

## パーキンソン病の進行抑制を目指した神経保護代替医療アプローチ

室山 明子

**An Alternative Medical Approach for the Neuroprotective Therapy to Slow the Progression of Parkinson's Disease**

Akiko Muroyama

*Laboratory of Alternative Medicine and Experimental Therapeutics, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University; Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan.*

(Received May 11, 2013)

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by the core symptoms such as bradykinesia, resting tremor, rigidity and postural instability. Currently, pharmacotherapy and surgical approaches for the treatments of PD can only improve the neurological symptoms. Therefore, to search neuroprotective therapies using pharmacological and nonpharmacological approaches could be important to delay the progression of pathogenesis in PD. Coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) is a component of the electron transport chain as well as an important antioxidant in mitochondrial and lipid membranes. The central role of CoQ<sub>10</sub> in two areas implicated in the pathogenesis of PD, mitochondrial dysfunction and oxidative damages, suggest that it may be useful for treatment to slow the progression of PD. The neuroprotective effect of CoQ<sub>10</sub> has been reported in several *in vivo* and *in vitro* models of neurodegenerative disorders. Although CoQ<sub>10</sub> attenuated the toxin-induced reduction of dopamine content and tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the striatum of the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) mouse model, it is still unknown how this nutrition affects the mitochondrial function. We demonstrated that oral administration of CoQ<sub>10</sub> significantly attenuated the loss of dopaminergic nerve terminals induced by MPTP treatment. Furthermore, our experimental data indicate that an inhibition of mitochondrial cytochrome c release is one of the primary targets for CoQ<sub>10</sub> and may lead to a potent neuroprotection.

**Key words**—Parkinson's disease; striatal dopaminergic terminal; coenzyme Q<sub>10</sub>; mitochondria; 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; cytochrome c

**1. はじめに**

補完代替医療は近年新たに注目されている医学分野であり、西洋医学以外の手法を用いた、科学的未検証若しくは医療現場での応用の可否が明らかにされていない医療を意味する。例えば、サプリメント、健康補助食品、ハーブ、鍼灸、指圧、漢方、アロマセラピー、運動療法などを指し、これらはすべて補完代替医療に属する材料、手法である。これまで、補完代替医療が応用されている疾患領域は、生活習慣病の予防を目的とした慢性疾患及びがんなどの難治性疾患が中心であった。一方、中枢神経疾患

領域において、補完代替医療の有効性を評価する研究はあまり例がなく、近年一部の補完代替医療素材が慢性進行性の神経変性疾患に対して、障害神経を保護することにより病勢の進行を抑制する可能性が示唆されてきた。

パーキンソン病は退行性神経変性疾患の1つであり、臨床的には安静時振戦、筋固縮、動作緩慢、姿勢反射障害などの運動機能障害を呈し、病理学的には黒質-線条体ドパミン神経細胞の変性脱落及び残存神経細胞におけるLewy小体の出現が認められる。黒質のメラニン含有細胞はドパミンを神経伝達物質とし、線条体に投射する。パーキンソン病において、このドパミン神経が選択的に減少するため、線条体のドパミン含量が顕著に低下する。黒質-線条体ドパミン神経細胞は加齢に伴いその数が減少することが知られているが、パーキンソン病ではなん

The author declares no conflict of interest.

北陸大学薬学部医療薬学講座代替医療薬学分野 (〒920-1181 金沢市金川町ホ3番地)

e-mail: a-muroyama@hokuriku-u.ac.jp

本総説は、平成24年度日本薬学会北陸支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

らかの理由で、正常加齢を超える速さで神経細胞数が減少すると考えられている。その結果、線条体のドパミン含有量が20%以下に減少すると特徴的な運動機能障害が現れ、パーキンソン病と診断される。<sup>1)</sup> この異常なドパミン神経の変性脱落を防ぐことにより、パーキンソン病の進行抑制や発症予防は可能であると考えられるが、発症予防を目的とした診断以前からの医薬品の使用は非現実的なため、薬物治療以外の手法、材料を応用する補完代替医療アプローチに注目が集まっている。<sup>2)</sup>

孤発性パーキンソン病の病因には遺伝的素因及び環境因子が挙げられ、またその両者が複雑に関与する場合もあり、いまだ詳細は不明である。一方、黒質-線条体ドパミン神経細胞の変性脱落に至る機序は、ドパミン神経に選択的な神経毒 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) の発見を契機に解明が進み、<sup>3,4)</sup> ミトコンドリア機能異常及び酸化ストレスの関与が示唆されている。<sup>5)</sup> そのため、ミトコンドリア機能異常を改善、保護することで神経細胞の変性脱落を抑制し、結果として病勢進行を阻止若しくは遅らせることが可能と考えられる。

ミトコンドリア栄養素の1つであるコエンザイム Q<sub>10</sub> (coenzyme Q<sub>10</sub>; CoQ<sub>10</sub>) は、キノン構造を有する脂溶性のビタミン様物質であり、酸化型のユビキノンと還元型のユビキノールの総称として呼ばれることもある (Fig. 1)。CoQ<sub>10</sub> は、体内に吸収されるとそのほとんどが還元型 CoQ<sub>10</sub> に変換され、抗酸化作用を示すため、生体内で脂質の酸化を防ぐ抗酸化物質の1つである。さらに、CoQ<sub>10</sub> は、ミトコンドリアに多く分布し、ミトコンドリア電子伝達系の補酵素として複合体 I (NADH-ユビキノンレダクターゼ) 又は複合体 II (コハク酸-ユビキノンレダクターゼ) から複合体 III (ユビキノール-シトクロム c レダクターゼ) への電子の授受に関与する。

