mouse model of Huntington's Disease, a fatal neurodegenerative disease characterized by chronic movement, psychiatric problems, and cognitive function symptoms. The abstracts of MDS and *HTT in-vivo* results have been selected for presentation at the upcoming American Neurological Association annual meeting in Philadelphia, USA.

CRISPR gene-editing therapy for two hemoglobinopathies has been submitted for marketing approval with the regulatory decision by the end of this year. Several genome-editing clinical trials for several other diseases are ongoing with more applications in the pipeline. The rapid pace of this field demands active efforts to ensure this breakthrough technology to treat, cure, and prevent life-threatening diseases.

略歴

名前 郭 伸

所属 東京医科大学神経学分野

研究分野 神経内科学、神経病態学、神経変性疾患



学歴

1977 東京大学医学部医学科卒

1984 医学博士（東京大学）

職歴

1983 東京大学医学部助手

1986 Friedrich Miescher Institut 留学

1989 国立精神・神経センター神経研究所室長

1994 東京大学医学部附属病院神経内科講師

1997 東京大学大学院医学系研究科神経内科学准教授

2012 国際医療福祉大学臨床研究センター特任教授

2015～ 東京医科大学特任教授・兼任教授

2015～ 株式会社遺伝子治療研究所顧問

2017-18 理化学研究所研究コーディネーター

最近の関連出版物・論文

Hosaka T, Tsuji H, Terada M, Tomidokoro Y, Ishii A, Nakamagoe K, Ishii K, Terashi H, Aizawa H, Tamaoka A, Kwak S: Glutamine/arginine site-unedited GluA2 mRNA in cerebrospinal fluid as a biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiat* in press doi:10.1136/jnnp-2023-331164

Hosaka T, Tsuji H, Kwak S: Roles of aging, circular RNAs, and RNA editing in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis: potential biomarkers and therapeutic targets. *Cells* 2023, 12, 1443.

Akamatsu M, Yamashita T, Teramoto S, Huang Z, Lynch J, Toda T, Niu L, Kwak S: Testing of the therapeutic efficacy and safety of AMPA receptor RNA aptamers in a sporadic ALS mouse model. *Life Science Alliance* 12;5(4):e202101193

Aizawa H, Kato H, Oba K, Kawahara T, Okubo Y, Sito T, Naito M, Urushitani M, Tamaoka A, Nakamagoe K, Ishii K, Kanda T, Katsuno M, Atsuta N, Maeda Y, Nagi M, Nishiyama K, Ishiura H, Toda T, Kawata A, Abe K, Yabe I, Iwata-Takahashi I, Ssaki H, Warita H, Aoki M, Sobue G, Mizusawa H, Matsuyama Y, Haga T, Kwak S: Randomized lphase 2 study of perampanel for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 2022 Feb;269(2):885-896.

Yamashita T, Chai H, Teramoto S, Tsuji S, Shimazaki K, Muramatsu S, Kwak S: Rescue of amyotrophic lateral sclerosis phenotype in a mouse model by intravenous AAV9-ADAR2 delivery to motor neurons. *EMBO Mol Med* 5:1710-19, 2013.

Gene Therapy for ALS

Shin Kwak

Division of Neurology, Tokyo Medical University

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an adult-onset motor neuron disease characterized by progressive neuronal degeneration of both upper (UMN) and lower motor neurons (LMN) that leads patients to death within a few years after disease onset. Unfortunately, we have currently no therapy that effectively prolongs the life expectancy of ALS patients, although gene therapy targeting SOD1 for SOD1-associated genetic ALS that accounts for 1-2% of all the ALS patients has been recently approved by FDA U.S.A.. More than 90% of ALS patients have no other ALS patients in their blood relatives, and therefore the disease is specifically called as sporadic ALS.

We have demonstrated that expression of GluA2 that is unedited at the glutamine/arginine (Q/R) site due to downregulation of an RNA editing enzyme called adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) has a pivotal role in ALS pathogenesis. GluA2 is a subunit of AMPA receptors, a subtype of glutamate receptors. Glutamate is a major neurotransmitter that transmits signals between the UMN and the LMN. The AMPA receptor is abundantly expressed on LMNs and is a tetramer of different combination of four subunits. Among the subunits that have consensus sequence in the position facing the channel pore of AMPA receptors, only GluA2 protein has different amino acid residue at the Q/R site in that consensus sequence resulting from RNA editing. Since RNA editing at this site is specifically mediated by ADAR2, downregulation of ADAR2 in the LMN of sporadic ALS patients results in the expression of Q/R site-unedited GluA2 (1,2). In contrast, the LMNs of normal subjects express only Q/R site-edited GluA2 and expression of Q/R site-unedited GluA2 in the LMNs is abnormal. Since AMPA receptors having Q/R site-unedited GluA2 in their subunits are highly permeable to Ca^{2+} , LMNs expressing unedited GluA2 undergo Ca^{2+} -mediated slow neuronal death (3,4), suggesting a pathogenic significance in sporadic ALS. Since this molecular change is observed specifically in the LMNs of sporadic ALS patients, restoration of ADAR2 activity in the LMNs is a therapeutic strategy for sporadic ALS. Based on the promising results of the experimental delivery of ADAR2 cDNA to sporadic ALS model mice using adeno associated virus (AAV) as a vector (5), we have recently started clinical trial of gene therapy using AAV-ADAR2 vectors for sporadic ALS patients.

Kawahara Y, et al. *Nature* 427:801, 2004. Hideyama T, et al. *Neurobiol Dis* 45 : 1121-28, 2012. Hideyama T, et al. *J Neurosci* 30:11917-11925, 2010. Yamashita T, et al. *Nat Commun* 3:1307, 2012. Yamashita T, et al. *EMBO Mol Med* 5:1710-19, 2013.

CURRICULUM VITAE

Name Yoshiko Murakami
Affiliation Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
Field of Research Glycobiology, Molecular genetics, Gene therapy,

**Education**

1984 M.D. Osaka University Medical School
2001 Ph.D. Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

Professional Experience

1985-1994 Pediatrician in Department of Pediatrics, Hyogo Prefectural Hospital
1995 Research fellow in Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
2005 Assistant Professor, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University
2009 Associate Professor
2017 Endowed Professor
2021- Special Appointed Professor

Recent Related Publications (5 Papers)

Kuwayama, R., et al. (2022) *Nat Commun* **13**, 3107
Ishida, M., et al. (2022) *EMBO Rep* **23**, e54352
Shichinohe, N., et al. (2022) *J Biol Chem* **298**, 102640
Wang, Y., et al. (2022) *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**, e2115083119
Tremblay-Laganière, C., et al. (2021) *Genet Med*

Establishment of a mouse model of inherited PIGO deficiency and therapeutic potential of AAV-based gene therapy

Yoshiko Murakami

Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

Glycosylphosphatidylinositol (GPI), a glycolipid, binds to the C-terminus of more than 150 proteins, anchoring them to the cell surface. These GPI-anchored proteins play vital roles in embryogenesis, neurogenesis, immune system, and fertilization working as enzymes, receptors, adhesion molecules and complement regulatory proteins. Thirty genes are involved in the biosynthesis of GPI anchored proteins. Inherited GPI deficiency (IGD) is a recessive hereditary disease caused by the mutations in these genes, primarily exhibiting neurological symptoms such as intellectual disability, delayed motor development, and epilepsy. Currently, approximately 600 cases of IGD caused by 24 genes have been reported in Japan and overseas. However, no fundamental therapy has been established.

We have developed a mouse model of IGD caused by *PIGO* gene mutations mimicking the affected individual with IGD. The model mouse replicates the primary clinical manifestations of human IGD, including hyperphosphatasia, slow growth, reduced survival, tremors, and spontaneous seizures. Through an AAV-based gene therapy utilizing genome editing, we treated the IGD model mice and observed significant improvement in neuronal phenotypes and relief from growth defects (*Nat. Commun.* 2022). Aiming for practical use in humans, AAV9 based gene replacement therapy was attempted, and intracerebroventricular administration in model mice proved effective in reducing the phenotype. This indicates that the neurological symptoms of IGD are reversible if treated promptly after birth.

Currently, we have established a screening system for IGD that employs flow cytometry to detect decreased expression of CD16b, a GPI-anchored protein, on peripheral blood granulocytes. In the future, along with the development of gene therapy, creating comprehensive early diagnostic methods will also be crucial.

CURRICULUM VITAE

Name Alexander P. Murphy

Affiliation Roche Products Ltd, Welwyn Garden City, UK



A Roche reflection on our experiences with gene therapy in Duchenne muscular dystrophy

Alexander P. Murphy

Roche Products Ltd, Welwyn Garden City, UK

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a neuromuscular disease characterised by progressive and irreversible loss of muscle, loss of ambulation and subsequent respiratory failure and death. DMD is caused by mutations in the *DMD* gene, which encodes the dystrophin protein. Dystrophin plays a key structural role in muscle fibre function and provides protection during muscle contraction.

Delandistrogene moxeparvovec is a recombinant adeno-associated virus (rAAV) vector-based gene therapy designed to compensate for missing dystrophin in DMD by delivering a transgene encoding delandistrogene moxeparvovec micro-dystrophin, an engineered protein that retains key functional domains of the wild-type protein.

Delandistrogene moxeparvovec received accelerated approval in the USA for the treatment of ambulatory paediatric patients with DMD aged 4–5 years with a confirmed mutation in the *DMD* gene. Delandistrogene moxeparvovec is not currently approved outside of the USA. Sarepta Therapeutics is developing delandistrogene moxeparvovec in partnership with Roche.

Delandistrogene moxeparvovec uses the rAAV rhesus isolate serotype 74 (rAAVrh74) vector to provide broad distribution to muscle tissue throughout the body. The rAAVrh74 vector is distinguished by its low seroprevalence compared with other AAV serotypes; a study of one hundred and one boys with DMD aged 4–17 years found a pre-existing anti-AAVrh74 antibody prevalence of 14%. The MHCK7 promoter drives delandistrogene moxeparvovec transgene expression selectively in skeletal and cardiac muscle and the diaphragm, and contains an alpha-myosin heavy chain enhancer to drive high protein expression, particularly in cardiac muscle. The delandistrogene moxeparvovec transgene encodes the delandistrogene moxeparvovec micro-dystrophin protein, designed to accommodate the limited packaging capacity of the AAV vector.

Clinical trial data to date have been collected from patients treated with clinical process (Study 101, Phase 1/2a, NCT03375164; Study 102, Phase 2, NCT03769116) and commercial process (ENDEAVOR Cohort 1, Phase 1b, NCT04626674) delandistrogene moxeparvovec material.

Across these studies, treatment resulted in successful transgene transduction, and expression and sarcolemmal localisation of delandistrogene moxeparvovec micro-dystrophin protein up to 60 weeks post-infusion. An integrated analysis showed a statistically significant difference of 2.4 points ($P < 0.0001$) in North Star Ambulatory Assessment change from baseline to Year 1 in patients treated with 1.33×10^{14} vg/kg (linear quantitative polymerase chain reaction) of delandistrogene moxeparvovec (N=52) versus propensity-score-weighted external controls (N=105). In a collective safety analysis (N=85), there were no deaths and no adverse events (AEs) leading to study discontinuation. The most frequently reported treatment-emergent AEs were vomiting, decreased appetite, nausea and upper respiratory tract infection. Serious AEs included immune-mediated myositis and myocarditis.

Learnings from clinical trials of delandistrogene moxeparvovec suggest a beneficial modification of the DMD disease trajectory. Collective safety data have been consistent and manageable across studies.

Further ongoing studies, including the global Phase 3 EMBARK study (NCT05096221), are assessing the safety and efficacy of delandistrogene moxeparvovec in larger patient cohorts.



Symposium 5

Abstract & Curriculum Vitae

Genetic Diseases

CURRICULUM VITAE

Name Tae Matsumoto

Affiliation Department of Pediatrics
Department of Gene Therapy, Nippon Medical School

Field of Research Hypophosphatasia gene therapy



Education

Nippon Medical School, Graduate School, Tokyo, Japan (2006-2011)
PhD, Department of Biochemistry and Molecular Biology

Nippon Medical School, Tokyo, Japan(1993-1999)
Doctor of Medicine (MD)

Professional Experience

Pediatrics Trainee

1999-2001 Nippon Medical School, Department of Pediatrics

2001 Japanese Red Cross Tokyo Katsushika Perinatal Center, NICU

Senior Residency

2004 Kanagawa Children's Medical Center, Emergency and intensive care department

Work Experience

2001-2003 Shizuoka Medical Center, Department of Pediatrics

2015-2017 Tokyo Yamate Medical Center, Department of Pediatrics

2018- Nippon Medical School Tamanagayama hospital, Department of Pediatrics

2021- Concurrently serving as a researcher, Department of Gene Therapy

Recent Related Publications (5 Papers)

Matsumoto T, Miyake K, Miyake N, Iijima O, Adachi K, Narisawa S, Millán JL, Orimo H, Shimada T. Treatment with bone maturation and average lifespan of HPP model mice by AAV8-mediated neonatal gene therapy via single muscle injection. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2021.12: 330

Sugano H, **Matsumoto T**, Miyake K, Watanabe A, Iijima O, Migita M, Narisawa S, Millán JL, Fukunaga Y, Shimada T. Successful gene therapy in utero for lethal murine hypophosphatasia. *Hum Gene Ther.* 2012.23:399

Matsumoto T, Miyake K, Yamamoto S, Orimo H, Miyake N, Odagaki Y, Adachi K, Iijima O, Narisawa S, Millán JL, Fukunaga Y, Shimada T. Rescue of severe infantile hypophosphatasia mice by AAV-mediated sustained expression of soluble alkaline phosphatase. *Hum Gene Ther.* 2011. 22:1355

Yamamoto S, Orimo H, **Matsumoto T**, Iijima O, Narisawa S, Maeda T, Millán JL, Shimada T. Prolonged survival and phenotypic correction of Akp2(-/-) hypophosphatasia mice by lentiviral gene therapy. *J Bone Miner Res.* 2011. 26:135

Efficacy and Safety of a Novel Therapeutic Agent (Gene Therapy drug: ARU-2801) for the Treatment of Hypophosphatasia

Tae Matsumoto^{1,2}, Dongwei Zhao², Noriko Miyake³, Sonoko Narisawa⁴, José Luis Millán⁴, and Koichi Miyake²

¹ Department of Pediatrics

² Department of Gene Therapy

³ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, Tokyo

⁴ Sanford Children's Health Research Center, Sanford-Burnham-Prebys Medical Discovery Institute, La Jolla, CA.

Hypophosphatasia (HPP) is an inherited bone disease caused by a deficiency of tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNALP). Symptoms of HPP range from mild to severe, depending on how much residual ALP activity remains. In the perinatal or infantile form, the lack of ALP activity leads the patients to respiratory failure with bone deformities, vitamin B6-dependent seizures, and early death if untreated. Enzyme replacement therapy launched in 2015 have been a breakthrough treatment. However, it requires subcutaneous injections 3-6 times a week for the rest of the patients' life, which is burdensome because of pain and skin reactions.

We have been studying gene therapy for HPP for more than 10 years and have successfully treated HPP infantile model (*Alpl*^{-/-}) mice by intravenous administration of lentiviral vectors or adeno-associated virus (AAV) vectors expressing TNALP, intrauterine fetal therapy with an AAV vector, transplantation of TNALP overexpressing hematopoietic stem cells transduced with lentiviral vectors, and intramuscular administration of AAV vectors. The treatment has shown therapeutic effects such as prolonged survival and improved long bone, and alveolar bone formation. Furthermore, adult type HPP model (*Alpl*^{Prx1/Prx1}) mice also proved the therapeutic effect in long bone and alveolar bone with intramuscular AAV vector injection. These results indicate that this treatment is effective for all types of HPP patients, including infantile, odonto and adult types. Among these therapies, we select using intramuscular administration of TNALP-expressing AAV type 8 vectors (ARU-2801), which we believe may provide advantages as the simplest and safest one-time treatment.

The efficacy and safety of ARU-2801 was evaluated to develop an alternative treatment in *Alpl*^{-/-} mice. ARU-2801 [1.0×10^{11} , 3.0×10^{11} , 1.0×10^{12} vector genomes (vg)/body] was injected intramuscularly once during the neonatal period (day 1-3) to *Alpl*^{-/-} mice, and survival, improvement of bone formation and plasma ALP activity were evaluated for 18 months. All untreated *Alpl*^{-/-} mice (n=4) died within 1 month. Over 3.0×10^{11} vg treated *Alpl*^{-/-} mice (n=14) maintained high plasma ALP activity around 10,000 U/L and showed prolonged survival. *Alpl*^{-/-} mice in the 1.0×10^{12} vg group (n=7) exhibited weight gain, and bone mineral density similar to wild-type mice. Moreover, ARU-2801 was detected only at administration site. The treated *Alpl*^{-/-} mice showed no abnormal blood chemistry tests, no tumor formation or ectopic calcification.

In non-human primates (NHPs), ARU-2801 was injected once intramuscularly at 1.0×10^{13} vg/body and safety was evaluated for up to 84 days. The treated NHPs also showed sustained plasma ALP activity. Toxicities were also examined by blood examination, radiological analysis, real time PCR for biodistribution, and histological examination, which showed up no adverse effects.

Thus, ARU-2801 was effective and safe in both *Alpl*^{-/-} mice and NHPs, which could be a potentially life-prolonging and quality-of-life-improving agent for HPP patients.

CURRICULUM VITAE

Name Karin Kojima

Affiliation Department of Pediatrics, Jichi Medical University

Field of Research Pediatric neurology, human genetics, gene therapy, neurodevelopmental disorder



Education

2001 Graduated from Faculty of Medicine, Jichi Medical University, Japan

2014 Graduated from Graduate School, Jichi Medical University, Japan

Professional Experience

2014-2017: Jichi Medical University, Dept. of Pediatrics, research associate

2017-2022: Jichi Medical University, Dept. of Pediatrics, assistant Professor

2019-2020: Baylor College of Medicine, Center for Cell And Gene Therapy, Neuroscience lab. (USA), postdoctoral associate

2020 -2021: Jichi Medical University, Dept. of Pediatrics

2021 -2023: Tochigi rehabilitation center hospital, Dept. of Pediatrics, manager in Pediatrics

2022 - : Jichi Medical University, Dept. of Pediatrics, associate Professor

Recent Related Publications (5 Papers)

Kojima K, Nakajima T, Taga N, Miyauchi A, Kato M, Matsumoto A, et al. Gene therapy improves motor and mental function of aromatic l-amino acid decarboxylase deficiency. *Brain*. 2019;142(2):322-33. **Kojima K**, Wada T, Shimbo H, Ikeda T, Jimbo F. E, Saito H, et al. The *ATRX* splicing variant c.21-1G>A is asymptomatic. *Hum Gen Var* (2022)9: 33 Onuki Y, Ono S, Nakajima T, **Kojima K**, Taga N, et al. Dopaminergic restoration of prefrontal cortico-putaminal network in gene therapy for aromatic l-amino acid decarboxylase deficiency. *Brain Commun*. 2021;3(3):fcab078. Kuwajima M, **Kojima K**, Osaka H, Hamada Y, Jimbo E, et al. Valine metabolites analysis in ECHS1 deficiency. *Mol Genet Metab Rep*. 2021;(29):100809. Keuls R, **Kojima K**, Lozzi B, Steele J, Chen Q, Gross S, et al. Mir-302 Regulates Glycolysis to Control Cell-Cycle

Gene therapy for patients with Niemann-Pick disease type C1 (NPC1) using AAV. GTX-NPC1

Karin Kojima, Yoshie Kurokawa, Chika Watanabe, Takanori Yamagata¹

Department of Pediatrics, Jichi Medical University

Niemann–Pick disease type C1 (NPC1) is a congenital neurodegenerative disorder caused by mutations in the NPC1 gene, which is involved in cholesterol transport in lysosomes. Broad clinical manifestations of NPC1 include liver failure, pulmonary disorder, neurological deficits, and psychiatric symptoms. The main cause of death in NPC1 patients involves central nervous system (CNS) dysfunction; there is no essential treatment.

We generated a tyrosine-mutant adeno-associated virus (AAV) 9/3 vector that expresses human *NPC1* under a cytomegalovirus (CMV) promoter (AAV-CMV-*hNPC1*) and injected it into the left lateral ventricle and cisterna magna of *Npc1* homo-knockout (*Npc1*^{-/-}) mice as model mice. Each mouse received total 1.35×10^{11} vector genome on days 4 or 5 of life. AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice ($n=11$) had an average survival of >28 weeks, while all saline-treated *Npc1*^{-/-} mice ($n=11$) and untreated *Npc1*^{-/-} mice ($n=6$) died within 16 weeks. The longest survival duration was over 44 weeks. This data was the best result compared other gene therapies for NPC1.

Saline-treated and untreated *Npc1*^{-/-} mice lost body weight from 7 weeks until death. However, the average body weight of AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice increased until 15 weeks. AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice also showed a significant improvement in the rotarod test performance. A pathological analysis at 11 weeks showed that cerebellar Purkinje cells were preserved in AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice. In contrast, untreated *Npc1*^{-/-} mice showed an almost total loss of cerebellar Purkinje cells. Combined injection into both the lateral ventricle and cisterna magna achieved broader delivery of the vector to the CNS, leading to better outcomes than noted in previous reports, with injection into the lateral ventricles or veins alone.

In AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice, vector genome DNA was detected widely in the CNS and liver. Human *Npc1* RNA was detected in the brain, liver, lung, and heart. Accumulated unesterified cholesterol in the liver was reduced in the AAV-treated *Npc1*^{-/-} mice.

Now we are preparing Dr.-led clinical trial, AAV.GTX-NPC1.

CURRICULUM VITAE

Name Yohta Shimada

Affiliation Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine

Field of Research Lysosomal storage diseases, Gene Therapy

**Education**

2004 B.Sc. Toho University Faculty of Science

2009 Ph.D. The Jikei University Graduate School of Medicine

Professional Experience

2009-2021 Research Associate, Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine

2021- Present Assistant Professor, Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Shimada Y, Ishii N, Higuchi T, Goto M, Ohashi T, Kobayashi H. A novel preclinical model of mucopolysaccharidosis type II for developing human hematopoietic stem cell gene therapy. *Gene Ther.* 2023;30(3-4):288-296.
2. Tsunogai T, Ohashi T, Shimada Y, Higuchi T, Kimura A, Watabe AM, Kato F, Ida H, Kobayashi H. Hematopoietic stem cell gene therapy ameliorates CNS involvement in murine model of GM1-gangliosidosis. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2022;25:448-460.
3. Wada M, Shimada Y, Iizuka S, Ishii N, Hiraki H, Tachibana T, Maeda K, Saito M, Arakawa S, Ishimoto T, Nakano T, Ida H, Ohashi T, Kobayashi H. Ex Vivo Gene Therapy Treats Bone Complications of Mucopolysaccharidosis Type II Mouse Models through Bone Remodeling Reactivation. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020;19:261-274.
4. Miwa S, Watabe AM, Shimada Y, Higuchi T, Kobayashi H, Fukuda T, Kato F, Ida H, Ohashi T. Efficient engraftment of genetically modified cells is necessary to ameliorate central nervous system involvement of murine model of mucopolysaccharidosis type II by hematopoietic stem cell targeted gene therapy. *Mol Genet Metab.* 2020;130(4):262-273.
5. Wakabayashi T, Shimada Y, Akiyama K, Higuchi T, Fukuda T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Corrects Neuropathic Phenotype in Murine Model of Mucopolysaccharidosis Type II. *Hum Gene Ther.* 2015;26(6):357-66.

Gene therapy for lysosomal storage diseases using lentiviral vectors

Yohta Shimada¹, Takashi Higuchi¹, Saki Matsushima¹, Toya Ohashi², Hiroshi Kobayashi¹

¹ Division of Gene Therapy, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine

² Department of Human Health Science and Therapeutics, The Jikei University School of Nursing

Lysosomal storage diseases (LSD) are inherited metabolic diseases including over 40 kinds of disorders. Lysosomal enzyme deficiency induces the accumulation of specific substrates into the lysosome and subsequently various pathological phenotypes in the patients. Most LSD shows systemic pathophenotypes containing central nervous system (CNS) involvement. Whereas enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation are available for several LSD, the treatment of many LSD are still ongoing challenges.

Hematopoietic stem cell gene therapy (HSC-GT) using a lentiviral vector is known as a promising approach for systemic correction of several LSD. We previously demonstrated that HSC-GT can correct the systemic alterations containing CNS involvement and bone abnormality in the murine model of mucopolysaccharidosis type II, which is one of the neuropathic LSD and most frequent mucopolysaccharidosis in East Asian countries. In addition, we recently showed the therapeutic efficacy of HSC-GT on CNS disease in mice of GM1 gangliosidosis, which is beta-galactosidase deficiency accompanied by neuropathic phenotype. We are currently working on developing HSC-GT for several LSD toward clinical applications as well as novel lentiviral vectors carrying next-generation enzymes.

CURRICULUM VITAE

Name Toru Uchiyama

Affiliation Division of Molecular Pathogenesis, Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development

Field of Research Gene therapy, Hematology, Oncology



Education

1993-1999 Niigata University School of Medicine M.D.
2002-2005 Tohoku University Graduate School of Medicine Ph.D.

Professional Experience

1999-2000 Resident in Pediatrics, Niigata University School of Medicine, Japan
2001-2002 Medical staff in Pediatrics, Niigata Prefectural Central Hospital, Japan
2007-2010 Research Fellow in National Institutes of Health (NIH), USA
2011-2012 Assistant Professor in Pediatrics, Tohoku University School of Medicine, Japan
2013-(present) Chief, Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development (NCCHD), Japan
2020-(present) Director, Research and Development, Gene and Cell Therapy Promotion Center, NCCHD

Recent Related Publications (5 Papers)

Onodera M, Uchiyama T, Ariga T, Yamada M, Miyamura T, Arizino H, Morio T. Safety and efficacy of elapegamase in patients with adenosine deaminase deficiency: A multicenter, open-label, single-arm, phase 3, and postmarketing clinical study. *Immun Inflamm Dis*. 11: e917, 2023. doi: 10.1002/iid3.917 Yasuda T, Uchiyama T, Watanabe N, Ito N, Nakabayashi K, Mochizuki H, Onodera M. Peripheral immune system modulates Purkinje cell degeneration in Niemann-Pick disease type C1. *Life Scie Alliance*. 6: e202201881, 2023. doi: 10.26508/lsa.202201881. Takeuchi I, Yanagi K, Takada S, Uchiyama T, Igarashi A, Matsuoka R, Yoshioka T, Saito H, Kawai T, Miyaji Y, Inuzuka Y, Matsubara Y, Ohya Y, Shimizu T, Matsumoto K, Arai K, Nomura I, Kaname T, Morita H. Identification of STAT6 gain-of-function variant that exacerbated multiple allergic symptoms. *J Allergy Clin Immunol*. doi: 10.1016/j.jaci.2022.12.802. Ishikawa T, Okai M, Mochizuki E, Uchiyama T, Onodera M, Kawai T. Bacillus Calmette-Guerin (BCG) infections at high frequency in both AR-CGD and X-CGD patients following BCG vaccination. *Clin Infect Dis* 73: e2538-e2544, 2021. Uchiyama T, Sirirat Takahashi S, Nakabayashi K, Okamura K, Edasawa K, Yamada M, Watanabe N, Mochizuki E, Yasuda T, Miura A, Kato K, Tomizawa D, Otsu M, Ariga T, Onodera M. Nonconditioned ADA-SCID gene therapy reveals ADA requirement in the hematopoietic system and clonal dominance of vector-marked clones. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development* 23: 424, 2021

Gene therapy for inborn errors of immunity

Toru Uchiyama

Division of Molecular Pathogenesis, Department of Human Genetics, National Center for Child Health and Development

Inborn errors of immunity (IEI) are caused by mutations in genes essential for the immune system. While the prognosis is relatively good with early diagnosis, a delay in treatment often leads to fatal outcomes. In recent years, newborn screening for severe combined immunodeficiency, the most severe form of IEI, has expanded, and the diagnosis can be made before the onset of severe infection. Meanwhile, as for treatment, gene-based therapy is expected to be developed as a safe and effective curative therapy. Gene therapy targeting hematopoietic stem cells began to be developed in the 1990s, mainly for X-linked severe combined immunodeficiency, Adenosine deaminase deficiency, Wiskott-Aldrich syndrome, and chronic granulomatous diseases. Although most patients displayed the excellent effect of restructuring the immune system, the use of retroviral vectors revealed the fundamental issue of vector integration, including the insertional mutagenesis that leads to oncogenesis. Lentiviral vectors with reduced risk of insertional mutagenesis have shown improvements in the clinical manifestations without activating proto-oncogene and are now recognized as one of the curative treatments. On the other hand, in some IEI, strong and constitutive expression of responsible genes by the viral vector has been shown to cause oncogenic changes. Genome editing technology, which has developed rapidly in recent years, can directly repair mutated genes, and the repaired genes are physiologically expressed by endogenous regulatory regions. Treatments using this novel technology are being developed for clinical application for diseases that the gene addition strategy using viral vectors could not treat.

CURRICULUM VITAE

Name Naoya Uchida

Affiliation National Institutes of Health

Field of Research Hematopoietic stem cell transplantation, Gene therapy, Genome editing, Lentiviral vector



Education

2003-2009 Post-graduate Student, Nippon Medical School, Tokyo, Japan

1993-1999 Medical Student, Nippon Medical School, Tokyo, Japan

Professional Experience

2022-Present Leader, Gene Therapy Group in Cellular and Molecular Therapeutics Branch, NHLBI, NIH, Bethesda, MD, USA

2022-2023 Project Researcher in Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Japan

2020-2022 Associate Professor in Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Japan

2009-2022 Staff Scientist in Cellular and Molecular Therapeutics Branch, NHLBI, NIH, Bethesda, MD, USA

2007-2009 Postdoctoral Fellow in Molecular and Clinical Hematology Branch, NHLBI, NIH, Bethesda, MD, USA

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Kanter J, Thompson AA, Pierciey FJ Jr, Hsieh M, **Uchida N**, Leboulch P, Schmidt M, Bonner M, Guo R, Miller A, Ribeil JA, Davidson D, Asmal M, Walters MC, Tisdale JF. Iovo-cel gene therapy for Sickle Cell Disease: Treatment process evolution and outcomes in the initial groups of the HGB-206 study. *Am J Hematol.* 2023 Jan;98(1):11-22.
2. **Uchida N**, Ferrara F, Drysdale CM, Yapundich M, Gamer J, Nassehi T, DiNicola J, Shibata Y, Wielgosz M, Kim YS, Bauler M, Throm RE, Haro-Mora JJ, Demirci S, Bonifacino AC, Krouse AE, Linde NS, Donahue RE, Ryu B, Tisdale JF. Sustained fetal hemoglobin induction in vivo is achieved by BCL11A interference and coexpressed truncated erythropoietin receptor. *Sci Transl Med.* 2021 Apr 28;13(591):eabb0411.
3. **Uchida N**, Li L, Nassehi T, Drysdale CM, Yapundich M, Gamer J, Haro-Mora JJ, Demirci S, Leonard A, Bonifacino AC, Krouse AE, Linde NS, Allen C, Peshwa MV, De Ravin SS, Donahue RE, Malech HL, Tisdale JF. Preclinical evaluation for engraftment of CD34+ cells gene-edited at the sickle cell disease locus in xenograft mouse and non-human primate models. *Cell Reports Medicine.* 2021;2(4).
4. Drysdale CM, Nassehi T, Gamer J, Yapundich M, Tisdale JF, **Uchida N**. Hematopoietic-Stem-Cell-Targeted Gene-Addition and Gene-Editing Strategies for β -hemoglobinopathies. *Cell Stem Cell.* 2021 Feb 4;28(2):191-208.
5. **Uchida N**, Hsieh MM, Raines L, Haro-Mora JJ, Demirci S, Bonifacino AC, Krouse AE, Metzger ME, Donahue RE, Tisdale JF. Development of a forward-oriented therapeutic lentiviral vector for hemoglobin disorders. *Nat Commun.* 2019 Oct 2;10(1):4479.

Hematopoietic stem cell-targeted gene therapy with lentiviral vectors to treat sickle cell disease

Naoya Uchida

National Institutes of Health

Gene therapy targeting hematopoietic stem cells (HSCs) is curative for a variety of inherited diseases, including sickle cell disease (SCD). SCD is caused by a point mutation in the β -globin gene, leading to vaso-occlusion, multi-organ damage, and early mortality. Allogeneic HSC transplantation allows for a one-time cure of SCD (Hsieh M, et al.. N Engl J Med. 2009); however, histocompatibility remains a problem, and a limited number of patients can find a suitable HSC donor. To solve this problem, we are developing an autologous HSC-targeted gene therapy by lentiviral gene addition or gene editing that is applicable to most patients with SCD (Drysdale CM, et al.. Cell Stem Cell. 2021). In our lentiviral gene therapy trial for SCD, most patients achieved phenotypic improvement, according to plerixafor-based HSC mobilization, high levels of β^{T87Q} -globin expression in an erythroid-specific manner, highly efficient lentiviral transduction into patient CD34+ cells, and myeloablative busulfan conditioning (Kanter J, et al.. N Engl J Med. 2022). Recently, two patients post-gene therapy developed myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia, most likely due to disease status-related pre-leukemic clones that are positively selected by the transplantation process (Goyal S, et al.. N Engl J Med. 2022). Therefore, we are developing low-toxicity conditioning with HSC-targeted delivery of a cytotoxic drug, improving the efficacy/toxicity profile in HSC gene therapy (Uchida N, et al.. JSGCT. 2022). Although the efficacy and safety of HSC gene therapy are being proven, the current method is based on *ex vivo* culture, limiting gene therapy applications due to the requirement of a cell processing center at the GMP level. Therefore, the development of an HSC-targeted gene delivery system is desired, allowing for novel *in vivo* HSC gene therapy that directly delivers a therapeutic gene to HSCs without *ex vivo* culture. The *in vivo* delivery system would allow for the development of widely applicable HSC gene therapies.

Conflict of interest: The author declares no conflicts of interest.



Symposium 6

Abstract & Curriculum Vitae

non viral vector · 先端医療

略歴

名前 山本 剛史

所属 長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 (薬学系)

研究分野 核酸医薬、核酸化学



学歴

2007年 富山大学 薬学部 卒業

2009年 大阪大学 大学院理学研究科 博士前期課程 化学専攻修了

2012年 大阪大学 大学院薬学研究科 博士後期課程 応用医療薬科学攻修了

2012年 博士(薬学)(大阪大学)取得

職歴

2011年～2012年 本学術振興会 特別研究員 (DC2)

2012年～2017年 大阪大学 大学院薬学研究科 助教

2013年～2017年 同 附属創薬センター 助教 (兼任)

2015年～2018年 米国国立衛生研究所 (客員研究員)

2018年9月～現在 長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 准教授

2023年5月～現在 リードファーマ株式会社 取締役

最近の関連出版物・論文

Chisato Terada, Kaho Oh, Ryutaro Tsubaki, Bun Chan, Nozomi Aibara, Kaname Ohyama, MasaAki Shibata, Takehiko Wada, Mariko Harada-Shiba, Asako Yamayoshi, **Tsuyoshi Yamamoto**, "Dynamic and static control of the off-target interactions of antisense 2 oligonucleotides using toehold chemistry", 2023, Pre-print. **Yamamoto T**, Mukai Y, Wada F, Terada C, Kayaba Y, Oh K, Yamayoshi A, Obika S, Harada-Shiba M. Highly Potent GalNAc-Conjugated Tiny LNA Anti-miRNA-122 Antisense Oligonucleotides. *Pharmaceutics*. 2021 May 31;13(6):817 Wada F, **Yamamoto T**, Kobayashi T, Tachibana K, Ito KR, Hamasaki M, Kayaba Y, Terada C, Yamayoshi A, Obika S, Harada-Shiba M. Drug discovery and development scheme for liver-targeting bridged nucleic acid antisense oligonucleotides. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2021 **Tsuyoshi Yamamoto**, Motoki Sawamura, Fumito Wada, Mariko Harada-Shiba, Satoshi Obika. Serial incorporation of a monovalent GalNAc phosphoramidite unit into hepatocyte-targeting antisense oligonucleotides. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, **2015**, 24, 26-32. Shin-ichiro Hori*, **Tsuyoshi Yamamoto**, Reiko Waki, Shunsuke Wada, Fumito Wada, Mio Noda, Satoshi Obika[‡]. Ca²⁺-enrichment in culture medium potentiates effect of oligonucleotides. *Nucleic Acids Research*, **2015**, 43, e128.

核酸ナノテクノロジーのアンチセンス法への応用

山本 剛史¹、寺田 知邑¹、斯波 真理子²、山吉 麻子¹

¹ 長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 (薬学系)

² 大阪医科薬科大学 循環器センター

アンチセンス医薬 (ASO) は、ワトソン・クリック型塩基対を介した厳密な分子認識機構を活用し、標的RNAを効率的に捕捉して、その発現の制御を効果的に行うことができる。塩基配列を最適化することで迅速な創薬が可能なことからアンメットニーズに対する有効なモダリティとして注目を集めている。しかしながら、臨床開発経験の蓄積に伴い、とりわけ安全性についての懸念が広がっており、安全性を高めるASO技術の開発が求められている。ASOが持つ厳密な塩基配列認識能は魅力的であるものの、ASOとタンパク質との非特異的相互作用やASOが標的と似た配列を有するRNAにハイブリダイゼーションしてしまうオフターゲット効果が毒性の主体として認識されつつある。このような背景において我々は、これらの毒性に関与しうる相互作用を抑制するために核酸ナノテクノロジーを応用した「BROTHERS技術¹⁾」の開発に成功した。BROTHERS核酸は、ASOに対して「弟鎖」と呼ばれる特殊な相補鎖を添えたナノ構造体であり、核酸の非平衡熱力学を利用して2つのオフターゲット機序を同時に回避できる技術である。本講演では、BROTHERS核酸の作用機序を解説するとともに、その効果についてもご紹介する。

参考文献：1) Yamamoto, Tsuyoshi, et al. "Dynamic and static control of the off-target interactions of antisense oligonucleotides using toehold chemistry." (2023).

Antisense oligonucleotides (ASO) are capable of efficiently capturing target RNAs by utilizing a strict molecular recognition mechanism of Watson-Crick base pairing, thereby effectively controlling their expressions. They are drawing attention as an effective modality for unmet medical needs due to the possibility of rapid drug discovery and development through sequence optimization. However, with the accumulation of clinical development experience, concerns about safety are growing, and there is a demand for the development of ASO technologies that enhance safety. While the strict base sequence recognition ability of ASOs is attractive, non-specific interactions between ASOs and proteins and off-target effects where ASOs hybridize with RNAs having sequences similar to the target are being recognized as the main contributors to this toxicity characteristics. In this context, we have successfully developed "BROTHERS technology¹⁾" using DNA nanotechnology to suppress interactions that could be involved in these toxicities. BROTHERS ASO is a nanoarchitecture having a unique complementary strand called the "brother strand" to ASOs, utilizing the non-equilibrium thermodynamics of hybridization to simultaneously avoid these two off-target mechanisms. In this talk, we will explain the mechanism of action of BROTHERS ASO and introduce their in vitro and in vivo effects.

References:

1) Yamamoto, Tsuyoshi, et al. "Dynamic and static control of the off-target interactions of antisense oligonucleotides using toehold chemistry." (2023).

略歴

名前 上村 顕也

所属 新潟大学医学部医学科総合診療学講座
新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野

研究分野 遺伝子治療、臓器連関、消化器疾患



学歴

1999年 新潟大学医学部医学科 卒業

2007年 新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞医学専攻博士課程 修了 (医学博士)

職歴

1999年 新潟大学医学部附属病院 内科研修医

2001年 新潟大学消化器内科

2007年 ピッツバーグ大学薬学部リサーチアソシエイト

2015年 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分野 助教

2018年 新潟大学医歯学総合病院消化器内科 講師

2020年 新潟大学医学部医学科総合診療学講座 特任教授

最近の関連出版物・論文

1. Kamimura K (corresponding author), Kanefuji T, Suda T, Yokoo T, Zhang G, Aoyagi Y, Liu D. Liver lobe-specific hydrodynamic gene delivery to baboons: A preclinical trial for hemophilia gene therapy. *Mol Ther Nucleic Acids*. 32:903-913, 2023.
2. Tanaka Y, Kamimura K (corresponding author), Shibata O, Ogawa K, Oda C, Abe H, Ikarashi S, Hayashi K, Yokoo T, Wakai T, Terai S. Similarity of oncogenic protein expression in KRASG12D gene delivery-based rat pancreatic cancer model to that of human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 673:29-35, 2023.
3. Sakai N, Kamimura K (corresponding author), Miyamoto H, Ko M, Nagoya T, Setsu T, Sakamaki A, Yokoo T, Kamimura H, Soki H, Tokunaga A, Inamine T, Nakashima M, Enomoto H, Kousaka K, Tachiki H, Ohyama K, Terai S. Letrozole ameliorates liver fibrosis through the inhibition of the CTGF pathway and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 13 expression. *J Gastroenterol*. 58:53-68, 2023.
4. Shibata O, Kamimura K (corresponding author), Tanaka Y, Ogawa K, Owaki T, Oda C, Morita S, Kimura A, Abe H, Ikarashi S, Hayashi K, Yokoo T, Terai S. Establishment of a pancreatic cancer animal model using the pancreas-targeted hydrodynamic gene delivery method. *Mol Ther Nucleic Acids*. 28:342-352, 2022.
5. Miura H, Imafuku J, Kurosaki A, Sato M, Ma Y, Zhang G, Mizutani A, Kamimura K, Gurumurthy CB, Liu D, Ohtsuka M. Novel reporter mouse models useful for evaluating in vivo gene editing and for optimization of methods of delivering genome editing tools. *Mol Ther Nucleic Acids*. 24:325-336, 2021.

Applicability of Hydrodynamic Gene Delivery Procedure to Gene Therapy and Animal Disease Model Development

Kenya Kamimura^{1,2}, Hiroyuki Abe², Osamu Shibata², Yuto Tanaka², Takeshi Yokoo², Tsutomu Kanefuji², Takeshi Suda², Guisheng Zhang³, Shuji Terai², Dexi Liu³

¹ Department of General Medicine, Niigata University School of Medicine

² Division of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University, Niigata, Japan

³ Department of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, College of Pharmacy, University of Georgia, Athens, Georgia, USA

Hydrodynamics-based gene transfer has been used as a common method for in vivo nonviral gene delivery to the liver of small animals through tail vein injection. To develop a clinically applicable procedure for gene therapy, we have established a computer-assisted and image-guided protocol for the liver-specific gene transfer and evaluated its safety and effectiveness in baboons. A reporter plasmid was used to assess the efficiency of the procedure and the plasmid carrying human factor IX gene was used to examine the pattern of long-term gene expression. The results demonstrated a liver lobe-specific gene delivery and sustained therapeutic levels of human factor IX expression. Additionally, no significant adverse events were observed in animals other than a transient increase in serum liver enzymes. Moreover, we have utilized the hydrodynamic gene delivery procedure to develop animal disease models. To date, we have successfully established the pancreatic cancer model in wild-type rats by delivering the human pancreatic cancer-related genes including KRAS^{G12D} and liver cancer model in wild-type mice. Currently, these animal models are used in studies developing therapeutic methods. Although further research is needed for both the delivering methodology and development of plasmids, these results demonstrate the feasibility of using the nonviral hydrodynamic gene delivery procedure for gene therapy and animal disease model development.

