

**【目的】** 体内に直接遺伝子を導入する *in vivo* 遺伝子治療法は、遺伝子発現期間の制御が困難であることや、生体に対して遺伝子を直接導入することによる過剰な免疫応答の危険性など、臨床応用には未だ多くの課題が残されている。こうした *in vivo* 遺伝子治療法における問題点を解決する方法として、生理活性物質をコードする遺伝子を導入した細胞を生体に移植する治療法が注目されている。この細胞移植による遺伝子治療法は、患者の体内に遺伝子を直接導入する必要がなく、細胞を一度移植するだけで持続的に生理活性物質を放出できることから、細胞を生理活性物質の放出プラットフォームとした効率的な疾患治療が可能である。しかしながら、移植した細胞の大半は移植直後に死滅することから、実際にはその治療効果は一時的であり、それぞれのタンパク質を投与するよりもわずかに長い期間作用する程度に過ぎないことが問題とされる。そこで本研究では、細胞における安定な遺伝子発現とアルギン酸カプセルの利用により、生体に移植した細胞が持続的に遺伝子機能を発現可能な細胞介在型遺伝子治療システムの開発を試みた。

**【方法】** マウス間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 細胞に対して、NanoLuc luciferase (Nluc) 遺伝子をコードする pEBMulti-Nluc プラスミドをリポフェクション法により導入し、C3H10T1/2/Nluc 細胞を樹立した。次に、1%アルギン酸ナトリウム溶液に懸濁した C3H10T1/2/Nluc 細胞を 10%塩化カルシウム溶液に添加することで、C3H10T1/2/Nluc 細胞封入アルギン酸カプセルを作製した。カプセル内への細胞封入の確認を目的に、C3H10T1/2 細胞を赤色蛍光色素 DiI で染色し、凍結切片を作製後、顕微鏡を用いて観察した。さらに、カプセル内へ封入する細胞数の最適化を目的に、様々な細胞数の C3H10T1/2/Nluc 細胞をアルギン酸カプセルに封入し、培養上清中のルシフェラーゼ活性を経時的に測定した。最後に、移植細胞の生存期間の評価を目的に、C3H10T1/2/Nluc 細胞封入アルギン酸カプセルまたは懸濁 C3H10T1/2/Nluc 細胞を C3H/He マウスの腹腔内に投与し、経時的に血中のルシフェラーゼ活性を測定した。

**【結果】** 凍結切片画像の観察から、DiI 標識 C3H10T1/2 細胞はアルギン酸カプセル内に安定に封入されていることが示された。次に、C3H10T1/2/Nluc 細胞を  $10^2 \sim 10^5$  cells/capsule でアルギン酸カプセルに封入した結果、 $10^3 \sim 10^4$  cells/capsule において一定のルシフェラーゼ活性を示すことが明らかになった。懸濁 C3H10T1/2/Nluc 細胞を移植したマウスの血中ルシフェラーゼ活性は時間とともに減少した。これに対し、C3H10T1/2/Nluc 細胞封入アルギン酸カプセルを移植後の血中ルシフェラーゼ活性は 12 日間ほぼ一定であった。以上のことから、細胞における安定な遺伝子発現とアルギン酸カプセルの利用により、持続的に遺伝子機能を発現可能な細胞介在型遺伝子治療を実現できることが示された。

細胞における安定な遺伝子発現とカプセル封入による持続的に機能発現可能な細胞介在型遺伝子治療

