

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07374

研究課題名(和文) 神経細胞活動及びドパミン放出動態解析によるパーキンソン病運動合併症の病態解明

研究課題名(英文) Pathophysiology of Parkinson's disease motor complications

研究代表者

下 泰司 (Shimo, Yasushi)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：70286714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：進行期パーキンソン病(PD)における運動合併症、特にジスキネジアのメカニズム及びその抑制に関する研究を行った。Long Evans rat を用いて、コントロール群、PDモデル群、ジスキネジア発現群(D+群)、ジスキネジア抑制群(D-群)の4群を作製し、大脳皮質1次運動野刺激による大脳基底核の神経細胞応答を記録した。その結果、コントロール群では、既報通り興奮-抑制-興奮の3相性の応答を認め、PD群では第2相の反応の減弱を認め、D+群では第2相の反応が回復した。D-群では再度第2相の反応の減弱を認めた。以上より運動合併症の治療に対しては、皮質線条体淡蒼球路への治療介入が重要である事が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、電気生理学的に運動合併症の病態生理の解明を目指した。また、代謝型グルタミン酸受容体拮抗薬を投与する事によって、運動合併症の発現の抑制できる事を示した。さらに運動合併症発現抑制モデルの電気生理学的解析を行う事によって大脳皮質基底核回路における治療介入部位の考察を行った。PDでは治療開始後5年で50%の患者が運動合併症の発現によって生活の質の低下を余儀なくされていることを考慮すると、本研究の成果が応用されれば、運動合併症発現抑止のための治療方法が開発される可能性があり、社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We studied motor complication in advanced Parkinson's disease (PD), especially the pathophysiological mechanisms of dyskinesia. Using Long Evans rat, four groups, a control group, a PD model group, a dyskinesia expression group (D+ group), and a dyskinesia suppression group (D-group), were created, and the response of the basal ganglia neuron by stimulating the primary motor cortex. As a result, the control group showed a triphasic response of excitement-suppression-excitement, the PD group showed a attenuation of the phase 2 response, and the D+ group recovered the phase 2 response. In the D-group, the phase 2 response was attenuated again. These results suggested that therapeutic intervention in the cortical striatal globus pallidus is important for the treatment of motor complications.

研究分野：パーキンソン病の病態生理

キーワード：パーキンソン病 運動合併症 ジスキネジア 大脳基底核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦の高齢化社会への移行に伴い、加齢がその発症の因子の一つと考えられているパーキンソン病 (PD) は今後も右肩上がりに患者数の増加が予想される。現在は薬物治療による対症療法による治療しかなく、治療開始から 5 年経過すると 50% 程度の患者で発現する運動合併症という症状は患者の日常生活の質の低下につながる現象であり、その病態解明、治療方法の開発は喫緊の課題であった。

2. 研究の目的

運動合併症の病態生理を解明するため、電気生理学的、薬理学的手法を用いて、PD モデル動物、運動合併症モデル動物を作製し、その病態生理の解明及び治療方法の開発につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

ラットを使用して、コントロール群、PD モデル群、運動合併症のモデルとして、薬物投与によるジスキネジア発現群 (D+群) および D+群と同様の薬物を投与すると同時に、代謝型グルタミン酸受容体阻害薬を投与することによってジスキネジア発現を抑制した群 (D-群) を作製した。これらの群を作製しジスキネジアの評価を行った後、全身麻酔科にてそれぞれ頭蓋外にチャンパーを留置し、大脳皮質一次運動野の手の領域に刺激電極を留置し固定した。皮質基底核回路の出力核である Entopeduncular nucleus (EP) に記録用の電極を挿入し皮質刺激に対する EP の単一細胞外電位の応答を記録/解析した。一つのニューロンあたり、100 回の皮質刺激を行い、その応答を加算平均し解析した。

4. 研究成果

(1) まず各モデル群を作製するために雄の Long Evans rat を使用した。7 週齢の動物を 1 週間飼育環境に慣れさせた後、ドパミンニューロン選択的破壊薬である 6-hydroxydopamine (6-OHDA) ($8\mu\text{g}/4\mu\text{l}$ dissolved in 0.02% ascorbic acid) を定位的に脳内の右 Medial forebrain bundle (中脳黒質ドパミンニューロンが線条体に投射する経路) に注入してドパミンニューロンを破壊して PD モデル群を作製した (PD 群)。コントロール群では 6-OHDA 投与の代わりに、同部位に生理食塩水を注入した ($4\mu\text{l}$)。ドパミンニューロンが破壊されているか否かを確認するために、その 2 週間後アポモルフィン (0.05 mg/kg) を皮下投与動物の回転を誘発できたラットを PD 群とした。D+群においては PD モデルを作製した後レボドパ製剤 (levodopa/benserazide 以下 L/B) (levodopa 50mg/kg + benserazide 12.5mg/kg) を 1 日 2 回、2 週間腹腔内投与をおこなった。正常対象には生理食塩水の投与と同様の方法で行った。14 日間の投与の間は不随意運動スコアを定期的に記録し、神経細胞外活動電位を記録するラットは、ジスキネジアを呈したラットを使用した。D-群には代謝型グルタミン酸受容体拮抗薬である 3-((2-Methyl-4-thiazolyl)ethynyl)pyridine (MTEP) (5mg/kg) を L/B と同時に投与し、D+群と同様に不随意運動 (AIM) スコアを記録した。これまでの研究から MTEP はジスキネジア発現後の症状改善のための効果があることが判明している。AIM スコアは点数が高いほどジスキネジアが強いことを示す。各群 (コントロール群、PD 群、D+群、D-群) いずれも 6~8 匹を使用し、神経細胞外電位を記録できたニューロン数は 35~60 個であった。

(2) 不随意運動スコアは 3 群間で有意差を認め、コントロール群に比べて D+群、D-群のスコアは高値であった (Group F = 182.75, $p < 0.001$, Time F = 17.65, $p < 0.01$, Pillai's trace $p = 0.029$ in repeated measures MANOVA)。D+群と D-群を比較しても D+群では AIM スコアは高値であった ($p = 0.04$ on day 1, $p < 0.001$ on day 4, $p < 0.001$ on day 11, $p = 0.03$ on day 18, Steel-Dwass test)。以上より MTEP 投与によりジスキネジアの発現が抑制されたことが示された (図 1)。

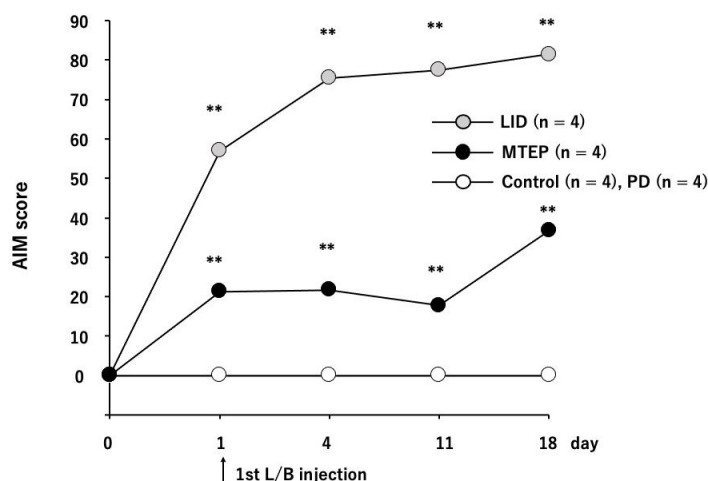


図 1

- (3) 次に、それぞれの群において、電気生理学的検討を行った。大脳皮質一時運動野を刺激して、定位的に EP に挿入した記録電極から刺激応答の単一細胞外電位の記録を行った。運動野の同定は、ラットの対側の前脚の反応が出る場所とし、刺激強度は前脚が刺激によって動く強さとした。
- (4) コントロール群において、EP は 60%の神経細胞が 3 相性の反応を示した (図 2)
- (5) パーキンソン病モデル群では約 80%の神経細胞が 1 相性の興奮性反応を示した。
- (6) D+群では約 40%の神経細胞が 1 相性の興奮性反応を示し、約 20%の神経細胞が持続時間の短い 1 相性の興奮性反応を示した。
- (7) D-群では 70%以上の神経細胞で PD モデル群と同様の 1 相性の興奮性応答を示す神経細胞が認められた (図 3)。

