

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

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

【研究目的】

我が国における中途失明の原因の多くは網膜および視神経の疾患によって占められるが、いずれの疾患においても詳細な発症メカニズムが明らかになっていない。また白内障などのように手術では解決できない部分も多く、視機能の維持が困難となったケースでは Quality of Life の観点からも大きな社会的問題となっている。ある試算では、視覚障害がもたらす社会損失額は 8 兆円以上とされている。そこで本研究では視機能障害、特に失明を引き起こす網膜・視神経疾患の病態を明らかにし、新たな治療法を開発することを目的とする。

1. 本研究では研究者らが開発した正常眼圧モデルマウスを用いて、新たな神経保護薬の探索を行う。またヒト緑内障ではグルタミン輸送体の発現量低下が報告されていることから、緑内障患者におけるグルタミン酸輸送体などの遺伝子解析を行うことにより、正常眼圧緑内障の発症予測が可能か検討する。
2. 正常眼圧緑内障以外にも我が国に特有の問題として、多発性硬化症（MS）に合併する視神経炎が欧米と比較して重症化しやすく、寛解が見られないまま予後不良となりやすいことがあげられる。また視神経外傷による視機能障害には有効な治療法が確立されていない。そこで本研究では視神経炎および視神経外傷に対する新たな治療法を検討する。
3. 現在ではあらゆる神経変性疾患に対する根本的な解決法として再生療法が脚光を浴びている。我々は Dock family と総称される新たな guanine nucleotide exchange factor（GEF）の一員である Dock3 が神経特異的に発現し、視神経再生を促進可能なことを見出している。本研究ではこのテーマをさらに発展させ、Dock family 全体の機能解明と視神経再生への応用研究を推進する。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】
① 総合所見
<p>進捗状況は順調で、所期の目的の多くは達成したと考えられる。</p> <p>我が国で最大の失明原因である緑内障においては、不可逆的な網膜の細胞死と視神経の変性が大きな問題となっている。本研究では世界初の正常眼圧緑内障モデルを活用して、既知および新規薬物による神経保護効果を検討し、複数の候補を見出した。また Dock3 という新たなグアニンヌクレオチド交換因子が酸化ストレスやグルタミン酸毒性から網膜神経細胞を保護することを明らかとした。さらに Dock3 には視神経の再生効果を有すること確認しており、これまでに複数の作用機序を解明した。視覚障害がもたらす社会損失額は 8 兆円以上とされており、本研究の成果はその解決の一助となることが期待される。</p> <p>研究実施体制、マネジメントも適切であり、助成金の執行状況は問題ない。</p>

② 目的の達成状況
<p>・ 所期の目的が <input checked="" type="checkbox"/> 全て達成された ・ <input type="checkbox"/> 一部達成された ・ <input type="checkbox"/> 達成されなかった</p> <p>研究目的で挙げられた事項はほぼ達成されたと考える。</p> <p>1) Dock3 過剰発現による視神経軸索再生のメカニズムを解明</p> <p>Dock3 は中枢神経系に特異的に分布し Rho family 低分子量 G タンパク質である Rac1 を活性化する GEF である。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を明らかとした。Dock3 の遺伝子治療や下流の経路を直接刺激することによる、新たな視神経再生療法の可能性が示された。さらに、Dock3 過剰発現による神経保護効果のメカニズムを解明した。</p> <p>研究者らは yeast two-hybrid 法による検討の過程で、主要なグルタミン酸受容体である NR2B の細胞内ドメインが Dock3 と結合することを見出した。Dock3 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。Dock3 と結合した NR2B ではリン酸化が抑制され、細胞内部への引き込みと分解が促進されたために、グルタミン毒性から保護されたことを示唆した結果を得ている。</p> <p>正常眼圧緑内障の治療研究では、EAAC1 KO マウスの網膜では AngII type 1 receptor (AT1-R) が増加するが、AT1-R 阻害剤の経口投与により網膜神経節細胞の保護効果が確認された。光干渉断層計 (Optical Coherence Tomography; OCT) および多局所網膜電位による同一眼の経時的観察では、網膜内層の菲薄化や視機能低下も抑制されており、眼圧降下に依存しない新たな神経保護療法の可能性が示された。さらに EAAC1 KO マウスを活用して、alpha2 受容体阻害剤である brimonidine 点眼による神経保護効果を検討した。培養 Müller 細胞に brimonidine を投与したところ、NGF、BDNF、bFGF などの栄養因子の産生量が増加することがわかった。また主に網膜神経節細胞において、brimonidine 点眼による NR2B の発現量減少が確認された。以上から brimonidine 点眼に</p>

よる神経保護効果には、グリアを介した間接作用が含まれることが明らかとした。また緑内障患者の血液サンプルを解析した結果、GLAST 遺伝子に変異がある場合には約 10 倍程度、緑内障を発症しやすい可能性が出てきた。さらに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細胞レベルで確認された。今後の展開が期待される。

