A HIV-fertőzés génterápiái: ígéret a jövőre

Cikk: Pomerantz, R.J. és Trono, D. - AIDS, 9, 985, 1995

Mivel a jelenleg rendelkezésre álló gyógyszerekkel a HIV-fertőzés kezelésében csak mérsékelt sikereket értek el, az utóbbi időben egyre nagyobb érdeklődés irányul a génterápia felé. A kezelésben a véleményünk szerint a legnagyobb korrigálásra kidolgozott génterápia lehetséges alkalmazási területei ma már kitetjednek a daganatos és fertőző megbetegedésekre is. Az utóbbi betegségek esetében a génterápiával elérendő cél az intracelluláris immunizáció. Ennek lényege: egyes sejtek genetikai állományát abból a célból módosítjuk, hogy beszűk nem vagy csak csökkent mértékben menjen végbe egy adott patogén ágens szaporodása

A HIV-betegség terápiájára alkalmas genetikai módszerek
Az ideális HIV terápia eredményeképpen valamennyi olyan sejt elpusztulna, amelybe a HIV-RNS-ről készült DNS-provirus beépült. Valószínűleg ezt a célt sohasem sikerül majd elérni, reálisabb célkitűzésnek látszik olyan genetikai eljárások alkalmazása, amelyekkel meg lehet akadályozni a vírus terjedését a szervezeten belül. Ennek elérése céljából a szervezetből kivett sejtekbe különböző vektorok segítségével olyan génszekvenciát juttatnak, amely gátolja egy adott patogén ágens szaporodását, majd az így kezelt sejteket visszajuttatják a szervezetbe. Ezen az ún. ex vivo eljáráson kívül elvileg lehetséges egy olyan megoldás is, amelynek során a vektorokhoz kötött gént a vérbe juttatják be és a szervezeten belül maguk végbe ennek beépülése a különböző sejtekbe.

Vektorként leggyakrabban különböző fertőző mikro-organizmusokat, ezek közül is elsősorban a állati retro-vírusokat alkalmaznak. A legtöbb génterápiás kísérletben egy defektív állati retrovírust, a murin leukaemia vírust használják. Újabban terjed az adenovírus és az adeno-asszociált vírus vektorok használata is. Végül olyan eljárásokat is kidolgoztak, amelyek fizikológiás membránfúzió útján (liposzmák) vagy mechanikus úton (pneumatikus gén-puska) juttatják be a kívánt gént a sejtekbe.
A HIV-vel szembeni intracelluláris immunizáció céljára kétféle eljárást fejlesztettek ki, az egyik proteineket, a másik RNS-t alkalmaz a vírusgátlás céljára. (Táblázat)

A HIV-1 fertőzés génterápiájára alkalmazható eljárások

Fehérje-alapú
Transzdominánsa negatív mutáns fehérjék
Gag
Env
tat
Rev
Intracelluláris egyláncú variábilis antitest fragmentumok
Anti-envelope
Anti-Rev
Ongyilkos konstrukciók
Différia toxin
Herpes simplex vírus thymidin kináz
Csapdás mechanizmusok
Intracelluláris CD4
Vírus-ejekciós inhibitorok
Vpr-toxin kimerák
RNS-alapú
Antisense
Molekuláris csalétkek
Polytranszaktivációs response element
Poly-Rev response element
Ribozimek
Kalapácsfej
Hajtű
A Protein-alapú anti-HIV génterápia
A vírus génterméknek dominális mutánsai
Az ilyen génterméknek által kódolt fehérjék interferálnak az eredeti fehérje funkciójával, mivel a mutáns fehérje és az eredeti proteinek kötődésének eredményképpen funkcióképtelen multimerek keletkeznek. Egy másik lehetőség az, hogy a mutáns gén által kódolt fehérje nem kötődik ugyan a vírus proteinhez, de vetélkedik ezzel a csak korlátozott mennyiségben rendelkezésre álló kofaktorokért, vagy szubcelluláris kötődik. Mind egyes struktúrális (gag, env), mind pedig a regulátor géneknek (tat, rev) elkészítették a transzdominánsa negatív variánsát.

Egyláncú antitestek és más módosított cellularis faktorok
Ilyen fragmentumokat az antitestek antigén-kötő régiójából lehet előállítani, és stabilan expresszáltatni lehet egyes sejtekben. A Rev-elleni egyláncú antitest megakadályozza a Rev regulátor fehérje bevándorlását a sejtmagba, és emiatt elmarad a HIV késői génjeinek az expressziója. Az env-ellenes intracelluláris antitestek pedig az endoplazmás reticulumban ejtik csapdába az env fehérjéket, és ezáltal szignifikánsan csökkentik a sejtekből kikerülő virionok infektivitását.
Indukálható toxikus fehérjék
Ennek az eljárásnak az a célja, hogy a fertőzött sejt meg azelőtt elpusztuljon, miélőtt jelentős mennyiségű vírust termelne. A sejtbe toxikus fehérjéket, pl. a herpes simplex vírus thymidin kináz enzimjét vagy a différia toxint kódoló gén-szkvenciákat juttatnak. Ennek azonban csak akkor lépnek működésbe, ha a sejtben megindul a HIV tat fehérje szintézise. A toxin termelődésének megindulása után a sejt gyors ongyilkossága következik be.

