

学 位 論 文 題 名

ラットおよびマウス脳ムスカリン性受容体応答機能と
加齢に関する薬理学的研究

学位論文内容の要旨

近年、急激に高齢化社会が進行し、老人性疾患が社会的問題となっている。老人性疾患の中でも痴呆症の患者数が急激に増加するとの予測に対し、医療面での根本的な解決策は見つかっていない。また、その発症機構についてはほとんど解明されていない。脳高次機能の解明は、アルツハイマー病などの痴呆症、パーキンソン病などの精神神経疾患の病態解明、治療、予防の上でも大きな期待が寄せられている。

ヒト病態を直接研究材料とすることは困難であることが多い。この場合、病態モデル動物を使う方法がある。モデル動物を用いることにより、その病態に関する直接的な情報に加え、生体機能に関する基礎知見をも得ることができる。逆に、生体機能に関する基礎研究は疾患の根本的な病態解明、治療、予防などにとって必須である。

今回、著者は、薬理学的研究法により、正常動物を用いることにより学習／記憶に参与する ACh 受容体のサブタイプを、また、そのサブタイプに関連する細胞内情報伝達系を同定した。さらに、高齢動物あるいは老化モデル動物を用いることにより、老化による脳内 ACh 神経系における変化および学習／記憶の ACh 説を支持する知見を得た。これらの知見は脳高次機能の解明および老人性痴呆症などの病態解明および克服にとって重要な知見であると考えられるので報告する。

A) ムスカリン性受容体サブタイプ選択的アンタゴニストを用いた薬理的／神経化学的検討により以下の知見を得た。

1) M1 受容体は PI 代謝活性を上昇した。

この活性調節は PTX 非感受性 GTP 結合性蛋白質が関与する。

2) M2 受容体はフォスコリンによる cAMP 蓄積を阻害した。

この活性は PTX 感受性だったことより、Gi/Go を介していることが示唆された。

- B) ムスカリン性受容体サブタイプ選択的アンタゴニストおよび細胞内 Ca^{2+} 動員阻害薬であるダントロレンを用いた行動薬理学的検討により以下の知見を得た。
- 1) ムスカリン性受容体は学習／短期記憶において一部役割を担っている。
 - 2) 短期記憶から長期記憶への移行期、あるいは長期記憶形成のごく初期段階において、M1 受容体応答が重要である。
 - 3) 記憶想起過程において、M1 受容体は重要ではない。
 - 4) 学習／短期記憶形成過程において、細胞内 Ca^{2+} 動員が一部役割を担っている
 - 5) 長期記憶形成過程において細胞内 Ca^{2+} 動員が重要である。
 - 6) 作業記憶／参照記憶において細胞内 Ca^{2+} 動員が重要である。
- C) 老齡ラットを用いた神経化学的検討より以下の知見を得た。
- 1) M1 大脳皮質および海馬において受容体応答は老齡期に活性低下する。老齡期における学習／記憶障害の原因である可能性が示唆された。
 - 2) 大脳皮質において、 IP_3 受容体の親和性が上昇した。
- D) SAM を用いた神経化学的検討より加齢変化について以下の知見を得た。
- 1) ACh 受容体数大脳皮質において増加し、海馬において減少した。
 - 2) 大脳皮質および海馬においてNMDA 受容体が減少した。
 - 3) L 型 Ca チャネルは大脳皮質において増加し、海馬において減少した。
 - 4) 大脳皮質および海馬においてプロテインキナーゼ C が減少した。
 - 5) $\omega 3$ 受容体数が大脳皮質および海馬において増加した。脳神経細胞の変性あるいは脱落が示唆された。
- E) 老齡ラットおよび SAM 大脳皮質において、機能低下に対する代償的機能を示唆する変化が認められた。一方、海馬においてこの変化は認められなかった。

以上より、学習／記憶にムスカリン性受容体のサブタイプのうち M1 受容体応答、特に細胞内 Ca^{2+} 動員が、重要であることを個体レベルにおいて具体的に示すことができた。また、老人性痴呆症あるいはアルツハイマー型痴呆症における病理学的所見と類似する幾つかの知見を得ることができた。つまり、1) 脳 ACh 神経系が加齢に伴い機能低下すること、2) 大脳皮質 ACh 系は老齡期でも比較的機能を維持できている可能性があることである。上記 2) は知見 E) から推察された結論である。この機構の解明は、痴呆症の克服にとって重要な知見であるとともに脳高次機能の解明にもつながる可能性を秘めている点で重要な知見であると思われる。

