

Basic research of simultaneous evaluation of dopaminergic receptor and presynaptic neuronal functions in the brain using autoradiography

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2020-02-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Tsji, Siro メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00056838

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



KAKEN
2000
4

金 沢 大 学

脳内ドーパミン作動性神経受容体及び節前線維機能の 核医学的同時評価の基礎的研究

(課題番号：11670877)

平成11年度～平成12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13年3月

研究代表者 辻 志郎

(金沢大学医学部 助教授)

金沢大学附属図書館



8000-96431-7

N

1

大 学

は し が き

ドーパミン作動性神経は、パーキンソン病、老年痴呆、精神分裂病、躁鬱病など多岐の疾患の異常に関与しているが、病態の把握には神経シナプスの節前線維および節後線維の両者の変化を解明することが重要で、疾患の早期発見、病因解明、治療への応用、治療効果の判定などに有用とされる。本研究ではモデルラットを用いて、脳内ドーパミン作動性神経節前線維および受容体機能の変化を解明する。

研究組織

研究代表者 : 辻 志郎 (金沢大学医学部助教授)

研究経費

平成11年度	1,600千円
平成12年度	1,500千円
計	3,100千円

研究発表

発表者	久慈一英
テーマ名	パーキンソン病モデルラットの自家神経移植による神経機能回復の画像評価
雑誌名	INNERVISION
巻号	14巻 8号
年月	1999年 8月

要 旨

ラットにて一側黒質に6-ヒドロキシドーパミンを定位的に微量注入してドーパミン神経を選択的に破壊することでパーキンソンモデルを作成した。2週間後、アポモルフィンの腹腔内投与による回転運動を計測した後、断頭屠殺し脳の新鮮凍結切片を作成した。抗チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 抗体による免疫抗体染色を行い、定量した。[3H]SCH-23390を用いたドーパミンD1受容体、[3H]YM-09151-2によるドーパミンD2受容体および[3H]GBR-12935を用いたドーパミントランスポータ(DAT)の各オートラジオグラフィを専用イメージングプレートを使って行い、イメージングアナライザ (FUJI BAS-5000) で定量的に解析した。対照群では、生理食塩水を注入した。定量値は、それぞれ健側に対する破壊側の比で検討した。

モデルラットの破壊側にてDAT結合と抗TH抗体による免疫抗体染色性が低下した。D2受容体の軽度上昇が認められたが、D1受容体の変化は無かった。これらは従来の報告に一致する。アポモルフィン投与による回転数と抗TH抗体染色性の低下との間には負の強い相関関係が認められた。DAT結合は、抗TH抗体染色性との間に弱い相関があったが、回転運動の評価や抗TH抗体染色性より鋭敏であった。破壊側のドーパミンD2受容体増加は回転運動が起きるような強い破壊でみられ、ドーパミン減少に伴う代償反応と考えられたが、THの低下しない弱い程度の破壊では増加が無くドーパミンの低下が乏しいことが推定される。DATによる画像化は、抗TH抗体の変化やアポモルフィンによる回転運動が起こるよりも軽度のドーパミン神経系の傷害を鋭敏に捉えることができる有用な方法であることが示された。ドーパミン神経の機能障害時においてドーパミン減少前に異常を捉えられて早期診断に役立つと思われる。

Key Words

- | | | |
|-----------|---------------------|------------------|
| (1) ドーパミン | (2) 片側性パーキンソンモデルラット | |
| (3) 受容体 | (4) トランスポータ | (5) チロシンヒドロキシラーゼ |
| (6) GBR | (7) SCH | (8) YM |

研究の背景

ドーパミン作動性神経は、パーキンソン病、老年痴呆、精神分裂病、躁鬱病など多岐の疾患の異常に関与し、その神経受容体の変化が数多く報告されているが、必ずしも意見の一致が得られていない。これら従来報告されている神経受容体の変化はおもに神経シナプスの節後線維のものを見ており、病態の把握にはこれだけでは不十分である。近年、ドーパミン作動性神経についても節前線維の変化が注目されており、詳細な病態の把握には神経シナプスの節前線維および節後線維の両者の変化を解明することが重要で、疾患の早期発見、病因解明、治療への応用、治療効果の判定などに有用とされる。

目的

本研究では、パーキンソンモデルラットを用いて脳内ドーパミン作動性神経受容体および節前線維機能の両者の変化を解明する。またチロシンヒドロキシラーゼの定量を行い、ドーパミンの生合成の面から機能発現状態の解析を行い、病的変化について明らかにする。

方法

1. 概要

雄性ドンリュウラットにて一側黒質に6-ヒドロキシドーパミンを定位的に微量注入してドーパミン神経を選択的に破壊することでパーキンソンモデルを作成した。2週間後、アポモルフィンの腹腔内投与による回転運動を計測した後、断頭屠殺し脳の新鮮凍結切片を作成した。抗チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 抗体による免疫抗体染色を行い、定量した。[H-3]SCH-23390を用いたドーパミンD1受容体、[H-3]YM-09151-2によるドーパミンD2受容体および[H-3]GBR-12935を用いたドーパミントランスポータ(DAT)の各オートラジオグラフィを専用イメージングプレートを使って行い、イメージングアナライザ (FUJI BAS-5000) で定量的に解析した。対照群では、生理食塩水を注入した。定量値は、それぞれ健側に対する破壊側の比で検討した。

2. 薬 剤

使用した薬剤は以下の通りである。

〔黒質破壊用〕

アスコルビン酸加6ヒドロキシドーパミン

〔モデルラットの回転運動惹起用〕

R(-)-塩酸アポモルフィン

〔免疫抗体染色用〕

抗チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 抗体

〔放射性医薬品〕

- 1) [H-3]GBR12935 ドーパミントランスポータに対するリガンド
- 2) [H-3]SCH23390 ドーパミンD1受容体に対するリガンド
- 3) [H-3]YM09151-2 ドーパミンD2受容体に対するリガンド

3. パーキンソンモデル動物作成

雄性ドンリュウラットを抱水クロラル (350 mg/kg i.p.) にて麻酔し、脳定位固定装置に固定した。6-ヒドロキシドーパミンを $2\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度に調整し、注入まで氷冷した。ラット右側頭蓋骨にドリルで穴を開け、29ゲージのカテラン針を刺入し、ハミルトンシリンジ (10 μl) を用いて6-ヒドロキシドーパミン溶液 $2\mu\text{l}$ を2分かけて定位的に一側黒質に微量注入してドーパミン神経を選択的に破壊した。注入後3分間針を静置し、その後1mm/1minの速さで抜いた。刺入部の骨欠損はボーンワックスで埋めた。注入部位は以下の2カ所である。

- 1) Bregmaから尾側に5.5mm、外側に1.9mm、硬膜から深さ8.0mm
- 2) Bregmaから尾側に5.5mm、外側に2.3mm、硬膜から深さ7.7mm

上記はPaxinos & Watson の The Rat Brain in stereotaxic coordinates (第4版) によった。

対照群として、6-ヒドロキシドーパミンの代わりに生理食塩水を上記と同様に注入したものを作成した。

2週間後、アポモルフィンの腹腔内投与により回転運動を惹起し、一分間の回転数を計測した。

上記計測後、ラットを断頭屠殺しクリオスタットを用いて20 μm の脳の新鮮凍結切片を作成した。

4. 免疫染色

上記で作成した切片に対して抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫抗体染色を行い、定量した。

5. オートラジオグラフィ反応条件

A. [H-3]GBR 12935

- 1) 0.25nM [H-3]GBR 12935 in 50 mM PBS (ph 7.5) containing 0.001% Ascorbate, 0.025% Bovine serum albumine and 0.75 μ M cis-flupentixol
2 hr at 4°C

阻害実験においては、以下を使用した。

* blocking: 50 μ M cold GBR 12935 or 25 μ M Mazindol

- 2) 10 min cold PBS
- 3) 15 sec distilled water
- 4) Drying
- 5) Autoradiography

B. [H-3] SCH 23390

1) Preincubation

Tris plus ions(50 mM Tris-HCl 120 mM NaCl 5 mM KCl 2 mM CaCl_2 1 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ph 7.1) 反応時間は10 min at 25 °C

2) Incubation

1.0 nM [H-3]SCH 23390 in Tris plus ions containing 1 mM Ascorbate and 40 nM Ketanserin
反応時間は 30 min at 25°C

阻害実験においては、以下を使用した。

* blocking: 5 μ M (+)-butaclamol or 1 μ M cis-(Z)-flupentixol

- 3) Wash in cold (on ice) Tris plus ions
反応時間は 5 min at 25°C×2 (2回洗浄)
- 4) wash in cold distilled water
20 sec×2
- 5) Drying
- 6) Autoradiography

C. [H-3] YM 09151-2

1) Preincubation

Tris plus ions (50 mM Tris-HCl 120 mM NaCl 5 mM KCl 2 mM CaCl₂ 1 mM MgCl₂ · 6H₂O ph 7.1) 5 min at 22 °C

2) Incubation

0.5 nM [H-3]YM 09151-2 in Tris plus ions
2 hr at 22°C

阻害実験においては、以下を使用した。

* blocking: 10 μM (+)-butaclamol

3) Wash in (on ice) Tris plus ions

5 min at RT×2

4) wash in distilled water

20 sec at 4°C×2

5) Drying

6) Autoradiography

6. オートラジオグラムの定量

上記で反応させた切片からイメージングプレートを用いてオートラジオグラムを作成し、イメージングアナライザ (FUJI BAS-5000) で定量解析した。

7. アポモルフィン誘発回転運動と抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性との相関

アポモルフィンによって誘発されたラットの1分あたりの回転運動の回数と、抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色で得られた破壊側/健側比との相関を調べた。

8. 抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性と[H-3]GBR12935結合の相関

抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色で得られた破壊側/健側比と[H-3]GBR12935のドーパミントランスポータへの結合の破壊側/健側比との相関を調べた。

結 果

モデルラットの破壊側にてドーパミントランスポータ結合と抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体による免疫抗体染色性が低下した。D2受容体の軽度上昇が認められたが、D1受容体の変化は無かった。これらは従来の報告に一致する。アポモルフィン投与による回転数と抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体染色性の低下との間には負の強い相関関係が認められた。ドーパミントランスポータ結合は、抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体染色性との間に弱い相関があったが、回転運動の評価や抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体染色性より鋭敏であった。

1. 抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体による免疫蛍光染色 (図1)

対照群ラットでは線条体にやや強い染色性を認め、その他の灰白質に比較的均一な染色性を認めた(図1.1)。パーキンソンモデルラットでは破壊側の線条体に著明な染色性の低下を認めた(図1.2)。

2. [H-3]GBR12935によるドーパミントランスポータ・オートラジオグラフィ (図2)

対照群ラットでは線条体に強い集積を認め、その他の灰白質に比較的均一な集積を認めた(図2.1.1)。パーキンソンモデルラットの総結合画像では破壊側の線条体の集積が著明に低下していた。さらに黒質の集積は低い線条体と同様に破壊側の低下を認めた(図2.2.1)。非特異結合画像では灰白質に比較的均一な集積を認め、左右差ははっきりしなかった(図2.2.2)。

3. [H-3]SCH23390によるドーパミンD1受容体オートラジオグラフィ (図3)

対照群ラットの総結合画像では線条体および黒質に強い集積を認めた(図3.1.1)。非特異結合画像では全体的に集積は淡いが、線条体に相対的高集積を認める(図3.1.2)。パーキンソンモデルラットの総結合画像では線条体および黒質に強い集積を認めた。しかし、破壊側と健側で差は認められなかった(図3.2.1)。非特異結合画像では全体的に集積は淡いが、線条体に相対的高集積を認めた(図3.2.2)。

4. [H-3]YM09151-2によるドーパミンD2受容体オートラジオグラフィ (図4)

対照群ラットの総結合画像では線条体に強い集積を認めた(図4.1.1)。非特異結合画像では全体的に集積は淡い(図4.1.2)。パーキンソンモデルラットの総結合画像は定量評価にて破壊側の軽度亢進が認められた。黒質の集積は低い線条体と同様に破壊側の低下を認める(図4.2.1)。非特異結合画像では全体的に集積は淡い(図4.2.2)。

上記四者の線条体レベルにおける比較を図5に示す。

5. アポモルフィン誘発回転運動と抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性との相関 (図 6.A)

両者は有意な負の相関を示した。回帰直線は、

$$y = -0.034 x + 1.00 \quad (r = 0.83, p < 0.0001)$$

で表された。

6. 抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性と[H-3]GBR12935結合の相関 (図 6.B)

両者は有意な正の相関を示した。回帰直線は、

$$y = 0.58 x + 0.08 \quad (r = 0.59, p < 0.001)$$

で表された。

破壊側/健側比の値は抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性よりも[H-3]GBR12935のドーパミントランスポータ結合の方が値が小さかった。

7. その他

ドーパミントランスポータの低下とアポモルフィンによる回転運動とは有意な相関を認めなかった。

考 察

従来のパーキンソンモデルラットの検討では、回転運動異常が発生したもののみの検討であった。今回はもっと軽度の傷害についても併せて調べた。

チロシンハイドロキシラーゼはドーパミンの生成過程においてチロシンを水酸化してドーパに変換する反応を触媒する酵素であり、今回の実験における黒質破壊により同側線条体の活性が低下した。その低下はドーパミン生成過程の障害を示し、引き続いてドーパミン分泌障害による機能異常が起こることが考えられ、アポモルフィンによる回転運動との相関は説明可能である。

今回、アポモルフィンによる回転運動異常が発生せずチロシンハイドロキシラーゼの低下も認められないにもかかわらず、ドーパミントランスポータの低下が認められるものが存在した。ドーパミントランスポータのみが低下してチロシンハイドロキシラーゼが保たれている病態として考えられる可能性のひとつは、節前神経は脱落しているがチロシンハイドロキシラーゼ活性は節前神経が減少しても神経あたりの活性を上昇させて代償しているというものである。このような例ではドーパミン合成機能は保たれているので、基質となるチロシンさえ補給されればドーパミン分泌は保たれるのであろう。

チロシンハイドロキシラーゼの低下とアポモルフィンによる回転運動の間には相関関係を認めたが、ドーパミントランスポータの低下はアポモルフィンによる回転運動と相関が低かった。THの低下とGBRの低下との間には、弱い相関関係があるが、ドーパミントランスポータの低下が軽度の場合（傷害側/健側 >0.6 ）はチロシンハイドロキシラーゼの低下が起こらず、ドーパミントランスポータ低下の強い例でチロシンハイドロキシラーゼが低下している場合が多くみられた。以上から、GBRの低下はTHの低下よりも軽度の傷害を反映していると考えられる。

破壊側のドーパミンD2受容体増加は回転運動が起きるような強い破壊でみられ、ドーパミン減少に伴う代償反応と考えられたが、チロシンハイドロキシラーゼの低下しない弱い程度の破壊では増加が無くドーパミンの低下が軽度であることが推定される。これは、D2受容体増加が、ドーパミン分泌機能障害に伴うupregulationによって起こっていることを支持する。当然、チロシンハイドロキシラーゼ低下群では、ドーパミントランスポータの低下が有意に強かった。一方、ドーパミンD1受容体はいずれも変化しなかった。このことから、D1受容体はドーパミン分泌量に依存しないと考えられた。

以上をまとめると、黒質でのドーパミン神経の変性は、ドーパミントランスポータの減少からチロシンハイドロキシラーゼの低下、ついでドーパミンのシナプス間隙での濃度減少を来し、このため二次的にドーパミンD2受容体がupregulation反応で増加すると説明できる。しかし、ドーパミンD1受容体は、変化がほとんどない。

ドーパミントランスポータによる画像化は、抗チロシンハイドロキシラーゼ抗体の変化やアポモルフィンによる回転運動が起こるよりも軽度のドーパミン神経系の傷害を鋭敏に捉えることができる有用な方法であることが示された。ドーパミン神経の機能障害時においてドーパミン減少前に異常を捉えられて早期診断に役立つと思われる。

今後の展望

本研究では、節後線維機能としてD1およびD2受容体、節前線維機能としてドーパミントランスポータおよびチロシンヒドロキシラーゼ活性を評価した。今後のさらなる評価としてドーパミン受容体蛋白およびトランスポータ蛋白のメッセンジャーRNAをin situハイブリダイゼーション法を用いて定量評価を行うことが挙げられる。また、神経伝達物質（ドーパミン）の直接定量も病態を解明する一助となろう。

Abstract

The aim of this study is to clarify the relationship between dopamine transporter autoradiography and tyrosine hydroxylase immunostaining in experimental unilateral parkinsonian model rat. **Methods:** Parkinsonian model rats were stereotactically infused 6-OHDA into unilateral substantia nigra, and evaluated clockwise rotation behavior induced by administration of apomorphine. Sequential brain sections underwent immunostaining using anti-tyrosine hydroxylase (TH) antibody and autoradiography of dopaminergic system. Dopamine D1, D2 receptors and transporter density was assessed by imaging plate autoradiography using SCH, YM and GBR, respectively. Immunostained section were analyzed by optical digital imaging analyzer, and autoradiography were analyzed by imaging plate analyzer. Ratios of lesioned side value to contralateral side value in the caudate-putamen were used as indices. Correlations among apomorphine-induced rotation, TH immunostaining, dopamine D1, D2 receptors and transporter were analyzed statistically. **Results:** Significant positive correlations were shown between rotation, TH and GBR. GBR was more sensitive than TH and rotation. **Conclusion:** Dopamine transporter imaging is more sensitive than TH and rotation. This results support that dopamine transporter imaging may detect an early disease without obvious symptoms.

