アデノウイルスペクターによる 血管壁への遺伝子導入に関する研究

三井 秀也'峰 良成'栗山 充仁'大崎 悟' 小谷 恭弘'中井 幹三'佐野 俊二' Tammy K. Rammos''

要 旨:本研究はマウス頸動脈壁を目標としたアデノウイルスベクターによる遺伝子導入モデルを 作成し,遺伝子導入後の遺伝子発現の局在,持続時間などを明らかとする目的で行われた。遺伝子 発現は血管壁全体では42日間にわたり持続することが,蛋白,RNAレベルで証明された。この結果 により,このベクターシステムは血管に対する遺伝子治療,特に血管手術後の早期合併症4週間以 内)を防止するうえで有用なことが示唆された。しかし,導入部血管壁へのリンパ系細胞浸潤など の炎症とそれに伴う内皮肥厚の所見が認められ,実際にベクターとして使用するにあたっては今後 さらなる研究と改善の必要があるものと考えられた。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2004, 44: 35-41)

Key words: Adenovirus, Vector, Mouse, Gene transfer

序 言

血管外科手術,経皮的血管形成術 PTA)後の内皮肥 厚,再狭窄などの一般的には遺伝子異常に直接起因し ないと考えられる病態に対しても,遺伝子治療の応用 は将来拡大するものと考えられる¹⁾。しかし,実際の 応用においては,ベクターの選択,目的遺伝子の発現 の持続時間,動脈壁内での局在など解明されるべき課 題は多い²⁾。本研究は,レポーター遺伝子としてhuman placental alkaline phosphatase(hpAP)遺伝子が挿入された 組み換えアデノウイルス液 AdhpAP)を作成し,マウス 頸動脈壁に遺伝子導入を行い,遺伝子発現の持続時 間,動脈壁内における局在などを,蛋白レベル,RNA レベルで解明しようとしたものである。

対象と方法

組み換えアデノウイルスベクターの作成法 (Fig.1)

human placental alkaline phosphatase(hpAP)遺伝子が挿 入された組み換えアデノウイルス液(AdhpAP)ならびに アデノウイルスからE1領域が消去された複製不能アデ ノウイルス液(Adnull)の作成法は以前に述べられてい る方法に沿い作成された³⁾。

簡単に述べると、AdhpAPcDNAとRous肉腫ウイルス (RSV)プロモーターをクローニングした後、プラスミ ドpAd.Bgl11内に挿入し、プラスミッド(pAd.RSVhpAp) を作成した。このプラスミッドをNhe1で切断すること により直線化し、293細胞にE1領域が削除された5型 アデノウイルスとともにco-transfectionした。相同組み 換えが行われた結果、AdhpAPcDNAを含むAdhpAPが 作成された。cDNAが挿入されていないAdnulを対照と して使用した。ウイルスは293細胞から採取後、セシウ ムクロライド法により純粋化され、30%蔗糖内に浮遊 させた。作成後ベクターウイルス液はいったん-80°Cに 冷凍保存され、使用直前に解凍し、培養液により希釈 し1×10⁹ plaque-forming units(pfu)mLに調整された。こ のアデノウイルスの濃度は通常のplaque assayにより確 認された。

2. 血管壁への遺伝子導入の手技

実験では,月齢3カ月雌性マウス(C57BL/6,ジャク ソン社)120匹を使用した。麻酔は,Ketamine(80mg/kg 体重,Avco社)とXylazine(5mg/kg体重,Lloyd社)の混 合液の腹腔内投与により導入を得た後,2%イソフルレ ン/酸素で維持された。手術手技はすべて手術用顕微 鏡(Zeiss社,5-15×)下に行われた。頸部を正中切開の

2003年5月28日受付 2003年10月29日受理

^{*} 岡山大学大学院医歯学総合研究科心臓血管外科

^{**} Department of Vascular Surgery, Vascular Biology Laboratory, University of California (San Francisco), USA



Figure 1 Method of making homologous AdhpAP vector.

後,皮下組織,浅頸筋膜を切り離し,左胸骨舌骨筋と 気管の間の左内頸動脈(ICA), 外頸動脈(ECA), 総頸 動脈(CCA)を露出した。ついで, 左眼動脈分枝中枢部 で左ECA末梢側をナイロン糸(10-0)にて結紮し,左 CCAの中枢部, 左ICAをナイロン糸(8-0)にて仮結紮 し, 左CCAの血行を遮断した。左ECA結紮部の中枢部 に切開を加え,直径0.35mmの金属製カニューレを左 ECAに挿入し,上記2種類のアデノウイルス液3µ1を マウスの収縮期圧約80mmHgの圧で注入し4), インキュ ベーションした。20分後,金属製力ニューレからアデ ノウイルス液を可及的に排除し,内腔に生理的食塩水 により洗浄後,仮結紮を解除し,左ECA切開孔の中枢 部をナイロン糸(10-0)により結紮しCCAの血行を再開 した。また,同じアデノウイルス液5μ1を右胸鎖乳突 筋(SCM)内に注入した。創を生理的食塩水で洗浄の 後,皮膚を縫合閉鎖した。組み換えアデノウイルス液 として,hpAPアデノウイルス液を注した群(AdhpAP群 E=80)とNullアデノウイルス液を注入した群 Null 群Nad N=40)を作成した。

3. CCAとSCMの標本作成法とhpAP染色法

AdhpAP群(E=40)とNull群(N=20)の遺伝子導入後7 日,14日,21日,48日目に遺伝子導入時と同様の麻酔 下に開胸し,24ゲージ静脈カテーテルを左室に挿入 し,右房に切開を加えた。カテーテルから,マウスの 生理的収縮期圧(約80mmHg)で固定液:リン酸緩衝パ ラフォルムアルデヒド100m(4%,0.1Mol,pH7.3)を注 入し灌流固定を行った。両側CCA,両側SCM,大脳,

肝臓,脾臓,肺を摘出し,固定液内に4時間浸潤の後 十分量の80%エチルアルコール内に貯蔵した。両側 CCAは, 頸動脈分枝が一致するように側々に並ぶよう にパラフィン内に包埋し, 頸動脈内外分枝から 1mm中 枢の部分から 5µmの厚さで連続 3 切片/スライドグラ ス(50µm)標本を35枚作製した。SCM, 大脳, 肝臓, 脾臓,肺標本は,パラフィン包埋後,5μmの厚さで連 続3切片/スライドグラス(50µm)標本が10枚作製され た。染色直前に組織を56°C,60分間で加熱処理し,内 因性AP活性を不活化した。この後標本を一晩 0°Cの BCIP(5 - Bromo- 4 - chloro- 3 - indolyl phosphate p-toluidine) salt/NBT(nitroblue tetrazolium chloride, GibcoBRL社 液 の中に浸し, hpAP染色を行った⁵⁾。この後Nuclear Red 染色液で細胞核を対照染色した。横断CCA標本をイ メージスキャナー(EPSON GT-9500)で,パーソナルコ ンピュータに取り込み,この画像についてpublic domain からダウンロードしたNIH Image Analysis プログラム によって内膜, 中膜, 外膜, hpAP染色で陽性(紫色)の 部分のそれぞれの面積を求めた。このおのおのの面積 から,各部分におけるhpAP染色陽性部の比率を求め た。

4 . Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

AdhpAP群(N=40)とNull群(N=20)の遺伝子導入後7 日,14日,21日,48日に,両側CCA,両側SCM,大 脳,肝臓,脾臓,肺を摘出後,直ちに-70°C内に貯蔵し た。おのおのの組織50mgからMicro-Scale Total RNA

脈管学 Vol. 44 No. 1

三井 秀也 ほか7名



Figure 2 hpAP Protein in Mouse Carotid Artery 7 Days Following Adenovirus-mediated Gene Transfer (Alkaline Phosphatase and Muclear Red Stain, ×150). Left: hpAP group. HpAP protein is stained violet. Right: hpAP group. HpAP protein is not detected. * : internal elastic membrane, ** : external elastic membrane

Separator Kit Clontech社)を用い逆転写した。次いで, 得られたcDNAからプライマー5⁻TGGGGCCCTGCAT GCTGCTGCTGCTGCTGCTGC-3⁻(5-34)と5⁻-TAGGATC CTGGCAGCTGTCACCGTAGACAC-3⁻(212-231)によ リ,hpAPcDNAの一部の226塩基の部分が増幅された。 PCR反応は2µ1 cDNA生成物,250ngのプライマー,1.6 単位のTaq polymerase(Perkin-Elmer Cetus社),2 mMの dNTPs(Invitrogen社),2mM Mgcl2(pH:10)により,35 サイクル増幅した。RNA抽出とcDNA生成を確認する ためにGlyceraldehyde Phosphate dehydrogenase(GAPDH) の発現も同時に測定した。

