

教 育 講 演

『薬物受容体研究の基礎——濃度反応曲線の解析』

東邦大学薬学部薬理学 高 柳 一 成
小 池 勝 夫
細 本 るみ子

特 別 講 演

『ATP の平滑筋膜作用：
Purinoceptor と K_{ATP} について』

西南女学院大学，九州大学名誉教授 栗 山 熙

招 待 講 演

『Purinergetic signalling：
historical overview and current developments』

Department of Anatomy & Developmental Biology
and Centre for Neuroscience, University College London
Geoffrey Burnstock

教育講演

薬物受容体研究の基礎 - 濃度反応曲線の解析

東邦大学薬学部薬理学教室

高柳 一成, 小池 勝夫, 細木 るみこ

薬物受容体に関する研究は急速に進展し、特に、分子生物学的研究の進歩は目ざましい。ところで、薬物受容体研究の基礎である濃度反応曲線の解析は、軽くみられる傾向にある。そこで、本稿では濃度反応曲線の解析に焦点をあててみた。1. **競合的拮抗**：活性薬の濃度反応曲線は競合的拮抗薬の濃度に依存して、高濃度側に平行移動する。これらが、単一の受容体に対して競合反応をしているかどうかを検討するのがシルド・プロットである。単純な競合反応であれば 45° の直線となるが、場合によっては 45° 以下の直線または2相性の曲線となることがある。この場合、拮抗薬が2つの受容体において活性薬と競合反応をしていることを示している。また、効力が強い活性薬の濃度反応曲線を平行移動させる拮抗薬が、弱い活性薬の濃度反応曲線に対しては最大反応の抑制をおこし、半平衡状態 *hemi-equilibrium state* という現象が観察される。一方、ある臓器では活性薬として作用する薬物が、別の臓器では競合的拮抗薬として振る舞う。これは活性効力は臓器にある受容体密度に比例するので、密度が極めて小さい臓器では活性作用を示しえないためであり、これは閾値現象 *threshold phenomenon* による。2. **inverse agonist (逆活性薬)**：静止状態では受容体は不活性型(R)として存在し、これに活性薬(A)が結合すると活性型(R*)に変わり複合体(AR*)を作って活性作用を示す。最近では活性薬が存在しなくてもある特殊な条件では不活性型(R)のほかに活性型(R*)の受容体も共存し、平衡状態にある (*two state model*) と考えられている。逆活性薬(I)は不活性型(R)へ高親和性を示し、活性型(R*)の量を減らし、不活性型(R)の量を増加させるとともに複合体(IR)を形成し抑制反応をおこす。ところで、競合的拮抗薬は活性型(R*)及び不活性型(R)の両受容体へ同じ親和性を示すので、活性薬(A)及び逆活性薬(I)いずれの濃度反応曲線ともに高濃度側へ平行移動させる。

特別講演

ATP の平滑筋膜作用 ; Purinoceptor と K_{ATP} について

西南女学院大学, 九州大学名誉教授

栗山 熙

ATP が平滑筋組織で非アドレナリン性, 非コリン性 (NANC) 興奮性および抑制性伝達物質と想定されてから約 30 年経過しており, 分子生物学的ならびに生物物理学的研究法の発展によって細胞膜における ATP 受容体 (purinoceptor) の構造と ATP の作用機序も明らかになって来た。また細胞内でも ATP がイオンチャネルの動態の制御機構に関与することも明らかになって来た。

ATP (ADP, UTP) 受容体は遺伝子操作によって GTP-結合蛋白質 (G-protein) が関与する 7 回膜貫通型の P_2 受容体 (P_{2U} , P_{2V} , P_{2T} ; 前二者は $G_{q/11}$ 型そして後者は $G_{i/o}$ 型 G-protein) とイオン型受容体 (ionotropic type) である 2 回膜貫通型の subunit をもつ複合型 P_2 受容体 (P_{2x1} - P_{2x7}) に分類されている。ATP による G-protein 結合型受容体の活性化は主として $InsP_3$ による Ca-依存型イオンチャネル (Na^+ , K^+ , Cl^-) を活性化して細胞膜の脱分極または過分極を発生させる。それに対して ionotropic 型は ATP によって非選択的なカチオンチャネル (receptor-operated nonselective cation channel; ROCC) を活性化させ細胞膜の脱分極または過分極をもたらす。しかしながら purinoceptors の選択的な拮抗薬が存在しないので多くの平滑筋組織ではいずれの受容体に関与して発生した電気現象であるかは組織によって明らかでないものが多い。

細胞内の ATP の増減も受容体の磷酸化などを介して直接又は間接的に種々の受容体やイオンチャネルの活性化, 不活性化を調節している。とくに ATP 欠乏時に活性化される ATP-感受性 K^+ チャネル (K_{ATP} ; 少なくとも 2 回貫通型 K チャネルサブユニットと 2 個のヌクレオチド結合ドメインを有する 11 回貫通型スルフォニルウレア結合型, SUR2B, サブユニットから構成) が平滑筋でも内向き整流作用 (K_{ir}) やいわゆる K^+ チャネル開口薬や遮断薬等の作用と関連して生理機能に関与することが明らかになってきた。

これら ATP の平滑筋作用の現状について紹介する。

招待講演

PURINERGIC SIGNALLING: HISTORICAL OVERVIEW AND CURRENT DEVELOPMENTS

by Professor Geoffrey Burnstock
Department of Anatomy & Developmental Biology
and Centre for Neuroscience
University College London
Gower Street, London WC1E 6BT

The potent action of purine nucleotides and nucleosides on the heart and vasculature was first recognized in 1929 by Drury and Szent-Györgyi. The 'purinergic nerve' hypothesis was proposed by Burnstock in 1972, with evidence to suggest that ATP was a neurotransmitter in non-adrenergic, non-cholinergic nerves supplying the intestine, urinary bladder and parts of the vascular system. Later it became evident that ATP was a co-transmitter with classical transmitters, peptides and nitric oxide in autonomic and sensory-motor nerves. In 1978, receptors to purines were shown to belong to two main subtypes, namely P₁-purinoceptors, that are selective to adenosine, and P₂-purinoceptors that are selective for ATP and ADP. Subsequently, subtypes of P₁-purinoceptors into A₁, A_{2a}, A_{2b} and A₃ have been identified and, based largely on data obtained from expression cloning of P₂-purinoceptors and from transduction mechanisms, Abbracchio and Burnstock (1994) have proposed a new basis for subclassification of purinoceptors into P₂X₁₋₇ subtypes of a ligand-gated cation family and P₂Y₁₋₈ subtypes of a G-protein coupled family. Purinergic control of local vascular tone includes: P₂X₁-purinoceptor mediated constriction of smooth muscle by ATP released as a co-transmitter from sympathetic perivascular nerves; endothelial P₂Y_{1 and 2}-purinoceptor mediated vasodilatation (via NO) by ATP and UTP released from endothelial cells during shear stress and hypoxia; P₁-purinoceptor (A₂ subtype) modulation of transmitter release by adenosine resulting from extracellular breakdown of ATP. Receptors for purines and pyrimidines have also been identified in many other cell types, including endocrine, exocrine, bone and glial cells. Current developments include studies of the long-term (trophic) actions of purines in development and regeneration, and the development of selective agonists and antagonists for therapeutic purposes.

シンポジウム I

『胃電図の現状と将来』(SI-1~7)

座長：東海大学第6内科 原 澤 茂
東京慈恵医科大学第2外科 羽 生 信 義

シンポジウム II

『気道平滑筋とNANC神経』(SII-1~4)

座長：九州大学医学部薬理学 伊 東 祐 之

シンポジウム III

『消化管運動機能から見た外科手術における再建術の検討』

下部消化管：大腸全摘術・低位前方切除術(SIII-1~6)

座長：双仁会厚生病院 今 充
近畿大学第1外科 康 謙 三

シンポジウム IV

『平滑筋の収縮制御機構の検討』(SIV-1~2)

座長：東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学 唐 木 英 明
九州大学医学部附属心臓血管研究施設分子細胞学 金 出 英 夫

シンポジウム V

『消化管運動機能から見た外科手術における再建術式の検討』

上部消化管：胃全摘出・幽門輪温存臍頭十二指腸切除術(SV-1~8)

座長：岩手医科大学第1外科 旭 博 史
奈良県立三室病院 金 泉 年 郁

シンポジウム VI

『膜レベルで捉える弛緩』(SVI-1~2)

座長：大阪府立大学農学部獣医薬理学講座 畑 文 明

SI-1. 運動不全型 NUD に対するアイソトープ法と胃電図法との比較

防衛医科大学校 生理学第二、内科学第二

河野俊彦、徳丸治、宮原透

臨床的に運動不全型 NUD と診断された症例に対して、新規の消化管運動改善剤、エカバピドを投与し、その前後で、固形食を用いたアイソトープ法による胃排出機能検査および胃電図測定を行い、薬物が胃排出能に及ぼす影響を検討し、胃電図とアイソトープ法との比較を行った。＜対象＞外来において上部消化管内視鏡検査などで器質的疾患および抑鬱傾向を除外し、運動不全型 NUD と診断され同意の得られた 10 例（男性 8、女性 2、平均年齢 41.5 ± 13.2 歳）である。＜方法＞（1）アイソトープ法：本郷らの方法に従い、鶏卵、バター、牛乳、トーストにて 99m テクネシウム錫コロイドを用いガンマカメラにて関心領域を設定し、試験食摂取後 N 分後の放射活性を求めアイソトープの半減期で補正を行った後 N 分後胃内残存率を算出した。（2）胃電図測定：8 例に対しては演者らの考案した 3cpm 等パワー胃電図を作成し、また、ユーロテック社製 EGG デジトラッパーによる 6 時間胃電図を測定し、Normogastria の占める割合を求めた。＜結果および考案＞臨床症状によって運動不全型と診断した症例の中にもアイソトープ法による検討では胃排出能の低下が認められない症例も見られた。投与前にアイソトープ法にて胃排出能低下が認められた症例では、ほとんどがエカバピド投与により排出能の改善が見られた。同一症例において行った胃電図の測定では、投与前に 3cpm 等パワー胃電図で、ピークのはっきりしない症例が、投与後右上腹部にピークの認められた症例が見られた。その症例では、6 時間胃電図でも、投与後の normogastria の占める割合が増加していた。また、一部アイソトープ法と胃電図の結果が解離している症例もあった。

SI-2. Electrogastrographyは胃の運動を反映するのか？

東京慈恵会医科大学外科

梶本 徹也、古川 良幸、羽生 信義、中田 浩二、橋本 慶博、向井 英晴

西川 勝則、梁井 真一郎、宮川 朗、青木 照明

Electrogastrography(EGG)はその非侵襲性、簡便性のため臨床応用されているが、他の消化管機能測定法と比較して曖昧さがつきまとうことは否定できない。EGG 単独検査の意義を判定するため、胃の実際の運動と EGG の関係を犬を用いて実験的に検討したうえで、EGG の将来性について考察する。[方法]全身麻酔下に、白金電極と strain gauge transducer(SGT)を胃体上部、胃角部および前庭部の漿膜面に縫着し、EGG 電極は剣状突起下端と肋骨弓最下端を 2 等分し鎖骨中線と交わる 2 点の皮膚に固定した。麻酔下（薬物投与、胃切除術施行）および意識下（空腹期、食後期）で、白金電極から導かれた electromyogram (EMG) と SGT 収縮力、EGG の測定を行った。[結果]胃に収縮運動がみられない麻酔下基礎状態や空腹期 phase 1 でも EGG と EMG は 3~4 cycle per minute (cpm) の規則的な波形を示した。麻酔下幽門側胃切除術後 EGG と EMG 振幅は減少し、胃全摘術後には EGG の電位変化はほとんど観察されなかった。食後期には EGG および EMG 振幅と SGT 収縮力は増大し、EGG 振幅は幽門部の EMG 振幅および SGT 収縮力と相関した。空腹期には、EGG 振幅は phase 1 と比較して phase 3 には増大し、EMG 振幅は phase 1, 2, 3 の順に増大した。Phase 2 においてのみ、EGG 振幅は EMG 振幅および SGT 収縮力と相関した。EGG と EMG 波形の類似性は麻酔下、意識下を通じて常にみられたわけではなかった。[結論]犬の体表から記録された EGG は、1) electrical control activity (ECA) だけではなく electrical response activity (ERA) の要素も含まれている、2) 主に胃幽門部の電気活動と収縮運動を反映している、3) 空腹期 phase 2 における胃の電気活動、収縮運動を表している、4) 胃の電気活動のすべてを表しているわけではない、ことが推察された。EGG 単独で胃運動のすべてを捕えることは困難であり、臨床応用するにあたっては解析方法の改良や他の消化管機能検査法を併用するのが望ましいと思われる。

SI-3. EGGと空腹期胃運動に関する検討

群馬大学第一内科

木村 正之、角田 毅、善如寺 路子、五十嵐 さ恵、山田 拓郎、河村 修、
堀越 勤、松崎 勉、草野 元康、関口 利和

胃粘膜及び漿膜から同時測定されたEGGには二種類の電気活動が認められ、一つはECA (electrical control activity) と呼ばれ収縮運動に直接関わらない基本的な電気活動で、もう一つはERA (electrical response activity) と呼ばれ胃平滑筋の閾値を超えた脱分極時に認められるもので、蠕動運動につながるものである。腹壁から測定したEGGと胃収縮運動との関連については十分に解明されていないので、我々は空腹時のEGGと胃内圧を同時測定しこれらの関連について検討した。対象と方法；9名（男性8名、女性1名、平均年齢28.1歳）の健康成人で8時間の絶食の後に2時間EGGと胃内圧を同時測定した。phaseIIIを誘発する目的でprokinetic agentであるEM523L 2mgを十分なインフォームドコンセントのもとに生理食塩水75mlに溶解して15分で点滴静注した。EGGは剣状突起と臍の midpoint を中心とし、左季肋部、左心窩部（それぞれEGG1、2）と2方向の双極誘導で測定された。胃運動はinfused catheter法を用いた。各phaseにおけるEGGの振幅を比較した。振幅の指標として160秒間のEGGと基線によって囲まれる面積を用いた。結果；phaseIでは規則的なEGGが、phaseIIでは胃収縮の発生に同期して高い振幅のEGGが認められた。phaseIIIでは不規則な低振幅のEGGが認められた。面積を比較するとEGG1ではphaseIIの面積がphaseI、IIIの面積よりも有意に大きかった。またphaseIの面積はphaseIIIの面積よりも有意に大きかった。EGG2では有意差は認められなかったが同様の傾向が認められた。結論；phaseIではEGGは規則的なECAを、phaseIIでは高い振幅を示すEGGの部分がERAを反映していると考えられた。phaseIIIでは低振幅のEGGが認められ、胃の強収縮運動によるさまざまな方向のERAを測定した結果土が相殺されるためと考えられた。

SI-4. 小児における胃電図の意義と問題点

新潟大学医学部小児外科、第二生理*

八木 実、本間信治*、岩淵 眞、内山昌則

胃電図は測定機器及び解析法の進歩により比較的容易となっており、本検査法は非侵襲的で小児に対する新しいタイプの検査法として魅力的であるが、解決すべき問題点も多い。我々の施設で数年来、測定解析してきた新生児から学童に及ぶ100例余りの症例を中心に小児胃電図の現状における意義と問題点を検討したので報告する。【方法】記録は原則として空腹期食後期各々30分安静臥床下に仰臥位で、安静臥床不可能な年少児は自然睡眠下に行った。銀塩化銀電極を用い心窩部での双極誘導（測定可能例では胃内圧も同時記録）としてデータレコーダーに保存後AD変換しパーソナルコンピューターにて最大エントロピー法（MEM法）で周波数解析しランニングスペクトルアレイ、スペクトルの平均加算、ピークスペクトルパワー比を算出し以下の項目で検討した。①新生児での記録、②食事の種類との関係、③内圧との関係、④消化管愁訴との関連、⑤新生児外科（胃破裂、食道閉鎖）術後遠隔期の胃電図【結果】①新生児例でも記録は可能であるが体動や電極の大きさや極間距離の問題の他、他の消化管の記録が混入する可能性が高い。②食事前後の周波数変化に一定の関係は認められないものの食事の種類や形状がパワー比に反映される。③胃内圧との対応は認められるが少ない。④様々な原因による腹痛に対し胃電図は反映される。⑤胃破裂、食道閉鎖術後例で消化管愁訴の認められない例や軽微な例でも胃電図上異常所見が認められる。【結語】本検査法は小児において非侵襲的で消化管愁訴や食事内容が反映され術後の機能異常の検索に有効であるが、体動による影響、新生児例等での誘導方法、必ずしも胃内圧と対応しない点などの問題点もあり、今後の課題である。

SI-5. グルカゴン、臭化ブチルスコポラミンの胃電気活動に及ぼす影響

東北大学心療内科¹⁾、東北大学総合診療部²⁾
佐竹 学¹⁾、唐橋一人¹⁾、庄司知隆¹⁾、福土 審¹⁾、本郷道夫²⁾

【目的】上部消化管造影、および内視鏡検査の前処置薬として、グルカゴン、臭化ブチルスコポラミンは一般的に使用されている。これらの薬剤のものは胃に対する弛緩作用および運動抑制作用はこれまで臨床的には確認されているが、胃平滑筋に対する作用機序は明らかではない。そこで胃電図法により、これら薬剤の胃電気活動に及ぼす影響を検討した。

【方法】健康成人9例（男性5例、女性4例）を対象とし、グルカゴン $20\mu\text{g/kg}$ 、臭化ブチルスコポラミン $400\mu\text{g/kg}$ を別々の日の空腹時に静脈内投与し、それぞれ投与前15分、投与後30分の胃電図記録を行った。胃電図の記録は投与前15分(pre)、投与直後より15分後(post-1)、15分後より30分後(post-2)の15分間隔の3つの時間帯に分け、パワースペクトラム解析を行い、周波数とパワーの検討を行った。また、胃電図の正常帯域は $2.4\text{--}3.6\text{ cycles per minute (cpm)}$ とした。

【結果】グルカゴン投与により正常帯域をとるdominant frequency (DF)の割合はpost-1において33%まで有意に減少し(pre:88%)、post-2には2例を除き前値に復した。また、preにおいて $1658\mu\text{V}^2\times\text{cpm}$ であった正常帯域のパワーは、post-1では $411\mu\text{V}^2\times\text{cpm}$ と有意に減少し、post-2では前値に復する傾向が認められた。臭化ブチルスコポラミン投与では、3例で投与1分後より電位は急激に低下し、胃に由来する波は判別不能となった。残り6例の検討においてもpreにおいて $1671\mu\text{V}^2\times\text{cpm}$ であった正常帯域のパワーは、post-1では $469\mu\text{V}^2\times\text{cpm}$ と有意に減少し、post-2では前値に復する傾向が認められた。DFの割合はpre 88%、post-1 76%、post-2 77%と、post-1、2ともに減少傾向を認めたが、波形の解析より、これは、胃に由来する電位が減少したため、小腸由来の電位がDFとして判定されたためと判断した。

【結論】グルカゴンは胃電気活動のパワーのみならず、周波数に対しても影響を及ぼしたことより、胃のペースメーカーを介して、一方、臭化ブチルスコポラミンはパワーのみに影響を与えたことより、胃平滑筋に直接作用して、胃の弛緩作用および運動抑制作用を引き起こすものと考えられる。

SI-6. 胃電図と萎縮性胃炎

東海大学医学部内科 6

○山田嘉夫、浅野健、竹川裕紀子、高安博之、原澤茂、三輪剛

【目的】高齢者ほど胃電図の周波数が高くなるという報告が諸施設からなされている。しかし、年齢以外の背景因子は十分に検討されていなかった。我々は胃電図の周波数と年齢との関係について胃の萎縮性変化を含めた検討を行った。

【方法】対象は当院入院患者および正常協力者計18名である。全例に対し上部内視鏡検査を施行して消化性潰瘍、胃癌が無いことを確認し、萎縮性変化の有無を調べた。また、検査中は H_2 ブロッカー、PPI、消化管運動改善剤の投与は受けていない。24時間ホルター胃電計EG(ニプロ株式会社)により早朝起床前30分間の胃電図を記録し、その周波数を算出した。萎縮性変化の指標として早朝空腹時の血清ガストリン値、ペプティンゲン(PG)I/IIを測定した。また、血清検査にてH. pylori. 感染を調べた。

【結果】胃電図の周波数は加齢に従って上昇する傾向があった($R=0.432, p=0.0733$)。ガストリン値が増すと周波数が増する正の相関を認めた($R=0.624, p=0.0098$)。PGI/IIが低下すると周波数が増する負の相関を認めた($R=-0.631, p=0.0050$)。抗H. pylori. 抗体陰性・陽性群間で周波数に有意差はなかった。

【考案】従来、年齢と胃電図の周波数との検討では高齢者ほど周波数が増すと報告されていた。今回我々の検討では胃の萎縮性変化の進行に伴い、周波数が増して上昇していた。これは加齢に伴う萎縮性胃炎の進行が胃運動に関与したためと考えられた。胃電図の周波数すなわち、収縮回数が増加する原因としてはガストリン値の上昇が関与している想定される。H. pylori. の関与については明らかではないが、除菌前後での検討が今後重要である。

SI-7. 胃電図ベクトル解析法

滋賀医科大学第二内科
小山茂樹，馬場忠雄

胃電図は胃から発生する活動電位を腹壁を通し経皮的に記録する方法である。胃電図は基礎的検討は諸家により報告され、その非侵襲性や簡便性と共に、糖尿病性胃麻痺や胃潰瘍における報告により、その臨床応用が期待されている。胃電図の解析因子は、周波数と電位があるが、主として周波数解析を中心に検討されているのが現状である。胃電図の有用性が認められない原因の一つは、一般にその誘導が一方方向誘導であるため胃電気軸に一致しない限り、真の電位が記録されないからである。胃電図電位解析法として胃電図をベクトル解析する方法を考案し、本法の胃運動評価の有用性を基礎的、臨床的に検討した。

胃電図ベクトル解析は、二方向誘導の胃電図をコンピュータにて解析した。基礎的検討をイヌを用い force transducer による胃運動と比較検討し、臨床的には健康成人男性を対象に prokinetic drug, cold stress にて検討した。

イヌの基礎的検討で、ベクトル解析により得られるベクトル軌跡面積は、胃漿膜に装着した force transducer の変化と一致した。健康成人男性の胃電図のベクトル解析で得られたベクトル軌跡面積は、pro-kinetic drug 投与により増加したが、cold stress 下では不変であった。また、ベクトル解析により得られる棄却楕円長軸角度は胃電気軸を表現していた。

胃電図ベクトル解析による胃運動評価ならびに胃電気軸表示を考案し、周波数解析とともに本法が胃電図解析に有用であることを明らかにした。糖尿病性胃麻痺や Non-ulcer dyspepsia などの病態解析に応用可能である。

SII-1. 気道平滑筋収縮に及ぼす"NOの二重ブレーキ効果"

九州大学医学部薬理学教室
伊東祐之、井上隆司、鰐石祥樹

気道平滑筋を支配する副交感神経はAChを介する収縮反応のみならず非アドレナリン非コリン(NANC)作動性弛緩反応をも引き起こす。我々は最近ネコ細気管支におけるNANC弛緩反応は二相性で、NO-依存性及び非依存性要素が関与する事を明らかにした。一方副交感神経終末にはコリンアセチラーゼとNOSが共存する。すなわち副交感神経系には興奮性及び抑制性神経伝達物質が共存する。その生理学的意義を検討する目的で我々は、i) NOドナー、NOスカベンジャー及びNOS阻害薬の気道平滑筋における興奮性-神経効果器伝達に及ぼす効果を取縮記録法及び微小電極による興奮性接合部電位(EJP)の記録により検討し、さらにii) 単離平滑筋細胞のカルバコール(CCh)電流に及ぼすNOドナーの効果について検討した。NOドナーであるニトロソシスチン($>10^{-8}$ M)は気管平滑筋に弛緩をもたらすEJPの大きさを用量-依存性に抑制し、このとき平滑筋細胞の静止膜電位及びACh感受性に変化は認められなかった。NOS阻害薬であるL-NNAやL-NAME、NOスカベンジャーであるメトオキシヘモグロビンとC-PTIOは単一刺激により発生するEJPの大きさを有意に増大した。さらに高頻度(20Hz)での頻回刺激によるEJPの加重現象をL-NNA、L-NMA及びC-PTIOは著しく増大した。NOドナーであるSNAP(0.1-10 μ M)は単離気管平滑筋細胞のM₃-受容体を介するCCh電流を用量依存性に抑制し、この抑制はグアニレートシクラーゼ阻害剤であるメチレンブルーの前処置により完全に消失した。dibutyryl-cGMP(1-100 μ M)はSNAP同様CCh電流を用量依存性に抑制し、G-kinase阻害剤であるKT5823及びH-8はSNAPやdibutyryl cGMPの効果に全く影響を及ぼさなかった。以上の実験結果は迷走神経終末より放出されるNOは平滑筋の収縮反応に対し節前及び節後に抑制をかける"二重ブレーキ効果"を有することを強く示唆する。

SII-2. 抑制性非アドレナリン非コリン作動性神経(iNANC)と気道過敏性

九州大学医学部附属胸部疾患研究施設
相沢久道

【目的】非アドレナリン非コリン作動性抑制神経(iNANC)は、気道過敏性の調節に重要な役割を担っていると思われるが、詳細は明らかではない。そこで、ネコを用いて*in vivo*での(1)気道のiNANC神経支配、(2)iNANCの遮断による気道過敏性の変化を検討した。また、iNANCの神経伝達物質としてnitric oxide(NO)が目ざされているが、*in vivo*での検討は少ない。そこで、(3)NOの阻害によるiNANCの反応の変化、(4)NOの阻害による気道過敏性の変化、(5)この気道過敏性の変化の機序について検討した。【方法】ネンブータル麻酔・人工換気のネコで、気流量・経肺圧・換気量より肺抵抗(RL)・動肺コンプライアンス(Cdyn)を求め気道収縮の指標とした。実験はアトロピン、プロプラノロール投与下に行った。(1)気道収縮を起こした状態で両側迷走神経を刺激し、iNANCによる気道拡張反応を観察した。次に、(2)ヘキサメソニウムでiNANCを遮断した時の気道過敏性の変化を検討した。また、(3)NO合成酵素阻害剤であるN^G-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)のiNANC弛緩反応に及ぼす影響を観察し、(4)L-NAME投与による気道過敏性の変化を検討した。最後に、(5)気道収縮を起こした状態で、0.1%カプサイシンを吸入させ、RLの変化を観察し、この変化に対するヘキサメソニウムおよびL-NAMEの作用を検討した。【成績および考察】(1)iNANC性気道拡張反応は気道全域に渡って分布し、神経節遮断により消失した。(2)iNANC遮断は気道過敏性を亢進させた。また、(3)L-NAMEはiNANC刺激直後の拡張反応を著明に減弱させるが、後期の弛緩に対する抑制は弱かった。(4)L-NAME投与により気道過敏性は有意に亢進した。(5)カプサイシン吸入により気道拡張反応が起こるが、これは神経節遮断で抑制されるのでiNANCを介した反射性の気道拡張反応と考えられた。L-NAMEにより反射性気道拡張反応は有意に減弱した。以上より、iNANCが興奮するとその早期にNOが遊離され、気道過敏性の調節に重要な役割を演じていると考えられた。

SII-3. 気道平滑筋における興奮性NANC神経機能の薬理的検討

藤沢薬品工業株式会社・薬理研究所
平山 良孝

気道において興奮性NANC (e-NANC) 神経の機能を担う神経メディエーターのなかで、substance P (SP), neurokinin A (NKA) およびneurokinin B (NKB) に代表されるneurokinin (NK) 類の役割が最も注目を集めてきている。ヒト, モルモット, ラット等の哺乳類の下気道において, SP含有神経の終末は平滑筋層, 上皮層および上皮下層, 分泌腺, 血管, 局所神経節細胞等に分布し, これらの機能を調節している可能性が示されている。一方, NKの受容体はこれまでにNK1, NK2およびNK3の三つのタイプが知られており, 各受容体に対してそれぞれSP, NKAおよびNKBが最も強く作用する。私達は, 主としてモルモット気道におけるNK類の役割について薬理的に検討してきた。今回, 気道平滑筋に関連する検討結果を中心に報告する。まず, NK1, NK2受容体拮抗剤を用い, モルモット気道平滑筋収縮反応はNK1およびNK2両受容体を介して惹起され得るが, 内因性のNKによる収縮反応は主にNK2受容体を介していることが示された。さらに, クエン酸吸入による気道収縮反応は主にNK2受容体を介するが, 咳嗽反応にはNK1およびNK2両受容体の関与が示された。このことより, 咳嗽反応におけるNK2受容体の役割については気道収縮との関連は否定できなかったが, NK1受容体については気道収縮とは直接関係がないことが示唆された。また, NK類の神経終末からの遊離にはCa²⁺の流入が必須であり, この機構に関しても若干の検討を加えた。N型Ca²⁺ channel を選択的に阻害する ω -conotoxin GVIAはe-NANC神経による気道反応を抑制し, この作用は実際にNK遊離阻害に基づくことが示唆された。このような薬物は今後のe-NANC神経機能解析の新たな手段となるものと考えられる。

SII-4. 興奮性非アドレナリン非コリン神経の気道疾患への関与

東北大学医学部第一内科
一ノ瀬正和、三浦元彦、戸蒔雅文、白土邦男

気道平滑筋のトーンはいくつかの自律神経によって調節されている。この中でも興奮性非アドレナリン非コリン神経（解剖学的には知覚神経にあたる）は、サブスタンスP (SP), NKA を伝達物質（逆行性に気道に放出され機能する）とし、気道平滑筋収縮、分泌、気道血管拡張及び透過性亢進など、多彩な作用を示す。この神経の機能亢進が、喘息や慢性気管支炎等の炎症性気道疾患に関与していることが推定され、これまで多くの動物モデルでの検討がなされてきた。しかし、ヒト気道でのこの神経の機能については、報告が極めて少ない。今回は、興奮性非アドレナリン非コリン神経がどこまで、気道疾患に関与しているか、我々の教室のヒトでのデータを中心に述べ、本神経のヒト気道での重要性を強調したい。

高張食塩水吸入による誘発痰は、気道内腔に存在する物質を得るのに有用である。本法により気道のSP含量を測定すると、喘息及び慢性気管支炎患者では健康人に比べ有意に高い値であった。さらに、SP含量が高いほど、気道閉塞程度が高度あり、これら炎症性気道疾患では、興奮性非アドレナリン非コリン神経の機能亢進が気道の閉塞機転に関与していると示唆された。ブラジキニンは、喘息患者では気道狭窄をおこし、その機序として興奮性神経系の関与が考えられている。タキキニン受容体 (NK1, NK2) 拮抗剤前投与は、ブラジキニンによる気道狭窄反応及び咳を有意に抑制した。つまり、喘息気道で実際、軸索反射を介したペプチドの放出が起り、気道狭窄や咳をひき起こすと考えられた。さらに、NK1 受容体拮抗剤は、運動誘発喘息を有意に抑制した。

