

Title	視交叉上核に発現するアセチルコリン受容体の機能に関する研究(Abstract_要旨)
Author(s)	堂上, 久美子
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2019-03-25
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k21718
Right	学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2020-03-25に公開; 許諾条件により要旨は2019-06-25に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

京都大学	博士（薬科学）	氏名	堂上 久美子
論文題目	視交叉上核に発現するアセチルコリン受容体の機能に関する研究		
<p>ヒトを含むほとんどの生物には約 24 時間周期の概日時計が備わっている。概日時計は、睡眠や体温などの様々な生理機能に日内変動を与える重要な役割を持つ。哺乳類における概日時計の中心振動体は視交叉上核（Suprachiasmatic nucleus, SCN）であり、SCN に発現する時計遺伝子の規則的な転写翻訳のネガティブフィードバックループによって約 24 時間周期の概日リズムが形成される。ところが、この概日リズムは、概日という名が示すように正確には 24 時間周期ではないため、地球の自転に伴う外界の 24 時間とは完全に一致しない。そこで、SCN は明暗環境とのずれを日々補正することで正確な 24 時間リズムを発振する。</p> <p>哺乳類における同調因子は光同調と非光同調に分類される。光情報は概日時計を環境の明暗リズムに同調させる重要な因子の 1 つであり、網膜のメラノプシン含有網膜神経節細胞で受容され、グルタミン酸作動性の網膜視床下部路を介して SCN の概日リズム位相を変位させる。一方、非光同調因子には食事や運動、社会的ストレスなどがあるが、これまで SCN での作用機構を含め、その神経分子機構はほとんど解明されていない。</p> <p>私は、アセチルコリン受容体のアゴニストであるカルバコールが、行動リズムの位相を変位させる事に注目し、非グルタミン酸性非光同調因子候補としてのアセチルコリンの役割について研究を行った。本研究の第一章では、カルバコールが概日時計中枢である SCN に作用するか検証した。具体的には、時計遺伝子 <i>Per1</i> のプロモーターにルシフェラーゼ (luciferase) を結合した <i>Per1-luc</i> トランスジェニックマウスから作成した SCN 器官培養系を用いた。その結果、SCN においてカルバコールが、従来から知られているグルタミン酸受容体アゴニストである NMDA や AMPA とは異なる位相で、時計遺伝子発現の概日リズム位相を、位相依存的に変位させることを明らかにした。また、このカルバコールの作用は、ムスカリン受容体アンタゴニストであるアトロピンによって阻害され、ニコチン受容体アンタゴニストであるメカミラミンやコノトキシン MII により増大した。この結果は、SCN に発現するムスカリン受容体とニコチン受容体が異なる作用機序で、位相変位を制御する可能性を示唆している。</p>			

そこで、第二章では SCN に発現するアセチルコリン受容体を同定し、そのノックアウトマウスを作出することで、概日機能におけるアセチルコリン受容体の生理的意義の解明を試みた。まず、SCN において高発現する 2 種のニコチン受容体サブユニットを見出し、それぞれの全身ノックアウトマウスを作出したが、いずれも低体重など発達に障害があり、これらの変異マウスを用いての概日リズム機能の検討は困難であった。そこで、それぞれの受容体の SCN 特異的ノックアウトマウスを作出することで、ニコチン受容体の概日リズム制御機構について調査した。ニコチン受容体の SCN 特異的ノックアウトマウスにおいて、概日行動リズムの基本的な特質である、内因性の概日周期を示す恒常暗期における行動周期長、光感受性を示す主観的暗期の前半または後半の短時間光照射による行動位相変位量、そして概日リズムの安定性を示す新しい明暗環境への再同調スピードは、全て正常であった。したがって、SCN に発現するニコチン受容体は、概日リズム発振機構および光同調機構には必須ではないことがわかった。今後、これらの変異マウスを用いた非光同調機構におけるニコチン受容体の概日機能の調査が求められる。

食事や運動、社会的ストレスなど概日時計の非光同調因子による位相制御機構を明らかにすることは、現代社会を生きるヒトの生活リズムを維持する上で極めて重要であるが、その大部分はいまだ明らかとなっていない。アセチルコリンはリズム中枢の SCN で働く非光同調の主要物質として、その機能解明が必要とされており、本研究がその端緒となると期待される。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

全身の多様な生理機能は本来ならば24時間リズムとして規則正しく調律されるが、そのすべてを統率する概日時計のセンターが脳内の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus; SCN) と呼ばれる神経核にある。したがって、生体リズムを調節するという目的にはこのSCNニューロンの機能をいかにして操るかが重要な鍵を握る。網膜から伝えられる外界の光情報はこのSCNのリズム位相を調節する最もよく知られた重要な因子であり、グルタミン酸作動性の神経伝達が光依存的なSCNの概日リズム位相の調整を司る。一方、光によらない非グルタミン酸性の概日リズム制御機構の実体についてはその薬学的重要性にもかかわらず解明が遅れている。このような中、申請者は、本論文において、神経伝達物質アセチルコリンがSCNのリズム中枢機能に及ぼす影響を明らかにした。すなわち、第一章では、SCN時計のリズム可視化技術 (*Per1*プロモーター発光遺伝子トランスジェニック動物と超高感度CCDカメラ微弱光測定技術を応用したSCNスライス培養下における連続リズム測定系) を用いて、アセチルコリン受容体アゴニストcarbacholにより惹起される概日時計遺伝子発現リズムの位相依存的位相変位が明らかにされた。さらに第二章では、この結果をさらに発展させ、SCNに発現するニコチン性およびムスカリン性のアセチルコリン受容体サブタイプの同定、さらにはそれぞれの受容体に対するノックアウトマウスを用いた機能解析が詳細になされた。本論文は、非グルタミン酸性非光同調因子候補としてのアセチルコリンの役割を解明することにより、近年、注目される光にはよらない、食事や運動、社会的ストレスを介した概日時計機能の変調およびその改善の道を開く画期的な研究と言える。よって、本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成31年2月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 2019 年 6 月 25 日以降