



アルツハイマー病と N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) 受容体：シナプス外 NMDA 受容体仮説

吉山 容正^{1,3)}, 中村 祐²⁾

要 旨

N-Methyl-D-Aspartate 受容体 (NMDAR) はその分布部位からシナプス (sNMDAR) とシナプス外 (eNMDAR) の 2 種類が存在し, 前者は神経保護的に, 後者は神経毒性的に作用することがわかってきた. AD において A β オリゴマーは eNMDAR を活性化し, その結果 A β 産生増加とタウのリン酸化を誘導し, またリン酸化タウは微小管結合能が低下, Fyn と結合し eNMDAR をさらに活性化することが報告されている. この総説では, AD の病態形成における eNMDAR の役割とそれに関連したメマンチンの新たな作用機序の可能性について考察する.

1. はじめに

アルツハイマー病 (AD) の発症機序はいまだに明らかではないが, アミロイド仮説が広く研究者に受け入れられている. アミロイド仮説とはベーターアミロイド (β -amyloid, A β) の異常蓄積, 特にその dimer や oligomer の蓄積を起点として, その後のさまざまな病的な課程を経て, タウ蛋白の蓄積, そして最終的に神経細胞死が誘導されるとする多段階の病的過程を示したものである. 一方, AD の脳機能障害という視点では, シナプス障害が最も早期に出現する異常と考えられ, この異常が早期に出現することに関しては病理学的に確認されているだけではなく (Terry et al., 1991), 生体内においても, FDG-PET などでの異常を症状発症前からとらえることが可能である. シナプス機能障害は別の視点から見ると神経伝達障害であり, AD においてはアセチルコリンやグルタミン酸を含めた多くの神経伝達物質系の伝達障害が知られている. この神経伝達障害の改善は認知機能改善という点では有効な治療ターゲットと考えられる. 事実, アセチルコリン系神経伝達を改善する目的でコリンエステラーゼ阻害薬が, グルタミン酸系神経伝達の改善にメマンチンが臨床的に用いられて, その臨床的有効性が確認されて, 広く用いられている. これら 2 種類の伝達物質

Alzheimer's disease and N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptors : extrasynaptic NMDA receptor hypothesis
Yasumasa Yoshiyama¹⁾, Yu Nakamura²⁾

¹⁾ 稲毛神経内科・メモリークリニック [〒 263-0043 千葉県千葉市稲毛区 6-23-9]

Inage Neurology and Memory Clinic (6-23-9 Konakadai, Inage-ku, Chiba, Chiba Prefecture 263-0043, Japan)

²⁾ 香川大学医学部付属病院精神神経科 [〒 761-0793 香川県木田郡三木町池戸 1750-1]

Department Psychiatry and Neurology, Kagawa University Faculty of Medicine/Graduate School of Medicine (1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa Prefecture 761-0793, Japan)

³⁾ 国立病院機構千葉東病院精神内科 [〒 260-8712 千葉県千葉市中央区仁戸名町 673]

Department of Neurology, Chiba-East National Hospital (673 Nitona, Chuo-ku, Chiba, Chiba Prefecture, 260-8712, Japan)

系以外にもセロトニン系の改善を目的とした薬剤開発なども行われている。

グルタミン酸受容体の一つである N-Methyl-D-aspartate 受容体 (NMDAR) は学習や記憶に重要な役割を演じ、またその機能は神経可塑性や神経保護作用などにも関連している。最近、免疫組織化学的検討などから NMDAR がシナプス (synaptic NMDAR, sNMDAR) だけではなくシナプス外 (extrasynaptic NMDAR, eNMDAR) にも存在することがわかった (Gracy & Pickel, 1996; Li et al., 1998)。さらに電気生理学的、薬理的にそれぞれの受容体を選択的に阻害あるいは刺激する手法が開発され、それぞれの機能に相違があることがわかってきた (Hardingham & Bading, 2010; Karpova et al., 2013)。特に病的な状態では eNMDAR が活性化し、神経伝導障害や神経細胞死を誘導することが報告され (Hardingham & Bading, 2010; Zhang et al., 2011; Parsons & Raymond, 2014)、病的状態での eNMDAR の役割、またその阻害による治療効果に関して注目が集まってきている。特に、AD において eNMDAR が $A\beta$ とタウ両者の病態に関与する可能性が示唆され、現時点でははっきりしないアミロイド仮説における $A\beta$ とタウを結びつける重要な役割を演じている可能性がある。さらに興味深いことに AD の治療薬の一つであるメマンチンは非競合性、低親和性の NMDAR の拮抗薬であるが、このメマンチンが eNMDAR 比較的選択性の高い拮抗作用をもち、この選択的拮抗作用が学習記憶障害改善効果や神経細胞死予防作用に関連する可能性がある。本論文ではこれらを踏まえて AD における eNMDAR の役割とその治療ターゲットとしての意義に注目し概説する。

2. NMDAR の構造, 分布と機能

2.1. eNMDAR と構成サブユニット

NMDAR は数種のサブユニットからなる 4 量体である。NMDAR を構成する 4 量体のうち 2 つは GluN1 で構成され、残り 2 つがおもに 4 種類の GluN2 (GluN2A-D) で構成されている (Furukawa

et al., 2005)。これらのうち主要な NMDAR は GluN1 と GluN2A サブユニットあるいは GluN2B サブユニットで構成されていると考えられている (Monyer et al., 1994; Rauner & Kohr, 2011)。本論文におけるテーマである eNMDAR はおもに GluN2B で、sNMDAR の主体は GluN2A で構成されるとされるが (Tovar & Westbrook, 1999; Angulo et al., 2004)、残りの大半の sNMDAR は GluN2A, GluN2B と 2 つの GluN1 で構成された 4 量体である可能性が高い (Papouin et al., 2012; Tovar et al., 2013)。しかし、GluN2A あるいは N2B とも sNMDAR と eNMDAR の両者に認められ、単純にそれぞれが一对一に対応するような関係にはない (Thomas et al., 2006; Harris & Pettit, 2008; Petralia et al., 2010)。NMDAR の分布と subunit 構成の関連が生じる原因は明確ではないが、NMDAR はシナプス、シナプス外を移動可能なことが知られており (Tovar & Westbrook, 2002)、NMDAR の co-agonist である glycine あるいは D-serine とサブユニットとの結合性の差が、そのサブユニットを含む NMDAR の移動性に関連している可能性が指摘されている (Papouin et al., 2012)。ヒトにおいて実際に eNMDAR が全体の NMDAR のうちどの程度を構成しているかは不明であるが、実験的には 1 週間培養したラット海馬の培養細胞では ~75% の NMDAR が eNMDAR であったが (Rosenmund et al., 1995; Tovar & Westbrook, 1999, 2002)、その後徐々に減少し 2 週間目には 20% から 50% になったと報告されている (Ivanov et al., 2006)。培養ラット海馬切片を用いた研究では ~40% が eNMDAR で 3 週齢までほぼ変化がなかった (Harris & Pettit, 2007)。このような培養細胞を用いた実験系の解釈においては培養期間による eNMDAR の比率の変化が結果に影響している可能性を十分考慮し解釈する必要がある。

2.2. eNMDAR の分布

eNMDAR の分布はシナプス外に一様にびまん性に広がっているわけではなく、不連続的に存在する。多くの場合 eNMDAR は軸索あるいは軸索突起、グリア細胞突起などの細胞突起周辺に集積している (Valtschanoff et al., 1999)。特に、樹状突起とアスト

ロサイトの突起が接する部分に多くの eNMDAR がみられる (Kharazia & Weinberg, 1999; Petralia et al., 2010). この分布の偏りは、おそらく正常状態ではアストロサイトと神経細胞の間で行われている生理的相互作用に関連していると推定される。しかし、病的状態ではアストロサイトからの病的なグルタミン酸分泌は直接的に近傍にある eNMDAR を過剰に刺激する可能性があり、 $A\beta$ により誘導されるアストロサイトのグルタミン酸分泌増加作用が eNMDAR の活性化をもたらす可能性がある (Talanta et al., 2013).

NMDAR の活性化により後シナプス神経細胞に Ca^{2+} の流入が生じ、この Ca^{2+} 流入を起点とし、細胞内においてさまざまな異なるキナーゼ経路が活性化してタンパク転写を促進する。生理的状態において、この現象はシナプス機能を増強し、シナプス密度を上昇させる。この現象は長期増強 (Long-term potentiation, LTP) と呼ばれ学習と記憶の根底にある主要な細胞学的メカニズムの 1 つであると広く考えられている (Morris, 2003; Cooke & Bliss, 2006; Kullmann & Lamsa, 2007). 一方、さまざまな研究から過剰な NMDAR の活動、それに伴う過剰な Ca^{2+} の流入は神経毒性を示すと考えられ、神経細胞死との関連が示唆されてきた (Choi, 1988; Choi et al., 1988; Lipton & Rosenberg, 1994). つまり NMDAR の活動は正常状態では神経細胞の成長、機能維持、細胞保護に必要であるが、過剰な活動は神経毒性を示すと考えられてきた (Lipton & Kater, 1989; Hardingham & Bading, 2003). この仮説は、シナプスにおける NMDAR の活動の「量的な変化」により、その作用が神経保護から神経毒性へと変化するという考え方である。一方、近年の NMDAR 研究とくに正常のシナプス伝導と異なる機能が推定される eNMDAR の研究の進展により、別のモデルが考えられるようになった。正常の神経活動で活性化する sNMDAR が神経保護的に、一方、病的状態では eNMDAR の活性が亢進し、神経毒性的に作用するという、同じ NMDAR が相反する作用を示すという「NMDAR パラドックス仮説」である (Hardingham & Bading, 2010).

2.3. NMDAR パラドックス: sNMDAR と eNMDAR の作用の違い

実験的に sNMDAR と eNMDAR の選択的刺激が可能となり、それぞれ下流のシグナル経路が徐々に解明され、それぞれの機能の相違が明らかになってきた。eNMDAR は AMPA や Kainate 受容体に比べグルタミン酸に対する感受性が非常に高く、eNMDAR は正常状態でも定常的持続的活動がごく低濃度 (0.5~5 μM) の細胞外グルタミン酸により生じると考えられている (一方、正常な sNMDAR の十分な活動を生じるには高濃度なグルタミン酸が必要)。この低濃度のシナプス外グルタミン酸はおもにグリア細胞由来と考えられている (Le Meur et al., 2007). 一方 AD においてはグルタミン酸サイクルの異常によりシナプス外グルタミン酸濃度が上昇し (後述参照)、eNMDAR が活性化していると考えられている。正常の生理的興奮時においても、シナプスのグルタミン酸濃度は 1,000 μM 達するとされており (Featherstone & Shippy, 2008)、シナプスにおいてはこのような非常に高濃度のグルタミン酸であっても細胞死をもたらすようなことはない。一方、培養神経細胞にグルタミン酸を添加する実験においては、一般的に 10-20 μM の低濃度のグルタミン酸では培養神経細胞に細胞死を誘導することはないが (Chandler et al., 2001; Zhou et al., 2013) それ以上の濃度、~100 μM で細胞死が誘発される。このことから~100 μM グルタミン酸で誘導される神経細胞死は eNMDAR を介して出現していると考えられる (Zhou et al., 2013). これらの現象から、今まで想定されていた sNMDAR の過活性化に伴う Ca^{2+} の過剰流入が神経細胞障害を発生させるとする sNMDAR を介した一元的な仮説ではなく、eNMDAR からの Ca^{2+} 流入が神経毒性を生じるという仮説が優位になってきた。その後の研究で sNMDAR と eNMDAR が多くの相反する作用を持つことが明らかになってきたが、特にその中で sNMDAR と eNMDAR の相反する機能を示す現象の一つとして転写因子である cyclic-AMP response element binding protein (CREB) 活性化に対する sNMDAR と eNMDAR の異なる作用と、その機序が明らかになった (図 1).

