

K_{ATP} チャネルの認知・精神機能調節における 病態生理学的役割の解明

所属：東北大学 大学院薬学研究科 附属医薬品開発研究センター

助成対象者：森口茂樹

概要

申請者は、アルツハイマー病 (AD) 治療薬である memantine の新たな作用機序として、ATP 感受性カリウム (K_{ATP}) チャネル抑制作用を発見した (Moriguchi et al., Mol. Psychiatry 2018)。K_{ATP} チャネル抑制作用は膵臓 β 細胞よりインスリン分泌の役割を担っており、糖尿病の治療標的である。本研究では、AD の脳糖尿病仮説の実証のため、K_{ATP} (Kir6.1 および Kir6.2) チャネルを標的として、K_{ATP} チャネル欠損マウスを用いて K_{ATP} チャネルの病態生理学的役割について検討し、Kir6.1 チャネル欠損マウスの表現型である不安様症状に関する脳部位の同定、ならびに細胞内機序について明らかにした。

abstract

ATP-sensitive K⁺ (K_{ATP}) channels are predominantly expressed in the brain and consist of 4 identical inward-rectifier potassium ion channel subunits (Kir6.1 or Kir6.2) and 4 identical high-affinity sulfonylurea receptor subunits (SUR1, SUR2A, or SUR2B). We previously observed that chronic-corticosterone-treated (CORT) mice exhibited enhanced anxiety-like behaviors and cued fear memory. In the present study, the protein and mRNA expression levels of Kir6.1, but not Kir6.2, were decreased in the lateral amygdala (LA) of CORT mice. Heterozygous Kir6.1-null (Kir6.1^{+/-}) mice also showed enhanced tone (cued) fear memory and long-term potentiation (LTP) in the cortico-LA pathway compared to those in wild-type (WT) mice. However, LTP was not enhanced in the hippocampal CA1 regions of Kir6.1^{+/-} mice. Consistent with increased cued fear memory, both Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) and extracellular-signal-regulated kinase (ERK) activities were significantly elevated in the LAs of Kir6.1^{+/-} mice after tone stimulation. Our results indicate that

increased CaMKII and ERK activities may induce LTP in the LA in Kir6.1^{+/-} mice, leading to aberrant cued fear memory. The changes in neural plasticity in the LA of Kir6.1^{+/-} mice were associated with anxiety-like behaviors and may be related to the pathogenic mechanisms of anxiety disorders in human patients.

研究内容

「背景」

アルツハイマー病（AD）は、軽度から重度の認知機能障害を主症状とする疾患であり、進行状況に応じて周辺症状である徘徊、暴言、攻撃症状、うつ症状、不安症状などの精神障害の出現が報告されている。日本での認知症の患者数は462万人（2012年度厚生労働省患者調査）と推計されており、約60%がADであり患者数は毎年増加している。経済産業省の技術戦略マップ2010においても、ADは糖尿病とがんに並ぶ重要疾患に位置付けられ、技術開発の一つの柱は「認知機能維持・回復のための治療」であり、新規作用機序を持つ医薬品の開発を挙げている。具体的には、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤など対症療法、セクレターゼ阻害剤やアミロイドβ・タウ免疫療法などの根本治療薬の開発である。現在、AD治療薬としてアセチルコリン神経系の機能低下に注目したアセチルコリン賦活化作用をもつアセチルコリンエステラーゼ阻害剤が開発され、ドネペジル、リバスチグミンおよびガランタミンが承認を受け、また、神経細胞保護効果に注目したNMDA受容体阻害剤であるメマンチンも同様に承認を受けた。近年ADのアミロイドβ（Aβ）仮説に基づき、Aβを標的とした作用機序の医薬品開発が多数進められている（2013年時点で60化合物以上）が、現状ではどれも上市されていない。このことからAD治療薬の治療満足度・貢献度は共に十分ではなく、患者のQOL向上を考慮する上で、認知機能改善効果だけでなく周辺症状を改善する新しい作用機序を有する低分子化合物の開発が望まれている。

