

## AMPA 受容体をターゲットとした革新的医療創生



高橋 琢哉  
Takahashi Takuya

### 1 はじめに

ある神経から異なる神経に情報伝達が起きる際、それを仲介する構造体がシナプスである。興奮性グルタミン酸シナプスは脳内情報伝達の要である。シナプス前末端に興奮が伝わると、シナプス小胞よりグルタミン酸が放出され、シナプス後膜にあるグルタミン酸受容体に結合する。AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 受容体はイオンチャンネルと共役したグルタミン酸受容体であり、グルタミン酸シナプスにおいて中核的な役割を果たしている<sup>1,3)</sup>。AMPA 受容体はそれ自体がイオンチャンネルを形成しており、グルタミン酸が結合するとイオンチャンネルが開き陽イオンが透過するようになる。細胞が興奮していない状態であると、グルタミン酸が結合した AMPA 受容体を介して陽イオンが流入し、シナプス後膜の電位が上がり、興奮性が上昇する。これまでの動物実験を中心とした基礎研究により、AMPA 受容体が多岐にわたる神経機能を中核的に担っていることが明らかになっている。本稿では、AMPA 受容体を基盤とした革新的医療創生の可能性について概説する。

### 2 脳の可塑性と AMPA 受容体

外界からの刺激に反応して脳が変化することを「脳の可塑性」と呼ぶ。記憶・学習は脳の可塑性の

代表的な現象である。また、発育期の脳の成熟過程も可塑的な現象である。一般に若い時期の脳の可塑性は高いと考えられているが、脳卒中等による脳損傷後の機能回復過程においても一過性に脳の可塑性が高い時期が存在し、機能回復を促していると考えられている。このように脳の可塑性は生体に必要不可欠な極めて重要な現象である。

このような脳の可塑性の分子細胞メカニズムも明らかになってきている。感覚や学習の入力等の外界からの刺激に対して脳が可塑的な変化をする際に AMPA 受容体がシナプスへ移行することによりシナプス応答の変化が起きることを筆者らは様々な系で証明してきた<sup>4,11)</sup> (図 1)。

発達期の体性感覚野は感覚入力依存的に神経回路が変化し、成熟していく。げっ歯類の体性感覚野の

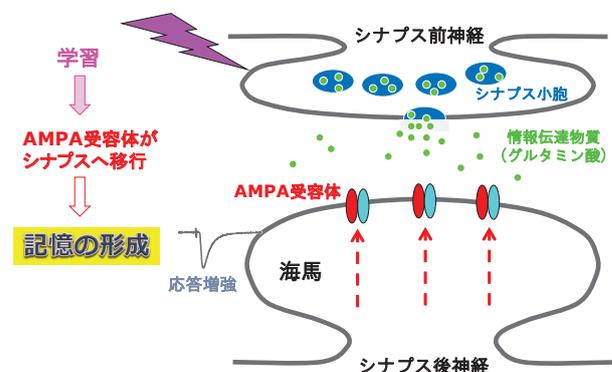


図 1 経験依存的 AMPA 受容体シナプス移行と脳の可塑性

1つにバレル皮質という領域がある。この領域はひげからの入力を受け取る領域である。ネズミのひげは極めて鋭敏な感覚を有しており、1つ1つのひげからの入力を受け取るカラムが存在する。そのカラムは直径300 $\mu\text{m}$ ほどの細胞のかたまりで、ひげバレルカラムの間には1対1の機能的な対応関係が存在する<sup>12,13)</sup>。この対応関係は生後2週間ほどの間にひげからの入力依存的に完成する。筆者らは、この期間にひげからの入力依存的にAMPA受容体がバレル皮質シナプス(第4層から2/3層錐体細胞にかけて形成されているシナプス)へ移行することを証明した<sup>4)</sup>。これはAMPA受容体シナプス移行が経験依存的に生体内で起きていることをはじめて報告したものであり、生体内での経験依存的な可塑的現象の分子細胞メカニズムの一端を解明したものである。

