



Different striatal D2 receptor function in an early stage after unilateral striatal lesion and medial forebrain bundle lesion in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2010-10-25 キーワード: 作成者: 孫, 煒 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1940

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第564号	学位授与年月日	平成22年3月15日
氏名	孫 焯		
論文題目	Different striatal D2 receptor function in an early stage after unilateral striatal lesion and medial forebrain bundle lesion in rats (ラット片側パーキンソンモデル後早期におけるドパミン D2 受容体機能：線条体破壊モデルと内側前脳束破壊モデルの違い)		

博士(医学) 孫 焯

論文題目

Different striatal D₂ receptor function in an early stage after unilateral striatal lesion and medial forebrain bundle lesion in rats

(ラット片側パーキンソンモデル後早期におけるドパミン D₂ 受容体機能:線条体破壊モデルと内側前脳束破壊モデルの違い)

論文の内容の要旨

[はじめに]

ラットのパーキンソン病モデルには2つある。ひとつはドパミン神経毒である6-hydroxydopamine (6-OHDA) を線条体に注入するモデル、もうひとつは内側前頭束 (MFB) に6OHDAを注入するモデルである。しかしながら線条体破壊モデルとMFB破壊モデルにおけるpre-synapticおよびpost-synapticのドパミン神経系の機能の違いについては不明な点が多い。これらの違いを明らかにすることは、パーキンソン病の病態研究を考える上で重要である。本研究では行動学的解析に加え、pre-synaptic dopamine transporter (DAT) とpost-synaptic D₂ receptorを反映する放射性トレーサーを用いたイメージング及びtyrosine hydroxylaseの免疫染色などにより、これら2つのパーキンソン病モデルにおけるドパミン神経系の機能の違いを検討した。

[材料ならびに方法]

雄 Sprague-Dawley 系ラットを用いた。当教室の以前の研究で線条体に1~4ヶ所の6-OHDA破壊 (7 μg/lesion) をおくことによりさまざまな段階の片側パーキンソン病モデルを作ることができることを示してきた。今回の実験では1ヶ所破壊(1-lesion 群、n=15)と4ヶ所破壊(4-lesion 群、n=18)を用い、さらにMFB破壊モデル(MFB 群、n=18)とsham手術群(対照群、n=8)を設けた。

すべての動物において手術3週間後にドパミンのreuptake inhibitorであるmethamphetamine (3 mg/kg) およびD₂受容体のagonistであるbromocriptine (5 mg/kg) の腹腔内投与により誘発される回転運動とパーキンソン病モデルの重症度の指標として用いられるstepping testを施行した。一部の動物において、行動学的試験の後に黒質を含む切片を作成しtyrosine hydroxylaseによる免疫染色を行った。

行動学的試験の後に一部の動物において、放射性トレーサーの取り込みを観察した。DATを反映するトレーサーである[¹¹C]-2-beta-carbomethoxy-3beta-(4-fluorophenyl) tropane ([¹¹C]CFT) (4-lesion 群 n=7、MFB 群 n=7、対照群 n=3、10.8 ± 0.4 MBq)またはpost-synaptic D₂ receptorを反映する[¹¹C]raclopride(4-lesion 群 n=8、MFB 群 n=8、対照群 n=3、11.0 ± 0.5 MBq)を尾静脈より投与し、30分後に左右の線条体を取り出した。重量と放射能を測定し、単位重量あたりの(lesion-intact)/intactの放射能比を算出し、各群間の比較を行った。また一部の動物においては、トレーサーの取り込みを小動物用micro-positron emission tomography (PET) cameraを用いて画像化した。

[結果]

Tyrosine hydroxylase 免疫染色により、黒質におけるドパミン神経の数を対照群と比較すると、1-lesion 群では20%、4-lesion 群では85%減少しており、この結果は当教室の以前の結果と一致

していた。MFB 群では 98%減少しており、ほぼすべてのドパミン神経が破壊されるモデルと考えられた。

パーキンソン病モデルの重症度の指標として用いられる **stepping test** における各種パラメーター (**initiation time, stepping length, adjusting steps**) は、当教室の以前の報告と同様に、いずれの群でも明らかな左右差を認めたが、その障害の強さは **1-lesion, 4-lesion, MFB** の 3 群間で差を認めなかった。**methamphetamine** の投与では、いずれの群のラットも破壊と同側への回転運動がみられ、これも以前の報告と同様にその回転数において 3 群間に有意な差を認めなかった。一方、**bromocriptine** の投与による回転運動は線条体破壊群では **methamphetamine** と同様に破壊と同側に向かうが、MFB 群では破壊と反対側に向かう回転運動がみられ、**D₂** 受容体の左右のバランスが両モデルで異なることが示唆された。

線条体における [¹¹C]CFT の取り込みは **4-lesion** 群で $-23.7 \pm 5.0 \%$ ($p < 0.05$)、MFB 群で $-62.9 \pm 7.0 \%$ ($p < 0.01$) と、いずれも破壊側で有意な取り込みの減少がみられた。黒質のドパミン神経の減少を反映して、MFB 群での減少はより強く、MFB 群と **4-lesion** 群の 2 群間の差も有意であった ($p < 0.01$)。一方、 [¹¹C]raclopride の取り込みは **4-lesion** 群で $-18.0 \pm 5.0 \%$ と有意な減少がみられたが ($p < 0.05$)、MFB 群では逆に $+35.0 \pm 6.0 \%$ と有意な増加がみられた ($p < 0.01$)。また PET 画像でも上記の変化が視覚的に明らかに示された。

[考察]

ドパミンの **reuptake inhibitor** である **methamphetamine** による回転運動と **DAT** を反映する [¹¹C]CFT の取り込みは線条体破壊でも MFB 破壊でもほぼ同様の変化がみられ、いずれのモデルでも強度は違うが **pre-synaptic** 機能が障害されているものと考えられた。一方、**D₂** 受容体の **agonist** である **bromocriptine** による回転運動と **D₂** 受容体トレーサーの取り込みは、線条体破壊と MFB 破壊では正反対であり、**post-synaptic D₂** 受容体機能は線条体破壊では **down-regulate** され、MFB 破壊では **up-regulate** されているものと考えられた。

パーキンソン病においては、初期には黒質のドパミン神経の脱落に伴い、線条体における **post-synaptic** 機能は **up-regulate** されていると考えられており、MFB 破壊モデルはこの状態に類似している。一方、線条体の虚血などによって引き起こされるパーキンソン症候群においては線条体の **pre-**および **post-synaptic** 機能の両方が障害されており、線条体破壊モデルはこの状態に類似する。このような違いはパーキンソン病モデルラットを用いる研究において十分に考慮される必要がある。

[結論]

線条体破壊モデルと MFB 破壊モデルは共にパーキンソン病モデルとしてよく用いられるが、その病態は大きく異なっており、これらのモデルを用いた研究結果の解釈には注意を要する。

論文審査の結果の要旨

ラットパーキンソン病モデルにおけるドパミン神経系機能について明らかにすることはパーキンソン病の病態を考える上で重要である。

申請者らは、2種類のモデルを用いドパミン神経系機能を解析した。パーキンソン病モデルはラットの線条体あるいは内側前脳束に 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を注入して作成した。ドパミントランスポータ機能を反映する $[^{11}\text{C}]$ -2-beta-carbomethoxy-3beta-(4-fluorophenyl) tropane の線条体における取り込みは両モデルとも破壊側で減少していたが、ドパミン D_2 受容体に結合する $[^{11}\text{C}]$ raclopride の集積は線条体破壊モデルにおいて破壊側で減少する一方、内側前脳束破壊モデルでは破壊側で逆に増加した。これらの結果は、シナプス前機能は両モデルとも障害されているが、ドパミン D_2 受容体発現は線条体破壊モデルにおいて低下しているのに対し、内側前脳束破壊モデルでは亢進していることを示すものである。申請者らは、内側前脳束破壊モデルはパーキンソン病、線条体破壊モデルはパーキンソン症候群に類似すると指摘している。

審査委員会では、申請者らの研究が、2種類のラットパーキンソン病モデルにおけるドパミン神経系機能の違いを明らかにし、パーキンソン病の病態解明に大きく寄与する優れた研究であると高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 阪原 晴海
副査 森 則夫 副査 宮嶋 裕明