

GIRK チャネル作用物質の難治性脳疾患治療薬としての開発研究
～新規創薬パラダイムを念頭において～

生命薬科学専攻 環境分子保健学分野 本田宗吉

現代創薬の主流を占める考え方である「一分子標的」は、これからも多くの医薬品を生み出し、人類の健康に貢献していくであろう。しかし、中枢神経疾患治療薬においては、その開発が滞っている現状を鑑みれば、この考えは必ずしも当てはまらないと考えられる。3次元に広がるネットワークとして機能する脳神経系を点で制御することはおそらく不可能であり、これとは違う新たな考え方・パラダイムが必要である。

高濱らはこれまでに、中枢性鎮咳薬に関する研究の過程において、GIRK チャネル抑制作用薬が新規の中枢疾患治療薬になりうる、との仮説を提唱してきた。私は以下の点でこの仮説に強い興味を抱いた。それは標的として掲げている GIRK チャネルが、必ずしも疾患の主たる原因を形成していない、という点である。すなわち、GIRK チャネル抑制作用薬が疾患の原因非依存的に治療効果を発揮するということの意味しており、このことは前述した「一分子標的型創薬」とはある意味全く別の考え方である。GIRK チャネルが脳内に広く分布していること、脳機能を担う主要な種々の GPCR と共役していること、そして GIRK チャネル抑制作用を有する鎮咳薬がラット脳内のモノアミンレベルを上昇させうること等を併せて考えると、GIRK チャネル抑制作用薬が脳のネットワークそのものを賦活することで治療効果を発揮しているという考えが想起される。

そこで本研究では、GIRK チャネルを標的としたネットワーク制御型の創薬の実現を究極の目的として、第一に、ある程度限局したネットワークの破綻が病態のひとつとされている強迫性障害に対する GIRK チャネル抑制作用薬 tipegidine の効果についてモデル動物を用いて調べた。第二に、強迫性障害を悪化させることが知られている覚醒剤が GIRK チャネルの発現に与える影響についても検討した。最後に tipegidine の効果が真に GIRK チャネル抑制作用を介したものであるのかを明らかにするべく、GIRK チャネルコンディショナルノックアウトマウスの作出を試みた。

以下に、得られた知見を総括する。

1. Tipegidine の強迫性障害モデルに対する作用

- Tipegidine (20 mg/kg) は一般的な不安評価系であるマウス高架式十字迷路試験において、抗不安作用の指標である open arm 滞在時間の延長作用を示した。この作用はドパミン D₁ および D₂ 受容体それぞれの選択的拮抗薬によって完全に抑制された。
- Tipegidine は急性投与 (単回) と慢性投与 (14 日間) の両方で、強迫性障害モデルであるマウスのガラス玉覆い隠し行動を用量依存的に強く抑制した。急性効果は 5 mg/kg で有意であり、既存の強迫性障害治療薬の fluvoxamine より potency および efficacy の両面において強力であった。また、これらの作用はマウスの自発運動量を減少させることによる二次的な効果ではなかった。
- Tipegidine (10 mg/kg) のガラス玉覆い隠し行動抑制作用は選択的 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬、選択的ドパミン D₂ 受容体拮抗薬によって部分的に抑制され、選択的アデノシン A_{2A} 受容体拮抗薬によって

部分的に抑制される傾向を示した。

- ACTHを10日間連続投与することによって、ガラス玉覆い隠し行動試験において、既存の強迫性障害治療薬である fluvoxamine や clomipramine が奏功しないモデルマウスの構築に成功した。Tipepidineはこのモデルにおいても、急性投与(単回)および慢性投与(10日間)の両方で、用量依存的にガラス玉覆い隠し行動を強く抑制した。
- ACTH連投マウスにおいて、tipepidine 急性投与によるガラス玉覆い隠し行動抑制作用は、正常マウスの時と異なり、選択的ドパミン D₂ 受容体拮抗薬および選択的アデノシン A_{2A} 受容体拮抗薬のいずれによっても抑制されなかった。また、非選択的ニコチン受容体拮抗薬によっても抑制されなかった。
- Tipepidine (20 mg/kg) は感受性期(生後9~16日) clomipramine 処置による強迫性障害モデルラットのガラス玉覆い隠し行動を有意に抑制した。Tipepidine はこのラットを用いた高架式十字迷路試験において抗不安作用を示す傾向が見られたが、統計学的に有意ではなかった。

2. Methamphetamine の *Girk* mRNA レベル増加作用

- Methamphetamine は 0.5 および 2.0 mg/kg で *Girk1*, *Girk2*, *Girk3* および *Girk4* の mRNA レベルをそれぞれ増加させたが、その効果は用量依存的ではなかった。また、GIRK チャンネルと同じ内向き整流性 K⁺チャンネルである *Kir2.1*, *Kir2.2* および *Kir2.3* mRNA レベルには影響を与えなかった。
- Methamphetamine による *Girk2* mRNA 発現増加作用は選択的ドパミン D₁ 受容体拮抗薬によって、*Girk4* mRNA 発現増加作用は選択的ドパミン D₂ 受容体拮抗薬によって完全に抑制されたが、*Girk1* および *Girk3* mRNA 発現増加作用はドパミン受容体拮抗薬によって影響を受けなかった。
- Methamphetamine と同様に中枢興奮作用を有する抗コリン薬の scopolamine (1.0 mg/kg) は、*Girk1*, *Girk2*, *Girk3* および *Girk4* mRNA レベルを逆に抑制した。

3. *Girk2* コンディショナルノックアウトマウス作製の試み

- floxed *Kcnj6* マウス作出のためのターゲティングベクターを構築した。
- 構築したベクターをエレクトロポレーションによって導入した ES 細胞のコロニーを 1,200 個ピックアップして、PCR 法とサザンブロットング法によってスクリーニングした。その結果、試した3種類すべてのサザンブロットングにおいて陽性のバンドが検出されたコロニーを1つ単離することに成功した。
- 生命資源開発支援センター表現型クリニック分野に依頼し、この floxed *Kcnj6* ES 細胞を用いてキメラマウスを作出したが、残念ながら生殖細胞系列に寄与しなかった。

本研究により、治療抵抗性の強迫性障害モデルを確立し、tipepidine が新規の強迫性障害治療薬となる可能性を示した。また、GIRK チャンネルがサブユニット間で異なる発現制御を受けることを一部明らかにした。さらに、強迫性障害を含めた脳疾患の新規治療薬開発における新たな考え方を提示し、これに加えて、コンディショナルノックアウトマウス作出の礎を築くことができた。本研究の成果は、今後の GIRK チャンネル研究および脳疾患治療薬開発研究の発展に資するものであると期待している。