CREB はリン酸化を受けることで活性化するが、この活性化により神経生存, シナプス形成, 神経新生, 記憶・学習に関連する遺伝子転写を促進することでその機能を発揮する (Kida, 2012; Peixoto & Abel, 2013). そして実験的に CREB を過剰発現させると長期記憶が増強することが知られている (Josselyn et al., 2001; Tubon et al., 2013). 一方, AD においては CREB のリン酸化が低下しており, その活性が低下していると考えられている (Yamamoto-Sasaki et al., 1999; Saura & Valero, 2011). sNMDAR 活動は ERK1/2 をリン酸化 (p-ERK1/2) し活性化する (Hardingham & Bading, 2010). 活性化した p-ERK1/2 はシナプス内の Jacob と結合, さらにそれをリン酸化する (p-Jacob). Jacob のリン酸部位のうち特に S180 部位がリン酸化を受けることで, p-Jacob はシ

ナプスからの移動が可能になる. なお一部の p-Jacob は核内への輸送タンパクである Importin- α と拮抗作用を持つ Caldendrin と結合しシナプスに残る (Jeffrey et al., 2009; Karpova et al., 2013). この現象はおそらく Jacob に対するリン酸化と脱リン酸化のバランスを維持する機能に関連していると考えられる. 核内に移行した p-Jacob は CREB をリン酸化し (p-CREB), おもに学習・記憶に関連する核転写を促進し, その結果シナプス機能を増強し, 神経保護機能, 学習・記憶機能を発現する. 神経細胞は他の細胞に比べ長い突起を持っており, シナプスから核内への移動過程は通常の細胞に比べ非常に長く, 本来であればこの移動過程において p-Jacob が再び脱リン酸化を受けてその活性を失ってしまう可能性が高い. sNMDAR の活性化はその CREB の

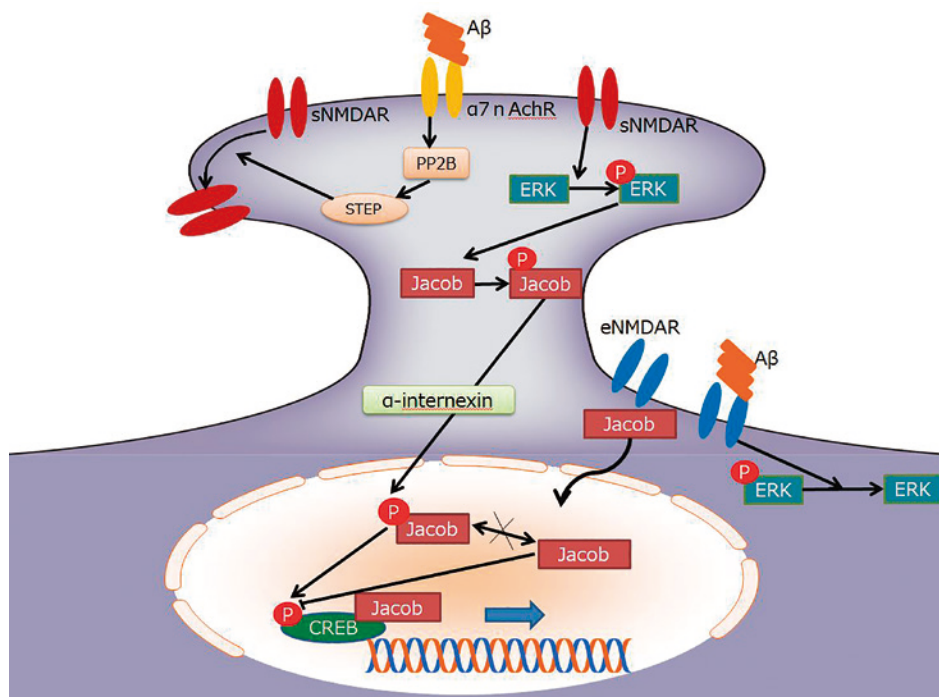


図 1. CREB に対する sNMDAR と eNMDAR の相反作用

シナプス NMDA 受容体 (sNMDAR) 刺激は ERK をリン酸化し活性化, この活性化が Jacob のリン酸化をもたらす. リン酸化を受けた Jacob は α -internexin により脱リン酸化を受けずに核内に移動し, CREB をリン酸化し活性化する. CREB の活性化は学習, 記憶, 神経保護作用などを誘導する. 一方, シナプス外 NMDA 受容体 (eNMDAR) は ERK をリン酸化できない. このため Jacob はリン酸化を受けることがなく, リン酸化した Jacob と拮抗しその作用を抑制する. このため, 学習, 記憶障害や神経毒性が生じると考えられる. シナプス上の $\alpha 7$ ニコチン酸受容体 ($\alpha 7$ -nAChR) は A β オリゴマーにより刺激を受け, PP2B が活性化し STEP の脱リン酸化をおこす. 活性化した STEP は sNMDAR のシナプス外への移動を誘導する. Karpova et al., Cell 2013 (Karpova et al., 2013) を参考に改変

活性を失わない機序にも関与している。sNMDARの活性化により細胞内に流入したCa²⁺はCalpainを活性化し、活性化したCalpainが中間径フィラメント (intermediate filaments) の一つである、 α -Internexinを切断する。この切断により生じた可溶化した α -Internexinがp-Jacob/p-ERK複合体と結合し、3量体を形成することによりp-Jacobの脱リン酸化を抑制し、その活性を維持する (Karpova et al., 2013)。一方、eNMDARの活性化はERK1/2のリン酸化を誘導できず、結果としてJacobのリン酸化も生じない。そのためリン酸化を受けないJacobはリン酸化を受け活性化しているp-Jacob機能と拮抗しCREBのリン酸化を抑制し、その結果としてCREBの機能を低下させる (図1) (Karpova et al., 2013)。また最近、BDNFがsNMDAR活性を高め、eNMDAR活性を抑制することで神経保護作用を示すことが報告され、ADやその他の神経変性疾患におけるBDNFの低下がeNMDAR優位状態の出現に関与している可能性が示唆されるとともに、BDNFの神経保護作用がeNMDARの抑制に関連していることがわかった (Lau et al., 2015)。

2.4. eNMDARの生理的機能

eNMDARの生理的機能に関しては十分解明されていないが、LTPとは逆にシグナルの伝達効率が長期にわたって減弱するという現象である長期抑制 (long-term depression, LTD) との関連が示唆されている。ラットの海馬切片においてsNMDARをブロックした状態で電気刺激を行うとLTDが生じ、この現象はNMDAR阻害薬で消失することからLTDはeNMDAR由来と考えられるが (Liu et al., 2013)、しかし完全なLTDにはsNMDARとeNMDARの両者の刺激が必要であるとされている (Papouin et al., 2012)。一方、LTPに関してeNMDARはその誘導に直接的な関与の必要はないとされているが (Papouin et al., 2012)、ラットを用いた実験で、視覚刺激が視覚野における視覚誘発電位自体は増強しなかったが、同部位のeNMDARの発現が増強されたことから、生理的状態でも何らかのシナプス機能の増強に関与している可能性も否定できない (Eckert et al., 2013)。

またeNMDARはsNMDAR以外を広く指す言葉であるが、さらにその存在部位により機能が異なる可能性が考えられる。シナプスが密集するpost-synaptic density (PSD)の近傍に存在するeNMDARは強いシナプス刺激が加わった場合、正常状態であってもシナプスの高濃度のグルタミン酸の拡散により、同時に刺激を受けると推定される。つまりPSDに近いeNMDARはシナプスにおいて頻回に繰り返すグルタミン酸放出が起きた場合、生理的状態でもsNMDARと同時にeNMDARは興奮が生じると考えられる。実験的に短時間の両者の同時刺激は神経保護的に作用するとされ (Zhou et al., 2013)、生理的な強刺激は両者を刺激することにより神経保護的に作用していると推定される。また前述した様にeNMDARは正常状態でも主にグリア細胞からの分泌による非常に低濃度のグルタミン酸により刺激されている。この状態は生理的であって、神経細胞死に連動するような現象ではない。

3. アルツハイマー病におけるグルタミン酸サイクル異常

ADにおけるNMDARを介した病態の背景には、ADにおけるグルタミン酸サイクルの異常が深く関与している。グルタミン酸サイクルは①前シナプスから放出されたグルタミン酸がアストロサイトに取り込まれ除去され、②取り込まれたグルタミン酸はグルタミンに変換、それが再び神経細胞に供給され、神経細胞はそれをグルタミン酸に再変換し、③シナプス小胞内に保持し、やがて放出する過程である。ADにおいてはそれぞれ①～③のステップに異常が生じ、結果としてシナプス間隙のグルタミン酸濃度の上昇、シナプス外へのグルタミン酸の流出、シナプス外グルタミン酸濃度の上昇が生じ、eNMDARの活性化がおこる (図2)。

3.1. シナプスグルタミン酸除去障害

シナプス間隙に放出されたグルタミン酸はおもにアストロサイトに発現しているグルタミン酸トランスポーター、マウスにおいてはglutamate transporter subtype 1 (GLT-1)、Glial glutamate trans-

porter (GLAST), 人においては Excitatory amino acid transporter 1 (EAAT1) と EAAT2 によりアストロサイトに取り込まれる. AD においては早期からシナプスグルタミン酸除去障害が生じている (Masliah et al., 1996). また, 実験的に海馬切片に $A\beta_{1-42}$ を添加するとシナプス外 NMDA 濃度が増加するがシナプトソーム (synaptosome) のグルタミン酸が減少することから, 神経細胞のグルタミン酸取り込み障害も生じていると考えられる (Li et al., 2009).

3.2. グルタミン変換障害

アストロサイトに取り込まれたグルタミン酸はグルタミン合成酵素によりグルタミンに変換される. この酵素が AD において減少していることが知られている (Masliah et al., 1996; Robinson, 2001). このためアストロサイト内のグルタミン酸濃度が上昇し, アストロサイトのグルタミン酸取り込みの低下, あるいは分泌の増加が生じる (Matos et al., 2008). アストロサイトのグルタミン酸輸送, グルタミンへの変換障害は, シナプスのグルタミン酸濃度を上昇

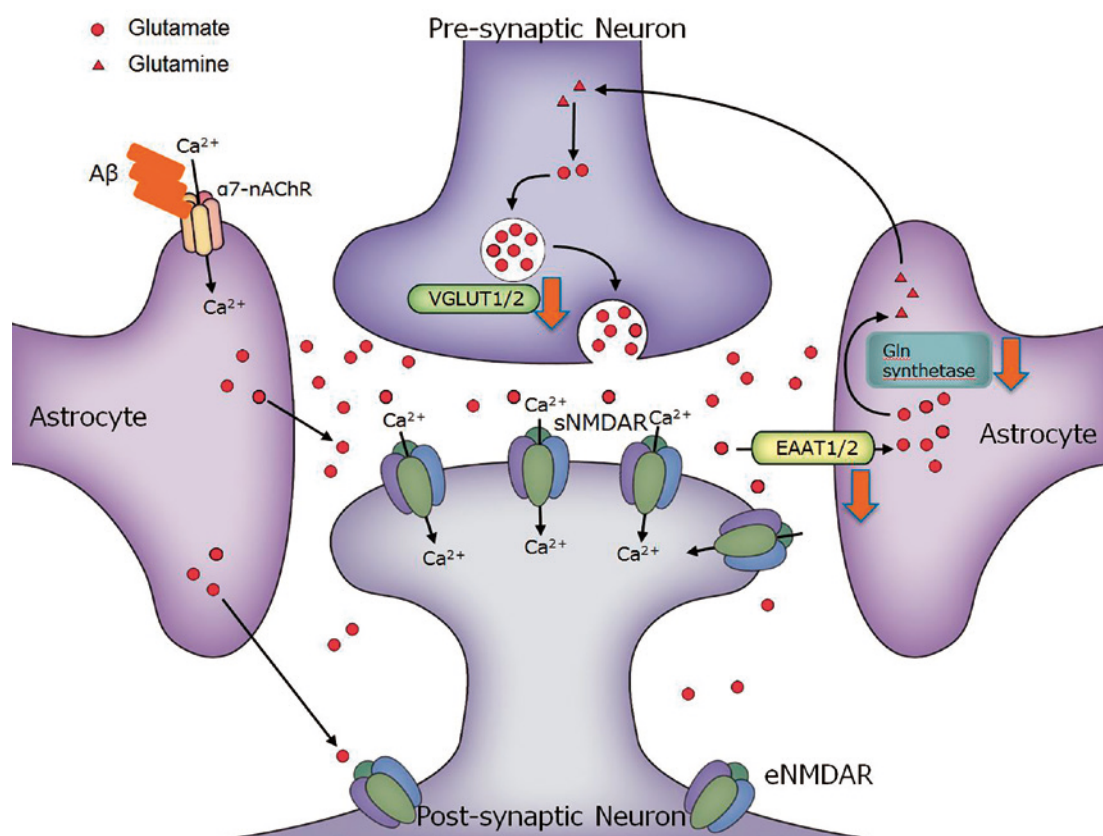


図2. $A\beta$ オリゴマーによるグルタミン酸系異常

$A\beta$ オリゴマーによりシナプス間隙におけるグルタミン酸除去システムであるアストロサイトの EAAT1/2 の活性が低下する. さらに取り込んだグルタミン酸をグルタミンに変換するグルタミン合成酵素 (Glutamine synthetase) の活性が低下し, 細胞内グルタミン酸濃度が上昇しよりグルタミン酸の取り込み能力が低下する. 変換されたグルタミンは神経細胞に取り込まれ再びグルタミン酸に変換されシナプス小胞に保持されている. しかしその保持能が VGLUT1/2 の低下で障害され, 過剰に放出が生じる. これらの結果, シナプス間隙のグルタミン酸濃度は上昇し, シナプスからシナプス外に漏れ出すグルタミン酸が増加する. またアストロサイトには $\alpha 7$ -ニコチン酸受容体 ($\alpha 7$ nAChR) が存在し, この受容体が $A\beta$ オリゴマーにより活性化することでアストロサイトからのグルタミン酸放出が増加する. 特に, シナプス外 NMDAR (eNMDAR) はグリア細胞の突起と接する部位に多く, グリア細胞からのグルタミン酸の分泌増加は直接影響を受ける. これらの結果, eNMDAR は活性化する. Revett et al., J Psychiatry Neurosci 2013 (Revett et al., 2013) を参考に改変

