

図4 ハプロタイプ一致ドナー由来T細胞除去造血幹細胞移植後のHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球“Add-back”療法

3.2.2 遺伝子導入Tリンパ球の調製

ドナーリンパ球に遺伝子が組み込まれるためには、遺伝子を細胞の中に運ぶ遺伝子の運び屋つまりベクターが必要となります。このベクターにはいろいろな種類があり、今回使用するベクターは、レトロウイルス（自分の遺伝子であるRNAをDNAに写し変えて、宿主のDNAの中に入り込み、宿主の中で自分のウイルスを増殖させる仲間のこと）と呼ばれるウイルスの一種で、マウスに感染する種類のレトロウイルスをもとに、遺伝子組換え技術で治療用に改良されたレトロウイルスベクターです。このマウスに感染する種類のレトロウイルスはヒトの細胞には通常感染しませんが、このレトロウイルスベクターはヒト細胞にも感染するように工夫がなされています。同時に、安全性を高めるために、あらかじめ人工的に不完全なウイルスをつくり、感染しても細胞内でウイルスが増殖することが出来ず、周りの細胞に次々に感染しないように改良されています。

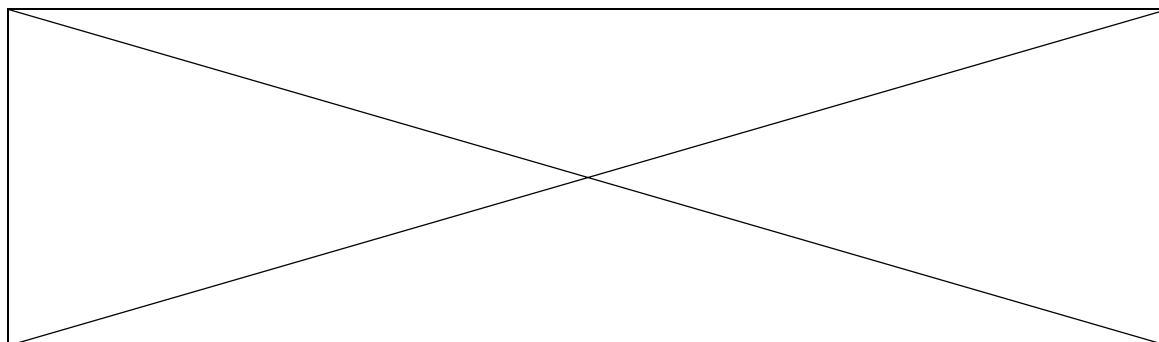
このレトロウイルスベクターにより、2つの遺伝子がドナーリンパ球に組み込まれることとなります。一つは単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子です。これはガンシクロビル (GCV) との組み合わせで自滅装置として働く遺伝子です。もう一つは不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子 (Δ LNGFR) です。ヒト神経成長因子受容体遺伝子はもともと神経細胞の増殖に必要なものですが、不活性型ヒト神経成長因子受容体遺伝子 (Δ LNGFR) は神経細胞の増殖機能を人工的に失わせてあり、ここではあくまでも遺伝子を組み込んだ細胞に印をつける（マーキングのこと）ために使用します。

試験管内でドナーリンパ球にウイルスベクターを感染させても全部のリンパ球に遺伝子が組み込まれるのではなく、遺伝子が組み込まれるのは全体の10～20%程度です。つまり、80～90%のリンパ球は、単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子を持たないこととなります。もし、この状態でドナーTリンパ球を補助的に追加輸注（Add-back）した場合、移植片対宿主病（GVHD）発症の際にガンシクロビル（GCV）を投与しても自滅するリンパ球は一部で、残り80%以上のリンパ球は死滅せず、移植片対宿主病（GVHD）の状態は続くこととなります。

このことを避けるためには、補助的に追加輸注（Add-back）するドナーTリンパ球をできる限り単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球だけにしなければなりません。単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球のみを取り出すために、遺伝子が組み込まれた細胞にマーキングの必要があるのです。前述のヒト神経成長因子受容体遺伝子（ Δ LNGFR）でマーキングされたリンパ球は、神経成長因子受容体と反応する抗体を用いて他のリンパ球（遺伝子が組み込まれていないリンパ球）から分離することができます。このような方法で、追加輸注（Add-back）するドナーTリンパ球をできるだけ遺伝子が組み込まれたリンパ球〔単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子が入ったリンパ球〕のみにすることが可能となります（図5をご参照下さい）。

なお、今回の遺伝子治療臨床研究に用いる単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子そのものをあなたが直接服用したり、あなたが直接注射されたりすることはありません。この単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子は、病院内のじゅうぶんに管理された無菌細胞調整施設でドナーのリンパ球に遺伝子として組み込まれ（遺伝子導入のこと）、いくつかの操作を経て、HLA 2、3座不一致血縁者間のT細胞除去同種造血幹細胞移植後のドナーTリンパ球の補助的追加輸注（Add-back）に用いられます。

この遺伝子治療臨床研究で用いられる単純ヘルペスウイルス1型・チミジンキナーゼ（HSV-TK）遺伝子をドナーTリンパ球に組み込むための製剤の製造や運搬は、すべて、遺伝子治療を安全に実施するための国の法律や取り決めに従って、細心の注意のもとに行われることとなります。ドナーTリンパ球に遺伝子導入する操作なども同様です。



(9/31)