

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月17日現在

機関番号：32607

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010-2011

課題番号：22659264

研究課題名（和文）視床下核刺激によるパーキンソン病モデル動物基底核回路の再構成

研究課題名（英文） Reorganization of basal ganglia circuitry in animal model of parkinson's disease by stimulation of subthalamic nucleus

## 研究代表者

佐治 眞理 (SAJI MAKOTO)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号：50114179

## 研究成果の概要（和文）：

視床下核刺激（STN-DBS）はSTN周辺でのLTP誘導に基づきパーキンソン病（PD）基底核回路を長期再構成できるとのアイデアを検証する目的で、LTP誘導強化作用のあるNMDA受容体サブユニットNR2Bアンタゴニストが、STN-DBSによるPD運動症状改善効果を増強し、かつ長期固定化できるかどうかを検討する。

具体的には、研究実施計画の第Ⅱ段階であるNMDA-RサブユニットNR2Bのアンタゴニスト（ifenprodil）がSTN-DBSによるPD運動症状改善効果を増強するかどうかの検討に先立って、第Ⅰ段階としてifenprodil単独投与がPD症状改善効果を示すかどうかをシリンダーテストを用いて検討した。その結果、片側PDラットにおいて、ifenprodilは単独では運動症状改善効果を全く示さないが、L-DOPAとの併用投与ではL-DOPAのもつ症状（協調運動障害）改善効果を増強する著しい相乗作用をもつことが明らかになった。

この研究成果は、1）PDモデルのNMDA受容体機能異常（de-regulated function）に起因する運動障害の改善は、NR2Bアンタゴニスト単独投与では起こらず線条体ドーパミン受容体活性化とのカップリングを介して起こることを示すとともに、2）STN-DBSの症状改善機序にもNR2Bアンタゴニストとdopamineアゴニストの同時作用を介して正常化される複数のPD病動物基底核回路の機能障害が含まれていることを示唆している。この結果から、L-DOPA慢性投与により発症するdyskinesiasの改善にもSTN-DBSとNR2Bアンタゴニスト投与との併用が副作用少なく有効であるとの今後の治療法開発の方向性が示された。

## 研究成果の概要（英文）：

To test the hypothesis that STN-DBS induces a long-lasting reconstruction of basal ganglia circuitry in parkinsonian rats mediated by expression of LTP on synapses in the nearby nuclei, we examined whether NMDA receptor (NMDAR) subunit NR2B antagonist potentiates the alleviating after-effect of STN-DBS and lasts the improvement of motor deficits by transient STN-DBS long for hours or days.

Prior to the test for the potentiation of alleviating effect of STN-DBS by NR2B antagonist in hemi-parkinsonian rats, we first examined whether mono-therapeutic treatment with NR2B antagonist (ifenprodil) improves the motor symptoms in hemi-parkinsonian rats. As a result, in hemiparkinsonian rats, we found that ifenprodil did not cause an improvement of the deficits of motor coordination, while the drug potentiated the ameliorative effect of L-DOPA on the deficit of motor coordination when combined with L-DOPA, suggesting the synergistic action of ifenprodil on the antiparkinsonian effect of L-DOPA. From this result, it is suggested that a combined treatment with STN-DBS and NR2B antagonist could be more effective than STN-DBS alone to improve the chronic L-DOPA-induced dyskinesias with less side-effect.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	0	2,000,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	270,000	3,170,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：片側パーキンソン病モデル、深部脳刺激、視床下核、運動症状改善、NMDA 受容体 NR2B アンタゴニスト、基底核回路

1. 研究開始当初の背景

(1) 深部脳刺激 (DBS) がパーキンソン病 (PD) 運動症状に対し著名な改善効果を示すが、その改善効果発現の機序はいまだ不明である。また、L-DOPA が PD 運動症状に対し著名な改善効果を発現する機序の詳細はいまだ不明であることから、L-DOPA の長期投与がなぜ dyskinesias と呼ばれる運動障害を新たに発症させるのかに答えが得られないままである。

(2) 我々は、PD モデルラットの視床下核への高頻度刺激 (STN-DBS) が刺激停止後も数十秒間持続する PD 症状改善後効果 (alleviating after-effect) を引き起こすこと及びその改善後効果が NMDA 受容体 (NMDAR) アンタゴニストにより完全に阻害されることを発見した。

2. 研究の目的

我々は、NMDAR アンタゴニストによる STN-DBS の PD 症状改善後効果の阻害から、STN-DBS は直接の STN 機能修飾作用 (活動抑制) のほかに NMDAR 依存性シナプス可塑性 (LTP) 発現に基づく PD 基底核回路の長期再構成を誘導できると考えた。この可能性を検証する目的で、新しい NMDAR 依存性 LTP 誘導強化法である NMDAR サブユニット NR2B アンタゴニズムが、STN-DBS による PD 症状改善後効果を増強しかつ長期固定化できるかどうかを検討する。

2. 研究の方法

(1) 片側 PD モデルラットの作成：

ラットの内側前脳束にドーパミン神経毒であら 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を局所注入することにより黒質ドーパミン神経系を破壊して PD モデルラットを作成する。

(2) 行動テストによる 2 系統薬剤の PD 運動症状改善効果の解析：

6-OHDA 注入から 3 週間経過してドーパミン神経系破壊が完成した時点で、この片側 PD モデルラットにおいて L-DOPA 単独投与 (腹腔内) した実験群、ifenprodil 単独投与 (腹腔内) した実験群、及び L-DOPA と ifenprodil との併用投与 (腹腔内) した実験群の 3 実験群を用いて、薬剤投与から 30 分後の投与薬剤の運動症状改善効果を 20 分間のシリンダーテストの成績から解析する。片側 PD モデルラットにおいて薬剤投与の代わりに生理食塩水 saline を投与 (腹腔内) し 30 分後シリンダーテストを行ったものを vehicle 対照群とする。

(3) 2 系統薬剤の PD 運動症状改善効果と c-Fos 高発現正常化との相関：

薬剤投与 2 時間後 (行動テスト 1 時間後) の時点における線条体及び一次運動野での c-Fos 発現量を c-Fos 抗体を用いた免疫組織染色法により定量解析する。次いで 2 領域での c-Fos 発現量の変化と運動症状改善効果 (シリンダーテスト成績向上) との間に相関があるかどうかを検討する。

4. 研究成果

研究実施計画の第 II 段階である NMDA-R サブユニット NR2B のアンタゴニスト (ifenprodil) が STN-DBS による PD 運動症状改善効果を増強するかどうかの検討に先立って、第 I 段階として NR2B のアンタゴニスト ifenprodil 単独投与が PD 症状改善効果を示すかどうかをシリンダーテストを用いて検討した。

(1) 片側 PD ラットにおいて、ifenprodil 単独投与は運動症状改善効

果を全く示さなかった。

(2) L-DOPA単独投与は、PD運動症状のうちの低運動量を濃度依存的に改善するが、一方、運動症状のうちの協調運動障害(左右運動の非対称性)を限定された濃度範囲でのみわずかに改善した。

(3) Ifenprodilは、L-DOPAとの併用投与によって、L-DOPAのもつわずかな協調運動障害改善効果を増強する著しい相乗作用をもつことが示された。

(4) 高濃度L-DOPA投与(腹腔内)は、片側PDモデルの対側前肢低運動量の回復亢進に伴い破壊側の背外側線条体の異常なc-Fos高発現を誘導する。併用投与によるifenprodilは、高濃度L-DOPAによる異常なc-Fos発現を著しく抑制する。この併用投与ifenprodilによるL-DOPA誘導性異常c-Fos発現の抑制は、協調運動障害回復・正常化の増強と良く相関しており、片側PDモデルの破壊側線条体に発症している機能異常にはドーパミンアゴニストにより正常化される機能異常(ドーパミン性脱抑制機能不全)の他にNMDA受容体機能不全が含まれている可能性を示唆している。