最近、AD患者の脳ではインスリンシグナルの機能異常が報告され（1）、「AD脳糖尿病仮説」が注目されている。糖尿病はADのリスクファクターと考えられてきたが、脳内グルコースによる糖代謝異常がADの神経変性疾患に関与する可能性が示唆される。申請者は、AD治療薬であるメマンチンの新たな作用機序として、ATP感受性カリウム（K_{ATP}：Kir6.1/Kir6.2）チャネル抑制作用を発見した（2）。メマンチンはNMDA受容体を阻害し、AD患者脳における細胞内への過剰なカルシウム流入の抑制による神経細胞保護効果が有効であることが報告されてきたが、メマンチンによるNMDA受容体阻害作用は少なくともin vitro実験では10 μM以上の脳内濃度が必須であり、AD患者へ処方されている薬剤濃度5 mg/kg錠ではNMDA受容体を阻害する有効域には到達できない。一方、メマンチンによるK_{ATP}チャネル抑制作用は脳内において100 pMより惹起され、AD患者へ投与されている薬剤濃度5 mg/kgでも十分な有効域を持つ。申請者が見出したメマンチンによるK_{ATP}チャネル抑制作用は、K_{ATP}チャネルのアイソフォームの一つであるKir6.2チャネルの抑制作用によりシナプス伝達の役割を担う神経細胞のスパインにおいて神経細胞膜の閾値上昇を惹起し、L型Ca²⁺チャネルを介して細胞内のCa²⁺濃度を上昇させ、認知機能に必須の分子で

ある CaM キナーゼ II (CaMKII) を賦活化することにより AD 中核症状である認知機能障害を改善する。一方、Kir6.1 チャネルの抑制作用は Kir6.2 チャネル抑制作用と同様の機序により、神経細胞の細胞体において CaM キナーゼ IV (CaMKIV) の賦活化ならびに BDNF の遊離促進を介してうつ症状を改善することを明らかにした。

「目的」

本プロジェクトでは、K_{ATP} チャネル欠損マウスの行動表現型に関する脳部位の同定ならびに脳部位特異的な細胞内機序について明らかにし、AD の中核・周辺症状における K_{ATP} チャネルの病態生理学的機能調節について検討した。

「結果」

1. K_{ATP} チャネル欠損マウスにおける不安様行動の解析

本研究では、はじめに K_{ATP} チャネルのアイソフォームである Kir6.1 チャネルおよび Kir6.2 チャネルの欠損マウスを用いて AD 周辺症状の一つである不安様行動に関する行動解析を実施した。不安様行動に関する行動解析方法として、4 種類 (Elevated-plus maze task、Light-dark task、Open-field task および Marble-burying task) について確認したところ、いずれの行動解析においても Kir6.1 欠損マウスにおいて有意な不安様行動の亢進が確認された。一方、Kir6.2 チャネル欠損マウスでは顕著な影響は確認されなかった。

