

第 30 回 日本平滑筋学会総会講演抄録 (I)

会 長 名古屋大学医学部教授 富 田 忠 雄
期 日 1988 年 7 月 15 日(金)・16 日(土)
会 場 名古屋市中小企業振興会館 (吹上ホール)

一 般 講 演 (I)

モルモット十二指腸平滑筋の非アドレナリン 性抑制性電位に対する 5HT の作用

山口大学医学部 第一生理
大 川 博 通

はじめに

消化管平滑筋で見られる非アドレナリン性非コリン性抑制性電位をひきおこす伝達物質については、いまだ不明であるが、種々の薬物やニューロペプチドがその大きさを変えることから、これらの物質が、なんらかの形で、非アドレナリン性抑制性伝達物質の放出に関与していることが推察される。本実験では、5-hydroxytryptamine (5HT) が、この抑制機構にどのように関与しているかを検討した。

実験方法

モルモット十二指腸から 4×4 mm の縦走筋方向の標本を摘出し、微小電極を用いて縦走筋の電気的活動性を記録した。同じ大きさの標本で粘膜の一部を除去した標本から、輪走筋の電気的活動性を記録した。フィールド刺激はパルス幅の短い (0.2-0.5 msec) 刺激を、通常 0.4 Hz で、あるいは頻回 (2.5-10 Hz) で与えて、非アドレナリン性抑制性電位を生ぜしめた。本実験に用いた標本では自発性抑制性電位および自発性興奮性接合部電位は観察されなかった。

結 果

縦走筋の非アドレナリン性抑制性電位の大きさは、5HT (10^{-7} - 10^{-5} g/ml) 処理により増大した。頻回刺激による非アドレナリン性抑制性電位も、わずかではあるが増加が見られた。膜電位の大きさはほとんど変わらなかった。これらの結果は、輪走筋においても、同様であった。

アトロピン処理 (5×10^{-7} g/ml) の縦走筋では非アドレナリン性抑制性電位の大きさの増大が見られ、更に、5HT 10^{-7} - 10^{-5} g/ml の添加によって、その大きさは増加した。頻回刺激による反応も著明に増加した (図 1)。これらの結果は、スコポラミン (10^{-6} g/ml) 処理の縦走筋に対する 5HT (10^{-6} - 10^{-5} g/ml) の作用にも、同様に見られた。

フォルスコリン (5×10^{-5} g/ml) 処理後においても、5HT (10^{-7} g/ml) は、非アドレナリン性抑制性電位の大きさをやや増加させた。

アトロピン (5×10^{-7} g/ml) 処理後のメチセルジド (10^{-5} g/ml) 添加によっても、非アドレナリン性抑制性電位の大きさは変わらなかった。メチセルジド処理標本では、更に 5HT (2×10^{-6} g/ml) 添加によっても、その大きさは変わ

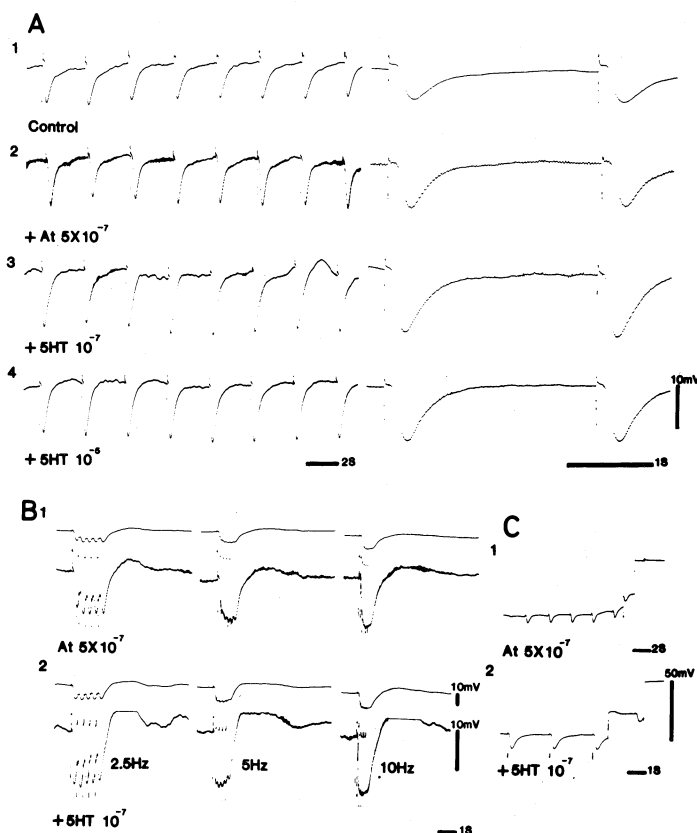


図1. アトロピン処理縦走筋の非アドレナリン性抑制性電位に対する5HTの作用。A, アトロピン処理および5HT添加による非アドレナリン性抑制性電位の大きさの増加を示す(刺激0.4Hz)。B, アトロピン処理および5HT添加中の、反復刺激による非アドレナリン性抑制性電位の大きさの増加を示す(刺激2.5, 5, 10 Hz)。C, アトロピンおよび5HT添加時の膜電位を示す。

らなかった。アトロピン・シプロペプタジン (10^{-5} g/ml) 処理後では、5HT (2×10^{-6} g/ml) により、非アドレナリン性抑制性電位の大きさの減少が見られた。

アトロピン (5×10^{-7} g/ml) 処理後、ミアンセリン (10^{-5} g/ml) を加えると、非アドレナリン性抑制性電位発生後の after-excitation が増強され、しばしばスパイクを発生した。これらの処理後の5HT (10^{-7} - 10^{-6} g/ml) 添加では、非アドレナリン性抑制性電位は、むしろ増強された。

縦走筋の自発性活動電位の発生は、5HT (10^{-7} - 10^{-5} g/ml) により促進されたが、自発性およびフィールド刺激による興奮性接合部電位は生じなかった。

一部の標本では、アウエルバッハ神経叢ニューロンから、自発性放電をガラス微小電極で細胞外記録した。活動性は single spike type のものが多く得られ、5HT (10^{-7} - 10^{-5} g/ml) により、初期にやや抑制傾向が見られた。この抑制傾向は、メチセルジド 10^{-5} g/ml 前処理で消失した。フォルスコリン (2×10^{-5} g/ml) 中で、スパイク活動性は増強されなかった。

考 察

5HT による非アドレナリン性抑制性電位の増強は、壁内神経叢ニューロンへの作用と考えられるが、ニューロン活動性との関連は不明であった。

文 献

- Hirst, G.D.S. *et al.* (1975). Some effect 5-hydroxytryptamine, dopamine and noradrenaline on neurones in the submucous plexus of guinea-pig small intestine. *J. Physiol.* **251**: 817-832.
- Johnson, S.M. *et al.* (1980). Multiple actions of 5-hydroxytryptamine on myenteric neurones of the guinea-pig ileum. *J. Physiol.* **304**: 459-

470.

- North, R.A. (1982). Electrophysiology of the enteric nervous system. *Neurosci.* **7**: 315-325.
- Ohkawa, H. (1987). Effects of γ -aminobutyric acid on the non-adrenergic inhibitory potentials in circular smooth muscle cells of the guinea-pig duodenum. *Biomed. Res.* **8**: 185-194.

モルモット気管平滑筋の収縮性に対するカプサイシンおよびサブスタンス P の直接作用

名古屋大学医学部 麻酔学教室

河 西 稔, 早 川 あけみ, 西 脇 公 俊
島 田 康 弘

名古屋第一赤十字病院 麻酔科

榊 原 洋 子

免疫組織学的手法によりラット, モルモット, ヒトの気管平滑筋にはサブスタンス P を含む神経線維が存在すると考えられている。またカプサイシンで生直後, 処理するとこれらの神経線維から 90% 以上, サブスタンス P が消失するとの報告がある (Gamse, *et al.*, 1980, Lundberg, *et al.*, 1983)。我々は嚥下性肺炎の際にみられる喘息性様症状にサブスタンス P が関与しているとの仮説のもとに研究をすすめており, 一部, この仮説を支持する結果を得ているが, 今回, 気管平滑筋に対して直接カプサイシン, サブスタンス P を投与し, その反応について検討したので報告する。

方 法

体重 200 g 前後のモルモットを放血致死させた後, 気管を摘出し気管平滑筋を 37°C の恒温槽内に吊るし, Krebs 液中に各種薬剤を混入させて得られた張力の変化を等張性にトランスデューサーを介して記録する。

結 果

モルモット気管平滑筋は Krebs 液中で緊張性の収縮を示すが, これはインドメタシン (10^{-6} M) で完全に抑制された。Krebs 液中で緊張性収縮を示している時, カプサイシンを投与すると 10^{-6} g/ml 位の濃度をピークとする新たな張力の発生をみたが, それ以上の濃度になるとインドメタシンを投与した場合と同様な時間経過で, ほぼ完全に弛緩した。Krebs 液で洗い流すとまた一定の緊張性張力を回復したが, 再度カプサイシンを投与すると張力は減少するのみであった。インドメタシン (10^{-6} M) 投与下で, カプサイシンを加えると, 最初は 10^{-6} g/ml をピークとする張力の発生をみたが, カプサイシンを洗い流し, 再度インドメタシン投与下でカプサイシンを加えた場合には, 張力の発生をみなかった。正常 Krebs 液中に, 10^{-9} M の濃度から, サブスタンス P を投与するとインドメタシンの有無にかかわらず, 濃度依存性に緊張性張力の発生をみた。また細胞外液のカリウムを 40 mM とし, 脱分極状態として, より強い緊張性

張力が発生した状態でサブスタンス P を投与した場合も濃度依存性に張力の発生をみた。サブスタンス P をいったん洗い流し、再投与した場合でも、濃度依存性の張力発生の変化には変化がなかった。この張力はカルシウム・チャンネルブロッカーである verapamil (10^{-5} M)、細胞内サイクリック AMP を増加させる aminophylline (5×10^{-5} M)、isoproterenol (10^{-6} M) では抑制されなかった。カプサイシン初回投与で発生する張力は、サブスタンス P の投与で発生する張力と同様、verapamil (10^{-5} M)、aminophylline (5×10^{-5} M)、isoproterenol (10^{-6} M) で抑制されない性質を示し、サブスタンス P の拮抗薬である supantide (10^{-6} M) を前投与しておくともカプサイシン初回投与でも張力の発生はみられなかった。

