

## —特集 [遺伝子治療 update : 日本医科大学の遺伝子治療研究 (5)]—

ヘルペスウイルスベクターを用いた  
遺伝子治療技術開発

宮川世志幸

日本医科大学生化学・分子生物学 (分子遺伝学)

## Development of Herpes Simplex Virus-based Vectors for Gene Therapy

Yoshitaka Miyagawa

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School

## Abstract

In recent years, gene and cell therapies have become widely accepted as new therapeutic modalities, and a number of gene therapy drugs have been approved. Underlying this advance are innovations in gene delivery tools, especially viral vectors, which are no longer simply gene transfer tools in basic research. Since its initial inception, all aspects of gene therapy have been dramatically improved, including their safety, functionality, and production technology. On the other hand, with use of gene therapies clinically, new safety and efficacy concerns have emerged, and gene therapy is now entering a new phase. Both preclinical and clinical data have demonstrated that simple overexpression of a therapeutic gene at a disease site through transduction by a gene delivery vector is not sufficient to ensure safety and therapeutic efficacy. Maturation of this field will require more sophisticated gene delivery vector systems and highly regulated therapeutic gene expression systems to precisely introduce these genes into target cells and express them to the appropriate degree at the appropriate time. Herpes simplex virus (HSV)-based vectors are extremely safe and functional vector systems that have the potential to meet current challenges in gene and cell therapy. This makes HSV vectors promising gene delivery vehicles for gene therapy. This chapter will focus on the current trends in the development of HSV as a delivery vector for gene therapy.

(日本医科大学医学会雑誌 2023; 19: 218-223)

**Key words:** herpes simplex virus-based vectors, gene therapy, detoxification

## はじめに

近年、遺伝子細胞治療が新しい治療モダリティとして広く受け入れられるようになり、数多くの遺伝子治療薬が承認されている。これも治療遺伝子を運ぶ遺伝

子導入技術、特にウイルスベクターの技術革新によるものであり、もはやウイルスベクターは基礎研究における単なる遺伝子導入ツールではなくなったことは間違いない。今日において、遺伝子治療は研究開始当初

とは比べ物にならない程、安全性、機能性、生産技術等すべての面において飛躍的な改善が見受けられる。一方、実臨床にて遺伝子細胞治療が使用されるようになるにつれて、新たな安全性や有効性の問題が浮上してきており、遺伝子治療は新たな局面を迎えている。これまでの前臨床・臨床データの蓄積により、遺伝子治療用ベクターを疾患部位に投与して、単に治療遺伝子を過剰発現させるだけでは安全性が担保されず、十分な治療効果は得られないことが徐々に明らかとなってきた。今後、安全性が担保された質の高い遺伝子治療を提供していくためには、的確に標的細胞のみに治療遺伝子を導入することが要求され、いかに厳密に発現時期や発現量をコントロールできるかが鍵となってくる。これらの課題を達成するためには、より洗練された遺伝子治療用ベクターシステムと緻密にコントロール可能な治療遺伝子発現系が必要となる。ヘルペスウイルス (HSV) ベクターは、このような現在の遺伝子治療における諸課題を克服する可能性を秘めた極めて安全性・機能性の高いベクターシステムであり、様々な疾患を対象とした遺伝子治療用担体として有望視されている。本稿では、HSV の遺伝子治療用デリバリーベクターとしての開発動向にフォーカスして概説する。腫瘍溶解性 HSV ベクターについては、複数の良い総説があるため、そちらをご参照いただきたい<sup>1,2</sup>。

## 1. HSV ベクター開発

HSV ベクター研究の歴史は古く、1980年代から HSV を遺伝子導入用ベクターとして利用しようとした試みが行われている。HSV をベクターとして利用する場合、様々な優れた点がある：1) 分裂/非分裂細胞の両方の様々な細胞種に対して高い感染能力を持つ。2) ウイルスゲノムが極めて大きいため (~150 kb)、巨大かつ複数の治療遺伝子を運搬可能である。3) HSV 感染後、ウイルスゲノムは染色体に組み込まれることなく核内に留まり、安定なエピソームとして存在する。したがって、遺伝子挿入変異の危険性がない。4) 神経細胞に対して潜伏感染できるため、長期間安定的に治療遺伝子供給が可能である。特筆すべきは、際立って高い遺伝子搭載能力であろう。現在、遺伝子治療用ベクターとして広く応用が進んでいるアデノ随伴ウイルスベクターやレンチウイルスベクターは、遺伝子搭載能力に乏しく (4~9 kb)、標的疾患は治療遺伝子のサイズにより限定されてしまう。また冒頭に喫緊の課題として述べた緻密な治療遺伝子の発現調節については、組織特異的・時期特異的な転写制御領域や翻訳調

