

図4 予想されるGLAST欠損マウスにおける正常眼圧緑内障の発症メカニズム  
 GLAST欠損マウスでは細胞外グルタミン酸濃度の慢性的な上昇により、網膜神経節細胞死と視神経変性が発症すると推定される。また、グルタミン酸取り込み量の減少はグルタチオンの産生減少にもつながる可能性がある。

memantine を取り上げたが、筆者らの疾患モデルは、将来開発されるであろうこうした新薬のスクリーニングにも有用な可能性がある。さらにグルタミン酸輸送体の機能を賦活化できるような薬剤を見いだすことができれば、正常眼圧か高眼圧かを問わず多くの緑内障患者が利用するような新薬となり得るかもしれない。

筆者らは疾患モデルを用いた細胞保護および神経再生研究を継続する一方で、今後は緑内障患者におけるグルタミン酸輸送体の遺伝子変異を検索していきたいと考えている。われわれ眼科臨床医が自らこうした研究に参画し、協力し合えば、研究は大いに進展する可能性がある。今後も専門家を含めた本誌読者のアドバイスや、関心をおもちの多くの先生方の研究協力をいただくと幸いである。

稿を終えるにあたり、ご助言いただいた大野重昭北海道大学教授、真島行彦先生、相原一先生、吉田寛先生に感謝いたします。

## 文献

- 1) Iwase A, Suzuki Y, Araie M et al : The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese. The Tajimi Study. *Ophthalmology* **111** : 1641-1648, 2004
- 2) Savinova OV, Sugiyama F, Martin JE et al : Intrao-

- cular pressure in genetically distinct mice. An update and strain survey. *BMC Genet* **2** : 12, 2001
- 3) Gould DB, Reedy M, Wilson LA et al : Mutant myocilin nonsecretion in vivo is not sufficient to cause glaucoma. *Mol Cell Biol* **26** : 8427-8436, 2006
- 4) Senatorov V, Malyukova I, Fariss R et al : Expression of mutated mouse myocilin induces open-angle glaucoma in transgenic mice. *J Neurosci* **26** : 11903-11914, 2006
- 5) Rezaie T, Child A, Hitchings R et al : Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* **295** : 1077-1079, 2002
- 6) Funayama T, Ishikawa K, Ohtake Y et al : Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor- $\alpha$  polymorphisms in Japanese patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **45** : 4359-4367, 2004
- 7) 原田高幸・原田知加子・田中光一：網膜視神経疾患の神経保護と再生療法。NEW MOOK 眼科。第5巻。最新の神経眼科。48-56。金原出版。東京。2003
- 8) Dreyer EB, Zurakowski D, Schumert RA et al : Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* **114** : 299-305, 1996
- 9) Dalton R : Private investigations. *Nature* **411** : 129-130, 2001
- 10) Lipton SA : Paradigm shift in NMDA receptor antagonist drug development. Molecular mechanism of uncompetitive inhibition by memantine in the treatment of Alzheimer's disease and other neurologic disorders. *J Alzheimers Dis* **6** : S61-S74, 2004

- 11) Tamura H, Kawakami H, Kanamoto T et al: High frequency of open-angle glaucoma in Japanese patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 246: 79-83, 2006
- 12) Harada T, Harada C, Watanabe M et al: Functions of the two glutamate transporters GLAST and GLT-1 in the retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 4663-4666, 1998
- 13) Sutter EE, Bearse MA Jr: The optic nerve head component of the human ERG. *Vision Res* 39: 419-436, 1999
- 14) Harada T, Harada C, Nakamura K et al: The potential role of glutamate transporters in the pathogenesis of normal tension glaucoma. *J Clin Invest* 117: 1763-1770, 2007
- 15) Tezel G: Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res* 25: 490-513, 2006
- 16) Naskar R, Vorwerk CK, Dreyer EB: Concurrent downregulation of a glutamate transporter and receptor in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 1940-1944, 2000
- 17) Gherghel D, Griffiths HR, Hilton EJ et al: Systemic reduction in glutathione levels occurs in patients with primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 877-883, 2005



### 炭酸脱水酵素

アセタゾラミド、いわゆるダイアモックスは1950年に合成された。最初は利尿薬としての効果が注目されていたが、その4年後に眼圧下降効果のあることをセント・ルイスのBeckerがはじめて報告した。

これが発見された動機には2説がある。ひとつは緑内障の患者に腎疾患があり、眼圧のコントロールが急に良くなった。不審に思って患者に訊いたら、ダイアモックスの服用をはじめていたというもの。

もうひとつは論理的な根拠からで、きれいな三段論法になっている。すなわち、①兎の房水には重炭酸塩が多く、血清中の濃度よりもはるかに高い。②重炭酸イオン $\text{HCO}_3^-$ は炭酸ガス $\text{CO}_2$ と水 $\text{H}_2\text{O}$ とから作られ、その際に炭酸脱水酵素が触媒として関係する。③ダイアモックスは炭酸脱水酵素阻害剤なので、毛様体上皮での房水産生を減らす筈である。

実際にダイアモックスを投与すると、緑内障の眼圧は見事に下がった。まことに結構なことだが、ヒトの房水では重炭酸塩の濃度は血清よりも

低いのである。いわば「誤った理論から正しい結論が出た」ことになろう。

われわれ眼科医は「炭酸脱水酵素」と聞くと、反射的に房水産生を考えるが、進化論でははるかに重要な役割を演じているらしい。

46億年前に地球が誕生した。始生代、原生代と続いたあと、5億4千万年前に古生代がはじまる。その最初の4千万年がカンブリア紀であり、三葉虫などの動物が数も種類も爆発的に誕生した。動物が眼らしい眼を持つようになったのもこの時代からである。

