

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591304

研究課題名(和文)ニューロモデュレーションによる新規パーキンソン病治療法開発のための基礎研究

研究課題名(英文)Basic research to establish novel therapy for Parkinson disease using neuromodulation

研究代表者

下 泰司(Shimo, Yasushi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：70286714

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)：パーキンソン病(PD)における脳深部刺激療法(DBS)の治療効果発現機序を解明し、新たな治療方法を探ることを目的とした研究を行った。動物を用いて、脳深部刺激を行いながら、大脳基底核の神経細胞活動を記録した。視床下核を刺激した際には、線条体のアセチルコリン陽性神経細胞の活動抑制が生じ、この効果はドパミン受容体を阻害することによって消失した。淡蒼球刺激下でも同じように線条体神経細胞活動は抑制されたがドパミン受容体阻害ではこの効果は消失しなかった。以上より、DBS後はドパミン作動薬の減量が可能であり、また抗コリン剤の減量の可能性が示唆され、DBS後のPD治療における新規の知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：High-frequency electrical stimulation of the subthalamic nucleus (STN) and internal segment of the globus pallidus (GPi) is a therapeutic option for human movement disorders however, the precise mechanisms are still unknown. To elucidate this point, neuronal activity of the interneurons in the putamen (TANs) was extracellularly recorded during the electrical stimulations of STN and GPi using three normal monkeys. Many TANs reduced their activity during STN and GPi stimulations. 36% of neurons inhibitory during STN stimulation were diminished after local injection of sulpiride. 25% of neurons showed diminishing inhibitory response during GPi stimulation with GABA-B antagonist injection. Our results indicate that electrical stimulations of STN and GPi modulate cholinergic tone in the striatum. Furthermore, we hypothesize that dopamine and GABA play important roles in the therapeutic mechanisms of STN and GPi deep brain stimulations (DBS) in humans.

研究分野：神経内科

キーワード：パーキンソン病 脳深部刺激療法 大脳基底核

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳深部刺激療法 (Deep Brain Stimulation: DBS) は、進行期パーキンソン病 (Parkinson's disease: PD) に生じる運動合併症に対して劇的な効果をもたらす治療方法であり、大脳基底核を電氣的に刺激することによって神経細胞活動に変化を与えるニューロモデュレーション治療の 1 つである。PD 以外にもジストニアや振戦に対して行われている、本治療方法はレボドパ治療とともに、PD の治療においては不可欠な方法であるが、その効果発現機序が明らかでなく、そのため、最適な刺激部位の選択方法、PD における最適な手術の適応、手術時期はいまだに明らかにされていない。

(2) さらに、脳深部刺激療法は術後に刺激の調整 (電圧、刺激頻度、刺激幅) が可能であり、薬物治療と並行して行わなければならないが、その最適な刺激方法や、薬物とどのように併用して刺激を行うかはまだ不明瞭である。

2. 研究の目的

(1) DBS の作用発現機序の解明及び最適な刺激、薬物調整方法を解明することにより、PD 治療における最適なニューロモデュレーション治療の方法を見つける。

(2) 脳深部刺激療法の作用機序を解明することにより、改善の得られる臨床症状の違いの機序を解明することにより、PD におけるさまざまな症状に対してより最適な適治療方法を見つける。

3. 研究の方法

大脳基底核の一部を刺激した結果、その投射先の神経細胞活動にどのような影響を与えるかを検索することによりその効果発現機序を検討した。サルを使用し、PD 治療で行われる DBS と同じ刺激パラメーターを用いて、視床下核、淡蒼球内節を電気刺激し、刺激前、中、後の線条体介在ニューロン (Tonically Active Neuron: TAN) の活動の変化を記録した。TAN はアセチルコリン陽性細胞である、線条体外には投射せず、線条体内にアセチルコリンを放出している。線条体には、視床を介した視床下核もしくは淡蒼球内節からの入力がある。もし TAN の活動に変化が生じるようであれば、その機序を探るためにさまざまな薬物を局所投与しながら同時に刺激・記録を行った。霊長類は人間と酷似した神経細胞活動、大脳基底核間のネットワークを有しており、本研究の目的である、人間における DBS の効果発現機序の解明及びそれに伴う最適な刺激方法、薬物治療への考察をする上ではサルを用いることが最適であると考えた。

