

中枢神経系におけるカテコラミン系に及ぼすニコチンと ニコチン性アセチルコリン受容体の役割

新潟大学脳研究所神経内科学教室（主任：宮武 正教授）

石川 厚

Effects on Central Catecholamine System by Nicotine and
Nicotinic Acetylcholine Receptor

Atsushi ISHIKAWA

*Department of Neurology, Brain Research Institute,
Niigata University*

(Director: Prof. Tadashi MIYATAKE)

We observed the efficacy of cigarette smoking on familial juvenile parkinsonian patients, and considered this efficacy to nicotinic action in the CNS.

We tried to confirm the nicotinic function in the rat striatum by means of in vivo microdialysis method, and examined the changes of ^3H -nicotine bindings of model rats having lesion of unilateral substantia nigra following 6OHDA injection using the method of macroautoradiography.

As a result, DOPAC and HVA values following systemic nicotine injection were elevated statistically comparing to the injection of saline, and radioactivities of ^3H -nicotine of lesioned side in striatum, accumbens nucleus, olfactory tubercle were decreased statistically comparing to that of non-lesioned side.

From these results nicotine and nicotinic acetylcholine receptor are supposed to be closely related to the catecholamine system in the CNS.

Key words: nicotine, nicotinic acetylcholine receptor, catecholamine, microdialysis, autoradiography

ニコチン, ニコチン性アセチルコリン受容体, カテコラミン, マイクロダイアリシス, オートラジオグラフィー

Reprint requests to: Atsushi ISHIKAWA,
Department of Neurology, Brain Research
Institute, Niigata University, Asahimachi-
dori 1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所神経内科学教室

石川 厚

1. はじめに

中枢神経系における細胞間の情報伝達はアミン類、アミノ酸類、ペプチド、ホルモンやアセチルコリン (ACh) などの神経伝達物質とその情報を受け取る受容体によって司られ、促進効果と抑制効果が絡み合って複雑な機能を統合している。

ACh はその中で古くから代表的な神経伝達物質として捉えられ、末梢神経系ではその受容体の機能とともに詳細に研究されている。

一方、中枢神経系における ACh や ACh 受容体 (AChR) の機能は未だ不明な点が多く、ムスカリン性 AChR (mAChR) よりも数の少ないニコチン性 AChR (nAChR) では更にその知見に乏しいのが現状である。

ニコチンによる中枢神経症状に対する影響として種々の神経症状に対する効果がみられる中で、喫煙経験者にパーキンソン病の発症が少ないことが疫学的に報告され^{1) 2) 3)}、また著者ら^{4) 5)}は若年性パーキンソン病患者において喫煙によりパーキンソン症状の改善を認めた。

これらのことから、神経伝達物質としてのニコチンと nAChR の中枢神経系におけるカテコラミン (CA) 系との関連が示唆された。そこでラットを用いた microdialysis 法により、ニコチンによる線条体の CA 系の変動を in vivo でかつ経時的に観察し、一方、ラットの一侧黒質破壊による nAChR に対する影響をマクロオー

トラジオグラフィーを用いて形態学的に定量することにより、中枢神経系におけるニコチン及び nAChR と CA 系の関連を検討した。

2. in vivo microdialysis 法を用いたニコチンによるラット線条体のカテコラミン、インドールアミンに対する影響

① 方法

動物は 180~320 g の Wistar 系雄性ラットを用いた。45 mg/kg のネンブタールを腹腔内投与し、脳定位固定装置 (Narishige) に固定した。頭皮を切開し頭蓋骨を露出させ、Paxinos and Watson の脳アトラスに従い、正中より 2.5 mm 右側、Bregma より 0.5 mm 前方の位置に電動ドリルで穿孔した。ガイドカニューラをその先端が頭蓋骨から 4.2 mm になるように垂直に線条体内に刺入し歯科用セメントで固定した。内筒を抜き、代わりに先端 3 mm が透析膜で被われたプローブを挿入し、一端から microinjection pump (Carnegie Medicin CMA/100) により 2 μ l/m の速さでリンゲル液を送液し、他端から排液した。ラットが覚醒した後四肢を拘束し、最低 1 時間プローブ内に灌流を続けた。サンプルチューブに安定化剤として 0.1 M 過塩素酸 10 μ l、内部標準物質として dihydroxybenzylamine (DHBA) 10 μ l (2000 pg) を加え、20 分ごとに検体を採取した。連続 3 検体の値が安定した時点で、ニコチン 0.5 mg/kg (0.04 % 溶液) をラットの背部に皮下注射し、その後 3 時間、同様に 20 分ずつ採液した。検体は速やかに -20°C に凍結保存した。ニコチンの作用を抑制する目的で、ニコチン投与 1 時間前に末梢性 ACh 阻害剤であ

