

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(不活性化センダイウイルスエンベロープ)は免疫細胞に作用してTh1シフトを起こすためアレルギー疾患の治療に適していると考えられる。そこで、さらにその作用を強力にするために一本鎖IL12ポリペプチドウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの開発を行い、その作用機構を解析した。

A．研究目的

HVJ-E(不活性化センダイウイルスエンベロープ)は免疫細胞に作用してTh1シフトを起こすためアレルギー疾患の治療に適していると考えられる。そこで、さらにその作用を強力にするために一本鎖IL12ポリペプチドウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの開発を行い、その作用機構を解析した。

B．研究方法

一本鎖IL12ポリペプチドとHVJ-Eを併用することにより、マウス樹状細胞や脾臓細胞からのInterferon- γ (IFN- γ)の産生が亢進するかどうかを、ELISA法で測定した。次にIL12蛋白質をウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの構築を試みた。

(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

HVJ-Eのみを樹状細胞やマウス脾臓細胞に加えてもIFN- γ の産生はほとんど認められなかった。0.1 ng/mlのscIL12ではIFN- γ の産生は検出できなかった。しかしscIL12(0.1 ng/ml)とHVJ-Eを併用すると150~200 pg/mlのIFN- γ が脾臓細胞から産生された。細胞から産生されたHVJ由来のHVJ-E(膜融合活性なし)と野生型のHVJ-E(融合活性あり)をそれぞれ別々にscIL12とともに脾臓細胞に加えると、どちらのHVJ-EでもIFN- γ の産生増強を認めた。次にscIL12とHVJ-Eを併用する代わりにIL12結合型HVJ-Eの機能について解析した。IL12結合型HVJ-E(1.5×10^7 粒子)を脾臓細胞(2×10^5 粒子)にかけると24時間後に120~150 pg/mlのIFN- γ の産生が検出され

た。マウス樹状細胞に加えると24時間で40 pg/mlのIFN- γ が分泌された。IL12結合型HVJ-Eに含まれるIL12と同じ量のZZ-sclIL12やscIL12ではIFN- γ はほとんど検出されなかった。著明に抑制された。

D．考察

膜融合能のないHVJ-EでIFN- γ 産生増強がおり、HN蛋白質のないIL12結合型HVJ-Eで同じくIFN- γ の産生が増強されることから、HVJ-EのF蛋白質を認識する受容体が脾臓細胞の表面にあり、これが刺激されて起こるシグナル経路によって産生された因子がIL12と共存することによりIFN- γ の産生を活性化させることが示唆される。

E．結論

IL12結合型HVJ-Eは強力なアトピー性皮膚炎の治療剤になりうる。

G．研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanemura A, Kiyohara E, Katayama I, Kaneda Y. Recent advances and developments in the antitumor effect of the HVJ envelope vector on malignant melanoma: from the bench to clinical application. Cancer Gene Ther. In press..

2. 学会発表

- 1) 金田安史: 第19回日本遺伝子治療学会 理事長講演 “What will be needed for gene therapy in Japan?” 2013/07/04 岡山

H．知的財産権の出願・登録状況

なし