

## 【総 説】

# アセチルコリンのルーツと非神経性アセチルコリン

川島紘一郎  
武蔵野大学薬学研究所

### 要約

Acetylcholine (ACh) は「神経活動の化学伝達」メカニズムの発見に係わった物質であることから、神経伝達物質として広く知られている。しかしながら、AChは、ほぼすべての生物に、また哺乳動物の様々な非神経性細胞と組織にも存在し、局所的な細胞間の情報伝達に関与し、様々な生理的役割を果たしている可能性が明らかになってきた。すなわち、神経伝達物質としてのAChは、多様な役割のうちの一側面に過ぎない。ここでは、まずAChが神経伝達物質として認定されるまでの歴史的展開を総説した。次に、哺乳動物の非神経性細胞と組織におけるAChの存在とその役割に関する研究を紹介した。さらに真正細菌、始原菌（古細菌）および真核生物などの各種生物におけるAChの存在、ACh産生能および役割に関する知見を展望した。これらの知見から、AChはほぼすべての生物に存在しており、細胞間情報伝達物質として広範な役割を担っている可能性が考えられる。

キーワード：acetylcholine, mAChR, nAChR, ChAT, SLURP

### 1. はじめに

これまでの研究活動を振り返ると、研究が走り出してから考えることが多かった。欧米の優れた研究助成申請書を拝見すると、研究背景を総説し、研究テーマが創造的であるか、あるいは権威が提唱した説の確認かを検討して、綿密な研究計画が立案されている。研究完了時には、申請書の一部をそのままIntroductionとして使えるほど整っている。研究背景の批判的総説は、研究の質的向上と無駄の削減に役立つであろう。ここでは、「神経活動の化学伝達」の発見に係わったacetylcholine (ACh) を巡る研究の歴史と、AChの様々な生物や非神経性の細胞や組織における存在と役割に関する研究を紹介する。効率的学習を主眼にしたコア・カリキュラムに制約された生理学の講義の中では、神経伝達物質の発見に至る歴史を学ぶ余裕はないであろう。しかしながら、歴史の中には、重要な研究のヒントや参考になる思考法がちりばめられていることがある。

### 2. 神経活動の化学伝達とacetylcholineに関する研究の歴史

AChは神経伝達物質として一般的に広く知られている。Alzheimer病患者において、著明な脳の委縮と、大

脳基底核から皮質へ、また中隔から海馬へ投射するAChを伝達物質とする神経の変性や脱落が観察されている [1]。さらに、acetylcholinesterase (AChE) 阻害薬がAlzheimer病の症状を一時的に緩和することが明らかになった [2]。そのため、AChの記憶、学習、あるいは情動などへの関与が想定され、神経伝達物質としてのAChの研究が大いに発展した。私たちのもつAChの合成、分解および作用に関する知識は、確かに大部分が神経系における知見から得られたものである。しかしながら、AChが神経伝達物質として認定されるに至る歴史（表1） [3-18]を振り返ると、AChが果たしているさらに多様な生理的役割が見えてくる。研究の現状をより良く理解し、研究計画の立案や実験結果の説明に役立つ知見を掘り起こしてみるのも良いかもしれない。

#### 1) Cholineの発見と血圧作用

1865年にLiebreich [3] は、脳から脂肪を含まない抽出物を調製してprotagonと命名した。さらに、protagonをアルカリ分解して、glycerol phosphoric acidと塩基性物質neurineを単離した。後にneurineは、protagonから生成したcholine  $((\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}\cdot\text{OH}^-)$  の脱水産物  $((\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}=\text{CH}_2\cdot\text{OH}^-)$  であることが判明した [3]。Cholineは1864年にStreckerにより胆汁中から発見され、1866年に合成された。

Baeyer (1867) [4] は、protagonからneurineが生成する過程で別の水酸基をもつ化合物もできるはずだと考えて、脳からcholineを単離することに成功した。単離した化合物がcholineであることを証明するために、acetylchlorideでアセチル化してAChができることを示した。

連絡先：〒202-8585

東京都西東京市新町1-1-20

TEL: 042-468-8669

FAX: 042-468-8669

e-mail: koichiro-jk@piano.ocn.ne.jp;

k\_kawas@musashino-u.ac.jp

表1. 神経刺激の化学伝達の証明とアセチルコリンの発見に至る研究の歴史

年	人名	事項	文献
1865	Liebreich	脳の脂肪を含まない抽出物 (protagon) をアルカリ処理して neurine を単離	3*
1867	Baeyer	Acetylcholine (ACh) を合成	4*
1867	Bezold & Bloebaum	Atropine による迷走神経刺激の心拍に及ぼす作用の抑制を報告	4*
1869	Schmiedeberg & Koppe	<i>Amanita muscaria</i> より muscarine を単離	4*
1899	Mott & Halliburton	脳変性疾患患者の脳脊髄液中に choline を発見	5
1904	Elliott	交感神経終末からの adrenaline 類縁化合物の放出 (神経刺激の化学伝達) を想定	6
1906	Hunt & Taveau	数種の choline-ester 類の血圧作用を検討し, ACh の choline よりも強力な作用を発見	7
1906 ~ 1907	Dixon	副交感神経の伝達物質を muscarine と想定して, 迷走神経付き心臓標本を用いた実験するも失敗	8, 9*
1908	Howell & Duke	迷走神経刺激によるカリウム放出を報告	10
1914	Dale	ACh の作用を nicotine と muscarine 様作用に分類	11
1914	Erwins	麦角における ACh の存在を発見	12
1921	Loewi	迷走神経刺激の化学伝達を決定づける報告	13
1926	Loewi & Navratil	迷走神経刺激の化学伝達に関与する Vagusstoff は ACh と報告	14
1929	Dale & Dudley:	動物体内 (脾臓) における ACh の存在を初めて確認	15
1933	Chang & Gaddum	ヒト胎盤を始めとする種々の臓器における ACh の存在を報告	16
1935	Dale	副交感神経終末からの ACh 遊離を認定し, cholinergic と adrenergic の用語を提案	9
1936	Dale, Feldberg & Vogt	イヌの随意筋の神経終末からの ACh 遊離を発見	17
1936	Dale & Loewi	神経刺激の化学伝達の発見により Nobel 賞受賞	
1938	Loewi & Hellauer	ウシの脊髄前根における ACh の存在を発見	18*
1941	MacIntosh	ネコの大脳皮質と一部の神経核における ACh の存在を発見	18

\*番号の文献より引用.

しかしながら、AChの生理作用は調べなかった。以来、AChは試薬リストに掲載されていたが、化学的興味しかもたれていなかった。

1869年にSchmiedeberg & Koppe [4] は、ベニテングタケ (*Amanita muscaria*) から muscarine を抽出した。Muscarineの心臓作用は、迷走神経刺激時に類似し、atropineにより拮抗されることを発見した。これらの結果を muscarineは迷走神経を刺激し、atropineは心臓の迷走神経終末を遮断したと解釈した。

1899年にMott & Hulliburton [5] は、脳に委縮性病変のある患者から採取した脳脊髄液 (CSF) をイヌ、ネ

コおよびウサギに静脈内投与すると、血圧下降を引き起こすことを発見した。患者CSFに含まれる血圧下降物質は、化学的にcholineとして同定され、脳組織が分解してできたと考えられた。これらのCSFにはneurineは含まれていなかった。cholineによる血圧下降は、一部は心臓に対する作用であるが、大部分は末梢血管の拡張を介するものであると報告した。morphineとatropine前処置後にcholineを投与すると、血圧は上昇した。これらの知見は、後にDaleがcholine ester類の血圧作用を検討した時の参考になったであろう。さらに、cholineが muscarineおよびnicotine作用の両方をもつことを示す

最初の観察結果であった。また、これらの知見から、cholineが最近nAChRの内因性リガンドとして使用されている理由が分かるであろう。

## 2) 神経活動の化学伝達説

1904年にElliott [6] は、交感神経を刺激した時とadrenalineを投与した時の作用の類似性に着目して、神経刺激によりadrenaline類縁化合物が交感神経終末から放出されて作用を発現すると考えた。すなわち、Elliottは「神経活動の化学伝達」説の最初の提唱者である。この論文から、Dixon [8,9]は、同様なメカニズムが副交感神経系でも働いており、muscarine類似物質が副交感神経活動の伝達に関与していると考えた。瀉血したイヌの迷走神経を長時間刺激した後に心臓を摘出し、水で煮沸後、アルコール抽出物を調製した。この抽出物を拍動しているカエルの心臓に適用して、心収縮力の抑制作用と、atropineによる拮抗を観察した。活性物質をvagus substanceと命名したが、Dixonが観察した作用は遊離型cholineに由来すると考えられる。しかしながら、これらの知見は、後に多くの研究者たちに手掛かりを与えずである。

## 3) cholineおよび類縁化合物の薬理作用

choline、muscarineおよびneurineの化学的類似性、およびMott & Halliburtonの研究 [5] に触発され、cholineの薬理作用に関する研究が盛んに行なわれた。

1906年にHunt & Taveau [7] は、副腎抽出物がadrenaline以外に、血圧下降物質としてcholineを含んでいることを発見した。しかし、抽出物がcholineとは別の血圧下降物質も含んでいることに着目した。副腎と脳の抽出物のいずれもが、cholineよりも強力な血圧下降を起こすことを発見した。残念ながら、活性物質の化学的単離は成功しなかった。そこで、これらの作用はcholineの前駆体か、もしくはある種のcholine系化合物に由来すると考えて、彼らは一連のcholine系化合物を合成して薬理作用を検討した。AChの血圧作用は最も強力で、cholineの10万倍も高い活性を示したと記載している。AChの血圧下降作用がatropineで遮断されたことから、心臓の迷走神経終末に対する作用であると考えた。

1908年にHowell & Duke [10] は、ウサギ、イヌ、ネコなど哺乳動物の心臓を単離してLocke液で灌流した。心臓への迷走神経を30秒から1分間刺激して、灌流液中へのカリウム放出を観察した。そこで、迷走神経の心臓に対する抑制作用は、心臓から遊離されたカリウム化合物の影響によると考えた。

1914年にDale [11] は、小麦やライ麦に*Claviceps purpurea*菌が寄生して生成する菌核である麦角(ergot)の抽出物が既知の活性物質とは明確に異なる血圧下降作用を示すことに注目した。麦角中の活性物質の作用はmuscarine型であり、真のnatural muscarineはcholine-esterであろうと考えた。Hunt & Taveau [7] の知見を参考に数種のcholine-esterおよびcholine-etherを合成して、

主としてネコの血圧に及ぼす作用や、摘出カエル心標本における作用を比較検討した。その結果、choline-esterとcholine-etherは、nicotine-curare作用を示すこと、および麦角抽出物の加水分解に対する不安定性から、麦角中の血圧下降物質はmuscarineではないと判定した。これらの一連の研究から、Dale [11]は、choline-esterおよびcholine-ether類のもつ作用を、(1) atropineで遮断されるmuscarine作用、および(2) 過剰のnicotineで遮断されるnicotine作用の二つに明確に分けられることを報告した。さらにDaleは、AChを始めとするcholine-esterが自律神経節前神経シナプスと大部分の副交感神経線維から放出される伝達物質であろうと考えた。またAChは、血中では迅速に加水分解され、かなり不安定であるが、Ringer液を用いたカエル摘出心の灌流実験では強力な心抑制を起こすことを観察した。しかしながら、その時点においてAChに類似のcholine類縁化合物が動物体内に存在する証拠がないことから、AChが神経伝達物質であると結論づけることはできなかった。

## 3) 生物によるAChの産生

Daleから麦角中に含まれる血圧下降物質の単離を依頼されたEwins [12]は、抽出活性物質の化学的不安定性やHunt & Taveau [7]の知見を踏まえて、化学合成したAChとウサギ腸管を用いて生理作用を比較検討した。その結果、抽出活性物質の生理作用が、質的および量的にもAChと同一であることを発見した。そこで麦角から大量に活性物質を抽出し、血圧下降物質がAChであることを化学的にも同定した。これらの結果より、生物(菌類)によるACh産生が初めて確認された。

## 4) 神経活動の化学伝達説の証明

Loewi (1921) [13] は、ある薬が特定の神経を刺激した時とほぼ同じ作用を引き起こす事実を踏まえて、神経活動によりある物質が産生されて効果器に作用を及ぼす可能性を考えた。丸ごとの動物を用いた実験条件下では、この問題の解明は不可能と考えて、摘出カエル心標本を用いた単純明快な実験系を考案した(図1)。迷走神経を刺激しながらRinger液で心標本内を灌流した。採取したRinger液を別の拍動している心標本に灌流して、心収

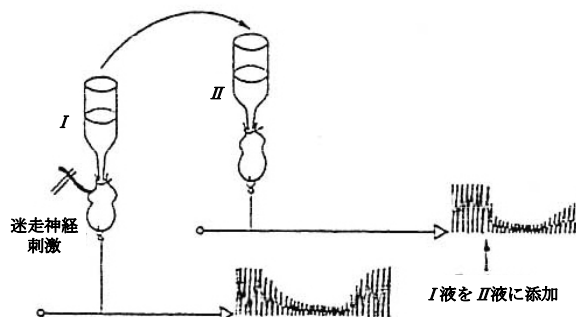


図1. Loewiの摘出カエル心標本を用いた実験[13]の模式図 (Lembeck F. The chemical language of the nervous system. The first Symposium on Non-neuronal Acetylcholine, San Francisco, USA, July 6, 2002の特別講演配布資料から)。

