

## 癌遺伝子治療に有用なアデノウイルスベクターの開発戦略

東京女子医科大学 医学部 第二内科学 (主任:高野加寿恵教授)

関<sup>セキ</sup> トシロウ<sup>トシロウ</sup> タカノ<sup>タカノ</sup> カズエ<sup>カズエ</sup>  
敏郎・高野加寿恵

(受理 平成 17 年 10 月 20 日)

## Effective Strategies for Cancer Gene Therapy using Adenovirus Vectors

Toshiro SEKI and Kazue TAKANO

Department of Medicine II,

Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

Adenovirus vectors (Ads) have been employed for a wide variety of cancer gene therapy applications to date. This utility has derived principally from the unparalleled ability of these agents to accomplish efficient gene delivery to tumor targets. Unfortunately, translation of these advantages has been more difficult to accomplish in human clinical gene therapy trials for cancer. Critical problems to overcome are low efficiency and lack of selectivity of currently available gene transfer systems. In the first instance, it has been recognized that tumor cells manifest a relative deficiency of the primary adenovirus receptor, coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR). This CAR deficiency renders tumor cells resistant to Ad thus limiting the therapeutic advantages of this vector. In addition, Ad localizing within the systemic circuit exhibits a marked hepatotropism. Adaptation of Ad for cancer gene therapy applications would thus ideally embody these two mandates—the ability to accomplish CAR-independent gene delivery as a means to improve vector efficiency for tumor targets and the ability to avoid liver sequestration as a means to limit potential vector related toxicity. Herein, we report novel strategies to achieve these goals and thereby improve the utility of Ad for cancer gene therapy applications.

**Key words:** gene therapy, cancer, adenovirus, CAR, targeting

## 緒 言

遺伝子治療の成功の鍵を握る重要なステップは遺伝子導入段階である。アデノウイルスベクターは多くの細胞において遺伝子導入効率が高いことから、最も有用な遺伝子導入手段として現在の癌遺伝子治療に広く利用されてきた。しかし、米国を中心とした進行中の臨床試験の結果をみると、遺伝子治療が従来の治療法(手術,放射線,薬物)の代替となるにはほど遠い感がある。現実的には、培養細胞や動物実験における結果に反し、実際の腫瘍殺傷効果や副作用の面で期待された結果が得られていない。それ故、より効率的で安全な癌遺伝子治療の実現のためにも、腫瘍特異的遺伝子導入可能なシステムの構築が急務とされている。

細胞表面上には、アデノウイルスの遺伝子導入過程の律速段階である細胞内侵入において重要なレセ

プター coxsackie virus and adenovirus receptor (CAR)が存在するが、遺伝子導入効率は細胞表面上のCARの発現量に依存することが明らかとなっている。CARの発現が減少している癌細胞ではアデノウイルスベクターによる高い遺伝子導入効率が達成されない。また、アデノウイルスベクターを全身投与した場合、肝臓にその大部分が取り込まれてしまう。癌遺伝子治療が近い将来スタンダードな治療として確立されるためには、細胞 targeting, すなわち標的細胞(癌細胞)への遺伝子導入増強および非標的細胞(肝臓などの正常細胞)への遺伝子導入抑制での改善が必要である。

本稿においては、はじめに遺伝子治療, アデノウイルスに関する基礎知識を解説した後、癌遺伝子治療に有用なアデノウイルスベクターの最新の開発戦略について我々の研究成果も含め、特に細胞 target-

ingでの改善を中心に解説する。

## 遺伝子治療について

### 1. 遺伝子治療の概念

遺伝子治療とは厚生科学会議の遺伝子治療専門委員会によれば、“疾病の治療を目的として、遺伝子または遺伝子を導入した細胞をヒトの体内に投与すること”と定義されている<sup>1)</sup>。簡単に説明すると、正常遺伝子を分離・増幅し、ベクターにより標的細胞に運び、異常遺伝子の修復や欠損遺伝子の補完を行うことで、疾患を治癒させる治療法である。この治療法が現実的になったのは、DNAの発見と同等を契機に遺伝子異常疾患という概念が確立し、組換えDNA技術の発展により単一遺伝子の分離・増幅が可能になり、ウイルスベクターを中心に遺伝子導入技術に革新が生じたからである。

遺伝子治療の適応は当初、基本的に先天性遺伝子異常疾患とされたが、技術面、安全性、倫理面を考慮すると、現実的には単一遺伝子疾患で、予後が悪く、体細胞を標的とし(生殖細胞は標的としない)、厳密な遺伝子の発現調節を必要としないものを中心であった。しかし、後天的疾患である癌やエイズなどの致命的なものにおいても、その適応として加えられるようになってきた。事実、全世界で進行中の遺伝子治療プロトコルの約7割が癌遺伝子治療に関するものである。今後、遺伝子治療の技術、安全面での改善が進めば、コスト/ベネフィットを考慮してより広範な疾患が適応となる可能性がある<sup>2)3)</sup>。

### 2. 遺伝子導入法の発展と問題点

遺伝子治療のさらなる発展のためには、優れた遺伝子導入システムを開発する必要がある。遺伝子導入法の開発は、リン酸カルシウム法などのウイルスを使用しない方法から始まった。その後、組換えDNA技術が加わり飛躍的に進歩し、プラスミドベクターの開発、組換えウイルスベクターの開発と発展してきた。現在、遺伝子導入法で問題となる点を以下にまとめてみた。

