

- neurotoxicity: the role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease. *Neurotox. Res.*, 5: 165-176, 2003.
6. Tanaka, K., Asanuma, M. and Ogawa, N.: Blockade of late-onset reduction of muscarinic acetylcholine receptors by immunosuppressants in forebrain ischemia. In: (ed.) Borlongan, C.V., Isacson, O. and Sanberg, P.R., *Immunosuppressant Analogs in Neuroprotection*, Humana Press, Totowa, 2003, pp215-229.
 7. 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎, 田中健一, 小川紀雄: アルツハイマー病脳で減少している growth inhibitory factor (GIF)の加齢にともなう変化. *分子精神医学*, 3: 69-70, 2003.
 8. 浅沼幹人, 宮崎育子, M. Emdadul Haque, 東 洋一郎, 小川紀雄: ドパミンおよびその誘導体のキノン体生成を介したアポトーシス誘導性. *Prog. Med.*, 23: 2736-2741, 2003.
 9. 浅沼幹人, 宮崎育子, 辻 武史, 小川紀雄: 非ステロイド性消炎鎮痛薬の神経保護作用の新展開. *日本神経精神薬理学会雑誌*, 23: 111-119, 2003.
 10. Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I. and Ogawa, N.: Rotenone induces disassembly of the Golgi apparatus in the rat dopaminergic neuroblastoma B65 cell line. *Neurosci. Lett.*, 354: 59-63, 2004.
 11. Miyoshi, K., Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F. J., Katayama, T., Tohyama, M. and Ogawa, N.: DISC1 localizes to the centrosome by binding to kendrin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 317: 1195-1199, 2004.
 12. Higashi, Y., Asanuma, M., Miyazaki, I., Hattori, N., Mizuno, Y. and Ogawa, N.: Parkin attenuates manganese-induced dopaminergic cell death. *J. Neurochem.*, 89: 1490-1497, 2004.
 13. Tanaka, K., Asanuma, M. and Ogawa, N.: Molecular basis of anti-apoptotic effects of immunophilin ligands on hydrogen peroxide-induced apoptosis in human glioma cells. *Neurochem. Res.*, 29: 1529-1536, 2004.
 14. Higashi, Y., Asanuma, M., Miyazaki, I. and Ogawa, N.: Expression of metallothionein-III and cell death in differentiated catecholaminergic neuronal cells. *Neurol. Res.*, 26: 671-676, 2004.
 15. Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Tsuji, T. and Ogawa, N.: Specific gene expression and possible involvement of inflammation in methamphetamine-induced neurotoxicity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1025: 69-75, 2004.
 16. Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Direct evidence for expression of dopamine receptors in astrocytes from basal ganglia. *Brain Res.*, 1029: 120-123, 2004.
 17. Asanuma, M., Miyazaki, I. and Ogawa, N.: Neuroprotective effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on neurodegenerative diseases. *Curr. Pharm. Des.*, 10: 695-700, 2004.
 18. Hozumi, I., Asanuma, M., Yamada, M. and Uchida, Y.: Metallothioneins and neurodegenerative diseases. *J. Health Sci.*, 50: 323-331, 2004.
 19. Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J. and Ogawa, N.: Quinone formation as dopaminergic neuron-specific oxidative stress in pathogenesis of sporadic Parkinson's disease and neurotoxin-induced parkinsonism. *Acta Med. Okayama*, 58: 221-233, 2004.
 20. 浅沼幹人, 宮崎育子: 遺伝子改変によるパーキンソン病モデル. *脳の科学*, 292 (2004年増刊号): 165-170, 2004.
 21. 小川紀雄, 浅沼幹人, 田中健一: Parkinson病薬物治療の将来—進行抑制薬実現の可能性. *医学のあゆみ*, 208: 583-588, 2004.
 22. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: 実験的パーキンソニズムに使われる薬剤—MPTP, 6-ヒドロキシドパミンならびにロテノン. *医薬ジャーナル*, 40: 111-116, 2004.
 23. 浅沼幹人: 酸化ストレスとミトコンドリア機能障害, 炎症反応—孤発性パーキンソン病とドパミン神経毒研究から得たもの. *内科*, 93: 611-615, 2004.
 24. 小川紀雄, 浅沼幹人, 三好 耕: パーキンソン病における細胞死の機序. *日本臨床*, 62: 1629-1634, 2004.
 25. Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Rotenone induces aggregation of gamma-tubulin protein and subsequent disorganization of the centrosome: Relevance to formation of inclusion bodies and neurodegeneration.

- Neuroscience, 133: 117-135, 2005.
26. Machida, Y., Chiba, T., Takayanagi, A., Tanaka, Y., Asanuma, M., Ogawa, N., Koyama, A., Iwatsubo, T., Ito, S., Jansen, P.H., Shimizu, N., Tanaka, K., Mizuno, Y. and Hattori, N.: Common anti-apoptotic roles of parkin and α -synuclein in human dopaminergic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332: 233-240, 2005.
 27. Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Shimizu, M., Tanaka, K. and Ogawa, N.: Pramipexole has ameliorating effects on levodopa-induced abnormal dopamine turnover in parkinsonian striatum and quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. *Neurol. Res.*, 27: 533-539, 2005.
 28. Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Dopamine agonist pergolide prevents levodopa-induced quinoprotein formation in parkinsonian striatum and shows quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. *Clin. Neuropharmacol.*, 28: 155-160, 2005.
 29. Ogawa, A., Nakamura, K., Matsubara, H., Fujio, H., Ikeda, T., Kobayashi, K., Miyazaki, I., Asanuma, M., Miyaji, K., Kusano, F., Date, H. and Ohe, T.: Prednisolone inhibits proliferation of cultured pulmonary artery smooth muscle cells of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 112: 1806-1812, 2005.
 30. Ogawa, N., Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J. and Miyoshi, K.: L-DOPA treatment from the viewpoint of neuroprotection: Possible mechanism of specific and progressive dopaminergic neuronal death in Parkinson's disease. *J. Neurol.*, 252 (Suppl 4): iv23-iv31, 2005.
 31. 浅沼幹人, 宮崎育子: 薬物依存・毒性発現にかかわる分子の分子生物学的検索法—網羅的プロファイリングを中心に. *日本薬理学雑誌*, 126: 30-34, 2005.
 32. 浅沼幹人: ドパミン受容体アゴニストによるドパミンニューロン死の制御. *Clinical Neuroscience*, 23: 1342-1343, 2005.
 33. 浅沼幹人, 小川紀雄: 酸化ストレスによる神経障害と神経保護療法—ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのキノン体毒性. *医学のあゆみ*, 215: 785-792, 2005.
 34. Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Centrosome overduplication induced by rotenone treatment affects the cellular distribution of p53 tumor suppressor protein in the neuroblastoma B65 cell line. *Psychiat. Clin. Neurosci.*, 60: S26-34, 2006.
 35. Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Fukuda, M., Kitaichi, K., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity is regulated by quinone formation-related molecules. *FASEB J.*, 10.1096/fj.05-4996fje. Published online January 10, 2006.
2. 学会等発表
1. 浅沼幹人, 宮崎育子, M. Emdadul Haque, 東 洋一郎, 小川紀雄: ドパミンおよびその誘導体のキノン体生成を介したアポトーシス誘導性. 第11回カテコールアミンと神経疾患研究会, 2003, 4, 19.
 2. 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子, 服部信孝, 水野美邦, 小川紀雄: マンガン誘発ドパミン神経毒性におけるパーキン蛋白の関与. 第44回日本神経学会総会, 2003, 5, 15.
 3. 浅沼幹人: ゾニサミドのグルタチオン増加作用は過剰L-DOPAによる神経障害に有効か? シンポジウム1「ゾニサミド: 新しい抗パーキンソン病薬?」, 第18回大脳基底核研究会, 2003, 6, 28.
 4. 宮崎育子, M. Emdadul Haque, 浅沼幹人, 小川紀雄: Possible involvement of tyrosinase in methamphetamine-induced dopaminergic toxicity. 第26回日本神経科学大会, 2003, 7, 23.
 5. 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子, 服部信孝, 水野美邦, 小川紀雄: Involvement of parkin protein in manganese-induced ER stress in dopaminergic cells. 第26回日本神経科学大会, 2003, 7, 24.
 6. Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Tsuji, T. and Ogawa, N.: Specific gene expression and possible involvement of inflammation in methamphetamine-induced neurotoxicity. International Society For Neurochemistry (ISN) /Asian Pacific Society For Neurochemistry (APSN) Sponsored Satellite Meeting. Current Status of Dependence/Abuse Studies: Cellular and Molecular Mechanisms of Drugs of Abuse and Neurotoxicity, 2003, 8, 1.

7. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: パーキンソン病モデル線条体へのメラニン合成酵素チロシナーゼ産生細胞の移植. 第46回日本神経化学会, 2003, 9, 24.
8. 宮崎育子, 浅沼幹人, 小川紀雄: 線条体アストロサイトにおけるドパミンレセプターの発現. 第46回日本神経化学会, 2003, 9, 25.
9. 辻 武史, 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: メタンフェタミンによるドパミン神経障害に対する非ステロイド性消炎鎮痛薬の効果 -II-. 第33回日本神経精神薬理学会年会, 2003, 10, 9.
10. 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎, 服部信孝, 水野美邦, 小川紀雄: マンガン誘発神経毒性におけるパーキン蛋白のドパミン神経特異的な関与. 第33回日本神経精神薬理学会年会, 2003, 10, 9.
11. F. Diaz, 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: Rotenone induce fragmentation of Golgi apparatus in dopaminergic neuroblastoma cell line. 第33回日本神経精神薬理学会年会, 2003, 10, 9.
12. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: メタロチオネインとパーキンソン病, 老化. メタロチオネイン2003, シンポジウムII メタロチオネインの臨床, 2003, 11, 22.
13. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: マンガン誘発ドパミン神経毒性に対するパーキンの保護効果とドパミンキノンの関与. 第45回日本神経学会総会, 東京, 2004, 5, 13.
14. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: メタンフェタミンのドパミン神経毒性におけるチロシナーゼの関与. 第31回日本脳科学会, 宮崎, 2004, 6, 11.
15. 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎, 小川紀雄: マンガン誘発神経毒性に対するパーキンの保護効果とドパミンの関与. 第31回日本脳科学会, 宮崎, 2004, 6, 11.
16. 宮崎育子, 浅沼幹人, 三好 耕, 小川紀雄, 船田正彦: 5MeO-DIPT のドパミン神経毒性に関する検討. 第34回日本神経精神薬理学会, 東京, 2004, 7, 23.
17. 浅沼幹人: 薬物依存・毒性発現にかかわる分子の分子生物学的検索ー網羅的プロファイリングを中心に. 薬理学サマーセミナー2004「ストレス, 不安, 依存ー行動実験のあり方と戦略」, 葉山, 2004, 9, 1.
18. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: マンガン誘発ドパミン神経毒性とパーキンの保護効果におけるキノン体生成の関与. 第47回日本神経化学大会・第27回日本神経科学大会, 大阪, 2004, 9, 21.
19. 三好 耕, 大西一成, 浅沼幹人, 宮崎育子, Francisco Diaz, 小川紀雄: DISC1 は中心体タンパク kendrin と結合する. 第47回日本神経化学大会・第27回日本神経科学大会, 大阪, 2004, 9, 22.
20. 宮崎育子, 浅沼幹人, 小川紀雄, 船田正彦: 5MeO-DIPT によるドパミン神経細胞毒性. 第47回日本神経化学大会・第27回日本神経科学大会, 大阪, 2004, 9, 22.
21. Asanuma, M., Miyazaki, I. and Ogawa, N.: Transplantation of tyrosinase-producing cells into parkinsonian model. 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, 2004, 10, 26.
22. Ogawa, N., Asanuma, M., Miyazaki, I. and Diaz-Corrales, F.J.: Dopamine agonist pergolide prevents levodopa-induced quinoprotein formation in parkinsonian striatum and shows quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. 9th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, New Orleans, 2005, 3, 7.
23. Francisco J. Diaz-Corrales, 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 小川紀雄: ロテノンのドパミン神経毒性における中心体-微小管構成異常の関与. 第13回カテコールアミンと神経疾患研究会, 東京, 2005, 4, 23.
24. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: パーキンソン病モデル線条体に特異的な L-DOPA 誘発キノン体生成. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005, 5, 26.
25. 宮崎育子, 浅沼幹人, 小川紀雄: 過剰ドパミンおよびメタンフェタミン誘発ドパミン神経障害における共通因子としてのキノン体生成. 第32回日本脳科学会, 千葉, 2005, 6, 3.
26. 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのドパミンキノンに対するシステイン基含有分

- 子の消去作用. 第 32 回日本脳科学会, 千葉, 2005, 6, 3.
28. 浅沼幹人: ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのドパミンキノン生成. 第 27 回日本生物学的精神医学会・第 35 回日本神経精神薬理学会合同年会, シンポジウム 2「ドパミン神経の脆弱性とその保護」, 大阪, 2005, 7, 6.
29. 宮崎育子, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 清水雅子, 北市清幸, 小川紀雄: キノン生成体のメタンフェタミン急性ドパミン神経毒性発現における関与. 第 27 回日本生物学的精神医学会・第 35 回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 7.
30. 田中健一, 福原薫子, 浅沼幹人, 小川紀雄: レボドパは 6-ヒドロキシドパミン由来の小胞体ストレスを増悪するがドパミンアゴニスト併用は抑制する. 第 27 回日本生物学的精神医学会・第 35 回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 7.
31. Francisco J. Diaz-Corrales, Masao Asanuma, Ikuko Miyazaki, Ko Miyoshi and Norio Ogawa: Aggregation of proteins in the centrosome and its importance in the neurodegenerative process. 第 27 回日本生物学的精神医学会・第 35 回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 8.
32. 浅沼幹人, 清水雅子, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 小川紀雄: パーキンソン病モデルへの L-DOPA 投与により誘発されるアポトーシス促進因子 PAG608 の運動ニューロンでの特異的発現. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 26.
33. 三好 耕, 大西一成, 浅沼幹人, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 小川紀雄: 発達期マウスにおける pericentrin の発現解析. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 26.
34. 宮崎育子, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 清水雅子, 三好 耕, 小川紀雄: メタンフェタミン神経毒性発現におけるキノン生成の関与. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 27.
35. 浅沼幹人, 宮崎育子, 清水雅子, 小川紀雄: p53 関連アポトーシス促進因子 PAG608 のパーキンソン病モデル線条体での L-DOPA 投与による特異的誘導と脳神経核運動ニューロンでの特異的局在. 第 3 回神経科学研究会, 東京, 2005, 9, 17.
36. 浅沼幹人, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 難波正義, 小川紀雄: Transplantation of tyrosinase cDNA-transfected hepatocytes into the atriatum of hemi-parkinsonian model. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 2005, 9, 28.
37. 宮崎育子, 辻 武史, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 小川紀雄: Mechanism of protective effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on methamphetamine-induced neurotoxicity. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 2005, 9, 28.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得 特になし
- 2) 実用新案登録 特になし
- 3) その他 特になし

Zonisamide (ZNS)の臨床効果の検討

—パーキンソン病のドーパミン作動性治療抵抗性振戦，本態性振戦，すくみ足—

分担研究者 近藤智善 和歌山県立医科大学教授

固縮，無動を指標とした L-DOPA 治療の至適治療下で振戦がコントロールされないパーキンソン病患者，本態性振戦の患者の振戦，L-DOPA 無効のすくみ足を主徴とする進行性核上性麻痺，純粋無動症，等の患者のすくみ足に対する Zonisamide (ZNS) の効果について臨床的に検討した。

パーキンソン病の L-DOPA 治療抵抗性振戦に対して ZNS が有効であることを確認した。本態性振戦に対して ZNS が有効で，本態性振戦の通常の治療薬 Arotinolol と有効率が同程度であることを確認した。すくみ足に対しても低頻度であるが有効症例があることを確認した。いずれも，大規模なより客観性の高い臨床試験が必要であるが，ZNS の難知性症状に対する応用の可能性を示唆する結果と考えられた。

