

歩行が海馬局所血流に及ぼす影響について

The effect of walking on regional blood flow and acetylcholine in the hippocampus in conscious rats.

中島かおり

Kaori NAKAJIMA

1. はじめに

海馬は大脳辺縁系に属し、高次脳機能、特に記憶・学習に重要な役割を果たしている。海馬は血流不足に弱く、ごく短期間血流が途絶えても海馬の神経細胞が死滅するため、その機能を維持するには、常に十分な血流が海馬に供給される必要がある。また、ヒトが記憶・学習活動を行うとき、海馬血流が増加することが報告¹⁾されており、海馬の血流の維持・調節は、記憶・学習と言った脳の高次機能の維持に非常に重要である。本研究では、意識下のラットを用いて、海馬における局所血流の調節について検討した。

この研究成果は、平成15年3月に博士論文としてまとめたので、その一部を以下に紹介する。

2. 研究の背景と目的

海馬には前脳基底部の中隔野からコリン作動性神経が投射している。アルツハイマー型痴呆症では、前脳基底部のコリン作動性神経の脱落が顕著であると報告²⁾されており、現在、医療の現場では、アルツハイマー型痴呆症に、コリン作動性神経を賦活させる薬剤が用いられている。しかしながら、実際に前脳基底部のコリン作動性神経が、脳内でどのような役割を果たしているのかは明らかでない。Satoらの研究グループは、このコリン作動性神経系が投射先である大脳皮質や海馬において、その局所血流の調節に関与しているのではないかと報告している³⁾。麻酔ラットを用いた研究では、前脳基底部に

ある中隔から海馬に投射するコリン作動性神経は、海馬にアセチルコリン (ACh: acetylcholine) を遊離し、ニコチン性 ACh 受容体を活性化して海馬血流を増やす働きを持つことが見出されている。しかし、意識下動物においてどのような生理的状態の時に、中隔コリン作動性血管拡張系が活性化するかは明らかでない。

本研究では、意識下において、中隔コリン作動性血管拡張系を生理的に賦活する方法の一つとして、歩行が有効であるのではないかと考え、歩行が海馬局所血流に及ぼす効果とそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 実験方法

実験条件： 実験動物として、雄性 Wistar 系ラット (3~4 カ月齢, 体重: 260~330 g) を用いた。ラットをハロセン (3~3.5%) で麻酔し、背臥位に固定した。ハロセン濃度が 1~2% になるように調整した麻酔用マスクで鼻と口の部分を覆い、麻酔を継続させ、血圧測定と海馬局所血流測定の為の手術を行った。

血圧の測定： 尾動脈に挿入したカテーテルを介し、圧トランスデューサーにつなぎ、血圧をポリグラフに連続記録した。

海馬局所脳血流の測定： レーザードップラー血流測定法を用いた。脳地図⁴⁾に従って、ガイドカニューレをつけたレーザードップラー血流計のプローブを、海馬腹側部 (B:-5.2 mm, L:4.5~5.0 mm, V:4~5.0 mm) にゆっくりと挿入した

(Fig.1A) .

海馬細胞外 ACh 量の測定： 海馬細胞外の ACh の測定には、マイクロダイアリシス（微小透析）法を用いた。海馬部位に透析プローブを挿入し（Fig.1B）、プローブに人工脳脊髄液（aCSF: artificial cerebral spinal fluid）を灌流した。灌流液中に回収された灌流液中の ACh 量は、高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器を組み合わせた方法で定量した。

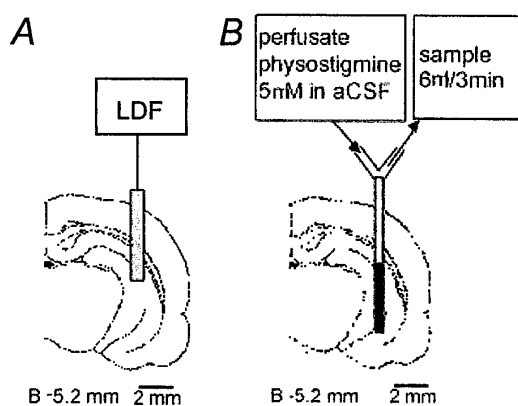


Fig.1 Diagram of the experimental demonstrating the laser Doppler flowmeter probe (A) and the microdialysis probe (B) in the hippocampus.

歩行刺激： 手術終了後、ラットの意識が回復する前に、ラットに石膏製の拘束衣を着せ、四肢がトレッドミルの床に付く高さに固定した（Fig.2）。手術後 2～3 時間を経て、ラットが完全に意識を回復してから、トレッドミル上で歩行させた。

4. 結果

4.1 歩行速度による海馬局所血流量の変化

ラットを歩行速度 2, 4, 8 cm/s で歩行させると、海馬局所血流は歩行開始後 1～2 秒以内に増加し始め、約 10 秒後に最大となり、歩行終了後、徐々に回復した。歩行中、血圧も軽度上昇した（Fig.3A-C）。歩行速度 2 cm/s では、30 秒間の歩行によって海馬局所血流量は平均 $3.4 \pm 0.7\%$ 、血圧は平均 $3.5 \pm 0.7\%$ 上昇した（Fig.3D,G）。歩

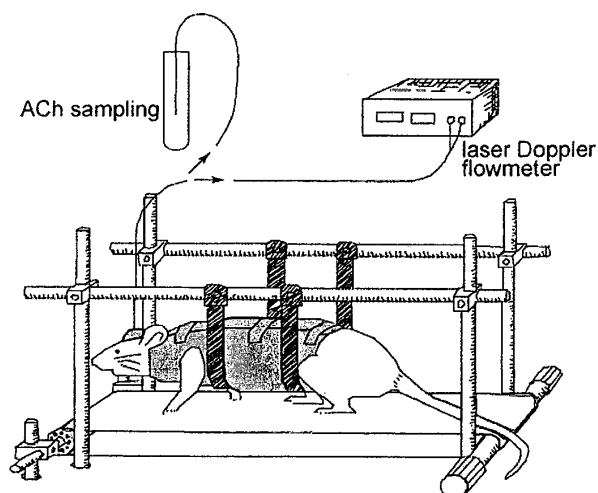


Fig.2 Illustration of the present experimental procedure. The conscious rat was placed on a treadmill with a plaster of harness suspended from a metallic frame for walking. The treadmill is made of rubber cloth which is manually moved.

