

遺伝性疾患のアンジェルマン症候群に有効な薬剤を発見

～投薬による知的障害改善に期待～

ポイント

- ・アンジェルマン症候群の神経機能障害につながるメカニズムを発見。
- ・利尿薬の一つであるブメタニドをモデルマウスに投与することで認知機能障害が改善。
- ・アンジェルマン症候群の知的障害を改善させる内服薬の開発への貢献に期待。

概要

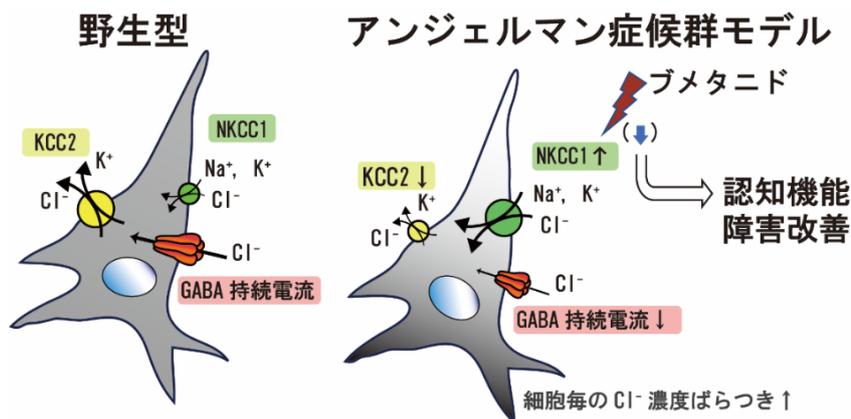
北海道大学大学院医学研究院の江川 潔助教、浜松医科大学の福田敦夫教授（研究当時）らの研究グループは、遺伝性の発達障害性疾患であるアンジェルマン症候群における、神経機能障害のメカニズムの一つを解明し、知的障害を改善しうる薬剤を特定しました。

アンジェルマン症候群は重度の知的障害、てんかん、運動失調など、様々な神経機能障害を示す先天性の発達障害性疾患です。出生 15000 人に対し 1 人程度発症するとされ、有効な治療法は確立していません。タンパク質の分解に係る *UBE3A* という遺伝子の機能欠失を原因としますが、神経機能障害の具体的な機序も十分に解明されていません。

今回、研究グループは、クロライドイオンによって惹起される GABA 作動性神経伝達に注目し、神経細胞内クロライド濃度を調整するイオントランスポーター、NKCC1、KCC2 の発現がアンジェルマン症候群モデルマウスでは異常となっていることを見出しました。神経細胞内にクロライドイオンを汲み入れる NKCC1 は増加、汲み出す KCC2 は減少しており、NKCC1 を抑制することが知られている利尿薬のブメタニドを慢性的に投与すると、モデルマウスの認知機能障害は改善することが明らかとなりました。また神経細胞の GABA 持続電流^{*1} は減少しており、細胞内クロライド濃度の制御は様々な機序で障害されていることが示唆されました。

ブメタニドは脳内への移行性が低いため、アンジェルマン症候群患者への治療応用は副作用の観点から困難が予想されます。しかし、脳 NKCC1 あるいは KCC2 を標的とした薬剤は他の神経疾患の治療目的に近年開発が進んでおり、今回の研究がアンジェルマン症候群患者の知的障害を改善させる治療法の確立につながることを期待されます。

なお、本研究成果は、2023 年 4 月 17 日（月）公開の Scientific Reports 誌に掲載されました。



本研究の概略図。

アンジェルマン症候群モデルマウスでは細胞内にクロライドを汲み入れる NKCC1 が過剰となっており、その阻害剤ブメタニドを投与するとモデルマウスの認知機能障害は改善した。

【背景】

アンジェルマン症候群は知的障害、てんかん、運動失調、自閉傾向など多くの神経機能障害を示す、通常 1 歳頃から明らかとなる先天性の発達障害性疾患です。出生 15000 人に対し 1 人程度発症するとされ、日本では約 1000 人前後の患者が診断を受けています。知的障害は重度で半数以上が意味のある言葉を獲得できないとされていますが、有効な治療法は確立していません。ユビキチン・プロテアソーム経路^{*2}における E3 リガーゼ^{*3}の一つである E6-AP をコードする遺伝子 *UBE3A* の機能欠失に起因することが分かっていますが、神経機能障害の具体的な機序は十分に解明されていません。

研究グループはこれまで、*Ube3a* 遺伝子の機能を欠失させた、アンジェルマン症候群モデルマウスを用いて神経生理学的研究を行い、小脳顆粒細胞における GABA 持続電流の減少が運動機能障害の原因であることを明らかにするなど、GABA 作動性抑制性神経伝達の機能不全がアンジェルマン症候群の病態生理の一つであることを示してきました。GABA 作動性抑制はクロライドイオンの流入により惹起されるため、神経細胞内のクロライド濃度がその制御に重要なファクターとなります。近年、細胞内にクロライドイオンを汲み入れる NKCC1、同じく汲み出す KCC2 といったイオントランスポーターの機能不全が、自閉症やてんかんなど、様々な脳機能障害性疾患の機序の一つであることが報告され、創薬のターゲットとしても注目されています。そこで本研究では、アンジェルマンモデルマウスの海馬における NKCC1、KCC2 の蛋白発現、細胞内クロライド濃度や GABA 作動性神経伝達を評価し、治療法の確立に繋がる手がかりを探索しました。

【研究手法】

生後 3 か月齢のアンジェルマン症候群マウスと野生型マウスからそれぞれ海馬を取り出し、NKCC1、KCC2 蛋白の発現をウエスタンブロット法にて評価しました。生後 3-4 週齢のマウスから作成した脳スライス標本における海馬錐体細胞を対象として、グラミシジン穿孔パッチクランプ法により細胞内クロライド濃度測定を、全細胞電位クランプ記録を用いてシナプス性あるいは非シナプス性の GABA 作動性神経伝達の記録を行い、モデルマウスと野生型マウスの差異を比較検討しました。ブメタニドは皮下に浸透圧ポンプを留置することで慢性投与し、投与後 3-4 週間で認知機能を奇物体認識試験にて評価しました。

【研究成果】

海馬での NKCC1 の発現はアンジェルマン症候群モデルマウスで有意に亢進しており、KCC2 は逆に減少していることが明らかとなりました。これらの結果からは、モデルマウスの神経細胞では細胞内クロライド濃度が上昇していることを予想しましたが、実際には神経細胞内のクロライド濃度は平均すると差がありませんでした。ただ、モデルマウスの方が高い値を示すものから低い値を示すものまで細胞毎の分散（ばらつき）がより大きいという結果が得られました。

一方、GABA 作動性神経伝達を評価すると、シナプス性の神経伝達に違いはありませんでしたが、シナプス外の神経伝達を担う GABA 持続電流は減少しており、細胞内クロライド濃度を上げうる異常、下げうる異常の両者が混在することが細胞内クロライド濃度評価の結果に繋がったと考察されました。アンジェルマン症候群モデルマウスは物体認識記憶の低下を示し、患者における知的障害を反映するとされています。そこで、NKCC1 を抑制することが知られている利尿剤のブメタニドを慢性投与すると、物体認識記憶は改善しました。つまり、過剰となっている NKCC1 は、細胞内クロライド濃度の平均に差がなかったとしても神経機能障害をきたしうることを示されました。

【今後への期待】

ブメタニドの脳内移行性は低いことが知られており、今回の実験ではその効果を確認するために高用量のブメタニドを投与する必要がありました。従って、今回の手法をそのまま患者さんに試すことは現実的ではありません。しかしながら、脳 NKCC1 あるいは KCC2 を標的とした薬剤は他の神経疾患の治療薬として開発が進んでいます。今回の研究はそのような薬剤が将来的にアンジェルマン症候群患者にも適応される根拠となりうるもので、現時点で治療の選択肢がない本疾患に対する治療法の確立に繋がることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会（JSPS）による科学研究費助成事業（18H02777、21H02661）、米国アンジェルマン症候群家族会（Angelman Syndrome Foundation）、武田科学振財団、上原記念生命科学財団、ソルトサイエンス研究財団からの助成を受けて実施されました。

