

生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究

研究分担者 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座 教授

研究要旨 HVJ-Eは樹状細胞からのinterferon- β の誘導を促し、これにより脾臓細胞よりinterferon- γ を産生させる。Interferon- β の産生はToll-like receptor非依存性でRIG-I依存性である。HVJ-Eは、Th1シフトを促進するため、アトピー性皮膚炎治療には適したベクターである。

A．研究目的

HVJ-E ベクターは Sendai virus (hemagglutinating virus of Japan; HVJ)を紫外線等で不活化した粒子に遺伝子や siRNA を封入し、膜融合作用によって直接細胞質内に導入できるベクターである。何故このベクターがアトピー性皮膚炎等のアレルギー疾患に効果があるのか、その作用機構の解明を目指した。

B．研究方法

アレルギー性-鼻炎マウスや健常マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下して脾臓細胞からのサイトカイン産生をELISA法で評価した。脾臓細胞や骨髄由来の樹状細胞を健常マウスやMyd88^{-/-}TRIF^{-/-}マウスから分離してHVJ-Eを作用させ、サイトカインの産生をELISAで測定した。Polyethylene imine法を用いてRIG-I siRNAを樹状細胞に導入した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、大阪大学医学系研究科で承認された実験計画に基づいて行った。

C．研究結果

アレルギー性鼻炎マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下して脾臓細胞からのinterferon (IFN)- γ の産生が上昇し、interleukin (IL)-4, IL-5の産生は抑制された。一方、健常マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下しても脾臓細胞でのIFN- γ の産生は誘導さ

れず、またIL-4, IL-5の産生もなかった。健常マウスの脾臓細胞にHVJ-EをかけてもIFN- β , - γ は産生されないが、骨髄由来の樹状細胞からはIFN- β は産生された。そこでHVJ-E処理した樹状細胞の培養液で脾臓細胞を培養するとIFN- γ の産生が見られた。HVJ-Eによる樹状細胞からのIFN- β の産生機構を解析するため、Myd88^{-/-}TRIF^{-/-}マウスの樹状細胞にHVJ-Eをかけたが、野生型マウスの樹状細胞と同じように産生が見られた。一方、RIG-I siRNAを導入した樹状細胞ではHVJ-EによるIFN- β 産生は著明に抑制された。

D．考察

HVJ-E は樹状細胞から IFN- β 産生を促し脾臓細胞に IFN- γ を産生させると考えられる。鼻炎マウスでは、炎症部位の鼻粘膜における樹状細胞の集積があり、HVJ-E の鼻腔内滴下で脾臓細胞からの IFN- γ 産生を促した可能性がある。HVJ-E による樹状細胞からの IFN- β 産生は Toll-like receptor 非依存性で RIG-I 依存性であることが分かった。

E．結論

HVJ-E自身がサイトカイン産生に関与しTh1シフトを起こすため、アトピー性皮膚炎の治療に適したベクターである。

F．健康危険情報
なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaneda, Y.: Future directions for gene therapy.
E-book on "Gene therapy: Technologies and applications" (Ed. By Morishita, R and Nakagami, H.) Future Science Group (London, UK)[in press]

2. 学会発表

- 1) 金田安史:新規抗癌剤としての不活化ウイルス粒子のポテンシャル 日本脳神経外科学会第71回学術集会(特別医学セミナー)平成24年10月18日 大阪

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし