

ニコチンと神経保護

赤池 昭紀*

はじめに

脳内アセチルコリン系は記憶、運動機能などの種々の機能に関与しており、アルツハイマー病では終脳アセチルコリン系の機能が低下することが知られている。そのため、アルツハイマー病治療にはドネペジルなどのアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害薬が用いられてきた。このようなアルツハイマー病をはじめとする難治性神経疾患および脳虚血による高次脳機能障害においてはニューロン死が重要な原因となることが推定されている。これらの疾患では、脳内の特定の部位のニューロン群がアポトーシスあるいはネクローシスによる細胞死により著明に脱落し、ニューロン群の担ってきた機能が障害される。そのため、ニューロン死により減少した神経伝達物質を補充する療法が用いられてきたが、対症療法的に症状を改善する作用を示すものだけではなく、ニューロン死自体を標的として疾患の進行を遅延あるいは阻止するための確実な薬理作用をもつ薬物の開発が強く望まれている。

中枢神経変性疾患においては、多くの内在性化合物が神経変性疾患に伴うニューロン死を惹起する危険因子として提唱されており、中枢神経系における代表的な興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸もそのような危険因子の一つとして注目されてきた¹⁾。グルタミン酸神経毒性は種々の内在性因子により制御を受けており、ニコチン性アセチルコリン系もそのような神経保護因子の一つとして機能すると考えられる。すなわち、ニコチンおよびその関連化合物がグ

ルタミン酸神経毒性に対する保護作用を発現することから、ニコチン性アセチルコリンがニューロンに対する保護因子としての機能も持つことが提唱されてきた²⁾。

グルタミン酸神経毒性に対するニコチンの保護作用

興奮性神経毒性にアセチルコリン系が関与することは以前から指摘があり、ムスカリン受容体に関しては興奮性神経毒性を増強し、ニューロン生存に対してネガティブに働くとの報告が多い。一方、ニコチン性受容体に関しては、培養大脳皮質ニューロンを用いた筆者らのニコチンの神経保護作用に関する報告³⁾が契機となって、多くの研究者が注目するようになり、ニコチンなどのニコチン性受容体アゴニストがグルタミン酸、虚血、アミロイドβ蛋白などの種々の原因によるニューロン死に対する保護作用が報告された。

培養大脳皮質ニューロンにおいて、短時間のグルタミン酸投与により惹起される遅延性神経毒性は、ニコチン (0.1-10 μM) を前投与することにより著明に抑制される。MK-801 のようなNMDA 受容体遮断薬の投与もグルタミン酸神経毒性を抑制するが、これらのNMDA 受容体遮断薬はグルタミン酸との同時投与により保護作用を発現するのに対して、ニコチンは 8-24 時間以上の前投与を行うことにより保護作用を発現する⁴⁾。ニコチンの神経保護作用は神経型ニコチン性受容体遮断薬のメカミラミンにより拮抗されるとともに、α4 受容体に対する選択的遮断作用を示す dihydro-β-erythroidine と α7 受容体を選択的に作用する α-bungarotoxin の両