Key Words

- | | |
|--------------|--|
| (1) Dopamine | (2) unilateral parkinsonian model rat |
| (3) receptor | (4) transporter (5) tyrosine hydroxylase |
| (6) GBR | (7) SCH (8) YM |

参考文献

- Cadet JL and Zhu SM. The intrastriatal 6-hydroxydopamine model of hemiparkinsonism: quantitative receptor autoradiographic evidence of correlation between circling behavior and presynaptic as well as postsynaptic nigrostriatal markers in the rat. *Brain Res* 1992; **595**: 316-26.
- Chalon S, Emond P, Bodard S, et al. Time course of changes in striatal dopamine transporters and D2 receptors with specific iodinated markers in a rat model of Parkinson's disease. *Synapse* 1999; **31**: 134-9.
- Chritin M, Blanchard V, Raisman-Vozari R, et al. DA uptake sites, D1 and D2 receptors, D2 and preproenkephalin mRNAs and Fos immunoreactivity in rat striatal subregions after partial dopaminergic degeneration. *Eur J Neurosci* 1996; **8**: 2511-20.
- Clarkson ED, Rosa FG, Edwards-Prasad J, et al. Improvement of neurological deficits in 6-hydroxydopamine-lesioned rats after transplantation with allogeneic simian virus 40 large tumor antigen gene-induced immortalized dopamine cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; **95**: 1265-70.
- Fang P, Wu CY, Liu ZG, et al. The preclinical pharmacologic study of dopamine transporter imaging agent [^{99m}Tc]TRODAT-1. *Nucl Med Biol* 2000; **27**: 69-75.
- Fujita M, Nishino H, Kumazaki M, et al. Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of 6-OHDA lesioned rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; **39**: 127-36.
- Hashitani T, Mizukawa K, Kumazaki M and Nishino H. Dopamine metabolism in the striatum of hemiparkinsonian model rats with dopaminergic grafts. *Neurosci Res* 1998; **30**: 43-52.
- Ito Y, Fujita M, Shimada S, et al. Comparison between the decrease of dopamine transporter and that of L-DOPA uptake for detection of early to advanced stage of Parkinson's disease in animal models. *Synapse* 1999; **31**: 178-85.
- Jaber M, Jones S, Giros B and Caron MG. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission. *Mov Disord* 1997; **12**: 629-33.
- Lee CS, Cenci MA, Schulzer M and Bjorklund A. Embryonic ventral mesencephalic grafts improve levodopa-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Brain* 2000; **123**: 1365-79.
- Levivier M and Donaldson D. Metabolic changes after injection of quinolinic acid or 6-hydroxydopamine in the rat striatum: a time-

- course study using cytochrome oxidase and glycogene phosphorylase a histochemistry. *Neurol Res* 2000; **22**: 425-9.
- May CH, Guilarte TR, Wagner HN and Vogel S. Intrastratial infusion of lisuride--a potential treatment for Parkinson's disease? Behavioral and autoradiographic studies in 6-OHDA lesioned rats. *Neurodegeneration* 1994; **3**: 305-13.
- Murer MG, Dziewczapolski G, Menalled LB, et al. Chronic levodopa is not toxic for remaining dopamine neurons, but instead promotes their recovery, in rats with moderate nigrostriatal lesions. *Ann Neurol* 1998; **43**: 561-75.
- Nikkhah G, Bentlage C, Cunningham MG and Bjorklund A. Intranigral fetal dopamine grafts induce behavioral compensation in the rat Parkinson model. *J Neurosci* 1994; **14**: 3449-61.
- Nirenberg MJ, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ and Pickel VM. The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Neurosci* 1996; **16**: 436-47.
- Ogawa N, Mizukawa K, Haba K and Sato H. Neurotransmitter and receptor alterations in the rat persistent dyskinesia model induced by iminodipropionitrile. *Eur Neurol* 1990; **30 Suppl 1**: 31-40.
- Perese DA, Ulman J, Viola J, Ewing SE and Bankiewicz KS. A 6-hydroxydopamine-induced selective parkinsonian rat model. *Brain Res* 1989; **494**: 285-93.
- Prasad KN, Clarkson ED, La Rosa FG, Edwards-Prasad J and Freed CR. Efficacy of grafted immortalized dopamine neurons in an animal model of parkinsonism: a review. *Mol Genet Metab* 1998; **65**: 1-9.
- Schiffmann SN and Vanderhaeghen JJ. Adenosine A2 receptors regulate the gene expression of striatopallidal and striatonigral neurons. *J Neurosci* 1993; **13**: 1080-7.
- Sullivan AM, Opacka-Juffry J and Blunt SB. Long-term protection of the rat nigrostriatal dopaminergic system by glial cell line-derived neurotrophic factor against 6-hydroxydopamine in vivo. *Eur J Neurosci* 1998; **10**: 57-63.
- Van Kampen JM and Stoessl AJ. Effects of oligonucleotide antisense to dopamine D(1A) receptor messenger RNA in a rodent model of levodopa-induced dyskinesia. *Neuroscience* 2000; **98**: 61-7.
- Woodgate A, MacGibbon G, Walton M and Dragunow M. The toxicity of 6-hydroxydopamine on PC12 and P19 cells. *Brain Res Mol Brain Res* 1999; **69**: 84-92.

