

## 【総 説】

## ムスカリノン性受容体サブタイプと疾患 - 最近の展開 -

松井 稔<sup>1)</sup> 船田 正彦<sup>2)</sup>

## 【要約】

ムスカリノン性受容体は7回膜貫通型受容体であり、そのアミノ酸配列の類似性からM1, M3, M5サブファミリーおよびM2, M4サブファミリーの少なくとも5つのサブタイプの存在が確認されている。脳内および末梢器官においてムスカリノン性受容体の存在は証明されているが、受容体サブタイプ別の機能については不明な点が多い。近年、ムスカリノン性受容体各サブタイプのノックアウトマウスを用いてサブタイプごとの機能を知るというアプローチが精力的に取られるようになっている。その研究の過程から、アルツハイマー病、パーキンソン病、統合失調症および薬物依存症などの中枢神経疾患にムスカリノン性受容体が関与する可能性が明らかになりつつある。本総説では、ムスカリノン性受容体機能と疾患との関連性およびムスカリノン性受容体各サブタイプのノックアウトマウスの解析結果についての最近の進展をまとめた。

## Abstract

Muscarinic receptors belong to the 7-transmembrane receptor superfamily, and at least five subtypes (M1-M5) have been identified to date, which are classified into two subfamilies, the M1/M3/M5 subfamily and the M2/M4 subfamily, according to the homology of their amino acid sequence. The occurrence of muscarinic receptors in the brain and various peripheral organs has been clearly demonstrated, but functions of each subtype have not been precisely identified. Recently, knockout mice lacking the functional muscarinic receptor subtypes have been intensively employed in research to elucidate the physiological roles of each muscarinic receptor subtype. The accumulating results have revealed the possibility that the muscarinic receptors are involved in disorders of the central nervous system such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, schizophrenia and drug dependence. This review describes the relevance of muscarinic receptor functions to diseases and recent progress in analyses of knockout mice for each muscarinic receptor subtype.

**Key words :** muscarinic acetylcholine receptors, the central nervous system, the peripheral nervous system, knockout mouse,

## 1. ムスカリノン性受容体の分類

## a) ムスカリノン性受容体サブタイプと細胞内情報伝達

<sup>1)</sup> 東京大学医科学研究所 基礎医学大部門 神経ネットワーク分野

東京都港区白金台4-6-1

Division of Neuronal Network, Department of Basic Medical Sciences, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

<sup>2)</sup> 国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部・依存性薬物研究室

千葉県市川市国府台1-7-3

Division of Drug Dependence, National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry

(別刷請求先: 松井 稔)

ムスカリノン性受容体は種々の組織に存在し、多彩な作用を有する。ムスカリノン性受容体は、中枢神経系におけるアセチルコリン (ACh) 結合性受容体の95%を占めており、分子生物学の技術を応用した研究の結果、少なくとも5つのムスカリノン性受容体サブタイプの存在が確認されている<sup>1,2)</sup> (表1)。AChがムスカリノン性受容体に結合した後の反応はすべて受容体とGTP結合蛋白質 (G蛋白) の相互作用に基づくと考えられている<sup>3)</sup>。ムスカリノン性受容体はサブタイプごとに共役するG蛋白および制御される細胞内情報伝達系が異なることが明らかにされている。代表的な細胞内情報伝達系としては、adenylate cyclase、phospholipase CおよびK<sup>+</sup> channelなどが挙げられる。ムスカリノンM2およびM4受容体は百日咳毒素感受性のGi/o蛋白と共に心臓でadenylate cyclase活性を抑制する。また、特に心

表1 ムスカリン性受容体の分類

受容体サブタイプ	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>
分布する組織	大脳皮質 線条体 視床下部 神経節	小脳 心臓 平滑筋	前脳、視床 平滑筋 分泌腺	大脳皮質 線条体 海馬	中脳
効果器	PLC	AC K <sup>+</sup> channel	PLC	AD	PLC
G protein	G <sub>q/11</sub>	G <sub>i/o</sub>	G <sub>q/11</sub>	G <sub>i/o</sub>	G <sub>q/11</sub>
Human gene symbol/Chromosomal localization	CHRM1 /11	CHRM2 /7q35-36	CHRM3 /1q43-44	CHRM4 /11p12-11.2	CHRM5 /15q26

