The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Alterations in Neocortical Expression of Nicotinic Acetylcholine Receptor mRNAs Following Unilatetal Lesions of the Rat Nucleus Basalis Magnocellularis
Author(s)	宮井, 一郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37589
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【51】

氏名・（本籍）	宮井一郎（みやい いちろう）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9310 号
学位授与の日付	平成2年8月8日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Alterations in Neocortical Expression of Nicotinic Acetylcholine Receptor mRNAs Following Unilatetal Lesions of the Rat Nucleus Basalis Magnocellularis （痴呆モデルにおける脳ニコチン性アセチルコリン受容体遺伝子発現の解析）
論文審査委員	（主査） 教授 垂井清一郎 （副査） 教授 西村 健　教授 津本 忠治

論文内容の要旨

〔目　的〕

脳の高次機能は神経細胞相互のシナプスを介した情報伝達を基盤として成立している。高次脳機能障害を招く一因としてシナプスにおける神経伝達物質受容体の減少による伝達効率の低下があげられる。事実，アルツハイマー型痴呆ではマイネルト核から大脳皮質へ投射するコリン作動系神経細胞の変性が認められ，大脳皮質のニコチン性アセチルコリン受容体（nAChR）数が減少している。したがって痴呆モデルにおける大脳皮質nAChR発現の解析はニコチン性コリン作動系の高次脳機能への関与を知る上で重要であると考えられる。そこで本研究では動物でマイネルト核と相同であるnucleus basalis mágnocellularis（ubm）を破壊して大脳皮質への入力を断ち，コリン性脱神経支配（cholinergic deafferentation）をおこすと学習障害が生じることに着目した。本研究はこの実験動物におけるニコチン性コリン作動性神経細胞の機能変化を受容体mRNA発現を主な指標として解析することにより，神経細胞間の相互作用を遺伝子レベルで明らかにすることを目的とした。

〔方　法〕

Sprague-Dawleyラット（オス，250－300g）の左nbmを脳定位手術にてイボテン酸を注入破壊後，1週と4週に断頭し前頭頭頂葉皮質を摘出し，同部の1）アセチルコリン合成酵素（コリンアセチルトランスフェラーゼ，ChAT）活性，2）nAChR含量，3）nAChR mRNAの発現量の変化を非破壊側を対照として解析した。4）Sham手術を行ったラットでも同様に検討した。大脳皮質ChAT活性は^{14}C－アセチルCoAを基質としてFonnumの方法にしたがって測定した。nAChR含量は^{3}H－L－

ニコチンをリガンドとして，プロテアーゼ阻害剤の存在下でホモゲナイズした脳組織への結合をLippielloらの方法で測定した。ＲＮＡは脳組織よりグアニジン／塩化セシウム法で抽出し，オリゴ（dT）カラムでポリ(A)$^{+}$ RNAを分離した。各nAChRサブユニットcDNA（α３，α４，β２）の相同性の低い３′側約５００bpを ^{32}Pでラベルし，プローブとして用いた。各nAChRサブユニットmRNA発現量はノザンブロット法およびドットブロット法で解析した。また対照としてβアクチンmRNA発現を検討した。

〔成　績〕

１）ChAT活性：非破壊側の大脳皮質ChAT活性は平均4.0 μmol hour/g tissueであった。破壊側のChAT活性はnbm破壊後１週，４週とも有意に低下し（p＜0.01，Student′s t test），それぞれ非破壊側の６５％，６４％であった。

２）nAChR含量：Scatchard解析では大脳皮質には単一の高親和性ニコチン結合部位が存在し，非破壊側のKd，Bmaxはそれぞれ平均２3.8 nM，６7.2 fmol/mg protein であった。破壊側においてKd，Bmaxは１週後，４週後とも変動を示さなかった。

３）nAChR mRNA発現量：ノザンブロット分析の結果，α４プローブで2.4 Kb，α３で2.0 Kb，β２で3.9 Kbと5.7 Kbのバンドが検出され，各プローブ間で交叉反応は認められなかった。そこで各nAChRサブユニットmRNA発現量は段階希釈したポリ(A)$^{+}$ RNA量と，ドットブロットのオートラジオグラムからデンシトメーターで測定した信号強度をプロットして決定した。nbm破壊１週後，対照としたβアクチンmRNAの発現量は変動しなかったにもかかわらず，α４およびβ２mRNAの発現量は非破壊側より有意に増加し（p＜0.0１，Student′s t test），それぞれ平均＋８２％，＋１９％であった。これらのmRNA発現量は４週後には非破壊側と同一のレベルにもどった。一方，α3mRNA発現量のnbm破壊による変動はみられなかった。

４）Sham手術群においてはChAT活性，nAChR含量，nAChRサブユニットmRNA発現量に変動はみられなかった。

〔総　括〕

前頭頭頂葉皮質のChAT活性はnbmからのコリン性脱神経支配により非破壊側の６５％に低下した。nbm破壊１週後，α４とβ２mRNAの発現量が非破壊側のそれぞれ1.8，1.2倍に増加したが，４週後にはともに非破壊側と同一のレベルにもどった。βアクチンmRNA発現量に変化がなかったことから，これらの変動はnAChRサブユニットmRNAに特異的なものであると考えられ，脱神経をうけた大脳皮質神経細胞において早期に除神経性過敏に対応した受容体mRNA発現の変化が存在することを示唆する。nbm破壊による皮質nAChR発現の変動は，従来リガンド結合法では検出されていなかったが，本研究ではそれを遺伝子発現レベルではじめて明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は，動物でnucleus basalis magnocellularis（nbm）を破壊して大脳皮質への入力を断ち，コリン性脱神経支配をおこすと学習障害が生じることに着目し，この際のニコチン性コリン作動性神経細胞の機能変化をニコチン性アセチルコリン受容体mRNA発現を主な指標として経時的に解析したものである。その結果，nbm 破壊後1週でニコチン性受容体サブユニットのうちα4とβ2 mRNA の発現量がそれぞれ1.8倍，1.2倍に増加し，4週でともに対照と同一のレベルにもどることが明らかになった。このような早朝の変動は，脱神経をうけた大脳皮質神経細胞において除神経性過敏に対応した受容体mRNA発現の変化が存在することを示唆する。nbm破壊による皮質ニコチン性受容体発現の変動は従来，リガンド結合法では検出されていなかったが，本研究はそれを受容体遺伝子発現レベルではじめて明らかにしたものであり学位に値する業績と認められる。