

令和 5 年 11 月 10 日

てんかん発作時の抑制性シナプスではアストロサイトの塩素イオン輸送体が神経細胞とは逆に発作を抑制することを発見

<研究成果のポイント>

- グリア細胞の一種アストロサイトが塩素イオン (Cl^-) 輸送体の NKCC1 を利用して、てんかん発作の発生を抑制していることを発見しました。
- 本研究の知見は、NKCC1 を阻害する利尿薬のブメタニドによるてんかんや自閉症の臨床治験の方向性に影響を与えるものです。
- 今後のてんかんや自閉症の治療において、神経細胞の NKCC1 に選択的に作用する薬剤の開発が期待されます。

※本研究成果は、国際抗てんかん連盟 (International League Against Epilepsy: ILAE) の学術雑誌「Epilepsia」に日本時間 10 月 1 日付で公表されました。

<概要>

浜松医科大学医学部神経生理学講座の福田敦夫教授 (研究当時)、名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学分野の和氣弘明教授らの研究グループは、グリア細胞の一種アストロサイトが塩素イオン (Cl^-) 輸送体の NKCC1 の働きで、抑制性シナプス伝達の破綻によるてんかん発作において、発作抑制的に働くことを明らかにしました。

※本研究成果は、国際抗てんかん連盟 (International League Against Epilepsy: ILAE) の学術雑誌「Epilepsia」に日本時間 10 月 1 日付で公表されました。

<研究の背景>

てんかんは、グルタミン酸による興奮性信号伝達と GABA による抑制性信号伝達のバランス崩壊と、その結果生じる過剰興奮が発作の発生につながると考えられています。これらの信号伝達のうち GABA は GABA_A 受容体という Cl^- チャンネルを開きさせ、シナプス後細胞を Cl^- 流入による過分極により抑制しますが、その作用は細胞内外の Cl^- 濃度差に依存します。その細胞内外の Cl^- 濃度差は Cl^- 輸送体 (KCC2=排出、NKCC1=取込) により制御されています。

てんかん発作では、シナプス後神経細胞内の Cl^- 濃度の上昇が GABA_A 受容体の Cl^- 透過の方向を逆転させ、GABA 作用の抑制から興奮への逆転を起こすと考えられてきました。

本研究では、シナプスを被覆するアストロサイトがシナプス間隙^{*1} から漏れ出した GABA に応答し、GABA_A 受容体を介してシナプス間隙に Cl^- を補填することでシナプス間隙の細胞外 Cl^- を緩衝し、細胞内外の Cl^- 濃度差を維持することで抑制性シナプス伝達の破綻を防いでいる可能性を調べました。

<研究手法・成果>

NKCC1 は、神経細胞にも発現しています。そこで本研究では、アストロサイト選択的に NKCC1 を欠損する遺伝子改変マウス^{*2} を使用することで、アストロサイトがシナプス間隙の Cl^- を緩衝し、シナプス後神経細胞の細胞内外の Cl^- 濃度差の急激な減少を防ぐことで抑制性シナプス伝達を維持し、てんかん発作の抑制に果たす役割を検討しました。

この遺伝子改変マウスの海馬神経細胞では、神経入力路の高頻度刺激により誘発される発作波様後発射^{*3} が野生型より弱い刺激強度で誘発され、てんかん発作に至るまでの時間も短く、さらにてんかん発作も重症化することがわかりました。つまりアストロサイトの NKCC1 は、てんかん発作を起りにくくしていることがわかりました。また、このとき NKCC1 を選択的に阻害する利尿薬のブメタニドを投与すると、てんかん発作の憎悪が抑えられました。これは、神経細胞の NKCC1 をブロックした結果と考えられます。つまり、てんかん発作に関してアストロサイトの NKCC1 は保護的

