

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06783

研究課題名(和文) パーキンソン病発症における慢性ストレスおよび活性化ミクログリア作用の解析

研究課題名(英文) Investigation of microglia and chronic stress in the onset of Parkinson disease

研究代表者

洲鎌 秀永 (Sugama, Shuei)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：70302461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請者はパーキンソン病発症における慢性ストレスの影響を調べる事を目的として、ラット(Wistar rat)を用いて慢性ストレスの影響を検討した。今回、慢性ストレス(1日8時間、5日/週)を継続的に負荷すると、数週間で黒質、青斑核、腹側被蓋野の神経細胞数の脱落が生じるという事を明らかにした。又、同部位において、活性化したミクログリアが検出された。更に、活性酸素関連のニトロチロシンも同様に上昇を示した。以上より、慢性ストレス下では活性化したミクログリアから活性酸素が過剰産生されて神経細胞に障害を与えている事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the effect of chronic stress and microglia in the onset of Parkinson disease. To the best of our knowledge, we report the first evidence that chronic restraint stress in the rat substantially reduces the nigral dopaminergic and locus coeruleus noradrenergic neuronal cells. This reduction was accompanied by robust microglial activation and oxidative stress, marked by nitrotyrosine in the midbrain. These results indicate that chronic stress may trigger the dopaminergic and noradrenergic neurodegeneration by virtue of increased oxidative stress, and that activated microglia, detected in the midbrain, may play an important role in modulating the neurotoxic effects of oxidative stress. Thus, our findings suggest that exposure to chronic stress itself may trigger the dopaminergic and noradrenergic neurodegeneration, a cause of Parkinson disease.

研究分野：神経科学

キーワード：慢性ストレス パーキンソン病 ミクログリア ドーパミン ノルアドレナリン 黒質 青斑核 腹側被蓋野

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病は 1817 年に James Parkinson により初めて報告した疾患であり、黒質などの中脳ドーパミン神経変性が原因となり生じる。その原因として、シヌクリン、パーキン、PTEN、DJ1 などの遺伝子の変異や、農薬、重金属、ウイルス感染、外傷などがその原因とされている。しかしながら、それらに起因するのはパーキンソン病発症の 10 パーセント以下に過ぎず、その残りは原因不明とされている。その中で、神経毒素 (6-OHDA, LPS) を負荷し、慢性ストレスを追負荷することによって、ドーパミン神経変性が増進したという報告がなされた (Smith et al., 2008, de Pablos et al., 2014)。しかしながら、これらは神経毒素によって引き起こされた神経変性であり、ストレスが一時的な原因になるのか否かの点については、不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、慢性ストレスを持続的に負荷することによって、中脳のドーパミン神経に変性脱落が生じるのか否かを解明する事にある。

3. 研究の方法

Wistar ラット (8 週齢、280-320g) を用いた。ストレスは金網による拘束する Restraint Stress Model を行った。金網を用いて全身を巻く際には、呼吸状態を確認し、呼吸制限をしないように注意し、負荷をした。1 日 8 時間 (8 時 - 16 時) 週 5 日 (週末 2 日は除く) を最長 16 週間行った。ストレス負荷後、4% パラフォルムアルデヒド (PFA) で灌流固定を行う。凍結切片を作成し、免疫組織化学、In-Situ Hybridization を行った。抗体としては、OX-42 (汎ミクログリアマーカー)、TH (ドーパミンマーカー)、DBH (ノルアドレナリンマーカー)、ニトロチロシンなどを用いた。

4. 研究成果

慢性ストレス (1 日 8 時間、5 日/週) を継続的に負荷すると、数週間で黒質、青斑核、腹側被蓋野の神経細胞数の脱落が生じるという事を明らかにした。又、同部位において、活性化したミクログリアが検出された。更に、活性酸素関連のニトロチロシンも同様に上昇を示した。

以上より、慢性ストレス下では活性化したミクログリアから活性酸素が過剰産生されて神経細胞に障害を与えている事が示唆された。

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 12 件)

