

# 琉球大学学術リポジトリ

## 膀胱痛・骨盤痛の遺伝子治療

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2018-03-27 キーワード (Ja): キーワード (En): bladder pain, pelvic pain, herpes simplex virus, inhibitory neurotransmitters, GABA 作成者: 宮里, 実 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016881">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016881</a>

## 膀胱痛・骨盤痛の遺伝子治療

宮里 実

琉球大学大学院医学研究科医科学専攻 腎泌尿器外科学講座

(2016年3月22日受付, 2016年3月28日受理)

## Gene therapy for painful bladder syndrome/interstitial cystitis

Minoru Miyazato

*Department of Urology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus*

### ABSTRACT

Painful bladder syndrome/Interstitial cystitis (PBS/IC) is an unknown etiology, characterized by chronic pelvic pain, urinary frequency and urgency. Despite its high incidence, these symptoms in patients with PBS/IC are often very difficult to treat. In this research project, I propose a novel gene therapy using herpes simplex virus (HSV) refractory PBS/IC. By utilizing the natural biology of HSV, HSV-based vectors can deliver gene products to target organ specific sensory pathways, such as the bladder afferents. By changing gene products, numerous inhibitory neurotransmitters, such as gamma-amino butyric acid, opioids and interleukin can be delivered to the bladder afferents, which can inhibit pelvic pain, urinary frequency and urgency. Gene therapy for PBS/IC is a preclinical study in patients with PBS/IC refractory to usual treatment. The long-term objectives of this gene therapy project are to establish a safe and effective method for the treatment of chronic bladder and/or pelvic pain associated with PBS/IC. *Ryukyu Med. J., 35 (1~4) 1~6, 2016*

Key words: bladder pain, pelvic pain, herpes simplex virus, inhibitory neurotransmitters, GABA

### I. はじめに

膀胱痛・骨盤痛は間質性膀胱炎 painful bladder syndrome/interstitial cystitis (PBS/IC) と言われ、疼痛、頻尿、持続性尿意を主体とした症候群である。難治性の膀胱炎や前立腺炎として扱われているものの中に本疾患が隠れていることも指摘されており、潜在的患者数は推定 20 ~ 40 万人と言われる。膀胱痛ばかりではなく、骨盤痛として下腹部全体の痛みを伴う

ことも多く、過敏性腸炎、線維性筋痛症といった疾患との合併も多く報告されている<sup>1)</sup>。このことは、感覚受容体全体の感受性が増加していることを意味する。

治療としては、抗コリン薬、三環系抗うつ薬、抗ヒスタミン剤、DMSO やヘパリンの膀胱内注入療法などがあるが、現時点では膀胱水圧拡張術が最も効果が期待できる治療である (Fig. 1)。しかし、その持続性は一般的に 6 ヶ月と言われており、生涯のうち複数回繰り返すことも珍しくない。症状のなかでも痛みは慢性内蔵痛で、難治性の症例では膀胱拡大術や膀胱

