

提出者氏名、番号、メールアドレス

久井麻菜美、2401085M

レポートタイトル

マイクログリア上のドーパミンによる抗炎症効果；D1 受容体アゴニストはラットせん妄モデルの脳において神経炎症を改善する

所属研究室/指導教員名

分子細胞生理学講座/田中潤也教授、矢野元准教授、ME チョードリ助教

研究成果発表

第 20 回 医科学研究発表会 令和 4 年度

ラットせん妄モデルにおけるマイクログリアの関与とドーパミンの役割

愛媛大学医学部分子細胞生理学・麻酔周術期科学

久井麻菜美、ME チョードリ、西川裕喜、松浦大晟、田中潤也

Anti-inflammatory effects of dopamine on microglia and a D1 receptor agonist ameliorates neuroinflammation of the brain in a rat delirium model

Yuki Nishikawa, Mohammed E. Choudhury, Kanta Mikami, Taisei Matsuura, Madoka Kubo, Masahiro Nagai, Satoru Yamagishi, Tomomi Doi, Manami Hisai, Haruto Yamamoto, Chisato Yajima, Tasuku Nishihara, Naoki Abe, Hajime Yano, Toshihiro Yorozuya, and Junya Tanaka (Neurochemistry International. 163 (2023) 105479; DOI: 10.1016/j.neuint.2023.105479)

責任指導教官による確認

本レポートの作成は提出者本人が行い、研究不正に該当する剽窃、偽造、捏造を行っていないことを確認しました。

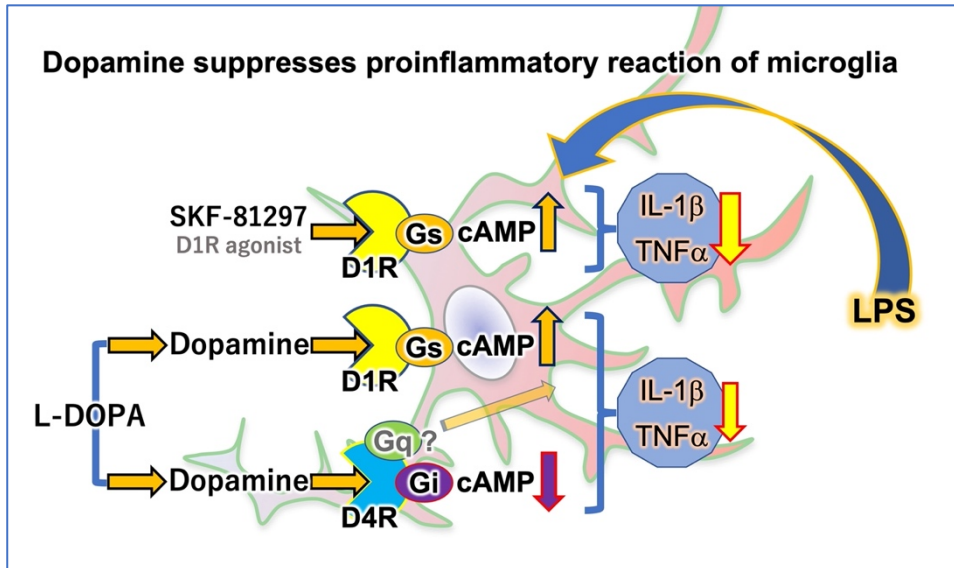
謝辞

本研究遂行にあたりご指導いただきました田中潤也教授、矢野元准教授、ME チョードリ助教、西川裕喜大学院生、木上侑香先輩（5 回生）、三上幹汰先輩（4 回生）、松浦大晟先輩（3 回生）、土居友美先輩（2 回生）に感謝申し上げます。

タイトル

マイクログリア上のドーパミンによる抗炎症効果；D1 受容体アゴニストはラットせん妄モデルの脳において神経炎症を改善する

要約



(上図) 本研究結果から推測される、マイクログリア活性化を抑制する仕組み

中枢神経系に常在するマクロファージであるマイクログリアは、多くの起炎症性メディエーターの放出によって、神経炎症の重要な役割を担っている。このようなマイクログリアの作用は、厳密に制御される必要があり、神経伝達物質はマイクログリアに対する神経活動と関係する。この研究を通して、ラットの一次培養マイクログリアにおいて、ドーパミン (DA) や D1R、D4R の発現は見られるが、D2R、D3R、D5R は発現していないとわかった。D1R に特異的なアゴニストである SKF-81297(SKF)に反応して、培養マイクログリアの細胞内 cAMP 濃度は上昇した。DA や SKF の投与で培養マイクログリア内において、大腸菌由来リポポリサッカライド (LPS) 誘発性のインターロイキン 1-b (IL-1b) や腫瘍壊死因子 a (TNFα) の発現が抑制された。正常成熟ラットの前頭前皮質におけるマイクログリアが選別され、ドーパミン受容体の発現について調査されている；D1R、D2R、D4R の多量の発現が確認されている。せん妄モデルは、Wistar-rat のオスに、LPS を投与することで作成した。LPS 投与 21 時間後、DA レベルは、前頭前皮質で増加した。また、モデルは、睡眠・覚醒リズムに支障をきたしたと脳波測定によって明らかになり、前頭前皮質において IL-1b や TNFα の発現上昇が見られた。せん妄モデルの前頭前皮質から選別されたマイクログリアにおいて、サイトカインの発現上昇が見られた。その一方で、LPS 投与 21 時間後、せん妄モデルにおいて、IL-1b では見られなかったが TNFα の発現が突然減少し、それと同時に DA レベルが上昇したことから、DA は、神経炎症抑制において重要な

