

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 堀内 恵美子

抗てんかん薬 zonisamide (ZNS) の抗パーキンソン作用は、著者の共同研究者により発見されたが、本研究は、その発現機序についてラット及びヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞の系を用いて主にドパミン系に対する影響を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. HPLC による検討の結果、ZNS ラット線条体では、ZNS によりドパミン (DA) 含有量が用量依存性に上昇し、DA 代謝回転は 50 mg/kg 投与群で有意に低下していた。更に DA 合成律速酵素である tyrosine hydroxylase (TH) は、Hendry & Iversen 変法による活性測定、western blot により、活性、蛋白量とも増加しており、DA 合成亢進が TH 活性、蛋白量増加を伴ったものであることが示された。
2. Tipton & Youdim の isotope 法による MAO 阻害能測定では、ラット線条体を基質とした場合、MAO-B 阻害能は IC₅₀ で 28 μM と中等度であった。但し阻害能は選択的 MAO-B 阻害薬である selegiline よりはるかに軽度であった。また List & Seeman 変法による線条体膜分画の D1・D2 ドパミン受容体結合試験では、ZNS は D1・D2 ドパミン受容体に親和性を有さなかった。
3. SH-SY5Y 細胞では、ZNS (20 μM) 投与 24 時間後に TH 蛋白量が増加した。また real-time PCR 法による mRNA 定量では TH mRNA/ GAPDH

mRNA は TH 蛋白の上昇 (24 時間) 投与に先行して、12 時間後に上昇することが示された。以上より、ZNS は TH を介したドパミン合成亢進と中等度の MAO-B 阻害作用により抗パーキンソン作用を示すと考えられた。

4.特異的 T 型 Ca^{2+} チャネル遮断剤 NiCl_2 (100 μM)、特異的 SK チャネル遮断剤 apamin (300 nM)投与 24 時間後に TH 蛋白が増加し、それに先行して TH mRNA/ GAPDH mRNA は投与 12 時間後に増加することが示された。この結果は、特異的 T 型 Ca^{2+} チャネル遮断剤及びそれに機能的リンクする SK チャネルの遮断剤が ZNS と同様に TH mRNA を増加することを示している。T 型 Ca^{2+} チャネル遮断剤は黒質ドパミン細胞のバーストを増加させることから、ZNS は T 型 Ca^{2+} チャネル遮断剤としてバースト増加の結果ドパミン放出を増加させ、二次的に TH mRNA 量を増加させるという仮説を支持すると考える。

以上、本論文は臨床の場で発見された抗パーキンソン作用が、正常ラット及び SH-SY5Y 細胞における ZNS のドパミン系に対する検討から、TH 活性、たんぱく、mRNA 量増加を介したドパミン合成亢進と中等度の MAO-B 阻害によるものであることを明らかにした。本研究は新規抗パーキンソン病薬として注目されている ZNS の抗パーキンソン作用の作用機序をはじめて明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。