(1) 3 頭の正常サルを使用した。まず、それぞれのサルに定位機能外科的手法により、頭蓋骨上に記録/刺激用のチャンバーを取り付ける手術を全身麻酔下にて行った。術後の

苦痛に対しては十分な抗生剤及び鎮痛剤を投与することによって動物に対して最大限の負担軽減を行った。本研究では課題を用いた研究ではないために水分や食事摂取の制限はおこなわれていない。

(2) 記録用チャンバーを取り付けた後、頭部 MRI を撮像しチャンバーと大脳基底核の位置関係を確認し、おおよその座標の計算を行った。

(3) 計算された座標の指標として、頭蓋骨にバーホールを作成した。

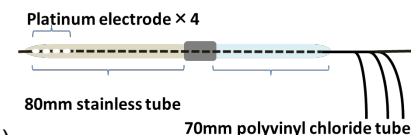
(4) 大脳基底核の同定を行うために、Narishige 製のマイクロドライブ (MO-95) を使用して刺激ターゲット (視床下核、及び淡蒼球内節) と記録ターゲット (被殻) へ記録電極を挿入した。

(4) 視床下核の同定には特徴的な神経細胞活動の記録と同部位に injection-recording device を用いて GABA antagonist (muscimol) を注入することによって、視床下核の神経細胞活動を抑制することによる対側上下肢の hemiballism が出現することを確認し、同定した。

(5) 淡蒼球内節の同定には、その特徴的な神経細胞活動及び、最腹側に電極が達したときの直下にある視神経の同定のために、サルの眼前に光を当て、視神経の興奮が記録できる部位の直上 1mm のところに留置した。

(6) 被殻の同定には、TAN の神経細胞外活動の記録を行う事によって同定した。

神経細胞外活動の記録に用いたのは Plexon 社製のシステム、電気刺激には日本光電社製のアイソレーター及び刺激発生装置を使用した。刺激電極には、ユニークメディカル社の特注多点刺激電極を作成し用いた。(Fig 1)。



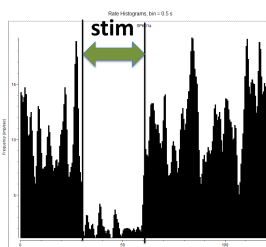
(Fig1)

(7) 記録実験中は、動物の苦痛を最大限軽減するために、酸素飽和度、心電図モニターを使用したうえで、軽麻酔下で行った。

4. 研究成果

(1) まず視床下核を高頻度電気刺激した際、視床下核の投射先である淡蒼球内節の神経細胞活動を記録し、その刺激の効果を検討した。淡蒼球内節のニューロン活動は、多くのニューロンで抑制性の反応を示し、少数のニューロンは興奮性の反応を示した。刺激する際の刺激電極の選択は、最腹側と最背側の電極を使用することが最も効果的に抑制効果を示すことを確認した。刺激条件は、0.1mA or 0.4mA, 60 μ S, 130Hz の刺激条件で刺激し、0.4mA による刺激が最も効果があることを確認した。この反応は刺激電流、頻度、刺激幅を弱めると弱まった。このことにより視床下

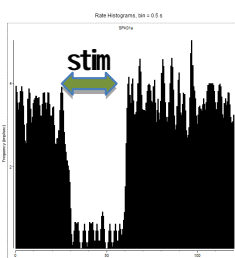
核の高頻度電気刺激は投射先のニューロン活動を抑制する効果があることが示唆された (Fig2) .



視床下核を刺激中に記録された淡蒼球内節の神経細胞活動。刺激中は抑制されている。

(Fig2)

(2) 次に視床下核の刺激前中後での線条体ニューロン活動への影響を調べるために、被殻に記録電極を挿入し、視床下核刺激前中後の TAN の活動を記録したところ、約 70% のニューロンは活動を抑制された (Fig3)



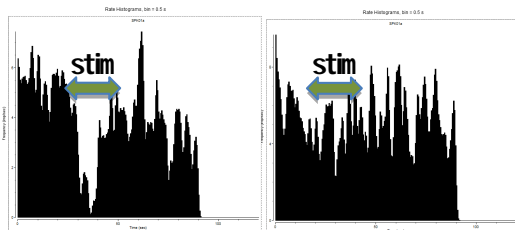
視床下核を刺激中に記録された被殻の神経細胞活動。刺激中は抑制されている。

(Fig3)

