



Title	パーキンソン病における末梢血リンパ球D3ドーパミン受容体遺伝子の発現解析
Author(s)	永井, 義隆
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39029
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	永 井 義 隆
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 11807 号
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	パーキンソン病における末梢血リンパ球 D 3 ドーパミン受容体遺伝子の発現解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 柳原 武彦 (副査) 教 授 松沢 佑次 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

ドーパミン神経伝達系は、運動、情動、認知機能において中心的な役割を担っており、その障害はパーキンソン病、精神分裂病など様々な精神神経疾患を引き起こす。パーキンソン病の治療にはドーパミン受容体を標的とする薬剤が使用されるが、L-dopa 投与が長期にわたると薬効の減弱、効果発現時間の短縮が認められる。この現象はシナプス前のドーパミン作動性神経細胞の変性に加え、シナプス後のドーパミン受容体の障害に起因する可能性も考えられる。ドーパミン受容体にはD 1 からD 5 の 5 つの亜型が存在するが、パーキンソン病におけるこれら受容体亜型の変動については一定の見解が得られていない。パーキンソン病においてドーパミン受容体の変動が病態と関連すれば、受容体変動が疾患の生化学的マーカーとなり得る可能性があり、また治療薬剤の選択において重要であると考えられる。

我々はこれまでにヒト末梢血リンパ球におけるD 3 およびD 5 受容体の発現を明らかにした。本研究では、ヒトの生体検索材料としては入手が比較的容易である末梢血リンパ球を用いて、パーキンソン病症例におけるD 3 およびD 5 受容体遺伝子発現の変動を明らかにすることを目的とした。

【方法】

パーキンソン病41例（男性22例、女性19例、平均年齢61.7 ± 9.2歳）と対照14例（男性 8 例、女性 6 例、平均年齢57.8±8.2歳）を対象とした。パーキンソン病の診断は振戦、固縮、寡動、歩行障害などの臨床症候によった。パーキンソン病症例の重症度は Hoehn-Yahr 分類に従い、I 度 6 例、II 度 12 例、III 度 15 例、IV 度 8 例であった。また L-dopa 未投与例は13例、L-dopa 投与例は28例であった。

(1)定量的 RT-PCR 解析

末梢血リンパ球より total RNA を抽出し、一本鎖cDNAを合成した。これを鑄型としてD 3 あるいはD 5 受容体および内部標準として用いるβ アクチン遺伝子特異的プライマーを用いて PCR 反応を行った。標準曲線を作成して PCR 反応が定量性を保つ条件を決定し、その条件の範囲内で定量解析を行った。検出されたD 3 あるいはD 5 受容体とβ アクチン遺伝子由来のバンドの放射活性から、D 3 R / β A 比、およびD 5 R / β A 比を算出した。

(2)受容体結合実験

パーキンソン病、対照例各 3 例についてD 3 受容体特異的リガンドである 7 - [³H] hydroxy-N, N-di-n-propyl-2-aminotetralin ([³H] 7 -OH-DPAT) を用いて受容体結合実験を行った。得られた飽和曲線から Scatchard plot 解

析を行い、解離定数、総結合能を算出した。

【成績】

(1)定量的 RT-PCR 解析

D 3 R / β A 比は対照群 (3.59 ± 1.38) に比べパーキンソン病群 (0.57 ± 0.42) では統計学的に有意に低かった ($p < 0.001$, t 検定)。また D 3 R / β A 比とパーキンソン病の重症度との間に有意な負の相関が認められた ($r = -0.716$, $p < 0.001$)。パーキンソン病群のうち L-dopa 投与群 (0.59 ± 0.39) と L-dopa 未投与群 (0.50 ± 0.49) では D 3 R / β A 比に有意な差は認められなかった。また D 3 R / β A 比と性別、年齢、発症年齢、罹病期間、L-dopa の服用期間および量などの臨床的項目とは有意な相関は見い出せなかった。D 5 R / β A 比については、パーキンソン病群 (2.30 ± 1.24) と対照群 (1.99 ± 1.18) との間に有意な差は認められなかった。

(2)受容体結合実験

リンパ球への [^3H] 7-OH-DPAT の総結合能はパーキンソン病群では $51.0 \pm 4.9\text{fmol}/1 \times 10^6 \text{ cells}$ 、対照群では $74.9 \pm 7.1\text{fmol}/1 \times 10^6 \text{ cells}$ であり、両者の間に統計学的に有意な差を認めた ($p < 0.01$, t 検定)。しかし、解離定数についてはパーキンソン病群 ($11.7 \pm 1.2\text{nM}$) と対照群 ($12.5 \pm 1.8\text{nM}$) との間に有意な差は認められなかった。

【総括】

パーキンソン病41例および対照14例において末梢血リンパ球でのドーパミン受容体遺伝子発現について、定量的 RT-PCR 法を用いて検討した。対照群に比較してパーキンソン病群において D 3 受容体遺伝子発現が有意に低下していた。D 5 受容体遺伝子発現については有意な差は認められなかった。受容体結合実験ではパーキンソン病群における D 3 受容体総結合能の低下を認めた。さらに D 3 受容体遺伝子発現の低下と疾患の重症度との間に負の相関を見い出した。これらのことから、末梢血リンパ球における D 3 受容体遺伝子発現が大脳基底核におけるドーパミン受容体の変動を反映し、パーキンソン病における生化学的マーカーとなり得る可能性が考えられた。さらにパーキンソン病において黒質線条体だけでなく、全身性にドーパミン伝達系の障害が存在する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究はパーキンソン病におけるドーパミン受容体の変動を明らかにする目的で、末梢血リンパ球でのドーパミン受容体遺伝子発現の変動について検討したものである。従来、剖検脳を用いた検討では死後変化の問題があり、生体脳を用いた PET での検討ではリガンドの亜型選択性に問題があり、一定の見解は得られていない。本研究ではヒトの生体検索材料としては入手が比較的容易である末梢血リンパ球を用い、定量的 RT-PCR 法によって検討した。

その結果、パーキンソン病における末梢血リンパ球での D 3 ドーパミン受容体遺伝子発現量が低下していることを明らかにした。さらにその D 3 受容体遺伝子発現量の低下が疾患の重症度と相関していることを見い出した。D 5 ドーパミン受容体遺伝子発現量については対照群に比べ有意な差は認められなかった。本研究は、末梢血リンパ球における D 3 受容体遺伝子発現が、大脳基底核におけるドーパミン受容体の変動を反映し、パーキンソン病において末梢で検出可能な生化学的マーカーとなり得る可能性を示唆するものであり、学位に値すると考える。