

次世代癌遺伝子治療戦略に適う改良型アデノウイルスベクター



研究ノート

金川 尚子*, 岡田 直貴**, 中川 晋作***
大阪大学大学院薬学研究科薬剤学分野

An improved adenoviral vector system for cancer immunogenotherapy
Key Words : Adenoviral vector, Cancer, Cytokine, Cell delivery system

1. はじめに

ヒトゲノムプロジェクトが完了し、様々な難治性疾患の発症機構が遺伝子レベルで解き明かされる時代に突入した。これらの情報を疾病治療に応用しようとする遺伝子治療は、基礎研究と臨床研究との連携によって着実な進展を遂げており、21世紀の医療の一端を担うべき治療戦略として大いに期待されている。とりわけ癌を対象とした遺伝子治療は、患者

数の多さと現在確立されている外科療法、化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的療法だけでは十分な治癒が望めないという理由から、全遺伝子治療臨床研究プロトコルの70%近くを占めている。これまでの臨床研究によって癌遺伝子治療の実用化に向けての課題が抽出され、なかでも優れた遺伝子導入効率を発揮できるベクターシステムの確立が急務とされている。すなわち、既存の遺伝子治療用ベクターでは腫瘍組織への十分な遺伝子導入を達成できないことが治療効果を制限する大きな要因であるとの確かな知見が集積され、ここ数年の癌遺伝子治療研究においては、既存のベクターを応用した「治療」に観点を置いた研究に加えて、遺伝子導入効率を高めた「新規ベクターシステムの開発」を中心とした基盤研究も精力的に行われている。

2. アデノウイルスベクター

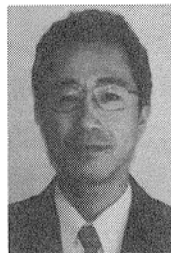
アデノウイルス (Ad) ベクターは、252個のカプソメアからなる正20面体構造をしており、そのうち頂点にある12個は突起構造を持ったペントンと呼ばれ、他の240個はヘキソンと呼ばれる。ペントンは、ペントンベースとファイバーからなり、ファ



*Naoko KANAGAWA
1982年2月生
2006年大阪大学大学院薬学研究科博士前期課程修了
現在、大阪大学大学院薬学研究科博士後期課程在学中
TEL 06-6879-8178
FAX 06-6879-8179
E-mail : kanagawa@phs.osaka-u.ac.jp



**Naoki OKADA
1970年2月生
1997年大阪大学大学院薬学研究科博士課程修了
現在、大阪大学大学院薬学研究科応用医療薬科学専攻薬剤学分野、講師、博士(薬学)、生物薬剤学、細胞生物学、腫瘍免疫学、遺伝子治療学
TEL 06-6879-8178
FAX 06-6879-8179
E-mail : okada@phs.osaka-u.ac.jp



***Shinsaku NAKAGAWA
1959年12月生
1984年神戸学院大学大学院薬学研究科修了
現在、大阪大学大学院薬学研究科応用医療薬科学専攻薬剤学分野、教授、博士(薬学)、薬剤学、遺伝子治療学
TEL 06-6879-8175
FAX 06-6879-8179
E-mail : nakagawa@phs.osaka-u.ac.jp

