

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07282

研究課題名（和文）ニューロモデュレーションはシヌクレイン脳内伝播に影響を及ぼすのか？

研究課題名（英文）The effect of neuromodulation for alpha synuclein propagation

研究代表者

下 泰司（Yasushi, Shimo）

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：70286714

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）：パーキンソン病（PD）の進行において、シヌクレイン（ $\alpha$ -syn）の細胞間伝播による脳内の拡がり重要とされている。我々のこれまでの研究により神経細胞活動依存的に伝播することが示された。今回我々は神経細胞活動を操作することにより、 $\alpha$ -synの伝播に影響があるのか否かを検討し、疾患修飾作用のある治療方法の開発の基礎となる研究を開始した。 $\alpha$ -syn preformed fibril を線条体に注入後、視床下核や淡蒼球をイボテン酸注入により破壊し皮質や黒質への $\alpha$ -synの拡がりを観察した。対象群と比較して拡散は抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PDに対する疾患修飾作用のある治療方法はいまだに存在しない。一方、視床下核や淡蒼球を外科的に破壊してパーキンソン症状を改善させる治療方法はすでに行われている。しかしこれらの治療方法は現時点では進行期PDに対する治療方法として確立されており、発症早期の段階での適応はないとされている。しかし、もし発症早期にこれらの治療方法を導入して、 $\alpha$ -synの脳内伝播を抑制することが可能であることが証明できれば、今後早期にPDに対する疾患修飾作用を持つ治療方法が導入可能となる。今後はPDに対して、早期発見、早期治療がより重要となると思われる。

研究成果の概要（英文）：Spread of  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn) in the brain through cell-to-cell transmission is considered to play an important role in progression of Parkinson's disease (PD). Our previous research has shown that  $\alpha$ -syn transmission is dependent on neuronal activity. In this study, we investigated whether  $\alpha$ -syn transmission can be influenced by manipulating neuronal activity, and initiated research that will serve as the basis for the development of disease-modifying treatments. After unilaterally injecting  $\alpha$ -syn preformed fibril into the striatum, the subthalamic nucleus and internal part of globus pallidus (GPi) were lesioned by injecting ibotenic acid, and the spread of  $\alpha$ -syn to the cortex and substantia nigra was observed. Compared to the control group, the spread was suppressed in STN lesioned group. These results indicate that modulation of STN activity may play a substantial role in the propagation of  $\alpha$ -syn compared to GPi and shed light on the mechanisms of  $\alpha$ -syn propagation.

研究分野：神経内科学

キーワード：パーキンソン病 シヌクレイン ニューロモデュレーション治療

### 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病(PD)は病理学的には主に中脳黒質ドパミン(DA)産生ニューロンが脱落する神経変性疾患であり、変性した神経細胞にはシヌクレイン(syn)と呼ばれるたんぱく質が神経細胞内に蓄積する。近年、synは神経細胞間を伝播することで病変が進展すると仮定されており、この伝播を抑制することが病気の進展抑制に直結すると考えられている。そのため、進行性の疾患であるPDにおいて、synの神経細胞間伝播を抑制する方法を開発/発見することは喫緊の課題であった。

### 2. 研究の目的

先行研究において、我々はsynが神経細胞活動依存的にシナプスを介して神経細胞間を伝播してゆくことを示した(1)。さらに、臨床ではPDにおいて大脳基底核の一部である、視床下核(STN)および淡蒼球内節(GPi:げっ歯類ではEntopeduncular nucleus:EPにあたる)を破壊することによってPDの症状改善が認められことが知られている。そのため、本研究では、STNおよびEPを破壊して神経細胞活動を変化させることにより、synの伝播に影響を与えることが可能であるか否かを検討し、疾患修飾作用のある治療方法の開発につながる基礎データを得ることを目的とした。

### 3. 研究の方法

動物はC57BL/6マウスを用いた。syn preformed fibril (PFF)を片側線条体(STR)に定位的な外科手術と同様の手法で注入し(2mg/ml, 2.5 micro L)、その前後において、STNまたはEPをイボテン酸(0.01 mg/ml, 2 micro L)を注入することで破壊し、syn PFFの拡がりを観察した。コントロール群として、イボテン酸の代わりに、同量の生理食塩水をSTNおよびEPに注入した群を作成した。イボテン酸および生理食塩水の注入はsyn PFF注入72時間前、および24時間後に行った。パラフィン切片を作成後、抗リン酸化シヌクレイン抗体(pSyn#64)を用いて免疫組織学的染色を行い、-syn PFFの広がりを連続切片を用いてKeyence-Bz800のハイブリットセルカウントで定量的に計測を行った。