筆者らは、海馬依存的な記憶の形成過程において、海馬でAMPA受容体シナプス移行が起きるか否かを検証した。Inhibitory avoidance task (IA task)は海馬依存的な恐怖学習である<sup>14)</sup>。ネズミが自由に行き来できるように暗い箱と明るい箱を並べる。通常ネズミは暗い箱に入ろうとするので、暗い箱に入った瞬間に電気ショックを与えると、暗い箱に入らないようになる。その結果、ネズミは明るい箱に滞在する時間が長くなり、暗い箱に再び入るまでの時間が長くなる。この時間を測定することにより、定量的に「恐怖学習が成立した」ということを示すことができる。筆者らはこのIAタスクが成立する際にAMPA受容体が海馬シナプス(CA3からCA1錐体細胞にかけて形成されるシナプス)へ移行することを示した<sup>5)</sup>(**図1**)。また、AMPA受容体シナプス移行を阻害するペプチドを海馬に発現させると、この恐怖学習が成立しないことも示した。このことは、AMPA受容体の海馬におけるシナプス移行が恐怖学習成立に必要なことを示している<sup>5)</sup>。更に筆者らはアセチルコリンの分泌がこの学習成立、AMPA受容体シナプス移行を仲介していることを示した<sup>7)</sup>。また、筆者らは、IAタスクによってシナプスに移行したAMPA受容体を選択的に破壊することにより、恐怖記憶が消去できることも見出した<sup>9)</sup>。このことは、学習によってシナプスに移行したAMPA受容体が記憶をコードしていることを示している。

これらの一連の結果により、AMPA受容体シナ

プス移行が記憶・学習をはじめとした経験依存的な脳の可塑性の基本的な分子細胞メカニズムであることが証明され、AMPA受容体がトランスレシヨナルターゲットとしての大きな可能性を有していることが明らかになった。

### 3 AMPA受容体シナプス移行促進薬による脳損傷後リハビリテーション効果促進作用：AMPA受容体をターゲットとした薬剤開発

前述のようにAMPA受容体シナプス移行がトランスレシヨナルターゲットとして極めて有望な現象であるということが明らかになったことから、筆者らはAMPA受容体を起点としてトランスレシヨナルリサーチを展開するようになった。まず、富士フイルムグループ富山化学工業と創薬共同研究を始めた。筆者らは、神経細胞に作用すると考えられていた低分子化合物であるT817MA(現在の名称はedonerpic maleate)の解析を行うことになった。筆者らはまず成熟マウスのバレル皮質の第4層から第2/3層の錐体細胞にかけて形成されるグルタミン酸シナプスにおけるAMPA受容体シナプス移行を解析した。AMPA/NMDA(N-メチル-D-アスパラキシン酸)比、evoked miniature excitatory post-synaptic current (evoked mEPSC)を解析したところ、edonerpic maleate投与群では偽薬として水投与群に比べて高い値を示すことが明らかになった<sup>15)</sup>。更に、この値の増加はひげからの入力を遮断すると観察されないことから、edonerpic maleateは入力依存的にAMPA受容体シナプス移行を促進する極めてユニークな薬理作用を有することが明らかになった<sup>15)</sup>。脳卒中等の脳損傷後の機能回復は代償野形成による可塑的現象であるということが知られている。このことから、筆者らはedonerpic maleateが脳損傷後のリハビリテーションの効果を促進するのではないかとこの着想を得た。

筆者らはまずマウスを用いてreaching taskという上肢の運動機能を評価する行動タスクを観察した。このタスクを学習させることにより、成功率は上がっていき、4日ほどで40%ほどの成功率に到達した。4日間かけて学習させた後、学習が成立した個体の運動野に凍結損傷を施し、持続的な機能低下を呈する脳損傷モデル動物を作出した。このモデル動物にedonerpic maleateを投与してリハビリテー

