

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15215

研究課題名（和文）抗精神病薬とパーキンソン病治療薬におけるジスキネジア発症機序の共通性について

研究課題名（英文）Common Mechanism of Dyskinesia Onset between Antipsychotic Drugs and Parkinson's Disease Treatments

研究代表者

阿部 欣史（Abe, Yoshifumi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：80802826

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：L-DOPA誘導性ジスキネジア（LID）と遅発性ジスキネジア（TD）には、GABAを介した共通の分子メカニズムがあると仮説し、検証を行った。LIDとTDモデルマウスでは、淡蒼球の体積増加、GABA量が増加、GABA小胞トランスポーター（VGAT）陽性ターミナルの肥大化が共通して起こることが分かった。VGATの過剰発現により、GABA量の増加とターミナルの肥大化、ジスキネジアの悪化が誘導されることが分かった。さらに、線条体のドパミン受容体（D2R）信号の変化がとドパミン濃度の増減がVGAT過剰発現とジスキネジア発症に関与することを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ジスキネジアが発症するメカニズムの一端を発見することができた。また本研究の知見から新たな治療戦略を考案することができる。例えば、VGATを標的した創薬も考案できる。また、LIDやTDの診断バイオマーカーとしてGABAが使用できる可能性があり、MRSによるGABA量の計測を提案することができる。新たな治療法や診断法の確立はパーキンソン病患者や統合失調患者への大きな貢献が期待できる。

研究成果の概要（英文）：A hypothesis was tested that L-DOPA-induced dyskinesia (LID) and tardive dyskinesia (TD) share a common molecular mechanism mediated by GABA. In LID and TD model mice, it was found that an increase in globus pallidus volume, increased GABA levels, and hypertrophy of VGAT-positive terminals commonly occurred. Overexpression of VGAT led to increased GABA levels, terminal hypertrophy, and worsening dyskinesia. Furthermore, changes in dopamine receptor (D2R) signaling and fluctuations in dopamine levels in the striatum were found to contribute to VGAT overexpression and the onset of dyskinesia.

研究分野：神経化学

キーワード：L-DOPA誘導性ジスキネジア 遅発性ジスキネジア 淡蒼球 VGAT GABA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病の治療薬として L-DOPA が用いられる。L-DOPA の長期的(数か月)な服用により、副反応として L-DOPA 誘導性ジスキネジア(L-DOPA-induced dyskinesia: LID)が生じる。LID と同様に、抗精神病薬の長期間服用(数か月)でもジスキネジアが起こる。このジスキネジアは遅発性ジスキネジア(tardive dyskinesia: TD)と呼ばれている。現状では、LID や TD の発症機序は明確になっておらず、治療薬の服用を止める事では、LID や TD を抑える事が出来ない。また、患者の Quality of life (QOL)を低下させる事も問題となっている。この LID や TD の発症機序を理解する事で、ジスキネジアの抑制方法を提案する事が期待できる。

運動機能を司っている大脳基底核(線条体、淡蒼球、黒質)についての研究が進んでおり、ドパミン神経細胞の脱落によって運動機能障害を引き起こすパーキンソン病の病理についても理解が進んでいる。LID に関しては生理学的な知見が増えている一方で、組織学的な知見は多くない。これに対して、TD の発症メカニズムについては全く理解が進んでいない。そもそも大脳基底核を標的とすべきかさえ分かっていない。

申請者の今までの研究から、LID の発症メカニズムに関する新たな組織学的な知見を得た(下記の項で詳述する)。LID では線条体神経細胞(GABA 作動性神経)の終末が肥大化し、その受け手である淡蒼球神経細胞の細胞体と樹状突起が肥大化している事が分かった。また、線条体神経細胞では GABA 合成酵素 (GAD65, GAD67)と小胞 GABA トランスポーター (VGAT)の発現が増加している事が分かった。さらに、TD においても同様な結果が得られており、LID と TD の発症機序には共通性があるのではないかと、またそのメカニズムは GABA 関連分子(ここでは GAD65、GAD67、VGAT とする)によって説明ができるのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

上述した仮説を検証する事が本研究の目的となる。そこで、GABA 関連分子の過剰発現系と抑制系の実験系を用いて検証を行い、ジスキネジアの発症と GABA 関連分子の因果関係を示す(図 1)。検証する項目は、GABA 関連遺伝子に介入を行う事で、構造変化が連動するのか、さらにジスキネジアの発症が連動するのか、の 2 点を検証する。

3. 研究の方法

(1)動物モデルの作成

LID はヘミパーキンソンモデルマウスに L-DOAP を 2 週間連続投与することで作成する。ヘミパーキンソンモデルマウスは片側半球のドパミン神経細胞を 6-OHDA という薬剤で死滅させる事で作成する。LID の症状は体をよじる行動や体を回転させる行動の回数で症状の程度を評価する。TD は D2 受容体の阻害剤であるハロペリドールを 6 週間連続投与する事で作成する。ハロマンソのという薬剤を筋肉に注射する事で、6 週間持続的にマウスの体内へハロペリドールが供給される。TD の症状は口の開閉の回数で症状の程度を評価する。