SIII-1. 大腸全摘術における回腸嚢造設の意義

近畿大学第1外科

香山仁志、康謙三、塚本義貴、杉本憲志郎、孫永煥、富室哲也、丸山貴正、安富正幸

【目的】回腸肛門吻合術における回腸嚢造設の意義を明らかにするため、大腸全摘術を作成し、J-pouch吻合と端々吻合との消化管運動機能および形態学的変化を比較検討した。

【方法・結果】成犬を用い、肛門側は腹膜反転部から3cmの直腸で切離して、大腸全摘術し、回腸直腸端々吻合群(E-E群)とJ-pouch直腸吻合群(J-P群)を作成した。①：術前後に試験食とバリウムを摂取させ、透視下にて腸管通過時間を測定した。術前の165分に対し、術後1カ月ではE-E群101分、J-P群110分と短縮したが、術後6カ月ではE-E群138分に対し、J-P群189分と延長した。②：術後6カ月目にSGを胃×2、空腸×2、回腸またはJ-pouch×4の8カ所に縫着し、覚醒下の運動を記録した。対照として無処置犬の同部位にSGを縫着した。胃食後空腹期パターン停止時間(胃DIMC)は、対照11.9hに対し、E-E群21.4h、J-P群20.9hで延長し、空腸および回腸DIMCは対照群10.3h・8.8h、E-E群10.6h・11.0hに対し、J-P群15.4h・15.1hと有意に延長していた。空腸から回腸へのIMCの伝播率は、E-E群98.6%に対しJ-P群64.8%と低下していた。回腸からJ-pouchへのIMCの伝播率は74.2%で、伝播してもamplitudeの小さい波形であった。③：回腸末端をHE染色し、villiとcrypt長を測定した。villi長は正常対照0.38mm、E-E群0.34mm、J-P群0.41mmで差はなく、crypt長は対照0.34mmに対し、E-E群は0.27mmと短縮し、J-P群は0.59mmに延長していた。回腸のPYY分泌細胞数(回腸末端から120cmまでの7カ所の総和)は、対照103、E-E群111に対し、J-P群168で増加していた。

【結語】回腸嚢造設により腸管通過時間の延長が得られた。運動機能からはIMCの伝播率の低下と各部位でのDIMCの延長およびJ-pouchでのIMCの発生数の減少がみられ、吸収と便貯留に有利に働いていると考えられた。この運動変化には回腸でのPYY細胞数増加の関与が示唆された。

SIII-2. 胃・小腸運動機能からみた回腸肛門吻合術後soiling症例の検討

日本大学第一外科

富田涼一、五十嵐誠悟、宗像敬明、萩原紀嗣、滝沢秀博、阿部義藏、丹正勝久

目的：潰瘍性大腸炎(UC)や大腸腺腫症(AC)に対するJ型回腸嚢肛門吻合術後の胃・小腸運動機能を検討した。対象：UC8例とAC4例(男8例、女4例、14-56歳、平均39.6歳)の計12例(術後1.5年以上経過)である。soiling(+)は5例(A群)、soiling(-)は7例(B群)で、対照(C群)は体表手術例18例(男10例、女8例、19-69歳、平均49.3歳)を用いた。方法と成績：1)胃排出機能検査：a)半固形食排出能(アイトープ法)では、全粥200g+鶏卵1個に^{99m}Tcスズコロイド1mCiを混和し、経口摂取させた直後を0分として、胃に関心領域を置き120分間カウントし、排出曲線を算出した。胃内残存率50%時間は、A群50.7±24.4、B群54.5±16.1、C群51.2±13.4分で差はなかった。120分胃内残存率は、A群19.4±10.9、B群20.5±8.8、C群18.8±10.0%で差はなかった。b)液体食排出能(アセトアミノフェン法)では、オレンジジュース250mlにアセトアミノフェン1gを混和し飲用後15分間隔で、90分までの血中アセトアミノフェン濃度を全血中濃度測定システムで測定した。45分値では、A群5.3±1.4、B群5.8±1.8、C群10.7±2.4μg/mlでA、B群はC群より有意に低値を示した(p<0.01)。血中濃度ピーク時間は、A群87.0±6.7、B群68.6±14.6、C群51.4±11.8分でA群はB、C群より有意に遅かった(p<0.05)。2)消化管通過時間測定(マーカー法)：放射線非透過性マーカーを経口摂取後、小骨盤(J型回腸嚢)までの半量通過時間はA群2.7±1.4、B群5.8±1.3、C群(パーフィン通過時間)6.4±1.6時間でA群はB、C群より有意に短かった(p<0.05、P<0.01)。体外排泄までの半量通過時間はA群9.1±3.7、B群8.5±14.1、C群33.4±4.7時間でA、B群はC群より有意に短かった(p<0.001)。結論：胃排出機能については、半固形食ではA、B、C群に差がなかったが、液体食ではA群で明らかに排出遅延を認めた(水溶性下痢防止の生体順応現象?)。全消化管通過時間は、A群ではB群より小骨盤(回腸嚢)までは明らかに早かったが、体外排泄時間には差がなかった。soiling発生には、直腸肛門機能低下(今まで報告して来た)にJ型回腸嚢までの小腸通過時間の短縮(小腸運動亢進)が、大きく関与している可能性が示唆された。

SIII-3. W型回腸囊の内圧、経皮的筋電図による術後機能評価の検討

新潟大学医学部外科学第一教室¹、同生理学第二教室²

長谷川潤¹、丸田智章¹、渡辺直純¹、島村公年¹、畠山勝義¹、本間信治²

(序)潰瘍性大腸炎(以下UC)に対する手術として当施設では大腸全摘、W型回腸囊による再建を行っている。回腸囊の機能を考察するため回腸囊内圧、経皮的電気活動の測定を行った。

(方法)食事およびバルーンによる負荷前後で傍仙骨部及び恥骨上縁部の電極にて電気活動を記録し、同時にinfused open tip法を用い肛門縁より12cmと9cmの回腸囊内圧を記録し、最大エントロピー法による周波数解析を行いスペクトルの平均加算を求めた。また、回腸囊の最大拡張容量、コンプライアンスも同時に求めた。

(結果および考察)回腸囊より口側の電気活動を反映していると思像される恥骨上縁部皮膚上の電気活動(9-10cpm)の食事負荷前後のpower ratioは、(1)術後期間と(2)排便機能臨床スコアに、ことに、臨床スコアの細目中、discriminationと有意に相関した。このpower ratioの増大は回腸囊と肛門管への内容物の輸送促進を意味すると想像され、輸送促進により便とガスの識別が可能となるものと想像される。また、回腸のBERに相当すると考えられる7~10cpmの間の最大powerを有するpeakの周波数に着目すると、排便機能臨床スコアとpeak周波数は有意に相関した。すなわち、腸管のBER頻度は術後期間とともわずかに減少し、このことが排便機能改善に寄与する可能性が示唆される。また、最初の排便切迫感を与える回腸囊容量(最小排便感容量)は、最大容量に比例し、回腸囊のコンプライアンスは最小排便感容量に正に相関した。

SIII-4. 直腸癌に対する低位前方切除術に伴う再建術式の検討—大腸通過時間および直腸肛門機能検査成績の比較

獨協医科大学越谷病院外科

小松淳二、大矢正俊、石井裕二、高瀬康雄、石川 宏

直腸癌に対する低位前方切除術(LAR)術後の大腸運動機能及び排便機能を、ストレート型再建とJ型結腸囊再建との間で比較検討した。【X線不透過マーカーによる全大腸・大腸区域通過時間の検討】術後6ヶ月以上経過したストレート型再建19例(XS群)、J型結腸囊再建10例(XJ群)との間で比較した。健常者10例(XC群)を対照とした。XJ群についてみると、右側大腸通過時間はXC群に近く、全大腸通過時間と横行結腸の通過時間はXS群とXC群の間、下行結腸とS状結腸直腸の通過時間はXS群と同等でXC群より延長傾向にあった。【Scintigraphic defecographyによる便排泄能評価】吻合部が肛門縁から4cm超でストレート型再建のLAR症例11例(SS-1群)、4cm以内でストレート再建の超低位LAR症例4例(SS-2群)、4cm以内のJ型結腸囊再建例10例(SJ群)を対象とし、健常者12例(SC群)を対照とした。注入R I ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$)の排泄率、注入R Iの半量が排泄されるまでの時間(T1/2)、直腸肛門角の3項目を計測した。SS-1群では排泄率、T1/2とも良好であり、SS-2群、SJ群ではSC群に比べ排泄率の低下、T1/2の延長が認められた。【直腸肛門内圧および直腸肛門感覚の測定】ストレート型再建15例(MS群)、J型結腸囊再建17例(MJ群)を対象に肛門管最大静止圧、最大随意収縮圧、機能的肛門管長、直腸拡張感覚閾値、直腸最大耐容量(MTV)、肛門管粘膜電流感覚閾値(AMES)の6項目を測定した。MJ群においてMS群に比べMTVが有意に大きく、AMESが高値であった。【結論】1) J型結腸囊再建では大腸通過時間がストレート型再建よりも短く、大腸の便輸送能が良好である。2) ストレート型、J型結腸囊といった再建法にかかわらず、超低位吻合例では便排泄能の低下が認められた。3) J型結腸囊再建では直腸最大耐容量が大きくストレート型再建よりも便貯留能が優れていた。

SIII-5. 筋層切開貯留能形成付加低位前方切除術後の直腸肛門機能

— 結腸、直腸肛門運動機能からみた —

三重県立看護短期大学

天野信一

直腸癌に対する低位前方切除術後の排便異常の早期回復に、蠕動運動低下を目的に筋層切開・筋層片縫着による筋層切開貯留能形成を付加した術式を試み、結腸・直腸肛門運動機能について検討した。

【対象と方法】Rb 腫瘍 7例 (年齢 61.6 ± 11.6 歳、mp 5例 sm 2例、N₀ P₀ H₀ M₀ stage I、D₂ リンパ節郭清、自律神経温存、残存直腸 0-4cm 平均 1.1 ± 1.6 cm) 術後 2-6年を対象とした。筋層切開貯留能形成は下行結腸断端 4cmから 20cm筋層縦切開、近位S状結腸から採取した 3X20cm筋層片を逆蠕動方向に縫着して行った。内圧測定は GR800 消化管運動機能測定装置、micro-tip transducer (Gaelt社製) を用い、直腸肛門内圧では直腸肛門管静止圧、直腸肛門反射、直腸コンプライアンス値、直腸の圧感受性、安定性を、結腸内圧はレ線造影下に測定した。排便は坐位にて排泄状態を観察した。臨床評価は排便回数、便ガス識別、睡眠中排便、下着汚染、残便感、下剤服用の 6項目を 0-16点で評価した。

【結果】1.臨床評価：術後 3ヶ月までは頻便 失禁を認め 7.8 ± 3.2 点であったが、1年以降は 15.3 ± 1.0 点と日常生活に問題を認めなくなった。2.内圧測定：肛門管内圧、長さは経過中低値を示したが直腸内圧、律動収縮波数に異常を認めず、直腸肛門反射を全例に認めた。便意発現最小量、最大耐容量は術後 1年以降は術前値に近づき 直腸コンプライアンス値も術後 3,6ヶ月は $1.3 \pm 1.0, 1.6 \pm 1.2$ ml/cmH₂Oと低く、1,2年では $4.2 \pm 2.5, 5.6 \pm 2.1$ と術前の 6.2 ± 2.7 に近づき、直腸も安定化した。直腸結腸内圧は術後 1年までは収縮波が頻発 不安定であったが、2年を経過すると安定化した。3.排便造影：造影剤の漏れを 3ヶ月時は認めたが 6ヶ月以降は認めず、2年以降は貯留能、排泄能共良好となった。

【結語】筋層切開貯留能形成付加低位前方切除術は、歯状線での吻合においても肛門機能を損うことなく、端々吻合の良好な排出能に加え、新直腸の貯留能獲得と安定化に有効な方法と考えられた。

SIII-6. 直腸癌低位前方切除術後の Ileo-colonic Interposition Pouch (IIP)による再建術

長崎大学医学部第一外科

中越 享、澤井照光、辻 孝、黒崎伸子、綾部公懿

【目的】直腸癌低位前方切除術における straight 型結腸肛門(管)吻合術後の排便障害を軽減する目的で考案された colonic J-pouch の問題点は、denervation されたS状結腸を使用すること、十分な長さの結腸を必要とし、さらに左側結腸の十分な授動が必要なことにある。また、低位前方切除後の排便障害に吻合部口側の大腸運動異常が深く関与しているとの報告もみられる。我々は下行結腸と残存肛門(管)との間に、denervation されていない ileocecal segment を interposition する pouch 手術(IIP 型)を行っているので成績を報告する。【対象と方法】IIP 型 8 例と straight 型 19 例(1995-1996 年)を臨床像と排便機能(①排便回数、② SITZMARKS[®]による colonic transit time、③ manometric study)について比較検討した。【結果】臨床病理学的因子・手術合併症については差を認めなかったが、手術時間では straight 型の 227 ± 71 (平均±SD)分と比較し、IIP 型の方が 351 ± 30 分と長い手術時間を要した。術後 1月/3月/6月/12月/24月での排便回数は、IIP 型では平均 9.3/6.3/5.1/4.7/3.9(回/日)、straight 型では平均 12.2/8.3/6.0/5.2/4.8と、IIP 型の方が少ない傾向を示した。SITZMARKS[®]による colonic transit time では、半量排出時間が IIP 型では 31.2 ± 17.6 (平均±SD)時間、straight 型では 61.9 ± 38.8 、健常成人では 28.8 ± 9.5 と、IIP 型は健常人に極めて近い値を示した。また、区域通過時間でも同様の結果を得た。manometric study では、resting pressure、maximum resting pressure、maximum squeeze pressureとも両者に差を認めなかった。【結語】直腸癌低位前方切除術における IIP による再建術の特徴は、欠点として手術侵襲が大きいことがあげられるが、① pouch への nerve supply が温存される、② 左側結腸の授動が不必要、③十分な長さのS状結腸が不必要、④ pouch wall が intact、⑤ diverting colostomy が不必要であり、colonic J-pouch の不利な点を示さない有用な pouch 手術であると考えられる。

SIV-1. 平滑筋収縮機構におけるカルモジュリン局在の重要性

東京大学 大学院農学生命科学研究科 獣医薬理学教室
堀 正敏

平滑筋の収縮は、細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) の増加に伴ってカルモジュリン (CaM) が Ca^{2+} /CaM 複合体を形成し、ミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) に結合してこれを活性化し、ミオシン軽鎖 (MLC) を磷酸化し、アクチンとミオシンが相互作用を生じることによる (ミオシンの磷酸化説)。しかし、fura-2 や indo-1 などの Ca^{2+} 蛍光指示薬を用いた収縮と $[Ca^{2+}]_i$ の同時測定の結果から、受容体作動薬による Ca^{2+} 感受性増加が明らかにされた。その後、この収縮の Ca^{2+} 感受性増加作用の少なくとも一部は MLC の磷酸化の Ca^{2+} 感受性増加によることが明らかにされた。MLC の磷酸化は MLCK 活性とミオシンホスファターゼ (MPPase) 活性のバランスで制御されることから、MLC の磷酸化の Ca^{2+} 感受性増加作用機序として Ca^{2+} 当たりの MLCK の活性増強と MPPase の活性低下が考えられ、これら両者を調節する制御系の研究がなされている。

CaM は分子量 16.7 kD の 4 つの Ca^{2+} 結合部位をもつ蛋白質で、平滑筋細胞内には約 40 μM 存在する。CaM は平滑筋細胞内に過剰に存在し、しかもその大部分は細胞質内に遊離した状態で存在すると考えられてきたため、 $[Ca^{2+}]_i$ の最大値が μM 程度であることとあわせると MLCK の細胞内での活性制御は、 $[Ca^{2+}]_i$ の増減によって制御されると考えられてきた。しかし、平滑筋生細胞内における遊離 CaM 量についての知見はなかったことから、我々は Fluorescent Recovery After Photobleaching (FRAP) の手法を用いて、平滑筋細胞内における CaM の細胞内分画について検討した。その結果、静止状態での平滑筋細胞内における遊離 CaM 量は全体の 5% (2 μM) 以下であり、その大部分は結合型として存在していることが示唆された。さらに、この遊離 CaM 量は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇に伴って増加することが明らかにされた。以上の成績は、これまで Ca^{2+} /CaM 依存性の生理機構が全て Ca^{2+} によってのみ制御されるという概念を修正しなくてはならないことを意味している。すなわち、細胞内における CaM はこれまで考えられてきたものよりわずかな量しか遊離型として細胞質内に存在しないため、 $[Ca^{2+}]_i$ が一定であっても遊離 CaM 量が変動することにより Ca^{2+} /CaM 複合体形成量は変化し、それに伴って MLCK の活性も変化すること、そしてこれが Ca^{2+} 感受性増加の一つの機構であることが示唆された。従って、平滑筋収縮の制御機構において、細胞質内の遊離 CaM 量の変動による MLCK 活性の調節が重要である可能性が示唆された。(本研究はテキサス大学、サウスウエスタンメディカルセンター、生理学教室の Dr. Luby-Phelps との共同研究としておこなった)

SIV-2. 平滑筋ミオシン脱リン酸化酵素調節サブユニットの構造と機能

九州大学医学部附属心臓血管研究施設分子細胞情報学部門
平野 勝也

【背景】平滑筋の収縮弛緩反応においては、同じ細胞質カルシウム濃度上昇に対する発生張力が用いた刺激の種類により異なる、すなわち、収縮のカルシウム感受性が変化する。カルシウム感受性が変化する場合にはミオシン軽鎖のリン酸化レベルの変化を伴う場合がある。ミオシン軽鎖のリン酸化レベルは、リン酸化酵素活性と脱リン酸化酵素 (MLCP) 活性のバランスにより決定されるが、脱リン酸化反応の調節機構は明らかではない。MLCP は、130kD (M130)、38kD (PP1c)、20kD (M20) の 3 つのサブユニットにより構成されている。M130 と M20 は調節サブユニットである。MLCP の調節機構を明らかにする上で、M130 の構造と機能の相関を明らかにすることは特に重要である。【方法】PP1c 結合、ミオシン結合、および基質特異性調節に関わる M130 の領域を、two-hybrid system、脱リン酸化酵素活性測定、ゲルオーバーレイ法を用いて決定する。【結果】(1) 3 つのサブユニット間の結合を two-hybrid system を用いて解析した。M130 の N 末端 633 残基 (1-633) の領域は PP1c と結合した。M20 は M130 の C 末端の領域 (514-963) と結合することが示唆された。(2) 領域 (1-633) は PP1c ミオシン軽鎖に対する酵素活性を増強した。(3) 種々の領域を欠損する変異 M130 (1-633) を作製し、PP1c あるいはミオシンとの結合を解析した。M130 と PP1c の結合を two-hybrid system を用いて解析した。領域 (1-38) が PP1c と結合する最小の領域であった。M130 とミオシン軽鎖との結合をゲルオーバーレイ法により解析した。171-296 の領域を含む場合に変異 M130 はミオシン軽鎖と結合した。(4) ミオシン軽鎖に対する PP1c の酵素活性の増強は、PP1c 結合領域、ミオシン軽鎖結合領域に加えて、297-374 の領域を有する変異 M130 において認められた。【結論】M130 の N 末端側は、PP1c とミオシン軽鎖に結合し、PP1c のミオシン軽鎖に対する酵素作用を増強した。PP1c との結合には N 末端の 38 残基が、ミオシン軽鎖との結合にはアンキリン類似領域が重要である。

SV-1. 胃全摘術後における再建空腸運動—空腹期と食後期について

日本大学第一外科

富田涼一、滝沢秀博、阿部義蔵、丹正勝久、宗像敬明

胃全摘術後における食道空腸 Roux-en Y 吻合術 (A群) や空腸間置術 (B群) などの再建術後では、早期ダンピング症候群、逆流性食道炎などの発生をまねき、術後QOLの低下を認めることが多い。そこで、早期癌で胃全摘術を余儀なくされる症例に対して、QOLの向上を目指して、早期ダンピング症候群の予防に幽門輪温存、逆流性食道炎の予防のためさらに下部食道括約筋 (LES) 温存を付加、生理的食物通過ルート確保に有茎空腸間置を行う下部食道括約筋・幽門輪温存胃亜全摘術兼空腸間置術 (C群) を行っている。今回、これら術式での再建空腸運動を中心に検討した。対象：術後5年以上経過した早期癌手術症例 (リンパ節郭清D2、根治度A) 33例 (男性21例、女性12例、26-74歳、平均59.1歳) で、A群12例、B群12例、C群9例である。対照 (D群) は健康人男性10例 (28-61歳、平均49.1歳) を用いた。方法と成績：1) 問診；早期ダンピング症候群はA群25%、B群16.7%、C群0%で、A、B群がC群より多かった。逆流性食道炎症状はA群40%、B群33.3%、C群0%でA、B群が有意にC群より多かった ($p < 0.05$)。2) 再建空腸空腹期強収縮帯 (IMMC) 測定 (圧トランスデューサー法)；陽性率はA群50%、B群66.7%、C、D群100%でA、B群が有意にC、D群より低かった ($p < 0.05$)。3) 再建空腸 (代用胃) 内容排出率測定 (アイトープ法)； $^{99m}\text{Tc}1\text{mCi}$ を全粥200g+鶏卵1個に混和して経口摂取させ、残存率50%時間を測定した。A群 31.3 ± 14.1 、B群 25.7 ± 7.8 、C群 45.3 ± 10.6 、D群 47.8 ± 8.4 分でA、B群が有意にC、D群より早かった ($p < 0.01$)。4) LES圧測定 (open-tip法)；A群 6.9 ± 2.9 、B群 6.4 ± 3.1 、C群 10.9 ± 1.5 、D群 $20.8 \pm 5.1\text{mmHg}$ でA、B群ではC、D群より、またC群ではD群より有意に低下していた (それぞれ $p < 0.01$)。結果：早期ダンピング症候群、逆流性食道炎はA群よりB群に少なく、C群では認めなかった。また、C群ではIMMC出現率 (空腹期再建空腸運動)、代用胃内容排出能 (食後期再建空腸運動)、LES圧なども生理的狀態に近い再建術式であった。

SV-2. 下部食道括約筋 (LES) 温存胃全摘術により逆流性食道炎を予防できるか？

広島大学原医研腫瘍外科

山下芳典、平井敏弘、向田秀則、桑原正樹、井上秀樹、峠 哲哉

逆流性食道炎の防止を目的として、根治性に問題がない症例であれば口側断端に関する縮小手術が可能と思われる。腹部食道を剥離した後に迷走神経は温存し食道裂孔を操作することなく、lower esophageal sphincter (以下、LES) を温存して、食道胃接合部で切除する胃全摘術を考案した。

ビーグル犬を用いた動物実験では、LES温存群、非温存群を設定した。高位で食道を切除したLES非温存群のLESは消失したが、LES温存群ではmanometryにより、23.9 mmHgのLES圧が確認できた。術後6週の剖検においてはLES非温存群にのみ下部食道の広範な粘膜欠損を認めた。以上から、外科的にLESの温存は可能であり、逆流防止対策となりうる事が示唆された。

次に、54例の胃全摘術が施行されたCを腫瘍主占拠部位とする胃癌症例を用い手術適応について検討した。その結果、腫瘍口側縁から食道胃接合部までの距離を、N(-)で2 cm以上、N(+)で3 cm以上離し、食道胃接合部で胃粘膜を遺残させないように切除すれば安全であると思われた。

現在までにLES温存胃全摘術の臨床例26例を経験した。術中manometryが可能であった14症例では、開腹時に認められた平均LES圧11.9 mmHg (平均LES長：3.8 cm) は、再建後には12.1 mmHg (3.4 cm) の昇圧帯を認めることができた。長期的にも8例がmanometry上、8.6ヶ月目に平均18.8 mmHg (2.8 cm) のLESを確認している。逆流症状の有無と食道内視鏡所見の長期follow upが可能であった症例は15例あり、同時期に施行されたLES非温存胃全摘術の22症例と比較した。LES温存群では逆流症状を有した症例は4/15 (27%) あり、内視鏡上は色調変化型が2/15 (13%) であり、びらん・潰瘍型が1/15 (7%) であった。一方、LES非温存群ではそれぞれ7/22 (32%)、7/22 (32%)、4/22 (18%) であった。

LES温存胃全摘術は臨床例においても術後の消化液の食道逆流の防止に有用であることが示唆された。

SV-3. RI胃排出試験を用いた胃全摘後空腸pouch造設再建法の検討

関西医科大学第2外科

明平圭司、中根恭司、井上健太郎、佐藤睦哉、奥村俊一郎、岡村成雄、日置紘士郎

目的：教室では胃全摘後の再建腸管（代用胃）の機能評価にRI胃排出試験を用いており、今回、空腸pouchを造設した再建術において、その排出パターンと術後愁訴、食事摂取量、体重などとの関連性について検討した。

対象・方法：年齢70歳未満で肝硬変、糖尿病、心疾患およびstage IVを除く胃全摘症例のうち、再発徴候がなく1年以上経過し、胃排出試験を行った37例を対象とした。再建方法は、Roux-Y (RY)法が8例、pouchRoux-Y(PR)法が15例、pouch interposition (PI)法が5例、modified pouch interposition (mPI)法が9例であり、試験食は^{99m}Tc-DTPA添加粥食(200g)を用い、摂取直後から60分まで経時的に立位腹側正面より測定した。術後愁訴、食事摂取量などの調査は問診にて行った。

結果：各再建術式での摂取直後の平均停滞率をみると、RY法に比較してpouchを造設した各再建法において有意に高く、貯留能があるものと判断された。また60分後の停滞率みると、PI法で50%と有意に高値を示した。胃排出パターンは、①rapid type ②intermediate type ③delayed type の3typeに分けられ、食後愁訴、食事摂取状況との関係をみると、delayed typeに食後のつかえ感などを訴える例が多く、intermediate typeに最も良好な結果を得た。再建法別ではintermediate typeの占める割合は、mPI法に最も多く、次いでPR法であった。

結語：RI胃排出試験は、胃全摘後の代用胃の機能評価に有用であった。排出パターンでは、intermediate typeが最も良好な結果を示した。代用胃の機能は、貯留能だけでなく排出能とのバランスが重要である。

SV-4. 胃全摘術後の回結腸間置法再建 (ICI再建) における挙上結腸の運動機能について

慈恵医大外科学講座第2

中田浩二、向井英晴、羽生信義、志賀由章、森田茂生、橋本慶博、梶本徹也、

西川勝則、梁井真一郎、宮川 朗、山本 尚、古川良幸、高山澄夫、青木照明

胃全摘術後のダンピング症状や栄養障害を軽減するために、代用胃を作成し貯留能をもたせる再建術式の工夫がなされている。教室では、ICI再建を行い胃の貯留排出能を代償することにより、胃手術後障害が軽減されることを報告してきた。[目的] 今回われわれは、臨床例におけるICI再建後の代用胃の貯留排出能を術後早期と後期についてRI法を用いて測定するとともに、慢性犬を用いた動物実験において挙上結腸の収縮運動様式を観察し、ICI再建後の運動機能について検討した。[方法] ICI再建が行われた胃癌患者のうち術後早期（約1カ月）5名と後期（6カ月以上）5名、健常人7名にRI固形食を用いた胃排出能検査を行った。また、胃全摘術後にICI再建を行った慢性実験犬（4頭）を作成し、SGT法により空腹期と食後期の挙上結腸の収縮運動を観察した。[結果] ICI再建後早期では試験食摂取量の減少と排出亢進がみられ代用胃としての機能は十分ではなかったが、ICI再建後後期では全例で試験食の全量摂取が可能であり、健常人と近似したゆるやかな排出動態がみられた。挙上結腸の運動様式は健常胃と近似し、空腹期には通常の大腸収縮波群に加えて強収縮様の収縮波群が観察され、また、食後期にはreceptive relaxation様の基線の低下と持続する不規則な小収縮波群の出現がみられた。[結論] ICI再建の術後早期では摂取量の減少や排出亢進がみられ、この時期の代用胃は機能的に十分ではなかったが、術後後期では摂取量の増加と緩徐な排出動態を示し、貯留排出能の経時的な改善とダンピング症状などの術後愁訴の改善との間に相関がみられた。ICI再建後の挙上結腸には空腹期、食後期ともに健常胃に近似した運動様式が観察された。空腹期の強収縮様収縮の出現により代用胃内の清浄化が、また、食後期の受容性弛緩と持続する小収縮により十分な貯留能と代用胃内での食物の攪拌および緩徐な排出が期待されることから、ICI再建は消化管運動機能の面から合理的な再建術式と考えられた。

SV-5. 胃全摘順蠕動性横行結腸間置術後の再建腸管運動

群馬大学医学部第一外科、群馬大学生体調節研究所*

持木彫人、鈴木秀樹、芳賀紀裕、竹之下誠一、細内康男、長町幸雄、伊藤 漸*

(目的) 胃全摘後の再建腸管には異常運動が多く、術後愁訴の原因の一つとされている。そこで胃全摘順蠕動性横行結腸間置術施行症例に対し、再建腸管運動を測定検討した。(方法) 胃癌で胃全摘順蠕動性横行結腸間置術を受けた患者21名を対象とした。腸管運動の測定は内圧測定法により、12時間の絶食後、測定孔を食道(2カ所)、間置結腸(2カ所)、十二指腸(1カ所)に留置し行った。測定の条件は、安静時(60分間)、3分間隔3回の空嚥下、10分間隔での30 ml蒸留水の経口摂取(3回)、及び10分間隔での30 ml流動食の経口摂取(3回)をさせ行った。また、検査前に、胸やけや逆流等の術後愁訴を質問し、間置結腸運動との関連性を検討した。(結果) 間置結腸は各刺激後に蠕動波が観察され、High amplitude propagated contraction (HAPC, amplitude > 100 cmH₂O)、Low amplitude propagated contraction、Low amplitude non-propagated contractionの3種類に分類された。蒸留水や流動食の嚥下後にHAPCsが発生する頻度が高かった。間置結腸収縮の逆蠕動は観察されなかった。間置結腸の収縮能は、蒸留水および流動食の経口摂取後に有意に増加していたが、栄養素の有無による差は認められなかった。各刺激後の収縮波の伝播を観察すると、空嚥下では85.7%が食道収縮を引き起こすのみであったが、蒸留水や流動食の経口摂取では、約40%が間置結腸を越え十二指腸まで伝播が生じた。間置結腸収縮と臨床症状の関連を検討してみると、逆流症状を有する患者で間置結腸の収縮能が低下していた。(結論) (1) 間置結腸は正常な大腸と同様な収縮波形態を示し、3種類に分類された。(2) 間置結腸は水や流動食の経口摂取によって収縮能が増加し、栄養素の有無による差は認められなかった。よって間置結腸は、内容物の圧刺激(volume)によって mechanoreceptor を介して収縮すると考えられる。(3) 間置結腸収縮は、十二指腸よりの逆流物を排出する作用があると考えられる。

SV-6. 幽門輪温存腓頭十二指腸切除術における胃幽門輪運動の基礎的検討

広島大学第2外科¹、因島市医師会病院外科²、広島大学第1内科³豊田和広^{1,2}、岡島正純¹、小島康知¹、有田道典¹、小林理一郎¹、島谷智彦³、川堀勝史¹、浅原利正¹、土肥雪彦¹

[はじめに] 臨床において幽門輪温存腓頭十二指腸切除術(以下 PPPD)が盛んに行われているが、胃幽門括約筋の機能がどの程度温存されているかについての基礎的検討は十分には行われておらず、特に幽門輪の開閉についての報告はほとんどない。われわれは、これまで strain gauge force transducer(以下 SG)法を用いて正常犬および PPPD 犬の胃幽門輪の開閉運動を評価し報告してきた。今回当シンポジウムに際し、総括し報告したい。

[方法] 雑種成犬を用い、正常犬および PPPD 犬の前庭部、幽門輪などに SG を縫着した。全身麻酔下に胃内視鏡を挿入し、SG による記録と幽門輪の開閉運動との相関を記録した。また、意識下においては空腹期および薬物投与下での運動を記録した。

[結果] 麻酔下の実験では幽門輪の SG による記録が基線より下方に振れるとき、幽門輪が弛緩し開くことが確認できた。意識下の実験では正常犬、PPPD 犬において SG 法で幽門輪特有の運動が記録できた。正常犬においては周期的な幽門輪の開大を伴う phase III が記録されたが、PPPD 犬では phase III 様の運動が記録されたものの、典型的な周期的なものではなかった。しかし、erythromycin 投与もしくは Leu¹³-motilin 投与により誘発された phase III 様の運動は正常犬、PPPD 犬いずれも幽門輪の弛緩を認めほぼ同じであった。

[結語] 動物実験において SG 法は幽門輪の運動評価に有用である。PPPD 犬では典型的な phase III は記録されないが、erythromycin 誘発および Leu¹³-motilin 誘発 phase III 様運動で胃前庭部の強収縮に同期して幽門輪が開くことが示された。

SV-7. 幽門輪温存腓頭十二指腸切除後の胃分泌および胃運動機能

岩手医科大学第一外科

旭 博史、斎藤和好、大森浩明、伊藤浩信、清水光昭、島田 裕、佐々木亮孝

【目的】全胃幽門輪温存腓頭十二指腸切除(PPPD)では術後の吻合部潰瘍の発生、術後早期の胃排出障害等の問題点が指摘されている。そこで、PPPD術後症例の胃分泌、運動機能を中心に検討した。

【対象と方法】対象はPPPD後20例、胃切PD後5例で平均年齢は64歳。PPPDはTraverso変法、PDは今永法で再建を行った。術後退院時にMicroDigitrapper(Synecotics社製)による24時間胃内圧・pH測定、RI胃シンチグラムによる胃排泄時間(T1/2)、食事負荷による血中消化管ホルモンの測定を施行した。

【成績】PPPDでは胃内pHは平均2.9で、pH4以下の時間が70%、PDでは胃内pHは高くpH4.3、42%であった。PPPDで十二指腸温存長を1、2、3cmの3群に分け比較すると、1cm群1.6、2cm群2.7、3cm群3.1で、温存長が短いほど胃内pHが低くなる傾向がみられた。胃内圧はPPPDでは体上部で27mmHg、体下部36、幽門洞31、PD後の残胃内は24mmHgであった。PPPDの9例に不規則であるが空腹期強収縮運動(IMC、phase III)を認め、術後70病日以上経過した症例が多かった。PD後の残胃にはIMCが出現しなかった。術後早期には胃内容排出遅延を示す症例が多くみられた。胃排泄時間(T1/2)は全粥食ではPPPD後が54分、PD後が47分。固形食(ホットケーキ)ではPPPD後が96分、PD後が101分といずれも遅延を認めた。食事負荷後2時間のガストリン、セクレチン、CCKの累積反応量はPD後に比べPPPD後で良好であった。

【まとめ】PPPD、PD術後はいずれも胃排出時間の遅延がみられた。しかし、PPPD後はPD後に比べ、胃運動機能、胃分泌、消化管ホルモン反応量は良好に保たれ、より優れていた。

SV-8. 全胃幽門輪温存腓頭十二指腸切除術後の胃内容停滯の原因とKW-5139の効果

九州大学第一外科

松永浩明、成富 元、宇都宮成洋、竹田虎彦、許斐裕之、横畑和紀、

山口幸二、千々岩一男、田中雅夫

【目的】我々は全胃幽門輪温存腓頭十二指腸切除(PPPD)術後の胃内容停滯は胃のMMCのphase 3の有無が関与していると考え、PPPDと十二指腸温存腓頭切除術(DPPHR)後の胃のphase3出現までの期間と血中モチリン濃度を比較し、ヒト型モチリン(KW-5139)の胃内容停滯に対する効果を検討した。【対象と方法】1)手術時に胃前庭部に2本、幽門輪より15、35cm肛門側の空腸に2本の圧測定チューブを留置し灌流法で圧測定を行った。PPPD(今永法)9例、DPPHR6例を対象としPPPDとDPPHR後の胃のphase3出現までの期間を測定し、胃のphase3発生時においてDPPHRでは十二指腸、PPPDでは空腸にphase3が出現した時点での血中モチリン濃度を測定した。2)別のPPPD10例に対して術後14日目に対照として生食20mlを2時間おきに6回静注し、17、18日目にKW-5139(0.5 μ g/kg)を同様に投与し比較した。【結果】1)胃phase3出現までの期間を比較するとPPPD群では40.6 \pm 4.6日目、DPPHR群では18.8 \pm 4.3日目とPPPD群は有意に遅延した(p<0.05)。2)Phase3発生時のモチリン濃度を比較するとPPPD群では50.2 \pm 9.8pg/ml、DPPHR群では184.6 \pm 48.6pg/mlとPPPD群は有意に低値であった(p<0.05)。3)KW-5139投与後胃のみにphase3様の強収縮が生じた。4)Motility index(MI):KW-5139投与前後でMIは7.5 \pm 1.0から17.7 \pm 2.0と有意に増加した(p<0.001)。生食投与では7.3 \pm 1.1から7.1 \pm 1.3と変化はなかった(p=0.72)。5)胃液排出量:KW-5139投与前後で1387 \pm 157mlから934 \pm 142mlと減少したが(p=0.01)、生食投与では1175 \pm 140mlから1343 \pm 193mlと有意な変化がなかった(p=0.09)。

【結語】PPPDではモチリンの減少と胃のphase3の回復遅延が見られ、術後早期の胃内容停滯の原因の一つと考えられる。KW-5139投与はPPPD術後の胃内容停滯の改善に有効である。

SVI-1. ラット消化管弛緩と膜電位

大阪府立大学農学部獣医薬理学講座
竹内正吉、畑 文明

今までに、Wistar-STラットの消化管でのNANC性弛緩のメディエーターとその作用機序を調べ、以下のことが分かった。近位結腸縦走筋や直腸輪走筋では一酸化窒素(NO)がメディエーターとして働いており、その作用機序は膜電位非依存性、cGMP非依存性であり、細胞内Ca²⁺減少により弛緩を生じていることが示唆された。遠位結腸ではVIPがcAMP-PKA系を介し、Charybdotoxin-sensitive K⁺ channelを開口して、また、Pituitary adenylate cyclase activating peptideがTyrosine kinaseを介してApamin-sensitive K⁺ channelを開口して、そして、その結果として、細胞内Ca²⁺を減少させることにより、約半分ずつ弛緩に関与していることが示唆された。直腸縦走筋では一部Apamin-sensitive K⁺ channelを介して弛緩を生じているが、Charybdotoxin-sensitive K⁺ channelは関与していないこと、また、一部cGMP依存性であることが示唆された。一方、調べた全腸管部位で、cGMPはスキンド標本において濃度を増せば程度の差はあっても弛緩を生じること、NOは濃度を増せば軽度の過分極を生じること、電気刺激により生じるi.j.psはApaminにより著しく抑制されること、が分かった。以上のことから①外部から適用したNOによる膜電位の変化は弛緩に直接結びつかないこと ②電気刺激によるi.j.psへのApaminの作用は必ずしも弛緩とは結びつかないこと ③部位によりメディエーターと弛緩の機序は異なり、膜電位変化の弛緩への関与も異なること ④細胞内Ca²⁺の減少がラット消化管平滑筋のNANC性弛緩の主要な機構であること、が示された。

SVI-2. K⁺チャンネルオープナーと過分極弛緩連関

東北大学大学院医学研究科生体機能制御学講座分子薬理学
柳澤輝行

平滑筋のATP感受性K⁺チャンネル(K_{ATP})を開いて膜電位を過分極させるnicorandilなどのK⁺チャンネルオープナー(KCO)を用いて弛緩作用を得ることができる。我々はその弛緩機序の研究により、「過分極弛緩連関」という概念を提唱してきた。冠動脈で膜電位、[Ca²⁺]_i、張力を測定し、KCOであるlevcromakalim (レボ)等の血管拡張作用を検討した。30 mM KClにおけるレボの過分極、[Ca²⁺]_i減少、Ca感受性減少作用をふくむ弛緩作用はK_{ATP}チャンネル遮断薬のグリベンクラミドにより完全に遮断された。アゴニスト(histamine, serotonin, U-46619)の細胞外からのCa²⁺流入作用、ホスホリパーゼC (PLC)活性化によるIP₃の生成とIP₃受容体を通じてのCa²⁺ storeからのCa²⁺遊離作用、そして収縮蛋白系のCa感受性増加 (Ca sensitization) 作用を冠・脳底動脈においてKCOの過分極作用は全て抑制する。Ca²⁺流入抑制作用は主に、高KClと同様に、L型Ca²⁺チャンネルの開口確率を電位依存性に低下させる(脱活性化)ことによる。Ca²⁺ storeをryanodineで枯渇させL型Ca²⁺チャンネルをnicardipineで抑制してCa²⁺流入作用について検討した。レボはhistamineの収縮力は減少するがCa²⁺ permeable channelからのCa²⁺流入をむしろ増加した。KCOは過分極によるL型Ca²⁺チャンネルの脱活性化、Ca²⁺遊離抑制、Ca感受性減少作用によって発生張力を減少させる。電位非依存性Ca²⁺チャンネルを多く発現している組織においてもKCOは過分極弛緩連関により、たとえCa²⁺流入が減少しなくとも弛緩作用を生じることが示された。

一 般 口 演・ポ ス タ ー
(1~84)

1. 胃前庭部の櫛状発赤の成因に関する検討—前庭部収縮のかかわりについて—

広島大学第一内科

楠 裕明, 春間 賢, 畠 二郎, 山下直人, 花ノ木睦巳, 津賀勝利, 二神安弘, 谷 洋, 岡本英一, 藤村二郎, 吉原正治, 隅井浩治, 梶山梧桐

【背景, 目的】内視鏡検査が普及した現在において前庭部の櫛状発赤に遭遇する機会は少なくないが, その臨床的意義は不明な点が多い. これまで櫛状発赤は何らかの刺激が発生に関与していると思われてはいたが, 現在まで明確にその成因を解明した報告は認めない. 我々は以前より体外式超音波 (US法) を用いて, 液体試験食であるコンソメスープ負荷後の胃十二指腸運動を評価し報告してきたが, 今回前庭部の櫛状発赤を有する患者と有しない対象との間の胃十二指腸運動について検討した. 【対象】過去5年間に当科で上部消化管内視鏡検査と液体試験食負荷後にUS法で胃十二指腸運動を検討した症例のうち前庭部の櫛状発赤を認めた患者 (発赤群) 14例と認めなかった対象 (対象群) 14例であり, 対象群は発赤群に年齢と性別を一致させた. (男性 6例, 女性 8例, 平均年齢 49.5歳) 【方法】既報のごとくコンソメスープ400ml (13.1 kcal) 負荷後の胃十二指腸運動を, US法を用いて15分間観察した. 前庭部収縮能の評価は収縮率 (amplitude), 収縮回数 (frequency), motility index (MI) の3つを用いたが, amplitudeは幽門輪から3cm以内の前庭部での弛緩期と収縮期の面積変化率とし, frequencyは3分間の収縮回数, そしてMIはamplitudeとfrequencyを掛け合わせた値とした. DGRの評価は, カラーDプラで5分間に観察された逆流回数と, 各逆流における逆流シグナルの幽門輪からの到達距離 (cm) の積の合計を reflux index (RI) とし, これを用いた. 【結果】amplitudeとMIともに, 発赤群のほうが対象群より有意 ($p < 0.05$) に高値であった. frequencyとDGRに関しては発赤群と対象群との間に有意差を認めなかった. 【結語】前庭部櫛状発赤の成因に, DGRによる化学的刺激ではなく前庭部の強い収縮による物理的な刺激が関与していることが示唆された.

2. GER-like NUD(non-ulcer dyspepsia)の食道・胃運動機能的特徴

京都府立医科大学第三内科

加藤啓明 藤田真也 前田利郎 今村陽一 鴨井いずみ 佐藤秀樹 福井康雄
高頭純平 赤木 博 古谷慎一 福田新一郎 児玉 正 加嶋 敬

【目的】GER-like NUD症例の病態を解明するために食道・胃内圧, pH測定を行い, 流動食負荷前後の変化を観察した. 【対象】胸やけ症状を有するが上部消化管内視鏡検査にて器質的疾患を認めないGER-like NUD症例4例を対象とし, 症状もなく, 内視鏡検査で胃食道十二指腸に異常所見のない健常者4例と比較した. 【方法】経鼻的にSleeve sensor 付8 lumen catheterを挿入し, sleeveがlower esophageal sphincter(LES)に一致するように留置し, infused catheter法にて食道内圧測定を施行した. また, アンチモン電極2ch pHモニタリングを併用し同時に胃食道内pH測定を行った. さらに食事前後の一過性LES弛緩の変化を観察するため, 検査中にOKUNOS-A200mlにアセトアミノフェン1gを混じたものを服用させ評価した. また, 胃排出能はアセトアミノフェン服用後45分の血中濃度から求めた. 【結果】LES圧はGER-like NUD症例, 健常者ともに食後に低下し特に差は認めなかった. 一次蠕動波高も両者に差は認めなかった. 一過性LES弛緩反応はGER-like NUD症例に多く認め, 特に食後に増加していた. 酸逆流回数, 酸逆流時間比率, 最長逆流時間, 5分以上持続する酸逆流回数はすべてGER-like NUD症例に多い傾向にあり, 特に食後に増加していた. 胃排出能はGER-like NUD症例と健常者で特に差は認めなかった. 【結語】GER-like NUD症例の胸やけ症状の発現は一過性LES弛緩反応に伴う酸逆流によるものと考えられた.

3. Conscious dogにおけるgastric adaptive relaxationの検討

広島大学第2外科、第1内科*

吉川雅文、岡島正純、浅原利正、児玉真也、有田道典、小林理一郎、
小島康知、豊田和広、川堀勝史、土肥雪彦、島谷智彦*

【目的】これまでのgastric adaptive relaxation (以下 GAR)は、主として麻酔下や単離胃で検討されてきた。今回、われわれは、より生理的な条件下での実験を目的としてconscious dogでGARが測定可能か否かについて検討した。

【方法】実験には雑種成犬を用いた。胃体上部、前庭部にstrain gauge force transducerを縫着し (N=7)、一部の犬には胃瘻を造設した (N=1)。麻酔下では経口的に意識下では胃瘻管より、胃上部にballoonを挿入し、Barostatおよび、strain gauge force transducerにより、胃の運動を測定した。

【結果】麻酔下実験(n=13) ; balloonにairを注入 (100ml/min) すると、balloon内圧はlinearに上昇 (6mmHg/min) し、胃底部にはballoonの膨張に呼応した弛緩が生じた。しかし内圧が11~16mmHg (平均14mmHg) となると、胃底部の弛緩は急峻となり、内圧の上昇も抑制される、いわゆるGARが観察された。また、balloon内圧を1mmHg/minずつ変化させて同様の実験をおこなっても、GARが観察された。意識下実験 (n=15) ; 胃瘻管より、balloonを胃内に挿入し、airを注入。その際、antrumのstrain gauge force transducerにtonicなcontractionが生じないことで、胃上部にballoonが留置されていることを確認した。麻酔下の実験と同様の方法で、balloonの容量を変化させ、内圧変化と胃運動を観察したところ、ほぼ同様にGARを観察することができた。

【結語】conscious dogにおいてstrain gauge force transducer法、Barostatを用いて再現性のあるGARを測定することが可能であった。

4. 食後期における外因性モチリンによる胃収縮運動とインスリン分泌

群馬大学生体調節研究所作用解析分野

鈴木 秀樹、持木 彫人、水本 明良、伊藤 漸

【目的】前回、我々は空腹期にモチリンとインスリンが同調して分泌上昇すること、外因性モチリンの投与によりインスリン分泌がvagal, cholinergic pathway を経て刺激されることを報告した。本研究では食後期におけるモチリンによるインスリン分泌作用を調べ、その作用機序を胃運動のそれと比較検討した。【方法】雑種成犬を用い、慢性的にforce transducer を胃前庭部、十二指腸、空腸上部に縫着し消化管運動を記録した。さらに上大静脈、下大静脈にカテーテルを留置し薬剤投与、採血用に用いた。食後2-3 時間にモチリンを投与し、その前後のインスリンおよびモチリン濃度を測定した。さらに、アトロピン、ヘキサメソニウム、5HT₃ 受容体拮抗剤、アドレナリン作用性神経遮断薬、ドーパミンにより前処置したときとコントロールとして生食で前処置した場合とを比較検討した。【結果】食後期にモチリンを投与すると0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から有意に、また用量依存性にインスリン分泌上昇を認めた。この分泌上昇はcholinergic blockers、5HT₃ 受容体拮抗剤により有意に抑制され、ドーパミン前処置では影響を受けなかった。またアドレナリン作用性神経遮断薬の前処置では有意な抑制は認めなかった。一方、胃収縮はモチリン0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与した時のみmotility index は有意に上昇した。このモチリンによる胃収縮はcholinergic blockers、ドーパミンにより一部抑制され、アドレナリン作用性神経遮断薬投与では胃収縮に影響を与えなかった。【考察】食後期におけるモチリンによるインスリン分泌は、空腹期と同様に5HT₃ 受容体を含むvagal, cholinergic pathway 経て刺激されるが、食後期のモチリンによる胃収縮ではnon-cholinergic pathway も含まれることが示唆された。

5. 正常犬および胃排出遅延モデル犬におけるEM574とシサプリドの効果
群馬大学生体調節研究所作用解析分野, 北里研究所*
田中 俊行, 水本 明良, 伊藤 漸, 大村 智*

(背景と目的) EM574はモチリンアゴニストとして現在臨床試験が行われている。本研究では正常犬と胃排出遅延モデル犬を使ってEM574とシサプリドの効果を検討した。(方法) 実験は雑種成犬(10-15kg)を用いた。開腹後、十二指腸の近位と遠位にチューブを挿入し、それぞれ非吸収性マーカー(PSP)注入用および採取用とした。胃排出の指標として、固形食はドッグフードの乾燥重量を、流動食はPEGを用いた。また十二指腸内容量測定のためPSP溶液で持続灌流した。完全に凍結乾燥したドッグフード(4kcal/g)100gとPEG15gを溶解した生食100mlを摂取させ、遠位十二指腸から5分毎に十二指腸内容を1.5mlずつ6時間採取した。検体のPSP・PEG濃度は吸光度計で測定し、乾燥重量は検体1mlを完全凍結乾燥後、0.1mg単位まで測定した。単位時間の乾燥重量やPSP・PEGの値を十二指腸内容量で補正し胃排出量を求めた。EM574は3,10,30 μ g/kgをシサプリドは0.3,1.0,3.0mg/kgをそれぞれ十二指腸内に投与した。胃排出遅延モデルは α_2 アドレナジック・アゴニストであるクロニジンをういて作製し、EM574は10,30 μ g/kgをシサプリドは1.0mg/kgを投与した。(結果) 正常犬ではEM574は用量依存性に、シサプリドは1.0mg/kgで有意に固形食の胃排出を亢進した。また、EM574は10 μ g/kgで流動食の胃排出を有意に亢進させたが、逆にシサプリドは3.0mg/kgで遅延させた。胃排出遅延モデルではEM574は30 μ g/kgで固形食・流動食を、シサプリドは1.0mg/kgで流動食の胃排出遅延をそれぞれ回復させた。(まとめ) EM574は固形食および流動食の、シサプリドは流動食の胃排出遅延に対し有効であった。

6. 慢性小腸狭窄モデルにおける狭窄解除後の腸管運動の検討

兵庫医科大学第一外科
三嶋康裕, 岡本英三, 土生秀作, 北村謙介

【はじめに】今回我々は、慢性小腸狭窄(慢性イレウス)モデルにおける狭窄解除後の運動変化について観察し検討を行った。【対象及び方法】雑種成犬を対象に、胃、十二指腸、小腸にstrain gauge force transducerを慢性縫着し、小腸中央に体外操作で解除可能な自作のoccluding deviceを装着して慢性小腸狭窄モデルを作製した後、狭窄期間短期群と長期群における狭窄解除後の腸管運動変化を検討した。さらに両群で狭窄解除後、Iリスアミン(1mg/kg/hr)投与による運動への影響も検討した。【結果】短期群:(解除当日)胃十二指腸には解除後も不規則な収縮波が続いたが、小腸では狭窄を越えて伝播する強収縮波群が出現した。(解除後1週間)胃、十二指腸に強収縮波群が出現し小腸に伝播するが、その出現間隔はランダムであり、経日的に一定の間隔となり、平均7日目には通常空腹期運動パターンに回復した。長期群:(解除当日)狭窄解除を契機とした運動変化は見られず、各部で解除前に観察された不規則な収縮波が連続した。(解除後1週間目)胃、十二指腸では不規則な収縮波が続くが、小腸においては、強収縮波群が出現し肛門側へ伝播した。(解除後2週間目)胃、十二指腸から小腸へ伝播する強収縮波群が出現し、強収縮波群間には不規則な収縮波が観察された。(解除後3週間目)通常空腹期運動パターンに回復した。Iリスアミン投与:短期群、長期群とも狭窄解除後Iリスアミン投与時のみ強収縮波群が出現したが、以後、解除1日目、2日目に有意な運動変化は見られなかった。しかし、短期群では3日目に胃、十二指腸、小腸において規則正しく伝播する強収縮波群が出現した。一方、長期群では伝播する強収縮波群の出現までの期間は非投与群と有意な差は見られなかった。【まとめ】慢性小腸狭窄における狭窄解除後の腸管運動は小腸運動の回復が先行し、この後、胃十二指腸運動が経日的に回復した。また、回復に要する期間は狭窄期間に比例し短期群では早期に回復した。Iリスアミンは短期群では、消化管運動回復に有効と考えられたが、長期群では有意な有効性は認められなかった。

7. 小腸吻合部における空腹期強収縮運動の伝播性の評価について

慈恵医大外科学講座第2

中田浩二、羽生信義、古川良幸、梁井真一郎、宮川 朗、山本 尚、橋本慶博、梶本徹也、向井英晴、西川勝則、青木照明

消化器外科手術後の消化管運動生理の研究において小腸吻合部での強収縮の伝播性の評価は重要であるが、その方法はいまだ統一されていない。今回われわれは、小腸吻合部における強収縮の伝播性についていくつかの方法を用いて比較評価方法の問題点について検討した。(方法)近位、遠位の2カ所で端々小腸吻合を行った自家小腸移植術犬(各群5-6頭)と対照犬(4頭)を作成し、SGT法にて術後1年まで空腹期運動の測定を行い、従来の方法;(A)視覚的に直感的に判断する方法と、吻合部直上と直下のSGTにおける強収縮の時間差を測定し(B)対照犬の同部位における伝播時間の $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ 以内、または(C)吻合部に隣接した小腸における伝播時間の $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ 以内を伝播性とする方法、新しい評価方法;(D)(A)の方法で伝播性と判断したものの伝播時間の平均値 $X \pm 10$ 分以内を伝播性とする方法、とを用いて吻合部における強収縮の伝播率について比較検討した。(結果)強収縮が吻合部を伝播するのに要する時間は、移植術犬で術後6カ月まで有意に延長した。評価方法(B)(C)では(A)(D)と比べ吻合部における強収縮の伝播率が著しく低下した。(結論)自家小腸移植術犬では吻合部における強収縮の伝播率は術後早期に回復したが、伝播時間は術後6カ月まで有意に延長した。評価方法(B)(C)では吻合部における伝播の遅延を捉えることができず、強収縮の伝播率は著しく低下した。視覚的直感的な判断(A)に数値的な制限を加えて信頼性を増したわれわれの考案した新しい評価方法(D)は、(B)(C)のような数値的な処理では見過ごされてしまう伝播の遅延という現象も捉えることが可能であり、吻合部における強収縮の伝播性を評価する上で従来の方法(A)(B)(C)よりも優れた方法と考えられた。

8. 食後期の小腸phaseIII様収縮発現のメカニズム

群馬大学生体調節研究所調節因子部門作用解析分野
唐原 和秀、鈴木 秀樹、水本 明良、伊藤 漸

【目的】食後期の消化管運動が空腹期に移行するときに小腸に発生する phase III 様収縮を惹起させるメカニズムについて検討した。【方法】5頭の雑種成犬の空腸に薬剤を局所動脈内投与できるモデルを使い、1)アトロピン、ヘキサメソニウム、キシロカイン、テトロドトキシン、NO合成酵素阻害剤、NK-1受容体拮抗剤、CGRP受容体拮抗剤の局所投与で食後期の小腸に phase III 様収縮が惹起できるかどうかを検討した。2)さらに誘導された phase III 様収縮のメカニズムを種々の受容体拮抗剤を用いて検討した。【結果】アトロピン、ヘキサメソニウム、キシロカインを局所に投与すると食後期の空腸に自発性のものと有意差のない phase III 様収縮が惹起された。しかし、テトロドトキシン、NO合成酵素阻害剤、NK-1受容体拮抗剤、CGRP受容体拮抗剤には同様の作用はなかった。アトロピン、ヘキサメソニウム、キシロカインによって惹起される phase III 様収縮は 5-HT_{1p}受容体拮抗剤、5-HT₃受容体拮抗剤、NK-1受容体拮抗剤、L-アルギニンを局所に同時に持続投与することによって抑制された。また、アトロピンやヘキサメソニウムを同時に持続的に全身に投与しても phase III 様収縮は抑制された。一方、5-HT₂受容体拮抗剤、5-HT₄受容体拮抗剤、CGRP受容体拮抗剤では phase III 様収縮は抑制されなかった。【まとめ】1)食後期の小腸に起こる phase III 様収縮はNOによる抑制を解除することによって発生すると思われた。2)アトロピンやヘキサメソニウムはこのNO神経のニコチン受容体を抑制することによって phase III 様収縮を惹起していると思われた。3)5-HT_{1p}受容体、5-HT₃受容体、NK-1受容体は phase III 様収縮を発生させる興奮性経路上に存在すると思われた。4)キシロカインはNO神経に情報を伝達する感覚神経、おそらくメカノレセプターを麻酔してNOの放出を抑制することによって phase III 様収縮を惹起すると考えられた。

9. Glucagonの胃・小腸運動に対する薬理学的作用の検討 ～空腹期運動の抑制とその作用部位の検討～

広島大学第一内科¹⁾, 第二外科²⁾, 広島女学院大学生理学³⁾
 島谷智彦¹⁾, 堀川陽子¹⁾, 井上正規¹⁾, 梶山悟朗¹⁾, 吉川雅文²⁾,
 有田道典²⁾, 岡島正純²⁾, 藤井一元³⁾

前回の本学会で、**glucagon**の食後期胃・小腸運動に対する作用を中心に報告した。今回は、空腹期運動に対する作用とその作用部位について検討した。

〔方法〕雑種成犬を用い、胃前庭部・十二指腸・空腸・回腸の運動を **strain gauge force transducer**法で無麻酔無拘束下に記録した。一部の実験は神経成分の関与を検討する目的で、**pentobarbital**麻酔犬に **tetrodotoxin(TTX)**を前投与し人工呼吸下に記録した。既報の如く **motility index**を算出し、運動の変化を定量的に評価した。

〔結果〕① **Glucagon(5~50μg/kg,i.v.)**を **phase I**の時期に投与すると、十二指腸以下に一過性の強収縮が誘発され、この収縮は **atropine(0.1mg/kg,i.v.)**又は **hexamethonium bromide(C₆)(10~20mg/kg,i.v.)**にて消失した。**TTX(10μg/kg,i.v.)**作用下では、**glucagon**による収縮は観察されなかった。② **Glucagon**は **C₆**作用下に **cisapride(0.5mg/kg,i.v.)**または **erythromycin(0.15mg/kg,i.v.)**で誘発される収縮を胃前庭部以下で抑制したが、**acetylcholine(0.05mg/kg,i.v.)**で誘発される収縮は抑制しなかった。また、**glucagon**は **TTX**作用下に **acetylcholine**で誘発される収縮を抑制しなかった。

〔結論〕① **Glucagon**により十二指腸以下に誘発される収縮は、コリン作動性節前線維または壁内神経叢レベルの介在神経線維を介する反応であると推測された。

② **Glucagon**の胃前庭部運動に対する抑制作用は、平滑筋への直接作用ではなく、コリン作動性節後線維を介する反応と考えられた。

10. 大腸炎実験モデルにおける大腸運動機能の検討

東京慈恵会医科大学 外科学講座第2

西川勝則, 羽生信義, 古川良幸, 山本 尚, 宮川 朗, 梁井真一郎, 向井英晴,
 志賀由章, 橋本慶博, 森田茂生, 中田浩二, 青木照明

潰瘍性大腸炎を含む炎症性大腸疾患は様々な腹部症状を呈するが腹部症状と消化管（特に大腸）運動機能との関連性については十分知られていない。そこで我々は実験的に大腸炎を作製しその病態下における症状、消化管運動を対照犬と比較検討した。（方法）雑種成犬を用い75%propionate 10mlの大腸内注入により作製した急性大腸炎モデル犬と無処置対照犬の間で空腹期および食後期の消化管運動を **StrainGaugeTransducer**法にて記録し、大腸運動パターンを **ColonicMotorComplexes**（以下 **CMC**）と **Giant Migrating Contractions**（以下 **GMC**）に分類しその変化を比較検討した。また同時に大腸炎存在下における **Orocecal Transit Time**を計測し無処置対照犬と比較検討した。（結果）無処置対照犬では **CMC**はほぼ一定の間隔で出現したが、**GMC**は空腹期、食後期合わせても数回認められたにすぎなかった。大腸炎モデル犬は頻便、テネスムス、粘血便等の症状を呈し、また内視鏡所見および採取した大腸粘膜の病理学的所見からもヒトの潰瘍性大腸疾患に類似していると思われた。一方、消化管運動機能において **CMC**の出現回数は無処置対照犬に比し著明に減少し、また個々の **CMC**の平均収縮時間においても無処置対照犬に比べて有意に短縮していた。逆に **GMC**の出現は無処置対照犬より有意に増大し、同時に随伴する排便回数が増大が認められた。また大腸炎存在下における **Orocecal Transit Time**は無処置対照犬より有意に短縮していた。（結論）1;プロピオン酸の大腸内注入によりヒトに類似した炎症性大腸疾患モデルを作製することができた。2;潰瘍性大腸炎を含む炎症性大腸疾患における頻便、粘血便、テネスムス等の症状は大腸運動機能の変化により引き起こされるものと推測された。3;大腸炎病態下での消化吸収不良は特に小腸における消化管通過時間の短縮が原因の1つと推測された。