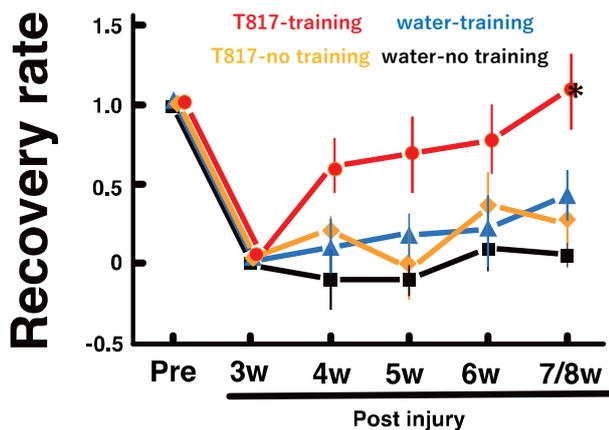


図2 edonerpic maleate (T817) の薬効

脳損傷モデルに投与し、リハビリテーションの効果を上肢の随意運動評価系を用いて検証した。トレーニング依存的に薬効を発揮する

ションを施し、薬効を観察した。edonerpic maleate 投与とリハビリテーションを併用させた動物には大きな回復が見られたのに対し、水投与とリハビリテーションの併用、水投与のみの動物は顕著な回復が見られなかった。興味深いことに、edonerpic maleate をリハビリテーションと併用しなかった動物においても顕著な回復は観察されなかった<sup>15)</sup> (図2)。この結果、edonerpic maleate による機能回復効果はトレーニング依存的であるということが明らかになった。edonerpic maleate は、入力依存的に特定のシナプスの伝達効率が変わる「シナプス可塑性」の概念を反映させた初めての薬剤であるということが明らかになった。

次に、この代償機能を担っている脳領域を特定するために、edonerpic maleate により回復した動物の脳の追加破壊実験を施行した。その結果、最初に破壊した領域の前部を破壊した動物で機能の低下が見られたことから、この領域が、edonerpic maleate による機能回復を担っている「代償野」であることが示唆された。AMPA 受容体には GluA1 から GluA4 の4つのサブユニットが存在するが、GluA1 及び GluA4 は入力依存的（活動依存的）にシナプスに移行する。GluA1 のC末端細胞内ドメイン (GluA1c-tail) を発現させると、シナプス移行に必要なタンパク質をトラップすることにより、入力依存的なAMPA受容体のシナプス移行が阻害される。GluA1c-tail を前述の代償野領域に発現させると、edonerpic maleate による機能回復が観察されなかったことから、edonerpic maleate による機能回復をAMPA受容体のシナプス移行が仲介していること

が明らかになった<sup>15)</sup>。edonerpic maleate により回復した個体はこの領域においてAMPA受容体のシナプス移行が起きていることも見出している<sup>15)</sup>。

更に筆者らは edonerpic maleate のターゲットが CRMP2 (collapsing response mediator proteins 2) というタンパク質であることも見出した<sup>15)</sup>。CRMP2 は発達期の神経軸索伸長を反発するタンパク質として発見されたセマフォリンの細胞内シグナル分子として特定された<sup>16)</sup>。最近 CRMP2 がシナプスの機能発現を担っていることも報告されている<sup>17)</sup>。CRMP2 欠損マウスにおける edonerpic maleate の薬効を検証したところ、バレル皮質における edonerpic maleate によるAMPA受容体シナプス移行促進作用、及び脳損傷動物の回復効果が見られなかった<sup>15)</sup>。このことは edonerpic maleate と CRMP2 の結合が「リハビリテーション促進薬」としての薬効を発現していることを示唆している。

