

51. モノアミン入力による大脳基底核出力制御機構の解析

一瀬 宏

Key words : 大脳基底核, ドーパミン, ビオプテリン,
ノルアドレナリン, ノックアウトマウス

東京工業大学
大学院生命理工学研究科

緒 言

大脳基底核は、感覚入力から受け取ったさまざまな情報を統合して行動選択や意志決定を行う神経核として働いている。線条体は大脳基底核の主要な入力部として大脳皮質からの広範な投射を受け、情報を大脳基底核の他の神経核に伝えている。線条体に存在する2つのコンパートメントであるストリオソームとマトリックスでは、発現している遺伝子のプロファイルや、入力先や出力先などの神経連絡が異なっているため機能的に何らかの差異があると考えられているが詳細は明らかになっていない。

我々は、ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどのモノアミン生合成に必須なテトラヒドロビオプテリン (BH4) の生合成欠損マウスに、遺伝子工学的手法を用いてノルアドレナリンニューロンではBH4を生合成できるようにして、ノルアドレナリンは正常レベルであるがドーパミンとセロトニンは欠乏状態にあるマウス (*DPS-Pts^{-/-}*マウス) を作製して解析した。その結果、このマウスでは、ストリオソームにおけるチロシン水酸化酵素 (TH) の免疫反応性が低下し、ジストニア様運動障害を発症することが判明した¹⁾。

それに対して、BH4のマイルドな欠乏を示すセピアプテリン還元酵素ノックアウトマウス (*Spr-KO* マウス) では、モノアミン全般が野生型と比べて約4分の1に低下しているが、ストリオソームにおけるTH免疫反応性は低下していなかった²⁾。さらに、*Spr-KO* マウスでは振戦様の前肢の震えや寡動が観察された³⁾。そのため、*Spr-KO* マウスと *DPS-Pts^{-/-}*マウスを比較検討することは、大脳基底核へのノルアドレナリン入力の意義や、ジストニア・パーキンソン症の発症機構を明らかにする手掛かりになると考えられる。

本研究では、*Spr-KO* マウスにおける振戦様震えや大脳基底核の反応機構の違いを電気生理学的手法を用いて解析し、*DPS-Pts^{-/-}*マウスとの比較検討からノルアドレナリン入力の有無による大脳基底核機能の変化について検討した。

方 法

筋電図の解析では、*Spr-KO* マウスをソムノペンチルまたはイソフルランによる麻酔下に、一部の皮膚を切開して上腕二頭筋および上腕三頭筋に針電極を刺入した。マウスが麻酔から覚醒後に、無拘束の状態です筋電図を計測した。また、筋電図にドーパ投与の与える影響を解析するために、50 mg/kg の L-DOPA をマウス腹腔に投与して10分後における筋電図の変化を解析した。

本研究で行った動物実験は、東京工業大学の動物実験に関わる倫理委員会に申請し、委員会の承認のもとに行った。

結 果

我々は以前、ほとんどの *Spr-KO* マウスは生後3週齢前後までしか生存できないことを報告した³⁾。行動解析など詳細な解析を行うためには *Spr-KO* マウスを成獣になるまで生存させることが必要であった。マウスの遺伝的背景を C57Black/6 から Balb/C 系に変えたところ、顕著に生存期間が延長し半数近くのマウスが生後8週齢を超えて生存することがわかった。さらに、C57Black/6 と Balb/C の交配により産まれる F1 世代のマウスを調べたところ、3ヶ月 (12週齢) での生存率が約60%にまで増加し、12ヶ月齢でも生存しているマウスを得ることができた⁴⁾。

成獣となった *Spr*-KO マウスは、大きさが野生型の半分ほどしかなかった。さらに、胸椎の前屈、眼瞼下垂などが認められた。



図1. 成獣 *Spr*-KO マウスの写真。
胸椎の屈曲，眼瞼下垂，異常な食行動が認められた。

胸椎の前屈は、パーキンソン病患者や高齢者でみられる背骨の屈曲との関連から興味深い。また、眼瞼下垂もパーキンソン病患者でも認められる症状である。さらに、餌を手で抱え込むようにしてずっと食べ続ける異常な食行動がみられた。ずっと食べ続けているにもかかわらず、*Spr*-KO マウスの身体は小さくやせこけている。解剖してみると胃の中が餌でいっぱいとなっていたが、胃内に滞留しており胃が膨れた状態となっていた。BH4 を補酵素として要求する一酸化窒素合成酵素のノックアウトマウスでは、肥厚性幽門狭窄 hypertrophic pyloric stenosis が報告されており、*Spr*-KO マウスでも幽門狭窄が起きている可能性が考えられた。

長期生存した *Spr*-KO マウスでは、振戦に似た前肢の震えが観察されていたため³⁾、震えの発症機構を探るために筋電図の解析を行った。その結果、*Spr*-KO マウスでは動いていないときにも上腕二頭筋と上腕三頭筋の同期した収縮が観察された。このような同期した収縮は、野生型マウスでは観察されなかった。さらに、L-DOPA 投与の影響を検討したところ、L-DOPA 投与により拮抗筋の同期した収縮が消失することが判明した。

