

Title	An attempt to cause the selective loss of the cholinergic neurons in the basal forebrain of the rat : a new animal model of Alzheimer's disease
Author(s)	工藤, 幸司
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37840">https://hdl.handle.net/11094/37840</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	く	どう	ゆき	つか
	工	藤	幸	司
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9804	号	
学位授与の日付	平成3年5月28日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文名	An attempt to cause the selective loss of the cholinergic neurons in the basal forebrain of the rat: a new animal model of Alzheimer's disease (ラット前脳基底部コリン作動性ニューロンの選択的破壊による新しいアルツハイマー氏病モデル動物作製の試み)			
論文審査委員	(主査)	遠山	正彌	
	教授			
	(副査)	西村	健	教授 塩谷弥兵衛
	教授			

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

アルツハイマー氏病におけるもっとも確立された所見のひとつがマイネルト核—大脳皮質経路に代表されるコリン作動性ニューロングループ ( $Ch_1-4$ ) の変性であることから、アルツハイマー氏病の病因を解析するためにこれまで多くの前脳基底部コリン作動性ニューロン破壊動物モデルが用いられてきた。最も広範に試みられているのは電氣的破壊によるモデルであるが、この方法ではその破壊は非コリン作動性ニューロンとともに通過線維にまで及ぶ。また、ある種の毒物質、例えばカイニン酸、イボテン酸、キノリン酸または N-メチル-D-アスパラギン酸などを注入する方法もあるが、これらの物質はコリン作動性ニューロンにおいてのみ選択的に毒作用を発揮するわけではない。一方、選択的な破壊は AF64A などのコリノトキシンを用いることにより可能となるが、しかしその影響は脳内すべてのコリン作動性ニューロンにおよぶことが懸念される。

これらのことから、その破壊がコリン作動性ニューロンに選択的で、しかも前脳基底部のみに限局された動物モデルの登場が待たれていた。

近年、NGF 受容体が前脳基底部のコリン作動性ニューロングループ ( $Ch_1-4$ ) に高密度に存在し、しかも大脳皮質に適用された NGF は、前脳基底部のコリン作動性ニューロンの終末に選択的に取り込まれ細胞体に逆行性に輸送されることが明らかにされた。これらの知見は、もし NGF に細胞質内で毒作用を発揮する物質を結合させこれを大脳皮質に適用したならば、このコンプレックスは NGF の作用によって前脳基底部由来のコリン作動性ニューロンの終末に選択的に取り込まれ細胞体に運ばれた後、毒作用を発揮してニューロンを破壊し、結果として目標の動物モデルが作製できる可能性を

示唆させる。

#### 〔方法ならびに成績〕

20  $\mu$ M の 2.5S NGF 15  $\mu$ l と細胞質内で毒作用を発揮する物質として選んだジフテリアトキシン 6  $\mu$ l (63  $\mu$ M) とを混合し、両者をエチルカルボジイミド (CDI) で架橋して NGF-ジフテリアトキシンコンジュゲート (NDTC) を得た。NDTC は SDS PAGE でチェックした。

実験動物として15匹の Wistar 系雄性ラット (約150g) を使用した。一側大脳皮質の前頭、頭頂および後頭皮質の深さ0.5mm に0.5  $\mu$ l の NDTC, NGF, ジフテリアトキシンまたは CDI をマイクロシリンジを用いてペントバルビタル麻酔下に適用した。適用1, 3および7日後にペントバルビタル麻酔下に4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液で脳を灌流固定し、免疫組織化学的手法を用いてコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) およびチロシンヒドロキシラーゼ (TH) の免疫反応活性 (IR) を指標に、それぞれコリン作動性およびカテコールアミン作動性ニューロンに対する NDTC の作用を検討した。

NDTC 適用24時間後では脳内 ChAT-IR に有意な変化はみられなかった。しかし適用3日後には著明な変化が認められた。すなわち、霊長類のマイネルト核に相当すると考えられている大細胞性基底核 (NBM) および対角帯の水平亜核において、適用側と同側性に ChAT-IR 陽性ニューロン数の減少および免疫反応活性の減弱が認められた。これに対して、それぞれ嗅球、海馬および大脳皮質にコリン作動性ニューロンを投射する対角帯の垂直亜核、海馬および背外側被蓋核の ChAT-IR, 大脳皮質および線条体内の介在性コリン作動性ニューロンの ChAT-IR, また大脳皮質にノルアドレナリン作動性ニューロンを投射する青斑核の TH-IR には、いずれも変化はみられなかった。NDTC 適用7日後においても3日後のそれと同様の所見が得られた。

一方、ジフテリアトキシンまたは CDI 単独の適用ではその破壊が前脳基底部のコリン作動性ニューロンに選択的且つ阻局した NDTC 適用時と同様の所見は得られなかった。

#### 〔総括〕

ラット大脳皮質に NGF とジフテリアトキシンを架橋したコンジュゲート (NDTC) を適用することにより、対角帯の水平亜核および NBM におけるコリン作動性ニューロンを特異的且つ選択的に破壊することができた。NDTC は大脳皮質内に NGF 受容体を有するニューロン (すなわち対角帯の水平亜核および NBM のコリン作動性ニューロン) のみに選択的に取り込まれ、上述の作用を示したものと考えられた。今回得られた動物は、その破壊が前脳基底部のコリン作動性ニューロンに選択的であること、その他のニューロン系および通過線維にはほとんど影響が認められないことなど、従来の方法で得られたそれらにはみられない特徴を有していた。本動物はアルツハイマー氏病モデル動物として用いることができるとともに、前脳基底部のコリン作動性ニューロンの機能解析に有用なモデル動物と考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

前脳基底部コリン作動性ニューロン破壊の選択性からみて、従来のアルツハイマー氏病モデル動物は十分にその目的を満足させる動物とは言い難かった。本研究ではラット大脳皮質にNGF・ジフテリアトキシン複合体を投与することにより前脳基底部コリン作動性ニューロンを選択的に破壊できること、および同ニューロンが学習・記憶に関与することを明らかにした。

本動物はアルツハイマー氏病モデルとして、また前脳基底部コリン作動性ニューロンの機能解析モデルとして、より有用な動物と思われる。

以上の結果から本研究は学位に価すると考えられる。