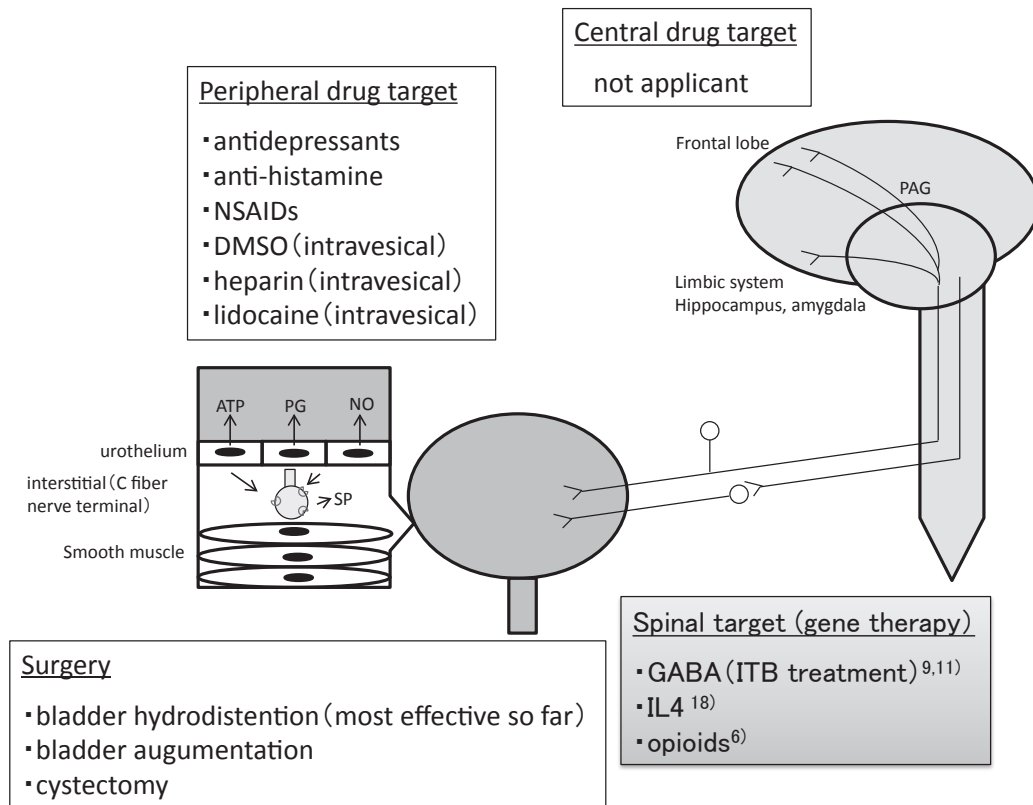


Fig.1 Treatment target for interstitial cystitis/bladder pain syndrome. Peripheral drug treatment is limited. So far bladder hydrodistention is most effective, but this effect lasts only 6 months. ATP, adenosine triphosphate. PG, prostaglandin. NO, nitric oxide. SP, substance P. PAG, periaqueductal gray. GABA, gamma-amino butyric acid. IL4, interleukin 4.

全摘術になることもある。したがって、末梢（膀胱）を標的とした治療では限界がある。本稿では、膀胱痛・骨盤痛のヘルペスウイルスを媒介とした遺伝子治療について解説する。

## II. 膀胱痛・骨盤痛の病態

Painful bladder syndrome/interstitial cystitis (PBS/IC) の原因として、感染、自己免疫疾患、アレルギー、膀胱上皮の異常、上皮と膀胱粘膜下知覚神経の相互作用の亢進、局所の神経性炎症や肥満細胞浸潤、膀胱知覚路の興奮性の増大などが言われているが、いまだはっきりとした原因は不明である。痛みを感知する受容体は各臓器に分布しており、一次性求心性線維として A $\delta$  線維と C 線維がその情報を伝える。そのなかでも C 線維は病的な状態で感受性が亢進している線維で、膀胱痛・骨盤痛でも同様に C 線維の感受性が亢進している。一次性求心性線維は脊髄内でシナプスを変え、最終的には大脳に投射され痛みを感じる。膀胱痛・骨盤痛の患者では、大脳辺縁系の萎縮が起こ

り、うつ症状を呈することも報告されている<sup>2)</sup>。したがって、末梢レベル（膀胱レベル）ではなく、中枢レベル（脊髄または大脳レベル）で痛みを抑えることが最も理にかなった方法である。しかし、現時点で大脳に作用する薬剤はなく、脊髄が最も可能性の高い作用部位である。

## III. 中枢抑制系神経伝達物質<sup>3)</sup>

私たちは以前の研究で、脊髄損傷ラットの脊髄髄腔内に、代表的抑制性アミノ酸系神経伝達物質であるグリシンやガンマアミノ酪酸 (GABA) を投与すると C 線維を選択的に抑制して過活動膀胱や排尿筋括約筋協調不全を改善することを報告した<sup>4),5)</sup>。その他にも、 $\delta$  オピオイドレセプター作用薬であるエンケファリンを静脈内または脊髄髄腔内に投与すると、痛みまたは排尿反射が抑制されることが報告されている<sup>6)</sup>。したがって、中枢性抑制性神経伝達物質の脊髄内投与は間質性膀胱炎の痛みまたは頻尿の根本的治療につながる可能性がある (Fig. 2)。