考 察

カプサイシンは *in vitro* でも、初回投与でサブスタンス P 様の物質を放出し、気管平滑筋を収縮させるが、二回目以降では、この物質を放出せず、かえって張力を低下させる作用をもっていると考えられる。サブスタンス P は、正常 Krebs 液中でも、脱分極状態でも、気管平滑筋を収縮させ、しかも、この張力はカルシウム・チャンネルブロッカーにより抑制されなかった

ことから、サブスタンス P は、電位依存性のカルシウム・チャンネルを介さず平滑筋を収縮する可能性があると考えられる。また、気管支喘息の治療薬として頻用され、その効果が、細胞内のサイクリック AMP 濃度を増すことにあると考えられている aminophylline や isoproterenol でも、サブスタンス P による発生張力が抑制されなかったことは、サブスタンス P の血管透過性亢進作用とともに、この気管平滑筋収縮作用が、難治性の嚥下性肺炎の病態になんらかの役割を果たしている可能性を強く示唆するものと考えられる。

文 献

- Gamse, R., Holzer, P. and Lembeck, F. (1980). Decrease of substance P in primary afferent neurones and impairment of neurogenic plasma extravasation by capsaicin. *Br. J. Pharmac.* 68: 207-213.
- Lundberg, J.M., Saria, A., Brodin, E., Martling, C.-R., Hokfelt, T. and Rosell, S. (1983). Mucosal oedema and bronchoconstriction induced by irritation of capsaicin-sensitive substance P afferents. *SUBSTANCE P DUBLIN*, edited by P. Skrabanek and D. Powell, pp. 86-87. Boole Press Limited, Ireland.

capsaicin によるイヌ迷走神経性 小腸収縮の抑制機構

岡山大学医学部 第二生理学教室

水 谷 雅 年, 祢 屋 俊 昭, 中 山 沃

緒 言

capsaicin の摘出腸管での作用は知覚神経を逆行性に興奮させ、モルモット回腸ではタヒキニン類を遊離して運動を促進させ (Szolcsányi & Barthó, 1978)、ラット十二指腸では CGRP (calcitonin gene-related peptide) を遊離して、

一部は非アドレナリン非コリン性抑制ニューロンを刺激して間接的に、一部は平滑筋に直接作用して運動を抑制する (Maggi *et al.*, 1986)。また capsaicin は知覚神経を順行性にも興奮させる。

そこで、イヌの生体内で迷走神経によって引き起こされる小腸収縮が、capsaicin による小

腸支配の知覚神経の興奮によって影響されるかどうか、影響されるならばどのような機序によるのかを検討した。

方 法

体重 7-13 kg の雑種成犬を用い、ケタラル麻酔下に気管カニューレを挿入し、大腿静脈カニューレより 5% ウレタン、0.05% ガラミン、5% ブドウ糖を含むリンガー液を点滴静注し、麻酔を維持するとともに、動物を非動下し、人工呼吸下で実験を行った。約 8 cm の長さに分離した小腸片を 3-4 個作り、各小腸片の内腔にゴム球を挿入し、その内圧変化を記録した。薬物の投与は各小腸片を支配している腸間膜動脈内に微量持続注入した。迷走神経刺激は頸部で遠心性に 10-20 Hz, 1 ms, 8-15 V で 15-30 秒間、5.5 分間で行った。

結 果

迷走神経刺激による小腸の収縮は、atropine (0.1 mM, 0.07 ml/min) あるいは hexamethonium (1 mM, 0.07 ml/min) を投与した小腸でのみ著明に抑制された。ところが capsaicin (10-100 μ M, 0.07-0.14 ml/min) は投与した小腸のみならず、投与しなかった小腸でも迷走神経性収縮を抑制した。この非投与小腸で現れる抑制反応は迷走神経を両側切断した動物でも見られた(図 1, J-1)。また腰部交感神経および交感神経幹 (Th13-L4) をあらかじめ両側切断した動物でも現れ、両側の大・小内臓神経の切断によって消失した。また脊髄を頸部 (C6) で横断しても消失した。capsaicin の投与によって生ずるこの迷走神経性収縮の抑制は α -blocker である phentolamine (1 mM, 0.07 ml/min)

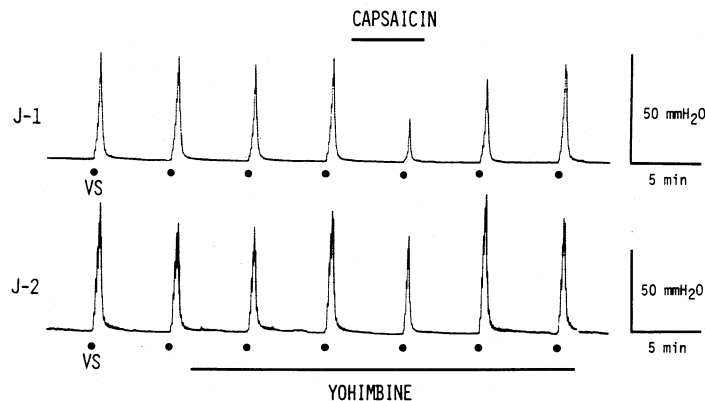


図 1. イヌの迷走神経刺激による小腸収縮に対する capsaicin の効果, J-1 は何も処理していない小腸片, J-2 は yohimbine (1 mM, 0.08 ml/min) を腸間膜動脈中に投与した小腸片。Capsaicin (100 μ M, 0.07 ml/min) は J-1, J-2 以外的小腸片に膜動脈を介して投与した。両側の迷走神経はあらかじめ切断されている。迷走神経刺激 (VS) は 10 Hz, 1 ms, 10 V で 30 秒間、5.5 分間隔で行った。

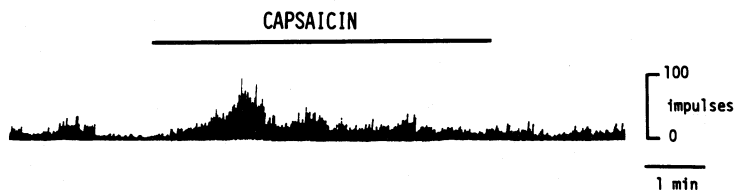


図 2. イヌの交感神経節後線維の電気活動(腸間膜動脈神経から導出)に対する capsaicin の効果。あらかじめ両側迷走神経は頸部で切断、両側交感神経幹 (Th13-L4) は腹膜外で切除されている。capsaicin (10 μ M, 0.14 ml/min) は活動を記録した神経に支配されている小腸片とは別の小腸片に投与した。縦軸は 1 秒間のインパルス数を示す。

あるいは α_2 -blockerであるyohimbine (1 mM, 0.03 ml/min) によって著明に抑えられたが(図1, J-2), β -blockerであるpropranolol (1 mM, 0.07 ml/min), α_1 -blockerであるprazosin (10 μ M, 0.07 ml/min) によっては抑えられなかった。両側の迷走神経および腰部交感神経を切断した動物で、腸間膜動脈神経の遠心性電気活動性(大・小内臓神経由来の活動)を記録すると、著しい活動の増加が見られた(図2)。この時迷走神経を遠心性に刺激すると、小腸の収縮は抑制されていた。また腸間膜動脈神経および大内臓神経中の求心性神経の中には、capsaicinによって著明に放電の増加するユニットが認められた。

結 論

以上の結果から capsaicin は腸壁内で求心性ニューロンを興奮させ、交感神経性に反射を誘起させ、交感神経の節後ニューロンから遊離されるノルアドレナリンによって、迷走神経の節前線維からのアセチルコリンの遊離を抑制(い

わゆる α_2 -adrenoceptorを介するシナプス前抑制)することによって、迷走神経性収縮を抑制すると考えられる。そしてこの反射の求心路、遠心路ともに大・小内臓神経を介したものであり、この反射中枢は脊髄より上位にあると思われる。

文 献

- Maggi, C.A., Manzini, S., Giuliani, S., Santicioli, P. and Meli, A. (1986). Extrinsic origin of the capsaicin-sensitive innervation of rat duodenum: possible involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the capsaicin-induced activation of intramural non-adrenergic non-cholinergic neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **334**: 172-180.
- Szolcsányi, J. and Barthó, L. (1978). New type of nerve-mediated cholinergic contractions of the guinea-pig small intestine and its selective blockade by capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **305**: 83-90.

迷走神経および交感神経遮断の胃十二指腸運動に与える影響に関する実験的検討

順天堂大学医学部 第一外科

中 尊 宣, 佐 藤 浩 一, 能 美 明 夫
榊 原 宣

順天堂伊豆長岡病院 外科

津 村 秀 憲, 渡 部 洋 三

はじめに

消化管運動機能は神経性あるいは体液性に調節され、摂食前後で異なる運動パターンを示している。今回、意識下の動物を用いて交感神経遮断が上部消化管運動に与える影響について、迷走神経遮断のそれと比較し検討した。

対象と方法

対象として無処置対照犬1頭を含む体重10~15 kgの雑種成犬6頭を用いた。自律神経遮断法としては、①開胸による手術的全幹迷走神経切離(以下TV)、②開腹による選択的近位迷走神経切離(以下SPV)、③硫酸アトロピン0.2 mg/kg投与による薬物的迷走神経遮断(以下PV)、④開腹による手術的腹部交感神経

