

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861479

研究課題名(和文) Dock関連分子による緑内障と視神経炎の治療研究

研究課題名(英文) The role of Dock molecules in glaucoma and optic neuritis

研究代表者

木村 敦子 (KIMURA, Atsuko)

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：60569143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではバルプロ酸(VPA)が、緑内障でみられる網膜神経節細胞死を抑制する可能性について検討を行った。神経細胞死を引き起こす高濃度のグルタミン酸をマウス眼球に投与して、網膜神経節細胞死を誘導したところ、VPAを投与したマウスでは網膜における神経細胞死が抑制されることが明らかとなった。また、神経保護作用をもつDock3の発現を調べたが、VPAによる発現誘導は確認されなかった。一方、Dock8による視神経炎症への影響について検討したところ、Dock8欠損マウスでは病態が著しく軽減することを見出し、今後はDock分子を活用した炎症制御による新たな治療法開発に期待がもたれる。

研究成果の概要(英文)：We examine neuroprotective effects of Valproic acid (VPA) in glutamate-induced excitotoxicity model, which mimics some of the pathological features of glaucoma. In vivo retinal imaging using optical coherence tomography revealed that glutamate-induced retinal degeneration was suppressed in the VPA-treated retina, and histological analyses confirmed that VPA reduced retinal ganglion cell death. In vivo electrophysiological analyses demonstrated that visual impairment was prevented in the VPA-treated retina, clearly establishing both histological and functional effects of VPA. Our findings raise intriguing possibilities that VPA may be useful for treatment of glaucoma.

研究分野：神経薬理学

キーワード：バルプロ酸 緑内障 神経保護

1. 研究開始当初の背景

我が国最大の失明原因である緑内障は、網膜神経節細胞およびそれらの軸索の変性を特徴とする疾患である。これまでのところ緑内障の治療には眼圧降下以外の対処法がなく新たな治療法の開発が期待されている。

バルプロ酸 (VPA) は抗てんかん薬として 1970 年代から世界中で広く使用されており、1990 年代からは気分障害と片頭痛にも処方されている、比較的副作用の少ない薬剤である。また最近の研究では、VPA が神経保護効果をもつ可能性が報告されている。例えば網膜色素変性症患者に数カ月間 VPA を投与すると、視機能の改善が得られたとすることが報告された。しかし緑内障への治療効果については不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、複数の緑内障モデルマウスを活用して VPA による網膜神経節細胞の保護効果の有無を明らかにし、緑内障治療への可能性について検討する。

3. 研究の方法

NMDA を眼球内へ投与することにより誘導された網膜神経節細胞死を、VPA が抑制するかについて検討した。NMDA 投与の 7 日および 14 日後に *in vivo* イメージングによって、同一個体における網膜変性の進行状況をその形態変化により観察した。同時に、多局所網膜電図測定を行い、視機能の変化を観察した。さらに逆行性ラベリングを用いて、生存している網膜神経節細胞を正確に計測した。また、VPA による神経栄養因子の発現誘導の有無について、定量 PCR によって解析を行った。

4. 研究成果

高濃度の NMDA をマウスの眼球に投与すると網膜神経節細胞死が観察されるが、この時に VPA を投与したマウスでは神経細胞死が抑制され (図 1) 視機能も保たれていた (図 2)。VPA は網膜のグリア細胞に発現する神経栄養因子 (BDNF) の発現量を上昇させることを定量 PCR によって明らかにした。そこで BDNF の受容体である TrkB が網膜神経節細胞から欠損するマウスを用いて、同様の実験を行った。その結果、VPA の神経保護作用が大きく減少したことから、VPA による神経保護作用には BDNF-TrkB シグナル経路が大きく関わることがわかった。さらに VPA を投与することにより網膜における酸化ストレスが抑制され、生存因子である細胞外シグナル制御キナーゼ (ERK) も上昇することが判明した。

また正常眼圧緑内障モデルマウス (GLAST 欠損マウス) に対して VPA を毎日投与したところ、治療開始から 2 週間後には網膜神経節細胞死の抑制が観察され、視機能障害の進行も予防できることが明らかとなった。

以上の知見から VPA による神経保護作用が緑内障治療にも有用である可能性が示唆された。

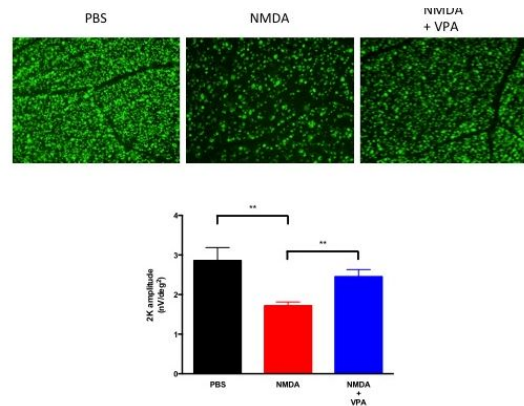


図 1 逆行性ラベリングによる網膜神経節細胞数の計測。

NMDA 投与によって細胞数の低下が確認されるが、VPA を同時に投与することにより神経細胞死が抑制された。

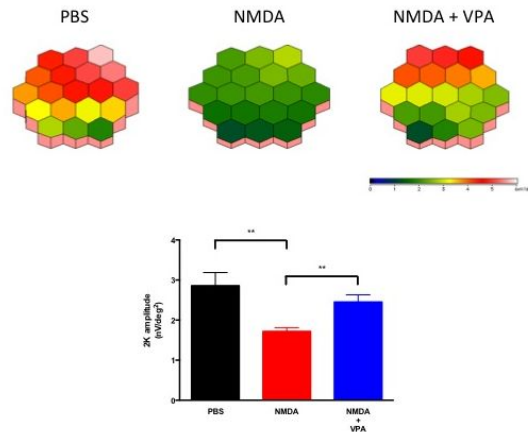


図 2 マウス多局所網膜電図測定。

NMDA 投与によって視機能の低下が確認されるが、VPA を同時に投与することにより視機能が保持された。

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 10 件)

1. 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

2. 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
 3. 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
 4. 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
 5. 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
 6. 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
 7. 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. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.06.005. 査読有
 8. 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
 9. 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
 10. 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
- 〔学会発表〕(計 8 件)
1. 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.
 2. 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. 45th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2015.10.20., Chicago, USA.
 3. 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. 45th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. 2015.10.19., Chicago, USA.
 4. 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)

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. 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)
7. Takahiko Noro , Kazuhiko Namekata, Xiaoli Guo, Atsuko Kimura, Yuriko Azuchi, Tadashi Nakano, Hiroshi Tsuneoka, Takayuki Harada. Spermidine stimulates neuroprotection and optic nerve regeneration following optic nerve injury. 2015 Asia-ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology). 2015.2.18, Pacifico Yokohama, Yokohama, Kanagawa.
8. 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.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

〔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

木村 敦子 (KIMURA Atsuko)
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: 60569143