A. 研究目的

パーキンソン病 (PD) の薬剤抵抗性振戦および本態性振戦 (ET) に対する Zonisamide (ZNS) の効果を確認し，ZNS の抗振戦作用について臨床的考察を加える。また，進行性核上性麻痺 (PSP)・純粋無動症 (PA) 症例のすくみ足に対する効果を検討する。

B. 研究方法

無動・固縮を指標とした至適治療下で振戦の残る PD 患者 14 例と未治療 ET 患者 14 例，既治療下ですくみ足のある PSP 5 例，純粋無動症 2 例，その他 3 例が対象である。PD 患者には既治療薬を固定のまま THP 3 mg/day (以下すべて一日用量)，ZNS 100 mg を，ET 患者には Arotinolol (ARO) 15 mg，ZNS 100 mg を，それぞれ 2 週間の休薬期間をおいて封筒法で crossover 投与し，2～4 週間投与後臨床効果と副作用を検討した。PSP 患者には既治療薬のうえに ZNS を 50～100 mg 追加投与した。PD の症状評価は Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)，ET の振戦評価は Fahn-Tolosa-Marin's clinical rating scale for tremor によった。統計上 $p < 0.05$ を有意差とした。PSP の症状評価には UPDRS と日本語訳した Giladi (2000) のすくみ足アンケート (FOGQ) を用いた。

(倫理面への配慮) 和歌山県立医科大学倫理委員

会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

PD における ZNS または THP による UPDRS 振戦スコアの改善はそれぞれ 8 例にみとめられ，両薬とも統計上有意な効果であった。振戦以外の UPDRS スコアも有意に改善したが，スコアの変化は軽微であった。ET においても ZNS，ARO による改善がそれぞれ 8 例でみられ，いずれも統計上有意差があった。ZNS 投与によって PSP 2 例で FOGQ スコアの著明な改善をみとめた。

D. 考察

PD の薬剤抵抗性振戦と ET の振戦に対する効果，PSP のすくみ足への効果を合わせ考えると，ZNS の効果はドーパミンを介した作用以外のものである可能性が示唆される。現在の薬物治療抵抗性症状に効果がある可能性が示唆された。

E. 結論

ZNS はドーパミン作動性治療に抵抗性の症状に効果し，神経難病の新しい治療薬となる可能性がある。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

別紙

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

パーキンソン病の遺伝子多型と発症リスクおよびゾニサミドの薬剤効果の研究

(分担)研究者 戸田達史¹⁾

研究協力者 水田依久子¹⁾、佐竹渉¹⁾、齊藤祐子²⁾、村山繁雄²⁾、岡晃³⁾、猪子英俊³⁾、山本光利⁴⁾、服部信孝⁵⁾、村田美穂⁶⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学、²⁾東京都老人総合研究所脳ゲノム、
³⁾東海大学分子生命科学2、⁴⁾香川県立中央病院神経内科、⁵⁾順天堂大学脳神経内科、
⁶⁾国立精神・神経センター武蔵病院神経内科

研究趣旨

孤発性パーキンソン病(PD)感受性遺伝子を明らかにするため、121個の候補遺伝子上の計268個のSNPsを関連解析して二段階スクリーニングの結果、*α-synuclein (SNCA)*遺伝子のintron 4上に存在するSNP0070に $p=5.0 \times 10^{-10}$ という極めて強い関連を見出した。SNP0070周辺領域を29個のSNPsを用いて連鎖不平衡解析を行い、SNP0070を含めて6個のSNPsがPDと極めて強い関連($p=2.0 \times 10^{-9}$ – 1.7×10^{-11})を示した。剖検脳前頭葉でのSNCA発現レベルはPD関連アレルの数と正の相関を持つ傾向があった。またpooled DNA法によるゲノムワイドマイクロサテライト関連解析では、約27,000マーカー全てに関して3段階関連解析を行い、71個の候補マーカーを得、個別タイピングにて16ヶ所の有意な領域を同定し、いよいよ全ゲノムから少数の領域に絞られてきた。SNCAは孤発性PDの確実な感受性遺伝子であり、今後はZonisamideの薬効に影響するSNPなどが、同定されると考えられる。

A.研究目的

高齢化に伴い患者数の増加が予測される孤発性PDの疾患感受性遺伝子を明らかにするとともにZonisamideの薬効に影響するSNPを同定し、テラーメイド化をめざし、平成16-17年分担研究者として研究を行った。

B.研究方法

PD候補遺伝子上のSNPをInvader法によりタイピングしてカイニ乗検定により関連解析を行う。一次スクリーニングは患者・対照各190人を、二次は患者882人・対照938人対象にした。遺伝子発現レベルの解析は定量RT-PCR法を用いた。

またゲノムワイドマイクロサテライト関連解析では、pooled DNA法を用い、全ゲノム上に平均100kb間隔で分布する約27,000個のマイクロサテライト多型を利用したゲノムワイド関連解析を行った。別検体群(患者対照:1次各124検体、2次各250検体、3次各250検体、計各624検体)を用いて1次2次3次スクリーニングを段階的に行い、候補領域を絞り込んだ。さらに、個別検体タイピングにより関連を検証した。

C.研究結果

候補遺伝子121個上の計268個のSNPsから*α-synuclein (SNCA)*遺伝子のintron 4上のSNP0070が $p=5.0 \times 10^{-10}$ という極めて強い関連を見出した。連鎖不平衡解析の結果、SNP0070を含めて6個のSNPsがPDと強く関連していた($p=2.0 \times 10^{-9}$ – 1.7×10^{-11})。Haplotype関連解析では

単独のSNPを下回るp値は見出せなかった。剖検脳前頭葉でのSNCA発現レベルはPD関連アレルの数と正の相関を持つ傾向があった。

またゲノムワイドマイクロサテライト関連解析では、1-3次スクリーニングを完了し、 $p < 0.05$ の関連を示すマーカーを348マーカーに絞り込んだ。うち、71マーカーに関して、個別検体タイピングによる検証が終了し、16マーカーで $p < 0.05$ の関連を認めた。この中には、 $p = 0.00067$ の関連を示すマーカーも含まれていた。

D.考察

遺伝統計学的にSNCAは確実にPD感受性遺伝子である。SNCAはPDの病理であるLewy小体に含まれ、高発現がPD発症に関与するという説が有力である。剖検脳におけるSNCA発現レベル解析の結果はこの説に合致する。またゲノムワイドマイクロサテライト関連解析では、個別検体タイピングでも関連が確認された領域を、SNPによる連鎖不平衡マッピングへと進める。

E.結論

SNCAはPDの確実な感受性遺伝子である。pooled DNAスクリーニングにより、感受性候補領域を348マーカーに絞り込み、16個所の感受性候補領域($p = 0.00067$ の関連を示すマーカーを含む)を同定した。

今後は数個の疾患感受性遺伝子やZonisamideの薬効に影響するSNPなどが、同定されると考えられ、テラーメイド化が期待される。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Maraganore DM, et al. Ann Neurol 55:512-521, 2004
- 2) Hatano Y, et al. Ann Neurol 56:424-427, 2004
- 3) Hatano Y, et al. Neurology 63:1482-1485, 2004
- 4) Nishioka K, et al. Ann Neurol Epub on 2005 Dec 15
- 5) Ishikawa K et al: Am J Hum Genet 77, 280-296, 2005
- 6) Li Y, et al Neurology 64:1955-1957, 2005
- 7) Mizuta I, et al. Hum Mol Genet 15 1151-1158 2006
- 8) Tomiyama H et al: Mov Disord (in press)
- 9) 水田、戸田. 日本臨床 62:1635-1640, 2004
- 10) 佐竹、戸田. 神経研究の進歩 48 :741-749, 2004

2.学会発表

- 1) 日本神経学会 (2004)
- 2) 日本人類遺伝学会 (2004)
- 3) Movement Disorders 国際学会(2004)
- 4) アメリカ人類遺伝学会 (2004)
- 5) 日本神経化学会 (2005)
- 6) 日本人類遺伝学会 (2005)
- 7) アメリカ人類遺伝学会 (2005)
- 8) 日本神経学会(2005)
- 9) AD-PD (2005)
- 10) COE 国際シンポ (2005)