大きな動物には骨格が必要である。カンブリア紀の動物は外骨格を採用した。蟹などの甲殻類や貝や珊瑚が現在でも使っている方法である。

外骨格の素材は炭酸カルシウム $\text{CaCO}_3$ である。これは炭酸 $\text{H}_2\text{CO}_3$ の塩で、炭酸ガスと水がその素材である。

「カンブリア紀に炭酸脱水酵素が利用できるようになったからこそ、地球上の動物が繁栄することになった」と言えそうだ。脊椎動物も例外ではない。

GEN



## 102. 正常眼圧緑内障とグルタミン酸輸送体

原田知加子 原田高幸  
 東京都神経科学総合研究所  
 分子神経生物学

正常眼圧緑内障 (NTG) の原因には諸説あるが、確定には至っていない。またすでに存在する高眼圧モデル動物を利用できないことから、基礎研究の進展も十分とはいえない。筆者らはグルタミン酸輸送体の欠損マウスが NTG モデルとして利用可能なことを見いだしており、今後の治療研究に有用と思われる。

## ●網膜のグルタミン酸輸送体

グルタミン酸は中枢神経系の約 80% の神経細胞で利用される興奮性神経伝達物質であり、網膜における主要な視覚伝達物質でもある。このグルタミン酸の濃度を調節する唯一の機構がグルタミン酸輸送体である。グルタミン酸輸送体はシナプス間隙のグルタミン酸を迅速に除去し、濃度を適切に保つことで、正常な視覚伝達を可能にしている<sup>1)</sup>。網膜には 4 種類のグルタミン酸輸送体が存在するが、特に重要なのが Müller 細胞に発現する GLAST である (表 1)。Müller 細胞にはグルタミン合成酵素が存在することから、GLAST によって取り込まれたグルタミン酸はグルタミンに変換され、細胞内グルタミン酸濃度は低く保たれる。この Müller 細胞のグルタミン酸代謝機構が、GLAST による強力なグルタミン酸取り込み能力を支えていると考えられる。

## ●グルタミン酸輸送体欠損マウス

緑内障の原因の一つとして、以前からグルタミン酸毒性の関与が指摘されている<sup>2)</sup>。そこで筆者らが作製した GLAST の欠損マウスにおいて、網膜・視神経の詳細な検討を行ったところ、網膜神経節細胞数の減少に加えて、視神経乳頭の陥凹と視神経線維の減少が認められた (図 1)。視機能を評価する目的で多局所網膜電位の二次核成分を測定したところ、網膜神経節細胞の減少にはほぼ一致した電位の減弱が認められた。同様の変化は網膜神経節細胞に発現するグルタミン酸輸送体である EAAC1 の欠損マウスでも観察された。いずれのマウスも開放隅角であり、かつ眼圧は正常範囲内であったことから、これらは正常眼圧緑内障 (NTG) 様症状を示す疾患モデルと考えられた<sup>3)</sup>。

表 1 網膜に発現するグルタミン酸輸送体

	GLAST	GLT-1	EAAC1	EAAT4	EAAT5
神経節細胞層			○		
内顆粒層   グリア細胞	○				
神経細胞		○	○		○
視細胞層		○			○
網膜色素上皮層					

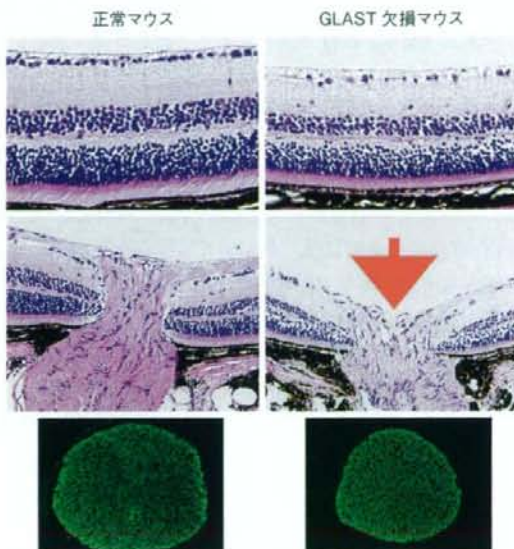


図 1 GLAST 欠損マウスで観察された NTG 様症状  
 生後 8 カ月齢の GLAST 欠損マウスでは網膜神経節細胞の減少 (上段)、視神経乳頭陥凹 (中段)、視神経萎縮 (下段) が確認された。  
 (文献 3 より改変)

