

## 第 26 回日本平滑筋学会総会講演抄録 (I)

会 長 岡山大学医学部教授 中 山 沃

昭和 59 年 7 月 15, 16 日 岡山プラザホテル

### 一 般 講 演

#### 内圧測定による口腔・咽頭嚥下障害の検討

岩手医科大学 第一外科学教室

渡 辺 正 敏, 簀 福 哲 彦, 旭 博 史

石 田 薫, 阿 部 正 近 藤 宗 廉

金 森 裕, 小 川 将 齊 藤 功

金 直 樹, 西 成 尚 人, 森 昌 造

#### はじめに

食道内圧測定は最近の精力的な検討によって、より正確で、優れた検査方法となってきた。そこでわれわれは Oropharyngeal dysphagia, 特に誤嚥の病態を解明する目的で、内圧測定を用いて嚥下第 2 相の検討を行っているのを報告する。

#### 対象と方法

対象は、24~35 歳の嚥下障害のない健常男性 7 名と 46~74 歳の誤嚥による嚥下障害を有する男性 9 例、女性 2 例の 11 例であった。後者の内訳は、食道癌術後 8 例、食道静脈瘤術前 1 例、Avellis 症候群 1 例、甲状腺癌術後 1 例で、嚥下障害の高度なもの 6 例、軽度なもの 5 例であった。

内圧測定の方法は、被験者は原則として 12 時間以上絶食としたあと、背臥位で行った。内圧チューブ (シャード社製, 14 Fr) は塩化ビニール製の 3 本束ねのものを使用し、全て経鼻的に食道まで挿入後、それを引き抜き、5 cm 間隔の 3 つの受圧孔の間を UES (Upper Esophageal Sphincter) に、先端を上食道、手前を咽頭へと位置するように固定した。測定は

open-tip 法で行ったが、20~30 秒間隔で 10 回前後の空嚥下を強制し、その際、水注入速度は infusion pump (Harvard 社製, Model 975) にて 1.2 ml/min とし、paper speed 100 mm/min とした多用途監視記録装置 (日本光電社製) で描記した。

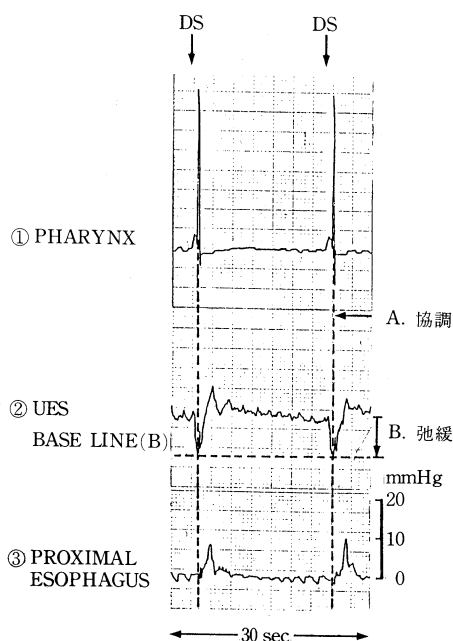


図 1a 判定方法

表 1. 対照と嚥下障害症例の内圧所見

症 例	咽 頭		U E S				咽頭収縮と UES弛緩の 時間差
	収 縮 圧	収縮時間	圧	弛 緩 圧	弛緩時間	弛緩後収縮圧	
対照・健常人 7 例	22.6mmHg (12~48)	0.7sec. (0.3~0.9)	60.7mmHg (20~90)	60.7mmHg (20~90)	1.1sec. (0.6~1.8)	17.1mmHg (11~40)	0.2sec. (0 ~0.6)
高度嚥下障害 6 例	22.6 (15~40)	1.2 (0.6~1.8)	31.3 (11~80)	21.6 ( 8~80)	1.5 (0.9~2.1)	13.9 ( 4~25)	1.0 (0 ~2.4)
軽度嚥下障害 5 例	25.9 (12~40)	0.9 (0.6~1.2)	41.1 (18~80)	41.1 (18~80)	1.6 (0.9~2.1)	18.0 (10~30)	0.5 (0.3~0.9)

mean (range)

図 1a は健常人のもので、上段より嚥下に伴う咽頭, UES, 上部食道の各内圧変化である. 計測は咽頭の収縮圧とその時間, UES の圧と弛緩圧およびその時間, UES の弛緩後収縮圧, さらに咽頭収縮と UES 弛緩の時間差などについて行った. また, 個々の症例の判定では, 咽頭収縮と UES 弛緩が一致しない場合を協調不全, その時の UES の圧下降が base line まで達しない場合を不完全弛緩とした. なお, base line は上部食道の呼吸性変動の中間点とした.

## 結 果

健常人, 高度嚥下障害症例, 軽度嚥下障害症例とに分け, 内圧所見をそれぞれの平均値と比較検討した(表 1). 咽頭収縮圧は 3 群ともほぼ同等であったが, その時間は, 健常人の 0.7 秒に対し, 高度嚥下障害症例では 1.2 秒と最も延長がみられた. UES 圧は健常人で 60.7 mmHg と最高で, 逆に高度嚥下障害症例で 31.3 mmHg と最も低値を示し, 弛緩圧でも同様の傾向がみられた. 高度嚥下障害 6 例中 5 例は不完全弛緩であった. UES の弛緩時間では, 健常人の 1.1 秒と比べ, 高度と軽度の嚥下障害症例は 1.5 秒と 1.6 秒で若干の延長を示した. また, 弛緩後収縮圧では, 健常人と軽度嚥下障害症例と比べ, 高度嚥下障害症例は 13.9 mmHg と低値であった. さらに, 咽頭収縮と UES 弛緩の時間差は, 健常人が 0.2 秒であったが, 軽度嚥下障害症例 0.5 秒, 高度嚥下障害症例 1.0 秒の順に延長がみられた. 健常人時間差の最大が 0.6 秒であったが, それより延長を示す協調不全の症例は, 高

度嚥下障害症例中 5 例, 軽度嚥下障害症例中 2 例にみられた. 個々の症例で検討すると, 高度と軽度の嚥下障害症例の全てに右か左, または両側の反回神経麻痺が存在したが, 高度嚥下障害症例では 4 例に不完全弛緩と協調不全の双方が, 他の 2 例にはそれぞれ不完全弛緩と協調不全がみられた. 図 1b は Avellis 症候群のもので, UES 弛緩と咽頭収縮のずれがあり, かつ UES 弛緩も base line に下降していない. 協調不全, 不完全弛緩と判定した. 軽度嚥下障害症例 5 例では 2 例に軽度の不完全弛緩不全がみられただけであった.

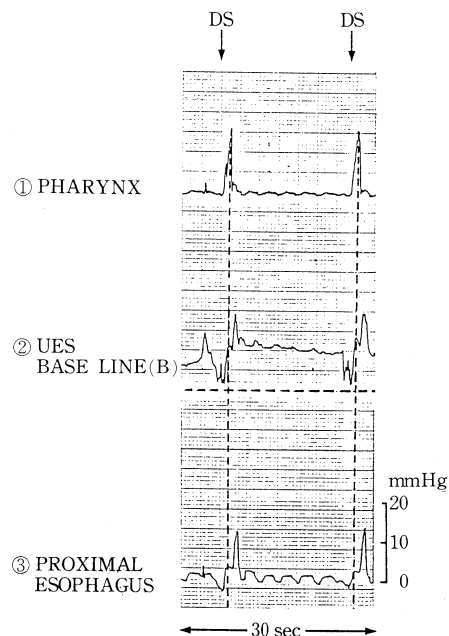


図 1b 嚥下障害高度, 左反回神経麻痺

## 考 案

Oropharyngeal dysphagia に対する内圧測定による検討は、咽頭・食道憩室での Ellis らの報告 (1969) があるが、その病態は不明な点が多い。最近では、外科手術の進歩と共に頸部、胸部疾患での拡大手術、根治性が欲求されることが多く、反回神経などの神経麻痺が生じ、術後に誤嚥で難渋する症例も少なくない。ところで、誤嚥の発生は上部食道括約筋が弛緩しないか、喉頭が閉鎖しないか、またはその両者かによることが挙げられるが、反回神経麻痺単独では誤嚥が起ることは少ないと考えられる。そこで今回は、新たに咽頭から上部食道に至る運動機能について内圧測定で検討したが、誤嚥の症例では咽頭収縮筋と上部食道括約筋の機能低下が認められた。このことは、誤嚥の多くは舌咽、迷

走神経障害を伴うことを示唆するものと思われる。

## 結 論

1. 嚥下障害症例は UES 圧が低く、弛緩の不完全なものや、咽頭収縮と UES 弛緩の一致しないものが多くみられた。
2. 嚥下内圧測定で得られた結果は、個々の嚥下障害の程度を反映すると考えられた。
3. 嚥下障害、特に誤嚥の一因として、咽頭から UES にかけての機能異常の関与が示唆された。

## 文 献

- Ellis, F.H. *et al.* (1969). Cricopharyngeal myotomy for pharyngo-esophageal diverticulum. *Ann. Surg.* **170**: 340-349.

## 食道下部昇圧帯に対する呼吸筋の影響

名古屋大学医学部 第一外科学教室

愛知県コロニー中央病院 小児外科

渡 辺 芳 夫, 伊 藤 喬 広, 長 屋 昌 宏  
山 田 昂, 石 黒 士 雄

## はじめに

私共は、噴門部の逆流防止機構を検討する目的で、従来から行われている胃と食道の引き抜き圧測定に加えて、食道と食道下部昇圧帯および胃内の連続圧測定を検討してきた。特に、食道下部昇圧帯の圧変化を正しく記録することは、胃食道逆流現象を解明するために必要である。

この部の圧構成要素として、下部食道括約筋と横隔膜が考えられている (Welch, 1982)。しかし、後者による圧変化を検討した報告はすくない。今回は、この部の圧変化について 2, 3 の知見を得たので報告する。

## 方 法

食道下部昇圧帯測定用に、バルーンセンサーを組み込んだ 5 ルーメンカテーテルを使用した (渡辺, 1983)。臨床例に外径 3 mm および実験に外径 5 mm のカテーテルを用いた。カテーテルの最も胃側の側孔を使って引き抜き圧を測定して、この部が吸気時に最大圧を示す位置を記録した。そしてバルーンセンサーの中央がこの点に来るように、外径 3 mm カテーテルは 2 cm または外径 5 mm カテーテルは 2.5 cm 抜いた位置で顔面に固定した。この際に、臨床例ではレ線写真にて食道裂孔部に、また実験犬では開腹時に横隔膜右内脚に、それぞれバルーンセンサーが位置していることを確認した。

臨床例は覚醒下に、実験犬はイソゾール麻酔

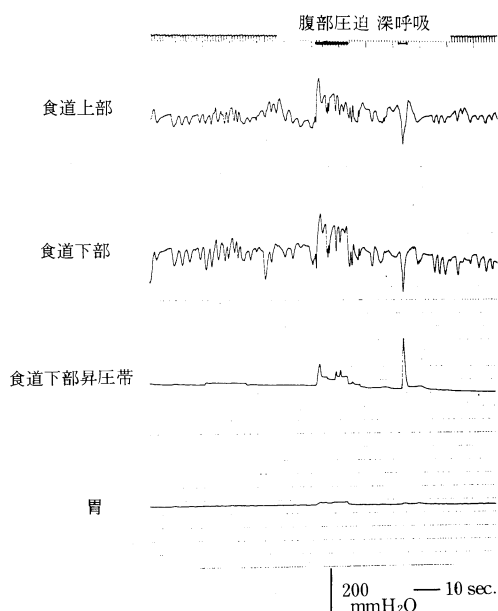


図1. 食道裂孔ヘルニア, 3歳女児: 深呼吸による食道裂孔部の圧上昇の方が, 腹圧による圧上昇より大きい。

下に測定した。

## 対 象

- 1) 臨床: 食道裂孔ヘルニア 3歳 女児
- 2) 実験: 中型雑種成犬 10頭

## 結 果

1) 臨床: 腹部圧迫時および息んだ時における食道裂孔部の圧変化と深呼吸時の同部の圧変化を比較したところ, 深呼吸時により高い圧変化を認めた(図1)。

2) 実験: a. 吃逆による食道下部昇圧帯圧の変化: 測定中に吃逆を生じた犬は3頭であった。これらの全てに食道下部昇圧帯圧のスパイク様の圧上昇を認めた。b. 食道と横隔膜右内脚の切離による食道下部昇圧帯圧の変化: 2頭に施行し, 共に食道下部昇圧帯の吸気時陽圧波の消失を認めた。c. 腹壁疼痛刺激による食道下部昇圧帯圧の変化: 3頭に施行し, 全てに食道下部昇圧帯の吸気時陽圧波の消失を認めた。d. 食道内水注入による食道下部昇圧帯圧の変化: 5頭に施行し, 全てに水注入または食道の2

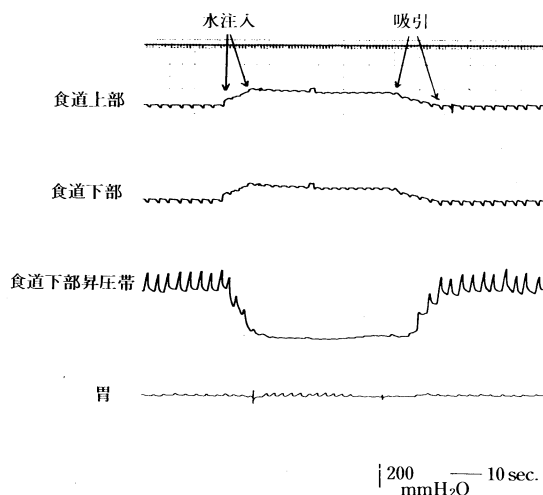


図2. 実験犬: 食道内水注入により食道下部昇圧帯の吸気時陽圧波が消失する。

次蠕動波に伴って食道下部昇圧帯の吸気時陽圧波の消失を認めた(図2)。

## 考 按

逆流防止機構として下部食道括約筋が重要と考えられているが, 横隔膜右内脚もこの機構の一要素として考えられている(石上, 1983)。この部は吸気時に食道下部昇圧帯を加圧することにより, 吸気時の逆流防止に役立つものと考えられている。しかし, この部の圧変化を経時的に捕えた報告は少ない。これは, 測定にオープンチップ法を用いているため, 狭いこの部の圧変化を縦軸方向の動きを無視して測定できないためと推測される(Harding, 1981)。

私共はこの点を考慮して, 圧センサー部の長いバルーンセンサーを用いて横隔膜右内脚による圧変化を経時的に測定した。

臨床例の検討: Habibulla (1972)の報告しているように, 食道裂孔部に深呼吸による圧上昇を認め, 横隔膜右内脚によるものと推測された。

実験的検討: 横隔膜の痙攣による吃逆により食道下部昇圧帯圧が上昇し, また腹部食道を横隔膜右内脚から切離することで吸気時陽圧波が消失した。また最近の実験で横隔膜右内脚を針電極を用いて電気刺激すると, 食道下部昇圧帯の圧の上昇を認めた。このことから, 食道下部



昇圧帯圧に横隔膜右内脚が関与していることが明らかとなった。

また、腹壁の疼痛刺激や食道内水注入により、この部の吸気時陽圧波が消失することが観察できた。これは何等かの因子が横隔膜右内脚の動きに関与することを示唆する所見と考えられた。Harding (1981)は子羊を用いた実験で、嚥下時に肋間筋と横隔膜右内脚とは異なった筋電図所見を呈したとしている。この現象は吸気時陽圧波が消失することと何等かの関係を有するものと考えられるので、さらに内圧と筋電図を用いた検討を行う予定である。

## 結 語

食道下部昇圧帯の吸気時陽圧波は横隔膜右内脚の動きを反映している。食道内水注入などの刺激により、この部の吸気時陽圧波が消失することが認められた。

## 3点(胃, LES, 食道)圧同時測定による GER 誘発検査の評価 一第2報一

名古屋大学医学部 第一外科学教室

愛知県コロニー中央病院小児外科

山 田 昂, 伊 藤 喬 広, 長 屋 昌 宏  
渡 辺 芳 夫

## はじめに

一昨年の本学会において、我々はGERの診断の一方法として、腹圧負荷時の胃、LES、食道、3点圧同時測定によるGER誘発検査について報告した。その後臨床例をふやし検討を加えた。

## 方 法

対象は小児であるため、測定は気管内挿管による全身麻酔下におこない、硫酸アトロピン等の前投薬は使用しなかった。測定用チューブは3重管を用い、測定孔を胃内、LES、下部食道内に固定し、腹部を用手的に圧迫して3点の圧変化を同時に記録した。

## 文 献

- Habibulla K.S. (1972). The diaphragm as an antireflux barrier—A manometric, oesophagoscopic, and transmucosal potential study. *Thorax* 27: 693-702.
- Harding R. and Titchen D.A. (1981). Oesophageal and diaphragmatic activity during sucking in lambs. *J. Physiol.* 321: 317-329.
- 石上浩一ら(1983). 逆流性食道炎と下部食道括約筋、胃と腸, 18: 1157-1165.
- 渡辺芳夫(1983). 小児胃・食道逆流現象に関する管腔内要因の研究(第1報). 日本平滑筋誌, 19: 423-431.
- Welch, R.W. and Gray, J.E. (1982). Influence of respiration on recording of lower esophageal sphincter pressure in humans. *Gastroenterology* 83: 590-594.

## 結果(図1)

記録できた圧変化の型を4つに分類した。

I型は非逆流例で、腹圧負荷にて胃、LES圧ともに上昇するが食道圧は変化せず、LESがbarrierとなって逆流しないことを示す。

II型はLES圧が0の例で、静止時にはLESは密閉圧によって閉鎖しており逆流はおこらないが、わずかな胃内圧の上昇によって簡単にLESは開いて逆流がおこり食道圧が上昇する。

III型はLES圧が高くても逆流する例で、食道の逆流によってLESの弛緩がおこり、圧が下降してさらに逆流しやすい状態になる。食道に蠕動がおこって逆流物がclearされるとLES圧はもとにもどる。

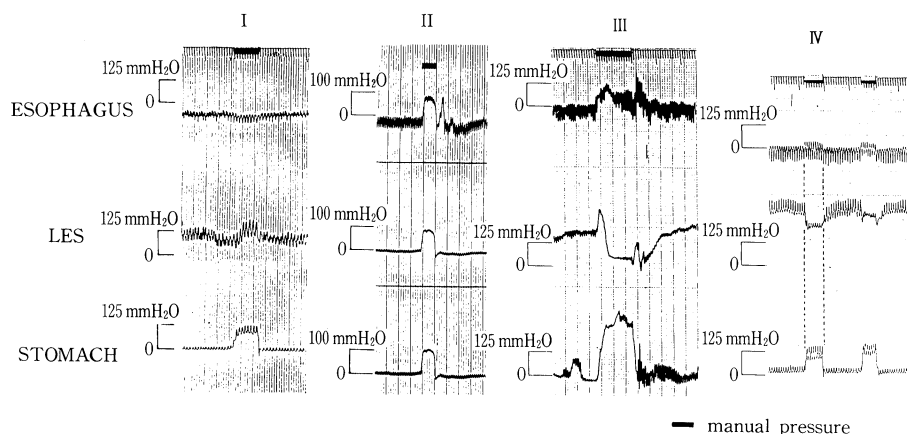


図 1.

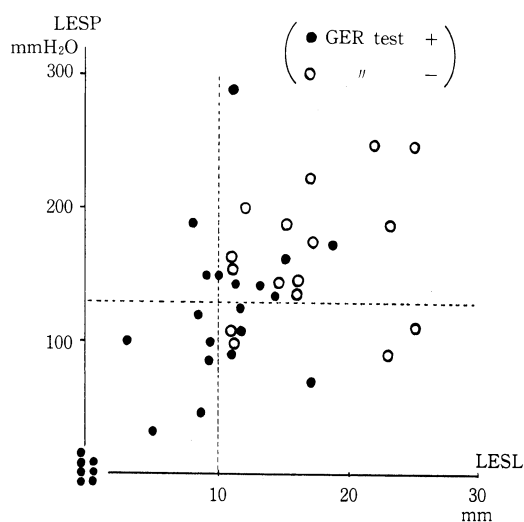


図 2.

IV型はLES静止圧が高い例で、胃内圧上昇とともに食道圧も上昇するが、LES圧は腹圧負荷時のみ上昇あるいは下降する。

この測定はいずれもside holeによって記録したが、LESの圧変化は測定部位のずれによる可能性もあり、LESの圧変化をパルセンサで測定してみたところ同様の所見をえた。

本検査を小児37例のべ42回に施行し26回の逆流を記録した。II型の逆流7回、III型11回、IV型8回であった。

図2はend hole引き抜き測定によるLES圧および幅とGERテストとの関係をグラフにプロットしたものである。我々は圧130 mmHg

以上、幅10 mm以上を正常としている。LES圧0の例は当然7例全例テスト陽性であったが、圧、幅ともに正常以下の場合も6例全例陽性であった。また、圧が130 mmHg以上であっても幅が1 cm以下の3例も陽性であった。一方、圧が130 mmHg以下でも幅が10 mm以上では8例中4例が陰性であった。しかし、両者とも正常域にあるものでも、18例中6例が陽性であった。全体としてみると、昇圧帯の貧弱なもの、特に幅が短い場合に腹圧負荷によるGERがおきやすいことが確認できた。

## 考 按

GERがおこる要素は種々あるが、内圧測定の所見から次のような状況が想定出来る。まず、昇圧帯圧が0か、またあっても低い場合で、腹圧上昇時にbarrierとならずにcommon cavityになって逆流してしまう、新生児の未熟なLESがこれにあたる。

また、LES圧があっても幅が短い場合には、管腔抵抗の減少によって逆流しやすい状態になる。先天性食道閉鎖症根治術後におきたGERにこの状態がみられた。次に、正常な昇圧帯がありながら、何らかの状況下で圧が低下し、腹圧上昇で容易に逆流がおきる場合がある。LES圧の高い小児例で、GER誘発検査は陰性であったが、硫酸アトロピンの静注によってLES圧は下降し、このときに腹圧を上昇させると逆流

がおこり, common cavity 現象を示すことを経験した。また, 食道に物が入れば LES は弛緩して圧は下がるが, 食道に蠕動がおきない場合は内容物は clear されずに弛緩は継続し, この状況下の腹圧上昇によって逆流がおきる。臨床例では食道下部の蠕動が欠如した膠原病 (SLE) の患者や先天性食道閉鎖症根治術後の患児にこの例を見た。

以上, 本検査は逆流現象を動的に捉えて記録でき, 病態の把握に役立つものと考え。

## 文 献

- Butterfield, D.G. *et al.* (1972). A test of gastroesophageal sphincter competence-the common cavity test. *Digest. Dis.* **17**: 415-421.
- Gerald, C.O. *et al.* (1982). Interaction of lower esophageal sphincter pressure and length of sphincter in the abdomen as determinants of gastroesophageal competence. *Am. J. Surg.* **143**: 40-47.
- 山田 昂他 (1982). 3 点 (食道, LES, 胃) 圧同時測定による GER 誘発検査の評価。日本平滑筋誌, **18**: 148-150.

## 噴門側胃切除後の食道胃逆流に関する実験的検討

順天堂大学医学部 第一外科学教室

市 尊 宣, 渡 部 洋 三, 津 村 秀 憲  
川 島 利 信, 小 島 一 雄, 工 藤 猛  
能 美 明 夫, 佐々木 浩, 大久保 剛  
矢 吹 清 隆, 佐 藤 浩 一, 森 本 俊 雄  
林 田 康 男, 城 所 俊

### はじめに

噴門側胃切除術 (以下噴切術) は, 術後の逆流性食道炎の発生頻度が高い。そこで逆流性食道炎の予防法としてこれまで, 食道胃吻合法や空腸挿入法の検討, さらに選択的迷走神経切離術 (以下 SPV) あるいは幽門形成術を併せ行なうことなどが検討されてきている。今回われわれはイヌを用いた慢性実験により噴切術後の食道胃逆流につき検討した。

### 実験方法

体重 12 kg 前後の雑種成犬を用い 24 時間絶食後, ネンプタール麻酔下に無菌的に開腹し近位側 1/3 の胃切除を行った。再建方法は食道胃前壁端側吻合 (7 頭) 食道胃端々吻合 (6 頭) の 2 群とした。術後 2 週以上の回復期間を置いた後以下の実験 1)~3) を麻酔下に行った。無処置犬 (7 頭) に同様の実験を行いコントロールとした。実験 1) 食道胃内圧測定; 近似外径 1.9

mm のポリエチレン管を用いた infused opentip 法 (0.5 ml/min) で, 左側臥位にて測定し, 引き抜き速度は 3 cm/min とした。実験 2) 食道胃内 pH 測定; 麻酔直後に微小ガラス電極 (富士化学計測社製) を用い, 内視鏡直視下に胃内各部, 吻合部又は下部食道括約筋 (以下 LES) 部, さらに食道内約 3 cm おきに pH を測定し記録した。同時に食道炎の有無についても観察した。実験 3) 食道胃 X 線透視; 胃内にゾンデを挿入しバリウム (33%) 150 ml および空気 80 ml を注入後, 腹臥位と背臥位にてそれぞれ水平位, 20° 頭高位, 20° 頭低位の 6 方向で X 線撮影を行ないバリウムの食道内逆流の有無, 程度を観察した。

次に無処置犬, SPV 施行犬, 幹迷走神経切離術 (以下 TV) 施行犬の胃収縮運動を伊藤 (1977) の方法に従い観察記録した。すなわち, 麻酔後無菌的に開腹し, 防水型 force transducer を噴門部, 胃体部, 胃角部, 幽門部, 幽門輪前 2 cm, 幽門輪, 十二指腸球部, 十二指腸下行脚の 8 か

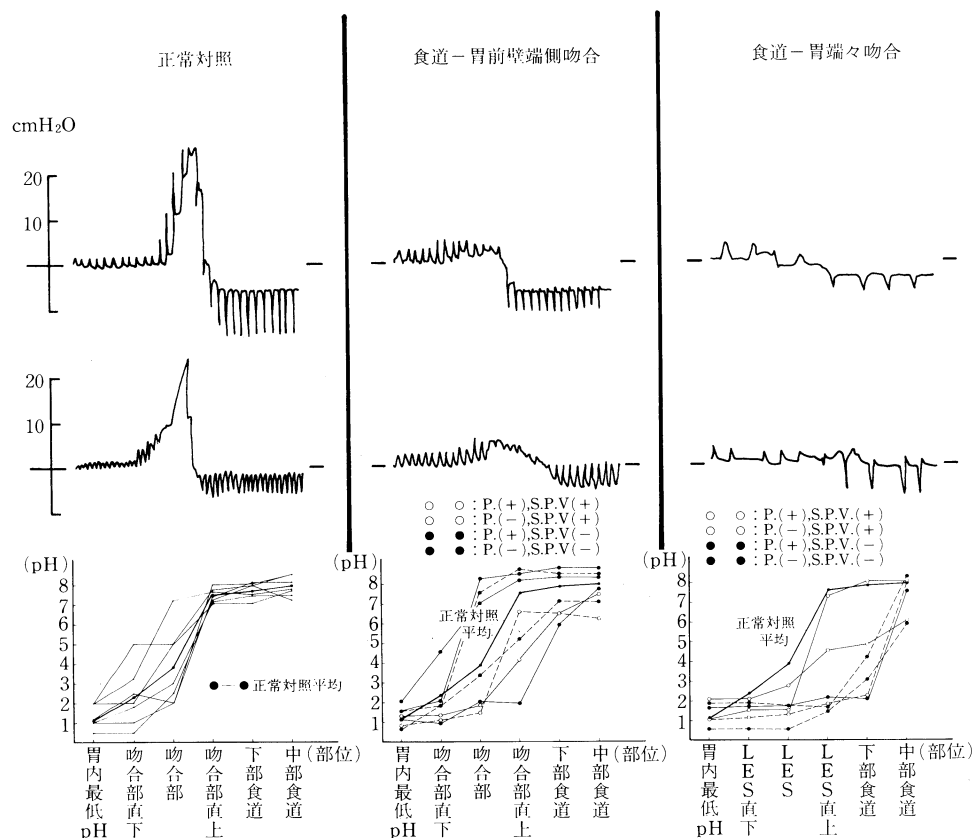


図1. 再建術式別食道胃接合部内圧波形及びpH

所に輪状筋の収縮のとれる方向に慢性縫着した。術後十分な回復期間を置いた後各部の収縮運動を意識下無拘束で観察した。さらに噴切幹迷切犬、噴切 SPV 犬でも同様に収縮運動を記録した。

以上の諸検査、記録終了後、イヌを屠殺し胃及び食道を摘出固定して、吻合部の状態、食道炎の有無、程度を組織学的に検討した。

## 結 果

### 1. 食道胃内圧変化 (図1)

端側吻合では吻合部に一致して軽度ではあるが内圧上昇部を認めるのに対し端々吻合ではごくわずかあるいは全く昇圧部を認めない例が多かった。昇圧部最高圧も端側吻合で端々吻合に比べやや高値であったが有意差は認めなかった。接合部前後の圧差は正常対照 (4.7 cmH<sub>2</sub>O) に比し両群とも約 50% (2.4 cmH<sub>2</sub>O) に減少し

ているが、端側吻合、端々吻合の両者間では差が見られなかった。

### 2. 食道胃内 pH 変化 (図1)

無処置犬では図1の如く LES を境に急激な pH 上昇を見せ、LES 直上で全例 pH 7 以上となっており胃内容の食道内逆流の無い事を示している。端側吻合ではほぼ正常に近い pH 変化を示す群の他に吻合部直上まで酸性 pH を示すものが見られたが、下部食道ではほぼ全例 pH 6 以上となっており逆流が無いが、あっても軽度であることを示唆している。端々吻合では下部食道まで酸性域に入る例がほとんどで逆流の多い事を示している。

### 3. 食道胃 X 線透視

頭低位にて端々吻合で著明な逆流が見られたが端側吻合では軽度、無処置犬では全く逆流は見られなかった。

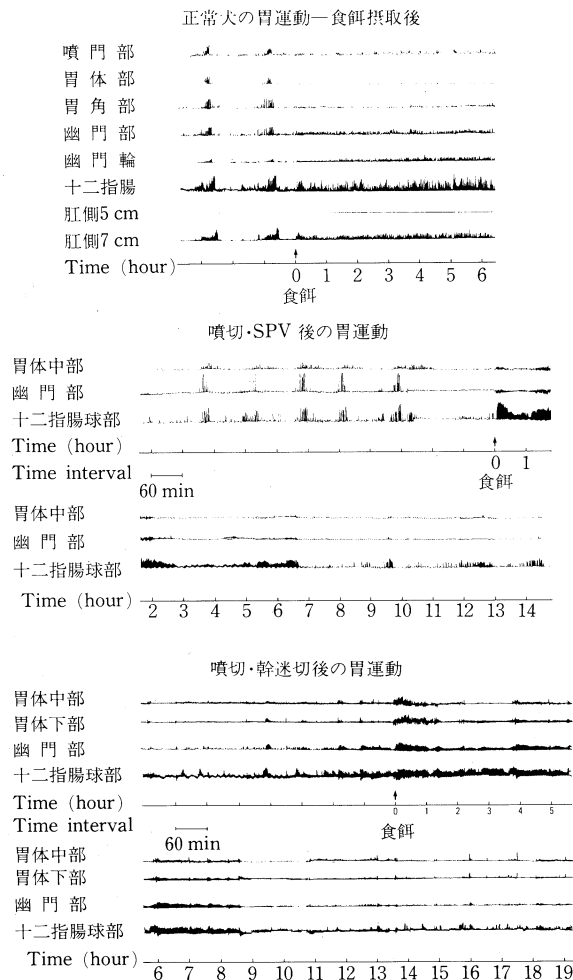


図2. 術式別胃・十二指腸各部の空腹期及び食後の収縮運動

#### 4. 残胃の運動 (図2)

SPV 後の胃運動は、日内変化の規則性及び胃十二指腸各部の互いに連けいし合った収縮運動は、正常犬のそれと比較的類似したパターンを示していた。噴切SPV 後の残胃の収縮運動も同様に正常犬と類似し interdigestive migrating contraction (IMC) の出現など日内変化、各部の連けいした運動が保たれていた。しかし、噴切幹迷切後は、残胃の日内変化は少なくさらに胃体部と幽門部の連けい及び幽門部と十二指腸球部の収縮波の連続性は見られず胃排出は高度に障害されているものと思われた。

#### 5. 組織学的検討

剖検後の組織学的検査で各術式ごとの食道炎の有無、程度を見ると、端々吻合では約50%に強度の食道炎を認めたが、端側吻合では14.3%と有意に低値であった。また、SPV 施行群では非施行群に比し食道炎の頻度、程度ともに低い傾向が見られた。

#### ま と め

1. 食道胃端側吻合では、端々吻合に比べ、術後の食道内逆流が軽度であり食道炎の発生頻度は低かった。

2. SPV の附加により、残胃の運動は比較的

正常に近い状態に保たれ、胃排出の障害も少ないため食道炎の発生を軽減出来るものと思われた。

## 文 献

- 相沢 勇ら(1977). イヌにおける胃運動の日内変化. 日本平滑筋誌, 13: 1-8.  
羽生信義(1983). 幹迷走神経切離術後のモチリン動態と胃運動様式. 胃排出に関する実験的研究. 日本

平滑筋誌, 19: 483-502.

- 伊藤 漸(1981). 空腹期における消化管の周期的活動. 日本平滑筋誌, 17: 137-145.  
城所 仂, 渡部洋三(1981). 噴門側胃切除術—食道胃端側吻合術—特に逆流防止のための工夫—, 臨床と研究, 58: 1538-1545.  
渡部洋三, 市 尊宣, 城所 仂(1984). 噴門側胃切除術における逆流防止術式の検討. 外科, 46: 597-602.

## 再建食道の運動機能とくに回結腸有茎移植に おける遠隔時の運動機能について

日本大学医学部 第三外科学教室

田 中 隆, 須 田 清 美, 河 口 忠 彦  
安 楽 励, 村 山 公, 伊 藤 新次朗  
大 沢 崇, 坂 部 孝

われわれの教室では食道癌手術を約 460 例経験しているが、再建方法では主として胸壁前食道再建を行なっている。良性疾患を含めた胸壁前食道再建を術式別にみると大部分は食道胃吻合であり、一部の症例とくに食道癌の分割手術および by-pass 手術には食道回結腸吻合即ち回腸末端を含む右半結腸の有茎移植による食道再建を行なっている。症例数はわずか 10 例であるが、術後の運動機能面から優れた術式であると考え種々検討を加えている。今回は胸壁前食道胃吻合と対比して種々検索したので報告する。

### I. 各術式の術後愁訴について

胸壁前食道胃吻合、胸腔内食道胃吻合、食道空腸吻合などの運動機能と関係ある術後愁訴を 6 ヶ月以内、1 年以上に分けて検討すると、胸壁前食道胃吻合では食道炎症状が 4.7%, 20%, 空気誤飲による愁訴が 8.2%, 12% と多いようであり、食道回結腸吻合ではこれらの愁訴が全くないことが判った。これに反して胸腔内吻合では食道炎症状 (39%, 36%) と通過障害 (22%, 29%) が多いようで、この点からも回結腸吻合

が良いことが判る。以上のような症例に対し、再建食道の運動機能について、同一症例の経時的変化を観察した。検査項目は間接連続撮影、映画撮影、食道内圧曲線、pH 曲線などであるが、今回は間接連続撮影による polisography, 食道内圧, pH 曲線の成績を中心に報告する。

### II. 胸壁前食道胃吻合の症例について

25 症例の間接連続撮影を検討した。方法は 50 ml のバリウム服用後 5 秒間隔で撮影し polisogram による変化を検討してみると、術後 3 カ月前後では下部胃管にわずかな収縮がみられる症例が多い。これらの大部分は停滞感を訴えている症例である。以上の症例に対し食道内圧, pH 曲線を測定してみると胸壁前食道胃管の静止圧はやや上昇し、嚥下圧は殆んど認められず、食物はただ静力学的に落下しているだけである。また pH 曲線では胃管は Slope type (傾斜型) であり、各部位での逆流試験の所見からも容易に食道内に逆流することを示しており、これらの症例はこのことから迎臥位で口内逆流、誤飲の危険があるわけである。

### III. 胸壁前食道回結腸吻合の症例について

長期観察例はわずか3例であるが、うち2例が15年を経過しているのでその2症例を中心に検討した。

症例1. 32歳の女性で、本術式を行ない16年を経過した症例であるが、術後6ヶ月、5年、15年と連続撮影によるpolisogramで検討した、いずれの時期にも回結腸の蠕動がみとめられ、所謂esophagesationの所見は認められない。本例では腹腔内で結腸が屈曲しており、この部分で1~2分の停滞がみられ、その後胃内に流入し丁度重複胃の形態を呈しているが愁訴は全くない。

症例2は45歳の男性で、症例1と同様術後15年を経過している。本例も退院時、術後2年、4年、10年、15年とpolisogramで検討しているが、術後4年で回腸の蠕動がや減弱しており、また10年、15年では回腸蠕動は消失している。しかし結腸とくに腹腔内の結腸の蠕動はみとめられ、約1分間の停滞で胃内に流入しているようで、この例もesophagesationは認められない。図1が本例の術後4年の食道内圧、pH曲線であるが、最上段の静止圧曲線ではBauhin弁の

部に約10 cmH<sub>2</sub>Oの昇圧帯がみられ、中段のpH曲線ではsteep type（急峻型）を示しており、下段の逆流試験でもBauhin弁では逆流のないことを示している。

### IV. 実験成績

以上の臨床成績の裏付けとして犬を用いて有茎回結腸におけるBauhin弁の機能についての実験を行なった。まず回腸末端および上行結腸にバルンを挿入してその内圧を測定、盲腸部に水を注入し注入量、注入時間、注入圧を種々変化させてBauhin弁での逆流防止機能を検討した。その結果Bauhin弁の逆流はこれら注入量、注入圧などのすべてに関係しているが実際には約25 mmHg以上の圧が加はらないと逆流はみられないことを示しており、生理的には結腸下部を圧迫しておき、盲腸部を急激に圧迫しない限り逆流はおきないことになる。以上のような生理機能があるが回結腸の移腸片を作製した場合、またこの腸管を胸壁前に挙上した場合のBauhin弁の機能の変化を検討したが、図2に示すように有茎腸管の作製だけではBauhin弁での昇圧帯は余り変化なく、胸壁前に挙上すると15 cmH<sub>2</sub>Oと軽度の低下がみられるのみで

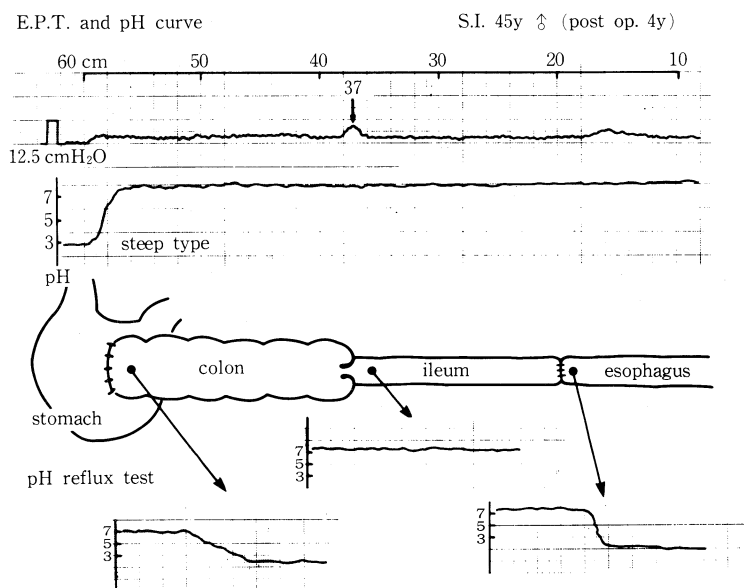


図1. Antesternal Esophago-ileocolostomy

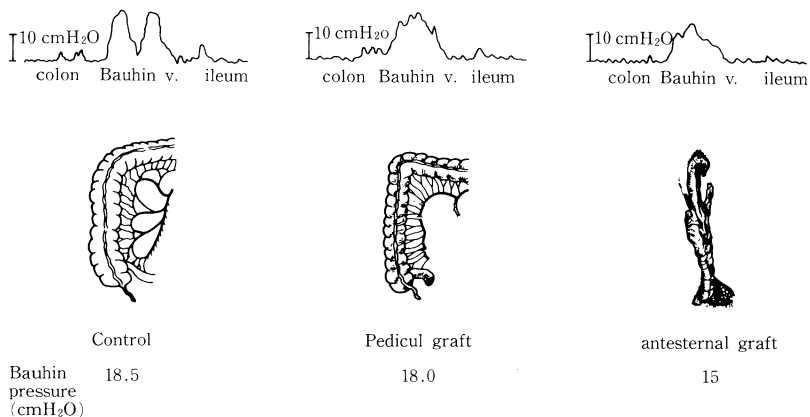


図 2. Resting pressure of the ileo colic graft

逆流防止機能は殆んど変化のない結果が得られている。

以上胸壁前回結腸移植による食道再建術の運動機能について、食道胃吻合と対比して検討報告したが、本術式は手術の煩雑さはあるが機能的には他の術式より優れた方法であると考えられる。

## 文 献

- 高橋秀昭ほか(1976). 大腸運動の映像工学的観察, 日本平滑筋誌 12: 258-260.  
 田中 隆(1976). 食道内圧 pH 曲線よりみた噴門機能異常, 日本平滑筋誌 12: 189-192.  
 田中 隆(1984). 回結腸有茎移植による食道再建術, 外科治療 51: 715-720.

## パラシュート型電極による食道アカラシア症例の 食道筋電図の検討

千葉大学医学部 第二外科学教室

阮 逸 功, 平 嶋 毅, 原 輝 彦  
 桜 庭 庸 悦, 紅 谷 明, 大 宮 安紀彦  
 佐 藤 博

### はじめに

食道アカラシア症例の病態を筋電図学的に検討する目的で、われわれが考案した管内誘導法パラシュート型白金双電極装置を用い、食道内圧および筋電図を同時に記録し検討した。

### 対象 および 方法

検査対象は当科で経験した食道アカラシア症例のうち、筋電図学的検討を行なった 13 例である。年齢は 29 から 70 歳にわたり平均 48.5 歳

で、性別は男性 5 例、女性 8 例である。

X線分類では Sp 型 I 度 3 例, Sp II 4 例, F II 1 例, S II 2 例, S III 3 例であった。内圧分類では嚥下により陽性波の出現する A 型は Sp 型 I 度 3 例, Sp II 3 例, F II 1 例, S II 2 例, S III 1 例の計 10 例である。陽性波の出現しない B 型は Sp II 1 例, S III 2 例の計 3 例である。

検査方法は患者を 12 時間絶食させたのち、経鼻的に電極装置を挿入し、食道静止時および空嚥下時の内圧変化と筋電図を同時に記録した。測定条件は high cut off, 時定数 0.03 秒とし



た。食道各部位における筋放電の出現頻度を以下の如く分類し、検討した。20秒間に2つの筋放電を見るものを(+), 3つのものを(#+), 4つ以上に見られるものを(##)とした。

## 結 果

I. 静止時筋放電：正常例ではほとんど自発放電を認めなかったが食道アカラシア症例ではX線拡張型、拡張度分類に関係なく自発放電が出現し、また内圧分類A型、B型にも関係なく自発放電が認められた(図1, 2)。食道各部位における自発放電の出現頻度は上部食道では(+) 8例、(#+) 3例、(##) 4例、また下部食道では(+) 2例、(#+) 5例、(##) 6例であり、上部食道では(+) が、中部と下部食道では(#+) および(##) が多く見られた。

II. 空嚥下時筋放電：正常例では伝播放電が内圧陽性波の直前に表われ、内圧変化と同様に上部食道より順次出現し、一回の空嚥下について一回の伝播放電を認める場合が大部分である。食道アカラシア症例の食道筋放電はSp I症例を除きX線拡張型、拡張度に関係なく伝播せ

ず、不規則でかつくりかえしている。また、内圧分類ではA型のみならず、陽性波の出現しないB型でも筋放電が認められた(図1, 2)。

食道各部位における筋放電の出現頻度は、上部食道では(+) 7例、(#+) 3例、(##) 3例、中部食道では(+) 2例、(#+) 6例、(##) 5例、また下部食道では(+) 2例、(#+) 4例、(##) 7例であり、静止時と同様に上部食道では(+) が、中部、下部食道では(#+) および(##) が多く見られた。

## 考 案

著者(1983)は臨床応用を目的とした管内誘導法によるパラシュート型白金双極電極を考案した。本電極を用い食道アカラシア症例について筋電図学的に検討した。加藤(1970)はW型環状双極電極を用い、経口的に正常例および食道アカラシア症例の筋電図を検討している。これによれば正常例について静止時では稀に反覆自発放電が認められ、空嚥下時では規則的に上部から下部へ順次出現する伝播放電が認められたと述べていたがこれはわれわれの結果とほぼ

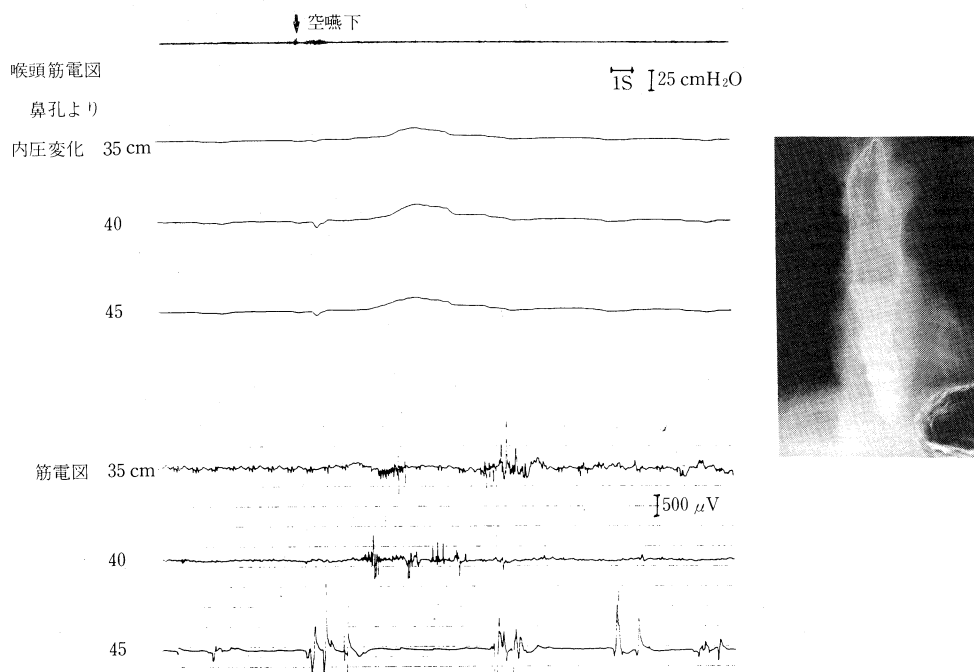


図1. 食道アカラシア症例の内圧・筋電図。 M.N. 52歳男；Sp II, A, 10年

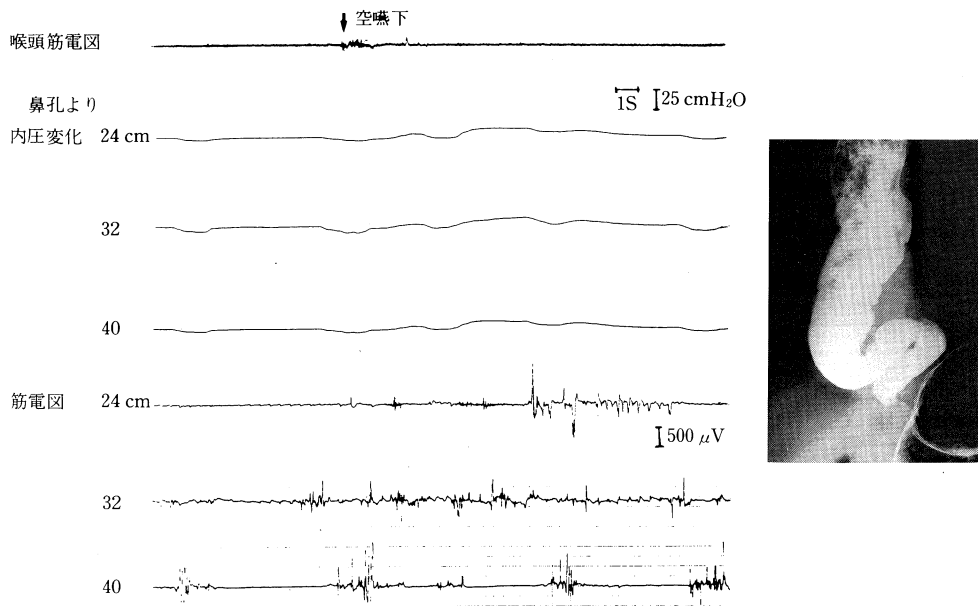


図2. 食道アカラシア症例の内圧・筋電図. T.H. 51歳女; S III, B, 37年

同様であった。しかし食道アカラシア症例については、静止時では自発放電を認めず、空嚥下時では正常例にくらべ弱い伝播放電が認められるとしているが、われわれの13例の検討では静止時でも全例に自発放電を認め、また空嚥下時ではSp I症例を除き伝播放電が出現せず、不規則な反覆放電がB型の症例でも認められた。

## 文 献

- 阮 逸功(1983). バラシュート型電極による管内誘導食道筋電図. 日本平滑筋誌 19: 176-178.  
加藤邦二(1970). ヒト食道運動の筋電図学的研究. 日耳鼻会報 73: 501-540.

## コンピューターによる小児下部食道 pH 検査解析の試み

千葉大学付属病院 小児外科

岩 井 潤, 高 橋 英 世, 真 家 雅 彦  
青 柳 博

## 目 的

下部食道 pH 測定は、噴内機能異常による胃食道逆流現象に対する検査法として有用な方法である。そのデーターの解析にあたっては従来は用手測定で行っていたため、短時間の逆流が頻発する症例では、正確な計測が困難で、しかも、多大な労力を要した。これらの点を改善するため我々は最近コンピューターを用い、デ-

ターの採取の自動制御化と、データ解析の自動化をはかり良好な結果を得たので、今後の課題も含め報告する。

## 対 象

短時間・頻回の胃食道逆流現象を示す肥厚性幽門狭窄症(術前)例 33 例。うち 24 例は従来法で、9 例をコンピューター法にて 24 時間下部食道 pH 検査を行い、ジョンソンらの基準に準

じ pH スコアを算出し比較検討した。

### 方法 (図1)

従来法では、データーは、増幅後、記録器(三栄・バームコーダー)の記録紙上に直接記録した。紙送り速度は 60 mm/hr とした。

一方、コンピューター法では、信号を増幅後、A-D 変換器 (H-P 社製 3478A Multimeter) にて A-D 変換を行ったのち、インターフェイス (EPSON 社 GP-2000) 及び、コンピューター (EPSON 社, HP-20) を介し、データファイル (EPSON 社, TF-20) に収録される。この過程は全てコンピューターにより自動的に制御される。この際、サンプリング間隔は 2 秒及び 6 秒とした。又、pH 電極は ME 社製 MI # 502, 外径 1.6 mm を用いた。

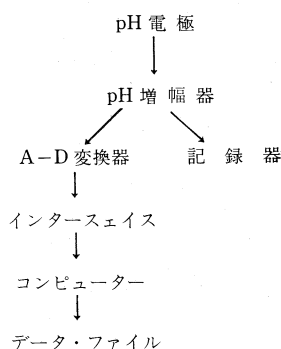


図1. 小児部下食道 pH 検査——データ採取法  
——(千大 小児外科 1984.7)

### 結果 及び 考察

両解析法による pH スコアの平均を比較すると、従来法では 45.1, コンピューター法では 56.1 (サンプリング間隔=6 秒), 87.6 (サンプリング間隔=2 秒) と、従来法よりコンピューター法で高い傾向にあった。この原因を pH スコアの各項目別についてみると、総逆流回数のスコアの差 (17.6 対 23.1) によっていることがわかった。コンピューター法では総逆流回数の平均 202.9 回/24 hr 中, 94.9 回/24 hr (46.9%) が, 30 秒以下の逆流であり、従来法では、この様な短時間の識別は困難であり、その結果このような違いが生じると考えられた。そこで、コンピューター法で、サンプリング間隔を 1 秒として 120 分計測を行い、記録された逆流を持続時間別に分類してみると (表 1), 持続 1 秒の逆流が、計 70 回, 2 秒が 24 回, 以下図の如くで、コンピューター法によると、ごく短時間の逆流の分布についても分析できることがわかった。

次にコンピューター法におけるサンプリング間隔の違いが pH スコアに及ぼす影響について検討した。同一症例にて同一データを 2 秒及び 6 秒毎にサンプリングし、解析した。

pH スコアは夫々 87.6 と 76.7 で、これは総逆流回数のスコアの差 (44.0 と 32.8) であることがわかった。両者にて、30 秒以上の逆流の回数は違っていないことから、これはより持続の短い逆流の回数の差が生じるためと考えられた。すなわち、コンピューター法では、サンプ

表 1. 小児下部食道 pH 検査 (コンピューター法)——持続時間別逆流回数

症例	逆流持続時間 (t): (秒)							30秒以下 合計	総回数
	1	2	3	4	5	6	6<t≤30		
1	21	9	2	5	1	6	8	52	54
2	21	6	3	0	5	1	6	42	52
3	8	5	1	1	2	0	8	25	35
4	20	4	5	5	1	0	20	55	68
5	0	0	0	0	0	0	5	5	9
計	70	24	11	11	9	7	49	179	218

サンプリング間隔: 1 秒

(千大 小児外科 1984. 7.)

