

てんかん発作の重篤化の機序を解明 —新しい治療法の開発に期待—

この度、名古屋大学大学院医学系研究科の山田清文教授と環境医学研究所の溝口博之助教を中心とする研究グループは分泌型プロテアーゼであるマトリックスメタロプロテアーゼ-9 (MMP-9) が神経栄養因子 BDNF の成熟化を促すことでけいれん発作の重篤化に関与する可能性を世界で初めて証明しました。これにより今後、選択的 MMP-9 阻害剤が新規てんかん治療薬に成り得る可能性が考えられます。

なお、本研究成果は、平成 23 年 9 月 7 日付 (米国東部時間) 米国科学雑誌 Journal of Neuroscience 電子版に掲載されました。

【ポイント】

てんかん疾患は罹患率の高い疾患の一つである。てんかんモデルマウス (キンドリングマウス) の海馬脳において、マトリックスメタロプロテアーゼ-9 (MMP-9) の活性化が生じており、MMP-9 は神経栄養因子 BDNF の成熟化を促すことで、てんかん発作を引き起こす可能性が示された。

【背景】

てんかんは、大脳の過活動により引き起こされるけいれん発作を主症状とし、発作の頻度や程度が次第に増加する進行性の疾患である。中枢神経系の疾患の中で罹患率が高く、米国の疫学調査によれば、生涯に 1 回でもてんかん発作を経験するヒトは人口の約 10%、2 回以上経験するヒトは約 4%、頻回に経験し治療を要するてんかん患者はおよそ 1%であることが示されている。日本においても 100 万人以上のてんかん患者がいるといわれている。てんかん患者の中には、抗てんかん薬による薬物治療に抵抗性を示し、統合失調症に類似した幻覚・妄想、躁うつ病、学習記憶障害などのてんかん性精神病を示す症例もある。てんかん性精神病の治療目的で使用する抗精神病薬や抗うつ薬は、てんかん症状を悪化させることが臨床報告されている。このような背景の下、てんかん発作の抑制を目的とした治療薬剤の開発や外科的治療が進展してきたが、多くの場合は未だ根本的な治療法がなく、てんかんの発症機構解明とその新規治療法開発に向けて、さらなる研究が望まれている。

近年、てんかん患者の海馬において、顆粒細胞の形成異常や苔状線維の異常発芽などの病的所見が観察されることから、神経の異常な可塑的变化はてんかんの発作症状の悪化や進行を促す要因である可能性が指摘された。その過程には神経栄養因子 (BDNF など) やタンパクを分解するプロテアーゼが関与しており、これらタンパクの働きにより脳神経細胞の機能的、器質的变化が引き起こされることが示された。本研究において注目したマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase: MMP) は、細胞外マトリックスを分解する亜鉛要求性プロテアーゼ群の総称名であり、現在までに 20

種類以上の MMP が報告されている。MMP の一種である gelatinase (MMP-2 および MMP-9) による細胞外マトリックスの分解は、神経突起の伸長や発達期における神経細胞の移動に重要な役割を果たすことが知られている。また、脳虚血、アルツハイマー病、薬物依存症、てんかん疾患などのモデル動物を用いた基礎研究や臨床研究において、MMP の発現は増加することが示されており、MMP の活性化は神経毒性として働くことで多様な中枢神経疾患の発症に関与している可能性が報告されている。最近、MMP-9 は前駆体 BDNF (pro-BDNF) から成熟体 BDNF (mature BDNF) への変換に関与していることが報告されており、MMP-9 は BDNF の作用を調節するタンパクであることが示された。

【研究の内容】

本研究では、『てんかんの発症には MMP-9 による異常なシナプス可塑性が関与する』との仮説のもと、てんかんモデルマウス（キンドリングマウス）を用いて、てんかん発作と MMP-9 との関係について検討し、以下の研究成果を得た。