(1) 安全性：担体による細胞障害性はもとより、ウイルスベクターの場合は病原性、特に増殖性ウイルスの出現の可能性がある。さらにレトロウイルスベクターでは導入遺伝子が染色体に組み込まれるため、癌遺伝子の活性化などによる発癌性が問題となる。

(2) ベクターの作製方法：臨床の場では、高品質・高力価・大量生産が可能なベクターが要求される。

(3) 導入遺伝子の安定性：lysosomeでの分解を逃れ核内へ導入遺伝子を移送する必要がある。また、導入遺伝子が細胞分裂による希釈、細胞内での分解、さらに導入細胞が免疫系やアポトーシスにより除去されるのを最小限にする工夫も必要である。

(4) 遺伝子発現効率および調節：導入遺伝子を効率よく発現する promoter を選択する必要がある。さらに、複雑な発現調節(組織特異的発現、病態特異的発現、時期特異的発現)を必要とする遺伝子に対しては遺伝子発現の調節の面での工夫も必要となる。

(5) 細胞 targeting：標的細胞のみに遺伝子を導入し発現させることは、遺伝子治療の成功の鍵に過ぎる。後述するように、この分野での研究は現在最も盛んに行われている。代表的なものを挙げると、ウイルスが元来持つ組織特異性を利用する、tissue specific promoter/enhancerを導入する、標的細胞上の抗原やレセプターとベクターが特異的に結合できるように改良する、などの試みがある。

(6) 遺伝子 targeting：遺伝子治療が異常遺伝子の完全修復を最終目標とするので、特定の染色体部位へ正常遺伝子を組み込むための遺伝子 targetingが必要である。現在、相同組換えを利用する試みなどがされているが、臨床応用には程遠い。

以上、遺伝子治療がさらに発展していくためには、遺伝子導入法において克服すべき様々な問題がある。特に、遺伝子発現調節、細胞 targeting や遺伝子 targeting においては未解決の部分が多いのが現状である<sup>2)~4)</sup>。

### 3. 代表的な遺伝子導入法

現在、最も精力的に研究が行われている遺伝子導入法としては、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、カチオニックリポソーム、膜融合型リポソームを挙げることができる。各導入法とも長所と短所が存在するが、詳細は他の総説に譲る。この中でも我々が開発に取り組んでいるアデノウイルスベクターは、①高力価のベクターが調整できる、②非分裂細胞への遺伝子導入も可能、③in vivoにおける遺伝子導入も可能、④宿主細胞や宿主組織が多様多彩、といった特徴を有する優れた遺伝子導入法の一つである<sup>2)4)</sup>。

#### アデノウイルスベクターについて

##### 1. アデノウイルスの分類および構造

アデノウイルスは、血清、発癌性、DNAのGC

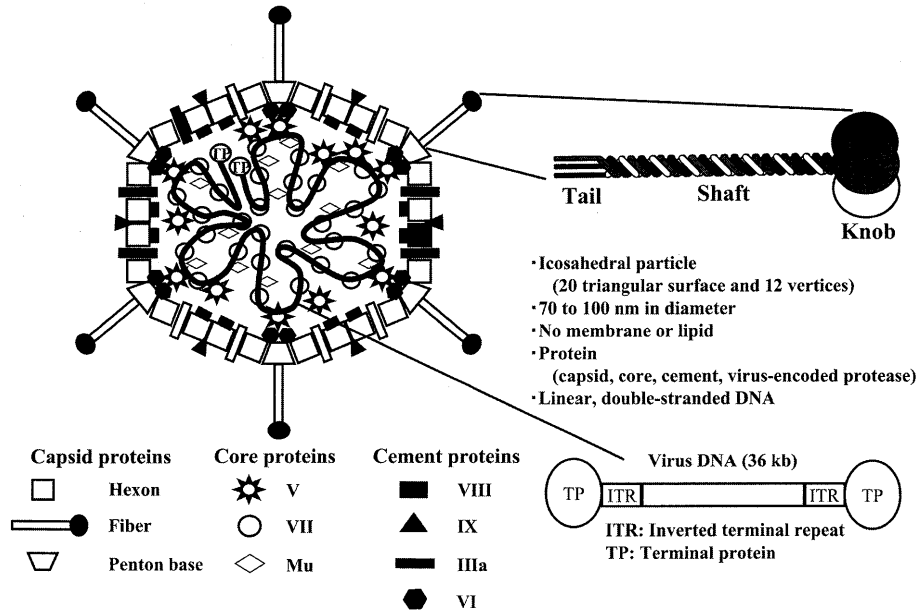


図1 アデノウイルスの構造

アデノウイルスは、12の頂点を持つ正20面体のparticleで、大きさは約70~100nm、エンベロップを持たないウイルスである。構造タンパクには、capsid protein, core protein, cement proteinがある。

含量などによる様々な分類法があるが、最も一般的な血清型で分類すると、現在のところ human アデノウイルスにおいては約50種類が知られており、またヒトにおいて発癌性は認められていない<sup>4)</sup>。

アデノウイルスの構造は図1に示すように、12の頂点を持つ正20面体のparticleで大きさは約70~100nm、エンベロップを持たないウイルスである。構造タンパクには、ウイルスの外殻を構成する capsid protein, ウイルス DNA を安定に保持した宿主の核に運搬するのに役割を果たす core protein, 両者をつなぎまた構造の安定に関与する cement protein がある。ここで特に覚えておく必要があるのは、アデノウイルスが細胞内に侵入するのに重要な役割をするウイルスの外殻構造である。外殻の各頂点には penton base と呼ばれる構造があり、そこに fiber が埋め込まれており、fiber の先端は knob と呼ばれるこぶのような部分、中間は shaft と呼ばれる腕のような部分、末端は penton base に埋め込まれるための tail と呼ばれる部分が存在する<sup>2)4)</sup>。