リング間隔を短くすることにより、より持続の短い逆流も測定し得る(前述)ことに起因していると思われた。ところが、これらの短時間の逆流について、データを実際にグラフ化して検討すると、必ずしも、全てが典型的な逆流とは言えなかった。又、我々が用いている小児用 pH 電極は径が 1.6 mm で、応答性が必ずしも良く

ないこと(60% 応答に約 5 sec かかる: 自験)を考え合わせれば、サンプリング間隔は必ずしも 1 秒或は 2 秒と細い必要のないことも考えられた。

今後は、この点をふまえ、さらに新しいスコアリング方法の基準設定も含め、検討したいと考えている。

## イヌの食道伸展刺激による膵液外分泌反射

川崎医科大学 第二生理学教室

古 川 直 裕, 岡 田 博 匡

前回私達はイヌの食道の伸展刺激によって唾液分泌が著明に高進し、この反射が迷走神経を求心路とし、副交感神経を遠心路として発現することを報告した(岡田ら, 1983)。今回は、さらに食道の伸展刺激によって膵液外分泌に促進および抑制の二様の反射が発現することを見出したので報告する。

### 方 法

実験には chloralose 麻酔(70 mg/kg)イヌ 30 頭、除脳イヌ 15 頭を用い、ガラミン投与、人工呼吸下に実験した。胃液の十二指腸への排出による二次的影響を避けるため、胃幽門括約部は粘膜下に結紮した。胃体部と胃前庭部の運動描記用として輪状方向にそれぞれ strain gage を縫着した。また食道の伸展には頸部より胸部食道に 6 cm 長のバルーンを挿入した。副膵管は結紮し、主膵管よりの滴数(1 滴 0.01 ml)を記録した。また分光光度計を用い波長 280 nm での吸光度を測定し蛋白濃度を求め、膵液酵素分泌の指標とした。また、膵液 0.1 ml に 1/10 N HCl 1 ml を加え、煮沸後冷却し、自動滴定装置により 1/10 N NaOH で pH 7 まで逆滴定して重炭酸イオン濃度を求めた。なお、膵液分泌量の極めて少ない動物では secretin (0.1~0.2 U/kg/h) を静脈内に持続投与した。胸部迷走神経切断は横隔膜上で行った。

### 結 果

#### 1. 食道伸展刺激による膵液分泌促進効果

10~90 ml, 5~30 分間の食道伸展刺激によって 147 例中 79 例で膵液分泌量の増加が認められた。対照値の平均は 41  $\mu$ l/5 分で、刺激により 61  $\mu$ l/5 分に増加し、平均で 70% の増加を来した。促進反応の潜時は 1~5 分で、ほとんどの例で刺激停止後 2~3 分で元に戻った。麻酔イヌでの 1 例が図 1 に示される。食道の 40~70 ml の伸展刺激により膵液分泌が刺激強度に応じて増加している。食道伸展刺激により膵液分泌量の増加した例では蛋白分泌量、重炭酸イオン分泌量も共に増加した。対照値の蛋白量の平均は 18 例で 4.9 mg/5 分、重炭酸イオン量の平均は 13 例で 8.6  $\mu$ Eq/5 分であり、刺激によりそれぞれ 8.6 mg/5 分、14.2  $\mu$ Eq/5 分に増加した。増加率は平均で 80%, 302% であった。

#### 2. 食道伸展刺激による膵液分泌抑制効果

同様の食道伸展刺激により 147 例中 68 例では膵液分泌の抑制が認められた(図 2 上段)。抑制反射の潜時は 1~7 分であった。促進効果が刺激停止後 2~3 分で消失したのに対し、抑制効果は前者より長く持続する傾向があった。著明な例では 40 分にも及んだ。食道伸展刺激で膵液分泌量の減少した例では蛋白分泌量、重炭酸イオン分泌量もともに減少した。膵液分泌量は 68 例で平均 23%, 蛋白分泌量は 14 例で平均 46%,

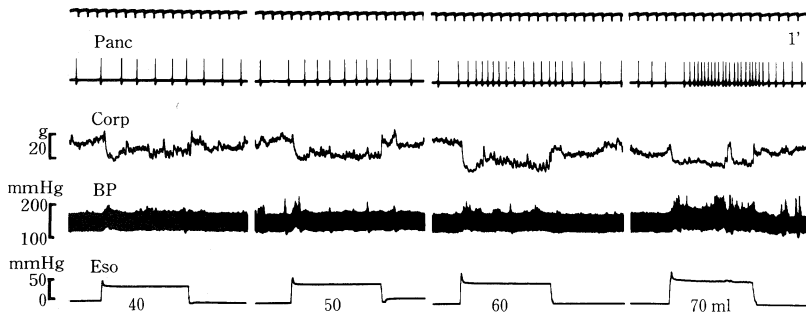


図1. 食道伸展刺激による膵液外分泌促進効果。

麻酔イヌ。曲線は上より時標/分, 膵液分泌, 胃体部の運動, 大腿動脈圧, 食道内圧, 迷走神経は健在。

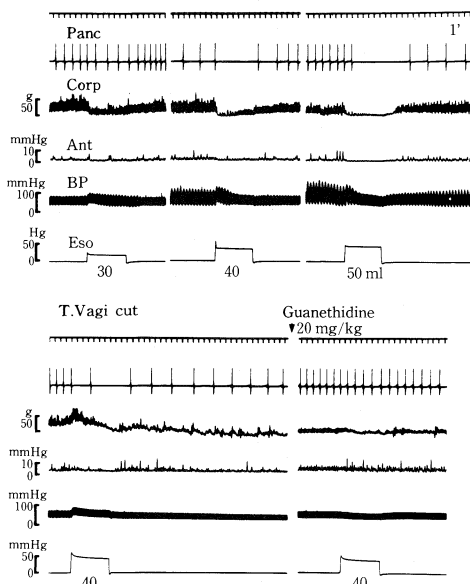


図2. 食道伸展刺激による膵液外分泌抑制効果と胸部迷走神経切断および guanethidine 投与の効果。

麻酔イヌ。secretin を持続投与。

上段: 迷走神経健在。

下段左: 胸部迷走神経切断後, secretin 投与量を増加している。

下段右: guanethidine (20 mg/kg) 投与後 20 分での食道伸展刺激の効果。

曲線上より 4 段目は胃前庭部の運動。他は図 1 と同じ。

さらに両副腎の結紮により抑制効果は完全に消失した。

重炭酸イオン分泌量は 14 例で平均 33% の減少を示した。

3. 胸部迷走神経切断, および atropine 投与後の食道伸展刺激の効果

胸部迷走神経切断 19 例, atropine 投与 10 例においては, 食道伸展刺激で膵液分泌にほとんど変化がないか, 抑制効果のみが現れた (図 2 下段左)。膵液分泌量は 29 例で平均 27%, 蛋白分泌量は 15 例で平均 22%, 重炭酸イオン分泌量は 10 例で平均 30% 減少した。また guanethidine (20 mg/kg) を投与した後には (3 例), 食道伸展による抑制効果はかなり減弱され (図 2 下段右), さらに両側副腎摘出後には完全に消失した。また, 両側大小内臓神経切断により抑制効果は消失した。

## 考 察

無麻酔, 意識下のイヌで胃体部 (White ら, 1960) および胃幽門部 (Debas ら, 1978) の伸展刺激によって, 迷走神経を求心・遠心路とする膵液分泌促進反射が報告されている。今回の実験により食道から膵液分泌反射の存在が初めて明らかにされた。食道伸展刺激による膵液外分泌促進反射は胸部迷走神経切断, あるいは atropine の投与後にはまったく消失することから, その遠心路も迷走神経である。また, 血清 gastrin 値を 14 例で測定したが, 膵液分泌量との相関はまったく得られなかった。促進反射の潜時が短いこと, 刺激停止後効果は速やかに消失することから, 体液性の因子は考えにくい。他方, 抑制効果は迷走神経切断後にも発現し, 内臓神経の切断により消失することから, 後者を遠心路とする反射である。内臓神経の膵液外分泌に対する影響に関しては促進と抑制の両様の

効果が報告されている (Fujii ら, 1982; Elisha ら, 1984)。しかし, 今回の実験では内臓神経を遠心路とした膵液分泌促進反射はまったく認められなかった。また, guanethidine 投与と副腎摘出の両処置により抑制効果が完全に消失することから, 抑制効果には交感神経の膵臓に対する直接作用のほかに, 副腎からの catecholamine の放出増加が一部関与すると考えられる。

## 結 論

イヌで食道の伸展刺激により, 迷走神経を求心・遠心路とした膵液外分泌促進反射と, 内臓神経を遠心路とした膵液外分泌抑制反射が発現することが明らかにされた。

## 文 献

- Debas, H.T. and Yamagishi, T. (1978). Evidence for pyloropancreatic reflex for pancreatic exocrine secretion. *Am. J. Physiol.* **234**: E468-E471.
- Elisha, E.E., Hutson, D. and Scratcherd, T. (1984). The direct inhibition of pancreatic electrolyte secretion by noradrenaline in the isolated perfused cat pancreas. *J. Physiol.* **351**: 77-85.
- Fujii, K., Ueda, T. and Takasugi, S. (1982). Mechanism of excitation of pancreatic external secretion caused by splanchnic nerve stimulation in dog. *J. Physiol. Soc. Japan.* **44**: 476.
- 岡田博匡, 古川直裕 (1983). イヌ食道, 胃伸展刺激による顎下腺支配副交感神経活動の変化と唾液分泌. *日本平滑筋誌*. **19**: 211-214.
- White, T.T., Lundh, G. and Magee, G.F. (1960). Evidence for the existence of a gastropancreatic reflex. *Am. J. Physiol.* **198**: 725-728.

## イヌ腎杯・腎盂境界部 pacemaker 活動に対する 腎神経の直接促進作用

鳥取大学医学部 第二生理学教室

白 石 義 光, 渡 辺 貴, 中 尾 召 三  
及 川 俊 彦

鳥取大学医学部 泌尿器科学教室

福 田 和 夫

## はじめに

腎盂・尿管蠕動運動の pacemaker が腎杯・腎盂境界部に存在することは, 摘出腎・尿管標本を用いた小林 (1965), 森田 (1978) らの実験から, 現在ではほぼ定説とされている。さらに腎神経刺激により, 腎盂内圧収縮性変動間隔および腎盂・上部尿管筋電図放電の間隔が短縮 (頻度増加) することから, 腎神経は pacemaker, 腎盂, 上部尿管などの活動に対して直接促進作用を及ぼすことを著者らは先に示唆した (福田ら, 1982)。本実験では, 非摘出イヌ腎において金属微小電極を用い, 腎実質を貫き腎杯・腎盂

境界部へ刺入して記録した pacemaker 放電に対する腎神経刺激の直接効果を調べた。

## 方 法

雑種成犬 7 頭を用い, pentobarbital sodium 麻酔下に, 左側の腎, 尿管および腎神経を無傷のまま後腹膜内に露出した。腎杯・腎盂境界部 pacemaker 放電を単極性に誘導するため, 弾性を有するステンレス鍼針表面をカシュー塗料で絶縁塗装し, 先端を約 200  $\mu\text{m}$  露出させて作成した電極 (直径 250  $\mu\text{m}$ , 電極抵抗 40-60 k $\Omega$ ) を使用し, 腎実質を貫いて刺入した。上部尿管筋電図は釣針製双極電極で誘導した。pacemaker

放電の記録には時定数 2 秒と 0.01 秒の、尿管筋電図の記録には時定数 0.01 秒の AC 増幅器を使用した。腎盂内圧は、腎盂内に留置したカテーテルから低圧用トランスデューサーに導き、下部尿管から排出される尿は滴数計に導き、パルス状電気信号に変換した。これらの筋電図、腎盂内圧、尿滴数をポリグラフを用いて同時記録した。腎神経の電気刺激は、切断末梢端にて持続 1 ミリ秒、電圧 5-50 V、50 Hz の反復矩形波を用い 20 秒間行なった。実験終了後、pacemaker 放電記録電極を通じて 150  $\mu$ A の陰性電流を通電し、電極先端に electrolytic lesion を作り、連続組織切片において記録部位の検索を行なった。

## 結 果

(1) 図 1 は、腎盂内圧曲線 (RPP) と腎杯・腎盂境界部 pacemaker 放電 (PD-1~3) と上部尿管筋電図 (EUG-U) および下部尿管からの排出尿滴数 (U-DROPS) を低速 (A)、高速 (B) で同時記録したものを示す。腎盂内圧には圧の上昇と下降を繰返す規則的変動が認められる。腎杯・腎盂境界部から単極性に誘導し、時定数 0.01 秒の AC 増幅器で記録したこれら 3 カ所からの pacemaker 放電は、いずれも陰性一陽

性の 2 相性電位を示した。時定数を大きくして 2 秒とすると、これらの pacemaker 放電は緩徐な陰性の振れの相とこれに続く比較的急峻な回復相およびその直後の小さい陽性の振れの相よりなる規則的電位で、小林(1965)、森田(1978)らが摘出標本において記録した pacemaker 電位と本質的に同じ波形を示した。さらにこれらの pacemaker 放電は腎盂内圧の収縮性圧上昇の開始時点 (B における垂直点線) より明らかに先行して出現することより、pacemaker 放電であることがわかった。pacemaker 放電が腎盂内圧上昇開始時点より先行していることは、この放電間隔がたまたま変動した際に、これと腎盂内圧変動波との対応関係を調べることによって確かめられた。これらの放電は、動物の自発呼吸や腎動脈の拍動による腎の動きの影響をうけずに長時間安定記録できた。放電振幅は 40-300  $\mu$ V、放電間隔はイヌごとに、また状態によりやや異なり、2.5-6.9 秒であった。

(2) 図 2 は切断した腎神経の末梢端(腎側端)に反復性パルスによる電気刺激を加えたときの効果を示す。腎盂内圧は収縮圧、拡張圧、これらの差である脈圧ともに刺激開始直後から比較的急激に低下して、刺激終了後に最低値(下向き矢印)となり、その後徐々に刺激前の状態に

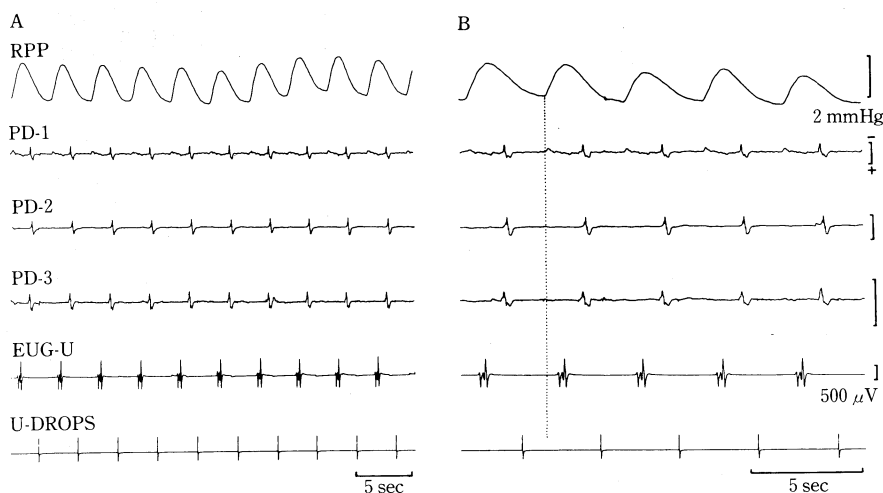


図 1. 腎神経刺激前における腎盂内圧 (RPP)、腎杯・腎盂境界部 pacemaker 放電 (PD-1~3)、上部尿管筋電図 (EUG-U)、下部尿管から排出された尿滴数 (U-DROPS) の同時記録。A: 紙送り速度 5 mm/秒, B: 紙送り速度 10 mm/秒。B の点線は腎盂内圧の収縮性圧上昇の開始時点を示す。

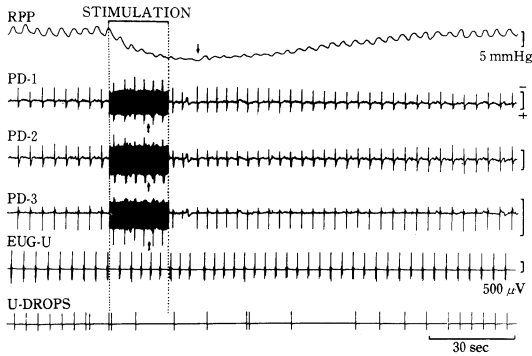


図2. 腎神経の刺激効果

図1と同一例, 刺激は持続1ミリ秒の連続矩形波, 50 Hz, 25 V. 腎盂内圧曲線(RPP)における下向き矢印は圧最低値の時点, pacemaker 放電(PD-1~3)における上向き矢印は放電間隔最短の時点を示す.

復帰している. この変化は福田ら(1982)の報告と同様である. これに対し, pacemaker 放電の間隔も刺激開始とともに短縮するが, 刺激途中にすでに最短値(上向き矢印)となり, この時点は腎盂内圧最低値の時点より明らかに先行していた.

(3) 上述のように特徴的波形を示し, 腎盂内圧上昇開始時点より先行して出現することから pacemaker 放電と考えられた放電の記録部位を実験終了後検索した結果, これらはすべて腎

杯あるいは腎杯・腎盂境界部に存在した.

### 考察 および 結語

我々は, 非摘出腎において, 呼吸性動揺と腎動脈拍動による動きがありながらも, 金属微小電極を用い, pacemaker 放電を安定して記録することができた. この放電記録部位は腎杯あるいは腎杯・腎盂境界部に存在し, 摘出標本で調べられた pacemaker 部位と同じであった. 腎神経刺激により pacemaker 放電の間隔は短縮し, その最短値の時点は腎盂内圧が最低値となる時点より明らかに先行していたことから, pacemaker 放電間隔短縮は腎盂内圧変化による二次的な結果でなく, 腎神経の pacemaker 自身に対する直接促進作用であることが確認された.

### 文 献

- 福田和夫ら(1982). 腎盂・尿管活動に対する腎神経の促進作用. 日本平滑筋誌 18: 295-297.
- 小林 惇(1965). 輸尿管の興奮発生とその伝導. 生体の科学 16: 177-185.
- 森田 隆(1978). 腎盂筋電図と腎盂内圧変動の同時記録による犬腎盂 pacemaker activity とその伝播に関する研究. 日泌尿会誌 69: 304-314.

### 上部尿路組織中 c-AMP 含有量について

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

近 藤 俊, 佐 伯 英 明, 森 田 隆

### 結 言

1958年, Sutherland による c-AMP の発見以来, この物質が細胞機能発現のための messenger として働くことが多くの研究によって確認されている (Sutherland *et al.*, 1958). 一方, 最近の *in vitro* の筋電図学的研究から, 尿管蠕動は腎杯腎盂移行部の pacemaker に初発した興奮が, 腎盂尿管に伝播して生起することが示唆されている (Morita *et al.*, 1981). そこ

で, 私達は pacemaker 部と pacemaker 部以外の上部尿路組織内の c-AMP 含有量を測定して, pacemaker 部位とそれより下位と上部尿路平滑筋組織の活動性の違いを生化学的に検討し若干の知見を得たので報告する.

### 実験方法

雑種成犬(体重 5~10 kg) 3 頭から摘出した 6 個の腎尿管を用いた. 即ち, pancuronium bromide 0.1 mg/kg を静注し, ただちに腹部正中切



開を行い腎尿管を摘出した。摘出した腎尿管から可及的短時間で、腎杯、腎杯腎盂移行部、腎盂、腎盂尿管移行部、上部尿管、中部尿管、下部尿管の7個所の上部尿路組織標本を氷生食中で切り出し、液体窒素中で瞬間的に凍結した。各標本の重量は約50~100 mg wet weightであった。凍結した標本は、perchloric acid (PCA) 1 mlを加えて、ポリトロン®でホモゲナイズし、4℃、3,000 rpmで10分間遠心した。沈殿はLowry法による組織蛋白含有量測定に供した (Lowry *et al.*, 1951)。得られた上清は60% KOHで中和し、さらに4℃、3,000 rpmで10分間遠心して、得られた上清100  $\mu$ l中のc-AMP量をヤマササイクリック AMP アッセイキット (ヤマサ醤油 株)を用いてRIA法で測定した。

## 結 果

表1に、各部位の単位蛋白重量当たりのc-AMP含有量を示す。また、各部位で得られたそれぞれ6つの値から最高と最低を除いて、残った4つの値から平均値と標準偏差を算出してグラフに示す (図1)。上部尿路組織中c-AMP含有量は腎杯腎盂移行部と上部尿管において他の部位に比してより高い傾向がみられるが、t検定では各部位間において有意差は認められないことが判明した。

## 考 察

c-AMPが細胞機能発現のための messenger

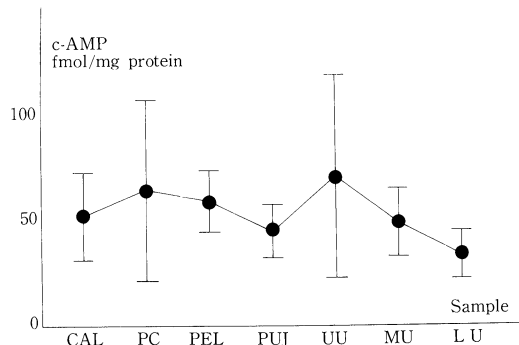


図1. 上部尿路組織中C-AMP含有量。

であることは現在多くの研究によって確認されており、細胞の活動に際してその細胞内でc-AMPが増量すると考えられている。また、筋電図学的研究で示唆されている如く、腎杯腎盂移行部に尿管蠕動のpacemakerが存在するとすれば、その部位の細胞は高いactivityを有していることが考えられ、他の上部尿路組織の細胞に比してc-AMPの含有量が高いことが推察される。しかし、今回の実験で得られた結果では、上部尿路組織各部でc-AMPの含有量には差違は認められなかった。このことから、少なくとも、receptor刺激を行わない通常の状態では上部尿路組織はどの部位でもその活動性に顕著な差はみられないものと思われる。しかし、c-AMPはその代謝動態の面からはコンパートメントセオリー<sup>4)</sup>が考えられており、c-AMPの細胞内での増加は組織中よりも血液中でより著明に反映される事実 (Saitoh *et al.*, 1976) を考え合わせれば、仮にpacemaker部でc-AMP

表1. 上部尿路組織中c-AMP含有量

Region	Cyclic AMP content (fmol/mg protein)						mean $\pm$ SD (n=4)
	Sample 1	2	3	4	5	6	
Calyx	31.71	(100.00)	37.50	50.00	83.33	(14.58)	50.64 $\pm$ 20.00
Pelviccalyceal junction (PC)	37.50	133.33	(22.09)	(175.00)	55.55	25.00	62.86 $\pm$ 42.19
Pelvis	66.66	76.19	41.18	(233.33)	46.30	(13.73)	57.58 $\pm$ 14.36
Pelviureteral junction (PUJ)	39.29	( 58.33)	35.00	53.85	46.15	(15.55)	43.57 $\pm$ 7.14
Upper ureter	30.30	(166.66)	50.00	46.66	150.00	(18.66)	69.24 $\pm$ 47.22
Mid ureter	23.33	55.56	46.47	(214.29)	65.00	(19.23)	47.64 $\pm$ 15.46
Lower ureter	23.33	23.81	33.33	(104.55)	50.00	(15.38)	32.62 $\pm$ 10.80

の上昇があったとしても、組織中濃度には反映されにくいことも考えられ、今後さらに、receptor 刺激による検討が必要と思われる。

## 結 語

上部尿路平滑筋の活動を組織内 c-AMP 含有量という点から検討した。このような検討は未だ報告されておらず、今後、receptor 刺激時の詳細な検討が必要と考えられた。

## 文 献

Lowry, O.H. *et al.* (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.

Morita, T., Ishizuka, G. and Tsuchida, S. (1981). Initiation and propagation of stimulus from the renal pelvic pacemaker in pig kidney. *Invest. Urol.* **19**: 157-160.

Saitoh, Y. *et al.* (1976). Evaluation of a new  $\beta$ -adrenergic blocking agent, carteolol, based on metabolic response in rats. II. Blockade by carteolol of the epinephrine- and isoproterenol-induced increase of tissue and blood cyclic AMP in vivo. *Biochem. Pharmacol.* **25**: 1843-1849.

Sutherland, E.W., Rall, T.W. (1958). Fractionation and characterization of cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J. Biol. Chem.* **232**: 1077-1091.

## 上部尿路カテコールアミン含有量について ——特に正常腎盂尿管と水腎盂尿管の含有量

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

西 本 正, 森 田 隆, 近 藤 俊  
堂 北 忍, 能 登 宏 光, 大 矢 晃  
原 田 忠, 土 田 正義

十和田泌尿器科

木 村 行 雄

## はじめに

組織学的には腎盂尿管にはアドレナリン作動性神経終末の存在が確認されているが、交感神経が腎盂尿管機能に対して果たす役割について、現在のところ一定の結論は得られていない。第 25 回日本平滑筋学会総会において、正常上部尿路組織内カテコールアミン含有量をブタノール抽出法、高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器を用いて検討した結果、腎杯腎盂尿管の部位によってノルアドレナリン濃度に有意差を認め、特に腎杯が最も高く、交感神経終末は腎杯に有意に多いと考えられることを報告した。今回は下部尿管を結紮した場合と尿管口粘膜を結紮した場合の 2 種の実験的水腎盂尿

管を作製し、その際の上部尿路組織内カテコールアミン含有量を測定した。

## 実験方法

雑種成犬を用い、pancuronium bromide 0.1 mg/kg を静脈内投与し、イヌを非動化してから両側の腎盂尿管を腎臓を含めて膀胱尿管移行部まで一塊として摘出した。摘出した腎、尿管を冷却しながら実体顕微鏡下に腎杯腎盂を被っている腎実質、血管および微小血管を含む脂肪組織、結合組織を除去して外膜の血管を除去した上部尿路標本を作製した。標本の採取部位は腎杯、腎盂、腎盂尿管移行部、上部尿管および膀胱尿管移行部とした。

水腎盂尿管の作製は pentobarbital 25 mg/

kg 静脈内麻酔下に総腸骨動脈交叉で左尿管を結紮した。結紮2日後, 1週間後, 1ヵ月後に各部位に分けて標本を採取した。尿管を結紮した水腎盂尿管では結紮操作による神経変性がおこることが考えられるので (Aung-Khin, 1973), 左尿管口粘膜を結紮して別に水腎盂尿管を作製した。結紮2日後, 1週間後に標本を採取した。いずれも右腎盂尿管をコントロールとした。

組織内カテコールアミンはn-ブタノールで抽出し, 高速液体クロマトグラフィーと電気化学検出器の組み合わせにより測定した (Sasa & Blank, 1979; Isikawa & McGauch, 1982)。

## 結 果

外膜血管を除去した正常上部尿路組織のノルアドレナリン濃度は腎杯が最も高く, 腎盂, 腎盂尿管移行部と順次低下するが, 上部尿管, 下部尿管と濃度が上昇して腎盂に近い値となった。腎杯と腎盂, 腎盂と腎盂尿管移行部, 腎盂尿管移行部と上部尿管, 上部尿管と下部尿管の間には有意差を認めたが下部尿管と膀胱尿管移行部の間には有意差を認めなかった。アドレナリン濃度は各部位間に有意差を認めなかった。ドーパミン濃度はノルアドレナリン濃度と同様の傾向を認めたが, 各部位間に有意差はなかった。また各部位のカテコールアミン濃度には左右差がなく, 左右の腎盂尿管の重量比はほぼ1であった。

下部尿管を結紮した場合, 各時期の水腎盂尿管のノルアドレナリン濃度はコントロールに比べ著明に低下した。結紮部より近位では腎杯のノルアドレナリン濃度が他の部位に比べ有意に高い濃度を示した。コントロールと水腎盂尿管の平均重量比は2日後1.6, 1週間後2.8, 1ヵ月後5.2と時間の経過とともに増加したが, ノルアドレナリン濃度の低下は組織重量の増加に比例して低下せず, むしろ1ヵ月後の水腎盂尿管の総ノルアドレナリン量はコントロールのそれと同程度と考えられた。

尿管口粘膜を結紮して水腎盂尿管を作製した場合, ノルアドレナリン濃度は各部位でコントロールに比し, 低下はするが腎杯では尿管より明らかに低下度が低く, 腎杯の濃度変化が少なかった。また時間の経過につれて濃度が低下する傾向を示した。コントロールと水腎盂尿管の平均重量比は2日後1.4, 1週間後2.9であった。

## 考 察

アドレナリン作動性神経終末におけるノルアドレナリン含有量は神経線維内ノルアドレナリン含有量の数百倍といわれ, 組織内ノルアドレナリン含有量は交感神経末端の分布の粗密とほぼ比例すると考えられている。私達の測定結果は腎杯が尿管に比べ有意にノルアドレナリン濃度が高く, アドレナリン作動性神経終末の分布が腎杯に近いほど密であることを示唆するものであり, この分布は腎杯に発生した微小蠕動収縮を高率よく尿管まで伝播させるために都合のよい神経分布であると考えられる。

一方, 水腎盂尿管ではノルアドレナリン濃度よりみると, 正常に比し交感神経終末の密度が低下すると考えられる。この際でも腎杯が尿管に比し, 交感神経終末が温存される傾向を示している。

## 文 献

- Aung-Khin, M. (1973). The innervation of the ureter in experimental open hydronephrosis. *Invest. Urol.* **10**: 379-386.
- Ishikawa, K. and McGauch, J.L. (1982). Simultaneous determination of monoamine transmitters, precursors and metabolites in a single mouse brain. *J. Chromatogr.* **229**: 35-46.
- Sasa, S. and Blank, C.L. (1979). Simultaneous determination of noradrenaline, dopamine, and serotonin in brain tissue by high-pressure liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta* **104**: 29-45.

## 尿量増加時における尿管蠕動頻度と bolus 量の変化について

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

佐伯 英明, 森田 隆, 西本 正  
近藤 俊, 高橋 徳男, 土田 正義  
守屋 至, 佐々木 秀平

### 緒 言

尿量の変化に応じて尿管の輸送尿量も変化し、尿全体が尿円柱となる極めて多尿の状態を除けば、尿管の輸送尿量は蠕動頻度と1回の蠕動で運ばれる bolus 量とで決定される。しかし、尿量を連続して変化させることによって、尿管蠕動頻度はどのように変化するのか、1回 bolus 量はどうなるのかといった尿管の尿輸送に関する基本的な問題は未だ完全には解明されていない。

そこで、尿管蠕動頻度と bolus 量に特に注目して、尿量増加時の尿管蠕動を詳細に検討し、若干の知見を得たので報告する。

### 実験方法

実験模式図を図1に示す。体重 9-15 kg の雑種成犬 16 頭を対象として thiamylal sodium 15 mg/kg で導入し、pancuronium bromide 1 mg で非動化した。呼吸は respirator で管理した。腹部正中切開を行い、右尿管を結紮し、左尿管のみを実験対象とした。尿管膀胱移行部から 2 cm 上部で、5 F 尿管カテーテルを腎盂側に 2 cm 挿入し、drop counter に接続した。尿管筋電図は白金双極電極を用い、管外誘導法で左尿管中部の位置で測定し、amplifier で増幅した後に、drop counter の信号と共に polygraph に記録した。

尿量を増加させた時の尿管の反応が、尿量の絶対値によって、また、尿量増加の程度によって異なるかどうかを検討するために、生理食塩水の点滴静注のみによって、乏尿から漸次尿量を増加させて多尿となり、尿円柱を形成した場

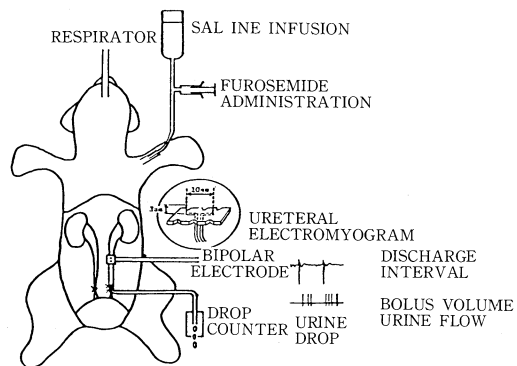


図1. 実験模式図

合 (A群) と、furosemide 0.4 mg/kg を静注して急速に尿量を増加させた場合に大別し、さらに、急速利尿群を furosemide 投与時の尿量に応じて、尿量 0.2 ml/分未満 (B群)、0.2-1.0 ml/分 (C群)、1.0 ml/分以上 (D群) に分け、4 群各々4 頭を用いた。

### 結 果

実験結果を図2に示す。尿量増加が緩やかな場合 (A群) には、最初に蠕動頻度の増加が起こり、次いで bolus 量が増加し、bolus 量がある充分な量に達すると蠕動頻度は逆に減少して尿量増加に反応し、尿量がさらに増加してくると再度蠕動頻度が増加するといった様式で尿管が尿量増加に対応した。また、尿円柱形成時の尿量及び限界 bolus 量は4 頭各々について、尿量 4.60 ml/分、5.50 ml/分、5.10 ml/分、4.30 ml/分で、限界 bolus 量 0.580 ml、0.365 ml、0.506 ml、0.322 ml であった。

急速利尿群では、尿量が毎分 1.0 ml 未満の場合

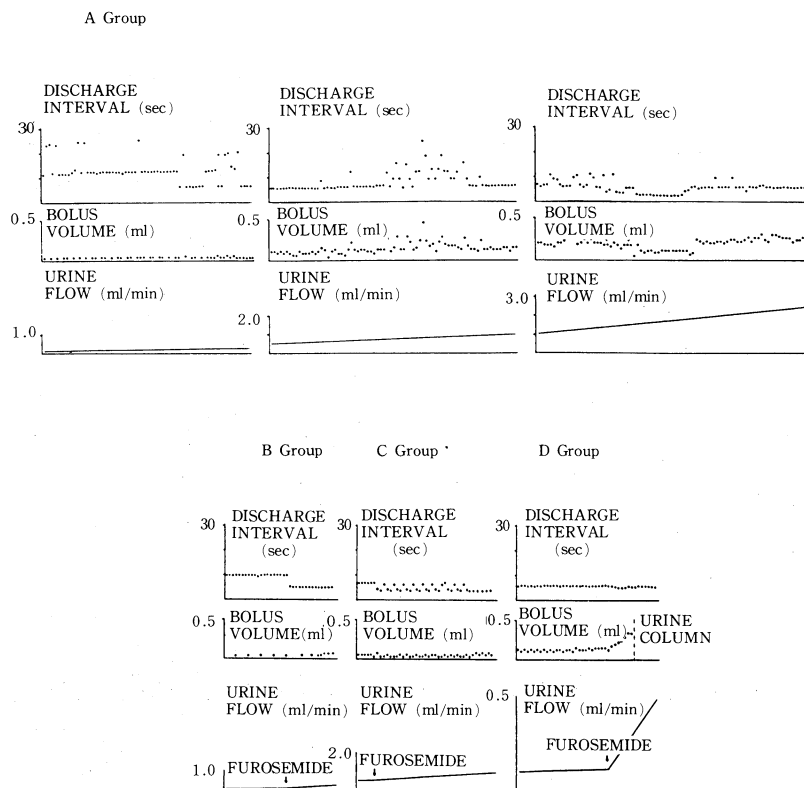


図2. 尿量増加時の尿管蠕動放電間隔と bolus 量の変化.

合 (B群, C群), 蠕動頻度は furosemide 投与直後から急激に増加し, 一方, bolus 量は最初不変かあるいは逆に一時的に減少するが, 比較的短時間に急激に増加して尿量に対応した. 尿量が毎分 1.0 ml/分以上の場合 (D群) では furosemide 投与によってももはや蠕動頻度は増加せず, bolus 量のみが急激に増加した. D群の4頭の尿円柱形成時の尿量及び限界 bolus 量は各々, 尿量 3.60 ml/分, 2.40 ml/分, 2.80 ml/分, 3.40 ml/分で, bolus 量 0.322 ml, 0.138 ml, 0.207 ml, 0.184 ml であった.

## 考 察

これまで尿管の尿量増加時における反応はまず最初に蠕動頻度が増加し, しかる後に bolus 量が増加するものと単純に考えられてきたが (久保, 1982), 尿管は尿量増加の緩急の違いによって, あるいは尿量の程度によって異なった反応を示し, また, 蠕動頻度や bolus 量が一時的

にせよ減少する場合もあることが判明した.

尿管の蠕動頻度と bolus 量に着目した結果, 尿量増加時には尿管は I 型: 頻度増加・bolus 量減少, II 型: 頻度増加・bolus 量不変, III 型: 頻度増加・bolus 量増加, IV 型: 頻度不変・bolus 量増加, V 型: 頻度減少・bolus 量増加の5つの反応様式をとりうるということがわかった. 漸次利尿群では5つの型のすべてをとって尿量増加に対応し, 一方, 急速利尿群では全過程を通じて V 型をとることはなかった.

森田 (1978) は尿管蠕動頻度は, 尿量に関係なく一定である腎杯腎盂境界部の pacemaker の頻度を越えることはないと報告している. 尿管蠕動頻度は乏尿時毎分 3-6 回, 多尿時毎分 20 回前後であり, 数倍程度の増加にとどまったが, bolus 量は乏尿時 0.006 ml で多尿時 0.580 ml と実に 100 倍も大きくなりうるということがわかった. また, 限界 bolus 量は漸次利尿群の方が急速利尿群に比較して大きい結果を得た. 以上から, 効

率良い尿輸送は bolus 量が担っており、急速利尿は尿管をいち早く 1 本の円柱にさせて受動的尿輸送をきたすといえる。

## 結 語

本実験から 1) 尿管は尿量増加の緩急と尿量の程度に応じて異った蠕動動態をとること、2) bolus 量が実は尿輸送上重要な役割を担っていること、3) 尿量増加時の尿管は蠕動頻度と

bolus 量の要素からみて 5 つの反応様式のいずれかをとることが判明した。

## 文 献

- 久保 隆(1982), 尿管運動と尿搬送, 日泌尿会誌 73: 1528-1530  
 森田 隆(1978), 腎盂筋電図と腎盂内圧変動の同時記録による犬腎盂 pacemaker activity とその伝播に関する研究, 日泌尿会誌 69: 304-314

## 急性尿管完全閉塞時の尿管動態および腎組織酸素分圧の推移上部尿路機能に関する研究 (第 22 報)

岩手医科大学医学部 泌尿器科学教室

佐々木 英 夫, 松 井 傑, 続 多香子  
 清 野 耕 治, 船 木 広 英, 新 里 滋  
 青 木 光, 佐久間 芳 文, 鈴木 信 行  
 赤 坂 俊 幸, 久 保 隆, 大 堀 勉

## 緒 言

上部尿路における尿搬送に、腎盂尿管の蠕動が大きな役割を果たしていることや、尿管は臨床並びに実験的に利尿状態、手術侵襲及び V.U.R 発生等により異なった蠕動を示すことを、私共はこれまで種々報告してきた。今回、私共は、尿管完全閉塞急性時の尿管動態及び腎循環動態を解明する目的で、雑種成犬を用いて尿路内圧、尿管筋電図及び酸素電極法による腎組織酸素分圧の経時的変動を観察したので、その成績を報告する。

## 実験方法

雑種成犬 14 頭を使用し、サイアミラルソディウムの静脈麻酔下に、経腹膜に腎、尿管を露出した。両尿管を膀胱近接部で切断してカテーテルを挿入、結紮固定し、尿量及び尿路内圧の測定に使用した。左側尿管中央部には尿管筋電図記録用の白金製双極電極をおき、プリアンプを経てレコーダーに連結した。両腎へは酸素電極法による組織酸素分圧測定のため、電極

を皮質には 5 mm、髓質には 15 mm の深さに刺入固定した。酸素電極からの脱分極電流は、高感度直流用プリアンプを介して尿路内圧、尿管筋電図と同じレコーダーで記録した。

尿管閉塞前には、対照として尿量と尿管筋電図及び腎組織酸素分圧を約 30 分間測定した。その後、尿管筋電図と腎組織酸素分圧の測定を継続しながら、尿管へ挿入したカテーテルをトランスジューサーに接続して尿管完全閉塞状態とし、以後の尿路内圧、尿管筋電図及び酸素分圧の推移を 6 時間観察した。

## 実験成績

対照時の尿管非閉塞状態での尿量は、 $0.47 \pm 0.28$  ml/5 分、尿管放電頻度は  $7.7 \pm 3.4$  回/分、腎組織酸素分圧は皮質が  $201.6 \pm 110.4 \mu V$ 、髓質が  $376.1 \pm 101.8 \mu V$  であった。

尿管放電頻度は、閉塞開始と同時に経時的に増加して、1 分で  $12.3 \pm 6.6$  回/分、2 分で  $16.3 \pm 8.2$  回/分と 3 分までは急速な増加を認め、10 分で最高値  $23.9 \pm 5.0$  回/分を示した以後からは有意の変動なく推移した。60 分以後は

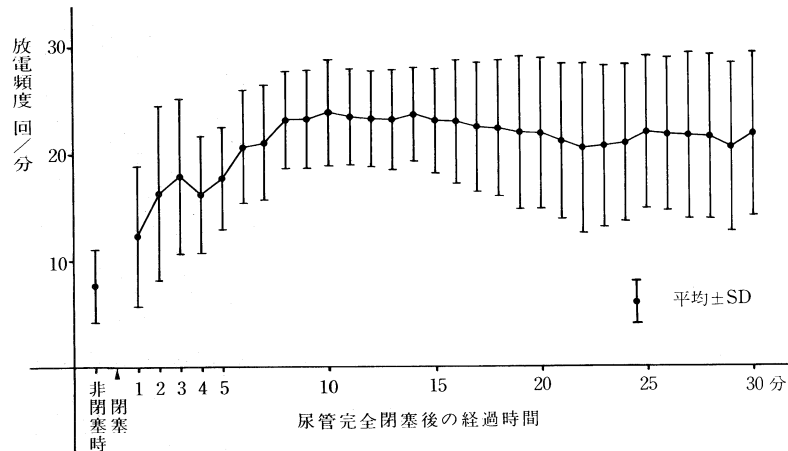


図1. 尿管完全閉塞後の尿管蠕動放電頻度の推移。

徐々に減少したが、最低値を示した30分でも  $13.7 \pm 7.2$  回/分と非閉塞時の約2倍であった。360分の経過中に尿管放電の消失を認めた例はなかった。

尿路内圧の推移では、静止圧は30分までは上昇が緩徐であるが、その後は60分で  $38.9 \pm 13.5$  cmH<sub>2</sub>O、90分で  $68.5 \pm 19.2$  cmH<sub>2</sub>O と急上昇し、更に150分まで  $84.2 \pm 12.5$  cmH<sub>2</sub>O と上昇した以後はほぼ横ばいとなった。収縮圧は閉塞直後には平均50 cmH<sub>2</sub>O 以上であったが、次第に低下し、 $34.2 \pm 16.0$  分で消失した。この時の静止圧は  $24.9 \pm 6.8$  cmH<sub>2</sub>O であった。なお、尿管放電頻度は閉塞後10分で最高となったが、この時の静止圧は  $17.7 \pm 4.1$  cmH<sub>2</sub>O であった。

腎組織酸素分圧は非閉塞時を100とし、閉塞後の相対的変動値の推移を観察した。尿路内圧上昇の緩徐な閉塞後30分までは皮質、髓質とも大きな変動を認めなかったが、皮質では静止圧が  $38.9 \pm 13.5$  cmH<sub>2</sub>O を示す60分頃より  $116.5 \pm 28.6$  と上昇を認め、静止圧が  $74.2 \pm 18.9$  cmH<sub>2</sub>O の120分に  $138.8 \pm 36.5$  となり以後はほぼ横ばいとなった。一方、髓質では静止圧  $19.8 \pm 3.6$  cmH<sub>2</sub>O の30分頃より  $108.1 \pm 12.5$  と若干の上昇を認め、静止圧  $81.8 \pm 14.4$  cmH<sub>2</sub>O の180分で  $125.6 \pm 28.9$  となり、以後はほぼ横ばいとなった。皮質、髓質の上昇度を比較すると、皮質が髓質より大であった。

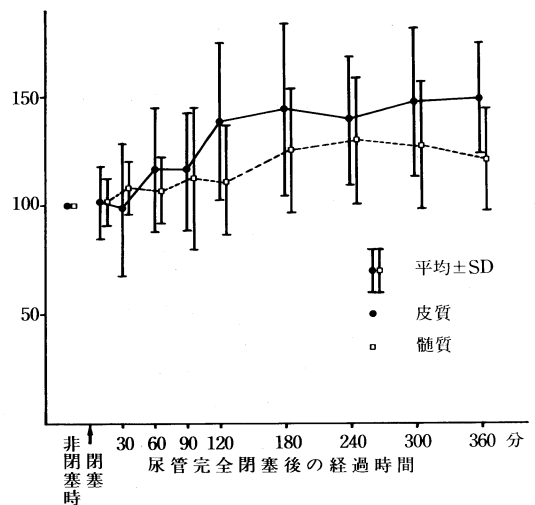


図2. 尿管完全閉塞後の腎組織酸素分圧の推移。

## 考 案

尿管完全閉塞時及び利尿時に尿管蠕動放電頻度の増加がみられることはよく知られている(高橋, 1974; 赤坂, 1976)。今回の実験では、尿路内圧と尿管活動電位を対応させて両者の関係について検討した。尿路内圧の上昇は30分まで緩徐であるのに対し、活動電位の出現数は3分まで急速に、更にその後も増加して10分(内圧18 cmH<sub>2</sub>O 前後)で最高となり、以後は内圧の上昇と相関した増加を認めなかった。以上のことから、蠕動数を増加させる内圧の閾値は18 cmH<sub>2</sub>O 前後までと考えられた。

尿管の収縮圧は、静止圧 25 cmH<sub>2</sub>O 前後で消失したが、活動電位は消失せず、360 分後でも出現数は対照時の約 2 倍を示し、このような状態時の活動電位は尿管蠕動を意味しないことがわかった。

尿管完全閉塞急性期の腎循環動態については幾多の報告 (Moody, 1975; 芝, 1977) がみられるが、その多くは総腎血流量の変化をみたものであり、皮質、髓質別の血流量変化をみたものは少ない。今回の実験では酸素電極法を用い、皮質、髓質別に血流の変動を観察し、尿路内圧との関係について検討した。その成績では、尿路内圧の上昇が著明となる 60 分 (内圧 40 cmH<sub>2</sub>O 前後) 後から 120 分 (内圧 75 cmH<sub>2</sub>O 前後) 前後まで、皮質、髓質共に上昇する傾向を認め、両者の上昇度は皮質が髓質より大であった。この

現象については、更に検討して報告する予定である。

## 文 献

- 赤坂俊幸(1976). 上部尿路機能に関する研究, 第 8 報: 急速利尿時における犬生体腎盂尿管の動態, 日泌尿会誌, **67**: 237-247.
- Moody, T.E. (1974). Relationship between renal blood flow and ureteral pressure during 18 hours of total unilateral ureteral occlusion. *Invest. Urol.* **13**: 246-251.
- 芝 伸彦(1977). 尿管完全閉塞の尿生成機序におよぼす影響について, 日泌尿会誌, **68**: 1204-1213.
- 高橋崎三(1974). 上部尿路の活動電位の研究, 第 3 報: 成犬尿管切断時およびカテーテル切断端接合時の尿管運動, 日泌尿会誌, **65**: 104-119.

## 下部尿路に於ける除神経過敏の研究 (第 1 報) atonic bladder に於ける検討

千葉大学医学部 泌尿器科学教室

山 城 豊, 和 田 隆 弘, 村 山 直 人  
安 田 耕 作, 島 崎 淳

千葉大学医学部 神経内科  
服 部 孝 道

国立佐倉病院 泌尿器科  
香 村 衡 一

## はじめに

膀胱過伸展に基づく排尿障害は、膀胱支配神経の末梢神経障害による神経因性膀胱に起因すると考えられている。そこで、atonic bladder に於いて、膀胱の末梢神経障害の検査法であるベサコリン除神経過敏 (Glahn, 1970) 及び尿道の末梢神経障害の検査法であるノルアドレナリン除神経過敏 (Koyanagi ら, 1978) を用いて、両除神経過敏の出現頻度、過伸展の既往の有無による影響を検索し、atonic bladder の病態について検討した。

## 対 象

各種神経因性膀胱患者 14 名で、その内訳は糖尿病 4 名、子宮頸癌術後 4 名、直腸癌術後 2 名、アルコール性ニューロパチー、脊髓瘍、多発性小窩性脳梗塞、晩発性皮質性小脳萎縮症各 1 名である。男性 9 名、女性 5 名、年齢は 33 歳より 78 歳、平均 52.9 歳である。

## 方 法

尿流動態検査前に症状、尿閉の有無、量及び回数等の問診、神経学的検査を施行した。尿流



動態検査は、Life-Tech 社製 Urolab 1154 を用い尿流測定、残尿測定、尿道内圧測定、膀胱内圧測定の順に施行した。膀胱ベサコリン除神経過敏の測定は、16 Fr シリコン製 2-way カテーテルを用い、経尿道的に 100 ml の滅菌蒸留水を毎分 60 ml の速度で滴下注入し、膀胱内圧の安定後、0.25% ベサコリン 1 ml を大腿部皮下注射し、膀胱内圧の変化を最高 30 分まで記録した。判定は 15 cmH<sub>2</sub>O 以上の内圧上昇を陽性とした。尿道ノルアドレナリン除神経過敏の測定は、14 Fr シリコン製カテーテルを用い、毎分 2 ml の滅菌蒸留水を持続注入しながら、毎分 1 cm の手引きで尿道内圧測定を施行した。ついで生理食塩水 500 ml に 0.1% ノルアドレナリン 2 ml を混注した液を 0.1 μg/kg 5 分間持続点滴静注した後、再度尿道内圧を測定した。判

定はノルアドレナリン投与前後に於ける最高尿道内圧が 10 mmHg 以上の上昇を陽性とした。

尚、今回我々のいう atonic bladder とは、膀胱内圧曲線上、内圧上昇が 15 cmH<sub>2</sub>O 未滿で最大尿意ないしは初発尿意が 600 ml 以上呈するものと定義した。又、膀胱過伸展とは尿閉時導尿量が 800 ml 以上の尿閉と定義した。

## 結 果

膀胱ベサコリン除神経過敏陽性は、14 例中 1 例(7.1%)、尿道ノルアドレナリン除神経過敏陽性は、14 例中 5 例(35.7%)に認められた(表 1)。膀胱過伸展の既往を有する症例は 4 名で、全例膀胱ベサコリン除神経過敏陰性、尿道ノルアドレナリン除神経過敏陽性を示した(表 2)。

表 1. 膀胱ベサコリン除神経過敏及び尿道ノルアドレナリン除神経過敏の頻度

ノルアドレナリン 除神経過敏		ベサコリン 除神経過敏		
陽 性	陰 性	陽 性	陰 性	
陽 性	陰 性	1	0	1/14 (7.1%)
陰 性	陽 性	4	9	13/14 (92.9%)
		5/14 (35.7%)	9/14 (64.3%)	

表 2. atonic bladder 症例

症例	氏 名	年齢	性	診 断	ベサコリン除神経過敏	ノルアドレナリン除神経過敏	過伸展の既往
1	鈴○ つ○	62	女	子 宮 頸 癌 術 後	(-)*	(-)	(-)
2	沢○富○子	66	女	" "	(-)	(+)	(+)
3	吉○ さ○	49	女	" "	(+)**	(+)	(-)
4	大○ 貞○	52	女	" "	(-)	(+)	(+)
5	毛○ 義○	40	男	直 腸 癌 術 後	(-)	(+)	(+)
6	湯○ 隆	49	男	" "	(-)	(-)	(-)
7	尾○ 一○	43	男	糖 尿 病	(-)	(-)	(-)
8	但○恵○子	52	女	" "	(-)	(-)	(-)
9	大○ 俊○	33	男	" "	(-)	(-)	(-)
10	山○ 石○	76	男	" "	(-)	(-)	(-)
11	野○ 英○	43	男	アルコール性ニューロパチー	(-)	(-)	(-)
12	加○ 操	36	男	脊 髄 癆	(-)	(-)	(-)
13	中○ 準○	61	男	多発性小窩性脳梗塞	(-)	(-)	(-)
14	半○ 徳○	78	男	晩発性皮質性小脳萎縮症	(-)	(+)	(+)

\* 陰性 \*\* 陽性

## 考 按

過伸展膀胱に於ける除神経過敏に関する研究は、家兎を用いた動物実験で認めたという報告(横山ら, 1984)があるが、臨床的検討は少ない。今回対象とした atonic bladder 14 例中多発性小窩性脳梗塞の 1 例を除く 13 例は、末梢神経障害を来とし、膀胱ベサコリン除神経過敏陽性となりうる症例であったが、陽性例はわずかに 1 例であった。過伸展膀胱を来した 4 例では、全例膀胱ベサコリン除神経過敏陰性であり、尿道の末梢神経障害を示す尿道ノルアドレナリン除神経過敏は全例陽性であった。この事は過伸展が、膀胱ベサコリン除神経過敏を陰性化させる要因である事を支持するものと考ええる。

## 結 語

atonic bladder では、膀胱支配神経の末梢障害を示す膀胱ベサコリン除神経過敏は殆んど認められず、その一因として膀胱過伸展による影響が示唆された。

## 文 献

- Glahn, B.E. (1970). Neurogenic bladder diagnosed pharmacologically on the basis of denervation supersensitivity. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 4: 13-24.
- Koyanagi, T. & Tsuji, I. (1978). Denervation supersensitivity of the urethra of the chronic neurogenic bladder to alpha-adrenergic drugs. *Invest. Urol.* 15: 267-270.
- 横山 修, 川口光平, 久住治男(1984). 過伸展膀胱の denervation supersensitivity に関する実験的研究. *泌尿紀要* 30: 1-7.

