

論 文 要 旨

Safe and low-dose but therapeutically effective adenovirus-mediated hepatocyte growth factor gene therapy for type 1 diabetes in mice

1 型糖尿病マウスに対する安全性と低用量による治療効果を確保した
肝細胞増殖因子 HGF アデノウイルス遺伝子治療

松田 恵理子

【序論及び目的】

1 型糖尿病 (T1D) は、インスリンを産生する β 細胞が破壊されることで発症する自己免疫疾患である。外因性インスリン補充療法が依然として治療の中心となっているが、低血糖の頻度が高いことから、革新的な治療法の開発が急務となっている。最近の臨床試験では、現在、 β 細胞の置換療法として膵島移植が効果的に血糖値を改善することが報告されている。しかし、移植後の免疫抑制剤の使用が避けられないことや、ドナーの不足により、すべての T1D 患者への適用には限界がある。このような状況下では、残存する β 細胞を保護しつつ、生体内での β 細胞の増殖を促進する独自の治療法の開発が必要となる。

肝細胞増殖因子 (HGF) は、強力な肝細胞分裂促進因子として同定されていたが、現在では多機能性サイトカインであることが知られている。HGF は、前臨床試験や臨床試験において、複数の疾患に対する細胞保護作用、抗線維化作用、再生作用など、様々な治療効果を示す。膵臓では、HGF 受容体である c-Met が膵臓前駆細胞、膵島細胞、膵管細胞に局在し、HGF は内皮細胞や間葉細胞に発現している。近年、遺伝子治療は革新的な新薬モダリティとして注目されているが、T1D に対する HGF 遺伝子治療について検討されたのは、これまでに 3 件の研究のみである。これらは、いずれもサイトメガロウイルス (CMV) プロモーターを用いて外因性 HGF 遺伝子を発現させたものであった。しかし、3 つの研究のうち 2 つの研究では、T1D 発症前にマウスに対する治療を行なっているために、既に多くの β 細胞が破壊されている T1D 患者への臨床応用の有用性を示していない。3 つ目の研究では、T1D 発症後に HGF を発現するアデノウイルスベクターを大量に静脈内投与を行った結果、部分的な効果が得られた。しかし、高用量のアデノウイルスベクターの静脈内投与は、これまでの臨床試験で致死性の危険性が認められたため、臨床への適用は進められていない。遺伝子の投与方法については、これまでに非病原性であるアデノ随伴ウイルスベクターが安全であるとされてきたが、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた臨床試験での死亡例に関する報告 (2020 年 8 月 20 日付) がなされたことから、ベクターの種類に関わらず、高用量のベクター投与により、危険な肝毒性を含む重篤な有害事象を引き起こす可能性があるという、非常に深刻な問題を提起した。

本研究では、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発 T1D マウスに対して、安全かつ低用量でありながら、治療効果の高い Ad.CA-HGF 遺伝子治療薬の開発を試みた。

【材料及び方法】

8週齢・雄の C57BL/6N マウスに対し、STZ (50mg/kg) の腹腔内投与を5日間連続で行った。STZ 投与後から1週間後に、STZ を投与したマウスを無作為に2群に分け、サイトメガロウイルス即時型エンハンサーと改変ニワトリ β -アクチンプロモーター (CA プロモーター) の転写制御下で HGF 遺伝子を発現するアデノウイルス (Ad.CA-HGF)、または LacZ 遺伝子を発現するアデノウイルス (Ad.CA-LacZ) を用いて、低用量 (3×10^8 plaque forming units) の単回尾静脈内投与を行った。STZ 及びウイルスの投与を行わなかったマウスは、糖尿病未発症の比較対照群として用いた。ウイルス投与日を0日目とし、-7日目から7日目までの期間は毎日、14日目以降は、1週間毎に血液採取を行い、血糖、血漿インスリン、血漿アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 及び血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) について、生化学的解析を行った。

【結果】

Ad.CA-LacZ 投与群では、ウイルス投与から7日目(初回の STZ 投与から14日目)の血糖値は250mg/dl まで上昇し、その後も高血糖のまま推移した。低用量による Ad.CA-HGF 遺伝子治療を行った Ad.CA-HGF 投与群は、単回尾静脈投与により、3~6日目における血糖値の上昇を有意に抑制した。その後、77日目までの経過観察においても、Ad.CA-LacZ 投与群に比較して血糖値は抑制傾向を示した。Ad.CA-LacZ 投与群における7日目の血漿インスリン濃度は、Ad.CA-HGF 投与群と比較して有意に高値を示した。この結果は STZ 投与により β 細胞が破壊され、残存する β 細胞が代償的及び一時的にインスリンを過剰に分泌するこれまでの報告と一致しており、Ad.CA-LacZ 投与群における β 細胞の細胞死が進行していることを示唆した。一方、Ad.CA-HGF 投与群では7日目における血漿インスリン濃度の上昇はみられず、その後も血漿インスリン濃度は正常に保たれた。このことから、Ad.CA-HGF の静脈投与による治療効果として残存 β 細胞の保護が関与している可能性が示唆された。また、血漿中の肝酵素の上昇は、Ad.CA-HGF 投与群を含むいずれの群においてもみられず、高用量のウイルスベクターを静脈内投与した場合にみられる致死的な副作用を認めなかった。

【結論及び考察】

これまでの先行研究において、マウスにおける HGF 受容体 c-Met を β 細胞特異的に破壊することにより β 細胞の生存率が劇的に低下し、糖尿病の発症を早めることが報告されており、今回の低用量 Ad.CA-HGF 遺伝子治療による高血糖の抑制効果は、HGF/c-Met シグナルを介した β 細胞の保護作用によるものであることが示唆される。肝障害を含む重篤な有害事象も認められなかったことから、この研究では、低用量の Ad.CA-HGF 遺伝子治療が、臨床実用化が可能であり、且つ安全性を確保した T1D 治療のための治療戦略となる可能性を示唆した。

(Life Sciences, 2021, Jan 4;268:119014. 掲載)