*京都大学薬学部

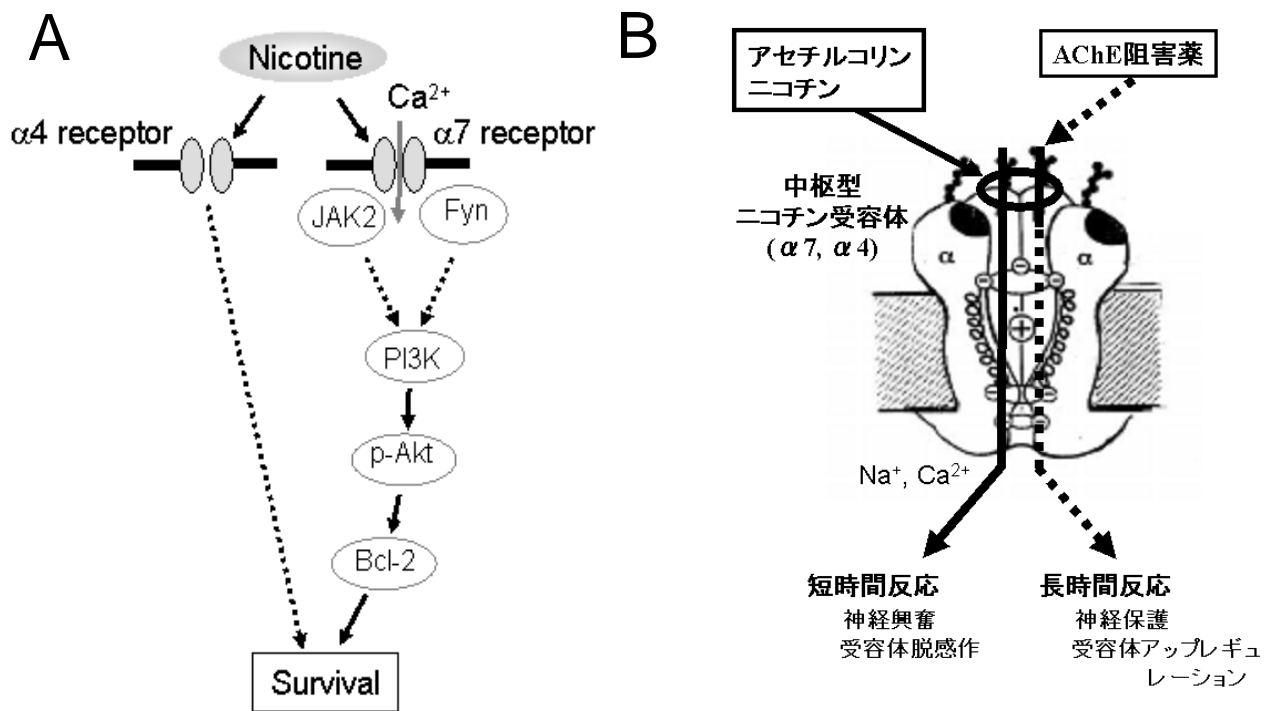


図-1 ニコチンおよびアセチルコリンエステラーゼ阻害薬の神経保護作用

A: 持続的ニコチン性受容体刺激による抗アポトーシス作用の機序

B: ニコチン性受容体の短時間応答と長時間応答

者により部分的に拮抗される。また、培養大脳皮質ニューロンでは、 $\alpha 4$ サブユニット蛋白と $\alpha 7$ サブユニット蛋白を発現するニューロンが多数観察され、さらに、ウェスタンブロット解析でもこれらの2種類の蛋白の存在が確認されている。したがって、ニコチンの神経保護作用には $\alpha 4$ と $\alpha 7$ の2種類の中枢型ニコチン性受容体が関与すると推定される。

ニコチンの抗アポトーシス作用の機序

ニコチンはグルタミン酸神経毒性を抑制するとともにアミロイド β 蛋白により惹起される神経毒性に対しても保護作用を発現する⁵⁾。その保護作用にも $\alpha 4$ と $\alpha 7$ の2種類の中枢型ニコチン性受容体が関与する。 $\alpha 7$ 受容体を介するニコチンの抗アポトーシス作用の機序については解析が進んでおり、 $\alpha 7$ 受容体はニコチン刺激により近傍の非受容体型チロシンキナーゼの Fyn や janus-activated kinase 2 (JAK2) と連関して phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) を活性化する。その結果、Akt のリン酸化を通じて Bcl-2 の発現増大などが

生じ、アポトーシスが抑制される (図-1A)。

このような持続的ニコチン性受容体刺激によるアポトーシス制御機構の賦活作用は、ニコチン性受容体の機能に二つの側面があることを示唆する。すなわち、ニコチン等のアゴニストによるニコチン性受容体刺激は、脱分極応答から神経興奮に至る短時間応答と神経保護につながる長時間応答とを生じる (図-1B)。ニコチンは短時間応答と長時間応答の両者を引き起こし、前者には受容体脱感作が随伴し、後者には受容体アップレギュレーションが随伴する⁶⁾。一方、後述のように、AChE 阻害薬はニコチンなどの典型的なニコチン性受容体アゴニストと異なり、直接あるいは間接的にニコチン性受容体を刺激し、短時間応答を引き起こすことなく、神経保護作用のような長時間応答のみを引き起こす。