略歴

名前 中神 啓徳

所属 大阪大学大学院医学系研究科健康発達医学寄附講座

研究分野 ワクチン、老年内科、高血圧、遺伝子細胞治療



学歴

1994年 3月 奈良県立医科大学卒業

職歴

1994年 4月 自治医科大学内科レジデント・循環器内科医員

1997年 6月 大阪大学医学部老年病医学（第4内科）研究生

2000年 2月 愛媛大学医学部 助手（医化学第一講座）

2001年 7月 米国Harvard大学医学部Brigham and Women's病院研究員

2003年 4月 大阪大学医学部附属病院未来医療センター特別研究員

2003年 10月 大阪大学大学院 助手（医学系研究科 遺伝子治療学）

2010年 4月 大阪大学大学院 連合小児発達学研究科 健康発達医学寄附講座教授

2015年 4月 大阪大学大学院 医学系研究科 健康発達医学寄附講座教授

最近の関連出版物・論文

Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Yoshida S, Baba S, Tenma A, Toyoura M, Kawabata S, Ehara T, Asaki R, Sakaguchi M, Tomioka H, Shimamura M, Morishita R, Rakugi H, Tomita T, **Nakagami H**. Peptide-based vaccine targeting IL17A attenuates experimental spondyloarthritis in HLA-B27 transgenic rats. *RMD Open*. 2023 Feb;9(1):e002851. doi: 10.1136/rmdopen-2022-002851. **Nakagami H**, Hayashi H, Sun J, Yanagida Y, Otera T, Nakagami F, Hamaguchi S, Yoshida H, Okuno H, Yoshida S, Nakamaru R, Yokoyama S, Fujimoto T, Hongyo K, Akeda Y, Morishita R, Tomono K, Rakugi H. Phase I Study to Assess the Safety and Immunogenicity of an Intradermal COVID-19 DNA Vaccine Administered Using a Pyro-Drive Jet Injector in Healthy Adults. *Vaccines (Basel)*. 2022 Aug 30;10(9):1427. doi: 10.3390/vaccines10091427. Suda M, Shimizu I, Katsuomi G, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Matsumoto N, Yoshida Y, Mikawa R, Katayama A, Wada J, Seki M, Suzuki Y, Iwama A, **Nakagami H**, Nagasawa A, Morishita R, Sugimoto M, Okuda S, Tsuchida M, Ozaki K, Nakanishi-Matsui M, Minamino T. Senolytic vaccination improves normal and pathological age-related phenotypes and increases lifespan in progeroid mice *Nat Aging* 2021 Dec, 1, 1117-1126. Fukami H, Morinaga J, **Nakagami H**, Hayashi H, Okadome Y, Matsunaga E, Kadomatsu T, Horiguchi H, Sato M, Sugizaki T, Kuwabara T, Miyata K, Mukoyama M, Morishita R, Oike Y. Vaccine targeting ANGPTL3 ameliorates dyslipidemia and associated diseases in mouse models of obese dyslipidemia and familial hypercholesterolemia. *Cell Rep Med*. 2021 Nov 16;2(11):100446. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100446. Yoshida S, Nakagami H, Ikeda Y, Sun J, Tenma A, Tomioka H, Kawano T, Shimamura M, Morishita R, Rakugi H. The CD153 vaccine with CpG adjuvant is a novel senotherapeutic option for preventing the accumulation of senescence T cells from visceral adipose tissues in mice. *Nat Commun* 2020 May 18;11(1):2482. doi: 10.1038/s41467-020-16347-w

生活習慣病・難治性疾患を標的とした新規ワクチン開発

中神 啓徳

大阪大学大学院医学系研究科健康発達医学寄附講座

心血管イベントの更なる抑制・生命予後改善に向けて、生活習慣病である高血圧、糖尿病、脂質異常症に対し、生活習慣の改善に加えて複数の内服薬を用いた厳格な管理が求められている。この内服治療と同等の薬効が期待できる治療ワクチン・核酸医薬が開発できれば、毎日の内服薬が減らせる可能性があり、飲み忘れに代表される薬剤アドヒアランスの改善も期待できる。我々は生活習慣病を標的としたペプチドワクチンの開発に取り組んでおり、内因性蛋白に対しても抗体誘導が可能であり、細胞性免疫を惹起することなく抗体産生を誘導する治療ワクチンを確立した。各種モデル動物を用いた検討で、アンジオテンシンIIを標的とした高血圧ワクチン(Hypertension 2015)、PCSK9(PLoS One 2018)やANGPTL3(Cell Rep Med 2021)を標的とした脂質異常症ワクチンの動物モデルでの有効性を報告している。一方、世界では、これらの疾患に対する核酸医薬の開発も進んでおり、アンジオテンシノーゲンに対するsiRNA、PCSK9に対するsiRNAは臨床試験実施中であり、PCSK9に対するsiRNAはすでに臨床で使用されるに至っている。また、我々のワクチンの治療コンセプトは抗体医薬とかなり重複するところもあり、今後治療薬選択においては、様々なオプションを提供できる可能性があると考えられる。本セッションでは新規治療法としての治療ワクチンの可能性について概説したい。

略歴

名前 朝野 仁裕
所属 国立循環器病研究センター

機能喪失型心筋症への遺伝子治療開発

朝野 仁裕

国立循環器病研究センター



Symposium 7

Abstract & Curriculum Vitae

Vector Development

CURRICULUM VITAE

Name Kiyotake Ishikawa

Affiliation Mount Sinai

Promoting clinical translation of cardiac gene therapy

Kiyotake Ishikawa

Mount Sinai

CURRICULUM VITAE

Name John Fraser Wright

Affiliation Stanford University School of Medicine

Field of Research AAV gene therapy; Immunology



Education

Doctor of Philosophy (Ph.D.) (1989)
Department of Biochemistry, University of Toronto, Canada

Professional Experience

Thirty years experience in research and development of viral vector-based human therapeutic products

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Manno, C.S., Arruda, V.R., Pierce, G.F, Glader, B., Ragni, M., Rasko, J., Ozelo, M.C., Hoots, K., Blatt, P., Konkle, B., Dake, M., Kaye, R., Razavi, M., Zajko, A., Zehnder, J. Nakai, H., Chew, A., Leonard, D., **Wright, J.F.**, Lessard, R.R, Sommer J.M., Tigges, M., Sabatino, D., Luk, A., Jiang, H., Mingozi, F., Couto, L, Ertl, H.C., High, K.A., Kay, M.A.: Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-factor IX and limitations imposed by the host immune response. *Nature Medicine* 12(3): 342-347, March 2006. Note: Highly cited; top 1% in field of clinical medicine.
2. Maguire, A.M., Simonelli, F., Pierce, E.A., Pugh, E.N., Mingozi, F., Bencicelli, J., Banfi, S., Marshall, K.A., Testa, F., Surace, E.M., Rossi, S., Lyubarsky, A., Arruda, V.R., Konkle, B., Stone, E., Sun, J., Jacobs, J., Dell-Osso, L., Hertle, R., Ma, J., Redmond, T.M., Zhu, X., Hauck, B., Zeleniaia, O., Shindler, K.S., Maguire, M.G., **Wright, J.F.**, Volpe, N.J., McDonnell, J.W., Auricchio, A., High, K.A., Bennett, J.: Safety and efficacy of gene transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *The New England Journal of Medicine* 358(21): 2240-2248, May 2008. Note: Highly cited; top 1% in field of clinical medicine.
3. **Wright, J.F.**: Codon modification and PAMPs in clinical AAV vectors: the tortoise or the hare? *Molecular Therapy* 28(3): 701-703, March 2020.
4. Hamilton, B.A., **Wright, J.F.**: Challenges posed by immune responses to AAV vectors: addressing root causes. *Frontiers in Immunology* 12: 675897, May 2021.
5. Wright, J.F.: RE-administration of AAV vectors by masking with host albumin: A Goldilocks hypothesis. *Molecular Therapy* 31(7): 1870-1873, July 2023.

Development of Recombinant AAV for Human Gene Therapy: Vector Design and Manufacturing Strategies to Reduce Immune Responses

John Fraser Wright

Stanford University School of Medicine

Recombinant AAV for human gene therapy has demonstrated definitive results for treatment of genetic diseases, with five AAV-based products now licensed. However, many clinical trials have reported significant adverse events following high dose AAV vector administration, including SAEs associated with innate and adaptive immune response to the product. Modulation of immune responses in recipients of AAV vectors e.g., transient immune suppression is often used with product administration to improve safety and efficacy by reducing immune responses, but complementary strategies are still needed as evidenced by vector-associated inflammation that is not fully controlled by immune suppression regimens. This presentation will focus on strategies to reduce the immunogenic features of AAV investigational products through best practices in vector design and the processes used for their manufacture. In conjunction with immune modulation, minimizing AAV investigational product immunogenicity is proposed to be key for the therapeutic and commercial advancement of AAV vector for human gene therapy.

CURRICULUM VITAE

Name Rachael A Potter
Affiliation Sarepta Therapeutics, Inc., Cambridge, MA, USA



The safety and efficacy of pre-treatment with imlifidase prior to adeno associated virus (AAV)-based gene therapy in non-human primates with pre-existing anti-AAVrh74 antibodies

Rachael A Potter¹, Sohrab Khan¹, John Snedeker¹, Kaitlin Adegboye¹, Alex Haile¹, Behman Sayanjali¹, Nicole Pukos¹, Kyle Cochran¹, Jen Ahner¹, Ting Su¹, Nathalie Uzcátegui², Yvonne Stenberg², Catja Freiburghaus², Lena Winstedt², Louise R Rodino-Klapac¹

¹ Sarepta Therapeutics, Inc., Cambridge, MA, USA

² Hansa Biopharma, Lund, Skane County, Sweden

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X-linked, neuromuscular disease caused by mutations in the *DMD* gene that prevent the production of functional dystrophin protein. Delandistrogene moxeparvovec (SRP-9001) is a gene transfer therapy designed to compensate for missing dystrophin in DMD by delivering a transgene that utilizes an adeno-associated virus (AAV) vector—AAVrh74—and encodes SRP-9001 dystrophin, a shortened, engineered dystrophin protein that retains key functional domains of the wild-type protein. Despite generally low levels of pre-existing immunity to AAVrh74 in humans, anti-AAV antibodies do occur and can impact the safety and efficacy of gene therapies and preclude their use in otherwise eligible patients. Here, we assessed the ability of imlifidase, a unique endopeptidase that cleaves IgG, to lower anti-AAVrh74 antibodies as a potential means of overcoming or reducing pre-existing immunity.

This study of imlifidase in female cynomolgus monkeys was carried out in two parts with a reporter construct. Part 1 assessed a single (Day 1) or once-daily dose (Days 1–14) of prednisolone via oral gavage (1 mg/kg/day) as a standard immunosuppressive treatment and intravenous (IV) imlifidase (10 mg/kg/dose, Day 1) followed by IV AAVrh74.CMV.eGFP (1.33×10^{14} vg/kg/dose, Day 3) in both anti-AAVrh74 antibody-negative and -positive animals. Part 2 assessed once-daily prednisolone (Days 1–62 or Days 1–96) and single (Day 1) or repeated (Days 1 and 36) imlifidase or saline control and/or AAVrh74.CMV.eGFP (Day 3 or Days 3 and 38). Animals underwent an observation period of at least 59 days. We assessed biodistribution, expression of eGFP, immunological response (anti-AAVrh74 total antibodies using an enzyme-linked immunosorbent assay and T-cell response to AAVrh74 peptides using an enzyme-linked immunosorbent spot), histopathology, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of imlifidase.

In brief, treatment with imlifidase prior to AAVrh74-eGFP in animals with pre-existing anti-AAVrh74 antibodies (titer range: 1:800–1:1600) led to a decreased anti-AAVrh74 antibody response. The decrease in anti-AAVrh74 antibodies observed in animals that received imlifidase prior to gene therapy resulted in efficient transduction (as measured by droplet digital polymerase chain reaction) and expression (as measured by immunofluorescent quantification) of AAVrh74.CMV.eGFP relative to animals with the same antibody titers that did not receive imlifidase. These results suggest that imlifidase can permit AAV transduction in seropositive animals. No adverse clinical events or mortality occurred subsequent to dosing with gene therapy, and no adverse immunotoxicological or histopathological findings related to imlifidase pre-treatment were found, including in the reproductive organs. In this proof-of-concept study, imlifidase pre-treatment lowered anti-AAVrh74 total antibody titers, allowing for safe administration of AAV-based gene therapy in seropositive animals. These findings may help enable treatment in patients currently excluded due to pre-existing antibodies against AAVrh74.

This research was funded by Sarepta Therapeutics.



Symposium 8

Abstract & Curriculum Vitae

Cancer

CURRICULUM VITAE

Name	Hideki Kasuya
Affiliation	Nagoya University Graduate School of Medicine, Cancer Immune Therapy Center
Field of Research	Oncolytic virus Cell therapy Cancer Immune Therapy



Education

Medical Doctor, and PhD (Medical Science) obtained from Nagoya University Graduate School of Medicine. He is holding a title of FACS (Faculty of American College of Surgery)

Professional Experience

A councilor of Japanese Society of Gene and Cell Therapy, and board member of Japanese Society of Oncolytic Virus Therapy. He was a senior research fellow in Mass General Hospital (Dept. of Surgery) in Harvard Medical School. Currently he is a professor and chairman of Cancer Immune Therapy Center, in Nagoya University Graduate School of Medicine, and CEO of Onco Immune Theratech, Co LTD.

Recent Related Publications (5 Papers)

Metformin enhances the antitumor activity of oncolytic herpes simplex virus HF10 (canerpaturev) in a pancreatic cell cancer subcutaneous model. Abdelmoneim M, Eissa IR, Aboalela MA, Naoe Y, Matsumura S, Sibal PA, Bustos-Villalobos I, Tanaka M, Kodera Y, **Kasuya H**. *Sci Rep*. 2022 Dec 13;12(1):21570. Morimoto D., Matsumura S., Bustos-Villalobos I., Sibal P.A., Ichinose T., Naoe Y., Eissa I.R., Abdelmoneim M., Mukoyama N., Miyajima N., Tanaka M., Kodera Y., Kasuya H. C-REV Retains High Infectivity Regardless of the Expression Levels of cGAS and STING in Cultured Pancreatic Cancer Cells. *Cells* 2021. 10, doi: 10.3390/cells10061502. Miyajima N., Ragab Eissa I., Abdelmoneim M., Naoe Y., Ichinose T., Matsumura S., Bustos-Villalobos I., Mukoyama N., Morimoto D., Shibata M., Takeuchi D., Tsunoda N., Kikumori T., Tanaka M., Kodera Y., Kasuya H. S-1 facilitates canerpaturev (C-REV)-induced antitumor efficacy in a triple-negative breast cancer model. *Nagoya J. Med. Sci.* 2021. 83, 683-696. Eissa I.R., Mukoyama N., Abdelmoneim, M., Naoe, Y., Matsumura S., Bustos-Villalobos I., Ichinose T., Miyajima N., Morimoto D., Tanaka M., Fujimoto, Y., Kodera Y., Kasuya H. Oncolytic herpes simplex virus HF10 (canerpaturev, C-REV) promotes accumulation of CD8+PD-1- tumor-infiltrating T cells in PD-L1 enriched tumor microenvironment. *Int. J. Cancer*. 2021 Jul 1;149(1):214-227. Zhiwen Wu, Toru Ichinose, Yoshinori Naoe, Shigeru Matsumura, Itzel Bustos-Villalobos, Ibrahim Ragab Eissa, Suguru Yamada, Noriyuki Miyajima, Daishi Morimoto, Nobuaki Mukoyama, Yoko Nishikawa, Yusuke Koide, Yasuhiro Kodera, Maki Tanaka, Hideki Kasuya. Combination of Cetuxmab and Oncolytic Virus Canerpaturev Synergistically Inhibits Human Colorectal Cancer Growth. *Molecular Therapy-Oncolytics*. 2019 May;13:107-115.

Alteration of the surrounding immunological tumor environment by Oncolytic viruses.

Hideki Kasuya

Nagoya University Graduate School of Medicine, Cancer Immune Therapy Center

This presentation will outline the immunological mechanisms by which oncolytic viruses are associated with antitumor effects. The paradoxical role of the immune response in inhibiting the spread of viral infection on the one hand and enhancing tumor cell destruction through the recruitment of T cells "vaccinated" against tumor antigens on the other will be addressed with respect to oncolytic virus therapy. Oncolytic viruses (OVs) remodel the tumor microenvironment by transforming "cold" tumors into "hot" tumors with high CD8⁺ T cell infiltration; CD8⁺ T cell activity plays an essential role in the antitumor effects of OVs. However, T cell activity is impaired by the interaction of programmed cell death protein-1/programmed cell death ligand 1 (PD-1/PD-L1). To date, it remains unclear why OV alone exhibits significant antitumor activity even when PD-L1 expression persists in tumor cells and immune cells. We found that canerpaturev (C-REV) treatment significantly suppressed tumor growth, even though it induced a significant increase in PD-L1 expression in tumors *in vivo* as well as persistence of high PD-L1 expression on antigen-presenting cells (macrophage and dendritic cells [DCs]). Surprisingly, we observed that C-REV treatment increased the abundance of activated CD8⁺ PD-1⁻ tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in the tumor on both the injected and contralateral sides, although infiltration of CD8⁺ PD-1^{high} TILs into the tumor was observed in the control group. Moreover, the difference in PD-1 expression was observed only in tumors after treatment with C-REV, whereas most CD8⁺ T cells in the spleen, tumor-draining lymph nodes and blood were PD-1-negative, and this did not change after C-REV treatment. In addition, changes in expression of T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 and T-cell immune-receptor with Ig and ITIM domains were not observed on CD8⁺ TILs after C-REV treatment. Taken together, our findings may reveal mechanisms that allow OVs to trigger an antitumor immune response, irrespective of a PD-L1-enriched tumor microenvironment, by recruitment of CD8⁺ PD-1⁻ TILs.

We will also present methods to augment the immunological effects of tumor-soluble viruses. Combination therapy with tumor-soluble virus and metformin produced synergistic antitumor effects on both sides of the tumor and prolonged survival. Combination therapy increased effector CD44⁺ CD8⁺ PD1⁻ subsets on both sides of the tumor and decreased the percentage of terminally differentiated CD103⁺ KLRG-1⁺ T regulatory cells. Interestingly, combination therapy efficiently modulated conventional dendritic cells type-1 (cDC1) on the tumor and on lymph nodes draining from the tumor. As described above, tumor-soluble viruses and changes in the immunological tumor environment are of great interest and warrant further study.

CURRICULUM VITAE

Name	Ken-ichiro Kosai
Affiliation	Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences Kagoshima University Hospital
Field of Research	Oncolytic virus immunotherapy, Vector development, Regenerative medicine, Stem cell biology, Growth factor (biology and application), Translational research



Education

M.D., Kurume University School of Medicine (March, 1988)

Ph.D., Kurume University Graduate School of Medicine (March, 1992)

Professional Experience

- 1988 Resident (Pediatrics) and Graduate Student (Pathology), Kurume University School of Medicine
- 1992 Assistant Professor, Department of Pathology, Kurume University School of Medicine
- 1993 Post Doc.> Visiting Assistant Professor (1994-), Baylor Collage of Medicine, USA
- 1996 Visiting Assistant Professor, Division of Biochemistry, Osaka University Medical School
- 1997 Assistant Professor, Kurume University Research Center for Innovative Cancer Therapy, (and Departments of Pediatrics, Human Genetics and Surgery), Kurume University
- 2000 Associate Professor, Department of Gene Therapy and Regenerative Medicine, Gifu University School of Medicine
- 2003 Professor, Cognitive and Molecular Research Institute for Brain Diseases, (and Department of Pediatrics), Kurume University
- 2006 Professor and Chairman, Department of Gene Therapy and Regenerative Medicine, Kagoshima University Graduate School of Medicine and Dental Sciences

(Secondary appointment)

Director, South Kyushu Center for Innovative Medical Research and Application,

Director, Center for Innovative Therapy Research and Application,

Kagoshima University Graduate School of Medicine and Dental Sciences

Director, Center for Clinical and Translational Research, Kagoshima University Hospital

Visiting Faculty, Kurume University School of Medicine

Founder, President and Chief Scientific Officer, SurvBiopharma Inc.

Advisory Board Member, Biologics Center for Research and Training

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Watanabe M, Nishikawaji Y, Kawakami H, and Kosai K. Adenovirus Biology, Recombinant Adenovirus, and Adenovirus Usage in Gene Therapy. *Viruses*. 13(12):2502. doi:10.3390/v13122502, 2021 (REVIEW)
2. Mitsui K, Takahashi T, Ide K, Matsuda E, Kosai K.: Optimization of Adenoviral Gene Transfer in Human Pluripotent Stem Cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 541:78-83, 2021
3. Matsuda E, Obama Y, Kosai K.: Safe and low-dose but therapeutically effective adenovirus-mediated hepatocyte growth factor gene therapy for type 1 diabetes in mice. *Life Sci*. 268:119014. 2021
4. Suzuki S, Kofune H, Uozumi K, Yoshimitsu M, Arima N, Ishitsuka K, Ueno S and Kosai K.: A survivin-responsive, conditionally replicating adenovirus induces potent cytotoxic effects in adult T-cell leukemia/lymphoma. *BMC Cancer*. 19(1):516. doi:10.1186/s12885-019-5730-1, 2019
5. Ide K, Mitsui K, Irie R, Matsushita Y, Ijichi N, Toyodome S, Kosai K.: A Novel Construction of Lentiviral Vectors for Eliminating Tumorigenic Cells from Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells*. 36:230-239, 2018 (**Featured Article in this issue; Best of Japan, Virtual Issues, Stem Cells**)

Clinical trials and next-generation technology development of Survivin-responsive conditionally replicating adenovirus targeting and treating with multiple factors (Surv.m-CRA)

Ken-ichiro Kosai^{1,2}, Satoshi Nagano^{1,2,3}

¹ Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

² Kagoshima University Hospital

³ Kagoshima University Faculty of Medicine School of Health Science

We developed combination gene therapy for treating cancer at the dawn of gene therapy (1990s), and our therapeutic strategy (local treatment to induce systemic immunity) has contributed at least in part to oncolytic virus (OV) immunotherapy today. We first developed in Japan an original platform technology of “Conditionally replicating adenovirus targeting and treating cancer with multiple factors” (m-CRA), for efficiently developing candidates in the best OV and next-generation OV immunotherapies. Using this technology, we generated numbers of m-CRAs and found that one of the best anticancer agents was survivin-responsive m-CRAs (Surv.m-CRAs) in terms of not only more potent and cancer-specific cytotoxic effects than competitors but also increased effectiveness against cancer stem cells that are resistant to conventional therapies. We completed ICH-GCP First-In-Human clinical trials of Surv.m-CRA-1 (Surv.m-CRA without transgene) in Kagoshima University Hospital, followed by GMP manufacturing and GLP nonclinical study abroad. Patients underwent a single intratumor injection of either 1×10^{10} viral particle (vp), 1×10^{11} vp or 1×10^{12} vp. As a result, Surv.m-CRA-1 was well tolerated and showed more remarkable antitumor effects for prolonged periods than previously reported CRAs. Based on this result, we are doing Phase II multicenter clinical trial of Surv.m-CRA-1 for malignant bone tumors toward approval and Phase I /II clinical trial for pancreatic cancer patients.

CURRICULUM VITAE

Name Kazunori Aoki

Affiliation National Cancer Center Research Institute

Field of Research Cancer immunology, Cancer gene therapy



Education

1987 Shinshu University, School of Medicine, Japan

Professional Experience

1987-1989 Trainee, Department of Neurology, School of Medicine, Shinshu University

1989-1992 Resident, Medical Oncology, National Cancer Center Hospital

1992-1994 Chief resident, Medical Oncology, National Cancer Center Hospital

1994-1997 Researcher, Genetics Division, National Cancer Center Research Institute (NCCRI)

1997-1999 Researcher, Howard Hughes Medical Institute, University of Michigan, USA

1999-2010 Head, Section for Studies on Host-Immune Response, NCCRI

2010-2017 Chief, Division of Gene and Immune Medicine, NCCRI

2017-present Chief, Department of Immune Medicine, NCCRI

2018-present Deputy Director, NCCRI

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Mitsunaga S, Ikeda M, Imaoka H, Sasaki M, Watanabe K, Sato A, Aoki K, Ochiai A, Makikawa M, Nishidate M, Yamaguchi K, Terao K, Sawada N, Fujitomo T, Fujii E, Kato A, Tsunoda H. Tocilizumab plus gemcitabine/nab-paclitaxel for gemcitabine/nab-paclitaxel-refractory metastatic pancreatic cancer: clinical and translational phase I results. *Cancer Sci*. First published: 21 August 2023
2. Aoki K, Nishito N, Motoi N, Arai Y, Hiraoka N, Shibata T, Sonobe Y, Kayukawa Y, Hashimoto E, Takahashi M, Fujii E, Nishizawa T, Fukuda H, Ohashi K, Arai K, Mizoguchi Y, Yoshida Y, Watanabe S, Yamashita M, Kitano S, Sakamoto H, Nagata Y, Mitsumori R, Ozaki K, Niida S, Kanai Y, Hirayama A, Soga T, Maruyama T, Tsukada K, Yabuki N, Shimada M, Kitazawa T, Natori O, Sawada N, Kato A, Yoshida T, Yasuda K, Mizuno H, Tsunoda H, Ochiai A. Tumor-infiltrating lymphocyte profiling defines three immune subtypes of NSCLC with distinct signaling pathways and genetic alterations. *Cancer Res Commun* 3 : 1026–1040, 2023.
3. A Hirata, E Sawai, M Henmi, C Shibasaki, Y Mizoguchi, K Narumi, K Aoki. Imatinib Mesylate Exerted Antitumor Effect by Promoting Increased Infiltration of Effector T Cells in Tumor. *Biological & pharmaceutical bulletin* 45; 34-41, 2022.
4. K Narumi, R Miyakawa, C Shibasaki, M Henmi, Y Mizoguchi, R Ueda, H Hashimoto, N Hiraoka, T Yoshida, K Aoki. Pre-immunization of donor lymphocytes by GITR agonistic antibody enhances antitumor immunity of autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Sci Rep*. Article number: 5562, 2019.
5. A. Hirata, H. Hashimoto, C. Shibasaki, K. Narumi, K Aoki. Intratumoral IFN- α ; gene delivery reduces tumor-infiltrating regulatory T cells through the down-regulation of tumor CCL17 expression. *Cancer Gene Therapy* 26:334-343, 2019.

The Role of Myeloid-derived Suppressor Cells in Construction of Immune Suppressive Tumor Microenvironment of Pancreatic Cancer

Kazunori Aoki¹, Nobuyoshi Hiraoka¹, Shuichi Mitsunaga

¹ National Cancer Center Research Institute

² National Cancer Center Hospital East

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the fifth leading cause of cancer-related in Japan. Despite constant efforts to improve treatment, the prognosis remains poor, with an overall survival rate of 6%. Recently, immune checkpoint inhibitors (ICIs) have been reported to be effective in various solid cancers, such as melanoma and lung cancer. However, ICIs are not effective for PDAC. Immune tumor microenvironment (TME) profoundly influences responsiveness to cancer immunotherapy.

In this study, to examine the immunological characteristics of TME, we constructed an integrated data base of tumor infiltrating leukocyte (TIL) profiling by flow cytometry (FCM), RNA-seq and whole exome seq using 29 fresh resected tissues of PDAC. An unsupervised clustering of TIL profile based on the percentage of 11 TIL types showed that PDAC was divided into 2 types of clusters (myeloid cell-, T cell-dominant type), and the patient outcome of myeloid type was significantly poorer than that of T cell-type. Single cell RNA-sequencing of myeloid cells in PDAC tissues clarified that the myeloid fraction was divided into 6 clusters, and each myeloid cluster expressed characteristic immune suppressive molecules. Among various immune cell types, only myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) were significantly associated with poor prognosis.

It was reported that IL-6 and GM-CSF were important to induce MDSCs from peripheral blood mononuclear cells. Gene enrichment analysis of myeloid cells isolated from PDAC tissues identified that IL-6 pathways were activated in MDSCs compared to other myeloid cells, and the expression of IL-6 was significantly related to the percentage of MDSCs in PDAC tissue. The immunohistochemistry showed that IL-6 was expressed in cancer-associated fibroblasts and cancer cells, and the expression IL-6 in CAF but not in cancer cells was significantly associated with the overall survival in a retrospective cohort of patients with PDAC (n=119). The supernatants of pancreatic CAFs enhanced the migration activity of MDSCs, and the IL-6R antibody inhibited the CAF-mediated migratory activity of MDSCs, suggesting the important interaction between CAFs and MDSCs.

Recently, it has become clear that anti-cancer drugs such as gemcitabine (GEM) have a capacity to induce antitumor immunity via the mechanism of immune cell death, emerging a concept of chemoimmunotherapy. The inhibition of IL-6 signaling may enhance the antitumor effect of chemoimmunotherapy by suppression of MDSCs. The Phase I clinical study to determine the safety and recommended dose of tocilizumab (TCZ), an IL-6R monoclonal antibody, and biological correlates of tumor shrinkage in patients with GEM/nanoparticle albumin-bound paclitaxel (nab-PTX)-refractory metastatic PDAC. This phase 1 study enrolled 10 patients with PDAC who had progressed after GEM/nab-PTX. No dose-limited toxicities occurred. Treatment-emergent adverse events occurred in 80% of patients, of which decreased neutrophil count was the most common. Tumor reduction was observed in four patients, who were defined as responders.

CURRICULUM VITAE

Name Masato Yamamoto

Affiliation University of Minnesota

Field of Research GI Cancer
Adenovirus
Oncolytic Virus



Education

Osaka University School of Medicine, Osaka, Japan M.D. 1988

Osaka University School of Medicine, Osaka, Japan Ph.D. 1997

Professional Experience

2019 - Vice Chair for Surgical Science, Dept. of Surgery, University of Minnesota, Minneapolis, MN

2017- Director and Professor of Division of Basic and Translational Research, Dept. of Surgery, Professor, Division of Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition, Department of Medicine, Co-Leader of Genetic Mechanism of Cancer Program, Masonic Cancer Center, University of Minnesota Twin City, Minneapolis, MN

2011 - 2016 Co-Director, Professor, Division of Basic and Translational Research, Department of Surgery, University of Minnesota Twin City, Minneapolis, MN

2006 - 2011 Co-Director, Associate Professor, Division of Basic and Translational Research, Department of Surgery, University of Minnesota Twin City, Minneapolis, MN

2001 - 2006 Instructor-Assistant Professor- Associate Professor, Div. of Human Gene Therapy, Dept. of Surgery, Medicine and Pathology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama

1999 - 2000 Postdoctoral Fellow, University of Alabama at Birmingham (UAB), Birmingham, Alabama

1997 - 1999 Deputy Chief Gastroenterologist, Kansai Rosai Hospital, Amagasaki, Japan

1996 - 1997 Senior Resident, Osaka University Hospital, Osaka, Japan

1992 - 1996 Research Fellow, Osaka University School of Medicine, Osaka, Japan

1989 - 1992 Resident-Chief Resident of Gastroenterology, National Osaka Minami Hospital, Osaka, Japan

Recent Related Publications (5 Papers)

Yamamoto M, Davydova J, Wang M, Siegal GP, Krasnykh V, Vickers SM and Curiel DT. Infectivity enhanced, cyclooxygenase-2 promoter-based conditionally replicative adenovirus for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2003; 125(4):1203-18. PMID: 14517802 Davydova J, Le LP, Gavrokov T, Wang M, Krasnykh V, **Yamamoto M**. Infectivity-enhanced Cyclooxygenase-2-based Conditionally Replicative Adenoviruses for Esophageal Adenocarcinoma. *Cancer Research*. 2004 Jul 15;64(12):4319-27. PMID: 15205347 Miura Y, Yamasaki S, Davydova J, Brown E, Aoki K, Vickers S, **Yamamoto M**. Infectivity-selective oncolytic adenovirus developed by high-throughput screening of adenovirus-formatted library. *Mol Ther* 2013 Jan; 21(1): 139-48. PubMed PMID: 23032977; PubMed Central PMCID: 3538312. Sato-Dahlman M, Miura Y, Huang JL, Hajeri P, Jacobsen K, Davydova J, **Yamamoto M**. CD133-targeted oncolytic adenovirus demonstrates anti-tumor effect in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017 Jun 2. doi:10.18632/oncotarget.18340. [Epub ahead of print] PMID: 29100290 Le LP, Le HN, Dmitriev IP, Davydova JG, Gavrikova T, Yamamoto S, Curiel DT, **Yamamoto M**. Dynamic Monitoring of Oncolytic Adenovirus In Vivo by Genetic Capsid Labeling. *J Natl Cancer Inst* 2006 Feb 1;98(3):203-14. PMID: 16449680

Oncolytic Adenoviruses for Pancreatic Cancers

Masato Yamamoto

University of Minnesota

Despite the advanced for early detection, there are so many advanced cancer patients whose tumor cannot be surgically resected. Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a typical example of such refractory advanced cancers and showing less than 10% of 5 yr survival. This is the reason we are developing novel therapeutic modalities for the treatment of advanced lesions and conversion of un-resectable tumors to resectable. We therefore have been developing oncolytic viruses by employing adenovirus as the prototype virus for development, oncolytic adenovirus (OAd). Toward this goal, we have been exploiting the features specifically observed in the cancers as the target of therapeutic modalities in order to achieve potent and selective antitumoral effect, leaving non-cancerous organs unaffected.

We are targeting a variety of cancer signatures in several different ways. One approach is the control of the viral replication/spread via promoter-based control of adenovirus E1 gene expression. For example, we have been using COX2 promoter for many GI cancers. We have made the cGMP virus and will start Phase I clinical trial by EUS-guided injection for PDAC soon.

The other approach is to change the tropism of binding/infection in order to selectively target PDAC cells. Many researchers have been trying to incorporate the existing cancer specific binding motifs into the virus virion, but the success rate has been quite low. In order to overcome this hurdle, we generated high diversity adenovirus library (10^9 - 10^{10} diversity) with random motifs in the initial binding domain of the AB-loop of adenovirus fiber region with our novel technology and did a high throughput screening. With this method, we have developed Infectivity-Selective OAd against mesothelin (MSLN), which is overexpressed in pancreatic cancer. This system is particularly beneficial for systemic administration because the sequestration to the liver was reduced to $<1/10$ and the therapeutic effect in the tumor was significantly enhanced. The Therapeutic effect was also evident in a patient-derived pancreatic cancer xenograft model representing robust the desmoplasty, a big hurdle for any therapeutic efficacy. In addition to targeting, our vector system can express massive amount of transgene selectively in the tumor. This enables expression of transgenes with direct therapeutic effect or indirect effect (e.g. immunomodulators). We already have preliminary data showing significant therapeutic effect of expressing such transgenes (e.g. IFN-g) in mouse syngeneic tumor model, and in process of incorporating these genes into oncolytic adenovirus system.

Adenovirus back bone allows us to combine these advances into one virus. OAds therefore has high potential for novel oncolytic virus development towards clinical application in the patients with locally advanced and/or metastatic diseases. We hope our OAd will provide hope to the patients who received devastating diagnosis of refractory GI cancers.



Symposium 9

Abstract & Curriculum Vitae

Vector manufacturing

CURRICULUM VITAE

Name Mikako Wada

Affiliation Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Field of Research AAV vectors, Gene therapy, Molecular Biology



Education

2014-2017 Ph.D., Kitasato University, Graduate School of Science
 2012-2014 M.S., Kitasato University, Graduate School of Science
 2008-2012 B.S., Kitasato University, School of Science, Department of Biological Sciences

Professional Experience

2020-present Project Researcher, Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan
 2017-2020 Postdoc, Division of Gene Therapy and Genome Editing, Research Center for Genomic Medicine, Saitama, Japan

Recent Related Publications (5 Papers)

Miyaoka, R., Tsunekawa, Y., Kurosawa, Y., Sasaki, T., Onodera, A., Kenji, S., Kakiuchi, Y., Wada, M., Nitahara-Kasahara, Y., Hayashita-Kinoh, H., and Okada, T. (2023). Development of a novel purification method for AAV vectors using tangential flow filtration. *Biotechnol. & Bioeng.* (in press) Wada, M., Uchida, N., Posadas-Herrera, G., Hayashita-Kinoh, H., Tsunekawa, Y., Hirai, Y., and Okada, T. (2023). Large-scale purification of functional AAV particles packaging the full genome using short-term ultracentrifugation with a zonal rotor. *Gene Ther.* Kuroda, S., Miyagawa, Y., Sukegawa, M., Tomono, T., Yamamoto, M., Adachi, K., Verlengia, G., Goins, W.F., Cohen, J.B., Glorioso, J.C., and Okada, T. (2022). Evaluation of parameters for efficient purification and long-term storage of herpes simplex virus-based vectors. *Mol Ther Methods Clin Dev.* Adachi, K., Tomono, T., Okada, H., Shiozawa, Y., Yamamoto, M., Miyagawa, Y., and Okada, T. (2022). A PCR-amplified transgene fragment flanked by a single copy of a truncated inverted terminal repeat for recombinant adeno-associated virus production prevents unnecessary plasmid DNA packaging. *Gene Ther.* Hayashita-Kinoh, H., Guillermo, P.H., Nitahara-Kasahara, Y., Kuraoka, M., Okada, H., Chiyo, T., Takeda, S., and Okada, T. (2021). Improved transduction of canine X-linked muscular dystrophy with rAAV9-microdystrophin via multipotent MSC pretreatment. *Mol Ther Methods Clin Dev.*

GMP viral vector manufacturing for academia R&D

Mikako Wada, Yasunari Matsuzaka, Yuji Tsunekawa, Hiromi Hayashita-Kinoh, Yuko Nitahara-Kasahara, Ken Sugo, Yukihiko Hirai, Kenju Ueno, Guillermo Posadas-Herrera, Takashi Okada

Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Gene therapy is a field that requires particular focus to solve social issues and promote the bio-industry. With the advent of the bioeconomy society, the global gene therapy market is estimated to be worth USD 2.99 billion as of 2021 and is expected to grow at a compound average growth rate of 20.2% from 2022 to 2030.

We have organized the "Consortium for Gene Therapy and Regenerative Medicine" as an international center for gene and cell therapy, conducting cutting-edge research and bringing together human resources and technologies encompassing gene therapy, stem cells, regeneration, and ELSI (ethical, legal, and social issues) at the Institute of Medical Science, the University of Tokyo. The good manufacturing practice (GMP) viral vector manufacturing facility has a proven track record in the development and regulatory approval of other vectors. We are setting up a GMP production facility for academia that can rapidly provide recombinant adeno-associated virus (rAAV) and Lentivirus, also supporting many researchers both within and outside the university. We then plan to establish a comprehensive support system including highly knowledgeable experts from the consortium for the practical use of efficient matching as well as trial manufacturing in close collaboration with small-scale GMP facilities and Cell Processing Center facilities. With this system, we will continuously support academia's seeds, contributing to the development of promising gene therapy technologies and accelerating clinical trials by academia.

rAAVs, one of our modalities, are used in many clinical trials. However, there are concerns about severe adverse events (SAEs). High doses of rAAV are reported to cause SAEs in clinical trials. One of the reasons considered for this is the contamination of rAAV products with non-functional vectors such as intermediate, empty AAV capsids, and impurities that include host-cell DNA and proteins. For safe use in gene therapy, the quality and purification requirements for rAAV are therefore different than in the past. Agencies such as the PMDA and FDA have also proposed reporting the ratio of full/empty AAV capsids. Density gradient ultracentrifugation has long been a common technology for the separation of full AAV capsids at high purity. However, the disadvantages of conventional ultracentrifugation are the long-term cesium chloride (CsCl) exposure and limitations for large-volume purification. To overcome this, we are currently developing our purification process using zonal ultracentrifugation (ZUCF) for GMP rAAV manufacturing. We confirmed that ZUCF with CsCl can successfully separate full capsids at a large scale in a short time. Furthermore, to avoid cross-contamination and shorten the time after ZUCF, the in-line system that detects the rAAV during fractionation was improved. We are also preparing cleaning validation and regulatory compliance for GMP manufacturing of rAAV.

略歴

名前 内田 和久

所属 国立大学法人 神戸大学 大学院
科学技術イノベーション研究科



職歴

1988年 東京都立大学 理学研究科博士前期課程化学専攻終了後、⑭協和キリンに入社し2022年までタンパク医薬、特に抗体医薬の研究開発、CMC開発、申請業務などに従事。

2014～2022年 日本製薬工業会 バイオ医薬品委員会技術実務委員会委員長を併任。

2015年 神戸大学大学院 工学研究科 特命教授

2016年から神戸大学大学院 科学技術イノベーション研究科 特命教授(現職)で、一般社団法人 バイオロジクス研究・トレーニングセンター専務理事代行も兼務。

最近の関連出版物・論文

- Kyoko Masumi-Koizumi, Yuzhe Yuan, Kiyoko Higashiyama, Keisuke Yusa, Kazuhisa Uchida, Association between adeno-associated virus genomic titers and intracellular plasmid levels. *Engineering Reports*. First published: 13 June 2023 <https://doi.org/10.1002/eng2.12704>
- Shunsuke SAITO, Akihiko KONDO, Kazuhisa UCHIDA Investigating critical thermal parameters for pre-analytical preparation of adeno-associated virus vector genome titration by droplet digital polymerase chain reaction. *Translational and Regulatory Sciences*. Article ID: 2023-001 <https://doi.org/10.33611/trs.2023-001>
- Kiyoko Higashiyama, Yuzhe Yuan, Noriko Hashiba, Kyoko Koizumi Masumi, Keisuke Yusa, Kazuhisa Uchida Quantitation of residual host cell DNA in recombinant adeno-associated virus using droplet digital PCR, *Human gene therapy*, Published Online:14 Apr 2023 <https://doi.org/10.1089/hum.2023.006>
- Kono K, Kataoka K, Yuan Y, Yusa K, Uchida K, Sato Y. Infectivity assessment of porcine endogenous retrovirus using high-throughput sequencing technologies. *Biologicals*. 2021;71:1-8.
- Viral safety testing for biopharmaceuticals: Current and future prospects Keisuke Yusa, Yuzhe Yuan and Kazuhisa Uchida *Translat Regulat Sci*. 2(3): 94–99, 2020; doi: 10.33611/trs.2020-017

Quantitative analysis of GOI and impurity nucleic acids of AAV viral vectors by droplet digital PCR

Kazuhisa Uchida, Kiyoko Higashiyama, Noriko Hashiba, Yuzhe Yuan, Kyoko Masumi-Koizumi, Keisuke Yusa

Kobe University Graduate School of Science, Technology and Innovation

ここ数年、遺伝子治療用ウイルスベクターの製造と品質管理のための分析技術の進歩が著しい。

抗体医薬の開発で蓄積された分析法に関するノウハウを基にして、合理的な分析手法の開発が進んでいる。それに加えて、ウイルスベクター製品は、タンパク質からなるカプシドとそれに取り囲まれた活性本体である核酸から構成されているので、抗体医薬では必要ない核酸に関する規格分析項目が複数存在する。さらに、核酸分析として一般的だった従来法である qPCR を使う手法に替えて、droplet digital PCR (以下 ddPCR) や Next Generation Sequencing (以下 NGS) といった最新の核酸分析法が規格分析に採用されつつある。

本発表では、我々がここ数年取り組んできた AAV ウイルスベクターの GOI や Plasmid DNA、宿主細胞由来 DNA を ddPCR や NGS により解析する手法を紹介する。ddPCR では、ddPCR を行うまでの前処理において、カプシドから核酸を溶出させない適切な条件を検討して、AAV ベクターのカプシド内に存在する GOI や原材料由来 Plasmid DNA、宿主細胞由来 DNA の定量法を確立した。特に核酸の不純物分析では、詳細な分析条件が開示されない傾向にあるキットを用いる方法とは異なる、宿主由来 DNA の代替測定法について報告する。また、ショートリード法の NGS を用いて、GOI 及び核酸不純物の一斉解析を目標に、前処理、ライブラリー作製、シーケンシング、パイプライン解析といった一連のワークフローを検討した。そして、NGS により得られた定量値と、それらを ddPCR で測定した定量値の間に相関性があることが示せた。これにより、PCR が持つ一部の配列に関する情報しか得られず、全体像を掌握できないという欠点を NGS が補完する可能性を示した。

In recent years, remarkable progress has been made in analytical techniques for production and quality control of viral vectors for gene therapy.

Rational analytical methods are being developed based on the know-how related to analytical methods accumulated in the development of antibody drugs. In addition, since viral vector products consist of a protein capsid surrounded by a nucleic acid, which is the active substance, there are multiple standard analysis items for nucleic acids that are not necessary for antibody drugs. Furthermore, the latest nucleic acid analysis methods such as droplet digital PCR (hereinafter ddPCR) and Next Generation Sequencing (hereinafter NGS) are being adopted for standard analyses, rather than using qPCR, which is the conventional method commonly used for nucleic acid analysis.