5.統計

データは, すべて平均値±標準偏差で表し,まず有
 意差の検定にはANOVAによる検討を行った。有意差
 (P 0.05)が得られた場合には,2 群間の検定はSchaffe
 法を使用した。

結果(Fig. 2–6, Table 1)

1. HpAP群の42日目,3匹以外の左CCAにhpA蛋白が 証明された。Null群では頸動脈,SCM標本において, hpAP蛋白は検出されなかった。

2. AdhpAP群のうち,左CCA,右SCMにhpAP mRNAが,42日後まで検出された。大脳,肝臓などの 他臓器で検出されなかった。コントロールの左CCA, 右SCMにおいては,hpAPmRNAは検出されなかった。

3.内膜のhpAP蛋白の発現は,7日目に最高で,徐々 に低下し42日目には検出されなかった。中膜では,14

January 25, 2004

日後が最高で,徐々に低下するが42日後にも検出された(P 0.05)。

4.いくつかの標本においては,リンパ球と考えられる細胞浸潤がみられ,また内膜ならびに中膜の肥厚が著しい所見を示すものもあった。

考察

本研究はマウス頸動脈内腔から遺伝子導入を行い, 導入後の血管壁における遺伝子発現の経時的変化を明 らかとしたものである。本研究により,マウス血管壁 を目標としたアデノウイルスベクターによる遺伝子導 入モデルが確立された。現在までに,アデノウイルス ベクターによる血管壁細胞への遺伝子導入については 数多く報告されている⁶⁾。しかし遺伝子改変動物の種 類の多いマウスを対象として,導入遺伝子の発現を経 時的に検討した報告は現在までにない。近年の目覚ま しい遺伝子工学の発達により,脂質代謝異常⁷⁾,動脈 硬化⁸⁾, 免疫異常⁹⁾などの各種トランスジェニックマウ スが研究に供されている。これらトランスジェニック マウスの頸動脈壁に,このアデノウイルスベクターシ ステムを応用して目的の遺伝子を導入できれば,血管 構成細胞におけるこれら二つの遺伝子の相互関係が, 遺伝子レベルで解明されるものと考えられる。

一般に,野生アデノウイルスは,ヒトに対しては軽 微な呼吸器感染症を引き起こすウイルスで,分裂中な らびに非分裂中のほとんどすべてのタイプの細胞に感 染可能である。しかし,レトロウイルスと異なり宿主 の染色体に組み込まれることがまれで,それゆえ癌遺



Figure 3 hpAP Protein in Mouse Carotid Artery 14 Days Following Adenovirus-mediated Gene Transfer (Alkaline Phosphatase and Muclear Red Stain, ×150). Left: hpAP group. HpAP protein is stained violet. Right: Null group. HpAP protein is not detected. * : internal elastic membrane, ** : external elastic membrane



Figure 4 hpAP Protein in Mouse Carotid Artery 21 Days Following Adenovirus-mediated Gene Transfer (Alkaline Phosphatase and Muclear Red Stain, ×150). Left: hpAP group. HpAP protein is stained violet (Adventitial area). Right: Null group. HpAP protein is not detected.

* : internal elastic membrane, ** : external elastic membrane

伝子を活性化したり,腫瘍抑制遺伝子を抑制す ることがないなどの特質を持っている¹⁰。このア デノウイルスを応用したアデノウイルスベク ターの利点として,一般に,1)大きな分子量の 外来DNA挿入を受け入れることができる,2)E1 領域を除去しているため,複製不能である,3)比 較的安定で,純粋化が可能で,高力価の物が得 やすい,4)遺伝子導入効率が極めて高い,などが あげられている¹¹。このような利点を持っている アデノウイルスベクターは,基本的に安全性が 高いものと考えられるうえに,本研究で示され たようにインキュベーション法を用いれば,大



Figure 5 Transmural transduction of hpAP Protein in Mouse Carotid Artery 3, 7, 14, 21, 42 Days Following Adenovirus-mediated Gene Transfer.

