

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	原 直之
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	橋本 浩一	
審査委員	准教授	飯田 幸治	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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。申請者らは以前から 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 <i>CACNA1G</i> 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、申請者らの経験した 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。申請者らや 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、この電位依存性の変化が SCA の発症や病態に関与していると考えられている。本研究では、臨床的に有用であった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影響を培養細胞を用いて電気生理学的に検証した。</p> <p>方法として、まずはマーカーとなる GFP とともに野生型または変異型 Cav3.1 を強制発現させた HEK293T 細胞を作製した。この細胞にカリウムチャネル阻害薬を含む細胞外液を灌流させ、パッチクランプ法にて T 型 VDCC の電流を測定した。膜電位を一旦-100mV に過分極させたのち段階的に脱分極させることにより T 型 VDCC の電流を測定した。コントロール条件の電位依存性の記録に続いて、ゾニサミドまたはエホニジピンを投与下での電位依存性の変化を測定した。エホニジピンは、申請者らの経験した 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。薬剤の濃度はゾニサミド 10<math>\mu</math>M, 50<math>\mu</math>M, エホニジピン 5<math>\mu</math>M とし、内服した患者の血中濃度または脳内濃度(ゾニサミドに関しては血中濃度と脳内濃度はほぼ等しいという報告あり)と同等となるように設定した。測定結果は R (version 3.6.0)を用いて重回帰分析にて解析し、有意水準は <math>p &lt; 0.05</math> とした。</p> <p>結果は以下のようにまとめられる。野生型または変異型 Cav3.1 を強制発現させた細胞からパッチクランプ法にて T 型 VDCC の速やかに不活化される内向き電流を観測できた。コントロール条件でのカルシウム電流測定では、既報告通り変異型 Cav3.1 で電位依存性が変化し、チャネルの活性化曲線(activation curve)が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(<math>p=0.006</math>)、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(<math>p=0.625</math>)。本研究で設定した濃度のゾニサミドでは電流密度(Cav3.1 電流ピーク値/細胞膜容量)の値は野生型および変異型 Cav3.1 と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)も変化しなかった。これらのことから、患者の内服用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</p>			

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ことが示唆された。なお、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および変異型 Cav3.1 の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および変異型 Cav3.1 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。

以上の結果から、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可能性が示唆された。Cav3.1 は振戦の発生に関与していると考えられており、ゾニサミドによって変異型 Cav3.1 の電位依存性が改善されることが、臨床的に SCA42 患者の振戦に著効した 1 つの証左であることが示された。

本論文は、ゾニサミドがこれまでによく知られている T 型 VDCC に対する阻害作用とは異なる電位依存性を改善させる作用で、有効な治療法のない難病の 1 つである SCA42 の治療に有用である可能性を示したと考えられ高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が原直之に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。