

アデノウイルスベクターをによる
損傷に起因する神経細胞死防御

(10470001)

平成10年度～平成12年度科学研究費補助金
(基盤B2一般) 研究成果報告書

平成13年1月

研究代表者 木山 博資

(旭川医科大学医学部教授)

はしがき

本報告書は平成10年度から平成12年度に渡って研究代表者：木山博資（旭川医科大学教授）らのグループが研究課題「アデノウイルスベクターを用いた損傷に起因する神経細胞死防御」の研究のために受領した文部省科学研究費補助金（基盤B一般）によって行われた研究の報告である。

幼若な運動ニューロンは神経軸索の損傷によって細胞死にいたってしまう。この分子メカニズムは未だわかっていないが、この損傷に起因する神経細胞死を防ぐ方法を明らかにすることが社会的緊急課題であることは間違いない。本研究の第一の目的は損傷に起因する神経細胞死から神経細胞を守るため、アデノウイルスによる損傷神経細胞へ特異的遺伝子導入の手法を確立することにあつた。さらに確立された手法をもとに、損傷に起因する神経細胞死の分子メカニズムを解明することにある。加えて、本方法による将来的な遺伝子治療の可能性を示すことが最終的な目標である。本研究で我々は、神経損傷関連遺伝子の探索を行いながら、アデノウイルスベクターを用いた損傷神経特異的遺伝子導入法の方法の確立を行った。また、得られた遺伝子導入法を用いることにより、多くの遺伝子の神経再生における機能的意義に迫ることができた。さらに、本来神経細胞死に向かう損傷運動ニューロンに特定の遺伝子を発現させることにより、細胞死を回避させることにも成功した。今後は、本研究で得られた結果をもとに、さらにいくつかの遺伝子の神経再生における機能を解析するとともに、神経再生の分子メカニズムの全貌の解明に向けて研究を展開してゆきたい。また、本研究から、遺伝子治療の可能性が見えてきたが、特定の標的神経細胞にのみ遺伝子を発現させる遺伝子発現システムの必要性を痛感した。この問題点についても、今後の研究により何らかの解決を見いだすべく研究を継続してゆきたい。

研究組織

研究代表者： 木山 博資 （旭川医科大学医学部教授）

研究経費

平成10年度	7,800千円
平成11年度	3,900千円
平成12年度	3,300千円
計	20,000千円

研究発表

(1) 学会誌等

Toki H, Namikawa K, Su Q, Kiryu-Seo S, Sato K, Kiyama H (1998) Enhancement of extracellular glutamate scavenge system in injured motoneurons. *J. Neurochem.* 71:913-919.

Namikawa K, Su Q, Kiryu S, Kiyama H (1998) Enhanced expression of Raf-1 activator, 14-3-3, in injured motoneurons. *Mol. Brain Res.* 55: 315-320.

Mansur K, Iwahashi Y, Kiryu-Seo S, Su Q, Namikawa K, Yodoi J, Kiyama H (1998) Up-regulation of thioredoxin in motor neurons after nerve injury. *Mol. Brain Res.* 62: 86-91.

Tsujino H, Mansur K, Kiryu-Seo S, Namikawa K, Kitahara T, Tanabe K, Ochi T, Kiyama H (1999) Discordant expression of c-Ret and GDNF receptor alpha-1 mRNAs in response to motor nerve injury in neonate rats. *Mol. Brain Res.* 70:298-303

Nakagomi S, Kiryu-Seo S, Kimoto M, Emson PC, Kiyama H (1999) Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) as a nerve injury associated molecule: The mRNA localization in the rat brain and its coincident up-regulation with neuronal NO synthase (nNOS) in axotomized motor neurons. *Eur. J. Neurosci.* 11:2160-2166.

Tanabe K, Nakagomi S, Kiryu-Seo S, Namikawa K, Imai Y, Ochi T, Tohyama M, Kiyama H (1999) Expressed-sequence-tag approach to identify differentially expressed genes following peripheral nerve axotomy. *Mol. Brain Res.* 64:34-40.

Matsuzaki H, Tamatani M, Mitsuda N, Namikawa K, Kiyama H, Miyake S, Tohyama M (1999) Activation of Akt kinase inhibits apoptosis and changes in Bcl-2 and Bax expression induced by nitric oxide in primary hippocampal neurons. *J. Neurochem* 73:2037-2046

Tanabe K, Tachibana T, Yamashita T, Che YH, Yoneda Y, Ochi T, Tohyama M, Yoshikawa T, Kiyama H (2000) The small GTP-binding protein TC10 promotes growth cone-like formation and nerve elongation in neuronal cells, and its expression is induced during nerve regeneration in rats. *J. Neurosci.* 20:4138-4144.

Namikawa K, Honma M, Abe K, Takeda M, Mansur K, Obata t, Miwa A, Okado H, Kiyama H (2000) Akt / Protein kinase B prevents injury-induced motor neuron death and accelerates axonal regeneration. *J. Neurosci.* 20:2875-2886.

Takano R, Hisahara S, Namikawa K, Kiyama H, Okano H, Miura M (2000) Nerve growth factor protects oligodendrocytes from TNF- α -induced injury through Akt-mediated signaling mechanisms. *J Biol Chem* 275:16360-16365

Yamaguchi A, Tamatani M, Matsuzaki H, Namikawa K, Kiyama H, Vitek MP, Mitsuda N, Tohyama M (2000) Akt activation protects hippocampal neurons from apoptosis by inhibiting transcriptional activity of p53. *J Biol Chem* in press