行速度 4 cm/s では海馬局所血流量は平均 $7.4 \pm 0.6\%$ 、血圧は平均 $4.7 \pm 0.9\%$ まで上昇した（Fig.3E,H）。歩行速度 8 cm/s のときには、歩行によって、海馬局所血流量は平均 $9.1 \pm 1.2\%$ 、血圧は平均 $6.6 \pm 1.8\%$ までに上昇した。歩行中の血圧の上昇は、歩行速度 2 および 4 cm/s のときには、歩行終了後に速やかに血圧が元のレベルに戻ったが、歩行速度 8 cm/s のときには血圧の上昇が歩行終了後も継続し、歩行終了後 60 秒後に元のレベルへ回復した（Fig.3F,I）。海馬局所血流の増加は、歩行速度 4 および 8 cm/s のときには、歩行終了後も持続し、その変化量は歩行速度の増加に伴って増加した。

歩行による海馬局所血流量の増加は、歩行開始と共に速やかに起こることから、代謝性物質の蓄積によって起こる代謝性調節によるものではないことがわかった。4 cm/s までの歩行速度においては、歩行時の血流増加よりも血圧上昇が軽度であった。また、歩行終了と共に、全身血圧は元のレベルへ速やかに戻ったが、海馬局所血流は徐々に元のレベルへ戻ったことから、血圧の変化に依存しない海馬血流増加反応が存在すると考えられる。

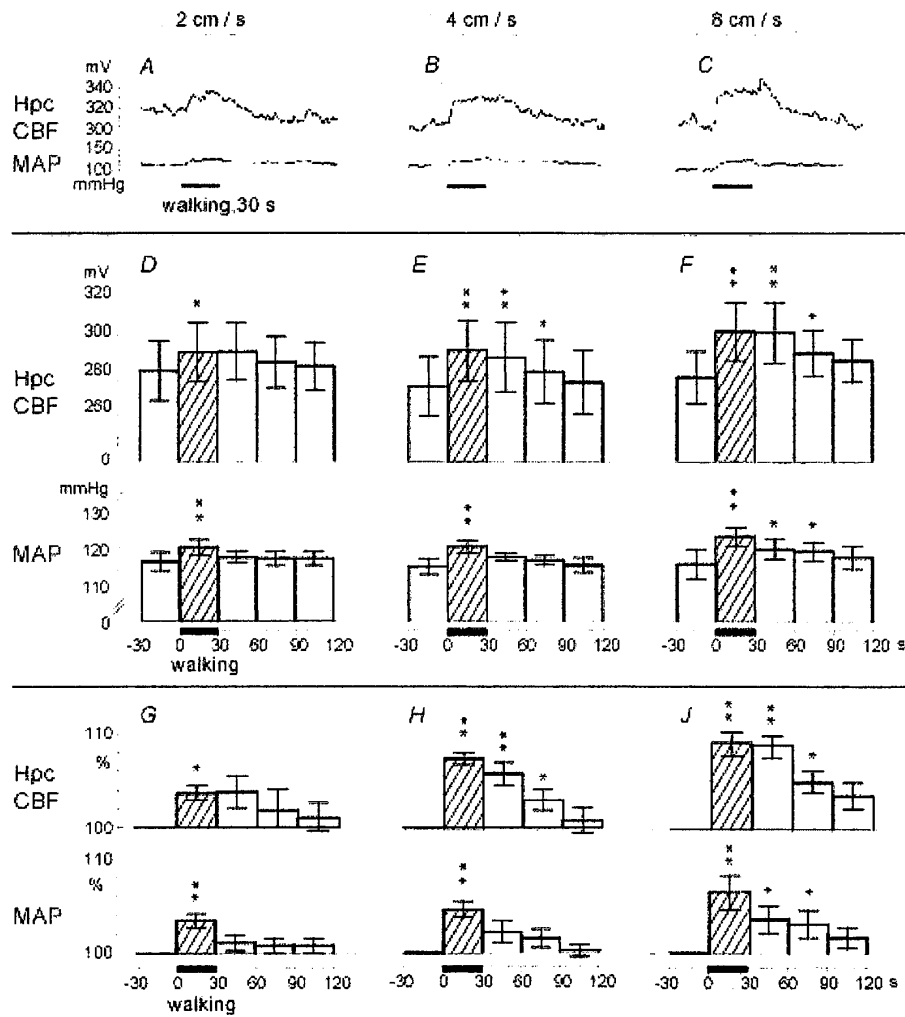


Fig.3 Responses of hippocampus cerebral blood flow (Hpc CBF) and mean arterial pressure (MAP) during walking at the three different speeds of 2 cm/s (A, D, G), 4 cm/s (B, E, H), and 8 cm/s (C, F, J). A-C: Sample recordings of in one rat. D-J: Summary of the responses ($n=4$). Mean values of Hpc CBF during a 30-s period were plotted every 30 s (D-F), and as the percentage of corresponding prewalking control value, from -30 to 0 s (G-J). Onset of walking is expressed as time zero on the abscissa. Underbars indicate the 30-s walking period. Each column and vertical bar shows the mean \pm S.E.M. * $p<0.05$, ** $p<0.01$; significantly different from prewalking control values determined by one-way repeated ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test.

4.2 歩行が海馬細胞外アセチルコリン遊離量に及ぼす効果

歩行による海馬局所血流量増加反応に、血圧依存性および代謝性の調節が関与している可能性が低いことが示された。そこで、神経性調節による血流増加反応と考え、海馬において血流増加反応に寄与していることが知られているコリン作動性血管拡張系の関与を想定した。そこで、歩行時に海馬でコリン作動性神経の神経伝達物質である ACh の遊離量がどのように変化するか検討した。

歩行速度 4 cm/s のときの歩行時の海馬 ACh 遊離量の変化を調べた。歩行は 3 分間実施した。海馬 ACh 量は安静時には約 74~196 fmol/3 min であり、各ラットで有意な差はなかった。しかしながら、3 分間の歩行中に $109\pm 22\sim 226\pm 41$ fmol/3 min と有意に増加し、歩行終了 3 分後に元のレベルに回復した (Fig.4)。海馬における ACh は中隔から投射したコリン作動性神経に由来するため、歩行時の ACh の増加は、中隔-海馬コリン作動性神経の活性化によるものであることがわかった。

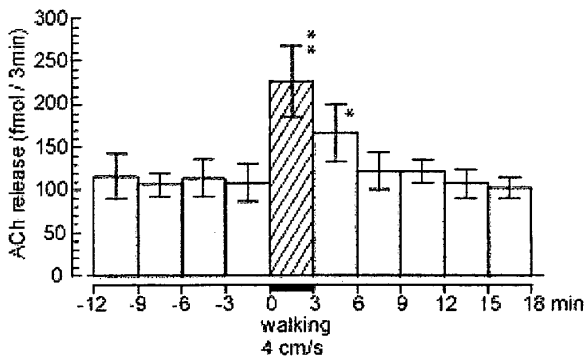


Fig.4 Extracellular release of acetylcholine in the hippocampus before, during and after walking at 4 cm/s speed for 3 min (n=4). The amount of acetylcholine in perfusate samples collected every 3 min by microdialysis are plotted on the ordinate. Onset of walking is expressed as time zero on the abscissa. Underbar indicate 3 min walking period. *p < 0.05, **p < 0.01; significantly different from prewalking values(from -3 to 0 min) determined by one-way repeated ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test.