In this presentation, we will introduce the methods of analyzing the GOI of AAV virus vectors, plasmid DNA, and host cell-derived DNA by ddPCR and NGS, which we have been working on for the past few years. In ddPCR, we examined the appropriate conditions that do not elute nucleic acids from the capsid in the pretreatment before ddPCR, and established a method for quantifying GOI, raw material-derived plasmid DNA, and host cell-derived DNA in the AAV vector capsid. In particular, for impurity analysis of nucleic acids, we report an alternative measurement method for host-derived DNA, which is different from the method using a kit, for which detailed analysis conditions tend not to be disclosed. In addition, a series of workflows including pretreatment, library preparation, sequencing, and pipeline analysis were investigated with the goal of simultaneous analysis of GOI and nucleic acid impurities using short-read NGS. We also showed that there was a correlation between the quantitative values obtained by NGS and the quantitative values obtained by ddPCR. This indicates that NGS can compensate for the shortcomings of PCR, in which only partial sequence information can be obtained and the overall picture cannot be grasped.

CURRICULUM VITAE

Name Yugo Hirai

Affiliation Chitose Laboratory Corp.
Manufacturing Technology Association of Biologics

Field of Research Cell engineering

Education

2012 Ph. D. Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Japan.

Professional Experience

2012-2014 Post-doctoral fellow, Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Japan.

2014-present Chitose Laboratory Corp., Japan



Establishment of new human amniotic epithelial cell lines for scalable production of recombinant adeno-associated viral vectors for gene therapy

Yugo Hirai^{1,2}

¹ Chitose Laboratory Corp.

² Manufacturing Technology Association of Biologics

Recombinant adeno-associated virus (rAAV) is a powerful vehicle for in vivo gene delivery, however, there remain significant issues regarding productivity, scalability, and quality with current manufacturing platforms. Human embryonic kidney 293 (HEK293) cells have served the gold standard for producing rAAV vectors. Various HEK293 cell clones have been established for biomanufacturing purposes, but the derivatives all originate from the same parental lineage, implying that the diverse background of the starting host cell pool probably offers a chance to achieve higher yields. To this end, we set out to establish a panel of new **H**uman **A**mniotic epithelial cell lines for gene and cell **T**herapy (HAT) derived from 20 placental tissues. The primary cells were transformed with Ad5 E1 regions. Through a screening of more than 500 colonies picked up, over 40 cell lines displaying high proliferation capacity were selected and adapted to serum-free suspension culture in chemically defined medium. A-2, one of the most promising candidate cell lines, exhibited excellent proliferation and produced high titers of rAAV vectors across multiple serotypes comparable to commercially available suspension HEK293 cell clone using shaking flasks. In addition, scalable cultivation and rAAV production were successfully demonstrated using A-2 cells and A-2 derived C1 single cell clone in a 10 L single-use orbital shaken bioreactor. Further upstream process optimization including cell line development is ongoing. This novel panel of HAT cells provides a hopeful platform for future viral vector manufacturing in gene therapy.

CURRICULUM VITAE

Name Susumu Uchiyama

Affiliation Osaka University
U-Medico, Inc.

Field of Research Analytical development and quality control of virus vectors

**Education**

1994 B.S., Department of Chemistry, School of Sciences, Nagoya University
 1996 M.S., Graduate School of Science, Osaka University
 1999 Ph.D., Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University

Professional Experience

1999-2001 Post-doc. Researcher, RRF Research Institute, Inc.
 2001-2012 Assistant Professor, Dept. Biotech, Graduate School of Engineering, Osaka Univ.
 2005-2005 Visiting Scientist, Dept. Chemistry, Cambridge University
 2012-2017 Associate Professor, Dept. Biotech, Graduate School of Engineering, Osaka Univ.
 2017- Professor, Dept. Biotech, Graduate School of Engineering, Osaka Univ.
 2006- Founder, Chief Scientific Officer, U-Medico, Inc.
 2021- Scientific Advisory Board, Coriolis Pharma (Munich)

Recent Related Publications (5 Papers)

1. Maruno T, Ishii K, Torisu T, Uchiyama S. Size Distribution Analysis of the Adeno-Associated Virus Vector by the c(s) Analysis of Band Sedimentation Analytical Ultracentrifugation with Multiwavelength Detection. *J Pharm Sci.* 112, 937-946 (2023).
2. Takeda K, Noda M, Maruno T, Uchiyama S. Critical Calibration of Mass Photometry for Higher-Mass Samples Such as Adeno-Associated Virus Vectors. *J Pharm Sci.* 112, 1145-1150 (2023).
3. Ramy S, Ueda Y, Nakajima H, Hiroi M, Hiroi Y, Torisu T, Uchiyama S. Reduction of Recombinant Adeno-Associated Virus Vector Adsorption on Solid Surfaces by Polyionic Hydrophilic Complex Coating. *J Pharm Sci.* 111, 663-671 (2022).
4. Oyama H, Ishii K, Maruno T, Torisu T, Uchiyama S. Characterization of Adeno-Associated Virus Capsid Proteins with Two Types of VP3-Related Components by Capillary Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry. *Hum. Gene Ther.* 32, 1403-1416 (2021).
5. Maruno T, Usami K, Ishii K, Torisu T, Uchiyama S. Comprehensive Size Distribution and Composition Analysis of Adeno-Associated Virus Vector by Multiwavelength Sedimentation Velocity Analytical Ultracentrifugation. *J. Pharm. Sci.* 110, 3375-3384 (2021).

Analytical development and quality control of AAV vectors

Susumu Uchiyama^{1,2}

¹ Osaka University

² U-Medico, Inc.

遺伝子治療のプラットフォームとしてアデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus : AAV) ベクターの開発研究が欧米を中心に進められている。本邦でも既に複数の製品が承認されており、また、演者が参画している遺伝子・細胞治療用ベクター新規大量製造技術開発プロジェクトにおいても製造技術を中心に精力的な研究開発が進められている。一方、バイオテクノロジーを利用して動物細胞によって製造される AAV ベクターは精製後にも目的物質以外が含まれており、有効性・安全性の担保のためには、分析による品質管理が欠かせない。こうした背景から演者らは、AAV ベクターを対象として従来から利用されてきた手法の検証と必要に応じた最先端手法への置き換え、さらに、これまで理解されていなかった特性の解析のための分析法開発に取り組んできた。

本発表では、AAV ベクターの品質管理のための分析手法の概要および詳細について、実際例を中心に紹介し、今後の展望について議論する予定である。



Young investigators session

Abstract & Curriculum Vitae

Explore a new era of gene therapy

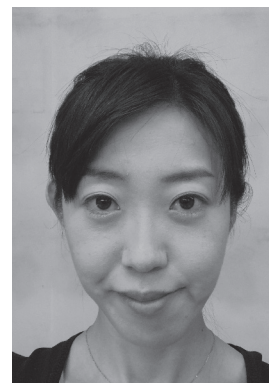
略歴

名前

三浦 浩美

所属

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学
東海大学 生命科学統合支援センター



ゲノム編集 “見える化” を目指したレポーターマウスの開発

三浦 浩美¹、堀 秀帆²、西川 想大¹、今福 樹来¹、黒崎 亜希¹、紙谷 聡英¹、大塚 正人

¹ 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

² 東海大学 生命科学統合支援センター

ゲノム編集技術は、疾患の遺伝子治療への応用に大変期待されており、既に米国を中心に臨床試験も進んでいる。遺伝子治療には、体外に取り出した細胞にゲノム編集を施した後、編集された細胞を体内に戻す方法(ex vivo)と、患者の生体内の細胞に直接ゲノム編集を施す方法(in vivo)がある。in vivo 遺伝子治療に関しては、如何に高効率かつ特異的に標的臓器・細胞にゲノム編集試薬を送達し、期待通りのゲノム編集を達成できるのかが極めて重要な課題となっており、その効率改善に向けて様々なツールや新規デリバリー法が開発されてきている。そこで、それらのツールや手法によって得られる効率を評価することが必要であるものの、試薬の送達効率やゲノム編集効率を簡便に評価可能なモデル動物の報告は殆どない。

そこで我々は、体内でゲノム編集が生じたことが“見える”、ゲノム編集評価系レポーターマウスの開発を目指し、これまでに2種類のマウスを開発してきた。1つ目は、ゲノム編集が生じた細胞でのみGFP蛍光を発するマウスであり(Miura et al. Mol. Ther. Nucleic Acids 2021)、それを用いて各種デリバリー法の評価やゲノム編集ツール・試薬の違いによる効率比較等が行えることを示してきた。2つ目は、組織透過性の高いAkaBLIシステムを応用したレポーターマウスであり、生きたまま体内でのゲノム編集や塩基編集の有無を評価可能なマウスとなっている。今回の発表では、これら2つのモデルマウスとその応用について紹介したい。

略歴

名前 富樫 朋貴

所属 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門
金沢大学大学院医薬保健学総合研究科病態検査学

研究分野 血栓止血学、遺伝子治療、ゲノム編集治療



学歴

2020年 金沢大学医薬保健学域保健学類検査技術科学専攻 卒業
2022年 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻(博士前期課程) 修了

職歴

最近の関連出版物・論文

Hino T*, Omura SN*, Nakagawa R*, Togashi T*, Takeda SN, Hiramoto T, Tasaka S, Hirano H, Tokuyama T, Uosaki H, Ishiguro S, Kagieva M, Yamano H, Ozaki Y, Motooka D, Mori H, Kirita Y, Kise Y, Itoh Y, Matoba S, Aburatani H, Yachie N, Karvelis T, Siksnys V, Ohmori T**, Hoshino A**, Nureki O**. An AsCas12f-based compact genome editing tool derived by deep mutational scanning and structural analysis. *Cell* (in principle accept). *Equal contribution, **Corresponding author

プロテインC欠損マウスに対する新生児ゲノム編集治療

富樫 朋貴^{1,2}

¹ 自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門

² 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科病態検査学

血液の固まりやすさは血中の凝固因子と抗凝固因子のバランスにより決定され、抗凝固因子の低下は血栓症のリスクとなる。プロテインC (PC) は肝臓で産生される抗凝固因子であり、血栓部位で活性化されると血液凝固第V因子と第VIII因子を分解し、凝固反応を抑制する。PC遺伝子 (*PROC*) の両アレル異常は生後まもなく新生児電撃性紫斑病という致命的な血栓症を引き起こす稀な難治性疾患であり、根治療法は未だ確立されていない。本研究では、PC欠損症の治療を目的として、PC欠損マウスに対するゲノム編集治療を開発した。編集効率が低くても治療できるように、野生型PCにアミノ酸配列を挿入し改変型PCを設計した。改変型PCは活性体として細胞外に分泌され、ヒト血漿と混和するとPC濃度依存性に凝固時間を延長した。この改変型PCを発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを成マウスに静脈投与すると、血液凝固第V因子活性の低下と凝固時間の延長が認められ、活性酸素による病的血栓形成を抑制した。凝固反応の抑制は野生型PCを発現させた場合には認められず、改変型PCを用いることで効率よく凝固反応を抑制できた。PC欠損症の治療ステージは新生児期であり、肝増殖によりPC発現が減衰しないゲノム編集を試みた。CRISPR-Cas9と改変型PCドナー配列を2種類のAAVベクターにより送達し、アルブミン遺伝子座をターゲットに改変型PCをノックインした。未治療のPC欠損マウスは血栓症により1週間以内に死亡したが、ゲノム編集により改変型PCをノックインしたPC欠損マウスは生存期間が延長し血栓症が改善した。以上の結果より、改変型PCをアルブミン遺伝子座にノックインする新生児ゲノム編集はPC欠損症に対する新たな治療法となり得る。

略歴

名前 石神 育歩

所属 大阪大学大学院薬学研究科

研究分野 遺伝子治療学
ウイルス療法学



学歴

2016年 大阪大学薬学部薬科学科入学

2020年 大阪大学薬学部薬科学科卒業

2020年 大阪大学大学院薬学研究科創成薬学専攻 博士前期課程入学

2022年 大阪大学大学院薬学研究科創成薬学専攻 博士前期課程修了

2022年 大阪大学大学院薬学研究科創成薬学専攻 博士後期課程入学
(現在博士後期課程在籍中)

職歴

2022年～ 日本学術振興会 特別研究員 DC1

最近の関連出版物・論文

Oncolytic reovirus-mediated killing of mouse cancer-associated fibroblasts. Kurisu N., Kaminade T., Eguchi M., Ishigami I., Mizuguchi H., Sakurai F. *Int. J. Pharmaceut.* 610 121269 (2021)

A TGF- β signaling inhibitor, SB431542, inhibits reovirus-mediated lysis of human hepatocellular carcinoma cells in a TGF- β -independent manner. Ishigami I., Shuwari N., Kaminade T., Mizuguchi H., Sakurai F. *Anticancer Res.* 4 2431-2440 (2021)

Eguchi M., Hirata S., Ishigami I., Shuwari N., Ono R., Tachibana M., Tanuma M., Kasai A., Hashimoto H., Ogawara KI., Mizuguchi H., Sakurai F. Pre-treatment of oncolytic reovirus improves tumor accumulation and intratumoral distribution of PEG-liposomes. *J. Cont. Rel.* 354 35-44 (2023)

腫瘍溶解性ウイルス製剤であるレオウイルスによる脱線維化効果

石神 育歩¹、水口 裕之^{1,2,3,4,5}、櫻井 文教¹

¹ 大阪大学大学院薬学研究科

² 医薬基盤・健康・栄養研究所

³ 大阪大学国際医工情報センター

⁴ 大阪大学先導的学際研究機構

⁵ 大阪大学感染症総合教育研究拠点

【背景】

肝線維症は様々な肝障害により産生された Transforming growth factor (TGF) - β が肝臓の間葉系細胞である肝星細胞を活性化し、コラーゲンなどの細胞外基質を過剰に産生・蓄積することで肝機能不全、さらには肝硬変や肝がんへと進行する疾患である。世界的に多くの患者が存在するものの効果的な治療薬が少なく、革新的治療薬の開発が喫緊の課題となっている。

当研究室では10本の2本鎖RNAをゲノムにもち、腫瘍細胞特異的に感染増殖し細胞死を誘導するレオウイルスに関して研究を進めている。私たちはレオウイルスががん細胞のみならず、がん関連線維芽細胞に対しても殺細胞効果を示すことを明らかにした (Kurisu *et al.*, *Int.J.Pharm.*, 2021)。がん関連線維芽細胞は肝線維化の原因である活性化した肝星細胞と類似した性質を示すことから、レオウイルスは肝線維症に対しても何らかの治療効果（脱線維化効果）を示すのではないかと考えた。

【方法・結果】

①肝線維化マウス対するレオウイルスによる脱線維化効果

肝線維化マウスにレオウイルスを投与したところ、顕著な肝障害を引き起こすことなく、I型コラーゲンなどの線維化マーカー遺伝子の発現を大きく低下させた。さらにマウスに静脈内投与後、レオウイルスは肝星細胞に取り込まれていた。

②活性化した肝星細胞に対するレオウイルスの脱線維化効果

レオウイルスは、顕著な細胞死を誘導することなく、活性化した肝星細胞における線維化マーカー遺伝子の発現を大きく低減させた。さらにRNAseqならびに肝星細胞の機能解析より、レオウイルスは活性化した肝星細胞を活性化前の状態に戻していることが示唆された。

上記に加えて現在、レオウイルスによる脱線維化誘導メカニズムの解明に関しても研究を進めており、本講演ではこれらの研究成果についても併せて報告したい。

略歴

名前 山本 武範

所属 国立医薬品食品衛生研究所

研究分野 遺伝子治療
mRNA 医薬
規制科学



学歴

2002年 3月 徳島大学薬学部 卒業

2004年 3月 徳島大学大学院薬学研究科薬品科学専攻博士前期課程 修了

2007年 3月 徳島大学大学院薬科学教育部医療生命薬学専攻博士後期課程 修了

職歴

2007年 4月 徳島大学ゲノム機能研究センター 遺伝子発現分 特任助教

2008年 4月 徳島大学ゲノム機能研究センター 遺伝子発現分 助教

2011年 4月 アムステルダム大学スワマーダム生命研究所 博士研究員

2013年 4月 徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター 蛋白質発現分野 講師

2019年 12月 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部第一室 主任研究官

2021年 4月 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部第一室 室長

最近の関連出版物・論文

1. 山本武範, 内田恵理子, 井上貴雄: mRNA 医薬の品質評価項目と分析手法.
医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス in press.
2. 内田恵理子, 山本武範, 井上貴雄: 遺伝子治療の臨床開発にかかる規制.
医学のあゆみ 2023;285(5): 488-494.
3. 井上貴雄, 山本武範, 大岡伸通, 吉田徳幸, 内田恵理子: 新型コロナウイルス mRNA ワクチンの輸送の影響に関する検証.
医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2022;53:219-222.
4. 山本武範, 内田恵理子, 山下拓真, 井上貴雄: 遺伝子治療用製品・遺伝子導入/改変細胞製品の品質・安全性に関する海外規制動向.
医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2022;53:72-84.
5. 山下拓真, 山本武範, 内田恵理子, 井上貴雄: アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療—免疫反応が有効性・安全性に及ぼす影響
PHARM TECH JAPAN 2021;37: 2645-2651.

AAVベクターを用いた遺伝子治療用製品に関する規制科学研究

山本 武範

国立医薬品食品衛生研究所

In vivo 遺伝子治療において、長期の遺伝子発現が期待され非病原性で安全性の高いアデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus (AAV)) ベクターが現在の臨床開発の主流となっており、世界中で多くの臨床試験が実施されている。欧米では、これらの遺伝子治療に用いる製品の品質・安全性の確保や開発促進を目的としてガイダンスやリフレクションペーパーが数多く発出されており、開発において参考にすることができる。国立医薬品食品衛生研究所では、AAVベクター製品の品質・安全性確保を目的として、ガイドライン等に記載されている品質評価項目を初めとして、それらに対する品質評価法について検証を行い、分析限界や分析値に影響を及ぼす因子などの留意事項について整理を進めるとともに、必要に応じて新たな評価手法の開発に取り組んでいる。特に、超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) を用いた中空粒子の評価法やデジタルPCRを用いたAAVベクター製品の含量測定法について、分析限界・信頼性に関する研究を進めている。また、それらを初めとする品質評価法を用いて、AAVベクターの製造工程が変更されることに伴って影響を受ける品質特性に関して検証を行っており、本発表ではそれらの内容についても紹介するとともに、近年新たな課題となっているAAVベクターの安全性評価に関する取り組みについても触れたい。



Plenary Session

Abstract

AAV9 カプシドの中和抗体を回避する血液脳関門透過型 AAV2 変異体 BR1N

川畑 勇人¹、今野 歩^{1,2}、松崎 泰教^{1,2}、平井 宏和^{1,2}

¹ 群馬大学大学院医学系研究科脳神経再生医学分野

² 群馬大学未来先端研究機構ウイルスベクターコア

アデノ随伴ウイルス(AAV)は非病原性で、非分裂細胞にも感染して遺伝子発現できることから、AAVベクターは中枢神経系への遺伝子発現ベクターとしての利用が急速に広がっている。AAVにはAAV1からAAV11にわたる11種の血清型があり、血清型ごとに感染する臓器に指向性がある。中でもAAV9は静脈内投与により、比較的マウスの血液脳関門(BBB)を透過しやすいため、高効率にBBBを透過できるAAVカプシド変異体はAAV9のみから開発されてきた。BBB透過型AAV9カプシド変異体であるPHP.eBをマウスに一度静脈内投与するとAAV9カプシドに対する中和抗体が生成されるため、1週間後に再度PHP.eBを静脈内投与しても脳への遺伝子発現は見られない。すなわち、AAV9カプシド由来のBBB透過型変異体を用いる限り、静脈内投与で時期をずらして2度脳に遺伝子導入することはできない。我々は、マウス脳血管内皮細胞への指向性は高いがBBBを透過できないAAV2変異体BR1を作成する過程で、偶然にも1アミノ酸変異(Q→N)が入ったBR1Nを単離した。GFPを発現するBR1NをC57BL/6マウスの静脈から投与したところ、BBBを透過して全脳でGFP発現が観察され、その発現量はAAV9の静脈内投与の78倍となっていた。また、PHP.eBをマウスの静脈内に投与してから1週間後にBR1Nを静脈内投与し2週間後に観察したところ、脳内に両方の遺伝子発現が見られた。BR1Nの投与後にPHP.eBを投与しても同じ結果が得られた。すなわち、BR1N及びPHP.eBの中和抗体が互いに交差しないことが示唆された。

以上のことから、AAV9以外の血清型から作成したAAV変異体でもBBBを高効率に透過すること、BR1NとPHP.eBを用いることで、時期をずらして外来遺伝子を2度脳に導入できることが明らかになった。

Long-term efficacy of gene therapy for AADC deficiency, including patients with a moderate phenotype.

Marina Mizobe^{1,6}, Karin Kojima¹, Kohei Nagai¹, Tadahiro Mitani¹, Kazuhiro Muramatsu¹, Hitoshi Osaka¹, Naoyuki Taga², Masahiro Hirai³, Yoshiyuki Onuki⁴, Takeshi Nakajima⁴, Shin-ichi Muramatsu⁵, Takanori Yamagata¹,

¹ Department of Pediatrics, Jichi Medical University

² Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Division of Anesthesiology, Jichi Medical University

³ Department of Cognitive and Psychological Sciences, Nagoya University

⁴ Department of Neurosurgery, Jichi Medical University

⁵ Division of Neurological Gene Therapy, Jichi Medical University

⁶ Department of Pediatrics, Yokohama Rosai Hospital

Aromatic l-amino acid decarboxylase (AADC) deficiency presents with dystonia, oculogyric crisis, loss of voluntary movements, developmental delay, and autonomic symptoms caused by defects in the *dopa decarboxylase* (*DDC*) gene. Here we report long-term gene therapy results for AADC deficiency, focusing especially on patients with a moderate phenotype. Ten patients (8 severe and 2 moderate types) were enrolled. Through stereotactic brain surgery, the patients received bilateral intraputaminial injections of an adeno-associated virus type 2 vector, harboring DDC (2×10^{11} vector genomes). They were subsequently followed up for a period lasting from 1 to 7 years. In all patients, truncal and limb dystonia attacks disappeared. Oculogyric crisis decreased markedly. All severe patients could not move voluntarily before the treatment. After the treatment, six severe patients could walk with a walker, and one severe patient could swim. One moderate patient who could walk with support before the treatment began to walk and run independently. The Alberta Infant Motor Scale (AIMS) scores increased to more than 20 points in patients treated at a younger age and almost 10 points in patients treated at an older age. In one moderate patient who was treated at five years of age, her cognitive function improved so that she could begin to make conversation, and her developmental quotient scores increased from 40 to 80. In addition, her eye gaze when following objects improved, as revealed by the eye tracker. In the other patient with a moderate phenotype who was treated at 12 years of age, his motor ability and cognitive function improved mildly. The efficacy of AADC gene therapy is limited, even in moderate patients, if treatment is delayed till they are older. Positron emission tomography (PET) imaging with a specific AADC tracer revealed that increased uptake persisted for five years after treatment. Diffusion tensor imaging and functional MRI analysis revealed that the restoration of dopamine in the putamen by gene therapy promoted the functional recovery of the prefrontal cortico-putaminial network, resulting in the improvement of motor function. In moderate patients, residual enzyme activity can produce dopamine to induce neuronal network formation at some level, with the accelerated improvement of the neural network after gene therapy if treatment is provided at a younger age.

新規改変型 AAV.GT5 ベクターの血友病 B 遺伝子治療への応用

柏倉 裕志¹、遠藤 和洋^{2,3}、宇賀神 敦⁴、菊地 智博⁴、菱川 修司^{2,3}、中村 仁康⁴、片貝 祐子⁵、
Nemekhbayar Baatartsogt¹、平本 貴史¹、早川 盛禎^{1,6}、鴨下 信彦^{1,6}、山崎 晶司⁷、久米 晃啓^{6,7}、森 壘⁴、
佐田 尚宏^{2,3}、坂田 洋一¹、村松 慎一^{6,8,9}、大森 司^{1,6}

¹自治医科大学 医学部 生化学講座

²自治医科大学 医学部 外科学講座

³自治医科大学 先端医療技術開発センター

⁴自治医科大学 医学部 放射線医学講座

⁵予防衛生協会

⁶自治医科大学 遺伝子治療研究センター

⁷自治医科大学 附属病院 臨床研究センター

⁸自治医科大学 オープンイノベーションセンター 神経遺伝子治療部門

⁹東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター

[背景] 血友病に対する複数の遺伝子治療薬の上市が見込まれ、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターによる遺伝子治療が注目されている。我々は、AAV3B を元に設計した新規肝指向性ベクター AAV.GT5 の血友病 B 遺伝子治療への応用を検討した。

[方法・結果] AAV.GT5 のヒト肝細胞への *in vitro* 遺伝子導入効率は、既報の AAV-Spark100 の 100 倍以上であった。一方、PXB マウス (ヒト肝化マウス) やカニクイザルへの末梢静脈投与による肝への遺伝子導入効率、血液凝固第 IX 因子 (FIX) 抗原の増加は AAV.GT5・AAV-Spark100 両者で同程度であった。この結果の乖離は末梢静脈投与後の AAV.GT5 の回収率が AAV-Spark100 よりも低いためであった。AAV.GT5 の特性を活かし、門脈および肝動脈からのベクター投与を実施し末梢静脈投与と比較した。ブタへの AAV.GT5 の門脈および肝動脈投与は肝への遺伝子導入を増強したが、AAV-Spark100 では増強効果を認めなかった。サルへの AAV.GT5 の肝動脈投与は、末梢静脈投与の 1/3 のベクター量で同等の効果が得られた。興味深いことに、AAV.GT5 を静脈投与したサルの 4 頭のうち 2 頭は AAV.GT5 に対する中和抗体 (NAb) を発現しなかった。一方、AAV-Spark100 は 4 頭すべてのサルに NAb 発現が誘導された。ベクター投与後に産生された NAb は血清型に比較的特異的で他の血清型に対する交差性は低かった。その結果、AAV-Spark100 を投与したブタに対する AAV.GT5 の肝動脈再投与で FIX 発現がさらに上昇した。

[結論] AAV.GT5 は AAV-Spark100 と比較して回収率や NAb 産生率が異なり、肝動脈投与によってベクター投与量の削減を可能にし、肝以外の他臓器への分布を回避しうると考えられる。

家族性LCAT欠損症を対象としたex vivo脂肪細胞遺伝子治療のfirst in human試験

黒田 正幸¹、石川 耕²、前澤 善朗²、和田 淳³、窪田 吉孝⁴、三川 信之⁴、山本 徳男⁵、麻生 雅是⁵、
花岡 英紀⁶、齋藤 康⁷、横手 幸太郎²

¹ 千葉大学医学部附属病院 未来開拓センター

² 千葉大学大学院医学研究院 内分泌代謝・血液・老年内科学

³ 岡山大学腎・免疫・内分泌代謝内科学

⁴ 千葉大学大学院医学研究院 形成外科学

⁵ セルジェンテック株式会社

⁶ 千葉大学医学部附属病院 臨床試験部

⁷ 千葉大学

レシチン・コレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) 欠損症は、LCAT 遺伝子の異常により引き起こされる常染色体潜性の難病である (H27年7月1日付指定難病259)。LCAT欠損に伴い脂質代謝が障害され、角膜混濁や溶血性貧血、腎機能障害を合併する。我々はLCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞 (LCAT-GMAC) の自家移植により、持続的なLCATの補充を可能とする遺伝子細胞治療法の開発を行ってきた。

LCAT-GMAC移植の安全性を主要評価項目とし、脂質代謝異常に対する有効性を副次的に評価することを目的とし、再生医療等安全性確保法の下、First-in-human試験を実施した。LCAT-GMACの安全性は、細胞の造腫瘍性試験やクローナリティ解析、有効性は、血中LCAT活性や関連脂質および、合併症関連のパラメーターにより評価した。

1症例を組み入れ、当該症例の240週の臨床評価を問題となる逸脱等なく完了した。LCAT-GMACの移植による有害事象は、移植後2~3日間の疼痛以外に認められなかった。観察期間中、患者血中にRCRの出現は認めなかった。並行して実施した免疫不全マウスへの移植試験においても造腫瘍性は認めなかった。患者血中LCAT活性は移植前のベースラインより上昇し、240週に亘り安定に維持された。IDLの低下等の脂質代謝の改善が確認された。体内での溶血の指標となる血清中ヘモグロビン/ハプトグロビン複合体が移植20週以降著減した。LCAT-GMACの開発研究は、再生医療等製品としての承認を目指し、PMDA相談、治験届を経て、医師主導治験に移行している。血中LCAT活性が長期にわたり維持されていることから、GMAC技術は、ex vivo 遺伝子細胞治療における新たなプラットフォームとして他の難病への応用展開が期待される。



Oral Session

Abstract

Coxsackievirus A11はヒト非小細胞肺癌を完全退縮させる免疫賦活化腫瘍溶解性ウイルス療法である

谷 憲三朗¹、坂本 旭¹、井上 博之²、宮本 将平^{1,3}、伊藤 駿¹、曾田 泰¹

¹ 東京大学 定量生命科学研究所 ALA先端医療学社会連携部門

² 福岡大学 医学部 呼吸器内科学

³ 慈恵医科大学 総合医科学研究センター 悪性腫瘍治療研究部

非小細胞肺癌 (NSCLC) は、世界的にがん関連死亡の主な原因となっている。進行したNSCLCの全生存率を向上させるためには、革新的な治療法が必要である。エンテロウイルスを用いた腫瘍溶解性ウイルス療法は、有望な抗がん戦略として浮上している。安全性が向上した新規の強力なウイルス療法を特定するため、我々は28種類のエンテロウイルス株の腫瘍溶解活性を評価し、コクサッキーウイルスA11 (CVA11) に焦点を当てた。CVA11の感染は、検討した3つのヒトNSCLC細胞株すべてにおいて広範な癌細胞溶解活性を引き起こし、細胞間接着分子-1 (ICAM-1) の高い発現は、CVA11による細胞傷害の大きさと関連していた。汎カスパーゼ阻害剤を用いたin vitro阻害作用とウェスタンブロットによる切断ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ (PARP) の検出により、アポトーシスがCVA11による細胞毒性の一部寄与していることが示された。CVA11感染によるin vitroでの免疫原性細胞死は、カルレティキュリンの大幅な発現とhigh mobility group box-1 protein (HMGB1) の放出によって強く示唆された。さらに、in vivoでヒトNSCLC異種移植片にCVA11を腫瘍内注入して治療したところ、治療したすべてのマウスで、著しい体重減少を伴うことなく、完全な腫瘍退縮が認められた。この結果は、CVA11を利用した新規のオンコリティックウイルス療法は、ヒトNSCLCに対する現行の治療法よりも毒性が低く、効果的である可能性を示しており、特に免疫療法との組み合わせで、臨床試験の場でさらなる検討が必要であることを示した。

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the leading cause of cancer-related mortality worldwide. Innovative treatment is required to improve overall survival rates for advanced NSCLC. Oncolytic virotherapy using enteroviruses has emerged as a promising anticancer strategy. To identify a novel, potent virotherapy with an improved safety profile, we assessed the oncolytic activity of 28 enteroviral strains and focused on coxsackievirus A11 (CVA11). CVA11 infection caused extensive oncolytic activity in all three of the examined human NSCLC cell lines, with high intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression associated with greater CVA11-induced cytotoxicity. In vitro inhibition analysis using a pan-caspase inhibitor and western blot detection of cleaved poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) indicated that apoptosis partly contributed to CVA11-driven cytotoxicity. CVA11 infection-induced immunogenic cell death in vitro was strongly suggested by substantial calreticulin expression and release of high mobility group box-1 protein (HMGB1). Moreover, in vivo treatment of human NSCLC xenografts with intratumoral CVA11 injection caused complete tumor regression in all treated mice, without significant weight loss. Our findings indicate that novel oncolytic virotherapy utilizing CVA11 may be less toxic and more effective than current treatments for human NSCLC, thus warranting further investigation in clinical trial settings, especially in combination with immunotherapy.

中和抗体回避能を有したヘキソン・ファイバー改変アデノウイルスベクターシステムの開発

塩田 葵¹、北嶋 祐里¹、池本 星南¹、大西 里佳¹、鎌田 春彦²、櫻井 文教¹、水口 裕之^{1,2,3,4,5}

¹ 大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野

² 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

³ 大阪大学 国際医工情報センター

⁴ 大阪大学 先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門

⁵ 大阪大学 感染症総合教育研究拠点

【目的】 アデノウイルス (Ad) ベクターはその優れた遺伝子導入特性からワクチンベクターとして注目を集めている。一般的な Ad ベクターは C 群に属するヒト 5 型 Ad (Ad5) を基本骨格としているが、多くの成人が抗 Ad5 抗体を保持している。したがって、抗 Ad5 中和抗体によって Ad ベクターによる遺伝子導入が阻害され、ワクチン効果が減弱する恐れが指摘されている。抗 Ad5 中和抗体としては、主要な外殻タンパク質であるヘキソンとファイバーに対する抗体が主に誘導される。そこで抗 Ad5 中和抗体回避に向けて、ヘキソンにアミノ酸変異を加えるとともに、ファイバーを中和抗体保持率の低い 35 型 Ad のファイバーに置換した新規ヘキソン・ファイバー改変 Ad ベクターの開発を試みた。

【方法】 ヘキシソンの Hypervariable region (HVR) 領域内に、ユニークな制限酵素認識配列を 3 カ所挿入することで、簡便な遺伝子組換えによりヘキソン遺伝子を改変可能な Ad ベクターシステムを開発した。本システムを用いて、HVR1-5 および 7 にアミノ酸変異を加えた。作製した Ad ベクターを各種ヒト培養細胞に作用させ、遺伝子発現効率を評価した。

【結果】 作製したヘキソン・ファイバー改変 Ad ベクターは、従来型 Ad ベクターと同程度のウイルスタイトおよび培養細胞での遺伝子発現効率を示した。また従来型 Ad ベクターではヒト血清存在下にて遺伝子発現効率が 90% 以上低下したのに対し、ヘキソン・ファイバー改変 Ad ベクターではほとんど遺伝子発現効率の低下が観察されなかった。

【考察・結論】 本 Ad ベクターは抗 Ad5 中和抗体を回避可能な優れたワクチンベクターになると期待される。

ミクログリア選択的遺伝子発現アデノ随伴ウイルスベクターの開発

今野 歩、岡田 如弘、平井 宏和

群馬大学大学院 医学系研究科

ミクログリアは脳内の免疫細胞として、脳の恒常性維持に重要な役割を果たしている。近年、ミクログリアは免疫細胞としての働きだけでなく、脳の発達、回路の再構築、神経変性疾患の進行などの多様な機能を持つことが明らかとなってきた。さらに、様々な脳疾患の病態にミクログリアの異常が関与する報告も相次ぎ、遺伝子治療のターゲットとしても注目が集まっている。しかしながら、ミクログリアに対して、特異的かつ効率的に外来遺伝子を発現させる手法は知られていなかった。われわれはAAVを用いたミクログリアへの特異的発現を実現するため、1.7-kbの（ミクログリア選択的）マウス Iba1 プロモーターと、2種類のmicroRNA (miR-9とmiR-129-2-3p) の完全相補配列（miRターゲット配列）からなる発現カセットを用いた。AAV由来のmiRターゲット配列をもつmRNAは、内在性のmiR-9とmiR-129-2-3pが結合して分解されるが、これら2つのmiRはミクログリアにはほとんどほとんど存在しないため、ミクログリアでは導入遺伝子が発現する。一方、ニューロンを始めとした他の細胞には内因性のmiR-9とmiR-129-2-3pが豊富に存在しているため、たとえ転写が起きてもmRNAが分解されて導入遺伝子の発現は抑えられる。

このような発現カセットによりGFPを発現するAAV9を作製し、マウスの脳へ注入したところ、線条体や小脳において3週間後もミクログリア特異的なGFP発現が観察された。また、本AAVは、通常状態のラミファイド型だけでなく、LPSや神経変性疾患による活性化状態にあるミクログリアへの遺伝子発現にも使えることを示した。以上のことから、本発現カセットを搭載したAAVベクターは、マウスでのミクログリア研究に新たな扉を開くと考えられた。

Okada et al. (2022) Commun Biol., 5(1):1224.

Targeted Gene Delivery to the Brain with Smartly-Polymer Coated Adeno-associated Virus 9 (AAV9) Assisted by High Intensity Focused Ultrasound Enhances Safety and Efficacy

Hiroaki Kinoh¹, Shuhei Nagao^{2,3}, Yuto Honda^{2,3}, Takahiro Nomoto^{2,3}, Nozomi Matsudaira^{2,3}, Hiromi Hayashita-Kinoh⁴, Tadashi Okada⁴, Kazunori Kataoka¹, Nobuhiro Nishiyama^{2,3}

¹ Innovation Center of NanoMedicine

² Department of Life Science and Technology, School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

³ Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

⁴ Division of Molecular and Medical Genetics, Center for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Compared with other gene delivery vectors, recent advancements in various adeno-associated virus (AAV) engineering have greatly expanded their applications for gene therapy as an ideal gene vehicle. However, the massive dose of AAV9 induces serious side-effects, such as hepatotoxicity and nephrotoxicity. Therefore, a novel AAV delivery system, which suppresses the accumulation in normal tissues, such as liver and kidney. We have recently developed a novel biomolecules delivery system comprising tannic acid (TA) and phenylboronic acid-conjugated polymers [*Biomacromolecules* 2020 Sep 14;21(9):3826-3835, PCT/JP2020/021301. TA is a polyphenol that forms a complex with biomolecules, such as proteins *via* hydrophobic interaction and hydrogen bond in aqueous solution. Moreover, TA can form boronate esters with phenylboronic acid-conjugated polymers resulting in the construction of nanoparticles having the biomolecules encapsulated in the core surrounded by the biocompatible polymer. This supramolecular chemistry technique may serve as a novel approach for designing delivery systems for AAVs as biomolecules. Previously, we examined the delivery ability of AAV coated with TA and block copolymers. The coated AAV was constructed by mixing of AAV9-luciferase(luc), TA and phenylboronic acid-conjugated polymers in aqueous solution through **sequential 'self-assembly'**. The size of AAV and coated AAV were measured by Zetasizer (29 nm and 46 nm in diameter). The spherical shape of the coated AAV was observed using transmission electron microscope. In normal mouse, coated AAV9-luc (Serotype 9) achieved high luciferase activity in the brain which suppressed liver and kidney accumulation.

Here, we studied whether the permeability of the BBB can be enhanced by the combination of BLs (Bubble liposomes, BLs) and high-intensity focused ultrasound (HIFU) and reduce Hepatotoxicity/Nephrotoxicity. We injected echo-contrast gas (C3F8) entrapping liposomes that can work as a gene delivery tool in combination with HIFU exposure. Smart coating AAV9-luc was delivered to the brain by the pre-treatment method of BLs and HIFU, which resulted in the increased gene expression ($\times 10$ times) in the brain at the focused-US exposure site. Furthermore, we succeed reducing the liver and kidney accumulation (1/9). Brain cells in the tissue sections were stained using antibodies[anti-NeuN for Neuron, anti-GFAP for Glia, anti-Iba-1 for Microglia, anti-MAG-1 for Oligo-dendrocyte] for observation of the colocalization of AAV9 samples. The FUS irradiation enhanced the colocalization effect of all AAV9 samples on Neuron and Glia cells possibly due to the increase of AAV9 accumulation in brain. These results suggest that the method of combining BLs and HIFU together serves as a useful means for accelerating the permeability of BBB and thereby enabling coating rAAV9-luc to be delivered to the focused brain site. Our data demonstrate successful protection of the AAV vector from reduction of the accumulation in normal tissues, increasing the safety and efficiency of therapeutic gene delivery.

アデノ随伴ウイルスベクターの静脈内投与による脳内細胞種特異的な遺伝子発現法の開発

平井 宏和^{1,2}、川畑 勇人¹、深井 悠貴¹、松崎 泰教^{1,2}、今野 歩^{1,2}

¹ 群馬大学大学院医学系研究科

² 群馬大学未来先端研究機構ウイルスベクター開発研究センター

我々はアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの静脈内投与により、効率的に血液脳関門 (BBB) を透過し、脳内の特定の細胞種にのみ遺伝子発現を可能にする手法の開発を行なっている。これまでにマウスの BBB 透過型カプシド変異体として、PHP.B、PHP.eB、PHP.N、AAV-F などが報告されているが、全て AAV9 由来である。我々は AAV2 カプシド由来の変異体 BR1N を偶然に見出した。BR1N はすでにマウスが AAV9 カプシドに対する中和抗体を持っていても使用することができる。

BBB をクロスした AAV は脳内のさまざまな細胞種に感染する。ニューロン、あるいはアストロサイトなど、どの細胞種に感染しやすいかは、用いたカプシドに依存する。PHP.B、PHP.eB、PHP.N はニューロン好性であるのに対し、AAV-F はアストロサイト好性であることを明らかにした。

細胞に感染後、導入した遺伝子の発現が惹起されるが、細胞種特異的プロモーターを使うことで、標的細胞種に限局した遺伝子発現が可能になる。我々はこれまでに、汎ニューロン、抑制性ニューロン、小脳プルキンエ細胞、アストロサイト、ミクログリア特異的プロモーターを開発した。たとえばニューロン特異的プロモーター制御下で緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現する PHP.B とアストロサイト特異的プロモーター制御下で赤色蛍光タンパク質 (RFP) を発現する PHP.B をミックスして静脈内投与すると、ニューロンで GFP、アストロサイトで RFP、と分けて発現させることができる。

今回紹介する方法を用いることで、静脈内投与で脳内の細胞種特異的に過剰発現、ノックダウン、ノックアウトなど様々な遺伝子改変が可能になり、生命科学研究や脳疾患に対する遺伝子治療研究 (前臨床試験) に極めて有用である。

Cell therapy for the chronic stage of ischemic stroke with bone marrow-derived inducible microglia-like cells in mice

Bach Ngoc Nguyen¹, Tomoya Terashima¹, Tomoaki Kitamura², Rika Zen³, Makoto Urushitani¹

¹ Department of Neurology, Shiga University of Medical Science

² Department of Neurosurgery, Shiga University of Medical Science

³ Department of Obstetrics and Gynecology, Shiga University of Medical Science

Background and Objective: Stroke is a global health burden, leading to high mortality and disability rates. The lack of curative treatments for chronic stroke has prompted extensive research into regenerative therapies. M2-type microglia have shown a neuroprotective phenotype in ischemic stroke, releasing anti-inflammatory cytokines and neurotrophic factors crucial for brain repair in cerebral infarction. However, obtaining sufficient amount of M2 microglia directly from the central nervous system remains challenging. To address this, we previously developed a novel method to generate bone marrow-derived inducible microglia-like (BM-iMG) cells. This study aims to evaluate the therapeutic potential of BM-iMG cell transplantation in a mouse model of middle cerebral artery occlusion (MCAO), with the goal of establishing a clinically applicable strategy for treating chronic ischemic stroke.

Material and Method: Bone marrow-derived mononuclear cells from green fluorescent protein (GFP) mice were cultured with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) for 3 days, followed by GM-CSF + IL-4 for 4 days to generate BM-iMG cells with M2 phenotype. SCID mice underwent MCAO by permanently coagulating and cauterizing the left middle cerebral artery (MCA) using bipolar dissection. At the chronic state of 14 days post-MCAO, 10⁶ BM-iMG cells were stereotaxically transplanted into the mouse brain, at 2 mm posteriorly, 3 mm laterally from the Bregma point and 2.5 mm of depth. Neurobehavioral assessments (cylinder test, grid walk test, and Von Frey filament test) were conducted up to day 28 after MCAO. Immunohistochemistry using rabbit anti-GFAP and rabbit anti-Iba-1 antibodies was performed to examine the glial degeneration change after transplantation. GFAP and Iba-1 staining were quantified by counting positively stained cells and measuring fluorescence intensity. Additionally, cerebral blood flow measurements were obtained using laser speckle flowmetry in the MCA and core infarction area. Gene expression analysis of growth factor, cytokines and surface antigen were performed by conducting quantitative RT-PCR.

