

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07220

研究課題名(和文)末梢臓器不全に伴う中枢GABA作動性シナプスの機能修飾と抗不安鎮静薬の適正投与

研究課題名(英文) Dosage individualization of antianxiety and sedative medication based on modified synaptic function of cerebral GABAergic neurons with peripheral organs failure

研究代表者

合葉 哲也 (Aiba, Tetsuya)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：00231754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：中枢神経系の薬物感受性は末梢臓器の機能不全に伴い変動する。本研究では、腎不全モデル動物を用いた実験系を用い、中枢抑制薬フェノバルビタールの薬理効果を対象に、その変動機構を詳細に検討した。その結果、薬物作用標的のGABA受容体には直接的な機能変化は生じないものの、神経細胞の電解質輸送タンパク質KCC2に発現量低下が認められ、更にこの発現調節機構の上流に位置する神経栄養因子受容体タンパク質TrkBにリン酸化の亢進が示された。したがって、KCC2の発現低下が中枢抑制性薬物に対する中枢感受性の中心的変動機構であり、その発現調節を司るTrkBのリン酸化プロセスが薬物感受性の決定因子であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物療法の個別化至適化は、疾病からの迅速な回復と患者の生活の質のより一層の向上に資するものであり、そしてこうした医療が提供されることで、医療費や社会保障費の抑制・削減、更に省資源化が果たされる。本研究では、特に中枢抑制薬について、その標的組織の薬物感受性の変動機序と変動の決定因子を明らかにした。今回の研究成果に基づき、感受性変動機構の理解が更に深まることで、薬物療法の個別化至適化の高度化が進み、これまで以上に迅速な疾病回復と患者生活の質の向上が図られることが強く期待される。

研究成果の概要(英文)：Susceptibility of the central nerve system toward the sedatives alters with functional impairment of peripheral organ. To clarify and understand mechanism underlying the alteration, we examined altered potentiation of the pharmacological effects of phenobarbital in rats with experimentally induced renal failure. As a result, it was shown that while little alteration was observed regarding the GABA receptor expression, the cerebral expression of chloride transporter protein KCC2 decreases in the rats. An elevated level of the phosphorylated TrkB protein that regulates the KCC2 protein expression was also demonstrated. These findings indicate that the decrease in the KCC protein expression primarily accounts for altered susceptibility of the central nerve system, and that the phosphorylation process of the TrkB protein can be considered as the dominant factor for the altered susceptibility.

研究分野：医療薬学

キーワード：個別化投与 GABA 抗不安薬 TrkB KCC2

1. 研究開始当初の背景

薬物療法の基本は、薬物の血中濃度を治療域濃度範囲に収めるよう適切に管理することである。実際、ハイリスク薬の治療管理は、この基本に従って、薬物血中濃度の検査結果に基づく処方量調節が行われており、更に、例えば、腎不全患者の場合の投与量調節では、腎の残存機能に応じた減薬処方が為されるか、もしくは、腎排泄型ではなく、肝臓代謝を受ける肝消失型薬物が代替される。他方、このような治療管理は薬物血中濃度と治療効果に関する基本認識、すなわち「薬物濃度が変化しなければ、治療効果は変化しない」との認識が存在するが、この認識は必ずしも正しくない。我々は先に、腎不全時の肝代謝型薬物の体内動態を解析する過程で、肝代謝型の抗不安鎮静薬フェノバルビタールの薬理効果が腎不全群で増強することを見出し、更にこの増強に、フェノバルビタールに対する中枢神経系の感受性亢進が深く関係することを指摘してきた。中枢神経系を作用部位とする薬物にはフェノバルビタールのような抗不安鎮静薬の他、抗うつ薬や抗てんかん薬、双極性障害治療薬など、さまざまな種類が存在するが、いずれも脳の高次機能に影響を与える薬物であることや、濫用や依存を避ける観点から、投与量を必要最小限とすることが医学的にも社会的にも喫緊の課題となっている。しかし現行の薬物療法のように、作用部位の薬物感受性の变化に配慮せず、血中濃度のみを指標として投与量を調節する手法では、薬物療法の個別化至適化に限界があり不十分である。そこで本研究では、「作用部位の感受性が変化するか」というこれまで見過ごされてきた事実に着目し、「どのような患者状態で、どの程度の感受性変化が生じるか」を明らかにする。そして、その変化メカニズムの詳細な理解にもとづいて、現行の薬物療法の限界を超える個別化至適化手法の確立を目指す。