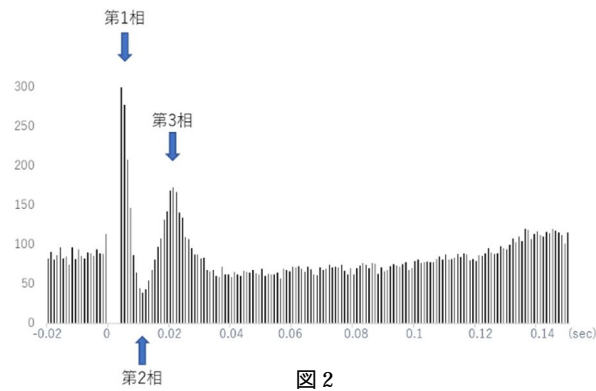


図 2

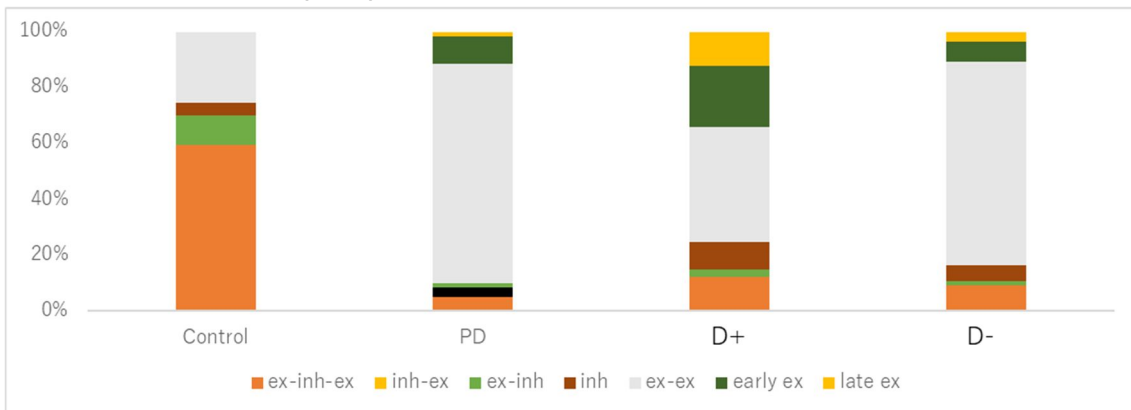


図 3

- (8) 大脳皮質 (Cx) ~ 基底核の間には、図 4 のような 3 つの並列な回路が形成されている。
- (9) EP は霊長類では淡蒼球内節 (Gpi) に相当し、図 4 の Gpi にあたる。
- (10) Cx の刺激により、Gpi において 3 相性の反応が記録されることは過去の研究で示されており、第 1 相の興奮性反応は Cx-視床下核 (STN)-Gpi の経路を通じた反応であり、第 2 相は皮質-線条体 (Str)-Gpi を経路した反応である。第 3 相は Cx-Str-淡蒼球外節 (GPe)-STN-Gpi を経路した反応であることが分かっている。
- (11) 今回の研究で、PD 群で第 2 相の反応が减弱し、興奮性反応のみが顕在化したということは、第 2 相を担う Cx-Str-Gpi 経路の障害が存在することを示唆する
- (12) D+群においては PD 群に比べて 3 相性の反応を示すニューロンが増え、PD 群で認められた第 2 相の反応が消失するニューロンの割合が减弱するという事は、PD において、第 2 相を担う Cx-Str-Gpi 経路の障害は機能的なものであり、器質的なものではない事が示唆され、その機能障害が levodopa 投与によって回復することによってジスキネジアが発現することを示唆する。
- (13) D-群は、PD 群と同様に 1 相性の興奮性反応を示すニューロンが多かった点に関する解釈であるが、D+群と同様にレボドパ製剤 (L/B) を投与したにも関わらず、MTEP を同時に投与していることによって、レボドパ製剤投与によって生じてしまう Cx-Str-EP の経路の機能的変化の発現を抑制することができたためと考えられる。
- (14) すなわち、ジスキネジアの発現もしくは発現の抑制には Cx-Str-EP の経路の機能が重要であることが示唆された。
- (15) さらに D+群で増加していた早期興奮を呈するニューロンが、他の 3 群では減少していたことは、Cx-STN-Gpi の経路もジスキネジアの発現には重要であることが示唆される。
- (16) 一方、D-群の結果と PD 群の結果が類似している点に関しては、高容量の levodopa に

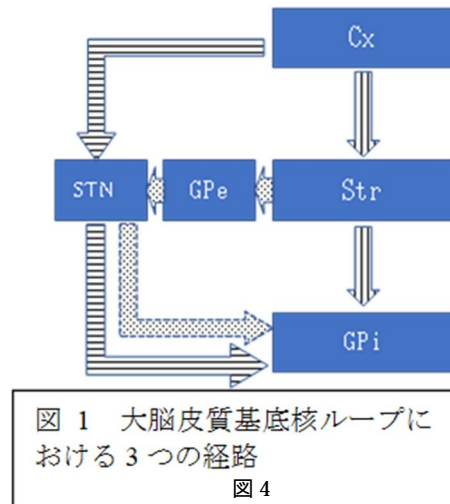


図 1 大脳皮質基底核ループにおける 3 つの経路

図 4

よる治療を行っても、Cx-Str-GPi の経路の変化は機能的変化のみであり、器質的变化は生じていない可能性がある。

- (1 7) 本研究の結果から、今後はPDの治療開始時点から、進行期におけるジスキネジアの発現を抑制を常に念頭におき、治療開始時から代謝型グルタミン酸受容体拮抗薬の役割を考慮する必要性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hikaru Kamo, Hirokazu Iwamuro, Ryota Nakamura, Ayami Okuzumi, Takashi Ogawa, Asuka Nakajima, Nobutaka Hattori, Yasushi Shimo
2. 発表標題 The effects of MTEP on L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease model rat.
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中島 明日香 (Asuka Nakajima) (40812459)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	
研究分担者	岩室 宏一 (Hirokazu Iwamuro) (80384775)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------