また、中枢神経系の老化に関する実験モデル動物としての SAM-P8 の有用性を示すことができた。

分子生物学の発展を始め脳神経機能に関する研究基盤が整いつつある現在、

より多角的な個体レベルでの機能解明の進展が期待される。

学位論文審査の要旨

主査	教授	野村靖幸
副査	教授	栗原堅三
副査	助教授	徳光幸子
副査	助教授	三宅教尚

学位論文題名

ラットおよびマウス脳ムスカリン性受容体応答機能と 加齢に関する薬理学的研究

申請者大貫敏男は、脳におけるアセチルコリン神経系、とくにそのムスカリン性受容体に関する神経化学的、行動薬理学的研究を進めてきたが、今回、その応答機構、学習／記憶における機能ならびに加齢変化について新知見を得、本学位論文を申請してきた。

脳内で神経伝達物質として機能する可能性の高いアセチルコリン (acetylcholine, ACh) は大脳皮質や海馬に高濃度存在し、ムスカリン性受容体 (mACh受容体) への作用を介し、学習／記憶などの脳高次機能に関与すると推定されているが、脳mACh受容体応答機構とその生理的機能、さらに加齢変化について不明の点が多い。本論文では、ラット、マウスおよび老化促進モデルマウス (senescence-accelerated mouse, SAM) およびそれらの脳組織、ならびにmACh受容体サブタイプへの選択的遮断薬を使用し検討した。

まず、成熟ラット大脳皮質切片標本において、高濃度KCl刺激に伴い放出されるアセチルコリン (ACh) が主として (その他の神経伝達物質も一部) 関わってイノシトールリン酸 (IP) 生成を促進すること、AChの効果はmACh受容体を介することを示した。さらに、カルバコール

(carbachol, CCh) はIP生成を促進するが、CChのこの作用に対するM₁型mACh受容体選択的遮断薬（ピレンゼピン）およびM₂型mACh受容体選択的遮断薬（AF-DX116）の抑制効果の程度から、CChはM₁型mACh受容体を介しホスファチジルイノシトール（PI）代謝を促進することを示唆した。また、CChのPI代謝促進作用にはM₁型mACh受容体に共役する百日咳毒素非感受性G蛋白質も関与すること、一方、M₂型mACh受容体は抑制性G蛋白質（Gi/Go）を介しアデニル酸シクラーゼ活性を抑制することも示した。

次に成熟マウスにmACh受容体サブタイプ非選択的遮断薬アトロピンと選択的遮断薬ピレンゼピン、AF-DX116の脳室内投与後、受動的回避反応実験によって学習／記憶機能の変化に及ぼす影響を解析したところ、M₁型mACh受容体応答機能はとくに長期記憶の形成と保持に、また想起にもある程度関与することを示した。さらに、細胞内のCa²⁺遊離抑制薬ダントロレンを用いた受動的回避実験ならびに八方向放射状迷路実験を行い、細胞内遊離型Ca²⁺もとくに長期記憶の形成に、またある程度短期記憶の形成と想起にも関与することを示唆した。

記憶の形成に関わる脳M₁型mACh受容体応答系の加齢変化を解明するため、老齢ラットおよびSAMを用いて解析したところ、老齢（27-30ヵ月齢）のラットでは、成熟（1-2ヵ月齢）動物に比べ大脳皮質および海馬でM₁型mACh受容体が減少し、M₁型mACh受容体介在性のPI代謝促進活性が低下すること、さらに大脳皮質のイノシトール1,4,5,-三リン酸（IP₃）受容体数が増加することを示した。また、SAMP8系（老化促進系）マウスの大脳皮質ではR1系（正常老化系）に比べて9ヵ月齢ではPI代謝活性が高いこと、また、13ヵ月齢では9ヵ月齢の活性より低下することを見出した。

以上のように、本論文は脳M₁型mACh受容体・G蛋白質系を介するPI

代謝促進系が学習／記憶の機能発現に関わること、さらに、この系の活性の加齢変化が学習／記憶の老化に伴う低下に関わる可能性を示唆しており、本審査委員会は本論文を博士（薬学）の学位を受けるに十分値すると認めた。