

BTK gene targeting by homologous recombination using a helper-dependent adenovirus/adenovirus-associated virus hybrid vector

山元, 裕之

<https://hdl.handle.net/2324/1654697>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

(別紙様式2)

氏名	山元 裕之			
論文名	<i>BTK</i> gene targeting by homologous recombination using a helper-dependent adenovirus/adenovirus-associated virus hybrid vector			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	柳 雄介
	副査	九州大学	教授	赤司 浩一
	副査	九州大学	教授	山崎 晶

論文審査の結果の要旨

X連鎖無ガンマグロブリン血症 (XLA) は、*BTK* 遺伝子の変異により起こる原発性免疫不全症候群の一つである。本研究では、XLA に対する遺伝子治療の可能性を調べるため、*BTK* 遺伝子のエクソン 6 から 19 を含む遺伝子領域、およびサイトメガロウイルスプロモーター制御下に GFP・ハイグロマイシン耐性遺伝子を搭載したヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルス *BTK* ターゲティングベクター (HD-Ad.AAV *BTK* ベクター) を作製した。初めに、急性リンパ性白血病男性患者から樹立されたプレ B 細胞株である NALM-6 細胞において、相同組換えによる遺伝子ターゲティングの効率を測定した。その結果、2 回の実験からハイグロマイシン耐性株 107 株を得て、そのうち 10 株で相同組換えを証明した。次に、ヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞を用いて、サイトカインとハイグロマイシンを含む培地中でコロニー形成を行った。その結果、755 個のハイグロマイシン耐性コロニーを得て、そのうち 4 個のコロニーで *BTK* 遺伝子座における相同組換えを認めた。さらに、同様にベクターを感染させた CD34 陽性細胞からハイグロマイシンを含む培地中で分化誘導した CD19 陽性リンパ球前駆細胞においても相同組換えを認めた。以上の結果から、HD-Ad.AAV *BTK* ベクターにより、相同組換えによる *BTK* 遺伝子の変異修復を行える可能性が示された。

以上の成績はこの方面の研究に知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験はまず論文の研究目的、方法、実験成績などについて説明を求め、各調査委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々質問を行ったが、いずれについても適切な回答を得た。

よって調査委員合議の結果、試験は合格と決定した。