縮力の減弱を観察した。心収縮力の減弱は、atropine添加により消失した。これらの結果から、Loewiは神経活動の化学伝達を明確に決定づけることができた。Atropineによる作用の消失は、カリウム化合物が化学伝達物質である可能性を否定した。Loewiの論文 [13]には一つの引用文献もないが、Elliottが提唱した「神経刺激の化学伝達」説 [6]やDixonによる実験的証明の努力[8,9]、およびDale (1914) [9]のカエル摘出心を用いたAChの強力な心収縮力抑制作用の報告 [9]などを参考にした可能性が考えられる。また、実験計画は単純なほど結果の解釈が容易で、明快な結論が得られることが分かるであろう。

さらに1926年にLoewi & Navratil [14] は、迷走神経から遊離されるVagusstoffが心臓でesteraseにより分解され、そのesterase活性はeserine (physostigmine)により阻害されることを示した。これらの結果から、Loewiは、VagusstoffはAChそのものであると主張した。Dale [11]はすでに、副交感神経系の伝達物質がAChであれば、esteraseにより速やかに分解されるはずであると言っていたが、いまだAChが動物体内から発見されていなかったため、AChが副交感神経終末から遊離される神経伝達物質であるとの認定を躊躇していた。

#### 5) AChの動物体内における存在と神経伝達物質としての認定

1929年にDale & Duddley [15] は、ウマの脾臓からhistamineとは異なる血圧下降物質の単離に成功し、その活性物質がAChであることを化学的に同定した。これにより、動物組織中におけるAChの存在が初めて証明された。幸運にも、ウマ脾臓のACh含量は、他の動物と比較して、非常に高濃度であった。脾臓は免疫器官の一部でもあることから、多数のリンパ球を含んでいる。Fujiiら [19]は、ウシやウマの血中ACh含量は、他動物比較して5-20倍も高く、その95%以上が血球成分中に分布することを報告した。ヒトでは、血中AChの約60%がリンパ球を含む単核白血球分画に分布することから [20]、脾臓のAChの起源はリンパ球であったと考えられる。

さらに、1933年にChang & Gaddum [16]は、ヒト胎盤や、ウマ、イヌおよびウシの血中に50-80 ng/g のAChが存在することを報告した。ここでは、AChの定量にeserine処置したカエル腹直筋またはヒル縦走筋を使用した。後にFujiiら [19]がRIAで測定した含量とほぼ同じであった。これにより、動物体内におけるAChの存在が確認された。

1934年末のFirst Dixon Memorial Lectureにおいて、Dale [9] は「副交感神経の作用はAChによって、また交感神経の作用はadrenaline類縁物質によって伝達されることが広く認められている」と講演した。さらに「自律神経節と運動神経 - 筋接合部のシナプスにおいても同様な神経活動の化学伝達が行なわれている証拠が最近集まった」と講演した。さらに、AChを遊離して作用を伝達する神経に対して"cholinergic"、そしてadrenaline類縁物質を遊離する神経に対して"adrenergic"という用語

を使うこと提案した。そして、自律神経節前線維の化学伝達物質もAChであることを認めざるを得ないと述べた。これらの経緯により、AChは神経伝達物質として認定された最初の化合物となった。

1936年に「神経刺激の化学伝達に関連する発見」に対して、Dale と Loewiにノーベル生理学賞が授与された。

1938年にLoewiとHellauerは、ウシの脊髄前根にAChが高濃度に存在することを発見した [18]。しかしながら、脊髄後根にはAChはほとんど存在しなかった。これらの知見は、AChを伝達物質とする自律神経節前線維の細胞体が脊髄前根に存在することと合致する。1941年に、MacIntoshは、eserineを前投与して分解を阻害しておいたネコの脳におけるAChの存在を確認した。大脳基底核、中脳、前頭葉皮質および橋などにおいて、高いACh含量が観察された [18]。また、イヌの脊髄前根では、灰白質に高濃度のAChが存在することを発見した。このように、中枢神経系におけるAChの存在の発見は遅れたが、その後の研究の発展は周知のとおりである。

以上見てきたように、非神経性AChの存在や、神経系をもたない生物によるAChの産生がすでにこの時点で発見されていた。

#### 3. 哺乳動物における非神経性コリン作動系の発現

脾臓 [15] や胎盤 [16] などにおけるAChの発見に続き、多くの細胞や組織における非神経性AChとコリン作動系の存在が明らかになってきた。すでに2回の"International Symposia on Non-neuronal Acetylcholine"が開催され ([21,22] を参照)、2011年には第3回がオランダ (Groningen) で開催される。さらに Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (11<sup>th</sup> ed, 2006) に"Extraneuronal Cholinergic Systems" (Page 153)として取り上げられ、非神経性AChとコリン作動系の存在が認知されるに至った。表2に非神経性コリン作動系が発現する細胞と組織を示す。

##### 1) 非神経性コリン作動系の構成要素

非神経性コリン作動系においても、神経系と同様な構成要素が発現している。

###### (1) ACh合成酵素

神経細胞では、choline acetyltransferase (ChAT) がcholineとacetyl coenzyme-A (ACoA)に働いてAChを産生する。ミトコンドリア酵素carnitine acetyltransferase (CarAT) もcholineとACoAからAChを産生することができる。いわゆるFonum法 [23] によりACoAと[<sup>3</sup>H]cholineを用いて、細胞や組織ホモジネートのACh合成酵素活性を測定すると、ChATとCarATの両方の活性が反映される。脳試料のACh合成酵素活性は、90%以上がChATに由来する [24]。他方、末梢組織試料では、観察されたACh合成酵素活性に占めるChAT活性の割合は、試料ごとに異なる。それぞれの酵素に対する特異的阻害薬bromoACh (BrACh) およびbromoacetylcarnitine

表2. 非神経性コリン作動系発現細胞と組織

細胞と組織	機能	参考文献
免疫系細胞	免疫機能調節	29,40, 42,43
血管内皮細胞	血管新生, 血管拡張	21,27,46,47
胎盤	水, 電解質, および栄養物質の輸送	48-50
ケラチノサイト	増殖, 分化, 遊走, アポトーシス	22,51,52
気道上皮細胞	分化, 恒常維持, 線毛運動	53,54
消化管内皮細胞	線毛運動の促進	28,56
心筋細胞	心保護	57
膀胱	排尿筋の緊張の維持	59-60

