

平成 21 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790045

研究課題名 (和文) 新規バナジウム化合物の脳虚血における神経新生促進の機能的役割

研究課題名 (英文) The effect of novel vanadium compound VO(OPT) in brain ischemia-induced neurogenesis.

研究代表者

塩田 倫史 (SHIODA NORIFUMI)

東北大学大学院・薬学研究科・助手

研究者番号：00374950

研究成果の概要：本研究の目的は、新規バナジウム化合物 VO(OPT) による脳虚血後の神経細胞新生促進作用のメカニズムと神経新生と認知機能改善効果の関わりを明らかにすることである。本研究において、バナジウム化合物の神経新生促進作用を確認した。VO(OPT) の特徴として新生ニューロンの産生数を増加させるだけでなく、新生ニューロンの移動・成熟にも影響することが示唆された。さらに、未成熟なニューロンのマーカーを用いて VO(OPT) により新生ニューロンの移動も促進されていることが明らかとなった。最終的に、行動薬理学的な解析によって、VO(OPT) により歯状回顆粒細胞下層で新生した神経細胞が学習・記憶形成に重要な役割を果たしていることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	0	1,900,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野：薬学、薬理学、神経科学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：脳虚血、神経新生、バナジウム化合物、認知機能、Akt、ERK、歯状回顆粒細胞

1. 研究開始当初の背景

本研究室の福永浩司教授（東北大・薬・薬理）らは、チロシンホスファターゼ阻害剤であるオルトバナジウム酸が脳虚血再還流障害を抑制することを報告してきた。無機バナジウム化合物であるオルトバナジウム酸は細胞の生存シグナルであるプロテインキナーゼ B (Akt) と MAP キナーゼである ERK を活性化することにより細胞保護作用を発

揮することを明らかにした。Akt と ERK は神経幹細胞の増殖と神経細胞への分化に関わる重要な酵素であることから、オルトバナジウム酸が神経新生と分化を促進することが予想され、既に、オルトバナジウム酸が側脳室下帯での神経新生を促進することを確認した。しかしながら、オルトバナジウム酸は脳内移行性が悪く、5 価のバナジウム酸を含むことから毒性発現により安全域が狭い。本

研究で使用するバナジウム化合物は 4 価バナジウムのキレート複合体で血中半減期が長く、脳内移行性に優れた安全域が広い薬剤である。以前から、げっ歯類では脳虚血障害における側脳室下帯、海馬歯状回顆粒細胞下層において神経新生が亢進することが知られている。また、海馬歯状回顆粒細胞下層で新生した神経細胞が学習・記憶形成に重要な役割を果たしていることも示唆されている。近年、多くの研究者により脳虚血後の内在性神経細胞新生を促進するために神経栄養因子 (IGF-1, EGF, VEGF) を脳室内へ持続的に投与する事が行われている。しかし、タンパク質である神経栄養因子を一定期間作用させるには脳室内へカニューレを挿入し持続的に数日間投与を続ける必要があり、臨床への応用には困難である。本研究で用いるバナジウム化合物は腹腔内投与により脳内のチロシン脱リン酸化酵素-1B (PTP-1B) を抑制し Akt と ERK を活性化することが可能である。また、特定のチロシンキナーゼ受容体のみを活性化する神経栄養因子と比較して、バナジウム化合物は PTP-1B を阻害することにより多くの受容体を活性化することが可能であり、強力な神経新生促進効果が期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、バナジウム化合物の腹腔内投与により脳虚血後の内在性神経細胞新生を促進させ、脳虚血障害により低下した認知機能を改善させる事である。

2. 研究の方法

研究代表者はこれまでの研究で、バナジウム化合物もオルトバナジウム酸と同様に細胞の生存シグナルである Akt と ERK を活性化する事を明らかとしている。また、予備実験では既にバナジウム化合物の神経新生促進作用を確認している。予備実験の結果より、バナジウム化合物は新生ニューロンの産生数を増加させるだけでなく、新生ニューロンの移動・成熟にも影響を与えている可能性が示唆される。そこで、未成熟なニューロンのマーカーを用いてバナジウム化合物により新生ニューロンの移動が促進されているかを検討する。また、バナジウム化合物により活性化された Akt と ERK が新生されたニューロンで活性化されている事を確認する。さらに、この神経新生促進効果に対してどちらの因子がより重要なのか、それぞれの特異的阻害剤を用いて検討を行う。歯状回顆粒細胞下層で新生した神経細胞が学習・記憶形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。そこで、バナジウム化合物により亢進した神経新生が個体レベルで効果を示すか、行動薬理的解析によって高次脳機能を解析する。

