

# レチノイドによる新規シグナル伝達機構とその生物学的意義の解明 および新規ドパミンニューロン保護薬の探索

分子機能薬学専攻

薬物活性学分野

倉内 祐樹

パーキンソン病は運動症状や神経症状を伴う進行性の難治性神経変性疾患であり、病理組織学的特徴として、中脳黒質から線条体へ投射するドパミンニューロンの選択的な脱落が認められる。現行の治療法は主に運動症状に対する対症療法であり、病態の進行を抑制することができない。そのため、ドパミンニューロンの脱落を直接抑制するような神経保護薬の開発が望まれているが、臨床応用に至っておらず、原因としてドパミンニューロンの生死を制御する根本的な機序が明らかではないことが挙げられる。すなわち、これまでに種々の環境的および遺伝的要因の他、ミクログリアの活性化による二次的な炎症応答など多様な因子がドパミンニューロンを脱落させることが報告されており、神経保護を目的としたパーキンソン病治療戦略の構築には、細胞の生死におけるドパミンニューロンの特殊性を理解した上で有効なターゲットを見出す必要がある。そこで本研究では、ドパミンニューロンの生存維持を担うシグナル伝達系を解明し、パーキンソン病の根本的治療戦略を構築することを究極の目的とし、以下の3点に関して検討した。

## 1. レチノイド受容体作動薬 Am80 による新規シグナル伝達機構の解明

当研究室ではこれまでに、急性前骨髄球性白血病治療薬として臨床で用いられているレチノイド受容体作動薬 Am80 (一般名: tamibarotene) が、脳由来神経栄養因子 (BDNF) の発現亢進を介してドパミンニューロンを保護することを見出したが、詳細な発現制御機序は不明である。そこで、Am80 による BDNF 発現制御機構の解析により、ドパミンニューロンの生存維持を担うシグナル伝達系を解明することを目的に、新生仔ラットより調製した中脳組織切片培養系を用いて検討した。特に、一酸化窒素 (NO) によるシグナル伝達系に着目して解析した結果、Am80 は神経型 NO 合成酵素の発現増大および、その酵素活性亢進を介して NO/cGMP シグナルを動員し、その下流で MEK/ERK シグナルを活性化することで BDNF 発現を誘導することを明らかにした。さらに Am80 は NO 関連の新規シグナル伝達物質である 8-nitro-cGMP の産生を増大させることも見出した。これらの結果から、レチノイドにより誘導されるこのようなユニークなシグナル伝達系が、ドパミンニューロンの生存維持に重要かつ特殊

な役割を担うことが示唆された。

## **2. $\beta$ 3-tubulin の S-グアニル化修飾の生物学的意義の解明**

続いて、Am80 が 8-nitro-cGMP の産生を増大させることに着目し、その生物学的意義を解明することを目的とした。まず、8-nitro-cGMP によるタンパク質 S-グアニル化修飾を受ける分子のプロテオーム解析を行った結果、細胞骨格である微小管を構成する  $\beta$ 3-tubulin を同定した。そこで、 $\beta$ 3-tubulin の S-グアニル化修飾が微小管動態に与える影響について詳細に解析した結果、 $\beta$ 3-tubulin の S-グアニル化は微小管の重合反応を直接促進せず、形成された微小管構造を安定化する作用を持つことが明らかとなった。さらにこの作用が、神経毒による傷害からドパミンニューロンを保護する役割を担うことも見出した。すなわち、レチノイドは NO シグナル系を動員して微小管を安定化することで、ドパミンニューロンの生存維持を担うことが示唆された。

## **3. Caffeic acid phenethyl ester のドパミンニューロン保護効果の検討**

神経保護作用を持つ新たな候補物質を見出すことは、より有効なパーキンソン病治療法の確立に繋がる。そこで神経保護薬の探索を試み、プロポリスの活性成分である caffeic acid phenethyl ester (CAPE) がドパミンニューロン保護効果をもたらすことを見出した。新生仔ラットより調製した中脳組織培養切片を用いた *in vitro* ドパミンニューロン変性モデルおよび、ドパミンニューロン変性機序の異なる 2 種類のモデルマウスを用いた *in vivo* の検討の結果、CAPE は heme oxygenase-1 (HO-1) および BDNF 発現亢進を介して神経保護効果をもたらすことが明らかとなり、パーキンソン病の根本的治療戦略の構築に繋がる可能性が示唆された。

以上、本研究では、NO シグナルを動員する新規レチノイドシグナルが、ドパミンニューロンの生存維持を担うことが明らかとなった。また、8-nitro-cGMP による S-グアニル化修飾を受けることで細胞生存維持機構を担う分子として  $\beta$ 3-tubulin を同定し、微小管の安定化がその効果をもたらすことも明らかにした。さらに、HO-1 や BDNF など細胞保護作用を担う分子の発現を亢進し、ドパミンニューロン保護効果をもたらす化合物として CAPE を見出した。細胞の生存維持を担う機序の解明は、神経保護を目的としたパーキンソン病治療戦略の構築に不可欠である。すなわち、本研究で得られた知見は、細胞生存・死の制御におけるドパミンニューロンの特殊性を理解する上で、また神経保護薬開発のための重要な基礎的データとなるものである。