

| | |
|------|-------|
| 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25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

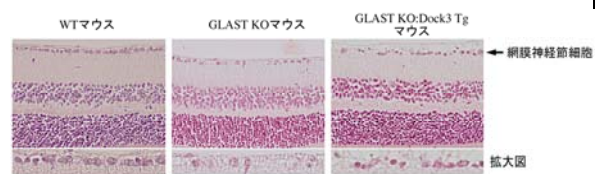
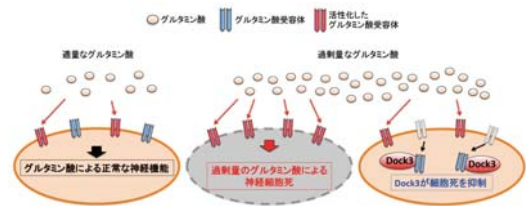
| | |
|----------------|---------------------------------------|
| 研究課題名 | 視機能障害を起こす神経変性疾患の発症機序解明と治療法に関する研究 |
| 研究機関・ 部局・職名 | 公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・副参事研究員 |
| 氏名 | 原田 高幸 |

1. 当該年度の研究目的

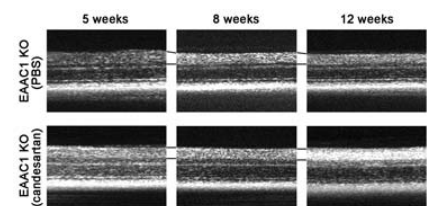
我が国における最大の失明原因は緑内障であるが、中でも全体の7割を占める正常眼圧緑内障については直接的な神経保護療法の確立が期待されている。我々は新たなグアニンヌクレオチド交換因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)である Dock3 が、神経保護を促進するメカニズムを検討する。さらにすでにヒトでの安全性が確立された既存薬による網膜の神経保護が可能か、最新の *in vivo* 網膜イメージング法と、非侵襲的かつ客観的な視機能解析法を用いて検討し、治療への応用を目指す。

2. 研究の実施状況

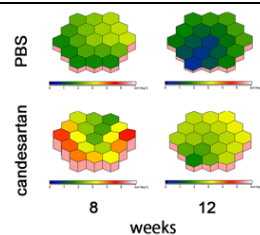
我々は Dock3 がグルタミン酸受容体 NR2B の細胞内ドメインと結合することを見出した。通常、野生型マウスの眼球に過剰量のグルタミン酸を投与すると、網膜神経節細胞が死滅して減少する。ところが Dock3 過剰発現(Tg)マウスでは、グルタミン酸投与後の NR2B 発現量が野生型マウスと比較して有意に減少し、神経細胞死も抑制されていた。Dock3 は細胞表面における NR2B の発現量を低減することで、グルタミン酸毒性を抑制した可能性がある(上図)。そこで次に緑内障モデルである GLAST 欠損(KO)マウスと Dock3 Tg マウスを交配し、神経保護効果が得られるかどうかを検討した。その結果 GLAST KO:Dock3 Tg マウスでは、緑内障の進行が抑制されることがわかった(右図)(*Cell Death and Differentiation*, 2013)。



網膜神経節細胞に発現するグルタミン酸輸送体である EAAC1 の KO マウスは、GLAST KO マウスよりも緩徐な正常眼圧緑内障の症状を示すことがわかっている(*J Clin Invest*, 2007)。EAAC1 KO マウスの網膜では AngII type 1 receptor (AT1-R)と自然免疫に関与する受容体 TLR4 の発現量が増加するが、AT1-R 阻害剤(candesartan)の経口投与により TLR4 の発現量低下と網膜神経節細胞の保護効果が確認された。光干渉断層計(右図)および多局所網膜電位(次ページ図)による同一眼の経時的観察では、投与群(各図の下段)におい



て網膜の形態や視機能が維持されており、神経保護効果が示された (*Cell Death and Disease*, in press)。以上から AT1-R が緑内障に対する新たな治療標的である可能性が示された。AT1-R 阻害剤はすでに安全性が確立された高血圧薬であることから、今後は眼疾患への応用が期待される。



