

網膜神経回路網・視神経の再生における制御因子に関する研究

(H12年～H13年、第Ⅱ期 平成13年度 億円(2.2億円) 研究代表者:福田 淳 大阪大学医学部 他12機関

＜研究の概要・目標＞

1 何を目指しているのか

発生学的に脳の一部とされている網膜・視神経について再生制御技術を開発する。

(第Ⅱ期の目標)

- ・網膜神経回路網及び視神経再生の成功率の向上

2 何を研究しているのか

- ・網膜内細胞分化の仕組みの解明
- ・シナプス再生の仕組みの解明
- ・網膜神経回路網形成の仕組みの解明
- ・視神経再生の仕組みの解明に係る研究を行う。

3 何が新しいのか

再生能力の大きな両生類、魚類等の研究成果を哺乳類の研究につなげること及び、細胞内で情報伝達を担う重要な物質であるリンの動きを明らかにすることによって再生のしくみを解明しようとする点が新しい。

＜諸外国の現状等＞

1 現状

欧米では、網膜神経組織の再生に係る研究が盛んに進められているが、法規制の関係から、臨床応用に遠いマウス等を用いて行われている。

2 我が国の水準

網膜神経組織の再生に関わる各種因子の研究については諸外国としのぎを削っているところだが、特に高等哺乳動物を用いた視神経再生の研究では、規制がないこともあり、諸外国より進んでいる。