1. Sugama S, Sekiyama K, Kodama T, Takamatsu Y, Takenouchi T, Hashimoto M, Bruno C, Kakinuma Y. Chronic restraint stress triggers dopaminergic and noradrenergic neurodegeneration: Possible role of chronic stress in the onset of Parkinson's disease. Brain Behav Immun. 2016. 51:39-46.
2. Sekiyama K, Takamatsu Y, Koike W, Waragai M, Takenouchi T, Sugama S, Hashimoto M. Insight into the Dissociation of Behavior from Histology in Synucleinopathies and in Related Neurodegenerative Diseases. J Alzheimers Dis. 2016. 52(3):831-41.
3. Takamatsu Y, Koike W, Takenouchi T, Sugama S, Wei J, Waragai M, Sekiyama K, Hashimoto M. Protection against neurodegenerative disease on Earth and in space. NPJ Microgravity. 2016. 2:16013.
4. Sugama S, Kakinuma Y. Loss of dopaminergic neurons occurs in the ventral tegmental area and hypothalamus of rats following chronic stress: Possible pathogenetic loci for depression involved in Parkinson's disease. Neurosci Res. 2016. 111:48-55.
5. Oikawa S, Kai Y, Tsuda M, Ohata H, Mano A, Mizoguchi N, Sugama S, Nemoto T, Suzuki K, Kurabayashi A, Muramoto K, Kaneda M, Kakinuma Y. Non-neuronal cardiac cholinergic system influences CNS via the vagus

- nerve to acquire a stress-refractory propensity.  
Clin Sci (Lond). 2016.  
130(21):1913-28.
6. Sugama S, Kakinuma Y.  
Letter to the Editor Re:  
"Reconsidering the role of glial cells  
in chronic stress-induced  
dopaminergic neurons loss within the  
substantia nigra? Friend of foe?" by  
Ong et al. Brain Behavior and  
Immunity, 2016.  
Brain Behav Immun. 2017. 60:383.
  7. Mori S, Sugama S, Nguyen W,  
Michel T, Sanna MG,  
Sanchez-Alavez M, Cintron-Colon R,  
Moroncini G, Kakinuma Y, Maher P,  
Conti B.  
Lack of interleukin-13 receptor  $\alpha 1$   
delays the loss of dopaminergic  
neurons during chronic stress.  
J Neuroinflammation. 2017.  
14(1):88.
  8. Takamatsu Y, Ho G, Koike W,  
Sugama S, Takenouchi T, Waragai  
M, Wei J, Sekiyama K, Hashimoto  
M.  
Combined immunotherapy with  
"anti-insulin resistance" therapy as a  
novel therapeutic strategy against  
neurodegenerative diseases.  
NPJ Parkinsons Dis. 2017. 3:4.
  9. Waragai M, Ho G, Takamatsu Y,  
Sekiyama K, Sugama S, Takenouchi  
T, Masliah E, Hashimoto M.  
Importance of adiponectin activity in  
the pathogenesis of Alzheimer's  
disease.  
Ann Clin Transl Neurol. 2017.  
4(8):591-600. Review.
  10. Hashimoto M, Ho G, Shimizu Y,  
Sugama S, Takenouchi T, Waragai  
M, Wei J, Takamatsu Y.  
Potential Application of Centrifuges  
to Protect the CNS in Space and on  
Earth.  
Curr Alzheimer Res. 2018.  
15(6):544-551.
  11. Hashimoto M, Ho G, Sugama S,  
Takamatsu Y, Shimizu Y,  
Takenouchi T, Waragai M, Masliah  
E.  
Evolvability of Amyloidogenic  
Proteins in Human Brain.  
J Alzheimers Dis. 2018. 62(1):73-83.
  12. Waragai M, Ho G, Takamatsu Y,  
Shimizu Y, Sugino H, Sugama S,  
Takenouchi T, Masliah E, Hashimoto  
M.  
Dual-therapy strategy for  
modification of adiponectin receptor  
signaling in aging-associated chronic  
diseases.  
Drug Discov Today. 2018. pii:  
S1359-6446(18)30081-3. Review.
- {学会発表}(計3件)
1. Sugama S, Kakinuma Y.  
Chronic restraint stress triggers the  
dopaminergic and noradrenergic  
neurodegeneration-possible role of  
chronic stress in the onset of  
Parkinson's disease.  
第93回日本生理学会; 2016; 札幌
  2. Sugama S, Kakinuma Y.  
Loss of dopaminergic neurons occur  
in the ventral tegmental area and  
hypothalamus following chronic  
stress: possible pathogenetic loci for  
depression involved in Parkinson's  
disease.

第94回日本生理学会;2017;浜松

3. Sugama S, Kakinuma Y.

Stress-induced microglial activation nullified in b1 and b2 adrenergic receptor double knockout mice.

第95回日本生理学会;2018;高松

〔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  
無し

6. 研究組織

(1)研究代表者

洲鎌 秀永 (SUGAMA, Shuei)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：70302461

(2)研究分担者

無し

(3)連携研究者

柿沼 由彦 (KAKINUMA, Yoshihiko)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40233944

竹之内敬人 (TAKENOUCHI, Takato)

国立筑波農業資源研究所・主任研究員

研究者番号：20292518

橋本 款 (HASHIMOTO, Makoto)

東京都神経科学総合研究所・副参事研究員

研究者番号：50189502

(4)研究協力者

Bruno Conti

米国スクリップス医学研究所・教授