



Title	Alleviation of A $\beta$ -induced Cognitive Impairment by Ultrasound-mediated Gene Transfer of HGF in Mouse Model
Author(s)	竹内, 大亮
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49045">https://hdl.handle.net/11094/49045</a>
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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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	竹内 大亮
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 21813 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Alleviation of A $\beta$ -induced Cognitive Impairment by Ultrasound-mediated Gene Transfer of HGF in Mouse Model (超音波を用いた肝細胞増殖因子遺伝子導入はマウスにおけるベータ・アミロイド起因性認知機能障害を改善する)
論文審査委員	(主査) 教授 楽木 宏実  (副査) 教授 武田 雅俊 教授 中村 敏一

### 論文内容の要旨

#### [ 目的 ]

アルツハイマー病 (AD) は高齢者における認知症の原因疾患として最も多く約半数を占める。AD の病理学的特徴はベータ・アミロイド ( $A\beta$ ) を主成分とする老人斑の存在、神経原線維変化、神経細胞の脱落であり、老人斑に存在する  $A\beta$  が AD の病態における中心的な役割を果たしているとするアミロイド仮説に基づいた治療研究が行われている。また、AD モデルマウスでの脳血管異常、 $A\beta$  の血管新生阻害作用が報告されている。そこで我々は、血管新生作用、神経細胞保護作用を持つ肝細胞増殖因子 (HGF) に着目し、マウスにおける  $A\beta$  起因性認知機能障害に対する効果を検討した。

#### [ 方法ならびに成績 ]

6 ~ 8 週齢のオスの ddY マウスの側脳室に  $A\beta$  (1-40) を投与する認知機能障害モデルを用いた。対照として  $A\beta$  (1-40) の逆配列蛋白である  $A\beta$  (40-1) を投与した群を用いた。 $A\beta$  投与 2 週間後に human HGF cDNA とマイクロバブルを混合し側脳室に投与、直後に超音波を照射する超音波遺伝子導入法で遺伝子導入を行った。対照群として Vector を投与した。HGF 遺伝子の導入効率について ELISA、real-time RT-PCR を用いて検討したところ、human HGF 遺伝子導入群では human HGF 蛋白、human HGF mRNA の発現が認められた。既存の報告に human HGF 遺伝子導入により rat HGF の発現上昇があり、mouse HGF について確認したところ、mouse HGF についても蛋白、mRNA レベルでの発現上昇が認められた。HGF の受容体である cMet についても mRNA レベルでの発現上昇を認めた。遺伝子投与 1 週間後に Y-maze test、Water finding task の 2 種類の行動試験を施行し認知機能評価を行ったところ、 $A\beta$  (1-40) 投与群において認知機能障害を認め、HGF 遺伝子導入群ではいずれの行動試験でも認知機能の改善を認めた。認知機能改善のメカニズムを解明するために FITC-albumin による脳血管系評価、DHE 染色による海馬歯状回の酸化ストレス評価、Choline acetyltransferase (ChAT) 染色によるコリン作動性ニューロンの評価、synaptophysin 染色によるシナプスの評価を行った。HGF 遺伝子導入群では両側海馬歯状回の血管床の回復、酸化ストレスの減少が認められた。ChAT 染色においてコリン作動性ニューロンの数に両群間で差は認められなかつたが、

synaptophysin 染色では HGF 遺伝子導入群で synaptophysin 陽性顆粒の増加を認めた。次に我々は HGF と BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) について比較検討を行った。BDNF はその多型がエピソード記憶、海馬機能に関与している神経栄養因子である。HGF と同様に BDNF cDNA を超音波遺伝子導入法で遺伝子導入し、行動試験で比較検討したところ、HGF 遺伝子導入群では Y-maze test、Water finding task 両行動試験で認知機能障害の改善を認めたのに対し、BDNF 遺伝子導入群では Water finding task で改善を認めたものの、Y-maze test では有意な改善を認めなかつた。BDNF の発現確認のため ELISA、real-time RT-PCR を行ったところ、BDNF 遺伝子導入群のみならず、HGF 遺伝子導入群においても BDNF の蛋白、mRNA レベルでの発現上昇を認めた。

#### [ 総括 ]

HGF 遺伝子導入は海馬歯状回の血管床の回復、BDNF の発現上昇、酸化ストレスの減少、シナプスの活性化によりマウスにおける  $\text{A}\beta$  による認知機能障害を改善することが示された。HGF 遺伝子導入群では Y-maze test、Water finding task ともに認知機能改善を認めたのに対し BDNF 遺伝子導入群では Water finding task で認知機能改善を認めたものの、Y-maze test では改善を認めなかつた。このことは HGF が BDNF を介さない認知機能改善効果を有することを示唆する。以上の結果から、アルツハイマー病に対しての HGF 遺伝子治療、もしくは HGF を増加させる治療法の可能性が示唆された。さらに  $\text{A}\beta$  をターゲットとした治療法との組み合わせによる治療戦略の可能性も示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は、アルツハイマー病の原因物質とされているベータ・アミロイド ( $\text{A}\beta$ ) により認知機能障害が惹起されるモデルマウスに対し、肝細胞増殖因子 (HGF) の治療効果を検討した。本研究では  $\text{A}\beta$  投与により引き起こされた脳血管床の減少・酸化ストレスの増大を HGF が改善させ、シナプス活性を増強していることを証明した。さらに、HGF が神経栄養因子のひとつである BDNF の発現を上昇させることを新たに発見したことは意義深い。行動試験において HGF が  $\text{A}\beta$  により惹起される認知機能障害を改善させることも確認しており、表現型としても改善を示すことが証明された。また、BDNF 遺伝子導入群と、HGF 遺伝子導入群との認知機能評価の比較から、BDNF を介さない HGF の認知機能障害改善の存在を示唆している。この結果から、アルツハイマー病に対しての HGF 遺伝子治療、もしくは HGF を増加させるという新しい治療法の可能性が示唆された。以上の結果から本研究は博士（医学）の学位授与に値すると考える。