

ラット大脳基底核の転写調節因子発現とグルタミン酸
受容体リン酸化との関連

課題番号：14570935

平成14年度～平成15年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C) (2))
研究成果報告書

平成16年 4 月

研究代表者 石田康

(宮崎大学医学部精神医学講座 教授)

はしがき

本報告書は文部科学省科学研究費補助金基盤研究（C）（2）の助成のもとに行った「ラット大脳基底核の転写調節因子発現とグルタミン酸受容体リン酸化との関連」の研究成果をとりまとめたものである。当初の計画がすべて達成されたわけではなく未熟な点も多々目につくが、いくつかの新しい知見を得ることが出来た。研究は現在、新たな展開のもとに継続中である。報告書をまとめるにあたり、各専門の研究者各位にご批判いただくとともに、2年間にわたり御支援・御指導いただいた関係各位の方々に心から御礼申し上げます。

課題番号：14570935

研究課題：ラット大脳基底核の転写調節因子発現とグルタミン酸受容体リン酸化との関連

研究組織

研究代表者：石田康（宮崎大学医学部教授）

研究分担者：武田龍一郎（宮崎大学医学部助手）

研究分担者：安部博史（宮崎大学医学部助手）

研究分担者：橋口浩志（宮崎大学医学部助手）

研究分担者：西森利数（宮崎大学医学部教授）

海外共同研究者：H.A. Robertson [ダルハウジー大学医学部教授（カナダ）]

研究経費

平成14年度 1600千円

平成15年度 1900千円

計 3500千円

研究発表

(1) 学会誌等

1) ISHIDA, Y., DENOVAN-WRIGHT, E., HEBB, M.O. AND ROBERTSON, H.A.: Amphetamine-induced Fos expression is evident in γ -aminobutyric acid neurons in the globus pallidus and entopeduncular nucleus in rats treated with intrastriatal c-fos antisense oligodeoxynucleotide. *Exp. Neurol.* 175: 275-281 (2002)

2) ISHIDA, Y., TODAKA, K., HASHIGUCHI, H., TAKEDA, R., MITSUYAMA, Y. AND NISHIMORI, T. : Morphological changes in immunopositive cells of ionotropic glutamate receptor subunits during the development of transplanted fetal ventral mesencephalic neurons. *Brain Res.* 940: 79-85 (2002)

3) ISHIDA, Y., HASHIGUCHI, H., TAKEDA, R., ISHIZUKA, Y., MITSUYAMA, Y., KANNAN, H., NISHIMORI, T. AND NAKAHARA, D.: Conditioned-fear stress increases Fos expression in brainstem monoaminergic and GABAergic neurons of the locus coeruleus and dorsal raphe nuclei. *Synapse* 45 (1): 46-51 (2002)

4) ISHIDA, Y., NAKAHARA, D., HASHIGUCHI, H., NAKAMURA, M.,

EBIHARA, K., TAKEDA, R., NISHIMORI, T. AND NIKI, H.: Fos expression in GABAergic cells and cells immunopositive for NMDA receptors in the inferior and superior colliculi following audiogenic seizures in rats. *Synapse* 46 (2): 100-107 (2002)

5) NISHIMORI, T., IKEDA, T., TERAYAMA, R., ISHIDA, Y., NAKAMURA, T. AND OTAHARA, N.: Effect of glutamate receptor antagonists on Fos-like immunoreactivity in the dorsal horn following transection of the rat sciatic nerve. *Brain Res.* 934 (1): 81-86 (2002)

6) 武田龍一郎, 石田康, 橋口浩志, 西森利數: パーキンソン病モデルラットにおける痛覚過敏. *Progress in Medicine* 22 (11): 2905-2909 (2002)

7) 石田康, 中村直人, 沖隆, 安部博史, 中原大一郎: 脳内自己刺激行動に伴うモノアミン生合成の促進に及ぼす副腎摘除効果. *脳と精神の医学*, 14 (4): 339-344 (2003)

