

令和元年5月21日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19023

研究課題名(和文) ストレス性精神疾患における細胞内ムスカリンM1受容体の役割

研究課題名(英文) The role of intracellular muscarinic M1 receptor in neuropsychiatric disorders

研究代表者

益岡 尚由 (MASUOKA, Takayoshi)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80509307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ムスカリンM1受容体は、中枢神経系において学習、記憶や注意などの認知機能の調節に深く関与していることが知られている。大脳皮質や海馬ではM1受容体の約半数がゴルジ体・小胞体などの細胞内小器官内に存在しているが、これら細胞内M1受容体の生理的役割は不明なままである。本研究では、細胞内M1受容体が内因性アセチルコリンによって活性化され、海馬のシナプス伝達長期増強(LTP)を調節し、学習・記憶の制御に関与していることを明らかにした。また、ストレス負荷により細胞内M1受容体を介した制御機構が消失することから、細胞内M1受容体はストレス性精神疾患と関連していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アセチルコリンは脳機能を調節する重要な神経伝達物質であり、近年ではアルツハイマー病などの記憶学習障害や認知機能障害の治療標的として注目されている。本研究では、脳内アセチルコリンの情報を受け取る受容体の一つであるM1受容体のうち、いままで生理機能が明らかにされていなかった細胞内に存在するM1受容体が、記憶学習の制御に関与していることを示した。本研究成果は、脳内アセチルコリンによる神経伝達機構に関する理解を深め、新規記憶学習障害治療薬の開発に重要な知見を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：Muscarinic acetylcholine receptors M1 (M1 receptors) regulate cognitive processes including attention, learning and memory in the central nervous system. In the hippocampus and the cerebral cortex, 50% of the M1 receptors are located at Golgi apparatus and endoplasmic reticulum, in addition to the plasma membrane. However, the physiological roles of intracellular M1 receptors remain unclear. In this study, we found that the intracellular M1 receptors activated by endogenous acetylcholine regulate hippocampal long-term potentiation (LTP) and contribute to learning and memory. The synaptic regulation of intracellular M1 receptors was suppressed by chronic stress, suggesting that intracellular M1 receptor might be involved in stressor related mental disorder.

研究分野：神経薬理学

キーワード：アセチルコリン 海馬 LTP 記憶

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

ムスカリン性アセチルコリン受容体 M1 (M1 受容体) は、中枢神経系において学習、記憶や情動などの認知機能の調節に深く関与していることが知られている。M1 受容体は神経細胞の細胞膜表面上に発現し、コリン作動性神経から遊離されたアセチルコリンの情報を細胞内に伝える役割を果たすと考えられてきた。しかし近年、大脳皮質や海馬では M1 受容体の約半数がゴルジ体・小胞体などの細胞内小器官内に存在していることが明らかにされた (Uwada et al, J Neurochem. 118:958-967, 2011)。これまでに我々は、この細胞内 M1 受容体は細胞膜表面上の受容体とは異なったシグナル伝達系を活性化する表現型の異なる受容体であり、神経精神機能の調節に重要な神経機構である海馬 CA1 におけるシナプス伝達長期増強 (LTP) の促進に深く関与していることを明らかにしてきた (Anisuzzaman et al. J Neurochem. 126:360-371, 2013)。しかし、細胞内 M1 受容体が内因性アセチルコリンによって活性化され LTP 調節に関与しているか、またどのような神経精神機能に関与しているかについては不明なままである。

## 2. 研究の目的

本研究では、細胞内 M1 受容体が内因性アセチルコリンにより活性化されて、LTP の調節、さらに神経精神機能の制御に関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。さらに、神経精神疾患と関連が深いストレスにより、細胞内 M1 受容体を介する制御がどのように変化するか明らかにし、病態との関連性に迫った。

## 3. 研究の方法

海馬神経細胞へのアセチルコリン取り込みは、ラットより海馬組織切片を作製し、 $[^3\text{H}]$ アセチルコリンとインキュベーションすることにより測定した。また海馬 CA1 の LTP は、ラットより急性スライス標本作製してフィールド記録実験により計測した。学習記憶に対する作用は、水迷路試験および新奇物体探索試験を用いた行動薬理実験により評価した。

## 4. 研究成果

### ・内因性アセチルコリンによる細胞内 M1 受容体を介した LTP 制御

海馬における細胞内へのアセチルコリン取り込みは、不可逆性アセチルコリンエステラーゼ阻害薬 DFP の処置により顕著に増加することを見出した。また、コリンエステラーゼを阻害した条件下で LTP の測定を行うと、M1 受容体を介した顕著な LTP の亢進が観察された。また、アセチルコリン取り込みを阻害する薬物 tetraethylammonium によって細胞内 M1 受容体を介する LTP 亢進が特異的に抑制された。したがって、内因性アセチルコリンは神経細胞内に取り込まれて、細胞内 M1 受容体を介したシナプス可塑性の調節に関与していることが示唆された (Masuoka et al. Neuroscience 404:39-47, 2019)。