4. 研究成果

VO(OPT) もオルトバナジウム酸と同様に細胞の生存シグナルである Akt と ERK を活性化する事を明らかにした。また、バナジウム化合物の神経新生促進作用を確認した。VO(OPT) の特徴として新生ニューロンの産生数を増加させるだけでなく、新生ニューロンの移動・成熟にも影響することが示唆された。さらに、未成熟なニューロンのマーカーを用いて VO(OPT) により新生ニューロンの移動も促進されていることが示唆された。また、バナジウム化合物により活性化される Akt と ERK がニューロン新生の起こる海馬歯状回でも活性化されていることをそれぞれのリン酸化抗体を用いて、ウエスタンブロット法にて証明した。さらに、新生細胞において Akt と ERK が活性化しているか免疫染色法を用いて定量的に解析を行い、確認した。最終的に、行動薬理的な解析によっても、VO(OPT) により歯状回顆粒細胞下層で新生した神経細胞が学習・記憶形成に重要な役割を果たしていることが示唆された (Shioda et al., (2008))。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Moriguchi S, Shioda N, Han F, Yeh JZ, Narahashi T, Fukunaga K. Galantamine enhancement of long-term potentiation is mediated by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C activation. Hippocampus. in press. (2009) 査読有
- ② Bhuiyan MS, Shioda N, Fukunaga K. Chronic beta-AR activation-induced calpain activation and impaired eNOS-Akt signaling mediates cardiac injury in ovariectomized female rats. Expert Opin Ther Targets. 13, 275-286. (2009) 査読有
- ③ Han F, Nakano T, Yamamoto Y, Shioda N, Lu YM, Fukunaga K Improvement of depressive behaviors by nefiracetam is associated with activation of CaM kinases in olfactory bulbectomized mice. Brain Res. 1265:205-214. (2009) 査読有
- ④ Lu YM, Shioda N, Han F, Kamata A, Shirasaki Y, Qin ZH, Fukunaga K. DY-9760e Inhibits Endothelin-1-induced Cardiomyocyte Hypertrophy Through Inhibition of CaMKII and ERK Activities. Cardiovasc Ther. 27, 17-27. (2009) 査読有

- ⑤ Motohashi K, Yamamoto Y, Shioda N, Kondo H, Owada Y, Fukunaga K [Role of heart-type fatty acid binding protein in the brain function] Yakugaku Zasshi. 129, 191-195. (2009) 査読無
- ⑥ Bhuiyan MS, Shioda N, Shibuya M, Iwabuchi Y, Fukunaga K. Activation of endothelial nitric oxide synthase by a vanadium compound ameliorates pressure overload-induced cardiac injury in ovariectomized rats. Hypertension. 53, 57-63. (2009) 査読有
- ⑦ Lu YM, Han F, Shioda N, Moriguchi S, Shirasaki Y, Qin ZH, Fukunaga K. Phenylephrine-induced cardiomyocyte injury is triggered by superoxide generation through uncoupled endothelial nitric-oxide synthase and ameliorated by 3-[2-[4-(3-chloro-2-methylphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-5,6-dimethoxyindazole (DY-9836), a novel calmodulin antagonist. Mol Pharmacol. 75, 101-112. (2009) 査読有
- ⑧ Bhuiyan MS, Shioda N, Fukunaga K. Targeting protein kinase B/Akt signaling with vanadium compounds for cardioprotection. Expert Opin Ther Targets. 12, 1217-1227. (2008) 査読無
- ⑨ Fukunaga K, Shioda N, Morioka M, Han F. [Novel therapeutic strategy for neurogenesis in the neurodegenerative disorders] Nippon Yakurigaku Zasshi. 131, 341-346 (2008) 査読有
- ⑩ Shioda N, Han F, Morioka M, Fukunaga K. Bis(1-oxy-2-pyridinethiolato)oxovanadium(IV) enhances neurogenesis via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and extracellular signal regulated kinase activation in the hippocampal subgranular zone after mouse focal cerebral ischemia. Neuroscience. 155, 876-887. (2008) 査読有
- ⑪ Bhuiyan MS, Takada Y, Shioda N, Moriguchi S, Kasahara J, Fukunaga K. Cardioprotective effect of vanadyl sulfate on ischemia/reperfusion-induced injury in rat heart in vivo is mediated by activation of protein kinase B and induction of FLICE-inhibitory protein. Cardiovasc Ther. 26, 10-23. (2008) 査読有
- ⑫ Moriguchi S, Shioda N, Han F, Narahashi T, Fukunaga K. CaM kinase II and protein

kinase C activations mediate enhancement of long-term potentiation by nefiracetam in the rat hippocampal CA1 region J Neurochem. 106, 1092-1103. (2008) 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- ① 塩田倫史、福永浩司、日本薬学会 第 129 年会 2009.3.26-28, 国立京都国際会館
- ② 塩田倫史、山本由似、大和田祐二、福永浩司、第 18 回神経行動薬理若手研究者の集い 2009.3.19, 横浜情報文化センター 情文ホール
- ③ 塩田倫史、別府秀幸、北島勲、福永浩司、第 82 回日本薬理学会年会 2009.3.16-18, パシフィコ横浜
- ④ 塩田倫史、福永浩司 第 20 回日本脳循環代謝学会総会 2008.11.6-7, 東京ドームホテル
- ⑤ 塩田倫史、所崇、別府秀幸、北島勲、福永浩司、第 47 回日本薬学会東北支部大会 2008.10.26, 岩手医科大学薬学部
- ⑥ 塩田倫史、福永浩司、第 59 回日本薬理学会北部会 2008.9.27, 仙台市情報・産業プラザ
- ⑦ Norifumi Shioda, Takashi Tokoro, Hideyuki Beppu, Isao Kitajima and Kohji Fukunaga 第 51 回日本神経化学会 2008. 9.11-13, 富山国際会議場
- ⑧ 塩田倫史、福永浩司、第 19 回霧島神経薬理フォーラム 2008.8.29-31, 日本文理大学湯布院研修所
- ⑨ Norifumi Shioda, Takashi Tokoro, Hideyuki Beppu, Isao Kitajima and Kohji Fukunaga 第 31 回日本神経科学大会 2008.7. 9-11, 東京国際フォーラム
- ⑩ 塩田倫史、所崇、別府秀幸、北島勲、福永浩司、日本生化学会東北支部第 74 回例会・シンポジウム, 2008.5.17, アイーナ 岩手県民情報交流センター

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩田 倫史 (SHIODA NORIFUMI)
東北大学大学院・薬学研究科・助手
研究者番号：00374950

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：