＜研究進展・成果がもたらす利点＞

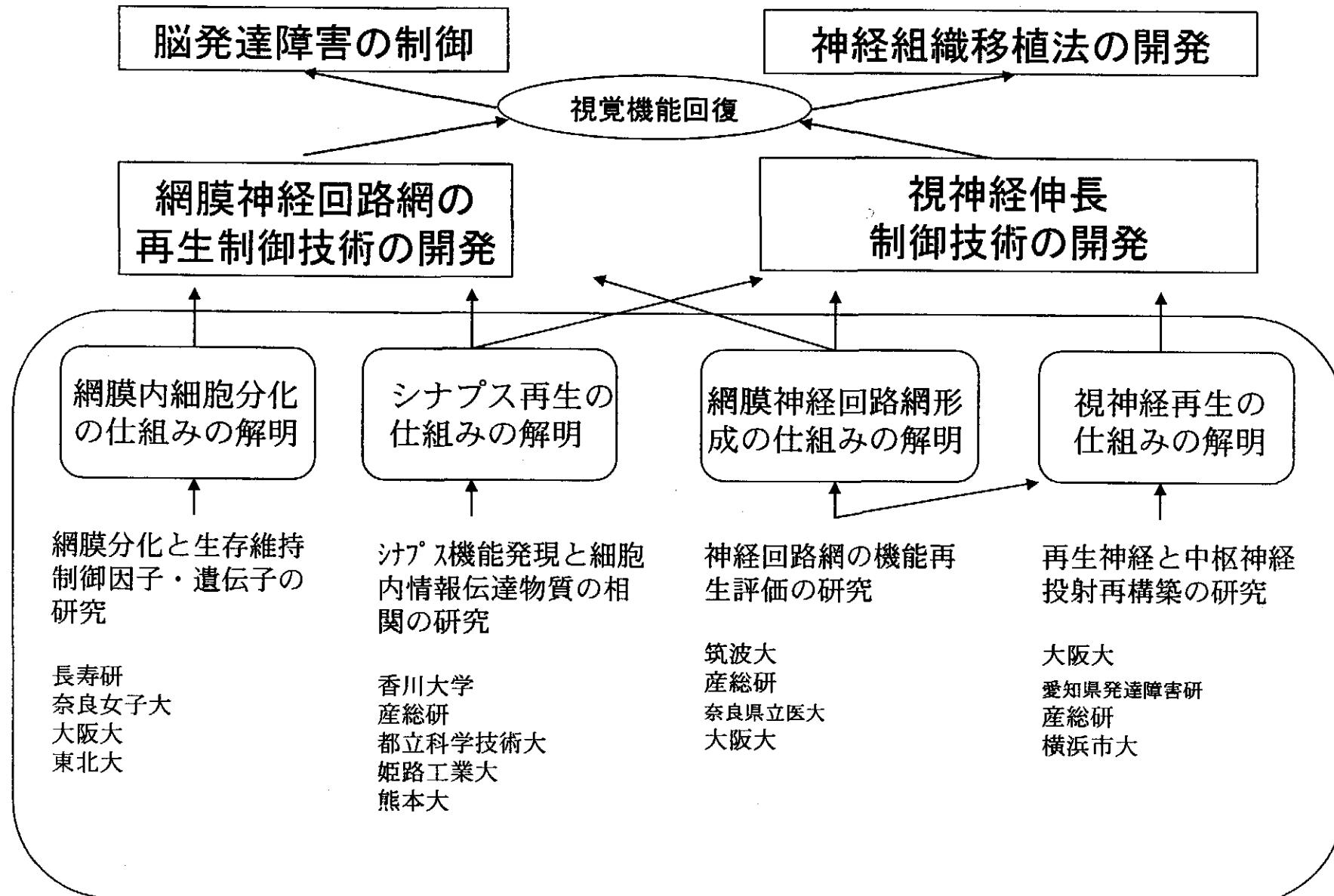
1 世界の水準との関係

世界に先駆け、哺乳類において網膜神経回路、視神経再生のための、細胞移植技術・遺伝子導入技術を確立できる。

2 波及効果

本研究により確立された再生・制御技術の臨床応用により、ヒトの視覚障害の機能回復が達成される。さらに、脳神経細胞の再生制御技術の開発につながることが期待される。

網膜神経回路網・視神経の再生における制御因子に関する研究



**第Ⅱ期研究における所用経費
「網膜神経回路網・視神経再生における制御因子に関する研究」**

(単位:千円)

研究項目	担当機関等	研究担当者	第Ⅱ期 所用経費
1. 网膜における神経細胞分化と生存維持の制御因子・遺伝子の研究			
(1)網膜細胞の最終分化に係る遺伝子発現の制御因子の研究	厚生労働省国立療養所中部病院 長寿医療研究センター	森 望	25,915
(2)網膜・色素上皮の分化決定と分化維持機構の研究	奈良女子大学理学部	荒木 正介	17,148
(3)視細胞の分化と生存維持機構の研究	大阪大学大学院理学研究科	徳永 史生	17,585
(4)遺伝子導入・移植による網膜細胞の生存維持の研究	東北大学医学部	玉井 信	17,354
2. 网膜内シナプス機能発現と細胞内情報伝達物質との相関の研究			
(1)X線頭微鏡法の開発と細胞骨格の動態の研究	香川大学工学部 (独)産業技術総合研究所	清水 秀明	23,341
(2)網膜神経細胞におけるシナプスとシンチウムの動的変化の研究	東京都立科学技術大学工学部 (独)産業技術総合研究所	山田 雅弘	39,821
(3)虚血網膜の神経回路網再生過程と情報伝達物質との相関の研究	兵庫県立姫路工業大学 大学院理学研究科	津田 基之	16,687
(4)網膜内神経結合の再形成におけるEph受容体型チロシンキナーゼの役割の研究	熊本大学医学部	田中 英明	17,604
3. 网膜神経回路網の再生・分化と機能評価の研究			
(1)再生網膜の培養下における細胞の機能分化とシナプス形成の研究	筑波大学生物科学系	斎藤 達彦	34,266
(2)網膜神経回路網形成における伝達物質受容体の役割の研究	奈良県立医科大学医学部	山下 勝幸	18,650
(3)網膜神経節細胞の生存維持と軸索再生の制御因子の研究	大阪大学大学院医学研究科	澤井 元	30,800
4. 再生視神経とその中枢投射路再構築の研究			
(1)再生視神経における機能評価と網膜内情報処理機構の研究 再生視神経における機能評価と網膜内情報処理機構の研究	大阪大学大学院医学研究科	三好 智満	30,857
(2)末梢神経移植による網膜→外側膝状体視覚路の再構築の研究	愛知県心身障害者 コロニー発達障害研究所	渡部 真三	18,448
(3)新規神経活性化因子の末梢神経移植への導入と網膜→上丘路再構築の研究	早稲田大学先端バイオ研究所	堀江 秀典	18,518
(4)シュワン細胞移植による視神経再生と中枢投射路の再構築の研究	横浜市立大学医学部	出澤 真理	19,187
3 研究推進	大阪大学大学院医学研究科	福田 淳	47,012
合 計			393,193