役割を果たしていることが示唆された。DA 前駆物質である L-DOPA もしくは SKF のせん妄モデルへの投与によって、IL-1b や TNFa の発現は抑制され、ラットの運動活動は増加した。また、D4R アンタゴニストであるクロザピン (CLZ) を同時に投与することによって、L-DOPA の抑制効果は高まった。これらの結果から、D1R は LPS 誘発性の神経炎症抑制を仲介すると推測でき、マイクログリアの機能制御に重要な役割を担っていると考えられる。D1R のアゴニストを、せん妄治療に応用できる可能性がある。

1. 緒言

私が所属する分子細胞生理学講座では、ラットの行動に注目した研究の他に、脳の免疫担当細胞であり、異物の除去やサイトカインの放出などを行うマイクログリアや、神経炎症といった神経に関連する研究が行なわれている。

睡眠障害、幻覚・妄想、見当識障害などを伴う中枢神経障害の症状であるせん妄は、医療・看護に非常に多くの困難をもたらし、患者本人にも大きな苦痛を与えるため、医療現場において問題視されてきた。せん妄発症の原因は、脳障害、外傷、感染、高齢、手術ストレスなど、様々考えられるが、その病態は現在でも十分に解明されていない。そこで本研究では、LPS の腹腔内投与によって作成した脳内炎症を伴うラットせん妄モデルにおける病態生理を検討した。特に、せん妄脳内で量的増加が報告されているドーパミン (DA) に着目した。これは、マイクログリアにおいて DA 受容体の発現が報告されているためであり、パーキンソン病や統合失調症など DA が関与する疾患におけるマイクログリアの動態や病態生理への関与を探ろうという意図もあつてのことである。

[本レポートで使用した図は、私が共著者でありデータ作成に関与して公表された論文 \(Nishikawa et al., Neurochemistry International, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2023.105479>\) の元図を用いています。](https://doi.org/10.1016/j.neuint.2023.105479)

2. 材料と方法

2.1 薬剤 (→以下入手先)

- L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanin; DOPASTON injection)
→大原薬品工業株式会社(滋賀、日本)
- Clozapine (CLZ)
→富士フィルム和光純薬株式会社 (大阪、日本)
- in vitro の実験にて使用した Dopamine (DA)、rolipram、lipopolysaccharide (以下 LPS)
→Escherichia coli, serotype O111:B4
- in vivo の実験にて使用した LPS
→Sigma-Aldrich (東京、日本)
- SKF-81297 (SKF)

- Santa Cruz (Dallas,Texas,USA)
・SCH23390 hydrochloride(SCH)
→MedChemExpress(Monmouth Junction,NJ,USA)

2.2 動物の飼育

全ての動物実験は、愛媛大学、松山、日本の動物実験における倫理委員会のガイドラインに従って行った。本研究で使用した雌雄の Wistar-rat は、20 年以上前に日本クレア（東京、日本）から入手したものを、愛媛大学医学部動物実験センター内で繁殖させたものである。培養マイクログリア用意のため、雌雄の新生仔ラットを用いた。LPS 誘発性せん妄モデルを作成する際に、雌の発情周期による影響を排除するために、9~10 週齢の雄ラットを用いた。ラットは、12 時間おきにライトが点灯（午前 7 時点灯、午後 7 時消灯）し、室温が 25°C に保たれた通常のケージ内で飼育された。給餌や給水は、各ラットが自由に行えるように整えた。

2.3 LPS 誘発性ラットせん妄モデル

LPS を濃度 0.1mg/mL になるように生理食塩水に溶解し、午前 10 時に、ラットの腹腔内に 0.1mg/kg 注射した。同様に、LPS を投与したラットと同じ母親から生まれたラットに、生理食塩水を同量だけ腹腔内投与し、これを対照とした。投与の後、各ラットをケージに戻し、脳波測定（EEG/EMG）、サンプル採取、行動実験を行うまでの期間飼育した。