(BrACar) を用いて、個々の酵素活性を分けて測定することをお勧めしたい。

多くの非神経性コリン作動系では、上記のようにACh合成酵素としてChATおよびCarATが発現している。我々はリンパ球において、しばしばACh合成酵素活性とACh含量との間に大きな乖離を認めた [25,26]。T細胞を活性化させると、ChAT 活性が上昇してACh含量と遊離量が増大するが、CarAT活性は変化しなかった [25,26]。これらの結果から、リンパ球コリン作動系の活性調節にはChATが重要な役割を果たしていることが判明した。他の非神経性コリン作動系では、ACh合成酵素活性をChATとCarATに分別した検討はほとんど行われていない。実際にはコリン作動系機構が発現していない細胞や組織においても、恐らくCarATが関与した見かけ上のACh産生能が観察される場合があり、注意する必要がある。

#### (2) ACh受容体 (AChR)

神経系と同様に非神経性コリン作動系においても、muscarinicおよびnicotinic AChR (それぞれ、mAChRおよびnAChR) が発現している。非神経性コリン作動系では、ほぼすべてのmAChRサブタイプ (M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub>) が発現している [22,27,28]。他方、nAChRサブユニットの発現は、各非神経性コリン作動系で異なる。多くの非神経性コリン作動系で、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 、 $\alpha 7$ 、 $\alpha 9$ および $\alpha 10$ サブユニットの発現が認められている。

#### (3) Acetylcholinesterase (AChE)

神経終末から遊離されたAChは、神経シナプスにおいてAChEにより2~3ミリ秒以内に分解されて失活する。AChEは、神経細胞内およびその周辺細胞にも発現している。AChEは、ほぼすべての非神経性コリン作動系細胞および組織にも発現し、AChの不活性化に関与していると考えられている。T細胞の活性化は、上記のようにChAT発現を上昇させてACh産生を増大させるが、AChE発現も増強する [29]。

#### (4) Vesicular ACh transporter (VAcHT)

神経細胞ではAChは細胞質内で生合成され、VAcHTによりシナプス小胞内へ輸送されて貯蔵される。神経終末へ刺激が到達して、電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルが開口して細胞内遊離Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇すると、シナプス小胞

が細胞膜に融合して、AChは開口分泌により放出される。非神経性AChの貯蔵と遊離のメカニズムは不明である [22,28]。非神経性コリン作動系細胞および組織におけるVAcHTの発現に関しては、様々な報告がある。Organic cation transporter (OCT) がAChの遊離と取込みに関与しているとの説もある [28]。

#### (5) High affinity choline transporter (CHT1)

神経細胞では、CHT1が取り込んだcholineが専らACh合成に使われると考えられている。CHT1は、非神経性コリン作動系の様々な細胞にも発現している。非神経性細胞では、OCTにより取り込まれたcholineや細胞膜の分解により生成したcholineもACh合成に使われる可能性が示唆されている [22,28,30]。

#### (6) 新規内因性nAChRアロステリック・リガンド

Secreted Ly-6/uPAR-related peptide-1 (SLURP-1) およびSLURP-2は、分子量およそ10 kDaの内因性ポリペプチドである [31-33]。分子内に10個のシステイン残基を含み、 $\alpha$ -bungarotoxinに類似の立体構造をとっていると想定されている。SLURP-1およびSLURP-2は、それぞれ、 $\alpha 7$ および $\alpha 3$  nAChRのアロステリック・リガンドとして働き、それぞれの受容体においてAChの作用を増強する働きをされると考えられている。しかしながら、SLURP-1およびSLURP-2自体が、固有の作用をもつ可能性も考えられる。遺伝子発現や免疫組織化学的検討により、いずれもケラチノサイト、気道線毛上皮細胞を始めとする様々な非神経性コリン作動系細胞や組織、および一部の神経系における発現が報告されている [34-38]。SLURP-1およびSLURP-2の非神経性コリン作動系における役割の解明は、まだ始まったばかりである。

### 2) 非神経性コリン作動系発現細胞と組織

表2に示す非神経性コリン作動系発現細胞と組織のリストは、今後さらに拡大すると考えられる。ここでは代表的な非神経性コリン作動系について、若干の説明を加える。

#### (1) 免疫系細胞

我々はAChに対する特異抗体を作製し、比活性の高い [<sup>3</sup>H]AChを入手して、1 pg/tubeの測定感度をもつラジ

オイムノアッセイ (RIA) の開発に成功した [39,40]。RIAを用いて、ヒトを始めとする様々な動物の血中にAChの存在を確認した [19]。血中AChの起源は、リンパ球を含む単核白血球であることが判明した [20]。リンパ球のモデルとしてヒト白血病細胞株を用いて、主としてT細胞がChATによりAChを産生することを発見した。1995年にFujiiら [41] は、世界に先駆けてT細胞系白血病細胞株MOLT-3におけるChATの遺伝子と蛋白質の発現を発見した。いわゆるACh合成酵素活性はB細胞にも認められるが、ChATは発現していなかった。別の動物種では、T細胞に加えて、B細胞にもChATの発現が報告されており、種差があるかもしれない [22, 28, 42]。

T細胞、B細胞、樹状細胞およびマクロファージなどの免疫系細胞には、様々なmAChRおよびnAChRが発現している [29, 40, 42,43]。T細胞と種々の免疫細胞との間で抗原提示反応が行なわれる時に、T細胞から遊離されたAChが自身および直近の細胞上のmAChRおよびnAChRを刺激して、免疫機能の調節に関与する可能性が考えられる。例えば、M<sub>1</sub>/M<sub>5</sub> mAChRノックアウト (KO) マウスを卵白アルブミンで免疫すると、INF- $\gamma$  およびIL-6産生抑制とIgG<sub>1</sub>抗体の産生の遅延が観察された [44]。他方、 $\alpha 7$  nAChR KOマウスを免疫した場合には、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  およびIL-6産生増大とIgG<sub>1</sub>およびIgM抗体の産生が増大した [45]。これらの知見は、免疫細胞におけるコリン作動系はmAChRおよびnAChRを介して、免疫機能の調節に関与している可能性を支持するものである。

#### (2) 血管内皮細胞 (VEC)

AChによりVECのmAChRを刺激すると、一酸化窒素 (NO) が産生され、血管拡張が起こることが知られている。血中には高いAChE活性があるため、VECのmAChRに働くAChの起源は不明であった。我々は、ウシ大動脈VECおよびブタ脳微小血管初代培養VECにおけるACh産生を発見した [46,47]。VECには、ChATはもとより、M<sub>3</sub>を始めとする様々なmAChRサブタイプと $\alpha 3, \alpha 5, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$ などのnAChRサブユニットの発現が報告されている [22]。

VECのコリン作動系は、M<sub>3</sub> mAChRを介する血管拡張の他に、 $\alpha 7$  nAChRを介する血管新生への関与が示唆されている。VECの $\alpha 7$  nAChRを介する癌の増殖や加齢性黄斑変性発症への関与についての研究が今後進展するものと考えられる [22]。

