



The improvements of behavioral tests after deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in different degrees of unilateral parkinsonian model rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 方, 欣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/289

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 4 5 9 号	学位授与年月日	平成 1 8 年 3 月 1 5 日
氏 名	方 欣		
論文題目	The improvements of behavioral tests after deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in different degrees of unilateral parkinsonian model rats (パーキンソン氏病モデルラットにおける視床下核脳深部刺激の症状改善効果)		

博士(医学) 方 欣

論文題目

The improvements of behavioral tests after deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in different degrees of unilateral parkinsonian model rats

(パーキンソン氏病モデルラットにおける視床下核脳深部刺激の症状改善効果)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

近年、重症パーキンソン氏病患者にも有効な外科的治療法として、視床下核(STN)深部脳電気刺激療法(DBS)が注目を集めているが、いまだその機序には不明な点が多い。この機序解明を目指し、パーキンソン氏病モデルラットを用いた報告が散見されているが、その効果判定にはメタンフェタミン誘発回転運動の改善効果を測定することが一般的である。しかしながら、この行動指標は、臨床で認められるパーキンソン症状の改善とあまりに解離があり、奇異に感じることが多い。今回我々は、パーキンソン氏病の段階的モデルラットを作成した上で、STNを電気刺激し、その効果をより臨床に近いと思われる行動判定テストを用いて判定した。

〔材料ならびに方法〕

ラットのcaudate-putamenに1カ所または4カ所6-hydroxydopamine (6-OHDA, 7 μ g/lesion)を定位的に注入し、軽症(1-lesion)および重症(4-lesion)のパーキンソン氏病モデルラットを作成した。その後、細胞外記録下にSTNに双極電極を設置した。行動判定テストには、メタンフェタミン誘発回転運動の他にstepping test, rotarod testを選択し、STN-DBSの刺激条件を持続時間：60 μ sec、頻度：145Hz、矩形波、刺激強度：200 μ Aとした。STN-DBSの前後に行動判定テストを施行し、軽症、重症のパーキンソン氏病のモデルラットにおける刺激効果の差を検討した。最後に、ラット脳を摘出して組織学的検討を加え、パーキンソン氏病モデルラットとしての適正度および電極位置の確認を行った。

〔結果〕

メタンフェタミン誘発回転運動：今回使用したSTN-DBSの刺激条件では、脳深部刺激後、統計的有意な誘発回転運動の軽減が認められたが、軽症モデルでは全例回転運動が停止し、重症モデルよりも有意に高い改善効果が認められた。

Stepping test: stepping testの各指標、initiation time, stepping length, adjusting steps全てにSTN-DBS後、統計的有意な改善が認められた。stepping length, adjusting stepsでは、軽症モデルと重症モデルの改善度に統計的差異が認められなかったが、initiation timeでは軽症モデルの方が統計的有意に高い改善効果を示した。結果として、initiation timeが最も鋭敏な指標と考えられた。

Rotarod test：STN-DBS後、軽症モデルでは統計的有意な改善が認められたが、重症モデルでは、改善する傾向は認められるものの、統計的有意差には至らなかった。本テストにても軽症モデルにおいて、重症モデルに比し、有意に高い改善効果が認められた。

〔考察〕

今回我々は、異なった重症度のパーキンソン氏病モデルラットにおいて、より臨床に近いと思われる行動判定テストを用いて効果判定を試みた。その結果、stepping test, rotarod testともにパーキンソン氏病モデルラットにおけるSTN-DBSの効果判定テストとして用いることが分かり、さらに行動判定テストで改善が得られたことから、DBSの条件を決定することが出来た。

近年、パーキンソン氏病に対するSTN-DBSの機序解明に対し、パーキンソン氏病モデルラットを用いた研究が散見されるが、これらの研究のほとんどは、DBSの効果判定法として、メタンフェタミン誘発回転運動の停止を用いている。これらの研究において、臨床におけるDBSとモデルラットのDBSとを比較する際、2つの共通した無視できない方法論的問題点が存在する。一つはDBSに使用した刺激条件が臨床におけるものと同等と認められるか、と言う点である。パーキンソン氏病モデルラットの報告では、刺激持続時間、刺激頻度に関しては臨床と同様のものが用いられているが、刺激強度に関しては170 μ Aから500 μ Aまでの大きなばらつきが存在する。刺激強度が強いとSTN周囲の組織に電流が拡散し、結果としてSTN刺激以外の効果も見えてしまう可能性がある。