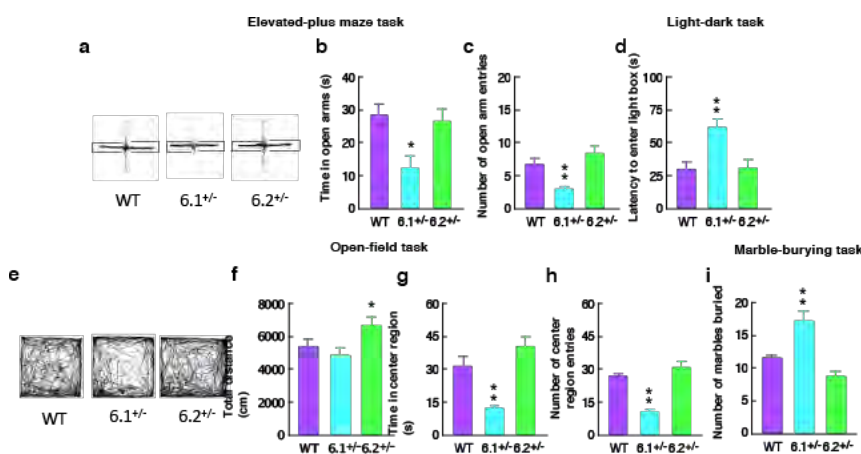


図 1 Kir6.1 チャネル欠損マウスにおける不安様行動の亢進

2. K_{ATP} チャネル欠損マウスにおける恐怖記憶形成障害と cFos 発現の増強

次に、不安様行動の確認と同様に K_{ATP} チャネル欠損マウスにおける恐怖記憶形成に関する行動解析を実施した。恐怖記憶形成に関する行動解析の結果、不安様行動の結果と同様に Kir6.1 欠損マウスにおいて恐怖記憶形成の障害が確認され、扁桃体依存的な障害であることを同定した。そこで、扁桃体における cFos の発現量を確認したところ、恐怖不安刺激後の 1 時間以降において外側扁桃体 (Lateral amygdala: LA) において cFos の発現量の増加

を確認した。一方、扁桃体中心核（Central amygdala: CeA）の影響は確認されなかった。

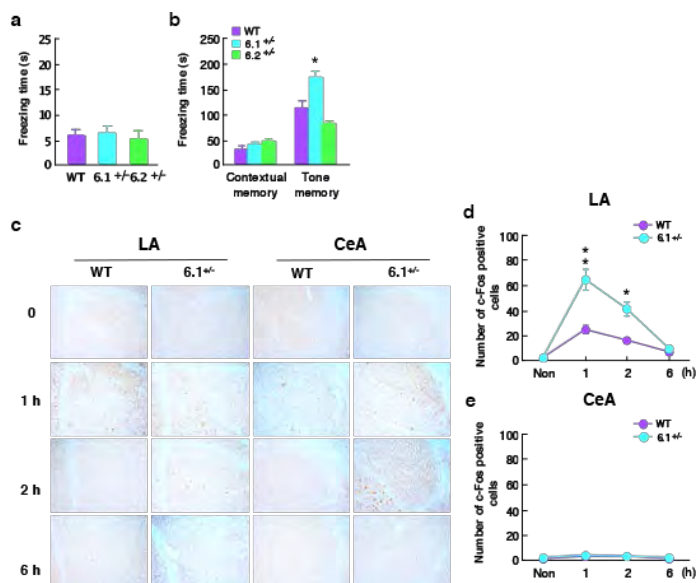


図 2 Kir6.1 チャンネル欠損マウスにおける恐怖記憶形成障害と cFos 発現量の増加

3. Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体における長期増強現象の増強

さらに、Kir6.1 チャンネル欠損マウスにおいて電気生理学的解析による外側扁桃体における長期増強現象（Long-term potentiation: LTP）について確認したところ、Kir6.1 チャンネル欠損マウスでは野生型（対称群）と比較して有意な LTP の亢進が確認された。一方、Input-output 反応曲線、Paired-pulse facilitation においては顕著な影響は確認されなかった

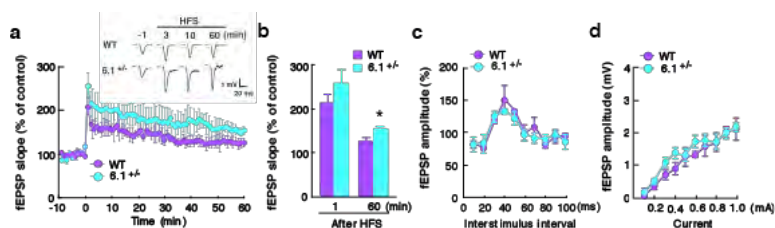


図 3 Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体における長期増強現象の亢進

4. Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体におけるカルシウムシグナル経路ならびに BDNF の亢進