ウイルス DNA は二重直鎖で約36kbあり、両端はその複製に関与する inverted terminal repeat (ITR) を有し terminal protein (TP) に結合している。この DNA は、ウイルス構造タンパクはもちろ

ん、詳細は他の総説に譲るが、自己複製と増殖、宿主細胞を自己の増殖に有利にコントロールする、宿主免疫やアポトーシスによる排除から逃れる、などの様々なタンパクをコードしている<sup>2)4)</sup>。

## 2. アデノウイルスの遺伝子導入過程

アデノウイルスの遺伝子導入過程を簡単に図2に示す。細胞に吸着後、endocytosisにより速やかに細胞内に侵入する。その後 endosome 内の acidic pH がトリガーとなり lysosome による分解から逃れるべく cytosol へ移動する。最終的には、p32を中心とした cellular transport system をハイジャックしてウイルス DNA を宿主の核に運搬する(この間約1時間)。このようにアデノウイルスは、遺伝子導入のための優れた能力を有することが理解できる。そして、この遺伝子導入過程の律速段階となるのが、細胞内に侵入する段階である。

細胞表面上には図3に示すように、アデノウイルスの細胞内侵入過程で重要な役割を担う二つのレセプター、CAR および  $\alpha V$  integrin が存在する。アデノウイルスはまず第一に、viral fiber knob と CAR との強力な結合を利用して吸着し、その後 viral penton base と  $\alpha V$  integrin との第二の結合がトリガーとなり clathrin-mediated endocytosis により細胞内に侵入する。特に、viral fiber knob と CAR との結合

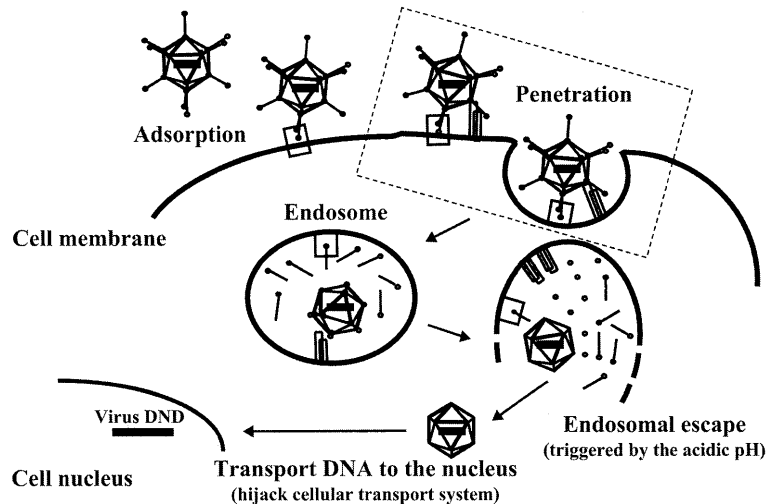
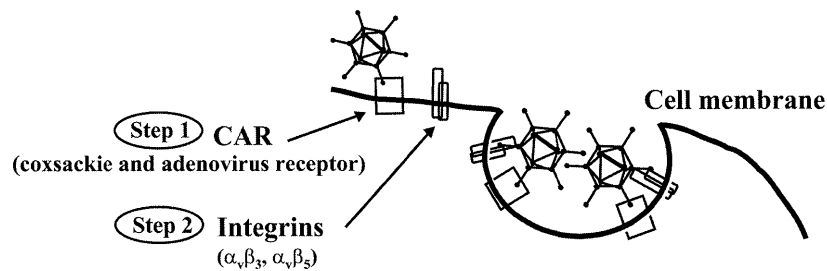


図2 アデノウイルスの遺伝子導入過程

アデノウイルスは、細胞に吸着後、速やかに侵入し、endosome内での分解から逃れ、かつウイルスDNAを宿主の核に運搬するといった、遺伝子導入のための優れた能力を有する。



**Step 1: Viral fiber knob binds to CAR with high affinity.**  
**Step 2: Binding of viral penton base to  $\alpha_V$  integrin triggers clathrin-mediated endocytosis.**

図3 アデノウイルスの遺伝子導入過程で重要な二つのレセプター  
 細胞表面上には、アデノウイルスの細胞内侵入過程で重要な役割を担う二つのレセプター、CARおよび $\alpha_V$  integrinが存在する。

は強力であるので、遺伝子導入効率はCARの発現量に依存する<sup>214)</sup>。

### 3. 組換えアデノウイルスベクターの作製方法

以上に説明したアデノウイルスを利用して遺伝子導入用の組換えアデノウイルスベクターを作製する。アデノウイルスへの導入遺伝子の挿入過程を例に簡単に説明すると図4のようになる。

導入遺伝子をPCRで増幅後、shuttle plasmidにライゲーションする。インサートをシーケンスし確認後、アデノウイルスの全塩基配列を有するbackbone plasmidとともに、大腸菌株BJ5123にco-transfectionし、図4に示したようにhomologous DNA recombinationを利用して、導入遺伝子をアデ