B. RNS alapú génterápia
Ribozimek
A ribozimek speciális rövid RNS molekulák, melyek két doménből állnak. Az egyik domén egy specifikus RNS molekulát ismer fel, a másik domén pedig ennek hasítását katalizálja. Két különböző prototípus molekulából (kalapácsfej, hajtű) származó anti-HIV ribozimet fejlesztettek ki, melyek a vírus genom különböző részeit ismerik fel, és így különböző mértékben gátolják a vírus replikációt. A ribozimek azért lehetnek értékes eszközei az anti-HIV génterápiának, mert mind a sejtbe bekerülő vírusok RNS-ét, mind pedig az újonnan átíródó vírus mRNS-t hasítani képesek.
Antisense RNS

Az antisense RNS molekulák olyan oligonucleotidok, melyek felépítése a vírus egyes fehérjét kódoló RNS vagy a DNS provirus egyes szekvenciához vizonyítva komplementerek. Így képesek a HIV-1 RNS egyes részeihez kötődni, ill. a provirus kettős DNS láncához harmadik láncként fixálódni, és ezáltal gátolni a retrovírusok replikációját. Ilyen antisense molekulákat dolgoztak ki a tat, rev, gag gének, a tat és rev gének által kódolt fehérjék kötőhelyei (TAR, RRE), és az un. LTR (long terminal repeat) ellen. A technika alkalmazása azonban számos nehézsége (a sejtbe juttatás problémái, escape mutánsok keletkezése) ütközik.

RNS csalétkek
Az eljárás alapja, genetikai úton a sejtben megnövelik az olyan RNS részeknek (pl. TAR, RRE) a mennyiségét, amelyhez a regulátor gének fehérjéi kötődik a természetes fertőzés során, megakadályozva ily módon, hogy a tat, ill. rev gének termékei a természetes targetjeikhez kötődve megindítsák az új vírusok replikációját a fertőzött sejtekben.
Az anti-HIV génterápiával kapcsolatos általános problémák
A fehérje-alapú génterápiás eljárások fő nehézsége az immunválasz kifejlődése, ill. az idegen fehérjék toxicitása. Újabban lehetőség nyílik az immunválasz kifejlődésének gátlására.
Az RNS-alapú anti-HIV génterápia esetében immunválasz kialakulásától nem kell tartani, azonban fennáll annak a veszélye, hogy a ribozimek, ill. az antisense nucleotidok egyes normál sejtfunkciókat is megzavarnak.

2. A vektorokkal kapcsolatos problémák
A leggyakrabban alkalmazott, defektív retrovírus (MLV) vektorok esetében nem zárható ki teljes biztonsággal fertőző MLV vírusok képződése, ill. az, hogy a vektorok a genom olyan részeibe épülnek be, ahol ennek hatására egyes fontos guardianfj-gének expressziója és/vagy funkciója károsodik. A retrovírus vektorok használatát korlátozhatja arányfag gyenge hatékonyságuk is. Mivel csak a vektorok csak az osztódó sejtekbe képesek beépülni, és a szervezetben a HIV fő reservoárjai a non-proliferáló CD4+ lymphocyták és a monocyták/macrophagok, az MLV vektorok használata az anti-HIV génterápia céljára erősen megkérdőjelezhető. Ezért felmerült a non-proliferáló sejtekbe is bejutni képes defektív lentivírusok, elit defektív HIV vektorként való felhasználása is. Az adenovírus-asszociált vírusok vektorként való alkalmazása mellett is az szól, hogy nyugvó sejtekét is megfertőznek, és az, hogy genomukként csak néhány képia vektor képes beépülni, ezért csökken a cellularis gének funkciója megzavarásának veszélye is. A jövő valószínűleg a nem-fertőző vektorok, legújabban a HIV génterápia területén is értek már el mikropartikulákkal való génátvitel segítségével pozitív eredményeket.

Egyéb potenciális nehézségek
Az eddig alkalmazott génterápiás protokollok az ex vivo megközelítésen ,tehát a genetikailag módosított saját sejtek visszajuttatásán alapul a szervezetbe. Ennél sokkal egyszerűbb megközelítésnek látszik az in vivo génterápia, amikor a vektor magában a betegbe juttatják be. Azonban ehhez az eljáráshoz olyan vektorok szükségesek, amelyek a szervezeten belül képesek egyes sejttípusokat megtalálni és szelektíve megfertőzni. Történtek már próbálkozások ebben az irányban is.
Az ex vivo megközelítés esetén kétségtelenül a csontvelőből, ill. a perifériás vérből származó CD34-pozitív őssejtek lennének az ideális targetsejtek, mivel ezekeek a sejtekének genetikai módosítás utáni visszajuttatása után olyan utódsejtek keletkeznének a szervezetben, melyek rezisztensek a HIV-fertőzésre. Ebben az irányban számos ígéretes kísérlet folyik.

Végül felmerülnek más, elméletileg lehetséges veszélyek is. Így nem lehet kizárni a kemoterápiához hasonlóan a génterápiára rezisztens escape-mutánsok keletkezését, ill. a csak részlegesen gátolt HIV-replikáció miatt a fertőzött sejtben accumulálódó HIV-fehérjék káros hatását sem.
Konklúziók
Az anti-HIV génterápia fokozatosan válik elméleti lehetőségből gyakorlati eszközzé, már több eljárás esetében indultak meg fázis I. vizsgálatok Valószínűleg a HIV-fertőzésben szülestett sjuzülöttek esetében lehet majd a génterápiát a legnagyobb sikerrel alkalmazni, mivel náluk sokszor még a fertőzés diszszeminálódása előtt lehetne a terápiát megindítani, elsősorban a küldőkörében nagyszámban előforduló CD34-pozitív őssejtek ex vivo kezelése útján.

Bár az effektív anti-HIV génterápia kidolgozásához még számos jelentős akadályt kell legyőzni, az eddigi gyors haladás reményt ad arra, hogy ez sikerülni fog. Bizonyos az is, hogy a gyógyszeres kemoterápia kombinálható lesz a génterápiás eljárásokkal.