

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462766

研究課題名(和文) ASK1およびDockファミリー分子の制御による視神経炎の治療研究

研究課題名(英文) Effects of ASK1 and Dock family members on the modulation of optic neuritis

研究代表者

原田 知加子 (HARADA, Chikako)

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・研究員

研究者番号：20435720

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症の疾患モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を活用し、視神経炎の治療研究を行った。ストレス応答分子であるASK1のグリア細胞特異的欠損マウスを作成したところ、EAEの軽症化が確認された。一方、Dock8とよばれるグアニンヌクレオチド交換因子の遺伝子欠損マウスを用いて同様の検討を行ったところ、やはり視神経炎の軽症化が確認された。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of ASK1, one of the stress response genes, on the severity of optic neuritis in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a mouse model of multiple sclerosis. Clinical signs of EAE were mild in glia-specific ASK1 conditional knockout mice. We also examined the effect of Dock8, an atypical guanine nucleotide exchange factor, on EAE, and found that optic neuritis was mild in Dock8 deficient mice.

研究分野：眼科学

キーワード：視神経炎 ASK1 Dock8

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 多発性硬化症 (Multiple sclerosis: MS) は時間的および空間的に多発する脱髄所見を特徴とする中枢神経系の神経炎症疾患であるが、依然として病態の詳細は不明である。MS では Th1 細胞の活性化に続き、ミクログリアおよびアストロサイトに起因するケモカインが炎症性細胞を動員するとされる。しかし初期病変における免疫学的研究と比較すると、炎症に二次的に関与するグリアに注目した研究は非常に少ない。自然免疫が MS またはその疾患モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の発症に与える影響についても複数の報告があるが、一定の見解は得られていない。

(2) Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) は酸化ストレスや小胞体ストレス等によって活性化され、下流の MAP キナーゼ経路へとシグナル伝達を行う (Harada et al., *Am J Pathol*, 2006; *Cell Death Differ*, 2010)。酸化ストレスは MS の発症にも深く関与するため、ASK1 欠損マウスを用いた EAE を解析したところ、同マウスでは TLR4-ASK1 pathway を介したグリアにおける chemokine 産生が抑制され、視神経炎および脊髄炎が野生型マウスよりも有意に軽症化していた (Guo et al., *EMBO Mol Med*, 2010)。

(3) 一方、Dock8 は Dock1~11 から構成される Dock ファミリーに属するグアニンヌクレオチド交換因子 (Guanine nucleotide exchange factor: GEF) の 1 つであり、その変異は重症複合免疫不全症の発症に関与する (Zhang et al., *N Engl J Med*, 2009)。しかし Dock ファミリー分子と EAE や視神経炎との関連については全く知られていない。

## 2. 研究の目的

本研究ではグリア細胞における ASK1 の機能が視神経炎をはじめとする神経炎症の重症度に与える影響を検討する。同様に Dock8 が視神経炎や脊髄炎の重症度に与える影響を解析し、これらの分子が新たな治療ターゲットとなるか検討する。

## 3. 研究の方法

グリア細胞における ASK1 の機能を検討するため、グリア領域特異的欠損マウスを作成する。同様に Dock8 欠損マウスを作成し、両者の EAE マウスを作成して、視神経炎や脊髄炎の状態を検討する。

## 4. 研究成果

(1) ASK1 のグリア領域特異的欠損マウスを用いた EAE マウスにおいては脊髄炎の発症率は全例で確認された。しかし特に経過観察中に次第に症状が軽快し、最終的には野生型マウスと ASK1 の完全欠損マウスの中間程度の重症度となった。同様に視神経の脱髄や炎症所見も野生型より軽度であり、軸索変性も抑制されることが確認された。

(2) Dock8 欠損マウスの発症は正常であり、EAE による視神経炎および脊髄炎は野生型マウスよりも軽度であった。現在はそのメカニズムについて詳細を検討中である。

