

別紙4 (補足資料)

<p>サブテーマ名：DNA・抗体マイクロアレイの作製技術開発及びその作製・評価 小テーマ名：免疫細胞の機能分化に関わる遺伝子並びに遺伝子産物の解析 1</p>
<p>サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（研究員）今井一英 小テーマリーダー（所属、役職、氏名）（主任研究員）古閑比佐志 研究従事者（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（主任研究員）古閑比佐志 （非常勤研究補助員）細川裕之・桑原誠・三木多香子 （研究開発指導者：中山俊憲教授）</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要 CD4陽性ヘルパーT (Th) 細胞は、産生するサイトカインの違いによって二つのサブセットに分類することができる。Th1細胞は主にIFNγを産生し、Th2細胞はIL-4、IL-5、IL-13を産生する。Th1細胞とTh2細胞は互いにバランスを取りながら生体防御機構における中心的な役割を演じていると考えられている。しかし一方では、感染症や自己免疫疾患、アレルギーなどの免疫関連疾患において、Th1/Th2バランスの偏りが認められており、それがこれらの疾患の発症や病態形成に大きく関わっていることが推測されている。このことから、Th1/Th2バランスを制御する事は、様々な疾患の新たな治療戦略の開発につながると考えられる。本研究ではよく解析の行われているマウスTh1/Th2細胞分化誘導系を用いて、Th1、Th2細胞分化を制御する分子を効率的に探索し、機能解析を行うとともに応用研究に役立てることを目的とした。</p> <p>②研究の独自性・新規性 Th1、Th2細胞の分化を制御する分子を、レトロウイルスによる遺伝子導入法を用いて網羅的に検索する研究はこれまで報告されていない。</p> <p>③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） <u>フェーズ I (H14-H15) : 該当しない</u> フェーズ II (H16-H18) : マウスCD4T細胞への効率的な遺伝子導入系の確立 フェーズ III (H18. 11. 25事業完了日以降) : かずさDNA研究所で同定された様々な遺伝子を導入しTh1/Th2バランスを制御する分子を検索するとともに、その機能解析を行う。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>マウス脾臓CD4T細胞を用いて、レトロウイルスの効率的な感染方法を検討した。導入する遺伝子としてGFPを用いる事でその蛍光を指標に簡単に感染効率を解析出来るようにした。レトロウイルスは増殖期の細胞に感染することから、はじめに固層化抗CD3抗体で刺激をした後、レトロウイルスの感染を行った。刺激と同時にレトロウイルスを感染させた場合と比べて、活発に増殖している刺激後2日目の感染が約50%と最も効率が良かった。刺激時に抗CD28抗体やIL-2を添加する事で約70%とさらに高い感染効率が得られた。おおむね目標とする研究が予定通り行われたと考えている。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容： レトロウイルスによる遺伝子導入系を用いて、マウス長鎖cDNAクローンのTh1、Th2細胞分化に与える影響を検討した。導入遺伝子として、我々が興味をもっているZinc Fingerを持った転写因子をマウス長鎖cDNAクローンの中から2つ選んだ。ポジティブコントロールとしてTh2細胞分化のマスター遺伝子と考えられているGATA3を導入した。空ベクター導入細胞に対して、Th1条件下でGATA3を遺伝子導入した細胞では、Th2細胞の誘導、すなわちIFNγの産生抑制およびIL-4の産生が認められた。これに対して、今回導入した2つの遺伝子は、IFNγやIL-4の産生に影響を与えなかった。</p> <p>特許件数： 1 論文数： 0 口頭発表件数： 0</p>

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

Th1/Th2バランスを制御する分子をスクリーニングする方法として、レトロウイルスによる遺伝子導入系を用いた報告は見当たらない。

2 実用化に向けた波及効果

このシステムにより、Th1/Th2バランスを制御する新たな分子の同定、および応用研究への発展がっおおいに期待出来る。

残された課題と対応方針について

導入する遺伝子のサイズが大きい場合、感染効率の著しい低下が認められた。将来、ヒトCD4T細胞への遺伝子導入を目指す事もあわせて考え、非増殖細胞やヒト由来の細胞にも効率よく感染する、レンチウイルスを用いた遺伝子導入システムを確立する予定である。

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

J S T負担による設備：なし

地域負担による設備 (千葉大学)：細胞培養装置、自動磁気細胞分離装置、細胞解析装置 (FACS) など