

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成27年11月9日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局 薬学研究科

職 名 教授

氏 名 金子周司

助成の種類	平成27年度 ・ 研究者交流支援 ・ 外国人研究者招へい助成		
招へいた研究者	所属・職名	イギリス リーズ大学 ・ 准教授	
	氏 名	Glenn A. McConkey	
研究課題名	トキソプラズマ感染が中枢ドパミン神経に及ぼす影響		
招へい期間	平成27年10月14日 ～ 平成27年11月3日		
招へい成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会計報告	交付を受けた助成金額	315,000円	
	使用した助成金額	315,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	航空賃	163,000円
		鉄道費	4,800円
		宿泊料	80,700円
日 当		66,500円	
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 招へいたDr. McConkeyが年度初めに血栓症に罹患し、長時間フライトに医師から許可が下りずに来日の日程が大きく変更になりご迷惑をおかけしました。なんとか快復されて来日が実現し、共同研究が可能になりました。今後、共同研究を重ね、ゆくゆくはリーズ大学と京都大学の架け橋になればと思っております。		

研究成果の概要

トキソプラズマ感染が中枢ドパミン神経に及ぼす影響

薬学研究科 金子周司

(招へい研究者 Dr. Glenn A. McConkey)

研究背景

Toxoplasma gondii は、ヒトを含むほぼ全ての温血動物に寄生しうる原虫であり、全人類の1/3以上が感染していると考えられている。健常者の場合、急性感染時の症状は軽いが、血液中から原虫が排除されたのちにも、中枢神経細胞や筋肉細胞内で組織シストと呼ばれる集合体を形成し、慢性的な感染が維持される。近年の研究により、*T. gondii* の慢性感染は統合失調症や薬物乱用のオッズ比を増加させることが報告されており、中枢神経、特に報酬をコードする腹側被蓋野に形成された組織シストがこれらの精神症状の発現に寄与していると示唆されている。招へい研究者である Glenn A. McConkey 博士は、哺乳類のドパミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素と同様の機能を持つ酵素を組織シスト内の *T. gondii* が発現していることを見出し、*T. gondii* への感染が、培養細胞においてドパミンの合成量、遊離量を増加させることを報告している (Prandovszky E et al., PLoS One. 2011, 6, e23866)。

本研究では、組織シスト内の *T. gondii* が、腹側被蓋野のドパミン神経に感染し、ドパミン神経機能に与える影響をさらに詳細に検討することを目的としている。当研究室では、ラット新生仔より作成した腹側被蓋野培養切片を用いたドパミン神経機能の評価系を確立させており、本研究ではこの培養脳切片に *T. gondii* を感染させた際の、ドパミン神経機能を組織学的、分子生物学的手法を用いて検討してきた。

すでに2015年5月にMcConkey博士ラボの研究室員1名が来日し、共同研究を行っており、培養脳切片への *T. gondii* の感染がドパミンの遊離量を増加させることを確認している。しかし、組織学的な検討において、十分な組織シストの形成が認められなかったことより、感染条件の詳細な検討が課題として残されていた。今回の招へいでは、より組織シストを形成しやすい条件の設定、および薬物依存状態を模した条件下でのドパミン神経機能変化を検討することが目的であった。

研究成果

より組織シストを形成しやすい条件で検討を行うため、*T. gondii* 感染マウスの脳より採取した組織シストに由来する *T. gondii* を使用し、さらに感染前日に高 pH 条件で16時間処置し、生体内感染時の脳内における免疫応答を模すことで、急速増虫体からシスト系性能を持つ緩増虫体への分化を促した。このように調整した *T. gondii* を培養脳切片に感染させ、感染5日後に免疫組織化学的手法により、組織シストの形成および *T. gondii* 由来のチロシン水酸化酵素の発現、分布を検討したところ、先の共同研究時と比べて多くの組織シストの形成を確認できた。また、組織シスト内には *T. gondii* 由来のチロシン水酸化酵素の分布も確認され、培養脳切片においても組織シストの形成およびチロシン水酸化酵素発現を引き起こすことができた。しかし、同感染条件において、感染3日、および5日後のドパミン遊離量を測定したところ、

T. gondii 感染によるドパミン遊離量の増加を検出することはできなかった。組織シストの形成があったにもかかわらず、ドパミン遊離量が増加していなかった原因として、1)組織シストの形成数が少なく、ドパミン神経細胞内における十分な組織シスト形成が起こっていなかったこと、2)T. gondii により合成された過剰なドパミンのシナプス小胞内への取り込み、および開口放出が正しく行われていないことが考えられた。そこで、上記 2 点への対応として、より多くの T. gondii を感染させ、メタンフェタミンの前処置によりドパミン神経を条件付けし、ドパミン遊離量を測定した。すると、自発的なドパミン遊離量は変化しなかったものの、ドパミン遊離試験時にもメタンフェタミンを処置することで、T. gondii 感染群においてドパミン遊離量の増加傾向を検出することができた。この結果は、T. gondii 感染によるドパミン神経機能変化と薬物依存の関連性を示唆する結果と考えられる。

今後の予定

今回の検討により、以前は確認することが難しかった、培養脳切片内における組織シストの誘導を達成できた。この成果は、McConkey 博士との深い議論があったことにより達成できたものであり、今回の招へいは本共同研究にとって非常に有意義なものであった。今後は、十分な数の T. gondii の感染、および組織シストの形成が行われていることを詳細に検討するため、感染培養脳切片より mRNA を回収し、リアルタイム qPCR 法にて宿主および T. gondii 由来のチロシン水酸化酵素、およびその他のドパミン代謝関連酵素の発現変動についても検討する予定である。招へい期間中の検討では、メタンフェタミン処置という条件下でのみドパミン遊離量の増加が検出できたが、今後は、薬物処置を行わない、自発的な遊離条件下においても、T. gondii 感染による影響を検出できるように実験系の改良を行っていく予定である。

最後に、このような貴重な機会を与えてくださった公益財団法人京都大学教育研究振興財団の助成に対し、謝意を表したい。



(休日に案内した鞍馬寺にて Dr. McConkey と筆者)