

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

遺伝子改変マウスの神経活動を記録し、 パーキンソン病の病態生理を解明する

研究代表者 知見 聡美¹⁾

研究分担者 南部 篤¹⁾, 笹岡 俊邦²⁾

1) 生理学研究所 2) 新潟大学脳研究所 動物資源開発研究分野

研究要旨

パーキンソン病は、大脳基底核内のドーパミン作動性神経が変性、脱落することによって、無動、固縮、振戦などの重篤な運動障害を生じる疾患であり、有病率は10万人あたり100人程度と高く、病態解明が急がれている。本研究では、D1受容体とD2受容体を介するドーパミン神経伝達の消失がそれぞれ、パーキンソン病症状の発現にどのように寄与するのかを調べることにより、病態解明と効果的な治療法の開発を目指す。2023年度はD2受容体ノックダウンマウスの神経活動の記録実験を開始し、現在解析を進めている。確実な結果を得るために、2024年度も当該マウスにおいて実験を継続する予定である。

A. 研究目的

パーキンソン病 (PD) は、大脳基底核内のドーパミン作動性神経が変性、脱落することによって、無動、固縮、振戦などの重篤な運動障害を生じる疾患である。有病率は10万人あたり100人程度と高いが、その病態生理については、まだ不明な部分が多い。本研究では、D1受容体 (D1R) およびD2受容体 (D2R) を介したドーパミン神経伝達が、それぞれ大脳基底核内情報伝達と運動制御において果たす機能を解析することにより、PDの病態解明とより効果的な治療法の開発を目指す。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

本研究では主に、新潟大学脳研究所の笹岡俊邦教授らのグループが作製した2種類のコンディショナルノックダウンマウス (1) D1Rノックダウンマウス (D2Rの発現は正常でD1Rの発現がon/off可能)、(2) D2Rノックダウンマウス (D1Rの発現は正常でD2Rの発現がon/off可能) を用いる。2023年度はD2Rノックダウンマウスの神経

活動の記録実験を開始したが、現時点ではまだ十分なデータが得られていないため、6-OHDAを用いて作製したPDモデルマウスの神経活動と、D2Rノックアウトマウスとの比較を行い、D2RがPDにおける大脳皮質-大脳基底核経路の情報伝達異常に、それぞれどのように寄与するのかを考察した。麻酔下において手術を行い、頭部固定器具をマウスの頭蓋骨に装着し、内側前脳側に6-OHDAを投与した。2週間待ったのち、大脳皮質運動野の上肢および口腔顔面領域を同定して刺激電極を埋め込み留置した。マウス頭部を固定器具により無痛的にステレオ装置に固定し、大脳基底核ニューロンの活動を覚醒下で記録した。ドーパミン作動性ニューロンの主な投射先は、大脳基底核の入力部である線条体であり、線条体の直接路ニューロンはD1Rを、間接路ニューロンはD2Rを発現している。直接路ニューロンの投射先である淡蒼球内節 (Gpi) および間接路ニューロンの投射先である淡蒼球外節 (GPe) の神経活動を記録し、大脳皮質の電気刺激に対する応答様式を調べた。

動物飼育中には注意深く様子を観察し、健康状態を維持するように努め、動物が苦痛を感じる状態が長期

に亘り、回復が困難な場合には、ただちに安楽死の処置をとるようにした。

C. 研究結果

野生型マウスの GPi および GPe ニューロンはどちらも、大脳皮質の電気刺激に対して「早い興奮—早い抑制—遅い興奮」という3相性の応答を示す。PD マウスの GPi ニューロンでは、3相性の応答のうち抑制が消失し、2相性興奮の後に長い抑制が続くという応答様式が観察された。GPi における皮質由来の興奮は、運動の開始に必要な情報伝達を担う「直接路（大脳皮質—線条体—GPi 路）」を介して伝達されるが、PD では直接路を通る情報伝達が上手く行かなくなるため、運動の開始が困難になる「無動」が生じると考えられる。D2R ノックアウトマウスにおいても同様に、大脳皮質の電気刺激に対する GPi ニューロンの応答を調べたところ、野生型マウスに比べて3相性応答のうち遅い興奮の持続時間が著しく短く、遅い興奮の後に長い抑制が続くという応答様式が観察された。遅い興奮の後に長い抑制が続くというパターンは、PD マウスと共通していた。

また、PD マウスの GPe ニューロンでは、3相性応答のうち遅い興奮が著しく増強されていた。GPe における皮質由来の遅い興奮は、大脳皮質—線条体—GPe—視床下核—GPe 路を介して伝達されることが示されている。D2R ノックアウトマウスの GPe においても同様に、大脳皮質の電気刺激に対する応答様式を調べてみると、PD マウスと同様に遅い興奮の著しい増強が観察された。これらの結果より、PD では D2R を介するドーパミン神経伝達消失することにより、線条体の間接路ニューロンの興奮性が増強され、GPe における皮質由来の遅い興奮が増強されると考えられる。

2023 年度には D2R ノックダウンマウスの神経活動記録実験を開始した。現在はまだ十分なデータが得られていないため、2024 年度も当該マウスにおいて、D2R の発現が ON の時と OFF の時の GPi と GPe ニューロンの自発活動と大脳皮質の電気刺激に対する応答様式を同一個体で記録する実験を継続するとともに、自発運動量の変化についての解析を行う。

D. 考察

線条体の間接路ニューロンは D2R を発現しており、GPe に投射することが知られている。ドーパミンは D2R を介して線条体の間接路ニューロンに対して抑制的に作用するため、PD において D2R を介する神経伝達消失することにより、間接路を介する情報伝達が増強され、GPe における遅い興奮の増強に至ったと考えられる。一方で、線条体の直接路ニューロンは D1R を発現しており、GPi に投射することが知られている。PD マウスの GPi では、2相性の興奮の後に長い抑制が続くというパターンが観察された。一方、D2R ノックダウンマウスでは、3相性応答のうち遅い興奮の持続時間が著しく短く、後に長い抑制が続くという応答様式が観察された。遅い興奮の後に観察される長い抑制は PD マウスと共通していることから、D2R を介する情報伝達消失したことによって生じたものと考えられる。この抑制が生じるメカニズムを考えると、GPe から GPi には直接の GABA 作動性の抑制性入力があるため、GPe の増強された遅い興奮が GPi における強い抑制を生じさせた可能性があるが、GABA-A 受容体の拮抗薬を GPi に局所投与するなど、さらなる実験が必要である。

E. 結論

PD の GPi で観察される2相性興奮に続く長い抑制と、GPe で観察される皮質由来の遅い興奮の増強は、D2R を介する神経伝達消失したこと起因すると考えられる。2024 年度には、D2R ノックダウンマウスにおいて、GPi と GPe ニューロンの自発活動と皮質由来の応答様式を、D2R の発現が ON の時と OFF の時に記録して同一個体で比較するとともに、自発運動量の変化についても調べ、D2R を介する神経伝達の役割をはっきりさせたい。

F. 研究発表（上記課題名に関するもの）

1. 論文発表

1. Nambu A, Chiken S, Sano H, Hatanaka N, Obeso JA (2023) Dynamic Activity Model of Movement Disorders: The Fundamental Role of the Hyperdirect Pathway. *Mov Disord* 38: 2145-2150. (doi: 10.1002/mds.29646)

2. 学会発表

1. 知見聡美、南部篤（2023. 5. 26）不随意運動を生じる脳ーモデル動物の神経活動から考える．第 65 回日本小児神経学会（岡山）

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし