

テーラーメイド医療

～糖尿病における現状と展望～

第10回

I. テーラーメイド医療に必要な基礎知識

4. 遺伝子治療

遺伝子治療・再生医療

Key Word

インスリン産生細胞, 遺伝子導入, 幹細胞, 転写因子

執筆



倭 英司 (Yamato Eiji)

大阪大学大学院 医学系研究科 分子治療学講座 幹細胞制御学 准教授

1984年大阪大学 医学部 卒業。その後、大阪大学医学部附属病院 第4内科 研修医を経て、1985年大阪府立病院 内科系 研修医、1991年米国 ハーバード大学 ジョスリン糖尿病研究所 研究員、1996年東大阪中央病院 内科部長、1998年より現職。【研究内容】分子生物学的手法を用いた膵β細胞の再生およびその機能維持に関する研究。

はじめに

糖尿病は完治しない疾病であり、従来の治療法を用いても、すべての糖尿病患者が合併症を起こさない最良の管理状態におかれているとはいえない。そこで、近年の分子生物学的研究の進歩から、遺伝子治療や再生医療のストラテジーによる動物実験に基づいた糖尿病管理が研究されつつある。遺伝子治療では、「生体

内に遺伝子をなんらかの方法で導入し、目的とする蛋白を体内で効率よく発現させること」が基本的な考え方である。現状では糖尿病をこのようなストラテジーで治療できるとは考えがたいが、病状を modulate できる蛋白が将来発見されれば、糖尿病にも応用できると考えられる。

そこで、本稿では遺伝子治療の基

本概念を述べる。糖尿病の再生医療では、「膵β細胞をなんらかの方法で再生させること」が基本的なストラテジーである。本稿では、これまでの再生医療に関する報告と、その問題点について述べる。

遺伝子治療

近年のゲノムサイエンスの進歩により、膨大な数の遺伝子が単離されているが、その機能は不明なものが多い。その生理的機能を同定する手段として遺伝子改変動物が作成されたが、大量の遺伝子のスクリーニングを行うのは困難である。生体への遺伝子導入は、条件がそろえば、その遺伝子の機能を簡便に検出する重要なツールになりうる。また、病因遺伝子の解析や遺伝子レベルでの疾病の解析が進み、遺伝子そのものの改変を目的とした、あるいは遺伝子を利用して疾患を治癒することを目的とした遺伝子治療が、実際に臨床応用されつつある。しかし、その導入効率や安全性などは、マウスなどの実験動物で多くのデータを集積した後にヒトに応用する必要がある。

プロモーター/エンハンサー

遺伝子を細胞のなかで発現させるための key factor は2つある。ひとつは後述する遺伝子の運び屋であるベクターの問題で、もうひとつは遺伝子をどのようなプロモーター/エンハンサーで発現させるかという問題である。プロモーター/エンハンサーは、通常遺伝子の上流に存在する遺伝子発現調節部位であり、遺伝子発現の強度や発現の組織特異性を決定する重要な因子である。たとえば、プロモーター/エンハンサーにインスリン遺伝子を使用すれば、理想的には膵β細胞のみに、しかも強力な遺伝子発現が期待できる。も

ろん、導入される細胞によって、組織特異性や遺伝子発現の誘導力は異なる。また、利用するプロモーター/エンハンサーの生物種や部位によっても異なる。

一般的に、遺伝子産物を期待する場合には、どの臓器でも一律かつ強力に発現するものを使用する。従来より、CMV-IE や SV40 などのウイルス由来のものがよく使われているが、筆者らはβアクチンのプロモーター/エンハンサーを使用している (CAGGS ベクター)。少なくとも、哺乳類の細胞では上述のウイルス由来のプロモーター/エンハンサーと同等か、それ以上の発現を誘導できる¹⁾。また、転写因子遺伝子などを発現させたい場合は、必ずしも高発現のみがよい結果を生むとは限らないため、pgk プロモーター/エンハンサーなどの比較的発現が弱いものを利用している。将来的には、薬剤誘導などで発現調節ができるシステムが望ましい。

ベクター

さて、ここでいう遺伝子、すなわち蛋白をコードする cDNA は、そのまま細胞に導入しても分解されてしまう。そこで、生体に効率よく遺伝子を導入するには、遺伝子を細胞まで運ぶベクターが必要である。導入する遺伝子は、ベクターのなかに組み換えて利用する。遺伝子導入法は大きく分けて、プラスミドなどの発現ベクターDNA そのものを細胞

に導入する naked DNA を用いる方法と、ウイルス法、およびウイルスのリポソームのみを用いる方法に大別される。

naked DNA を用いる方法

直接筋肉注射法

(direct injection method)

Wolff らは、プラスミドを筋肉内に注射すると、細胞質内に留まった DNA から遺伝子が発現することを報告した²⁾。プラスミドが筋肉細胞に取り込まれる詳細な機序は不明であるが、筋肉細胞膜を軽度障害するプピバカインの前投与などで発現効率が改善することから、細胞膜の障害部位から取り込まれる可能性が考えられている。

この方法では、肝臓やその他の臓器や腫瘍でも遺伝子発現が可能である。とくに、筋肉注射法は体表からでも導入可能で特殊な器具が不要なためコストも低く済み、安全性も高い。そのため、蛋白量が少量で有効な DNA ワクチンへの臨床応用が考えられている。糖尿病領域では、自己免疫疾患である1型糖尿病の予防などへの応用が考えられる。筆者らの研究室でも、IL10 発現プラスミドの筋肉注射により non-obese diabetic (NOD) マウスにおける糖尿病発症の抑制を報告している³⁾。

電気穿孔法

(in vivo electroporation)

培養細胞に電気パルスを与えることで遺伝子が導入できることは、1980