これまでに米国の Parkinson Study Group において、未治療のパーキンソン病初期患者を対象に、症

状の進行に対する CoQ<sub>10</sub> の有効性を検討した臨床試験が行われ、有意な症状の進行抑制効果が認められた。<sup>6)</sup> 一方、細胞レベルの実験では、ミトコンドリア電子伝達系複合体 I の阻害剤であるロテノン<sup>7)</sup> 及び過酸化水素<sup>8)</sup> によるドパミン神経細胞死が CoQ<sub>10</sub> 処置により抑制されることが報告され、その機序として、ミトコンドリア機能異常の改善及び酸化ストレス軽減の関与が示唆された。また、MPTP マウスモデルにおいて、線条体ドパミン量の低下及び黒質チロシン水酸化酵素陽性細胞数の低下が CoQ<sub>10</sub> 投与により抑制されることが報告された。<sup>9)</sup> しかしながら、動物モデルにおいて CoQ<sub>10</sub> の神経保護効果を検討した基礎研究は限られており、<sup>9,10)</sup> 作用機序の詳細は明らかにされていない。そこでわれわれは、MPTP マウスモデルにおける CoQ<sub>10</sub> の効力を検証し、その作用機序を明らかにすべく研究を進めている。

CoQ<sub>10</sub> が脳神経の保護効果を発揮するためには、血管を介して脳組織内へさらには神経細胞内へ取り込まれる必要がある。しかしながら、CoQ<sub>10</sub> は脂溶性が高く、消化管吸収が低いため、これらの性質が有効性あるいは作用機序の解明を困難にする。そこで、本研究では日清ファルマ株式会社で開発された平均粒子径が約 50 nm の乳化分散剤で、吸収性を大幅に改善した水溶化 CoQ<sub>10</sub> を利用した。<sup>11)</sup>

## 2. MPTP マウスモデルにおける CoQ<sub>10</sub> のドパミン神経保護効果

C57BL/6 マウスに MPTP を 30 mg/kg/day で 2 日間腹腔内投与し、CoQ<sub>10</sub> は 200 mg/kg/day を MPTP 投与開始前日及び各日の MPTP 投与直前に経口投与した。MPTP 最終投与の 2 日後の脳凍結切片において、免疫組織化学的手法によりドパミン神経終末の指標タンパク質としてドパミントランスポーター (dopamine transporter; DAT) 及び活性化アストロサイトの指標タンパク質としてグリア線維性酸性タンパク質 (glial fibrillary acidic protein;

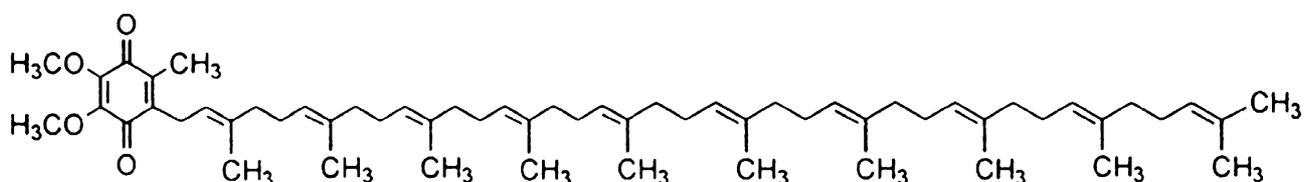


Fig. 1. Structure of CoQ<sub>10</sub>

GFAP) の免疫染色性を評価した (Fig. 2). MPTP マウスモデルの線条体領域において, DAT の免疫染色性の低下 [Fig. 2(B)] 及び GFAP 陽性細胞の増加 [Fig. 2(E)] が認められ, CoQ<sub>10</sub> の併用投与によりこれらの変化は抑制された [Figs. 2(C) and (F)]. したがって, MPTP マウスモデルにおける線条体ドパミン神経の変性脱落が, CoQ<sub>10</sub> 投与により抑制されたことが確認された.

### 3. 線条体ドパミン神経シナプトソームの免疫分離と MPTP 感受性の評価

孤発性パーキンソン病及び MPTP 誘発ドパミン神経変性は, 線条体の神経終末から中脳黒質の細胞体に向け逆行的に進行すると考えられており,<sup>12,13</sup> われわれは変性の開始点である神経終末に着目した. しかしながら, 線条体組織にはドパミン神経以外に様々な神経終末が混在し, ドパミン神経終末の占める割合は約 10–15% であるため, ドパミン神経終末を選択的に評価することは困難である.<sup>14</sup> そこで, DAT の 3 番目と 4 番目の膜貫通領域間に存在する細胞外ループ構造の 20 アミノ酸に対するウサギポリクローナル抗体 (DAT-loop 抗体) を作製し, ドパミン神経終末 (シナプトソーム) を選択的に単離する免疫分離法の確立を試みた. さらに, この方

法を用い, MPTP マウスモデルからドパミン神経シナプトソームを単離し, 神経終末の変性を評価した. また, DAT 阻害剤による神経終末保護効果も確認した.<sup>15</sup>

