

パーキンソン病の遺伝子治療研究

望月 秀樹^{1)2)*}

要旨：ついにパーキンソン病遺伝子治療の臨床試験が開始された。遺伝子治療法の主体はアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターで、それ自身の病原性や自己増殖などはみとめない。パーキンソン病に対する遺伝子治療は、現在必ずしも最良の治療とは思わないが、さらなる進歩により将来的に新たな治療手段となる可能性は否定できない。本稿では、パーキンソン病遺伝子治療の臨床研究の紹介とそれに関連するわれわれの遺伝子治療研究について概説する。

(臨床神経, 49 : 9—16, 2009)

Key words : パーキンソン病, 遺伝子治療, アデノ随伴ウイルスベクター, パーキン

はじめに

パーキンソン病は、L-dopa による補充療法を主流とする治療方法が確立し、多くの薬剤が使用できるようになってきている。しかし、未だその発症をおさえる事ができない。Fig. 1 は、順天堂におけるパーキンソン病 1,183 名の Yahr III に到達する年数を示しているが¹⁾、18 年でほぼすべてが Yahr III になり、現在の薬物療法では病気の進行も抑止できないことを示している。そのため、病気の抑止を目指す治療法として、遺伝子治療が注目を浴びようになった。その理由の一つとして、パーキンソン病の障害部位が黒質・線条体というかなり限局した箇所であるために、遺伝子導入が比較的容易であることが挙げられる。また、神経細胞は非分裂細胞であるため遺伝子導入は容易でなかったが、ウイルスベクターの進歩により、神経細胞でも安全に高効率に遺伝子導入が可能となったことが、パーキンソン病の遺伝子治療が発展したもう一つの理由である。そのために、遺伝子治療ばかりでなく、パーキンソン病の基礎的な研究においてもウイルスベクターの使用が有用な手法になってきた。本稿では、ウイルスベクターによる遺伝子導入の基礎的な検討から、パーキンソン病の治療研究にいたるまでの順天堂大学神経内科および NIH, NINDS で私が関与してきたデータについて紹介する。

ウイルスベクターをもちいた神経細胞への遺伝子導入

パーキンソン病の研究を進める時に、*in vitro* でドパミン神経細胞や神経前駆細胞への遺伝子導入し解析することが有用なことがある。しかし、神経細胞は非分裂細胞であり、神経前

駆細胞は浮遊細胞で、無血清培地による培養が必要であることなどから、遺伝子導入は困難であった。いくつかのウイルスベクターをうまく使用することで、それらが解決するようになってきた。以下に具体例を示す。

アデノウイルスベクター

アデノウイルスは、直径約 80nm で正 20 面体の DNA ウイルスである。このウイルスを改変し作製したウイルスベクターで遺伝子導入したばあい、分裂細胞と非分裂細胞に遺伝子導入が可能となるが、染色体外に発現するため、その発現は一時的であるという特徴を有する。われわれは、初代黒質神経細胞培養を確立し、細胞毒性の研究を開始したが、いざ遺伝子を導入しようとする、それは非常に困難を有した。最初に使用したウイルスベクターは、前述のアデノウイルスベクターであった²⁾。幸運にも、このウイルスベクターのドパミン神経細胞に対する感染効率はすばらしく (Fig. 2)、約 80% 以上の TH 陽性細胞に遺伝子導入が可能であった。この結果は、1996 年日本神経学会において発表した。しかし後の検討で、すべてのアデノウイルスで再現性があるわけではないことを確認した。つまり、われわれが使用したものと作成者がことなるアデノウイルスベクターでは神経細胞に遺伝子導入できないのである。この差については非常に興味があるのだが、未だ理由は判明していない。

HIV ベクター

水野美邦教授のご高配により米国 NIH, NINDS に visiting associate として 1996~1998 年の間留学させていただいた。主に神経細胞への遺伝子導入を目的とした HIV (Human immunodeficiency virus) ベクターの開発が主な仕事であった。HIV は、全長 9.2kb の RNA ウイルスでレトロウイルス科に属する。この HIV を改変し遺伝子導入可能となった初期の

*Corresponding author: 順天堂大学脳神経内科 [〒113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1]

¹⁾ 順天堂大学脳神経内科

²⁾ 同 老人性疾患病態・治療研究センター

(受付日: 2008 年 9 月 8 日)

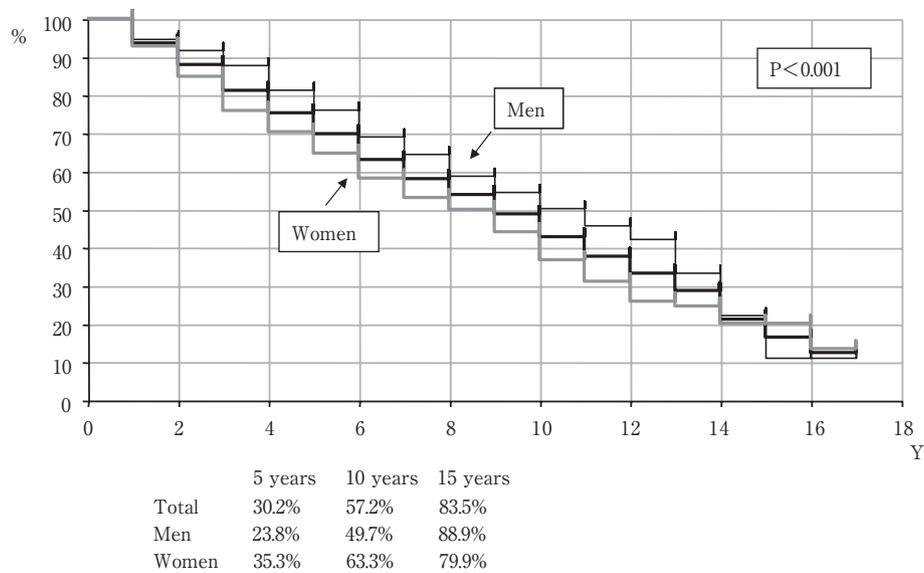


Fig. 1 The duration to reach Stage III. The ordinate indicates the proportion (percentage) of the patients remaining at Stage II or less. The abscissa indicates the years from the onset. Total number of the patients analyzed was 1,178 (men, 530; women, 648). The fine solid black line indicates men, the gray line women, and the heavy black line men and women combined (Sato et al. *Mov Disord* 2006¹⁾)

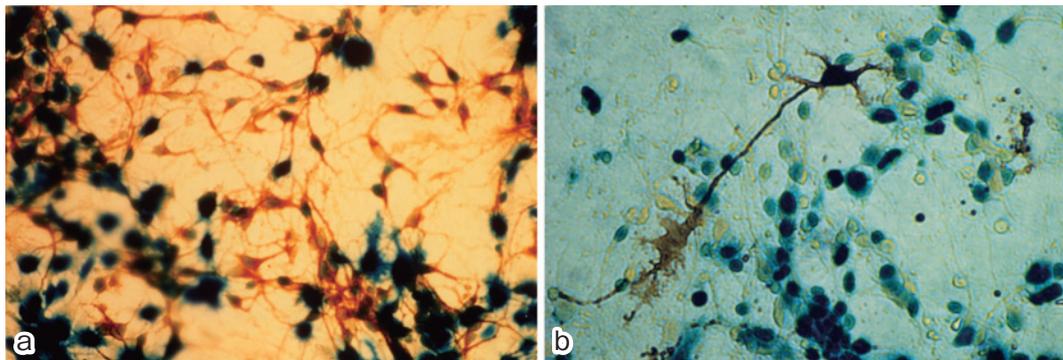


Fig. 2 Gene transfer to dopaminergic neurons by adenovirus vector
Infection of rat dopaminergic cells (a) Rat dopaminergic cells (brown) infected using Adeno-lacZ (blue): low power magnification (b) high power magnification

HIV ベクターを、より効率よく安全に神経細胞に遺伝子導入できるように改変することがテーマであった。具体的には、HIV ベクターのエンベロップを他のウイルス蛋白を使用し、効率の良い第二世代の HIV ベクターの作製にあたった。同時に HIV ベクターの種々のアクセサリ蛋白を除去し、安全性と効率を上げたものである³⁾。小脳顆粒神経細胞培養、心筋細胞培養では、約 30% 程度の遺伝子導入効率であった。論文には記載していないが、黒質神経細胞培養では遺伝子導入効率は 1% 程度であった。帰国後に、HIV ベクターの使用をすぐに開始しなかった一つの理由である。もう一つの留学中のテーマは、HIV ベクターを産生する HIV 産生細胞の確立であった。HIV の tat や rev, envelope として使用する VSV-

G 蛋白など毒性が強いため、それぞれを開発されたばかりの Tet-On Off システムなどを駆使し、蛋白発現を制御しながら、多種類の細胞を培養し stable cell line の作成を開始した。しかし遺伝子導入効率が高いとリークする毒性蛋白により細胞が死滅し、少ない蛋白量だと良いウイルスベクターが作製できないという研究結果で、最後まで HIV ウイルス産生細胞の作成には成功しなかった。後にイギリスのグループが、transfection でなくレトロウイルスをもちいて遺伝子導入することで stable cell line の樹立に成功している⁴⁾。

帰国後日本では HIV の取り扱い規約が厳しく、P3 施設が必要とされたため、こちらでは扱う事を断念した。2004 年度より大幅に HIV の使用規約が改正されたためか、いくつか共