### ・内因性アセチルコリンによる記憶学習の制御

細胞表面と細胞内の M1 受容体を非特異的に抑える pirenzepine と細胞表面の M1 受容体を特異的に抑える MT7 をラットの脳室内に持続投与して、水迷路試験を実施した。Pirenzepine 投与では空間記憶を障害する傾向が見られたのに対し、MT7 はほとんど作用を示さなかった。また両薬物を脳室内に急性投与して、新奇物体探索試験を行ったところ、pirenzepine 投与では学習行動が障害されたのに対し、MT7 投与ではほとんど作用が見られなかった。したがって、記憶学習行動には細胞表面の受容体よりも細胞内受容体の方が関与が大きいことが示唆された。

・慢性ストレスによる細胞内 M1 受容体を介した LTP の消失

慢性拘束ストレスを与えたラットより海馬スライス標本を作製して、細胞内 M1 受容体を介した LTP の調節がどのような影響を受けるか検討した。ストレス負荷ラットでは、ムスカリン受容体アゴニスト carbachol による細胞内 M1 受容体を介した LTP 増強が消失することを明らかにした。

以上の結果より、脳内で遊離された内因性アセチルコリンは、細胞内に取り込まれ、細胞内に発現する M1 受容体を介してシナプス可塑性ならびに記憶学習行動の制御に関わっていることを明らかにすることができた。さらに慢性ストレスにより細胞内 M1 受容体を介する脳内制御機構が消失することも判明した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

Masuoka T, Uwada J, Kudo M, Yoshiki H, Yamashita Y, Taniguchi T, Nishio M, Ishibashi T, Muramatsu I. Augmentation of endogenous acetylcholine uptake and cholinergic facilitation of hippocampal long-term potentiation by acetylcholinesterase inhibition. *Neuroscience* 404:39-47, 2019 (査読有り)

Masuoka T, Ikeda R, Konishi S. Persistent activation of histamine H1 receptors in the hippocampal CA1 region enhances NMDA receptor-mediated synaptic excitation and long-term potentiation in astrocyte- and D-serine-dependent manner. *Neuropharmacology* 151:64-73, 2019 (査読有り)

Muramatsu I, Uwada J, Yoshiki H, Sada K, Lee KS, Yazawa T, Taniguchi T, Nishio M, Ishibashi T, Masuoka T. Novel regulatory systems for acetylcholine release in rat striatum and anti-Alzheimer's disease drugs. *J Neurochem*, in press, 2019 (査読有り)

Tawa M, Yamashita Y, Masuoka T, Nakano K, Yoshida J, Nishio M, Ishibashi T. Responsiveness of rat aorta and pulmonary artery to cGMP generators in the presence of thiol or heme oxidant. *J Pharmacol Sci*, in press, 2019 (査読有り)

Tawa M, Shimosato T, Sakonjo H, Masuoka T, Nishio M, Ishibashi T, Okamura T. Chronological change of vascular reactivity to cGMP generators in the balloon-injured rat carotid artery. *J Vasc Res*, in press, 2019 (査読有り)

Masuoka T, Gallar J, Belmonte C. Inhibitory effect of amitriptyline on the impulse activity of cold thermoreceptor terminals of intact and tear-deficient guinea pig corneas. *J Ocul Pharmacol Ther* 34(1-2):195-203, 2018 (査読有り)

Muramatsu I, Uwada J, Masuoka T, Yoshiki H, Sada K, Lee KS, Nishio M, Ishibashi T, Taniguchi T. Regulation of synaptic acetylcholine concentrations by acetylcholine transport in rat striatal cholinergic transmission. *J Neurochem* 143(1):76-86, 2017 (査読有り)

Masuoka T, Kudo M, Yamashita Y, Yoshida J, Imaizumi N, Muramatsu I, Nishio M, Ishibashi T. TRPA1 channels modify TRPV1-mediated current responses in dorsal root ganglion neurons. *Front Physiol* 8:272, 2017 (査読有り)

Muramatsu I, Yoshiki H, Uwada J, Masuoka T, Sada K, Taniguchi T, Nishio M. Pharmacological evidence of specific acetylcholine transport in rat cerebral cortex and other brain regions. *J Neurochem.*, 139(4):566-575, 2016 (査読有り)

〔学会発表〕(計24件)

山下優香、益岡尚由、橋川成美、中野克哉、田和正志、西尾眞友、村松郁延、石橋隆治、慢性的な涙液欠乏は角膜の冷感受性神経における TRPV1 を介した発火活動を感作する、第 92 回日本薬理学会年会、2019 年

田和正志、山下優香、中野克哉、西尾眞友、益岡尚由、石橋隆治、タバコ煙抽出液を慢性投与したラット血管における可溶性グアニル酸シクラーゼ酸化還元状態、第 92 回日本薬理学会年会、2019 年

Masuoka T, Kudo M, Nishio M, Muramatsu I, Ishibashi T. Contribution of intracellular acetylcholine receptor to hippocampal long-term potentiation. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018 年