図の説明

図 1. 抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫抗体染色画像 (Bregma 1.00mm)

図 1.1. 対照群ラット

線条体にやや強い染色性を認め、その他の灰白質に比較的均一な染色性を認める。

図 1.2. パーキンソンモデルラット

破壊側の線条体に著明な染色性の低下を認める。

図 2. [H-3]GBR12935によるオートラジオグラフィ (上段 : Bregma 1.00mm, 中段 : Bregma -0.92mm, 下段 : Bregma -5.50mm)

図 2.1. 対照群ラット

図 2.1.1. 総結合画像

線条体に強い集積を認める。

図 2.2. パーキンソンモデルラット

図 2.2.1. 総結合画像

破壊側の線条体の集積が著明に低下している。

黒質の集積は低いが、線条体と同様に破壊側の低下を認める。

図 2.2.2. 非特異結合画像

灰白質に比較的均一な集積を認める。左右差ははっきりしない。

図 3. [H-3]SCH23390によるオートラジオグラフィ

図 3.1. 対照群ラット (上段 : Bregma 1.00mm, 中段 : Bregma -0.92mm, 下段 : Bregma -5.50mm)

図 3.1.1. 総結合画像

線条体および黒質に強い集積を認める。

図 3.1.2. 非特異結合画像

全体的に集積は淡いが、線条体に相対的高集積を認める。

図 3.2. パーキンソンモデルラット

図 3.2.1. 総結合画像 (上段 : Bregma 1.00mm, 中段 : Bregma -0.92mm, 下段 : Bregma -5.50mm)

線条体および黒質に強い集積を認める。左右差は認められない。

図 3.2.2. 非特異結合画像 (上段 : Bregma 1.00mm, 下段 : Bregma -0.92mm)

全体的に集積は淡いが、線条体に相対的高集積を認める。

図 4. [H-3]YM09151-2によるオートラジオグラフィ (上段 : Bregma 1.00mm, 中段 : Bregma -0.92mm, 下段 : Bregma -5.50mm)

図 4.1. 対照群ラット

図 4.1.1. 総結合画像

線条体に強い集積を認める。

図 4.1.2. 非特異結合画像

全体的に集積は淡い。

図 4.2. パーキンソンモデルラット

図 4.2.1. 総結合画像

定量評価にて破壊側の軽度亢進が認められた。

黒質の集積は低いが、破壊側の低下を認める。

図 4.2.2. 非特異結合画像

全体的に集積は淡い。

図 5. 線条体レベルにおける各画像の比較

A : 抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色

B : [H-3]GBR12935によるオートラジオグラフィ

C : [H-3]SCH23390によるオートラジオグラフィ

D : [H-3]YM09151-2によるオートラジオグラフィ

チロシンヒドロキシラーゼとドーパミントランスポータは黒質破壊の影響を受けて低下しているが、D2受容体は定量評価にて破壊側の集積の軽度亢進を認めた。D1受容体は黒質破壊の影響を受けなかった。

図 6. アポモルフィン誘発回転運動と抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性 (A)、および抗チロシンヒドロキシラーゼ抗体による免疫染色性と [H-3]GBR12935結合の相関 (B)

