

外来ペプチドを挿入したファイバー置換型アデノウイルスベクターの遺伝子導入機構に関する検討

○松井 勇人^{1,2}, 倉知 慎之輔^{1,2}, 櫻井 文教², 田代 克久^{1,2}, 杉尾 久美子^{1,2}, 川端 健二², 水口 裕之^{1,2} (¹阪大院薬, ²医薬基盤研)

【目的】ファイバー領域を 35 型アデノウイルス(Ad)由来のものに置換したファイバー置換型 5 型アデノウイルス(AdF35)ベクターは、ヒトではほぼ全ての細胞に発現している CD46 に結合し感染するため、従来の 5 型 Ad ベクターでは遺伝子導入困難な細胞にも効率よく感染する。しかしながら AdF35 ベクターの感染域は特異性が低く、また、マウス体細胞はほとんど CD46 を発現していないため、マウス細胞には遺伝子導入困難である。そこで本研究では、外来ペプチドを AdF35 ベクターのファイバーノブ領域に挿入することで、外来ペプチド依存的に遺伝子導入可能かどうか、その遺伝子導入機構について検討した。

【方法】CD46 との結合に重要な領域である 35 型 Ad ファイバーノブの FG、HI、IJ loop に αv インテグリンに親和性を有する Arg-Gly-Asn (RGD) ペプチドを挿入した AdF35 ベクターを作製した。これらの AdF35 ベクターを各種 CD46 陽性および陰性細胞に作用させ、その遺伝子発現特性を検討した。また合成 RGD ペプチドもしくは抗 CD46 抗体を用いて、上記 AdF35 ベクターの遺伝子導入機構を検討した。

【結果】全ての RGD ペプチド挿入 AdF35 ベクターについて、従来の Ad ベクターと同程度のタイトターのベクターが回収可能であった。RGD ペプチド挿入 AdF35 ベクターを CD46 陰性の SF295 および B16 細胞に作用させたところ、FG もしくは HI loop に RGD ペプチドを挿入した AdF35 ベクター作用群において、従来の AdF35 ベクターと比較し、10 倍以上高い遺伝子発現が得られるとともに、合成 RGD ペプチドにより有意な遺伝子発現阻害が見られた。従って FG もしくは HI loop に RGD ペプチドを挿入した AdF35 ベクターは、RGD ペプチド依存的に遺伝子導入可能であることが示唆された。