

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24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

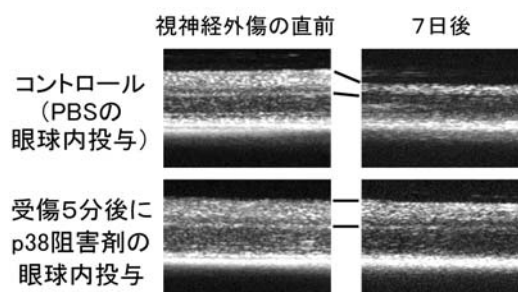
我が国における最大の失明原因は緑内障である。我々はヒト緑内障患者において、グルタミン酸輸送体の1つであるGLASTの遺伝子異常を見出したので、その病態メカニズムを解明する。また緑内障に対する治療法に関して、新たなグアニンヌクレオチド交換因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)であるDock3が、神経保護と視神経再生を促進するメカニズムを検討する。さらに緑内障モデル動物でもある視神経損傷マウスにおいて、薬剤による神経保護が可能か、最新の網膜イメージング法を用いて検討する。

### 2. 研究の実施状況

緑内障患者の血液サンプルを解析した結果、GLASTに変異がある場合には約10倍、緑内障を発症しやすいことがわかった。また複数のミスセンス変異においてGLASTの膜発現量の低下やグルタミン酸取り込み活性の低下が確認された。GLASTを発現する培養 Müller 細胞と網膜神経節細胞の混合培養を行ったところ、GLAST欠損マウス由来の培養 Müller 細胞では、グルタミン酸毒性に対する神経保護効果が大きく低下していた。一方、Dock3は細胞膜に発現するグルタミン酸受容体と直接結合して発現量を減少させ、結果的にグルタミン酸神経毒性を抑制することを発見した。Dock3はアクチンと微小管の重合を促進して視神経再生を促進することを報告済みだが(*PNAS*, 2010; *J Neurosci*, 2012)、本年度は神経栄養因子BDNFの刺激により細胞膜上でRhoGと結合する pathway を新たに見出した。さらに緑内障モデル動物であるGLAST欠損マウスとDock3過剰発現マウスを交配し、緑内障の進行が抑制されることを確認した。

次に視神経外傷による網膜変性を検討したところ Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) 欠損マウスにおいては、細胞死が抑制されることを見出した。ASK1の下流では受傷後3時間でp38 MAPKの活性がピークとなっていたことから、視神経損傷の5分後にp38阻害剤を野生型マウスに眼球内投与すると、神経細胞死の抑制が可能であった。光干渉断層計による経時的観察では、網膜内層の菲薄化も一部抑制されていた(右図)。

以上からASK1-p38経路が網膜・視神経保護における有用な薬物治療の標的である可能性が示され、新聞等でも広く報道された(*Cell Death Differ*, 2013)。



