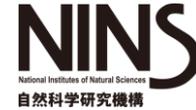


上海科技大学
ShanghaiTech University

2021年5月6日

報道機関 御中

国立大学法人山梨大学医学部
上海科技大学
大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生理学研究所

てんかん発症に関与する「てんかん原生型アストロサイト」の発見

—難治てんかんの壁を越える新規創薬に期待—

概要

山梨大学医学部 小泉修一教授（薬理学講座）及び佐野史和助教（薬理学講座及び小児科学講座）らの研究グループは、マウスを使った実験によって、けいれん重積発作後に、これまで神経組織を支持しているおとなしい細胞と考えられてきた「グリア細胞」の一種「アストロサイト」が「てんかん原生型アストロサイト」に変化することで、さらなるてんかん発作を誘発し、難治てんかんである側頭葉てんかんの発症に関与することを明らかにしました。「てんかん原生^[1]」とは、脳内がてんかん発作が起こりやすい状態になることです。本研究には、上海科技大学 御子柴克彦教授、生理学研究所 鍋倉淳一教授らが協力しました。

本研究により、難治てんかんを引き起こす異常なアストロサイト「てんかん原生型アストロサイト」の存在やその特徴が明らかとなったことで、これまでの神経細胞を標的とした抗てんかん薬とは全く異なる、新しい抗てんかん薬の開発が進むことが期待されます。この研究成果は、米国医学誌発行の JCI insight 誌に、2021年5月10日オンライン版として掲載（発表）されました。

掲載 URL: <https://insight.jci.org/articles/view/135391>

論文情報

論文タイトル

Reactive astrocyte-driven epileptogenesis is induced by microglia initially activated following status epilepticus

著者

Fumikazu Sano, Eiji Shigetomi, Youichi Shinozaki, Haruka Tsuzukiyama, Kozo Saito, Katsuhiko Mikoshiba, Hiroshi Horiuchi, Dennis Lawrence Cheung, Junichi Nabekura, Kanji Sugita, Masao Aihara, *Schuichi Koizumi *責任著者

掲載誌：

JCI insight 2021年5月10日（月）掲載

背景

てんかんは、てんかん発作（けいれん）を繰り返す慢性の神経疾患です。てんかんは最も頻度が高い神経疾患の一つであり、先進国におけるてんかんの有病率は人口1000人あたり5~7人であるとされ、日本でもおよそ100万人がてんかんに罹患していると考えられています。また、てんかんの発症は乳幼児と高齢者に多いことが知られており、本邦でも急速に高齢社会が進むなかで「高齢者てんかん」が増加していくものと考えられています。

現在、てんかんの治療は主に内服治療で行われていますが、てんかん患者さんのおよそ30%は内服治療を行ってもてんかん発作が消失しない難治（薬剤抵抗性）てんかんであるとされています。これまでに、神経細胞の1) 過剰な興奮を抑えるか、2) 興奮を抑える作用を増強する20種類以上もの抗てんかん薬が臨床応用されてきました。しかし、神経細胞を標的とするこれらの抗てんかん薬では、難治てんかん患者さんへの有効性は不十分で、いわゆる「難治てんかんの30%の壁」を乗り越えるためには、これまでの神経細胞を標的とした薬剤とは全く異なる発想からの治療薬開発が必要になると考えられています。

脳内には神経細胞以外にもグリア細胞という細胞群が多数存在していますが、長年、神経組織を支持しているあまり脳機能に関わりのない細胞と考えられてきました。しかし近年になり、グリア細胞が神経伝達や脳機能にも影響を及ぼすことが徐々に明らかになりつつあります。以前から、側頭葉てんかんなどの難治てんかん患者さんの脳組織では、神経細胞が減少しグリア細胞の一種であるアストロサイトが活性化していることが知られていましたが、アストロサイトの活性化はてんかん発作による神経細胞障害の結果として引き起こされた現象であると解釈され、注目を集めることはありませんでした。

そこで研究チームでは、てんかん脳組織に存在する活性化アストロサイトに注目し、このアストロサイトが単に難治なてんかん発作の結果として存在するわけではなく、難治てんかんの病態に積極的に関与しているのではないかと仮説を立て研究を行いました。

