

平成 28 年 6 月 28 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861135

研究課題名(和文) グループ1型の代謝型グルタミン酸受容体のアンバランスはパーキンソン病の病因か？

研究課題名(英文) Is balance of metabotropic glutamate receptors classified into group I important?

研究代表者

山崎 友照 (Yamasaki, Tomoteru)

国立研究開発法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員

研究者番号：80627563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、神経変性疾患に関連の深い分子であるグループ1代謝型グルタミン酸受容体(mGluR1及びmGluR5)に着目し、パーキンソン病(PD)のモデル動物におけるこれら受容体の経時的変化を陽電子撮像法(PET)を用いて、長期間観察した。その結果、mGluR5ではなく、mGluR1の発現量がPDの病態進行に伴って変化することが明らかとなった。このことから、mGluR1がPDの病態診断の新しいバイオマーカーとなり得ることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：In this study, dynamic changes of metabotropic glutamate receptors (mGluR1 and mGluR5) classified into group I were monitored by using longitudinal positron emission tomography (PET) in Parkinson's disease (PD) modeled animal. PET imaging demonstrated that mGluR1 expressions, but not mGluR5, dynamically changed with progression of PD pathology. Hence, it was suggested that mGluR1 might be a new biomarker for diagnostic index of PD.

研究分野：核医学

キーワード：PET mGluR1 mGluR5 パーキンソン病 ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) は、脳の線条体におけるドーパミンとアセチルコリンの絶対量の不均衡が生じることで、「ふるえ」、「強剛」、「無動」、「姿勢障害」などの運動障害や認知機能障害を引き起こす脳疾患である。また、病理学的には α -シヌクレイン (Syn) と呼ばれる異常タンパクの蓄積がドーパミン産生細胞の障害を引き起こすと考えられている。

本研究で着目したグループ I 代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR1 及び mGluR5) は、グルタミン酸神経の慢性的な興奮を調節している分子として知られ、PD をはじめ、脳梗塞、ハンチントン病、アルツハイマー病、統合失調症など様々な神経変性疾患との関わりが報告されている。しかしながら、類似した生理機能を有しているにもかかわらず、異常な脳内環境において、これら受容体の発現量に差異があることから、分子イメージングによる更なる研究が望まれている。

陽電子撮像法 (Positron emission tomography: PET) とは、 ^{18}F や ^{11}C 等のガンマ線を放出する放射性同位元素で標識したプローブ (PET プローブ) を生体内に投与することで、特定の分子の動きや機能を生きたままの状態画像化できる先進の技術であり、様々な分子を標的とした PET プローブが開発されている。グループ I 代謝型グルタミン酸受容体においても、mGluR5 を標的とした PET プローブは複数種開発されており、中でも 3-(6-methylpyridine-2-ylethynyl)-cyclohex-2-enone- (*E*)-*O*-[^{11}C]methyloxme ([^{11}C]ABP688) は、臨床試験において有用性が確認されている。一方、mGluR1 に選択的な PET プローブは、開発が遅れていたが、近年、当該グループによって *N*-[4-[6-(isopropylamino)pyrimidin-4-yl]-1,3-thiazol-2-yl]-yl-*N*-methyl-4-[^{11}C]methylbenzamide ([^{11}C]ITDM)¹⁾ が開発され、有効性が示された。

2. 研究の目的

本研究では、グループ I 代謝型グルタミン酸受容体を選択的な PET プローブを用いて PD モデルラットの mGluR1 及び mGluR5 の発現レベルの変化を PD の発症前から病態進行にかけて長期間観察することで、これらのサブタイプ間相互作用の一端を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) モデル動物と行動薬理的評価

PD のモデル動物は、Taconic 社から購入した家族性パーキンソン病の病因遺伝子であるヒト A53T 変異 SNCA 遺伝子が遺伝的に挿入されたラット (PD-Tg ラット) を用いた。PD の病態進行度は、オープンフィールド試験 (OFT) により測定した行動量 (運動量) と立ち上がり回数 (探索行動) のスコアを用い、行動障害の指標とした。

(2) PET イメージング

PET プローブ ([^{11}C]ITDM 及び [^{11}C]ABP688) は、当研究所のサイクロトロンにより製造された ^{11}C を用いて標識合成し、実験に使用した (図 1)。PET 撮像は、Siemens 社の装置 (Inveon) を用いて行い、撮像した PET 画像の再構成及び解析は、PMOD Technology 社の解析ソフトを用いて、当該 PET プローブの特異結合量を定量的に推定した。

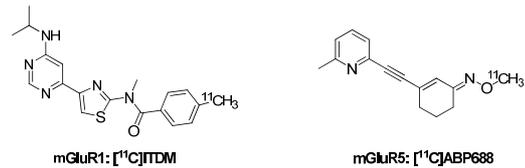


図 1 本研究で用いた PET プローブ

(3) オートラジオグラフィ (ARG)