2.4 薬理的介入

2.3 で作成したラットせん妄モデルとその対照に、午後 1 時、午後 4 時、午後 7 時に、一回あたり 25mg/kg の L-DOPA を各 2 回ずつ皮下注射した。CLZ は、L-DOPA と同じタイミングで、一回あたり 5.0mg/kg 腹腔内投与した。SKF は、一回あたり 0.5mg/kg、午後 1 時に腹腔内投与した。SCH は、LPS を投与した翌日に、一回あたり 1.0mg/kg を、午前 6 時と午前 7 時に腹腔内投与した。

2.5 組織サンプルの回収

ラットの組織・血液サンプルの採取や、灌流固定を行う前に、100%CO₂ を用いて安楽死を行ったが、この時、呼吸状態が見やすいように、ラットを透明なアクリルケースの中に入れた。PFC 組織を採取し、定量的リアルタイム逆転写ポリメラーゼ反応（qPCR）や、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に用いた。ラットは、2mM の MgCl₂ を含む、4% paraformaldehyde を用いて、経心腔的灌流固定を行い、固定した脳を、免疫染色（IHC）分析のために採取した。

2.6 定量的 RT-PCR(qPCR)

左内側前頭前皮質の組織を採取し、RNAsay マイクロキット (Qiagen) を用いて RNA を調整した。その後、ReverTraAce™qPCR RT Master Mix を用いて DNA を合成した。qPCR では、MJ ミニ機器 (Bio-Rad, Hercules) と、ファストユニバーサル SYBR グリーン (Roche Diagnostic Japan) を用いた。このプロセスでは、50°Cで 2 分間、95°Cで 10 分間インキュベートした後、95°Cにおいて 15 秒間、60°Cにおいて 1 分間の熱サイクルを 40 サイクル行う。各遺伝子特異的 mRNA 発現値を、グリセロアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH) mRNA に対する%発現レベルで示した。

2.7 HPLC

本研究において、右前頭前皮質のモノアミン (NA, DA, 5TH) レベルを測定するために、HPLC を行った。左前頭前皮質から採取した組織を 5mM EDTA と 3,4-dihydroxybenzamine(FUJIFILM Wako)を含む 0.1M perchloric acid の中に入れ、超音波を発生させる機械を用いて homogenize する。その後その一部を、逆相カラムを装着した HPLC の機器に注入する。モノアミン濃度の測定には、スタンダードとして、synthetic noradrenaline や DA、5HT(Sigma-Aldrich)を用いる。

2.8 細胞培養

一次ラットマイクログリア培養を行った。Wistar-rat 新生仔の前脳組織を細かく分散し、混合グリア培養として、10% fetal calf serum(FCS)を添加した Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM; FUJIFILM Wako)の中に入れて、11 日間もしくは 14 日間培養した。DR アゴニストの影響を受けたマイクログリアが確認できれば、そのマイクログリアを 12 ウェルまたは 24 ウェルの poly-L-lysine-coated plates に撒き、無血清培養液を入れて 1 時間インキュベートする。その後、無血清である E2 培養液を、10 μ M DA または 10 μ M SKF とともに、1 μ g/mL LPS(*Escherichia coli*, serotype 055:B5)を添加して培養を行った。

2.9 免疫染色 (IHC)

100% CO₂ 吸入によって 10 週齢の Wistar-rat を安楽死させた後、灌流固定を行った。固定された脳を取り出し、10 μ m 厚の凍結切片を作成した。ブロッキングののち、抗 Iba1 抗体及び抗 D1R 抗体を用いた二重染色を蛍光抗体法により行った。染色した切片は浜松医科大学に送付し、同大学山岸教授に観察・撮影を依頼した。

2.10 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ELISA kit(Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA)を用いて細胞内 cAMP のレベルを測定することで、DR-mediated cAMP 応答を測定した(Mori et al., 2002)。フア

フォジエステラーゼオス IV (PDEIV) inhibitor である 50mM rolipram を含んだ無血清培養液を用いて培養した一次ラットマイクログリア細胞を、DA、SKF、DA+clozapine それぞれと混合して2時間インキュベートした。cAMP の定量は、製造会社のプロトコルに従って実施した。

2.11 FACS

2.12 脳波測定 (EEG /FMG)

2.13 統計学的処理

2.11、12、13 は、田中潤也教授、ME チョードリ助教、西川裕喜大学院生によって行われた。

3. 結果

3.1 in vitro と in vivo 実験におけるマイクログリア上の DR 発現

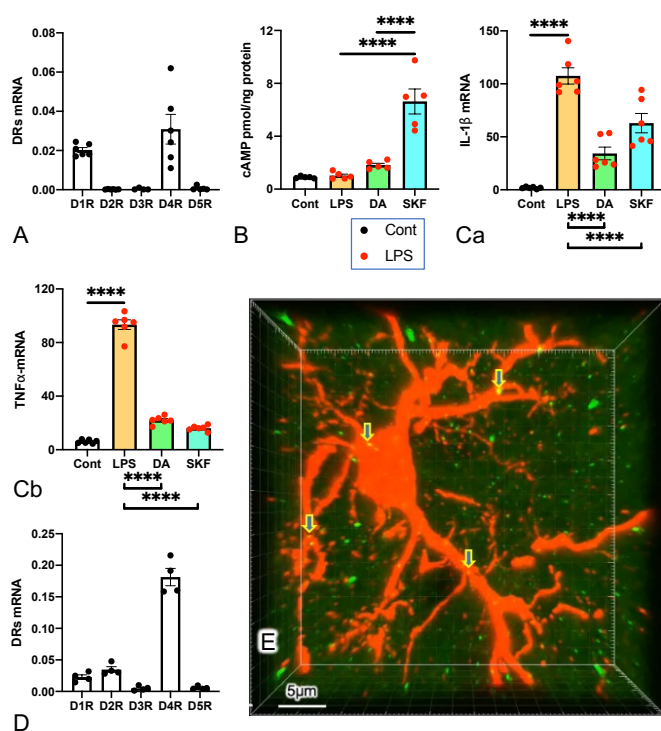


Figure 1

in vitro と in vivo 実験におけるマイクログリア上の DR 発現。

(A) qPCRの結果。ラット一次培養マイクログリアにおけるDRをコードするmRNA の発現。

(B) D1RアゴニストであるSKFに反応して、細胞内cAMP レベルが増加した。

- (C) qPCRの結果。培養細胞におけるLPS誘発性IL-1bとTNF-aの発現。DAとSKFは、サイトカイン発現を著しく抑制した。N=6。
- (D) 正常ラットの前頭前皮質から選別したマイクログリア上に発現したD1R、D2R、D4RのmRNA。N=4。
- (E) 正常成熟ラットの前頭前皮質の第三層における、Iba1 抗体で赤く染めたマイクログリアで発現した D1R タンパク（緑色蛍光）は明確だった（矢印で指し示したところ）。

一次培養ラットマイクログリアから抽出した RNA を逆転写反応によって cDNA に変換し、DR の mRNA の発現を計測するために、qPCR にて分析を行った。Figure 1 (A) から明らかなように、培養マイクログリアには D1R と D4R の発現が顕著に見られた一方で、D2R、D3R、D5R の発現は微弱だった。D1R は G タンパク質である $G\alpha s$ と結びつき、アゴニストと D1R の結合体は、細胞内 cAMP レベルを上昇させた。D1R が機能しているかどうかを見るために、cAMP-specific PDE IV inhibitor である rolipram の存在下における細胞内 cAMP レベルを計測して、培養マイクログリアによる D1R に対する応答を評価した(Fig.1.B)。D1R に特異なアゴニストである SKF-81297(SKf)は cAMP レベルを上昇させたが、DA はこれを上昇させなかった。cAMP 誘発性 agent によって、マイクログリアによる LPS 誘発性炎症反応は抑制された (Ishii et al., 2015; Mori et al., 2002; Zhang et al., 2002)。DA 及び SKf は、cAMP による影響にかなり差があるにも関わらず、IL-1b や TNFa の発現を同程度抑制した。脳実質中のマイクログリアに DR が発現しているかどうかを確かめるために、正常成熟雄 Wistar-rat の前頭前皮質のマイクログリアを FACS により分取し、RNA を抽出して逆転写反応をさせてから、qPCR によって DR の mRNA 発現量を測定した (Fig.1D)。前頭前皮質のマイクログリアにおいて、D4R の mRNA の発現が明確に見られ、D1R や D2R の発現も確認された。その一方で、D3R、D5R の発現量は無視できるレベルであった。前頭前皮質のマイクログリアにおける D1R タンパク発現を確認するために、免疫組織化学染色を行った (Fig. 1D)。

Iba1⁺マイクログリア細胞上に、斑点上に D1R の化学蛍光が分布していた (Fig. 1E)。

3.2 LPS 誘発性ラットせん妄モデル

せん妄患者で DA レベルの上昇が報告されてきた (Inouye et al .2014; Maldonado,2013)。D2R アンタゴニストである haloperidol はせん妄患者に鎮静剤として投与されている。本研究では、脳の DA レベルがマイクログリアの活動や神経炎症に影響を与えるかを調べるために、正常成熟 Wistar-rat に LPS を腹腔内投与することでラットせん妄モデルを作成した。HPLC を行って DA、NA、5HT のレベルを測定するために、前頭前皮質の組織を分離した (Fig.2)。LPS を投与したものは、時間経過に伴

って DA レベルが上昇した (Fig.2A)。NA 量は、対照群の前頭前皮質において、午前 8 時では午後 8 時に比べて有意な減少が見られた。しかし LPS 投与群では、この変化は消失した (Fig.2B)。5HT に関しては、LPS を投与しても、特に影響を受けなかった (Fig.2C)。

