

## 7 NO 合成酵素遺伝子導入による肝線維化抑制効果の検討

河野 透・丸山 弘樹\*・海老澤良昭  
 浅間 俊之・千里 直之・今村 恵美  
 大澤 高陽・菅原 睦・柏手由里乃  
 下条 文武\*・宮崎 純一\*\*・葛西 眞一  
 旭川医科大学第二外科  
 新潟大学第二内科\*  
 大阪大学\*\*

われわれは、NO を肝細胞に誘導することで肝毒物質による肝障害発生が抑制できることを報告してきた。最近、一酸化窒素 (NO) が肝臓における線維化の主役である星細胞の活動を抑制する効果を有していることが動物実験で報告され、さらに臨床でも、肝硬変の程度が高度になるにつれ肝臓における NO 産生能は低下していることが報告された。一方、肝臓の 90 % を占める肝細胞自身は持続的に NO を産生する NO 合成酵素を有していない。そこで、われわれは、強力な cDNA 発現プラスミドベクターである pCAGGS に、構成型つまり持続的に NO を産生し、血管壁へは直接作用しない神経型 NO 合成酵素遺伝子 (nNOS) を接続して、pCAGGS-nNOS を構築し、naked DNA 溶液を hydrodynamics-based transfection 法にて経尾静脈アプローチにより肝硬変モデルラットの肝細胞に導入し、ガス物質である NO を肝細胞に持続的に産生させ、線維化の主役である星細胞にパラクライン的に作用させて、肝線維化の進行を抑制する可能性を動物モデルで検討した。確立された肝硬変モデルとしてチオアセタマイド肝硬変モデルを使用。投与 15 週後に慢性肝炎から肝線維化が進んだ状態で遺伝子単回導入を行った。遺伝子導入 5 週間後に犠牲死させ対照群と比較した結果、肝線維化の促進は遺伝子導入群において有意に抑制された。すでに線維化が起きている肝臓に遺伝子導入することで肝線維化進行が抑制する可能性を示唆できた。

## II. 特別講演

### 「Naked DNA 法によるサイトカイン遺伝子の生体への導入とその応用」

大阪大学大学院医学系研究科  
 幹細胞制御分野教授

宮崎 純一

遺伝子治療を実用化するためのみならず、遺伝子の生体における機能を明らかにするためにも、生体への簡便な遺伝子導入法の開発が重要である。目的によっては、これらの技術は遺伝子改変動物 (トランスジェニックマウス) に代わるものとなる。これまで生体へのさまざまな遺伝子導入法が開発されているが、中でも nonviral な導入法としても最も単純なものは、筋肉への naked DNA 法 (発現プラスミド DNA をそのまま筋肉に注射する) である。しかし、この方法は導入効率が非常に低いことが難点であった。これを改善した *in vivo* electroporation 法や肝臓への hydrodynamics 法が手技の単純さ、安全性の面から注目されている。我々はこれらの手法をマウスへのサイトカイン遺伝子の導入法として利用し、その有用性を示してきた。さらに、サイトカインを免疫グロブリンの Fc 部分との融合蛋白として発現させることにより、長期間の血中濃度の維持が可能であることを示した。本講演では、これらの手法のあらまし、成績と改良点、応用例について紹介する。