Results: Transplantation of BM-iMG cells significantly improved neurobehavioral function, demonstrated by reduced drags in the cylinder test and fewer failures in the grid walk test in MCAO model mice. Moreover, MCAO mice exhibited a preference for using the ipsilateral front paw after treatment, indicating sensory recovery. In histological analysis, GFAP and Iba1 staining intensity and their positive cell number were significantly lower in the BM-iMG group compared to the control group. These findings suggest that BM-iMG cell transplantation suppressed astrogliosis and microgliosis in the brain of MCAO mice. Additionally, the treatment group showed enhanced cerebral blood flow. This therapeutic intervention was accompanied by upregulation of neuroprotective genes (Arg1 and Tgf-

Efficient transduction of mice inner hair cells with AAV.GT5 and AAV.GTX vectors

Masao Noda^{1,2}, Ryota Kosu¹, Mari Shimada¹, Chizu Saito¹, Naomi Takino², Mika Ito², Shin-ichi Muramatsu²

¹ Department of Otolaryngology and Head and Neck Surgery, Jichi Medical University

² Division of Neurological Gene Therapy, Jichi Medical University

[Background]

Hearing loss is a common sensory impairment. It is also a known risk factor for dementia, and the development of treatments has become an increasingly important issue as the elderly population grows. Gene therapy targeting the inner ear is expected to treat sensorineural hearing loss. We have reported that the AAV3 vector can efficiently transduce inner hair cells (IHCs) and that aminoglycoside-induced damage can be suppressed by neurotrophic factor gene transfer. However, compared to other fields, there have not been many studies on gene therapy in otolaryngology. This is because the inner ear is a complex structure surrounded by bony tissue that requires specialized surgical techniques for vector injection, and the blood-labyrinth barrier makes gene transfer by intravascular administration difficult.

[Objective]

To develop technology for efficient gene transfer into the inner ear of adult animals, we used two types of green fluorescent protein (GFP)-expressing AAV vectors and attempted gene transfer via cochleostomy, which is a standard procedure in clinical otolaryngology.

[Material and Method]

AAV.GT5 is a modified version of AAV3B with reduced antibody reactivity and AAV.GTX is a modified version of AAV9 with increased gene expression. We first confirmed that both vectors transduced inner ear-derived HEI-OC1 cells. Cochleostomy was performed for in vivo experiments with 9-week-old C57BL6/J mice to create a small perforation in the basal turn of the cochlea and vector solution (1.3×10^{10} vector genome/ear) was injected.

[Result]

Histological analysis 3 days after injection showed that both AAV.GTX and AAV.GT5 expressed GFP in IHCs and spiral ligaments.

More than 80% of the IHCs could be transduced with both AAVs. Assessment by auditory brainstem response showed no significant hearing loss. Further development of the technology using optogenetics is underway.

蛋白質翻訳機能の促進による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法の開発

平木 友理¹、長野 清一^{1,2}、佐々木 勉^{2,3}、福原 充子⁴、津中 康央⁴、内山 進⁴、望月 秀樹²

¹ 大阪大学大学院医学系研究科神経難病認知症探索治療学

² 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学

³ 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻再生誘導医学協働研究所

⁴ 大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は運動神経の変性により全身の筋力低下を生じる神経難病の1つである。我々はALSの病態として、原因蛋白質であるRNA結合蛋白質TDP-43による神経軸索内への何らかのmRNA輸送が障害されている可能性を考え、TDP-43による輸送標的mRNAを検索しリボソーム蛋白質mRNAを同定した。その後の検討により、ALSではリボソーム蛋白質mRNAの軸索輸送の低下により軸索でのリボソームの蛋白質翻訳機能が障害されている可能性を示してきた。

以上より神経細胞でリボソーム機能を上昇させることによりALSの新たな治療が可能であることが示唆される。そこでアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いた関連遺伝子の発現増加による遺伝子治療の開発を進めている。現在までの検討で、神経特異的プロモーターを用いた新生児マウスへの脳室内投与により複数の血清型のAAVでマーカー遺伝子の脳内での広い発現がみられることを確認している。今後発現効率の高い血清型の投与による目的遺伝子の発現とその病態改善効果につき引き続き検討を行っていく。

ニーマンピック病C型における免疫系による神経変性制御

安田 徹^{1,2}、内山 徹²、望月 秀樹³、小野寺 雅史²

¹ 日本医科大学

² 国立成育医療研究センター

³ 大阪大学大学院医学研究科

ニーマンピック病C型（以下、NPC）はライソゾーム病のひとつであり、ライソゾーム内にコレステロールが蓄積することで、肝脾肥大など末梢臓器の病変、ついで小脳性運動失調などを伴う進行性の中樞神経変性を引き起こす。神経変性の誘発あるいは増悪につながる病因メカニズムを解明することが効果的な治療法開発に必須である。NPCにおいて著明な神経変性は小脳プルキンエ細胞の脱落であり、その病変・症状を良く再現するNPCマウスモデルを用いて検討を行った。まず始めに、これまで臨床的には治療効果がないとされてきた骨髄移植が、マウスモデルで神経変性を抑制することを見出し、末梢の免疫細胞が神経変性に影響を与えることが予想された。リンパ球を欠損させたNPCマウスモデルを解析したところ神経症状が悪化することから、神経保護効果を示すリンパ球の存在が予測され、実際に制御性T細胞が神経症状を抑制することを確認した。またNPCの神経変性誘導に、末梢から浸潤する単球由来マクロファージが関わることを確認した。RNAシーケンシングによりNPCの単球で発現が変動する遺伝子を解析した。このような発症機序の解明によりNPCや他の神経疾患に対する新規治療法の開発に繋がることが期待される。

Niemann-Pick disease type C (NPC) is an autosomal-recessively inherited lysosomal storage disorder affecting an estimated 1 in 120,000 live births worldwide. Mutations in NPC1 or NPC2 gene represent approximately 95% or 5% of total patients with NPC, respectively. Their gene products, NPC1 and NPC2 proteins, function cooperatively in late endosomes and lysosomes to transport unesterified cholesterol to the plasma membranes. Typical clinical feature of the disease is neurovisceral accumulation of unesterified cholesterol and several forms of glycosphingolipids. NPC can present with a broad range of clinical manifestation from a neonatal acute fatality to an adult-onset chronic disease associated with neurodegeneration. The development of neurological symptoms, including cerebellar ataxia, laughter-induced cataplexy, dystonia, and progressive dementia, affects quality of life of the patients drastically. Hence, it is essential to explore the pathogenic events that trigger and/or promote the neurodegenerative process for future clinical interventions. In this study, we found that neonatal bone marrow transplantation ameliorated degeneration of cerebellar Purkinje cells in a murine model of NPC. Accordingly, we addressed an involvement of immune system in neuropathogenic process of NPC. The NPC mice that lack lymphocytes exhibited enhanced cerebellar ataxia and neurodegeneration. Importantly, we confirmed that peripheral delivery of CD4-positive T lymphocytes ameliorated cerebellar ataxia and neurodegeneration of Purkinje cells. On the other hand, reduction of circulating monocytes using Ccr2-knockout mice ameliorated cerebellar ataxia and Purkinje cell degeneration. Breaching of blood-brain barrier and infiltration of monocyte-derived macrophages were evident in NPC mice. Our results disclose a previously unrecognized neuropathogenicity of immune system in NPC and would benefit future remedies for the devastating neurological diseases.

スフェロイド神経培養におけるCa²⁺振動に対する塩誘導性キナーゼSIKの影響

佐々木 勉¹、神吉 秀明¹、河野 友裕¹、池上 剛史¹、西山 久美子¹、久田 素¹、松村 成暢³、長野 清一²、望月 秀樹¹

¹ 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学

² 大阪大学大学院神経難病認知症探索治療学

³ 大阪公立大学生生活科学研究科食栄養学分野

背景：初代神経細胞を3Dスフェロイドで培養すると、シナプスネットワークが形成され、培養された細胞の細胞質カルシウムレベルの同期する (Ca²⁺ oscillation)。これら Ca²⁺ 振動は形成された神経のネットワークの発火に関連している。塩誘導キナーゼ (salt-inducible-kinase : SIK) は CREB (cAMP response element-binding protein)-CRTC (cAMP-regulated transcriptional co-activators)、及び、Histone deacetylases (HDACs) の制御などを介して神経活動に影響を与えるが、Ca²⁺ oscillation に与える影響は知られていないため、本研究課題にて検討した。方法：ラット初代神経細胞培養にて、384wellにおいて、2D培養系、3Dスフェロイド培養を行い、FDSS-7000を使用することにより、Ca²⁺ 振動を検討。これらの培養系に対して虚血の系として oxygen-glucose deprivation (OGD) 負荷についての検討を施行。更に、AAV-SIKによる SIK の遺伝子導入を行い、AAVによる Ca²⁺ 振動に与える影響を明らかとした。結果：ラット初代神経細胞培養において2D培養系及び3Dスフェロイド培養においてのいずれにおいても、ハイスループットスクリーニング (HTS) 可能なレベルで Ca²⁺ 振動を測定できた。3Dスフェロイド培養に対して OGD 負荷時を行うと、OGD の時間依存性に Ca²⁺ 振動の振幅、発火頻度が変動した。また、AAV-SIK を遺伝子導入することにより、振幅、発火頻度などの各種パラメーターが変化し、Ca²⁺ 振動からみた神経活動に影響を与えていた。考察：Ca²⁺ 振動は各種薬剤スクリーニングや神経活動を検討する上で有用であることが示唆された。

Duchenne型筋ジストロフィーに対するビルトラルセン投与経験

齊藤 利雄、松村 剛

国立病院機構大阪刀根山医療センター

[背景] 2020年ジストロフィン遺伝子エクソン53スキップ治療薬であるビルトラルセンが上市されたが、対象はDuchenne型筋ジストロフィーと診断された患者の10%程度であり、投与経験を有する施設は多くない。

[目的] 実臨床でのビルトラルセン投与経験を報告し、情報共有を図る。

[方法] 2023年6月までにわれわれは、Duchenne型筋ジストロフィー7例に対し、ビルトラルセン投与を開始し、経過観察している。全例男性で、ジストロフィン遺伝子変異はエクソン52欠失2例、45-52欠失5例である。独歩可能1例、車椅子移動6例、自発呼吸6例、終日NPPV1例。ビルトラルセン投与開始年齢は9~26歳(平均17.6歳)である。ビルトラルセンは80mg/kgを1回/週静脈投与した。投与開始は当施設で行ったが、維持投与は、主に対象患者宅近隣医療機関に依頼した。当施設では運動機能、心機能、呼吸機能などを経時的に評価した。また、血液検査や画像所見などから投与による影響を評価した。

[結果] ビルトラルセン投与期間は0.1~2.9年(平均2.0年)であった。対象患者宅近隣医療機関でのビルトラルセン投与は継続された。投与開始時のBrooke上肢スケールは2例3点、1例4点、3例5点、1例6点であった。3点の1例は1点まで改善し、合計3例でスコアの改善を認めた。歩行可能例の歩行能は現在まで維持されている。心エコーでの駆出率は41~68%(平均54.4%)で、経過観察中2例で低下傾向を認めた。また、BNPは2~31.3pg/ml(平均16.6pg/ml)であったが、1例で増加傾向を認めた。%FVCは24.9~72.1%(平均47.8%)で、経過観察中に人工呼吸療法導入が予定されている1例のほか、1例で低下傾向を認めた。腹部エコーでの異常像は認めていないが、NAGは投与開始後より大きく変動した。

[結論] ビルトラルセン投与により患者の運動機能悪化は抑制されている可能性がある。一方、心・腎機能検査値の大きな変動を示す例があり、十分なモニタリングを継続する必要がある。

Anti-tumor immune responses of oncolytic vaccinia virus are synergistically enhanced by induction of cell-cell fusion and delivery of multiple immunomodulators

Motomu Nakatake, Emi Kaitsurumaru, Hajime Kurosaki, Takafumi Nakamura

Division of Genomic Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Tottori University, Yonago, Japan

Oncolytic virotherapy is a novel cancer treatment which shows remarkable clinical benefits against refractory tumors. Oncolytic virus induces powerful anti-tumor effects by causing the anti-tumor immune response following the local oncolysis. We have developed two distinct oncolytic platforms, MAPK-dependent recombinant vaccinia virus (MDRVV) and fusogenic oncolytic vaccinia virus (FUVAC). MDRVV was achieved tumor specific viral replication by deleting two viral growth factors, VGF and O1L. FUVAC has isolated from the MDRVV as a mutant clone which has the fusion phenotype due to the nonsense mutation of viral fusion inhibitor, K2L.

FUVAC-mediated cell-cell fusion induced powerful oncolysis and immunogenic cell death in the treated tumors, resulting in efficient anti-tumor immune response through decreasing tumor-associated immune suppressive cells locally and increasing cytotoxic T lymphocytes systemically. Thus, FUVAC changed tumor immune microenvironment from “cold” to “hot”, especially in the direct treated tumors. However, it was insufficient to cure the distant untreated tumors such as metastatic tumor region which depends only on the induction of anti-tumor immunity. To remodeling the tumor immune microenvironment systemically, we have engineered FUVAC armed with two immunostimulatory cytokines, interleukin 12 (IL12) and C-C motif chemokine ligand 21 (CCL21). At first, IL12 or CCL21 single-armed FUVACs were evaluated by alone or in combination. Mice bearing bilateral CT26 tumors were treated with each virus unilaterally. As expected, the combination of IL12-armed and CCL21-armed FUVAC showed much higher therapeutic efficacy than each viral monotherapy. Therefore, FUVAC was inserted the gene cassettes expressing IL12 and CCL21 into the VGF and O1 gene loci, respectively. This dual-armed FUVAC-IL12/CCL21 was compared with non-armed FUVAC or dual-armed MDRVV-IL12/CCL21, to identify whether the key therapeutic factor was cell-cell fusion and/or cytokine activity. In bilateral CT26-bearing mice, unilateral injection of MDRVV-IL12/CCL21 induced 29% of complete response (CR) in both tumors, whereas non-armed FUVAC couldn't eliminate the non-injected tumors. Notably, FUVAC-IL12/CCL21 more prolonged the survival of mice than MDRVV-IL12/CCL21 and CR rate reached 72%. It suggests the therapeutic efficacy of FUVAC-IL12/CCL21 was synergistically enhanced by both cell-cell fusion and cytokine activity. Moreover, biochemical analysis demonstrated that the IL12 and CCL21 was mostly accumulated in the injected tumors, and the levels of those cytokines in blood were tolerable. On the contrary, anti-tumor IFN- γ was elevated systemically by FUVAC-IL12/CCL21 treatment. Furthermore, whole tumor immune microenvironment was analyzed by single cell RNA-seq. FUVAC-IL12/CCL21 changed the tumor immune microenvironment systemically, by decreasing tumor cells and increasing tumor-infiltrating lymphocytes in the distant untreated tumors. The detailed analysis is ongoing.

Our results demonstrated that fusogenic oncolytic vaccinia virus armed with IL12 and CCL21 augmented the antitumor activity via inducing potent and durable antitumor immune responses following extensive viral oncolysis. Thus, FUVAC would be a next generation platform of oncolytic immunotherapy.

Combination Therapy of HSV-1 based Oncolytic Virotherapy with STING activator 2'3'-cGAMP Synergistically Amplifies Systemic Anti-Tumor Immunity

Patricia Angela Alvero Sibal^{1,2}, Shigeru Matsumura¹, Toru Ichinose¹, Itzel Villalobos Bustos¹, Daishi Morimoto^{1,2}, Ibrahim Ragab Eissa^{1,2,3}, Mohamed Abdelmoneim^{1,2,4}, Mona Al Hussein Mostafa Aboalela^{1,2,5}, Nobuaki Mukoyama⁶, Maki Tanaka⁷, Yoshinori Naoe¹, Hideki Kasuya¹

¹ Cancer Immune Therapy Research Center, International Medical Education, Nagoya University, Graduate School of Medicine

² Department of Surgery II, Nagoya University, Graduate School of Medicine

³ Sci., Tanta Univ., Egypt

⁴ Microbiol., Vet. Med., Zagazig Univ., Egypt

⁵ Med. Microbiol. and Immun., Zagazig Univ., Egypt

⁶ Otol. Grad. Sch. Med., Nagoya Univ.

⁷ Takara Bio Inc.

Previous studies have established oncolytic viruses (OV) as a front-runner in cancer immunotherapy by demonstrating their capacity to substantially remodel the microenvironment of immunologically "cold" or unresponsive tumors, effectively restimulating the patient's impaired or lacking anti-tumor immune responses. As OV infections activate the STING pathway, which serves as the principal cellular host defense system against viruses, it was expected that the use of STING agonists would potentially enhance anti-viral immune responses, thereby amplifying the anti-OV responses. Consequently, the combination of OV therapies with STING agonists has not been extensively pursued despite the reported potential of low-dose STING agonists to boost anti-tumor immune responses by enhancing Dendritic Cell (DC) maturation. In this study, we have demonstrated that the combination therapy of an HSV1-based OV, C-REV, with a natural non-cell permeable STING agonist, 2'3'-cGAMP, significantly reduced tumor burden in both treated and non-treated distal tumors. Our results confirmed that the addition of 2'3'-cGAMP alone, without any membrane permeabilizing agent, failed to induce STING activation in the pancreatic tumor cell line. Our previous works demonstrated that most pancreatic tumor cell lines harbor predominantly impaired STING pathway in tumor cells such that no significant type I IFN production is detected even when treated with a cell-permeable STING agonist, DMXAA. To further confirm that 2'3'-cGAMP is unable to activate the STING pathway without a permeabilizing agent, we generated a tumor cell line that overexpresses STING, which partially restored the functionality of the STING pathway and upregulated the sensitivity of STING activation. Despite having a functional STING pathway, the addition of the cell-impermeable 2'3'-cGAMP alone still failed to activate the STING pathway. In contrast, the addition of 2'3'-cGAMP alongside a membrane permeabilizing agent showed notable STING activation, clearly indicating that 2'3'-cGAMP alone, without any permeabilizing agent, cannot induce STING activation regardless of whether or not the STING pathway is functional in tumor cells. In addition, the partially restored STING pathway did not affect C-REV's cytotoxicity, suggesting that C-REV itself could suppress the STING pathway in the tumor cells. While 2'3'-cGAMP alone had a marginal impact on the recruitment of immune cells to tumors, combination therapy with C-REV effectively stimulated the expansion of both the proliferative KLRG1-high PD1-low CD8⁺ T cells and the activated dendritic cells populations. Additionally, combination therapy induced higher numbers of tumor-antigen-specific CD44⁺ CD8⁺ T cells in the tumor-draining lymph nodes. Finally, combination therapy-treated mice that successfully eradicated primary tumors displayed resistance to secondary tumor rechallenge experiments. Collectively, these findings provide strong evidence that the combination of C-REV with 2'3'-cGAMP synergistically enhances systemic anti-tumor immune responses.

Oncolytic virus-infected-mesenchymal stem cells contribute to the enhanced antitumor immunity

Shigeru Matsumura¹, Patricia Angela Alvero Sibal^{1,2}, Itzel Villalobos Bustos¹, Mohamed Abdelmoneim^{1,2,3}, Mona Al Hussein Mostafa Aboalela^{1,2,4}, Nobuaki Mukoyama⁵, Yoshinori Naoe¹, Hideki Kasuya¹

¹ Cancer Immune Therapy Research Center, International Medical Education, Nagoya University, Graduate School of Medicine

² Department of Surgery II, Nagoya University, Graduate School of Medicine

³ Microbiol., Vet. Med., Zagazig Univ., Egypt

⁴ Med. Microbiol. and Immun., Zagazig Univ., Egypt

⁵ Otol. Grad. Sch. Med., Nagoya Univ.

Mesenchymal stem cells (MSCs) have been reported to play a crucial role in migrating to inflammatory tissues and tissue regeneration. These stem cells, which can be relatively easily isolated and cultured from patient tissues such as adipose tissue, have gained significant attention as cell therapy in regenerative medicine. Conversely, tumor tissues attract MSCs through chemokines and transform them into tumor-associated MSCs (TA-MSCs) to support cancer proliferation. It has been demonstrated that the tumor microenvironment created by TA-MSCs ensures the survival of cancer stem cells and induces immune tolerance in cancer. In a reverse approach, it has been reported that MSCs infected with low doses of oncolytic viruses can be intravenously administered into the carotid artery of mice, effectively delivering them to brain tumors. Currently, various types of cancer are being evaluated using oncolytic viruses based on HSV (Herpes simplex virus), MYXV (Myxoma virus), MV (Measles Virus), and Ad (Adenovirus). However, the main focus of this research project is not delivery; instead, it aims to explore how MSCs can induce the activation of antitumor immunity as a viral vector. Therefore, we treated tumors with the HSV-1-based oncolytic virus-infected MSCs intratumorally. We found that the viral-infected MSCs enhanced the antitumor efficacy more than 5 times compared to a single treatment of viral injection. Moreover, replacing the viral-infected MSCs with the viral-infected tumor cells abrogated the enhanced antitumor effect. Indeed, tumor cells allowed the oncolytic virus to replicate more efficiently than in MSCs. These results suggest that the enhanced antitumor effects were not only from the expansion of viral particles in the infected MSCs. Moreover, we found that the viral infected MSCs start expressing chemokines, such as CXCL9 and CXCL10, which have the function of recruiting Th1 cells, NK cells, and effector CD8+ T cells expressing CXCR3, the receptor for CXCL9 and CXCL10. This inflamed phenotype of MSCs might cause additive contribution for antitumor effects. Interestingly, these upregulated expressions were not observed when MSCs were treated with the heat-inactivated virus. We are trying to elucidate how viral infection makes MSCs seemingly inflamed. Through those results, we hope to propose the mechanism for how MSCs are suited for OV delivery to tumor sites.

Interferon-expressing oncolytic adenovirus + chemoradiation inhibited tumor growth in a hamster pancreatic cancer model

Shuhei Shinoda^{1,2}, Kazuho Inoko², Mizuho Sato-Dahlman², Masato Yamamoto²

¹ Department of gastroenterology and hepatology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

² Department of Surgery, University of Minnesota

Objectives: In Japan, 5-year survival of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) remains lower than 10%. IFN-Alpha (IFN) is a cytokine with multiple functions, including immunomodulation as well as antitumor activity via direct induction of apoptosis antitumor effect and sensitizing cancers to radiation. Clinical trials of adjuvant therapy combined with IFN, 5-FU, CDDP, and radiation improved the 5-year survival of patients with PDAC. However, this also revealed the disadvantages of IFN including the high drop-out rate due to the systemic toxicity of IFN as well as insufficient concentration of IFN in the tumor. To overcome this barrier, we have developed an oncolytic adenovirus expressing IFN (IFN-OAd). In this study, we evaluated IFN-OAd + chemoradiation.

Methods: We used HP1 cells, one of the hamster pancreatic cancer cell line. The IFN-OAd used in this study has RGD fiber modification and overexpresses Adenoviral Death Protein. Hamster IFN-alpha gene was placed in the Adenovirus E3 region. We used GEM+nab-PTX, common chemotherapy for patients with PDAC. To assess how GEM and PTX affect the replication of IFN-OAd, HP-1 cells were infected with viruses. 24 hours after infection, GEM and/or PTX were subsequently added. VP number was analyzed with qPCR at 7days after infections. In colony formation assay, cells were infected with IFN-OAd and on the next day, cells were irradiated after that chemo drugs were added to media. After 14 days, colony number was counted. Calculation of the Combination Index (CI) to determine synergism (CI<1), antagonism (CI>1), or additive effect (CI=1) was performed. To evaluate the effect of IFN-OAd in the hamster syngeneic tumor, HP1 cells were injected subcutaneously into the backs of the Syrian hamsters. When tumor volume reached to 200mm³, we injected the virus intratumorally (IFN-OAd: 2.5×10⁹ PFU). Three days after virus injection, radiation (8 Gy) was given, and intraperitoneal injection of GEM (20mg/kg) + nab-PTX (2mg/kg) (twice a week) was started.

Results: PTX only group significantly showed higher VP number compared to the without chemo group. Furthermore, GEM+PTX group showed significantly higher VP number compared to the GEM only group. These data indicated that PTX enhanced the replication of IFN-OAd. IFN-OAd + Chemo + Radiation remarkably inhibited colony formation and CI analysis showed that combination therapy of IFN-OAd and chemoradiation was synergistic (CI < 1). In vivo experiment, the average tumor volumes of the control, chemoradiation (CR), IFN-OAd only(V), triple-therapy regimen (CRV) were 2027 ±1296, 908 ±849, 767 ±593 and 202 ± 161 mm³, respectively. A significant tumor growth suppression and higher number of tumor-infiltrating lymphocytes were observed in CRV group without any serious side effect. Chemotherapy + radiation did not hamper virus replication in vivo.

Conclusion: IFN-OAd + Chemo + Radiation was synergistic and showed remarkable antitumor effect in the syngeneic hamster model.

胃がんに対する増殖型レトロウイルスベクターを用いた細胞死誘導型がんウイルス療法

久保 秀司¹、藤野 宏晃¹、Noriyuki Kasahara²、福田（園田） 絵観子¹

¹ 兵庫医科大学 先端医学研究所 分子遺伝治療学部門

² Departments of Neurological Surgery and Radiation Oncology, University of California, San Francisco, USA

増殖型レトロウイルスベクター (RRV) は、がん細胞特異的に感染・増殖し、腫瘍選択的に自殺遺伝子を効率良く送達できる。これにより薬物前駆体投与で腫瘍細胞死を誘導することができる。本研究では、Amphotropic murine leukemia virus (AMLV) およびGibbon ape leukemia virus (GALV) 由来の2種類のRRVを用いた細胞死誘導型がんウイルス療法のヒト胃がん細胞に対する効果を検討した。

ヒト胃がん細胞株5種における両RRVの細胞受容体をqPCRにより検討したところ、AMLV受容体(PiT-2リン酸トランスポーター)の発現レベルがGALV受容体(PiT-1)よりも高値であった。また、GFP遺伝子をコードするRRVを用いた検討から、殆どの胃がん細胞株においてAMLVはGALVよりも効率よく感染伝播した。一方、いずれのRRVも正常細胞であるヒト線維芽細胞では感染伝播しなかった。続いて、酵母のシトシンデアミナーゼ (CD) をコードするRRVを用いて、薬物前駆体5-フルオロシトシン (5-FU) 添加後の胃がん細胞株に対する細胞死誘導効果を評価したところ、AMLVを感染させた細胞における殺細胞効果がGALVに比べて高かった。さらに、ヌードマウスを用いたMKN-74皮下腫瘍モデルにおける抗腫瘍効果の検討では、AMLV治療群ではGALV治療群に比べて腫瘍体積が有意に減少した。また、AMLV治療群において治療中止後に再増殖した腫瘍についても5-FUの投与を再開することで腫瘍が縮小した。

以上の結果より、RRVを用いた細胞死誘導型ウイルス療法は胃がんに対しても有効であると考えられた。また、胃がんの生検検体におけるRRVの受容体発現量を調べることで、2種のRRVの有効性を治療前に判定し適切なRRVを治療に用いる個別化がんウイルス療法の可能性が期待された。

受容体標的化腫瘍溶解性HSV (RR-oHSV)へのsyn変異の導入による抗腫瘍効果の増強鈴木 拓真¹、田原 秀晃²、内田 宏昭¹¹ 東京薬科大学² 大阪国際がんセンター

正常細胞では増殖せず、がん細胞選択的に増殖する腫瘍溶解性ウイルスが数多く開発されてきた。中でも、正常細胞で増殖するために必要な遺伝子を欠失した単純ヘルペスウイルス (HSV) を用いた腫瘍溶解性HSV (oHSV) は、国内外で医薬品承認されるに至っているが、治療効果のさらなる強化が今後の課題と考えられている。この課題を克服するために、本研究グループの内田らは、HSVの細胞内侵入・細胞間伝播を規定するエンベロープ糖タンパク質に、がん関連抗原に結合する単鎖抗体を組み込むことにより、標的分子選択的に細胞内侵入・細胞間伝播する受容体標的化腫瘍溶解性HSV (RR-oHSV) を開発し、その強い抗腫瘍効果を報告した。本研究では、このRR-oHSVの治療効果をさらに強化するために、感染細胞の多核巨細胞形成を誘導するsyn変異をRR-oHSVに導入した多核巨細胞形成型RR-oHSV (RRsyn-oHSV) を作製し、ヒトがん細胞株の担がんマウスモデルでの治療効果を親株のRR-oHSVや正常細胞での増殖に必要な遺伝子を欠失した制限増殖型oHSV (CR-oHSV) と比較することにより、その有用性を評価した。単回の腫瘍内投与での検討では、RRsyn-oHSVはごく少量 (10 pfu) でも腫瘍を完全に退縮させ、親株のRR-oHSVの10万倍以上の効果を示した。さらに、単回の静脈内投与により、巨大な腫瘍をも完全に退縮させるほどの極めて強力な抗腫瘍効果を発揮した。これらの治療効果は、既に開発が進んでいるCR-oHSV、さらには多核巨細胞形成型CR-oHSV (CRsyn-oHSV) と比較してもはるかに強力であり、それらとは一線を画す新たなモダリティであると考えられた。この卓越した抗腫瘍効果には、①標的化・②syn変異の両方が必要であった。現在、RRsyn-oHSVの社会実装に向けた取り組みを進めている。

Therapeutic potential of oncolytic adenovirus against cancer-associated fibroblast phenotypes induced by pancreatic cancer cells

Yasuo Nagai¹, Hiroshi Tazawa^{1,2}, Hiroaki Inoue¹, Satoru Kikuchi¹, Shinji Kuroda¹, Yasuo Urata³, Shunsuke Kagawa¹, Toshiyoshi Fujiwara¹

¹ Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan

² Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

³ Oncolys BioPharma, Inc., Tokyo, Japan

Background: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most lethal disease with a 5-year survival rate of less than 10%. PDAC has prominent fibrosis in the tumor microenvironment (TME) and major component of TME is cancer-associated fibroblasts (CAFs). CAFs play a central role in regulating tumor progression and there are heterogeneous CAF subtypes in PDAC TME. Myofibroblastic CAFs (myCAFs) promote fibrogenic conditions via extracellular matrix production. Inflammatory CAFs and senescent CAFs (sCAFs) promote inflammatory conditions via secretion of inflammatory mediators. However, therapeutic strategy for targeting the CAF subtypes in PDAC has not been established yet. We demonstrated that p53-armed telomerase-specific replication-competent oncolytic adenovirus OBP-702 exhibits the therapeutic potential against human PDAC cells. In this study, we assessed the therapeutic potential of OBP-702 against PDAC cell-induced CAF subtypes.

Methods: Two epithelial-type human PDAC cell lines (PK-59, Capan-2) and two mesenchymal-type PDAC cell lines (MIA PaCa-2, KP-4), and human fibroblasts (WI-38) were used in this study. We collected serum-free condition medium (CM) from PDAC cells and administered PDAC CM to induce CAFs in fibroblasts. α -SMA was used as a marker of myCAFs, and p16 and SA- β -Gal were used as marker of sCAFs. CAF phenotypes were analyzed by immunocytochemistry, FACS analysis, and Western blot analysis. The CM of PDAC cells was analyzed by ELISA assay, and CAF subtypes induced by recombinant IL-8 were analyzed by immunocytochemistry and FACS analysis. The sensitivity to oncolytic adenoviruses was analyzed by FACS analysis using the green fluorescence protein (GFP)-expressing oncolytic adenovirus (OBP-401). The cytopathic effect of OBP-702 to CAF subtypes was analyzed by the XTT assay. OBP-702-mediated p53 activation and apoptosis induction were analyzed by Western blot analysis.

Results: Epithelial-type PDAC CM mainly induced α -SMA-positive myCAFs, whereas mesenchymal-type PDAC CM mainly induced p16- and SA- β -Gal-positive sCAFs. Mesenchymal-type PDAC CM contained significantly higher levels of IL-8 than epithelial-type PDAC CM and IL-8 administration mainly induced sCAFs rather than myCAFs. OBP-401 induced higher GFP expression in sCAFs induced by mesenchymal-type PDAC CM compared with myCAFs induced by epithelial-type PDAC CM. In consistent with OBP-401-induced GFP expression, sCAFs were more sensitive to OBP-702-mediated cytopathic activity compared with myCAFs. OBP-702 induced higher expression of E1A, p53, BAX, and cleaved PARP in sCAFs compared with myCAFs.

Conclusions: Our results suggest that PDAC cells with epithelial and mesenchymal characteristics induce distinct CAF subtypes, including myCAFs and sCAFs, respectively, and sCAFs may be therapeutic target for treating mesenchymal-type PDAC tumors with OBP-702.

レオウイルスは、IPS-1非依存的にCD8陽性T細胞の腫瘍内浸潤を促進する

櫻井 文教¹、江口 真帆¹、種島 なお実¹、立花 雅史^{1,2}、石井 健^{3,4}、水口 裕之^{1,2,4,5,6}

¹ 大阪大学大学院薬学研究科

² 大阪大学MEIセンター

³ 東京大学医科学研究所

⁴ 医薬基盤・健康・栄養研究所

⁵ 大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門

⁶ 大阪大学感染症総合教育研究拠点

10本の二本鎖RNAゲノムを持つReovirusは腫瘍細胞の細胞死誘導に加え、免疫細胞の腫瘍浸潤を誘導することで優れた抗腫瘍効果を示す。しかしReovirus投与後の腫瘍への免疫細胞の浸潤促進に、どのような細胞や自然免疫シグナルが関与しているかは、全く明らかとなっていない。そこで本研究では、Reovirusによる自然免疫活性化に重要な分子であるInterferon- β -promoter stimulator-1 (IPS-1)をノックアウト (KO)した腫瘍細胞と、数種の自然免疫関連分子のKOマウスを用いて、Reovirus投与後に免疫細胞の腫瘍内浸潤が促進される機序の解明を試みた。

まず、IPS-1をKOしたB16細胞 (IPS-1-KO B16細胞)にReovirusを作用させたところ、野生型 (WT) B16細胞と比較して、各種サイトカインの発現が有意に低下していた。次にWT-およびIPS1-KOのB16細胞を移植したWT-およびIPS-1 KOマウスにReovirusを腫瘍内投与し、免疫細胞の腫瘍内浸潤を解析したところ、WT-およびIPS1-KOのB16腫瘍において、CD8 + T細胞の腫瘍内浸潤が有意に増加した。しかしCD8+T細胞の腫瘍内浸潤レベルは、WT-およびIPS-1 KO B16腫瘍を持つWT-およびIPS-1 KOマウス間で同等であった。従ってReovirusによるCD8+T細胞の腫瘍内浸潤促進に、腫瘍細胞ならびにレシピエント (マウス)由来細胞のRIG-I/IPS-1シグナルは関与しないことが示唆された。一方で、紫外線照射により不活化したReovirus (UV-Reo)をB16腫瘍に腫瘍内投与したところ、CD8+T細胞の腫瘍内浸潤は、Reovirus投与群と比較して大きく低下していた。この結果から、ReovirusによるCD8 + T細胞の腫瘍内浸潤促進にReovirusの腫瘍における感染増殖が重要であることが示された。

HEK293 細胞を使用した多様な AAV 血清型に対する中和抗体測定法の開発

綿野 亮太¹、大庭 賢二¹、瀬原 吉英¹、嵯峨 泰²、卜部 匡司¹、水上 浩明¹

¹ 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

² 自治医科大学 産婦人科学講座

[背景] アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた遺伝子治療の臨床応用が進んでいる。しかし、AAV キャプシドに対する中和抗体は、その有効性を著しく抑制する。そのため、中和抗体の事前スクリーニングは重要である。細胞を用いた中和抗体測定法は、多くの臨床試験で中和抗体を検出するために適用されている。しかし、AAV 血清型ごとに細胞への感染性が異なるため、AAV5, AAV8, AAV9 などの感染性の低い血清型では、低力価中和抗体を十分に検出できない可能性がある。また、一つの細胞で多様な AAV 血清型に対応できる中和抗体測定法が求められる。

[目的] 一般的に入手可能な細胞株・HEK293細胞を利用し、多様な AAV 血清型に対する中和抗体を感度良く検出できる中和抗体測定法を検証した。

[方法] HEK293細胞に AAV ベクターを感染させる際、細胞に浸透圧負荷を与える化合物として、糖類、電解質を加え、AAV ベクターの遺伝子発現を誘導する化合物の選定を行った。得られた化合物を用いて、中和抗体測定法の最適な条件の検討を行った。また、AAV5, AAV8, AAV9 に対する抗体の中和抗体価を測定し、従来の中和抗体測定法との比較を行った。

[結果] HEK293細胞への糖類の添加は AAV ベクターの導入遺伝子の発現を効果的に誘導することを見出した。また、レポーター遺伝子として高感度発光ルシフェラーゼである NanoLuc を組み合わせることで、細胞当たりの AAV ベクター量を大幅に削減した中和抗体測定法に繋げた。本法は、従来の中和抗体測定法と比較して、AAV5, AAV8, AAV9 に対する抗体の中和抗体価を有意に高い感度で測定できることを見出した。

[結論] HEK293細胞を用いて、多様な AAV 血清型に対する中和抗体を感度良く検出できる新規中和抗体測定法を確立し、その有効性を確認した。

肥大型心筋症モデルマウスに対する遺伝子治療と病的リモデリングの抑制

魚崎 英毅¹、安済 達也^{1,2}、川上 亮³、徳山 剛士¹、Razan Ahmed¹、Fuad Gandhi Torizal¹、長尾 恭光⁴、石井 秀樹³、小坂橋 紀通³

¹ 自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部

² 自治医科大学 小児科

³ 群馬大学大学院医学系研究科内科学講座循環器内科学

⁴ 自治医科大学 実験医学センター

【背景】 肥大型心筋症 (HCM) の一部の患者では、心室収縮機能障害を発症することが報告されており、拡張相肥大型心筋症 (dHCM) と呼ばれる。dHCMは予後不良であるが、病的な心臓リモデリングが起こる正確なメカニズムや遺伝子を標的とした治療法はまだ研究段階である。

【目的】 dHCMモデルマウスを作出し、遺伝子治療の有効性を検証することを目指した。

【方法および結果】 心臓ミオシン結合蛋白C (Mybpc3) のミスセンス変異 (R820Q) やナンセンス変異 (Q76X) は、家族性dHCMとの関連が報告されている。そこで我々はマウスMybpc3の相同アミノ酸に変異を導入したR824Q変異あるいはQ84Xを持つノックインマウスを作製した。R824Qマウスは8週齢で心肥大と軽度の収縮機能不全を、またQ84Xマウスは2週齢より心肥大と高度な収縮機能不全を呈しdHCMを再現できた。Q84XマウスではMybpc3が完全欠損しているため、まず心筋トロポニンTプロモーターで制御された野生型Mybpc3を組み込んだアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを一回静脈内投与し、必要なAAV量を確認した。続いて、8週齢で肥大が始まったR824Qマウスに、AAVを投与し、心エコーおよび心臓カテーテル検査により、経時的な心機能の低下が遺伝子治療により有意に抑制されることが確認された。心筋細胞の胎児性遺伝子の過剰発現は有意に抑制され、ミトコンドリア遺伝子異常も有意に抑制され、組織学的な心筋細胞肥大や線維化も野生型Mybpc3を組み込んだAAVの投与により有意に抑制された。

【結論】 我々のMybpc3点変異ノックインマウスは、ヒトのdHCM表現型を再現可能であった。AAVによる遺伝子治療は、心臓リモデリングが既に進行し始めた段階で投与しても、遺伝子レベルで心機能障害を抑制し、dHCMへの移行を阻止することに成功した。

Alveolar bone regeneration following bmp-2 gene transfer into the periodontal tissue

Mariko Yamamoto Kawai^{1,2}

¹ Kansai Women's Collage

² Kyoto University

われわれは骨形成因子 Bone Morphogenetic Protein: BMP をタンパクではなく、遺伝子の状態で歯周組織へデリバリーし、歯槽骨再生治療への応用を試みてきた。これまで、BMP-2あるいはBMP-2/7遺伝子発現プラスミドベクターをラット歯周組織へ導入し、導入部位での歯槽骨再生の誘導に成功した。これらの遺伝子発現プラスミドベクターを臨床応用するためには、これらの安全性の確立が必要となる。今回、われわれはBMP-2遺伝子導入後の歯槽骨の骨形態計測学的解析を行い、その有効性を検討するとともに、歯槽骨の骨質に対する影響について検討することを目的とした。材料および方法: 9週齢の雄性Wistar系ラットの上顎口蓋側歯周組織へpCAGGS-BMP-2 (0.5mg/mL)を注入、直ちにエレクトロポレーションを施行した。遺伝子導入後3週間、カルセインとテトラサイクリン塩酸塩によりラベリングを行った。上顎部位を採取し、骨石灰化速度(Mineral Apposition Rate: MAR)を計測した。さらに、コラーゲン配向性について検討した。結果: MARはBMP-2遺伝子導入前のMARと比較し、遺伝子導入後のMARは有意に増加した。一方、コラーゲン配向性については遺伝子導入群とコントロール群では優位な差が認められなかった。考察および結論: BMP-2遺伝子発現プラスミドベクターのラット歯周組織への導入によって、歯槽骨誘導を促進することができるが、歯槽骨の骨質への影響はないという結果となった。

The application of periodontal tissue in regenerative medicine has gained increasing interest since it has a high potential to induce hard-tissue regeneration and is easy to handle and graft to other areas of the oral cavity or tissues. Additionally, bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) has a high potential to induce the differentiation of mesenchymal stem cells into osteogenic cells. We previously developed a system for gene transfer to the periodontal tissues in animal models. In this study, we aimed to reveal the potential and efficiency of periodontal tissue as a biomaterial for hard-tissue regeneration following bmp-2 gene transfer. A non-viral expression vector carrying bmp-2 was injected into the palate region of the periodontal tissue of Wistar rats, followed by electroporation. The periodontal tissues were analyzed through bone morphometric analyses, including mineral apposition rate (MAR) determination and collagen micro-arrangement, which is a bone quality parameter, before and after gene transfer. The MAR was significantly higher 3–6 d after gene transfer than that before gene transfer. Collagen orientation was normally maintained even after bmp-2 gene transfer, suggesting that bmp-2 gene transfer has no adverse effects on bone quality. Our results suggest that periodontal tissue electroporated with bmp-2 could be a novel biomaterial candidate for hard-tissue regeneration therapy.

