

ネオスチグミン存在下で明らかになった誘発筋電位の可塑的变化とアセチルコリンのリサイクル過程

浦本 勲 渡辺 貴美 戸塚 武

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・生理

I. はじめに

神経筋接合部においては、神経インパルスに同期して、アセチルコリン (ACh) が神経終末よりパッケージ状に放出され ACh 受容体に作用するが、残余の ACh はコリンエステラーゼ (AChE) によって速やかに分解される。また、終末に取り込まれたコリンは放出可能な ACh として再利用されることはよく知られた事実で、ACh のリサイクル過程と呼ばれている [8, 16]。この過程は、電気生理的に同定できる後シナプスの事象から推論されていた [7, 20]。しかし最近、この過程は非常に巧妙に調節されており、終末に見られるシナプス小胞のリサイクル過程でもある事から [11, 23]、いわゆる光学的監視方法などを用いて、多くの知見が集められている [1, 3, 4, 6, 15, 22, 25]。さらに、この部分過程に関わる蛋白などが、いろいろと同定されている [2, 32]。しかしながら、この過程がもつ特質に関する報告は見当たらない。そこで我々は、もっとグローバルにこの過程を捕らえ、このリサイクル過程がもつ特質を明らかにしようとし、0.5 Hz で与えた 10 コ 1 組の刺激に対する誘発筋電位によって、この過程を評価した。この過程において重要な役割を果たす AChE の作用に摂動を与えたとき、システムの応答がどのように変化するかを調べた。その結果、抗 AChE であるネオスチグミンの投与によって、誘発筋電位のもう一つの可塑的な変化が明らかになった。我々はこの事から、ACh のリサイクル過程がもつ特質について、一つの推測を試みた。

II. 方法

ウレタン (1.2 ~ 1.5g/kg, i.p.) で麻酔した離乳前後のラットを用い、内側 (MG) および外側腓腹筋 (LG) を露出して実験を行った。0.5 Hz で 10 コ 1 組の刺激を坐骨神経に与えた。刺激は、持続時間が 0.05 msec の矩形波で、坐骨神経が MG および LG に進入する近傍で、双極電極 (K2-1001, 東海医理科) を用いて行った。刺激強度は、誘発筋電位の振幅が最大になる強度の、1.2 ~ 1.5 倍に設定した。ネオスチグミン投与前後のいろいろな時点における自発活動と誘発筋電位は、同心円電極 (B-9008, 東海医理科) を用い MG より導出し、写真撮影用およびモニター用の 2 つのオシロスコープ上に表示した (VC-10 および VC-MA-10, 日本光電)。撮影は、1, 2, 3, 5, 7 および 10 番目の誘発筋電位で行った。この写真より、誘発筋電位の尖頭間振幅を計測し、個体間の平均値と標準誤差を求めた。統計的検定は、対応のある t 検定で行った。また、この計測値と平均値を用い、本文中に説明したような計算を行い図 4 や図 5 にプロットした。

III. 結果

ネオスチグミン投与前後に与えた 3 コ 1 組の刺激に対する誘発筋電位の変化について、18, 19 日齢のラットを用いて、我々はすでに報告した [35]。さらに我々は、15 ~ 17 日齢のラットを用いて調べた (未発表)。以前の報告なども加味して [28, 33]、成熟ラットが示すパターンは、すでに離乳前後のラットで示される、と言えた。従って以後の実験では、いろいろな観点から取り扱い

易い，離乳前後のラットを用いた．

A．誘発筋電位の経時的变化のパターン

抗 AChE 剤の一つであるネオスチグミンの投与前後に，10コ1組の刺激を与えた．この時の諸特徴については，従来報告した通りである [33 35]．ここでは，誘発筋電位の変化のパターンについてのみ記載する．例を図1に示した．投与前は (Before) ，誘発筋電位の大きさにはほとんど揺らぎは見られず，10コの電位はすべて同じ大きさであった．以後，C-パターンと呼ぶ．投与後8分や12分に1組の刺激を与えた時 (After 8 , 12) ，著しく異なったパターンが観察された．最初の電位の大きさは投与前とあまり違わなかったが，2コ目の電位は著しく抑圧された．その後の電位は，次第にコントロールレベルに回復した．これが，ネオスチグミン存在下における経時的变化の一般的なパターンで，G-パターンと呼ぶことにする．