## 下部尿路に於ける除神経過敏の研究 (第 2 報) 脊髄々膜瘤に於ける検討

千葉大学医学部 泌尿器科学教室

安 田 耕 作, 和 田 隆 弘, 村 山 直 人  
山 城 豊, 島 崎 淳

千葉大学医学部 神経内科

服 部 孝 道

国立佐倉病院 泌尿器科

香 村 衡 一

## はじめに

脊髄々膜瘤は、その発生部位により核上型あるいは核又は核下型神経因性膀胱をきたす疾患と考えられている(辻ら, 1972)。一方、本疾患は、下部尿路に種々の形成不全を伴うことが知られている。

そこで腰仙部脊髄々膜瘤を有する患者の排尿障害が末梢神経障害に起因するか否かを検討する目的で、膀胱の末梢神経障害の検査法である膀胱ベサコリン除神経過敏(Glahn, 1970)と尿

道ノルアドレナリン除神経過敏(Kayanagi & Tsuji, 1978)検査法を用い検討した。

## 対 象

対象患者は、著明な排尿障害(残尿量増加, 尿失禁)を有する腰仙部脊髄々膜瘤患者 11 例である。男性 5 例, 女性 6 例, 年齢は 6 歳より 34 歳で平均 16.5 歳である。脊髄々膜瘤の手術を施行されたものは 8 例で、施行されていないものは 3 例である。

## 検査項目

通常の神経学的検査を施行した後、第1報で述べた順に尿流動態検査を施行した。膀胱撮影、排泄性腎盂撮影も排尿状態を検討する目的で検索した。尚、膀胱ベサコリン除神経過敏及び尿道ノルアドレナリン除神経過敏は第1報に詳しく述べられているので省く。

## 結 果

表1に尿流動態検査結果の一部及び膀胱撮影・排泄性腎盂撮影の結果をまとめた。脊髄々膜瘤の手術を施行された8例及び施行されていない3例とも排尿障害が著明で残尿量増加あるいは尿失禁が認められる。膀胱撮影で変形の強いものが多く膀胱尿管逆流も認められる。排泄性腎盂撮影もかなりの頻度で水腎水尿管が認められる。

表2に膀胱ベサコリン除神経過敏及び尿道ノ

ルアドレナリン除神経過敏の検査結果を示す。脊髄々膜瘤手術を施行された8例の手術経過年数は6年から23年である。1例を除く7例が膀胱ベサコリン除神経過敏検査に陽性であった。手術未施行例3例は全て陰性であった。尚、尿道ノルアドレナリン除神経過敏は、11例全て陰性であった。

## 考 按

脊髄々膜瘤に伴う排尿障害の主たる原因は神経因性と考えられている。胸腰部に発生した脊髄々膜瘤患者では膀胱内圧曲線上明らかに無抑制収縮が認められ核上型神経因性膀胱の要素が多い。しかし本疾患の下部尿路には発生異常を伴うことが多く、この原因による排尿障害もあることが考えられる。末梢神経障害の考えられる腰仙部脊髄々膜瘤を選んで膀胱ベサコリン除神経過敏を検索した。脊髄々膜瘤手術が施行された症例では、本検査は陽性であり、手術未施

表1. 排尿状態及び尿路X線所見

症 例	残尿量 (ml)	尿 失 禁	膀胱撮影	IVP	
				右	左
1. 太 田	70※	中 等 度		A	E
2. 渡 辺	60※	軽 度		C	C
3. 林(彩)	20	軽 度		A	正
4. 進 藤	50	中 等 度		正	正
5. 井 上	50	な し		B	正
6. 鈴 木	10	軽 度		正	正
7. 林(政)	40※	な し		C	C
8. 山 下	70	な し		C	C
9. 奥 山	0	な し		C	C
10. 高 城	0	中 等 度		正	正
11. 沢 井	50※	軽 度		A	A

※ 自己導尿を加味した排尿

IVP：水腎の分類は岡の基準で行う

表2. ベサコリン及びノルアドレナリン除神経過敏検査結果

症 例	年令	性	Beth DST	NA DST	手術より の 経 過
1. 太 田	25	男	+	—	23年
2. 渡 辺	21	女	+	—	21年
3. 林(彩)	13	女	+	—	12年
4. 進 藤	13	男	+	—	13年
5. 北 上	10	女	+	—	9年
6. 鈴 木	6	男	+	—	6年
7. 林(政)	18	男	+	—	8年
8. 山 下	16	女	—	—	施行せず
9. 奥 山	8	女	—	—	施行せず
10. 高 城	30	男	—	—	施行せず
11. 沢 井	34	女	—	—	17年

Beth DST ベサコリン除神経過敏

NA DST ノルアドレナリン除神経過敏

+: 陽性, —: 陰性

行例は陰性であった。このことは手術施行例のみが膀胱支配の副交感神経の末梢神経障害を受けていることを意味しており、手術未施行例では末梢神経障害がないことを示している。即ち脊髄々膜瘤の排尿障害に下部尿路の形成不全が大きな役割を果たしていることが推測された。尿道ノルアドレナリン除神経過敏が全例に認められなかったことは、尿道支配の交感神経が下部胸髄及び上部腰髄にその起源を有し経路も異っている為ばかりでなく交感神経障害が認められないということであり上記の推測を支持していると考ええる。

## 結 語

膀胱ベサコリン除神経過敏は脊髄々膜瘤手術を受けた患者のみ陽性であり手術未施行例では

陰性であった。尿道ノルアドレナリン除神経過敏は全例陰性であった。

本疾患では、先天的な形成不全が排尿障害に大きな役割を果たしていることが推測された。

## 文 献

- Glahn, B.E. (1970). Neurogenic bladder diagnosed pharmacologically on the basis of denervation supersensitivity. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 4: 13-24.
- Kayanagi, T. and Tsuji I. (1978). Denervation Supersensitivity of the urethra of the Chronic neurogenic bladder to alpha-adrenergic drugs. *Invest. Urol.* 15: 267-270.
- 辻 一郎ら(1972). 先天性神経因性膀胱の診断と治療 (2). *臨泌*, 26: 661-676.

## 排尿反射時の膀胱と尿道の動態に対する 交感神経遮断剤の影響

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

能 登 宏 光, 菅 谷 公 男, 福 田 孝  
原 田 忠, 西 沢 理, 森 田 隆  
佐 藤 貞 幹, 木 津 典 久, 土 田 正 義

市立秋田総合病院 泌尿器科

松 尾 重 樹

### 緒 言

排尿反射時、膀胱収縮に伴ない横紋筋性外尿道括約筋が弛緩することは一般に認められているが、平滑筋性内尿道括約筋が弛緩するか否かについては、統一見解が得られていない。これに関して、著者(1984)は除脳犬を用いた実験から、排尿反射時には内、外尿道括約筋はそれぞれ個別に弛緩反応を示し、内尿道括約筋の内圧下降はほぼ膀胱収縮と同期するのに対して、外尿道括約筋の内圧下降は明らかに膀胱収縮よりも先行することを報告した。そこで今回は、排尿反射時の膀胱と内尿道括約筋の動態が、交感神経遮断剤によりどのような影響を受けるかについて検討を行なったので報告する。

### 実験方法

thiamylal sodium 15 mg/kg の麻酔下に上丘吻側で除脳した 7-12 kg の雑種雌成犬 10 頭を用い呼吸は気管切開下に respirator (Harvard-607) を用いて管理し、pancuronium bromide にて横紋筋を弛緩させた状態で実験を行なった。

まず上腹部正中切開下、両側尿管に 5Fr のカテーテルを挿入して尿を体外に導いた後に創を閉じ、恥骨上部に約 4 cm の正中切開を置いて恥骨の一部を切除し、腹膜外に膀胱頸部で膀胱と尿道を切離した。膀胱側は結紮閉鎖して尿道側は開放とした後、大腿動脈より 5Fr カテーテルを挿入して、先端を総腸骨動脈分岐部より約 1 cm 近位側に留置し、薬剤注入路とした。排尿

反射は、膀胱内に 2 重管カテーテルを留置して、一方より水を持続的に注入することで誘発し、同時に他方を Statham-P50 に連結して膀胱内圧を測定し、外尿道口から挿入した micro-tip catheter pressure transducer (Millar-PC340) で尿道内圧を、直腸内に留置したバルーンを Statham-P50 に接続して直腸内圧を測定した。また横紋筋の弛緩が充分行なわれているか否かをみるために、外尿道括約筋部に針電極(DISA-9013-K)を刺入して筋電図の測定も行なった。

薬剤は phentolamine と propranolol を用い、各々 1 mg を動脈内注入とし、薬剤投与前後で排尿反射を誘発して、膀胱空虚時、最大膀胱充満時および排尿時の膀胱と尿道の内圧、それに膀胱容量を指標として、排尿反射時の膀胱と尿道の動態に対する薬剤の影響を検討した。薬剤の効力は phenylephrine と isoproterenol で検定した。

### 実験結果

実際の測定記録を図 1 に、排尿反射時の膀胱と尿道の動態に対する薬剤の影響を、各々 5 頭における薬剤投与前に対する投与後の各測定値の変化率で表わした結果を図 2 に示す。

phentolamine 投与により、膀胱空虚時の膀胱内圧と膀胱容量には有意な変化はなかったが、膀胱充満時の膀胱内圧は  $23.4 \pm 5.13$  (mean  $\pm$  S. D.) cmH<sub>2</sub>O から  $17.8 \pm 2.28$  cmH<sub>2</sub>O に、排尿時の膀胱内圧は  $54.0 \pm 14.21$  cmH<sub>2</sub>O から  $49.0 \pm 12.21$  cm H<sub>2</sub>O に、推計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) をもって低下した。これに対して尿道内圧は、

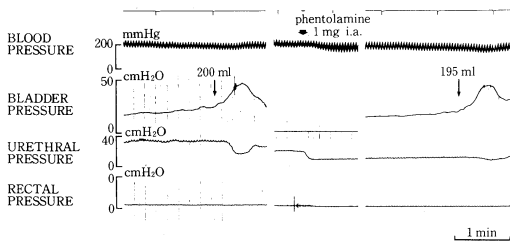


図 1a. 排尿反射時の膀胱と尿道の動態に対する phentolamine の影響。

phentolamine 投与前は、膀胱収縮とほぼ同期して内尿道括約筋部内圧が下降している(左)。phentolamine 投与により膀胱内圧に著変はないが尿道内圧は著明に低下し(中央)、膀胱の充満に伴う尿道内圧の上昇も少なく、膀胱収縮時の尿道内圧下降反応もほとんどない。また、膀胱容量の減少傾向と最大膀胱静止圧(排尿圧閾値)の低下もみられる。

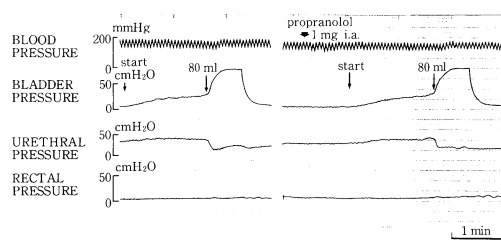


図 1b. 排尿反射時の膀胱と尿道の動態に対する propranolol の影響。

propranolol 投与前(左)に出現した膀胱充満に伴う尿道内圧上昇と、膀胱収縮と同期する尿道内圧下降反応は、propranolol 投与後(右)も同様にみられ、膀胱空虚時、充満時および収縮時の膀胱と尿道の内圧、それに膀胱容量には、propranolol 投与前後で有意差はない。

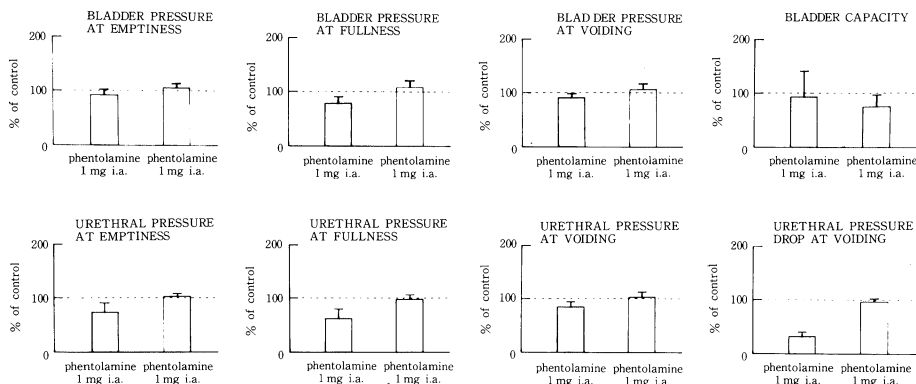


図 2. 排尿動態に及ぼす phentolamine と propranolol の影響。

薬剤投与前の測定値に対する phentolamine と propranolol 投与後の変化率を、各々5頭ずつで測定した平均値±標準偏差で表示した。膀胱に関しては phentolamine 投与時の充満時と排尿時の内圧が有意に低下しており( $p < 0.05$ )、尿道に関しては phentolamine 投与によりすべての測定項目で有意差( $p < 0.05$ )がみられる。しかし、propranolol は膀胱と尿道の動態に対して有意な影響を示していない。

phentolamine 投与により、膀胱空虚時すでに  $20.1 \pm 4.92$  cmH<sub>2</sub>O から  $14.9 \pm 6.25$  cmH<sub>2</sub>O へと下降し、膀胱充満による尿道内上昇巾も  $12.7 \pm 1.99$  cmH<sub>2</sub>O から  $4.75 \pm 2.26$  cmH<sub>2</sub>O へと減少し、膀胱収縮時の内圧下降巾も  $14.7 \pm 9.75$  cmH<sub>2</sub>O から  $5.2 \pm 4.10$  cmH<sub>2</sub>O へと著明に減少した。これらにはすべて有意差 ( $P < 0.05$ ) があり、phentolamine 投与後の膀胱収縮に伴う尿道内圧降巾は、投与前の  $32.0 \pm 7.6\%$  であった。

propranolol 投与により、膀胱空虚時の膀胱内圧は  $5.0 \pm 1.23$  cmH<sub>2</sub>O から  $5.2 \pm 1.30$  cmH<sub>2</sub>O

へ、膀胱充満時の膀胱内圧は  $17.0 \pm 2.74$  cmH<sub>2</sub>O から  $18.4 \pm 3.78$  cmH<sub>2</sub>O へ、また排尿時の膀胱内圧は  $47.2 \pm 8.76$  cmH<sub>2</sub>O から  $50.0 \pm 8.34$  cmH<sub>2</sub>O へと軽度増大し、逆に膀胱容量は  $116.6 \pm 66.62$  cmH<sub>2</sub>O から  $96.8 \pm 54.67$  cmH<sub>2</sub>O へと減少する傾向があったが、いずれも推計学的有意差はなかった。一方、尿道の動態も膀胱空虚時、最大膀胱充満時および排尿時に、それぞれ propranolol 投与前後で  $20.5 \pm 6.62$  cmH<sub>2</sub>O から  $21.1 \pm 6.52$  cmH<sub>2</sub>O,  $32.7 \pm 10.98$  cmH<sub>2</sub>O から  $32.4 \pm 11.29$  cmH<sub>2</sub>O,  $15.4 \pm 5.57$  cmH<sub>2</sub>O か

ら  $15.5 \pm 4.59 \text{ cmH}_2\text{O}$  とほとんど変化しなかった。したがって、排尿時の尿道内圧下降巾も推計学的有意差はなかった。

## 考 案

今回の実験では、phentolamine 投与で膀胱収縮圧閾値の有意な低下と膀胱容量の減少傾向がみられ、Abdel-Rahman ら (1983) の報告と一致した。また propranolol でも、膀胱容量は減少傾向にあった。これらの事実、DeGroat (1975) のいう膀胱への交感神経系の抑制、すなわち  $\beta$  受容体を介する膀胱平滑筋への直接抑制と、 $\alpha$  受容体を介する副交感神経節における抑制が抑えられるためと考えると理解できる。

尿道に関しては、phentolamine 投与で尿道内圧は著明に下降して、膀胱充満に伴う内圧上昇や排尿時の内圧下降がほとんど認められなくなり、Ghoneim ら (1975) や Khalaf ら (1979) の報告と一致した。しかし、propranolol は尿道内圧の変化にほとんど影響せず、排尿反射時の

尿道内下降反応は、膀胱充満につれて高まった尿道の  $\alpha$  受容体の興奮が、膀胱収縮とともに抑制される結果が主体と考えられる。

## 文 献

- Abdel-Rahman, H., Galeano, C. and Elhilali, M.M. (1983). New approach to study of voiding cycle in cat. Preliminary report on pharmacologic studies. *Urology* 22: 91-97.
- DeGroat, W.C. (1975). Nervous control of the urinary bladder of the cat. *Brain Research* 87: 201-211.
- Ghoneim, M.A., Fretin, J.A., Gagnon, D.J. and Susset, J.G. (1975). The influence of vesical distension on urethral resistance to flow: the expulsion phase. *Brit. J. Urol.* 47: 663-670.
- Khalaf, I.M., Toppercer, A. and Elhilali, M.M. (1979). Urethral pressure changes in reflex micturition. *Invest. Urol.* 17: 141-145.
- 能登宏光 (1984). 除脳犬を用いた排尿反射時の尿道の動態に関する研究. 日泌尿会誌, 75: 104-117.

## 機能と形態からみた内頸動脈平滑筋の特異性

信州大学医学部 第一生理学教室

河 合 康 明, 大 橋 俊 夫

順天堂大学

東 健 彦

頭蓋内血管は他の部位の血管と異なり、5-hydroxytryptamine (5-HT) により著しく収縮し、norepinephrine (NE) ではわずかな収縮を呈するという特徴を示す (Bohr *et al.*, 1961; Nielsen & Owman, 1971; Toda & Fujita, 1973). 最近われわれは、頭蓋外の内頸動脈も頭蓋内血管と同様の特徴を有し外頸動脈の血管反応性と異なるために、5-HT, NE は両血管の間において血流量の再分配を惹起することを報告した (Kawai *et al.*, 1984). 本研究においては、内頸動脈平滑筋と外頸動脈平滑筋の血管作動物質に対する反応性の差異が生ずる原因を血管壁平滑筋含量、交感神経支配、平滑筋細胞膜の  $\alpha$

アドレナリン受容体の薬理学的特性の観点から解析した。

## 材料 と 方法

実験には体重 10~18 kg の雑種成犬 14 頭を用いた。Sodium pentobarbital (25 mg/kg, i.v.) で麻酔し、脱血屠殺した後、頭蓋外の内頸動脈 (ICA ext), 外頸動脈 (ECA), さらにこれらと比較する意味で海綿静脈洞内の内頸動脈 (ICA int), 中大脳動脈 (MCA), 大腿動脈筋枝 (FA), 腸間膜動脈 (MA), 冠動脈 (CA), 腎葉間動脈 (RA) を摘出した。長さ 15 mm, 幅 1.0~1.8 mm の螺旋条片を作製し、温度 36°C, pH 7.4 に維持

した Krebs 液で還流された臓器槽内に装着した。基本張力としては標本の大きさに応じて 1.5 ~ 2.5 g を負荷した。マイクロシリンジを用いて NE, 5-HT を cumulative に注入し、この時の張力変化を等尺性トランスジューサ（新興通信 UL-10）を用いて記録した。螺旋条片に用いた血管に Mallory-azan 染色を施し、万能投影機（Nikon profile projector V-12）を用いて中膜の厚さを測定した。この厚さと螺旋条片の幅との積により中膜の断面積を求め平滑筋含量の指標とした。さらに、ICA, ECA についてグリオキシル酸法を用いて組織化学的な検索を行い、交感神経分布密度を観察した。

### 結果 ならびに 考察

ICA ext, ECA の NE, 5-HT に対する用量-反応曲線を、80 mM  $K^+$  に対する収縮量を 100% として標準化して求めた。NE に対する用量閾値は ICA ext, ECA とともに  $5 \times 10^{-8}$  M で差が認められなかったが、最大反応量は ICA ext  $36.3 \pm 4.6\%$ , ECA  $120.9 \pm 5.0\%$  で ECA の方が約 3.3 倍大きな値を示した。これとは逆に 5-HT に対しては、閾値濃度は ICA  $5 \times 10^{-10}$  M, ECA  $10^{-9}$  M, 最大反応量は ICA  $137.8 \pm 6.2\%$ , ECA  $104.8 \pm 11.6\%$  であった。

ICA ext の NE に対する反応量が ECA より小さい原因の一つとして、反応量の標準化の方法が問題となる可能性がある。すなわち、K 拘縮による ICA ext の収縮量が ECA のそれより著しく大きければ、NE に対する ICA ext の反応は見かけ上小さくなる。そこで、80 mM  $K^+$  による収縮量を平滑筋含量（中膜の断面積）で標準化した値を比較すると、ICA ext  $9.5 \pm 2.7$  g/mm<sup>2</sup>, ECA  $8.6 \pm 1.1$  g/mm<sup>2</sup> で両者の間に有意差は認められなかった。さらに、NE, 5-HT に対する最大反応量を中膜の断面積で除した値を比較した（表 1）。この表から明らかなように、MCA, ICA int, ICA ext などの脳の還流血管は NE に対する反応量が RA, MA, FA といった末梢血管に比べて著しく小さかった。また ECA は、両血管群の中間の値を示した。これらの結果から、ICA ext の NE に対する反応性の低さ

表 1. 中膜の断面積により標準化した各種血管の NE, 5-HT に対する最大発生張力。  
Emax/Cross-sectional area of media (g/mm<sup>2</sup>)

	n	NE	5-HT
MCA	4	$0.3 \pm 0.05$	$2.8 \pm 0.6$
ICA int	4	$1.0 \pm 0.2$	$7.1 \pm 2.3$
ICA ext	4	$3.6 \pm 1.1$	$12.4 \pm 3.2$
ECA	4	$8.5 \pm 2.5$	$9.2 \pm 1.5$
RA	4	$14.4 \pm 2.1$	$6.8 \pm 3.5$
MA	4	$20.1 \pm 2.6$	$11.0 \pm 1.3$
FA	4	$11.7 \pm 2.9$	$8.7 \pm 2.8$
CA	4	0	$2.6 \pm 1.1$

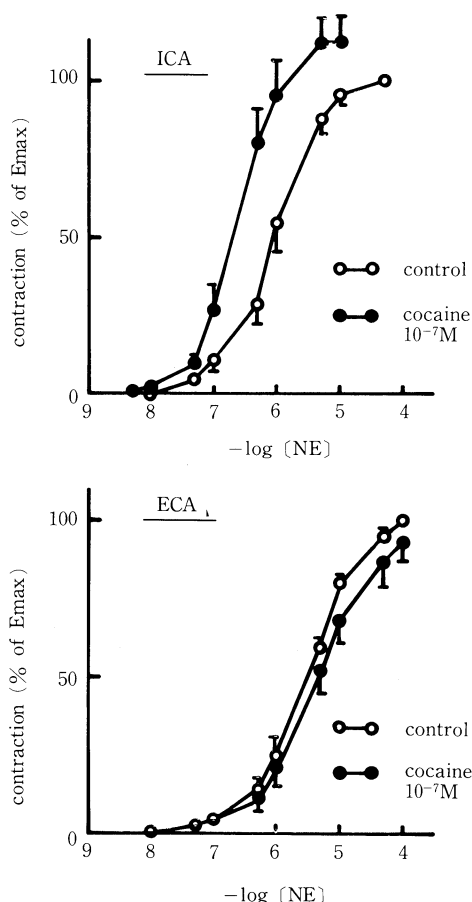


図 1. ICA, ECA の NE に対する反応性におよぼす cocaine ( $10^{-7}$  M) の作用。

は内頸動脈平滑筋ならびに交感神経接合部の特異性に基づくことが示唆された。

グリオキシル酸法により、ICA ext, ECA の



交感神経支配を検索した結果, ICA ext の場合交感神経線維の分布密度は頸動脈分岐部直後の部位では疎であるが, 遠位部に向かうにつれて増加し, 頭蓋侵入部の直前ではかなり密な分布を示した. 使用した ECA 標本では分布密度は一樣に疎であった. この結果を考慮して, 次に交感神経終末部における uptake 1 blocker の cocaine を用いて, ICA ならびに ECA それぞれの NE 反応性の変化を比較した (図 1). ICA ext では用量-反応曲線は左方へ移動したが, ECA では有意な影響は認められなかった. しかしながら, ICA ext の最大反応量は cocaine 存在下で対照の  $112.6 \pm 8.6\%$  とわずかな増加にとどまった. 従って, 交感神経末端による NE の uptake は, ICA ext の NE に対する低反応性に一部関与すると考えられるが, 全ては説明し得ないと思われる.

最後に, 平滑筋細胞膜の  $\alpha$  アドレナリン受容体特性を Shild のプロットにより検討した. NE と phentolamine を用いて求めた  $pA_2$  値は ICA ext  $7.37 \pm 0.10$ , ECA  $7.82 \pm 0.17$  であった.

以上の結果より, NE に対する内頸動脈平滑筋の反応性が低い原因として, 交感神経末端に

よる外来性 NE の uptake が一部関与すると考えられる. しかしながら, 平滑筋収縮に利用されるアクチベーター-Ca の起源を含む細胞内での事象すなわち efficacy の差異がより大きな役割を果たすと考えられ, この点につき現在検討中である.

## 文 献

- Bohr, D.F., Goulet, P.L. and Taguini, A.C. Jr. (1961). Direct tension recording from smooth muscle of resistance vessels from various organs. *Angiology* **12**: 478-485.
- Kawai, Y., Ohhashi, T. and Azuma, T. (1984). Redistribution of flow between canine isolated internal and external carotid arteries by vasoactive substances. *Jpn. J. Physiol.* **34**: 457-468.
- Nielsen, K. C. and Owman, C. (1971). Contractile response and amine receptor mechanisms in isolated middle cerebral artery of the cat. *Brain Res.* **27**: 33-42.
- Toda, N. and Fujita, Y. (1973). Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ. Res.* **33**: 98-104.

## 高血圧症における静脈伸展性とエラスターゼ作用

信州大学医学部 第一生理学教室

村 瀬 恵 子, 福 嶋 幸 代, 大 橋 俊 夫

順天堂大学

東 健 彦

### はじめに

近年, 高血圧症に付随して, 静脈系にも動脈系と同様に機能的あるいは構造的変化が生じていることを示唆する報告が散見される. 静脈閉塞プレチスモグラフィを用いて, 高血圧症における四肢静脈伸展性低下が臨床研究で指摘された (Walsh, Hyman and Maronde, 1969). 同様に, 実験的高血圧動物を用いて, 下肢静脈コ

ンブライアンスの低下 (Overbeck, 1972) や平均体循環圧の上昇 (Samar and Coleman, 1979) が示唆された. 一方, 1949 年ヒトの脾臓中に発見されたエラスターゼ (Baló and Banga, 1949) は, 血管壁のエラスチン分解・産生に関与していることが証明された. そこで, われわれは, 自然発症高血圧ラットと正常血圧ラットを用いて, 高血圧症と静脈壁伸展性との関係を摘出した静脈標本の内圧-半径関係より解析し, あわ

せて、その伸展性変化におよぼすエラスターゼの作用を検索した。

### 実験材料 ならびに 方法

実験には生後2週の雄ウイスター系の正常血圧ラット(WKY)と雄自然発症高血圧ラット(SHR)それぞれ12匹を用いた。両群ラットを2グループに分け、それぞれエラスターゼ(エーザイ株式会社) 5 mg/kg 体重ならびに同量の溶媒(生理食塩水)を毎日1回筋肉注射し、普通食で35週まで飼育した。毎週1回、体重ならび

に、尾動脈を用いて収縮期血圧、心拍数を非観血的に測定した(東海医理科 PE-300)。生後35週で各群ラットを実験に供した。まず、実験動物は pentobarbital sodium (30 mg/kg, i.p.) により麻酔し、中心静脈圧と門脈圧を測定した。その後、脱血屠殺し、腹部下大静脈、門脈をただちに摘出し、一定の長さ(15 mm)の円筒状標本作製した。標本は生体長に伸展して、37°C に加温した Krebs 液(組成(mM): NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose 5.5)を満たした臓器槽内に装置した。実験中はたえず、95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>の通気を行い、保生液のpHを7.4に維持した。Krebs 液で内腔を灌流し、標本を安定させた後、injection pump を用いて、標本の容積を一定速度で増減し、内圧-半径関係を求めた。この半径測定には、最近我々が開発したイメージセンサを使用した非接触型血管外径測定装置を用いた(Sakaguchi, Ohhashi and Azuma, 1979)。あわせて、使用静脈標本すべてを10%ホルマリン溶液で固定し、光顕(Azan 染色, Elastica 染色)に供した。

### 実験結果

1. 図1は、WKY+生理的食塩水、SHR+生食、SHR+エラスターゼ(5 mg/kg 体重)の各群より摘出した腹部下大静脈標本それぞれの典型的な内圧-半径曲線である。縦軸は伸展圧、横軸は半径を表わす。図1は、3回の測定を連続記録したものである。WKY+生食群では、0~2.5 cmH<sub>2</sub>Oの内圧変化により半径は基本径の約1.7倍に増大した。しかし5 cm H<sub>2</sub>O以上の内圧負荷を行っても、半径変化はほとんど認められなかった。一方、SHR+生食群では、0~2.5 cmH<sub>2</sub>Oまで内圧を上昇させると、半径は基本径の約1.4倍に増加した。同時に、2.5 cmH<sub>2</sub>O以上の内圧負荷に付随して、半径の漸増が認められた。ところが、SHR+エラスターゼ群では、内圧-半径曲線の形はWKY+生食群のそれに類似し、0~2.5 cmH<sub>2</sub>Oの内圧変化による半径変化率も約1.7倍に回復した。なお、各群ラットの門脈標本においても同様の結果が得られ

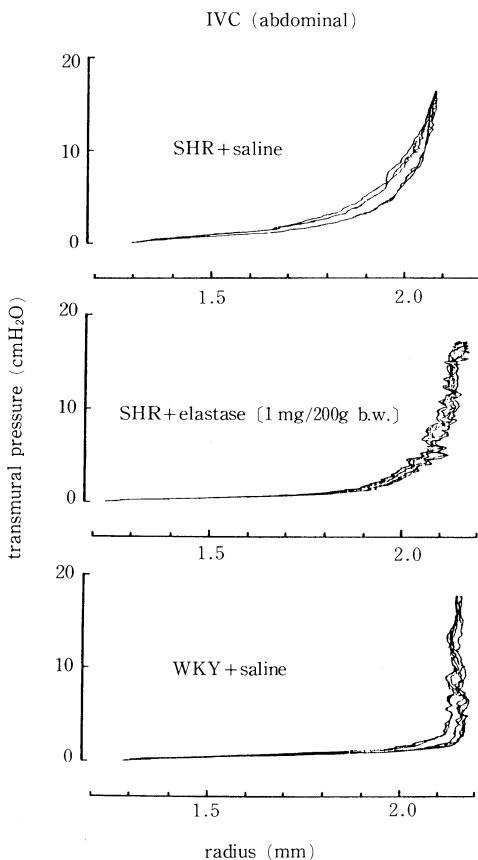


図1. 摘出したラット腹部下大静脈標本の典型的な内圧-半径曲線  
SHR+saline: 自然発症高血圧ラットに生理食塩水筋注群(生後35週)  
SHR+elastase: 自然発症高血圧ラットにエラスターゼ1 mg/200 g 体重筋注群(生後35週)  
WKY+saline: ウイスター系正常血圧ラットに生理食塩水筋注群(生後35週)

表1. 図1に示した3群ラット (SHR+saline, SHR+elastase, WKY+saline) の生後35週における体重, 尾動脈収縮期血圧, 心拍数, 中心静脈圧。(平均値±標準誤差, ( )内は例数を示す。)

	SHR (35W)	SHR+elastase (1mg/200g b.w.)	WKY (35W)
body weight (g)	348 ±42(6) <sup>NS</sup>	356 ±36(6) <sup>NS</sup>	374 ±24(8)
systolic pressure (mmHg)	205 ±10(6)*	198 ±14(6)*	142 ±26(8)
heart rate (/min)	392 ± 8(6) <sup>NS</sup>	389 ± 8(6) <sup>NS</sup>	398 ± 6(8)
central venous pressure (mmHg)	3.0± 0.6(6)*	2.4± 0.4(6) <sup>NS</sup>	1.8± 0.4(8)
portal venous pressure (mmHg)	4.2± 0.6(6) <sup>NS</sup>	3.9± 0.6(6) <sup>NS</sup>	3.8± 0.4(8)
cardiac output (ml/min×100g b.w.)	35.6± 1.4 <sup>NS</sup>		33.7± 1.4 (Ricksten et al., 1981)

\*p<0.01

た。

2. 各静脈標本の光顕検索の結果より, WKY+生食群の門脈壁では, 10例平均の壁厚が34  $\mu$ mであるのに対し, SHR+生食群では58  $\mu$ mと著明な増加が認められた。この様なSHR+生食群に見られた壁の肥厚は, 内皮直下の平滑筋細胞の増殖および弾性線維, 膠原線維の増生に起因していた。一方, SHR+エラストラーゼ群では, SHR+生食群にみられた壁平滑筋細胞の増殖が抑制される傾向を示した。

3. 各群ラットの生後35週における体重, 尾動脈収縮期血圧, 心拍数, 中心静脈圧の平均値と標準誤差を表1にまとめた。収縮期血圧は, WKY+生食群に比べ, SHR+生食, SHR+エラストラーゼ両群は有意に (p<0.01) 増加する傾向を示し, エラストラーゼ投与群にも著明な血圧低下は認められなかった。中心静脈圧はSHR+生食群がWKY+生食群に比べ有意に増加しており, その増加はエラストラーゼ投与群で抑制される傾向にあった。しかし, 門脈圧には各群間で有意な差が認められなかった。

## 考 察

生後35週SHRの摘出下大静脈および門脈標本の伸展性が同令WKYのそれに比べ有意

に小さいことが判明した。これは, 静脈壁構造の変化すなわち平滑筋細胞や線維成分の著明な増加に起因すると考えられる。しかし, SHRで有意な門脈圧上昇が認められなかったことより, この壁構造変化の原因を内圧上昇のみに帰することはできない。すなわち, 壁構造の変化を誘起させる他因子を考慮すべきである。同時に, エラストラーゼは, SHRに出現した静脈壁伸展性の低下を抑制したが, その詳細は今後の検討に待たねばならない。

## 文 献

- Baló, J. and Banga, I. (1949). Elastase and elastase-inhibitor. *Nature* **164**: 491.
- Overbeck, H.W. (1972). Hemodynamics of early experimental renal hypertension in dogs. *Circ. Res.* **31**: 653-663.
- Sakaguchi, M., Ohhashi, T. and Azuma, T. (1979). A photoelectric diameter gauge utilizing the image sensor. *Pflügers Arch.* **378**: 263-268.
- Samar, R.E. and Coleman, T.G. (1979). Mean circulatory pressure and vascular compliances in the spontaneously hypertensive rat. *Am. J. Physiol.* **273**: H584-589.
- Walsh, J.C., Hyman, C. and Maronde, R. (1969). Venous distensibility in essential hypertension. *Cardiovasc. Res.* **3**: 338-341.

## 血管収縮ならびに弛緩反応における 血管内皮細胞の役割

信州大学医学部 第一生理学教室  
伊藤 澄 信, 大橋 俊 夫

順天堂大学  
東 健 彦

### はじめに

血管内皮細胞の生理機能に関して Furchgott と Zawadzki (1980) は acetylcholine (ACh) によるウサギ大動脈平滑筋の弛緩反応に血管内皮細胞が必要不可欠であり, ある化学伝達物質を介してその反応が惹起されることを報告した. その後 ATP, ADP, calcium ionophore A23187, substance P, bradykinin などによる動脈平滑筋の弛緩反応も内皮細胞依存性であることが明らかにされてきた (Furchgott 1983). しかしこれまでの報告はすべて機械的に内皮細胞を擦過, 剝離した摘出螺旋状標本が用いられ, これらの方法では内皮細胞の擦過に伴う血管壁の機械的損傷や薬物の作用経路を確定できぬ等の問題を含んでいる. そこで本研究では摘出したイヌ腎動脈の正常ならびに反転標本を用い, 内腔と外側を別々に灌流する実験系において, 各種生理活性物質に対する反応性を解析し, 血管内皮細胞の役割について検討した.

### 実験方法

体重 7-20 kg の雑種成犬を雌雄の別なく用いた. Pentobarbital sodium (25 mg/kg, i.v.) で麻酔後, 脱血屠殺した. 死後直ちに外径 3-5 mm の腎動脈を摘出し, 正常円筒状標本ならびに反転標本を作製した. 標本は生体長に伸展して容量 10 ml の臓器槽内に装着した. 標本内腔は灌流ポンプ (Harvard 1210) と pneumatic resistance を用い, 80 mmHg の定圧で保生液を灌流した. 保生液には 37°C に加温した Krebs 液(組成 [mM] NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose

5.5) を用いた. この保生液には実験中 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合ガスの通気を行ない pH を 7.4~7.5 に維持した. 標本外側も内腔と同じ流量 (3.2 ml/min) で同様の保生液を灌流した. 各種生理活性物質を microsyringe あるいは注入ポンプ (Harvard 901) を用いて標本内腔あるいは外側別々に投与した. 血管平滑筋の反応性はイメージセンサを用い, 血管外径変化 (Sakaguchi, Ohhashi and Azuma 1979) を指標として投与経路による反応性の差異を比較検討した.

血管弛緩物質に対する反応性の検索には, prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) を標本外膜側に連続投与し, 基本外径の 10~20% 短縮状態にある

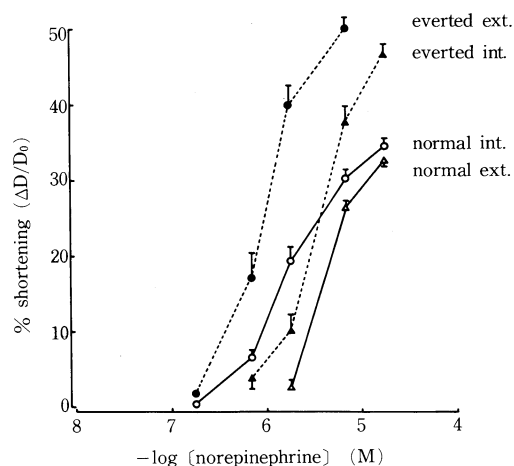


図1. イヌ腎動脈正常ならびに反転標本における norepinephrine 反応の用量反応曲線 (n=14)

- 正常標本内腔投与
- △—△ 正常標本外側投与
- .....● 反転標本外側投与
- ▲.....▲ 反転標本内腔投与

血管標本を用いて実験を行なった。

## 結 果

正常標本ならびに反転標本の内腔, 外側に norepinephrine (NE) を投与し, 得られた収縮反応を 14 例についてまとめたものが図 1 である。横軸は NE の濃度を対数目盛で表示し, 縦軸は NE の反応量を薬物投与前の標本外径に対する外径短縮量の比で規準化した値を表わした。実線で示した正常標本の場合, 内腔に投与した NE の方が反応性が高く,  $ED_{50}$  濃度における用量比は 2.7 であった。一方, 反転標本の場合 (破線) も同様に標本外側すなわち内膜側に投与した NE の反応性が高く,  $ED_{50}$  濃度における用量比は 3.8 であった。また反転標本における NE の最大短縮量は正常標本のそれに比べて有意に大であった ( $p < 0.001$ )。

図 2 は ACh の血管弛緩反応 6 例についてまとめた結果を示した。横軸は投与した ACh の量を示し, 縦軸は血管弛緩反応量を持続投与した  $PGF_{2\alpha}$  の最大短縮量を 100% として規準化した値で表わした。実線で示した正常標本, 破線で示した反転標本いずれにおいても内膜側に投与した ACh が高い感受性を持って弛緩反応

を誘起した。すなわち, それぞれの  $ED_{50}$  値は, 正常標本内腔投与  $3 \times 10^{-2} \mu g$ , 外側  $5 \mu g$ , 反転標本内腔投与  $3 \mu g$ , 外側  $4 \times 10^{-2} \mu g$  であった。最大弛緩量はいずれの投与経路によっても差異を認めなかった。一方 isoproterenol, nitroprusside sodium も正常, 反転標本に弛緩反応を惹起したが, 薬物投与経路による反応差異はほとんど認められなかった。

## 考 察

正常ならびに反転標本いずれにおいても, 内腔側より投与した NE は外膜側投与に比べて鋭敏な反応性を示した。この事実は, NE 反応性の差異が単に灌流圧の違いだけによっては説明できないことを意味する。すなわち, この差異を生じた要因の 1 つとして血管内皮細胞の関与が強く示唆された。同様の可能性については Pascual と Bevan (1989) もすでにウサギの大動脈標本について報告している。各種血管収縮物質によって得られた血管外径の最大短縮量 ( $\Delta D_{\max}/D_0$ ) は投与経路によらず常に反転標本の方が顕著であった。この詳細については現在検討中である。

一方, 正常, 反転両標本に投与した ACh は内

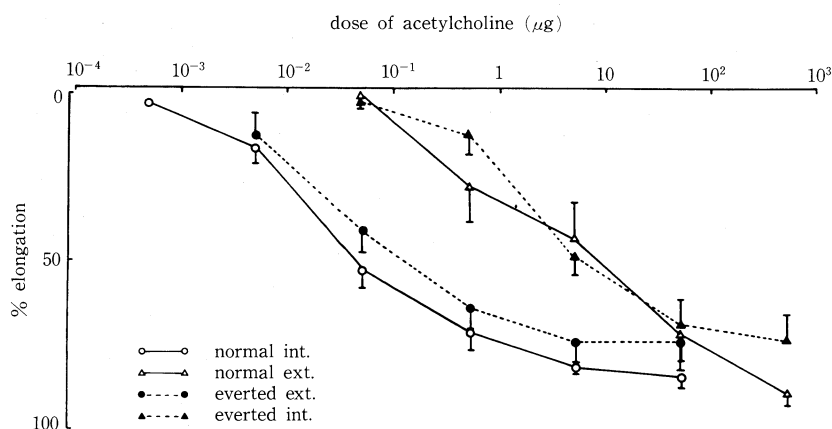


図 2. イヌ腎動脈正常ならびに反転標本における acetylcholine 反応の用量-反応曲線 (n=6)。

- 正常標本内腔投与
- △—△ 正常標本外側投与
- .....● 反転標本外側投与
- ▲.....▲ 反転標本内腔投与

膜側より投与した場合の方が高い感受性を示しながら弛緩反応を誘起した。この事実はAChによる動脈平滑筋の弛緩反応において、血管内皮細胞が重要な役割を果たしていることを強く示唆し、従来摘出血管条片より得られている実験結果と一致した。しかしこの実験系においては、外膜側より投与したAChも高濃度の場合、血管弛緩反応を惹起するという新発見も得られた。この現象の発生機序としては、(1) 外膜側より投与したAChも内皮細胞の介在のもとに血管弛緩反応を誘起した。(2) AChが直接血管平滑筋に作用して弛緩反応を惹起したという2つの可能性が考えられる。

## 文 献

- Furchgott, R.F. and Zawadzki, J.V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**: 373-376.
- Furchgott, R.F. (1983). Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* **53**: 557-573.
- Pascual, R. and Bevan, J.A. (1980). Evidence that changes in vascular tone may be initiated from the intima of the rabbit aorta. In: *Vascular neuroeffector mechanisms*, ed. by Raven et al., pp. 300-304 Raven Press, New York.
- Sakaguchi, M., Ohhashi, T. and Azuma, T. (1979). A photoelectric diameter gauge utilizing the image sensor. *Pflügers Arch.* **378**: 263-268.

## モルモットとウサギ大動脈における 収縮反応の Na 依存性の比較

東京大学農学部 家畜薬理学教室  
尾 崎 博, 浦 川 紀 元

### はじめに

従来、我々は主としてモルモット大動脈(GPA)を用い、ouabainによる収縮反応におけるNaの関与について検討し、Na-Ca交換機構の存在を示唆してきた(Ozaki *et al.*, 1978; Ozaki and Urakawa 1979; 1981 a, 1981 b)。今回は、血管平滑筋材料として広く用いられているウサギ大動脈(RA)についても検討を加え、GPAの反応と比較した。細胞内Na濃度を増加させるために、Na, K-ATPase阻害薬であるouabain, Naイオノフォアであるmonensin, さらにイオノフォアとは異なるメカニズムでNaとKに対する透過性を増大させる海産毒palytoxinを用いた。

### 結 果

1. ouabainの作用: GPAにouabain ( $2 \times 10^{-5}$  M)を作用させると、約3時間で最大とな

る持続性収縮が発生した。収縮と細胞内Na量の増加の時間経過は良く対応していた。RAにおいても細胞内Na量の増加と対応して収縮が発生したが、GPAと比べ経過は遅く、また、その相対張力は小さかった。これらの収縮は、電位依存性Caチャンネル阻害薬であるverapamil ( $2 \times 10^{-6}$  M)によりほとんど影響されなかった。

2. monensinの作用: GPAにmonensin ( $2 \times 10^{-5}$  M)を適用してもほとんど張力に影響しなかったが、ouabain ( $2 \times 10^{-5}$  M)と同時にあるいはouabain前処置後に適用すると約1時間で最大となる収縮が発生した。この収縮はverapamil ( $2 \times 10^{-6}$  M)により約30%抑制された。RAにおいてもmonensinの単独適用ではほとんど張力を発生しなかったが、ouabainとの同時適用で立ち上りの早い収縮を発生した。この収縮はverapamilにより約75%抑制された。一方、両標本においてmonensinと

表1. モルモットおよびウサギ大動脈における ouabain, monensin および palytoxin による収縮の性格。( )内は verapamil 感受性の強さを示す。

	GUINEA PIG	RABBIT
OUABAIN	slow and large contraction (Verapamil : -)	slow and small contraction (Verapamil : -)
OUABAIN + MONENSIN	rapid and large contraction (Verapamil : +)	rapid and large contraction (Verapamil : ++)
PALYTOXIN	rapid and large contraction (Verapamil : +)	rapid and large contraction (Verapamil : ++)

ouabain の同時適用は, おおのこの単独適用と比べ有意に早い細胞内 Na 量の増加をもたらした。

3. palytoxin の作用: GAP および RA に palytoxin ( $10^{-8}$  M) を適用すると, 高濃度 K 収縮に匹敵する速さと大きさの収縮を発生した。GPA における収縮は verapamil ( $2 \times 10^{-6}$  M) でわずかな抑制しか受けなかったのに対し, RA では顕著に抑制された。一方, palytoxin は両標本の急速な組織 Na 量の増加と組織 K 量の減少をもたらした。さらに GPA における palytoxin 収縮は外液 Na に強く依存したが, RA の Na 依存性は低かった。また, palytoxin は両標本において細胞内  $^{45}\text{Ca}$  量を有意に増加させたが, 収縮と同様に GPA における  $^{45}\text{Ca}$  量の増大は外液 Na に依存した。以上の成績を表1にまとめた。

## 考 察

以上のように, GPA および RA において, 細胞内 Na 量を増加させる薬物は, その作用様式や強さに応じて様々な時間経過を示す収縮を発生させたが, その収縮の性格は両標本の間で著しく異っていた。GPA においては, 脱分極の収

縮への関与は低く, Na-Ca 交換機構が大きな役割をはたすものと考えられる。他方, RA においては, 細胞内 Na 濃度の上昇 (K 濃度の減少と対応) は細胞膜の脱分極をもたらした。これによる Ca 流入の増大が収縮の主たる原因と考えられる。

## 文 献

- Ozaki, H. *et al.* (1978). Possible role of Na-Ca exchange mechanism in the contractions induced in guinea-pig aorta by potassium-free solution and ouabain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **304**: 203-209.
- Ozaki, H. & Urakawa, N. (1979). Na-Ca exchange and tension development in guinea-pig aorta. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **309**: 171-178.
- Ozaki, H. & Urakawa, N. (1981 a). Effects of K-free solution on tension development and Na content in vascular smooth muscles isolated from guinea-pig, rat and rabbit. *Pflüger's Arch. Eur. J. Physiol.* **389**: 189-193.
- Ozaki, H. & Urakawa, N. (1981 b). Involvement of Na-Ca exchange mechanism in contraction induced by low-Na solution in isolated guinea-pig aorta. *Pflüger's Arch. Eur. J. Physiol.* **390**: 107-112.

## ラット門脈平滑筋に対する Na 除去の効果

名古屋市立大学医学部 第一生理学教室

山 本 喜 通, 堀 田 健

外液の Na を除去すると収縮が起きることは種々の平滑筋で観察されており, 膜の Ca 透過性亢進や Na-Ca 交換機構などで説明されているが, まだ未知の点が多い. Masahashi & Tomita (1983) によると, ラット子宮筋に外液 Na 除去で生ずる tonic contraction は, 特にその持続性の部分は膜の Ca 透過性亢進によるといふ. つまり, Na は膜の透過性を制御する上で重要な働きをしているものと思われる. Na 除去の効果を詳しく分析することが膜の透過性制御のメカニズムを知る糸口になるとの視点から, 我々はラット門脈における外液 Na 除去の効果を研究した.

### 方 法

ラット門脈を摘出して幅約 1.5 mm, 長さ約 3 mm の軸方向の標本を作り, 容量 0.75 ml の槽に固定した. 標本の一端を張力トランスデューサに接続して軸方向の等尺性張力を記録し, また実験によっては外膜面から微小電極を刺入して膜電位の観察を同時に行った. 外液は 35°C に保ち, 毎分 3 ml の速さで槽を灌流した. Na 除去時は, 外液 Na を choline, Tris または Li で置換した.

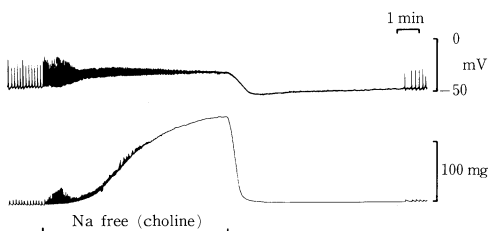


図 1. Effect of Na depletion on the electrical (upper trace) and mechanical (lower trace) activities of the rat portal vein. Na was totally replaced with choline during the period indicated below the trace.

### 結果 および 考察

choline で外液 Na を全置換すると, ラット門脈は大きな tonic contraction を発生した (図 1). この時膜は 20-30 mV 脱分極していた. Tris を使った場合でも tonic contraction は発生したが, choline の場合ほど大きなものではなかった. 一方 Li を使うと, Na 除去後 20~60 分間は全く収縮せず, その後 phasic contraction のみが出現した. 膜電位の変化は Li の場合も Na 除去直後から 20-30 mV の脱分極がみられ, phasic contraction に伴ってスパイクの発生がみられた. この脱分極の成因として膜の Ca コンダクタンスの増加も考えられるが, 少なくとも Li の場合は収縮が伴っていないのでこの説は当てはまらない. Ca 以外のイオンのコンダクタンス変化が生じていると考えられる. ラットの脱分極子宮筋では, Na の一部を Li で置換すると Ca による収縮が抑制される (Freer & Smith, 1979). ラット門脈でも Li は Na 除去による細胞外 Ca の流入を抑制していると思われる.

choline を使う場合は atropine ( $10^{-5}$  M) を併用したが, 高濃度の choline が収縮にかかわっている可能性も残るため, Na 除去による収縮が起きてから 16.7 mM の Na を choline 濃度を一定に保ちながら加えてみた. これにより収縮はほぼ完全に消失したことから, この収縮の主たる原因が Na 除去そのものであることが確かめられた. これ以降, はっきりした tonic contraction を起こす choline を主として用いた.

