

「特別講演 - 1」

非コード RNA による遺伝子発現制御機構を利用した遺伝子組換えアデノウイルスの開発

大阪大学大学院薬学研究科・分子生物学分野

櫻井 文教

主に 5 型ヒトアデノウイルス (Ad) を基盤とした Ad ベクターは、既存の遺伝子導入ベクターのなかで最も高い遺伝子発現効率を示すこと、高タイターのウイルスが回収可能であることなど、その優れた遺伝子導入特性から、遺伝子治療研究のみならず、遺伝子機能解析など基礎研究においても幅広く用いられている。しかしながら Ad ベクターは、マウスなどに静脈内投与後、そのほとんどが肝臓に集積し高い遺伝子発現を示すことから、肝臓への遺伝子導入には適しているものの、局所投与においても、全身循環に漏れ出た Ad ベクターが肝臓に集積し遺伝子発現を示すため、副作用を示す危険性がある。さらに Ad ベクター投与後、炎症応答などの自然免疫活性化および肝障害を惹起することが問題となっている。それらの問題点を克服するため、これまでに種々の改良型 Ad ベクターが開発されてきたが、我々は近年、microRNA (miRNA) を利用することで上記問題点の克服を試みている。例えば、Ad ベクターによる肝障害は、Ad ベクターが肝臓に取り込まれたのち、わずかに発現する Ad 蛋白質そのものによって肝障害が誘導されたり、Ad 蛋白質に対する細胞性免疫が誘導されたりすることが原因である。そこで我々は、各種 Ad 遺伝子の 3' 非翻訳領域に、肝臓特異的な miRNA である miR-122a の標的配列を遺伝子工学的に挿入することで、肝臓における Ad 蛋白質の発現を劇的に抑制することに成功した。それにより肝障害が有意に抑制されるとともに、導入遺伝子の発現が劇的に向上した。本 Ad ベクターは、従来の Ad ベクターと同様の手法により大量調製可能であり、今後多くの研究者に汎用されることが期待される。

また近年、腫瘍細胞特異的に感染し死滅させる腫瘍溶解性 Ad に大きな注目が集まっている。腫瘍溶解性 Ad では、ウイルスの自己増殖に必須の E1 遺伝子を腫瘍特異的プロモーターによってドライブすることにより、腫瘍細胞特異的な感染・増殖を示す。腫瘍溶解性 Ad はその優れた抗腫瘍効果から現在、第三相臨床試験まで進んでいるが、正常細胞においても腫瘍溶解性 Ad が増殖して副作用を示す恐れがある。そこで E1 遺伝子の 3' 非翻訳領域に、腫瘍細胞特異的に発現低下している miRNA の標的配列を挿入することにより、腫瘍細胞に対する優れた殺細胞効果を維持したまま、正常細胞におけるウイルスゲノムの複製を抑制することに成功した。本講演では、さらに腫瘍溶解性 Ad を用いた抹消循環腫瘍細胞の検出に関する検討や、miRNA のプロセシング因子と Ad の増殖との関連についても紹介したい。