### 4. 研究成果

(1) 片側線条体に注入したsyn PFFは解剖学的に直接の連結のある皮質、黒質に広がっていることが確認された(n=3)。

(2) STRにPFFを定位的に注入する72時間前に、同側STNを定位脳手術によってイボテン酸(0.01 mg/ml, 2 micro L)で破壊し(n=3)、その後のシヌクレインの広がりを定量的に観察した結果、コントロール群と比較して、同側の皮質(CTX)および黒質(SN)へのsynの発現量は有意差を持って減少していた(図1左)。

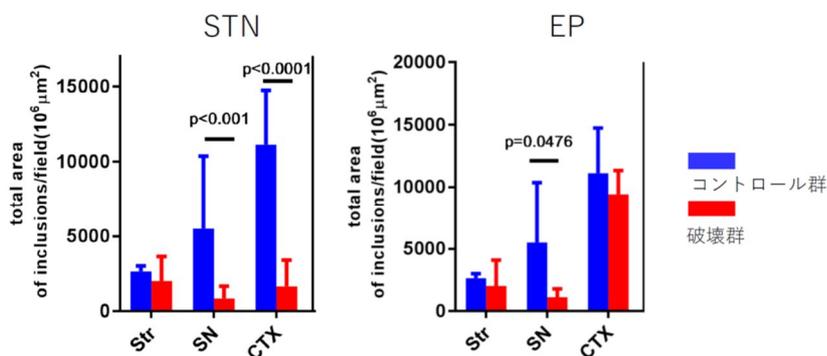


図1 syn PFF 投与 72 時間前に STN または EP を破壊した時の、syn の線条体 (Str), 黒質 (SN) および皮質 (CTX) への拡がりに対する影響

(3) syn PFF を STR に注入する 72 時間前に EP を破壊した群 (n=3) はコントロール群と比較して、CTX や SN への発現量に差を認めなかった (図 1 右)

(4) syn PFF を片側線条体に注入し、24 時間後に STN をイボテン酸を用いて破壊し、解剖学的に syn の伝播する領域を連続切片で確認した (n=3)。その結果、コントロール群と比較して STN 破壊群において、syn の CTX 及び SN への発現量の減少を認めた (図 2 左)

(5) syn PFF を片側線条体に注入し、24 時間後に EP をイボテン酸を用いて破壊し、解剖学的に syn の伝播する領域を連続切片で確認した (n=3)。EP 破壊群とコントロール群で、syn の CTX 及び SN への発現量の差は認められなかった (図 2 右)

(6) 以上より、EP ではなく、STN を破壊し神経細胞活動を消失させることによって syn の伝播が抑制できることが示唆された。また、syn を STR に注入したのちに STN を破壊しても、その伝播の減少効果は保たれていた。

(7) これまでの我々の研究から、STN の神経細胞の活動を变化させると、STR にドパミンの放出が生じることが判明している (2)。

(8) syn PFF の伝播が STN 破壊術では線条体内のドパミン濃度が関与している可能性があることが示唆されたため、ドパミン神経細胞特異的破壊薬物である 6-OHDA を腹腔内投与しドパミン枯渇状態としたのちに STN 破壊し、その 72 時間後に syn PFF を STR に注入した。コントロール群として 6-OHDA の代わりに生理食塩水を腹腔内投与したのちに同様の処置を行った。

(9) その結果、ドパミン破壊群ではコントロール群と比較して syn PFF の拡がりは抑制されていた (図 3)

(10) 以上の結果から、STR に投与した syn PFF の伝播は、中脳黒質から線条体に入力するドパミン性神経細胞の入力が重要であることが示唆され、STN の活動を抑制することによって syn の脳内の拡がりは抑制可能であることが示唆された。現在臨床の場では、進行期 PD に対して頭蓋内に電極を挿入し、STN や GPi に対して高頻度で電流を流すニューロモデュレーション治療が行われており、その効果発現機序は、電極刺入部位の破壊効果と類似すると考えられている。

(11) よって、今回の研究で STN の神経細胞活動を变化させることによって syn の伝播を抑制する効果があることを示し、EP ではその効果がなかったことを明らかにしたことは、今後の PD に対するニューロモデュレーション治療 (破壊術または脳深部刺激術) の、刺激部位の選択、導入時期、適応を決める上で重要な知見となる。

