

基因治療

巴金森治療新展望

文／林靜嫻、吳瑞美 台大醫院神經部

參考資料：

1. During MJ, Kaplitt MG, Stern MB, Eidelberg D. Subthalamic GAD gene transfer in Parkinson disease patients who are candidates for deep brain stimulation. Hum Gene Ther 2001;12: 1589-1591.
2. Burton EA, Glorioso JC and Fink DJ. Gene therapy progress and prospects: Parkinson's disease. Gene Ther 2003; 10:1721-1727.
3. Feany MB, Bender WW. A Drosophila model of Parkinson's disease. Nature 2000; 404: 394-398.
4. Auluck PK et al. Chaperone suppression of alpha-synuclein toxicity in a Drosophila model for Parkinson's disease. Science 2002; 295: 865-868.

自從人類基因序列藍圖於2001年面世後，彷彿也為疾病治療加開了一扇窗。許多疾病紛紛在基因治療領域透露新曙光，特別是與遺傳相關的疾病。

根據統計，巴金森患者中約有5~10%有家族遺傳史，醫界循此發現若干巴金森與基因的關係，並展開基因治療的研究。本文整理近年來若干有關巴金森基因治療的重要動物實驗，相信讀者能從中感受值得期待的治療契機。

在各國科學家傾全力合作下，人類基因序列藍圖終在2001年面世。這項人類科學史上的偉大工程，為許多深受先天基因缺損所苦的患者帶來一線治療曙光；許多過去在醫學上束手無策的病症，未來可望藉由修補缺損的基因，來達到治療目的。

治療首例成功 振奮醫界

第一個基因治療的人體試驗，是在1990年時，由美國Blaese醫師及其團隊成功地運用於一名有嚴重免疫缺陷疾病——去胺基腺苷酸缺損症（adenosine deaminase deficiency，簡稱ADA）的病童身上。在這項試驗中，研究人員巧妙地將正常的去胺基腺苷酸基因植入患者的淋巴球中，完成了人類醫學史上基因治療的首例。

自此之後，各國掀起基因治療研究熱潮，迄今全球已有3千多人接受過基因治療的臨

床試驗，這些研究主要鎖定癌症、心血管疾病、糖尿病、B型肝炎、高血壓及關節炎等病症，其中癌症以及遺傳性疾病便佔了八成以上。

破解致病機轉 巴病治療展新機

有關神經退化性疾病的基因治療研究，在近10餘年來也逐漸獲得重視。目前國內外有不少醫學團隊積極投入此一領域之鑽研，期盼能盡早為患者帶來振奮人心的突破性研究成果。

以巴金森病為例，患者中約有5-10%有家族遺傳史。自1997年之後，醫學界證實 α -synuclein基因突變會導致顯性遺傳的巴金森病。緊接著，1998年更發現Parkin基因是導致隱性遺傳及年輕型巴金森病患（發病年齡小於50歲）的重要致病基因。2008年又陸續發現LRRK2基因有東、西方種族的表現差異；在我們亞洲人中，LRRK2 G2385R基因多型性是得此病的危險因子，帶有此基因變異者將會比未帶有此基因變異者增加得病的風險2倍。這些基因的發現，幫助學者對巴金森病的致病機轉有更進一步的了解，同時也提供了可能的治療新契機。

自西元2000年之後，陸續有許多醫療團隊針對巴金森病進行基因治療的動物實驗，以下分類整理了2000年至2003年間有關巴金森氏病基因治療的重要動物實驗，並將其基因轉植影響的巴病致病機轉標的步驟則匯整於

什麼是「基因治療」？

基因治療 (gene therapy) 簡單的說就是把基因當做藥物來治療疾病。通常在基因治療過程中，需要有「載體」，能將外界的正常基因或治療基因傳送到人體的「標的細胞」，以矯正人體某些結構或功能有缺陷的基因，使基因的異常表現能夠被抑制或終結。因此基因治療往往需要運用到遺傳工程技術，使外源基因不只能送入病人體內，還要能在細胞DNA的層次上，對疾病進行根本性的治療。



文末圖示，以供讀者了解相關研究的發現與進展。

類型 1.

