慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Adenoviral gene transfer of BDNF and GDNF synergistically prevent motoneuron loss in the nucleus ambiguus
Sub Title	アデノウイルスベクターを用いたBDNFとGDNF遺伝子導入による相乗的な疑核運動ニューロン脱落防止効果の検討
Author	茂呂, 和久
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.46-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0046

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Adenoviral gene transfer of BDNF and GDNF synergistically prevent motoneuron loss in the nucleus ambiguus

（アデノウイルスベクターを用いたBDNFとGDNF遺伝子導入による
相乗的な疑核運動ニューロン脱落防止効果の検討）

茂　呂　　和　久

内容の要旨

喉頭麻痺は、悪性腫瘍に対する頭頸部手術の際に、迷走神経あるいは反回神経の損傷の結果生じる。このような術後に、筋萎縮、神経終板および神経線維の変性・再生不良、疑核における運動神経細胞の脱落といった問題が生じ、片側反回神経麻痺患者は、声門閉鎖不全に起因する誤嚥や嚥下障害や嗄声などの症状に悩まされる。片側反回神経麻痺に対する外科的治療では、再神経支配を目的とした術式を除き、声帯注入術・甲状軟骨形成術・披裂軟骨内転術など、どれも声帯を静的に内転させる術式であり、神経学的に声帯運動の回復を目的とはしていない。再神経支配を目的とした術式では、神経損傷後の筋萎縮や疑核運動神経細胞の脱落、神経吻合後における声門閉鎖筋と開大筋の過誤支配、あるいは吻合後のモーターユニット減少など様々な問題があり、思わしい結果に至っておらず、未だ喉頭の動きを回復させる安定した術式としては認められていない。

我々は既に反回神経麻痺における大きな問題点である疑核運動神経細胞脱落に対する遺伝子治療に関して、成体ラット迷走神経抜去モデルを用いGDNF遺伝子導入による疑核運動神経細胞脱落防止効果を証明した。本研究では同モデルを用いBDNF遺伝子導入もしくはBDNF及びGDNF遺伝子の同時導入による疑核運動神経細胞脱落防止効果について検討した。

BDNF及びGDNF遺伝子を搭載したアデノウイルスベクターは成体ラット迷走神経抜去モデルにおいて、処置側のみ免疫組織染色にて発現が確認された。また、処置側の疑核を含んだ脳幹において導入遺伝子由来mRNAの発現を確認した。コントロール群と比較し、BDNFもしくはGDNF遺伝子を導入した群では明らかな疑核運動神経細胞脱落防止効果を認めた。両者ではGDNF遺伝子を導入した群よりBDNF遺伝子を導入した群の方がより強い疑核運動神経細胞脱落防止効果を認めた。さらに、BDNF及びGDNF遺伝子を同時導入した群で相乗的な効果が認められ、BDNF及びGDNF遺伝子どちらか一方を導入した群と比較して、強力な疑核運動神経細胞脱落防止効果を認めた。

また、損傷された迷走神経運動神経細胞に対する神経栄養因子の遺伝子導入の効果を検証するために、nitric oxide synthase（NOS）活性の変化についても検討した。NOS活性は傷害された神経細胞において誘導される。BDNFもしくはGDNF遺伝子を導入した群においては、コントロール群に比較しNOS活性が抑制された。このようなアデノウイルスベクターを用いたBDNFとGDNF遺伝子導入は、迷走神経あるいは反回神経の損傷に際して、臨床的に運動神経細胞脱落防止効果を期待した応用が可能であることが示された。

論文審査の要旨

損傷神経の再生を目的とした反回神経に対する試みとして、アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入により運動神経細胞の脱落防止効果を検討した。反回神経損傷により、声門閉鎖不全をきたす患者は誤嚥や嚥下障害、嗄声などの症状に悩まされ続ける。近年、再神経支配を目的とした術式の報告があるが、神経損傷後の筋萎縮や疑核運動神経細胞の脱落、神経吻合後における声門閉鎖筋と開大筋の過誤支配、あるいは吻合後のモーターユニット減少などの様々な問題があり、喉頭運動を回復させる安定した術式としては認められていない。本研究では、成体ラット迷走神経抜去モデルを用いBDNF遺伝子導入もしくはGDNF遺伝子導入による疑核運動神経細胞脱落防止効果を認め、さらにBDNF及びGDNF遺伝子の同時導入による相乗的な疑核運動神経細胞脱落防止効果を認め、損傷神経に対する遺伝子治療による再生医療の可能性が示唆された。

審査では、成体ラット迷走神経抜去モデルの妥当性について指摘があった。全例を手術用顕微鏡下に頸静脈孔付近での神経抜去を施行しており、他の併走する神経および神経節に対する損傷を避けているため、適切なモデルであると回答した。また、アデノウイルスベクターを用いずに直接蛋白を投与する場合とはどのような違いがあるかとの質問があった。BDNF及びGDNFを直接神経損傷部位に投与した研究も既に報告されており、その効果も認められている。しかし持続的にポンプを用いるなどして投与しなければならず、臨床応用には非現実的であるため、１回投与にて４週間から８週間の発現が持続可能であるアデノウイルスベクターを用いたと回答した。遺伝子導入されたBDNFとGDNFが同一細胞に発現しているか、また各々の受容体が同一細胞に発現しているかについてさらに検討を加えるべきであると指摘があった。また使用した非増殖型アデノウイルスベクターの臨床応用の現状とその問題点について質問があった。臨床試験では非増殖型アデノウイルスベクターは既に国内外で以前より用いられており、その安全性や効率には問題が無い。また神経細胞のような細胞分裂をしない細胞にもほぼ100%感染が成立する利点がある。しかし、変性疾患対象とし複数回投与する場合では、免疫を獲得し徐々に感染しにくくなる欠点があると回答した。BDNFとGDNFが受容体を介して作用する場合の作用機序について質問があった。BDNFはTrkB、GDNFはGFRα1とRetに特異的に結合し、その下流における複数のシグナル伝達経路の相互作用により神経細胞の脱落が防止されることがわかっていると回答した。さらに効果が相乗的としたのは適切な表現であったかとの指摘があった。BDNFとGDNFは各々特定の受容体と結合し、その下流で複数のシグナル伝達経路により相互に神経細胞脱落防止効果を増強しており、その効果は相乗的であると回答した。

以上、本研究は今後さらに検討を加えるべき点が多く残されているものの、治療遺伝子の同時導入による疑核運動神経の相乗的な神経細胞脱落防止効果を確認し、今後の損傷神経に対する再生医療において有用な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　耳鼻咽喉科学　小川　郁
解剖学　仲嶋　一範　　内科学　鈴木　則宏
生理学　岡野　栄之
学力確認担当者：池田　康夫
審査委員長：仲嶋　一範

試問日：平成18年12月14日