2. 研究の目的

腎不全に代表される末梢臓器の機能不全に伴って、抗不安鎮静薬をはじめとする一連の薬物の中枢抑制効果が増強する。本研究では、こうした薬効変動が生じるメカニズムを深く理解することを目的に、薬物の体内動態の他、標的部位の薬物感受性の变化機序を解明し、ここで得られた知見に基づいて、患者の病態や全身状態に応じた薬物療法の個別化至適化手法の確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、抗不安鎮静薬の適正投与法の構築にあたり、それら薬物の作用標的である脳中枢神経系の薬物に対する感受性が変動する機序を深く理解することを目的に、まず、動物実験系を用いて中枢 GABA 作動性シナプスの機能が修飾され変調するメカニズムの検討を行った。末梢臓器不全モデルには、作成が簡便で安定病態が得られるグリセロール誘発型急性腎不全モデルを利用し、モデル薬物には代表的な抗不安鎮静薬でありフェノバルビタールを用いた。フェノバルビタールについては、その作用機構の解明と理解が他の類薬に比べて進んでおり、中枢神経系の GABA-A 受容体に作用して、神経細胞へのクロライドイオンの流入を促進させることが、その薬理作用の発現機序であることが知られている。また、病態時には薬物体内動態に対照群との差異が生じることから、こうした薬物動態上、特に薬物の中枢移行動態の差異が、腎不全に伴う薬効発現の変化を評価する際の妨げにならぬよう、既に我々が先行研究の中で確立している薬物の脳室内定速微量注入法を用いて薬物動態の影響因子を排除した。フェノバルビタールの薬理効果は、痛覚消失を指標として評価した。即ち、ラット脳室内への薬物注入を開始した後、経時的にラット尾部先端をクリップで強く挟んで忌避行動の有無を観察し、忌避行動が消失した時点までに注入した薬物量を、各群における薬効発現必要量とした。TrkB 刺激実験においては、TrkB アゴニスト活性を有する 7,8-ジヒドロキシフラボンの DMSO 溶液を調製し、これを実験前に 1 日 1 回 3 日間のスケジュールで腹腔内投与した。フェノバルビタールを対象とした薬効発現実験の終了後、ラットより脳組織を摘出し、薬効発現機構に関係する種々のタンパク質の発現量を測定した。即ち、摘出脳組織より、市販のタンパク質抽出キットを用いて細胞膜分画を分取調製し、これを泳動試料とするウエスタンブロッティングと免疫染色を行い、目的のタンパク質に由来する泳動シグナルを半定量的に測定し比較評価した。

4. 研究成果

代表的な抗不安鎮静薬フェノバルビタールの薬理効果を、全身麻酔作用を指標として脳室内薬物直接投与法を用いてインビボ動物実験系で評価したところ、腎不全モデルラットでは、対照群に比べて少ない薬物量で麻酔作用が発現した。麻酔作用発現時の大脳皮質フェノバルビタール蓄積量は対照群よりも腎不全ラットの場合に低値であり、また、フェノバルビタールの作用標的である大脳皮質の GABA-A 受容体タンパク質の発現量に腎不全の影響は認められなかった。このことから、大脳皮質の薬物感受性が腎不全に伴って亢進することが明らかとなり、あわせて、この亢進機構には、フェノバルビタールの標的である GABA-A 受容体の直接関与ではなく、GABA 作動性の抑制性神経細胞における神経信号の伝達プロセスの機能変調の関与が示唆された。GABA-A 受容体の機能は内包するチャンネル機構による神経細胞へのクロライドイオンの流入制御