リゾリン脂質アシル転移酵素LPLAT10の肝臓特異的な高発現は、グルコース依存性インスリン分泌を促進する

清水 かほり¹、小野 萌¹、三家本 武成¹、裏山 悠哉¹、中西 広樹²、道永 昌太郎³、吉田 瀬七¹、岩崎 美穂¹、寺田 知行¹、櫻井 文教⁴、水口 裕之^{4,5,6,7,8}、進藤 英雄^{9,10}、富田 晃司¹、西中 徹¹

¹ 大阪大谷大学 薬学部

² 株式会社リピドームラボ

³ 明治薬科大学

⁴ 大阪大学大学院 薬学研究科

⁵ 医薬基盤・健康・栄養研究所

⁶ 大阪大学 国際医工情報センター

⁷ 大阪大学 先導的学際研究機構

⁸ 大阪大学 感染症総合教育研究拠点

⁹ 国立国際医療研究センター

¹⁰ 東京大学大学院 医学系研究科

生体膜の主要な脂質であるリン脂質は、2本の脂肪酸を有し、脂肪酸の組み合わせにより多種類のリン脂質が存在する。リン脂質の脂肪酸組成の変化は、生活習慣病の発症・進展に寄与することが報告されている。そこで、糖代謝の中心臓器「肝臓」においてリン脂質の脂肪酸組成を変化させることは、糖尿病に対する新たな治療につながると考えた。本研究では、リン脂質の多様性を形成する酵素「リゾリン脂質アシル転移酵素」のひとつであり、肝臓において発現量が少なく、機能が十分に解明されていない「lysophospholipid acyltransferase 10 (LPLAT10)」に着目し、LPLAT10が糖代謝に与える影響を検討した。

LPLAT10を高発現させるベクターとして、以前に開発した、肝障害性が低く、長期に渡り目的遺伝子を発現可能な改良型アデノウイルス (adenovirus; Ad) ベクター (Ad-E4-122aT) を選択し、LPLAT10を搭載したAdベクター (Ad-LPLAT10) を作製した。糖代謝に対する影響を調べるため、Ad-LPLAT10をマウスに静脈内投与し、糖負荷試験を行ったところ、Ad-LPLAT10群ではインスリン分泌量が増加し、血糖値の上昇が抑制された。このメカニズムについて検討するため、Ad-LPLAT10を投与したマウスの血清を用いてマウスインスリノーマ細胞であるMIN6細胞を培養した。その後、インスリン分泌量を測定したところ、コントロール群よりもインスリン分泌量が増加した。肝臓内のリン脂質の分子種を測定したところ、Ad-LPLAT10投与群では多価不飽和脂肪酸を有するリン脂質が増加していた。そこで、増加した多価不飽和脂肪酸を有するリン脂質を用いてMIN6細胞を培養したところ、インスリン分泌量が増加した。したがって、LPLAT10の肝臓における高発現は、肝臓内のリン脂質の脂肪酸組成の変化を介して、グルコース依存性インスリン分泌を増強することが示された。以上より、LPLAT10は、糖尿病に対する新しい治療標的となる可能性が見出された。

AAVベクターによる肝遺伝子発現を増強するイントロン配列の同定

大森 司、鴨下 信彦、早川 盛禎、柏倉 裕志, Nemekhbayar Baatartsogt

自治医科大学医学部生化学講座病態生化学部門

【背景】 AAVベクター全身投与による遺伝子治療の副作用を軽減するためにはベクター用量の減少が一つのポイントとなる。そのために、肝遺伝子導入効率が高いカプシド改変に加え、プロモーターの工夫や導入遺伝子のコドン最適化が行われている。本研究では、肝臓での発現遺伝子の転写効率を高めるイントロン配列の同定を試みた。

【方法・結果】 既報の肝RNAseqデータを参考に、肝臓に発現が高い遺伝子としてセレノプロテインP (*SELENOP*、 α 1-アンチトリプシン (*SERPINA1*)) を選択した。肝臓特異的なヒトApoEエンハンサーとアンチトリプシンプロモーター (hHCRhAATp)、またはマウストランスサイレチンプロモーター (mTTRp) に上記遺伝子のイントロン1領域を挿入した。ヒト肝臓細胞株Huh-7において*SELENOP*イントロンの挿入によってプラスミドによる遺伝子発現効率が高まった。この現象は*SERPINA1*や*F9*イントロンでは認められなかった。AAVベクターに搭載できるようイントロン領域を約200、600、1,100 bpに短縮させたところ、1,100 bp断片の遺伝子発現効率が最も高かった。*SELENOP*イントロン自身にプロモーター活性はなく、遺伝子発現増強効果はスプライスドナー、アクセプター部分を除去すると認めなかった。血液凝固第IX因子、またはオルチニントランスカルバミラーゼを発現するAAV8型ベクターをマウスに投与したところ、*SELENOP*イントロンの挿入によって発現タンパク質の発現が10~20倍増強した。肝組織の解析では、肝臓のAAVゲノム量は変わらなかったが、発現遺伝子のmRNA発現は増強した。同様にmTTRpプロモーターでも、*SELENOP*イントロンの挿入は、マウス肝での遺伝子発現を増強させた。

【結論】 *SELENOP*イントロン領域は肝臓でのAAVベクター遺伝子治療による*in vivo* 遺伝子発現を高める効果があり、遺伝子導入に用いるAAVベクターの投与量を減じられる可能性がある。

細胞外小胞を用いたAAVベクターによる新規ワクチンモダリティ開発

松坂 恭成、菅生 健、古寺 絃人、恒川 雄二、喜納 裕美、奈古屋 美穂、和田 美加子、笠原 優子、平井 幸彦、岡田 尚巳

東京大学 医科学研究所

【背景】 アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは効率的な遺伝子導入、長時間持続による抗原タンパク質発現の安定化、さらに感染細胞でのウイルス由来タンパク質の発現抑制が期待されているが、中和抗体によって複数回投与における遺伝子導入が阻害されることや、肝障害や血小板減少などの副作用が課題となっている。一方、AAVを封入したエクソソーム (AAVベクソソーム) は毒性および免疫原性が低く、中和抗体からの反応を回避できることから、ワクチン生成における副反応軽減や、低用量化と低コスト化などが期待できる。そこで今回、AAVベクソソーム作製手法の確立を目的に検討を行った。

【方法】 エクソソームへのAAVの封入方法として、膜破壊・膜融合法のなかで凍結融解法 (液体窒素による凍結、室温での融解の繰り返し) および超音波破壊法 (超音波破碎機による破碎、冷却の繰り返し) を選択し、その封入効率を検討した。また、上記の手法によって生成されたAAVベクソソームの抗AAV中和抗体の存在および非存在下におけるRD (ヒト胎児横紋筋肉腫) 培養細胞への感染効率を検討した。

【結果】 凍結融解法に比べて超音波破壊法において高い封入効率を示された。また、AAVベクター単独に比べてAAVベクソソームではRD培養細胞への高い感染効率を示された。さらに、抗AAV中和抗体の存在下におけるAAVベクソソームのRD培養細胞への感染効率は、AAVベクター単独に比べて高かった。

【結論】 超音波破壊法はAAVのエクソソームへの高い封入効率を示された。さらに、AAVベクター単独に比べて、AAVベクソソームは抗AAV中和抗体の有無に関わらず、RD培養細胞への高い感染効率を示された。ウイルスベクターを活用したワクチン開発に向けて、今後は生体内での効率的な抗原特異的抗体の産生方法の確立が必要となる。

CAR-T細胞の抗腫瘍効果をも高めCRSリスクを低減させるオールインワンレンチウイルスベクターの開発

楨 いづみ¹、天石 泰典¹、乾 星葉¹、永田 亮佑¹、吉川 聡明²、籠谷 勇紀²、岡本 幸子¹、榎 竜嗣¹

¹ タカラバイオ株式会社 基盤技術開発センター

² 慶応義塾大学医学部 先端医科学研究所 がん免疫研究部門

CAR-T細胞療法はCD19やBCMA陽性の癌に対して高い抗腫瘍活性を示し、複数の治療薬が上市されている。しかしながら、再発率の高さや、固形腫瘍に対する治療効果が限定的であること、投与患者の多くでサイトカイン放出症候群(CRS)や免疫エフェクター細胞関連神経毒性症候群(ICANS)といった副作用が生じるなどの課題があり、高い抗腫瘍活性と重篤な副作用の抑制の両方を担うCAR-T細胞の開発が求められている。

近年我々は、CRSの原因となるIL-6、ICANSを引き起こすIL-1を吸収し、かつCAR-T細胞の質を向上させることが可能なキメラ受容体を開発した。IL-6キメラ受容体は、高いIL-6吸収能を示すIL6RAとGP130を連結した細胞外ドメインが、IL-7Rの改変型膜貫通ドメイン・細胞内ドメインと連結しており、恒常的かつ最適なJAK/STAT経路の活性化により、遺伝子導入細胞の増殖を促進することが可能であり、CARと共発現させることで、CAR-T細胞によるIL-6の吸収、CAR-T細胞の生存性の向上が認められた。

この技術を臨床応用するには、治療効果とコスト面から、各因子を高発現させるオールインワンベクターの開発が必要である。本研究では、第三世代型レンチウイルスベクタープラスミド(pLVpro)を用いて、プロモーター選択、コドン最適化、CAR・キメラ受容体2種の搭載順変更、WPRE搭載の効果を検証することで、オールインワンレンチウイルスベクターの構造最適化を実施した。本ベクター導入T細胞は固形腫瘍モデルにおいて顕著に生存性が向上し、腫瘍をほぼ完全に退縮させた。

本技術は、汎用的なプラットフォームとして標的抗原に関係なくCAR-T細胞療法に広く適用でき、その有効性と安全性を高めることが期待される。

新規アフィニティーリガンドを利用したAAV9の高品質精製・定量システムの開発

高木 淳一¹、三原 恵美子¹、Anananuchatkul Teerapat²、相川 春夫²、菅 裕明²

¹ 大阪大学蛋白質研究所

² 東京大学理学部化学科

遺伝子治療ベクターとしてのAAVの優位性と価値が急速に高まるにつれ、組換えAAVウイルスの大量生産と高品質な精製法の確立が研究と医療の両面で急務となっている。さらに、得られたウイルスキャプシドの品質管理においても安価で信頼性の高い評価測定系の構築が望まれている。現在のところ組換えAAV精製はキャプシドタンパク質に対する単鎖抗体を固定化したレジンを使う方法が広く普及し、複数の製品が市販されているが、コストの高さやリガンドタンパク質の不安定さなどが懸念材料となっている。我々は最近、AAV9キャプシドに特異的に高親和性で結合するペプチド性リガンドを単離することに成功した。このリガンド (L1ペプチド) をそのアミノ基を介してSepharose樹脂に固定化したところ、AAV9キャプシドを高効率で結合し、それを酸性pHのbufferで特異的に溶出できることがわかった。このL1-Sepharoseは、HEK細胞の一過性発現により産生されたAAV9を含む粗抽出液からの精製において、ThermoFisher社製POROS CaptureSelect™ AAVX レジンと変わらぬパフォーマンスを示し、しかも0.1 N NaOHによる再生サイクルを10回以上経てもその品質が劣化しないことが確認できた。さらにこのリガンドをビオチン化し、Meso Scale Discovery(MSD)デバイスを使ったサンドイッチ定量系を組んだところ、 5×10^4 vg/ μ lという極めて低濃度のウイルスを検出できる高感度アッセイ系を構築することに成功した。本アフィニティーリガンドは、AAV9を使った遺伝子治療ベクターの製造工程において、既存の抗体とは異なるユニークなツールを提供できるものとする。

浮遊HEK293細胞に適したAAVベクター高産生用完全合成培地

竹市 華帆、西江 敏和、植村 久美子、工藤 庸子、坂本 修平、三浦 俊之、石原 大嗣、蝶野 英人、
岡本 幸子、榎 竜嗣、峰野 純一

タカラバイオ株式会社

[背景]

組換えアデノ随伴ウイルスベクター (rAAV) は遺伝子治療の基礎研究および臨床試験において、目的遺伝子導入用ベクターとして広く使用されている。遺伝子治療におけるrAAVベクター使用の課題の一つが大規模製造である。HEK293細胞の浮遊培養系は接着のHEK293細胞によるベクター生産よりもスケラブルであり、大規模製造に適している。ここでは、我々が開発した、rAAVベクターの高産生が可能な、無血清でタンパク質および動物由来成分を含まない完全合成培地について報告する。

[方法]

複数の市販浮遊HEK293細胞株を用いてrAAVベクター高産生用培地の性能を評価した。試験前に評価培地に馴化した細胞を用いて細胞増殖、生存、到達細胞密度を測定した。一過性トランスフェクションによって生産したrAAVを抽出し、AAVpro[®] Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2 (Takara Bio) を用いてウイルスゲノムコピー数を測定した。

[結果および結論]

新たに開発したAAVベクター高産生用培地は今回用いた市販浮遊HEK293細胞に適用可能であった。この培地は複数の市販培地と同等の増殖能を示し、培養7日目の細胞密度は $8-10 \times 10^6$ cells/mLに到達した。さらに、新規培地で培養した細胞でrAAV2を生産したところ 1×10^{13} vg/L以上のrAAV2産生を示し、生産効率はよりも20-50%高かった。よって、新規AAVベクター高産生用培地は浮遊培養系での大規模製造に最適かつ有用である。

キャプシドの発現タイミングを調整した効率良いアデノ随伴ウイルスベクター産生システム

大庭 賢二¹、瀬原 吉英¹、榎 竜嗣²、峰野 純一²、小澤 敬也¹、水上 浩明¹

¹ 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

² タカラバイオ株式会社 CDMセンター

[Objective]

Adeno-associated virus (AAV) vector is a promising tool for gene therapy, and various clinical trials are ongoing in the world. However, there are many issues which should be improved for further development. Among various issues, tons of empty capsids during AAV vector production are one of the big problems, meaning that costly multistep purification is required to remove empty capsids. It leads to increased price for AAV vector-based drugs. In this study, we attempt to establish new AAV vector production system which can decrease empty capsid production.

[Methods]

For adjusting *capsid* gene expression which causes empty capsid production, replicase (Rep) / capsid (Cap) genes were separated from commercialized AAV vector constructs. Then, we analyzed AAV vector production by using separated constructs for Rep and Cap.

[Results]

Separated constructs produced the same quantity of AAV vectors compared with commercialized AAV vector system. In addition, controlling Rep and Cap expression significantly improved the empty/full capsid ratio. The new AAV vector production system we developed showed the same effect in representative AAV2 as well as other serotypes. The infectivity of AAV vectors generated by new viral production system was the same with one by commercialized system *in vitro* and *in vivo*.

[Discussion]

New AAV vector production system can reduce the amount of empty capsids without any effect such infectivity of AAV vectors. Thus, our newly developed AAV vector production system may decrease the cost of gene therapy using AAV vectors in near future.

Adenovirus Purification Method Using Scalable System with Single Use Anion Exchange Fiber Chromatography Capsule

Masato Yamamoto¹, Kari Jacobsen¹, Masayuki Nakamura²

¹ University of Minnesota

² 3M Corporation

Efficient viral vector production is a key issue for clinical application of viral vectors. Large batch adenovirus (Ad) production still requires further improvement on scalability and process economics. While Ad vectors are currently purified by CsCl ultracentrifugation or anion exchange resin chromatography, both processes require removal of cell debris by large volume centrifugation. It is therefore difficult to establish a closed inline purification system. 3M™ Harvest RC™ and 3M™ Emphaze™ AEX Hybrid Purifier are the next generation single-use harvest and clarification devices for biopharmaceutical processing. These devices utilize fibrous anion exchange (AEX) chromatography to efficiently separate the cells, cell debris and soluble contaminant (host cell proteins and DNA) from the target biotherapeutic product with precision quaternary ammonium (Q) functionalized polypropylene fiber. They have already been used by therapeutic antibody manufacturers for scalable and predictable clarification. 3M™ Harvest RC™ is designed for clarification of cell culture fluids, while 3M™ Emphaze™ AEX Hybrid Purifier is designed for polishing.

In this project, we aimed at 1) elimination of low speed centrifugation for cell debris removal, 2) large genomic DNA removal, 3) concentrating virus, and 4) elimination of ultracentrifugation by AEX fiber chromatography. First, we applied producer cells with virus after freeze and thaw to a Harvest RC capsule with 50mM HEPES (pH 7.4) and 300mM NaCl (flowthrough process), as well as with 50mM HEPES (pH 7.4) and 100mM NaCl for binding followed by PBS with 50mM HEPES (pH 7.4) and 300mM NaCl (bind and elute process). The eluates were analyzed by CsCl gradient ultracentrifugation. In both cases, the adenovirus was recovered without loss, and neither protein nor chromosomal DNA band was observed after ultracentrifugation. Next, we performed bind and elute experiments with an Emphaze capsule. The CVL was applied to Emphaze capsule after adding 50mM HEPES (pH 7.4) and 100mM NaCl for binding, followed by elution with PBS with 50mM HEPES (pH 7.4) and 100, 140, 180, 220, 260, and 300mM NaCl (5ml each). There was no virus elution up to 180mM NaCl solution (conductivity 31.3 mS/cm). Addition of 200mM NaCl (35.1mS/cm) showed large quantity elution of the virus, and it was followed by smaller quantity elution with at 260 and 300mM NaCl.

These results show that CVL cleanup without centrifugation and removal of large chromosomal DNA was possible with Harvest RC. The polishing processes with Emphaze enabled concentrating the virus, and this step seemed to provide sufficient clarification to replace the ultracentrifugation. Further optimization of the process and devise may permit total elimination of ultracentrifugation steps from adenovirus purification process. Considering the compatibility of the devices for in-line system as well as unparalleled scalability (up to 2000L tank with CHO cells), these devices may revolutionize the large clinical batch adenovirus purification processes.

大規模製造に向けたゾーナル超遠心による短時間高精度組換えアデノ随伴ウイルスベクター精製法の開発

和田 美加子、恒川 雄二、菅生 健、平井 幸彦、Guillermo Posadas-Herrera、喜納（早下） 裕美、岡田 尚巳

東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野

背景：組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）は臨床応用が進んでいるが、大量投与に伴う有害事象が報告された。そのため、中間体や中空粒子、宿主細胞由来タンパク質等が少ない、高純度の完全体を精製する必要がある。最近rAAVの精製は従来法の細胞抽出物から、培養上清由来へと移行しており、大規模な方法が求められる。塩化セシウム（CsCl）密度勾配超遠心法は、完全体分離に有効であるが、大規模製造には課題があり2日間の遠心によるrAAV感染力低下も著しい。そこで、大容量のサンプルを処理可能なゾーナルローターを用いて、独自のプロトコルにてrAAV完全体の分離を試みた。

方法：2種類の密度のCsCl溶液とrAAVを含む最大900mLの培養上清を超遠心し、分画を回収した。各分画において、ゲノムコピー、カプシド量、感染力価を評価した。精度は、分析用超遠心機（AUC）と透過型電子顕微鏡（TEM）、キャピラリー電気泳動（CE）を用いて解析し、パッケージングされたゲノム領域の解析を、ベクタープラスミドの全領域を標的としたプライマーとプローブを用いたdroplet digital PCR（ddPCR）により行った。

結果：4時間の超遠心で、完全体と中空粒子の分画がほぼ完全に分離できたことをAUCとTEM、CEにより確認した。興味深いことに、ddPCRの解析から、中空粒子分画のrAAVに多コピーのITR断片がパッケージングされていたことが示された。この精製法を用いた当研究所内におけるアカデミアGMP製造に向け、精製ラインのインライン化や、ローターの洗浄バリデーション、超遠心機用のキャビネット設計、AAV不活化条件の検討等を行っている。

結論：ゾーナルローターを用いた新規CsCl密度勾配超遠心法は高規格で大量の完全体rAAVを短時間で分離可能で、安全かつ有効性の高い治療ベクターの製造が期待される。

高品質な AAV ベクターの製造

福原 充子^{1,2}、津中 康夫²、松下 青葉²、山口 祐希²、渋谷 理紗²、丸野 孝浩^{1,2}、尾中 萌¹、板東 香林²、内山 進^{1,2}

¹ 株式会社ユー・メディコ

² 大阪大学

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターには、完全な構造を持つ粒子以外に DNA を含まない中空粒子、凝集体、不純物などが含まれることが知られている。投与される患者に対する安全性、標的遺伝子の機能発現、再現性の確保などの観点から、AAV ベクターの純度および不純物の分析が不可欠である。我々は、小スケール～中スケールで AAV ベクターを製造し、空粒子と完全粒子との割合、製造工程由来不純物、凝集体、キャプシド同一性について評価を行った。また、同一の工程によって精製された複数のサンプル間での上記特性のバラツキを評価した。一連の研究により、中スケール以下での高品質な AAV ベクターの製造方法および品質分析方法を確立した。

Identification of Genomic Instability Markers in Hematopoietic Stem Cells of *Blm^{tm3Brd/tm3Brd}* Mice for Pre-clinical Trial of Lentiviral Gene Therapy to Prevent Hematological Malignancies in Bloom Syndrome Patients

Kazuhiro Noguchi, Yasuhiro Ikawa, Mika Takenaka, Yuta Sakai, Toshihiro Fujiki, Taizo Wada

Department of Pediatrics, Kanazawa University Hospital, Kanazawa, Japan

Introduction:

Bloom syndrome (BS) is a monogenic disease caused by the *BLM* gene mutation, manifesting genomic instability, cancer predisposition, and a high rate of sister chromatid exchange (SCE). The most frequent cause of death is malignancies; hematological malignancies account for 34%. Hematological malignancies often result in a poor prognosis since patients with BS are intolerant to cytotoxic chemotherapy or radiotherapy. To address these issues, we aim to establish a preclinical trial of lentiviral gene transfer to hematopoietic stem cells (HSCs) in order to prevent the development of hematological malignancies. Although various mouse models with *Blm*-mutant alleles do not survive to term, *Blm^{tm3Brd/tm3Brd}* (*Blm^{m3/m3}*) mice are viable and fertile mouse models showing cancer predisposition. Therefore, *Blm^{m3/m3}* mice are suitable for preclinical trials. However, the marker measuring HSCs genomic instability of *Blm^{m3/m3}* mice, such as mitomycin C (MMC) hypersensitivity and SCE elevation, remains unclear. In this study, we identified the specific markers measuring genomic instability which can potentially measure gene therapy effects.

Methods:

1. MMC sensitivity assay:

Lentiviral vectors (LV) encoding the *Blm* gene with green fluorescent protein (GFP) were pseudotyped using the vesicular stomatitis virus (VSV-G) envelope (VSV-G-BLM-GFP-LV). Harvested HSCs from *Blm^{m3/m3}* mice and wild-type C57BL/6 mice were prestimulated. And then, non-transduced HSCs of wild-type, non-transduced HSCs of *Blm^{m3/m3}*, and transduced HSCs of *Blm^{m3/m3}* by VSV-G-BLM-GFP-LV were cultured for 48 hours. Each treated HSC of wild-type and *Blm^{m3/m3}* mice was cultured in MethoCult M3534 medium containing increasing concentrations of MMC (0-0.5 nM). After 14 days of culturing, the number of colonies was counted.

2. SCE analysis:

HSCs collected from *Blm^{m3/m3}* and wild-type mice were incubated with bromodeoxyuridine (BrdU) during two cell cycles. After metaphase arrest by demcolcine, we made metaphase spread and counted the number of SCEs in 20 HSCs.

Results:

1. MMC sensitivity assay:

Blm^{m3/m3} HSCs did not show higher sensitivity to MMC than wild-type HSCs. VSV-G-BLM-GFP-LV transduction did not improve the sensitivity of MMC in *Blm^{m3/m3}* HSCs.

2. SCE analysis:

The number of SCEs in *Blm^{m3/m3}* HSCs was approximately two-fold higher than in wild-type HSCs.

Discussion:

These results suggest that evaluating SCEs is a valid marker of genomic instability in HSCs of *Blm^{m3/m3}* mice. It is important to note that one possible reason for the lack of sensitivity to MMC in *Blm^{m3/m3}* HSCs is the fact that the *Blm* mutant protein in these mice retains 25% wild-type *Blm* activity. In previous reports, heterozygous and homozygous mutations of the *Blm* gene showed a 1.4-fold and 14-fold elevated SCE frequency compared with the control, respectively. Therefore, a two-fold high SCE frequency in *Blm^{m3/m3}* HSCs retaining 25% *Blm* activity may be compatible with previous results. In conclusion, evaluating SCEs is a valid marker of genomic instability in HSCs of *Blm^{m3/m3}* mice.

改変型 NEU1 及びヒト CTSA 遺伝子同時搭載 AAVPHP.eB を用いた NEU1 欠損症に対する遺伝子治療

福池 凜^{1,2}、月本 準¹、堀井 雄登¹、竹内 美絵³、加守 虹穂³、三好 瑞希¹、篠原 康雄^{1,2}、伊藤 孝司^{1,4}

¹ 徳島大学大学院薬学研究科

² 先端酵素学研究所

³ 徳島大学薬学部

⁴ 自治医科大学医学部小児学科

【目的】 シアリドーシス (SiD) とガラクトシアリドーシス (GS) は、それぞれリソソーム酵素ノイラミニダーゼ 1 (NEU1) 遺伝子とその活性化因子カテプシン A (CTSA) 遺伝子の潜性変異により、NEU1 活性が低下し、その基質であるシアリル糖質の過剰蓄積及び、両疾患で共通するミオクロヌス等の中枢神経症状や肝脾腫等の全身症状を伴う常染色体潜性遺伝病である。両疾患に対する根本治療法は存在しない。演者は、脳室内投与時に中枢神経系への広範な遺伝子導入が可能である AAVPHP.eB に着目した。本研究では、改変型 (mod) NEU1 と CTSA 遺伝子を二重搭載した AAVPHP.eB-*modNEU1/CTSA* (AAV-*N.C*) ベクター及び AAVPHP.eB-CTSA (AAV-*C*) を作製後、両ベクターを GS モデルマウスに脳室内単回投与し、脳脊髄液内に投与した際の脳内分布及びその治療効果の解析を目的とした。

【方法】 7 週齢 GS マウスに AAV-*N.C* 及び AAV-*C* を 1.0×10^{13} vg/kg body weight (BW)、 3.0×10^{13} vg/kg BW で脳室内単回投与し、毎週、ミオクロヌス測定とオープンフィールド試験を行った。投与 3 週後に解剖・大脳抽出液を調製後、人工基質 4-MU-NANA 分解 Neu 活性と Z-Phe-Leu 分解 Ctsa 活性を測定した。また、レゾルシノール法により蓄積シアリル糖質量を測定した。さらに Anti-CD68、MAM レクチンを用いた免疫染色を行った。

【結果・考察】 AAV-*N.C* を投与したマウスの大脳 NEU 活性は、用量依存的に回復していた。また、その回復率は AAV-*C* より高かった。Neu1 基質のシアリル糖質量は野生型レベルまで低下した。さらに、GS マウスで起こる脳内神経炎症反応は用量依存的に抑制された。行動試験において、しゃっくり様けいれん発作 (ミオクロニー発作) の改善、オープンフィールド試験での活動性 (行動距離・時間) の低下が抑制された。以上の結果から、AAV-*N.C* の脳室内単回投与による治療は AAV-*C* に比べ、より効率的な欠損酵素活性の回復、広範な中枢神経領域の治療が可能だと考えられる。

中枢神経移行型酵素発現 AAV によるライソゾーム病中枢神経症状に対する遺伝子治療

松島 小貴¹、飯塚 佐代子¹、木下 正文²、高木 春奈²、飯塚 俊輔²、大月 孝太²、今給黎 厚志²、樋口 孝¹、
嶋田 洋太¹、藺田 啓之²、大橋 十也³、小林 博司¹

¹ 東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター 遺伝子治療研究部

² JCR ファーマ株式会社

³ 東京慈恵会医科大学 医学部看護学科 健康科学疾病治療

【背景】

ライソゾーム病の一つである GM1 ガングリオシドーシスは、 β ガラクトシダーゼ (β gal) をコードする GLB1 の遺伝子変異によりその基質である GM1 ガングリオシド (GM1) が主に神経細胞に蓄積し中枢神経症状を呈する。現在有効な治療法はなく、乳児型では発症から数年で死亡する。

中枢神経の治療において血液脳関門 (BBB) の障壁は大きな課題であった。近年 BBB 透過性を高めるべく、トランスフェリン受容体 (TfR) を利用した輸送方法が検討されており、抗 TfR 抗体を酵素と融合した酵素製剤はすでに他のライソゾーム病治療薬として承認されている。そこで我々は AAV により抗 TfR 抗体融合 β gal を供給することで GM1 ガングリオシドーシスの中枢神経症状に対する遺伝子治療の検討を行なった。

【方法】

肝臓特異的プロモーターから TfR- β gal または β gal 単独を発現する AAV9 を作成し、10 週齢の GM1 マウスへ静脈投与した。投与後経時的に血中酵素活性を測定し、治療後 23 週で各種臓器を採取後、酵素活性、蓄積基質 GM1 の定量と行動試験および生存率による治療評価を行った。

【結果・考察】

5E+12 vg/kg の AAV 投与後 6 週の血中 β gal 活性は正常マウスよりも約 7 倍高く、投与後 23 週でも活性が維持されており、末梢臓器において正常を上回る β gal 活性が検出された。一方中枢神経においては TfR- β gal 投与群のみ酵素活性の上昇を認め、蓄積 GM1 量は健常なマウスと同等に低下していた。病理解析においても脳の各部位における GM1 量の正常化を確認した。また、各種行動実験および生存率においても TfR- β gal 投与群の治療効果が認められた。以上より、TfR 融合 β gal を発現する AAV を用いた遺伝子治療は、GM1 ガングリオシドーシスの中枢神経症状に対して有用な治療となり得ると考えられる。

X連鎖高IgM症候群のCD40L遺伝子変異に対するゲノム編集技術を用いたT細胞標的遺伝子修復治療法の開発

三浦 茜¹、内山 徹¹、安田 徹¹、枝澤 佳織¹、石川 百合子²、山田 全毅²、中林 一彦³、安藤 由希子¹、今留 謙一²、小野寺 雅史¹

¹ 国立成育医療研究センター成育遺伝研究部

² 国立成育医療研究センター高度先進医療研究室

³ 国立成育医療研究センター周産期病態研究部

背景：X連鎖高IgM症候群(XHIM)は、活性化T細胞の表面に発現するCD40L遺伝子異常により発症する原発性免疫不全症である。B細胞のクラススイッチ異常やT細胞の機能不全を引き起こすことで、重症感染症を呈する疾患である。根本治療は造血幹細胞移植であるが、ドナーが不在の患者や感染による臓器障害を呈する患者に対しては、新たな治療法の開発が求められている。本研究では、CRISPR/Cas9を用いたゲノム編集技術を用いて、変異遺伝子の直接修復を行い、CD40Lの厳密な生理的遺伝子発現を可能にするより安全な遺伝子治療の開発を試みた。

材料と方法：CD40L遺伝子変異に対応したガイドRNA(gRNA)と一本鎖DNA(ssODN)を設計した。XHIM患者及び*Cd40lg*^{-/-}マウスの活性化T細胞に対して、Cas9タンパク質gRNA複合体とドナーssODNを、MaxCyte ATxを使用して遺伝子導入を行い、*CD40L*遺伝子変異に対するゲノム編集を行った。

結果：①XHIM患者の活性化T細胞に対するゲノム編集により、84%のCD40L発現回復を確認した。②ゲノム編集を行った患者活性化T細胞とNaiveB細胞の共培養によりIgGとIgAの産生量が上昇し、クラススイッチ誘導の機能回復が認められた。③ゲノム編集を行ったT細胞を移植した*Cd40lg*^{-/-}マウスにおいて、MHV68ウイルス感染すると、ウイルス特異的IgGの産生能回復が認められた。

結論：本研究では、XHIMのCD40L遺伝子変異に対して、高効率の遺伝子修復法が確立できた。本研究のウイルスを用いないゲノム編集方法は、従来のウイルスベクターを用いる方法に比べると非常に安価であり、臨床応用時に扱いが簡便である。ゲノム編集T細胞においてCD40Lの機能回復が認められたため、XHIM患者に対するT細胞標的遺伝子修復治療の有効性が実証できた。

Development of PSMA-targeted Oncolytic Adenovirus for Treatment of Prostate Cancer

Mizuho Sato-Dahlman, Praveen Hajeri, Kari Jacobsen, Chikako Yanagiba, Masato Yamamoto

University of Minnesota

Prostate specific membrane antigen (PSMA) is highly expressed in poorly differentiated, metastatic, and castration-resistant prostate cancer. It is therefore reasonable to develop a PSMA-targeting therapy for prostate cancer treatment. Oncolytic adenovirus (OAd) is a promising candidate of cancer therapeutics, but many cancer cells are resistant to wild-type OAd infection due to the low expression of adenovirus primary receptor (coxsackie-adenovirus receptor, CAR). In addition, CAR binding of the OAd causes a variety of issues such as toxicity in and sequestration by CAR-positive organs. Vector retargeting is therefore necessary for Ad-based therapy.

Here, we have isolated the PSMA-targeted OAd by *in vivo* screening with our Ad-based library, and tested the therapeutic efficacy of the PSMA-targeted OAd. PSMA-targeted OAd (PSMA-OAd) showed strong binding to PSMA-positive cells (HEK293-PSMA and CWR22R (PSMA (+) human prostate cancer cell line)), not to PSMA-negative cells (parental HEK293 and PC3 (PSMA (-) prostate cancer cell line)). In addition, the anti-PSMA antibody inhibited the binding of the PSMA-OAd, and also RNAi-based PSMA knockdown cells showed weak viral binding compared to a parental cells. For the oncolytic activity, the PSMA-OAd showed strong oncolysis selectively in PSMA-positive cells. For the *in vivo* function, we assessed *in vivo* viral distribution after intravenous injection (i.v.). We measured the virus copy number in major organs after i.v. injection. The PSMA-OAd showed reduced liver and lung targeting compared to untargeted OAd (Ad5-WT). Next, we tested the anti-tumor efficacy of PSMA-OAd with i.v. injection. Only the PSMA-OAd showed significant antitumor effect compared to the untreated group, while the growth of Ad5-WT virus injected group was same as untreated group.

In this study, PSMA-OAd exhibited selective infectivity and oncolysis to PSMA-positive cells, and also systemically injected PSMA-OAd showed remarkable anti-tumor effect. Our results suggest that the PSMA-OAd can embody efficient systemic treatment for metastatic prostate cancer.

TBI-2001 製造用レトロウイルスベクターの品質試験における凝集体分析及び gag/pol DNA 断片残留試験

松下 直樹¹、田中 真哉¹、西江 敏和¹、小山 信人¹、丸野 孝浩²、野田 勝紀²、栗之丸 隆章²、内山 進²、田中 舞紀¹

¹ タカラバイオ株式会社

² 株式会社ユー・メディコ

TBI-2001 (CD19・JAK/STAT・CAR 遺伝子治療薬) は、次世代型 CAR 遺伝子治療技術を用いた遺伝子改変 T 細胞である。今回 TBI-2001 の製造時に使用される遺伝子組換えレトロウイルスベクターの品質試験法として凝集体分析及び gag-pol DNA 断片残留試験を立ち上げた。

バイオ医薬品では凝集体は免疫原性を引き起こす可能性が指摘されており、再生医療等製品開発においても重要な評価対象であると考えられている。今回はレトロウイルスベクター溶液中における凝集体の定量を目的としてフローイメージング分析 (FIA)、超遠心分析 (AUC) 及びサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) により種々の大きさの凝集体の定量を試みた。FIA ではミクロンサイズの凝集体を定量し、AUC 及び SEC では単量体と推察される分画と凝集体分画を定量的に評価することができた。

また、レトロウイルスベクター製造には、レトロウイルス由来の gag-pol 遺伝子が導入された産生細胞を用いており、ベクター液中の gag-pol DNA 断片の残留は、増殖性レトロウイルスの発生などの安全性上の問題となりうる。そのため、ベクター関連不純物としてレトロウイルスベクター液中における gag-pol DNA 断片量を測定する定量試験を開発した。gag-pol 遺伝子の gag 領域及び pol 領域で様々な増幅長産物のプライマー設計を行い、リアルタイム PCR 法で測定した。いずれの増幅長でもコピー数を測定でき、残留遺伝子断片量に増幅長による差異は見られたが、この試験法により gag-pol DNA 断片量が評価できることが示された。

今回開発を行った試験法による結果は TBI-2001 のカナダにおける臨床試験申請の際にも活用され、ベクターの安全性評価において有益な試験法であった。また、今後のレトロウイルスベクターの特性解析をする上でも有用であることが示唆された。

アデノ随伴ウイルス(AAV)の腫瘍選択性を向上させる環状ペプチドリガンド導入三元系複合体の開発

松平 望^{1,2}、本田 雄士^{1,2}、長尾 周平^{1,2}、喜納 宏昭³、三浦 裕^{1,2}、西山 伸宏^{1,2}

¹ 東京工業大学生命理工学院生命理工学系

² 東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所

³ 公益財団法人川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター

【背景・目的】アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは、長期的な遺伝子発現がみられ免疫原性が低いことなどから、遺伝子治療において最も有力なウイルスベクターの一つである。一方で、高容量の投与による肝毒性・腎毒性も報告されており臨床応用の妨げになっている。本研究では高分子技術を用いることで、肝臓・腎臓などの正常組織への集積を抑え、腫瘍などの標的組織への集積を向上させた新たなAAV送達方法の開発を行った。

【方法】当研究室ではタンパク質などの生体分子表面にタンニン酸(TA)を被覆させ、その外側にTAとボロン酸エステルを形成するフェニルボロン酸高分子(ポリマー)を被覆させたタンパク質三元系複合体を開発し、正常組織への集積抑制を達成した[Honda Y.et al. Biomacro.2020]。本研究ではこのシステムをAAVに応用するとともに、腫瘍表面に高発現する $\alpha v \beta 3 / \alpha v \beta 5$ インテグリンを標的とする環状ペプチドリガンド(cRGD)を三元系複合体表面に導入し、AAVの能動的な腫瘍集積の向上を目指した。

【結果・結論】初めにcRGD導入フェニルボロン酸高分子(cRGDポリマー)をNCA重合および側鎖・末端改変によって合成した。その後、AAV、TA、cRGDポリマーをPBS中で混合することでcRGD導入AAV三元系複合体を自己会合的に形成し、 $\alpha v \beta 3 / \alpha v \beta 5$ インテグリン高発現のヒトGBM由来U87MG細胞を用いて、RT-PCR及びルシフェラーゼアッセイにより細胞取り込み量及び遺伝子導入量の評価を行った。その結果cRGD非導入三元系複合体と比較して、cRGD導入三元系複合体では細胞取込及び遺伝子導入量が2倍以上に有意に増加し、リガンド効果を確認することに成功した。さらに、U87MG皮下移植マウスに上記のcRGD導入AAV三元系複合体を静脈投与したところ、正常組織と比較した遺伝子導入の腫瘍選択性向上も確認された。以上の結果から、このcRGD導入AAV三元系複合体がAAVの課題を克服する革新的な送達キャリアになると考えられる。

ワクチン応用に向けたヒト35型アデノウイルスベクターの改良

大西 里佳¹、池本 星南¹、塩田 葵¹、塚本 智仁¹、立花 雅史¹、櫻井 文教¹、水口 裕之^{1,2,3,4,5}¹ 大阪大学大学院薬学部² 医薬基盤・健康・栄養研究所³ 大阪大学先導的学際研究機構⁴ 大阪大学国際医工情報センター⁵ 大阪大学CiDER

【背景・目的】 新興再興感染症に対するワクチンの重要性が再認識されている中、大きな注目を集めているのがアデノウイルス(Ad)ベクターワクチンである。ヒトAdには80種以上の型が存在し、従来のAdベクターはヒト5型Adを基本骨格としている。5型Adベクターは優れた遺伝子発現効率を示す一方で、多くの成人が5型Adに対する中和抗体を保持しているため中和抗体により遺伝子導入が阻害されるという課題がある。当研究室ではこの問題を克服するため、抗体保持率の低いヒト35型Adを基盤とした新規Adベクターを開発している。そこで本研究では、35型Adベクターワクチンの更なる高機能化に向けて、E4遺伝子の改変によるベクター産生効率の改善を行った。さらには、遺伝子導入効率及びワクチン効果の向上に向けて、 αv インテグリンに親和性を有するRGD配列をファイバーノブ領域に挿入したファイバー改変35型Adベクターを作製し、検討を行った。

【方法】 35型AdベクターゲノムのE4 orf4, 6, 7領域を5型AdのE4遺伝子に置換したAdベクターを作製した。本Adベクターのベクター収量、各種ヒト培養細胞における遺伝子発現効率、マウスにおけるワクチン効果を検討した。さらに、本AdベクターのファイバーノブのHIループ領域にRGD配列を挿入したベクターを作製し、培養細胞における遺伝子発現効率、及びマウスにおけるワクチン効果を検討した。

【結果・結論】 E4遺伝子の一部を置換した35型Adベクターは、従来の5型Adベクターと同等のベクター量を回収可能であった。また各種ヒト培養細胞において、35型Adベクターは従来の5型Adベクターと同程度の高効率な遺伝子発現が可能であった。しかしマウスに筋肉内投与後、Adベクターに搭載した抗原遺伝子に対する抗体産生は非常に低かった。そこで αv インテグリンに結合するRGD配列を35型Adベクターのファイバー領域に挿入したところ、抗体産生能が有意に上昇した。

synNotch技術を用いた組換えアデノウイルスベクターは膀胱癌マウスモデルにおいて腫瘍増殖を抑制した

RUHAN A¹、北川 孝一¹、平田 絵里佳¹、藤澤 正人²、白川 利朗²

¹ 神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学分野

² 医学研究科腎泌尿器科学分野

[背景] [目的]: 本研究では筋層浸潤性膀胱癌の癌幹細胞を標的とした *in vivo* 遺伝子治療薬の開発を目的として、synNotch 技術を用いて CD44 細胞外領域、Notch、HIF-3 α 4 をコードする遺伝子を連結させた融合遺伝子 (CD44-SynNotch-HIF-3 α 4) を組込んだ非増殖型 5 型アデノウイルス (Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4) のマウスにおける膀胱癌治療効果を検討した。本ベクターは癌幹細胞の内在性 CD44 シグナル伝達経路及び低酸素応答を同時に阻害し、癌幹細胞の増殖シグナルを抑制する機能がある。

[方法] [結果]: *in vitro* における Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4 のヒト筋層浸潤性膀胱癌細胞株 T24 への遺伝子導入の結果、低酸素条件下 (2% O₂) で *Bcl-xL* と *Cyclin-G2* の発現を非導入処理と比較して有意に低下させた ($p < 0.01$)。 *in vitro* において、50 multiplicities of infection の Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4 または陰性コントロールの Ad-LacZ を感染させ、正常酸素又は低酸素条件下 (2% O₂) で 2 日間培養した結果、非導入処理および Ad-LacZ 群と比較して、両酸素条件下で T24 の増殖をそれぞれ 60% 及び 50% 阻害した ($p < 0.01$)。 *in vivo* において、 1×10^6 個の T24 を BALB/c nu/nu マウスに皮下接種し、腫瘍形成後に 1×10^9 infectious units の Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4、Ad-LacZ または PBS を 8 回腫瘍内投与した。その結果、投与から 18 日目に Ad-LacZ 群 PBS 群と比較して腫瘍増殖を有意に抑制した (PBS: 164.2 ± 122.7 mm³、Ad-LacZ: 248.0 ± 103.3 mm³、Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4: 77.7 ± 49.8 mm³) ($p < 0.01$)。

[結論]: Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4 は、低酸素条件下で筋層浸潤性ヒト膀胱癌細胞株 T24 の低酸素応答の一つである HIF-1 α 、*in vitro* および *in vivo* ともに腫瘍増殖を有意に抑制した。これらの結果は、Ad-CD44-SynNotch-HIF-3 α 4 が膀胱癌の癌幹細胞の増殖シグナルを阻害することが示唆された。

ラッソグラフト法による受容体指向性AAVの創製：個体レベルでの評価、血液脳関門透過の実現、そして受容体探索法の開発

渡邊 哲史¹、佐藤 健¹、佐野 結実¹、三原 恵美子¹、菅 裕明²、高木 淳一¹

¹ 大阪大学蛋白質研究所分子創製学

² 東京大学大学院理学系研究科生物有機化学研究室

アデノ随伴ウイルス (AAV) は、その広範囲な臓器・細胞指向性から遺伝子治療ベクターとして近年注目を集めている。一方で、その性質のために、標的臓器での十分な遺伝子発現が得られないことや、標的外の臓器 (主に肝臓) における集積が深刻な副作用をもたらすことが知られている。組換え AAV 同様、天然の AAV 自体も病原性は非常に低い但不顕性感染後の中和抗体獲得により治療効果が見込めない場合も少なくない。従って、感染指向性や抗原性に密接に関わるキャプシド蛋白質の改変が次世代 AAV ベクター開発の鍵となる。我々の先行研究で、特定の蛋白質に高い親和性を持つ環状ペプチドの配列を利用し、任意の蛋白質に新たな結合親和性を付与する技術 LassoGraft Technology (LG 法) を開発した。そしてキャプシド蛋白質に LG 法を適用し、標的膜蛋白質に依存した感染指向性を持つ AAV (LG-AAV) の創製に培養細胞レベルで成功している。本研究では、マウスでの静脈投与を実施し、LG-AAV の個体レベルでの有効性を明らかにした。また、脳血管内皮に高発現する膜蛋白質 LY6C1 の結合ペプチドを新規に取得し、その LG-AAV を静脈投与したところ、神経細胞での発現が確認され、血液脳関門透過 AAV の創製に成功した。一方、本手法の応用範囲を広げるためには適切な標的受容体を探索する必要がある。そこで IgG 結合性ペプチドを活用した抗体担持 AAV を作製し、担持抗体の特異性に依存した感染を *in vitro* と *in vivo* で評価する系を確立した。この方法によれば市販品を含め全ての IgG 抗体を plug-and-play で指向性評価に利用できるため、受容体探索を加速するシステムとなる。一連の結果から、標的としたい受容体探索からキャプシド改変・指向性評価までの迅速キャプシド開発フロー確立の道筋が見えてきた。

Retronectin[®]/OKT3刺激法を用いて2日間で製造したCAR-T細胞は高い細胞傷害活性および細胞増殖能を示す

植村 久美子、天石 泰典、工藤 庸子、西江 敏和、岡本 幸子、榎 竜嗣、峰野 純一

タカラバイオ株式会社

キメラ抗原受容体 (CAR) T細胞療法は血液腫瘍に対して高い有効性が示されている一方で、固形腫瘍に対する有効性は限定的である。CAR-T細胞は通常T細胞を体外で7-14日程培養して製造される。その長い細胞製造期間により採血から投与まで長期間かかることや、製造コストも課題となっている。またT細胞は体外での培養期間が進むにつれて分化、疲弊することが知られており、T細胞の分化と疲弊はCAR-T細胞療法の治療効果を低減させる。

我々はこれまでにRetronectin[®]/OKT3 (抗CD3抗体) 共刺激により誘導されたT細胞が未分化な細胞集団を多く含むことを報告しており、本刺激法を用いることで、未分化な細胞を多く含むCAR-T細胞を製造することが可能である。

本検討ではレンチウイルスベクターを用いて、固形腫瘍抗原を認識するCAR-T細胞を培養期間2日と9日で製造し、それら細胞の性能を比較した。その結果、培養期間2日のCAR-T細胞が、抗原発現細胞に対する傷害活性が高く、さらに抗原刺激後の細胞増殖能が高く、細胞の疲弊度は低いことを確認した。さらに初期刺激方法の比較を培養期間2日で行ったところ、Retronectin[®]/OKT3刺激法の方が抗CD3/CD28ビーズ刺激法より高い細胞傷害活性が認められ、さらにより少ない細胞数で同等の細胞傷害活性を示した。

以上のことからRetronectin[®]/OKT3刺激法を用いた培養期間2日のCAR-T細胞製造法にて、従来の製造法よりも性能の高いCAR-T細胞が調製可能となった。この製造法を用いることにより従来よりも投与細胞数を減らすことが可能であり、かつ生体内での生存性の向上、またそれによる高い抗腫瘍効果が期待される。

Combination therapy of chimeric antigen receptor T cell therapy and an HSV-1-based oncolytic virus expressing the tumor antigen for the CAR T cells

Mona Alhussein Aboalela^{1,2,3}, Mohamed Abdelmoneim^{1,2}, Yoshinori Naoe¹, Patricia SIBAL^{1,2}, Shigeru Matsumura¹, Hideki Kasuya¹

¹ Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan

² Department of Surgery II, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan

³ Medical Microbiology and Immunology Department, Faculty of Medicine, Zagazig University, Zagazig, Egypt

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is resistant to traditional anticancer treatment modalities; therefore, developing new therapeutic strategies with a robust antitumor effect is required. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy is one of the targeted immunotherapies approved by the food and drug administration (FDA) for treating patients with B-cell malignancies. However, CAR T cell therapy showed limitations in solid tumors due to heterogeneous surface antigen expression patterns with partial or complete loss of the target antigen. Furthermore, solid tumors, especially PDACs, have an immunosuppressive tumor microenvironment with a low penetration rate of T cells due to dense stroma. To overcome these limitations, we planned to use oncolytic viruses (OVs), which deliver target antigens to tumor cells' surfaces and simultaneously stimulate the antitumor immune responses. Here we engineered an attenuated oncolytic herpes simplex virus-1 (HSV-1) by deletion of the neurovirulence viral gene ICP 34.5 and replacing it by insertion of human mesothelin (hMSLN) gene (HSV-hMSLN). The HSV-hMSLN virus has a cytotoxic effect on pancreatic tumor cells *in vitro* in a dose- and time-dependent manner. In addition, the virus can effectively induce hMSLN expression on the surface of tumor cells in a dose-dependent manner. The hMSLN-targeted CAR T (hMSLN-CAR T) cells are activated with high IFN γ production when co-cultured with HSV-hMSLN infected tumor cells in an MOI-dependent manner. Moreover, the virus showed an antitumor effect with safety *in vivo*. Lastly, the combination of HSV-hMSLN and hMSLN-CAR T cells enhances the antitumor activity in the subcutaneous pancreatic tumor model. Our findings may reveal a potential therapy that allows the combination of OVs and CAR-T to improve CAR-T cell antitumor responses in solid tumors.