**3-1. 線条体ドパミン神経シナプトソームの免疫分離法の確立** マウス線条体ホモジネートから細胞分画法により粗シナプトソーム画分を調製し, 抗 DAT-loop 抗体結合磁気ビーズと反応させ, ドパミン神経シナプトソームを免疫分離した. 分離したシナプトソームの純度は DAT, 神経終末の指標タンパク質として synaptophysin 及び SNAP-25, GABA 神経の指標タンパク質として glutamate decarboxylase (GAD) 67 抗体を用いたウエスタンブロット法により評価した [Fig. 3(A)]. 粗シナプトソーム画分では, DAT, アクチン, synaptophysin, SNAP-25 及び GAD67 タンパク質のバンドが確認された. 一方, ビーズ結合画分では, DAT, アクチン, synaptophysin 及び SNAP-25 タンパク質が確認され, GAD67 タンパク質はほとんど検出されなかった. また, ネガティブコントロールとしてウサギ IgG 及び抗原ペプチドによる吸収実験では, 各タンパク質はほとんど検出されなかった. さらに, 粗シナプトソーム画分及びビーズ結合画分において, 透

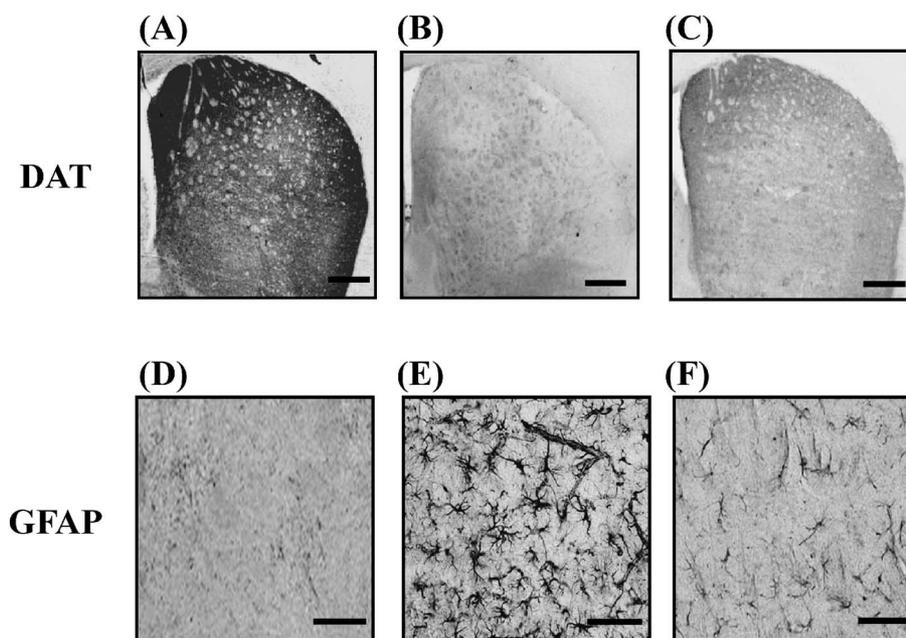


Fig. 2. Effect of CoQ<sub>10</sub> on DAT and GFAP-immunoreactivity in the Striatum of MPTP-treated C57BL/6 Mice

Mice received one intraperitoneally (i.p.) injection of MPTP (30 mg/kg) per day for 2 consecutive days and were killed at 2 days after the last MPTP injection. CoQ<sub>10</sub> (200 mg/kg/day) were orally administered at the day before the first MPTP-treatment and just before each MPTP-treatment. Cryostat-cut sections (30 µm) were prepared from the fixed brain of control (A and D), MPTP-treated (B and E) and MPTP+CoQ<sub>10</sub> treated (C and F) mice. Sections were used for immunostaining of DAT (A–C) and GFAP (D–F) proteins. Scale bar, 500 µm in A–C, and 100 µm in D–F.

