Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

The neuroprotective agent MS-153 stimulates glutamate uptake

島田, 史規

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2002-11-13
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
乙2650
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002650

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

【１４５】

氏　名　・（本　籍）　島　田　史　規　　（神奈川県）

博士の専攻分野の名称　博士（医学）

学　位　記　番　号　　博ろ1852号

学位授与の　要　件　　学位規則第４条第２項該当

学位授与の　日　付　　平成１４年１１月１３日

【学位論文題目】

The neuroprotective agent MS-153 stimulates glutamate uptake
（神経保護薬 MS-153 のグルタミン酸取り込み促進作用）

審　査　委　員

主　査　教　授　齋藤　尚亮

教　授　吉川　　潮

教　授　米澤　一仁

我々は新規神経保護薬である、MS-153（(R)-(-)-5methyl-1nicotinoyl-2pyrazoline）の作用メカニズムの解明研究を行い、本化合物によるグリア型グルタミン酸トランスポーター（GLT-1）に対する活性化作用を見出した。

緒言：

グルタミン酸は中枢神経における主要な興奮性アミノ酸であり、脳虚血時おける細胞障害に深く関与していることが報告されている。虚血等の非生理的条件下では、神経終末より過剰なグルタミン酸の遊離が引き起こされ、その結果、シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の著しい上昇に伴い、細胞死が惹起される。したがって、薬剤によるグルタミン酸濃度の調節は、脳卒中患者における有効な治療手段の一つになる事が期待出来る。しかしながら現在までに、このような薬剤は一剤も存在していない。

MS-153 はこれまで、各種（永久閉塞および再潅流）動物（ラット、マウス）脳梗塞モデルにおける、顕著な脳保護効果が報告されている。また、その脳保護作用の作用メカニズムとして、シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の低下作用が示唆されている。しかしながら、そのグルタミン酸濃度低下作用のメカニズムはこれまで明らかになっていない。神経終末より過剰に遊離されたグルタミン酸はグルタミン酸トランスポーターを介し、神経細胞およびグリア細胞へ再取り込みされ、その濃度調節が行われている。グルタミン酸トランスポーターは神経細胞およびグリア細胞に存在し、これまでに５種類のサブタイプが報告されている。特に、グリア型グルタミン酸トランスポーターである GLT-1 はシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の調節・維持に最も重要なサブタイプとして、神経細胞をグルタミン酸毒性より保護する役割を果たしているといわれている。

そこで、我々は GLT-1 に着目し、本作用点に対する MS-153 の作用を検討することにした。

方法：

グリア型グルタミン酸トランスポーター、GLT-1 を COS-7 細胞に強制発現させ、^{3}H-glutamate を用い、グルタミン酸取り込みに対する MS-153 の作用を検討した。併せて、他

の神経伝達アミノ酸トランスポーターである GABA トランスポーター（GAT-3）に対する作用についても検討した。また、GLT-1 を強制発現させた Xenopus oocytes を用い、Na^+電流の測定により、グルタミン酸トランスポーターに対する MS-153 の作用を検討した。さらに、海馬スライス標本を用い、KCl 刺激および虚血（低酸素・無グルコース）刺激により惹起されるグルタミン酸遊離に対する MS-153 の作用も同様に検討を行った。

結果：

MS-153 (1-100μM) は用量依存的に GLT-1 を介したグリア細胞への ^{3}H-glutamate の取り込みを促進した。Eadie-Hofstee 解析の結果、MS-153 による Km 値の減少が示された。一方、MS-153 は GABA トランスポーターを介した細胞内への GABA の取り込みには全く影響を与えなかった。また、MS-153 は GLT-1 を発現した Xenopus oocytes において、Na^+電流の有意な増加作用を示した。海馬スライスを用いたグルタミン酸遊離に対する MS-153 の作用検討の結果、MS-153 (10μM) は 50 mM KCl により惹起されたグルタミン酸遊離を有意に抑制した。一方、GABA 遊離に対する作用は認められなかった。さらに、MS-153 は虚血(低酸素・無グルコース)条件下で引き起こされたグルタミン酸遊離に対しても、同様に有意な抑制作用を示した。

考察：

MS-153 による GLT-1 を介したグルタミン酸取り込み促進作用を見出した。Eadie-Hofste 解析より、MS-153 によるグルタミン酸取り込み促進作用には GLT-1 に対する親和性の増加が起因している事が示された。また、MS-153 は Xenopus oocyts において GLT-1 を介した Na^+電流を増加させた。この結果は、MS-153 が GLT-1 の活性化作用を有する事を強く示唆している。しかしながら、MS-153 によるこれらの作用は持続的な前処置時のみに検出された。したがって、MS-153 の作用は GLT-1 の細胞外結合部位への直接作用によるものではないと推測される。作用点の可能性の一つとして、細胞内へ透過後、化合物がグルタミン酸トランスポーターを調節する未知たんぱく質に対し作用を示し、間接的にグルタミン酸トランスポーターの活性化作用