ノウイルスDNAに組み込む。ここでは詳細は省くが、増殖性をなくすために、アデノウイルスの複製に必要なE1領域を同時に除去する。導入遺伝子が組み込まれ、かつE1領域が除去された組換えアデノウイルス plasmidを単離、増幅し、E1領域が組み込まれている293 cellにtransfectionする。1~2週間後アデノウイルスが誕生する。その後、回収したウイルスを293 cellに感染させることをくり返して増幅し、CsCl超遠心で濃縮し、透析して精製し、高力価、高品質の組換えアデノウイルスベクターが完成する<sup>5)6)</sup>。

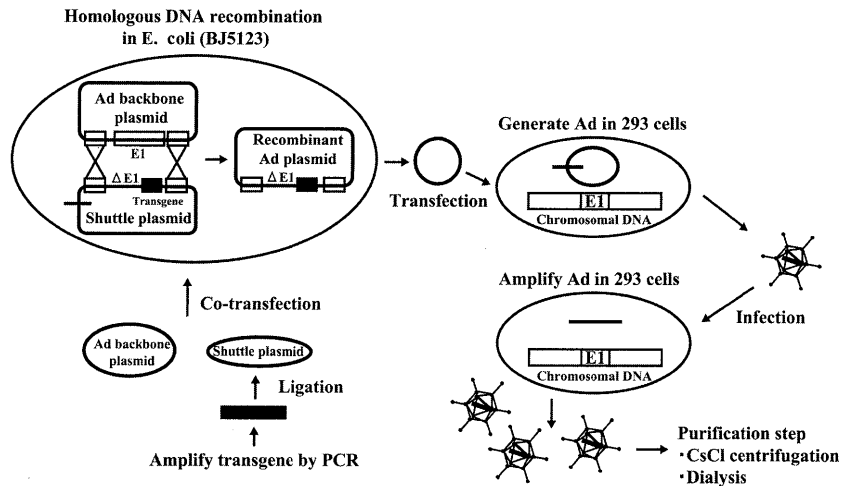


図4 組換えアデノウイルスベクターの作製方法

組換えアデノウイルスベクターは、homologous DNA recombination など複雑な組換え DNA 技術を利用して作製される。さらに、増幅、濃縮、精製過程を経て、高力価、高品質のベクターが完成する。Ad: adenovirus.

#### 4. 癌遺伝子治療に有用なアデノウイルスベクターの開発戦略

より効率的で安全な遺伝子治療を実現するためには、遺伝子を標的細胞に特異的に導入し、かつ高い効率で発現するシステムを開発することが唯一の方法である。そのために、現在最も精力的に研究されているのが細胞 targeting における改良であり、それについて以下紹介する<sup>2)~4)</sup>。

##### 1) Transductional targeting

Transductional targeting とは標的細胞に特異的に遺伝子を導入することである。これにより、標的細胞への遺伝子導入が増強され治療効果が上がり、かつ非標的細胞への遺伝子導入により生殖細胞を含めた正常臓器への副作用の軽減につながる。さらには、投与ベクターの量を減らすこともでき、これもまたベクターによる細胞毒性、免疫系などへの影響を減らすことにつながる。

アデノウイルスベクターでは、遺伝子導入効率は CAR の発現量に依存することがわかっている。従って CAR の発現が認められない標的細胞への遺伝子導入を増強すること、また CAR が発現している非標的細胞への遺伝子導入を抑制することに関して何らかの改良が必要である<sup>2)~4)</sup>。

最初に、CAR の発現が認められない標的細胞への遺伝子導入を増強する戦略の一つを紹介する。アデノウイルス fiber 先端の knob に存在する HI loop は構造上フレキシビリティに富んでおり、外来ペプチ

ドの挿入を可能にすることが最近証明された。そこで、図5に示すように、この部分に ligand となるペプチドを挿入し、その ligand と標的細胞上に存在するレセプターとの特異的結合を利用することで標的細胞への遺伝子導入を増強するという戦略である<sup>2)3)7)</sup>。また同様に、アデノウイルス fiber knob の末端に存在する C-terminal も外来ペプチドを挿入可能であることより、そこに標的レセプターに結合可能な外来ペプチドを挿入することで、標的細胞への遺伝子導入を増強するという方法も開発されている<sup>2)3)8)</sup>。さらにこの改良に加えて、本来の CAR への結合部位をなくすことで CAR の発現する非標的細胞への遺伝子導入抑制も同時に可能にする試みもされているが、ベクターを調整するために利用されている 293 細胞 (CAR の発現が亢進) が利用できないことが難点である<sup>2)</sup>。

次に、bispecific crosslinker と呼ばれる複合体を利用する戦略を紹介する。図6に示すように、bispecific crosslinker の一方は CAR の構造を含むことよりアデノウイルスに結合可能となり、他方は標的レセプターに結合可能な ligand を付けることより標的細胞に結合可能となる。この bispecific crosslinker を仲介させることにより、標的細胞への遺伝子導入を増強するばかりでなく、非標的細胞への遺伝子導入抑制を達成することができる。これは非常にすぐれた戦略であるが、in vivo のレベルではまだまだ改善の余地があるようである<sup>2)3)9)</sup>。