最後に、免疫ブロット法を用いて Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体における細胞内カルシウムシグナル経路ならびにカルシウムシグナル経路の下流分子である BDNF の発現量について確認した。カルシウムシグナル経路の確認のため、自己リン酸化 CaMKII ならびに CaMKIV、ERK のリン酸化について検討したところ、CaMKII の自己リン酸化および ERK のリン酸化の亢進が恐怖不安刺激後の 1 時間において有意な増加を確認した。一方、BDNF の

発現量についても同様に、恐怖不安刺激後の1時間において有意な増加を確認した。

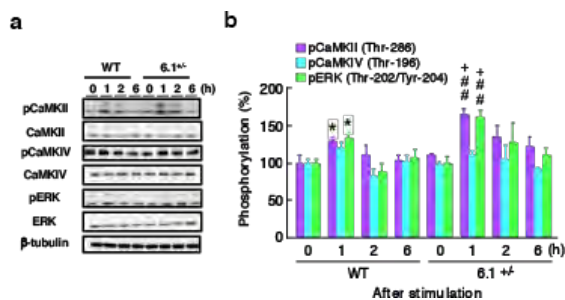


図4 Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体におけるカルシウムシグナル経路の亢進

「今後」

本研究により明らかにした K_{ATP} チャンネル欠損マウスにおける恐怖不安行動の解析により、 K_{ATP} チャンネルのアイソフォームの一つである Kir6.1 チャンネルの外側扁桃体における機能異常を明らかにした。不安症状の亢進は現代のストレス社会における疾患では増加の傾向を示しており、且、AD 周辺症状の一つとしても注目されている。今後、本研究において明らかにした作用機序が不安症状の改善ならびに AD に代表される認知症患者の治療の一助となることを期待したい。

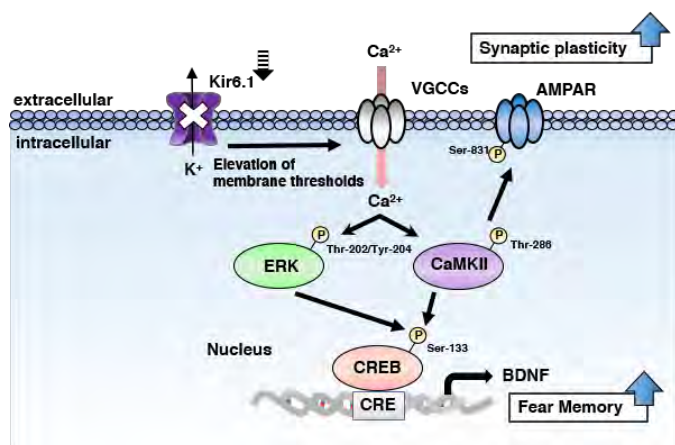


図5 恐怖記憶形成における Kir6.1 チャンネルを介した細胞内カルシウム制御機構

引用文献

- 1) Hokama M et al. Cereb. Cortex 2014; 24: 2476-2488.
- 2) Moriguchi S et al. Mol. Psychiatry 2018; 23: 211-221.
- 3) Terzic A et al. Am. J. Physiol. 1995; 269: C525-C545.
- 4) Babenko AP et al. Annu. Rev. Physiol. 1998; 60: 667-687.
- 5) Zawar C et al. J. Physiol. 1999; 514: 327-341.
- 6) Thomzig A et al. J. Comp. Neurol. 2005; 484: 313-330.
- 7) Sun XL et al. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2010; 37: 243-252.

本助成に関わる成果物

[論文発表]

[口頭発表]

Exploration of novel mechanism target for behavioral and psychological symptoms of
Alzheimer' s disease

森口茂樹、福永浩司（第 62 回日本神経化学会大会（Neuro2019）（シンポジウム）

7/25-28/2019 新潟）

アルツハイマー病創薬へのブレイクスルーを目指して

森口茂樹、福永浩司（第 92 回日本薬理学会年会（シンポジウム） 3/14-16/2019 大阪）

[ポスター発表]

[その他]