

**35型アデノウイルスを基本骨格とした新規遺伝子導入ベクターの開発
および機能評価に関する研究**
**Development and Evaluation of a Novel Gene Delivery Vehicle
Composed of Adenovirus Serotype 35**

櫻井 文教

(独) 医薬基盤研究所 遺伝子導入制御プロジェクト

Fuminori SAKURAI

Laboratory of Gene Transfer and Regulation, National Institute of Biomedical Innovation

遺伝子治療は癌をはじめとする各種難治性疾患に対する治療法として期待されており、既に世界で1200プロトコール以上の臨床研究が実施されている。しかしながら、これまで明確な治療効果を得られた例は少なく、その要因として遺伝子導入ベクターの機能が不十分であることが指摘されている。つまり、遺伝子治療の成否は高性能なベクターの開発に委ねられているのが現状である。

アデノウイルス (Ad) ベクターは、その優れた特性から遺伝子治療研究のみならず、基礎研究でも汎用されている。従来のAdベクターはヒト5型Ad (subgroup C) を基本骨格としているが、研究の進展に伴い、①Ad受容体(CAR)陰性細胞には遺伝子導入困難であること、②成人の抗5型Ad抗体保持率が高い (70%以上) ことが問題として明らかになってきた。一方でヒト35型Ad (subgroup B) は、①CAR以外の分子を受容体とするため (のちにCD46が受容体と判明)、CAR陰性細胞にも感染可能であり、②抗5型Ad抗体による障害を受けない、③抗35型Ad抗体保持率が低い (10%以下)、という特徴を持つ。そこで我々は35型Adを基本骨格とした新規遺伝子導入ベクターを開発し、その機能を解析した。

1) 35型Adベクターの開発およびin vitro遺伝子導入特性;35型Adゲノム全長をクローニングしたのち、E1領域を欠損させることで自己複製不能35型Adベクターを作製した。35型Adベクターは、5型Adベクターでは遺伝子導入困難であったCAR陰性の癌細胞や血液細胞を含む広範な細胞に効率よく遺伝子導入可能であった。さらに、抗5型Ad抗体存在下においても高い遺伝子発現を示した。

2) 遺伝子改変動物および霊長類を用いた35型Adベクターの機能評価;35型Adの受容体であるCD46はヒトではほぼ全ての細胞で発現しているものの、げっ歯類では精巣でしか発現していない。そこでヒトと同様にCD46を全身の臓器で発現しているCD46トランスジェニックマウスおよび霊長類を用いて、35型Adベクターの機能を評価した。その結果、35型Adベクターがin vivoにおいてもCD46を受容体として感染すること、5型Adベクターよりも安全性に優れることを見出した。

3) 35型Adベクターの遺伝子導入メカニズムの解明;35型AdベクターはCD46の先端領域であるshort consensus repeat 1および2に結合すること、ペントンベースArg-Gly-Asp (RGD) 配列とインテグリンの結合が感染に重要であることを明らかにした。さらに35型Adベクター感染により、リンパ球系細胞ではCD46の細胞表面発現量が減少すること、樹状細胞では強く成熟化が誘導されることを見出した。

4) ヒト造血幹細胞への遺伝子導入;35型Adベクターが造血幹細胞を含む画分であるヒト骨髄由来CD34陽性細胞に効率良く遺伝子導入するとともに (50%以上の細胞に遺伝子導入可能)、遺伝子発現細胞が増殖能・分化能を保持していることを示した。この特性を利用しCD34陽性細胞に抗アポトーシス遺伝子を導入したところ、CD34陽性細胞が一定期間培養後も高い増殖能・分化能を示すことを見出した。

【謝辞】 本研究を行うにあたり、御指導頂きました (独) 医薬品医療機器総合機構理事 早川堯夫先生、(独) 医薬基盤研究所プロジェクトリーダー 水口裕之先生に心より感謝申し上げます。また、多大なご協力を賜りました共同研究の先生方および研究室の皆様にご礼申し上げます。