11. 消化管運動機能からみた大腸粘膜剥去・小腸粘膜置換術の可能性

広島大学第2外科, 第1内科*

有田道典, 岡島正純, 浅原利正, 小島康知, 豊田和広, 小林理一郎, 吉川雅文, 川堀勝史, 土肥雪彦, 島谷智彦*

【目的】家族性大腸腺腫症、潰瘍性大腸炎では大腸粘膜が病変の場であるが、外科治療としては、大腸全摘術+回腸嚢造設が一般的に行われている。この場合、特有の運動機能を持った大腸が欠落することが、術後の排便の一因となっている。我々は、大腸運動を温存した術式を模索する目的で、大腸筋層を温存する大腸粘膜剥去・小腸粘膜置換術の可能性について実験的検討を行った。

【モデル作成】《方法》雑種成犬8頭を用いた。遠位回腸を約15cm、近位結腸を約10cmにわたり有茎で切離し、有茎結腸は縦切開したのち、固有筋層を温存、粘膜層から粘膜下層までを切除した。一方、有茎回腸は粘膜層から粘膜下層を温存し、固有筋層から漿膜層を切除した。粘膜剥去結腸で筋層除去回腸を包み込むように密着させ縫合してモデル部分とし、同部はthiry-vella fistula状に両端を腸瘻として体外に誘導した。有茎腸管採取部位はそれぞれ端々吻合で再建。モデル部は一定期間の後に摘出して、組織学的に評価した。《結果》粘膜が癒痕の無い状態で生着することが確認できた。

【機能評価】《方法》2頭に対しモデル部、十二指腸、回腸、結腸にstrain gauge force transducerを縫着し、空腹期・食後期の運動、腸管運動亢進薬剤(cisapride, PGF2 α)に対する反応を記録・検討した。《結果》モデル部において、tonic contractionにphasic contractionがsuperimposeされた、結腸特有の収縮波群が記録できた。収縮波群は、空腹期・食後期に対照結腸と同様のパターンで出現し、薬剤に対しても強い収縮反応が認められた。又、この運動は術後1年経過しても記録できた。

【結語】大腸粘膜剥去・小腸粘膜置換術により、粘膜が生着することが確認できた。また、このモデル腸管では、対照結腸と同様の運動形態が認められ、結腸と同等の貯留性・運動性をもった新しい結腸嚢となりうる可能性が示唆された。

12. 内圧からみた直腸癌前方切除後の直腸肛門機能について

日本大学第1外科

五十嵐 誠悟, 富田涼一, 萩原紀嗣, 宗像敬明

目的; 術後におけるQOLの関心の高まりにより、直腸癌の多くの症例において自然肛門温存術式が施行されている。しかし、術後排便障害に悩まされる症例もある。そこで、直腸癌前方切除術後症例を、高位と低位に分け、それらの排便機能の差について筋性因子の面から検討を行った。対象; 直腸癌症例のうち前方切除術を施行した症例で、術後1年以上経過し、排便状態の落ち着いた24例(男性13例、女性11例、年齢41-76歳、平均56歳)。内訳は、高位前方切除術後症例7例、低位前方切除術後症例17例である。対照は、排便異常を認めない体表手術症例16例(男性8例、女性8例、27-76歳、平均49歳)を用いた。方法; low compliance infused open tip法を行った。成績; 1) 肛門管最大静止圧: 対照例69.7 \pm 8.7mmHg、高位例66.6 \pm 6.5mmHg、低位例41.7 \pm 12.9mmHgであった。対照例と高位例の間には有意差はなかったが、低位例は前2者に比して有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.05$)。2) 肛門管最大随意収縮圧: 対照例164.7 \pm 19.1mmHg、高位例164.9 \pm 25.9mmHg、低位例94.4 \pm 26.9mmHgであった。対照例と高位例の間には有意差はなかったが、低位例は前2者に比して有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.05$)。3) 直腸最小知覚容量: 対照例6.6 \pm 2.4ml、高位例10.7 \pm 3.5ml、低位例11.8 \pm 3.5mlであった。対照例と比して、高位例、低位例ともに有意に高値を示した(それぞれ $p < 0.05$)。4) 直腸最大耐用量: 対照例239 \pm 40ml、高位例215 \pm 62ml、低位例136 \pm 53mlであった。対照例と高位例の間には有意差はなかったが、低位例は前2者に比して有意に低値を示した(それぞれ $p < 0.05$)。5) 直腸肛門反射陽性率: 対照例と高位例では、全例に定型的な直腸肛門反射を認めたが、低位例では定型的反射を認めたのは41.2% (7例)であり、他は非定型的反射(47.1%、8例)あるいは反射陰性(11.8%、2例)を示した。低位例の定型的反射陽性率は対照例及び高位例に比して有意に低値を示した($p < 0.05$)。結論; 高位例では、直腸最小知覚容量の増大(排便知覚の低下)をきたすが、肛門管の機能低下は軽度であると思えた。これに対して低位例では、ほとんどの検討項目において対照例あるいは高位例との間に有意差が認められ、肛門管の機能低下が認められた。

13. Anal achalasiaにおける内肛門括約筋機能の検討

日本大学第一外科

宗像敬明、富田涼一、越永従道、野中倫明

Ultrashort aganglionosis など患部が直腸に限局しているAnal achalasiaの治療にPartial internal anal sphincterectomy (PIAS)が行われている。PIASの手術前・後における骨盤括約筋群の動きと排便状態との関係の分析をDefaecographyを用いて検討した。

【対象と方法】PIAS施行後、排便状態が良好な4例とPIAS未施行のAnal achalasia2例を対象とした。PIASを施行した4例中1例は手術前・後にDefaecographyを施行、残る3例は手術後のみDefaecographyを施行した。

【成績】PIASを施行した4例中1例に術前Defaecographyを施行し興味ある所見を認めた。

症例：11才の女兒。術前の注腸造影で直腸にNarrow segmentを認め、直腸肛門内圧検査で非定型的反射を示し、直腸粘膜生検による病理組織学的検査でHypoganglionosisが考えられ、Defaecographyで骨盤括約筋群の運動不全を合併していた。しかし術後、排便状態の改善と同時に、骨盤括約筋運動の改善を認めた。

PIASを施行した残り3例の術後のDefaecographyでは排便状態と骨盤括約筋群の運動ともに良好であった。PIAS未施行2例の直腸肛門内圧検査では2例ともに直腸肛門反射は不明瞭であり、Defaecographyで2例ともに排便を認めず、1例は骨盤括約筋群の運動を認めたが、他の1例は骨盤括約筋群の運動が障害され、かつ恥骨直腸筋の奇異性収縮を認めた。

【結語】1)Anal achalasiaにSpastic pelvic floor syndromeの合併例が存在する。2)PIASはAnal achalasiaに対して有効であるが、Spastic pelvic floor syndromeに対する効果も期待される。

14. 雑種成犬を用いた排便機能への仙骨神経支配に対する基礎的研究

慶應義塾大学医学部外科、同生理**、聖路加国際病院小児外科*、
平林健、松藤凡*、横山穰太郎、吉岡成浩、増山宏明、伊川廣道、森川康
英、北島政樹、渡辺修一**、

小児外科領域では、高位鎖肛患児を中心に、排便障害を来す症例が数多く認められる。これらの症例は、肛門括約筋の異常ばかりでなく、仙骨の奇形を伴うことが多く、神経支配の異常も排便障害に関与している可能性も想像される。今回、我々は、雑種成犬を用い、排便運動（結腸運動）と仙骨神経との関係を電気生理学的に検討したので報告する。

（対象）雑種成犬（10kg前後）を雌雄の区別なく用いた。（方法）①麻酔下に開腹し、ストレインゲージを、回盲部肛側10cm近位結腸、腹膜翻転部口側10cm遠位結腸、翻転部直腸に横軸方向に縫着、さらに肛門粘膜を剥離し内肛門括約筋に横軸方向に縫着した。術後3週間後より意識下で排便運動を観察した。②麻酔下に椎弓切除を加え、第1、第2、第3仙骨神経に電気刺激を加え、各腸管運動を観察した。（結果）①自然排便時は、GMCに引き続き、直腸が弛緩した後に収縮し、内肛門括約筋が弛緩し排泄した。②-1、第1仙骨神経に電気刺激を加えると、3例中1例において近位結腸に収縮運動が、3例で遠位結腸に収縮運動が認められた。1例で直腸の収縮運動が、1例で内肛門括約筋の弛緩が認められた。②-2、第2仙骨神経を電気刺激を加えると、3例中2例において近位結腸に収縮運動が、1例で遠位結腸に収縮運動が認められた。1例で直腸の収縮運動が、2例で直腸に弛緩運動が、1例で内肛門括約筋の弛緩が認められた。（考察）第1仙骨神経を刺激するとS状結腸に収縮が、第2仙骨神経を刺激すると直腸に弛緩が認められた。以上より、結腸運動に仙骨神経が関与している可能性が示唆された。

15. 平滑筋light meromyosin (LMM)に対するモノクロナル抗体のミオシン・フィラメント形成阻害作用に関する検討
 1北里大学内科学IV、2東京大学第一内科、3マサチューセッツ・メデイカルセンター
 1東原正明、2宮崎浩二、3池辺光男

【目的】平滑筋のLMMは、フィラメント形成に重要であることは認められているが、LMMのどの部位が重要であるかは不明である。我々は、この点を明確にするために、平滑筋のLMMに対するモノクロナル抗体を作成し、その認識部位とフィラメント形成への影響の程度の違いについて調べたので報告する。【方法】LMMはニワトリ砂囊のミオシンをStaphyrococcus aureus protease処理し、カラムで精製した。LMMに対する抗体は、ミオシンをBalb/cマウスに免疫し、LMMのELISAおよびimmunoblottingでスクリーニングすることで得た。抗原部位は、LMMをトリプシン処理して得たフラグメントのimmunoblottingおよび電子顕微鏡 (rotary shadowing) による観察のヒストグラムにより同定した。ATPaseは、Ca²⁺-ATPaseおよびactin-activated Mg²⁺-ATPaseで評価した。ミオシンのフィラメント形成は、低イオン強度 (50mM KCl, 30mM MgCl₂, 10 mM MgCl₂) でみられ、その結果turbidityが上昇することを利用して、抗体存在下、非存在下での吸光度を Varian Cary 210 spectrophotometerで測定した。【結果および考察】抗LMM抗体7クローンの認識部位は、LMMの中央部位 (MM8など) とC末端付近 (MM16, MM19など) に大きく分けられた。いずれの抗体もATPase活性には影響しなかった。フィラメント形成に対しては、MM8のほうがMM16, MM19よりも抑制が強かった。したがって、ミオシンのフィラメント形成には少なくともLMMの中央付近のほうがC末端付近よりも重要であることが示唆された。

16. Chick小腸における抗 α 平滑筋アクチン抗体陽性筋線維の発達

九州大学小児外科、* 同医短解剖

増本幸二、水田祥代、田口智章、郭 日舒、山内 健、梁井桂子、灘 修身*

【目的】消化管の発達について、神経系の分布や機能に関しては多くの報告があるが、筋層に関してはあまり検討されていない。そこで、胚期からの平滑筋線維の発達について、Chick腸管を用いて検討した。【方法】胚期8.5-20.5日目(E8.5-20.5)のChick(満期21日)の中腸を1日毎に、また、孵化後0-6日(D0-6)までは2日毎に、1-8週目(1-8W)までは1週毎に回腸を摘出し対象とした。0.05%ピクリン酸-4%パラホルムアルデヒド加リン酸緩衝液にて60分固定後、7%蔗糖加リン酸緩衝液で洗浄、凍結切片を作成し、抗 α 平滑筋アクチン抗体(α -SMA)により免疫染色を行なった。【結果】E8.5の内輪筋層(CM)にはすでに、陽性筋線維の分化が起こっていた。E10.5-11.5ではCMの厚さが増し、CM層から外縦筋層(LM)へ少量の線維の進入がみられた。以後、LMの陽性線維は増加し、E13.5のLMはほぼ全層が陽性となった。同時期より、CM最内層(im)に由来と考えられる陽性線維の発現が粘膜筋板(MM)に認められ、E15.5-16.5では明瞭に区別できる陽性線維層になった。また、E14.5よりCMはimを除き、染色性が低下し始め、E16.5前後では孵化後と同様にimのみ強陽性となる分布を示した。CM、LM、MMは以後8Wまで染色性に変化なく、厚さのみの増加となった。【まとめ】Chickの小腸平滑筋層の発達を胚期から幼鳥期まで検討した。腸管壁の α -SMA陽性筋線維はまずCMに発現し、続いてLM、MMへと陽性筋線維の出現が起こった。また、LMの分布が先に完了し、2日程度遅れてCMとMMが完成していた。さらに、CMでは発達途中でimが強陽性となり、im以外の層では染色性が低下していき、最終的にimのみが α -SMA陽性となった。従って、imは特殊な層で、それ以外のCMとは筋線維における収縮蛋白の性状が異なる可能性が示唆された。

17. rhoキナーゼによる新規の平滑筋収縮調節機序

山口大学医学部生理学第一講座
小林 誠、最上 紀美子、轟-池田 奈津子

本研究では、分子生物学的手法によって合成したリコンビナント蛋白を、スキンド法を用いて細胞内へ導入することによって、平滑筋収縮を制御する細胞内情報伝達機構について解析した。GTP結合型のリコンビナント低分子量G蛋白rho、アゴニスト+GTP、あるいはGTP γ Sは、Ca²⁺一定の条件下で、 β -escinによるスキンド平滑筋を収縮させた。しかし、これらの刺激は、いずれも、Triton X-100によるスキンド標本には無効であった。ADPリボシル化によって内因性rhoを阻害するEDINは、アゴニストが引き起こすGTP依存性の収縮を抑制した。rho依存性リン酸化酵素rhoキナーゼ(RK)の酵素活性領域のリコンビナント蛋白は、Ca²⁺が存在しない条件でも、Triton X-100によるスキンド標本を収縮させ、ミオシン軽鎖(MLC)をリン酸化した。この収縮およびMLCリン酸化は、MLCキナーゼ(MLCK)阻害剤ウオルトマンニンで阻害されなかった。抗RK抗体を用いたウエスタンブロットを用いて、Triton X-100処理は細胞外への内因性RKの漏出を引き起こすことを確認した。本研究により、rhoの下流にあるRKは、Ca²⁺-calmodulin-MLCK系とは独立した機序によって、平滑筋の収縮器に直接作用しMLCのリン酸化を介した収縮を惹起する新しい情報伝達因子である事が示唆された。(本研究は、三重大学第一内科、奈良先端技術大学院大学細胞内情報学講座、九州大学心研臨床細胞科学部門との共同研究である)

18. イヌ脳底動脈における伸展刺激によるミオシンフォスファターゼの抑制

静岡県立大学薬学部薬理学教室
小原一男、内野万有美、中村美紀、中山貢一

【目的】平滑筋の収縮調節にミオシン軽鎖(MLC)のリン酸化が重要な役割を演じていると考えられているが、イヌ脳底動脈において緩徐(1mm/sec)な伸展刺激による張力の発生とMLCのリン酸化の間に乖離が認められたことから、今回、その発生機序について検討した。

【方法】イヌ脳底動脈リング標本に機械刺激装置により伸展を加え、発生した張力を等尺性に記録した。伸展時に静止張力が発生し始める標本の長さを初期長(L₀)と定義した。MLCのリン酸化は等電点電気泳動法/イムノブロットング法により測定した。

【結果】テトラエチルアンモニウム(5 mM)存在下、緩徐な伸展刺激(50% L₀, 1 mm/sec)により一過性の張力発生と細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の上昇が認められたが、伸展15分後にはほぼ静止状態まで減少した。一方、伸展刺激によりMLCのリン酸化量は増加するが、伸展15分後でもなおこの高レベルを維持していた。伸展刺激による張力発生と伸展1分後のMLCのリン酸化の増加は、L型Ca²⁺チャンネル遮断薬のニカルジピン(100 nM)およびミオシン軽鎖キナーゼ阻害薬のML-9(100 μ M)前処置により完全に抑制されたが、伸展15分後のMLCのリン酸化量は薬物未処置のときの約50%にまで増加した。また、伸展刺激による張力発生直後にML-9を作用させると伸展15分後のMLCのリン酸化量は伸展1分後のものよりもやや増加する傾向が認められた。伸展15分後のMLCのリン酸化は低分子量G蛋白質Rhoの阻害薬C3により抑制された。

【考察】以上の結果より、伸展刺激による張力の発生とMLCのリン酸化の間の乖離にはRhoを介するミオシンフォスファターゼの抑制が関与する可能性が示唆された。

19. 糖尿病性ラット胃幽門部平滑筋のProtein Kinase Cアイソザイムの動態

昭和大学薬学部薬理学教室¹ 昭和大学医学部第二生理学教室²○丸山 良亮¹ 坂井 泰² 野部 浩司¹ 百瀬 和享¹

[研究背景・目的] 糖尿病による悪心、嘔吐、下痢、便秘等の消化管運動障害は自律神経障害による慢性合併症とされている。しかし平滑筋自体の異常収縮反応も報告されており、細胞内情報伝達系異常が関与する可能性が指摘されている。特にProtein Kinase C(PKC)が関与する収縮機構は多様であるため、この変化は異常収縮の発現に重大な影響を与えるものと考えられる。PKCは現在までに12種類のアイソザイムが発見され組織・細胞内分布、刺激による動態、機能的役割がそれぞれ異なり、構造上の特徴から3種類のサブグループに分類されている。本研究では胃排出運動に重要な幽門部平滑筋のPKCアイソザイムを同定し、カルバコール(CCh)刺激後の動態、活性変動について正常ラット、糖尿病ラットを用いて比較検討した。

[方法] 糖尿病モデル動物はWistar系雄性ラット8週齢にStreptozotocin (STZ)60mg/kgを尾静脈単回投与後、7週目に実験に使用した。ラットより幽門部平滑筋を摘出後、粘膜を剥離し平滑筋層のみとし、Krebs液中で1時間平衡化した。刺激標本についてはCCh(10^{-5} M)で10分間刺激した。この平滑筋を50mM Tris-250mM Sucrose buffer(pH7.5)中でホモナイズし、遠心分離により粗核画分(N)、可溶性画分(Cyto)、ミクロソーム画分(Mic)を調製しSDS-PAGE後、抗PKC抗体を用いイムノブロット法で検出した。

[結果・考察] 現在までにラット胃幽門部平滑筋には6種類のPKCアイソザイム[α PKC(- α ,- β ,- γ) nPKC(- δ ,- ϵ) aPKC(- ζ)]が存在することを確認した。静止状態の細胞内分布は正常ラット、糖尿病ラットで同様な傾向を示した。CCh刺激後のPKCアイソザイムの分布変化は、正常ラットでは確認されなかったが、糖尿病ラットでは特にカルシウム非依存型(nPKC,aPKC)に変化が確認された。以上のことから胃幽門部平滑筋におけるPKCの機能的役割は多様であることが予想される。また糖尿病による消化管運動障害発症にはPKCの動態が何らかの影響を与えていると考えられる。

20. 受容体作動薬投与による妊娠子宮平滑筋感受性の変化 (protein kinase Cの関与について)

東京慈恵会医科大学産婦人科

大浦訓章、中野 真、落合和彦、田中忠夫

【目的】 子宮筋収縮の発生が主にミオシン軽鎖のリン酸化によって制御されていることは広く支持されていることは広く支持されている。しかし妊娠末期の強大な収縮の発現のメカニズムについては、この変化だけでは必ずしも解明されているとは言いがたい。今回我々は、妊娠各時期に受容体作動薬を投与し、細胞内のprotein kinase C(PKC)をELISA法にて測定。また免疫電顕にてPKCの細胞質、細胞膜間の移動、分布につき検討しCキナーゼ系を介したカルシウムsensitizationの存在と、その妊娠時期による変化について考察した。【方法】 Wistar-今道系雌ラット(180~230g)未妊娠、および妊娠7日目、21日目に対しOxytocin(OT)、PGF_{2 α} をそれぞれ単独または併用にて腹腔内投与をおこなった。投与10分後に可及的速やかに子宮を摘出。同重量の子宮筋片を作製。この筋片と超遠心にて細胞質細胞膜に分離した細胞質に対して直ちにPKCの測定をおこなった。またanti-PKCにて免疫染色をし免疫電顕にて子宮筋片を観察した。【成績】 未妊娠群および妊娠7日目群では、OT投与群と比較しPGF_{2 α} 投与群で明らかにPKC活性が高値を示した。一方妊娠21日目群では、OT投与群で、PGF_{2 α} 投与群と同様にPKC活性が高値を示した。免疫組織的には、ELISA法で活性が上昇した時期に、同様な染色の細胞質、細胞膜間の移動がみられた。【結論】 OTとPGF_{2 α} では、PKC活性の亢進に時期的な相違がみられた。これは、各々の受容体の発現形態、時期によるものが考えられるが、細胞内情報伝達機構の相違も推測される。しかしながら、妊娠末期にOT、PGF_{2 α} ともにPKC活性が上昇したことより、妊娠末期のカルシウム感受性の亢進はCキナーゼを介した情報伝達系が関与している可能性が示唆された。

21. Ca^{2+} による平滑筋収縮のクレアチンキナーゼ系への依存性：種および部位差

大阪府立大学農学部獣医薬理学講座
北山 宗督、平山 信恵、竹内 正吉、畑 文明

これまで、phasic型の収縮をするラット近位結腸縦走筋のスキンド標本を用い、 Ca^{2+} 収縮時に収縮系の近傍に存在するcreatine kinase (CK)により、新しく産生されたATPがphasicな収縮に必須であることを明らかにした。今回、 Ca^{2+} 収縮におけるクレアチンキナーゼ系への依存度が、動物種および部位により異なることを認めたので報告する。【方法】モルモットとラットから種々の平滑筋組織を摘出し、 $0.2 \times 1\text{mm}$ の標本を作成した。標本を α -toxinで30分間処置することにより、膜透過性にした。張力は 25°C で、等尺性に記録した。通常、浴液(pH6.8)にATP 4mMとphosphocreatine(PCr) 5mMを含ませた。【結果】モルモット・ラット大腿動脈；両標本に Ca^{2+} を処置することにより、tonic型の収縮が生じた。浴液からPCrを除くと、ラット大腿動脈の Ca^{2+} 収縮は著しく抑制されたが、モルモット大腿動脈の収縮はほとんど影響を受けなかった。CK阻害薬であるDNFB処置は両標本の Ca^{2+} 収縮に対して、PCr除去時と同じ様な効果を生じた。浴液からATPを除き、ADPとPCrを加えることで新しく産生されたATPのみが収縮系で利用できる条件下での Ca^{2+} 収縮はモルモットでは著しく小さかったが、ラットではATPとPCr存在下でのものに匹敵した。モルモット各種平滑筋；Tonic型平滑筋である腸管膜動脈の Ca^{2+} 収縮は大腿動脈と同じように、浴液からのPCr除去あるいはDNFB処置に対してほとんど影響されなかった。一方、phasic型平滑筋である門脈、回腸縦・輪走筋、盲腸紐の Ca^{2+} 収縮は両処置により、著しく抑制された。【考察】モルモットにおいて、 Ca^{2+} 収縮へのCKにより新しく産生されたATPの関与はtonic型平滑筋では少ないが、phasic型平滑筋の場合はかなり重要であることが示唆された。同じtonic型平滑筋にもかかわらず、種の違いにより依存性が著しく異なった理由は更に検討中である。

22. 正常および部分閉塞膀胱ラット排尿筋の収縮エネルギーの定量的評価の試み

福島県立医科大学泌尿器科
梅田 弘幸、嘉村 康邦、山口 脩

泌尿器科臨床において、pressure-flow study (PFS)にて測定された尿流率と排尿筋圧を解析することにより排尿筋の収縮の強さ（収縮能）は評価されている。しかし、本来球体ではない膀胱を球体と仮定し、また、腹圧の影響の完全には排除し得ないなど様々な問題点を有している。筋の収縮において、収縮速度と発生力の関係から求められる筋が発生する収縮エネルギーは一定であるというHillの特性式が成り立つため、筋の発生する収縮エネルギーを筋の収縮能とすることができる。PFSは、Hillの特性式を原理としているが、より正確に排尿筋の収縮能を評価するためにPFSの一次元モデルとしてラット膀胱の筋条片を用いて、収縮エネルギー（収縮能）を求め、部分閉塞膀胱における変化を検討した。筋条片をオルガンバス内に吊し、経壁電気刺激によって収縮を起こし、種々の荷重を付加した時の最大収縮速度（ V_{\max} ）を測定した。筋条片の発生する力（ F ）と V_{\max} の関係より筋条片の発生する収縮エネルギーを解析し、正常膀胱と部分閉塞膀胱で比較した。 V_{\max} と F は、直角双曲線上にプロットされ、Hillの特性式が成立した。双曲線定数から筋条片の最大収縮エネルギー（ WF_{\max} ）を計算した。正常膀胱において、 WF_{\max} と筋条片の重量の関係は $R^2=0.7892$ と高い正の相関を示した。部分閉塞膀胱では、上述の回帰直線の -2 S.D. 以下の領域に全ての筋条片がプロットされ、筋条片の発生する収縮エネルギーは有意に減少していた。また、膀胱の組織標本より筋含有率を計算し、筋条片に占める筋量を算出することにより、単位筋量あたりに補正した WF_{\max} を算出した。部分閉塞膀胱では有意に低下していた。部分閉塞膀胱において排尿筋の質的变化または神経側の変化が起きていることが示唆された。また、排尿筋の筋条片を用いて収縮エネルギーを測定することにより、排尿障害による排尿筋収縮能の低下を定量化できる可能性が示唆された。

23. マイクロダイアリス法による小腸壁内神経からのACh遊離の測定

1)長崎大学医学部第二外科 2)同第二薬理
古市 哲¹⁾、谷山紘太郎²⁾、中尾勘一郎¹⁾、高原 裕¹⁾、円城寺昭人¹⁾、古井純一郎¹⁾、
兼松隆之¹⁾

【目的】消化管運動においてアセチルコリン (ACh) は重要な神経伝達物質であり、現在in vitro下にて、アイソトープ (³H-choline) を取り込ませた摘出モルモット腸管からの³H-ACh遊離の測定が行われている。しかし生体下でのACh遊離の測定は困難とされ、未だその測定は国内外のいずれでも行われていない。ACh遊離の測定を生体下に行うことで、様々な状況下 (消化管運動調節剤の注入など) での神経伝達と消化管運動との関係、薬物効果の判定などが直接証明されるのではないかと考え、中枢神経系で用いられているマイクロダイアリス法を適用し、直接ACh遊離の測定を試みた。

【方法】雑種成犬を用い小腸辺縁動脈のやや中枢に薬剤動注用のカテーテルを挿入し動注モデルを作製した。動注にて灌流される範囲の小腸壁にstrain gauge force transducer及び小腸壁内筋層に壁内灌流用カテーテル (臓器用透析プローブ: EICOM社) を固定した。Cisapride (消化管運動賦活調整剤) を動注用カテーテルよりA群: 0.001mg/kg・min、B群: 0.003mg/kg・min、C群: 0.01mg/kg・minを各々2分間かけて投与した。Cisapride投与前、投与後のACh値の変化をHPLC-ECDにて測定し、同時に腸管の運動の変化をstrain gauge force transducerを用いて測定した。

【結果】ACh値は、Cisapride投与前: 1.00 ± 0.40 pmol/15min に比べA群: 1.08 ± 0.43 pmol/15min、B群: 1.35 ± 0.68 pmol/15min、C群: 1.49 ± 0.77 pmol/15minとも濃度依存性に上昇傾向を認め、とくにC群において投与前に比べ有意に上昇を認めた ($P < 0.05$)。腸管運動は投与中にのみ運動亢進を認めた。更にTime Courseでは、動注30分後迄にACh遊離の有意な上昇を認めた。

【結語】1) 生体下での腸管壁内神経叢刺激に伴う壁内ACh遊離量および消化管運動の同時測定が可能であった。2) 本実験は生体内での薬剤等の物質の重要性を直接解明するのに有用であると考えられた。

24. 家兎およびヒト膀胱平滑筋収縮時のATP放出量の測定

熊本大学 泌尿器科

吉田正貴、稲留彰人、高橋 渡、米納 誠、瀬下博志、池田和義、上田昭一

【目的】膀胱平滑筋の収縮にはアセチルコリンをはじめ様々な神経伝達物質の関与が知られている。またアトロピン抵抗性収縮を惹起する神経伝達物質としてATPが示唆されている。今回我々は家兎およびヒト膀胱平滑筋に対して経壁電気刺激(EFS)を行い、マイクロダイアリス法を用いてATPの定量を行った。またヒト膀胱平滑筋に対してはATP放出量に対する加齢の影響も検討した。

【方法】8週齢雌家兎および膀胱癌患者20例より摘出した正常膀胱体部より平滑筋条片を作成した。臓器用透析プローブをこれに貫通させ、Ringer液を透析液として灌流させながら、Krebs-Henseleit液を満たしたorgan bath内に懸垂固定し、等尺性トランスデューサーを介して張力変化を記録した。透析液を10分毎に回収しながら経壁電気刺激 (EFS: pulse duration 0.2-0.3msec, frequency 2-50 Hz, train of pulse 2 sec) を行い、透析液は15 μ lを高速液体クロマトグラフィーに注入してUV検出器でATP量を測定した。【結果】ATPの検出限界は0.05 pmol/injectionであり、刺激前でのATP放出量は家兎では 0.23 ± 0.05 pmol/injection、ヒトでは測定感度以下であった。家兎およびヒト膀胱平滑筋はEFSにより周波数依存性の収縮反応を示し、ATP放出量も周波数依存性に増加した。1.0 μ Mのtetrodotoxinの前処置にてEFS刺激による収縮反応およびATP量の増加は有意に抑制された。ヒト膀胱平滑筋においてはEFS時のATP放出量は加齢により増加し、両者の間には有意の正の相関が認められた。【結論】本法により膀胱平滑筋から放出されるATP量の測定が可能であることが示唆され、アトロピン抵抗性収縮に関与する神経伝達物質の解析に有用と考えられた。またヒト膀胱平滑筋では加齢に伴うATP放出量の増加がみられアトロピン抵抗性収縮との間になんらかの関係がある可能性が推察された。

25. 神経側ムスカリン受容体サブタイプとアセチルコリン (Ach) 放出との関連

福島県立医科大学
伊東学、宍戸啓一、山口脩

【目的】我々は、これまでにラット及びヒト膀胱のムスカリン受容体サブタイプの研究から、M₂とM₃の存在を指摘してきた。その役割については、膀胱平滑筋側に比較して、神経側では未だ不明の点が多い。今回は主に、神経側のM₂受容体について、Ach 放出との関係から検討を加えた。