4.3 歩行による海馬局所血流増加反応に対するアセチルコリン受容体遮断薬の効果

歩行による海馬局所血流増加反応は、中隔—海馬コリン作動性神経の活性化による ACh 遊離の増加によって起こると考えられることから、遊離された ACh がどのようなメカニズムを介して、血流上昇を引き起こすのか、ACh 受容体遮断薬を用いて薬理学的手法により検討した。

4.3.1 ニコチン性アセチルコリン受容体遮断薬の投与

ラットに薬物未処置の状態では 30 秒間の歩行を実施し、海馬局所血流量および血圧を測定した後、血液—脳関門 (BBB : blood brain barrier) 透過性のニコチン性 ACh 受容体 (nAChR) 遮断薬メカミルアミン (MEC) 2 mg/kg を静脈内投与した。

安静時血圧は MEC 投与によって 122±3 mmHg から 75±3 mmHg に低下した (Fig.5E,F) . MEC 投与前に認められた歩行時の血圧上昇反応は、MEC 投与によって消失した (Fig.5E,F,J,K) . 安静時の海馬局所血流も、MEC の投与によって有意に減少した (Fig.5C,D) . 一方、MEC 投与に

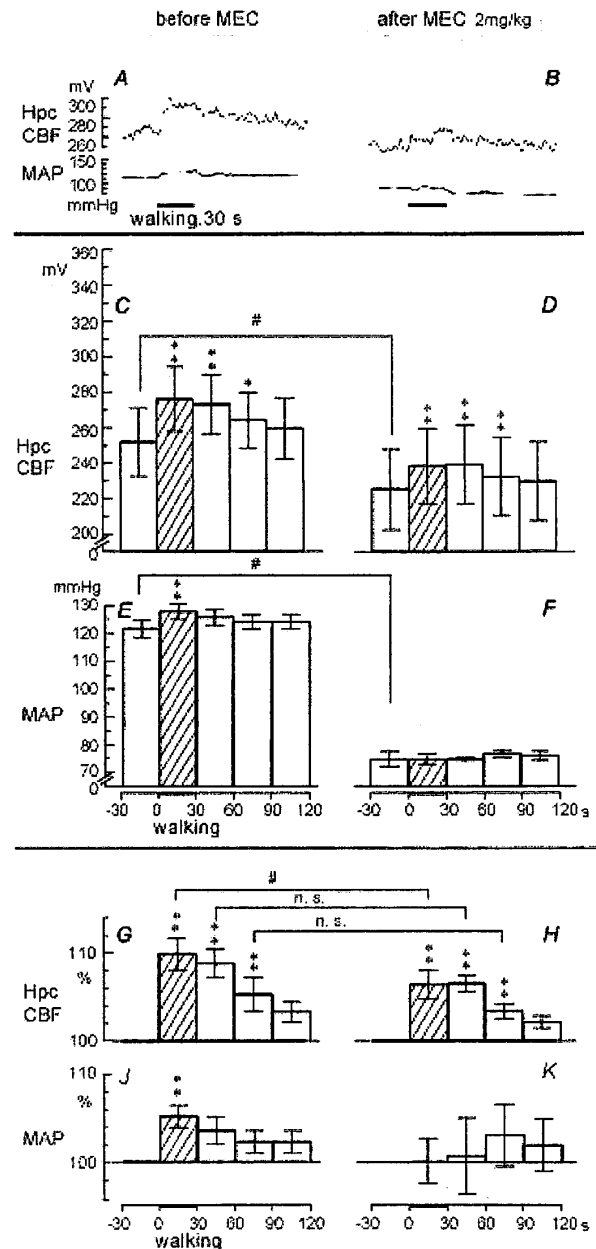


Fig.5 The effect of MEC, BBB permeable nAChR antagonist on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. A-B: Sample recording before (A) and after (B) administration of MEC (2 mg/kg, i.v.). C-K: Summary of the responses to walking of before (C,E,G,J) and after (D,F,H,K) administration of MEC (2 mg/kg, i.v.)(n=4). Walking responses within 15 min before and 20-30 min after the drug administration from 4 rats were used. In each rat, 1-3 trials were averaged. #P<0.05; significantly different from basal level or walking response before administration of the drug (paired t-test). Other details are the same as in Fig.3.

より、歩行による海馬局所血流量増加反応は、9.9±1.8%から 6.4±1.6%に有意に減少したが、歩

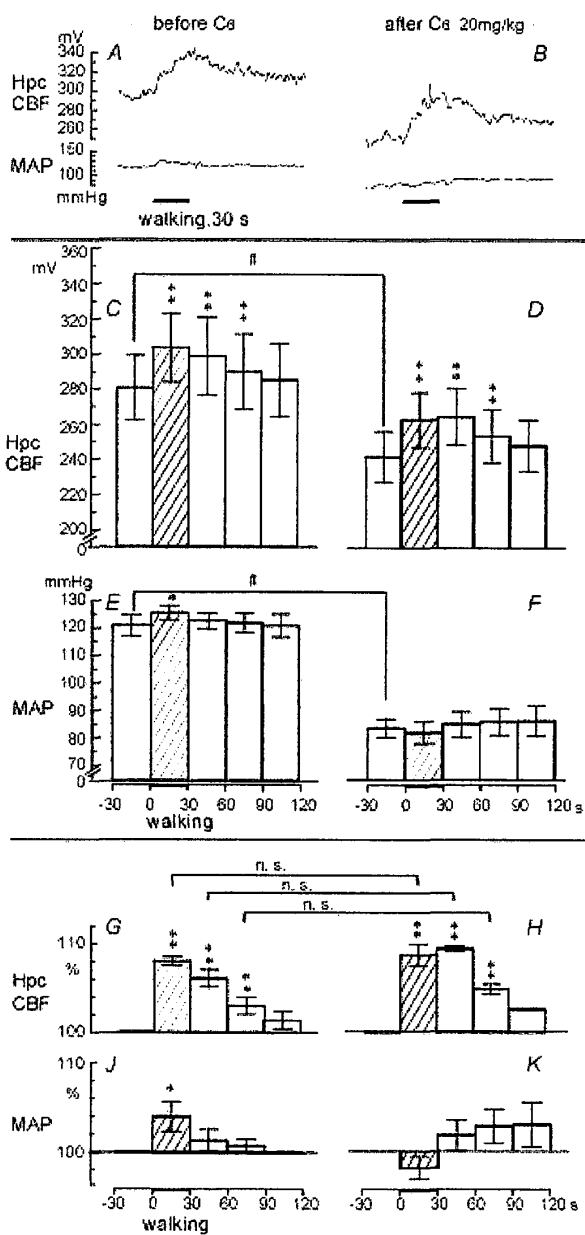


Fig.6 The effect of C6, BBB impermeable nAChR antagonist on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. A-B: Sample recordings before (A) and after (B) administration of C6 (20mg/kg, i.v.), BBB impermeable nAChR antagonist on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. C-K: Summary of the responses to walking of before (C,E,G,J) and after (D,F,H,K) administration of C6 (20 mg/kg, i.v.; n=4). Other details are the same as in Fig.5.

