

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 27 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592157

研究課題名(和文) MPTPサルにおけるSTN-DBS刺激強度と効果発現に関する病態解明の研究

研究課題名(英文) Effects of parameters of the Deep brain stimulation on the therapeutic efficacy in MPTP treated monkey, a PET study

研究代表者

浅川 哲也 (ASAKAWA, Tetsuya)

浜松医科大学・医学部・講師

研究者番号：00469917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はサルパーキンソン病モデルにSTN-DBS術を実施し、異なる頻度(30Hz、145Hz)での刺激をしながら、H2150-PETで、脳内の賦活されたエリアを同定し、高頻度刺激の有効性の機序を明らかにする研究である。我々は、新規MPTP全身投与サルモデルを確立し、又はサル無麻酔下PET計測のため、固定具のと不可欠な行動判定テストの開発を行った。PET計測の結果片側の高頻度(145Hz)のSTN-DBSで、両側の前運動皮質が賦活された。このデータはDBSの機序は運動の改善だけではなく、運動の準備及びイニシエーションも改善することを示唆している。これらの成果は、DBSの機序に知見を提供できる。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated the difference of efficacy and brain activated areas by different frequencies (30Hz, 145Hz) during deep brain stimulation (DBS) of subthalamic nucleus (STN) in Parkinson's disease (PD) monkey model. We performed H2150-PET to investigate the cerebral blood flow affected by "effective" (145 Hz) and "ineffective" (30Hz) DBS when the behavioral test was performing. During the experiments, we developed the new PD model, new fixing device and the new behavioral tests. During the PET study, our preliminary data firstly showed that unilateral effective DBS may activate bilateral premotor areas, which means effective STN-DBS ameliorates not only the motor impairments, but also the preparation and initiation of the bilateral motor in PD state. This finding is helpful to achieve a deeper insight as to the mechanisms of DBS.

研究分野：医歯薬学

キーワード：パーキンソン氏病 サルモデル 脳深部電気刺激術 視床下核 PET

1. 研究開始当初の背景

本研究は、以前行った先行研究(若手B、課題番号 20791025)の後続研究である。近年、パーキンソン氏病患者(PD)に有効な外科的治療法として、視床下核(STN)への脳深部電気刺激療法(STN-DBS)が盛んに行われているが、いまだその機序には不明な点が多い。これまでに、基底核(basal ganglia)の運動制御回路の改善という仮説があり。高頻度電気刺激が過興奮をしている視床下核に対して破壊術と同様に抑制的に働く、または、他の神経核の興奮を促進して神経回路を活性化させた結果であると考えられている(Fig1.)。Windelsら(2005)はマイクロダイアリシス法を用いてSTN-DBS後にSNr/Gpi内のGlu及びGABA放出量が増加することを報告しているが、逆に、STNに対するmicroinjectionや遺伝子治療の方法を用いて、STN内の抑制性GABAを賦活すると、PD患者に改善が認められることも報告されている。Levyら(2001)の研究では、PD患者のSTNにmicroinjectionでGABAアゴニストを投与し、患者の症状が改善することを示した。Kaplittらは重度PD患者のSTNにAAV-GAD遺伝子移植した後、STN内のGABAが増加し、臨床症状の著しい改善をみたと報告している(Lancet 369:2097-2105、2007)。以上の報告で、STN-DBSの機序は、基底核を中心して運動制御回路の改善であることが示唆されている。

我々は、選択的ドーパミン神経毒である(1-methyl 4-phenyl 1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)を投与したカニクイサルのPDモデルを作成し、予備実験の結果より、臨床での成績同様に、高頻度の刺激(130Hz以上)は有効刺激であることが確認され、刺激効果は130Hz以上の頻度で飽和することが確認された。上記の結果によって、STN-DBSはパーキンソン病における視床下核の過興奮を抑制し、引き続いて視床を過抑制の状態から解放し、視床から投射している運動野、補助運動野、及び対側の小脳半球等運動相関神経回路を活性化し、パーキンソン氏病モデル動物の症状改善を起こすことが推測される。これらの予備実験のデータを踏まえて、次のステップとして、異なる頻度電気刺激により脳血流と脳代謝の変化を観察する本研究を進めたいと考えている。

