

# アルツハイマー病における新しいコリン作動性 神経路に関する研究

(課題番号 13670639)

平成13年度～平成14年度研究成果報告書

(基盤研究(C)(2))

平成15年3月

研究代表者 遠山 育夫

(滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・教授)

アルツハイマー病における新しいコリン作動性  
神経路に関する研究

(課題番号 13670639)

平成 13 年度 ～ 平成 14 年度研究成果報告書

(基盤研究 (C)(2) )

平成 15 年 3 月

研究代表者

遠山 育夫

(滋賀医科大学・分子神経科学研究センター・教授)

滋賀医科大学附属図書館



2002018485

## 目次

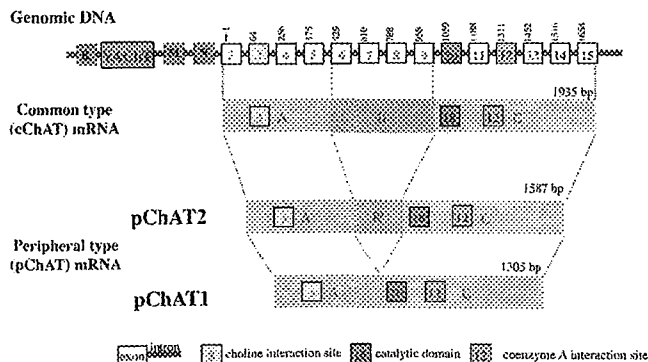
|           |       |   |
|-----------|-------|---|
| はしがき      | ----- | 1 |
| 研究組織・研究経費 | ----- | 2 |
| 成果発表      | ----- | 3 |
| 研究成果      | ----- | 5 |
| 将来への展望    | ----- | 6 |
| 参考資料・研究論文 | ----- | 7 |

## はしがき

コリンアセチル基転移酵素 (ChAT) は、アセチルコリン作動性神経の神経伝達物質であるアセチルコリンの合成酵素である。アセチルコリン作動性神経は、中枢および末梢神経系に広く分布し、重要な機能を果たしている。なかでも、前脳基底部に細胞体を有し、大脳皮質へ広く神経投射するアセチルコリン作動性神経回路は、学習・記憶などの高次脳機能を担い、アルツハイマー病では強く障害されることが知られている。本研究代表者は、京都大学医学研究科大学院 (神経内科) 時代に、亀山正邦教授 (当時)、中村重信助教授 (現広島大学教授) の指導のもとに「アルツハイマー病のアセチルコリン合成酵素の異常に関する研究」を行った。その結果、アルツハイマー病の大脳皮質では、ChAT 酵素は裏的に低下するばかりでなく質的にも変化しており、ChAT サブタイプの存在が推定された (Koshimura K et al., J Neurol Science, 76: 13-150, 1986)。この研究を出発点として、ChAT サブタイプの存在を検索した結果、我々はラットの翼口蓋神経節から新しい ChAT サブタイプを発見し、pChAT と命名した (Tooyama and Kimura, J Chem Neuroanat, 17: 217-226, 2000)。

本研究では、ラットおよびヒトの脳、とくにアルツハイマー病脳における pChAT の発現と局在、アルツハイマー病における変化などを検討し、以下のような成果をあげた。

### Multiple mRNAs for Choline Acetyltransferase (ChAT)



## 研究組織・研究経費

### 研究組織

研究代表者： 遠山育夫（滋賀医科大学分子神経科学研究センター・教授）

研究分担者： 松尾明典（滋賀医科大学分子神経科学研究センター・助手）

### 研究経費

平成 13 年度 1,800 千円

平成 14 年度 1,600 千円

## 成果発表

### 1) 学術誌等

1. I Tooyama, H Sato, O Yasuhara, H Kimura, Y Konishi, Y Shen, DG Walker, TG Beach, LI Sue and J Rogers: Correlation of the expression level of C1q mRNA and the number of C1q-positive plaques in the Alzheimer disease temporal cortex: analysis of C1q mRNA and its protein using adjacent or nearby sections. **Dementia Geri Med**12: 237-242, 2001.
2. Y Matsuoka, Y Aimi, H Kimura, T Taniguchi, Y Oomura, K Sasaki, I Tooyama: Demonstration of acidic fibroblast growth factor (FGF-1) in rat adrenal gland. **Acta Histochem Cytochem** 34: 129-134, 2001.
3. M Kage, Q Yang, I Akiguchi, R Kaji, H Sato, S Matsumoto, H Kimura, I Tooyama: Acidic fibroblast growth factor (FGF-1) in the anterior horn cells of ALS and control cases. **NeuroReport** 12: 3799-3803, 2001.
4. I Tooyama, J-P Bellier, M Park, P Minnasch, S Uemura, T Hisano, Y Aimi, O Yasuhara and H Kimura: Morphological study of neuronal death, glial activation and progenitor cell division in the hippocampus of rat models of epilepsy. **Epilepsia** 43: Supple 9: 39-43, 2002.
5. H Kanayama, O Yasuhara, A Matsuo, I Tooyama, Y Aimi, J-P Bellier, JI Nagy, K Fukui, H Kimura: Expression of a splice variant of choline acetyltransferase in magnocellular neurons of the tuberomammillary nucleus of rat. **Neuroscience** 118: 243-251, 2003. Behavioral/Systems Neuroscience/ Dr. Francis J. White
6. O Yasuhara, I Tooyama, Y Aimi, J-P Bellier, T Hisano, A Matsuo, M Park, H Kimura: Demonstration of cholinergic ganglion cells in rat retina: expression of an alternative splice variant of choline acetyltransferase. **J Neurosci** 23: 2872-2881, 2003.
7. Kondo T, I Tooyama : Deposition of alpha2-macroglobulin in fibrillar type of senile plaques in the brain of PS/APP-transgenic mice. **Acta Histochem Cytochem** (in press).