であり、流入したクロライドイオンが神経細胞の膜電位の過分極に寄与し、興奮性神経刺激による脱分極を抑制することで、興奮刺激の神経伝達を遮断する。こうしたことから次に、神経細胞におけるクロライドイオンの濃度調節機構に着目し、フェノバルビタールの薬効増強をもたらす抑制性神経細胞の信号伝達プロセスの機能変調メカニズムの解明を進めた。具体的には、神経細胞では、GABA-A 受容体の他、クロライドイオンの流入流出に携わる2種類の電解質輸送担体NKCC1およびKCC2が発現している。腎不全ラットの大脳皮質におけるこれら輸送担体タンパク質の発現を評価したところ、KCC2において発現量の低下が認められた。次いで、KCC2タンパク質の発現が脳由来神経栄養因子BDNFの受容体であるTrkBタンパク質の調節を受けることから、TrkBのタンパク質発現量とそのリン酸化状態の評価したところ、腎不全ラットにおける発現量の変化は示されなかったものの、リン酸化体がより多く検出され、腎不全時にはTrkBのリン酸化が亢進することが明らかになった。更に、対照群ラットを対象とし、TrkBアゴニスト活性を持つ7,8-ジヒドロキシフラボンの前処置によりTrkB刺激を行った結果、TrkB刺激群では、腎不全群で観察されたものと同様に、フェノバルビタールの麻酔作用が少ない投与量で発現し、大脳皮質の薬物感受性亢進が認められた。これらの結果、腎不全時に認められるフェノバルビタールの麻酔作用の増強は、GABA作動性の抑制性中枢神経系において、クロライドイオンを排出する電解質輸送担体KCC2の発現量の低下が生じ、これにより神経細胞内のクロライドイオンレベルが上昇した結果、細胞膜が過分極となり易い状況が形成されたことが大きな理由であると推察された。これにより、GABA-A受容体を介して流入するクロライドイオンが少量であっても、過分極が生じ、興奮刺激による脱分極が抑制される。こうした状態がフェノバルビタールの中枢抑制作用の増強としては反映され、中枢神経系の薬物感受性の亢進として認識されてきたのであろう。これに加え、本研究では、こうした感受性変化におけるTrkBの関与が示されており、よって、そのリガンドであるBDNFがこうした感受性変動に大きな役割を果たしていることが示唆されている。これは、組織内BDNF濃度もしくはTrkBリン酸化量が組織の薬物感受性の決定因子である可能性を意味している他、これらを指標とすることで、感受性の強弱に基づく薬物療法の個別化至適化を為し得ることを示唆しており、今後の研究展開を図る上で非常に興味深い。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kojina Moeko, Suzuki Keiichiro, Nishiwaki Akane, Aiba Tetsuya	4. 巻 44
2. 論文標題 Acute Peripheral Inflammation Increases Plasma Concentration of Hypoglycemic Agent Nateglinide with Decreased Hepatic Drug-Metabolizing Activity in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 96～102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b20-00677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Doi Masami, Kajikawa Noriko, Aiba Tetsuya	4. 巻 50
2. 論文標題 Effects of dexamethasone to reverse decreased hepatic midazolam metabolism in rats with acute renal failure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Xenobiotica	6. 最初と最後の頁 506～514
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00498254.2019.1655680	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 Suzuki Keiichiro, Matsumoto Kazuya, Takenaka Misa, Aiba Tetsuya	4. 巻 46
2. 論文標題 Altered Pharmacological Efficacy of Phenobarbital with the Treatment of 7,8-Dihydroxyflavone, an Agonist of Tropomyosin Receptor Kinase B, in Rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 86～94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b22-00617	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹中美沙、松本和也、青江知佳、鈴木啓一郎、合葉哲也
2. 発表標題 フェノバルビタールの薬効発現における脳中枢神経系の薬力学的感受性亢進因子
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村井七海、床治佳、荻野愛美、西脇あかね、合葉哲也
2. 発表標題 経口血糖降下薬ナテグリニドの薬効発現に及ぼす炎症の影響
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本和也、鈴木敬一郎、西脇あかね、合葉哲也
2. 発表標題 急性腎不全に伴うフェノバルビタールの中枢抑制作用の薬力学的変動機構
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西脇あかね、床治佳、神志那萌子、松本和也、合葉哲也
2. 発表標題 炎症病態に伴う血糖降下薬ナテグリニドの薬効変動の解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青江知佳、小林優、竹中美沙、合葉哲也
2. 発表標題 神経栄養因子受容体TrkBを介する抗てんかん薬レベチラセタムのin vivo作用増強
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤森弘貴、本田実生、合葉哲也
2. 発表標題 ラット肝薬物代謝酵素CYP3A2のユビキチン分解に関する基礎的検討
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究分担者	北村 佳久 (Kitamura Yoshihisa) (40423339)	就実大学・薬学部・教授 (35307)	

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
---------	---------