#### (3) 胎盤

Sastry [48] はChang & Gaddum [16] の胎盤におけるAChの存在を確認し、AChが水・電解質および栄養物質の輸送調節に関与していると考えた。Sakuragawaら [49,50]は、羊膜上皮細胞におけるChATの発現、およびAChの産生と遊離を発見した。さらに胎盤への血流制限によるACh産生の上昇を観察し、AChが血流の調節にも関与している可能性を報告した。

#### (4) ケラチノサイト

Grandoら [51] はケラチノサイトにおけるACh合成能や、M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub> mAChRサブタイプと $\alpha 3, \alpha 5, \alpha 7, \alpha 9,$

$\alpha 10, \beta 2$ および $\beta 4$  nAChRサブユニットの発現を発見した。ケラチノサイトが産生したAChは、オートクラインおよびパラクライン的に自身および周囲のケラチノサイトに作用して、増殖、分化、接着、遊走、表皮バリアー形成、色素や皮脂の産生などに関与する可能性が示唆されている。さらに血流調節、血管新生および免疫反応への関与も考えられている [52]。

最近、SLURP-1はケラチノサイトの $\alpha 7$  nAChRに作用して、細胞増殖、分化およびアポトーシスを促進することが報告された [34]。他方、SLURP-2はケラチノサイトの $\alpha 3$  nAChRに作用して、分化を遅延させ、アポトーシスを抑制した [35]。これらの新規内因性nAChRアロステリック・リガンドに関する研究の進展が待たれている。

#### (5) 気道上皮細胞

気道上皮細胞には、ChAT遺伝子および蛋白質が発現している。また気道上皮細胞には、M<sub>3</sub>やM<sub>5</sub>を含む様々なmAChRサブタイプと $\alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7, \alpha 9, \alpha 10, \beta 2$ および $\beta 4$ などのnAChRサブユニットが発現している [22,53,54]。気道上皮細胞が産生したAChは、M<sub>3</sub> mAChRに作用して細胞増殖や線毛運動の促進に、また $\alpha 7$  nAChRに作用してホメオステシスの維持に関与している可能性が報告されている。Horiguchiら [37]は、気道線毛上皮におけるSLURP-1の特異的発現を発見し、またNarumotoら [55]は喘息モデルにおけるSLURP-1発現の低下を観察した。病態時における気道上皮細胞上の $\alpha 7$  nAChRとSLURP-1の役割の解明が期待されている。

#### (6) 消化管上皮細胞

胃や小腸などの消化管上皮細胞、特に線毛部分におけるChATの免疫組織化学的発現とACh産生が報告されている [28,56]。消化管上皮細胞には、様々なmAChRサブタイプとnAChRサブユニットが発現している。消化管上皮細胞における非神経性AChの役割として、水、電解質および栄養物質の輸送と線毛運動への関与が想定されている。

#### (7) 心筋細胞

2009年にKakinumaら [57]は、心筋細胞 (cardiomyocyte) におけるChATおよびVAcHTの発現を発見し、心筋がAChを産生・遊離することを報告した。mAChR刺激やAChE阻害により心筋細胞内ACh含量が増大した。続いて、Ranaら [58]は、ラット心筋におけるACh産生と遊離を確認した。ヒト心筋でM<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、M<sub>3</sub>およびM<sub>5</sub>、およびラット心筋でM<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、M<sub>3</sub>およびM<sub>4</sub> mAChRサブタイプの発現が報告されている。さらにラットの心筋で $\alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7$ および $\alpha 10$  nAChRサブユニットの発現が報告されている。心筋細胞における非神経性AChの役割は現時点では不明であるが、心筋への迷走神経活動を補完する役割をして、心臓を保護する働きをする可能性が考えられている。

#### (8) 膀胱

Yoshidaら [59,60] は、免疫組織化学的にヒト膀胱上皮とその下部にChAT発現を認めた。さらに、膀胱切片

からのACh遊離は、上皮細胞の有無によって大きく変化することから、膀胱上皮細胞がAChの大きな起源であることを証明した。膀胱切片を伸展させると、ACh遊離は増大した。ラットの培養膀胱上皮細胞において、CHT1、ChATおよびCarATの発現が観察されている [28,61]。ヒトの膀胱ではM<sub>1</sub>-M<sub>5</sub> mAChRサブタイプと  $\alpha 7$ 、 $\alpha 9$  および  $\alpha 10$  nAChRサブユニットの発現が報告されている [22]。膀胱の非神経性AChは、mAChRを介して、排尿筋の緊張度の持続的刺激に関与している可能性が考えられている [59,60]。

#### (9) その他

上記の他に、線維芽細胞、腱細胞、脂肪細胞、卵巣細胞、および小細胞性肺癌細胞、結腸上皮細胞などにも非神経性AChの発現が報告されている [22,28]。

### 3) 非神経性コリン作動系の加齢による変化

非神経性コリン作動系に関する研究は比較的最近始まったばかりで、加齢の影響を検討した研究は少ない。

#### (1) 免疫系細胞

高血圧自然発症ラット (SHR) と正常血圧ラット (WKY) の血中ACh含量は、5週齢と比較して、10および20週齢で著明に減少していた [62]。またSHRではWKYと比較して、どの週齢においても血中ACh含量と末梢血単核白血球中のChAT遺伝子発現は有意に低下していた。SHRでは、胸腺細胞傷害性自己抗体が発現することが、これらの変化に関与している可能性が考えられる。

他方、Evaら [63]は、ヒト末梢血のTリンパ球における非特異的mAChRリガンド [<sup>3</sup>H]N-methylscopolamine を使用した結合実験により年齢に依存した結合部位の増大を発見した。リンパ球上のmAChRあるいはnAChRの量的変化と神経疾患との関連が示唆されたこともあるが、まだ結論は得られていない。

#### (2) 心筋細胞

20-24月齢のラット心筋におけるChAT発現が、PCR、Western-Blottingおよび免疫組織化学により検出され、加齢により発現レベルが低下した [58]。同時に心筋細胞からのACh遊離も加齢により減少した。他方、6-8週齢のラットではChAT発現は確認できなかった。加齢によるChAT発現変化の生理的意義は現時点では不明である。

#### (3) 膀胱上皮細胞

ヒト膀胱切片から伸展により誘発されるACh遊離量は、年齢と共に増大して、正の相関を示すことが観察された [59]。静止時における膀胱の緊張度は、年齢と共に上昇することから、膀胱における非神経性AChと高齢者における排尿障害との関連が想定されている [59,60]。

## 4. 生物におけるAChの発現

Erwins [12]による麦角におけるAChの発見は、菌類によるACh産生を示唆した。その他に、原生動物 [64]、細菌 [65]、および植物 [67-69]などにおけるAChの存在が散発的に報告されている。

