

総説

GABA_A受容体応答の制御機構

上野伸哉 古川智範 二階堂義和
下山修司 柴祐子 山田順子

抄録 γ -aminobutyric acid (GABA)は成熟脳における主要な抑制性神経伝達物質であり、対応する受容体としてGABA_AおよびGABA_B受容体が存在する。GABA_A受容体はGABAが結合することによりCl⁻イオンに選択性をもつイオンチャネルで、神経細胞膜電位の過分極をきたし、最終的に活動電位発生抑制をもたらす。このGABA作動性の抑制機構はダイナミックに制御されていることが近年明らかとなってきた。この制御メカニズムを、①細胞内Cl⁻濃度制御、②GABA_A受容体サブユニット発現による制御、③受容体分布にかかわる受容体輸送(トラフィッキング)機構に焦点をあてて紹介する。

弘前医学 66 : 105—109, 2016

キーワード : 受容体発現による機能調節 ; 神経部位ごとの発現調節.

GABA_A受容体の概要

ガンマアミノ酪酸(GABA)は、成熟脳における主要な抑制性神経伝達物質であり、GABA_A受容体は、内因性アゴニストであるGABA結合によりCl⁻イオンを透過させるligand-gated channelである。本受容体はGABAにより細胞内にCl⁻イオンを急速に流入させて、膜電位を過分極させる。その結果活動電位発生を抑制し、神経抑制効果を発現する。受容体を構成するサブユニットは膜4回貫通構造を形成し、システインループを持つチャネルファミリーの1つであり、ヘテロ5量体により機能的チャネルを形成する。またアロステリックな修飾作用を持つ化学物質が多く存在し、アルコールや、抗不安・催眠・鎮静・抗けいれん作用を持つベンゾジアゼピン(BZP)、バルビツレート類や、propofolなどの静脈麻酔薬の一部、および吸入麻酔薬がGABA_A受容体に結合し薬理作用を発揮する。さらに、内因性の修飾物質として、神経ステロイド、Zn²⁺がある。現在16個の異なるGABA_A受容体サブユニットがクローニングされ、 α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , π , および θ に分類されている。GABA_A受容体形成にお

けるサブユニットの組み合わせは、5量体として、単純計算では約100万通り考えられるが、生体内の脳、脊髄では組み合わせは限られており、2個の α 、2個の β 、1個の γ または δ サブユニットからなるものが主に存在する(図1)。

GABAの効果を制御する機構

GABAの作用発現の有無、効果の程度を規定する機構(①~③)が明らかとなっている。①細胞内のCl⁻イオン濃度制御によるGABAによる抑制、興奮のスイッチ機構、②GABA_A受容体サブユニット組成変更によるGABAおよび薬物感受性制御、③シナプス部位とシナプス外のGABA_A受容体分布によるGABA応答調節である。

細胞内Cl⁻濃度によるGABA作用の興奮・抑制効果のスイッチング機構

細胞外のCl⁻イオン濃度は、生体内のどの組織でもほぼ110 mM前後である。一方、細胞内Cl⁻イオン濃度は正常状態でも、組織の機能に則した値をとり、10 mM未満から40 mM程度までを示す。成体脳神経細胞においては、通常10 mM

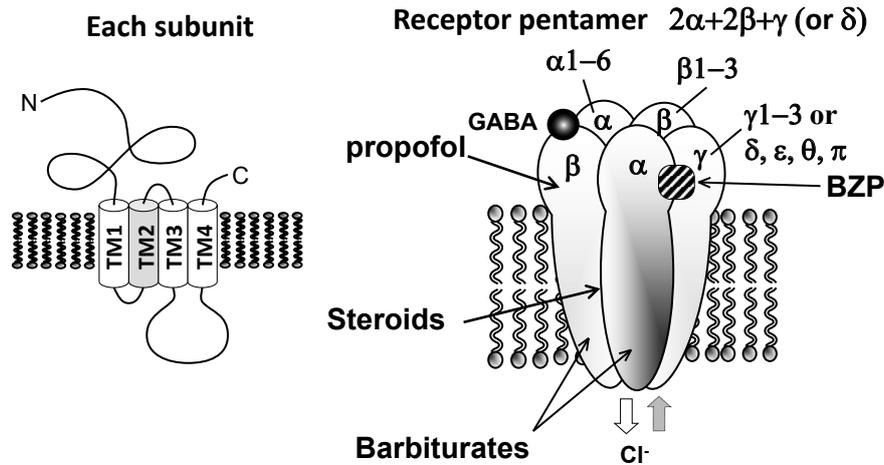


図1 GABA_A受容体構造

各サブユニットは膜4回貫通構造をもち、2番目の膜貫通部位がチャンネルポア部分を形成する。機能的GABA_A受容体はpentamer (5量体)形成したクロライドチャンネルである。