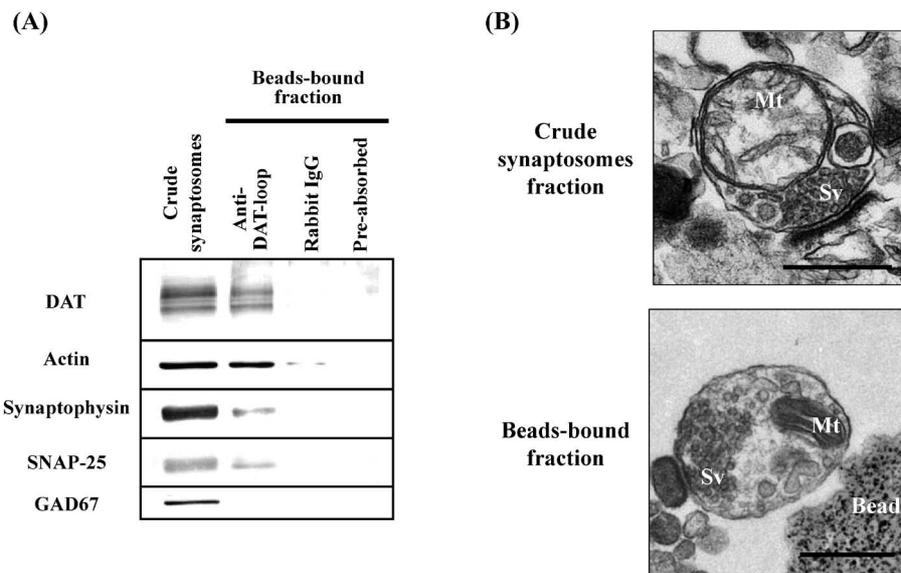


Fig. 3. Immunolocalization of Dopaminergic Synaptosomes in Mice

(A) Striatal crude synaptosomes fractions were prepared from mouse striatum. Immunolocalization was performed using Dynabeads coated with DAT-loop antibody, nonspecific rabbit IgG or antibody pre-absorbed with antigenic peptides from prepared crude synaptosomes. The crude synaptosomes fraction (10  $\mu$ g) and beads-bound fraction were evaluated by Western blot analysis using antibodies against N-terminal of DAT, actin, synaptophysin, SNAP-25 and GAD67. (B) A typical morphology of synaptosomes in striatal crude synaptosomes fraction and beads-bound fraction using electron microscopy. Mt: mitochondrion; Sv: synaptic vesicles. Scale bar, 500 nm.

過型電子顕微鏡によりシナプトソームの構造を確認した [Fig. 3(B)]. 両画分において、ミトコンドリアやシナプス小胞などのオルガネラを含んだシナプトソームの形態が認められ、ビーズ結合画分では、マグネットビーズに結合したシナプトソームが確認された。

**3-2. MPTP マウスモデルにおける線条体ドパミン神経終末の評価** C57BL/6 マウスに MPTP を 30 mg/kg で 1 回腹腔内投与し、投与 4 時間後と 16 時間後に線条体を摘出し免疫分離法によりドパミン神経シナプトソームを単離した。線条体ホモジネート、粗シナプトソーム画分及びドパミン神経シナプトソーム画分において、ドパミン神経終末の変性をウエスタンブロット法により評価した (Fig. 4)。MPTP 投与 4 時間後では、すべての画分において DAT タンパク質レベルの低下は認められなかった。一方、MPTP 投与 16 時間後では、ドパミン神経シナプトソーム画分においてのみ有意な DAT タンパク質レベルの減少が確認され、アクチン及び synaptophysin タンパク質レベルは、DAT タンパク質レベルと相関した減少が確認された [Figs. 4(C) and (F)].

**3-3. MPTP 誘発ドパミン神経終末の変性脱落に対する DAT 阻害剤 GBR-12909 の効果** MPTP

のドパミン神経毒性発現機序は、現時点で次のように考えられている。全身投与された MPTP は血液脳関門を容易に通過し脳実質内へ移行する。MPTP は血管近傍のグリア細胞内の B 型モノアミン酸化酵素により中間体の 1-methyl-4-phenyl-2,3-dihydropyridinium (MPDP<sup>+</sup>) を経て、活性代謝物である 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP<sup>+</sup>) に酸化される。<sup>16)</sup> MPP<sup>+</sup> はドパミン神経終末に発現する DAT を介して選択的にドパミン神経内に取り込まれ、<sup>17)</sup> 電位依存的にミトコンドリアに集積し、<sup>18)</sup> ミトコンドリア電子伝達系複合体 I を阻害する。<sup>19)</sup> その結果、エネルギー産生系の破綻により神経細胞死が誘発される。<sup>20)</sup>

先述の MPTP 処置 16 時間後におけるドパミン神経終末の変性に、その活性代謝物である MPP<sup>+</sup> の DAT を介した取り込みが関与することを確認するため、MPTP 処置 30 分前に DAT 阻害剤である GBR-12909 (20 mg/kg) を腹腔内投与し、MPTP 処置 16 時間後のドパミン神経シナプトソームについて、ウエスタンブロット法により評価した (Fig. 5)。ドパミン神経シナプトソームにおいて、MPTP 処置による DAT タンパク質レベルの有意な減少は、GBR-12909 の前処置によりほぼコントロールレベルまで抑制された。したがって、MPTP 誘発ドパ

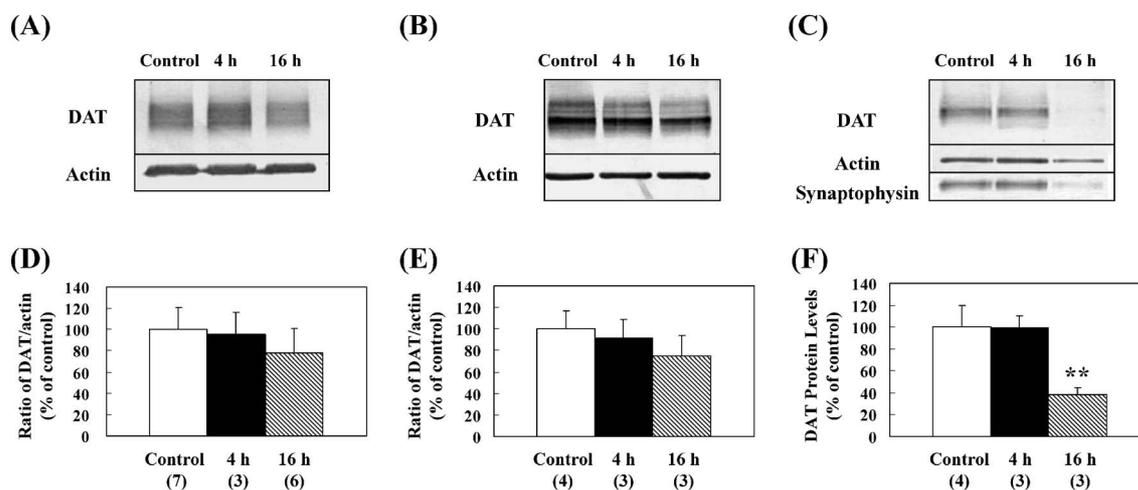


Fig. 4. Evaluation of MPTP Toxicity in Striatal Dopaminergic Synaptosomes in C57BL/6 Mice