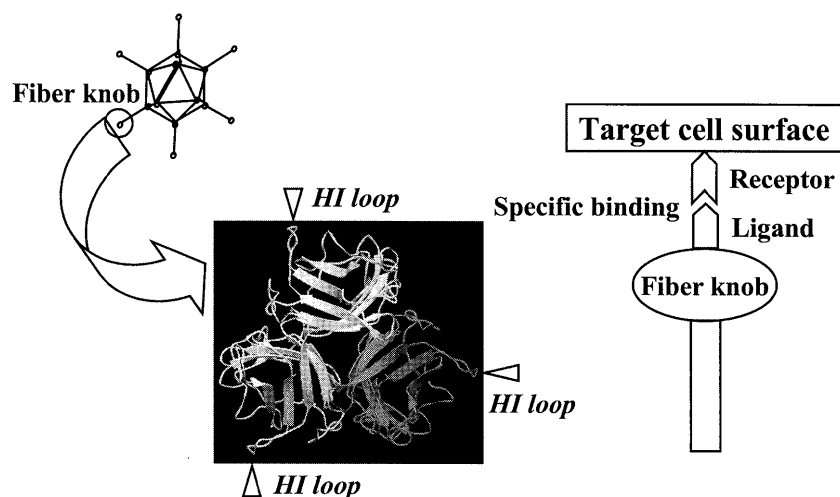


図5 アデノウイルスのHI loop に ligand となる分子を挿入

Transductional targeting の一つとして、標的細胞への遺伝子導入を増強するため、アデノウイルスの fiber knob に存在する HI loop へ標的細胞に特異的結合可能な ligand を挿入することが試みられている。

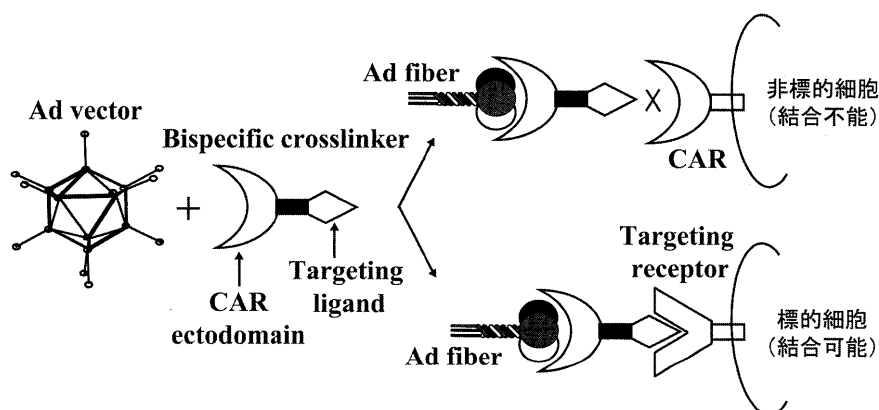


図6 Bispecific crosslinker の利用

Transductional targeting の一つとして、標的細胞への遺伝子導入を増強しかつ非標的細胞への遺伝子導入を抑制するため、bispecific crosslinker の利用が試みられている。Ad: adenovirus.

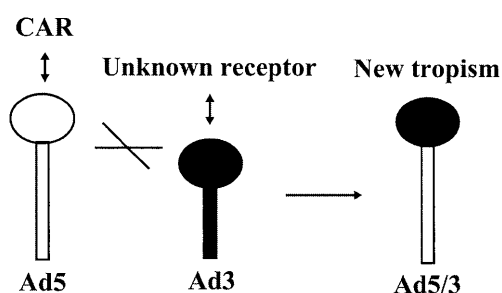


図7 Fiber knob chimeric アデノウイルスベクターの利用

Transductional targeting の一つとして、CAR に依存しない新たな組織特異性を得るために、fiber knob chimeric アデノウイルスベクターの利用が試みられている。

またユニークな戦略であるが、fiber knob chimeric アデノウイルスベクターの利用が試みられている<sup>2)</sup>。例えば、アデノウイルスの type 3 は現在までのところ、CAR 以外のレセプターを介して細胞内に侵入することが知られているが詳細は不明である。そこで、CAR を利用するアデノウイルスの type 5 と type 3 の knob の部分を交換することで、CAR に依存しない新たな組織特異性を期待するものである(図7)。このような手法で、CAR の存在しないある種の細胞(おそらく同定はされていないが type 3 のレセプターの存在する細胞)において遺伝子導入を増強することに成功したとの報告がある<sup>10)</sup>。

## 2) Transcriptional targeting

Transcriptional targeting とは標的細胞に特異的に遺伝子を発現させることである。この点に関しては、tissue specific promoter (TSP) の利用が盛んに試みられている。図8に示すように、導入遺伝子の上流に TSP を組み込むことで、TSP の活性がある腫瘍のみで導入遺伝子の発現を可能にする戦略である。しかし、TSP は一般的に cytomegalovirus promoter (CMV) などの ubiquitous promoter に比較すると発現力が弱いという難点もある。そのため、最近では ubiquitous promoter と enhancer や silencer などを組み合わせることにより組織特異的発現を可能にする戦略もとられている<sup>2)3)</sup>。

以上、細胞 targeting における開発戦略の代表例

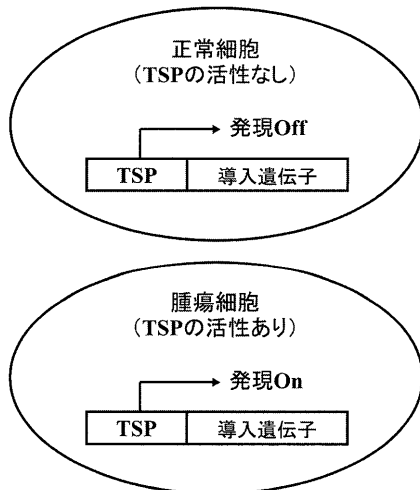


図8 Tissue specific promoter (TSP) の利用  
Transcriptional targeting の一つとして、腫瘍特異的  
遺伝子発現を達成するために TSP の利用が試みられ  
ている。