未満の低い濃度を保ち、GABAにより膜電位が過分極を来し、抑制的に働くように調整されている。細胞内 Cl^- 濃度を調節するトランスポーターとして、神経細胞において、細胞内から Cl^- 排出するKCC2共輸送体と、細胞内に Cl^- を取り込むNKCC1共輸送体が発現および機能している。正常の成体脳神経細胞においては、KCC2の発現が主で細胞内 Cl^- 濃度を低く保ち、GABAによりGABA_A受容体活性化により Cl^- イオン流入を来し、膜電位過分極、神経細胞抑制をもたらす。ところが、幼弱期などの発達段階、および神経障害、てんかんなどの病態時にはNKCC1が主に発現機能し、細胞内に Cl^- イオンが蓄積し、GABA_A受容体活性化で Cl^- イオンは細胞外へ流失する。その結果、本来抑制的に働く(膜電位を過分極させる)GABAが、興奮性に作用する(膜電位を脱分極させる)(図2)。KCC2は神経細胞特異的に発現し、神経細胞の細胞内低濃度 Cl^- イオンの維持に中心的役割を果たす。KCC2発現は発達と共に、その発現量が増加し、ラット、マウスでは生後2Wでほぼ成体と同レベルに達する。すなわち、生後2Wまでの幼弱期では、KCC2の発現量が少なく、対照的にNKCC1発現量が高いために、細胞内は高濃度 Cl^- イオンが存在し、GABA伝達系が興奮性に働いている。このため幼弱期におけるBZP効果の減弱が見られ、特に

けいれんなどの異常興奮の際に、問題となる。NKCC1は、幼弱期に神経細胞で多く発現しているが、KCC2と入れ替わるように生後2Wよりその発現が減弱する。またNKCC1は神経細胞のみならず、グリア、腎臓細胞等、他の組織でも発現が見られる。ループ利尿薬の代表であるフロセミドはNKCC1の拮抗作用による利尿作用発現のみならず、けいれん抑制効果をもつことが明らかとなっている。本教室でも遺伝子改変によるてんかんモデル動物においてフロセミド投与によるてんかん発作減少を観察している^{1,2)}。またKCC2の発現調節は、神経活動依存性が報告されており²⁾、特に、異常興奮により、KCC2発現減少が生じる。この機構に局所でのBDNFが関わっている。このように、GABA作用の程度および方向性は、細胞内 Cl^- 濃度依存的に制御されている。

GABA_A受容体サブユニット構成変化によるGABA応答および薬物感受性変化

GABA_A受容体は概要で示したように、16種類の各サブユニットによる、その5量体で、実際の脳内で機能している組み合わせはかぎられている。最も多い組み合わせは $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ である。GABAは α および β サブユニットの境界ポケットに結合し、BZPは α と γ サブユニットの境界ポケット部分に結合する。GABA_A受容体における

