遺伝子治療の現状と問題点

島田 隆

Jpn. J. Clin. Immun., 23 (6) : 519~522, 2000.

Current status and problems in human gene therapy

Takashi Shimada

*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Division of Gene Therapy Research,
Center for Advanced Medical Technology, Nippon Medical School*

遺伝子治療の臨床研究が開始されてから10年が経過し、既に4000人近い患者に対する治療が行われている。最近まで遺伝子治療は危険性も少ないが有効性も低いという評価を受けてきたが、去年から今年にかけて、大きな動きがあった。遺伝病の治療で明らかな有効性が確認される一方で、遺伝子治療による死亡事故も発生している。今や遺伝子治療は大きな転換期を迎えている。本稿ではこれらの状況を踏まえ、遺伝子治療の今後の方向性について考えてみたい。

I. 遺伝子治療のストラテジー

遺伝子治療は、遺伝子病の治療法として考え出されたもので、最終的な目標は遺伝子の修復である（修復遺伝子治療）。しかし、遺伝子を直接修復することは技術的に難しいため、異常遺伝子には手を加えず、正常遺伝子を外部から導入して欠損している細胞機能を補充することが行われている。又、異常遺伝子の発現を抑制する方法としては、アンチセンスやリボザイム遺伝子を導入することが試みられている。

最近では、遺伝子の修復を目的とせず、遺伝子を使って細胞に新たな機能を付加して病気の治療を行うことも遺伝子治療と呼ばれるようになってきている（付加遺伝子治療）。遺伝子を使った治療法という意味での遺

伝子治療では、遺伝子病だけでなく、感染症や生活習慣病の治療も行われている。

II. 遺伝子導入技術の進歩

遺伝子治療のための遺伝子導入法として多くの方法が試みられたが、現在ではウイルスベクターを使った方法が主流になっている。

レトロウイルスベクターは染色体に組み込まれるため長期間の遺伝子発現が必要な遺伝病の遺伝子治療で主に使われているが、遺伝子の導入効率や発現効率は低い。特に非分裂細胞に遺伝子導入できない点が問題になっている。

アデノウイルスベクターは染色体に組み込まれないが、*in vivo*での高率な遺伝子導入が可能であり、細胞を殺傷することを目的とした癌の自殺遺伝子治療やp53遺伝子治療で使われている。現在のアデノウイルスベクターは、ウイルス遺伝子も発現してしまうため生体での免疫反応が問題となっている。ベクターゲノムからウイルス遺伝子を取り除いた新しいアデノウイルスベクターの開発が進められている。

これらの問題点を解決する新しい組み込み型ベクターとして、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターやHIVベクターが開発されている。

III. 遺伝子治療プロトコール

遺伝子治療の臨床研究は1989年に米国で開始され

表 1 遺伝子治療臨床研究の実施状況

		プロトコル		患 者	
		数	%	数	%
遺 伝 子 標 識		41	10.4	227	6.9
非治療		2	0.5	6	0.2
治療	遺伝病	53	13.4	298	9.1
	癌	252	63.6	2269	69.2
	エイズ	33	8.3	412	12.6
	その他	15	3.8	66	2.2
合 計		396	100	3278	100

(1999年9月)

て以来、欧米を中心に、これまでに約 400 の遺伝子治療プロトコルについて、3,000 人以上の患者に対し行われている。その内訳は遺伝病が 9%、癌が 69%、エイズが 13%、その他が 9% になっている (表 1)。

遺伝病の遺伝子治療としては 15 以上の単一遺伝子病に対し、正常遺伝子を投与する、修復遺伝子治療が行われている。

癌の遺伝子治療としては、癌遺伝子に対するアンチセンス遺伝子や正常 p 53 遺伝子を使った修復遺伝子治療も一部で試みられているが、ほとんどは付加遺伝子治療の形で行われている。最も多いのはサイトカイン遺伝子を投与した癌細胞を使ったワクチン療法である。その他、毒性遺伝子やアポトーシス誘導遺伝子を使った自殺遺伝子治療も行われている。新しい癌の遺伝子治療法としては、抗原提示細胞である樹状細胞を標的とする免疫治療や、血管増殖を阻害して間接的に癌を殺傷しようという方法が注目されている。

