

審査の結果の要旨

氏名 裴 崢

本研究は、第 1 世代アデノウイルスベクター(FG-AdV)に由来するウイルス随伴 RNA (VA RNA)が short-hairpin RNA (shRNA)の効果に影響を与えるかどうかについて、C 型肝炎ウイルス(HCV)に対する遺伝子治療を例として、VA RNA 欠失或いは保持 AdV を用いて検討したものである。また、shRNA 発現 VA 欠失 AdV 作製法確立のために、新規ベクター力価測定法と shRNA 挿入部位の至適化についても検討を行い、下記の結果を得ている。

1. HCV の IRES に対する shRNA を 2 種類設計し、それぞれを発現する VA 欠失或いは保持 AdV を作製し、C 型肝炎に対するウイルス治療効果を HCV のレプリコン発現細胞或いは HCV 感染細胞を用いて検討した結果、VA 欠失 AdV は保持 AdV に比べ高い HCV 抑制効果の傾向を示した。また、2 種類の shRNA 発現 VA 欠失 AdV を共感染した場合には、単独感染よりも抑制効果が高く、shRNA による相乗効果が認められた。
2. VA 欠失 AdV の作製において、293 細胞における複製能力が数百分の一に低下し、通常用いられている細胞増殖を応用したベクター力価測定法で定量することができなかつたため、ベクター増殖しない細胞を用いて real-time PCR を応用した新しいベクター力価測定法を開発した。
3. FG-AdV における shRNA 発現単位の挿入領域の至適化のために、shRNA 発現単位を E1 或いは E4 右側に転写方向が左向き或いは右向きに有する 4 種類の AdV を作製し、shRNA による発現抑制効果を比較したところ、E4 右側に左向きに挿入した場合に最も高い shRNA 活性を示した。

以上、本論文は FG-AdV で残存していた VA RNA の発現は HCV に対する shRNA の効果を減弱させることを示した。これにより VA RNA は shRNA や miRNA のプロセス過程で競合拮抗していた可能性が強く示唆された。また、本研究で開発した新規ベクター力価測定法は汎用性が高く全ての FG-AdV に応用可能である。本研究で開発した E1 領域に Pol II で発現する発現単位、E4 領域に shRNA を搭載したデュアルベクターシステムは、基礎研究や遺伝治療の発展に極めて有用性が高いシステムと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。