

## 特別講演

## 陰茎海綿体の解剖と勃起のメカニズム

東邦大学医学部泌尿器科学講座

永尾 光一

ヒトの陰茎は、尿道海綿体と一対の陰茎海綿体からなる。陰茎海綿体は陰茎の背側に2本あり中央で交通性がある。陰茎海綿体は勃起に関する組織であり、硬い白膜に覆われ血液を充満させることで陰茎硬度を増す。陰茎海綿体内に血液を運ぶ動脈は、内陰部動脈の分枝の海綿体動脈であり、入った血液は、非勃起時には毛細血管網から白膜下静脈叢を流れたのち、後海綿体小静脈より貫通静脈へ流出するが、勃起時にはらせん動脈より陰茎海綿体洞に入り血液が充満する。一部後海綿体小静脈より貫通静脈へ流出するが、貫通静脈は伸展された陰茎海綿体白膜に絞扼され血液の流出が抑制される。このメカニズムを静脈閉鎖機能という。末梢神経の体性神経である陰部神経は陰茎背神経を介して陰茎の知覚を仙髄や上位中枢に伝え、また、坐骨海綿体筋や球海綿体筋を支配し球海綿体筋反射などで海綿体内圧を上昇させる。副交感神経である骨盤神経は仙髄から出て骨盤神経叢に入り海綿体神経になる。また、交感神経は、胸腰髄から出て腰内臓神経や上下腹神経叢を経て下腹神経となりこれも骨盤神経叢に入り海綿体神経を構成する。骨盤神経は勃起に促進的に働き、下腹神経は抑制的に働き、射精にも関与する。さらに、海綿体神経に、NANC(非アドレナリン非コリン作動性)神経が含まれ勃起の発現に中心的に働く。その神経終末で一酸化窒素(NO)が合成され、NOは海綿体動脈、らせん動脈および平滑筋に浸透しグアニール酸シクラーゼを刺激し、GTPからcGMPを産生する。このcGMPはcGMP特異的プロテインキナーゼに結合し、細胞内のカルシウム濃度を低下させる。そして海綿体動脈・らせん動脈と海綿体小柱の平滑筋が弛緩し動脈血がスポンジ状の海綿体洞に流入し充満する。その他のNO合成は、副交感神経から放出されたアセチルコリンが血管や内皮細胞表面のM3受容体に結合し行われる。勃起の消退系としては、交感神経系の他に、cGMPを不活化させるホスホジエステラーゼ(PDE)があり、そのアイソザイムは11種類以上ある。陰茎海綿体ではPDE5が最も優位であり、これを阻害する薬剤が勃起治療薬として臨床の場で活躍している。

## **S1-1. Regulation of Cyclic Nucleotides in the Urinary Tract**

Section of Urology, Yale University School of Medicine New Haven, CT

Marcia A. Wheeler

Cyclic nucleotide levels are controlled through their synthesis from nucleotide triphosphates by cyclases and their degradation to 5'-monophosphates by phosphodiesterases (PDEs). Components controlling cyclic AMP-induced relaxation in the urinary tract include receptors, inhibitory and stimulatory G-proteins, isoforms of adenylyl cyclase and PDEs. Hydrolysis of cyclic AMP by PDEs can be regulated by calmodulin and by cyclic GMP.

Cyclic GMP regulates a number of functions, including relaxation within the urinary tract. In the bladder, three isoforms of nitric oxide synthase can activate soluble guanylyl cyclase. Furthermore, natriuretic peptides can activate at least two particulate guanylyl cyclases. Soluble and particulate guanylyl cyclase activity has been detected in the ureter and urethra. In the urethra, changes in cyclic GMP levels via nitric oxide synthase and soluble guanylyl cyclase are responsible for non-adrenergic, non-cholinergic relaxation.

Members of the eleven member PDE family that have been identified in the bladder include PDE1, which is CaM-calmodulin dependent and hydrolyzes both cyclic AMP and cyclic GMP, PDE2, which is stimulated by cyclic GMP and hydrolyzes both cyclic AMP and cyclic GMP, PDE3 which is inhibited by cyclic GMP and preferentially hydrolyzes cyclic AMP, PDE4, which is cyclic AMP specific and PDE5A1, 2 and 3 which are inhibited by sildenafil and are cyclic GMP specific. In porcine bladder, vinpocetine, a PDE1 inhibitor that inhibits both cyclic AMP and cyclic GMP hydrolysis, causes relaxation. Inhibitors of PDE3 (milrinone), PDE4 (rolipram) and PDE1, 5 and 9 (zaprinast) have little effect on relaxation, however in rabbit detrusor, the PDE5 inhibitor, sildenafil, increases relaxation.

In the ureter, PDE1, 2, 4, 5 and a cyclic AMP PDE that is insensitive to inhibition by xanthines and papaverine (PDE7 or 8) have been identified. In the rabbit ureter, rolipram induces relaxation without biologically significant side effects and may be of benefit for treatment of renal or ureteral colic or for the facilitation of ureteral stone passage.

RNA transcripts for PDE1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10 and 11A have been identified in the prostate. PDE11A hydrolyzes both cyclic AMP and cyclic GMP and has a limited tissue distribution, primarily in prostate and skeletal muscle. Tension induced by adrenergic agonists in human prostatic tissue is partially reversed by inhibitors of PDE4 and 5. Inhibitors of PDE1 and 2 are less potent. Inhibitors of PDE4 and 5 may be of use for treating urinary obstruction secondary to benign prostatic hyperplasia.

In the urethra, little has been done to characterize PDE isoforms. PDE5A1, 2, and 3 have been identified. Additionally, zaprinast potentiates reflex-evoked changes in bladder and urethral pressures in anesthetized female rats.

Current information of the role of PDE isoenzymes in the urinary tract, while limited and fragmentary, indicates that PDEs are key components of cyclic nucleotide signaling pathways. The large number of components in the signaling pathways offers the possibility of determining cell specific inhibitors. Information on the molecular organization, regulation and biological function of PDEs may produce novel therapeutics.

## S1-2. 平滑筋における PDE とその阻害剤

日本獣医畜産大学 獣医薬理学教室

金田 剛治

細胞内のサイクリック AMP およびサイクリック GMP の制御に重要な役割を示すホスホジエステラーゼ (PDE) は現在 11 のファミリーに分類されている。PDE1 は特に中枢系、心臓、腎臓などに、PDE2 は副腎に、PDE3 は血小板、心臓、脂肪細胞などに、PDE4 は腎臓、生殖腺、心筋、肝臓、気道平滑筋などに、PDE5 は肺、血小板、平滑筋などに、PDE6 は網膜視細胞に高い活性を示し、PDE7 から 11 はいくつかの組織において、遺伝子や蛋白の発現が確認されている。

このうち、PDE1 から 5 型にはそれぞれ選択的な阻害剤が存在する。平滑筋においてこれらの阻害剤による弛緩の効力には臓器差があることが示されてきた。血管平滑筋では PDE3 型が最も強い効力を、気管平滑筋では PDE3 および 4 型が、膀胱平滑筋では PDE1 および 5 型が、陰茎海綿体平滑筋では 5 型が強い効力を示すことが報告されてきた。しかし、消化管平滑筋では収縮刺激条件の違いなどもあり、これらの PDE 阻害剤の効力の差異を明らかにした報告は少ない。我々はこれまでにモルモット回腸および盲腸紐の収縮に対する PDE1-5 阻害剤の収縮抑制効力を比較し、回腸ではザプリナスト (5 型) > Ro20-1724 (4 型) > ミルリノン (3 型) の順に強く、盲腸紐ではザプリナスト > ヴィンポセチン (1 型) > EHNA (2 型) > Ro20-1724 > ミルリノンの順に強く、さらに各阻害剤の弛緩と関連する環状ヌクレオチドについて報告してきた。今回さらにモルモット胆嚢における PDE1-5 阻害剤の収縮抑制効力と各阻害剤の弛緩と関連する環状ヌクレオチドを明らかにした。これらより、消化管平滑筋収縮を制御する PDE ファミリーの関与を検討し、他臓器で報告されてきた成績と比較する。

また、我々は平滑筋弛緩薬の原型である非選択的 PDE 阻害剤のパパペリンによる弛緩機構は大動脈では、主に cAMP あるいは cGMP を介するが、しかし膀胱、回腸あるいは子宮平滑筋では主にミトコンドリアの呼吸抑制によることを報告してきた。今回はこれらの成績をもとに、各臓器における弛緩と cAMP あるいは cGMP との関連性を示す。

## S1-3. PDE 阻害薬と循環器用薬剤

北海道大学大学院医学研究科循環病態内科

佐久間一郎

PDE はサブタイプに分かれるが、そのいくつかの選択的阻害薬は循環器用剤や勃起障害 (ED) 改善薬として臨床応用されている。たとえば、シロスタゾール (プレタール<sup>®</sup>) は血管平滑筋や血小板で cAMP を上昇させ、閉塞性動脈硬化症治療薬として用いられるが、心臓でも弱い cAMP 増加作用があり、洞性除脈の治療に利用されることがある。キサンチン誘導体は気管支平滑筋や心臓で cAMP を増加させ、気管支拡張薬や強心薬として使用される。一方、cGMP を増加させる PDE 阻害薬としてはジピリダモール (ペルサンチン<sup>®</sup>) があり、そのアデノシン re-uptake 阻害作用による cAMP 増加作用とあいまち、血小板凝集抑制作用や血管拡張作用が惹起される。シルденаフィル (バイアグラ<sup>®</sup>) は PDE5 型の選択的阻害薬であり、陰茎海綿体平滑筋で神経終末および血管内皮細胞由来の NO による cGMP の増加を遷延させることにより、勃起が増強する。

しかるに、5 型 PDE は血管平滑筋にも存在するので、シルденаフィルは NO を介する血管弛緩も増強する。たとえば、血管内皮由来の NO を増加することにより、血圧低下や頭痛、鼻閉といった副作用が惹起される。さらに、硝酸薬は血管平滑筋で NO を放出して血管を拡張する。従って、シルденаフィルと硝酸薬が併用されると、NO を介した血管拡張作用が増強され、著明な血圧低下が起こる場合がある。その際、健康者では冠血流は一定に保たれるが、冠動脈狭窄が存在する狭心症患者では冠灌流が減少し、心筋虚血を誘発する危険がある。従って、硝酸薬等とシルденаフィルの併用は禁忌とされている。

硝酸薬以外にも NO を放出する薬剤があり、K チャネル開口薬のニコランジル (シグマート<sup>®</sup>) や  $\beta$  遮断薬のニプラジロール (ハイパジールコーワ<sup>®</sup>) が臨床応用されている。われわれは、実際にこれら血管拡張薬がシルденаフィルと相互作用を有し、血管拡張作用の増強が認められることを報告した。従って、これらの薬剤はシルденаフィルとの併用は禁忌となる。一方、Ca チャネル拮抗薬や  $\beta_2$  刺激薬とシルденаフィルの間には相互作用は認められず、これらは安全に併用することができる。

## S1-4. PDE 阻害薬の臨床応用

昭和大学横浜市北部病院 泌尿器科

佐々木春明

泌尿器科における PDE 阻害薬の臨床応用は、勃起障害 (erectile dysfunction: ED) 治療薬であり、全世界で ED の第一選択治療法として不動の地位を確保した。諸外国では PDE5 阻害薬は Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil の 3 種類が既に使用されているが、本邦では Sildenafil のみである。しかしながら、本邦でも 1999 年 3 月に Sildenafil が認可され、5 年が経過した。この 5 年間でわれわれ泌尿器科医が経験した ED 治療としての PDE5 阻害薬 (Sildenafil) について概説する。

理想的な治療薬としての条件は、① 有効性が高いこと ② 安全性が高いこと ③ 使いやすいくこと ④ 患者およびパートナーの満足度が高いことの 4 つが挙げられる。Sildenafil は必要時頓用の経口投与であり、使いやすい最も理想的な投与経路のひとつである。国内の臨床試験は 243 例 (プラセボ 60 例, 25 mg 60 例, 50 mg 58 例, 100 mg 65 例) で、挿入の頻度および勃起の維持に関して評価した。挿入の頻度は投与前の国際勃起機能検査 (international index of erectile function: IIEF) スコアは 1.65 であったが、投与後はプラセボ群 2.17, 25 mg 3.52, 50 mg 3.83, 100 mg 3.80 とパイアグラ群で有意な改善を示し、また勃起の維持に関しても 1.30 であった投与前の IIEF スコアが、投与後はプラセボ群 1.72, 25 mg 2.97, 50 mg 3.53, 100 mg 3.60 とパイアグラ群で有意に改善した。一方、安全性評価は 245 例 (プラセボ 62 例, 25 mg 60 例, 50 mg 58 例, 100 mg 65 例)で行われ、ほてり 13.7% (プラセボ 2 例, 25 mg 3 例, 50 mg 12 例, 100 mg 10 例), 頭痛 10.9% (プラセボ 2 例, 25 mg 4 例, 50 mg 10 例, 100 mg 6 例), 視覚異常 6.0% (プラセボ 0 例, 25 mg 0 例, 50 mg 2 例, 100 mg 9 例) などであった。その後も国内外で Sildenafil の高い有効性と安全性に関して数多く報告されている。さらに、アンケート調査によると Sildenafil の満足度は本人のみならずパートナーでも 60.8% と高い評価が得られている<sup>3)</sup>。

以上から、PDE5 阻害薬 (Sildenafil) は理想的な ED 治療薬である。

- 1) 白井将文, 塚本泰司, 佐藤嘉一, 他: 勃起不全に対する経口治療薬シルデナフィルの無作為化二重盲検プラセボ対照比較試験成績, 西日泌尿, 62, 373-382, 2000.
- 2) Rosen, RC, et al.: The international index of erectile function (IIEF): A multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. Urology, 49: 822-830, 1997.
- 3) 佐々木春明, 他: 勃起障害の治療チャート, 治療, 84(11), 2719-2724, 2002.

