

論文の内容の要旨

論文題目

アデノウイルスベクターを用いた Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) 遺伝子導入法によるラット骨格筋阻血変性モデルにおける異所性骨化の誘導に関する研究

氏 名 権 太 浩 一

生体内遺伝子導入技術は、疾患に対する組換え治療蛋白を効率的に体内で産生させることができる、有望な薬剤投与システムである。著者は、本技術を用いて、強力な骨誘導作用を持つ増殖因子である骨形成蛋白-2 (Bone Morphogenetic Protein-2; BMP-2) を生体内で高発現させることによって、骨欠損の治療目的に足る十分な量の骨を誘導することができるのではないかとこの仮説を立てた。本仮説を検証するために、まず、ヒト *BMP-2* 遺伝子をコードする非増殖型アデノウイルスベクターを作製し、これを成獣ラットの下腿ひらめ筋にウイルス液を直接注入することによって *BMP-2* 遺伝子を導入した。*BMP-2* 遺伝子のひらめ筋内における過剰発現は、RT-PCR 法によって確認されたものの、本導入法によ

[別紙 1]

って標的筋内あるいはその周囲に骨形成は全く生じなかった。そこで次に、骨前駆細胞を局所に誘導するために、*BMP-2* 遺伝子導入と同時に、筋を同所性に遊離移植し血流遮断することにより阻血変性を生じさせたところ、筋全長にわたって著明な骨化が生じた。一方、筋の血流遮断操作のみ、あるいは血流遮断操作とリポーター遺伝子 *LacZ* 導入の組合せでは、全く骨化は起こらなかった。この、血流遮断されたひらめ筋に *BMP-2* 遺伝子を導入することによって生じた骨化の過程は、軟 X 線写真上のひらめ筋相当部位における不透過像の形成、および組織切片における von Kossa 染色によって確認された。また、骨格筋の遊離移植後には阻血変性に引き続いて筋線維の再生が起こるが、移植筋に導入された *BMP-2* 遺伝子は、阻血変性に伴う筋線維の再生を抑制した。さらに、血流遮断を受けたひらめ筋における BMP 受容体の発現を免疫組織化学的に検索したところ、BMP タイプ I 受容体 A 発現細胞の増加が認められ、本モデルにおける筋の骨化に対する同受容体の動態の関与が示唆された。結論として、遊離移植による血流遮断後の骨格筋に *BMP-2* 遺伝子を過剰発現させることによって、広い範囲にわたって異所性骨化を起こすことができることが示された。