

平成 21 年 5 月 16 日現在

研究種目：若手研究 B

研究期間：2007－2008

課題番号：19791296

研究課題名（和文）

AAV ベクター及び RNA i 技術を用いた VEGF 抑制による眼内新生血管抑制の試み

研究課題名（英文）

Adeno-associated vector mediated expression of sflt-1 by siRNA efficiently inhibits neovascularization in a murine choroidal neovascularization model

研究代表者

五十嵐 勉 (IGARASHI TUTOMU)

日本医科大学・医学部・助教 研究者番号：10421190

研究成果の概要：

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,400,000	0	1,400,000
2008 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	150,000	2,050,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：遺伝子治療、加齢性黄斑変性症、網膜、AAV Vector、血管新生抑制

1. 研究開始当初の背景

抗 VEGF 抗体が加齢性黄斑変性症に対し臨床的に非常に有用であることが近年わかり脚光を浴びているが、様々な臨床治験で眼内炎の発症率が年に 1% 程度あること、また月 1 回の投与で十分な効果があるか否か不明なことより、継続的発現が可能な遺伝子治療が期待される。AAV には各サブタイプが知られているが、近年 type5、8 などのタイプが網膜への遺伝子導入効率が高いとの報告がされている。今回、我々は type5、type8 にマーカー遺伝子である EGFP (enhanced green fluoresein protein) を組み込んだベクターを作製し、マウスの網膜に対し遺伝子導入を行い比較を行った。また VEGF のレセプター

である flt-1 の可溶性 flt-1 を組み込んだ AAV ベクターを作製し (AAV-sflt-1)、脈絡膜新生血管 (CNV) モデルに対し脈絡膜新生血管抑制の効果を検討した。今回脈絡膜に対し導入効率のよい 8 型を使用した。

2. 研究の目的

脈絡膜新生血管 (CNV) モデルに対し脈絡膜新生血管抑制の効果を検討することにより、CNV モデルに対する遺伝子治療の確立を目的とした。

3. 研究の方法

7週齢 C57BL/6J マウスにレーザー照射を行った CNV モデルに対し AAV-sflt-1(n=11) またはコントロールとして AAV-LacZ(n=12) を網膜下に注入した。2週間後蛍光造影剤を心臓より還流し、フラットマウント作製し、新生血管部位の面積を計測し血管新生抑制効果を比較検討した。

4. 研究成果

type 5、type 8 に EGFP を組み込んだベクターをマウス網膜に導入した結果、AAV type 8の方が遺伝子導入効率・発現効率ともに高かった。

また、type 5、type 8ともに炎症系細胞の発現は認められなかった。

CNV モデルに対し AAV-sflt-1 またはコントロールとして AAV-LacZ を網膜下に注入した。2週間後蛍光造影剤を心臓より還流し、フラットマウント作製し、新生血管部位の面積を計測し血管新生抑制効果を比較検討した。その結果、新生血管の部位は AAC-lacZ 注入群が $1470 \pm 1000 \mu m^3$ に対し AAV-sflt-1 注入群は $555 \pm 304 \mu m^3$ と有為に血管新生抑制効果を認め、平均 62.3%の減少を示した。

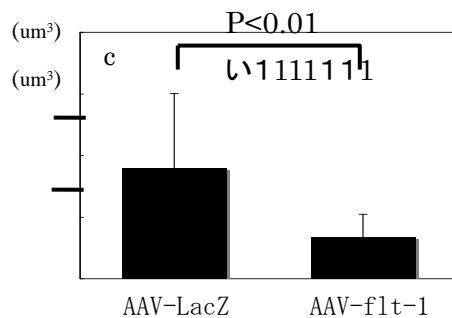


図. 新生血管の面積

結論として、AAV type 8 は網膜に高率に遺伝子導入が可能であり、高発現が可能であった。また、AAV-sflt-1 は脈絡膜新生血管に対し抑制効果を認めた。AAV type 5、8ともに網膜下注入に対し病理学的所見では特に炎症を認めなかった。

脈絡膜新生血管を伴う疾患に対し、抗新生血管を狙った遺伝子治療は有用であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

日本眼科学会総会 (2009)

AAV ベクター (8 型) による脈絡膜新生血管に対する遺伝子治療

五十嵐勉、三宅弘一、増田郁也、島田隆、高橋浩

6. 研究組織

(1) 研究代表者

五十嵐 勉

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：10421190

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者