その他、エイズに対する遺伝子を使ったワクチン療法や、リュウマチ様関節炎、筋萎縮性側索硬化症、血管疾患への遺伝子治療も開始されている。

IV. 遺伝子治療臨床研究の現状

これまでの臨床研究は安全性の評価を目的としたフェーズ I から II に相当するプロトコルであり、有効性を評価できたものは少ない。その中で、最初の遺伝子治療として行われた先天性重症免疫不全症 (ADA 欠損症) と、去年から行われている X 連鎖免疫不全症 (XSCID: サイトカイン受容体欠損症) に対する遺伝子治療では治療効果があつたとされている。ADA 欠損症に対する治療では、レトロウイルスベクターで正

常 ADA 遺伝子を導入した末梢リンパ球を患者に戻すことを約 10 回繰り返した結果、患者のリンパ球数や ADA 活性が上昇し免疫力も回復したと報告されている¹⁾。しかし、ADA 欠損症の患者は同時に酸素補充療法も受けているため、遺伝子治療単独の効果を評価することは難しい。一方、XSCID の治療ではレトロウイルスベクターで正常遺伝子を導入した患者の骨髄細胞を一回だけ移植した結果、治療前はほとんど存在しなかった T 細胞や NK 細胞の上昇が認められている²⁾。この治療では造血幹細胞への遺伝子導入に成功したと考えられており、長期の治療効果が期待されている。これらの免疫不全症の遺伝子治療では治療された細胞が未治療の細胞より高い増殖性を獲得するため (Selective Growth Advantage) 一部の細胞しか治療できていないにも関わらず、効果が上がったと考えられている。

その他にも血友病 B に対する AAV ベクターを使った遺伝子治療が有望であることが報告されている³⁾。このプロトコルでは凝固因子を作っている肝臓の遺伝子を修復するのではなく、筋肉細胞に遺伝子を導入し、ここから血中に凝固因子を持続的に分泌することが行われた。凝固因子の濃度は正常の 1-2% 程度に上昇しただけであるが、凝固因子補充療法の頻度は明らかに減少しており臨床的效果はあつたと考えられている。このように筋肉細胞から蛋白質を分泌させる新しい形の付加遺伝子治療は血液蛋白の欠損症や、部のリソソーム病などにも応用できると考えられる。

後天性疾患の遺伝子治療としては末梢血管の閉塞疾患患者に血管増殖因子 (VEGF) の発現プラスミドを直接注射したところ血管の新生が認められたことが報告されている⁴⁾。VEGF 遺伝子を使った遺伝子治療は冠動脈疾患の治療にも応用されている。

このように一部の遺伝子治療では有効性が明らかになってきたが、一方で遺伝子治療による死亡事故も起きている。1999 年 9 月に米国で行われたオルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症患者の肝動脈内へのアデノウイルスベクターの大量投与の直後に、患者は昏迷状態となり、ARDS、多臓器不全を起こし 4 日後に死亡した。この原因は正確にはわかっていないが、アデノウイルスベクターに対する非特異的免疫反応 (innate immunity) に対する過剰反応 (Systemic inflammatory response syndrome) が起こったためと考えられている。他の患者ではこのような反応が起こっていないことから、今回の事故は患者

の特異的な反応性によるところが大きいと考えられているが、アデノウイルスベクター投与が誘因となったことは間違い無く、遺伝子治療関係者に大きな衝撃を与えた。現在米国では技術的改良だけでなく、この事故をあらかじめ予測、予防できなかった現在の遺伝子治療臨床研究の体制に対し、FDA が中心になり厳しい見直しが行われている。

V. 遺伝子治療の将来

遺伝子治療は今大きな転換期を迎えている。これまで、遺伝子治療は安全だが効かないという評価を受けていたが、状況は去年から急に動き出した。明らかな有効性が報告される一方で事故も起きてしまった。今後、遺伝子治療を発展させるためには原点に立ち戻った見直しが重要である。

遺伝子治療の概念は遺伝子の治療を目的にした本来の遺伝子治療から、遺伝子導入技術を使った治療法として発展してきた。現在の遺伝子治療は、遺伝子を治療する遺伝子治療と、遺伝子を使うが遺伝子を治療しない遺伝子治療に分けることができる(図1)。現在行われているのはほとんどが後者の形の遺伝子治療であり、遺伝子の治療を目的としたものは少数の遺伝病の治療に限られている。遺伝子を治療する遺伝子治療と、遺伝子を治療しない遺伝子治療は、本来、目的

も、方法論も、安全性や倫理性の基準も大きく異なっているはずなのであるが、現在はこれらが混同して議論されている。しかし、今後は、これらの二つの遺伝子治療は別々に発展していくものと考えられる。