【方法】ラット膀胱平滑筋から筋条片を作成し、5ml の organ bath 内に懸垂固定し、経壁電気刺激 (50Hz, duration 0.5 msec., train 5 sec., max. voltage で2分おきに10回) により収縮させた。bath 内の溶液を採取し、内部標準物質としてイソプロピルホモコリンを加え、高速液体クロマトグラフィにより、電気化学検出器 (ECD-100,白金電極WE-PT,エイコム) を用いてAch 量を測定した。この刺激を同一片に繰り返した場合、筋収縮力、Ach 量共に、再現性が得られることを確認したため、同一片に対し、同じ条件で、M₂拮抗薬 AF-DX384存在下のAch 量を測定し、対照と比較した。

【結果】この経壁電気刺激により、bath 内に放出された、対照のAch 濃度は、平均1.66 pmoleであった。一方、AF-DX384(10⁻⁸M)存在下のAch 濃度は、平均4.96 pmoleであり、約2.98倍と有意の増加を示した。またこの条件下では、M₃由来と思われる排尿筋の収縮は、抑制されることはなかった。

【考案】M₂拮抗薬 AF-DX384は絶対的選択性に乏しく、M₃に対する作用も有しているが、排尿筋の収縮に影響を与えない微量の10⁻⁸MでAch 放出の増加が見られたことは、この濃度ではM₂に対する作用のみが現れていると考えられる。このことから、神経側のM₂受容体がAch 放出に対し抑制に作用する、いわゆるnegative feed back機構を形成している可能性が示唆されると思われる。

26. STZ 誘発糖尿病ラット輸精管における収縮反応及び spontaneous junction potentials の頻度、振幅の変化

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
桐沢 英明、鎌田 勝雄

糖尿病はインスリン不足により、組織による糖質の利用障害を中心とした広範なエネルギー代謝異常を生じる全身性疾患であり、多彩な合併症を生じる。糖尿病合併症の中で最も合併率が高く最も早期から発現する病態が糖尿病性ニューロパチーでありそれに並行して自律神経障害が出現し、無自覚性低血糖、胃不全麻痺、糖尿病性下痢症、神経因性膀胱、インポテンスや心臓血管運動の調律異常として起立性低血圧、不整脈、心機能異常、無痛性心筋梗塞、突然死などに関連し、糖尿病患者の生命予後および quality of life (QOL) を障害する重要な合併症となっている。そこで今回、交感神経優勢支配といわれているラット輸精管における収縮反応の変化及び spontaneous junction potential (SJP) の頻度、振幅について control 動物と糖尿病動物において比較検討を行った。

実験には Wister 系雄性ラットを用い、またこれに streptozotocin を尾静脈内投与し糖尿病モデルとして用いた。SJP の記録には微小電極法を用い、norepinephrine (10⁻⁷~10⁻⁹ M) 投与により収縮反応を観察した。糖尿病動物における SJP の出現頻度は有意に増加した。また、norepinephrine (NE) による収縮は糖尿病動物において著明に減弱しており、EC₅₀ 値も有意に減少していた。糖尿病時には SJP の頻度が増加していること、また SJP の振幅も増加していることから、輸精管を支配している交感神経に何らかの変性が始まりかけていることが示唆された。また、NE に対する感受性および反応性が著明に減弱していることから、α 受容体の密度の減少あるいは細胞内 Ca²⁺ 感受性の低下が示唆された。

27. モルモット回腸縦走筋の単離平滑筋細胞における細胞内ヒスタミンおよびヒスタミン合成酵素の存在
 昭和大学薬学部薬理学教室¹ 昭和大学医学部第一解剖学教室²
 黄 洋一¹、入江 香織¹、田村 孔嗣¹、塩田 清二²、百瀬 和享¹

消化管運動は、神経性および体液性調節機構により複雑かつ巧みに調節されていることが明らかとなってきた。消化管平滑筋の内在性収縮物質としては、神経伝達物質であるアセチルコリンに加え、種々のペプチドホルモン、神経ペプチド、プロスタグランジン類および生理活性アミンなど多くのものが知られている。我々は、モルモット回腸縦走筋の可溶性画分に存在する、熱に安定でトリプシン非感受性の平滑筋収縮因子について報告してきた。本研究では、この平滑筋収縮因子を同定し、その由来を明らかにするため単離平滑筋細胞を用いて検討した。

回腸縦走筋の単離細胞を等密度遠心法により分画し、オルガンバスに適用した。縦走筋に対する収縮活性は、細胞を予め超音波処理により破碎しておくことにより著しく増大した。薬理的な検討の結果、この収縮反応はヒスタミン受容体(H1)阻害薬であるピリラミンにより抑制されることが明らかとなった。そこで、単離細胞のヒスタミン含量を測定したところ、細胞10⁴個あたりおよそ100 pmol程度のヒスタミンが検出された。このヒスタミン含量は、ジギトニン処理により細胞膜を透過性になると減少することから、ヒスタミンは細胞内に貯蔵されていることが示唆された。抗ヒスタミン抗体による免疫染色の結果、単離平滑筋細胞に強いヒスタミン陽性反応が認められた。また、イムノブロット法による検討の結果、単離平滑筋細胞にヒスタミン合成酵素(Histidine decarboxylase)の存在が明らかとなった。以上の結果から、可溶性画分中の収縮因子は平滑筋細胞に由来するヒスタミンであると結論した。

本研究では、モルモット回腸縦走筋の平滑筋細胞が、ヒスタミン含有細胞であることを明らかにした。平滑筋の収縮反応における細胞内ヒスタミンの役割について、今後さらに追求したい。

28. モルモット下部食道括約筋の抑制性神経伝達に対する電気生理学的検討

名古屋市立大学医学部第一生理
 今枝憲郎, 鈴木光

【目的】下部食道括約筋(LES)の抑制性神経反応は多くの動物で非アドレナリン非コリン作動性と報告されているが、モルモットLESにおいては今だ未知の点が多い。我々はモルモットLESの抑制性神経反応の電気生理学的性質及びその神経伝達物質について検討した。【方法】ガラス微小電極を用いてモルモットLES輪走平滑筋の細胞内電位記録を行った。神経の経壁電気刺激により誘発される抑制性接合部電位(i.j.p.)を記録した。【結果】モルモットLES輪走平滑筋の膜電位は約-44mVで、2~3mVの小さな振動性の脱分極反応が不規則に発生していた。神経刺激により振幅10~20mVのi.j.p.が誘発され、これはアトロピン(10⁻⁶M)により約140%に増大したのでコリン作動性神経支配の関与が考えられた。アトロピン存在下でのi.j.p.に対しグアナネチジン(5x10⁻⁶M)を投与すると約40%に抑制されたが、フェントラミン(10⁻⁶M)及びプロプラノロール(10⁻⁶M)では変化しなかった。NO合成酵素阻害剤であるニトロアルギニン(L-NNA, 10⁻⁵M)はi.j.p.の振幅を約60%に、P₂-ATP受容体拮抗剤のスラミン(10⁻⁴M)は約40%に抑制し、Ca²⁺活性K⁺チャンネル抑制薬であるアパミン(10⁻⁷M)はほぼ完全に消失させた。一方、この組織ではSNP、ATPともに著明な過分極反応を示した。【結語】モルモットLESでは経壁神経刺激によってNO及びアドレナリン作動性神経からの未知の物質が抑制性伝達物質として遊離されi.j.p.を引き起こす。未知の神経伝達物質としてATPの可能性が示唆された。i.j.p.はアパミンで抑制されるK⁺チャンネルが活性化することにより発生していることが推定された。

29. ヒト小腸・大腸平滑筋における神経支配様式の比較検討:

- 特にNO作働性神経とVIP作働性神経支配について -

九州大学小児外科

上村 哲郎、水田 祥代、窪田 正幸、李 曉虎

【目的】近年消化管運動異常を呈する諸疾患において、非アドレリン非コリン(NANC)作働性抑制性神経伝達物質の一つである Nitric Oxide (NO)やVasoactive Intestinal Peptide(VIP)の関与が報告されてきているが、ヒト正常腸管平滑筋における神経支配様式には未だ不明の点が多く、等尺性収縮記録法を用い、小腸と大腸との比較検討を行った。【方法】用いた小腸は空腸4例(胆道閉鎖症1例・胆道拡張症3例)、回腸1例(回腸閉鎖)。大腸は横行結腸1例(高位鎖肛)。標本は粘膜剥離を行った輪状筋条片(3x15mm)とし、等尺性収縮記録法にて経壁的電気刺激(60V、0.5msec、1-10Hz)に対する反応を記録した。実験はKrebs液中で行い、内因性NO供与体としてL-arginineを、NO合成阻害薬としてN- ω -nitro-L-arginine(NNLA)を、VIPのantagonistとして[Ac-Tyr1, D-Phe2]-GRF(1-29)を用いた。【結果】空腸・回腸ともに収縮と弛緩の二相性反応が認められ、収縮反応はatropine(ATR、1 μ M)により完全に消失した。ATR存在下で増大した弛緩反応はNNLA(0.1mM)により完全に抑制され、興奮性反応のみと転じた。このNNLAにより抑制された弛緩反応はL-arginine(1~100 μ M)により用量依存性に回復された。また、VIP-antagonist(0.01 μ M)による効果はほとんど認められなかった。一方、大腸においては、小腸と同様に弛緩と収縮の二相性反応が認められ、収縮反応はATRにより消失した。ATR存在下で増大した弛緩反応はNNLAにより一部抑制され(約62%)、VIP-antagonist投与により更に約20%抑制され、NANC抑制性伝達物質としてVIPも関与しているものと推察された。【結論】ヒト小腸においては、コリン作働性並びにNANC作働性興奮性反応とNOが主体をなすNANC弛緩反応が存在するものと考えられた。一方、大腸においてはNANC作働性興奮性反応は認められず、NANC弛緩反応においてもNO、VIP以外の抑制性伝達物質の関与があるものと考えられた。

30. 小児における結腸内輪筋を支配する興奮性及び抑制性神経の研究

Surgical Research and Anatomical Pathology, Royal Children's Hospital

植村貞繁, Michael R. Hurley, John M. Hutson, C. W. Chow

【目的】腸管運動機能異常を示す小児例において、興奮性運動神経の神経伝達物質として知られる substance P(SP)と抑制性運動神経の神経伝達物質であるVIPが結腸輪状筋内の神経線維に減少していることがJ. Hutson等により報告された(J. Pediatr Surg 1996)。これまで結腸内の神経伝達物質の研究は少なく、正常例の検討が必要とされている。この研究では、正常小児例におけるSPとVIPの結腸輪状筋内の分布を部位別、年齢別に検討した。

【方法】Familial polyposis coliで結腸全摘手術をうけた1例(6歳)、人工肛門造設あるいは閉鎖時に採取したS状結腸9例(生後1日-4日;4例, 3週-4歳;5例)を用いた。SPおよびVIPの分布を求めるのに、mouse anti-NSE抗体とrabbit anti-SPあるいはrabbit anti-VIP抗体を用いて2重免疫組織染色を行い、神経線維総数を示すNSE陽性線維内におけるSPとVIPの割合を求めた。

【結果】盲腸、横行結腸、下行結腸、S状結腸のSP陽性線維の割合はそれぞれ15%、19%、15%、21%、と大きな違いはなかった。一方、VIP陽性線維の割合は盲腸で39%と少なく、その他の部位は63%から65%と一定していた。新生児4例におけるSP陽性線維の割合は1%から6%ときわめて少なく、生後3週以降、18%から26%と一定していた。VIP陽性線維は新生児で22%から33%と少なく、3週以降54%から62%と一定していた。

【考察】盲腸ではVIP陽性線維の分布は少なかったが、その他の部位はSP、VIP共にその分布に大きな差はなかった。生後数日の新生児では特にSP陽性線維の割合が少なく、この時期、神経伝達物質の発達は充分完成していないことがうかがわれる。少なくとも生後3週以降、ほぼ均一なSP(20%)、VIP(60%)の割合が示された。この結果は今後、異常な神経伝達物質の分布を検討するのに重要な結果となることが期待される。

31. ラット結腸輪走筋、縦走筋での弛緩のメディエーターの系統差

大阪府立大学 農学部 獣医薬理学講座、*大阪府立看護大学

置塩 豊、新岡里美、*高辻功一、石井利明、西尾英明、竹内正吉、畑 文明

私達は今までに SLC-Wistar-ST ラット消化管での弛緩反応のメディエーターとその作用機序を調べ、著しい部位差のあることを認めた。今回、輪走筋と縦走筋での差、およびラットの系統による差を認めたので報告する。【方法】雄性 SLC-Wistar-ST (Wistar-ST) および SD ラット (8 週齢) を用いた。輪走筋の反応はバルーン伸展刺激による下行性弛緩を、縦走筋の反応は条片をマグヌス装置に懸垂して経壁電気刺激 (30 V, 10Hz, 0.5ms, 10s) による弛緩反応を等張性に記録した。アトロピン 1 μ M、グアネチジン 5 μ M 存在下に実験を行った。【結果】① 輪走筋と縦走筋の弛緩反応における一酸化窒素 (NO) の関与を N^o-nitro-L-arginine (L-NOARG) による抑制と、L-arginine による回復で調べた。VIP の関与はアンタゴニストによる抑制で調べた。Wistar-ST と SD の近位、遠位結腸の両筋層での結果は表のようであった。② 免疫組織化学による NO 合成酵素の分布は、近位結腸では Wistar-ST, SD とともに多く見られた。遠位では SD で多く見られたが、Wistar-ST 輪走筋では僅かしか見られなかった。【考察】NO の関与は Wistar-ST の遠位では見られなかったが、SD では見られた。一方、VIP の関与は Wistar-ST では遠位の縦走筋でのみ見られ、SD では近位、遠位ともに輪走筋で見られた。以上のようにラット結腸での抑制性のメディエーターが Wistar-ST と SD の系統により異なることが示された。また輪走筋と縦走筋で異なることも分かった。

	NO-mediated component (%)		VIP-mediated component (%)	
	Wistar-ST	SD	Wistar-ST	SD
Proximal Circular	100	60	0	50
Longitudinal	87	69	0	0
Distal Circular	0	65	0	57
Longitudinal	0	38	44	0

32. ラット消化管縦走筋の弛緩反応のメディエーターの部位差、系統差

大阪府立大学 農学部 獣医薬理学講座

竹内正吉、新岡里美、置塩 豊、石井利明、西尾英明、畑 文明

私達は今までに、SLC-Wistar-ST ラットを用い、消化管の弛緩反応のメディエーターを調べてきたが、先の演題のように、部位により著しい差のあること、また系統によっても差のあることを認めたので更に詳しく検討した。【方法】雄性 SLC-Wistar-ST (Wistar-ST), JCL-Wistar (Wistar), SD 系の 8 週齢のラットを用いた。各動物の腸管各部位から腸条片を作成し、縦走筋の経壁電気刺激による弛緩反応をマグヌス法で等張性に記録した。【結果】① 三系統のラットの空腸、回腸、近位結腸、遠位結腸、直腸の縦走筋の弛緩反応における NO の関与を L-NOARG による抑制と L-Arginine によるそれからの回復を指標として調べた。NO 関与の割合 (%) は表のようであった。② 外から適用した NO により三系統とも近位結腸で濃度依存性の顕著な弛緩が見られた。③ PACAP の関与は三系統とも遠位結腸で約 50% 認められた。④ VIP の関与は遠位結腸で Wistar-ST と Wistar で約 40% 認められたが、SD では認められなかった。【考察】NO は総じて SD 系で関与が大きく、部位別では近位結腸で関与が大きかったが、NO の弛緩反応への関与は、ラットの系統により著しい差のあることが分かった。PACAP と VIP は遠位結腸でのみ関与が見られた。

	Wistar-ST	Wistar	SD
Jejunum	25	0	51
Ileum	31	43	58
Colon Proximal	87	92	69
Distal	0	38	38
Rectum	0	0	65

33. ラット消化管縦走筋の弛緩反応への K⁺ channel 阻害薬の効果の系統差

大阪府立大学 農学部 獣医薬理学講座

竹内正吉、新岡里美、置塩 豊、石井利明、西尾英明、畑 文明

私達は以前に Wistar-ST ラットの遠位結腸縦走筋での弛緩反応が Apamin と Charybdotoxin (ChTx) により各々約 50% 抑制されることを報告した。本報告ではこれら K⁺ channel 阻害薬の各部位、各系統での弛緩反応への影響を調べた。また、NO との関わりについて考察した。

【結果】① Apamin (1 μM), ChTx (100 nM) は調べた消化管の全部位で軽度で自発運動を増加させ、またトーンも軽度で上昇させた。② 三系統の各部位での Apamin-sensitive component の割合(%)は表のようであった。③ ChTx-sensitive component は Wistar では全部位で部分的に関与が認められた。SD でも遠位結腸以外で同様であった。一方、Wistar-ST では遠位結腸と直腸でしか関与が認められなかった。④ Apamin と ChTx の併用により、Wistar-ST, Wistar の遠位結腸で弛緩は完全に消失した。【考察】 Apamin は調べたどの部位でも顕著な抑制効果を示したが、Wistar-ST の近位結腸でのみ全く効果を示さなかった。先の演題の結果と併せて考えると、傾向として NO の関与の薄い部位ではより Apamin の抑制が強かった。また、Wistar-ST の空腸では NO による弛緩は Apamin で抑制されなかったが、SD の回腸では NO による弛緩が強く抑制されたことから、Apamin-sensitive component と NO-mediated component が前者では独立し、後者では両 Component が連関する可能性が考えられた。以上、消化管平滑筋の弛緩のメディエーターとその作用機序にラット系統間で著しい相違のあることが分かった。

	Wistar-ST	Wistar	SD
Jejunum	88	100	82
Ileum	64	41	60
Colon Proximal	0	21	50
Distal	58	77	72
Rectum	81	98	100

34. ラット消化管の弛緩反応と加齢

大阪府立大学 農学部 獣医薬理学講座

山路みちる、新岡里美、石井利明、西尾英明、竹内正吉、畑 文明

私達は今までに、消化管の弛緩反応への一酸化窒素 (NO) の関与や、Apamin-あるいは Charybdotoxin (ChTx)-sensitive component の関与が消化管部位により著しい差のあることを示した。本報告ではこれらの弛緩に係わる component と加齢の関係を Wistar ラットで調べた。

【方法】雄性 JCL-Wistar ラット 4, 8, 50 週齢を用いた。腸管各部位の条片を作成しマグヌス法で、経壁電気刺激による縦走筋あるいは輪走筋の反応をアトロピン、グアネチジン存在下に、等張性に記録した。【結果】① 各部位での縦走筋（一部、輪走筋）弛緩反応への NO の関与の割合 (%) は表のようであった。② Apamin-sensitive component は、近位結腸を除く部位で、60-100% と著しい関与が認められ、また近位結腸では 20-30% と関与が小さかった。週齢によりこの傾向は変わらなかった。③ 遠位結腸縦走筋での Apamin- と ChTx-sensitive component を併せた関与は全週齢をとうしてほぼ 100% だった。【考察】以上の結果から NO の弛緩反応への関与は加齢とともに顕著に減少することが分かった。一方、Apamin-sensitive component はとくに変化しなかった。以上の結果から、少なくとも弛緩反応と NO の関与について調べる際、実験動物の週齢への配慮が極めて重要なことが示唆された。

	4-week-old	8-week-old	50-week-old
Jejunum	40	0	0
Ileum	55	43	33
Colon Proximal	76	92	28
Distal	51	38	<20
Rectum	0	0	0
Rectum (Circular)	66	0	0

35. ラット小腸のリンパ管の分布、構造とペプチド性神経

島根医科大学動物実験施設

権田辰夫, 吾郷昭夫, 沖 充

従来, リンパ管には特異的な染色方法がない為, リンパ管の分布, 走行は不明な点が多かった。近年, 5'-nucleotidase(5'-Nase)-alkaline phosphatase(ALPase)の二重染色法により, リンパ管と血管を特異的に染色する方法がWernerら(1987)により報告された。今回この方法を用いてラット小腸のリンパ管, 血管の走行と神経線維との関係を光顕及び透過電顕により比較観察した。

[材料と方法] Wistar系ラットの十二指腸, 空腸, 回腸の標本を4%paraformaldehyde(pH7.2)で2~3時間浸漬固定した。0.1M-cacodylate buffer(pH7.2)で水洗後, 実体顕微鏡下に筋層, 粘膜層の伸展標本を作成した。5'-Nase-ALPaseの二重染色を施したものと5'-Naseの染色後, 免疫組織化学的にペプチド性神経の抗体を用いて二重染色したものを比較観察した。光顕の写真撮影後オスミウム酸固定し, 透過電子顕微鏡の試料を作成しJEOL1200EXにて観察した。

[結果] 5'-Nase-ALPaseの二重染色をするとリンパ管は茶褐色に血管は青色に染色された。リンパ管は筋層内を150~200 μ m間隔で網目状に分布し, 血管は約40 μ m間隔に格子状に分布していた。粘膜下組織では同様に網目状に分布し, 絨毛内の中心乳び管は4~7本の指状突起様に絨毛先端方向に隆起し, 絨毛の基部で網目状のリンパ管網を形成し, 粘膜下, 筋層内を通過後腸管膜リンパ管に連続していた。毛細血管は絨毛表面に網目状に密に分布し, 中心乳び管を表面から傘のように被う構造を示した。神経線維も毛細血管とほぼ同様の分布を示し, 一部のものは, リンパ管と近接している像もみられた。透過電顕による観察では大顆粒小胞を含有する神経終末がリンパ管と近接する像がみられた。

36. ヒト消化管の筋層に分布するc-Kit陽性細胞

名古屋大学医学部第一解剖学講座、第一外科学講座*

鳥橋 茂子、渡辺 芳夫*

これまでのマウスを用いた解析により消化管平滑筋層から電気生理学的に記録される緩徐波の発生源(消化管運動のペースメーカー)はc-Kitシグナル系依存性に分化し、この系の障害は緩徐波とc-Kit陽性細胞の消失をもたらした。またc-Kit陽性細胞は形態学的にInterstitial cells(ICs)と呼ばれている細胞群に相当する事がわかった。

近年、ヒト消化管に分布するc-Kit陽性細胞は消化管運動疾患との関係において注目されている。しかし正常なヒト消化管における陽性細胞の基礎的な解析はまだなされていない。本研究ではまず正常ヒト消化管筋層におけるc-Kit陽性細胞の分布、微細構造について検索し、これと消化管通過障害を示すHypertrophic pyloric stenosis(HPS), Hirschsprung's disease(HD)における陽性細胞とを比較検討した。その結果以下の事がわかった。

- 1) c-Kit陽性細胞は下部食道から結腸にいたる消化管の筋層に分布し、突起により互いに連絡しあうネットワークを形成していた。
- 2) 陽性細胞はこれまでICsとして報告されていた細胞群の一部に相当する。
- 3) HPSでは神経要素と共にc-Kit陽性細胞の減少が認められた。
- 4) HDでは神経節欠損部においても陽性細胞は正常部とほぼ変わり無く分布していた。

37. 平滑筋細胞からの ATP 放出とイノシトール-三リン酸生成のカップリング

福岡大学医学部薬理学教室¹, 同病態機能系総研², 同薬学部薬理学教室³
桂木 猛¹, 為末 敏¹, 佐藤千江美², 永島真理子², 本多健治³, 古川達雄¹

本研究の目的はアゴニスト刺激による平滑筋組織からの ATP 放出に対するイノシトール三リン酸 (IP₃) 生成の関与を明らかにすることである。ATP はルシフェラーゼ法により、IP₃ はラジオレセプターアッセイ法によりそれぞれ測定された。モルモット回腸縦走筋において P₂-アゴニストの α 、 β -methylene ATP (100 μ M) は主に P₂Y₁ を介して ATP 放出を示し、それはフォスホリパーゼ C 阻害剤のネオマイシン、スベルミンまた IP₃ 生成を阻害する LiCl によって拮抗された。さらに、本アゴニストは縦走筋のホモジネートにおいて IP₃ 生成を促進し、これは 1 mM LiCl 前投与によって抑制された。モルモット結腸紐の初代培養細胞の灌流実験において、angiotensin II (ATII) や substance K (SK) は ATP の放出を引起こしたが、neuropeptide Y (NY)、somatostatin (SO) にはこの放出作用は現われなかった。本培養細胞において AT-II と SK は著しい IP₃ 生成促進を示したが、NY と SO では、IP₃ 生成に変化は見られなかった。AT-II による ATP 放出と IP₃ 生成促進作用はいずれも AT-タイプ I 受容体遮断薬、SC-52458 で著しく拮抗された。

以上の結果、平滑筋細胞から各種アゴニストにより引起こされる ATP 放出作用はその IP₃ 生成能、それによる恐らく細胞内 Ca²⁺ 遊離と共役している可能性が強く示唆された。

38. 結腸平滑筋に対するエンドセリンの作用

札幌医科大学保健医療学部
石澤光郎

エンドセリン (ET) は 21 個のアミノ酸からなるペプチドで、血管、気管、小腸や子宮平滑筋に対し収縮ないし弛緩作用を示すことが知られている。

本研究はモルモット摘出遠位結腸の縦走筋と輪走筋標本に対する ET-1 の作用を張力変化から検討した。

ET-1 (1-100nM) は縦走筋標本に対し一過性の弛緩に続く持続性の収縮を示す。一方、輪走筋標本に対しては濃度依存性に持続性の弛緩を示した。このような両筋層標本に対する反応はテトロドトキシン (1 μ M)、アトロピン (1 μ M)、フェントラミン (1 μ M)、プロプラノロール (1 μ M)、L-NAME (10 μ M) およびインドメサシン (1 μ M) の影響をうけなかった。

以上、ET-1 の結腸縦走筋に対する収縮反応と輪走筋に対する弛緩反応は共に平滑筋への直接作用である。また、これらの反応は内因性プロスタグランチンを介さなく、 α -と β -アドレナリン受容体や NO 受容体の関与はないと考えられる。

39. 摘出モルモット肺門気管支平滑筋標本における endothelin-1 及び ET_B 選択的アゴニストによる反応の性質
 日本大学薬学部機能形態学研究室
 木澤靖夫、中島羊奈子、辻村美保、草間 貞、村上 元

endothelin (ET)は、気道収縮活性を有し、喘息等の気道疾患との関連について注目されている。摘出モルモット肺門気管支平滑筋においても ET は、主に ET_B 受容体を介した強力な収縮活性を示す。一方、モルモットの気管標本においては ET による上皮細胞依存性および非依存性の弛緩反応が観察されている。本研究では、モルモットの肺門気管支平滑筋標本を用い、ET-1 及び ET_B 選択的アゴニストによる弛緩反応の性質について検討したので報告する。

Hartley 系雄性モルモット(250~350 g, 4~7 週令)より肺門気管支を摘出し、幅 2~3 mm のリング状標本とした。一部の実験では、上皮組織を機械的に剥離した。標本は 37°C に保温し、混合ガス(95%O₂ + 5%CO₂) を通気した Krebs 液を満たしたシリコンコートオルガンバス内に懸垂した。収縮反応は、静止張力 0.3 g のもとに等尺性に記録した。

carbachol (1 μM)により予め収縮させた上皮組織無傷のモルモット肺門気管支平滑筋標本は、ET-1 により濃度依存性の弛緩反応を生じた。ET_B 選択的アゴニスト(sarafotoxin S6c 及び IRL 1620)によっては弛緩反応は観察されず、収縮反応が観察された。ET-1 による弛緩反応は、ET_A 選択的アンタゴニスト処理あるいは上皮組織剥離によりほとんど消失した。ET-1 による弛緩反応は、NO 合成酵素阻害薬により抑制され、L-Arg 処理により増大した。一方、シクロオキシゲナーゼ阻害薬処理により、上皮組織剥離標本における ET-1 による弛緩反応は完全に消失した。以上の結果は、予め carbachol で収縮させたモルモット肺門気管支において、ET-1 は主に ET_A 受容体を介して上皮細胞からの NO 遊離を促し、弛緩反応を生じさせることを示唆している。さらに、ET-1 による弛緩反応は、一部 prostanoids により調節されていると考えられる。

40. 新規気管支拡張薬 PR-001337 のモルモット気道平滑筋に対する作用

ポーラ化成工業(株) 医薬品研究所
 檜山直樹, 八尋知朗, 高桑貴子, 一ノ宮聡, 並木隆之, 中野博行

気管支拡張薬の創薬を目的としてピロロピラゾロピリミジン骨格を有する数種の K⁺ チャネル開口薬の合成・評価を行い、theophylline (Theo) より強力な気管支拡張作用を有する PR-001337 を見出した。そこで、PR-001337 をはじめとする一連の化合物の in vitro および in vivo での試験結果について報告する。【方法】① in vitro 実験: Hartley 系雄性モルモットの気管を摘出し、短冊状の標本作製した。反応は等尺性に記録し、carbachol, histamine (HA), leukotriene D₄ (LTD₄), U-46619 および substance P (SP) で収縮させた気管標本に対する PR-001337 の弛緩反応を測定した。また、K⁺ チャネル遮断薬存在下の PR-001337 の弛緩反応も測定した。② in vivo 実験: Hartley 系雄性モルモットを用い、気道収縮反応は麻酔下・人工喚気下にて Konzett - Rössler 法を用いて測定した。PR-001337 (i. v. : 1 mg/kg, p. o. : 50 mg/kg) 投与後の acetylcholine, HA, LTD₄, U-46619 および SP 誘発気道収縮反応を、Theo (i. v. : 6 mg/kg, p. o. : 100 mg/kg) 投与後の反応と比較した。また、ovalbumin 感作モルモットに 50 mg/kg PR-001337 を経口投与し、抗原吸入後の即時型喘息反応を測定した。【結果・結論】① PR-001337 は各刺激薬で収縮させた気管標本を濃度依存的に弛緩させ、その pIC₅₀ 値はいずれも 5.0 前後であった。また、PR-001337 の弛緩反応は glibenclamide で影響を受けず、charybdotoxin により濃度 - 反応曲線が右方へ移動した。② PR-001337 を静脈内または経口投与することにより各刺激薬による気道収縮反応が抑制され、この作用は Theo よりも強力であった。また、PR-001337 は即時型喘息反応を 80 % 以上抑制した。以上のことから、PR-001337 は一部 Ca²⁺ 作動性 K⁺ チャネルの開口を介して Theo より強力な気管支拡張作用および著明な即時型喘息反応抑制作用を示すことが明らかとなり、喘息治療への応用の可能性が示された。

41. モルモット気管平滑筋のムスカリン受容体を介した収縮に対するCaチャンネル遮断剤nifedipineの作用
名古屋大学医学部第二内科、藤田保健衛生大学総合医科学研究所*
竹本正典、高木健三、富田忠雄*