研究成果

研究チームはまず、薬剤誘発性側頭葉てんかんモデルマウス^[2]におけるグリア細胞の活性化の時間的・空間的活性化の特徴を調べました。その結果、野生型マウスにおいてピロカルピン^[3]を用いてけいれん重積を誘発すると、海馬において、1) けいれん重積1-7日後にかけてミクログリア^[4]が活性化すること、これに引き続いて、2) けいれん重積3-28日後にかけてアストロサイト^[5]が活性化すること、3) けいれん重積28日後には、てんかんに特徴的な脳波異常が多く認められ、けいれんを起こしやすい状態になっていること、を発見しました(図1)。そこで、けいれんを起こしやすい状態のけいれん重積28日後に活性化を維持していたアストロサイトに注目し、その性質をCa²⁺ imaging という手法を用いて調

べたところ、IP₃R2^[6]依存的なCa²⁺過活動（頻繁で大きな活動）を認めました。このIP₃R2依存的なCa²⁺過活動がてんかん原生獲得に関与しているかを確認するため、IP₃R2 ノックアウトマウスを用いてピロカルピンを用いてけいれん重積を誘発したところ、その後のてんかん原生獲得が抑制（野生型マウスで認められた、脳波異常および易けいれん性が認められない）されることを見出しました（図2）。このことから、てんかん原生獲得（けいれんしやすさ）を誘導しているグリア細胞は、活性化アストロサイト（てんかん原生型アストロサイト）であると考えられました。次に、このてんかん原生型アストロサイトがどのようにして誘導されるかを明らかにするために、アストロサイトに先行して活性化しているマイクログリアに注目してその性質の変化を調べました。けいれん重積後早期に活性化したマイクログリアは、炎症性サイトカイン^[7]であるTNFとIL1Bの産生能が亢進していました。このマイクログリアの活性化を、ミノサイクリンおよびPLX5622という薬剤で抑制すると、その後のアストロサイトの活性化が抑制され、てんかん原生獲得も抑制されることを見出しました（図3）。このことから、けいれん重積後早期に出現する活性化マイクログリアが、けいれん重積後後期に出現するてんかん原生型アストロサイトの誘導に必要であることが明らかになりました。

以上の結果より、けいれん重積後の難治てんかん発症には、活性化マイクログリアによって誘導されるてんかん原生型アストロサイトのIP₃R2依存的なCa²⁺過活動が関与している可能性が考えられました。また、難治てんかんに対するグリア細胞を標的とする創薬研究を行う場合には、けいれん重積後早期にはマイクログリアの抑制が、けいれん重積後後期にはアストロサイトの抑制が重要となる可能性があることが示唆されました。

今後の展望

今回の結果より、活性化マイクログリアによって誘導されるてんかん原生型アストロサイトが難治てんかんの発症に積極的に関与する可能性があることが明らかとなりました。今後、てんかん原生型アストロサイトを標的とする薬理学的研究が進むことで、「難治てんかんの30%の壁」を越える、新規抗てんかん薬の創薬につながることを期待されます。

なお本研究は、科研費（新学術領域研究、学術変革領域A、基盤研究A）、三菱財団、武田科学振興財団、国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費、山梨大学先端脳科学研究グラント等により遂行しました。

用語説明

[1] てんかん原生

てんかんは、てんかん発作を繰り返す慢性の神経疾患である。てんかん原生とは、正常な脳がてんかん発作を起こしやすい状態（てんかんを発症する）になること。

[2] 側頭葉てんかん

側頭葉の内側にある海馬という組織に、海馬硬化とよばれる異常を認める難治てんかんの一つ。幼児期の熱性けいれん重積などをきっかけとして、徐々に海馬硬化が進行し、数年を経てからてんかんを発症すると考えられている。本研究では、ピロカルピンという薬剤を用いて、けいれん重積発作を誘発し、その後側頭葉てんかんを発症する側頭葉てんかんモデルマウスを用いた。

[3] ピロカルピン

非選択的なムスカリン受容体（神経伝達物質アセチルコリンの受容体の一つ）の作動薬。マウスに投与することで、けいれん重積発作を誘発することができる。けいれん重積発作後に一定期間を経ててんかん原生を獲得（側頭葉てんかんを発症）するため、側頭葉てんかんモデルマウスとして広く用いられている。