を紹介した。現在ではこれら基本的な戦略を複合したもの<sup>2)3)11)12)</sup>、TSP などは conditionally replication-competent adenovirus : CRAAd (アデノウイルスの増殖に必要な E1 領域を TSP で制御することで腫瘍特異的に増殖可能であり、腫瘍のみを破壊可能なアデノウイルス) にも応用されている<sup>2)3)</sup>。細胞 targeting 以外にも前述した遺伝子導入法の問題点に挙げたように、遺伝子発現調節や遺伝子 targeting での改善、遺伝子が長期間に安定して導入される工夫、導入細胞が免疫系やアポトーシスにより除去されるのを最小限にする工夫なども、遺伝子治療の発展には必要であり、精力的に研究が進んでいるが詳細は他の総説に譲る。

## 5. 内分泌腫瘍に対する試み

内分泌組織は遺伝子治療の絶好のターゲットと考えられる。その理由は、①甲状腺や下垂体など解剖学的に遺伝子導入ベクターの直接投与が容易である、②ホルモンやホルモンレセプターの発現を制御する promoter や enhancer は元来組織特異性が高く、transcriptional targeting に利用可能である、③組織特異的に細胞表面に発現しているホルモンレセプターは transductional targeting に利用し易い、などである<sup>3)</sup>。ここでは、我々が最近取り組んでいる下垂体腫瘍に向けたアデノウイルスベクターの開発戦略について簡単に紹介する。

### 1) 下垂体遺伝子治療の現状

下垂体遺伝子治療に関しては、2001年 Davis らが“Is pituitary gene therapy realistic?”というレビューで次のように述べている<sup>13)</sup>。①従来の治療法(手術、放射線、薬物)は治療効果に限界があり、将来的には下垂体遺伝子治療が是非とも必要である。②遺伝子治療で重要なステップは遺伝子導入段階である。