## S2-1. 心臓洞房結節細胞の自動運動

奈良医大薬理

佐藤 広康

単一洞房結節細胞は自発性興奮を示す。その活動電位は特異的形狀を著わし、自動能機序は第4相の緩徐脱分極（ペースメーカー）電位に起因する。ペースメーカー電位に関与するイオンチャネルは単独ではなく数種のイオンチャネル電流が相互に複雑に関わっている。L型Ca<sup>2+</sup>チャネル(I<sub>CaL</sub>)、K<sup>+</sup>チャネルのコンダクタンスの減少(G<sup>K</sup>)、持続性内向き電流(I<sub>st</sub>)、遅延整流性K<sup>+</sup>電流(I<sub>K</sub>)、過分極活性化内向き電流(I<sub>f</sub>)、T型Ca<sup>2+</sup>チャネル(I<sub>CaT</sub>)、Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交換電流(I<sub>Na/Ca</sub>)、ATP感受性K<sup>+</sup>電流(I<sub>KATP</sub>)などが挙げられる。これらのイオンチャネルは自律神経の相反支配をうけ、さらに複雑に機能している。

哺乳動物間での洞房結節細胞の活動電位形状には大差はなく、最大拡張期電位(-60 mV)やTTX感受性など共通点が多い。しかし、洞調律と活動電位持続時間には種差がある。洞調律の差異は最も著明で、体の大きさ(体重)に依存すると言われている。我々の研究から、ペースメーカー電位に貢献するイオンチャネル電流に動物種間で差異があることが判明した。ラットでは過分極パルスによって出現する著明な内向き整流電流(I<sub>K1</sub>)によって、I<sub>f</sub>電流発現がマスクされ弱い活性化しないことが判明した。著明なI<sub>f</sub>電流をもつウサギ、モルモットとは、全く異なる。最近のサルの研究では、ラットと類似したイオンチャネルの発現が観られ、ヒトとの関連性の発見に大きな第一歩となった。また、I<sub>K</sub>電流は3種の電流成分から構成されている。多くの哺乳動物の洞房結節細胞の自動能は早期活性化電流(I<sub>Kr</sub>)に依存度が高い。しかし、ブタだけは遅延性活性化電流(I<sub>Ks</sub>)に依存していることが判っている。これらはイオンチャネル遺伝子(とくに、HCNチャネル)の動物種差によるものと推測されるが、詳細な解明は不明である。

洞房結節細胞も最終的にはbeatingであり、収縮毎に細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇し回復させなければならない。つまり、beatingとは振り子運動であり、その機能を膜イオンチャネルと細胞内情報伝達系が執り行っている。

## S2-2. 心臓に対するペースメーカー療法

杏林大学医学部第二内科

池田 隆徳

心臓は、循環動態におけるポンプ機能としての役割を担っているが、これは洞結節から発せられた電気信号が刺激伝導系を介して心房から心室へと行き渡り、歩調を合わせて一斉に収縮することで成り立っている。興奮の発生源である洞結節や心房と心室を連絡する房室結節・ヒス束などが障害されると、洞停止や房室ブロックなどが生じて心停止となるため、ペースメーカー治療の適応となる。ペースメーカーは、このような徐脈性不整脈の治療に主に用いられるが、心室頻拍・細動や心房細動などの頻脈性不整脈に対しても使用されることがある。突然死の予防装置として植込み型除細動器があるが、これも頻拍に対するペースメーカー機能を備えている。最近では、ペースメーカーは重症心不全の治療としても用いられており、左右の心室を同時にペースングすることで両心室の動きを同期させ、心臓の動きの改善を図る方法であり、心臓再同期療法と呼ばれる。

植込み型ペースメーカーは、その本体であるジェネレーターと電極リードによって構成される。ジェネレーターには、IC化した電子回路と小型大容量のリチウム電位が内蔵されている。ジェネレーターから発せられた刺激は、電極リードを介して先端の電極に伝えられ、その電極に接した局所心筋を興奮させる。そして、その興奮は細胞間接合を介して心臓全体に伝えられ、心臓は収縮する。心筋には、ペースングに対して一定以上の出力でないと興奮しない(刺激閾値)という法則があり、また、興奮終了後にはいかなる刺激にも反応しない時期(絶対不応期)がある。通電のための電極には単極と双極の2つがある。単極の場合は、1つの電極を心筋に接触させ、ペースメーカー本体が不関電極となる。双極の場合は、2つの電極を心筋に接触させ、この2極間での刺激となる。後者のほうが主流となっている。通電は、陰極刺激のほうが刺激閾値を低くすることが可能なため、通常、心筋との接触が最も良好であるリード先端を陰性電極としている。心筋では電極留置後に一過性に刺激閾値が上昇することがあるが、これは炎症反応が生じて、心筋と電極との間に結合組織膜が形成されることによる。この現象は、電極先端部にステロイド剤を付着したリードを使用することで、その軽減を図ることができる。

以上が、心臓に対するペースメーカー療法の概要である。

**S2-3. Pacemaker Activity in the Upper Urinary Tract ; Functional Role of Nitric Oxide in Urinary Tract Smooth Muscle.**

Section of Urology, Yale University School of Medicine. New Haven, CT

Robert M. Weiss, M.D.

Donald Guthrie Professor and Chief

The function of the ureter is to transport urine from the kidney to the bladder. Under normal conditions, ureteral peristalsis begins with the spontaneous origin of electrical activity at pacemaker sites located in the proximal portion of the urinary collecting system. The electrical activity is propagated distally and gives rise to the mechanical event of peristalsis, ureteral contraction, that moves the bolus of urine distally. Efficient propulsion of the urinary bolus depends the ureter's ability to completely coapt its walls. Pacemaker fibers differ from non-pacemaker fibers in that their resting membrane potential is less negative and does not remain constant but rather undergoes a slow spontaneous depolarization. If a sufficient area of the cell membrane is depolarized rapidly enough to reach a critical level of transmembrane potential referred to as the threshold potential, a regenerative depolarization or upstroke of an action potential occurs. The action potential traverses from cell to cell across low resistance gap junctions giving rise to a propagated ureteral contraction. The location of pacemaker cells in the upper urinary tract varies with the species, but in general pacemaker cells are located in the proximal renal pelvis and calyces. Fibroblast-like cells resembling the interstitial cells of Cajal, which serve as pacemaker cells in the intestine, have been described in the proximal portion of the guinea pig renal pelvis. Morita and associates (1981), using extracellular electrodes, recorded low-voltage potentials that appeared to be pacemaker potentials from the border of the minor calyces and the major calyx. They noted that the contraction rhythm varied in each calyx which is in accord with multiple pacemakers being present in the multicalyceal kidney. Spontaneous shifts of the pacemaker occur from one site to another along the pyelocalyceal border. Although the primary pacemaker for ureteral peristalsis is located in the proximal portion of the collecting system all regions of the ureter can act as latent pacemakers.

Nitric oxide synthase (NOS) converts L-arginine to nitric oxide (NO) that stimulates guanylyl cyclase activity with the resultant conversion of GTP to cGMP with resultant smooth muscle relaxation. NOS containing nerves have been demonstrated in the human ureter and at the pig uretero-vesical junction (UVJ). NO is involved in human ureteral relaxation and NO is involved in nonadrenergic, noncholinergic induced relaxation of the UVJ and the urethra. There are three isoforms of NOS; neuronal NOS (nNOS) and endothelial NOS (eNOS) are calcium and NADPH dependent and inducible NOS (iNOS) is NADPH dependent but calcium independent. There are at least two forms of NOS in the guinea pig ureter, bladder and urethra; a soluble form with properties similar to nNOS, which is involved in urethral relaxation, and a particulate enzyme which has properties similar to iNOS, which is found in macrophages, which may have implications in the patho-physiology of urinary tract infections.

## S2-4. 消化管の自動運動—ミュータントマウス消化管からマウス胚性幹細胞 からできた消化管まで

奈良県立医科大学 生理学第二講座

高木 都, 中川 正

消化管の運動は振子運動や分節運動（またはそれらのハイブリッド）という腸管内容物を攪拌・混和する役割を果たす運動と、腸管内容物を口側から肛門側へ輸送する役割を果たす蠕動運動が代表的である。振子・分節運動についてはカハールの間質細胞（ICC）のネットワークが駆動する自動運動であるが、蠕動運動については自動運動かどうか、いまだ確定的でない。蠕動運動は、腸の法則に従って起こる腸壁内神経系を介する内反射（蠕動反射）が消化管全体に連続して起こると考えられている。自動運動を引き起す ICC ネットワークと、蠕動反射を引き起す腸壁内神経系の両者の関係がいかなるものかを明らかにすることは、消化管の運動制御機構を解明する上で重要な課題と思われる。

そこで、1) 特定のカハールの間質細胞（ICC-MY）ネットワークが遺伝的に欠損しているミュータントマウスの腸管運動における腸壁内神経系の役割を解明する研究と、2) マウス胚性幹細胞 からできた消化管様細胞塊における ICC ネットワークと腸壁内神経ネットワークの役割を解明する研究を企図した。

その結果、ICC-MY 欠損ミュータントマウスの腸管では漿膜側からは電気的な slow wave は記録できなかったが、自動運動（蠕動運動には見えない）は規則性が劣るものの存在し、腸壁内神経系、特に一酸化窒素性神経の強い抑制が観察された。また、マウス胚性幹細胞 からできた消化管様細胞塊では、ICC ネットワークが十分に分化し、自動運動や細胞塊全体に伝播する細胞内カルシウム振動などの生理的な機能が働いていることが明らかになった。しかし、腸壁内神経系については、特定の分化誘導をしなければ、その分化は不十分であった。一見、蠕動運動に見える自動運動が腸壁内神経系の不十分な分化のもとでも観察されているが、腸壁内神経系が十分に分化するとどのような運動パターンに変わるかは現在検討中である。

以上の結果から、消化管運動の発生機構においてカハールの間質細胞（ICC）ネットワークと腸壁内神経ネットワークがどのような関わりを有しているかについて考察する。

### **S3-1. Detrusor and Gastrointestinal Smooth Muscle Muscarinic Receptors**

Department of Biomedical Science, University of Sheffield, Sheffield, UK.

Russell Chess-Williams

The parasympathetic nervous system is responsible for maintaining normal intestinal and bladder function, contracting the smooth muscle by releasing the neurotransmitters acetylcholine (ACh) and ATP and relaxing sphincters by releasing nitric oxide. ACh is the main transmitter released and it acts on muscarinic receptors, of which there are 5 subtypes (M1-M5). The M1, M3 and M5 receptor subtypes are coupled to inositol phosphate turnover, while the M2 and M4 receptor subtypes inhibit adenylate cyclase. Many smooth muscle preparations possess a mixed population of muscarinic receptor subtypes, both M2 and M3 being present on the smooth muscle itself. In ileal, colonic, gastric and detrusor smooth muscle the density of M2 receptors is far greater than that of M3 receptors. Despite the predominance of M2-receptors, direct contraction of intestinal and detrusor smooth muscle is mediated via the minor population of M3-receptors, and in vitro only this subtype is involved in contraction. In some tissues however, M2-receptors may mediate an indirect "re-contraction" whereby a reduction in adenylate cyclase activity reverses the relaxation induced by  $\beta$ -adrenoceptor stimulation ( $\beta_2$  &  $\beta_3$  in the gastrointestinal tract and the lower urinary tract).

In pathological states, changes may occur in these receptor systems resulting in dysfunction. In the rat bladder M2 receptor density is increased in several disease models (denervation, diabetes) and M2 receptors may contribute significantly to contraction but few studies have been performed in human. Muscarinic receptor antagonists are used in the treatment of the overactive bladder but the receptor subtypes controlling human detrusor activity is still unclear.

Our recent studies have examined the role of M2-receptors in the human overactive bladder. In the normal human bladder, contraction of detrusor strips to carbachol appeared to be mediated solely via the M3-receptor with the M3-antagonist 4-DAMP having a high affinity ( $pKB=9.9 \pm 0.1$ ), while the M2-antagonist methoctramine had a low affinity ( $pKB=6.4 \pm 0.3$ ) on the bladder (Schild slopes were unity for both antagonists). Similar experiments were performed with detrusor strips obtained from patients with neurogenic overactive bladders due to spinal injury. The detrusor smooth muscle from these patients was supersensitive to the muscarinic agonist carbachol with the  $pEC_{50}$  increasing from  $6.17 \pm 0.07$  in the normal bladder to  $6.57 \pm 0.08$  in the overactive tissue ( $P < 0.01$ ). However the antagonist affinity values for both 4-DAMP ( $pKB=9.9 \pm 0.1$ ) and methoctramine ( $pKB=5.6 \pm 0.1$ ) were similar to the values obtained in normal tissue (Schild plots again unity), suggesting no change in M2-receptor function.

Similar results were also obtained with tissues from patients with idiopathic overactive bladders, the tissues being supersensitive to the muscarinic agonist, but without any change in the affinity of the M3 and M2 selective antagonists. These results suggest that the increase in tissue sensitivity is not due to an increase in M2 responses as has been reported in the diabetic rat bladder. The study highlights the importance of selecting the most relevant animal model when studying disease processes.



## S3-2. 排尿機能の中樞神経支配

琉球大学医学部泌尿器科

菅谷 公男

膀胱は自律神経支配臓器のなかで唯一随意調節可能な臓器である。そのため、下部尿路の神経性調節は発達し、排尿や蓄尿には多くの神経反射の関与が報告されている。排尿は仙髄に起始核のある骨盤神経を求心路及び遠心路とし脳幹の橋排尿中枢を介する反射で行われ、大脳前頭葉から橋排尿中枢へは抑制性投射があり、蓄尿を維持している。また、大脳から橋排尿中枢への抑制性投射の解除（脱抑制）で排尿が起こると考えられている。橋排尿中枢はネコ、イヌでは青斑核の腹側の青斑核アルファに相当し、ラットでは青斑核の内側の Barrington 核に相当する。橋には膀胱収縮を抑制する橋排尿抑制野（橋排尿中枢の腹内側の橋網様体）と、外尿道括約筋活動を増強させて膀胱収縮を抑制する橋蓄尿中枢（青斑下核）も存在する。仙髄には興奮性グルタミン酸ニューロンと抑制性グリシン・GABA ニューロンが存在し、グルタミン酸は膀胱及び外尿道括約筋活動の増強に、グリシン・GABA はそれらの抑制に働いている。これらアミノ酸系ニューロンは排尿や蓄尿の遠心路のみならず求心路にも強く影響している。また、グルタミン酸ニューロンはグリシンニューロンを作動させ、グリシンニューロンはグルタミン酸ニューロンを抑制する関係にある。橋の3カ所の排尿・蓄尿関連領域からは仙髄のグルタミン酸及びグリシン・GABA ニューロンに投射があるが、橋から仙髄への投射にはいずれも直達性経路と延髄を介する経路の2経路が考えられている。橋排尿中枢からは延髄の大細胞性網様核を介する経路が、橋網様体からは巨大細胞性網様核を介する経路が、そして橋蓄尿中枢からは大縫線核を介する経路があり、これら延髄の領域は橋からの投射を増強していることが考えられる。しかし、橋内や延髄内ではこれら排尿・蓄尿関連領域のお互いの関連はほとんどない。大脳からは橋のこれら排尿・蓄尿関連領域に投射があり、最終的には仙髄のグルタミン酸やグリシン・GABA ニューロンを動かして排尿や蓄尿を行っている。したがって、排尿の中樞神経機構は、大脳は随意調節系、橋は起動系、延髄は動力系、仙髄は実行系として捉えることができる。

## S3-3. 消化管機能の中樞神経支配

東北大学大学院医学系研究科人間行動学

福土 審

ストレスは身体諸臓器にさまざまな影響を及ぼす。下部消化管はその代表的臓器である。このストレス-脳-消化器の軸に典型的に見られる現象を脳腸相関 (brain-gut interactions) と呼ぶ。消化管パロスタット法、脳機能画像法、分子生物学、臨床疫学的分析の進歩により、脳腸相関の詳細が解明されつつある。脳腸相関が病態の中心をなす疾患群の代表が過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome; IBS) である。IBS とは、一般臨床検査で把握される形態変化を欠くにもかかわらず、腹痛と便通異常に代表される下部消化管症状が慢性、再発性に持続する症候群である。IBS では、ストレス負荷に対する消化管運動亢進が見られ、高率に不安・抑うつを中心とする心理的異常を合併し、心的外傷体験を持つものの割合が高い。このような脳から消化管への遠心性信号だけでなく、逆方向の信号の臨床的重要性が認識されつつある。すなわち、消化管から脳への求心性信号が IBS の病態形成に果たす役割が明確になってきた。パロスタット法では、柔らかな合成樹脂のバッグを消化管に挿入し、一定の低圧を消化管に与えることにより、内腔を閉塞する収縮運動のみならず、内腔を閉塞しない収縮運動、消化管壁緊張の変化、特に弛緩反応を検出できる。また、バッグ内圧をさまざまな程度に変化させることで、消化管知覚を定量的に評価できる。脳機能画像法の positron emission tomography (PET) と大脳誘発電位により、ヒトにおける消化管知覚のメカニズムのみならず、刺激下の脳機能 module、対応する脳部位、神経伝達物質、情報処理パターン、これらの結果としての情動形成が明らかにされつつある。脳部位では前帯状回と前頭前野が、神経伝達物質としてはノルアドレナリン、セロトニン、ヒスタミン、corticotropin-releasing hormone (CRH) が重要である。脳腸相関の分析は、IBS の克服のみならず、情動の機序ならびに脳と内臓の機能的関連の解明に有益な情報を提供するであろう。

