

報告書

平成13年度 丸木記念特別奨学研究費 A 研究実績報告書

複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターを用いた
造血器悪性腫瘍に対する遺伝子治療の研究

受賞者 鈴木 利哉 (埼玉医科大学血液内科学教室)

共同研究者 桑山 善夫*, 三角 素弘*, 別所 正美*

われわれは複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターを用いた造血器悪性腫瘍に対する遺伝子治療を研究している。造血器悪性腫瘍のうちとくに患者数の多い急性骨髄性白血病と悪性リンパ腫(ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫)を対象にしている。

従来の治療法である化学療法および造血幹細胞移植とは異なる治療法の戦略を確立することを目指している。われわれが遺伝子治療を用いて確立しようとしている治療法は免疫療法に近い性質をもつものであり、近年急速に普及しつつある造血器悪性腫瘍に対する rituximab などの抗体療法に近い治療法である。遺伝子治療により生体内の免疫反応を調節して造血器悪性腫瘍細胞に強制的にアポトーシスすなわち細胞死を誘導しようとするものである。従来の治療法では治療の効果に限界があるため腫瘍細胞の根絶は困難であったが、免疫反応を利用することにより無理なく悪性腫瘍細胞の根絶を達成することが期待される。

造血器悪性腫瘍細胞に複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターを用いて免疫調節遺伝子を導入する。複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターを選択した理由は特殊な感染方法によらずに効率良く外来遺伝子を造血器悪性腫瘍細胞に導入できることが期待されるからである。従来の遺伝子治療ではレトロウイルスベクターが頻用されてきた。X連鎖重症複合免疫不全症における遺伝子治療の臨床応用においてレトロウイルスベクターが挿入変異により LMO2 遺伝子を活性化させた結果、T細胞性白血病を発症させたことが報告された。これはレトロウイルスベクターが染色体遺伝子に組み込まれてしまうために発生する問題点であるが、単純ヘルペスウイルスベクターは染色体遺伝子に組み込まれないため二次的に腫瘍を発生させる可能性は少ないと考えられている。

今回の研究においてわれわれが試みた免疫調節遺伝子はヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子と変異

型 I κ B 遺伝子であり、どちらも不死化した造血器悪性腫瘍細胞にアポトーシスを誘導し治療効果を発揮することが期待される。

ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子はガンシクロビルと併用することにより、ガンシクロビルをリン酸化し、毒性物質に変えて造血器悪性腫瘍にアポトーシスを誘導する。これは自殺遺伝子療法とよばれる。アポトーシスの種々の経路のうち FAS を介する経路を経由すると考えられる (図1参照)。

変異型 I κ B 遺伝子産物は転写因子 NF- κ B に強く結合して NF- κ B の核内移行を妨げる。その結果 NF- κ B の恒常的な活性化によりアポトーシス抑制遺伝子が活性化されていたものが、活性を失いアポトーシスにおちいる。これは IAP 遺伝子などのアポトーシス抑制遺伝子の失活化が関与する (図1参照)。

われわれは造血器悪性腫瘍に対する以下の遺伝子治療実験を行った。(1)ホジキンリンパ腫細胞に対する変異型 I κ B 遺伝子導入、(2)非ホジキンリンパ腫細胞に対するヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子

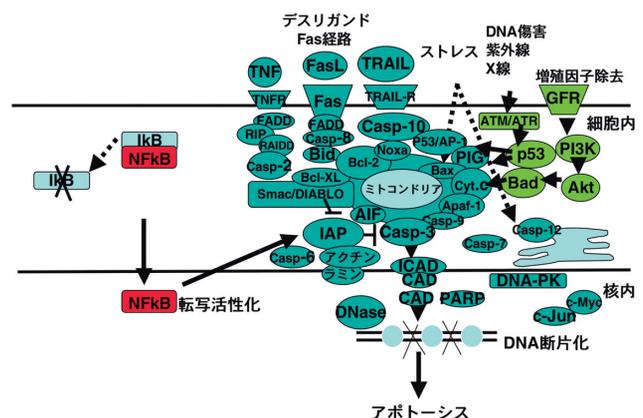


図1. アポトーシスと NF- κ B. (井出利憲 2004 年を改変)

導入, (3) 急性骨髄性白血病細胞に対する変異型I κ B遺伝子導入である.

ホジキンリンパ腫の異常な増殖の中心をなすReed-Sternberg細胞やHodgkin細胞の増殖に転写因子NF- κ Bが関与している. ホジキン細胞株に対する単純ヘルペスウイルスベクターTOI κ B (図2)による変異型I κ B遺伝子導入によりNF- κ Bの発現が抑制され, ホジキンリンパ腫の増殖を抑制することが証明された(論文①).

