

論 文 内 容 要 旨

題目 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

(線条体から黒質、淡蒼球に投射する中型有棘細胞の $G\alpha_{olf}$ タンパクの発現はドパミン投与によって変化し、パーキンソン病モデルマウスにおける L-ドーパ誘発性ジスキネジア発症に関与する)

著者 Ryoma Morigaki, Shinya Okita, Satoshi Goto

平成 29 年 2 月 10 日発行 Frontiers in Cellular Neuroscience 第 11 巻に article 26 として発表済

内容要旨

【背景】ドパミン前駆体である L-ドーパはパーキンソン病 (PD) の治療薬として最も効果的であるが、繰り返し投与で時に L-ドーパ誘発性ジスキネジア (LID: L-Dopa-induced dyskinesia) を合併症として発症する。LID 発症は線条体の中型有棘細胞にて統合されるドパミン/cAMP シグナルと密接に関連している。Olfactory type G-protein α subunit ($G\alpha_{olf}$) は刺激性の GTP 結合タンパク質で、線条体に豊富に発現しており、ドパミン D1 受容体 (D1R: dopamine D1 receptor) およびアデノシン A2A 受容体 (A2AR: adenosine A2A receptor) と共役して cAMP を増加させる。 $G\alpha_{olf}$ は D1R および A2AR 依存性 cAMP 生成の律速因子であり、使用頻度依存性に増減する。D1R シグナルの増加と D2R シグナルの増加が LID 発症と関係していると仮定されているが、本研究では $G\alpha_{olf}$ タンパク質発現に着目しこの仮説を検証することを目的とした。

【方法】6-OHDA-HCl を C57BL/6 マウスの片側線条体に定局的に投与し、片側 PD モデルマウスを作成した。得られた片側 PD モデルマウスに連日 L-ドーパを投与することで片側 LID を誘発した。最終日に LID 評価後、還流固定を行い凍結切片を作成し、free-floating 切片を用いた免疫組織学的染色をチラミドシグナル増幅法にて行った。使用抗体は抗 $G\alpha_{olf}$ 抗体、抗 D1R 抗体、抗 D2R 抗体、

様式(8)

抗 A2AR 抗体、ドパミン産生細胞終末量の指標として抗チロシン水酸化酵素抗体、神経活性の指標として抗 c-fos 抗体、線条体ストリオソーム分画の指標として抗 μ -オピオイド抗体を使用した。2つの抗原の結合の評価に関しては proximal ligation assay 法を用いて行った。染色された線条体切片は電子顕微鏡にて撮像し写真濃度測定を用いて定量化を行った。統計解析は両側 Student-t 検定、1 要因もしくは 2 要因分散分析を用いて行った。P < 0.05 を有意な差とした。

【結果】 正常マウスにおいて $G\alpha_{olf}$ の発現はストリオソーム分画に豊富であるが、PD のドパミン枯渇側においてはストリオソーム、マトリックス両分画にて正常側に対し有意に増加しており、この上昇は D1R と $G\alpha_{olf}$ の結合を増加させていた。LID では PD と比較してマトリックス分画のみで有意に低下していたが、この低下は A2AR と $G\alpha_{olf}$ の結合低下によるものであった。PD、LID に L-ドーパを投与すると、PD ではコントロールに比し D1R シグナルの増加、LID では A2AR シグナルの減少が認められた。LID において PD より D1R シグナルは減少していたが、依然コントロールより増加していた。

【考察】 PD におけるドパミン枯渇は D1R ニューロンの $G\alpha_{olf}$ の使用を減らし、 $G\alpha_{olf}$ は貯留し D1R シグナルを増加させる。LID においては繰り返しの D1R 刺激が D1R ニューロンの $G\alpha_{olf}$ を減少するため D1R シグナルは減少する一方で、繰り返しの D1R 刺激は NMDA 受容体を刺激しアデノシン量を増加させ、A2AR ニューロンの $G\alpha_{olf}$ を減少し、A2AR シグナルを減少する（結果 D2R シグナルを増加する）と考えられた。以上、 $G\alpha_{olf}$ 発現量が D1R シグナルと A2AR シグナルを増減し、LID 発症に密接に関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1341 号	氏名	森垣 龍馬
審査委員	主査 梶 龍兒 副査 井本 逸勢 副査 常山 幸一		

題目 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

(線条体から黒質、淡蒼球に投射する中型有棘細胞の $G\alpha_{olf}$ タンパクの発現はドパミン投与によって変化し、パーキンソン病モデルマウスにおける L-ドーパ誘発性ジスキネジア発症に関与する)

著者 Ryoma Morigaki, Shinya Okita, Satoshi Goto

平成 29 年 2 月 10 日発行 Frontiers in Cellular Neuroscience 第 11 巻に article 26 として発表済

(主任教授 島田 光生)

要旨 ドパミン前駆体である L-ドーパはパーキンソン病(PD)の治療薬として最も効果的である。しかし、繰り返し投与により、L-ドーパ誘発性ジスキネジア(LID: L-dopa-Induced Dyskinesia)を発症する場合がある。LID 発症は線条体の中型有棘細胞にて統合されるドパミン/cAMP シグナルと密接に関連している。刺激性の GTP 結合タンパク質である Olfactory type G-protein α subunit($G\alpha_{olf}$)は、線条体においてドパミン D1 受容体(D1R)およびアデノシン A2A 受容体(A2AR)と共役することにより cAMP の増加作用を示す。しかし、 $G\alpha_{olf}$ と LID 発症との関連性は明らかにされていない。

申請者らは、LID の発症機序における役割を明らかにするために、 $G\alpha_{olf}$ に着目して本研究を行った。方法は 6-OHDA を C57BL/6

マウスの片側線条体に定位的に投与し、PDモデルを作製した。さらに連日L-ドーパ投与によるLIDモデルを作製した。コントロール、PDモデル、LIDモデルにおける $G\alpha_{olf}$ 、D1R、A2ARの発現を免疫組織学的に解析した。シグナル反応性の指標としてc-fos発現を調べた。

得られた結果は以下の如くである。

1. PDモデルのドーパミン枯渇状態において、 $G\alpha_{olf}$ 発現が貯留性に増加し、D1Rシグナル反応性の増加が認められた。
2. LIDモデルでは、線条体マトリックスにおける $G\alpha_{olf}$ の発現がPDモデルより減少しており、D1Rと $G\alpha_{olf}$ との共役作用およびD1Rシグナル反応性の低下がみられた。
3. LIDモデルにおいてのみA2ARおよび $G\alpha_{olf}$ の発現や共役作用が低下しており、D2Rシグナル反応性の増加が推察された。

以上、LIDの発症機序として線条体投射神経経路における $G\alpha_{olf}$ 発現がD1RあるいはA2ARとの共役作用に関与し、D1RあるいはD2Rシグナル反応性に影響することをPDおよびLIDモデル動物を用いて初めて明らかにした。今後、LIDに対する治療法の開発に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。