

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06887

研究課題名(和文) KATPチャンネル欠損マウスにおけるアルツハイマー病中核・周辺症状の病態機能解析

研究課題名(英文) Mechanisms of both cognitive deficits and behavioral and psychological symptoms of Alzheimer's disease in KATP channel mutant mice

研究代表者

森口 茂樹 (Moriguchi, Shigeki)

東北大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：70374949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)の特徴として中核症状である認知機能障害ならびに周辺症状であるうつ・不安症状および攻撃性症状などの精神機能障害が報告されている。申請者は、KATPチャンネル欠損マウスの行動表現型を検討した結果、Kir6.2チャンネル欠損マウスでは認知機能障害ならびに攻撃性症状を示し、一方、Kir6.1チャンネル欠損マウスではうつ・不安症状ならびに攻撃性症状を示すことを見出している。本研究では、KATPチャンネル欠損マウスの行動表現型に関する脳部位の同定、ならびに細胞内機序について明らかにし、ADの中核・周辺症状におけるKATPチャンネルの病態生理学的役割について検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、KATP(Kir6.1/Kir6.2)チャンネルを標的とした「ADの脳糖尿病仮説」の実証である。申請者はADモデルマウスにおいて海馬および大脳皮質におけるKir6.1/Kir6.2チャンネルのタンパクおよびmRNA発現量が有意に低下していることを同定した。この結果は、「ADの脳糖尿病仮説」においてKATPチャンネルの発現量の低下、すなわちKATPチャンネルの機能低下がADの中核・周辺症状に關与する可能性を示唆するものであり、本研究で実施するKATPチャンネル欠損マウスの表現型解析(AD中核・周辺症状の同定)は学術的独自性と創造性が極めて高い研究課題と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by both cognitive deficits and behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD). Here, we demonstrated that mutant mice in Kir6.2 channel observed both cognitive deficits and aggressive behaviors. By contrast, mutant mice in Kir6.1 channel observed anxiety-like behaviors, depressive-like behaviors and aggressive behaviors. In this study, we performed that detection of brain region at behavioral phenotypes and mechanisms of intracellular signaling, therefore, we detected psychological role of KATP channel in both cognitive deficits and BPSD of AD.

研究分野：神経薬理学

キーワード：アルツハイマー病 認知機能障害 KATPチャンネル 精神機能障害 病態解明

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は、中核症状である認知機能障害を主症状とする疾患であり、進行状況に応じて周辺症状であるうつ・不安症状、徘徊、暴言・暴力等の攻撃性症状などの精神機能障害が報告されている。日本での認知症の患者数は 462 万人 (2012 年度厚生労働省患者調査) と推計されており、約 60% が AD であり患者数は毎年増加している。経済産業省の技術戦略マップ 2010 においても、AD は糖尿病とがんに並ぶ重要疾患に位置付けられ、技術開発の一つの柱は「認知機能維持・回復のための治療」であり、新規作用機序を持つ医薬品の開発を挙げている。現在、AD 治療薬としてアセチルコリン神経系の機能低下に注目したアセチルコリン賦活化作用をもつアセチルコリンエステラーゼ阻害剤が開発され、ドネペジル、リバスチグミンおよびガラントミンが承認を受け、また、神経細胞保護効果に注目した NMDA 受容体阻害剤であるメマンチンも同様に承認を受けた。近年、AD のアミロイド β (Aβ) 仮説に基づき、Aβ を標的とした作用機序の医薬品開発が多数進められている (2013 年時点で 60 化合物以上) が、現状ではどれも上市されていない。このことから AD 治療薬の治療満足度・貢献度は共に十分ではなく、患者の QOL 向上を考慮する上で認知機能改善効果だけでなく周辺症状を改善する新しい作用機序を有する低分子化合物の開発が望まれている。

最近、AD 患者の脳ではインスリンシグナルの機能異常が報告され (Hokama et al., Cereb. Cortex, 2014) 「AD の脳糖尿病仮説」が注目されている。糖尿病は AD のリスクファクターと考えられてきたが、脳内グルコースによる糖代謝異常が AD の神経変性疾患に関与する可能性が示唆される。申請者は、AD 治療薬であるメマンチンの新たな作用機序として、ATP 感受性カリウム (K_{ATP} : Kir6.1/Kir6.2) チャンネル抑制作用を発見した (Moriguchi et al., Mol. Psychiatry 2016) (図

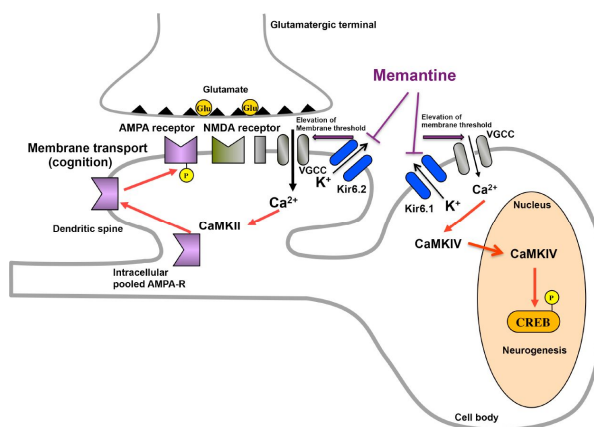


図1 KATP (Kir6.1/Kir6.2) チャンネルを介した memantine の認知・精神機能改善効果の細胞内機序

1)。メマンチンは NMDA 受容体を阻害し、AD 患者脳における細胞内への過剰なカルシウム流入の抑制による神経細胞保護効果が有効であることが報告されてきたが、メマンチンによる NMDA 受容体阻害作用は少なくとも in vitro 実験では 10 μM 以上の脳内濃度が必須であり、AD 患者へ処方されている薬剤濃度 5 mg/kg 錠では NMDA 受容体を阻害する有効域には到達できない。一方、メマンチンによる K_{ATP} チャンネル抑制作用は脳内において 100 pM より惹起され、AD 患者へ投与されている薬剤濃度 5 mg/kg でも十分な有効域を持つ。申請者が見出したメマンチンによる K_{ATP} チャンネル抑制作用は、 K_{ATP} チャンネルのアイソフォームの一つである Kir6.2 チャンネルの抑制作用によりシナプス伝達の役割を担う神経細胞のスパインにおいて神経細胞膜の閾値上昇を惹起し、L 型 Ca²⁺ チャンネルを介して細胞内の Ca²⁺ 濃度を上昇させ、認知機能に必須の分子である CaM キナーゼ II を賦活化することにより AD 中核症状である認知機能障害を改善する (図 2-3)。一方、Kir6.1 チャンネルの抑制作用は Kir6.2 チャンネル抑制作用と同様の機序により、神経細胞の細胞体において CaM キナーゼ IV の賦活化ならびに BDNF の遊離促進を介してうつ症状を改善することを明らかにした。

申請者は、 K_{ATP} チャンネルのアイソフォーム依存的な表現型 (Kir6.2 チャンネル抑制効果：認知機能改善効果、Kir6.1 チャンネル抑制効果：うつ症状改善効果) を基盤として、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスを用いて行動解析により K_{ATP} チャンネルのアイソフォーム依存的な表現型を検討した結果、Kir6.2 チャンネル欠損マウスでは認知機能障害ならびに攻撃性症状を示し、一方、Kir6.1 チャンネル欠損マウスではうつ・不安症状ならびに攻撃性症状を示すことを見出している。本研究では、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスの表現型に関する脳部位の同定ならびに細胞内機序について明らかにし、AD の中核・周辺症状における K_{ATP} チャンネルの病態生理学的役割について検討した。

2 . 研究の目的

本研究では、 K_{ATP} チャンネル欠損マウスの表現型 (Kir6.2 チャンネル欠損マウス：認知機能障害ならびに攻撃性症状、Kir6.1 チャンネル欠損マウス：うつ・不安症状ならびに攻撃性症状) に関する脳部位の同定、ならびに細胞内機序について明らかにし、**AD の中核・周辺症状における K_{ATP} チャンネルの病態生理学的役割**について検討した。

3 . 研究の方法

本研究に用いた研究の手法として、**1) 行動薬理的解析** (Elevated-plus maze task、Light-dark task、Open-field task、Marble-burying task および Fear-conditioning task) **2) 免疫組織化学的解析** (cFos 発現の確認) **3) 電気生理学的解析** (外側扁桃体における長期増強現象 (Long-term potentiation: LTP) の確認) **4) 免疫プロット解析** (外側扁桃体におけるカルシウムシグナル解析) を実施した。

