

日米科学技術協力事業「脳研究」分野

グループ共同研究実施報告書

[研究分野： 1 ]

1. グループ共同研究代表者

千葉大学大学院薬学研究院・教授・五十嵐一衛

2. 研究課題名

グルタミン酸受容体の構造と機能並びにポリアミンによる活性制御

3. 日本側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 千葉大学大学院薬学研究院・教授・五十嵐一衛

分担者 千葉大学大学院薬学研究院・助教授・柏木 敬子

分担者 城西大学薬学部 ・教授・白幡 晶

4. 米国側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 State University of New York Health Science Center at Brooklyn

・ Associate Professor ・ Keith Williams

5. 研究期間 平成14年 4月 1日～平成17年 3月31日（ 3年間）

6. 研究の概要，成果及び意義（1000字）

（1）研究の概要

記憶や脳虚血時の症状悪化に関わるグルタミン酸受容体の構造と機能を、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた種々の変異NMDA受容体活性を測定することにより明らかにする。ポリアミン、特にスペルミンは NMDA 受容体を脱分極時には促進し、過分極時には阻害する。ポリアミンによる NMDA 受容体活性化に関しては、NMDA 受容体中のポリアミンを結合する調節領域を精製してその性質を明らかにすると共に、ポリアミン不応答性 NMDA 受容体を発現しているノックインマウスを作製してその脳機能を解析する。更に、NMDA 受容体のチャンネル領域に特異的に結合する化合物（チャンネルブロッカー）を探索し、構造解析のツールとすると共に、脳機能改善薬としての開発を目指す。

（2）成果及び意義

NMDA 受容体サブユニットの調節領域（NR1R、NR2AR、NR2BR）をコードする遺伝子を大腸菌

で発現させて精製し、スペルミン及びNMDA受容体活性阻害剤イフェンプロジル結合能を測定した。その結果、スペルミン結合能は NR1R>NR2BR>NR2AR の順であった。一方、イフェンプロジル結合能は NR1R>NR2BR であり、NR2AR には結合しなかった。ポリアミンの NMDA 受容体に対する効果に関する *in vivo* の実験は、ポリアミン不応答性 NMDA 受容体遺伝子ノックイン ES 細胞を用い、ポリアミン不応答性ノックインマウスを作製中である。

小脳の機能に重要な役割を果たす $\delta 2$  グルタミン酸受容体はアゴニストがまだ同定されていないが、アンタゴニストの実験よりその性質が NMDA 受容体に類似していることを明らかにした。また、NMDA 受容体のチャネルは主として M2 ループ及び M3 膜貫通領域より形成されていることを種々の変異 NMDA 受容体及びチャネルブロッカーを用いて明らかにした。更に、アントラキノンスペルミジンが電位依存性でかつチャネル内に深く入り込む新しいタイプの NMDA 受容体に特異性の高いチャネルブロッカーであることを明らかにした。現在、臨床応用可能なチャネルブロッカーを、アントラキノンスペルミジンをリード化合物として開発中である。

#### 7. その他（実施上の問題点、特記事項等）

特になし

◎参考資料があれば、添付ください。

- 文献 1. Kashiwagi, K., Masuko, T., Nguyen, C. D., Kuno, T., Tanaka, I., Igarashi, K., and Williams, K.: Channel blockers acting at *N*-methyl-D-aspartate receptors: Differential effects of mutations in the vestibule and ion channel pore. *Mol. Pharmacol.* **61**, 533-545 (2002)
- 文献 2. Williams, K., Dattilo, M., Sabado, T. N., Kashiwagi, K., and Igarashi, K.: Pharmacology of  $\delta 2$  glutamate receptors: effects of pentamidine and protons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **305**, 740-748 (2003)
- 文献 3. Kashiwagi, K., Tanaka, I., Tamura, M., Sugiyama, H., Okawara, T., Otsuka, M., Sabado, T. N., Williams, K., and Igarashi, K.: Anthraquinone polyamines: Novel channel blockers to study *N*-methyl-D-aspartate receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **309**, 884-893 (2004)