節領域の搭載が必要不可欠となるが、このような発現制御配列は往々にして複雑かつサイズが大きいため、既存のベクターでは搭載することができない。一方、HSV ベクターの遺伝子搭載能力の高さは数々の先行研究により実証されており<sup>3,4</sup>、これらの課題を容易に克服可能である。加えて、近年 HSV ベクター標的化技術が開発され、狙った細胞・組織に対してのみ HSV ベクターを送達することが可能になりつつある<sup>5-7</sup>。このように HSV ベクターは、現在の遺伝子治療が抱える懸念を打ち砕くことができる非常に魅力的なベクターシステムである。これまで HSV をベクターとして利用する上での最重要課題は、その高い細胞毒性であった。HSV は神経細胞以外の多くの細胞において活発に複製し、毒性の高いウイルスタンパク質を高発現する。また神経細胞に対しては、潜伏感染を成立させるが、宿主が何らかの刺激を受けると再活性化し、再び複製を開始して、毒性タンパク質を発現する。そのため、野生型 HSV をそのままベクターとして利用するのは困難である。HSV ベクターの安全性向上のために、多くの研究者によって様々な HSV ゲノムの遺伝子改変が施されてきた。これらの努力の末、安全性の懸案事項は段階的に解決され、最新のベクターシステムは非常に安全性に優れたものになっている。次の項より、どのように HSV ベクター開発が為され、安全性が担保されていったかその経緯を辿る。

### (1) 第一世代

HSV ベクター研究創成期においては、HSV ベクター化にあたり鍵となる細胞毒性に関わる遺伝子群の機能およびその遺伝子欠損変異の影響について精力的に研究が進められた。その結果、HSV ゲノム上に5つ存在する Immediate-early (IE) 遺伝子のひとつである転写因子 ICP4 遺伝子あるいは RNA プロセッシング関連因子 ICP27 遺伝子を欠損させることにより、HSV を複製欠損型に改変できることが示された (図 1)<sup>8</sup>。また同研究の最中で、培養細胞内での増殖に必須ではない、いわゆるアクセサリ遺伝子群も同定され、これらの遺伝子座が治療遺伝子挿入に有用であることも証明された。作製された IE 遺伝子変異体は複製欠損となるが、欠損させた IE 遺伝子を培養細胞からトランスに発現させることで増殖可能であることが示されたのも、HSV ベクター開発において極めて重要な一歩であったといえる。