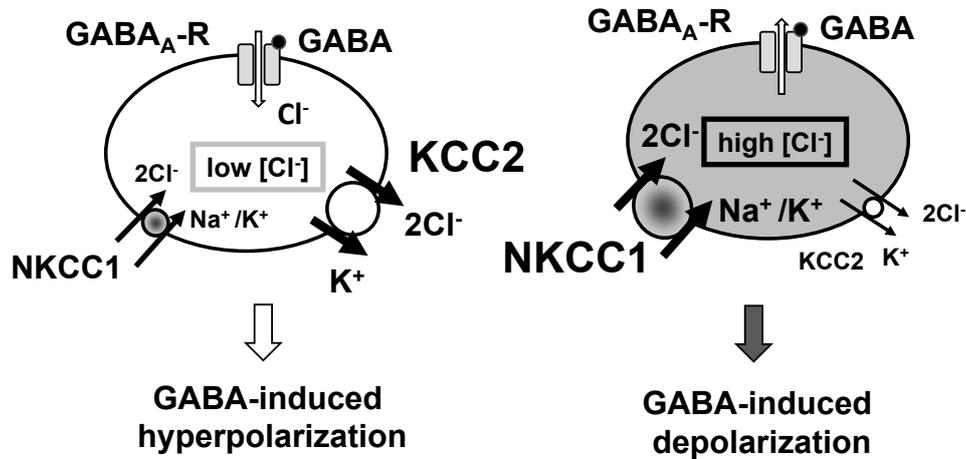


図2 神経細胞内 Cl⁻ イオンホメオスターシス

GABA 抑制作用発現には低濃度細胞内 Cl⁻ イオン状態を必要とし、K⁺ イオンと Cl⁻ イオンを共輸送体である KCC2 が主に働く。一方 GABA による興奮性作用発現には、高濃度細胞内 Cl⁻ イオン状態を必要とし、KCC2 機能低下、Na⁺、K⁺、Cl⁻ イオン共輸送体である NKCC1 機能亢進をきたしている。

GABA の用量反応曲線における EC₅₀、親和性はサブユニット構成に依存し、また GABA に惹起されるクロライド電流キネティクス、すなわちチャネルの活性化および不活性化過程も影響をうける。BZP は単独では GABA_A 受容体の Cl⁻ 電流を惹起しないが、GABA と同時に存在することにより、GABA 惹起電流の増強をおこし、結果として GABA 応答の増強し、抗けいれん、鎮静作用をもたらす。BZP の結合部位が α と γ サブユニットの境界であることから予想できるように、両サブユニットが BZP の効果の有無と程度を決定する。BZP の GABA 増強には γ サブユニットを必須とし、さらに α サブユニットの種類により BZP 増強度の程度が制御される。αβ のみでも、GABA が結合し Cl⁻ 電流を惹起する機能的 GABA 受容体は形成されるが、BZP への感受性は失われる。α1β2γ2 と α4β2γ2 で構成される受容体の BZP に対する増強度を比較すると、α4β2γ2 では BZP の増強効果は顕著に減弱する。実際にてんかん、薬物耐性発現の際に GABA_A 受容体、特に α サブユニットの種類が BZP 感受性の低いものに置き換わり BZP に抵抗性の発現出現の機構として知られている。

GABA_A 受容体の細胞内分布

GABA 作動性の抑制効果は、後シナプス GABA_A 受容体 (synaptic GABA_A receptor) を介する "phasic inhibition" とシナプス外の GABA_A 受容体 (extrasynaptic GABA_A receptor) を介する "tonic inhibition" の 2 つの経路が認識されるようになった (図 3)。tonic inhibition を担う GABA_A 受容体は GABA への濃度親和性が高く、不活性化が遅い性質をもつ。そのため、シナプス外の低濃度 GABA 存在下でも、常時 Cl⁻ イオンを細胞内流入させ、ネットワーク全体の興奮性低下に役立っていると考えられている。特に、吸入麻酔薬、propofol などの全身麻酔薬の意識消失効果は、phasic inhibition よりも tonic inhibition が大きく関与していることが示唆されている³⁾。

phasic inhibition は、図 3 においては、一過性の Cl⁻ 電流として記録される。その機構は GABA 作動性神経の興奮により活動電位が神経終末に到達し、前シナプス部位から GABA が放出される。放出された GABA が後シナプス部位にある GABA_A 受容体に結合し、チャネルを開き一過性の Cl⁻ 電流が流れる。phasic inhibition を担う GABA_A 受容体は、αβγ 組み合わせタイプで、α の種類は α1,2,3 の場合が多い。一方 tonic