## ●グルタミン酸輸送体と酸化ストレス

GLAST 欠損マウスでは硝子体中のグルタミン酸濃度に有意な上昇は認められなかった。しかし、グルタミン

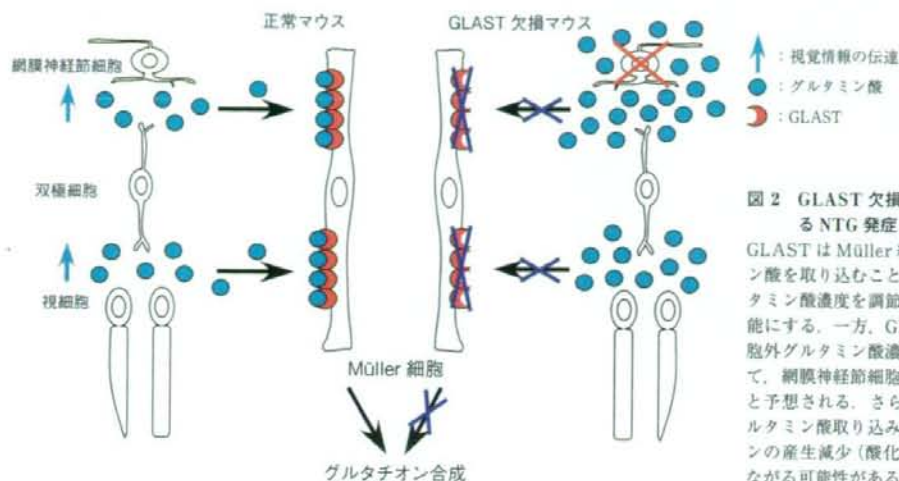


図2 GLAST欠損マウスにおいて予想されるNTG発症メカニズム

GLASTはMüller細胞内に多くのグルタミン酸を取り込むことで、シナプス間隙のグルタミン酸濃度を調節し、適切な視覚伝達を可能にする。一方、GLAST欠損マウスでは細胞外グルタミン酸濃度の慢性的な上昇によって、網膜神経節細胞死と視神経変性が起ると予想される。さらにMüller細胞によるグルタミン酸取り込み量の減少は、グルタチオンの産生減少(酸化ストレスの増大)にもつながる可能性がある。

酸受容体阻害薬である memantine の連続投与により一部の網膜神経節細胞が保護されたことから、やはりグルタミン酸毒性の関与が考えられた。一方、GLAST欠損マウスのMüller細胞ではグルタミン酸取り込み量の低下に伴い、グルタミン酸・システイン・グリシンから合成される網膜の主要な抗酸化成分であるグルタチオンの産生が減少していた。さらに酸化ストレスの指標とされる脂質ヒドロペルオキシドの網膜内濃度が有意に上昇していた。以上の結果からGLAST欠損マウスにおけるNTG様症状の発症には、グルタミン酸毒性と酸化ストレスが複合的に関与する可能性が示唆された(図2)。

緑内障患者では網膜におけるグルタミン酸輸送体の発現量低下<sup>2)</sup>や血中グルタチオン濃度の減少がすでに報告されている<sup>4)</sup>が、GLAST欠損マウスはこうした病態を再現しているとも考えられる。今後は緑内障患者におけ

るGLASTおよびEAAC1の遺伝子変異検索とともに、両者の欠損マウスを用いた細胞保護療法に取り組む予定である。

#### 文 献

- 1) Harada T, Harada C, Watanabe M et al: Functions of the two glutamate transporters GLAST and GLT-1 in the retina. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 4663-4666, 1998
- 2) Naskar R, Vorwerk CK, Dreyer EB: Concurrent down-regulation of a glutamate transporter and receptor in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **41**: 1940-1944, 2000
- 3) Harada T, Harada C, Nakamura K et al: The potential role of glutamate transporters in the pathogenesis of normal tension glaucoma. *J Clin Invest* **117**: 1763-1770, 2007
- 4) Gherghel D, Griffiths HR, Hilton EJ et al: Systemic reduction in glutathione levels occurs in patients with primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **46**: 877-883, 2005

☆

☆

☆

## 103. 緑内障における神経保護研究

原田知加子 原田高幸  
東京都神経科学総合研究所  
分子神経生物学

現在行われている緑内障治療は眼圧下降が中心だが、近年では多くの研究者や企業が、細胞死の分子メカニズムに注目した新薬の開発を目指している。神経変性疾患の分野ではグルタミン酸毒性や細胞死実行因子などをターゲットとした神経保護薬の開発が進められており、緑内障治療への応用も可能となるかもしれない。

## ●グルタミン酸毒性と神経保護

緑内障の原因として、以前からグルタミン酸毒性の関与が指摘されている。たとえば、高眼圧負荷を受けた眼球内ではグルタミン酸濃度が上昇するが、グルタミン酸受容体阻害薬はそれらが受容体と結合し、神経興奮毒性を發揮するのを抑制しようとするものである。最近注目されているグルタミン酸受容体阻害薬は、Alzheimer 病治療薬として米国で認可されている memantine であり、すでに緑内障に対する治験が開始されている。しかし、第三相試験においては有効性が確認されなかったとの情報もあり、実際に眼科臨床の現場で使用可能になるかどうかは、まだ不明である。

他の手法としては、たとえばグルタミン酸輸送体の機

能を賦活化することによって、細胞外グルタミン酸濃度を低下させることが考えられる。筆者らは培養 Müller 細胞を用いた検討により、interleukin-1 (IL-1) が GLAST によるグルタミン酸取り込み能を増大させることを示した<sup>1)</sup>。さらに IL-1 を前投与することで、グルタミン酸による網膜神経節細胞死を有意に抑制できることがわかった (図 1)。その他にも筋萎縮性側索硬化症の治療薬である riluzole<sup>2)</sup> や脳梗塞の治療薬である ONO-2506 (arundic acid)<sup>3)</sup> は複数のグルタミン酸輸送体の発現量を上昇させることが報告されており、今後の研究の進展が期待される。