ASK1-p38 経路の阻害による視神経外傷後の神経細胞死の抑制の検討がされている。Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) はストレスによって活性化される Mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAP3K) の 1 つである。本研究では ASK1 が視神経外傷による網膜変性に与える影響を検討した。ASK1 KO マウスでは野生型マウスと比較して、視神経外傷後の神経細胞死が抑制された。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た。そこで受傷 5 分後に p38 阻害剤を野生型マウスの眼球内に投与したところ、やはり神経細胞死が抑制された。また OCT による同一個体の経時的観察により、p38 阻害剤による網膜内層の保護効果が確認された。本研究は ASK1-p38 MAPK 経路の活性化が視神経損傷による神経細胞死に関与しており、同経路の阻害剤の眼内投与が治療に有効である可能性が示した画期的なものとなし、新聞報道なども行われた。自然免疫系の抑制による視神経炎の検討では、多発性硬化症 (MS) の疾患モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) において、昇圧作用を持つ生理活性物質である angiotensin II (AngII) の血中濃度が上昇することを発見した。また骨髄由来樹状細胞や培養アストロサイトをを用いた実験から、AngII 刺激によって TLR4 発現の顕著な増加や、樹状細胞の成熟が促進されることを確認した。そこで AngII 阻害剤である candesartan を EAE マウスに投与すると、視神経炎を含む神経症状が軽症化した。さらに TLR4 の下流では ASK1 が活性化することから、candesartan を ASK1 KO マウスに投与すると EAE の発症率が大きく低下した。これらの成果は、MS 治療に有効な可能性を示唆するものとなる。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が (■ある ・ □ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が (□創出された ・ ■創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (■ある ・ □ない)

緑内障患者のグリア型グルタミン輸送体 (GLAST) は正常者の 10 倍、変異を含んでいることがわかり、このたんぱく質の機能不全が発症の原因と推測された。これを培養細胞系で検証した結果、変異 GLAST が引き起こす細胞外グルタミン酸濃度上昇によって網膜神経節細胞死が引き起こされていることを示した。また、視神経外傷モデル動物の網膜神経節細胞の細胞死は、ASK1 (細胞死調節キナーゼ) 欠損マウスにおいては抑制されたことから、そのシグナル下流の MAPK (p38) の阻害剤を視神経損傷マウスの眼球内投与によって抑制できることを見出した。これにより、ASK1-MAPK 経路が薬物治療の標的として有効な可能性を示した。これらは研究の先進性、優位性を示している。Dock3 結合分子と神経細胞の軸索再生の機構の解明を進めることによって、Dock3 が

GEF 依存的経路 (rac1, WAVE, アクチン重合経路) と非依存的経路 (GSK-3 阻害、CRMP-2, APC 活性化、微小管重合経路) の2つの経路を通して、視神経細胞の再生を促進することを示した。当初の目的の他、自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) のモデル動物で angiotensinII の血中レベルが上昇していることを発見、AngII による TLR4 の発現上昇、樹状細胞の成熟化促進効果を見出し、AngII 阻害剤による ASK1 を活性化する TLR4 の発現抑制が視神経炎の軽傷化に有効であることを示した。EAE の発症マウス網膜の形態 (光干渉断層計) と視機能 (多局所網膜電位) を経時的、非侵襲的に測定するシステムを確立した。これらはいずれも本研究の優れた点といえる。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

本研究では疾患モデル動物の作製・解析、病因の解明、神経保護・再生療法の試みに加えて、ヒトにおける遺伝子変異の探索などを通して、基礎研究と臨床応用の橋渡しを意識しつつ、網膜・視神経変性疾患の治療法開発に取り組んでいる。例えばヒト緑内障における GLAST 遺伝子異常が確認できたことから、我が国で最も一般的な正常眼圧緑内障の発症予測やオーダーメイド医療が一步前進する可能性がある。また多発性硬化症に高い確率で合併する視神経炎について、複数の新しい治療標的を提案している。軸索再生の手法としては、これまでに再生阻害因子を阻害する中和抗体などの概念が浸透しつつあるが、GEF の活用や成長円錐を直接の標的とした研究を行っているグループは少ない。以上のことから本研究の成果は眼科・神経内科・脳外科などの臨床医学にとどまらず、神経科学・細胞生物学や発生生物学等の各分野にも寄与するものである。

先進国における失明原因の多くは網膜・視神経変性疾患によって占められており、緑内障をはじめとする眼疾患における神経保護・再生療法に向けた基礎的データの集積が社会的な要請となっている。本研究のテーマは再生医療研究の現状ともマッチした内容であり、社会的・医療的・学問的な各ニーズにも十分応えるものと考えられる。またヒトが外界の情報の約 80% を視覚から得ていることを考慮すれば、本研究は超高齢化社会を迎える我が国において、Quality of Vision の向上を通して、大きなライフ・イノベーションの推進をもたらすことが期待できる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究実施マネジメントは適切である。指摘事項に対する対応も適切である。

研究の効率性、アクティビティーが高く、優れている。

論文 25 件、会議発表 13 である。知的財産権の出願は 1 件である。一般、高校生等を対象にした啓発活動も実施されている。