AC: Adenylate cyclase、PLC: Phospholipase C

筋細胞におけるムスカリンM2受容体はK<sup>+</sup> channelと連関しており、K<sup>+</sup> channelを活性化することにより過分極を引き起こし陰性変時作用により心機能を抑制性に制御することが知られている。一方、その他のムスカリンM1、M3およびM5受容体は百日咳毒素非感受性のG<sub>q/11</sub>蛋白と共に役しておりphospholipase Cを活性化

し、セカンドメッセンジャーであるprotein kinase C活性化および細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を引き起こす。特に、血管内皮細胞におけるムスカリンM1およびM3受容体の活性化により、この細胞内カルシウムイオン濃度の上昇がトリガーになりNO合成酵素が活性化され平滑筋弛緩因子であるNOを介して血管

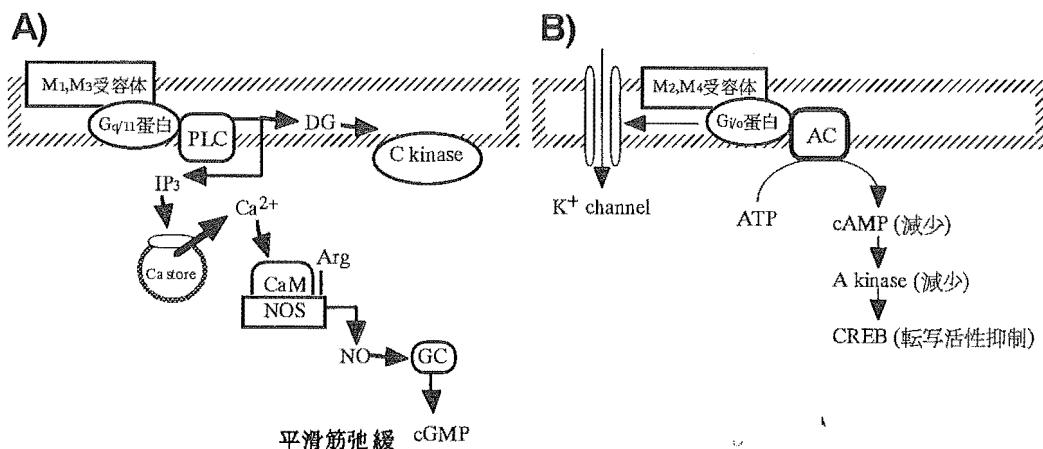


図1 ムスカリン性受容体と細胞内情報伝達系

A) ムスカリン性受容体 (M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub>) 活性化による血管平滑筋弛緩メカニズム PLC: ホスホリバーゼ C、IP3: イノシトール三リン酸、CaM: カルシウムカルモジュリン、NOS: NO合成酵素、Arg: アルギニン、NO: 一酸化窒素、GC: グアニル酸シクラーゼ、cGMP: サイクリックGMP、C kinase: Protein kinase C B) ムスカリン性受容体 (M<sub>2</sub>, M<sub>4</sub>) 活性化による細胞内情報伝達系の変化 AC: アデニル酸シクラーゼ、cAMP: サイクリックAMP、CREB: cAMP応答領域結合蛋白

平滑筋が弛緩することが知られている(図1)。

#### b) ムスカリン性受容体サブタイプの遺伝子構造

ムスカリン性受容体は7回膜貫通型受容体である。そのアミノ酸配列の類似性からは奇数番号(M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>5</sub>)がサブファミリーをなし、偶数番号同士(M<sub>2</sub>, M<sub>4</sub>)が別のサブファミリーをなすと考えられる<sup>13)</sup>。N末端が細胞外に、C末端が細胞内に存在するが、3つ

目の細胞内ループが特に長く、ここが細胞内でG蛋白と会合するために必須のドメインと考えられている。各遺伝子の塩基配列については以下の accession numberにてGenBankに登録されている(表2)。

#### 2. ムスカリン性受容体の中核および末梢機能

生体内のACh神経系は中枢および末梢の神経系に分

表2 GenBank

	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>
ヒト	X15623	X15624	X15625	X15266	M80333
マウス	J04192		S74908	X63473	W14842
ラット	M16406	J03025	M16407	M16409	M22926