H.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究年度終了報告書

日本発の新しい抗パーキンソン作用薬ゾニサミドの臨床研究
—パーキンソン病モデルサルによる検討—

分担研究者 南部 篤 自然科学研究機構生理学研究所 教授

ゾニサミドの抗パーキンソン病作用の機序を明らかにする目的で、パーキンソン病モデルサルを用い大脳基底核のニューロン活動と臨床症状を調べた。その結果、ゾニサミドが、L-ドパの作用を補うような作用機序によって抗パーキンソン病作用を示していること、ゾニサミド単独でも抗パーキンソン病作用があること、ゾニサミドの作用点が被殻(大脳基底核の入力部)であることなどが示唆された。

A. 研究目的

抗てんかん薬として日本で開発されたゾニサミドが抗パーキンソン病作用を持つことが解ってきたが、その作用機序については不明な点が多い。本研究では、パーキンソン病モデルサルを用い大脳基底核のニューロン活動と臨床症状を調べることにより、ゾニサミドの作用機序を明らかにする。

B. 研究方法

実験には、ニホンザルあるいはタイワンザルを用いた。まず正常な状態で、淡蒼球内節・外節から単一ニューロン活動を記録し、自発発射パターンや大脳皮質電気刺激による反応を調べておく。MPTP 神経毒を一側の内頸動脈に注入することで、ヘミパーキンソン病モデルを作成する。このようにして作成したパーキンソン病モデルサルの淡蒼球から単一ニューロン活動を記録し、正常な場合と比較する。その後、L-ドパ単独、ゾニサミド単独、L-ドパ+ゾニサミド併用投与（それぞれ静注）を行い、臨床症状とともに、大脳基底核の出力部である淡蒼球ニューロンの大脳皮質電気刺激に対する応答様式の変化を調べる。また、ゾニサミドの作用点を調べるため、ゾニサミドの脳内局所注入による効果も調べる。本実験は、自然科学研究機構岡崎3機関動物実験委員会で承認され、また「自然科学研究機構岡崎3機関における動物実験に関する指針」に従って行われた。

C. 研究結果

1、ゾニサミド単独投与では、症状の改善は認められなかった。しかし、淡蒼球ニューロンの大脳皮質電気刺激に対する応答様式や自発発射パターンは正常化する傾向にあった。

2、ゾニサミド+L-ドパ併用投与では、症状の改善時間がL-ドパ単独投与に比べて著明に延長した。また、それに伴って大脳皮質電気刺激による反応パターンが正常化する時

間が増長した。

3、被殻にゾニサミドを局所注入したところ、パーキンソン病症状は改善しなかった。被殻内ゾニサミド注入とL-ドパの全身投与を併用すると、L-ドパ単独投与に比べ、症状改善時間が延長する傾向が見られた。

D. 考察

我々のこれまでの研究から、大脳皮質運動野（一次運動野、補足運動野など）を電気刺激し淡蒼球内節からニューロン活動を記録すると、早い興奮+抑制+遅い興奮の3相性の反応を示すが、パーキンソン病の際にはこの抑制が減少していること、また、L-ドパ投与により、このような反応パターンが正常化することがわかっている。今回、臨床所見と神経活動を同時に観察した結果、ゾニサミド単独投与でも抗パーキンソン病作用を示すが、L-ドパとの併用により、より強力な効果を示すことが明らかとなった。その機序としては、ゾニサミドがL-ドパの作用を補うように作用すると考えられる。また、ゾニサミドの作用点の一つとして、被殻が考えられる。

E. 結論

ゾニサミドが、L-ドパの作用を補うような作用機序によって抗パーキンソン病作用を示していること、ゾニサミド単独でも抗パーキンソン病作用があること、ゾニサミドの作用点が被殻であることなどが示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tachibana Y, Nambu A, Hatanaka N, Miyachi S, Takada M (2004) Input-output organization of the rostral part of the dorsal premotor cortex, with special reference to the corticostriatal projection. *Neurosci Res* 48: 45-57.

Takada M, Nambu A, Hatanaka N, Tachibana Y, Miyachi S, Taira M, Inase M (2004)

Organization of prefrontal outflow toward frontal motor-related areas in macaque monkeys. *Eur J Neurosci* 19: 3328-3342.

Kita H, Nambu A, Kaneda K, Tachibana Y, Takada M (2004) Role of ionotropic glutamatergic and GABAergic inputs on the firing activity of neurons in the external pallidum in awake-monkeys. *J Neurophysiol* 92: 3069-3084.

Nambu A (2004) A New Dynamic Model of Cortico-Basal Ganglia Loop. *Brain Mechanisms for the Integration of Posture and Movement. Prog Brain Res* 143. eds Mori S, Stuart DG, Wiesendanger M, Elsevier, Amsterdam, pp461-466

南部 篤 (2004) 定位脳手術のための生理学. *脳神経外科*, 32: 179-191.

南部 篤 (2004) 脳深部刺激療法の作用機序. *脳* 21, 7: 262-269.

Miyachi S, Lu X, Inoue S, Iwasaki T, Koike S, Nambu A, Takada M (2005) Organization of multisynaptic inputs from prefrontal cortex to primary motor cortex as revealed by retrograde transneuronal transport of rabies virus. *J Neurosci* 25: 2547-2556.

Kita H, Tachibana Y, Nambu A, Chiken S (2005) Balance of monosynaptic excitatory and disynaptic inhibitory responses of the globus pallidus induced after stimulation of the subthalamic nucleus in the monkey. *J Neurosci* 25: 8611-8619.

Kaneda K, Tachibana Y, Imanishi M, Kita H, Shigemoto R, Nambu A, Takada M (2005) Downregulation of metabotropic glutamate receptor 1a in globus pallidus and substantia nigra of parkinsonian monkeys. *Eur J Neurosci* 22: 3241-3254.

Hatanaka N, Tokuno H, Nambu A, Inoue T, Takada M (2005) Input-output organization of jaw movement-related areas in monkey frontal cortex. *J Comp Neurol* 492: 401-425

Nambu A (2005) A new approach to understand the pathophysiology of Parkinson's disease. *J Neurol* 252[Suppl 4]: 1-4

Nambu A, Tachibana Y, Kaneda K, Tokuno H, Takada M (2005) Dynamic model of basal ganglia functions and parkinson's disease. *The Basal Ganglia VIII. Eds Bolam JP, Ingham CA, Magill PJ, Springer, pp307-312*

Takada M, Kaneda K, Tachibana Y, Imanishi M, Kita H, Shigemoto R, Nambu A (2005) Down regulation of a metabotropic glutamate receptor in the parkinsonian basal ganglia. *The Basal Ganglia VIII. Eds Bolam JP, Ingham CA, Magill PJ, Springer, pp255-263*

Kita H, Tachibana Y, Nambu A (2005) Glutamatergic and GABAergic control of pallidal activity in monkeys. *The Basal Ganglia VIII. Eds Bolam JP, Ingham CA, Magill PJ, Springer, pp545-554*

南部 篤 (2005) 大脳皮質と大脳基底核. *標準生理学第6版*.