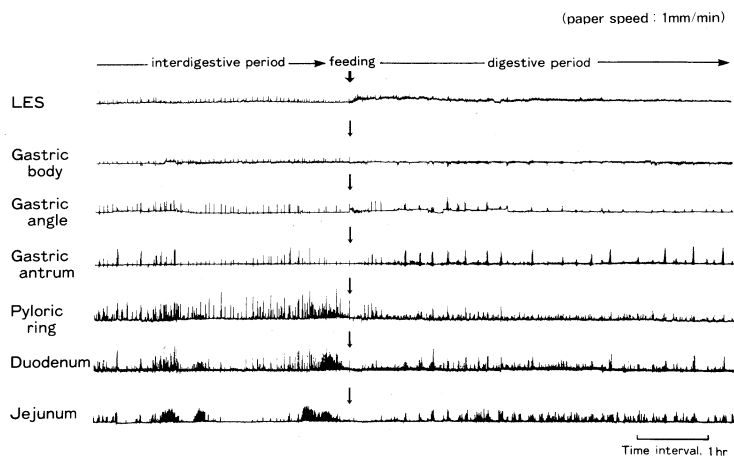


図 1-a. TV 後の上部消化管運動. 空腹期・食後期ともに変化が見られる

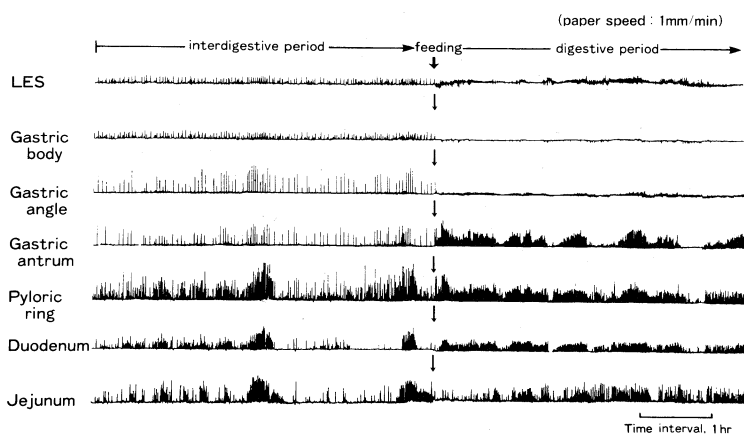


図 1-b. SS 後の上部消化管運動. 空腹期の胃上部の運動に IMC の消失が認められる

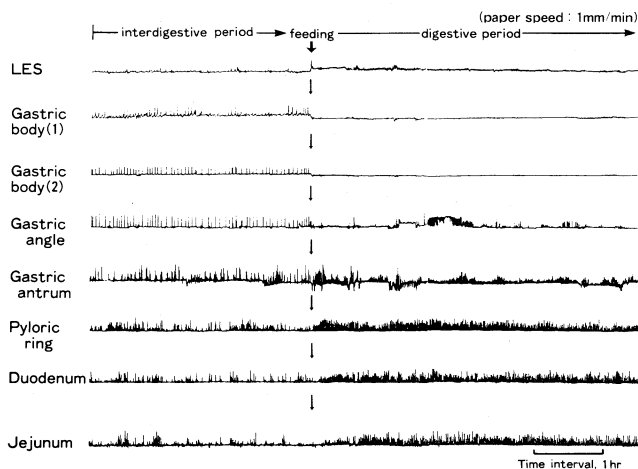


図 1-c. PS 後の上部消化管運動. 空腹期の運動は変化し, 食後期の運動は保たれている

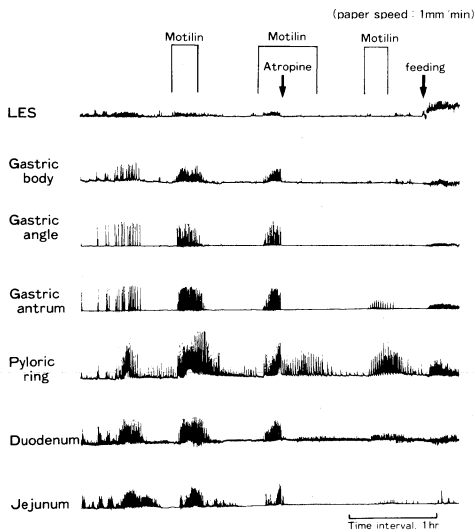


図 2-a. Motilin による強制収縮は Atropine で抑制されている

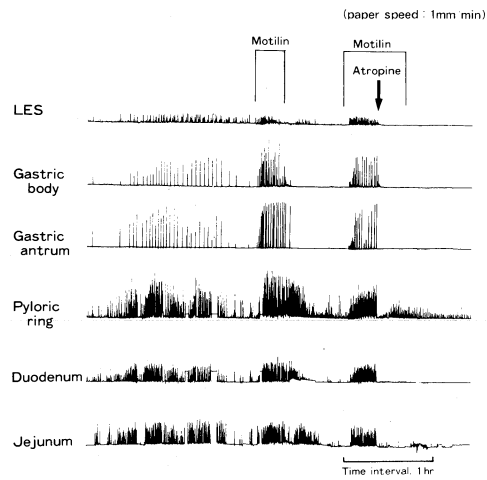


図 2-b. TV 後にも Motilin による強制収縮は認められアトロピンにより抑制された。

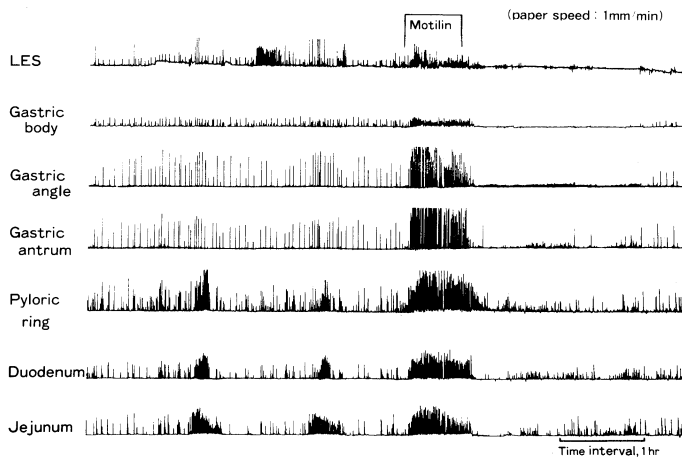


図 2-c. SS 後にも Motilin により強制収縮が認められる。

切離 (以下 SS), ⑤ 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 投与による薬物的交感神経遮断 (以下 PS) を行った。SS は腹腔動脈および上腸間膜動脈周囲の神経叢を神経節とともに切除した。PS は 6-OHDA を初日 2.5 mg/kg 皮下注射し, 2 日目, 3 日目にそれぞれ 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg 投与し行った。対照犬および各神経遮断犬の消化管運動の観察記録は, 伊藤の方法に従い, strain-gage force transducer (SFT) の慢性植込により行った。SFT 縫着部位は, 下部食道噴

門括約筋部 (LES), 胃体上部, 胃体中部, 胃角部, 幽門部, 幽門輪, 十二指腸, 空腹の 6 ないし 8 カ所とした。さらに 13-metioninmotilin 1.2 μ g/kg/hr の静脈内投与を併用し観察した。

結 果

(1) 対照犬の上部消化管運動

空腹期には interdigestive migrating contraction (IMC) と IMC にひきつづく休止期を交互にくり返すいわゆる interdigestive

pattern (IP)が見られた。食後期には、LES の基線上昇、胃体部の receptive relaxation による基線の低下、胃角部から空腹に見られる盛衰をくり返しながらか連続する小収縮波が認められ、digestive pattern (DP) が明瞭に観察された。

(2) SPV 後の上部消化管運動

SPV 後には対照犬と類似した日内変動がみられたが、DP の持続時間が約 13 時間と対照犬の 10 時間に比べ軽度で延長していた。また食後の LES 基線上昇、胃体部の receptive relaxation は不明瞭となっていた。

TV 後の上部消化管運動(図 1-a) 空腹期では LES から幽門部にかけて DP は消失し不規則な小収縮波の散発のみが観察された。幽門輪より肛門側では IMC 類似の強収縮波群が観察できた。食後期では LES 基線の上昇や胃体部の receptive relaxation は消失し、胃角部、幽門部では TV 後に特有と考えられる短時間続く小収縮波群の散発が見られた。

(4) SS, PS 後の上部消化管運動 (図 1-b, c)

空腹期では特に PS において LES から空腸まで IP は消失し、単発する不規則な収縮運動がみられるのみであった。SS では十二指腸、空腸に IMC 様強収縮波群が認められた。食後期では SS, PS とともに DP は良く保たれていた。

(5) Motilin 投与後の上部消化管運動 (図 2-a, b, c)

対照犬において空腹期の休止期に Motilin 投与により IMC 様強収縮波群が観察された。また TV, SS, および TV 兼 SS 後の空腹期にも強収縮波群が観察され、これはアトロピン 0.2 mg/kg 投与により幽門輪部を除いて完全に抑

制された。

考察および結論

迷走神経遮断は、空腹期、食後期の消化管運動の日内リズムに強い影響を及ぼしたが、Motilin 投与により強収縮が出現したことより収縮力には影響を及ぼさなかった。また交感神経遮断は空腹期の運動に影響を与え IMC の出現を抑制したが、食後期の運動には変化を与えなかった。以上のような外来性自律神経遮断後にも Motilin 投与により空腹期に IMC 様強収縮が発現することより自律神経系は上部消化管収縮運動の日内リズムの modulator としての作用を強く持ち、食物の直接刺激あるいは Motilin により惹起される収縮運動には消化管壁内の cholinergic pathway の関与が重要であると考えられた。

文 献

- Gordon, L.T. (1985). Effect of central sympathectomy on gastric and small intestinal myoelectric activity and plasma motilin concentrations in the dog. *Gastroenterology* 89: 5: 989-995.
- 市 尊宣(1985). 噴門側胃切除後の残胃の運動に関する実験的検討. *日平滑筋誌* 21: 240-242.
- 伊藤 漸(1987). 消化管収縮運動の調節機構. *医学のあゆみ* 141: 298-297.
- 伊藤 漸(1977). 合成 motilin の胃運動に対する作用—意識下のイヌにおける研究—. *日本消化器病学会雑誌* 74: 155-162.
- Judith, A.M. (1979). Effect of celiac and superior mesenteric ganglionectomy on interdigestive myoelectric complex in dogs. *Am. J. Physiol.* E432-E436.

