

Title	Circulating suppressing factor for muscarinic acetylcholine receptor in patients with senile dementia of the Alzheimer type
Author(s)	北野, 昇一
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38633
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	北 野 昇 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 9 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 12 月 15 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	Circulating suppressing factor for muscarinic acetylcholine receptor in patients with senile dementia of the Alzheimer type (アルツハイマー型老年痴呆患者における循環血液中ムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 西村 健 教 授 塩谷弥兵衛

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

アルツハイマー型老年痴呆は、脳血管性痴呆とともに最も発症頻度の高い老年期痴呆疾患であるが、その病因は未だ明らかでない。一方、剖検脳の検討により、本症における各種神経伝達物質および受容体の異常が報告され、特に記憶、認識に関するアセチルコリン系の機能低下が注目されている。また本症例の末梢血リンパ球ムスカリン性アセチルコリン受容体活性の低下も報告され、この異常が、全身に及ぶ可能性も指摘されている。一方、アルツハイマー型老年痴呆の生化学的早期診断指標は確立されておらず、その臨床診断は特徴的な症状と他の痴呆性疾患の除外により、また確定診断は剖検時の病理組織学的所見によるのが現状である。本研究においては、ラット脳シナプス膜分画ムスカリン性アセチルコリン受容体に対するアルツハイマー型老年痴呆例循環血液中の結合阻害因子につき検討し、本症の病因に新たな展開を提示するとともに、本症の生化学的指標確立の可能性を追求した。

【方 法】

対象はアルツハイマー型老年痴呆患者48例(平均年齢±標準偏差: 79±8歳), 脳血管性痴呆患者17例 (78±8歳), 正常高齢者11例 (78±6歳) で、重篤な合併症を有する例およびアセチルコリン系に影響を及ぼす薬物の服用例はない。これら対象例の痴呆の診断は、DSM-ⅢRの診断基準に準じ、痴呆の程度は Mini-Mental State により評価した。また、ラット脳シナプス膜分画を Whittaker らの方法により調整し、ムスカリン性アセチルコリン受容体に対する特異的アンタゴニストである $[^3\text{H}]\text{quinuclidinyl benzilate}$ ($[^3\text{H}]\text{QNB}$) をリガンドとして、アッセイ容量 1 ml 中、60 μg 蛋白量のラット脳シナプス膜、および 0.025-0.4nM の $[^3\text{H}]\text{QNB}$ 添加、4°C24時間インキュベートの系にて radioreceptor assay を確立した。この radioreceptor assay 系に対する血清中結合阻害活性を検討するため、上記シナプス膜分画60 μg 蛋白量、0.2nM $[^3\text{H}]\text{QNB}$ を用いた系に高齢者血清40 μl を添加し、4°C24時間インキュベートを行い、脳内ムスカリン性アセチルコリン受容体に対する高齢者血清試料中の結合阻害因子の検出を行った。2群間の比較には Student の t 検定を、2値の相関は Spearman の順位相関検定を用いた。

【成績】

- 1) 特異的結合の Scatchard plot より, このラット脳シナプス膜分画には解離定数 0.03nM , 最大結合量 1.5pmol/mg 蛋白の高親和性, 低容量のムスカリン性アセチルコリン受容体活性を認め, この膜分画を用いた radioreceptor assay を確立し得た。
- 2) この radioreceptor assay 系における $[^3\text{H}]\text{QNB}$ 結合に対し若年正常血清は $40\ \mu\text{l}$ 添加まで非特異的抑制を及ぼさなかった。一方, アルツハイマー型老年痴呆群は脳血管性痴呆群や正常高齢者に比し, 血清添加時の $[^3\text{H}]\text{QNB}$ のラット脳シナプス膜分画への結合抑制率の有意 ($p < 0.05$) の高値 ($13.3 \pm 6.1\%$ vs $10.0 \pm 3.5\%$ vs $8.0 \pm 3.8\%$) を示したが, 脳血管性痴呆群と正常高齢者群間に有意差は認めなかった。
- 3) アルツハイマー型老年痴呆群において Mini-Mental State の得点と血清添加時の $[^3\text{H}]\text{QNB}$ のラット脳シナプス膜分画への結合抑制率は有意 ($r = -0.462$, $p < 0.01$) の負相関を示し, 痴呆の程度が重篤であるほど, 血清中上記抑制活性が大きいことを認めた。一方, 脳血管性痴呆群や正常高齢者群ではこれら2値間に有意の相関を認めなかった。
- 4) Lineweaver-Bulk plot による阻害様式の検討により, アルツハイマー型老年痴呆例血清はラット脳シナプス膜分画への $[^3\text{H}]\text{QNB}$ 結合に対して競合拮抗阻害を示すことが明らかとなった。

