

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20979

研究課題名（和文）活性型TrkBを用いたアデノ随伴ベクターによる視神経再生治療の開発

研究課題名（英文）Development of Optic Nerve Regeneration Therapy Using Adeno-Associated Vector with Active TrkB

研究代表者

西島 義道（Nishijima, Euido）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：80909391

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、BDNF受容体のTrkBを改変し、恒常的に活性化するFarnesylated intracellular TrkB(F-iTrkB)を作製した。F-iTrkBをAAV2ベクターを用いてマウス網膜に導入したところ、RGCの保護と軸索再生が促進された。視神経損傷モデルでは、再生軸索は視交叉まで到達したが、視覚中枢への到達は不十分だった。一方、上丘直前で切断したモデルでは、再生軸索の上丘への到達が確認された。これらの結果から、F-iTrkBによる遺伝子治療が、失明マウスの視機能を部分的に回復させる可能性が示された。本研究の結果はMolecular Therapy誌に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、視神経および神経節細胞の障害による失明に対し、遺伝子治療を用いて解決を図ろうとした研究である。研究者らが新たに開発した常時活性型TrkB分子により、緑内障モデルマウスおよび視神経損傷マウスにおいて網膜神経細胞の保護効果が認められた。また、視神経損傷マウスを用いた実験では、視神経切断により失明した個体の視神経軸索繊維の再生が認められた。さらに、上丘付近にて視神経を切断したモデルにおいては、再生により視機能が部分的に回復することが示され、将来のヒトへの応用が期待される画期的な成果であると言える。

研究成果の概要（英文）：In this study, the BDNF receptor TrkB was modified to create a constitutively active form, Farnesylated intracellular TrkB (F-iTrkB). When F-iTrkB was introduced into the retinas of mice using an AAV2 vector, it resulted in the protection of RGCs and the promotion of axonal regeneration. In an optic nerve injury model, the regenerated axons reached the optic chiasm but did not sufficiently reach the visual centers. However, in a model where the optic nerve was severed just before the superior colliculus, the regenerated axons successfully reached the superior colliculus. These results indicate the potential of gene therapy with F-iTrkB to partially restore visual function in blind mice. The findings of this study were published in the journal Molecular Therapy.

研究分野：眼科

キーワード：緑内障 神経保護 視神経再生 AAV TrkB

1. 研究開始当初の背景

網膜神経節細胞(RGC)の障害は、緑内障などの眼疾患において非可逆的な視機能低下の主要な原因となる。脳由来神経栄養因子(BDNF)とその受容体である TrkB は、RGC の生存と機能維持に重要な役割を果たすことが知られている。しかしながら、BDNF の投与による RGC 保護効果は一時的であり、持続的な神経保護作用を得ることは困難であった。また、RGC の軸索再生を誘導し、視神経損傷後の視機能回復を促進する有効な手段は限られていた。

2. 研究の目的

本研究では、以下の2点を目的とした。

- (1) BDNF 非依存的に持続的に活性化する Farnesylated intracellular TrkB(F-iTrkB) (図 1)を用いた遺伝子治療により、RGC の長期的な保護と軸索再生を促進すること。
- (2) F-iTrkB を用いた遺伝子治療により、上丘付近の視経路を損傷したモデルにおいて視神経損傷後の視機能回復を目指すこと。

3. 研究の方法

- (1) F-iTrkB を組み込んだアデノ随伴ウイルス(AAV-F-iTrkB)ベクターを作製した。
- (2) 正常眼圧緑内障モデルマウス(GLAST KO マウス)と高眼圧緑内障モデルマウスの眼球に AAV-F-iTrkB を投与し、RGC の生存率と視機能进行评估した。
- (3) 視神経挫滅モデルマウスに AAV-F-iTrkB を投与し、RGC の生存率、樹状突起・シナプスの保護効果、軸索再生进行评估した。
- (4) 視索切断モデルマウスに AAV-F-iTrkB を投与し、上丘における軸索再生と視機能回復进行评估した。

4. 研究成果

- (1) AAV-F-iTrkB の投与により、GLAST KO マウスと高眼圧緑内障モデルマウスにおける RGC 死が抑制され、視機能も保護された。
 - (2) 視神経挫滅モデルマウスに対する AAV-F-iTrkB の治療効果に関しては、AAV-F-iTrkB 投与群において、RGC の生存率が上昇し、樹状突起・シナプスの保護効果が認められた。また、視神経軸索再生効果も認められ、再生軸索は視交叉まで到達した(図 2)。
 - (3) 上丘付近にて視索を切断したモデルにおいては、AAV-F-iTrkB 投与群において、上丘での軸索再生が認められた。また、オプトキネティック反応を用いて視機能を測定したところ、部分的回復が確認された。
- 本研究で開発した AAV-F-iTrkB は、RGC の保護と軸索再生を強力に誘導し、将来の緑内障や視神経障害に対する遺伝子治療の有望な候補となり得ることが示された。