### (2) 第二世代

創成期の研究において、HSV を複製欠損型に改変で

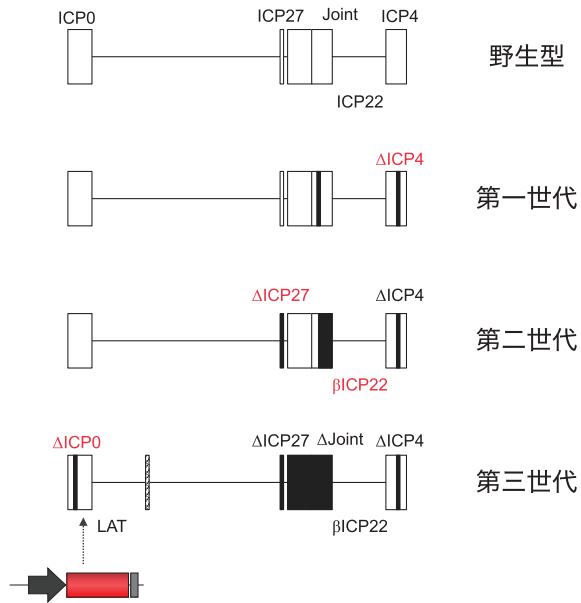


図1 HSV ベクターの構造

きることは証明されたが、IE 遺伝子の単独遺伝子欠損変異では、HSV 由来細胞毒性を除去することはできないことも判明した<sup>8</sup>。そこで、さらなる細胞毒性低減を目的として、様々な組み合わせで IE 遺伝子群を欠損させた HSV ベクターが開発され、その安全性・機能性の比較検討が行われた。Krisky らは、上記の第一世代 HSV ベクターにて欠損させた ICP4, ICP27 遺伝子に加えて、転写制御因子である IE 遺伝子 ICP22 遺伝子発現を欠損させたトリプル変異体の開発に成功した(図1)<sup>9,10</sup>。このベクターは、HSV 由来細胞毒性が大幅に低減されているにもかかわらず、神経細胞に対して効率的に遺伝子導入可能であることが報告された。また同時期に、HSV ゲノムにある2つのセグメント U<sub>L</sub>, U<sub>S</sub> を連結する接合部 (Joint 領域) を欠損させることで、ベクターゲノムの安定性が増すばかりでなく、治療遺伝子を挿入するスペースを広く確保できることも明らかとされた<sup>11</sup>。第二世代 HSV ベクターの開発がきっかけとなり、HSV ベクターの遺伝子治療応用が大きく躍進したと言っても過言ではない。実際、近年臨床研究に進んでいる遺伝子治療用 HSV ベクターは、第二世代の遺伝子改変が施されている HSV ベクターバックボーンを採用している。HSV ベクターの臨床研究の進捗状況については、後の項で詳しく解説する。

### (3) 第三世代

ICP4, ICP27, ICP22 遺伝子発現が欠損した HSV ベクターは、末梢神経組織に対する遺伝子導入については高い安全性を示すものの、依然として脳組織やその

他の非神経組織においては強い細胞毒性を示す<sup>12,13</sup>。これは、HSV ゲノム転写活性化に極めて重要な役割を果たす IE 遺伝子 ICP0 が残っていることに起因する。この残存する HSV 由来細胞毒性を完全に除去する解決策として、ICP0 遺伝子をゲノムより除去することが容易に想到されるが、これを達成するには2つの大きな障壁をクリアしなければならない。ひとつは HSV ゲノムの転写不活性問題である。HSV は細胞に感染した後、HSV 遺伝子発現を活性化させ、複製を開始するが、ICP0 タンパク質非存在下の場合、転写活性化は起こらず、HSV ゲノムの大部分が速やかにサイレンシングされる<sup>14</sup>。HSV ベクターに挿入される治療遺伝子発現系も同様の転写制御を受けるため、標的組織における効率的な治療遺伝子発現が困難になる。もうひとつはベクター生産の問題である。前述のように HSV IE 遺伝子変異体は欠損 IE 遺伝子をウイルス生産細胞からトランスに供給することで生産可能となるが、ICP0 は細胞毒性が非常に高く、わずかなリーク発現でもウイルス生産細胞の生存・増殖に影響するため、ICP0 遺伝子発現系を安定的に生産細胞ゲノムに維持することができない<sup>15</sup>。したがって、仮に ICP0 を含む多重 IE 遺伝子欠損 HSV ベクターを作製したとしても、効率的にベクター生産を行うことが非常に難しい。これらの課題が妨げとなり、HSV ベクターの医療応用範囲は長い間極めて限定的であった。われわれは、近年これら諸課題を克服する無毒化 HSV ベクターシステム JANI を開発した<sup>3</sup>。本ベクターシステムでは、HSV ゲノム上に存在する5つすべての IE 遺伝子発現を遺伝子改変によって欠損させることにより、HSV 由来細胞毒性の完全除去に成功している。上述のごとく、ICP0 遺伝子を除去すると HSV ゲノムのグローバルなゲノムサイレンシングが誘導されるが、本ベクターシステムでは、ICP0 タンパク質非存在下でも高い転写活性を保つ HSV ゲノム領域として、Latency associated transcript (LAT) 領域を同定し、これを治療遺伝子発現に利用することで本課題を解決した(図1)。興味深いことに、LAT 領域に挿入された治療遺伝子発現カセットは、ゲノムサイレンシングから強力に保護され、長期において治療遺伝子を供給できることが判明した。また、このような多重 IE 遺伝子欠損 HSV ベクターの生産に関する課題は、ICP0 タンパク質の機能を自然に補完することができるヒト骨肉腫細胞株 U2OS をベースとしてウイルス生産細胞を樹立することで解決された<sup>16</sup>。この場合、細胞毒性の高い ICP0 遺伝子発現系を細胞に導入する必要がないため、ウイルス生産細胞を問題なく維持することができる。これらの技術