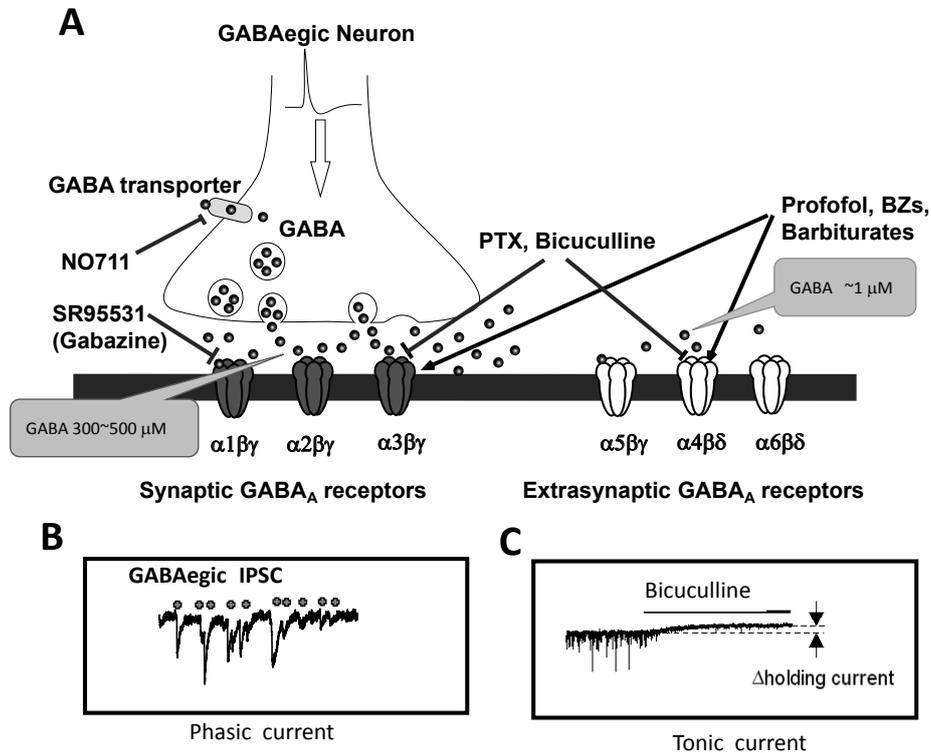


図3 シナプスおよびシナプス外 GABA_A 受容体構成とその GABA 応答

A, シナプス部位およびシナプス外に存在する GABA_A 受容体構成の典型サブタイプを示す。

B, C に, シナプス部位およびシナプス外の GABA_A 受容体を介する GABA 応答記録を Phasic current, Tonic current の例をそれぞれ示す. B, Phasic current は, 図中では, 一過性の下向きの電流成分. 図中の●の部分が生シナプスから GABA 放出による Phasic current 成分を示す. C, Tonic current は GABA_A 受容体アンタゴニスト (Picrotoxin (PTX), Bicuculline) 存在下によって, ベース電流のシフト分 (Δ holding current) として分離, 観察される.

NO711: GABA transporter 阻害薬, SR95531 (Gabazine) synaptic GABA_A 受容体のみを選択的に抑制するアンタゴニスト

inhibition を担うものは, $\alpha\beta\delta$ 組み合わせが典型例として知られている (図3). シナプス間隙の GABA 濃度は少なくとも $300 \mu\text{M}$ 以上と想定されている. recombinant GABA_A 受容体の発現実験の容量反応データからは, この濃度はほぼ最大反応をもたらす. よって phasic inhibition の応答は速い脱感作を伴う一過性応答となる. この応答により後シナプスでの過分極, いわゆる IPSP が生じる. 一方, tonic inhibition の応答を担う GABA はシナプス部から漏れ出たものやグリア細胞から放出され, シナプス外に供給される. その濃度は最大 $3 \mu\text{M}$ の低濃度でしかない. しかしながら, シナプス外に存在する GABA_A 受容体サブタイプの典型例である $\alpha\beta\delta$ サブタイプは

GABA 高親和性を持ち, $10 \mu\text{M}$ 程度で最大反応をきたす. そのため, シナプス外に存在する低濃度の GABA で受容体は十分に活性化され, さらに都合がいいことに, このサブタイプは低濃度 GABA の持続投与に対して脱感作をほとんど示さない. つまり低濃度の GABA が存在しているかぎり, 一定の電流を流し続けることが可能である. またシナプス外の受容体数は, シナプス部位の約100倍程度存在する. シナプス外での tonic inhibition にかかわる受容体の電流値が小さくてもその効果は広範囲におよび, ネットワーク全体の発火抑制に寄与することが可能となる. このように, GABA_A 受容体サブタイプは, 脳内の部位, また細胞内分布によって, 発現量, 種類を変えて