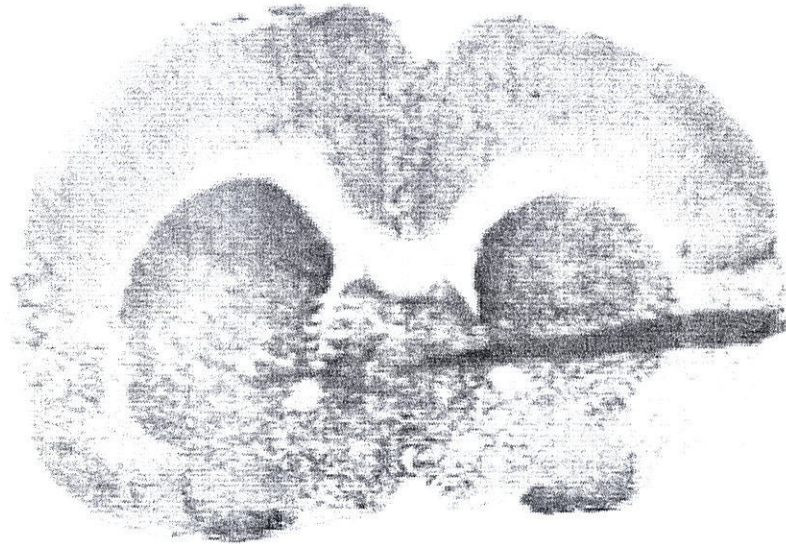


图 1 . 1



图 1 . 2



图 2 . 1 . 1

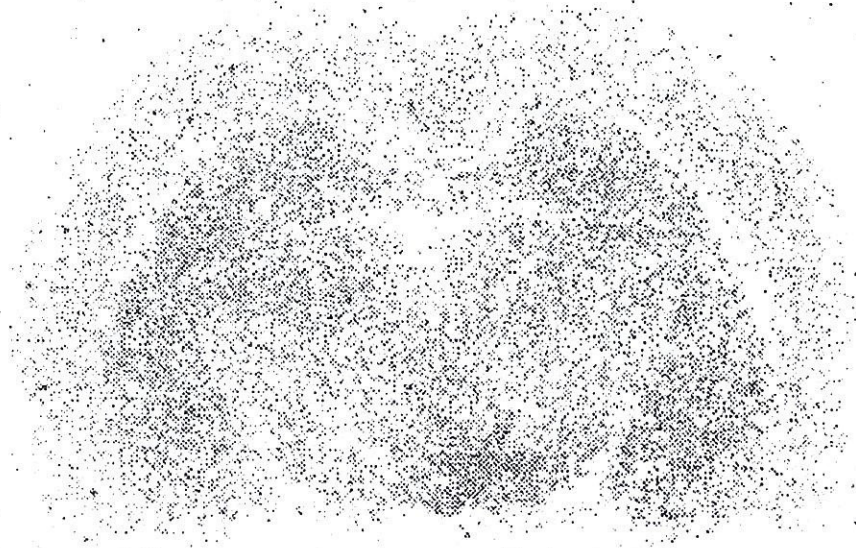
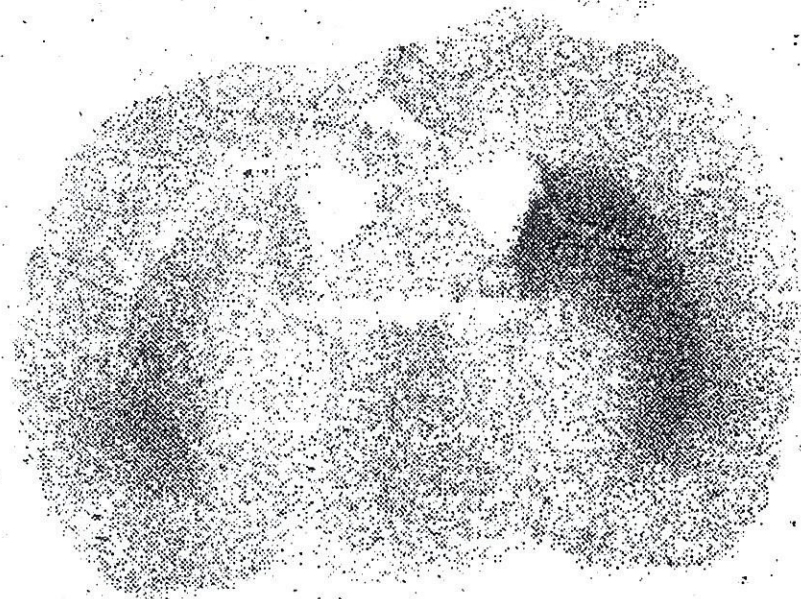
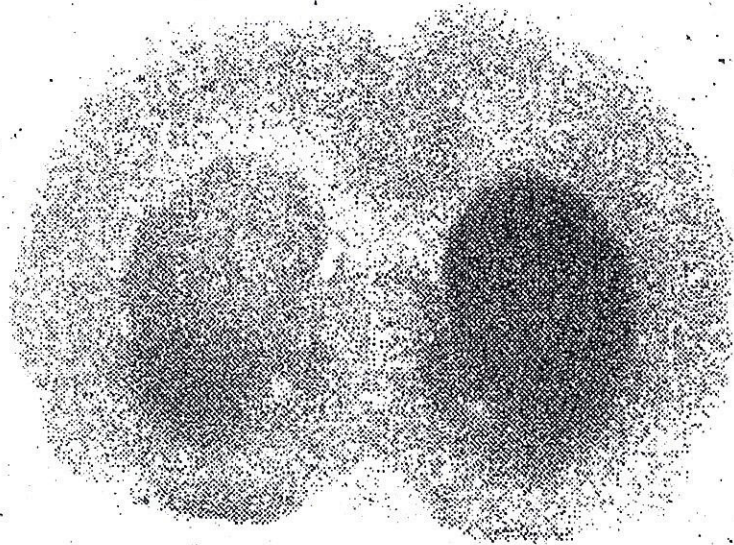


