

氏 名	よし だ まさ のり 吉 田 真 規
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2497 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Gene transfer to liver by HVJ liposome method (HVJ liposome 法による、肝臓への遺伝子導入に関する研究)

論文調査委員 (主 査)
教授 田 中 絃 一 教授 下 遠 野 邦 忠 教授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

HVJ-liposome 法とは、細胞融合を起こすことで知られる Hemagglutinating Virus of Japan (sendai virus) を不活性化してその envelope protein を融合させた liposome を用いて、主に in vivo で効率的な遺伝子導入をするために開発された方法である。現在に至るまでに、HVJ-liposome 法を用いた遺伝子導入は、血管、心臓、脳、腎臓で報告されている。この方法を肝臓へ適応し、遺伝子治療につなげることを目的とした。

第一に、胆管への遺伝子導入についての実験を行った。肝内結石症に伴う増殖性胆管炎は胆管の狭窄を引き起こし、肝内結石症の治療後の遺残結石、再発結石の要因となっている。一方、転写因子である E2F は、細胞増殖にかかわる複数の遺伝子の発現を制御している。この実験の目的は E2F に高い親和性を持つ oligodeoxynucleotide (E2F decoy) を封入した負電荷の HVJ-liposome (HVJ-anionic liposome) を導入することによって、増殖性胆管炎を抑制することである。実験方法は、ラットの胆管にナイロン糸を留置することにより増殖性胆管炎のモデルを作成し、E2F decoy を封入した HVJ-anionic liposome を胆管に直接投与した。胆管周囲腺の数、胆管中の 5'-bromodeoxyuridine (BrdU) labeling index, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の免疫染色を、無投与群、missense oligodeoxynucleotide 投与群、E2F decoy 投与群ラット間で比較した。結果は、E2F 投与群では、胆管上皮の乳頭状増殖と胆管周囲腺の増生の抑制、更に胆管への BrdU の取り込みと、胆管での PCNA の発現の抑制が認められた。結論として、E2F decoy を用いた胆管への遺伝子治療の手法によりラットモデルでの増殖性胆管炎を抑制した。この方法は肝内結石症の治療後の再発予防に対して有効な治療選択を提供し得ると考えられた。

次に肝臓への遺伝子導入の実験を行った。この実験の目的は陽電荷を伴う HVJ-liposome (HVJ-cationic liposome) を門脈内投与して、Kupffer 細胞に選択的かつ効率的に遺伝子導入することである。S 化した FITC ラベルの oligodeoxynucleotide を封入した HVJ-cationic liposome, HVJ-anionic liposome, HVJ を含まない従来の cationic liposome をラットに投与した。経門脈的に投与された HVJ-cationic liposome 内の FITC oligodeoxynucleotide は 24 時間後まで細胞障害なく、従来の cationic liposome や経静脈的に投与された HVJ-cationic liposome より、高い導入効率で Kupffer 細胞に選択的に導入された。一方、HVJ-anionic liposome 内に封入された FITC ラベルの oligodeoxynucleotide は、主に肝細胞に観察された。この新しい手法は基礎研究、臨床応用の両方の分野で、Kupffer 細胞の活性を調節するのに有用であると考えられた。

二つの実験より、HVJ-liposome 法が、肝臓への遺伝子導入において効果的な手段であると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

HVJ-liposome 法は、Hemagglutinating Virus of Japan の envelope protein を融合させた liposome を用い、主に in vivo で効率的な遺伝子導入をするために開発された方法である。

本研究は、この方法を肝臓へ適応されたものである。

第一に、肝内結石症に認められる増殖性胆管炎のラットのモデルに、細胞増殖にかかわる転写因子 E2F に高い親和性を持つ oligodeoxynucleotide (E2F decoy) を HVJ-anionic liposome を用いて導入すると、胆管上皮の乳頭状増殖と胆管周囲腺の増生の抑制、更に胆管への BrdU の取り込みと、PCNA の発現の抑制が認められた。この方法は肝内結石症の治療後の再発予防に対し有効な治療選択を提供し得ると考えられる。

次に Kupffer 細胞への遺伝子導入の実験では、S 化した FITC ラベルの oligodeoxynucleotide を HVJ-cationic liposome を用いて経門脈的に投与すると、高い導入効率で Kupffer 細胞に選択的に導入され、明らかな細胞障害も認めないことが示された。この手法は、Kupffer 細胞の活性を調節するのに有用であると考えられる。

二つの実験より、HVJ-liposome 法が、肝臓への遺伝子導入において効果的な手段であると示されたのは消化器外科の発展に寄与するところは大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成14年3月12日の実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。