

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590088

研究課題名（和文） ニューロラチリズムモデルラットにおける酸化ストレス運動神経細胞死の毒性機構

研究課題名（英文） Toxicological mechanism of oxidative stress-induced motoneuron death in the neurolathyrism rat model

研究代表者草間 國子（KUSAMA KUNIKO）

日本大学・薬学部・教授

研究者番号：10130436

研究成果の概要（和文）：

グラスピーは干ばつに強い作物であるが、毒性アミノ酸 L-β-ODAP を含有し、単独過剰摂取により運動神経疾患ニューロラチリズムを生じる。背景として含硫アミノ酸欠乏、グルタチオン低下がある。このような酸化ストレス下、培養細胞ならびにモデルラット脊髄においてカチオンチャンネル TRPM2 および 7 の特異的発現誘導を明らかにした。さらに、モデルラット脊髄に起こる出血に伴って誘導されるヘムオキシゲナーゼ - 1 が病態発症に関わっていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Neurolathyrism (NL), a motoneuron disease, is caused by the overconsumption of grass pea that is a draught-tolerant crop containing a neurotoxin L-β-ODAP. Under the unavoidable deficiencies of sulfur-containing amino acids and glutathione, I clarified the induction of nonspecific cation channels TRPM2 and 7 in cultured cells and in the spinal cord of a NL-model rat. In the model, there observed the vessel disruption and hemorrhage in the lower spinal cord where heme oxygenase-1 was highly induced to cause pathological changes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
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：薬学・生物系薬学

キーワード：神経生物学、疾患モデル

1. 研究開始当初の背景

運動神経疾患の病理機序について研究がなされてきたが、ニューロラチリズムについて他の疾患との異同等不明な点が多かった。また疾患モデルの少ない中、我々が報告したげっ歯類のモデルが有用と考えられた。一方、原因の豆を食糧とした場合、含硫アミノ酸が

低く、体内グルタチオンが低下するなどが知られていた。

2. 研究の目的

疾患モデルあるいは培養細胞を用いて、運動神経細胞の酸化ストレス下での変化を明らかにし、組織・個体レベルでも同様の事柄

ならびに、モデルの病態発症時に必発する実質内出血の影響について、関連する因子を明らかにする。この研究を通して、食糧不足に直面している発展途上国の疾患予防にも有用な知見を得る。

3. 研究の方法

①原因神経毒の反復東洋により疾患モデル動物を作製し、後肢運動麻痺に関わる脊髄下部について出血の際の組織内の変化を種々の観点で検討する。

②培養細胞に酸化ストレス下で L-β-ODAP を作用させ、神経細胞死につながる Ca²⁺上昇を起こし、酸化ストレスとも関わりの深い TRPM2 と 7 の発現変化を測定する。

4. 研究成果

①疾患モデル動物(発症例：全体の 3-4 割に相当)では責任病巣・脊髄下部に限局した実質内出血ならびにリンパ球の浸潤が認められ、同部位で炎症性サイトカイン IL-6 および TNF-α の誘導が生じた。さらに、血管構造周囲にはアポトーシス陽性構造体が認められた。脊髄下部において RNA、タンパク質レベルいずれにおいてもヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) が特異的に誘導された。一方、この酵素の阻害剤 Zn-プロトポルフィリンIX を L-β-ODAP より前に投与しておくこと、病態発現ラットの出現率が劇的に減少した。この際 HO-1 発現量も免疫組織化学的に顕著に低下していたことから、後肢麻痺発現における HO-1 の促進的役割が明らかとなり、従来の HO-1 の酸化ストレス障害保護作用とは異なる知見が得られ、運動神経障害の新たな情報伝達系が推定された。

②株化運動神経細胞では、酸化ストレス下で L-β-ODAP によって TRPM2 および 7 が特異的に誘導されることが明らかとなった。これらの新たな知見から、虚血や酸化ストレスという条件の下、L-β-ODAP は血管系、運動神経系いずれに対しても作用を持つこと、この両系の変化によって不可逆的な運動神経変性に至ることが推定された。

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 1 件)

1. Kawaguchi, K., Lambein, F., Kusama-Eguchi, K. Vascular insult accompanied by overexpressed heme oxygenase-1 as a pathophysiological mechanism in experimental neuropathic rat model with hind-leg paraparesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 428 (2012) 160-166. DOI: org/10.1016/j.bbrc.2012.10.032<査読有>

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 草間國子他 5 名

ニューロラチリズムにおける運動神経の酸化的細胞死にかかわる TRPM2 および 7 の ODAP による誘導 日本薬学会第 133 年会 2013 年 3 月 29 日 横浜市

2. 川口貴美乃、草間(江口)國子、ランベインフェルナンド

Experimental model of neuropathic rat model: role of heme oxygenase-1 in the vascular insult associated with hind-leg paraparesis 第 86 回日本薬理学会年会 2013 年 3 月 21 日 福岡市

3. K. Kawaguchi, K. Kusama-Eguchi.

Involvement of vascular insult in the motor neuron death of neuropathic rat model. *Neuroscience* 2012, 2012 年 10 月 15 日 ニューオーリンズ、米国<国際学会>

4. 草間-江口國子他 6 名

ニューロラチリズムモデルにおける酸化ストレス運動神経細胞死と TRPM2 および M7 タンパク質の誘導 日本薬学会第 132 年会 2012 年 3 月 29 日 札幌市

5. 山田真一、川口貴美乃、草間國子

神経変性疾患の発症に対するストレスの影響について 第 55 回日本薬理学会関東支部大会 2011 年 10 月 8 日 千葉県習志野市

6. 草間國子他 2 名

運動神経疾患ニューロラチリズム-細胞および動物モデルを通して見えてきた謎-第 13 回応用薬理シンポジウム<招待講演> 2011 年 9 月 3 日 千葉県船橋市

7. 川口貴美乃、草間國子

ニューロラチリズムモデルラットの麻痺発症初期における運動神経変性と炎症性反応 第 124 回日本薬理学会関東支部会 2011 年 6 月 24 日 東京

8. 箕浦愛、池上文雄、草間(江口)國子

Involvement of oxidative stress-regulated TRP channel in a motor neuron disease neuropathic rat model 第 84 回日本薬理学会年会 2011 年 3 月 (誌上開催)

9. 川口貴美乃、草間(江口)國子

Increased expression of inflammatory cytokines in the spinal cord of neuropathic rat models. 第 84 回日本薬理学会年会 2011 年 3 月 (誌上開催)

10. 草間國子他 4 名

運動神経株化細胞 NSC34 を用いた ALS 治療効果のある天然物の探索 日本薬学会第 131 年会 2011 年 3 月 (誌上開催)

11. 川口貴美乃、草間國子

ニューロラチリズムモデルラットの病態発現脊髄における VEGF 受容体 2 の役割 日本薬学会第 131 年会 2011 年 3 月 (誌上開催)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

草間國子 (KUSAMA KUNIKO)

日本大学・薬学部・教授

研究者番号：10130436