

神経薬理学研究室

私達、神経薬理学研究室では神経変性疾患、虚血性脳疾患、うつ病を初めとする精神疾患など、様々な難治性神経疾患の治療方法の糸口を得ることを目的に、次のような研究を行っています。

1) タンパク質リン酸化酵素 PKC に関する研究

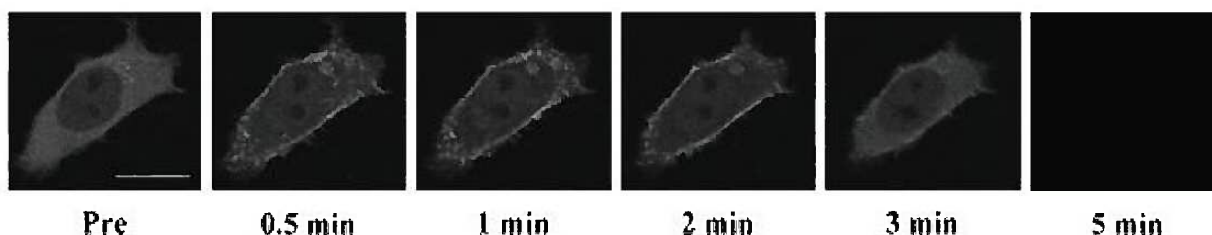
PKC について

プロテインキナーゼ C (以下 PKC と略します) は、様々な細胞機能に関与するタンパク質リン酸化酵素で、現在までに10種類以上の分子種の存在が知られています。神経系には、多種多量の PKC の存在が知られており、記憶学習の基礎過程となる神経可塑性の発現と維持、神経系の発達、神経細胞の突起伸長と極性の形成などに関与していることが知られています。

イメージングを駆使した PKC トランスロケーションの研究

PKC の際立った特徴として、細胞が何らかの刺激を受けた際に、PKC が特定の細胞内器官・部位に居場所を変えることが知られており、「PKC トランスロケーション」と呼ばれています。我々は PKC とクラゲ由来の蛍光タンパク質である GFP (Green fluorescent protein) を融合させたタンパク質 PKC-GFP を培養細胞に遺伝子導入し、蛍光で光る可視化 PKC を発現させました (図1 参照)。共焦点レーザー顕微鏡で細胞断面の様子を観察すると、おもに PKC-GFP は、細胞質に存在し核は黒く抜けて見えるのがわかります。そこで、細胞に存在する受容体を刺激すると PKC は素早く細胞膜の方に移動し、また細胞質に戻ってきます。我々は、この光る PKC、すなわち PKC-GFP を道具に用いて PKC の機能解析を行っています

図1 PKC-GFP のトランスロケーションの様子。PKC-GFP を培養細胞 (CHO 細胞) に発現させ、CHO 細胞が持つ P2Y 受容体を ATP で刺激した。観察は共焦点レーザー顕微鏡で行った。



薬物により誘発されるによる PKC トランスロケーション

下の図は静脈麻酔薬のプロポフォールが ϵ PKC-GFP のトランスロケーション起こすことを示しています。プロポフォールの効果発現には PKC トランスロケーションが関与しています (図 2)。

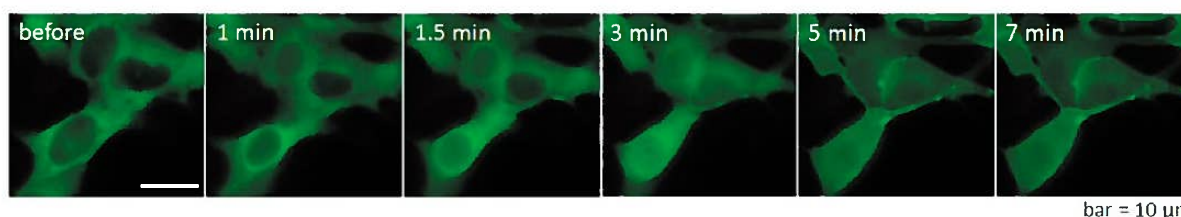


図2 ε PKC-GFP を SH-SY5Y 細胞に発現させて、静脈麻酔薬プロポフォールを投与したところ、ε PKC-GFP は非常に複雑なトランスロケーションを示した。プロポフォールが直接 PKC に働いて起こす現象であると予想された。