論文情報

論文名	Imbalanced expression of cation-chloride cotransporters as a potential therapeutic target in an Angelman Syndrome mouse model（陽イオン-クロライド共輸送体発現の不均衡はアンジェルマン症候群モデルマウスにおける機能改善の対象となりうる）
著者名	江川 潔 ¹ 、渡部美穂 ² 、白石秀明 ¹ 、佐藤大介 ¹ 、高橋幸利 ³ 、西尾妙織 ¹ 、福田敦夫 ² （ ¹ 北海道大学大学院医学研究院、 ² 浜松医科大学、 ³ 静岡てんかん・神経医療センター）
雑誌名	Scientific Reports
DOI	10.1038/s41598-023-32376-z
公表日	2023年4月17日（月）（オンライン公開）

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 助教 江川 潔（えがわきよし）

T E L 011-706-5954 F A X 011-706-7898 メール egakiyo@huhp.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pediatrics-hokudai.jp/>

浜松医科大学神経生理学講座 助教 渡部美穂（わたなべみほ）

T E L 053-435-2246 F A X 053-435-2245 メール mihow@hama-med.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

浜松医科大学総務課広報室（〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山1丁目20番1号）

T E L 053-435-2151 F A X 053-435-2112 メール koho@hama-med.ac.jp

【参考図】

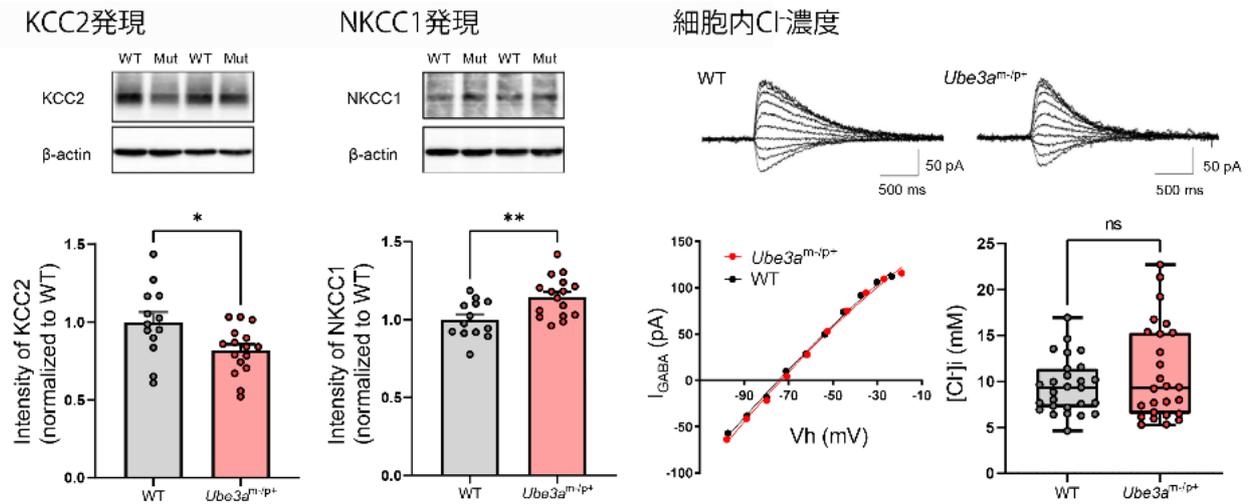


図 1. 海馬 KCC2、NKCC1 発現と細胞内クロライド濃度。アンジェルマン症候群モデルマウスでは、クロライドを汲み出す KCC2 は減少、汲み入れる NKCC1 は増加している。神経細胞内クロライド濃度をもとめると、平均として差がないが、モデルマウスではより広い範囲に分布している。