2. 研究の目的

本研究は最初にサルPDモデルにSTN-DBS術を実施し、異なる頻度(30Hz、90Hz and 145Hz)刺激の効果を行動判定テストのFood Reaching Test (FRT)を用いて確認する。次に異なる頻度での刺激をしながら、 $H_2^{15}O$ -PETとFDG-PETにて、脳内の賦活されたエリアを同定する。STN-DBSの高頻度刺激による効果発現機序における神経回路に関し両側大脳の賦活部分を解明し、すべてのデータを総合的に解析し、高頻度刺激の有効性の脳内機序

を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は、3カ年の研究計画をもって行う。最初の一年間、PET計測を順調に進められるように、様々な準備を行う。4頭の新規PDモデルを作成して、これらのモデルを行動判定テストのfood reaching testを訓練し、STN-DBS術を実施し、異なった頻度での刺激下の運動パフォーマンスを確認する。尚、無麻酔下でのPET計測を達成する為、各種の準備を行う(モンキーチェアに固定訓練、Header Holderを取り付け)。次の二年間、異なった頻度での電気刺激の前後における脳の循環代謝の変化を観察するため、4頭のサルモデルを各々の頻度で刺激し、その際の $H_2^{15}O$ -PETとFDG-PETを行う。これらのPET計測の結果をまとめて、有効なDBSにて基底核を中心して運動制御回路への影響を確認する。

4. 研究成果

(1)新規パーキンソン氏病(PD)モデルサルの作成に成功した。この動物モデルは、両側内頸動脈に經由MPTPを投与する方法である。伝統的な静脈投与モデルより、作成期間は短縮され、しかしサルの死亡率はほぼ同じであった。

(2)サル無麻酔下PET計測環境を作成した。固定具のヘッドホルダ(HH)を装着手術を確定し、確実にサルのHH固定ができるネジを開発した。

(3)行動判定テストを開発した。今回の研究では、粗大運動を計測のため、Food Reaching Testをサルと人間の実験方法を開発し。更に微細運動を計測できるよう、新規Gripping Testの開発は始まる。

(4)PETの計測について。只今得たpreliminaryデータでは、以下の結果を示唆している

a. [11C]CFT-PETの解析: PET解析ソフトPmodを用い、その中のMRTMOおよびMRTMの二つのモデルを用いて、[11C]CFT-PETの結合能(binding potential, BP)を計算した。関心領域(ROI)は左右被殻(putamen)に設置し、参照部位は小脳とした。その結果、MRTMOとMRTMの計算結果に違いはなく、左右被殻における[11C]CFTのBPが著しく下がっている他、線条体のドーパミン輸送体(dopamine transporter, DAT)が低下している状態を示した。(図1)

b. [11C]MNPA-PETの解析: 同様に、Pmodを用い、MRTMOとMRTMの二つのモデルを用いて、関心領域(ROI)は左右被殻(putamen)参照部位は小脳に設置して、[11C]MNPAの結合能(binding potential BP)を計算した。その結果、やはりMRTMOとMRTMでの計算結果に違いはなく、左右被殻における[11C]MNPAのBPが著しく上がっている他、線条体のドーパミンD2受容体は代償的な増加が認められた。

c. [11C]-DOPA - PETの解析: PmodのPXMODツ

ールを用いて、Patlak Plot と呼ばれる解析を行った。解析時間は 30-105min であった。サル F では DOPA の k3 value が健常のサルよりも著しく低下しており、線条体のドーパミン合成 が低下している状態が示された。以上の ^{11}C -化合物での PET 計測により、F のドーパミン系が低下していることが確認され、両側投与の PD サルモデルであることが確認できた。