意識下成犬における幽門輪運動と迷走神経 ——Vagal cooling blockadeによる検討——

兵庫医科大学 第一外科

鈴木 栄太郎, 岡本 英三, 豊坂 昭弘
能勢 勝義, 松島 康博, 中村 章彦

兵庫医科大学 共同研究室

大滝 武, 植田 延生, 佐藤 浩治

緒 言

迷走神経が幽門輪を含む上部消化管運動を支配していることはよく知られているにもかかわらず、幽門輪運動の迷走神経支配に関する研究は極めて乏しくその実体は未知の部分が多い。今回我々は vagal skin loop を作製した意識下成犬を用い strain gauge force transducer 法により胃・十二指腸運動とともに幽門輪運動につき検討したので報告する。

方 法

雑種成犬5頭(10~15 kg)を用いた。両側頸部 vagal skin loop を作製した後2~3週後に胃体部・胃前庭部・幽門輪・十二指腸の輪状筋収縮が記録される方向に strain gauge force transducer を縫着した。胃・十二指腸用 strain gauge は共和電業製 KFE-2-C1 (ゲージ長 2.0 mm, グリッド幅 2.2 mm), 幽門輪用は同 KFR-02-C1 (0.2 mm, 1.0 mm) を使用し伊藤(1976)の方法に従って作製した。vagal cooling blockade は skin loop に銅製ラジエーターを装着し、ドライアイス+不凍液を還流することにより皮温を 1℃ に冷却し頸部迷走神経を可逆的に遮断した。

成 績

図1は5頭の犬の空腹期収縮(IMC)である。幽門輪にも胃・十二指腸と同様IMCと呼べる運動がみられるが、幽門輪IMCの特徴は弛緩が観察されることである。この幽門輪の弛緩は胃前庭部の収縮に同期し、十二指腸収縮の trig-

ger となる。

1) 空腹期 vagal cooling blockade(図2, 上段)

胃体部・胃前庭部はその運動が完全に抑制され cooling 中に収縮が記録されることはなかった。十二指腸には短い静止期の後いわゆる vagally independent contraction (VIC) が発生しこの VIC は cooling 中本来の IMC と類似の周期で発生した。幽門輪には不規則な phasic contraction が発生し、十二指腸の VIC に同期して tonus の上昇と amplitude・frequency の増加がみられた。特徴的なことは cooling 中には幽門輪特有の弛緩は全く観察されなかったことである。cooling 中に motilin を投与しても胃体部・前庭部には全く収縮は発生せず、幽門輪・十二指腸には VIC と同様の収縮運動が観察された。

2) 食後期 vagal cooling blockade(図2, 下段)

胃体部の receptive relaxation は消失し tonus は上昇した。胃前庭部はほぼ完全に収縮運動は抑制され、十二指腸には短い静止期の後 VIC の発生が認められた。幽門輪には不規則な phasic contraction が発生し、十二指腸の VIC に一致して tonus の上昇と amplitude・frequency の増加が観察された。つまり食後期でも vagal blockade に際しては空腹期のそれと全く同一のパターンとなった。以上の結果は両側 vagal blockade に際してのみ観察され、片側 blockade では有効な神経遮断にはなり得なかった。

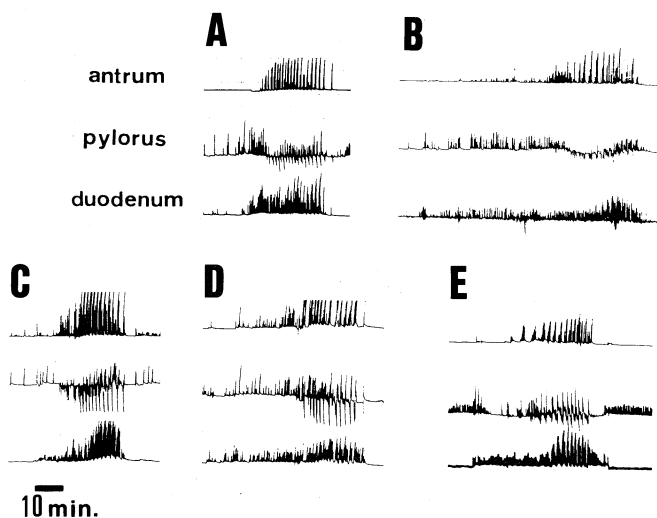


図 1. 5 頭の犬の空腹期収縮 (IMC).
幽門門輪の弛緩が特徴的である.

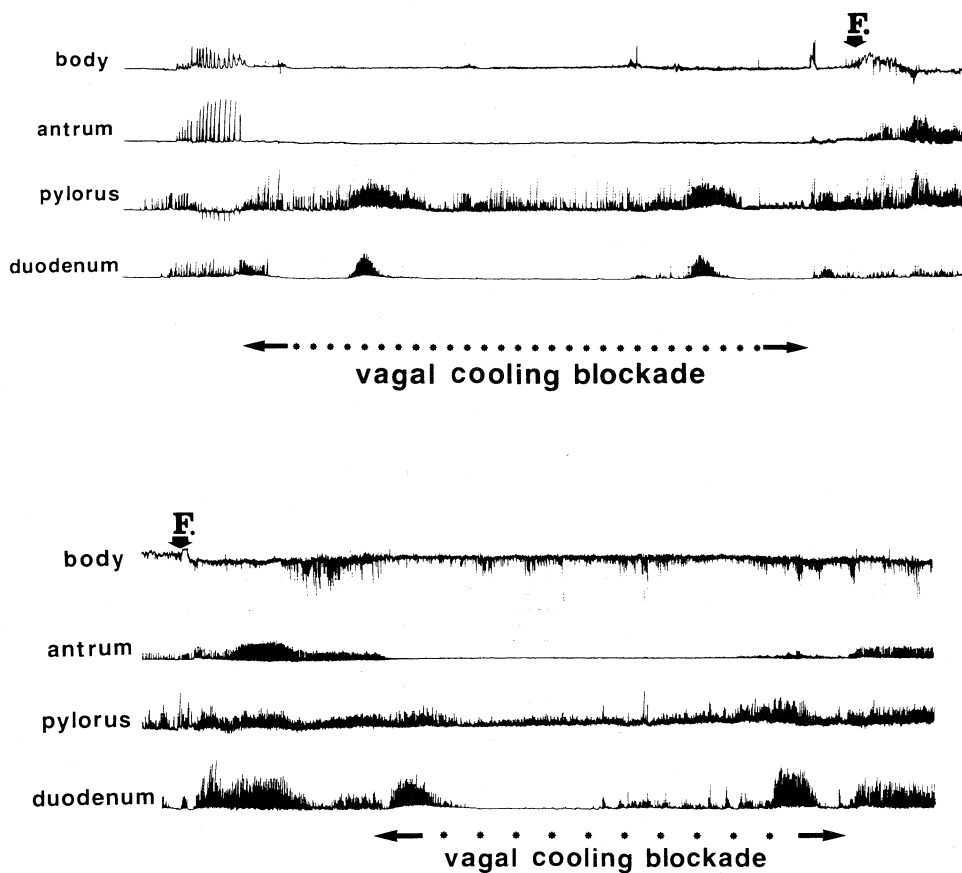


図 2. 上段: 空腹期 Vagal cooling blockade.
下段: 食後期 Vagal cooling blockade.

結 語

1) 幽門輪にも胃・十二指腸同様空腹期収縮(IMC)が観察されたが、その特徴は胃前庭部の収縮に同期してみられる“弛緩”である。

2) vagal cooling blockade により空腹期・食後期とも同一パターンとなり、幽門輪特有の弛緩は全く消失したことから、この弛緩は迷走神経依存性であることが示唆された。

先天性 aganglionosis rat 腸管におけるペプチド含有神経に関する免疫組織化学的研究

九州大学医学部 小児外科

廣 瀬 龍一郎, 川 名 隆 司, 池 田 恵 一
後 藤 誠 一, 田 口 智 章, 生 野 猛

九州大学医療技術短期大学部 解剖

灘 修 身

麻生飯塚病院 小児外科

豊 原 敏 光

緒 言

Hirschsprung 病(以下 H 病)腸管におけるペプチド含有神経の検索についてはこれまで多くの報告がある。しかし H 病のモデル動物として知られている先天性 aganglionosis rat (以下 AR) 腸管のペプチド神経については VIP, SP, ENK などに関する報告が見られるにすぎない(権田, 1983; Nagahama, 1985; Domoto, 1987)。

我々は免疫組織化学的手法を用いて、AR 腸管における各種ペプチド神経の検索を行い、ヒト H 病腸管のそれと対比した結果、直腸部の外来性ペプチド神経について興味ある知見を得たので報告する。

方 法

(1) 生後 3 週の AR 20 匹およびコントロールとして同腹正常ラット 10 匹を用いた。(2) 麻酔下にて開腹、1% colchicine を含む生食を浸したガーゼ片を局所的に腸管に当て約 2 時間作用させた後、腸管を採取した。(3) 標本を 0.5%

ピクリン酸・4% パラホルムアルデヒドを含む 0.05 M, pH 7.3 リン酸緩衝液で約 1 時間固定した後 7% ショ糖加 0.05 M リン酸緩衝液で標本を洗浄した。(4) 厚さ 16 μ m の凍結切片を作製し B-SA 法により免疫組織化学的に染色を行った。1 次抗体として抗 vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 抗体, 抗 peptide histidine methionine (PHM) 抗体, 抗 substance P (SP) 抗体, 抗 substance K (SK) 抗体, 抗 galanin (GAL) 抗体, 抗 methionine-enkephalin (met-ENK) 抗体, 抗 leucine-enkephalin (leu-ENK) 抗体, 抗 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 抗体, 抗 neuropeptide Y (NPY) 抗体および抗 somatostatin (SOM) 抗体を用いた。

結 果

(1) 正常神経節部: 正常神経節部のペプチド含有神経の分布は AR とコントロールとでほとんど差異が認められなかった。各ペプチドは主として筋管神経叢, 粘膜下神経叢の神経線維に証明された。PHM (PHI) は VIP とほぼ同様