## 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 15 件)

1. Harada, C., Azuchi, Y., Noro, T., Guo, X., Kimura, A., Namekata, K. and Harada, T. TrkB signaling in retinal glia stimulates neuroprotection after optic nerve injury. *American Journal of Pathology* 185(12), 3238-3247, 2015. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.08.005. 査読有
2. Noro, T., Namekata, K., Azuchi, Y., Kimura, A., Guo, X., Harada, C., Nakano, T., Tsuneoka, H. and Harada, T. Spermidine ameliorates neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 56(8), 5012-5019, 2015. doi: 10.1167/iovs.15-17142. 査読有
3. Noro, T., Namekata, K., Kimura, A., Guo, X., Azuchi, Y., Harada, C., Nakano, T., Tsuneoka, H. and Harada, T. Spermidine promotes retinal ganglion cell survival and optic nerve regeneration in adult mice following optic nerve injury. *Cell Death and Disease* 6, e1720, 2015. doi: 10.1038/cddis.2015.93. 査読有
4. Kimura, A., Namekata, K., Guo, X., Noro, T., Harada, C. and Harada, T. Valproic acid prevents NMDA-induced retinal ganglion cell death via stimulation of neuronal TrkB receptor signaling. *American Journal of Pathology* 185(3), 756-764, 2015. doi:

- 10.1016/j.ajpath.2014.11.005. 査読有
5. Guo, X., Namekata, K., Kimura, A., Noro, T., Azuchi, Y., Semba, K., Harada, C., Yoshida, H., Mitamura, Y. and Harada, T. Brimonidine suppresses loss of retinal neurons and visual function in a murine model of optic neuritis. *Neuroscience Letters* 592, 27-31, 2015. doi: 10.1016/j.neulet.2015.02.059. 査読有
  6. Kimura, A., Guo, X., Noro, T., Harada, C., Tanaka, K., Namekata, K. and Harada, T. Valproic acid prevents retinal degeneration in a murine model of normal tension glaucoma. *Neuroscience Letters* 588, 108–113, 2015. doi: 10.1016/j.neulet.2014.12.054. 査読有
  7. Katome, T., Namekata, K., Mitamura, Y., Semba, K., Egawa, M., Naito, T., Harada, C. and Harada, T. Expression of intraocular peroxisome proliferator-activated receptor gamma in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes and its Complications* 29, 275–281, 2015. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.10.010. 査読有
  8. Namekata, K., Kimura, A., Kawamura, K., Harada, C., and Harada, T. Dock GEFs and their therapeutic potential: Neuroprotection and axon regeneration. *Progress in Retinal and Eye Research* 43, 1-16, 2014. 10.1016/j.preteyeres.2014.06.005. 査読有
  9. Namekata, K., Kimura, A., Harada, C., Yoshida, H., Matsumoto, Y. and Harada, T. Dock3 protects myelin in the cuprizone model for demyelination. *Cell Death and Disease* 5, e1395, 2014. doi: 10.1038/cddis.2014.357. 査読有
  10. Semba, K., Namekata, K., Kimura, A., Harada, C., Mitamura, Y. and Harada, T. Brimonidine prevents neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma. *Cell Death and Disease* 5, e1341, 2014. doi: 10.1038/cddis.2014.306. 査読有
  11. 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. *Cell Death and Disease* 5, e1333, 2014. doi: 10.1038/cddis.2014.296. 査読有
  12. Semba, K., Namekata, K., Kimura, A., Harada, C., Katome, T., Yoshida, H., Mitamura, Y. and Harada, T. Dock3 overexpression and p38 MAPK inhibition synergistically stimulate neuroprotection and axon regeneration after optic nerve injury. *Neuroscience Letters* 581, 89–93, 2014. doi: 10.1016/j.neulet.2014.08.034. 査読有
  13. 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* 20(9), 1250-1256, 2013. doi: 10.1038/cdd.2013.91 査読有
  14. Katome, T., Namekata, K., Guo, X., Semba, K., Kittaka, D., Kawamura, K., Kimura, A., Harada, C., Ichijo, H., Mitamura, Y. and Harada, T. Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural cell death following optic nerve injury. *Cell Death and Differentiation* 20(2), 270-280, 2013. doi:10.1038/cdd.2012.122 査読有
  15. 原田知加子、原田高幸、網膜変性疾患とMAPキナーゼ、*Clinical Neuroscience* 31(6), 705-706, 2013. 査読無
- {学会発表}(計 13 件)
1. Takayuki Harada, Atsuko Kimura, Takahiko Noro, Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Chikako Harada. Neuroprotection by valproic acid and spermidine in a mouse model of normal tension glaucoma. 45<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2015.10.20., Chicago, USA.
  2. Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Atsuko Kimura, Takahiko Noro, Chikako Harada, Takayuki Harada. Brimonidine suppresses loss of retinal neurons and visual function in murine