12匹のラットから，ネオスチグミン投与前後の平均値 ± 平均誤差を求め，C-パターンとG-パターンを棒グラフで表したものが図2である．塗りつぶしたカラムは，投与後8分の値でG-パターンを示している．投与前に比べて，投与後の最初の電位は，大多数のラットで少し増大した：投与

前後の値は，それぞれ 23.9 ± 1.8 mV と 24.2 ± 1.8 mV であったが，対応のある t-検定では有意ではなかった ($t = -0.512$; $p > 0.05$, $df = 11$) . と
ころが第2の電位は強く抑圧され，最初の電位の大きさに比べ，1例だけは84.1%であったが，残りは7.8から33.3%を示した ($24.6 \pm 6.0\%$, $N = 12$) . あまり抑圧されなかった1例を除けば， $19.2 \pm 2.7\%$ ($N = 11$) であった．また，第3，5，7番目の電位は， 31.2 ± 6.6 , 60.8 ± 6.3 および $83.0 \pm 4.0\%$ (all, $N = 12$) であった．反復刺激中の電位の回復程度には個体差があり，最初の電位の76.5から102.9%であった ($88.0 \pm 3.1\%$, $N = 12$) . このG-パターンは，投与後12分や20分にも観察された．12分の時点では，最初の電位に比した第2の電位の大きさは，上に特記した1例では78.6%であったが，その他のラットでは，8.8から40.5%で，やはり強く抑圧された ($29.5 \pm 5.1\%$, $N = 12$ および $25.0 \pm 2.7\%$, $N = 11$) . 第3，5，7および10番目の電位は各々， 40.2 ± 6.8 , 75.9 ± 5.8 , 91.0 ± 2.4 および $93.7 \pm 1.3\%$ (all, $N = 12$) であった．また，投与後20分のデータは8個体からのものであるが，最初の電位に比べて，第2の電位は $53.6 \pm 6.4\%$ ($N = 8$)

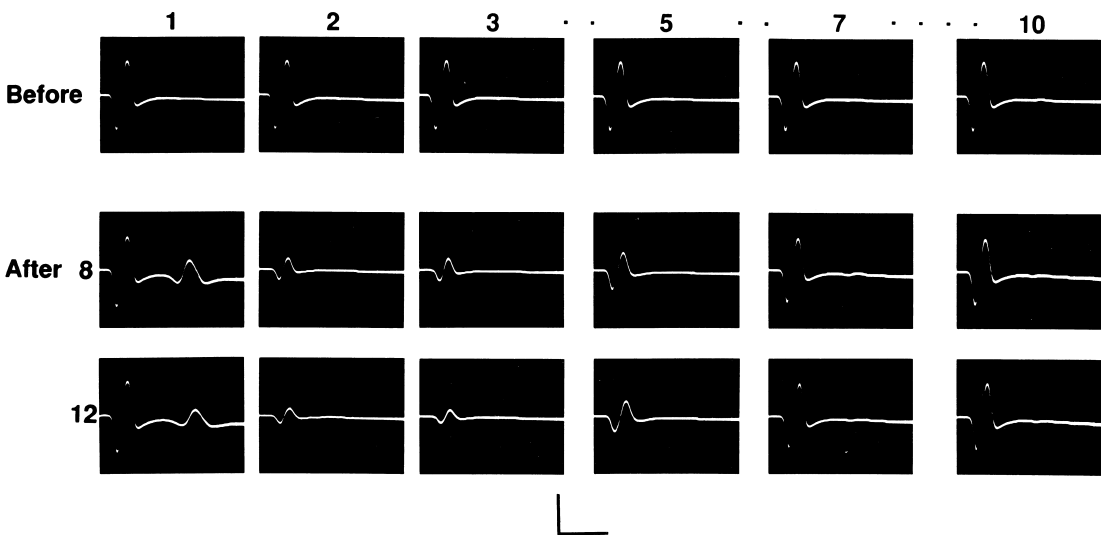


Fig. 1. An example of muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli at 0.5 Hz. Recordings were made 8 and 12 min after the injection of neostigmine as well as before it (Before). Numbers at the top indicate the order of stimuli. Neostigmine: 0.20 mg/kg. Calibration: 10 mV and 5 msec.

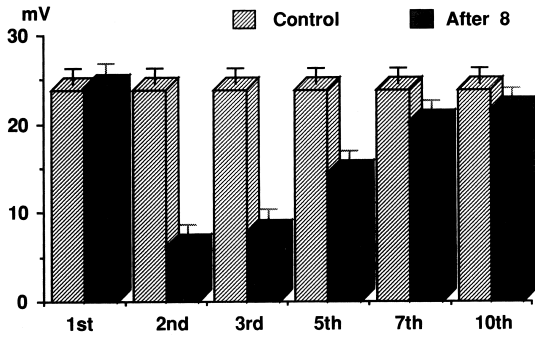


Fig. 2. Mean amplitudes of muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli. Data were obtained before (Control, striped columns) and 8 min after the injection of neostigmine (After 8, filled columns). Each column: Amplitude with a standard error (mV, N = 12). Abscissa: The order of stimuli.

で、その後次第に回復し、第10番目の電位は $94.4 \pm 4.6\%$ (N = 8) であった。1例だけが62.7%までしか回復せず、これを除外すれば $98.9 \pm 1.1\%$ (N = 7) であった。一方Cパターンは斜線のカラム (Control, 投与前) で示した。10コの電位はほぼ同じ大きさであった: 最初の電位に比べて、第2, 3, 5, 7および10番目の電位は各々、 99.6 ± 0.9 , 99.3 ± 0.3 , 99.7 ± 0.6 , 99.6 ± 0.6 および $99.9 \pm 0.4\%$ (all, N = 12) であった。次節で述べるように、ネオスチグミン存在下においてはGパターンが一般的であるが、1組の刺激を与える時間間隔を操作するだけで、Cパターンも観察された。なお、投与後のいろいろな時点での最初の電位の大きさは、投与前に比べて統計的に有意な差はなかった: 投与後8, 12, 20分におけるtの値は、-0.512, 0.608および0.904 (all, $p > 0.05$, $df = 11, 11, 7$) であった。

B. セット刺激の時間間隔と誘発筋電位の変化のパターン

ネオスチグミンの存在下では、誘発筋電位の経時的変化はGパターンを呈し、一個体内で繰り返し観察された。ここでのセット刺激の間隔は、3分以上である。未発表のデータや先の報告を考慮すると [35], 2分以上の間隔を置けば、Gパターンは繰り返し観察されると言えるだろう。

ところが1分間隔で2組の刺激を与えたとき、異なるパターンが観察された。図3に例を示した。ここでは、セット刺激を与えたのは投与前と、投与後8, 9, 12, 13, 20, 21分である。投与前には、すべての電位が同じ大きさでCパターンを呈した。また、投与後のどの時点においても、最初の電位の大きさはコントロールレベルであった。投与後8, 12, 20分には、ハッキリとしたGパターンが観察された。ところが9分の時点では、2番目の電位はそれ程抑圧されなかった。13, 21分の時点ではほとんど抑圧されず、Cパターンであった。換言すれば、1分間隔で与えられた2組の刺激に対して、誘発筋電位の経時変化のパターンは、著しく対照的であった。このことは、後者のセット刺激に対する誘発筋電位は、1分前後にわたって前者のセット刺激から影響を受けており、2分も経過するとその効果も消滅すると言えるだろう。ネオスチグミンの存在下において、時間間隔を操作することによってはじめて明らかになった特質である。

図4では、このような特質をグラフで表した。投与後31分まで記録を行ったラットのデータである。ネオスチグミン投与前後のある時点において、各々の電位の最初の電位に対する比を求め、刺激の順序 (A), あるいは投与後の時間 (分, B) を横軸にプロットした。まず、図4Aである。同時点の値は、実線で連結して示した。投与前では、誘発筋電位の間揺らぎは見られず、値はすべてほとんど1.0に等しい。塗りつぶしたシンボルの値は、前のセット刺激から3分以上経過した時点で得られたことを表している。ドットのシンボルの値は、1分経過した時点のものである。両者は分離しており、とくに四角, 丸, 三角のシンボルについては顕著である。しかも、ドットシンボルのものは、すべて1.0に近い値である。従って、図4Bのように、横軸を投与後の時間としてプロットすれば、ジグザグパターンを呈することになる。ここでは、同番目の電位の比は実線で連結し、異なるシンボルで表した。

図4Aで見られるような明確な分離が、一個体内に見られた現象でないことは、図5から明らかで

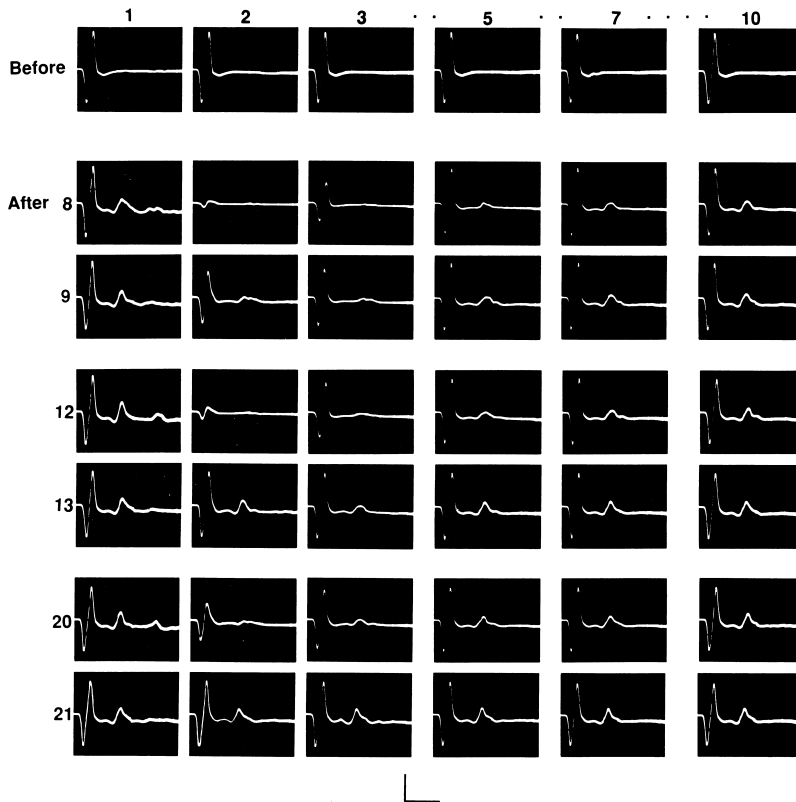


Fig. 3. An example of muscle potentials evoked by successive two sets of 10 stimuli with an interval of one minute. Recordings were made 8, 9, 12, 13, 20 and 21 min after the injection of neostigmine as well as before it. Neostigmine: 0.15 mg/kg. Calibration: 10 mV and 5 msec.

ある．平均値を用いて比を算出し，図4Aのように表した．塗りつぶしたシンボルとドットシンボルの値はハッキリと分離しており，図4Bのようにプロットすれば，ジグザグパターンを呈する．しかも，これらの図から分かるように，投与後のどの時点でも，7番目や10番目の電位の比はほとんど1.0であり，2番目の電位がどんなに抑圧されても，セット刺激中にほぼ回復したことを意味する．

IV. 考 察

ネオスチグミンの存在下において，0.5 Hzで10コ1組の刺激に対する誘発筋電位の経時的变化は，一般的には次のようなパターンを呈した．最初の電位は投与前のレベルであるが，2コ目は著

しく抑圧された．その後ゆっくり回復し，刺激中にはほぼコントロールレベルになった．2分あるいはそれ以上の間隔で組刺激を与えれば，繰り返し観察された．しかし，2組の刺激を1分間隔で与えると，誘発筋電位の経時的变化は非常に対照的なパターンを示すことが明らかになった．この可塑的变化を中心に考察しよう．

抗AChEによってAChEが非活性化されているとき，接合部の間隙に貯留するAChは，拡散によってのみゆっくり除去される．その間に，ACh分子とレセプターとが繰り返し再結合すると報告されている[13, 19]．ネオスチグミンの投与後に見られる自発活動や誘発筋電位の変化の背景には，このような事も関与しているのであろう[33]．一方，今回のような実験条件では，ACh

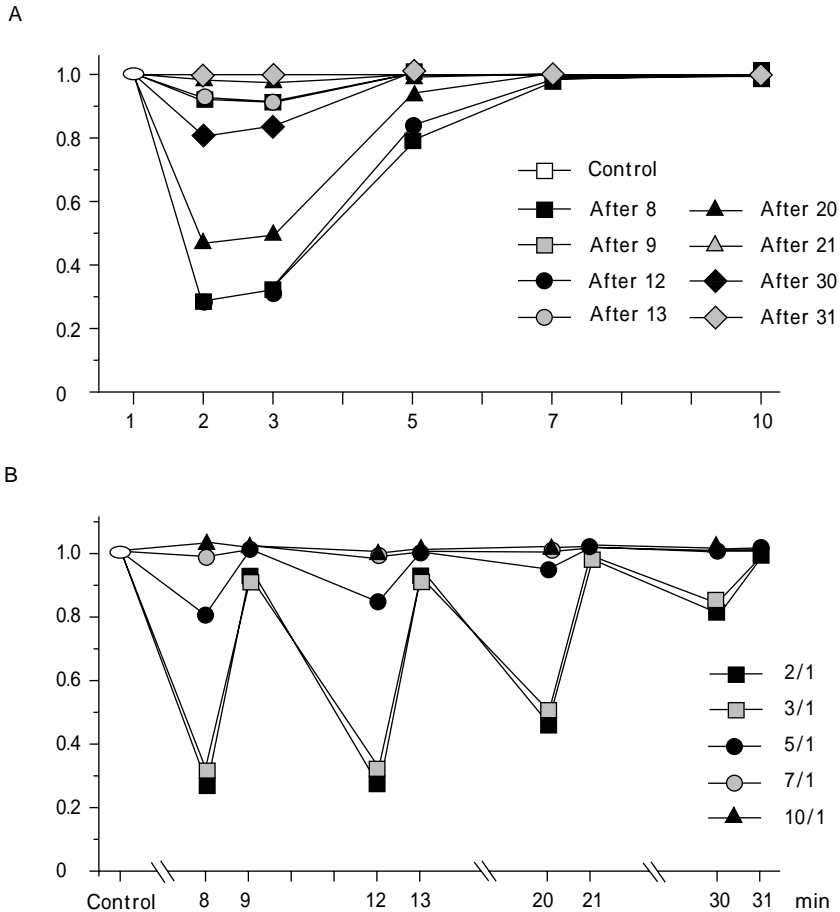


Fig. 4. Changing pattern of muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli. Data were obtained from a rat. Ratios of the other potentials to the first one were plotted against the order of stimuli and time in min after the drug treatment (0.18 mg/kg) in A and B, respectively. Note that ratios of the first potential in any time were 1.0 and represented in an open circle in A. In B, all ratios before it were about 1.0 and represented at the most left side (Control).

レセプターの脱感受性が生じやすく, Katz & Thesleff が最初に問題を提起して以来 [14], 多くの報告がある [5, 9, 17]. これらによれば, ACh が間隙に貯留している間, 終板電位や終板電流が次第に小さくなると報告されている. 我々の観察は少し異なっていた: ネオスチグミンの存在下における誘発筋電位は, たとえ一旦はひどく抑圧されても, ゆっくりコントロールレベルに回復した. また, 終板電位や終板電流の “run-down” という現象が知られており, これは脱感

受性とよく似た現象である [10, 12, 18]. しかしここでの議論は, 脱感受性に原因を求めるのではなく, 例えば, 伝達物質の放出に関わる正・負のフィードバックを念頭ににしたものである [12]. 以上の様な事を考え併せたとき, 今回の我々の結果から, 次のように主張できないだろうか: 最初の衝撃によって多量の ACh が放出されるが, ネオスチグミンによって AChE が非活性化されている条件下では ACh の分解が進まず, レセプターの多くが inactive form になるのみならず, リ

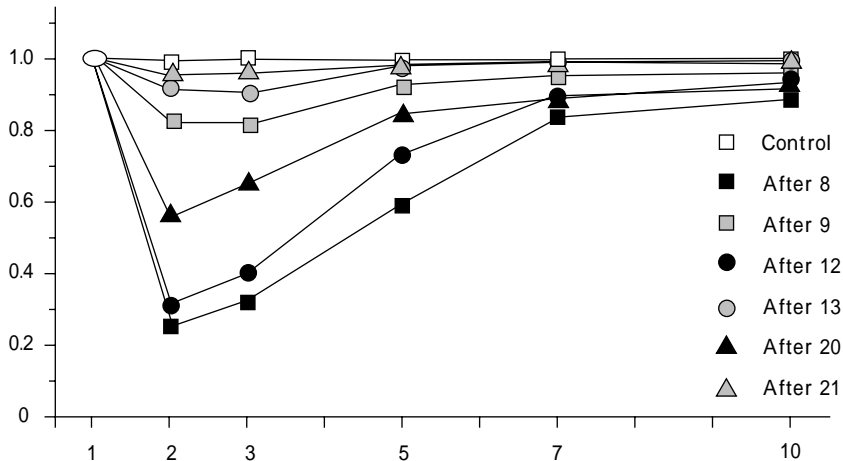


Fig. 5. Time courses of the change in muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli. In this figure, ratios were calculated using mean amplitudes obtained at various times after the injection of neostigmine as well as before it. They were plotted against the order of stimuli. For the averaging, 12 animals were used except 8 for 20 and 21 min after it.

サイクル過程がうまく機能しないため、放出可能なAChが急激に減少し、ほとんど枯渇の状態に落ち込んだのだろう。しかしAChEの非活性化に抗して、インパルス伝達に続いてリサイクル過程が活性化し、AChが短期間に補充されたと考えられる。しかもこの活性化は、1分前後の間は持続するが、2分もすれば消滅するもので、その意味において、リサイクル過程が短期記憶的に調節されているのだろう。この点に関して、もう少し議論が必要である。

AChのリサイクル過程は、神経終末に見られる局所的なシナプス小胞のリサイクル過程と考えられる[11, 23]。それ故、とりわけ光学的監視方法を利用して最近集積された、シナプス小胞のリサイクル過程に関する知見に照らして[3, 4, 15, 22, 25]、今回の実験から明らかになった三点について議論を進めよう。この光学的監視方法は、スチリル基を持った色素で活動依存的に神経終末を染色し、リサイクル過程をモニターする方法である。シナプス小胞のexocytosisを通して、神経終末からAChが放出され、endocytosisによって、コリンと一緒にこの色素が取り込まれ、リサイクルされたシナプス小胞のクラスターからなる蛍光

スポットが観察されるからである。

まず、ネオスチグミンの存在下ではしばしばバースト状の自発活動が見られる[33, 34]。それでも、1組の刺激に対する最初の誘発筋電位の大きさは、投与前とあまり変わらなかった点である。光学的監視方法によれば、刺激によって蛍光スポットが脱色されるが、シナプス小胞のexocytosisによるものである。また、これにカップルしたendocytosisも活性化される[20, 36]。逆に刺激がなければ、これらの蛍光スポットの明るさにはほとんど変化が見られない。この事から考えて、ネオスチグミンの存在下でも刺激がなければ、放出に利用されるAChはそれほど減少しなかったと言えるだろう。更には、シナプス小胞の損失とリサイクルされたシナプス小胞などからの供給とが、バランスを維持していたと言えるだろう。

第2に、2コ目に非常に抑圧された電位も、1組の刺激中にほぼコントロールレベルに回復した点である：最初の衝撃によって、一旦AChプールが枯渇に近い状態になっても、しばらくの間でシナプス小胞はAChによって再補充されたと考えられる。この点に関しては、シナプス小胞のリサイクル時間についての興味深い報告がある。

Betz and Bewick [3, 4] の最初の報告では, リサイクル時間は約60秒であった. その後, 同じ光学的監視方法や異なる方法を用い, この時間は30秒以内と報告された [25, 26, 29, 30]. 例えば, リサイクル時間は, 培養細胞を用いた実験でも相当なバラツキがあり, 時定数が3~16秒であると Stevens & Wesseling が報告している [30]. 彼等は最近, リサイクル時間の分布は重み付きの2つの指数関数の和として表され, それらの時定数は10秒と60秒であると報告している [31]. 複合電位の回復過程は, レセプターが inactive form から active form に戻る時間経過や, シナプス小胞の ACh の再補充などに要する, リサイクル時間を反映したものであろう.

最後は, 2組の刺激を1分間隔で与えた時, 誘発筋電位の経時的变化について非常に対照的なパターンが見られ, しかも可塑的な特質を示した点である. この点に関して我々は, endocytosis の時間経過に留意しなければならない. Ryan [24] も指摘するように, 放出可能なシナプス小胞プールの再補充については, endocytosis は重要な生理的過程である. この時間経過は, 時定数は20秒から60秒でゆっくりしたものであると報告されている [26, 27, 36]. 容量解析の方法から, はるかに速い endocytosis も報告されているが [21], exocytosis が終わってもかなりの時間, endocytosis が続いていると考えられる. 従って, 放出可能なシナプス小胞プールへは, リサイクルされた小胞の再補充がしばらくの間続いているのだろう. このような生体の仕組みが, 今回明らかにされた可塑的な特質を生みだしているとも考えられる.

今回の実験から強く示唆されることは, 以下のような事である. 放出可能な ACh プールが, 一旦枯渇状態になってもしばらくの間で再補充されるだろう. また, インパルス伝達に続いて ACh のリサイクル過程が活性化され, この活性化は1分前後は持続するもので, 2分あるいはそれ以上経過すればリセットされるものであろう. この意味において, ACh のリサイクル過程に短期記憶的に影響を与えるような神経機構が, 生体に備わ

っているとも考えられる.