を示す事が考えられる。これまでの報告から、MS-153 は海馬スライスにおいて、虚血時における protein kinase C(PKC)の細胞質から細胞膜へのトランスロケーションを抑制することが示されている。さらに、GLT-1 の活性化が PKC によるリン酸化により制御を受けているとの多くの報告もある。これらを考え併せると、MS-153 による GLT-1 の機能調節における PKC pathway の関与が推察される。本作用点については今後の検討課題である。また、MS-153 は他のアミノ酸トランスポーターおよび遊離に対し、影響を与えないことから、MS-153 は GLT-1 特異的に作用する事が示唆された。以上、MS-153 はグルタミン酸トランスポーターに対し、特異的に作用し、その機能を活性化することにより、虚決時に引き起こされるシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の上昇を抑制する事が明らかになった。本作用を有する化合物の報告はこれまでになく、MS-153 は新たな作用メカニズムを持つ脳梗塞治療薬として期待される。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第1856 号	氏　名	島田 史規
論文題目	The neuroprotective agent MS-153 stimulates glutamate uptake 神経保護薬 MS-153 のグルタミン酸取り込み促進作用		
審査委員	主　査　斎藤 尚亮 副　査　吉川 潮 副　査　米澤 一仁		
審査終了日	平成 14 年 10 月 11 日		

（要旨は1，000字～2，000字程度）

グルタミン酸は中枢神経における主要な興奮性アミノ酸であり、脳虚血時おける細胞障害に深く関与していることが報告されている。虚血等の非生理的条件下では、神経終末より過剰なグルタミン酸の遊離が引き起こされ、その結果、シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の著しい上昇に伴い、細胞死が惹起される。したがって、薬剤によるグルタミン酸濃度の調節は、脳卒中患者における有効な治療手段の一つになる事が期待出来る。しかしながら現在までに、このような薬剤は一剤も存在していない。

MS-153 はこれまで、各種動物脳梗塞モデルにおける、顕著な脳保護効果が報告されている。また、その脳保護作用の作用メカニズムとして、シナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の低下作用が示唆されている。しかしながら、そのグルタミン酸濃度低下作用のメカニズムはこれまで明らかになっていない。神経終末より過剰に遊離されたグルタミン酸はグルタミン酸トランスポーターを介し、神経細胞およびグリア細胞へ再取り込みされ、その濃度調節が行われている。グルタミン酸トランスポーターは神経細胞およびグリア細胞に存在し、これまでに5種類のサブタイプが報告されている。特に、グリア型グルタミン酸トランスポーターである GLT-1 はシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の調節・維持に最も重要なサブタイプとして、神経細胞をグルタミン酸毒性より保護する役割を果たしているといわれている。

そこで、GLT-1 を COS-7 細胞に強制発現させ、^{3}H-glutamate を用い、グルタミン酸取り込みに対する MS-153 の作用を検討した。併せて、他の神経伝達アミノ酸トランスポーターである GABA トランスポーター（GAT-3）に対する作用についても検討した。また、GLT-1 を強制発現させた Xenopus oocytes を用い、Na^{+}電流の測定により、グルタミン酸トランスポーターに対する MS-153 の作用を検討した。さらに、海馬スライス標本を用い、KCl 刺激および虚血（低酸素・無グルコース）刺激により惹起されるグルタミン酸遊離に対する MS-153 の作用も同様に検討を行った。

その結果、MS-153 (1-100 μM) は用量依存的に GLT-1 を介したグリア細胞への ^{3}H-glutamate の取り込みを促進した。Eadie-Hofstee 解析の結果、MS-153 による Km 値の減少が示された。一方、MS-153 は GABA トランスポーターを介した細胞内への GABA の取り込みには全く影響を与えなかった。また、MS-153 は GLT-1 を発現した Xenopus oocytes において、Na^{+}電流の有意な増加作用を示した。海馬スライスを用いたグルタミン酸遊離に対する MS-153 の作用検討の結果、MS-153 (10 μM) は 50 mM KCl により惹起されたグルタミン酸遊離を有意に抑制した。一方、GABA 遊離に対する作用は認められなかった。さらに、MS-153 は虚血(低酸素・無グルコース)条件下で引き起こされたグルタミン酸遊離に対しても、同様に有意な抑制作用を示した。

MS-153 による GLT-1 を介したグルタミン酸取り込み促進作用を見出した。Eadie-Hofste 解析より、MS-153 によるグルタミン酸取り込み促進作用には GLT-1 に対する親和性の増加が起因している事が示された。また、MS-153 は Xenopus oocyts において GLT-1 を介した Na^{+}電流を増加させた。この結果は、MS-153 が GLT-1 の活性化作用を有する事を強く示唆している。しかしながら、MS-153 によるこれらの作用は持続的な前処置時のみに検出された。したがって、MS-153 の作用は GLT-1 の細胞外結合部位への直接作用によるものではないと推測される。本作用点については今後の検討課題である。また、MS-153 は他のアミノ酸トランスポーターおよび遊離に対し、影響を与えないことから、MS-153 は GLT-1 特異的に作用する事が示唆された。以上、MS-153 はグルタミン酸トランスポーターに対し、特異的に作用し、その機能を活性化することにより、虚決時に引き起こされるシナプス間隙におけるグルタミン酸濃度の上昇を抑制する事が明らかになった。

本研究は新規脳梗塞治療薬である MS153 についてその作用メカニズムを研究したものであるが、従来、本作用を有する化合物の報告はこれまでになく、新たな作用メカニズムを持つ脳梗塞治療薬としての重要な知見を得たものとして価値ある集積と認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。