モルモット結腸紐では, 外液 Na 除去による細胞内 Na の漏出は 37°C ではすみやかに起こるが, 温度を下げると抑制される (Brading *et al.*, 1980). そこで低温下で外液 Na 除去の効果



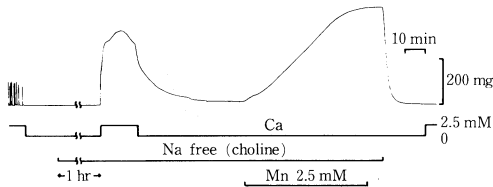


図2. Mechanical activity induced by Na depletion in Ca- or in Mn-solution. The period of applying Na-free solution (replaced with choline) and the concentrations of Ca and Mn are indicated below the trace.

をみた。13℃では外液Na除去はtonic contractionを起こさなかった。Naを除去したまま温度を35℃にすると、大きなtonic contractionが発生した。細胞外のみならず細胞内Naの減少も、tonic contraction発生には必要と考えられる。一旦細胞内Naが失われて収縮が発生してしまうと、再び低温にしても筋は弛緩しなかった。

Caを除いた液(EGTAを含まない)中では、Na除去による収縮は発生しなかった(図2)。そのままNa除去液中に1時間放置すると、細胞内のNaはほとんど失われてしまい、細胞内外のNa濃度勾配によるNa-Ca交換機構は働かなくなると考えられる。そこにCaを加えると図に示されるように大きなtonic contractionが出現した。このことからNa除去による収縮の少なくとも一部は、細胞内外のNaが失われることによって膜のCa透過性が亢進して発生しているといえる。

図2ではさらにCaの代わりにMnを加えても、Na除去下でゆっくりながら収縮が発生することを示す。もしMnが細胞内に入れば、収縮機構を直接活性化したり、細胞内Caの遊離

を介したりして収縮が起きることがモルモット胃のskinned muscleで示されている(Itoh *et al.*, 1982)。Na除去下ではラット門脈平滑筋にもMnが流入すると考えられる。

Droogmans & Casteels (1979)によると、Na除去によるtonic contractionは通常はNaによって占拠されているnon-specific channelを通るCa流入によって生ずるという。ラット門脈にもこれが当てはまると思われる。細胞内外のNaが失われるとCaやMnがnon-specific channelを通して細胞内に流入し、収縮が発生する。Liが高濃度に存在する場合はこのchannelはLiにより占拠され、Ca流入が阻害されるのであろう。

## 文 献

- Brading, A.F., Burnett, M. and Sneddon, P. (1980). The effect of sodium removal on the contractile responses of the guinea-pig taenia coli to carbachol. *J. Physiol. (Lond.)* **306**: 411-429.
- Droogmans, G. and Casteels, R. (1979). Sodium and calcium interactions in vascular smooth muscle cells of the rabbit ear artery. *J. Gen. Physiol.* **74**: 57-70.
- Freer, R.J. and Smith, A.B. (1979). Lithium dissociation of calcium- and angiotensin-induced contractions in depolarized rat uterus. *Am. J. Physiol.* **236**: C171-C176.
- Itoh, T., Kuriyama, H. and Nanjo, T. (1982). Effects of calcium and manganese ions on mechanical properties of intact and skinned muscles from the guinea-pig stomach. *J. Physiol. (Lond.)* **333**: 555-576.
- Masahashi, T. and Tomita, T. (1983). The contracture produced by sodium removal in the non-pregnant rat myometrium. *J. Physiol. (Lond.)* **334**: 351-363.

SHRSP の血管平滑筋における  $\alpha_1$  受容体刺激薬の作用

近畿大学医学部 薬理学教室

村上典子, 近藤繁俊, 東野英明  
鈴木有朋

高血圧自然発症ラット (SHR) の高血圧の原因には多くの因子が関与することが明らかにされている。その一つに血管平滑筋に対する Noradrenaline を含む収縮物質の異常な反応性があげられている。Noradrenaline の収縮反応については大動脈での実験が多く, SHR を用いてウィスター京都ラット (WKY) と比較した報告が多い。成績については収縮反応が増大したという報告 (Pang ら, 1981), が多いが, 一方減少したという報告 (Shibata ら, 1972) や変化がなかったという報告 (Hallback ら, 1971) などもあり一致がみられない。最近  $\alpha$  受容体は  $\alpha_1$  と  $\alpha_2$  に分類され, Noradrenaline は両受容体に作用することが報告されている。私達は上述の成績の不一致を解明するため  $\alpha_1$  受容体に選択的に作用するとされる (Timmerman ら, 1982) Methoxamine (Meth), Norphenyle-

phrine (NPhE), Phenylephrine (PhE) を用い大動脈の他に尾動脈, 上腸間膜動脈, 門脈を用いて SHRSP と WKY を比較した。

## 実験材料 および 方法

生後約 6 ヶ月の雌雄の stroke-prone (SHRSP) および WKY を用いた。エーテルで麻酔した後, 大動脈は縦 20 mm, 巾 2 mm, 上腸間膜動脈は縦 8 mm, 巾 1 mm, 尾動脈は縦 25 mm, 巾 1 mm のラセン条片, 門脈は縦 10 mm, 巾 1 mm の縦走条片を作製し, マグナス装置に懸垂し, トランデューサーを介して薬物によるトーンスの変化を等尺性にレコーダーに記録した。摘出臓器の湿重量は大動脈では, WKY  $19.2 \pm 0.5$  mg, SHRSP  $21.8 \pm 1.6$  mg, 上腸間膜動脈では WKY  $3.3 \pm 0.3$  mg, SHRSP  $3.6 \pm 0.3$  mg, 尾動脈では WKY  $4.9 \pm 0.3$  mg,

Table 1. The maximal contractions and the pD<sub>2</sub> values of alpha<sub>1</sub> agonists in the isolated some vascular smooth muscles.

	Maximum contraction (mg)							
	Aorta		Sup. mesenteric artery		Portal vein		Tail artery	
	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP
Phenylephrine	251.0±24.5	285.1±45.8	112.5±17.1	140.3±17.5	520.3±19.1	819.8±42.6*	61.0± 7.1	25.2±3.0*
Norphenylephrine	158.6±17.4	197.8±45.4	101.3±19.6	107.9±17.4	516.2±23.4	792.2±25.2*	50.3± 3.2	22.1±3.8*
Methoxamine	147.7±57.1	146.0±53.5	89.5±17.2	91.1± 9.7	483.7±16.4	780.1±18.0*	63.0±10.5	26.9±4.0*
Noradrenaline	253.6±20.7	292.2±26.7	119.7±10.1	143.4± 7.8	523.5±23.5	855.6±21.6*	62.5± 2.7	23.6±2.4*

Asterisks indicate significant differences between SHRSP and WKY (P<0.05)

	pD <sub>2</sub> value							
	Aorta		Sup. mesenteric artery		Portal vein		Tail artery	
	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP	WKY	SHRSP
Phenylephrine	6.79±0.09	6.82±0.08	6.70±0.14	6.88±0.14	6.53±0.04	6.39±0.07	6.08±0.04	6.14±0.10
Norphenylephrine	6.20±0.16	5.94±0.10	6.60±0.17	6.71±0.20	6.09±0.10	6.19±0.11	5.50±0.06	5.66±0.12
Methoxamine	5.50±0.16	5.07±0.08	6.09±0.15	6.29±0.11	5.77±0.03	5.61±0.07	5.52±0.03	5.51±0.12
Noradrenaline	8.09±0.10	8.12±0.09	7.55±0.09	7.78±0.18	6.92±0.05	6.79±0.08	6.92±0.13	7.18±0.14

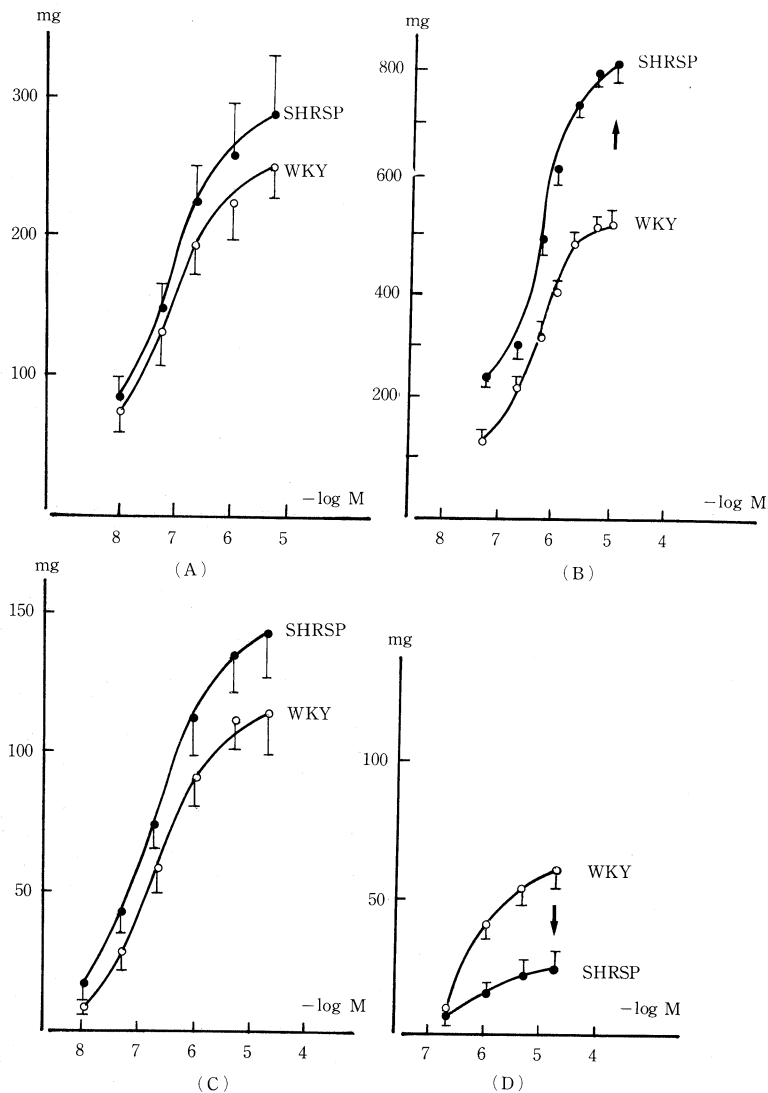


Fig. 1. Dose-response curves for phenylephrine in isolated aortas (A), portal veins (B), superior mesenteric arteries (C) and tail arteries (D) from SHRSP and WKY.

SHRSP  $5.5 \pm 0.5$  mg, 門脈では WKY  $3.1 \pm 0.4$  mg, SHRSP  $3.2 \pm 0.6$  mg であった. いずれの臓器においても SHRSP と WKY との間に差がなかった. 栄養液には  $37^\circ\text{C}$  の Locke 液を用い, 95%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$  の混合ガスで通気した. 薬物は直接栄養液内に注入した.

## 実験結果

### 1. 大動脈での成績: PhE はいずれの用量

においても発生張力および  $\text{ED}_{50}$  値に差はなかった (表 1). したがって PhE の用量 (D)-反応 (R) 曲線は両者の間に差はなかった (図 1). NPhE および Meth も PhE と同様で, 用いた量における張力および  $\text{ED}_{50}$  値は両者の間に差がなく, したがって D-R 曲線も両者の間に差がなかった.

2. 上腸間膜動脈での成績: 大動脈での成績と同じく, PhE, NPhE および Meth の最大張力

はSHRSPとWKYとの間に差がなかった。ED<sub>50</sub>値もSHRSPとWKYとの差はなかった。したがってこれらの薬物のD-R曲線はSHRSPとWKYの間に差はなかった。

3. 門脈での成績: SHRSPでのPhEの最大張力はWKYのそれに比し1.7倍の張力の発生を生じた(図1)。NPhEおよびMethも同様で、SHRSPの方が約1.6倍の張力の増大を生じた。PD<sub>2</sub>値はいずれの収縮薬においてもSHRSPとWKYとの間に差はなかった。したがってSHRSPの収縮薬のD-R曲線はWKYのそれに比し、上方への変移のみを示した。

4. 尾動脈での成績: SHRSPでのPhEの最大張力はWKYのその約40%であった(図1)。NPhEおよびMethも同様でSHRSPはWKYのその約40%であった。各用量における発生張力はほぼ同程度であった。各収縮薬のPD<sub>2</sub>値はSHRSPとWKYとの間に差はなかった(図1)。したがってSHRSPでの各収縮薬のD-A曲線は、WKYのそれに比し下方への変動のみ示した(図1)。

## 考 察

門脈は血圧の影響をうけにくい臓器とされている(Rohodesら, 1971)。門脈でのPhE, NPhE, Methの作用がWKYよりもSHRSPが高い反応を示したことはSHRSPでの $\alpha_1$ 受容体の反応性の亢進は高血圧による二次的な因子の関与は否定できないが、遺伝的に $\alpha_1$ 受容体の機能が亢進していると考えるのが妥当である。しかし一方、PD<sub>2</sub>値に差はなかったので受容体の親和性には変化ないと考えられる。大動脈および上腸間膜動脈は血圧の影響を強くうけるとされる臓器である。これらの臓器で、 $\alpha_1$ 刺激薬の作用がSHRSPとWKYとの間に差がなかったため、大動脈および上腸間膜動脈では $\alpha_1$ 受容体の反応性の亢進はないと考えられる。村上らは幼弱期のSHRSPではNoradrenalineの反応性はWKYよりも大であったと報告してい

るので成熟期では高血圧あるいは血中のカテコールアミンの増大などによって $\alpha_1$ 受容体の反応性が低下したと考えられる。尾動脈は熱の放散に関係し、体温を調節する特殊な血管であるとされる。 $\alpha_1$ 刺激薬の反応性はSHRSPの方がWKYよりも小であった。したがってこの臓器では $\alpha_1$ 受容体の反応性は他の臓器と異なると考えられる。松本らによると薬物の用量-作用曲線は親和性と反応性の2つの因子からなり、親和性は薬物の受容体での結合の度合を示し、反応性はCaの利用度を示すとのべている。いずれの臓器でも $\alpha_1$ 受容体の親和性には変化がなかったため受容体の性質そのものには変化がないと考えられ、Caの利用度のみが変化し、またこの変化は臓器により異なると考えられる。

## 文 献

- Hallback, M., Lundgren, Y. & Weiss, L. (1971). Reactivity to norepinephrine and nature of the alpha adrenergic receptor in vascular smooth muscle of a genetically hypertensive rat. *Acta Physiol. Scand.* **81**: 176-181.
- Pang, C.C.Y. & Sutter, M.C. (1981). Differential effects of D600 on contractile response of aorta and portal vein from spontaneously hypertensive rat. *Blood vessel* **18**: 120-127.
- Rohodes, H.J. & Sutter, M.C. (1971). Vasomotion and contraction of perfused mesenteric portal vein. *Can. J. Physiol.* **49**: 615-618.
- Shibata, S. & Kurahashi, K. (1972). Possible mechanism of vascular reactivity differences in spontaneously hypertensive and normotensive rat aortae. In: *Spontaneous hypertension: Its pathogenesis and complications*. ed. by K. Okamoto, pp. 115-118, Igakushoin, Tokyo.
- Timmermans, B.M.W.M. & Van Zwieten, A. (1972).  $\alpha$ -adrenoceptors: classification, localization, mechanisms, and targets for drugs. *J. Med. Chem.* **25**: 1388-1401.

## Vanadate-induced Contraction in Various Vascular Smooth Muscles

T. Shimada, K. Shimamura, H. Miyake

N. Kajimoto\* and S. Sunano

Research Institute of Hypertension, Kinki University and

\*Department of Pharmacology, School of Medicine, Kinki University

Vanadate has been known to exhibit inhibitory actions on Na,K-ATPase and Ca-ATPase of various tissues (Wang *et al.*, 1979; Bond and Hudgins, 1980; Searle *et al.*, 1983). It has also been reported that the drug induces contraction of rat and guinea-pig aorta (Ozaki and Urakawa, 1980; Rapp, 1981). However, little has been known about the actions of vanadate on other vascular smooth muscles. In the present experiments, the effects of sodium vanadate on various types of blood vessels including those obtained from stroke prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) and Wistar Kyoto rats (WKY).

### Material and methods

Helical strips of aortae, mesenteric arteries and basilar arteries were obtained from SHRSP, WKY, rabbits and guinea-pigs. Preparations were incubated in modified Tyrode's solution. K-constrictures were induced by changing the solution from modified Tyrode's solution which was made by replacing all NaCl in the solution with KCl. Developed tensions were measured isometrically by mechano-electronic transducer.

### Results

In the aortae of SHRSP, WKY and guinea-pigs, the threshold concentration of sodium vanadate of tension development was

between  $5 \times 10^{-6}$  M and  $10^{-5}$  M, and no variation among animals was observed. The heights of contraction at  $5 \times 10^{-3}$  M were, respectively, 81.9%, 76.2% and 61.6% of the heights of K-induced contracture. The size of vanadate-induced contractions varied among various types of preparations. For example, they were 56.5% in rat basilar artery, 28.0% in guinea-pig aorta, 2.8% in guinea-pig mesenteric artery, respectively of the heights of K-contracture. Variation were also observed in the same types of arteries from various species of animals and in the various types of arteries from same

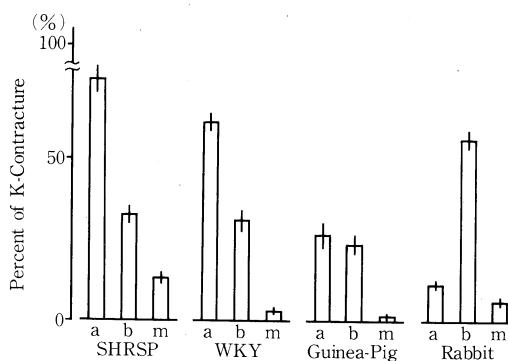


Fig. 1 Heights of sodium vanadate-induced contractions in various vascular smooth muscles. The contractions were initiated by  $10^{-3}$ M sodium vanadate and their heights are expressed as percentages of respective K-contracture. Each column represents mean value of 8 to 21 measurements with SE. a: aorta, b: basilar artery, m: mesenteric artery.

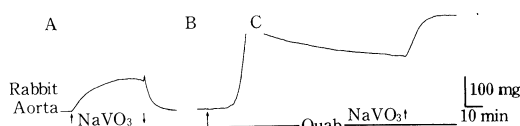


Fig. 2 Effect of ouabain on vanadate-induced contraction in rabbit aorta. A: control sodium vanadate ( $\text{NaVO}_3$ ,  $10^{-3}\text{M}$ )-induced contraction. B: ouabain was applied. C: sodium vanadate-induced contraction in the presence of ouabain ( $\text{Ouab}$ ,  $10^{-4}\text{M}$ ). Sodium vanadate was added 2 hrs after the application of ouabain.

types of animals (Fig. 1).

The tension developments by sodium vanadate were not blocked by prazosin, yohimbine or guanethidine. Phentolamine also did not block the contractions but it rather potentiated them as observed in rat mesenteric artery. Treatment with 6-hydroxydopamine could not prevent the contractile effect of sodium vanadate.

Ouabain of  $10^{-4}\text{M}$  or  $10^{-3}\text{M}$  caused tension development varying among the types of arteries. However, it could not block the sodium vanadate-induced tension development (Fig. 2).

In the depolarized preparations, sodium vanadate induced a small transient contraction followed by slow relaxation in most of preparations. The degree of the relaxation also varied among the types of the preparations, being more prominent in aortae and less prominent in mesenteric arteries.

## Discussion

Variations in the action of sodium vanadate among various types of blood vessels were demonstrated in the present experiments. These variations may not be explained either by differences in the innervation or by differences in Na, K-ATPase. The variations in excitation contraction coupling mechanisms, especially in the roles of Ca, may be a cause of the variations.

## References

- Bond, G.Y. and Hudgins, P.M. (1980). Inhibition of red cell  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase by vanadate. *Biochim. Biophys. Acta.* **600**: 781-790.
- Ozaki, H. and Urakawa, N. (1980). Effects of vanadate on mechanical responses and Na-K pump in vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* **68**: 339-347.
- Rapp, J.P. (1981). Aortic responses to vanadate: Independence from (Na, K)-ATPase and comparison of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *Hypertension* **3** (suppl. I) **I-168-I-172**.
- Searle, B.M., Higashino, H., Khali, F., Bogden, J.D., Tokushige, A., Tamura, H., Kino, M. and Aviv, A. (1983). Vanadate effect on the Na, K-ATPase and Na-K pump in in vitro-grown rat vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* **53**: 186-191.
- Wang, T., Tsai, L.I., Solaro, R.J., Grassi de Gende A.O. and Schwartz, A. (1979). Effects of potassium on vanadate inhibition of sarcoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase from dog cardiac and rabbit skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **91**: 356-361.

## リンパ管平滑筋に対するプロスタグランジンの作用

信州大学医学部 第一生理学教室

大 橋 俊 夫

順天堂大学

東 健 彦

## はじめに

リンパ輸送機構は大別して (1) リンパ管外に存在する呼吸運動を含めた筋肉活動や動脈の拍動などに応じた外力と内在するリンパ管弁の協調作用に基づく受動的なリンパ輸送機転と, (2) リンパ管平滑筋の自発的な活動に基づく能動的輸送機転とに区別することができる (Ohhashi, Azuma and Sakaguchi, 1980). 今回は, 能動的リンパ輸送機転が主役を果たしているウシの腸間膜リンパ管を用いて, 自発性収縮の頻度と振幅に対する種々プロスタグランジン (PG) の影響を比較検討した.

## 実験材料 ならびに 方法

食肉用に屠殺されたウシの腸間膜より外径 2~3 mm のやや太い集合リンパ管を摘出した. 周囲脂肪組織を丁寧に剥離した後, 幅 5 mm の弁を含む円筒状標本を作製した. 標本は 37°C に加温された Krebs 液 (組成 mM: NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose 5.5) 灌流下の臓器槽に装着した. 保生液はたえず 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合ガスの通気を行ない, pH を 7.4 に維持した. 至適基本張力 2 mN を標本に負荷した (Ohhashi & Roddie, 1981). 円周方向の発生張力を等尺性に記録しながら, 自発性収縮を誘起させ, 種々プロスタグランジンの影響を検討した. 使用薬剤は PGA<sub>2</sub> (Sigma), PGB<sub>2</sub> (Sigma), PGE<sub>2</sub> (小野薬品), PGF<sub>2α</sub> (小野薬品), PGI<sub>2</sub> (Upjohn), 6-keto PGF<sub>1α</sub> (Upjohn), dl-noradrenaline hydrochloride (NA) (三共), l-isoproterenol hydrochloride (ISP) (日研化学), phentolamine mesylate (Ciba-Geigy), pro-

pranolol hydrochloride (住友化学), atropine sulfate (田辺製薬), methysergide hydrogen maleate (Sandoz), diphenhydramine hydrochloride (Sigma), cimetidine (Smith kline & French) である.

## 実験結果

図 1 A はリンパ管平滑筋の自発性収縮に対する NA (10<sup>-7</sup> M) ならびに PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-7</sup> M) の典型的な反応例を示している. 対照時, リンパ管平滑筋は 1 分間に 2~3 回の頻度で規則正しい律動的収縮を呈した. NA と PGF<sub>2α</sub> はともに自発性収縮の頻度と振幅を増加させた. 同様に 10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup> M の PGA<sub>2</sub>, PGB<sub>2</sub>, 6-keto PGF<sub>1α</sub> はいずれも, 用量依存的にウシ腸間膜リンパ管の自発性収縮頻度・振幅を高めた. その反応性は PGF<sub>2α</sub> が最も強く, ついで PGA<sub>2</sub>, PGB<sub>2</sub>, 6-keto PGF<sub>1α</sub> の順で低下した.

つづいて, PGF<sub>2α</sub> 反応の発生機構におけるアミン作動性神経の関与について検索した (図 1B). 10<sup>-7</sup> M NA 添加による自発性収縮の頻度・振幅増強作用は, 図 1B 上段に示すように,

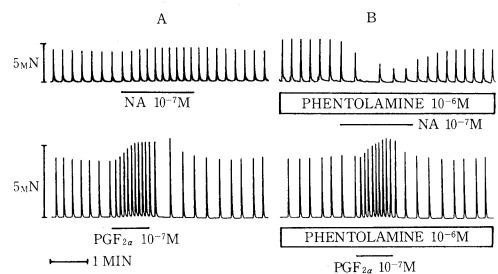


図 1. A: リンパ管平滑筋の自発性収縮に対する noradrenaline (NA) ならびに prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) の典型的な反応例. B: 上記 NA ならびに PGF<sub>2α</sub> の作用に対する  $\alpha$  遮断剤 phentolamine の影響.

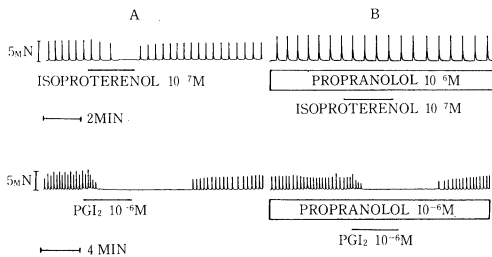


図2. A: リンパ管平滑筋の自発性収縮に対する isoproterenol ならびに prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) の典型的な反応例.  
B: 上記 isoproterenol ならびに PGI<sub>2</sub> 作用に対する  $\beta$  遮断剤 propranolol の影響.

$\alpha$  遮断剤 phentolamine ( $10^{-6}$  M) の前処置により負の変時ならびに変力作用に逆転した。これらの両作用は  $\beta$  遮断剤 propranolol ( $10^{-6}$  M) の追加処置により完全に抑制された。すなわちウシ腸間膜リンパ管の自発性収縮はカテコラミンの  $\alpha$  受容体刺激により正の変時ならびに変力作用を示し、 $\beta$  受容体刺激で負の変時・変力作用を呈することが判明した。一方、PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  の自発性収縮頻度・振幅の増強作用は  $\alpha$  遮断剤の前処置によっても全く影響を受けなかった。(図1B)。この増強作用は、 $10^{-6}$  M atropine,  $10^{-6}$  M methysergide,  $10^{-6}$  M diphenhydramine,  $10^{-6}$  M cimetidine の前処置を受けても変化しなかった。同様の現象は PGA<sub>2</sub>, 6-keto PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  による正の変時ならびに変力作用においても認められた。

図2Aはウシ腸間膜リンパ管の自発性収縮に対する ISP ( $10^{-7}$  M) と PGI<sub>2</sub> ( $10^{-6}$  M) 反応の典型例を示している。 $\beta$  作用薬 ISP の投与により自発性収縮の頻度と振幅は漸減し、投与後約1分で自発性収縮は消失した。正常保生液の灌流により自発性収縮は直ちに再現した。それに対し、PGI<sub>2</sub> は自発性収縮の振幅のみを低下させながら、投与後約1.5分で自発性収縮を完全に消失させた。約6分にわたる正常保正液の灌流

によって自発性収縮の振幅を漸増させながら再現し、対照に復した。負の変力作用は  $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  M PGE<sub>2</sub> の添加によっても認められた。PGI<sub>2</sub> と PGE<sub>2</sub> による負の変力作用は  $10^{-6}$  M propranolol (図2B),  $10^{-6}$  M atropine,  $10^{-6}$  M methysergide,  $10^{-6}$  M diphenhydramine,  $10^{-6}$  M cimetidine いずれの前処置を受けてもほとんど影響はなかった。

## 考 察

ウシの腸間膜リンパ管における自発性収縮は  $10^{-8}$ ~ $10^{-5}$  M の PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , PGA<sub>2</sub>, PGB<sub>2</sub>, 6-keto PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  によって用量依存的に収縮頻度・振幅を増加させた。一方、 $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$  M の PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> はともに自発性収縮の振幅を抑制したが頻度にはほとんど影響を及ぼさなかった (Ohhashi & Azuma, 1984)。加えてこれらの PG<sub>s</sub> 作用はリンパ管平滑筋細胞に対する直接作用によって生じていることが示唆された。

以上の事実より、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , PGA<sub>2</sub>, PGB<sub>2</sub> は能動的リンパ輸送を促進させてリンパ流量を増加させ、PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub> は逆にリンパ流量を抑制することが想定された。

## 文 献

- Ohhashi, T., Azuma, T. & Sakaguchi, M. (1980). Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics. *Am. J. Physiol.* **239**: H88-H95
- Ohhashi, T. & Roddie, I.C. (1981). Relaxation of bovine mesenteric lymphatics in response to transmural stimulation. *Am. J. Physiol.* **240**: H498-H504
- Ohhashi, T. & Azuma, T. (1984). Varigated effects of prostaglandins on spontaneous activity in bovine mesenteric lymphatics. *Microvasc. Res.* **27**: 71-80



## 鶏胚における Auerbach 神経叢の発生と 細胞外基質の変化

東京都立清瀬小児病院 外科

上 野 滋, 林 奂

慶応義塾大学医学部外科

横 山 穰太郎, 勝 俣 慶 三

### 緒 言

腸管神経節細胞は、神経提細胞由来とされている。我々は、その発生と細胞外基質の関連性に着目し、鶏胚を用いた Auerbach 神経叢の発生に伴うヒアルロン酸の変化を分析し報告した(上野ら, 1983)。今回は更に、Auerbach 神経叢の発生とグリコサミノグリカン及びフィブロネクチンの局在について検討したので報告する。

### 方 法

受精後3~10日の鶏胚を経時的に採取、Hamburger & Hamiltonに従って stage 分類し、下部結腸を含む切片について次の組織化学的検索を行った。

- (i) hematoxylin eosine 染色
- (ii) acetylcholinesterase 染色 (Karnovsky-Roots 法)
- (iii) alcian blue 染色 (pH 2.5)
- (iv) streptomyces hyaluronidase 消化 (Yamada 法) 後 alcian blue 染色 (pH 2.5)
- (v)  $^{35}\text{S Na}_2\text{SO}_4$  autoradiography
- (vi) 抗ニワトリフィブロネクチン抗体及び FITC 標識抗体を用いた間接蛍光抗体法
- (vii) 抗ニワトリフィブロネクチン抗体及び peroxidase 標識抗体を用いた間接酵素抗体法

尚、(i), (iii), (iv), (v) については 1% cetylpyridinium chloride 加 10% 中性ホルマリン固定パラフィン包埋後の 3  $\mu\text{m}$  切片を、(ii), (vi), (vii) については periodate, lysine -paraformaldehyde 固定後の 6  $\mu\text{m}$  凍結切片

を材料として処理した。

### 結 果

A. Auerbach 神経叢の発生: stage 26 (受精後約 4.5~5 日) までの腸管は粘膜層と未分化な間葉系細胞層の二層からなり、腸間膜付着部には Remak 神経節が形成される。stage 27 (約 5 日) には未分化な間葉系細胞層の中央に細胞の凝集がおこり、次第に内輪筋層を形成する。Auerbach 神経叢は hematoxylin eosine 染色では stage 33 (約 7.5~8 日) 以降に内輪筋層の外側に認められるが、acetylcholinesterase 染色では stage 30 (約 6.5 日) にすでに筋層外側に島状に観察された (図 1)。

B. ヒアルロン酸の局在: stage 26 以前の未分化な間葉系細胞層では alcian blue 染色性が高く、streptomyces hyaluronidase 処理により染色性は著しく低下し、未分化間葉系細胞層がヒアルロン酸に富むことが確認された。内輪筋層の出現に伴い同部のヒアルロン酸は減少するが、筋層外側の Auerbach 神経叢が出現する細胞層は、神経叢出現前までヒアルロン酸は豊富に保たれた。しかし、Auerbach 神経叢出現後この層のヒアルロン酸は減少した。

C. 硫酸化グリコサミノグリカンの局在:  $^{35}\text{S Na}_2\text{SO}_4$  autoradiography では、未分化な時期には粘膜基底膜及び腸間膜に  $^{35}\text{S}$  の強い局在を認めたが、間葉系細胞層には乏しかった。Auerbach 神経叢の出現する細胞層にもその発生に関連した  $^{35}\text{S}$  の局在を認めなかった。

D. フィブロネクチンの局在: 酵素抗体法、蛍光抗体法のいずれにおいてもフィブロネクチンは同様の局在を示した。即ち、stage 26 以前

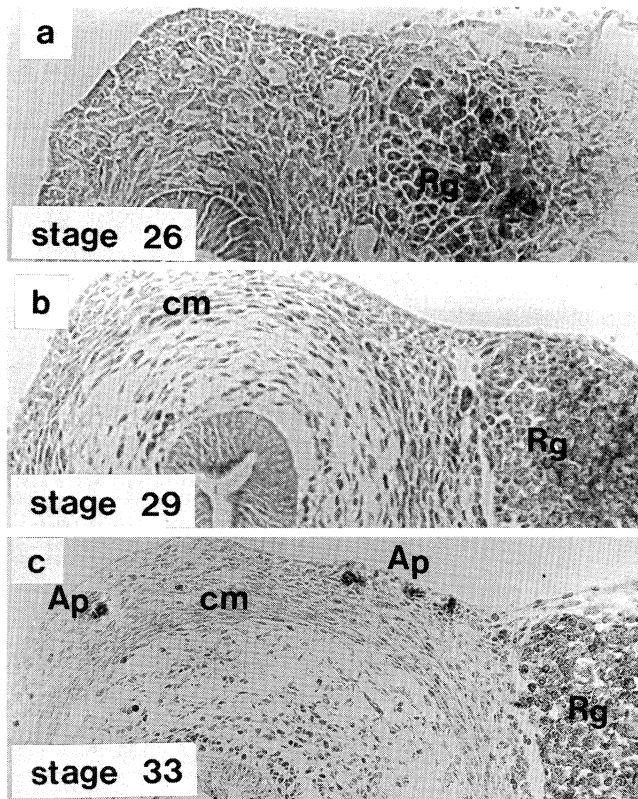


図 1. Auerbach 神経叢の発生 (acetylcholinesterase 染色)  
stage 27 以後に内輪筋層が形成され, stage 30 以降になると内輪筋層外側に Auerbach 神経叢が出現する. Rg: Remak 神経節. Ap: Auerbach 神経叢. cm: 内輪筋層.

の未分化な間葉系細胞層にはフィブロネクチンはびまん性に存在するが, 内輪筋層の分化に伴い, 筋層の内外層に局在を示した. Auerbach 神経叢の出現する細胞層にはその出現前から特に強く局在が見られ, 出現後も消失しなかった.

## 考 察

腸管神経節細胞の原基とされる神経提細胞の遊走や分化は, *in vivo* 及び *in vitro* において細胞外基質によって誘導されるとの報告が見られる (Newgreen �ら, 1982). ヒアルロン酸は発生初期に神経提細胞が遊走する部位に局在し, 細胞の可動する場を提供するとされる (Pratt ら, 1975). また, フィブロネクチンは, 培養された神経提細胞の遊走をうながし (Rovasio ら, 1983) 分化に影響を与える (Loring ら, 1982) と

の報告が見られる.

今回我々は, Auerbach 神経叢の出現に伴う細胞外基質の局在の変化, 即ち神経叢の出現前に豊富であったヒアルロン酸が神経叢の出現後減少すること, 更にフィブロネクチンが神経叢の出現する細胞層に局在することを観察した. これらの事実は, 腸管壁内においても, 神経節細胞の発生がこれらの細胞外基質によって誘導されている可能性を示唆するものである.

stage 30 以降に組織化学的方法によって同定される神経節細胞の出現が, より早い時期に遊走した神経芽細胞の分化を意味するのか, 成熟した神経節細胞の腸管壁内への遊走出現を意味するのかについては議論のあるところである. 今回観察された細胞外基質の変化がいずれの発生過程に伴うものであるか, 今後更に検討した

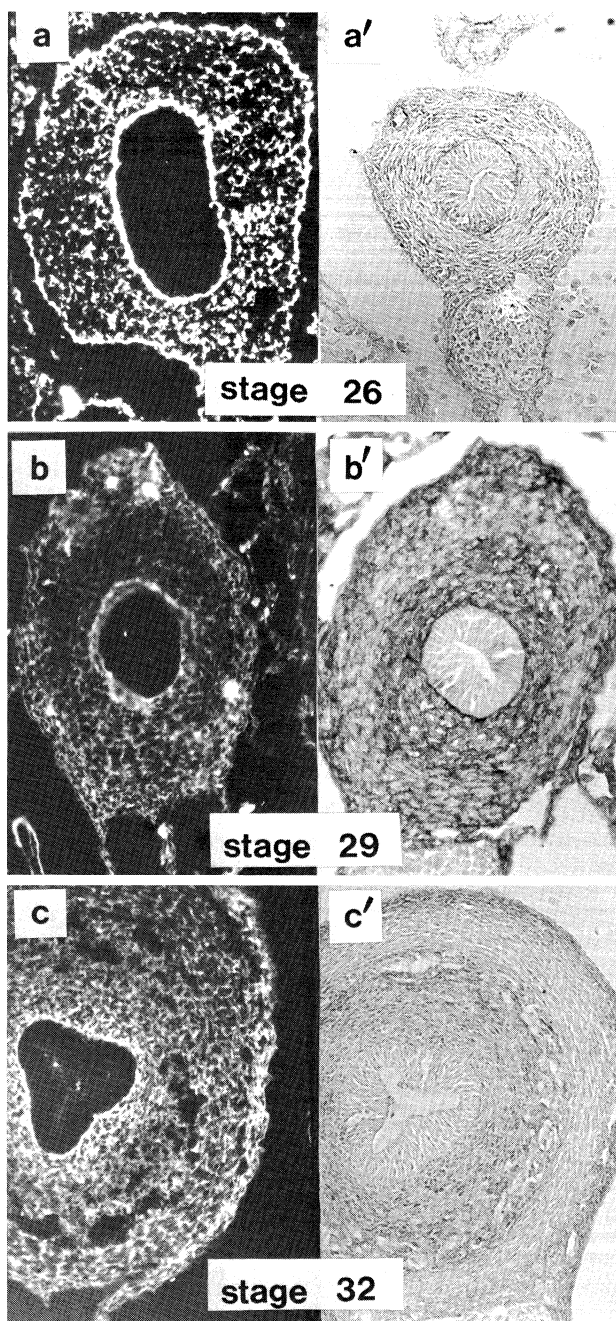


図2. フィブロネクチンの局在  
stage 26 以前にはフィブロネクチンは未分化間葉系細胞層にびまん性に存在するが、筋層が分化するとその内外側に局在するようになる。a, b, c, 蛍光抗体法。a', b', c', 酵素抗体法。

いと考える。

## 文 献

- Loring, J., Glimelius, B., and Weston, J.A. (1982). Extracellular matrix materials influence quail neural crest cell differentiation in vitro. *Dev. Biol.* **90**: 165-174.
- Newgreen, D.F., et al. (1982). Ultrastructural and tissue-culture studies on the role of fibronectin, collagen, and glycosaminoglycans in the migration of neural crest cells in the fowl

- embryo. *Cell Tissue Res.* **221**: 521-549.
- Pratt, R.M., Larsen, M.A., and Johnston, M.C. (1975). Migration of cranial neural crest cells in a cell-free hyaluronate-rich matrix. *Dev. Biol.* **44**: 298-305.
- Rovasio, R.A. et al. (1983). Neural crest cell migration: Requirements for exogenous fibronectin and high cell density. *J. Cell Biol.* **96**: 462-473.
- 上野 滋ら (1983). 腸管細胞外基質の発生学的検討. 日本平滑筋誌 **19**: 334-336.

## アウエルバッハ神経叢の発育と Nervous System-Specific Enolase (NSE) および S-100 蛋白の局在について

名古屋大学医学部 第一外科学教室  
愛知県コロニー中央病院 小児外科

堀 沢 稔, 石 黒 士 雄, 伊 藤 喬 広  
長 屋 昌 宏

愛知県コロニー発達研究所 生化学  
加 藤 兼 房

私共は神経組織特異蛋白のうち、特にニューロン（神経細胞、軸索、シナプス）に特異的である nervous system-specific enolase（以下 NSE と略す）とグリア系細胞に特異性のある S-100 蛋白をヒルシュスブルグ氏病ラットの腸管壁内神経の検索に利用してきた。NSE 抗体（Kato, 1982）、S-100 蛋白抗体による免疫組織学的染色で、神経節細胞とグリア細胞が識別される（図 1A, B）。今回、私共は更に胎生期中の腸管壁内神経、特にアウエルバッハ神経叢における NSE、S-100 蛋白の局在の変化を検討したので報告する。

### 対象 および 方法

ウイスター系ラット胎仔（胎生 11 日から 20 日）、および、新生ラット（生後 1 日から 3 日）までを対象とした。胎仔および新生ラットは PLP 液、ザンボニー液にて固定し、凍結切片と

パラフィン切片を作成した。免疫組織学的染色は Nakane 法による間接法を用い、抗血清は抗ラット NSE ウサギ血清、抗ウシ S-100 蛋白ウサギ血清を用いた。

### 結 果

#### 1) NSE の局在

胎生 11 日目では、胃腸管は約 1-2 mm で、胃は厚くふくらみを増し、胃と判別できるようになり、粘膜基底部近くに NSE 陽性細胞（神経芽細胞）の塊が認められた。胎生 13 日目では、腸管は延長して、臍帯ヘルニアを形成していた。胃壁は厚く、粘膜下層と筋層の判別はつげがたく、また、十二指腸以下の腸管はその内腔を認めなかった。NSE 陽性細胞は胃からさらに小腸に分布していた。図 1C は十二指腸の NSE 染色で、NSE 陽性細胞は集合して存在する部分と分散して存在する部分が認められた。胎生 14 日目では

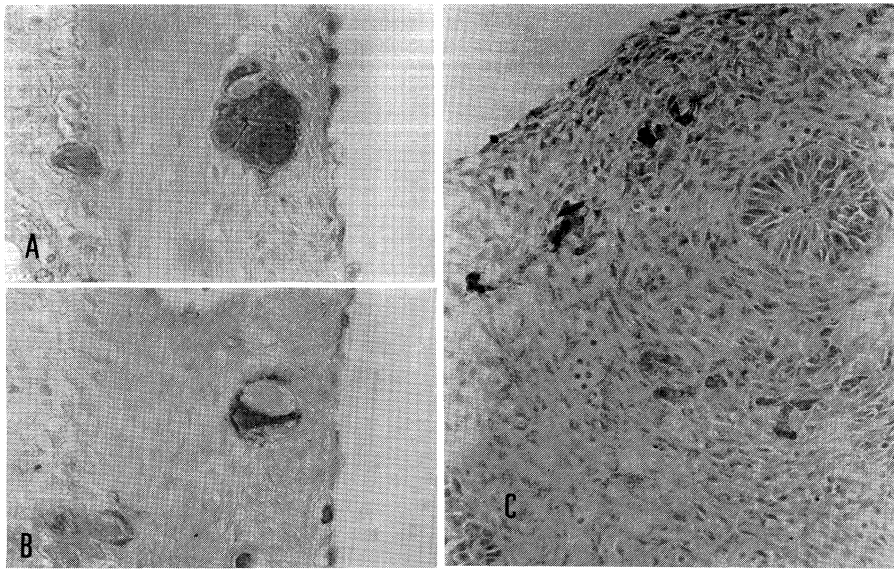


図1. A: 正常ラット腸管のNSE免疫染色. 神経節細胞が染色されている. B: 正常ラット腸管のS-100蛋白免疫染色. 神経節細胞が抜けグリア細胞のみが染色されている. C: 胎生13日目ラット胎仔の十二指腸のNSE免疫染色.

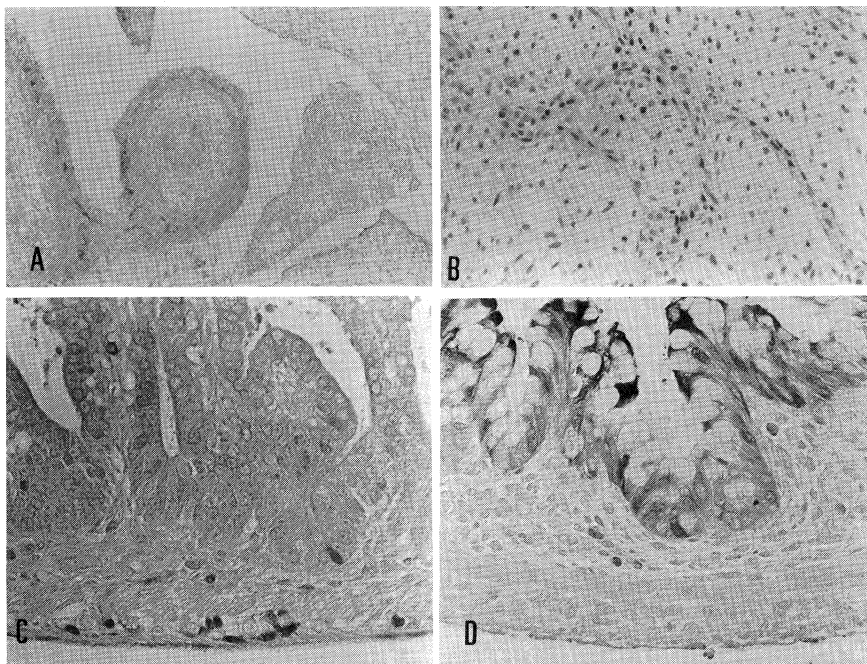


図2. A: 胎生15日目ラット胎仔のNSE免疫染色. B: 胎生17日目ラット胎仔の胃壁のS-100蛋白免疫染色. C: 胎生18日目ラット胎仔の小腸のS-100蛋白免疫染色. D: 胎生18日目ラット胎仔の結腸下部のS-100蛋白免疫染色.

は腸管延長が著明で臍帯ヘルニアはさらに大きくなり、腸管の粘膜下層と筋層の区別は不明瞭ながら判別出来るようになり、アウエルバッハ神経叢の形態がはっきりしてくる。

胎生 15 日目では結腸上部まで NSE 陽性細胞を認めるようになった。図 2A は胎生 15 日目の腸管で左の 2 つの腸管は小腸で、アウエルバッハ神経叢に NSE 陽性細胞を認め、右の腸管は結腸下部で NSE 陽性細胞を認めない。胎生 16 日目になると直腸まで NSE 陽性細胞(神経節細胞)を認めるようになった。

#### 2) S-100 蛋白の局在

胎生 15 日以前では S-100 蛋白の免疫活性は腸管に認めなかった。胎生 16 日目に僅かに胃、十二指腸に S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)を認めるようになった。図 2B は 17 日目胃壁での S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)を認め、また、アウエルバッハ神経叢のネットワークも充分発達していた。

胎生 18 日目には全小腸および結腸上部でアウエルバッハ神経叢に S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)を認めた。図 2C は小腸で、アウエルバッハ神経叢に、S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)を多数認めるが、結腸下部(図 2D)では認めなかった。

しかし、生後 1 日目には直腸まで S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)を認めるようになった。

#### 考 按

私共は筏井らが初めて育種に成功した、先天性 aganglionosis ラット(筏井, 1979)の腸管壁内神経において、神経節細胞とグリア細胞の分布を NSE, S-100 蛋白の抗血清を用いた免疫組織学的染色にて検討してきた。この先天性 aganglionosis ラットは全結腸が無神経節腸管という形をほとんどとり、回腸下部以下の無神経節腸管で、NSE と S-100 蛋白ともに免疫活性陽性細胞を認めなかった。今回の私共のラット胎仔腸管の検討では、NSE 陽性細胞(神経節

細胞)の分布から、先天性 aganglionosis ラットでは、胎生 13 日目頃の壁内神経発育停止によるものと解された。

また、S-100 蛋白を有するグリア細胞の出現は神経細胞の発生よりかなり遅れるが、これも口側から肛門側に分布が進むことが明らかになった。

#### 結 語

1) ニューロン特異性蛋白, エノラーゼ(NSE)および、グリア特異性 S-100 蛋白の免疫組織学的染色は、ラット胎仔において壁内神経の発育の指標となる。

2) NSE 陽性細胞(神経芽細胞)はラット胎仔 11 日目に僅かに認め、その後、肛門側に分布が進み、16 日目には直腸にまで到達した。

一方、S-100 蛋白陽性細胞(グリア細胞)は NSE より遅れ、胎生 16 日目に僅かにみとめ、18 日目に結腸上部まで出現し、生後 1 日目に直腸に認めた。

3) 先天性 aganglionosis ラットの無神経節腸管は全腸に及ぶものがほとんどであることから、胎生 13~14 日頃の壁内神経節細胞の発育が停止したためと解された。

#### 文 献

- Ferri, G., *et al.* (1982). Evidence for the presense of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. *Nature* **397**: 409-410.
- 筏井 洋ら (1979). 先天性 Aganglionosis Rat (Hirschsprung 病 Rat) の発見とその遺伝学的研究. 先天異常 **19**: 31-36.
- Kato, K. (1982). Distribution of nervous system-specific forms of enolase in peripheral tissue. *Brain Research* **237**: 441-448.
- Okamoto, E. and Ueda, T. (1967). Embryogenesis of intramural ganglia of the gut and its relation to Hirschsprung's disease. *J. Pediatr. Surg.* **2**: 437-443.

## 小腸壁内神経活動に対する AF64A の影響

大阪府立大学農学部 家畜薬理

久保 薫, 矢ヶ崎 修, 柳谷 岩雄

AF64A (Ethylcholine mustard aziridinium ion) は ACh 合成を阻害すると共に, 選択的にコリン作動性神経終末に蓄積され, 神経の変性を起す特異性の高い神経毒である (Fisher ら, 1982). 腸管運動においては, コリン作動性神経が主要な役割を占めていると考えられるので, 壁内神経叢活動に対する AF64A の作用を検討した.

## 実験方法

雄性モルモットを放血屠殺し, 直ちに回盲部より口側へ約 10 cm の部位を除いた回腸を摘出し, 以下の実験に用いた.

1. 局所電気刺激: 常法により, 壁内神経叢の付着した回腸縦走筋標本 (LMP 標本) を作成し, タイロッド氏液 (Ty 液) 中, 37°C 通気下に

その口側端に接着した白金電極を介して電気刺激 (EFS: 0.5 ms, supramaximal voltage, 10 Hz, 50 パルス, 200 秒毎) を行い, 生じる収縮を等尺性に, 経時的に記録した. organ bath 内は, 所定の濃度の AF64A を含む Ty 液で, 2 ml/min で灌流した.

ACh 放出実験においては, LMP 標本をエゼリン (5  $\mu$ M), コリン (1  $\mu$ M) を含む Ty 液中に懸乗し, 浴液を 12 分毎に新鮮液と交換採取し, モルモット回腸縦走筋を用いて bioassay した.

2. 腸壁伸展実験: エゼリン (5  $\mu$ M) を含む Ty 中で, 37°C 通気下に, 長さ 3~4 cm の腸片の内腔に直径 6~7 mm のガラス棒を挿入し, 輪走筋方向に 10 分間伸展し, 溶液中に放出される ACh 量を測定した. 実験終了後, 直ちに組織

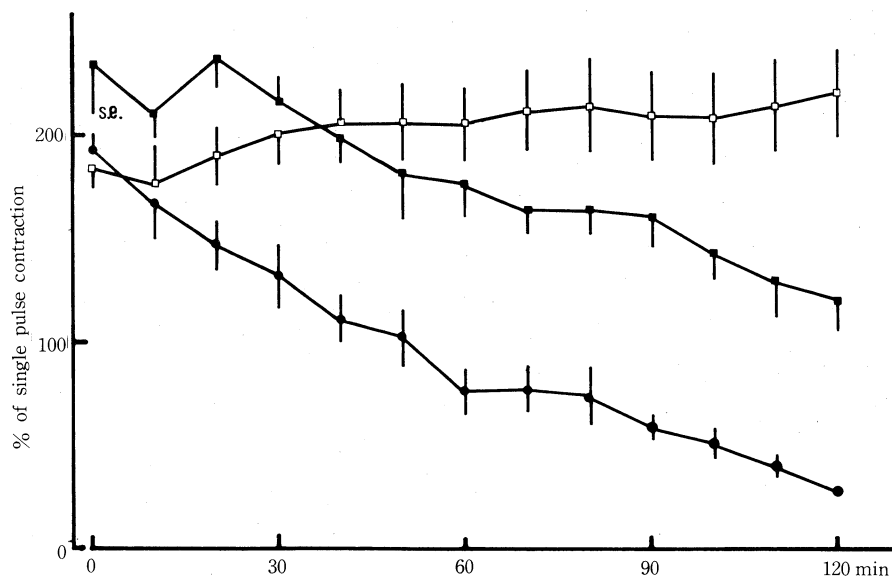


Fig. 1 Antagonism of choline to the inhibitory effects of Af64A on EFS-induced contraction in the longitudinal muscle strip of guinea pig ileum.  $\square$ — $\square$  choline 50  $\mu$ M,  $\bullet$ — $\bullet$  AF64A. Ordinate: amplitude of contraction as a percentage of the contraction induced by a single pulse at the beginning of the experiments (0 time). Abscissa: time after administration of AF64A. Each point is the mean of 3 experiments. Vertical bars show s.e.

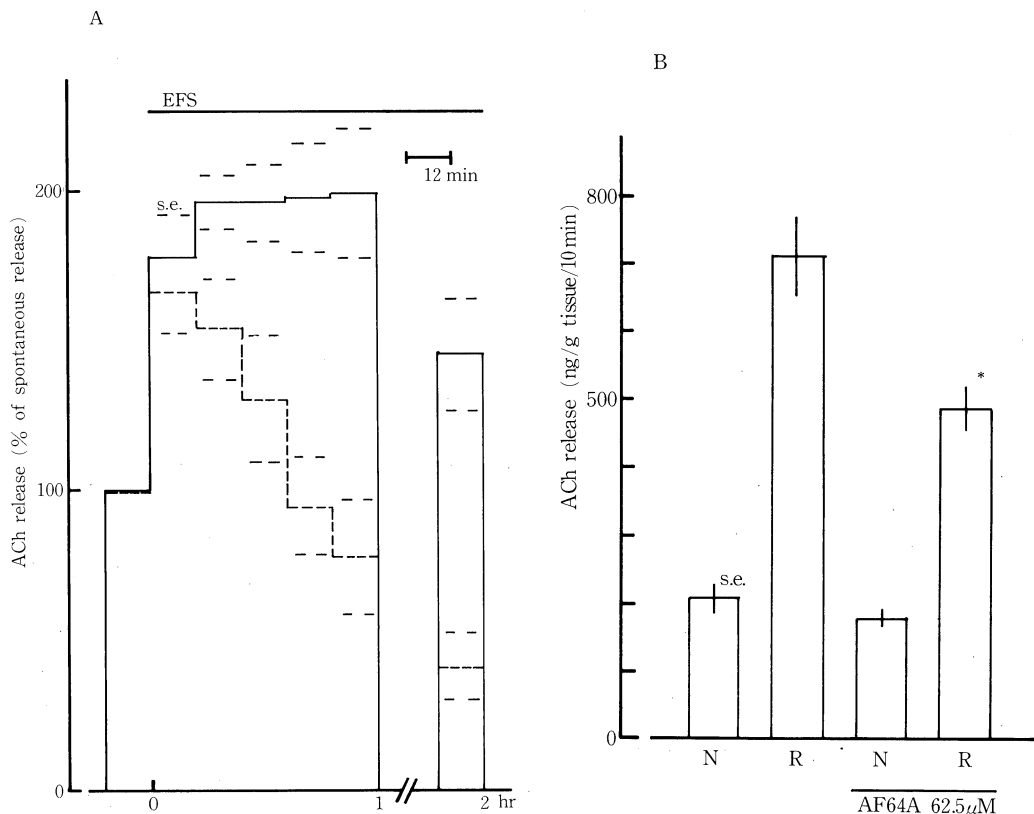


Fig. 2 Effects of AF64A on the acetylcholine release (A) induced by EFS (pulses of 0.5 ms width and supramaximal voltage, 10 Hz for 5 sec every 40 sec) from longitudinal muscle strip and (B) induced by radial distension of the intestinal wall of guinea pig ileum. In (A), during the 48 min break acetylcholine release was not measured, but the bath fluid was renewed every 12 min with Tyrode solution alone or containing AF64A ( $62.5 \mu\text{M}$ ). —Control, mean  $\pm$  s.e. of 5 experiments. .....in the presence of AF64A, mean  $\pm$  s.e. of 8 experiments. In (B), N: undistended segment. R: radially distended segment. Vertical bars show s.e. of 5 experiments. \*  $p < 0.05$  as compared with the corresponding control.

片を酸性下で10分間煮沸し、組織内ACh量を測定した。

3. 摘出腸管における蠕動運動: Trendelenburg法により、水柱圧30 mmで30秒間、10分間隔で加圧を反覆し、発見する蠕動の縦走筋方向の収縮と腸内腔容積変動を同時に記録した。

## 結 果

局所電気刺激による収縮に対する影響

AF64A ( $7.8 \sim 500 \mu\text{M}$ )により用量依存性に収縮は漸次抑制され、 $62.5 \mu\text{M}$ では2時間後には、殆んど完全に消失した。高濃度AF64Aで

は、薬物投与後、直ちに一過性の収縮がみられた後、減少した。これらの抑制効果は、溶液中にコリンを同時適用することにより、著しく軽減された(図1)。

組織よりのACh放出に対する影響: AF64AはEFSによるACh放出を、作用時間に平行して著しく抑制した(図2A)。しかし、自発性ACh放出には殆んど影響しなかった。更に、ACh放出は、輪走筋方向への腸壁伸展により、非伸展時の3~5倍に増加するが、この伸展にもとづく放出も、標本を、伸展の1時間前よりAF64A ( $62.5 \mu\text{M}$ )に暴露しておくことにより有意に抑制された(図2B)。伸展実験終了後、直ちに測



定した組織内 ACh 量は対照群, AF64A 処置群いずれにおいても, 腸片摘出直後に測定した値と有意な差を示さなかった。

#### 蠕動運動に対する影響

AF64A (62.5  $\mu$ M) 投与後, 約 60 分までは蠕動発現時の縦走筋方向の収縮が若干増大するが, 輪走筋方向の運動には変化はなかった。ついで作用時間の経過と共に次第に蠕動運動の持続性は低下し, 適用後 2 時間では, 輪走筋運動は完全に消失し, 縦走筋方向の収縮は薬物摘出前と同じ程度にまで減少した。

#### 考 察

今回の結果は, choline mustard aziridinium イオンの存在下, 腸壁内神経におけるコリン作動性神経の神経伝達が阻害されることを示している。此等の知見は, mantione ら (1983 a) のネコ瞬膜での知見に一致するが, AF64A の作用は極めてゆっくり発現し, 時間の経過と共に顕著になり, 又, その作用がコリンによって, よく拮抗されること, 本薬物はラット上頸部神経節 (Allen, 1983), 線状体 (Sandberg 他, 1984) において強くコリン取り込みを阻害するが, 本報で使用した濃度では choline acetyltransferase 活性には殆んど影響を与えない (Mantione 他, 1983 b) ことより, モルモット腸壁内神経叢に於ても又, 神経終末へのコリン供給を阻害し, その結果 ACh の新生をとめることにより,

available acetylcholine プールを減少, 枯渇させ, コリン作動性神経活動の低下, 蠕動発現の抑制をもたらすものと考ええる。なお, 高濃度 AF64A は, 神経刺激による収縮を一過性に増大させ, 内腔加圧による蠕動においても, 一過性に縦走筋方向の収縮を増大させた。此等の結果から AF64A が弱い ACh 放出促進作用と筋直接作用をも有する可能性が考えられるが, この点については更に検討中である。

#### 文 献

- Allen, M.C. (1983). The effect of choline mustard on the rat superior cervical ganglia. *Brit. J. Pharmacol.* **79**: 489-497.
- Fsicher, A. et al. (1982). Long-term central cholinergic hypofunction induced in mice by ethylcholine aziridium ion (AF64A) *in vivo*. *J. Pharmacol. exp. Therap.* **222**: 140-145.
- Mantione, C.R. et al. (1983 a). Selective inhibition of peripheral cholinergic transmission in the cat produced by AF64A. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **225**: 616-622.
- Mantione, C.R. et al. (1983 b). Selective presynaptic cholinergic neurotoxicity following intrahippocampal AF64A injection in rats. *J. Neurochem.* **41**: 251-255.
- Sandberg, K. et al. (1984). Selective cholinergic neurotoxin: AF64A's effects in rat striatum. *Brain Res.* **293**: 49-55.

### ヒト腸管における Non-adrenergic inhibitory nerve および VIP と Apamin の関係について

日本大学医学部 第一外科学教室

富田 涼一, 湯沢 晃雄, 木村 厚  
大沢 正亨, 森田 建

#### 諸 言

近年, Brain-Gut Hormon の1つである Vasoactive Intestinal Peptide (以下 VIP と略す) が, 胃腸管運動における Non-Adrenergic

Inhibitory Nerve (以下 NAI と略す) の neurotransmitter または neuromodulator の1有力候補と目され, 当教室においても今まで, ヒト胃腸管における免疫組織学的, 酵素電顕学的, 生理・薬理学的な研究にて同様の成績を得たこ

とを報告してきた。しかし、生理・薬理学的な研究において、NAIやVIPの拮抗物質が何んであるか未だ明確ではないが、最近ハチ毒のpeptideであるApaminがNAIの拮抗物質であろうとする研究報告がなされてきた。そこで我々は、ヒト腸管においてもApaminがNAIおよびVIPの拮抗物質であるか否かを検討する目的で、mechanogramを用いて以下の研究を行ない若干の知見を得たので報告する。

## 研究対象

対象としては、当教室において腸切除術にて採取した病変のない新鮮な腸標本を用いた。尚、腸切除に際しては手術による機械的損傷をなるべくさけ、腸管血行は切除直前まで保った。

## 研究方法

標本としては粘膜を技去して、縦走筋方向に長さ約15 mm、幅約4 mmの筋条片を作製して使用した。その筋条片をO<sub>2</sub> 95%、CO<sub>2</sub> 5%の混合気体を通気し、37°Cに保ったKrebs液中にセットし、約1時間を経て筋条片の運動が恒常期に入った後、実験操作を加え、縦走筋方向の等張性運動をペンレコーダーにて記録した。電気刺激(Electrical Field Stimulation 以下EFSと略す)は神経刺激に適するlow frequency stimulationである5 Hzで、duration 0.5 msec, voltage 50V、刺激時間は30秒として矩形波電撃のrepetitive stimulationして行なった。尚、研究に使用した筋条片はすべて先の神経刺激に反応する筋条片を用いることとした。また実験は筋の疲労をさけるため以下の3群に分けて行なった。

## 成績

第1群: NAIによる弛緩反応およびVIPの反応を観察した。図1に示す様に、交感神経をphenoxybenzamine  $5 \times 10^{-6}$  g/mlおよびpropranolol  $5 \times 10^{-6}$  g/mlで遮断し、副交感神経をatropine  $1 \times 10^{-7}$  g/mlで遮断した後、EFSを加えるとNAIによる弛緩反応をみる。その条件下でVIP  $1 \times 10^{-7}$  g/mlを投与すると図2に

示す様に、ゆっくりした弛緩反応を示し、その弛緩反応出現率は図6のごとく小腸の50%、結腸の80%であった。

第II群: NAIの弛緩反応がApaminにより抑制されるか否かを観察した。図3に示す様に交感、副交感神経遮断後にApamin  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$  g/mlを投与すると筋の緊張性収縮反応を認め、その出現率は、図7のごとく小腸の16.7%、結腸の50%であった。また、図4に示す様にApamin各濃度投与下にEFSを加えるとはほとんどの筋条片で弛緩反応を認め、Apamin  $1 \times 10^{-6}$  g/ml投与下でのEFSによる弛緩反応出現率は図8のごとく小腸の83.3%、結腸の75%であった。

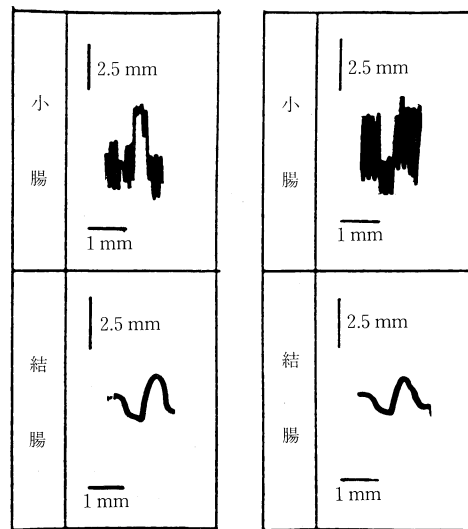


図1. 左図は交感、副交感神経遮断前のEFS、右図は交感、副交感神経遮断後のEFS

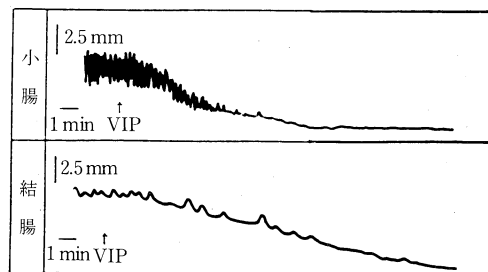


図2. 交感、副交感神経遮断後のVIP ( $1 \times 10^{-7}$  g/ml)に対する反応。

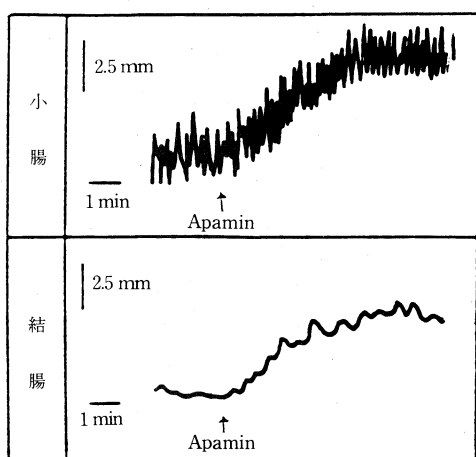


図3. 交感、副交感神経遮断後の Apamin ( $1 \times 10^{-6}$  g/ml) に対する反応.

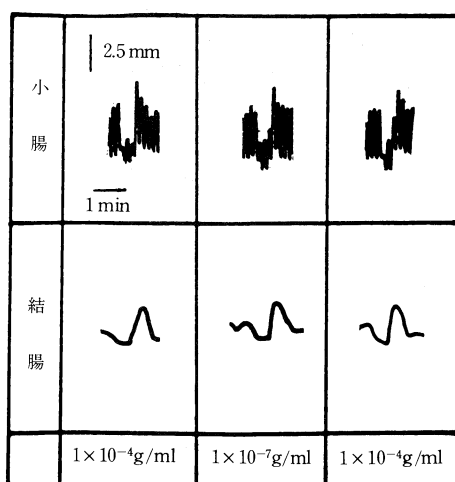


図4. 交感、副交感神経遮断後の Apamin 各濃度における EFS による弛緩反応.

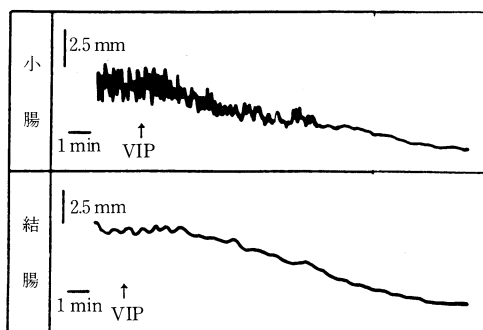


図5. 交感、副交感神経遮断後の Apamin ( $1 \times 10^{-6}$  g/ml) 投与下の VIP ( $1 \times 10^{-7}$  g/ml) に対する反応. [小腸  $n=4$ , 結腸  $n=6$ ]

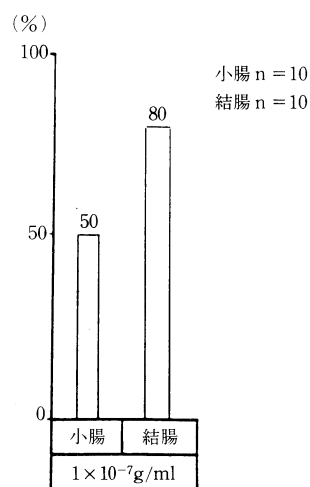


図6. 交感、副交感神経遮断後の VIP  $1 \times 10^{-7}$  g/ml における弛緩反応出現率.

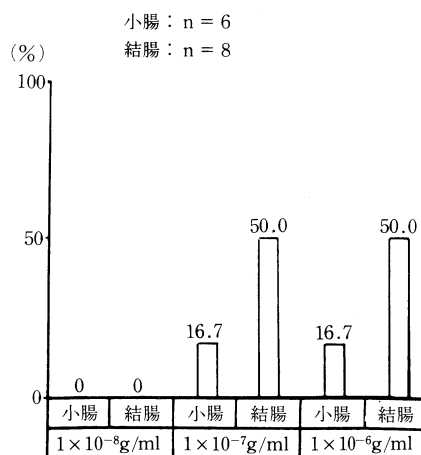


図7. 交感、副交感神経遮断後の Apamin 各濃度における筋の緊張性収縮反応出現率.

第III群: ApaminとVIPの関係を観察した. 図5に示す様に, 交感、副交感神経遮断後に, Apamin  $1 \times 10^{-6}$  g/ml を投与した. その条件下に VIP  $1 \times 10^{-7}$  g/ml を投与しても, VIPの弛緩反応はApaminによって抑制されなかった.

## 結 果

1. 交感、副交感神経遮断後, VIP  $1 \times 10^{-7}$  g/ml 投与にて小腸の50%, 結腸の80%に弛緩反応を認めた.

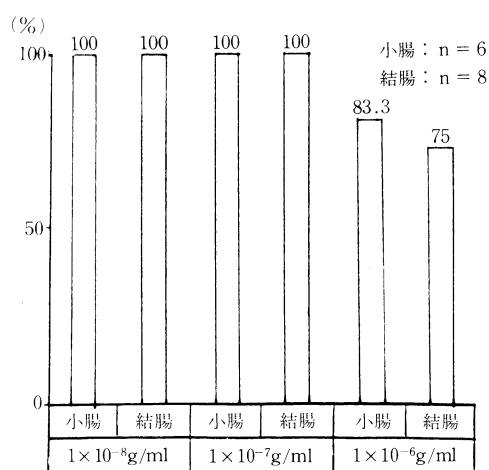


図8. 交感、副交感神経遮断後の Apamin 各濃度における EFS による弛緩反応出現率。

2. 交感、副交感神経遮断後、Apamin  $1 \times 10^{-6}$  g/ml 投与下にて小腸の 16.7%, 結腸の 50% に筋の緊張性収縮反応を認めた。

3. 交感、副交感神経遮断後、Apamin  $1 \times 10^{-6}$  g/ml 投与下における電気刺激による弛緩反応は、小腸の 83.3%, 結腸の 75% に認め多くは抑制できなかった。

4. 交感、副交感神経遮断後、Apamin  $1 \times 10^{-6}$  g/ml 投与下に VIP  $1 \times 10^{-7}$  g/ml 投与し

ても、VIP の弛緩反応は抑制できなかった。

以上、我々の行った実験条件下では、Apamin はヒト腸管において非アドレナリン性抑制神経の拮抗物質として証明できなかった。又、VIP の拮抗物質としても証明できなかった。

## 文 献

- 富田 涼一 (1981). ヒト腸管における Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP) と非アドレナリン性抑制神経との関係について. 日大医誌 40: 891-902.
- 湯沢晃雄ら (1982). ヒト内肛門括約筋における VIP 及び Substance-P の作用について. 日本平滑筋誌 18: 250-253.
- 木村 厚ら (1983). ヒト幽門括約筋の壁内神経系に対する VIP 及び S-P の反応について. 日本平滑筋誌 19: 239-242.
- Bywater, A.M., Holman, M.E., and Taylor, G.S. (1981). Atropine-resistant depolarization in the guinea-pig small intestine. *J. Physiol.* 316: 369-378.
- Gillespie, J.S. (1982). Non-adrenergic non-cholinergic inhibitory control of gastrointestinal motility. In: *Motility of digestive tract*, edited by M. Wienbeck, pp. 51-72 Raven Press, New York.

## 十二指腸における非アドレナリン性抑制性神経伝達に対する 4-アミノピリジンの効果

山口大学医学部 第一生理学教室

大 川 博 通

### はじめに

消化管平滑筋における非アドレナリン性抑制性電位は、壁内の非アドレナリン性抑制性神経から放出される伝達物質に起因するものと考えられており、その放出機構には、外液二価陽イオンが関与することが知られ、運動神経末端からのアセチルコリン放出機構と類似であることが示唆されている (Holman and Weinrich,

1975; Ohkawa, 1984). 一方、運動神経末端からの伝達物質放出は、4-アミノピリジンに増強されることが報告されている (Lundh and Thesleff, 1977). 本実験においては、フィールド刺激によって生ずる十二指腸平滑筋の非アドレナリン性抑制性電位の大きさを指標として、伝達物質放出に対する 4-アミノピリジン (4AP) の効果を検討した。

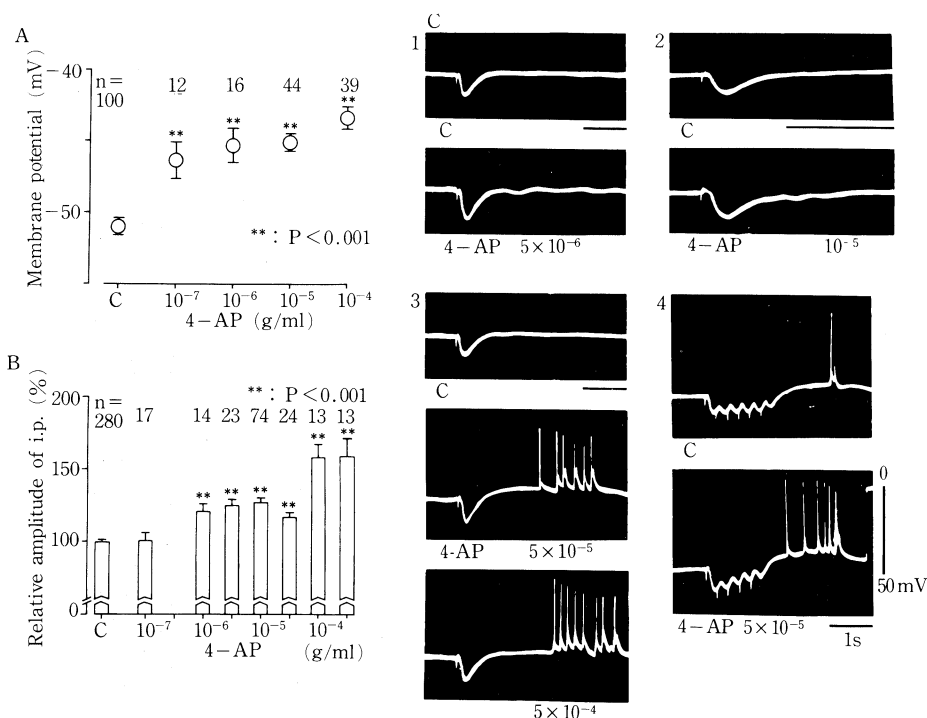


Fig. 1 十二指腸平滑筋の膜電位と IP に対する 4AP の効果

A. 4AP による膜電位の変化, B. 4AP による IP の大きさの変化, C. 正常液中 (C) 及び 4AP 中での IP, 濃度は g/ml. 1-3 は単一刺激による IP, 4 は反復刺激による IP. A, B はそれぞれ平均値  $\pm$  S.E. と示す.

## 実験方法

モルモット十二指腸から摘出した標本 (4 mm  $\times$  2 mm) を用い, フィールド刺激により非アドレナリン性抑制性電位 (IP) を生ぜしめ, 微小電極により細胞内記録を行った. 電極は漿膜側より刺入した.

## 実験結果

十二指腸平滑筋の平均膜電位は  $-51$  mV であった. 4AP  $10^{-7}$ – $10^{-9}$  g/ml では殆んど変化がないが,  $10^{-6}$  g/ml 以上の濃度では膜電位の減少がみられた. IP の大きさ (平均  $10.2$  mV) は,  $10^{-7}$  g/ml までは変化が認められなかったが,  $10^{-6}$  g/ml 以上では, IP の大きさは有意に増加した (Fig. 1). また, 高濃度の 4AP 中では off-depolarization の増加とスパイク発生が増強された. これらの結果は, 縦走筋層を除去した標本で, 輪走筋からえた IP についても同様で

あった.

低 Ca ( $0.25$  mM) 液中では膜電位の減少と IP の大きさの減少がみられる. この液中で 4AP ( $5 \times 10^{-4}$  g/ml) を加えると, 膜電位は更に減少するが, IP の大きさは正常液中の大きさに比し, 有意に増加した (Fig. 2). この IP は, ペラパミール ( $2 \times 10^{-5}$  g/ml) 及び EGTA ( $1$ – $2$  mM) 添加により, 減少乃至消失した. 低 Ca 液中での Ba 添加は, IP を回復させるが, このとき 4AP による IP の増加は認められなかった. 高 Ca ( $5$  mM) 液中では, 膜電位の増加と IP の増大がみられるが, 更に 4AP ( $2 \times 10^{-4}$  g/ml) 添加により, IP の大きさは正常液中の  $123\%$  に増加した.

外液 K 濃度を増減すると, これに対応して膜電位の減少及び増大がみられるが, 高 K 液 ( $15.3$ – $48.2$  mM) 中では IP の大きさの減少が, また低 K 液 ( $1.2$  mM) 中では IP の大きさの増加がみられた. 高 K 液中における 4AP ( $10^{-5}$ – $10^{-4}$

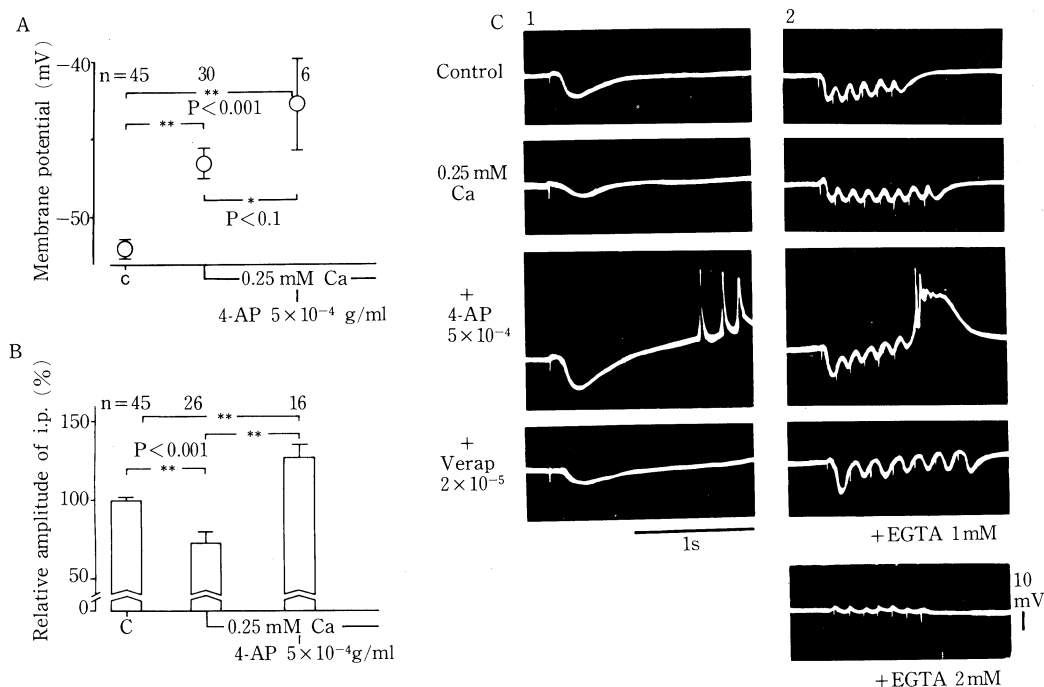


Fig. 2 低 Ca 液中の IP に対する 4AP の効果

A. 低 Ca 及び 4AP による膜電位の変化, B. 低 Ca 及び 4AP による IP の大きさの変化, C. 正常液, 低 Ca 液, 4AP 添加液中の IP. 1 は単一刺激, 2 は反復刺激による IP. 最下段は 4AP 添加後のベラパミール及び EGTA による IP の抑制を示す.

g/ml) 添加では, IP の大きさは, 多くの標本では幾分減少するのがみられた.

2-アミノピリジンと 2, 5-ジアミノピリジン ( $10^{-6}$ – $10^{-3}$  g/ml) は, いずれも高濃度において IP の大きさを減少させ, 増強効果は認められなかった.

TEA (0.1–1 mM) により, IP の大きさは二相性に変化した. 膜電位は TEA により減少した. TEA 0.1 mM では, IP の大きさの増加 (117%) が, TEA 1 mM では, IP の大きさの減少 (54%) がみられ, 20 分間灌流では IP は殆んど消失した.

十二指腸標本では, フィールド刺激による促進性電位 (EP) を生ずる細胞はまれであるが, EP を生ずる細胞では, 4AP ( $10^{-4}$  g/ml) により EP の増強が認められた. この EP はアトロピン処理 ( $10^{-6}$  g/ml) により消失した.

## 考 察

4AP はコリン性及びアドレナリン性神経伝達における伝達物質放出を増強させる (Thesleff, 1980). これらの神経伝達物質放出機構と, 消化管における非アドレナリン性伝達物質放出機構の類似性から, 4AP が非アドレナリン性抑制物質の放出を増強させることが予測される. 実験結果に示すごとく, IP の大きさは, 正常液, 低 Ca 液, 高 Ca 液中において, 4AP により増加した. 一方, Ca 拮抗剤により IP は抑制されることから, 4AP はフィールド刺激時に, 抑制性物質放出に必要な Ca influx を増加するものと考えられる. 低 TEA 液中における IP の増加も, 恐らく刺激時の Ca influx を高めるものと思われる. また, 壁内のコリン性神経末端からの伝達物質放出も 4AP によって増強されるものと考えられる.

## 文 献

- Holman, M.E. and Weinrich, J.P. (1975). The effects of calcium and magnesium on inhibitory junctional transmission in smooth muscle of guinea pig small intestine. *Pflügers Arch.* **360**: 109-119.
- Lundh, H. and Thesleff, S. (1977). The mode of actions of 4-aminopyridine and guanidine on

transmitter release from motor nerve terminals. *Eur. J. Pharmacol.* **42**: 411-412.

- Ohkawa, H. (1984). Effects of divalent cations on the inhibitory potentials in the duodenal smooth muscle cells of the guinea-pig. *Jpn. J. Physiol.* **34**: 407-425.

- Thesleff, S. (1980). Aminopyridines and synaptic transmission. *Neuroscience* **5**: 1413-1419.

# 低温によるラット気管筋のアセチルコリンに対する反応性増大

獨協医科大学 薬理学教室

石井 竹夫, 下 康 郎

運動あるいは冷気の吸入によって気道抵抗が増大することはよく知られている。共通の機序として、気道粘膜の冷却による反射性の気道収縮が考えられている。しかし、気道の冷却効果は平滑筋層にまでおよぶため (Deal *et al.*, 1979; McFadden *et al.*, 1982), 平滑筋に対する直接作用も十分考えられる。そこで我々は、摘

出したラット気道平滑筋を用いてコリン作動性神経刺激効果と acetylcholine 収縮におよぼす温度の影響を検討した。

## 方 法

ウイスター系ラット (雄, 250-350 g) を用い、3 個の切片からなる気管、気管支 strip-chain 標

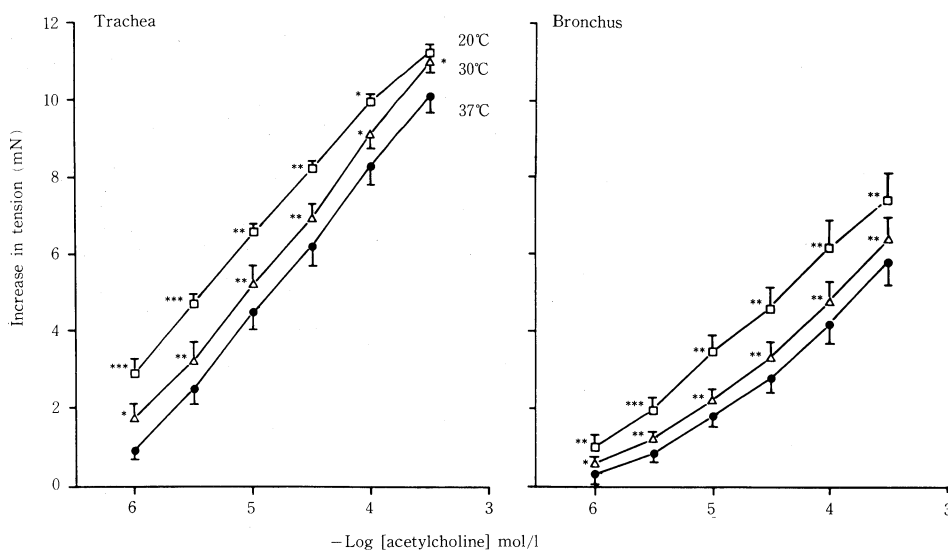


Fig. 1 Cumulative dose-response curve for the tension increases of the rat tracheal and bronchial strip-chain preparations caused by acetylcholine ( $1 \mu\text{mol/l}$ - $0.3 \text{ mmol/l}$ ) at  $20^\circ\text{C}$  ( $\square$ ),  $30^\circ\text{C}$  ( $\triangle$ ) and  $37^\circ\text{C}$  ( $\bullet$ ). Each point is the mean value from 6 experiments and the vertical bars represent S.E. mean. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ . They were compared with the values at  $37^\circ\text{C}$ .

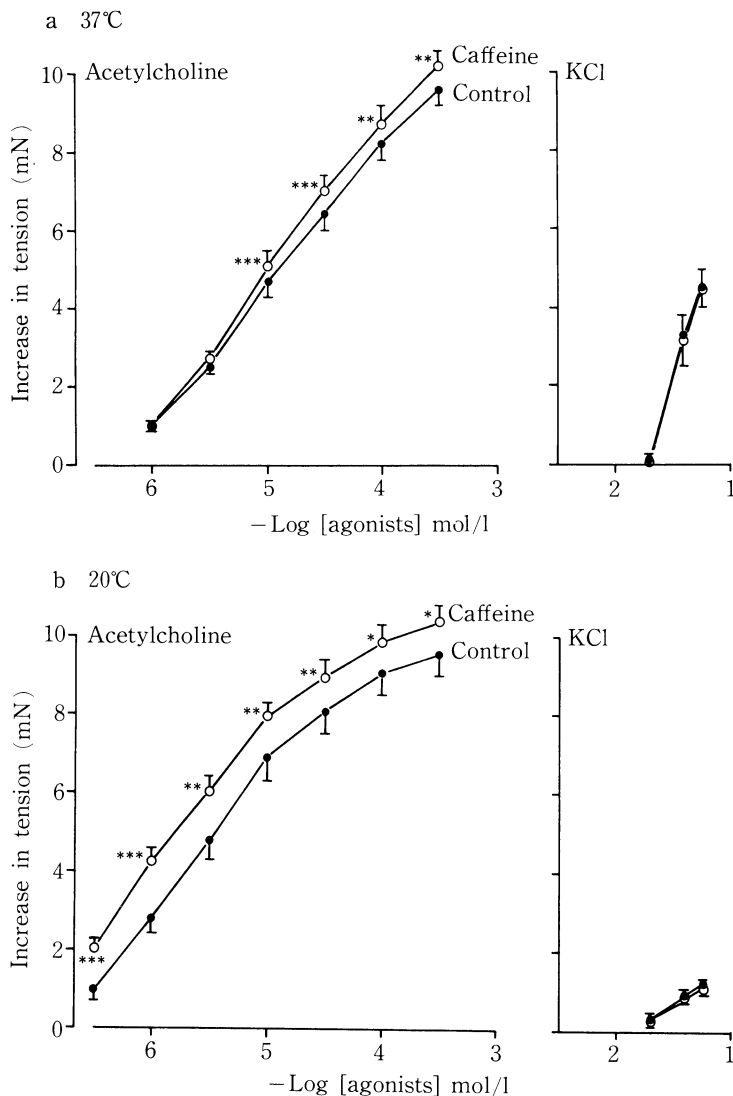


Fig. 2 Effect of caffeine on the tension increases of the rat tracheal strip-chain preparation caused by acetylcholine ( $0.3 \mu\text{mol/l}$ – $0.3 \text{ mmol/l}$ ) and KCl ( $20$ – $60 \text{ mmol/l}$ ). Agonists were applied cumulatively to the organ bath at  $20^\circ\text{C}$  (b) and  $37^\circ\text{C}$  (a). (●) Control; (○) in the presence of caffeine ( $0.1 \text{ mmol/l}$ ). Each point is the mean value from at least 7 experiments and the vertical bars represent S E mean. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ . These were compared with the control value.

本を作製した。これを混合ガス通気下 Krebs bicarbonate 液 ( $10 \text{ ml}$ ) を含む organ bath 中に懸垂し、その張力変化を記録した。実験は栄養液の温度を  $37^\circ\text{C}$  から  $30^\circ\text{C}$  あるいは  $20^\circ\text{C}$  に冷却することによって行なわれた。温度変換に必要な時間は約 3 分である。

## 結 果

摘出したラット気管筋と気管支筋の basal tone は栄養液の温度を冷却 ( $30^\circ\text{C}$ ,  $20^\circ\text{C}$ ) することによって影響を受けなかったが、acetylcholine ( $1 \mu\text{mol/l}$ – $0.3 \text{ mmol/l}$ ) と carbachol ( $10 \text{ nmol/l}$ – $10 \mu\text{mol/l}$ ) の収縮は冷却によって



有意に増強した (Fig. 1). 両標本をリング状の双極白金電極を用いて電気刺激 (0.5 Hz-5 Hz, 0.3 ms, 25 V, 6 min) すると内在性コリン作動性神経の興奮による収縮を生じるが, この収縮もまた冷却によって増強した. 次に低温による acetylcholine の反応性増大に関与するメカニズムを検討した. 気管筋において, acetylcholine の低温による収縮増強は tetrodotoxin ( $0.3 \mu\text{mol/l}$ ) あるいは eserine ( $0.1 \mu\text{mol/l}$ ) 存在下でも認められた. 気管筋のムスカリニック受容体における acetylcholine の解離定数 ( $K_A$ ) は  $37^\circ\text{C}$  で  $4.68 \mu\text{mol/l}$ ,  $20^\circ\text{C}$  で  $4.66 \mu\text{mol/l}$  であった. 一方栄養液の NaCl を等モルの KCl に置換したときの acetylcholine ( $10 \mu\text{mol/l}$ ) 収縮および  $\text{Ca}^{2+}$  を除き EGTA ( $0.1 \text{ mmol/l}$ ) を加えたときの気管筋の acetylcholine ( $1 \mu\text{mol/l}$ - $0.3 \text{ mmol/l}$ ) 収縮はともに低温下 ( $20^\circ\text{C}$ ) で増大した. Caffeine  $0.1 \text{ mmol/l}$  (Ca 貯蔵部位から Ca を遊離させる薬物 (Endo *et al.*, 1982)) あるいは vanadate  $10 \mu\text{mol/l}$  (Ca-ATPase 阻害剤 (Nayler and Sparrow, 1983)) は, それ自身気管筋の basal tone に影響をおよぼさない濃度で acetylcholine 収縮を増強した. この収縮増大は  $37^\circ\text{C}$  よりも  $20^\circ\text{C}$  で著明であった (Fig. 2). またラット気管筋の acetylcholine 収縮は ouabain ( $0.3 \text{ mmol/l}$ ) あるいは K-free 溶液中で逆に抑制された.

## 考 察

今回の実験から摘出ラット気道平滑筋は, 冷却により acetylcholine の反応性を増大させることが明らかとなった. この機序にコリンエステラーゼ活性の低下, 平滑筋を支配する抑制性神経 (非アドレナリン作動性神経, Kamikawa and Shimo, 1976) の抑制, ムスカリニック受容体の親和性増大あるいは膜の脱分極が関与して

いる可能性は少ない. 多分低温による acetylcholine の反応性増大は細胞内 Ca 貯蔵部位からの Ca 遊離の促進か Ca 排出機構の抑制によると思われる. 細胞内 Ca 貯蔵部位から Ca を遊離させる caffeine あすいは Ca ATPase 阻害剤 vanadate が, それ自身収縮をひき起こさない濃度で acetylcholine 収縮を増大させたという事実, さらにこの収縮増大が低温下で著明であったという事実は, この仮説を強く支持する.

もしもこのような現象がヒトの気道平滑筋においても生じるなら, 運動あるいは冷気の吸入によって生じた反射性の気道収縮は平滑筋レベルでさらに強められるであろう.

## 文 献

- Deal, E.C., Jr., McFadden, E.R., Ingram, R.H., Jr. & Jaeger, J.J. (1979). Esophageal temperature during exercise in asthmatic and nonasthmatic subjects. *J. Appl. Physiol.: Respir. Environ. Exercise Physiol.* **46**: 484-490.
- Endo, M., Yagi, S. & Iino, M. (1982). Tension- $\text{pCa}^{2+}$  relation and sarcoplasmic reticulum responses in chemically skinned smooth muscle fibers. *Federation Proc.* **41**: 2245-2250.
- Kamikawa, Y. & Shimo, Y. (1976). Pharmacological differences of non-adrenergic inhibitory response and of ATP-induced relaxation in guinea-pig tracheal strip-chains. *J. Pharm. Pharmac.* **28**: 854-855.
- Nayler, R.A. & Sparrow, M.P. (1983). Mechanism of vanadate induced contraction of airways smooth muscle of the guinea-pig. *Br. J. Pharmac.* **80**: 163-172.
- McFadden, E.R. Jr., Denison, D.M., Waller, J.F., Assoufi, B., Peacock, A. & Sopwith, T. (1982). Direct recordings of the temperatures in the tracheobronchial tree in normal man. *J. Clin. Invest.* **69**: 700-705.

## 摘出家兎気管支平滑筋標本における nicotine の作用態度

東邦大学薬学部 薬理学教室

木 澤 靖 夫, 昼 田 剛, 高 柳 一 成

### はじめに

摘出気道平滑筋に対する nicotine の作用については, モルモット気管平滑筋では収縮および弛緩の二相性反応が生じ, これらの反応は節遮断薬や tetrodotoxin (TTX) によって遮断される (Jones *et al.*, 1980). 一方, 我々はモルモット気管支平滑筋標本を用いて検討し, nicotine により収縮反応のみを観察した. また, この反応は節遮断薬によっては遮断されるが, atropine 及び TTX などには抵抗性を示すことから nicotine による収縮には acetylcholine (ACh) 遊離が関与していない可能性を報告した (Takayanagi and Kizawa, 1983; Takayanagi *et al.*, 1984). 本実験ではさらに摘出気管支平滑筋に対する nicotine の作用機序を明らかにするために, 家兎気管支平滑筋を用いて検討を加えた.

### 実験方法

1. 機械的反応: 白色雄性家兎 (体重 2-3 kg) より主気管支を摘出し, 螺旋状標本とした. 標本は 37°C に保ち, carbogen を通した Krebs 液を満たした organ bath に懸垂した. 収縮反応は 0.5 g の負荷のもとに等張性に記録した.

2. [<sup>3</sup>H] 遊離実験: 摘出家兎気管支平滑筋に予め [<sup>3</sup>H]-choline を取り込ませ, hemicholinium-3 を含む栄養液を 2 ml/min の割合で標本を灌流し, その灌流液を fraction collector を用いて採取し, 各 fraction の放射活性を液体シンチレーションカウンターにより測定し, これを ACh 遊離量の指標とした.

### 実験結果

摘出家兎気管支平滑筋は nicotine ( $10^{-5}$ - $10^{-3}$  M) で一過性の収縮反応のみが観察され, その

表 1. Effects of some drugs on the contractile response to nicotine. Each value is presented as a mean  $\pm$  S.E. of the number of experiments in the parentheses. \*: significant difference from the control value (100%) at  $p < 0.05$ .

Treatment	Incubation time	% of contraction
Nicotine, $3 \times 10^{-4}$ M		100.0
+Hexamethonium, $10^{-6}$ M	5 min	31.6 $\pm$ 3.4* (7)
+Hexamethonium, $10^{-5}$ M	5 min	0.0* (6)
+Pentolinium, $10^{-6}$ M	5 min	60.0 $\pm$ 5.5* (5)
+Pentolinium, $10^{-5}$ M	5 min	0.0* (6)
+Atropine, $10^{-7}$ M	5 min	0.0* (6)
+Physostigmine, $10^{-6}$ M	30 min	178.2 $\pm$ 11.9* (6)
+Tetrodotoxin, $3 \times 10^{-6}$ M	15 min	99.7 $\pm$ 3.1 (10)
+SX-284, $3 \times 10^{-7}$ M	5 min	101.2 $\pm$ 1.0 (10)
+Chlorpheniramine, $10^{-6}$ M	5 min	95.6 $\pm$ 2.2 (7)
+Indomethacin, $10^{-6}$ M	30 min	97.4 $\pm$ 1.7 (8)
+Prazosin, $10^{-7}$ M	5 min	98.6 $\pm$ 2.1 (8)
+Methysergide, $10^{-7}$ M	5 min	105.4 $\pm$ 1.5 (8)

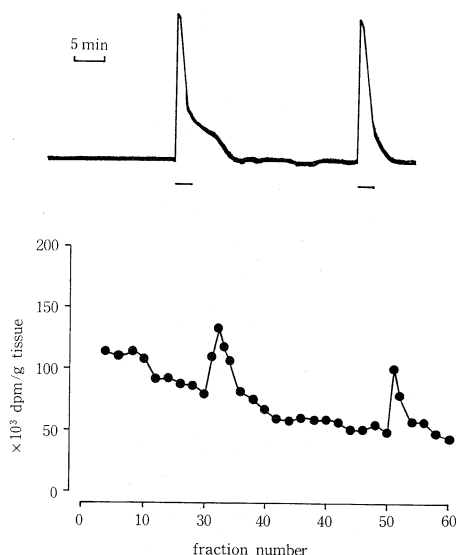


図1. A typical traces of efflux of tritium and contraction evoked by nicotine in rabbit bronchial preparation. The bronchial preparation was incubated with [<sup>3</sup>H]-choline and subsequently superfused with Krebs solution contained hemicholinium-3 at a rate 2 ml/min. The superfusate was collected in 1 min samples and radioactivity was measured. The mechanical response was simultaneously recorded isotonicity. Superfusion with nicotine  $3 \times 10^{-4}$  M is indicated by horizontal bars. Upper trace: mechanical response and lower trace: efflux of tritium, ordinate; efflux of tritium ( $\times 10^3$  dpm/g tissue) and abscissa; fraction number. Note that the efflux of tritium is declined by repeated application of nicotine.

最大反応は ACh による最大収縮の  $51.2 \pm 4.2\%$  (14 例の平均値  $\pm$  標準誤差) であった。nicotine による収縮は節遮断薬及び atropine により強く抑制された。ところが、TTX あるいは、副交感神経からの ACh 遊離を抑制する SX-284 (Takayanagi *et al.*, 1982) によっては何ら影響は受けなかった。さらに、H<sub>1</sub>-ヒスタミン受容体遮断薬の chlorpheniramine, シクロオキシゲナーゼ阻害薬の indomethacin,  $\alpha_1$ -アドレナリン受容体遮断薬の prazosin 及びセロトニン受容体遮断薬の methysergide によっても nicotine による反応は影響を受けなかった (表1)。一方、予め [<sup>3</sup>H]-choline を取り込ませた気管支

平滑筋標本に nicotine を適用すると、機械的反応に対応して [<sup>3</sup>H]-efflux の増加が起こり (図1), この [<sup>3</sup>H]-efflux の増加も TTX により影響されなかった。

## 考 察

nicotine の適用により家兎気管支平滑筋標本は収縮反応のみを生じ、この収縮は atropine 及び節遮断薬によって顕著に抑制された。これらの結果は、nicotine による収縮がニコチン様受容体を介して ACh を遊離することにより発現することを示唆している。一方、表1から nicotine の反応は prostaglandins, histamine, serotonin あるいは norepinephrine の遊離を介したのではないと考えられる。

しかしながら、nicotine による機械的反応及び [<sup>3</sup>H]-efflux は TTX に抵抗性を示したもので nicotine は神経細胞に作用し、ACh 遊離を介して収縮反応を起こすが、nicotine の作用に関係している気管支平滑筋のコリン作動性神経は、sodium action potential independent process を介して ACh 遊離を促すか、または、神経細胞以外にニコチン様受容体をもつ ACh 貯蔵部が存在し、ここからの ACh 遊離は TTX で影響を受けないことが推察される。

また、我々は既にモルモット気管支平滑筋における nicotine による収縮が atropine 及び TTX などによっては影響されないが、節遮断薬により強く抑制されることから、nicotine がコリン作動性神経を刺激することによって作用を発現しているのではない可能性を報告したが、このことと考えると気管支平滑筋における nicotine による収縮の機序は、動物種差があると考えられる。

## 文 献

- Jones, T. R., Lefcoe, N. M. and Hamilton, J.T. (1980). Studies of the action of nicotine in guinea-pig tracheal smooth muscle: interaction with  $\beta$ -adrenoceptor antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 67: 53-64.
- Takayanagi, I. *et al.* (1982). A possible mechanism of a new antispasmodic drug, 2-(1, 2-

benzisoxazol-3-yl)-3-[2-(2-piperidinoethoxy) phenyl] acrylonitrile (SX-284). *Japan. J. Pharmacol.* **32**: 973-980.

Takayanagi, I. and Kizawa, Y. (1983). A possible site of action of nicotine in the bronchial smooth muscle preparation of guinea-pig. *J.*

*Pharm. Pharmacol.* **35**: 682-683.

Takayanagi, I., Kizawa, Y. and Sone, H. (1984). Action of nicotine on guinea-pig isolated bronchial smooth muscle preparation. *Gen. Pharmacol.* **15**: 349-352.

## モルモット気管平滑筋に対する弛緩物質の 作用と外液K濃度との関係

名古屋大学医学部 第二内科学教室

伊 藤 仁, 馬 場 研 二, 佐 竹 辰 夫

名古屋大学医学部 麻酔科学教室

河 西 稔

名古屋大学医学部 第一生理学教室

富 田 忠 雄

平滑筋の弛緩物質の作用機序を考える場合細胞膜のCa透過性が高いときにはCa拮抗剤の効果が大きく、また膜を過分極させることによって、Ca透過性を抑える薬物では、外液のK濃度を増して脱分極をおこすと弛緩効果が弱くなることが期待される。一方、収縮蛋白系に直接働くような薬物は外液のK濃度によってあまり影響をうけるとは考えられない。

筋小胞体へのCa取り込みや、細胞外へのCa汲み出しを促進する様な薬物では、脱分極によってCaの流入が増した状態では、弛緩作用の減弱が起ると推察される。本研究では、この様な考えから、モルモット気管平滑筋に対する弛緩物質と、外液K濃度との関係を比較検討した。

### 方 法

モルモットの摘出気管上部より、一気管輪を分離し、等尺性収縮を記録した。1時間灌流したのち、Isoprenaline ( $10^{-6}$  M)で筋を弛緩させたのち、500 mgの負荷をかけた。再び正常Krebs液中で一定の張力が発生するのを待って実験を開始した。使用した薬物は、Isoprenaline, Forskolin, Theophylline, Isobutyl methyl Xanth-

ine (IBMX), Caffeine, Nitroprusside, Sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ), 8-Br-cAMP, 8-Br-cGMP, Dibutyl-AMP, Dibutyl-cGMP, cAMP, cGMP, 2'3'-cAMP, 2'3'-cGMP, AMP, GMP, ATP, GTP, Verapamil, Nifedipineである。これらの作用を、正常krebs液(5.9 mM)でと、K拘縮(40 mM)の状態と比較した。Kの濃度を増すときはNaと置換した。

### 結 果

Ca拮抗剤であるNifedipine ( $10^{-5}$  M)は正常krebs液中(5.9 mM)では、約90%の張力を維持した。

一方、K拘縮(40 mM)にたいしては約20%に張力を減弱させた。Verapamil ( $3 \times 10^{-5}$  M)でも同様の結果が得られた。Adenylate cyclaseを賦活化し、細胞内cAMPを増すと考えられるIsoprenalineおよびForskolinは正常krebs液中で、それぞれ、 $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M, で張力を完全に消失させた。K拘縮に対する抑制はkrebs液中より弱かったが、濃度依存性に張力を減弱させた。Phosphodiesteraseを阻害し、cAMPを上昇させると考えられる、IBMX, Theophylline, CaffeineはIsoprenalineの作用と基本的には

同じであった。cAMP, 2'3'-cAMP, AMP, 8-Br•cAMP, は正常 Krebs 液中での収縮にも, K 拘縮にも, 著しい変化をあたえなかった。Dibutyl cAMP ( $3 \times 10^{-4}$  M) は正常 Krebs 液中で, 約 80%, K 拘縮で約 50% の張力減弱効果をみた。

Guanylate cyclase を活性化し, 細胞内 cGMP を増すと考えられている Nitroprusside,  $\text{NaNO}_2$  では正常 Krebs 液中で, Nitroprusside ( $10^{-5}$  M) は約 10%,  $\text{NaNO}_2$  ( $3 \times 10^{-3}$  M) は約 20% まで, 張力の減弱がみられた。しかし, K 拘縮に対しては弱い作用しか示さず, Nitroprusside ( $3 \times 10^{-5}$  M) は 70%,  $\text{NaNO}_2$  ( $10^{-2}$  M) は 90% の張力を維持した。cGMP, 2'3'-cGMP, GMP, GTP, Dibutyl cGMP は正常 Krebs 液中での収縮, K 拘縮とも影響をあたえなかった。8-Br•cGMP ( $10^{-4}$  M) は正常 Krebs の収縮をほぼ完全に消失させたが, K 拘縮ではその張力減弱効果は弱くなり,  $3 \times 10^{-4}$  M でも 50% の張力を維持した。

## 考 察

以上の実験結果から, 上記の薬物群を以下の 4 群に分類した。

第 I 群: 脱分極により弛緩効果が強くなるもの。Verapamil, Nifedipine などの Ca 拮抗剤。

第 II 群: 脱分極によりわずかに弛緩効果が弱くなるもの。Isoprenaline, Forskolin, Theophylline, Caffeine, IBMX, DBcAMP など, cAMP を増やす薬物群。

第 III 群: 脱分極によりほとんど効果が消失するもの。Nitroprusside,  $\text{NaNO}_2$ , 8-Br•cGMP, GTP, ATP など, 主に cGMP 関連物質が含まれる。

第 IV 群: 外液 P 濃度に無関係に, ほとんど弛緩効果を示さないもの。5'-AMP, 2'

3'-cAMP, cAMP, 8-Br•cAMP, 5'-GMP, 2'3'-cGMP, cGMP, DB-cGMP。

第 I 群は Ca-antagonist といわれる物質群で, Ca 透過性が増大したような場合に, その Ca 流入を阻害すると考えられる。第 II 群は細胞内 cAMP を増大させると考えられ, 細胞内 Ca の調節など, おもに細胞内で効果を示すものである (Robert, S 1979)。第 III 群は細胞内 cGMP を高めるとされるが, その作用機序はまだ定まっていない。冠血管平滑筋などでは Nitroprusside や亜硝酸剤などの弛緩効果と cGMP の上昇がよく相関するが (Axelsson, 1979, Kukovetz 1979), 必ずしも平滑筋に普遍的ではないとも指摘されている (Diamond 1983)。モルモット気管平滑筋では, K 濃度を増やして Ca 透過性を高めていくと, 弛緩効果が明らかに減弱してくるので, cGMP を上昇させると考えられる薬物群は膜に作用して Ca 流入を抑えている可能性が考えられる。

## 文 献

- Axelsson, K.L. (1979). Relationship between nitroglycerin cyclic GMP and relaxation of vascular smooth muscle. *Life Sciences* **24**: 1779-1786.
- Diamond, J. (1983). Lack of correlation between cyclic GMP elevation and relaxation of nonvascular smooth muscle by nitroglycerin, nitroprusside, hydroxylamine and sodium azide. *J. pharmacol. Exp. Ther.* **225**: 422-426.
- Kukovetz, W.R. (1979). Evidence for cyclic GMP mediated relaxant effects of nitro-compounds in coronary smooth muscle. *Naunym-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **310**: 129-138.
- Robert, S. (1979). Role of calcium and cyclic adenosine 3' 5'-monophosphate in regulating smooth muscle contraction. *Amer. J. Cardiol.* **44**: 783-787.