ゲノム編集iPS細胞を用いた悪性脳腫瘍・再生医療に対する遺伝子幹細胞療法の展望

田村 亮太¹、楊 正博²、今井 亮太郎³、佐藤 瑞仁⁴、岡野 栄之²、戸田 正博¹

¹ 慶應義塾大学医学部 脳神経外科

² 慶應義塾大学医学部 生理学

³ 東京都済生会中央病院 脳神経外科

⁴ 静岡市立清水病院

自殺遺伝子は、プロドラッグを代謝して殺腫瘍物質に変換させる酵素をコードする遺伝子で、広範な細胞死を誘導させることが可能である (bystander 効果)。我々は、これまで細胞 vehicle としての神経幹細胞 (NSC) 及び間葉系幹細胞の脳内遊走能を比較した上で、iPS 細胞由来 NSC を悪性神経膠腫 (グリオーマ) に対する治療遺伝子 (自殺遺伝子 γ CD-UPRT) の細胞 vehicle として用いる新たな治療法を研究してきた。iPS 細胞における自殺遺伝子の恒常的安定発現を、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 により ACTB 遺伝子座に挿入することで達成し、有効な抗腫瘍効果を生み出す治療用 NSC を作製することに成功した。その結果、プロドラッグ (5-FC) を投与することで、グリオーマ幹細胞株を用いたマウスモデルに対して顕著な治療成績を示した。

さらに、自殺遺伝子を導入した治療用 NSC は、5-FC の投与により自らも死滅するため、iPS 細胞を用いた再生医療において、造腫瘍性の問題を解消する安全装置としても利用できる。実際に、我々の脳挫傷モデルマウスを用いた検討で、治療用 NSC は脳挫傷部位に遊走し、有意な運動機能改善効果を示した。Evans blue により可視化された脳血液関門破壊部位は、治療用 NSC 移植群では明らかに縮小しており、さらに慢性期脳室拡大が有意に改善していた。神経栄養因子により二次脳損傷を抑制する効果が示唆された。また 5-FC を投与することで、脳機能を損傷することなく、造腫瘍性の根源となりうる未分化残存細胞を選択的に除去することに成功した。

本研究開発は iPS 細胞を悪性腫瘍のみならず、脳梗塞、脳挫傷等の様々な疾患に遺伝子幹細胞治療に応用するための 1st clinical trial model となるプロジェクトと考えており、臨床応用を目指している。

piggyBac 法による新規リガンド型 IGF1R CART の開発

三島 修治¹、平林 耕一²、丸山 悠太²、田中 美幸^{2,3}、柳生 茂希^{2,3}、中沢 洋三^{2,3}、清水 公裕¹

¹ 信州大学医学部 外科学教室呼吸器外科学分野

² 信州大学医学部 小児医学教室

³ 信州大学遺伝子・細胞治療開発センター

【背景】 IGF1R は様々な腫瘍で過剰発現しており、癌治療の標的として有望である。我々はリガンド型 IGF1R CART の開発に取り組んでおり、in vitro 抗腫瘍効果を昨年の学術総会で報告した。今回は続報として in vivo 試験の結果と、そこで明らかとなった問題点と克服法について報告する。

【方法】 <Pre IGF1R CART による in vivo 試験> NGS マウスに THP-1 を尾静脈投与し、7 日後に piggyBac 法で作製した CD19 CART、Pre IGF1R CART をそれぞれ尾静脈投与した。抗腫瘍効果は weekly imaging による bioluminescence で評価した。また、Day28 におけるマウス血中のヒトリンパ球の割合を評価した。<改変型 Pre IGF1R CART による in vitro 試験> THP-1 に対し、改変型 Pre IGF1R CART、Pre IGF1R CART または活性化 T 細胞をそれぞれ Effector/Target (E/T 比) 1~0.0625 で共培養をおこなった。また、A549 に対して E:T 比 1~0.25 で共培養をおこなった。抗腫瘍効果は、共培養 4 日目に flow cytometry を用いて評価した。また、共培養開始後 24 時間時点で培養上清を採取し、サイトカイン (IFN- γ と IL-2) 濃度を ELISA 法で測定した。<IGF1R 刺激試験> IGFBP3 添加の有無で、IGF1R 刺激による CART のサイトカイン分泌量に与える影響を ELISA 法で評価した。

【結果】 Pre IGF1R CART は in vivo 抗腫瘍効果を示すことができず、マウス血中にもごく少量しか見られなかった。原因として、IGFBP3 が Pre IGF1R CART に結合し、抗腫瘍効果が抑制させていると推察した。次に、IGFBP3 に対する結合力を低下させた改変型 Pre IGF1R CART を作製した。この改変型 IGF1R CART は THP-1、A549 に対し従来型よりも有意に高い in vitro 抗腫瘍効果を示した。IGF1R 刺激試験では、従来型は IGFBP3 存在下でサイトカイン分泌がみられなくなったが、改変型は IGF1R への反応が維持されていた。

【結語】 改変型 Pre IGF1R CART は IGFBP3 への反応が低下したことで、抗腫瘍効果が高まる可能性が示唆された。現在、in vivo 抗腫瘍効果を検証中である。

Ligand-based, piggyBac-engineered CAR-T cells targeting EGFR are safe and effective against non-small cell lung cancers

Thanyavi Chinsuwan^{1,2}, Koichi Hirabayashi², Shuji Mishima³, Aiko Hasegawa², Miyuki Tanaka^{2,4}, Hidemi Mochizuki^{4,5}, Akihito Shimoi^{4,5}, Takashi Murakami⁶, Shigeki Yagyū^{2,4}, Kimihiro Shimizu³, Yozo Nakazawa^{2,4,7}

¹ Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

² Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Nagano, Japan

³ Division of General Thoracic Surgery, Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Nagano, Japan

⁴ Center for Advanced Research of Gene and Cell Therapy, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Nagano, Japan

⁵ Ina Research Inc., Ina, Nagano, Japan

⁶ Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Saitama Medical University, Iruma, Saitama, Japan

⁷ Institute for Biomedical Sciences, Interdisciplinary Cluster for Cutting Edge Research, Shinshu University, Matsumoto, Nagano, Japan

Epidermal growth factor receptor (EGFR) is overexpressed in various cancers, including non-small cell lung cancer (NSCLC), and in some somatic cells but at a limited level, rendering it an attractive antitumor target. In this study, we engineered chimeric antigen receptor (CAR)-T cells using piggyBac transposon, autologous antigen-presenting cells, and natural ligands of EGFR. We showed that this approach yielded CAR-T cells with favorable phenotypes and CAR positivity. They exhibited potent antitumor activity against NSCLC both *in vitro* and *in vivo*. When administered to tumor-bearing mice and non-tumor-bearing cynomolgus macaques, they did not elicit toxicity despite their cross-reactivity to both murine and simian EGFRs. In total, we tested three ligands and we found that the CAR candidate with the highest affinity consistently displayed greater potency without adverse events. Taken together, our results demonstrate the feasibility and safety of targeting EGFR-expressing NSCLCs using ligand-based, piggyBac-engineered CAR-T cells. Our data also show that lowering the affinity of CAR molecules is not always beneficial.

デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する羊膜由来間葉系細胞の新たな治療標的

笠原 優子¹、中山 宗哉²、木村 公一³、山口 翔²、垣内 祐子¹、仁藤 智香子⁴、林 真広²、中石 智之²、上田 恭義²、岡田 尚巳¹

¹ 東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学

² 株式会社カネカ 再生・細胞医療研究所

³ 東京大学 医科学研究所 附属病院 検査部/循環器内科

⁴ 日本医科大学 共同研究施設 臨床系研究室

【背景・目的】 重篤な筋疾患であるデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、ジストロフィン欠損に加え慢性炎症により病態進行が促される。ステロイド療法による副作用の観点から、安全性が高く効果的な抗炎症療法の開発が望まれるため、我々はこれまでに、骨髄や歯髄、羊膜に由来する間葉系細胞(MSCs)を用いたDMDモデル動物における有効性を報告してきた。一方、従来のDMDマーカーは病態重症度や治療効果の指標としては十分ではないため、炎症状態や筋萎縮を反映するマーカー候補物質を探索し、治療有効性の新規評価項目の検討を行った。

【方法】 DMDモデル*mdx*マウスの血漿および下腿骨格筋を用いて、アレイやマルチプレックスによるサイトカイン・ケモカイン発現、LC-TOFMASによるメタボローム解析を実施した。若幼期より羊膜MSCs(ASMCs)の静脈内反復投与を行ったマウスについて、運動機能や心機能、病理解析を行い、サイトカイン発現や代謝産物の変動パターンと照合した治療効果を検証した。

【結果】 ASMCs投与*mdx*マウスは、下肢骨格筋組織内における一定期間の集積や炎症病変の緩和、握力や行動量など運動機能、心機能の維持効果を認めた。また、投与マウスは血中マーカーCK値が一過性に低下し、骨格筋におけるIL-6値の減少などマイオカインの発現変動、炎症細胞浸潤の限局、M2マクロファージの集積増加などASMCsによる炎症抑制効果を示した。さらに、網羅的メタボローム探索により疾患特異的に変動する代謝経路において、病態の重症度に伴って変動する可能性が高い因子群を抽出し、これらの中で、ASMCs投与マウスで改善傾向を示す因子を見出した。

【結論】 幼若期よりASMCsの全身反復投与を行ったDMDマウスにおいて、病態進行の遅延および有効性が示唆された。また、ASMCsによるDMD特異的な代謝異常の改善傾向を示したことから、新たな治療評価項目として注目されると共にASMCs治療標的の解明が期待できる。

アデノ随伴ウイルスベクターにおけるカプシドタンパク質の化学量論比改善および粒子均一化 Enhancement of recombinant adeno-associated virus activity by improved stoichiometry and homogeneity of capsid protein assembly

大西 一幸¹、野中 三千花¹、丸野 孝浩²、山口 祐希¹、福原 充子²、鳥巢 哲生¹、山野-足立 範子¹、大政 健史¹、内山 進¹

¹ 大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻

² 株式会社ユー・メディコ

近年、アデノ随伴ウイルス (rAAV) ベクターは、*in vivo* 遺伝子治療において注目されている。実際、rAAVを用いた治療薬は、すでに数種類がヒトの遺伝子治療薬として承認されている。rAAVベクターのカプシドは一般に、3種類のウイルスタンパク質 (VP)、VP1、VP2、VP3が1:1:10で構成されていると提唱されている。一方、我々は、rAAVのいくつかの血清型において、VP3より8アミノ酸残基短いVP3 clipの存在を報告している。VPの化学量論は遺伝子導入効率に影響し、高いVP1およびVP2化学量論比を持つrAAV粒子は高い遺伝子導入率を示す報告が多数存在する。そこで、本研究ではVP3 clipに関する知見に基づき、VP3 (M203V) およびVP3 clipの転写開始メチオニン (M211V) のrAAV2変異体を作成し、粒子へのVP3の組み込みレベルを変化させた。その結果、得られたrAAV2変異体は、野生型と同等の生産効率をもち、VP1およびVP2の組み込み量が高い粒子が得られた。さらに、フローサイトメーターを用いた*In vitro* 遺伝導入率アッセイの結果、野生型と比較して最大で24.7%高い遺伝子導入効率を示した。また、電荷検出質量分析法 (CD-MS) および塩化セシウム密度勾配分析超遠心法 (CsCl-DG-AUC) により、これらのrAAV2変異体は高い粒子均質性を有することが明らかになった。本研究により、わずか1残基の変異によって高い均質性と生物活性を持つ高機能なrAAVをデザインすることに成功した。

Recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors have been used for *in vivo* gene therapy. Practically several therapeutic products based on rAAV have already been approved for use in human gene therapy. rAAV capsid consists of three viral proteins (VP), namely, VP1, VP2, and VP3, which assemble to form the icosahedral capsid composed of 60 VPs. VP1, VP2, and VP3 are present in the rAAV capsid at a molar ratio of 1:1:10. Meanwhile we have also recently reported the existence of VP3 clip in some serotypes of rAAV, which is 8 amino acid residues shorter than VP3. Studies reported high VP1 and VP2 stoichiometry has high transduction efficacy. Based on our recent findings of VP3 clip, we created rAAV2 variants of the transcription start methionine of VP3 (M203V) and VP3 clip (M211V) to alter the level of VP3 incorporation into particles. The resultant rAAV2 variants had similar productivity and higher VP1 and VP2 incorporation compared to wild-type. Furthermore, a higher transduction efficiency than that of wild-type was attained. Meanwhile, charge detection-mass spectrometry (CD-MS) and cesium chloride-density gradient-analytical ultracentrifugation (CsCl-DG-AUC) revealed these rAAV2 variants had higher particle homogeneity. This study successfully provided highly functional rAAV with high homogeneity and potency.

Fix-bed バイオリアクターでのレンチウイルスベクター産生用新規培地の開発

小谷 朋弘、田中 洋希、中野 友美、坂本 修平、戸坂 泰弘、蝶野 英人、峰野 純一

タカラバイオ株式会社 CDMセンター第5部

ex vivo 遺伝子治療で使用されているベクターは、近年レンチウイルスベクターが多く使用されるようになってきた。一般的にレンチウイルスベクターは、ウイルス粒子のパッケージングに必要な4種類のプラスミドDNAをHEK293T細胞にco-transformationさせてウイルスベクターを産生させ、組織培養フラスコ等を用いた接着培養で生産する。我々は、スケールアップ生産の確立を目指して、Fix-bed バイオリアクター iCELLis[®] バイオリアクターでの接着系プラットフォームでのプロセス開発を行った。iCELLis[®] バイオリアクターシステムはシングルユースのFix-bed バイオリアクターであり、マクロキャリア技術により接着細胞に適した培養環境を維持することで高密度での細胞培養が可能である。

iCELLis[®] nanoのリアクター（表面積0.53m²）に293T細胞を播種して拡大培養後、ZsGreen1発現レンチウイルス用プラスミド及びパッケージングプラスミドを遺伝子導入し、DMEM/FBS培地を用いてZsGreen1発現レンチウイルスベクターを調製した。回収したレンチウイルスベクター溶液の感染力価を評価したところ、iCELLis[®] nanoでの産生量は約 1.0×10^7 IFU/mLであった。

そこで我々はさらに産生量を向上させるため、ウイルスベクター回収時の培地の開発を行った。従来のDMEM/FBS培地に種々の添加物を添加しフラスコにてウイルスベクター産生に対する効果を評価し、3つの添加物を組み合わせて培地に添加することで、産生量が2~5倍に向上することを見出した。

次にiCELLis[®] nanoにてこれらの添加物を用いてウイルスベクターを産生させたところ感染力価は約 1.7×10^7 IFU/mLであり、従来培地での結果と比較して約1.7倍の産生量を確認することができた。

今後、さらに培養条件の最適化を進めると同時に、スケールアップを検討することで、より大きな製造スケールにも適応可能な安定な製造方法を確立する予定である。

マーモセット大脳皮質における9種のAAVカプシドベクターの発現細胞種解析

松崎 泰教^{1,2}、深井 悠貴¹、今野 歩¹、平井 宏和^{1,2}

¹ 群馬大学大学院医学系研究科

² 群馬大学未来先端研究機構 ウイルスベクター開発研究センター

背景・目的

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターには多くの血清型や人工変異型があり、それぞれ感染性が異なることが判明している。しかし、非ヒト霊長類の脳内のニューロンやグリア細胞に対して網羅的に発現性を解析した研究はほとんどない。本研究では、非ヒト霊長類であるマーモセットの大脳皮質に9種類の異なるカプシドをもつAAVを投与して興奮性と抑制性ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアでの発現性を解析することを目的とした。

方法

本研究にはAAV-1、2、5、6、7、8、9、rh10、DJの9つのカプシドを使用した。それぞれユビキタスなCBh、CMVもしくはヒト由来アストロサイト特異的hGFAPプロモーターでEGFPを発現させるコンストラクトを搭載した。それぞれのAAVをコモン・マーモセットの大脳皮質に投与し、4週間後に脳スライスを作製して免疫組織染色を行った。

結果

CBhやCMVプロモーターを用いた場合、全カプシドで高効率なニューロンへの発現が観察出来た。特に興奮性ニューロンへの発現はrh10で有意に高く、抑制性ニューロンへはAAV-2で有意に高いことが判明した。オリゴデンドロサイトに対してはAAV-5で高い傾向があることが判明した一方、アストロサイトおよびミクログリアでの発現はほとんど無かった。プロモーターをhGFAPに変更したところ、全カプシドでアストロサイトへの発現が観察出来た。すなわち、アストロサイトに感染するけれどもCBhおよび、CMVプロモーターがアストロサイトで働かないことが分かった。

考察

マーモセット大脳皮質では、想定していたよりもカプシド間の感染特性に違いは観られなかった。ただし、有意に発現率が良いカプシドも判明したことから、細胞種特異的プロモーターと組み合わせることでターゲット細胞種に対して効率的な遺伝子発現が可能になると考えられる。

連続AAV高生産法のためのスケラブルなフローエレクトロポレーション法

永井 洋一¹、江戸 倫子¹、外池 遼¹、薬師寺 隆²、小林 優香²、栗原 崇喜²

¹ 富士フィルム株式会社バイオサイエンス&エンジニアリング研究所

² 富士フィルム株式会社精密プロセス技術センター

近年、rAAVに基づく治療がより一般的に適用され始め、また全身投与にも適用されるようになり、rAAVの大規模供給の必要性が増大すると予想される。細胞濃度の増加および、またはより大容量のバイオリアクターの使用による従来のPEIトリプルトランスフェクションベースrAAVの生産性向上には、PEI-プラスミド複合体と細胞の間の複雑な反応制御が難しいという問題がある。当社は、高密度 HEK293 灌流細胞培養と、非常に高い電極耐久性を備えたスケラブル フロー エレクトロポレーション デバイスを組み合わせた、PEI フリーの連続 rAAV 生産システムを開発しました。HEK293細胞は、ATF ベースの灌流システムを使用して、1Lバイオリアクター内で40Mcells/mlの濃度で培養した。細胞は、1 か月間毎日、バイオリアクター容積の 40% の割合で細胞培養液を継続的に採取しました。採取された細胞は、バイオリアクターに無菌的に接続された新しいフロー エレクトロポレーション デバイスを使用して連続的に細胞密度40Mcells/mlでエレクトロポレーションしました。エレクトロポレーション装置を1ヶ月間交換せずに使用し、電極を介して細胞懸濁液に累計10,000回以上のパルスを加した.5日目(1、8、15、22、および30日目)、エレクトロポレーションの前に細胞懸濁液を rAAV プラスミド (pGFP、pRC5、および pHelper) と継続的に混合し、トランスフェクトされた細胞を回収バイオリアクターに供給しました。各場合において、エレクトロポレーションの48時間後に平均 1×10^{12} vg/mlのrAAV力価が達成された。これらの結果は、高濃度の HEK293 細胞を1か月間連続して供給できること、フロー エレクトロポレーション デバイスで 10,000 回パルスにわたる良好な電極耐久性 (これは1か月間連続動作するのに十分である)、および1ヶ月間継続的にトランスフェクションする場合、 1×10^{16} vgのAAVを生成でき、バッチ生産法の100倍量のAAV産生を実証できた。

スナネズミ海馬における野生型AAVの細胞指向性の比較

瀬原 吉英¹、林 夢夏^{1,2}、綿野 亮太¹、大庭 賢二¹、島崎 久仁子³、川合 謙介³、水上 浩明¹

¹ 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

² 自治医科大学さいたま医療センター脳神経内科

³ 自治医科大学脳神経外科

【目的】 アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus, AAV) ベクターは病原性がなく、分裂・非分裂細胞ともに高効率の遺伝子導入が可能である。自然界にはさまざまな血清型が存在し、最外層のカプシドタンパク質のアミノ酸配列によって指向性が規定される。そのため、研究目的に即した血清型AAVの選択が必要になる。今回、3種類の異なる血清型AAVをスナネズミ海馬に投与し、海馬における指向性の詳細を検討した。**【方法】** 緑色蛍光タンパク質 (GFP) 搭載AAV2、5、rh10について、それぞれ 1.5×10^{10} viral genomeをスナネズミ (オス、4週齢) 右海馬歯状回に投与した (n = 3、各群)。1週間後に断頭し、冠状断切片を作製して免疫染色で遺伝子導入効率を比較した。**【結果】** まず神経幹細胞のマーカーとしてSox2を染色し、顆粒細胞下帯のGFP-Sox2共陽性細胞数を比較した。AAV2では共陽性細胞を認めず、AAV5でAAVrh10より多い傾向が見られた (対照群: 0.0 ± 0.0 , AAV2: 0.0 ± 0.0 , AAV5: 24.4 ± 1.6 , AAVrh10: 15.4 ± 3.5 . 対照群 vs AAV5: $p < 0.05$. 対照群 vs AAVrh10: $p < 0.001$)。次に成熟神経細胞のマーカーであるNeuNを染色し、顆粒細胞層でのGFP-NeuN共陽性細胞数を比較した。共陽性細胞はAAVrh10 > AAV5 > AAV2の順に多かった (AAV2: 6.4 ± 3.3 , AAV5: 13.6 ± 5.9 , AAVrh10: 143.4 ± 20.0 . AAV5 vs AAVrh10, 各 $p < 0.001$)。**【考察】** 海馬への直接投与においては、AAV5の方が神経幹細胞への遺伝子導入に優れ、AAVrh10の方が成熟神経細胞への遺伝子導入に優れることが明らかになった。目的に応じたAAVベクター選択が重要である。

脳指向性CereAAVの脳指向性遺伝子導入メカニズムの解析

田中 佳典、石川 淑子、田中 里奈、上田 紗百里、岡本 幸子、榎 竜嗣

タカラバイオ株式会社

アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）は、様々な疾患を対象に遺伝子治療用ベクターとして、多くの前臨床及び臨床試験が実施されている。我々はAAV2血清型を用いて、脳を標的とした新規AAVベクターの開発を試み、定向性進化によりペプチド配列を挿入した脳指向性をもつAAV2変異体としてCereAAVTMを同定し開発を進めてきた。

本研究では、CereAAVTMが静脈内投与により脳指向性を示すメカニズムを解析するために、挿入ペプチド配列のアラニンスキニングを行うことで、重要アミノ酸残基の同定を行った。CereAAVTMペプチド配列変異体バーコードライブラリーのBalb/cマウスへ尾静脈投与を行い、4週間後に各バーコードの頻度をDNAおよびRNAのNGS解析により解析を行うことで、CereAAVTM変異体の遺伝子導入効率および搭載遺伝子発現の比較を行った。その結果、挿入ペプチドの6残基目のアミノ酸をアラニンへ置換した際に顕著に脳への遺伝子導入が減少することが明らかとなった。さらに、検証試験としてルシフェラーゼ遺伝子を搭載した各種CereAAVTM変異体 1×10^{11} vgをそれぞれマウス静脈内へ投与し、4週間後のマウス脳でのルシフェラーゼ活性を測定したところ、同様の結果が得られたことから、挿入ペプチドの6残基目のアミノ酸がCereAAVTMの脳指向性に重要であることが示された。現在は、脳血液関門透過試験を始め種々のレセプター依存性試験も行っており、CereAAVTMの脳指向性および遺伝子導入メカニズムの解析を進めている。また、ヒト細胞への遺伝子導入効率を評価するために、in vitroにおいてヒト初代培養細胞への遺伝子導入効率をAAV2、AAV9およびCereAAVTMで比較したところ、CereAAVTMはAAV9よりも高い初代培養細胞への遺伝子導入効率を示した。以上の結果より、CereAAVTMはヒト細胞へも高い遺伝子導入を示すことが明らかとなり、ヒトへの遺伝子治療ベクターとして有用である可能性も示された。

生体内における無毒化ヘルペスウイルスベクターの特性解析

宮川 世志幸¹、丸山 基世^{2,3}、坂井 敦²、佐藤 優里子¹、黒田 誠司¹、喜納 裕美⁶、山本 基子¹、橋詰 令太郎⁴、鈴木 秀典²、Cohen Justus⁵、Glorioso Joseph⁵、岡田 尚巳⁶

¹ 日本医科大学 生化学・分子生物学 (分子遺伝学)

² 日本医科大学 薬理学

³ 日本医科大学 実験動物施設

⁴ 三重大学 修復再生病理学

⁵ ピッツバーグ大・微生物・分子遺伝学

⁶ 東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野

ヘルペスウイルス (HSV) ベクターは高い遺伝子搭載能力と神経親和性を兼ね備えた魅力的なベクターシステムであり、これまで臨床応用実現に向けて研究開発が進められてきた。HSV ベクターの臨床応用を実現するにあたり課題は、その高い細胞毒性であった。近年、我々は本課題を解決するために、毒性遺伝子発現を完全に除去した無毒化HSVベクターの開発に成功した。これまで我々は動物モデルを用いて本無毒化HSVベクターの各組織における生体内分布について報告してきた。本研究では、本ベクターの特性及び安全性を評価するために、生体内における遺伝子発現の持続性及び細胞毒性について詳細に解析した。Luciferase 遺伝子を搭載した無毒化HSVベクターあるいは野生型HSV、従来型HSVベクターを新生児マウスに腹腔内投与した後、その遺伝子発現及び細胞毒性について評価を行った。まず本ベクターからの遺伝子発現について *in vivo* imaging を用いて長期的に観察を行った結果、その発現は少なくとも24ヶ月以上安定的に持続されることが示唆された。次に、生存分析を行ったところ、野生型HSV投与個体はいずれのdoseにおいても全て個体が投与後4日以内に死亡したが、無毒化HSV投与個体は、いずれの個体においても致死的な副作用は認められなかった。また体重変化について計測したところ、従来型HSVベクター投与個体は有意な体重の減少を生じたが、無毒化HSVでは減少は認められなかった。続いて投与個体における病理解析を実施した結果、野生型HSV投与個体においては肝臓等に著しい壊死、免疫細胞の浸潤が認められたが、無毒化HSVでは顕著な壊死は認められず、免疫細胞の浸潤も限定的であった。以上の結果は、無毒化HSVベクターの生体内での高い機能性・安全性を裏付けるものであり、無毒化HSVを用いた遺伝子治療法開発の指標となることが期待される。

ドロップレットデジタルPCR法を用いたアデノ随伴ウイルスベクターのゲノムタイター定量試験における検体前処理条件が定量値に及ぼす影響の評価と前処理手順の最適化

齋藤 俊介^{1,2}、内田 和久²

¹ 株式会社シンプロジェン、医療ビジネスユニット

² 神戸大学大学院、科学技術イノベーション研究科

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは、近年の遺伝子細胞治療において主に利用されるベクターの一つである。世界的に多くの臨床試験が進められているが、投与量の表記にはベクターゲノム (VG) タイターが利用されている。従来、VGタイターの品質試験法には定量リアルタイムPCR法が利用されてきたが、相対的定量法である事や試験精度に課題が多く、近年はドロップレットデジタルPCR法 (ddPCR) が新しい品質試験法として利用され始めている。ddPCRは精度高くVGタイターを絶対定量できる優れた特徴を有する手法だが、遺伝子細胞治療用製品の品質試験に利用するためには、科学的妥当性に基づいた適切な試験手順を設計する必要がある。さらに、重要な品質試験項目に関わらず世界的に標準化された手順は存在せず、各機関が独自に設定した手順に従い試験を行っている現状である。

本研究では、ddPCRを実施するAAVベクターの検体前処理工程に着目し、(1) DNase処理、(2) DNase不活化、(3) カプシドからのDNA抽出の各工程ステップに対し、熱処理パラメータがVGタイターの定量結果に及ぼす影響について評価を行った。検体に対し50℃から70℃の温度領域で加熱処理をした結果、VGタイターが大きく低減する事が見出され、この温度領域は示差走査蛍光光度法を用いて測定したカプシドからDNAが漏出する温度 (以降、Tr値と表記) と一致した。Tr値は、カプシドに含まれるDNAの長さや製剤処方成分によって変動することも知られているため、ddPCRの検体前処理工程を設計する上でTr値を試験結果に影響する特性値として把握する事は重要であると示唆された。一連の検討の結果、Tr値での熱処理を避けるため、DNase不活化とカプシド粒子からのDNA抽出を高温で同時に行う方法を、最適なVGタイターの品質試験法の検体前処理手順として提案した。

mRNA 医薬の品質評価手法に関する研究

山本 武範、内田 安則、吉田 徳幸、大岡 伸通、山下 拓真、内田 恵理子、井上 貴雄

国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部

mRNA 医薬は、目的遺伝子の転写産物である mRNA が脂質ナノ粒子 (lipid nano particle: LNP) 等に封入されたものであり、生体内で mRNA から翻訳されたタンパク質の作用により疾患の予防や治療を行う医薬品である。mRNA 医薬は新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に対する予防ワクチンの開発において、その速い開発スピードと高い予防効果が示され有用性が実証された。mRNA 医薬は従来の化学薬品や生物薬品、核酸医薬品とも分子構造や製造法が大きく異なっていることから、品質評価の観点で特有の考慮事項が存在し、その評価のために新規性の高い手法・技術が求められる場面が多い。このため、評価科学の観点から、その分析能力、限界、再現性、堅牢性などの検証が求められる。品質評価に関する標準的な手法は未だ確立されてはいないが、参考となる規制文書としては、海外で発出された感染症予防用 mRNA ワクチンに関するガイダンス及びガイドライン案等が挙げられる。また、本邦においては、国内で承認された mRNA ワクチン (コミナティ筋注 (ファイザー社)、スパイクバックス筋注 (武田モデルナ社)) の公開版審議結果報告書及び生物学的製剤基準各条が参考になる。国立医薬品食品衛生研究所では、これらの文書や関連する原著論文に示された分析手法について、実験科学的な検証を実施しており、その結果も踏まえ、個々の評価手法について分析学的特性や留意事項を整理している。

本発表では、上述した mRNA 医薬に特有の品質特性とその評価法について概説するとともに、実験科学的検証から新たに見えてきた品質評価上の課題について紹介する。

ゲノム編集技術を利用した遺伝子治療用製品のオフターゲット変異予測法に関する調査

山下 拓真、山本 武範、内田 恵理子、井上 貴雄

国立医薬品食品衛生研究所

近年、次世代の遺伝子治療として、ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療の実用化が期待されている。CRISPR-Cas9 システムが2012年に開発されて以降、ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療用製品の開発も急速に進んでおり、ex vivo 及び in vivo のゲノム編集製品を合わせて、40品目以上について臨床試験が行われ、欧米ではすでに1品目の承認申請が行われている。ゲノム編集を用いた遺伝子治療用製品の安全性評価に際して、既存の遺伝子治療用製品と大きく異なる点としては、ヒトゲノム上の本来の標的ではない部位を切断するオフターゲット変異の課題がある。特に in vivo のゲノム編集製品については、製品により実際に生じるオフターゲット変異を直接調べることは困難である。したがって、ゲノム編集ツールの導入によって、どのようなオフターゲット変異が起こりうるかをあらかじめ予測・検証することが重要となる。

以上を念頭に本研究では、オフターゲット変異の予測・解析法として用いられる、1) コンピューターを用いたバイオインフォマティクス解析 (In silico解析)、2) 抽出したヒトゲノムDNAを用いて切断部位を特定する手法 (Cell free解析)、3) ヒト培養細胞を用いて変異部位を特定する手法 (Cell based解析) について、それぞれの原理や操作手順、特徴等を原著論文や総説を中心に調査した。加えて、国内外の規制動向と、現在開発中のゲノム編集を用いた遺伝子治療用製品において実施されているオフターゲット変異予測・検出法について、関連する規制文書等を調査した。調査により、オフターゲット変異評価法に関する現状が明らかになった。本学会では、これらの調査結果について発表する。

AAVベクターゲノムのNGS解析（ロングリード解析）

安益 公一郎、曾根 岳史、大雲 剛志、亀山 達也、高山 正範、佐藤 昭之

タカラバイオ株式会社

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは、現在、最も臨床応用が期待されているウイルスベクターである。近年、AAVベクターの製造をアフィニティー精製のみで製造する簡便法も普及し、手軽に利用できるようになってきた。

近年、AAVベクターのNGSロングリードシーケンスに関する論文が発表され、昆虫細胞にバキュロウイルスを感染させて製造したAAVベクターでは、293細胞にプラスミド導入により製造したものと比べて、欠損や細胞由来ゲノムの挿入が高頻度に発生していたことが報告された。また、ITRのみ含む短いDNA断片を含む粒子も多く、対象のAAVベクターの力価を過大評価してしまう恐れも示唆された。

今回、超遠心法により精製した複数セロタイプのAAVベクターの核酸より、Sequel IIシーケンサーを用いたロングリード解析を行い、ベクターゲノム構造の確認およびベクターゲノム領域内の変異を確認した。シーケンスライブラリーの作製では、 1×10^{11} vg相当のAAVベクターより一本鎖ゲノムDNAを調製し、相補的な配列同士をアニーリングさせた二本鎖DNAの両末端に、SMRTbellアダプターをライゲーションさせてライブラリーを構築し、シーケンスの結果、約1.5万の高精度なHiFiリード配列を取得することができた。マッピング解析により、全HiFiリード配列の由来を確認したところ、96%以上がAAVベクターゲノム由来であり、そのうち64%が一本鎖(ss)AAV、34%が自己相補型(sc)AAV由来であることが示唆された。

さらにITR配列を含む2.6 kbのAAVベクター領域に対する変異解析より、ITR領域に変異が見られたが、GOIは完全なDNA断片として保持されていた。以上、今回のロングリード解析結果から、AAVベクターの品質確認におけるNGSロングリード解析の有効性について最後に考察する。

高耐久性アデノ随伴ウイルス受容体の開発とAAVベクター分析への応用

吉田 浩平^{1,2}、恒川 雄二²、栗原 健人¹、渡邊 和哉¹、牧野 友理子¹、大村 慧太¹、田中 亨¹、井出 輝彦¹、岡田 尚巳²

¹ 東ソー株式会社 ライフサイエンス研究所

² 東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野

【背景】 アデノ随伴ウイルス (AAV) は遺伝子治療に用いられる主要なウイルスベクターである。AAVには組織指向性の異なる様々な血清型が存在し、近年ではカプシド改変研究により多くの人工AAVベクターが開発されている。AAV共通レセプター (AAVR) は、多くのAAV感染に不可欠なレセプターである。遺伝子治療に用いられるほとんどのAAVベクターはAAVRとの相互作用を介して細胞に感染することから、AAVベクターとAAVRの結合を定量化することは、治療用AAVベクターの重要な品質検査項目となり得る。しかしながらヒト由来のAAVRは安定性が低く、分析用途として使用するためには分子改良を実施する必要がある。

【方法】 進化分子工学的手法によりAAVRの変異体を作製した。このAAVR変異体を担体に固定化したゲルを調製し、アフィニティークロマトグラフィーカラムを作製した。このカラムを用いて、HPLCによる各種AAVベクターとの結合性を分析した。

【結果】 得られたAAVR変異体は様々なAAV血清型に対する結合活性を保持したまま酸に対して高い耐久性を示した。作製したアフィニティークロマトグラフィーカラムでは、様々なAAV血清型とAAVRの結合および解離を繰り返し測定することが可能となった。AAVRとの結合親和性はAAVベクターの種類によって変化し、AAVベクターの感染効率との関係性に関する知見を得ることができた。また、クロマトグラムにおけるAAVベクターの溶出ピークの大きさは、カラムに添加したAAVベクターの粒子数と高い相関性が見られた。

【結論】 AAVRアフィニティークロマトグラフィーカラムはAAVベクターの品質チェック、カプシドタイター定量、アフィニティー精製などのプロセス開発に利用可能であることが示唆された。本カラムは新規AAVベクター開発においても有用なツールになり得ると考えられる。

Quantification of full and empty particles of Adeno-Associated Virus vectors by a novel Dual Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay (dFLISA)

Sereirath Soth

Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University

Adeno-associated virus (AAV) is one of major platforms for gene therapy due to its low immunogenicity, and non-pathogenicity. Empty AAV particles (EPs), which do not contain DNA, are generated in upstream process. Although EPs are considered as impurities, it is difficult to completely remove them by purification because the physicochemical properties of EPs are only slightly different from those of full, which include DNA, AAV particles (FPs). It is essential to quantify and control the content of EP and FP for successful AAV vector developments. There are several analytical methods for measuring EP and FP including a combination of Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) as genome titer is quantified by qPCR and capsid titer is determined by ELISA, then the ratio of EP/FP is calculated from the results. However, this method has inevitably drawback to errors and variations because the percentage of FP and EP is estimated based on data from two independent analyses. Analytical Ultracentrifugation (AUC) is another method to determine concentration of EP and FP, however, expertise is required to perform AUC analysis. In this study, we established dFLISA (Dual Fluorescence-Linked Immunosorbent Assay) as a new analytical method that can quantify both capsid and genomic titers in a single analysis. To validate this method, mixed samples of FP and EP with different ratios from 0% to 86.5% of FP were measured by dFLISA and compared the result with those from other methods including AUC. The percentages of FP and EP were comparable to results of AUC. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of dFLISA were also estimated. Moreover, physical and genome titers of sample before purification was successfully determined by dFLISA. The result shows that dFLISA is a very useful method to monitor AAV particles in a simple, accurate and precise way, therefore dFLISA will bring great benefit for the future development of AAV-based gene therapy.