8) 橋口浩志, 石田康, 武田龍一郎, 安部博史, 石塚雄太, 河南洋, 西森利數, 中原大一郎: 情動ストレスによるラット視床下部室傍核のFos蛋白発現. *脳と精神の医学*, 14 (4): 331-337 (2003)

9) ABE, H., ISHIDA, Y. AND IWASAKI, T.: Perirhinal N-methyl-D-

aspartate and muscarinic systems participate in object recognition in rats. Neuroscience Letters 356 (3): 191-194 (2004)

10) ISHIDA, Y., HASHIGUCHI, H., TAKEDA, R., ABE, H., KAWAI, K., MAGATA, Y, AND SAJI, H.: Changes in dopamine D₂ receptors and 6-[¹⁸F]fluoro-L-3,4-dihydroxyphenylalanine uptake in the striatum and cerebral cortex after 6-hydroxydopamine lesions of the medial forebrain bundle in rats. Neurodegenerative Diseases (in press)

(2) 学会発表等

[国内学会]

1) 橋口浩志, 石田康, 武田龍一郎, 西森利數, 中村直人, 中原大一郎, 二木宏明: ラット聴覚痙攣に伴う下丘及び上丘のFos蛋白発現. 第24回日本生物学的精神医学会, 大宮, 4月10-12日 (2002)

2) 武田龍一郎, 石田康, 橋口浩志, 西森利數, 三山吉夫: パーキンソン病モデルラットの痛覚過敏についての行動及び形態学的研究. 第24回日本生物学的精神医学会, 大宮, 4月10-12日 (2002)

3) 石田康, 中村直人, 三山吉夫, 中原大一郎: 脳内自己刺激行動に伴うモノアミン生合成の促進に及ぼす副腎摘除効果. 第24回日本生物学的精神医学会, 大宮, 4月10-12日 (2002)

4) 武田龍一郎, 石田康, 橋口浩志, 西森利數: パーキンソン病モデルラットにおける痛覚過敏. 第10回カテコールアミンと神経疾患研究会, 東京, 4月20日 (2002)

5) 橋口浩志, 石田康, 武田龍一郎, 石塚雄太, 河南洋, 西森利數, 中原大一郎: 情動ストレスに伴うラット視床下部室傍核Fos蛋白発現. 第25回日本神経科学大会, 東京, 7月7-9日 (2002)

6) 武田龍一郎, 橋口浩志, 石田康, 中村禎志, 西森利數: パーキンソン病モデルラットの痛覚過敏についての行動および形態学的研究. 第25回日本神経科学大会, 東京, 7月7-9日 (2002)

7) 吉本光喜, 川井恵一, 石田康, 間賀田泰寛, 向高弘, 小西淳二, 佐治英郎: 病態モデル動物における機能解析 (1) パーキンソン病モデルラットの発症過程解析におけるPETの応用. 第42回日本核医学会総会, 神戸市, 11月4-6日 (2002)

8) 武田龍一郎, 橋口浩志, 石田康, 池田哲也, 西森利數: パーキンソン病モデ

ルラットにおける痛覚過敏についての研究（第2報）．第25回日本生物学的精神医学会，金沢，4月16－18日（2003）

9) 石田康，中村直人，瀧田正壽，中原大一郎：欲求性行動および嫌悪性行動に伴うラット内側前頭前野のグルタミン酸濃度変化．第25回日本生物学的精神医学会，金沢，4月16－18日（2003）

10) 石田康，石塚雄太，中原大一郎，河南洋：ストレス負荷時の脳内ノルアドレナリンおよび一酸化窒素動態の変化．第30回日本脳科学会，久留米，6月6－7日（2003）

11) 石田康，石塚雄太，橋口浩志，武田龍一郎，中原大一郎，西森利數，河南洋：ストレス負荷時の視床下部室傍核・内側前頭前野における一酸化窒素動態と機能の解析．第36回精神神経系薬物治療研究報告会，豊中市，12月5日（2003）