に、神経細胞の NKCC1 は増長的に働くことがわかりました。

これらの結果から、アストロサイトの NKCC1 は過剰なシナプス活動が発生した場合に GABA_A 受容体経由でシナプス間隙に Cl⁻ を補填することで、神経細胞内外の Cl⁻ 濃度差の急激な減少による GABA 作用の抑制から興奮への逆転を防ぎ、てんかん発作を起りにくくしていることがわかりました(図 1)。一方で、神経細胞の NKCC1 はシナプス後神経細胞内の Cl⁻ 濃度を高くして GABA 作用の興奮への逆転を起りやすくしているというこれまでの仮説も証明できました。

<今後の展開>

我々とハーバード大学やマルセイユ大学のグループは以前から、てんかん発作のメカニズムの一つとして、シナプス後神経細胞の細胞内 Cl⁻ 濃度上昇による GABA 作用の抑制から興奮への逆転現象があることを主張してきました。実際にブメタニドが抗けいれん作用をもつことが動物実験において示されています。そこで、これらの知見に基づいてハーバード大学では新生児けいれんに対して、マルセイユ大学では病態の一部にてんかんと同様の機序をもつ自閉症に対する治療薬としてブメタニドの臨床治験が行われてきました。第 2 相までは効果がありそうでしたが、いよいよ第 3 相となると、はっきりとした効果が認められないことも報告されています。本研究結果は、てんかん発作に対してアストロサイトの NKCC1 が神経細胞の NKCC1 とは逆の働きを示しており、これまでの仮説の盲点として、ブメタニドの臨床治験が思ったような結果になっていないことの説明になると考えられます。今回の研究結果から神経細胞に発現する NKCC1 を選択的に機能阻害するような治療薬が開発されれば、てんかんや自閉症の新たな治療薬になることが期待されます。

<用語解説> :

*¹シナプス間隙：神経細胞はシナプスを介して情報を伝達します。神経細胞と神経細胞はシナプスで密着しておらず、わずかな隙間がありこれをシナプス間隙といいます。神経細胞は、このシナプス間隙に神経伝達物質を放出して信号伝達を行います。

*²アストロサイト選択的に NKCC1 を欠損する遺伝子改変マウス：アストロサイト内への Cl⁻ の取り込みが減少しアストロサイトの細胞内 Cl⁻ 濃度が低下しているため、GABA_A 受容体の活性化による Cl⁻ のアストロサイトからの流出が起らず、シナプス間隙の Cl⁻ の補填ができないと考えられます。

*³発作波様後発射：てんかん発作時の脳波所見を反映すると考えられている、実験的に神経細胞で記録される神経活動。

<発表雑誌>

Epilepsia

(<http://doi.org/10.1111/epi.17784>)

<論文タイトル>

Astrocytic NKCC1 inhibits seizures by buffering Cl⁻ and antagonizing neuronal NKCC1 at GABAergic synapses

<著者>

Trong Dao Nguyen, Masaru Ishibashi, Adya Saran Sinha, Miho Watanabe, Daisuke Kato, Hiroshi Horiuchi, Hiroaki Wake, Atsuo Fukuda*

グエン・トロン・ダオ、石橋賢、サラン・シンハ・アジャ、渡部美穂、加藤大輔、堀内浩、和氣弘明、福田敦夫*

*責任著者

<研究グループ>

本研究は、浜松医科大学神経生理学講座を中心に、名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座分子細胞学講座との共同研究として行われました。

<研究支援>

本研究は、文部科学省科学研究費新学術領域研究（15H05872）、学術変革領域研究（A）（21H05687, 23H04159）、日本学術振興会科学研究費基盤研究（B）（17H04025, 21H02661）、ソルトサイエンス研究財団（2138）、公益財団法人てんかん治療研究振興財団（JERF TENKAN 20002）、公益財団法人金原一郎記念医学医療振興財団、および浜松医科大学学内研究プロジェクトからの助成を受けて実施されました。

<本件に関するお問い合わせ先>

国立大学法人 浜松医科大学 神経生理学講座
〒431-3192 浜松市東区半田山 1-20-1
助教 石橋 賢

Tel : 053-435-2246

E-mail : masaru@hama-med.ac.jp

特命研究教授（医化学講座気付）・名誉教授 福田敦夫

Tel : 053-435-2327

E-mail : axfukuda@hama-med.ac.jp

