



# Modulation of Synaptic Plasticity by Physiological Activation of M1 Muscarinic Acetylcholine Receptors in the Mouse Hippocampus

篠江, 徹

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2006-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲3720

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1003720>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 7 6 】

氏 名・（本 籍） 篠江 徹 （ 東京都 ）

博士の専攻分野の名称 博士（医学）

学 位 記 番 号 博い第1774号

学位授与の 要 件 学位規則第5条第1項該当

学位授与の 日 付 平成18年9月25日

【 学位論文題目 】

Modulation of Synaptic Plasticity by Physiological Activation  
of M1 Muscarinic Acetylcholine Receptors in the Mouse  
Hippocampus  
(マウス海馬におけるM1 ムスカリン性アセチルコリン受容体の  
生理的活性化によるシナプス可塑性の修飾機構)

審 査 委 員

主 査 教 授 寺島 俊雄  
教 授 饗場 篤  
教 授 南 康博

69

コリン作動性神経は、学習や記憶といった脳の高次機能に深く関与することが知られている。この学習・記憶の形成メカニズムには、海馬が非常に重要な働きを担うと考えられている。海馬は主に内側中隔核に由来するコリン作動性神経から、その神経終末の投射を受けている。そして、学習・記憶の形成機構に対するアセチルコリンの効果は、主としてムスカリン性アセチルコリン受容体によるものと考えられている。このムスカリン性アセチルコリン受容体には、遺伝子クローニングの研究から、5つの異なるサブタイプ ( $M_1$ 、 $M_2$ 、 $M_3$ 、 $M_4$ 、 $M_5$ ) が存在することが確認されている。これらのうち、 $M_1$ 、 $M_3$ 、 $M_5$  ムスカリン性アセチルコリン受容体は  $G_{q/11}$  と共役し、その活性化によりホスホリパーゼ C を活性化する。一方、 $M_2$ 、 $M_4$  ムスカリン性アセチルコリン受容体は  $G_{i/o}$  と共役し、その活性化によりアデニル酸シクラーゼを抑制する。海馬にはこれら5つのサブタイプ全てが発現しており、その活性化により様々なイオンチャネルを修飾すると共に、神経細胞の興奮性制御を行う。例えば、海馬スライス標本へムスカリン性アセチルコリン受容体のアゴニストを灌流投与することにより、神経細胞の興奮性が上昇し、ネットワーク・オシレーションが発生することが知られている。そしてこのネットワーク・オシレーションにより、脊椎動物の中枢神経系における学習・記憶の細胞レベルの基礎過程と考えられているシナプス伝達の長期増強の誘導が修飾されることが報告されている。またこのネットワーク・オシレーションは、動物の個体レベルにおいては、学習プロセスを反映したものと考えられている。さらに、いくつかの精神疾患では、実際に、コリン作動性神経の機能不全により、記憶障害が生じることが知られている。アルツハイマー病では、海馬を含め、脳におけるコリン作動性神経の欠落が生じること、さらにムスカリン性アセチルコリン受容体の発現量が減少することが報告されている。また加齢の進行に伴い、海馬 CA1 領域における  $M_1$  ムスカリン性アセチルコリン受容体の発現量が低下することが見出されている。

これまでに行われた多くの研究では、比較的高濃度のムスカリン性アセチルコリン受容体アゴニストが用いられてきた。しかしながら、正常な脳における生理的な条件下での神経活動では、局所的なアセチルコリンの濃度がこのような高い濃度になること決してない。これはすなわち、脳内にはコリンエステラーゼが存在するため、アセチルコリンは速やかに加水分解され、消失するためである。また一方、カルバコール (carbamylcholine) やベタネコール (carbamyl- $\beta$ -methylcholine) といったコリン作動性アゴニストは、コリンエステラーゼの加水分解作用に対して完全な耐性を持つため、実際のアセチルコリンよりも長い作用時間を持つ。そのため、生理的な濃度のアセチルコリンが、実際にシナプス可塑性や記憶形成機構の制御に関与するのかという問題は、未だ明らかにされていない。また特定のサブタイプに選択的とされる阻害薬も、

実際にはその選択性が低いという薬理学的な限界を持つことから、具体的にどのサブタイプがこれらのメカニズムに関与するのかということについても、未だその特定がなされていない。

そのため本研究では、これらの問題を明らかにすることを目的とし、電気生理学的な手法を用いて解析を行った。

その結果、サブタイプ非選択的なコリン作動性アゴニストであるカルバコールを低濃度 (50 nM) 灌流投与することにより、マウス海馬スライス標本における興奮性シナプス伝達の長期増強が増大した。さらにこの長期増強の増大効果は、 $M_1$  ムスカリン性アセチルコリン受容体のノックアウトマウスにおいて消失していた。一方、 $M_3$  ムスカリン性アセチルコリン受容体のノックアウトマウスでは、この長期増強の増大効果は正常であった。また双方のノックアウトマウスにおける長期増強そのものには、野生型と比べ、変化は観察されなかった。また、さらに海馬上昇層を高頻度刺激して、内側中隔核に由来するコリン作動性神経の神経終末から内因性アセチルコリンを放出させることにより、野生型マウスにおいて長期増強が増大することを見出した。またこの内因性アセチルコリンによる長期増強の増大効果は、 $M_1$  ムスカリン性アセチルコリン受容体のノックアウトマウスにおいて消失していた。

