

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19590096

研究課題名(和文) CLSPによるアデノウイルス感染制御機構の解析

研究課題名(英文) Role of CLSP in adenovirus infection

研究代表者

川端 健二(KAWABATA KENJI)

独立行政法人医薬基盤研究所・基盤的研究部・サブプロジェクトリーダー

研究者番号：50356234

研究成果の概要：

マウス CLSP (mCLSP; CAR-like soluble protein) は 390 アミノ酸から成っており、3 つの免疫グロブリン様 (IgV) 領域を有する可溶性タンパク質であった。これら 3 つの IgV 領域は、Ad 受容体である CAR の IgV 領域と強い相同性を示した。そこで、CAR 陽性細胞株に mCLSP を安定発現させ、その後アデノウイルス (Ad) ベクターを作用させた結果、Ad ベクターの感染が親株と比較し著明に阻害された。また、遺伝子組換え mCLSP も同様に Ad ベクターの感染を有意に阻害した。一方、CAR 陰性細胞株に mCLSP を発現させると、Ad ベクターの感染効率が親株と比較し上昇した。したがって、CLSP は CAR 発現の有無により Ad の感染を正または負に制御するタンパク質であることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,800,000	540,000	2,340,000
20年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：分子生物学・遺伝子治療学・ウイルス学

1. 研究開始当初の背景

アデノウイルス (Ad) は CAR とよばれる膜タンパク質を受容体として感染する。CAR は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する一回膜貫通型の細胞接着分子であり、このファミリーに属する分子は互いに相同性を有するものが多い。そこで、CAR と相同性を有する分子を新たに探索した結果、可溶性の新規タンパク質を見出し、CLSP (CAR-like soluble protein) と命名した。

本研究課題では、CLSP の Ad 感染における役割について検討した。

2. 研究の目的

我々が新たに見出した CLSP は Ad 受容体 CAR と相同性を有するため、Ad の感染に何らかの役割を担っている可能性がある。そこで、CLSP の過剰発現系を用いて Ad 感染における CLSP の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

CAR 陽性 SK HEP-1 細胞にマウス CLSP cDNA を安定発現させた。また、CAR 陰性 NIH3T3 細胞に対しても CLSP cDNA を安定発現させ、両細胞株に Ad ベクターを感染させた後の感染効率を測定した。また、CLSP と Ad ベクターとの相互作用を ELISA にて検討した。

