

# 31P2-am150

phiC31 インテグラーゼを用いたマウス肝臓での HGF 発現の長期持続化と肝線維症治療効果の評価

梅本 佳昭<sup>1</sup>, ○川上 茂<sup>1</sup>, 樋口 ゆり子<sup>1</sup>, 山下 富義<sup>1</sup>, 橋田 充<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>京大院薬, <sup>2</sup>京大 iCeMS)

【目的】 *In vivo* での遺伝子機能解析や遺伝子治療においては、遺伝子発現の長期持続化が課題となる。phiC31 integrase は、プラスミド上の *attB* 配列とゲノム上の pseudo *attP* 配列を特異的に認識し、この配列間で組み込みを起こす。これまで我々は、phiC31 integrase を用いたモデル遺伝子である *Gaussia Luciferase* のマウス肝臓での長期発現系の構築に成功した。そこで本研究では、肝線維化抑制効果のある HGF を phiC31 integrase を用いてハイドロダイナミクス法によりマウス肝臓で長期発現させ、肝線維症に対する遺伝子治療効果を検討した。

【方法】 phiC31 integrase 認識部位 (*attB*) を含む hHGF 発現プラスミド (pORF-hHGF/*attB*) を構築し、phiC31 integrase 発現プラスミド (pCMV-int) との混合溶液を、ハイドロダイナミクス法によりマウス肝臓に導入した。肝臓での hHGF タンパク質発現の持続、及びゲノムへの組み込みを評価した。続いて、四塩化炭素の腹腔内への繰り返し投与により肝線維症モデルマウスを作製し、本手法による治療効果を、数種類の線維化マーカーの mRNA 量の測定、及び Azan 染色により評価した。

【結果・考察】 pCMV-int および pORF-hHGF/*attB* をハイドロダイナミクス法によりマウスへ投与後、肝臓での HGF の発現の長期持続化が認められた。さらに、プラスミドのゲノムへの組み込みを評価したところ、この長期遺伝子発現がゲノム上の pseudo *attP* 配列への組み込みに起因している可能性を確認した。一方、肝線維症モデルマウスでは、対照のマウスと比較して HGF の維持発現量がやや低かったものの、HGF 長期発現による線維化抑制の傾向が、線維化マーカーの mRNA 量及び Azan 染色から確認された。