



Title	脳由来神経栄養因子（BDNF）の成熟ラット運動神経細胞に対する作用
Author(s)	岸野, 晶祥
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44428
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、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	岸 野 晶 祥
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 3 2 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 10 月 18 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	脳由来神経栄養因子 (BDNF) の成熟ラット運動神経細胞に対する作用
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 柳 田 敏 雄 (副査) 教 授 村 上 富 士 夫 教 授 山 本 亘 彦

論 文 内 容 の 要 旨

神経栄養因子の一つ BDNF は、運動神経に強い保護作用を持つ。これより、米国において筋萎縮性脊索硬化症 (ALS) に対する臨床応用が行われていたが、成熟動物に対する作用検討は十分ではなかった。本研究では、日本における臨床応用のために、成熟ラットを用い、BDNF の運動神経に対する作用を詳細に検討し、以下の結果を得た。

1. 成熟ラットの運動神経細胞死モデルである神経根引き抜きモデルにおいて、髄腔内 BDNF 投与の作用を検討した。その結果、BDNF は運動神経の細胞死を抑制し、神経伝達物質代謝酵素の低下を抑制した。また、傷害細胞からの軸索再伸長を誘導することが初めて示された。さらに、BDNF を遅らせて投与しても、その後の細胞死を抑制し、神経伝達物質代謝酵素の再産生を誘導する回復作用が初めて示された。また、これらの作用は非常に低用量で発現することが分かった。本実験は、成熟運動神経に対する BDNF の作用を 1 つの傷害モデルで総合的に検討したものであり、得られた結果は、成熟運動神経に対する BDNF の強い保護作用、回復作用を示すものであった。

2. 神経切断モデルにおいて、臨床投与方法である皮下投与による BDNF の作用と、血中動態の関係を検討した。その結果、投与量に依存した血中 BDNF 濃度の上昇と、運動神経保護作用の上昇が示された。また、神経保護作用発現時の血中動態パラメーターの値を得た。これは、臨床開発に不可欠な血中動態と薬効の関係を検討した初めての例で、皮下投与 BDNF の薬効発現に BDNF 血中動態が関与する可能性を強く示唆するものである。

3. 皮下投与 BDNF の脊髄運動神経への輸送、細胞の活性化を免疫染色を用いて検討した。その結果、傷害モデル、および健常ラットにおいても、皮下投与 BDNF が、逆行性軸索輸送で脊髄運動神経細胞体に運ばれ、これを活性化することが示された。これは、皮下投与で、BBB を通らない蛋白である BDNF が実際に、生理的な経路により中枢運動神経に直接作用することを示し、臨床における投与方法の妥当性を示唆するものである。

これらの実験で得られた結果はいずれも、BDNF の運動神経に対する強い保護作用を示すものであり、ヒトの運動変性疾患への応用の根拠となるものであった。

論文審査の結果の要旨

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は神経細胞の増殖、分化、神経回路の形成、再生に重要な役割を果たす生理活性物質である。特に運動神経に対し強い保護作用を持つことが知られており、人の運動神経変性疾患への臨床応用が期待されている。米国においては既に筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に対する臨床試験が開始されていたが、日本での申請に必要な薬理作用的検討、作用機序検討は十分でなかった。本研究は、臨床応用に必要な BDNF の成熟運動神経に対する作用検討、皮下投与時の作用機序の解明を目的としている。本論文では、第一に、成熟ラットを用いた運動神経の細胞死に対する薬剤の新しい評価系を確立し、脊髄運動神経の細胞死に対する BDNF の作用や詳細に検討した。その結果、BDNF が成熟運動神経に対しても、細胞死の抑制や酵素の維持、神経軸索の再伸長作用などを持つことを明らかにした。加えて、BDNF を傷害から遅らせて投与した場合でも、障害からの回復作用を有することを初めて示すことに成功している。第2に、臨床での投与方法である皮下投与で BDNF を投与した場合の BDNF の血中濃度と脊髄運動神経の保護作用との相関を検討している。血中濃度の検討は臨床応用には不可欠であるが、神経栄養因子では、このような検討は初の試みである。得られた結果は、BDNF の血中濃度と運動神経への作用は相関しており、血中濃度モニターは臨床試験においても重要であることを示すものであった。最後に、皮下投与された BDNF が実際に脊髄運動神経に取り込まれ、これに直接作用するかどうかを検討している。BDNF はタンパク質であり、血液-脳関門を通過しない。BDNF の取り込みを確認することは、臨床応用では不可欠である。このような実験では RI を用いることが常法であるが、RI の使用は実験的な制約が多い。本実験では、免疫染色による新しい手法を確立し、BDNF の輸送を詳細に検討した。BDNF 抗体および細胞内シグナル蛋白の抗体による染色で、皮下投与した BDNF が脊髄内の運動神経に取り込まれること、それにより、運動神経細胞が活性化することを示すことに成功している。これらの結果は、ALS に対する BDNF の治療薬としての高いポテンシャルを示すものであり、今後、他の運動神経変性疾患を始めとする数々の神経疾患への臨床応用を期待させるものである。また、*in vivo* における神経栄養因子の基礎研究にも貢献するものである。これらより、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値のあるものと認める。