Masuoka T, Yamashita Y, Yoshida J, Tawa M, Nishio M, Ishibashi T. Nerve growth factor facilitates metabotropic glutamate receptor agonist-induced calcium elevation in dorsal root ganglion neurons. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018 年

Muramatsu I, Masuoka T, Nishio M, Ishibashi T. A new aspect of cholinergic transmission in central nervous system. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018 年

Ishibashi T, Tawa M, Yamashita Y, Masuoka T. Sex differences in relaxant responses of rat aortas to cGMP generators. 10th International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2018 年

Masuoka T, Yamashita Y, Tawa M, Nishio M, Muramatsu I, Ishibashi T. Chronic ocular dryness sensitizes TRPV1 on corneal cold sensitive nerves, Society for Neuroscience 2018, 2018 年

Muramatsu I, Masuoka T, Nishio M, Ishibashi T. A novel aspect of cholinergic transmission in central nervous system. Society for Neuroscience 2018, 2018 年

益岡尚由、山下優香、田和正志、西尾眞友、村松郁延、石橋隆治、角膜神経のカプサイシン感受性に対する涙腺摘出の影響、第 133 回日本薬理学会近畿部会、2018 年

益岡尚由、山下優香、田和正志、村松郁延、西尾眞友、石橋隆治、神経成長因子による代謝型グルタミン酸受容体の機能変化を引き起こす分子機構の解析、第 22 回活性アミンに関するワークショップ、2018 年

田和正志、山下優香、益岡尚由、吉田純子、西尾眞友、石橋隆治、可溶性グアニル酸シクラーゼ刺激を介する血管弛緩反応は酸化的修飾により変化する、第 71 回日本酸化ストレス学会・第 18 回日本 NO 学会合同学術集会、2018 年

バルーン傷害血管における可溶性グアニル酸シクラーゼの酸化還元状態バルーン傷害血管における可溶性グアニル酸シクラーゼの酸化還元状態、第 28 回日本循環薬理学会、2018 年

益岡尚由、知覚・痛覚から見たドライアイについて、第 122 回日本眼科学会総会、2018 年  
田和正志、山下優香、益岡尚由、吉田純子、西尾眞友、石橋隆治、cGMP 産生薬に対する血管の応答性：チオール酸化剤あるいはヘム鉄酸化剤の影響、第 27 回日本循環薬理学会、2017 年

益岡尚由、工藤麻希子、吉田純子、山下優香、今泉範子、西尾眞友、石橋隆治、Inflammation enhances metabotropic glutamate receptor agonist-induced pain behavior via nerve growth factor signaling、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

益岡尚由、山下優香、吉田純子、村松郁延、田和正志、西尾眞友、石橋隆治、炎症性疼痛における末梢性グルタミン酸受容体の機能亢進とその作用機序の解析、第 21 回活性アミンに関するワークショップ、2017 年

村松郁延、益岡尚由、西尾眞友、石橋隆治、中枢におけるコリン伝達機構の新しいメカニズム、第 21 回活性アミンに関するワークショップ、2017 年

益岡尚由、山下優香、吉田純子、村松郁延、田和正志、西尾眞友、石橋隆治、侵害受容性神経に発現する代謝型グルタミン酸受容体の炎症による機能変化、第 56 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2017 年

田和正志、山下優香、益岡尚由、吉田純子、西尾眞友、石橋隆治、可溶性グアニル酸シクラーゼの酸化的修飾と cGMP 産生薬による血管反応性、第 132 回日本薬理学会近畿部会、2017 年

Masuoka T, Kudo M, Ishibashi T, Nishio M. TRPA1 channel modifies membrane current induced by TRPV1 channels activation in dorsal root ganglion neurons. Society for Neuroscience 2016, 2016 年

- ⑳ Masuoka T, Ishibashi T, Nishio M. Possible contribution of glutamate receptors in ocular hyperalgesia. International Society for Eye Research, 2016年
- ㉑ 益岡尚由、吉田純子、工藤麻希子、今泉範子、西尾眞友、石橋隆治、神経成長因子による知覚神経のグルタミン酸受容体機能変化、第 67 回日本薬理学会北部会、2016 年
- ㉒ 村松郁延、吉木はつみ、宇和田淳介、益岡尚由、定清直、谷口隆信、西尾眞友、中枢における新規アセチルコリン伝達機構、第 20 回活性アミンに関するワークショップ、2016 年
- ㉓ 村松郁延、吉木はつみ、宇和田淳介、益岡尚由、定清直、谷口隆信、西尾眞友、中枢におけるコリン作動性伝達機構、第 18 回応用薬理シンポジウム、2016 年

〔図書〕(計 1 件)

Muramatsu I, Masuoka T, Uwada J, Yoshiki H, Yazawa T, Lee KS, Sada K, Nishio M, Ishibashi T, Taniguchi T. A New Aspect of Cholinergic Transmission in the Central Nervous System. In Akaike A, Shimohama S, Mitsu Y eds. *Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection*, Springer, pp 45-58, 2018

6 . 研究組織

- (1)研究分担者  
該当なし
- (2)研究協力者  
該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。