行終了後 60 秒での血流量増加については有意な減少は認められなかった (Fig.5G,H) .

また, BBB を透過しない nAChR 遮断薬のヘキサメソニウム (C6) 20 mg/kg を静脈内投与

し, 同様に検討した. 安静時の血圧は 121 ± 4 mmHg から C6 投与によって 84 ± 3 mmHg にまで有意に低下し (Fig.6E,F), 歩行時の血圧上昇反応も消失した (Fig.6E,F,J,K). 安静時の海馬局所血流量は, 薬物投与前に比較して有意に減少した (Fig.6C,D) が, 歩行時の海馬局所血流量増加反応は影響を受けなかった (Fig.6G,H).

4.3.2 ムスカリン性アセチルコリン受容体遮断薬の投与

BBB を透過するムスカリン性 ACh 受容体 (mAChR) 遮断薬アトロピン (ATR) を 0.5 mg/kg 静脈内投与し, mAChR の関与について検討した. ATR 投与により, 安静時の海馬局所血流量および血圧には影響はなかった (Fig.7C,E,G,J). 30 秒間の歩行時にも, 海馬局所血流量および血圧は, 薬物投与前と比較して有意な変化はなかった (Fig.7D,F,H,K).

4.3.4 アセチルコリン受容体の関与についてのまとめ

MEC, C6 および ATR の 3 種類のアセチルコリン受容体遮断薬を投与したときの歩行時の海馬局所血流量増加反応についてまとめた結果を Fig.8 に示す. 薬物投与前の歩行中の血流量増加反応 100%として, 各遮断薬投与後 20~30 分の歩行中の血流量増加反応を百分率 (%) で表した.

BBB 透過性 nAChR 遮断薬 MEC を投与したときのみ, 歩行中の海馬局所血流量は減弱したが, ATR および C6 は歩行時の海馬局所血流量増加反応に影響を及ぼさなかった.

C6 投与では, 歩行時の血圧上昇反応は消失したにもかかわらず, 海馬局所血流量増加反応に影響を及ぼさなかった. 一方, MEC 投与では C6 と同様に歩行時の血圧上昇反応は消失したが, C6 とは異なり海馬局所血流量増加反応は減弱させた. したがって, 歩行時の海馬血流量増加反応は, 歩行時の血圧上昇による二次的な反応ではなく積極的な血管拡張反応であること, 脳内の nAChR を介することが明らかとなった.

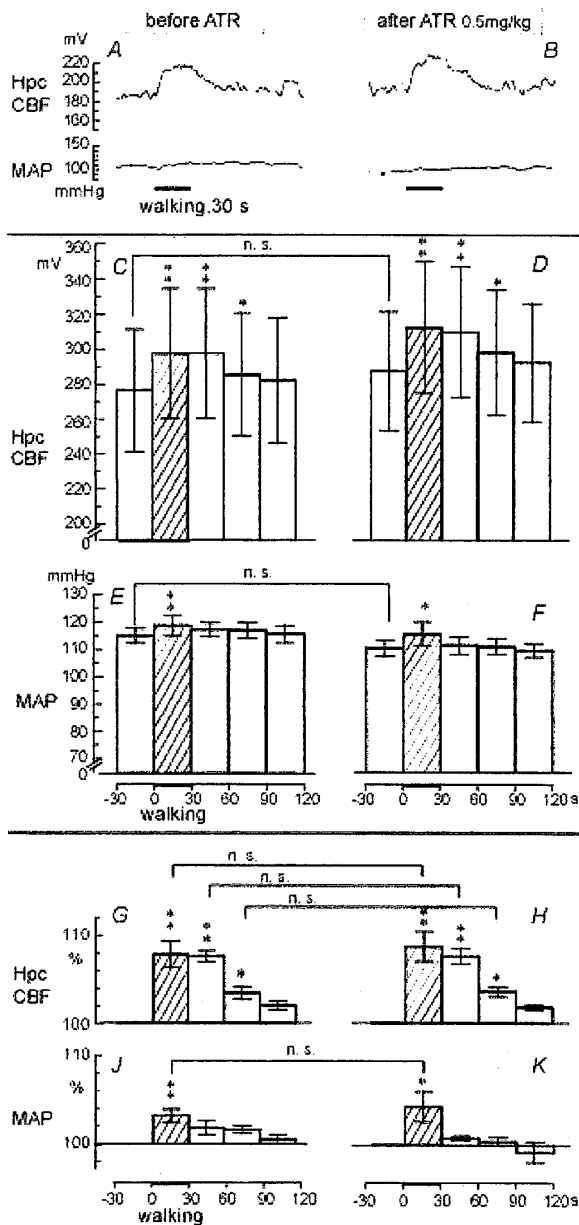


Fig.7 The effect of ATR, BBB permeable muscarinic AChR antagonist on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. A-B: Sample recordings before (A) and after (B) administration of ATR (0.5mg/kg, i.v.), BBB permeable muscarinic AChR antagonist on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. C-K: Summary of the responses to walking of before (C,E,G,J) and after (D,F,H, K) administration of ATR (0.5 mg/kg, i.v.; n=4). Other details are the same as in Fig.5.

4.4 歩行による海馬局所血流増加反応に対する一酸化窒素合成酵素阻害薬の効果

一酸化窒素 (NO) は内皮細胞由来弛緩因子として見いだされた^{5),6)}。血管内皮細胞で産生・遊

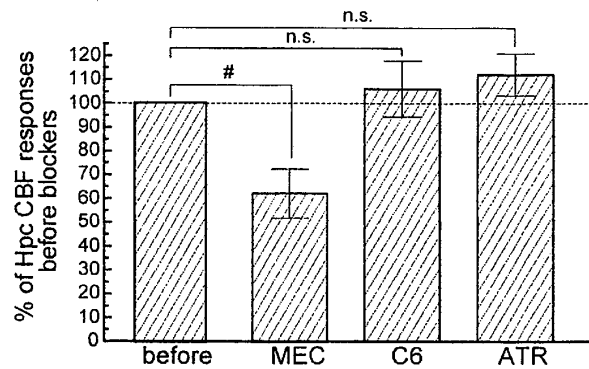


Fig.8 Summary of the effect of cholinergic receptor antagonists (MEC, C6, ATR) on Hpc CBF responses during walking. The responses of Hpc CBF during walking after injection of MEC, C6 and ATR were presented in percentages of the responses of Hpc CBF during walking before injection of MEC, C6 and ATR. #P<0.05; significantly different from walking response before administration of the drug tested in Fig.5.

