

内因性神経活性物質イサチ ンの神経保護作用に関する 研究

浜上 尚也 [北海道医療大学薬学部／助手]

背景・目的

パーキンソン病患者の尿中内因性モノアミンオキシダーゼ(MAO)活性阻害物質イサチン濃度は、重症度が増すにしたがって高値を示し、パーキンソン病の指標となることをこれまでに報告した。尿中イサチン濃度の増加の意義を明らかにするために、日本脳炎ウイルス(JEV)によりパーキンソン病モデルラット(JEVモデルラット)を作製しイサチンの治療効果について行動学的、生化学的および免疫組織化学的に検討した。イサチンはMAO-AおよびMAO-B活性をほぼ同程度阻害するが、臨床で治療薬として用いられている選択的MAO-B阻害薬セレギリンと比較検討した。

内容・方法

(1)モデル動物の作成

JEV(JaGAr-01 strain)をOgataらの方法に準じて生後13日目のFischer strain ラットに 3×10^6 PFUを頭蓋内に投与した。JEV投与90日後にOgawaらの方法を改良したポールテストで運動機能を測定し、発症の程度を確認した。

(2)脳内カテコールアミンおよび一酸化窒素(NO)濃度の測定

イサチン(100 mg/kg)およびセレギリン(0.2 mg/kg)を1日1回、7日間腹腔内投与した。薬物投与7日目に運動機能を測定後、脳を7分割しカテコールアミン濃度を電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより測定した。NO濃度はグリース法により測定し NO_2 および NO_3 を合わせた NO_x として算出した。

(3)免疫組織化学的検討

薬物投与7日目に黒質・線条体のチロシンヒドロキシラーゼ(TH)およびBCL-2抗体を用いて免疫染色した。さらにヘマトキシリソ・エオジン染色により、病理学的变化を観察した。

結果・成果

(1)JEVモデルラットの評価

JEV感染90日後のJEVモデルラットは、健常対照ラットに比し線条体のドパミン(DA)濃度のみが特異的に低値を示し、運動機能も有意な低下を示した。線条体のNO濃度はJEVモデルラットで、健常対照ラットに比較して有意に低下していた。JEVモデルラットは健常対照ラットに比較して明らかな神経細胞の脱落ならびにTH陽性細胞数の減少が観察された。神経病理学的にもパーキンソン病に類似した特徴を示し、モデルラットとの有用性が高いことが示された。しかし、BCL-2タンパクには

著しい変化は見られなかった。

(2)イサチン投与の影響

JEVモデルラットにイサチンを1週間投与すると、線条体のDA濃度の低下が抑制され、運動機能は健常対照ラットとほぼ同様のレベルまで回復した。3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)濃度は、イサチン投与によって有意な変化は見られなかった。JEVモデルラットで有意に上昇していたDOPAC/DA比はイサチン投与により有意に低値を示し、健常対照ラットと同様の値を示した。イサチンはJEVラットの脳内ノルエピネフリン(NE)濃度に有意な影響を与えたなかった。イサチンの1週間投与では、TH陽性細胞の回復に変化を示さなかったが、以後に示すセレギリン同様に運動機能を改善させたことは非常に意義のあるものであると思われた。イサチンはセレギリンに比較して選択性の違いからもパーキンソン病治療薬として合目的な有効性を示すものであると考えられる。イサチンには、抗酸化作用やアポトーシス予防作用があることも報告されていることからも、これらの作用が運動機能など症状の改善に寄与した可能性もある。

(3)セレギリン投与の影響

セレギリンを投与されたJEVモデルラットの線条体のDA濃度は、JEVモデルラットに比し有意に上昇していた。イサチン同様に運動機能の回復も見られたがTH陽性細胞の減少の回復は見られなかった。セレギリン投与により線条体DOPAC濃度はJEVモデルラットでは有意に高値を示し、DOPAC/DA比はセレギリン投与により健常対照ラットに比較して有意に高値を示した。セレギリンはMAO-Bに選択性が高いために相対的にMAO-A活性を上昇させDOPAC濃度を上昇させることができた。抗パーキンソン病薬の理想としてDAが増加しDOPACが低下している方が望ましいが、この変化においてはイサチンと異なる点であった。

今後の展望

JEVモデルラットにおいて、イサチンの有効性が明らかとなつた。本研究を基に今後は生体内に存在するイサチンの創薬としての可能性を見出すために投与期間や投与量を変化させ検討し、パーキンソン病ばかりでなく広く脳変性疾患治療に応用が可能になるよう検討を加えていきたいと考えている。神経系におけるNOの役割は未だ未解明な部分が多くあるが、神経伝達物質として機能していることは明らかにされつつある。パーキンソン病でのNOの変化について解明することは病態の解明や治療の手がかりとなる。イサチンの神経保護作用機序についての検討も今後の課題である。