

令和元年6月14日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10360

研究課題名(和文)パーキンソン病の外科治療における新規手術標的の実験的探索

研究課題名(英文)Experimental research for the surgical target in Parkinson's disease

研究代表者

松田 和郎 (Matsuda, Wakoto)

同志社大学・研究開発推進機構・嘱託研究員

研究者番号：80444446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子組換えウイルスベクターを用いて大脳基底核の神経細胞を標識・再構成し、機能的入出力構造の解析によってパーキンソン病における運動異常の神経基盤を明らかにした。腹側被蓋野を標的としてウイルスベクターを注入し、各標的細胞の投射経路を解析した。ドーパミン性であることを確認された腹側被蓋野の単一細胞は、1.線条体、2.前頭皮質および側頭葉嗅内野、3.嗅結節・側坐核に投射する少なくとも3タイプが存在することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中脳ドーパミン系は、パーキンソン病、統合失調症などの疾患あるいは報酬行動・強化学習などに関与するとされる広域投射型モノアミン神経系の一つである。この新規手法によって見出された詳細な細胞形態は大脳基底核における神経細胞の役割を明らかにするとともに、パーキンソン病と関連疾患の臨床病理への理解を深めることに貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Dopaminergic neurons in the midbrain mediate a variety of brain functions, such as motor control, emotion, and reward. We studied the axonal arborization of ventral tegmental area (VTA) neurons with Sindbis virus vectors that coded membrane-targeted green fluorescent protein (GFP). After the reconstruction of projection axons, some neurons in VTA were observed to project their axons to the limbic cortices. The other neurons sent axons to the olfactory tubercle, accumbens nucleus, and/or caudate-putamen. Many of these neurons were observed to form relatively high-dense bushes in their terminal fields with ambiguous varicosities. Detail morphological images of neurons derived from this new approach are used to elucidate the role of the neurons in the basal ganglia. These results would also contribute to understanding the clinicopathology of Parkinson's disease and related syndromes.

研究分野：神経解剖学、臨床解剖学

キーワード：パーキンソン病 大脳基底核 ウイルスベクター 臨床解剖 ドーパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病、舞蹈病、バリスム等の運動疾患は大脳基底核における特定部位の障害が関与しており、治療としては薬物療法に加えて近年では個々の神経核を標的とした定位脳手術が広く行われるようになってきた。しかし、臨床に応用される大脳基底核回路のグランドデザインは、病態理解の最重要基盤であるにもかかわらず、20年以上前に報告された Alexander-DeLong の大脳基底核ループモデルから本質的に進展していないのが現状である。大脳基底核回路は過去の古典的なトレーサー実験によってその大まかな投射経路は判明しているが、単一神経細胞(single cell)の解像度においては、その投射様式と回路網の実像は現在に至るもほとんど未知である。そのような中、先行研究によって膜移行シグナル(GAP43)と緑色蛍光タンパク質(GFP)をコードする遺伝子組換えウイルスベクターを用いて細胞体・樹状突起および軸索終末部を鮮明に標識する方法が開発された。このような経緯から、このウイルスを神経標識物質として用いて従来のトレーサーの限界を克服し、1個の神経細胞を軸索終末まで完全に可視化して再構成することによって従来の手法では知り得なかった大脳基底核回路の投射様式の解明を目指す着想を得た。

2. 研究の目的

第一の目的として、遺伝子組換えウイルスベクターを神経標識物質として応用し、大脳基底核を構成するニューロンを単一細胞の解像度で可視化・再構成し、機能的入出力構造の定量的解析によってパーキンソン病における運動制御異常の神経基盤を明らかにする。この結果を踏まえて新規手術標的の探索へ向けた基礎的知見を供給することを目的とする。第二の目的として、医学部における解剖献体を対象として、機能的脳神経外科手術に有用な臨床解剖の知見を肉眼解剖レベルの調査研究によって見出し、機能的脳神経外科手術の新規標的と手術術式を探索するための基礎的知見を得ることを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

ラットの標的神経核にウイルストレーサーを注入し、緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現させることによって単一の神経細胞を可視化する。次に全脳の連続切片を作成して免疫化学染色し、光学顕微鏡と描画装置によって投射経路を追跡する。これによって1個の神経細胞の全長を完全に再構成し、大脳基底核ループの回路構造の全貌を単一細胞の解像度で正確に把握する。合わせて、解剖献体の脳標本を対象として脳神経外科手術に有用な脳血管解剖の調査研究を行い、臨床解剖学的意義を考察した。

4. 研究成果

第一の目的について、腹側被蓋野を標的としてウイルスベクターを注入し、各標的細胞の投射経路を解析した。ドーパミン性であることを化学的に同定された腹側被蓋野の単一細胞は、1. 線条体、2. 前頭皮質および側頭葉嗅内野、3. 嗅結節・側坐核に投射する少なくとも3タイプが存在することが判明した。