この研究成果は、1)PDモデルのNMDA受容体機能異常(de-regulated function)に起因する運動障害の改善がNR2Bアンタゴニスト単独投与では起こらずに線条体ドーパミン受容体活性化とのカップリングを介して起こることを示すとともに、2)STN-DBSの症状改善機序にもNR2Bアンタゴニストとdopamineアゴニストの同時作用を介して正常化される複数のPD病動物基底核回路の機能障害が含まれていることを示唆している。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3件)

- ① Tsunoda M, Ikeuchi R, Tsuji M, Inoue Y, Ito K, Katagiri H, Akita H, Saji M., Yuba T, Yamada T, Tsuchiya T, Aizawa Y Evaluation of neurotoxicity of artificial dura mater and dura mater containing a high concentration of dibutyltin in rats after intracranial

implantation. *Kitasato Med J*, 査読有、42: 67-75(2012).

- ② Akita H, Honda Y, Ogata M, Noda K, Saji M Activation of the NMDA receptor involved in the alleviating after-effect of repeated stimulation of the subthalamic nucleus on motor deficits in hemiparkinsonia rats. *Brain Res.*, 査読有、1306: 159-167 (2010).
- ③ Asakawa H, Tsunoda M, Kaido T, Hosokawa M, Sugaya C, Inouue Y, Kudo Y, Satoh T, Katagiri H, Akita H, Saji M., Wakasa M, Negish T, Tashiro T, Aizawa Y Enhanced inhibitory effects of TBT chloride on the development of F1 rats. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 査読有、58:1065-1073 (2010).

[学会発表] (計 6件)

- ① Saji M., Shimizu D, Ogata M, Noda K, Suzuki N, Akita H. Switching from learning behavior to thigmotaxis in mater maze induced by in vivo delivery of antibody against AMPA receptor GluA1-C terminus via HVJ-E vector into hippocampal neurons in rats. 41<sup>st</sup> annual meeting of society for neuroscience, Washington DC, November 15, 2011.
- ② Saji M., Ogata M, Noda K, Suzuki N, Akita H. Loss of motivation for learning in water maze by in vivo delivery of antibody to AMPA receptor GluR1-C terminus via HVJ-E vector into hippocampal CA1 neurons in rats. IBRO world congress of neuroscience, Firenze, Italy, July 12, 2011
- ③ Ikeuchi R, Kido T, Sugaya C, Tsunoda M, Katagiri H, Uchimura A, Akita H,

Saji M., Aizawa Y. The neurotoxic effects of tributyltin on male F1 rats by continuous exposure from the fetal stage through their developing stages. 50<sup>th</sup> annual meeting for society of toxicology, Washington DC, March 6-10, 2011.

- ④ Akita H, Honda Y, Ogata, Noda K, Saji M NMDA receptor-mediated plasticity in the alleviating after-effect of subthalamic stimulation on akinetic motor deficit in rat models of Parkinson's disease. 40<sup>th</sup> annual meeting of society for neuroscience, San Diego, Nov. 15, 2010.
- ⑤ Noda K, Akita H, Ogata M, Saji M. Paclitaxel-induced hyperalgesia modulates NR1 receptor expression in the frontal cortex and negative affective component of pain in rats. 13<sup>th</sup> world congress on pain, Montreal, August 30, 2010.
- ⑥ Tsunoda M, Kado T, Ikeuchi R, Hosokawa M, Sugaya C, Inoue Y, Kudo Y, Akita H, Saji M., Takeuchi Y, Yoshioka R, Tashiro T, Aizawa Y Evaluation of TBT neurotoxicity in developing male F1 rats by open field tests. 49<sup>th</sup> Annual Meeting for Society of Toxicology, Salt Lake City, March 1, 2010

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0件)

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

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐治 眞理 (SAJI MAKOTO)  
北里大学・医療衛生学部・教授  
研究者番号：50114179

### (2) 研究分担者

滝山 容子 (TAKIYAMA YOUKO)  
北里大学・医学部・講師  
研究者番号：60265593

佐藤 澄人 (SATO SUMITO)  
北里大学・医学部・助教  
研究者番号：40266052

### (3) 連携研究者 ( )

研究者番号：