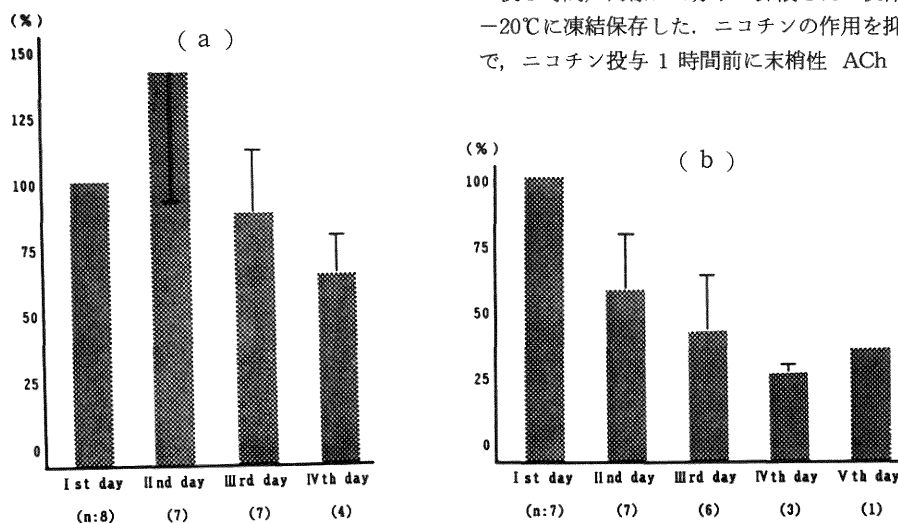


図 1 DOPAC 基礎値の経日的変化

(a): プローブ挿入当日からの透析

(b): プローブ挿入翌日からの透析

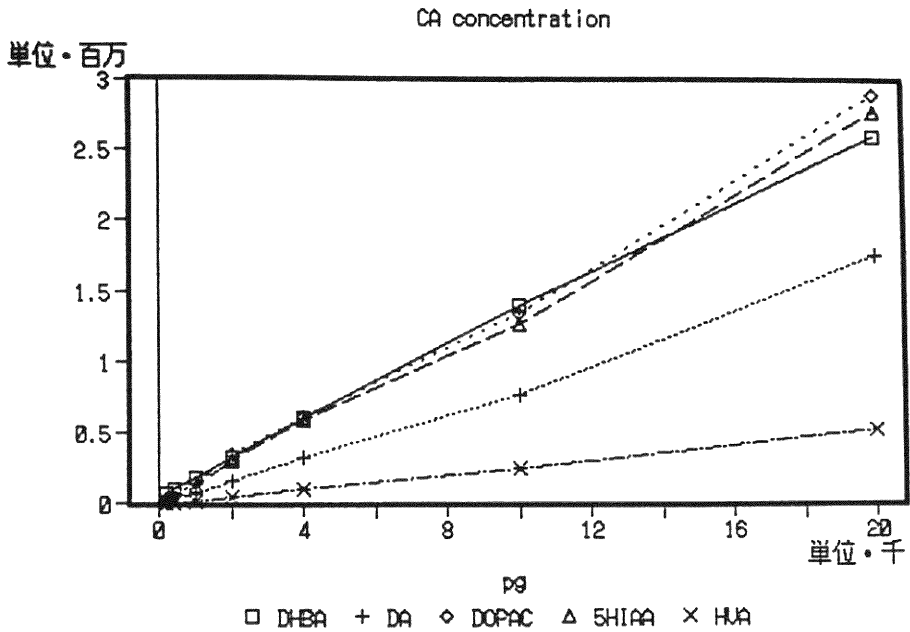


図2 カテコラミン, インドールアミン標品による検量線

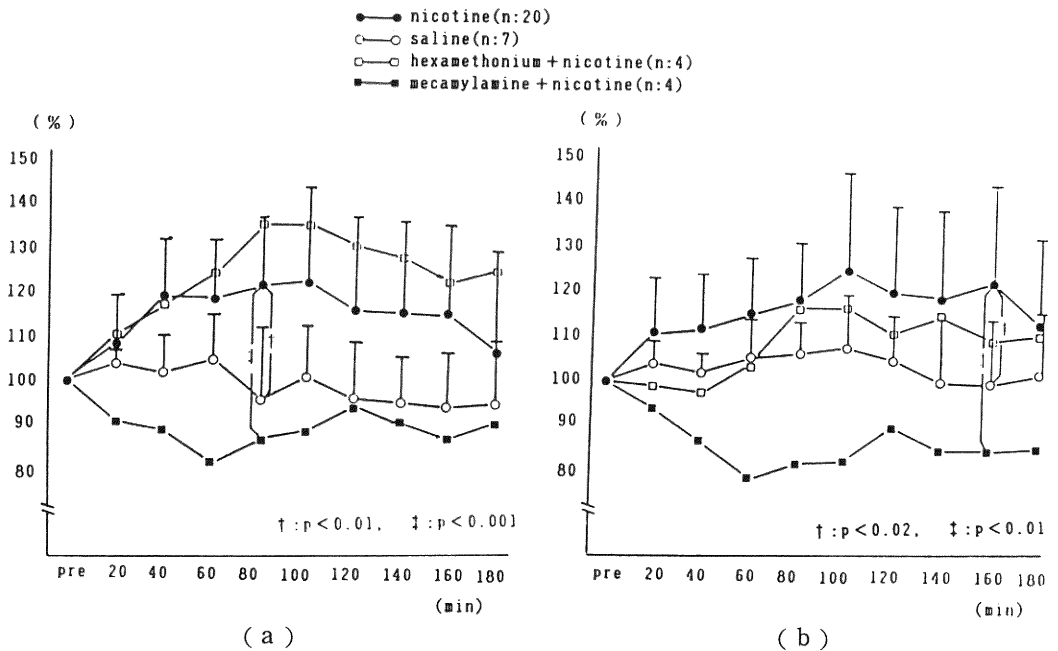


図3 in vivo microdialysis によるニコチン, 生理食塩水, hexamethonium + ニコチン, mecamlamine + ニコチン投与後の線条体 DOPAC 値 (a) と HVA 値 (b) の変動

る hexamethonium 10 mg/kg を, 30分前に中枢性 ACh 阻害剤である mecamlamine 5 mg/kg をそれぞれ別に腹腔内に前投与した. 対照として生理食塩水をニコチンと同量皮下注した. プローブは実験終了後一旦抜去し, ラットは四肢の拘束を解きケージに戻した. 同一ラットを日を改めて平均3~4日間(最長5日)同様の方法で実験に供用した. 実験終了後は開頭し脳内のプローブ刺入部位を確かめた.

検体の分析は電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー(HPLC・ECD)(BAS LC-304)にて dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), dopamine (DA), homovanillic acid (HVA), 5hydroxyindoleacetic acid (5HIAA) を分析し定量した(島津 CR 2A). 移動相は 0.15 M クエン酸, 50 μM EDTA, 325 μM Sodium octylsulfate, 500 μM トリエチルアミン, 4.5%アセトニトリルを加え, PH を 2.92 に調整した. カラムは Biophase ODS 5 μm, 250 mm×4.6 mm, 電極はグラッシーカーボン電極を用い, HPLC の条件は電圧 800 mV, 流速 1.0

ml/m とした.

② 結果

ラットはプローブ挿入後最長5日目まで透析を行ったが, 図 1 に示すように, ニコチンを投与する前の基礎値において, DOPAC 値を例にとると日を追って活性値が減少した. HVA も DOPAC と同様の変動を示したが DA と 5 HIAA は一定した傾向を示さなかった. しかしニコチン投与後の値の変動パターンは実験に用いた5日目までの範囲では, 経過日数による明らかな相違はみられなかった.

HPLC において DOPAC, DA, HVA, 5 HIAA 及び内標として用いた DHBA の標品による検量線は, 透析により得られる濃度内の 20 ng までの範囲で図 2 のような相関がみられた.

microdialysis の結果は, ニコチン投与後 DOPAC は徐々に上昇し, 基礎値を 100% とすると 100 分後に最高値 122.05±22.22% をとり, その後徐々に低下し 180 分後に 107.04±21.79% となった. 生食投与 100 分後の

表 1 ニコチン投与による 5 HIAA (上) と DA (下) の変動

	nicotine (n=9)	Saline (n=5)	hexamethonium + nicotine (n=3)	mecamlamine + nicotine (n=3)
20 min	120.90±22.87	109.86±22.73	167.26±44.75	117.78± 1.79
40 min	130.44±30.52	117.42±13.44	159.92±36.10	116.11±16.47
60 min	131.89±39.29	110.24±24.67	174.02±37.33	96.04±11.44
80 min	136.51±28.56	125.37±31.94	231.63±57.30	109.73± 3.33
100 min	137.96±51.00	108.21±41.85	198.53±28.18	109.44± 4.60
120 min	137.82±59.05	77.65±48.42	217.96±29.59	127.41±19.13
140 min	136.61±44.43	158.66±99.75	209.82±31.86	115.32± 6.16
160 min	158.09±52.27	133.78±27.18	211.51±33.68	109.00± 8.53
180 min	130.25±59.50	142.28±57.88	193.44±61.02	90.17±40.28

(%)

	nicotine (n=8)	Saline (n=3)	hexamethonium + nicotine (n=3)	mecamlamine + nicotine (n=3)
20 min	112.90±24.17	97.49± 8.54	100.11± 6.77	77.88±18.33
40 min	103.25±10.55	103.83± 7.53	92.38±12.53	66.34±18.79
60 min	107.92±11.90	113.15±11.72	97.35± 5.97	84.06± 2.34
80 min	96.55± 7.88	116.90± 7.68	98.82± 6.36	59.41±22.43
100 min	94.95±12.04	82.43±12.25	87.46±10.45	73.65± 6.16
120 min	103.30±33.76	89.10±22.46	89.78±10.64	79.43± 6.61
140 min	96.78±22.81	101.78±16.32	85.02± 9.64	75.84± 8.59
160 min	90.59±12.66	101.79± 1.34	82.02±18.90	91.93±17.10
180 min	93.52±19.67	86.59±16.98	82.47±12.95	74.17± 6.16

(%)

値は $100.51 \pm 12.25\%$ であった。hexamethonium 前処置後、ニコチンにより同様に DOPAC の上昇がみられた (100分後 $134.99 \pm 24.54\%$) が、mecamylamine 前処置後のニコチン投与で DOPAC は逆に減少した (100分後 $88.99 \pm 5.51\%$, $p < 0.01$) (図 3-a)。HVA もニコチン投与後 100分 で $125.74 \pm 23.48\%$ となり、生食投与後の値 $108.35 \pm 12.71\%$ に比べ有意に高値を示した ($p < 0.05$)。hexamethonium, mecamylamine に対する変動も DOPAC と同様であった (図 3-b)。5HIAA は測定値のばらつきが大きかったものの同様の傾向がみられたが、DA はニコチン投与による変動がみられなかった (表 1)。

3. マクロオートラジオグラフィーを用いた一側黒質破壊によるラット中枢性ニコチン性アセチルコリン受容体及びムスカリン性アセチルコリン受容体の変化

① 方法

動物は Wistar 系雄性ラット (200~220 g) を用いた。ラットを 8% 抱水クロラルール (350 mg/kg) 腹腔内投与で麻酔し、脳定位固定装置 (Narishige) に固定し、Paxinos and Watson のアトラスに従い、右側黒質 (Bregma の後方 5.1~5.3 mm, 正中から側方 1.7 mm, 骨表面から下方 7.8~8.0 mm) に、0.1% アスコルビン酸溶液に 6 hydroxydopamine (6 OHDA) を $2\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の濃度に溶かし、 $4\mu\text{l}$ を自動注入ポンプで $0.5\mu\text{l}/\text{m}$ の速度で緩徐に注入した。処置 14 日後、0.2 mg/kg の apomorphine を腹腔内投与し、左側への回転運動が 30 分間に 30 回以上認められたことを確認して断頭し、脳を速やかに取り出し、 -70°C に保存した。脳はクリオスタット (Shandon) にて、 $30\mu\text{m}$ の冠状連続切片を作製し、ポリリジンコートスライドガラスに装着し、 -70°C にて凍結保存した。

nAChR におけるマクロオートラジオグラフィーの操作として 3.5nM の L-[^3H]-nicotine (NEN) を PH を HCl で 7.4 に調整した 50mM Tris-HCl (Sigma) と 8mM CaCl_2 (和光) に混合し、解凍後乾燥させた脳切片を 20 分間室温でインキュベートした。一部に non-specific binding をみるため、 $10\mu\text{M}$ の L-nicotine (Sigma) を加えた。その後 50mM Tris-HCl と 8mM CaCl_2 溶液で 4 回にわたり 4°C で 30 秒間洗浄した。標本を乾燥させ、Ultrafilm (LKB) を装着し、 4°C の暗室で 6 週間暴露した。フィルムは 10 分間の現像、7 分間の定着後乾燥させた。

また、mAChR におけるマクロオートラジオグラフィー

の操作として、PH を 7.6 に調整した 4°C 、 50mM Tris-HCl に 3 分間、くり返して 2 回プレインキュベートし、 1nM [^3H]-Quinuclidinyl benzilate (QNB) (NEN) を 50mM Tris-HCl (PH 7.6) に混合し、室温で 2 時間インキュベートした。一部に non-specific binding をみるため、 $1\mu\text{M}$ の atropine (Nacalai tesque) を加えた。その後 50mM Tris-HCl で 30 秒間 2 回にわたって洗浄し、Ultrafilm を装着し、14 日間暴露した後、現像、定着した。

画像解析はコンピューター画像解析装置、ユニグラフィアー (Unique Medical) を用いた。対照脳で L-[^3H]-nicotine の結合が認められた prefrontal cortex, cingulate cortex, caudate-putamen, accumbens nucleus, olfactory tubercle, thalamus, substantia nigra, cerebellum に関心領域を設定し、左右対称性に optical density (OD) 値を測定し、スタンダードから組織当りの放射活性を求め、左右の比率を算出し、対照と比較検討した。 [^3H]-QNB 結合は対照、モデル動物において、caudate-putamen 及び thalamus において、同様に左右の比率を算出した。

nAChR の scatchard analysis として、破壊側、非破壊側の線条体切片において、L-[^3H]-nicotine の濃度を $7\mu\text{M}$, $3.5\mu\text{M}$, $1.75\mu\text{M}$, $0.88\mu\text{M}$, $0.44\mu\text{M}$ に分けて、前述のマクロオートラジオグラフィーの方法により、L-[^3H]-nicotine の結合を検討した。得られたフィルムを画像解析装置により OD 値を測定し、スタンダードから組織当りの放射活性を求め、direct plot 及び scatchard plot により、破壊側および非破壊側線条体の K_d , B_{max} 値を算出した。

② 結果

L-[^3H]-nicotine 結合の結果として、対照と一側黒質破壊ラットのうちの二匹のオートラジオグラフィーの結果を図 4-a, b に示す。図 4-a, b ともに左側にモデル動物、右側に対照を示す。対照では prefrontal cortex, cingulate cortex, caudate-putamen, accumbens nucleus, olfactory tubercle, thalamus (anteroventral nucleus, anteromedial nucleus, ventrolateral nucleus, lateral posterior nucleus, ventral posteromedial nucleus), superficial gray layer of superior colliculus, presubiculum, interpeduncular nucleus に比較的高濃度に nAChR の結合がみられた (図 4-a, b)。

一方、モデル動物では破壊側の caudate-putamen, accumbens nucleus, olfactory tubercle の結合が低下しており、cingulate cortex での結合は低下傾向が

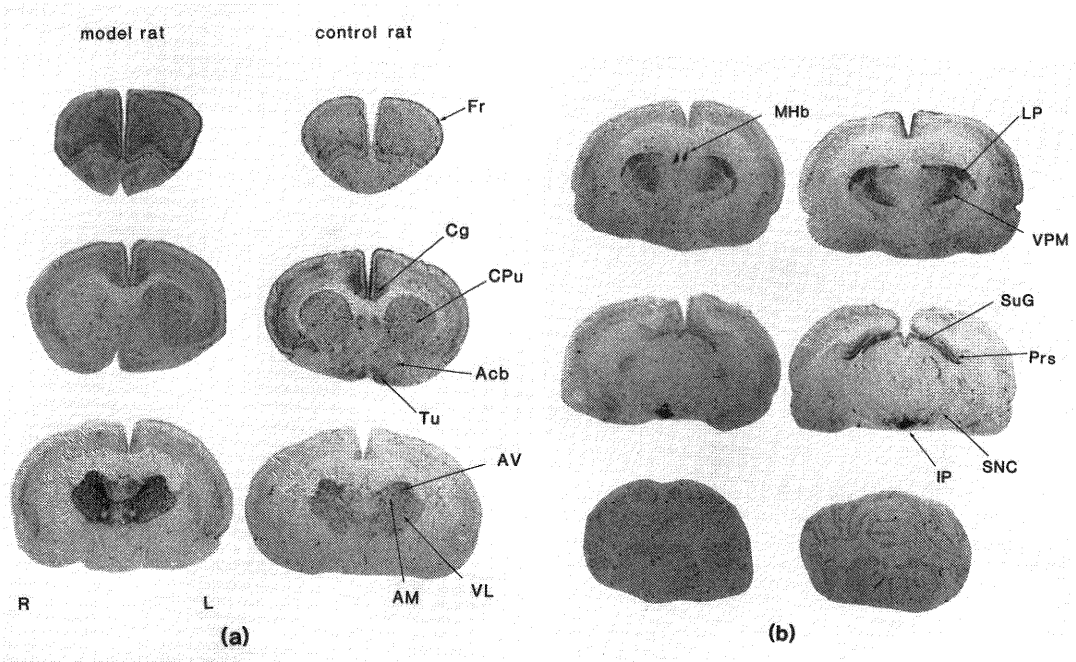


図 4 一側黒質破壊ラット(左側: model rat)及び対照ラット(右側: control rat)における L- $[^3\text{H}]$ -nicotine 結合

Fr: prefrontal cortex, Cg: cingulate cortex, CPu: caudate-putamen, Acb: accumbens nucleus, Tu: olfactory tubercle, AV: anteroventral thalamic nucleus, VL: ventrolateral thalamic nucleus, AM: antero-medial thalamic nucleus, LP: lateral posterior thalamic nucleus, VPM: ventral posteromedial thalamic nucleus, SuG: superficial gray layer of superior colliculus, Prs: presubiculum, SNC: substantia nigra of pars compacta, IP: interpeduncular nucleus.