同研究の申し込みも届いた。HIV vector を扱っていたこともあり、ウイルスベクターの使用に対する安全性についても勉強してきたので、順天堂でウイルスベクターを扱うための安全性などの検討には少なからず役に立ったと思っている。

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター

AAV ベクターは非病原性ウイルス由来で、免疫原性は低く、アデノウイルスベクターのように脳内導入後に脳炎などを生じる事も少ない。AAV は血清型で、その性質は若干こととなり、現在は 1~12 型をはじめとし、さまざまな型が報告されている。AAV 2 型はヒト由来のウイルスで、すでに成人の約 60~85% が抗体を有すると報告されており、現在主に遺伝子治療に使用されている。問題点としては、安定したウイルス作成細胞を作成できないため大量生産が難しく、その製作手技が煩雑であることが挙げられる。またウイルスの構造上、導入できる遺伝子のサイズに約 4kb という制限があり、それ以上の大きさの遺伝子を組み込む事ができないことも問題である。

私は、日本医科大学の島田隆教授のご指導により AAV ベクター作成システムを確立し、神経細胞の遺伝子導入を *in vitro* でおこなえるようになった。しかし、*in vitro* の系についての検討では、初代神経細胞培養に投与してもまったく遺伝子導入ができないことが判明した。これは、神経幹細胞に対しても同様で、種々の工夫を凝らしてみたが遺伝子導入は不可能であった。次に、スライスカルチャーでの遺伝子導入を検討した。胎児脳に直接ウイルスベクターを投与してから培養を作成する方法と、培養後時間を置いてからウイルスを投与する方法により神経細胞への遺伝子発現を確認できるようになった。スライスカルチャー作成直後にウイルスベクターを投与しても遺伝子導入ができず、ウイルスのレセプターが培養細胞作成時に障害を受けることが影響している可能性が考えられた。

レトロウイルスベクター

レトロウイルスベクターは、神経前駆細胞など分裂細胞のみに遺伝子導入が可能だが、神経細胞に遺伝子導入はできない。レトロウイルスベクターによる *in vivo* 遺伝子導入においても、導入された遺伝子の発現が methylation により発現が現弱することで、長期持続発現が不可能なことが判明し、このベクターの弱点となっている。レトロウイルスベクターはその後、共同研究者の小野寺雅史先生らによりさらに工夫され、envelope を VSV-G 蛋白にして濃縮可能になり、ホストレンジも広がった。また methylation site を取り除くことで、*in vivo* 導入後も遺伝子発現が長期に可能となり、脳内に移植した細胞の追跡や直接投与した細胞のマーキングに有用となった⁵⁾。神経前駆細胞は移植用の細胞として利用されているが、塊で浮遊細胞として増殖するために遺伝子導入が難しい。さらに、血清により分化する性質を有するために、無血清培地で細胞培養を継続しなければならない。レトロウイルスベクターは通常作成時に血清を要するために、その溶液には必ず血清が混入し幹細胞が分化してしまうために幹細胞には遺伝子導入が不可能であった。レトロウイルス自体の envelope

は壊れやすく、遠心濃縮が不可能であったが、VSV-G に変えたことにより遠心、濃縮が可能となり血清を除去することで、神経前駆細胞にも高率に遺伝子導入が可能となった。このウイルスベクターを駆使することで、成人における神経幹細胞の同定⁵⁾や遊走⁶⁾⁷⁾を観察することが可能になりパーキンソン病神経新生の研究^{8)~10)}などを推進できた。

ウイルスベクターをもちいたパーキンソン病モデル

1997 年に、常染色体優性遺伝を呈する家族性パーキンソン病の家系で α -synuclein 遺伝子 (SNCA) が、この家族性パーキンソン病の発症原因である¹¹⁾との報告がなされた。パーキンソン病の特徴的な病理所見であり、ドパミンニューロン内に沈着するレビー小体にも、 α -synuclein 蛋白質をその主要な成分とする事がわかっている。DLB 患者脳の皮質レビー小体にふくまれる α -synuclein 蛋白質を分離・解析し、C 末近傍のセリン残基 (S129) が高頻度にリン酸化を受けていることも知られている。 α -synuclein の神経細胞死の関与を検討するために、AAV ベクターをもちいてラット黒質ドパミンニューロン内にヒト α -synuclein 蛋白質を過剰発現させ、それによりひきおこされるドパミンニューロン変性による片側パーキンソン病モデルラットを作成した¹²⁾。病理変化として、リン酸化 α -synuclein の発現が確認され、caspase-9 の活性化もパーキンソン病剖検脳にみとめられる所見と同様の所見を再現することが可能となった。この変化は α -synuclein Tg mouse では再現されていないため、現時点ではもっともパーキンソン病に類似するラットモデルであろう。このラットは、内在性 promoter に CMV をもちいたことにより、細胞変性が完了するまでに約 3 カ月を要する。そのために変性は緩徐にひきおこされ、よりパーキンソン病細胞死に近いモデルが作成できたのであろう。この方法で、猿をもちいた大型動物モデルの作成を試みた。東京都神経研究所高田先生との共同研究で、医薬基盤研究所筑波霊長類センターにて、定位脳手術法により線条体に AAV- α -synuclein を投与し、逆行性に黒質神経細胞に遺伝子導入をおこなった。遺伝子発現は確認でき、一部で黒質神経細胞脱落を確認するも、パーキンソン病モデル作製にはいたらなかった¹³⁾。しかし、脳外科でもちいられているナビゲーションシステムを導入することにより、猿の黒質への遺伝子導入が可能となった。進行性に神経細胞脱落をみとめ、進行性の大型パーキンソン病モデル動物が確立しつつある。このモデルが確立すれば、各種薬剤のスクリーニングに有用であると考えている。

