

氏 名 寺 尾 隆 太
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学位記番号 論 医 博 第 1683 号
 学位授与の日付 平 成 11 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
 学位論文題目 Suppression of proliferative Cholangitis in a Rat Model with Direct Adenovirus-Mediated Retinoblastoma Gene Transfer to the Biliary Tract
 (アデノウィルスを用いた胆管への直接的 Rb 遺伝子導入によるラット増殖性胆管炎の抑制)
 (主査)
 論文調査委員 教 授 千 葉 勉 教 授 伊 藤 嘉 明 教 授 山 岡 義 生

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】肝内結石症に特徴的とされる増殖性胆管炎は、胆管付属腺の増生と、胆管上皮細胞および周囲線維芽細胞の増殖による胆管壁の著しい肥厚をきたし、重篤な合併症や治療後の結石再発の原因と考えられている。様々な外科的手術や、最近では内視鏡的処置が試みられているが、結石再発率は完全に低下したとは言えない。一方、近年、ラット頸動脈やブタ大腿動脈のバルーン拡張術後の再狭窄を、低リン酸化型RB蛋白やE2F decoyを細胞内に導入して細胞周期を制御することで、抑制するというCytostatic gene therapyの研究が散見される。そこで、術後の結石再発を予防するための補助的手段を模索するため、まずラット増殖性胆管炎モデルを作製し、これに、低リン酸化型RB蛋白をコードするRb遺伝子のアデノウィルスベクター(AdRb)を直接胆管内に投与、E2Fと結合させて細胞周期の進行を抑制し、増殖性胆管炎における胆管壁の肥厚と狭窄を抑制しうるかを検討した。【方法】①ラット十二指腸壁に小孔を穿ち、そこから、5-0ナイロン糸を胆管内に経乳頭的に導入し、一週間留置して増殖性胆管炎モデルを作製した(PC群)。②ナイロン糸をガイドとして胆管内に挿入したポリエチレンチューブより直接胆管内にAdRb、対照としてlacZ遺伝子のアデノウィルスベクター(AdlacZ)を投与してから同様にナイロン糸を一週間留置したものをそれぞれRB群、LZ群とした。Rbの発現はRT-PCR法、抗RB抗体による免疫染色にて確認した。③HE染色にて、組織像と胆管壁厚(最大値、平均値)を3群間で比較検討した。④BrdU染色を行い、そのLabeling Index(LI)を3群間で比較検討した。【結果】①増殖性胆管炎モデルでは、ヒト増殖性胆管炎に酷似した付属腺増生と線維性壁肥厚を認めた。②RT-PCR法にてRb mRNAの発現を確認、抗RB抗体による免疫染色では、胆管上皮、付属腺細胞は60%以上、周囲線維芽細胞は20-30%の導入効率で核を中心に取り込みを認めた。③HE染色と胆管壁厚:PC群、LZ群でみられた胆管壁の増殖性変化は、RB群では抑制され、壁厚は、最大値(PC群:524±40、LZ群:528±93、RB群:384±70)(μm)、平均値(PC群:346±33、LZ群:335±59、RB群:248±36)(μm)ともに、RB群で有意に減少を認めた。④BrdU染色とLI:PC群、LZ群が、胆管上皮細胞、線維芽細胞ともに著明に染色され、LIも15.48±4.61、11.72±1.23(%)と細胞回転が亢進したのに対し、RB群の陽性細胞は少数で、LIも4.87±3.06(%)と有意に低値を示した。【考察】肝内結石症の病態において胆汁うっ滞と胆道感染とが重要な役割を有することはよく知られている。その最も特徴的な病理像は増殖性胆管炎であり、アジアの肝内結石症例の75%に認められる。一方、本研究で用いた増殖性胆管炎モデルは、異物による胆汁うっ滞と乳頭機能不全による逆行性感染とが認められ、病態的にもよく臨床像を表現している。このモデルに対しAdRbを直接胆管内投与することにより、平均26%まで胆管壁の増殖、肥厚を抑制し得た。これにより肝内結石症治療後の再発予防の一助となる可能性が示唆された。AdRbの発現のピークを考えれば、ナイロン糸留置の2-3日前にAdRbを導入すれば、より大きな抑制効果が期待される。本遺伝子療法は、ヒトにおいても内視鏡的に簡便に行いうる点で、臨床応用しやすい利点がある。経胆管的投与により、全身的投与の際に起こるアデノウィルスによる細胞障害を減弱できる。また胆道再建後の胆管狭窄などにも応用できる。さらに悪性新生物に対するアプローチとしても発展させたい。

論文審査の結果の要旨

本研究ではまず、胆道系疾患の遺伝子治療モデルとして、ラット増殖性胆管炎モデルを作製した。次いで、本モデルに低リン酸化型RB蛋白をコードするRb遺伝子のアデノウィルスベクターを逆行性に直接胆管内に投与することにより、E2Fと結合させて細胞周期の進行を制御し、増殖性胆管炎における胆管壁の増殖、肥厚を抑制し得た。胆管壁厚で約30%、胆管細胞のBrdU labeling indexで約70%の増殖抑制効果を確認した。この方法では、肝細胞への導入はほとんどなく、胆管細胞へのほぼ選択的な遺伝子導入が可能であった。本遺伝子療法は、胆管に注入する手法のため、内視鏡的に実際臨床へ応用しやすく、また全身的副作用も軽く、目的部位へのベクターの接触時間をコントロールできる等の利点がある。以上より、肝内結石症などの増殖性胆管炎のみならず、胆道再建術後、胆管癌等の胆道系疾患に対する有効な補助的治療手段となりうる可能性が示された。

以上の研究は、胆道系疾患に対する遺伝子治療の開発に貢献し、肝胆道外科に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年2月1日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。