表 2 L- $[^3\text{H}]$ -nicotine 結合における dpm/mg tissue of non-lesioned side に対する dpm/mg tissue of lesioned side 比

	model rat			control
	1	2	3	
prefrontal cortex	1.170	0.566	0.543	0.861
cingulate cortex	0.770	0.891	0.862	1.115
caudate-putamen	<u>0.319</u>	<u>0.414</u>	<u>0.343</u>	0.991
accumbens nucleus	<u>0.420</u>	<u>0.658</u>	<u>0.420</u>	1.201
olfactory tubercle	<u>0.642</u>	<u>0.454</u>	<u>0.614</u>	0.912
thalamus	1.004	1.205	0.904	1.086
substantia nigra	0.953	0.875	0.215	0.824
cerebellum	0.860	1.073	1.004	1.236

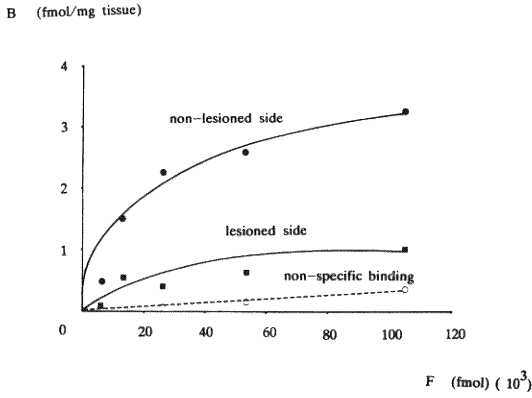


図 5 L-([³H])-nicotine の direct plot

表 3 [³H]-QNB 結合における dpm/mg tissue of non-lesioned side に対する dpm/mg tissue of lesioned side 比

	model rat			control
	1	2	3	
caudate-putamen	0.966	1.022	1.084	0.982
thalamus	1.060	1.066	1.000	0.973

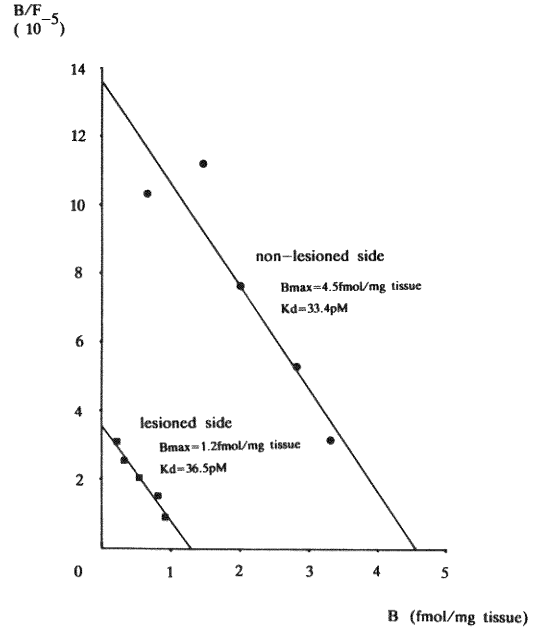


図 6 L-([³H])-nicotine の scatchard plot

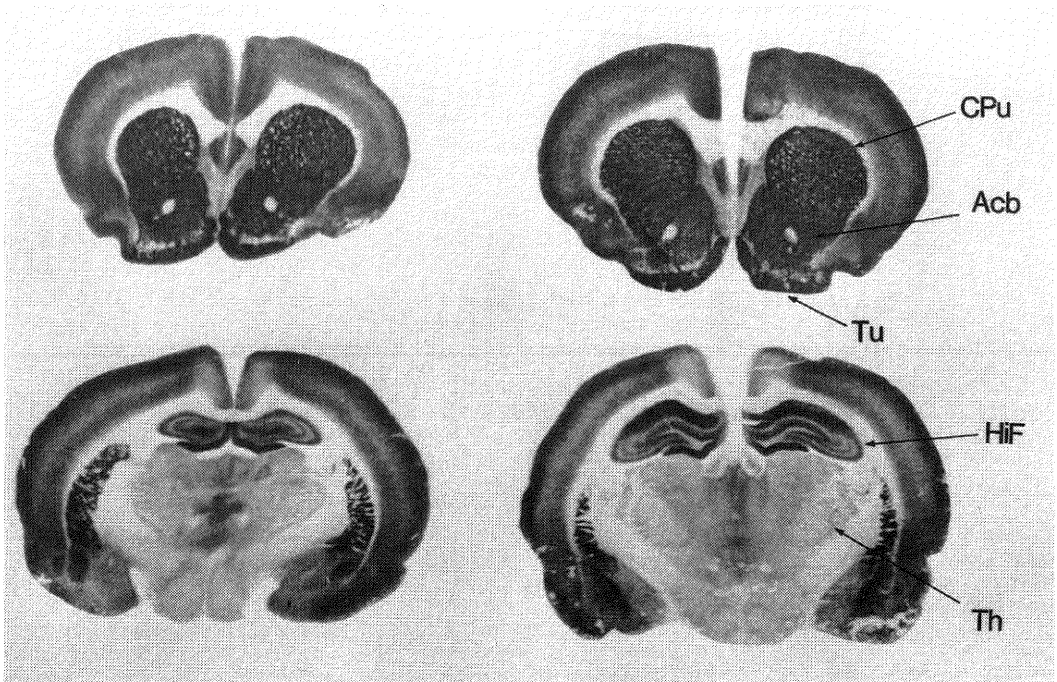


図 7 [³H]-QNB 結合
左側がモデルラット、右側が対照ラット

みられ、prefrontal cortex, substantia nigra では動物により低下しているものがみられた。しかし、thalamus の諸核, cerebellum, そして対照のすべての切片で明らかな左右差は認められなかった (図 4-a, b)。