パーキンソン病の遺伝子治療

パーキンソン病に遺伝子を導入し治療するという遺伝子治療は、すでに海外ではいくつかのプロトコールが治療研究として開始されている。考えられる治療法の候補遺伝子としては、①ドパミンに関連する補酵素群を投与する遺伝子治療計画、米国、日本における AAV ベクターをもちいた AADC

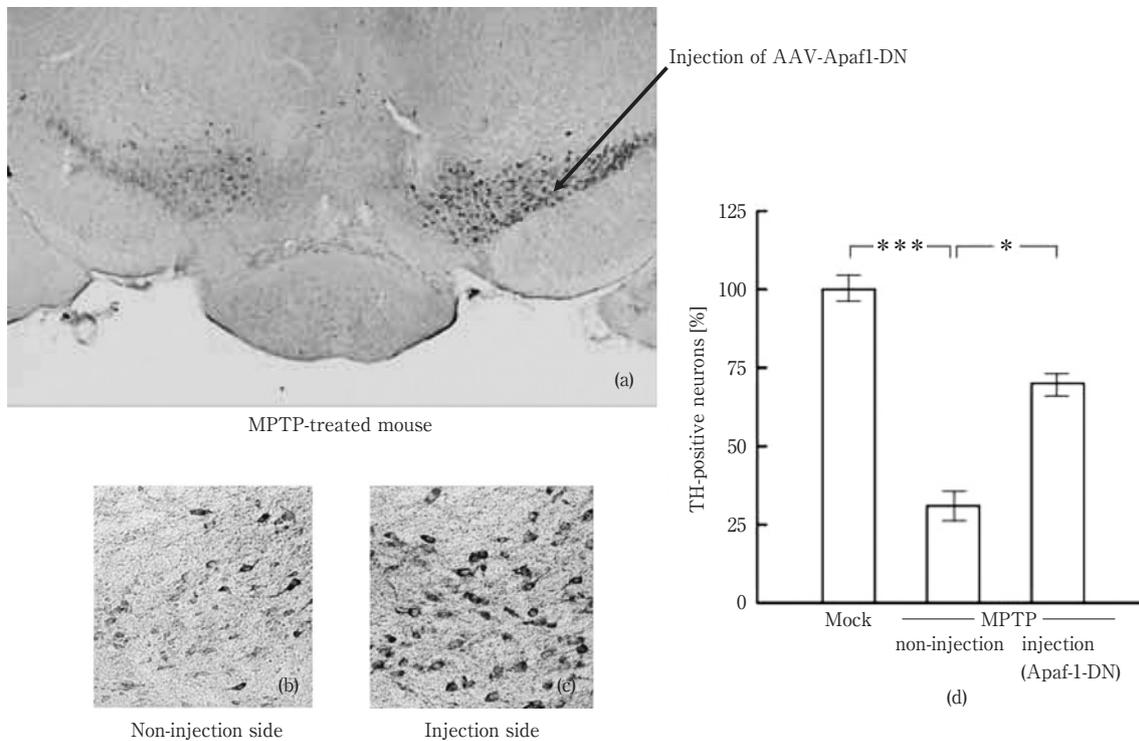


Fig. 3 (a) Photomicrographs of TH immunostaining in the substantia nigra of an MPTP-treated AAV-Apaf-1-DN-injected (arrow) mouse. (b) The noninjected side shows neuronal loss. (c) The injected side shows nos. of neurons compared with the noninjected side. (d) Ratio of TH-positive cells between the noninjected and injected sides. The total number of TH-positive neurons was counted in three sections each from four different mice (Mochizuki et al. PNAS. 2001¹⁷⁾)