[4] ミクログリア

中枢神経系に存在するグリア細胞の一つ。中枢神経系における細胞の約 5~20%を占め、中枢の免疫担当細胞として知られている。

[5] アストロサイト

中枢神経系に存在する多数の細かい突起を持つグリア細胞の一つ。電氣的に活発な活動を行う神経細胞と異なり、電氣的な活動は乏しいが、細胞内の Ca^{2+} 活動を通して神経細胞の情報伝達やシナプス形成に関与することが指摘されており、近年注目が高まっている。

[5] IP_3R2 (2 型 IP_3 受容体)

IP_3 受容体（イノシトール三リン酸受容体）は、カルシウムイオン (Ca^{2+}) による細胞内シグナル伝達を制御する受容体の一つ。2 型 IP_3 受容体はアストロサイトの Ca^{2+} シグナルを発生させるのに必須な受容体である。

[6] 炎症性サイトカイン

免疫担当細胞が産生する、様々な炎症症状を引き起こす IL-1 や TNF などの分子。

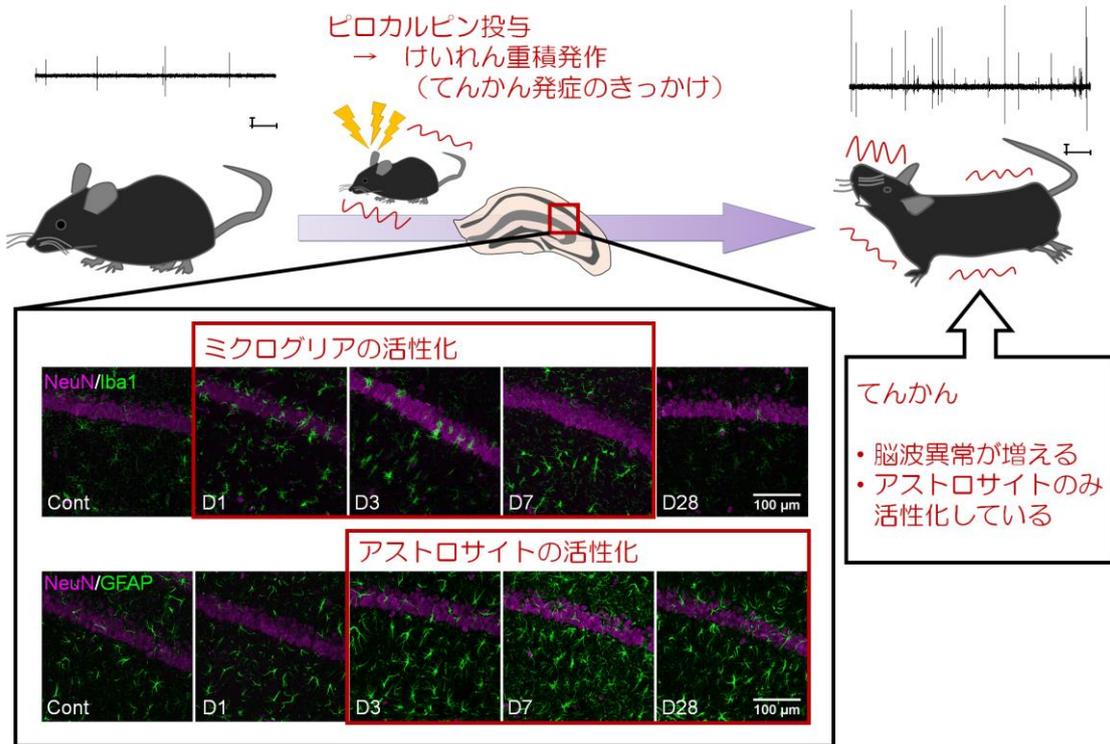
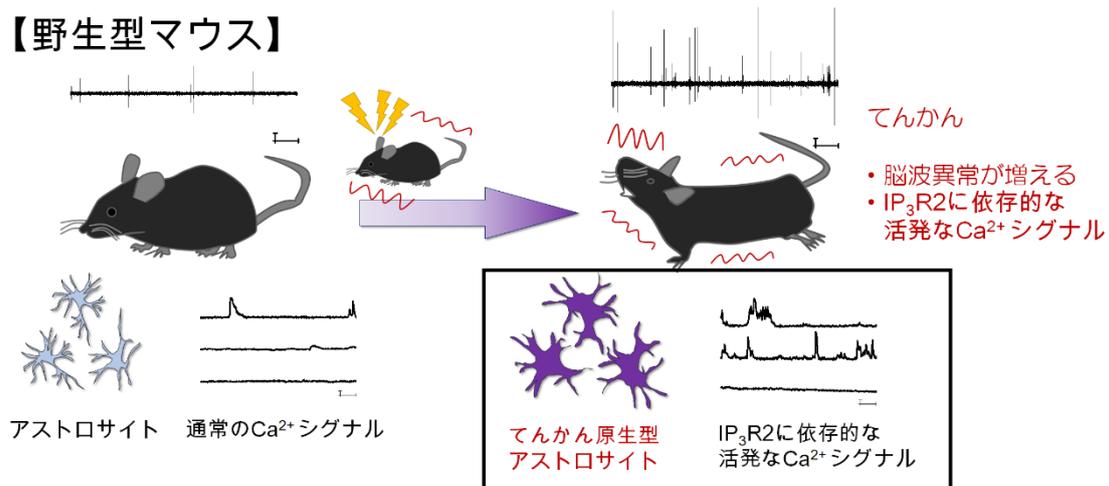