## Effects of PHI (Peptide Histidine Isoleucine) on Mechanical Activity and Cyclic Nucleotides Content in Isolated Guinea-pig Trachea

W.H. Lee

Department of Pharmacology, Shanghai First Medical College, Shanghai, china

R.L. Bian, H.L. Zhou, Q.H. Yang

E.G. Wei and Q.M. Xie

Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou, China

N. Kajimoto

Department of Pharmacology, Kinki University School of Medicine

H. Yajima and W. Li

Faculty of Pharmaceutic Sciences, Kyoto University

### Abstract

Effects of synthetic porcine PHI on the mechanical activity and cyclic nucleotides content of isolated guinea-pig tracheal smooth muscle by using transmural stimulation (TS) and radioimmunoassay technique were studied. Results have indicated that 1) the resting tension and TS induced cholinergic contraction were reduced but TS induced dilation was unaffected; 2) the inhibitory effect was short duration and reversed by VIP 14-18 ( $10\ \mu\text{M}$ ), while the isoprenaline induced dilation was not affected by VIP 14-28 ( $10\ \mu\text{M}$ ); 3) in the presence of atropine and propranolol, TS induced dilation was attenuated by VIP 14-28 or VIP antisera ( $0.1\ \text{mg/ml}$ ); 4) no change in cyclic GMP levels was observed, but cyclic AMP levels increased within 5 min during PHI ( $0.1\text{--}1\ \mu\text{M}$ ) and TS induced dilation in the presence of atropine and propranolol; 5) the increase in cyclic AMP levels was decreased by VIP 14-28, but unaffected by propranolol. Based on these results, PHI may regulate the neuronal cholinergic mechanism and both of the

mechanical dilation and intracellular cyclic AMP accumulation caused by PHI and by TS may be mediated by activation of adenylate cyclase through VIP receptors.

### Introduction

Distribution of PHI in the mammalian respiratory tract was observed (Christofides, *et al.*, 1982). Recently, it has been demonstrated that immunoreactive VIP is released from the guinea pig trachea during the relaxation induced by field stimulation, and both the release and relaxation are abolished by tetrodotoxin (Matsuzaki, *et al.*, 1980). However, the effect of PHI on cholinergic mechanism of tracheal smooth muscle has not been investigated.

The aim of the present study was undertaken to elicit the effect of PHI on the responses to transmural stimulation in guinea-pig tracheal smooth muscle. The effect was compared to those of VIP and isoprenaline. In view of the role attributed to endogenous cyclic nucleotides in the mechanical activity of this muscle, we also analyzed the effects of PHI, VIP and iso-

prenaline on the content of intracellular cyclic nucleotides using radioimmunoassay technique (Steiner, *et al.*, 1972).

### Materials and Methods

Guinea-pigs weighing 200 to 350 g were used in the experiments. The animals were stunned, and the trachea excised. Each portion of the preparation was mounted on the apparatus, according to the method of Farmer and Coleman (1970). To study the effects of drugs on the mechanical response, the trachea was suspended vertically in a 50 ml organ bath. The Krebs' solution was in contact with the inner and outer surface of the trachea. The bath temperature was maintained at  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  and the solution gassed with 95%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$  (pH 7.2–7.4). The composition of Krebs' solution was as follows (mM): NaCl, 120.7; KCl, 5.9;  $\text{MgCl}_2$ , 1.2;  $\text{CaCl}_2$ , 2.5;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 1.2;  $\text{NaHCO}_3$ , 15.5; and glucose, 11.5.

The upper end of the preparation was connected to a blood pressure transducer and intraluminal pressure was recorded on an ink-writing oscillograph. The resting intraluminal pressure of an atmospheric pressure was maintained during the experiments. Transmural electrical stimulation was given every 20 min by means of a pair of platinum electrodes. Stimulus parameters used were square-wave pulses of 0.3 msec duration, 50 V intensity and frequency of 20 Hz for 10 sec. The pulse train was delivered from the electronic stimulator.

The cyclic nucleotides content was determined with minor modifications of the procedure of Steiner *et al.* (1972). Protein was determined by the method of Lowry *et al.* (1951) using bovine serum albumin as standard. Cyclic nucleotide content was expressed as picomoles per milligram of wet weight

of tracheal smooth muscle.

The following agents were used: PHI, VIP, VIP 14–28, VIP-antisera, tetrodotoxin, atropine sulfate, propranolol HCl, phen-tolamine, dl-isoprenaline, and hexa-methonium.

Statistical analysis was performed using Student's test for paired data.

### Results and Discussion

#### 1. Effects of PHI on the responses to transmural stimulation

The transmural stimulation produced a fast increase in intraluminal pressure followed by a decrease and a slow return to normal level (Fig. 1A, left). The responses were almost abolished by  $0.1 \mu\text{M}$  tetrodotoxin (TTX) but unaffected by  $10 \mu\text{M}$  hexa-methonium, suggesting that the responses

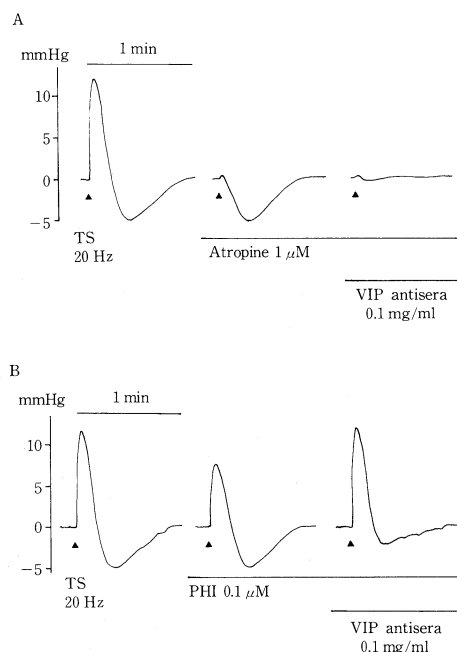


Fig. 1 Typical results of the effects of atropine ( $1 \mu\text{M}$ ) (A), and PHI ( $0.1 \mu\text{M}$ ) and VIP antisera ( $0.1 \text{ mg/ml}$ ) (B) on the response to transmural stimulation (TS) at 20 Hz for 10 sec in guinea-pig tracheal smooth muscle.

were mediated by postganglionic neuronal components. Atropine ( $1\ \mu\text{M}$ ) selectively blocked the rise in pressure without affecting the fall in pressure (Fig. 1A, middle). Neither the rise nor the fall in intraluminal pressure was attenuated by propranolol ( $1\ \mu\text{M}$ ) and phentolamine ( $1\ \mu\text{M}$ ). While, VIP- antisera ( $0.1\ \text{mg/ml}$ ), a selective VIP antagonist (Matsuzaki, *et al.*, 1980), completely blocked or markedly attenuated the fall in pressure without affecting the rise in pressure (Fig. 1A, right). This antisera did not affect the response to exogenous acetylcholine (ACh). These results show that the responses to transmural stimulation consist of two components, a rise followed by a fall in pressure, and the rise one is cholinergic and the fall one is VIPergic, as had been suggested previously (Matsuzaki, *et al.*, 1980).

Fig. 1B shows the representative recording of the effects PHI on the responses to transmural stimulation at 20 Hz for 10 sec. In figure 1B left, the cholinergic response followed by VIPergic response was recorded. PHI ( $0.1\ \mu\text{M}$ ) attenuated the cholinergic response without affecting the VIP ergic response (Fig. 1B, middle). Such inhibitory effects on cholinergic response was reversed by VIP antisera ( $0.1\ \text{mg/ml}$ ) (Fig. 1B, right).

## 2. Effects of VIP 14-28 on dose-dependent responses to exogenously applied PHI, VIP and isoprenaline

PHI, VIP and isoprenaline produced a dose-dependent fall in intraluminal pressure and their  $\text{pD}_2$  values were 6.23, 7.15 and 8.22, respectively. Moreover, VIP 14-28 ( $10\ \mu\text{M}$ ) produced significant inhibition on the dose-dependent responses to PHI and VIP, but did not effect on isoprenaline-induced responses. The corresponding  $\text{pA}_2$  values for VIP 14-28 - PHI and VIP 14-28 - VIP interactions were

5.78 and 5.89, respectively. Thus PHI, like VIP, may act through VIP receptors in tracheal smooth muscle.

## 3. Effects of isoprenaline ( $0.1\ \mu\text{M}$ ) on the content of intracellular cyclic nucleotides

Dose-dependent dilation of the trachea produced in response to isoprenaline was associated with marked increase in the content of cAMP, but was independent of changes in the content of cGMP. The average content of cGMP in tissues before exposure to isoprenaline ( $0.80 \pm 0.09\ \text{pmole/mg wet wt}$ ,  $n=5$ ) was virtually similar to the value obtained after exposure to isoprenaline ( $0.78 \pm 0.04\ \text{pmole/mg wet wt}$ ,  $n=5$ ). In sharp contrast, the intracellular cAMP content markedly increased after exposure to isoprenaline ( $7.36 \pm 0.48\ \text{pmole/mg wet wt}$ ,  $n=5$ ; the control value was  $4.18 \pm 0.38\ \text{pmole/mg wet wt}$ ,  $n=6$ ).

Pre-treatment with  $1\ \mu\text{M}$  propranolol for 10 min competitively inhibited the dilating effect of isoprenaline. Similar treatment also inhibited the increase in cAMP content. Therefore, the antagonism of the isoprenaline-induced dilation and cAMP accumulation by propranolol would indicate that both phenomena are mediated through activation of  $\beta$ -adrenoreceptors.

## 4. Effects of PHI and VIP on the content of cyclic nucleotides

Both of PHI and VIP also caused a remarkably increased in cAMP content without affecting the content of cGMP (Table 1). On the other hand, VIP 14-28, a VIP fragment which purportedly inhibits VIPergic receptors (Lee, 1983), did not significantly alter the content of cyclic nucleotides (Table 1). Furthermore, the expected rise in cAMP content produced by PHI and VIP was markedly inhibited when responses were elicited in



Table 1. Effects of VIP and PHI on the levels of intracellular cyclic AMP and cyclic GMP in the tracheal smooth muscle of guinea-pig. Cyclic nucleotide content was expressed as pmole/mg wet wt. (n=6).

	Control	VIP, 1 $\mu$ M	PHI, 1 $\mu$ M	VIP 14-28, 10 $\mu$ M	VIP, 1 $\mu$ M +VIP 14-28, 10 $\mu$ M	PHI, 1 $\mu$ M +VIP 14-28, 10 $\mu$ M
Cyclic AMP	4.14 $\pm$ 0.49	6.20 $\pm$ 0.58*	5.86 $\pm$ 0.43*	4.21 $\pm$ 0.58	3.52 $\pm$ 0.37	4.16 $\pm$ 0.47
Cyclic GMP	0.79 $\pm$ 0.13	0.67 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.07	0.63 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.17

VIP=Vasoactive Intestinal Polypeptide ; PHI=Peptide having Histidine and Isoleucine ;  
Values are means $\pm$ SEM. \*p<0.05

the presence of VIP14-28. However, propranolol did not affect the increase in cAMP content.

Although these findings strongly suggest that PHI- and VIP-induced tracheal dilatation is linked to formation of cAMP mediated by activation of adenylate cyclase through VIPergic receptors, they do not provide insight into mechanisms as to how cAMP facilitates dilatation. Further studies of interrelationships among dilatation, cAMP accumulation and phosphorylation of functional proteins in tracheal smooth muscle promises to provide insight into the mechanisms participating in PHI- and VIP-induced tracheal dilatation.

### Conclusion

These studies in isolated tracheal smooth muscle provide evidence that PHI and VIP are potent modulators of cholinergic neuronal mechanisms in the trachea which may be related to their ability to alter tracheal tension. Moreover, our data show that PHI- and VIP-induced tracheal dilatation and rise

in intracellular cAMP content may be due to the activation of adenylate cyclase through VIPergic receptors of smooth muscle cells.

### References

- Christofides, N.D. *et al.* (1982). Distribution of PHI in the mammalian respiratory tract and some aspects of its pharmacology. *Regulatory Pept.* **4**: 359.
- Farmer, J.B. and Coleman, R.A. (1970). A new preparation of the isolated intact trachea of the guinea-pig. *J. Pharm. Pharmac.* **22**: 46-50.
- Lee, W.H. (1983). The mechanism of action of vasoactive intestinal polypeptide and VIPergic innervation in the gallbladder of guinea-pig. In: *Advanced neuropharmacology*, part 1: *The efferent neuroeffectors system*, ed. by Yang, Z.C. *et al.*, pp. 52-67. University press, Shanghai First Medical College, Shanghai. (in Chinese).
- Matsuzaki, Y. *et al.* (1980). Vasoactive intestinal peptide: A possible transmitter of nonadrenergic relaxation of guinea-pig airway. *Science* **210**: 1252-1253.
- Steiner, A.L. *et al.* (1972). Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and of iodinated cyclic nucleotides. *J. Biol. Chem.* **247**: 1106-1113.

## モルモット摘出気道における薬物の粘膜側投与と 外側投与の反応について

名古屋大学医学部 第二内科学教室

馬 場 研 二, 伊 藤 仁, 佐 竹 辰 夫

名古屋大学医学部 第一生理学教室

富 田 忠 雄

気道の薬理学的研究には多くの場合、気管及び肺外気管支の平滑筋、および、末梢肺組織そのものを用いた摘出切片が使われている。しかし、気道抵抗の観点では、肺内気管支の関与は無視出来ず、一方、肺組織では Eyre & Mirbahr (1981) が指摘するように、末梢気管支そのものの反応をみているとは言い難い。また、生体での薬物の反応を考える場合には、血行を介して与えたときと粘膜側から与えた場合とで、反応は必ずしも同じであるとは考えられない。本研究ではこれらの点を明らかにする目的で、気管支部を中心とした気道の内腔を灌流し、数種の薬物を粘膜側から与えた時と、外側から与えた時とで内圧の変化の違いを調べた。

### 実 験

モルモットの気管から肺に至る呼吸器管を一括して摘出し、中心気道のまわりを一部残して、気管上部 3/4 と、末梢肺組織を、出来るだけ取り去り、気道標本を作成した。気道の入口にはプラスチック管を、先端が気管分岐部の直上にくるよう挿入し、密着固定したのち、標本槽にセットした。気道の内腔（粘膜側）および外側は、それぞれ Krebs 液を独立に、一定速度で灌流した（内腔側：2 ml/分、外側：3 ml/分）。気道に挿入したプラスチック管は圧トランスデューサーと接続し、気道抵抗の変化（気道平滑筋の反応）を気道内圧の変化として捉えた。薬物は灌流液に加え、それぞれ粘膜側から投与した場合と外側から投与した場合とで、気道内圧の変化を観察した。また同じ個体の上部気管の切片を用いて、薬物に対する反応を、等尺性収縮を内圧変化と同時に記録して調べた。実験

は全て indomethacin ( $5 \mu\text{M}$ ) 存在下、 $37^\circ\text{C}$  の条件下で行った。

### 結 果

Carbachol, Prostaglandin (PG)  $\text{F}_{2\alpha}$  は、粘膜側投与（「粘膜側」）、外側投与（「外側」）いずれの場合もそれぞれ濃度依存性に気道内圧を上昇させた。最大反応の強さは、「外側」は「粘膜側」の 20~30% と常に小さく、その割合は、薬剤の間で差はなかった。Histamine に対しては、気道内圧の変化は carbachol や  $\text{PGF}_{2\alpha}$  と同じ傾向を示したが、「気管切片」では 6 例中 2 例で弱い反応がみられ、4 例で  $30 \mu\text{M}$  の高濃度でも全く反応がみられなかった。

Carbachol,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の  $\text{ED}_{50}$  値は、「粘膜側」と「外側」で差はみられなかったが、「気管切片」では「気道内圧」（「粘膜側」及び「外側」）の場合の約 1/10 であった。Histamine の  $\text{ED}_{50}$  値は、「外側」と「気管切片」で差はみられなかったが、「粘膜側」のみは有意に低かった。

### 考 察

本研究における気道内圧の変化は、従来の肺組織の切片を用いた実験と異なり、気管支、特に肺内の気管支に存在する平滑筋の反応をかなりの程度反映していると考えられる。

Histamine に対し、気道内圧は例外なく上昇するのに、「気管切片」では高濃度投与の場合にも反応しない例が多い事は、気道における histamine の反応の場所が、気管よりも、主に気管支部であることを示唆している。これは、histamine に対する反応態度が気管と気管支で異なるという、従来からいわれている histamine

の薬理学的異質性 (Eyre, 1973; Persson & Ekman, 1977) の考えを支持するものである。「気管切片」の場合の carbachol, および PG F<sub>2α</sub> の ED<sub>50</sub> 値が, 「気道内圧」の場合の約 1/10 である事は, 一見気管の方が気管支よりも反応性が高いような印象を与える。しかし, 「気管切片」と「気道内圧」とでは実験条件が異なるため, 今回の実験だけからは気道部位による反応性の差を論ずることは危険である。「外側」の反応が「粘膜側」よりも小さかったのは, 「外側」は「粘膜側」と異なり, 周囲の肺組織が薬物の透過に対して障壁となっているために, 反応する平滑筋の量が異なることが原因である可能性も考えられる。

Carbachol や PG F<sub>2α</sub> と異なり, histamine に対して, 「粘膜側」の場合の ED<sub>50</sub> 値が「外側」のものよりも有意に低かった事は, histamine が,

carbachol や PG F<sub>2α</sub> よりも速やかに粘膜を通していか, または, 粘膜上皮が histamine と反応することによって, 平滑筋を収縮させるか, histamine に対する反応性を高めるような物質を, 産生・放出させる可能性が考えられる。

## 文 献

- Eyre, P. (1969). The pharmacology of sheep tracheobronchial muscle: A relaxant effect of histamine on the isolated bronchi. *Br. J. Pharmacol.* **36**: 409-417.
- Eyre, P. & Mirbahar, K.B. (1981). Is the parenchyma strip a true airway preparation? *Agents and Actions* **11**: 173-176.
- Persson, C.G.A. & Ekman, M. (1976). Contractile effects of histamine in large and small respiratory smooth muscle responses in vitro. *Agents and Actions* **6**: 389-393.

## ウシ瞳孔散大筋組織における副交感神経支配について

山口大学医学部 眼科学教室

鈴木 亮, 小林 俊 策

山口大学医学部 第一生理学教室

長 琢 朗

## 緒 言

瞳孔散大筋に副交感神経が分布しているか否か, また分布しているとしてもその機能については未だよくわかっていない (Thompson, 1980). 形態学的には瞳孔括約筋のみならずその周囲組織もコリンエステラーゼに漠然と染まること, 薬理学的には瞳孔散大筋は他の平滑筋と同様アセチルコリンに反応するということが知られている (Narita & Watanabe, 1982; Suzuki *et al.*, 1983).

このように瞳孔散大筋と副交感神経との関連については報告されているが (Narita & Watanabe, 1982; Suzuki *et al.*, 1983; Laties & Jacobowitz, 1964), その分布についてすら否定的な論文もあり, 瞳孔散大筋に副交

感神経が分布しているかどうかはまだ衆目の一致をみていない。更にかりに分布しているとしてもその神経自体の生理学的機能については解明されていない。

そこで瞳孔散大筋組織に分布している神経を刺激することにより, 私共は副交感神経支配の有無とその作用機序を *in vitro* で研究することを企画した。

## 実験方法

実験に使用した薬物は acetylcholine-, Carbachol-Cl, L-isoproterenol-HCl, eserine, neostigmine-Br, tetrodotoxin, atropine-sulfate, DL-propranolol-HCl, phentolamine (以上 Sigma), DL-norepinephrine (nora-drenaline 三共, 注), phenylephrine-HCl (ネオ

シネジン注, 興和), phentolamine (Regitine, CIBA) で, 実験動物は主にウシである。

実験方法は既に報告した通りでテスト液が毎分一定の流速で筋浴槽を灌流できるようになっている。

### 実験結果 及び 考察

ウシ瞳孔散大筋(以後散瞳筋と略す)に副交感神経支配があるか否かを調べるため, phentolamine ( $10^{-6}$  M), propranolol ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M) の交感神経遮断薬であらかじめ処理した標本を用いて以下の実験をおこなった。

まず外来性に acetylcholine 類同の carbachol を作用させその用量-反応曲線を調べた(図1)。carbachol は散瞳筋を弛緩させた。閾値は  $5 \times 10^{-9}$  M で, 最大弛緩は大略  $5 \times 10^{-6}$  M で得られ, 以後濃度を増してもウシ散瞳筋では収縮に転じることはなかった。この反応は atropine で拮抗されたので散瞳筋には抑制性の muscarine 受容器が存在する。

散瞳筋標本をフィールド刺激すると主に弛緩反応が出現した。この弛緩反応は他の内眼筋組織と同様数 msec で最大となった。

この弛緩は神経の興奮の伝達を遮断する

tetrodotoxin で遮断されたので伝達物質を介した反応と考えられる。この反応は  $10^{-6}$  M atropine で大略消失し neostigmine ( $2 \times 10^{-7}$  M) の下で同様の実験をおこなうと弛緩の大きさは増大し時間経過も延長した。以上のことから散瞳筋は抑制性のコリン作動性神経によっても支配されていることがわかる。

瞳孔散大筋の tone が低いときは高カリウムにより小さな拘縮が生じたが, 通常の tone では筋は高カリウム液下で一貫して弛緩を示した。この弛緩は neostigmine で増大し, atropine でほとんど消失したのでカリウムで惹起された弛緩は神経末端の脱分極による acetylcholine 放出によるものと考えた。

散瞳筋の静止筋緊張は瞳孔括約筋, 毛様体筋に比べ著しく高く, 神経刺激による後弛緩は atropine で拮抗されたことを考えると, 瞳孔散大筋には副交感神経支配が存在し, しかも他の自律神経組織と異なり抑制性に作用すると言える。

ウシ瞳孔散大筋にみられた抑制性副交感神経は散瞳筋を弛緩させると共に瞳孔括約筋を収縮させたので, この点でも瞳孔の運動が2つの虹彩の平滑筋によって合理的に営まれていることが示唆された。

### ま と め

摘出ウシ瞳孔散大筋を用い adrenaline 拮抗薬の存在下に副交感神経の有無とその作用機序を調べた。

1. 筋は外来性の ACh で弛緩しこの反応は atropine で遮断された。
2. 神経刺激で得られた弛緩反応は atropine で遮断され neostigmine で増強した。
3. したがって瞳孔散大筋には抑制性の副交感神経が分布しており瞳孔括約筋の縮瞳に対して協調的に作用すると考えた。

### 文 献

- Laties, A. and Jacobowitz, D. (1964). A histochemical study of the adrenergic and cholinergic innervation of the anterior segment of the

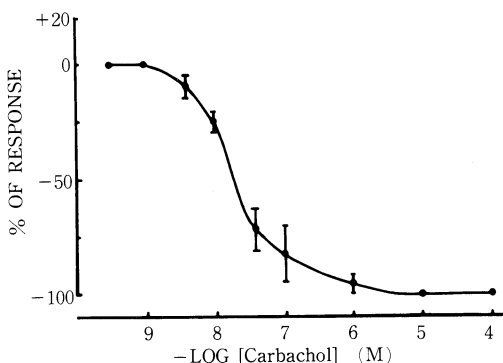


図1 Dose-response curve of the bovine dilator muscle for carbachol. Responses are expressed as a percentage of the response of the amplitude of  $5 \times 10^{-6}$  M carbachol-induced relaxation. Plus and minus signs indicate contraction and relaxation, respectively. Vertical bars are twice the standard deviation.

- rabbit eye. *Invest. Ophthalmol.* 3: 592-600.
- Narita, S. and Watanabe, M. (1982). Response of isolated rat iris dilator to adrenergic and cholinergic agents and electrical stimulation. *Life Sci.* 30: 1211-1214.
- Suzuki, R., Osa, T. and Kobayashi, S. (1983). Cholinergic inhibitory response in the bovine iris dilator muscle. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 24: 760-763.
- Thompson, H.S. (1980). The pupil and the autonomic nervous system. In: *Neuro-ophthalmology*, vol. 1, ed. by S. Lessell and J.T.W. van Dalen, pp. 226-240.

## 高濃度 estrogen, progesterone, dehydroepiandrosterone の 子宮筋収縮系における作用ならびに 分娩生理学上の意義

奈良県立医科大学 産婦人科学教室

平岡 克忠, 小坂井 秀宣, 高山 辰男  
潮田 悦男, 一條 元彦

### 緒 言

妊娠時, 子宮筋組織は高濃度ステロイド環境下に置かれており, 子宮筋収縮は抑制されているが, その理由として Csapo らは, いわゆる progesterone block が存在していると述べている. 他のステロイドについて, そのような高濃度ステロイドの条件下で子宮筋収縮生理を検討した報告はみられない. 今回は, ヒト妊婦血中および子宮筋組織に存在する高濃度の estrone, estradiol, progesterone, dehydroepiandrosterone (以下  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , P, DHAS と略す) などが妊娠維持・分娩発来機序にいかなる関連・意義を有しているかについて検討した.

### 実験材料 及び 方法

#### 1. 子宮筋張力測定

ヒト子宮筋腫における子宮摘出標本より筋腫核を除いた体部筋および帝王切開時の子宮筋と, Wistar 系ラット子宮筋より 10 mm 長の子宮筋切片を切り出し, 37°C, ロック・リングル液につらし, 95%  $O_2$ +5%  $CO_2$  通気下で, isometric contraction を記録した. 最大張力は AC, 6-12 V/cm, 5 秒間通電時の最大収縮をもって示した.  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , P, DHAS,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ , oxytocin は実験槽中に添加し, 最終濃度を計算

した.

#### 2. 子宮筋アクトミオシンの超沈殿現象

ヒト子宮筋(上記子宮筋腫における子宮摘出標本より得た)を細切した後, Weber Edsall 溶液を加え, 24 時間放置後, 0.6 M  $KCl$  に溶解した. 2 倍量の水を加え遠沈後の沈殿に 1 M  $KCl$  を加え再溶解した. 次に 0.6 M  $KCl$  で 24 時間透析した. この操作を 3 回繰り返した上清をアクトミオシン分画とした. 超沈殿現象は日立 150-20 分光光度計により濁度の変化を 550 nm で測定した.  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , P, DHAS,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ , oxytocin はアクトミオシン液をいれたセル内に添加して超沈殿現象への影響を観察した.

### 成 績

1. ヒトおよびラット子宮体部筋の張力測定では,  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , P はいずれも  $10^{-6}$  M で子宮筋収縮抑制作用が認められた.  $10^{-5}$  M では著明な収縮抑制を示した. 特に  $E_2$  は最も強力であった.

2. この子宮筋収縮抑制作用について検討した所, sulfate 結合型は free 型に比して, 約 100 倍高濃度でなければ, 作用が発現しなかった.

3. DHAS は  $10^{-6}$ ~ $10^{-4}$  M の濃度でヒト子宮筋において, 非妊期, 分娩期共に著明な子宮筋収縮増強作用を示した. ただし, DHA,

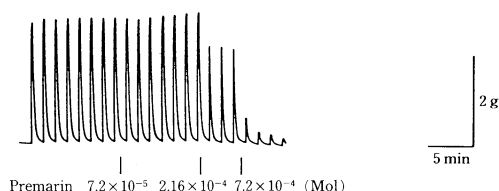


Fig. 1 Effect of Premarin on non pregnant rat myometrium

DHAS に対する感受性と反応は筋標本により多少の差がみられた。またラット子宮筋に関しては、DHAS の作用は不確実であった。

4.  $\text{PGE}_2$ ,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , oxytocin はヒトおよびラット子宮筋において収縮作用を示すが、 $\text{E}_2$ , P, はいずれも子宮筋収縮抑制作用を示した。また、その dose response curve は右方に移動した。

5.  $\text{E}_2$ , P はヒトおよびラット子宮筋において  $10^{-5} \sim 10^{-2} \text{ M}$  の外液  $\text{Ca}^{2+}$  濃度による K contracture を抑制した。また、その dose response curve を右方に移動させた。

これらの結果は、子宮筋収縮抑制作用について

では progesterone のみならず estrogen にも抑制作用があることを示している。これらの高濃度ステロイドの子宮筋収縮抑制作用を解明するため、ヒト子宮筋組織よりアクトミオシンを抽出し、超沈殿現象に及ぼすステロイドの影響を検討した。

6.  $\text{E}_1$ , および結合型 estrogen である Premarin は  $10^{-4} \text{ M}$  の濃度でヒト子宮筋アクトミオシンの超沈殿現象を抑制した。(Fig. 1, Fig. 2)

7. 特に、Premarin 中の equilin は、著明な抑制作用を示した。その機序については検討中である。

8.  $\text{E}_2$ ,  $\text{E}_3$ , P, DHAS,  $\text{PGE}_2$ ,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  はいずれもヒト子宮筋アクトミオシンの超沈殿現象に、著明な影響を与えなかった。

## 考 察

高濃度ステロイドの条件下で子宮筋の収縮生理を検討した結果、 $\text{E}_1$ ,  $\text{E}_2$ ,  $\text{E}_3$ , P はいずれも steroid block の形で子宮筋収縮を抑制してお

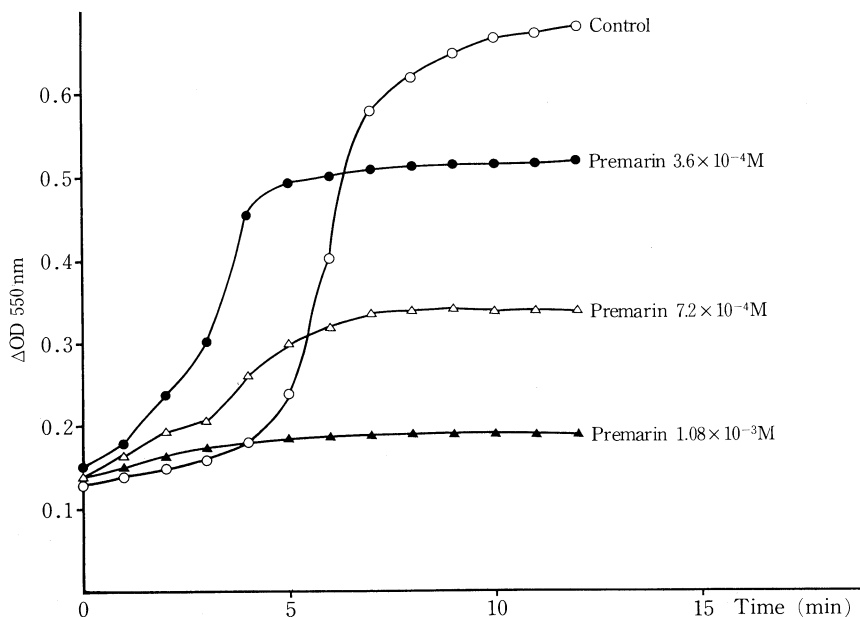


Fig. 2 Effect of Premarin on superprecipitation of actomyosin from human uterine muscle. Superprecipitation was determined by measuring the increase in optical density at 550 nm. ATP  $15 \mu\text{M}$ , was added at 0 time in the presence of Premarin. Reaction was carried out at  $23^\circ\text{C}$ .

り, progesterone 以外に estrogen による block が存在していると考えられる。子宮筋収縮過程におけるステロイドの役割を解明するため, ヒト子宮筋組織アクトミオシンの超沈殿現象を観察した所,  $E_1$ , equilin に抑制作用が認められた。

これに反して, DHA, DHAS は子宮筋収縮を促進する作用を有しており, その動向は分娩発来機序に何らかの役割を果たしているものと推察されるが, 子宮筋収縮機構に関与する他の因子との関連について今後の検討が望まれる。

## 文 献

Adelstein, R.S. *et al.* (1978). Phosphorylation of smooth muscle myosin light chain kinase by the catalytic subunit of adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase.

*J. Biol. Chem.* **253**: 8347-8350.

Conti, M.A. *et al.* (1981). The relationship between calmodulin binding and phosphorylation of smooth muscle myosin kinase by the catalytic subunit of 3':5'-cAMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* **256**: 3178-3181.

Csapo, A. *et al.* (1949). Studies on contractility of uterine body, isthmus and cervix under normal conditions during pregnancy and in labour. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **29**: 291.

Hidaka, H. *et al.* (1978). A novel vascular relaxing agent, N-(6-aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide which affects vascular smooth muscle actomyosin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **207**: 8-15.

高山辰男ら (1982). 子宮・腔筋収縮機構特に細胞内 Ca store に関する  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$  の作用. 日本平滑筋誌 18: 136.

## 子宮平滑筋 Myosin B ATPase 活性 に及ぼす Calmodulin の影響

東京慈恵会医科大学 産婦人科

落 合 和 彦, 清 水 良 明, 蜂 屋 祥 一

三菱化成生命科学研究所

丸 山 六 三

子宮平滑筋の収縮, 制御機構は, 内分泌学的なきめ極い検索や, 様々な生理学的な手法により, 序々にではあるが, 次第に解明されつつある。我々も, 従来より, saponin 処理による化学的形質膜剥離標本を用い, 種々の検討を行い, 妊娠を通じ, 子宮平滑筋の収縮特性に変化がおきること(徳留, 1981), 更に, その収縮制御には,  $Ca^{2+}$  受容蛋白である Calmodulin が大きな係りをもっていることを示唆してきた (Ochiai *et al.*, 1981)。

今回, 我々は, Calmodulin の細胞内, 特に収縮系でのふるまいを知る目的で, 子宮平滑筋より Myosin B を抽出し, その ATPase 活性に及ぼす Calmodulin の影響について検討した。

## 方 法

非妊娠ラット(Wister—今道), 妊娠 7 日, 妊娠 14 日, 妊娠 21 日目ラットを, 断頭屠殺し, 直ちに子宮を摘出し, 血液成分及び結合組織を生理食塩水中にて除去し, Fig. 1 にしたがって 50 mM KCl を含む溶液中で数回の洗浄を行い, 更に Triton-X 100 1% を含む溶液中で攪拌した後, 600 mM KCl を含む抽出液中で, polytron による homogenize 処理を行い, 遠沈上清の稀釈を Myosin B として抽出した。抽出された Myosin-B は, SDS-PAGE により, その収縮蛋白を確認した。

Myosin B ATPase 活性は, モリブデン酸青を比色する事で行った。

以上の操作を, 各妊娠時期の, 各  $Ca^{2+}$  濃度に

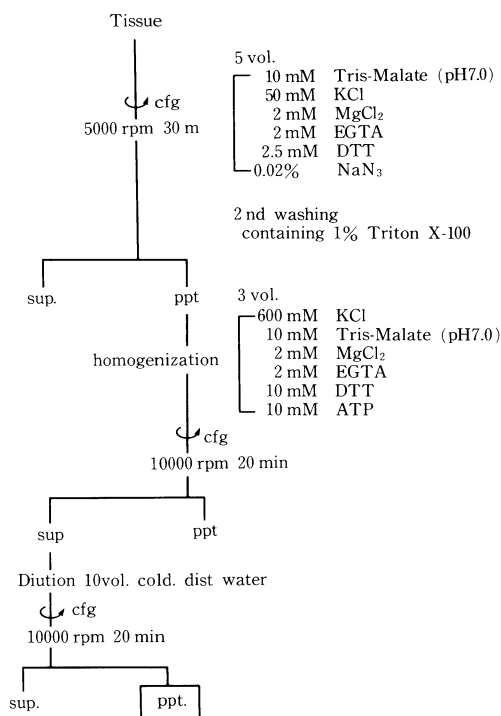
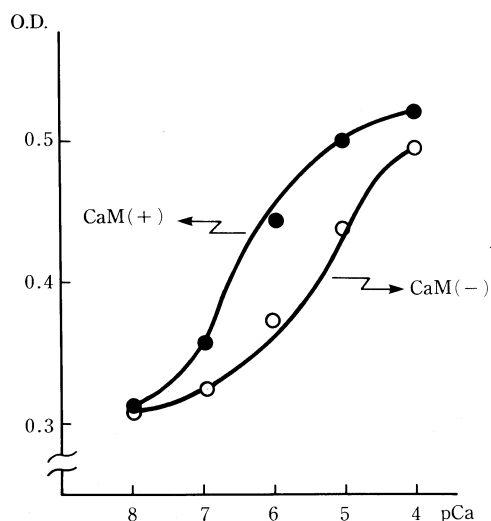


Fig. 1 Preparation of myometrial myosin B

Fig. 2 Myosin B ATPase activity— $\text{Ca}^{2+}$  sensitivity and effect of CaM—

について行い、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性及び、Calmodulin の影響について検討した。

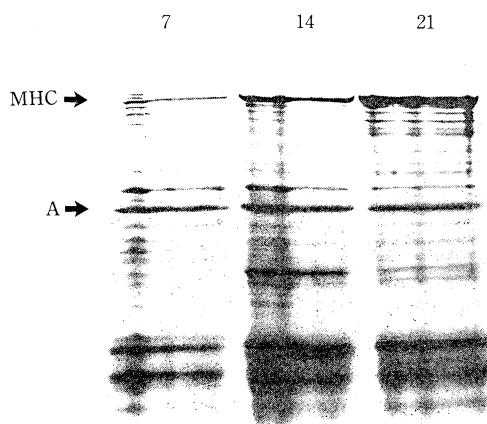


Fig. 3

Table 1 Augmentation rate (%) by CaM—tension and myosin B ATPase—

pCa	Tension	ATPase
8		106
7	180	130
6	130	145
5	220	128
4	310	110

## 結 果

### 1. 各時期における Myosin B の抽出

非妊娠時及び妊娠各時期において、抽出された Myosin B を SDS-PAGE により比較すると、妊娠時期がすすむにつれて、抽出されるタンパクが多くなり、更に、Myosin と思われるバンドが太くなる傾向が見られた (Fig. 3)。

### 2. 非妊娠時の ATPase 活性

非妊娠時における Myosin B ATPase 活性は、pCa 8 から pCa 4 にかけて、ゆるやかな S 状を呈し、その増加の程度は、約 1.5 倍であった。又、Calmodulin ( $1 \mu\text{M}$ ) の存在下での同様の検索では、ATPase 活性を上昇せしめ、その程度は、pCa 6 を中心としていた。

### 3. 妊娠時の ATPase 活性

各妊娠時期において、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性は、非妊娠にくらべはるかに低く、特に妊娠末期 (21 日目) においては、ほとんど pCa 8 から 4 まで変化を示さなかった。又、Calmodulin に対する影響も



少なかったが、 $Mg^{2+}$ の有無による Calmodulin の効果が、妊娠の進行に伴い大きくなる傾向が見られた。

## 考 察

今回の検索において、同様の処理を行いながら、抽出されたタンパク構成に変化が生じた事は、妊娠期間中の収縮性の変化を考える上で大変興味深い。又、Myosin B ATPase 活性の  $Ca^{2+}$  依存性及び、Calmodulin の影響を、skinned fiber における張力のそれと比較してみると、非妊娠時において、張力では pCa 4 で、310% の張力増加を見ているのに対し、ATPase 活性増強は、pCa 6 において最も顕著であり、その増加率は 145% であった。つまり、一応、張力増強と、ATPase 活性はパラレルに動くものの、その至適 pCa には差がある事が認

められた。

一方、妊娠期間中の Myosin B ATPase 活性は、 $Ca^{2+}$  依存性の極めて低い事や、Calmodulin による活性化についても問題が多いが、SDS PAGE パターンは、妊娠期間中の確実な変化を問語っており、今後、種々の条件設定や、抽出されたタンパクの同定をも含めて検討していくつもりである。

## 文 献

Ochiai K *et al.* (1981). Augmentation by calmodulin of  $Ca^{2+}$  induced tension development in saponin treated (chemically skinned) rat uterine smooth muscle fibers. *Biomed. Res.* 2: 714-717.

徳留省悟 (1981). サポニン処理子宮平滑筋におけるカルシウム感受性. 東京慈恵会医大雑誌 96: 1-7.

## ラット子宮組織内無機質と性ホルモン剤の影響

日本歯科大学新潟歯学部 口腔解剖学教室

寺 木 良 巳, 前 村 実 満

子宮は部位によりその機能的な役割が異なると考えられている。平滑筋も子宮体部、子宮頸部ならびに腔部により各々発達に差異がみられる。一方、子宮組織内には多くの無機質が含有されており筋組織の形成、興奮性の維持、生理活性、酸アルカリ平衡など生理的機能に重要な役割を果たしている。また子宮は性ホルモンによって支配されており子宮運動、薬物感受性などに差異がみられる。

子宮の収縮や弛緩に関与する無機質の役割と性ホルモン剤投与による影響、子宮各部における無機質構成成分比、生殖機能に重要な意味をもつと考えられる微量元素の子宮内含量などについて検討した。

## 方 法

実験には Wistar 系ラットの体重 120 g 前後の雌ラットを用いた。性ホルモン剤としてエス

トラジオール (estradiol) 0.02 mg/匹/s.c またはプロゲステロン (progesterone) 1 mg/匹/s.c. 投与し、42 時間後に屠殺開腹し子宮を摘出した。子宮組織は子宮体部、頸部および腔部に分けそれぞれ試料とした。組織中無機元素の分析はケイ光 X 線法、原子吸光法、比色法 (Uchiumi & Kawase, 1979)、ASV 法および最近開発された IL マルチスタット III プラスを用いて測定した。測定した金属は K, P, Na, Mg, Ca など、他に微量元素として Fe, Zn, Cu, Mn などを調べた。

## 結 果

先づエストロゲン処理 (Est) による子宮肥大作用はプロゲステロン処理 (Prog) に比し重量で 50% も増加した。腔部は変りなかった。

心筋や骨格筋の無機物の構成は K, P, Na, Mg, Ca の順であるが子宮筋においては P が

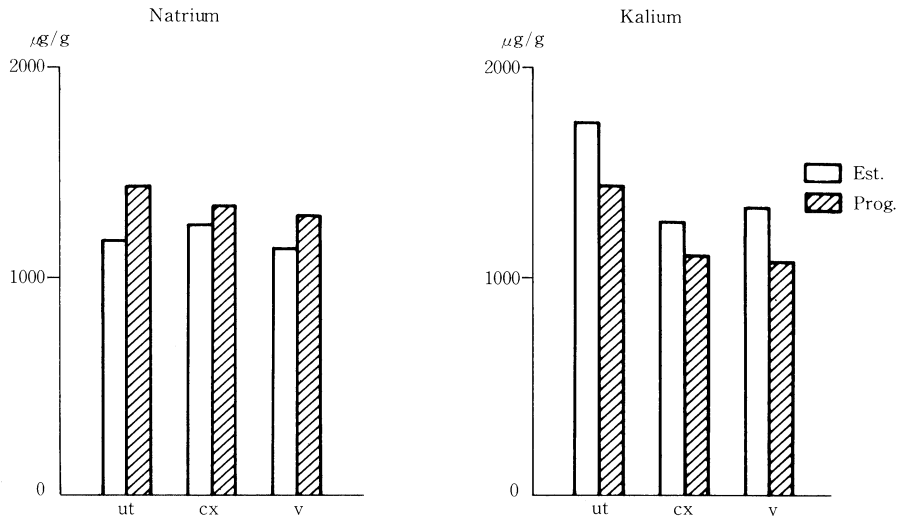


Fig. 1. Cyclical variations in natrium and kalium levels in the rat uterus

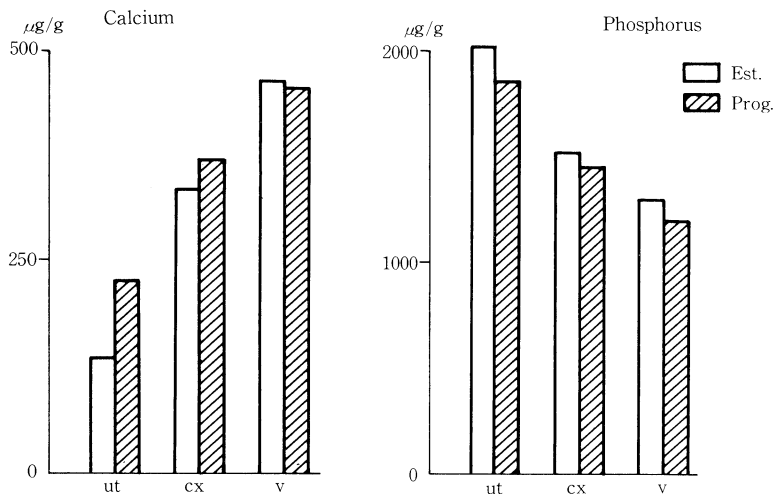


Fig. 2. Cyclical variations in calcium and phosphorus levels in the rat uterus

もっとも多かった。血清P含量も高かった。

組織中Naの含量は体頸腔部とも差はみられないがProg処理により子宮各部にNaの増加がみられた。一方、組織中Kの含量は子宮体部に他より多いがEst処理によりKの増加がみられた。K/Na比はEst処理で体部1.48, 頸部1.0, 腔部1.14であり, Prog処理ではそれぞれ0.99, 0.86, 0.83であった (Fig. 1)。

このことは黄体ホルモンは子宮筋細胞中のNaイオンを増大させKイオン濃度を低下させるものと考えられる。逆に卵胞ホルモンはNa

イオンを減少させKイオン濃度を増加させることになるのではないかと考えられる。

組織内Caの含量は3者でかなり異なり子宮体部にもっとも少く腔部, 頸部に多く含有している。子宮体部におけるCaの含量はEst処理群とProg処理群との間に有意の差がみられEst処理で著しく減少している。頸部および腔部では差はみられない。一方、組織内Pの含量はCaと反対に体部にもっとも多く頸部, 腔部には少ない (Fig. 2)。これらをP/Ca比で示すとEst処理体部で15.8に比し, Prog処理では

8.3 であり、子宮体部の Est 処理による効果が大きいことが知られる。頸部と腔部における P/Ca 比はホルモン剤処理によっても、とくに変りは見られない。

組織内の Mg 含量は子宮体部、頸部、腔部とも平均しており、ホルモン処理による変動も頸部を除いて差は見られなかった。しかし関連の深い Ca との比をみると Ca/Mg で Est 処置体部の 0.79 に比し、Prog 処理のは 1.52 であって Ca がよく動くことが知られた。

組織内の微量元素含量は Fe, Zn, Cu, Mn の順であり Fe, Zn については各部とも平均しておりホルモン剤処理による変化は見られなかった。子宮腔部において銅の含量がいちじるしく多く有意差がみられたが、どのような意味をもつか明らかでない。Zn, Cu などは子宮内膜、頸管粘液などの調節にあづかっているものと思わ

れ子宮本来の代謝や機能を考える上で重要な物質であることを示唆する。

## ま と め

子宮の機能や代謝は無機物質に著しく影響されると考えられる。今回、子宮体部、頸部、腔部における無機質の構成成分を分析し、さらに卵胞ホルモン剤、黄体ホルモン剤処理の子宮筋はどのような影響を受けるかについて検討した。その結果 Ca が大きく変動することを見出した。同時に Na, K, P, Mg などとの関連が深いことも知られた。

## 文 献

- Uchiumi, A. & Kawase, A. (1979). ACS/CSJ. Chemical congress, Part I, p. 121.

## SHRSP 摘出精管における交感性 $\alpha$ 受容体について

近畿大学医学部 寄生虫学教室

丹 羽 淳 子, 宮 里 昂

近畿大学医学部 薬理学教室

村 上 典 子, 東 野 英 明, 鈴 木 有 朋

## 緒 言

$\alpha$  受容体は  $\alpha_1$  と  $\alpha_2$  に分類され、一般に  $\alpha_1$  受容体はシナプス後部に、 $\alpha_2$  受容体はシナプス前部に存在すると考えられている。近年、ラット摘出大動脈 (Ruffolo, Waddell & Yoden, 1980) において、 $\alpha_2$  受容体作動薬に高親和性をもつシナプス後  $\alpha_2$  の受容体の存在が報告されている。

ラット精管平滑筋は、血管平滑筋と同様に  $\alpha$  受容体が存在し、特に副睪丸側において、高度の交感神経系の分布が知られている。

本実験では、ラット精管副睪丸側平滑筋における  $\alpha_2$  受容体の有無を検討し、さらに高血圧ラットの  $\alpha$  受容体の特性について、正常血圧ラットと比較することを目的とする。

## 方 法

6 カ月齢雄性の脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (SHRSP) とその対照として Wistar Kyoto ラット (WKY) を用いた。精管はエーテル麻酔下に摘出後、副睪丸側約 1 cm を縦方向に半切した。標本は 30°C Locke 液中に懸垂し、95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> の混合ガスで通気した。収縮反応は 1 g の荷重のもとに等尺性に記録した。 $\alpha$  受容体作動薬として Noradrenaline (NA), Phenylephrine (PhE), Methoxamine (Meth), Clonidine (CL), Oxymetazoline (Oxy) を、また拮抗薬には Prazosin と Yohimbine を用いた。実験結果は Schild のプロット法 (Arunlakshana & Schild, 1959) を用いて検定した。

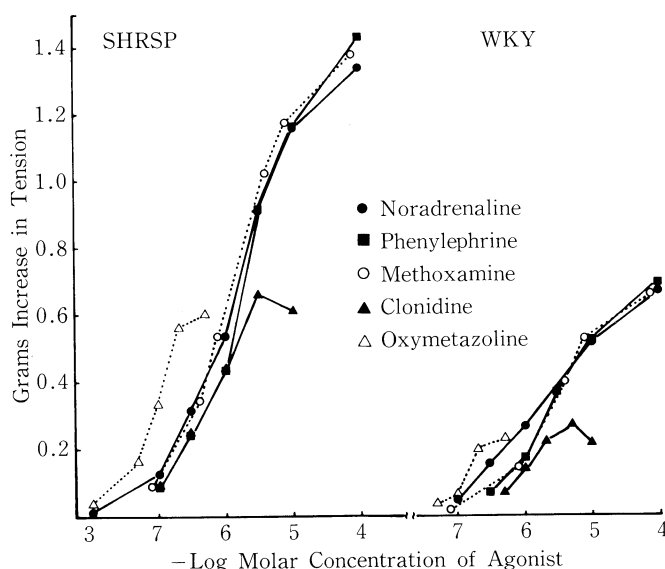


Fig. 1 Dose-response curves for noradrenaline, phenylephrine, methoxamine, clonidine and oxymetazoline in the epididymal ends from SHRSP and WKY. Each value is the mean developed tension (g).

