

機関番号：82609

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2010

課題番号：20200012

研究課題名（和文）

神経変性疾患の発症機構の解析と MOCA を利用した治療・再生への応用

研究課題名（英文）

Neurodegenerative mechanism and treatment with MOCA.

研究代表者 行方 和彦 (NAMEKATA KAZUHIKO)

財団法人東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所・研究員

研究者番号：70392355

研究成果の概要（和文）：

Dock3 は WAVE 分子複合体を細胞膜へ移行させることによって軸索伸長を促進する

研究成果の概要（英文）：

Dock3 induces axonal outgrowth by stimulating membrane recruitment of the WAVE complex.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009 年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2010 年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
総計	23,000,000	6,900,000	29,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：再生治療、神経変性疾患

## 1. 研究開始当初の背景

Modifier of cell adhesion protein (MOCA)

は別名 Dock3 と呼ばれ、アルツハイマー病の原因遺伝子産物であるプレセニリンに結合する新規タンパク質として 2000 年に発見された。その後の研究により MOCA はアルツハイマー病の他の原因遺伝子産物であるアミロイド前駆体タンパクの分解を促進していることが明らかにされた (Chen et al., J Cell Biol, 2002)。またアルツハイマー病患者脳では MOCA が減少していること (Kawashima et al., J Neurochem, 2000)か

ら、MOCA がアルツハイマー病の発症に影響を及ぼす可能性が推測される。これまで MOCA の細胞内での機能の詳細は不明であったが、研究代表者は MOCA の発現が神経細胞に特異的であり、Rho family 低分子量 G タンパク質である Rac1 を活性化することにより細胞骨格の再編を制御していることを明らかにした (J Neurochem, 2002; J Biol Chem, 2004)。また MOCA の強制発現により、海馬や網膜神経節細胞などの神経細胞の軸索伸長が促進することを発見した (特許申請済)。さらに MOCA トランス

ジェニックマウスでは実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) による視機能の低下が抑制されていることや、視神経切断後の軸索再生が促進していることも見出している。これらの結果から MOCA の機能が神経細胞やミエリンの再生に大きく関与している可能性が推測される。

## 2. 研究の目的

研究代表者はこれまでに独自の検討を行い、MOCA が中枢神経組織に特異的に発現し、神経細胞の細胞骨格の再編を制御することを明らかにした (J Biol Chem, 2004 に発表済)。そして最近 MOCA を過剰発現するトランスジェニックマウスを作製し、同マウスでは軸索切断後の軸索再生能が高いことを見出した。また多発性硬化症に類似した実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) を同マウスに発症させると重症度が軽減することも未発表ながらも確認しており、MOCA は神経細胞やミエリンの再生促進に関与する可能性があると思定される。そこで本研究では神経軸索の伸長・再生およびシナプス形成における MOCA の役割についてトランスジェニックマウスを用いて個体レベルで明らかにし、神経変性疾患の発症メカニズム解明や治療法の開発に応用することを目的とする。

## 3. 研究の方法

MOCAトランスジェニックマウスを用いた神経変性疾患モデル動物の解析を通して、中枢神経におけるMOCAの機能解析と神経変性疾患の治療への応用を検討した。特に視神経の軸索切断、実験的自己免疫性脳脊髄炎による脱髄障害、緑内障による軸索損傷などに対する神経細胞の障害耐性や再生促進におけるMOCAの影響について重点的に解析を

進めた。特に視神経切断では障害後の軸索におけるMOCA、神経栄養因子またはその受容体などの発現量などを定量し、軸索再生との関連を検討した。

## 4. 研究成果

Dock3 は別名で Modifier of cell adhesion protein (MOCA) と呼ばれ、アルツハイマー病の原因物質である presenilin に結合する全く新規の蛋白質として発見されたが、その分子機能はほとんど不明であった。これまでに申請者はDock3が中枢神経系に特異的に発現し、細胞骨格の構築を制御するRac1 特異的な guanine nucleotide exchange factor (GEF)であることを明らかにしてきた。本研究ではDock3の神経細胞内における機能解析を進め、Dock3が神経栄養因子

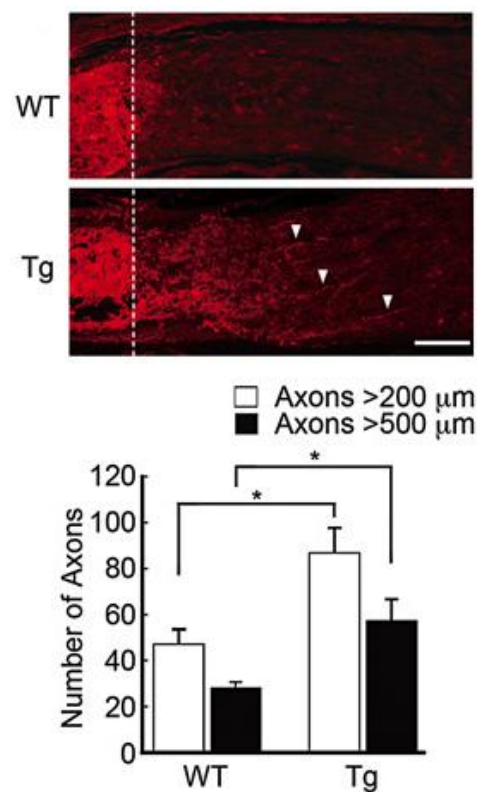


図1 野生型マウス (WT) と MOCA を過剰発現するマウス (Tg) における視神経切断後の軸索再生。Tg では再生した軸索 (矢頭) が多数検出された (上段写真)。再生した軸索の数を定量した (下段グラフ)。

brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の下流で活性化 Fyn と結合することによって細胞膜へ移行することを見出した。その際にはアクチン繊維の重合に重要な WAVE もまた Fyn-Dock3 とともに細胞膜上で複合体を形成し、効率よく Rac1 シグナルを下流へ伝達していることが判明した。細胞膜上では Dock3 がリン酸化を受けるが、この Dock3-WAVE の結合は Dock3 のリン酸化修飾によって解離することも明らかとなった。さらに新規に Dock3 を過剰発現するトランスジェニックマウスを作成したところ、野生型マウスと比較して視神経外傷後の軸索再生が顕著に亢進することを発見し報告し (図 1 ; Namekata et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010) 、新聞にも掲載された。Dock3 はアルツハイマー病患者の脳では減少することがすでに報告されていることから、Dock3 が神経細胞の保護・再生に関与している可能性が示唆される。