- 単回投与ではけいれん発作を誘発しない低用量のペンチレンテトラゾール (pentylentetrazole: PTZ) をマウスに慢性投与すると、投与回数に従い、けいれん発作の重篤化が観察された（キンドリングマウス）。
- キンドリング形成マウスの海馬において、MMP-9 の活性およびタンパクの発現は増加し、持続的な発現増加が確認された。一方、強直間代性痙攣を誘発する高用量の PTZ 単回投与では、海馬における MMP-9 活性の変化は認められなかった。
- 抗てんかん薬ジアゼパムあるいは非競合的 NMDA 受容体阻害薬 MK-801 を投与すると、PTZ 誘発性キンドリングの形成および MMP-9 活性の上昇が抑制された。
- MMP 遺伝子欠損 [MMP-9^(-/-)] マウスに PTZ を連続投与すると、野生型マウスに比べ、キンドリング形成の有意な抑制が認められた。野生型マウスに PTZ を連続投与すると、海馬における mature BDNF の発現が増加したが、MMP-9^(-/-) マウスでは認められなかった。
- BDNF scavenger を野生型マウスの脳室内に微量注入すると、キンドリング形成は抑制したが、MMP-9^(-/-) マウスではその効果は見られなかった。
- pro-BDNF を野生型マウスの海馬に微量注入すると、キンドリング形成は増強した。一方、MMP-9^(-/-) マウスではその効果は見られなかった。

【成果の意義】

本研究の成果から、MMP-9 は BDNF の成熟化を促すことで、てんかん発作の重篤化に関与する可能性が示された。すなわち、てんかんの発症機構にプロテアーゼと神経栄養因子の双方が密接に関与しており、発作症状の悪化・進行には複雑な機序が存在することが明らかとなった。現在、臨床においててんかん発作の抑制には多くの場合、根

本的な治療法がなく、種々の対症療法に頼らざるを得ない状況が続いている。本研究で得られた新知見によって、将来選択的 MMP-9 阻害剤が新規てんかん治療薬に成り得る可能性が考えられる。

【用語説明】

キンドリング：発作の誘発を繰り返すと、次第に発作の頻度や程度が増強する現象をいう。この現象は、脳内電気刺激（電気キンドリング）やペンチレンテトラゾールなどの発作誘発剤の連続投与（化学キンドリング）によって生じる。また、時間的に依存した感受性の亢進を説明すると考えられており、てんかん疾患モデル動物として、多用されている。

ペンチレンテトラゾール：GABA_A 受容体のベンゾジアゼピン結合部位に作用してクロライドチャンネルを遮断することで、けいれんを誘発する薬剤。

マトリックスメタロプロテアーゼ：細胞外マトリックスを分解する亜鉛要求性プロテアーゼ群の総称名であり、現在までに 20 種類以上の MMP が報告されている。一般的に、前駆体として産生・分泌され、細胞外において自己もしくは他のプロテアーゼの作用により活性化となる。

BDNF：神経栄養因子の一つで、特異的受容体 tropomyosin-related kinase (TrkB) に結合することで神経の可塑的变化を引き起こす。てんかんモデル動物においては、苔状線維の発芽異常に関与する事が報告されている。pro-BDNF として産生され、細胞内外において mature BDNF へのプロセッシングを受ける。

【論文名】

マトリックスメタロプロテアーゼ-9 は海馬における BDNF の成熟化を促すことで、ペンチレンテトラゾール投与マウスのキンドリングの形成に関与する
(Matrix metalloproteinase-9 contributes to kindled seizure development in pentylentetrazole-treated mice by converting pro-BDNF to mature BDNF in the hippocampus).

Journal of Neuroscience (9月7日掲載)

著者名 (研究組織)

溝口博之^{1,2}、中出純也²、橘 正毅²、衣斐大祐^{2,3}、染谷栄一^{2,3}、小池宏之²、亀井浩之⁴、鍋島俊隆⁵、糸原重美⁶、田熊一徹²、澤田 誠⁷、佐藤 純¹、山田清文^{2,3}

- ¹ 名古屋大学環境医学研究所近未来環境シミュレーションセンター
- ² 金沢大学大学院自然科学研究科薬物治療薬
- ³ 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部
- ⁴ 名城大学薬学部病院薬学
- ⁵ 名城大学大学院薬学研究科薬品作用学
- ⁶ 理化学研究所脳科学総合研究センター行動遺伝学技術開発
- ⁷ 名古屋大学環境医学研究所脳機能