一般に受容体を介した収縮はnifedipineなどのdihydropyridine系のL型のCaチャンネルの遮断剤であまり抑制されないことが知られている。本実験ではモルモット気管から摘出した平滑筋を用いて、主にcarbachol(CCh)によるムスカリン受容体を介した収縮において、CChの濃度および外液中のCaイオン濃度とnifedipineなどの遮断剤による抑制作用との関係について調べてみた。正常Ca²⁺濃度(2.4 mM)において10 μMのCChによる収縮はnifedipine(1 μM)で殆ど影響を受けないが、CChの濃度を下げていくと、強く抑制されるようになる。Nifedipine (1 μM)によってCChの濃度-収縮曲線は右側へ平行移動し、CChのED₅₀は0.3から0.8 μMに増加する。同様に、nifedipineの抑制作用は外液中のCa²⁺濃度を下げると強くなり、1 μM CChの存在下でのCa²⁺の濃度-収縮曲線はnifedipineによって右側へ移行し、1 μM nifedipineによってCa²⁺のED₅₀は0.2から0.5 mMに増加する。さらに、nifedipineの抑制作用は外液中のK⁺濃度によっても影響を受け、CChによる収縮はK⁺濃度を増すほどnifedipineによって強く抑制されるようになり、この抑制はCa²⁺濃度が低い程強くなる。Nifedipineや高濃度のK⁺によるCChの収縮の抑制は細胞内Ca²⁺濃度の減少を伴っている。Nicardipineによってもnifedipineと同じ結果が得られた。受容体を介したCa²⁺流入経路(receptor-operated Ca influx)のdihydropyridine系の遮断剤に対する感受性はいくつかの要素で大きく変化するものと考えられる。

42. 陽性荷電物質 poly-L-arginine に対するモルモット気管平滑筋の収縮反応の機序-タキキニン関与の検討
広島大学医学部第2内科¹、東邦大学医学部薬理学教室²
陸門 靖¹、水流弘通²

【目的】 Major basic protein 等の陽性荷電物質は気道過敏性の亢進を起こすことが知られている。陽性荷電物質による気道過敏性亢進の機序の一つに知覚神経終末からのタキキニン放出作用が報告されており、その機序としては、陽性荷電物質が kallikrein を活性化することにより bradykinin が生成され、bradykinin が知覚神経終末の bradykinin B₂ receptor を刺激するためとされている。一方、陽性荷電物質が知覚神経終末を直接刺激し、タキキニンを放出させるかどうかは明らかにされていないので検討した。

【方法】 Hartley 系雄性モルモットの気管平滑筋条片を作成し、95% O₂+5% CO₂ を通気、37°Cに保った Krebs' bicarbonate 液を含む組織浴槽中に懸垂して、等尺性張力変化を測定した。Indomethacin (10 μM) 存在下で、陽性荷電物質 poly-L-arginine (100 μg/ml)の収縮反応に対する(1) bradykinin B₂ receptor antagonist HOE 140 (0.1 μM) の効果、(2) phosphoramidon (neutral endopeptidase inhibitor) (10 μM) の効果を調べた。

【結果】 Poly-L-arginine の収縮反応高はHOE 140 前処置では影響を受けなかった。又、phosphoramidon 前処置で有意に増加した。

【結論】 Poly-L-arginine の収縮反応に bradykinin の関与は示されず、phosphoramidon によって収縮反応高は増加したので、poly-L-arginine は、知覚神経終末を直接刺激してタキキニンを放出させることが示唆された。

43. 歯科用鎮痛薬の血管拡張作用と細胞内Ca動態との関係

川崎医療福祉大学・医療技術学科¹⁾、福岡歯科大学・麻酔学²⁾、同薬理学³⁾
 ○西島 博明¹⁾、亀山 貴美子²⁾、大久保 つや子³⁾、河上 希³⁾、北村 憲司³⁾、

歯科用鎮痛薬として歯科治療でよく用いられているユージノール (eugenol) は、化学構造がカプサイシンと類似していることや、その薬理的性質からカプサイシンと同様な作用メカニズムを有していると考えられている^{1, 2)}。一方、この様な鎮痛作用とは別に eugenol は古くから血管拡張作用を持っていることが知られている³⁾。この作用は平滑筋に対する直接作用によるものと考えられているが、その詳細については明らかではない。そこで、私達は歯科用鎮痛薬の血管拡張作用を明らかにする目的で fura2 を用いて細胞内Ca濃度を測定し、eugenol の効果を検討した。ウサギ胸大動脈中膜標本は90mM K溶液と1 uM Noradによって同程度の収縮を発生し、細胞内Ca濃度の上昇が観察された。eugenol を前処置すると収縮、Ca濃度はともに濃度依存的に抑制された。一方、90mM K溶液で収縮させた標本にeugenolを漸増的に投与した場合、収縮は濃度依存的に抑制されたが、Ca濃度の減少は僅かしか認められなかった。90mM Kを除去すると収縮、細胞内Ca濃度ともに速やかに消退していったが、eugenol存在下ではCa濃度の消退は遅くなった。eugenolの前処置によりNorad収縮も抑制されたが、90mM K刺激に比べ、細胞内Ca濃度の低下は大きく、収縮の抑制は小さかった。以上の結果から、eugenolは細胞内へのCa流入を抑制すると同時に細胞外へのCa流出も抑制することがわかった。また、収縮抑制作用は細胞内Ca濃度とは関係しないことから、細胞内収縮機構や制御機構に直接働くために起こると考えられた。

- 文献) 1) Ohkubo & Shibata, J. Dent. Res., 1997 in press.
 2) Ohkubo & Kitamura, J. Dent. Res., 1997 submitted.
 3) Hume, J. Dent. Res., 62: 1013-5, 1987

44. ニトロプルシドからのNO遊離と血管弛緩反応

三菱化学生命科学研究所・島根医科大学第一生理*

石田行知 ・ 橋本道男*

Nitroprusside はNOを放出し、細胞内cGMP濃度を上昇させ、血管を弛緩させる。しかし、水溶液中では、nitroprusside はNOを簡単には放出せず、生体組織に投与されて始めて速やかにNOが放出される。ニトロ化合物からのNO遊離は glutathione-S-transferase を介することが提唱された (Needleman & Hunter, 1965) が、近年の成績を考慮すると、そのNO遊離機構は未解決である。我々はニトロ化合物からのNO遊離機構を検討する手始めとして、luminol 法などを用いて、発生するNOを測定しようとした。

Luminol 0.1 mg/ml、H₂O₂ 1-10 mM の存在する栄養液中で発光反応をフォトカウンタで測定した。NOが溶液中に存在すれば、そのNOから生成する peroxynitrite によって発光反応が引き起こされる。NO放出薬の標準としてNOC-5を用いた。血管はラットから摘出した胸部大動脈を用いた。収縮反応は、常法に従い、等尺性に記録した。

動脈の存在しない栄養液に 10 μM nitroprusside を投与しても luminol 発光反応は観察されなかった。この nitroprusside 溶液に内皮付きの動脈片を加えると、直ちに発光反応が観察され、その発光反応は20分以上持続した。内皮を除いた動脈を nitroprusside 溶液に加えると、発光反応は小さかった。大動脈標本をNO合成酵素阻害薬である 10 μM nitroarginine や 0.1 mM L-NMMA で処理しても、発光反応は抑制されなかった。また、この発光反応は 0.1 mM cyanide が存在しても抑制されなかった。H₂O₂ の存在しない溶液中では nitroprusside と動脈による発光反応は観察されなかった。Nitroprusside (10 nM-10 μM) は動脈条片を用量依存的に弛緩させた。この用量弛緩曲線および弛緩反応の速度は内皮の有無に関係しなかった。

Nitroprusside による luminol 発光反応には血管内皮細胞の存在が必要である。この発光反応はNO合成酵素を介していない。しかし、弛緩反応と対応しないので、発光反応がNO生成に因るとは単純に結論できない。

45. EFFECTS OF NO DONORS ON IONIC CURRENTS IN GUINEA-PIG ILEAL SMOOTH MUSCLE CELLS

Seong-Chun KWON¹, Se-Joong RIM², Eun-Ju Kim¹ and Bok Soon KANG¹

*Departments of Physiology¹ and Internal Medicine², Yonsei University College of Medicine
Seoul 120-752, Korea*

Nitric oxide (NO) has been shown to be a mediator of nonadrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmission in intestinal smooth muscles. It has been suggested that NO donors such as sodium nitroprusside (SNP) produces relaxation of smooth muscle via activation of guanylate cyclase and elevation of cGMP levels. We have therefore investigated the effects of NO, using SNP, on ionic currents in guinea-pig ileum.

Conventional whole cell patch clamp technique was used to record the ionic currents. Outward potassium currents were activated by step pulses which were held at -60 mV. Depolarization-activated outward potassium currents were markedly increased by the addition of SNP (10 μ M). SNAP (10 μ M) and 8-Br-cGMP (1mM) also showed a similar effect to that of SNP. TEA (10mM) and iberiotoxin (0.1 μ M) showed a strong inhibition on the SNP-activated potassium currents. However, apamin (0.3 μ M), 4-aminopyridine (5mM) and glibenclamide (10 μ M) showed no effects on SNP-activated potassium currents. SNP also decreased the inward Ca^{2+} current which is activated by application of step pulses.

These results suggest that SNP-induced inhibitory effect may be mediated by cGMP and these effects are related to the direct inhibition of Ca^{2+} currents and the activation of K^+ currents.

46. ラット膀胱平滑筋における P_2 受容体を介する収縮の情報伝達路

日本大学医学部第2生理学教室
國分 眞一朗、山下 俊一

ラット膀胱平滑筋では、 α, β -Me ATPが P_{2X} 受容体を、ADP β SがADP β S感受性受容体を介して収縮を引き起こすことが知られているが、ADP β S感受性受容体の情報伝達路はいまだ明らかでない。そこで本研究ではADP β S感受性受容体の情報伝達路を明らかにする目的で実験を行った。 α, β -Me ATP(10 μ M)に対する反応は0mM、3.6mM Ca^{2+} 存在下で、それぞれ1.8mM Ca^{2+} 存在下の $5.9 \pm 1.3\%$ (n=10)、 $122.2 \pm 6.4\%$ (n=8)であった。一方、ADP β S(100mM)に対する反応はそれぞれ $34.6 \pm 3.3\%$ (n=8)、 $96.8 \pm 7.2\%$ (n=8)であり、どちらの実験条件下においても両薬剤の効果には有意差が認められた ($p < 0.01$)。1mM以上のindomethacineは α, β -Me ATP(10 μ M)、ADP β S(100 μ M)、 α, β -Me ADP(100 μ M)の三者に対する反応を抑制したが、抑制効果において薬剤間では有意差を認めなかった。PhospholipaseC阻害剤であるNCDCはADP β S(100 μ M)、 α, β -Me ADP(100 μ M)の反応を100 μ Mでほぼ完全に抑制した。この濃度では、 α, β -Me ATP(10 μ M)の反応も $59.8 \pm 4.1\%$ (n=8)に抑制されたが、その程度はADP β S、 α, β -Me ADPに対する抑制効果と比較して有意に低かった ($p < 0.01$)。また、100 μ MのNCDCは高K液下での収縮を $65.9 \pm 4.9\%$ (n=6)に抑制した ($p < 0.01$)。以上の結果よりADP β S感受性受容体を介するラット膀胱平滑筋の収縮は、細胞外からの Ca^{2+} の流入は無視できないにしても、主としてIP $_3$ 産生による細胞内 Ca^{2+} の遊離により引き起こされることが推測された。

47. モルモット膀胱平滑筋スキンド標本におけるルテニウムレッドのカルシウム感受性増大作用

名古屋市立大学薬学部 *薬品作用学、臨床薬学・薬物治療学

*山田 亜紀、*渡辺 稔、今泉 祐治

ルテニウムレッドは、筋小胞体リアノジンレセプターの拮抗薬として、筋小胞体からのカルシウム遊離を抑制することがよく知られている。また、ルテニウムレッドが、イノシトール3リン酸受容体やカルモジュリンなどと結合することも報告されている。血管平滑筋において、高カリウム溶液中での外液カルシウム濃度に依存した収縮を、ルテニウムレッドは用量依存的に抑制し、これは、カルシウムのカルモジュリンへの結合を阻害するためであると報告されている。しかし、今回、モルモット膀胱平滑筋スキンド標本にルテニウムレッドを作用させたところ、収縮に対する抑制作用ではなく、増大作用が観察されたので報告する。

β -escinによりモルモット膀胱平滑筋条片のスキンド標本を作成した。標本は、カルシウムイオノフォアA23187 (10 μ M) を20分間作用させることにより、あらかじめ筋小胞体の機能を壊した。60 μ Mルテニウムレッドは、カルシウム濃度-収縮曲線を低濃度側へ僅かに、しかし有意に移動させた。カルシウム濃度を1 μ Mに固定し、収縮が一定になったところで、30-300 μ Mのルテニウムレッドを投与すると、濃度依存的にこの収縮が増大した。100 μ Mルテニウムレッドは、カルシウム濃度が1 μ Mの時の収縮を2.2倍に増強した。このカルシウム感受性増大作用は、溶液中のEGTA濃度を5 mMから10 mMに変えても観察されたことから、EGTAとカルシウムとの結合に対する、ルテニウムレッドの影響によるものではないと考えられる。モルモット回腸縦走筋スキンド標本においても、同様の作用が観察された。

以上より、ルテニウムレッドはモルモット膀胱平滑筋、回腸縦走筋スキンド標本において、収縮蛋白のカルシウム感受性を増大することが示唆された。

48. モルモット胃幽門部輪走筋におけるslow waveに対するthapsigarginおよびcyclopiazonic acidの作用

藤田保健衛生大学,総合医科学研究所,平滑筋学部門
畑 忠善、荻野佳代、富田忠雄

モルモット胃幽門部輪走筋は30mV程度の振幅を持つ緩やかな細胞膜の脱分極電位(slow wave)を1分間3-5回のリズムで発生し、このslow waveによって収縮が規定されている。この発生機序についてはまだ不明の点が多いが、電位依存性のCaチャンネルを遮断する薬剤で殆ど影響を受けず、さらに発生頻度に対する膜電位の変化の影響が弱いことから、一つの可能性としては筋小胞体(SR)からCaイオンが周期的に放出されて細胞内Caイオン濃度が上昇し、二次的に細胞膜のイオン透過性が変化することによってslow waveが発生していることも考えられる。本実験ではこの可能性を検討するために、SRのCa²⁺の取り込みにあずかるCa-ATPaseを抑制するとされているthapsigargin(TPG)およびcyclopiazonic acid(CPA)によって自発性活動がどのように影響を受けるか検討してみた。TPG(1-10 μ M)およびCPA(1-10 μ M)は次第に持続性の収縮および細胞内Caイオン濃度の上昇を伴った細胞膜の脱分極を起してくるが、自発性活動の頻度に対しては著明な作用を示さなかった。これらの変化はnifedipine(1-3 μ M)によって影響を受けなかった。なお、ryanodineおよびcaffeineを作用させたときみられる持続性収縮および細胞内Caイオン濃度の上昇時にもほぼ正常な頻度で自発性活動がみられた。これらのことから、SRによる細胞内Caイオン濃度の調節機構が自発性活動の発現に重要な役割を演じているとは考え難い。

49. 結腸による食道再建術後の間置結腸運動能について

新潟大学第一外科、新潟大学第二生理科

渡辺 直純、松尾 仁之、早見 守仁、畠山 勝義、本間 信治†

目的：結腸は食道切除後の代表的再建臓器の一つであるが、結腸自体の運動機能にはいまだ不明の点が多く、代用食道としての評価も定まっていないのが現状である。そこで今回我々は、食道癌術後の再建結腸運動能を明らかとすることを目的に間置結腸の24時間連続内圧測定を行った。**方法：**食道癌根治手術施行し結腸再建を行った8例を対象とした。全例男性、年齢：67(45~77)歳、術後経過年数：28(1~97)ヶ月で再発兆候を認めない。透視下に6ch solid state sensorを有する内圧測定チューブを再建結腸内に留置、MicroDigitrapper (4Mb, Synectics)を用いて24h ambulatory manometryを施行した。検査中、食事は普通食3回とし、行動の制限は特にしなかった。データはPCに転送し解析用ソフト Multigram (Gastrosoft Inc.)を使用して解析、統計処理は対応のあるt検定にて行い $p < 0.01$ を有意とした。**結果：**再建結腸運動の日内変動で最も特徴的变化は食事摂取に伴った間置結腸の Phasic Contraction 出現で、62(12 ~ 91)分間持続した。食事開始より1時間の収縮数は69(26~164)回で、その平均振幅は 30.6 ± 9.1 mmHg、Motility index (MI)は 5.8 ± 0.5 であった。睡眠時(23PM ~ 4 AM)のMIは 4.8 ± 0.3 、昼間(6 AM ~ 21 PM)は 5.2 ± 0.34 であった。食後のMIは昼間のMIと比べて有意に高く($p = 0.0041$)、一方、睡眠時のMIは昼間より低下していた($p = 0.0185$)。再建結腸内を伝播する Propagated Contraction は食後期と起床直後に多く見られ、全測定中97回出現、24回(24.7%)は食後、16回(16.5%)は起床後1時間に認められた。**結論：**24時間の再建結腸運動測定を行い、間置結腸には食事開始とともに連続的に律動波が出現し、その運動様式が約1時間持続することが明らかとなった。食事による律動波出現と、食後の motility index の著明増加より、再建結腸は代用食道として機能していると考えられた。

50. 大腸置換術後の胃電図

新潟大学医学部生理学第二教室*、外科学第一教室

本間信治*、渡辺直純、早見守仁、松尾仁之、畠山勝義

序：等パワー胃電図(14部位記録よりのトポグラフィック胃電図)作成法と術前、胃全摘、胃垂全摘、胃管形成、大腸全摘術後の等パワー胃電図を、J.Smooth Muscle Res., 31,425-427(1995)に報告し、大腸全摘後では対照で見られる下腹部の3及び6CPMの最大パワー域が消失することより、胃電図上、大腸活動は3及び6CPMの周波数成分を含むと想像した。今回は食道と胃を大腸で置換した大腸置換術後の胃電図を分析し、胃電図上での大腸活動記録可能性を更に検討した。**方法：**大腸置換術を受けた6例の、上腹部(17部位)、下腹部(10部位)の皮膚表面より、いわゆる胃電図を記録、周波数分析結果と等パワー胃電図を対照と比較した。今回は大腸置換の術前を対照とできず、それ以外の術前症例(n=9)を対照とした。また置換大腸内圧と傍胸骨部(4部位)、上腹部の胃電図を比較した。記録計の時定数は5秒、high cutは0.5 Hzで最大エントロピー法で周波数分析を行った。食事負荷はカロリーメート(100 Kcal/本)2本とした。**結果：**等パワー胃電図では大腸置換の最大パワー域の分布は正常、術前と差異が見られなかった。周波数分析では大腸置換術の6CPM群(5.0-7.4 cpm)のパワーが食前食後とも有意($p < 0.05-0.01$)に術前より大きかった。これに対し、3CPM群(2.5-4.9 cpm)のパワーは食前食後とも大腸置換で術前より小さくなる傾向が見られたが有意差は見られなかった。3CPMの上腹部/下腹部のパワー比は術前に比し、大腸置換群で小さくなる傾向が見られたが有意差はなかった。周波数では空腹時27部位の3CPM群の平均値が大腸置換群(3.55 ± 0.104)で術前(3.14 ± 0.072)より有意($p < 0.01$)に大きな値を示し、上腹部に限局しても同様に有意差が見られた。置換大腸内圧と傍胸骨部表面電位のスペクトルムのピークは約50%の一致を見たが、完全な一致は見られなかった。**結語：**以上の結果は大腸活動が皮膚表面記録胃電図で3と6CPMの周波数成分を含むことを支持すると考えられたが、大腸活動の複雑さも伺われた。

51. 回腸肛門吻合術後の直腸肛門機能について

日本大学第一外科

萩原紀嗣, 富田涼一, 五十嵐誠悟, 宗像敬明

【目的】潰瘍性大腸炎(以下UC)に対して, 全結腸切除・直腸粘膜切除・回腸肛門吻合術(以下, 回肛吻合)が, 根治性および患者の満足度からみてすぐれた術式として広く行われている。しかし, 術後のsoilingに悩まされる症例も少なからず存在する。そこで, 回肛吻合術後症例(J型回腸嚢)をsoiling(+)症例とsoiling(-)症例にわけ, 内圧検査を中心に直腸肛門機能について比較検討した。

【対象と方法】UC術後8例—soiling(+)症例(A群)4例, soiling(-)症例(B群)4例, 対照(C群)一体表手術症例15例を用いた。low compliance infused open tip法にて測定した。

【成績】1) 肛門管長: A群 28.3 ± 3.5 mm, B群 34.9 ± 4.0 mm, C群 39.2 ± 2.5 mmであった。A群はB, C群に比較して有意に短縮していた($p < 0.01$)。2) 肛門管最大静止圧: A群 34.1 ± 7.6 mmHg, B群 51.5 ± 16.8 mmHg, C群 69.7 ± 8.8 mmHgであった。A群はC群に比較して有意に低値であった($p < 0.01$)。3) 肛門管最大随意収縮圧: A群 75.8 ± 10.5 mmHg, B群 137.1 ± 34.2 mmHg, C群 166.0 ± 23.8 mmHgであった。A群はB, C群に比較して有意に低値であった(それぞれ $p < 0.01$)。4) 直腸肛門反射: C群では全例が定型的反射を示したが, A, B群では非典型的反射を示した。5) 直腸(回腸嚢)最小知覚量: A群 13.1 ± 5.8 ml, B群 9.6 ± 3.5 ml, C群 6.7 ± 2.5 mlであった。A群はB, C群に比較して有意に高値であった(それぞれ $p < 0.05$)。6) 直腸(回腸嚢)最大耐用量: A群 333.1 ± 68.1 ml, B群 392.9 ± 46.8 ml, C群 339.3 ± 44.8 mlであった。B群はC群に比較して有意に高値であった($p < 0.05$)。7) 直腸(回腸嚢)コンプライアンス: A群 3.31 ± 1.30 ml/mmHg, B群 5.10 ± 1.11 ml/mmHg, C群 5.68 ± 0.77 ml/mmHgであった。A群はB, C群に比較して有意に低値であった(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$)。

【結論】soiling(+)症例はsoiling(-)症例, 対照症例に比べて括約筋機能(肛門管長, 肛門管最大静止圧, 肛門管最大随意収縮圧), 排便知覚, 貯留能(コンプライアンス)の低下を示した。

52. ラット胃および結腸縦走筋のCarbachol収縮に関与するCa²⁺の由来

大阪府立大学農学部獣医薬理学講座

畑 文明, 住吉 正大, 北山 宗督, 平山 信恵, 竹内 正吉

平滑筋の収縮は, 細胞外からのCa²⁺流入あるいは細胞内貯蔵部位からのCa²⁺放出による細胞内Ca²⁺濃度の上昇により引き起こされる。しかしながら, 平滑筋の種類により, 収縮に関わるCa²⁺の由来が異なることが明らかとなりつつある。今回, ラット胃および近位結腸縦走筋を用い, 消化管平滑筋のCarbachol(CCh)による収縮に関わるCa²⁺の由来について検討した。【方法】8週齢のWistar-STラットから胃と近位結腸を摘出後, 長さ2mm, 幅0.2mmの縦走筋標本を作成した。標本に自然長の約1.2倍に負荷をかけた後, 100mM K⁺あるいはCChによる収縮を等尺性に記録した。【結果】①CChは胃および結腸縦走筋を濃度依存性に収縮させたが, EC₅₀値はそれぞれ0.3 μM, 1 μMであり, 胃縦走筋の方が感受性が高かった。また, その最大収縮は, 100mM K⁺による収縮を100%とすると, 胃では216%であり, 結腸では125%であった。両標本共にcaffeine 20mMにより, 一過性の収縮を生じた。②電位依存性Ca²⁺チャネル阻害薬nicardipine 1 μM存在下では, 100mM K⁺による収縮による収縮はほぼ完全に消失した。この時, CChによる収縮は胃でnicardipine処置前の78%, 結腸で24%であった。③浴液よりCa²⁺を除くと, 胃ではCChは除去30秒後に100mM K⁺収縮とほぼ同程度の, 5分後でも80%の一過性収縮を生じた。一方, 結腸においては, Ca²⁺除去30秒後にCChを投与すると, 約8%の一過性収縮しか生じなかった。④Ca²⁺-ATPase阻害薬であるthapsigargin 1 μM処置により, 両標本共にcaffeine収縮は消失した。この筋小胞体Ca²⁺貯蔵能を阻害した条件下で, CChによる収縮は, 胃ではthapsigargin処置前の146%, 結腸では83%であった。Thapsigargin処置により両標本共CCh収縮の立ち上がり速度が遅くなったが, 胃の方がより遅かった。【考察】両標本共, ムスカリン受容体刺激による収縮は細胞外のCa²⁺に大きく依存しているが, 近位結腸では電位依存性Ca²⁺チャネルを介するのに対して, 胃では, それ以外の流入経路が重要であることが示唆された。

53. **Ca²⁺遊離促進薬 9-methyl-7-bromoeudistomin D (MBED)による膀胱平滑筋細胞内 Ca²⁺遊離の画像解析と膜電流、及び時間依存性**
 名古屋市立大・薬・薬品作用学、*臨床薬学・薬物治療学、*東北大・薬・生物薬品製造学
 大井義明、山田亜紀、厚喜薫、鳥居裕一、*今泉祐治、*大泉康、渡辺稔

9-methyl-7-bromoeudistomin D (MBED) は、骨格筋の筋小胞体 (SR) 上のライアノジン受容体に対してカフェインと同様に結合し、Ca²⁺遊離を引き起こす。この薬物をモルモット膀胱平滑筋単離細胞に作用させると、Ca 依存性 K チャネルの活性化によると思われる自発一過性外向き電流 (STOC) の測定においては、カフェインと同様に、SR からの Ca²⁺遊離によると思われる一過性の増強作用と、その後の SR の枯渇によると思われる抑制作用を示す。しかし、細胞内 Ca²⁺濃度を測定すると、MBED による、細胞全体でみた時の遊離 Ca²⁺濃度上昇は非常に小さく、また、カフェインの場合とは異なり、収縮をもたらさないことがわかっている (Am, J, physiol, 271, C772-C782, 1996)。MBED が、細胞膜の直下に存在する SR に選択的に作用し、細胞膜直下の Ca²⁺濃度が局所的に増加することにより近傍の Ca 依存性 K チャネルが活性化され、STOC が増強されているのではないかと推測される。高速走査型共焦点レーザー顕微鏡と indo-1 を用いて、細胞内 Ca²⁺濃度変化の画像解析を行ったところ、MBED により細胞膜近傍で Ca²⁺濃度が一過性に上昇するものの、中心部では余り上昇しないことが明らかとなった。MBED 投与 30 秒後にカフェインを加えても、細胞全体の Ca²⁺濃度上昇は MBED 非存在下の場合と同様であった。しかし、MBED を比較的長時間 (2 分間) 作用させた後にカフェインを作用させると、細胞内 Ca²⁺濃度上昇、収縮ともに抑制された。そこで、スキンド標本を用いて SR に一定の条件で Ca²⁺をロードした後、MBED を 1-5 分間作用させたところ、その後のカフェインによる収縮は時間依存的に抑制された。つまり、MBED は比較的短時間 (秒のオーダー) では細胞膜の近傍の SR に作用するが、長時間 (分のオーダー) 作用させれば細胞の中心部の SR にまで作用することが示唆された。

54. **平滑筋収縮におけるスフィンゴ脂質の関与**
 山口大学医学部生理学第一講座
 轟-池田 奈津子、最上紀美子、小林 誠

【目的】スフィンゴ脂質は、細胞膜の生理的構成成分であるが、最近、株化細胞や癌細胞などにおいて細胞増殖を促進することが報告されている。細胞内情報伝達系に対しては、細胞質 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) の増加、phospholipase D の活性化、inositol phosphate やアラキドン酸の産生、Cキナーゼの阻害などの作用を及ぼす可能性が指摘されている。本研究では、スフィンゴ脂質の一つである sphingosylphosphorylcholine (SPC) が平滑筋の収縮にどのような効果を与えるかを調べるために、子宮・血管平滑筋を用いて、収縮張力と [Ca²⁺]_i の同時測定を行った。

【方法】標本は、卵巣を摘出した Wistar Strain 雌ラットの子宮縦走筋およびブタの冠動脈平滑筋を用いた。100 mM fura-2/AM 含有 Krebs 液中で 4~6 時間インキュベートすることにより、筋条片の細胞内に fura-2 を負荷し、25℃において正常 PSS 中で蛍光測定と収縮張力測定を同時に行った。蛍光測定装置は、日立 F-2000 形蛍光分光光度計を NEC コンピューターにて外部制御して使用し、340 nm と 380 nm の 2 波長励起を行い、510 nm において蛍光強度を計測した。各励起波長での蛍光強度 F340 と F380 の比 (F340/F380) を [Ca²⁺]_i 変化の指標とした。

【結果】SPC は去勢ラット子宮縦走筋の [Ca²⁺]_i および収縮張力を増加させた。また、SPC はブタ冠動脈平滑筋の [Ca²⁺]_i を増加させたが、[Ca²⁺]_i 増加の程度以上に強い収縮を引き起こした。

55. モルモット小腸細動脈平滑筋におけるCa²⁺動態

名古屋市立大学・第一生理

福田裕康、橋谷 光、山本喜通、鈴木 光

モルモット小腸粘膜下層の細動脈（外径30-100 μ m）平滑筋および内皮細胞の細胞内Ca²⁺動態をFura-2を用いて測定した。アセチルコリン(1 μ M)はFura-2蛍光を増加させ、この反応はFura-2を取り込ませた後約2時間にわたり反復して観られたが、その後は明瞭な反応は観られなかった。Ba²⁺(0.5mM)はFura-2蛍光を持続的に増加させ、Ba²⁺存在下でアセチルコリンはFura-2蛍光反応を最初は増加させ、2時間を過ぎると減少させた。アセチルコリンによる蛍光反応の時間的変化はFura-2漏出が内皮細胞と平滑筋細胞で異なることによると思われる。すなわち内皮細胞からのFura-2漏出が早いであろうと考えた。平滑筋側でみられるアセチルコリンによる蛍光減少作用はニトロアルギニン(10 μ M)、インドメタシン(5 μ M)によって最大蛍光減少率は変化しなかったが、インドメタシンによって一過性の反応に変わった。ニトロアルギニン、インドメタシンで抑制されなかった蛍光減少は、高K⁺液(38.8mM)によって抑制されたので内皮依存性過分極因子(EDHF)の関与を想定した。EDHFの作用はK⁺channelを活性化することが知られているため、K⁺channel抑制薬の作用を検討した。アパミン(100nM)、カリブドトキシン(50nM)は内皮細胞のアセチルコリンによる蛍光増加に変化を与えなかったが、カリブドトキシンは平滑筋における蛍光減少作用を抑制した。グリベンクラミド(1 μ M)、4-アミノピリジン(1mM)においてはほとんど抑制はみられなかった。以上のことによりモルモット小腸粘膜下層の細動脈平滑筋におけるCa²⁺減少作用にはEDHF・プロスタノイドの関与がみられ、EDHFはカリブドトキシン感受性K⁺channelを介していることが想定された。またp450の阻害薬であるSKF-525A(50 μ M)は平滑筋におけるCa²⁺減少作用を抑制したが、内皮細胞のCa²⁺も減少させたので、アラキドン酸代謝産物の関与は明らかではなかった。