脳,肝臓等の他臓器では遺伝子の発現は検 出されず,手技上も安全性が高いことが証 明された¹²⁾。また,このインキュベーショ ン法は,血行遮断された血管内腔へアデノ ウイルス液を,短時間(約20分)注入するこ とで実施可能であることから,手術または 経皮的カテーテル血管内治療時の合併治療 法として,応用が容易と考えられる¹³)。

遺伝子発現の動脈壁における局在につい て,われわれの実験においては,遺伝子の 発現は経時的差はあるものの動脈壁全体に おいて発現を得た。しかし, Romeら14)は, 羊動脈壁への遺伝子導入実験において,解 剖学的バリアー(内外弾性板)が遺伝子伝達 に障害になるとの報告をしている。一方 Brevettiら⁴⁾は, 豚頸動脈において, 遺伝子 液の注入圧と力価が高い方が遺伝子導入の 効率は良好であることを報告し,われわれ と同様に生理的血圧と同等の圧で十分な遺 伝子導入を得たと報告している。これらの 研究は遺伝子の発現の深達度を、インキュ ベーションの条件により調節できる可能性 を示したもので,将来さらなる検討を必要 とすると思われる。また,実験モデルの種 類により深達度が異なると考えられ,特に ヒト動脈壁における条件については今後詳 細な検討を必要とするものと考えられる。

また,当研究により,遺伝子発現が,内 膜で7日間,中膜で14日間,外膜で42日間 6 週間)時 続することが証明されたが,血管手紙,剥離,クラン プ,縫合等)後に生じる内膜肥厚,PTA後の再狭窄など の早期(4週間以内)の合併症に対する治療法に対して は,このアデノウイルスベクターによる一過性の遺伝 子導入の発現でも抑制効果が十分に期待できるものと 考えられた。しかし,血管傷害後の平滑筋細胞の遊 走,結合組織の増殖による内皮肥厚を主体とする中 期,後期(4週間以後)の合併症に対する治療法として 使用するためには¹⁶⁾,より持続性の高い遺伝子発現が 得られるシステムの開発が求められる¹⁶⁾。

このベクターシステムの遺伝子発現期間に影響する 因子としては,以下の点が関係するものと考えられ る。すなわち,



Figure 6 hpAP mRNA expression in Mouse Carotid Artery Following Adenovirus-mediated Gene Transfer (RT=PCR). HpAP RNA: 226KB

Table 1 hpAP Gene Expression (protein, RNA) following Gene Transfer

組織	hpAP mRNA陽性標本 / 全標本	hpAP蛋白陽性標本 / 全標本
頸動脈		
AdhpAP注入側	40/40	37/40
AdhpAP注入対側	0/40	0/40
胸鎖乳突筋		
AdhpAP注入側	40/40	37/40
AdhpAP注入対側	0/40	0/40
他臓器		
大脳	0/60	0/60
肝臓	0/60	0/60
脾臓	0/60	0/60
肺	0/60	0/60

(1)宿主免疫(主に細胞性免疫)による影響

E1領域を欠損し293細胞以外ではウイルス由来の蛋白が合成されないと考えられていた従来の非増殖型組み換えアデノウイルスでも,ウイルスの初期蛋白であるE2Aが活性化され,DNA結合蛋白(DBP)が合成されていることがWilsonらにより明らかとされ¹⁶⁾,ついでこのDBPがウイルスに対する細胞障害性T細胞を誘導していることも報告されている¹⁷⁾。

(2) ウイルスの欠損部位(E1)に基づく因子

ウイルスの複製に必須であるE1AおよびE1B領域を 欠損させた非増殖型であるため,目的細胞の中では複 製を行えない。したがって,増殖している細胞では, 導入遺伝子が細胞分裂により分配されてしまうため, 最終的に短期間しか発現しないと報告されている¹⁸⁾。

January 25, 2004

(3)プロモーターの違いによるもの

プロモーターの種類は,遺伝子導入後の遺伝子発現 のレベルと期間の重要な因子である⁶)。当ベクターシス テムにおいては,RSVプロモーターが使用されている が,CMV immediate earlyプロモーターを使用したほう が遺伝子発現のピークは早期に生じ,しかも早期に消 失することが報告されており,プロモーターの選択も 重要な点であると考えられる¹⁹)。

以上の点により遺伝子発現の期間が規定されるもの と考えられ,これらの点についての今後のさらなる研 究を必要とすると考えられる。

アデノウイルスベクターのその他の問題点として は,過去の上気道感染などでウイルスカプシドの構成 蛋白質に対する抗体を保有している可能性があるこ と,初回投与後にも中和抗体が産生されることなどで ある¹⁹)。これらの抗体の生成からも,ウイルスの感染 効率が低下することが予想される。またアデノウイル スベクターが活発に分裂,増殖する細胞に感染した場 合には,複製能力を回復する可能性があるため,ウイ ルス蛋白が宿主細胞内で産生され,それに対する免疫 反応が惹起されることも考えられる²⁰)。