南部 篤 (2005) 定位脳手術のための生理学. *定位脳手術入門*, 医学書院, pp19-33

2. 学会発表

南部 篤、橋 吉寿、金田勝幸、喜多 均、高田昌彦 (2004) 視床下核高頻度刺激が、パーキンソン病サルの大脳皮質ニューロンの活動に及ぼす影響 第27回日本神経科学大会 2004年7月21日 大阪

高田昌彦、宮地重弘、陸 暁峰、今西美知子、伊

東由美、南部 篤 (2004) 被殻から一次運動野への多シナプス性入力様式-狂犬病ウイルスの逆行性経シナプス輸送を用いた解析 第27回日本神経科学大会 2004年7月21日 大阪

宮地重弘、陸 暁峰、今西美知子、伊東由美、南部 篤、高田昌彦 (2004) サル前頭前野から一次運動野への多シナプス性入力-狂犬病ウイルスの逆行性経シナプス輸送による可視化 第27回日本神経科学大会 2004年7月21日 大阪

橋 吉寿、金田勝幸、南部 篤、畑中伸彦、今西美知子、喜多 均、重本隆一、高田昌彦 (2004) パーキンソン病における淡蒼球内代謝型グルタミン酸受容体の動作様式 第27回日本神経科学大会 2004年7月21日 大阪

畑中伸彦、宮地重弘、橋 吉寿、井上 智、南部 篤、高田昌彦 (2004) 顎運動に関わる多シナプス性神経回路の同定 第27回日本神経科学大会 2004年7月21日 大阪

湯本直杉、陸 暁峰、南部 篤、岡本 洋、深井朋樹、高田昌彦 (2004) 時間認知課題に应答するサル前頭前野の神経活動 第27回日本神経科学大会 2004年7月23日 大阪

Takada M, Kaneda K, Tachibana Y, Imanishi M, Kita H, Shigemoto R, Nambu A (2004) Downregulation of metabotropic glutamate receptor 1a in pallidal complex of parkinsonian monkeys. *International Basal Ganglia Society 8th Triennial Meeting, 8th September 2004, Crieff, Scotland*

Nambu A, Tachibana Y, Kaneda K, Tokuno H, Takada M (2004) Abnormal pallidal activity evoked by cortical stimulation in the parkinsonian monkey. *International Basal Ganglia Society 8th Triennial Meeting, 8th September 2004, Crieff, Scotland*

Kita H, Tachibana Y, Nambu A (2004) Response of monkey pallidal neurons to single and burst electrical stimulation of the subthalamic nucleus. *International Basal Ganglia Society 8th Triennial Meeting, 8th September 2004, Crieff, Scotland*

Takada M, Miyachi S, Lu X, Inoue S, Iwasaki T, Koike S, Nambu A (2004.10) Organization of multisynaptic inputs to proximal vs distal parts of forelimb representation of primary motor cortex I prefrontal inputs. *Society for Neuroscience, 34th Annual Meeting, San Diego, USA.*

Lu X, Miyachi S, Ito Y, Inoue S, Iwasaki T, Koike S, Nambu A, Takada M (2004.10) Organization of multisynaptic inputs to proximal vs distal parts of forelimb representation of primary motor cortex III cerebellar inputs. *Society for Neuroscience, 34th Annual Meeting, San Diego, USA.*

Yumoto N, Lu X, Okamoto H, Nambu A, Fukai T, Takada M (2004.10) Prefrontal neuron activity during performance of time-reproducing task. *Society for Neuroscience, 34th Annual Meeting, San Diego, USA.*

南部 篤 (2005) 不随運動の基礎: 解剖学的・生理学的側面 第44回日本定位・機能神経外科学会 2005年1月21日 大阪

橋 吉寿、畑中伸彦、高田昌彦、南部 篤 (2005) 線条体における GABA 作動性の神経伝達について-覚醒サルでの検討- 第82回日本生理学会大会 2005年5月19日 仙台

高田昌彦、宮地重弘、陸 暁峰、今西美知子、澤田香織、南部 篤 (2005) 一次運動野への入力様式から見た前頭前野の体部位再現 第82

回日本生理学会大会 2005年5月20日 仙台
南部 篤、橋 吉寿、畑中伸彦、高田昌彦 (2005)
線条体における GABA 作動性の神経回路 第
28 回日本神経科学大会 2005年7月27日
横浜
宮地重弘、陸 暁峰、今西美知子、澤田香織、南
部 篤、高田昌彦 (2005) 前頭前野から一次
運動野への体部位再現的多シナプス性入力
第 28 回日本神経科学大会 2005年7月27日
横浜
湯本直杉、陸 暁峰、宮地重弘、山根 到、伊東
由美、岡本 洋、南部 篤、深井朋樹、高田
昌彦 (2004) 前頭皮質における時間コーディ
ング 第 28 回日本神経科学大会 2005年7
月28日 横浜
Miyachi S, Lu X, Imanishi M, Sawada K, Nambu A,
Takada M (2005) Somatotopic arrangement of

multisynaptic prefrontomotor projections in
macaques. 35th Annual Meeting of Society for
Neuroscience, November 13, 2005, Washington
DC, USA
Yumoto N, Lu X, Miyachi S, Nambu A, Fukai T,
Takada M (2005) Role of monkey prefrontal
cortex in time reproduction. 35th Annual
Meeting of Society for Neuroscience,
November 14, Washington DC, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

日本発の新しい抗パーキンソン病作用薬ゾニサミドの臨床研究に関する研究

分担研究者 野元 正弘 愛媛大学医学部臨床薬理学講座教授

研究要旨

小型のサルのコモン・マーモセットを用いてゾニサミドの抗パーキンソン病作用を検討した。ドパミン神経毒の 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)により作製したパーキンソン病モデルサルにおいて、ゾニサミドを腹腔内へ投与した後 L-dopa を投与して運動量を測定したところ、ゾニサミドは L-dopa 投与によるモデル動物の運動量を高めるように作用した。連続投与でも同様の作用を認めた。次にコモン・マーモセットとラットとを用いてマイクロダイアリス法により線条体のドパミン代謝を検討した。その結果ゾニサミド投与により L-dopa 投与後の線条体細胞外液中のドパミン濃度は増加した。しかし、サルとラットにおける種差は明らかではなく、選択的 MAO-B 阻害薬の selegiline とは異なる結果であった。ゾニサミドは L-DOPA に対するパーキンソン病モデル動物の反応を改善させ、その機序として線条体のドパミン濃度の上昇が推測された。

A. 研究目的

パーキンソン病モデル動物ならびに正常のコモン・マーモセットとラットを用いて、ゾニサミドの抗パーキンソン病作用とその機序を明らかにする。

実験 2 : 作成したモデル動物に対してゾニサミド (0, 20, 40, 60, 80 mg/kg) を投与し、1 時間後に L-dopa(40mg/kg, benserazide 10mg/kg) を経口投与して運動量を測定した。

B. 研究方法

実験 1 : 小型の新世界サルであるコモン・マーモセット(2~3 歳, 雌雄)に選択的なドパミン神経毒の 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)2.5mg/kg を下肢の伏在静脈へ投与した。サルの運動症状を評価した後、パーキンソン病モデル症状を呈するよう MPTP を複数回投与した。最終の MPTP を投与してから 3 ヶ月以上を経過し、運動症状が安定した個体をパーキンソン病モデル動物として用いた。

実験 3 : ゾニサミド(25, 40 mg/kg)を 1 日 1 回 7 日間腹腔内へ連続投与した。7 日目にゾニサミドの投与 1 時間後に L-dopa(40mg/kg, benserazide 10mg/kg) を経口投与して運動量を測定した。ゾニサミドを投与しない対照動物には vehicle を投与した。1 ヶ月間の休薬期間を設定し、クロスオーバー法による検討を行った。

実験 4 : 正常のコモン・マーモセットを用いてマイクロダイアリス法を行った。ガイドカニューレを線条体に植え込み、48 時間経過後にゾニサミド

ド(40mg/kg)を単回腹腔内投与し 1 時間後に L-dopa(40mg/kg, benserazide 10mg/kg)を経口投与した。マイクロダイアリシス法は線条体に植え込んだガイドカニューレにプローブを挿入し、人工髄液を灌流して線条体細胞外液中のドパミン、DOPAC、HVA の細胞外液中濃度を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。移動相には酢酸ナトリウム(8.2g)、クエン酸(19.2g)、オクタスルホン酸ソーダ(160mg)、EDTA・2NA(50mg)、100%メタノール(300ml)を蒸留水で全体を 1000ml (PH3.9)に調製して用いた。

実験 5 : 正常ラットを用いたマイクロダイアリシス法を行った。ガイドカニューレを線条体に植え込み、48 時間経過後にゾニサミドを単回腹腔内投与し 1 時間後に L-dopa(40mg/kg, benserazide 10mg/kg)を経口投与した。マイクロダイアリシス法は線条体に植え込んだガイドカニューレにプローブを挿入し、人工髄液を灌流して線条体細胞外液中のドパミンとその代謝物質を測定した。