## ●細胞死実行遺伝子の抑制

これまでの細胞死研究のなかから、アポトーシス実行

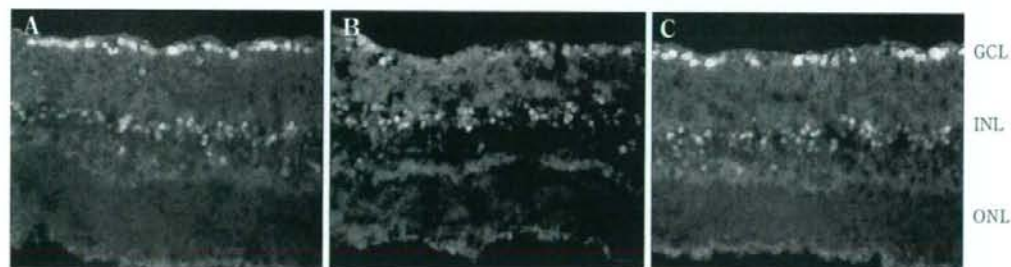


図 1 IL-1 前処置によるグルタミン酸興奮毒性の抑制  
培養網膜組織片の NeuN 染色像。A: 無処置, B: グルタミン酸投与, C: IL-1 の前処置後にグルタミン酸投与, D: IL-1 の前投与により、残存する網膜神経節細胞数の増加が認められた。GCL: 網膜神経節細胞層, INL: 内顆粒層, ONL: 外顆粒層。(文献 1 より改変)

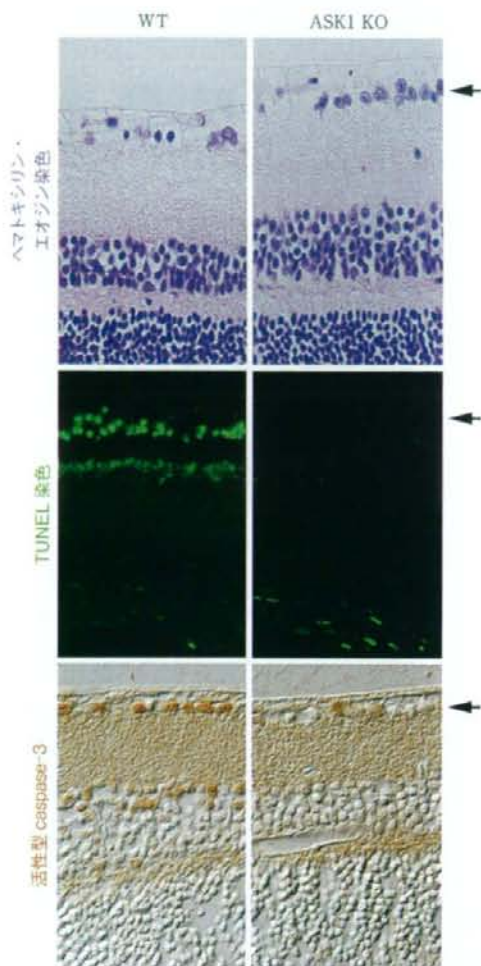


図2 ASK1欠損マウスの網膜における虚血耐性の解析  
野生型マウス (WT) および同腹の ASK1 欠損マウス (ASK1 KO) を用いた虚血網膜の検討。上段：虚血負荷7日後のヘマトキシリン・エオジン染色。中段：虚血負荷1日後の TUNEL 染色。下段：虚血負荷3時間後の活性化 caspase-3 抗体による免疫染色。ASK1 欠損マウスでは、網膜神経節細胞層におけるアポトーシスの減少と残存細胞数の増加が認められた (矢印)。(文献5より改変)

因子としての caspase family の重要性が明らかにされている。また、細胞死抑制因子についての研究も進展し

ており、たとえば Bcl-2 は caspase より上流で細胞死を抑制できると考えられている。Caspase 阻害薬は Alzheimer 病や脳虚血などにも有効な可能性があり、今後は網膜神経細胞を含めた神経保護薬としての臨床応用が期待される。

一方、筆者らは、さまざまな環境ストレスにตอบสนองして細胞の生死を制御する mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAPKKK) の1つである apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) の機能に注目している<sup>4)</sup>。ASK1 欠損マウスに対して高眼圧負荷を行ったところ、野生型マウス網膜と比較して、caspase-3 の活性低下と網膜神経節細胞死の軽減が確認された (図2)。さらに ASK1 欠損マウス由来の培養網膜神経節細胞では、酸化ストレスに対する耐性も高まっていた<sup>5)</sup>。つまり酸化ストレスの関与が示唆される緑内障の新たな治療標的として、ASK1-caspase-3 pathway を阻害することの有用性が示されたといえる。前号で紹介した GLAST 欠損マウスはグルタミン酸毒性に加えて、酸化ストレスが複合的に関与する正常眼圧緑内障モデル動物と考えられることから、現在は ASK1 欠損マウスとの交配によって、症状が軽快するかを検討中である。

#### 文 献

- 1) Namekata K, Harada C, Kohyama K et al: Interleukin-1 stimulates glutamate uptake in glial cells by accelerating membrane trafficking of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase via actin depolymerization. *Mol Cell Biol* 28: 3273-3280, 2008
- 2) Fumagalli E, Funicello M, Rauen T et al: Riluzole enhances the activity of glutamate transporters GLAST, GLT1 and EAAC1. *Eur J Pharmacol* 578: 171-176, 2008
- 3) Mori T, Tateishi N, Kagamiishi Y et al: Attenuation of a delayed increase in the extracellular glutamate level in the peri-infarct area following focal cerebral ischemia by a novel agent ONO-2506. *Neurochem Int* 45: 381-387, 2004
- 4) 原田知加子: 虚血網膜における apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) シグナルの伝達機構と機能解明. *日眼会誌* 112: 965-974, 2008
- 5) Harada C, Nakamura K, Namekata K et al: Role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in stress-induced neural cell apoptosis *in vivo*. *Am J Pathol* 168: 261-269, 2006

