

30Q-am16S

組織特異的ターゲティングを目指した Monobody 提示型 Ad ベクターの開発

○松井 勇人¹, 櫻井 文教¹, 形山 和史¹, 阿部 康弘², 町谷 充洋¹,
倉知 慎之輔^{1,2}, 立花 雅史¹, 水口 裕之^{1,2,3} (¹阪大院薬, ²医薬基盤研, ³阪大MEIセ)

【目的】アデノウイルス (Ad) ベクターは優れた遺伝子導入特性を有するものの、全身投与後、肝臓をはじめとする広範な組織に遺伝子導入されるため、標的組織特異的な遺伝子導入が困難となっている。この問題を解決するために、種々のターゲティング型 Ad ベクターが報告されてきたが、未だ十分なターゲティング能を有する Ad ベクターは開発されていない。そこで我々は、ファイバー領域を T4 フェージのフィブリチン由来ファイバーに置換するとともに、ファイバーノブを欠損させた C 末端領域に、ヒトフィブロネクチン type III ドメインの 10 番目のユニットを基盤とする低分子化抗体様分子である Monobody を挿入した。Monobody は、単一のドメインで抗原と高い結合活性および細胞内 (還元条件下) での高い安定性を有することから、Ad ベクターに搭載するターゲティング分子として適していると考えた。【方法】上皮増殖因子受容体 (EGFR) に対する Monobody をノブ欠損ファイバーの C 末端領域に挿入した Ad ベクター (Ad- α E-L2) を作製した。作製した Ad- α E-L2 が標的である EGFR に結合するかどうかを Biacore を用いた SPR (surface plasmon resonance) 解析により検討した。また、EGFR 陽性細胞における遺伝子導入効率を評価した。【結果】SPR 解析により、ファイバー C 末端に提示された Monobody が標的分子特異的な結合活性を保持していることを確認した。Ad- α E-L2 を EGFR 陽性細胞に作用させたところ、Monobody 未提示の Ad ベクター (Ad-KL-L2) と比較して 5 倍以上高い遺伝子発現効率が認められた。また、細胞表面に結合する Ad- α E-L2 のウイルス粒子数は、Ad-KL-L2 と比較して有意に増加した。さらに、リコンビナント EGFR 存在下で Ad- α E-L2 の遺伝子発現効率は有意に低下した。従って、Ad- α E-L2 は Monobody 依存的に標的細胞特異的な遺伝子導入が可能であることが示された。