

学位論文要旨

PET イメージングとサル類モデルの組み合わせによる脳神経疾患および高次脳機能の基礎的研究

The basic study for brain disorders and higher brain function by combination of PET imaging and monkey models

永井 裕司

Nagai Yuji

平成 29 年度

2017

脳機能は、特定の機能を担当する多数の神経細胞からなる集団が形成され、それらがネットワークを構築して協調することで生み出されると考えられている。またそれらネットワークが破綻することで精神神経疾患が発症すると考えられる。脳機能の異常がきたす疾患は多岐にわたり、その病態解明のために患者を対象とした研究のみならず多くの疾患モデル動物が用いられ様々な知見が得られている。特にサル類は解剖学的・生理学的な相同性が高く、ヒトと同様の高次脳機能を有し、生物学的基盤に関する知見が豊富に存在することから妥当性の高いモデル動物として利用されている。

生きたまま生体の情報が得られる画像診断法は他にはない有用な情報を与えてくれる。そのうちインビボ核医学診断法に分類される陽電子放射断層撮像 (PET) は、同じ断層像が得られる MRI などに比べ空間解像度は劣るが、血流量や代謝活性、受容体密度などの機能分子を高感度で定量的に評価できる手法である。サル類は研究に利用できる個体数が限られるため、同一個体から様々な情報を得るのに PET は有用な方法の 1 つであり、サル類モデルとの組み合わせは脳神経疾患の病態や脳機能の機序の解明に重要な役割を果たしている。

本研究では 2 つの疾患モデルと PET を組み合わせた研究を行った。1 つ目は、ドーパミン (DA) 神経毒 MPTP の反復投与によるパーキンソン病 (PD) モデルサルの DA 神経系の経時変化に関する研究である。パーキンソン病は黒質線条体 DA 神経の進行性の変性・脱落という病理学的な特徴を有する疾患である。発症に至る過程は長期に渡るため、早期発見は重要な課題の 1 つであった。MPTP はドーパミン神経を選択的に変性・脱落させる神経毒である。これをカニクイザルに反復投与し、MPTP 投与前から PD 様症候 (特に振戦) が発現するまで行動学的評価および線条体 DA

神経系バイオマーカーの PET 測定を経時的に行った。その結果、DA 神経終末を反映する DA トランスポーター (DAT) 密度および DOPA 利用能が振戦発現前から有意に低下し、それとともに自発運動量も有意に低下した。特に DAT は振戦発現時に 80% 以上の低下を認めており、PD 患者死後脳研究において線条体の DA 神経終末が 80% 以上脱落していることと一致していた。一方、後シナプス機能を評価する DA D₂ 受容体密度や他の行動指標に有意な変化は認められなかった。以上のことから、PET による線条体 DAT 密度測定は PD モデルサルの DA 神経変性を鋭敏に捉えることが出来、行動指標は自発運動量が最も適していると示唆された。

2 つ目はトゥレット症候群 (TS) モデルサルの音声チック発現時に認められる側坐核および関連する辺縁系回路の異常に関する研究である。TS は、咳払いや奇声を繰り返し発してしまう音声チックと、まばたきや顔しかめなどの動きを繰り返してしまう運動チックを特徴とする神経発達障害である。音声チックが重篤な場合、公共の場で大きな吠え声をあげたり、社会的に受け入れられない言葉を発してしまう汚言症を呈したり、自身の肉体的・精神的苦痛だけでなく、社会生活にも大きな影響を及ぼすことがある。運動チックは適切なモデル動物が存在し研究が進んでいるが、音声チックモデルは存在せず、必ずしも全ての患者に有効な治療法も開発されていなかった。そこで 5 頭のサルに対して線条体の一部である側坐核に GABA 拮抗薬のビククリンを局所投与して神経活動を脱抑制したところ、異常で複雑な発声を繰り返し誘発させることに全頭成功した。側坐核は辺縁系回路に属し、その回路には自発的な発声制御に重要な前部帯状皮質 (ACC) が含まれている。その辺縁系回路を含め脳活動が音声チック発現時にどのような変化をもたらすのか脳血流 PET 測定を実施した。その結果、辺縁系回路に属する ACC や扁桃体、海馬の脳血流が運動チック出現時に比

有意に増加していた。さらに側坐核、ACC、一次運動野という3つの部位から局所フィールド電位(LFP)を同時記録したところ、音声チック発現タイミングと一致して異常な神経放電の指標となるLFPスパイクが3部位において確認され、それらのLFPスパイクは同期していたことから、これら3部位間の同期による異常な脳内ネットワークの活性化によって音声チックが誘発されたと考えられた。

このようにモデルサルとPETを組み合わせて、脳内機能分子と神経活動や行動との関係を検証する方法は、疾患の病態研究や脳機能研究に今後も活用されると考えられるが、上記に示したモデルは侵襲性が高く、MPTPなどは不可逆的な変化も含まれるため、モデルを再現性高く作成するには高度な技術が必要とされる。モデルサルを使用して脳機能を調べる時、侵襲性が低く、特定の神経活動を一定期間繰り返し操作でき、広い脳領域をカバーできることが理想的な条件として挙げられる。それらを実現する方法の1つとして化学遺伝学的技術DREADDがある。近年の遺伝子導入技術の進歩により、DREADD発現ウイルスベクターを脳の局所に感染させ、DREADDを介して神経活動を操作することが可能となっている。DREADDの1つである変異型ヒトムスカリン性アセチルコリン4受容体(hM4Di)を標的の神経集団に発現させたとき、内在性受容体には活性のない物質clozapine-N-oxide(CNO)の全身投与によってその神経集団の活性は一時的に抑制される。この手法はげっ歯類を用いた多くの研究に用いられているが、意図したように化学遺伝的抑制を達成するためには、hM4Diを標的部位に正確に発現させるとともに神経活動を抑制するのに十分高いレベルで発現させる必要がある。またその検証には受容体発現量を確認するための組織学的解析や受容体と活性物質の結合特性をex vivoで解析する必要があったため、研究に利用できる個体数が限られ

るサルでは、このような遺伝子導入技術を応用した脳機能の操作に成功した研究例はごく少数だった。

そこでサル脳への DREADD 導入効率化のため、hM4Di の発現を PET イメージングする手法を開発した。線条体の一部である被殻に hM4Di ベクターを投与し PET 薬剤 ^{11}C -clozapine (^{11}C -CLZ) で PET 測定したところ ^{11}C -CLZ の高い集積を認め、その範囲が組織染色と一致していたことから、hM4Di 発現を PET で可視化できたと示唆された。次に過去の知見から報酬系回路の一部と考えられている吻内側尾状核に hM4Di 遺伝子発現ウイルスベクターを投与し、 ^{11}C -CLZ-PET により hM4Di 発現場所を確認した後、CNO により hM4Di を活性化させたところ、サルの報酬価値判断をはっきりと繰り返し変化させることに成功し、吻内側尾状核が報酬価値判断に重要であることが判明した。

PET とモデルサルの組み合わせによる脳機能および脳神経疾患研究は、今後も重要な研究手法として活用され、特に DREADD のような遺伝子導入法との組み合わせにより、これまでできなかった神経細胞種や神経回路特異的な操作の実現が理論上可能となり、より詳細な精度の高い研究の推進が期待される。