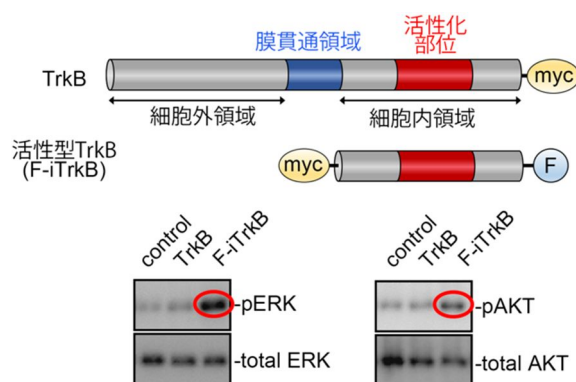


図 1 Farnesylated intracellular TrkB の模式図.

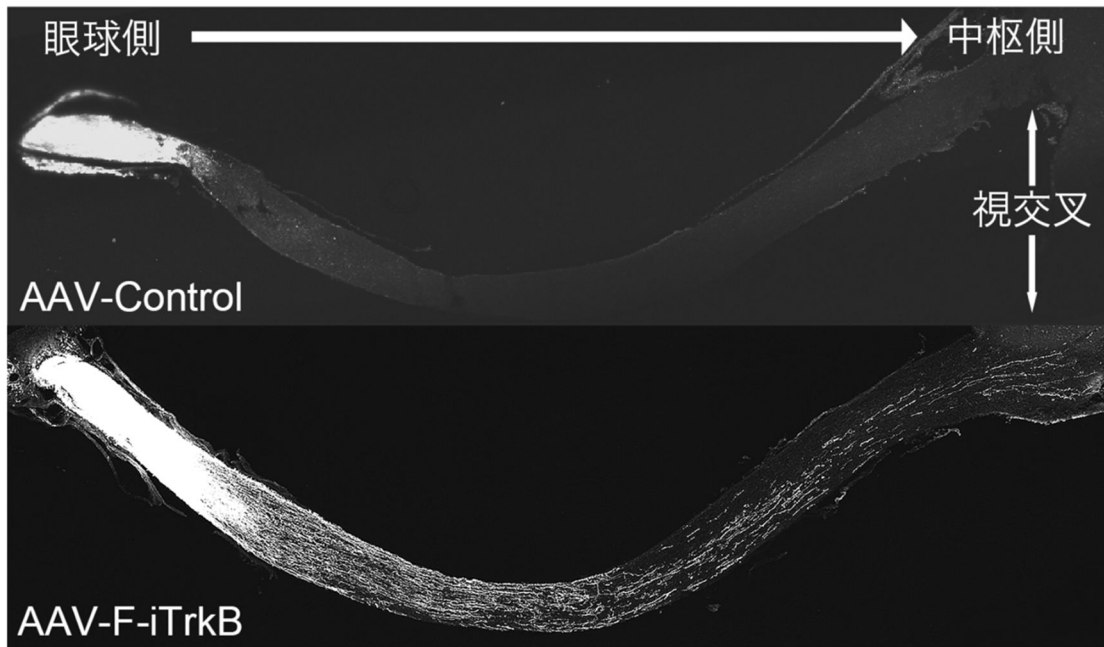


図2 AAV-F-iTrkBによる神経軸索再生効果.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishijima, E. †, Honda, S. †, Kitamura, Y. †, Namekata, K. †, Kimura, A., Guo, X., Azuchi, Y., Harada, C., Murakami, A., Matsuda, A., Nakano, T., Parada, L.F., Harada, T.	4. 巻 31
2. 論文標題 Vision protection and robust axon regeneration in glaucoma models by membrane-associated Trk receptors.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 810-824
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ymthe.2022.11.018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kiyota, N., Namekata, K., Nishijima, E.*, Guo, X., Kimura, A., Harada, C., Nakazawa, T., Harada, T.	4. 巻 4
2. 論文標題 Effects of constitutively active K-Ras on axon regeneration after optic nerve injury	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 137124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2023.137124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西島義道
2. 発表標題 膜結合型Trk受容体による緑内障モデル動物における 視機能保護及び軸索再生効果
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会 受賞講演 基礎研究部門（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------