

平成19年2月

今村恵子 学位論文審査要旨

主査 大野 耕 策
副主査 山 田 一 夫
同 中 島 健 二

主論文

D- β -Hydroxybutyrate protects dopaminergic SH-SY5Y cells in a rotenone model of Parkinson's disease

(D- β -ヒドロ酪酸はパーキンソン病のロテノンモデルにおいてドパミン系細胞株SH-SY5Yを保護する)

(著者：今村恵子、竹島多賀夫、柏谷義宏、中曾一裕、中島健二)

平成18年8月 Journal of Neuroscience Research 84巻 1376頁～1384頁

学 位 論 文 要 旨

D- β -Hydroxybutyrate protects dopaminergic SH-SY5Y cells in a rotenone model of Parkinson's disease

(D- β -ヒドロ酪酸はパーキンソン病のロテノンモデルにおいてドパミン系細胞株SH-SY5Yを保護する)

パーキンソン病のミトコンドリア機能障害が指摘されており、ミトコンドリア複合体 I の阻害薬であるrotenoneはミトコンドリアでのエネルギー産生を抑制し、in vivoおよびin vitroでパーキンソン病モデルを作製する薬剤として知られている。一方、ケトン体は脳においてグルコース枯渇時にエネルギー供給源となりうる唯一の生理的基質であり、臨床的にも以前から高ケトン食が難治性てんかんの治療として用いられてきた。今回、ドパミン系神経細胞株SH-SY5Y細胞を用いて、rotenoneによるパーキンソン病モデルにおけるケトン体、D- β -Hydroxybutyrate (bHB) の神経保護作用を検討した。

方 法

retinoic acidを用いてSH-SY5Y細胞を分化させ、0-1 μ M rotenoneを添加した。8 mM bHBを前投与し、rotenone毒性に対するbHBの保護効果を検討した。alamarBlue assayにより酸化還元活性を評価し、LDH assay, Live/Dead assayにより細胞死を評価した。また、Mitotrackerを用いてミトコンドリア膜電位の変化を調べた。ミトコンドリアを介したアポトーシスに関して、cytochrome cやcaspase-9、caspase-3の評価を行った。

結 果

alamarBlue assayにおいて、rotenoneにより濃度依存性に酸化還元活性が低下したが、bHBは酸化還元活性を増加させた。LDH assay、Live/Dead assayにおいて、rotenoneにより誘導された細胞死をbHBが抑制した。また、rotenoneによりミトコンドリア膜電位の低下が見られたが、bHB投与によりその改善を認めた。アポトーシスに関して、rotenone添加によりcytochrome cのミトコンドリアから細胞質への漏出が生じ、caspase-9、caspase-3活性が上昇したが、bHB前投与によりこれらの活性は抑制された。

考 察

rotenoneはミトコンドリア酸化還元活性の低下、ミトコンドリア膜電位の低下、ミトコンドリアからのcytochrome c漏出、caspase-3、caspase-9活性の上昇を引き起こしたが、bHBはこれらを抑制し、ミトコンドリアを介した細胞保護効果を有することが示された。

rotenoneはミトコンドリア複合体 I に結合し、NADH dehydrogenaseを阻害し、細胞呼吸を抑制する。一方、bHBは酸化されてacetyl CoAに変換され、さらにKrebs回路で酸化され、bHB1分子あたり7分子のNADHと2分子のsuccinateを産生する。bHBはrotenoneによるNADH dehydrogenase阻害に対して、ミトコンドリア複合体 I の基質であるNADHを補充し、ミトコンドリア呼吸を促進することによって神経保護効果を有することが示唆された。

結 論

bHBはドパミン系細胞株SH-SY5Yにおいて、ミトコンドリア阻害薬であるrotenone毒性に対する神経保護効果を示した。bHBはミトコンドリア呼吸を促進し、アポトーシスを抑制した。ケトン体はパーキンソン病治療のひとつとなることが期待される。