- models of glaucoma and optic neuritis. 45<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2015.10.19., Chicago, USA.
3. Guo X., Namekata K., Kimura A., Noro T., Harada C., Harada T. Brimonidine protects retinal neurons and visual function in a murine model of optic neuritis. 第 119 回 日本眼科学会総会. 平成 27 年 4 月 17 日 ロイトン札幌 (北海道札幌市)
  4. 仙波賢太郎、行方和彦、木村敦子、原田知加子、三田村佳典、原田高幸. プリモニジンは正常眼圧緑内障モデルマウスにおける神経変性を抑制する. 第 119 回 日本眼科学会総会. 平成 27 年 4 月 17 日 札幌芸文館 (北海道札幌市)
  5. 行方和彦、木村敦子、郭 曉麗、原田知加子、原田高幸. Dock3 は ERK シグナルを介して視神経の脱髄を抑制する. 第 119 回 日本眼科学会総会. 平成 27 年 4 月 16 日 ロイトン札幌 (北海道札幌市)
  6. Atsuko Kimura, Kazuhiko Namekata, Xiaoli Guo, Takahiko Noro, Chikako Harada, Takayuki Harada. Valproic acid protects retinal neurons from NMDA-induced neurotoxicity via stimulation of neuronal TrkB receptors. 2015 Asia-ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) 2015.2.18, Pacifico Yokohama, Yokohama, Kanagawa.
  7. Kazuhiko Namekata, Xiaoli Guo, Atsuko Kimura, Chikako Harada, Takayuki Harada. Dock8/10 regulate severity of inflammatory demyelination disorder. The ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) 2014. Annual Meeting. 2014.5.8, Orlando, USA.
  8. Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Chikako Harada, Takayuki Harada. Combined inhibition of angiotensin II type 1 receptor and ASK1 significantly attenuates autoimmune optic neuritis. The ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) 2014. Annual Meeting. 2014.5.8, Orlando, USA.
  9. Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Chikako Harada, Takayuki Harada. Inhibition of angiotensin II ameliorates autoimmune optic neuritis by suppressing innate immune responses. World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology (WOC) 2014. 2014.4.5., Tokyo International Forum, Chiyoda-ku, Tokyo.
  10. Kazuhiko Namekata, Xiaoli Guo, Chikako Harada, Takayuki Harada. Dock3 protects retinal neurons in a mouse model of normal tension glaucoma. World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology (WOC) 2014. 2014.4.3., Tokyo International Forum, Chiyoda-ku, Tokyo.
  11. Kazuhiko Namekata, Chikako Harada, Xiaoli Guo, Takayuki Harada. Dock8 is a therapeutic target for CNS inflammation. 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2013.11.11., San Diego, USA.
  12. Daiji Kittaka, Kazuhiko Namekata, Takuji Kurimoto, Xiaoli Guo, Chikako Harada, Takayuki Harada. Roles of ASK1 in neuroprotection and axonal regeneration after optic nerve injury. 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2013.11.11., San Diego, USA.
  13. Xiaoli Guo, Kazuhiko Namekata, Chikako Harada, Takayuki Harada. Interaction between renin-angiotensin and innate immune systems in autoimmune neuroinflammation. 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2013.11.10., San Diego, USA.
- 〔図書〕(計 1 件)
1. Harada, C. and Harada, T. Neurotrophic factors. pp. 99-112. In: Neuroprotection and Neuroregeneration for Retinal Diseases. Springer Japan (2014).
- 〔その他〕  
ホームページ  
<http://www.igakuken.or.jp/retina/>
6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
原田 知加子 (HARADA Chikako)

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・研究員  
研究者番号：20435720