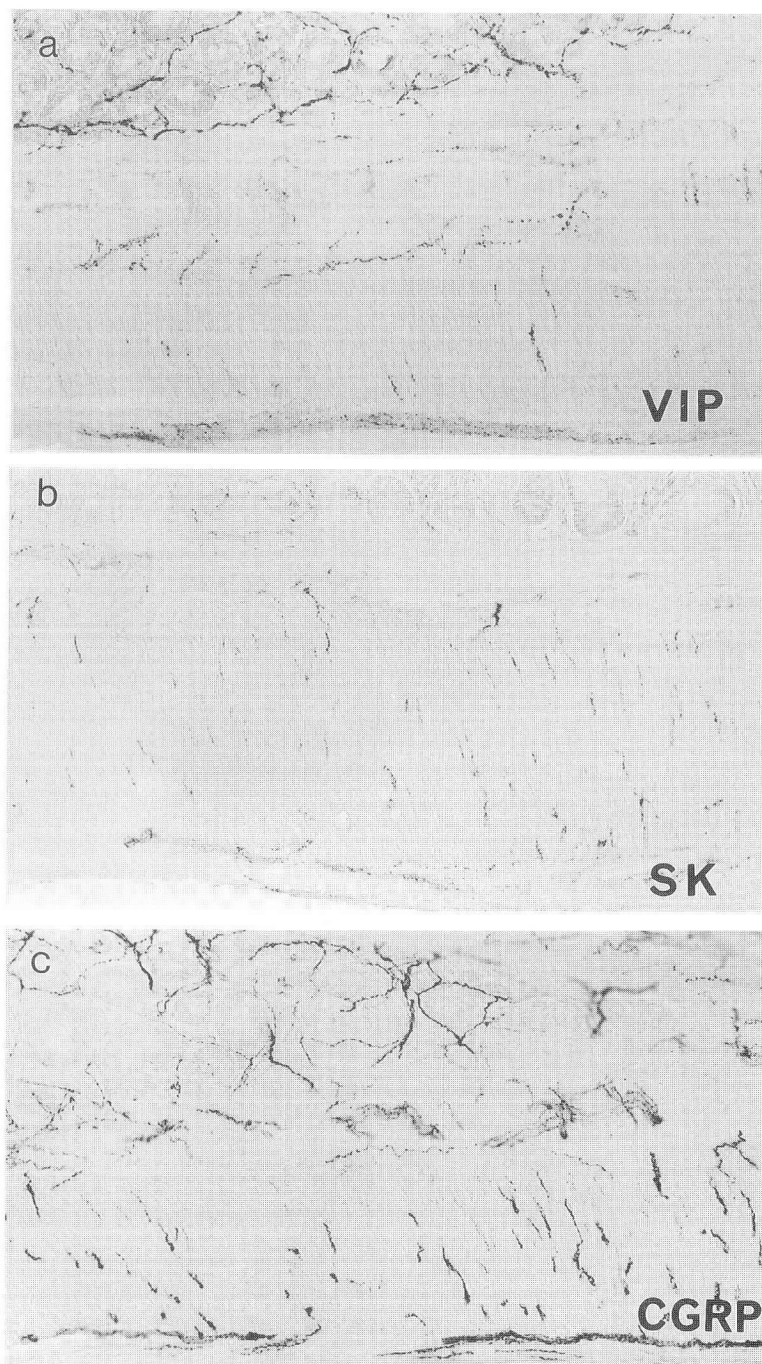


図1. AR無神経節部；直腸部におけるペプチナド含有神経（a. VIP b. substance K c. CGRP）の分布（×200）

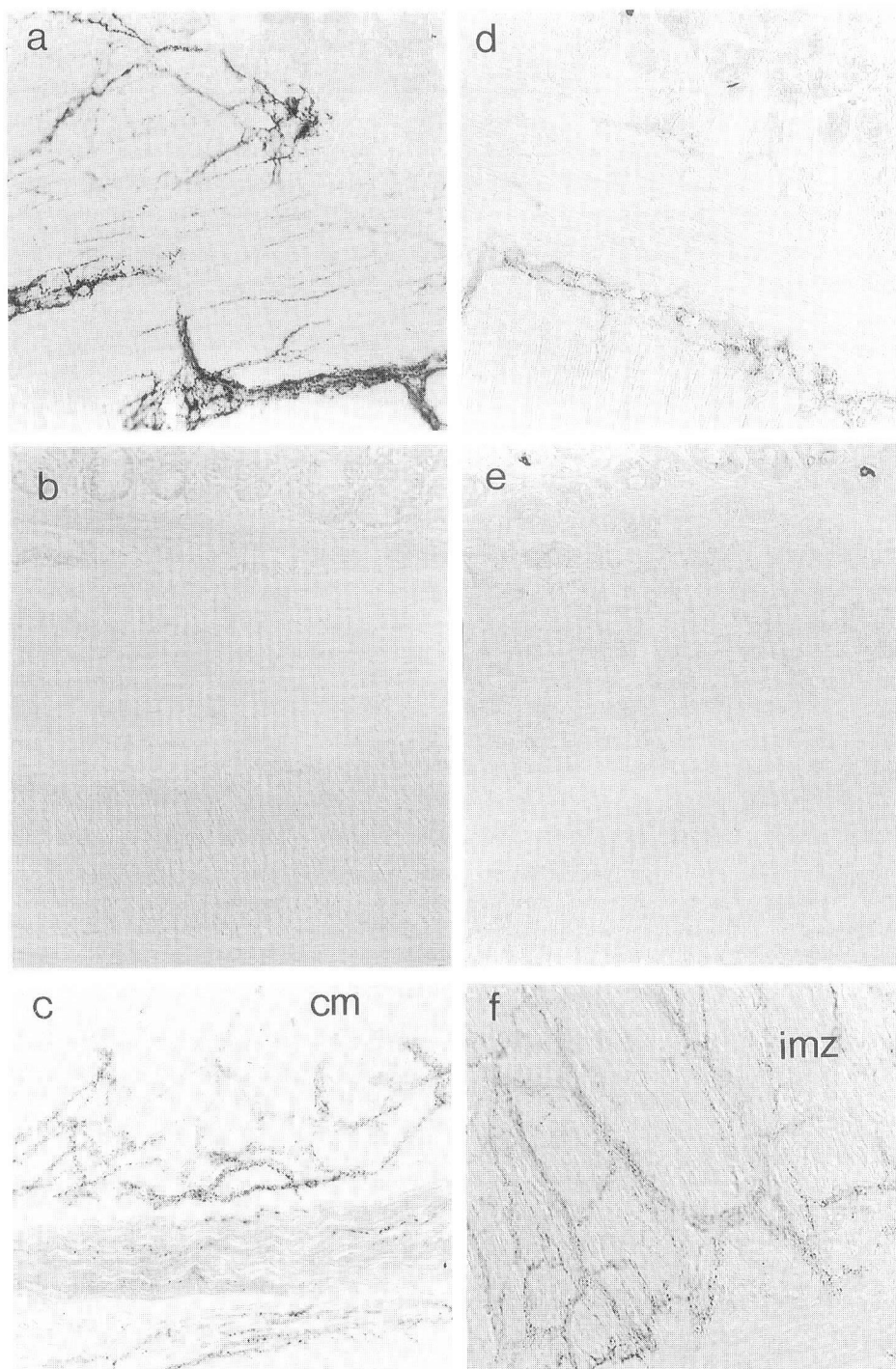


図2. a, b: AR 腸管における galanin 陽性神経の分布 a, 正常神経節部 (空腸) b, 無神経節部 (直腸) ($\times 200$)
 c: ヒト無神経節部 (結腸) における galanin 陽性神経の分布 ($\times 200$)
 d, e: AR 腸管における somatostatin 陽性神経の分布 d, 正常神経節部 (空腸) e, 無神経節部 (直腸) ($\times 200$)
 f: ヒト無神経節部 (結腸) における somatostatin 陽性神経は AR 無神経節部では全く見られない.

な分布を示していた。また SOM および GAL については陽性の神経細胞体が両神経叢に観察された。

(2) 無神経節部: AR の直腸, 遠位結腸において VIP, SP, SK, CGRP 含有神経線維は筋間部の神経線維束内に多数認められ, 両筋層内のほか粘膜固有層にも広がっていた。固有筋層における VIP, SP, SK 神経線維の分布はヒト H 病無神経筋部の筋層に比べて疎であったが, CGRP 神経は固有筋層に密な分布を示していた (図 1)。

met-ENK, leu-ENK 神経は筋層に分布が見られ, PHM (PHI) および NPY 神経は比較的小数で, わずかに単一の陽性線維として観察された。これらのペプチドは直腸部が最も密であり, 口側になるにつれ疎になりやがて消失した。SOM, GAL 含有神経は直腸部を含めた無神経節部に全く認められなかった (図 2)。

考察および結論

AR の無神経節部には骨盤神経叢由来と思われる外来性神経が直腸より流入し, 腸管の各層に分布していた。この外来性神経には副交感神経, 交感神経に加え, 多種のペプチド神経が含まれていた。

ヒト H 病無神経節部では VIP と PHM (PHI) 神経はほぼ同様の分布を示し, また NPY, SOM, GAL 神経は筋層および粘膜筋板で非常に密に分布している。一方, AR 無神経節部では外来性神経線維内の VIP と PHM

(PHI) の分布に差が見られ, NPY, SOM, GAL 神経は欠除もしくはごく少数しか見られなかった。これらの無神経節部における外来性ペプチド神経が有効な機能を持ちうるかどうかは議論の分かれるところである。しかし疾患モデルである AR 腸管とヒト H 病腸管との間にペプチド神経の分布差が見られたことは H 病病態および腸管神経系の研究のうえで注目に値すると思われた。

文 献

- 伴 邦充ら(1986): ラット先天性および実験的 aganglionosis 腸管における substance P と vasoactive intestinal polypeptide の局在。日小外誌 22: 40-46.
- Domoto, T. *et al.* (1987): Distribution of nerves containing vasoactive intestinal polypeptide-like immunoreactivity in rats with congenital aganglionosis of the colon. *Neuroscience Res.* 4: 309-315.
- 権田辰夫ら(1983): 無神経節部腸管とペプチド (substance P, enkephaline, VIP) 性神経について。日平滑筋誌 19: 351-353.
- Larsson, L.T. *et al.* (1988): Neuropeptide Y, calcitonin gene-related peptide, and galanin in Hirschsprung's disease: An Immunocytochemical Study. *J. Pediatr. Surg.* 23: 342-345.
- Nagahama, M. *et al.* (1985): A study of myenteric plexus of the congenital aganglionosis rat (spotting lethal). *Anat. Embryol.* 171: 285-296.

