

図4 Rasagiline等のプロパルジルアミン誘導体の神経保護作用の機序

Rasagiline, *N*-(2-heptyl)-*N*-methylpropargylamine (2-HMP)などのpropargylamine誘導体はSH-SY5Y細胞においてMit膜のPTPを直接、またはBcl-2を介して安定化する。Mitの膜電位をJC-1染色により観察すると、NM(R)Salによる蛍光の低下をrasagilineは阻止する。細胞内の転写因子を活性化し、Bcl-2, GDNF, superoxide dismutase (SOD), catalaseを誘導し細胞をアポトーシスから保護する。

した。

NM(R)Salによるアポトーシスにおける細胞内シグナルに関するDNA arrayを用いた結果では、Tumor necrosis factor (TNF), TNF-receptor等のcytokineと、mitogen-activated protein (MAP) kinase等のkinaseに関連する遺伝子が著明に増加している。これは従来PD脳の分析結果とも一致した。ドパミン神経の細胞死に関与する細胞内シグナル機構の研究に神経毒による細胞モデルが今後活用されるであろう。

### III. 神経保護剤の細胞内作用機序

最近神経細胞の変性を阻止または再生を促進

する療法が注目されてきている。これはB型MAOの阻害剤(-)deprenyl (selegiline, FP)がMPTPによるPDモデルにおいて発症を阻止した報告による。その後(-)deprenylがMAO活性の阻害を介さず神経細胞を保護する活性を持つことが明らかとなった。我々はNM(R)Sal, 6-OHDAまたはperoxynitriteによる細胞死モデルで(-)deprenylに関連した化合物の保護作用の分子機構を明らかにした。図3に現在臨床で使用されるか、近日導入される予定の薬剤の構造をしめす。

我々は抗アポトーシス活性の最も高い*N*-propargyl-1(*R*)aminindan (rasagiline)を用い図4に示すような神経保護作用の機序を明らかにした。

1) RasagilineはMitのPTPに作用し $\Delta\Psi_m$ の低下を防ぎ、それに引き続くアポトーシスシグナルの活性化を阻止する<sup>1,2)</sup>。単離MitとSH-SY5Y細胞で証明した結果を図2, 4に示す。構造活性相関の検討からMit膜の安定化にはPropargyl基が必要であった<sup>14)</sup>。

2) Rasagilineは抗アポトーシス活性を持つBcl-2, Bcl-xLを誘導する<sup>1,2,12)</sup>。一方細胞死を誘導するBAX, BADには影響しない。

3) ドパミン細胞に選択的な保護活性を持つglia cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)を誘導する [Maruyama, Neurochem. Int., 印刷中]。

4) 抗酸化活性を持つsuperoxide dismutase, catalaseの活性をドパミン細胞の存在する脳の部位で増加させる<sup>4)</sup>。

これらの結果はrasagilineが神経細胞の保護活性を持つタンパクを広く誘導することを示している。ではrasagilineは細胞内の如何なる機構を用いて保護作用を示しているのであろうか。我々はrasagilineによる遺伝子の発現をSH-SY5Y細胞とDNA array法を用い検討した。SH-SY5Y細胞においてrasagilineの投与12時間から多くの転位因子のmRNAの増加が認められた。この結果は細胞の生存に必要な遺伝子の発現が薬剤により誘導される可能性を示しており、現在その機構の研究が進められている。

#### IV. 結 語

現在6-OHDA, MPTP, 等の神経毒による疾患モデルはPDの病態を反映するものとして一般に用いられている。今後はParkin,  $\alpha$ -synuclein等の家族性PDでの病因遺伝子を導入した動物、細胞モデルと神経毒との組み合わせで研究が進むこととなろう。我々の内在性神経毒NM(R)Salを用いた結果は細胞死とその保護に関する細胞内シグナルが存在すること、その制御がMitに内在するBcl-2を介した機構によることを示している。神経変性に関する細胞内機構の研究に神経

毒を用いたモデルは今後も有効な手段であろう。ただし、モデル系を用いた結果は最終的には患者サンプルでの結果が求められる。このため新たなPDの診断および治療マーカーの確立が求められる。

#### 文 献

- 1) Akao, Y., Maruyama, W., Shimizu, S. : Mitochondrial permeability transition mediates apoptosis induced by *N*-methyl(*R*)salsolinol, an endogenous neurotoxin, and is inhibited by Bcl-2 and rasagiline, *N*-propargyl-1(*R*)-aminoindan. J. Neurochem., 82 : 913-923, 2002.
- 2) Akao, Y., Maruyama, W., Yi, H. et al. : An anti-Parkinson's disease drug, *N*-propargyl-1(*R*)-aminoindan (rasagiline), enhances expression of anti-apoptotic Bcl-2 in human dopaminergic SH-SY5Y cells. Neurosci. Lett., 326 : 105-108, 2002.
- 3) Betarbet, R., Sherer, T. B., MacKenzie, G. et al. : Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat. Neurosci., 3 : 1301-1306, 2000.
- 4) Carrillo, M. C., Minami, C., Kitani, K. et al. : Enhancing effect of rasagiline on superoxide dismutase and catalase activities in the dopaminergic system in the rat. Life Sci., 67 : 577-585, 2000.
- 5) Choi, W.-S., Yoon, S.-Y., Oh, T.-H., et al. : Two distinct mechanisms are involved in 6-hydroxydopamine — and MPP+ : — induced dopaminergic neuronal cell death: Role of caspases, ROS and JNK. J. Neuro-sci. Res., 57 : 86-94, 1999.
- 6) Collins, M. A., Jeafsey, E. J. : Potential neurotoxic "agents provocateurs" in Parkinson's disease. Neurotoxicol. Teratol., 24 : 571-577, 2002.
- 7) Corringan, F. M., Murray, L., Wyatt, C. L., et al. : Diortho substituted polychlorinated biophenyls in caudate nucleus in Parkinson's disease. Exper. Neurol., 150 : 339-342, 1998.
- 8) Gerlach, M., Riederer, P. : Animal models of Parkinson's disease : an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. J. Neural Transm., 103 : 987-1041, 1996.
- 9) Maruyama, W., Abe, T., Tohgi, H. et al. : A dopaminergic neurotoxin, (*R*)-*N*-methyl-salsolinol, increases in parkinsonian cerebrospinal fluid. Ann. Neurol., 40 : 119-122, 1996.
- 10) Maruyama, W., Sobue, G., Matsubara, K. et al. : A