補充療法¹⁴⁾, フランスにおけるレンチウイルスベクターをもちいた TH, AADC, GCH 補充療法, ②視床下核の興奮を抑制する DBS に類似した遺伝子治療, 米国における AAV ベクターをもちいた GAD 補充療法¹⁵⁾, ③神経細胞死抑制を目指す遺伝子治療, 米国における AAV ベクターをもちいた Neurturin 補充療法¹⁶⁾, 細胞死抑制遺伝子, Apaf-1-dominant negative¹⁷⁾や α -synuclein inhibitor¹⁸⁾ など, ④常染色体劣性家族性パーキンソン病の欠損遺伝子を補充する遺伝子治療, われわれのグループが検討している AAV ベクターをもちいた parkin 補充療法などが考えられる¹⁹⁾. われわれが報告してきた遺伝子治療研究についてのみ次に記載する.

神経細胞死抑制を目指す遺伝子治療

Apaf-1-dominant negative

未だ進行を抑制する薬剤がない病気なので, 進行抑制する遺伝子治療について検討してきた. パーキンソン病は, 以前からミトコンドリア異常による関与が, その発症機序にかかわることが良く知られている²⁰⁾. このミトコンドリアと細胞死, とくに apoptosis の系は, caspase 9 と Apaf-1 が cytochrome c などと caspase-recruitment domain (CARD) を介して complex を形成し, caspase 9 を活性化し, さらに caspase 3 を活性化することにより細胞死を実行することが知られている.

この系を制御する方法として, Apaf-1 の CARD を過剰発現すると, apoptosome が形成できず Apaf-1-dominant negative として機能するために, この Apaf-1-dominant negative をコードする AAV ベクターを東京大学薬学部三浦正幸教授との共同研究で作成した. マウスの一側(片側)線条体に過剰発現させた後, MPTP 30mg/kg, 24時間毎 4 回腹腔内に投与した(慢性投与). MPTP 投与による黒質 TH 陽性細胞数は, 非投与側ではコントロールマウスに比較して減少していたが, Apaf-1-dominant negative 投与側では, 非投与側に比しその減少を抑制することを確認できた(Fig.3)¹⁷⁾. 以上のような実験的所見から, パーキンソン病の神経細胞死も, ミトコンドリアを介した apoptosis の系が関与する可能性が示唆され, この系を制御することで細胞死が抑制される治療法が期待された.

同時期に, パーキンソン病モデルを作成の際, MPTP の投与方法により黒質神経細胞障害に差があり, mitochondria を介する系とは独立し, 炎症を介する caspase 11 の系も関与する神経細胞死が存在することを報告した²¹⁾²²⁾. 症例によっては, 抗炎症剤が有効な治療例が存在すると考えている.

α -synuclein リボザイム

先に述べたように α -synuclein の過剰発現によるドパミン神経細胞毒性は, パーキンソン病発症にかかわる主要な機序である. そこで, われわれは, ウイルスベクターをもちいてそ