離され、近傍の血管平滑筋に作用して、これを弛緩させ、血圧の調節に関与している。また、NO は神経伝達物質としても血流調節において機能していることが知られている⁷⁾。

大脳皮質局所血流のコリン作動性血管拡張系にNOが関与していることが報告されている⁸⁾。海馬においては、中隔-海馬コリン作動性神経がAChを遊離して、nAChRを介し、海馬局所血流量を上昇させることはわかったが、NOの関与に関する報告はない。そこで、歩行時の海馬局所血流増加反応に対するNOの関与について、薬理学的手法を用いて検討した。

ラット歩行時の海馬局所脳血流の増加に対するNOの影響を検討するために、NO合成酵素阻害薬であるL-NAMEを静脈内投与した。

L-NAME 3 mg/kg 投与により、安静時血圧は116±4 mmHg から 137±6 mmHg に有意に上昇し (Fig.9C,D) , 歩行時の血圧上昇反応は消失した (Fig.9E,F) 。

一方、海馬局所血流量については、安静時の血流量はL-NAME投与によって影響を受けなかった (Fig.9C,D) が、歩行時の海馬局所血流増

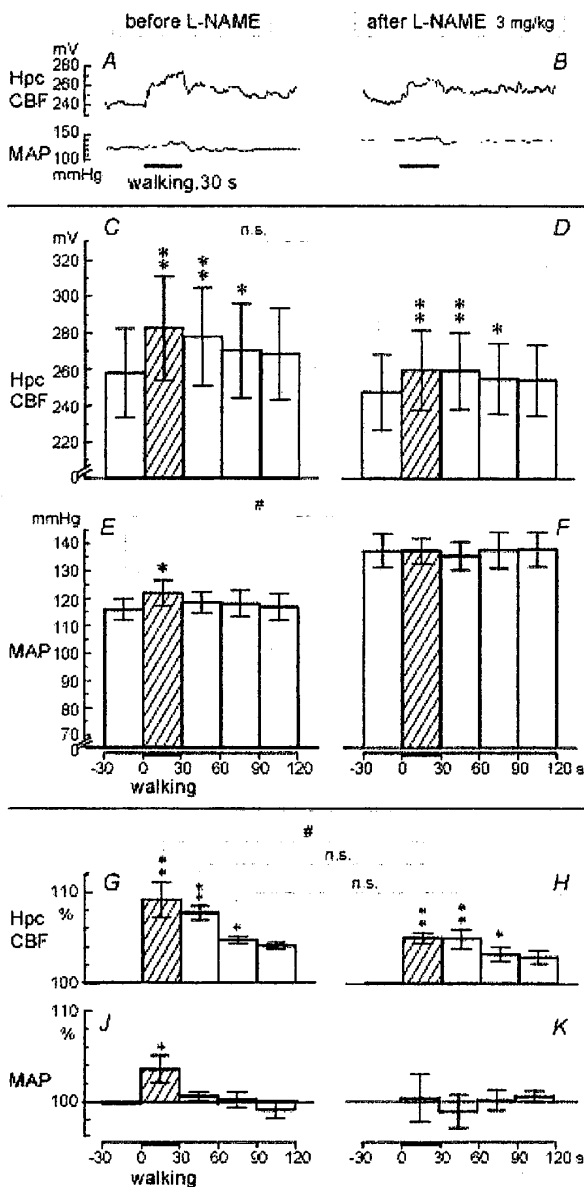


Fig.9 The effect of L-NAME, on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. A-B: Sample recordings before (A) and after (B) administration of L-NAME (3 mg/kg, i.v.) on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. C-K: Summary of the responses to walking of before (C,E,G,J) and after (D,F,H,K) administration of L-NAME (3 mg/kg, i.v.; n=4). Other details are the same as in Fig.5.

加反応は $9 \pm 2\%$ から $5 \pm 1\%$ に有意に減少した (Fig.9G,H) . しかしながら, 歩行終了後 60 秒における海馬局所血流増加反応は有意な変化はなかった.

L-NAME を 0.3, 3, 30 mg/kg と段階的に静脈内投与し, NO 合成酵素の基質である L-arginine

600 mg/kg を投与した (Fig.10) .

この結果から, L-NAME 3~30 mg/kg の段階的投与により用量依存的に海馬局所血流増加反応は減弱した. この L-NAME 投与による歩行時の海馬局所血流量の減弱は L-arginine 600 mg/kg 投与によって回復した.

血圧に対する L-NAME 投与の影響は, 0.3 mg/kg では殆ど変化なく, 3 mg/kg 投与で歩行時の血圧上昇反応が認められなくなり, 30 mg/kg を投与した場合には, 歩行によって血圧は低下

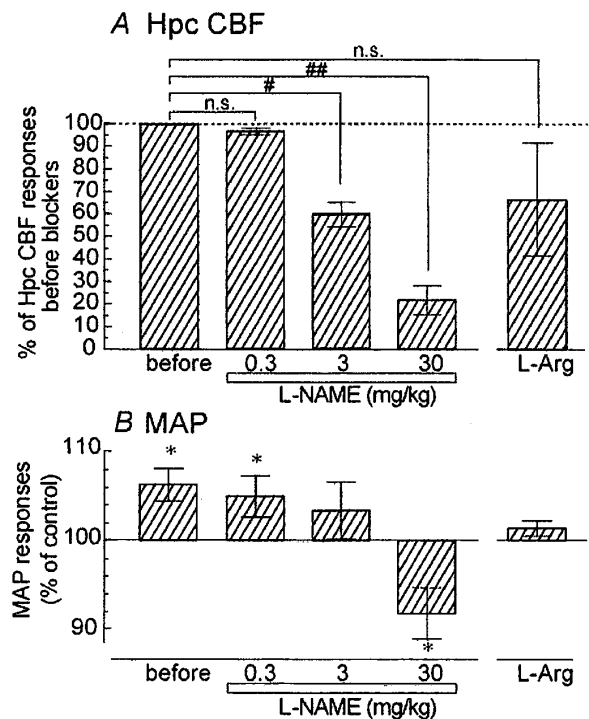


Fig.10 The response of Hpc CBF(A) and MAP(B) during walking after cumulative injection of the different doses of L-NAME(0.3, 3, 30 mg/kg) and L-Arg(600mg/kg; n=4). A: The responses of Hpc CBF during walking after injection of L-NAME and L-Arg were presented in percentages of the responses of Hpc CBF during walking before injection of L-NAME. A one-way repeated ANOVA followed by Dunnett multiple comparisons test was used over dose to determine the effect of L-NAME(0.3, 3, 30 mg/kg) on walking-induced responses of Hpc CBF (#p<0.05, ##p<0.01). A paired-t test was used to determine the difference of Hpc CBF responses during walking before L-NAME and that after L-Arg. B: The response of MAP during walking were presented in percentages of the corresponding prewalking control values. *P<0.05; significantly different from the prewalking control values determined by paired t-test.