- dopaminergic neurotoxin, 1 (*R*), 2(*N*)-dimethyl-6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline, *N*-methyl(*R*)-salsolinol, and its oxidation product, 1, 2(*N*)-dimethyl-6, 7-dihydroxyisoquinolinium ion, accumulates in the nigro-striatal system of the human brain. *Neurosci. Lett.*, 223 : 61-64, 1997.
- 11) Maruyama, W., Sangò, W., Iwasa, K. et al. : Dopaminergic neurotoxins, 6, 7-dihydroxy-1- (3', 4'-dihydroxybenzyl) -isoquinolines, cause different types of cell death in SH-SY 5 Y cells : apoptosis was induced by oxidized papaverolines and necrosis by reduced tetrahydropapaverolines. *Neurosci. Lett.*, 291 : 89-92, 2000.
  - 12) Maruyama, W., Akao, Y., Youdim, M. B. H. et al. : Transfection-enforced Bcl-2 overexpression and an anti-Parkinson drug, rasagiline, prevent nuclear accumulation of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase induced by an endogenous dopaminergic neurotoxin, *N*-methyl(*R*)salsolinol. *J. Neurochem.*, 78 : 727-735, 2001.
  - 13) Maruyama, W., Boulton, A. A., Davis B. A. et al. : Enantio-specific induction of apoptosis by an endogenous neurotoxin, *N*-methyl(*R*)salsolinol, in dopaminergic SH-SY 5 Y cells : suppression of apoptosis by *N*-(2-heptyl)-*N*-methyl-propargylamine. *J. Neural Transm.*, 108 : 11-24, 2001.
  - 14) Maruyama, W., Weinstock, M., Youdim, M. B. H. et al. : Anti-apoptotic action of anti-Alzheimer drug, TV 3326 [(*N*-propargyl)-(3*R*)-aminoindan-5-yl] -ethyl methyl carbamate, a novel cholinesterase-monoamine oxidase inhibitor. *Neurosci. Lett.*, 341 : 233-236, 2003.
  - 15) Matsubara, K., Kobayashi, S., Kobayashi, K. et al. :  $\beta$ -Carbolinium cations, endogenous MPP<sup>+</sup> analogs, in the lumbar cerebrospinal fluid of parkinsonian patients. *Neurology*, 45 : 2240-2245, 1995.
  - 16) Naoi, M., Maruyama, W., Dostert, P. et al. : Dopamine-derived endogenous 1(*R*), 2(*N*)-dimethyl-6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline, *N*-methyl-(*R*)-salsolinol, induced parkinsonism in rat: biochemical, pathological and behavioral studies. *Brain Res.*, 709 : 285-295, 1996.
  - 17) Naoi, M., Maruyama, W., Nakao, N. et al. : (*R*) Salsolinol *N*-methyltransferase activity increases in parkinsonian lymphocytes. *Ann. Neurol.*, 43 : 212-216, 1998.
  - 18) Naoi, M., Parvez, H., Maruyama, W. et al. : Milestones in Research on Neurotoxins and Neuroprotection : A Tribute to Professor Toshiharu Nagatsu, *Neurotoxicol. Tetratol.* (特集号) Vol. 24, Nr. 5, 2002 に本稿の課題に関する最新の総説が纏められている。
  - 19) Shamoto-Nagai, M., Maruyama, W., Kato, Y. et al. : An inhibitor of mitochondrial complex I, rotenone, inactivates proteasome by oxidative modification and induces aggregation of oxidized proteins in SH-SY 5 Y cells. *J. Neurosci. Res.*, in press, 2003.
  - 20) Tatton, N.A. : Increased caspase 3 and Bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.*, 166 : 29-43, 2000.

《今後の展開が期待される治療法》

## 神経保護薬

丸山和佳子 直井 信

特集 パーキンソン病 — 治療の問題点と今後の展開

臨床雑誌「内科」第93巻 第4号〔2004年4月号〕別刷

南 江 堂

## 《今後の展開が期待される治療法》 神経保護薬

丸山和佳子 直井 信\*

### はじめに●

パーキンソン病(PD)をはじめとする神経変性疾患の治療として、現在もっとも期待されているのは神経変性を抑制あるいは遅延させる神経保護薬の開発である。現在までにいくつかの神経保護薬候補が提唱され、欧米では大規模多施設臨床研究がなされている。しかし、残念ながらこれまでのところ神経保護作用が証明された薬剤はない。一方、多くの細胞あるいは動物モデルを用いた実験では、ドパミンアゴニスト、神経栄養因子、興奮性アミノ酸受容体阻害薬、抗酸化薬、抗アポトーシス分子作用薬など多くの薬剤が神経保護作用を示す。このような患者とモデル系における結果の解離の原因としては、

- ① 薬剤の投与量あるいは投与のタイミングが適切でない：PD患者で症状が発現する時期にはすでに2/3以上のドパミン神経細胞が変性しており、残存している神経細胞も死のプロセスが進行している。そのため薬剤の効果が認められない可能性がある。
- ② 薬剤の効果判定法が適切でない：現在、神経保護薬の効果判定には画像診断(PET, SPECTなど)によるドパミン神経終末の機能と、臨床症状の半定量的評価(UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale)など)が、用いられている。しかしながらこれらの指標は定量性に乏しく、また、疾

患の進行速度には患者間のばらつきが大きいため有意差を証明するのは容易ではない。さらに、PDの症状を緩和する治療薬(L-dopaなど)の影響も無視できない。

- ③ PDモデルにおける細胞死プロセスが実際の患者と同一でない：PDモデルとしては、6-hydroxydopamine, 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP), rotenoneなど薬剤による細胞死モデルや、 $\alpha$ -synuclein, parkinのトランスジェニック、ノックアウトによる遺伝子改変モデルが存在する。しかし、孤発性PDの原因や細胞死の機序はいまだ明らかとなっておらず、モデルと同様な細胞死経路がPDで関与しているとは限らない。したがって、モデルで有効な作用点が必ずしも患者で有効であるとは保証されていない。

などが考えられる。

はたして、PDに対する神経保護薬開発は可能であろうか。本稿では現在研究が進んでいる神経保護薬候補物質とその作用機序、さらにこれらの臨床応用の可能性について概説する。最後に、筆者らが最近研究を進めているpropargylamine化合物について、最新の成果を報告する。

### 神経保護薬候補とその作用機序●

神経保護薬候補は、細胞死に関わる特定の標的分子に作用することによりその後の細胞死プロセスの活性化を抑制する。薬剤の作用機序により神経保護薬を分類する。

\* W. Maruyama (室長)：国立療養所中部病院長寿医療研究センター老化機構研究部生化学・代謝研究室(☎474-8522 愛知県大府市森岡町源吾36-3)；M. Naoi：(財)岐阜国際バイオ研究所客員研究部門脳神経研究分野。

### 1. ドパミンアゴニスト

ドパミンの受容体に結合し、PDで欠乏するドパミン依存性の神経伝達を活性化するのみならず、ドパミンアゴニストの一部には *in vivo* で神経保護作用が認められる。その作用機序としてはドパミン代謝回転の低下による酸化ストレスの抑制、シグナル伝達を介する神経保護作用、ラジカル消去作用、神経栄養因子増加作用、などが報告されている<sup>1)</sup>。PD患者に対する神経保護作用については、SPECTあるいはPETによる評価でドパミン変性が有意に抑えられたとの報告もある<sup>2)</sup>。ドパミンアゴニストは現在PD患者に使用されている薬剤であり、短期的に運動症状を改善させることもできるため、倫理的にも問題なく使用可能であることは大きな利点である。また、少なくとも長期L-dopa使用による不随意運動などの副作用の発生頻度を減少させることができる。しかし、現在使用されている薬剤については臨床的にその神経保護作用はあまり強くはないと考えられる。

### 2. 神経栄養因子

神経栄養因子は神経の分化、シナプス形成、生存維持に関わる重要な分子であり神経細胞だけでなくグリア細胞からも分泌される。これらの中でもドパミン神経細胞に対してもっとも神経保護活性の高いのはGDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor)である。GDNFはMPTPによるサルPDモデルで神経細胞死を抑制しただけでなく、近年PD患者の線条体に投与することにより臨床症状とPET所見が改善したとの報告がなされ、注目を集めている<sup>3)</sup>。これがGDNFによるドパミン神経終末のシナプス増加によるものなのか、あるいは本当に神経細胞死が防御されたのかについては興味のもたれるところである。

一方、神経栄養因子使用上の問題点としては、本薬剤はタンパクであるため血液脳関門を通過せず、脳内への直接注入あるいは遺伝子導入など侵襲的な手技が必要とされることがあげられる。神経栄養因子の受容体刺激薬あるいは脳内で神経栄養因子を増加させる脳内移行が良好な薬剤の開発