【総括】

今回ラット脳シナプス膜分画に対し標識 QNB を用いて確立したムスカリン性アセチルコリン受容体の radioreceptor assay への抑制を検討することにより, アルツハイマー型老年痴呆群の循環血液中にムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子が存在することを明らかにした。また, Lineweaver-Bulk plot による $[^3\text{H}]\text{QNB}$ の radioreceptor assay 系への阻害様式の検討から, この循環血液中抑制因子はムスカリン性アセチルコリン受容体上でアセチルコリンと競合拮抗性を有する因子であることが明らかにされた。さらに, アルツハイマー型老年痴呆群においてこの循環血液中抑制因子活性と Mini-Mental State の得点は有意の負相関を示すことから, この循環血液中抑制因子活性はアルツハイマー型老年痴呆の発症, 進展に重要な役割を負うことが示唆された。さらに, このムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子が, アルツハイマー型老年痴呆例の循環血液中に存在することは, 本症が全身的なアセチルコリン系の異常を示す疾患であることを改めて示唆し, 本症の発症, 進展における本因子の病態的役割につき極めて興味もたれる。

一方, この循環血液中ムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子活性はアルツハイマー型痴呆群において, 脳血管性痴呆群あるいは正常高齢者群に比し有意の高値を示したことから, 血中本因子測定によりアルツハイマー型老年痴呆の生化学的診断の可能性を提示し, 本症の早期発見, 早期治療への応用に資するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究はラット脳シナプス膜分画ムスカリン性アセチルコリン受容体に対するアルツハイマー型老年痴呆例循環血液中の結合阻害因子につき検討する目的で行われている。一般にアルツハイマー型老年痴呆においては, 剖検脳の検討により, アセチルコリン系の機能低下が指摘されているが, その原因については不明であった。本研究ではラット脳シナプス膜分画に対しムスカリン性アセチルコリン受容体に対する特異的アンタゴニスト $[^3\text{H}]\text{quinuclidinyl benzilate}$ ($[^3\text{H}]\text{QNB}$) を用いて確立したムスカリン性アセチルコリン受容体の radioreceptor assay への抑制を検討することにより, アルツハイマー型老年痴呆群の循環血液中にムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子が存在することを明らかにした。また, Lineweaver-Bulk plot による $[^3\text{H}]\text{QNB}$ の radioreceptor assay 系への阻害様式の検討から, この循環血液中抑制因子はムスカリン性アセチルコリン受容体上でアセチルコリンと競合拮抗性を有する因子であることが明らかにされた。さらに, アルツハイマー型老年痴呆群においてこの循環血液中抑制因子と Mini-Mental State の得点は有意の負相関を示すことから, この循環血液中抑制因子活性はアルツハイマー型老

年痴呆の発症、進展に重要な役割を負うことが示唆された。このムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子が、アルツハイマー型老年痴呆例の循環血液中に存在することは、本症が全身的なアセチルコリン系の異常を示す疾患であることを改めて示唆し、本症の発症、進展における本因子の病態的役割につき極めて興味をもたれる。

一方、この循環血液中ムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子活性はアルツハイマー型老年痴呆群において、脳血管性痴呆群あるいは正常高齢者群に比し有意の高値を示したことから、血中本因子測定によりアルツハイマー型老年痴呆の生化学的診断の可能性を提示し、本症の早期発見、早期治療への応用に資するものと考えられる。以上の如く本研究はアルツハイマー型老年痴呆患者における循環血液中ムスカリン性アセチルコリン受容体抑制因子について詳細に検討し、アルツハイマー型老年痴呆の病態に新たな視点を提示したものである。したがって本研究は学位授与に値すると認める。