表3 アセチルコリン神経系の特徴

中枢アセチルコリン神経系	
前脳内側基底部細胞群	Meynert 基底核、対角帯、内側中隔野。大脳皮質、辺縁系、脚間核へ投射する細胞体群である。
錐体外路系細胞群	尾状核、被蓋、側坐核、嗅結節に神経分布が見られる。
脚橋一被蓋細胞群	脚橋被蓋神経核から大脳皮質に投射。サブスタンスPを含有する。
脳神経一脊髄細胞群	動眼神経核、三叉神経核、顔面神経核、舌下神経核および迷走神経背側核などがACh産生細胞である。
末梢アセチルコリン神経系	
運動神経	脳神経、脊髄運動神経を起始核として骨格筋を支配する。
自律神経節 副交感神経	副交感神経節前線維は中脳、橋、延髄、仙隨を起始核とする。副交感神経節後線維が支配臓器を制御する。

類されている<sup>13)</sup>(表3)。一方、ムスカリン性受容体の分布はまず、ムスカリンM1およびM2受容体において詳細な解析が行われた。特異的リガンドの受容体に対する親和性と効果の差に着目した薬理学的な分類法である<sup>19)</sup>。続いて遺伝子の解析が行われ、5つの遺伝子が検出され、それぞれの遺伝子は異なるムスカリン性受容体をコードしていることが明らかにされた(表1, 2)。ムスカリン性受容体サブタイプ別の生体内分布は、mRNAのノーザンプロット法および*in situ*ハイブリダイゼーション法により解析されている。ムスカリンM1、M3およびM4受容体は脳に豊富に存在する<sup>13)</sup>。また、ムスカリンM5受容体については中脳部での存在が確認されている。一方、ムスカリンM2受容体は小脳および心臓に高濃度に存在することが明らかにされている<sup>13)</sup>。

中枢作用としては、運動機能、体温調節、摂食行動、睡眠、記憶および学習における役割は最も広く研究されており、ACh神経系の破壊により記憶学習に障害が認められることからその重要性が注目されている<sup>9)</sup>。また、末梢組織におけるムスカリン性受容体の存在は心筋、消化管、気管支、瞳孔括約筋などの内蔵平滑筋および涙腺、消化液分泌腺、汗腺などの外分泌腺に広く存在し、循環機能、筋収縮、分泌作用を調節している<sup>9)</sup>。

脳内および末梢器官においてムスカリン性受容体の存在は証明されているが、受容体サブタイプ別の機能については不明な点が多い。より詳細な機能解析のために、それぞれのムスカリン性受容体サブタイプに対する特異的リガンドの合成が待たれる。

### 3. ムスカリン性受容体関連薬物と疾患

ムスカリン性受容体拮抗薬は、副交感神経の節後線維末端のシナプスで、効果器側にあるムスカリン性受容体に結合して、AChのムスカリン作用を抑制する薬物である。副交感神経遮断薬(parasympatholytic drugs)ともいわれる。ムスカリン性受容体拮抗薬は、副交感神経刺激を抑制し、交感、副交感神経によって拮抗支配されている器官においては、交感神経優位の状態となる<sup>12)</sup>。

ムスカリン性受容体拮抗薬は、散瞳薬、鎮痙薬、抗

消化性潰瘍薬、パーキンソン病治療薬(パーキンソンズムの症状を改善)、麻酔前投薬(気道分泌を抑制したいとき)、徐脈性不整脈の治療などとして臨床応用されている(表4)。また、有機リン化合物、農薬中毒時の対症治療法にムスカリン性受容体拮抗薬を用いる場合もある。ムスカリン性受容体拮抗薬の代表的例

表4 ムスカリン性受容体拮抗薬

## A. ベラドンナアルカロイド (Belladonna alkaloids)

薬物名	特 徴
アトロピン (経口、皮下注、筋注、静注で使用)	ムスカリン性受容体を遮断する。 ①麻醉前投薬（気道分泌と徐脈の予防）②徐脈・房室伝導障害の治療③鎮痙攣として消化管・胆管・尿管の弛緩と痛みの除去。消化性潰瘍の治療。④有機リン剤、副交感神経性興奮薬の中毒時の解毒⑤散瞳（点眼）：瞳孔括約筋弛緩による。毛様体筋弛緩による眼内圧上昇、焦点調節麻痺。 <相互作用>三環系抗うつ薬、フェノチアジン系薬物、抗ヒスタミン薬との併用により作用が増強されるので注意（これらの薬物は抗コリン作用がある）
スコポラミン (中枢作用を有する)	①麻醉前薬投薬（気道分泌と徐脈の予防）②パーキンソン病の振戦、筋強直を寛解③乘物酔いに有効 副作用：口渴、焦点調節麻痺、頻脈。中枢作用として抑制的で、鎮静、眠気。（マウスでは興奮）