3. 研究発表等

| | |
|-----------------------|---|
| <p>雑誌論文 計 7 件</p> | <p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Namekata, K., Kimura, A., Kawamura, K., Guo, X., Harada, C., Tanaka, K. and Harada, T. Dock3 attenuates neural cell death due to NMDA neurotoxicity and oxidative stress in a mouse model of normal tension glaucoma. <i>Cell Death and Differentiation</i> 20: 1250-1256, 2013. ISSN: 1350-9047 doi: 10.1038/cdd.2013.91. 2. Bai, N., Hayashi, H., Aida, T., Namekata, K., Harada, T., Mishina, M. and Tanaka, K. Dock3 interaction with a glutamate-receptor NR2D subunit protects neurons from excitotoxicity. <i>Molecular Brain</i> 6: 22, 2013. ISSN: 1756-6606 doi: 10.1186/1756-6606-6-22. <p>(掲載済み一査読無し) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 原田高幸. 特集: 再生医療とコンピュータサイエンス. 視神経再生療法の未来. 四国医学雑誌 70(1,2): 7-12, 2014. ISSN: 0037-3699 2. 行方和彦, 木村敦子, 川村和人, 郭 暁麗, 原田知加子, 田中光一, 原田高幸. Dock3 は正常眼圧緑内障モデル動物におけるグルタミン酸毒性と酸化ストレスによる神経細胞死を抑制する. 日本眼科学会雑誌 117: 949, 2013. ISSN: 0029-0203 3. 原田知加子, 原田高幸. 「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> 31: 705-706, 2013. ISSN: 02890585 <p>(未掲載) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Semba, K., Namekata, K., Guo, X., Harada, C., Harada, T., and Mitamura, Y. Renin-angiotensin system regulates neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma. <i>Cell Death and Disease</i> (in press) ISSN: 2041-4889 2. Keino, H., Watanabe, T., Sato, Y., Shudo, K., Kitaoka, Y., Harada, T., and Okada, A.A. Retinoic acid receptor stimulation ameliorates experimental autoimmune optic neuritis. <i>Clinical and Experimental Ophthalmology</i> (in press) ISSN: 1442-9071 doi: 10.1111/ceo.12308. |
| <p>会議発表 計 6 件</p> | <p>専門家向け 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 原田高幸. ASK1 シグナルの阻害による神経保護の可能性. シンポジウム「緑内障の新しい神経保護・再生治療」第 117 回 日本眼科学会総会 (2013.4.4, 東京国際フォーラム) 2. 原田高幸. Optical Coherence Tomography (OCT)を活用した網膜の in vivo イメージング. ワークショップ「次世代マウス表現型解析技術の潮流」第 60 回 日本実験動物学会総会 (2013.5.15., つくば国際会議場) 3. 原田高幸. 軸索再生とそのメカニズム. シンポジウム「徹底検証! Glaucomatous Optic Axonopathy」第 24 回 日本緑内障学会 (2013.9.22., 京王プラザホテル) 4. 原田高幸. 網膜変性疾患における神経保護と軸索再生研究. 千里ライフサイエンス新適塾「難病への挑戦」第 15 回会合 (2013.9.25., 千里ライフサイエンスセンタービル) 5. 原田高幸. 緑内障の病態解明と神経保護. 日本眼科学会専門医制度講習会「最新の進歩シリーズ(36)」神経保護の最近の進歩 第 59 回 日本臨床眼科学会 (2013.11.2., パシフィコ横浜) |

様式19 別紙1

| | |
|--|---|
| | <p>一般向け 計 1 件</p> <p>1. <u>原田高幸</u>. 視神経再生療法の未来. シンポジウム「再生医療とコンピュータサイエンス」 第 248 回 徳島医学会学術集会(2014.2.16., 徳島大学大塚講堂)</p> |
| <p>図 書</p> <p>計 2 件</p> | <p>1. Toru Nakazawa, Yasushi Kitaoka, <u>Takayuki Harada</u>, eds. Title of Book: Neuroprotection and Neuroregeneration for Retinal Diseases (Springer, in press) ISBN: 978-4-431-54964-2</p> <p>2. Harada, C. and <u>Harada, T.</u> Chapter 7. Neurotrophic factors. In: Neuroprotection and Neuroregeneration for Retinal Diseases. (Springer, in press)</p> |
| <p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>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>1. 行方和彦、<u>原田高幸</u>. (2014). Dock3 は正常眼圧緑内障モデルマウスにおいてグルタミン酸毒性と酸化ストレスによる神経細胞死を抑制する. BioMed サーカス.com 研究論文ハイライト http://biomedcircus.com/paper_03_20.html</p> <p>2. 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 研究成果5 薬剤による視神経損傷の軽症化に成功 研究成果6 グルタミン酸毒性による網膜神経細胞死の抑制に成功</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 0 件</p> | |
| <p>その他</p> | |

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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 | 47,000,000 | 20,000,000 | 0 | |
| 間接経費 | 20,100,000 | 14,100,000 | 6,000,000 | 0 | |
| 合計 | 87,100,000 | 61,100,000 | 26,000,000 | 0 | 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 | 1,771,531 | 20,000,000 | 0 | 21,771,531 | 21,747,148 | 24,383 | |
| 間接経費 | 0 | 6,000,000 | 0 | 6,000,000 | 6,000,000 | 0 | |
| 合計 | 1,771,531 | 26,000,000 | 0 | 27,771,531 | 27,747,148 | 24,383 | 0 |

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

| | 金額 | 備考 |
|---------|------------|------------------------|
| 物品費 | 14,200,527 | 顕微鏡デジタルカメラ,マウスの視覚テスト装置 |
| 旅費 | 275,530 | 北米神経科学会参加 |
| 謝金・人件費等 | 5,776,327 | 研究員雇用人件費 |
| その他 | 1,494,764 | 論文掲載・別刷り料、研究論文の英文校正料 |
| 直接経費計 | 21,747,148 | |
| 間接経費計 | 6,000,000 | |
| 合計 | 27,747,148 | |

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 |
|----------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|-----------|--------------------|
| Mouse OptoMotr | CerebralMechanics | 4,410,000 | 1 | 4,410,000 | 2014/1/9 | 公益財団法人東 京都医学総合研 |
| 顕微鏡デジタルカメラ | オリンパスDP73- SET-A | 1,490,475 | 1 | 1,490,475 | 2014/1/31 | 公益財団法人東 京都医学総合研 |
| 小動物用イソフラン麻酔器 | BRC8323102 | 562,275 | 1 | 562,275 | 2014/1/7 | 公益財団法人東 京都医学総合研 |