が期待される。

### 3. 興奮性アミノ酸受容体阻害薬

興奮性アミノ酸であるグルタミン酸は、神経傷害をきたすような病態で細胞外レベルが増加し、神経細胞に存在する受容体を刺激する。その結果、細胞内にCa<sup>2+</sup>の流入が引き起こされ、細胞内Ca<sup>2+</sup>依存性のキナーゼ活性化、NO合成酵素の誘導などにより細胞死が引き起こされる。興奮性アミノ酸受容体阻害薬は虚血、MPTPなどによる神経細胞死を抑制することが実験的に報告されている。興奮性アミノ酸受容体阻害薬として開発されたriluzoleは、筋萎縮性側索硬化症に使用され、神経変性の進行を抑制する一定の効果が認められている<sup>4)</sup>。しかし、riluzoleがPDにおける神経変性を抑制できるか否かについては確定的な証拠はない。

### 4. 抗酸化薬

PDをはじめとする神経変性疾患や、虚血性神経傷害の病因には酸化ストレスが重要な役割を果たしていると考えられている。

1990年代に行われたDeprenyl and Tocopherol Anti-oxidant Therapy of Parkinson's disease (DATATOP) studyは、B型モノアミン酸化酵素(MAO-B)阻害薬である(-)deprenyl (selegiline)によるドパミンの酵素的酸化による過酸化水素の生成抑制と、 $\alpha$ -tocopherolによる脂質過酸化抑制により未治療PDの進行を防御しようとした試みである。この研究ではtocopherolによる神経保護作用は認められず、selegilineはMAO-B阻害による脳内ドパミン増加に起因するsymptomaticな作用は証明されたものの、神経保護作用については明確な結果は得られなかった<sup>5)</sup>。

抗酸化薬は多くの *in vivo*, *in vitro* の神経細胞死モデルで有効であり、大きな副作用もない。しかし、これらの薬剤の臨床的効果は弱く、現在のところ補助的な薬剤としての域を出ていない。なお、selegilineには抗酸化作用とは独立した神経保護作用がある可能性があり、現在、類似化合物

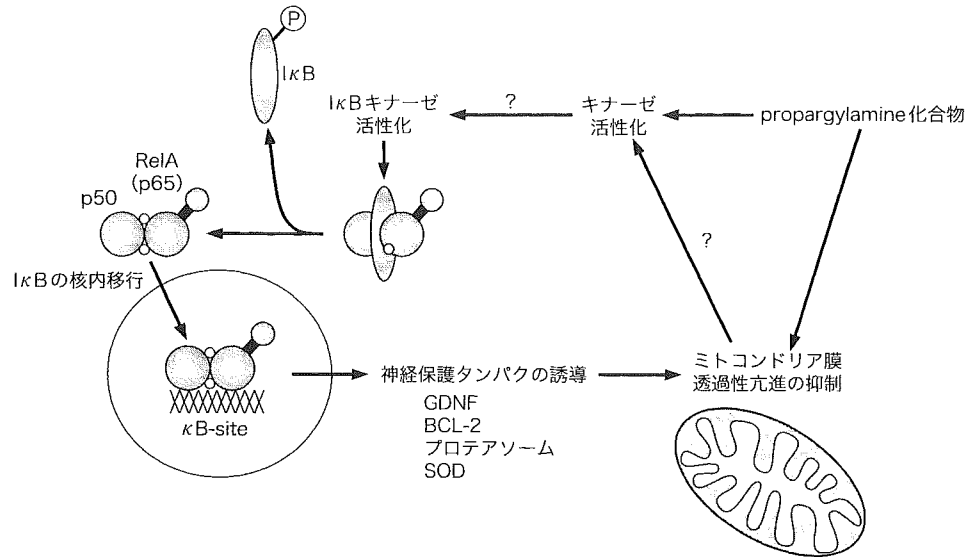


Fig. 1. Propargylamine 化合物による神経保護作用の分子メカニズム

propargylamine 化合物はミトコンドリア膜に存在する分子に働き、膜透過性を制御して急性の細胞死を防御する。それとともに、細胞内キナーゼの活性化あるいは転写因子の活性化を介して神経保護作用をもつタンパクを誘導する。

である propargylamine 化合物の研究が筆者らによって進められている。その詳細については次に述べる。

### 5. Coenzyme Q

PD の黒質ドパミン神経細胞では細胞死に先立ってミトコンドリアの機能障害、とくに complex I を中心とするミトコンドリア呼吸鎖の機能低下が起こっているとの報告がなされている。また、complex I 阻害薬である rotenone や MPTP は *in vivo* 動物モデルでドパミン神経選択的な細胞死と封入体の形成を引き起こす。Coenzyme Q はミトコンドリア呼吸鎖における complex I および II から III への電子の受け渡しに関わる分子である。

ミトコンドリアの機能を賦活することにより PD の進行を抑制する試みとして、米国で PD に対する Coenzyme Q-10 の投与が行われ<sup>6)</sup>、その後、例数が増やされているものの明確な効果は得られなかった。

ミトコンドリアの賦活というアイデアは面白い

のであるが、細胞死を防御するためにはより強力な脳移行性の良好な薬剤が必要かもしれない。

### 6. 抗炎症薬

PD を含む多くの神経変性疾患の病因には炎症、とくにミクログリアの活性化が関与していることが示されている。ミノサイクリンは MPTP による PD モデルでミクログリアの活性化を抑制する。しかし、PD 患者に対する有効性はいまだ確かめられていない。

### Propargylamine 化合物による神経保護作用の分子機構——経口薬による神経保護は可能か、そしてその評価はいかにあるべきか●

rasagiline (*N*-propargyl-1(*R*) aminoindane) および (*R*)-*N*-(2-heptyl) methyl-propargylamine などは selegiline と同様に propargylamine 基を共通にもつ MAO-B 阻害薬である。これら propargylamine 化合物は MAO-B 阻害作用とは独立した神経保護作用をもつことが *in vivo*, *in vitro* の実験で示唆されてきたが、その分

子メカニズムは明らかにされていなかった。

筆者らは propargylamine 化合物がミトコンドリアに直接作用し、ミトコンドリアからの細胞死誘導分子の放出を抑制することによって細胞死シグナルの活性化を制御することを報告した<sup>7)</sup>。さらに、propargylamine 化合物は細胞内キナーゼを活性化させ、転写因子である NF- $\kappa$ B を介して神経保護に関わるタンパク、とくに BCL 2 や GDNF の生成を増加させることが見出された<sup>8~10)</sup>(Fig. 1)。

propargylamine 化合物は経口投与可能で脳内移行が良好な低分子化合物であり、selegiline と rasagiline に関してはすでに MAO-B 阻害薬として欧米で PD への使用が認可されている。とくに rasagiline に関しては単剤での短期的かつ symptomatic な治療効果が証明され、現在、長期効果の追跡が行われている<sup>11)</sup>。しかし、これら薬剤の神経保護作用を臨床的に評価するには、新しいシステムの構築が必要である。そのためには、① PD の活動度あるいは進行度を反映する生化学的マーカー、あるいは② 薬剤特異的な作用(たとえばこの場合、神経保護タンパクレベルの増加など)を評価しうる生化学的マーカー、を開発することが必須であると考えられ、研究が進められている。

#### おわりに●

PD あるいはアルツハイマー病などの老化に伴う神経変性疾患に対する従来の治療法は、神経伝達物質であるドパミンやアセチルコリンを補充する対症療法であり、神経細胞の変性を抑制するものではない。そのため治療効果は一過性であり、患者の障害は確実に進行する。この問題を解決するためには、多数の患者に簡便に施行できる、安全性の高い神経保護療法が必須であると考えられる。それとともに、神経保護薬開発には神経保護作用を臨床的に評価するシステムの構築が急務で

