

| | |
|-------------------------------|-------|
| 154 トランスポーター創薬を指向した化学伝達の制御 | 宮地 孝明 |
|-------------------------------|-------|

【目的】 神経障害性疼痛と炎症性疼痛の発症にはグルタミン酸とプリン作動性化学伝達に関与する。小胞型グルタミン酸トランスポーター (VGLUT) と小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) は、それぞれの伝達物質の小胞内充填と放出を司り、化学伝達に必須である。これらトランスポーターは慢性疼痛の良い創薬標的になると期待されるが、小胞型神経伝達物質トランスポーターの良い輸送活性測定法がなかったため、特異的かつ安全な創薬シーズはほとんど見つかっていなかった。そこで我々は、独自のトランスポーターの研究基盤を活かして、これら小胞型神経伝達物質トランスポーターの特異的阻害剤を同定し、ケミカルバイオロジーによる化学伝達の制御システムを構築することを本研究の目的とした。

【方法】 VNUT と VGLUT を大腸菌あるいは昆虫細胞に大量発現させ、膜面分を界面活性剤で可溶化、アフィニティー精製し、これを人工膜小胞 (リポソーム) に再構成した。再構成リポソームを用いて、バリノマイシン誘導による膜電位依存的な ATP あるいはグルタミン酸輸送活性を測定し、有効な阻害剤を探索した。神経細胞からの脱分極刺激による伝達物質の開口放出を定量し、細胞レベルでの阻害剤の効果を検証した。神経障害性疼痛と炎症性疼痛モデルマウスに阻害剤を静脈投与し、von Frey 試験により機械痛覚過敏を評価した。

【結果】 精製・再構成法により小胞型神経伝達物質トランスポーターの阻害剤を探索した結果、nM レベルという極めて低濃度で VNUT の ATP 輸送を阻害する化合物を複数同定することができた。この VNUT 阻害効果は塩素イオン依存的かつ可逆的であった。また、グルタミン酸輸送活性を ON と OFF できる新しい制御因子の同定に成功した。同定した VNUT 阻害剤は、神経細胞からのグルタミン酸や GABA 等の伝達物質の開口放出に影響することなく、ATP の開口放出を選択的に阻害した。VNUT 阻害剤は神経障害性疼痛と炎症性疼痛に既存の鎮痛薬より有効かつ副作用なく鎮痛効果を発揮し、正常なマウスの知覚には影響しなかった。VNUT ノックアウトマウスにはこの VNUT 阻害剤は無効であったことから、*in vivo* でも VNUT を標的として鎮痛効果を発揮したと結論した。以上より、トランスポーターを標的とした化学伝達の新しい制御システムを構築することができた。本研究成果はトランスポーター標的型の新しい鎮痛薬の開発に繋がると期待される。

小胞型神経伝達物質トランスポーターの役割