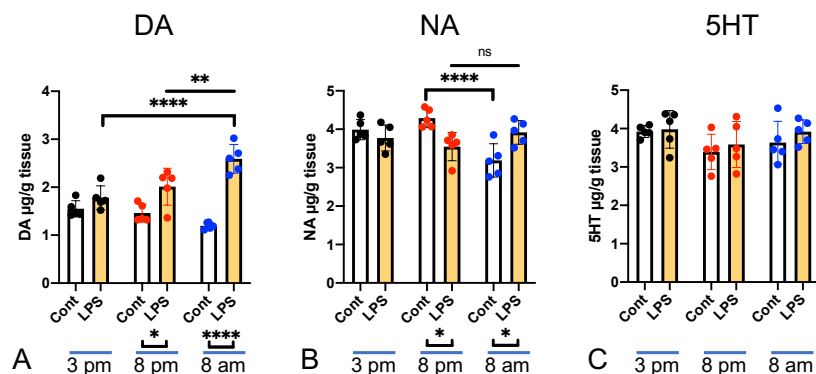


Figure 2.

HPLC の結果。LPS または vehicle 投与後の前頭皮質の NA (A)、DA (B)、5HT (C) 量の変化。

- (A) 対照脳では、DA レベルはそれほど変化が見られなかったが、LPS 投与モデルの方は、時間経過に伴ってレベルが高まった。
- (B) 対照ラットのの前頭前皮質の NA 含有量は、午後 3 時から午前 8 時にかけて日中に変化した。LPS 投与により、この変化は消失した。
- (C) 5HT は対照、LPS 投与ラットのの前頭前皮質両者において、大きな変化は見られなかった。Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test. N=5 または 6。

LPS 誘発性ラットせん妄モデルが睡眠・覚醒リズムに問題を生じるかを確認するために、EEG と EMG を記録した (Fig.3)。LPS 投与後 4 時間は、覚醒時間が増加し、睡眠時間が減少した。開始 7 時間後の暗期 (ラットの覚醒時間帯) においては、NREM 睡眠の時間が増加し、覚醒時間が減少したため、睡眠/覚醒障害が生じたと判断できる。その一方で、LPS 投与 19 時間後すなわち暗期後の明期では、EEG 測定結果において、対照群と LPS 投与群に大きな差異は見られなかった。

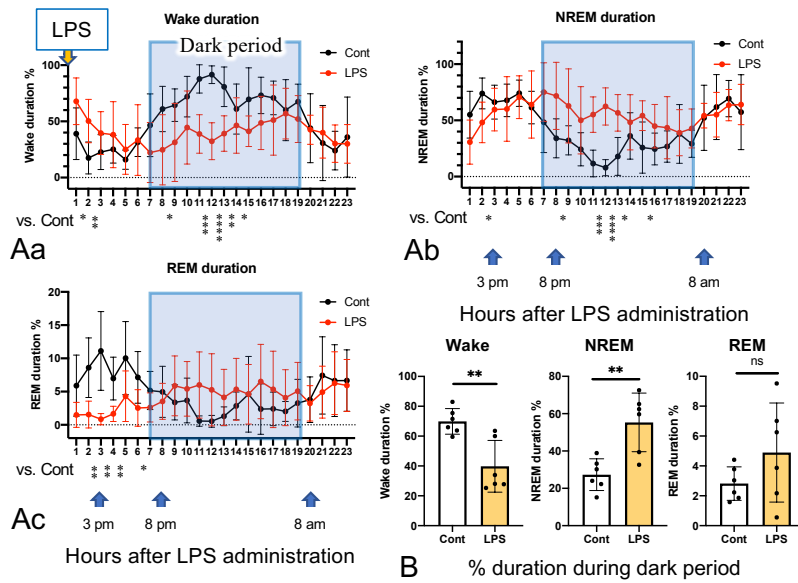


Figure 3

EEG/EMG の記録によって、対照群と LPS 投与群の睡眠・覚醒サイクルを評価した。記録は、午前 11 時に LPS を投与直後に開始し、投与 24 時間後に終了した（投与日の翌日午前 11 時）。

(A) % duration of wake (Aa)、NREM (Ab)、REM (Ac) duration。毎時間、測定した ($n = 6$)。データは、平均値±標準偏差で示した。Two-tailed unpaired T test を行い、対照群と LPS 投与群との時間毎の比較を行った。