今回,遺伝子導入後リンパ系細胞と思われる細胞の 浸潤と,内膜肥厚を認めた。これは,E1領域を欠損し た組み換えアデノウイルスによる遺伝子導入において は,ウイルス感染した細胞に対する免疫細胞応答が起 こり,これが導入遺伝子発現の安定性と持続性に対す る問題点により生じているものと考えられる。内皮肥 厚も,この細胞応答と刺激により生じたものと考えら れる。この現象についてはすでに,Liu²¹,Dichekら²²) が報告している。この欠点はアデノウイルスベクター システムの根本的な欠点とも考えられるが¹¹,これに 対してE2A領域欠損ウイルスの使用¹⁶,E3領域を含ん だウイルスの使用²³,抗T cell receptor抗体の使用²⁴)な ど現在までにいろいろな工夫が凝らされているが,今 後のさらなる研究が待たれるところである²⁵)。

本研究により,このシステムは血管壁に対する遺伝 子治療において,発現効率,持続性の面からほぼ満足 すべき結果が得られたが,以上のような欠点も持ち合 わせており,さらに改良の必要があると思われた。

結論

マウス頸動脈壁を目的としたアデノウイルスベク

ターによる血管壁への遺伝子導入モデルを作成した。 遺伝子発現は,血管壁全体では導入後42日間にわたり 持続することが証明された。そのため血管手紙 剥離, クランプ,縫合 後の内膜肥厚,PTA後の再狭窄などの 早期(4週間以内)の合併症に対する治療に応用するた めには,このアデノウイルスベクターによる遺伝子導 入でも十分に効果が期待できるものと考えられる。し かし,中期(5週間)以降の合併症に対する持続性のあ る治療法の一つとして使用するためには,より持続性 の高い遺伝子発現が得られるシステムの開発が求めら れる。また,細胞応答,内皮肥厚も惹起することが判 明したことより,さらなるベクターシステムの改善を 必要とすると考えられる。

文 献

- Ohno T, Gordon D, San H et al: Gene therapy for vascular smooth muscle cell proliferation after arterial injury. Science, Aug 5, 1994, 265 (5173): 781-784.
- 2)Messina LM, Welling TH, Stanley JC et al: Gene therapy for vascular disease. In advance in Surgical Gene Therapy. Editer: Anderson DK (World Medical Press), 1995.
- 3)TH Welling, BL Davidson: Systemic delivery of the interleukin-1 receptor antagonist protein using a new strategy of direct adenoviral-mediated gene transfer to skeletal muscle capillary endothelium in the isolated rat hindlimb. Hum Gene Ther, 1996, 7: 1795-1802.
- 4)Brevetti LS, Chang DS, Messina LM et al: Effect of adenoviral titer and instillation pressure on gene transfer efficiency to arterial and venous grafts ex-vivo. J Vasc Surg, Aug, 2002, 263-270.
- Fields-Berry SC, Halliday AL, Cepko CL: A recombinant retrovirus encoding alkaline phosphatase confirms analysis of murine retina. Proc Natl Acad Sci USA, Jan 15, 1992, 89 (2): 693-697.
- 6) French BA, Maqur W, Raizner AE: Percutaneous transluminal in vivo gene transfer by recombinant adenovirus in normal porcine coronary arteries, atherosclerotic arteries, and two models of coronary restenosis. Circulation. 1994, 90: 2402-2413.
- 7)Breslow JL: Transgenic mouse models of lipoprotein metabolism and atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci USA, Sep 15, 1993, 90 (18): 8314-8318.
- 8 Reddick RL, Zhang SH, Maeda N: Atherosclerosis in mice lacking apoE. Evaluation of lesional development and progression. Arterioscler Thromb, Jan, 1994, 14 (1): 141-147.

