

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430054

研究課題名(和文)ジストニ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 dystonia

研究代表者

後藤 恵 (GOTO, Satoshi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・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) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：大脳基底核回路の中核的役割を演じる線条体にはストリオソームとマトリックスと呼ばれる2つの機能分画が存在する。研究期間内に、ジストニア症状を呈する遺伝子改変動物モデルまたヒト疾患モデルではドパミンD1受容体シグナルの低下がストリオソームに選択的に存在することを見出した。さらに、ジストニアを主症状とする線条体変性疾患ではストリオソーム優位の神経細胞脱落がみられるが、このコンパートメント特異性病変の形成にニューロペプチドYやPSD-95などの神経保護因子の発現が関与していることを示した。これらの所見はジストニアの発現機序として私が提唱する“ストリオソーム仮説”と符号するものである。

研究成果の概要(英文)：In the mammalian striatum that plays a central role in the basal ganglia circuit, there exist two functional subdivisions known as striosome and matrix compartments. During the last 3 years, we found a selective loss of dopamine D1 receptor (D1R)-mediated signals in the striosome compartment in transgenic mouse and human disease models with dystonia. Moreover, we provided the evidence that striatal neurodegeneration causing dystonia might be associated with a lack of striosomal expression of neuroprotective molecules that include neuropeptide Y and postsynaptic density protein 95 (PSD-95). These findings corroborate with the hypothesis that deregulation of D1 signaling in the striosome compartment may underlie the genesis of dystonia.

研究分野：臨床神経科学

キーワード：神経変性疾患 ジストニア 神経病理 線条体 ストリオソーム マトリックス ドパミン

### 1. 研究開始当初の背景

運動異常症のなかでジストニアはパーキンソン病について有病率の高い基底核疾患であり、日本では推計2万人以上の患者が存在する。研究代表者はジストニア発現機序について線条体を中心とした大脳基底核回路の機能病理について長年にわたって研究し報告してきた。

我々は先行研究でヒト線条体変性疾患モデルである遺伝性ジストニア DYT3 (*Lubag* 病) を解析し、ジストニア発現メカニズムとして“ストリオソーム仮説”を提唱している。線条体はストリオソームとマトリックスと呼ばれる2つの機能分画を有するが、DYT3患者剖検脳の検索ではストリオソームに選択的な中型有棘神経細胞の脱落がみられる。また、ドーパ反応性ジストニアの遺伝子改変モデルでもストリオソームのドーパミン代謝の機能解剖学的異常が存在する。ストリオソームは黒質ドーパミン細胞に抑制性出力を投射することで黒質からのドーパミン出力を調節し線条体ドーパミンの恒常性維持に働いていることから、このフィードバック機能の破綻がジストニア惹起すると考えられる。

### 2. 研究の目的

遺伝性ジストニア DYT3 やジストニアを呈する遺伝子改変マウスモデルなどの線条体病理を分子・細胞・神経回路レベルで解析することでジストニアに特異的な線条体病理像を同定し、脳回路神経再生などの治療法の開発に結びつける研究を以下の点について行うことを目的とした。

(1) 正常対照および DYT3 患者の剖検脳基底核(特に線条体コンパートメント構造)におけるドーパミンシグナル関連分子発現異常の解析。

(2) ジストニアを呈する遺伝子改変マウス(DYT1モデル、DYT5モデル、ドーパミンD1細胞脱落モデル)で線条体ストリオソームの異常についての組織解剖学的解析。

(3) ジストニア発症モデルでの進行性線条体神経細胞死を惹起する責任分子の同定およびニューロペプチドYの保護効果の検証。

(4) 遺伝性ジストニア DYT25 の責任遺伝子である GNAL のパーキンソン病治療の際に生じる L-DOPA 誘発性ジスキネジア・ジストニア発現への関与についての解析。

### 3. 研究の方法

(1) 正常対照および DYT3 患者剖検脳の免疫組織化学的解析: 全身性ジストニアを呈する DYT3 患者では線条体の萎縮およびモザイク病変が存在する。本研究では、線条体を含む大脳基底核神経回路におけるドーパミンシグナルおよびオピオイドシグナル関連分子の発現異常を正常脳と比較して解析した。パラフィン切片では Tyramide Signal Amplification System (TSA) を用いて我々が開発した超高感度アッセイシステムを使用

