

氏 名 DWI WAHYU INDRIANI

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 1848 号

学位授与の日付 平成28年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Basal ganglia activity in a mouse model of dyskinesia

論文審査委員 主 査 教授 川口 泰雄
教授 南部 篤
教授 吉村 由美子
教授 高田 昌彦 京都大学

論文内容の要旨
Summary of thesis contents

The basal ganglia (BG) are a group of nuclei located at the base of forebrain and receive inputs from the cerebral cortex (Cx) and send outputs to the originating Cx via the thalamus. The striatum (Str) and subthalamic nucleus (STN) are two major input stations of the BG. The output stations of the BG are the internal segment of the globus pallidus (GPi or entopeduncular nucleus in rodents) and substantia nigra pars reticulata (SNr). Three BG pathways connect input and output stations: the ‘direct’, ‘indirect’ and ‘hyperdirect’ pathways. The direct pathway arises from GABAergic striatal neurons and projects monosynaptically to the GPi/SNr. The indirect pathway derives from GABAergic striatal neurons and projects polysynaptically to the GPi/SNr through sequential connections of the external segment of the globus pallidus (GPe or GP in rodents) and STN. The hyperdirect pathway arises from glutamatergic STN neurons that receive direct cortical inputs and projects to the GPi/SNr.

The BG plays an important role in the execution of voluntary movement and motor learning. Dysfunction of the BG results in inability to control movements that can be seen in Parkinson’s disease (PD) and Huntington’s disease. PD is a neurological disorder that is caused by loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta (SNc), which project to the Str. Reduced dopamine signals in the Str lead to the appearance of its cardinal symptoms, including bradykinesia/akinesia, tremor at rest, and rigidity. These PD symptoms can be successfully treated by dopamine supplement therapy: Dopamine precursor L-dopa (levodopa) is administered and is converted to dopamine in the brain. Although L-dopa remains as gold standard for PD treatment, the progression of the disease and long-term L-dopa treatment induce motor complications. Most PD patients experience shorter motor response to each medication dose, known as wearing-off fluctuation, often accompanied with the appearance of dyskinesia. L-dopa-induced dyskinesia (LID) denotes an idiosyncratic mixture of choreiform (repetitive, jerky, and rapid involuntary movement) and dystonic (sustained muscle contraction) movements. Once LID appears, the same involuntary movements occur on every administration of L-dopa. Thus, prolonged L-dopa treatment should induce irreversible changes in the BG. In the present study, we recorded neuronal activity in the GP and SNr from LID mice in awake conditions and tried to elucidate electrophysiological mechanism underlying LID.

PD model mice were generated by injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the medial forebrain bundle. Behavioral changes were observed to evaluate PD symptoms after 6-OHDA lesion. Then L-dopa was intraperitoneally injected

(別紙様式 2)
(Separate Form 2)

repeatedly until the mice develop LID. Spontaneous neuronal activity and response to motor cortical stimulation were recorded in the GP and SNr from normal mice, PD mice, LID mice during “dyskinesia-off” period (at least 24 hours after last L-dopa treatment), and LID mice during “dyskinesia-on” period (during 20-120 minutes after L-dopa treatment when mice develop dyskinesia) in awake conditions.

The following results were obtained: (1) Spontaneous activity of GP and SNr neurons showed a little changes in term of its firing rate, irregularity and number of bursts in disease states compared to control state. (2) Cortically evoked inhibition of GP neurons in PD, dyskinesia-off and dyskinesia-on states was increased compared to control state, and late excitation of GP neurons was increased in PD and dyskinesia-off states. (3) Cortically evoked inhibition and late excitation of SNr neurons were decreased in PD and dyskinesia-off states. In dyskinesia-on state, cortically evoked inhibition of SNr neurons was prolonged compared to control, PD and dyskinesia-off state, and late excitation was decreased compared to control state.