我々は高感度RIAを利用して、様々な生物におけるACh発現および産生能を検討した [70,71]。Woeseら [72]は、リボソームの16S RNAの塩基配列に基づいて、生物を真正細菌、始原菌 (古細菌) および真核生物の3ドメインに分類した。これらのドメインの様々な生物におけるACh含量とACh産生能の測定結果を表3 [70,71]に示す。

### 1) 真正細菌 [70]

枯草菌、大腸菌および黄色ブドウ球菌におけるAChの存在を確認した。ACh産生能は、枯草菌で検討したが、BrAChおよびBrACarのいずれにも阻害されなかった。

### 2) 始原菌 (古細菌) [71]

超好熱菌、メタン生成菌および好塩菌のいずれにもAChの存在とACh産生能の発現を認めた。超好熱菌 *T. kodakaraensis* KOD1は、始原菌の中で最も高いACh含量を示し、またACh産生能はBrAChにより部分的に抑制された。しかし、他の始原菌におけるACh産生能はBrAChに感受性を示さなかった。

### 3) 真核生物 [70]

#### (1) 菌類

イースト (子囊菌) およびシイタケ (担子菌) にかかなり高いACh含量が認められた。シイタケは、傘と軸に分けて測定したところ、軸の部分の方がACh含量とACh産生能が高かった。また軸の部分のACh産生能は、一部BrAChに感受性を示した。AChは生育に必要な水、電解質および栄養物質の輸送に関与している可能性が考えられる。

#### (2) 植物

被子植物は、一般的に裸子植物よりも高いACh含量とACh産生能を示した。特にタケノコのACh含量は、モルモット回腸縦走筋やラット脳幹よりも、それぞれ、16~84倍も高かった。タケノコでは、先端部の方が下端部よりもACh含量およびACh産生能が高く、活発な生長に関与している可能性が考えられる。またタケノコのACh産生能は、一部BrAChに感受性を示した。因みに、タケノコは、喘息患者では誤嚥した場合に発作を誘発する可能性があるために注意が必要な食品であるとされている。

その他にシダ類やコケ類にも少量のAChの存在とACh産生能が認められた。

(3) 神経系が存在するホヤ (脊索動物) とウニ (棘皮動物)、および神経系が存在しない海綿にも、少量のAChの存在とACh産生能が認められた。これらの試料におけるACh産生能はBrAChに感受性を示さなかった。

### 4) AChの役割

哺乳動物や一部の動物では、AChRの発現と機能の研究が進められているが、ここに示した大部分の試料におけるAChR発現とAChの役割は不明である。

トウモロコシの芽やアッケシソウにおけるAChE遺伝

表3. 代表的生物におけるACh含量と産生能\*

生物名	ACh 含量	ACh 産生能
<b>真正細菌</b>		
	pmol/10 <sup>10</sup> CFU	pmol/10 <sup>10</sup> CFU/min
枯草菌 <i>B. subtilis</i>	8130	17.6
<b>始原菌 (古細菌)</b>		
	pg/g	pmol/g/min
超好熱菌 <i>T. kodakaraensis</i> KOD1	175	87.0
メタン生成菌 <i>M. berkeri</i>	75.9	13.9
好塩菌 <i>H. volcanii</i>	19.0	22.8
<b>真核生物</b>		
	ng/g	pmol/min
子囊菌類 イースト <i>S. cerevisiae</i>	415	5.39
担子菌類 シイタケ (傘)	18.3	0.25
<i>Lentinus eddoes</i> (軸)	135	4.79
被子植物 タケノコ マダケ (先端)	430,000	1,160,000
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	371,900	239,400
被子植物 ナス <i>Solanum melongena</i>	60,900	2.91
裸子植物 イヌマキ	18.4	0.25
<i>Podocarpus macrophyllus</i> (nut)		
シダ類 ウラジロ <i>Gleichenia glauca</i>	244	39.2
コケ類 スギゴケ <i>Polytrichum</i>	28.6	83.1
脊索動物 ホヤ <i>Halocynthia roretizi</i>	40.7	17.8
棘皮動物 バフンウニ 卵巣	2.19	145
<i>Pseudocentrotus depressus</i>		
刺胞動物 シライトイソギンチャク	13.6	17.0
<i>Radianthus crispus</i>		
海綿動物 ダイダイイソカイメン	2.19	124
<i>Halichondria japonica</i>		

\*参考文献[70,71]から、データを一部改変して示した。

子が最近クローニングされ、AChが水、電解質および栄養物質の輸送を調節して、植物の生長に関与している可能性が報告されている [73-75]。植物にACh産生酵素の遺伝子を導入して、植物の生長を促進することができれば、食料増産や大気中の炭酸ガス濃度の低減に貢献できる可能性が考えられる。また乾燥や高塩分含有による耕作不適地にも生育可能な改良植物を創生できるかもしれない。

## 5. おわりに

生物における分布を見ると、AChはおよそ39億年以前に地上に生物が出現したごく初期から存在し、細胞間の情報伝達物質として働いていた可能性が考えられる。そして神経系をもつ生物が出現した時に、AChは神経伝達物質の一つとして利用されたものであろう。したがって、

神経伝達物質としてのAChは、多様な作用をもつAChのごく限られた一側面に過ぎない。非神経性AChの存在は以前から示唆されていたが、その役割に関する研究はまだ端緒に就いたばかりである。多くの困難が予想されるが、非神経性AChは挑戦する価値のある研究課題であると考えられる。また内因性nAChRアロステリック・リガンドSLURP-1およびSLURP-2の発見は、コリン作動系の研究における新たな展開を予感させる。本稿が、AChの未知の役割に目を向ける糸口となれば幸いである。

## 6. 参考文献

1. Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW et al. Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis.