様式19 別紙1  
3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 8 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Katome T, Namekata K, Guo X, Semba K, Kittaka D, Kawamura K, Kimura A, Harada C, Ichijo H, Mitamura Y and <u>Harada T.</u> Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural cell death following optic nerve injury. <i>Cell Death and Differentiation</i> 20: 270-280, 2013. ISSN: 1350-9047 doi: 10.1038/cdd.2012.122</li> <li>2. 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> 17: 688-697, 2012. ISSN 1365-2443 doi: 10.1111/j.1365-2443.2012.01616.x</li> <li>3. Katome T, Namekata K, Naito T, Semba K, Guo X, Harada C, <u>Harada T.</u>, Mitamura Y. Expression of promyelocytic leukemia protein and vascular endothelial growth factor in aqueous humor and vitreous fluid in patients with proliferative diabetic retinopathy. <i>Diabetes Research and Clinical Practice</i> 98: 9-11, 2012. ISSN: 0168-8227 doi: 10.1016/j.diabres.2012.09.020</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4. 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</li> <li>5. 行方和彦, 原田知加子, 郭 暁麗, 木村敦子, 橘高大二, 渡邊快記, <u>原田高幸.</u> (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軸索伸長を促進する. 日本眼科学会雑誌 116(5), 527, 2012. ISSN 0029-0203</li> <li>6. 香留 崇, 行方和彦, 郭 暁麗, 仙波賢太郎, 橘高大二, 川村和人, 木村敦子, 原田知加子, 一條秀憲, 三田村佳典, <u>原田高幸.</u> ASK1-p38 経路の阻害は視神経外傷後の神経細胞死を抑制する. 日本眼科学会雑誌 117(2), 161, 2013. ISSN 0029-0203</li> </ol> <p>(未掲載) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>7. Bai N, Hayashi H, Aida T, Namekata K, <u>Harada T.</u>, Mishina M, Tanaka K. Dock3 interaction with a glutamate-receptor NR2D subunit protects neurons from excitotoxicity. <i>Molecular Brain</i> (in press) ISSN: 1756-6606</li> <li>8. 原田知加子, <u>原田高幸.</u> 「神経系の MAP キナーゼ」網膜変性疾患と MAP キナーゼ. <i>Clinical Neuroscience</i> (in press) ISSN: 02890585</li> </ol>
<p>会議発表</p> <p>計 3 件</p>	<p>専門家向け 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>原田高幸.</u> 緑内障における酸化ストレスの関与と神経保護・再生への展望. シンポジウム『細胞ストレスと代謝応答:生活習慣病への取り組み』 平成 24 年 6 月 23 日 パシフィコ横浜 第 12 回 日本抗加齢医学会総会</li> <li>2. <u>Takayuki Harada.</u> Neuroglial interactions during neuroprotection and degeneration. "Reactive Müller Glia: friend or foe?" (INVITED) XX International Congress of Eye Research (ISER 2012) 2012.7.25., Berlin, Germany.</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>一般向け 計 1 件</p> <p>3. 平成24年度 第8回 都医学研 都民講座 「目の老化とアンチエイジング」  <u>オーガナイザー、座長 原田高幸</u>          目から若返ろう 慶應大学 坪田一男教授          老化に伴う目の病気 筑波大学 大鹿哲郎教授          平成 25 年 2 月 27 日 都庁第一本庁舎 大会議場  <a href="http://www.igakuken.or.jp/event/tomin/h24/tomin08.html">http://www.igakuken.or.jp/event/tomin/h24/tomin08.html</a></p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 1 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 1 件</p> <p>発明者: 原田高幸、行方和彦、郭 暁麗          発明の呼称: Dock8 を含む神経炎症又は脱髄疾患の予防又は治療用医薬組成物          出願番号: 特願 2013-026753          出願人: 公益財団法人東京都医学総合研究所          出願日: 平成 25 年 2 月 18 日</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」  <a href="http://www.igakuken.or.jp/research/project/res_prj01.html">http://www.igakuken.or.jp/research/project/res_prj01.html</a></p> <p>視覚病態プロジェクトの研究紹介  <a href="http://www.igakuken.or.jp/retina/">http://www.igakuken.or.jp/retina/</a></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          研究成果5 薬剤による視神経損傷の軽症化に成功</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 2 件</p>	<p>1. 平成24年9月23日 毎日新聞朝刊          1面見出し「視神経の細胞死抑制実験に成功」、28面「視神経の細胞死抑制」</p> <p>2. 平成24年10月6日 徳島新聞朝刊          1面見出し「網膜細胞の死滅抑制に成功」、3面「網膜神経節細胞 死滅抑制に道」</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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せん

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	27,000,000	20,000,000	20,000,000	0
間接経費	20,100,000	8,100,000	6,000,000	6,000,000	0
合計	87,100,000	35,100,000	26,000,000	26,000,000	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	6,068	20,000,000		20,006,068	18,234,537	1,771,531	0
間接経費	0	6,000,000		6,000,000	6,000,000	0	0
合計	6,068	26,000,000	0	26,006,068	24,234,537	1,771,531	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	9,935,686	実験試薬、培養用品、備品等
旅費	523,770	学会参加旅費(日本眼科学会総会)等
謝金・人件費等	7,265,810	研究員人件費
その他	509,271	論文投稿料、別刷印刷料、遺伝子改変動物作製
直接経費計	18,234,537	
間接経費計	6,000,000	
合計	24,234,537	

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
				0		
				0		
				0		