

9. 治療を極める

2) 遺伝子導入法 ——マイクロバブルを用いた超音波による 遺伝子導入法の有用性

小川 良平*/森井 章裕**/渡部 明彦**/近藤 隆*

* 富山大学大学院医学薬学研究部 (医学) 放射線基礎医学講座 ** 富山大学大学院医学薬学研究部 (医学) 泌尿器科学講座

遺伝子治療は、次世代の治療法として大きな期待が寄せられている。しかしながら、遺伝子の細胞内への導入、効率的な発現といった基本的な技術の完成にまだ多くの問題があり、遺伝子治療実現のための大きな障害となっている。最も技術的に進んでいる方法は、ウイルスをベクターとして利用する方法であるが、臨床試験で起こった事故により、非ウイルスキャリアが注目を浴びるようになった。

非ウイルスキャリアは、全般的に遺伝子導入効率や標的指向性が低いとされる。しかし、超音波による遺伝子導入技術は数々の工夫により、これらの欠点を乗り越えて進歩してきた。本稿では、その技術的な発展と、これまでの展開について概説する。

背景

遺伝子治療において、目的の遺伝子を目的の部位に正確に過不足なく導入することが肝要であるが、この条件を完全に満たす方法はまだ開発されていない。最も臨床に近い方法は、ウイルスベクターによるものであり、多くの種類のウイルスがベクターとして検討されている。概して言うと、ウイルスベクターは遺伝子導入の効率が高く、導入組織における制御がある程度可能であり、最も進歩した遺伝子導入法である。すでに多くの臨床試験が行われており、遺伝病やがんの治療などにおいて一定の成果を上げている。しかしながら、1998年に、アデノウイルスをベクターとして用いた治療で死亡事故が、2002年と2003年にレトロウイルスベクターの使用による白血病の発生が報告されており、ウイルスベクターの危険性が現実のものであることが改めて示された。そのため、その後は、より安全性の高い、非ウイルスキャリアの開発が盛んに進められている。

非ウイルスキャリアによる遺伝子の導入には、カチオン性リポソームや高分子など、化学的に特殊な分子をキャリアに使う方法や、高電圧パルスや超音波を利用した物理的な刺激により、遺伝子導入を促す方法などが検討されているが、ウイルスベクターと比較して十分な導入効率を得られない。さらに、臨床応用を見据えた遺伝子導入法を確立するためには、導入効率だけではなく、標的指向性や遺伝子発現制御の付与など

も重要な要件である。

超音波は、医療の分野では主に診断に応用され、すでに必要不可欠のものとなっている。近年、これに加えて、超音波メス、がんの温熱治療や衝撃波による結石破碎治療、さらには、強力収束超音波による焼灼治療 (HIFU) など、診断目的だけでなく治療への応用も進められている。超音波は、生体組織での減衰が小さく、体の深部までその影響を与え、さらにエネルギーを狭い領域に収束することも可能であるため、非侵襲的に体の深部で標的部位への遺伝子導入を制御するには理想的な媒体である。

超音波遺伝子導入研究の展開

超音波による哺乳動物細胞への遺伝子導入は、1987年に、Fechheimerらによって最初に報告された¹⁾。彼らの研究は、超音波破碎装置を利用したものであったため、50 $\mu\text{g/mL}$ のプラスミド DNA 存在下で、20 kHz 程度の超音波を細胞に短時間照射することにより行われた。その結果、彼らは 10^6 個の細胞あたり 10～50 個程度の安定遺伝子導入コロニーの形成を観察している。その後、多くの検討が行われ、1～3 MHz 程度の超音波を 0.5～2.5 W/cm^2 程度の強度で照射することにより、細胞死を抑えた状態で遺伝子導入が引き起こされることが明らかとなっていった。この条件で細胞を照射したとき、細胞膜上に小孔が一時的に形成される様子がとらえられており、超音波遺伝子導入がソノポレーション