Based on the dynamic model of the BG function, signals through the Cx-STN-SNr hyperdirect pathway excite the SNr. Then, signals through the Cx-Str-SNr direct pathway inhibit the SNr and release appropriate movements, and finally signals through the Cx-Str-GP-STN-SNr indirect pathway excite the SNr again and stop movements released by the signals through the direct pathway. This model can be used to explain the results of the present study. In PD state, inhibition through the direct pathway is significantly decreased; as a result, signals through the direct pathway cannot release movements, resulting in akinesia. In dyskinesia-off state, inhibition through the direct pathway remains decreased and excitation through the indirect pathway is decreased. As a result, release signals through the direct pathway are still weak to release movements. In dyskinesia-on state, inhibition through the direct pathway is restored to normal level and excitation through the indirect pathway is significantly decreased; as a result, stop signals are reduced, and dyskinesia is induced.

(別紙様式 3)
(Separate Form 3)

博士論文の審査結果の要旨

Summary of the results of the doctoral thesis screening

パーキンソン病は黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンが変性・脱落することにより、脳内のドーパミンが減少する神経変性疾患で、無動・寡動、安静時振戦、筋固縮を主症状とする。パーキンソン病の治療には、ドーパミンの前駆体であるL-ドーパを投与する補充療法が有効である。しかし、病気の進行と長期間のL-ドーパ投与により、ジスキネジアと呼ばれる不随意運動が誘発される（L-ドーパ誘発性ジスキネジア、LID）。LIDが一旦誘発されると、毎回のL-ドーパ投与時に不随意運動が出現する。これは長期間のL-ドーパ投与により大脳基底核に潜在的变化が生じたためであると考えられる。そこで、長期間のL-ドーパ投与による大脳基底核の潜在的变化と、LIDのメカニズムを解明するため、ジスキネジアモデルマウスの淡蒼球（GP、霊長類では淡蒼球外節に相当）および黒質網様部（SNr）から覚醒下で神経活動を記録した。

マウスの一側の内側前脳束にドーパミン神経毒である6-ヒドロキシドーパミン（6-OHDA）を注入することによりパーキンソン病（PD）モデルマウスを作製した。次にL-ドーパ腹腔内投与を11日間続けると、ジスキネジアを示すようになった。GPおよびSNrから自発発射と、大脳皮質を電気刺激した際の発火応答を、コントロール（薬物注入なし）、PD、ジスキネジア-off（直近のL-ドーパ投与から24時間経過）、ジスキネジア-on（L-ドーパ投与後20分後、ジスキネジアを示している）の各状態で調べたところ、以下のような結果が得られた。（1）GPおよびSNrの自発発射頻度、自発発射パターンは、コントロール、PD、ジスキネジア-off、ジスキネジア-onの各状態において、少ししか変化していなかった。（2）コントロールマウスで大脳皮質運動野を刺激すると、GPおよびSNrで一過性の「早い興奮-抑制-遅い興奮」という3相性の応答が認められる。GPで観察される大脳皮質由来の抑制は、コントロールと比べてPD、ジスキネジア-off、ジスキネジア-on状態において増強していた。（3）SNrで観察される大脳皮質由来の抑制は、PD、ジスキネジア-off状態で失われていた。（4）ジスキネジア-on状態では、SNrの大脳皮質由来の抑制が増強され、遅い興奮は減少していた。（5）内側前脳束に、6-OHDAの代わりに生理的食塩水を注入したマウスにL-ドーパを連続投与しても、不随意運動はおこらなかった。また、GPおよびSNrの自発発射、大脳皮質由来の応答の変化も小さかった。

これまでの研究から、SNrにおける抑制は直接路（大脳皮質-線条体-SNr）を介して運動の開始に作用し、遅い興奮は間接路（大脳皮質-線条体-GP-視床下核-SNr）を介して、直接路によって開始された運動を終わらせると考えられている。この運動制御のモデルと今回の結果を考え合わせると、ジスキネジア-on状態では、直接路を介した運動促進が過剰に回復するとともに、間接路を介した運動停止のシグナルが減弱した結果、ジスキネジアが誘発されると考えられる。また、ジスキネジア-off状態でも運動停止のシグナルが減弱しており、これがL-ドーパ投与による大脳基底核の潜在的变化であると考えられる。

本研究は、ジスキネジア形成を大脳基底核の発火頻度変化だけでなく、大脳皮質入力を黒質網様部に伝える複数の経路での神経伝達異常として初めて捉えたものである。この結

(別紙様式 3)

(Separate Form 3)

果は病態生理学的意義が非常に大きく、審査委員会は全員一致で本論文が学位に値する内容を有していると判断した。