第二の目的について、次の2点の知見が得られた。1. Heubner の反回動脈の解剖について、357体725動脈の調査結果から、その96.2%は1本のみ存在し、76.3%はA1-A2移行部(前交通動脈との分岐部)から起始し、62.1%がA1の上方、30.2%がA1の前方を走行することが判明した(Anat Sci Int, 2018)。2. 上矢状静脈洞から横静脈洞への分岐様式を3型に分類した。(1)左右の横静脈洞にほぼ均等に自由な交通が認められる両側型、(2)左右どちらかの横静脈洞に優位に灌流し、対側の横静脈洞とわずかな交通が見られる型(partially communicating type:P型)、(3)対側の横静脈洞との交通が見られない型(non-communicating type:N型)。系統解剖実習体142例中、両側型は72例(51%)、右優位型は54例(38%)、内訳はP型38例、N型16例であった。左優位型は16例(11%)、P型11例、N型5例であった。また、本解剖学的変異の考察が診断と治療に寄与した1例を報告した。(Anat Sci Int, 2018; eNeurological Sci, 2018)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Matsuda W, Noguchi S, Fujiyama F. Pseudotumor Cerebri and lung cancer-associated jugular vein thrombosis: Role of anatomical variations of torcular herophili. eNeurological Sci 3: 18-20, 2018.
2. Matsuda W, Sonomura T, Honma S, Ohno S, Goto T, Hirai S, Itoh M, Honda Y, Fujieda H, Udagawa J, Takano S, Fujiyama F, Ueda S. Anatomical Variations of the torcular Herophili: macroscopic study and clinical aspects. Anat Sci Int 93 (4): 464-468, 2018
3. Matsuda W, Sonomura T, Honma S, Ohno S, Goto T, Hirai S, Itoh M, Honda Y, Fujieda H, Udagawa J, Ueda S. Anatomical variations of the recurrent artery of

Heubner: number, origin, and course. Anat Sci Int 93 (3): 317-322, 2018

- 4 . 松田和郎 . 脳幹の血管分布 . Clinical Neuroscience 35(6): 661-664, 2017
- 5 . Fujiyama F, Nakano T, Matsuda W, Furuta T, Udagawa J, Kaneko T. A Single-Neuron Tracing Study of Arkypallidal and Prototypic Neurons in Healthy Rats. Brain Structure and Function 221(9): 4733-4740, 2016

〔学会発表〕(計 5 件)

- 1 . 松田和郎 . Heubner 反回動脈の解剖と臨床的意義 . 第 11 回慶良間脳神経外科セミナー (2018 年 11 月 8 日～9 日 沖縄県島尻郡座間味村阿嘉 ゲストハウス・スマイル / 口演)
- 2 . 松田和郎、藺村貴弘、大野幸、平井宗一、本多祥子、本間智、伊藤正裕、宇田川潤、上田秀一 . 解剖実習脳における前大脳動脈の臨床解剖学的検討 . 第 122 回日本解剖学会 (2017 年 3 月 28 日～30 日 長崎県長崎市 長崎大学坂本キャンパス / 口演)
- 3 . 松田和郎、藺村貴弘、平井宗一、植村正憲、伊藤正裕、大野幸、本多祥子、本間智、宇田川潤、上田秀一 . 解剖実習脳における脳動脈瘤の出現頻度 . 第 9 回慶良間脳神経外科セミナー (2016 年 10 月 13 日～14 日 沖縄県島尻郡座間味村阿嘉 ペンションくば / 口演)
- 4 . 松田和郎、藺村貴弘、大野幸、平井宗一、伊藤正裕、本多祥子、本間智、宇田川潤 . 解剖実習脳における脳動脈瘤の出現頻度 . 第 121 回日本解剖学会 (2016 年 3 月 27 日～30 日 福島県郡山市 ビッグパレットふくしま / ポスター)
- 5 . 松田和郎、藺村貴弘、平井宗一、本間智、植村正憲、伊藤正裕、宇田川潤 . 特発性頭蓋内圧亢進症の 1 例 : 静脈洞交会の分岐様式から病態を考察する . 第 8 回慶良間脳神経外科セミナー (2015 年 10 月 22 日～23 日 沖縄県島尻郡座間味村阿嘉 ペンションくば / 口演)

〔図書〕(計 2 件)

- 1 . Alan J. Detton / 勝山裕 監訳 グラント解剖学実習 西村書店 (分担訳 : 松田和郎 . 第 7 章頭頸部)、2019 年 [in press]
- 2 . 松田和郎 . 神経科学と身心変容 . 身心変容技法研究 第 6 号 : 166-169、2017 年

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：藤山 文乃
ローマ字氏名：Fumino Fujiyama
所属研究機関名：同志社大学
部局名：脳科学研究科
職名：教授
研究者番号（8桁）：20244022

研究分担者氏名：藺村 貴弘
ローマ字氏名：Takahiro Sonomura
所属研究機関名：朝日大学
部局名：歯学部
職名：准教授
研究者番号（8桁）：40347092

研究分担者氏名：高野 晋吾
ローマ字氏名：Shingo Takano
所属研究機関名：筑波大学
部局名：医学医療系
職名：教授
研究者番号（8桁）：50292553

研究分担者氏名：本間 悟
ローマ字氏名：Satoru Honma
所属研究機関名：金沢医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：40285581

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。