

4) ユビキチンリガーゼの活性化によるパーキンソン病治療法の確立

研究代表者 大村 友博

[背景と目的]

パーキンソン病は認知症に次いで患者数が多い神経変性疾患であり、病態学的には脳内の黒質緻密層のドパミン神経が脱落することにより、運動障害がおこると考えられている。現在、様々な治療薬が存在するがいずれも対症療法であり、根本的な治療法がない本疾患では、新しい作用機序に基づいた治療法および治療薬の創製が期待されている。

近年パーキンソン病の発症において、蛋白質分解経路(ユビキチン-プロテアソーム系)の関与が注目されている。パーキンソン病では様々なストレスにより、ユビキチン-プロテアソーム系が破綻することで細胞内に変性蛋白質が分解されずに蓄積し(小胞体ストレス)、その結果細胞がアポトーシスを惹起することで、ドパミン神経細胞が死に至るという機構である。パーキンソン病に関与すると考えられるユビキチンリガーゼとして HRD1 や Parkin などが報告されている。

私たちはユビキチンリガーゼ HRD1 分子が家族性パーキンソン病モデルに対して保護的に働くことを報告している。その後、HRD1 と他の神経変性疾患への関与が次々と報告され、神経変性疾患の病態において HRD1 は重要な役割を演じていると考えられる。

そこで本研究ではこれまでの研究成果をパーキンソン病の大多数を占める孤発性パーキンソン病モデルに応用し、HRD1 をはじめとするユビキチンリガーゼが孤発性モデルに対しても保護的に働くか検討し、ユビキチンリガーゼを活性化することで、パーキンソン病で見られるドパミン神経細胞死に対して保護的に働くという、これまでにない新たな作用機序に基づいた薬物候補を探索することを目的とした。

[方法]

1. ヒトドパミン神経細胞 SH-SY5Y を用い、パーキンソン病モデル作出に汎用される神経毒 6-OHDA によりユビキチンリガーゼ HRD1 や Parkin などの発現が上昇するか、ウェスタンブロット法を用いて検討した。
2. 抗てんかん薬がパーキンソン病に対して保護効果を示すことが疫学的に報告されており、また本邦で

は抗てんかん薬の一つ、ゾニサミドが 2009 年パーキンソン病への適応が認められたが、作用機序はいまだ不明のままである。私たちは予備実験の結果から、これらの薬物がユビキチンリガーゼを活性化させることでパーキンソン病に対して神経細胞保護作用を示しているのではないかと考えた。

そこで、ゾニサミドが HRD1 や Parkin などのユビキチンリガーゼを活性化するかを Real-time PCR 法やウェスタンブロット法などで検討するとともに、ゾニサミドが小胞体ストレスに対して抵抗性を示すかを MTT assay 法などにより検討した。

[結果と考察]

SH-SY5Y 細胞に 6-OHDA を暴露すると、HRD1 や Parkin などのユビキチンリガーゼの mRNA 量および蛋白質量が増加した。このことから孤発性パーキンソン病モデル細胞においても HRD1 や Parkin が関与していることが判明した。

一方、低濃度のゾニサミドは 6-OHDA や小胞体ストレス誘発試薬であるソニカマイシンによって起こる細胞死を抑制することが判明した。ゾニサミドは HRD1 安定化分子である SEL1L の mRNA および蛋白質量の増加を誘導し、HRD1 の蛋白質量を増加させることが明らかとなった。さらに HRD1 や SEL1L の発現を抑制した状態では、ゾニサミドによる小胞体ストレス誘発細胞死に対する細胞保護効果が失われることが示唆された¹⁾。

これらの結果より、低濃度のゾニサミドはユビキチンリガーゼ HRD1 の蛋白質量を増加させることで神経細胞死を抑制することが判明し、ゾニサミドの抗パーキンソン病効果はユビキチンリガーゼ活性の増加によって起こることが示唆された。そしてゾニサミドはパーキンソン病だけでなく小胞体ストレスが関与する他の神経変性疾患にも有用であることが示唆され、今後検討すべき課題であると考えられる。

[参考文献]

- 1) Omura T, Asari M, Yamamoto J et al.: "HRD1 levels increased by zonisamide prevented cell death and caspase-3 activation caused by endoplasmic reticulum stress in SH-SY5Y cells", *J. Mol. Neurosci.* (in press)