薬物

ゾニサミドは dimethylsulfoxide(DMSO)に懸濁し、生理食塩水で 20%に調製して腹腔内投与した。対照動物に投与した Vehicle は DMSO と生理食塩水との混合液を投与した。L-dopa と benserazide は水に懸濁して経口投与した。

なお、正常コモン・マーモセットにゾニサミド

C. 研究結果

ゾニサミドの単回投与により L-dopa 投与後の自発運動量は増加した。7 日間連続投与においても同様に L-dopa 投与によりモデル動物の運動量は高まる傾向がみられた。またコモン・マーモセットの線条体におけるドパミンとその代謝物質の動態の検討から、ゾニサミドを投与することにより L-dopa 投与後の線条体細胞外液中のドパミンの濃度は増加し、代謝物質は減少する傾向がみられた。ラットでも同様の結果であり、コモン・マ

ーモセットとラットで種差はみられなかった。またコモン・マーモセットにおけるゾニサミドの血中濃度は単回投与により 1 時間後に最高値となり 21 μ g/ml であった。7 日間の 1 日 1 回の連日投与では 35 μ g/ml であった (臨床での推奨濃度 : 20 μ g/ml)。

D. 考察

ゾニサミドの単回および連続投与により L-dopa による運動量誘発作用を増加させる方向へ作用する傾向がみられた。このことからゾニサミドはドパミン神経の作用を増強する可能性がある。またコモン・マーモセットとラットのダイアリシスの結果、ゾニサミドの前投与によりドパミンの増加が促進し代謝物質が抑制される方向がみられたことは、線条体においてドパミンの取り込み阻害あるいはドパミンの代謝を抑制する可能性が考えられた。また霊長類とげっ歯類で種差のみられなかったことは、選択的 MAO-B 阻害薬の selegiline とは異なる結果であった。

E. 結論

ゾニサミドによりパーキンソン病モデル動物の運動量を改善させた。また脳内のドパミン濃度が増加しており、ゾニサミドは L-dopa の抗パーキンソン病作用を増強させることが考えられた。その作用は選択的 MAO-B 阻害薬の selegiline とは異なることが示唆される。

F. 健康管理情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Akiko Nakatsuka, Masahiro Nagai, Hayato Yabe, Noriko Nishikawa, Takuo Nomura, Hiroyoko Moritoyo, Takashi Moritoyo & Masahiro Nomoto. Effect of clarithromycin on the pharmacokinetics of cabergoline in the healthy controls and in patients with Parkinson's disease.

- Journal of Pharmacological Sciences,
100:59-64,2006
- 2) Masahiro Nomoto
Pharmacological consideration of the symptoms resistant to dopaminergic therapy. Parkinsonism and related disorders, 2006
 - 3) Masahiro Nomoto, Masahiro Nagai
Proteasome Function and Pathological Proteins in the Pathogenesis of Parkinson' s Disease. Journal of Pharmacological Sciences, 97:455-456, 2005.
 - 4) Iwata S, Nomoto M, Morioka M, Miyata A.
Gene expression profiling in the midbrain of striatal 6-hydroxydopamine-injected mice. Synapse 51: 279-286,2004.
 - 5) Hichiya H, Kuramoto S, Yamamoto S, Shinoda S, Hanioka N, Narimatsu S, Asaoka K, Miyata A, Iwata S, Nomoto M, Satoh T, Kiryu K, Ueda N, Naito S, G.T.Tucker, S.W.Ellis.
Cloning and functional expression of a novel marmoset cytochrome P450 2D enzyme,CYP2D30: comparison with the known marmoset CYP2D19. Biochemical Pharmacology 68: 165-175,2004.
 - 6) Saito M, Nakagawa M, Kaseda S, Matsuzaki T, Jonosono M, Eiraku N, Kubota R, Takenouchi N, Nagai M, Furukawa Y, Usuku K, Izumo S.
Decreased Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) provirus Load and alteration in T Cell phenotype after interferon-alpha therapy for HTLV-I-associated myelopathy/Tropical spastic paraparesis. Journal of Infectious Diseases 189(1): 29-40, 2004.
 - 7) Maloney EM, Nagai M, Hisada M, Soldan SS, Goebel PB, Carrington M, Sawada T, Brennan MB, Cranston B, Hanchard B, Jacobson S.
Prediagnostic Human T Lymphotropic Virus Type I provirus loads were highest in Jamaican children who developed seborrheic dermatitis and severe anemia. Journal of Infectious Diseases 189(1): 41-45, 2004.
 - 8) Nomoto M, Nagai M, Nakatsuka A, Yabe H, Moritoyo T, Motritoyo H.
Bioavailability of a dopamine receptor agonist, cabergoline increases through drug interaction with clarithromycin, a macrolide. Movement Disorders 19: S277-S278,2004.
 - 9) Nomoto M, Nomura T, Nakatsuka A, Nagai M, Yabe H.
Parmacokinetic study on the interaction between cabergoline and clarithromycin in healthy volunteers and patients with parkinson's disease. Clinical Pharmacology and Therapeutics 75(2): S79,2004.
 - 10) Shimizu T, Iwata S, Morioka H, Masuyama T, Fukuda T, Nomoto M.
Antinociceptive mechanism of L-DOPA. Pain,110: 246-249,2004.
 - 11) Oyoshi T, Nomoto M, Hirano H, and Kuratsu J.
Pathodynamics of Nitric Oxide Production Within Implanted Glioma Studied With an In Vivo Microdialysis Technique and Immunohistochemistry. Journal of Pharmacological Science 91:15-22,2003.
 - 12) Nagai M, Osame M.
Human T-cell lymphotropic virus type I and neurological diseases. Journal of Neurovirology 2:228-235, 2003.
 - 13) Tomaru U, Yamano Y, Nagai M, Maric D, Kaumaya PT, Biddison W, Jacobson S.
Detection of virus-specific T cells and CD8(+) T-cell epitopes by acquisition of peptide-HLA-GFP complexes: analysis of T-cell phenotype and function in chronic viral infections. Nature Medicine 9:469-476, 2003.
 - 14) Nomoto M.

- Clinical pharmacology and neuroprotection in Parkinson's disease.
Parkinsonism & Related Disorders Vol. 9(2): S55-S58, 2003.
- 15) Akase Tomoko, Akase Tomohide, Onodera S, Jobo T, Matsushima R, Kaneko M, Tashiro S.
A Comparative Study of the Usefulness of Toki-shakuyaku-san and an Oral Iron preparation in the Treatment of Hypochromic Anemia in Cases of Uterine Myoma.
The Pharmaceutical Society of Japan 123(9): 817-824, 2003.
- 16) Sugimoto C, Tadakuma K, Otani I, Moritoyo T, Akari H, Ono F, Yoshikawa Y, Sata T, Izumo S, Mori K.
nef gene is required for robust productive infection by simian immunodeficiency virus of T-cell-rich paracortex in lymph nodes. Journal of Virology 77: 4169-80, 2003.
- 17) Xing H. Q, Moritoyo T, Mori K, Tadakuma K, Sugimoto C, Ono F, Hayakawa H, Izumo S.
Simian immunodeficiency virus encephalitis in the white matter and degeneration of the cerebral cortex occur independently in simian immunodeficiency virus-infected monkey.
Journal of Neurovirology 9(4): 508-18, 2003.
- 18) Jie Zhang, Fu-rong Qu, Nakatsuka A, Nomura T, Nagai M, Nomoto M.
Pharmacokinetics of L-dopa in Plasma and Extracellular Fluid of Striatum in Common Marmosets.
Brain Research 993: 54-58,2003.
- 19) Nagai M, Nakatsuka A, Yabe H, Nomoto M.
Neuroprotection in Parkinson's Disease and Clinical Pharmacology.
Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 26: 79-82,2003.
- 20) 中塚晶子, 野元正弘
健康食品による健康被害
日本醫事新報, 4225:23-25, 2005.
- 21) 永井将弘, 野元正弘
腎の薬物トランスポーターと薬物代謝
日本醫事新報, 4251:18-20, 2005.
- 22) 野元正弘、中塚晶子、永井将弘、矢部勇人、森豊隆志、森豊浩代子、西川典子
パーキンソン病治療の個人差と薬物動態
臨床神経 45:895-898, 2005
- 23) 永井将弘, 野元正弘
薬物による痴呆 痴呆症学(2)
日本臨床社, 東京, 62:S498-S502, 2004.
- 24) 中塚晶子, 野元正弘
各種薬剤の副作用としてのパーキンソニズム～その成因, 特徴ならびに対応～
フェノチアジン系抗精神病薬,
医薬ジャーナル 40(1): 73-77, 2004.
- 25) 野元正弘
筋弛緩薬, 局所麻酔薬
シンプル薬理学, 南江堂, 東京: 93-100, 2004.
- 26) 矢部勇人, 野元正弘
パーキンソン病薬の種類と使い方
内科 93(4):658-662, 2004.
- 27) 永井将弘, 野元正弘
パーキンソン病治療薬の種類と特徴
診断と治療 92(5):795-801,2004.
- 28) 永井将弘, 野元正弘
MAO阻害薬およびCOMT阻害薬
脳の科学 26(292): 297-301, 2004.
- 29) 永井将弘, 野元正弘
抗パーキンソン病薬の現状と展望
Medico 35(3): 1-4, 2004.
- 30) 野元正弘 医師主導治験の推進と今後の課題
日本医事新報 4195: 57-58, 2004.
- 31) 野元正弘
パーキンソン病治療薬の薬理学的作用機序モデル
日本臨床 62:1653-1660,2004.
- 32) 山下泰治, 矢部勇人, 立花一朗, 永井将弘, 野元正弘

