

審査の結果の要旨

氏名 竹溪友佳子

本研究は角膜混濁を生じる疾患に対して、核酸医薬を用いた新たな治療法を検討しており、下記の結果を得ている。

1. 角膜血管新生の促進因子である Angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2) に対する RNA 干渉 (RNAi) 点眼製剤を合成し、それを脂質ナノ粒子で包埋 (ANGPTL2 Li-pshNRA) することで、角膜全体にドラッグデリバリーされることを示した。野生型およびマウスアルカリ外傷モデルの角膜に ANGPTL2 Li-pshRNA 製剤を点眼することで ANGPTL2 の mRNA の発現を抑制し、さらに、マウスアルカリ外傷モデルにおいて ANGPTL2 Li-pshRNA 点眼により角膜血管新生抑制効果を示した。
2. 血管新生および線維化抑制作用があると言われていた microRNA29 の合成 mimic をヒト角膜実質細胞の初代培養細胞に導入すると、TGF- β , VEGF, type I collagen の mRNA およびタンパクの発現が抑制された。また microRNA-29b を脂質ナノ粒子で包埋した点眼製剤は、マウスアルカリ外傷モデルで角膜の type I collagen の mRNA の発現抑制とともに角膜血管新生の抑制効果を示した。
3. TGFBI 遺伝子の 124 番目のタンパクがアルギニンからヒスチジンに変異した顆粒状角膜変性症患者の角膜細胞を CRISPR/Cas9 システムを利用して SNPs 変異を是正した。また、その遺伝子編集ではオフターゲットを認めず特異性が高いことも示された。
4. TGFBI 遺伝子の 124 番目のタンパクがアルギニンからシステインに変異した格子状角膜変性症のモデルマウスを確立し、ホモ接合のマウスでは 10-20 週令までに人と同様に角膜混濁が生じることが確認された。また、モデルマウスに対し CRISPR/Cas9 システムと角膜実質注射を用いて混濁を抑制可能であることを示した。

以上、本論文は角膜混濁である血管新生と遺伝性疾患それぞれに対して、RNA 干渉と CRISPR/Cas9 システムを利用した核酸製剤を用いることで、これまでにない新しい治療

法を提案した。また世界で初めて格子状角膜変性症のモデルマウス確立したことで今後の角膜変性症の病態解明に重要な貢献をなすと思われる。これらの点から学位の授与に値するものと考えられる。