が集約され、これまで困難を極めた無毒化 HSV ベクターの開発およびその効率的なベクター生産が達成された。開発された無毒化 HSV ベクターは、様々なヒト組織由来初代培養細胞に効率良く遺伝子導入することが可能であった<sup>3</sup>。またラット神経組織に対して、細胞を傷害することなく長期にわたり導入遺伝子を供給することが確認された<sup>12,13</sup>。その後、第三世代 HSV ベクターをベースに、さらなる性能向上を目指した遺伝子改変を施されている<sup>13,17</sup>。われわれは、第三世代 HSV ベクターの機能評価を行い、単回投与によって神経組織・非神経組織いずれにおいても、少なくとも6カ月以上持続して導入遺伝子が発現することを明らかにしている。以上の結果は、第三世代 HSV ベクターが既存 HSV ベクターより安全性・機能が顕著に向上していることを証明しており、HSV ベクターを用いた遺伝子治療の適用範囲についても大幅に拡大できることが期待される。

## 2. HSV ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究

HSV ベクターを用いた臨床研究は、がん治療に対して非常に盛んに行われており、複数のベクターが臨床試験を経て、遺伝子治療薬として承認されている<sup>18,19</sup>。一方、治療遺伝子デリバリーベクターとしても、HSV の特性を活かした様々な遺伝子治療用ベクターが開発されており、臨床研究も活発に行われている。以下に、標的疾患ごとにその開発状況を述べる。

### (1) 疼痛

世界ではおよそ15億人が慢性的な疼痛に苦しんでいるとされており、今後、高齢化社会を迎え、がん生存率が上昇するに伴い、さらに疼痛患者は増加することが見込まれている。一方、疼痛患者の増加にも関わらず、有効な治療法は限られている。一般的に処方される非ステロイド性抗炎症薬やオピオイドアゴニストなどの鎮痛剤は、慢性疼痛に対して有効とは限らず、その長期使用は様々な有害作用や身体・精神依存のような中毒性の原因となるため、大きな問題となっている。遺伝子治療は、中枢神経・末梢神経系の特定の細胞集団を標的化することが可能であり、一回の投与で持続的な効果が期待できることから、既存の疼痛治療が解決できない課題を克服する画期的なアプローチとして、近年開発が進んでおり、その疼痛治療効果も数多く報告されている<sup>20,21</sup>。HSV ベクターは、その高い神経親和性から有望な疼痛遺伝子治療用ベクターとしてこれまで開発が行われており、多くの前臨床研究からその安全性・有効性が確認されている<sup>22-25</sup>。疼痛遺伝