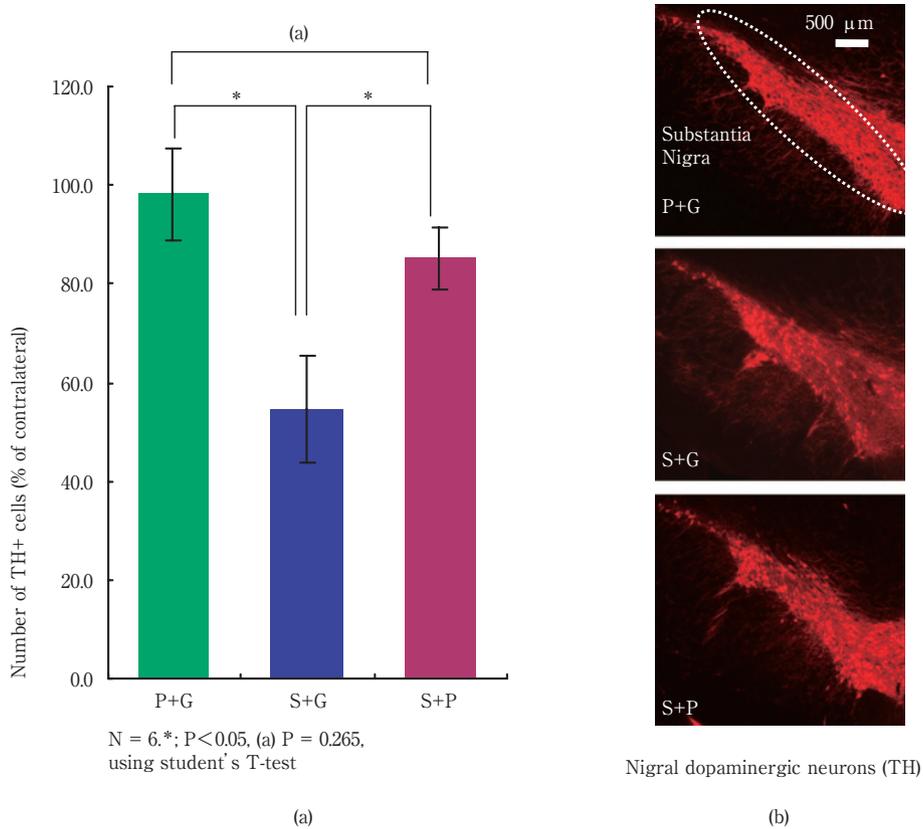


Fig. 4 Neuroprotective effect of AAV-parkin against α -synuclein toxicity

Targeted human α -synuclein overexpression in rat SN resulted in loss of dopaminergic neurons at 13 weeks after AAV infection. Surviving dopaminergic neurons at 13 weeks after infection were determined by counting the number of TH⁺ cells and expressed as percentages of the contralateral SN in rats (P+G group) or rats (S+G and S+P group) as indicated on left column. Panels on right column show an overview of dopaminergic neurons (red) in SN of each group (Yamada et al. Human Gene Ther. 2005¹⁹).

の発現を抑制するコンストラクトを作製し、MPTP 投与による細胞毒性制御を検討した。MPTP 投与による神経細胞死には一部 α -synuclein が細胞体に集約することで細胞死にかかわる可能性も報告されている。われわれは、リボザイムをもちいた制御法で細胞死抑制がみられることを報告した¹⁸。同様の結果が、 α -synuclein RNAi でも報告されている²³。

家族性パーキンソン病に対する遺伝子治療

常染色体劣性遺伝若年発症型家族性パーキンソニズム (Autosomal recessive juvenile Parkinsonism : ARJP) のひとつ PARK2 の原因遺伝子産物である Parkin は、ユビキチン・プロテアソームシステムを構成する E3 ユビキチンリガーゼの一種であることが知られている。PARK2 は Parkin 蛋白の機能損失によりひきおこされるとされており、その基質蛋白質の蓄積がドパミンニューロン変性の原因と考えられている。parkin 遺伝子をもちいた parkin 変異による家族性パーキンソン病に対する治療法は、変異遺伝子にかわる正常遺伝子を導入するという遺伝子治療である。しかも病変は黒質に限

局しているため、遺伝子導入による治療効果は充分期待できる。現在 parkin ノックアウトマウスモデルをもちいた遺伝子治療法の検討をおこなっている。このマウスは、病理学的な異常は判明しておらず、生化学的な病態について解析中である。異常をみとめたばあい、parkin 遺伝子投与による改善を検討する予定である。一方で parkin の遺伝子治療は動物実験ではあるが、MPTP モデル²⁴や 6-OHDA モデル²⁵でも治療効果が海外から報告されている。その機序としては parkin 自身の抗酸化作用や抗アポトーシス作用による細胞死保護作用が考えられている。われわれも、先程述べた α -synuclein 遺伝子を黒質ドパミン神経細胞に過剰発現することにより片側のパーキンソン病モデルを作成し、さらに、parkin 遺伝子を AAV ベクターで黒質同時投与し、病理学的、行動学的に検討し、病理所見の改善、運動効果の改善を確認した (Fig. 4)。parkin 遺伝子治療は家族性パーキンソン病患者のみならず孤発型パーキンソン病患者にも有用な治療法として期待できる¹⁹ (Fig. 5)。parkin 遺伝子による治療法の開発は世界的な規模で進められ競争の激しい分野と思われる。現在、われわれはこのような家族性パーキンソン病に対する遺伝子治療プロ

