

氏 名 (本 籍)	ひ 堂	おさむ	修 (長野県)
学 位 の 種 類	農 学 博 士		
学 位 記 番 号	博 乙 第 383 号		
学 位 授 与 年 月 日	昭和63年 5 月31日		
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
審 査 研 究 科	農学研究科		
学 位 論 文 題 目	昆虫の神経筋伝達におけるオクトパミンの修飾機構に関する研究		
主 査	筑波大学教授	農学博士	草 野 忠 治
副 査	筑波大学教授	農学博士	佐 藤 昭 二
副 査	筑波大学助教授	農学博士	田 付 貞 洋
副 査	筑波大学教授	理学博士	渋谷 達 明

論 文 の 要 旨

昆虫の神経筋接合部における興奮性伝達物質はL-グルタミン酸であり、抑制性伝達物質はγ-アミノ酪酸 (GABA) であると推定されている。従来、昆虫の神経筋伝達はこれらによる興奮と抑制により制御されているものと理解されてきた。ところが、最近になってこのような制御機構の他に、神経筋伝達の制御には神経修飾物質による調節機構も存在することが知られるようになってきた。神経修飾物質として最も重要と思われる物質として生体アミンの一種であるオクトパミンがあげられる。オクトパミンは昆虫において神経ホルモンや神経伝達物質として機能していることも知られており、多機能性をもった生体アミンとして、近年、その応用も含めて急速に関心が高まってきた。

本研究では、昆虫の神経筋接合部におけるオクトパミンの修飾作用に注目し、グルタミン酸作動性と推定されるチャイロコメノゴミムシダマシ (*Tenebrio molitor* L., 鞘翅目, ゴミムシダマシ科) 幼虫の腹部縦走筋の神経筋接合部を材料にして電気生理学的手法を用いて実験を行い、オクトパミンの作用機構と薬理的持性を明らかにした。結果の要点は次の通りである。

I. 神経筋接合部におけるオクトパミンの修飾作用と作用点

オクトパミンを灌流投与すると 10^{-8} M以上の濃度において、可逆的、濃度依存的な細胞内興奮性接合部電位 (EJP) の振幅の増強作用が認められ、筋繊維によっては活動電位を発生するようになった。この増強作用についてオクトパミンの作用点を求めるため、オクトパミンを処理したときの種々の反応について検討し、以下の結果を得た。1) 筋膜の静止膜電位は変わらない。2) EJP

の膜電位依存性や逆点電位は変わらない。3) 細胞内通電によって誘発される電気緊張電位は活動電位や変わらない。4) 自発的な微小興奮性接合部電位の発生頻度やその振幅は変わらない。5) 局所的な細胞外接合部電位の振幅は可逆的に増強作用を受ける。6) 細胞外接合部電位を加算平均処理することにより識別できるシナプス前膜に流れ込む電流は変わらない。7) 細胞外接合部電位の無応答より求められる伝達物質の放出素量は可逆的に増加する。8) 細胞外接合部電位の減衰過程の時定数は変わらない。これらのことから、オクトパミンはシナプス前膜を作用点にしており、ここに活動電位が到達したときに起こる伝達物質の素量的放出の放出素量を増加させることにより、神経筋伝達を促進していることが示唆された。

興奮性伝達物質と推定されているL-グルタミン酸を処理すると現われる反応と、これに対するオクトパミンの作用について調べ、以下の結果を得た。1) L-グルタミン酸を微量イオン泳動的に投与するとスポット状の限られた筋膜上からのみ脱分極(グルタミン酸電位)が記録でき、連続的に投与すると脱感作を起こす。2) グルタミン酸電位の振幅はオクトパミンにより変わらない。3) 脱感作状態はオクトパミンにより変わらない。4) L-グルタミン酸を灌流投与すると筋膜は入力抵抗の減少を伴って脱分極する。5) この入力抵抗の減少と脱分極はオクトパミンにより抑えられる。これらのこととI-8)の結果より、接合部膜上のグルタミン酸受容体・イオンチャンネル複合体はオクトパミンの作用を受けないのに対し、接合部膜上に存在が推定されるグルタミン酸受容体はオクトパミンによる修飾作用を受けていることが推測された。