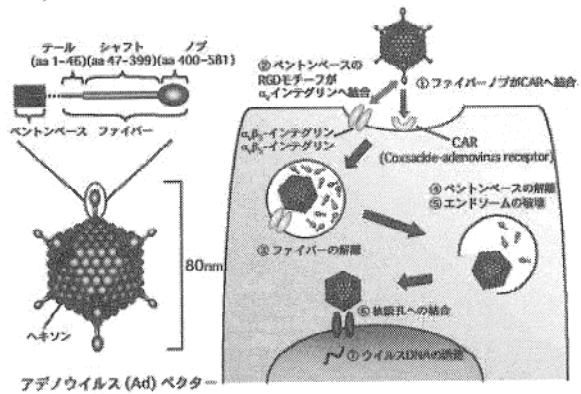


図1 アデノウイルスベクターの構造と遺伝子導入機序

イバーはさらに、テール、シャフト、ノブに分けられる(図1)。Adベクターの標的細胞内への侵入は、ファイバーノブがCoxsackie-adenovirus receptor (CAR)に結合し、続いてペントンベースのRGD(Arg-Gly-Asp)モチーフが細胞表面上の α_v -integrinsに結合するという二段階の過程を経て、エンドサイトーシスにより起こる。エンドソームに達したAdベクターは、酸性条件下でカプシド蛋白質が構造変化を起こし、エンドソームを破壊して細胞質内へと移行する。その後、Adベクターは微小管に沿った逆行性輸送により核近傍まで運ばれ、核膜孔複合体に結合し、目的遺伝子の組み込まれたゲノムを核内へと送達することにより遺伝子発現を達成する(図1)。この機序に基づいて、Adベクターは種を問わず非分裂細胞を含めた広範な種類の細胞・組織に最も効率良く遺伝子導入可能であることから、遺伝子治療研究のみならず基礎研究の分野においても広く用いられているベクターである。しかし、腫瘍においては悪性度の進行に伴ってAdレセプターであるCARの発現レベルが低下することが知られており、有効な遺伝子治療を達成するためには副作用が危惧される高用量のAdベクター投与を余儀なくされる。

3. RGDファイバーミュータントアデノウイルスベクター

このような背景を踏まえて、我々はCAR低発現の腫瘍にも極めて効率よく遺伝子導入可能な新規ベクターの探索・改良を推進し、遺伝子工学的手法を駆使することによってAdベクターの感染スペクトラムを大幅に拡大したRGDファイバーミュータントAd(AdRGD)ベクターの開発に成功した。図2に示すように、ファイバーノブに α_v -integrins親和性のRGDペプチド配列を表現させたAdRGDベクターは、従来型Adベクターと比較して、CAR低発現のマウス線維芽肉腫Meth-A細胞に対するルシフェラーゼ遺伝子(レポーター遺伝子)の導入・発現効率を飛躍的に改善することができた¹⁾。さらに、抗腫瘍活性を示す代表的なサイトカインであるTNF- α あるいはIL-12の遺伝子を搭載したベクターを、あらかじめマウスに生着させたCAR低発現腫瘍に 10^8 vector particles/tumorの用量で投与したところ、従来型Adベクター投与群と比較してAdRGDベ

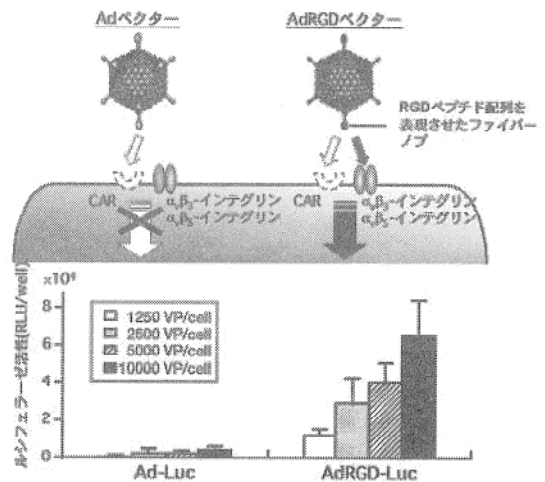


図2 従来型/改変型アデノウイルスベクターの遺伝子発現効率

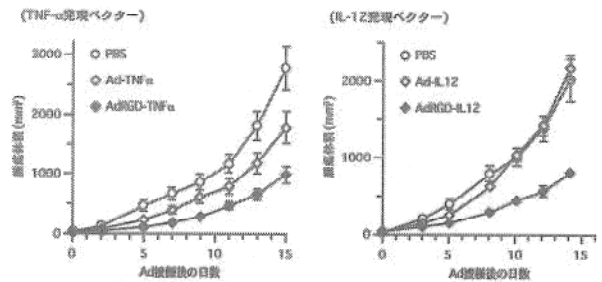


図3 アデノウイルスベクターの構造と遺伝子導入機序

クター適用群では劇的な治療効果の改善が観察された(図3)²⁾³⁾。これらの結果は、AdRGDベクターが癌遺伝子治療の有効性向上と投与ベクター量の削減に伴う副作用回避を充たす有用な新規ベクターシステムであることを実証するものであり、遺伝子工学的的手法によるAdベクターの感染域改変技術が、今後の癌遺伝子治療の推進・振興に大きく貢献できることを期待させる。