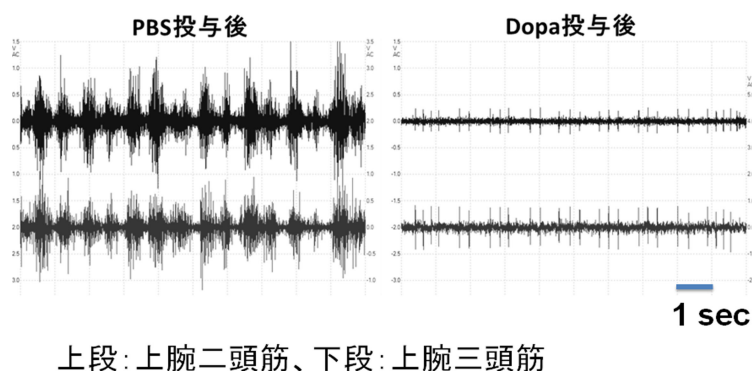


図2. *Spr*-KO マウスから記録された筋電図。
Spr-KO マウスの拮抗筋のリズミカルな同期した収縮がL-DOPA 投与により消失した。

この顕著な拮抗筋の同期した収縮がパーキンソン病の振戦あるいは固縮を反映するものであるか、今後さらに解析を進めていく。

また、*Spr*-KO マウスにおける大脳基底核の情報処理過程における変化を解析するために、淡蒼球外節および内節において細胞外記録を行った。その結果、大脳皮質運動野の電気刺激の際に現れる三相性の電位変化（興奮->抑制->遅い興奮）のうち、遅い興奮が野生型に比べて *Spr*-KO マウスの淡蒼球外節で異常に増強していることを見出した。

考 察

近年提唱されているパーキンソン病の病態進展における Braak の理論では、パーキンソン病の病理は迷走神経背側核から始まり、その後に青斑核をふくむ橋被蓋へ進展し、パーキンソン病の運動障害発現の主な責任病巣と考えられる黒質障害はその後のステージ 3 以降になってから初めて生じ、そして、最終的には大脳にまで病変が進展していくと主張されている。つまり、Braak 仮説によればパーキンソン病ではドーパミンニューロンよりノルアドレナリンニューロンの障害が先行して起きていることとなる。これまでも剖検脳の生化学的所見から、パーキンソン病患者脳ではドーパミンだけでなく、ノルアドレナリンやセロトニンなど他のモノアミンも低下していることは報告されているが、パーキンソン病症状の発現におけるノルアドレナリンニューロンやセロトニンニューロンの関与については未解明な点が多い。

Spr-KO マウスは上述のように、ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニンの 3 種のモノアミンがすべて低下しており、これまでのマウスパーキンソン病モデルでは見られなかったような胸椎の屈曲や眼瞼下垂、異常な筋活動などの症状を呈する。ドーパミンとセロトニンだけの欠乏状態にある *DPS-Pts*^{-/-} マウスとは明らかに症状が異なっており、ノルアドレナリン入力の有無による大脳基底核機能の解析に有用と考えられるので、今後さらに解析を進めていく予定である。

共同研究者

本研究の共同研究者は、旭川医科大学脳機能医工学研究センターの高草木 薫教授、自然科学研究機構生理学研究所の南部 篤教授および知見聡美博士、東京工業大学大学院生命理工学研究科の本間大悟および久保田 光である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Sato, K., Sumi-Ichinose, C., Kaji, R., Ikemoto, K., Nomura, T., Nagatsu, I., Ichinose, H., Ito, M., Sako, W., Nagahiro, S., Graybiel, A. M. & Goto, S. : Differential involvement of striosome and matrix dopamine systems in a transgenic model of dopa-responsive dystonia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105** : 12551-12556, 2008.
- 2) Homma, D., Sumi-Ichinose, C., Tokuoka, H., Ikemoto, K., Nomura, T., Kondo, K., Katoh, S. & Ichinose, H. : Partial bipterin deficiency disturbs postnatal development of the dopaminergic system in the brain. *J. Biol. Chem.*, **286** : 1445-1452, 2011.
- 3) Takazawa, C., Fujimoto, K., Homma, D., Sumi-Ichinose, C., Nomura, T., Ichinose, H. & Katoh, S. : A brain-specific decrease of the tyrosine hydroxylase protein in sepiapterin reductase-null mice--as a mouse model for Parkinson's disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **367** : 787-792, 2008.
- 4) Homma, D., Katoh, S., Tokuoka, H. & Ichinose, H. : The role of tetrahydrobiopterin and catecholamines in the developmental regulation of tyrosine hydroxylase level in the brain. *J. Neurochem.*, **126** : 70-81, 2013.