56. 糖尿病および高コレステロール餌負荷マウスの胸部大動脈における内皮細胞へのACh誘発Ca²⁺流入の変化とその原因について

星薬科大学・医薬品化学研究所・機能形態研究室

中島正登、鎌田勝雄

糖尿病、高脂血症時にはアセチルコリン(ACh)による内皮依存性弛緩反応が減弱しているという報告が数多くある。また、当研究室では、糖尿病時には血中のLDLの増加がみられ、これが酸化される時に生じるlysophosphatidylcholine(LPC)によって内皮由来弛緩因子(EDRF:NO)の産生放出が妨げられ、内皮細胞機能に障害がおこることを示唆している。一方、糖尿病マウスにおけるAChによる内皮依存性弛緩反応減弱の一つの原因として、内皮細胞へのCa²⁺流入の減少が考えられる。そこで、糖尿病および高コレステロール餌負荷マウスを用いて糖尿病、高脂血症時に内皮細胞へのAChによるCa²⁺流入が減少しているかどうかを検討するとともに、Ca²⁺流入の減少を引き起こす原因についても検討した。

対照群、糖尿病群、高脂血症群のそれぞれから摘出した胸部大動脈リング標本においてACh10⁷、10⁶、10⁵Mの3用量を累積投与し、内皮細胞へのCa²⁺流入を観察した。糖尿病群、高脂血症群共に、AChによる内皮細胞へのCa²⁺流入は対照群と比較して有意に減少していた。そこで次に、このCa²⁺流入の減少が血中LDL値の上昇の為に起こっているのかどうか調べるために、糖尿病および高脂血症マウスにcholestyramineあるいはpravastatinを1日1回10週間経口投与し血中LDL値の増加を抑えた後に内皮細胞へのCa²⁺流入を観察した。糖尿病マウス、高脂血症マウスともに、内皮細胞へのCa²⁺流入は有意に増加し、対照群と同程度にまで改善された。以上のことより、糖尿病および高脂血症時にみられるACh誘発内皮依存性弛緩反応減弱の原因のひとつは、血中LDL値の上昇によって引き起こされる内皮細胞へのCa²⁺流入の減少であることが示唆された。

57. スフィンゴシルホスホリルコリンは*in situ*内皮細胞の細胞質Ca²⁺濃度を増加させる

山口大学医学部生理学第一講座

最上 紀美子、轟 - 池田 奈津子、小林 誠

スフィンゴ脂質は、細胞膜の生理的な構成成分として存在する膜脂質である。最近、種々の細胞（線維芽細胞、星状細胞腫、HeLa細胞など）において細胞増殖を促進することが報告され、また、細胞質Ca²⁺濃度（[Ca²⁺]_i）の増加、phospholipase Dの活性化、inositol phosphateやアラキドン酸の産生、Cキナーゼの阻害など、細胞内情報伝達系に対し、多彩な効果をもつ可能性が報告されている。今回、我々はスフィンゴ脂質の一つであるsphingosylphosphorylcholine（SPC）が*in situ*内皮細胞の[Ca²⁺]_iに対してどのような作用を示すかを検討した。

20 μM fura-2 AM 含有 Krebs 液中で、2時間インキュベートすることにより、ウシ大動脈弁条片（2 × 3 mm）に fura-2 を負荷し、正常 Krebs 液中 25℃ で蛍光測定を行った。測定装置は、日立 F-2000 形蛍光分光光度計を NEC コンピューターにて外部制御して使用し、340nm と 380nm の 2 波長励起を行い、510nm の蛍光強度を計測した。各励起波長での蛍光強度 F340 と F380 の比 (F340/F380) を、[Ca²⁺]_i 変化の指標とした。[Ca²⁺]_i の変化は、10 μM ATP が引き起こす [Ca²⁺]_i 上昇を 100% として、% 表示した。各実験の初めに、10 μM ATP の反応 (100%) を記録し、15 分後に SPC を投与した。

正常 Krebs 液中で 20 μM SPC は、ウシ大動脈弁 *in situ* 内皮細胞の [Ca²⁺]_i の一過性の上昇、及びそれに引き続く持続的な上昇を引き起こした。無Ca²⁺溶液中では、SPC による [Ca²⁺]_i の一過性の上昇のみ認められ、持続的な [Ca²⁺]_i の上昇は消失した。以上のことから、SPC は細胞内ストアからのCa²⁺の放出だけでなく、細胞外からのCa²⁺流入を引き起こすことが示唆された。

58. ヒト・ラット・ウサギ膀胱平滑筋および外尿道括約筋におけるβ₃受容体の存在とその機能

東京医科歯科大学 泌尿器科, 秋田大学 第2生化学*

森田 隆, 辻井俊彦, 増田 均, 遠坂 顕, 近藤 俊*

【目的】アドレナリンβ₃受容体が最近ヒト消化器の平滑筋に分布することが知られるようになった。ヒト膀胱平滑筋や外尿道括約筋には豊富にβ₂受容体が存在し、蓄尿の役割を担っているため、下部尿路におけるβ₃受容体の有無とその役割について検討した。

【対象】ヒト膀胱平滑筋、外尿道括約筋、対照として骨格筋を、またラット、ウサギ膀胱平滑筋、外尿道括約筋を用いた。

【方法】1) ¹²⁵I-Iodocyanopindolol (¹²⁵I-ICYP) のヒト膀胱平滑筋、外尿道括約筋および骨格筋への結合、および飽和結合に対する isoproterenol (Iso: β₁), clenbuterol (Cle: β₂), GS332 (GS: β₃) の抑制 (Ki 値) を調べた。2) *in vitro* においてヒトの膀胱平滑筋およびラット、ウサギ膀胱平滑筋と外尿道括約筋の収縮に対する前記 agonists の作用を検討した。

【結果】1) ¹²⁵I-ICYP の結合量 (B_{max}: fmol/mg) は膀胱22、括約筋17、骨格筋15 (n=4, mean) であった。Ki 値は Iso, Cle が膀胱=括約筋>骨格筋であったのに対し、GS は骨格筋>括約筋>膀胱であった。2) GS はヒト、ラット膀胱を弛緩させ、Cle はヒト、ラット、ウサギ膀胱を弛緩させ、ウサギ括約筋を収縮させた。

【考察および結論】ヒトの膀胱にはβ₂, β₃のいずれをも介する弛緩反応が存在し、ヒト外尿道括約筋にはβ₂, β₃受容体が存在する事が判明した。従ってβ₃ agonists は、Cle と同様に尿失禁に効果を有すると推察されるが、骨格筋に対する親和性が膀胱や括約筋より低い事から、Cle に比較して手指の振戦の副作用は少ない事が予想される。また、下部尿路におけるβ₂, β₃受容体の分布には種差のある事が示唆される。

59. 急速反復強制膀胱運動（膀胱マッサージ）後のラット膀胱の収縮蛋白及び膀胱で産生される神経成長因子の変化
 琉球大学泌尿器科¹⁾, 信州大学泌尿器科²⁾, 秋田大学泌尿器科³⁾, 秋田大学第2生理⁴⁾
 菅谷公男¹⁾, 西沢 理²⁾, 工藤貴正³⁾, 石田俊哉³⁾, 佐藤智哉⁴⁾, 小川由英¹⁾

目的：頻尿や尿失禁といった蓄尿障害症例のなかには低膀胱容量の症例や低コンプライアンス膀胱などの拡張不全膀胱症例がある。このような例では抗コリン薬の効果は十分ではないが、最大膀胱容量より少ない炭酸ガスを膀胱内に注入・吸引する操作を繰り返すと膀胱容量は有意に増加し症状は改善した。今回はこの膀胱マッサージが膀胱平滑筋に及ぼす効果をラットを用いて膀胱のミオシン(M)とアクチン(A)及び神経成長因子(NGF)を測定して検討した。

方法：ハロセン吸入麻酔下のSD系雌ラットの尿道からカテーテル(PE-50)を膀胱に挿入し、0.5-0.8mlの空気を1秒間で注入し、1秒間で吸引する操作を10分間繰り返した。この膀胱マッサージは注入量が多い場合にカテーテル周囲から空気が容易に漏れ出る状態で行った。マッサージを行っていないコントロールラットとマッサージの1日後のラットの膀胱を取り出し、電気泳動法にてMとAの含量比を計測し、ELISA法にてNGFを測定した。

結果：膀胱マッサージ1日後の膀胱のMは激減し、Aも減少していた。コントロールのM/Aは 0.377 ± 0.016 (n=7)であったが、マッサージ1日後では 0.026 ± 0.009 (n=7)と有意(p<0.0001)に低下していた。NGFはコントロールの 360 ± 55 pg/g湿重量(n=8)からマッサージ1日後には 1703 ± 179 pg/g湿重量(n=4)へと有意(p<0.0001)に増加していた。

結論：膀胱マッサージ後のNGFの増加は平滑筋細胞の伸展に伴う反応と考えられ、M/Aの低下は平滑筋の筋原線維の破壊に原因があると考えられた。しかし、本療法を行った臨床例でマッサージ後に尿排出障害が悪化した症例がいなかったことから、臨床例における本療法に伴う筋原線維の破壊の程度は膀胱収縮力を低下させるほどではないことが予想される。

60. 触覚センサーを利用した膀胱壁硬度の測定

福島県立医科大学泌尿器科

馬目 雅彦・加宅田 和彦・山口 脩

我々は、接触させただけで生体の硬さが測定できるセンサーを開発してきた。今回はこの触覚センサーが、膀胱壁の組織学的変化をどこまで捉えられるかについて、ウサギの閉塞膀胱モデルに対して検討を加えた。膀胱の硬度測定には、経尿道的測定が可能なカテーテルタイプのセンサーを用いた。センサーの出力は、対象の硬さに対応した固有周波数からの偏位(Hz)で表され、stiffness(g/cm)に校正した。まず本センサーが接触面からどの位の深さまでの情報を検出できるかについて、膀胱と同じ硬さのゼラチンゲルを用いて基礎的検討を行った。この検討で接触面から少なくとも15mm以内に起こる硬さの変化を検出できることが示唆され、空虚時の膀胱壁の厚さを考慮しても本センサーが膀胱壁の硬度変化を計測可能なことが示された。閉塞膀胱モデルは、ウサギの尿道を部分閉塞した後3~6週経過したものを利用した。麻酔下で開腹、膀胱内圧測定後、センサーを膀胱頸部から挿入し、粘膜側から膀胱壁の硬度を測定した。また硬度測定部位をホルマリン固定し、Elastic-Masson染色を施し、壁全層に占める平滑筋面積(muscle index: MI)と繊維組織面積(fiber index: FI)とを計測した。ウサギ正常膀胱の硬度は 2936 ± 970 Hz(8.7g/cm)であり、MIは35.6%、FIは26.5%であった。一方閉塞膀胱では測定したどの部位でも硬さは有意に増加し、6週以上経過した閉塞膀胱モデルでは硬度が 1567 ± 434 Hz(11.2g/cm)であり、MI 17.4%、FI 41.0%であった。また種々の膀胱閉塞期間における同様の計測では、MI及びFIはセンサー出力値と強く相関していた。本検討から、閉塞膀胱に伴う硬度の増加は、筋成分の減少を伴う繊維成分の増生によることが示された。本センサーによって内視鏡的に膀胱壁の組織学的変化をある程度捉えることが可能であると考えられ、膀胱内圧測定などの従来の膀胱機能検査では捉えられなかった変化も推定できる可能性が示唆された。

61. 前立腺肥大症腺腫におけるNOS活性とET受容体濃度の変化
秋田大学第2生化学, 東京医科歯科大学泌尿器科*
近藤 俊, 森田 隆*

【目的】NO(一酸化窒素)やET(エンドセリン)は多くの生体組織で神経伝達物質などとしての重要な機能を有している。前立腺でのNOやETの役割はまだよく分かっていない。ヒト前立腺におけるこれらの物質に前立腺肥大症が及ぼす影響をNOS(一酸化窒素合成酵素)活性とET受容体(ET-R)濃度を測定することにより検討したので報告する。

【対象】前立腺肥大症で前立腺摘出術を受けた症例から標本を得た。前立腺肥大症のない腺腫は悪性腫瘍で膀胱全摘出術を受けた症例から得た。両者の区別は臨床的な閉塞症状の有無と病理所見によった。

【方法】前立腺標本から細胞膜を調製し、¹²⁵I-ET-1、-2、-3を用いた受容体結合実験からET-R濃度を測定した。NOS活性は³H-citrullinがNOの作用によって³H-arginineに変換された量を測定することによって算出した。

【結果】前立腺肥大症腺腫ではET-1-R、-2-R、-3-Rの濃度がすべて有意に増加していた。NOS活性では前立腺の上清と沈渣の両方で活性が検出された。上清では前立腺肥大による影響は見られなかったが、沈渣では前立腺肥大による有意な減少が認められた。この沈渣で検出されたNOS活性にはcalmodulinによる影響がなかったことからeNOSの活性が主体であると推測された。

【考察】前立腺肥大症ではET-Rの増加は前立腺の収縮の亢進を惹起することで閉塞症状に関係することが考えられた。一方、NOは平滑筋弛緩作用を有するので、前立腺のNOS活性の減少は前立腺平滑筋の弛緩を障害することでやはり閉塞症状に関係することが考えられた。

62. 胃全摘術後における嚥下評価 とくにバリウム通過時間の測定

日本大学第3外科

佐藤博信, 村山 公, 大塚善久, 鈴木武樹, 宋 圭男, 深瀬知之,
田中和彦, 畠中康晴, 松下佳代, 山形基夫, 田中 隆, 岩井重富

【目的】胃癌手術においては幽門側胃切除術でもリンパ節郭清や血行郭清のために噴門部の手術操作が必要になる頻度が高い。まして胃全摘術において噴門部は切除され、食道空腸吻合術により再建されることが多く、下部食道噴門括約機構の破綻は必須である。そこで胃癌術後における嚥下機能の評価をバリウムの通過時間を測定して検討したので報告する。

【対象と方法】消化管に異常のない11症例を対照として胃切除術後10例、胃全摘術後9例を比較検討した。方法は上部消化管透視の際にバリウム50mlを口腔内に服用させ合図とともに嚥下させ、バリウム後縁が噴門部または吻合部を通過するまでの時間を測定した。同一症例を2回測定して、対照群、胃切群、胃全摘群におけるバリウム通過時間を評価し検定した。

【成績】対照群の平均嚥下時間は 5.81 ± 0.25 秒でそれに対して胃切群 6.94 ± 0.61 秒、胃全摘群 10.38 ± 1.46 秒と術後症例の方に嚥下時間の延長が見られた。しかし統計的には対照群と胃切群との有意差はなく、対照群と胃全摘群および胃切群と胃全群においてのみ有意差($P < 0.05$)を認めた。

【考察と結語】胃手術後の嚥下評価を検討するためにバリウムによる嚥下時間を測定したところ、胃全摘術後において嚥下時間の延長が認められた。これは明らかに胃全摘術において噴門機能の破壊が高度であることを示唆するものであり、胃全摘術後においては嚥下機能も障害されると考えられた。

63. アカラシアのinfusion法と24時間microtransducer法による食道運動機能

東京慈恵会医科大学外科

梁井 真一郎、羽生 信義、山本 尚、宮川 朗、西川 勝則、梶本 徹也、
橋本 慶博、中田 浩二、古川 良幸、青木 照明。

アカラシアの病態は下部食道括約筋 (LES) の弛緩と食道蠕動運動の欠如と定義され、短時間のinfusion systemによる食道内圧測定で上記の所見が観察されることを報告してきた。今回はアカラシア症例のinfusion法による短時間の食道内圧とmicrotransducer法による24時間食道内圧を測定したので報告する。〈対象〉アカラシア4例でその内訳はspindle type 2例、flask type 1例、sigmoid type 1例である。拡張度はII度3例、III度1例である。〈方法〉infusion法はDent sleeveでArndorfer pumpを用いて仰臥位で測定した。別の日に5cm間隔の6チャンネル製のmicrotransducerを食道内4ヶ所、LES、胃内に留置しレントゲン撮影でその位置を確認後24時間の測定を行った。食餌や生活は通常どおりにできるだけ制限しないこととした。〈結果〉infusion法による短時間の食道内圧測定では4例ともLESの弛緩と食道蠕動運動の欠如が認められた。microtransducer法による24時間食道内圧測定ではspindle type、拡張度II度の2例で食道蠕動様運動や下部食道に強い収縮波が認められ、LESの弛緩も認められた。flask type、拡張度III度の症例は食道蠕動運動は欠如していたがLES圧の著明な変動がみられた。sigmoid type、拡張度II度の症例では同期性の収縮波が主体であった。〈まとめ〉1. いずれのアカラシアもinfusion法による短時間の食道内圧測定ではLESの弛緩と食道蠕動運動の欠如が認められたが、microtransducer法による24時間食道内圧測定では食道蠕動様運動やLESの弛緩が認められる症例もあることが明らかになった。2. microtransducer法による24時間食道内圧測定では短時間のinfusion法とは違った所見が得られ、アカラシアをはじめとする食道運動障害の病態解明に有用と考えられた。

64. 術後食道痙攣が再発し、食道筋層切開術が著効した激症アカラシアの一例 (続報)

日本大学医学部第3外科

田中和彦、田中 隆、山形基夫、佐藤博信、村山 公、宋 圭男、鈴木武樹、大塚善久、
深瀬知之、松下佳代、小林秀昭、稲見直邦、岩井富重

び慢性食道痙攣症は原発性のものと、アカラシア、憩室、裂孔ヘルニアなどの食道良性疾患に合併する続発性のものがある。いずれも真の発生原因については不明のことが多く、その病態の詳細はいまだあきらかでない。今回はアカラシア手術後に食道痙攣の再発を認め、薬剤療法に抵抗性であったため、胸部食道筋層切開術を施行し著効した激症アカラシアの一例について報告する。症例は47才女性、12年前より嚥下障害を訴え、激症アカラシア (Sp型grade II typeA) の診断のため1994年12月Girard-田中変法を施行し通過障害、食道痙攣の軽快をみた。その後、食道痙攣が再発したため抗コリン剤 (scopolamine butylbromide)、カルシウム拮抗剤 (nycadipine hydrochloride)、マイナートランキライザー (alprazolam)、トリアゾピリジン系抗鬱剤 (trazodone hydrochloride) を投与し軽快したが1996年6月頃より胸痛再発、次第にコントロール不能となり固形物摂取不能となったため同年10月、胸部食道筋層切開術施行目的にて入院した。筋層切開術前の食道造影、食道内圧測定では食道痙攣を認めたが通過障害はみられなかった。1996年12月、胸部食道筋層切開術を施行、その後症状は軽快し、固形物の摂取が可能となった。術後の食道造影、食道内圧測定でも食道痙攣を認められない。

本症例はアカラシア手術後通過障害は改善したが食道痙攣による胸痛は改善されず、抗コリン剤、カルシウム拮抗剤による薬剤療法に抵抗性であった。発症要因には心因性の要因、中枢神経系の関与も考えられ、マイナートランキライザー、トリアゾピリジン系抗鬱剤が有効であったが次第に治療に抵抗性を呈した。本症例のように薬剤治療に対し抵抗性を呈する症例では広範囲にわたる食道筋層切開術が有効であった。

65. 肥厚性幽門狭窄症における腸雑音と胃排出率

群馬大学小児科 群馬県立小児医療センター*

友政 剛, 高橋 篤*, 鈴木則夫*, 田端雅彦, 金子浩章, 森川昭廣

【背景】腸雑音の量は、胃小腸の収縮運動の他に、胃から小腸に送り込まれる空気の量に大きく左右される可能性が示唆されている。肥厚性幽門狭窄症では、胃運動は亢進している可能性がある反面、胃から小腸への物質の転送は低下しているものと考えられる。先の仮説が正しければ、本症の児では、腸雑音の低下が予想される。本研究では、肥厚性幽門狭窄症の児において幽門筋切開術の前後にわたって、腸雑音量と胃排出率の推移を検討した。【対象と方法】腸雑音の記録は肥厚性幽門狭窄症の児9例、日齢56.0+/-19.4、を対象として術前および術後9-12、20-24、40-48、60-72hに記録した。このうち6例については、胃排出時間を術前および術後9-12、20-24、40-48hに測定した。腸雑音は、臍直下腹壁に両面テープで接着したマイクロフォンで最低60分間持続的に集音し、80HzのfilterおよびAV変換器をとうしてコンピューターに入力した。解析(定量化)はAV変換器付属のプログラムを用い、3分間ごとに得られた全信号の電圧(mV)の総和を求め、Sound Index (SI, mV/min)とした。体動などによる雑音の影響をさけるため、睡眠中のデータのみを解析対象とした。プロトコルで決まった時間内に15分以上のデータが解析対象とならなかった場合は、結果から除外した。胃排出率は、phenol redを加えた20mlの蒸留水を胃チューブで胃内に投与したあと、マーカー希釈法(double sampling method)によって、注入した蒸留水と分泌された胃液のうち、30分および60分以内に胃から十二指腸へと排出された量を求めた。【結果】術前のSI(3.7+/-0.3)は対照児(21.6+/-3.7)よりも小さく、術後24時間(14.4+/-5.3)以降有意に増加した。胃排出率は、30分値、60分値とも、術前(3.8+/-1.7, 5.7+/-1.2)は著しく低値であったが、術後SIとともに増加した(24時間: 18.5+/-5.1, 28.4+/-5.2)。術後2-5日の間に嘔吐を認めた例では、術後24時間目の腸雑音量が低値であることが多かった。【結論】肥厚性幽門狭窄の児において、胃排出率と腸雑音量は、ともに低下しており、術後速やかに増加した。これは、腸雑音が胃から送られる空気量に依存するという仮説に矛盾しないと思われる。

66. 空腹時胃内腔横断面積の臨床的意義に関する検討

一休外式超音波による評価一

広島大学医学部第一内科

花ノ木陸巳、春間賢、畠二郎、藤村二郎、谷 洋、岡本英一、二神安弘、

津賀勝利、楠裕明、山下直人、田中信治、吉原正治、隅井浩治、梶山悟朗

【背景】Ricciらは、体外式超音波(以下US)にて胃前庭部内容量は飲水量と相関し、NUD患者ではcontrolと比較して空腹期、食後期ともに大きく、dyspepsia症状との関連があるとし、HauskenらもNUD患者の空腹時胃前庭部面積(以下前庭部面積)はcontrolと比較して大きく、腹部膨満が唯一面積と関連のある症状で、cisapride投与で面積の減少と症状の改善があったと報告している。このように前庭部面積は胃排出障害と関連があることが指摘されている。【目的】健常人およびNUD患者の前庭部面積をUSで測定し、その臨床的意義を検討した。【対象】健常人48例(男性28例、女性20例、平均43.9歳)およびNUD患者86例(男性41例、女性45例、平均54.9歳)【方法】早朝空腹時座位にて、USで腹部大動脈と上腸間膜動脈が同一断面に観察される部位での胃前庭部横断像を描出し、収縮の観察によりIMC cycleのどのphaseにあるか確認し、phaseⅢおよびその直後を除いた時点での内腔面積を装置内臓キャリパーを用い、胃内腔粘膜面をトレースし算出した。【結果】1) 健常人における検討では前庭部面積はIMC cycleのphaseⅢ直後で減少し、プロトンポンプ阻害剤による胃液分泌抑制剤で減少する傾向があった。2) 健常人の前庭部面積は0.04~7.86(1.52±0.23)(mean±S.E.)(cm²)で、NUD患者は0.11~14.2(2.23±0.23)で、NUD患者で有意に増大していた(p<0.05)。3) 前庭部面積と液体食および固形食胃排出能との間には相関を認めなかった(順にr=0.14, 0.16)。【結論】空腹時胃内容量を反映する空腹時胃前庭部面積はNUD患者で増加しており、NUDの病態の一部を反映していると考えられた。

67. モルモット盲腸紐におけるBRL37344及びBRL35135による β_3 -アドレナリン受容体を介した弛緩反応
東邦大学薬学部薬理学教室
小池勝夫, 高柳一成

我々は、既に、モルモット盲腸紐の β -受容体を介した弛緩反応は、主として β_2 -受容体を介し、一部に β_3 -受容体も介していることを報告した。今回、我々は、 β_3 -受容体に特異的に作用する活性薬といわれているBRL37344及びBRL35135によるモルモット盲腸紐の弛緩反応について検討した。

ハートレー系雄性モルモット（体重300-500g）を撲殺瀉血後直ちに盲腸紐を摘出し、空気を通じ32℃に保ったLocke-Ringer液を満した20mlのorgan bath中に懸垂した。筋の機械的応答は、0.7gの負荷のもと等張性に記録した。

モルモット盲腸紐は、BRL37344により濃度依存的な弛緩反応を生じ、そのintrinsic activity（固有活性；i.a.）及び pD_2 値はそれぞれ0.89及び7.27であった。また、その濃度反応曲線は、プロプラノロール、フェントラミン、アテノロール、プトキサミン、プラゾシン、ヨヒンビン等の拮抗薬で影響を受けなかった。しかし、ブプラノロールによりその濃度反応曲線は濃度依存的に右方へ平行移動し、Schild plotの傾きは1と有意な差はなく、その pA_2 値は5.79であった。同様に、BRL35135によってもモルモット盲腸紐は濃度依存的な弛緩反応を生じ、そのi.a.及び pD_2 値は0.49及び8.09であった。また、ブプラノロールによりその濃度反応曲線は右方へ平行移動し、その pA_2 値は5.84であった。

モルモット盲腸紐において、BRL37344及びBRL35135による弛緩反応が各種遮断薬により影響を受けなかったことやこれらによる弛緩反応に対してブプラノロールが μ Mオーダーで効いたということは、この弛緩反応が β_3 -受容体のみを介していることを示している。

68. 短期、長期STZ 誘発糖尿病ラットにおける内皮依存性弛緩反応の変化と、血中LDL 値及び血管 SOD mRNAの変化
星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
小林恒雄、鎌田勝雄

【目的】糖尿病は様々な合併症を誘発し、その原因として血管内皮細胞の機能障害が示唆されている。内皮細胞の機能障害として、血中の LDL (low-density lipoprotein) の上昇、及び SOD (superoxide dismutase) の低下によって増加した O_2 が NO を不活性化するのではないかと報告されている。そこで今回、STZ 投与後の各期間における内皮依存性弛緩反応の変化、血管 SOD mRNA、血中 LDL 値並びに、肝臓 LDL-receptor mRNA の変化をそれぞれ経時的に比較検討し、糖尿病時における内皮依存性弛緩反応の減弱の原因を検討した。【方法】実験には、雄性の Wistar 系ラット、及び streptozotocin 60mg/kg を尾静脈注射することにより作成した糖尿病ラットを用いた。内皮依存性弛緩反応の検討をするために、摘出した胸部大動脈は螺旋状標本とし、NE (norepinephrine) で等尺性に反応を記録した。mRNA の発現の変化の比較検討には、RT-PCR 法を用いた。【結果】血中総 cholesterol 値、血中 LDL 値は、4W、10W 糖尿病群では有意に増加した。Competitive PCR 法による LDL-receptor の mRNA 値は、4W、10W 糖尿病群は control 群と比べ有意に減弱した。ACh 累積投与による弛緩反応は、10W 糖尿病群のみ減弱した。Competitive PCR 法による Mn-SOD の mRNA 値の測定を行ったところ、10W 糖尿病群においてのみ減弱した。【考察】以上のことより、糖尿病時における内皮依存性弛緩反応の減弱の一つとして、SOD の活性の低下による増加した O_2 によって、内皮から遊離される NO の不活性化、および LDL の酸化変性が内皮の機能を障害していると考えられる。さらに、このような糖尿病時に生じる血中 LDL 値の増加は、肝臓における LDL-receptor mRNA の低下による LDL 代謝不全が関与しているのかもしれない。

69. 糖尿病ラット腸間膜動脈の ET-1 による血管収縮および弛緩反応の特徴

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
牧野綾子、鎌田勝雄

血中 ET-1 濃度は様々な病態時において高値を示しており、その後の血管障害の進展や臓器合併症の誘発に関与していると思われる。そこで今回 STZ 誘発糖尿病ラットを用い、この病態時における ET-1 の血中動態および腸間膜動脈床での ET-1 に対する血管反応の変化を検討した。血中 ET-1 濃度は糖尿病時有意に増加し、高グルコース灌流においても ET-1 遊離量が増加した。ET-1 累積的収縮反応は糖尿病群で有意に減弱し、両群において L-NNA による影響を受けなかった。これらのことから basal level の NO は ET-1 に対する反応に影響を与えていないことがわかった。Methoxamine 前収縮後 ET-1 (10^{-8} M) 投与により一過性の弛緩反応に引き続き、強い収縮反応が認められた。しかし糖尿病群において弛緩反応は有意に増強し、収縮反応は有意に減弱していた。この弛緩反応は内皮細胞除去、BQ-788 処置によって消失したことから内皮細胞上の ET_B 受容体を介したものであることが示唆された。BQ-485、BQ-123 のどちらの薬物処置においても、対照群で弛緩反応の増強が認められ、これは糖尿病群における弛緩レベルにまで達したが、糖尿病群において影響はなかった。IRL-1620 による累積弛緩反応は糖尿病群において有意な減弱が認められた。NO、EDHF、プロスタノイドの関与を除くことにより ET-1 による弛緩反応は有意に減弱したが、対照群では NO が、糖尿病時では EDHF が主な弛緩因子であることが示唆された。以上のことから糖尿病時において ET_A 及び ET_B 受容体刺激による反応は減弱し、これは血糖上昇の結果生じた血中 ET-1 の増加が関与していると思われる。正常状態では ET-1 刺激による弛緩反応は内皮から誘導される弛緩因子がバランスよく関与しているのに対し、この病態時においては ET-1 における弛緩反応の主な要因は EDHF に代わることが示唆され、さらに ET-1 による弛緩反応が対照群より糖尿病群において有意な増強が認められたのは、この病態時における ET-1 の収縮反応の減弱、つまり脱分極が小さくなったため EDHF が引き起こす弛緩反応をさらに増強させたものと思われる。