☆

☆

☆

## 4. グルタミン酸トランスポーターと精神神経疾患

相田知海・田中光一

グルタミン酸は中枢神経系における主要な興奮性の神経伝達物質であると同時に、グルタミン酸受容体の過剰活性化による神経毒性をもつ。このため細胞外グルタミン酸濃度は、グルタミン酸トランスポーターにより厳密に制御されている。グルタミン酸トランスポーターの機能障害は、緑内障・筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患、自閉症・統合失調症などの精神疾患の発症に関与することが、モデル動物・ヒト症例において明らかにされつつある。グルタミン酸トランスポーターを活性化する薬剤は、これら精神神経疾患の新たな治療法となりうる。

## はじめに

グルタミン酸は哺乳類の中枢神経系において約8割の神経細胞が用いる主要な興奮性の神経伝達物質であり、記憶・学習など脳の高次機能に重要な役割を果たしている<sup>1)</sup>。一方で、過剰な細胞外グルタミン酸はグルタミン酸興奮毒性と呼ばれる神経細胞障害作用により神経細胞死を引き起こすことが知られ、多くの急性・慢性の神経変性疾患に関与している<sup>2)</sup>。このためシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度は厳密に制御されている必要がある。神経活動に伴いシナプス前終末から放出されたグルタミン酸は、シナプス後細胞のグルタミン酸受容体に結合し、神経伝達の役割を終えた後、アストロサイトおよび神経後細胞の細胞膜に存在するグルタミン酸トランスポーターによって迅速に細胞内へ回収される(図1A)。これまで哺乳類の中枢神経系において、5種類のグルタミン酸トランスポーターサブタイプEAAT1 (GLAST, SLC1A3), EAAT2 (GLT1, SLC1A2), EAAT3 (EAAC1, SLC1A1), EAAT4 (SLC1A6), EAAT5 (SLC1A7) がクローニング

されている<sup>3)</sup>。GLAST, GLT1は主にアストロサイトに、EAAC1とEAAT4は神経細胞に、EAAT5は網膜に発現している(図1B)<sup>4)</sup>。近年、これらのグルタミン酸トランスポーター欠損マウス群を用いた解析により、グルタミン酸トランスポーター各サブタイプの機能的差異が明らかになりつつある<sup>5)</sup>。本稿では、これらマウスモデルと最新のゲノム科学の知見を元に、グルタミン酸トランスポーターの精神神経疾患における役割を概説する。

## I. グルタミン酸トランスポーター欠損マウスが示す病態

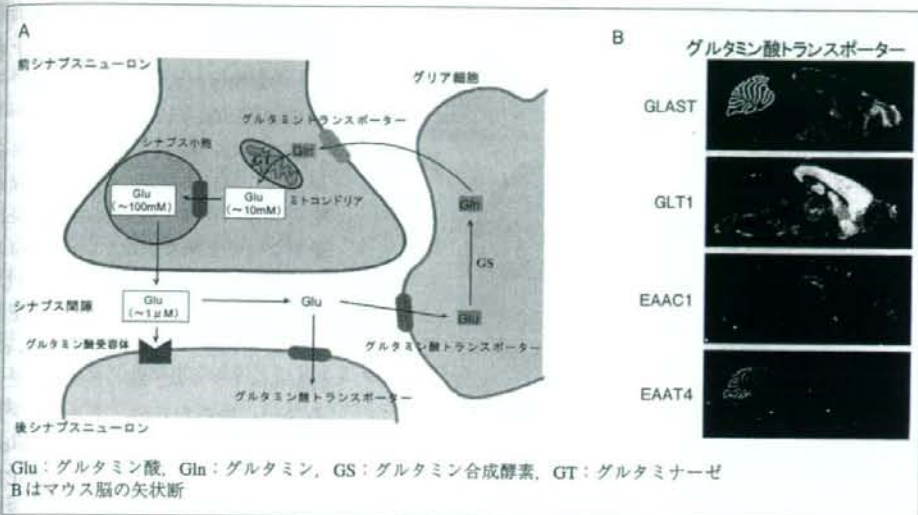
1. GLT1欠損マウス<sup>6)</sup>

GLT1は前脳・海馬で特に強い発現を示しており、これらの部位においてグルタミン酸取り込みの95%を担っている最も重要なグルタミン酸トランスポーターである。脳虚血、脳外傷、肝性脳症、アルツハイマー病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)では、主にGLT1の機能低下が関与していると考えられている<sup>7)</sup>。グルタミン酸トランスポーターは細胞内外のナトリウムとカリウ

## key words

グルタミン酸トランスポーター, アストロサイト, 興奮毒性, 欠損マウス, 発生, 神経変性疾患, 自閉症, 統合失調症, うつ病, 強迫性障害

図1 シナプスのグルタミン酸動態 (A) とグルタミン酸トランスポーター mRNA の脳内局在 (B)



