

氏 名（本籍）	高 橋 祐 次（北 海 道）
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博甲第 6 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 1 1 年 3 月 1 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	帯広畜産大学
学 位 論 文 題 目	各種運動神経筋標本における伝達物質放出能 の比較とその特性に関する意義
審 査 委 員	主査 帯広畜産大学 教 授 西 村 昌 数 副査 帯広畜産大学 教 授 齊 藤 篤 志 副査 岩 手 大 学 教 授 小 林 晴 男 副査 東京農工大学 教 授 小久江 栄 一 副査 岐 阜 大 学 教 授 大 橋 秀 法 副査 岐 阜 大 学 教 授 武 脇 義

論 文 の 内 容 の 要 旨

筋線維には、その収縮能や生化学的特性から速動型筋線維と遅動型筋線維の別がある。速動型筋線維は収縮弛緩過程が比較的早く、遅動型は緩徐である。その様な型別は α 運動神経の型別に由来する。よって、運動単位ごとに型別が成立していると考えられる。そのような型別は活動様式と関係する。速動型筋線維に入力する神経は発火頻度が高いが活動が一時的であり、遅動型に入力する神経は発火頻度が低いが比較的に常時活動している。これは、筋線維型が運動神経の活動様式の影響を受けることを意味している。

この理解に立てば、運動神経の活動を変えることは筋線維型に影響する可能性がある。全筋が同一の筋線維型により構成されることはない。したがって、運動神経の活動の変化は全筋内における筋線維型組成比に変化を生じると考えられる。

本研究では、運動単位の機能的特性はそれが参加する全筋の個体内機能特性に関連すると仮定して、代表的な骨格筋を取り上げ、神経の伝達物質放出能およびその機能に関連するCa channelの下分類型などの測定を介して、その関連性を考察することを試みた。実験では、体勢の維持に働く抗重力筋のヒラメ筋、攻撃や逃避に際して一時的に働く長肢伸筋、ならびに不随意的ではあるが常時律動的収縮弛緩を繰り返す横隔膜筋を選んだ。

実験動物としてddY系の雄性マウスを5週令で導入した。運動神経の活動を変えるた

め、二様の条件を与えた。一つは摂食と飲水に際してそれぞれ別の通路を経て180 cm上方に登ることを義務づけた行動強制群、他は縦横共に4 cmで奥行きが8 cmの箱内に行動を規制した行動抑制群であった。対照群には伝統的飼育条件を施した。条件づけは64日間行った。

第1章では、対照群内において、3種類の骨格筋における伝達物質の放出能および伝達物質の放出に際して働くCa channelの下分類型を比較した。伝達物質の放出能は、素量性放出を相互に独立させるため低Caと高Mgを含む代用液中で測定した。自発性、誘発性を問わず、伝達物質放出能は、ヒラメ筋、長肢伸筋、横隔膜筋の順に高かった。全標本で、伝達物質放出の時間的促進および1素量の伝達物質の放出に要するCa ionの協同性は共通した。

以上の成績は、伝達物質の放出能が標本ごとに不均質であることを示している。この不均質の程度に人為的に変化を生ずることができれば、それぞれの骨格筋の活動度を推し量ることが可能と考えられた。

標準代用液中における神経刺激に対する単収縮を指標として、各種Ca拮抗薬の影響を調べた。用いた薬物の中では ω -agatoxin IVA (50 nM) と ω -conotoxin MVIIC (500 nM) が神経性単収縮を特異的に抑制した。 ω -Agatoxin IVAに対する感受性はヒラメ筋、横隔膜筋、長肢伸筋の順であった。 ω -Conotoxin MVIICについても同様の成績を得た。標準代用液に1.2-1.6 μ Mのd-tubocurarineを加えて誘発性伝達物質放出量を測定した。 ω -Agatoxin IVA (5-20 nM) は濃度依存性に伝達物質放出量を抑制した。その感受性はヒラメ筋、横隔膜筋、長肢伸筋の順であった。 ω -Conotoxin MVIIC (150 nM) も抑制作用を示し、ヒラメ筋において作用が強く、横隔膜筋と長肢伸筋では差を認めなかった。以上において、Ca channelの下分類型が異なることは伝達物質放出能の多様性に関連するものと考えた。

第2章では、3標本の各測定指標におよぼす行動条件の影響を調べた。横隔膜筋の場合、各条件は自発性放出能を変えなかった。誘発性放出能もごく一部を除いて影響を受けず、時間的促進およびCa ionの協同性も影響を受けなかった。長肢伸筋の場合、行動の強制および抑制共に自発性の伝達物質放出を亢進した。行動強制は他の2群と比べて誘発性放出を促進することがあり、Ca ionの協同性も亢進した。ヒラメ筋の場合、行動強制は行動抑制群と比べて誘発性放出を促進した。行動抑制は他の2群と比較して誘発性の放出を低下することがあったが、Ca ionの協同性を亢進した。与えた2条件は、全標本において時間的促進に影響しなかった。以上から、シナプス伝達の活性化は、Ca ionの協同性を亢進することで伝達物質の放出能を高めている可能性を考えた。