子治療用 HSV ベクターのひとつとして開発された NP2 は、IE 遺伝子 ICP4、ICP27、ICP22 遺伝子発現を欠損した第二世代の HSV ベクターであり、抗侵害受容活性が期待されるヒト Preproenkephalin (PENK) 遺伝子発現カセットが2コピー搭載されている。NP2 は皮内投与されると、逆行性軸索輸送により後根神経節 (DRG) に運ばれ潜伏感染を成立させ、DRG 神経内で PENK 遺伝子を発現する。発現された Proenkephalin から Met-および Leu-enkephalin が生じ、これらがオピオイド受容体に結合することで、侵害受容神経伝達を抑制すると考えられている。実際、NP2 は疼痛動物モデルにおいて、高い安全性と疼痛緩和効果が確認された<sup>26,27</sup>。これらの前臨床研究結果に基づき、NP2 を用いた疼痛治療に対する臨床研究が計画された (NCT00804076)<sup>28</sup>。第 I 相試験では、NP2 の安全性・治療効果を評価する目的として、10名の難治性癌性疼痛患者に対して NP2 の支配神経下皮内投与が行われた。その結果、いずれの dose においても重篤な有害事象は確認されず NP2 の高い安全性が示された。また低容量投与群 ( $10^7$  pfu/cohort) においては顕著な疼痛治療効果は認められなかったものの、中・高容量投与群 ( $10^8, 10^9$  pfu/cohort) においては有意に疼痛緩和効果が認められた。続いて、第 II 相試験は、NP2 のさらなる安全性・治療効果を評価する目的で実施された二重盲検試験であり、17名の癌性疼痛患者、16名のプラセボが集められ、NP2 が支配神経下皮内投与された。本試験においては NP2 投与由来の重篤な有害事象は確認されなかったため、HSV ベクターによる疼痛治療の高い忍容性が確認された。一方、プラセボ群と比較し、有意な疼痛治療効果が確認されなかった。その後、抗侵害受容活性の改善を目指して、Glutamic acid decarboxylase (GAD)、Endomorphin-2、Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 等、様々な疼痛治療遺伝子を搭載した HSV ベクターが開発された<sup>29-32</sup>。これらのベクターは疼痛動物モデルを用いた試験において、高い有効性を示しているため、今後の臨床研究が待たれる。また神経細胞における安全性・機能が大幅に向上した第三世代 HSV ベクター使用による治療効果の改善も期待されている。

### (2) 皮膚疾患

劣性ジストロフィー性表皮水疱症 (RDEB) は、皮膚や粘膜組織を侵す極めて重篤な遺伝性水疱症である。本疾患では、真皮と表皮を結合する VII 型コラーゲン形成を担う COL7A1 遺伝子変異により発症し、真皮と表皮の接着分子が十分に機能しないため、RDEB

患者の皮膚が非常に脆くなり、生涯軽い摩擦や外傷で激しい痛みを伴う水疱や皮膚潰瘍を繰り返す。現在、本疾患を根本的に完治させる治療法は存在せず、症状を軽減させるための対処療法のためのため、本疾患を分子レベルで治療する画期的な治療技術の開発が求められていた。HSVは皮膚や粘膜組織に効率的に感染することが知られているが、HSVベクターはその特性を忠実に保持している。したがって、皮膚疾患はHSVベクターの恰好の標的疾患であると言える。B-VEC (Vyjuvek; beremagene geperpavec) は、第二世代の複製欠損型 HSV ベクターをバックボーンとして用いており、COL7A1 遺伝子発現カセットを搭載した RDEB 遺伝子治療用 HSV ベクターとして開発された。前臨床試験において B-VEC は RDEB 疾患動物モデルや RDEB 患者由来皮膚細胞に対して、効率的に COL7A1 遺伝子を導入できることが示された。同ベクターを用いた第 I/II 相試験は、無作為化プラセボ対照試験として 9 人の RDEB 患者に対して実施され、B-VEC あるいはプラセボを 12 週間にわたり繰り返し局所的に投与することで安全性・治療効果の評価が行われた (NCT03536143)<sup>4</sup>。その結果、B-VEC 投与に起因する重篤な有害事象は認められず、皮膚組織における COL7 タンパク質の発現回復が認められ、高い創傷治療効果が確認された。第 III 相試験は、無作為化二重盲検プラセボ対照試験として安全性・治療効果が検証され、2022 年 1 月に完了している (NCT04491604)。同じく、難治性皮膚疾患である先天性魚鱗癬 (ARCI) の治療ベクターとして KB105 が開発されており、臨床試験が精力的に進められている<sup>33</sup>。

#### おわりに

HSV を用いた遺伝子治療はベクター技術の革新に伴い、上記で紹介した神経疾患や皮膚疾患に留まらず、その応用範囲は広がりを見せている。ベクターの無毒化や発現系の改善により、以前は遺伝子導入が難しかった組織についても、標的化可能となりつつある。例えば、第三世代 HSV ベクターはヒト肝臓、筋肉、脂肪細胞にも遺伝子導入が可能であることが明らかになっており<sup>3</sup>、今後、これらの組織で発症する疾患を対象とした遺伝子治療開発も期待される。また B-VEC を開発した Krystal Biotech 社は嚢胞性線維症を対象とした遺伝子治療用 HSV ベクター KB407 の開発も進めており<sup>34</sup>、その第 I 相試験が 2022 年に開始している (NCT 05504837, NCT05095246)。その結果に注目が集まる。以上のように、HSV は、過去の研究者の並々ならぬ努力により、非常に性能の高い遺伝子治療用担