のイオン勾配を駆動力にして、グルタミン酸を細胞内へ取り込む。脳虚血・脳外傷時には、ATP枯渇に伴う $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ポンプの停止により、このイオン勾配が崩壊し、グルタミン酸トランスポーターのグルタミン酸取り込み活性は低下する<sup>7)</sup>。さらにイオン勾配の崩壊が進行すると、グルタミン酸トランスポーターは逆作動し、細胞内のグルタミン酸は細胞外へ放出される。家族性ALSの原因遺伝子である*SOD1*のヒト変異体モデルマウスでは、GLT1の減少や活性低下が報告されている。Rothsteinらは弧発性ALS患者にドミナントネガティブのGLT1スプライスバリエントがあり、運動ニューロンが変性することを報告した<sup>8)</sup>。しかし、このスプライスバリエントは正常のヒトにも存在していることが報告され、その意義は不明である<sup>9)</sup>。GLT1欠損マウスは生後2~3週目以降、致死性の痲痺発作により死亡する<sup>9)</sup>。明らかな運動麻痺の兆候は観察されない。GLT1欠損マウスへの虚血負荷実験から、短時間の虚血に対してはGLT1の取り込み能低下が、長時間の虚血に対してはGLT1の逆作動によるアストロサイトからのグルタミン酸放出が、細胞外グルタミン酸上昇の原因であることが明らかになった<sup>10)</sup>。GLT1欠損

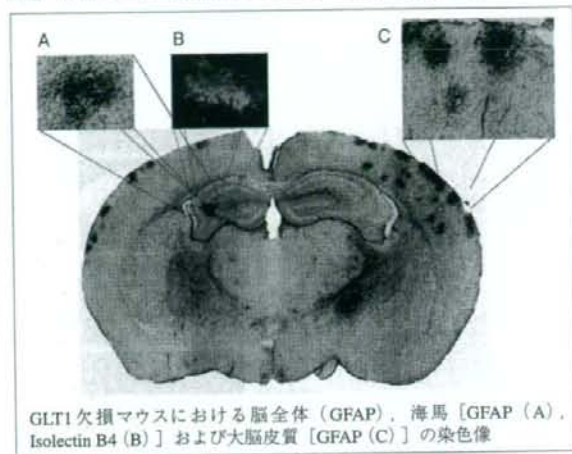
マウスでは、海馬CA1の錐体細胞や、大脳皮質第二層神経細胞の減少、グリオシスが観察され(図2)<sup>11)</sup>、グルタミン酸興奮毒性により神経細胞が障害を受けていることがわかる。

## 2. GLAST欠損マウス

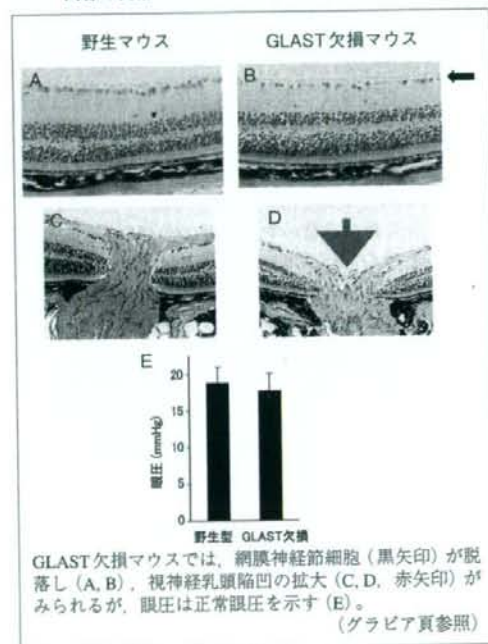
GLASTは中枢神経系全般のアストロサイトに発現しており、特に小脳のBergmann gliaに多い。このためGLAST欠損マウスでは軽度の協調運動障害や、低温誘発性障害による小脳損傷の悪化が認められる<sup>10)</sup>。内耳においてGLASTは唯一のグルタミン酸トランスポーターである。GLAST欠損マウスでは、騒音負荷による蝸牛内グルタミン酸濃度上昇が促進され、聴力低下、蝸牛神経終末の障害が悪化する<sup>12)</sup>。GLASTは網膜のグリア細胞であるミュラー細胞にも多く発現している。GLAST欠損マウスは、眼圧は正常であるにもかかわらず、網膜神経節細胞が加齢に伴って変性し、視神経乳頭陥凹、視覚機能異常を示す(図3)<sup>13)</sup>。これらの異常は、ヒトの正常眼圧緑内障において認められる所見と一致する。GLAST欠損マウスの網膜神経節細胞の変性は、グルタミン酸受容体阻害薬であるメマンチンの投与により抑制された。緑内障はわが国の40歳以上の約5%に発症し、



図② GLT1欠損マウスにおけるグリオシス (文献9より)



図③ GLAST欠損マウスにおけるヒト正常眼圧緑内障と同様の異常



失明を伴う重篤な疾患で、うち70%を正常眼圧緑内障が占めている。GLAST欠損マウスは世界で

初めての正常眼圧緑内障のモデルであり、正常眼圧緑内障の病態解明・新規治療薬の開発に大きく貢献することが期待される。

### 3. GLAST/GLT1二重欠損マウス<sup>10)</sup>

グルタミン酸は、神経系の発生において、神経幹細胞の増殖、神経細胞の移動・生存、神経突起の伸長に重要な役割を果たすことが *in vitro* の実験から示唆されてきた。しかし、グルタミン酸受容体欠損マウスなどグルタミン酸シナプス伝達の loss-of-function モデルは、脳の形成異常を示さない。われわれは、グルタミン酸受容体が過剰に活性化される gain-of-function モデルとして、GLAST/GLT1