以上、本論文においては、標本間の機能的相違をそれぞれの活動様式の違いと関連づけ、その延長上に過剰使用や不使用の影響を論じることがを試みた。しかし、行動の強制や抑制という条件は、標本ごとに発現する影響が異なることを示し得たが、その影響に特定の方向性を見出すことはできなかった。これは、個々の運動神経と骨格筋間の調節

査 査 結 果 の 要 旨

はもとより、骨格筋群の間にも調節が働いているためと考えられる。

運動型筋線維に入力する神経は発火頻度が高いか活動が一時的であり、運動型に入力する神経は発火頻度が低いと比較的に常時活動している。これは、筋線維型が運動神経の活動様式の影響を受けることを意味している。この理解に立てば、運動神経の活動を変えることは筋線維型に影響する可能性がある。したがって、運動神経の活動性の変化は、全筋内における筋線維型組成比に変化を生じると考えられる。

本研究では、運動単位の機能的特性はそれが参加する全筋の個体内機能特性を反映すると仮定して、代表的な骨格筋を取り上げ、神経の伝達物質放出および筋線維の電気的特性などを測定して、その関連性を考察することを試みた。実験では、姿勢の維持に働く抗重力筋のヒラメ筋、攻撃や逃避に際して一時的に働く長肢伸筋、ならびに不随意的ではあるが常時律動的収縮弛緩を繰り返す横隔膜筋を選んだ。

実験動物として *ddY* 系の雄性マウスを5週令で導入した。運動神経の活動を変えるため、二様の条件を与えた。一つは摂食と飲水に際してそれぞれ別の通路を経て180 cm 上方に登ることを義務づけた行動強制群、他は縦横共に4 cm で奥行きが8 cm の箱内に行動を規制した行動抑制群であった。対照群には伝統的飼育条件を施した。条件づけは64日間行った。

第1章では、対照群内において、3種類の骨格筋における伝達物質の放出および伝達物質の放出に際して働く *Ca channel* の下分類型を比較した。伝達物質の放出能は、素量性放出を相互に独立させるため低 Ca と高 Mg を含む代用液中で測定した。自発性、誘発性を問わず、伝達物質放出能は、ヒラメ筋、長肢伸筋、横隔膜筋の順に高かった。全標本で、伝達物質放出の時間的促進および1素量の伝達物質の放出に要する Ca ion の協同性は共通した。

以上の成績は、伝達物質の放出能が標本ごとに不均質であることを示している。この不均質の程度に人為的に変化を生ずることができれば、それぞれの骨格筋の活動度を推し量ることが可能と考えられた。

標準代用液中における神経刺激に対する単収縮を指標として、各種 Ca 拮抗薬の影響を調べた。用いた薬物の中では ω -agatoxin IVA (50 nM) と ω -conotoxin MVIC (500 nM) が神経性単収縮を特異的に抑制した。 ω -Agatoxin IVA に対する感受性はヒラメ筋、横隔膜筋、長肢伸筋の順であった。 ω -Conotoxin MVIC についても同様の成績を得た。標準代用液に 1.2 – $1.6 \mu M$ の *d-tubocurarine* を加えて誘発性伝達物質放出量を測定した。 ω -Agatoxin IVA (5–20 nM) は濃度依存性に伝達物質放出量を抑制した。その感受性はヒラメ筋、横隔膜筋、長肢伸筋の順であった。 ω -Conotoxin MVIC (150 nM) も抑制作用を示し、ヒラメ筋において作用が強く、横隔膜筋と長肢伸筋では差を認めなかった。以上において、*Ca channel* の下分類型が異なることは伝達物質放出能の多様性に関連するものと考えた。

第2章では、3標本の各測定指標におよぼす行動条件の影響を調べた。横隔膜筋の場合、各条件は自発性放出能を変えなかった。誘発性放出能もごく一部を除いて影響を受けず、時間的促進および Ca ion の協同性も影響を受けなかった。長肢伸筋の場合、行動の強制および抑制共に自発性の伝達物質放出を亢進した。行動強制は他の2群と比べて誘発性放出を促進することがあり、 Ca ion の協同性も亢進した。ヒラメ筋の場合、行動強制は行動抑制群と比べて誘発性放出を促進した。行動抑制は他の2群と比較して誘発性の放出を低下することがあったが、 Ca ion の協同性を亢進した。与えた2条件は、全標本において時間的促進に影響しなかった。以上から、シナプス伝達の活性化は、 Ca ion の協同性を亢進することで伝達物質の放出能を高めている可能

性を考えた。

以上より、申請者は、マウスの代表的な3運動神経筋標本において、標本間の機能的相違をそれぞれの活動様式の違いと関連づけ、その延長上に過剰使用や不使用の影響を論じることを試みた。しかし、行動の強制や抑制という条件は、標本ごとに発現する影響が異なることを示し得たが、その影響に特定の方向性を見出すことはできなかった。これは、個々の運動神経と骨格筋間の調節はもとより、骨格筋群の間にも調節が働いているためと考えられる。

以上について、審査委員会は慎重に審議した結果、本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1. J. Vet. Med. Sci. 61: in press, 1999.