16 月齢の野生型及び PD-Tg ラットから脳を摘出し、Carl Zeiss 社のクリオスタットを用いて凍結切片を作成した。これらの脳切片を、PET プローブが混入した緩衝液の中で反応させ、FujiFilm 社のイメージングアナライザー (BAS5000) を用いて読み取り、画像構成、及び解析を行った。

4. 研究成果

(1) PD-Tg ラットにおける活動量の変化

OFT の結果、PD-Tg ラットは、野生型に比べ、5 月齢で一時的な活動量の増加が見られたが、その後、急激な低下を示し、16 月齢で明らかな行動障害が認められた (図 2)。また、16 月齢の PD-Tg ラットから作成した脳切片を用いて病理学的評価を行ったところ、明らかな Syn の集積とドーパミン産生神経の脱落が確認された (図 3)。この結果から、本研究で用いた PD-Tg ラットは、PD の病態に似た行動障害と病理学的変化を起こすことが確認された。

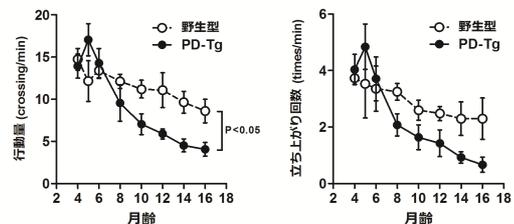


図 2 野生型と PD-Tg ラットにおける活動量の推移

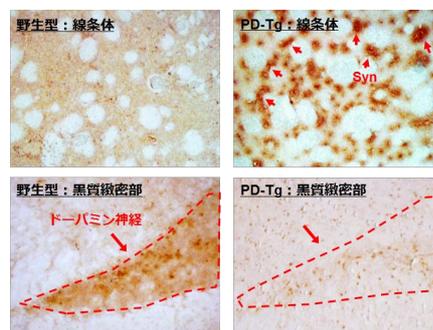


図 3 野生型と PD-Tg ラット脳切片を用いた組織染色

(2) PET イメージング

2種のPETプローブを用いたPETイメージングの結果、PD-TgラットにおけるmGluR1に選択的な ^{11}C]ITDMの特異結合は、野生型ラットに比べ、4月齢で高くなり、その後、月齢が進むにつれて有意に減少した。一方で、mGluR5に選択的な ^{11}C]ABP688の特異結合は野生型とPD-Tgラット間で月齢による変化は見られなかった(図4)。

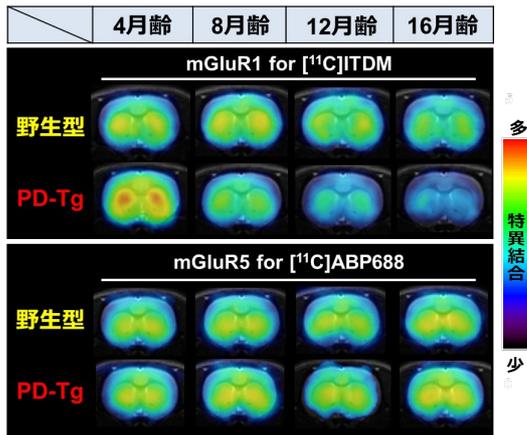


図4 野生型とPD-Tgラット脳におけるPET画像

(3) インビトロARG

次に、PETイメージングで得られた特異結合が受容体との結合量を正確に反映しているかを確かめるために、16月齢の野生型及びPD-Tgラット脳切片を用いてインビトロ条件下でARGを行った。その結果、PETイメージングの結果と同様に、PD-Tgラット脳切片上で、 ^{11}C]ITDMの結合量は、野生型に比べ、有意に低く、一方で、 ^{11}C]ABP688の結合量に差は見られなかった(図5)。この結果から、PETイメージングによって得られた ^{11}C]ITDMの特異結合の変化は、mGluR1の受容体密度変化を反映していることが示された。

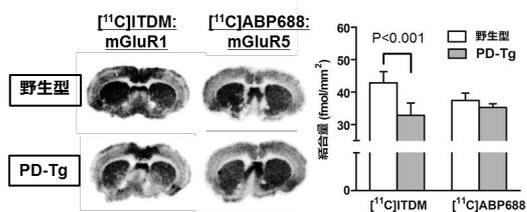


図5 野生型及びPD-Tgラット脳切片を用いたARG

(4) 受容体密度変化とPD病態との相関

PET画像から得られた脳の線条体における特異結合量とOFTによる運動機能の指標との相関を確認したところ、線条体におけるmGluR1に対する ^{11}C]ITDMの特異結合量は運動機能の指標と正の相関を示した。一方で、線条体におけるmGluR5に対する ^{11}C]ABP688の特異結合の相関は見られなかった(図6)。

