

審査論文要旨 (日本文)

論文提出者氏名： 齋藤 優

審査論文

題名： rAAV6-mediated miR-29b delivery suppresses renal fibrosis
(アデノ随伴ウイルス 6 を介した miR-29b のデリバリーによる腎線維症の抑制)

著者： Suguru Saito, Shin-ichiro Ohno, Yuichirou Harada, Keiki Oikawa, Koji Fujita, Shouichirou Mineo, Asako Gondo, Yoshihiko Kanno, Masahiko Kuroda

掲載誌： Clinical and experimental nephrology (2019)23:1345-1356

(審査論文要旨：日本語論文の場合 1,000 字以内・英語論文の場合 500 words)

【背景と目的】

腎線維症は CKD 共通の病理像であるがその特異的な治療法はいまだ存在しない。Micro RNA (miRNA) は内在性の短い non-coding RNA であり、他の遺伝子の発現を制御している。先行研究で miR-29b がマウスモデルにおいて腎線維症を抑制しうるということが報告されている。しかしながら miRNA をはじめとする核酸医薬は負電荷を有しており、同様に負電荷を有する細胞膜を透過しにくく、また体内ではヌクレアーゼにより速やかに分解される易分解性が課題となっており、確立された投与経路が存在しない。

そこで本研究では AAV (アデノ随伴ウイルス) ベクターに着目した。AAV ベクターは非病原性、低免疫原性、その遺伝子発現が比較的長期間持続することから臨床応用が期待されているウイルスベクターである。AAV には現在 13 種類のセロタイプが報告されており、各セロタイプごとに組織親和性が異なることが知られているが、腎臓に最適なセロタイプは確立されていない。

そこで本研究ではまず腎臓に最も適した AAV のセロタイプを検討し、その上で miR-29b 発現 AAV ベクターを腎線維症モデルマウスである UUO マウスへ投与し、その線維症抑制効果を検討する。

【方法と結果】

1) 腎臓へ高効率で感染する AAV ベクターのセロタイプを検討した。セロタイプ 1 から 9 の GFP 発現 AAV ベクターを尿管上皮細胞株および、腎線維芽細胞株へ感染後、フローサイトメトリーで解析した。結果、AAV2/6 の感染効率が良かった。同様にマウス腎臓へ経腎盂的にセロタイプ 1 から 9 の GFP 発現 AAV ベクターを投与した。結果、AAV6 の感染効率が良かった。2) miRNA-29b 高発現 AAV ベクター作製のため、miRNA-29b 前駆体の二次構造を検討した。結果、miRNA-29b 高発現 AAV ベクターの作成に成功した。同ベクターの腎臓細胞への感染により type1 collagen、Snail1 mRNA 発現量の有意なノックダウンを認めた。3) miR-29b 発現 AAV ベクターを腎線維症モデルマウスである UUO マウスへ投与し、その抑制効果を検討した。結果、miR-29b 発現 AAV ベクター投与群では有意に Snail1 mRNA 発現が低下した。また腎間質線維化の程度をマッソントリクローム染色で評価した結果、miR-29b 発現 AAV ベクター投与群では有意に腎間質線維化が抑制された。

【結論】

AAV6 はより腎臓に適したウイルスベクターであることが示唆された。また miRNA-29b 高発現 AAV ベクターの作成に成功し、同ベクター投与で腎間質線維化が抑制された。