

学位論文抄録

レンチウイルスベクターを用いたマウス骨格筋遺伝子導入
ならびに筋線維タイプ別のMSCVプロモーター活性の検討
(Lentiviral mediated gene therapy for mouse skeletal muscle and
analysis of muscle fiber type-predominant MSCV promoter activity)

菅 智 宏

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻神経内科学

指導教員

内野 誠 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻神経内科学

学位論文抄録

【背景】Duchenne 型筋ジストロフィーは重篤な遺伝性筋疾患であり、現在までに有効な治療法はない。根治治療を目指してウイルスベクターを用いた遺伝子治療が研究されている。HIV-1を改変した lentiviral vector は分裂期・非分裂期の哺乳動物細胞 genome に効率よく integrate され、極めて長期間の遺伝子発現を可能としてきた。これは治療効果の継続と患者の生命予後に極めて重要である。また、遺伝子導入後の筋線維タイプ別でのプロモーター/エンハンサー活性の差異の報告は少ない。MSCV プロモーターはこれまでに造血幹細胞や小脳のプルキンエ細胞で安定した遺伝子発現が得られる報告はあるものの筋線維での詳細な発現効率をみた報告はない。

【目的】Lentiviral vector を用いて *dystrophin* 遺伝子導入を行い、Duchenne 型筋ジストロフィーの病態を改善する。MSCV プロモーターを用いて骨格筋へ遺伝子導入を行い、筋線維タイプ別の発現活性を評価、検討する。

【方法】MSCV プロモーターで drive する EGFP を組み込んだレンチウイルスベクター (LvMSCV-EGFP) をマウス骨格筋をターゲットに直接遺伝子導入を行い、後日組織学的に評価、解析を行った。またより詳細に評価を行うために LvMSCV-EGFP を 2 細胞期胚へ導入することでトランスジェニックマウスを作製した。このトランスジェニックマウス骨格筋での遺伝子発現を評価、解析を行った。

【結果】導入遺伝子の発現は筋線維、初代培養筋芽細胞、および注入された筋より分離した筋管細胞においていずれも EGFP が観察された。また、遺伝子発現は直接導入を行った筋組織において筋線維別に発現強度に差がある傾向が見られ、トランスジェニックマウス骨格筋では筋線維 Type I と IIA で最も高く、Type IID/X が中間で Type IIB が最も弱い傾向がみられた。

【考察】筋ジストロフィーモデルマウスである *mdx* マウスで変性、壊死変化が強いヒラメ筋や横隔膜は Type I と IIA 線維で構成されており、MSCV プロモーターを用いた更なる遺伝子治療研究は *mdx* マウスの表現型改善に寄与する可能性がある。

【結語】レンチウイルスベクターは骨格筋に効率よく遺伝子を導入できる。また、レンチウイルスベクターにより作製されたトランスジェニックマウスはプロモーターエンハンサー活性を評価するのに有用と思われる。