

課題番号	LS133
------	-------

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成23年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	視機能障害を起こす神経変性疾患の発症機序解明と治療法に関する研究
研究機関・ 部局・職名	公益財団法人東京都医学総合研究所・ 運動・感覚システム研究分野・副参事研究員
氏名	原田 高幸

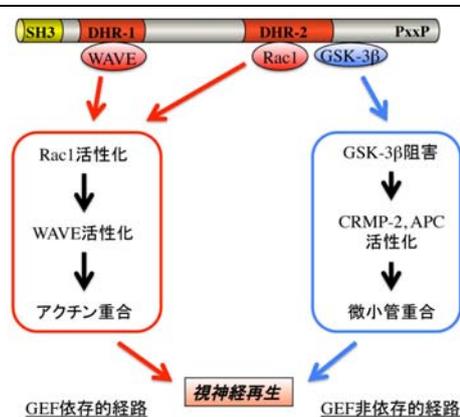
1. 当該年度の研究目的

我が国における最大の失明原因は緑内障であり、特に眼圧が上昇しない「正常眼圧緑内障」の割合が諸外国より高いことが特徴とされている。我々はグルタミン酸輸送体の1つである GLAST の遺伝子欠損マウスが、世界初の正常眼圧緑内障モデル動物となることを報告した(*J Clin Invest*, 2007)。正常眼圧緑内障の原因はまだ十分に解明されていないため、本年度からヒト緑内障患者における GLAST 遺伝子異常の検索を行う。一方、緑内障に対する治療として神経保護と視神経再生に関する検討を行っている。我々は新たなグアニンヌクレオチド交換因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)である Dock3 が、外傷後の視神経再生を促進することを報告しているが、本年度はその詳細なメカニズムを明らかにする。

2. 研究の実施状況

グルタミン酸輸送体の1つである GLAST の欠損マウスは、グルタミン酸毒性と酸化ストレスにより、正常眼圧緑内障様の網膜・視神経変性を発症する。我々は多施設共同研究により約450例の緑内障患者の血液サンプルを解析した結果、GLAST 遺伝子に複数の変異を見出した。GLAST の変異がある場合には変異を持っていない場合と比較して約10倍、緑内障を発症しやすいことがわかった。またグルタミン酸トランスポーター活性を低下させる変異を複数見出し、早期診断への応用などを見据えて、今後さらに検討を進める予定である。

Dock3 は中枢神経系に特異的に分布し、Rac1 を特異的に活性化する GEF である。Rac1 の下流ではアクチンの重合を促進する WAVE と呼ばれる蛋白が活性化される(図)。我々は Dock3 が Rac1 活性を高めるだけでなく、WAVE と結合し、その細胞内移動に関与することにより、効率良くアクチン繊維の重合と軸索伸長を促進すると考えている(*Proc Natl Acad Sci USA*, 2010)。一方、グリコーゲン合成酵素キナーゼ-3β (GSK-3β) は下流の CRMP-2 のリン酸化を介して神経極性を制御することが明らかになっている。我々は Dock3 が GSK-3β とともに結合してリン酸化(不活化)を誘導し、その結果として CRMP-2 の活性化と微小管の重合を促進することを見出した



Dock3 結合分子と軸索再生のメカニズム。Dock3 は異なる部位に結合するタンパク質を使い分けて GEF 活性依存的および非依存的経路を刺激し、軸索再生を促進している。

