

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域 病態病理学教育研究分野 4年 氏名 船水章央
<p>(論文題目)</p> <p>Morphological dendritic spine changes of medium spiny neurons in the nucleus accumbens in 6-hydroxydopamine-lesioned rats treated with Levodopa</p> <p>(レボドパ反復投与によるパーキンソン病モデルラットの側坐核中型有棘細胞スパインの形態変化)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>緒言</p> <p>パーキンソン病 (PD) へのドパミン補充療法中に, しばしばドパミン調節異常症候群 (DDS) がみられることがある. DDS では病的な薬物への渴望による過剰内服などの行動障害がみられ, 側坐核を含む脳内報酬系の活性化がその原因として考えられてきた. そのため DDS の発症機序はコカインなどによる薬物中毒と類似していると考えられている. 近年の報告では, ラットの線条体において, パーキンソン病 (シナプス間隙のドパミンが減少した状態) では Medium spiny neuron (MSN) のスパイン密度は低下し, コカイン曝露下 (シナプス間隙のドパミンが増えた状態) ではスパイン密度は上昇していたことが示され, 線条体においての MSN のシナプス可塑性が証明されている. そこでわれわれは, 報酬系と密接に関連する側坐核において, 線条体と同様の形態学的変化が起きている可能性があるのではないかと考え, パーキンソン病モデルラット, レボドパ反復投与を行ったパーキンソン病モデルラットにおける側坐核ニューロンのスパイン形態変化について検討した.</p> <p>動物モデルの作成</p> <p>コントロール 8 匹, PD モデル 5 匹, レボドパ反復投与を行った PD モデル (PD-Levodopa モデル) 8 匹, レボドパ反復投与を行ったコントロールモデル (コントロール-Levodopa モデル) 6 匹を作成した. PD, PD-Levodopa モデルは週齢 10 週目に 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を内側前脳束へ注入し神経組織を破壊、その後 6-OHDA 注入により被殻, 線条体, 側坐核を含めた広範な部位にドパミン細胞脱落が起きていることをチロシンハイドロキシラーゼ免疫染色により確認した. また 6-OHDA 注入の 2 週後にアポモルフィン投与 (0.05 mg/kg) を行い回転運動が生ずることをもって、ドパミン脱神経が臨床的にも起きていることを確認した. PD-Levodopa モデルとコントロール-Levodopa モデルはレボドパ (100g/kg/day) 腹腔内投与を 1 日 2 回に分け 2 週間施行した.</p> <p>側坐核 MSN スパインの観察</p> <p>上記過程で作成した生後 20 週のラットを還流固定後, 側坐核を含む 250μm の冠状断脳切片を作成した. その後 DAPI により染色された側坐核 core, および shell の MSN ニューロンの細胞核を指標として細胞体に Lucifer Yellow を注入し可視化を行い, スパインの密度, およびスパイン頭部の体積を共焦点顕微鏡で観察した. 尚, スパインの観察は細胞体から 50-100μm 離れた位置で行った. 観察したスパインはニューロン顕微画像解析ソフトの「Neurolucida」を使用し解析を行った.</p> <p>結果</p> <p>各モデルの側坐核スパインの密度、およびスパイン頭部の体積を core と shell それぞれ</p>	

で観察した。PD モデルではコントロールに比べ有意に core と shell 両方でスパイン密度が低下していた。PD-Levodopa モデルでは PD モデルと比べ有意にスパイン密度が上昇していたが、コントロールとの有意差は認めなかった。一方、PD モデルのスパイン頭部の体積はコントロールとの有意差を認めなかったが、PD-Levodopa モデルでは PD モデルに比べ core と shell 両方でスパイン頭部の体積の上昇が認められた。また、core においては、PD-Levodopa モデルではコントロールに比べ有意にスパイン頭部の体積の上昇が認められた。また、コントロール-Levodopa モデルでは shell においてのみコントロールと比べ有意なスパイン頭部の体積上昇がみられた。

考察

スパイン密度について

側坐核 core および shell の両方においてドパミン脱神経によってスパイン密度が減少することが示された。その一方、レボドパ継続投与によりいったん減少したスパイン密度の減少がドパミン受容体に非生理的パルス状の刺激により回復することが示された。我々の研究結果は PD モデル、PD-Levodopa モデルにおいて側坐核に形態学的な変化が生ずることを証明した。過去の報告ではドパミン脱神経により被殻においてもスパイン密度の低下が起きることが報告されている。ドパミン脱神経によるスパイン密度の減少の機序は明確にされていないが、過去の報告ではドーパミン作用脱神経により、L-タイプ Ca²⁺ チャンネルを通しての MSNs へのカルシウム負荷が増加することによりスパイン低下が起きると提唱されている。

スパイン頭部の体積の変化について

ドパミン脱神経モデルに対するレボドパの持続投与は core と shell 両方においてスパイン頭部体積の上昇をおこした。スパイン頭部体積の可塑性には長期増強 (LTP) と長期抑圧 (LTD) が関わる。既存の報告ではコカイン慢性投与 24 時間後のラットの側坐核 core で頭部体積の少ない thin spine が減少し結果的に平均の頭部体積が上昇すると報告されている。この可塑性の変化がコカイン中毒による行動異常と関連している可能性があり、本研究で認められた頭部体積の変化が DDS で認められる行動障害と関連している可能性がある。

まとめ

6-OHDA 投与によるラットのドパミン脱神経モデルにおいて、レボドパの持続投与はジスキネジアを発症させるだけでなく MSN 樹状突起細胞のスパインを拡大した。コカインによる中毒で見られる行動異常とレボドパ慢性投与により発症する DDS は、ジスキネジアの発症と臨床的な類似点を共有する。側坐核の MSN スパインの頭部肥大は、コカイン投与後においても観察され、これは習慣性の依存に関連すると考えられる。本研究により、側坐核の MSN スパインの形態変化がレボドパ投与による DDS の発症と関連した病理学的目印の 1 つであることが示唆された。

- ※1 乙の場合、○○領域○○教育研究分野にかえて、所属の○○講座を記入すること。
- ※2 論文題目が英文の場合は () 内に和訳を付記すること。