

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	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
論文題目	Effect of herpes simplex virus vector-mediated interleukin-4 gene therapy on bladder overactivity and nociception. 単純ヘルペスウイルスベクターを用いた IL-4 遺伝子治療における排尿筋過活動と疼痛への効果
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】 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、痛み治療には用いられていないのが現状である。</p> <p>我々は、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。</p> <p>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>【材料および方法】 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>【結果】 免疫染色では、膀胱と後根神経節の神経細胞にウイルスが感染していることが確認された。また、ELISA 法にてマウス由来の IL-4 は膀胱と膀胱の求心性線維である後根神経節で有意に増加していた。IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスを感染させたラットではレジニフェラトキシンを灌流しても排尿間隔は短縮せず、膀胱過活動は抑制され、有意にすくみ行動が減少した。また、炎症性サイトカインである IL-1<math>\beta</math> と IL-2 は増加しなかった。しかしながら、陰部神経を介するとされる舐め行動は両群で差がなかった。レジニフェラトキシンで膀胱を刺激すると、膀胱粘膜下の浮腫像が増悪し MPO 活性も上昇することが知られているが、IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスを感染させたラットでは膀胱浮腫があまり見られず、MPO 活性も低くなっていた。</p>

以上の結果から IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスを感染させたラットでは、レジニフェラトキシンによる膀胱刺激後も炎症が抑制されることが確認された。

【結論】IL-4 を発現する単純ヘルペスウイルスを膀胱壁に注入すると、IL-4 が膀胱と膀胱の求心性線維である後根神経節で発現し、炎症性の反応を低下させ、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。

このことは、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が示唆するものである。