

# 神経突起の萎縮とシナプス減少の回復により認知症改善作用を示す和漢薬 - 行動、組織、分子機序

富山大学 和漢医薬学総合研究所 民族薬物研究センター 薬効解析部 助手  
東田 千尋

はじめに

神経変性疾患の病因は様々であるが、神経機能の障害をもたらす直接的な要因は、神経回路網の破綻である。病因を取り除く予防的・進行阻止的治療に加えて重要なのが、神経回路網を再構築させることであり、それが、患者に負担の少ない薬物によってなされれば理想的である。演者は、アルツハイマー病の脳内において、神経細胞死よりも早期に起こり始めるイベントであり記憶障害の引き金となる**神経突起の変性とシナプス減少**<sup>1)</sup>に焦点を当て、それらを改善させることにより記憶障害を回復させる和漢薬を検討し、漢方方剤「帰脾湯」の顕著な効果を明らかにした。また、アルツハイマー病における神経突起の変性とシナプス減少の進行に関与されていることが示唆されている calpain が、帰脾湯投与により抑制されることを見出した。このことにより、アルツハイマー病の脳内で生じている、軸索・樹状突起の萎縮、ミエリン減少、シナプス減少といった様々な組織変性のいずれに対しても帰脾湯が改善作用を示す、その理由の一端を明らかにした。

初代培養大脳皮質神経細胞を用いた抗認知症活性の予測

アルツハイマー病の病因として、amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ )の脳内における蓄積が、神経突起の変性、シナプス減少、Tau異常リン酸化、神経細胞死などを引き起こし、記憶障害が生じるというamyloid仮説が支持されている。演者は、**神経突起(軸索、樹状突起)の萎縮とシナプス減少**が、神経機能が損なわれる重要な引き金であり、逆にその引き金が引かれた後からでも、変性しきっていない神経細胞や変性を免れて生き残っている神経細胞を活性化することでそれらを回復させることが出来れば、記憶障害を改善させることが可能であると考えている。

これまで演者は、ラット大脳皮質神経細胞に  $A\beta(25-35)$ (全長42アミノ酸からなる  $A\beta(1-42)$ の部分配列であり、 $A\beta(1-42)$ と同様の変性をもたらす)を処置することによって引き起こされる、軸索および樹状突起の萎縮と、シナプス密度の減少を *in vitro* 実験での指標とし、それらを改善させる薬物のほとんどが、アルツハイマーモデルマウスにおける記憶障害を検討する *in vivo* 実験でも回復作用を示すことを見出してきた<sup>2-6)</sup>。

12種の生薬からなる漢方方剤「帰脾湯」は、その効能に健忘症がある。構成生薬中の人参、遠志、黄耆<sup>6)</sup>、茯苓の各エキスによって、 $A\beta(25-35)$ 処置によって萎縮した神経突起が再び伸展することを見出してきたことより、帰脾湯が、神経突起の萎縮とシナプス減少を回復させることにより抗認知症活性を示す薬物であることを予想し、実験を行った。期待したとおり、 $A\beta(25-35)$ 処置によって萎縮した、培養細胞の軸索と樹状突起のいずれもが、帰脾湯エキス処置により伸展した。また、 $A\beta(25-35)$ 処置により生じる神経細胞死も帰脾湯エキス処置により有意に抑制された。

## Aβ(25-35)脳室内投与による記憶障害と組織変性に対する帰脾湯の改善作用

Aβ(25-35)(25 nmol)をマウス側脳室に単回投与すると、10日後には空間記憶障害が表われ少なくとも1ヶ月間はその状態が持続する。Aβ(25-35)脳室内投与後10日目から、帰脾湯エキスの連続経口投与を開始し、その7日後から水迷路試験を行った。Aβ(25-35)投与により記憶獲得能力、記憶保持能力ともにコントロールに比べて有意に低下したが、帰脾湯(100, 1000 mg/kg/day)を経口投与したマウスでは、コントロールと同程度まで記憶能力が高まっていた。試験後にマウス脳を摘出し、大脳皮質、海馬、線条体、脳梁における、軸索、樹状突起、シナプス、ミエリンの各マーカータンパク質を蛍光免疫染色により検出し、発現量を定量した。Aβ(25-35)投与により、各脳部位で、軸索、樹状突起、シナプス、ミエリンが減少していたが、帰脾湯投与群では、いずれの発現量もコントロールレベルにまで増加した。

## 帰脾湯の作用点としての calpain

Calpain は $[Ca^{2+}]_i$  上昇により活性化される calcium-dependent protease である。ターゲットとなる基質は多岐にわたり、**細胞骨格**の MAP2, Tau, neurofilament-H (NF-H),  $\alpha$ -spectrin, **growth cone の運動性やシナプス形成を制御する** GAP-43, CRMP-4, **シナプス小胞の recycling を制御する** dynamin I, **ミエリン構成タンパク質**である myelin basic protein (MBP)など、神経細胞の形態と機能維持に必要不可欠な分子が、calpain によって分解される<sup>7)</sup>。また、calpain 活性化により Cdk5 の activator である p35 が active form の p25 に変換され、Tau の異常リン酸化が進行し神経細胞死へとも繋がる<sup>8)</sup>。Calpain は Aβにより上昇する $[Ca^{2+}]_i$  により活性化され軸索変性を引き起こすことや<sup>9)</sup>、アルツハイマー病の脳内において calpain の異常活性化が生じていること<sup>10)</sup>が報告されている。そこで演者は、Aβ(25-35)により引き起こされる軸索、樹状突起、シナプス、ミエリンの減少を、いずれも回復させる帰脾湯の作用点として calpain を予想し、実験を行った。