げっ歯類とヒトの間には大きな種差がある。筆者らは霊長類であるカニクイザルを用いて edonerpic maleate の薬効を調べた。コラゲナーゼをMRIガイド下で内包に注入し、内包出血モデル動物を作製した。内包は人間においても脳梗塞、脳出血の好発部位で、重篤な運動麻痺が起きることが知られている。内包出血を誘発したカニクイザルにおいても誘発側の反対側の上肢において強い麻痺が発現した。2つのタスクを用いて機能回復を検証した。1つは、reaching task 同様に離れた場所にある餌をスリットから手を出して取りに行く動作で、もう1つはアクリルパイプの中に餌を提示し、人差し指と親指で餌を取る動作である。特に後者は人間の日常生活レベルに直結する手の巧緻性を反映したタスクである。edonerpic maleate の投与により、両者共劇的に回復することが観察された<sup>15)</sup>。特に指先の巧緻性を見るタスクでの効果が顕著なものであった。

これらの結果により、edonerpic maleate はリハビリテーション効果促進薬としての期待が大きく持てる化合物であることが明らかになった。現在脳卒中患者を対象とした有効性を検証する臨床治験を施行中である。

#### 4 AMPA 受容体標識 PET probe (<sup>11</sup>C)K-2)の開発

前述のとおり、AMPA 受容体は脳内情報伝達を担

健常者  
25歳 男性  
60-120min 平均画像  
370MBq

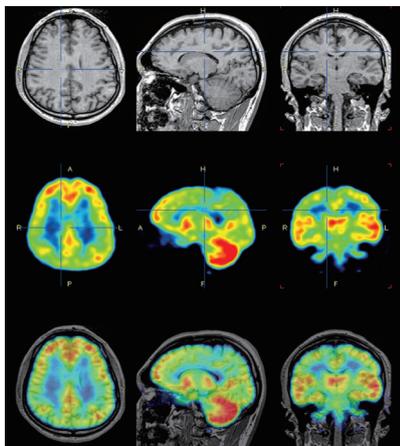
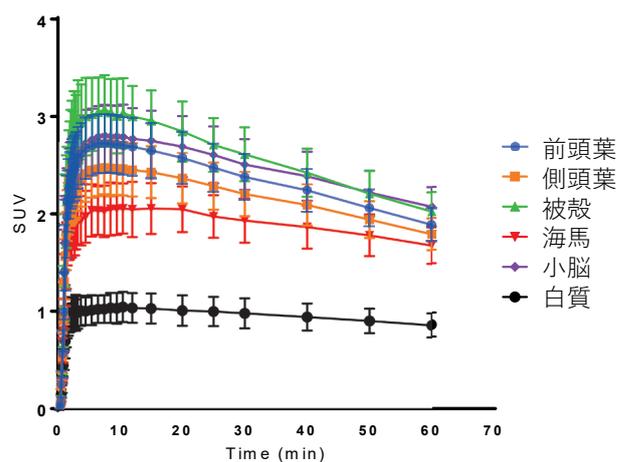


図3  $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$ を用いて AMPA 受容体をヒト生体で初めて可視化した世界初の画像

う中核分子であるにも関わらず、ヒト疾患における病態解明をはじめとしたトランスレーショナルリサーチはなかなか発展してこなかった。その最も大きな理由は、ヒト生体脳で AMPA 受容体を可視化・定量化する技術がこれまでなかったことである。筆者らは、AMPA 受容体へ特異的に結合する化合物を元に、AMPA 受容体をヒト生体脳で可視化・定量化ができる世界初の技術となる、AMPA 受容体標識 PET probe,  $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  の合成に成功した<sup>18)</sup>。ラットに投与したところ、脳への取込みが極めて高いことが明らかになった。また、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  の画像値が  $[^{11}\text{C}]$  で標識されていない、K-2 (cold K-2) の投与により低下することから、特異的結合部位に結合していることが明らかになった<sup>18)</sup>。更に、RNA 干渉法により、ラットの線条体で AMPA 受容体の発現を特異的に低下させたところ、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  による画像値の低下が見られたことから、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  画像が生体内での AMPA 受容体への結合を反映したものであることが明らかになった。中枢神経系に発現している約 160 種類のタンパク質への結合を off target binding assay により調べたところ、結合が見られなかった。これらの結果から、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  画像は AMPA 受容体への特異的結合を描出したものであることが明らかになった<sup>18)</sup>。これらの知見や前臨床毒性検査を経て、first in human test を行った (図 3, 4)。白質には AMPA 受容体が発現しておらず (後述)、したがって  $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  の画像値は白質において最も低