アセチルコリンエステラーゼ阻害薬の神経保護作用

ニコチンなどのアゴニストによるニコチン性受容体の持続的刺激によりグルタミン酸神

経毒性が抑制されるとの知見は、ニコチン性アセチルコリン系がニューロン生存促進因子として機能する可能性を示唆する。このような知見は、内在性アセチルコリンを賦活することが知られている AChE 阻害薬のグルタミン酸神経毒性に対する作用を解明することの重要性を認識させるものである。特に、ドネペジルをはじめとする中枢型 AChE 阻害薬はアルツハイマー病に用いられており、これらの薬物が認知症の症状改善とともに神経保護作用を有するかどうかを検討することは、中枢神経系のニコチン性受容体機能の解明とともにニューロン死を標的としたアルツハイマー病治療薬の創出という観点でも重要な基礎的資料を提供すると期待される。

培養大脳皮質ニューロンにおいて、ドネペジル、ガランタミン、タクリンなどの中枢型 AChE 阻害薬を 24 時間前投与することにより、短時間のグルタミン酸投与により誘発される神経毒性は著明に抑制され、その作用はメカミラミンにより拮抗された⁷⁾。しかし、ドネペジルを用いて神経保護作用の濃度依存性を詳細に調べた結果、AChE に対する IC₅₀ が 10 nM 以下であるのに対して神経保護作用発現には 100 nM 以上の濃度を必要とすることが明らかになった。

諸種 AChE 阻害薬 (1 μM) をニコチンと同様に 24 時間前投与してグルタミン酸神経毒性に対する作用を検討した結果を図-2 に示すが、アルツハイマー病治療薬としての有効性が臨床で報告されているドネペジル、タクリン、ガランタミン、リバスチグミンはいずれもグルタミン酸神経毒性を有意に抑制し、これら 4 種の中枢型 AChE 阻害薬の中ではドネペジルが最も強い保護作用を示した。AChE 阻害活性の高いフィズチグミンが無効であり、第四級アンモニウム化合物であるネオスチグミンはグルタミン酸神経毒性も軽度の抑制作用を示すにとどまった。このように AChE 阻害薬の神経保護作用の強度は AChE 阻害活性とは相関しないことから、ドネペジルをはじめとする中枢型 AChE 阻

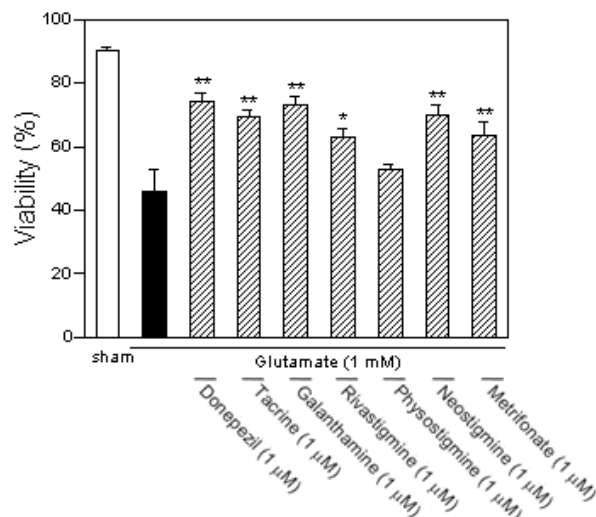


図-2 グルタミン酸神経毒性に対する諸種 AChE 阻害薬の保護作用

ラット胎仔由来初代培養大脳皮質に AChE 阻害薬を 24 時間投与し、次いで AChE 存在下にグルタミン酸を投与した。生存率はトリパンブルー除去法により判定した⁷⁾。

害薬は内在性アセチルコリンを介さずに直接あるいは間接的にニコチン性受容体を刺激することにより神経保護作用を発現するとの結論が得られた。

ニコチンと同様に、ドネペジルの神経保護作用はニコチン性受容体アンタゴニストのメカミラミンにより拮抗されるが、ムスカリン受容体アンタゴニストのスコポラミンでは拮抗されない。ドネペジルおよびガランタミンの神経保護作用は、α4 受容体遮断薬および α7 受容体遮断薬の両者により拮抗されることから、AChE 阻害薬の神経保護作用には、ニコチンと同様に α4、α7 の 2 種類のニコチン性受容体サブタイプが関与すると考えられる。さらに、以下のような知見が得られた。すなわち、ドネペジルなどの AChE 阻害薬は低濃度のグルタミン酸を長時間投与することにより誘発されるニューロンのアポトーシスを顕著に抑制する。ドネペジルはグルタミン酸神経毒性を抑制するだけでなく、カルシウムイオノフォアのイオノマイシンの神経毒性も抑制する。一方、S-nitrosocysteine などの NO ドナーの神経毒性に対しては影響を与えないという知見である。これらの結果は、AChE 阻害薬による直接あるいは間接的なニコチン性受容体刺激により、NMDA

