

氏 名	山 田 浩 雅
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 (論) 第 3 4 5 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 9 年 9 月 1 2 日
学 位 論 文 題 目	Immunohistochemical detection of L-DOPA-derived dopamine within serotonergic fibers in the striatum and the substantia nigra pars reticulata in Parkinsonian model rats. (パーキンソン病モデルラットの線条体と黒質網様部における L-DOPA からドーパミンへの変換にはセロトニンニューロンが関わる：免疫組織化学的研究)
審 査 委 員	主 査 教 授 山 田 尚 登 副 査 教 授 柏 木 厚 典 副 査 教 授 藤 山 佳 秀

論文内容要旨

※整理番号	349	(しめい) 氏名	やまだ ひろまさ 山田 浩雅
学位論文題目	Immunohistochemical detection of L-DOPA-derived dopamine within serotonergic fibers in the striatum and the substantia nigra pars reticulata in parkinsonian model rats (パーキンソン病モデルラットの線条体と黒質網様部におけるL-DOPAからドーパミンへの変換にはセロトニンニューロンが関わる:免疫組織化学的研究)		
<p>【目的】</p> <p>パーキンソン病(以下 PD とする)の病因は、黒質のドーパミン細胞死とその神経終末の変性によって線条体のドーパミンが枯渇することである。L-DOPA の投与は現在でも最も効果的な PD の薬物療法である。最近、線条体内のドーパミン含量を維持するのはドーパミン細胞だけでなくセロトニンニューロンが関与しているという証拠が示されているが PD での L-DOPA の動態については未解明のままである。そこで本研究では黒質へ 6-OHDA を片側に注射することによって PD モデルラットを作成し、投与された L-DOPA がセロトニンニューロンによってもドーパミンに変換されるかどうかを免疫組織化学的に検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>1) PD モデルラット作成 : Sprague-Dawley ラットの黒質内に 6-hydroxydopamine を片側性に注射した。1 週間後、apomorphine で誘発される異常回転運動を示したラットを PD モデルと見なした。この PD モデルラットのうち、Carbidopa と L-DOPA を腹腔内投与したものを実験群とし、生理食塩水を注射したものを対照群とした。</p> <p>2) 二重染色免疫組織化学的方法 : ラットは、グルタルアルデヒドで灌流固定し、摘出脳をビブラトームで薄切した。1 次抗体にセロトニンアゴニスト・ラビット抗体(ラビット抗血清)とドーパミンアゴニスト・マウス抗体(マウス抗血清)を用いて切片を浸透させた。2次抗体には、セロトニンにはフルオレッセインを、ドーパミンには Cy3 を用いて標識した。染色切片は、共焦点レーザースキャン顕微鏡(LSM510、Zeiss) 下で観察した。ドーパミン黒質線条体経路の損傷を評価するため、黒質と線条体をドーパミン生物合成の標識酵素であるチロシン水酸化酵素で免疫染色した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】

チロシン水酸化酵素の黒質および線条体の免疫染色では、非傷害側は正常に染色されていたが、傷害側の SNC, SNR, ST におけるドーパミンニューロンは消失していた。

対照群の PD モデルラットでは、線条体のセロトニン陽性バリコシテティ線維は、傷害側でも非傷害側でもドーパミン陰性であった。同様に黒質網様部のセロトニン陽性バリコシテティ線維は、傷害側でも非傷害側でもドーパミン陰性であった。背側縫線核においては、セロトニン陽性の神経細胞体はドーパミンには陰性であった。

実験群の PD モデルラットでは、線条体のセロトニン陽性バリコシテティ線維は、傷害側でも非傷害側でもドーパミン陽性でセロトニンとドーパミンが共存していた。黒質網様部では、ほとんどのセロトニン陽性バリコシテティ線維はドーパミン陽性であった。背側縫線核においては、セロトニン陽性の神経細胞体はドーパミン陽性になった。

【考察】

これまでの我々の研究で、線条体セロトニン線維は AADC をもっていること、セロトニン神経除去で PD モデルラットの線条体の L-DOPA から生じる細胞外ドーパミン濃度が減少すること、小胞性アミノトランスポーターを抑制するレセルピン前療法で、PD モデルラットの線条体内の細胞外ドーパミンの増加は減少したということがわかっている。本研究では、セロトニンニューロンが L-DOPA をドーパミンに変換する可能性が高いことを、PD モデルラットを用いた形態学的研究としては初めて明らかにした。

線条体内では通常ドーパミンは D1、D2ドーパミン受容体に拡散伝達されている。PD モデルラットでセロトニン線維から代償的に放出されたドーパミンも同様に拡散伝達されることが考えられる

本研究ではさらに、黒質網様部のセロトニンバリコシテティおよび縫線核のセロトニンニューロンが PD モデルラットでは L-DOPA 投与後ドーパミン陽性になることを明らかにした。

黒質緻密部のドーパミンニューロンは橋脚核、視床下部、前頭葉皮質、上丘から入力線維を受け、背側縫線核は外側手綱核、視床下部、大脳皮質等から入力線維を受けることが分かっている。これらの求心性線維は黒質緻密部のドーパミンニューロンの興奮性を調節する上で重要な役割を担うと考えられる。

【結論】

PD モデルラットでは、線条体と黒質網様部にあるセロトニン線維内で外部から注入された L-DOPA がドーパミンに変換されることを免疫組織学的に証明した。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	349	氏名	山田 浩 雅
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>一側黒質を 6-OHDA で傷害してパーキンソン病 (PD) モデルラットを作成し L-DOPA がセロトニンニューロンによってドーパミンに変換されるかどうかを免疫組織化学的に検討した。その結果：1) 線条体では対照群のセロトニン陽性線維は傷害側でも非傷害側でもドーパミン陰性であったが実験群ではセロトニン陽性線維は傷害側でも非傷害側でもセロトニンとドーパミンが共存していた。2) 黒質網様部でも線条体と同様の結果が得られた。3) 背側縫線核のセロトニン細胞では対照群ではドーパミン陰性であったが実験群ではドーパミンが共存していた。</p> <p>本研究では：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) セロトニンニューロンによる L-DOPA からドーパミンへの変換を PD モデルラットで明らかにした。 2) 線条体と黒質網様部の両方で上記の所見を形態学的に明らかにした。 3) 背側縫線核は外側手綱核、視床下部、大脳皮質等から入力線維を受ける。これらの求心性線維は脳内ドーパミンレベルを調節する役割を担うと考えられる。 <p>本論文はパーキンソン病の病態の解明と治療の向上に寄与するものであり、博士 (医学) の学位授与に値する。</p>			
(平成 19 年 8 月 29 日)			