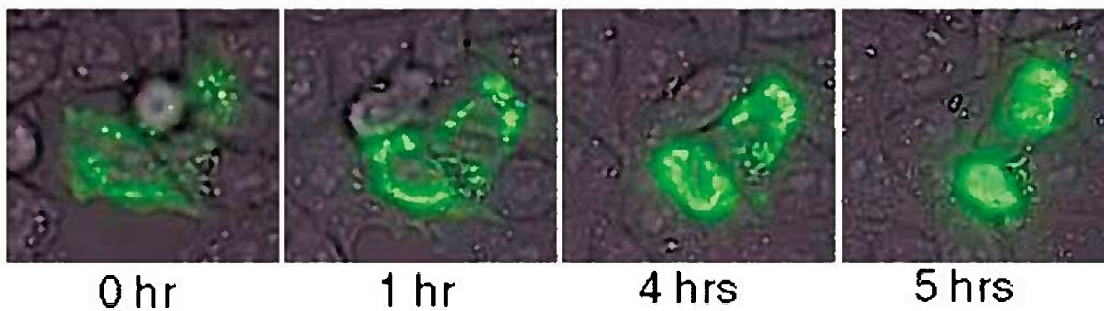
PKC の関与する神経変性疾患の病態解明と治療薬の開発に関する研究

PKC と脊髄小脳変性症

遺伝性脊髄小脳失調症 14 型(SCA14)は PKC の γ 分子種(γ PKC)の遺伝子変異で起こる遺伝性疾患です。そこで、この病気を引き起こす変異 γ PKC の細胞内での特性を明らかにすることで、脊髄小脳失調症をはじめとする神経変性疾患の病態解明を試みています。 γ PKC-GFP を細胞に発現すると、次第に細胞内で凝集体(ぶつぶつ)を形成し、それらが核のほうに集積して、やがて細胞が死ぬことがわかりました(図3)。アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患では、同様に異常なたんぱく質が凝集体を作ることがわかっており、SCA14 の病態を解明していくことが、神経変性疾患全般の病態解明につながると考えています。

また、この凝集体形成を抑制する薬物は、神経変性疾患の治療薬となる可能性があると考え、そのような薬物を探すことに着手しています。糖類でダイエット甘味料のトレハロースが、変異 γ PKC の凝集体形成と細胞毒性を抑制することを見つけました。

図3 変異 γ PKC-GFP が凝集体を形成する様子

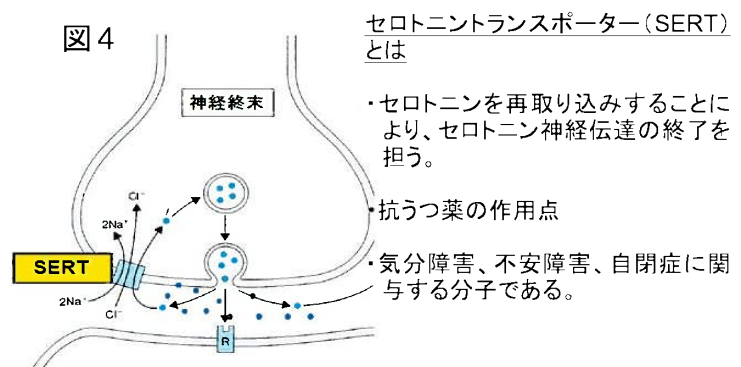


2) セロトントランスポーターの機能解析

セロトントランスポーターとは？(図3参照)

セロトニンは、人間の情動(不安・抑うつ)をコントロールする神経伝達物質のひとつです。セロトニンは、神経細胞で合成され、神経終末(前シナプス)に運ばれてシナプス間隙に放出されます。

放出されたセロトニンは、隣の神経細胞の受容体に結合し、情報伝達を行います。放出されたセロトニンの一部は分解されてしましますが、一部は神経終末に回収され、再利用されます。この神経終末にセロトニンを再回収する役割を担うのがセロトントランスポーター(SERT)です。