(3) 視床下核刺激による TAN の活動抑制の機序を調べるために、D2 受容体拮抗薬、GABA-A 受容体拮抗薬、GABA-B 受容体拮抗薬を injection-recording device を用いて、刺激中に局所注入を行いながら同時に TAN の細胞外電位活動を記録し、その影響を調べた。

(4) GABA-A 受容体拮抗薬、GABA-B 受容体拮抗薬の局所投与では、視床下核刺激による TAN の抑制反応には影響を認めなかった。

(5) 一方、D2 受容体拮抗薬局所投与によって多くのニューロン (50%) は抑制性反応の消失を認めた (Fig4)



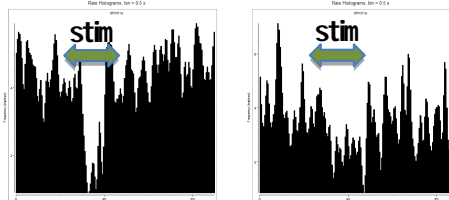
(Fig4)

視床下核刺激によって、被殻の神経細胞活動は抑制されるが (左)、同じ神経細胞の近傍にドパミン受容体遮断薬を投与すると抑制反応は消失する (右)

(4) 次に淡蒼球内節高頻度電気刺激による線条体介在ニューロン活動への影響を調べるために刺激前中後の TAN の細胞外電位活動

を記録したところ、視床下核刺激より多くの TAN が抑制性の反応を示した。

(5) この反応の機序を調べるために、D2 受容体拮抗薬、GABA-A 受容体拮抗薬、GABA-B 受容体拮抗薬をそれぞれ局所注入しながら記録を行ったところ GABA-B 受容体拮抗薬を投与したときに多くのニューロンで抑制性反応が减弱した (Fig5) .



(Fig5) 淡蒼球内節刺激によって、被殻の神経細胞活動は抑制されるが (左)、同じ神経細胞の近傍に GABA-b 受容体遮断薬を投与すると抑制反応は消失する (右)

(6) 以上の結果に関する考察として、

PD の病態において、ドパミン欠乏が発見され、レボドパ製剤が登場する以前から、抗コリン剤がその治療として使用されており、現在も広く使用されている。その効果発現機序として、線条体における、ドパミン欠乏に伴う、相対的なアセチルコリンの過剰な濃度がその理由とされてきたが、いまだに仮説の域を出ていない。また、ジストニアにおいては抗コリン剤が唯一の効果を示す内服薬であることが知られており、淡蒼球内節 DBS はジストニアに対して強力な効果を示す唯一の刺激部位であるが、その理由も不明であった。本研究において視床下核または淡蒼球内節を高頻度電気刺激し、線条体におけるアセチルコリン陽性細胞である TAN の神経細胞活動を抑制するという結果 (すなわち線条体内のアセチルコリン濃度を下げる効果がある)、及び、淡蒼球内節刺激の方が、視床下核刺激の際より多くの TAN の細胞活動が抑制されたことは、これまで不明であった DBS の治療効果発現機序において、線条体アセチルコリン陽性細胞の活動低下が関与していることを示唆し、パーキンソン病病態下における線条体ドパミン欠乏-アセチルコリン過剰のアンバランス仮説を支持する結果となる。さらに淡蒼球内節 DBS におけるジストニアに対する効果発現機序を示唆する結果となる。そのことにより、実際の臨床の現場においては DBS 後の薬物使用方法、特に抗コリン剤の使用方に重要な示唆を与えるものと考えられる。

PD における視床下核 DBS と淡蒼球内節 DBS の臨床的効果の違いとして、視床下核 DBS では術後に抗 PD 薬を減量することが可能であるが、淡蒼球内節 DBS では抗 PD 薬の減量は不可能であるという違いがあるが、この機序はこれまで全く不明であった。本研究において、視床下核刺激で生じる TAN の活動抑制が、D2 受容体拮抗薬で消失するものが多かった一方、淡蒼球刺激では D2 拮抗薬投与で変化