Mice received a single injection of MPTP (30 mg/kg, i.p.) and were killed at 4 or 16 h after the administration of MPTP. Crude synaptosomes were prepared from striatal homogenate, and then dopaminergic synaptosomes were isolated using DAT-loop antibody-coated beads. Upper blots (A–C) are representative data of DAT immunoreactivity by Western blot analysis in 25  $\mu$ g of homogenate (A), 25  $\mu$ g of crude synaptosomes fraction (B), and dopaminergic synaptosomes (C). Actin was detected using the same membrane for DAT. Synaptophysin, a synaptic vesicle marker, was used to analyze amount of synaptosomes. Lower figures (D–F): quantitative analysis of DAT protein levels in homogenate (D) and crude synaptosomes fraction (E), and in dopaminergic synaptosomes (F) using DAT integrated density. The numbers of animals used in control and MPTP-treated mice are indicated in parentheses. Data are means  $\pm$  S.D. and expressed as % of control. \*\* $p$  < 0.01 vs. respective control (one-way ANOVA followed by Tukey test).

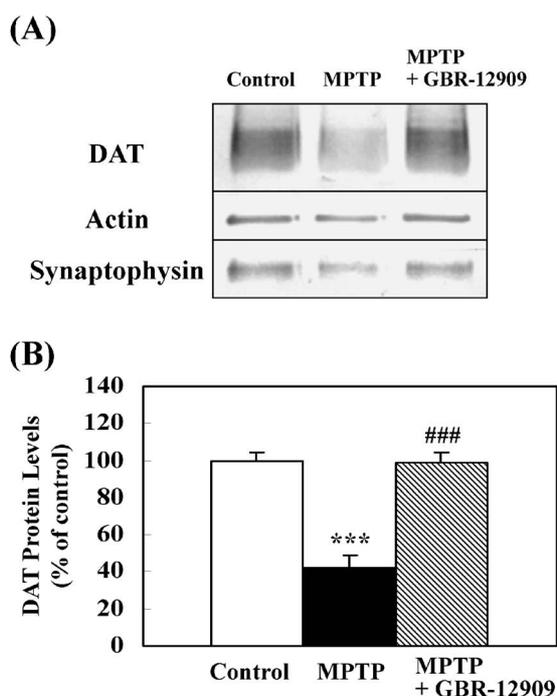


Fig. 5. Effect of GBR-12909 on the MPTP Neurotoxicity in Isolated Striatal Dopaminergic Synaptosomes from MPTP-treated C57BL/6 Mice

GBR-12909 (20 mg/kg) or its vehicle was administered 30 min before a single injection of MPTP (30 mg/kg, i.p.). At 16 h after MPTP treatment, dopaminergic synaptosomes were isolated from striatal crude synaptosomes. Upper blots (A) are representative data of DAT, actin and synaptophysin immunoreactivity by Western blot analysis in dopaminergic synaptosomes. Lower figure (B): quantitative analysis of DAT protein levels in dopaminergic synaptosomes using DAT integrated density. The data were expressed as % of control. Results are means  $\pm$  S.D. values from three independent experiments. \*\*\* $p$  < 0.001 vs. control; ### $p$  < 0.001 vs. MPTP-treated (one-way ANOVA followed by Tukey test).

ミン神経終末の変性には DAT の機能が必須であることが示唆された。

#### 4. MPTP マウスモデルにおける CoQ<sub>10</sub> のドパミン神経終末保護効果

ドパミン神経シナプトソームを応用し, CoQ<sub>10</sub> のドパミン神経終末保護効果を検討した.<sup>21)</sup> C57BL/6 マウスに MPTP を 30 mg/kg/day で 2 日間腹腔内投与し, CoQ<sub>10</sub> は 200 mg/kg/day を MPTP 投与開始前日及び各日の MPTP 投与直前に経口投与した. MPTP 最終投与の 48 時間後にドパミン神経シナプトソームを単離し, 線条体ホモジネート, 粗シナプトソーム画分及びドパミン神経シナプトソーム画分において, DAT, アクチン及び synaptophysin タンパク質レベルを評価した (Fig. 6). MPTP 投与群では, ホモジネート, 粗シナプトソーム画分及びドパミン神経シナプトソーム画分において, それぞれ有意な DAT タンパク質レベルの低下が認められた. 一方, CoQ<sub>10</sub> の併用投与群では, 粗シナプトソーム画分 [Figs. 6(B) and (E)] 及びドパミン神経シナプトソーム画分 [Figs. 6(C) and (F)] において, MPTP 投与による DAT タンパク質レベルの低下が有意に抑制された. また, ドパミン神経シナプトソーム画分において, アクチン及び synaptophysin タンパク質レベルは, DAT タンパク質レベルに相関した変化が確認された [Figs. 6(C) and

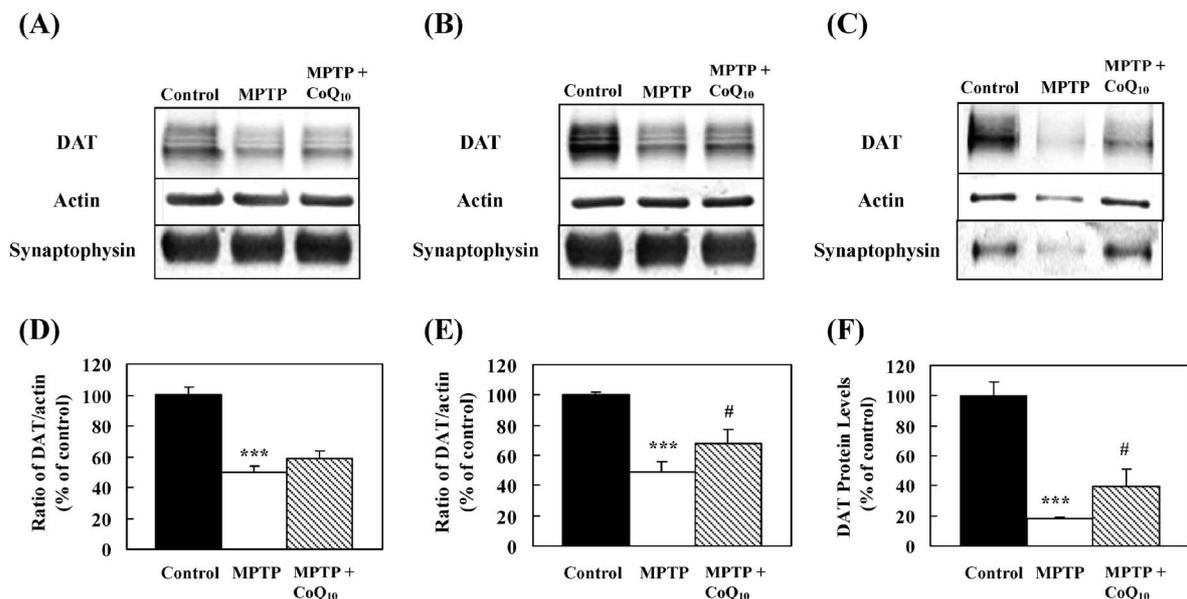


Fig. 6. Effects of CoQ<sub>10</sub> on DAT Protein Levels in the Striatum of MPTP-treated C57BL/6 Mice

Mice were administered MPTP (30 mg/kg, i.p.) per day for 2 consecutive days and killed at 48 h after the last MPTP injection. CoQ<sub>10</sub> (200 mg/kg/day) were orally administered at the day before the first MPTP-treatment and just before each MPTP-treatment. Dopaminergic synaptosomes were isolated from striatal crude synaptosomes. Upper blots (A–C) are representative data of DAT, actin and synaptophysin immunoreactivity by Western blot analysis in 10 μg of homogenate (A), 10 μg of crude synaptosomes fraction (B), and dopaminergic synaptosomes (C). Lower figures (D–F): quantitative analysis of DAT protein levels in homogenate (D) and crude synaptosomes fraction (E), and in dopaminergic synaptosomes (F) using DAT integrated density. The data were expressed as % of control. Results are means ± S.D. values from three independent experiments. \*\*\**p* < 0.001 vs. control; #*p* < 0.05 vs. MPTP-treated (one-way ANOVA followed by Tukey test).

(F)].

### 5. CoQ<sub>10</sub> のマウス脳神経終末内のミトコンドリアに対する作用

MPTP 誘発ドパミン神経終末の変性脱落に対する CoQ<sub>10</sub> の保護メカニズムについて詳細は不明である。そこで、CoQ<sub>10</sub> を経口投与した C57BL/6 マウスの脳前頭部から粗シナプトソーム画分を調製し、MPTP の活性代謝物である MPP<sup>+</sup> 誘発ミトコンドリア機能低下とシトクロム c (cytochrome c; cyt c) の遊離に対する CoQ<sub>10</sub> の効果を検討した。<sup>22)</sup>

**5-1. MPP<sup>+</sup> 誘発ミトコンドリア機能低下に対する CoQ<sub>10</sub> の作用** CoQ<sub>10</sub> を 400 mg/kg で 2 日間経口投与したマウスより脳前頭部を摘出し、細胞分画法により粗シナプトソーム画分を調製した。この画分に 3 又は 5 mM MPP<sup>+</sup> を添加し、ミトコンドリア機能として、ミトコンドリア酸化還元活性 [Fig. 7(A)] 及びミトコンドリア膜電位 [Fig. 7(B)] を評価した。ミトコンドリア酸化還元活性の評価には Alamar blue 蛍光指示薬を、ミトコンドリア膜電位の評価には JC-1 蛍光指示薬を用いた。その結果、MPP<sup>+</sup> 処置によるミトコンドリア酸化還元活性及び膜電位の低下に対し、CoQ<sub>10</sub> 投与は影響を及ぼさ

なかった。

**5-2. MPP<sup>+</sup> 誘発 cyt c 遊離に対する CoQ<sub>10</sub> の効果** 5-1. と同様の条件下、粗シナプトソーム画分に 3 又は 5 mM MPP<sup>+</sup> を添加後、2 回の凍結融解を行い、高速遠心分離をした。得られた上清を細胞質画分とし、ミトコンドリアから細胞質へ遊離された cyt c タンパク質レベルをウエスタンブロット法により解析した (Fig. 8)。溶媒投与マウスより調製した粗シナプトソーム画分では、0 mM MPP<sup>+</sup> に比べ 5 mM MPP<sup>+</sup> では、細胞質画分における cyt c タンパク質レベルが約 2.5 倍まで有意に増加した。一方、CoQ<sub>10</sub> 投与マウスより調製した粗シナプトソーム画分では、0 mM MPP<sup>+</sup> に比べ、5 mM MPP<sup>+</sup> において細胞質画分における cyt c タンパク質レベルの有意な増加は認められなかった。

### 6. おわりに

以上より、MPTP マウスモデルにおいて、線条体ドパミン神経終末の変性脱落に対し、CoQ<sub>10</sub> の経口投与が神経終末保護効果を発揮することが示唆された。その作用機序の 1 つとして、ミトコンドリアからの cyt c 遊離抑制作用が関与していると考えられた。しかも、この作用はミトコンドリア機能改善

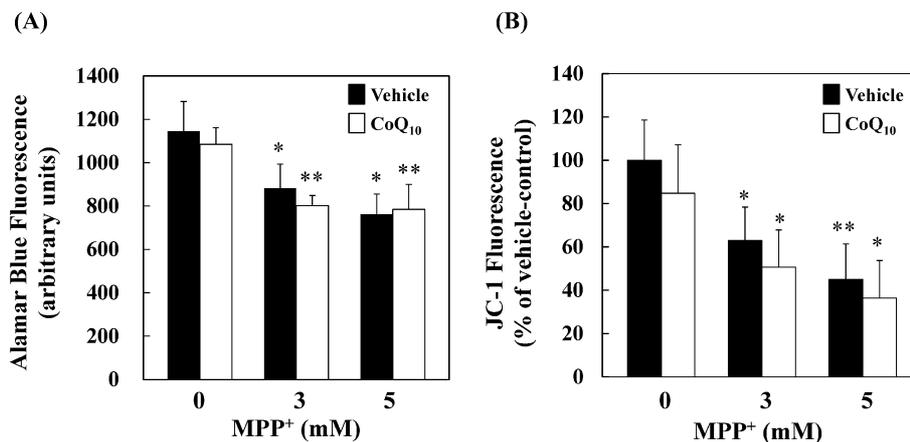


Fig. 7. Effect of Oral Administration of CoQ<sub>10</sub> on Mitochondrial Dysfunction Induced by MPP<sup>+</sup>

Mice were killed at 1 h after the second administration of vehicle or 400 mg/kg CoQ<sub>10</sub> and synaptosomes were prepared from forebrain. A: Synaptosomes were in the absence or presence of 3 or 5 mM MPP<sup>+</sup> at 37°C for 30 min. Alamar blue was then added and the samples were incubated for an additional 90 min. The fluorescence intensity was expressed in arbitrary units. B: Synaptosomes loaded with 10 μM JC-1 at 37°C for 15 min were incubated in the absence or presence of 3 or 5 mM MPP<sup>+</sup> at 37°C for 40 min. The data were expressed as % of control. Results are means ± S.D. values from three independent experiments. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 vs. respective control (one-way ANOVA followed by Dunnett's test).

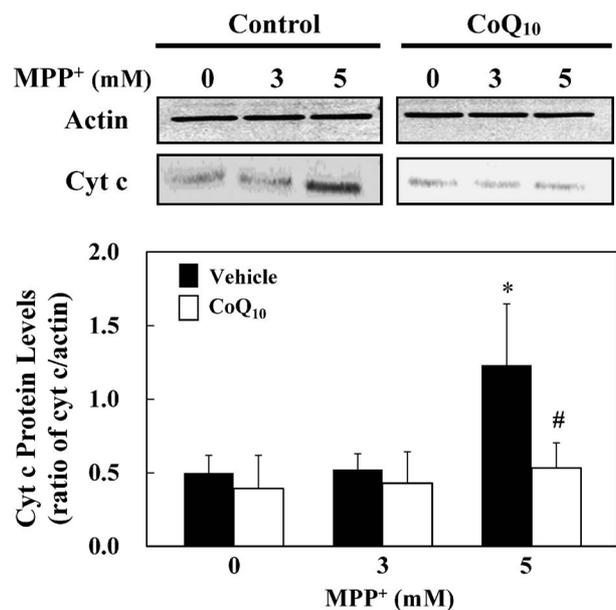


Fig. 8. Western Blot Analysis of Cyt c and Actin in Cytosolic Fraction from Synaptosomes

Mice were killed at 1 h after the second administration of vehicle or 400 mg/kg CoQ<sub>10</sub> and synaptosomes were prepared from forebrain. Cytosolic fraction was prepared with freeze/thaw procedure from control and MPP<sup>+</sup>-treated synaptosomes. Upper blots: cyt c and actin proteins in cytosolic fractions were analyzed by Western blot analysis. Lower figure: quantitative analysis of cyt c protein levels using actin as a house keeping protein. Results are means ± S.D. values from three independent experiments. \**p* < 0.05 vs. vehicle-control; #*p* < 0.05 vs. vehicle-5 mM MPP<sup>+</sup>-treated synaptosomes (unpaired two-tailed *t*-test or one-way ANOVA followed by Dunnett's test).

