

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07096

研究課題名(和文)パーキンソン病におけるL-DOPA誘発性ジスキネジアの機能病理に関する実験的研究

研究課題名(英文) Experimental study on functional pathology of L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease.

研究代表者

後藤 恵 (GOTO, Satoshi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・特任教授

研究者番号：50240916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：6-hydroxydopamine (6-OHDA)を用いた片側パーキンソン病モデルマウスにおいて、レボドパ誘発性ジスキネジア(LID)はグルタミン酸シグナルの異常賦活に伴う線条体中型有棘細胞でのG<sub>o</sub>lf発現異常に起因することを示した。さらに、グルタミン酸NMDA受容体拮抗薬であるメマンチンの線条体内持続投与によってパーキンソン症状と同時にLIDが改善されることが示された。このことは、線条体グルタミン酸シグナルの過興奮によってパーキンソン症状とLIDの両者が惹起されることの直接的事象であり、線条体メマンチンインフュージョンがパーキンソン病の新規治療法になり得ることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病治療の第一選択肢はレボドパの経口投与であるが、レボドパ長期投与は難治性の薬物誘発性ジスキネジアを惹起する。本研究において、LIDはグルタミン酸シグナル過剰刺激に伴う線条体中型有棘細胞でのG<sub>o</sub>lf蛋白の発現異常に起因する示された。また、グルタミン酸NMDA受容体拮抗薬であるメマンチンの線条体内持続投与によってパーキンソン症状と同時にLIDが改善されることが判明した。本研究で得られた知見は、LIDの発現メカニズムの解明に重要であり、LIDを有するパーキンソン病患者に対する新規治療法の開発に寄与する。

研究成果の概要(英文)：In a line of our experiments using a mouse model of hemiparkinsonism with 6-hydroxydopamine-induced nigral lesion, we have shown that repeated and pulsatile administration of levodopa might cause a usage-induced degradation of G<sub>o</sub>lf proteins in striatal medium spiny neurons (MSNs) causes increased and decreased levels of G<sub>o</sub>lf protein in the striatonigral and striatopallidal MSNs, respectively, leading to the occurrence of levodopa-induced dyskinesias. As a principal cause for generating LID, this might induce an increased responsiveness to levodopa exposure in both striatonigral and striatopallidal MSNs. We also found that continuous intrastriatal infusion of NMDA receptor antagonist memantine, which can reduce use-dependent degradation of G<sub>o</sub>lf proteins, attenuates LIDs and parkinsonian signs. Our results suggest that an intrastriatal memantine infusion can be beneficial for the management of Parkinson's disease with LIDs.

研究分野：臨床神経科学

キーワード：パーキンソン病 ジスキネジア 線条体 ドパミンシグナル グルタミン酸受容体 脳内インフュージョン

## 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病は有病率が高い神経変性疾患であり、日本では推計 10 万人以上の患者を有する難病指定疾患である。パーキンソン病治療の第一選択薬は levodopa の経口投与であるが、その長期使用により難治性の薬物誘発性ジスキネジア (levodopa-induced dyskinesia; LID) が出現する。LID は以前からパーキンソン病治療における最重要研究テーマと位置づけられており、LID を有するパーキンソン病の治療体系は未だ確立されていない。これは、LID に普遍的に存在する大脳基底核機能病理が明らかにされていないことに起因しており、LID の発現メカニズムの解明は新規パーキンソン病治療法の開発においても重要である。

## 2. 研究の目的

私たちは、パーキンソン病モデルマウスを用いた先行研究で levodopa の薬物動態と連動して特異的な線条体発現パターンを呈する GTP 結合タンパク質を同定している。その機能分子は GNAL 遺伝子がコードする olfactory type G-protein  $\alpha$  subunit ( $G\alpha_{olf}$ ) であり、 $G\alpha_{olf}$  は線条体神経細胞内 cAMP 合成の促進因子である。また、線条体神経細胞での  $G\alpha_{olf}$  発現はグルタミン酸シグナルに連動したドパミンシグナルまたアデノシンシグナルの多寡によって規定されている。本研究では、片側パーキンソン病マウスモデルを用いて、LID が levodopa の長期・反復投与による線条体の  $G\alpha_{olf}$  の発現異常に起因することを検証し、新しい治療法開発の可能性を探ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