スunks摘出小腸のオピオイドに対する反応性 —— モルモット回腸との比較 ——

東京女子医科大学 薬理学教室

入 江 かをる, 古 川 恭 子, 村 木 簞
野 本 照 子

緒 言

スunks (Suncus Murinus) は食虫目に属する小型哺乳動物で, 新しい実験動物として開発中である. 著者らは既にスunks摘出腸管の各種薬物に対する反応性の特徴を明らかにし, methionine-enkephalin (met-ENK) に対しては, ラット, モルモット腸管と異なる反応性を示すことを報告した(村木他, 1987, Muraki, *et al.*, 1988). そこで今回はスunks小腸のオピオイドに対する反応性を, 特定の受容体に対して比較的选择性のあるアゴニストとして, morphine (μ), [D-Ala², D-Leu⁵]-enkephalin (DADLE) (δ), met-ENK (δ), および U 50,

488H (κ) を用いて検討し, モルモット回腸のそれと比較した.

方 法

スunksは実験動物中央研究所より供与された動物(雄性, 7~10 週齡, 体重 51.7 ± 2.6 g, $n=5$)を用い, 小腸は幽門部直後より肛門の上 1 cm までとした(28 ± 2.1 cm, $n=5$). モルモット(雄性, 体重 537 ± 38 g, $n=4$)は回腸を用いた. 長さ約 3 cm の腸管切片をマグヌス法により懸垂し Locke 液中にて, 1) 機械的応答を等張性に, 2) フィールド刺激による収縮を等尺性に記録した. 刺激条件は interval 2~3.3 sec, duration 0.5 msec, supramaximal voltage とした.

Suncus

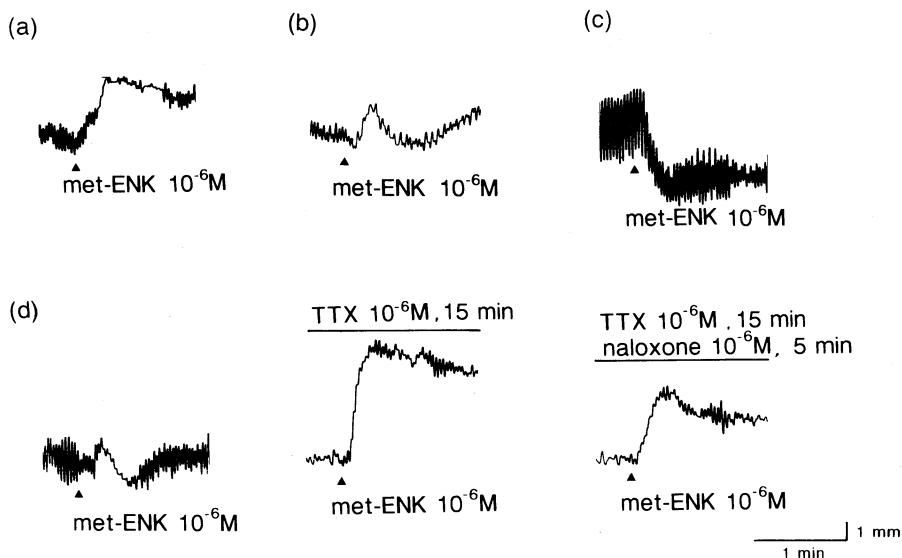


Fig. 1 スunks小腸のオピオイドに対する反応性. (a), (b), (c). met-ENK 10^{-6} M による反応の多様性. (d). 左より met-ENK 10^{-6} M による反応, TTX 10^{-6} M 存在下の met-ENK 10^{-6} M による反応, TTX 10^{-6} M におよび naloxone 10^{-6} M 存在下の met-ENK 10^{-6} M による反応, TTX は 15 分前, naloxone は 5 分前より作用させた.

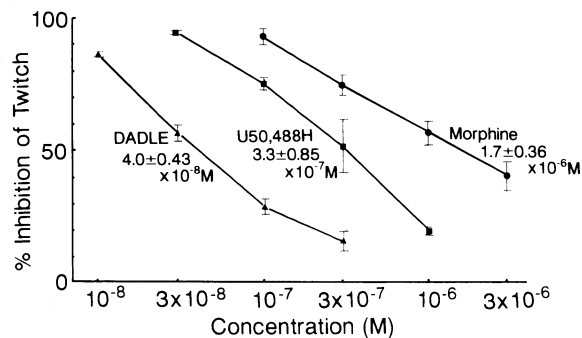
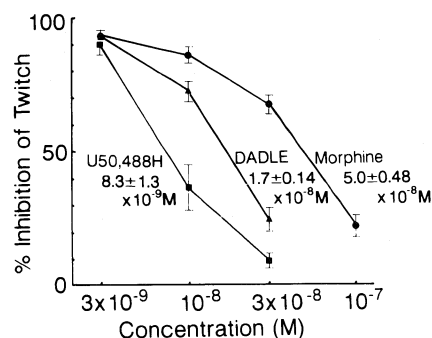
(a) Suncus(b) guinea pig

Fig. 2 スンクス小腸 (a) およびモルモット回腸 (b) のフィールド刺激による反応性に対する, Morphine, DADLE および U50, 488H の阻害効果. 図中の数値は各オピオイドの IC_{50} を示す.

結 果

1) 各種オピオイドによる機械的反応性

スンクス小腸は morphine $10^{-8} \sim 10^{-5}$ M により全例弛緩を示し, それは tetrodotoxin (TTX) あるいは naloxone 10^{-6} M で完全に拮抗された. met-ENK あるいは DADLE $10^{-8} \sim 10^{-5}$ M に対しては収縮と弛緩の混合した反応 (収縮, 弛緩, あるいは収縮後弛緩) を呈したが, TTX 10^{-6} M 前処置後は, ほぼ全例収縮に転じた (Fig. 1a, b, c, d). met-ENK, DADLE による弛緩は naloxone により阻止されたが, 筋直接作用による収縮は naloxone に抵抗性を示した (Fig. 1d).

モルモット回腸は各オピオイドに対しては弛緩のみを示し, それは TTX あるいは naloxone により完全に拮抗された. またモルモット回腸では, スンクスで認められた TTX 前処置後の

met-ENK あるいは DADLE による収縮は観察されなかった.

2) フィールド刺激による反応性に対する各種オピオイドの効果

スンクス小腸およびモルモット回腸のフィールド刺激による収縮は, hexamethonium 10^{-4} M ではほとんど影響を受けず, atropine 2.5×10^{-7} M または TTX 10^{-6} M により阻止された. この収縮は, morphine, DADLE, および U50, 488H のいずれによっても用量依存性に抑制された. 各用量-反応曲線と, それから得られた IC_{50} は Fig. 2 の通りであった.

考 察

スンクス小腸は morphine により弛緩を示し, met-ENK および DADLE では収縮と弛緩の混合した反応を呈した. これらの反応のうち弛緩は TTX あるいは naloxone により完全に

阻止された。またフィールド刺激による実験結果から、オピオイドによるスunks腸管の弛緩反応はAChの遊離抑制によると思われる。TTX前処置後、met-ENKおよびDADLEに対する反応性は収縮に転じ、それはnaloxoneに抵抗性を示した。enkephaline類に特有のこの筋性の収縮は、モルモットでは観察されず、スunks小腸に特異的であることが認められた。

フィールド刺激による収縮はmorphine, DADLE, およびU 50, 488Hのいずれによっても阻害された。スunks小腸においてもモルモット回腸同様 (Paterson, *et al.*, 1983), μ , δ , κ のオピオイド受容体が存在し、コリン作動性神経節後線維末端からのACh遊離抑制に関与していることが示された。またIC₅₀値から、スunks小腸では各受容体に対する各アゴニスト

の親和性はモルモット回腸に比べ低い、その効力はDADLE>U 50, 488H>morphineであった。

文 献

- 村木 篁, 藤井恵美子, 内田庸子, 古川恭子, 入江かをる, 野本照子(1987). スunks摘出腸管の各種薬物に対する反応性. 日本薬理学雑誌 **90**: 78 p.
- Muraki, T., Fujii, E., Uchida, Y., Furukawa, K., Irie, K. and Nomoto, T. (1988). Characterization of drug responses of the house musk shrew (*Suncus murinus*). *Comp. Biochem. Physiol.* (in press).
- Paterson, S.J., Robson, L.E. and Kosterlitz, H.W. (1983). Classification of opioid receptors. *Br. Med. Bull.* **39**: 31-36.