(B) 暗期（12 時間）の % duration of wake、NREM、REM。Two-tailed unpaired T test を行った。

3.3 LPS 誘発性せん妄モデルの前頭前皮質における神経炎症

せん妄の病因において神経炎症は重要な役割を果たす(Hoogland et al., 2015; Tsuruta and Oda, 2016; Yang et al., 2020)。LPS、vehicle をラットに投与した 9 時間後 FACS を行ない、CD45、CD11b の発現を元に前頭前皮質からマイクログリアを分取した。マイクログリアから RNA を抽出し、cDNA に変換して qPCR を行った。結果として、LPS を投与したラット前頭葉から採取したマイクログリアにおいて、対照ラット前頭葉から採取したマイクログリアよりも、IL-1b と TNF α の発現は高レベルであった (Fig.4A)。これより、起炎症性サイトカインの発生源がマイクログリアであるとわかる。LPS 投与 4 時間（午後 3 時）、9 時間（午後 8 時）、21 時間（翌日午前 8 時）後、前頭前皮質におけるサイトカイン発現の動的変化を評価した。サイトカイン発現は午後 3 時にはすでに増加した。午前 8 時まで IL-1b 発現量は増加した (Fig.4Ba) 一方で、TNF α の発現量は、午前 8 時まで著しく減少した (Fig.4Bb)。このことは、こ

の時間の前頭前皮質における DA の増加と関係する。DA の影響で TNF α の発現が抑制されたという可能性をふまえ、D 1R アンタゴニストである SCH23390 (1mg /kg)は、LPS 投与翌日に投与した (Fig.4C)。SCH 投与による IL-1 β 発現量の変化はなかったが、TNF α の発現量は増加した。このことから、内因性の DA は、LPS 投与翌日の TNF α 発現量減少に関与すると推測できる。

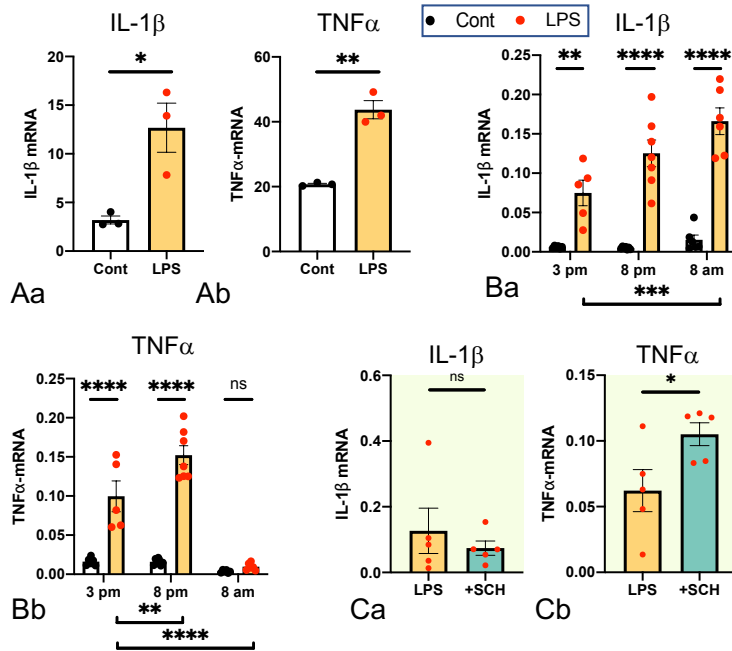


Figure 4

前頭前皮質から採取したマイクログリアにおける IL-1 β 、TNF α の発現量 (A) と前頭前皮質の組織から採取したマイクログリアにおける IL-1 β 、TNF α の発現量 (B)。前頭前皮質におけるサイトカインに SCH がもたらす影響 (C)。

(A) マイクログリアは、LPS や vehicle の投与 10 時間後に、対照群と LPS 投与群の前頭前皮質から採取した。LPS 投与群のマイクログリアにおける IL-1 β (Aa) と TNF α (Ab) 発現量は、対照群のものに比べて高レベルだった。Two-tailed unpaired t-test (N=3) を用いて分析した。

(B) LPS 投与群の前頭前皮質において、午前 10 時の LPS、vehicle 投与後、IL-1 β の発現量は増加した (Ba)。LPS 投与 21 時間後 (午前 8 時) の IL-1 β 発現量は、LPS 投与 4 時間後 (午後 3 時) の発現量に比べて増加した。午後 3 時、午後 8 時時点で、LPS 投与群の前頭前皮質における TNF α 発現量は増加したが、午前 8 時には著しく減少した (N=5-7)。Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test を用いて分析を行った。

(C) LPS の腹腔内投与後の午前 6 時、午前 7 時において、SCH の影響で TNF α の発現量は増加した。Two-tailed unpaired t-test (N=5) によって分析を行った。

