Osaka University Knowledge Archive

Title	Specific cholinergic destruction in the basal magnocellular nucleus and impaired passive avoidance behavior of rodents
Author(s)	Imaizumi, K.
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3089987
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 6 】

氏　　名	今泉和則（いまいずみかずのり）
博士の専攻分野の名称	博　士　（医　学）
学位記番号	第　10309　号
学位授与年月日	平成4年5月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Specific cholinergic destruction in the basal magnocellular nucleus and impaired passive avoidance behavior of rodents （大細胞性基底核コリン性ニューロンの選択的破壊の試み）
論文審査委員	（主査） 教授　遠山　正彌 （副査） 教授　西村　健　　教授　塩谷弥兵衛

論文内容の要旨

【目　的】

高度な神経機能である記憶・学習については従来より多数の研究が成されてきたが，未だ明確な機序は明らかでない。痴呆症，特にアルツハイマー型痴呆症では大脳皮質におけるアセチルコリン（ACh）の低下が知られ，ACh と記憶・学習機能との関連が注目されてきた。実際に動物実験において大脳皮質へのコリン性線維の起始核である大細胞性基底核（BMN）を破壊（電気破壊や興奮性神経毒による破壊）すると，記憶・学習機能の低下を引き起こすことも知られている。しかし，このようなモデル動物においては BMN のコリン性ニューロン以外のニューロンや通過線維の破壊も認められ，BMN のコリン性ニューロンが記憶・学習行動に直接的に関与しているかは明確にされていない。そこで BMN コリン性ニューロンを特異的に破壊する動物モデルを作製し，コリン性ニューロンと記憶・学習機能との関連を明らかにすることが本実験の目的である。

【方法ならびに成績】

BMN のコリン性ニューロンはほとんどすべてが神経成長因子（NGF）受容体を含有し，NGF によって維持される細胞群である。NGF に毒素を結合させ，大脳皮質に注入すると，NGF 受容体を介して BMN コリン性神経終末から取り込まれ，逆行性に軸索輸送され細胞体を破壊することが予想される。そこで以下のような方法でNGF－トキシン結合物を調製し，BMN コリン性ニューロンを特異的に破壊するモデル動物を作製した。

1）NGF－ジフテリアトキシン（DT）結合物（NGDT）の調製

10mM-pyridine-HCl 緩衝液中で NGF と DT をモル比2：1で混ぜ，架橋剤としてカルボジイミドを加えて4℃，12時間反応させた。透析後，電気泳動を行い，目的とする架橋物が得られたことを確認した。

2）NGDT のラット大脳皮質内注入

Wistar 系雄ラットの大脳皮質に片側性に3カ所，NGDT を各1 μ l ずつ注入した。

3）免疫組織化学によるコリン性ニューロン脱落の確認

手術後3日目に動物を4％パラホルムアルデヒド固定液で灌流固定後，コリン性ニューロンのマーカーとしてコリン

アセチルトランスフェラーゼ（ChAT）の免疫染色を行った。その結果，BMNにおけるChAT免疫陽性細胞数は約20%減少し，かつ残存する陽性細胞の免疫反応性は著しく低下していた。一方，大脳皮質に投射する背外側被蓋核のコリン性ニューロンやコリン性ニューロン以外のもので大脳皮質に投射するノルアドレナリン性ニューロンの起始核である青斑核に対しては何ら影響はみられなかった。

4） 培養細胞を用いたバイオアッセイ系におけるNGDTの作用

胎生期ラットの前脳部を初代培養し，その培養液中にNGDTを添加して細胞毒性を検討した。その結果，NGF受容体陽性細胞数は20ng／ml添加した群で約45%，ChAT陽性細胞数は約25%有意に減少した。一方，ニューロン特異的エノラーゼあるいはチロシンハイドロキシレース陽性細胞数には変化は認められなかった。

5） NGDT注入動物の受動的回避試験

NGDTをマウスの両側大脳皮質に計6カ所1μlずつ注入し，step-through型の試験箱を用いて受動的回避試験を行った。その結果，NGDT投与群は学習の獲得および保持ともに対照群に比し有意に低下していた。

【総　括】

以上のようにNGFとDTの結合物を大脳皮質に注入することにより，BMNコリン性ニューロンを選択的に破壊させ得ることが明らかとなった。また，この動物で記憶・学習能力の低下がみられたことから，痴呆モデルとしての有用性を示すとともに，マイネルト基底核から大脳皮質に至る多数の上昇線維のうちコリン性ニューロンのみが直接的に記憶・学習機能に関与することを明らかとした。

論文審査の結果の要旨

本研究では神経成長因子（NGF）がマイネルト基底核コリン性ニューロンの生存因子であることから，NGFとジフテリアトキシンとの結合物を作製することにより特異的に同核をin vivoにおいて破壊する方法を確立した。さらにこの方法を用いてマイネルト核のコリン性ニューロンを破壊した動物モデルにおいて，記憶学習能力が低下することを証明した。このことからマイネルト核のコリン性ニューロンのみが記憶学習機能に深く関与していることを明らかにするとともに，本モデル動物がアルツハイマー病の病態モデルとして有用であることを示した。従って，本研究は脳神経研究に寄与するところ大であり，博士論文として値すると認められる。