文 献

1. Alvarez de Toledo G, Fernández-Chacón R & Fernández JM.: Release of secretory products during transient vesicle fusion. *Nature* 363 : 554-558, 1993.
2. Bennett MK & Scheller RH: A molecular description of synaptic vesicle membrane trafficking. *Ann. Rev. Biochem* 63 : 63-100, 1994.
3. Betz WJ & Bewick GS: Optical analysis of synaptic vesicle recycling at the frog neuromuscular junction. *Science* 255 : 200-203, 1992.
4. Betz WJ & Bewick GS: Optical monitoring of transmitter release and synaptic vesicle recycling at the frog neuromuscular junction. *J. Physiol* 460 : 287-309, 1993.
5. Cachelin AB & Colquhoun D: Desensitization of the acetylcholine receptor of frog end-plates measured in a vaseline-gap voltage clamp. *J. Physiol* 415 : 159-188, 1989.
6. Chow RH, von Ruden L & Neher E: Delay in vesicle fusion revealed by electrochemical monitoring of single secretory events in adrenal chromaffin cells. *Nature* 356 : 60-63, 1992.
7. Colquhoun D & Sakmann B: From muscle endplate to brain synapses: A short history of synapses and agonist-activated ion channels. *Neuron* 20 : 381-387, 1998.
8. Eccles JC: The physiology of nerve cells. Johns Hopkins Paperbacks, Baltimore, 1968.
9. Feltz A & Trautmann A: Desensitization at the frog neuromuscular junction: A biphasic process. *J. Physiol* 322 : 257-272, 1982.
10. Gibb AJ & Marshall IG: Pre- and post-junctional effects of tubocurarine and other nicotinic antagonists during repetitive stimulation in the rat. *J. Physiol* 351 : 275-297, 1984.
11. Heuser JE, Reese TS: Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J. Cell Biol* 57 : 315-344, 1973.
12. Hong SJ & Chang CC: Run-down of neuromuscular transmission during repetitive nerve activity by nicotinic antagonists is not due to desensitization of the postsynaptic receptor. *Br. J. Pharmacol* 102 : 817-822, 1991.
13. Katz B & Miledi R: The binding of acetylcholine to receptors and its removal from the synaptic cleft. *J. Physiol* 231 : 549-574, 1973.
14. Katz B & Thesleff S: A study of the 'desensitization' produced by acetylcholine at the motor end-plate. *J.*