## 結 果

$\alpha$  受容体作動薬は濃度依存性に収縮を生じ、SHRSP, WKY いずれにおいても、 $\alpha_1$  作動薬の PhE と Meth の用量作用曲線は、NA 収縮とほぼ同じであった。一方、 $\alpha_2$  作動薬とされる CL と Oxy の個有活性は 0.4-0.5 であった。また、NA の最大張力は WKY で 0.66 (g), SHRSP では 1.34 (g) であった。他の作動薬についても同様で、SHRSP の方で大であった (Fig. 1)。

NA, PhE, Meth, CL, Oxy の  $pD_2$  値は SHRSP で順に (5.90, 5.64, 5.88, 6.23, 6.95), WKY (5.71, 5.37, 5.66, 5.86, 6.91) で SHRSP, WKY とともに CL および Oxy の親和性は PhE に比し大であった。またすべての  $pD_2$  値は SHRSP の方で大であった。

$\alpha_1$  拮抗薬 Prazosin ( $10^{-10}$ - $10^{-8}$  M) あるいは  $\alpha_2$  拮抗薬 Yohimbine ( $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M) の併用により、すべての  $\alpha$  作動薬の用量作用曲線は右方へ平行移動し、最大反応には変化はなかった。

Table 1 に示すように、SHRSP, WKY いずれにおいても、すべての作動薬に対する Prazosin の  $pA_2$  値は Yohimbine のそれより

も大であった。また両拮抗薬について、NA, PhE, Meth に対する  $pA_2$  値はほぼ同値であった。一方、CL と Oxy に対する  $pA_2$  値は NA, PhE, Meth よりも大であった。SHRSP と WKY の  $pA_2$  値を比較すると、すべての  $pA_2$  値は SHRSP の方で低値の傾向にあった。

Ca 拮抗薬 Diltiazem ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) により、すべての  $\alpha$  作動薬の用量作用曲線は下方へ移動し、非競合的な拮抗を示した。その  $pD'_2$  値は約 6.0 で各作動薬の間に有意の差はなかった。また SHRSP と WKY の間にも差はなかった。

## 考 察

選択的  $\alpha_1$  拮抗薬 Prazosin と  $\alpha_2$  拮抗薬 Yohimbine は NA ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  作動薬), PhE ( $\alpha_1$  作動薬), Meth ( $\alpha_1$  作動薬) に対し競合的に拮抗し、NA, PhE, Meth の  $pA_2$  値は、両拮抗薬についてほぼ同値であった。また、Prazosin の  $pA_2$  値は Yohimbine のそれより大であった。これは NA による反応が  $\alpha_1$  刺激作用で、本組織が主に  $\alpha_1$  受容体からなることを示唆する。

Godfraind ら (Godfraind, Miller & Lima, 1982) は、 $\alpha_1$  受容体と  $\alpha_2$  受容体を介する収縮反

Table 1 pA<sub>2</sub> values and slopes of Schild plots of adrenoceptor antagonists in the epididymal ends from SHRSP and WKY

Tissue	Antagonist	Agonist	n	pA <sub>2</sub>	Slope
SHRSP Epididymal	Prazosin	Noradrenaline	7	9.25±0.05*	0.97±0.04
		Phenylephrine	10	9.28±0.06*	1.08±0.04
		Methoxamine	5	9.35±0.09	1.54±0.06*
		Clonidine	8	10.40±0.07	1.13±0.07
		Oxymetazoline	5	10.33±0.09*	0.90±0.06
	Yohimbine	Noradrenaline	6	6.24±0.09	0.78±0.03*
		Phenylephrine	6	6.39±0.04	0.74±0.05*
		Methoxamine	5	6.87±0.09	1.04±0.03
		Clonidine	8	7.28±0.07*	1.11±0.04
		Oxymetazoline	5	7.31±0.09	0.96±0.04
WKY Epididymal	Prazosin	Noradrenaline	11	9.61±0.08	0.86±0.04*
		Phenylephrine	10	9.64±0.09	1.01±0.07
		Methoxamine	4	9.58±0.08	1.40±0.09*
		Clonidine	8	10.59±0.04	1.05±0.08
		Oxymetazoline	4	10.72±0.08	0.74±0.13
	Yohimbine	Noradrenaline	10	6.27±0.09	0.74±0.07*
		Phenylephrine	6	6.56±0.05	0.79±0.04*
		Methoxamine	4	6.94±0.04	1.10±0.12
		Clonidine	14	7.56±0.07	0.99±0.04
		Oxymetazoline	4	7.38±0.08	0.99±0.09

Data were derived from the plots between the logarithm of the dose ratio minus one and the logarithm of the concentration of the antagonist, and were shown as the slopes and the pA<sub>2</sub> values obtained.

Slopes and pA<sub>2</sub> values are shown as means ±SEM.

\*The slope is significantly different from unity.

\*The difference from the pA<sub>2</sub> value obtained in WKY is statistically significant (p<0.05).

応には細胞外 Ca の依存性に違いのあることを報告している。今回の成績によれば、各収縮間に有意の差はなく、α<sub>2</sub> 受容体の関与は少ないものと思われる。

一方、α<sub>2</sub> 作動薬とされる CL と Oxy に対しても Prazosin の pA<sub>2</sub> 値が Yohimbine のそれよりも大で、CL と Oxy の反応が α<sub>1</sub> 刺激作用を含むことを示す。Timmermans ら (Timmermans & Van Zwieten, 1982) は CL や Oxy には強い α<sub>1</sub> 刺激作用のあることを報告している。

しかしながら、CL と Oxy に対する Yohimbine の pA<sub>2</sub> 値は NA, PhE, Meth に比し大であったので、α<sub>2</sub> 受容体の関与は否定できない。同様の結果はラット大動脈 (Randtriantsoa,

Heitz & Stoclet, 1981) 標本等において得られており、Prazosin に高親和性の α<sub>2</sub> 受容体の存在を考察している。

SHRSP と WKY を比較すると、すべての α 作動薬に対する pD<sub>2</sub> 値および最大張力はともに SHRSP の方で増大していた。村上らは数種の摘出血管において、α<sub>2</sub> 作動薬に対する反応性は SHRSP と WKY 間に差がなく、親和性は SHRSP で増大していることを発表している。今回の精管平滑筋においては、反応性、親和性ともに SHRSP で増大していることが明らかとなった。このことは、SHRSP 精管標本における Ca 利用性の増大と α 受容体の性質の変化を示唆したが、さらに検討を要すると思われる。

## 結 語

1. 精管副辜丸側平滑筋には、大部分の  $\alpha_1$  受容体と、 $\alpha_2$  受容体が一部存在し、2. SHRSP 標本では WKY に比し、 $\alpha_1$  および  $\alpha_2$  受容体の 昂進のあることが示唆された。

## 文 献

- Arunlakshana, O. & Schild, H.O. (1959). Some quantitative uses of drug antagonists. *Br. J. Pharmac. Chemother.* **14**: 48-54.
- Godfraind, T., Miller, R.C. & Lima, J.S. (1982). Selective  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist-induced contractions and  $^{45}\text{Ca}$  fluxes in the rat isolated aorta. *Br. J. Pharmac.* **77**: 597-604.
- Randrianisoa, A., Heitz, C. & Stoclet, J.C. (1981). Functional characterization of postjunctional  $\alpha$ -adrenoceptor in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* **75**: 57-60.
- Ruffolo, R.R., Waddell, J.E. & Yoden, E.L. (1980). Receptor interactions of imidazolines. IV. Structural requirements for alpha adrenergic receptor occupation and receptor activation by clonidine and a series of structural analogs in rat aorta. *J. Pharmac. exp. Ther.* **213**: 267-272.
- Timmermans, P.B.M.W.M. & Van Zwieten, P.A. (1982).  $\alpha_2$  adrenoceptors: Classification, localization, mechanisms, and targets for drugs. *J. Med. Chem.* **25**: 1389-1401.

## アセチルコリン及びヒスタミンによって誘発される Na<sup>+</sup> 除去・高 K<sup>+</sup> 液中におけるモルモット 輸精管の収縮について

福岡大学医学部 病態機能系総合研究室

薄 根 貞 治

福岡大学医学部 第一生理学教室

坂 本 康 二

福岡大学医学部 薬理学教室

桂 木 猛, 古 川 達 雄

## はじめに

モルモット輸精管平滑筋において、アドレナリンによって誘発される初期収縮 (first contraction) は主に膜の脱分極に依存しない貯蔵性  $\text{Ca}^{2+}$  にもとづくもので、本収縮はまた外液  $\text{Na}^+$  の減少に逆比例して増大することを報告した (薄根ら, 1983)。本実験においては、アセチルコリンあるいはヒスタミンによってもアドレナリンの場合と同様の貯蔵性  $\text{Ca}^{2+}$  を利用した収縮を誘発するか否かについて検討を加えた。

## 方 法

モルモット (250~350 g) の輸精管を摘出し、輸走筋ならびに標本の表面に付着している神経その他の組織を出来るだけ除去して、約 1×1 mm の縦走筋標本を作製し、容器 (約 0.12 ml) 内に吊して灌流し (1.8 ml/min), その等尺性収縮を記録した。膜電位変化による収縮への影響を除くために、栄養液は全ての実験で  $\text{Na}^+$  を  $\text{K}^+$  で置換 ( $\text{NaHCO}_3$  は  $\text{KHCO}_3$  で置換) した  $\text{Na}^+$  欠除・高  $\text{K}^+$ ・Krebs 液 ( $\text{O}_2$ : 97%,  $\text{CO}_2$ : 3%) を用い、32°C, pH 7.2~7.4 に維持した。アドレナリンを加える場合、その酸化を防止し、また  $\beta$  作用を除くために EDTA ( $5 \times 10^{-5}$  M) お

よびプラノロール ( $5 \times 10^{-6}$  M) を添加した。

## 結 果

標本の灌流を normal Krebs 液から  $\text{Na}^+$  除去・高  $\text{K}^+$  液に変えると一過性の収縮が誘発されるが約 5 分後には小さい拘縮となつてほぼ一定した。また二重蔗糖隔絶法によると、その時の膜電位の脱分極は約 45 mV であった。このような  $\text{Na}^+$  欠除・高  $\text{K}^+$  液で 5 分後にアセチルコリンあるいはヒスタミンを加えて灌流すると、一過性収縮 (transient contraction) が誘発され、本収縮は灌流時間経過に伴なって増大し、120 分以降は最大に達して一定の収縮が認められた。この結果はアドレナリンによって得られる first contraction の結果と類似した。最大の反応が得られる 120 分の灌流時間後にアドレナリン、アセチルコリンまたはヒスタミンの濃度・収縮曲線を検討したところ、アドレナリンでは約  $1 \times 10^{-8}$  M から増大し始め約  $1 \times 10^{-5}$  M で最大となり、アセチルコリンでは約  $2 \times 10^{-7}$  M から増大し約  $5 \times 10^{-4}$  M で最大となり、ヒスタミンでは約  $5 \times 10^{-7}$  M から増大し約  $5 \times 10^{-4}$  M で最大となった。したがって、以後の実験では、最大収縮を誘発する  $1 \times 10^{-5}$  M のアドレナリン、 $5 \times 10^{-4}$  M のアセチルコリンおよびヒスタミンを用いて行った。

$\text{Ca}^{2+}$  欠除液 (0.5 mM の EGTA を含む) に標本を侵した後、アセチルコリンを適用して収縮が回復した時点で (約 30 秒後) アドレナリンを投与すると、first contraction が誘発されるが、本収縮はアセチルコリンの前投与によって著しく減弱した。同様の実験を  $\text{Na}^+$  欠除高  $\text{K}^+$  液で  $\text{Ca}^{2+}$  (2.5 mM) の存在下で行なっても、同様の収縮の減弱が認められた。したがって以下の実験は、 $\text{Na}^+$  欠除・高  $\text{K}^+$  液で  $\text{Ca}^{2+}$  存在下で行なった。

アセチルコリン前処置の約 10 分前に前もってアトロピン ( $1 \times 10^{-6}$  M) を投与するとアセチルコリンによる収縮は強く抑制されるが、この場合は次のアドレナリンによる収縮の減弱も抑

制された。逆にアドレナリン投与後 (約 30 秒後)、アセチルコリンまたはヒスタミンを投与すると、その収縮も著しく減弱した。フェントールアミン ( $5 \times 10^{-6}$  M) の前処置によってアドレナリンによる収縮を強く抑制させると、この場合もアセチルコリンまたはヒスタミンによる収縮の減弱は抑制された。アセチルコリンまたはヒスタミンの前処置によるアドレナリン収縮の減弱は、アセチルコリンまたはヒスタミンの前投与時間の 1 分間に比し、3 分間以上では縮小した。他方アドレナリン処置後におけるアセチルコリンまたはヒスタミンによる収縮の減弱は、アドレナリンの前投与期間にはほとんど影響されなかった。ここで薬物の前投与時間を 3 分間として、外液  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を変えると (0.5, 2.5 そして 12.5 mM)、アドレナリン前処置後におけるアセチルコリンまたはヒスタミンによる収縮の減弱は、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加に伴ってわずかに縮小したが、アセチルコリンまたはヒスタミン前処置によるアドレナリンの減弱は、0.5 mM に比較し 2.5 mM では縮小し、2.5 および 12.5 mM 間には差は認められなかった。

## ま と め

これらの結果から、アセチルコリンそしてヒスタミンでも、アドレナリンによって誘発される first contraction と同様に、主に膜電位に依存しない tranieient contraction を誘発し、本収縮は  $\text{Na}^+$  濃度の減少に逆比例して増大した。これらの収縮は、受容体を介した反応で、これらの貯蔵性  $\text{Ca}^{2+}$  に作用しての収縮の誘発は、アドレナリンは長く、アセチルコリンおよびヒスタミンは短い。

## 文 献

- 薄根貞治, 桂木 猛, 古川達雄 (1983). モルモット輸精管平滑筋における  $\text{Na}$  イオン除去時のアドレナリンによる膜電位非依存性収縮. 日本平滑筋誌 19: 189-190.

## モルモット輸精管におけるセロトニン関連物質の プレおよびポストシナプス効果

千葉大学生物活性研究所 薬理活性研究部

吉 田 祚 一, 久 我 哲 郎

### はじめに

輸精管における神経筋伝達は各種の作用薬および拮抗薬に対して、低頻度刺激条件下では pre-synaptic な作用を、高頻度刺激条件下では post-synaptic な作用をあらわしやすいことが文献から読みとることができる (Drew, 1977; Birmingham & Wilson, 1963). 我々は刺激条件のちがいによる反応の差を利用して、モルモット輸精管におけるセロトニンおよび bufotenine (Buf), 5-methoxy-N, N-dimethyl-tryptamine (5 MDT) などセロトニン関連物質の pre-および post-synapse に対する作用を検討した。

### 方 法

体重 330 g 前後のモルモット輸精管を摘出し、10 ml の organ bath に懸重して実験に供した。栄養液は 95% 酸素、5% 炭酸ガスを通気した Tyrode 液で、32°C で実験を行った。

本実験では二種類の刺激方法を用いたが、各々の刺激条件はフィールド刺激で 5 Hz, 1 msec, 5 パルス、経壁刺激で 30 Hz, 0.1 msec 10 パルスとし、それぞれ 20 秒毎に標本を刺激した。輸精管の収縮の記録には、アイソトローニックトランスジューサーを用いた。なおフィールド刺激の場合には輸精管の収縮を 5 倍に、経壁刺激の場合にはそれを 2 倍に拡大して記録した。

### 結 果

両刺激による輸精管の収縮反応は hexamethonium (10  $\mu$ M) では影響されなかったが、tetrodotoxin (0.15  $\mu$ M) で完全に抑制された。phenolamine (90  $\mu$ M) はフィールド刺激

の反応に対して促進的に、経壁刺激の反応に対して抑制的に作用した。

フィールド刺激の反応に対してセロトニンは低濃度では弱い抑制を、高濃度 (30  $\mu$ M) では強い抑制を示し、反応を完全に消失させた。Buf, 5 MDT はそれに対して共に低濃度では弱い抑制作用を示したが、高濃度 (30  $\mu$ M) では逆に促進的に作用した。セロトニンによる収縮抑制は Buf (30  $\mu$ M) により回復しなかったが、5 MDT により濃度依存性に回復した。高濃度の Buf (10  $\mu$ M) による反応促進は hexamethonium (30  $\mu$ M) により消失したが、他の二つの薬物による作用は hexamethonium により影響されなかった。

経壁刺激の反応に対してこれら三つの薬物は低濃度では全く作用を示さなかったが、高濃度 (10~30  $\mu$ M) ではそれぞれ反応を促進させた。これらの促進作用は hexamethonium により影響されなかったが、cyproheptadine, (10  $\mu$ M) および phenolamine (60  $\mu$ M) により消失した。

### 考 察

フィールド刺激および経壁刺激による反応は交感神経末端から遊離された noradrenaline (NA) の作用によるものと考えられる。この反応に対する phenolamine の作用から、フィールド刺激はセロトニンおよびその関連物質の presynaptic effect を、また経壁刺激は同じくそれらの post-synaptic effect をあらわしていることが示唆される。以上の仮定から次のことが推論される。

セロトニン, Buf, 5 MDT にはそれぞれことなった pre-synaptic effect がある。セロトニンはフィールド刺激による NA の遊離に対して



抑制的に作用し、5 MDT はそれに対して逆に促進的に作用する。これら両者の間には NA 遊離に関して拮抗関係が存在する。Buf のフィールド刺激の反応に対する作用は hexamethonium で消失するのでニコチン受容体を介した NA 遊離の促進である (Löffelholz, 1970)。

経壁刺激の反応に対するこれら三つの薬物の収縮促進作用はそれらの平滑筋細胞膜に対する作用により生じている (Sjöstrand, 1973)

## 文 献

Birmingham, A.T. & Wilson, A.B. (1963). Preganglionic and postganglionic stimulation

of the guinea-pig isolated vas deferens preparation. *Brit. J. Pharmacol.* **21**: 569-580.

Drew, G.M. (1977). Pharmacological characterisation of the presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptor in the rat vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* **42**: 123-130.

Löffelholz, K. (1970). Nicotinic drugs and postganglionic sympathetic transmission. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **267**: 64-72.

Sjöstrand, N.O. (1973). Effects of acetylcholine and some other smooth muscle stimulants on the electrical and mechanical responses of the guinea-pig vas deferens to nerve stimulation. *Acta physiol. scand.* **89**: 1-9.

## 輪精管平滑筋の膜イオン電流に対する アセチルコリンの作用

東北大学医学部 応用生理学

猪 又 八 郎, 泉 井 亮

東北大学医学部 第一内科学教室

三 又 知 文

## 緒 言

モルモット輪精管組織は、アドレナリン・コリン両作動性神経の二重支配を受けていることが組織化学的手法により、すでに証明されている。このコリン作動性神経の機能については、その後アドレナリン作動性神経と同様に筋膜に直接に働き興奮性作用をもつことが生理・薬理的検索により指摘されたが、我々もこの機能の存在可能性について電気生理学的に自発性微小興奮性接合部電位がアトロピンにより減少または消失してしまう実験結果よりこれをうらづけ報告をした (Inomata & Suzuki, 1971)。

本実験は、この筋細胞のムスカリン性受容膜を介する興奮・収縮反応のイオン機構をしらべる目的で、細胞内電極法およびシヨ糖隔絶法を用いて測定される膜電位と張力さらに電圧クランプ法による膜イオン電流に対するアセチルコリンの調節作用について検討した。

## 実験方法

筋標本として、体重 250-300 g の雄モルモット輪精管より剝離した縦走筋層を用いた。膜電位・張力測定には細胞内電極法と単一シヨ糖絶法を、電流・電圧クランプによる膜電位・電流測定には二重シヨ糖隔絶法をそれぞれ適用した。特に電圧クランプ実験に用いた筋標本の大きさは、直径 300  $\mu\text{m}$  および長さ 6-10 mm であった。細胞内電位測定には 40-60 M $\Omega$  のガラス微小電極、および電気泳動には 1 M 塩化アセチルコリン液を充てんしたガラス電極をそれぞれ用いた。環境液は正常 Krebs 液で、温度は 32°C に保った。作用した薬物は塩化アセチルコリン (投与濃度、 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$  g/ml) およびアトロピン (投与濃度  $1 \times 10^{-6}$  g/ml) である。

## 実験結果

単一シヨ糖隔絶法実験では、アセチルコリン

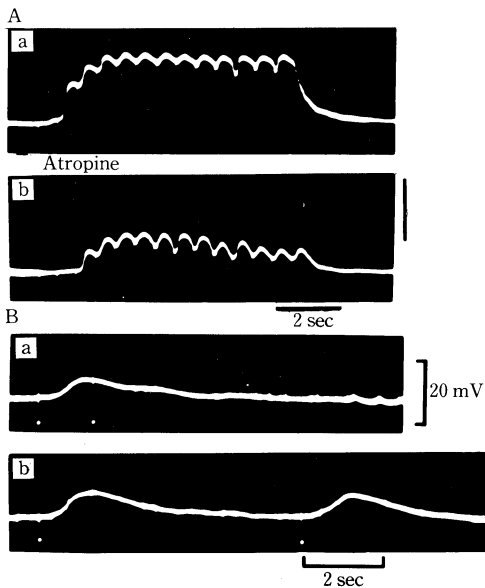


図1. 輸精管の興奮性接合部電位に対するアトロピンの影響(A)とアセチルコリン電位(B), A-a: 正常 Krebs 液下, A-b: アトロピン投与3分後, B-a: 電気泳動電流パルス間隔が短い時, B-b: 間隔が長い時の2番目のアセチルコリン電位の大きさに注意, 白丸はアセチルコリン適用の時点.

の投与により, 膜電位変化を伴わない初期収縮とこれに続く脱分極に伴った大きな収縮の2成分からなる張力発生がみられたが, 微小電極実験でもアセチルコリンを電気泳動法により適用するとこの時点より一定の遅れをもって10~20 mVの緩徐な脱分極反応が認められ, 2 Hzの電気刺激によりアトロピン感受性のある興奮性接合部電位が記録された(図1, A, B).

一方, 二重シヨ糖隔絶法電流クランプ条件下では, 外向き内向き両電流パルスにより生ずる活動電位と過分極電位に対して, アセチルコリン投与により, 活動電位の立ち上がり相の上昇と再分極相の短縮がみとめられるが, まもなく膜抵抗の上昇を伴った緊張性脱分極が現れ, アセチルコリン存在下では, 一定の電位レベルが維持された. この脱分極相で発生する活動電位の高さと立ち上がり相は減少し, 再分極相は著しく延長するようになる. これに対して, 電圧クランプ条件下では, アセチルコリン投与により脱分極ステップ電圧の膜電流応答は時間とも

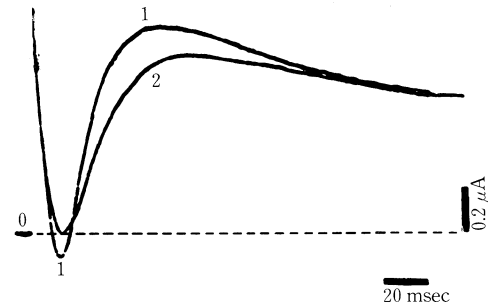


図2. 輸精管の膜イオン電流に対するアセチルコリンの影響.  
脱分極ステップ電圧40 mVの時の正常 Krebs 液下(1)とアセチルコリン投与後(2)の膜イオン電流を重ねた. 固定電位, -40 mV, 点線は電流のゼロレベルを示す.

に変る. 投与直後では著しい内向 Ca イオン電流とこれに続く外向き電流の速い K イオンチャネル電流が増大するが, 時間とともに両イオン電流が減少し, 一定の値に達する(図2). この時点での Ca イオンと K イオン電流の動向を投与前後で比較すると, 投与後では, Ca イオン電流については, この最大電流の減少および活性化・不活性化過程の時定数が延長し, 電流・電圧関係より求まる逆転電位は有意に負性側に移動した. これに対して K イオン電流については, 2つのステップパルス法で求めた逆転電位はアセチルコリン投与前後で殆んど変わらなかった. また K イオンチャネルのスロー・コード両コンダクタンスに対しては, 投与後速い K チャネルは著しく抑制されるのに対して遅い K チャネルは殆んど影響を受けなかった.

## 考察と結語

アセチルコリンによって発生する phasic と tonic の2相よりなる収縮の発生機構について, Wakui らの報告(Wakui Fukushima & Inomata, 1984)があるが, 電圧クランプ法による膜イオン電流の解析から, アセチルコリンは膜電位非依存性・依存性の両 Ca チャネルに働き, 細胞内への Ca 流入を促進すると考えられる. たゞし前者 Ca チャネルの開口が後者のそれに先行し, これに従来から考えられていた Na・Ca 透過性上昇による脱分極説とは異なり

膜イオンコンダクタンスの減少に伴う脱分極の発生により後者 Ca チャネルが活性化され、一過性スパイク放電が発現する。しかし時間とともに細胞内 Ca 濃度の増加と緊張性脱分極の不活性作用により Ca 電流は、アセチルコリン存在下でも促進とは反対に抑制されるものと推定できる。この点で心筋のアセチルコリンの Ca 電流の抑制作用 (Hino & Ochi, 1980) とは生理・薬理学的意義から考えても異なるイオン機構が働いているものと考えられる。

## 文 献

Hino, N. & Ochi, R. (1980). Effect of acetyl-

choline on membrane currents in guinea-pig papillary muscle. *J. Physiol.* **307**: 183-197.

Inomata, H. & Suzuki, T. (1971). Cholinergic spontaneous junctional potentials in guinea-pig vas deferens. *Tohoku J. exp. Med.* **105**: 197-198.

Inomata, H. & Kao, C.Y. (1975). Ionic currents in the smooth muscle cells of the longitudinal layers of the guinea-pig's vas deferens. *Jpn. J. Pharmacol.* **25**: 32P.

Wakui, M., Fukushima, Y. & Inomata, H. (1984). Electrical and mechanical events through activation of muscarinic receptor in the smooth muscle of guinea-pig vas deferens. *Jpn. J. Physiol.* **34**: 557-560.

## 直腸・肛門管運動の画像解析

弘前大学医学部 第二外科学教室

唐 牛 忍, 林 健 一, 高 橋 賢 一  
鈴 木 英登士, 杉 山 譲, 今 充  
小 野 慶 一

## 目 的

直腸・肛門管の運動を観察するには種々の方法があるが、今回われわれは肛門機能を生理学的に解明する目的で、その内圧動態を灌流法により測定し、これをパーソナル・コンピュータにて処理して画像構築する方法を開発した。

## 装置 および 方法

圧測定用に2種のシリコン製カテーテルを製作した。一つは同一円周上に90°間隔で4個の側孔を有し、もう一つは同一直線上に1cm間隔で4個の側孔をもつもので、それぞれの側孔に至る1mm径のポリエチレン・チューブが封入され、先端には直腸肛門反射測定用のバルーンが装着されている。

各側孔は3方活栓、27G抵抗管を介して輸注ポンプで20 ml/hrの一定速度で灌流される。この3方活栓の1端に血圧トランスデューサーを接続し、圧アンプに誘導、各チャンネルの灌

流圧の変化をミニポリグラフのペン・レコーダーにて記録する。

またこれと同時に各チャンネルの測定圧をA/Dコンバーターにてディジタル信号に変換し、パーソナル・コンピュータに転送する。各チャンネル1秒毎のデータはディスプレイに表示され、10分間の全経過を8インチのフロッピー・ディスクに格納する。

## 画像構築

得られた圧データはのちに種々のコンピューター処理にて画像構築を行い、ディスプレイ上の画像をリアル・タイムに、また必要によりストップ・モーションにより観察している。

まず同一円周上4点で測定された内圧の処理は、直腸・肛門管を150 mmHg (肛門管の最大収縮圧の平均値と一致する) の半径を有する円とみなし、各チャンネルの内圧の大きさをそれぞれ対応する向心性の点で表わし、各点をコンピューター処理で楕円で結ぶことにより行っ

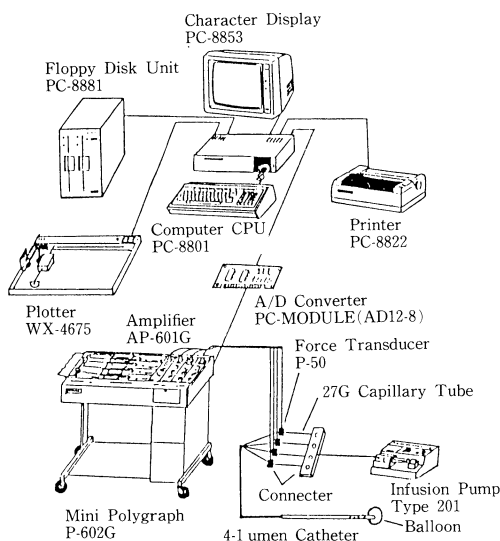


Fig. 1 Imaging System of Ano-Rectal Pressure Study

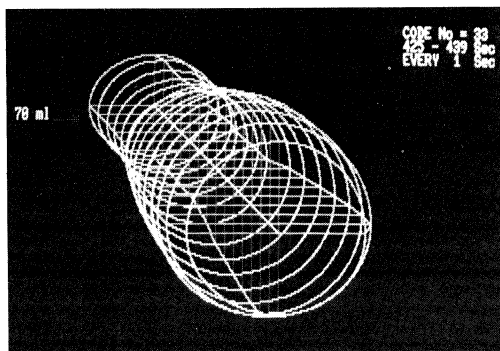


Fig. 2 Circular Image  
(74 aged male, normal subject, Measured circularly at 2 cm from the anal verge. Anorectal reflex was positive)

ている。Fig. 2 は正常例の肛門縁より 2 cm の部位での測定で、15 秒間の経過を左上方より右下方に向かう時間軸上に平行に並べたものである。最初の円は各壁約 90 mmHg の円で、直腸内のバルーンを 70 ml の空気で拡張させると数秒後に肛門管は弛緩しはじめ、12 秒後に最低の 40 mmHg に達し、いわゆる直腸肛門反射が陽性であることを示している。

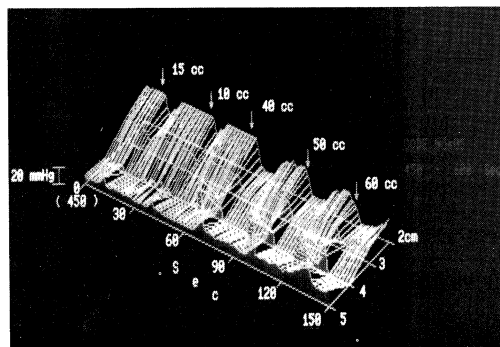


Fig. 3 Linear Image  
(60 aged female, 20 months after low anterior resection for carcinoma of middle thirds of the rectum. Measured linearly between 5-2 cm from the anal verge. Anorectal reflex was positive)

次に同一直線上の測定では、カテーテルの測定孔を後壁に向けて設置、各チャンネルの 1 秒毎のデータをコンピューター処理し、時間軸上に連続的に平行に並べ立体的に再構築した。Fig. 3 は直腸癌で低位前方切除術後 20 カ月で、肛門縁より 5-2 cm の測定例である。

## 結 果

同一円周上の測定では、正常例 5 例では直腸肛門反射が前後左右各壁とも陽性で、直腸拡張後の肛門管の弛緩は画像上ほぼ同心円状に推移することが知られた。異常例 7 例では前後左右いずれかの壁が陰性であったり、逆に内圧上昇のみられる例もあり、一定の傾向を示さなかった。

同一直線上の測定では直腸肛門反射測定 10 例中 9 例が反射陽性であったが、肛門縁からの距離でみると、通常の測定でも 3 cm の部位で測定するのが良いということが知られた。

## 文 献

- 坂庭 操, 大川治夫, 澤口重徳 (1982). 画像処理システムによる肛門運動の画像解析. 日本平滑筋誌 18: 241-243.

## 麻酔状態における小児の内肛門括約筋の 電気活動について

杏林大学医学部 小児外科・第一外科学教室

猪原 則行, 伊藤 泰雄, 相馬 智

都立清瀬小児病院 外科

林 勉, 石田 治雄

東海大学医学部 第一生理学教室

田村 謙二, 難波 貞夫, 高比良 英輔

著者らはこれまで、除脳無麻酔犬における内肛門括約筋の電気活動を示標とし、その神経支配の機構を種々検討してきた。その結論の一つに次のようなものがある。

除脳犬の静止時肛門内圧上には、律動的な圧変動（リップル）が記録されるが、その頻度は内括約筋スパイク頻度とほぼ等しく（毎分30前後）、かつ直腸肛門反射の圧下降時には、圧リップルと筋スパイクはともに消失し、内圧回復時には、両者が同時に再現する。つまり内圧リップルは内括約筋の興奮収縮連関のあらわれであり、内圧を維持するための基礎律動であると結論される。仙骨神経切断犬では圧リップル、筋スパイクとも毎分20前後となることが多い。

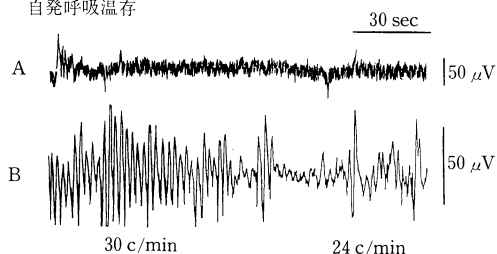
一方、小児外科領域では、Howard & Nixon (1968) 以来、Hirschsprung 病患儿では内圧律動波が著明で、その頻度の少ないことがしばしば観察されている。小児の内括約筋筋電図の報告は未だ少ないが、著者らの動物実験の結果と、小児の内圧律動波の所見をあわせ考えると、H 病患儿の内括約筋スパイクを記録すれば、その頻度の異常が検出できる可能性がある。

しかし、ここで問題となるのは、動物実験では、全身麻酔薬が、内括約筋の電気活動にかなりの抑圧作用——スパイク頻度の減少——をもつ (Bouvier & Gonella, 1981) ことで、これはバルビツール系麻酔薬について著者らも体験した。そこで今回、直腸肛門部以外の疾患で来院した患児の、入院中の諸検査あるいは手術時に、トリクロロール鎮静またはフローセン麻酔下での内括約筋の電気活動を導出し、その基礎

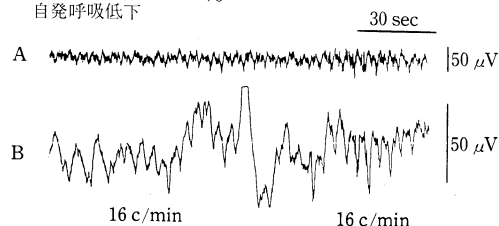
活動の範囲を明らかにしようと試みた。対象は2ヶ月から14才までの小児24例で、検査前に、本人または家族に、その目的と安全性を説明し、承諾を得ることとした。

用いた条件は、トリクロロール 1.5 ml/kg 経

I フローセン、0.5~1.0%  
自発呼吸温存



II フローセン、1.0~1.5%  
自発呼吸低下



III フローセン、1.0~1.5%  
人工呼吸、筋弛緩剤

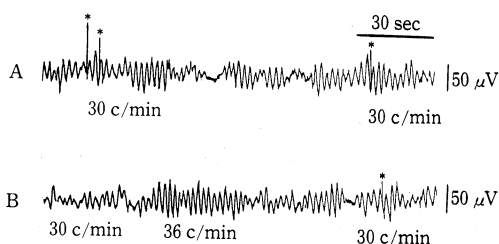
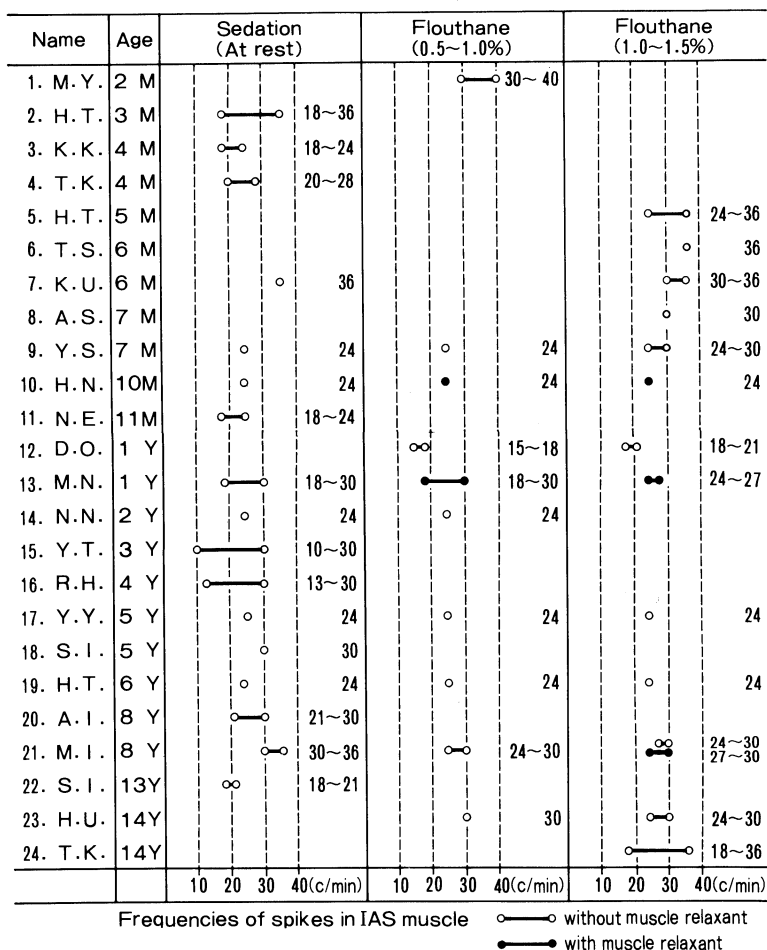


図1

表 1



口投与による鎮静が、フローセン濃度 0.5-1.0% の浅い GOF 麻酔下で自発呼吸温存状態、またはフローセン濃度 1.0-1.5% GOF 麻酔下で、筋弛緩剤投与前後のいずれかであった。測定および記録方法は、すでに報告したものと同一なので省略する。

## 結 果

### 記録条件について

電極刺入部位、深さによる外括約筋スパイクの混入(図 1-IA) 内括約筋スパイクの分離(図 1-IB)、フローセン麻酔が深くなって、自発呼吸が低下したとき内括約筋スパイク頻度も減少すること(図 1-IIA, B)、このとき筋弛緩剤を投与し、気管内挿管で人工呼吸を維持すると、毎分

30 以上の漸増漸減波としての内括約筋スパイクをみること(図 1-IIIA, B)などは、動物実験における結果とまったく同様である。その頻度、特徴的な漸増漸減性からみて、I-B, III-A, B の波型が、内括約筋スパイクであることは間違いないと思われる。III-A, B に記録された、孤立した大振幅スパイクは、筋弛緩剤投与後であるから、外括約筋、恥骨直腸筋の可能性はなく、肛門縦走筋ではないかと思われるが(田村ら, 1983)、確定したものではない(図 1-IIIA, B \* 印)。

### 内括約筋スパイク頻度の変動について

1 才までの乳幼児は 11 例で、1 才以上が 13 例であるが、鎮静だけの時と、フローセン導入後の、スパイク頻度を示したものが表 1 である。そ

のうち、更に筋弛緩剤を投与したものとし、ないものを区別してある。観察時間が一定でないので、統計上の有意性を検定するには至っていないが、フローセン導入、その濃度増加は、内括約筋スパイク頻度の減少（図では左方偏移）を来してはいないことは認められる。筋弛緩剤の投与も同様である。むしろ、フローセン1.0-1.5%導入の数例では、36 cpmの高頻度を示すものが何例かみられるが、同様な頻度は、単なる鎮静状態でもみられているので、これだけでフローセンの刺激効果とはいえない（後記参照）。いずれにせよ、この範囲の麻酔で、毎分10前後の低頻度の筋スパイクが観察された場合は、H病、その他の異常を考えてよいと思われる。

## 考 察

本研究でえられた内括約筋スパイク頻度がHolschneiderの報告した値(7-24 cpm)よりやや高いことは事実である。また著者らの動物実験の結果から、筋スパイクと内圧リップル（律動波）がほぼ1:1で対応するとすれば、Howard & Nixonの報告した8週未満の正常児の律動波数8-20/分よりも、本研究の値は明らかに高い。

外括約筋活動は、加齢により随意的な排便制御が可能になるとともに発達するという報告(Mollander & Frenckner, 1983)があるが、同じ因子が、本研究におけるわずかな高頻度の原

因となるとは考えられない。もしあるとすれば、幼児児においてのみフローセンの刺激作用があらわれる（高頻度スパイクは1才未満、1.0-1.5%のとき多くみられる）ことであるが、この点については、更に検討を要するものと思われる。

## 文 献

- Bouvier, M. and Gonella, J. (1981). Electrical activity from smooth muscle of the anal sphincteric area of the cat. *J. Physiol.* **310**: 445-456.
- Holschneider, A.M. (1974). Elektomyographische Untersuchungen der Musculi sphincter ani externus und internus im Bezug auf die anorectale Manometrie. *Langenbecks Arch. Chir.* **333**: 303-316.
- Howard, E.R. and Nixon, H.H. (1968). Internal Anal Sphincter: observations on development and mechanism of inhibitory responses in premature infants and children with Hirschsprung's disease. *Arch. Dis. Childh.*, **43**: 569-578.
- 猪原則行, 高比良英輔 (1984). 内括約筋の電気活動からみた肛門内圧の制御機構. 日本平滑筋誌 **20**: 123-135.
- Mollander, M.L. and Frenckner, B. (1983). Electrical activity of the external anal sphincter at different ages in childhood. *Gut* **24**: 218-221.
- 田村謙二ら (1983). 肛門縦走筋活動の分析. 日本平滑筋誌 **19**: 329-331.

## 新生児ヒルシュスプルング病の直腸肛門内圧の検討

三重大学医学部 第二外科学教室

天 野 信 一, 黒 田 道 夫, 塚 本 能 英  
鈴 木 宏 志

直腸肛門内圧検査は non-invasive な検査方法であり、ヒルシュスプルング病の生理学的診断法として広く用いられるようになったが、ヒルシュスプルング病でも直腸肛門反射の認められる症例や、正常児とくに未熟児においても直腸肛門反射が欠如する症例が報告され、ヒル

シュスプルング病の診断における直腸肛門内圧検査の信頼度が問題となってきた。

私どもの教室ではこれまで新生児の直腸肛門機能を直腸肛門管静止圧および直腸肛門反射の測定から検討してきているので、新生児を対象として得られた成績についてのべる。

表1. 新生児ヒルシュスプルング病(新生児H病)患児および対照新生児の背景因子(男女比, 在胎週数, 生下時体重, 検査時日令, 検査時総週令数, 検査時体重)および直腸肛門内圧検査(直腸肛門管静止圧, 直腸肛門反射)の成績を示す。

直腸肛門内圧検査	新生児H病患児	新 生 児	有意差
例 数 (男:女)	16 (9:7)	28 (13:15)	NS
在胎週数 (週)	39.4±1.4 (36-41)	39.0±2.0 (35-43)	NS
生下時体重 (gr.)	3141±377 (2740-4150)	2984±338 (2540-3690)	NS
検査時日令 (日)	11.8±9.5 (2-25)	6.7±6.1 (1-27)	NS
検査時総週令数 (週)	40.6±2.1 (37-44)	39.5±1.9 (35-43)	NS
検査時体重 (gr.)	3133±402 (2716-4318)	2913±373 (2350-3690)	NS
直腸肛門管静止圧			
直腸内圧 (cmH <sub>2</sub> O)	10.9±4.5 (6-24)	9.3±3.2 (4-16)	NS
肛門管内圧 (cmH <sub>2</sub> O)	69.4±26.7 (35-122)	88.1±21.7 (56-146)	P<0.05
肛門管長 (cm)	1.8±0.5 (1.0-2.8)	1.8±0.2 (1.3-2.4)	NS
肛門管基礎律動収縮波数 (cpm)	7.7±1.6 (5.0-11.0)	11.4±1.5 (9.0-15.0)	P<0.001
直腸肛門反射陽性	0/16 (0%)	28/28 (100%)	

## 対象 と 方法

在胎週数 36-41 週, 生下時体重 2,740-4,150 gr, 生後 2-25 日, 人工肛門造設前の新生児ヒルシュスプルング病患児 16 例について, 在胎週数 35-43 週, 生下時体重 2,540-3,690 gr, 生後 1-27 日の正常新生児を対照として検討を行なった。両者間の背景因子(在胎週数, 生下時体重, 検査時日令, 検査時総週令数=在胎週数+生後週令数, 検査時体重, 男女比)には表1のごとく差を認めなかった。

直腸肛門内圧検査は生食水毎時 10 ml 注入による測定回路圧応答性 7.7 cmH<sub>2</sub>O/秒の constant infused open-tip 法を用い, 直腸肛門管静止圧は直腸内圧, 肛門管内圧を連続的圧変化として測定記録し, 引き抜き曲線の圧が立ち上がりはじめる点より肛門縁までの長さを肛門管長とし, 肛門管にみられる規則的律動収縮波を肛門管基礎律動収縮波数として 1 分間あたりの周波数を検討した。直腸肛門反射は直腸伸展刺激用バルーンを肛門管直上の直腸に位置させ, 肛門管内圧測定カテーテル受圧部を肛門管基礎律動収縮波の認められる肛門管に位置させ, 直腸伸展刺激用バルーンに空気を注入し測定記録し, 直腸肛門反射陽性の判定には第 4 回直腸肛門内圧研究会の直腸肛門反射陽性の判定基準:

(1) 直腸の拡張刺激より 1-3 秒遅れて圧下降が始まりゆるやかに上昇し基線にもどる。

(2) 圧下降の持続時間は直腸拡張刺激の時間の長短にかかわらずなくほぼ一定である。

(3) 1 回の検査で 3 回以上(できれば連続して)圧下降がみられる。これに加えて,

(4) 肛門管基礎律動収縮波をみとめ, 圧下降時に同収縮波の消失がみとめられる。

の 4 つの条件を満足するものを直腸肛門反射陽性と判定した。

## 結 果

直腸肛門管静止圧および直腸肛門反射の成績は表1に示した。

1. 直腸肛門管静止圧: 新生児ヒルシュスプルング病患児では直腸内圧 10.9±4.5 cmH<sub>2</sub>O, 肛門管内圧 69.4±26.7 cmH<sub>2</sub>O, 肛門管長 1.8±0.5 cm, 肛門管基礎律動収縮波数 7.7±1.6 cpm であり, 対照新生児の直腸内圧 9.3±3.2 cmH<sub>2</sub>O, 肛門管内圧 88.1±21.7 cmH<sub>2</sub>O, 肛門管長 1.8±0.2 cm, 肛門管基礎律動収縮波数 11.4±1.5 cpm に比し, 直腸内圧, 肛門管長には差を認めなかったが, 肛門管内圧の低値(P<0.05)と肛門管基礎律動収縮波数の著明な減少(P<0.001)を認めた。新生児ヒルシュスプルング病患児の肛門管内圧の低値は一部の症例にトリクロリー



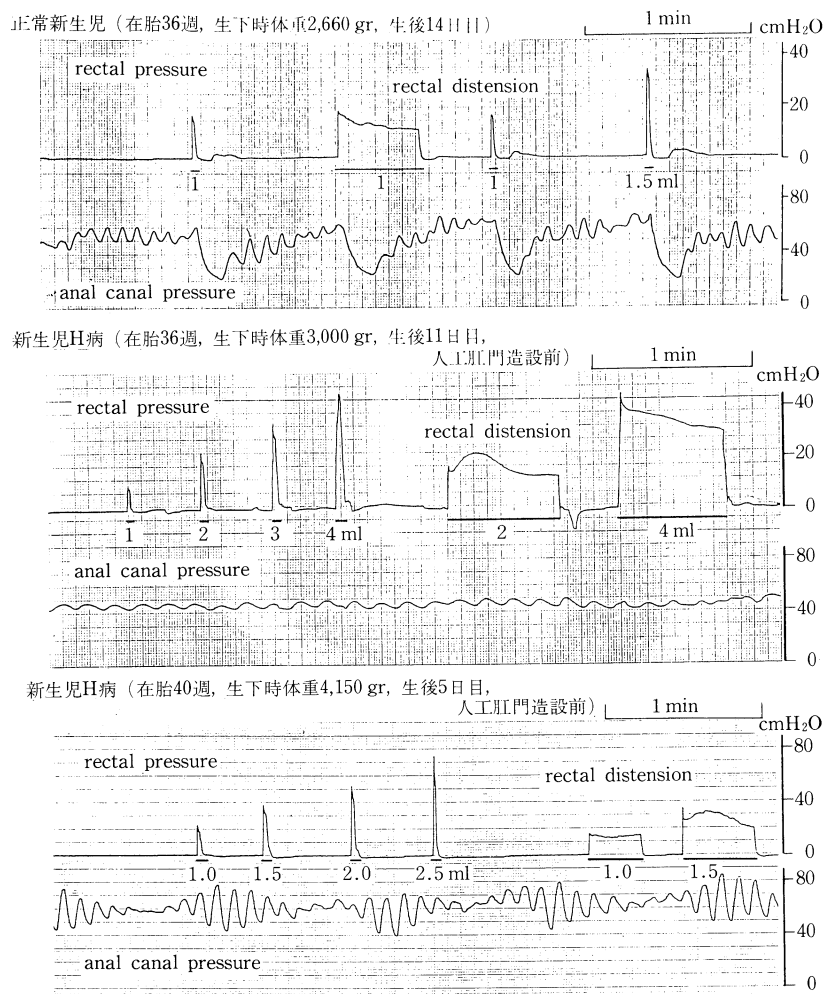


図1. 直腸肛門反射測定の内圧曲線を示す。上段は正常新生児に認められる定型的直腸肛門反射であり，直腸伸展刺激に際し肛門管基礎律動収縮波の消失を伴う肛門管内圧の下降を示す。中段，下段は新生児ヒルシュスプルング病の直腸肛門反射陰性を示す。一過性あるいは持続的直腸伸展刺激にかかわらず肛門管基礎律動収縮波数に変化を認めず肛門管内圧下降をも認めない。

ルシロップ投与が行なわれたためと思われた。

2. 直腸肛門反射：対照新生児では28例全例に図1上段に示すような直腸伸展刺激に際し肛門管基礎律動収縮波の消失を伴う肛門管内圧下降，定型的直腸肛門反射を認めた。一方，新生児ヒルシュスプルング病患儿では16例全例において図1中段，下段に示すように一過性あるいは持続的な直腸伸展刺激によっても肛門管基礎律動収縮波数には変化を認めず，肛門管内圧下降をも示さない直腸肛門反射陰性を示した。

## 結論 および 考察

直腸肛門内圧検査による新生児ヒルシュスプルング病の特徴は肛門管基礎律動収縮波数の静止時における著明な減少および直腸伸展刺激時の不変化と直腸肛門反射の欠如であり，これは直腸伸展刺激に対する肛門管の不応性，すなわち内肛門括約筋のアカシアの病態を示していると考えられた。

直腸肛門内圧検査法は肛門管基礎律動収縮波を認める位置での肛門管内圧の測定に留意すれ

ば、肛門管基礎律動収縮波数の減少および直腸肛門反射の欠如が診断根拠となり、新生児期においてもヒルシュスプルング病の診断に極めて有効であることが知られた。

## 文 献

- 天野信一 (1980). 小児排便異常における直腸肛門管内圧および直腸コンプライアンスに関する臨床的研究. 日小外誌, 16: 715-730.
- Howard, E.R. *et al.* (1968). Internal anal sphincter: observation on development and mecha-

nism of inhibitory responses in premature infant and children with Hirschsprung's disease. *Arch. Dis. Childh.*, 43: 569-578.

- 黒田道夫 (1984). 新生児, とくに低出生体重児および早産児における直腸肛門機能の成熟過程に関する臨床的研究. 日小外誌, 20: 771-785.
- 長崎 彰, 他 (1978). 直腸肛門反射陽性の判定基準—第4回直腸肛門内圧研究会より—. 臨床と研究, 55: 155-160.
- Suzuki, H. *et al.* (1973). Nonoperative diagnosis of Hirschsprung's disease in neonates. *Pediatrics* 51: 188-191.