70. 血管平滑筋における Interleukin 1 受容体を介した誘導型 NO 合成酵素の発現機序

徳島大学薬学部薬理学教室
久山哲廣、水足政二、守時英喜

我々は内皮などに構成的に存在し循環調節に関わる NO synthase (cNOS) とは異なり、炎症性サイトカインである interleukin 1 (IL-1) などにより、*de novo* 合成され病態に関与する可能性のある誘導型 NO synthase (iNOS) の存在を示唆し、さらに iNOS 発現には novel type の protein kinase C が関与すること、実際に iNOS が誘導されるためには iNOS mRNA が転写されるだけでは不十分で、何らかの転写後調節機構が活性化される必要がある可能性を報告してきた。今回、ラット胸部大動脈から酵素分散法により得られた培養平滑筋細胞 (RASMC) を用い、IL-1 受容体を介した iNOS mRNA の発現およびその分解過程に対する検討を試みた。【結果】H-7、Ro 31-8220 などの PKC 阻害薬は IL-1 β による iNOS mRNA の産生を抑制した。conventional protein kinase C (cPKC)、novel PKC (nPKC) を選択的に阻害する calphostin C も阻害効果を示したが、cPKC の選択的阻害薬である Gö 6976 の阻害効果は認められなかった。IL-1 β を 6 時間処置し iNOS mRNA を発現させた後、十分量の actinomycin D を適用して転写活性を停止させ、その後細胞内の iNOS mRNA 量を経時的に測定し、同 mRNA の分解速度を求めた。Actinomycin D を単独適用し IL-1 受容体を活性化させた場合と比較して、IL-1 receptor antagonist を同時に与え受容体からのシグナルを遮断すると iNOS mRNA の分解速度は促進された。一方、Ro 31-8220 は iNOS mRNA 分解速度になんら影響を与えなかった。【考察】RASMC における IL-1 受容体活性化を介した iNOS 発現機構において、少なくとも 2 つの独立した情報伝達経路が存在する可能性が考えられた。ひとつは nPKC に依存する転写前調節に至るものであり、他は iNOS mRNA 分解抑制に関与する PKC 非依存性の転写後調節に至る経路である。これまでに我々が得た結果を合わせて考えると、両者の経路が同時に活性化されることにより iNOS が誘導される可能性が示唆された。

71. NO合成酵素誘導による Adenosine-弛緩の増強

徳島大学・薬・薬理

貴田 寛、阿部真治、久山哲廣、守時英喜

我々は前回、血管平滑筋を LPS で長時間刺激すると誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) が誘導され、iNOS が誘導された標本では β -アゴニストである isoproterenol の弛緩作用が増強されることを報告した。またその機序として iNOS から自発的に産生される NO が cGMP を産生し、この cGMP が弛緩作用を増強している可能性を示唆した。当研究室では adenosine の弛緩作用が加齢と共に著しく減弱し 10 週齢前後の標本では非常に弱い弛緩反応しか引き起こさないことを明らかにしており、今回 10 週齢の標本を用いて通常では顕著に観察されない adenosine の弛緩作用が iNOS 誘導によりどの様に修飾されるか検討した。10 週齢のラットより摘出した胸部大動脈の内皮を除去しリング状標本を作成した。これに adenosine を適用しても $300 \mu\text{M}$ といった高濃度からしか弛緩反応は観察されず最大反応も他の弛緩薬に対し非常に弱いものであった。標本を LPS で 8 時間処理すると iNOS 誘導のマーカーである L-arginine による弛緩反応、cGMP 産生、 NO_2^- 蓄積が認められた。この標本に再び adenosine を累積適用すると $10 \mu\text{M}$ から弛緩作用を示し、 $300 \mu\text{M}$ ではほぼ最大弛緩を引き起こした。しかし LPS 処理時に蛋白合成阻害作用を有する cyclohexamide を共存させた標本では弛緩増強は観察されなかった。また増強された弛緩反応は iNOS 阻害薬である aminoguanidine によりコントロールレベルにまで減弱した。さらに NO-donor である nitroprusside 存在下では adenosine-弛緩は増強されていた。以上より誘導された iNOS から産生される NO により adenosine の弛緩は増強されることが示唆された。前回報告した isoproterenol の弛緩作用とは異なり、コントロールでは顕著に認められない adenosine の弛緩が iNOS 誘導後では感受性のみならず最大反応も増強されることが興味深く、通常では微弱な弛緩作用しか持たないアゴニストの作用が iNOS 誘導下では増強している可能性が示唆される。

72. モルモット十二指腸平滑筋の電気的性質

名古屋市立大学・第一生理

高野 博充、鈴木 光

モルモット十二指腸輪走平滑筋細胞の神経応答を電気生理学的手法を用いて調べた。静止膜電位は約 $-45 \sim -60 \text{mV}$ で、自発性活動電位の発生が観られる標本もあった。静止時に、経壁的電気刺激によって神経を刺激すると、興奮性接合部電位 (EJP) と抑制性接合部電位 (IJP) が誘発され、多くの細胞では、1秒ほどの潜時を経た後に、5秒ほど続くゆっくりとした脱分極がみられ、さらにその上に、群発的なスパイク状の脱分極を発生させるものもあった。このスパイク状電位反応はニフェジピン ($1 \mu\text{M}$) で抑制されたので、カルシウムスパイクであると考えた。EJP はアトロピン ($1 \mu\text{M}$) で抑制されたので、コリン作動性神経によるものであると考えた。ニトロプルシッドは膜を過分極させたが、IJP に対するニトロアルギニン ($10 \mu\text{M}$) の抑制効果は弱かったので、IJP には一酸化窒素 (NO) は、わずかししか関与していないと考えられた。また、IJP はグアナチジン ($10 \mu\text{M}$) では変化しなかったもので、非アドレナリン作動性であることが判った。IJP はアパミン ($0.1 \mu\text{M}$) で抑制されたが、それに続く脱分極反応は変化しなかった。しかし、この遅発性の興奮反応はスパンタイド ($1 \mu\text{M}$) で消失し、また、サブスタンス P によって膜は脱分極をしたことから、この興奮性の成分はサブスタンス P 作動性神経によるものであると考えた。

73. モルモットの結腸歩調とり小結節と胃幽門部輪走筋との比較研究

名古屋大学医学部解剖学第一講座¹⁾、生理学第一講座²⁾小林 繁¹⁾、N.S. Nahar¹⁾、J.U. Chowdhury²⁾、飯野 哲¹⁾

モルモット結腸では歩調とり部位 (pacemaker area) に含まれるの種々の領域から摘出標本を作製すると、その自発性律動収縮を記録できる。特に腸管膜付着部の輪走筋内には、10-12回/分の極めて規則正しい自発性律動収縮能を有する歩調とり小結節 (P小結節) があり、その活動を記録できる。胃幽門部の輪走筋から作製した同様の標本の自発性収縮を記録して両者を比較検討すると、P小結節の収縮周期は、幽門部輪走筋のもの (3-6回/分) より速い。P小結節、幽門部輪走筋ともにその自発性律動収縮には若干の不規則性 (ノイズ) を伴うが、L-NAME (50 μ M)、indomethacin (1 μ M)、atropine (1 μ M) からなるカクテルの投与で良好な規則性が得られる。

P小結節および幽門部輪走筋における自発性律動収縮の発生源を研究する目的で、両組織を走査型ならびに透過型電子顕微鏡で調べた。P小結節については結腸括約部の種々の部位と比較しながら研究した。その結果、P小結節には細い細胞質突起を特徴とする小型の平滑筋細胞の網目が輪走筋層の粘膜下表面に存在することが判明した。同様の平滑筋細胞はP小結節以外の結腸括約部にも見られるが配列が不規則であり密度は低い。これらの小型平滑筋細胞にはギャップ結合が多く認められる。幽門部輪走筋では小型平滑筋細胞がまとまって出現する像は観察されない。したがってP小結節では小型平滑筋細胞がこの組織に固有の自発性律動収縮の発生に関与する可能性が高い。

74. モノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおける肺動脈の機能変化

東京大学大学院 農学生命科学研究科 獣医薬理学教室

堀 正敏、尾崎 博、唐木 英明

モノクロタリン (MCT) 誘発肺高血圧ラットは人の原発性肺高血圧の病態解明のための実験モデルとして使用されており、肺動脈における内皮細胞の機能障害による NO 放出量の減少が肺高血圧の進行に関与すると言われている。本研究では MCT 誘発高血圧ラットの摘出肺動脈を用いてその平滑筋と内皮細胞の機能について検討した。【方法】6週齢雄性 SD ラットに MCT (60 mg/kg; MCT 処置群) および溶媒 (生食 3 ml/kg; 対照群) を単回皮下投与し、21日後に左右肺動脈を摘出してリング標本を作成し、等尺性に収縮張力を測定した。その際、パパペリン (100 μ M) 投与後の張力を筋の最大弛緩とした。【結果】MCT 処置群では投与21日後に左心室および中隔に対する右心室の重量比が対照群と比較して有意に上昇し、肺高血圧の所見を示した。内皮付着標本において、フェニレフリン (1 μ M) 収縮に対するカルバコールおよびイオノマイシンによる内皮細胞依存性弛緩反応は MCT 処置群において減弱していた。内皮剥離標本におけるニトロプルシドによる血管弛緩反応は、両群の間に大きな差は認められず、MCT 処置群においても平滑筋の cGMP/G kinase 系の情報伝達系は機能していることが示唆された。MCT 処置群の内皮剥離標本では非刺激時の静止張力は対照群に比べて増加しており、その増加分はベラパミル (10 μ M) により抑制された。一方、内皮付着標本では非刺激時の静止張力の増加はほとんど認められなかったが、NO 合成酵素阻害剤 L-NMMA (100 μ M) の適用により収縮し、内皮剥離標本のもつ非刺激時の張力と同程度に達した。【考察】MCT 誘発肺高血圧ラットの肺動脈平滑筋は、静止時においても電位依存性 Ca²⁺ チャンネルの活性化による収縮発生能力を持つこと、しかし、受容体刺激やイオノマイシンによる内皮依存性弛緩反応が MCT 処置群で減弱しているにも関わらず、内皮細胞からの恒常的な NO 産生によりこの収縮は抑制されていることが示唆された。従って、MCT による肺高血圧症の持続には内皮細胞からの NO 放出量の減少以外の要因も考慮しなくてはならないと考えられる。

75. ラット血管収縮に対するイスラジピンの抑制作用とその加齢に伴う変化

東邦大学薬学部薬理学

○佐藤 光利、金井 三良、高柳 一成

ラット胸部大動脈において、 α_1 -アドレナリン受容体サブタイプの受容体数が加齢と伴に変化し、フェニレフリン収縮の pD_2 値がこれに伴って変化することをすでに高柳ら(1989)は報告している。本報告では、 α_1 -アドレナリン受容体を介した収縮反応に対する Ca^{2+} チャンネル拮抗薬のイスラジピンの抑制作用が加齢に伴って変化することに関して検討を行った。3, 6, 10および40週齢のWistar系雄性ラットから胸部大動脈を摘出し切片標本を作製した。標本を35℃に保温し、95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを十分通気し、栄養液を満たしたオルガンバス内に懸垂した。内皮の除去は綿棒で軽く擦過することで行い、アセチルコリンの投与によって弛緩反応が生じないことを確認した。細胞内 Ca^{2+} 濃度の測定は、蛍光指示薬のfura-2/AMを負荷した標本を用いてCAF-100により測定した。また、各週齢の胸部大動脈膜標本を用いて $[^3H]$ イスラジピンの結合実験を行った。イスラジピンはノルエピネフリンの収縮反応を濃度依存的に抑制し、最大収縮の抑制率は3週齢から10週齢にかけて有意に減少し、その後10週齢から40週齢にかけて有意に増加した。また、fura-2を負荷した標本において Ca^{2+} 除去液中ノルエピネフリン($10^{-6}M$)およびイスラジピン($3 \times 10^{-7}M$)存在下での Ca^{2+} 添加による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇および収縮反応は、6週齢から10週齢まで加齢と伴に増加し、10週齢から40週齢にかけて減少する傾向であった。また、各週齢の膜分画標本を用いた $[^3H]$ イスラジピン結合実験から得られた $[^3H]$ イスラジピンの最大結合数(Bmax値)は、6週齢から10週齢まで加齢と伴に有意に減少し、その後10週齢から40週齢にかけて有意に増加した。一方、 $[^3H]$ イスラジピンの解離定数(K_D 値)は週齢による変化は観察されなかった。以上より、ラット胸部大動脈におけるノルエピネフリン収縮に対する Ca^{2+} 拮抗薬イスラジピンの抑制作用の加齢に伴う変化は Ca^{2+} チャンネル数の変化によることが明らかになった。

76. モノクロタリン誘発肺高血圧症ラットにおける肺動脈平滑筋細胞の電気生理学的検討

札幌医科大学医学部第二外科¹、第一生理²村木 里誌^{1, 2}、山田 陽一²、長島 雅人²、當瀬 規嗣²、安倍十三夫¹、薮 英世²

近年、急性単離された肺動脈平滑筋細胞(PASMC)に関する、パッチクランプ法を用いた電気生理学的検討が行われ、その特性についての報告が散見される。今回我々は、原発性及び、二次性肺高血圧症(PH)の病態での、PASMCの電気生理学的特性の変化を検討することを目的に、ラットを用いてPHモデルを作成した。

PHのモデルとしてモノクロタリン(MCT)誘発肺高血圧症ラットを用いた。MCT 60 mg/kgを皮下投与後17~20日目に体血圧及び、右室収縮期圧を観血的に測定することによりPHの発症を確認した。このモデルの左右主肺動脈のPASMCにホールセルパッチクランプ法を適用し、その電気生理学的特性について、正常肺動脈ラットとの比較を行った。両群間においては、静止膜電位に変化を認めなかった。膜電位固定実験では、PH群で0 mV以上の脱分極電位において外向き電流が有意に減少していた。そこで、PASMCの外向き電流を構成する電流として報告されているCa依存性Kチャンネル(IK_{Ca})、遅延整流性Kチャンネル(IK_{DR})の拮抗薬としてそれぞれTetraethylammonium(TEA)、4-aminopyridine(4AP)、さらにはVoltage dependent Caチャンネルを介するNisoldipineの効果も含めて検討し、電流減少には4AP感受性成分の減少が顕著であることが分かった。一方、L型Ca電流をBaをキャリアとして測定したところ、PH群では正常群に比較して、電流密度の著明な減少を認めた。以上の知見より、PH群の平滑筋細胞では外向き、内向き電流ともに減少しており、膜伝導性が低下していることが明らかになった。

77. ウサギ冠動脈における塩酸オルプリノンの血管弛緩機序

名古屋市立大学医学部薬理学教室
大橋増生, 伊藤猛雄

【目的】新しいタイプの強心作用薬である塩酸オルプリノン(E-1020)は, phosphodiesterase III (PDE-III)阻害作用により血管拡張作用をも併せ持つと考えられているが, その血管弛緩機序については不明な点が多い。今回我々は, E-1020 の冠動脈血管平滑筋弛緩機序について検討した。【方法】ウサギ心臓の冠動脈回旋枝末梢部(直径 200 - 300 μ m 程度)より内皮温存および内皮除去微小血管標本を作成し, 等尺性張力および膜電位の同時測定法にて, アセチルコリン(ACh)誘発反応に対する E-1020 の効果について検討した。【結果】内皮温存および内皮除去標本において E-1020 は血管平滑筋の膜を過分極させ, この過分極反応は glibenclamide によって抑制された。内皮除去標本において, ACh は平滑筋の膜を脱分極させ持続的な収縮を発生させた。E-1020 は ACh による収縮および膜の脱分極を抑制したが, 脱分極の抑制のために必要とされる濃度は, 収縮のそれに比し高濃度であった。また E-1020 による ACh 収縮抑制反応は glibenclamide 存在下においても認められた。内皮温存標本において, ACh は膜を持続的に過分極させるとともに一過性の収縮を発生させた。E-1020 は ACh による一過性の収縮を抑制したが, 膜の過分極反応には影響を与えなかった。【結語】ウサギ冠動脈血管において, 1. E-1020 は PDE-III 阻害作用により ATP 感受性 K^+ チャンネル活性化を介して平滑筋膜を過分極させるとともに ACh による収縮を抑制した。2. この薬物による膜過分極作用は平滑筋収縮抑制において, 主要な役割を果たしていないと考えられた。

78. ヒト妊娠子宮平滑筋細胞膜の電気的活動性に対するオキシトシンの効果

九州大産婦人科¹、久留米大三内科²、福岡歯科大・生理学³、薬理学⁵、福岡大産婦人科⁴
井上 善仁¹、中尾 一久²、岡部 幸司³、瓦林 達比古⁴、北村 憲司⁵

オキシトシンは下垂体後葉から分泌されるホルモンで、子宮平滑筋の収縮を増強することが知られており、産婦人科の实地診療でも分娩誘発や陣痛促進に最も頻繁に使用されている。しかしヒト妊娠子宮平滑筋の電気的活動に対するオキシトシンの効果を定量的に検討した報告は非常に限られている。今回われわれは微小電極法を用いてオキシトシンのヒト妊娠子宮平滑筋の電気的活動に対する効果を検討したので報告する。産科的適応で妊娠 37 週から 39 週の間選択的帝王切開を施行された患者 15 例より、インフォームドコンセントを得た上で、手術時に子宮切開創の上縁から 20 × 2 × 5 mm の子宮筋を切離して実験に供した。電気的活動は微小電極法を用いて記録した。電極内液には 3 mol/L の KCL を、外液には modified Krebs 液を用いた。ヒト妊娠子宮の静止膜電位は -50.9 ± 2.8 mV (mean \pm SD) であった。自発活動電位は大別して plateau 型と spike 型の 2 種類が認められた。低濃度 (1 μ U/ml ~ 10 μ U/ml) のオキシトシンは静止膜電位に変化を与えずに plateau 型の活動電位の振幅、持続時間を有意に増大させた。また plateau 型の活動電位の発生頻度は高濃度 (100 μ U/ml) のオキシトシンにより増加したが、これはオキシトシンによる活動電位の閾値低下によることが示唆された。spike 型の活動電位の頻度、振幅は 10 μ U/ml までのオキシトシンによる効果を受けなかった。しかし 10 μ U/ml 以上の高濃度のオキシトシンは子宮平滑筋の膜電位を脱分極させ、spike 型の活動電位を示す細胞においても活動電位の重複により plateau 型の活動電位を認めるようになった。また高濃度のオキシトシン存在下では通電刺激による電気緊張電位は減少したことから、オキシトシンは膜のコンダクタンスを増加させることが示唆された。

79. ラット子宮平滑筋細胞のカリウム電流の妊娠経過における変化

札幌医科大学医学部 第一生理¹、産婦人科²
 堂瀬規嗣¹、菅原正樹²、長島雅人¹、工藤隆一²、藪 英世¹

子宮筋の興奮性は妊娠末期に亢進し、子宮平滑筋細胞の静止膜電位の脱分極、自発的活動電位の形状変化が認められる。しかし、これらの変化のイオン機序は不明である。そこで、今回は妊娠中期、末期の子宮平滑筋単離細胞にwhole cell patch clamp法を適用し、静止膜電位の変化および活動電位の発生をイオン電流と関連させて検討した。妊娠14、18、20日目（満期は21～22日）のラット子宮縦走筋層を酵素処理の上、平滑筋細胞を単離し、実験に供した。Current clamp法で記録された静止膜電位は妊娠14日目の細胞（D14-SMC）で -58.9 ± 4.7 mV（平均±標準誤差）、18日目の細胞（D18-SMC）で -50.2 ± 3.8 mV、20日目の細胞（D20-SMC）で -46.6 ± 2.5 mVであり、D14とD20-SMCの間で有意差を認めた。Voltage clamp法で保持電位 -70 mVから 10 mVごとに脱分極パルスを与えると各時期の細胞で電位依存性に外向き K^+ 電流が認められた。 K^+ 電流の電流密度はD14、D18、D20-SMCの順で減少しており、D14とD20-SMCの間で有意差を認めた。 K^+ 電流の定常状態における活性化曲線を求めたところ50%活性化の電位はD14、D18、D20-SMCそれぞれ $+13.6 \pm 1.7$ mV、 $+13.2 \pm 2.0$ mV、 $+13.1 \pm 1.0$ mVであり変化は認めなかった。一方、 K^+ 電流の最大コンダクタンスはD14、D18、D20-SMCの順で減少していた。これらの結果は K^+ channel活性化の電位依存性の変化ではなく、 K^+ channel密度の減少が妊娠末期における静止膜電位の脱分極に寄与していることを示している。次に、 K^+ 電流量が有意に異なるD14、D20-SMCの間で活動電位波形を比較した。定電流刺激を与えて発生させた活動電位の最大立ち上がり速度はD14-SMCで 0.7 ± 0.1 V/sec、D20-SMCで 1.9 ± 0.3 V/secでありD20-SMCで有意に上昇していた。しかし、voltage clamp法で記録した内向き Ca^{2+} 電流はD14、D20-SMCの間で変化がなかった。これらの結果は K^+ channel密度減少に起因する K^+ 電流量の減少によって正味の内向き電流量が相対的に増加した可能性を示唆している。以上より、 K^+ channel密度の減少は妊娠子宮筋の興奮性獲得に大きく貢献していると考えられた。

80. ウシ毛様体平滑筋細胞に存在する非選択性陽イオンチャネルのアルカリおよびアルカリ土類金属イオンに対する透過性の検討

名古屋大・眼科¹、第一生理²
 高井佳子¹、徳納博幸²、高井章²

ウシ毛様体平滑筋には M_3 型ムスカリン受容体刺激に伴い開口するある種の非選択性陽イオンチャネルの存在することが示唆されている [Takai et al. (1997) *Pflügers Arch. In the press*]. 今回、コラゲナーゼ処理により単離した平滑筋細胞において、カルバコール (CCh) 投与に伴う膜電流の変化を、パッチクランプ法により観察し、このチャネルの各種金属イオンに対する透過性を検討した。実験は、すべて 30°C でおこなった。細胞外灌流用の正常生理液の組成は次の通り (mM): NaCl, 127; KCl, 5.9; $CaCl_2$, 2.4; $MgCl_2$, 1.2; D-glucose 11.8; HEPES, 10 (pH 7.4; NaOH で滴定)。イオンの置換は等張的に行った。電極は K^+ を含まない次の組成の液で満たした (mM): Cs-aspartate, 100; NaCl, 6; $MgCl_2$, 5; Na_2ATP , 5; HEPES, 20; BAPTA, 5 (pH 7.0; NaOH で滴定)。まず、細胞外を正常液で灌流、電極内液の遊離 Ca^{2+} を 70 nM とし、whole-cell mode における膜電位固定により全膜電流を記録した。全膜容量から1細胞あたりの細胞膜総面積は、 $1.6 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ と推定された。膜電位を -40 mV に固定した状態で CCh ($2 \mu\text{M}$) を 30 秒間だけ投与すると内向きの電流が観察され、それによって細胞に流れ込む電荷の総量は、単位膜面積あたり $21.9 \pm 1.5 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ ($n=122$) だった。灌流液中の金属イオンをすべて Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} または Ba^{2+} で置換しても、同様の CCh 投与により、 $10-30 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ の内向き電流が観察された。ウシ毛様体平滑筋の非選択性陽イオンチャネルは、これらの陽イオンを同程度に透過することが推測される。

81. 腸管神経系における開口放出(exocytosis)関連蛋白質の免疫組織化学的検討

杏林大学医学部小児外科、生理学教室*

関 信夫、伊藤泰雄、荻澤融司、田中裕之、赤川公朗*

シナプス前部に達した興奮によりシナプス小胞がシナプス前膜と融合し、伝達物質が細胞外に放出される過程を開口放出(exocytosis)と呼ぶ。これまで主として中枢神経系を検索材料とした研究から一連の蛋白質の存在が明らかとなった。今回は、この開口放出関連蛋白質の腸管神経系での局在を検討した。

【対象および方法】成熟ラットの直腸部を検討対象とした。開口放出関連蛋白質 NSF (NEM-sensitive fusion protein), α -SNAP (soluble NSF attachment protein), Synaptotagmin, Synaptobrevin, SNAP25に対する抗体を使用し、ABC法で染色した。これまでに腸管内での局在を検索したHPC-1/syntaxinと合わせて免疫組織化学的に検討した。

【結果】HPC-1/syntaxinと合わせ6種の開口放出関連蛋白質の腸管神経系の局在を確認した。NSF・ α -SNAP(細胞質に局在)ではganglion cellの細胞質も染色されplexusは網目状に認識された。Synaptotagmin, Synaptobrevin(小胞膜に存在)ではganglion cellの細胞壁、plexusとも小斑点から顆粒状に染色された。HPC-1/syntaxin・SNAP25(シナス前膜に局在)ではganglion cellの細胞質は染色されずganglion cell周囲の細胞膜及びplexusが網目状に認識された。

【考察】今回の検索よりこれまで中枢神経系での局在が主として検討されてきた開口放出関連蛋白質が腸管神経系でも存在することを確認した。各々の染色の形態は多様性を示し、その局在の違いによるものと考えられた。これまで我々は発生期腸管でのHPC-1/syntaxinの発現を検索しており、今回認識された開口放出関連蛋白質も腸管神経系の分化の研究に有用と思われる。

82. 腸管神経系におけるアポトーシス関連蛋白質の発現に関する検討

都立清瀬小児病院 外科、病理*

広部誠一、林 夙、鎌形正一郎、浮山越史、向井基 井崎敏也、

石田治雄、森川征彦*

【目的】前回の本学会で腸管神経系においてラットでは生後1~3週にかけ、ヒトでは胎生20~30週頃に神経細胞の数が減少する時期があり、生理的細胞死が起きている可能性を提唱した。神経細胞が正常に分化し機能を維持していくためには、神経細胞が適切な数だけ生存している事が必要で、そのために生理的神経細胞死、アポトーシスの機構が重要な働きをしている。細胞死の現象には多数の因子が関与しているが、その中でICEは細胞死の誘導に中心的役割を持つ因子で、bcl-2とbaxは互いに作用しながら細胞死を抑制したり促進したりしていると考えられている。今回、腸管での神経細胞死の機構について解析するためアポトーシス関連蛋白質の発現について検討した。

【方法】ヒト(n=8)とラット(胎生15日~生後8w, n=10)の腸管を対象とし、アポトーシス関連蛋白質のICE, bcl-2, baxに対する特異抗体を用いた免疫組織化学的染色によりその発現を観察した。

【結果】ICE: ラットの胎児期では腸管神経細胞には発現を認めず、生後1週の間には発現が明らかとなり、その後も持続して発現していた。筋間神経叢および粘膜下神経叢内の神経細胞の細胞質と一部の細胞核にも局在を認めた。ヒトでは新生児から年長児までの対象全例に発現していた。

bax: ラットの胎児期より腸管神経細胞の細胞質に発現を認め、生後も持続して発現していた。ヒトでも対象全例に発現を認めた。

bcl-2: ヒトでは胎23週の未熟児症例では豊富な発現を認めたが、その後は発現が乏しくなっていた。使用したbcl-2抗体はラットと交叉反応性を認めなかった。

【考察】腸管神経細胞でのアポトーシス関連蛋白質のICE, bax, bcl-2の発現を初めて明らかとした。bcl-2はアポトーシスが起きる時期を中心に発現していたが、他はそれ以外の時期にも発現していた。

83. 食道アカラシア壁内神経叢におけるアポトーシスの関与についての検討

兵庫医科大学第一外科
中村清昭, 庭本博文, 中井謙之, 岡本英三

[はじめに]食道アカラシアは嚥下困難や食道拡張を示す下部食道括約筋の運動障害である。食道アカラシアの特異的な病理組織学的所見では下部食道壁内神経叢での神経細胞の著しい変性およびほとんど消失に近い傷害を受けている。しかし、その傷害の検討は充分なされていない。一方、最近細胞死についてはアポトーシスとネクローシスが注目されている。アポトーシスは核構造の崩壊が特徴的とされる。アポトーシスの過程ではDNAは180塩基対に断片化される。アポトーシス細胞のDNA断片が持つ3'-OH端をin situで検出するTUNEL法(TdT-mediated dUTP-biotin nick end labelling)が報告され、またINT法(in situ nick translation)でproteinaseの前処置の有無でアポトーシスとネクローシスの鑑別が行えると報告されている。今回我々は、食道アカラシア壁内神経叢におけるアポトーシスの関与をin situで証明する目的でTUNEL法およびINT法を用いて検討を行ったので報告する。

[対象]当科にて手術より得たアカラシア10症例の下部食道筋条片、対照として食道癌7症例の非癌部下部食道筋条片を用いた。

[方法]TUNEL法及びネクローシスとの鑑別の為にINT法を用いin situでアポトーシスの検討を行った。TUNEL法はoncor社in situ apoptosis detection kitをINT法は小路らのproteinaseの除蛋白処理の有無によるアポトーシスとネクローシスの鑑別法を用いた。

[結果]TUNEL法では食道アカラシア10症例すべての壁内神経叢にpositive stainを認めた。その内6例には神経節細胞のみならずグリア細胞、平滑筋細胞等にもdiffuse positive stainを認めた。対照群ではpositive stainを認めなかった。INT法においては食道アカラシア症例はproteinaseの有処置のみにpositive stainを認めたが、無処置にはstainを認めなかった。

[まとめ]食道アカラシアの下部食道は神経節細胞のみならずグリア細胞、平滑筋細胞も傷害を受けておりその傷害にはアポトーシスの関与が強く示唆された。

84. 先天性無神経節ラット回腸におけるPGP9.5陽性細胞

名古屋大学小児外科¹⁾、名古屋大学解剖学第一教室²⁾
渡辺芳夫¹⁾、原田 徹¹⁾、石黒土雄¹⁾、安藤久實¹⁾、瀬尾孝彦¹⁾、伊藤不二男¹⁾、
金子健一郎¹⁾、鳥橋茂子²⁾、飯野 哲²⁾、小林 繁²⁾

最近の分子生物学的研究によって、先天性無神経節ラット（以下Hラット）の原因としてEndothelin-Bレセプター遺伝子の異常が指摘された。しかし、無神経節腸管の長さは、同じ遺伝子異常を有するマウス（Hマウス）が短いのに反し、Hラットでは長い。さらに、HマウスもHラットも、口側腸管には神経節細胞を有しており、無神経節部の形成を直接支配する因子を単一の遺伝子の異常で説明することは難しい。一方、抗PGP9.5抗体は神経を特異的に認識できる抗体として、最近注目されている。今回の研究ではHラットの無神経節回腸に、PGP9.5陽性の特殊な細胞を発見したので、免疫組織学的に検討した。＜対象と方法＞Hラット(n=5)と正常同胞ラット(n=5)を用いた。エーテル麻酔下に開腹し、腸管を摘出し、ただちに4℃のザンボン液にて固定後、凍結切片および伸展標本とした。免疫組織染色法を用い、神経のマーカーとして抗PGP 9.5、抗MAP2、グリア細胞のマーカーとして抗S-100b、平滑筋のマーカーとして抗actinと抗vimentinを用いた。酵素抗体法と蛍光抗体法で染色し、光学顕微鏡、電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡で観察した。＜結果＞PGP9.5陽性の紡錘形細胞は、Hラットの無神経節回腸の内輪筋層にのみ認められた。同じ細胞は正常同胞ラットの腸管には認められなかった。この細胞はMAP2陰性、S-100陰性、vimentinが一部陽性、actinが弱陽性であった。＜考察＞PGP9.5は、神経以外にパルニューロンと胎児期の生殖細胞に陽性を示す。しかし、神経を除いて、腸管筋層に陽性細胞を認めたとの報告はない。神経に特異性を持つ抗PGP9.5にて陽性に染色される無神経節回腸の細胞は、腸管のペースメーカー細胞として注目されている特殊平滑筋との類似点が多く、細胞外環境の影響によって異常発達した特殊平滑筋と考えられた。