4 . 研究成果

1) K_{ATP} チャンネル欠損マウスにおける不安様行動の解析

本研究では、はじめに K_{ATP} チャンネルのアイソフォームである Kir6.1 チャンネルおよび Kir6.2 チャンネルの欠損マウスを用いて AD 周辺症状の一つである不安様行動に関する行動解析を実施した。不安様行動に関する行動解析方法として、4 種類 (Elevated-plus maze task、Light-dark task、Open-field task および Marble-burying task) について確認したところ、いずれの行動解析においても Kir6.1 欠損マウスにおいて有意な不安様行動の亢進が確認された。一方、Kir6.2 チャンネル欠損マウスでは顕著な影響は確認されなかった。

2) K_{ATP} チャンネル欠損マウスにおける恐怖記憶形成障害と cFos 発現の増強

次に、不安様行動の確認と同様に K_{ATP} チャンネル欠損マウスにおける恐怖記憶形成に関する行動解析を実施した。恐怖記憶形成に関する行動解析の結果、不安様行動の結果と同様に Kir6.1 欠損マウスにおいて恐怖記憶形成の障害が確認され、扁桃体依存的な障害であることを同定した。そこで、扁桃体における cFos の発現量を確認したところ、恐怖不安刺激後の 1 時間以降において外側扁桃体 (Lateral amygdala: LA) において cFos の発現量の増加を確認した。一方、扁桃体中心核 (Central amygdala: CeA) の影響は確認されなかった。Kir6.1 チャンネル欠損マウスの

3) 外側扁桃体における長期増強現象の増強

さらに、Kir6.1 チャンネル欠損マウスにおいて電気生理学的解析による外側扁桃体における長期増強現象 (Long-term potentiation: LTP) について確認したところ、Kir6.1 チャンネル欠損マウスでは野生型 (対称群) と比較して有意な LTP の亢進が確認された。一方、Input-output 反応曲線、Paired-pulse facilitation においては顕著な影響は確認されなかった

4) Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体におけるカルシウムシグナル経路ならびに BDNF の

亢進

免疫ブロット法を用いて Kir6.1 チャンネル欠損マウスの外側扁桃体における細胞内カルシウムシグナル経路ならびにカルシウムシグナル経路の下流分子である BDNF の発現量について確認した。カルシウムシグナル経路の確認のため、自己リン酸化 CaMKII ならびに CaMKIV、ERK のリン酸化について検討したところ、CaMKII の自己リン酸化および ERK のリン酸化の亢進が恐怖不安刺激後の 1 時間において有意な増加を確認した。一方、BDNF の発現量についても同様に、恐怖不安刺激後の 1 時間において有意な増加を確認した。