## B. 合成アトロピン様薬物

薬物名	特 徴
ホマトロピン (トロピカミド：三級アンモニウム)	副交感神経遮断作用はアトロピンより弱い。点眼による散瞳はアトロピンより速効性で持続は短い。散瞳薬（診断と治療を目的とする散瞳と焦点調節麻痺） 副作用：全身症状で、血圧上昇、頻脈、口渴、恶心、眼圧上昇などが現れたら、投薬を中止する。

## C. 四級アンモニウム化合物（合成アトロピン様薬物）

薬物名	特 徴
臭化ブチルスコポラミン	副交感神経支配に強い器官に作用し、弛緩を起こす。イオン化しているので中枢性の副作用が出ない。鎮痙攣には神経節遮断効果も一部加わっている可能性がある。 鎮痙攣
臭化プロパンテリン	抗ムスカリン様作用に加えて、神経節遮断作用を有する。四級アンモニウムで中枢作用はない。鎮痙攣、ほぼブチルスコポラミンと同様。過敏性大腸症や夜尿症にも用いる。（経口）
臭化メチルベナクチジウム	鎮痙攣、胃・十二指腸潰瘍、胃炎、夜尿症（経口）
塩酸ピレンゼビン	ムスカリンM1受容体の選択的遮断薬。胃の運動（M3受容体が関与）をほとんど抑制せずに胃酸分泌を選択的に抑制する。胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍=ガストリン抑制効果を有する。 他の抗コリン薬にくらべて副作用の発現は低い。

## D. 中枢性抗コリン薬

薬物名	特 徴
トリヘキシフェニジル	中枢性抗コリン薬（三級アミン）：パーキンソン病治療

を表4に示した。適応の目的により異なるが、口渴、眼圧上昇、焦点（遠焦点）調節麻痺、頻脈、尿閉などが副作用である。また、緑内障、重症筋無力症、排尿障害がある前立腺肥大、麻痺性イレウス（腸閉塞）などには禁忌である。薬物の剤型としての特徴は、中枢作用を期待する場合に三級アンモニウム塩とし、適応症からみて中枢作用が副作用となる場合には中枢移行性が極めて低い四級アンモニウム塩とするのが一般的である。

中枢のムスカリン性受容体拮抗作用を有するトリヘキシフェニジル、ビペリデン、プロフェナミン、ピロヘプチンなどはパーキンソン病治療薬として応用され

ている。これらの薬物の特徴としては、パーキンソン病における筋拘縮と振戦に対する効果が高いが、無動寡動に対する効果は、L-DOPAに劣るとされる。初期の軽症例や振戦の強い症例には適する。作用機序は、大脳基底核線条体のコリン作動性神経の抑制による。黒質線条体のドバミン作動性神経系の機能低下により生じるコリン作動性神経の相対的機能亢進状態を抑制し、ドバミン作動性神経系とコリン作動性神経系のバランスを回復させる。

ムスカリン性受容体サブタイプに着目した薬物の開発においては、抗消化性潰瘍薬であるピレンゼビンが有名である。ピレンゼビンは、ムスカリンM1受容体

の選択的遮断薬であり、胃の運動（M3受容体が関与）をほとんど抑制せずに胃酸分泌を選択的に抑制する。同様に、M2受容体を介する心臓機能に影響を与えるなどの優位性が注目されている。

#### 4. 中枢神経疾患とムスカリン性受容体

ムスカリン性受容体が関与する可能性のある中枢神経疾患には以下のようなものがある。

##### a) アルツハイマー病

アルツハイマー病においてはコリン性神経の脱落が比較的選択的に起こる。また、ムスカリン性受容体の拮抗薬は動物で健忘を起こす。さらに、アセチルコリニエステラーゼの阻害薬がアルツハイマー病の治療薬として臨床に供せられており、痴呆症状を緩和するのに一定の効果をあげている。これらのことから、アルツハイマー病においては、ムスカリン性受容体の機能低下が症状発現に関わっていることが強く示唆されている。またアルツハイマー病の発生を説明する仮説の一つとして、アミロイド前駆蛋白（amyloid precursor protein; APP）の代謝に異常が起こり、細胞毒性のある A<sub>β</sub> 蛋白が蓄積するのではないかと提唱されている。ムスカリン性受容体のうち、ムスカリンM1, M3 受容体を刺激すると APP の代謝が正常化するということが *in vitro* の実験系で確認されている。つまり、ムスカリン性受容体への刺激が低下すると APP の代謝に異常を来し、A<sub>β</sub> 蛋白の蓄積を介してアルツハイマー病の発生や増悪につながるのではないかとも考えられる。