### S3-4. 消化管利用膀胱拡大術後の膀胱機能の経時的変化

信州大学医学部泌尿器科

井川 靖彦, 市野みどり, 関 聡, 加藤 晴朗, 石塚 修, 西沢 理

目的: 神経因性膀胱患者の膀胱蓄尿機能障害に対する消化管利用膀胱拡大術の経時的効果を S 状結腸利用群と回腸利用群に分けて検討した。

方法: 対象は Clam 法にて消化管利用膀胱拡大術を施行した神経因性膀胱患者 35 例で, その内訳は, S 状結腸利用群 (S 群) が 26 例, 回腸利用群 (I 群) が 9 例であった。手術時年齢 (S 群 5~58 (中央値 18) 歳, I 群 9~76 (中央値 21) 歳), 性別に 2 群間で有意差はなかった。術後経過観察期間は S 群 6~57 (平均 31.7) か月, I 群 10~49 (平均 30.4) か月であった。パラメーターとして, 最大膀胱容量 (MCC), 排尿筋コンプライアンス (Comp), 律動性膀胱収縮波の出現時の膀胱容量 ( $V_{UIC}$ ) およびその最大収縮圧 (UICmax) を検討した。

結果: MCC は, S 群で術前平均 180 mL から術後 3 か月 387 mL に, I 群で術前 218 mL から術後 3 か月 400 mL に, Comp は, S 群で術前 5.6 mL/cmH<sub>2</sub>O から術後 3 か月 20.5 mL/cmH<sub>2</sub>O に, I 群で術前 12.0 mL/cmH<sub>2</sub>O から術後 3 か月 24.6 mL/cmH<sub>2</sub>O に, いずれも有意に増大し, 両群間でこれらの効果に有意差を認めなかった。術後 1 年以上の時点での評価も追跡できた 23 例 (S 群 18 例, I 群 5 例) について長期的な効果のみてみると, MCC は両群ともに術後 3 か月の時点での値とほぼ同等であったが, Comp は術後 1 年以上の時点での評価では, S 群で 25.1 mL/cmH<sub>2</sub>O, I 群で 27.5 mL/cmH<sub>2</sub>O と, 両群ともに術後 3 か月に比べてさらに漸増する傾向を認めたが, 両群間で有意差はなかった。律動性収縮波の出現率は, 術後 3 か月の時点では, S 群 46% (11/26 例), I 群 33% (3/9 例) と, S 群においてやや多く出現する傾向があったが, 統計学的な有意差を認めなかった。 $V_{UIC}$  および UICmax に両群間で有意差を認めなかった。律動性収縮波が術後 1 年以降も残存していた例は 3 例あったが, いずれも尿失禁はなく, 術後早期においても, 律動性収縮波の有無と尿失禁の残存との間に相関はなかった。

結論: 膀胱拡大術は, S 状結腸, 回腸のいずれを利用して, 術後 3 か月までに膀胱容量および排尿筋コンプライアンスを有意に増大させ, 期待した効果が得られ, 術後早期には腸管蠕動によると思われる律動性収縮波を認めることが少なくないが, その大半は術後 1 年以内に自然消退し, 臨床的には問題とはならないものと考えられる。

## P-1. メタリックステントの歴史的考察：開発の経緯から最新の動向まで

慶應義塾大学医学部放射線診断科

橋本 統, 栗林 幸夫

管腔臓器内面を金属で補強するという発想は、1960年代に、Interventional Radiologyの父と呼ばれるDotterが、初めてこの世に示したものである。その後、ステントは、1980年代中盤に、テキサスの二人の放射線科医GianturcoやPalmazなどによって、臨床の場に導入しうる具現性を与えられた。本講演においては、ステントの語源を含め、現代におけるステント隆盛の礎を築いた偉大な先達たちにまずスポットをあて、その偉業を紹介する。

ステントの臨床応用は、当初、腸骨動脈・冠状動脈において進められ、腎動脈、大腿・膝窩動脈、頸動脈、透析用シャント血管、大静脈、腕頭・鎖骨下静脈など、全身の血管系へと応用範囲が拡大し、さらに、その優れた管腔構造保持機能は、胆道・気道・消化管・尿道など、他の管腔臓器への適応拡大をも可能とした。

血管狭窄の治療にステントを用いることにより、バルーンカテーテルを用いた血管形成術施行時における初期成功率低下の二大要因であったelastic recoilと解離を克服しようという事実が判明したことが、その後の爆発的な普及に繋がったが、一方で、ステント留置が刺激となって生じる中長期の再狭窄の問題が表面化し、薬剤溶出性ステントに代表される如く、これに対する様々な打開策が産み出されるに至っている。本講演においては、このような沿革および、再狭窄撲滅のための取り組みの最前線についても紹介する。

また、ステントに人工血管の素材を組み合わせたステントグラフトが派生して誕生し、現在では、大動脈疾患を中心として、急速な適応拡大が進みつつある。本講演では、日本から発信される数少ない医療材料の1つであり、厳密な位置調整が可能である、優れた瘤シールド効果を有する、一体型分枝付きが留置可能である、高い柔軟性のため急峻な屈曲部にも適合する、伸縮可能な蛇腹構造を有するため留置後の血管形態の変化にも対応しうるなど、数々の先進性に満ちあふれた井上式ステントグラフトにつき紹介する。

最後に、将来展望として、夢・理想のステント/ステントグラフト像を描き、この領域の益々の発展を促したい。

## P-2. 腹部から四肢血管のステント治療

奈良県立医科大学 放射線科

吉川 公彦

血管性病変に対するステントによる治療は閉塞性疾患に対するステントを用いた経皮的血管拡張術(PTA)と動脈瘤に対するステントに人工血管を巻いたステントグラフトによるステントグラフト治療に大別され、両者共、低侵襲な治療法として著しい進歩を遂げている。本講演では腸骨・大腿動脈の閉塞性動脈硬化症(ASO)に対するステント治療ならびに腹部大動脈瘤に対するステントグラフト治療の現況と問題点について、自験例を呈示しながら概説する。

### 1. 腸骨動脈 ASO

本邦では腸骨動脈領域で3種類のステントが認可され、バルーンカテーテルによる血管拡張術(バルーン PTA)後の残存狭窄や内膜解離、あるいはバルーン PTA後の再狭窄例を中心にステント治療が行われ、良好な治療成績が報告されている。最近では治療技術の進歩と相まって、従来血管内治療の適応外とされてきた長区域の完全閉塞例にもステント治療が適応されるようになりつつある。筆者らは139病変の腸骨動脈完全閉塞に対してステント治療を行い、初期成功率99%、一次開存率89.1%、二次開存率97.1%と良好な成績を得ている。

### 2. 大腿動脈 ASO

大腿動脈 ASOに対するステント治療の初期成功率は95-100%と良好であるが、3年開存率は63-66%と満足いく長期成績が得られていないのが現状であり、適応も限定されている。しかし、最近nitinol stentを用いて2年開存率84%とする報告もあり、また冠動脈領域ですでに臨床応用が始まっているdrug eluting stentの初期成績は良好であり、大腿動脈でもステント治療は今後発展する可能性がある。

### 3. 腹部大動脈瘤

大動脈瘤に対するステントグラフト治療は21世紀の低侵襲治療として最も期待されている治療法の一つであり、腹部大動脈瘤に対しては欧米を中心に数種類のステントグラフトが認可され、本邦では2種類のステントグラフトが治験中である。初期成績は良好であるが、endoleakやステントグラフトの変形、破損等の問題点もあり、長期にわたる経過観察が必要である。

### P-3. 頸動脈ステント留置術の現状と今後

神戸市立中央市民病院脳神経外科<sup>1</sup>, 先端医療センター脳血管内治療部<sup>2</sup>

坂井 信幸<sup>1,2</sup>, 坂井 千秋<sup>2</sup>, 黒岩 輝壮<sup>2</sup>, 森実 飛鳥<sup>1</sup>, 石原 秀行<sup>1</sup>, 中尾 哲<sup>1</sup>, 菊池 晴彦<sup>1</sup>

**【目的】** 高度の頸動脈狭窄症は内科治療を行っても脳卒中発作を効果的に防ぐことが難しく、これまでは頸動脈内膜剝離術(CEA)がクリニカルエビデンスに基づき行われてきた。CEAの高危険群に対して始まった頸動脈ステント留置術(CAS)は、器材の開発改良と経験の蓄積に基づき今後CEAに取って代わる低侵襲血行再建術として大きな期待がかけられている。CAS開始以来の変遷をもとに、現在の標準的治療戦略と今後の展望を自験例の分析を交えてを報告する。

**【対象と方法】** 1997年2月にCASを開始以来これまでに368症例;男性-304,女性-64,年齢50-84(67.8±7.2)歳,390病変;症候性-195,無症候性-199,平均狭窄率-78.1±12.4%に,395回,397手技のCASを行ってきた。当初CEA高危険群と血管解離・大動脈炎・FMDなどを対象としたが,2年前から第一選択の治療としている。局所麻酔・大腿動脈アプローチ・ガイディングカテーテル留置・控えめの前拡張・ステント留置・後拡張を行う手技は一貫している。使用してきたstentはPalmaz stent, Easy Wallstent, SMART stent, ACCULINK, PRECISEなどで, protectionには当初はNaviBalloonを,現在はPercuSurgeを主にしながらArteriA, AngioGuardXPを用いている。

**【結果】** 治療に起因する合併症の全体成績は死亡1(0.25%:過灌流),major stroke-3(0.76%:遠位塞栓),minor stroke-8(2.02%:遠位塞栓)で,一過性の症候を呈した18例(4.5%)の半数は徐脈低血圧に起因する血行力学性のもが含まれていた。再狭窄は248例中18例(7.3%)に見られたが再治療は合併症なく完了し,症候の再発は2例にとどまった。

**【結語】** すでに頸動脈専用ステントや種々のprotection deviceの開発が進んでおり,今後急速に治療の安全性と確実性の向上が期待できる。器材や手技は年々進歩改良し続けており,CASの初期治療結果に関するクリニカルエビデンスの蓄積により本格的なCAS時代の到来は目前と考えられる。

## P-4. スtentによる気道確保

東京都済生会中央病院 呼吸器外科

野守 裕明

気道狭窄に対して使用されるstentの種類は大きく分類するとシリコンstentと金属ワイヤースtentがある。それぞれ利点と欠点があり、それにより適応疾患が概ね決まっている。狭窄疾患としては主に腫瘍による浸潤性狭窄と圧排性狭窄、炎症による肉芽性狭窄と瘢痕性狭窄がある。今回各種stentの適応と限界、および高度気道狭窄に対するstent挿入法を中心に発表する。

シリコンstentには主に以前より使用されている気管切開孔に固定する T-tube と 10 数年前から使用され始めた遊離型の Dumon stent と Dynamic stent の 3 種類があり、狭窄部位により使い分けられる。シリコンstentの利点はほとんどすべての種類の気道狭窄に適応があることである。欠点として気道内腔全周をシリコンが覆うため気道上皮の繊毛運動を障害し排痰機能を悪化するため、咳嗽能力の弱い患者には肺炎や無気肺を生じることがある。また Dumon stent や Dynamic stent では硬性鏡や専用の金属鉗子を使用するため全身麻酔を要し、またそれらの手技に慣れない医師にとっては挿入が困難である。

金属stentには主に Z-型の expandable metallic stent とメッシュ型の ultraflex stent がある。その利点は喉頭と気道内の局所麻酔のみで挿入ができ、その手技も簡単なことである。また金属ワイヤーの隙間があるため気道上皮の線毛運動はほとんど傷害されず排痰機能の障害を来さない。欠点は腫瘍の浸潤性狭窄や炎症の肉芽性狭窄に対してはワイヤーの隙間より腫瘍や肉芽の増生を生じ再狭窄を来すことがある。また挿入後の抜去はほとんど不可能である。そのため適応疾患は主に腫瘍による圧排性狭窄に限られる。

日常診療において気道狭窄による呼吸困難はしばしば急激に生じる。気道狭窄症状が切迫している場合、全身麻酔を要するシリコンstent挿入は危険なことも多い。我々はそのような症例に対しては気管切開を行い気管チューブを挿管し、狭窄部位でカフを膨らませることによりブジーを数日間行ってからstentを挿入している。同方法はstent治療に慣れない医師でも簡単に確実に気道確保が行え、ブジーの後に専門医にstentを挿入してもらえば済むので是非知っておいて頂きたい方法である。

以上、良性気道狭窄はもとより IV 期肺癌の気道狭窄患者でも窒息による苦痛は解除することが望まれ、気道狭窄の開大法は多くの医師が知っておくべき治療法である。各種stentの適応と高度気道狭窄に対するアプローチを中心に述べる。

## P-5. 消化管狭窄に対するステント治療

星ヶ丘厚生年金病院 放射線科<sup>1</sup>, 奈良医大 放射線科<sup>2</sup>

田中 健寛<sup>1</sup>, 三浦 幸子<sup>1</sup>, 福住 明夫<sup>1</sup>, 吉川 公彦<sup>2</sup>

ステント治療は、手術不能悪性食道狭窄に対する姑息的治療としてその地位を確立したと言っても過言でない。現在では、食道以外の消化管にも応用がすすめられ、対象疾患や使用方法も広がっている。ステント治療の適応、有用性と問題点について食道、小腸、大腸に分けて、自験例を中心に解説する。

### 1) 食道

手術不能悪性疾患の食道狭窄による嚥下困難や瘻孔閉鎖に対して、QOLの改善を目的にステント治療が行われるのが一般的であり、保険適応のステントが市販されている。瘻閉鎖や再閉塞防止のため、膜付きのステントが使用されることが多い。留置成功 98-100%、臨床的有効性 72-100%、瘻孔閉鎖率 66-100%と報告され、他に選択できる治療法がなく、その有用性は広く評価されている。留置後の合併症であるステントの逸脱、出血、疼痛、気道閉塞、穿孔などの防止が課題であり、我々は、spiral Z-stentを用いて移動のしにくいカバーステントを独自に開発し、臨床応用を行ってきた。良性疾患に対しては留置後のステント逸脱や再閉塞が問題となり、適応は限られており、抜去を前提とした一時的留置や生体吸収される材質で作製されたステントの開発が進められている。

### 2) 小腸

悪性疾患による胃十二指腸閉塞で、バイパス術ができない例が適応となり、留置成功 94-100%、臨床的有効性 80-100%と報告されている。食道用のステントでは、経口的な留置が困難で、専用のステントや留置システムの開発が必要である。

### 3) 大腸

手術適応のない悪性疾患による閉塞に対して、人工肛門を回避するためにステント治療を行う場合と術前処置としてイレウスの寛解などを目的にする場合がある。大腸用のステントはなく、食道用や自作のものが使用されている。ステント留置成功は 82-100%で、非手術例では、75-100%で人工肛門が回避でき、術前処置では、83-100%で閉塞が解除され、一期的手術が可能となったと報告されている。これらのステント治療は、従来行われている人工肛門造設術や経肛門イレウスチューブなどとの比較検討が課題である。良性疾患は食道と同様に、適応が限られ、手術不能例やクローン病などに使用されている。

## P-6. 尿道領域のステント治療

東邦大学医学部泌尿器科学講座

原 啓

尿道に対するステント治療について概説する。一日のうちに僅か数分しかフローの無い管腔臓器である。しかし排尿という重要な生理現象を担っており、患者のQOLを如何に高めて行くかが、今泌尿器科医に求められている。

高齢化社会の到来を迎え、前立腺肥大症などの下部尿路通過障害による排尿障害患者が急増している。また多くの高齢者で、手術適応がありながら心血管障害や呼吸器疾患などの合併症により、止むを得ず尿道留置カテーテルや間欠的自己導尿で管理されている患者も数多くいる。しかし自排尿に対する欲求は臨床の現場で非常に強いものがあり、こうした患者に対して尿道ステントを留置することにより、自排尿が可能となりQOLの向上につなげることが可能となっている。

前立腺部尿道に対するステントには、永久留置型と一時留置型に大別される。永久留置型には「ウロルーメ」「メモサーム」があり、メッシュタイプで尿道上皮粘膜に被覆され、原則的に永久留置となる。結石形成、位置の移動、尿道上皮の過増殖などでは抜去も検討しなければならない。一時留置型には「プロスタカス」「メモカス」があり、6ヶ月から1年で交換する。「メモカス」はニッケルチタンの形状記憶合金製ステントで、適切な位置に固定後50°Cの温水で拡張し留置され、抜去時には10°Cの冷水を注入することにより軟化し、容易に抜去が可能となる。

いずれのステントも留置中の違和感は軽微で、重篤な合併症は認められない。結石形成、尿道上皮の増殖などが管理上問題となる。その点、一時留置型では、状況に応じて抜去が容易に可能であり有用である。いずれにしろ留置直後からの自排尿が可能となり、患者の満足度が高い治療である。

また若者のオートバイ事故などによる尿道断裂や尿道外傷は術後の尿道狭窄の治療に苦慮する。こうした前部尿道の狭窄に対して尿道ステント(メモカス)を留置して我々は良好な経過を得ている。内視鏡下尿道形成術後に尿道ステントを留置することにより、術直後から良好な排尿が回復される。また、従来は術後の尿道狭窄に対して定期的な尿道拡張術(尿道プジー法)が必要となり、患者医療者双方に苦痛の多い疾患であった。尿道ステントでは留置中に良好な排尿が維持され、約一年後の抜去時には尿道の十分な拡張も確保されている。

## 教育セミナー1. $\alpha 1$ アドレナリン受容体のゲノム薬理

京都大学大学院 薬学研究科 ゲノム創薬科学分野

辻本 豪三

カテコールアミンは歴史的に最も古くから知られている神経伝達物質であり、その受容体であるアドレナリン受容体の研究は古くから行われてきた。アドレナリン受容体の研究は、初期の薬物親和性によるサブタイプ分類から、1980年代後半から90年代にかけての遺伝子クローニングを機に、遺伝子・蛋白質レベルへの理解へと、より詳細に拡がりつつある。ゲノム科学の進歩によって、遺伝子レベルで $\alpha$ アドレナリン受容体の情報伝達機構は明らかとされつつあり、また、より治療効果の高いサブタイプ特異的作動薬・拮抗薬の開発が可能となっている。今後の研究の進展により、現在不明な点が多く残されている組織レベル、さらには個体レベルでの $\alpha 1$ アドレナリン受容体サブタイプの生理的意義、病態との関連の解明が期待される。

## 教育セミナー2. 膀胱平滑筋と抗コリン薬、その現状と未来—アトロピン抵抗性収縮とその問題

熊本大学大学院医学薬学研究部 泌尿器病態学分野

吉田 正貴

下部尿路機能障害は大きく蓄尿障害と排出障害に分けられる。一昨年、国際禁制学会により蓄尿症状を中心とした症候群として、過活動膀胱 (overactive bladder: OAB) が定義され、この疾患に対する関心が高まっている。OABの治療は薬物療法が主流であり抗コリン剤が汎用されている。

膀胱平滑筋の収縮にはコリン作動性神経から放出されるアセチルコリンと非アドレナリン、非コリン (non-adrenergic, non-cholinergic: NANC) 性神経伝達物質が関与している。NANC神経伝達物質による膀胱収縮はアトロピン抵抗性収縮と呼ばれ、その主要な神経伝達物質は adenosine triphosphate (ATP) と考えられている。ATPはプリン受容体のうちP2X受容体を介して、細胞外のカルシウムを細胞内に移行することにより収縮反応を惹起する。正常ヒト膀胱ではこのアトロピン抵抗性収縮は全体の数%とされているが、各種病態 (神経因性膀胱、前立腺肥大症、間質性膀胱炎) や加齢ではこのアトロピン抵抗性収縮の割合が増加すると報告されている。我々の検討で、ヒト膀胱のアトロピン抵抗性収縮は加齢による増加することが明らかとなった。また最近、特発性OABの患者膀胱ではP2X2受容体を介する収縮反応の亢進も報告されている。

OABに使用される抗コリン剤は膀胱のムスカリン受容体による収縮機構を阻害することで排尿筋過活動を抑制し、尿意切迫感や頻尿などの症状を改善すると考えられる。抗コリン剤には現在使用されている塩酸オキシブチニンや塩酸プロピペリンの他にも、数種類の薬剤が現在試験中あるいは申請中である。これらの薬剤は、純粋に抗ムスカリン作用だけのものと、抗ムスカリン作用に加えカルシウム拮抗作用を有するものの2つに分類される。高齢者では過活動膀胱の有病率が高く、膀胱収縮のアトロピン抵抗性収縮が増加すること、過活動膀胱患者の膀胱ではプリン作動性収縮が亢進することなどを考慮すると、抗ムスカリン作用のみの薬剤に比較してカルシウム拮抗作用を併せ持つ薬剤の方がより有効に膀胱収縮を抑制する可能性が考えられる。

今回は、膀胱平滑筋収縮機構の変化の中で、特にアトロピン抵抗性収縮の意義と、抗コリン剤の作用機序などを中心に話題を提供したい。



## 1. リゾフォスファチジン酸による気道平滑筋の遊走は A-キナーゼによって抑制される

九州大学大学院・医学研究院・生体情報薬理

大池 正宏, 平川 雅和, 辛島 裕士, 伊東 祐之

喘息患者における気道壁のリモデリングは、繰り返す炎症による気道平滑筋の遊走と増殖によって生じる構造的変化と考えられている。活性脂質リゾフォスファチジン酸 (LPA) は障害を受けた気道上皮で産生され、気管支喘息等の原因のひとつである可能性が指摘されている。本研究で我々は、LPA がウシ気道平滑筋の遊走能におよぼす影響と、その薬物による改善の可能性を検討した。LPA により小分子 G 蛋白 RhoA の活性化が生じ、またこれに引き続きアクチン細胞骨格の重合が生じた。さらに、コンフルエントに培養した BTSMC を擦過して無細胞野を作り、そこに遊走する細胞を計数したところ、LPA はこれを有意に増大させた。また遊走境界部分をアクチン染色で観察すると、遊走起始部には強いアクチンの重合を認めたのに対して遊走した細胞にはほとんどアクチン線維を認めなかった。従って、アクチンの重合は気道平滑筋細胞の遊走開始機構として重要であると考えられた。この一連の反応への薬物の作用を次に検討したところ、Rho-キナーゼ阻害薬 Y27632 によって LPA によるアクチンの重合と細胞遊走が抑制された。また、細胞内 cAMP 濃度をジブチリル cAMP, フォルスコリンまたはテオフィリンによって増加させると、LPA による RhoA の活性化、アクチンの重合、細胞遊走の全てが抑制された。A-キナーゼ阻害薬 KT5720 はこれらの cAMP 濃度上昇薬による作用を阻害したが、Y27632 の作用には影響を与えなかった。以上の結果より、cAMP/A-キナーゼは LPA による気道平滑筋細胞の遊走を、RhoA の活性化とそれに続くアクチンの重合を阻害することで抑制すると考えられた。このことは、気道壁のリモデリングを cAMP 上昇作用がある薬物で阻害できる可能性を示唆するものと考えられた。

## 2. モルモット気管平滑筋における carbachol 及び endothelin-1 による収縮反応に対する JNK 阻害薬の作用

日本大学・薬・機能形態学研究室<sup>1</sup>, 東邦大学・薬・薬理学教室<sup>2</sup>

齋藤 清茂<sup>1</sup>, 木澤 靖夫<sup>1</sup>, 小池 勝夫<sup>2</sup>, 草間 貞<sup>1</sup>

【目的】 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) は、extracellular signal-regulated kinase (ERK), ERK5, p38 MAPK 及び c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase (JNK) の 4 つのサブファミリーに分類され、細胞増殖、分化、アポトーシス、ストレス応答など多くの生命現象において重要な役割を果たしていることが知られている。平滑筋収縮においても MAPK の関与が示されており、近年、ERK や p38 MAPK を介した経路とミオシン軽鎖リン酸化非依存性収縮との関連が示唆されている。一方、JNK 阻害薬は喘息治療薬としての応用が期待されているが、気道平滑筋の収縮反応に対する作用はほとんど報告されていない。本研究では、受容体作動薬による気管平滑筋の収縮反応に対する MAPK、特に JNK の寄与について検討した。【方法】 Hartley 系モルモットから摘出した気管を実験に供した。筋の張力変化は等尺性に記録した。【結果及び考察】モルモット気管平滑筋において、carbachol (CCh, 1 μM) 及び endothelin-1 (ET-1, 10 nM) は持続的な収縮反応を引き起こした。JNK 阻害薬である SP600125 (3-30 μM) は、p38 MAPK 阻害薬である SB203580 (25 μM) と比較すると CCh 収縮を強く抑制した。これに対し、ERK pathway を阻害する PD98059 (25 μM) 及び U0126 (25 μM) により CCh 収縮は抑制されなかった。一方、ET-1 収縮は SP600125, PD98059 及び SB203580 により顕著に抑制された。以上より、モルモット気管平滑筋において、JNK pathway が両受容体作動薬による収縮反応において重要であること、収縮に関与するシグナル伝達が CCh と ET-1 とでは異なる可能性が示唆された。

### 3. Heat shock protein 20 の相性平滑筋スキンドファイバーに対する二相性効果

東京医科大学・生理学第一学講座<sup>1</sup>, 九州大学大学院医学研究院・薬理学講座・臨床薬理学分野<sup>2</sup>

吉野 恭正<sup>1</sup>, 森本 幸生<sup>2</sup>, 渡辺 賢<sup>1</sup>

Heat shock protein 20 (HSP20) はアクチン結合能を持ち, そのアクチン結合部位 (残基 110-121) はトロポニン I 抑制領域 (骨格筋; 残基 104-115) と相同性が高い. 我々はこのアクチン結合部位由来の合成ペプチド (HSP20p110-121) がモルモット盲腸紐平滑筋トリトン X-100 処理標本において,  $\text{Ca}^{2+}$  活性化最大収縮を抑制する一方で, 収縮の  $\text{Ca}^{2+}$  感受性を増強することを見いだした (第 45 回日本平滑筋学会総会で発表). この HSP20p のスキンド平滑筋に対する二相性効果のメカニズムを検討する目的で, 今回, 我々は  $\text{Ca}^{2+}$  活性化収縮時のミオシン軽鎖リン酸化量と, 高濃度  $\text{Mg}^{2+}$  によるリン酸化非依存性収縮に対する HSP20p の影響について検討を行った. HSP20p は  $\text{Ca}^{2+}$  活性化収縮時に, ミオシン軽鎖リン酸化量を増加するが, リン酸化量あたりの収縮張力を減少させた. さらに高濃度  $\text{Mg}^{2+}$  によるリン酸化非依存性収縮張力を HSP20p は有意に減少させた. 以上の結果は, HSP20p がミオシン軽鎖リン酸化を促進する一方で, クロスポリッジに直接的に働きアクチン-ミオシン相互作用を抑制することを示唆する.

### 4. May-Hegglin 異常症と非筋ミオシン変異

北里大学・医・内科 IV<sup>1</sup>, マサチューセッツ大学・医・生理学<sup>2</sup>, 北里大学・医・小児科<sup>3</sup>

宮崎 浩二<sup>1</sup>, 中舘 尚也<sup>3</sup>, 渡辺真理子<sup>1</sup>, 平 美也子<sup>1</sup>, 池辺 光男<sup>2</sup>, 東原 正明<sup>1</sup>

May-Hegglin 異常症は, 巨大血小板を有する血小板減少症と好中球の特徴的な細胞質内封入体をもつ, 常染色体優性遺伝形式の遺伝疾患であり, 近年非筋ミオシン重鎖遺伝子 (MYH-9) の変異によっておこることが報告された. 今回, われわれは May-Hegglin 異常症の異なる 2 家系を経験し遺伝子解析を行った. 第一例めは, 母親と二人の娘がともに本疾患を有していた. MYH-9 の遺伝子解析にて 1841 番目のグルタミン酸がリジンに点突然変異していることが 3 人共に認められた. 次に末梢血塗沫標本を抗ミオシン抗体にて免疫蛍光染色したところ, 好中球の封入体が強く染色されミオシンの存在が確認された. また, 同時にアクチン線維を phalloidin 染色したところ, その封入体の中心部分が染まり, アクチン線維が封入体中心部分に存在していることが示された. これまでに電子顕微鏡にて, 本封入体はフィラメント構造を呈していることが分かっていたが, そこにミオシンのみならずアクチン線維も存在していることが, 今回初めて明らかになった. また, この点突然変異を有するミオシンを大量発現させ生化学的にフィラメント形成能を調べたところ高塩濃度においても重合が解離しなかった. 細胞内封入体はこのような変異ミオシンの生化学的性質を反映していると考えられた. 第二例目は, 非筋ミオシン重鎖の遺伝子解析にて, あきらかな変異は認められなかった. これまでにわが国で報告された中で, 遺伝子解析のなされたものは, 国島らによればこれまでに約 30 症例におよぶ. しかし, その全てにミオシン重鎖に異常を認めている. 本疾患の病態が, 一例めの変異ミオシンで示されたようにミオシンのフィラメント形成能に関係するならば, 本症例の原因遺伝子解析はミオシン重合のメカニズムに関与する他の分子の存在の可能性があり, きわめて興味深い. 今後, 遺伝子変異部位の解析を進める予定である.

## 5. トロポニン I 抑制領域由来ペプチドは平滑筋のラッチ形成を促進する

東京医科大学・医・生理学第一講座

渡辺 賢, 吉野 恭正

横紋筋トロポニン I 抑制領域 (心筋型; 領域 136-147) 由来ペプチド (TnIp; Ac-GKFKRPT-LRRVR-NH<sub>2</sub>) は, 平滑筋スキンド標本収縮を, ミオシン軽鎖リン酸化に影響を与えることなく抑制する. ミオシン結合能を持たなことから, TnIp は細いフィラメント機能に影響して, 平滑筋のクロスブリッジ形成を抑制すると考えられた (Watanabe et al., 2003). 今回, クロスブリッジ解離に対する TnIp の作用を明らかにする目的で, スキンド標本の弛緩経過に対する TnIp の効果を検討した. TnIp は弛緩速度を速める一方で, 完全な弛緩を妨げ張力を一定状態に保持させた. 弛緩時に解離する早いクロスブリッジの一部は遅いサイクルのクロスブリッジ (いわゆるラッチ) に移行する (Kuhn et al., 1990) と仮定すると, TnIp は早いサイクルのクロスブリッジ解離と, 遅いサイクルのクロスブリッジへの移行を共に促進するために, 弛緩速度の上昇とラッチの形成という, 一見相反した現象を引き起こしたと考えられる. 今回の実験結果は, 細いフィラメントがラッチの形成に決定的な役割を果たすことを示唆する.

## 6. チロシンキナーゼ関連メカニズムは平滑筋 Ca チャネルを $\beta$ アドレナリン受容体刺激心筋チャネルモードにする

名古屋大学 大学院医学系研究科

中山 晋介, 上條 厚

心筋の Ca チャネルとは対照的に, 一般的に平滑筋 Ca チャネルには  $\beta$  アドレナリン受容体刺激によって大きな活性化は認められない. 心筋と平滑筋における  $\beta$  受容体サブタイプはそれぞれ  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  に分類されるが, どちらも cyclic AMP カスケードを活性化する. さらに, 心筋と平滑筋の Ca チャネルは同一遺伝子の splice variant であり, 95% の相同性がある. どのようなメカニズムが, このように類似した Ca チャネルに生理学的機能の差異を与えるのであろうか? 今回の膀胱平滑筋を用いた第二の開口状態に関する実験により, チロシンキナーゼ関連メカニズムがこの重要な役割に寄与することが結論された.