させる。

3.3. グルタミン酸シナプス小胞保持障害

神経細胞内のグルタミン酸は、シナプス小胞に存在するシナプス小胞グルタミン酸トランスポーター (Vesicular Glutamate Transporter: VGLUT) によりシナプス小胞に取り込み貯蔵され放出に備えられる。ADにおいてはVGLUT-1, -2が減少していることが知られており、初期から神経細胞内のグルタミン酸の蓄積・貯留障害が生じていると考えられる (Kirvell et al., 2006; Kashani et al., 2008)。

3.4. A β はグリア細胞からのグルタミン酸の分泌を増加させる

グルタミンサイクル障害の他にも、シナプス外グルタミン酸を増加させる機序として、A β によるグリア細胞からのグルタミン酸分泌増加作用がある。実験的に培養アストロサイトにA β オリゴマーを添加すると $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体 ($\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ nAChR) を介してアストロサイトの活性化にともなう細胞内Ca²⁺の上昇とグルタミン酸の分泌増加が観察される (Pirttimaki et al., 2013; Talantova et al., 2013) (図2)。アストロサイトと神経細胞の相互作用をみるためにアストロサイト存在下のラット海馬単神経細胞の電気活動を観察する手法でA β オリゴマーの影響をみると、pMレベルのごく低濃度のA β オリゴマーでeNMDAR由来の緊張性電流 (tonic current) が観察されるがA β モノマーではこの現象は生じない。一方、sNMDARを介した相性電流 (phasic current) は頻度、電流量ともA β オリゴマーの添加により減少する。このA β オリゴマー刺激によりeNMDARを介して生じた緊張性電流はeNMDARの拮抗薬であるメマンチンで抑制される (Talanta et al., 2013)。これらの培養細胞を用いた実験におけるA β オリゴマーによるeNMDAR活性化には直接A β オリゴマーがeNMDARを刺激したのではなく、アストロサイトに対する刺激によるグルタミン酸分泌増加が関与していると考えられる (Talanta et al., 2013)。

4. A β と NMDAR

A β はNMDARにおけるsNMDARとeNMDARのバランスをeNMDAR優位に誘導し、eNMDARを活性化する。またeNMDARの活性化はA β の産生を増加させることが知られており、ADにおいてA β オリゴマーの増加とeNMDAR刺激が病的なサーキットを形成している可能性がある。

4.1. A β はsNMDARを減少させNMDA分布をeNMDAR優位に導く

実験的にA β は2つの機序でeNMDAR/sNMDAR比を増加させ、eNMDAR優位に導くことが知られている。一つはsNMDARのエンドサイトーシスによるシナプス上のsNMDARの減少で、もう一つはNMDARのシナプスからシナプス外への移動による分布の変化である。Snyderら (Snyder et al., 2005) は実験的にA β を培養神経細胞に添加し、GluN2BとGluN1に対する抗体を用いてWestern blotによりその発現量を全体量と細胞膜分画にわけて検討した。その結果、細胞表面に発現するGluN2BとN1は減少していたが、全体量に変化がないことを示した。このような細胞膜分画での発現減少はGABA受容体では生じておらず、NMDARに選択的な現象と考えられた。さらにシナプスのGluN1密度を免疫染色でみるとA β 添加によりシナプスに存在するクラスター状のGluN1の染色がWestern blotにおける細胞膜分画での減少に比較しても著しく減少していたことからsNMDARの減少がエンドサイトーシスによる細胞内への取り込みだけでなく、シナプス外への再分布あるいは移動が関与している可能性が示唆された。興味深いことにこのA β によるsNMDARの減少は $\alpha 7$ nAChRの阻害薬で抑制されることから $\alpha 7$ nAChRがこの現象に関連していると考えられる。A β は後シナプスの $\alpha 7$ nAChRに結合し (Wang et al., 2000)、 $\alpha 7$ nAChRの活性化を介してしてProtein Phosphatase 2B (Calcineurin/PP2B) 活性を増強する。さらにPP2Bはstriatal-enriched phosphatase (STEP) を脱リン酸化し (Snyder et al., 2005)、活性化することによりNMDARのシナプス

外への移動を誘導する (図 1). このことから A β は sNMDAR の内在化を誘導するのみならず, sNMDAR の移動を介して, sNMDAR の減少, eNMDAR の増加をもたらす, 相対的 eNMDAR 優位状態を誘発すると考えられる.

4.2. A β とシナプス可塑性: eNMDAR を介し LTP を減少させ LTD を増強する

A β オリゴマーにより LTP が低下することは *in vivo*, *in vitro* の両者においてさまざまな研究で示されている. この LTP の低下は eNMDAR の拮抗薬とされるメマンチンや GluN2B 阻害薬で処理すると改善することから, この現象は GluN2B をサブユニットにもつ eNMDAR の過剰活性化が原因と考えられる (Hu et al., 2009; Li et al., 2011). この LTP の減少はグルタミン酸の分解を促進する処理で細胞外のグルタミン酸を除去することにより改善することから, A β オリゴマーによる直接的 eNMDAR 刺激ではなくシナプス外グルタミン酸増加 (グルタミン酸サイクル異常/アストロサイトからのグルタミン酸分泌) による eNMDAR 刺激作用が主体と推定される (Li et al., 2011). グリア細胞上に単神経細胞を培養し sNMDAR をブロックした状態で A β オリゴマーを投与すると eNMDAR 由来の持続的緊張性電流が観察される. この電流は sNMDAR をブロックした状態でグルタミン酸を投与して観察される eNMDAR 由来の電流とほぼ同一であることから A β オリゴマーによるアストロサイトからのシナプス外のグルタミン酸誘導作用によるシナプス外グルタミン酸の増加が eNMDAR 刺激の主体をなすと考えられる (Talantova et al., 2013). 生理的機能として eNMDAR が LTD に関与していることは eNMDAR の生理機能の部分で解説した. A β オリゴマーの添加により海馬の long-term depression (LTD) は増強する. この現象は上述の LTP の抑制と同様 eNMDAR の過剰なグルタミン酸刺激によると考えられている (Li et al., 2009).

Talantova ら (Talantova et al., 2013) は長期的なアミロイド異常により慢性的な eNMDAR の過剰活動が生じるかに関して, アミロイド産生 AD モデルマウスである hAPP-J20 (PDGF-APP_{SWE, IN0}) を用い

て検討した. 海馬切片を用いパッチクランプによるホールセル法 (whole-cell recording) で細胞全体の電流を記録すると, 野生型のマウス海馬切片では 9.5 pA と小さなグルタミン酸由来の基礎電流が認められた. 一方, hAPP-J20 マウス海馬切片では 53.6 pA という大きなグルタミン酸由来の基礎電流が確認された. つまり hAPP-J20 における A β の長期的過剰産生状態がこの大きなグルタミン酸由来の基礎電流を発生させていると考えられる. 同様の A β の長期的過剰発現に伴うシナプス機能障害が AAV ベクターを用い, マウス海馬内に APP_{SWE/LON} と PS1_{M146L} を発現させたマウスで観察された (Audrain et al., 2016). このマウスでも eNMDAR 由来の緊張性のグルタミン酸電流が海馬で観察され, LTP の減少, 認知機能障害が認められた (Audrain et al., 2016).

4.3. A β 産生に対する sNMDAR と eNMDAR の相反的作用

A β はその前駆蛋白である amyloid precursor protein (APP) からの分解によって生じる. この分解には A β の中間部位での分解を起し, A β を産生させない α 部位での切断と A β の産生が生じる β 部位での切断がある. マウス培養神経細胞を用いた NMDAR 刺激による実験では sNMDAR 刺激によりアミロイド前駆体蛋白の α 切断が促進され, soluble APP と C-末分解産物 (C83) が増加し, A β の産生が低下した (Hoey et al., 2009). 一方, eNMDAR を刺激すると A β の産生が劇的に増加した. この現象の背景には eNMDAR 刺激での APP の isoform の変化がある. APP は 21 番染色体からのスプライシングの違いにより 3 種類の isoform が形成される. 分子量の小さい方から APP695, 751, 770 の 3 種である. このうち最も小さい分子量の APP695 が神経細胞における主要な isoform で, この isoform は Kunitz Protease Inhibitor (KPI) ドメインを含んでいない. sNMDAR の選択的刺激を培養神経細胞に与えたところ 6 時間後に APP mRNA の全体量が 1/2 以下に減少した. 一方 eNMDAR の選択的刺激では APP mRNA 量に大きな変化はなかった. しかしそれぞれの刺激での isoform 構成をみると sNMDAR 刺激では APP695 が大半であり (>90%), その iso-

form 構成は大きな変化は生じなかったが, eNMDAR 刺激を行うと約半分が KPI ドメインを含む APP mRNA に変化した. 蛋白レベルでの観察でも同様の現象が確認され sNMDAR 刺激は APP 量を減少させ, 一方 eNMDAR 刺激は isoform の構成を変化させ KPI-APP 構成量を増加させた. KPI-APP の増加は APP 分解を α 切断から β 切断に変化させ (Lesne et al., 2005), $A\beta_{1-42}$ の分泌を 10 倍近く増加させる (Bordji et al., 2010). この一連の現象は $A\beta$ が eNMDAR を活性化させるだけではなく, その活性化自体が $A\beta$ の産生を増加するという病的なサイクルの形成を意味している. これらの慢性的な eNMDAR 刺激に伴う $A\beta_{1-42}$ の分泌増加は低濃度のメマンチン (1 μ M) により抑制された (Bordji et al., 2010).

これらの一連の病的作用機序において $A\beta$ が eNMDAR に直接作用するか, あるいは間接的なシナプス外グルタミン酸増加作用を介しての作用であるかは治療法を考える上で重要であるが現時点では判然としない (Venkitaramani et al., 2007; Li et al., 2011). いずれにしてもシナプス外のグルタミン酸濃度の上昇がその病的作用の発現には必要であると考えられ, $A\beta$ オリゴマー自体が直接的に eNMDAR に作用するとしてもそれだけではその病態を発現するには不十分であると考えられる. 最近 Cellular Prion Protein (PrP^C) を介した, $A\beta$ の NMDAR への作用がわかってきた (Chen et al., 2010). $A\beta$ オリゴマーにより LTP が抑制されるが, この抑制は PrP^C 依存性であるところから $A\beta$ と PrP^C との結合が NMDAR の機能変化に重要な役割を演じていると考えられる (Um et al., 2012; Nicoll et al., 2013). しかし, 現時点では PrP^C と NMDAR との関連に関しては十分解明されていないが, PrP^C と $A\beta$ の結合により Src kinase の一つである Fyn を活性化し, この活性化が GluN2B の活性化とタウのリン酸化に関与すると考えられている (Larson et al., 2012) (後述).