ある。いっそうの臨床/基礎にまたがるトランスレーショナルスタディの進展が望まれる。

#### 文献●

- 1) Ohta K et al : Effects of dopamine agonists bromocriptine, pergolide, cabergoline, and SKF 38393 on GDNF, NGF, and BDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Life Sci* **73** : 617, 2003
- 2) Reichmann H : Neuroprotection in idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol* **249** [Suppl 3] : III/21, 2002
- 3) Gill SS et al : Direct brain infusion of glial cell line derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* **9** : 589, 2003
- 4) Lacomblez L et al : Dose-ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis : Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. *Lancet* **347** : 1425, 1996
- 5) Shoulson I : DATATOP : a decade of neuroprotective inquiry : Parkinson Study Group. Deprenyl And Tocopherol Antioxidative Therapy Of Parkinsonism. *Ann Neurol* **44** [3 Suppl 1] : S160, 1998
- 6) Beal MF : Approaches for neuroprotection in Parkinson's disease. *Ann Neurol* **53** [Suppl 3] : S39, 2003
- 7) Akao Y et al : Mitochondrial permeability transition mediates apoptosis induced by N-methyl(R) salsolinol, an endogenous neurotoxin, and is inhibited by Bcl-2 and rasagiline. N-propargyl-1(R)-aminoindan. *J Neurochem* **82** : 913, 2002
- 8) Maruyama W et al : N-Propargyl-1(R)-aminoindan, rasagiline, increases glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF) in neuroblastoma SH-SY 5 Y cells through activation of NF- $\kappa$ B transcription factor. *Neurochem Int* **44** : 393, 2004
- 9) Akao Y et al : An anti-Parkinson's disease drug, N-propargyl-1(R)-aminoindan(rasagiline), enhances expression of anti-apoptotic bcl-2 in human dopaminergic SH-SY 5 Y cells. *Neurosci Lett* **326** : 105, 2002
- 10) Youdim MB et al : The essentiality of Bcl-2, PKC and proteasome-ubiquitin complex activations in the neuroprotective-antiapoptotic action of the anti Parkinson drug, rasagiline. *Biochem Pharmacol* **66** : 1635, 2003
- 11) Parkinson Study Group : A controlled trial of rasagiline in early Parkinson disease : the TEMPO study. *Arch Neurol* **59** : 1937, 2002



# Parkinson 病の発症機序

—Up date

Etiology of Parkinson's disease

丸山和佳子 直井 信

Wakako MARUYAMA<sup>1</sup> and Makoto NAOI<sup>2</sup>国立療養所中部病院長寿医療研究センター老化機構研究部生化学・代謝研究室<sup>1</sup>, (財)岐阜国際バイオ研究所客員研究部門脳神経研究分野<sup>2</sup>

◎孤発性 Parkinson 病(PD)におけるドパミン神経選択的な細胞死の機序に関する最近の研究の進展について概説した。PD における細胞死の原因は、ドパミン神経選択的なミトコンドリア機能障害に起因する可能性がある。ミトコンドリアの慢性機能障害により不要蛋白分解の要であるプロテアソームの失活と酸化修飾蛋白の細胞内蓄積を伴う細胞死モデルが作製された。従来、PD 患者の剖検脳ではミトコンドリア機能障害、酸化修飾蛋白の増加、プロテアソームの活性低下が報告されており、本モデルで得られた所見と一致する。PD の原因には、ドパミンおよびドパミン由来の神経毒、そしてカテコールアミン神経細胞選択的に存在するミトコンドリアの A 型 MAO によるミトコンドリア障害が関与している可能性がある。



Key word

ミトコンドリア, プロテアソーム, 酸化修飾蛋白, ドパミン, モノアミン酸化酵素

Parkinson 病(PD)は加齢に伴う神経変性疾患であり、日本社会の急速な高齢化に伴い患者数が増加の一途をたどっている。現在のところ PD に対する治療法は、ドパミン神経細胞の変性により低下したドパミン神経伝達を補充する L-DOPA 製剤とドパミンアゴニストが主体であり、根治療法はない。したがって、疾病の進行に従いドパミン神経変性が進むと、薬効は徐々に弱くなるとともに患者の ADL は著明に低下する。PD の特徴は黒質ドパミン神経細胞の選択的な細胞死である。進行期の PD においては、他のモノアミン系神経細胞やアセチルコリン系神経細胞の変性も伴うものの、同じ神経変性疾患である Alzheimer 病と異なり、変性細胞の選択性は末期までかなりの程度保たれている。

本稿では PD の病因を考えるヒントとして、①老化による神経細胞傷害の原因、②ドパミン神経に選択的傷害を引き起こす要因、③孤発性 PD における神経細胞死の原因の 3 つの点に注目して議論を進める。それとともに、著者らの最近の研究成果を紹介し、今後の研究の発展について述べる。

## 老化による神経細胞傷害の原因——加齢と Parkinson 病の関係

神経細胞の大部分は分裂終了細胞であり、生後ネットワークが完成した後は神経細胞数の大幅な増減はないと考えられる。ヒトの神経細胞数がすべて加齢で減少するという確実な証拠はない。しかし、黒質ドパミン神経細胞は例外的に加齢に従いその数が減少することが証明されている<sup>1)</sup>。この原因には酸化的ストレスが大きな役割を果たしていると考えられる。老化の原因に関する仮説については、エラー説(環境)とプログラム説(遺伝)の 2 つに大別されるが、エラー説の中心的なものが 1956 年に Harman が唱えた“free radical theory of ageing”である<sup>2)</sup>。彼の説によると、好氣的エネルギー産生は生命の維持に必須であるが、それに伴う酸化ストレスが長い間の後に遺伝子である核酸、あるいは蛋白質、脂質などに傷害の蓄積を引き起こし、老化の原因となるとのことである。分裂終了細胞は細胞分裂の過程でこれらの傷害を修復することができないため、遺伝子変異や異常蛋白が蓄積する。事実、黒質線条体では DNA 酸化

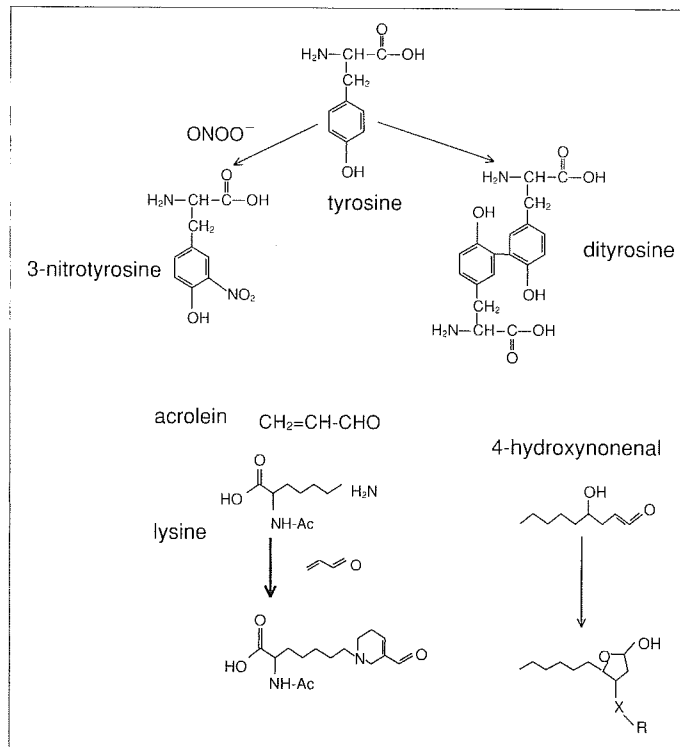


図 1 酸化修飾蛋白の化学構造式

チロシンなどの芳香族アミノ酸は peroxynitrite と縮合することによってニトロ化される。また、2分子のチロシンの結合によりジチロシンが形成される。蛋白中あるいは蛋白間のチロシン架橋反応により蛋白の高次構造変化がおこる可能性がある。ヒドロキシノネナル、アクロレインなどの脂質アルデヒドは反応性が高く、アミノ酸を修飾する。