## 7. 胃機能からみた潰瘍性大腸炎の病態

日本歯科大学・歯・外科学講座<sup>1</sup>, 日本大学・医・外科学講座外科1部門<sup>2</sup>

富田 涼一<sup>1</sup>, 池田 太郎<sup>2</sup>, 五十嵐誠悟<sup>2</sup>, 丹正 勝久<sup>2</sup>

【目的】潰瘍性大腸炎 (UC) では, 大腸ばかりでなく, 胃や小腸などの上部消化管運動機能異常も存在することが指摘されており, UC の頻便は胃・小腸通過時間の促進に起因する可能性が示唆されるようになった。しかし, UC の胃排出機能を検討した報告では, 正常例と変わらない, あるいは, 促進している, などと相反する結果が報告され, UC と胃排出機能の関連は不明である。そこで, 本邦では未だ報告されていない, UC 症例の胃排出機能を明らかにすることを目的に本研究を行った。【対象と方法】全大腸炎型活動期 UC 5 例 (男性 4 例, 女性 1 例, 29-49 歳, 平均 38.6 歳) について, 健康人 14 例 (男性 10 例, 女性 4 例, 24-46 歳, 平均 35.8 歳) を対照に, 半固形食胃排出機能 (ラジオアイソトープ法) と液体食胃排出機能 (アセトアミノフェン法) を検討した。【成績】半固形食および液体食ともに, UC 例が対照例よりやや排出機能が低下を示したが, 有意差は認められなかった。そして, UC での半固形食および液体食の胃排出曲線はともに, 対照と類似の排出パターンを示した。【結論】全大腸炎型活動期 UC の胃排出機能は正常であり, 頻便には関与していないと思われた。

## 8. モルモット胃輪走平滑筋の自発電気活動におよぼすホルポールエステル作用

名古屋市立大学大学院・医学研究科・細胞機能制御学

中村 江里, 鈴木 光

モルモット胃体部から摘出した輪走平滑筋小組織は緩やかな脱分極電位 (Slow potentials) を律動的に発生している。この電位に及ぼす Protein kinase C (PKC) 抑制薬 (Chelerythrine) や  $IP_3$  受容体抑制薬 (2-aminoethoxy diphenylborate, 2-APB) などの効果から, Slow potentials の頻度と振幅には PKC と  $IP_3$  がそれぞれ関与していることがわかった (第 45 回平滑筋学会総会において報告)。Phorbol esters (PDBu, PMA) は PKC を活性化させる作用を有するので, Slow potentials の頻度を変化させると考えられる。そこで, 摘出胃輪走平滑筋細胞からガラス微小電極を用いて細胞内記録をおこない, 自発的に発生する Slow potentials に及ぼす PDBu や PMA の作用を検討した。低濃度 (1-10 nM) の PDBu や PMA は静止膜電位を変化させることなく Slow potentials の発生頻度を増加させたが, その振幅は変化させなかった。PDBu や PMA の作用は Chelerythrine で拮抗された。アセチルコリンは Slow potentials の頻度や振幅を増大させ, それらの作用はそれぞれ PKC 抑制薬や  $IP_3$  受容体抑制薬で拮抗された。アセチルコリンによる興奮作用は PDBu や PMA で減弱した。高濃度 (0.1-1  $\mu$ M) の PDBu や PMA は膜を僅かに脱分極させ Slow potentials の律動的発生を抑制したので, 自発活動発生には PKC 活性の律動的変動が伴っていると考えた。高濃度の PDBu はアセチルコリンによる興奮作用も減弱させたので, PKC がムスカリン受容体を介する興奮発生の調節機構にも関与していることが推察された。

## 9. 腸神経からの acetylcholine 遊離における small conductance $\text{Ca}^{2+}$ -activated $\text{K}^+$ channel の役割

大阪府立大学・大学院農学生命科学研究科・応用薬理学研究室

竹内 正吉, 末永 清剛, 篠崎亜也子, 藤田 秋一, 畑 文明

種々の消化管機能への small conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  (SK) channel の関与が示唆されている。今回、腸神経叢からの acetylcholine (ACh) 遊離への SK channel の関与を調べた。【方法】壁内神経叢の付着したモルモット回腸縦走筋標本を電気刺激(EFS)あるいはニコチン刺激し、浴液中に遊離してくる ACh を HPLC で定量した。SK2 の抗体を作成し、ラット消化管での局在を免疫組織化学的手法により調べた。【結果】自発性 ACh 遊離は apamin (100 nM) により影響されなかったが、EFS による遊離は僅かだが有意に増加した。ニコチン刺激誘発性 ACh 遊離は 30 nM 以上の apamin で著しく増加した。一方、BK channel の阻害剤である iberiotoxin は、これらの ACh 遊離にはほとんど作用を示さなかった。Tetrodotoxin は EFS およびニコチン刺激誘発性 ACh 遊離を著しく抑制した。Ryanodine はニコチン刺激誘発性 ACh 遊離を増加した。以前に抗 SK3 抗体を用いて、ラット消化管での SK3 の局在を調べ、平滑筋と gap 結合を持つ fibroblast 様細胞に発現していることを明らかにした。今回、抗 SK2 抗体を作成し、SK2 の局在を調べた。抗 SK2 抗体の特異性を、HEK 細胞を用いて調べたところ、SK2 に特異的であることが確認できた。ラット消化管では SK2 の免疫反応は壁内神経叢内の神経節に認められた。更に、神経細胞を取り囲むグリア細胞に SK2 が発現していることが免疫電顕により分かった。【考察】以上の結果から、SK channel は細胞体に存在するニコチン受容体の活性化による ACh 遊離に重要な役割を持つことが示唆された。グリア細胞における局在から腸神経節での SK2 のコリナージック神経への関与が示唆されたが、更に詳細な検討が必要である。

## 10. Hirschsprung 病ラットの無神経節腸管平滑筋における収縮特性に関する研究

九州大学・大学院・医学研究院・小児外科

中辻 隆徳, 家入 里志, 秋吉 潤子, 水田 祥代

【目的】Endothelin B 受容体 (EDNRB) 遺伝子欠損ラットの homozygous type は無神経節腸管を呈し Hirschsprung 病のモデル動物として知られている。これまでも多数の研究報告がなされているが、平滑筋の収縮特性や細胞内情報伝達機構に着目した研究は少ない。そこで EDNRB 遺伝子欠損ラットの無神経節腸管平滑筋における収縮時の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化について検討した。【方法】3-4 週齢の EDNRB 遺伝子欠損ラットの homozygous type の無神経節腸管平滑筋条片および wild type の正常腸管平滑筋条片を用いて、それぞれにおけるカルバコールの収縮機序を細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) と張力の同時測定法を用いて比較検討した。コントロールとして 5.9 mM  $\text{MK}^+$  及び 60 mM  $\text{MK}^+$  による刺激を行いその際の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  及び発生張力をそれぞれ 0% 及び 100% とした。【結果】EDNRB 遺伝子欠損ラットの homozygous type の無神経節腸管平滑筋では 10  $\mu\text{M}$  のカルバコール刺激による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇と発生張力の最大値はそれぞれ 106.5% と 175.5% であった。一方、wild type の正常腸管平滑筋における  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇と発生張力の最大値はそれぞれ 145.6% と 269.6% であった。【結論】10  $\mu\text{M}$  カルバコールのアゴニスト刺激を加えた場合、homozygous type の無神経節腸管平滑筋においては wild type の正常神経節腸管平滑筋に比べて  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇は低値を示し、張力も同様の傾向を認めた。homozygous type の無神経節腸管平滑筋においては、wild type の正常神経節腸管平滑筋と比べて、異なった  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇のメカニズムを有する可能性が示唆された。

## 11. マウス胃底部輪走筋の持続性弛緩のメディエーター

大阪府立大学・大学院農学生命科学研究科・応用薬理学研究室<sup>1</sup>, 大阪大学・大学院・薬学研究科・神経薬理<sup>2</sup>

向井 和則<sup>1</sup>, 竹内 正吉<sup>1</sup>, 新谷 紀人<sup>2</sup>, 橋本 均<sup>2</sup>, 馬場 明道<sup>2</sup>, 畑 文明<sup>1</sup>

胃の神経性反応として、内容物の貯留に関与する受容性弛緩が特徴的である。本研究ではマウス胃底部条片を用いて、経壁電気刺激 (EFS) により現れる持続性弛緩のメディエーターを検索した。【方法】マウス (PACAP K.O.マウスとその wild type マウス) から胃底部輪走筋層の条片を作成し、マグヌス法で、EFS (20 V, 0.5 msec duration, 1-10 Hz) による反応を記録した。【結果】wild type マウスにおいて、EFS により、一過性の弛緩とそれに続く収縮が生じた。EFS 終了後も持続性の弛緩を生じた。阻害薬を用いた実験から、一過性の弛緩とそれに続く収縮は、それぞれ一酸化窒素と ACh によりメディエイトされていることが示された。持続性弛緩は PACAP 受容体アンタゴニストの PACAP6-38 により完全に抑制された。PACAP K.O. マウスにおいて、EFS により、wild の半分程度の持続性弛緩が生じた。この弛緩は抗 PHI 抗体により著しく抑制された。また PACAP6-38 によっても完全に抑制された。外から適用した PHI による弛緩は PACAP6-38 により完全に抑制された。wild type マウスの持続性弛緩は抗 PHI 抗体により抑制された。両マウスにおいて、PACAP6-38 および抗 PHI 抗体により、resting tone が著しく上昇した。【考察】マウス胃底部での持続性弛緩は PACAP と PHI によりメディエイトされていることが示唆された。また、両伝達物質が常に一定の抑制的な制御をかけていることも示唆された。なお、PACAP6-38 は PHI の作用をも阻害することが示された。

## 12. 糖尿病モデルラットの胃運動に対するエンドセリン-1 の効果

名古屋市立大学大学院・医学研究科・臨床機能内科学

今枝 憲郎, 加藤 岳史

【目的】糖尿病モデルラットを用いて胃自動運動に対する ET-1 の効果を検討した。【方法】SD ラットに Streptozotocin (STZ) を腹腔内投与し糖尿病モデルラット (STZ 群) を作製した。等尺性張力測定法で胃前庭部輪走平滑筋切片の自動運動を測定し、ET-1 と sarafotoxin S6c (S6c) の効果を比較検討した。【結果】C 群 (n=22) では筋緊張度は  $0.16 \pm 0.01$  g で自動運動は頻度  $2.6 \pm 0.1$ /min, 振幅  $0.16 \pm 0.01$  g であった。STZ 群 (n=12) ではいずれも C 群と有意差はなかった。ET-1 (10 nM) 投与で C 群 (n=11) は筋緊張度 (前  $0.17 \pm 0.02$  g; 後  $0.83 \pm 0.08$  g,  $p < 0.05$ ) と自動運動の頻度 (前  $2.6 \pm 0.1$ /min; 後  $2.9 \pm 0.1$ /min,  $p < 0.05$ ) のみが有意に亢進した。一方、STZ 群 (n=6) では筋緊張度 (前  $0.19 \pm 0.02$  g; 後  $0.97 \pm 0.10$  g,  $p < 0.05$ ) のみが有意に亢進した。S6c (10 nM) の投与では C 群 (n=8) は筋緊張度 (前  $0.17 \pm 0.03$  g; 後  $0.52 \pm 0.04$  g,  $p < 0.05$ )、頻度 (前  $2.7 \pm 0.1$ /min; 後  $3.2 \pm 0.1$ /min,  $p < 0.05$ )、振幅 (前  $0.24 \pm 0.02$ ; 後  $0.31 \pm 0.04$  g,  $p < 0.05$ ) すべて有意に亢進したが、STZ 群では筋緊張度 (前  $0.18 \pm 0.03$  g; 後  $1.83 \pm 0.20$  g,  $p < 0.05$ ) のみが亢進した。【結語】ET-1 は ET<sub>B</sub> 受容体を介して胃自動運動を亢進しており、糖尿病モデルラットでは ET<sub>B</sub> 受容体を介した反応が減弱していると考えられた。

### 13. モルモット慢性腰仙随破壊モデルにおける直腸直腸および直腸内肛門括約筋反射

奈良県立医科大学・第二生理学<sup>1</sup>, 同・消化器総合外科<sup>2</sup>

児島 祐<sup>1</sup>, 勝井 鎌太<sup>1</sup>, 中川 正<sup>1</sup>, 藤井 久男<sup>2</sup>, 中島 祥介<sup>2</sup>, 高木 都<sup>1</sup>

【目的】モルモット慢性腰・仙随破壊モデルを作製し、自律神経損傷後の排便反射と自動運動の経時の変化を調べ、同時に、直腸の壁内神経系（以下 ENS）とカハールの間質細胞（以下 ICC）の形態変化を調べた。【対象と方法】第 1～4 腰随と第 1～3 仙随破壊（以下 PITH）モルモット（体重 350～450 g, 雄性）を作成し、術後 2, 4, 6, 9 日目に排便反射（直腸直腸および直腸内肛門括約筋反射）と自動運動を測定し（PITH 群, 各 n=7）、無傷の Control 群（n=10）と比較検討した。反射測定終了後に直腸を採取し、PGP9.5, ACK45 を用いて免疫染色を行い、ENS と ICC の形態を共焦点顕微鏡で観察した。【結果】反射回数は、2 日目に増加（ $P<0.01$ ）するが、その後減少し、9 日目には Control よりも減少した（ $P<0.05$ ）。しかし、直腸反射性収縮の大きさは、2 日目に一度減少するが、次第に増大し、9 日目には Control よりも増大した（ $P<0.01$ ）。内肛門括約筋反射性弛緩も、次第に増大し、9 日目には Control よりも増大した（ $P<0.01$ ）。しかし、Reflex area は、2 日目の直腸反射が減弱したのみで（ $P<0.05$ ）、その他は Control 群と有意差を認めなかった。また、直腸伸展時に受動的に発生する内圧は 4 日目を低下し、6 日目、9 日目には Control よりも低下した（ $P<0.01$ ）。一方、自動運動の頻数は変わらなかった。免疫染色による、ENS と ICC の観察では、無傷の control 群と比べて、PITH 群で、明らかな形態学的変化は認められなかった。【考察】反射回数、反射反応の大きさ、Reflex area でみられた経時の変化と、免疫染色で ENS や ICC の形態変化が認められなかったことから、自律神経損傷後も腸壁内神経系が機能的変化を遂げ、排便機能を維持していると思われる。

### 14. モルモット小腸カハールの介在細胞（ICC）の三次元的構築

早稲田大学・人間科学部・健康福祉科学科<sup>1</sup>, 福井大学医学部・解剖学第一講座<sup>2</sup>

小室 輝昌<sup>1</sup>, 堀口 和秀<sup>2</sup>

カハールの介在細胞（ICC）が消化管蠕動運動のペースメーカーおよび平滑筋への興奮伝達機能を有することは、既に周知の事実となったが、その一方、多年に渡って蓄積されて来た腸管神経系の研究成果、例えば、各種ニューロンの支配領域、投射方向などを示す回路図に対応させ、運動制御機構を包括的に考察するまでの十分な成果は得られていない。本研究では、このような基本的データを得るため、モルモットの小腸を材料として、ICC 各型の三次元的構築、数量的特徴について検索を試みた。試料は全載伸展標本として c-Kit および PGP9.5 免疫組織化学染色を施し、共焦点顕微鏡により観察した。生後 6 週令、腸管の円周約 20 mm の動物の空腸では、筋層間神経節は腸の長軸に対して、およそ 700～800 ミクロンの間隔で配列しており、筋層間神経叢の ICC-AP は個々の神経節をカゴ状に取り巻いているのが明瞭に観察された。これは、腸壁の一部平面上に ICC-AP が重複して存在することを意味する。多極性の細胞の突起間の距離はしばしば 200  $\mu\text{m}$  を越え、円周に沿った長さは平均約 150  $\mu\text{m}$  で、円周あたりの数は約 130 個であった。このことは、蠕動運動が腸管の長軸上の一点を通る腸壁の円周から起ると考えるとき、少なくとも約 130 個（～260）の ICC-AP が同時に発火する可能性が推定される。深部筋神経叢の ICC-DMP は同じく多極性の細胞であるが、突起は輪走筋に沿って走行するため、円周方向の突起の長さは約 200～300  $\mu\text{m}$ 、円周あたりの数は約 80 個、腸管長軸方向の細胞列の間隙は平均 50  $\mu\text{m}$  であった。また輪走筋層内の ICC-CM は輪走方向に平行に位置する長さ約 250～350  $\mu\text{m}$  の双極性の細胞で、非常にまばらに観察された。継続中の観察結果を含め、ICC ネットワークの示す意義について考察する。