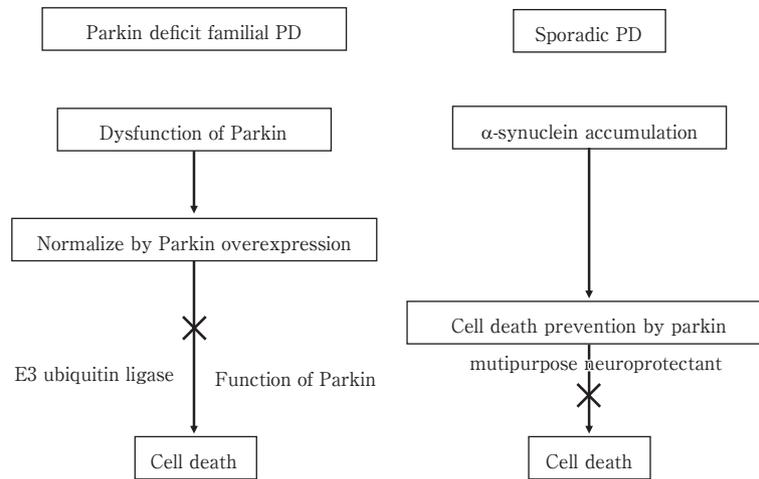


Fig. 5 Parkin Gene Therapy for Familial or Sporadic PD

ジェクトを、医薬基盤研究所の助成を受けて順天堂大学に加え、日本医科大学島田隆教授、東京都神経研究所高田昌彦先生、自治医科大学小澤敬也教授のグループと共同で推進している。安全性・有効性に十分配慮して研究を進めるため、現在霊長類をもちいた検討もおこなっている¹³⁾。このような方法で、安全性や有用性が確認できれば、次にクリニカルグレードのウイルスベクターを作成し、日本で初の完治を目指した家族性パーキンソン病に対する遺伝子治療が可能になると考えている。

まとめ

パーキンソン病の根治療法がない現在、遺伝子治療も選択される治療法へと入りつつある。一方でウイルスベクター自身の進歩もいちじるしく、AAVなど血清型を変えることで全身に遺伝子を投与することが可能となってきた。また、再生医療の進歩から、細胞を初期化する遺伝子も多く発見されてきている。これらの使用については、癌化の発生なども危惧され十分慎重に使用しなければならない。一方でパーキンソン病の non-motor の症状、つまり気分障害、認知症、抑うつ症状についても注目されている。ナビゲーションシステムを使用することで、扁桃体、視床下部、海馬、前頭前野などの神経細胞に遺伝子導入できるようになり、精神症状を遺伝子治療で制御することも理論的には可能であろう。しかし遺伝子治療には、治療目的以外の遺伝子操作、とくに優生思想に基づいた遺伝子治療をおこなってはならないという暗黙の了解がある。精神部分に遺伝子治療でアプローチをするばあい、倫理面もふくめ十分な議論が必要となるのはいうまでもない。

謝辞：本稿をまとめるにあたり、パーキンソン病研究の最初からご指導・ご鞭撻いただいた順天堂大学老人性疾患治療研究センター長、順天堂大学越谷病院院長、水野美邦教授にこの場を借りてお礼を申し上げます。また多くの先生に研究面でご指導いただきました。本賞の推薦をいただいた順天堂大学脳神経内科服部

信孝教授、遺伝子治療研究をご指導いただいた日本医科大学分子生物学島田隆教授、その他 NIH, NINDS Roscoe O Brady 先生、東京都神経科学総合研究所高田昌彦先生、東京大学薬学部三浦正幸教授、東京都精神神経研究所秋山治彦先生、国立成育医療センター研究所小野寺雅史先生とご指導いただいた多くの先生にお礼を申し上げます。これらの研究に関しては、医局員、大学院生、ポスドク、技術研究員など多くのスタッフに感謝します。また、入局時よりお世話になりました故榎林博太郎先生には、パーキンソン病臨床について大学のみならず神経科クリニックでもご指導いただきました。榎林先生の手術を目のあたりにし、患者さんが意識下のもと筋固縮や振戦が手術中に消失するのを目撃していただき感動したことが思い出されます。その榎林先生の冠のついた賞をいただいたことは、パーキンソン病研究をするものには、本当に、大変名誉なことと思っております。この受賞を機に、パーキンソン病患者さんのために今後一層臨床や研究を続けていきたいと心に誓い、稿を終えたいと思います。

文献

- 1) Sato K, Hatano T, Yamashiro K, et al: Prognosis of Parkinson's disease: time to stage III, IV, V, and to motor fluctuations. *Mov Disord* 2006; 21: 1384—1395
- 2) Setoguchi Y, Danel C, Crystal RG: Stimulation of erythropoiesis by in vivo gene therapy: physiologic consequences of transfer of the human erythropoietin gene to experimental animals using an adenovirus vector. *Blood* 1994; 84: 2946—2953
- 3) Mochizuki H, Schwartz JP, Tanaka K, et al: High-titer human immunodeficiency virus type 1-based vector systems for gene delivery into nondividing cells. *J Virol* 1998; 72: 8873—8883
- 4) Ikeda Y, Takeuchi Y, Martin F, et al: Continuous high-titer HIV-1 vector production. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 569—572