傷害のマーカーである 8-hydroxyguanosine が核、ミトコンドリアともに加齢に従い増加し、その増加率はミトコンドリア DNA でより高い。

また、リポフスチンとよばれる色素性顆粒は老化に伴い神経細胞内に蓄積する。著者らはリポフスチンを構成する蛋白が、ニトロチロシン、あるいはジチロシンといった酸化修飾蛋白を含有することを見出した<sup>3,4)</sup>。図 1 にヒト脳内で存在が確認されている酸化修飾蛋白の化学構造を示す。これらの酸化修飾蛋白は培養細胞にも認められ、正常の状況においても一定速度で生成されているが、分解酵素であるプロテアソームにより速やかに分解されており、蓄積は起こらない<sup>5)</sup>。黒質ドパミン神経細胞には正常でもニューロメラニンとよばれる黒色顆粒が存在する。ニューロメラニンはドパミンが酸化されて重合し polymerization を起こす

と同時に、蛋白、脂質などが巻き込まれて生成される。リポフスチン、ニューロメラニンともに加齢とともに神経細胞内に蓄積するが、これらには細胞毒性はないと考えられている。

一方、Lewy 小体とよばれる好酸性封入体の存在は PD に特徴的な病理所見であり、Lewy 小体の形成とドパミン神経細胞死には何らかの因果関係が存在することが想定されている。Lewy 小体の構成成分には、優性遺伝性 PD の病因遺伝子である  $\alpha$ -synuclein、劣性遺伝性 PD の病因遺伝子である parkin のほかに synphilin-1、プロテアソーム蛋白などがあることが報告されている。これらの Lewy 小体構成蛋白はユビキチン化、リン酸化、そして酸化による修飾を受けている<sup>6,7)</sup>。リン酸化、酸化などの蛋白の翻訳後修飾は Lewy 小体形成のきっかけとなる蛋白の高次構造変化と難分解性の

原因となっている可能性があり、異常蛋白を分解するためのシグナルとしてユビキチン化が起こっているとも考えられる。

以上のように、酸化修飾蛋白の増加と蓄積は老化、PD のいずれでも増加するが、PD においては Lewy 小体を形成するに至る疾患特異的な経路が活性化されていることが示唆されており、それがドパミン神経細胞死の原因となっている可能性がある。

### 🍷 ドパミン神経に選択的傷害を引き起こす因子——ドパミン神経細胞の特徴

PD の病因研究においてももっとも重要な鍵となる事実は、ドパミン神経の選択的変性である。したがって、ドパミン神経細胞の特徴を明らかにすることで、細胞死の原因に迫る結果を得ることができる可能性がある。神経伝達物質であるドパミンはカテコール骨格をもつアミンであり、容易に自動酸化されるとともにモノアミン酸化酵素(MAO)により酸化される(図2)。ドパミンの自動酸化に伴いラジカルであるスーパーオキシド( $O_2^-$ )が生成されると同時に、反応性に富んだセミキノンやキノンが生成される。これらは、たがいに重合してドパクローム、さらにニューロメラニンへと変化する。スーパーオキシド自体は半減期が短く、反応性も強くはないが、鉄の存在下で Fenton 反応により hydroxy radical( $\cdot OH$ )を生成したり、一酸化窒素(NO)と縮合して ONOO<sup>-</sup>となり、これら強力なラジカルは細胞内の分子と反応し、ダメージを引き起こす。また、セミキノンやキノンが直接生体分子を修飾する可能性も示唆されている。PD の病理ではニューロメラニンの含有量が多いドパミン神経細胞ほど変性が進みやすいとの報告があり<sup>8)</sup>、ドパミンの酸化が細胞死と関連があることを示している。

一方、MAO には A 型と B 型が存在し、それらの遺伝子は X 染色体の隣接した遺伝子座にコードされている。ヒトの脳内アミン(ノルアドレナリン、アドレナリン、セロトニン)のほとんどは A 型の MAO でのみ分解されるが、ドパミンは A および B 型両方の MAO で分解される。脳内では B 型 MAO はグリア細胞とセロトニン神経細胞にお

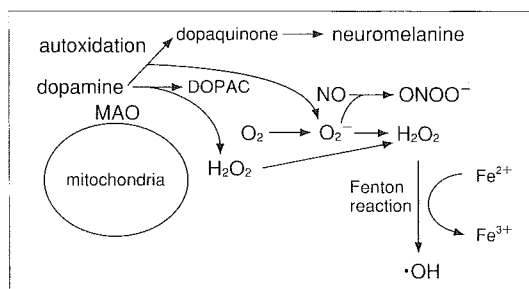


図 2 ドパミン代謝と酸化ストレス

ドパミンは神経終末から放出された後、大部分はドパミントランスポーターによる取込みを受けて再利用される。取込みからのがれた一部のドパミンは、カテコールアミン-O-メチル転位酵素(COMT)、モノアミン酸化酵素(MAO)により分解される。MAO による分解の際、 $H_2O_2$ が生成される。ドパミンの自動酸化により  $O_2^-$ とキノンが生ずる。

もに存在するが、A 型 MAO はカテコールアミン(ドパミン、ノルアドレナリン、アドレナリン)神経細胞に認められる。MAO はミトコンドリアの外膜に存在することから、本酵素はミトコンドリア機能に影響を与える可能性がある。ミトコンドリアはいうまでもなく細胞内酸化ストレスのおもな発生の場であると同時に、アポトーシスシグナルの活性化を決定づける細胞内小器官である。最近著者らのグループは、MAO 阻害剤のなかに神経細胞のアポトーシスを促進あるいは抑制するものがあることを見出した。A 型 MAO の阻害剤である clorgyline や脳内に内在する神経毒 N-methyl(R) salsolinol はそれ自体でドパミン神経芽細胞腫にアポトーシスを惹起した<sup>9)</sup>。逆に、B 型 MAO の阻害剤である rasagiline は、酸化ストレスや神経毒、虚血によるアポトーシスを防御した<sup>10)</sup>。MAO にはドパミン代謝を制御し、細胞内酸化ストレスに関与するだけでなく、ミトコンドリアにおけるアポトーシスシグナルに直接影響を及ぼす可能性があるのかもしれない。

いずれにせよ、PD の中核をなすドパミン神経細胞の選択的細胞死にはドパミン代謝とミトコンドリアにおける A 型の MAO の存在が重要な役割を果たしている可能性がある。

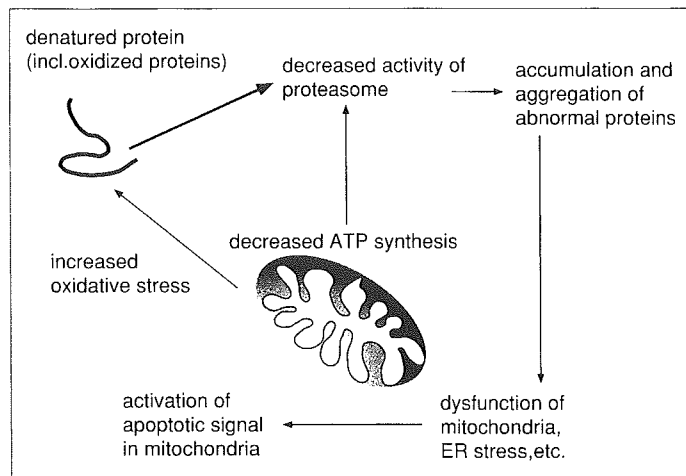


図 3 ミトコンドリア機能障害による細胞死メカニズム

ミトコンドリア機能障害, 特に酸化的リン酸化にかかわる呼吸鎖酵素の障害によって細胞内 ATP の低下と酸化ストレスの増加が起こる. ユビキチン-プロテアソーム系酵素は初期には ATP 低下により, 後期にはプロテアソーム蛋白自体の酸化, および酸化蛋白のプロテアソームへの結合阻害により酵素活性が低下する. プロテアソームの不活化により, 遺伝性 PD と同様な経路により細胞死が引き起こされる.

## 孤発性 PD における神経細胞死の原因 — 家族性 PD との共通点と相違点

近年, 遺伝子異常による PD の報告があいついでおり, その病態を研究することにより孤発性 PD の病因を解明することが期待されている. 遺伝性 PD の詳細については他稿を参照されたいが, そこにおけるドパミン神経細胞死には構造異常蛋白の蓄積が中心的な役割を果たしていると考えられる.  $\alpha$ -synuclein の点変異, あるいは遺伝子重複による発現量増加は蛋白の  $\alpha$ ヘリックスから  $\beta$ -sheet への変換を促進し, 不溶性 fibril 形成を経て Lewy 小体を生成させる. 一方, parkin や UCH-L1, DJ-1 は細胞に不要あるいは有害となる蛋白の分解系であるユビキチン-プロテアソーム系にかかわる蛋白であり, 劣性遺伝性 PD を引き起こすことから, 蛋白の機能不全 (loss of function) が特定の蛋白蓄積を引き起こすことが想定される. 現在, 孤発性 PD の危険因子となる遺伝子多型がゲノムワイドで検索されているが<sup>11)</sup>, Alzheimer 病におけるアポ E 多型のように発症に強い影響を及ぼす分子は見出されていない. また, 遺伝性 PD の原因遺伝子にも孤発性 PD

と強い相関をもつ多型は認められない. では, Lewy 小体形成に至らしめる, いわば“病的”な蛋白蓄積がなぜ孤発性 PD で引き起こされるのであろうか.

著者らはそれ単独では神経変性の原因とはならない軽微な遺伝子多型に老化が加わることによりミトコンドリア機能障害が引き起こされ, ドパミン神経細胞死の原因となっているのではないかと仮定を立てて研究を行った. その結果, ミトコンドリアの呼吸鎖酵素の活性低下が細胞内 ATP 低下によるユビキチン-プロテアソーム活性の低下を引き起こすこと, 他方, ミトコンドリアからのラジカル漏出により酸化修飾蛋白生成が増加することが示された. 酸化修飾蛋白はユビキチン依存性あるいは非依存性にプロテアソームにより分解を受ける. 酸化修飾蛋白の生成増加と分解低下は異常蛋白の蓄積を引き起こす. さらに, 慢性的なミトコンドリア機能障害によりプロテアソームの非可逆的な失活が引き起こされた. その機序としてプロテアソーム構成蛋白の酸化による失活だけでなく, 酸化修飾蛋白がプロテアソーム酵素の活性部位に結合することにより酵素活性を阻害す

ることが示された<sup>12)</sup>。孤発性 PD の剖検脳ではミトコンドリア呼吸鎖酵素の活性および蛋白量の低下、酸化修飾蛋白増加、プロテアソーム酵素活性低下が報告されており、著者らのモデルと同様な状況が起こっている可能性がある(図 3)。プロテアソームの機能障害以降は遺伝性 PD と共通の経路で細胞死に至ると考えられる。

### おわりに

PD 患者のなかでも 95% を占める孤発性 PD の病因解明と治療法の開発は重要な課題である。本稿では PD における細胞死の原因がドパミン神経選択的なミトコンドリアに起因する可能性があることを示した。その原因は、ドパミンおよびドパミン由来の神経毒によるミトコンドリア傷害、そしてカテコールアミン神経細胞選択的に存在するミトコンドリアの A 型 MAO が関与している可能

性がある。今後の研究の発展が期待される。

### 文献

- 1) van Dyck, C. H. et al. : *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **10** : 36-43, 2002.
- 2) Harman, D. : *J. Gerontol.*, **11** : 289-300, 1956.
- 3) Kato, Y. et al. : *FEBS Lett.*, **439** : 231-234, 1998.
- 4) Maruyama, W. et al. : *J. Am. Aging Assoc.*, **24** : 11-18, 2001.
- 5) Shringarpure, R. et al. : *J. Biol. Chem.*, **278** : 311-318, 2003.
- 6) Fujiwara, H. et al. : *Nat. Cell Biol.*, **4** : 160-164, 2002.
- 7) Giasson, B. I. et al. : *Science*, **290** : 985-989, 2000.
- 8) Damier, P. et al. : *Brain*, **122**(Part 8) : 1437-1448, 1999.
- 9) Maruyama, W. et al. : *J. Neurochem.*, **70** : 2510-2515, 1998.
- 10) Akao, Y. et al. : *J. Neurochem.*, **82** : 913-923, 2002.
- 11) Momose, Y. et al. : *Ann. Neurol.*, **51** : 133-136, 2002.
- 12) Shamoto-Nagai, M. : *J. Neurosci. Res.*, **74** : 589-597, 2003.

\* \* \*

第12回カテコールアミンと神経疾患研究会

孤発性パーキンソン病における  
ドパミン神経選択的細胞死の機序：  
酸化ストレスとプロテアソーム機能障害を結ぶもの

丸山和佳子 永井 雅代 直井 信

## 孤発性パーキンソン病における ドパミン神経選択的細胞死の機序： 酸化ストレスとプロテアソーム機能障害を 結ぶもの

丸山和佳子 永井 雅代<sup>1)</sup> 直井 信<sup>2)</sup>

### はじめに

われわれは昨年, mitochondria complex I 阻害剤であるロテノンによるドパミン神経細胞死では, プロテアソーム活性が障害されること, その機序に酸化蛋白の生成が関与していることを報告しました.

そのときに, *in vivo*でロテノンを投与した場合, ドパミン神経だけが選択的に細胞死を来す原因は何か, またパーキンソン病が高齢者に起こるのはなぜか, との疑問が出されました.

その1つの答えとして, われわれはドパミン神経に何らかの異常な物質が選択的に蓄積することにより, プロテアソーム障害が起こるのではないかと考えています. そして, 1つの候補としてニューロメラニンを考えました.

われわれはドイツのRiederer教授らのグループと共同して, 加齢に伴って増加し蓄積していく中脳のニューロメラニンが, ドパミン神経にとって神経毒性をもつか, そしてubiquitin-proteasome systemを障害する可能性があるかについて実験を行いました.