4. 研究成果

CAR 陽性 SK HEP-1 細胞に mCLSP を安定発現させ、その後 Ad ベクターを作用させた結果、Ad ベクターの感染が親株と比較し著明に阻害された。また、遺伝子組換え mCLSP も同様に SK HEP-1 細胞に対する Ad ベクターの感染を有意に阻害した。一方、CAR 陰性 NIH3T3 細胞に mCLSP を発現させると、Ad ベクターの感染効率が親株と比較し上昇した。したがって、CLSP は CAR 発現の有無により Ad の感染を正または負に制御するタンパク質であることが明らかとなった。また、ELISA 法により CLSP は Ad ベクターと直接結合することが示された。以上より、CLSP はウイルス感染防御に関与する新規タンパク質である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- 1) Koizumi N., Yamaguchi T., Kawabata K., Sakurai F., Sasaki T., Watanabe Y., Hayakawa T., Mizuguchi H. Fiber-modified adenovirus vectors decrease liver toxicity through reduced interleukin 6 production, *J. Immunol.*, 178, 1767-1773 (2007) 査読有
- 2) Kurachi S., Koizumi N., Sakurai F., Kawabata K., Sakurai H., Nakagawa S., Hayakawa T., Mizuguchi H. Characterization of capsid-modified adenovirus vectors containing heterologous peptides in the fiber knob, protein IX, or hexon. *Gene Ther.*, 14, 266-274 (2007) 査読有
- 3) Mizuguchi H., Funakoshi N., Hosono T., Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T. Rapid construction of small interfering RNA-expressing adenovirus vectors on the basis of direct cloning of short hairpin RNA-coding DNAs. *Hum. Gene Ther.*, 18, 74-80 (2007) 査読有
- 4) Kurachi S., Koizumi N., Tashiro K., Sakurai H., Sakurai F., Kawabata K., Nakagawa S., Mizuguchi H. Modification of pIX or hexon based on fiberless Ad vectors is not effective for targeted Ad vectors., *J. Control. Release*, 127, 88-95 (2008) 査読有
- 5) Sakurai F., Nakamura S-I., Akitomo K., Shibata H., Terao K., Kawabata K., Hayakawa T., Mizuguchi H. Transduction properties of adenovirus serotype 35 vectors after intravenous administration in nonhuman primates. *Mol. Ther.*, 16, 726-733 (2008)
- 6) Tashiro K., Kawabata K., Sakurai H., Kurachi S., Sakurai F., Yamanishi K., Mizuguchi H. Efficient adenovirus vector-mediated PPAR gamma gene transfer into mouse embryoid bodies promotes adipocyte differentiation. *J. Gene Med.*, 10, 498-507 (2008) 査読有
- 7) Sakurai H., Tashiro K., Kawabata K., Yamaguchi T., Sakurai F., Nakagawa S., Mizuguchi H. Adenoviral expression of suppressor of cytokine signaling-1 reduces adenovirus vector-induced innate immune response. *J. Immunol.*, 180, 4931-4938 (2008) 査読有
- 8) Nakashima K., Sakurai F., Kawabata K., Mizuguchi H. Efficient gene delivery in human and rodent mast cells using adenovirus vectors. *J. Control. Release*, 129, 215-222 (2008) 査読有
- 9) Suzuki T., Sakurai F., Nakamura S., Kouyama E., Kawabata K., Kondoh M., Yagi K., Mizuguchi H. miR-122a-regulated expression of a suicide gene prevents hepatotoxicity without altering antitumor effects in suicide gene therapy. *Mol. Ther.* 16, 1719-1726 (2008) 査読有

[学会発表] (計 19 件)

1. 稲村充、川端健二、櫻井文教、山西弘一、水口裕之、FOXA2 および SOX17 のプロモーター解析、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日
2. 田代克久、稲村充、川端健二、櫻井文教、水口裕之、アデノウイルスベクターによるマウス iPS 細胞への遺伝子導入の最適化と分化誘導、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日