遺伝子を治療しない遺伝子治療は、多くの難治性疾患の治療法として盛んに行われるようになって考えられる。しかし、ここでの遺伝子治療の位置付けはあくまでも治療法の選択肢の一つであり、絶対的な治療法にはならないと思われる。遺伝子を使うことで、薬剤や蛋白製剤では代替できない新しいアプローチが可能である。例えば細胞増殖を調節する遺伝子やサイトカイン遺伝子を標的部位で一定期間発現させることは、癌や生活習慣病の治療法として期待されている。これらの遺伝子治療は患者の遺伝子の改変を目的としないため、安全性さえ確認できれば、特別な制限なしに通常の治療法の一つとして広範囲に使われることになると思われる。しかしこのような方法だけで病気を完治させることは困難である。病気の程度や患者の状態によっていかに遺伝子治療を組み合わせていくかが重要になってくる。

遺伝子を治療する遺伝子治療は、今後の技術進歩により遺伝病の究極の治療法となる可能性がでてきた。これまで遺伝子異常を修復することは無理だと考えられてきたが、最近、いくつかの可能性が報告されてい

図1 遺伝子治療の方向性

る。相同組換えを利用して異常遺伝子を正常遺伝子で置き換える方法は遺伝子修復法として以前から考えられていたが、効率が低過ぎて実用化は難しいと思われていた。この頻度を大幅に高める方法として、AAVベクターの一本鎖ゲノムを使う方法⁵⁾と、三本鎖DNAを形成させる方法⁶⁾が報告されている。又、染色体DNAとオリゴヌクレオチドの間にミスマッチDNAを形成させ、細胞のミスマッチ修復酵素によって染色体DNAの配列を変化させる方法⁷⁾も報告されている。いずれも未だ実験段階のものであるが、も

し、これらの技術が実用化されれば、安全性や倫理面での問題が解決され、生殖細胞や胎生早期の遺伝子治療も将来的には考慮されるようになって考えられる。

遺伝子治療はまだ始まったばかりの技術であるが、大きな可能性を持った治療法であり21世紀においては重要な医療技術の一つになることは間違いないと考えられる。基礎研究の推進と、臨床研究の慎重な評価を積み重ねることで、遺伝子治療が更に発展していくことが期待されている。

文 献

- 1) Blaese, R.M., Culver, K.W., Miller, A.D., Carter, C.S., Fleisher, T., Clerici, M., Shearer, G., Chang, L., Chiang, Y., Tolstoshev, P., Greenblatt, J.J., Rosenberg, S.A., Klein, H., Berger, M., Mullen, C.A., Ramsey, W.J., Muul, L., Morgan, R.A., Anderson, W.F. : T lymphocyte-directed gene therapy for ADA⁻ SCID : Initial trial results after 4 years. *Science*, 270 : 475~480, 1995.
- 2) Cavazzana-C, M., Hacein-B, S., Basile, G.S., Gross, F., Yvon, E., Nusbaum, P., Selz, F., Hue, C., Certain, S., Casanova, J.-L., Bousso, P., Deist, F.L., Fischer, A. : Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (scid) -x 1 disease. *Science*, 288 : 669~672, 2000.
- 3) Kay, M.A., Manno, C.S., Ragni, M.V., Larson, P.J., Couto, L.B., McClelland, A., Glader, B., Chew, A.J., Tai, S.J., Herzog, R.W., Arruda, V., Johnson, F., Scallan, C., Skarsgard, E., Flake, A.W., High, K.A. : Evidence for gene transfer and expression of factor ix in haemophilic patients treated with an aav vector. *Nature Genet.*, 24 : 257~261, 2000.
- 4) Isner, J.M., Pieczek, A., Schainfeld, R., Blair, R., Haley, L., Asahara, T., Rosenfield, K., Razvi, S., Walsh, K., Symes, J.F. : Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF 165 in patient with ischaemic limb. *Lancet*, 348 : 370~374, 1996.
- 5) Russell, W.D., Hirata, K.R. : Human gene targeting by viral vectors. *Nature Genet.*, 18 : 325~330, 1998.
- 6) Culver, K., Hsieh, W.T., Huyen, Y., Chen, V., Khripine, Y., Khorlin, A. : Correction of chromosomal point mutations in human cells with bifunctional oligonucleotides. *Net. Biotechnol.*, 10 : 989~993, 1999.
- 7) Alexeev, V., Yoon, K. : Stable and inheritable changes in genotype and phenotype of albino melanocytes induced by an RNA-DNA oligonucleotide. *Nature Biotech.*, 16 : 1343~1346, 1998.