5. タウ蛋白と NMDAR

AD のアミロイド仮説においてはタウ蛋白の異常

はアミロイド異常の下流にあるとされている. しかし, 病理学的な詳細な研究では, タウ病理はアミロイドの異常に先行し, 30 歳代から出現している (Braak & Del Tredici, 2011). 神経変性や臨床症状との関連はタウ病理がアミロイド病理より密接な関連があるとされ (Braak et al., 1999; Murray et al., 2015), また最近の研究から, タウ病理がシナプスを介して伝播することが示され, AD の病状の進行とこのタウ病理の伝播の関連も示唆されている. これらのことからタウ蛋白異常の AD における重要性が再認識されている (Yoshiyama et al., 2013). タウ蛋白発現が欠損した培養神経細胞にアミロイドを添加しても神経毒性は発揮されない (Rapoport et al., 2002). hAPP-J20 トランスジェニックマウスとタウ欠損マウスを掛け合わせると, アミロイド病理に変化はないが認知機能の低下や行動障害が $\tau^{-/-} > \tau^{-/+} > \tau^{+/+}$ の順に抑制された (Roberson et al., 2007; Roberson et al., 2011). つまり正常で存在するタウの発現を抑制することで $A\beta$ 由来の神経障害が抑制された. 興味深いことにこの hAPP-J20 マウスに pentylentetrazole (PTZ) (GABA_A 受容体阻害薬) を投与すると痙攣が誘発されるがタウ欠損マウスではけいれんの誘発が抑制された. またグルタミン酸受容体刺激薬であるカイニン酸によるけいれん誘発も同様に抑制されたことから, タウ蛋白はグルタミン酸による神経毒性にも関与していると推定される. 同様の現象は他のアミロイドマウス APP23 (K670M/M671L) でも観察されている (Ittner et al., 2010). このようにアミロイドにより誘導される神経毒性の発揮にはタウの存在が必要であると考えられる. アミロイド仮説におけるアミロイド異常とタウ異常を結びつける病態に関しては現時点でも解明は不十分であるが, NMDAR 機能と関連がある Fyn の関与が報告されている (Haass & Mandelkow, 2010; Ittner & Gotz, 2011). この Fyn の活性化は $A\beta$ オリゴマーと PrP^C が結合することによって生じる (Larson et al., 2012). Fyn は GluN2B をリン酸化し, 樹状突起に存在する postsynaptic density protein-95 (PSD95) と結合し NMDAR は細胞膜上に固定される (図 3). これにより $A\beta$ による

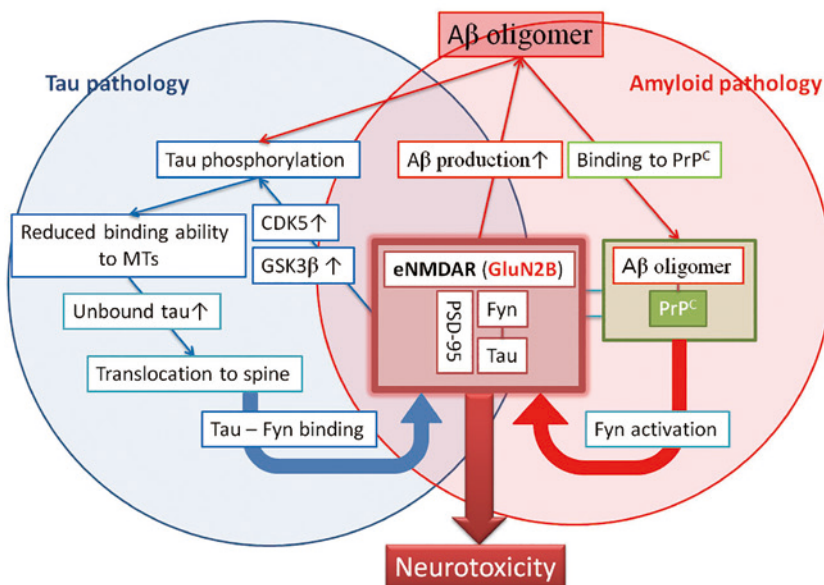
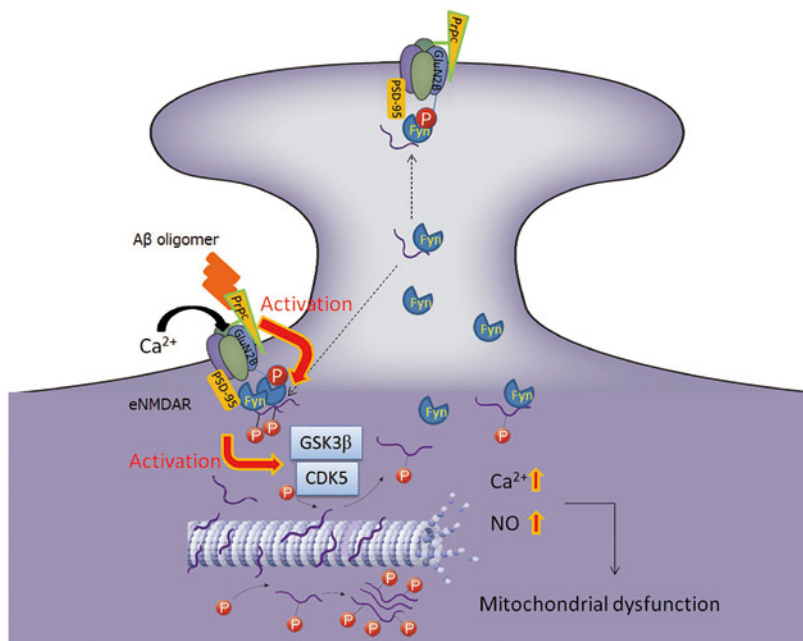


図 3. eNMDAR を中心としたアルツハイマー病の神経毒性発揮メカニズム
 Aβ オリゴマーは sNMDAR を減少させ、一方 eNMDAR を増加させる。また同時にグルタミン酸サイクルの異常をもたらし、シナプス外グルタミン酸濃度を上昇させ eNMDAR を活性化する。Aβ オリゴマーはプリオン蛋白 (Cellular Prion Protein, PrP^C) に結合し、Fyn を活性化し Fyn は GluN2B とタウをリン酸化する。これにより Aβ による NMDAR を介したグルタミン酸神経毒性は増強する。一方、タウは Fyn を樹状突起に輸送する役割を演じ、NMDAR-PSD95-Fyn-Tau 複合体を形成する。この複合体の形成によりタウのリン酸化酵素である GSK3β や CDK5 の活性化をもたらす。これによりタウはよりリン酸化が促進する。タウのリン酸化は微小管を不安定化し細胞内輸送を障害する。さらに細胞内 Ca²⁺ の過剰な流入や酸化物質である NO を増加させる。これらの障害はミトコンドリアの機能障害を誘導する。アルツハイマー病ではアミロイドとタウの病態が 2 つの重要な病態であるがこれを結びつける機序は解明されていないが、eNMDAR の活性化はこの 2 つの病態機序と神経毒性発揮に関与している可能性がある。

NMDAR を介したグルタミン酸神経毒性は増強する (Ittner et al., 2010). タウは Fyn を樹状突起に輸送する役割を演じ、NMDAR-PSD95-Fyn-Tau 複合体を形成する。この複合体の形成が $A\beta$ による神経毒性発揮に重要である。タウの発現抑制により $A\beta$ による神経毒性発揮が抑制されるのはこの複合体形成が抑制されるためであると考えられる。また同様に Fyn の抑制でも $A\beta$ 誘導の神経障害を抑制する (Chin et al., 2004; Um et al., 2012). 通常タウ蛋白は大半が微小管と結合し軸索上にあり、樹上突起にはあまり存在しないとされるが、タウがリン酸化を受けると微小管との結合性が低下し微小管非結合タウが増加すると考えられ、軸索から樹状突起への移動が可能になる。タウリン酸化は AD での重要な病態機序の一つとされるが、この過程の進展にタウの樹状突起への移動が関連している可能性がある。この複合体形成により樹状突起のタウは NMDAR の刺激により GSK3 β の活性化が生じ、タウのリン酸化がさらに促進する (Mondragon-Rodriguez et al., 2012). 興味深いことにこの GSK3 β の活性化自体にタウが関与していることが知られている。タウの発現を抑制するとアミロイド添加による GSK3 β の活性化は抑制される (Vossel et al., 2015). つまり GSK3 β の活性化に関しても、この NMDAR を含んだこの複合体形成が重要な役割を演じていると考えられる。この複合体は PSD95 との結合が必要であり、PSD95 はその名の通りシナプス後肥厚 (postsynaptic density; PSD) の構成蛋白であり、当然シナプス上に豊富であることから、これらの現象はシナプス上の現象と想定され論じられているが、eNMDAR も PSD95 と結合していることが知られており (Petralia et al., 2010), またこの NMDAR-PSD95-Fyn-Tau 複合体の NMDAR が GluN2B サブユニットで構成されている (Martel et al., 2012) ことから GluN2B がその構成の主体である eNMDAR においてこの複合体が形成され、アミロイドによる神経毒性が誘導される可能性が推定される (図 3). 今まで述べてきた $A\beta$ 誘導の神経毒性と eNMDAR の関連をふまえて考えると、この複合体形成は eNMDAR 主体に起きている現象と考えた方が合理的で

あろう。ウイルスベクターを用いて培養ラット神経細胞過剰にタウ蛋白を発現させると約 6 割に神経細胞死が生じたが、NMDA 拮抗薬を投与することで細胞死は抑制された。一方 AMPA やカニン酸受容体拮抗薬では細胞死は抑制されなかった。この細胞死抑制効果は GluN2B 選択的阻害薬 ifenprodil でも観察され、また ERK 欠損細胞でも細胞死は抑制された (Amadoro et al., 2006). 多くの eNMDAR が GluN2B を含み、eNMDAR の活性化が ERK1/2 のリン酸化を抑制することにより、CREB の抑制をもたらす。このことからこれらの現象が eNMDAR の活性化による一連の現象と推定される (Amadoro et al., 2006). 同様に、ウイルスベクターを用いタウを過剰発現させた培養神経細胞を、薬理的に sNMDAR をブロックし NMDA を添加すると、細胞死が誘導され、ERK のリン酸化抑制 (eNMDAR 刺激で観察される現象) が観察された。逆に薬理的に eNMDAR をブロックし NMDA を添加、sNMDAR を選択的に刺激しても細胞死は誘導されなかった (Tackenberg et al., 2013). つまりタウの過剰発現による神経細胞死は eNMDAR 誘導性と考えられた。つまりタウ過剰発現による微小管非結合タウ蛋白の増加が eNMDAR-PSD95-Fyn-Tau 複合体形成を誘導し、神経毒性を発揮したと推定される。この実験モデルで実証されたようなタウ発現量の増加は AD においては確認されていない。しかし、アミロイドによりタウのリン酸化が誘導され、その結果、微小管非結合タウ蛋白の増加し、上述のタウ過剰発現と同様の現象が生じている可能性がある。培養神経細胞に $A\beta$ オリゴマーを添加すると樹状突起にタウ蛋白が移動する現象がみられたが (Frändemiché et al., 2014), タウにリン酸化が生じないような変異を加えるとこの現象がみられなくなることから、 $A\beta$ により誘導されるタウのリン酸化が重要な樹状突起へのタウ移動の初期ステップと考えられる (Frändemiché et al., 2014). 上述した eNMDAR を介したタウのリン酸化がごく初期のステップなのか、それ以外のタウリン酸化誘導機序が存在するののかに関しては不明である。

タウのリン酸化に関しては、上述した GSK3 β の

他に CDK5 も主要な tau kinase の一つとされている。この CDK5 も eNMDAR 刺激で活性化されることが知られている。A β 添加により eNMDAR を刺激すると神経細胞内に Ca²⁺ の流入が生じるが、同時に NO の増加が観察される (Talanta et al., 2013)。NO は強力なフリーラジカルであり、様々なタンパクをニトロ化し、神経変性に関与しているといわれている (Qu et al., 2011)。細胞内の NO の増加により CDK5 はニトロ化を受け活性化する (Talanta et al., 2013)、このニトロ化 CDK5 は AD 脳で増加していることが確認されている (Qu et al., 2011)。このほかの tau kinase として p38MAPK が eNMDAR 刺激により活性化することが知られている (Li et al., 2011)。このように様々な機序により eNMDAR 刺激はタウのリン酸化を促進する方向に作用すると考えられる。さらに eNMDAR の刺激は calpain を活性化し、この活性化によりタウ蛋白が N 端で切断され毒性の高い断片が生じるとされる (Amadoro et al., 2006)。

6. アルツハイマー病における eNMDAR 仮説

今まで述べてきたように、eNMDAR はアミロイド異常、タウ異常の両者に深く関与している。AD において最も有力な仮説、アミロイド仮説において最大の問題は 2 つの主要な病態であるアミロイドとタウの異常を結びつける機序が不明確なことである。これまで述べてきたように AD で生じる eNMDAR の活性化はこの 2 つの病態機序を結びつける役割を演じている可能性がある (図 3)。A β オリゴマーによる eNMDAR 活性化はさらに病的アミロイド産生を増加させることによる A β の病的サイクルを形成し、さらに PrP^C との結合により eNMDAR との複合体を構成する Fyn を活性化させる。これにより生じる eNMDAR の活性化はタウのリン酸化を起点とした、タウの微小管結合能の低下、タウの分布の変化、微小管の不安定化を増強する。一方、A β オリゴマーはタウのリン酸化を誘導することが知られており、このリン酸化により、微小管結合能が低下し、微小管から遊離する。この遊離タウ蛋白