これらの結果を非破壊側に対する破壊側の放射活性の比率で示したのが表 2 である。図 4-a, b に示したモデル動物は No. 2 のモデル動物である。この結果によると caudate-putamen では、それぞれ 0.319, 0.414, 0.343 と著明に低下しており、accumbens nucleus, olfactory tubercle でも平均で 0.499, 0.570 と明らかに低下していた。

次に scatchard analysis の結果について述べると、図 5 に 5 種類の濃度の L-[³H]-nicotine の結合を non-specific binding, 破壊側線条体の結合, 非破壊側線条体の結合に分けて direct plot したものを示す。図 6 に scatchard plot を示す。これによると Kd 値は非破壊側で 33.4 pM, 破壊側で 36.5 pM とほぼ同様の値が得られたが、Bmax 値はそれぞれ 4.5 fmol/mg tissue, 1.2 fmol/mg tissue となり、破壊側線条体の nAChR の結合能の低下は、affinity の低下によるものではなく、総結合数の低下によることが示された。

[³H]-QNB 結合の結果として図 7 に示すように caudate-putamen, accumbens nucleus, olfactory tubercle, cortex のほか、nAChR 結合の少なかった hippocampus にも比較的高濃度に結合がみられた。しかし nAChR 結合の多かった thalamus では [³H]-QNB 結合は弱かった。表 3 にモデルラットと対照ラットの caudate-putamen と thalamus の非破壊側に対する破壊側の放射活性の比率を示す。nAChR と異なり、モデルラットは caudate-putamen, thalamus とともに対照と同様、左右差を示さなかった。

4. 考 察

ACh は最も典型的な神経伝達物質であり、最初に伝達物質としての役割が確立したものであり、末梢神経系のみならず中枢神経系においても重要な役割を担っていると考えられている。

ACh 神経細胞は、ラットでは Ch1 から Ch6 と 6 つの細胞群に分けられ、その中でも主要な細胞群である Ch4 はヒトにおいて痴呆との関連で注目されている Meynert 基底核に、Ch5 は錐体外路の運動機能に関係すると考えられている脚橋核にそれぞれ相当すると考えられており、両者はそれぞれ前頭葉、視床に高密度に線維連絡をもっている⁶⁾。

一方、受容体に関して AChR は mAChR と nAChR

に分けられ、末梢性 nAChR は骨格筋の神経筋シナプス、神経節シナプス、電気魚の発電器官に多く存在し、その構造と機能に関して詳細に研究されている⁷⁾。中枢性 nAChR は mAChR に比べて数が少なく、その構造は末梢性 nAChR と異なり、またその機能に関しては未だ十分な知見は得られていない。

その中で、ラットにおける nAChR の分布は ³H-acetylcholine や ³H-nicotine をリガンドとして用いて報告されるようになり⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、thalamus, caudate-putamen, cortex などに多く結合がみられることが示された。またヒト脳を用いた検討も行われ、同様の部位に強い結合がみられることが報告された¹²⁾¹³⁾。オートラジオグラフィを用いたヒト thalamus 内における結合の検討も行われている¹⁴⁾。また nAChR の subtype の存在¹⁵⁾や、high affinity site と low affinity site の存在¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾が指摘されている。

これまでにニコチンによる中枢神経症状に対する影響や、中枢神経疾患における nAChR の変動についていくつかの報告がみられている。タバコに含まれるニコチンにより脊髄小脳変性症や多発性硬化症による失調症状の悪化¹⁹⁾、ヘミパリスムの改善²⁰⁾、Tourette 症候群の改善²¹⁾、そして脳炎後パーキンソンニズム患者の症状改善²²⁾がみられ、振戦に関しては悪化²³⁾と改善²⁴⁾の両方の報告がみられる。また多くの疫学調査によりパーキンソン病の発症率と喫煙率との間に負の相関関係があることが示されている¹⁾²⁾³⁾。著者ら⁴⁾⁵⁾はパーキンソン病に比べて特異な症状をもつ若年性パーキンソンニズム患者において喫煙によるパーキンソン諸症状の改善を認め、ニコチンを含有するニコチンガムでもより軽度ながら同様の効果を認めたことから、この現象はニコチンによる薬理作用と考えた。また中枢神経疾患と nAChR との関連において、アルツハイマー病の前頭葉皮質において nAChR の結合の低下がみられ²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾、またパーキンソン病や進行性核上性麻痺の前頭葉皮質でも同様に結合の低下が報告されている²⁹⁾。

ニコチンの薬理作用や nAChR に関する基礎研究は、CA 代謝との関連で行われたものが多い。ラットの脳スライスをを用いた灌流実験によるとニコチンはドパミンの放出を促進し³⁰⁾、代謝回転を速め³¹⁾、また黒質神経細胞の発射を促進する³²⁾ことが報告されている。in vivo の実験ではラット線条体にニコチンを局注することにより線条体からのドパミンの放出が促進することが示された³³⁾。また一側の medial forebrain bundle を 6OHDA で破壊したラットにおいて、同側の線条体、黒質におい