パーキンソン病マウスモデルにおいて、線条体中型有棘細胞 (medium spiny neurons; MSNs) の cAMP シグナルの規定因子である  $G\alpha_{olf}$  が LID 発現の責任分子として同定されるかを以下の方法で組織化学的および行動解析学的手法を用いて検証した。さらに、グルタミン酸 NMDA 受容体阻害薬であるメマンチン (memantine) の線条体内持続注インフュージョンが LID 治療効果を有するかを以下の方法で検証した。

- 1) LID マウスモデルの作成: C57BL/6 マウス (8-9 週齢) の片側 medial forebrain bundle (MFB) に定量的に 6-hydroxydopamine を注入し、約 3 週間後にアポモルフィン試験を行い 11 分間に 7 回以上の回転運動を呈したものを抽出した。その後、levodopa (15 mg/kg) および Benserazide (12.5 mg/kg) の共投与を連日 21 日間行った。levodopa の最終投与後にビデオ行動試験を 140 分間行い Abnormal Involuntary Movements (AIMs) (total score > 20) を呈するものを LID モデルとして使用した。また、Benserazide の単独投与を連日 21 日間行ったものを PD モデルとして使用した。
- 2) PD モデルおよび LID モデルでの線条体シグナル異常の検索: 線条体組織切片上で、 $G\alpha_{olf}$  などのドパミンシグナル関連分子の細胞型特異性発現異常の定量的解析を免疫組織化学および in situ hybridization にて行った。また、同部位のグルタミン酸シグナル、オピオイドシグナル、アセチルコリンシグナルについても同様の検索を行った。
- 3) PD モデルおよび LID モデルでの  $G\alpha_{olf}$  のドパミン D1 受容体 (D1R) またアデノシン A2A 受容体 (A2AR) との相互結合能の差異についての検索: 線条体切片上で、高感度 in situ Proximity Ligation assay (PLA), Dual antigen detection system を用いて  $G\alpha_{olf}$  と D1R の結合能および  $G\alpha_{olf}$  と A2AR との結合能を定量的に検索した。
- 4) LID に対する線条体内メマンチン持続投与の治療効果の検討: PD モデルに対して、最終 levodopa 投与 3 日後に iPREC10 プログラマブルインフュージョンデバイス (Model SMP-300) を定量的に設置した。その 3 日後から、線条体内にメマンチンを 1.0  $\mu$ l/h の flow rate で連続性投与 (0.28 ng/ $\mu$ l; 3 日間、1.12 ng/ $\mu$ l; 3 日間、4.48 ng/ $\mu$ l; 3 日間、17.93 ng/ $\mu$ l; 3 日間) を計 12 日間行った。メマンチン投与開始と同時に、levodopa (15 mg/kg) と benserazide (12.5 mg/kg) の共投与を連日 12 日間行った。levodopa 投与の最終日に薬理行動学的解析を行った後にパラホルムアルデヒドで全身灌流固定を行い組織学的解析に付与した。

## 4. 研究成果

- 1) 線条体の  $G\alpha_{olf}$  蛋白レベルは、D1R を有する直接路 MSNs と A2AR を有する間接路 MSNs での  $G\alpha_{olf}$  発現の総和によって規定される。そして、 $G\alpha_{olf}$  はドパミン D1 シグナルまたアデノシンシグナルに対して use-dependent-degradation という特異な反応を呈する。PD モデルではドパミン枯渇による利用率低下によって  $G\alpha_{olf}$  レベルの著明な増加 (正常対照比約 100% の増加) が見られた。LID モデルでは、PD モデルと比較して levodopa 連日投与による線条体  $G\alpha_{olf}$  発現レベルの低下が見られた。PLA を用いた細胞型特異的解析から、PD モデルでは直接路 MSNs では  $G\alpha_{olf}$  レベルは著明な増加 (正常対照比約 100% の増加) がみら

れたが、間接路 MSNs では  $G_{\alpha olf}$  レベルは正常対照とほぼ同等であった。LID モデルでは直接路 MSNs では  $G_{\alpha olf}$  レベルは高止まり（正常対照比約 50%の増加）がみられたが、間接路 MSNs では  $G_{\alpha olf}$  レベルは著明な低下（正常対照比約 50%の減少）を呈していた。これらの所見は、LID では  $G_{\alpha olf}$  に連動する cAMP 合成能は直接路 MSNs で高まっており、間接路 MSNs で減少していることを示している。換言すると、LID では直接路 MSNs のドパミン D1 シグナルに対する反応性が増幅され、同時に間接路 MSNs に対するドパミン D2 シグナルの効果が増強されていることを意味する。大脳基底核機能回路モデルの観点から、LID は長期 levodopa 投与で惹起される  $G_{\alpha olf}$ /cAMPs シグナル減衰にともなう直接路 MSNs の出力低下および間接路 MSNs の出力低下に起因するものであり、これが LID の根源的な発症メカニズムと考える (Front Cell Neurosci, 2017;11:26, Front Cell Neurosci, 2017;11:364)。

- 2) LID モデルにグルタミン酸 NMDA 受容体拮抗薬メマンチンを線条体内に持続注入したところ、パーキンソン症状の改善と同時に LID の抑制効果が容量依存性に認められた。このことは、線条体内メマンチンインフュージョンが LID を有するパーキンソン病患者に対する新しい治療法になり得ることを示している。また、本研究で使用した脳インフュージョンシステムがパーキンソン病のみならず他の大脳基底核疾患の新規治療法になる可能性をも示唆している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 T. Kawai, R. Miyamoto, E. Nakagawa, R. Koichihara, T. Sakamoto, H. Mure, R. Morigaki, H. Koizumi, R. Oki, C. Montecchiani, C. Caltagirone, A. Orlacchio, A. Hattori, H. Mashimo, Y. Izumi, T. Mezaki, S. Kumada, M. Taniguchi, F. Yokochi, S. Saitoh, S. Goto & R. Kaji.	4. 巻 52
2. 論文標題 Phenotype variability and allelic heterogeneity in KMT2B-Associated disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 55-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.parkreldis.2018.03.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 M. Kinoshita, M. Nakataki, R. Morigaki, S. Sumitani, S. Goto, R. Kaji & T. Ohmori	4. 巻 16
2. 論文標題 Case report: Turning on the left side electrode changed depressive state to manic state in a Parkinson's disease patient who received bilateral subthalamic nucleus deep brain stimulation (STN-DBS).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Psychopharmacology and Neuroscience	6. 最初と最後の頁 494-496
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.9758/cpn.2018.16.4.494	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 T. Shimizu, T. Maruo, S. Miura, H. Kishima, Y. Ushio & S. Goto	4. 巻 9
2. 論文標題 Stereotactic lesioning of the thalamic Vo nucleus for the treatment of writer's cramp (Focal Hand Dystonia).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3389/fneur.2018.01008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Y. Zhou, Y. Yamamura, M. Ogawa, R. Tsuji, K. Tsuchiya, J. Kasahara & S. Goto	4. 巻 9
2. 論文標題 c-Abl Inhibition exerts symptomatic antiparkinsonian effects through a striatal postsynaptic mechanism.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3389/fphar.2018.01311	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 T. Hamasaki & S. Goto	4. 巻 9
2. 論文標題 Parallel emergence of a compartmentalized striatum with the phylogenetic development of the cerebral cortex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Sciences	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci9040090.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Satoshi Goto	4. 巻 11
2. 論文標題 Striatal Galphao1f/cAMP signal-dependent mechanism to generate levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front Cell Neurosci	6. 最初と最後の頁 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2017.00364	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Toshitaka Kawarai, Ryoma Morigaki, Ryuji Kaji, Satoshi Goto	4. 巻 7
2. 論文標題 Clinicopathological phenotype and genetics of X-linked dystonia parkinsonism	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain Sci	6. 最初と最後の頁 72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/brainsci7070072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryoma Morigaki, Satoshi Goto	4. 巻 7
