

---

 話 題
 

---

## 中枢神経系における遺伝子治療

京都大学脳神経外科 寶 子 丸 稔

中枢神経系における遺伝子治療には大きく分けて脳腫瘍を治療する為のものと失われた神経機能を回復させる為のものの2つがある。両者とも未だ臨床応用はなく動物実験の段階であるが、前者に関して言えば、発癌のメカニズムの解明の進展、系が単純であるということなどが幸いして臨床応用の一歩手前まで来ている。例えば、IL-7のcDNAを導入したグリオーマ細胞をマウスに移植すると、そのマウスにはもとのグリオーマ細胞に対して特異的な免疫反応が惹起されることが明かにされている<sup>1)</sup>。また、チミジンキナーゼのcDNAを含むレトロウィルスを産生する線維芽細胞を直接生体のグリオーマへ注入し、ganciclovirを投与すると腫瘍が消失したという報告がある<sup>2)</sup>。さらに、グリオーマへIGF-IアンチセンスcDNAを導入するとグリオーマはtumorigenicityを失うが、その細胞を生体に移植すると免疫原として働き、もとのグリオーマが免疫反応により消失したという報告がある<sup>3)</sup>。いずれも臨床応用までには克服すべき問題は多いが、動物実験のデータとしては問題なく今後の治療法として有望であると考えられる。

失われた神経機能を回復させるための遺伝子治療はまだ暗中模索の段階である。というのは、中枢神経系の発達の遺伝子レベルでの解析が数年前に始まったばかりであり、中枢神経系の機能を回復させるためにどの遺伝子进行操作したらよいのかあまり良くわかっていないからである。さらに、一番大きな問題は、良く知られていることであるが、哺乳動物の中枢神経系は一般的に再生しないことである。しかしながら、ある条件を与えると不十分ながらも再生することがわかってきた。例えば、ラットの視神経は一度障害されると再生しないが、視神経の切断端に坐骨神経を吻合し坐骨神経のもう一方の端を上丘に差し込むと一部の視神経線維が坐骨神経を通して再生し上丘のニューロンとシナプスを形成することが示された<sup>4)</sup>。坐骨神経は末梢神経であり、切断しても吻合すると神経線維が再生することが知られているが、これと同じ環境、即ち軸索が伸長するのに必要なneurotrophic factorやラミニンなどの細胞外マトリックスなどを与えてやると中枢神経系は不十分ながらも再生するものと考えられた。この結果に啓発されたかのようにneurotrophic factorを与えることによる中枢神経再生の研究がみられるようになってきた。遺伝子治療を軸にした中枢神経再生の研究の先駆けとなったのが、1988年のFred H Gageらによる報告である。Nerve Growth Factor (NGF)のcDNAを導入しNGFを産生するようにした線維芽細胞をfimbria-fornixを切断した部位に移植すると死滅するはずの中隔野のコリン作動性神経が生存し軸索を再生したと報告された<sup>5)</sup>。本研究はアルツハイマー病の治療の一つの示唆を与えるものとして注目されている。

Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)はNGFと類似の物質で網膜神経節細胞、黒質のドーパミン作動性神経などに生存維持作用があることが知られている。そこで我々は、Fred H Gageと同

MINORU HOSHIMARU: Gene Therapy in the CNS.

Instructor of Department of Neurosurgery.

Key words: Gene Therapy, CNS

索引語: 遺伝子治療, 中枢神経系

様の strategy を用いて障害された視神経を再生させるための実験を計画した。BDNF の cDNA を培養線維芽細胞 Rat 1 に導入し in vitro で Rat 1 培養細胞上での網膜切片からの神経線維の伸長の効果を見たところ、BDNF 産生 Rat 1 は通常の Rat 1 に比べ胎生期 E16-E19 の網膜切片に対して Thy 1 抗原陽性の神経線維の伸長を著明に促進した。しかしながら、E20 以後の網膜切片からの神経線維の伸長は認められなかった<sup>6)</sup>。この結果は BDNF 産生細胞が大人の網膜切片からの神経線維伸長を促進するのではないかという我々の期待を裏切るものであったが、以下の2点に工夫の余地があると考えている。第1点は、BDNF 産生細胞として fibroblast cell line である Rat 1 ではなく skin fibroblasts を用いることである。というのは、skin fibroblasts は脳に移植されると神経突起伸長のために適切な環境を作りだし、実際に NGF を産生する skin fibroblasts を移植すると astrocytes が導管の働きをして skin fibroblasts 内に軸索が再生してくると報告されているからである<sup>7)</sup>。第2点は、先に述べた坐骨神経移植と BDNF 産生細胞の移植を併用することである。これは BDNF 産生細胞により網膜神経節細胞の生存を図り、坐骨神経の導管のなかを通して神経線維を伸長させることを意図したものである。我々は以上のことを考慮に入れ、視神経再生を目的として現在実験を継続中である。

神経再生のための遺伝子治療は実験としてもまだ始まったばかりであり、上記のように neurotrophic factor を産生する細胞を移植し再生を促すのが主流であるが、この方法では神経細胞自身が障害されている場合には理論的に無効なので、今後、immortalized neuronal precursor cells の移植など神経細胞自身の再構築を試みる研究が進む可能性が大きい<sup>8)</sup>。

## 文 献

- 1) T Aoki, K Tashiro, S Miyatake, T Kinashi, T Nakano, Y Oda, H Kikuchi, T Honjo. Expression of murine interleukin 7 in a murine glioma cell line results in reduced tumorigenicity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3850-3854, 1992
- 2) KW Culver, Z Ram, S Wallbridge, H Ishii, EH Oldfield, RM Blaese. In vivo gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors. *Science* 256: 1550-1552, 1992
- 3) J Trojan, TR Johnson, SD Rudin, J Ilan, ML Tykocinski, J Ilan. Treatment and prevention of rat glioblastoma by immunogenic C6 cells expressing antisense insulin-like growth factor I RNA. *Science* 259: 94-97, 1993
- 4) M Vidal-Sanz, M Bray, MP Villegas-Perez, S Thanos, AJ Aguayo. Axonal regeneration and synapse formation in the superior colliculus by retinal ganglion cells in the adult rat. *J Neurosci* 7: 2894-2909, 1987
- 5) MB Rosenberg, T Friedmann, RC Robertson, M Tuszynski, JA Wolff, XO Breakefield, FH, Gage. Grafting genetically modified cells to the damaged brain: restorative effects of NGF expression. *Science* 242: 1575-1578, 1988
- 6) JB Takahashi, M Hoshimaru, H Kikuchi, M Hatanaka. Extension of optic nerve fibers on genetically modified cells producing brain-derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett* 149: 83-86, 1993
- 7) MD Kawaja, FH Gage. Reactive astrocytes are substrates for the growth of adult CNS axons in the presence of elevated levels of nerve growth factor. *Neuron* 7: 1019-1030, 1991
- 8) FH Gage. Repopulating the mortal brain with immortal cells. *Current Biology* 2: 232-234, 1992