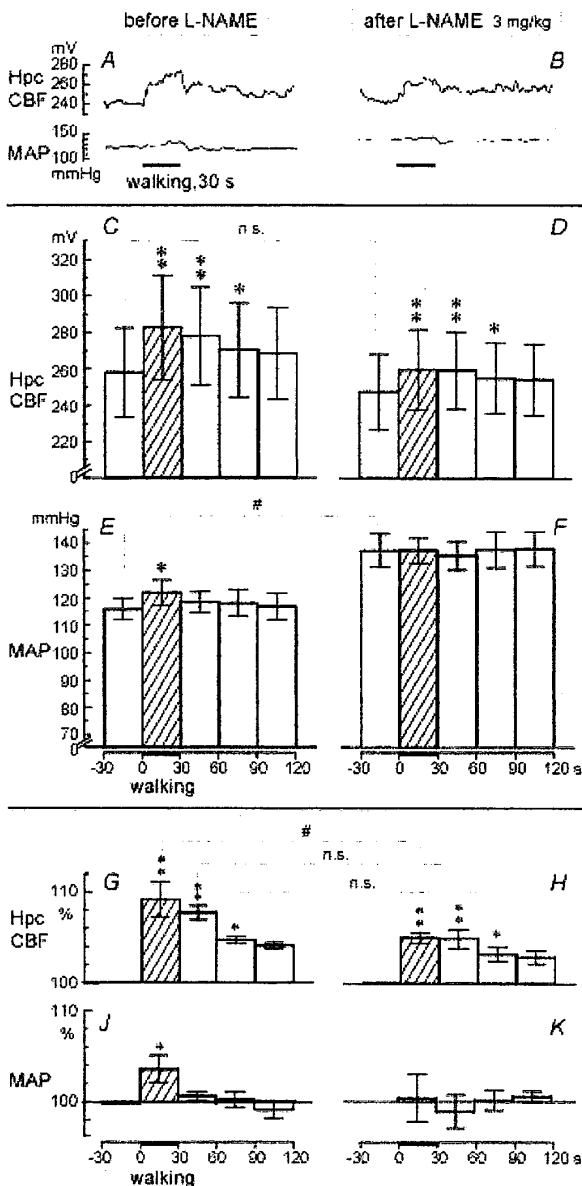


Fig.9 The effect of L-NAME, on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. A-B: Sample recordings before (A) and after (B) administration of L-NAME (3 mg/kg, i.v.) on walking-induced responses of Hpc CBF and MAP. C-K: Summary of the responses to walking of before (C,E,G,J) and after (D,F,H,K) administration of L-NAME (3 mg/kg, i.v.; n=4). Other details are the same as in Fig.5.

加反応は $9 \pm 2\%$ から $5 \pm 1\%$ に有意に減少した (Fig.9G,H) . しかしながら, 歩行終了後 60 秒における海馬局所血流量増加反応は有意な変化はなかった.

L-NAME を 0.3, 3, 30 mg/kg と段階的に静脈内投与し, NO 合成酵素の基質である L-arginine

600 mg/kg を投与した (Fig.10) .

この結果から, L-NAME 3~30 mg/kg の段階的投与により用量依存的に海馬局所血流量増加反応は減弱した. この L-NAME 投与による歩行時の海馬局所血流量の減弱は L-arginine 600 mg/kg 投与によって回復した.

血圧に対する L-NAME 投与の影響は, 0.3 mg/kg では殆ど変化なく, 3 mg/kg 投与で歩行時の血圧上昇反応が認められなくなり, 30 mg/kg を投与した場合には, 歩行によって血圧は低下

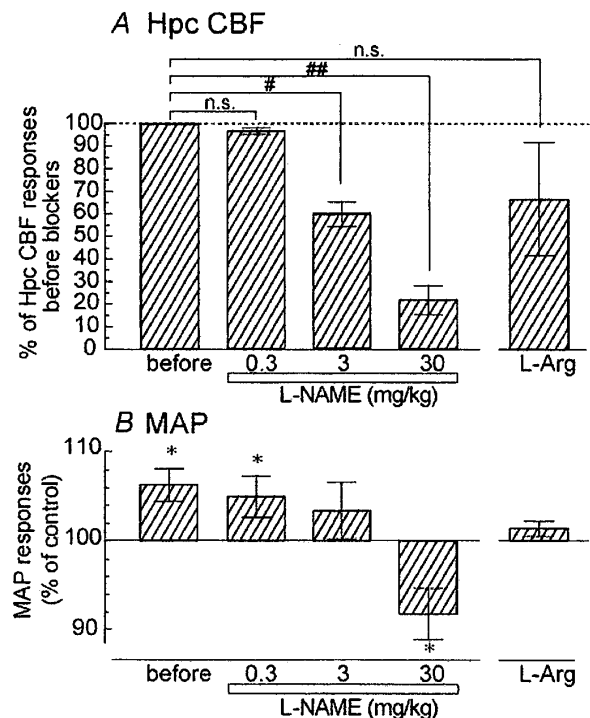


Fig.10 The response of Hpc CBF(A) and MAP(B) during walking after cumulative injection of the different doses of L-NAME(0.3, 3, 30 mg/kg) and L-Arg(600mg/kg; n=4).

A: The responses of Hpc CBF during walking after injection of L-NAME and L-Arg were presented in percentages of the responses of Hpc CBF during walking before injection of L-NAME. A one-way repeated ANOVA followed by Dunnett multiple comparisons test was used over dose to determine the effect of L-NAME(0.3, 3, 30 mg/kg) on walking-induced responses of Hpc CBF (# $p < 0.05$, ## $p < 0.01$). A paired-t test was used to determine the difference of Hpc CBF responses during walking before L-NAME and that after L-Arg.

B: The response of MAP during walking were presented in percentages of the corresponding prewalking control values. * $P < 0.05$; significantly different from the prewalking control values determined by paired t-test.