非ホジキンリンパ腫細胞に対するヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を導入したところ, 非ホジキンリンパ腫, そのなかでもとくに低悪性度リンパ腫症例細胞において, 単純ヘルペスウイルスベクターTOZ.1 (図3)は効率の良い自殺遺伝子療法を達成することができた. 殺腫瘍効果が最もすぐれていたのは慢性リンパ性白血病の症例であり, 殺腫瘍効果は47.2%に達した. (論文②).

急性骨髄性白血病ではサイトカインの自己分泌やI κ B分解機構の異常などにより恒常的なNF- κ Bの活性化がおり細胞の異常増殖が生じている. NF- κ Bの活性化を抑制することを目的として変異型I κ B遺伝子を発現する複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターTOI κ Bを急性骨髄性白血病細胞に感染させたと

ころ, 90%以上の白血病細胞を感染48時間以内に細胞死に至らしめることができた(論文③). その抗白血病効果は急性骨髄性白血病治療の中心的な薬剤であるcytosine arabinosideの10倍近いものである. 変異型I κ Bを発現する複製欠損型単純ヘルペスウイルスベクターTOI κ Bによるアポトーシス誘導の分子細胞学的な機序をあきらかにすることに成功した. 急性骨髄性白血病症例では従来の治療法に反応しない治療抵抗性の症例があるが, われわれの遺伝子治療によるアポトーシス誘導は大変有望な画期的治療法になることが期待される. 今後症例細胞および白血病やリンパ腫のモデル動物を対象とした実験を行ない, 有効性と安全性を確認し臨床応用を目指したい.

文 献

- ① Motohiro Misumi, Yoshio Kuwayama, Toshiya Suzuki, Kanae Sakate, Katsuhiko Yoshida, Kunitake Hirasima, Shusuke Moriuchi, Joseph C Glorioso, and Masami Bessho. Gene therapy for Hodgkin's lymphoma by means of replication-defective herpes simplex virus-1 overexpressing mutant I κ B α . *Blood* 98 Suppl 1: 405b-406b, 2003.
- ② Motohiro Misumi, Toshiya Suzuki, Shusuke Moriuchi, Joseph C Glorioso, and Masami Bessho. In vitro thymidine kinase/ganciclovir-based suicide gene therapy using replication-defective herpes simplex virus-1 against leukemic B-cell malignancies (MCL, HCL, B-CLL). *Leukemia Research* 27:695-699, 2003.
- ③ Yoshio Kuwayama, Toshiya Suzuki, Shusuke Moriuchi, Joseph C Glorioso, and Masami Bessho. I κ B-mediated apoptotic gene therapy against acute myelogenous leukemia using replication-defective HSV-1 vector expressing TK and mutant I κ B α . *Cellular and Molecular Biology* 2004, in press

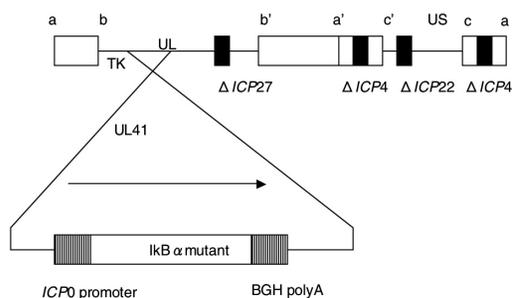


図2. TOI κ Bの構造.

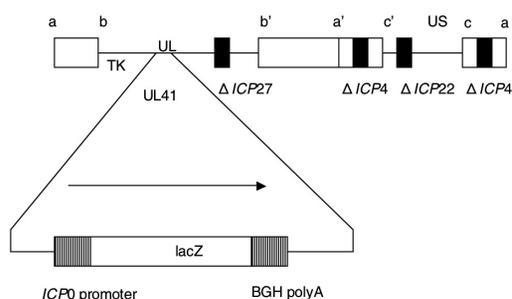


図3. TOZ.1の構造.

謝 辞

本研究は平成13年度丸木記念特別奨学研究費Aにより行われた. 研究の一部は日本新薬株式会社の奨学研究費により行われた. 研究は医動物学教室平山謙二教授(現長崎大学熱帯医学研究所)のご援助を頂いた. 研究は埼玉医科大学ゲノム医学センター(村松正實所長)において行われた. 米国ピッツバーグ大学医学部分子生物学グロリオソ主任教授との国際共同研究として施行された.