- 9 Shinkai Y, Rathbun G, Lam KP et al: RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V
 (D) J rearrangement. Cell, Mar 6, 1992, 68 (5): 855-867.
- 10)Horwitz MS: Adenoviridae and theirreplication. In Virology, 2nd ed. Fields BN. Knipe D (eds). New York, Raven Press, 1990, 1679-1721.
- Schneider MD, French BA: The advent of adenovirus. Gene therapy for cardiovascular disease. Circulation, Oct, 1993, 88 (4 Pt 1): 1937-1942.
- 12)Schlick AH, Dong G, Newman KD et al: Endothelium-specific in vivo gene transfer. Circ Res, Sep, 1995, 77 (3): 475-485.
- 13 Jsner JM, Pieczek A, Schinfeld R et al: Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patient with ischaemic limb. Lancet, Aug 10, 1996, 348 (9024): 370-374.
- 14 Rome JJ, Shayani V, Dichek DA: Anatomic barriers influence the distribution of in vivo gene transfer into the arterial wall. Modeling with microscopic tracer particles and verification with a recombinant adenoviral vector. Arterioscler Thromb, Jan, 1994, **14** (1): 148-161.
- 15 Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM: Mechanisms of stenosis after arterial imjury. Lab Invest, Aug, 1983, 49 (2): 208-215.
- 16)Engelhardt JF, Ye V, Doranz B et al: Ablation of E2A in recombinant adenoviruses improves transgene persistence and decreases inflammatory response in mouse liver. Proc Natl Acad Sci USA, Jun 21, 1994, 91 (13): 6196-6200.
- 17)Morral N, O'Neal W, Zhou H et al: Immune responses to reporter proteins and high viral dose limit duration of expression with adenoviral vectors: comparison of E2a wild type and E2a deleted vectors. Hum Gene Ther, Jul 1, 1997,

8 (10): 1275-1286.

- 18)Yang Y, Nunes FA, Berencsi K et al: Cellular immunity to viral antigens limits E1-deleted adenoviruses for gene therapy. Proc Natl Acad Sci U S A, May 10, 1994, 91 (10): 4407-4411.
- 19 Schaack J, Allen B, Orlicky DJ et al: Promoter strength in adenovirus transducing vectors: down-regulation of the adenovirus E1A promoter in 293 cells facilitates vector construction. Virology, Dec 5, 2001, 291 (1): 101-109.
- 20)Chirmule N, Propert K, Magosin S et al: Immune responses to adenovirus and adeno-associated virus in humans. Gene Ther, Sep, 1999, 6 (9): 1574-1583.
- Liu Q, Muruve DA: Molecular basis of the inflammatory response to adenovirus vectors. Gene Ther, Jun, 2003, 10 (11): 935-940.
- 22 Newman KD, Dunn PF, Owens JW et al: Adenovirus-mediated gene transfer into normal rabbit arteries results in prolonged vascular cell activation, inflammation, and neointimal hyperplasia. J Clin Invest, Dec, 1995, 96 (6): 2955-2965.
- 23)Wen S, Driscoll RM, Schneider DB et al: Inclusion of the E3 region in an adenoviral vector decreases inflammation and neointima formation after arterial gene transfer. Arterioscler Thromb Vasc Biol, Nov, 2001, 21 (11): 1777-1782.
- 24 Zsengeller ZK, Boivin GP, Sawchuk SS et al: Anti-T cell receptor antibody prolongs transgene expression and reduces lung inflammation after adenovirus-mediated gene transfer. Hum Gene Ther, May 20, 1997, 8 (8): 935-941.
- 25 Qian HS, Channon K, Neplioueva V et al: Improved adenoviral vector for vascular gene therapy: beneficial effects on vascular function and inflammation. Circ Res, May 11, 2001, 88 (9): 911-916.

Adenovirus-mediated Gene Transfer to the Carotid Arteries of a Mouse

Hideya Mitsui*, Yoshinari Mine*, Mitsuhito Kuriyama*, Satoru Ohsaki*, Yasuhiro Kotani*, Mikizo Nakai*, Shunji Sano*, and Tammy K. Rammos**

* Department of Cardiovascular Surgery, Okayama University Medical School ** Department of Vascular Surgery, Vascular Biology Laboratory, University of California (San Francisco), USA

Key words: Adenovirus, Vector, Mouse, Gene transfer

It is feasible to transfer adenovirus-mediated gene to the common carotid arteries of a mouse. In contrast to previously described models, transgene expression is more durable and it occurs in all layers of the uninjured artery and continues 6 weeks. This new model provides an exciting opportunity to investigate especially atherosclerosis and many other vascular diseases using transgenic mouse technology. (J. Jpn. Coll. Angiol., 2004, **44**: 35-41)