血管拡張性の自律神経として副交感神経系による調節が考えられるが、BBBを透過しない遮断薬であるC6の投与によって、歩行時の海馬局所血流量増加反応が減弱しなかったことから、歩行に伴って発現する血流の増加は外因性のコリン作動性神経の活動によるものではないと考えられる。

5.3.2 内因性神経の関与の可能性

海馬は、中隔からコリン作動性神経の投射を受けており^{15),16)}、麻酔下ラットで中隔を電気刺激すると、海馬でAChが遊離することおよび海馬局所血流量が増加することが報告されている¹⁷⁾。これらのことから、歩行時の海馬血流量増加反応は、歩行によって、中隔から海馬に投射する内因性のコリン作動性神経が活動して起こった可能性がある。

5.3.3 中隔を起始とするコリン作動性神経の血流調節メカニズム

麻酔ラットで中隔を刺激すると nAChR を介して海馬局所血流量が増加すること^{17),18)}、前肢に対する侵害刺激によって増加した海馬局所血流量が、MEC 投与において減弱することが報告されている¹¹⁾。また、BBB を通過する nAChR 作動薬であるニコチンを投与した研究では、ニコチンの投与により、海馬局所血流量が血圧に依存せずに増加した¹⁹⁾。

今回の AChR 遮断薬を用いた結果から、歩行により、中隔から投射したコリン作動性神経が活性化し、nAChR を介して、海馬の血管が弛緩し、血流量が増加するという機序が考えられる (Fig.11A)。

しかしながら、歩行によって速やかに生じた海馬局所血流については、脳内の nAChR を介すると考えられるが、歩行終了後にも継続している海馬局所血流の遅い増加反応については、MEC 投与によっても減少しなかったことから、別のメカニズムが働いていることが示唆された。

歩行における脳局所血流の増加は、大脳皮質

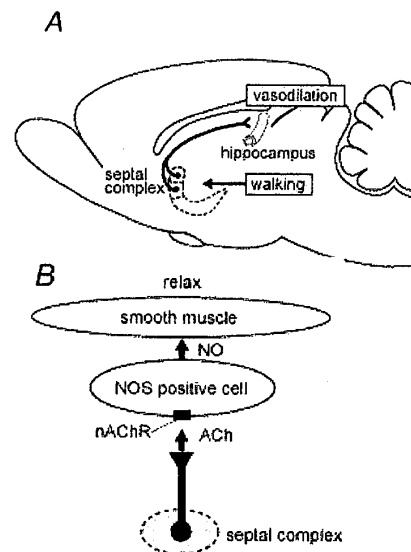


Fig.11 Schematic diagram of mechanism of hippocampal vasodilation by walking.

においても検討されており、局所血流増加は NBM を起始とするコリン作動性神経系の働きによると考えられている。大脳皮質においては、ATR 投与によって、局所脳血流量が一部減弱することが報告されている²⁰⁾が、海馬においては、そのような現象は認められなかった。したがって、大脳皮質では局所脳血流調節に mAChR および nAChR が関与していると考えられるが、海馬においては、mAChR は関与せず、nAChR を介して局所血流調節が行われていると考えられる。

5.4 一酸化窒素の関与

麻酔ラットを用いた大脳皮質局所血流の研究では、NBM の電気刺激による局所血流量増加反応が、NO 合成酵素阻害薬 L-NAME によって、用量依存的に減弱し、この減弱が、NO 合成酵素の基質である L-arginine 投与によって回復したこと⁸⁾、ニコチンの静脈内投与により上昇した大脳皮質血流量に NO が関与していること²¹⁾が報告されており、内因性神経性調節による脳局所血流の増加には、NO が関与している可能性が示唆される。しかし、海馬においては、nAChR が主として血管拡張反応に関与する事実

までは解明されているが、NO に関しては報告がない。

今回、NO 合成酵素阻害薬 L-NAME の投与によって、歩行による海馬局所血流増加が減弱し、L-arginine の追加投与によって回復した。これらのことから、歩行による海馬における血流増加には、NO が関与している可能性が示唆される。海馬の血管の周囲には神経型 NO 合成酵素 (nNOS) を含む神経細胞が分布すること²²⁾、頭蓋内コリン作動性神経が海馬の nNOS 活性をコントロールしていること²³⁾、nNOS を含む神経細胞が nAChR を持つこと²⁴⁾、*in vitro* でニコチン投与により海馬で NO 遊離が増加する²⁵⁾ことが報告されている。また、Sugaya らは、中隔から投射するコリン作動性神経が NO と ACh の両方を遊離すると報告している²⁶⁾。

これらの報告から、今回見出された歩行時の海馬血流増加反応には、海馬血管周囲に存在する NOS 含有神経細胞または中隔から投射したコリン作動性神経からの NO 遊離が関係している可能性が考えられる。そのメカニズムとして、歩行により、中隔から投射したコリン作動性神経が活性化して、海馬の血管が弛緩し、血流量が増加した可能性が考えられる。nAChR は海馬の血管の周囲に分布する NO 合成酵素を含む神経細胞やグリア細胞上に存在すると考えられ、海馬で遊離された ACh がこの nAChR に作用して、NO が遊離され、その結果、血管拡張が起こると考えられる (Fig.11B)。

海馬は、記憶・学習、特に短期記憶に関与しているといわれている部位である。海馬には前脳基底部の中隔野を起始とするコリン作動性神経が投射しており、大脳皮質におけるコリン作動性神経系と同様に、脳の高次機能の一端を担っていると考えられる。海馬は虚血の影響を受けやすく、一過性の脳虚血によって数日後に神経細胞死の起こる遅発性ニューロン死が発現する。Kagitani らは、中隔-海馬コリン作動性神経系による脳血流の増加が nAChR を介するこ

とから、虚血時に nAChR 作動薬のニコチンを投与し検討したところ、虚血による海馬局所血流低下が軽減され、結果的に海馬 CA1 領域の遅発性ニューロン死が軽減されたと報告した¹⁹⁾。また、Hotta らは大脳皮質において頸動脈結紮による脳虚血によって引き起こされる遅発性細胞死が、同時に行った NBM 刺激によって軽減されることを報告した²⁷⁾。このように、内因性コリン作動性神経は、虚血に脆弱な海馬や大脳皮質の血流低下に対し、保護的に働く可能性がある。

今回検討された海馬や Kimura らが報告²⁰⁾した大脳皮質の歩行による局所血流増加反応は、歩行開始後 2-3 秒で発現する迅速な反応で、海馬や大脳皮質へ速やかに十分な血流を供給することに寄与していると思われる。

動物実験において、歩行などの軽い運動は、一過性の脳虚血後の血流回復を早め、海馬や大脳皮質のニューロン死を防ぐ効果がある^{28),29)}。また、走行で海馬が関与する学習である空間認知学習が改善するという報告^{30),31),32)}や海馬歯状回の神経新生が改善するという報告³³⁾もある。正常老年者においても、前脳基底部のコリン作動性神経の減少が報告されている³⁴⁾。高齢者が寝たきりになると、痴呆に陥りやすい事実も、歩行などの軽い運動を行えなくなったために、前脳基底部を起始とするコリン作動性神経系の活動が低下し、大脳皮質や海馬の脳血流の維持が減弱するためと考えられる。