図 1. けいれん重積誘発後のグリア細胞の活性化パターン

ピロカルピンによるけいれん重積誘発後に、最初に一時的に活性化するグリア細胞はミクログリアで、引き続き持続的にアストロサイトの活性化が認められました。てんかん原生（けいれんを起こしやすい状態）を獲得した時期に、活性化を維持していたのはアストロサイトでした。

【野生型マウス】



【IP₃R2KOマウス】

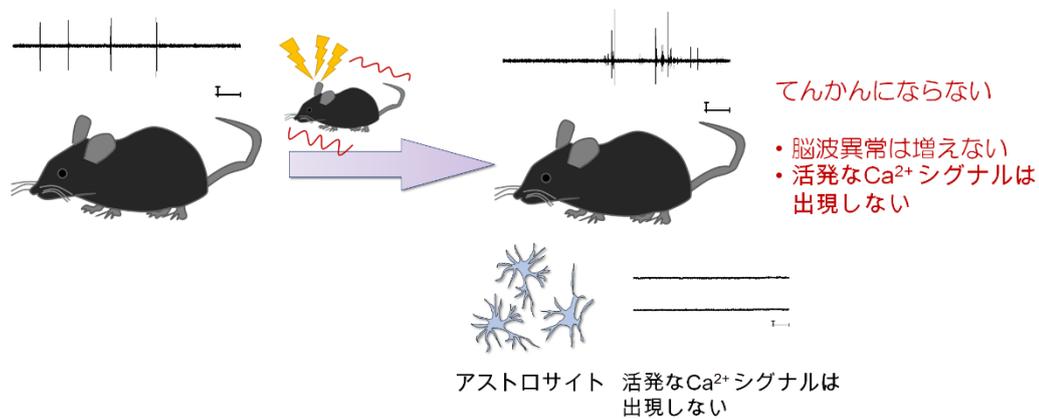
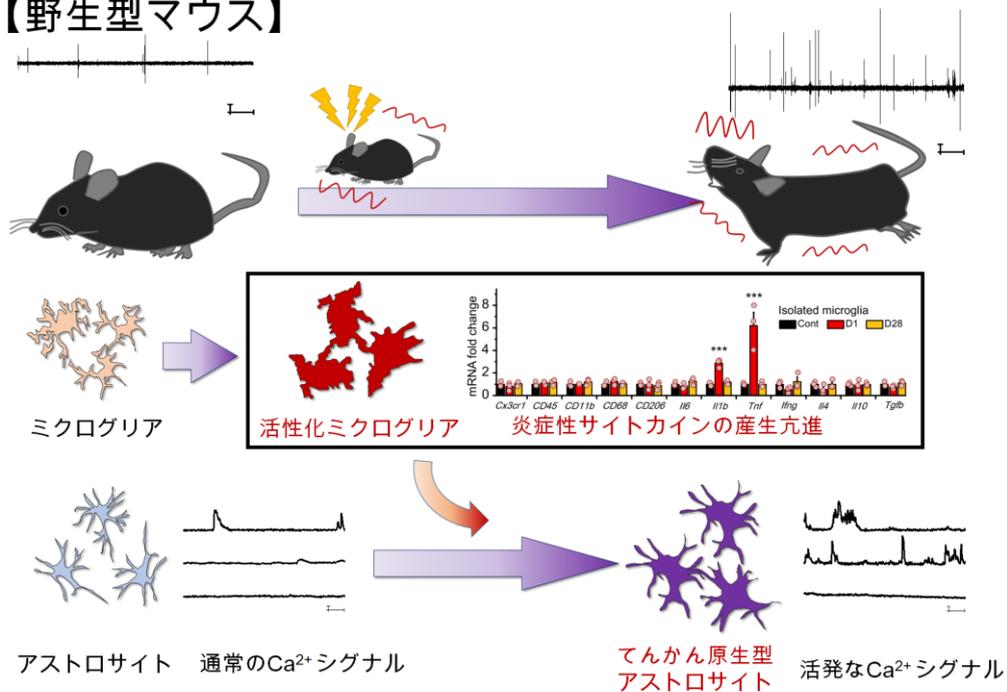