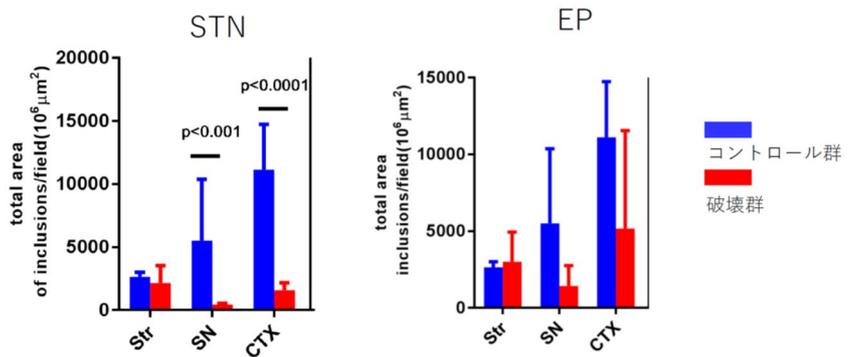


図 2 syn PFF 投与 24 時間後に STN または EP を破壊した時の、syn の線条体 (Str)、黒質 (SN) および皮質 (CTX) への拡がりに対する影響

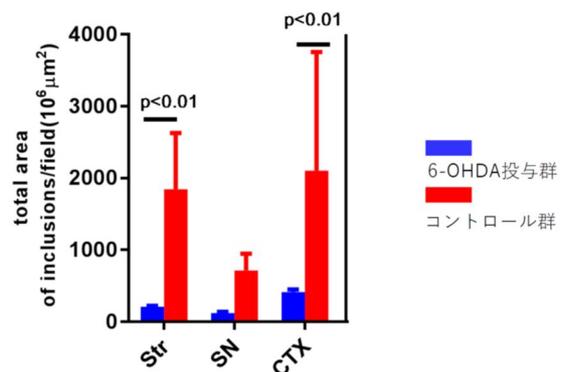


図 3 6-OHDA 投与後に STN を破壊し、その 72 時間後に syn PFF を投与した時の線条体 (Str)、黒質 (SN) および皮質 (CTX) への拡がりに対する影響

さらにニューロモデュレーション治療が、PD に対する疾患修飾作用のある治療法の可能性であることが示唆された。今後は同様の手法で脳深部刺激術を行い、より臨床に直結するためのデータを蓄積する予定である。

<引用文献>

- (1) Imamura Y, Okuzumi A, Yoshinaga S, Hiyama A, Furukawa Y, Miyasaka T, Hattori N, Nukina N. Quantum-dot-labeled synuclein seed assay identifies drugs modulating the experimental prion-like transmission. *Commun Biol.* 2022 Jun 29;5(1):636. doi: 10.1038/s42003-022-03590-8. PMID: 35768587; PMCID: PMC9243017.
- (2) Nakajima A, Shimo Y, Uka T, Hattori N. Subthalamic nucleus and globus pallidus interna influence firing of tonically active neurons in the primate striatum through different mechanisms. *Eur J Neurosci.* 2017 Dec;46(11):2662-2673. doi: 10.1111/ejn.13726. Epub 2017 Oct 20. PMID: 28949036; PMCID: PMC5765455.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kamo Hikaru, Iwamuro Hirokazu, Nakamura Ryota, Nojiri Shuko, Okuzumi Ayami, Ogawa Takashi, Nakajima Asuka, Hattori Nobutaka, Shimo Yasushi	4. 巻 102
2. 論文標題 Antagonism of metabotropic glutamate receptor type 5 prevents levodopa induced dyskinesia development in a male rat model of Parkinson's disease: Electrophysiological evidence	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 e25302
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jnr.25302	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kamo Hikaru, Kazuhiro Iwamuro, Ryota Nakamura, Ayami Okuzumi, Takashi Ogawa, Asuka Nakajima, Nobutaka Hattori, Yasushi Shimo
2. 発表標題 Antagonism of Metabotropic Glutamate Receptor Type 5 Prevents Levodopa induced Dyskinesia Development in a rat model of Parkinson's disease
3. 学会等名 第64回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	中島 明日香 (Nakajima Asuka) (40812459)	順天堂大学・医学部・准教授  (32620)	
研究分担者	岩室 宏一 (iwamuro Hirokazu) (80384775)	順天堂大学・医学部・准教授  (32620)	
研究分担者	奥住 文美 (Okuzumi Ayami) (90826075)	順天堂大学・医学部・准教授  (32620)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------