は樹状突起に移動する過程で Fyn との結合し、eNMDAR 複合体を形成し、活性化を誘導する。この複合体形成には PSD-95 との結合が必要で、膜状に固定される。またこれにより生じる eNMDAR の活性化は再び GSK3 β や CDK5 などの tau kinase を活性化しタウのリン酸化をより増強する。微小管を安定化しているタウがリン酸化により減少することで不安定化し細胞内輸送システムに障害をもたらす。遊離したリン酸化タウはタウ同士の重合、不溶化のプロセスを進行させる。このアミロイド病理とタウ病理に関連する 2 つの病的サイクルにより eNMDAR はさらに活性化、Ca²⁺ の過剰流入、酸化ストレスの増大を介しミトコンドリア機能異常を誘導し、最終的に神経細胞死をもたらす (図 3)。eNMDAR の活性化を介在ポイントとして 2 つの病理が交差する。

他の疾患、たとえばハンチントン病 (Okamoto et al., 2009; Levine et al., 2010)、脳卒中 (Lai et al., 2014)、てんかん (Meldrum, 1994) などにおいて eNMDAR 活性化が病態に関与していることが指摘されており、実験的に eNMDAR 拮抗薬であるメマンチンによるこれらの疾患における病態改善効果が報告されている。特にハンチントン病に関しては変異ハンチンチン (mutant huntingtin) が eNMDAR の活性化とその活性化を介した神経毒性発揮に密接な役割を演じていることが判明している (Levine et al., 2010)。A β オリゴマーが PrP^C と結合し、eNMDAR を刺激し、活性化することはすでに述べた (Chen et al., 2010)。PrP^C を発現させた培養細胞に β -sheet 構造をもつ PrP^{Sc} (Sc, scrapie) や A β オリゴマーを添加するとアポトーシスが誘導されるが、事前にメマンチンを添加することによりこの両者によるアポトーシスが抑制された (Resenberger et al., 2011)。つまり PrP^C と PrP^{Sc} あるいは A β オリゴマーの結合が eNMDAR 活性化をもたらす。最終的にアポトーシスを誘導したと考えられる。興味深いことにこれと同様のアポトーシス誘導現象が β -sheet 構造をもつペプチドを人工的に合成し、これを添加することでも観察された (Resenberger et al., 2011)。このことから、 β -sheet 構造により誘導される細胞

死の共通の病態として eNMDAR の活性化が関与している可能性が推定される。多くの神経変性疾患が β -sheet 構造を持つ異常蛋白の蓄積と関連していることから、広範な神経変性疾患において eNMDAR を介した共通の神経毒性機序生じている可能性もある。

7. eNMDAR 拮抗薬としてのメマンチン

メマンチンは明瞭な電位依存性をもつ非競合的 NMDAR 拮抗薬で中等度及び高度アルツハイマー型認知症を適応とする薬剤で、すでに広く用いられている治療薬である。いままでメマンチンの薬理作用は、電位存性の NMDAR 拮抗作用により病的な状態での NMDAR を介した持続的な Ca^{2+} の神経細胞内流入を防ぐことにより、いわゆるバックグラウンドノイズを減少させさらに Ca^{2+} による神経毒性を予防することで神経保護作用を示すとされてきた (Parsons & Gilling, 2007)。しかし、メマンチンが eNMDAR の選択的拮抗作用をもつことが明らかになってきたことから、この観点からのメマンチンの薬効の再検討が必要である。

7.1. メマンチンの eNMDAR 拮抗薬作用

現時点で eNMDAR 選択的拮抗薬として知られているものとしては、メマンチンとその誘導体であるニトロメマンチンの 2 種類だけであり、臨床的にはメマンチンのみが使用可能である。Bresink ら (Bresink et al., 1996) は人工的に合成した GluN1/N2A, GluN1/N2B, GluN1/N2D の 3 種類のサブユニットの組み合わせを HEK293 培養細胞に発現させ、さまざまな電位におけるメマンチンの阻害作用を検討した。この検討結果ではサブユニットによるメマンチンの阻害作用の差はほとんどみられなかった。つまりメマンチンは eNMDAR の主要構成サブユニットとされる GluN2B を選択的に阻害することによる eNMDAR 阻害とは異なる機序での阻害作用を示すと考えられる。単神経細胞をグリア細胞とともに培養し、パッチクランプにより活動電流を測定した研究では $1 \mu\text{M}$ の低濃度のメマンチンの eNMDAR 阻害作用は sNMDAR 阻害作用に比べ約 2 倍強いこ

とが示された。しかしそれぞれの阻害作用をみると $1 \mu\text{M}$ のメマンチンでは sNMDAR に対しては約 25% の阻害作用、一方 eNMDAR に対しては約 50% の阻害作用を示し、 $10 \mu\text{M}$ ではそれぞれ約 40% と約 65% の阻害作用であった。濃度の上昇により eNMDAR 阻害作用は強まるもののその選択性は低下していた (Xia et al., 2010)。この結果からはメマンチンは相対的な選択的 eNMDAR 拮抗薬と考えるべきであり、またその阻害作用は部分的なものと考えられる (図 4)。

GluN2B 選択的阻害薬も eNMDAR 阻害薬としての作用を示す可能性が高い。相対的 GluN2B 選択的阻害薬として実用的な薬剤としてはイフェンプロジル酒石酸塩 (ifenprodil) が知られている。イフェンプロジル酒石酸塩はセロクラール™ として「脳卒中後遺症に伴うめまいの改善」に適応を持つ薬剤である。しかし、現時点ではイフェンプロジル酒石酸塩の AD に対する臨床的効果の報告はわれわれが調べた範囲では確認できない。

今まで述べてきた AD を想定した eNMDAR 基礎的研究結果のなかでメマンチンが $\text{A}\beta$ による eNMDAR の活性化を抑制し、LTP 阻害や神経細胞死誘導を抑制することを示してきた。しかし、このような薬理作用が、臨床で用いられているメマンチンの使用量で人の生体内で生じるのであろうか。この疑問を考える上で、現在の通常メマンチン使用量での生体内濃度を知る必要がある。通常メマンチン使用量 20 mg/日投与 では血漿中濃度は投与開始 4 週でほぼ安定し、ほぼ 120 ng/ml で安定することが知られている ($n = 10$)。髄液中の濃度は血漿中濃度の比較では約 0.72 倍で、平均濃度は 74 ng/ml であった ($n = 9$) (メマンチン承認資料)。メマンチンの分子量は 179.3 であり、換算すると髄液中の濃度は約 $0.4 \mu\text{M}$ である。脳内の濃度に関する人のデータは存在しないが、腹腔内の 1 回投与によるラットあるいはマウスにおける検討では脳のメマンチン濃度は血漿中濃度の 10~40 倍であったとの報告があり (Wesemann et al., 1982; Saab & Roder, 2011)、脳内において $\sim 20 \mu\text{M}$ レベルまで上昇している可能性もある。しかし、ラットにおけるメマンチンの半

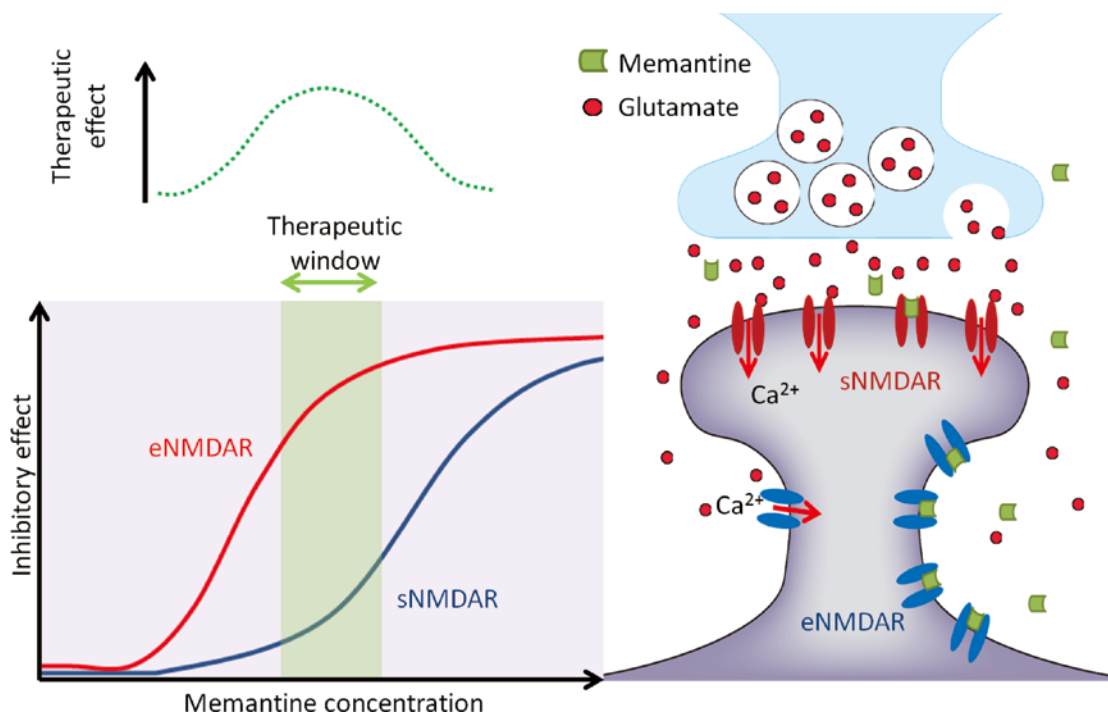


図4. メマンチンの濃度と臨床効果の関係

アルツハイマー病においてはシナプス外のグルタミン酸濃度の上昇とシナプス外 NMDAR (eNMDAR) の活性化を生じ、一方シナプス NMDAR (sNMDAR) はその活性が減弱すると考えられる。メマンチンは eNMDAR に相対的な選択性を持って阻害することにより伝導の改善、神経保護作用を示すと考えられる (右)。しかし高濃度では sNMDAR 阻害作用も示してくる (左)。このため、メマンチンの臨床効果は適度に eNMDAR を阻害し、sNMDAR 阻害が軽い状態で最も強いと考えられ、全体としては薬剤濃度と臨床効果は釣り鐘型を示すと推定される (左)。

減期がヒトに比べ非常に短いことを考慮すると (ヒト, ~70 時間; ラット, ~3 時間) (Spanagel et al., 1994), ラットにおける 1 回投与 T_{max} はヒト慢性経口投与の場合に比べ非常に高くなると考えられ、ヒトの脳内濃度はこれに比較しかなり低いものと推定される。基礎的実験においては eNMDAR の阻害作用は少なくとも $1 \mu\text{M}$ では確認されており、いずれにせよ通常の使用量で脳内の濃度が eNMDAR 作用を発揮する濃度に達している可能性は高いと推定される。一部の患者で眠気などが出現するのは想定以上に脳内のメマンチン濃度が高くなり、AD において減少していると考えられる sNMDAR がさらに部分的に伝達阻害されるためなのかもしれない。ラットに持続的に osmotic pump でメマンチンを投与し血漿濃度と記憶障害を検討した実験では中等度濃度 ($5.07 \pm 0.68 \mu\text{M}$) と高濃度 ($11.68 \pm 0.9 \mu\text{M}$) では認知機能に悪影響が見られた。一方、低濃度 (1.03

$\pm 0.08 \mu\text{M}$) では認知機能に影響はなかった。この低濃度での NMDAR の阻害作用は約 30% であった。培養細胞を用いた同程度の濃度での実験の sNMDAR 阻害作用と同程度の阻害作用を示した (More et al., 2008)。この点ではもし脳内濃度が血漿濃度の ~40 倍に達しているとすればより強い NMDAR 阻害作用を生じていても良いと考えられるが、そのような強い sNMDAR 阻害作用は確認されなかった (More et al., 2008)。いずれにせよ $1 \mu\text{M}$ 程度の血漿濃度では正常状態の認知機能に大きな影響は生じないと推定される。海馬切片に $A\beta$ を添加するとシナプス伝導障害が生じるが、この伝導障害は低濃度 ($1 \mu\text{M}$) のメマンチンにより改善したが、高濃度 ($10 \mu\text{M}$) では逆にその効果が消失したことから (Nimmrich et al., 2010), AD においても高濃度のメマンチンは sNMDAR 阻害作用がでてしまい、本来の伝導改善効果が消失するような釣り鐘型の濃度と

