

研究課題である。遺伝子工学的にカプシドタンパク質を改変してターゲティング能を有したアデノウイルスベクターを作製するには、CAR を介した感染経路を遮断することが第一に必要である。また、低親和性であるがファイバーの根本に存在するペントンベースの RGD モチーフが  $\alpha_v$  インテグリンと結合することによって起こる感染ルートや、ファイバーのシャフト領域がヘパラン硫酸に結合することによって起こる感染ルートも遮断する必要がある。このような経路での感染を回避した改変アデノウイルスベクターのファイバー領域などに、ターゲット細胞特異的に結合するリガンドを付与すればターゲティングアデノウイルスベクターの開発が可能になる (図3)。

ファイバーノブの AB ループや FG ループに変異を導入すれば CAR と結合できないアデノウイルスベクターが作製でき<sup>15)</sup>、ペントンベースの RGD モチーフを欠損させれば、 $\alpha_v$  インテグリンと結合できないベクターが作製できる<sup>16)</sup>。また、ファイバーのシャフト部分の KKTK からなるヘパリン結合ドメインを改変すればヘパラン硫酸と結合できないベクターができる<sup>17)</sup>。筆者らは、

KKTK 配列を欠く 35 型アデノウイルスのファイバーのシャフトに、CAR との結合能を欠損させた 5 型アデノウイルスのファイバーノブ、さらにペントンベースの RGD モチーフを欠損させたトリプル変異を有したアデノウイルスベクターが、従来のアデノウイルスベクターに比べマウス肝臓への移行活性 (アデノウイルスベクターは全身投与すると 95% 以上のベクターは肝臓に移行し遺伝子発現させる) が 3 万分の 1 以下に減少することを見出しており、積極的に特定の臓器に移行しないベクターの開発に成功している<sup>18)</sup> (なお、1 つの領域だけに変異を加えたベクターでは肝移行性は減少させることができず<sup>16)</sup>、2 つの領域に変異を加えたベクターでは肝移行性は数百倍減少する<sup>18)</sup>)。本ベクターのファイバーノブの HI ループや C 末端コード領域には、任意の外来ペプチドコード遺伝子が容易に挿入できるように、制限酵素ユニーク部位が付与されており、リガンドを自在にベクター表面に表現できるようになっている。本システムが、ターゲティング能をもったアデノウイルスベクター開発のための基盤になると期待される。現在はいかにして親和性の高いター

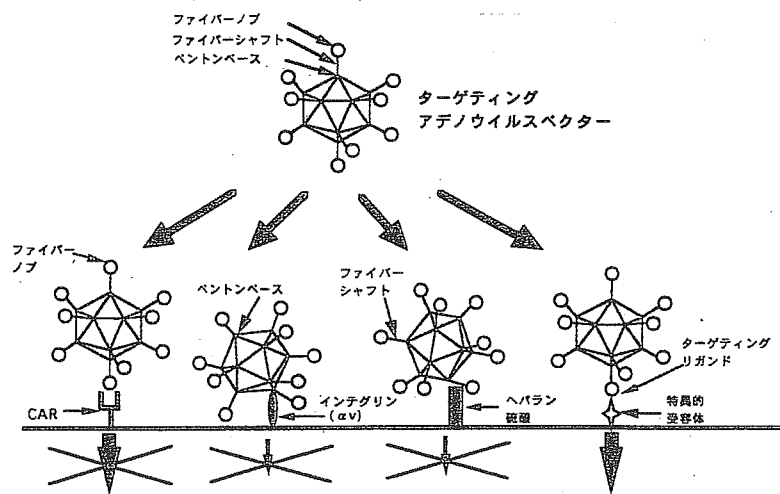


図3 ターゲティング能を有したアデノウイルスベクターの構造

ターゲティング能を有したアデノウイルスベクターの開発のためには、①ファイバーと CAR との結合を介した感染ルートを回避し、②低親和性であるがペントンベースの RGD モチーフが  $\alpha_v$  インテグリンと直接結合することによって起こる感染ルートを回避し、③ファイバーシャフト領域がヘパラン硫酸に作用することによって起こる感染ルートも回避し、④細胞特異的受容体を介してのみ感染するベクターを開発する必要がある。