[国際学会]

1) NAKAHARA, D., NAKAMURA, M., ISHIDA, Y. AND TAKITA, M.:
Differential glutamate efflux in rat prefrontal cortex by rewarding and aversive stimuli. Society for Neuroscience, 32th Annual Meeting,

Orlando, Nov. 2-7 (2002)

研究成果

グルタミン酸受容体のリン酸化は、*c-fos*等の細胞内転写因子発現と同様、脳内の細胞間刺激伝達において重要な役割を担っている事象であり、神経系の可塑性や機能発現にかなり広汎に関わっているものと考えられる。この研究は、この転写（調節）因子発現とグルタミン酸受容体のリン酸化という2つの事象を同時あるいは同じ実験系で観察することで、これらの関連性及び相違を明らかにすることを主な目的とするものである。この研究により、大脳基底核内のドーパミン（DA）作働薬による神経刺激応答の様式が細胞レベルで明らかになり、臨床的には覚醒剤・抗パーキンソン剤・抗精神病薬等の急性・慢性投与による刺激応答の部位特異性、種々の神経伝達物質や受容体との機能関連解明の端緒となる。この研究は方法論からみても、中枢神経疾患に対するアンチセンス療法の可能性を模索する基礎的データとなり、また、パーキンソン病治療のなかでL-DOPA療法や神経移植が、基底核内の神経刺激応答や神経伝達物質動態をどのように修飾するかを明らかにする臨床的にも非常に重要な研究である。

1) 脳定位的に6-hydroxydopamine (6-OHDA)を一側の内側前脳束へ微量注入することにより、中脳カテコラミン細胞を化学破壊した6-OHDA動物（ヘミ・パーキンソン病モデルラット）を作製した。

2) 6-OHDA動物の中から移植群を選び、破壊側線条体に胎仔中脳ドーパミン（DA）細胞の移植、および行動評価を行った。

3) 6-OHDA動物の黒質や移植部線条体における各種グルタミン酸受容体およびリン酸化グルタミン酸受容体（phospho-NR1, phospho-GluR1）の分布を調べ、それぞれについて部位特異性、転写調節因子と受容体の共存について定量的解析を行っている（現在進行中）。この結果から、DA神経の脱落・再生

に關与するグルタミン酸入力役割を明らかに出来ると考える。

4) 免疫組織化学法を用い、ラット大脳基底核内の種々の部位に關して転写調節因子のひとつであるc-Fosの分布を調べ、部位特異性、種々の神経伝達物質や受容体との共存について定量的解析を行った。この際、methamphetamine等の投与によるc-Fos発現の様式を免疫組織化学法を用いて検索した。

5) amphetamine腹腔内投与時のラット線条体Fos蛋白産生を、c-fosに対するアンチセンスオリゴ (ASF) の線条体内への投与により抑制した際の、行動 (amphetamine誘起回轉運動) 及び組織学的 (2重染色を交えた免疫組織化学法による) 変化を觀察した。ASFを一側の線条体に注入投与することにより、投与側へのamphetamine誘起回轉運動が生じるとともに、投与反対側線条体においてみられるFos発現がASF注入部周囲線条体では消退した。また、大脳基底核内の淡蒼球 (GP) ・脚内核 (EP) においてASF投与側優位のFos発現が認められ、それら多くがGABA細胞上に発現していることが確認できた。結果より、これら2つの基底核領域 (GP・EP) からの抑制性出力線維の活性化が、線条体の神経活性により規定され得ることが示唆された。ハンチントン舞踏病などの病態や治療を考えるうえで何らかの示唆が得られるものと考えた。

6) 上記研究以外に、c-Fosを神経応答のマーカーとして種々の形態学的研究 (脳内自己刺激行動、聴覚痙攣、情動ストレス実験、疼痛実験) を行った。