

# 中隔野コリン神経細胞における発現するVEGFシグナリング機構とそのアセチルコリン性制御



医学部 薬学専攻(博士前期課程) 薬学専攻  
大学院生 木村 恭子



和漢医薬学研究所  
教授 松本 欣三

研究分野

Research area

神経化学・神経薬理学 神経科学一般

研究のキーワード 中枢・末梢神経薬理学(1103J), 神経伝達物質・受容体(1103C), 分子・細胞神経科学

研究内容

Research content

脳血管性認知症(VaD)は新たな治療薬の基礎研究として、我々は、タクリン(THA)により血管内皮細胞増殖因子(VEGF)がニコチン性アセチルコリン(ACh)受容体を介して発現促進されることを *in vivo* 及び *in vitro* 実験から見出した。加えて、THA 誘発性 VEGF が神経保護作用を有している可能性、その神経保護はオートクライン的に誘発されている可能性も見出した。

研究のポイント

Research point

VaDは有効な根本治療薬が乏しく、その開発が喫緊の課題である。先に我々は、THAがVaDモデルマウスの記憶障害を改善すること、それにはVEGFの神経保護機構が関与している可能性を見出した。本研究よりTHA誘発性VEGFの発現機構が明らかとなったことから、THAがアルツハイマー型認知症治療薬のみならず、VaDへのドラッグリポジショニングの有用性が考えられる。また、THA誘発性VEGFはオートクライン的にVEGFR2を活性化し、神経細胞保護等に関与する可能性も示唆された。

研究への取組、今後の展望

本研究から、神経細胞では、THAによりVEGFの発現が促進されること、その促進にはニコチン性ACh受容体が関与している可能性を見出した。しかし、現行の実験は健康マウスを用いたものであるため、病態モデルマウスによる検討及び実際にTHAによる神経細胞保護作用に対するVEGFの連関についてはまだわかっていない。そこで、現在、認知症病態モデルマウスを用い、学習記憶に重要な中隔野領域におけるACh-VEGF連関の神経保護効果について解析を行っている。また、神経細胞におけるTHAの作用についてマウス大脳皮質神経初代培養を用い薬理的に検討している。さらに、今後は認知症病態モデルマウスを用い、VEGFの神経保護効果について行動薬理的に検討を行う予定である。

また、脳内におけるVEGFの神経保護効果について詳細を得るために、VEGFの受け手であるVEGFR2 KOマウスを用いて検討したい。

研究 REPORT

本研究で発見した、THA誘発性VEGF発現機構について詳細に検討するため、*in vitro* 及び *in vivo* 実験を行った。

THA投与によるVEGFの詳細な発現機構を解析するため、マウス大脳皮質神経初代培養を用いて検討を行った。THA(30  $\mu$ M)投与によるVEGFの増加は遺伝子及びタンパクレベルの両方で確認された。さらに、ムスカリン性ACh受容体遮断薬であるスコポラミン(30  $\mu$ M)はVEGF発現促進に対し無効であったが、ニコチン性ACh受容体遮断薬であるメカミラミン(30  $\mu$ M)によりVEGF発現促進が抑制された。また、PKC阻害剤のRo-31-8220(0.3  $\mu$ M)を用いるとVEGF発現促進が抑制された。以上の結果から、THA投与によるVEGF発現増加はニコチン性ACh受容体を介しており、その下流経路としてPKCの関与が明らかとなった。

中隔野は海馬に投射し、学習記憶に重要なコリン神経細胞が多く存在する領域である。そこで、我々は中隔野コリン神経細胞のVEGF発現について解析するために、本領域の脳切片を作成し、蛍光免疫染色法により検討した。その結果、THA(2.5 mg/kg, *i.p.*)投与により中隔野コリン神経細胞でVEGF発現が増加し、さらに、コリン神経細胞上のVEGF受容体の活性化体であるリン酸化体の発現も増加した。また、中隔野領域を分離抽出し、RT-PCR法によりVEGF発現を解析した結果、遺伝子レベルでも発現が促進されていることが明らかとなった。

これらの結果から、THAにより増加した内因性AChは、中隔野領域においてニコチン性アセチルコリン受容体を介し、PKCを活性化することによりVEGF産生を促進していると考えられる。また、産生されたVEGFは、細胞外に放出され、オートクライン的に取り込むことでVEGFR2を活性化し、神経細胞自身の保護や生存を行っている可能性も考えられた。

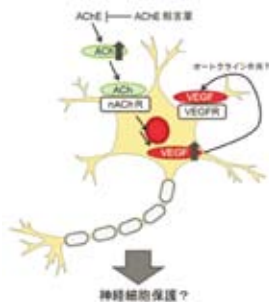


図1. コリン神経細胞における内因性アセチルコリンによるVEGFの発現

ACh: アセチルコリン  
nAChR: ニコチン性アセチルコリン受容体  
mAChR: ムスカリン性アセチルコリン受容体  
VEGF: 血管内皮細胞増殖因子  
VEGFR2: 血管内皮細胞増殖因子受容体