## 2) 学会発表

### 国際学会・シンポジウム等

1. I Tooyama: Choline acetyltransferase of peripheral type: structure, function and localization. Neuro2001, Kyoto September, 2001 (symposium) .
2. 安原治、遠山育夫、相見良成、松尾明典、金山秀彦、木村宏：選択スプライシングによるアセチルコリン合成酵素の多様性 Neuro2001, Kyoto September, 2001 (symposium) .
3. T Kondo, Y Matsuoka , K Duff , I Tooyama: Immunohistochemical study of alpha-2-macroglobulin in the brain of PS/APP transgenic mice. The 8th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders. Stockholm, Sweden. July, 2002.
4. H Sato, Y Konishi, DG Walker, TG Beach, J Rogers, I Tooyama: Detection of a novel variant encoding C1q B-chain in the temporal cortex of the Alzheimer disease brain. The 8th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders. Stockholm, Sweden, July, 2002.

### 国内学会

1. 相見良成、二宮貴文、遠山育夫、安原治、木村宏：後根神経節におけるアセチルコリン合成能の証明 第106回日本解剖学会総会 高知 2001年4月
2. 松尾明典、遠山育夫、安原治、岡部英俊、木村宏：コリンアセチル基転移酵素のスプライスバリエント pChAT の脳内分布 第42回日本神経学会総会 東京 2001年5月
3. 遠山育夫 アルツハイマー病の基礎と臨床「ワクチン療法」 第44回日本老年医学会学術集会イブニングシンポジウム 2002年5月
4. 松尾明典、金山秀彦、相見良成、安原治、遠山育夫、木村宏：コリンアセチル基転移酵素のスプライスバリエント pChAT のラット脳内分布 第78回日本解剖学会近畿地方会 京都 2002年12月

## 研究成果

本件研究補助金が授与された2年間に pChAT をアセチルコリン合成酵素とする新しいコリン作動性神経回路について、以下の研究成果を得た。

### 新しいコリン作動性神経回路の発見

ラット脳での pChAT 局在を詳細に検討した結果、新しいコリン作動性神経回路として、視床下部の隆起乳頭体に細胞体を持ち大脳皮質に投射するニューロンが pChAT を含有することを見いだした。視床下部の隆起乳頭体の pChAT 陽性神経は、軸索輸送を阻害するコルヒチン投与により、より明瞭に検出される。アデノシンデアミナーゼと共存しており、腹側部では、アデノシンデアミナーゼ陽性神経細胞の 85% が、背側部では 19% が pChAT 陽性であった。逆行性トレーサーのコレラトキシン B を大脳皮質に注射したところ、pChAT 陽性神経にコレラトキシン B を検出したことから、視床下部の隆起乳頭体の pChAT 陽性神経が大脳皮質に神経投射することを確認できた。

すなわち哺乳動物の大脳皮質に投射するコリン神経は、既知の「無名質-大脳皮質路」に加え、pChAT を合成酵素とする「隆起乳頭体核-大脳皮質路」が存在することが明らかになった。

### pChAT の系統発生

魚類から哺乳動物まで、pChAT mRNA とその産物についてスクリーニングしたところ、ラット、ネコ、ウシ、サルなどの哺乳動物に広く存在することが判明した。この pChAT にはスプライシングの違いにより、少なくとも2種類存在する。ひとつは、エクソン6、7、8、9を欠くもので、我々がラット翼口蓋神経節から最初のクローニングした pChAT に相当する。もうひとつは、エクソン7、8を欠くタイプで、これを pChAT2 と命名した。



## pChAT の構造

しかし、ヒトでは今の所、pChAT や pChAT2 に相当する cDNA は検出されず、変異スプライシングの機構に違いがあると考えられた。そこでヒト pChAT クローニングに挑戦した結果、ヒトではエクソン7、8、9を欠くと同時にエクソン6の一部も決失した遺伝子を検出した (HpChAT と略す)。

## アルツハイマー例における pChAT 発現

アルツハイマー例および対照例に剖検脳を用いて、pCHAT や HpChAT の発現を検討した。その結果、既知の「無名質-大脳皮質コリン神経回路」には、いずれにおいても pChAT の存在は確認できなかった。

## 将来の展望

上記の結果は、HpChAT はアルツハイマー脳の無名質で生化学的に検出される ChAT サブタイプとは異なることを示している。すなわち、ヒト脳では ChAT サブタイプは複数個存在すると推定され、更なるクローニングが必要と考えられる。今後、ヒト脳の cDNA ライブラリーを使って、クローニングを進めていく予定である。

コリン作動性神経は、学習・記憶などの高次脳機能を担い、アルツハイマー病で機能低下が起きていることは周知の事実の帳りであり、実際にコリンエステラーゼ阻害薬が治療薬として使用されている。これらはすべて、既知の「無名質-大脳皮質路」の研究を基礎としており、新しいコリン神経回路「隆起乳頭体核-大脳皮質路」の発見は、アルツハイマー病における認知機能障害の病態解明とコリン神経をターゲットにした治療戦略にとって極めて重要な意味をもつ。今後、ヒト脳における隆起乳頭体核-大脳皮質コリン作動性神経回路の解析を進めていく予定である。