##### b) パーキンソン病

パーキンソン病の病態生理を説明する際に、ドバミン性神経とコリン性神経のバランス仮説が古くから提唱されている。パーキンソン病の際にはドバミン性神経の活動が低下しているが、抗コリン剤を投与してコリン性神経の伝達を抑制すると症状の緩和をもたらすことがその根拠の一つとなっている。

##### c) 統合失調症および薬物依存症

統合失調症や薬物依存症には腹側被蓋野（ventral tegmental area、VTA）に存在するドバミン性神経の活動亢進が関与していると考えられている。このドバミン性神経は複数の神経伝達物質に対する受容体を持ち、調節を受けているものと考えられる。VTAに入

射するコリン性神経としては脚橋被蓋核（pedunculopontine tegmental nucleus）を細胞体とする経路などが有名である。こうしたAChを神経伝達物質とする経路の情報伝達に、VTAのドバミン性神経に存在するムスカリン性受容体が関与しているようである。そのムスカリン性受容体のサブタイプは主にムスカリンM5受容体ではないかと考えられている。この部位でのムスカリンM5受容体の刺激はドバミン性神経を興奮させる働きがあると報告されているが、詳細については今後の解明が待たれる。

#### 5. 遺伝子改変動物を用いた研究

ムスカリン性受容体の機能解析は、これまでサブタイプ選択的な作動薬や拮抗薬を用いた薬理学的アプローチが用いられてきた。しかしながら、これらの薬物の選択性は概して低く、各サブタイプの機能を見分けることは必ずしも容易ではなかった。近年、アルツハイマー病、パーキンソン病などの疾患がムスカリン性受容体の機能と密接に関わっていることが認識されるようになり、各サブタイプのノックアウトマウスを用いてサブタイプごとの機能を知るというアプローチが精力的に取られるようになっている。これら全てのノックアウトマウスは、それぞれの受容体蛋白をコードする領域の一部をネオマイシン耐性遺伝子発現カセットと置き換えるという手法をとっており、発生の最初の段階から終生に渡り全ての細胞で遺伝子産物が欠失する。例として松井が報告したムスカリンM3受容体遺伝子の targeting strategy を記載する（図2）。また、現在までに報告されたムスカリン性受容体ノックアウトマウスの特徴を表5にまとめた。

##### a) ムスカリンM1受容体ノックアウトマウス

ムスカリンM1受容体ノックアウトマウスに関する研究については Nathanson らのグループが報告している。彼らの最初の報告<sup>7)</sup>では、ムスカリンM1受容体ノックアウトマウスは一見正常であるが、ピロカルビンに対する痙攣が起きにくいくこと、また交感神経節でのムスカリン作動薬による M-current の抑制性の制御が完全に失われていることを報告している。その後彼らはムスカリン作動薬による cerebral cortical 神経での MAP kinase の活性化が、ムスカリンM1受容体ノックアウトマウスで減弱していることを報告した<sup>8)</sup>。また、Wessらのグループも独立にムスカリンM1受容体ノッ