4. 新規癌免疫遺伝子治療の開発に向けた基盤研究

次世代癌治療戦略として有望視される免疫療法は、臨床試験において有効性は示唆されているもののいまだ確立された治療法とはなりえていない。この一因として、効果的な癌免疫療法を達成する上で必要な免疫エフェクター細胞の腫瘍組織への集積性改善という側面が十分に検討されていないことが挙げられる。つまり、種々のワクチン手法によってたとえ患者体内に癌細胞を殺傷できる免疫エフェクター細胞が誘導されたとしても、それらが十分に腫瘍

組織に移行・浸潤して癌細胞と接触できなければ、癌免疫療法の有効性は大きく制限されてしまう。

ケモカインと総称される分泌タンパク群は、特異的なケモカインレセプターを介した刺激によって白血球の局所への遊走・浸潤を誘発することが知られており、種々の細胞接着分子と協調して炎症反応やリンパ球のホーミングを制御している。そこで我々は、ケモカイン-ケモカインレセプター連関を応用することによって、腫瘍免疫の中心的なエフェクター細胞であるT細胞、NK細胞の腫瘍集積性を増強させる方法論を確立すれば、癌免疫療法の有効性改善、延いては臨床応用の実現に向けて非常に有用であろうと考えた。

このコンセプトに基づいて、各種ケモカイン遺伝子を搭載したAdRGDベクターを構築し、これらを腫瘍内投与した際の浸潤リンパ球の頻度・サブセットと抗腫瘍効果との連関を解析したところ、CCL17, CCL19, CCL22, CCL27と呼ばれる4種のケモカインを発現させた腫瘍においては、T細胞ならびにNK細胞の顕著な浸潤増加に伴う明らかな腫瘍増殖抑制効果が観察された⁴⁾⁻⁶⁾。本研究成果は、AdRGDベクターを応用したケモカイン遺伝子導入技術が、生体内の免疫細胞の分布・局在の緻密な制御、すなわち「必要なときに、必要な部位へ、必要な数の」細胞を送達する“Cell Delivery System”ともいべき新たな概念・方法論の確立、に大きく貢献できることを示唆している。

5. おわりに

我々は、今回紹介したAdRGDベクターのみならず、腫瘍組織特異的に治療用遺伝子を発現することができるAdベクター、全身投与において腫瘍組織

に選択的に集積するAdベクター、など癌遺伝子治療の最適化を充たす新規ベクターシステムの開発を進めている。これら改良型Adベクターの設計・創製には、遺伝子導入効率の増強に基づく有効性の改善はもちろんのこと、遺伝子導入の組織特異性の制御やベクター自身の抗原性を低減することによる副作用回避をも考慮に入れる必要がある。また現在の次世代ベクターシステムの開発研究においては、遺伝子導入効率に優れるという観点から専らAdベクターをはじめとするウイルスベクターの改良に力が注がれているが、これらの研究から得られるウイルスの細胞内動態および遺伝子核内送達機序に関する知見・情報を非ウイルスベクターに導入することができれば、将来的には優れた遺伝子導入効率と高い安全性を兼ね備えた新規ベクターシステムの開発に結びつく可能性が期待される。

遺伝子を薬物と見なした遺伝子治療では、ベクターは剤形であり、薬物の作用を最大限に発揮できる剤形を設計するのが薬学の使命であり、我々が果たすべき役割は大きい。

6. 参考文献

- 1) Gao JQ et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 328 : 1043-1050 (2005)
- 2) Okada Y et al. *Cancer Lett.* 177 : 57-63 (2002)
- 3) Okada Y et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1670 : 172-180 (2004)
- 4) Gao JQ et al. *Cancer Res.* 63 : 4420-4425 (2003)
- 5) Okada N et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 317 : 68-76 (2004)
- 6) Gao JQ et al. *Biol. Pharm. Bull.* 28 : 1066-1070 (2005)

