

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：34521

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06610

研究課題名（和文）アストロサイトのエンドサイトーシス異常からの薬剤性錐体外路症状の解明と予防法確立

研究課題名（英文）Elucidation of drug-induced extrapyramidal symptoms caused by abnormalities in endocytosis of astrocytes

研究代表者

山本 直樹（Yamamoto, Naoki）

姫路獨協大学・薬学部・教授

研究者番号：90393157

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、高齢者におけるポリファーマシーに伴い増加する副作用の一つの薬剤性錐体外路症状（DI-EPS）に注目した。DI-EPSを誘発する様々な薬剤を用いて初代培養アストロサイトのエンドサイトーシス異常とDI-EPSとの因果関係を明らかにする。アルツハイマー病治療薬であるドネペジルでは、アストロサイトに特異的な形態変化と共に、 α_1 受容体を介したエンドサイトーシス異常が確認された。ドネペジルによる影響は α_1 受容体のアゴニスト、 α_2 受容体のアゴニストにより抑制された。その他のDI-EPSを誘発する薬剤を用いてもハロペリドールやドネペジルのような結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

古くから副作用にDI-EPSを誘発することが知られている薬剤が、アストロサイトに特異的な形態変化をもたらし、エンドサイトーシス異常を誘発することを以前に明らかにし報告している。アストロサイトのエンドサイトーシス異常に伴う代謝異常が、神経細胞機能抑制を誘発する可能性は高い。また、その影響を検討することは、学術的に非常に意義があるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study focused on drug-induced extrapyramidal symptoms (DI-EPS), one of the side effects that increases with polypharmacy in elderly people. Using various drugs that induce DI-EPS, we clarify the causal relationship between endocytosis abnormalities in primary cultured astrocytes and DI-EPS. Donepezil, a drug for Alzheimer's disease, was confirmed to cause specific morphological changes in astrocytes as well as abnormal endocytosis via α_1 receptors. The effects of donepezil were suppressed by α_1 receptor agonists. Similar results to those of haloperidol and donepezil were obtained when other drugs that induce DI-EPS were used.

研究分野：神経化学

キーワード：錐体外路障害 エンドサイトーシス オートファジー アストロサイト

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

様々な慢性疾患を抱える高齢者においては、薬剤師によるポリファーマシーへの介入がなされているが、処方薬剤数の増加に関する問題が注目されている。最も重大な問題の一つとして、処方薬剤による副作用が上げられる。高齢者は、がん治療に伴う緩和ケアとして用いられる制吐薬や抗精神病薬、そしてアルツハイマー病治療薬が同時に処方されることは少なくなく、それらの副作用にDI-EPSが上げられる。しかしながら、その発症機序は明らかにされていない。処方薬剤数の増加が誘発する相加的な副作用を考えると、DI-EPSの発症機序の解明とその治療・予防法の確立は急務である。

研究代表者らは、DI-EPSを誘発する薬剤が、アストロサイトのエンドサイトーシス異常をもたらすことを発見した。また、EPS発症には、神経細胞のみならずアストロサイトが関与していることはよく知られている。これらのことから、DI-EPS発症には、アストロサイトのエンドサイトーシス異常に伴う機能不全が重要なイベントとなっているのではないかと考えた。

既に、アストロサイトにおけるエンドサイトーシス異常に対する報告はある。しかし、アストロサイトのエンドサイトーシス異常とDI-EPSとの因果関係は証明されていない。

2. 研究の目的

本研究は、DI-EPSを誘発するさまざまな薬剤を初代培養アストロサイトおよびマウスに投与し、その後のアストロサイトのエンドサイトーシス異常とDI-EPSとの因果関係を明らかにする。また、その因果関係に基づいた治療・予防法を見出し、臨床応用の足がかりを築く。

3. 研究の方法

1. アストロサイトのエンドサイトーシス異常とDI-EPSの因果関係を証明する。

初代培養ラットアストロサイトに、DI-EPSを誘発する薬剤を投与し、以下の検討を行った。

生化学的解析 (in vitro): ウェスタンブロット法: エンドサイトーシス異常を調べるために、エンドソーム (Rab5, Rab7 など) とオートファゴソーム (LC3 など) の指標蛋白の発現および分布の変化を調べた。また受容体の安定化や蛋白等の取り込みに関与するGM1 ガングリオシド (GM1) の発現の変化についても調べた。

