# 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 kezdetben a veleszületett anyagcsere-betegségek korrigálására kidolgozott génterápia lehetséges alkalmazási területei ma már kiterjedtek a daganatos és fertőző megbetegedésekre is. Az utóbbi betegségek esetében a génterápiával elérendő cél az intracellularis immunizáció. Ennek lényege: egyes sejtek genetikai állományát abból a célból módosítják, hogy bennük 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-provírus 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 megy végbe ennek beépülése a különböző sejtekbe.

Vektorokat 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 használták. Újabban terjed az adenovírus és az adeno-asszociált vírus vektorok használata is. Végül olyan eljárásokat is kidolgoztak, amelyek fizikológiás membránfúzió útján (liposomák) vagy mechanikus úton (pneumatikus gén-puska) juttatják be a kívánt gént a sejtekbe.
A HIV-vel szembeni intracellularis 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
Transzdominánsnegatív mutáns fehérjék
Gag
Env
tat
Rev
Intracellularis egyláncú variábilis antitest fragmentumok
Anti-envelope
Anti-Rev
Ongyilkos konstrukciók
Différia toxin
Herpesz simplex vírus thymidin kináz
Csapda macskaszemek
Intracellularis CD4
Vírus-specifikus inhibitorok
Vpr-tonin kimérák
RNS-alapú
Antisense
Molekularis csalétkek
Polytranszaktivációs response element
Poly-Rev response element
Ribozimek
Kalapácsfej
Hajfű
A Protein-alapú anti-HIV génterápia
A vírus génterméknek domináló mutánsai
Az ilyen génterméknek által kódolt fehérjék interferálnak az eredeti fehérje funkcióival, mivel a mutáns fehérje és az eredeti proteinek kötődéseinek eredményképpen funkciókiépítelen 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 szubsztrátokért. Mind egyes strukturális (gag, env), mind pedig a regulátor géneknek (tat, rev) elkészítették a transzdominánsnegatív 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 intracellularis antitestek pedig az endoplasmás reticulumban ejtik csapdába az env fehérjéket, és ezáltal szignifikánsan csökkentik a sejtekből kikerülő vírusok infektivitását.
Inhakálható toxikus fehérjék
Ennek az eljárásnak az a célja, hogy a fertőzött sejt meg azelőtt elpusztuljon, miközben jelentős mennyiségű vírust termelne. A sejthez toxikus fehérjéket, pl. a herpesz simplex vírus thymidin kináz enzimjét vagy a différia toxint kódoló gén-szekvenciákat juttatnak. Ezek azonban csak akkor lépnek működésbe, ha a sejthez megindul a HIV tat fehérje szintézise. A toxin termelődésének megindulása után a sejt gyors fénylősssége 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 prototipus molekulából (kalapácsfej, hajfű) 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 fehérjéhez a vírus egyes fehérjéit kódoló RNS vagy a DNS provírus egyes szekvenciájához vinculyítva komplementerek. Így képesek a HIV-1 RNS egyes részeihez kötődni, ill. a provírus kettős DNS láncához harmadik láncként fiukódni, 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 ún. LTR (long terminal repeat) ellen. A technika alkalmazása azonban számos nehézséghez (a sejthe juttatás problémái, escape mutánsok keletkezése) tükrök.

RNS csalétkek
Az eljárás alapja, genetikai úton a sejthen megnövelik az olyan RNS részeinek (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 kiváltásáról nem kell tartani, azonban felmtill annak a veszélye, hogy a ribozimok, ill. az antisense molecsilták egyes normál sejtfunkciókat is megnyavarnak.

2. A vektorokkal kapcsolatos problémák
A leggyakrabban alkalmazott, defektív retrovírus (MLV) vektorok esetében nem zárható ki teljes biztonsággal fertőző MLV vírusok keletkezése, ill. az, hogy a vektorok a genom olyan részeibe épülnek be, ahol ennek hatására egyes fontos gazdasejt-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 reservoárja a nem-proliferáló CD4+ lymphocyták és a monocyták/macrophagok, az MLV vektorok használata az anti-HIV génterápia céljára erősen megkérdőjeleznő. Ezért felmerült a non-proliferáló sejtekbe is bejutni képes defektív lentivírusok, ebt defektív HIV vektorokat való felhasználása is. Az adenovírus-asszociált vírusok vektorokat való alkalmazása mellett is az szól, hogy nyugszó sejteket is megfertőznek, és az, hogy genomszinten csak néhány kópia 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 nikrosportkísérlokkal 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 megközelítésének látszik az in vivo génterápia, amikor a vektor magába a betegbe juttatják be. Azonban ehhez az eljáráshoz olyan vektorok szükségesek, amelyek a szervezeten belül képesek egyes sejttípusokat megtalálni és szelektive megfertőzni. Történtek már próbálkozások ebben az irányban is.
Az ex vivo megközelítés esetén kétségbeesett a csontvelőből, ill. a perifériás vérből származó CD34-pozitív őssejtek lenészek az ideális targetsejtek, mivel ezekesek a sejtekének genetikai módosítás utáni visszajuttatása után olyan utódsejtek keletkeznének a szervezetben, melyek rezisztensek a HIV-fertőzésre. Ebben az irányban számos igéretes kísérlet folyik.

Végül felmerülnek más, elmélettileg lehetséges veszélyek is. Így nem lehet kizárni a kemoterápiához hasonlóan a génterápiára rezistens 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-fertőzöttben szülesett ujszülöttek esetében lehet majd a génterápiát a legnagyobb sikerrel alkalmazni, mivel náluk sokszor még a fertőzés diszszeminálódása előtt lehetne a terápiát megindítani, ebben az esetben a kódlikvérben 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. Ilszonyos az is, hogy a gyógyszeres kemoterápia kombinálható lesz a génterápiás eljárásokkal.