图 2.2.1

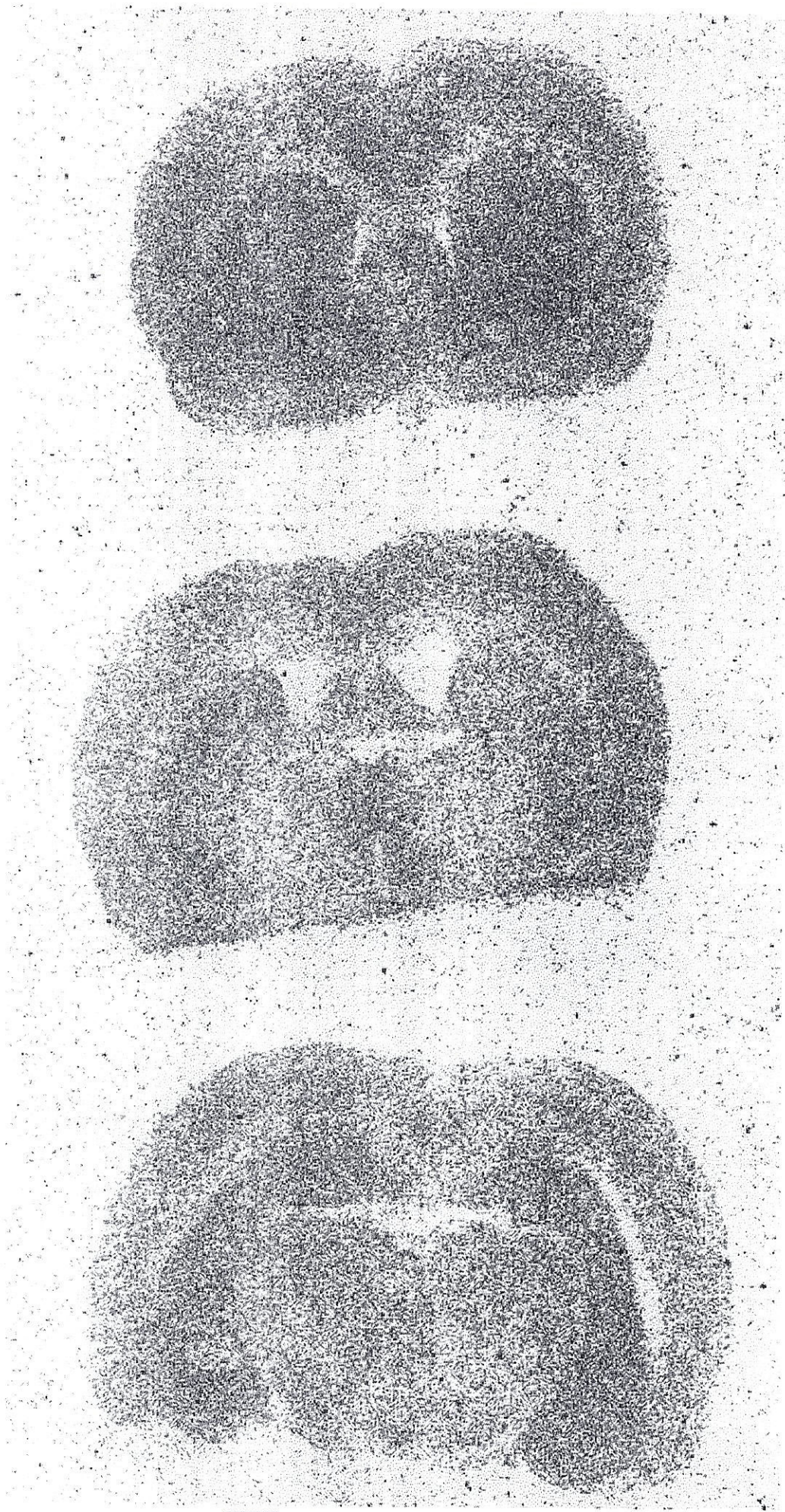


图 2.2.2



图 3 . 1 . 1

图 3 . 1 . 2



图 3.2.1



图 3 . 2 . 2



图 4 . 1 . 1



图 4 . 1 . 2

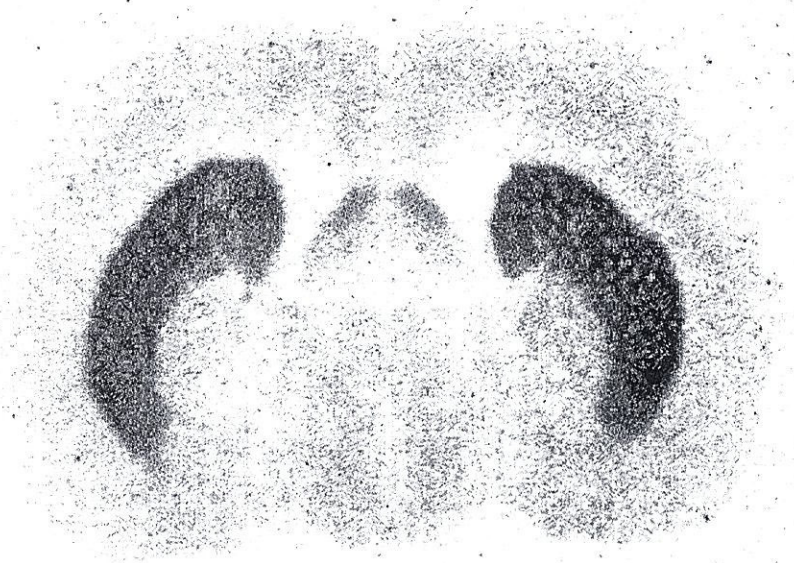
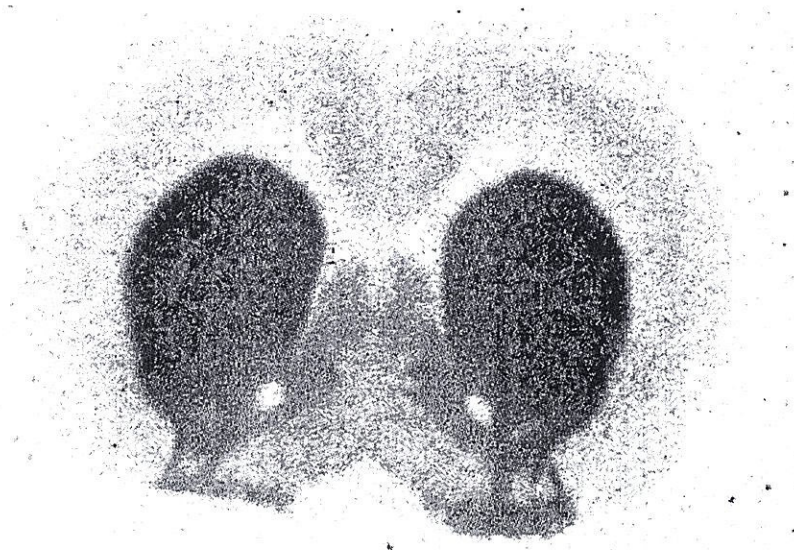
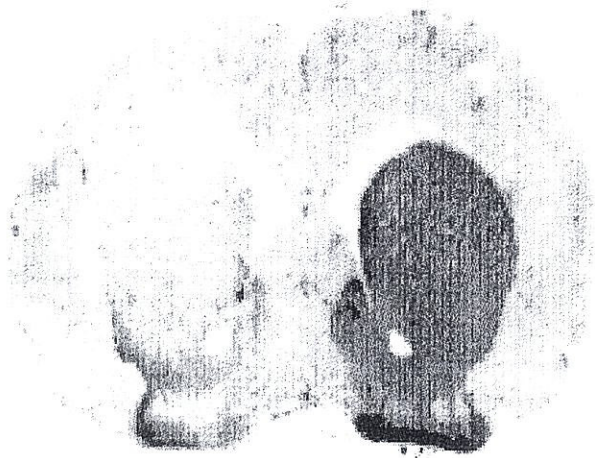