- Ann Neurol 10: 122-126, 1981.
2. Delagarza VE. Pharmacologic treatment of Alzheimers' s disease: An update. *Am Fam Physician* 68: 1365-1372, 2003.
  3. Cramer W. On protagon, cholin and neurin. *J Physiol (Lond)* 31: 30-37, 1904.
  4. Burgen ASV. The background of the muscarinic system. *Life Sci* 56: 801-806, 1995.
  5. Mott FW, Halliburton WD. On the physiological action of choline and neurine. *Br Med J* 2: 1083-1084, 1899.
  6. Elliott TR. On the action of adrenalin. *J Physiol (Lond)* 31: 20P-21P, 1904.
  7. Hunt R, Taveau RdeM. On the physiological action of certain cholin derivatives and new methods for detecting cholin. *Br Med J* 2:1788-1791, 1906.
  8. Dixon WE. Vagus inhibition. *Br Med J* 2: 1807, 1906.
  9. Dale HH. Walter Ernest Dixon Memorial Lecture. *Pharmacology and Nerve-endings. Proc R Soc Med* 28: 15-28, 1935.
  10. Howell WH, Duke WW. The effect of vagus inhibition on the output of potassium from the heart. *Am J Physiol* 21: 51-63, 1908.
  11. Dale HH. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J Pharmacol Exp Ther* 6: 147-190, 1914.
  12. Ewins AJ. Acetylcholine, a new active principle of ergot. *Biochem J* 8: 44-49, 1914.
  13. Loewi O. Uber humorale Ubertragbarkeit der Herznwirkung. *Pflügers Arch ges Physiol* 189: 239-242, 1921.
  14. Loewi O, Navratil E. Uber hormonale Ubertragbarkeit der Herznervenwirkung. (Mit teilung X). *Uber das Schicksal des Vagusstoff. Pflügers Arch ges Physiol* 214: 678-688, 1926.
  15. Dale HH, Dudley HW. The presence of histamine and acetylcholine in the spleen of the ox and the horse. *J Physiol* 68:97-123, 1929.
  16. Chang HC, Gaddum. Choline esters in tissue extracts. *J Physiol. (Lond)* 79: 255-285, 1993.
  17. Dale HH, Feldberg W, Vogt M. Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings. *J Physiol (Lond)* 86: 353-380, 1936.
  18. MacIntosh FC. The distribution of acetylcholine in the peripheral and central nervous system. *J Physiol (Lond)* 99: 436-442, 1941.
  19. Fujii T, Yamada S, Yamaguchi N et al. Species differences in the acetylcholine content in blood and plasma. *Neruosci Lett* 201: 207-210, 1995.
  20. Kawashima K, Kajiyama K, Fujimoto K et al. Presence of acetylcholine in human blood and its localization in circulating mononuclear leukocytes. *Biog Amine* 9: 251-258, 1993.
  21. Grando SA, Kawashima K, Wessler I. Editorial: The non-neuronal cholinergic system in humans. *Life Sci* 72: 2009-2012, 2003.
  22. Grando SA., Kawashima K, Kirkpatrick CJ et al. Introduction: Recent progress in understanding the non-neuronal cholinergic system in humans. *Life Sci* 80: 2181-2185, 2007.
  23. Fonnum F. A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J Neurochem* 24: 407-409, 1975.
  24. Tucek S. The synthesis of acetylcholine in skeletal muscles of the rat. *J Physiol (Lond)* 322: 53-69, 1982.
  25. Fujii T, Yamada S, Watanabe Y et al. Induction of choline acetyltransferase mRNA in human mononuclear leukocytes stimulated by phytohemagglutinin, a T-cell activator. *J Neuroimmunol* 82: 101-107, 1998.
  26. Fujii T, Tajima S, Yamada S et al. Constitutive expression of mRNA for the same choline acetyltransferase as that in the nervous system, an acetylcholine-synthesizing enzyme, in human leukemic T-cell lines. *Neurosci Lett* 259: 71-74, 1999.
  27. Kawashima K, Fujii T. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Overview of non-neuronal cholinergic systems and their biological significance. *J Pharmacol Sci* 106: 167-173, 2008.
  28. Wessler I, Kirkpatrick CJ. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Br J Pharmacol* 154: 1558-1571, 2008.
  29. Kawashima K, Fujii T. Expression of non-neuronal acetylcholine in lymphocytes and its contribution to the regulation of immune function. *Front Biosci* 9: 2063-2085, 2004.
  30. Fujii T, Masai M, Misawa H et al. Acetylcholine synthesis and release in NIH3T3 cells co-expressing the high-affinity choline transporter and choline acetyltransferase. *J Neurosci Res* 87: 3024-3032, 2009.
  31. Adermann K, Wattler F, Wattler S et al. Structural and phylogenetic characterization of human SLURP-1, the first secreted mammalian member of the Ly-6/uPAR protein superfamily. *Prot Sci* 8: 810-819, 1999.
  32. Chimienti F, Hogg, RC, Plantard L et al. Identification of SLURP-1 as an epidermal neuro-modulator explains the clinical phenotype of

- Mal de Meleda. *Hum Mol Genet* 12: 3017-3024, 2003.
33. Tsuji H, Okamoto K, Matsuzaka Y et al. SLURP-2, a novel member of the human Ly-6 superfamily that is up-regulated in psoriasis vulgaris. *Genomics* 81: 26-33, 2003.
  34. Arredondo J, Chernyavsky AI, Webber RJ et al. Biological effects of SLURP-1 on human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 125:1236-1241, 2005.
  35. Arredondo J, Chernyavsky AI, Webber RJ et al. SLURP-2: a novel cholinergic signaling peptide in human mucocutaneous epithelium. *J Cell Physiol* 208: 238-245, 2006.
  36. Moriwaki Y, Yoshikawa K, Fukuda H et al. Immune system expression of SLURP-1 and SLURP-2, two endogenous nicotinic acetylcholine receptor ligands. *Life Sci* 80: 2365-2368, 2007.
  37. Horiguchi K, Yamashita N, Horiguchi S et al. Expression of SLURP-1, an endogenous  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor allosteric ligand, in murine bronchial epithelial cells. *J Neurosci Res* 87: 2740-2747, 2009.
  38. Moriwaki Y, Watanabe Y, Shinagawa T et al. Primary sensory neuronal expression of SLURP-1, an endogenous nicotinic acetylcholine receptor ligand. *Neurosci Res* 64: 403-412, 2009.
  39. Kawashima K, Ishikawa H, Mochizuki M. Radioimmunoassay for acetylcholine in the rat brain. *J Pharmacol Methods* 3: 115-123, 1980.
  40. Kawashima K, Fujii T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharmacol Ther* 86: 29-48, 2000.
  41. Fujii T, Yamada S, Misawa H et al. Expression of choline acetyltransferase mRNA and protein in T-lymphocytes. *Proc Japan Acad* 71B: 231-235, 1995.
  42. Kawashima K, Fujii T. Minireview: The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. *Life Sci* 74: 675-696, 2003.
  43. Fujii T, Takada-Takatori Y, Kawashima K. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of an independent, non-neuronal cholinergic system in lymphocytes and its clinical significance in immunotherapy. *J Pharmacol Sci* 106: 186-192, 2008.
  44. Fujii YX, Tashiro A, Arimoto K et al. Diminished antigen-specific IgG<sub>1</sub> and interleukin-6 production and acetylcholinesterase expression in combined M<sub>1</sub> and M<sub>5</sub> muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *J Neuroimmunol* 188: 80-85, 2007.
  45. Fujii YX, Fujigaya H, Moriwaki Y et al. Enhanced serum antigen-specific IgG<sub>1</sub> and proinflammatory cytokine production in nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 7$  subunit gene knockout mice. *J Neuroimmunol* 189: 69-74, 2007
  46. Kawashima K, Watanabe N, Oohata H et al. Synthesis and release of acetylcholine by cultured bovine arterial endothelial cells. *Neurosci Lett* 119: 156-158, 1990.
  47. Ikeda C, Morita I, Mori A et al. Phorbol ester stimulates acetylcholine synthesis in cultured endothelial cells isolated from porcine cerebral microvessels. *Brain Res* 655: 147-152, 1994.
  48. Sastry BVR. Human placental cholinergic system. *Biochem Pharmacol* 53: 1577-1586, 1997.
  49. Sakuragawa N, Elwan MA, Uchida S et al. Non-neuronal neurotransmitter and neurotrophic factors in amniotic epithelial cells: expression and function in humans and monkey. *Japan J Pharmacol* 85: 20-23, 2001.
  50. Horikoshi T, Fujii T, Kawashima K et al. Acetylcholine increase in amniotic fluid of experimental rats for intrauterine growth retardation. *Life Sci* 72: 2145-2150, 2003.
  51. Grando SA. Biological functions of keratinocyte cholinergic receptors. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2: 41- 48, 1997.
  52. Kurzen H, Wessler I, Kirkpatrick CJ et al. The non-neuronal cholinergic system of human skin. *Horm Metab Res* 39: 125-135, 2007.
  53. Song P, Spindel ER. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of non-neuronal acetylcholine in lung cancer provides a new target for cancer therapy. *J Pharmacol Sci* 106: 180-185, 2008.
  54. Gatherine R, Donnelly LE, Rogers DF. The non-neuronal cholinergic system in the airways: An unappreciated regulatory role in pulmonary inflammation? *Ther Pharmacol* 115: 208-222, 2007.
  55. Narumoto O, Horiguchi K, Horiguchi S et al. Down-regulation of secreted lymphocyte antigen-6/urokinase-type plasminogen activator receptor-related peptide-1 (SLURP-1), an endogenous  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor modulator, in murine and human asthmatic conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 398: 713-718, 2010.
  56. Wessler I, Kirkpatrick CJ, Racke K. Non-neuronal acetylcholine, a locally acting molecule widely distributed in biological system: expres-