伝導改善効果の関係を示す可能性がある (図 4)。これらのことから臨床的に副作用としての認知機能の低下などを起こさないでメマンチンの有効作用を発揮させるのは血漿レベルで $\sim 1 \mu\text{M}$ レベルが安全と想定され、現在の使用量は適切と推定される。ラットの検討では雌高齢ラットは雄若年ラットに比べ同量のメマンチン投与で血漿濃度が約 2 倍になっており (More et al., 2008)、また併用薬によっては脳内濃度が $\sim 1/2$ に低下する可能性も指摘されており (Mehta et al., 2013)、いままで指摘されていた体重や腎機能による濃度の変動だけではなく、性や年齢、併用薬により脳内の濃度が大きく変動する可能性は否定できない。基本的にメマンチンは比較的軽篤な副作用は少ないが、治療効果を発揮し、副作用がない、適切な脳内濃度は個々の患者により異なる可能性があることは治療上考慮すべき点である。

臨床的にメマンチンは中等度から高度の AD の認知機能に改善効果があることが知られている。はたして、この臨床的な事実と eNMDAR 拮抗作用に関連があるのだろうか。AD における eNMDAR の活性化の時期と病状の関連に興味を持たれる。

7.2. メマンチンの神経毒性抑制作用

メマンチンの eNMDAR 抑制作用による神経保護的作用に関しては、eNMDAR の病的状態における作用に関する部分で、特に培養神経細胞を用いた *in vitro* 研究に関して述べてきたので、ここではおもにトランスジェニックマウスを用いた *in vivo* と一部 *ex vivo* の研究を整理してメマンチンの作用を明らかにする。

7.2.1. *in vivo* 研究における $\text{A}\beta$ 毒性に対するメマンチンの効果

培養神経細胞を用いた実験で eNMDAR の活性化が $\text{A}\beta$ の産生を増加させ、メマンチンがそれを抑制する効果が確認されているが (Bordji et al., 2010)、 $\text{A}\beta$ 産生モデルマウスで同様の現象が起こるかどうかを APPswe/PS1 トランスジェニックマウスにメマンチン 20 mg/kg/day を経口で投与することで検討された。この投与量でのメマンチンの血漿濃度は約 $1 \mu\text{M}$ であり、培養細胞での実験でメマンチンが eNMDAR 阻害作用と示す濃度に十分達していると

考えられた。投与開始 8 日後、脳の $\text{A}\beta$ を測定すると $\text{A}\beta_{1-40}$ には変化がなかったが、 $\text{A}\beta_{1-42}$ は有意に低下した (Alley et al., 2010)。メマンチンにより $\text{A}\beta_{1-42}$ 産生抑制効果が高かったことは、eNMDAR 活性化により $\text{A}\beta_{1-42}$ の産生増加作用が生じ、それが低濃度のメマンチンで抑制されるという培養細胞での観察と対応する。このことは APPswe/PS1 トランスジェニックマウスにおいて eNMDAR が活性化し $\text{A}\beta_{1-42}$ 産生を亢進させる病態が存在することを示唆しており、アミロイドモデルマウスにおけるアミロイドと eNMDAR が形成する病的なアミロイドサイクルの存在を示していると考えられる。さらにこのサイクルがメマンチンにより抑制することができる可能性を示している。Martinez-Coria ら (Martinez-Coria et al., 2010) はアミロイド病理とタウ病理の両者を再現する 3×Tg-AD マウス (APPswe/TAU_{P301L}/PS1_{M146V}) を用い、異なる月齢、6 ヶ月、9 ヶ月、12 ヶ月齢からそれぞれ 3 ヶ月間メマンチンを 30 mg/kg/day を投与し、行動生理学的、生化学的、病理学的に詳細な検討を行った。Morris water maze 試験で認知機能を見ると、3×Tg-AD マウスは各月齢においても野生型マウスに比べ低かったが、6 ヶ月齢から 3 ヶ月間メマンチンを投与した 9 ヶ月齢モデルマウスではほぼ同月齢の野生型マウスと同等の認知機能まで改善していた。同様に 12 ヶ月齢、18 ヶ月齢モデルマウスでも有意な改善は認められたが、その効果は月齢が上がると少なくなる傾向があり、神経変性が進んでしまうとメマンチンの効果は減弱してしまうと考えられた。現在、ヒトにおいてはメマンチンの適応は中から高度の AD となっているが、もしメマンチンに病態進行抑制効果があるとするならば、より早期の神経変性の軽い時期の治療に効果が期待される。3×Tg-AD マウスに対するメマンチンの病理学的効果を見ると、リン酸化タウ陽性神経細胞が海馬領域で明らかに減少し、アミロイド病理も同様に減少していた。生化学的分析ではメマンチン投与により 18 ヶ月齢の高齢モデルマウスでは不溶性の $\text{A}\beta_{1-42}$ が減少していたが可溶性の $\text{A}\beta_{1-42}$ は増加していた。これはメマンチンがアミロイドの不溶化を抑制したと考えられた。また同様に $\text{A}\beta$ オ

リゴマーの産生抑制も確認された。これら一連の現象はメマンチンの eNMDAR 抑制作用による eNMDAR を中心とした AD の神経毒性発揮メカニズム (図 3) の制御と推定される。さらに Talantova ら (Talantova et al., 2013) は同じ 3×Tg-AD マウスを用いメマンチンとニトロメマンチンを投与し, synaptophysin 抗体と MAP2 抗体を用いた免疫染色によりそれぞれシナプスと神経細胞の変性を評価した。その結果, 両薬剤ともシナプスと神経変性の抑制効果が確認された。彼らはさらに異常アミロイド産生マウスである hAPP-J20 の海馬切片を用い, パッチクランプによるホールセル法 (whole-cell recording) でメマンチンの作用を検討した。前述したが, 正常の野生型マウスでは観察されない比較的大きなグルタミン酸由来の基礎電流がこのマウスで認められ, メマンチンの添加でほぼ正常レベルに低下した。また CA1 神経細胞からの微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) を記録すると, hAPP-J20 マウスにおいて発火頻度が低下していたが, 10 μ M のメマンチンで海馬スライスを貫流すると 30 分という短時間で, 発火頻度の改善が認められ, メマンチンによりシナプス機能が改善されたことが確認された。この現象はいままでいわゆる「シナプティックノイズ」としてシナプスでの NMDAR の過剰活動で説明されていた伝導障害現象に対応すると考えられ, (Danysz et al., 2000; Danysz & Parsons, 2003), これらの現象が eNMDAR 由来であったことを示す結果であり, またこの現象がメマンチンで抑制されることの説明にもなる。

7.2.2. メマンチンのアルツハイマー病の進行抑制効果

メマンチンは eNMDAR 阻害作用を通常使用量において発揮している推定されることから, 長期的に AD の進行抑制効果が期待される。臨床的にそのような効果が得られているかを検討するには治験で行われたような数ヶ月単位の臨床研究では判断できない。長期使用の自然経過の観察研究 (>2 年) ではメマンチン単剤の研究は見当たらないが, コリンエステラーゼ阻害薬との併用の検討はいくつかみられる。それらの結果ではメマンチンを追加することに

よりコリンエステラーゼ単剤よりも機能低下が抑制され (Atri et al., 2008), またナーシングホームへの入所が遅くなる (Lopez et al., 2009) ことが報告されている。最近, 国内のメマンチン併合解析により長期の効果に関して一部が明らかになった。2002 年から 2011 年に行われた 7 試験, 702 名の統合解析では MMSE でその低下速度は CERAD 試験での自然経過に比較して遅く, またその差は継時的に拡大していくと報告されている (Kitamura et al., 2014)。画像的に MRI の検討で, 1 年の観察で右の海馬の萎縮が抑制されたという報告がある (Weiner et al., 2011)。これらのことから臨床的にもメマンチンが AD の進行抑制効果をもつ可能性が示唆される。

8. おわりに

これまで述べてきた基礎研究を主体とした eNMDAR の機能と病態意義に関しての問題点を最後に挙げたい。これらの研究ではおもに薬理学的手法を用いて sNMDAR をブロックする手法やあるいは eNMDAR (相対的) 選択的刺激薬または拮抗薬を用いた研究である。eNMDAR の多くはサブユニットとして GluN2B を持っている。そのため GluN2B の選択的刺激や阻害は結果として相対的に eNMDAR の選択的刺激あるいは阻害ということになり, また逆に eNMDAR の選択的刺激あるいは阻害は相対的に GluN2B の選択的刺激あるいは阻害となりうる。結果的に eNMDAR 生理的あるいは病的な作用は, GluN2B の研究と類似の結果を示すことが多い。そのためこれらの研究での結果の解釈は慎重にする必要がある。またこれらの研究で用いられている実験手法の選択的な刺激や阻害がどの程度の選択性を持っているかに関して多くの場合十分検討されていない。2つの仮説, サブユニット仮説, GluN2A と GluN2B の機能の差が, GluN2A は神経保護的に GluN2B は神経毒性的に作用するという GluN2A/GluN2B 仮説と, 今回われわれが述べてきた NMDAR の分布によりその機能が異なるとする分布仮説, sNMDAR が神経保護的に, eNMDAR が神経

毒性的に作用するという eNMDAR/eNMDAR 仮説を完全に分離して検討することがこれらの実験結果からはできない。今回の論文では分布仮説つまり eNMDAR/eNMDAR 仮説という視点から数々の実験結果を論じてきたが、現時点でのデータの実態は GluN2A \approx sNMDAR vs. GluN2B \approx eNMDAR 仮説とでもいうような結果であり、サブユニット構成に基づく機能相違と分布様式に基づく機能相違の両者の異同に関して決定的な結論は出ていない。また、このような単純化した仮説では十分説明できない現象や実験結果も報告されている。たとえば神経細胞の興奮毒性には今まで述べてきたのとは逆に GluN2A あるいは sNMDAR が関与しているという指摘もある (Papouin et al., 2012 ; Wroge et al., 2012 ; Zhou et al., 2013)。sNMDAR と eNMDAR の分布は成長とともに変化するが、若年成長期の脳において eNMDAR は優位であっても、この時期の神経細胞はグルタミン酸に対する耐性が高いことが知られている (Hardingham & Bading, 2002 ; Friedman & Segal, 2010)。神経節細胞 (retinal ganglion cells) は目の網膜の内側面にある神経細胞で、中間ニューロン (双極細胞やアマクリン細胞) を介して視細胞からの情報を受け取り、網膜の視覚情報を視床、視床下部、中脳へ伝達する非常に長い軸索を持つ。この網膜神経節細胞には sNMDAR が存在せず、eNMDAR により NMDA 誘発電流が生じる。しかし、そのことによる細胞死は誘導されない (Chen & Diamond, 2002 ; Ullian et al., 2004)。このほか重要な考慮すべき点としては NMDAR のサブユニット構成として GluN1/GluN2A/GluN2B の存在である (Tovar et al., 2013)。現時点でこのタイプの NMDAR の機能解明は出来ていない。

また今回、メマンチンを AD の臨床的治療薬という視点ではなく選択的 eNMDAR 拮抗薬としてのメマンチンの作用について多く述べてきた。多くの実験的研究でメマンチンが神経保護作用を示し、その機序として選択的 eNMDAR 拮抗薬作用が強調されているが、その選択性は決して高いものではなく、一方メマンチンの神経保護作用は eNMDAR の阻害作用の選択性とは関連がない可能性も指摘されてい

る (Wroge et al., 2012 ; Emmett et al., 2013)。

現在、AD だけではなく脳虚血やハンチントン病、頭部外傷、てんかんでも eNMDAR の関与が指摘されており広く神経細胞障害を起こす共通の機序としての NMDAR の関与が推定されている (Parsons & Raymond, 2014)。今後 NMDAR の生理、病的機能の解明、さらに治療ターゲットとして eNMDAR あるいは GluN2B の阻害薬の開発が期待される。