(5) 線条体以外におけるmGluR1発現量

脳におけるmGluR1の発現は、線条体だけでなく、海馬、大脳帯状回、視床、小脳で確

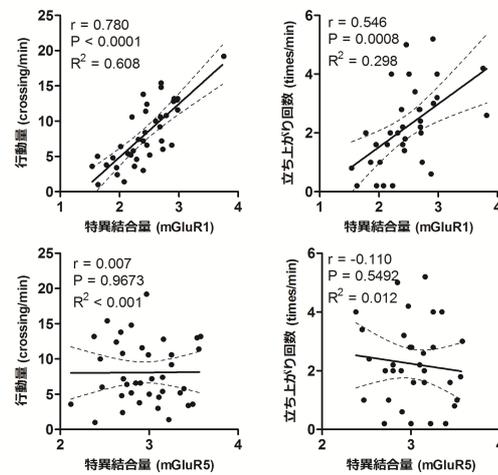


図6 PETプローブの結合量と運動機能との相関

認されている²⁾。そこで、線条体以外における脳領域のmGluR1発現量の経時変化を確認したところ、4月齢では、脳全域でmGluR1の発現量が亢進し、海馬及び視床において8月齢でやや減少傾向を示し、その後は野生型と同程度となることが分かった(図7)。この結果から、脳のmGluR1発現量の8月齢以降の経時的な減少は、線条体でのみで起こることが示された。

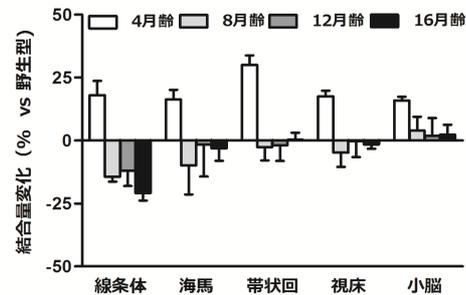


図7 脳領域における ^{11}C]ITDM特異結合量の変化

(6) まとめ

本研究を通じて、パーキンソン病の病態進行に伴い、線条体におけるmGluR1の発現量が変化することをPETイメージングにより生きたままの状態で見出した。この結果は、mGluR1がパーキンソン病における画像診断の新しいバイオマーカーとして有効であることを示唆している。しかしながら、異常たんぱくの蓄積のような脳内環境の変化に伴ったmGluR1とmGluR5の異なる挙動のメカニズムについては、今後、更なる研究が必要と思われる。

<引用文献>

Fujinaga M, Yamasaki T, Maeda J, Yui J, Xie L, Nagai Y, Nengaki N, Hatori A, Kumata K, Kawamura K, Zhang MR. Development of *N*-[4-[6-(isopropylamino)pyrimidin-4-yl]-1,3-thiazol-2-yl]-*N*-methyl-4- ^{11}C methylbenzamide for positron emission tomography imaging of metabotropic glutamate 1 receptor in monkey brain.

Journal of Medicinal Chemistry, 55, 2012, 11042-11051.

Fotuhi M, Sharp AH, Glatt CE, Hwang PM, von Krosigk M, Snyder SH, Dawson TM. Differential localization of phosphoinositide-linked metabotropic glutamate receptor (mGluR1) and the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in rat brain. The Journal of Neuroscience, 13, 1993, 2001-2012.

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 1 件)

Yamasaki T, Fujinaga M, Kawamura K, Furutsuka K, Nengaki N, Shimoda Y, Shiomi S, Takei M, Hashimoto H, Yui J, Wakizaka H, Hatori A, Xie L, Kumata K, Zhang MR. Dynamic changes in striatal mGluR1 but not mGluR5 during pathological progression of Parkinson's disease in human alpha-synuclein A53T transgenic rats: A multi-PET imaging study. The Journal of Neuroscience, 査読有, 36, 2016, 375-384. DOI : 10.1523/JNEUROSCI.2289-15.2016.

〔学会発表〕(計 2 件)

山崎 友照、藤永 雅之、由井 譲二、脇坂 秀克、河村 和紀、念垣 信樹、塩見 聡、張 明榮. パーキンソン病モデルラットにおけるグループI代謝型グルタミン酸受容体を標的とした PET イメージング. 第 55 回日本核医学会学術総会、2015.11.5. ハイアットリージェンシー東京(東京・新宿)

Yamasaki T, Fujinaga M, Kawamura K, Shimoda Y, Furutsuka K, Nengaki N, Yui J, Wakizaka H, Hatori A, Xie L, Kumata K, Zhang MR. PET studies: In vivo monitoring of metabotropic glutamate receptors in Parkinson's disease rat. European Association of Nuclear Medicine Congress 2014, 2014.10.20. Svenska Massan - The Swedish Exhibition & Congress Centre Gothenburg (Sweden).

〔その他〕

ホームページ等

http://www.nirs.qst.go.jp/information/p ress/2016/01_29.shtml

6. 研究組織

(1)研究代表者

山崎 友照 (YAMASAKI, Tomoteru)

国立研究開発法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員

研究者番号 : 80627563