

氏 名（本籍）	やま 山	した 下	あ さ ひ
学 位 の 種 類	博	士	（ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第	2 1 3 5	号
学位授与年月日	平 成 16 年	3 月	25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻		
学 位 論 文 題 目	アデノウイルスベクターを用いた神経栄養因子の 発現とその視細胞保護効果		

（主 査）

論文審査委員 教授 玉 井 信 教授 貫 和 敏 博

教授 小 柳 義 夫

論文内容要旨

背景

当科では加齢黄斑変性（AMD）に対する脈絡膜新生血管膜剥去後の網膜色素上皮（RPE）欠損に対して自己培養虹彩色素上皮（IPE）細胞の移植を行ってきた。しかし現在のところ視力予後の改善をみない。そこで IPE 細胞に神経栄養因子の遺伝子導入し、視細胞保護効果を付加することを考えた。

目的

神経栄養因子遺伝子を用いた組み換えアデノウイルスを作成し IPE 細胞に感染後、この IPE 細胞の視細胞保護効果を *in vitro* 及び *in vivo* で検討する。

方法

神経栄養因子である脳由来神経栄養因子（brain derived neurotrophic factor ; BDNF）、毛様体由来神経栄養因子（ciliary neurotrophic factor ; CNTF）、Axokine の遺伝子組み換えアデノウイルスを作成した。更に温度感受性抗原をもつ simian virus (SV) 40 large T antigen transgenic rat の視細胞を分離し、33°C で培養した。この細胞の細胞死を促す 37°C で血清を抜いた状態で上記した細胞と遺伝子導入した IPE 細胞を共培養し、5 日後テトラゾリウム化合物を加え、490 nm の波長で吸光値を測定した。また、遺伝子導入した IPE 細胞をラット網膜下に移植し、1 週間の光障害の後、外顆粒層の厚さを測定し、視細胞保護効果を検討した。

結果

作成したアデノウイルスによって IPE 細胞の神経栄養因子の発現が高められることが確認できた。SV 40 large T antigen transgenic rat の視細胞との共培養では、BDNF・Axokine 遺伝子導入 IPE 細胞にてコントロールに比べて有意に保護効果が認められた。また、ラット網膜下への移植でも BDNF・Axokine 遺伝子導入 IPE 細胞を移植した網膜の外顆粒層がコントロールに比べて有意に厚く、視細胞保護効果があることが示唆された。

考察

アデノウイルスベクターを用いて神経栄養因子の導入をした IPE 細胞は *in vitro* 及び *in vivo* で視細胞保護効果があった。臨床応用に向けて更なる検討が望まれる。

審査結果の要旨

加齢黄斑変性（AMD）の治療として行われている脈絡膜新生血管膜剥去術後に生じる網膜色素上皮（RPE）欠損に対し、患者の自己培養虹彩色素上皮（IPE）細胞の移植が行われている。その治療効果を高めるために、IPE 細胞に神経栄養因子の遺伝子導入し、視細胞保護効果を付加することを旨とした治療法開発のための基礎研究である。本研究では神経栄養因子遺伝子を用いた組み換えアデノウイルスを作成し、IPE 細胞に感染後、その視細胞保護効果を *in vitro* 及び *in vivo* で検討している。

方法は神経栄養因子である脳由来神経栄養因子 (brain derived neurotrophic factor ; BDNF), 毛様体由来神経栄養因子 (ciliary neurotrophic factor ; CNTF), Axokine の遺伝子組み換えアデノウイルスを作成し、それを導入した IPE 細胞をラット網膜下に移植し、1 週間の光障害の後、外顆粒層の厚さを測定し、視細胞保護効果で検討している。更に温度感受性抗原をもつ simian virus (SV) 40 large T antigen transgenic rat の視細胞を分離し、33°C で培養し、この細胞の細胞死を促す 37°C で血清を抜いた状態で培養し、遺伝子導入した IPE 細胞を共培養し、その保護効果も観察した。

その結果作成したアデノウイルスによって IPE 細胞の神経栄養因子の発現が高められることが確認し、SV 40 large T antigen transgenic rat の視細胞との共培養では、BDNF・Axokine 遺伝子導入 IPE 細胞にてコントロールに比べて有意に保護効果も示した。また、ラット網膜下への移植でも BDNF・Axokine 遺伝子導入 IPE 細胞を移植した網膜の外顆粒層がコントロールに比べて有意に厚く、視細胞保護効果があることが示唆された。これらの結果からアデノウイルスベクターを用いて神経栄養因子の導入をした IPE 細胞は視細胞保護効果を持つことが判明し、臨床応用に向け重要なデータとなった。指摘された論文の問題点も変更されており、博士論文として十分意義のあるものとなっている。