

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 白元松

本研究は、シュードタイプレンチウイルスベクターによるヒト血液細胞への遺伝子導入効率の検討をマウス白血病ウイルス(MLV)ベクターと詳細に比較して行ったものである。

細胞指向性の広い小水泡性口内炎ウイルス(VSV)の外殻蛋白(env)をヒト免疫不全ウイルス(HIV)に持たせたシュードタイプレンチウイルス[HIV(VSV)]ベクターが、これまで遺伝子導入困難であった造血幹細胞や非分裂細胞である神経細胞にも効率良く遺伝子導入できることが報告されてきた。すべての修飾遺伝子と tat を削除した第 3 世代パッケージングプラスミドと自己不活性化 (SIN; self-inactivation) ベクターの組み合わせにより作製した HIV(VSV)ベクターは、従来のレトロウイルスベクターと同程度に安全であると考えられ、血液細胞へ遺伝子導入する場合極めて優れていることが示唆される。このベクター系が白血病細胞を始め種々の血液細胞に対する遺伝子導入法として、MLV ベクターよりも真に優れているかどうか調べるために MLV SIN ベクターと対比して検討を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 10 種類の白血病細胞株に対する遺伝子導入効率を検討した。HIV ベクターでは大部分の白血病細胞株に対してほぼ 100%の遺伝子導入効率が認められたが、MLV では 7 種類の細胞で 50% までであり、全ての細胞株で、HIV ベクターの遺伝子導入効率は MLV ベクターよりも優れていた。
2. 11 例の患者由来白血病細胞または骨髄腫細胞を用いて検討した。HIV ベクターでは 50-90% と高い遺伝子導入効率が得られ、導入後 3 日目よりも 7 日目に GFP 陽性細胞率は増加した。一方、MLV ベクターでは 20-80%台にとどまり、遺伝子導入後 3 日目より 7 日目の方が GFP 陽性細胞の割合は低下する場合はほとんどであった。長期培養可能な細胞では、HIV ベクター導入後一ヶ月の間 GFP の発現レベルは維持された。一方、MLV 感染細胞では感染後 2 週間以内に急速な GFP 発現レベルの低下が認められた。
3. 末梢血リンパ球に対する遺伝子導入について検討した。PHA 刺激細胞に対して HIV ベクターを感染させたところ GFP 陽性細胞の割合は導入後 7 日目で 80%以上であった。一方、MLV ベクターでは 3 日目で約 50%であったが、7 日目には 20%まで低下した。また、非刺激細胞に対しても HIV ベクターでは 7 日目で約 40%であったが、MLV ベクターでは 10%未満と導

入効率は非常に低かった。

4. 臍帯血由来 CD34 陽性細胞に対する遺伝子導入を検討した。MOI=80 での導入後 2 日目には臍帯血 CD34 陽性細胞に対して約 98%の導入効率が得られた。8 日目には、CD34 陽性細胞および分化した CD13 陽性細胞でも半数以上 GFP 陽性を保っていた。MLV ベクターと比較したところ、刺激条件のみならず非刺激条件でも、GFP 発現細胞を数 10%認めた。一方、MLV ベクターでは導入効率は低く、特に非刺激条件では GFP 発現細胞をほとんど認めなかった。

以上、本研究では安全性を考慮した新しい第 3 世代 HIV(VSV)ベクターが血液細胞へ遺伝子導入する場合極めて優れていることが示され、今後、造血幹細胞や白血病細胞を標的とした遺伝子治療法において MLV にとって変わるものとなる可能性を示唆しており、学位の授与に値するものと考えられる。