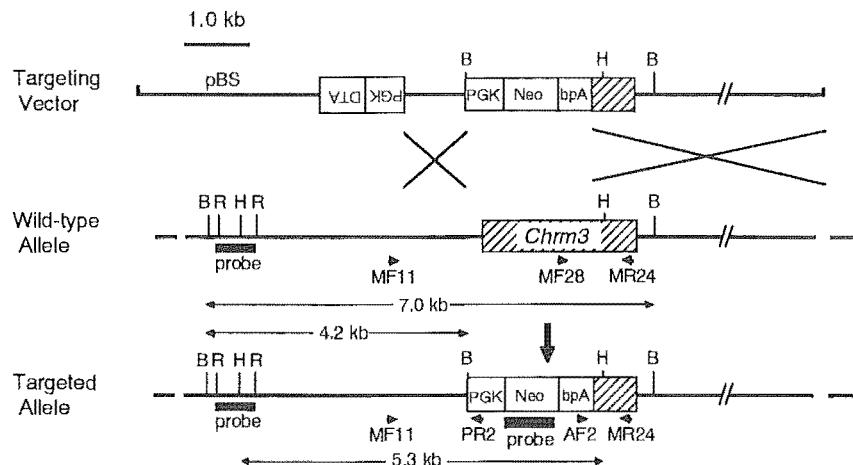


図2 ムスカリニン性受容体(M3)ノックアウトマウス作製に用いたtargeting strategy

pBS, pBluescript; PGK, phosphoglycerate kinase promoter; DTA, diphtheria toxin  $\alpha$  subunit; Neo, neomycin resistance gene; bpA, bovine growth hormone polyadenylation signal; B, *Bam*H; H, *Hind*III; R, *Eco*R; *Chrm3*, cholinergic receptor muscarinic 3. 斜線部はムスカリニンM3受容体の蛋白をコードする領域を示す。このターゲッティングデザインでは、ムスカリニンM3受容体のアミノ末端側約3分の2をコードする部分がゲノム上で欠損し、ムスカリニンM3受容体遺伝子のmRNAはもはや検出されない。

表5 ムスカリニン性受容体サブタイプ別遺伝子改変動物の特徴

欠損受容体サブタイプ	末梢機能	中枢機能
M <sub>1</sub>	—	自発行動量増加 脳内ドバミン量上昇
M <sub>2</sub>	ムスカリニン作用薬による平滑筋収縮 やや減弱	ムスカリニン作用薬による振戦、体温下降、鎮痛作用が起こらない
M <sub>3</sub>	ムスカリニン作用薬による唾液分泌反応消失 瞳孔拡大 膀胱拡大（オスのみ） ムスカリニン作動薬による平滑筋収縮 著明に低下	食欲低下（？）
M <sub>4</sub>	—	自発行動量増加 ドバミン作用薬に対する行動量増加 反応亢進
M <sub>5</sub>	ムスカリニン作用薬による脳動脈拡張 反応低下～消失	中脳辺縁系ドバミン神経系の異常

クアウトマウスを作製し、行動学的スクリーニングを行っている<sup>10</sup>。その結果では、ムスカリニンM1受容体ノックアウトマウスは、open field testにおいて野生型よりも行動量が亢進していた。上述したように、薬理学的にムスカリニン性受容体を遮断すると記憶、学習機能は低下するが、ムスカリニンM1受容体ノックアウトマウスでは各種の記憶学習試験を行っても明らかな異常を検出することはできなかった。但し、ムスカリニンM1受容体ノックアウトマウスではもともと行動量が亢進しているので、迷路を用いた行動を指標とする記憶学習試験では適切に異常を評価できなかった可能性もある。その後、Tonegawaらのグループも独立にム

スカリニンM1受容体ノックアウトマウスの作成を報告した<sup>11</sup>。ここでも、やはりムスカリニンM1受容体ノックアウトマウスは行動量が増加していると報告されているが、線条体内でのドバミン含有量が野生型の約2倍に増加していることがその原因ではないかと彼らは推測している。さらに最近、ムスカリニンM1受容体ノックアウトマウスの海馬スライスでは、ムスカリニンによる $\gamma$  oscillationの誘導が欠如していることが明らかになり、ムスカリニンM1受容体ノックアウトによるイオンチャネル調節機構に対する影響についても検討が進んでいる<sup>12</sup>。

## b) ムスカリーンM2受容体ノックアウトマウス

ムスカリーンM2受容体ノックアウトマウスに関する研究は、Wessらのグループにより報告された<sup>6,15)</sup>。最初の報告<sup>6)</sup>では、オキソトレモリン（コリン性作用薬）による振戦、体温低下、鎮痛作用に欠損が見られたと報告している。また、彼らは胃、膀胱、気管においてムスカリーンM2受容体がコリン性の平滑筋収縮に有意な役割を果たすことを見いだした<sup>15)</sup>。