実験的糖尿病ラットにおける十二指腸平滑筋の非コリン作動性神経機能変化とそれに伴うCa²⁺動態の変化

星薬科大学薬学部 薬理学教室

鎌田 勝雄, 坂本 明美, 粕谷 豊

緒 言

糖尿病は現代病として注目を集めている疾患であり、多くの合併症を誘発することが知られている。合併症としては下痢、高血圧、脂質代謝異常等、多岐にわたり自律神経系の機能異常も著明である(Kamata, *et al.*, (1988 in press)). 一方、消化管平滑筋においてはnon-adrenergic non-cholinergic (NANC) 神経系の存在が確認されており、自律神経系の一つとして重要な役割を演じていると思われる(Kamata, *et al.*, in press). そこで今回、糖尿病時における自律神経系一特にNANC神経系一の変化を明らかにする目的で実験的糖尿病ラットを作製し、十二指腸の各種薬物に対する反応性変化を検索した。

実験方法

Wistar系雄性ラット(8週齢)にstreptozotocin (60 mg/kg)を尾静脈より注射し、8週後に撲殺瀉血して実験に用いた。対照群としては同週齢のラットを使用した。対照群の使用時の体重は500±24 g、血糖値は119±5 mg/dlであったが糖尿病群の使用時の体重は281±13 g、血糖値は557±24 mg/dlであった。常法に従い、ラット十二指腸筒状標本を作製し、95% O₂, 5% CO₂を通気した37℃のKrebs-Ringer液中に懸垂し、収縮反応は等尺性に記録した。

結 果

Nicotine (10⁻⁶-10⁻³ M)を投与すると一過性の弛緩反応に続いて収縮反応へ転ずる二相性の反応がみられた。Nicotineによる弛緩反応は有

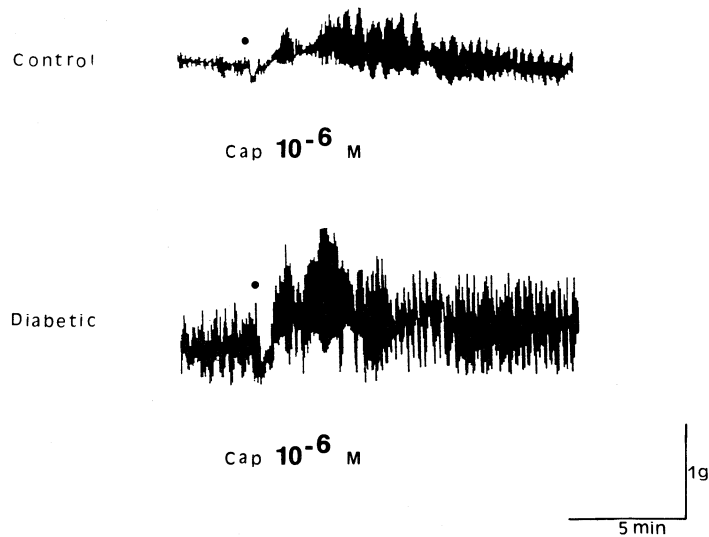


図1. 摘出十二指腸平滑筋に対する Capsaicin (Cap) (10^{-6} M) の効果. 上段は age-matched control, 下段は, diabetic rat から得られた標本である.

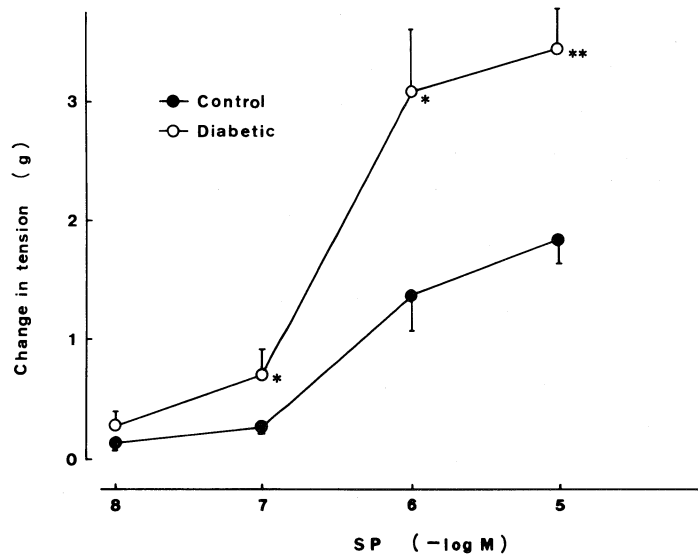


図2. 摘出十二指腸平滑筋に対する substance P (SP) の作用. 各用量の反応は8例の平均値と SE を示している.

意に減弱されていたが, 収縮反応は増強傾向が認められたものの統計的に有意な差はなかった. Capsaicin (Cap) (10^{-6} M) を十二指腸に適用すると図1にみられるように一過性の弛緩反応に続いて持続性の収縮が観察された. Cap による収縮反応は糖尿病群において有意に増強され, また弛緩反応も増強傾向が認められた. Sub-

stance P (SP) の適用により十二指腸は用量依存的に収縮したが, 糖尿病群において著明に増強されていた(図2). EC_{50} 値は対照群, 糖尿病群においてそれぞれ $6.63 \pm 1.93 \times 10^{-7}$ M, $4.69 \pm 2.03 \times 10^{-7}$ M であり, 両群に有意な差はなかった. Ca-free 溶液中における SP の収縮反応は両群ともに著明な減弱がみられた. 10^{-6}

M の Bay K 8644 を投与すると両群ともに収縮反応を示したが、対照群と比較して糖尿病群において有意な収縮力増強がみられた。Bay K 8644 (10^{-6} M) を前処置した後 SP を投与すると対照群では SP による収縮反応が増強されたが、糖尿病群では SP 自身の反応が増強されており、それ以上の増強はみられなかった。一方、acetylcholine, K^+ イオンによる収縮反応には両群において著明な変化は観察されなかった。

考 察

糖尿病ラットの十二指腸平滑筋は nicotine による弛緩反応は減少していることより、糖尿病時における抑制性 NANC 神経の機能低下が示唆された。十二指腸は交感神経性の弛緩反応が弱いことより抑制性 NANC 神経の機能は重要と考えられるが、糖尿病時にこの神経系の機能が低下していることから、十二指腸の機能に大きな変化が生じていると推測される。

糖尿病群において十二指腸は Cap および SP に対し反応性が増大していた。Cap は SP, Neurokinin A or B, calcitonin-gene related peptide 等を遊離させることが知られているが、本実験ではそのうち SP について検索した。

SP による収縮は外液の Ca^{2+} に依存しており、また Bay K 8644 自身による収縮が糖尿病群において増強されていること、さらに対照群の十二指腸では Bay K 8644 を前処置すると SP による収縮が増強されたことなどから SP の反応の一部は電位依存性 Ca-channels を介しており、したがって糖尿病時における SP の収縮増強の原因として電位依存性 Ca-channels の活性化が示唆された。

文 献

- Kamata, K., Sakamoto, A. and Kasuya, Y. (1988). Changes in sensitivity of the rat stomach fundus to various drugs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Japan. J. Pharmacol.* 47: 99-102.
- Kamata, K., Miyata, N. and Kasuya, Y. (1988). Mechanisms of increased responses of the aorta to α -adrenoceptor agonists in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Pharmacobiodyn.* (in press).
- Kamata, K., Sakamoto, A. and Kasuya, Y. (1988). Similarities between the relaxations induced by vasoactive intestinal peptide and by stimulation of the non-adrenergic non-cholinergic neurons in the rat stomach. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* (in press).

スunks 摘出腸管におけるプリン 作動性薬物による収縮作用

東京大学薬学部 薬品作用学教室

松 木 則 夫, 永 田 晃 一, 齋 藤 洋

スunks (ジャコウネズミ) は新しい実験動物としてわが国で開発中の動物であり、その有用性が種々の角度から検討されている。現在小型の実験動物として繁用されているマウス、ラット、モルモットは齧歯目であるのに対して、スunks は食虫目に属している。食虫目は系統発生学的に齧歯目よりも霊長目に近縁な動物群とされており、スunks を用いた実験により齧歯目では得られなかった情報が得られることが

期待される。スunks の薬理学的特性を解明する研究の一環として摘出器官に対する各種薬物の作用を検討するうち、スunks 腸管がプリン作動性薬物に対してユニークな反応を示すことを見いだした。

方 法

雄性スunks (体重 50~75 g) の腸管を摘出し、常法に従い修正 Krebs-Henseleit 液中で等

張性収縮を記録した。胃の下部1 cm から肛門上部1 cm までの腸管を用いた。スunks, モルモット, ラット腸管の組織切片を作成し, 横断面の組織学的検討も行った。

結 果

摘出したスunks腸管はアセチルコリンおよびセロトニンで収縮した。さらにアデノシンによっても用いた標本の約80%が用量依存的に収縮した。収縮は一過性であり, 収縮に先行してわずかに弛緩する例も観察された。アデノシン以外にもアデノシン-1リン酸(AMP), アデノシン-2リン酸(ADP)およびアデノシン-3リン酸(ATP)によっても用量依存的な収縮が生じ, これらの薬物に対するスunks腸管の感受性は, アデノシン=AMP \geq ADP>ATPの順であった。また最大収縮の大きさは, ATP>アセチルコリン>アデノシン \geq ADP>AMPの順であった。アデノシンの用量作用曲線はテオフィリンの前投与により右方にシフトしたが, ATPによる収縮は全く影響されなかった。 P_2 受容体の脱感作を起こすとされる α , β -methylene ATPは持続的な収縮を惹起し, 脱感作は全く観察されなかった。アセチルコリンによる収縮はテオフィリンではほとんど影響されず, ATPによる収縮はアトロピンでは影響されなかった。しかし, アデノシンによる収縮はアトロピンにより用量作用曲線が右方にシフトし, かつ最大反応も著しく抑制された。経壁刺激による収縮はテトロドトキシンまたはアトロピンにより完全に抑制されたが, テオフィリンには影響されなかった。アデノシンは収縮に必要な濃度より高濃度において, 経壁刺激による収縮を抑制した。組織学的な検討から, スunksの腸管はモルモットやラットに比べ, 縦走筋層が厚いことが明らかになった。

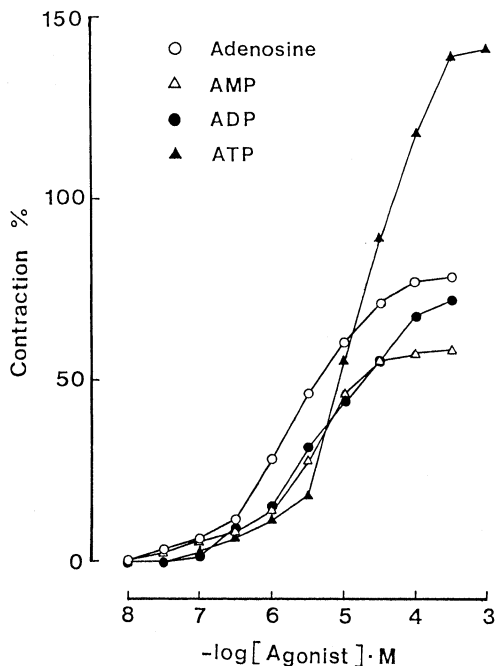


図1. 各種プリン誘導体によるスunks腸管収縮の用量作用曲線 (Acetylcholine による最大収縮を100%として表わした)

