

研究題目 低酸素脳死における電位依存性カルシウムチャンネル リン酸化の検証

研究組織

研究代表者：小早川 高（関西医科大学附属生命医学研究所）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：山田 新太郎（関西医科大学附属生命医学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

脳が低酸素に脆弱であることは臨床的にも社会常識としてもよく知られるが、実のところ、そのメカニズムには不明な点が多い。

私たちは先天的恐怖臭の一種である Thiomorpholine(TMO)が、感覚神経の TRPA1 の活性化を介して極めて強力な低酸素抵抗性を誘導することを発見した (Matsuo et al., *Nat commun* 2021)。また、これまでの予備実験の結果、TMO は脳内の伝達物質を介して電位依存性カルシウムチャンネルの活性を変化させることで低酸素抵抗性を誘発することが示唆された。TMO による低酸素抵抗性は短時間で誘導されることから、TMO は電位依存性カルシウムチャンネルのリン酸化を制御することによって、その活性を変化させるというモデルが考えられる。本モデルを検証するために、定量リン酸化プロテオミクスにより、低酸素環境下での脳内タンパク質のリン酸化状態の解析を行うことを計画した。

[1-2]研究の方法・経過

コントロール条件、低酸素に暴露した条件、TMO 投与後に低酸素に暴露した条件の3条件でマウスの脳をサンプリングし、タンパク質のリン酸化状態を、TMT (tandem mass tag)標識法による大規模比較定量リン酸化プロテオーム解析により網羅的に比較解析した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

定量リン酸化プロテオーム解析の結果、低酸素暴露条件においては、電位依存性カルシウムチャンネルの多くの残基でリン酸化状態の変化が検出された。一方、TMO 投与後に低酸素暴露を行ったマウスの脳では、これらのリン酸化状態の変化はキャンセルされており、コントロール条件とほぼ同様のリン酸化状態を保っていることが明らかになった。従って、低酸素条件の脳では電位依存性カルシウムチャンネルのリン酸化状態が変化することで、細胞外から大量のカルシウムが流入して神経細胞死が誘導されるのに対し、TMO 暴露は低酸素暴露によるこれらの変化を抑制することにより、細胞外からのカルシウム流入を阻害し、低酸素での神経細胞死を防ぐ可能性が示唆された。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究により、低酸素による神経細胞死は、低酸素シグナルが誘導する電位依存性カルシウムチャンネルのリン酸化状態の変化により誘発され、従って、TMO などの感覚刺激に加え、電位依存性カルシウムチャンネルの阻害などによっても阻止できる可能性が示唆された。本研究は、低酸素脳死や虚血再灌流障害などの低酸素に起因する病態の理解やその治療法に関する新たな視点を与えると考えられる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

1. Hayashi Y, Kobayakawa K, Kobayakawa R. The temporal and contextual stability of activity levels in hippocampal CA1 cells. *Proc Natl*

Acad Sci U S A. 120 (17): e2221141120, 2023

2. Fujimoto S, Leiwe MN, Aihara S, Sakaguchi R, Muroyama Y, Kobayakawa R, Kobayakawa K, Saito T, Imai T. Activity-dependent local protection and lateral inhibition control synaptic competition in developing mitral cells in mice. *Dev Cell.* 58(14): 1221-1236. e7, 2023

[3-2]学会発表

1. 小早川高、先天的恐怖臭が誘発する人工冬眠・生命保護状態、創薬懇話会、湯河原、6/8, 2023
2. 小早川高、先天的恐怖臭が誘導する人工冬眠・生命保護状態、大阪大学蛋白研究所セミナー「神経回路の形成・動作と制御の現在と未来」、大阪、8/23-24, 2023
3. Kobayakawa R, Matsuo T, Kobayakawa K, “Sensory medicine and drug discovery technology to induce artificial hibernation and life-protective state by innate fear odors” 第101回日本生理学会大会、小倉、3/28-30, 2024

[3-3]成果資料等

該当なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

本共同研究により、電位依存性カルシウムチャネルのみならず、様々なタンパク質において低酸素暴露条件と、TMO投与後に低酸素暴露を行った条件との間で興味深いリン酸化状態の変化が観察された。今後はこれらのリン酸化状態の変化が、低酸素条件下での神経細胞保護に与える影響を引き続き解析することで、低酸素における神経細胞死のメカニズムとその介入方法に関する新たな知見が得られることが期待される。