3.4 DA が LPS 誘発性せん妄モデルにおける IL-1b、TNFa の発現に与える影響

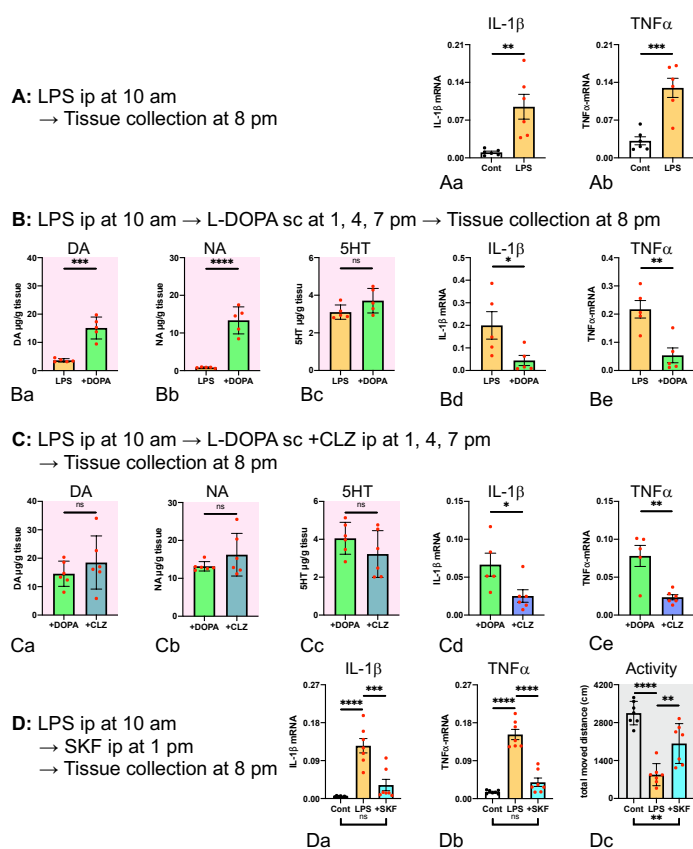


Figure 5

- (A) L-DOPA、SKF の、LPS 投与群の前頭前皮質における、モノアミンや IL-1b、TNFa の発現、運動能力に与える影響。LPS 投与 10 時間後、IL-1b、TNFa の発現量が増加した。Two-tailed unpaired t-test (N=5) を用いて分析した。
- (B) LPS 投与群のみ、投与 10 時間後の IL-1b、TNFa の発現増加が見られた。Two-tailed unpaired t-test (N=5) を用いて分析した。LPS 投与 3、6、9 時間後に、それぞれ 2.5mg/kg の L-DOPA を投与した。L-DOPA 投与により、DA(Ba)、NA (Bb)の量が増加した一方、5HT (Bc)の量は増加しなかった。L-DOPA 投与によって、LPS 誘発性サイトカインの発現が抑制された (Bd、Be)。N=5。
- (C) CLZ がラットの脳に与えた影響は、LPS、L-DOPA によって治癒された。CLZ は、モノアミン量 (Ca、Cb、Cc) に影響を及ぼさなかった。CLZ 投与によって、L-DOPA の IL-1b(Cd)と TNFa(Ce)の発現抑制効果が高まった。

SKF を午後 1 時に一度、0.5mg/kg 投与した。SKF の投与によって、IL-1b(Ba) と TNFa(Bb)の発現が抑制され、運動機能が改善された (Bc)。N=7。One-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test を用いて分析を行った。以上の結

果から、ドーパミンは主に D1R を介して、LPS 投与群の脳においてマイクログリア起炎症性活性化を抑制すると推測される。また、L-DOPA、SKF の作用により、LPS 誘発性ラットせん妄モデルの脳における神経炎症が改善された可能性がある。LPS 投与群に、L-DOPA を午後1時、午後4時、午後7時に各 2.5mg/kg 皮下注射した。L-DOPA の最終投与1時間後に、ラットの前頭前皮質組織を分解した。L-DOPA の投与によって LPS 投与群の前頭前皮質における IL-1b、TNFa の発現が抑制された一方で、DA の量が増加した。しかし、NA の量は増加しなかった (Fig.5B)。L-DOPA の投与によって、前頭前皮質における 5HT の量に変化しなかった。D4R アンタゴニストである CLZ を、L-DOPA と同時に投与すると、L-DOPA による IL-1b、TNFa の発現抑制効果が高まった。このことより、D4R は D1R 媒介 DA の抑制効果 と、部分的に拮抗すると推測できる。D1R アゴニストである SKF の作用によって、IL-1b、TNFa の発現が著しく減少し、ラットの活動性が顕著に改善された (Fig.5D)。

4. 考察、展望、今後の研究予定

本研究によって、培養マイクログリアおよび脳内のマイクログリアには、D1 および D2 様受容体が発現するとわかった。細胞内 cAMP 生成の観点から見ると、これらふたつの DR クラスは、反対の作用を及ぼし、D4R は部分的に D1R の免疫抑制作用を阻害すると考えられる。D1R に特異的なアゴニストである SKF および L-DOPA は、サイトカインの発現を効果的に抑制し、モデルラットの低下した活動性を部分的に回復させた。起炎症性マイクログリア反応の抑制効果に関連する分子メカニズムはいまだに明らかになっていないが、本研究結果から、D1R アゴニストの神経炎症抑制作用を利用した、せん妄治療のための薬剤を開発できる可能性が示唆された。L-DOPA の治療効果は、部分的に NA 量の増加によってもたらされたものである可能性があるものの、L-DOPA を用いることでせん妄患者をより低リスクで治療できる可能性がある。DA を介した神経伝達において異常が生じる病態は統合失調症やパーキンソン病など数多いが、これらの病態に対してマイクログリアがどのように関与しているかを明らかにするために、その DR を介した反応についてさらなる研究が求められる。

