

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 12 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23700459

研究課題名（和文）グリア活性に注目した多発性硬化症に対する治療法の開発

研究課題名（英文）Development of new therapeutic avenues of multiple sclerosis with a focus on glial activation

研究代表者

郭 暁麗（KAKU GYOUREI）

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・主任研究員

研究者番号：50443114

研究成果の概要（和文）：

我々は抗酸化物質spermidineを用い、脊髄炎や視神経炎の重症度の緩和を組織病理学及び電気生理学的手法によって解明した。一方、我々はangiotensin II（Ang II）アンタゴニストで高血圧治療薬でもあるcandesartanをASK1欠損マウスに投与すると、実験的自己免疫性脳脊髄炎（Experimental autoimmune encephalomyelitis:EAE）の発症率が半分以下に抑制されることを明らかにしている。一方、Dock8欠損マウス及びDock8過剰発現マウスではEAEの発症率が低下し、また発症した場合でも有意に軽症化することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), an animal model of multiple sclerosis (MS), was used in our study to develop new therapeutic avenues of multiple sclerosis. Firstly, we found that oral administration of spermidine, a natural component of our diet, reduced the severity of EAE, suggesting that spermidine might be suitable for the treatment of MS. Secondly, we revealed a novel pathway of RAS-NFκB-TLR4-ASK1 in neural and immune cells as a valid therapeutic target for autoimmune disorders in the central nervous system. Thirdly, we found that Dock8 deficiency or overexpression both reduced the severity of EAE, suggesting that modulation of Dock8 expression might be effective for the treatment of MS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合生物

科研費の分科・細目：神経化学・神経薬理学

キーワード：多発性硬化症・グリア・自然免疫・Angiotensin II

### 1. 研究開始当初の背景

これまで国内外における多発性硬化症 (MS) 研究はその多くが免疫学的な手法に基づいており、Th1 細胞の活性化機序や抑制法に関わるテーマがほとんどであった。一方申請者はグリア細胞に注目し、遺伝子学的及び薬理学的手法によるグリア自然免疫活性を調製することにより、EAE マウスの症状を軽減することに成功した (Guo et al, EMBO Molecular Medicine, 2010)

### 2. 研究の目的

本研究では多発性硬化症の発症メカニズムを、特にグリア自然免疫に注目して解析し、さらにグリア活性を標的とした薬剤を利用した治療研究を行う。

### 3. 研究の方法

- (1) MOG 免疫による EAE の作製
- (2) 組織病理学的手法
- (3) 電気生理学的手法
- (4) 細胞初代培養

### 4. 研究成果

(1) 抗酸化物質 Spermidine による MS への治療の可能性が示された (図 1)

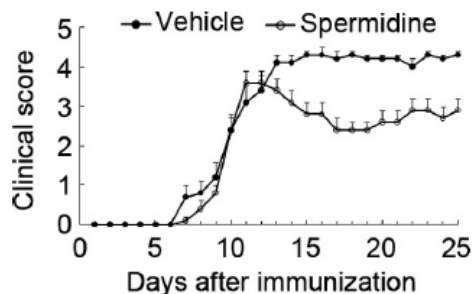


図 1 Spermidine 投与による EAE 症状の緩和

(2) MOG ペプチド免疫後 9 日目の EAE マウスの血清中において、Ang II 濃度が有意に上昇することを見出した。また培養アストロサイトや骨髄由来樹状細胞を用いた in vitro の実験から、AngII 刺激によって両細胞における TLR4 の発現が顕著に増加し、逆に Ang II アンタゴニストで高血圧治療薬でもある candesartan により、その発現上昇は抑制可能であることを突き止めた。さらに、レニン-アンジオテンシン系及び ASK1 の二重抑制に

よる MS への治療の可能性が解明された (図 2)

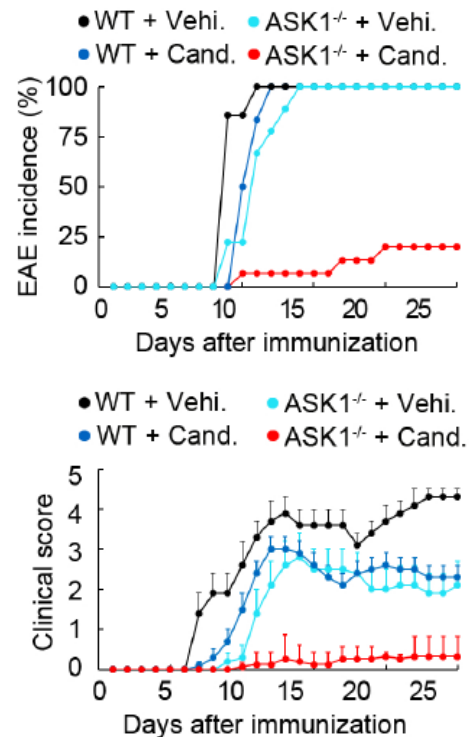


図 2 Candesartan 投与による ASK1 欠損 EAE マウスの発症率の軽減 (上段) 及び EAE 症状の緩和 (下段)