以基因轉殖方式轉殖入抑制細胞凋亡因子，可抑制多巴胺神經元之凋亡

1. Fink等人利用非複製型單純性疱疹病毒將可抑制細胞凋亡作用的Bcl-2 DNA序列轉殖入老鼠黑質中，之後再注入神經毒素6-OHDA，結果發現這種方式可保護老鼠的多巴胺神經元免於凋亡。

2. Crocker等人於2001年將人類神經凋亡抑制蛋白 (NAIP) 利用基因重組第5型腺病毒載體轉殖入老鼠黑質中；一星期之後再注入神經毒素6-OHDA。28天之後，以免疫螢光法發現黑質中的左多巴濃度並沒有減少，臨床上也沒有動作遲緩的表現。

3. Mochizuki等人於2001年時，將某種抗細胞凋亡因子的產物（凋亡性第一型蛋白活化酶因子所支配的反效應）藉由聯合腺病毒載體轉殖入老鼠腦中一側的黑質中；二星期後在老鼠腹腔中注入具神經毒性的MPTP；再經一星期後，發現多巴胺神經元的存活率在有做基因轉殖那側的腦黑質中為75%，而在未接受基因轉殖的對側則為25%。但值得注意的是，目前還不清楚腦神經長期暴露在抗凋亡因子的環境之下會有什麼副作用；此外，有些抗凋亡因子是原始致癌基因的產物，因此，抑制細胞凋亡的治療方法是否安全，仍有待評估。

類型 2.

促神經生長因子 (GDNF) 之基因轉殖可防止初期巴金森病的惡化，甚至可恢復神經細胞的功能

由神經膠細胞所衍生的促神經生長因子 (GDNF) 在多巴胺神經細胞培養中，具有營養細胞的作用；在有毒的環境下，則可保護多巴胺神經細胞的生存。因此，GDNF被視為是一種神經元保護物質。

目前已有許多研究團隊利用不同的載體，例如慢性病毒、腺病毒、聯合腺病毒及單純性疱疹病毒等，將GDNF轉殖入老鼠基底核或是黑質中，結果發現被植入的神經元會將GDNF主動運輸到神經末梢，使遭注射神經毒害物質6-OHDA或MPTP的實驗動物，其腦中多巴胺神經細胞仍能順利存活。

然而，有一些接受促神經生長因子轉殖的6-OHDA老鼠，經轉殖9個月後，其多巴胺神經元的活性逐漸降低，老鼠也開始出現一些不自主的運動。這些現象是否與GDNF的轉殖有關，是否為轉殖的副作用，有待進一步證實。

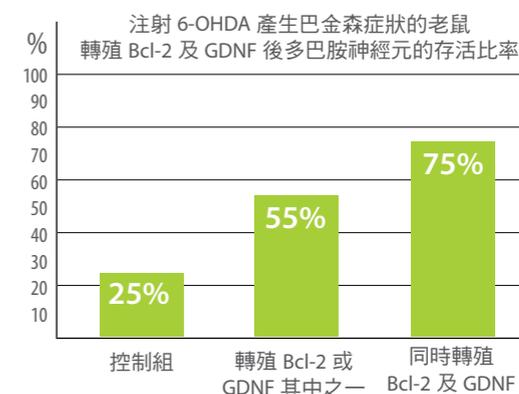
類型 3.

結合抗凋亡及促神經生長因子 (GDNF) 基因治療，可保護多巴胺神經元對抗神經毒素，效果優於單一介入

以MPTP產生巴金森症狀的老鼠，利用腺病毒為載體，分別將抗凋亡的X-聯合抑制元 (X-linked inhibitor of apoptosis, 簡稱XIAP) 及GDNF轉殖入其腦部黑質中，結果發現對左多巴胺神經元功能的恢復有協同作

用，比單獨用只以GDNF轉殖的效果更佳。

另一實驗中，經注射6-OHDA產生巴金森症狀的老鼠，轉殖入可抑制細胞凋亡作用的Bcl-2 DNA序列及促神經生長因子 (GDNF) 基因。結果發現，只用Bcl-2或GDNF其中之一處理過的老鼠，多巴胺神經元存活的比率是55%；控制組是25%；兩者皆植入的則為75%；證明合併使用抗凋亡及GDNF基因治療有加乘作用。



類型 4.

研究發現：視丘下核神經元的 GABA 物質可改善行為表現，且可能有神經保護的作用

在巴金森病的不正常「紋狀體－視丘－皮質」迴路中，其一即為視丘下核的神經元過度活化，使蒼白球內側部及網狀黑質部對下游的腦幹抑制增強，間接使得動作皮質區控制的自主動作減少，因而產生動作遲緩的情形。

視丘下核神經元的GABA是一種抑制性神經傳導物質。Luo J. 等人在2002年將一種能產生GABA的速率決定酵素「麩胺酸去甲基碳酸基酶」轉殖入老鼠的視丘下核神經元，之後再刺激此神經元；結果發現，視丘下核對幅射黑質的抑制作用增加了，間接對「視丘－皮質」的抑制減少了；除此之外，也意外發現轉殖甲基碳酸基酶轉殖後，竟產生保護多巴胺神經元免於6-OHDA神經毒性的作用。

類型 5.

將合成多巴胺相關酵素的轉殖基因送進紋狀體可促進多巴胺的生成

巴金森病的藥物治療原則是補充欠缺的左多巴或是直接給予多巴胺受體促效劑，所以巴病初期的基因治療都是朝向多巴胺製造過程的酵素補充，使患病鼠隻的動作獲得改善，此部分已獲得許多實驗結果的支持。

目前正在進行的則是同時轉殖多種多巴胺合成過程所需的酵素，特別是酪胺酸水合酶（tyrosine hydroxylase，簡稱TH）及芳香族去甲基酶（aromatic acid decarboxylase，簡稱AADC）。在眾多相關實驗中已發現，同時轉殖多種酵素的結果，黑質以及紋狀體中的多巴胺濃度皆有相當程度的增加，患鼠的肢體動作也獲得改善。

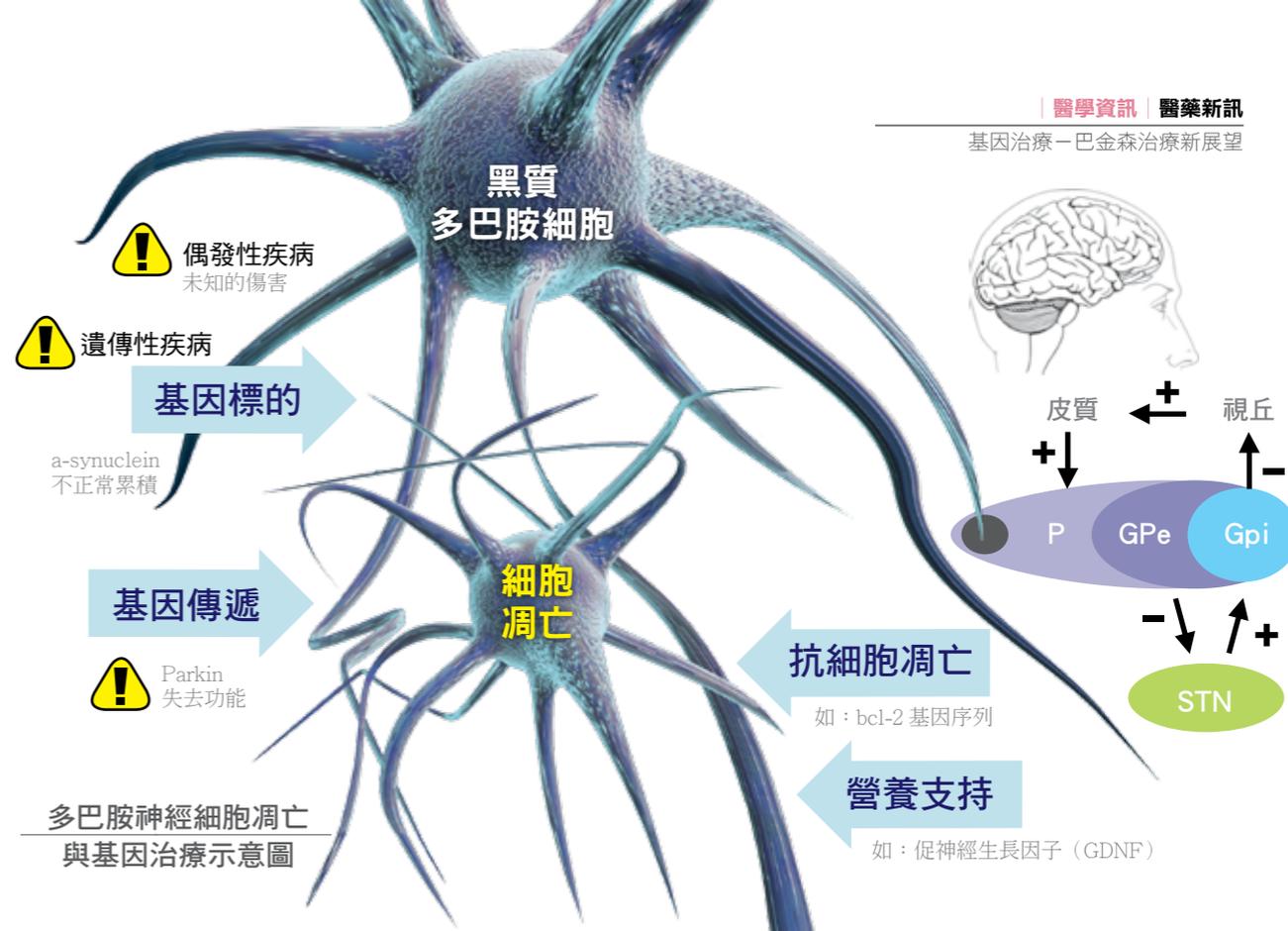
不過，目前已知長期的多巴胺治療會導致巴金森患者產生一些副作用，包括藥物波動現象及異動症。因此，以上這種讓紋狀體長期接觸非生理性多巴胺的療法是否會發生類似的副作用，有待觀察。

實驗鼠如何產生巴金森症狀？

在巴金森症動物實驗中，研究人員常使用6-OHDA或MPTP等，來使實驗動物產生類似人類巴金森症的情況。

事實上，6-OHDA是一種對神經元有高度專一性的神經毒素。由於在活體內無法通過血腦屏障，研究人員為了建立動物模式以觀察實驗變化，故常須將6-OHDA直接注射至動物腦中的紋狀體、黑質或內側前腦束中，以破壞黑質多巴胺神經元，使紋狀體中多巴胺的釋放大量減少，因而產生類似人類巴金森病的症狀。

MPTP則是一種有毒化合物，在大腦中會轉化成對神經元有害的物質（名為MPP+），使實驗動物快速產生巴金森症狀。



多巴胺神經細胞凋亡與基因治療示意圖

類型 6.

藉由Nurr-1的轉殖誘發幹細胞分化為功能性多巴胺

Nurr-1是一種和腦部多巴胺神經元的發育密切相關的無配位體核受體。Kim JL以及Bjorklund等人的研究團隊利用轉殖Nurr-1基因片段到幹細胞中，誘使幹細胞分化為多巴胺神經元，之後再將這些細胞植入老鼠黑質中，可成功的增加病鼠腦中多巴胺的濃度，並改善肢體動作。

人體實驗及未來展望

截至目前為止，全球醫界已有數個團隊完成巴金森病的人體基因治療。

During MJ等人在2001年發表於《人類基因治療》（Human Gene Therapy）期刊上的非隨機、非雙盲研究中，共收集了12個巴金森病患，將GAD基因利用聯合腺病毒載體轉殖入病人視丘下核中，之後評估病人的臨床症狀並做正子射出斷層掃描（PET）。結果發現，12個病人都有不錯的療效，沒有病人出現嚴重副作用。

巴金森病的致病機轉至今尚未完全明朗，症狀出現前的診斷技術也還未成熟。此外，現今的試驗都著眼於病患的動作障礙，其他非運動症狀如：自主神經功能障礙、高階皮質功能的退化以及情緒的改變等，皆尚未著墨，這些都是將來需要重視的方向。展望未來，巴金森的基因治療要能實際於臨床運用，還有賴科學界投入更多資源，展開更多良好設計之臨床試驗。