アデノ随伴ウイルスベクター試料に含まれる粒子成分の包括的評価

丸野 孝浩^{1,2}、栗之丸 隆章¹、野田 勝紀¹、福原 充子^{1,2}、廣畑 貴一²、津中 康央²、山口 祐希²、
鳥巢 哲生²、内山 進²

¹ 株式会社ユー・メディコ

² 大阪大学大学院工学研究科

in vivo 遺伝子治療において最も有望な選択肢の一つである、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの製造においては、治療用遺伝子を内包する完全粒子 (FP) に加えて、核酸を内包しない空粒子 (EP)、断片的な核酸を内包する部分粒子 (PP) や凝集体などが生じることが多い。これらは、AAVベクター製剤の有効性や安全性に影響を与える可能性があることから、AAVベクターの分散状態を信頼性が高い定量的な方法で評価することは品質管理の観点から必要不可欠である。

本研究では、多波長検出超遠心分析沈降速度法 (MW-SV-AUC) による AAVベクター試料中の EP、FP、PP、凝集体などの各粒子成分の定量法を確立した。初めに EP と FP の沈降係数分布の波長依存性から、カプシドタンパク質と内包核酸の紫外吸収スペクトルを導出し、各波長における EP と FP のモル吸光係数を算出した。各粒子成分の紫外吸収スペクトルをカプシドタンパク質と内包核酸の各波長でのモル吸光係数を用いてデコンボリューションすることで、SV-AUC において観測された粒子成分の核酸-タンパク質比が全て特定可能となり、同時に EP、FP、PP、凝集体などの各粒子成分の絶対量を見積もることが可能となった。このように多波長検出 SV-AUC により AAVベクター試料に含まれる各粒子成分の詳細かつ定量的な解析が可能となった。一方、SV-AUC はサンプル量が多い製剤の分析など限られた場面での利用に限定されていた。今回、我々はサンプル量の低減を目的に、SV-AUC の経験をベースに、超遠心分析バンド沈降速度法 (BS-AUC) および密度勾配超遠心分析法 (DG-AUC) を開発した。本発表では BS-AUC や DG-AUC による、少量での EP、FP、PP、凝集体などの解析結果、SV-AUC との結果の比較、さらには、現在、提案されている複数の分散度評価手法との関係についても紹介する。

タンジェンシャルフローろ過を用いたAAVベクターの新規精製法の開発

恒川 雄二¹、宮岡 理美^{1,2}、黒沢 八重^{1,3}、佐々木 貴子¹、垣内 裕子¹、和田 美加子¹、笠原 優子¹、喜納 裕美¹、岡田 尚巳¹

¹ 東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野

² 旭化成メディカル株式会社 研究・事業開発本部 医療技術・材料研究所

³ HOYAテクノサージカル株式会社 クロマトグラフィーメディアマネージメント部

背景：アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターは、副作用を最小限に抑えながら、様々な組織型に治療用遺伝子を効率的に導入することなどから、遺伝子治療で最も期待される手法の1つと考えられている。一方、近年承認されたAAVベクターを用いた遺伝子治療薬の薬価は医薬品として史上最高額となり、保険制度を圧迫する要因になりうるとして社会問題になっている。現在、AAVベクターは多段階の複雑な工程を経て製造されており、それが薬価の高騰を招く一因となることから、簡便で経済的かつ高品質なAAVベクター製造法の開発は社会的な命題となっている。

方法：本研究では、AAVベクターの精製工程において、溶液の濃縮や透析濾過に一般的に使用されるタンジェンシャルフロー濾過（TFF）と界面活性剤を用いて、簡便かつ経済的で高品質な精製を行う新規精製法を考案した。

結果：この方法を用い、二種類の界面活性剤（陰イオン系と双性イオン系）とTFFでAAV粗製性物の精製を行うことにより、99.5%の残留タンパク質を粗製性物から除去できることが確認された。また、本法で精製したAAVベクターの感染性はin vitroおよびin vivoで確認され、マウス骨格筋に局所投与しても顕著な炎症や組織障害は観察されなかった。

結論：この方法は、AAVベクター精製において超遠心などのポリッシングステップ前精製用プラットフォームとして、将来的に工業的なスケールで使用され、薬価の低減に寄与することが期待される。本発表では我々が開発した新規AAVベクター精製方法の詳細を紹介する。

Fabry病モデルマウスにおける AAV9ベクター全身投与による遺伝子治療

林 夢夏^{1,2}、瀬原 吉英¹、綿野 亮太¹、大庭 賢二¹、崎山 快夫²、水上 浩明¹

¹ 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

² 自治医科大学さいたま医療センター

【背景】 Fabry病はライソゾームに存在する加水分解酵素である α -galactosidase A (α -Gal A)の欠損ないし活性低下によって、その基質である globotriaosylceramide (Gb3) が全身に蓄積する遺伝性の疾患である。【目的】 Fabry病モデルマウスに治療遺伝子を搭載した adeno-associated virus (AAV)ベクターを単回静注し、その治療効果を検証した。

【方法】 6週齢のオスの α -Gal A knockout (GLAko) / human Gb3 synthetase (G3S)-transgenic (TgG3S)マウスに、ヒト α -Gal A 遺伝子発現カセットを搭載した AAV9ベクターを 2×10^{12} vector genome 静注し、3週と8週後とに血漿中の α -Gal A 酵素活性を測定した。さらに脳、心、肝、腎における α -Gal A 酵素活性、ベクター由来のゲノムコピー数、Gb3量を投与8週後に測定した。対照として同数の GLAko/TgG3Sマウス、野生型マウス、TgG3Sマウス、GLAkoマウスを用いた (n=7-8)。【結果】 AAV投与群の血漿 α -Gal A 酵素活性は、最終的に野生型の酵素活性の約2倍にまで上昇した。AAV投与群の心・肝における α -Gal A 酵素活性は全群のなかで最も高く、Gb3量は未治療 GLAko/TgG3S群と比べて有意に低下していた。AAV投与群の脳・腎での α -Gal A 酵素活性には有意な上昇が見られなかったものの、ベクター由来のゲノムコピー数は有意に上昇し、未治療 GLAko/TgG3S群よりも Gb3量が少なかった。【結論】 AAVベクターの全身投与によって、Fabry病モデルマウスに α -Gal A を発現させ、臓器への Gb3蓄積量を減少させた。脳・腎で十分な治療効果を得るには、投与経路や投与時期の再考を要する。

AAVベクターに搭載可能な短く強力な抑制性ニューロン特異的GAD67プロモーターの開発

深井 悠貴¹、今野 歩^{1,2}、松崎 泰教^{1,2}、平井 宏和^{1,2}

¹ 群馬大学医学系研究科 脳神経再生医学分野

² 群馬大学未来先端研究機構・ウイルスベクター開発研究センター

【研究の目的】

所属研究室では最近、抑制性神経細胞特異的プロモーター (マウス GAD65 : mGAD65 プロモーター) を発表した (Hoshino et al. *Mol Brain*. 2021)。しかしながら、このmGAD65 プロモーターの長さは 2.5kb であり、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターにおける遺伝子収容スペースの半分以上を占め、その有用性を大幅に損なっている。本研究では、コンパクトな抑制性神経細胞特異的プロモーターの開発を目指した。

【実験方法】

オリジナル (2.5kb) mGAD65 プロモーターとマウスGAD67 (mGAD67) プロモーターにおけるゲノム領域から異なる長さの欠失コンストラクトを作製した。mGAD65 または mGAD67 プロモーター候補のいずれかによって GFP を発現する AAV-PHP.eB を、抑制性ニューロン特異的に tdTomato を発現する VGAT-tdTomato マウスへ静脈内投与した。投与から3週間後、大脳皮質において GFP の発現量および遺伝子導入された細胞の種類をそれぞれ定量 RT-PCR および 免疫組織化学染色法 により評価した。抑制性ニューロンへの特異的発現については、GFP と tdTomato の蛍光の重なりを確認することで定量した。

【結果および考察】

0.4kb の mGAD67プロモーター (compact mGAD67 プロモーター ; cmGAD67 プロモーター) は、抑制性ニューロンへの特異性を損なわずに、オリジナル (2.5kb) の mGAD65 プロモーターより有意に高いプロモーター活性を示した。以上より、cmGAD67 プロモーターは、AAVベクターの注入においてより大きな目的遺伝子の収容を可能にし、様々な脳領域における抑制性ニューロンの病態生理の研究に有用であることが示唆された。

組換え型アデノ随伴ウイルスベクターの産生における統合型プラスミドの開発

西村 勇哉¹、柘植 謙爾²、齋藤 俊介¹

¹ 株式会社シンプロジェン 医療ビジネスユニット

² 株式会社シンプロジェン DNA合成ビジネスユニット

組換え型アデノ随伴ウイルスベクター (rAAV) は遺伝子治療のキャリアのひとつとして利用されている。治療効果が長期間維持されること、標的組織への指向性、病原性が低い等の利点があるが、製造における問題のひとつとしてコストが挙げられる。その要因は、Transfectionに3つのプラスミドを必要とすることである。そこで本研究では、合成した遺伝子断片を任意の順序で連結させることができるOGAB[®]法を利用して、rAAV生産に必要な3つのプラスミドを1つに統合した統合型プラスミド (オールインワンプラスミドTM) を開発した。

まず、従来法とrAAV2産生を比較した。その結果、Titer、粒子サイズ、Empty比、TCID₅₀等の分析は同等の値を示した。加えて、統合型プラスミドの方が生産量のバラつきやResidual backboneが少ないことが示された。つまり、統合型プラスミドが従来法の代替になりうることが示唆された。

次に、統合型プラスミドをライブラリー化し、遺伝子型の組合せによるrAAV産生への影響を評価した。これは、統合型プラスミドが3つのプラスミド上の遺伝子を1:1:1で含むことを利用している。ライブラリーは、遺伝子ブロックを任意の順序でランダムに連結させることが可能なCombinatorial OGAB[®]法を用いて作製した。

最後に、rAAV産生量を増加させるHelper遺伝子を探索した結果、従来のアデノウイルス由来Helper遺伝子にヘルペスウイルス由来遺伝子を付加的に用いることで生産量が向上することが示唆された。このように、遺伝子型の組合せやHelper因子の追加を検討することで、多様なGOI遺伝子やカプシドに対応する最適な統合型プラスミドを迅速に決定する方法を開発し、コスト削減やハイスループットな評価の実現を目指す。

A novel cross-species AAV capsid demonstrating enhanced upper and lower motor neuron transduction with high specificity

Hiroyuki Nakai^{1,2}, Christina Chatzi¹, Dhwanil Dalwadi¹, Samuel J Huang², Yasunori Matsuzaki³, Hirokazu Hirai³

¹ Capsigen Inc.

² Oregon Health & Science University

³ Gunma University Graduate School of Medicine

The progressive loss of upper and/or lower motor neurons is a hallmark of motor neuron disorders (MNDs). MNDs cause unrelenting muscle weakness, resulting in paralysis, respiratory failure, and even death. With recent significant advancements in adeno-associated virus (AAV) vector technologies, new treatment options are now available for CNS disorders, including MNDs. The FDA-approved wild-type AAV9 has been used clinically to treat MNDs with encouraging results, demonstrating the potential of AAV gene therapy as a treatment for MNDs. Systemic administration of AAV vectors holds promise as an optimal method of delivery, but using wild-type AAV9 and other common serotypes poses challenges, such as the need for high vector doses ($>10^{14}$ vg/kg) potentially causing serious adverse effects, the limited effectiveness of crossing the blood-brain barrier, the inadequate specificity of target cells, and the lack of conserved tropism across animal species to facilitate clinical translation. The need for an engineered AAV capsid that transduces motor neurons efficiently with high cell type specificity is therefore unmet. Here we show that AAV-CGN2, a novel AAV capsid identified using the TRANscription-dependent Directed Evolution (TRADE) platform, exhibits remarkably enhanced transduction in both upper and lower motor neurons with high cell type specificity following systemic vector administration. Strikingly, multiple species, i.e., cynomolgus macaques, rhesus macaques, marmosets and mice, maintain these exceptional properties. In this study, all four species received an i.v. injection of an AAV-CGN2-CAG-GFP vector. Three weeks post injection, animals were euthanized, and tissues were harvested for downstream analyses. AAV-CGN2 vector transduction efficiency and specificity were assessed using immunofluorescence microscopy with native GFP fluorescence, pan-neuronal markers (NeuN, neuronal nuclei) and motor neuron markers (SMI-32 and ChAT). AAV-CGN2 preferentially transduced SMI-32-positive upper motor neurons with minimal transduction of glia. Notably, the four species showed no significant differences in the specificity and effectiveness of upper motor neuron transduction, supporting the robust upper motor neuron tropism of this capsid. Regarding the lower motor neuron transduction in the spinal cord, both cynomolgus and rhesus macaques showed robust GFP signal in cells with motor neuron morphology and their projections all through the ventral horn. The majority ($>80\%$) of the lower motor neurons in the spinal cord in both macaque species were transduced with AAV-CGN2, according to ChAT immunostaining. Marmoset spinal cord transduction profiles are currently being investigated. Mice showed preferred lower motor neuron transduction in the spinal cord, although to a lesser extent than in macaques, suggesting possible interspecies differences to some extent. In conclusion, our study revealed AAV-CGN2 to be a highly effective upper and lower motor neuron-targeted capsid with remarkable cross-species compatibility. We believe that the AAV-CGN2 vector can improve the clinical translatability of AAV-based gene treatments for MNDs in addition to improving predictive modeling in preclinical studies.

Platform process development and scale-up of rAAV manufacturing in suspension-based system with single-use technologies

Rachael Lake Hardison, Frank Agbogbo, Steven Wesel, Ganesh Krishnamoorthy, David Dismuke

Forge Biologics is a hybrid gene therapy contract manufacturing and clinical-stage therapeutics development company.

Recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors are one of the most promising technologies to deliver therapeutic transgenes for gene therapy. Triple transient plasmid transfection of HEK293 cells is commonly used to produce rAAV. Forge Biologics has performed process development with transient transfection process using the Ignition™ HEK293 suspension cells and the pEMBR™ AdHelper plasmid in single-use bioreactors (SUBs) for manufacturing rAAV vectors for research, clinical, and commercial use. Modification of the pEMBR plasmid to reduce size and immunogenic elements maintained or improved rAAV yield compared with alternative AdHelper plasmids. The unit operations such as cell culture, transfection, lysis and clarification, purification were optimized for making rAAV. Universal affinity chromatography buffer matrices were established to develop a bespoke affinity chromatography platform that is broadly applicable across rAAV serotypes. The rAAV produced from 1L to 1000L batch sizes were compared for GOI titer by ddPCR, residual plasmid DNA by ddPCR, residual host cell DNA, residual host cell protein, purity by SDS-PAGE, genome integrity, empty:full particle ratio, potency, and endotoxin. Data will be presented on work that was executed at small-scale (1L), mid-scale (50L), and large-scale (1000L) for a variety of rAAV serotypes.

高効率かつ安全な超多重ガイドRNA発現アデノベクターの開発と供給：がん、肝炎、新型コロナ、オートファジー、遺伝病のゲノム編集治療研究への応用

中西 友子¹、中原 知美²、山口 貴世志³、古川 洋一³、福原 崇介⁴、茶山 弘美⁵、森石 恆司^{6,7}、神谷 亘⁸、
一村 義信⁹、小松 雅明⁹、服部 信孝¹、斎藤 泉¹⁰、清野 透¹¹

¹ 順天堂大学・疾患モデル研究センター

² 国立がん研究センター研究所・免疫創薬部門

³ 東京大学医科学研究所・臨床ゲノム腫瘍学分野

⁴ 北海道大学大学院医学院 病原微生物学

⁵ 広島大学大学院医系科学研究科

⁶ 山梨大学大学院医学工学研究部医学学域微生物学

⁷ 北海道大学遺伝子病制御研究所

⁸ 群馬大学大学院医学系研究科

⁹ 順天堂大学医学部・生理学

¹⁰ 順天堂大学

¹¹ 国立がん研究センター先端医療開発センター

ゲノム編集治療ではアデノウイルスベクター (AdV) が新しい治療ベクターとして期待されている。我々はAdVのゲノム上で8個のガイドRNA発現ユニットが、標的20塩基以外は完全に相同でありながら欠失なく維持されることを見出した (加藤ら, Int J Mol Sci, 2021)。世界では2個までしか報告がないが、我々は最多で12個の異なるガイドRNAあるいはshRNA発現ユニットを持つAdVの開発・増幅に成功し、AMEDの支援を受け共同研究ベースで供給を行なっている。これらのベクターは同じ発現ユニットを多数 (multiple) 持つのではなく、全てのガイドRNAおよびshRNAが異なっている (多重, multiplex)。複数のユニットを繋ぎ合わせるのに煩雑なステップが必要では、多くの供給に応えることはできないが、我々は8個の異なる発現ユニットをワンステップで組込む方法を開発し (中西ら, Sci Rep, 2021)、供給の問題を解決した。さらにゲノム編集治療の最大の問題とされるオフターゲットが、このベクターではCas9 nickaseによるダブルニッキング切断という方法を用いると1/1000 (検出限界以下) に減少するという驚くべき結果を得た。すなわちoff-targetの問題を初めて解決した画期的なベクターと言える。すでに我々は8個のガイドRNA発現ユニットとCas9 nickase発現ユニットを同時に搭載する一体型AdVを作製・供給しており、3個の異なる標的遺伝子に各々2箇所のダブルニッキング切断等で、高効率かつ安全に破壊あるいはノックダウンすることが可能である。現在このベクターはHPV子宮頸がん、HBV肝炎・肝がん、新型コロナ、オートファジー (5ファミリー遺伝子の同時2箇所切断)、フェニルケトン尿症のノックイン治療の研究に使われており、さらなる応用研究が期待される。

超分子複合体を基盤とした全身投与可能な Cas9-sgRNP RNP 送達システムの開発

本田 雄士^{1,2}、松尾 拓海¹、野本 貴大¹、西山 伸宏^{1,2}

¹ 東京工業大学

² ナノ医療イノベーションセンター

CRISPR/Cas システムは様々な生物・組織におけるゲノム DNA 編集技術として利用されており、その医療への応用が期待されている。しかし、Cas9-sgRNA 複合体 (RNP) が生体内にそのまま投与されると分解および正常組織にも分布し、目的の治療効果を達成できないばかりか予期せぬ重篤な副作用も懸念されたりする。したがって、疾患部位選択的に RNP をデリバリーする技術が強く求められている。この点において私はタンニン酸 (TA) とフェニルボロン酸導入高分子をタンパク質に水中で加えるだけで、逐次自己会合による数十 nm 程度のサイズを持つタンパク質搭載三元系超分子複合体が形成され、その三元系複合体が EPR 効果により腫瘍に集積することを見出した。本研究では、がん組織特異的なゲノム編集を行うことを目的とし、このタンパク質デリバリーシステムを利用して RNP 内包三元系複合体を新たに構築し、その *in vitro* 及び *in vivo* における効果を検討した。

RNP を TA と合成したフェニルボロン酸導入高分子を逐次混合し、蛍光分光相関法によってその粒子径を測定したところ 約 25nm と算出され、RNP 単体 (粒子径: ~12nm) と比較して増大したことから、RNP 搭載三元複合体の形成が確認された。次に、ルシフェラーゼノックアウト RNP 搭載三元複合体をルシフェラーゼ恒常発現細胞に添加したところ、RNP 三元系複合体は RNP 単体よりも強いノックアウト効率を示した。最後にルシフェラーゼ恒常発現がん細胞を皮下移植したマウスに各 RNP サンプルを静脈内投与したところ、RNP 三元系複合体は血中滞留性を高め、EPR 効果により腫瘍集積性を向上させた。この腫瘍集積の増加に伴い、RNP 三元系複合体の腫瘍組織におけるゲノム編集効率は RNP 単独の場合より 3 倍高いことが示された。本研究で提案したこの簡便な手法は、がん組織ゲノム編集のための有用なプラットフォームとなりえる。

遺伝子治療への応用を目指した核内安定型LbCas12aの開発

塚本 智仁^{1,2}、水田 陽菜²、酒井 英子¹、櫻井 文教^{1,2}、中川 晋作^{1,2,4}、水口 裕之^{1,2,3,4,5,6}

¹ 大阪大学大学院薬学研究科

² 大阪大学薬学部

³ 医薬基盤・健康・栄養研究所

⁴ 大阪大学MEIセンター

⁵ 大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門

⁶ 大阪大学感染症総合教育研究拠点

CRISPR-Cas12aは、オフターゲット効果がCas9よりも低頻度であることから、*in vivo* 遺伝子治療において安全性の高い治療ツールとなることが期待される。我々はこれまでにCas12aをアデノウイルス (Ad) ベクターに搭載し、*in vivo* 遺伝子治療に適用可能なツールを開発した(Tsukamoto, T *et al.* 2018, 2019)。しかしながら、Cas12a搭載Adベクターによる*in vivo* ゲノム編集効率は低く、Cas12aを遺伝子治療に適用するためには、優れたゲノム編集効率を持つCas12aの開発が必要であると考えられた。そこで本研究ではCas12aの核内安定性に着目し、核局在化シグナル (NLS) の追加付与によるCas12aの細胞内局在や安定性の解析を行うとともにゲノム編集効率の向上を図った。

まず、NLSまたは核外移行シグナル (NES) の付与数が異なる AsCas12a、LbCas12a、Cas9 (-1xNLS, -2xNLS, -6xNLS, -NES)をAdベクターに搭載した。各種AdベクターをHuh-7細胞 (ヒト肝癌細胞株) に作用させ、Cas12aおよびCas9の細胞内におけるタンパク量を調べたところ、AsCas12aとCas9は細胞内局在が変化してもタンパク量に大きな変動は認められなかった。一方、LbCas12aは核への移行性に依存してタンパク量の増加が認められ、核内において安定性が向上することが明らかとなった。さらに、ゲノム編集効率をT7E1 assayによって評価したところ、LbCas12aはNLSの増加にしたがって、著しくゲノム編集効率が向上した。これは核移行性の改善に加えて、LbCas12aが安定化したためだと考えられた。以上の結果から、LbCas12aの安定性は細胞内局在によって変化し、核内における安定性はゲノム編集効率に大きな影響を与えることが明らかとなった。

放電プラズマ遺伝子導入法の細胞医療への可能性

田村 亮太¹、佐伯 拓哉¹、庵原 聖未³、池田 善久¹、佐藤 晋^{1,2}、神野 雅文^{1,2}

¹ 愛媛大学大学院理工学研究科

² 株式会社アイジーン

³ パール工業

[背景]

本研究室は放電プラズマを用いた遺伝子導入法を確立した。放電プラズマ遺伝子導入法では、電気的および化学的刺激が複合的に作用し、生物学的応答であるエンドサイトーシスが惹起され細胞内に遺伝子などの外部巨大分子が導入されることを明らかにしている¹⁾。本法の特徴は初代培養細胞に対しても高効率な遺伝子導入が可能であること、エンドサイトーシスによって遺伝子が導入されるため、細胞に対して低侵襲であること、また低コストであることにある。昨年、本会でプラズマ法ではランダムインテグレーションの発生頻度の違いを報告した²⁾。

[目的]

これらの利点から、放電プラズマ遺伝子導入法は細胞医療への可能性があると考え、細胞医療実現のため1型糖尿病を標的疾患例に定め本法を用いたプライマリー細胞への遺伝子導入実験の結果を報告する。

[方法]

マウス生体内からマウス肝細胞を採取した後、肝細胞に赤色蛍光とインスリンを同時に発現可能なプラスミドを放電プラズマ法によりマウス肝細胞に導入できることが確認された。また、インスリンが分泌されていることをELISAとウエスタンブロッティングにより確認できた。

[結果]

これらの結果から放電プラズマ遺伝子導入法を用いることでプライマリー細胞に対する高導入率とインスリンの高発現およびインスリン分泌が確認された。今後、安定かつ制御された長期的なインスリンの発現および発現のコントロールについて研究を進めるとともに長期分泌を目指した細胞種の検討をしていく。

[結論]

プラズマ遺伝子導入法は細胞医療に用いる新たな遺伝子導入法としての可能性が示唆された。

[謝辞]

本研究の一部はJSPS科研費 17H01068、21H04455およびAMED JPlm0203007の助成および愛媛大学リサーチユニット制度による支援を受けたものです。

1) M.Jinno, Y.Ikeda, H.Motomura, Y.kido, and S.Satoh: Arch.Biochem.Biophys. 605, 59(2016).

2) 田村亮太 第28回日本遺伝子細胞治療学会(2022)

放電プラズマ遺伝子導入法による1型糖尿病の治療法の確立のためのインスリン発現制御佐伯 拓哉¹、田村 亮太¹、庵原 聖未³、佐藤 晋^{1,2}、池田 善久¹、神野 雅文¹、¹ 愛媛大学大学院理工学研究科² 株式会社アイジーン³ パール工業**[背景]**

本研究室では放電プラズマ遺伝子導入法を確立した。その特徴は細胞やゲノムに障害を与えないことである。そのメリットを生かして医療分野では遺伝子治療・再生医療の実用化を目指している¹⁾。具体的には1型糖尿病をテストケースとして検討を進め、目的蛋白(インスリン)の高発現のためにCMVウイルスのプロモーターを用いている。しかしインスリンの高発現により細胞にダメージがあることが予測されるため我々は、インスリンの発現を制御することで治療効果を高めることを目指している。

[目的]

放電プラズマ遺伝子導入を用いた1型糖尿病の細胞治療を実現するためにインスリン遺伝子の発現制御を行うことで、本法の細胞医療の可能性について検討する。

[方法]

従来まで使用していたプラスミドはpAcGFP1-N1由来のCMVプロモーターを使用しており、細胞でのインスリン遺伝子の定常的な高発現が発現細胞に与える影響を抑制すると共に発現のON/OFFを制御するための第一段階としてCMVプロモーターからpTetOne由来のTet on systemに代替し、ドキシサイクリンで刺激をかけることによりインスリンの発現コントロールを行った。pTetOneのNotI/BamHI部位にマウスインスリンcDNA遺伝子を導入することで発現プラスミドを構築した。HepG2細胞に本プラスミドを加え放電プラズマ処理を行った後、ドキシサイクリンを培地と共に添加した。添加から1日毎にインスリンを定量した。

[結果・結論]

放電プラズマ遺伝子導入法を用いることで細胞を損傷することなくインスリン遺伝子の発現および発現のコントロールについて確認された。Tet on systemでインスリン発現のコントロールが可能になったため、今後治療に最適で制御可能な転写システムの検討を行う。

[謝辞]本研究の一部はJSPS科研費 17H01068、21H04455およびAMED JPlm0203007の助成および愛媛大学リサーチユニット制度による支援を受けたものです。

1) 田村亮太 第28回日本遺伝子細胞治療学会(2022)

三次元培養法を用いたヒト間葉系幹細胞の腫瘍溶解性ウイルスキャリア細胞としての機能解析

助川 誠^{1,2,3}、宮川 世志幸¹、黒田 誠司¹、山本 基子¹、足立 久美¹、谷合 信彦²、吉田 寛³、梅澤 明弘⁴、
酒井 真志人¹、岡田 尚巳⁵

¹ 日本医科大学 分子遺伝学

² 日本医科大学武蔵小杉病院 消化器外科

³ 日本医科大学 消化器外科

⁴ 国立成育医療研究センター 再生医療センター

⁵ 東京大学 医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 分子遺伝医学分野

腫瘍溶解性ウイルス(OVs)は、選択的に腫瘍組織内で増殖および拡散し、正常細胞に過度の損傷を与えずに腫瘍を破壊することで抗腫瘍効果を示す。近年、免疫調節作用・炎症部位へのホーミング作用を持つ間葉系幹細胞(MSCs)をOVsのキャリア細胞として利用することにより効率的な抗腫瘍効果を発揮できることが報告され、その臨床応用が進んでいる。しかしながら、MSCsは幅広い組織から採取することができ、由来となる組織によってその性質が大きく異なることが知られている。その性質の差ががん遺伝子治療効果にどのような影響を与えるかは明らかにされていない。そこで本研究では、生体内に近い環境を再現することができる三次元培養法を用いて、ヒト組織由来MSCs(hMSCs)の起源が腫瘍溶解性ヘルペスウイルス(oHSV)のキャリア細胞としての特性に与える影響を解析した。

ヒト骨髄由来、脂肪由来、臍帯血由来、子宮内膜由来のhMSCsを用いて、oHSVを搭載したhMSCs(oHSV-hMSCs)を作製した。これらを用いて、ヒト膵癌細胞株由来スフェロイド、ヒト胆管癌由来オルガノイドとの共培養系を2次元培養・3次元培養下で確立した。本培養系を利用してhMSCsの腫瘍への走化性、腫瘍殺傷性及びoHSV増殖性の比較検討を行った。その結果、2次元培養・3次元培養下いずれにおいてもhMSCsは腫瘍細胞に特異的に集積するものの、その集積性は起源により大きく異なることが判明した。またoHSV-hMSCsの腫瘍殺傷性はoHSVを単独使用時より有意に高い一方、その殺傷性はhMSCs起源に大きく影響されることが明らかとなった。本研究結果は、がん遺伝子細胞治療において適切なキャリア細胞を選択することが抗腫瘍活性の向上に極めて重要であることを示唆している。

先天代謝性異常症 iPS 細胞由来神経細胞のシナプス機能異常とその分子メカニズム

江良 択実¹、小高 陽樹^{1,2}、曾我 美南¹、古谷 博和³、沼川 忠広¹¹ 熊本大学 発生医学研究所 幹細胞誘導分野² 産業技術総合研究所 多細胞システム制御研究グループ³ 医療法人つくし会 南国病院

【背景】 先天代謝異常症は糖、脂質、アミノ酸などの代謝過程に存在する代謝酵素や輸送蛋白の遺伝子変異により起こる疾患である。中でもシアリドーシスは、NEU1 遺伝子の変異によって、ノイラミニダーゼの機能不全が起こり、シアル酸基を持つ物質が細胞内に蓄積するライソゾーム病の1つである。中枢神経障害が主症状であるが、障害の根本的メカニズムは不明である。生後早期に発症するタイプでは予後が不良であり、治療薬はない。【目的・方法】 疾患 iPS 細胞から大脳皮質神経細胞を誘導し、1. 疾患モデルの確立、2. 神経障害のメカニズム解明、を目的とする。【結果・考察】 私たちは、シナプスを形成する成熟神経細胞の誘導法とイメージング技術を使ったシナプス機能解析技術を、新たに確立した。誘導した神経系細胞では、シアル基をもつ物質の過剰な蓄積とライソゾームの巨大化が見られたことから、疾患表現型を模倣したモデルといえる。シナプス機能を調べ、前シナプスでの神経伝達物質の放出能低下と後シナプスでの AMPA 型受容体を介した過剰なカルシウム応答を明らかとした。この異常表現型は、原因分子をコードする正常型遺伝子を発現させることで正常化した。詳細な解析から、この神経伝達物質放出能低下の原因は SNARE タンパク質発現と解糖系エネルギー代謝の低下と考えられた。一方、AMPA および L 型 VDCC 発現異常とその拮抗薬処理の結果より、これらの分子の異常が過剰なカルシウム応答を来す原因と考えられた。【結論】 新たに確立した iPS 細胞由来神経細胞のシナプス機能解析法は、神経障害の病態解明に有用であり、得られた結果は、治療戦略を考えるうえでの重要な新知見といえる。

第三世代がん治療用ヘルペスウイルスを用いた口腔・食道重複癌に対する新規治療法の検討

須河内 昭成¹、内橋 俊大¹、栗岡 恭子¹、日尾 清太郎¹、田中 晋¹、藤堂 具紀²

¹ 大阪大学大学院歯学研究科

² 東京大学医科学研究所

【目的】 口腔癌は進行症例での根治率は未だ低く、また患者の高齢化に伴い外科的切除をはじめとする標準治療が適用できないケースも多いため、低侵襲かつ治療効果の高い新規治療法の開発が求められている。第三世代がん治療用HSV-1であるG47 δ は、東京大学の藤堂らが開発し、2021年に悪性神経膠腫を対象に承認された日本初のがん治療用ウイルス(テセルパツレブ)である。我々は、G47 δ が口腔癌の低侵襲治療として非常に有効であることを、非臨床試験を通じて報告してきた。しかし、その際用いるマウス舌癌モデルは舌筋内への腫瘍細胞接種により作成され、本来の癌発生過程とは異なる。今回我々はより臨床像を模した、マウス口腔上皮より自然発がんするマウスモデルを用いた。本モデルでは食道癌を中心とする重複癌も発生するため、臨床上治療法の選択や根治性を困難にする重複癌に対して、G47 δ と類似した基本構造を持つT-01を用いて、治療効果および安全性、投与方法の検討を行った。

【方法】 HSV-1に感受性のあるCBAマウスに、4-Nitroquinoline-1-oxide (4NQO)を16週間飲用させ、その後通常水で飼育し、口腔食道重複癌モデルを作成した。本モデルに、投与方法に「ある工夫」を加え、T-01を投与し、治療効果を検討した。

【結果】 投与方法に工夫を加えることで、舌の高度異型性、浸潤癌部のみならず、食道癌の多部位(頸部・胸部・腹部3領域全て)にHSV-1感染を認めた。その際、T-01に起因すると思われる有害事象は認めなかった。

【結論】 T-01を用いて、投与方法に「ある工夫」を加えることで、口腔病変への治療のみならず、口腔から上部消化管に至る重複癌に対する画期的な低侵襲癌治療法となることが期待される。

イヌ悪性腫瘍に対する細胞死誘導型がんウイルス療法

福田 (園田) 絵観子¹、實田 徹²、野口 俊助³、笠原 典之⁴、久保 秀司¹

¹ 兵庫医科大学 先端医学研究所 分子遺伝治療学部門

² 神戸薬科大学 機能性分子化学研究室

³ 大阪公立大学大学院 獣医学研究科 獣医放射線学研究グループ

⁴ カリフォルニア大学 - サンフランシスコ校 脳神経外科学 放射線腫瘍学

イヌの平均寿命の伸びは近年著しく、ヒトと同様に悪性腫瘍の発生率が増加している。我々が開発した増殖型レトロウイルスベクター (RRV: Retroviral Replicating Vector) は、腫瘍細胞特異的に感染・増殖する性質を持つ。RRVには細胞傷害性がないが、自殺遺伝子を搭載させることによって、薬物前駆体の投与により腫瘍細胞死を誘導することができる。これまでに我々は、様々なヒトがんマウスモデルにおいて、RRVによる優れた腫瘍内伝播および抗腫瘍効果を示してきた。そこで我々はイヌのがんに対してもRRVが有効ではないかと考え、本研究では、由来の異なる2種のRRVを用いた細胞死誘導型がんウイルス療法の有効性についてイヌがんマウスモデルを用いて検討した。

GFP発現RRVを用いて行った感染伝播効率の検討では、イヌ正常細胞においては両RRVとも感染伝播を認めなかったが、イヌ腫瘍細胞株10種においてはいずれも両RRVの効率的な感染伝播を認め、特に線維肉腫細胞においては感染10日後までに90%以上の感染効率を得た。自殺遺伝子であるシトシン脱アミノ化酵素(CD)を発現するRRVを用いて行った殺細胞効果の検討では、正常細胞においてはRRVによる殺細胞効果を認めなかったが、イヌ腫瘍細胞株ではいずれもRRV感染伝播効率と加えた薬物前駆体5-FUの濃度に依存した殺細胞効果を認めた。またイヌ皮下腫瘍マウスモデルにおいて、ルシフェラーゼ発現RRVを腫瘍内投与後に生体イメージングを用いて経時的に観察したところ、両RRVは腫瘍内においても効率よく増殖伝播した。またイヌ皮下腫瘍マウスモデルにCD発現RRVを腫瘍内投与して行った治療実験において、RRV治療群ではいずれも有意な腫瘍増殖抑制効果が認められた。

これらのデータは、RRVを用いた細胞死誘導型がんウイルス療法が、ヒトのみならずイヌのがん治療においても有用と考えられた。

SALL4プロモーター制御性腫瘍溶解性アデノウイルスはin vitroおよびin vivoにおいてラブドイド腫瘍の増殖を抑制する

吉田 秀樹¹、大矢 暁¹、宮地 充¹、柳生 茂希¹、勝見 良樹¹、菊地 顕¹、土屋 邦彦¹、小西 英一²、山本 正人³、家原 知子¹

¹ 京都府立医科大学大学院医学研究科 小児科学

² 京都府立医科大学大学院医学研究科 人体病理学

³ ミネソタ大学 外科 基礎・トランスレーショナル研究部門

【背景】ラブドイド腫瘍 (RT) は乳幼児期に好発する極めて予後不良な小児がんで、標準的な治療法は存在しない。小児がんの治療において生命予後改善はもちろんのこと、後遺症の少ない治療法の開発が重要である。SALL4は胚性幹細胞の多能性と自己複製を維持する役割を持ち、RTで高い発現が見られる。

【目的】本研究ではRTの新たな治療戦略として、SALL4のプロモーター (SALL4p) で制御した腫瘍溶解性アデノウイルス (SALL4p-OAd) の開発を試みた。

【方法】まず、RT細胞株、正常な脳および腎臓の組織でのSALL4の発現を、real time PCRを用いて比較した。次に、当院での10例の臨床症例におけるSALL4とコクサッキーアデノウイルス受容体 (CXADR) の発現を評価した。in vitroでは、AN、G401、およびYMの3つの細胞株を使用して、SALL4p-OAdのウイルス増殖および細胞溶解効果を比較した。またin vivoモデルでの抗腫瘍効果を分析するために、G401細胞をヌードマウスの皮下に接種し、その後SALL4p-OAdまたはPBSを腫瘍内に3回投与した。腫瘍の直径は週に2回測定した。

【結果】RT細胞株のSALL4のmRNA発現は、正常な脳と比較して4~400倍高値であった。病理学的には、10例のRT臨床症例のうち4例がSALL4陽性であり、すべての症例がCXADR陽性であった。in vitroでは、SALL4の発現が高いANおよびG401細胞でSALL4p-OAdが増殖し、殺細胞能を認められたが、SALL4の発現が低いYM細胞では効果が見られなかった。in vivoでは、SALL4p-OAdの投与は腫瘍壊死を誘導し、PBSの投与よりも腫瘍の成長を抑制した。これは、直接的な局所的な細胞殺傷効果があることを示唆していると考えられる。

【結論】SALL4p-OAdはSALL4が高発現しているRTに対して有効である可能性がある。

Oncolytic virotherapy improves resistance to paclitaxel in pancreatic cancer by suppressing MDR1 expression

Hiroaki Inoue¹, Hiroshi Tazawa^{1,2}, Yasuo Nagai¹, Satoru Kikuchi¹, Shinji Kuroda¹, Yasuo Urata³, Shunsuke Kagawa¹, Toshiyoshi Fujiwara¹

¹ Department of Gastroenterological Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan

² Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

³ Oncolys BioPharma, Inc., Tokyo, Japan

Background: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a highly lethal malignancy with a 5-year survival rate of less than 10%. Gemcitabine (GEM) and paclitaxel (PTX) are used as first-line drugs for treating patients with inoperable locally advanced or metastatic PDAC. However, the efficacy of chemotherapy is limited in PDAC patients and the chemoresistance contributes to the poor prognosis of PDAC patients. Therefore, we need to develop novel therapeutic strategy to improve the clinical outcome of PDAC patients. Oncolytic virotherapy has recently emerged as a novel antitumor therapy against PDAC. We generated a telomerase-specific oncolytic adenovirus OBP-702 that induces the tumor suppressor p53 gene. We recently demonstrated that OBP-702 exhibits a profound antitumor activity against human and murine PDAC cells. In this study, we investigated the therapeutic effect of OBP-702 against PTX-resistant PDAC.

Methods: Mouse PTX-resistant PDAC cell line PAN02 was established by sequential exposure to PTX for 3 months. The sensitivity to PTX and OBP-702 in monotherapy and combination therapy was analyzed by the XTT assay. The combination index was calculated using CalcuSyn software. The molecular mechanism of therapy-mediated cell death in PTX-resistant PAN02 cells were analyzed by Western blot analysis. To evaluate the therapeutic potential of combination therapy against PTX-resistant PDAC tumors, PTX-resistant PAN02 cells were subcutaneously implanted into C57BL/6J mice and PTX-resistant PAN02 tumors were treated with intraperitoneal injection of PTX and/or intratumoral injection of OBP-702.

Results: The PTX 50% inhibitory concentration values of PTX-resistant PAN02 cells were approximately 25-fold higher than those of the parental cells. Western blot analysis demonstrated that PTX-induced apoptosis, which was confirmed by the increased expression of cleaved PARP, was lower in PTX-resistant PAN02 cells than in parental cells. PTX-resistant PAN02 cells exhibited higher expression level of multidrug resistance protein 1 (MDR1), which is one of the ABC transporters to reduce the intracellular concentration and cytotoxicity of chemotherapeutic drugs by pumping the drugs out of cells. By contrast, OBP-702 efficiently suppressed the viability of both parental and PTX-resistant PAN02 cells. OBP-702 suppressed the MDR1 expression and synergistically improved the cytotoxicity of PTX in PTX-resistant PAN02 cells. In vivo experiments demonstrated that combination therapy with OBP-702 significantly improved the antitumor efficacy of PTX against PTX-resistant PAN02 tumors.

Conclusions: Our results suggest that MDR1 is an attractive therapeutic target for PTX-resistant PDAC. Oncolytic virotherapy is thus a promising strategy for reversing chemoresistance in PDAC patients via suppression of MDR1 expression.

マウス膵癌モデルにおける増殖型レトロウイルスベクターを用いたプロドラッグ活性化遺伝子治療と抗PD-1抗体の併用療法

丹羽 弘貴^{1,2}、中村 透¹、櫛谷 洋樹¹、鈴木 友啓¹、猪子 和穂¹、平岡 圭^{1,2}、稲垣 亮仁³、土川 貴裕¹、七戸 俊明¹、笠原 典之^{3,4}、平野 聡¹

¹ 北海道大学大学院医学研究院消化器外科学教室II

² 国立病院機構函館病院臨床研究部

³ カリフォルニア大学サンフランシスコ校脳神経外科

⁴ カリフォルニア大学サンフランシスコ校放射線治療科

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most lethal cancers and its clinical outcome remains poor, necessitating the development of novel therapeutic strategies. Prodrug activator gene therapy with Toca 511, a tumor-selective retroviral replicating vector encoding an optimized yeast cytosine deaminase (yCD) gene, has demonstrated therapeutic efficacy in a variety of preclinical cancer models and has shown some promise in clinical trials for recurrent high-grade glioma. Toca 511 exerts direct anti-tumor effects through yCD-mediated intratumoral conversion of the prodrug 5-fluorocytosine (5-FC) to the active drug 5-fluorouracil (5-FU). In addition, previous results suggest Toca 511/5-FC suicide gene therapy can also induce anti-tumor immunity. In recent years, immune checkpoint inhibitors (ICIs) were considered as a novel therapy in various cancers, but the therapeutic efficacy of single-agent ICI in clinical trials of advanced PDAC patients was poor. Therefore, various combination therapy with chemotherapy or radiotherapy for PDAC have been investigated to increase sensitivity to ICIs. Here, we first conducted CTL assay and immunohistochemical analysis and investigated the anti-tumor immunity induced by Toca 511/5-FC treatment in an immunocompetent murine bilateral subcutaneous PDAC tumor model. Furthermore, we evaluated the therapeutic effects achieved in combination with anti-programmed cell death protein 1 (PD-1) antibody. Bilateral subcutaneous tumor models were established in C57BL/6J mice by inoculation of the syngeneic murine PDAC cell line Pan02 into both flanks, and ipsilateral flank tumors were initially transduced with Toca 511, while contralateral flank tumors served as untransduced controls. In CTL assays, the 5-FC treatment group demonstrated significantly higher CD8⁺ T effector cell-mediated cytotoxicity against Pan02 target cells than did the PBS control group. In immunohistochemical analysis, the 5-FC treatment group showed significantly higher T cell infiltration than did the PBS control group. Combination therapy with Toca 511/5-FC treatment and anti-PD-1 antibody achieved significantly stronger tumor growth inhibition against untransduced tumors and longer survival compared with the other monotherapy groups. Furthermore, CD8⁺ or CD4⁺ T-cell depletion completely eliminated the therapeutic effects of combination therapy. These data showed that CD8⁺ or CD4⁺ T-cell-dependent anti-tumor immune responses were important for the therapeutic efficacy of Toca 511/5-FC treatment and combination therapy. These results indicate that Toca 511/5-FC treatment has the potential to increase the therapeutic efficacy of immune checkpoint inhibitors and the combination therapy may be a promising clinical treatment strategy for PDAC.

Oncolytic adenovirus armed with type I interferon elicits systemic antitumor immunity in immunocompetent replication-permissive pancreatic cancer models

Kazuho Inoko¹, Margarita Romanenko¹, Sacha Robert¹, Shuhei Shinoda¹, Mizuho Sato-Dahlman¹, Kari Jacobsen¹, Takuro Noguchi², Masato Yamamoto¹, Julia Davydova¹

¹ Division of Basic and Translational Research, Department of Surgery, University of Minnesota

² Department of Medical Oncology, Faculty of Medicine, Hokkaido University

Background/Objective: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) remains a highly fatal disease due to an immunosuppressive tumor microenvironment. Our strategy focuses on the use of oncolytic adenoviruses (OAd) as cancer therapeutics. OAd are designed to selectively replicate and spread within a tumor, resulting in immunogenic cell death (ICD), evoking strong antitumor immune responses. OAd are also capable of highly efficient delivery of immune-stimulating genes to cancer cells, achieving high concentrations of the gene products within the tumor. Here, we employed a replication competent OAd expressing syngeneic IFN- α (OAd-IFN), one of the most promising cytokines for combination strategies in cancer immunotherapy, and assessed its potential for therapeutic application in PDAC.

Materials and Methods/Results: For this study, we developed novel immunological tools to assess the immunomodulatory role of OAd-IFN in immunocompetent Syrian hamsters. Unlike commonly used mouse models, Syrian hamsters are permissive to OAd replication, providing an advantage in predicting OAd behavior in humans. We first evaluated the cytotoxicity of OAd-IFN and its gene production in hamster PDAC cell lines. OAd-IFN showed significantly higher cytotoxicity compared to the identical luciferase-expressing control virus (OAd-Luc). OAd-IFN infected PDAC cells secreted IFN- α in a dose and time dependent manner, indicating efficient gene expression. Next, we examined inflammatory responses by quantitative RT-PCR, and found that a variety of proinflammatory chemokine genes, including CXCR3 ligands, and MHC I were upregulated in OAd-IFN infected cells compared to OAd-Luc infected or uninfected cells. The level of extracellular ATP measured by bioluminescent assay was also significantly increased in OAd-IFN infected cells, suggesting the potential of OAd-IFN to induce ICD. We then evaluated *n vivo* therapeutic and immunomodulatory activities of OAd-IFN. Hamsters bearing HP-1 PDAC tumors on both flanks were treated intratumorally with OAd-IFN or OAd-Luc (2.5×10^9 pfu/injection), or PBS unilaterally every three days for a total of four injections. To evaluate the systemic efficacy (“abscopal effect”) of OAd-IFN, the right flank tumor was left untreated. Compared to the control groups, OAd-IFN showed significant tumor growth inhibition in not only the injected tumors, but also in the non-injected distant sites. Median survival was significantly improved in the OAd-IFN group without any adverse events. Importantly, we confirmed that, in this model, infectious viral particles (as quantified by TCID₅₀ assay) were restricted to only the injected sites, and were not responsible for the abscopal effect. These data suggest potential for OAd-IFN to induce direct oncolysis and systemic antitumor immunity *in vivo*. The underlying mechanisms of this phenomenon are currently being investigated using newly developed immunological assays for hamster models, including spatial transcriptome analysis.