様式19 別紙1

が、Rac1 活性には変化を与えなかった(図)。以上から Dock3 は GEF 活性非依存的な経路によっても、細胞骨格の制御が可能であることが示された(*J Neurosci*, 2012)。今後は GLAST 欠損マウスに対する Dock3 の遺伝子治療を行い、視神経再生が可能か検討を進める予定である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> Namekata, K., Harada, C., Guo, X., Kimura, A., Kittaka, D., Watanabe, H. and <u>Harada, T.</u> Dock3 stimulates axonal outgrowth via GSK-3β-mediated microtubule assembly. <i>Journal of Neuroscience</i> 32(1), 264-274, 2012. ISSN 0270-6474 10.1523/JNEUROSCI.4884-11.2012 Tomida, M., Mitamura, Y., Katome, T., Eguchi, H., Naito, T. and <u>Harada, T.</u> Aggressive retinal astrocytoma associated with tuberous sclerosis. <i>Clinical Ophthalmology</i> 6, 715-720, 2012. ISSN 1177-5483 10.2147/OPHTH.S31759 行方和彦, <u>原田高幸</u>. 神経軸索の再生における Dock3 の機能. 生化学 84(5), 368-373, 2012. ISSN 0037-1017 <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> Namekata, K., Watanabe, H., Guo, X., Kittaka, D., Kawamura, K., Kimura, A., Harada, C. and <u>Harada, T.</u> Dock3 regulates BDNF-TrkB signaling for neurite outgrowth by forming a ternary complex with Elmo and RhoG. <i>Genes to Cells</i> (in press) ISSN 1365-2443
<p>会議発表</p> <p>計 2 件</p>	<p>専門家向け 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <u>Takayuki Harada</u>, Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Luis F. Parada, Chikako Harada. Glial- and neuron-specific functions of TrkB signaling during retinal degeneration and regeneration. 8th World Congress of Neuroscience, International Brain Research Organization (IBRO) 2011.7.18., Florence, Italy. <u>原田高幸</u>. 正常眼圧緑内障の疾患モデルと治療研究. 平成24年2月15日 第343回 関西眼疾患研究会 <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 3 件</p>	<ol style="list-style-type: none"> 郭 曉麗, 原田知加子, 行方和彦, 松沢 厚, Monsterrat Camps, Hong Ji, Dominique Swinnen, Catherine Jorand-Lebrun, Mathilde Muzerelle, Pierre-Alain Vitte, Thomas Rückle, 木村敦子, 神山邦子, 松本 陽, 一條秀憲, <u>原田高幸</u>. TLR-ASK1-p38 経路による神経炎症と脱髄症状の制御. 日本眼科学会雑誌 115(5), 485, 2011. ISSN 0029-0203 原田知加子, 郭 曉麗, 行方和彦, 木村敦子, 中村和昭, 田中光一, Luis F. Parada, <u>原田高幸</u>. 網膜の変性と再生過程におけるグリアおよび神経特異的な TrkB シグナルの機能解析.

様式19 別紙1

	<p>日本眼科学会雑誌 115(7), 637, 2011. ISSN 0029-0203</p> <p>3. 郭 暁麗, 原田知加子, 行方和彦, 木村敦子, 三田村佳典, 吉田寛, 松本 陽, 原田高幸. Spermidine 投与による実験的自己免疫性脳脊髄炎の軽症化. 日本眼科学会雑誌 115(8), 729, 2011. ISSN 0029-0203</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>公益財団法人 東京都医学総合研究所 ホームページ 「網膜・視神経変性疾患の病態解明と治療法」 http://www.igakuken.or.jp/research/project/res_prj01.html</p> <p>視覚病態プロジェクトの研究紹介 http://www.igakuken.or.jp/retina/</p> <p>研究成果1 世界初の正常眼圧緑内障のモデル動物を開発 研究成果2 視神経の再生メカニズムを解明 研究成果3 新規薬剤による多発性硬化症モデル動物の軽症化に成功 研究成果4 網膜保護・再生の新たなメカニズムを解明</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件</p>	
<p>その他</p>	<p>行方和彦、原田高幸 (2012). Dock3 はグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3β (GSK-3β) による微小管重合を介して視神経軸索の再生を促進する. BioMed サーカス.com 研究論文ハイライト http://biomedcircus.com/paper_03_01.html</p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	67,000,000	2,000,000	25,000,000	40,000,000	
間接経費	20,100,000	600,000	7,500,000	12,000,000	
合計	87,100,000	2,600,000	32,500,000	52,000,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	4,318	25,000,000	0	25,004,318	24,998,250	6,068	0
間接経費	0	7,500,000	0	7,500,000	7,500,000	0	0
合計	4,318	32,500,000	0	32,504,318	32,498,250	6,068	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	15,183,752	実験試薬、培養用品、備品等
旅費	680,650	学会参加旅費(日本眼科学会総会)等
謝金・人件費等	5,549,921	研究員人件費
その他	3,583,927	論文投稿料、別刷印刷料、遺伝子改変動物作製等
直接経費計	24,998,250	
間接経費計	7,500,000	
合計	32,498,250	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
サーマルサイク ラー	AB Veriti200	1	926,100	926,100	2011/8/17	東京都医学総合 研究所
				0		
				0		