### ニューロメラニンの蓄積と ドパミン神経への影響

ヒト神経芽細胞腫であるSH-SY5Y細胞に, 26Sプロテアソームに対する基質に蛍光基質を結合させたGFPアナログを付加した蛋白を発現した細胞を利用して, 26Sプロテアソーム活性を測定しました. ニューロメ

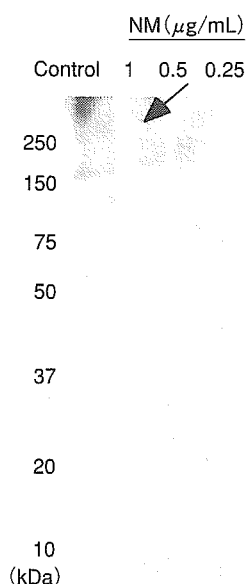


図1 ニューロメラニン存在下で培養したSH-SY5Y細胞におけるユビキチン化蛋白の蓄積

ラニンの添加によって26Sプロテアソーム活性が低下しますと, 細胞内に26Sプロテアソームの基質である蛍光蛋白の蓄積が認められるはずで, 実際, 細胞内の蛍光は添加ニューロメラニンに対し用量依存性, 時間依存性に増加します. すなわち, 可溶化したニューロメラニンが26Sプロテアソーム活性を*in situ*で阻害することが細胞実験で証明されました. そこで*in vitro*における酵素活性を測定するため, ユビキチン化したりソソームを基質として, 細胞のライセートから調整した酵素標品によるユビキチン化リソソームの分解を定量したところ, ニューロメラニンの用量依存性に活性が低下すること, すなわち分解活性が低下し, ユビキチン化リソソーム量の減少が阻害されることがわかりました. そして, ニューロメラニン存在下で培養した

1) W. Maruyama, M. Nagai : 国立長寿医療センター老化機構研究部代謝研究室 2) M. Naoi : 岐阜県国際バイオ研究所客員研究部(脳神経研究分野)

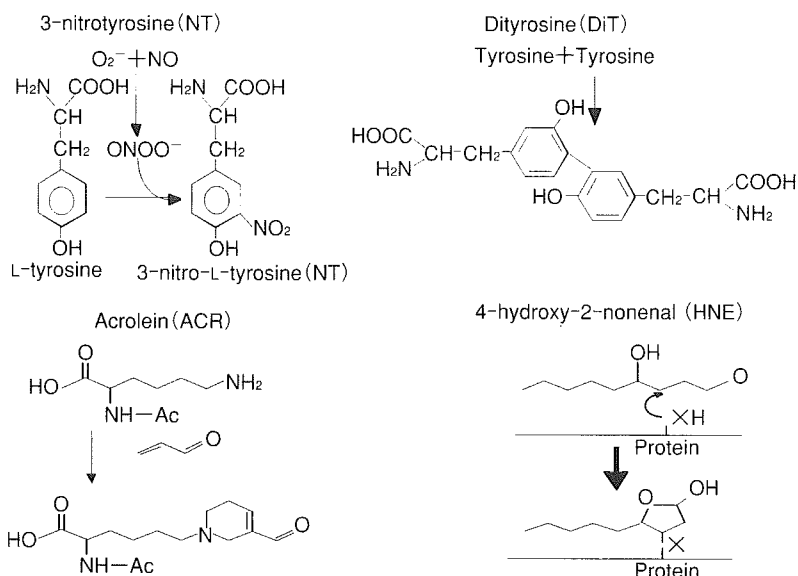


図2 各種蛋白の酸化修飾

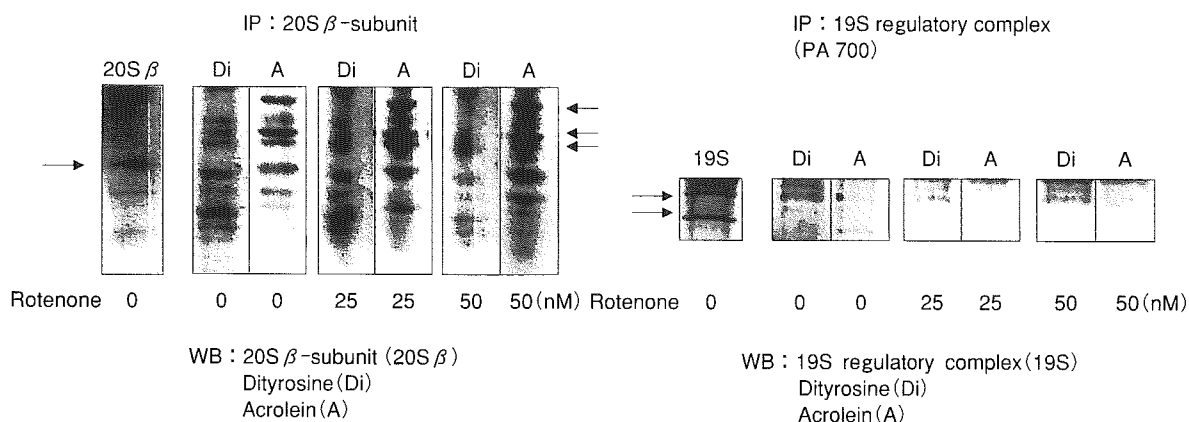


図3 プロテアソーム20Sβサブユニットにおけるアクロレイン化蛋白の増加と酸化蛋白の沈降反応

細胞では、ユビキチン化蛋白の異常な蓄積が認められました(図1)。しかし、ニューロメラニン(ATP非依存的な20Sプロテアソーム活性に対しては全く影響を及ぼさないことがわかりました。

すなわち、ニューロメラニンは加齢とともに蓄積しますので、その可溶化した一部の構成部分がドパミン神経における26Sプロテアソーム、つまりubiquitin proteasome pathwayを障害し、これが異常蛋白の蓄積に対するドパミン神経の脆弱性を決定していると考えられたわけです。

### アクロレイン化蛋白の役割

では、なぜある人はパーキンソン病になり、ある人はならないのか。われわれが最近注目しているのは、脂質過酸化の結果作られる、アルデヒドであるアクロレ

インが付加した蛋白の蓄積です。

アクロレインはリジン、ヒスチジン、システインに結合し、水野先生のグループがパーキンソン病のドパミン神経内での増加を報告した4-hydroxy-2-nonenal (HNE)と類似した化合物です(図2)。アクロレインはHNEが付加した蛋白と違い、もう1つの蛋白中のアミノ酸と重合できます。つまり、アミノ酸あるいはペプチド間のクロスリンカーとして働き、この結合は共有結合です。すなわち、アクロレイン化は蛋白重合、あるいは非常に大きな蛋白のconformational changeを起こし得ると想像されます。

そこで、このアクロレインがパーキンソン病のドパミン神経で増加しているかを検討するため、抗アクロレイン抗体を用い組織染色を行いました。特に変性を来したパーキンソン病におけるドパミン神経のサイト





	<b>討 論</b>	<b>11</b>
--	------------	-----------

座 長 小川 紀雄(岡山大学大学院医歯学総合研究科神経情報学)  
 演 者 丸山和佳子(国立長寿医療センター老化機構研究部代謝研究室)  
 発言者 服部 信孝(順天堂大学医学部脳神経内科)  
 澤田 秀幸(京都大学大学院医学研究科脳病態生理学臨床神経学)  
 武藤多津郎(藤田保健衛生大学医学部神経内科)

小川 ありがとうございます。ご質問に移る前に、抄録の中に酸化蛋白、変性蛋白、酸化修飾蛋白、修飾蛋白、異常蛋白と5種類の言葉が使い分けられていますが、これは特別な意図がありますか。

丸山 異常蛋白の中に酸化修飾蛋白は含まれます。

小川 特に使い分けを厳しくしているわけではないですね。

丸山 はい。

小川 それでは、ご質問をお願いします。

服部 先生が示されたのは、神経変性のタイプによっては20Sと26Sの障害の仕方が異なるかもしれないというデータだと思うのです。パーキンソン病では、20Sプロテアソームの活性が低下しているというデータがあります。われわれのデータでは20Sプロテアソームの活性が低下していなかったのですが、パーキンソン病では26Sプロテアソームが低下していると、先生はお考えなのですね。

