

審査の結果の要旨

氏名 三浦 俊樹

本研究は、脊髄損傷を治療する目的で、神経栄養因子による神経突起伸長の際に細胞内で活性化される細胞内シグナルに着目して、培養細胞とラット脊髄に組み換えアデノウィルスベクターを用いた遺伝子導入を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 交感神経細胞様の褐色細胞腫由来の細胞株である PC12 細胞に恒常活性型 MEK1 遺伝子をアデノウィルスベクターを用いて遺伝子導入すると MAP キナーゼである ERK が活性化され、神経突起伸長が誘導されることが示された。
2. 若年ラットの胸髄を切断し、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを注入すると、注入部局所の脊髄内のみでなく赤核や青斑核等の脳内神経核の神経細胞においても導入遺伝子が発現することが X-gal 染色によって示された。恒常活性型 MEK1 遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクター注入後は同様の部位に抗リン酸化 ERK 抗体による免疫染色での陽性像が確認された。
3. 胸髄を完全切断したラットにアデノウィルスベクターを感染させた後、6 週後まで下肢機能評価を行ったところ、切断のみのラットや $\beta$ -ガラクトシダーゼ遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを感染させたラットではほとんど機能回復が起こらないのに対して、恒常活性型 MEK1 遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクターを感染させると2週後から下肢機能の部分的な回復が起こることが示された。
4. 下肢機能回復のメカニズムを調べるために、再切断実験、赤核脊髄路の順行性標織実験、脊髄誘発電位測定が行われた。回復した下肢機能は再切断により失われること、回復のあったラットでは切断部よりも尾側で標織された軸索が観察され、また切断部の吻側で脊髄を電気刺激すると尾側で誘発電位が記録されることが示された。以上のことから、恒常活性型 MEK1 遺伝子を組み込んだアデノウィルスベクター感染後の下肢機能回復は導入遺伝子により赤核などの運動神経軸索の再生が促進されたためと考えられた。

## [別紙 2]

以上、本論文は培養細胞とラット脊髄において、アデノウイルスベクターによる遺伝子導入が可能であることのみならず、恒常活性型 MEK1 を導入し MAP キナーゼを活性化すると神経突起伸長が誘導され、若年ラットでは胸髄完全切断後の下肢機能回復の誘導も可能であることを明らかにした。本研究の基礎的な実験結果はこれまで不可能と考えられていた脊髄損傷の治療に重要な貢献をすると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。