

新規アセチルコリン合成酵素の  
脳ニューロン局在と投射様式の解析

(課題番号 12480225)

平成12年度～平成13年度科学研究費補助金  
(基盤研究(B)(2))研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 **木村 宏**  
(滋賀医科大学・分子神経科学研究センター) 教授  
(システム脳機能分野)



はしがき

2001015467

## 研究組織

研究代表者：木村 宏（滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・システム脳機能解析分野）  
 研究分担者：安原 治（滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・システム脳機能解析分野）  
 研究分担者：遠山育夫（滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・神経遺伝子解析分野）  
 研究分担者：相見良成（滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・神経遺伝子解析分野）

## 研究経費

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成12年度	9,800	0	9,800
平成13年度	4,800	0	4,800
総計	14,600	0	14,600

## 研究発表

- Kimura H, Aste N, Nakajima K, Aimi Y, Yasuhara O, Tooyama I: Peripheral type choline acetyltransferase: molecular neuroanatomy. *Ital. J. Anat. Embryol.* 104: S1, 1999.
- Nakanishi Y, Tooyama I, Yasuhara O, Aimi Y, Kitajima K, Kimura H: Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase of a peripheral type in the rat larynx. *J. Chem. Neuroanat.* 17:21-32, 1999.
- Nakagawa E, Aimi Y, Yasuhara O, Tooyama I, Shimada M, McGeer P.L, Kimura H: Enhancement of progenitor cell division in the dentate gyrus triggered by initial limbic seizures in rat models of epilepsy. *Epilepsia* 41:10-18, 2000.
- Tooyama I, Kimura H: A protein encoded by an alternative splice variant of choline acetyltransferase mRNA is localized preferentially in peripheral nerve cells and fibers. *J. Chem. Neuroanat.* 17:217-226, 2000.
- Nakajima K, Tooyama I, Yasuhara O, Aimi Y, Kimura H: Immunohistochemical demonstration of choline acetyltransferase of a peripheral type (pChAT) in the enteric nervous system of rats. *J. Chem. Neuroanat.* 18:31-40, 2000.
- Kitamura Y, Taniguchi T, Kimura H, Nomura Y, Gebicke-Haerter P.J.: Interleukin-4-inhibited mRNA expression in mixed rat glial and in isolated microglial cultures. *J. Neuroimmunology* 106:95-104, 2000.
- Park M, Tokunaga Y, Kimura H, Tooyama I, Maeda T, Renda TG: Ontogeny of (D-Ala<sup>2</sup>)-deltorphin I-like immunoreactive neurons in foetal rat brain. *J. Chem. Neuroanat.* 18:11-22, 2000.
- Suzuki M, Kitanishi T, Kitano H, Yazawa Y, Kitajima K, Takeda T, Tokunaga Y, Maeda T, Kimura H, Tooyama I: C-type natriuretic peptide-like immunoreactivity in the rat inner ear. *Hear. Res.* 139:51-58, 2000.
- Kuriyama K, Hirouchi M, Kimura H: Neurochemical and molecular pharmacological aspects of the GABAB receptor. *Neurochem. Res.* 25: 1233-1239, 2000.
- Tooyama I, Abe H, Renda TG, Kimura H: Production and immunohistochemical application of antiserum against Tyr-D-Ala-Phe, a N-terminal tripeptide common to dermorphin/deltorphin family. *Peptides* 21: 1649-1655, 2000.
- Yu S, Zhao T, Fan M, Tooyama I, Kimura H, Renda TG: Production of monoclonal antibody to deltorphin-I and its immunocytochemical application to adult rat brain and cultured rat brain neurons. *Peptides* 21: 1657-1662, 2000.
- Matsuoka Y, Aimi Y, Kimura H, Taniguchi T, Oomura Y, Sasaki K, Tooyama I: Demonstration of acidic fibroblast growth factor (FGF-1) in rat adrenal gland. *Acta histochem cytochem* 34: 129-134, 2001.
- Tooyama I, Sato H, Yasuhara O, Kimura H, Konishi Y, Shen Y, Walker DG, Beach TG, Sue LJ, Rogers J: Correlation of the expression level of C1q mRNA and the number of C1q-positive plaques in the Alzheimer disease temporal cortex. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12: 237-242, 2001.
- Komai H, Naito Y, Aimi Y, Kimura H: Nitric oxide synthase expression in lungs of pulmonary hypertensive patients with heart disease. *Cardiovasc Pathol.* 10: 29-32, 2001.
- Kage M, Yang Q, Sato H, Matsumoto S, Kaji R, Akiguchi I, Kimura H, Tooyama I: Acidic fibroblast growth factor(FGF-1) in the anterior horn cells of ALS and control cases. *NeuroReport* 12: 3799-3803, 2001.
- Terada H, Nagai T, Okada S, Kimura H, Kitahama K: Ontogenesis of neurons immunoreactive for nitric oxide synthase in rat forebrain and midbrain. *Dev. Brain Res.* 128: 121-137, 2001.
- Kitano H, Takeda T, Takeda S, Suzuki M, Kitanishi T, Kitajima K, Kimura H, Tooyama I: Endolymphatic hydrops by administration of vasopressin in the rat. *Acta Histochem. Cytochem.* 34: 229-233, 2001.
- Kitamura Y, Spleiss O, Li H, Taniguchi T, Kimura H, Nomura Y, Gebicke-Haerter P. J. : Lipopoly-saccharide-induced switch between retinoid receptor (RXR) a and glucocorticoid attenuated response gene (GARG) -16 messenger RNAs in cultured rat microglia. *J. Neurosci. Res.* 64: 553-563, 2001.
- Sunday ME, Haley KJ, Emanuel RL, Torday JS, Asokanathan N, Sikorski KA, Tooyama I, Kimura H, Renda T, Erspamer V.: Fetal Alveolar Epithelial Cells Contain [D-Ala(2)]-Deltorphin I-like Immuno-reactivity.  $\delta$ - and  $\mu$ -opioid receptors mediate opposite effects in developing lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 25: 447-456, 2001.
- Tooyama I, Bellier JP, Park M, Minnasch P, Uemura S, Hisano T, Aimi Y, Yasuhara O, Kimura H: Morphological study of neuronal death, glial activation and progenitor cell division in the hippocampus of rat models of epilepsy. *Epilepsia* (in press) 2001.

## 研究成果概要

本研究者らが発見したコリンアセチル基転移酵素（アセチルコリンの合成酵素）のサブライス・バリエーション（pChATと命名）は、主として末梢コリン神経系に分布することを免疫組織化学法を用いて証明してきた。

コリンアセチル基転移酵素は、コリン作動性神経の最も信頼できるマーカーと考えられてきたが、そのアイソザイムが存在するという報告はなかった。pChATは基質結合ドメインおよび酵素活性ドメインの両者を備えており、既知の酵素と同様にアセチルコリン産生能をもつアイソザイムである。したがって、pChATはコリン作動性神経の新しいマーカーであると云える。

一方、予備的な探索研究としてラット脳を検索したところ、視床下部の隆起乳頭体（大細胞性）核を構成する少なくとも半数のニューロンにpChAT免疫陽性反応が局在することが判明した。そこで本研究では、「隆起乳頭体核—大脳皮質路」におけるコリン作動性神経の存在を、遺伝子解析を組み合わせた神経解剖学的手法によって立証しようとした。

隆起乳頭体核の大細胞性ニューロンは、ヒスタミンをはじめ種々の神経伝達関連物質を含有すること、主として大脳皮質の広範な領域に軸索を送ること、認知・記憶・学習・睡眠など高次脳機能に関わること、などが明らかになりつつある。しかし、この「隆起乳頭体核—大脳皮質路」にコリン作動性神経が参画することは、これまで想定されていなかった。

本研究の成果として、「隆起乳頭体核—大脳皮質路」を構築する神経投射系が、古典的伝達物質ヒスタミンのみならずアセチルコリンの2種を駆動して、皮質機能の調節に与えるという可能性が、神経解剖学および分子生物学的な証拠によって示された。さらにアデノシン脱アミノ酵素も、これら大脳皮質投射ニューロンに共存することも明らかとなった。これらの事実から、コリン作動性の「無名質—大脳皮質路」に加えて、皮質下から発する大脳皮質のコリン作動性制御機構の解明が進み、ひいてはシステム脳機能の理解に大きく貢献できると期待される。

以上の研究成果は、2002年3月4日に開催した「コリン神経系の分子機構」に関する国際シンポジウム（滋賀医科大学: 3頁参照）で発表され、翌5日に実施された外国人研究者5名による外部評価委員会においても、その独創性が高く評価された。なお、外部評価委員会からの報告書は2002年4月に小冊子にまとめ、関連研究機関へ配布するとともに文部科学省・学術国際局に提出される予定である。