体へと変貌を遂げ、それを用いた遺伝子細胞治療は現実のものとなり、これまで医療介入が全く不可能であった難治性疾患を治療できる段階まで到達している。これらのベクターの大量製造技術が確立されれば、その普及はさらに加速化することが想定される。今後、早期に様々な疾患に対する HSV ベクター供給体制の整備が進み、多くの難治性疾患に苦しむ患者に質の高い遺伝子治療が行き届くことを切に願っている。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

#### 文 献

- Harrington K, Freeman DJ, Kelly B, Harper J, Soria, JC: Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 689-706.
- Uchida, H Hamada, H Nakano, K, et al: Oncolytic Herpes Simplex Virus Vectors Fully Retargeted to Tumor-Associated Antigens. *Curr Cancer Drug Targets* 2018; 18: 162-170.
- Miyagawa Y, Marino P, Verlengia G, et al: Herpes simplex viral-vector design for efficient transduction of nonneuronal cells without cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112: E1632-E1641.
- Gurevich I, Agarwal P, Zhang P, et al: In vivo topical gene therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa: a phase 1 and 2 trial. *Nat Med* 2022; 28: 780-788.
- Uchida H, Marzulli M, Nakano K, et al: Effective treatment of an orthotopic xenograft model of human glioblastoma using an EGFR-retargeted oncolytic herpes simplex virus. *Mol Ther* 2013; 21: 561-569.
- Uchida H, Chan J, Goins WF, et al: A double mutation in glycoprotein gB compensates for ineffective gD-dependent initiation of herpes simplex virus type 1 infection. *J Virol* 2010; 84: 12200-12209.
- Shibata T, Uchida H, Shiroyama T, et al: Development of an oncolytic HSV vector fully retargeted specifically to cellular EpCAM for virus entry and cell-to-cell spread. *Gene Ther* 2016; 23: 479-488.
- Marconi P, Krisky D, Oligino, T et al: Replication-defective herpes simplex virus vectors for gene transfer in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 11319-11320.
- Krisky DM, Marconi PC, Oligino TJ, et al: Development of herpes simplex virus replication-defective multigene vectors for combination gene therapy applications. *Gene Ther* 1998; 5: 1517-1530.
- Krisky DM, Wolfe D, Goins WF, et al: Deletion of multiple immediate-early genes from herpes simplex virus reduces cytotoxicity and permits long-term gene expression in neurons. *Gene Ther* 1998; 5: 1593-1603.
- Craft AM, Krisky DM, Wechuck JB, et al: Herpes simplex virus-mediated expression of Pax3 and MyoD in embryoid bodies results in lineage-Related alterations in gene expression profiles. *Stem Cells* 2008; 26: 3119-3129.
- Verlengia G, Miyagawa Y, Ingusci S, Cohen JB,

