

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	横山 仁
論文審査担当者	主 査 田中 榮司 副 査 池田 修一 ・ 菅野 祐幸
論文題目	Effects of herpes simplex virus vector-mediated enkephalin gene therapy on bladder overactivity and nociception (排尿筋過活動・膀胱痛に対する、単純ヘルペスウイルスベクターを用いたエンケファリン遺伝子治療の効果の検討)
(論文の内容の要旨)	<p>〔背景と目的〕</p> <p>泌尿器科領域において慢性疼痛を呈する代表的な疾患に間質性膀胱炎がある。膀胱充満に伴う恥骨上の痛みが特徴である。正確な病因は不明で疼痛対策が治療の中心である。慢性疼痛に対してオピオイドが使用されることがあるが、中枢性に作用することでしばしば副作用が問題となる。副作用を避けながら且つ目的臓器に限定したオピオイドの投与方法が確立された場合、間質性膀胱炎を代表とする慢性疼痛疾患の治療の礎となりうる。そのような観点から単純ヘルペスウイルスベクター(HSV)を用いた遺伝子治療は理想的と言える。HSV のターゲットは一次求心性神経であり、取り込まれた神経細胞体において遺伝子産物の発現を行う。HSV の genome は大きく且つその半分は増殖に不要なため、多くのターゲット遺伝子を組み込むことが可能である。Immediate-early(IE) gene を削除することで複製能力を失くした HSV に、δ オピオイド受容体アゴニストであるエンケファリンの前駆体プレプロエンケファリン(hPPE)遺伝子を組み込み作成されたベクターを使い、炎症性、神経性、内臓痛に対する疼痛モデルにおいてその有効性が報告されている。われわれも排尿筋過活動や膀胱痛に対する HSV の効果について報告した。さらに複数の IE gene を削除し、より細胞毒性を弱めた新しいベクターが作成され、臨床試験にて重大な副作用がなく鎮痛効果を示したことが報告された。しかし、この新しい HSV が膀胱痛や排尿筋過活動に対して同様に有効かどうかの検討はなされていない。今回、ラット膀胱痛モデル、排尿筋過活動モデルにおける有効性について検討した。</p> <p>〔方法〕</p> <p>IE gene である ICP4,ICP27 を削除することで複製能力を失活させた HSV を用いた(PPEgene を組み込んだ vHPPE と、コントロールベクターとして、代わりに GFPgene を組み込んだ vHG)。すべての実験は雌 SD 系ラット(250-300g)を用いた。HSV は、5 μ L づつ計 4 か所膀胱壁に注入した。2 週間後に以下の実験を行った。</p> <ol style="list-style-type: none">1) L6 dorsal root ganglion(DRG)、L4 DRG における hPPEmRNA の発現を RT-PCR にて確認した2) Resiniferatoxin (RTx)を膀胱内注入し、痛み行動(なめ、すくみ)の回数を比較検討した3) RTx を膀胱内注入後に L6 の c-Fos 陽性細胞数を免疫組織染色にて比較検討した4) RTx を膀胱内注入後に尿中サイトカインの量を ELISA にて比較検討した5) ウレタン麻酔下、膀胱内圧測定を施行し排尿筋過活動について検討を行った

〔結果〕

- 1) hPPEmRNA は、vHPPE 投与群 L6 にのみ発現が認められた。L4 には発現は認められなかった。vHG 投与群では L6, L4 ともに発現は認められなかった。
- 2) vHPPE 投与群において、すくみ行動が有意に減少した。
- 3) vHPPE 投与群において、c-Fos 陽性細胞数が有意に少なかった。
- 4) vHPPE 投与群において尿中 IL-1 β 、IL-6 レベルが有意に少なかった。
- 5) 生食から RTx に還流を切り換えると、膀胱収縮間隔 intercontraction interval (ICI) は vHPPE 投与群、vHG 投与群共に減少する。しかし、vHPPE 投与群において ICI の減少率は有意に少なかった。vHPPE の効果は naloxone hydrochloride にて拮抗されたが、naloxone methiodide では変化なかった。

〔考察〕

上記の結果から HSV の感染、効果が、膀胱からの求心性神経（骨盤神経）に限局されていることが分かった。この効果は血液脳関門を通過する naloxone hydrochloride においてのみ拮抗されたことから、HSV の効果が末梢では無く中枢神経系（脊髄）で発揮されていることが示唆された。また、尿中 IL-1 β 、IL-6 が治療に対する効果判定のターゲットとして使用可能であることも示された。

〔結論〕

HSV によるエンケファリン遺伝子治療は、目的臓器の求心性神経に限局しながらオピオイドの効果を発揮するため、理想的な慢性疼痛治療となる可能性がある。