

【103】

氏名	小島康生
	こじまみちお
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第65号
学位授与の日付	昭和44年9月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科薬学専攻
学位論文題目	神経筋接合部特に運動神経終末における薬物の作用点に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 高木博司 教授 山科郁男 教授 富田謙吉

論文内容の要旨

神経筋接合部は運動神経と骨格筋間のシナプスで、アセチルコリンを化学伝達物質として興奮が伝達される。クラレの作用点がこの部分のシナプス後膜、すなわち終板にあることが見出されて以来、神経筋接合部遮断薬の作用点は、主として終板への作用を中心に研究されてきた。しかし最近、運動神経終末が薬物の作用点として注目されだしてきたが、まだ断片的な報告が散見されるのみで、系統的な薬理学的研究はほとんどなされていない。そこで著者は各種の神経筋接合部遮断薬の運動神経終末に対する作用を追究するとともに、神経終末の薬理学的性質を明らかにする目的で、本研究を行なった。なお神経筋接合部標本としては、摘出ラット横隔神経—横隔膜標本を用いた。

1. 摘出ラット横隔神経—横隔膜標本における強縮後増強 (PTP) におよぼす諸種薬物の影響

PTPは一般にシナプス前線維に短時間の強縮性刺激を加えると、刺激停止直後から一定時間内において、単一刺激に対する反応性が増強される現象をいい、神経終末の機能亢進、特に神経終末からの神経刺激に対するアセチルコリン遊離量の増大がその原因とされている。そこでこの説にもとずき、抗コリン作働薬を中心とした諸種薬物の筋収縮の PTP (強縮性刺激の条件：刺激頻度 30cps, 刺激時間 10sec, パルス幅 0.1msec) におよぼす影響を調べ、薬物の運動神経終末に対する作用を検討した。

d-ツボクラリンをはじめフラクセジル、サクシニルコリン、ヘキサメトニウム、アトロピンなどは単一刺激に対する収縮高に影響をおよぼさない濃度 (アトロピンのみ軽度に増大する濃度) で、シナプス前の現象といわれる PTP の発現を選択的に抑制した。このことより薬物の作用点としての運動神経終末の "cholinoceptive site" の存在が示唆されるとともに、従来一般に終板のみに作用するといわれてきた d-ツボクラリン、サクシニルコリンなどの神経筋接合部遮断薬が終板のみならず運動神経終末に対しても、作用点を有することが示唆された。

2. 摘出ラット横隔神経—横隔膜標本における逆行性活動 (ADA) におよぼす諸種薬物の影響

ADA はコリンエステラーゼ阻害薬の投与後に運動神経を刺激すると、運動神経終末に反復性の興奮が

生じ、これが運動神経を逆行性に伝導してくるために観察される電気現象で、神経刺激により遊離されたアセチルコリンが運動神経終末の“cholinoceptive site”を脱分極させ、陰性後電位を増大および延長させることが、その発生原因とされている。そこで、ADAの発生機序を明らかにして、“cholinoceptive site”の存在を確認した後に、PTPの発現を選択的に抑制した薬物を中心に、ADA（発生条件：標本をネオスチグミン  $10^{-6}$ g/mlと $30^{\circ}\text{C}$ 、10min間処置した後、3回洗滌）におよぼす影響を調べ、“cholinoceptive site”の薬理学的性質を検討した。

d-ツボクラリンをはじめサクシニルコリン、ヘキサメトニウム、ニコチン、アトロピンなどは、シナプス後反応（筋活動電位、反復性筋活動、筋収縮）にはほとんど影響ないか、あるいは軽度に影響をおよぼす濃度で、シナプス前の現象であるADAの発現を選択的に抑制した。

この際アトロピンよりニコチンの方が低濃度でADAの発現を抑制したこと、およびニコチン、1,1-ジメチル-4-フェニルピペラジニウムの下大静脈からの逆行性注入によってもADAが発現したことより、運動神経終末の“cholinoceptive site”はいわゆるニコチン様の性質を有するものと推定された。なおこのADAの実験は、薬物の運動神経終末に対する作用を判定する際の、有力な手段の一つとなりうることを証明された。

### 3. ヘミコリニウム-3の神経筋遮断機序

従来からアセチルコリン合成阻害説と終板抑制説とが対立しているヘミコリニウム-3の作用機序を明らかにする目的で、運動神経終末の“cholinoceptive site”、コリン輸送、アセチルコリン遊離量および終板などに対する作用を総合的に検討した。