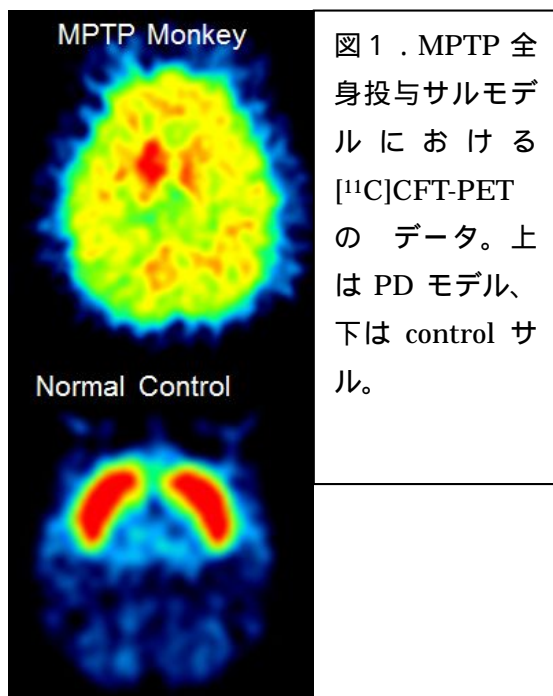


図1 . MPTP 全身投与サルモデルにおける ^{11}C CFT-PET のデータ。上は PD モデル、下は control サル。

d.我々の H_2^{15}O -PET の結果で、片側の高頻度 (145Hz) の STN-DBS で、両側の 前運動皮質が賦活されたという結果を示す。このデータは DBS の機序は運動の改善だけでなく、運動の準備及びバイニシエーションの改善を示唆している。これらの結果は、後続の研究で検証することが必要と考える。

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 8 件)

1. Chen S, Asakawa T*, Ding S, Liao L, Zhang L, Shen J, Yu J, Sugiyama K, Namba H, Li C*, Hippocampal Estrogen Receptor mRNA Ratio (ER /ER); a potential index for evaluating depression state and effects of Chaihu-Shugan-San administration. PLoS One. 査読有、Aug 27; 8(8) 2013. e72428

DOI:

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone>

[.0072428](http://doi.org/10.1371/journal.pone)

2. Sun W, Sugiyama K, Asakawa T, ITO T, Namba H*, Behavioral performance at early (4 weeks) and later (6 months) stages in rats with unilateral medial forebrainbundle and striatal 6-hydroxydopamine lesions. Neurol Med Chir.査読有、53, 2013, pp.7-11

DOI: <http://doi.org/10.2176/nmc.53.7>

3. Asakawa T*, Fang H, Hong Z, Sugiyama K, Nozaki T, Namba H*, Peripheral stimulation in treating Parkinson's disease: Is it a realistic idea or a romantic whimsicality? Intractable Rare Dis Res, 査読有、1(4), 2012, pp.144-150

DOI: <http://doi.org/10.5582/irdr.2012.v1.4.144>.

4. Nozaki T, Sugiyama K, Yagi S, Yoshikawa E, Kanno T, Asakawa T, Ito T, Terada T, Namba H, Ouchi Y.*, Effect of subthalamic nucleus stimulation during exercise on the mesolimbocortical dopaminergic region in Parkinson's disease: a positron emission tomography study. J Cereb Blood Flow Metab. 査読有、Dec 5.2013, pp.415-421

DOI:

<http://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.183>

5. Fang H, Hong Z, Zhang J, Shen DF*, Gao FF, Sugiyama K, Namba H, Asakawa T*, Effects of Ghrelin on the Intracellular Calcium Concentration in Rat Aorta Vascular Smooth Muscle Cells. Cell Physiol Biochem. 査読有、Oct 22;30(5), 2012, pp. 1299-1309

DOI:

<http://doi.org/10.1159/000343319>

6. Asakawa T, Sugiyama K, Akamine S, Yokoyama C, Shukuri M, Mizuma H, Tsukada

H, Onoe H, Namba H, The food reaching test: a sensitive test of behavioral improvements by deep brain stimulation in MPTP-treated monkey. Neurosci Res. 査読有、 Oct 74(2) 2012, pp.122-128

DOI:

<http://doi.org/10.1016/j.neures.2012.07.006>

7. 杉山憲嗣, 野崎孝雄, 浅川哲也, 難波宏樹*, 不随意運動に対する脳深部刺激療法. 脳神経外科ジャーナル, 査読有、Vol. 23、 2014、 No. 8、 pp. 641-647