ラット大脳皮質神経細胞において、Aβ(25-35)処置によって萎縮した軸索と樹状突起のいずれもが、calpain inhibitor (MDL28170) 処置により伸展したことから、本実験系においても calpain が Aβ(25-35)誘発の突起萎縮に関与していることが示された。Aβ(25-35)処置すると、神経細胞、アストロサイトいずれにおいても calpain 発現量が増加したが、帰脾湯あるいは MDL28170 を後から処置すると、calpain 発現量はコントロールレベルにまで減少した。一方、生体内 calpain inhibitor である calpastatin の発現量は Aβ(25-35)処置後の変化は見られず、さらに帰脾湯あるいは MDL28170 を後処置しても有意な変化はなかった。本実験で明らかになった帰脾湯による calpain の発現の抑制機序、および calpain“活性”に対する inhibitor である MDL28170 が calpain“発現”をも負に制御する機序は非常に興味深く、現在検討中である。

以上の結果より、神経細胞の突起形成、シナプス形成の要となる多種の分子を分解してしまう calpain が活性化している状態に対して、帰脾湯がいわば火消し役を演じ、そのことにより、神経細胞が突起を伸展させてシナプスを形成させるために必要な細胞内分子が、本来の数と働きを取り戻し、神経細胞の形態および機能が正常化するのではないかと考えている。Calpain inhibitor 処置により培養細胞の神経突起が伸展するという他の報告<sup>11)</sup>は演者の考えを支持するものである。ただ、培養細胞は未分化、未成熟の状態であり、元々、神経突起伸展活性が高い。一方、成体動物の脳内の神経細胞は成熟した状態にあり、こういった状況下でも神経変性後の突起再形成作用が、calpain 抑制だけで説明できるかどうかはまだ分からない。このことを明らかにするため、現在、モデル動物における、帰脾湯と MDL28170 の作用を比較する実験を遂行中である。

## 参考文献

- 1) Hardy and Selkoe, (2002) *Science*, 297, 353-356.
- 2) Tohda, Tamura and Komatsu. (2003) *Brain Res.*, **990**, 141-147.
- 3) Tohda, Matsumoto, Zou, Meselhy and Komatsu, (2004) *Neuropsychopharmacology*, **29**, 860-868.
- 4) Kuboyama, Tohda and Komatsu, (2005) *Bri. J. Pharmacol.*, **144**, 961-971.
- 5) Kuboyama, Tohda and Komatsu, (2006) *Eur. J. Neurosci.*, **23**, 1417-1427.
- 6) Tohda, Tamura, Matsuyama and Komatsu, (2006) *Bri. J. Pharmacol.*, in press
- 7) Saido, Sorimachi and Suzuki, (1994) *FASAB J.*, **8**, 814-822.
- 8) Li, Faibushevich, Turunen, Yoon, Georg, Michaelis and Dobrowsky, (2003) *J. Neurochem.*, **84**, 347-362.
- 9) Saito, Elice, Hamos and Nixon, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 2628-2632.
- 10) Song, Saavedra, de Chaves, (2006) *Neurobiology of Aging*, **27**, 1224-1238.
- 11) Shea, Cressman, Spencer, Beermann and Nixon, (1995) *J. Neurochem.*, **65**, 517-527.

## 略歴

氏名 東田 千尋 (とうだ ちひろ)

現職 富山大学・和漢医薬学総合研究所・附属民族薬物研究センター・薬効解析部 助手

電話 076-434-7646

E-mail [chihiro@inm.u-toyama.ac.jp](mailto:chihiro@inm.u-toyama.ac.jp)

### 経歴

1989年3月 北海道大学 薬学部 製薬化学科卒業

1991年3月 北海道大学大学院 薬学研究科博士前期課程薬学専攻修了

1993年10月 日本学術振興会特別研究員に採用される

1994年3月 北海道大学大学院 薬学研究科博士後期課程薬学専攻修了

1994年4月 特別研究員として富山医科薬科大学・和漢薬研究所・高次神経機能部門に所属

1995年3月 日本学術振興会特別研究員終了

1995年4月 富山医科薬科大学 和漢薬研究所 臨床利用部門 助手に採用される

1996年10月 富山医科薬科大学 和漢薬研究所 附属薬効解析センター 助手に配置替え

1997年11月～ 米国 National Institute of Health (National Institute of Mental Health)へ留学

1998年2月

2005年10月 大学統合により所属教室の名称変更

現在にいたる

### 受賞歴

平成 18 年度 日本神経化学会奨励賞、および最優秀奨励賞

研究の専門 神経薬理学

### 研究テーマ

- ・神経回路網形成(認知症・脊髄損傷の回復)に関する基礎的研究および、それらに対する治療薬の研究
- ・注意欠陥多動性障害(ADHD)の新しいモデルとしての PI3 kinase knock out mouse を用いた、病態形成機構の解析と治療薬の開発

所属学会 日本薬理学会、日本神経化学会、日本神経科学会、日本薬学会、和漢医薬学会  
Society for Neuroscience(北米神経科学会)