もう一つは、メタンフェタミン誘発回転運動がパーキンソン氏病モデルラットにおけるDBSの行動判定法として適正であるか、という点である。行動判定法としてのメタンフェタミン誘発回転運動と、臨床で認められるパーキンソン症状の改善との間にはあまりに大きな解離がある。一般にメタンフェタミン誘発回転運動はドパミン系の左右のアンバランスによって生じると考えられており、薬剤などの効果判定には特に問題はない。しかしDBSの場合、内包への電流の拡散による前後肢硬直でも、刺激の影響で不随意運動が惹起されることによっても回転運動は止まってしまう。従って、至適な刺激条件の解明なしには、実験結果が砂上の楼閣となる可能性が存在するが、今回の研究で、刺激条件と行動判定テストの点は解明出来たものと考えている。我々の結果では、行動判定テストの中でもstepping testのinitiation timeとrotarod testで軽症モデルと重症モデルの間に統計的有意差が出現し、これらが最も鋭敏なテストであることが判明した。またSTN-DBSの効果は、やはり重症モデルよりも軽症モデルで良好であることも判明した。

今後、今回の結果を踏まえ、STN-DBSの脳内生化学的機序の解明を目指していく所存である。

〔結論〕

この実験で、6-OHDAによって、異なった重症度のパーキンソン氏病モデルラットを作成し、そのSTNに刺激電極を設置し、STN-DBSモデルを作成した。STN-DBSは1-lesionモデル(軽症のパーキンソン氏病モデル)の方が統計的有意に良く奏効した。行動判定テストでは、stepping testのinitiation timeとrotarod testで軽症モデルと重症モデルの間に有意差が出現し、これらが最も鋭敏なテストであるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

パーキンソン氏病は黒質-線条体系のドパミン神経系の変性によるもので、筋固縮、振戦、すくみ足、仮面様顔貌などの症状を呈する。パーキンソン氏病に対しては、ドパミンの補充療法の他に、外科的治療法として、視床下核(STN)の深部脳電気刺激療法が用いられる。STNの深部脳電気刺激療法はヤールステージでV度となったパーキンソン氏病患者には無効で、ヤールステージのIII度またはIV度の患者に有効である。

STN刺激療法の臨床効果の背景にあるメカニズムについては幾つかの報告があり、多様なメカニズムの存在が示唆されている。主なものは、STN刺激はパーキンソン氏病脳に存在しているであろう黒質-線条体-視床-皮質系の機能異常を正常化する、とするものである。しかし、STN刺激療法がどのようにして機能異常を正常化しているのかは未だに十分に説明されていない。STN刺激療法の臨床効果に関係する脳内メカニズムを明らかにすることは、パーキンソン氏病に対する新たな治療法を開拓していく上に重要だが、実は、そのためのモデルと評価法が確立していない。従来のパーキンソン氏病モデルの評価法にはメタンフェタミン誘発回転運動が用いられていたが、STN刺激療法の評価法としては適正でなく、他の評価法を捜す必要が存在した。本研究において、申請者はこの点の解決を目指した。

パーキンソン氏病モデルは6-hydroxydopamine (6-OHDA) を線条体に注入して作成した。6-OHDAはドパミン神経を選択的に傷害する神経毒である。申請者は軽症と重症の2種類のパーキンソン氏モデルを作成した。軽症モデルを作成するために、6-OHDAを1か所に注入した。また、重症モデルを作成するために、6-OHDAを4か所に注入した。

STNの刺激条件は145Hzの高頻度矩形波で、刺激強度は200 μ Aである。

STN刺激の効果は、メタンフェタミン誘発回転運動、傾斜登りテスト、回転棒上歩行テストにより評価した。メタンフェタミン誘発回転運動では1分間の回転数を、傾斜登りテストでは歩行開始までの時間や歩数を、また、回転棒上歩行テストでは回転棒上に留まっている時間を指標に評価した。

このような検討の結果、軽症モデルでは、メタンフェタミン誘発回転運動が停止し、傾斜登りも著明に改善し、回転棒上歩行時間も増加することが分かった。重症モデルでは、いずれのテストでも改善効果は軽症モデルに劣った。また、傾斜登りテストの歩行開始までの時間が、STN刺激の効果を評価する上で最も鋭敏な指標であることが分かった。

以上の結果は、STN刺激療法は重度パーキンソン氏病の中でも比較的軽症の患者に、より有効である、という臨床事実と一致する。そして、申請者は、パーキンソン氏病モデルにおけるSTN刺激の効果は、傾斜登りテストという非常に簡便な方法によって十分な感度をもって評価できることを示した。申請者の研究内容は、STN刺激療法のメカニズムを探る上での重要な手法を提供するものである。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 本研究の臨床的意義について
- 2) 本研究で用いた行動評価の意味と臨床所見との関係
- 3) 視床下核刺激条件を200 μ Aにした理由
- 4) 高頻度刺激を用いた理由
- 5) 刺激が視床下核以外に波及している可能性はないか
- 6) 先行研究としてどのようなものがあるか
- 7) 6-OHDAの1か所注入と4か所注入で、ドパミン神経の傷害にはどの程度の差がみられたのか
- 8) モデル作成にmethylphenyltetrahydropyridinを使わなかったのはなぜか
- 9) STN刺激の臨床効果は、現在、どのような機序によると理解されているのか
- 10) 視床下核への電極留置部位の精度について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文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	森	則 夫				
	副査	中 原	大 一 郎	副査	宮 嶋	裕 明	