成果の概要

課題名（研究代表者名）：網膜神経回路網・視神経の再生における制御因子に関する研究（福田 淳）

【研究成果の概要】

脳のモデル系として網膜神経回路・視神経を用いて、中枢神経系の発達障害や神経損傷の治療のための基礎的知見を集積することを大きな目標として、生物学、工学、基礎医学さらには臨床医学の各分野を越えた横断的研究グループを組織して、学際的研究を推進してきた。その結果、数多くの重要な新知見が得られ、新しい技術の開発ができた。ここでは各研究項目毎に、主要な研究成果とその概略を紹介する。

第1の「網膜における神経細胞分化と生存維持の制御因子・遺伝子の研究」では、網膜神経節細胞の生存促進因子として、神経特異的アダプター分子（N-Shc）の役割が明らかになり、網膜細胞分化における周囲組織特に脈絡膜由来の因子の重要性も明らかにできた。終生にわたって周辺網膜が新生され続けている硬骨魚類の網膜を用いた研究では、視細胞を特徴づける視物質遺伝子の多様性の発現機序とその分化過程でのスイッチング機構を解明した。一方、臨床的基礎研究として、ヒト虹彩色素上皮細胞への遺伝子導入に成功し、その細胞移植により加齢黄斑変性症患者の視力を改善させることができた。

第2の「網膜内シナプス機能発現と細胞内情報伝達物質との相関の研究」では、細胞内磷酸分布を捉えることのできるテーブルトップ密着型X線励起光電子顕微鏡を開発し、細胞内のエネルギー代謝にとって重要なリンの動態が観察される可能性が示唆された。また、神経細胞の細胞骨格の動態観察のための新型偏光顕微鏡を開発し、培養神経細胞の成長円錐の動的な振る舞いを可視化することに成功した。網膜の発生と再生過程における神経伝達物質の役割、虚血網膜におけるグルタミン酸毒性の作用様式を明らかにし、視覚中枢への網膜部位対応投射を制御するあたらしい受容体-リガンド結合様式やレンズ由来の突起伸展阻害因子などを発見した。

第3の「網膜神経回路網の再生・分化と機能評価の研究」では、イモリ網膜の再生過程での細胞分化、シナプス形成、伝達物質受容体などの遺伝子、生理機能発現などの順序が発生過程と全く同じであることをつきとめた。さらに、網膜組織の再生・分化の初期過程におけるギャップ結合の重要性を明らかにできた。ヒヨコ網膜の組織発生過程の研究では、発生初期におけるカルシウム動員系と細胞周期の関連性を明らかにした。

哺乳動物での網膜神経節細胞の生存と軸索再生に関する因子の研究では、最近、脚光を浴びてきた *bcl-2* 遺伝子の軸索再生促進能を実験的に否定し、視神経損傷後の網膜神経節細胞のグルタミン毒性による細胞死を否定する、等の重要な発見があった。