#### 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 11 件)

1. Harada C, Guo X, Namekata K, Kimura A, Nakamura K, Tanaka K, Parada LF, Harada, T. Glia- and neuron-specific functions of TrkB signaling during retinal degeneration and regeneration. *Nature Communications* 2:189, 2011
2. Guo X, Harada C, Namekata K, Kimura A., Mitamura Y., Yoshida H., Matsumoto Y., Harada T. Spermidine alleviates severity of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 12, 2011
3. Guo X, Harada C, Namekata K, Matsuzawa A, Camps M, Ji H, Swinnen D, Jorand-Lebrun C, Muzerelle M, Vitte PA, Rückle T, Kimura A, Kohyama K, Matsumoto Y, Ichijo H, Harada T. Regulation of the severity of neuroinflammation and demyelination by TLR-ASK1-p38 pathway. *EMBO Mol Med*. 2 (12): 504-515, 2010
4. Guo, X., Harada, C., Namekata, K., Mitamura, Y., Yoshida, H., Matsumoto, Y., Harada, T. Delayed onset of experimental autoimmune encephalomyelitis in Olig1 deficient mice. *PLoS ONE* 5 (9). pii: e13083, 2010
5. Harada C, Namekata K, Guo X, Yoshida H, Mitamura Y, Matsumoto Y, Tanaka K, Ichijo H, Harada T. ASK1 deficiency attenuates neural cell death in GLAST deficient mice, a model of normal tension glaucoma. *Cell Death Differ*. 17 (11): 1751-9, 2010
6. Namekata K, Harada C, Taya C, Guo X, Kimura H, Parada LF, Harada T. Dock3 induces axonal outgrowth by stimulating membrane recruitment of the WAVE complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 107 (16): 7586-91, 2010
7. Yoshida T, Guo X, Namekata K, Mitamura Y, Kume S, HARADA T. Expression of Epiplakin1 in the developing and adult mouse retina. *Jpn J Ophthalmol*. 54 (1): 85-88, 2010
8. Yoshida-Hata N, Mitamura Y, Oshitari T, Namekata K, Harada C, Harada T, Yamamoto S. Transcription factor, SP1, in epiretinal membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 87 (3): e26-8, 2010
9. Namekata K, Harada C, Guo X, Kikushima K, Kimura A, Fuse N, Mitamura Y, Kohyama K, Matsumoto Y, Tanaka K, Harada T. Interleukin-1 attenuates normal tension glaucoma-like retinal degeneration in EAAC1-deficient mice. *Neurosci Lett*. 465 (2): 160-4, 2009

10. Guo X, Harada C, Namekata K, Kikushima K, Mitamura Y, Yoshida H, Matsumoto Y, Harada T. Effect of geranylgeranylacetone on optic neuritis in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurosci Lett.* 462 (3): 281-5, 2009
11. Namekata K, Harada C, Kohyama K, Matsumoto Y, Harada T. Interleukin-1 stimulates glutamate uptake in glial cells by accelerating membrane trafficking of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase via actin depolymerization. *Mol Cell Biol.* 28 (10): 3273-3280, 2008

[学会発表] (計 6 件)

1. Guo X., Harada C., Namekata K., Kimura A., Ichijo H. & Harada T. ASK1 inhibition ameliorates optic neuritis by modulating glial innate immunity. 26<sup>th</sup> Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress, 2011.3.22., Sydney.
2. 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. 26<sup>th</sup> Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress, 2011.3.22., Sydney.
3. Namekata K., Harada C., Guo X. & Harada T. Optic Nerve Regeneration is Enhanced in Dock3 Overexpressing Transgenic Mice. 26<sup>th</sup> Asia Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress, 2011.3.22., Sydney.
4. 行方和彦、原田知加子、郭曉麗、原田高幸  
軸索伸長における Dock3 と WAVE の機能解析  
BMB2010 (第33回日本分子生物学会大会・第83回日本生化学会大会)、2010年12月

5. 行方和彦、原田知加子、郭曉麗、原田高幸  
軸索伸長における Dock3 と WAVE の機能解析  
Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経科学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会)、2010 年 9 月
6. 木村敦子、行方和彦、田中光一、原田高幸  
グルタミン酸毒性と酸化ストレスに対する Dock3 による網膜神経細  
Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経科学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会)、2010 年 9 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

ホームページ：

● <http://tmin.ac.jp/topics/harada.html>

- <http://tmin.ac.jp/topics/harada2.html>
- <http://tmin.ac.jp/topics/harada3.html>
- <http://tmin.ac.jp/topics/harada4.html>

新聞掲載：

- 平成 22 年 5 月 2 日の毎日新聞（朝刊）  
に掲載

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

行方 和彦 (Kazuhiko Namekata)  
財団法人東京都医学総合研究所・東京都  
神経科学総合研究所・研究員  
研究者番号：70392355

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし