

論文審査の結果の要旨

Improved intravitreal AAV-mediated inner retinal gene transduction after surgical internal limiting membrane (ILM) peeling in cynomolgus monkeys

内境界膜剥離はアデノ随伴ウイルスベクターの硝子体投与によるカニクイザルの網膜内層における遺伝子導入効率を改善する

日本医科大学大学院医学研究科 外科系感覚器視覚機能医学（眼科学）分野
大学院生 高橋 和久

Molecular Therapy 2017 Jan 4;25(1):296-302

アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターは安全性が高く、非分裂細胞にも遺伝子導入可能であることから網膜疾患で最も使用されている遺伝子導入ベクターであり、レーザー先天黒内障等の疾患に対して、現在臨床試験が進行中である。AAV ベクターの投与経路として網膜下投与と硝子体投与が用いられるが、網膜下投与は網膜剥離を医原性に作成するため合併症による視機能低下のリスクがあり、硝子体投与は安全性は高いが遺伝子導入効率は極端に低いことが知られている。この遺伝子導入効率が低い原因として、網膜の内境界膜 (ILM) が物理的な障壁となっている可能性が考えられてきた。そこで今回、ILM を AAV ベクター投与前に外科的に剥離することで遺伝子導入効率を改善させ得るか否かを検討した。

カニクイザルを無処置(control)群、硝子体切除(VIT)群、ILM 剥離併用硝子体切除(VIT+ILM)群に分け、処置の 4 週後に GFP を発現する血清 2 型のカプシドチロシン変異型 AAV ベクター triple-mutated self-complementary AAV serotype 2 vector を硝子体に 50 μ l 投与した。AAV ベクター投与 19 週後に眼球摘出を行い、抗 GFP 抗体を用いて網膜に対する遺伝子導入効率を組織学的に比較検討した。結果、control 群および VIT 群では GFP の発現をほとんど認めなかった。一方、ILM+VIT 群においては ILM を剥離した領域に一致して GFP が強く発現していることを確認した。さらに、GFP が発現している細胞種についてはミュラー細胞であることを確認した。以上の結果から、AAV ベクターの硝子体投与に際し、ILM 剥離を併用することで、網膜内層への遺伝子導入効率を大幅に改善できることが判明した。この遺伝子導入法を用いることで、網膜内層疾患、特に緑内障への遺伝子治療の実用化が期待される。

第二次審査では、神経節細胞層への導入効率、炎症のメカニズム、緑内障への応用、内境界膜剥離後の治癒過程の病理、遺伝子発現期間、多因子疾患への応用、ヒトへの臨床応用に関する問題点などについて質疑がなされ、いずれも的確に回答した。本研究は眼科臨床で日常的に行われている手術手技と遺伝子治療を組み合わせた興味深い内容であり、臨床応用に向けて意義のある知見が得られたと考える。特に緑内障という日本において失明原因第一位を占める疾患への応用に向けた大きな前進と言えよう。よって本論文は学位論文として価値あるものとして認定した。