第4の「再生視神経とその中枢投射路再構築の研究」では、末梢神経移植によって哺乳動物の視神経を再生させられること、再生した視神経線維が光情報伝達機能を保持していること、さらに再生された視神経伝導路によって視覚行動が回復することを証明できた。また、視神経切断後の変性・再生過程は、網膜神経節細胞のタイプ毎に大きく異なることを突き止め、眼球内への種々の神経栄養因子などの投与によってそれらを特異的に変性阻止・軸索再生促進できる方法を確立できた。また電気刺激や光刺激による賦活が網膜神経節細胞の生存や軸索再生に有効であることを発見した。さらに、シュワン細胞を豊富に含んだ人工移植片による網膜-上丘間の架橋移植に成功し、*in vivo* での網膜神経節細胞への神経栄養因子の遺伝子導入にも成功した。また骨髓間質細胞からのシュワン細胞の分化誘導に成功し、その細胞移植が網膜再生に寄与できることを示すことができた。全く新しい神経再生促進因子として酸化型ガレクチン-1を発見した。

以上、本研究の推進によって、網膜神経回路網と視神経の再生を制御する多くの因子の役割とそれらの制御による視覚機能修復が可能となり、新しい光学顕微鏡技術の開発の成果も上げられた。本研究を通して得られた網膜・視神経組織の発生と再生に関する多くの基礎的知見は、中枢神経系一般における発達障害や後天的損傷からの神経回路再生とその機能修復にとっても極めて貴重な基礎資料を提供する。また、本研究で開発された、末梢神経移植、神経栄養因子の眼球内適用、遺伝子導入色素上皮細胞移植、電気刺激による網膜細胞の賦活などの基礎技術は、眼科臨床において加齢黄斑変性症、網膜色素変性症、緑内障などの難治性眼疾患の新しい治療法の開発を大きく前進させるものである。

研究成果公表等の状況

課題名（研究代表者）：網膜神経回路網・視神經の再生における制御因子に関する研究
 （福田 淳）

【研究成果発表等】

	原著論文による発表	左記以外の誌上発表	口頭発表	合 計
国内	38 件	127 件	630 件	795 件
国外	272 (12) 件	19 件	197 件	488 (12) 件
合計	310 (12) 件	146 件	827 件	1283 (12) 件

(注：既発表論文について記載し、投稿中の論文については括弧書きで記載のこと)

【特許出願等】 22 件 (国内 19 件、国外 3 件)

- ・玉井信 他「全視野光刺激装置」(特願平 11-143917 号)
- ・富江敏尚、清水秀明、近藤洋行「光電子分光装置」(特願平 9-68271 号)
- ・近藤洋行、神高典明、富江敏尚、清水秀明「電子分光法」(特願平 9-192040 号)
- ・富江敏尚、清水秀明、近藤洋行、神高典明「光電子分光装置及び表面分析法」(特願平 10-79840 号)
- ・服部峰之、清水秀明、守谷哲朗「ラジオ波磁場強度の勾配を利用する磁気共鳴イメージング装置」(特願平 10-112829 号、特許第 2961229 号)
- ・T. Tomie, H. Shimizu, H. Kondo and N. Kandaka: Photoelectron Spectroscopy Apparatus (USA, No.09/145,064)
- ・松村英夫、清水秀明、眞島利和「機能的に配置された磁気粒子・リポソーム粒子複合体」(特願平 11-132833 号、特許第 3200704 号)
- ・金子浩子、山田雅弘、重松征史、根岸明、川窪隆昌、須田吉久 (1997) 「炭素微小電極及びその製造方法」(特許 第 2574495 号)
- ・金子浩子、根岸明、山田雅弘、重松征史、川窪隆昌、須田吉久 (1997) 「炭素微小電極及びその製造方法」(特許 第 2574523 号)
- ・金子浩子、山田雅弘、重松征史、水谷亘、根岸明、川窪隆昌、須田吉久 (1997) 「先細炭素微小電極及びその製造方法」(特許第 2655742 号)
- ・金子浩子、山田雅弘、根岸明、川窪隆昌、須田吉久 (1997) 「炭素微小センサー電極及びその製造方法」(特許第 2816262 号)
- ・山田雅弘、金子浩子、宮崎勝彦 (1997) 「窒素酸化物及び神経伝達物質の計測方法」(特許 第 288438 号)
- ・金子浩子、山田雅弘 (1998) 「酸素センサーおよび酸化窒素センサーと、これらセンサーによる酸素および酸化窒素の検出方法」(特許第 2780152 号)
- ・Kaneko, H., Yamada, M., Shigematsu, Y., Mizutani, W., Kawakubo, T., Negishi, A. & Suda, Y. (1998) Konische Kohlenstoff-Mikroelektrode und Verfahren zu ihrer Herstellung. (先細炭素微小電極及びその製造方法) (ドイツ特許 DE 41 23 534 C2)