本研究により明らかにした K_{ATP} チャンネル欠損マウスにおける恐怖不安行動の解析により、 K_{ATP} チャンネルのアイソフォームの一つである Kir6.1 チャンネルの外側扁桃体における機能異常を明らかにした。不安症状の亢進は現代のストレス社会における疾患では増加の傾向を示しており、且、AD 周辺症状の一つとしても注目されている。今後、本研究において明らかにした作用機序が不安症状の改善ならびに AD に代表される認知症患者の治療の一助となることを期待したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ryo Inagaki, Shigeki Moriguchi and Kohji Fukunaga	4. 巻 57
2. 論文標題 Kir6.1 heterozygous mice exhibit aberrant amygdala-dependent cued fear memory.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 1622-1635
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-019-01840-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shigeki Moriguchi, Satomi Kita, Takahiro Iwamoto and Kohji Fukunaga	4. 巻 152
2. 論文標題 Dysfunction of Na ⁺ /Ca ²⁺ exchangers is associated with cognitive decline in Alzheimer's disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nihon Yakurigaku Zasshi	6. 最初と最後の頁 299-305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1254/fpj.152.299.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shigeki Moriguchi, Satomi Kita, Ryo Inagaki, Yasushi Yabuki, Yuzuru Sasaki, Shun Ishikawa, Hiroyuki Sakagami, Takahiro Iwamoto and Kohji Fukunaga	4. 巻 56
2. 論文標題 Aberrant amygdala-dependent cued fear memory in Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger 1 heterozygous mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 4381-4394
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12035-018-1384-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ryo Inagaki, Shigeki Moriguchi and Kohji Fukunaga	4. 巻 388
2. 論文標題 Aberrant amygdala-dependent fear memory in corticosterone-treated mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 448-459
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2018.08.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shigeki Moriguchi, Satomi Kita, Masahiro Fukaya, Makoto Osanai, Ryo Inagaki, Yuzuru Sasaki, Hisanao Izumi, Kyoji Horie, Junji Takeda, Takashi Saito, Hiroyuki Sakagami, Takaomi C Saido, Takahiro Iwamoto and Kohji Fukunaga	4. 巻 131
2. 論文標題 Reduced expression of Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanges is associated with cognitive deficits seen in Alzheimer's disease model mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 291-303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2017.12.037.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shigeki Moriguchi, Ryo Inagaki, Hirotsugu Shimojo, Yoshihiko Sugimura, Kohji Fukunaga	4. 巻 442
2. 論文標題 Memantine improves depressive-like behaviors via Kir6.1 channel inhibition in olfactory bulbectomized mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 264-273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.06.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shigeki Moriguchi, Ryo Inagaki, Lusha Yi, Mikako Shibata, Hiroyuki Sakagami, Kohji Fukunaga	4. 巻 57
2. 論文標題 Nicotine rescues depressive-like behaviors via 7-type nicotinic acetylcholine receptor activation in CaMKIV null mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Neurobiol.	6. 最初と最後の頁 4929-4940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-020-02077-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osamu Nakagawasai, Lin Jia-Rong, Takayo Odaira, Kohei Takahashi, Wataru Nemoto, Shigeki Moriguchi, Yasushi Yabuki, Yu Kobayakawa, Kohji Fukunaga, Masahisa Nakada, Koichi Tan-No	4. 巻 11
2. 論文標題 Scabronine G methyl ester improves memory-related behavior and enhances hippocampal cell proliferation and long-term potentiation via the BDNF-CREB pathway in olfactory bulbectomized mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Pharmacol.	6. 最初と最後の頁 583291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2020.583291.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 アルツハイマー病創薬へのブレイクスルーを目指して
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会（シンポジウム）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 Exploration of novel mechanism target for behavioral and psychological symptoms of Alzheimer 's disease
3. 学会等名 第62回日本神経化学会大会（Neuro2019）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 難治性うつ病モデルマウスにおけるニコチン性アセチルコリン受容体賦活の改善効果
3. 学会等名 第49回日本精神神経薬理学会（スポンサードシンポジウム）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 KATPチャンネルを標的としたアルツハイマー病創薬研究
3. 学会等名 第48回日本神経精神薬理学会（シンポジウム）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 アルツハイマー病中核・周辺症状を改善する新規治療薬の開発
3. 学会等名 第26回創薬薬理フォーラム（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森口茂樹、福永浩司
2. 発表標題 Development of novel Alzheimer 's disease therapeutics as target for KATP channel
3. 学会等名 第61回日本神経化学学会大会（シンポジウム）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shigeki Moriguchi
2. 発表標題 KATP channel is novel target for Alzheimer 's disease therapeutics
3. 学会等名 The 4th Japan-Taiwan Joint Symposium for Pharmaceutical Sciences（招待講演）（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森口茂樹
2. 発表標題 アルツハイマー病周辺症状を標的とした新たな治療戦略
3. 学会等名 第63回日本神経化学学会大会（シンポジウム）（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森口茂樹
2. 発表標題 カルシウム恒常性破綻による認知・精神機能障害と病態機序の解明
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会（シンポジウム）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奈良佑樹，久我哲也，笹野裕介，森口茂樹，岩淵好治
2. 発表標題 アルツハイマー病治療薬リード化合物の構造活性相関研究
3. 学会等名 第141回日本薬学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ベンゼン縮合環化合物、およびそれを含有する医薬組成物	発明者 森口茂樹、福永浩 司、有澤美枝子、山 口雅彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-186242	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関