SUV: standardized uptake value (領域の放射線量/(放射能投与量/体重))

図4  $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$ を用いた 10 人の健常者におけるラジオアイソトープの時間変化曲線

く、参照領域としての妥当性が示された。白質を参照領域とした Logan graphical analysis により、plot が直線に乗っていることから、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  がヒト脳内で reversible binding の動態を示すことが明らかになった<sup>18)</sup>。Logan plot の傾きから AMPA 受容体密度を示す BPnd (Binding potential non-displaceable) が算出される。AMPA 受容体密度の定量化のためには BPnd の算出が理想であるが、BPnd の算出のためには 60~90 分の長時間にわたる PET 撮像が必要になる。一方で、実臨床でこの長さの撮像をすることは現実的ではなく、短時間の撮像で BPnd 画像を代替できる画像化が必要になる。筆者らは白質を参照領域とした SUVR (standardized uptake value ratio) の画像を作成した。その結果、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  投与後 30~50 分の 20 分の撮像の統合画像が BPnd と同一の画像であることが明らかになり、投与後 30~50 分の SUVR を統合した画像 (SUVR<sub>30-50</sub>) が BPnd を代替できる surrogate marker であることが明らかになった<sup>18)</sup>。更に、 $[^{11}\text{C}]\text{K-2}$  の SUVR<sub>30-50</sub> がヒトにおいて AMPA 受容体量を反映している画像であることを証明するため、前側頭葉切除術を施行する内側側頭葉てんかん患者の術前撮像を施行した。撮像患者の MRI 画像に基づき、切除範囲の 10 か所の SUVR<sub>30-50</sub> 値を測定した。切除手術後に各ポイントでの AMPA 受容体のタンパク量を生化学的に定量化した。前述のとおり、このアッセイにより白質には AMPA 受容体が発現していないことが明らか

なった。また、各ポイントの SUVR<sub>30-50</sub> 値と AMPA 受容体タンパク量との間には非常に高い有意な正の相関が存在することが明らかになった<sup>18)</sup>。以上より、<sup>[14C]</sup>K-2 の SUVR<sub>30-50</sub> 画像がヒト生体脳において AMPA 受容体密度を反映した平衡状態に達している理想的な PET 画像であることが証明された。<sup>[14C]</sup>K-2 はヒト生体で AMPA 受容体を可視化・定量化できる世界初の技術となる。脳における神経伝達を担う最重要分子である AMPA 受容体をヒト生体で可視化・定量化できる <sup>[14C]</sup>K-2 の開発により、これまでブラックボックスだった精神神経疾患の生物学的基盤の構築が進み、科学的根拠のある革新的診断・治療法の実現につながると期待される。

## 5 現在施行している <sup>[14C]</sup>K-2 を用いた臨床試験・治験と今後の展望

筆者らは <sup>[14C]</sup>K-2 を用いて前側頭葉切除術を施行する内側側頭葉てんかん患者を撮像した。手術切除領域における AMPA 受容体の高集積が見られ、てんかん焦点領域の興奮性シナプスの機能が上昇していることが示唆された。てんかん焦点の特定は難治性てんかんにおいて治療成績が高いとされる外科的焦点切除術の適応症例につながるが、現在の術前検査では焦点の特定が困難な症例が非常に多い。<sup>[14C]</sup>K-2 は、てんかんの分子病態と考えられる AMPA 受容体高集積を可視化できる技術であり、てんかん焦点をこれまでの画像技術よりも高い感度・特異度で描出できる可能性を有している。現在筆者らはてんかん焦点診断薬としての承認申請を目指した医師主導治験を行っている。

