

主論文の要約

**Effects of herpes simplex virus vectors encoding
poreless TRPV1 or protein phosphatase 1 α in a rat
cystitis model induced by hydrogen peroxide**

ラット過酸化水素水膀胱炎モデルにおける Poreless TRPV1、
Protein Phosphatase 1 α 導入単純ヘルペスウイルスベクターの効果

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 泌尿器科学分野

(指導：後藤 百万 教授)

高井 峻

【緒言】

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群 (IC/BPS) は、慢性的な膀胱炎症を伴う疾患であり、骨盤痛、頻尿、尿意切迫感などの症状を特徴とし、患者の生活の質を大いに低下させる。その病態生理はまだ大部分が解明されていないが、病態の根底には、神経求心性線維の過興奮が関係していると報告されており、transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) 受容体は求心性線維の感作に深く関与すると言われてきた。

過酸化水素水により膀胱炎を惹起した動物モデルは、慢性的な膀胱炎状態を模した動物モデルとして近年提唱されており、その病態の IC/BPS との類似性が指摘されている。

我々は過去に TRPV1 のドミナントネガティブ変異体である Poreless TRPV1 や、TRPV1 を抑制的に制御する作用を持つタンパクである Protein Phosphatase 1 α (PP1 α) を発現させた単純ヘルペスウイルス (HSV) ベクターを用いた動物実験を行ってきた。

これらの背景のもと、我々は今回単純ヘルペスウイルス (HSV) ベクターを使用して Poreless TRPV1、PP1 α を導入した遺伝子治療の効果について、ラット過酸化水素膀胱炎モデルを用いて研究を行った。

【対象及び方法】

緑色蛍光タンパク質 (GFP)、Poreless TRPV1、PP1 α の遺伝子を、複製能を失わせた HSV ベクターに導入した。9 週メス Sprague-Dawley ラットの膀胱壁内に前述 3 種のベクターを注射した。1 週間後、1% の過酸化水素水あるいは生理食塩水 0.3ml を膀胱内に注入し、体位変換しながら 30 分間置いた後、膀胱を空にした。HSV ベクター導入後 2 週間で、覚醒下の膀胱内圧測定、疼痛行動評価、膀胱重量測定、膀胱組織の RT-PCR、HE 染色などの各種評価を行った。疼痛行動評価は、3 μ M のレジニフェラトキシンを膀胱内に注入、1 分間放置後、15 分間膀胱痛行動、尿道痛行動の回数を記録して評価した。また、HSV の導入された細胞を確認するため、膀胱壁、L6 後根神経節の GFP 発現を蛍光顕微鏡で観察した。

【結果】

膀胱内圧測定の評価において、過酸化水素水を注入したラットに GFP を導入した群では、生食を注入したラットに GFP を導入した群に比較して有意に排尿間隔が短縮されたが、過酸化水素水を注入したラットに Poreless TRPV1、PP1 α を導入した群では、その短縮した排尿間隔が有意に延長していた。疼痛行動評価において、過酸化水素水を注入したラットに GFP を導入した群に比べ、過酸化水素水を注入したラットに Poreless TRPV1、PP1 α を導入した群では膀胱痛行動が有意に減少していた。また、Poreless TRPV1 及び PP1 α の治療群では、GFP 治療群で有意に上昇していた膀胱粘膜の NGF 発現量が低下しており、膀胱重量の増加、HE 染色の炎症細胞浸潤により特徴づけられた膀胱の炎症も改善が見られた。GFP 導入ラットにおいて、蛍光顕微鏡による観察で、膀胱壁及び L6 後根神経節で GFP 陽性細胞が観察された。

【考察】

これらの結果から以下のことが示された。(1) 膀胱壁に注射された HSV ベクターが膀胱求心性神経線維を通り、L6 後根神経節に到達した。(2) 過酸化水素水により引き起こされた頻尿症状が Poreless TRPV1、PP1 α を導入した HSV ベクター治療により改善した。(3) レジニフェラトキシンにより誘導された膀胱痛行動が、Poreless TRPV1、PP1 α 導入治療により改善した。(4) 過酸化水素水膀胱炎群で上昇した膀胱粘膜の NGF の mRNA レベルが、Poreless TRPV1、PP1 α 治療群では低下していた。(5) 過酸化水素水膀胱炎ラットで増加した膀胱重量及び炎症細胞浸潤、尿路上皮ダメージが Poreless TRPV1、PP1 α 治療群で改善した。

我々は過去にエンケファリンや TNF α 受容体遺伝子などを導入した HSV ベクター遺伝子治療がラットの頻尿や膀胱痛に有効であることを示してきた。HSV の生物学的特徴から、遺伝子治療ベクター、特に末梢組織の神経求心性線維の過興奮が関与している病態に対して有効であると考えられる。まず、HSV は神経求心性線維に親和性が高く、HSV の感染で引き起こされる疾患では痛みの症状が出やすいことがわかっている。また、HSV のゲノムは比較的大きく、その増殖に必須ではない領域が多いため、複数あるいは大きめの遺伝子の導入が比較的容易である。更に HSV のゲノムは感染宿主の遺伝子に組み込まれないため、腫瘍化の懸念がないと言われている。最後に、HSV ベクターを局所に投与することで、全身の副作用を抑えて目的臓器に高濃度の遺伝子を導入することができる。そのため、HSV ベクターを使用した遺伝子治療は、IC/BPS のような神経求心性線維の感作が関与すると考えられる疾患に対して特に有効であると考えられる。また、TRPV1 拮抗薬の全身投与の臨床試験が過去に副作用で中止になった経緯があるが、HSV ベクターを利用することで副作用が懸念される遺伝子の導入も行えるようになる可能性もある。

【結語】

Poreless TRPV1、PP1 α 遺伝子を導入した HSV ベクター治療は、過酸化水素水膀胱炎ラットの頻尿、膀胱痛を有意に抑えた。いずれの治療法も、膀胱粘膜の NGF の過剰発現を抑えることで膀胱炎症を抑える効果がある可能性が示唆された。TRPV1 をターゲットにした HSV ベクターを利用した遺伝子治療は、IC/BPS 治療における新規治療として有効な可能性が示された。