- ・加藤薰, 山田雅弘, 金子浩子, 須田吉久 (2001)「マイクロカーボンロッドとその製造方法」
(特願 2001-24567)
- ・加藤薰, 山田雅弘, 金子浩子, 杉浦清了, 保田壮一郎, 三枝木泰丈, 杉晴夫 (2001)「単一細胞の張力計測システム」 (特願 2001-22583)
- ・Katoh K., Yamada M, Kaneko H., Suda Y (2002) "Carbon microrod and method of producing the same." (米国特許出願)
- ・小椋俊彦, 加藤薰, 山田亨, 山田雅弘 (2002)「光イメージングシステム及び, 光イメージデータ処理方法」 (特願 2002-52575)
- ・森本壮、三好智満、不二門尚、田野保雄、福田淳 (2002)「眼科用治療装置」 (特願 2002-14777)
- ・出澤真理、澤田元、高野雅彦 (2001)「骨髓間質細胞由来Schwann細胞を含む神経再生用医薬組成物」 (特願2001-190251)
- ・出澤真理、澤田元、高野雅彦、菅野洋 (2001)「Notch 遺伝子の導入を用いて骨髓間質細胞を神経細胞及び骨格筋細胞に分化誘導する方法」 (特願2001-261958)
- ・堀江秀典、稻垣好昌、相馬良明、門屋利彦 (1998)「ヒトガレクチン-1又はその誘導体からなる神経障害用治療剤」 (キリンビール株式会社との共同研究) (特H10-218216)

【受賞等】 8 件 (国内 8 件、国外 0 件)

- ・動物学会賞 (平成 9 年 10 月) 大阪大 徳永史生
- ・井上研究奨励賞 (平成 9 年) 横浜市大 出澤真理
: 成体ラット視神経へ移植された坐骨神経内シュワン細胞と再生軸索との接着について
- ・第 57 回注目発明 (平成 10 年 4 月) 電総研 山田雅弘 他
: 酸素センサーおよび酸化窒素センサーと、これらセンサーによる酸素および酸化窒素の検出方法
- ・平成 10 年度つくば奨励賞 (平成 11 年 2 月) 電総研 清水秀明、山田雅弘 他
: テープルトップ密着型 X 線顕微鏡システムの開発
- ・日本解剖学会奨励賞 (平成 11 年) 横浜市大 出澤真理
: 中枢および末梢神経再生における神経線維とシュワン細胞間の接着機構と相互作用
- ・2000 年度バイオイメージング学会奨励賞 (平成 12 年 11 月) 産総研 加藤薰
- ・日本動物学会論文賞 (平成 13 年 10 月) 姫路工業大 津田基之
- ・吉田記念賞 (平成 14 年 8 月) 大阪大 徳永史生

【主要雑誌への研究成果発表】

Journal	IF値	サブテーマ 1	サブテーマ 2	サブテーマ 3	サブテーマ 4	合計
第 I 期						
Neuron	15.081		1			15.081
EMBO J	13.999		1			13.999
J Clin Invest	12.015			1		12.015
Proc Natl Acad Sci USA	10.789	1				10.789
J Neurosci	8.502			1	1	17.004
Mol Biol Cell	8.482		2			16.964
J Biol Chem	7.368	3	1			29.472
Brain Res Bull	5.962				1	5.962
Dev Biol	5.540		1			5.540