文 献

- Alley GM, Bailey JA, Chen D, Ray B, Puli LK, Tanila H, Banerjee PK, Lahiri DK (2010) Memantine lowers amyloid-beta peptide levels in neuronal cultures and in APP/PS1 transgenic mice. *J Neurosci Res* 88 : 143-154
- Amadoro G, Ciotti MT, Costanzi M, Cestari V, Calissano P, Canu N (2006) NMDA receptor mediates tau-induced neurotoxicity by calpain and ERK/MAPK activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103 : 2892-2897
- Angulo MC, Kozlov AS, Charpak S, Audinat E (2004) Glutamate released from glial cells synchronizes neuronal activity in the hippocampus. *J Neurosci* 24 : 6920-6927
- Atri A, Shaughnessy LW, Locascio JJ, Growdon JH (2008) Long-term course and effectiveness of combination therapy in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 22 : 209-221
- Audrain M, Fol R, Dutar P, Potier B, Billard JM, Flament J, Alves S, Burlot MA, Dufayet-Chaffaud G, Bemelmans AP, Valette J, Hantraye P, Deglon N, Cartier N, Braudeau J (2016) Alzheimer's disease-like APP processing in wild-type mice identifies synaptic defects as initial steps of disease progression. *Mol Neurodegener* 11 : 5
- Bordji K, Becerril-Ortega J, Nicole O, Buisson A (2010) Activation of extrasynaptic, but not synaptic, NMDA receptors modifies amyloid precursor protein expression pattern and increases amyloid-ss production. *J Neurosci* 30 : 15927-15942
- Braak E, Griffing K, Arai K, Bohl J, Bratzke H, Braak H (1999) Neuropathology of Alzheimer's disease : what is new since A. Alzheimer? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 3 : 14-22
- Braak H, Del Tredici K (2011) The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathologica* 121 : 171-181

- Bresink I, Benke TA, Collett VJ, Seal AJ, Parsons CG, Henley JM, Collingridge GL (1996) Effects of memantine on recombinant rat NMDA receptors expressed in HEK 293 cells. *Br J Pharmacol* 119 : 195-204
- Chandler LJ, Sutton G, Dorairaj NR, Norwood D (2001) N-methyl D-aspartate receptor-mediated bidirectional control of extracellular signal-regulated kinase activity in cortical neuronal cultures. *J Biol Chem* 276 : 2627-2636
- Chen S, Diamond JS (2002) Synaptically released glutamate activates extrasynaptic NMDA receptors on cells in the ganglion cell layer of rat retina. *J Neurosci* 22 : 2165-2173
- Chen S, Yadav SP, Surewicz WK (2010) Interaction between human prion protein and amyloid-beta (A β) oligomers: role OF N-terminal residues. *J Biol Chem* 285 : 26377-26383
- Chin J, Palop JJ, Yu GQ, Kojima N, Masliah E, Mucke L (2004) Fyn kinase modulates synaptotoxicity, but not aberrant sprouting, in human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* 24 : 4692-4697
- Choi DW (1988) Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1 : 623-634
- Choi DW, Koh JY, Peters S (1988) Pharmacology of glutamate neurotoxicity in cortical cell culture: attenuation by NMDA antagonists. *J Neurosci* 8 : 185-196
- Cooke SF, Bliss TV (2006) Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 129 : 1659-1673
- Danzysz W, Parsons CG (2003) The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *Int J Geriatr Psychiatry* 18 : S23-32
- Danzysz W, Parsons CG, Mobius HJ, Stoffler A, Quack G (2000) Neuroprotective and symptomatological action of memantine relevant for Alzheimer's disease — a unified glutamatergic hypothesis on the mechanism of action. *Neurotox Res* 2 : 85-97
- Eckert MJ, Guevremont D, Williams JM, Abraham WC (2013) Rapid visual stimulation increases extrasynaptic glutamate receptor expression but not visual-evoked potentials in the adult rat primary visual cortex. *Eur J Neurosci* 37 : 400-406
- Emnett CM, Eisenman LN, Taylor AM, Izumi Y, Zorumski CF, Mennerick S (2013) Indistinguishable synaptic pharmacodynamics of the N-methyl-D-aspartate receptor channel blockers memantine and ketamine. *Molecular pharmacology* 84 : 935-947
- Featherstone DE, Shippey SA (2008) Regulation of synaptic transmission by ambient extracellular glutamate. *Neuroscientist* 14 : 171-181
- Frandemiche ML, De Seranno S, Rush T, Borel E, Elie A, Arnal I, Lante F, Buisson A (2014) Activity-dependent tau protein translocation to excitatory synapse is disrupted by exposure to amyloid-beta oligomers. *J Neurosci* 34 : 6084-6097
- Friedman LK, Segal M (2010) Early exposure of cultured hippocampal neurons to excitatory amino acids protects from later excitotoxicity. *Int J Dev Neurosci* 28 : 195-205
- Furukawa H, Singh SK, Mancusso R, Gouaux E (2005) Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature* 438 : 185-192
- Gracy KN, Pickel VM (1996) Ultrastructural immunocytochemical localization of the N-methyl-D-aspartate receptor and tyrosine hydroxylase in the shell of the rat nucleus accumbens. *Brain Res* 739 : 169-181
- Haass C, Mandelkow E (2010) Fyn-tau-amyloid: a toxic triad. *Cell* 142 : 356-358
- Hardingham GE, Bading H (2002) Coupling of extrasynaptic NMDA receptors to a CREB shut-off pathway is developmentally regulated. *Biochim Biophys Acta* 1600 : 148-153
- Hardingham GE, Bading H (2003) The Yin and Yang of NMDA receptor signalling. *Trends Neurosci* 26 : 81-89
- Hardingham GE, Bading H (2010) Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* 11 : 682-696
- Harris AZ, Pettit DL (2007) Extrasynaptic and synaptic NMDA receptors form stable and uniform pools in rat hippocampal slices. *J Physiol* 584 : 509-519
- Harris AZ, Pettit DL (2008) Recruiting extrasynaptic NMDA receptors augments synaptic signaling. *J Neurophysiol* 99 : 524-533
- Hoey SE, Williams RJ, Perkinson MS (2009) Synaptic NMDA receptor activation stimulates alpha-secretase amyloid precursor protein processing and inhibits amyloid-beta production. *J Neurosci* 29 : 4442-4460
- Hu NW, Klyubin I, Anwyl R, Rowan MJ (2009) GluN2B subunit-containing NMDA receptor antagonists prevent A β -mediated synaptic plasticity disruption in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106 : 20504-20509
- Ittner LM, Gotz J (2011) Amyloid-beta and tau — a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 12 : 65-72
- Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Bi M, Gladbach A, van Eersel J, Wolfing H, Chieng BC, Christie MJ, Napier IA, Eckert A,

- Staufenbiel M, Hardeman E, Gotz J (2010) Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell* 142 : 387-397
- Ivanov A, Pellegrino C, Rama S, Dumalska I, Salyha Y, Ben-Ari Y, Medina I (2006) Opposing role of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in regulation of the extracellular signal-regulated kinases (ERK) activity in cultured rat hippocampal neurons. *J Physiol* 572 : 789-798
- Jeffrey RA, Ch'ng TH, O'Dell TJ, Martin KC (2009) Activity-dependent anchoring of importin alpha at the synapse involves regulated binding to the cytoplasmic tail of the NR1-1a subunit of the NMDA receptor. *J Neurosci* 29 : 15613-15620
- Josselyn SA, Shi C, Carlezon WA, Jr., Neve RL, Nestler EJ, Davis M (2001) Long-term memory is facilitated by cAMP response element-binding protein overexpression in the amygdala. *J Neurosci* 21 : 2404-2412
- Karpova A, Mikhaylova M, Bera S, Bar J, Reddy PP, Behnisch T, Rankovic V, Spilker C, Bethge P, Sahin J, Kaushik R, Zuschratter W, Kahne T, Naumann M, Gundelfinger ED, Kreutz MR (2013) Encoding and transducing the synaptic or extrasynaptic origin of NMDA receptor signals to the nucleus. *Cell* 152 : 1119-1133
- Kashani A, Lepicard E, Poirel O, Videau C, David JP, Fallet-Bianco C, Simon A, Delacourte A, Giros B, Epelbaum J, Betancur C, El Mestikawy S (2008) Loss of VGLUT1 and VGLUT2 in the prefrontal cortex is correlated with cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 29 : 1619-1630
- Kharazia VN, Weinberg RJ (1999) Immunogold localization of AMPA and NMDA receptors in somatic sensory cortex of albino rat. *J Comp Neurol* 412 : 292-302
- Kida S (2012) A Functional Role for CREB as a Positive Regulator of Memory Formation and LTP. *Exp Neurobiol* 21 : 136-140
- Kirvell SL, Esiri M, Francis PT (2006) Down-regulation of vesicular glutamate transporters precedes cell loss and pathology in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 98 : 939-950
- Kitamura S, Nakamura Y, Homma A, Kimura N, Asami Y (2014) Tolerability and efficacy of the long-term administration of memantine hydrochloride (Memary (R)) in patients with moderate to severe Alzheimer's disease. *Nihon Ronen Igak-kai Zasshi* 51 : 74-84
- Kullmann DM, Lamsa KP (2007) Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nat Rev Neurosci* 8 : 687-699
- Lai TW, Zhang S, Wang YT (2014) Excitotoxicity and stroke : identifying novel targets for neuroprotection. *Prog Neurobiol* 115 : 157-188
- Larson M, Sherman MA, Amar F, Nuvolone M, Schneider JA, Bennett DA, Aguzzi A, Lesne SE (2012) The complex PrP (c)-Fyn couples human oligomeric Abeta with pathological tau changes in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 32 : 16857-16871a
- Lau D, Bengtson CP, Buchthal B, Bading H (2015) BDNF Reduces Toxic Extrasynaptic NMDA Receptor Signaling via Synaptic NMDA Receptors and Nuclear-Calcium-Induced Transcription of inhba/Activin A. *Cell Rep* 12 : 1353-1366
- Le Meur K, Galante M, Angulo MC, Audinat E (2007) Tonic activation of NMDA receptors by ambient glutamate of non-synaptic origin in the rat hippocampus. *J Physiol* 580 : 373-383
- Lesne S, Ali C, Gabriel C, Croci N, MacKenzie ET, Glabe CG, Plotkine M, Marchand-Verrecchia C, Vivien D, Buisson A (2005) NMDA receptor activation inhibits alpha-secretase and promotes neuronal amyloid-beta production. *J Neurosci* 25 : 9367-9377
- Levine MS, Cepeda C, Andre VM (2010) Location, location, location : contrasting roles of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in Huntington's disease. *Neuron* 65 : 145-147
- Li JH, Wang YH, Wolfe BB, Krueger KE, Corsi L, Stocca G, Vicini S (1998) Developmental changes in localization of NMDA receptor subunits in primary cultures of cortical neurons. *Eur J Neurosci* 10 : 1704-1715
- Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D (2009) Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron* 62 : 788-801
- Li S, Jin M, Koeglsperger T, Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ (2011) Soluble Abeta oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci* 31 : 6627-6638
- Lipton SA, Kater SB (1989) Neurotransmitter regulation of neuronal outgrowth, plasticity and survival. *Trends Neurosci* 12 : 265-270
- Lipton SA, Rosenberg PA (1994) Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Engl J*

