

Title	Development of Gene Vectors For Pinpoint Targeting To Human Hepatocytes by Cationically Modified Polymer Complexes
Sub Title	MPCポリマーによるヒト肝細胞特異的な遺伝子ベクターの開発
Author	千葉, 斉一
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.38-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0038

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Development of Gene Vectors For Pinpoint Targeting To Human Hepatocytes by Cationically Modified Polymer Complexes

(MPCポリマーによるヒト肝細胞特異的な遺伝子ベクターの開発)

千葉 斉一

内容の要旨

HBs抗原と遺伝子とを結合させた生体適合性を有するCationically MPC polymerを用いて、ヒト肝細胞に対して特異的に発現するgene delivery systemを開発することを目的とした。

1. 生体適合性を有した2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) と、遺伝子に結合可能なCation unitであるN,N-dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA) と、蛋白質のNH₂基とエステル結合し特異性を持たせることを可能にさせるp-nitrophenylcarbonyloxyethyl methacrylate (NPMA) とがpolymer結合した化合物 (PMDN) をVectorの骨格として用いた。まずPMDNに細胞特異性を持たせる目的でHBs抗原を結合させたPMDN-HBsを作製した。さらにそのPMDN-HBsに遺伝子発現を確認する目的で蛍光物質を発現するGFPのcDNA、または生体内で血管新生抑制作用を有するsFlt-1のcDNAをそれぞれ結合させたPMDN complex (sFlt-1またはGFP/PMDN-HBs) を作製した。2. 前記PMDN complexを用いて、肝癌細胞株HepG2、大腸癌細胞株WiDrをそれぞれtransfectionさせ、sFlt-1発現量とGFP発現量を検討した。3. HepG2とWiDrの皮下担癌マウスモデルを作製し、それらに前記PMDN complexを経静脈内投与し各組織中のsFlt-1発現量とGFP発現量を検討した。4. 前記3. の皮下担癌マウスモデルに同様の試薬を経静脈内投与した際の主要組織重量・肝機能障害の有無・主要組織の病理組織学的所見についてそれぞれ検討した。

HepG2にsFlt-1またはGFP/PMDN-HBsをtransfectionさせた群で有意にsFlt-1発現が高値であり、GFP発色も認めた。さらにHepG2皮下担癌マウスにsFlt-1あるいはGFP/PMDN-HBsを静脈内投与した群で有意にsFlt-1の発現が高値であった。またPMDN complexを投与したマウスでは主要組織重量の変化、肝機能障害、病理組織学的所見において異常は認められなかった。

HBs抗原を結合させたPMDN complexはin vitro, in vivoにおいて肝細胞癌に対して特異的に遺伝子を発現させることが可能であり、新しい遺伝子治療のVectorとなりうる可能性が示唆された。

論文審査の要旨

Vectorの骨格として生体適合性を有した2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) および、遺伝子に結合可能なCation unitであるN,N-dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA) と、蛋白質のNH₂基とエステル結合し特異性を維持するp-nitrophenylcarbonyloxyethyl methacrylate (NPMA) とがpolymer結合した化合物 (poly MPC-co-DMAEMA-co-NPMA (PMDN)) を用いた。本研究では、組織特異性をもたせるために上記のPMDNにHBs抗原と、腫瘍の新生血管増殖に関与しているVEGF Receptorの阻害作用を有する可溶性VEGF受容体遺伝子 (sFlt-1 plasmid) とを結合させ、組織特異性・安全性を併せ持った遺伝子delivery systemについて検討を行った。

審査では、まずPMDNによる遺伝子導入効率について質疑がなされた。PMDNによる遺伝子導入効率は他の遺伝子VectorであるVirus vectorやLiposomeに比較して低値である理由について質問があり、その原因としてはPMDNとHBs抗原との結合率の問題やPlasmidを結合させた複合体の粒子径の問題、さらにはPlasmidのpromoterの問題などが想定されるが、明確に究明はなされていないとの説明がなされた。ただしVectorの骨格であるMPC polymerは生体適合性に優れており安定状態の大量生産が可能である点で他のVectorに比較して有利であると共に、組織特異的な遺伝子発現が可能であることから肝細胞癌の遺伝子治療だけでなく蛋白欠損疾患に対する治療への可能性が示唆されていると回答された。

また、PMDNのマウスにおける薬理的体内動態について質疑がなされた。PMDNにHBs抗原が結合した複合体の静脈内投与による免疫応答や投与後の体内分布について質問があり、それらについてはいまだ明確には解明されていないとの説明がなされた。しかしPMDNの骨格であるMPC polymerは血管グラフトなどに臨床応用されており免疫応答が非常に低いことが報告されており、また体内分布については今後の検討課題であるとの回答がなされた。

以上のように本研究には今後検討すべき課題が残されているものの、PMDNは組織特異性を有し遺伝子をpin-pointに運搬できる可能性を示し、癌や代謝性疾患に対する新しい遺伝子治療 (安全で効率的な腫瘍細胞の増殖抑制、腫瘍細胞のアポトーシス誘導、抗腫瘍免疫増強など) のVectorとなりうる点で、意義のある研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
内科学 日比 紀文 病理学 坂元 亨宇
先端医科学 河上 裕
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 日比 紀文

試問日: 平成18年12月28日