免疫細胞学的解析 (in vitro): で検討したエンドサイトーシスに関連する指標蛋白およびGM1について、アストロサイト細胞内における分布を調べた。

野生型マウスに、DI-EPSを誘発する薬剤を投与し、以下の検討を行った。

生化学的解析 (ex vivo): ウェスタンブロット法: I. -①で検討したエンドサイトーシスに関連する指標蛋白およびGM1について同様に調べた。

免疫組織学的解析 (ex vivo): II. -①で検討したエンドサイトーシスに関連する指標蛋白およびGM1の中で、変化があった項目について錐体外路系周囲のアストロサイト細胞内における分布を調べた。また、神経細胞についてはアポトーシス等の細胞死に関わる影響も調べた。

2. DI-EPSの治療・予防法探索する。

初代培養アストロサイトを用いた検討 (in vitro): 1.-I およびIIで発現や分布に変化があったエンドサイトーシスに関連する指標蛋白およびGM1について、初代培養アストロサイトを用いて、DI-EPSを誘発する薬剤による変化を抑制する薬剤についてスクリーニングを行った。

総合的評価: ex vivo および in vitro 研究の検討結果を総合的に評価し、各システム間の相互検討を行う。

4. 研究成果

本研究は、高齢者の処方薬剤数は、他科受診等に伴い増加している。この増加に伴い副作用の発症件数も増加している。その中で、高齢者の3大副作用にもなっている薬剤性錐体外路症状(DI-EPS)に注目した。DI-EPSを誘発する様々な薬剤を初代培養アストロサイトに投与し、その後のアストロサイトのエンドサイトーシス異常とDI-EPSとの因果関係を明らかにするため、またその因果関係に基づいた治療・予防法を見出し、臨床応用の足がかりを築くために以下の検討を行った。

(1)古くから副作用にDI-EPSを誘発することが知られているハロペリドールは、以前の検討において、アストロサイトに特異な形態変化と共に、1受容体を介したエンドサイトーシス異常を誘発することを報告しており、同様の結果がアルツハイマー病治療薬であるドネペジルを用いた実験でも得られた。

(2)ドネペジルとハロペリドールで処理したアストロサイトの培養液を用いて、初代培養神経細胞に処理することで様々な影響が出ることを確認した。また銀染色法を用いて、ドネペジルとハロペリドールで処理したアストロサイトの培養液中で有意に影響を受けている蛋白を、未処理培養液と比較検討を行い、見出すことができている。

- (3)上記 1.の検討の中で、ハロペリドールは 1 受容体のアンタゴニストであるのに対し、ドネペジルは 1 受容体のアゴニストであるにもかかわらず、1 受容体のアゴニストにより上記(1)の結果が抑制された。現在、この矛盾についてより詳細な検討を行っている。
- (4)その他の DI-EPS を誘発する薬剤を用いて、上記(1)のハロペリドールやドネペジルのような結果が得られつつある。一方で、上記(1)と同様の結果が得られないものも出てきている。
- (5)野生型マウスに、DI-EPS を誘発する薬剤を脳内投与するための準備を開始し、検討に入った。
- (6)上記(1)のハロペリドールやドネペジルによる影響を抑制する薬剤についてスクリーニングを開始した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Yamamoto N, Tokumon T, Obuchi A, Kono M, Saigo K, Tanida M, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K.	4. 巻 163
2. 論文標題 Poly(I:C) promotes neurotoxic amyloid accumulation through reduced degradation by decreasing neprilysin protein levels in astrocytes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurochem.	6. 最初と最後の頁 517-530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15716.	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 Yamamoto N, Nakazawa M, Nunono N, Yoshida N, Obuchi A, Tanida M, Suzuki K, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K	4. 巻 166
2. 論文標題 Protein kinases A and C regulate amyloid- degradation by modulating protein levels of neprilysin and insulin-degrading enzyme in astrocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 62-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.05.008	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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