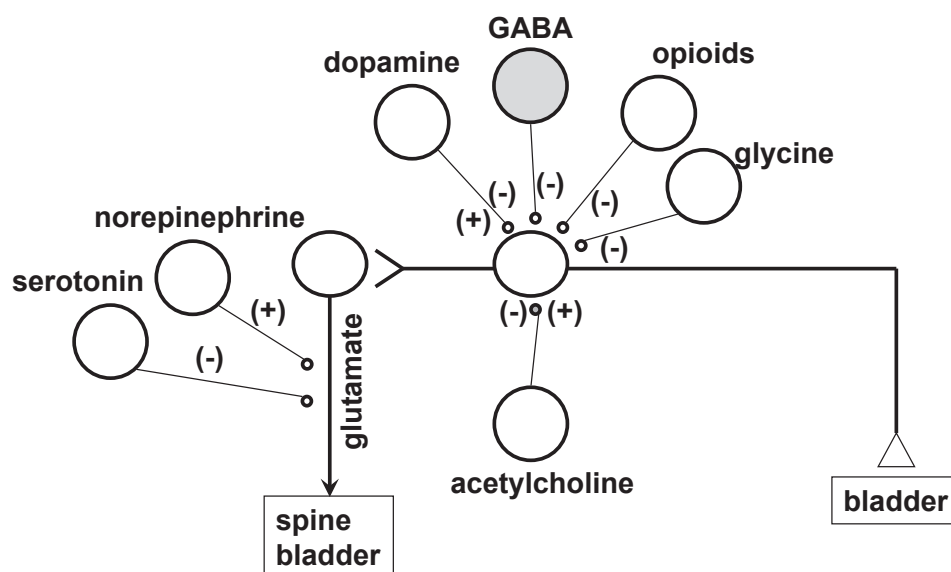


Fig.2 Neurotransmitters controlling lower urinary tract system. Glycine, GABA, opioids are main inhibitory transmitters in the central nervous system, while glutamate is a main excitatory neurotransmitter. (Quoted from modified Ref 3)

#### IV. 遺伝子治療 (Table 1)

少ない副作用で、脊髄内の抑制系ニューロン活動を増強させる方法として、ウイルスを媒体として選択的に膀胱由来の後根神経節に標的遺伝子を導入する方法がある。ウイルスの中でもヘルペスウイルス (HSV) は、遺伝子を導入する vector としていくつかの利点がある。HSV は、末梢神経に感染して、宿主の神経に無症状で潜伏する<sup>7)</sup>。さらに、複製機能の欠落した組み替えベクターは、多くの本質的遺伝子情報が欠落しており、*in vivo* で無毒であり生体内の免疫機構に影響を与えず、末梢または中枢で遺伝子を運び導入させる<sup>8),9)</sup>。その他アデノ随伴ウイルス (AAV: adeno-associated virus) が利用されている<sup>10)</sup>。安全性に関して優劣はないといわれているが、一方、弱点としては、ゲノムが一本鎖 DNA であるため遺伝子発現が起こるには二本鎖になる必要があり、ある程度の発現量を得るためには膨大な量のベクターを必要とする。

##### i. HSV による GABA 遺伝子治療<sup>11)</sup>

GABA<sub>B</sub> 受容体作動薬であるバクロフェ髄腔内投与は、脊髄損傷患者の排尿筋過活動治療薬として認められているが<sup>12)</sup>、治療域が狭く副作用のためあまり普及しなかった。そこで、脊髄内の GABA を増加させる一つの方法として、HSV を媒体として選択的に後根神経節ニューロンに標的遺伝子を導入する方法を考案した。GABA は、グルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD)

によりグルタミン酸から合成される<sup>13)</sup>。QHGA<sub>67</sub> ベクター (HSV-GAD) は、ヒトサイトメガロウイルスのプロモーター (HCMV IEp) を含んだプラスミドを導入して GAD<sub>67</sub> cDNA を発現させる構造となっており、その作用は約 28 日間持続する<sup>9)</sup>。さらに、HSV は内因性のプロモーターも同時に持ち合わせている<sup>14)</sup>。QHGA<sub>67</sub> は、複製に関わる ICP4 と ICP27 の機能をともに欠落しており、標識として GFP 遺伝子を有している。

動物モデル：脊髄損傷を引き起こすと、膀胱と外尿道括約筋との協調運動は損なわれ、脊髄反射が顕在化し排尿筋過活動と排尿筋括約筋協調不全の状態になる<sup>15)</sup>。最近の私たちの研究によると、脊髄損傷ラットでは膀胱知覚由来である L6-S1 レベルの腰仙髄と後根神経節内の GAD<sub>67</sub> mRNA レベルが低下していた<sup>5)</sup>。SD 雌性ラットを用いて T9-T10 レベルで脊髄を完全切断して脊髄損傷を作製した。脊髄損傷後 1 週目に、下腹部正中切開で膀胱を露出して、30G ハミルトンシリンジを用いてトータル 40 $\mu$ l (2 $\times$ 10<sup>7</sup> PFU) を膀胱壁漿膜側に HSV-GAD を注入した。