Conclusion: This study demonstrated the potential of OAd-IFN to induce systemic antitumor immunity in immunocompetent OAd-permissive models, and will provide crucial knowledge for clinical translation of OAd-IFN-based therapies for PDAC.

免疫刺激性遺伝子改変コクサッキーウイルスB群3型とPD-L1阻害薬との併用治療による抗腫瘍効果の増強

相良 京¹、宮本 将平²、伊藤 駿¹、曾田 泰¹、秋山 徹¹、村橋 睦了²、谷 憲三朗¹

¹ 東京大学

² 東京慈恵会医科大学

近年、ウイルスが本来保有する細胞傷害性を利用した腫瘍溶解性ウイルス療法は、既存の抗悪性腫瘍薬と比較してその抗腫瘍作用機序が著しく異なっており、新たな治療法として注目されています。我々はこれまでにコクサッキーウイルスB群3型（CVB3）がヒト癌細胞を溶解する強力な能力を持つ新規腫瘍溶解性ウイルスであることを報告し、さらに臨床応用をめざし遺伝子改変を繰り返した結果、現在まで第二世代遺伝子改変腫瘍溶解性CVB3-BHPの開発に成功し安全性が著しく向上しました。

本研究ではCVB3の免疫刺激性を再検討し、CVB3の感染は非小細胞肺癌において細胞表面へのカルレティキュリンの大量発現とATPの分泌を誘導し、免疫原性細胞死に必要なHMGB1の核外移行を誘導しました。さらに、CVB3-BHPと抗PD-L1抗体の併用はマウス腫瘍モデルにおいてCVB3-BHPの単独投与と比較して腫瘍を大幅に退縮させ、生存率を向上させました。我々の結果は、CVB3-BHPは強力な免疫刺激性を有し、免疫療法と組み合わせることで難治性悪性腫瘍に対する新たな手段となり得る可能性があることを示唆しております。

Metformin and the oncolytic HSV C-REV combination promote antitumor efficacy in a bilateral pancreatic cell cancer subcutaneous model

Mohamed Abdelmoneim^{1,2,3}, Ibrahim Ragab Eissa^{1,2,4}, Mona Alhussein Aboalela^{1,2,5}, Yoshinori Naoe¹, Shigeru Matsumura¹, Patricia Sibal¹, Itzel Bustos-Villalobos¹, Maki Tanaka⁶, Yasuhiro Kodera², Hideki Kasuya¹

¹ Cancer Immune Therapy Research Center, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Nagoya, Japan

² Department of Surgery II, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Japan

³ Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, Zagazig, Egypt

⁴ Faculty of Science, Tanta University, Tanta, Egypt

⁵ Medical Microbiology and Immunology Department, Faculty of Medicine, Zagazig University, Zagazig, Egypt.

⁶ Takara Bio Inc., Kusatsu, Shiga, Japan

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common form of pancreatic cancer, and it represents the fourth leading cause of cancer death in Japan. The current standard of care for patients with PDAC focuses on pancreatic cancer surgery and chemotherapeutic regimens. However, limited treatment options, advanced tumor stages due to late diagnosis, and the aggressive behavior of PDAC contribute to the disease's high mortality. Recently, immunotherapy has been considered a promising approach to cancer treatment. Even though advancements in cancer immunotherapy, it showed limited preclinical and clinical response against pancreatic cancer. One immune therapeutic targeted agent with the potential against cold tumors is Oncolytic viruses (OVs). Canerpaturev (C-REV) is a promising OV, which was originally isolated from herpes simplex virus-1 (HSV-1) strain HF as clone 10 (Previously known as HF10). C-REV showed potent antitumor effects against various preclinical models, including pancreatic cancer. Metformin is an FDA-approved, commonly prescribed systemic antidiabetic medication for type II diabetes patients. Recently, metformin demonstrated its cancer antitumor effectiveness. We hypothesized that the combination of C-REV as an oncolytic virus plus metformin might be a good option for pancreatic cancer treatment. *In vitro*, low doses of metformin, comparable to the physiological concentration *in vivo*, did not affect C-REV replication nor the cytotoxicity of C-REV. However, in the *in vivo* model, intratumoral administration of C-REV with the systemic administration of metformin led to synergistic antitumor effect on both tumor sides and prolonged survival. Combination therapy enhanced the infiltration of IFN- γ ⁺ CD8⁺ CD3⁺ cells. Moreover, the combination therapy increased the effector CD44⁺ CD8⁺ PD1⁻ and CD69⁺ CD8⁺ PD1⁻ subsets as well as decreased the proportion of terminally-differentiated CD103⁺ KLRG-1⁺ T-regulatory cells on both sides of the tumor. Besides, combination treatment significantly increased tumor-infiltrating DCs (CD11c⁺ MHC-II⁺) on both sides. Especially, combination therapy significantly enhanced XCR-1 expression on cDC1 on both sides. Moreover, combination treatment increased the cDC1 population in the TDLNs. These results suggest that combination therapy may modulate conventional dendritic cells type-1 (cDC1) on tumors and tumor-drained lymph nodes. Our findings provide new insights into the role of combination treatment in modulating immune-suppressive tumors.

CISノックアウトヒト同種NK細胞の膠芽腫に対する抗腫瘍効果

中澤 務^{1,2,3}、前岡 良輔¹、森本 亮之¹、松田 良介¹、中村 光利^{1,3,4}、辻村 貴弘^{1,2}

¹ 奈良県立医科大学脳神経外科

² グランソール免疫研究所

³ グランソール奈良

⁴ 医療法人拓誠会辻村病院

膠芽腫は最も一般的な悪性脳腫瘍で「immunologically cold」の特徴を有している。膠芽腫を「immunologically hot」に変えるためには初期免疫応答を誘導する強力な引き金が必要である。同種ナチュラルキラー細胞（NKC）はがんに対する有望な免疫療法ツールとして注目されており、遺伝子編集された同種NKCはがん治療の有効な手段となりえる。今回の研究ではNK細胞の免疫チェックポイント分子の1つであるCIS（Cytokine-Inducible SH2-containing protein）に着目し、ヒトNK細胞の独自増幅培養技術とゲノム編集技術を組み合わせることで臨床応用可能なCISをノックアウトしたヒト末梢血由来NK細胞（CIS-KO-NKC）の誘導を試みた。CIS遺伝子特異的ガイドRNA/Cas9タンパク質複合体をNKCに導入することで、高い増幅効率を維持しつつ、NK細胞内のCIS遺伝子の発現をほぼ完全に抑制した。包括的遺伝子発現解析によりCIS-KO-NKCにおいて265遺伝子の発現が増加し、86遺伝子の発現が減少していることが明らかとなった。さらにGene set enrichment analysis（GSEA）により、CIS-KO-NKCではエフェクター機能に関与する遺伝子の発現がエンリッチされていることが確認された。機能解析の結果、CIS-KO-NKCではINF γ とTNFの産生が増加しており、同種GBM細胞およびスフェロイドに対するアポトーシスの誘導効果も増強していた。さらにCIS-KO-NKCの頭蓋内投与は膠芽腫モデルマウスの全生存期間を延長した。以上の結果より、同種CIS-KO-NKCはGBMに対する有望な免疫療法の1つとなりえる。

Glioblastoma (GBM) is the most common malignant brain tumor and has “immunologically cold” features. Changing GBM to an “immunologically hot” tumor requires a strong trigger that induces initial immune responses in GBM. Allogeneic natural killer cells (NKC) have gained considerable attention as promising immunotherapeutic tools against cancer, where gene-edited NKCs would result in effective anti-cancer treatment. We focused on the immune checkpoint molecule cytokine-inducible SH2-containing protein (CIS) as a critical negative regulator in NKCs. We induced human primary CIS-knockout NKCs (CIS-KO-NKCs) by combining our specific human NKC expansion method and genome editing technology. *CIS* gene-specific guide RNA/Cas9 protein complex suppressed CIS expression in the expanded NKCs with high expansion efficacy. Comprehensive gene expression analysis demonstrated increased expression of 265 genes and decreased expression of 86 genes in CIS-KO-NKCs. Gene set enrichment analysis (GSEA) revealed that the enriched genes were involved in NKC effector functions in CIS-KO-NKCs. Functional analysis revealed that the CIS-KO-NKCs had increased INF γ and TNF production. *CIS* deletion enhanced NKC-mediated apoptosis induction against allogeneic GBM cells and spheroids. Intracranial administration of CIS-KO-NKCs extended the overall survival of brain tumor-bearing NOG mice. *CIS* deletion enhanced the NKC-mediated anti-tumor effects in allogeneic GBM. Allogeneic CIS-KO-NKCs could be a promising immunotherapy for patients with GBM.

自動培養装置を活用したCAR-T製造法の開発と製造コスト削減

小原 惇、小川 彩空、松川 晋也、高橋 美智子、松田 悠佳、山本 美樹、田原 謙一、峰野 純一

タカラバイオ株式会社CDMセンター

遺伝子治療は細胞に対する遺伝子導入を行い、疾患を治療する先端医療の一つである。遺伝子治療の特性として、高コスト、無菌性、製造工程の煩雑さがあげられ、製造工程の開発段階から多くの人的・金銭的リソースを要求する。本発表では、従来の手作業主体の製造工程における課題を解決するために、自動培養装置、CliniMACS Prodigy（ミルテニーバイオテック社製）を活用した製造工程の開発を行った。

本開発では、CAR-T製造を事例として、PBMC（Peripheral Blood Mononuclear Cells）を出発原料として、T細胞の単離、活性化、遺伝子導入、ウイルス液の洗浄、拡大培養、製剤化の各工程を自動化することを目指した。自動培養装置を用いたCAR-T製造では、従来の手作業による製造工程と比較して、製造コスト、無菌性、煩雑さの観点から優れた成果が得られた。具体的には、自動培養装置を活用したCAR-T製造では、人の手が介在しないことで工数の削減、無菌性の維持、製造結果の再現性の向上の3点で手作業による製造工程を上回る成果を示した。これらの結果により、自動培養装置の積極的な活用により、開発段階や治験薬の製造において必要なリソース・将来的なコストの削減が期待できる。

今後、遺伝子治療が広く普及するためには自動培養装置による遺伝子治療の製造工程が不可欠であり、効率的かつ安定的な品質維持を実現する上で重要な役割を果たすことで遺伝子治療の発展に寄与すること示唆する。

高活性NK様細胞の凍結融解後抗腫瘍活性維持メカニズムの解明

析 雨夫、米満 吉和、原田 結、諸富 洋介

九州大学

背景：NK細胞は抗腫瘍活性を持つリンパ球の一つで、悪性腫瘍に対する細胞療法への応用開発が世界的に進められている。当研究室では、難治性固形腫瘍に対して特に高い抗腫瘍活性を有するNK様細胞（GAIA-102）を見出し、現在3つの治験を並行して推進している。医療現場において細胞製剤を安定的に供給するためには、細胞を凍結保存し、off-the-shelf化する技術が必要であるが、高活性NK細胞は凍結保存の過程で細胞生存率と抗腫瘍活性が低下することが知られ、GAIA-102についても解決すべき課題であった。我々はその解決に取り組み、点滴剤であるPlasma-Lyte A（日本未承認）がGAIA-102の融解後の細胞生存率と抗腫瘍活性を維持可能なことを発見したが、そのメカニズムは未だ明らかになっていない。

目的：そこで本研究では、Plasma-Lyte Aの組成に着目し、原因成分の特定を行い、最適組成の点滴剤を開発することを目的とした。

方法：凍結保存されたGAIA-102の融解の際に用いる希釈液の組成に着目し、日本で承認されている細胞外液組成の点滴剤等を比較対象に用いた。また、各種イオンチャネル阻害剤を使用し、GAIA-102融解後の細胞生存率と抗腫瘍活性に影響を与える因子の特定を行った。

結果：Ca⁺が細胞生存率の主要な低下要因であり、抗腫瘍活性の維持にはK⁺が極めて重要であることが明らかになった。特に、Na-K-2ClおよびNa⁺/K⁺-ATPアーゼ共輸送体によるK⁺の流入が抗腫瘍活性の維持に必要であることが明らかになった。

考察：本研究で凍結GAIA-102の融解時に使用される点滴剤が満たすべき条件の一端が明らかになった。細胞を有効成分とする再生医療等製品に広く応用が期待されると共に、本成果に基づいて、我々はPlasma-Lyte Aより優れた効果を持つ点滴剤の開発を進めている。

難治性固形腫瘍に対する GAIA-102 の治療効果とそのメカニズムの解明

鄭 思拓、原田 結、諸富 洋介、米満 吉和

九州大学薬学研究院革新的バイオ医薬創成学

背景：免疫チェックポイント阻害剤はがん治療において獲得免疫の重要性を示した一方、その奏功は未だ限定的であり、CAR-T細胞も固形腫瘍に対しては十分な有効性を示せていない。この課題を克服すべく、我々が開発を進めるNK様細胞（GAIA-102）は実験的に固形腫瘍に極めて高い治療効果を示すことから、現在固形腫瘍を対象とした3つの治療が進められている。GAIA-102による治療効果の特徴の一つは腫瘍に対する獲得免疫の効率的な誘導であるが、その詳細なメカニズム、特に抗原提示細胞（APC）への作用はまだ明らかになっていない。

目的：本研究ではGAIA-102が獲得免疫を誘導するメカニズムをCTLとAPCの機能の観点から解明することを目的とした。

方法：GAIA-102は複数ドナーのPBMCを混合したものを原材料として製造した。凍結融解を行なったのち培養上清を経時的に回収し、SK-N-SH細胞の培養に用いた。MHC-Iの発現変化はフローサイトメトリーで解析した。また、GAIA-102とCT26を共培養し、calreticulinとHSP70の表出をフローサイトメトリーで解析した。

結果：GAIA-102の培養上清はSK-N-SHのMHC-I発現を上昇させたが、この効果はIFN- γ の中和抗体によって消失した。また、GAIA-102とCT26の共培養によって、early apoptoticとなったCT26の細胞膜上にDAMPs (Damage-associated molecular patterns) の一つであるHSP70とcalreticulinの表出が確認された。

考察：GAIA-102による獲得免疫の成立にはIFN- γ を介したMHC-I発現の増加およびDAMPsの誘導が重要である事が示唆され、GAIA-102が効率的にimmunogenic cell death (ICD) を誘導している可能性が示された。

Next generation cytogenomics with optical genome mapping: quality assessment for cell bioprocessing

Nandita Mullapudi, Yannick Delpu, Alex Hastie, Andy Pang, Niall Hickey, Yingying Wu, Alessio Venier, Alicia Bertolotti, Alka Chaubey

Bionano

Background: Identifying the breadth of variants emerging during cell culture or the mutations in off-target sites is a crucial step in the quality assessment and production of human cells. Optical Genome Mapping (OGM) is a technology that can detect cytogenomic aberrations (Copy Number Variants and Structural Variants) starting at 500 bp in size. In contrast to methods like karyotyping, chromosomal microarray (CMA), FISH or sequencing, OGM is sufficiently versatile to identify all classes of SVs with high sensitivity and specificity.

Objective: To demonstrate the utility and advantages of OGM for the detection of cytogenomic aberrations for quality assessment during cell bioprocessing.

Materials and Methods: Ultra-high molecular weight genomic DNA is isolated from parental and subsequently passaged or genome-edited cell lines using the Bionano Sample Preparation kit. DNA is quantified, labelled using the Bionano Direct Label and Stain reagents and loaded onto the Saphyr Chip for optical genome mapping using the Saphyr instrument. Upon completion of the run, raw data are collected, and subjected to de novo assembly and variant annotation using the Bionano Solve pipeline. Variant calls are managed within the Bionano Access software, where filters are applied to prioritize classification on variants likeliest to have a biological impact.

Results: OGM was successful in the identification of cytogenomic aberrations in cell lines that were passaged in culture, or, in cell lines post genome-editing.

Conclusions: OGM provides a streamlined approach for the comprehensive detection of cytogenomic aberrations that might be missed by traditional approaches for quality assessment during cell bioprocessing.

Author Index

[A]		Clevio Nobrega	IL1	Furukawa Yoichi	O12-1
Abe Hiroyuki	S6-2			Furuya Hirokazu	O12-7
Adachi Kumi	O12-6	[D]			
Adrian P Kells	IL4*	David Baram	SL2*	[G]	
Aikawa Haruo	O5-2	David C. Dale	SL2	Ganesh Krishnamoorthy	O11-6
Akita Hidetaka	NA-3*	David Dismuke	O11-6	Guillermo Posadas-Herrera	S9-1, O5-6
Akiyama Tetsu	O13-7	Dexi Liu	S6-2	Guisheng Zhang	S6-2
Alessio Venier	O14-5	Dhwanil Dalwadi	O11-5	GuoLing Li	S4-1
Alexander P. Murphy	S4-4*	Dongwei Zhao	S5-1		
Alex Haile	S7-3	Dong Yang	S4-1	[H]	
Alex Hastie	O14-5	Dotan Omer	SL2	Hanaoka Hideki	PS-4
Alicia Bertolotti	O14-5			Harada-Shiba Mariko	S6-1
Alka Chaubey	O14-5	[E]		Harada Yui	O14-3, O14-4
Alvin Luk	S4-1*	Edasawa Kaori	O6-4	Hasegawa Aiko	O8-5
Amaishi Yasunori	O5-1, O8-1	Edo Michiko	O9-4	Hashiba Noriko	S9-2
Amber D Van Laar	IL4	Eguchi Maho	O4-1	Hashizume Ryotaro	O9-7
Anananuchatkul Teerapat	O5-2	Emilie Rey	IL1	Hattori Nobutaka	O12-1
Ando Yukiko	O6-4	Emoto Takenori	CO*	Hayakawa Morisada	PS-3, O4-6
Andy Pang	O14-5	Endo Kazuhiro	PS-3	Hayashi Masahiro	O8-6
Anzai Tatsuya	O4-3	Enejda Subashi	IL1	Hayashita-Kinoh Hiromi	
Aoki Kazunori	S8-3*	Enoki Tatsuji			S9-1, O1-4, O5-6
Arai Yasuyuki	SP3-3*, PSP3*	O5-1, O5-3, O5-4, O8-1, O9-6		Hayashi Yuka	O9-5, O11-2*
Asael Herman	SL2	Era Takumi	O12-7*	Hichem Tasafout	JS-1
Asano Yoshihiro	S6-4*			Higashiyama Kiyoko	S9-2
Aso Masayuki	PS-4	[F]		Higuchi Takashi	S5-3, O6-3
Aya Koichiro	O10-4*	Farah Chali	IL1	Hildegard Büning	IL2*, JS-2*
		Frank Agbogbo	O11-6	Hio Seitaro	O13-1
[B]		Fuad Gandhi Torizal	O4-3	Hirabayashi Koichi	O8-4, O8-5
Baatartsogt Nemekhbayar	O4-6	Fujiki Toshihiro	O6-1	Hirai Hirokazu	
Bach Ngoc Nguyen	O2-1*	Fujimoto Toshio	SP1-4*	PS-1, O1-3, O1-5*, O9-3, O11-3, O11-5	
Bandoh Karin	O5-7	Fujino Hiroaki	O3-5	Hirai Masahiro	PS-2
Bar Dagan	SL2	Fujisawa Masato	O7-5	Hirai Yugo	S9-3*
Behman Sayanjali	S7-3	Fujiwara Toshiyoshi	S2-2, O3-7, O13-4	Hirai Yukihiko	S9-1, O4-7, O5-6
		Fukai Yuuki	O1-5, O9-3, O11-3*	Hiraki Yuri	O2-3*
[C]		Fukuda Sonoda Emiko	O13-2*	Hiramoto Takafumi	PS-3
Catja Freiburghaus	S7-3	Fukuhara Mitsuko		Hirano Satoshi	O13-5
Chayama Hiromi	O12-1	O2-3, O5-7*, O9-1, O10-7		Hiraoka Kei	O13-5
Chono Hideto	O5-3, O9-2	Fukuhara Takasuke	O12-1	Hiraoka Nobuyoshi	S8-3
Christina Chatzi	O11-5	Fukuike Rin	O6-2*	Hirata Erika	O7-5

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
 SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
 DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
 NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
 GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
 GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
 O: Oral Session *Speaker

Hirohata Kiichi	O10-7	Ito Shun	O1-1, O13-7	Kasuya Hideki	
Hisada Sunao	O2-5	Itzel Bustos-Villalobos	O13-8	S8-1*, O3-2, O3-3, O8-2, O13-8	
Hishikawa Shuji	PS-3	Itzel Villalobos Bustos	O3-2, O3-3	Katakai Yuko	PS-3
Honda Yuto	O1-4, O7-3, O12-2*	Iwasaki Masaharu	JSV-3*	Kataoka Kazunori	O1-4
Horii Yuto	O6-2	Iwasaki Miho	O4-5	Kato Katsunobu	SL1*
Hori Syuho	YS-1			Kato Kazuto	ED3*
Hosen Naoki	PSP1*	[J]		Kato Mitsuhiro	JSGCT-JSCN1*
Hotta Akitsu	GE-4*	Jeffrey Scott Chamberlain	JS-1*	Kato Yuki	SP3-2*
Hui Yang	S4-1	Jen Ahner	S7-3	Katsumi Yoshiki	O13-3
		Jinno Masafumi	O12-4, O12-5	Kawabata Hayato	PS-1*, O1-5
[I]		John Fraser Wright	S7-2*	Kawai Kensuke	O9-5
Ibrahim Ragab Eissa	O3-2, O13-8	John Snedeker	S7-3	Kawakami Ryo	O4-3
Ichimura Yoshinobu	O12-1	Joseph C Glorioso	O9-7	Kawamata Shin	S1-4*
Ichinose Toru	O3-2	José A. OBESO	IL3*	Kawano Tomohiro	O2-5
Ide Teruhiko	O10-5	José Luis Millán	S5-1	Khalid Shah	S2-1, S2-2
Iehara Tomoko	O13-3	Julia Davydova	O13-6	Kikuchi Ken	O13-3
Ihara Satomi	O12-4, O12-5	Justus B Cohen	O9-7	Kikuchi Satoru	O3-7, O13-4
Iizuka Sayoko	O6-3			Kikuchi Tomohiro	PS-3
Iizuka Shunsuke	O6-3	[K]		Kimura Koichi	O8-6
Ikawa Yasuhiro	O6-1	Kagawa Shunsuke	O3-7, O13-4	Kinoh Hiroaki	O1-4*, O7-3
Ikeda Yoshihisa	O12-4, O12-5	Kagoya Yuki	O5-1	Kinoh Hiromi	O4-7, O9-7, O11-1
Ikegami Tsuyoshi	O2-5	Kaitlin Adegboye	S7-3	Kinoshita Masafumi	O6-3
Ikemoto Sena	O1-2, O7-4	Kaitsurumaru Emi	O3-1	Kitabatake Yasuji	GE-3*
Imadome Kenichi	O6-4	Kajii Yasushi	SP1-1*	Kitagawa Koichi	O7-5
Imahuku Jyurai	YS-1	Kakiuchi Yuko	O8-6, O11-1	Kitajima Yuri	O1-2
Imaikire Atsushi	O6-3	Kamada Haruhiko	O1-2	Kitamura Tomoaki	O2-1
Imai Ryotaro	O8-3	Kamai Horoyuki	SP2-1*	Kitamura Yohei	S2-1*
Inagaki Akihito	O13-5	Kameyama Tatsuya	O10-4	Kita Yuto	GE-4
Inoko Kazuho	O3-4, O13-5, O13-6*	Kamimura Kenya	S6-2*	Kiyono Tohru	O12-1
Inoue Hiroaki	O3-7, O13-4*	Kamitani Wataru	O12-1	Kiyotake Ishikawa	S7-1*
Inoue Hiroyuki	O1-1	Kamiya Hideaki	YS-1	Kobayashi Hiroshi	S5-3, O6-3
Inoue Takao	O10-2, O10-3	Kamori Nijiho	O6-2	Kobayashi Takeshi	JSV-2*
Inui Seina	O5-1	Kamoshita Nobuhiko	PS-3, O4-6	Kobayashi Yuka	O9-4
Ishigami Ikuho	YS-3*	Kanaya Nobuhiko	S2-1, S2-2*	Kodera Hiroto	O4-7
Ishihara Daishi	O5-3	Kanefuji Tsutomu	S6-2	Kodera Yasuhiro	O13-8
Ishii Hideki	O4-3	Kaneko Shin	PSP4*	Kohara Jun	O14-2*
Ishii J Ken	O4-1	Kanki Hideaki	O2-5	Koitabashi Norimichi	O4-3
Ishikawa Ko	PS-4	Kari Jacobsen	O5-5, O7-1, O13-6	Koizumi Makoto	NA-4*
Ishikawa Toshiko	O9-6	Kasahara Noriyuki	O3-5, O13-2, O13-5	Kojima Karin	S5-2*, PS-2
Ishikawa Yuriko	O6-4	Kasahara Yuko	O4-7, O8-6*, O11-1	Komaki Hirofumi	JSGCT-JSCN3*
Itoh Kohji	O6-2	Kashiwakura Yuji	PS-3*, O4-6	Komatsu Masaaki	O12-1
Ito Mika	O2-2			Komorizono Ryo	JSV-1*

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
O: Oral Session *Speaker

Konishi Eiichi	O13-3	Makino Yuriko	O10-5	Miyake Koichi	S5-1
Konno Ayumu		Margarita Romanenko	O13-6	Miyake Noriko	S5-1
	PS-1, O1-3*, O1-5, O9-3, O11-3	Maruno Takahiro		Miyamoto Shohei	O1-1, O13-7
Kosai Kenichiro	S8-2*		O5-7, O7-2, O9-1, O10-7*	Miyaoka Satomi	O11-1
Koshu Ryota	O2-2	Maruyama Motoyo	O9-7	Miyoshi Mizuki	O6-2
Kotani Tomohiro	O9-2*	Maruyama Yuta	O8-4	Mizobe Marina	PS-2*
Koyama Nobuhito	O7-2	Mashimo Tomoji	SP1-2*	Mizuguchi Hiroyuki	S2-3, YS-3, O1-2
Krystof S Bankiewicz	IL4	Massimo S Fiandaca	IL4		O4-1, O4-5, O7-4, O12-3
Kubo Shuji	O3-5*, O13-2	Matsudaira Nozomi	O1-4, O7-3*	Mizukami Hiroaki	
Kubota Yoshitaka	PS-4	Matsuda Ryosuke	O14-1		O4-2, O5-4, O9-5, O11-2
Kudo Yoko	O5-3, O8-1	Matsuda Yuka	O14-2	Mizuta Haruna	O12-3
Kume Akihiro	PS-3	Matsukawa Shinya	O14-2	Mochizuki Hideki	
Kurihara Kento	O10-5	Matsumoto Jun	S3-1*		DB*, O2-3, O2-4, O2-5, O8-5
Kurinomaru Takaaki	O7-2, O10-7	Matsumoto Tae	S5-1*	Mohamed Abdelmoneim	
Kurioka Kyoko	O13-1	Matsumura Shigenobu	O2-5		O3-2, O3-3, O8-2, O13-8*
Kuroda Masayuki	PS-4*	Matsumura Shigeru		Mona Alhussein Aboalela	
Kuroda Seiji	O9-7, O12-6		O3-2, O3-3*, O8-2, O13-8		O3-2, O3-3, O8-2*, O13-8
Kuroda Shinji	S2-2, O3-7, O13-4	Matsumura Tsuyoshi	O2-6	Mori Harushi	PS-3
Kurokawa Yoshie	S5-2	Matsuo Takumi	O12-2	Moriishi Kohji	O12-1
Kurosaki Aki	YS-1	Matsushima Saki	S5-3, O6-3*	Morimoto Daishi	O3-2
Kurosaki Hajime	O3-1	Matsushita Aoba	O5-7	Morimoto Takayuki	O14-1
Kurosawa Yae	O11-1	Matsushita Naoki	O7-2*	Morishita Ryuichi	CL*, JS-3*
Kushiya Hiroki	O13-5	Matsuzaka Yasunari	S9-1	Morodomi Yosuke	O14-3, O14-4
Kuwabara Takayoshi	O9-4	Matsuzaki Yasunori	PS-1, O1-5, O4-7*,	Motohashi Yuko Shimizu	SP3-4*
Kuwahara Hiroya	JSGCT-JSCN5		O9-3*, O11-3, O11-5	Mukoyama Nobuaki	O3-2, O3-3
Kyle Cochran	S7-3	Maya Noff	SL2	Murahashi Mutsunori	O13-7
Kyoko Masumi-Koizumi	S9-2	Michinaga Shotaro	O4-5	Murakami Takashi	O8-5
		Mihara Emiko	O5-2, O7-6	Murakami Yoshiko	S4-3*
[L]		Mikamoto Takenari	O4-5	Muramatsu Kazuhiro	
Lena Winstedt	S7-3	Milit Marom	SL2		JSGCT-JSCN4*, PS-2
Liat Rockah	SL2	Mineno Junichi		Muramatsu Shin-ichi	PS-2, PS-3, O2-2
LinYu Shi	S4-1		O5-3, O5-4, O8-1, O9-2, O14-2		
Lior Izhar	SL2	Mishima Shuji	O8-4*, O8-5	[N]	
Louis-Habib Parsai	IL1	Mitani Tadahiro	PS-2	Nagai Kohei	PS-2
Louise R Rodino-Klapac	S7-3	Mitsukawa Nobuyuki	PS-4	Nagai Yasuo	O3-7*, O13-4
Luis Pereira di Almeida	IL1	Mitsunaga Shuichi	S8-3	Nagai Yoichi	O9-4*
		Miura Akane	O6-4*	Nagano Satoshi	S8-2
[M]		Miura Hiromi	YS-1*	Nagano Seiichi	O2-3, O2-5
Maeoka Ryosuke	O14-1	Miura Toshiyuki	O5-3	Nagao Shuhei	O1-4, O7-3
Maezawa Yoshiro	PS-4	Miura Yutaka	O7-3	Nagao Yasumitsu	O4-3
Maki Izumi	O5-1*	Miyachi Mitsuru	O13-3	Nagata Ryouyuke	O5-1
Maki Kazushige	S3-2*	Miyagawa Yoshitaka	O9-7*, O12-6	Nagata Tetsuya	JSGCT-JSCN5

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
O: Oral Session *Speaker

Nagoya Miho	O4-7	Noda Masanori	O10-7	[P]	
Nakabayashi Kazuhiko	O6-4	Noda Masao	O2-2*	Patricia Angela Alvero Sibal	O3-2*, O3-3
Nakagami Hironori	S6-3*	Noguchi Kazuhiro	O6-1*	Patricia Sibal	O13-8
Nakagawa Shinsaku	O12-3	Noguchi Shunsuke	O13-2	Patricia SIBAL	O8-2
Nakahara Tomomi	O12-1	Noguchi Takuro	O13-6	Praveen Hajeri	O7-1
Nakai Hiroyuki	O11-5*	Nomoto Takahiro	O12-2		
Nakaishi Tomoyuki	O8-6	Nonaka Michika	O9-1	[R]	
Nakakuni Masayoshi	GC-1*	Numakawa Tadahiro	O12-7	Rachael A Potter	S7-3*
Nakamura Hitoyasu	PS-3			Rachael Lake Hardison	O11-6*
Nakamura Masayuki	O5-5	[O]		Rafi Emmanuel	SL2
Nakamura Mitsutoshi	O14-1	Obika Satoshi	NA-2*	Razan Ahmed	O4-3
Nakamura Takafumi	S2-4*, O3-1	Odaka Haruki	O12-7	Rivkah Rogawski	SL2
Nakamura Toru	O13-5	Ogawa Sara	O14-2	Roy Sirkis	SL2
Nakanishi Hiroki	O4-5	Ohashi Toya	S5-3, O6-3	RUHAN A	O7-5*
Nakanishi Tomoko	O12-1*	Ohba Kenji	O4-2, O5-4*, O9-5, O11-2,		
Nakano Tomomi	O9-2	Ohmori Tsukasa	GE-1*, PS-3, O4-6*	[S]	
Nakatake Motomu	O3-1*	Ohoka Nobumichi	O10-2	Sacha Robert	O13-6
Nakayama Soya	O8-6	Ohtsuka Masato	YS-1	Sagara Miyako	O13-7*
Nakayama Tojo	JSGCT-JSCN5*	Ohtsuki Kota	O6-3	Saga Yasushi	O4-2
Nakazawa Tsutomu	O14-1*	Okada Tadashi	O1-4	Saiki Takuya	O12-4, O12-5*
Nakazawa Yozo	S1-1*, O8-4, O8-5	Okada Takashi	S9-1, O4-7, O5-6, O9-7,	Saito Chizu	O2-2
Nandita Mullapudi	O14-5*		O10-5, O11-1, O12-6	Saito Izumu	O12-1
Naoe Yoshinori	O3-2, O3-3, O8-2, O13-8	Okada Yukihiro	O1-3	Saito Shunsuke	O10-1*, O11-4
Narisawa Sonoko	S5-1	Okamoto Sachiko	O5-1, O5-3, O8-1, O9-6	Saito Toshio	O2-6*
Nathalie Cartier	IL1*	Okano Hideyuki	RM-3*, O8-3	Saito Yasushi	PS-4
Nathalie Uzcátegui	S7-3	Oki Kentaro	SP2-4*	Sakai Atsushi	O9-7
Nemekhbayar Baartartsogt	PS-3	Okumo Tsuyoshi	O10-4	Sakai Eiko	O12-3
Niall Hickey	O14-5	Okura Takashi	JSV-4*	Sakai Mashito	O12-6
Nicole Pukos	S7-3	Okuyama Torayuki	GC-4*	Sakai Yuta	O6-1
Nir Hecht	SL2	Omasa Takeshi	O9-1	Sakamoto Akira	O1-1
Nir Shahar	SL2	Omura Keita	O10-5	Sakamoto Shuhei	O5-3, O9-2
Nir Shpak	SL2	Onaka Megumi	O5-7	Sakata Yoichi	PS-3
Nishie Toshikazu	O5-3, O7-2, O8-1	Onishi Rika	O1-2, O7-4*	Sakiyama Yoshio	O11-2
Nishikawa Soudai	YS-1	Onishi Takayuki	O9-1*	Sakurai Akira	S3-3*
Nishimura Yuya	O11-4*	Onodera Masafumi	ED2*, O2-4, O6-4	Sakurai Fuminori	S2-3*, YS-3, O1-2,
Nishinaka Toru	O4-5	Ono Moe	O4-5		O4-1*, O4-5, O7-4, O12-3
Nishiyama Kumiko	O2-5	Ono Ryosuke	S2-3	Samuel J Huang	O11-5
Nishiyama Nobuhiro	O1-4, O7-3, O12-2	Onuki Yoshiyuki	PS-2	Sandro Alves	IL1
Nitahara-Kasahara Yuko	S9-1	Osaka Hitoshi	PS-2	Sano Keigo	SP2-2*
Nito Chikako	O8-6	Otsuki Noriyuki	JSV-4	Sano Yumi	O7-6
Niwa Hiroki	O13-5*	Oya Satoru	O13-3	Sasaki Hikaru	S2-1
Noda Katsuki	O7-2	Ozawa Keiya	O5-4	Sasaki Takako	O11-1

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
O: Oral Session *Speaker

Sasaki Tsutomu	O2-3, O2-5*	Steven Wesel	O11-6	Tanaka Rina	O9-6
Sata Naohiro	PS-3	Suda Takeshi	S6-2	Tanaka Shinya	O7-2
Sato-Dahlman Mizuho		Suga Hiroaki	O5-2, O7-6	Tanaka Susumu	O13-1
	O3-4, O7-1*, O13-6	Sugauchi Akinari	O13-1*	Tanaka Toru	O10-5
Sato Akiyuki	O10-4	Sugo Ken	S9-1, O4-7, O5-6	Tanaka Yoshinori	O9-6*
Sato Hideaki	NA-1*	Sukegawa Makoto	O12-6*	Tanaka Yuto	S6-2
Satosu Susumu	O12-4, O12-5	Susana Moleirinho	S2-1	Taniai Nobuhiko	O12-6
Sato Mizuto	O8-3	Suzuki Hidenori	O9-7	Tani Kenzaburo	O1-1*, O13-7
Sato Moritoshi	JSV-4	Suzuki Keiichiro	GE-2*	Tazawa Hiroshi	O3-7, O13-4
Sato Tsuyoshi	O7-6	Suzuki Takuma	O3-6*	Terada Chisato	S6-1
Sato Yuriko	O9-7	Suzuki Tomohiro	O13-5	Terada Tomoyuki	O4-5
Sawa Yoshiki	RM-2*			Terai Shuji	S6-2
Sehara Yoshihide		[T]		Terashima Tomoya	O2-1
	O4-2, O5-4, O9-5*, O11-2	Tachibana Masashi	O4-1, O7-4	Thanyavi Chinsuwan	O8-5*
Sereirath Soth	O10-6*	Taga Naoyuki	PS-2	Ting Su	S7-3
Shibata Osamu	S6-2	Tahara Hideaki	O3-6	Toda Masahiro	S2-1, O8-3
Shibuya Risa	O5-7	Tahara Kenichi	O14-2	Todo Tomoki	O13-1
Shichinohe Toshiaki	O13-5	Tahara Maino	JSV-4	Togashi Tomoki	YS-2*
Shimada Mari	O2-2	Takagi Haruna	O6-3	Tokuyama Takeshi	O4-3
Shimada Yohta	S5-3*, O6-3	Takagi Junichi	O5-2*, O7-6	Tomita Koji	O4-5
Shima Yoshizumi	JSV-1	Takahashi Michiko	O14-2	Tomonaga Keizo	JSV-1
Shimazaki Kuniko	O9-5	Takahashi Ryosuke	DB*	Tong Li	S4-1
Shimizu Kahori	O4-5*	Takahashi Takeshi	SP1-3*	Tonoike Nozomu	O9-4
Shimizu Kimihiro	O8-4, O8-5	Takahiro Nomoto	O1-4	Torisu Tetsuo	O9-1, O10-7
Shimoda Hirokazu	SP2-3*	Takarada Toru	O13-2	Tosaka Yasuhiro	O9-2
Shimoi Akihito	O8-5	Takayama Masanori	O10-4	Tsuchikawa Takahiro	O13-5
Shindou Hideo	O4-5	Takebe Takanori	ED4*	Tsuchiya Kunihiko	O13-3
Shinji Saitoh	JSGCT-JSCN2*	Takeda Makoto	JSV-4	Tsuchiya Mio	GC-3*
Shin Kwak	S4-2*	Takeichi Kaho	O5-3*	Tsuge Kenji	O11-4
Shinoda Shuhei	O3-4*, O13-6	Takenaka Mika	O6-1	Tsuji Masahiro	S1-2*
Shinohara Yasuo	O6-2	Takeshi Nakajima	PS-2	Tsujimura Takahiro	O14-1
Shiota Aoi	O1-2*, O7-4	Takeuchi Kaoru	JSV-4	Tsukamoto Tomohito	O7-4, O12-3*
Shirakawa Toshiro	O7-5	Takeuchi Yoshie	O6-2	Tsukimoto Jun	O6-2
Shira Warszawski	SL2	Takino Naomi	O2-2	Tsunaka Yasuo	O2-3, O5-7, O10-7
Shir Weber	SL2	Tamada Koji	PSP2*	Tsunekawa Yuji	
Shuwari Naomi	O4-1	Tamai Katsuto	RM-1*	S9-1, O4-7, O5-6, O10-5, O11-1*	
Soda Yasushi	O1-1, O13-7	Tami Khazma	SL2		
Soga Minami	O12-7	Tamura Ryota		[U]	
Sohrab Khan	S7-3		S2-1, O8-3*, O12-4*, O12-5	Uchida Eriko	O10-2, O10-3
Sone Takefumi	O10-4	Tanaka Hiroki	O9-2	Uchida Hiroaki	O3-6
Sonoda-Fukuda Emiko	O3-5	Tanaka Maki	O3-2, O7-2, O13-8	Uchida Kazuhisa	S9-2*, O10-1
Sonoda Hiroyuki	O6-3	Tanaka Miyuki	O8-4, O8-5	Uchida Naoya	S5-5*

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
O: Oral Session *Speaker

Uchida Yasunori	O10-2	Yamaguchi Kiyoshi	O12-1
Uchihashi Toshihiro	O13-1	Yamaguchi Shyo	O8-6
Uchiyama Susumu		Yamaguchi Yuki	O5-7, O9-1, O10-7
S9-4*, O2-3, O5-7, O7-2, O9-1, O10-7		Yamamoto Fuki	O14-2
Uchiyama Toru	S5-4*, O2-4, O6-4	Yamamoto Haruko	ED1*
Ueda Ryo	S2-1	Yamamoto Kawai Mariko	O4-4*
Ueda Sayuri	O9-6	Yamamoto Masato	
Ueda Takahiro	SP3-1*	S8-4*, O3-4, O5-5*, O7-1, O13-3, O13-6	
Ueda Yasuyoshi	O8-6	Yamamoto Motoko	O9-7, O12-6
Uemura Kumiko	O5-3, O8-1*	Yamamoto Norio	PS-4
Ueno Kenju	S9-1	Yamamoto Takenori	
Ugajin Atsushi	PS-3	YS-4*, O10-2*, O10-3	
Umezawa Akihiro	O12-6	Yamamoto Tsuyoshi	S6-1*
Uosaki Hideki	O4-3*	Yamano-Adachi Noriko	O9-1
Urabe Masashi	O4-2	Yamashita Takuma	O10-2, O10-3*
Urata Yasuo	O3-7, O13-4	Yamayoshi Asako	S6-1
Urayama Yuya	O4-5	Yamazaki Shoji	PS-3
Urushitani Makoto	O2-1	Yanagiba Chikako	O7-1
		Yannick Delpeu	O14-5
[V]		Yasuda Toru	O2-4*, O6-4
Veronica Moskovicz	SL2	Yingying Wu	O14-5
		Yokoo Takeshi	S6-2
[W]		Yokota Takanori	JSGCT-JSCN5
Wada Jun	PS-4	Yokote Koutaro	PS-4
Wada Mikako	S9-1*, O4-7, O5-6*, O11-1	Yo Masahiro	O8-3
Wada Taizo	O6-1	Yonemitsu Yoshikazu	
Waldy San Sebastian	IL4	RM-4*, O14-3, O14-4	
Watanabe Atsushi	GC-2*	Yoshida Hideki	O13-3*
Watanabe Chika	S5-2	Yoshida Hiroshi	O12-6
Watanabe Kazuya	O10-5	Yoshida Kouhei	O10-5*
Watanabe Satoshi	O7-6*	Yoshida Sena	O4-5
Watano Ryota	O4-2*, O9-5, O11-2	Yoshida Tokuyuki	O10-2
		Yoshikawa Somei	O5-1
[X]		Yusa Keisuke	S9-2
Xin Yufu	O14-3*	Yuzhe Yuan	S9-2
Xuan Yao	S4-1	Yvonne Stenberg	S7-3
[Y]		[Z]	
Yagyu Shigeki	S1-3*, O8-4, O8-5, O13-3	Zen Rika	O2-1
Yakushiji Takashi	O9-4	Zheng Situo	O14-4*
Yamada Masaki	O6-4		
Yamagata Takanori	S5-2, PS-2		

CO: Dialogue Session CL: JSGCT Chairman's Lecture SL: Special Lecture IL: Invited Lecture ED: Educational Lecture
SP: Presidential Special Program PSP: Vice-Presidential Special Program JS: ASGCT/ESGCT/JSGCT Joint Symposium
DB: Debate Session RM: The Japanese Society for Regenerative Medicine Joint Program
NA: Nucleic Acids Therapeutics Related Program JSV: The Japanese Society of Virology Joint Program
GE: The Japanese Society for Genome Editing Joint Program JSGCT-JSCN: The Japanese Society of Child Neurology Joint Program
GC: Genetic Counseling in Gene Therapy S: Symposium YS: Young investigators session PS: Plenary Session
O: Oral Session *Speaker



The 29th Annual Meeting of JSGCT2023
Japan Society of Gene and Cell Therapy
Program & Abstracts

Printed on September 8, 2023

Copyright by Japan Society of Gene and Cell Therapy, JSGCT

<http://jsgct.jp/>

All rights reserved. No reproduction, copy or transmission on this publication
may be made without written permission.

Printed on Convention Linkage, Inc.