- Physiol 138 : 63 80, 1957.
- 15 . Kuromi H & Kidokoro Y : The optically determined size of exo/endo cycling vesicle pool correlates with the quantal content at the neuromuscular junction of *Drosophila* larvae. J. Neurosci 19 : 1557 1565, 1999.
 - 16 . Maeno T & Enomoto K : Kinetic analyses of transmitter release in neuromuscular transmission. Adv. Biophys 24 : 93 122, 1988.
 - 17 . Magleby KL, Pallotta BS : A study of desensitization of acetylcholine receptors using nerve-released transmitter in the frog. J. Physiol 316 : 225 250, 1981.
 - 18 . Magleby KL & Pallotta BS & Terrar DA : The effect of (+)-tubocurarine on neuromuscular transmission during repetitive stimulation in the rat, mouse, and frog. J. Physiol 312 : 97 113, 1981.
 - 19 . Magleby KL & Terrar DA : Factors affecting the time course of decay of end-plate currents : A possible cooperative action of acetylcholine on receptors at the frog neuromuscular junction. J. Physiol 244 : 467 495, 1975
 - 20 . Neher E : Vesicle pools and Ca²⁺ microdomains : New tools for understanding their roles in neurotransmitter release. Neuron 20 : 389 399, 1998.
 - 21 . Palfrey HC & Artalejo CR : Vesicle recycling revisited : Rapid endo- cytosis may be the first step. Neuroscience 83 : 969 989, 1998.
 - 22 . Ramaswami M & Krishnan KS & Kelly RB : Intermediates in synaptic vesicle recycling revealed by optical imaging of *Drosophila* neuromuscular junctions. Neuron 13 : 363 375, 1994.
 - 23 . Robertis D : Histophysiology of synapses and neurosecretion. Pergamon Press, Oxford, 1964.
 - 24 . Ryan TA : Endocytosis at nerve terminals : Timing is everything. Neuron 17 : 1035 1037, 1996.
 - 25 . Ryan TA, Reuter H, Wendland B, Schweizer FE, Tsien RW & Smith SJ : The kinetics of synaptic vesicle recycling measured at single presynaptic boutons. Neuron 11 : 713 724, 1993.
 - 26 . Ryan TA & Smith SJ : Vesicle pool mobilization during action potential firing at hippocampal synapses. Neuron 14 : 983 989, 1995.
 - 27 . Ryan TA, Smith SJ & Reuter H : The timing of synaptic vesicle endocytosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 : 5567 5571, 1996.
 - 28 . Sakmann B & Brenner HR : Change in synaptic channel gating during neuromuscular development. Nature 276 : 401 402, 1978.
 - 29 . Stevens CF & Tsujimoto T : Estimates for the pool size of releasable quanta at a single central synapse and for the time required to refill the pool. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 : 846 849, 1995.
 - 30 . Stevens CF & Wesseling JF : Activity-dependent modulation of the rate at which synaptic vesicles become available to undergo exocytosis. Neuron 21 : 415 424, 1998.
 - 31 . Stevens CF & Wesseling JF : Identification of a novel process limiting the rate of synaptic vesicle cycling at hippocampal synapses. Neuron 24 : 1017 1028, 1999.
 - 32 . Sudhof TC & Jahn R : Proteins of synaptic vesicles involved in exocytosis and membrane recycling. Neuron 6 : 665 677, 1991.
 - 33 . Uramoto I, Miyamoto K, Watanabe K & Totsuka T : Properties of impulse transmission in the gastrocnemius muscle of developing rats in the presence of neostigmine. Electromyogr. Clin. Neurophysiol 38 : 359 365, 1998.
 - 34 . Uramoto I, Miyamoto K, Watanabe K & Totsuka T : Recycling of acetylcholine following impulse transmission in rat muscle revealed in the presence of neostigmine. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol 25 : 44 49, 1998.
 - 35 . Uramoto I, Watanabe K & Totsuka T : Recycling process of acetylcholine in the rat muscle controlled in a short-term memory manner. Electromyogr. Clin. Neurophysiol 40 : 187 192, 2000.
 - 36 . Wu LG & Betz WJ : Nerve activity but not intracellular calcium determines the time course of endocytosis at the frog neuromuscular junction. Neuron 17 : 769 779, 1996.

A Plastic Property in the Change of Rat Muscle Potentials Clarified in the Presence of Neostigmine: A Conjecture on the Recycling Process of ACh

Isao URAMOTO, Kimi WATANABE and Tsuyoshi TOTSUKA

Department of Physiology, Institute for Developmental Research,
Aichi Human Service Center, Kasugai, Aichi 480-0392, Japan

Released acetylcholine (ACh) is rapidly hydrolyzed, and choline is recaptured and re-used as available ACh for release. This elaborated recycling process of ACh was evaluated in terms of muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli in the presence and the absence of neostigmine using Wistar rats anesthetized with urethane. All potentials evoked by a set of 10 stimuli before the injection of neostigmine were similar in amplitude. The first potential recorded 8 min after it was as large as that before it. The second potential was greatly depressed, and others were gradually recovered to the control level. The recovery was attained in the 5th~7th potential in some rats while a slight depression of the 10th potential was still seen in other animals. This time course was a general pattern in the change of muscle potentials evoked by a set of 10 stimuli in the presence of neostigmine. When 10 stimuli were given 9 min after it, all potentials showed rather comparable amplitudes to the control level. Thus, another pattern was found. The two patterns were repeatedly observed within individuals: A striking contrast in the changing pattern was noted between successive two sets of 10 stimuli with an interval of one minute. The former set exerted an influence upon those muscle potentials evoked by the latter one beyond one minute or so, but this effect disappeared during the elapse of two minutes or more. This plastic property and other findings were discussed in conjunction with those evidences recently accumulated on the recycling process of ACh. A conjecture was made on the recycling process of ACh: The process would be activated following impulse transmission, and this activation would be maintained for one minute or so. In that sense, this process would be controlled in a 'short-term memory' manner and endocytosis of synaptic vesicles coupled with their exocytosis should be emphasized. In addition, releasable ACh would be restored during repetitive stimulation even if it was once depleted notably.

Key words: Recycling Process of ACh, Muscle Potential, Plastic Property, Neostigmine, 'Short-term Memory' Manner