## 直腸肛門内圧に対する自律神経薬剤の作用

九州大学医学部 小児外科学教室

住 友 健 三, 長 崎 彰, 池 田 恵 一

## 緒 言

直腸肛門内圧への自律神経薬の作用について、肛門管の静止圧に対しては $\alpha$ 刺激剤は促進的に $\beta$ 刺激剤は主に抑制に働くことが知られている。しかし、副交感神経作用薬に関しては報告が少なく、また薬剤投与による直腸肛門反射への影響についてもほとんど報告はみられない。今回、我々は自律神経薬剤を投与し、肛門管圧および直腸肛門反射におよぼす影響を検討した。

## 対象 および 方法

動物実験には、体重10 kg前後の雑種成犬を用いた。麻酔は塩酸ケタミンを20-25 mg/kg筋注し、以後持続静注にて維持した。内圧測定はinfusion併用のopen tip catheter法を用いて肛門管静止圧と直腸肛門反射を測定した。直腸肛門反射の大きさを表わすために、直腸拡張による肛門管圧下降の絶対値を肛門管圧下降値、その時の肛門管静止圧に対する割合を肛門管圧下降率とした。使用した薬物は、neostigmine,

表1. 自律神経薬剤投与による肛門管圧, 直腸肛門反射の変化

	anal canal pressure	drop of anal canal pressure	
		(cmH <sub>2</sub> O)	(%)
neostigmine (n=14)	B: 38.3±20.0 A: 55.9±21.4*	-21.8±7.2 -35.8±12.5***	59.4±14.1 76.3±18.8*
atropine (n=13)	B: 57.2±18.6 A: 40.3±20.3	-23.3±12.2 -13.8±9.7*	67.6±16.3 39.4±19.6***
noradrenaline (n=14)	B: 45.4±18.8 A: 61.9±17.7**	-22.9±12.2 -28.2±13.3	56.3±21.2 49.3±13.5
isoproterenol (n=10)	B: 65.0±27.2 A: 35.2±17.1**	-21.7±6.4 -16.3±7.0	51.8±17.8 56.4±13.7

B: before A: after

t-test \*\*\*p<0.01, \*\*p<0.02, \*p<0.05

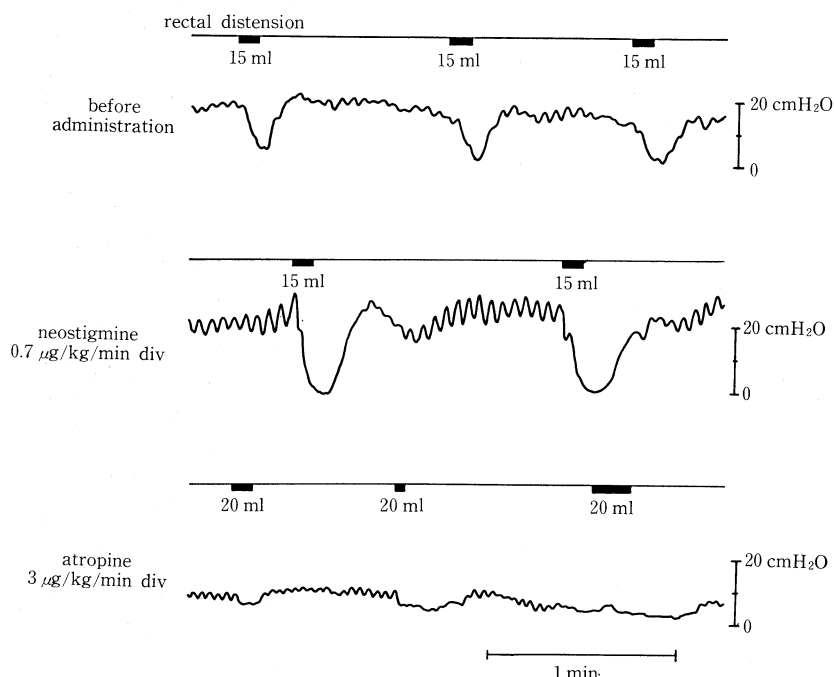


図1. neostigmine, atropine 投与による直腸肛門内圧 (neostigmine 投与により直腸肛門反射は明瞭となり, atropine 投与により不明瞭となった)

atropine, noradrenaline, isoproterenol, phentolamine であり, いずれも静脈内に持続投与した。また, 臨床的には, scopolamine-N-butylbromide (Buscopan) を用いて, 正常児 10 例, Hirschsprung 病人工肛門造設例 2 例に静注投与を行ない, 直腸肛門内圧を測定した。

### 結果 (表1)

動物実験では, 肛門管圧は neostigmine, noradrenaline 投与により有意に上昇し, isoproterenol では有意に低下した。atropine 投与では統計的に有意差は認められないが, 12 例中 9 例に肛門管圧は低下した。直腸肛門反射に関して, neostigmine 投与では肛門管圧下降値, 肛門管圧下降率ともに増加し, 反射は明瞭となった。逆に atropine 投与では肛門管圧下降値, 肛門管圧下降率ともに減少し, 反射は不明瞭となった (図1)。しかし, noradrenaline, isoproterenol 投与では肛門管圧下降値, 肛門管圧下降率ともに有意差は認められなかった。さらに, phentolamine を用いた実験では, nora-

drenaline により上昇した肛門管圧は phentolamine で抑制され, isoproterenol でさらに抑制された。しかし, 直腸拡張による肛門管圧下降に変化はみられなかった。臨床的に, 正常児に副交感神経遮断剤である Buscopan を投与すると, 直腸肛門反射は投与後数分で抑制あるいは消失し, その後再び出現するようになった。非定型的反射の認められた Hirschsprung 病人工肛門造設例に, Buscopan を投与して測定したが, 直腸拡張による肛門管圧下降は抑制されなかった。

### 考 察

自律神経作用薬と肛門管圧に関して, 交感神経作動薬では,  $\alpha$ -stimulator は興奮性に,  $\beta$ -stimulator は主に抑制的に作用すると言われている (Kerremans, 1970; Garret, 1974)。しかし, 副交感神経作用薬では, 報告により肛門管の反応は様々である (Nissan, 1984; Garret, 1974, 下郷, 1977)。また, 直腸肛門反射に関しては, cholinergic および adrenergic blocking

agent を投与しても反射は存在することから反射の発現に対して主に non-cholinergic non-adrenergic neuron が関与していることが示唆されている (Nissan, 1984; Garret, 1974). しかし, cholinergic, adrenergic neuron が肛門管圧に対して様々な変化をおよぼすことより, 直腸肛門反射に対しても何らかの影響をおよぼすことが推測される. 雑種成犬を用いた我々の実験結果から, neostigmine は肛門管圧を上昇させ, 直腸拡張による肛門管圧下降度を増加させ, atropine は肛門管圧を低下させ, 直腸拡張による肛門管圧下降度を減少させた. したがって, cholinergic neuron は, 肛門管圧, 直腸肛門反射に対して促進的に作用するものと思われた. 一方, 交感神経系では, noradrenaline isoproterenol 単独投与さらには  $\alpha$ -blocker である phentolamine を投与した実験でも,  $\alpha$ -receptor は肛門管圧に対して促進的に  $\beta$ -receptor は抑制的に作用するが, 直腸肛門反射に対しては影響しないことが推測された. 副交感神経遮断剤が正常な直腸肛門反射を抑制するという実験結果より, Hirschsprung 病人工肛門造設例でときに見られる非定型的な反射 (長崎, 1982) が正常な反射であるのか人為的な圧下降であるのかを確かめるために Buscopan を投与して測定した. 正常な直腸肛門反射であれば Buscopan により抑制あるいは消失されるが, 今回測定した 2 例では, Buscopan により全く影響をうけないことより正常とは異なる圧下降と思われた.

## 結 語

1. 雑種成犬を用いて実験的に, 自律神経薬剤投与下に直腸肛門内圧を測定した.

2. その結果, cholinergic neuron は肛門管圧, 直腸肛門反射に対して促進的に作用し, adrenergic neuron は, 肛門管圧に対して  $\alpha$ -receptor は促進的に  $\beta$ -receptor は抑制的に作用するが, 直腸肛門反射には影響しないことが推測された.

3. 副交感神経遮断剤が正常な直腸肛門反射を抑制し, 人為的と思われる肛門管圧下降に対しては変化を与えないことから, 臨床例の直腸肛門反射の判定に応用できるものと思われた.

## 文 献

- Garret, J.R. (1974). The internal anal sphincter in the cat: A study of nervous mechanisms affecting tone and reflex activity. *J. Physiol.* **243**: 153-166.
- Kerremans, R. (1970). A study in vivo of adrenergic receptors in the internal anal sphincter of the cat. *Gut* **11**: 709-714.
- 長崎 彰 (1982). 肛門管圧下降を示した Hirschsprung 病症例の検討. 大腸肛門誌, **35**: 147-152.
- Nissan, S. (1984). Physiological and pharmacological studies of the internal anal sphincter in the rat. *J. Pediatr. Surg.* **19**: 12-14.
- 下郷 宏 (1977). 直腸肛門内圧測定による術後の肛門機能の評価—特に肛門管収縮波の意義に関する臨床的, 実験的研究. 名市大医誌, **28**: 784-800.

## 排便機構に関する肛門管内圧及び内肛門括約筋に対する 神経調節についての実験的研究

近畿大学医学部 第一外科学教室

西 山 眞 一, 康 謙 三, 八 田 昌 樹  
松 田 泰 次, 福 原 毅, 安 富 正 幸

### はじめに

骨盤外科では, 術後排便・排尿機能温存の為

に骨盤内神経を可及的に温存する手術手技が検討されてきている. 今回我々は, 内肛門括約筋 (以下 IS と略す) に対する下腹神経, 仙骨神経

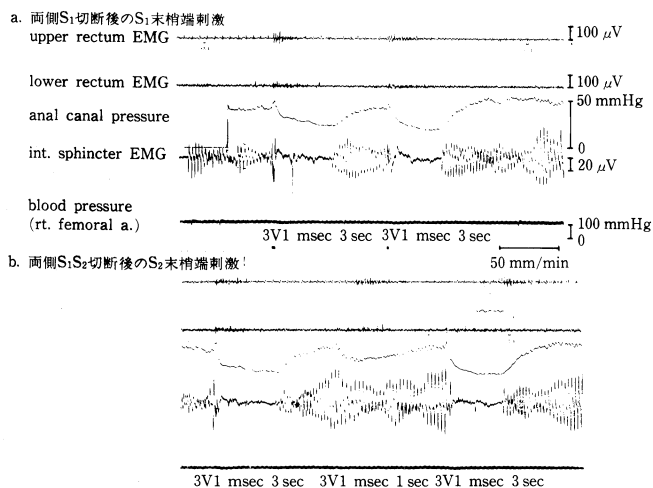


図1A 仙骨神経電気刺激 (1msec 10 Hz) による肛門管内圧と内肛門括約筋の反応

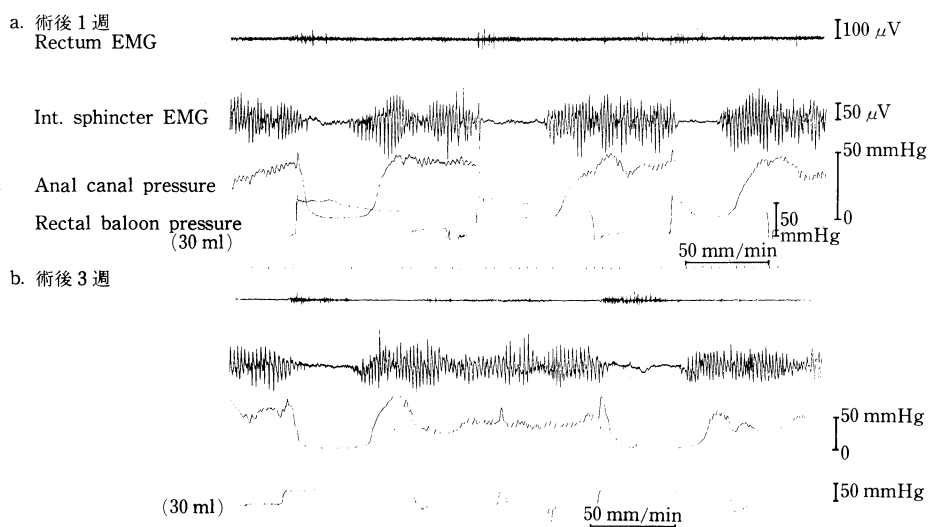


図1B 結腸, 下腹神経, 全仙骨神経切断後経時的にみた直腸肛門反射と内肛門括約筋活動

の作用について急性及び慢性実験を行った。また、内肛門括約筋に対する消化管ホルモンの影響についても検討した。

## 方 法

体重 15 kg 前後の雑種成犬を用い、ネブタール麻酔下で infused open-tip 法による肛門管内圧と自作の双極針電極を用いた IS 筋電図を同時に記録した。第一群: 下腹神経切断, 第

二群: 第 5・6・7・腰椎椎弓切除後, 全仙骨神経切断, 第三群: 結腸, 下腹神経及び全仙骨神経切断, 以上の 3 群を用い, 急性及び術後 1・2・3 週と経時的に測定した。また, 消化管ホルモンは, 腹部大動脈内に留置したカテーテルより注入した。

## 結 果

1. 下腹神経切断末梢端電気刺激は, 内圧の

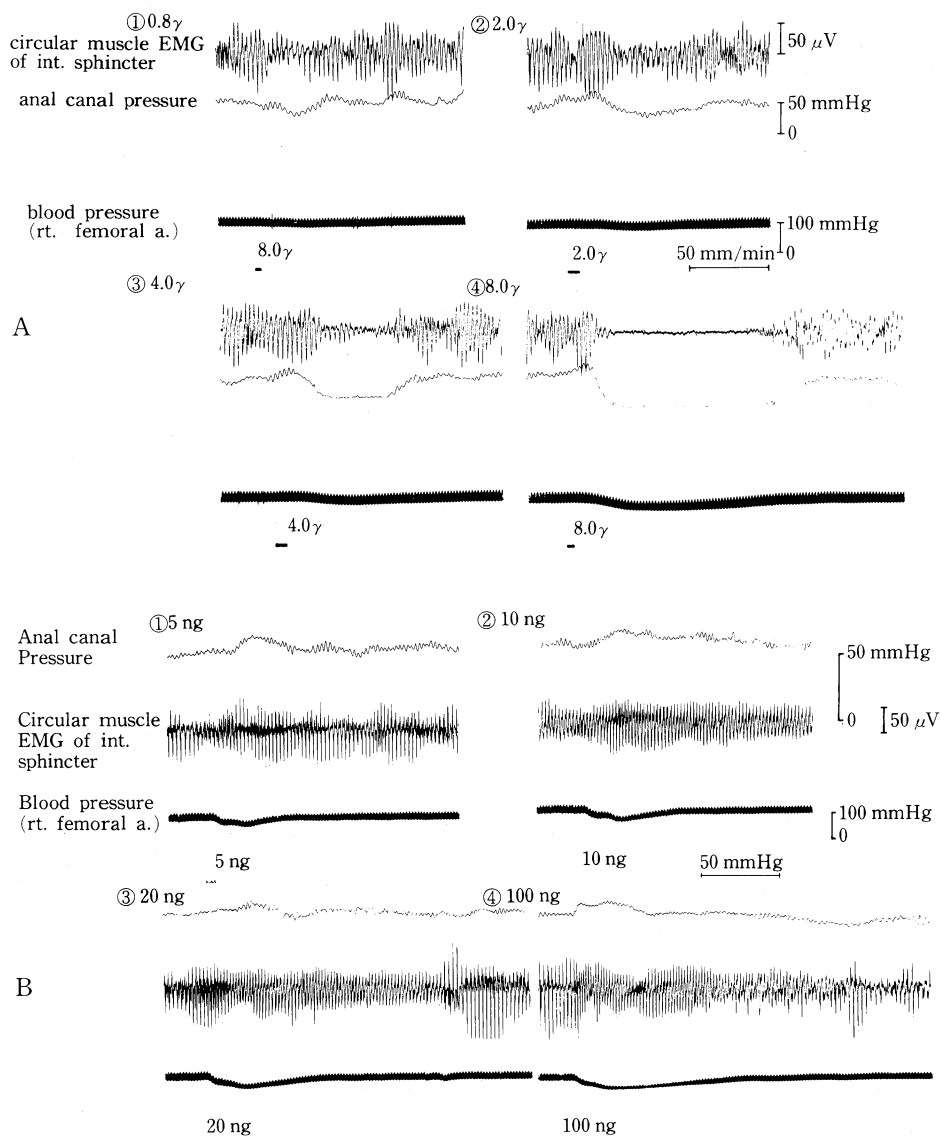


図2. 各消化管ホルモンの大動脈内注入による肛門管内圧と内肛門括約筋活動への影響 (AはVIP, BはSubstance P)

上昇, IS 筋電図活動の亢進をきたし, 第1・2 仙骨神経切断末梢刺激では, 臨床の直腸肛門反射に類似した内圧の低下, IS 活動の抑制あるいは停止をきたした (図1A)。

2. 両神経切断後3週でも静止内圧とIS activityは術前と比較して差はなかった。

3. 両神経切断後3週でも直腸肛門反射は陽性であったが, 抑制時間の延長を認めた。一定量 (balloon 30 ml) の拡張刺激時, IS activity

の完全消失時間は, 術前のcontrol 8.1秒 (4.4~13.8), 第一群術後3週 10.0秒 (5.0~16.3), 第三群術後1週 32.9秒 (22.5~49.0), 術後3週 40.3秒 (31.3~54.5) であった。一方内圧の抑制時間は, それぞれ 21.7秒 (18.8~25.0), 26.2秒 (22.5~30.0), 59.2秒 (57.5~76.4), 71.2秒 (63.8~81.8) であった。特に仙骨神経切断によって経時的に抑制時間の延長が認められた。術後5週まで記録

し得た1頭では、3週以後は、その以上の延長は生じなかった(図1B)。

4. VIPはdose dependantに直腸肛門反射に類似した抑制反応を、Substance Pは、dose dependantに促進反応を生じた。Enkephalinは10 $\gamma$ まで変化はなかった(図2)。

### 考察と結語

猪原ら(1983)は、除脳犬を用いた仙骨神経切断実験によって、IS activityの低下、直腸肛門反射時の抑制相の延長を認めている。今回の我々の実験では、下腹、仙骨両神経切断後も、内圧及びIs activityは、維持されたが、直腸肛門反射時の抑制時間の延長を認めた。その理由として、①壁内神経抑制線維を抑制性に支配している仙骨神経の遮断効果、②仙骨神経切断による壁内神経叢の変性効果(深沢, 1980)、③

促進性遠心路である下腹神経遮断効果が考えられた。

腸管壁内神経叢を介する反射回路の伝達物質として、抑制系のVIP、促進系のSubstance Pの存在を示唆する結果が得られた。

### 文 献

- Andersson, P.-O., Bloom, S.R. and Järhult, J., (1983). Colonic motor and vascular responses to pelvic nerve stimulation and their relation to local peptide release in the cat. *J. Physiol.* **334**: 293-307.
- 深沢 宏(1980). 犬下部結腸における活動電位と壁内神経叢に関する実験的研究. *大腸肛門誌* **33**: 91-105.
- 猪原則行ら(1983). 内括約筋活動からみた肛門内圧の制御機構. *日本平滑筋誌* **19**: 326-328.
- 安富正幸ら(1984). 大腸癌手術におけるリンパ節郭清と補助化学療法. *日消外会誌* **17**: 821-825.

## 直腸肛門反射の段階性とその限界

### I. 直腸内バルーン伸展による反応

総合太田病院 小児外科

難 波 貞 夫

東海大学医学部 第一生理学教室

田 村 謙 二, 高比良 英 輔

直腸肛門反射は、小児外科領域においては、ヒルシュスプルング病の診断や、排便障害の客観的判定のためのルーチン検査のひとつとして活用されている。この反射は、通常、電気的に変換された圧曲線として記録されているが、我々はこれまで動物実験によって、内・外肛門括約筋、肛門縦走筋の電気活動を導出し、それを内圧曲線と比較することによって、この反射の分析をすすめて来た。今回、この反射に認められる刺激(入力)量と反応(出力)量との間の定量的関係について検討したので報告する。刺激(入力)量とは直腸伸展用バルーンへの空気注入量と注入時間および仙骨神経前根への電気刺激強度(詳細は田村がのべる)であり、反応量と

は肛門内圧降下量および降下の持続時間である。ここでは先づ直腸内バルーン伸展による反応について、小児で測定された直腸肛門内圧曲線と除脳無麻酔犬を用いて得られた肛門内圧測定並びに内肛門括約筋電気活動の結果について、仙骨神経の電気刺激による反応については田村が報告する。

### 実験方法

小児症例の肛門内圧測定にはK-Y式マイクロバルーン法測定器具を用い、トリクロロイシロップ1mg/kgの内服後睡眠している状態で測定した。動物実験ではケタラル核注およびラボナル静注麻酔下に除脳を行い、麻酔剤

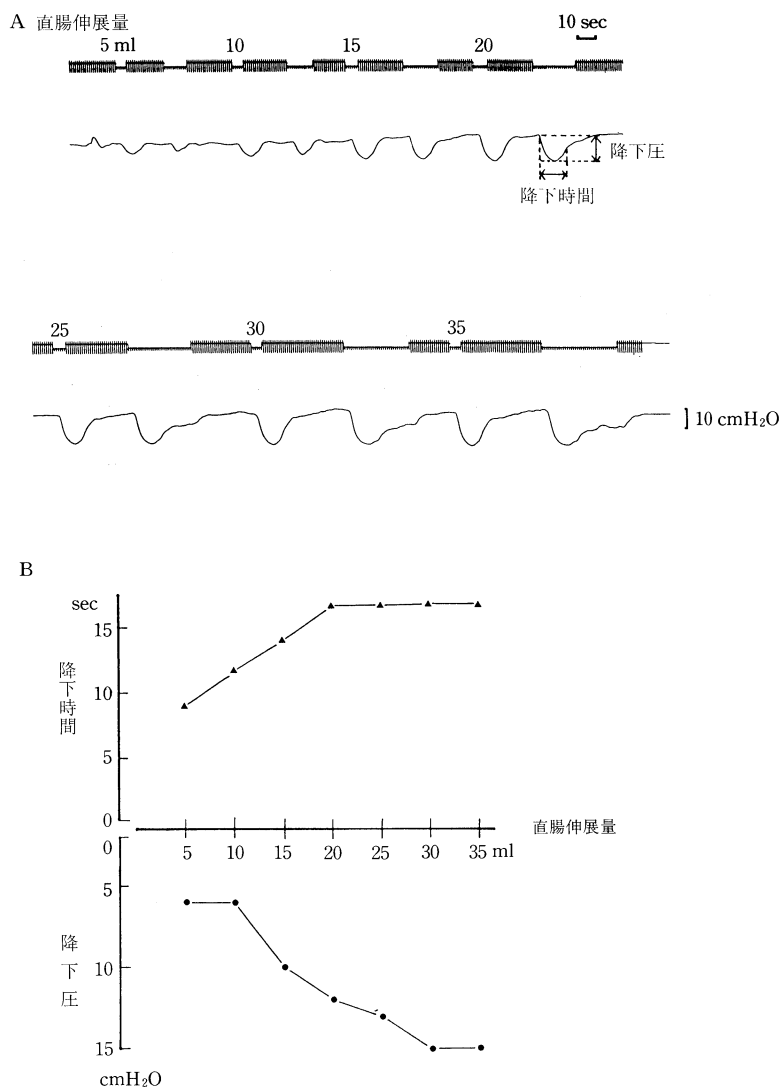


図1. 直腸肛門反射の入力出力関係—小児症例, 11ヶ月児, トリクロリール 1 mg/kg による鎮静状態での記録.  
 A. 直腸肛門反射の記録. 直腸伸展量は上の数字で, 伸展の持続時間は時標 (1 秒) の縮小部分で示す.  
 B. 反射の出力—降下時間 (上) と降下圧 (下) を, 共通の入力—横軸 (直腸伸展量) に対してプロットしたもの. 降下圧と降下時間の基準はAのなかに示す.

の影響の消失するのを待ってから双極針電極を内括約筋に向って肛門周囲皮膚より刺入し, その電気活動を肛門内圧曲線と同時にペン書きレコーダーで記録した. 内括約筋電気活動の同定についてはすでに発表したので省略する. 肛門内圧測定には临床上に用いるものと同じ K-Y 式測定器具を使用した. 又あらかじめ両側仙骨

神経切断犬を作って生存させ, 後に除脳を行って直腸肛門反射を測定し, 入力出力関係の観点から仙骨神経の影響について検討した.

## 結 果

臨床例においても動物実験でも, 個々の例により直腸伸展とそれに対する反応には多少の差



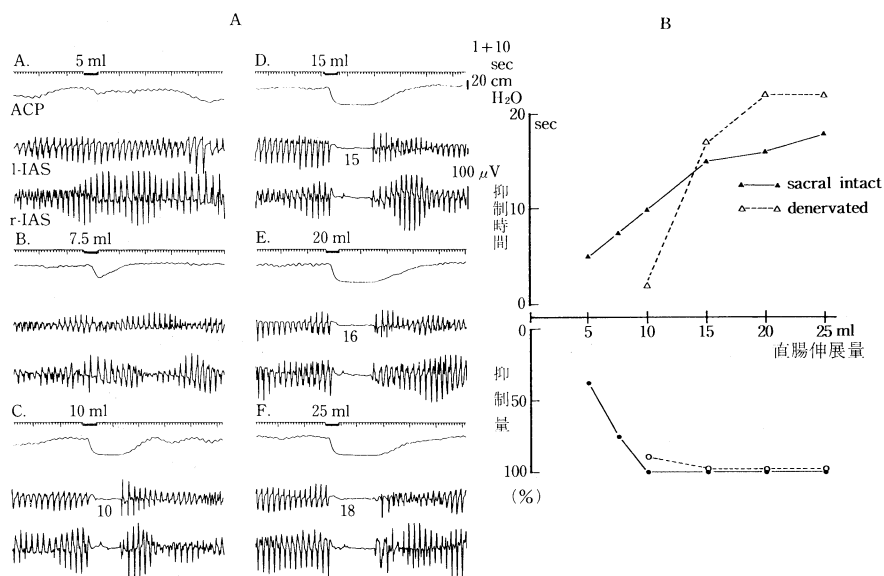


図2. 直腸肛門反射の入力出力関係—除脳無麻酔犬.

A. 仙骨神経未処置犬の反射の記録. 伸展量は各記録に記す(伸展時間は一定—5秒). C, D, E, F, の左内括約筋抑制相に書かれた数字は, 完全抑制の持続時間.

B. 反射の入力出力関係. 横軸が入力, 縦軸の上が抑制の持続時間, 下が抑制量. 抑制量は, 完全抑制(C-F)のときの振巾を100とし, 不完全抑制のときは, %で現わしてある. 実線は, Aの記録から測定したもの, 破線は, 両側仙骨神経( $S_1-S_3$ )切断後28日で, 除脳した犬の直腸肛門反射の記録から測定したもの.

異が認められるが, 直腸注入量を次第に増していくとき, 肛門内圧降下量ないし降下時間が比例して増大する経過はすべての例に認められる. また降下量ないし降下時間は直腸伸展量を増してもそれ以上増大しない, すなわち飽和点をもつことを示す. 図1上は11ヶ月の乳児で測定された肛門内圧曲線である. 伸展時間はそれぞれの量で, 短いものと長いものの二種を与えた. 図上右端に画いたような規準で降下圧量とその持続時間を測定し, それぞれ, 共通の横軸(直腸伸展量)に対してプロットしたものが, 下のグラフである. 降下時間(内括約筋の抑制持続時間), 降下量とも, 段階的な(ほぼ直線的な)増加があり, 次に飽和点に達して, 以後伸展増加にもかかわらず平衡となることは共通であるが, ここで注目すべきことは, 降下圧(B下)と降下時間(B上)で飽和点がずれていることである.

除脳無麻酔犬の直腸肛門反射(図2)でも同様の経過が観察されるが, このさいしばしば認め

られるのは, 小児の場合とは逆に, 降下圧が先に飽和点に達し, それ以後, 入力の増加は抑制時間の延長として出力面に現われることである. これは動物実験では内括約筋の完全抑制としてみられる.

仙骨神経切断慢性犬の直腸肛門反射は, 猪原ら(1984)が報告したように, 内圧降下時間(内括約筋抑制時間)の長いのが特徴であるが, これは, これまで, 小児症例や神経未処置犬でみてきたような, 降下圧と降下(抑制)時間の両者とも, 漸増的な経過にとぼしく, 直腸伸展量を閾値以上に増加すると, どちらも, 急激に最大値に達するためである(図2右破線の経過).

## 考察と結語

1. 直腸肛門反射の入力量(直腸伸展量, 伸展時間は一定とする)の増大は, 出力(内括約筋の抑制—内圧下降)の量と時間の増大として現われるが, 通常閾値点があり, それから入力—出力の段階的漸増の経過があって, 次に出力

の飽和点がある。小児症例では、量(降下圧)の飽和点が、時間(降下の持続)のそれより後にくることがあり、除脳無麻酔犬の実験では、量の飽和点が時間のそれより先にくることが多い。

2. この反射の出力とは、内括約筋の持続性活動に対する壁内ニューロンによる抑制である。出力量の段階的増加は、抑制ニューロン回路の空間的ひろがりにより、出力時間の延長は、同じニューロン回路の時間的ひろがりによるものと考えられる。

3. 仙骨神経除去は、この反射の入力-出力関係において、量と時間の両面とも段階的増加の経過を急峻にし、または段階的過程をほとんど消失させる。仙骨神経は、内括約筋に対する壁内抑制ニューロン回路の、空間的ならびに時間的ひろがりを微細に調節しているものと考えられる。

## 直腸肛門反射の段階性とその限界

### II. 仙骨神経前根の電気刺激による反応

東海大学医学部 第一生理学教室

田 村 謙 二, 難 波 貞 夫, 高比良 英 輔

#### はじめに

1895年に、LangleyとAndersonはネコ、イヌ、ウサギの実験で、仙骨神経の末梢端の電気刺激により、肛門管の弛緩反応が誘発されることを報告した。彼らは同時に肛門周囲の皮膚が口側へ引き込まれる *withdrawn* 現象も認めたが、その解釈は与えていない。その後、肛門管内圧(Garrettら、1974)および、内括約筋活動(BouvierとGonella、1981)を示標として、仙骨神経の前根刺激により、内圧下降ならびに内括約筋の抑制を生ずることが報告された。しかしながら、いずれの場合もその解釈は定性的(応答が出現するか否か)にとどまっている。一方直腸肛門反射の臨床的な観察で、直腸伸展量と

#### 文 献

- Frenckner, B. (1983). Rectal myenteric nerve plexus stimulation in Hirschsprung's disease and healthy children. *Z. Kinderchir.* **38**: 396-399.
- 猪原則行, 高比良英輔 (1984). 内括約筋の電気活動からみた肛門内圧の制御機構, 日本平滑筋誌, **20**: 123-135.
- Meunier, P. and Mollard, P. (1977). Control of the internal anal sphincter: manometric study with human subjects. *Pflügers Arch.* **370**: 233-239.
- 難波貞夫, 横山穰太郎ら (1978). 直腸肛門内圧測定法の基礎的ならびに臨床的検討, 小児外科, **10**: 159-166.
- 難波貞夫, 高比良英輔ら (1979). 直腸肛門反射における結腸, 内・外肛門括約筋の作用に関する実験的研究, 日本平滑筋誌 **15**: 189-190.

肛門管内圧下降量との間に、比例的な増加関係(一種の段階性 *gradation*)の認められることはいくつかの報告があり、この反射における神経性統合 *nervous integration* の重要性を強く示唆している。今回われわれは、実験的に、仙骨神経前根刺激により直腸腸肛門反射の出力をシュミレートし(猪原と高比良、1984)、各筋(外括約筋、内括約筋、縦走筋)の応答様式と刺激強度との関係から、本反射にかかわる、壁内神経および仙髄副交感神経の機構について検討をくわえたので報告する。

#### 実験方法

実験には体重 10 kg 前後の雑種成犬 8 頭を用いた。いずれもラボナール麻酔ののち、前四丘

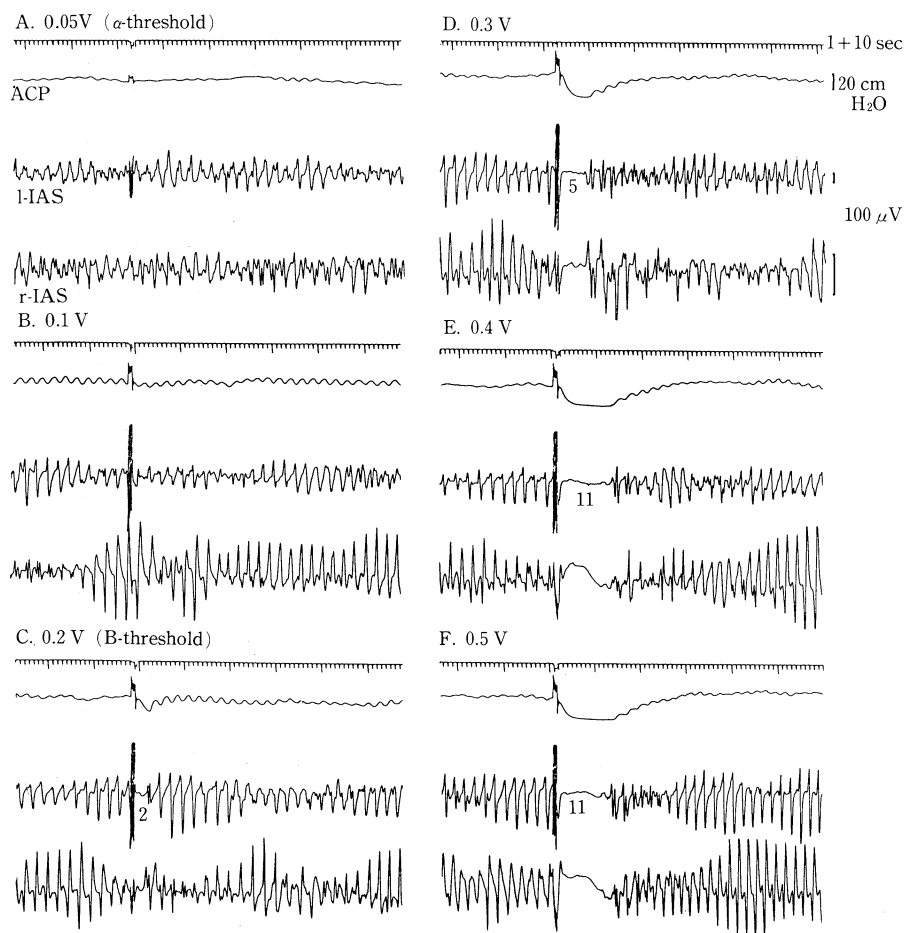
Decerebrate dog; divided 1-S<sub>2</sub>VR stimulation (0.1 ms, 10 Hz)

図1. 除脳犬(非動化していない)における左側仙骨神経(S<sub>2</sub>)前根の電気刺激実験(0.1 ms, 10 Hz, 1 sec). 各記録共に上段より, 時標(秒), 肛門管内圧(ACP), 左側(left), 右側(right)からの内・外括約筋の電気活動. 0.05 V, 0.2 V がそれぞれ外括約筋興奮( $\alpha$ -運動ニューロン), 内括約筋抑制(B線維)の閾値である. C, D, E, Fの左側の記録にある数は内括約筋の抑制時間(単位は秒).

体レベルで除脳を行ない, 前根刺激の波及を制限するため, 両側の大腿神経, 坐骨神経を切断し, さらに露出した脊髓をS4で横切した. 脊髓腔を流動パラフィンで満たし, 切断した仙骨神経S1もしくはS2の前根に白金双極電極をあて, 持続0.1 ms, 頻度10 Hzもしくは20 Hz, 電圧0.04 V~2.0 Vのパルス列を1秒間与えた. 記録は従来と同じ, KY式内圧測定器による肛門管内圧と左右(9時, 3時)の肛門縁より刺入した, 双極針電極(極間2 mm, 先端露出1 mm)により得られる. 内・外括約筋と肛門縦走筋の電気活動である.

## 結 果

観察は麻酔剤の影響を除外するために, 除脳後3時間以上を経たから行ない, 電気刺激の前後には直腸のバルーン伸展刺激を行ない, 直腸肛門反射における応答量の段階性を確認した.

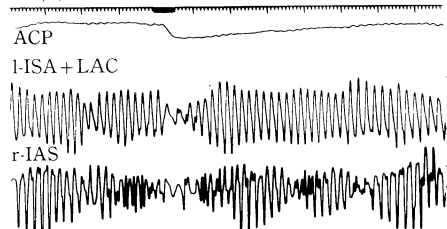
### 1. 内・外括約筋の応答

図1は筋弛緩剤を用いない標本で, 電気刺激を行なった時の記録である. 0.05 Vの刺激電圧で同側外括約筋の不完全強縮とこれによる肛門管内圧の一過性の上昇が生ずる. この昇圧量は0.1 Vまでの刺激強度増加に対応して段階的に

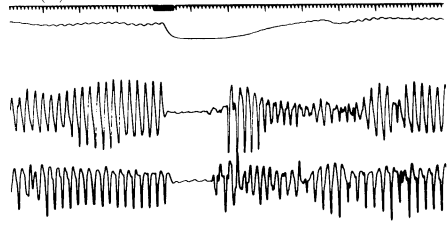
Decerebrate dog :

A. Rectal distension

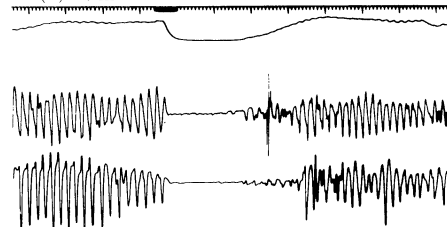
(1) 10 ml



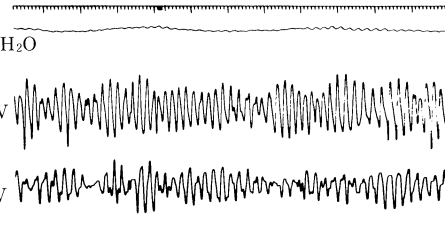
(2) 15 ml



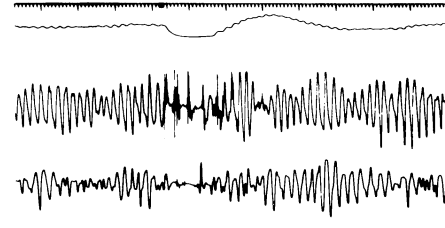
(3) 20 ml

B. divided right-S<sub>2</sub>VR stimulation (0.1 ms 10 Hz)

(1) 0.1 V



(2) 0.2 V



(3) 1.0 V

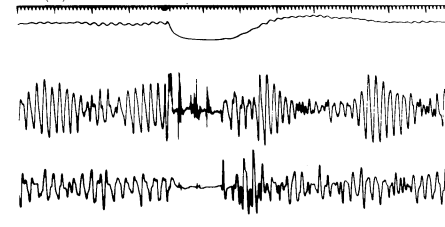


図2. 非動物化除脳犬における直腸伸展刺激(A), と右側仙骨神経(S<sub>2</sub>)前根の電気刺激実験(0.1 ms, 20 Hz, 1 sec)(B). 各記録共に上段より時標(秒), 肛門管内圧(ACP), 左側(left)からの内括約筋と肛門縦走筋, 右側(right)からの内括約筋の電気活動. 直腸伸展では, 縦走筋は単スパイクバースト応答を示す(A-3)が, 前根刺激では多発性バースト応答が全か無か(all or none)の様式で出現する(B-2, B-3).

増加 graded increase し, 以後「頭うち」となった. 仙骨神経前根において, このさい, 0.1 V 強度で外括約筋を支配する  $\alpha$  運動ニューロンの最大値 maximal stimulus に達したものと思われる. 刺激強度が 0.2 V に達すると(C), 内括約筋の抑制が生ずるが, 外括約筋応答にくらべてその特異な点は閾値強度ですでに応答が両側性に生ずることであった. 刺激強度を増すと(D), 両側内括約筋スパイクの抑制は完全となり, さらに強度を増すと抑制時間が延長し(E), その延長に限界(F)のあることがみだされた. C-D-E-F の変化は, 仙骨神経前根中の節前抑制線維の賦活漸増と飽和によるものと思われるが, その強度範囲は, この例では 0.2~0.4 V すなわち  $\alpha$  線維の賦活強度 0.05~0.1 V の約 4 倍であるから, 無髄の C 線維ではなく, 有髄の B 線維

に属するものと思われる.

## 2. 肛門縦走筋の応答

昨年の本学会で, 肛門縦走筋は直腸伸展刺激によりスパイクバースト応答を生ずるがその際伸展量とバーストスパイク数の間に段階性が成立することを報告した(田村ら, 1983). 本実験においても伸展量の増大に伴ない, スパイクバーストの見られた(図 2A-3) 標本で, 前根刺激実験を行なった(図 2B). 刺激電圧 0.2 V で内括約筋の抑制と, 肛門縦走筋の多発性バーストが出現した. この多発性バーストは刺激電圧の減少または増加によって, その多発性を加減することができず, つまり仙骨神経前根刺激と縦走筋応答との間の関係が段階的 graded でなく, 全か無かのであるという特異性をもっていた. 図 1 で示したように, 内括約筋スパイクの

抑制機構は、ある程度まで、仙骨神経前根（節前線維）の賦活の量によって段階づけられるが、縦走筋の多発性バーストではそれができない。これはこのバースト形成機構が、節前線維より壁内ニューロン回路により強く依存しているためと考えられる。

## ま と め

1. 仙骨神経（S1, S2）前根の短時間（1秒）の電気刺激により、外括約筋、内括約筋、縦走筋において直腸肛門反射類似の応答を誘発した。
2. 内括約筋の抑制、特にその持続時間は刺激強度により段階的に制御され、直腸伸展刺激によるものとほぼ同一の機構が示唆された。
3. 肛門縦走筋は、前根刺激によって多発性バーストが全か無かの様式で出現し、この事実から、壁内の縦走筋駆動回路は、内括約筋抑制

回路とは、節前線維との関係において質の異なったものであることが示唆された。

## 文 献

- Bouvier, M. and Gonella, J. (1981). Nervous control of the internal anal sphincter of the cat. *J. Physiol.* **310**: 457-469.
- Garrett, J.R., Howard, E.R., and Jones, W. (1974). The internal anal sphincter in the cat: a study of nervous mechanisms affecting tone and reflex activity. *J. Physiol.* **243**: 153-16.
- 猪原則行, 高比良英輔 (1984). 内括約筋の電気活動からみた肛門内圧の制御機構, 日本平滑筋誌 **20**: 123-135.
- Langley, J. N. and Anderson, H.K. (1895). On the innervation of the pelvic and adjoining viscera. Part 1. The lower portion of the intestine. *J. Physiol.* **18**: 67-105.
- 田村謙二ら (1983). 肛門縦走筋活動の分析, 日本平滑筋誌 **19**: 329-331.

## イキミ反射と排便および排尿反射の関係

川崎医科大学 第二生理学教室

福 田 博 之, 深 井 喜代子

## 緒 言

除脳イヌの直腸、膀胱を伸展すると排便あるいは排尿反射と同時に周期的いきみが引き起こされる(深井, 福田, 1983). この周期的いきみの反射中枢は吻側部橋の外側部の呼吸調節中枢の一部と考えられている Kölliker-Fuse 核外側部に存在する (Fukuda, & Fukai, 1984). 排尿反射中枢もまた吻側部橋外側部の網様体中に存在し(岡田, 山根, 1974), その少し尾, 腹, 内側の網様体には橋排便反射中枢が存在する(岡田, 福田, 山根, 1976; Fukuda, Fukai, Yamane & Okada, 1981). これら3種の橋反射中枢の存在部位および活動様式は個別に検討され、橋いきみ反射中枢と他の2中枢の存在部位の異同および相互関係が問われたことはない。ので、今回検討した。

## 実験方法

実験は、ケタミン麻酔下で除脳してガラミンで非動化し、過剰な人工呼吸により横隔神経の呼吸性発射を止めたイヌでおこなった。

いきみの示標として左側の横隔神経と腹直筋支配神経の遠心性活動を同時記録した。また、排便と排尿反射の示標として左骨盤神経直腸枝および膀胱枝の遠心性活動を記録した。

排便、排尿およびいきみ反射は右骨盤神経あるいはその直腸枝または膀胱枝の求心性刺激により引き起こした。

中枢の切断は安全カミソリの刃を折って作った小メスで、刺激は外径 200  $\mu\text{m}$  の白金単極電極でおこない、中枢細胞の活動は先端直径約 10  $\mu\text{m}$  の銀微小電極で記録した。

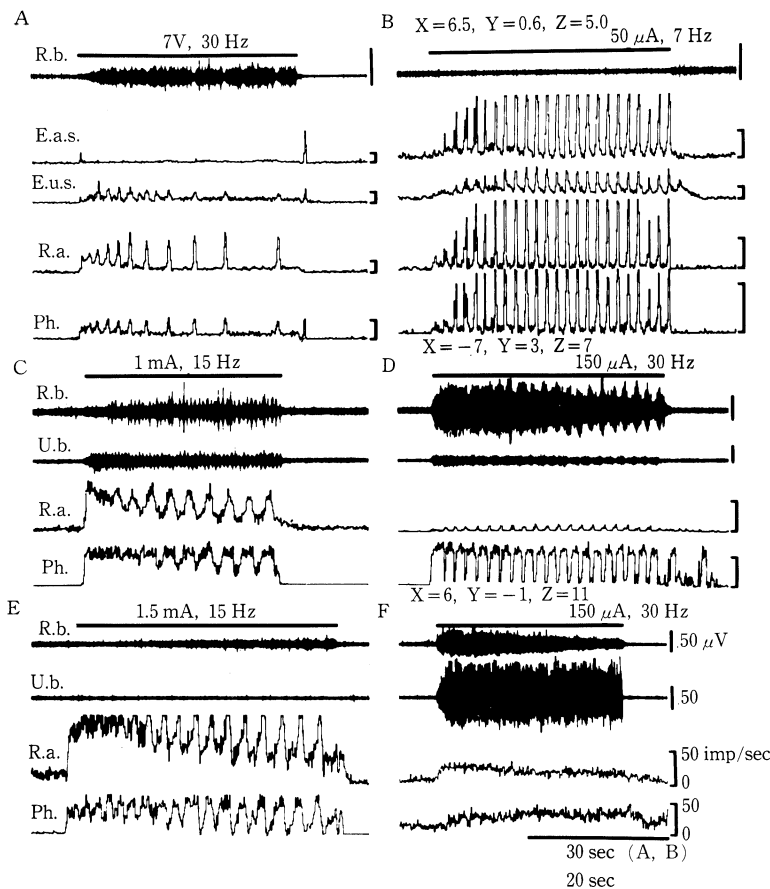


図1. 吻側部橋外側部刺激により惹起される周期的いきみと骨盤神経直腸枝および膀胱枝の遠心性活動の関係。  
遠心性活動を記録している神経: R.b., 骨盤神経直腸枝; U.b., 同膀胱枝; E.a.s., 陰部神経外肛門括約筋枝; E.u.s., 同外尿道括約筋枝; R.a., 腹直筋支配神経; Ph., 横隔神経。一部の記録は200 msecのbinによる頻度曲線として示されている。A, 骨盤神経直腸枝の求心性刺激の効果。B, DとF; 橋の刺激効果。CとE; 骨盤神経の求心性刺激の効果。各刺激期間は横棒で示し、その上に刺激の強度と頻度および両側 ear bar の中点を0とする座標上にしめる刺激刺点の位置 (mm) を示した。刺激のパルス幅は求心性刺激では0.5 msec 中枢刺激では5 msecである。以上の説明は図2にも適用される。

## 実験結果 と 考察

1. 右側延髄を灰白翼上端の高さで横断した後に、左吻側部橋外側部に加えた小切断によって、上記求心性刺激により惹起される周期的いきみが完全に消失した後も、同刺激によって反対側の骨盤神経直腸枝と膀胱枝に引き起こされる反射性活動は、余り減弱しなかった。

2. 外側部橋の刺激実験で、骨盤神経直腸枝の遠心性活動を排便時の活動に匹敵する程に増

強する部位の刺激(図1C, D)でも、また膀胱枝の遠心性活動を同様に増大させる部位の刺激(E, F)でも、周期的いきみを引き起こすことはなかった。逆に周期的いきみを惹起する部位の刺激(A, B)では直腸枝および膀胱枝の遠心性活動はその様に増強しなかった。

以上の結果より、橋いきみ反射中枢の存在部位は橋排便および排尿反射中枢に関与する部位とは相違し、いきみ反射中枢は他の2中枢とは無関係に活動し得るものと考えられる。

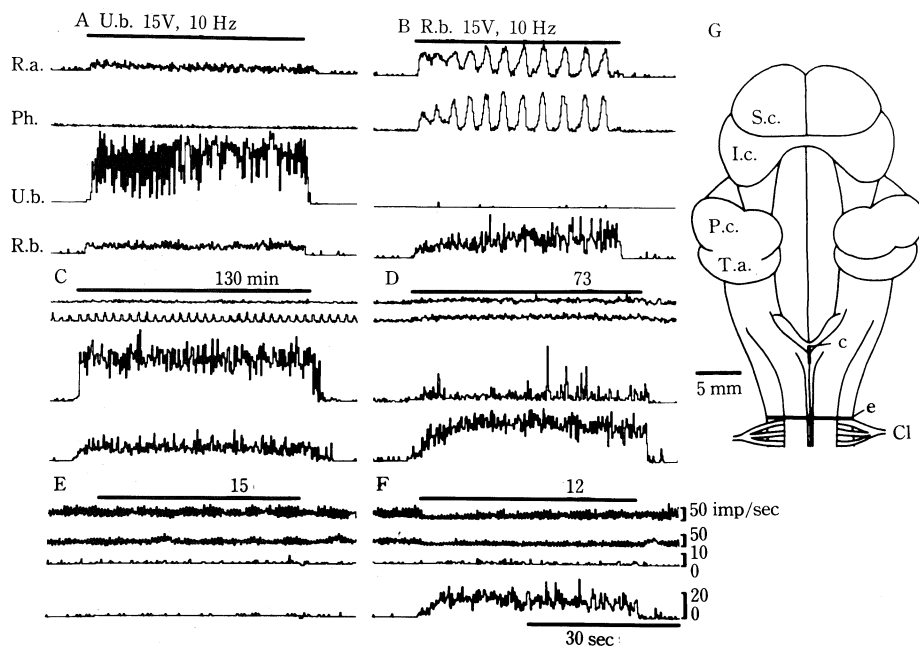


図2. 延髄正中切断のいきみ反射と排尿および排便反射に対する効果。A, CとE; 骨盤神経膀胱枝の求心性刺激の効果。B, DとF; 同直腸枝の求心性刺激の効果。AとB; 対照。CとD; Gに示した正中切断(c)後の刺激効果。EとF; 横断(e)後の刺激効果。G; 切断部位を示す脳幹背面図: S.c., 上丘; I.c., 下丘; P.c., 小脳脚; T.a., 聴条; Cl, 第一頸神経後根。

3. 図2に示した様に門の尾側1 mm から2.5 mm まで中心管背側部を正中縦断すると骨盤神経直腸枝の求心性刺激により惹起される周期的いきみは完全に消失するが、反射側の同枝に引き起こされる反射活動はかえって増大した(D)。また、膀胱枝の求心性刺激により対側の同枝に惹起される反射活動には変化が認められなかった(C)。しかし、第1頸神経の吻側で脊髓を横断すると膀胱枝の反射活動は消失し、直腸枝の反射活動は半減した(E, F)。

4. 橋いきみ反射中枢細胞の周期的いきみに同期した活動増大は上記門尾側部の正中切断により消失した。

以上の結果より、周期的いきみを惹起する上行路は門尾側の中心管背側部で完全交叉するが、排便と排尿反射の上行路はその交叉路を経由しないものと考えられる。

5. 橋いきみ反射中枢細胞には、骨盤神経直腸枝の求心性刺激に対して、短い潜時で応答するもの、長い潜時で応答するもの、長短二つの

潜時で2回応答するもの、および自発活動が抑制されるものが存在する。

同じ刺激に対する同じ4種の応答が、橋排便反射中枢細胞でも、また仙髄の細胞でも認められる。さらに、各中枢細胞のそれらの応答の潜時ヒストグラムの形は酷似している。

この結果から、骨盤神経の求心性活動が両反射中枢に上行する経路は一部で相違するが、その特性は類似しているものと考えられる。

## 結 論

同期的いきみの橋反射中枢の存在部位は、橋排便反射中枢および橋排尿反射中枢に関与する部位とは相違していると考えられる。

橋いきみ反射中枢への上行路は門尾側の中心管背側部で完全交叉するが、橋排尿反射中枢および橋排便反射中枢への上行路はこの交叉路を経由しない。

直腸や膀胱からの入力により周期的いきみが惹起される場合、排便あるいは排尿反射を伴う

場合が多いが、橋いきみ反射中枢刺激により周期的いきみを惹起しても、排便あるいは排尿活動が伴われることはない。即ち、橋いきみ反射中枢は排尿反射、排便反射を直接引き起こすものではない。

## 文 献

- 深井喜代子, 福田博之 (1983). イヌのイキミ反射中枢. 日本平滑筋誌 19: 318-321.
- Fukuda, H., Fukai, K., Yamane, M. & Okada, H. (1981). Pontine reticular unit responses to pelvic nerve and colonic mechanical stimulation in the dog. *Brain Res.* 207: 59-71.
- Fukuda, H. & Fukai, K. (1984). Effects of stimulation and neuronal activities of the pontine reflex center of the repeating strainings for defecation, micturition and parturition in the dog. *J. Physiol. Soc. Japan.* 46: 498.
- 岡田博匡, 山根正信 (1974). イヌの膀胱運動リズムをもった橋, 中脳の単位放電. 自律神経 11: 46-57.
- 岡田博匡, 福田博之, 山根正信 (1976). イヌの橋排便反射中枢の所在について. 自律神経 13: 24-31.