## 15. 犬モデルを用いた消化管運動亢進薬物の検討

東京慈恵会医科大学・外科

仲吉 朋子, 川崎 成郎, 中田 浩二, 石橋 由朗, 鈴木 裕, 古川 良幸, 羽生 信義,  
矢永 勝彦

【背景】セロトニン 5HT<sub>4</sub> 受容体に選択的に作用するクエン酸モサプリド, およびドーパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用とアセチルコリンエステラーゼ阻害作用をあわせもつ塩酸イトプリドはいずれも臨床的に広く用いられている代表的な消化管運動賦活剤である。それぞれの薬物の消化管運動に対する作用様式を知ることは薬物の選択に有用である。【目的】イヌを用いた慢性実験モデルを作成しクエン酸モサプリドおよび塩酸イトプリドの消化管運動効果を記録し比較・検討する。【方法】対象: ビーグル犬 4 頭 (体重 10-12 kg)。全身麻酔下に開腹し胃体部・胃前庭部・十二指腸・空腸・回腸・上部結腸・下部結腸の計 7 ヶ所に Strain Gauge Force Transducer (SGT) を縫着した。薬物投与路として右外頸静脈より中心静脈カテーテルを挿入した。約 2 週間の回復期間の後にクエン酸モサプリド 2 mg, 塩酸イトプリド 20 mg をそれぞれ投与し消化管運動に及ぼす効果について観察した。【結果】収縮強度: いずれの群においても薬物の投与直後に全消化管において同時性の強い収縮波を観察した。強収縮様収縮はいずれも通常の IMC と比べて 50-100% と十分な強さの収縮であった。収縮頻度: 各群での強収縮様収縮の収縮頻度は通常の IMC とほぼ同様であり, いずれの薬剤を用いた場合でも薬物投与による収縮は全ての action potential に乗ったものであった。収縮時間: クエン酸モサプリドの投与による収縮は小腸から結腸を含む下部消化管に対してより長く作用した。塩酸イトプリドの強収縮様収縮は胃においてほかの部位よりもより長く持続する傾向が見られた。【結語】クエン酸モサプリドと塩酸イトプリドはいずれも全消化管部位に対しての運動亢進作用を示したが, クエン酸モサプリドは結腸輸送などの下部消化管に対する効果, 塩酸イトプリドは胃の排出遅延の改善効果などに, より効果的に作用する可能性が示唆された。

## 16. 内在神経によるラット食道横紋筋運動の制御機構

岐阜大学・応用生物科学部・獣医学講座

椎名 貴彦, 志水 泰武, 松山 勇人, 武脇 義

【背景と目的】食道平滑筋の運動は, 中枢由来の外來神経に加えて, 壁内の内在神経によっても制御されていることが知られている。しかし, 食道横紋筋では, 内在神経の存在が形態学的には明らかになっているものの, その機能学的研究はあまり行われていない。本研究は, 筋層が横紋筋のみからなるラットの食道を用いて, 食道横紋筋運動に対する内在神経の役割を解析したものである。【材料与方法】Wistar 系ラットから食道を分離して, オルガンバスにセットした。フォーストランスデューサーを用いて, 食道運動を等尺性に記録した。また, <sup>3</sup>H-choline を用いて, 食道標本からの ACh 放出量を測定した。【結果と考察】まず, 食道を支配する迷走運動神経を単パルス電気刺激したところ, 食道標本は単収縮し, その収縮反応は d-ツボクラリンによって完全に消失した。また, この単収縮はカプサイシン投与によって抑制された。カプサイシンは知覚神経を刺激することが知られている。そのため, この結果は, ラット食道には横紋筋運動を抑制する内在神経反射経路が存在し, カプサイシンはその反射経路を興奮させることを示唆している。このカプサイシンによる単収縮抑制効果は, NK1 レセプターアンタゴニストや一酸化窒素 (NO) 合成酵素阻害薬の投与によって阻害された。さらに, 迷走運動神経を電気刺激した食道標本からの ACh 放出量を測定したところ, カプサイシンは ACh 放出を減少させた。これらの結果は, 食道横紋筋運動を制御する内在神経反射経路にはタキキニンおよび NO 作動性神経が存在しており, その反射経路は, ACh 放出を介して, 食道横紋筋運動を制御していることを示唆している。



## 17. IL-1 $\beta$ による消化管平滑筋運動機能障害の分子機構

東京大学・院・獣医薬理学

堀 正敏, 尾崎 博

【背景】炎症性腸炎疾患 (IBD) 発症時に認められる消化管運動機能障害は、腸内フローラの異常を介してエンドトキシン暴露などにより炎症を悪化させる悪循環をきたし、臨床上大きな問題となっている。しかし、筋層での炎症応答と消化管運動機能障害機構に関する情報は極めて少ない。【目的】炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  に着目し、IL-1 $\beta$  による消化管平滑筋の運動機能障害機構について解析した。【方法】ラット回腸筋層組織標本を無菌的に作製し、IL-1 $\beta$  存在下で3日間器官培養した。一方、TNBS 誘発回腸炎モデルラットならびに DSS 誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスを作製した。これらの筋層標本を用いて IL-1 $\beta$  や標的分子の発現量や運動機能について解析した。【成績】IL-1 $\beta$  処置をした器官培養回腸組織標本では、カルバコール (CCh) による収縮性が顕著に減弱した。また、 $\alpha$  毒素処理スキンドファイバーを用いて収縮蛋白系の Ca 感受性について検討した所、IL-1 $\beta$  処置した標本では、GTP $\gamma$ S 処理や GTP+CCh による Ca 感受性増加作用が抑制されていた。そこで、Ca 感受性増加作用に関与する収縮蛋白系分子群の発現について解析したところ、PKC 感受性の脱リン酸化酵素阻害蛋白質である CPI-17 の蛋白発現量が顕著に減少し、それに伴って CCh 刺激によるリン酸化 CPI-17 発現量も減少した。TNBS 誘発回腸炎モデルラットならびに DSS 誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスから摘出した回腸組織や結腸組織においても、CCh による収縮性は減少し、IL-1 $\beta$  の発現に伴って CPI-17 蛋白質の発現量は顕著に減少していた。【結論】IBD 発症時に見られる消化管運動機能障害の分子機構の一つとして、IL-1 $\beta$  による脱リン酸化酵素阻害蛋白質 CPI-17 の発現量低下を介した収縮蛋白系の Ca 感受性増加機構の抑制が重要であることが示唆された。

## 18. 形状記憶合金バルブによる便失禁治療—イヌを用いた基礎的検討—

東北大学大学院・医学系研究科・生体調節外科<sup>1</sup>,  
同・工学研究科・バイオロボティクス専攻・ロボティクス講座<sup>2</sup>

柴田 近<sup>1</sup>, 長尾 宗紀<sup>1</sup>, 舟山 裕士<sup>1</sup>, 佐々木 巖<sup>1</sup>, 石橋 和彦<sup>2</sup>, 田中 真美<sup>2</sup>,  
長南 征二<sup>2</sup>

【はじめに】形状記憶合金は尿失禁治療への応用が考えられている。今回、われわれは、形状記憶合金を便失禁治療に応用するための基礎的検討を行った。【方法】まず、摘出したイヌ大腸の内外径、壁の厚さから、イヌ大腸の内腔開閉に適した形状記憶合金バルブを作製した。バルブは常温では閉鎖しているが、熱が加わると開放する仕組みとした。作製したバルブを用い、麻酔下のイヌで実験を行った。バルブをイヌの直腸に取り付け、まず、無理なく取り付けられること、閉鎖した状態で大腸に壊死等の悪影響がないことを確認した。バルブの口側大腸内腔で内圧測定を行いながら、さらに口側の大腸から灌流用のカテーテルを内腔に留置、固定した。また、バルブの肛門側大腸に小切開をおき、バルブを通り抜けた内容物を観察出来るようにした。内圧を測定しながら灌流用カテーテルから生食を滴下させ、バルブから肛門側へ内容物が漏れてしまう内圧を測定した (バルブの耐圧試験)。その時点で灌流を中止し、内圧が一定となって内容物が漏れなくなった時点まで待ち、バルブに熱を加えバルブ温度と内圧の関係を測定し、かつ内容物がバルブより肛門側に漏れ始めた時期を記載した。【成績】バルブの耐圧は、300 mmHg であり、その後灌流を中止したところ、200 mmHg まで内圧が低下して一定となった。ここでバルブの温度を上昇させると、42 度となったところで急激に内圧が低下して内容物がバルブの肛門側へと流れ始めることがあきらかとなった。【結論】これらの結果から、今回作製したバルブは実験上は十分な性能を有していると考えられた。ただし、今回作製したバルブは大きすぎて実際には使いにくいいため、今後は同様の性質でさらに小型化したバルブを作製し、実験を重ねて行く必要があると思われた。

## 19. シクロヘキサノン誘導体のラット閉塞膀胱に対する作用

鳥取大学・医・病態解析医学・分子薬理学講座<sup>1</sup>, 明治乳業・医薬事業部<sup>2</sup>,  
鳥取大学・医・器官制御外科学講座・腎泌尿器学分野<sup>3</sup>

齊藤 源顕<sup>1</sup>, 鈴木 啓仁<sup>2</sup>, 山田 昌司<sup>2</sup>, 木下ゆか子<sup>1</sup>, 祝部 大輔<sup>1</sup>, 宮川 征男<sup>3</sup>,  
佐藤 慶祐<sup>1</sup>

【目的】シクロヘキサノン誘導体は神経細胞の誘導, 分化および保護作用が知られている。膀胱頸部閉塞により過活動膀胱モデルを作成し, シクロヘキサノン誘導体の作用を検討した。【方法】10週齢の雌SDラットを用いてマイルドな下部尿路閉塞モデルを作成した。3群(A: コントロール群, B: 下部尿路閉塞群, C: 下部尿路閉塞にシクロヘキサノン誘導体 (8 mg/kg) を連日腹腔内投与群) に分け各群6週間飼育した (n=6-8)。各群6週間飼育し, メタボリックケージを用いた voiding behavior study, ウレタン麻酔下での膀胱内圧測定 (CMG) を施行した。また, 摘出した膀胱体部を H & E 染色し, 全体に対する結合組織の割合を算出した。【成績】膀胱重量は B 群が, A 群の約 1.5 倍であったが, C 群で軽度改善された。voiding behavior study では B 群が A 群の約 2 倍の排尿回数, 1 回排尿量の著名な低下が認められたが, C 群では優位に改善された。また CMG では B 群では最大膀胱内圧の上昇と膀胱容量の低下が観察されたが, C 群で優位な改善がみられた。膀胱体部に対する H & E 染色では, B 群では他の群に比べ膀胱平滑筋の肥大が認められた。膀胱体部に対する結合組織の割合では, B 群で優位な低下が観察されたが C 群では A 群のレベルまで著明に改善されていた。【結論】シクロヘキサノン誘導体は膀胱頸部閉塞による過活動膀胱を改善する作用を有することが示唆された。

## 20. モルモット膀胱平滑筋の自発細胞内カルシウム濃度上昇におけるギャップ結合と間質細胞の役割

名古屋市立大学大学院・医学研究科・細胞機能制御学

橋谷 光, 矢内 良昌, 鈴木 光

モルモット膀胱平滑筋標本を用いて, 自発細胞内カルシウム濃度上昇の細胞間伝達機構についてギャップ結合と間質細胞に着目して検討した。カルシウム蛍光色素 Fura-2 負荷標本において, 筋線維束の最外側より発生し対側に伝搬するカルシウム信号が観察された。この伝搬はギャップ結合阻害剤 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid (18 $\beta$ -GA, 40  $\mu$ M) により抑制され, 筋線維束の最外側に限局したカルシウム濃度上昇が観察された。カルシウム伝搬は細胞内カルシウム貯蔵部位の機能を抑制するサイクロピアゾン酸 (10  $\mu$ M) やライアノジン (100  $\mu$ M) によって影響を受けなかったがイノシトール 3 リン酸によるカルシウム遊離を阻害する 2-APB (50-100  $\mu$ M) によって抑制された。しかし 2-APB は細胞内電位記録法により計測した細胞間の電気的結合をも阻害した。カルシウム伝搬の同期はニフェジピン (10  $\mu$ M) によっても抑制された。C-kit 抗体を用いた免疫蛍光染色により同定した間質細胞は平滑筋線維束の外側に沿って存在したが, 線維束間の結合組織により多く見られた。カルシウム蛍光色素 Fluo-4 負荷標本において間質細胞の自発カルシウム濃度上昇は平滑筋細胞のそれとは同期しておらず, 低頻度で発生し時間経過は非常に緩やかであった。また平滑筋細胞のカルシウム濃度上昇はニフェジピン (10  $\mu$ M) により完全に抑制されたが間質細胞の反応はほとんど影響を受けなかった。以上の結果からモルモット膀胱における自発細胞内カルシウム上昇の伝搬はギャップ結合を介した電気的連絡と L 型カルシウムチャネルの自己再生的活性化により起こり, 細胞内カルシウム貯蔵部位の関与はほとんどないと考えられた。また消化管組織などで自発活動の発生に関わっている間質細胞に類似した細胞は膀胱にも存在したがペースメーカーとしての役割を支持する結果は得られなかった。

## 21. ウサギ尿道における自発細胞内カルシウム濃度上昇の機構

大同病院・泌尿器科<sup>1</sup>, 名古屋市立大学大学院医学研究科・細胞機能制御学<sup>2</sup>, 同・腎泌尿器科学<sup>3</sup>

矢内 良昌<sup>1</sup>, 橋谷 光<sup>2</sup>, 郡 健二郎<sup>3</sup>, 鈴木 光<sup>2</sup>

尿道平滑筋においては細胞内貯蔵部位からのカルシウム放出により活性化されるカルシウム依存性塩素イオンチャネル電流とこれに対応する一過性自発脱分極の存在が知られており, 尿禁制のための尿道平滑筋の持続的な緊張に関与していると考えられている。しかし現在までこれらの電気現象と細胞内カルシウム濃度上昇および筋収縮の関係は十分に解明されていない。そこで今回我々はウサギ尿道輸走筋標本を用いて自発細胞内カルシウム濃度上昇の機構について検討した。カルシウム蛍光色素 Fura-2 を負荷した標本において, 2 種類の自発細胞内カルシウム上昇が観察された。1 つは 1 分間に 1~3 回程度起こり約 10 秒ほど持続するバースト状のカルシウム濃度上昇でカルシウムチャネル阻害剤であるニカルジピン (1  $\mu\text{M}$ ) により強く抑制された。もう一つは様々な振幅と時間経過をもってより高頻度で起こる単発のカルシウム濃度上昇でニカルジピン存在下でも観察された。このカルシウム濃度上昇は, 細胞内電位記録法により記録した一過性自発脱分極と同様に細胞内カルシウム貯蔵部位の機能を抑制するサイクロピアゾン酸 (10  $\mu\text{M}$ ) やライアノジン (50  $\mu\text{M}$ ) により消失し, また細胞外のカルシウムを除去することにより完全に抑制された。消化管組織において自発活動の発生に関わっている間質細胞に特異的な c-kit 抗体を用いた免疫蛍光染色法により, 尿道平滑筋組織には Kit 陽性の細胞が数多く分布していることが示された。以上の結果から, ウサギ尿道においては平滑筋細胞から起こると考えられる電位依存性カルシウムチャネルに依存した細胞内カルシウム濃度上昇のほかに, 細胞内貯蔵部位からのカルシウム遊離に依存したカルシウム濃度上昇が起こっており, この反応への間質細胞の関与が推定された。

## 22. 摘出ヒト膀胱平滑筋に対する solifenacin の作用

熊本大学・大学院・医学薬学研究部・泌尿器病態学

榎永 浩一, 吉田 正貴, 稲留 彰人, 大谷 将之, 上田 昭一

【目的】頻尿・尿失禁治療薬として開発された solifenacin は, M1, M3 受容体に対して比較的親和性を示すとされている。今回, 摘出ヒト膀胱平滑筋に対する solifenacin の薬理学的特性について検討した。

【方法】膀胱腫瘍にて膀胱全摘術を受けた患者から摘出した膀胱の正常体部から平滑筋条片を作製し, これを Krebs-Henseleit 液を満した筋浴槽内に懸垂固定し, 張力変化を記録した。Carbachol (CCh), 80 mM KCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub> 及び経壁電気刺激 (EFS) による収縮に対する solifenacin の作用を検討した。更に, 平滑筋条片に透析プローブを貫通させ, Ringer 液を透析液として灌流させた。透析液を回収しながら経壁電気刺激を行い, ACh 放出量に対する solifenacin の影響も検討した。

【結果】Solifenacin の前処置は CCh の用量反応曲線を右方にさせたが, 高濃度の前処置でも最大収縮をほとんど抑制しなかった。CCh の用量反応曲線に対する solifenacin の pA<sub>2</sub> 値は 7.79 ± 0.08 (slope: 1.13 ± 0.05) であった。また, 80 mM KCl 及び 5 mM CaCl<sub>2</sub> による収縮に対して solifenacin はほとんど影響を示さなかった。経壁電気刺激による周波数反応曲線に対して solifenacin は用量依存性に収縮反応を抑制した。また, 経壁電気刺激による atropine 抵抗性収縮に対して solifenacin は有意な抑制作用を示さなかった。更に, EFS による膀胱平滑筋からの ACh 放出量は周波数依存性に増加したが, 高濃度 (10<sup>-6</sup> M) の solifenacin の前処置により ACh 放出量は抑制された。

【結論】Solifenacin はヒト膀胱平滑筋の受容体及び副交感神経終末の両方に作用し, 膀胱収縮を抑制することが示され, 頻尿・尿失禁治療薬として有用である可能性が示唆された。

## 23. 男性ホルモンによる早期不活性化 $K^+$ チャンネル発現制御

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野

大矢 進, 伊藤 克倫, 加藤 香, 村木 克彦, 今泉 祐治

性ホルモン分泌は性周期や病態により変化し, イオンチャンネル活性調節, 発現制御にも関与している。輸精管平滑筋において早期不活性化  $K^+$  電流 ( $I_A$ ) は活動電位発射の調節に寄与しており, 主な  $\alpha$  サブユニットは  $Kv4.3L$  である (Ohya S *et al.*, 1997)。また,  $Kv4$  チャンネルの  $\beta$  サブユニットである  $KChIPs$ ,  $NCS1$ ,  $DPPX$  は  $Kv4$  チャンネルの細胞膜移行や電流特性を修飾する。本研究では, 睪丸摘出及びテストステロン処置によるラット輸精管平滑筋における  $I_A$  の電流特性及び  $Kv4.3L$  とその  $\beta$  サブユニットの発現変化について検討した。3 週齢の雄性ラットより睪丸を摘出し (去勢群), テストステロン処置群には睪丸摘出後, メチルテストステロンを毎日経口投与した (100 mg/kg)。sham 群, 去勢群, テストステロン処置群の 7 週齢雄性ラットより輸精管平滑筋を摘出し, 単離輸精管平滑筋細胞を用いてホールセルクランプ法により  $I_A$  電流特性の変化について検討した。また, リアルタイム PCR 法及びウエスタンブロット法を用いてラット輸精管平滑筋における  $Kv4.3L$  及び  $\beta$  サブユニットの発現変化を検討した。その結果,  $I_A$  の電流密度は去勢群において有意に減少し, テストステロン処置群においてほぼ完全に回復した。また,  $Kv4.3L$ ,  $KChIP3$  の発現量も同様に遷移した。特に, 去勢群における  $KChIP3$  発現の down-regulation が顕著であった。したがって, 輸精管平滑筋において, テストステロンは  $Kv4.3L$  発現を up-regulation させるとともに,  $KChIP3$  発現も up-regulation させて  $Kv4.3L$  の細胞膜移行を促進することにより,  $Kv4.3L$  の機能的発現を強力に増大させると考えられる。

## 24. マウス膀胱平滑筋における興奮収縮連関についての検討

名古屋市立大学大学院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学

森村 浩三, 大矢 進, 村木 克彦, 今泉 祐治

平滑筋では脱分極刺激時に電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルから流入する  $Ca^{2+}$  によって収縮が惹起されるが, 筋小胞体 (SR) 膜上に存在するリアノジン受容体 (RyR) が活性化される  $Ca^{2+}$  誘発性  $Ca^{2+}$  遊離機構 (CICR) による細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇がどの程度収縮に寄与するかについては不明な点が多い。当研究室ではモルモット膀胱平滑筋細胞で脱分極刺激直後に細胞膜近傍での CICR による局所的な  $Ca^{2+}$  濃度上昇 “ $Ca^{2+}$  ホットスポット” が発生することを報告している。膀胱平滑筋の興奮収縮連関についてさらに検討するためにマウス膀胱平滑筋の細胞内  $Ca^{2+}$  動態および平滑筋組織の収縮反応について検討した。単離膀胱平滑筋細胞に 30ms の脱分極刺激を与えた時, 刺激開始後 10~20 ms で細胞膜近傍の局所部位で  $Ca^{2+}$  ホットスポットが発生し, 脱分極刺激終了後も  $Ca^{2+}$  ウェーブとして細胞全体に緩徐に伝播した。一方, 5 ms の脱分極刺激でもホットスポットは少数発生したが細胞全体へは伝播しなかった。刺激時間を延長するとスポット発生数は増大し, 20~30 ms の刺激ではスポット発生数も頭打ちになり, これらのホットスポットから  $Ca^{2+}$  ウェーブが伝播する事を見出した。さらに通電刺激による活動電位発生時にもホットスポットの発生と細胞全体への伝播が観察された。また筋直接刺激による収縮反応に対する 30  $\mu M$  リアノジンの作用を検討した結果, 収縮がほぼ抑制される事を見出した。また 15 mM  $K^+$  で誘起される自発的収縮も 30  $\mu M$  リアノジンで抑制された。以上の結果より, マウス膀胱平滑筋において RyR を介した 2 段階の CICR, 即ち脱分極直後にホットスポットを発生させる膜直下の特定の SR で生じる緊密な CICR, さらに  $Ca^{2+}$  ウェーブとして細胞全体の SR へ広がる緩徐な CICR が興奮収縮連関において極めて重要な機能を果たしていることが示唆された。

## 25. 正常と肥満マウスにおける前立腺、膀胱収縮反応の比較

東邦大学・医・泌尿器科学<sup>1</sup>, 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子神経化学<sup>2</sup>,  
昭和大学・保健医療学部・作業療法学科<sup>3</sup>

上村 修一<sup>1</sup>, 片岡 和義<sup>1</sup>, 青木 雅一<sup>1</sup>, 加藤 聡彦<sup>1</sup>, 田中 祝江<sup>1</sup>, 出口 正夫<sup>1</sup>,  
中島 耕一<sup>1</sup>, 栗田 稔<sup>1</sup>, 永尾 光一<sup>1</sup>, 原 啓<sup>1</sup>, 森田 隆<sup>1</sup>, 三浦 一陽<sup>1</sup>,  
石井 延久<sup>1</sup>, 浜崎 浩子<sup>2</sup>, 坂井 泰<sup>3</sup>

【目的】糖尿病患者では、前立腺肥大症の有無や、程度に関わらず尿意切迫、排尿困難のような前立腺肥大症様の症状を訴える場合がある。そのため糖尿病患者の前立腺ではアドレナリンレセプターの増加など排尿障害をきたす変化を生じているのではないかと考えた。そこで我々は2型糖尿病に多い肥満のモデルとしてボンベシンレセプターノックアウトマウス(以下BRS-3欠損マウスと略す)の膀胱、前立腺組織を用いて、アドレナリン、ムスカリン受容体の分布、機能について検討した。【方法】56~84週 of BRS-3欠損マウスと正常マウスの膀胱、前立腺を用いて比較検討した。膀胱はカルバコールに対する収縮の比較とカルバコール収縮下の $\beta$  agonistによる弛緩の比較、前立腺はフェニレフリンに対する収縮の比較と $\alpha 1A$  antagonist下のフェニレフリンに対する収縮の比較をした。また前立腺の $\alpha 1A, D$ の発現をRT-PCRにより検討した。【結果】膀胱:カルバコールに対する収縮は正常マウスに比較しBRS-3欠損マウスで有意に強く、 $\beta$  agonistによる弛緩に有意差は認めなかった。前立腺:フェニレフリンに対する収縮は正常マウスに比較しBRS-3欠損マウスで強かったが有意差は認めなかった。 $\alpha 1A$  antagonist下のフェニレフリンに対する収縮は正常マウスに比較しBRS-3欠損マウスで有意に抑制された。【考察】現在RT-PCRにより前立腺の $\alpha 1A, D$ の発現を調べており当日はその結果も踏まえ総合的に考察する予定である。

## 26. ヒト膀胱における Rho/Rho-kinase の局在と排尿筋収縮への関与

獨協医科大学・泌尿器科

釜井 隆男, 山西 友典, 中西 公司, 古谷 信隆, 吉田謙一郎

【目的】Rho/ROCK経路はアクチン系を制御し、細胞周期や癌の進展と関連しているほか、種々の平滑筋の収縮にも関与していることが報告されている。今回ヒト膀胱平滑筋のCarbachol収縮におけるRho/ROCKの役割を、膀胱粘膜の存在・非存在下において検討した。【方法】浸潤性膀胱癌にて膀胱全摘術、前立腺癌にて前立腺全摘出術を行った症例のうち、患者の同意の得られた20例につき、非癌部の膀胱全層を採取した。12例では粘膜を取り除き、8例では膀胱粘膜を付着したまま筋切片標本を作成した。Western blotting法と免疫組織染色法にてRho/ROCKの発現を検討した。またorgan bathを用い、Carbacholの濃度-収縮曲線(CRC)を作成し、ROCK inhibitor(Y27632)を投与した後、2nd carbachol CRCを作成した。Y27632のCarbachol収縮反応に対する効果を、最大反応( $E_{max}$ : 80 mM KClでの最大収縮反応に対する%),  $pEC_{50}$  ( $-\log EC_{50}$ )値の変化により検討した。【結果】Rho/ROCKは筋層よりも粘膜に優位に高発現を示した。コントロールでは、2つのCRCにおける $E_{max}$ ,  $pEC_{50}$ 値は同一であった。 $E_{max}$ は、粘膜の非付着切片では143(11.7%), 付着切片では89.7(7.1%)で有意差を認めた( $P=0.0264$ )。また、粘膜の付着切片では、Y27632投与後では $E_{max}$ は60.5(11.8%)となり投与前に比べて有意に低下したが( $p=0.0274$ )、非付着切片では、投与前後で有意差は見られなかった。 $pEC_{50}$ 値は、粘膜の付着の有無、Y27632投与前後で有意な変化はみられなかった。【結論】Carbacholのヒト膀胱に対する作用は粘膜の非存在下では発現せず、粘膜存在下で発現することが判明した。

## 27. 膀胱平滑筋過形成を呈する nNOS 遺伝子欠損マウスに対するテストステロンの効果

帝京大学・医・泌尿器科

武藤 智, 岡田 弘, 堀江 重郎

【目的】 neuronal Nitric oxide synthase (nNOS) 遺伝子欠損マウスは膀胱平滑筋過形成や頻尿を呈する。このマウスに対して testosterone を投与し、排尿状態の変化を検討したので報告する。【方法】雄の nNOS 遺伝子欠損マウスおよび野生型の排尿量、排尿回数、一回排尿量を測定した。また、テストステロン投与によりそれぞれのマウスにおける排尿状態の変化を検討した。【結果】 nNOS 遺伝子欠損マウスは、野生型と比べて有意に頻尿であった (6.3 vs 4.2 times/day,  $P=0.006$ ) が、一日排尿量に差は認められなかった。野生型にテストステロンを投与した場合、排尿状態 (一日排尿量、一日排尿回数、夜間排尿回数) に有意な変化は認められなかったが、nNOS 遺伝子欠損マウスでは頻尿の改善 (4.1 vs 6.3,  $P=0.0018$ ) が認められた。尿中の NOx 排出量は野生型、nNOS 遺伝子欠損マウスともにテストステロン投与による影響は認められなかった。【結論】膀胱平滑筋過形成にともなう頻尿に対する男性ホルモンの関与が示唆された。

## 28. $\alpha_2$ アゴニストによるラット門脈輪状標本の収縮における内皮性調節について

北海道医療大学・薬・臨床薬理毒理

木村 真一, 鳥羽美由起, 大橋 敦子, 島村 佳一

【緒言】門脈輪走筋の収縮は、内皮細胞から放出される一酸化窒素 (NO) により抑制されているが、アゴニスト刺激時における平滑筋の収縮の内皮による調節については不明な点が多い。本研究ではラット門脈の輪状標本を用い、 $\alpha_2$  アゴニスト刺激による内皮依存性収縮について検討した。【方法】麻酔したラットより門脈を摘出し、幅約 1 mm の内皮正常および内皮除去輪状標本を作成し、37°C のタイロッド液中で等尺性張力を測定した。内皮除去標本の作成は 0.75% deoxycholate で内腔を短時間処理した。 $\alpha_2$  アゴニストとして clonidine を用いた。【結果・考察】内皮正常門脈輪状標本に  $10^{-8}$  ~  $10^{-6}$  M の clonidine を作用させると濃度依存性に収縮高が増加した。clonidine により増大した収縮は yohimbine により抑制された。NO 合成阻害薬 L-ニトロアルギニン (L-NNA) は緊張性収縮を発生させた。L-NNA 存在下に clonidine を作用させると、さらに緊張性収縮が増大した。内皮除去標本では clonidine による緊張性収縮は発生しなかった。clonidine による緊張性収縮は COX 阻害薬では抑制されないが、エンドセリン  $ET_B$  受容体拮抗薬により抑制された。以上よりラット門脈輪状標本の  $\alpha_2$  アゴニスト刺激による緊張性収縮には内皮由来エンドセリンが  $ET_B$  受容体を介して関与していることが明らかになった。

## 29. Functional role of TRPC6/TRPC7 heteromultimeric channels in vascular smooth muscle cells

カルガリー大学・医・薬理学

丸山 良亮

Transient receptor potential (TRP) channels are thought to be  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable non-selective cation (NSC) channel activated by G protein-coupled receptors. TRPC6 channel is a candidate for  $[\text{Arg}^8]$ -vasopressin (AVP)-induced NSC channel in A7r5 vascular smooth muscle cells. The pharmacological properties of AVP-NSC current; e.g. blockade by  $\text{Gd}^{3+}$  and SKF96365 and augmentation by fulfenamate are similar to those of heterologously expressed TRPC6 channels (in HEK293 cells). However, we found that AVP-NSC currents of A7r5 cells were suppressed by extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in physiological range whereas TRPC6 currents were enhanced. TRPC channels are known to assemble into heteromultimeric channels within two major TRPC sub-families; TRPC1/4/5 and TRPC3/6/7. TRPC heteromultimeric channels exhibit different properties compared to their homomultimeric channels. We tested hypothesis that AVP-NSC channels of A7r5 cells are due to heteromultimeric rather than homomultimeric TRPC6 channels. To suppress the TRPC6 homo- and heteromultimeric channel currents, we utilized dominant negative TRPC6 pore mutant (L<sup>678</sup>F<sup>679</sup>W<sup>680</sup> to A<sup>678</sup>A<sup>679</sup>A<sup>680</sup>), which form non-conductive homo- and heteromultimeric channels. AVP-NSC currents were suppressed by the dominant negative TRPC6 indicating a role for TRPC3/6/7 channels. RT-PCR revealed the expression of TRPC6 and TRPC7, but not TRPC3 in A7r5 cells. Extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  suppressed TRPC7 and TRPC6/TRPC7 heteromultimeric channel currents. These results suggest that the AVP-NSC channels of A7r5 cells may due to the expression of TRPC6/TRPC7 heteromultimeric channels.

## 30. 内皮細胞の小コンダクタンス・ $\text{K}^+$ チャンネルで EDHF による過分極は説明できるか

名古屋市立大学・看護学部・生理学研究室<sup>1</sup>, 同・大学院・医学研究科・細胞機能制御学<sup>2</sup>

山本 喜通<sup>1</sup>, 鈴木 光<sup>2</sup>

モルモット腸間膜動脈から内皮細胞層を剝離し、側底膜面を上にしてカバーグラスに固定した。ギャップ結合により等電位と考えられる隣り合った2個の細胞に各々パッチ電極を適用し、一方の電極で電流固定下に膜電位を測定し、他方の電極で cell-attached patch-clamp 下に単一チャンネル電流を記録した。そのパッチ膜電位は他方の電極で測定した膜電位を使って希望電位に固定した。単離した内皮細胞の静止膜電位は $-10\text{ mV}$ より浅く、アセチルコリンによる過分極反応は発生せず、細胞内 $\text{K}^+$ 濃度が低下していると考えられた。そこで $150\text{ mM-K}^+$ 液で $10\sim 15$ 分間灌流してから再び通常の灌流液に戻すと、静止膜電位に変化はなかったが過分極反応が回復し、cell-attached patchには小さな電流を流すチャンネル活動が観察された。このチャンネルは $4\sim 5\text{ pS}$ のコンダクタンスを持ち、逆転電位は $-50\text{ mV}$ より深く、 $\text{K}^+$ チャンネルと考えられた。一層の平滑筋層を持つ直径 $70\text{ }\mu\text{m}$ で長さ $0.7\text{ mm}$ の細動脈標本の場合、内皮細胞から見た入力抵抗は $4.6\text{ M}\Omega$ であった。ギャップ結合で電氣的に連絡した、この標本内のすべての内皮細胞と平滑筋細胞を $-45\text{ mV}$ の静止膜電位から $20\text{ mV}$ 過分極させるためには、約 $20,000$ 個のチャンネルが同時に開く必要があると計算される。この標本に存在する内皮細胞の総数を仮に $1,000$ 個とすれば、細胞1個あたり $20$ 個のチャンネルの同時開口で過分極反応を起こすことになる。このチャンネルの観察される頻度は必ずしも高くはないが、このチャンネルが過分極反応を生じさせている可能性は高いと考えられる。

### 31. 高濃度インスリン慢性投与時における糖尿病ラットの収縮反応増強に対するアンジオテンシン受容体拮抗薬の効果

星薬科大学・医薬研・機能形態

林 優子, 小林 恒雄, 松本 貴之, 鎌田 勝雄

【目的】インスリンは1型糖尿病の治療に必須であるが, streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットに慢性投与すると内皮細胞機能障害を改善する一方で, 収縮反応を増強させるという事が報告されている。また, angiotensin II (Ang II) は強力な血管収縮因子であるとともに, 他の血管作動性物質の調節因子であり, 近年, インスリンとの相互作用が注目されている。そこで, 高濃度インスリン慢性投与時における血管収縮増加と Ang II の関与について検討した。【方法】STZ 投与後, 10 週間後の動物及び対照動物を用い, 高濃度のインスリン, インスリン及びニューロタン(Ang II 受容体拮抗薬)を2週間慢性投与した後, 胸部大動脈を摘出し, 収縮反応を測定した。また, アンジオテンシン変換酵素(ACE) mRNA の発現については RT-PCR 法を用いて比較検討した。【結果】ACE mRNA の発現は control 群に対し STZ 群で増加し, インスリン慢性投与により, さらに発現が増加した。NE による収縮反応は, STZ 群に対し STZ+インスリン群で有意に増強した。ニューロタンを併用すると, 収縮反応の増強は抑制された。control 群ではインスリン慢性投与によって, NE による収縮に影響は見られなかった。内皮細胞除去標本における NE の収縮反応は, STZ 群に対し STZ+インスリン群で有意に増強し, ニューロタンの併用により有意に抑制された。ACh における内皮細胞依存性弛緩反応は, STZ 群において減弱が見られ, インスリン慢性投与によって改善した。ニューロタンの併用は, インスリン慢性投与と同程度の弛緩反応を示した。収縮反応を生じない濃度における Ang I の前処置は, STZ 群において NE 収縮の感受性を増加した。【考察】糖尿病ラットにおける高濃度インスリン投与において認められる血中の高インスリン状態は, 血管収縮の増加を生じ, この増加には ACE mRNA の発現増加に伴う Ang II が関与しているのかもしれない。

### 32. イヌ脳底動脈の伸展誘発性 ERK1/2 活性化におけるプロテインキナーゼ C $\delta$ の関与について

静岡県立大学・薬・薬理学教室

小原 一男, 見立 絢子, 中山 貢一

【目的】血管平滑筋では伸展などの力学的刺激により細胞増殖と肥大などによる病的な組織再構築が誘導され, これには MAP キナーゼの一種である ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinase) の関与が示唆されている。しかし, 伸展刺激による ERK1/2 活性化機序については十分に解明されていない。本研究では, イヌ脳底動脈における伸展誘発性 ERK1/2 の活性化機序について検討した。【方法】雌雄雑種成犬(体重 10-18 kg) から摘出した脳底動脈より作製したリング標本に機械刺激装置を用いて 1 mm/sec の速度で初期筋長の 1.5 倍に緩徐伸展を加え, その伸展量を 15 分間維持した。PKC, Rho および ERK1/2 の活性化は SDS-PAGE, イムノブロット法を用いて測定した。【結果】イヌ脳底動脈には PKC $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\zeta$  および  $\eta$  の 4 種類のアイソフォームが存在し, このうち緩徐伸展により PKC $\delta$  のみが活性化された。また, 緩徐伸展により Rho も活性化された。PKC $\delta$  および Rho 活性化はインテグリンの活性を阻害する RGD ペプチドおよび Rho の活性を阻害するボツリヌス C3 酵素により抑制された。PKC $\delta$  の活性化は PKC $\delta$  阻害薬のロトレリンおよび Rho キナーゼ阻害薬の Y-27632 で抑制された。また, PKC 阻害薬のカルホスチン C により, PKC $\delta$  の活性化は抑制されたが, Rho の活性化は影響をうけなかった。さらに, 伸展刺激により ERK1/2 が活性化され, その活性化は RGD ペプチドおよびロトレリンで抑制された。また, MEK 阻害薬の PD98059 により ERK1/2 の活性化は強く抑制された。【考察】イヌ脳底動脈において, 伸展刺激はインテグリンにより受容され, Rho/Rho キナーゼ系を介して PKC $\delta$  を活性化し, 引き続き MEK を介して ERK1/2 を活性化することが示唆された。



### 33. cGMP を介した血管弛緩反応機構の検討

東邦大学・薬・薬理学教室<sup>1</sup>, 同・薬物学教室<sup>2</sup>, UCLA・医・麻酔科<sup>3</sup>

田中芳夫<sup>1</sup>, 滝沢 景<sup>2</sup>, 山下 庸子<sup>1</sup>, 八巻 史子<sup>1</sup>, 重信 弘毅<sup>2</sup>, 小池 勝夫<sup>1</sup>, Song Min<sup>3</sup>,  
Toro Ligia<sup>3</sup>

【背景と目的】NO と ANP は、細胞内 cGMP 濃度の上昇を介して血管弛緩反応を引き起こす。この弛緩反応機構の一部には、K チャネルの活性化が関与しており、冠動脈では MaxiK チャネルの役割の重要性が示されている。しかし、ラットの動脈を用いて、ニトログリセリン (NTG) と ANP の弛緩作用を MaxiK チャネルの選択的阻害薬であるイベリオトキシンの抑制効果を指標にして解析したところ、腸間膜動脈では MaxiK チャネルの活性化の有意な関与が認められたが、大動脈ではその関与は全く認められなかった。ただし、NTG と ANP の大動脈弛緩作用は、高カリウムにより顕著に減弱していたため、何らかの K チャネルが関与する可能性が考えられた。本研究では、ラット大動脈における NTG と ANP の弛緩作用に関与する K チャネルのサブタイプについて、さらに検討することにした。【結果】1) NTG と NOR3 の弛緩作用は、可溶性グアニル酸シクラーゼの選択的阻害薬 (ODQ) で著明に抑制された。2) NTG と ANP の弛緩作用は、グリベンクラミド、アパミン、カリブドトキシシン、テルチアピン、E-4031 によっては影響を受けなかったが、高濃度の 4-アミノピリジジンもしくはテトラエチルアンモニウムにより顕著に抑制され、Kv2.1 の関与が示唆された。3) 免疫組織染色、ウェスタンブロットによる蛋白定量、PCR による mRNA の発現実験結果から、ラット大動脈平滑筋における Kv2.1 の発現が認められた。【考察】cGMP を介したラットの血管弛緩反応に関与する K チャネルは、腸間膜動脈では MaxiK チャネル、大動脈では、4-アミノピリジジン感受性 Kv チャネル (Kv2.1) であることが示され、血管部位によるサブタイプの差が認められた。

### 34. 血管平滑筋におけるカルシウム依存性収縮およびカルシウム非依存性収縮に対する EPA (eicosapentaenoic acid) の作用の違い

山口大学・医・医学科・器官制御医科学講座・分子細胞生理学<sup>1</sup>,  
北海道大学大学院・水産科学研究科・生命資源科学専攻・生物資源化学講座<sup>2</sup>

津本 麗奈<sup>1</sup>, 岸 博子<sup>1</sup>, 野口 亮子<sup>2</sup>, 宮下 和夫<sup>2</sup>, 王 虹艶<sup>1</sup>, 最上紀美子<sup>1</sup>,  
三輪さおり<sup>1</sup>, 小林 誠<sup>1</sup>

Rho-kinase を介する血管平滑筋のカルシウム非依存性異常収縮は、血管攣縮などの血管病の原因として注目されている。我々はこれまでに、SPC (sphingosylphosphorylcholine) が、血管平滑筋の細胞質カルシウム濃度を変化させることなく、Src ファミリーチロシンキナーゼ、および Rho-kinase を介してカルシウム非依存性異常収縮を引き起こす事を見出した。さらに、この経路によるカルシウム非依存性収縮を特異的に阻害する物質として、n-3 多価不飽和脂肪酸の一種である EPA (eicosapentaenoic acid) を同定した。今回我々は、血管平滑筋の細胞質カルシウム濃度および張力に対する EPA の効果を検討した。方法としては、fura-2 負荷ブタ冠状動脈平滑筋条片を用い、細胞質カルシウム濃度と張力の同時測定を行った。刺激として、SPC、高カリウム脱分極、U46619 を用い、これらの刺激による張力が最大になりかつ安定した時点で、EPA を投与した。SPC は細胞内カルシウム濃度を変化させることなく張力を増加させるのに対し、高カリウム脱分極および U46619 による収縮は、細胞質カルシウム濃度の上昇を伴って観察された。EPA は SPC および U46619 による収縮には抑制効果を示したが、高カリウム脱分極による収縮を抑制しなかった。興味深い事に、EPA は U46619 による細胞内カルシウム濃度上昇に対しては抑制作用を示したが、高カリウム脱分極による細胞質カルシウム濃度上昇に対しては抑制作用を示さなかった。更に、我々は EPA の立体構造とこれらの血管作用との関係についても検討したので、これらの結果についても本会で報告する。

### 35. 血管平滑筋の Sphingosylphosphorylcholine (SPC) 反応性に対するコレステロールの重要性と, membrane raft の関与の可能性

山口大学・医・医学科・器官制御医科学講座・分子細胞生理学<sup>1</sup>,  
同・医学研究科・応用医工学系・デジタル情報制御医学講座・デジタル細胞制御学<sup>2</sup>

岸 博子<sup>1,2</sup>, 森景 則保<sup>1</sup>, 津本 麗奈<sup>1,2</sup>, 周 峰<sup>1</sup>, 最上紀美子<sup>1</sup>, 小林 誠<sup>1,2</sup>

高脂血症は心血管イベントの主要なリスクファクターである。これまで我々は sphingosylphosphorylcholine (SPC) が血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮を引き起こし, Src family tyrosine kinase (Src-TKs) および Rho-kinase が, このシグナル伝達に関与する事を報告してきた。今回我々は, 血管平滑筋の SPC 反応性に対するコレステロールの関与について, ヒトおよび動物モデル, 更に培養血管平滑筋細胞を用いて検討した。手術で摘出されたヒト腸間膜動脈平滑筋および高コレステロール食負荷ウサギの腸間膜動脈平滑筋で, 血中コレステロール濃度と SPC 反応性は正の相関を示し, 高脂血症治療薬で血中コレステロール濃度を正常範囲内に低下させると血管平滑筋の SPC 反応性は消失した。更に, 高コレステロール食負荷ウサギの腸間膜動脈平滑筋を  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -cdx) で処理してコレステロールを除去すると, 血管平滑筋の SPC 反応性は消失した。培養血管平滑筋細胞において, SPC は Src-TKs の 1 つである fyn および Rho-kinase の細胞膜への translocation を誘発し, これらの蛋白が membrane raft の局在蛋白である caveolin-1 や, membrane raft を標識する cholera toxin subunit B (CT-B) と共局在する事が観察された。細胞を  $\beta$ -cdx 処理すると, 細胞膜より caveolin-1 が除去され, CT-B による標識も著しく低下したが, これらの細胞では SPC 刺激による fyn および Rho-kinase の細胞膜への translocation は消失した。以上より, 血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮のシグナル伝達にコレステロールおよび membrane raft が重要である事が示唆された。

### 36. IP 受容体ならびに $\beta$ -アドレナリン受容体を介した平滑筋の弛緩反応における cAMP 非依存性機構について: MaxiK チャネルの役割とその活性化機序

東邦大学・薬・薬理学教室

八巻 史子, 山下 庸子, 堀之内孝広, 田中 芳夫, 小池 勝夫

【目的】我々は, プロスタサイクリン受容体 (IP 受容体) を介した血管平滑筋の弛緩反応には, 組織 cAMP 量の上昇を伴う機構に加え, 組織 cAMP 量の上昇を伴わない機構 (cAMP 非依存性機構) も関与することを見出し, その機序の一部には, MaxiK チャネルの活性化が関与することを報告してきた。本研究では, IP 受容体と同様, Gs 蛋白共役型受容体に分類される  $\beta$ -アドレナリン受容体 ( $\beta$  受容体) を介した平滑筋の弛緩反応に対する cAMP 非依存性機構の関与と MaxiK チャネルの役割を明らかにするとともに, IP 受容体を介した MaxiK チャネルの活性化機序を検討した。【方法】機能測定実験と組織 cAMP 量の定量には, モルモットから摘出した各種平滑筋組織 (胃底・十二指腸・気管・胸部大動脈) を, チャネル電流測定には, 酵素処理により得られた胸部大動脈平滑筋細胞を使用した。【結果】1)  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  受容体への刺激により組織 cAMP 量は有意に増加し, この効果はアデニル酸シクラーゼ阻害薬 (SQ 22,536) により抑制された。しかし,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  受容体を介した弛緩反応は, SQ 22,536 により影響を受けなかった。2)  $\beta_2$  受容体を介した cAMP 非依存性弛緩反応の一部は, iberiotoxin (ibTx) により抑制されたが,  $\beta_3$  受容体を介した反応は, ibTx により影響を受けなかった。3) IP 受容体の刺激は, GTP 依存性に MaxiK チャネル電流を増加させた。また, コレラトキシンは, MaxiK チャネル電流を増加させるとともに, ibTx 感受性の平滑筋弛緩作用を引き起こした。【考察】1) cAMP 非依存性機構は,  $\beta$  受容体を介した弛緩反応にも関与するものの, MaxiK チャネルの関与の程度は,  $\beta$  受容体のサブタイプによって異なること, 2) cAMP 非依存性機構の一部には, Gs 蛋白を介した MaxiK チャネルへの直接的な活性化制御機序が関与する, ことが示された。