

氏名	李 振 泰
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第1559号
学位授与の日付	平成9年3月25日
学位授与の要件	医学研究科病理系細胞工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Evaluation of cationic liposomes for delivery of diphtheria toxin A-chain gene to cells infected with bovine leukemia virus. (陽性荷電リソームによるウシ白血病ウイルス感染細胞へのジフテリア毒素A鎖遺伝子の導入)
論文審査委員	教授 小熊 恵二 教授 清水 憲二 教授 新居 志郎

### 学位論文内容の要旨

陽性荷電リポソームが、ウシ白血病ウイルス(BLV)感染細胞への毒素遺伝子の導入に応用可能かどうかを調べた。陽性荷電リポソームは、N-( $\alpha$ -trimethylammonioacetyl)-didodecyl-D-glutamate-chloride(TMAG), dioleoylphosphatidylethanolamine(DOPE), dilauroylphosphatidylcholine(DLPC) (モル比1:2:2)から作製し、遺伝子を封入した。ルシフェラーゼアッセイにより、陽性荷電リポソーム(TMAGリソーム)によるBLV感染細胞(FLK/BLV細胞)への遺伝子導入効率を調べたところ、TMAGリソームの遺伝子導入効率は、ホスファチジルセリン(PS)から作製されたリポソームに比べ高い導入効率を示した。さらに、ルシフェラーゼ遺伝子とともにプロモーター活性を持つBLVのLTRの下流にジフテリア毒素A鎖遺伝子を挿入したプラスミドDNA(pLTR-DT)をTMAGリソームによりFLK/BLV細胞にco-transfectionし、ルシフェラーゼ遺伝子によるルシフェラーゼ活性が、TMAGリソームによる導入されたpLTR-DTにより、どの程度阻止されるかを調べることにより、pLTR-DT封入TMAGリソームのBLV感染細胞に対する殺傷効果を検討した。その結果、ルシフェラーゼ活性は、pLTR-DTを導入することにより用量依存的に抑制された。また、pLTR-DTをFLK/BLV細胞に複数回導入すると、FLK/BLV細胞の増殖が顕著に抑制された。さらに、pLTR-DT封入TMAGリソームを血清あるいは核酸分解酵素と反応させたところ、TMAGリソームに封入された毒素遺伝子は分解されなかった。これらのことから、陽性荷電(TMAG)リソームはBLV感染細胞への遺伝子導入法として優れており、毒素遺伝子封入陽性荷電リポソームによる、BLV感染細胞の遺伝子治療の可能性が示唆された。

なお、本論文は共著論文であり、共著者の協力を得て完成したものである。

### 論文審査結果の要旨

本研究は陽性荷電リポソームを作製し、これを用いて、ウシ白血球ウイルス(BLV)のプロモーター活性を持つ long terminal repeat (LTR) 部とジフテリア毒素のAフラグメントを挿入したプラスミドを包みこみ、BLV感染細胞に作用させると、従来の方法に比べ効率よく遺伝子が導入され、かつ、ジフテリア毒素のAフラグメントが発現され、BLV感染細胞を死滅されることを発見した価値あるものである。

よって、本研究者は博士(医学)学位を得る資格があると認める。