が認められず、GABA-B 受容体拮抗薬で抑制性反応の消失を認めたという点は、視床下核 DBS では線条体内でのドパミンの放出が起きている可能性があり、淡蒼球内節刺激ではそれが生じていない事を示唆する。すなわち視床下核 DBS ではドパミン放出が生じるために術後の抗パーキンソン病薬の減量が可能となるという作用機序を示唆する結果である。なぜ視床下核刺激でドパミン放出が起こり、淡蒼球内節刺激で起こらないのかという疑問は本研究のみではまだ解明されていない。一つの可能性として、視床下核は黒質網様層の GABA 陽性細胞に直接投射しており、黒質網様層の GABA 陽性神経細胞は隣接する黒質緻密層のドパミン陽性神経細胞に側枝を送っている。視床下核電気刺激によって、その投射先である黒質網様層の GABA 陽性細胞の活動が抑制されることによって、GABA 側枝によって抑制されていた黒質緻密層のドパミン陽性神経細胞が脱抑制をおこして、その結果、ドパミン神経細胞の投射先である線条体（尾状核及び被殻）内にドパミンの放出を起こしている可能性がある。また、もう一つの可能性として、視床下核 淡蒼球内節 脚間橋被蓋核 黒質緻密層の投射経路があり視床下核刺激により抑制された淡蒼球内節 GABA 神経細胞が脚間橋被蓋核の神経細胞に脱抑制をおこし、その結果黒質緻密層のドパミン神経細胞の興奮 線条体内のドパミン放出につながる可能性が考えられ、これは今後の視床下核 DBS、淡蒼球内節 DBS の治療効果発現機序として重要な示唆を与えるものとなる。さらに、視床下核 DBS では、内在性のドパミン放出を誘発することが重要な作用機序であるとすれば、PD の病期において効果的な視床下核 DBS の導入時期は、現在のように進行期に行うのではなく、内在性のドパミン神経細胞が未だ残存している早期に導入することにより更なる治療効果、減薬効果が期待できることとなる。一方淡蒼球内節 DBS においてはその手術時期は進行期でも有効であることになり、今後の DBS の導入時期に関する議論において重要な定義を与える結果となっている。

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) すべて査読あり

1. Nishikawa N, Shimo Y, Wada M, Hattori N, Kitazawa S. Effects of aging and idiopathic Parkinson's disease on tactile temporal order judgment. PLoS One. 2015 Mar 11;10(3): doi: 10.1371/journal.pone.0118331
2. Shimo Y, Nishina K, Hatano T, Hattori N. Sensory tricks for isolated speech-induced lingual dystonia. BMJ

Case Rep. 2015 Mar 5;2015. doi: 10.1136/bcr-2014-208272.

3. Shimo Y, Nakajima A, Hattori N. Dopamine agonist withdrawal syndrome in a patient with restless legs syndrome without impulse control disorder or drug abuse. Neurol Sci. 2014 Nov 2. doi: 10.1007/s10072-014-1996-x.
4. Oyama G, Umemura A, Shimo Y, Nishikawa N, Nakajima A, Jo T, Nakajima M, Ishii H, Yamada D, Takanashi M, Arai H, Nanba E, Hattori N. Posterior subthalamic area deep brain stimulation for fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. Neuromodulation. 2014 Dec;17(8):721-3. doi: 10.1111/ner.12150.
5. Umemura A, Oka Y, Yamada K, Oyama G, Shimo Y, Hattori N. Validity of single tract microelectrode recording in subthalamic nucleus stimulation. Neurol Med Chir (Tokyo). 2013;53(11):821-7. https://www.jstage.jst.go.jp/article/nmc/53/11/53_0a2012-0412/_article
6. Shimo Y, Natori S, Oyama G, Nakajima M, Ishii H, Arai H, Hattori N. Subthalamic deep brain stimulation for a Parkinson's disease patient with duplication of SNCA. Neuromodulation. 2014 Jan;17(1):102-3. doi: 10.1111/ner.12034.