した。

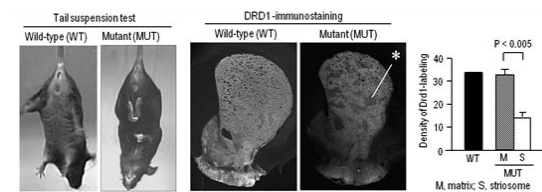
(2) ジストニアを発症する遺伝子改変モデルにおける線条体コンパートメント病変の検討: ストリオソーム仮説を検証する目的で、ジストニアを呈する遺伝子改変モデル(DYT1モデル、DYT5モデル、およびドーパミンD1細胞脱落モデル)においてストリオソーム病変が存在するか否かを行動的および組織学的に検索した。

### 4. 研究成果

(1) ヒト剖検脳からのホルマリン固定パラフィン切片上で線条体コンパートメント構造を可視化するために超高感度免疫組織化学法を開発した (Front Neuroanat 2015;9:22(1-12))。

(2) DYT3 患者剖検脳での線条体モザイク病変を免疫組織化学的に解析しパッチ構造を形成する残存中型有棘細胞はマトリソームに由来することを見出した(投稿予定)。

(3) ドーパミンD1細胞脱落モデルではジストニアを発症する発達時期と一致して、ドーパミンD1受容体(DRD1)を有する線条体中型有棘神経細胞がストリオソームで特異的に減少していることを見出した(下図参照;投稿中)。



(4) DYT1 遺伝子改変モデルにおいてストリオソームに特異的なオピオイド受容体の発現低下が存在することを見出した(投稿予定)。

(5) ジストニア症状を呈する遺伝子改変モデルの解析では、線条体ストリオソームの GNAL/Gαolf に関連したドーパミンシグナルの機能低下を示す所見が得られており、今後報告予定である。

(6) c-Abl/Cdk5 シグナルが線条体ドーパミン機能の調節因子として働いており、c-Abl 活性阻害剤がパーキンソン症状に対する治療薬になることを報告した (Front Cell Neurosci 2014;8:50 (1-11))。また、この治療効果は線条体細胞内シナプス後性のものであることを見出した(投稿予定)。

(7) DYT3 ジストニアモデルマウスに対するニューロペプチドYの脳室内投与の治療効果については研究継続中である。

(8) ヒト剖検脳において線条体ドーパミン入力コンパートメント構造を形成していることを、抗チロシン水酸化酵素抗体を用いた免疫組織化学染色を用いて証明した (Front Neuroanat 2016;10:34(1-10))。また、神経保護因子として働く postsynaptic density protein 95 (PSD-95) 免疫活性の線条体コンパートメント構造形成を免疫組織化学的に可視化した (Front Neuroanat 2015;9:154 (1-11))。これらの所見は DYT3 やハンチント

ン病にみられる線条体コンパートメント病理の形成を考えるうえで重要である。

(9) 片側パーキンソン病マウスモデル線条体において L-DOPA 誘発性ジスキネジア・ジストニアがGNAL 遺伝子産物である Olfactory type G-protein  $\alpha$  subunit ( $G\alpha_{olf}$ ) の D2-間接路細胞での発現低下に起因することを提唱した (Front Cell Neurosci 2017;11:26 (1-16))。