比較的高濃度のヘミコリニウム-3は、単一刺激に対する筋収縮および筋活動電位（細胞内記録）に対してクラレ様作用を示し、また下大静脈からのアセチルコリンの逆行性注入による筋収縮（終板のアセチルコリン感受性の指標）を抑制した。このことよりヘミコリニウム-3の終板に対するアセチルコリン感受性低下作用の存在が指摘された。

ヘミコリニウム-3の神経刺激による筋収縮抑制に対するコリンの拮抗作用およびアセチルコリンの遊離抑制作用は、比較的高頻度かつ長時間の神経刺激適用後において、はじめて発現した。このことより従来からいわれてきたヘミコリニウム-3のコリン輸送阻害によるアセチルコリン合成抑制作用は、低頻度の神経刺激では発現しにくく、比較的高頻度の神経刺激を一定時間適用して、“available transmitter”を消耗させると、はじめて発現するものと推定された。

低濃度のヘミコリニウム-3は、筋収縮に影響なくPTPの発現を、また筋活動電位、反復性筋活動、筋収縮に影響なくADAの発現をそれぞれ選択的に抑制した。またヘミコリニウム-3によるこれらの抑制は、コリンの投与により拮抗されなかった。このことよりヘミコリニウム-3による運動神経終末の“cholinoceptive site”に対する抑制作用が指摘された。なおこの部位はアセチルコリンの遊離部位およびコリンの輸送部位とは異なった部位と考えられる。

これらの研究から、ヘミコリニウム-3の投与後にまず現われるのは運動神経終末の“cholinoceptive site”に対する抑制作用で、続いて終板の抑制作用が現われ、さらに高頻度の神経刺激時には一定の潜伏期において、コリン輸送阻害によるアセチルコリン合成抑制作用が加わり、神経筋遮断が起るものと考え

られる。これらの三つの作用のいずれが優勢に発現するかは、動物の種属、標本および実験条件の差により左右されるものと思われる。

以上著者は神経筋接合部における薬物の作用点として、終板、コリン輸送、アセチルコリン遊離部位、コリンエステラーゼのほかに、新たに神経終末の“cholinoceptive site”を見出し、その薬理学的性質を明らかにし、さらに、従来異論のあったヘミコリニウム-3の神経筋遮断の作用機序を検討し、これが少くとも三つの作用点に由来することを指摘し、従来の論争に解決の糸口を与えた。また運動神経終末への薬物の作用を研究する方法として、ADA および PTP の実験が極めて有用であることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

本論文はラット横隔神経-横隔膜標本を用いて、神経筋接合部における各種薬物の作用点のうち、特に運動神経終末に注目しながら解析を行なったものである。

著者はまず神経終末の活動の間接的指標として強縮後増強 (PTP) を用い、従来、終板に選択的に作用するといわれてきた d-ツボクラリン、フラクセジル、サクシニルコリン、ヘキサメトニウムなどが神経筋興奮伝達を抑制しない低濃度で、PTPを選択的に消失させる知見をえた。

さらにこの知見を確かめるために、横隔神経終末の活動の直接的指標として、逆行性活動 (ADA) を用いて、各種薬物の神経終末への作用を追究した。その結果、d-ツボクラリン、フラクセジル、サクシニルコリン、ヘキサメトニウムなどがいずれも筋活動電位や筋収縮にほとんど影響を与えない低濃度で、ADA の発生を抑制することを見出した。以上の事実から、著者はこれら諸薬物が運動神経終末に低濃度で作用することを明らかにした。

また、著者は上記実験を通じて、運動神経終末に“cholino-ceptive site”が存在し、その薬理学的性質は“ニコチン性”であることを示唆する知見をえた。

さらに著者は上記の方法および知見を応用して、その作用機序について論議のあったヘミコリニウム-3の作用点について総合的に検討を加えた。その結果、ヘミコリニウム-3が従来指摘されていたコリン輸送阻害や終板抑制の他に、新しく神経終末の“cholinoceptive site”を抑制することを見出し、ヘミコリニウムの神経筋遮断機序はこれら3つの作用点への総合作用によって起こることを明らかにした。

以上、本論文は神経筋接合部における薬物の作用点特に神経終末の作用点について、きわめて有意義な新知見を加えたものであり、薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。