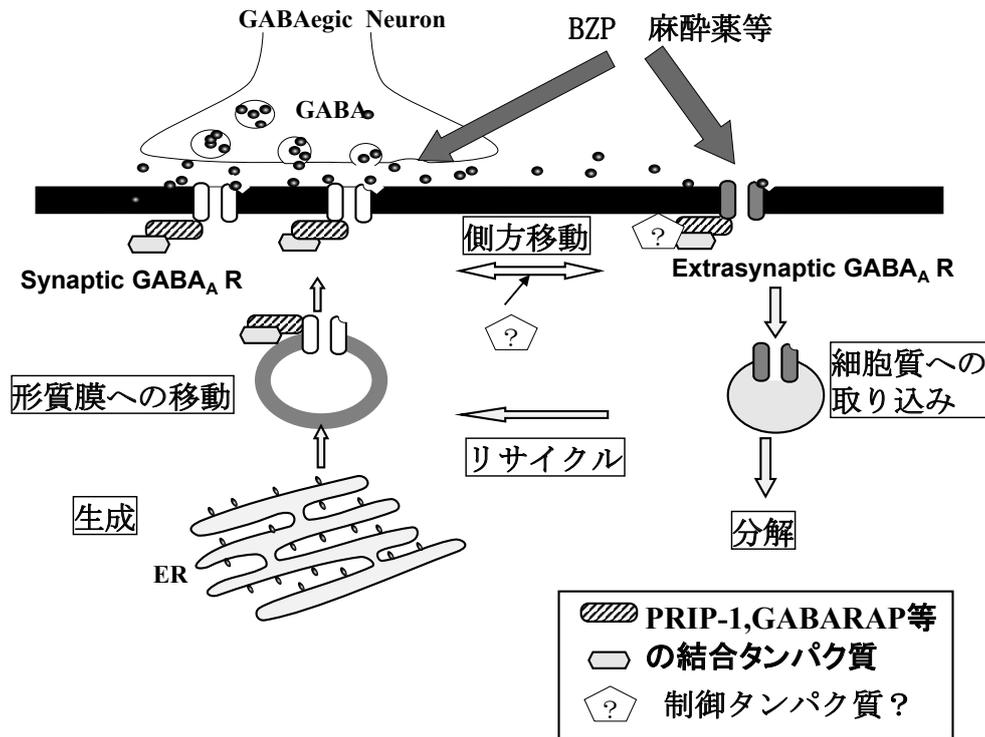


図4 GABA_A受容体輸送(トラフィッキング)

GABA_A受容体生成から膜への移行, 膜内での側方移動, 細胞質への取り込み過程を示す. これらの受容体輸送に結合蛋白質であるGABARAP, PRIP-1等が関わる.

GABAの抑制機能の調節をおこなっている.

近年, GABA_A受容体輸送, 細胞内生成から形質膜への移動, さらにシナプス部位とシナプス外間の移動の機構が明らかになってきている(図4). このGABA_A受容体輸送, トラフィッキングに関わっている蛋白として, 受容体結合蛋白である, GABARAP, PRIP-1などに注目が集まっている. 現在本講座においてもPRIP-1の欠損マウスを用いて, トラフィッキング異常, 特にシナプス部とシナプス外間で輸送異常をスライスパッチクランプ法にて明らかにした³⁾. さらには, 個体レベルで麻醉薬効果の減弱を確認しており, 今後, GABA_A受容体輸送機構による, GABA応答の調節機構も解明されていくものと思われる.

References

- 1) Zhu, G., M. Okada, S. Yoshida, S. Ueno, F. Mori, T. Takahara, R. Saito, Y. Miura, A. Kishi, M. Tomiyama, A. Sato, T. Kojima, G. Fukuma, K. Wakabayashi, K. Hase, H. Ohno, H. Kijima, Y. Takano, A. Mitsudome, S. Kaneko and S. Hirose. Rats Harboring S284L Chrna4 Mutation Show Attenuation of Synaptic and Extrasynaptic GABAergic Transmission and Exhibit the Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy Phenotype. *J Neurosci.* 2008;28(47):12465-12476.
- 2) Yamada, J., G. Zhu, M. Okada, S. Hirose, S. Yoshida, Y. Shiba, K. Migita, F. Mori, T. Sugawara, L. Chen, F. Liu, S. Yoshida, S. Ueno and S. Kaneko. A novel prophylactic effect of furosemide treatment on autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE). *Epilepsy Res.* 2013;107(1-2):127-137.
- 3) Zhu, G., S. Yoshida, K. Migita, J. Yamada, F. Mori, M. Tomiyama, K. Wakabayashi, T. Kanematsu, M. Hirata, S. Kaneko, S. Ueno and M. Okada. Dysfunction of extrasynaptic GABAergic transmission in phospholipase C-related, but catalytically inactive protein 1 knockout mice is associated with an epilepsy phenotype. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;340(3):520-528.