- Simonato M, Glorioso JC: Engineered HSV vector achieves safe long-term transgene expression in the central nervous system. *Sci Rep* 2017; 7: 1507.
13. Miyagawa Y, Verlengia G, Reinhart B, et al.: Deletion of the Virion Host Shut-off Gene Enhances Neuronal-Selective Transgene Expression from an HSV Vector Lacking Functional IE Genes. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2017; 6: 79–90.
  14. Harkness JM, Kader M, DeLuca NA: Transcription of the herpes simplex virus 1 genome during productive and quiescent infection of neuronal and nonneuronal cells. *J Virol* 2014; 88: 6847–6861.
  15. Samaniego LA, Wu N, DeLuca NA: The herpes simplex virus immediate-early protein ICP0 affects transcription from the viral genome and infected-cell survival in the absence of ICP4 and ICP27. *J Virol* 1997; 71: 4614–4625.
  16. Yao F, Schaffer PA: An activity specified by the osteosarcoma line U2OS can substitute functionally for ICP0, a major regulatory protein of herpes simplex virus type 1. *J Virol* 1995; 69: 6249–6258.
  17. Han F, Miyagawa Y, Verlengia G, et al.: Cellular Antisilencing Elements Support Transgene Expression from Herpes Simplex Virus Vectors in the Absence of Immediate Early Gene Expression. *J Virol* 2018; 92: e00536–18.
  18. Maruyama Y, Sakurai A, Noda, S et al.: Regulatory Issues: PMDA - Review of Sakigake Designation Products: Oncolytic Virus Therapy with Delytact Injection (Tesperaturev) for Malignant Glioma. *Oncologist*. Epub 2023 Mar 14.
  19. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al.: Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2780–2788.
  20. Ovsepien SV, Waxman SG: Gene therapy for chronic pain: emerging opportunities in target-rich peripheral nociceptors. *Nat Rev Neurosci* 2023; 24: 252–265. Epub 2023 Jan 19.
  21. Guedon JM, Wu S, Zheng X, et al.: Current gene therapy using viral vectors for chronic pain. *Mol Pain* 2015; 11: 27.
  22. Wilson SP, Yeomans DC, Bender MA, Lu Y, Goins WF, Glorioso JC: Antihyperalgesic effects of infection with a preproenkephalin-encoding herpes virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3211–3216.
  23. Wang Y, Nowicki MO, Wang X, et al.: Comparative effectiveness of antinociceptive gene therapies in animal models of diabetic neuropathic pain. *Gene Ther* 2013; 20: 742–750.
  24. Goss JR, Mata M, Goins WF, Wu HH, Glorioso JC, Fink DJ: Antinociceptive effect of a genomic herpes simplex virus-based vector expressing human proenkephalin in rat dorsal root ganglion. *Gene Ther* 2001; 8: 551–556.
  25. Goss JR, Cascio M, Goins WF, et al.: HSV delivery of a ligand-regulated endogenous ion channel gene to sensory neurons results in pain control following channel activation. *Mol Ther* 2011; 19: 500–506.
  26. Hao S, Mata M, Goins W, Glorioso JC, Fink DJ: Transgene-mediated enkephalin release enhances the effect of morphine and evades tolerance to produce a sustained antiallodynic effect in neuropathic pain. *Pain* 2003; 102: 135–142.
  27. Goss JR, Harley CF, Mata M, et al.: Herpes vector-mediated expression of proenkephalin reduces bone cancer pain. *Ann Neurol* 2002; 52: 662–665.
  28. Fink DJ, Wechuck J, Mata M, et al.: Gene therapy for pain: results of a phase I clinical trial. *Ann Neurol* 2011; 70: 207–212.
  29. Wolfe D, Hao, S, Hu, J, et al.: Engineering an endomorphin-2 gene for use in neuropathic pain therapy. *Pain* 2007; 133: 29–38.
  30. Srinivasan R, Huang S, Chaudhry S, et al.: An HSV vector system for selection of ligand-gated ion channel modulators. *Nat Methods* 2007; 4: 733–739.
  31. Majim T, Funahashi Y, Takai S, et al.: Herpes Simplex Virus Vector-Mediated Gene Delivery of Poreless TRPV1 Channels Reduces Bladder Overactivity and Nociception in Rats. *Hum Gene Ther* 2015; 26: 734–742.
  32. Hao S, Mata M, Wolfe D, Huang S, Glorioso JC, Fink DJ: Gene transfer of glutamic acid decarboxylase reduces neuropathic pain. *Ann Neurol* 2005; 57: 914–918.
  33. Freedman JC, Parry TJ, Zhang P, et al.: Preclinical Evaluation of a Modified Herpes Simplex Virus Type 1 Vector Encoding Human TGM1 for the Treatment of Autosomal Recessive Congenital Ichthyosis. *J Invest Dermatol* 2021; 141: 874–882 e876.
  34. Parry T, Prosdocimo DA, Krishnan S: A new era of in vivo gene therapy: the applicability of a differentiated HSV-1 based vector platform for redosable medicines. *Cell & Gene Therapy Insights* 2022; 8: 641–651.

(受付：2023年3月31日)

(受理：2023年7月3日)

日本医科大学医学雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学雑誌が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。