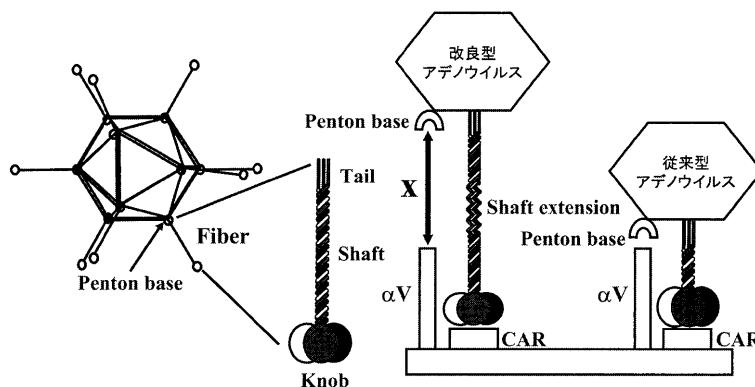


図9 アデノウイルスの fiber shaft の延長  
アデノウイルスの fiber shaft を延長し、非標的細胞への遺伝子導入を抑制する。

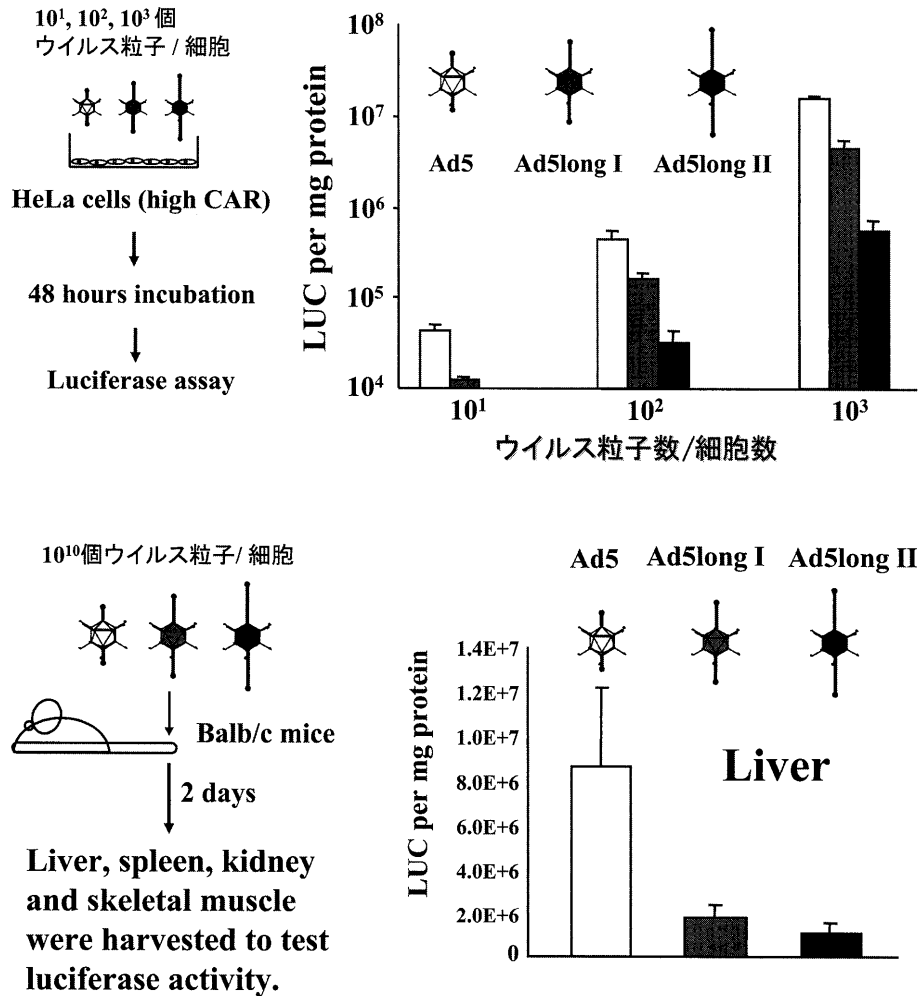


図10 非標的細胞（上）および正常臓器（下）への遺伝子導入抑制  
アデノウイルスの fiber shaft の延長により非標的細胞（Hela 細胞株）および正常臓器（特に肝臓）において遺伝子導入量が著明に減少した。

アデノウイルスベクターは遺伝子導入効率が高いことから、最も有用な遺伝子導入手段であると期待される。③しかし、細胞 targeting の点で現段階では成功例がなく、下垂体遺伝子治療が臨床応用されるには優秀なベクターの開発が必要である。

## 2) 非標的細胞への遺伝子導入抑制

以上を考慮して、第一の改良点として我々はアデノウイルスの fiber shaft の延長を試みた。図9に示すように fiber shaft の延長は、アデノウイルスが細胞内に侵入する際に律速段階となる二つの結合、viral fiber knob と CAR との結合および viral penton base と  $\alpha V$  integrin との結合の適度な空間的關係を崩すことで、CAR の発現が認められる細胞、組織への遺伝子導入効率を抑制する。すなわち CAR が発現する非標的細胞への遺伝子導入抑制を可能にすると考えられる。

そこで、作製方法の詳細は省くが fiber shaft の延長に成功した Ad5long I (23% 延長) および Ad5long II (45% 延長) を使用して、レポーター遺伝子 luciferase の導入効率をコントロールの Ad5 と比較検討した。図10上に示すように、CAR の発現が亢進している Hela 細胞株において、fiber shaft を延長すると、遺伝子導入量が最大で 1/10 程度に減少した<sup>5)</sup>。また図10下に示すように、in vivo の Balb/c マウスの実験においても、CAR の発現が亢進している臓器、特にアデノウイルスを使用した遺伝子治療の副作用の点で最も問題となる肝臓での遺伝子導入抑制はもとより、結果は示さないが、その他、脾、腎、骨格筋でも、遺伝子導入量が、fiber shaft の延長により著明に抑制された<sup>6)</sup>。

## 3) 標的細胞への遺伝子導入増強

第二の改良点として、腫瘍への遺伝子導入を増強



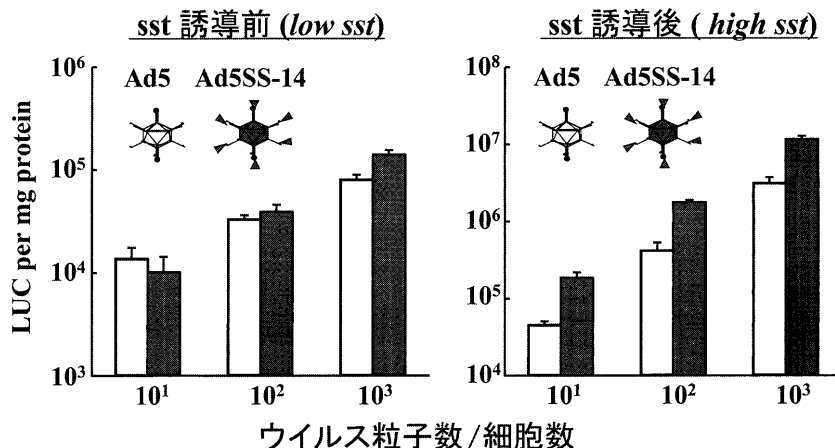


図 11 標的細胞への遺伝子導入増強

アデノウイルスの fiber knob に存在する HI loop へ SS-14 を挿入すると, sst 高発現の標的細胞 (下垂体腫瘍モデル細胞) において遺伝子導入量が増強される。

することを試みた. この点に関しては前述したように, アデノウイルス fiber 先端の knob に存在する HI loop に ligand となるペプチド分子を挿入し, その ligand と標的細胞上に存在するレセプターとの特異的結合を利用した. ここでは, somatostatin レセプター (sst) をターゲットとして, その ligand である somatostatin-14 (SS-14) のアミノ酸配列を fiber knob の HI loop に挿入した. 主な理由は, ①sst は下垂体腫瘍において発現の亢進が知られている, ②sst の internalization の機構がアデノウイルスのそれと類似している, さらに③octreotide 腫瘍シンチレーション, SS アナログ薬物療法が確立され, SS および sst に関する臨床的知見が集積しているからである<sup>14)</sup>.

