

要 約

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	川 上 崇 史
主 論 文 題 名				
AAV-PGIS gene transfer improves hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice (アデノ随伴ウイルスによるプロスタグランジン _{I2} 合成酵素遺伝子導入はマウスの低酸素性肺高血圧症を改善する)				
(内容の要旨)				
<p>肺高血圧症 (pulmonary hypertension; PH) は予後不良疾患である。持続静注型プロスタグランジン_{I2} (PGI₂) はPH患者の生命予後を延長することが可能であるが、その一方でPGI₂の持続静注療法は皮下に埋め込み型の中心静脈カテーテルの留置が必要であり、患者QOLを著しく低下することが指摘されている。遺伝子治療は近年いくつかの疾患に臨床応用が試みられ、今後の発展が期待されている治療法である。私はPGI₂合成酵素 (human PGIS ; hPGIS) 遺伝子を1型AAVベクターで骨格筋に遺伝子導入する治療法を考案し、hPGIS-AAVを低酸素性肺高血圧マウスの骨格筋へ遺伝子導入し、肺高血圧症と生存率が改善することを検討した。</p> <p>最初に8週齢のマウスを用いて至適用量と効果持続時間の検討を行った。マウス右大腿筋へhPGIS-AAVを筋肉内に1.0×10^{10} (v.g./body) と1.0×10^{11} (v.g./body) の濃度で投与し、8週後に投与部位の骨格筋におけるmRNA発現を解析した。QT-PCRでは1.0×10^{11} (v.g./body) 群がより強くhPGIS遺伝子を発現していた。投与後の効果持続時間の解析では投与2週間後より遺伝子発現を認め、12週後でも発現が持続していた。次にマウスを10% O₂・90% N₂チャンバー飼育の条件下で、低酸素誘発性肺高血圧モデルマウスPH群を作成した。そして、健常マウス (対照群) および低酸素性肺高血圧症マウスの右大腿筋へhPGIS-AAVを投与した。投与8週後に投与部位の骨格筋を解析において、QT-PCRではPH + hPGIS-AAV治療群で著しく有意なhPGIS遺伝子の発現を認めた。また、抗hPGIS抗体を用いた免疫染色において、PH + hPGIS-AAV治療群の筋細胞に著明なhPGISの発現を認めた。肺動脈の組織学的検討では対照群に比しPH群で中膜肥厚が観察された。また、PH + hPGIS-AAV治療群でPH群に比して改善しているのが観察された。心臓の組織学的検討では8週後のPH + hPGIS-AAV治療群で右室拡大、右室肥大がPH群に認められた。しかし、PH + hPGIS-AAV治療群ではこれが有意に抑制された。心臓カテーテル検査では右室収縮期圧がPH群で約40mmHg程度まで上昇したのに対して、PH + hPGIS-AAV群では約25mmHg程度まで低下していた。QT-PCRによる右室BNP (脳性Na利尿ペプチド) のmRNA解析ではPHでコントロールの約6倍程度まで上昇し、はhPGIS-AAV遺伝子導入により、1.3倍程度まで低下しており、右心負荷を軽減することができた。最後に、投与後12週間の時点で生存曲線を解析した。対照群に比しPH群で有意に低下していた生存曲線をPH + hPGIS-AAV治療群ではPH群に比し、有意に生存率を改善することができた (対照群 vs PH vs PH + hPGIS-AAV = 100% vs 47% vs 73% ; P < 0.05)。</p> <p>以上の結果より、AAVにより骨格筋局所に導入されたPGIS遺伝子は、代謝産物であるPGI₂を産生し、持続的に血中へ分泌することにより、PGI₂の血中濃度を上昇させた。そして、遠隔臓器へ作用し、治療効果をもたらしたと考えられた。今回のマウスモデルにおいては、単回の遺伝子導入で肺高血圧症を改善するために有効な遺伝子発現を達成することができた。今後は大動物モデルやヒトでの検討が必要と考えられた。</p>				