- Med 330 : 613-622
- Liu DD, Yang Q, Li ST (2013) Activation of extrasynaptic NMDA receptors induces LTD in rat hippocampal CA1 neurons. *Brain Res Bull* 93 : 10-16
- Lopez OL, Becker JT, Wahed AS, Saxton J, Sweet RA, Wolk DA, Klunk W, Dekosky ST (2009) Long-term effects of the concomitant use of memantine with cholinesterase inhibition in Alzheimer disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80 : 600-607
- Martel MA, Ryan TJ, Bell KF, Fowler JH, McMahon A, Al-Mubarak B, Komiyama NH, Horsburgh K, Kind PC, Grant SG, Wyllie DJ, Hardingham GE (2012) The subtype of GluN2 C-terminal domain determines the response to excitotoxic insults. *Neuron* 74 : 543-556
- Martinez-Coria H, Green KN, Billings LM, Kitazawa M, Albrecht M, Rammes G, Parsons CG, Gupta S, Banerjee P, LaFerla FM (2010) Memantine improves cognition and reduces Alzheimer's-like neuropathology in transgenic mice. *Am J Pathol* 176 : 870-880
- Masliah E, Alford M, DeTeresa R, Mallory M, Hansen L (1996) Deficient glutamate transport is associated with neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 40 : 759-766
- Matos M, Augusto E, Oliveira CR, Agostinho P (2008) Amyloid-beta peptide decreases glutamate uptake in cultured astrocytes : involvement of oxidative stress and mitogen-activated protein kinase cascades. *Neuroscience* 156 : 898-910
- Mehta DC, Short JL, Nicolazzo JA (2013) Reduced CNS exposure of memantine in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease assessed using a novel LC-MS technique. *J Pharm Biomed Anal* 85 : 198-206
- Meldrum BS (1994) The role of glutamate in epilepsy and other CNS disorders. *Neurology* 44 : S14-23
- Mondragon-Rodriguez S, Trillaud-Doppia E, Dudilot A, Bourgeois C, Lauzon M, Leclerc N, Boehm J (2012) Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by N-methyl-D-aspartate receptor-dependent tau phosphorylation. *J Biol Chem* 287 : 32040-32053
- Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH (1994) Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12 : 529-540
- More L, Gravius A, Nagel J, Valastro B, Greco S, Danysz W (2008) Therapeutically relevant plasma concentrations of memantine produce significant L-N-methyl-D-aspartate receptor occupation and do not impair learning in rats. *Behav Pharmacol* 19 : 724-734
- Morris RG (2003) Long-term potentiation and memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358 : 643-647
- Murray ME, Lowe VJ, Graff-Radford NR, Liesinger AM, Cannon A, Przybelski SA, Rawal B, Parisi JE, Petersen RC, Kantarci K, Ross OA, Duara R, Knopman DS, Jack CR, Jr, Dickson DW (2015) Clinicopathologic and 11C-Pittsburgh compound B implications of Thal amyloid phase across the Alzheimer's disease spectrum. *Brain*
- Nicoll AJ, Panico S, Freir DB, Wright D, Terry C, Risse E, Heron CE, O'Malley T, Wadsworth JD, Farrow MA, Walsh DM, Saibil HR, Collinge J (2013) Amyloid-beta nanotubes are associated with prion protein-dependent synaptotoxicity. *Nat Commun* 4 : 2416
- Nimmrich V, Reymann KG, Strassburger M, Schoder UH, Gross G, Hahn A, Schoemaker H, Wicke K, Moller A (2010) Inhibition of calpain prevents NMDA-induced cell death and beta-amyloid-induced synaptic dysfunction in hippocampal slice cultures. *Br J Pharmacol* 159 : 1523-1531
- Okamoto S, Pouladi MA, Talantova M, Yao D, Xia P, Ehrnhoefer DE, Zaidi R, Clemente A, Kaul M, Graham RK, Zhang D, Vincent Chen HS, Tong G, Hayden MR, Lipton SA (2009) Balance between synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor activity influences inclusions and neurotoxicity of mutant huntingtin. *Nat Med* 15 : 1407-1413
- Papouin T, Ladepeche L, Ruel J, Sacchi S, Labasque M, Hanini M, Groc L, Pollegioni L, Mothet JP, Oliet SH (2012) Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors are gated by different endogenous coagonists. *Cell* 150 : 633-646
- Parsons CG, Gilling K (2007) Memantine as an example of a fast, voltage-dependent, open channel N-methyl-D-aspartate receptor blocker. *Methods Mol Biol* 403 : 15-36
- Parsons MP, Raymond LA (2014) Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. *Neuron* 82 : 279-293
- Peixoto L, Abel T (2013) The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* 38 : 62-76
- Petralia RS, Wang YX, Hua F, Yi Z, Zhou A, Ge L, Stephenson FA, Wenthold RJ (2010) Organization of NMDA receptors at extrasynaptic locations. *Neuroscience* 167 : 68-87
- Pirttimaki TM, Codadu NK, Awni A, Pratik P, Nagel DA, Hill EJ, Dineley KT, Parri HR (2013) alpha7 Nicotinic receptor-mediated astrocytic gliotransmitter release : Abeta effects in

- a preclinical Alzheimer's mouse model. *PLoS One* 8 : e81828
- Qu J, Nakamura T, Cao G, Holland EA, McKercher SR, Lipton SA (2011) S-Nitrosylation activates Cdk5 and contributes to synaptic spine loss induced by beta-amyloid peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 : 14330-14335
- Rapoport M, Dawson HN, Binder LI, Vitek MP, Ferreira A (2002) Tau is essential to beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 : 6364-6369
- Rauner C, Kohr G (2011) Triheteromeric NR1/NR2A/NR2B receptors constitute the major N-methyl-D-aspartate receptor population in adult hippocampal synapses. *J Biol Chem* 286 : 7558-7566
- Resenberger UK, Harmeier A, Woerner AC, Goodman JL, Muller V, Krishnan R, Vabulas RM, Kretschmar HA, Lindquist S, Hartl FU, Multhaup G, Winklhofer KF, Tatzelt J (2011) The cellular prion protein mediates neurotoxic signalling of beta-sheet-rich conformers independent of prion replication. *EMBO J* 30 : 2057-2070
- Revett TJ, Baker GB, Jhamandas J, Kar S (2013) Glutamate system, amyloid ss peptides and tau protein : functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J Psychiatry Neurosci* 38 : 6-23
- Roberson ED, Halabisky B, Yoo JW, Yao J, Chin J, Yan F, Wu T, Hamto P, Devidze N, Yu GQ, Palop JJ, Noebels JL, Mucke L (2011) Amyloid-beta/Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 31 : 700-711
- Roberson ED, Scarce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, Gerstein H, Yu GQ, Mucke L (2007) Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science* 316 : 750-754
- Robinson SR (2001) Changes in the cellular distribution of glutamine synthetase in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 66 : 972-980
- Rosenmund C, Feltz A, Westbrook GL (1995) Synaptic NMDA receptor channels have a low open probability. *J Neurosci* 15 : 2788-2795
- Saab BJ, Roder JC (2011) Acute pharmacokinetics of memantine in the mouse. *Pharmacology* 88 : 284-287
- Saura CA, Valero J (2011) The role of CREB signaling in Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Rev Neurosci* 22 : 153-169
- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci* 8 : 1051-1058
- Spanagel R, Eilbacher B, Wilke R (1994) Memantine-induced dopamine release in the prefrontal cortex and striatum of the rat — a pharmacokinetic microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 262 : 21-26
- Tackenberg C, Grinschgl S, Trutzel A, Santuccione AC, Frey MC, Konietzko U, Grimm J, Brandt R, Nitsch RM (2013) NMDA receptor subunit composition determines beta-amyloid-induced neurodegeneration and synaptic loss. *Cell death & disease* 4 : e608
- Talantova M, Sanz-Blasco S, Zhang X, Xia P, Akhtar MW, Okamoto S, Dziewczapolski G, Nakamura T, Cao G, Pratt AE, Kang YJ, Tu S, Molokanova E, McKercher SR, Hires SA, Sason H, Stouffer DG, Buczynski MW, Solomon JP, Michael S, Powers ET, Kelly JW, Roberts A, Tong G, Fang-Newmeyer T, Parker J, Holland EA, Zhang D, Nakanishi N, Chen HS, Wolosker H, Wang Y, Parsons LH, Ambasadhan R, Masliah E, Heinemann SF, Pina-Crespo JC, Lipton SA (2013) Abeta induces astrocytic glutamate release, extrasynaptic NMDA receptor activation, and synaptic loss. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110 : E2518-2527
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease : synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 30 : 572-580
- Thomas CG, Miller AJ, Westbrook GL (2006) Synaptic and extrasynaptic NMDA receptor NR2 subunits in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 95 : 1727-1734
- Tovar KR, McGinley MJ, Westbrook GL (2013) Triheteromeric NMDA receptors at hippocampal synapses. *J Neurosci* 33 : 9150-9160
- Tovar KR, Westbrook GL (1999) The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. *J Neurosci* 19 : 4180-4188
- Tovar KR, Westbrook GL (2002) Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses. *Neuron* 34 : 255-264
- Tubon TC, Jr., Zhang J, Friedman EL, Jin H, Gonzales ED, Zhou H, Drier D, Gerstner JR, Paulson EA, Fropp R, Yin JC (2013) dCREB2-mediated enhancement of memory formation. *J Neurosci* 33 : 7475-7487
- Ullian EM, Barkis WB, Chen S, Diamond JS, Barres BA (2004) Invulnerability of retinal ganglion cells to NMDA excitotoxicity. *Mol Cell Neurosci* 26 : 544-557
- Um JW, Nygaard HB, Heiss JK, Kostylev MA, Stagi M, Vort-

- meyer A, Wisniewski T, Gunther EC, Strittmatter SM (2012) Alzheimer amyloid-beta oligomer bound to postsynaptic prion protein activates Fyn to impair neurons. *Nat Neurosci* 15 : 1227-1235
- Valtschanoff JG, Burette A, Wenthold RJ, Weinberg RJ (1999) Expression of NR2 receptor subunit in rat somatic sensory cortex : synaptic distribution and colocalization with NR1 and PSD-95. *J Comp Neurol* 410 : 599-611
- Venkitaramani DV, Chin J, Netzer WJ, Gouras GK, Lesne S, Malinow R, Lombroso PJ (2007) Beta-amyloid modulation of synaptic transmission and plasticity. *J Neurosci* 27 : 11832-11837
- Vossel KA, Xu JC, Fomenko V, Miyamoto T, Suberbielle E, Knox JA, Ho K, Kim DH, Yu GQ, Mucke L (2015) Tau reduction prevents Abeta-induced axonal transport deficits by blocking activation of GSK3beta. *J Cell Biol* 209 : 419-433
- Wang HY, Lee DH, Davis CB, Shank RP (2000) Amyloid peptide Abeta (1-42) binds selectively and with picomolar affinity to alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem* 75 : 1155-1161
- Weiner MW, Sadowsky C, Saxton J, Hofbauer RK, Graham SM, Yu SY, Li S, Hsu HA, Suhy J, Fridman M, Perhach JL (2011) Magnetic resonance imaging and neuropsychological results from a trial of memantine in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7 : 425-435
- Wesemann W, Schollmeyer JD, Sturm G (1982) Distribution of memantine in brain, liver, and blood of the rat. *Arzneimittelforschung* 32 : 1243-1245
- Wroge CM, Hogins J, Eisenman L, Mennerick S (2012) Synaptic NMDA receptors mediate hypoxic excitotoxic death. *J Neurosci* 32 : 6732-6742
- Xia P, Chen HS, Zhang D, Lipton SA (2010) Memantine preferentially blocks extrasynaptic over synaptic NMDA receptor currents in hippocampal autapses. *J Neurosci* 30 : 11246-11250
- Yamamoto-Sasaki M, Ozawa H, Saito T, Rosler M, Riederer P (1999) Impaired phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein in the hippocampus of dementia of the Alzheimer type. *Brain Res* 824 : 300-303
- Yoshiyama Y, Lee VM, Trojanowski JQ (2013) Therapeutic strategies for tau mediated neurodegeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84 : 784-795
- Zhang SJ, Buchthal B, Lau D, Hayer S, Dick O, Schwaninger M, Veltkamp R, Zou M, Weiss U, Bading H (2011) A signaling cascade of nuclear calcium-CREB-ATF3 activated by synaptic NMDA receptors defines a gene repression module that protects against extrasynaptic NMDA receptor-induced neuronal cell death and ischemic brain damage. *J Neurosci* 31 : 4978-4990
- Zhou X, Hollern D, Liao J, Andrechek E, Wang H (2013) NMDA receptor-mediated excitotoxicity depends on the coactivation of synaptic and extrasynaptic receptors. *Cell death & disease* 4 : e560

Alzheimer's disease and N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptors : extrasynaptic NMDA receptor hypothesisYasumasa Yoshiyama^{1,3)}, Yu Nakamura²⁾¹⁾Inage Neurology and Memory Clinic²⁾Department Psychiatry and Neurology, Kagawa University Faculty of Medicine/Graduate School of Medicine³⁾Department of Neurology, Chiba-East National Hospital

N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) plays an important role in memory and learning. In Alzheimer's disease (AD) its function is disrupted by elevated glutamate concentration. Recently, it was shown that NMDARs are located at synaptic sites (synaptic NMDAR, sNMDAR) and extrasynaptic sites (extrasynaptic NMDAR, eNMDAR), with each having different functions. Activation of sNMDAR induces neuronal plasticity and neuroprotective effects ; whereas in AD, activation of eNMDAR stimulated by spillover glutamate from synapses induces continuous tonic current and neurotoxic effects with excess Ca^{2+} influx. Interestingly, experiments using cell culture systems have demonstrated that A β oligomers reduce sNMDAR and increase eNMDAR. Activation of eNMDAR with A β oligomers was shown to concomitantly increase production of A β and increase phosphorylation of tau protein, both of which are believed to accelerate AD pathologies. These findings indicate that the pathological activation of eNMDAR in AD might be a crucial mechanism involved in both A β and tau pathologies. Memantine is an NMDAR antagonist used for treatment of moderate to severe AD ; however, recently it was reported that it has a selective inhibitory effect on eNMDAR, thus leading to reconsideration of its underlying mechanism and significance as treatment for AD.

Address correspondence to Dr. Yasumasa Yoshiyama, Inage Neurology and Memory Clinic (6-23-9 Konakadai, Inage-ku, Chiba, Chiba Prefecture 263-0043, Japan)