SERT は、抗うつ薬の作用点として知られています。

膜輸送を介したセロトントランスポーター機能調節と膜輸送促進効果の持つ薬物の検索

SERT は、遺伝子が転写されたのち、小胞体でタンパク質に翻訳され膜に組み込まれます。その後、ゴルジ体を経て形質膜に発現し、初めて細胞外のセロトニンを取り込む機能を発揮できるようになります。その後、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ分解されます。この過程が SERT の一生です。SERT は、この一生の間、膜に組み込まれたまま輸送されるので、この過程を SERT の膜輸送と呼んでいます。我々は、この SERT の膜輸送の調節機構に焦点を当てて研究をしています。SERT 膜輸送を促進、あるいは抑制する薬物は、SERT を発現している細胞のセロトニン取り込み能力を変化させることができます。従って、SERT が関与する精神神経疾患の治療薬の候補になる可能性があるため、そのような薬物を検索しています。また、SERT の膜輸送促進効果を持つ薬物は、折りたたみ不全タンパク質の小胞体への蓄積を抑制するので、小胞体ストレスの改善薬として、様々な神経疾患の治療薬として期待できるのではないかと考えています。これまでに、シグマ受容体のアゴニストの SKF-10047、抗炎症薬の Flurbiprofen、抗潰瘍薬の Carbenoxolone が、そのような効果を持つことを見つけています。

3) 神経修復のキープレイヤー、ミクログリアに関する研究

ミクログリアの生理的なはたらき

ミクログリアは脳の免疫系をなす細胞で、感染や神経傷害時には異物や死細胞を貪食して除去し、また、その際、様々な神経栄養因子を放出して、脳組織の恒常性維持や神経保護に重要な役割を果たすことが知られています。しかし、いったん過剰にミクログリアが活性化されると神経傷害因子を放出し、炎症や神経細胞死を誘導し、神経傷害的にも作用します。このように、神経系にとって良い方向にも悪い方向にも働くミクログリアの機能調節機構を解析して、どのようにすれば、良い方向、すなわち神経保護的作用を発揮するのか見極めたいと思っています。

神経疾患の治療へのミクログリアの応用

ミクログリアは、適度に活性化されると神経保護的に作用することを明らかにしています。脳梗塞や神経変性疾患で傷害を受けた神経細胞の周りでは、ミクログリアが活動しています。では、ミクログリアはどのような働きを持っているのでしょうか？最近我々は、ミクログリアに発現する Toll 様受容体 4 を刺激すると、一部のミクログリアが長期生存することを明らかにしました。また、この長期生存するミクログリアは、神経保護的な作用を持つことを支持する研究結果が得られています。また、ミクログリアの貪食機能は細胞外の ATP により、プリン受容体の P2Y 受容体を介して制御していることも明らかにしました。現在、ミクログリアが長期生存するメカニズムとその性質、さらには貪食のメカニズムを明らかにし、神経保護的なミクログリアを介して脳梗塞や神経変性疾患、発達障害などの難治性神経疾患の治療に応用できないか、模索しています。