Neurology	4.781				1	4.781
Inv Ophthal Vis Sci	4.373	1		1	2	17.492
Biochem J	4.280	1				4.280
Biochemistry	4.221	1	1			8.442
Mech Dev	4.154		1			4.154
Exp Neurol	3.858			1	3	15.432
J comp Neurol	3.772			2		7.544
Br J Pharmacol	3.689			1		3.689
Neuroscience	3.563	1			1	7.126
J Neurobiol	3.465			4		13.860
FEBS Lett	3.440	2	1			10.320
Genomics	3.425	1				3.425
Glycobiol	3.419		1			3.419
J Phys Chem B	3.386			2		6.772
J Neurosci Res	3.207				2	6.414
Biochem Biophys Acta	3.171	1				3.171
Biochem Biophys Res Comm	3.055	3		1	1	15.275
Cell Transplantation	2.959	1				2.959
Neuroreport	2.696	2			4	16.176
Mol Brain Res	2.622	3				7.866
Brain Res	2.526	1				2.526
Dev Neurosci	2.523		1			2.523
Photochem Photobiol	2.278	1				2.278
Cell Tissue Res	2.192	1				2.192
Arch Ophthalmol	2.158	1				2.158
Exp Brain Res	2.137			1	2	6.411
Mamm Genome	2.137	1				2.137
J Biochem	2.116				1	2.116
Neurosci Lett	2.091			5	3	16.728
Exp Eye Res	2.014	1			1	4.028
Vision Res	2.000	1		2	1	8.000
J Lab Clin Med	1.978				1	1.978
Br J Ophthalmol	1.948	1				1.948
Am J Ophthalmol	1.941	1				1.941
Anat Embryol	1.851		1		1	3.702
Dev Brain Res	1.827	1		2		5.481
Neurosci Res	1.807		5			9.035
Clinical Neurosci	1.781			1		1.781
Dev Growth Differ	1.730	1	1			3.460
Int Arch Allergy	1.630				1	1.630
Electrochimica Acta	1.597		1			1.597
Int J Dev Neurosci	1.583			1		1.583
Curr Eye Res	1.511	1				1.511
第Ⅰ期合計		112.450	97.694	74.905	91.118	376.167

Journal	IF値	サブテマ 1	サブテマ 2	サブテマ 3	サブテマ 4	合計
第Ⅱ期						
Mol Cell Biol	9.666	1				9.666
J Neurosci	8.502			3		25.506

J Biol Chem	7.368				1	7.368
Oncogene	6.490	1				6.490
J Gen Physiol	6.082		1			6.082
Brain Res Bull	5.962				1	5.962
Mol Cell Neurosci	5.746		1			5.746
Dev Biol	5.540	1	1			11.080
Biophys J	4.462		3			13.386
Inv Ophthal Vis Sci	4.373	1			5	26.238
Biochemistry	4.280	1				4.280
Neurobiol Aging	4.159	1				4.159
Neuropharmacology	4.125		1			4.125
Exp Neurol	3.858				1	3.858
J comp Neurol	3.772			1		3.772
Neurosci	3.563			1	1	7.126
J Neurobiol	3.465	1	1	1		10.395
FEBS Lett	3.440	1	2			10.320
Am J Physiol Heart Circ	3.243		2			6.486
Biochem Biophys Res Comm	3.055	1			1	6.110
Langmuir	3.045		1			3.045
Phil Trans Roy Soc Lond B	3.037		1			3.037
Eur J Biochem	2.852				1	2.852
Neuroreport	2.696	1		1	2	10.784
Mol Brain Res	2.622	2				5.244
Dev Neurosci	2.523		1			2.523
Gene	2.461	1				2.461
Eur J physiol	2.203		1			2.203
Visual Neurosci	2.149				1	2.149
Exp Brain Res	2.137		1			2.137
J Biochem	2.116	1			1	4.232
Neurosci Lett	2.091		1	2		6.273
Exp Eye Res	2.014		1		2	6.042
Life Sci	1.808	1			1	3.616
Neurosci Res	1.807		3		1	7.228
第Ⅱ期合計		58.793	74.181	43.184	65.823	241.981
総合計		171.243	171.875	118.089	156.941	618.148

(impact factorが1.5以上のものについてのみ集計した)