- sion and function in humans. *Pharmacol Ther* 77: 59-79, 1998.
57. Kakinuma Y, Akiyama T, Sato T. Cholinceptive and cholinergic properties of cardiomyocytes involving an amplification of mechanism for vagal efferent effects in sparsely innervated ventricular myocardium. *FEBS J* 276: 5111-5125, 2009.
  58. Rana OR, Schauerte P, Kluttig R et al. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart. *Autonom Neurosci Basic Clin* 156: 82-89, 2010.
  59. Yoshida M, Inadome A, Maeda Y et al. Non-neuronal cholinergic system in human bladder urothelium. *Urology* 67: 425-430, 2006.
  60. Yoshida M, Masunaga K, Satoji Y et al. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of non-neuronal acetylcholine in urothelium and its clinical significance. *J Pharmacol Sci* 106: 193-198, 2008.
  61. Hanna-Mitchell AT, Beckel JM, Barbadora S et al. Non-neuronal acetylcholine and urinary bladder urothelium. *Life Sci* 80: 2298-2302, 2007.
  62. Fujimoto K, Matsui M, Fujii T et al. Decreased acetylcholine content and choline acetyltransferase mRNA expression in circulating mononuclear leukocytes and lymphoid organs of the spontaneously hypertensive rat. *Life Sci* 69: 1629-1638, 2001.
  63. Eva C, Ferrero P, Rocca P et al. [<sup>3</sup>H]N-methylscopolamine binding to muscarinic receptors in human peripheral blood lymphocytes: Characterization, localization on T lymphocyte subsets and age-dependent changes. *Neuropharmacology* 28: 719-726, 1989.
  64. Bülbring E, Lourie EM, Pardoe E. The presence of acetylcholine in trypanosoma rhodesiense and its absence from plasmodium gallinaceum. *Br J Pharmacol* 4: 290-294, 1949.
  65. Stephenson M, Rowatt E. The production of acetylcholine by a strain of *Lactobacillus plantarum*. *J Gen Microbiol* 1: 279-298, 1947.
  66. Hartmann E, Kilbinger H. Gas-liquid-chromatographic determination of light-dependent acetylcholine concentration in moss callus. *Biochem J* 137: 249-252, 1974.
  67. Jaffe MJ. Evidence for the regulation of phytochrome-mediated processes in bean roots by the neurohumor, acetylcholine. *Plant Physiol* 46: 768-777, 1970.
  68. Saxena PR, Tangri KK, Bhargava KP. Identification of acetylcholine, histamine, and 5-hydroxytryptamine in *Girardinia heterophylla* (Decne.). *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 44: 621-627, 1966.
  69. Smallman BN, Maneckjee A. The synthesis of acetylcholine by plants. *Biochem J* 194: 361-364, 1981.
  70. Horiuchi Y, Kimura R, Kato N et al. Evolutional study on acetylcholine expression. *Life Sci* 72: 1745-1756, 2003
  71. Yamada T, Fujii T, Kanai T et al. Expression of acetylcholine (ACh) and ACh-synthesizing activity in archaea. *Life Sci* 77: 1935-1944, 2005
  72. Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Nat Acad Sci USA* 87: 4576-4579, 1990.
  73. Momonoki, YS, Kawai N, Takamura I et al. Gravitropic response of acetylcholinesterase and IAA-inositol synthase in lazy rice. *Plant Produc Sci* 3: 17-23, 2000.
  74. Sagane Y, Nakagawa T, Yamamoto K et al. Molecular characterization of maize acetylcholinesterase. A novel enzyme family in the plant kingdom. *Plant Physiol* 138: 1359-1371, 2005.
  75. Yamamoto K, Oguri S, Chiba S, Momonoki YS: Molecular cloning of acetylcholinesterase gene from *Salicornia europaea* L. *Plant Signal Behav* 4-5: 361-366, 2009.

# Origin of acetylcholine and expression of non-neuronal acetylcholine

Koichiro Kawashima

Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Musashino University

## Abstract:

Although acetylcholine (ACh) is mostly known as the neurotransmitter in the cholinergic nervous system, in mammalian species, ACh is present and its synthesis occurs in various non-neuronal cells and tissues such as immune cells, epithelial cells of digestive and respiratory tracts, and reproductive organs. Furthermore, ACh is also expressed in almost all life forms on the earth. This wide expression suggests that ACh plays a role as a universal cytotransmitter between cells and modulates functions of relevant cells and tissues. In this review, I will describe a brief history of the discovery of chemical transmission of nerve impulses involving ACh, and discuss the expression and function of non-neuronal ACh. Knowledge on the history of ACh research and the non-neuronal cholinergic system in mammalian species should be useful for understanding multiple roles of ACh other than that as a neurotransmitter.