ゲティングリガンドを同定するかが課題となっている。

## 5. おわりに

本稿では、遺伝子工学的にカプシドタンパク質を改変するアプローチによる改良型アデノウイルスベクターの開発について解説した。感染域を変更するためのアプローチとしては、抗体やタンパク質、高分子でベクター表面を修飾することによる生化学的・化学的方法もあり、さらに組織特異的プロモーターと組み合わせることで、より厳密な細胞特異的遺伝子発現の制御が可能となる。感染域を目的に応じて変更し、有効性・安全性を高めたベクターの開発は、遺伝子治療の進展につながるだけでなく、遺伝子の機能を解析するための必須の基盤技術にもなり、今後の研究の更なる発展が期待される。

## 文 献

- 1) Okegawa T., Pong R. C., Li Y., Bergelson J. M., Sagalowsky A. I., Hsieh J. T., *Cancer Res.*, **61**, 6592-6600 (2001)
- 2) Rauen K. A., Sudilovsky D., Le J. L., Chew K. L., Hann B., Weinberg V., Schmitt L. D., McCormick F., *Cancer Res.*, **62**, 3812-3818 (2002)
- 3) 水口裕之, 早川堯夫, *BIO INDUSTRY*, **18** (7), 5-14 (2001)
- 4) 水口裕之, 早川堯夫, *Mebio*, **21** (4), 8-16 (2004)
- 5) Mizuguchi H., Koizumi N., Hosono T., Utoguchi N., Watanabe Y., Kay MA., Hayakawa T., *Gene Ther.*, **8**, 730-735 (2001)
- 6) Koizumi N., Mizuguchi H., Utoguchi N., Watanabe Y., Hayakawa T., *J. Gene Med.*, **5**, 267-276 (2003)
- 7) Mizuguchi H., Hayakawa T., *Gene*, **285**, 69-77 (2002)
- 8) Sakurai F., Mizuguchi H., Hayakawa T., *Gene Ther.*, **10**, 1041-1048 (2003)
- 9) Sakurai F., Mizuguchi H., Yamaguchi T., Hayakawa T., *Mol. Ther.*, **8**, 813-821 (2003)
- 10) Mercier G. T., Campbell J. A., Chappell J. D., Stehle T., Dermody T. S., Barry M. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **101**, 6188-6193 (2004)
- 11) Okada N., Tsukada Y., Nakagawa S., Mizuguchi H., Mori K., Saito T., Fujita T., Yamamoto A., Hayakawa T., Mayumi T., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **282**, 173-179 (2001)
- 12) Okada N., Saito T., Masunaga Y., Tsukada Y., Nakagawa S., Mizuguchi H., Mori K., Okada Y., Fujita T., Hayakawa T., Mayumi T., Yamamoto A., *Cancer Res.*, **61**, 7913-7919 (2001)
- 13) Hosono T., Mizuguchi H., Katayama K., Koizumi N., Kawabata K., Yamaguchi T., Nakagawa S., Watanabe Y., Mayumi T., Hayakawa T., *Gene*, in press.
- 14) Mizuguchi H., Hayakawa T., *Cancer Gene Ther.*, **9**, 236-242 (2002)
- 15) Roelvink P. W., Mi Lee G., Einfeld D. A., Kovessi I., Wickham, T., *Science*, **286**, 1568-1571 (1999)
- 16) Mizuguchi H., Koizumi N., Hosono T., Ishii-Watabe A., Uchida E., Utoguchi N., Watanabe Y., Hayakawa T., *Gene Ther.*, **9**, 769-776 (2002)
- 17) Smith T. A. G., Idamakanti N., Rollence M. L., Marshall-Neff J., Kim J., Mulgrew K., Nemerow G. R., Kaleko M., Stevenson S. C., *Hum. Gene Ther.*, **14**, 777-787 (2003)
- 18) Koizumi N., Mizuguchi H., Sakurai F., Yamaguchi T., Watanabe Y., Hayakawa T., *J. Virol.*, **77**, 13062-13072 (2003)

☆

☆

☆