

氏 名	うえ 園 たかし
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	論 薬 博 第 661 号
学位授与の日付	平成 14 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	パーキンソン病発症物質としての内因性神経毒 β -カルボリンに関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 佐 治 英 郎 教授 赤 池 昭 紀 教授 佐 藤 公 道

論 文 内 容 の 要 旨

パーキンソン病は中年以降に発症する神経変性疾患であり、黒質—線条体路のドパミン神経の選択的な変性脱落によって生じると考えられている。現在、パーキンソン病を発症させる物質としては N-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) が見出されているが、これは、末梢から脳へ移行した後、脳内においてモノアミン酸化酵素 (MAO) により N-methyl-4-phenylpyridinium (MPP^+) に酸化され、それがドパミン神経に取り込まれ、神経細胞死を起こすとされている。しかし、MPTP は外因性物質であることから、内因性のパーキンソン病発症物質として、MPTP 様作用を持つ化合物の探索研究が活発に行われている。その中で、最近、 β -carboline が脳内でセロトニンなどのインドールアミンから生成し、それは大脳皮質よりも黒質に多く存在していること、 β -carboline の代謝物 2, 9-dimethyl- β -carbolinium ($2, 9-Me_2\beta C^+$) がミトコンドリアの電子伝達系の複合体 I を阻害する MPP^+ 様作用を有すること、また、 $2, 9-Me_2\beta C^+$ は健常人の脳脊髄液中には検出されずにパーキンソン病患者の場合には検出されること、などが明らかにされ、 β -carboline が内因性パーキンソン病発症物質のひとつとして提唱されている。そこで、本研究では、 β -carboline のパーキンソン病発症候補物質としての特性を明らかにするために、 β -carboline の脳内動態、行動薬理、組織化学的な検討などを行うと共に、最近パーキンソン病治療薬として注目されているデプレニルの β -carboline 誘発神経障害に対する作用を検討した。

化合物がドパミン神経毒性を示す機序のひとつとして、ドパミン神経細胞への選択的な取り込みが考えられる。そこで、 β -carboline およびその代謝物について、ドパミントランスポーター (DAT) による基質としての認識性を線条体シナプトソームへの取り込みを測定することによって検討した。その結果、 β -carboline は DAT の基質とはなり得なかったが、代謝物である 2-methyl- β -carbolinium ($2-Me\beta C^+$) および $2, 9-Me_2\beta C^+$ は基質となることが示され、これらの代謝物がドパミン神経細胞に選択的に集積する可能性が示唆された。また、 $2, 9-Me_2\beta C^+$ には血液脳関門透過性がないが、 β -carboline の誘導体である 9-methyl- β -carboline ($9-Me\beta C$) は、本来生体には存在しないものの、 β -carboline や $2-Me\beta C^+$ に比べて、末梢投与後脳に高く移行し、また脳内で容易に $2, 9-Me_2\beta C^+$ に代謝されることから、 β -carboline のインビボでの作用を検討するには有用な性質を有している。そこで、 β -carboline、 $2-Me\beta C^+$ とともに $9-Me\beta C$ をマウスに投与した後、脳内の $2, 9-Me_2\beta C^+$ 量を測定したところ、 $9-Me\beta C$ の場合が最も多く、次いで $2-Me\beta C^+$ 、 β -carboline の場合の順となった。また、自発運動量およびポールテストにより運動能を測定したところ、 $9-Me\beta C$ の場合に最も著しく低下し、次いで $2-Me\beta C^+$ 、 β -carboline の場合の順となり、脳内での $2, 9-Me_2\beta C^+$ の生成量の順序と一致した。さらに、抗 tyrosine hydroxylase (TH) 抗体を用いて、 β -carboline および $9-Me\beta C$ 投与群での TH 陽性細胞数を計数したところ、 β -carboline、 $9-Me\beta C$ 共にコントロール群に比べ有意に減少したが、その減少率は $9-Me\beta C$ の場合の方が大きく、これは行動薬理学的実験の結果と一致していた。 β -carboline は脳内で $2-Me\beta C^+$ 、さらに $2, 9-Me_2\beta C^+$ へと代謝されることが知られていることから、これらの結果より、 β -carboline は脳内で $2, 9-Me_2\beta C^+$ へと代謝されて、これがドパミン神経細胞に対して障害作用を示すことが示唆された。