図2. 活性化アストロサイト（てんかん原生型アストロサイト）の特徴

活性化アストロサイト（てんかん原生型アストロサイト）は、IP₃R2 依存的な Ca²⁺過活動（頻繁で大きな活動）を認めました。また、IP₃R2 ノックアウトマウスを用いてピロカルピンを用いてけいれん重積を誘発したところ、その後のてんかん原生獲得が抑制（野生型マウスで認められた、脳波異常および易けいれん性が認められない）されることから、てんかん原生獲得（けいれんしやすさ）を誘導しているグリア細胞は、活性化アストロサイト（てんかん原生型アストロサイト）であると考えられました。

【野生型マウス】



【野生型マウス（マイクログリア活性化抑制）】

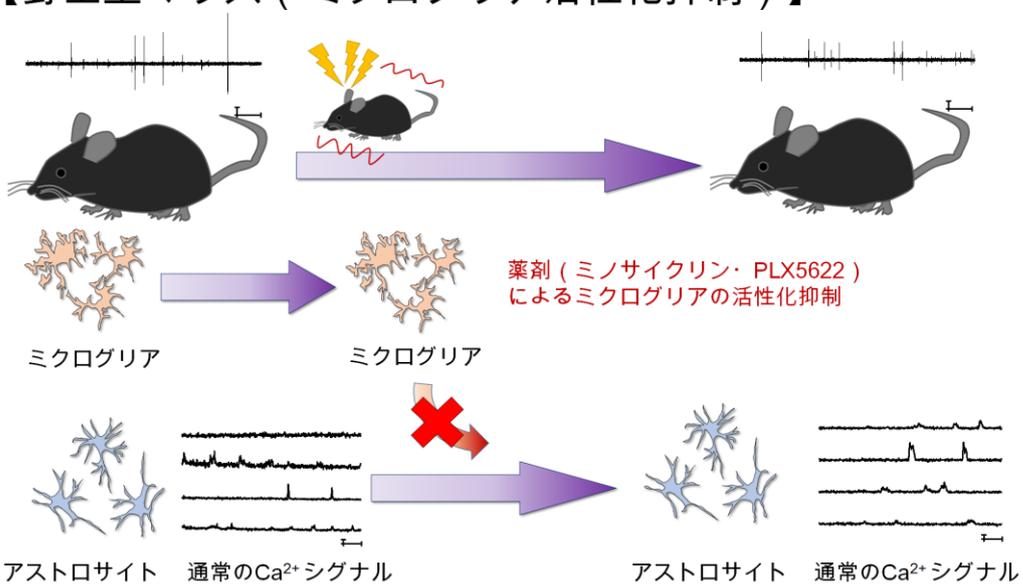


図3. てんかん原生型アストロサイトは活性化マイクログリアによって誘導される

けいれん重積後早期に活性化したマイクログリアは、炎症性サイトカインであるTNFとIL1Bの産生能が亢進していました。このマイクログリアの活性化を、ミノサイクリンおよびPLX5622 という薬剤で抑制すると、その後のアストロサイトの活性化が抑制され、てんかん原生獲得も抑制されました。

本件に関する問い合わせ先

<研究について>

国立大学法人 山梨大学 医学部

薬理学講座 教授 小泉 修一（コイズミ シュウイチ）

Tel: 055-273-9503 Fax: 055-273-6739

E-mail: skoizumi@yamanashi.ac.jp

<広報に関すること>

国立大学法人 山梨大学

総務部総務課広報企画室

Tel: 055-220-8006 Fax: 055-220-8799

E-mail: koho@yamanashi.ac.jp