II. 興奮性接合部電位の増強作用におけるセカンド・メッセンジャー系の関与

ホスホジエステラーゼ阻害剤のIBMX、およびcyclic AMPを用いて、オクトパミンのEJPの振幅に対する増強作用におけるセカンド・メッセンジャー系の関与について検討し、以下の結果を得た。1) オクトパミン(10^{-8}M)を単独で灌流投与してEJPの振幅は変わらないときでも、IBMX(10^{-5}M)を同時に灌流投与するとEJPの振幅は増強する。2) オクトパミン(10^{-6}M)を灌流投与するとEJPの振幅は増強するが、IBMX(10^{-5}M)を同時に灌流投与してもこの増強作用の程度は変わらない。3) cyclic AMP(10^{-4}M)を灌流投与してもEJPの振幅は変わらないが、IBMX(10^{-5}M)を同時に灌流投与するとEJPの振幅は増強する。4) IBMX(10^{-5}M)単独ではEJPの振幅は変わらない。5) いずれの処理においても静止膜電位、EJPの減衰過程の時定数は変わらない。これらのことよりオクトパミンによるEJPの振幅の増強作用にはcyclic AMPがセカンド・メッセンジャーとして介在していることが示唆された。III. 興奮性接合部電位の増強作用におけるオクトパミンアゴニストとアンタゴニスト

EJPの増強作用に注目してオクトパミンおよびオクトパミン・アゴニスト、アンタゴニスト候補の作用を調べ、以下の結果を得た。1) カテコールアミンのノルアドレナリン、アドレナリン、また、オクトパミンと同じフェノールアミンのシネフリンに増強作用が認められる。2) その強さは、オクトパミン=シネフリン>ノルアドレナリン=アドレナリンの順である。3) オクトパミンによる増強作用は α -アドレナリン遮断剤のフェントールアミンにより拮抗的に遮断される。4) オクトパミンによる増強作用は α -アドレナリン遮断剤のフェノキシベンザミンおよび β -アドレナリ

ン遮断剤のプロプラノロール、ジクロロイソプロテレロールでは遮断されない。5) オクトパミンアゴニストであるシネフリン、ノルアドレナリン、アドレナリンによる増強作用はフェントールアミンにより、同様な拮抗的遮断を受ける。これらのことより、オクトパミンは α -アドレナリン受容体様の受容体（オクトパミン受容体）に結合していること、カテコールアミン、フェノールアミンはオクトパミン・アゴニストとしてこの受容体に結合することが示唆された。さらに、オクトパミン受容体にsubtypeがあることが推定された。

以上のことから、昆虫の神経筋伝達の制御にはオクトパミンが神経修飾物質として重要な機能を果たしていることが示された。そして、神経筋接合部における、その作用機構は以下のような過程を経るものと推定される。オクトパミンはシナプス前膜のオクトパミン受容体に結合し、アデニル酸シクラーゼを活性化する。アデニル酸シクラーゼにより細胞内の cyclicAMP レベルが上昇して、cyclicAMP 依存性プロテインキナーゼが活性化する。プロテインキナーゼは伝達物質の放出機構に関わる機能タンパク質をリン酸化する。その結果、伝達物質の放出素量が増加する。さらに、接合部外膜上のオクトパミン受容体に、これに似た過程を経る調節機構の存在が示唆される。神経筋接合部ではこれらが密接に関連してオクトパミンの修飾作用が現われるものと思われる。

審 査 の 要 旨

昆虫の神経筋接合部におけるオクトパミンの作用を研究することは興奮伝達機構の解明のみならず、神経筋伝達における昆虫の特異性おも明らかにすることになる。さらに、シナプス伝達機構を攪乱させることを狙った新しい作用型の殺虫剤の開発に対して本研究は貴重な知見を提供することになる。

本論文はチャイロコメノゴミムシダマシを用いて次のことを明らかにした。1) オクトパミンはシナプス前膜を作用点にしており、ここに活動電位が到達したとき、伝達物質の放出素量を増加させ、神経筋伝達を促進していることを明らかにした。2) 神経筋接合部外膜上にもグルタミン酸受容体の存在することが推定され、これがオクトパミンにより修飾されることを明らかにした。3) オクトパミンによる神経筋接合部における神経伝達物質の放出素量の増加にはアデニル酸シクラーゼの活性化、cyclicAMP 上昇などの生化学的機構の介在することを推定した。

異常行動の誘起により害虫の密度減少をもたらす、制虫剤と呼ばれるクロルジメホルムの作用点がオクトパミン受容体であるという仮説が提出されている。オクトパミンの作用点は新殺虫剤開発のターゲットになるのではないかという意味で注目を集めており、このような見地からも本研究は重要な知見を得たものと評価できる。

これらの研究は著者のすぐれたアイデアと綿密な計画のもとに行われたものであり、応用昆虫学の基礎ならびに応用分野への貢献は大きく、高く評価される。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。