京都大学	博士（医学）	氏　名	竹内　啓喜
論文題目	Nicotinic receptor stimulation protects nigral dopaminergic neurons in rotenone-induced Parkinson's disease models (ロテノンによるパーキンソン病モデルにおいてニコチン受容体刺激は黒質のドーパミン作動性神経を保護する)		

（論文内容の要旨）

パーキンソン病はアルツハイマー病に次いで患者数が多い神経変性疾患であり、病理学的には中脳黒質緻密部のドーパミン作動性神経の脱落とレビー小体と呼ばれる細胞内封入体形成を特徴とする。パーキンソン病の病因は未だ不明であり、薬物による治療法はドーパミンを補充するかドーパミンの作用を賦活する対症療法に限られている。一方、疫学調査よりパーキンソン病有病率は喫煙と負の相関があることが知られている。タバコの煙に含まれる物質の中で、ニコチンは抗パーキンソン病効果があることが示唆されている。また、ニコチンは大脳皮質神経細胞、下位運動神経細胞に対し神経細胞保護的に働く。そこでニコチンがドーパミン作動性神経細胞においても神経保護効果を示すかどうかをロテノンを用いた薬剤性パーキンソン病モデルを用いて検討した。

薬剤性パーキンソン病モデルは、８週齢オス C57BL6/J マウスにロテノンを連日 28 日間経口で投与して作製した。ニコチンは低容量(0.21 mg/kg/day)ないし高容量(0.42 mg/kg/day)をロテノンと同時に皮下注射で投与し、回転棒テストにより行動を(n = 8-11)、また中脳黒質緻密部と線条体におけるドーパミン作動性神経細胞の脱落の程度を評価した(n = 4)。また、ニコチンの神経保護効果の機序を検討するために、初代培養細胞にて胎生 16 日齢ラット中脳細胞を７日間培養したものにロテノンとニコチン、ニコチン受容体拮抗薬、リン酸化酵素阻害薬を同時投与し、48 時間培養した後のドーパミン作動性神経細胞の生存率の評価を行った(n = 8)。

マウスの回転棒テストの成績は、ロテノン単独投与群はコントロール群と比べて回転棒テストの成績が有意に低下していたが、ロテノン、ニコチン同時投与群ではロテノン単独投与群と比べて成績に改善がみられた。また、中脳黒質緻密部におけるドーパミン作動性神経細胞数は、コントロールと比べてロテノン単独投与群で低下しており、ロテノン、ニコチン同時投与群ではニコチン高用量投与群でロテノン単独投与群と比べて有意に高かった（$p < 0.05$）。線条体のドーパミン作動性神経終末も、ニコチン高用量投与群でロテノン単独投与群と比べて有意に保護されていた。以上よりニコチンがドーパミン作動性神経細胞に対し保護的に働くことが示唆された。

中脳初代細胞培養では、ロテノン単独処置群よりロテノン、ニコチン同時処置群でドーパミン作動性細胞の生存率が有意に高く、その効果には用量依存性が認められた。この保護効果はニコチン受容体全般の拮抗薬であるメカミラミン、次いでα７ニコチン受容体の拮抗薬であるα-ブンガロトキシン、α４β２ ニコチン受容体の拮抗薬のジヒドロ-β-エリスロイジンで消失した。また、フォスフォイノシトール-3-キナーゼ(PI3K)阻害薬である LY294002、タンパク質キナーゼ B(Akt/PKB)阻害薬であるトリシリビンでも消失した。これらの結果から、ニコチンのドーパミン作動性神経細胞に対する保護効果は、ニコチン受容体刺激で PI3K-Akt/PKB 経路が活性化され、細胞生存シグナルが上昇するためであることが示唆された。

以上の結果より、これまでの報告と併せ、ニコチン受容体を標的とするドーパミン作動性神経細胞保護効果を持つ抗パーキンソン病薬が開発できる可能性が示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

喫煙はパーキンソン病(PD)発症と負の相関があることが疫学研究で示されている。そこで煙草の成分の一つであるニコチンのドーパミン(DA)神経細胞に対する保護効果をロテノンを用いた薬剤性 PD モデルを用いて検討した。

動物モデルは、８週齢オス C57BL6/J マウスにロテノンを連日 28 日間経口投与して作製した。ニコチンはロテノンと同時皮下投与し、回転棒テストで行動を、また組織学で中脳と線条体における DA 神経細胞の脱落の程度を評価した。保護効果の機序は、胎児ラット中脳初代培養細胞にロテノンとニコチン、ニコチン受容体拮抗薬、リン酸化酵素阻害薬を同時投与し 48 時間後の DA 神経細胞の生存率で検討した。

回転棒テストの成績はロテノン単独投与群での低下がニコチン同時投与群で有意に改善した。また中脳黒質緻密部における DA 神経細胞数、線条体の神経終末もニコチン高容量同時投与群で有意に増加していたことからニコチンが DA 神経細胞に対し保護的に働くことが示唆された。

中脳初代細胞培養でも同様の保護効果がみられ、ニコチン受容体拮抗薬、PI3K 阻害薬、Akt/PKB 阻害薬で消失した。このことから、保護効果はニコチン受容体刺激での PI3K-Akt/PKB 経路の活性化によることが示唆された。

以上の研究は、ニコチン受容体を標的とした PD の神経保護治療開発の基盤形成に寄与するところが多い。したがって本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成 20 年 12 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降