また、最近、デプレニルがパーキンソン病の進展を阻害することが示唆されていることから、 $2, 9-Me_2\beta C^+$ による神経

細胞障害作用に対するデプレニルの影響を検討した。デプレニルには、MAO-Bの選択的な阻害作用以外にミトコンドリアの膜電位を安定化する作用がある。また、ミトコンドリア機能が障害されると、嫌氣的解糖系が活性化されて細胞内乳酸濃度が上昇し、これに比例して細胞外液中の乳酸濃度も増加する。そこで、マイクロダイアリシス法を用いて、2,9-Me₂βC⁺ およびデプレニルなどの薬物を脳内に投与し、細胞外液中の乳酸の濃度を測定した結果、2,9-Me₂βC⁺ の脳内投与によって用量依存的に細胞外乳酸濃度は増加すること、デプレニルはこの乳酸濃度の増加を有意に抑制すること、非特異的なMAO阻害剤であるパージリンはこの乳酸濃度の変化には影響を与えないことが明らかとなった。同様な結果は、外因性ドパミン神経毒MPP⁺でも認められた。これらの結果から、2,9-Me₂βC⁺ はミトコンドリア機能を障害することによって神経障害作用を引き起こし、また、デプレニルはこれに対して保護作用を有することが示された。

以上、著者は、β-carbolineが脳内で2,9-Me₂βC⁺に代謝され、それがドパミン細胞のミトコンドリアの機能を障害することによってパーキンソン病を誘発すること、またこの作用をパーキンソン病治療薬のデプレニルが抑制することを示した。本研究は、パーキンソン病の発症機序解明に有用な知見を与えるとともに、パーキンソン病の予防・治療に基礎的指針を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン病は黒質—線条体路のドパミン神経の選択的な変性脱落によって生じると考えられている。現在、パーキンソン病を発症させる物質としてはN-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)が見出されているが、これは外因性物質であることから、内因性のパーキンソン病発症物質として、MPTP様作用を持つ化合物の探索研究が進められている。その中で、最近、脳内でインドールアミンが生成するβ-carbolineが大脳皮質よりも黒質に多く存在していること、β-carbolineの代謝物2,9-dimethyl-β-carbolinium(2,9-Me₂βC⁺)がミトコンドリアの電子伝達系の複合体Iを阻害するMPP⁺様作用を有すること、また、2,9-Me₂βC⁺は健常人の脳脊髄液中には検出されずにパーキンソン病患者の場合には検出されること、などが明らかにされ、β-carbolineが内因性パーキンソン病発症物質のひとつとして提唱されている。このような背景のもと、本論文は、β-carbolineのパーキンソン病発症候補物質としての特性を明らかにするために、その脳内動態、行動薬理などを検討したものである。

著者は、まず、化合物が選択的にドパミン神経毒性を示す機序のひとつとして考えられる、ドパミントランスポーター(DAT)によるドパミン神経細胞への選択的な取り込みに関して、β-carbolineおよびその代謝物について検討し、β-carbolineはDATの基質とはなり得ないが、代謝物である2-methyl-β-carbolinium(2-MeβC⁺)および2,9-Me₂βC⁺は基質となることを示した。また、本来生体には存在しないものの、β-carbolineや2-MeβC⁺に比べて、末梢投与後脳に高く移行し、また脳内で容易に2,9-Me₂βC⁺に代謝されるβ-carbolineの誘導体、9-methyl-β-carboline(9-MeβC)を用いて、β-carboline、2-MeβC⁺とともにマウスに投与した後の脳内2,9-Me₂βC⁺量を測定したところ、9-MeβC>2-MeβC⁺>β-carbolineとなることを見出した。また、自発運動量および運動能の低下率を測定したところ、9-MeβC>2-MeβC⁺>β-carbolineの順となり、脳内での2,9-Me₂βC⁺の生成量の順序と一致することを認めた。さらに、抗tyrosine hydroxylase (TH)抗体を用いて、β-carbolineおよび9-MeβC投与群でのTH陽性細胞数を計数したところ、β-carboline、9-MeβC共にコントロール群に比べ有意に減少したが、その減少率は9-MeβCの場合の方が大きく、これは行動薬理学的実験の結果と一致した。β-carbolineは脳内で2-MeβC⁺、さらに2,9-Me₂βC⁺へと代謝されることが知られていることから、これらの結果より、β-carbolineは脳内で2,9-Me₂βC⁺へと代謝されて、これがドパミン神経細胞に対して障害作用を示すことが示唆された。

また、最近、デプレニルがパーキンソン病の進展を阻害することが示唆されていることから、2,9-Me₂βC⁺による神経細胞障害作用に対するデプレニルの影響を検討した。すなわち、2,9-Me₂βC⁺およびデプレニルなどの薬物を脳内に投与し、マイクロダイアリシス法を用いて、嫌氣的解糖系の活性の指標となる細胞外液中の乳酸の濃度を測定した結果、2,9-Me₂βC⁺の脳内投与によって用量依存的に細胞外乳酸濃度は増加すること、デプレニルはこの乳酸濃度の増加を有意に抑制することを明らかとした。これらの結果から、2,9-Me₂βC⁺はミトコンドリア機能を障害することによって神経障害作用を引き起こし、また、デプレニルはこれに対して保護作用を有することを見出した。

以上、本研究は、 β -carboline が内因性のパーキンソン病発症物質でありえる可能性を示したものであり、パーキンソン病の発症機序解明に有用な知見を与えるとともに、パーキンソン病の予防・治療に基礎的指針を与えるものと評価される。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成13年11月16日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。