

論 文 内 容 要 旨

Zonisamide can ameliorate the voltage-dependence alteration of the T-type calcium channel Cav3.1 caused by a mutation responsible for spinocerebellar ataxia

(ゾニサミドは脊髄小脳変性症の原因となる遺伝子変異による T 型カルシウムチャネル Cav3.1 の電位依存性の変化を改善させることができる)

Molecular Brain, 13:163,2020.

主指導教員：丸山 博文教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)
副指導教員：栗井 和夫教授
(医系科学研究科 放射線診断学)
副指導教員：森野 豊之准教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)

原 直之

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

(論文要旨)

【背景】 電位依存性カルシウムチャネル(VDCC)の1つである T 型 VDCC は、脳では神経細胞の活動電位の発火パターンの調節などに寄与し、てんかん発作、パーキンソン病など様々な症候や疾患との関わりが示唆されている。我々は以前から T 型 VDCC のアイソフォームの1つである Cav3.1 をコードする遺伝子 *CACNA1G* の変異により発症する新規の脊髄小脳変性症(SCA)である SCA42 について報告してきた。SCA42 の患者は基本的には小脳失調症状のみを呈するが、我々の経験した SCA42 患者は頸部の振戦も呈しており、この症状に対して低用量のゾニサミド(25mg/日)が著効した。ゾニサミドは日本では抗てんかん薬や抗パーキンソン病薬として使用されており、T 型 VDCC に対する阻害作用など様々な作用機序が知られている。Cav3.1 は下オリブ核や小脳に豊富に分布しており、振戦の発生に関与していると考えられている。我々や Coutelier らのグループは、変異型 Cav3.1 では電位依存性が変化することを報告しており、SCA の発症や病態に関与していると考えている。本研究では、培養細胞を用いてゾニサミドによる変異型 Cav3.1 の電位依存性の異常に対する改善効果を電気生理学的に検証した。【方法】 GFP と共に野生型または変異型 Cav3.1 を強制発現させた HEK293T 細胞に対してゾニサミドまたはエホニジピンを投与しパッチクランプ法にて電位依存性の変化を測定した。エホニジピンは、我々の経験した SCA42 患者の振戦に対して全く効果がなかった T 型 VDCC 阻害薬である。ゾニサミドの濃度は 10 μ M、50 μ M、エホニジピンの濃度は 5 μ M とした。ゾニサミドは投与後の個体の血中濃度と脳内濃度がほぼ同等であるという既報告を参考に、実際の患者の内服量に相当する血中濃度から推定し濃度設定した。エホニジピンは中枢移行性が悪いとの報告があるため、内服量に相当する血中濃度に準じて濃度設定した。実験結果は R (version 3.6.0)を用いて重回帰分析にて解析した。有意水準は $p < 0.05$ に設定した。【結果】 GFP 陽性の野生型または変異型 Cav3.1 を強制発現させた細胞にカリウムチャネル拮抗薬を含む細胞外液を灌流させパッチクランプ法にて電流を測定した。膜電位を-100mV に過分極させたのち段階的に脱分極させることで T 型 VDCC の速やかに不活性化される内向き電流が測定できた。まず、コントロール条件にてカルシウム電流測定を行い、既報告通り変異型 Cav3.1 では電位依存性が変化し、チャネルの活性化曲線(steady-state activation curve)は脱分極側にシフトすることを確認した。次に、ゾニサミドを投与すると、変異型 Cav3.1 の活性化曲線は濃度依存性に過分極方向にシフトし、50%活性化電位(half-conductance of the activation potential)は有意に減少し($p=0.006$)、野生型 Cav3.1 の 50%活性化電位と比較して有意差はなくなった($p=0.625$)。本研究で設定した濃度のゾニサミドでは current density (Cav3.1 電流ピーク値/細胞膜容量)の値は野生型、変異型 Cav3.1 ともに有意な減少はなく、変異やゾニサミド投与の有無によって Cav3.1 の活性化曲線の傾き(slope factor)にも変化はなかった。これらから、患者の内服量に相当するゾニサミドは T 型 VDCC の阻害作用を介さず変異型 Cav3.1 の活性化曲線を過分極方向に平行にシフトさせ、野生型 Cav3.1 の活性化曲線に近づけてチャネルの電位依存性を改善させる可能性が示唆された。野生型 Cav3.1 に対して同じ濃度のゾニサミドを投与しても活性化曲線は変化しなかった($p=0.782$)。また、ゾニサミドは野生型、変異型 Cav3.1 ともにチャネルの不活性化には影響しなかった。一

方で、エホニジピンは野生型、変異型 Cav3.1 とともにチャネルの電位依存性をはじめとした電気生理学的特性に影響しなかった。【考察・結論】ゾニサミドは変異 Cav3.1 の電位依存性を改善するという他の T 型 VDCC 阻害薬とは異なる特徴を持っていることが示唆された。Cav3.1 は振戦の発生に関与していると考えられているが、ゾニサミドにより変異 Cav3.1 の電位依存性が改善されることで我々の経験した SCA42 患者の振戦に有効であった可能性が示唆された。パーキンソン病ではゾニサミドの神経保護効果や疾患の進行を遅らせる効果についての報告がある。SCA42 でも早期からゾニサミドを内服することで振戦以外の症状にも著効し疾患の進行抑制に寄与するかどうかはさらなる検討が必要である。