- 発症5カ月後に初めて MRI で異常所見を確認できたアトピー性脊髄炎
神経内科 61(3):303-305,2004.
- 33) 中塚晶子、野村拓夫、野元正弘
薬剤による神経症状
内科 91(4): 695-702, 2003.
- 34) 中塚晶子、野元正弘
抗パーキンソン病薬の種類とその特徴
日本内科学会雑誌 92(8): 29-35, 2003.
- 35) 野元正弘
パーキンソン病の精神的側面についての臨床薬理学的背景
中外医学社, 東京:28-36,2003.
2. 学会発表
- 1) 第46回日本神経学会総会(2005 鹿児島)
野元正弘
「薬物動態に基づくパーキンソン病の治療」
永井将弘、中塚晶子、矢部勇人、森豊浩代子、森豊隆志、野元正弘
「パーキンソン病治療におけるグレープフルーツの応用」
- 2) 第26回日本臨床薬理学会総会(2005 大分)
野元正弘
「代替医療と臨床薬理 健康食品について」
- 3) Annual meeting American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics (2005 March Florida)
①A.Natatsuka, M.Nagai, H.Yabe, T.Moritoyo, M.Nomoto
A CYP3A4 inhibitor increased the effect of cabergoline in the treatment of Parkinson's Disease.
②M.Nagai, A.Natatsuka, H.Yabe, T.Moritoyo, M.Nomoto
Effect of grapefruit juice on cabergoline pharmacokinetics in patients with Parkinson's disease.
- 6) American Society of Clinical Pharmacology and Therapeutics Annual Meeting (2004.,Miami)
Nomoto M, Nakatsuka A, Nagai M, Yabe H.
「Pharmacokinetic study on the interaction between cabergoline and clarithromycin in healthy volunteers and patients with parkinson's disease.」
- 7) 第77回日本薬理学会年会(2004 大阪)
野元正弘, 永井将弘, 矢部勇人, 中塚晶子, 森豊隆志
「カルビドパ合剤とベンセラジド合剤の違いによるパーキンソン病患者レボドパ血中濃度の変化」
- 8) 第45回日本神経学会総会(2004 東京)
①永井将弘, 野元正弘, 張捷, 矢部勇人, 中晶子, 森豊隆志
「急性に強いふるえをきたしたパーキンソン病の一例」
②中塚晶子, 矢部勇人, 永井将弘, 森豊隆志, 野元正弘
「麦角系ドパミン受容体作動薬の薬物相互作用」
③森豊隆志, 永井将弘, 矢部勇人, 岡留格, 森豊浩代子, 中塚晶子, 野元正弘
「治療薬物モニタリング(TDM)を用いた塩酸アママンタジンによるパーキンソン病の治療」
- 11) 第76回日本神経学会中国・四国地方会(2004 岡山)
矢部勇人, 山下泰治, 永井将弘, 野元正弘, 森豊隆志, 立花一朗
「発症5ヶ月後に初めてMRIで異常所見を確認できたアトピー性脊髄炎の1例」
- 12) 8th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders(2004. Rome)
Nomoto M, Nagai M, Nakatsuka A, Yabe H, Moritoyo T, Motritoyo H
「Bioavailability of a dopamine receptor agonist, cabergoline increases through drug interaction with clarithromycin, a macrolide.」
- 13) 第22回日本神経治療学会総会(2004 札幌)
永井将弘, 矢部勇人, 森豊隆志, 野元正弘
「塩類下剤酸化マグネシウムのL-ドパ製剤体

内吸収に及ぼす影響」

14) 第19回日本大脳基底核研究会(2004 松山)

①矢部勇人, 野元正弘

頸部脊椎症によると考えられる不随意運動の一例

②森豊隆志, 有村公良, 島史雄, 瀬川昌也, 高嶋博, 平野隆城, 岡留格, 野元正弘

不随意運動により歩行困難をきたした親子例

16) 第25回日本臨床薬理学会年会(2004 静岡)

①永井将弘, 中塚晶子, 矢部勇人, 森豊隆志, 野元正弘

「グレープフルーツジュース, クラリスロマイシン併用がドパミン受容体刺激薬カベルゴリン血中濃度に及ぼす影響について」

②中塚晶子, 永井将弘, 成本由佳, 岡本千恵, 西内尚子, 岡田明美, 山崎知恵子, 矢部勇人, 森豊浩代子, 森豊隆志, 野元正弘

「試験薬による治療効果は治験参加における満足度の必要事項ではない」

18) 2nd Japan-China Joint Meeting of Basic and Clinical Pharmacology

第2回日中薬理・臨床薬理 Joint Meeting(2004. shizuoka)

Clarithromycin, a CYP3A4 inhibitor, increased the antiparkinsonian effect of cabergoline, an ergote dopamine agonist in the treatment of Parkinson's disease

Akiko Nakatsuka, Masahiro Nagai, M.D.,Ph.D., Hayato Yabe, M.D., Takashi Moritoyo M.D.,Ph.D., and Masahiro Nomoto, M.D.,Ph.D.

19) 第77回日本神経学会中国・四国地方会(2004 広島)

森豊隆志, 佐々木康浩, 篠崎友治, 曾根康夫, 森豊浩代子, 永井将弘, 野元正弘

「脳幹部梗塞が原因と考えられた Secondary Hemiparkinsonism の1例」

20) 第44回日本神経学会総会(2003年 横浜)

①張捷, 野村拓夫, 中塚晶子, 金田三佳, 山下大介, 野元正弘, 光永吉宏, 三木哲郎, 高田良治, 宇都宮香苗, 法化図陽一

「血液中L-dopa濃度のモニタリングによるパーキンソン病の治療」

②野村拓夫, 張捷, 中塚晶子, 金田三佳, 野元正弘

「パーキンソン病治療薬の薬物相互作用」

22) 第74回日本神経学会中国・四国地方会(2003年 岡山)

永井将弘, 張捷, 中塚晶子, 矢部勇人, 野元正弘

「カルビドパ合剤とベンセラジド合剤の違いによりパーキンソン病患者のL-ドパ血中濃度に変化が見られるか？」

23) 第24回日本臨床薬理学会年会(2003年 横浜)

永井将弘, 張捷, 中塚晶子, 矢部勇人, 野元正弘

「カルビドパ合剤とベンセラジド合剤の違いによるパーキンソン病患者L-ドパ血中濃度の変化」

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

ゾニサミドの臨床効果について

分担研究者 長谷川一子 国立相模原病院神経内科医長

研究要旨

日本発の新しい抗パーキンソン病作用薬であるゾニサミド zonisamide:ZNS の臨床効果, ZNS のドパミン作動薬としてのパーキンソン病 Parkinson' s disease:PD 以外のドパミン欠乏状態である restless legs syndrome:RLS に対する臨床効果の有無, PD 発症抑制効果の有無について検討した. その結果, ZNS の抗 PD 症状改善効果はアンケート調査により, 長期にわたって有用であることが明らかとなった. また, RLS に対しても症状改善効果が明らかで, 特に問題となる副作用も見られなかった. RLS に対する用量は 100-200mg/日であった. さらに, 他の班員から報告されている PD 発症抑制効果については, 予備調査の段階では, 抗てんかん薬を服用している一次性てんかん患者においては, PD の発症者はなかった. この点についてはてんかん患者の年齢層が PD の好発年齢よりも若年であること, 小児期発症てんかんには自然緩解があるため長期経過観察は通常行われていないことなどが今後の課題として明らかとなった.