これら一連の結果から、コリン作動性神経から放出された生理的な内因性アセチルコリンは、シナプス後細胞の  $M_1$  ムスカリン性アセチルコリン受容体を介して、シナプス可塑性を修飾することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

受付番号	甲 第 1774 号	氏 名	篠江 徹
論文題目 Title of Dissertation	<b>Modulation of Synaptic Plasticity by Physiological Activation of M<sub>1</sub> Muscarinic Acetylcholine Receptors in the Mouse Hippocampus</b> (マウス海馬における M1 ムスカリン性アセチルコリン受容体の生理的活性化によるシナプス可塑性の修飾機構)		
審査委員 Examiner	主 査 寺 島 俊 雄 Chief Examiner 副 査 櫻 場 篤 Vice-examiner 副 査 南 康 博 Vice-examiner		
審査終了日	平成 18 年 6 月 23 日		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

コリン作動性神経は、学習や記憶といった脳の高次機能に深く関与することが知られている。この学習・記憶の形成メカニズムには、海馬が非常に重要な役割を担うと考えられている。海馬は主に内側中隔核に存在するコリン作動性神経からの投射を受けている。そして、学習・記憶の形成に対するアセチルコリンの効果は、主としてムスカリン性アセチルコリン受容体(mAChR)によるものと考えられている。この mAChR には、遺伝子クローニングの研究から、5つの異なるサブタイプ (M<sub>1</sub> - M<sub>5</sub>) が存在することが確認されている。これらのうち、M<sub>1</sub>、M<sub>3</sub>、M<sub>5</sub> 受容体は G<sub>q/11</sub> と共役し、その活性化によりホスホリパーゼ C を活性化する。一方、M<sub>2</sub>、M<sub>4</sub> 受容体は G<sub>i/o</sub> と共役し、その活性化によりアデニル酸シクラーゼを抑制する。海馬にはこれらの 5 つのサブタイプが全て発現しており、その活性化により様々なイオンチャネルを修飾すると共に、神経細胞の興奮性を制御している。例えば、海馬スライス標本に mAChR のアゴニストを灌流投与することにより、神経細胞の興奮性が上昇し、ネットワーク・オシレーションが発生することが知られている。そして、このネットワーク・オシレーションにより、中枢神経系における学習・記憶の細胞レベルでの基礎過程と考えられている興奮性シナプス伝達の長期増強(LTP)の誘導が修飾されることが報告されている。また、いくつかの精神神経疾患では、コリン作動性神経の機能不全により記憶障害が生じることが知られている。例えば、アルツハイマー病では、海馬を含め、脳におけるコリン作動性神経の欠落が生じるとともに、mAChR の発現量が減少することが報告されている。また、加齢に伴い、海馬 CA1 領域における M<sub>1</sub> 受容体の発現量が低下することも見出されている。

これまでに行われてきた mAChR の機能に関する多くの研究では、比較的高濃度の mAChR アゴニストが用いられてきた。しかしながら、正常な脳における生理的な条件下での神経活動では、局所的なアセチルコリンの濃度がこのような高い濃度になること決してない。これは、脳内にはコリンエステラーゼが存在するため、アセチルコリンは速やかに加水分解され、消失するためである。それに対し、これまでの研究で使われることが多かったカルバコールやベタネコールといったコリン作動性アゴニストは、コリンエステラーゼの加水分解作用に対して完全な抵抗性を持つため、実際の神経伝達物質であるアセチルコリンよりも長い作用時間を持つ。そのため、生理的な濃度のアセチルコリンが、実際にシナプス可塑性や記憶形成機構の制御に関与しているのかという問題は、未だに明らかにされていないといえる。また、特定のサブ

タイプに選択的とされる阻害薬も、実際にはその選択性が低いという薬理学的な限界があることから、具体的にどのサブタイプが記憶形成のメカニズムに関与するのかということについても、その特定が未だになされていないといえる。

本研究では、これらの問題を明らかにすることを目的とし、電気生理学的な手法を用いて解析を行った。その結果、カルバコールを低濃度 (50 nM) でマウス海馬スライス標本に灌流投与することにより、CA1 領域における LTP が増大することが明らかとなった。また、この LTP の増大効果は、 $M_1$  受容体ノックアウトマウスにおいて消失していた。一方、 $M_3$  受容体ノックアウトマウスでは、この増大効果は正常であった。また、両ノックアウトマウスの LTP そのものは正常であった。さらに、野生型マウスにおいて海馬上昇層を高頻度刺激して内側中隔核に由来するコリン作動性神経終末から内因性アセチルコリンを放出させると、LTP がやはり増大した。また、この内因性アセチルコリンによる LTP 増大効果は、 $M_1$  受容体ノックアウトマウスで消失していた。

これら一連の結果から、コリン作動性神経終末から生理的に放出されるアセチルコリンは、シナプス後細胞の  $M_1$  受容体を介してシナプス可塑性を修飾することが示唆された。

本研究は、従来ほとんど行われていなかった生理的環境下における  $M_1$  受容体を介する海馬 LTP の修飾効果について新しい知見を得たものとして価値ある集積である認める。よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。