The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	THE DEVELOPMENT AND THE PRACTICAL APPRECIATION OF NEURAL CELL-TYPE-SPECIFIC EXPRESSION SYSTEM WITH REPLICATION-DEFECTIVE ADENOVIRUS VECTORS
Author(s)	橋本, 光広
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3109898
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【21】

氏名	橋本光広（はしもと みつひろ）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 12329 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	THE DEVELOPMENT AND THE PRACTICAL APPRECIATION OF NEURAL CELL－TYPE－SPECIFIC EXPRESSION SYSTEM WITH REPLICATION－DEFECTIVE ADENOVIRUS VECTORS. （アデノウイルスベクターを用いた神経細胞型特異的遺伝子導入法の開発と応用）
論文審査委員	（主査） 教授 二井 將光 （副査） 教授 吉川 和明　教授 小倉 明彦 東京大学医科学研究所教授 御子柴克彦

論文内容の要旨

神経系の高次機能発現機構，発生・分化機構の解析には，神経系への効率良い遺伝子導入法を確立することが必要となる。しかし，発生・分化が完了し高次構造を形成している神経系に対する有効な遺伝子導入法はいまだ確立されていない。アデノウイルスベクターは発生・分化の終了した細胞への遺伝子導入が可能である。そこで，成熟した神経細胞への効率良い遺伝子導入法として，アデノウイルスベクターの研究開発を行った。高力価（10^{11} P. F. U.／ml）のアデノウイルスベクターを調製し *in vitro* で神経系細胞に感染させたところ，ほぼ100％の細胞に遺伝子が導入された。アデノウイルスベクターは神経系において広い感染域を持ち，ニューロン，グリア並びに，ニューロンのサブタイプを問わず感染することを明らかにした。

神経細胞は多種多様に分化しており，その発生・分化機構も細胞型によって異なっている。そこでアデノウイルスベクターを用いて成熟した神経細胞の細胞型特異的に遺伝子を発現させる方法の確立を試みた。小脳のプルキンエ細胞特異的に発現しているL 7／PCP 2 のプロモーター，オリゴデンドロサイト特異的に発現しているミエリン塩基性蛋白質（MBP）のプロモーターそして，グリア細胞特異的に発現しているグリア線維性塩基性蛋白質（GFAP）のプロモーターの支配下に lasZ 遺伝子を発現させる組み換えアデノウイルス，それぞれ AdexL 7 －NL－LacZ，AdexMBP－NL－LacZ，そして AdexGFAP－NL－LacZ を作製した。*in vitro* ならびに *in vivo* において，AdexL 7 －NL－LacZ は小脳プルキンエ細胞のみ，AdexMBP－NL－LacZ はオリゴデンドロサイト，そして AdexGFAP－NL－LacZ はグリア細胞に特異的に LacZ 遺伝子を発現させた。このように，アデノウイルスベクターと細胞型特異的プロモーターを用いることによって，*in vitro* ならびに *in vivo* における非常に高い神経細胞型特異的な遺伝子導入法を確立することができた。アデノウイルスベクターを用いた神経細胞への遺伝子導入の応用として，電気生理的な解析が可能な小脳のスライス培養への遺伝子導入を試みた。これは，神経系の高次機能発現機構（神経情報伝達機構，記憶等）の解析に大変有用であると思われる。また，組み換えアデノウイルスベクターは，神経疾患の治療への応用が可能であり，現在，GFAP プロモーターの支配下に Human Tyrosine Hydroxylase type 1 を発現する組み換えアデノウイルスベクター（AdexGFAPhTH 1 ）を作製し，パーキンソン病の遺伝子治療の基礎研究を行っている。

論文審査の結果の要旨

非増殖型アデノウイルスベクターと神経細胞型特異的プロモーターを用いて，*in vitro* ならびに *in vivo* における神経細胞型特異的な遺伝子導入法を確立した。さらにこの技術の応用として，神経疾患であるパーキンソン病の遺伝子治療の基礎研究を行った。以上の成果は博士（理学）の学位論文として，十分価値あるものと認める。