#### 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 10 件)

1. R. Morigaki, S. Okita & S. Goto: Dopamine-induced changes in  $G\alpha_{olf}$  protein levels in striatonigral and striatopallidal medium spiny neurons underlie the genesis of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian mice. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11: 26, 2017 (doi: 10.3389/fncel.2017.00026) (査読有)
2. R. Morigaki & S. Goto: Putaminal mosaics visualized by tyrosine hydroxylase immunohistochemistry in the human neostriatum. *Frontiers in Neuroanatomy* 10: 34, 2016 (doi: 10.3389/fnana.2016.00034) (査読有)
3. R. Morigaki, H. Mure, R. Kaji, S. Nagahiro & S. Goto: Therapeutic perspective on tardive syndrome with special reference to deep brain stimulation. *Frontiers in Psychiatry* 7: 207, 2016 (doi: 10.3389/fpsy.2016.00207) (査読有)
4. R. Morigaki & S. Goto: A short commentary on globus pallidus internus deep brain stimulation in primary Meige syndrome. *Journal of Neurology and Neurophysiology* 405, 2016 (doi: 10.4172/2155-9562.1000405) (査読有)
5. S. Goto, R. Morigaki, S. Okita, S. Nagahiro, & R. Kaji: Development of a highly sensitive immunohistochemical method to detect neurochemical molecules in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues from autopsied human brains. *Frontiers in Neuroanatomy* 9: 22, 2015 (doi: 10.3389/fnana.2015.00022). (査読有)
6. R. Miyamoto, H. Sumikura, T. Takeuchi, M. Sanada, K. Fujita, T. Kawarai, H. Mure, R. Morigaki, S. Goto, S. Murayama, Y. Izumi, & R. Kaji: Autopsy case of severe generalized dystonia and static ataxia with marked cerebellar atrophy. *Neurology* 85: 1522-1524, 2015. (査読有)
7. R. Morigaki & S. Goto: Postsynaptic density protein 95 in the striosome and matrix compartments of the human neostriatum. *Frontiers in Neuroanatomy* 9: 154, 2015 (doi: 10.3389/fnana.2015.00154) (査読有)
8. H. Koizumi, S. Goto, S. Okita, R. Morigaki, N. Akaike, Y. Torii, T. Harakawa, A. Ginnaga, & R. Kaji: Spinal central effects of peripherally applied botulinum neurotoxin A in comparison between its subtypes A1 and A2. *Frontiers in Neurology (section of Movement Disorders)* 5: 98, 2014 (doi: 10.3389/fneur.2014.00098) (査読有)
9. H. Mure, R. Morigaki, H. Koizumi, S. Okita, T. Kawarai, R. Miyamoto, R. Kaji, S. Nagahiro, & S. Goto: Deep brain stimulation of the thalamic ventral lateral anterior nucleus for DYT6 dystonia. *Stereotactic and Functional Neurosurgery* 393-396, 2014 (査読有)
10. A. Tanabe, Y. Yamamura, J. Kasahara, R. Morigaki, R. Kaji & S. Goto: A novel tyrosine kinase inhibitor AMN107 (nilotinib) normalizes striatal motor behaviors in a mouse model of Parkinson's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8: 50, 2014 (doi: 10.3389/fncel.2014.00050) (査読有)

[学会発表](計 11 件)

1. 大北真哉、牟礼英生、森垣龍馬、永廣信治、後藤恵。小児の全身性ジストニアに対し脳深部刺激術を施行した1例。第44回日本小児神経外科学会 つくば国際会議場(茨城県つくば市) 2016.6.23
2. Ryoma Morigaki, Satoshi Goto, Ryuji Kaji. Neuropathology of X-linked dystonia parkinsonism. 第57回神経内科総会 神戸コンベンションセンター (兵庫県神戸市) 2016.5.20
3. 森垣龍馬、宮本亮介、大北真哉、溝渕佳史、牟礼英生、永廣信治、梶龍児、後藤恵。NF $\kappa$ B のマウス脳線条体における発現パターンとその役割。第55回日本定位・機能神経外科学会 江陽グランドホテル(宮城県仙台市) 2016. 1.23
4. 牟礼英生、森垣龍馬、大北真哉、小泉英貴、永廣信治、梶龍児、後藤恵。ジストニアに対するDBS-淡蒼球刺激と視床刺激の併用。第55回日本定位・機能神経外