## c) ムスカリーンM3受容体ノックアウトマウス

ムスカリーンM3受容体ノックアウトマウスに関する世界初の報告は、本総説の著者の一人である松井らによりなされた<sup>10)</sup>。この報告では、末梢の副交感神経支配下の臓器に多くの機能的異常が発現することを見い出している。ノックアウトマウスは生下時には一見正常であるが、生後3週頃から次第に成長の遅延が見られ、生後5週頃では、野生型マウスのほぼ半分の体重となる。この時期に死亡するものも見られるが、生き残ったものは次第に野生型の成長に追いつく。ピロカルピンを全身投与すると、野生型では多量の唾液分泌が起こるが、ムスカリーンM3受容体ノックアウトマウスではほぼ無反応である。従って、副交感性の唾液分泌には、ムスカリーンM3受容体のみが関与していることが分かった。ちなみに、通常の固形餌の代わりに水分を多量に含ませたペースト状の餌で育てると、ノックアウトマウスの成長はかなり改善する。従って、成長遅延の主な原因は唾液分泌不全による摂食障害ではないかと考えられる。その他に明らかな異常としては、膀胱の拡大がある。これはメスよりもオスにより顕著であった。摘出排尿筋を試験管内でカルバコールにより刺激したところ、オスおよびメスともその収縮力は野生型のほぼ5%であった。従って、排尿筋のコリン性収縮の約95%はムスカリーンM3受容体が担っているものと結論される。カルバコールによる腸管平滑筋の収縮は、野生型の約25%に低下していた。つまり腸管平滑筋のコリン性収縮にムスカリーンM3受容体が関与する割合は約75%であると考えられる。AChによる消化管平滑筋にはムスカリーンM3受容体が必要であるということは、多くの薬理学的解析とも一致する。しかしながら、ムスカリーンM3受容体ノックアウトマウスの腸管では、膀胱で見られたような通過障害は明らかではなかった。他のムスカリーン性受容体サブタイプ（ムスカリーンM2受容体？）が代償的に働いているのか、あるいはそもそもAChによる平滑筋の収縮は生理的に

はそれほど重要ではないのかという点についての検討が待たれる。その他の明らかな異常としては、瞳孔の拡大が見られた。しかしながら、完全に散瞳させるためには、アトロピンの点眼が必要であった。すなわち、ムスカリーンM3受容体は縮瞳反応に重要な働きを示すものの、他のサブタイプ（ムスカリーンM1受容体？）も、縮瞳反応を部分的に担っていることが判明した。

一方、近年、他の研究施設からムスカリーンM3受容体ノックアウトマウスに関する同様の研究が報告された<sup>16)</sup>。しかしながら、その結論は松井らとの結果とは異なっている。もっとも大きな違いは、ピロカルピンの刺激による唾液分泌がほぼ正常に起こったということである。このことから、成長遅延のメカニズムは唾液分泌等の末梢障害によるものではないと結論している<sup>16)</sup>。彼らによれば、ムスカリーンM3受容体ノックアウトマウスは視床下部の食欲中枢に異常が検出されており、食欲の低下が主な表現型であろうとのことである。

## d) ムスカリーンM4受容体ノックアウトマウス

ムスカリーンM4受容体ノックアウトマウスに関する初の報告は、Wessらのグループによりなされた<sup>5)</sup>。この報告によれば ムスカリーンM4受容体ノックアウトマウスは一見正常に発育する。しかし、open field testによると、野生型よりも自発運動量が亢進している。さらにアポモルフィンによる運動量増加作用が、ムスカリーンM4受容体ノックアウトマウスでは亢進していることも分かった。ムスカリーンM4受容体は線条体に多く発現しているサブタイプであるので、恐らくはムスカリーンM4受容体の欠損が線条体の機能異常を起こしているものであろうと推測される。

## e) ムスカリーンM5受容体ノックアウトマウス

ムスカリーンM5受容体ノックアウトマウスに関する研究は、Yeomansらが報告をしている<sup>3)</sup>。彼らによると、laterodorsal tegmental nucleus (LDT) を電極で刺激した際におこる側坐核 (nucleus accumbens、NAC) でのドパミン放出が一部失われている。LDTの刺激は、VTAにおけるACh放出を増加させ、VTAのドパミン性神経が興奮し、NACでドパミン遊離が引き起こされると考察している。従って、彼らの実験結果からはVTAのドパミン性神経に存在する ムスカリーンM5受容体は、AChがドパミン性神経を興奮させる際に必要な分子であるという推論が導かれる。さらにその後 Wess