4) 虚血性脳疾患の新規治療法の開発を目指したトランスレーショナルリサーチ

脳梗塞治療研究の現状

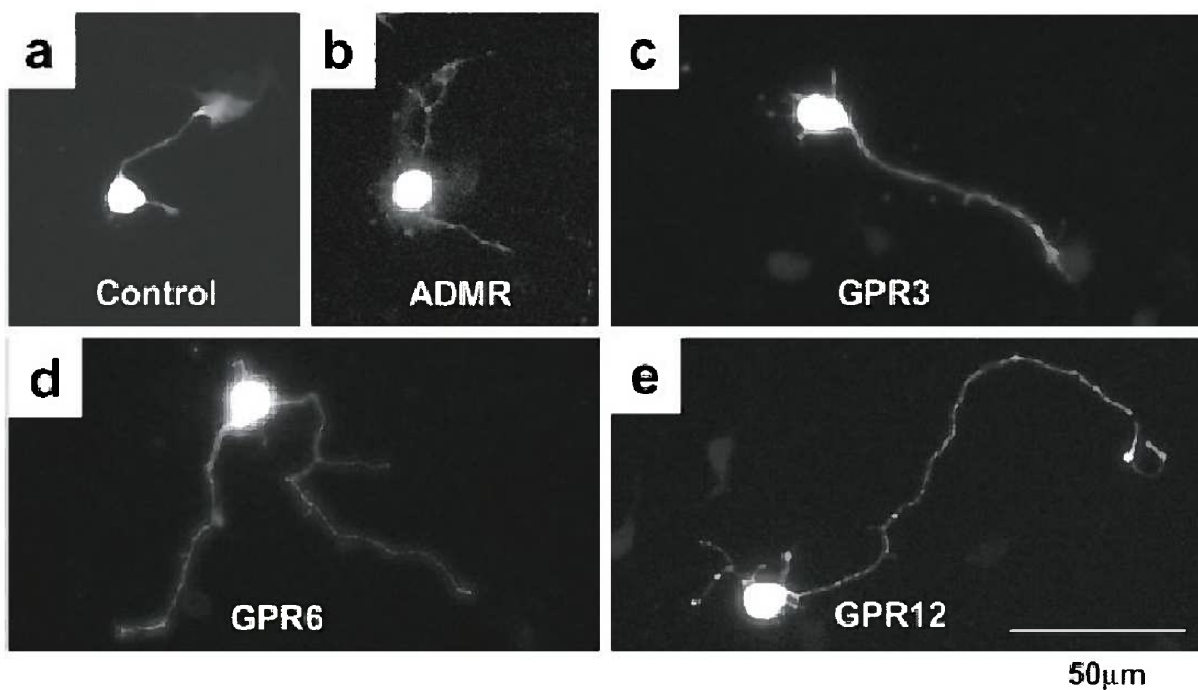
脳卒中は単一臓器の致命的疾患としては、臓器別の悪性腫瘍より多いことが知られ、いまだ国民病であり続けています。急性期治療においては組織プラスミノゲンアクチベーター(tPA)を用いた血栓溶解療法が普及しましたが、障害を受けた神経細胞に対する保護療法や再生療法、またそれらを促す薬物療法はいまだ確立されておらず、新たなブレイクスルーが期待されています。

オルファン G タンパク質共役型受容体 GPR3 GPR6 GPR12 について

G 蛋白質共役型受容体ファミリー(GPCR)は様々な細胞内伝達物質の活性化や抑制に関わっています。その中でも GPR3, GPR6, GPR12 は中枢神経系に豊富に発現し、恒常的に Gs と結合し細胞内 cAMP レベルを上昇させる非常にユニークな機能を持つ受容体です。さらに、これら受容体は脳梗塞の障害部位である大脳皮質、線条体に豊富に発現し、突起伸長作用を有し(図4)、神経細胞生存、神経細胞分化・成熟、神経細胞の極性化に関わることを明らかにしました。また、GPR3 による神経突起伸長作用は、細胞体で翻訳された GPR3 が突起先端部に運ばれて、そこで cAMP の濃度を上昇させることで惹起していることも明らかになりました。また、GPR3 は T 細胞や肥満細胞などの免疫担当細胞でも発現しており、これらの細胞を介して脳梗塞の発症・症状の進展に関与する可能性があります。

図5 GPR3, 6, 12 を初代培養小脳顆粒細胞に遺伝子導入し発現させると神経突起の長さが伸長する。

ADMR: ネガティブコントロール実験で遺伝子導入したアドレブドメデュリン受容体



GPR3 GPR6 GPR12 の脳梗塞治療への展開

我々は GPCR(GPR3 GPR6 GPR12)の神経突起伸長作用と神経保護作用に注目して、これらの性質を応用して、脳虚血の新たな治療の開発に寄与できないか模索しています。また免疫担当細胞に発現する GPR3 も脳梗塞治療の作用点になりうると考えています。将来的には、これらを脳内に遺伝子導入することにより、あるいは、これら GPCR をコントロールする薬物を見出して脳梗塞の治療を目指すことを考えています。

連絡先

広島大学大学院 医系科学研究科 神経薬理学研究室
 酒井規雄
 広島市南区霞1-2-3 基礎社会医学研究棟 8階
 電話082-257-5140
 E-mail: nsakai@hiroshima-u.ac.jp