結果：ウイルス投与 3 週目、HSV-GAD において覚醒下連続膀胱内圧測定を施行したところ、C 線維依存性の Non-voiding bladder contractions (NVCs) が著明に減少した。L6-S1 後根神経節 (膀胱支配の知覚路) における GAD<sub>67</sub> mRNA と蛋白量を測定したところ著明に増加していた。さらに、HSV-GAD において、L6-S1 後根神経節における GAD<sub>67</sub> 陽性細胞が増加した。NVCs (排尿筋過活動) の抑制は排尿反射求心路の抑制を意味する<sup>15)</sup>。このように、HSV-GAD は膀胱

Table 1 Gene delivery

<p><b>Vector use</b></p> <p>Efficiency is high</p> <p><b>adenovirus</b> Effective, but transient Cytotoxicity is high</p> <p><b>retrovirus</b> Long lasting Carcinogenic problem</p> <p><b>Adeno-associated virus (AAV)</b> low cytotoxicity long lasting</p> <p><b>Herpes simplex virus (HSV)</b> infect in the primary afferents Large genome size effective and low risk</p>	<p><b>Non-vector use</b></p> <p>Safe Efficiency is low</p> <p>nucleotides</p>
---	---

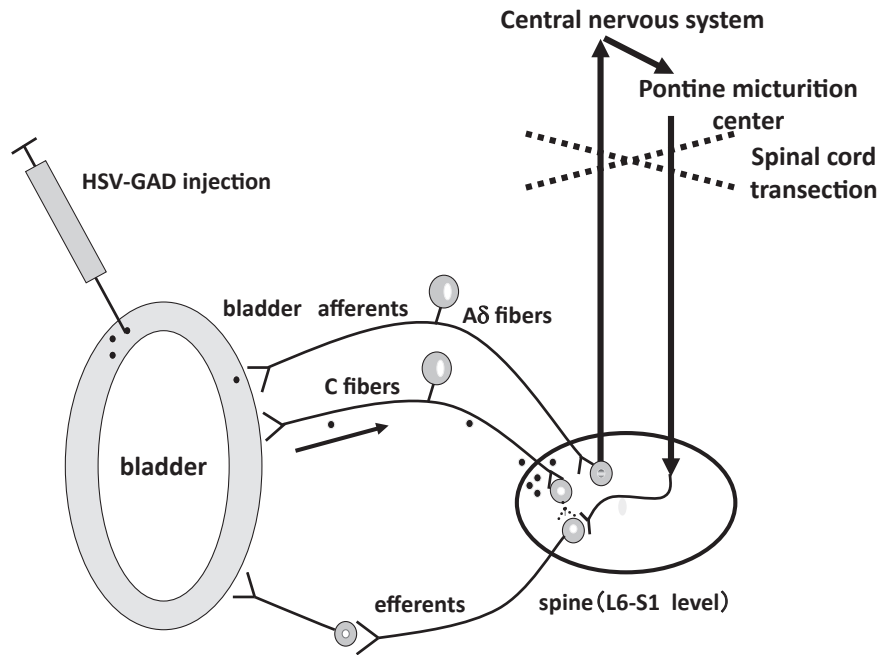


Fig.3 Injected HSV-GAD infects in the C-fiber bladder afferents and release GABA, and diminishes bladder overactivity.

知覚系に効率的に取り込まれ、C線維依存性の排尿筋過活動を抑制する。HSVを用いた遺伝子療法は、標的臓器のみの治療を可能にしている<sup>16)</sup>。

用できる。

ii. その他可能性のある遺伝子治療 (Fig. 3)

ブレプロエンケファリンやIL-4をコードしたHSVは、ラット痛み行動や頻尿を抑制することが報告されており<sup>17),18)</sup>、GABA同様に間質性膀胱炎の治療に応

