

クレアチントランスポーター欠損症の 治療を目指した病態発症分子メカニズムの解明

創薬・生命薬科学専攻 バイオフィーマコース 微生物薬学分野 上村 立記

クレアチントランスポーター(CRT)の遺伝子変異による機能欠損・低下を原因とする CRT 欠損症(CRTD)は X 染色体連鎖性精神遅滞で 2 番目に患者数が多い疾患である。CRT は、血液脳関門(BBB)を介した血液から脳へ creatine 輸送と神経細胞への creatine 供給に関与している。そのため、CRTD 患者では脳内 creatine 量は著しく減少している。現在、CRTD に対する有効な治療法がない。そこで本研究では治療標的の同定を目指し、CRTD 病態発症に関わる分子機構の解明を目的とした。

1. ミスセンス遺伝子変異による CRT 輸送機能低下メカニズム

日本人で見つかった(Gly561Arg: CRT_{G561R})変異型 CRT の輸送機能低下メカニズムを解析した。CRT_{G561R} は発現させた HEK293 細胞において細胞膜から細胞内に局在が変化し、さらに N 型糖鎖修飾に異常が見られた。これらの結果は、CRT_{G561R} は N 型糖鎖修飾異常によって細胞内局在が変化し輸送機能を低下させたことを示唆している。

2. CRTD 患者由来 fibroblast におけるミトコンドリア機能異常

CRT 機能欠損による細胞機能変化を明らかにするために、CRTD 患者由来 fibroblast に対してプロテオーム解析を行った。CRTD 患者由来 fibroblast では野生型 CRT 発現 fibroblast と比べミトコンドリア電子伝達系と ADP/ATP 交換輸送体関連タンパク質の発現が増加した。また、CRTD 患者由来 fibroblast ではミトコンドリア数が増加しミトコンドリア単当たりの ATP 産生は低下した。

Creatine は ATP 貯蔵に重要な役割を持つため、これらの結果は CRT 機能欠損がミトコンドリアからの ATP 供給を低下させ、その代償としてミトコンドリア数やタンパク質が増加したことを示唆している。

3. CRT knockout (CRT^{-/-})マウス脳におけるグルタミン酸放出の減少

CRTD の脳機能障害メカニズムを明らかにするために、CRT^{-/-} マウスを作成し、脳をマルチオミクスを用いて解析した。Imaging MS により creatine が主に大脳皮質および海馬、小脳に局在することを明らかにした。CRT^{-/-} マウスではトランスクリプトームおよびプロテオームの変動は小さかったが、メタボローム解析によりグルタミン酸を含む複数の神経伝達物質の増加が検出された。マイクロダイアリシスによって CRT^{-/-} マウスの海馬でグルタミン酸放出が低下したことを示した。これらの結果は、CRT 機能欠損による海馬シナプスのグルタミン酸放出の減少が記憶機能障害につながる可能性を示している。

4. CRTD 治療候補薬物 cyclocreatine の BBB 輸送機構の解明

Cyclocreatine は CRTD の治療候補薬物である。Cyclocreatine は拡散によって脳内に供給されると予想されていたが、BBB における輸送メカニズムは不明である。ヒト BBB モデルである hCMEC/D3 細胞と CRTD 患者由来 fibroblast における細胞内取り込み実験から cyclocreatine は CRT で輸送されることが明らかとなった。この結果は、CRTD 患者において creatine と同様に cyclocreatine の脳内への供給も著しく減少することを示唆している。

本研究で cyclocreatine が CRTD の治療薬になるのは困難であることが示唆されたため新たな治療戦略が必要である。CRTD の新規治療の戦略として、本研究の結果から変異型 CRT の細胞膜への局在誘導による輸送活性の回復や放出されたグルタミン酸の取り込み阻害による脳細胞間隙中グルタミン酸濃度の増加を促すグルタミン酸シグナル伝達の増強が考えられる。以上のように、本研究成果は、CRTD の新たな治療標的を提示する重要な知見である。