二重欠損マウスを作製した。このミュータントマウスは胎齢17日前後に死亡し、脳室拡大、神経幹細胞の分裂異常、神経細胞の移動、大脳皮質層構造の形成異常、大脳皮質と他の脳部位を結合する線維連絡などの異常がみられた。これらの異常は、グルタミン酸受容体のアンタゴニスト (NMDA受容体、AMPA受容体アンタゴニストの組み合わせ) 投与により、ある程度抑制された。これより、過剰な細胞外グルタミン酸は、*in vivo* においてもグルタミン酸受容体を過剰に活性化し、神経幹細胞の分裂、神経細胞の移動、神経突起の伸長など、神経系の発生に多大な影響を与えることが明らかになった。したがって、正常な神経発生には、GLASTとGLT1による細胞外グルタミン酸濃度の厳密な制御が必要である。

### 4. EAAC1欠損マウス

EAAC1は大脳皮質、海馬、網膜神経節細胞などの神経後細胞に発現する神経細胞型のグルタミン酸トランスポーターである。EAAC1はGLASTやGLT1に比べ、シナプス間隙におけるグルタミン酸除去能は低いが、抗酸化分子グルタチオン合成の基質であるシステインを取り込む特性をもつ<sup>11)</sup>。EAAC1欠損マウスの網膜では、酸化ストレスが充進しており、これにより網膜神経節細胞の変性が観察される<sup>12)</sup>。青山らは、EAAC1欠損

マウスにおいて、グルタチオン減少、酸化ストレス亢進、加齢に伴う脳萎縮、行動異常が観察されることを報告した<sup>14)</sup>。これらの報告から、EAAC1は神経細胞を酸化ストレスから防御するうえで重要であると考えられる。

## II. グルタミン酸トランスポーターと精神疾患

近年のゲノム科学の急速な進展により、多数の患者からゲノムワイドに原因遺伝子を探索することが可能になった<sup>15)</sup>。最新の報告により、様々な精神疾患において、グルタミン酸トランスポーターが直接的に精神疾患の原因となりうる可能性が示唆されつつある。

### 1. 自閉症

自閉症は、社会性行動の喪失や言語発達の遅延を特徴とする脳高次機能の発達障害である。グルタミン酸神経伝達系の異常は自閉症の重要なリスク因子であり<sup>16)</sup>、脳の形成に極めて重要な役割をもつ<sup>17)</sup>。自閉症様の行動を示す脆弱X症候群や結節性硬化症の患者ではグルタミン酸神経伝達の異常が報告されている<sup>18)</sup>。2007年3月、欧米の50の機関からなる自閉症ゲノム計画コンソーシアムは、これまで最大となる自閉症患者2名以上を含む1181家系を対象としたゲノムワイドな連鎖解析の結果をNature Genetics誌に発表した<sup>19)</sup>。この大規模解析により11番染色体の11p12-13が自閉症に関連することが明らかになった。たいへん興味深いことに、この領域はGLT1の遺伝子座である。同時に感受性遺伝子座として同定された9番染色体の9p24はEAAC1の遺伝子座である。コンソーシアムメンバーであるコロンビア大学のグループによる別の解析結果からは、5番染色体の5p11、13-14などが自閉症に関連する遺伝子座であることが明らかになっている<sup>20)</sup>。この領域はGLASTの遺伝子座である。最近、われわれはGLAST (+/-) & GLT1 (+/-) マウスが自閉症様の社会行動の異常、脳の形態異常を示すことを発見した。これらの知見を総合すると、グルタミン酸トランスポーターの機能不全による、グルタミン酸神経伝達系の過剰な活性化が自閉症の病態を説明

する可能性がある。

### 2. 統合失調症

統合失調症は、幻覚・妄想などの陽性症状と、無為自閉・感情鈍麻・意欲の減退などの陰性症状を示し、世界中でおよそ100人に1人が発症する精神疾患である。NMDA受容体欠損マウスやNMDA受容体阻害薬を投与された動物が統合失調症様の症状を示すことから、グルタミン酸神経伝達の低下が統合失調症の有力な病態であると考えられている<sup>21)</sup>。しかし、最近の臨床試験結果から、グルタミン酸の放出を抑制する代謝型グルタミン酸受容体 mGluR2/3 のアゴニストが統合失調症の治療薬として有望であることが報告された<sup>22)</sup>。この報告は、統合失調症では細胞外グルタミン酸濃度が上昇し、脳全体として興奮性優位となっている可能性を示唆している<sup>23)</sup>。さらに、統合失調症患者のゲノムワイドな遺伝子解析から、GLAST遺伝子座に染色体欠失がある症例が報告された<sup>24)</sup>。この患者ではGLASTの上流に位置するSKP2(細胞周期関係遺伝子)遺伝子のエクソン3からGLASTのエクソン3までの約500Kbpが欠失し、SKP2とGLASTの融合キメラ遺伝子が発現していた。このキメラ遺伝子はGLASTの膜貫通領域の一部を失っていることから、細胞膜への移行が障害され、細胞のグルタミン酸取り込み活性が障害されていると推定される。GLAST/GLT1二重欠損マウスの脳室拡大などの異常は、統合失調症で観察される脳形成異常と似ている。また、周産期の虚血状態は統合失調症の危険因子であり、虚血状態ではグルタミン酸トランスポーターの機能不全により細胞外グルタミン酸濃度が上昇する。したがって、グルタミン酸トランスポーターの機能不全によるグルタミン酸神経伝達系の過剰な活性化が、統合失調症の発症に関与する可能性がある。