今回、ラットにおいて歩行に伴う海馬局所血流量の増加反応について検討したが、歩行は、ヒトにおいて、前脳基底部コリン作動性神経を活動させ、大脳皮質や海馬の血流を増やして、物忘れや痴呆の進行を抑制したり、記憶力の向上に寄与する可能性があると考えられる。

【参考文献】

- 1) Squire LR, Ojemann JG, Miezin FM, Petersen SE, Videen TO, Raichle ME: Activation of the hippocampus in normal humans: A functional anatomical study of memory. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 1837-1841 (1992)

- 2) Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR : Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* **215**: 1237-1239 (1982)
- 3) Sato A, Sato Y : Cholinergic neural regulation of regional cerebral blood flow. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* **9**: 28-38 (1995)
- 4) Paxinos G, Watson C : The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates 4th ed. *Academic Press*, San Diego (1998)
- 5) Furchtgott RF, Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial muscle by acetylcholine. *Nature* **288**: 373-376 (1980)
- 6) Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS : Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* **61**: 866-879 (1987)
- 7) Toda N, Okamura T : Role of nitric oxide in neurally induced cerebroarterial relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* **258**: 1027-1032 (1991)
- 8) Adachi T, Inanami O, Sato A : Nitric oxide (NO) is involved in increased cerebral cortical blood flow following stimulation of the nucleus of Meynert in anesthetized rats. *Neurosci Lett* **139**: 201-204 (1992)
- 9) Heistad DD, Konttos HA : Cerebral circulation. In: Shepherd JT, Abboud FM, Geiger SR (eds.), *Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, vol. III*, American Physiological Society, Bethesda: 137-182 (1983)
- 10) Barzo P, Bari F, Doczi T, Jancso G, Bodosi M : Significance of the rate of systemic change in blood pressure on the short-term autoregulatory response in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Neurosurgery* **32**: 611-618 (1993)
- 11) Cao W-H, Sato A, Sato Y, Zhou W : Somatosensory regulation of regional hippocampal blood flow in anesthetized rats. *Jpn J Physiol* **42**: 731-740 (1992)
- 12) Tsubokawa T, Katayama Y, Ueno Y, Moriyasu N : Evidence for involvement of the frontal cortex in pain-related cerebral events in cats: Increase in local cerebral blood flow by noxious stimuli. *Brain Res* **217**: 179-185 (1981)
- 13) Vissing J, Andersen M, Diemer NH : Exercise-induced changes in local cerebral glucose utilization in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* **16**: 729-736 (1996)
- 14) Dudar JD, Whishaw IQ, Szerb JC : Release of acetylcholine from the hippocampus of freely moving rats during sensory stimulation and running. *Neuropharmacology* **18**: 673-678 (1979)
- 15) Gage FH, Bjorklund A, Stenevi U : Reinnervation of the partially deafferented hippocampus by compensatory collateral sprouting from spared cholinergic and noradrenergic afferents. *Brain Res* **268**: 27-37 (1983)
- 16) Lewis PR, Shute CCD : The cholinergic limbic system: projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system, and the subfornical organ and supra-optic crest. *Brain* **90**: 521-540 (1967)
- 17) Cao W-H, Inanami O, Sato A, Sato Y : Stimulation of the septal complex increases local cerebral blood flow in the hippocampus in anesthetized rats. *Neurosci Lett* **107**: 135-140 (1989)
- 18) Cao W-H, Inanami O, Saionji R, Sato A : Vasodilative responses in the hippocampus induced by electrical and chemical stimulation of septal complex. *The Auton Nerv Syst* **27**: 297-303, (1990) (*in Japanese*)
- 19) Kagitani F, Uchida S, Hotta H, Sato A : Effects of nicotine on blood flow and delayed neuronal death following intermittent transient ischemia in rat hippocampus. *Jpn J Physiol* **50**: 585-595 (2000)
- 20) Kimura A, Okada K, Sato A, Suzuki H : Regional cerebral blood flow in the frontal, parietal and occipital cortices increases independently of systemic arterial pressure during slow waking in conscious rats. *Neurosci Res* **20**: 30-315 (1994)
- 21) Uchida S, Kawashima K, Lee TJ : Nicotine-induced NO-mediated increase in cortical cerebral blood flow is blocked by beta2-adrenoceptor antagonists in the anesthetized rats. *Auton Neurosci* **96**: 126-130 (2002)
- 22) Lovic TA, Brown LA, Key BJ : Neurovascular relationships in hippocampal slices: physiological and anatomical studies of mechanisms underlying flow-metabolism coupling in intraparenchymal microvessels. *Neuroscience* **92**: 47-60 (1999)
- 23) Harylage-Rubsamen M, Schliebs R : Rat basal forebrain cholinergic lesion affects neuronal nitric oxide synthase activity in hippocampal and neocortical target regions. *Brain Res* **889**: 155-164 (2001)
- 24) Adams CE, Freedman R : Nicotinic antagonist alpha-bungarotoxin binding to rat hippocampal neurons containing nitric oxide synthase. *Brain Res* **776**: 111-116 (1997)
- 25) Smith DA, Hoffman AF, David DJ, Adams CE, Gerhardt GA : Nicotine-evoked nitric oxide release in the rat hippocampal slice. *Neurosci Lett* **255**: 127-130 (1998)
- 26) Sugaya K, McKinney M : Nitric oxide synthase gene expression in cholinergic neuron in the rat brain examined by combined immunocytochemistry and in situ hybridization histochemistry. *Mol Brain Res* **23**: 111-125 (1994)
- 27) Hotta H, Uchida S, Kagitani F : Effects of stimulating the nucleus basalis of Meynert on blood flow and delayed neuronal death following transient ischemia in the rat cerebral cortex. *Jpn J Physiol* **52**: 383-393 (2002)
- 28) Stummer W, Weber K, Tranmer B, Baethmann A, Kempfski O : Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia. *Stroke* **25**: 1862-1869 (1994)
- 29) Stummer W, Baethmann A, Murr R, Kempfski OS : Cerebral protection against by locomotor activity in gerbil. *Stroke* **26**: 1423-1430 (1995)
- 30) Anderson BJ, Rapp DN, Baek DH, McCloskey DP, Coburn-Litvak PS, Robinson JK : Exercise influences

- spatial learning in the radial arm maze. *Physiol Behav* **70**: 425-429 (2000)
- 31) Fordyce DE, Ferrar RP : Physical activity effects on hippocampal and parietal cortical cholinergic function and spatial learning in F344 rats. *Behav Brain Res* **43**: 115-123 (1991)
- 32) Fordyce DE, Wehner JM : Physical activity enhances septal learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Res* **619**: 111-119 (1993)
- 33) van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH : Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 13427-13431 (1999)
- 34) McGeer PL, McGeer EG, Suzuki J, Dolman CE, Nagai T : Ageing, Alzheimer's disease, and the cholinergic system of the basal forebrain. *Neurology* **34**: 741-745 (1984)