—特集(遺伝子診療の)
—現状と展望

AIDS の遺伝子治療

松倉 誠

熊本大学医学部小児発達学

Gene therapy for AIDS

Makoto Matsukura

Department of Child Development, Kumamoto University School of Medicine

はじめに

AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) はヒトレトロウイルスのひとつである HIV (Human Immunodeficiency Virus) の感染によってもたらされる後天性免疫不全症候群であり、持続する HIV ウイルス産生と CD 4 陽性ヘルパー T リンパ球の減少という特徴を持っている。この特異的疾患が HIV ウイルスの初感染からどのような機序で、ウイルスが完全排除されることなく生体内で産生され続けるのか、さらにその持続するウイルス産生がどのようにして CD 4 陽性ヘルパー T 細胞の減少、ひいては免疫不全へとつながっていくのかは、ウイルス発見直後から主要な研究課題となって現在に至っている。

現在までにほぼ確実なこととして認められていることには、1) 免疫不全が CD 4 細胞の減少に強く関連していること、2) 他のウイルス感染症に比較すると、大量で持続的なウイルス産生が生体内で認められること、3) 中和抗体産生を含む液性免疫反応と細胞性免疫 (細胞障害性リンパ球: CTL) 共に HIV に対してみとめられること、4) 逆転写酵素阻害剤などでウイルス増殖を阻害すると CD 4 陽性細胞が増え、免疫不全状態が部分的に改善すること、5) ウイルス遺伝子変異が高度にみられ、それが抗 HIV 剤の効果や宿主 (患者) の免疫反応を制限的なものとしていると考えられること、などがある。

つまり、ウイルス変異に左右されずに持続的にウイルス産生を抑制することが出来れば、免疫不

全状態を改善させ、長期にわたり効果的な治療法となると期待される。以下、エイズに対する広義の遺伝子治療としてアンチセンス法と遺伝子挿入療法 (狭義の遺伝子治療) について述べる。

1. アンチセンス法

細胞やウイルス遺伝子の発現が mRNA による蛋白合成により担われていることに注目し、mRNA に相補的な塩基配列を持つ DNA や RNA を用いて mRNA に結合させ蛋白合成を特異的に阻止しようとする方法を、アンチセンス法と呼ぶ。理論的にはあらゆる遺伝情報を随意に抑制することが出来るが、実際はアンチセンス効果が得られるまでにはいくつもの問題があり、諸条件が合わなければならない。

エイズに関してはまず標的遺伝子産物がウイルス増殖に不可欠でなければならない。また、変異が少なく塩基配列が保存されていなければならない。そこで、幾つかの HIV 遺伝子を標的として検討した。

患者体内では既に感染しているリンパ球と未感染細胞が混在しており、ほぼ間違いなく体内ウイルス量を減少させると治療につながると考えられることから、ウイルス産生細胞=既感染細胞でのウイルス産生をアンチセンスで抑制することが出来れば治療へ大きく役立つと考えられた。従って、持続的ウイルス産生細胞としてヒト T リンパ球樹立細胞である H 9 と呼ばれる細胞に HIV を感染させ、数カ月間維持した後 (100%感染成立) にウイルス遺伝子を標的に in vitro 実験を行った。

rev (regulator of expression of virion proteins), *tat* (transactivator), *nef* (negative factor), *gag* (group-specific antigen), *gag/pol* (polymerase) フレムシフト領域, LTR (long terminal repeat) のなかにある TAR (trans-acting responsive element), *env* の領域のなかに存在する RRE (*rev* respoinsvie element) などを標的遺伝子として検討したが *rev* に対するアンチセンスのみが有意に HIV 産生を抑制した。オリゴマーは非修飾型の天然 DNA (ヌクレアーゼ感受性あり) では全く効果がなく, DNA の燐酸結合部の非架橋酸素の一つを硫黄に置換したヌクレアーゼ抵抗性のフォスフォロサイオエート (Phosphorothioate: S-oligo) が有効で, オリゴマーの長さは 20-mer 以下は *rev* に対するアンチセンスでも無効であった¹⁻³⁾。

rev 遺伝子のなかではやはり翻訳開始部位が標的として良好のようであった。mRNA の二次構造ではエネルギー状態 (ランダム配列に対する) で安定な所に対するアンチセンスは効果が少ない傾向にあった。このことは mRNA の二次構造でほぐれにくい部位 (つまり mRNA 内で自己結合が強い部位) は比較的に良い標的にはなりにくいということであろう。

2. 遺伝子挿入療法 (狭義の遺伝子治療)

エイズにおける遺伝子治療を考えると、前述のエイズの発症機序に関する事実を踏まえ標的を選択する必要がある。いわゆる免疫強化法 (ワクチン) は不確定な要素が多く、意図した遺伝子の発現がうまく行ったとしてもウイルス量の減少につながるかどうか不明である (免疫反応はもともと患者体内に存在する)。より確実な方法として直接ウイルス産生に作用する (抑制する) 遺伝子、あるいは直接関連する遺伝子が望ましいと考えられる。なぜなら、前述したようにウイルス産生量が減少すれば臨床症状は改善することはほぼ確実だからである。候補としてはアンチセンス RNA、リボザイム、自殺遺伝子などである。

このように述べてくるとアンチセンス法 (外部からオリゴマーとして投与する) との共通性がうかがえると思われる。すなわち、ウイルスの増殖

機構に働いている遺伝子群に直接的に働きかける点においては共通のものと考えることが出来る。

われわれはこれまで一般的なレトロウイルスベクターや AAV (Adeno-Associated Virus) を用いて tRNA やアンチセンスのコンストラクトを検討してきたが、発現量がウイルスの発現量の 1/100~1/1,000 と少なく、とても HIV 全体のウイルス発現を減少させるまでには至らなかった。HIV は他のウイルスと比較すると産生量が非常に大きいことが特徴であるので、HIV に対しては HIV ベクターを用いて制御することが可能ではないかと考え検討を行った。また、特異性を持たせるにも HIV 感染がある細胞にのみ挿入遺伝子の発現を得ることが出来ると予想されるので、HIV ベクターを用いることは有利であると考えられた。つまり、HIV-LTR (Long Terminal Repeat) は HIV-*tat* 遺伝子に特異的に反応して、下流にある遺伝子発現をもたらすわけである。この HIV ベクターを用いて自殺遺伝子であるヘルペスウイルスのサイミジンキナーゼ遺伝子を挿入したところ、HIV ウイルス感染細胞に特異的に発現し、ガンシクロビルに対する細胞毒性が選択的に増加したことを確認した。つまり、HIV 感染特異的に誘導されたサイミジンキナーゼによってガンシクロビルがより多く燐酸化し、毒性を示したわけであった。この方法を使えばウイルスを産生する前に感染細胞は死滅することとなり、かなりのウイルス産生の減少が可能となると考えられる。また、HIV-*tat* はウイルス産生に必須であるので変化することは非常に考えにくく持続的に効果が期待できる。さらに、詳細な検討を続けているところである。

おわりに

AIDS の遺伝子治療は研究の段階から臨床治験に入りつつあるものが少しずつ出現しているものの、多くのものは未だ研究段階で多様なアプローチを行っているところである。しかし、根治的な治療法は遺伝子治療となると期待されており今後ともさらに詳細な検討が待たれる。

(受付: 1995 年 8 月 22 日)