### 3. うつ病

うつ病は、抑うつ気分と興味・喜びの喪失を特徴とする精神疾患である。近年、うつ病においても、グルタミン酸神経伝達系の異常を示唆する証拠が蓄積し、1つの仮説を形成しつつある<sup>25)</sup>。これはNMDA受容体のアンタゴニストがうつ病患

者および動物モデルにおいて抗うつ作用をもつことによる<sup>20</sup>。また、うつ病患者の脳ではGLAST, GLT1が減少している<sup>20</sup>。これらの知見から、グルタミン酸トランスポーターの機能不全によるグルタミン酸神経伝達系の過剰な活性化が、うつ病の発症にも関与している可能性がある。

#### 4. 強迫性障害

強迫性障害は、従来、強迫神経症と呼ばれていた。強迫観念・強迫行為を特徴とする不安障害である。強迫性障害の患者ではグルタミン酸神経伝達系の異常が知られ、mGluR2/3のアントゴニストは動物モデルで改善作用を示す<sup>21</sup>。複数の連鎖解析結果から、EAAC1の遺伝子座(9p24)が、疾患感受性遺伝子座として同定された<sup>22</sup>。したがって、強迫性障害にもグルタミン酸神経伝達系の異常が関与している可能性がある。

これらの知見からわれわれは、「グルタミン酸トランスポーターの機能異常による脳の興奮性と抑制性のアンバランスは、主要な精神疾患の共通病態である」という作業仮説を立て、研究を進めている。

## おわりに

以上のように、グルタミン酸トランスポーターの機能不全は、様々な精神神経疾患の病態に関与することが明らかになりつつある。したがって、グルタミン酸トランスポーターの制御により、これら疾患の新規治療法の開発が可能になる。これまでグルタミン酸神経毒性に対する神経細胞保護薬の開発は、グルタミン酸受容体アンタゴニストを中心に行われてきたが、シナプス伝達遮断による副作用の問題があり、いまだ臨床応用可能な薬剤の開発は成功していない。われわれのグルタミン酸トランスポーター欠損マウスの解析から、グリア型グルタミン酸トランスポーターを欠損させてもシナプス伝達そのものには大きな影響を与えないことがわかっている。したがって、グリア型グルタミン酸トランスポーターの転写や取り込み活性を促進する薬物、グルタミン酸トランスポーターの逆作用を抑制する薬物は、副作用の少ない新しい神経保護薬として有用であると期待される<sup>20</sup>。

#### 参考文献

- 1) Nakanishi S, et al: Brain Res Brain Res Rev 26, 230-235, 1998.
- 2) Obrenovitch TP, Urenjak J: Prog Neurobiol 51, 39-87, 1997.
- 3) Danbolt NC: Prog Neurobiol 65, 1-105, 2001.
- 4) Tanaka K: Neurosci Res 37, 15-19, 2000.
- 5) Tanaka K, et al: Science 276, 1699-1702, 1997.
- 6) Tanaka K: Clinical Neuroscience 25, 902-904, 2007.
- 7) Nicholls D, Attwell D: Trends Pharmacol Sci 11, 462-468, 1990.
- 8) Mitani A, Tanaka K: J Neurosci 23, 7176-7182, 2003.
- 9) Kiryk A, et al: Neurotox Res 13, 19-30, 2008.
- 10) Watase K, et al: Eur J Neurosci 10, 976-988, 1998.
- 11) Hakuba N, et al: J Neurosci 20, 8750-8753, 2000.
- 12) Harada T, et al: J Clin Invest 117, 1763-1770, 2007.
- 13) Matsugami TR, et al: Proc Natl Acad Sci USA 103, 12161-12166, 2006.
- 14) Aoyama K, et al: Nat Neurosci 9, 119-126, 2006.
- 15) Couzin J, Kaiser J: Science 316, 820-822, 2007.
- 16) Purcell AE, et al: Neurology 57, 1618-1628, 2001.
- 17) Shinohe A, et al: Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 30, 1472-1477, 2006.
- 18) Belmonte MK, Bourgeron T: Nat Neurosci 9, 1221-1225, 2006.
- 19) Tavazoie SF, et al: Nat Neurosci 8, 1727-1734, 2005.
- 20) The Autism Genome Project Consortium: Nat Genet 39, 319-328, 2007.
- 21) Abrahams BS, et al: Nat Rev Genet 9, 341-355, 2008.
- 22) Lisman JE, et al: Trends Neurosci 31, 234-242, 2008.
- 23) Patil ST, et al: Nat Med 13, 1102-1107, 2007.
- 24) Walsh T, et al: Science 320, 539-543, 2008.
- 25) Paul IA, Skolnick P: Ann NY Acad Sci 1003, 250-272, 2003.
- 26) Choudary PV, et al: Proc Natl Acad Sci USA 102, 15653-15658, 2005.
- 27) Shimazaki T, et al: Eur J Pharmacol 501, 121-125, 2004.
- 28) Liang KY, et al: Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet PMID: 18286588, 2008.
- 29) Tanaka K: Trends Mol Med 11, 259-262, 2005.

参考文献

- \* Annals of the New York Academy of Sciences 1003, Glutamate and disorders of cognition and motivation, Goldman-Rakic PS, Blackwell Synergy, 2003.

参考ホームページ

Autism Genetic Resource Exchange  
<http://www.agre.org>

相田知海

2008年 東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部博士課程修了  
同疾患生命科学研部分子神経科学特任助教

グルタミン酸輸送体によるグルタミン酸代謝制御の全貌解明をめざしている。

第5章

薬効標的としてのトランスポーター