图 4 . 2 . 1

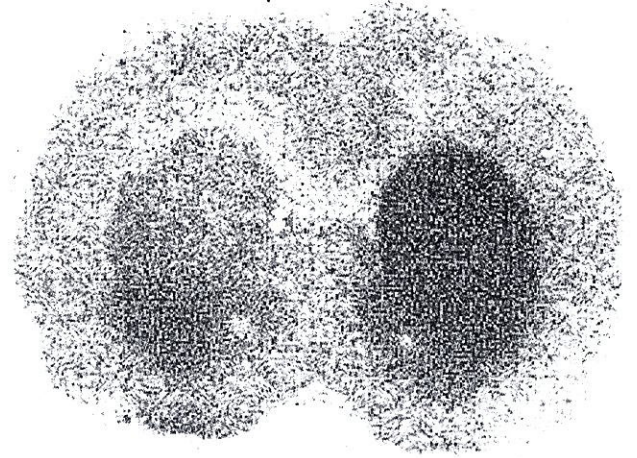


图 4 . 2 . 2

A



B



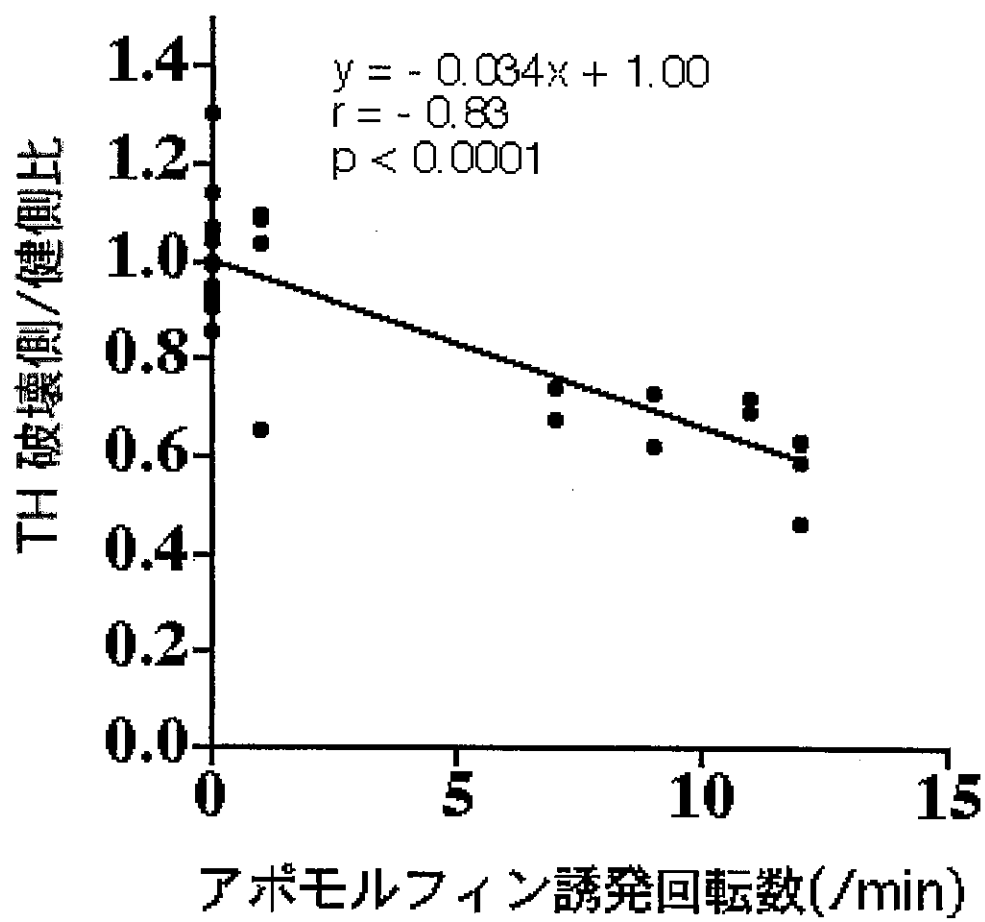
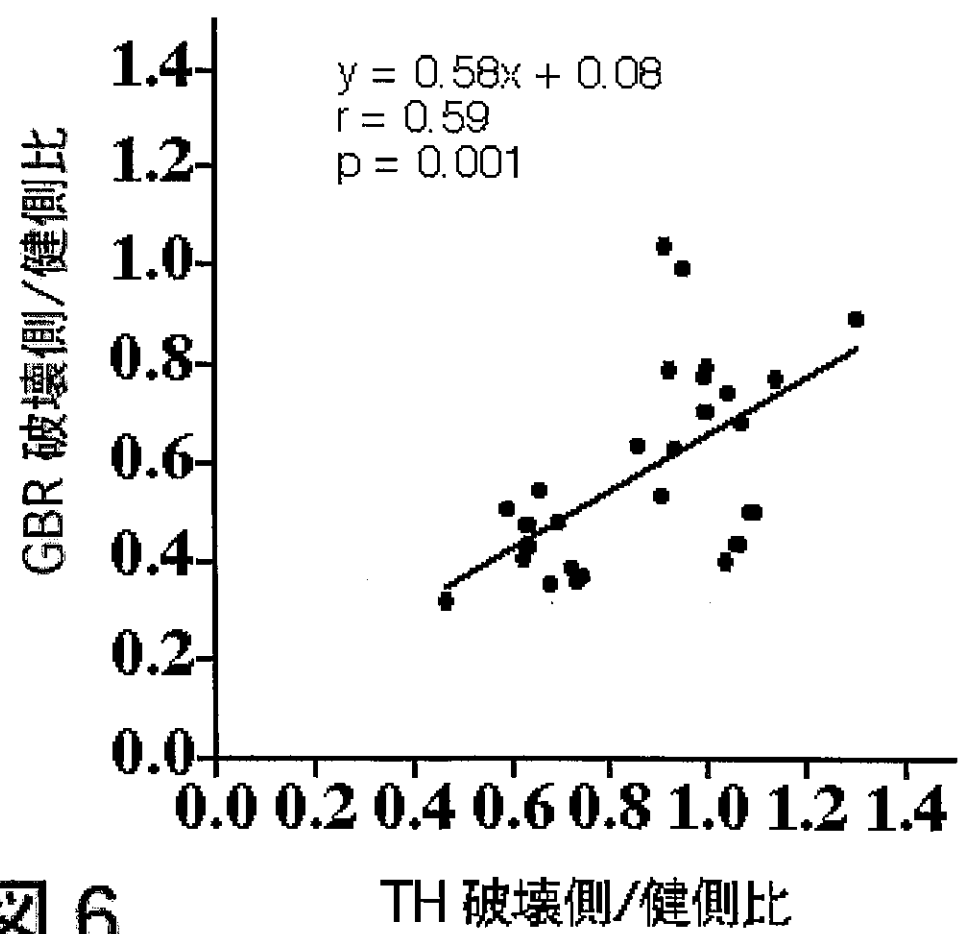
C



D



图 5

A**B****図 6**