丸山 酸化修飾蛋白のようなものに対しては、20S蛋白が最初の段階では重要ですが、それが大きな構造変化を来すと、やはりユビキチン化しないと壊されないような形になってくる。それで最終的には26Sが非常に重要です。つまり、両方大事です。

服部 しかし、どちらかというところ、26Sが働かなくなって、その次に20Sが破綻するというのが自然のように思いますが。

丸山 そうですね。ATP dependentですし、系が複雑なので、26Sの方が脆弱だと思います。ただ、26Sプロテアソーム活性がパーキンソン病で低下しているかどうかの報告はきちんとしたものが出ていないので、測定してみようと思っています。

服部 どうもありがとうございました。

小川 ほかにご質問の方はいらっしゃいますか。

澤田 いま服部先生がいわれたパーキンソン病でプロテアソームが低下しているというデータは、多分『Neuroscience Letters』に出たMcNaughtらの論文だ

と思うのですが、もう1つ、『Annals of Neurology』に出た論文があります。ただ、その論文では黒質のデータはなく、線条体の活性化はむしろ亢進しているというデータが含まれていたと思うのです。

黒質のデータで公表されたものは、確かにMcNaughtらの「Neuro Report」だけだと思うのですが、1つの可能性としては、神経終末でカテコールアミンの代謝回転が頻回に起こって、カテコールアミンが関与するとすれば神経終末、線条体の方が変化があってもよい可能性があります。自分たちの実験結果との関係で、むしろ私たちはプロテアソーム活性が上がるのかもしれないと、希望的には考えているのです。

教えていただきたいのは、カテコールアミンの代謝物に注目されて、ニューロメラニンの関与をご検討になったと思うのですが、ドパミンキノンの方がずっと反応性が高く、ニューロメラニンはかなり安定な物質だと思います。ニューロメラニンに特に注目されたのは、実際の病理で蓄積しているという観点からでしょうか。

丸山 合成ニューロメラニンはドパミンやL-DOPAで作るわけですが、脳の中にあるニューロメラニンはもっと複雑で、蛋白やアミノ酸や脂質とドパミンキノンなどが重合したものです。したがって、酸化蛋白と同様に、ニューロメラニンもまたプロテアソーム系を阻害する可能性があると思いました。そして、ドパミン神経の特質、あるいは加齢の問題を考えるとドパミン神経で加齢とともに蓄積してくる物質に注目したわけです。

ただ、パーキンソン病特異的と考えますと、病理でお示しましたように、パーキンソン病では酸化蛋白が増加していますが、コントロールではニューロメラニンしか増加していない。ですから、プロテアソーム系なり、ラジカルの増加により細胞内のホメオスタシスが破綻した状態がパーキンソン病であり、背景にはニューロメラニンの蓄積がある可能性があります。

小川 ニューロメラニンに関しては昔から良い面、悪い面がいわれていますよね。ですから、量や組成で働きが異なると思うのです。例えば、ニューロメラニンは鉄を3価から2価に変換してフェント反応を高めるとか、逆にある閾値を超えた量のニューロメラニンが金属をキレートして神経保護に働くとか、状況によって様々はならずです。ですから、一面だけではなかなか語れないと思うのです。

丸山 その点は先生の論文をたくさん読ませていただいて承知していますけれども、まずtoxicということで今回は報告させていただきましたし、プロテアソーム系に関して非常に限定されたところについて報告させていただきました。

澤田先生の最初のコメントについてですけれども、パーキンソン病で蓄積しているレビー小体にしても、ユビキチン化された蛋白が蓄積していることが多いので、26Sプロテアソームの重要性は、やはりあると思っています。

小川 では、最後にどうぞ。

武藤 ちょっと確認したいのですが、アクロレイン化された蛋白がユビキチン化されるのですか。

丸山 アクロレイン化された蛋白はそれだけではユビキチン化されないと思います。20Sプロテアソーム

で分解される程度のアクロレイン化であれば、ユビキチン化されなくてもプロテアソーム系で分解できます。ただ、共有結合を作って線維化しますと、20Sプロテアソームでは手に負えないので、ユビキチン化され26Sプロテアソームで解きほぐした後、分解される作用が必要になると思います。

武藤 最近、トリプレットリピート病でプロテアソームで分解されないというデータが出ているのですが、ポリグルタミンの場合の蛋白のconformationと、アクロレイン化された蛋白のconformationとの間にはあまり関係がないように思います。要するに、アクロレイン化されると詰まってしまうということですか。

丸山 構造が大きく変化して重合しますと、プロテアソームは蛋白が筒状となった形の酵素なので、蛋白が解きほぐされて1本鎖となり、ペプチドとして筒中に入るようにならないと消化できないわけです。ですから、凝集するとか、共有結合でいろいろなものが付着すると非常に入りにくくなって、多分、ATPを使ってそれを切るなりしなければいけないと思います。

小川 まだまだあると思いますけれども、時間がだいぶ過ぎてしまいましたので、申し訳ありませんが先に進ませていただきます。どうぞ、あとはフロアーの方でディスカッションしていただければと思います。

# 実験用霊長類の心理的ストレスを評価する 免疫学的指標と飼育環境のエンリッチメント評価

寺尾 恵治・小山 高正・鈴木 樹理

国立感染症研究所・筑波医学実験用霊長類センター

〒305-0843 つくば市八幡台1

日本女子大学・人間社会学部

〒214-8565 川崎市多摩区西生田1-1-1

京都大学・霊長類研究所

〒484-8506 犬山市官林

Immunological markers for evaluation of the stress in laboratory primates and assessment of environment enrichment.

Keiji TERAO, Takamasa KOYAMA and Juri SUZUKI

**Abstract** During the past two decades, a new research area has been developed to clarify the interaction or relationship between immune system and central nerves system (CNS). This scientific field needs interdisciplinary research and is designated as "Psychoneuro-immunology" or "Neuroimmunomodulation". Both the CNS and the immune system play an important role in maintaining normal physiological equilibrium or homeostatis and there are close interactions between them. The recent scientific interest in the relations between the CNS and the immune system focuses on the effects of psychological or psychosocial stress on immune functions in human. The relationship between bereavement and increase of mortality is well-known. However, given the methodological difficulties in quantifying stress and in its induction in humans, appropriate models are necessary to demonstrate how psychological factors

are translated into pathological change in the immune system. Nonhuman primates are thought to be the most suitable models in this research area, because they are the only species that show the same behavioral and endocrine response to social or psychological stress as human. For establishing nonhuman primate model in stress-immune study, the following problems must be previously clarified. That is [1] which procedure is the most effective in stress induction? and [2] which immune function is mostly affected by psychological stress?

The most important matter in the case of evaluation of well-being status is how to select the suitable parameter for assessment. We have been making efforts to establish the standard procedures of care and management to keep laboratory primates under well-being conditions. The standardized procedure assures the reliable and reproducible results from animal experiment since it has been well known that laboratory environment must affect the psychological and physiological condition of animals. The process of improvement of standard management procedure must be the process of establishment of well-being condition in laboratory animals. The current situation regarding nonhuman primates in biomedical research offers the promise of future progress under refined procedures and facilities.

Tsukuba Primate Center for Medical Science, National Institute of Infectious Diseases, Hachimandai-1, Tsukuba, Ibaragi, 305-0843 Japan

Department of Psychology, Japan Women's University, 1-1-1 Nishiikuta, Tama-ku, Kawasaki-shi, 214-8565 Japan

Primate Research Institute, Kyoto University, 41-2 Kanrin, Inuyama, Aichi, 484-8506

はじめに

最近、気の持ち方や生き甲斐などの心理的・精神的要因がガンや成人病などの発症や治癒に大きく関わっていることを示す一般向け医療解説書が人気を呼んで