

【目的】 てんかんは異常な神経活動のために意識障害や痙攣などのてんかん発作を繰り返す神経疾患で、発症率は全人口の1%を占めると言われている。抗てんかん薬として近年脚光を浴びているレベチラセタム（別名イーケプラ）は、神経終末のシナプス小胞膜に存在するSV2Aという輸送体様の膜タンパク質に結合し作用する。一方、SV2Aは1980年代後半に同定されたにも関わらず、その分子機能と脳機能における役割は明らかになっていないことから、レベチラセタムの作用機序は不明な点が多いまま臨床現場で使用されている。本研究では、従来SV2Aの機能として提唱されてきた「Ca²⁺輸送仮説」と「ガラクトース輸送体仮説」の双方を、SV2遺伝子改変マウスを用いて検証し、抗てんかん薬標的分子であるSV2Aの分子機能解明を目的とした。

【方法】 SV2がシナプス小胞上のCa²⁺輸送体である可能性を検証するために、げっ歯類脳から精製したシナプス小胞膜画分を用いて、小胞内酸性化測定によるCa²⁺/H⁺交換輸送活性の性状解析法と⁴⁵Ca²⁺同位体を用いた輸送活性測定法を確立した。次に、CRISPR/Cas9法を用いてSV2Aとそのイソ型の遺伝子欠損マウスを作製し、それらの遺伝子改変マウス脳から精製したシナプス小胞膜画分を用いて、SV2欠損やレベチラセタムによるSV2A阻害がシナプス小胞のCa²⁺輸送活性に与える影響を調べた。

【結果】 ラット脳から精製したシナプス小胞膜画分を用いて、Ca²⁺がシナプス小胞の酸性化に与える影響を精査した所、高親和性(Km~400 nM)のCa²⁺/H⁺交換輸送体活性を認めた。次に、SV2A/SV2B-ダブル欠損マウスの脳（総SV2発現が微量なマウス）で同様の測定を行なった所、野生型脳と同程度のCa²⁺/H⁺交換輸送活性が検出された。また、SV2B/SV2C-ダブル欠損マウスの脳（脳内にSV2Aのみ発現する脳）由来のシナプス小胞におけるCa²⁺/H⁺交換輸送活性は、レベチラセタムで阻害されなかった。⁴⁵Ca²⁺同位体を用いた輸送活性測定法においても、SV2欠損とCa²⁺輸送活性の連関は認められず、今回行なった薬理的な実験等の結果を総合的に判断すると、シナプス小胞膜上のCa²⁺輸送体は、主に形質膜型Ca²⁺-ATPase (PMCA) が寄与していることが示唆された。

SV2欠損およびSV2A標的薬レベチラセタムのシナプス小胞膜Ca²⁺/H⁺交換輸送活性への影響