HI loop へ SS-14 が挿入された Ad5SS-14 を使用して, 既報<sup>15)16)</sup>の方法を参考に D65MG 細胞株に sst が低発現および高発現の状態を作り, レポーター遺伝子 luciferase の導入効率を検討した. 図 11 に示すように, sst 誘導前 (sst 低発現状態) においては, Ad5SS-14 はコントロールの Ad5 に比較して, 高濃度のウイルス暴露 (10<sup>3</sup>) のみで遺伝子導入量を 1.5 倍程度に増加させたが, sst 誘導後 (sst 高発現状態) においては, すべての濃度のウイルス暴露で, Ad5 SS-14 は Ad5 に比較して遺伝子導入量が 3 倍程度に増加した. このことから, アデノウイルスの fiber knob に存在する HI loop への SS-14 の挿入により, sst の発現が亢進している下垂体腫瘍への遺伝子導入量が増強されることが予想された.

さらに我々の教室では, 上述した transductional

targeting での改良としての fiber shaft の延長と HI loop への SS-14 の挿入を同時に兼ね備え, かつ transcriptional targeting での改良として下垂体腫瘍で活性の高い TSP が導入された三重改変型アデノウイルスの作製に成功し, 遺伝子導入効率を検討中である.

#### おわりに

近年の遺伝医学の発展にはめざましいものがある. その歴史は, DNA の発見と同定を契機に, DNA より RNA, 最終的にタンパク質が作られるというセントラルドグマと呼ばれる生物の基本原則が確立されたことから急速に進歩してきた. この原則により, 遺伝情報の担い手である DNA の異常が原因で異常タンパクが作られ, 病気が発症するといった遺伝子異常疾患の概念が生まれた. 当然その治療として遺伝子治療が期待された. 組換え DNA 技術の進歩により単一遺伝子が分離・増幅できるようになったこと, またプラスミドベクターやウイルスベクターに代表される遺伝子導入技術に革新が生じたことがこの治療を可能にしつつあると考えられる.

現在, 米国を中心に遺伝子治療が精力的に施行されるに至っているが, そればかりではない. 我々人類は 2003 年 4 月にヒトゲノムの全解読を完了し, 現在多くの疾患に関する原因遺伝子の同定を急速に進めている. 近い将来, これらの遺伝情報を利用し, 個人の遺伝子情報に基づいた医療, すなわちテーラーメイド医療が現実となることが期待されている. このような社会的ニーズに応えるべく, 当教室においても内分泌腫瘍に有用なアデノウイルスベク

ターの開発を行い、より安全で効率的な遺伝子治療の実現に向けての研究を精力的に行っている。

#### 文 献

- 1) 厚生科学会議：遺伝子治療臨床研究に関するガイドラインについて。(1993年4月)
- 2) **Russell WC**: Update on adenovirus and its vectors. *J Gen Virol* **81**: 2573-2604, 2000
- 3) **Barzon L, Boscaro M, Palu G**: Endocrine aspects of cancer gene therapy. *Endocr Rev* **25**: 1-44, 2004
- 4) **Shenk T**: Adenoviridae: The viruses and their replication. *In* *Fields Virology* 3rd ed (Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al eds), pp 2111-2148, Lippincott-Raven, Philadelphia (1996)
- 5) **Seki T, Dmitriev I, Kashentseva EA et al**: Artificial extension of the adenovirus fiber shaft inhibits infectivity in coxsackievirus and adenovirus receptor-positive cell lines. *J Virol* **76**: 1100-1108, 2002
- 6) **Seki T, Dmitriev I, Suzuki K et al**: Fiber shaft extension in combination with HI loop ligands augments infectivity for CAR-negative tumor targets but does not enhance hepatotropism in vivo. *Gene Ther* **9**: 1101-1108, 2002
- 7) **Krasnykh V, Dmitriev I, Mikheeva G et al**: Characterization of an adenovirus vector containing a heterologous peptide epitope in HI loop of the fiber knob. *J Virol* **72**: 1844-1852, 1998
- 8) **Hidaka C, Milano E, Leopold PL et al**: CAR-dependent and CAR-independent pathways of adenovirus vector-mediated gene transfer and expression in human fibroblast. *J Clin Invest* **103**: 579-587, 1999
- 9) **Kashentseva EA, Seki T, Curiel DT et al**: Adenovirus targeting to c-erbB-2 oncoprotein by single-chain antibody fused to trimeric form of adenovirus receptor ectodomain. *Cancer Res* **62**: 609-616, 2002
- 10) **Stevenson SC, Rollence M, Marshall-Neff J et al**: Selective targeting of human cells by a chimeric adenovirus vector containing a modified fiber protein. *J Virol* **71**: 4782-4790, 1997
- 11) **Uil TG, Seki T, Dmitriev I et al**: Generation of an adenoviral vector containing an addition of a heterologous ligand to the serotype 3 fiber knob. *Cancer Gene Ther* **10**: 121-124, 2003
- 12) **Wu H, Seki T, Dmitriev I et al**: Double modification of adenovirus fiber with RGD and polylysine motifs improves coxsackievirus-adenovirus receptor-independent gene transfer efficiency. *Hum Gene Ther* **13**: 1647-1653, 2002
- 13) **Davis JR, McNeilly AS**: Is pituitary gene therapy realistic? *Clin Endocrinol* **55**: 427-433, 2001
- 14) **Hofland LJ, Lamberts SW**: The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev* **24**: 28-47, 2003
- 15) **Bruno JF, Xu Y, Berelowitz M**: Somatostatin regulates somatostatin receptor subtype mRNA expression in GH3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* **202**: 1738-1743, 1994
- 16) **Hukovic N, Panetta R, Kumar U et al**: Agonist-dependent regulation of cloned human somatostatin receptor types 1-5 (hSSTR1-5): subtype selective internalization or upregulation. *Endocrinology* **137**: 4046-4049, 1996