- 科学会 江陽グランドホテル(宮城県仙台市) 2016. 1.23
5. 大北真哉、森垣龍馬、牟礼英生、兼松康久、宮本亮介、永廣信治、梶龍兒、後藤惠、亘雄也、谷口秀和、夫敬憲、中川義信. 脳性麻痺に合併した全身性ジストニアに対し脳深部刺激術を施行した1例. 第55回日本定位・機能神経外科学会 江陽グランドホテル(宮城県仙台市) 2016. 1.22
  6. Kawarai T, Miyamoto R, Asako T, Abe T, Funakoshi Y, Orlacchio A, Oki R, Morigaki R, Goto S, Izumi Y, Naito H, Tomimoto H, Kaji R. Germline mosaicism of TUBB4A mutation causes dystonia in two siblings. 56<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, 20 May 2015. 朱鷺メッセ (新潟県新潟市)
  7. 森垣龍馬、宮本亮介、大北真哉、溝淵佳史、牟礼英生、永廣信治、梶龍兒、後藤惠. Nuclear factor kappa b はマウス脳線条体においてドパミンシグナル支配下に機能する. 第74回日本脳神経外科総会 ロイトン札幌 (北海道札幌市) 2015.10.15.
  8. 森垣龍馬、大北真哉、溝淵佳史、牟礼英生、永廣信治、梶龍兒、後藤惠. マウス脳線条体における Nuclear factor kappa b の機能的分子としての可能性. 第16回日本分子脳神経外科学会 アクトシティ浜松コンgresセンター (静岡県浜松市) 2015.8.28.
  9. 大北真哉、森垣龍馬、牟礼英生、松田拓、宮本亮介、梶龍兒、永廣信治、後藤惠. Hypemyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum に合併したジストニアに対し脳深部刺激術を施行した1例. 第54回 日本定位・機能神経外科学会 都市センターホテル(東京都千代田区) 2015.1.17
  10. 牟礼英生、森垣龍馬、大北真哉、佐光巨、梶龍兒、永廣信治、後藤惠. Meige 症候群に対する GPi-DBS. 第54回日本定位・機能神経外科学会 都市センターホテル(東京都千代田区) 2015.1.17.
  11. 牟礼英生、森垣龍馬、小泉英貴、大北真哉、永廣信治、梶龍兒、後藤惠. ジストニアに対する DBS-淡蒼球刺激と視床刺激の併用-. 第73回日本脳神経外科学会 学術総会 グランドプリンス新高輪(東京都港区) 2014.10.11.

〔図書〕(計 7 件)

1. H. Mure, D. Eidelberg & S. Goto: Brain network metabolic changes in patients with parkinsonian tremor. In: **J. Dorszewska & W. Kozubski (eds.). Challenge in Parkinson's disease.** ISBN 978-953-51-4797-8, InTech Publisher, 2016, pp. 181-194.
2. 後藤 惠: ジストニアと基底核 .CLINICAL NEUROSCIENCE, 35 巻 1 号 .中外医学社、2017, 35 (1), 80-85.
3. R. Morigaki & S. Goto: Deep brain stimulation for essential tremor. In: T. Itakura (ed.). *Deep Brain Stimulation for Neurological Disorders: Theoretical Background and Clinical Application.* Springer, Berlin, pp. 135-155, 2015. ISBN 978-319-08475-6
4. 後藤 惠: DYT3 .Annual Review 神経 2015 . 中外医学社、pp. 27-34, 2015
5. N. Tani, R. Morigaki, R. Kaji & S. Goto: Current use of thalamic Vim stimulation in treating Parkinson's disease. In: A.Q. Rana (ed.). *A Synopsis of Parkinson's Disease.* Chapter 8. ISBN 978-953-51-1229-7, InTech Publisher, March 3, 2014
6. N. Tani, R. Kaji & S. Goto: Deep brain stimulation for camptocormia associated with Parkinson's disease. In: A.Q. Rana (ed.). *A Synopsis of Parkinson's Disease.* Chapter 9. ISBN 978-953-51-1229-7, InTech Publisher, 2014
7. 後藤 惠: DYT3 ジストニア (X-linked dystonia-parkinsonism: XDP, Lubag 症候群). 神経症候群 II . 日本臨床 新領域別症候群シリーズ No 27、東京、271-275, 2014

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 恵 (GOTO, Satoshi)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・特任教授  
研究者番号：50240916

(2) 研究分担者

梶 龍児 (KAJI, Ryuji)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号：00214304

森垣 龍馬 (MORIGAKI, Ryoma)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・助教  
研究者番号：70710565