

機関番号：14202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591364

研究課題名（和文） てんかん難治化に対するエピジェネティック・セラピーの開発

研究課題名（英文）

Epigenetic approaches to refractory epilepsy

研究代表者

金井 裕彦 (KANAI HIROHIKO)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：30293830

研究成果の概要（和文）：てんかんの焦点形成の原因は数多くあるが、てんかんの発症にはそれに加え、神経回路の中で本来正常な神経活動の変化がてんかん性放電を維持する仕組みがあると推測される。この研究は、神経系における発達、機能分化、細胞新生、シグナル伝達系の可塑的な変化をエピジェネシスの変化から捕捉し、難治性てんかんに対する治療ターゲットを確認する目的で計画された。てんかんの動物モデルとして、過去の科研費研究で報告している野田てんかんラットにおける海馬のほか、明確なエピジェネシスの変化が期待でき、聴覚異常があつて聴原性てんかんモデルと思われる甲状腺受容体欠損モデルが利用できたため、これを対象に検討を行った。その結果、甲状腺受容体欠損モデルでは部位特異的なエピジェネシスの変化を認めた。特に、 $\beta$ 受容体欠損では、線状体、側坐核のドーパミン代謝低下、扁桃体でセロトニン代謝低下とヒストンジアセチラーゼ(HDAC) 2および3の増加を認めた。HDACは神経精神疾患の治療ターゲットの候補になる可能性があると思われる。

研究成果の概要（英文）：Although numerous causes of forming epileptic focus have been implicated, the mechanism by which intrinsic properties of neuronal activity would change to pathological neuroexcitability in neuronal circuits remains to be elucidated. Epigenesis engages in the development, functional differentiation, neurogenesis, and plasticity of cell signaling. This study was aimed to elucidate the epigenetic changes related to occurrence of seizure and potential therapeutic targets in the refractory epilepsy using the following two animal models: Noda epileptic rats, hippocampus of which was studied in the previous research of KAKEN, and thyroid hormone receptor (TR) deficient mice, a possible model of audiogenic seizure with auditory dysfunction. As results of experiments using TR-mutant mice, it was demonstrated that region-specific modifications of epigenetic status, associated with alterations of catecholaminergic metabolisms. In particular, TR $\beta$ -/- mice have low dopamine metabolisms in the caudate/putamen and in the accumbens. The 5-HT metabolism was also decreased in the amygdala, associated with increases of histone deacetylase (HDAC)-2 and -3 expressions. Manipulation of HDAC function may be a possible therapeutic approach to neuropsychiatric disorders including epilepsy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学、エピジェネティクス

### 1. 研究開始当初の背景

てんかんの焦点形成の原因は数多くあるが、てんかんの発症にはそれだけでは足りず、てんかん性放電を維持する神経回路を含めた本来正常な神経活動の変化があると推測される。この研究では、神経系における発達、機能分化、細胞新生、シグナル伝達系の可塑的な変化をエピジェネシスの変化から捕捉し、難治性てんかんに対する治療ターゲットを確認する目的で計画された。

### 2. 研究の目的

てんかんの動物モデルとして、これまでの科研費研究で報告している野田てんかんラット(NER)における海馬変化、および核受容体に一般的性質であるエピジェネティックな働きが詳細に解析されている甲状腺受容体の欠損モデル、これは聴覚性てんかんモデルでもあるが、これを利用できたため、これを含めて検討を行った。

ヒストンテールの化学修飾を行うヒストンジアセチラーゼ(HDAC)は4クラス、11のアイソフォームが同定され、脳の各部位における神経細胞やグリア細胞における発現解析もなされている。

甲状腺ホルモン受容体は、NcoR/SMRTを中心にヒストンジアセチラーゼ3(HDAC3)と複合体を形成すること、さらにはHDAC3によって甲状腺ホルモンによる遺伝子発現調節が行われていること、さらに、脳においては、HDAC3自体がクラス2のHDAC4やHDAC5の働きを仲介しており、神経細胞に発現しているHDACの中ではクラス1のHDAC1/2とHDAC3が、機能的に主要な役割を果たしていることもわかってきた。従って、HDAC3を治療ターゲットと見なした場合、その重要性と役割を解析する必要がある。

### 3. 研究の方法

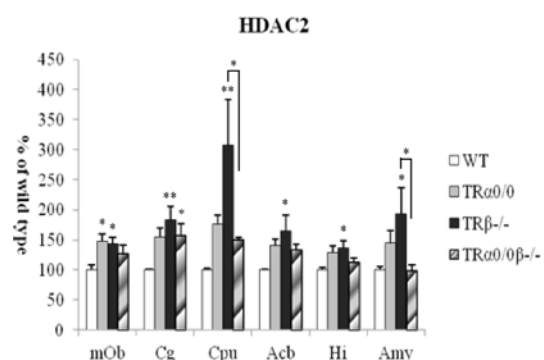
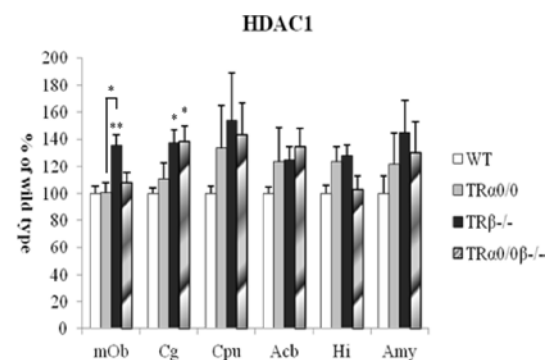
げっ歯類のてんかんモデルについて、NERについてはBDNFを中心に海馬を対象に検討した。甲状腺ホルモン受容体の $\alpha$ 受容体および $\beta$ 受容体遺伝子の欠損動物では、ヘテロ型を自家繁殖し、変異型遺伝子を含まない littermate (野生型)を含む6グループ(Wild, TR $\alpha$ 0/+, TR $\alpha$ 0/0, TR $\beta$ +/-, TR $\beta$ -/-, TR $\alpha$ 0/0 $\beta$ -/-)を用いて検討した。