を介さないことから、CoQ<sub>10</sub>がcyt cの遊離を直接抑制した可能性が示唆された。今後、線条体ドパミン神経終末レベルにおいて、神経変性に先立つミトコンドリア機能変化を捉えることにより、詳細な変

性機序やその鍵となる分子の同定につながると考え、研究を進めている。

CoQ<sub>10</sub>の作用機序の解明は、この栄養素の効果を裏付ける重要な科学的根拠を示すだけでなく、新たな代替医療素材の探索や創薬コンセプトを確立する上でも重要であると考えている。

**謝辞** 本研究を遂行するにあたり、終始ご指導とご鞭撻を賜りました。北陸大学薬学部医療薬学講座代替医療薬学分野光本泰秀教授に厚く御礼申し上げます。ここに紹介しました研究成果は、小林星太博士及び松島大章修士（現藤本製薬株式会社）の多大な努力の結果得られたものであり、心より感謝申し上げます。また、CoQ<sub>10</sub>をご供与頂きました。吉村育生氏（元日清ファルマ株式会社開発部）、多大なご協力とご援助を頂きました。大塚製薬株式会社・研究所の皆様へ深謝致します。本研究の一部は北陸大学特別研究助成金により実施されたものであり、併せて御礼申し上げます。

## REFERENCES

- 1) Lang A. E., Lozano A. M., *N. Engl. J. Med.*, **339**, 1044–1053 (1998).
- 2) Mitumoto Y., *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, **4**, 263–265 (2007).
- 3) Davis G. C., Williams A. C., Markey S. P., Ebert M. H., Caine E. D., Reichert C. M.,

- Kopin I. J., *Psychiatry Res.*, **1**, 249–254 (1979).
- 4) Langston J. W., Ballard P., Tetrud J. W., Irwin I., *Science*, **219**, 979–980 (1983).
- 5) Dauer W., Przedborski S., *Neuron*, **39**, 889–909 (2003).
- 6) Shults C. W., Oakes D., Kieburtz K., Beal M. F., Haas R., Plumb S., Juncos J. L., Nutt J., Shoulson I., Carter J., Kompoliti K., Perlmutter J. S., Reich S., Stern M., Watts R. L., Kurlan R., Molho E., Harrison M., Lew M.,; Parkinson Study Group, *Arch. Neurol.*, **59**, 1541–1550 (2002).
- 7) Moon Y., Lee K. H., Park J. H., Geum D., Kim K., *J. Neurochem.*, **93**, 1199–1208 (2005).
- 8) Somayajulu M., McCarthy S., Hung M., Sikorska M., Borowy-Borowski H., Pandey S., *Neurobiol. Dis.*, **18**, 618–627 (2005).
- 9) Beal M. F., Matthews R. T., Tieleman A., Shults C. W., *Brain Res.*, **783**, 109–114 (1998).
- 10) Cleren C., Yang L., Lorenzo B., Calingasan N. Y., Schomer A., Sireci A., Wille E. J., Beal M. F., *J. Neurochem.*, **104**, 1613–1621 (2008).
- 11) Minemura T., Itou N., Yasuhara S., Tsuji M., *New Food Industry*, **47**(7), 1–12 (2005).
- 12) Bernheimer H., Birkmayer W., Hornykiewicz O., Jellinger K., Seitelberger F., *J. Neurol. Sci.*, **20**, 415–455 (1973).
- 13) Cochiolo J. A., Ehsanian R., Bruck D. K., *J. Neurosci. Res.*, **59**, 126–135 (2000).
- 14) Mallajosyula J. K., Kaur D., Chinta S. J., Rajagopalan S., Rane A., Nicholls D. G., Di Monte D. A., Macarthur H., Andersen J. K., *PLoS One*, **3**, e1616 (2008).
- 15) Muroyama A., Kobayashi S., Mitsumoto Y., *Neurosci. Res.*, **69**, 352–355 (2011).
- 16) Heikkila R. E., Manzino L., Cabbat F. S., Duvoisin R. C., *Nature*, **311**, 467–469 (1984).
- 17) Javitch J. A., D’Amato R. J., Strittmatter S. M., Snyder S. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 2173–2177 (1985).
- 18) Ramsay R. R., Singer T. P., *J. Biol. Chem.*, **261**, 7585–7587 (1986).
- 19) Nicklas W. J., Vyas I., Heikkila R. E., *Life Sci.*, **36**, 2503–2508 (1985).
- 20) Tipton K. F., Singer T. P., *J. Neurochem.*, **61**, 1191–1206 (1993).
- 21) Kobayashi S., Muroyama A., Matsushima H., Yoshimura I., Mitsumoto Y., *Neurol. Sci.*, **33**, 195–199 (2012).
- 22) Mitsumoto Y., Kobayashi S., Matsushima H., Muroyama A., Yoshimura I., *Neurosci. Lett.*, **463**, 22–25 (2009).