- 5) Suzuki A, Obi K, Urabe T, et al: Feasibility of ex vivo gene therapy for neurological disorders using the new retroviral vector GCDNsap packaged in the vesicular stomatitis virus G protein. *J Neurochem* 2002; 82: 953—960
- 6) Yamada M, Onodera M, Mizuno Y, et al: Neurogenesis in olfactory bulb identified by retroviral labeling in normal and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated adult mice. *Neuroscience* 2004; 124: 173—181
- 7) Tanaka R, Komine-Kobayashi M, Mochizuki H, et al: Migration of enhanced green fluorescent protein expressing bone marrow-derived microglia/macrophage into the mouse brain following permanent focal ischemia. *Neuroscience* 2003; 117: 531—539
- 8) Yoshimi K, Ren YR, Seki T, et al: Possibility for neurogenesis in substantia nigra of parkinsonian brain. *Ann Neurol* 2005; 58: 31—40
- 9) Oizumi H, Hayashita-Kinoh H, Hayakawa H, et al: Alteration in the differentiation-related molecular expression in the subventricular zone in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurosci Res* 2008; 60: 15—21
- 10) Hayakawa H, Hayashita-Kinoh H, Nihira T, et al: The isolation of neural stem cells from the olfactory bulb of Parkinson's disease model. *Neurosci Res* 2007; 57: 393—398
- 11) Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, et al: Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045—2047
- 12) Yamada M, Iwatsubo T, Mizuno Y, et al: Overexpression of alpha-synuclein in rat substantia nigra results in loss of dopaminergic neurons, phosphorylation of alpha-synuclein and activation of caspase-9: resemblance to pathogenetic changes in Parkinson's disease. *J Neurochem* 2004; 91: 451—461
- 13) Yasuda T, Miyachi S, Kitagawa R, et al: Neuronal specificity of alpha-synuclein toxicity and effect of Parkin co-expression in primates. *Neuroscience* 2007; 144: 743—753
- 14) Eberling JL, Jagust WJ, Christine CW, et al: Results from a phase I safety trial of hAADC gene therapy for Parkinson disease. *Neurology* 2008; 70: 1980—1983
- 15) Kaplitt MG, Feigin A, Tang C, et al: Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease: an open label, phase I trial. *Lancet* 2007; 369: 2097—2105
- 16) Marks WJ Jr, Ostrem JL, Verhagen L, et al: Safety and tolerability of intraputamenal delivery of CERE-120 (adeno-associated virus serotype 2-neurturin) to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial. *Lancet Neurol* 2008; 7: 400—408
- 17) Mochizuki H, Hayakawa H, Migita M, et al: An AAV-derived Apaf-1 dominant negative inhibitor prevents MPTP toxicity as antiapoptotic gene therapy for Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10918—10923
- 18) Hayashita-Kinoh H, Yamada M, Yokota T, et al: Down-regulation of alpha-synuclein expression can rescue dopaminergic cells from cell death in the substantia nigra of Parkinson's disease rat model. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341: 1088—1095
- 19) Yamada M, Mizuno Y, Mochizuki H: Parkin gene therapy for alpha-synucleinopathy: a rat model of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 2005; 16: 262—270
- 20) Mizuno Y, Ikebe S, Hattori N, et al: Role of mitochondria in the etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 265—274
- 21) Furuya T, Hayakawa H, Yamada M, et al: Caspase-11 mediates inflammatory dopaminergic cell death in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2004; 24: 1865—1872
- 22) Arai H, Furuya T, Yasuda T, et al: Neurotoxic effects of lipopolysaccharide on nigral dopaminergic neurons are mediated by microglial activation, interleukin-1beta, and expression of caspase-11 in mice. *J Biol Chem* 2004; 279: 51647—51653
- 23) Sapru MK, Yates JW, Hogan S, et al: Silencing of human alpha-synuclein in vitro and in rat brain using lentiviral-mediated RNAi. *Exp Neurol* 2006; 198: 382—390
- 24) Paterna JC, Leng A, Weber E, et al: DJ-1 and Parkin modulate dopamine-dependent behavior and inhibit MPTP-induced nigral dopamine neuron loss in mice. *Mol Ther* 2007; 15: 698—704
- 25) Vercammen L, Van der Perren A, Vaudano E, et al: Parkin protects against neurotoxicity in the 6-hydroxydopamine rat model for Parkinson's disease. *Mol Ther* 2006; 14: 716—723

Abstract**The studies of gene therapy for Parkinson's disease**Hideki Mochizuki¹⁾²⁾¹⁾Department of Neurology, Juntendo University²⁾Research Institute for Disease of Old Age, Juntendo University

Various clinical trials of gene therapy for Parkinson's disease (PD) are finally underway. The vehicle used mainly for gene delivery to the human brain is recombinant adeno-associated viral (rAAV) vector, which is non-pathogenic and non-self-amplifying. At present, the gene therapy approach is not the best way for the treatment of PD patients, but we believe that the further progress is anticipated toward making this strategy a therapeutic option for PD in the future. This article will review currently ongoing clinical trials of PD gene therapy and then introduce our studies about the gene therapy for PD.

(Clin Neurol, 49: 9—16, 2009)

Key words: Parkinson's disease, gene therapy, adeno-associated virus vector, parkin