〔学会発表〕(計 17 件)

1. Shimo Y, Nakajima A. UkaT, Hattori N
The effect of electrical stimulation of the subthalamic nucleus (STN) or internal part of the globus pallidus (GPi) to primate striatal interneurons 4th Asian and Oceanian Parkinson's disease and movement disorders congress 平成 26 年 11 月 30 日 パタヤ(フィリピン)
2. Shimo Y, Nakajima A. UkaT, Hattori N
The effect of electrical stimulation of the subthalamic nucleus (STN) or

- internal part of the globus pallidus (GPi) to primate striatal neurons. Society for Neuroscience 平成 26 年 11 月 17 日 ワシントン (米国)
3. 下 泰司 脳深部刺激療法 人生を治療するための戦略的取り組みとは 日本脳神経外科学会第 73 回学術総会 平成 26 年 10 月 10 日 新高輪プリンスホテル (東京都・港区)
 4. 下 泰司 中島明日香 宇賀貴紀 服部信孝 サル視床下核及び淡蒼球内節高頻度電気刺激による線条体介在ニューロン活動への影響 大脳基底核研究会 平成 26 年 8 月 24 日 青森市文化観光交流施設 (青森県・青森市)
 5. 下 泰司 大脳基底核の神経生理学的研究 第 13 回釧路ニューロサイエンスワークショップ 平成 26 年 7 月 4 日 (北海道・釧路市)
 6. Nakajima A, Shimo Y, UkaT, Hattori N The effect of electrical stimulation of the subthalamic nucleus (STN) or internal part of the globus pallidus (GPi) to primate striatal neurons. 18th International congress of Parkinson's disease and Movement disorders Movement disorder society 平成 26 年 6 月 9 日ストックホルム (スエーデン)
 7. 下 泰司 中島明日香 宇賀貴紀 服部信孝 サル視床下核及び淡蒼球刺激における線条体介在ニューロンの反応 第 55 回日本神経学会学術大会 平成 26 年 5 月 23 日 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
 8. 下 泰司 Dopamine withdrawal syndrome 高松パーキンソン病国際シンポジウム 平成 26 年 2 月 23 日 高松国際会議場 (香川県・高松市)
 9. 下 泰司 大山彦光、中島明日香、西川奈津子、中島円、石井尚登、梅村淳、服部信孝 淡蒼球内節脳深部刺激療法の interleaving stimulation 法 第 53 回定位機能神経外科学会 平成 26 年 2 月 7 日 大阪国際会議場 (大阪府・大阪市)
 10. 下 泰司 大山彦光、中島明日香、西川奈津子、中島円、石井尚登、梅村淳、服部信孝 淡蒼球内節刺激術における multi-programming の効果 第 47 回運動障害研究会 大日本住友製薬 (株) 東京本社 平成 26 年 1 月 18 日 (東京都・中央区)
 11. 下 泰司 大山彦光、中島明日香、西川奈津子、中島円、梅村淳、新井一、服部信孝 一側 PSA 刺激が著効下振戦優位型パーキンソン病の 80 歳男性例 第 46 回日本運動障害研究会 平成 25 年 7 月 6 日 大日本住友製薬 (株) 東京本社 (東京都・中央区)
 12. 下 泰司 パーキンソン病に対する脳深部刺激療法導入のタイミング 第 54 回日本神経学会学術大会 平成 25 年 5 月 31 日 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)
 13. 下 泰司 DBS 治療における神経内科医の役割 (神経内科の立場から) 第 53 回日本神経学会総会 平成 24 年 5 月 24 日 東京国際フォーラム (東京・千代田区)
 14. 下 泰司 DBS の現状 EU の脳神経外科、本邦の脳神経内科の立場から。第 71 回日本脳神経外科学会 平成 24 年 10 月 19 日 大阪国際会議場 (大阪府・名古屋市)
 15. 下 泰司 大脳基底核の生理学的研究 臨床に役立つ最近の治験 第 53 回日本神経学会総会 平成 24 年 5 月 24 日 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

〔図書〕(計1件)

1. 下 泰司, 服部信孝, 診断と治療社, 神
経内科研修ノート, 基底核の変性疾患:パー
キンソン病, 2014, 736

6. 研究組織

(1)研究代表者

下 泰司 (Shimo, Yasushi)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 70268714

(2)研究分担者

大山 彦光 (Oyama, Genko)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 00407256

吉見建二 (Yoshimi, Kenji)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 40459136

服部 信孝 (Hattori, Nobutaka)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号: 80218510