らのグループも独立にムスカリノンM5受容体ノックアウトマウスを作製し、AChによる脳動脈の拡張にはムスカリノンM5受容体が重要な役割を果たしていることを示した<sup>16)</sup>。

## 6. 総 括

近年の分子生物学的手法を利用した解析から、ムスカリノン性受容体の多様性が注目されている。従来から知られていた記憶、学習における役割、および循環機能、筋収縮、分泌作用などの末梢機能調節における役割もムスカリノン性受容体別にその調節プロセスが解析されつつある。一方、アルツハイマー病、パーキンソン病およびその他の疾患の発症メカニズムをムスカリノン性受容体サブタイプの役割から解析する試みも始まっている。現在のところ、ムスカリノン性受容体に作用する薬物のサブタイプ別受容体選択性は概して低く、薬物を用いての各ムスカリノン性受容体サブタイプの機能解析は必ずしも容易ではない。したがって、各ムスカリノン性受容体サブタイプのノックアウトマウスを、個々のムスカリノン性受容体の機能解析に用いることは非常に有用であり、得られる情報はそれぞれのムスカリノン性受容体に対する特異的リガンドの合成意義を見い出すと考えられる。今後、詳細な検討を通じ、アルツハイマー病、パーキンソン病などの疾患とムスカリノン性受容体の関連性が明確になり、ムスカリノン性受容体サブタイプ別の特異的リガンドがこうした疾患の治療薬になることが期待される。

## 文 献

- 1) Bonner TI : The molecular basis of muscarinic receptor diversity. *Trends Neurosci* 12 : 148-151, 1989.
- 2) Fisahn A, Yamada M, Duttaroy A et al : Muscarinic induction of hippocampal gamma oscillations requires coupling of the M1 receptor to two mixed cation currents. *Neuron* 33 : 615-624, 2002.
- 3) Forster GL, Yeomans JS, Takeuchi J : M5 muscarinic receptors are required for prolonged accumbal dopamine release after electrical stimulation of the pons in mice. *J Neurosci* 22(1) : RC190, 2002.
- 4) Gerber DJ, Sotnikova TD, Gainetdinov RR et al : Hyperactivity, elevated dopaminergic transmission, and response to amphetamine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 15312-15317, 2001.
- 5) Gomeza J, Zhang L, Kostenis E : Enhancement of D1 dopamine receptor-mediated locomotor stimulation in M4 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 10483-10488, 1999.
- 6) Gomeza J, Shannon H, Kostenis E et al : Pronounced pharmacologic deficits in M2 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 1692-1697, 1999.
- 7) Hamilton SE, Loose MD, Qi M, et al : Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 13311-13316, 1997.
- 8) Hamilton SE, Nathanson NM : The M1 receptor is required for muscarinic activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase in murine cerebral cortical neurons. *J Biol Chem* 276 : 15850-15853, 2001.
- 9) Hulme EC, Birdsall NJM, Buckley NJ : Muscarinic receptor subtypes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30 : 633-673, 1990.
- 10) Matsui M, Motomura D, Karasawa H et al : Multiple functional defects in peripheral autonomic organs in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor gene for the M3 subtype. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 9579-9584, 2000.
- 11) Miyakawa T, Yamada M, Duttaroy A et al : Hyperactivity and intact hippocampus-dependent learning in mice lacking the M1 muscarinic acetylcholine receptor. *J Neurosci* 21 : 5239-5250, 2001.
- 12) 水島裕：今日の治療薬、南江堂、2000。
- 13) Nicholls DG : Proteins, Transmitters and Synapses. Springer, London, 1994.
- 14) Yamada M, Miyakawa T, Duttaroy A et al : Mice lacking the M3 muscarinic acetylcholine receptor are hypophagic and lean. *Nature* 410(6825) : 207-212, 2001.
- 15) Stengel PW, Gomeza J, Wess J et al : M2 and M4 receptor knockout mice : muscarinic receptor function in cardiac and smooth muscle in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 292 : 877-885, 2000.

- 16) Yamada M, Lampert KG, Dutaroy A et al :  
Cholinergic dilation of cerebral blood vessels is  
abolished in M5 muscarinic acetylcholine receptor  
knockout mice. Proc Natl Acad Sci USA 98 : 14096-  
14101, 2001.