GABA持続電流

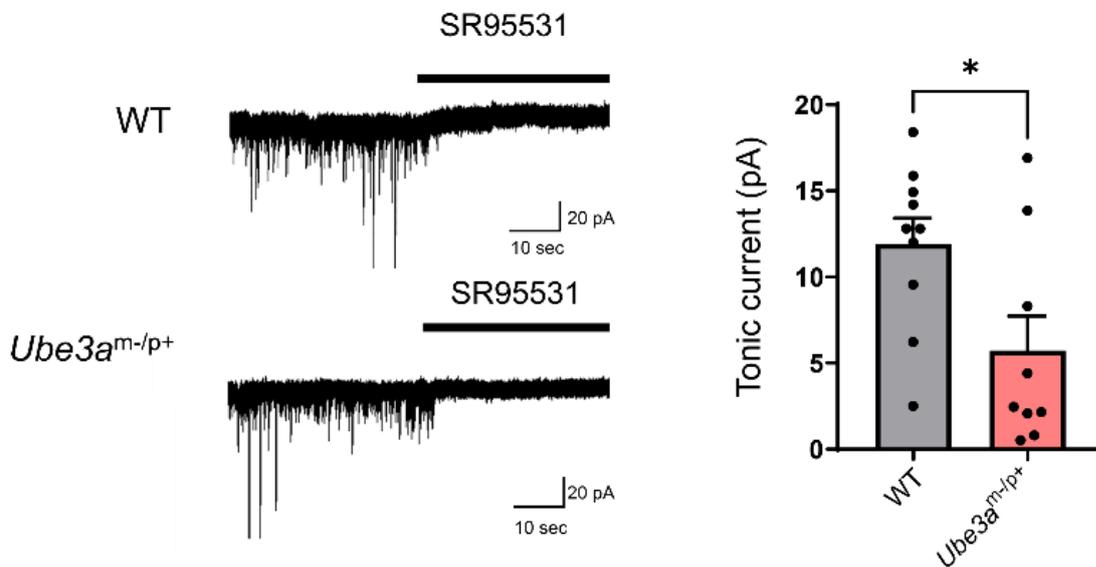


図 2. GABA 持続電流の比較。アンジェルマン症候群では、シナプス外の GABA 持続電流が有意に減少している。

新奇物体認識試験による認知機能評価

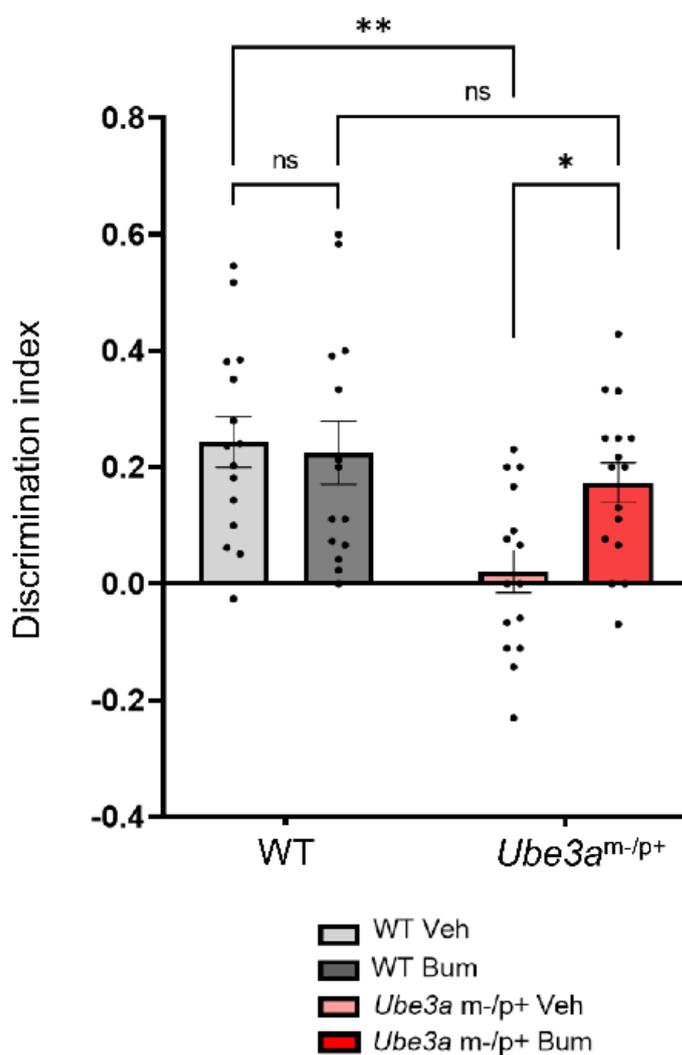


図3. 新奇物体認識試験による認知機能評価。新奇の物体を認識する分別係数は、ブメタニド非投与群では有意に低い、投与群では改善している。

【用語解説】

*1 GABA 持続電流 … シナプス外に存在する GABA 受容体の持続的な活性化によって生じる電流。

*2 ユビキチン・プロテアソーム経路 … タンパク質を細かく分解するのに必要とされる経路。

*3 E3 リガーゼ … タンパク質の基質を認識し、E2 から基質へのユビキチンの転移を助ける。