



Title	Distribution of nerve growth factor in cat brains following topical application of solution or Minipellet
Author(s)	竹本, 理
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41251
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	たけもと おさむ 竹 本 理
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 0 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 4 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Distribution of nerve growth factor in cat brains following topical application of solution or Minipellet. (脳内局所投与における神経成長因子の脳内分布に関する実験的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 早川 徹 教 授 門田 守人 (副査) 教 授 柳原 武彦 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

神経栄養因子は各種神経損傷に対して神経保護作用を有することより、治療的応用が期待される。しかし、神経栄養因子はいずれも分子量が大きく血液脳関門を通過しがたいためその投与法が大きな問題となっている。これを解決する方法の一つとして、脳実質内あるいは脳室内への直接的投与法が考えられる。教室の一連の研究で、砂ネズミの一侧海馬に神経成長因子 (NGF) 含有ミニペレットを植え込むと、NGF が両側大脳半球に広く分布することが明らかとなった。そこで、臨床的応用のためには、脳内局所投与された NGF の薬物動態を更に詳細に検討することが必要と考えられたので、ネコを用いて NGF の脳内投与後の脳および髄液内の分布変動を観察した。

【方法ならびに成績】

A. (1) NGF 含有ミニペレット

NGF の局所投与には教室で開発された植え込み型 NGF コントロールデリバリーシステムを用いた。すなわち、組織吸収性で非抗原性のアテロコラーゲンを用いて 200 μg のマウス 2.5 S β -NGF を含有した直径 0.9 mm, 長さ 5 mm のミニペレットを作成し (NGF ミニペレット), 実験に供した。本ミニペレットを用いることにより NGF が持続的に長時間にわたり徐放されることが明らかにされている。対照として、NGF を含まないプラセボミニペレットを用いた。

(2) NGF 溶液

ミニペレット法と比較のため同じ NGF を生理食塩水に溶解し (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) NGF 溶液としたものを用いた。この対照としては、生理食塩水を用いた。

なお、正常無処置動物を正常対照群として用いた。

B. 脳内局所投与法

ペントバルビタール麻酔下に定位的脳手術装置を用いて動物の頭部を固定し 16G の先端鈍のエラスト針を通して

右尾状核 (CN) に NGF 含有あるいはプラセボミニペレットを植え込み、それぞれ、NGF ミニペレット群、プラセボミニペレット群とした。また、同様の操作で溶液200 μ l を10秒かけて注入し、それぞれ NGF 溶液群、生理食塩水群とした。

C. NGF 脳および髄液内分布の観察

脳内局所投与後6時間、1, 3, 6, 10, 14日目にペントバルビタール麻酔下に動物を屠殺し、両側の前シルビウス回 (ASG), CN, 小脳半球 (CBH) および髄液中の NGF 濃度を ELISA 法により測定した。本法の最低測定限界は、10 pg/ml である。各群各時点で、2～4匹の実験を行い、計52匹のネコを使用した。

D. 成績

正常対照群の脳組織 NGF 濃度は CN で 0.05 ± 0.02 ng/g (平均 $\pm$ 標準誤差), ASG で 0.14 ± 0.01 ng/g であった。NGF 溶液群の各部位の NGF 濃度は注入6時間後の最高値 [124.0 (左 CN) $\sim$ 2144.0 (右 CN) ng/g] より急速に減少し、6日後には極めて低値となった [0.09 (左 CN) $\sim$ 1.44 (右 CN) ng/g]。髄液中の NGF 濃度も6時間後の最高値 (4280.0 ± 0.16 ng/ml) より、急速に減少し、6日後には極く低値となった (0.04 ng/ml)。生理食塩水群では、NGF 濃度は変化しなかった。NGF ミニペレット群では、植え込み6時間後から高値 [4.98 (右 ASG) $\sim$ 62.90 (右 CN) ng/g] を示し、24時間後に最高値 [11.22 (左 ASG) $\sim$ 72.04 (右 CN) ng/g] に達した。その後、NGF 濃度は徐々に低下したが14日後でも右 ASG, 右 CN などで高値を示した (1.22 $\sim$ 2.16 ng/g)。髄液中の NGF 値は投与3日後に最高値を示し (3.01 ng/ml)、以後低下した。プラセボミニペレット群では、NGF 濃度は変化しなかった。組織内 NGF 半減期は、NGF 溶液群では2.1 $\sim$ 6.1時間、NGF ミニペレット群では40.1 $\sim$ 96.7時間、髄液中半減期は、それぞれ1.7および70.3時間であった。

【総括】

神経栄養因子の治療効果を期待するには神経組織内で有効濃度を一定期間持続させる必要がある。この点、開発された NGF 徐放性デリバリーシステムのミニペレットを用いると NGF が脳内広範囲に分布し、長時間高濃度が維持されることが明らかになり、臨床応用への可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

神経栄養因子は、基礎実験レベルで神経細胞の維持や変性の防止、障害の予防効果などが次々に明らかにされてきた。私どもの研究グループでは、NGF (神経成長因子) を含有するミニペレットを局所投与することにより、砂ネズミ海馬の遅発性神経細胞死を防止できることをすでに明らかにした。そこで、その作用機序を明らかにするため局所投与後の NGF の薬物動態を検討した。

実験動物としては従来頻用されているラットなどの小動物にかわり、よりヒトに近い脳構造をもつ中型動物であるネコ脳を用い、NGF をミニペレットに含有させて尾状核局所に投与したり、NGF 溶液を注入した後の脳内各部位の NGF 濃度の時間的变化を詳細に検討した。その結果、ミニペレット法にて投与した場合、NGF は投与早期から脳内に広く分布し、かつ1～2週間にわたり高濃度が維持されることが明らかになった。

本研究の結果は、脳虚血における NGF の遅発性神経細胞死の防止機序を示唆するとともに、近年、臨床的にも試用されつつある各種神経疾患に対する神経栄養因子を用いた治療法の開発にも有用な情報を提供するものであり、学位に値する研究と考える。