A. 研究目的:

高齢化社会において PD の有病率は今後さらに増加すると考えられる. 医療経済を考慮した場合, 有効で安全, かつ安価な抗 PD 薬の開発が望まれる. ZNS はこの点に合致した薬物と考えられ, 有効性の検討を行ってきている. 研究期間3年間で以下の3項目について検討を加えた.

- (1) 日本発の新しい抗 PD 薬としての ZNS の臨床的有用性
- (2) ドパミン欠乏状態としての他の病態である RLS への ZNS の適応
- (3) ZNS の PD 発症抑制効果について臨床的に検討のための予備調査

B. 研究方法:

- (1) 班長と共同して本班の臨床調査として, 神経専門医に対して ZNS の PD 症状改善効果の長期効果についてアンケート調査を実施した.
- (2) RLS の自験例について ZNS をインフォームドコンセントの後使用し, 有効性, 有用性を検討した.
- (3) ZNS の PD 発症予防効果が臨床的に認められるか否かの予備調査として, てんかん専門医に個別調査を行い, 一次性てんかん患者に於ける PD 発症の有無を調査した. 同時に抗てんかん薬服用者における抗 PD 薬の併用状況についても調査した.

なお, すべての研究は, 諸倫理指針に準じて実施した.

C. 研究結果および考察

- (1) 長期使用結果については班長より詳細が触れられているので省略する.
- (2) RLS 症例3症例について, 海外報告と同様に ZNS を 100mg~200mg の投与した. 全例で症状は改善し, 投与し

た日から症状が軽快した. 現在まだ3症例に対する経験にすぎないが, 副作用なく症状が速やかに軽減し, ZNS は RLS の治療薬として有用と思われた. ZNS は内因性, 外因性ドパミン神経の増強効果が想定され, RLS の治療薬として推奨されているドパミンアゴニストに比較して経済的であり, 有用である.

- (3) てんかん専門医の一次性てんかん患者, 約 6000 名のうち, PD の発症例は現在のところなかった. 一次性てんかん患者の年齢層は PD に比較して若年であること, 小児てんかんには自然緩解があり長期経過観察は通常行われていないことなどが, 調査を加えるに当たっての課題であることが明らかとなった. 抗てんかん薬と抗 PD 薬の併用は 822 千人で 0.3% にみられ, 併用の要因について今後分析が必要であることが明らかとなった.

E. 研究発表

1. 論文発表

長谷川一子: 今日のパーキンソン病の診療 診断の基本から治療の最前線まで. 今後期待される, 新たなパーキンソン病治療薬. 新興医学出版社; モダンフィジシャン 25(8):1019-1023

2. 学会発表

- 1) 国内: 口頭発表: 1 件班長と連名,
- 2) 海外: 口頭発表: 班長と連名,

F. 知的所有権の出願・取得状況 (予定も含む)

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし.

厚生労働科学研究費補助金（ゾニサミド研究事業）
総括・分担）研究 15・17 年度終了報告書
Zonisamide のもつ神経保護作用についての基礎的研究

分担研究者 服部信孝 順天堂大学医学部脳神経内科

研究要旨： 抗癲癇薬として開発された Zonisamide の抗パーキンソン病薬としての可能性を検討した。Zonisamide は、Dopamine および MPP+ といった酸化的ストレスにもなる神経毒性をもつ薬剤に対し神経細胞保護効果をもつことを確認した。また Zonisamide による細胞内の伝達シグナルを解析することで保護効果の機序を明らかにした。

A 研究目的

抗癲癇薬として使用されるゾニサミドは、さまざまな作用をもち、その作用は Carbonic anhydrase の阻害、T 型カルシウムチャンネルの阻害、または電位依存性 Na チャンネルの阻害、また GABA レセプター類似ベンゾジアゼピンレセプターのアロステリック阻害作用など多岐にわたっている。近年ゾニサミドがパーキンソン病の治療薬としての有用性をしめすデータが発表され新規薬剤として期待されている。我々は、ゾニサミドと Dopamine 作動性神経に及ぼす作用を解明する目的にて本研究をおこなった。

B 研究方法

ドパミン作動性神経と同様な機能をもつヒト神経芽細胞腫株（SH-SY5Y 細胞）は 500nM の Retinoic acid により分化誘導の後、ゾニサミド 1 mM を培養液に添加、その後神経細胞毒性をもつ薬剤を添加、細胞生存能を測定することで保護効果を検討した。細胞保護効果判定にはミトコンドリアの機能活性をみる MTT reduction assay 法を使用し、またゾニサミド添加後の細胞内タンパク質解析も同時に施行した。タンパク質の解析には、SDS-PAGE および Western blott 法を用い PVDF membrane にタンパク質を転写後特異的抗体により目的とするタンパク質を特定した。また現在単利されている遺伝性パーキンソン病の原因タンパク質についても検討した。

倫理面での配慮では、本研究は培養細胞を使用した実験であり、倫理面での問題は生じていない。

C 研究結果および考察

結果：初期条件決定のため Zonisamide の細胞毒性を検討した。培養溶液中の終濃度を 0 μM から 100 μM に段階的に変化させ 1 2 時間後の細胞生存数を MTT

range では細胞障害を示さなかった。前述の結果に基づき 1 mM での assay を施行した。

50 μM の Dopamine HCl を培養液に添加した細胞の 6 時間後に MTT reduction assay の結果は、ゾニサミド投与では有意に細胞死が抑制された。また 50 μM の MPP+ にも同様の結果が得られた。10 μM の Proteasome inhibitor についても細胞保護作用を検討したが、優位な結果は得られなかった。

Zonisamide 添加後の Western blott 法による細胞内タンパク質の解析の結果、これまで解析が行われている、遺伝性 Parkinson 病の原因蛋白、Parkin、DJ1、については発現に関する差は認められなかったが、PINK1 については Zonisamide 添加により発現が抑制されることが確認された。PINK1 と密接に関与し細胞の生存を制御する蛋白 PTEN についても同様に蛋白解析を施行した結果、Zonisamide を添加することで不活性型のリン酸化 PTEN の蛋白量が増加することが確認できた。

Dopamine および MPP+ は共に強い酸化的ストレスを誘発することが知られているが特にカテコラミンである Dopamine は酸化体であるキノン体がシステインと結合することによりタンパク質機能を抑制し細胞死を誘発することが推測されている。このキノン体が Parkinson 病における選択的黒質神経細胞死を誘発していると考えられている。本研究の結果では、Zonisamide は Dopamine の酸化的ストレスから神経細胞を保護し、Parkinson 病の進行およびその発症時期を遅らせるものと期待できる。

一方で神経細胞保護のメカニズムに目を向けると、PTEN の分子機構は、リン酸化を受け非活性型となることにより、Akt/PI3 カスケードを活性化、細胞周期の進行、タンパク質合成の促進、NF-κB や CREB の活性化を促し anti-apoptosis の positive regulator としての機

能を持っている、したがってリン酸化PTENの増加は、結果的に神経細胞保護的に働くことが示唆される。これまでにゾニサミドはMAO-B活性を阻害することが報告されており、MAO-B阻害剤の抗酸化ストレス作用から神経保護作用の期待が高まっていたが、新たな分子PTENとの関与でさらなる保護作用についての期待が持てるものと考えられた。

E 研究発表

国内、国外での発表はなし

F 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

なし

Ⅲ 開催会議