また、現在、脳卒中患者を対象としたリハビリテーション効果促進薬 (edonergic maleate) の有効性をテストする治験を施行しているが、この治験においても、機能回復の画像マーカーとして組み込まれている。今後、中枢神経系の新薬開発にはこのようなバイオマーカーが必要になってくると考えられる。

困難を極める精神神経疾患の攻略には科学的アプローチが必須である。まず、大前提となるのは <sup>[14C]</sup>K-2 によるヒト疾患での AMPA 受容体の状態を特定し、それに基づき適切な動物モデルの作出・最適化を行うことにより、ヒト・動物を用いた基礎・臨床融合研究により病態メカニズムの解明を目指していくこ

とである。これを目指すべく、現在筆者らは、<sup>[14C]</sup>K-2 を用いて、統合失調症、うつ病、双極性障害、自閉症、認知症、脳卒中等の多くの精神神経疾患の撮像を行っている。

また、薬剤には基本的にターゲット分子が存在する。そのターゲット分子の生理機能、更には薬効発現のエフェクター等もしっかりと特定しておく必要がある。AMPA 受容体に直接作用する薬剤や、edonergic maleate のように AMPA 受容体以外のターゲットを介して AMPA 受容体の機能を変化させている薬剤は、<sup>[14C]</sup>K-2 を用いて AMPA 受容体を直接観察することにより、ターゲットとなる疾患群、患者の選定や薬効評価がなされるべきである。特に AMPA 受容体に直接作用する薬剤の開発には <sup>[14C]</sup>K-2 をコンパニオン診断薬として使用し、科学的な開発を行っていくことが治験の奏効率を上げると思われる。こういった取組みは、アカデミアと企業、更には行政ががっちりと同じ理念のもと協同して目指していく必要がある。今後のこうした発展に期待したい。

## 参考文献

- 1) Haganir, R. L. & Nicoll, R. A., *Neuron*, **80**, 704-717 (2013)
- 2) Kessels, H. W. & Malinow, R., *Neuron*, **61**, 340-350 (2009)
- 3) Malenka, R. C., *Ann NY Acad Sci.*, **1003**, 1-11 (2003)
- 4) Takahashi, T., *et al.*, *Science*, **299**, 1585-1588 (2003)
- 5) Mitsushima, D., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **108**, 12503-12508 (2011)
- 6) Jitsuki, S., *et al.*, *Neuron*, **69**, 780-792 (2011)
- 7) Mitsushima, D., *et al.*, *Nat Commun.*, **4**, 2760 (2013)
- 8) Miyazaki, T., *et al.*, *J Clin Invest.*, **122**, 2690-2701 (2012)
- 9) Takemoto, K., *et al.*, *Nat Biotechnol.*, **35**, 38-47 (2017)
- 10) Tada, H., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.*, doi:10.1073/pnas.1606351113 (2016)
- 11) Miyazaki, T., *et al.*, *Brain Res.*, **1435**, 1-7 (2012)
- 12) Fox, K., *Neuroscience*, **111**, 799-814 (2002)
- 13) Stern, E. A., *et al.*, *Neuron*, **31**, 305-315 (2001)
- 14) Whitlock, J. R., *et al.*, *Science*, **313**, 1093-1097 (2006)
- 15) Abe, H., *et al.*, *Science*, **360**, 50-57 (2018)
- 16) Goshima, Y., *et al.*, *Nature*, **376**, 509-514 (1995)
- 17) Yamashita, N., *et al.*, *J Neurosci.*, **32**, 1360-1365 (2012)
- 18) Miyazaki, T., *et al.*, *Nat Med.*, **26**, 281-288 (2020)

(横浜市立大学医学部生理学 教授)