2. 論文標題 Striatal vulnerability in Huntington's disease: neurotoxicity versus neuroprotection	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain Sci	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.3390/brainsci7060063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryoma Morigaki, Shinya Okita, Satoshi Goto	4. 巻 11
2. 論文標題 Dopamine-induced changes in Galpho1f protein levels in striatonigral and striatopallidal medium spiny neurons underlie the genesis of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front Cell Neurosci	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3389/fncel.2017.00026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawarai T, Miyamoto R, Nakagawa E, Koichihara R, Sakamoto T, Mure H, Morigaki R, Koizumi H, Oki R, Montecchiani C, Caltagirone C, Orlacchio A, Hattori A, Mashimo H, Izumi Y, Mezaki T, Kumada S, Taniguchi M, Yokochi F, Saitoh S, Goto S, Kaji R	4. 巻 52
2. 論文標題 Phenotype variability and allelic heterogeneity in KMT2B-Associated disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Parkinsonism Relat Disord	6. 最初と最後の頁 55-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogawa M, Zhou Y, Tsuji R, Goto S and Kasahara J	4. 巻 154
2. 論文標題 Video-based assessments of the hind limb stepping in a mouse model of hemi-parkinsonism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 56-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2019.05.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa M, Zhou Y, Tsuji R, Kasahara J & Goto S	4. 巻 10
2. 論文標題 Intrastriatal memantine infusion dampens levodopa-induced dyskinesia and motor deficits in a mouse model of hemiparkinsonism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2019.01258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 圓尾知之、清水豪士、三浦慎平、生塩之敬、後藤恵
2. 発表標題 パーキンソン病に対するcircular DBSと比較したdirectional DBSの有効性と問題点
3. 学会等名 第58回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牟礼英夫、森垣龍馬、宮本亮介、梶龍児、後藤恵、高木康志
2. 発表標題 小児期ジストニアに対する脳深部刺激療法の適応と治療成績について
3. 学会等名 第58回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水豪士、後藤恵、生塩之敬、三浦慎平、貴島晴彦、圓尾知之
2. 発表標題 神経障害性疼痛を有する頸部ジストニアに対する脊髄刺激療法の効果
3. 学会等名 第58回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshitaka Kawarai, Ryosuke Miyamoto, Hideo Mure, Ryoma Morigaki, Ryosuke Oki, Antonio Orlacchio, Reiko Koichihara, Eiji Nakagawa, Takashi Sakamoto, Yuishin Izumi, Satoshi Goto, Ryuji Kaji
2. 発表標題 Haploinsufficiency of KMT2B causes myoclonus-dystonia with impaired psychomotor ability,
3. 学会等名 The MDS 21th International Congress of Parkinsons Disease and Movement Disorders
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hideo Mure, Ryoma Morigaki, Shinya Okita, Ryosuke Miyamoto, Shinji Nagahiro, Ryuji Kaji, Satoshi Goto.
2. 発表標題 Deep Brain Stimulation for Dystonia - Pallidal stimulation and thalamic stimulation.
3. 学会等名 World Society for Stereotactic and Functional Neurosurgery
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清水豪志、圓尾知之、橋本洋章、木本優希、後藤惠、生塩之敬
2. 発表標題 振戦優位型片側性パーキンソン症状に対する片側淡蒼球凝固術を併用したVIM-DBSの有効性と長期成績
3. 学会等名 第59回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 圓尾知之、橋本洋章、木本優希、清水豪志、後藤惠、生塩之敬
2. 発表標題 Tourette syndromeに対して脳深部刺激療法 (CM-Pf DBS)が有効であった1例
3. 学会等名 第59回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 牟礼英生、藤田浩司、森垣龍馬、宮本亮介、松田拓、後藤惠、高木康志
2. 発表標題 FDG PETを用いたジストニア患者の脳代謝ネットワークパターンの描出
3. 学会等名 第59回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森垣龍馬、牟礼英生、松田拓、宮本亮介、山本陽子、豊田直人、高木康志、後藤恵
2. 発表標題 GPI-DBSを施行したDYT-GNAL(DYT25)の一例
3. 学会等名 第59回日本定位・機能神経外科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 後藤 恵	4. 発行年 2017年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 CLINICAL NEUROSCIENCE	

1. 著者名 森垣龍馬、後藤恵	4. 発行年 2017年
2. 出版社 新興医学出版	5. 総ページ数 3
3. 書名 Modern Physician	

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----