(3) Dock8 欠損マウス及び Dock8 過剰発現マウスでは EAE の発症率が低下し、また発症した場合でも有意に軽症化することがわかった。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- 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. Cell Death and Differentiation (in press) 査読有

- ② 香留 崇、行方和彦、郭 曉麗、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、原田高幸、査読無、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。日眼会誌 117(2), 161, 2013.
- ③ Katome T., Namekata K., Guo X., Semba K., Kittaka D., Kawamura K., Kimura A., Harada C., Ichijo H., Mitamura Y. & Harada T. Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural cell death following optic nerve injury. *Cell Death and Differentiation* 20:270-280, 2013. 査読有
- ④ Katome T., Namekata K., Naito T., Semba K., Guo X., Harada C., Harada T. & Mitamura Y. Expression of promyelocytic leukemia protein and vascular endothelial growth factor in aqueous humor and vitreous fluid in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 98(2):9-11, 2012. 査読有
- ⑤ Namekata K., Watanabe H., Guo X., Kittaka D., Kawamura K., Kimura A., Harada C. & Harada T. Dock3 regulates BDNF-TrkB signaling for neurite outgrowth by forming a ternary complex with Elmo and RhoG. *Genes to Cells* 17(8): 688-697, 2012. 査読有
- ⑥ Namekata K., Harada C., Guo X., Kimura A., Kittaka D., Watanabe H. & Harada T. Dock3 stimulates axonal outgrowth via GSK-3 $\beta$ -mediated microtubule assembly. *Journal of Neuroscience* 32(1): 264-274, 2012. 査読有
- ⑦ 行方和彦、原田知加子、郭 曉麗、木村敦子、橘高大二、渡邊快記、原田高幸、査読無、Dock3 はグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ )による微小管重合を介して軸索伸長を促進する。日眼会誌 116(5), 527, 2012.
- ⑧ Harada C., Guo X., Namekata K., Kimura A., Nakamura K., Tanaka K., Parada L.F. & Harada T. Glia- and neuron-specific functions of TrkB signalling during retinal degeneration and regeneration. *Nature Communications* 2: 189, 2011. 査読有
- ⑨ Guo X., Harada C., Namekata K., Kimura A., Mitamura Y., Yoshida H., Matsumoto Y. & Harada T. Spermidine alleviates severity of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 52: 2696-2703, 2011. 査読有
- ⑩ 郭 曉麗、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、査読無、Spermidine 投与による実験的自己免疫性脳脊髄炎の軽症化。日眼会誌 115(8), 729, 2011.
- ⑪ 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、原田高幸、査読無、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。日眼会誌 115(7), 637, 2011.
- ⑫ 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、原田高幸、査読無、TLR-ASK1-p38 経路による神経炎症と脱髄症状の制御。日眼会誌 115(5), 485, 2011.
- [学会発表] (計 6 件)
- ① Namekata K., Harada C., Guo X., Kimura A. & Harada T. The role of Dock3 in axon regeneration following optic nerve injury. Poster session: Retinal cell biology XX International Congress of Eye Research (ISER 2012), 2012. 7. 24., Berlin, Germany.

- ② Guo X., Harada C., Namekata K., Kimura A. & Harada T. ASK1 inhibition ameliorates optic neuritis by modulating glial innate immunity. Oral session: Macrophages and microglial regulation of ocular inflammation XX International Congress of Eye Research (ISER2012), 2012.7.23., Berlin, Germany.
- ③ Harada T., Guo X., Namekata K., Parada L.F. & Harada C. Glia- and neuron-specific functions of TrkB signaling during retinal degeneration and regeneration. 8<sup>th</sup> World Congress of Neuroscience, International Brain Research Organization (IBRO), 2011.7.18., Florence, Italy.
- ④ Harada T., Namekata K, Guo X., Tanaka K, Ichijo H., Harada C. ASK1 deficiency attenuates neural cell death in a mouse model of normal tension glaucoma. The 26th Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress. 2011.3.22., Sydney, Australia.
- ⑤ Namekata K., Harada C., Guo X., Harada T. Optic nerve regeneration is enhanced in Dock3 overexpressing transgenic mice. The 26th Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress. 2011.3.22., Sydney, Australia.
- ⑥ Guo X., Harada C., Nakamura K., Kimura A., Ichijo H., Harada T. ASK1 inhibition ameliorates optic neuritis by modulating glial innate immunity. The 26th Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress. 2011.3.22., Sydney, Australia.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称 : 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

発明者 : 原田高幸、行方和彦、郭 曉麗

権利者 : 原田高幸、行方和彦、郭 曉麗

種類 : 特許

番号 : 特願 2013-026753

出願年月日 : 平成 25 年 2 月 18 日

国内外の別 : 国内

[その他]

ホームページ等

視覚病態プロジェクトの研究紹介

<http://www.igakuken.or.jp/retina/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

郭 曉麗 (KAKU GYOUREI)

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・主任研究員

研究者番号 : 50443114

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし