

ID No.	124
研究課題名	ウイルス性慢性肝疾患治療用の新規アデノウイルスベクターの開発
研究代表者	鈴木 哲朗 (浜松医科大学・教授)
研究組織 受入教員 研究分担者	鐘ヶ江 裕美 (東京大学医科学研究所・助教) 斎藤 泉 (東京大学医科学研究所・教授)
研究報告書	
<p>1) Virus associated RNA(VA RNA)恒常的発現細胞株の樹立：</p> <p>2種類のVA RNAプロモーター領域を欠失した非増殖型アデノウイルスベクター(以下VA欠失AdV)の作製効率化を図るために、VA発現プラスミドをトランスフェクション、薬剤選択によって、VA RNAsを恒常的に発現する293細胞及び293T細胞を樹立化した。これらを用いてVA欠失AdVコントロールベクターの作製を試み、特に293T由来細胞株では極めて高い作製効率(99%)を示した。</p> <p>2) shRNAまたはインターフェロン(IFN)発現非増殖型アデノウイルス(AdV)の作製：</p> <p>C型肝炎ウイルス(HCV)翻訳調節領域に対する2種類のshRNA(1種類は既報、もう1種類は独自に設計)を、AdVゲノム右端のE4領域に挿入するためコスミドカセットに挿入した。コスミドベクターを上記VA RNA発現細胞へ導入し組換えAdV(shRNA-AdV)を作製した。ヒトIFNα2(IFN-α2)のcDNAを単離、同様にコスミドベクターを構築し、IFN-AdVを取得した。</p> <p>3) shRNA-IFN AdVによる抗HCV活性の評価：</p> <p>2種類のHCVサブゲノム複製細胞(遺伝子型1b及び2a)へ各shRNA-AdVを感染した結果、VA欠失型では約60~70%のHCV RNA複製阻害を認めた。興味深いことに、VA発現型に比べ約20%高い阻害効果であり、VA RNAを除くことによるsiRNA効果亢進が示された。さらにHCV感染細胞では、VA欠失shRNA-AdVにより80%以上の抗HCV活性を見出した。また、IFN-AdVは各細胞系で80~95%以上の高い阻害活性を示した。</p> <p>今後、難治性C型肝炎の治療用として、IFN/shRNA共発現VA欠失AdVの開発が期待される。</p>	
成果発表 <論文>	
Maekawa A, Pei Z, Suzuki M, Fukuda H, Ono Y, Kondo S, Saito I, Kanegae Y. Efficient production of adenovirus vector lacking genes of virus-associated RNAs that disturb cellular RNAi machinery. Scientific Reports 2013;3:1136.	