

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

“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教授

研究要旨 前年度報告した一本鎖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(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シフトをおこすためアレルギー疾患治療に適していると考えられるが、今年度はその作用機構をさらに詳細に解析した。

A．研究目的

HVJ-E 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。この粒子と IL12 の組み合わせが、何故、免疫システムを Th1 優位にシフトできるのかを解明し、アトピー等のアレルギー疾患治療剤としての優位性を明らかにする。

B．研究方法

マウスの一本鎖IL12蛋白質をCHO細胞から精製する。膜融合能を有する、或いは欠失したHVJ-Eを作成する。これらを単独或いは併用して、マウス脾臓細胞全体、さらには脾臓細胞から選別した T cell, B cell, macrophageに作用させ、Th1関連遺伝子の発現をRT-PCRで解析する。

(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とIL12の組み合わせで脾臓細胞からの interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )のみならず、IL12 receptor, T-bet, IL18の発現もIL12単独よりも有意に亢進することがわかった。この中でIL18のみ、HVJ-E単独で同様に高い発現を得ることができた。その発現亢進は、膜融合能には左右されず、HVJ-EのF蛋白質に依存した。選別した免疫細胞を用いると、IL18はmacrophageにおいて発現が増強された。macrophageではHVJ-EによりCaspase 11, Caspase 1の発現も亢進した。一方IL12のみで低値ながら、有意にIFN- $\gamma$ の発現が増強されるのは、T cellであったがHVJ-Eを併用させてもIFN- $\gamma$ の発現は増強しなかった。しかしHVJ-Eを作用させた

macrophageの培養上清を用いると増強され、IL18の抗体で阻害された。そこでIL12と組換えIL18蛋白質を併用するとT cellからのIFN- $\gamma$ の発現が増強された。IL12 receptor, T-betの発現はIFN- $\gamma$ がT cellに作用して増強された。

D．考察

HVJ-EのF蛋白質がmacrophageからIL18を産生させ、IL12と共同でT cellに作用してIFN- $\gamma$ が産生され、これがT cellでのIL12 receptorの発現をT betを介して高めることで、免疫細胞間でIFN- $\gamma$ 産生亢進のpositive feedback loopができると考えられる。

E．結論

IL12とHVJ-E nF蛋白質があれば強力なアトピー性皮膚炎の治療剤になりうる。

F 健康危険情報  
異常なし

G 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 第 11 回日本中性子捕捉療法学会 教育講演  
Kaneda, Y. “ウイルスに学ぶ癌治療戦略”  
2014/7/6 大阪
- 第 20 回日本遺伝子治療学会 理事長講演  
Kaneda, Y. “Development of anti-cancer strategies using Sendai virus envelope (HVJ-E) and current status of clinical applications to treat cancer patients”  
“2014/8/7 東京
- 第 8 回韓国遺伝子細胞治療学会 招待講演

Kaneda, Y. “Virusome-mediated cancer  
treatment ~from basic to clinic~” 2014/10/11  
Osong (Korea)

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