(2)組織学解析

免疫染色によって VGAT を染色、線条体神経細胞のターミナルを可視化する。そして、超解像顕微鏡を用いてそのターミナルの画像を撮像し、ターミナルの大きさや密度を解析する。

(3)質量分析画像法(MS イメージング)

GABA の濃度を定量する手法である。

(4)GABA 関連遺伝子の発現調節

GAD65、GAD67、VGAT をそれぞれ過剰発現させる AAV ベクターを作成し、AAV によって線招待神経細胞の GABA 関連遺伝子の過剰発現を誘導させる。

4 . 研究成果

(1)LID と TD の組織学的な共通性について

始めに、LID モデルマウスと TD モデルマウスにおいて、脳構造変化が起こっている脳領域を散策するため、MRI 解析を行った。その結果、LID と TD 共に淡蒼球の体積増加が起きている事が分かった。そこで、この淡蒼球に着目し、組織学解析を行った結果、VGAT 陽性の線条体神経細胞のターミナルが肥大化している事が分かった。線条体神経細胞のターミナルは淡蒼球に存在する。この結果から、LID と TD において共通して、線条体神経細胞のターミナルが肥大化する事が分かった。

(2)GABA 量の増加

線条体神経細胞は抑制性の神経細胞である事から GABA 濃度の関与が予想される。そこで、MS イメージングを用いて GABA 濃度を測定した結果、LID と TD 共に、淡蒼球で GABA 濃度が増加している事が分かった。

(3)VGAT が GABA 量の増加に関与している

GABA 量が増えている事で GABA 関連遺伝子(GAD65、GAD67、VGAT)の関与が示唆される。そこで、始めに in situ hybridization によって GABA 関連遺伝子の mRNA 発現量を調べた結果、線条体神経細胞で増加している事が分かった。ここで、GABA 量が増えるためには GABA を合成する遺伝子(GAD65、GAD67)が重要なのか、GABA を小胞にパッケージする VGAT が重要なのかを調べた。AAV を用いて、線条体神経細胞に各遺伝子を過剰発現させ、MS イメージングによる GABA 濃度を測定した。その結果、VGAT を過剰発現したときだけ淡蒼球で GABA 濃度が増加している事が分かった。この結果から、GABA 量が増加するためには VGAT の過剰発現が重要であることが分かった。

(4)VGAT の過剰発現が LID と TD の発症に関与している

線条体神経細胞に AAV を用いて VGAT の過剰発現を誘導した時、LID と TD の症状が悪化する事も分かった。さらに、shRNA のシステムを用いて VGAT の発現抑制を行う事で LID と TD の症状を改善できることも分かった。この結果から、VGAT の発現量が LID と TD の症状に関与している事が分かった。

(5)VGAT がなぜ増加するのか

最後に、VGAT の過剰発現が起こる原因について検証した。LID の臨床研究から L-DOPA のパルス投与ではなく、定常的な投与によって LID の発症が抑えられることから、LID と TD はドパミン受容体の機能低下とドパミン濃度のアップダウンが LID や TD の発症に関係しているのではないかと考え、薬理的な手法からこの仮説の検証を行った。始めに、L-DOPA を定常的に投与したとき、LID は発症せず、VGAT の発現も増加しなかった。また、ドパミンのアップダウンを薬理的に作り出すと、TD の症状が悪化し、VGAT の発現も増加することが分かった。逆に、ドパミンのアップダウンを薬理的に抑制すると、TD の症状は緩和し、VGAT の発現も低下した。これらの結果から、LID と TD の発症にはドパミン受容体の機能低下とドパミン濃度のアップダウンが

重要であることが分かった。

以上の結果から、

LID と TD には共通して、淡蒼球の肥大化、線条体神経細胞のターミナの肥大化、VGAT の過剰発現、GABA 量の増加が共通してみられることが分かった。さらに、ドパミン受容体の機能低下とドパミン濃度のアップダウンによって VGAT が過剰発現し、発症に繋がることも分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Abe Yoshifumi, Yagishita Sho, Sano Hiromi, Sugiura Yuki, Dantsuji Masanori, Suzuki Toru, Mochizuki Ayako, Yoshimaru Daisuke, Hata Junichi, Matsumoto Mami, Taira Shu, Takeuchi Hiroyoshi, Okano Hideyuki, Ohno Nobuhiko, Suematsu Makoto, Inoue Tomio, Nambu Atsushi, Watanabe Masahiko, Tanaka Kenji F.	4. 巻 4
2. 論文標題 Shared GABA transmission pathology in dopamine agonist- and antagonist-induced dyskinesia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports Medicine	6. 最初と最後の頁 101208 ~ 101208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xcrm.2023.101208	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 Abe Yoshifumi, Yokoyama Kiichi, Kato Tomonobu, Yagishita Sho, Tanaka Kenji F., Takamiya Akihiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Neurogenesis-independent mechanisms of MRI-detectable hippocampal volume increase following electroconvulsive stimulation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41386-023-01791-1	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 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 阿部欣史
2. 発表標題 マウスMRI計測によって可視化できる脳体積変化を細胞・分子レベルで読み解く
3. 学会等名 2022年度 生理学研究所研究会 多次元脳形態研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

リサーチマップ
https://researchmap.jp/Yoshifumi_Abe/

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------