対象となる部位を切り出し、ウェスタンブロット法による各種の関連蛋白の定量を行った。また、組織学的検索と行動実験を行った。解析部位は、海馬のほか、線条体、側坐核、海馬、前帯状回、扁桃核、縫線核、主嗅球である。また、この各部位について、ドーパミン、セロトニンと、それらの代謝産物をHPLCを用いて測定した。

### 4. 研究成果

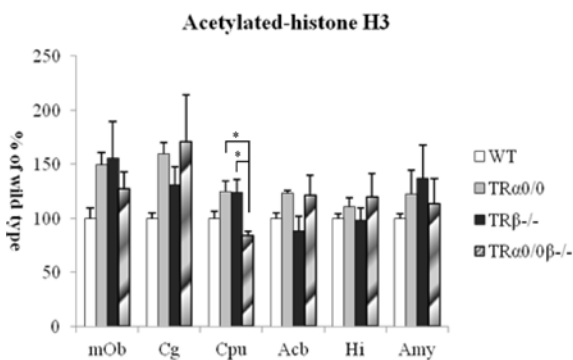
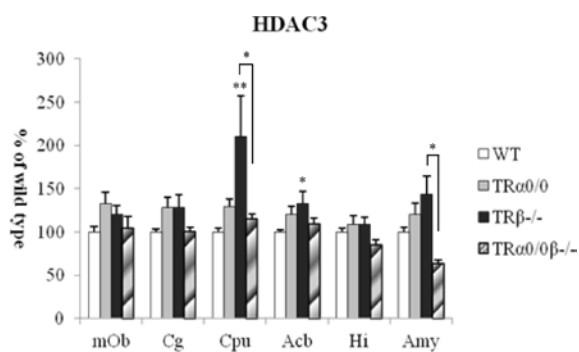
甲状腺受容体欠損マウスでは、神経細胞に豊富に発現するクラスIのHDAC(HDAC1, 2, 3)と、アセチル化ヒストンH3の蛋白発現量を測定した(下記に示す)。その結果、遺伝子欠損動物の中でもhyperactivityと中間的な聴覚障害を示すTR $\beta$ 遺伝子改変マウスで突出した異常を認めた。脳の部位別では、線条体と側坐核で著明なドーパミン量の増加と代謝低下、アセチル化ヒストンH3の増加を認めた。また、扁桃核においてセロトニンの代謝低下を認めた。線状体、側坐核と扁桃核では甲状腺ホルモン受容体の豊富な発現がある。

こうした変化に対応して、これらの部位でHDAC2/3の部位特異的な発現上昇を認めた。HDAC1はHDAC2/3とは異なる変化が見られたが、これはHDAC1とHDAC2が拮抗する役割を持っているという報告もあり、HDACの中でも発現調節が異なっていると思われる。



HDAC は、histone acetylferase(HAT)とのバランスの中で発現調節を行うが、HDAC と HAT はゲノム全体の中でも遺伝子発現の活発な部分に局在していることから、HDAC の global な変化は、その部位の活性化と関連している可能性がある。最近、海馬や側坐核において、HDAC の特定のアイソフォームの発現量変化が、その部位の機能の上昇/低下とリンクすることが多数示されている。さらに、HDAC inhibitor が HDAC の発現量低下と類似した機能抑制効果を示す。

脳内の特定の部位に選択的に HDAC の発現抑制（または促進）を行うことで、抗てんかん作用を得られる可能性があると思われた。



##### 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 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

1) Yoshimura A, Kanai H, Jinde S, Masui A, Okawa M, Yamada N: Influence of age or circadian time on bcl-family gene expression in the hippocampus after corticosterone exposure. International Neuropsychological Society 36th Annual Meeting, USA, 2008

2) 大久保雅則 金井裕彦 定松美幸, 青木建亮, 鈴木悟, 山田尚登 Behavioral alterations and brain monoamine concentrations in thyroid hormone receptor mutant mice, 第 32 回日本生物学的精神医学会, 福岡, 2010

3) M.OOKUBO, H.KANAI, M.SADAMATSU, T.AOKI, S.SUZUKI, N.YAMADA Alteration of locomotor activity and brain catecholamine concentrations in thyroid hormone receptor mutant mice, Society for Neuroscience, USA, 2010

[図書] (計 1 件)

1)Xiaobin Xu, Hirohiko Kanai, Masanori Ookubo, Satoru Suzuki, Nobumasa Kato and Miyuki Sadamatsu, Consideration of Congenital Hypothyroidism as the Possible Cause of Autism. A New Look at Hypothyroidism, Drahomira Springer ed., InTech, Publisher 2012, in press. ISBN978-953-51-0020-1

(査読有、Book style、Original works only)

[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

金井 裕彦 (KANAI HIROHIKO)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 30293830