用できる。実験レベルで安全性が証明できているとはいえ、やはりヒトへの応用はさらなる検証が必要である。実際、

V. おわりに

薬物治療抵抗性の難知性間質性膀胱炎は存在し、遺伝子治療を未来の治療選択肢として安全性を高めることが今後の課題である。

## 文 献

- 1) van de Merwe JP, Yamada T, Sakamoto Y. Systemic aspects of interstitial cystitis, immunology and linkage with autoimmune disorders. *Int J Urol*. 2003 Oct; 10 Suppl:S35-8.
- 2) DeBerry JJ, Robbins MT, Ness TJ. The amygdala central nucleus is required for acute stress-induced bladder hyperalgesia in a rat visceral pain model. *Brain Res*. 2015 May 5; 1606:77-85.
- 3) Yoshimura N, Chancellor MB. Current and future pharmacological treatment for overactive bladder. *J Urol* 2002; **168**:1897-913.
- 4) Miyazato M, Sugaya K, Nishijima S, Kadekawa K, Ashimine S, Ogawa Y. Intrathecal or dietary glycine inhibits bladder and urethral activity in rats with spinal cord injury. *J Urol* 2005; **174**:2397-400.
- 5) Miyazato M, Sasatomi K, Hiragata S, Sugaya K, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. GABA-receptor activation in the lumbosacral spinal cord reduces detrusor overactivity in spinal cord injured rats. *J Urol* 2008; **179**:1178-83.
- 6) Hisamitsu T, de Groat WC. The inhibitory effect of opioid peptides and morphine applied intrathecally and intracerebroventricularly on the micturition reflex in the cat. *Brain Res* 1984; **298**:51-65.
- 7) Ecob-Prince MS, Preston CM, Rixon FJ, Hassan K, Kennedy PG. Neurons containing latency-associated transcripts are numerous and widespread in dorsal root ganglia following footpad inoculation of mice with herpes simplex virus type 1 mutant in1814. *J Gen Virol* 1993; **74**:985-94.
- 8) Samaniego LA, Wu N, DeLuca NA. The herpes simplex virus immediate-early protein ICPO affects transcription from the viral genome and infected-cell survival in the absence of ICP4 and ICP27. *J Virol* 1997; **71**:4614-25.
- 9) Liu J, Wolfe D, Hao S, Huang S, Glorioso JC, Mata M, Fink DJ. Peripherally delivered glutamic acid decarboxylase gene therapy for spinal cord injury pain. *Mol Ther* 2004; **10**: 57-66.
- 10) Pruchnic R, Yokoyama T, Lee JY, Huard J, Chancellor MB. Muscle derived cell mediated ex vivo gene transfer to the lower urinary tract: comparison of viral vectors. *Urol Res* 2002; **30**:310-6.
- 11) Miyazato M, Sugaya K, Goins WF, Wolfe D, Goss JR, Chancellor MB, de Groat WC, Glorioso JC, Yoshimura N. Herpes simplex virus vector-mediated gene delivery of glutamic acid decarboxylase reduces detrusor overactivity in spinal cord-injured rats. *Gene Ther* 2009; **16**:660-8.
- 12) Steers WD, Meythaler JM, Haworth C, Herrell D, Park TS. Effects of acute bolus and chronic continuous intrathecal baclofen on genitourinary dysfunction due to spinal cord pathology. *J Urol* 1992; **148**: 1849-55.
- 13) Shapiro S. Neurotransmission by neurons that use serotonin, noradrenaline, glutamate, glycine, and  $\gamma$ -aminobutyric acid in the normal and injured spinal cord. *Neurosurgery* 1997; **40**: 168-76.
- 14) Goins WF, Sternberg LR, Croen KD, Krause PR, Hendricks RL, Fink DJ et al. A novel latency-active promoter is contained within the herpes simplex virus type 1 UL flanking repeats. *J Virol* 1994; **68**:2239-52.
- 15) de Groat WC, Yoshimura N. Mechanisms underlying the recovery of lower urinary tract function following spinal cord injury. *Prog Brain Res* 2006; **152**:59-84.
- 16) Goins WF, Yoshimura N, Phelan MW, Yokoyama T, Fraser MO, Ozawa H, Fraser MO, Seki S, Fink J, Glorioso J, de Groat WC, Chancellor MB. Herpes simplex virus mediated nerve growth factor expression in bladder and afferent neurons: potential treatment for diabetic bladder dysfunction. *J Urol* 2001; **165**: 1748-54.
- 17) Yoshimura N, Franks ME, Sasaki K, Goins WF, Goss J, Yokoyama T, Fraser MO, Seki S, Fink J, Glorioso J, de Groat WC, Chancellor MB. Gene therapy of bladder pain with herpes simplex virus (HSV) vectors expressing preproenkephalin (PPE). *Urology* 2001; **57** (6 Suppl 1): 116.
- 18) Oguchi T, Funahashi Y, Yokoyama H, Nishizawa O, Goins WF, Goss JR, Glorioso JC, Yoshimura N. Effect of herpes simplex virus vector-mediated interleukin-4 gene therapy on bladder overactivity and nociception. *Gene Ther* (in press).