DOI:

<http://doi.org/10.7887/jcns.23.641>

8. 杉山憲嗣, 野崎孝雄, 浅川哲也, 伊藤たえ, 難波宏樹*, 重度強迫性障害に対する脳深部刺激術の準備と現状、機能的脳神経外科、査読有、51、2012、pp. 67-70、

<http://jglobal.jst.go.jp/public/2009042/2/201302273299676170>

〔学会発表〕(計6件)

1. Tetsuya Asakawa, Kenji Sugiyama, Tae Yamashita, Takao Nozaki, Souichi Akamine, Hirota Onoe, Yukio Nishimura, Hiroki Namba, Different efficacy between gross motor dysfunction and finger precise motor dysfunction treated by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in monkey model of Parkinson's disease. The 9th Scientific Meeting for the Asia and Australasian Society of Stereotactic and Functional neurosurgery (AASSFN). 2014/1/12. Shanghai, China..

2. Tetsuya Asakawa, Kenji Sugiyama, Takao Nozaki, Hiroki Namba, Different Performance between Food Reaching Motors and Finger Precise Motors Ameliorated by STN-DBS in MPTP-treated Monkeys, the 16th quadrennial meeting of the World Society of Stereotactic and Functional Neurosurgery (WSSFN). 2013/5/29, Tokyo, Japan.

3. Tetsuya Asakawa, Kenji Sugiyama, Takao Nozaki, Hiroki Namba, The strategy of "stimulation" in treating Parkinson's disease. China Neurology Forum (CNF) 2013. Shanghai, China, 2013.

4. 浅川哲也, 杉山憲嗣, 山下たえ, 野崎孝雄, 尾上浩隆, 塚田 秀夫, 難波 宏樹, The

brain areas activated by effective deep brain stimulation of subthalamic nucleus in MPTP treated monkeys, a H₂¹⁵O-PET study, 第13回日本分子脳神経外科学会、2012.9.2.熊本、

5. 浅川哲也, 杉山憲嗣, 山下たえ, 野崎孝雄, 尾上浩隆, 塚田 秀夫, 難波 宏樹, パーキンソン氏病サルモデルにおけるSTN-DBS後の脳血流変化のPET研究, 第34回関東機能的脳外科カンファレンス, 2012.9.1, 東京、

6. 浅川哲也, Current state and prospect of the therapeutics for the cerebral ischemia in Japan, 日中医薬シンポジウム, 2012.7.25, 東京

〔図書〕(計3件)

1. Asakawa T*, Xia Y*, Acupuncture Treatment For Parkinson's Disease. Current Research in Acupuncture. Research Monograph, Springer, New York, 2012: 215-253.

2. Asakawa T*, Xia Y*, Can Acupuncture Treat Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders? Current Research in Acupuncture. Research Monograph, Springer, New York, 2012. 255-301

3. Asakawa T*, Xia Y*, Future Research in Acupuncture - Better design and analysis for novel and valid findings. Current Research in Acupuncture. Research Monograph, Springer, New York, 2012. 687-725

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

http://www.hama-med.ac.jp/uni_introduction_report_souran_07191472.html

6．研究組織

(1)研究代表者

浅川 哲也 (ASAKAWA Tetsuya)
浜松医科大学 医学部 特任講師
研究者番号：00469917

(2)研究分担者

杉山 憲嗣 (SUGIYAMA Kenji)
浜松医科大学 医学部 准教授
研究者番号：00235904

(3)連携研究者

難波 宏樹 (NAMBA Hiroki)
浜松医科大学 医学部 教授
研究者番号：60198405

尾上 浩隆 (ONOE Hirotaka)
独立行政法人理化学研究所 分子イメージング科学研究センター チームリーダー
研究者番号：80214196

尾内 康臣 (OUCHI Yashuomi)
浜松医科大学 医学部 教授
研究者番号：40436978

間賀田 泰寛 (MAGATA Yashuhiro)
浜松医科大学 医学部 教授
研究者番号：20209399