3. 松井勇人、倉知慎之輔、櫻井文教、田代克久、杉尾久美子、川端健二、水口裕之、外来ペプチドを挿入したファイバー置換型アデノウイルスベクターの遺伝子導入機構に関する検討、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日
4. 長正博、櫻井文教、近藤昌夫、川端健二、八木清仁、水口裕之、カタラーゼ発現 Ad ベクター前投与による肝虚血再灌流障害予防に関する研究、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日
5. 松井勇人、倉知慎之輔、櫻井文教、田代克久、杉尾久美子、川端健二、水口裕之、外来ペプチドを挿入可能なファイバー置換型アデノウイルスベクターの開発、ファーマ・バイオフィोरラム 2008、東京、2008 年 11 月 29-30 日
6. 櫻井文教、鈴木孝幸、香山絵美、近藤昌夫、八木清仁、川端健二、水口裕之、MicroRNA を利用した遺伝子発現制御機構を搭載したアデノウイルスベクターの開発、アンチセンスシンポジウム、岐阜、2008 年 11 月 17-18 日
7. 櫻井文教、鈴木孝幸、佐々木朋美、香山絵美、穂友絹美代、近藤昌夫、八木清仁、川端健二、水口裕之、マイクロ RNA を利用した腫瘍特異的な遺伝子発現能を搭載したアデノウイルスベクターの開発、第 24 回日本 DDS 学会、東京、2008 年 6 月 29-30 日
8. Kenji Kawabata, Haruna Sakurai, Katsuhisa Tashiro, Tomoko Yamaguchi, Fuminori Sakurai, Shinsaku Nakagawa, Hiroyuki Mizuguchi, REDUCTION OF VECTOR-INDUCED INNATE IMMUNITY BY SOCS1-EXPRESSING ADENOVIRUS VECTOR, 第 14 回日本遺伝子治療学会、札幌、2008 年 6 月 12-14 日
9. Fuminori Sakurai, Takayuki Suzuki, Shin-ichiro Nakamura, Emi Kouyama, Masao Kondoh, Kiyohito Yagi, Kenji Kawabata, Hiroyuki Mizuguchi MIRNA-REGULATED EXPRESSION OF HERPES SIMPLEX VIRUS THYMIDINE KINASE PREVENTS HEPATOTOXICITY WITHOUT DISTURBING ANTITUMOR EFFECT IN ADENOVIRUS VECTOR-MEDIATED SUICIDE GENE THERAPY, 第 14 回日本遺伝子治療学会、札幌、2008 年 6 月 12-14 日
10. 矢野小代里、鈴木孝幸、佐々木朋美、櫻井文教、川端健二、近藤昌夫、八木清仁、水口裕之、増殖性ウイルスが出現しないアデノウイルスベクター作製法の開発、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日
11. 井口香菜子、寺尾秀治、櫻井文教、川端健二、白川利朗、後藤章暢、川端真人、水口裕之、PET による体内動態解析と視覚的治療効果判定を目指した制限増殖型アデノウイルスの作製、日本薬学会第 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日
12. 田代克久、川端健二、櫻井文教、水口裕之、アデノウイルスベクターを用いたマウス iPS 細胞への高効率遺伝子導入と細胞分化、第 8 回日本再生医療学会総会、東京、2009 年 3 月 5-6 日
13. 田代克久、井野麻美、川端健二、桜井晴奈、櫻井文教、水口裕之、改良型アデノウイルスベクターを用いた骨芽細胞への高効率分化誘導法の開発、BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会、神戸、2008 年 12 月 9-12 日
14. 櫻井文教、中島加珠子、吉井洋紀、松浦正明、川端健二、森康子、水口裕之、siRNA 発現 Ad ベクターを用いた水痘・帯状疱疹ウイルスの増殖抑制、第 8 回遺伝子・ゲリバリー研究会、大阪、2008 年 5 月 9 日
15. 杉尾久美子、櫻井文教、川瀬篤史、岩城

正宏、川端健二、水口裕之、マイクロ RNA による IRES を介した多重遺伝子発現系における発現制御、第 8 回遺伝子・デリバリー研究会、大阪、2008 年 5 月 9 日

16. 田代克久、井野麻美、川端健二、桜井晴奈、櫻井文教、水口裕之、最適化アデノウイルスベクターを用いた高効率骨芽細胞分化、第 8 回遺伝子・デリバリー研究会、大阪、2008 年 5 月 9 日

17. Fuminori Sakurai, Takayuki Suzuki, Masuo Kondo, Kiyohito Yagi, Kenji Kawabata, Hiroyuki Mizuguchi, MicroRNA-regulated transgene expression system reduces unwanted side effects in adenovirus vector-mediated suicide gene therapy, 11th Annal Meeting of American Society of Gene Therapy, Boston, USA, 2008 年 5-6 月

18. Kenji Kawabata, Haruna Sakurai, Katsuhisa Tashiro, Tomoko Yamaguchi, Fuminori Sakurai, Shinsaku Nakagawa, Hiroyuki Mizuguchi, SOCS1-expressing adenovirus vectors can suppress vector-induced innate immunity, 11th Annal Meeting of American Society of Gene Therapy, Boston, USA, 2008 年 5-6 月

19. Katsuhisa Tashiro, Kenji Kawabata, Asami Ino, Haruna Sakurai, Fuminori Sakurai, Hiroyuki Mizuguchi, Efficient Differentiation into Osteoblastic Lineage from Both Mouse Embryoid Bodies and Bone Marrow Stromal Cells by Adenovirus Vectors, 11th Annal Meeting of American Society of Gene Therapy, Boston, USA, 2008 年 5-6 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川端 健二 (KAWABATA KENJI)

独立行政法人医薬基盤研究所・基盤的研究部・サブプロジェクトリーダー
研究者番号：50356234

(2) 研究分担者

櫻井 文教 (SAKURAI FUMINORI)

独立行政法人医薬基盤研究所・基盤的研究部・研究員
研究者番号：70370939

(3) 連携研究者