受容体を介するグルタミン酸神経毒性の細胞内カスケードが抑制され、さらに、その機序の少なくとも一部においてアポトーシス制御機構が関与することを示唆する。

そこで、中枢性 AChE 阻害薬の保護作用に対する PI3K の関与について検討したところ、ドネペジルおよびガラントミンの神経保護作用は、非受容体型チロシンキナーゼ Src ファミリー Fyn の阻害薬、JAK2 の阻害薬および PI3K 阻害薬により抑制された⁸⁾。さらに、これらの中枢性 AChE 阻害薬は Akt のリン酸化を促進するとともに Bcl-2 タンパク発現量を増加した。一方、タクリンではこれらの作用は観察されなかった。以上より、ドネペジルとガラントミンの保護作用機序にはニコチンと同様に PI3K-Akt シグナル経路が重要であり、抗アポトーシスタンパクである Bcl-2 の発現を上昇させることによって、アポトーシスを抑制することが示唆される。

おわりに

ニコチン性受容体は典型的なイオンチャネル型受容体であり、電気生理学的にはニコチンなどのアゴニストとの結合により msec オーダーの大変速い反応が観察される。しかし、持続的にニコチン性受容体刺激を行うと数時間のオーダーで生じる種々の反応を細胞に引き起こすことも報告されてきている。ニコチンおよび AChE 阻害薬のニコチン性受容体を介する神経保護作用もそのような現象の一つである。このような持続的ニコチン性受容体刺激により発現する神経保護作用は、イオンチャネルの開閉により誘発される単純な脱分極作用では説明ができず、PI3K-Akt シグナル経路の活性化に至る細胞内シグナル伝達系の関与が推定される。 $\alpha 7$ 受容体のように高い Ca^{2+} 透過性を示す受容体サブタイプに関与する作用については、 Ca^{2+} をセカンドメッセンジャーとする代謝性の変化が関与する可能性も考えられる。ニコチン性受容体アゴニストや AChE 阻害薬による長時間のニコチン性受容体刺激を介するニューロ

ン生存促進作用は、中枢型ニコチン性受容体の新しい機能を示唆するものであり、ニューロン死を標的とした神経変性疾患の予防・治療薬の開発にブレークスルーをもたらすと期待される。

文 献

- 1) 赤池昭紀、香月博志、久米利明. ニューロンのアポトーシスを制御する内在性保護因子. 日本神経精神薬理学雑誌 2005; 25: 245-50.
- 2) 赤池昭紀、久米利明. 神経変性疾患とニコチン受容体. 医学のあゆみ 2004; 210: 687-90.
- 3) Akaike A, Tamura Y, Yokota T, Shimohama S, Kimura J. Nicotine-induced protection of cultured cortical neurons against *N*-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate cytotoxicity. Brain Res 1994; 644: 181-7.
- 4) Kaneko S, Maeda T, Kume T, Kochiyama H, Akaike A, Shimohama S, Kimura J. Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via $\alpha 7$ neuronal receptors and neuronal CNS receptors. Brain Res 1997; 765: 135-40.
- 5) Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Honda H, Nakamizo T, Shibasaki H, Kume T, Akaike A. $\alpha 7$ Nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block a β -amyloid-induced neurotoxicity. J Biol Chem 2001; 276: 13541-6.
- 6) Kume T, Sugimoto M, Takada Y, Yamaguchi T, Yonezawa A, Katsuki H, Sugimoto H, Akaike A. Up-regulation of nicotinic acetylcholine receptors by central-type acetylcholinesterase inhibitors in rat cortical neurons. Eur J Pharmacol 2005; 527: 77-85.
- 7) Takada Y, Yonezawa A, Kume T, Katsuki H, Kaneko S, Sugimoto H, Akaike A. Nicotinic acetylcholine receptor-mediated neuroprotection by donepezil against glutamate neurotoxicity in rat cortical neurons. J Pharmacol Exp Ther 2003; 306: 772-7.
- 8) Takada-Takatori Y, Kume T, Sugimoto M, Katsuki H, Sugimoto H, Akaike A. Acetylcholinesterase inhibitors used in treatment of Alzheimer's disease prevent glutamate neurotoxicity via nicotinic acetylcholine receptors and phosphatidylinositol 3-kinase cascade. Neuropharmacology 2006, in press.