て nAChR 結合の低下が認められた³⁴⁾。

そこで著者は、中枢神経系におけるニコチンの作用と nAChR の変動を CA 系との関連においてそれぞれ検討してみた⁵⁾³⁵⁾。

ニコチンの薬理作用における検討は、ニコチンを全身投与することにより、ラット線条体の CA、インドールアミン (IA) の変動を microdialysis 法を用いることにより、in vivo においてかつ覚醒下で経時的に観察した。その結果、ニコチンによりラット線条体で CA (DOPAC, HVA), IA (5 HIAA) の遊離が促進し、この作用が中枢性ニコチン性 ACh 阻害剤である mecamylamine で抑制され、末梢性ニコチン性 ACh 阻害剤である hexamethonium で抑制されなかった。このことからニコチンによる CA, IA への効果は、ニコチンが直接中枢神経系に作用したために起こったものと考えられた。

また著者はマクロオートラジオグラフィーを用いてラットの一例黒質を破壊した後の nAChR 結合の変動を mAChR 結合の変動と対比して検討した。その結果、一例黒質を破壊することにより、その末端である同側の caudate-putamen, accumbens nucleus, olfactory tubercle で nAChR の結合数の低下がみられ、cingulate cortex, prefrontal cortex, substantia nigra でもその傾向がみられた。これらの系はいずれも CA 系に属し、また時期的には postsynaptic site にあるドパミン受容体で supersensitivity による結合能の亢進がみられる急性期であることから、nAChR はドパミン神経末端の presynaptic site に存在し、ドパミン代謝と密接に関係していることが窺われた。同時に測定した mAChR では caudate-putamen において、nAChR の変化とは異なって、左右差を示さなかった。

ここに示した二つの実験結果から、黒質線条体ドパミン神経の末端に presynaptic な状態で存在する nAChR がニコチンにより刺激を受け、ドパミン神経末端からドパミンの放出を促進し CA 代謝を速める機構が、神経伝達物質と受容体の両面から推測された。

このことは若年性パーキンソニズム患者にみられた喫煙やニコチンガムによるパーキンソン症状の改善が、ここに示した同様の機序を通してニコチンにより線条体のドパミン濃度の上昇をきたし、外因性に levodopa を投与し、同部のドパミン濃度を上昇させたことと同じ効果を示したことによると考えられた。

パーキンソン病の治療において、主に mAChR に働くと考えられている抗コリン剤が有効であり、その理由

として線条体における CA とのバランス説が取り上げられ、減衰した CA とバランスを保つため、ACh 系を抑えることが効果につながると考えられている³⁶⁾。これまで示したニコチンと nAChR の線条体における CA 系の促通効果を考慮すると、同じ ACh 系でも nACh 系は mACh 系と異なり CA 系を賦活する作用が示された。このことは今後パーキンソン病などにおける治療において、nACh 系を刺激することの有用性が示され、新たな薬剤の開発においても考慮すべき重要な所見と考えられた。

稿を終えるにあたり、終始御指導いただき、御校閲を賜りました宮武 正教授に深謝致します。また技術的援助を含め本研究に協力いただいた中島 孝先生はじめ、共同研究者の宮下光太郎先生、吉村菜穂子先生、田中 一先生、そして写真撮影に御尽力いただいた諸橋イネ子嬢に感謝します。また研究の道を与えて下さいました故椿忠雄名誉教授に心から感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Nefzger, M.D., Quadfasel, F.A. and Karl, V.C.: A retrospective study of smoking in Parkinson's disease, *Am. J. Epidemiol.*, **88**: 149~158, 1968.
- 2) Baumann, R.J., Jameson, H.D., Mckean, H.E., Haack, D.G. and Weisberg, L.M.: Cigarette smoking and Parkinson disease: 1. A comparison of cases with matched neighbors. *Neurology*, **30**: 839~843, 1980.
- 3) Godwin-Austen, R.B., Loe, P.N., Marmot, M.G. and Stern, G.M.: Smoking and Parkinson's disease, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **45**: 577~581, 1982.
- 4) 石川 厚, 渥美哲至, 宮武 正: 若年性パーキンソニズム 5 例における喫煙効果. *神経内科*, **23**: 562~567, 1985.
- 5) 石川 厚, 宮武 正: 若年性パーキンソニズム, パーキンソニズム, 科学評論社, 東京, 22~49, 1988.
- 6) Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. and Levey, A.I.: Central cholinergic pathways in the rat: An overview based on an alternative nomenclature (Ch1~Ch6), *Neuroscience*, **10**: 1185~1201, 1983.

