

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1013 号	氏 名	小 口 智 彦
論文審査担当者	主 査 石塚 修 副 査 菅野 祐幸・ 本田 孝行		
(論文審査の結果の要旨)			
<p>頻尿や膀胱痛を主訴とする間質性膀胱炎や骨盤痛症候群といった疾患は難治性で、その成因は未知の部分が多い。しかし、これまでの研究で炎症性サイトカインの関与が知られるようになり、炎症を抑えることが、この病態の治療につながる可能性があることがわかってきた。一方、Interleukin (IL)-4 は抗炎症サイトカインであることが知られているが、その半減期が短いため、治療として使用するには持続投与が必要となり、また、全身投与では様々な副作用が生じることから、臨床上、痛みの治療には用いられていないのが現状である。小口らは、単純ヘルペスウイルスを用いてサイトカインや薬物を局所で発現させて投与する方法の有効性を報告してきた。その方法とは、増殖能を奪った単純ヘルペスウイルスを膀胱壁に注射すると、求心性線維を上行し後根神経節に感染するが、このウイルスに特定の物質を組み込むと、注射部位と後根神経節で最大4週にわたって、その物質を発現し続ける性質を利用した方法である。つまり、半減期が短い薬剤や全身投与による副作用が危惧される物質を局所に投与することが可能となる。今回は、この方法を用いて、単純ヘルペスウイルスに IL-4 を組み込み、膀胱過活動や膀胱痛に及ぼす効果について研究を行った。</p> <p>雌のSDラットを用いた。マウス由来の IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスと、コントロールとして、<math>\beta</math> ガラクトシダーゼのみ発現する単純ヘルペスウイルスをラットの膀胱壁に注入した。免疫染色および ELISA 法にてマウス由来の IL-4 がラットの膀胱と後根神経節で発現しているか確認した。膀胱の刺激には、膀胱痛覚に関与する無髄C線維を刺激するレジニフェラトキシンを用いた。各ウイルスを感染させた1週間後に、ウレタン麻酔下に膀胱内圧測定検査を行い、10nMのレジニフェラトキシンで膀胱過活動を誘発し比較を行った。また、感染の2週間後に覚醒下の痛み行動観察研究を行った。3<math>\mu</math>Mのレジニフェラトキシンを膀胱に1分間注入すると、ラットは下を向いてすくむが、以前の研究では、この行動は膀胱の求心性線維を含む骨盤神経を介していることが判明している。そのため、すくみ行動を観察比較した。また、レジニフェラトキシンで刺激後の膀胱での炎症性サイトカインの発現、膀胱組織像、Myeloperoxidase (MPO) 活性による好中球の活性も比較した。</p> <p>その結果、小口は次の結論を得た。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 免疫染色にて膀胱と後根神経節に投与したウイルスの存在が確認された。</li><li>2. IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスに感染したラットの膀胱と後根神経節で、マウス由来の IL-4 が確認された。</li><li>3. 同ラットは、レジニフェラトキシンによる膀胱刺激後も排尿間隔は短縮せず頻尿にならなかった。</li><li>4. 同ラットは、骨盤神経由来のすくみ行動が有意に減少した。</li><li>5. 同ラットでは、レジニフェラトキシンで膀胱を刺激した後も、炎症性サイトカインである IL-1<math>\beta</math> と IL-2 は抑制された。</li><li>6. 同ラットでは、レジニフェラトキシンで刺激後も膀胱浮腫が軽減し、MPO 活性が有意に抑制された。</li></ol> <p>これらの結果により、単純ヘルペス由来の IL-4 が膀胱の求心性線維と膀胱で発現し、炎症性の反応を減少させ、膀胱炎ラットモデルにおける膀胱過活動と膀胱痛を抑制したと考えられた。</p> <p>IL-4 による遺伝子治療が、頻尿や膀胱痛の新しい治療法となる可能性を示唆した。</p> <p>よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			