今後の研究として、DA のマイクログリア起炎症性活性化抑制作用をさらに明らかにするために、DA のニューロン死を誘発する 6-ヒドロキシドーパミン 6-OHDA を投与して作成するラットパーキンソン病モデルラットを使用し、L-DOPA と脱炭酸酵素阻害剤を組み合わせたパーキンソン病治療薬 MADOPA を投与して検討を進めようと考えている。このパーキンソン病モデルでは、6-OHDA による DA ニューロンの直接的な毒性の他に、マイクログリアに由来する IL-1b、TNFa さらに活性酸素が DA ニューロン死を加速させることが知られている。L-DOPA は細胞数が減少した

DA ニューロンの機能を補うための DA 補充療法であると考えられてきたが、今回の研究成果から、L-DOPA 投与はマイクログリアの活性化を抑えて、DA ニューロン死を抑制するという病態進行阻止の作用がある可能性が示唆されている。この予想通りの結果が得られたならば、パーキンソン病はより早期から L-DOPA 投与を開始すべきであるという臨床的にも重要な結果が得られることになるだろう。

5. 参考文献

1. Eoin O'Neill, E ´adaoin W. Griffin, Ruairi O'Sullivan, Carol Murray, Lucy Ryan, Justin Yssel, Andrew Harkin, Colm Cunningham
Acute neuroinflammation, sickness behavior and working memory responses to acute systemic LPS challenge following noradrenergic lesion in mice
2. Hoogland, I.C., Houbolt, C., van Westerloo, D.J., van Gool, W.A., van de Beek, D. 2015. Systemic inflammation and microglial activation: systematic review of animal experiments. *J Neuroinflammation*. 12, 114.
3. Inouye, S.K., Westendorp, R.G.J., Saczynski, J.S. 2014. Delirium in elderly people. *The Lancet*. 383, 911-922.
4. Ishii, Y., Yamaizumi, A., Kawakami, A., Islam, A., Choudhury, M.E., Takahashi, H., Yano, H., Tanaka, J. 2015. Anti-inflammatory effects of noradrenaline on LPS-treated microglial cells: Suppression of. NFkappaB nuclear translocation and subsequent STAT1 phosphorylation. *Neurochem Int*. 90, 56-66.
5. Kazuya Miyanishi, Mohammed E. Choudhury, Monori Watanabe, Madoka Kubo, Masahiro Nomoto, Hajime Yano, Jyunya Tanaka
Behavioral tests predicting striatal dopamine level in a rat hemi-Parkinson's disease. model
6. Maldonado, J.R. 2013. Neuropathogenesis of delirium: review of current etiologic theories and common pathways. *Am J. Geriatr Psychiatry*. 21, 1190-1222.

7. Mori, K., Ozaki, E., Zhang, B., Yang, L., Yokoyama, A., Takeda, I., Maeda, N., Sakanaka, M., Tanaka, J. 2002.
Effects of norepinephrine on rat cultured microglial cells that express alpha1, alpha2, beta1 and. beta2 adrenergic receptors. *Neuropharmacology*. 43, 1026-1034.
8. Savannah M. Rocha , Collin M. Bantle , Tawfik Aboellail , Debotri Chatterjee , Richard J. Smeyne, Ronald B. Tjalkens
Rotenone induces regionally distinct α -synuclein protein aggregation and activation of glia. prior to loss of dopaminergic neurons in C57Bl/6 mice
9. S.P.Close, A.S.Marriott& SharonPay
Failure of SKF 38393-Atorelieveparkinsonian symptoms induced by 1 -methyl-4-phenyl. 1,2,3,6- tetrahydropyridine in the marmoset
10. Tsuruta, R., Oda, Y. 2016.
A clinical perspective of sepsis-associated delirium. *J Intensive Care*. 4, 18.
11. Yang, T., Velagapudi, R., Terrando, N. 2020.
Neuroinflammation after surgery: from. mechanisms to therapeutic targets. *Nat. Immunol*. 21, 1319-1326.
12. Zhang, B., Yang, L., Konishi, Y., Maeda, N., Sakanaka, M., Tanaka, J. 2002.
Suppressive effects of phosphodiesterase type IV inhibitors on rat cultured. microglial. cells: comparison with other types of cAMP-elevating agents. *Neuropharmacology*. 42, 262-269.