- 7) 杉山博之：アセチルコリン受容体の構造と反応機序。神経進歩, **30**: 584~590, 1986.
- 8) Clark, P.B.S., Pert, C.B. and Pert, A.: Autoradiographic distribution of nicotine receptors in rat brain, *Brain, Res.*, **323**: 390~395, 1984.
- 9) Rainbow, T.C., Schwartz, R.D., Parsons, B. and Kellar, K.J.: Quantitative autoradiography of nicotinic [³H] acetylcholine binding sites in rat brain, *Neurosci. Lett.*, **50**: 193~196, 1984.
- 10) London, E.D., Waller, S.B. and Wamsley, J.K.: Autoradiographic localization of [³H] nicotine binding sites in the rat brain, *Neurosci. Lett.*, **53**: 179~184, 1985.
- 11) Schwartz, R.D.: Autoradiographic distribution of high affinity muscarinic and nicotinic cholinergic receptors labeled with [³H] acetylcholine in rat brain, *Life Sci.*, **38**: 2111~2119, 1986.
- 12) Shimohama, S., Taniguchi, T., Fujiwara, M. and Kameyama, M.: Biochemical characterization of the nicotinic cholinergic receptors in human brain: Binding of (-)-[³H]-nicotine, *J. Neurochem.*, **45**: 604~610, 1985.
- 13) Perry, E.K., Smith, C.J., Perry, R.H., Whitford, C., Johnson, M. and Birdsall, N.J.: Regional distribution of muscarinic and nicotinic cholinergic receptor binding activities in the human brain, *J. Chem. Neuroanat.*, **2**: 189~199, 1989.
- 14) Adem, A., Jossan, S.S., d'Argy, R., Brandt, I., Winblad, B. and Nordberg, A.: Distribution of nicotinic receptors in human thalamus as visualized by ³H-nicotine and ³H-acetylcholine receptor autoradiography, *J. Neural. Transm.*, **73**: 77~83, 1988.
- 15) Härfstrand, A., Adem, A., Fuxe, K., Agnati, L., Andersson, K. and Nordberg, A.: Distribution of nicotinic cholinergic receptors in the rat tel- and diencephalon: a quantitative receptor autoradiographical study using [³H] acetylcholine, [α -¹²⁵I] bungarotoxin and [³H] nicotine, *Acta Physiol. Scand.*, **132**: 1~14, 1988.
- 16) Reulecke, M. and Hucho, F.: High- and low-affinity binding of [³H] acetylcholine at nicotinic cholinergic receptors in rat brain, *Neurosci. Lett.*, **59**: 271~276, 1985.
- 17) Nordberg, A., Adem, A., Hardy, J. and Winblad, B.: Change in nicotinic receptor subtypes in temporal cortex of Alzheimer brain, *Neurosci. Lett.*, **86**: 317~321, 1988.
- 18) Romanelli, L., Öhman, B., Adem, A. and Nordberg, A.: Subchronic treatment of rats with nicotine: interconversion of nicotinic receptor subtypes in brain, *Eur. J. Pharmacol.*, **148**: 289~291, 1988.
- 19) Spillane, J.D.: The effect of nicotine on spinocerebellar ataxia, *Br. Med. J.*, **2**: 1345~1351, 1955.
- 20) Grigoresco, D. and Axente, S.: Syndrome luysien, Influence du tabac sur les grands mouvements d'hémibalisme, *Rev. Neurol.*, **1**: 361~363, 1931.
- 21) Sanberg, P.R., Fogelson, H.M., Manderscheid, P.Z., Parker, K.W., Norman, A.B. and McConville, B.J.: Nicotine gum and haloperidol in Tourette's syndrome, *Lancet*, **1**: 592, 1988.
- 22) Moll, H.: The treatment of post encephalitic parkinsonism by nicotine, *Br. Med. J.*, **1**: 1079~1081, 1948.
- 23) Edwards, A.S.: The effect of smoking on tremor, *J. Appl. Psychol.*, **32**: 150~158, 1948.
- 24) Marshall, J. and Schnieden, H.: Effect of adrenaline, noradrenaline, atropine and nicotine on some type of human tremor, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **29**: 214~218, 1966.
- 25) Nordberg, A. and Winblad, B.: Reduced number of ³H-nicotine and ³H-acetylcholine binding sites in the frontal cortex of Alzheimer brains, *Neurosci. Lett.*, **72**: 115~119, 1986.
- 26) Kellar, K.J., Whitehouse, P.J., Martino-Barrows, A.M., Marcus, K. and Price, D.L.: Muscarinic and nicotinic cholinergic binding sites in Alzheimer's disease cerebral cortex, *Brain Res.*, **436**: 62~68, 1987.
- 27) Whitehouse, P.J., Martino, A.M., Wagster, M.V., Price, D.L., Mayeux, R., Atack, J.R. and Kellar, K.J.: Reductions in [³H] nicotinic acetylcholine binding in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: An autoradiographic study,

- Neurology, **38**: 720~723, 1988.
- 28) **Whitehouse, P.J., Martino, A.M., Antuono, P.G., Lowenstein, P.R., Coyle, J.T., Price, D.L. and Kellar, K.J.**: Nicotinic acetylcholine binding sites in Alzheimer's disease, *Brain Res.*, **371**: 146~151, 1986.
- 29) **Whitehouse, P.J., Martine, A.M., Marcus, K.A., Zweig, R.M., Singer, H.S., Price, D.L. and Kellar, K.J.**: Reductions in acetylcholine and nicotine binding in several degenerative diseases, *Arch. Neurol.*, **45**: 722~724, 1988.
- 30) **Westfall, T.C.**: Effect of nicotine and other drugs on the release of ^3H -norepinephrine and ^3H -dopamine from rat brain slices, *Neuropharmacology*, **13**: 693~700, 1974.
- 31) **DeBellerocche, J. and Bradford, H.F.**: Biochemical evidence for the presence of presynaptic receptor on dopaminergic nerve terminals, *Brain Res.*, **142**: 53~68, 1978.
- 32) **Lichtensteiger, W., Felix, D., Lienhart, R. and Hefti, F.**: A quantitative correlation between single unit activity and fluorescence intensity of dopamine neurons in zona compacta of substantia nigra, as demonstrated under the influence of nicotine and physostigmine, *Brain Res.*, **117**: 85~103, 1976.
- 33) **Mifsud, J.-C., Hernandez, L. and Hoebel, B.G.**: Nicotine infused into the nucleus accumbens increases synaptic dopamine as measured by in vivo microdialysis, *Brain Res.*, **478**: 365~367, 1989.
- 34) **Clarke, P.B.S. and Pert, A.**: Autoradiographic evidence for nicotine receptors on nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic neurons, *Brain Res.*, **348**: 355~358, 1985.
- 35) **Ishikawa, A. and Miyatake, T.**: Clinical features of autosomal recessive type juvenile parkinsonism and improvement of symptoms by smoking. Basic, clinical, and therapeutic aspects of Alzheimer's and Parkinson's diseases, vol 2, Plenum Press, New York, 187~195, 1990.
- 36) **Duvoisin, R.C.**: Cholinergic-anticholinergic antagonism in parkinsonism, *Arch. Neurol.*, **17**: 124~136, 1967.

(平成3年4月16日受付)