考 察

スunks腸管にはシナプス前膜上の抑制性の P_1 受容体のほかに, 興奮性の P_1 および P_2 受容体が存在することが示唆された。アデノシンの P_1 受容体を介する収縮がアトロピンに抑制された原因としては, 1) 電気刺激により遊離する部位とは異なる部位からのアセチルコリン遊離を介する, 2) スunks腸管における P_1 受容体はムスカリン受容体と類似性がある, などが考えられる。興奮性のプリン受容体が存在する生理的意義は不明であるが, スunks腸管はプリン作動性薬物の作用機構を解明するためのユニークなモデルになると思われる。

粘膜下神経叢刺激による摘出回腸の収縮 反応への SP ニューロンの関与

岡山大学医学部 第二生理

金 吉 光, 柁 屋 俊 昭, 中 山 沃

モルモットの腸管では P 物質 (SP) 含有神経の細胞体は筋間神経叢と粘膜下神経叢に限って存在している (Costa ら, 1980; Schultzberg ら, 1980) が, SP 神経細胞の軸索は壁内の各層に分布している (Costa ら, 1984; Keast ら, 1984). また, 筋間神経叢あるいは粘膜下神経叢内の個々の神経細胞に対する SP の作用に関する電気生理学的研究は数多く行われている. しかし, 両神経叢間の機能的連絡についての研究は少ない. 今回, 我々はモルモットの摘出回腸

の縦走筋の運動に対する選択的粘膜下神経叢刺激の効果を指標として, 両神経叢間の機能的連絡と SP ニューロンの関与の有無を検討した.

実験方法

尾側に粘膜下層と粘膜下神経叢からなる小片 (SM-SMP) あるいは縦走筋層と筋間神経叢からなる小片 (LM-MP) の付着した摘出回腸の縦走方向の等張性収縮をトランスデューサーで記録し, SM-SMP あるいは LM-MP を 30 秒間

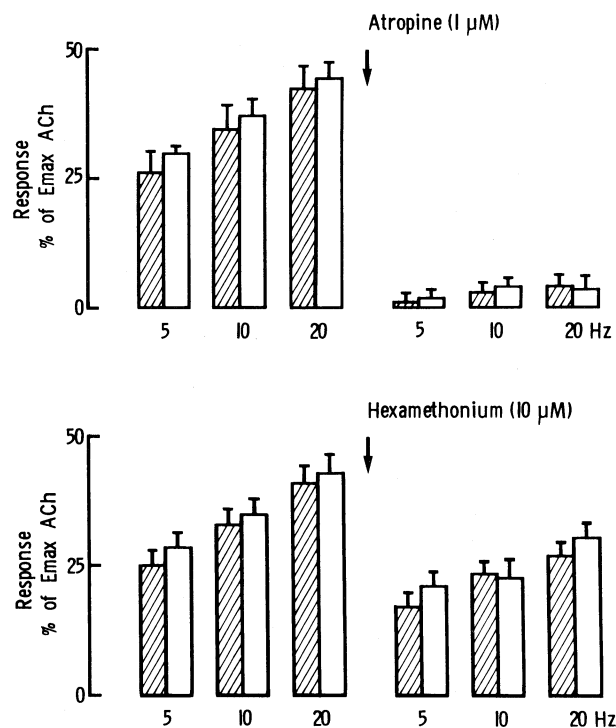


Figure 1. Effects of atropine and hexamethonium on contractile response induced by stimulation of submucous plexus (0.1 ms, supramaximal intensity). Hatched column: Chronically denervated segments, open column: innervated segments. The height of contractions is expressed as a percentage of maximal contraction evoked by 10^{-8} M acetylcholine (ACh). Vertical bars indicate S.E.M.

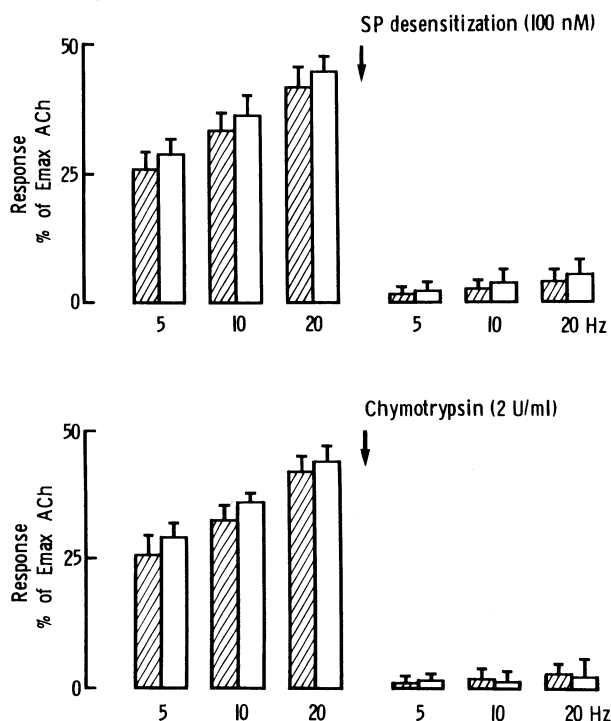


Figure 2. Effects of substance P desensitization and chymotrypsin on contractile response induced by stimulation of submucous plexus. Parameters of stimulation and calibrations are the same as in figure 1.

フィールド刺激 (5-20 Hz, 0.1 ms, 最大刺激強度) した。

結果と考察

SM-SMP 刺激によって, LM-MP 刺激と同様に, 収縮効果が生じた。この収縮効果は刺激頻数の増加に依存して増大した。SM-SMP あるいは LM-MP 刺激による収縮効果は tetrodotoxin (0.2 μ g/ml) の投与後, あるいは刺激電極と腸管との間で SM-SMP あるいは LM-MP を切断, 損壊した後には消失した。それ故, この収縮は SMP あるいは MP が選択的に刺激されておこったものであり, 電気刺激された部位の SM-SMP あるいは LM-MP から遊離されたトランスマターが拡散して, 運動を記録している腸管を収縮させたのではないことは明らかである。

SM-SMP 刺激による収縮反応は, atropine (1 μ M) で 5% 以下に減少した (Fig. 1)。アセ

チルコリンの遊離を抑制する morphine (1 μ M) も同程度にこの収縮反応を抑制し, この作用は naloxone (1 μ M) で完全に拮抗された。したがって, この収縮反応はムスカリン受容体を介するコリン性収縮であること, MP 中のコリン性ニューロンにおいて生起することが示唆される。しかし, hexamethonium (10 μ M) はこのコリン性収縮反応を約 30% しか抑制せず (Fig. 1), guanethidine (10 μ M) は全く影響を与えなかった。SP で脱感作 (SP-D) した後は, このコリン性収縮反応の約 95% が抑制された (Fig. 2)。Capsaicin (3 μ M) は可逆的にこの収縮反応を約 90% 抑制した。ペプチド分解酵素 chymotrypsin (2 U/ml) は SP-D とほぼ同程度の抑制作用を示した (Fig. 2)。これらの結果から, SM-SMP 刺激によるコリン性収縮を引き起こす経路には, 少なくとも SP ニューロンが関与し, SP は MP 内に遊離されると考えられる。次に, ここに関与している SP ニューロンが

外来性かどうかを調べるために、実験を行う 8-12 日前に腸管膜神経を切断し、外来神経を退行変性させた回腸で同じ標本を作って上述と同じ実験を行ったが、図 1 と 2 に示すように、上述の結果と同じ結果を得た。したがって、SM-SMP 刺激によるコリン性収縮に関与している SP ニューロンは壁内性 (SMP 由来) のものであることが示唆される。

LM-MP 刺激による収縮反応は、atropine, morphine, SP-D あるいは capsaicin で、いずれも部分的にしか抑制されなかった。運動を記録した腸管のフィールド刺激 (0.1 Hz, 0.1 ms, 最大刺激強度) によるコリン性の単収縮は SP-D, capsaicin あるいは chymotrypsin の影響をほとんど受けなかった。これらの結果は、SM-SMP 刺激に対する capsaicin, chymotrypsin の効果は選択的であったことを示している。

結 論

以上の結果から、モルモットの回腸には、粘膜下神経叢と筋間神経叢の間には機能的連絡が

あり、粘膜下神経叢中の内在性 SP ニューロンを興奮させて縦走筋を収縮させると推測される。

References

- Costa, M., A.C. Cuello, J.B. Furness and R. Franco (1980). Distribution of enteric neurons showing immunoreactivity for substance P in the guinea-pig ileum. *Neuroscience* 5, 323.
- Costa, M., J.B. Furness, I.J. Llerwerllyn-Smith and A.C. Cuello (1981). Projections of substance P-containing neurons with the guinea-pig small intestine. *Neuroscience* 6, 411.
- Keast, J.R., J.B. Furness and M. Costa (1984). Origins of peptide and norepinephrine nerves in the mucosa of the guinea-pig small intestine. *Gastroenterology* 86, 637.
- Schultzberg, M., T. Hokfelt, G. Nissson, L. Terenius, J.F. Rehfeld, R. Elde, M. Goldstein and S. Said (1980). Distribution of peptide- and catecholamine-containing neurons in the gastrointestinal tract of rat and guinea pig. *Neuroscience* 5, 689.

直腸壁内ニューロン活動の検討

東海大学医学部 生理 1

田 村 謙 二

オハイオ州立大学医学部

J.D. Wood

消化管の壁内神経叢は、内輪・外縦筋層間のアウエルバッハ神経叢と粘膜・内輪筋層間の粘膜下神経叢により構成される。両神経叢は共同して消化管の諸機能—消化・吸収・内容輸走—を局所的に制御しており、交感、副交感の両自律神経とは機能的に独立している (Wood, 1987)。遠位結腸から肛門管までの下部消化管の主な役割は内容物 (便塊) の輸送・排泄であり、これに壁内の腸管神経叢が重要な役割を持つことは、Hirschsprung's 病での排便障害でも明らかである。なかでも、直腸の腸管神経叢は排便

反射の要素のひとつである直腸肘門反射の反射回路を形成しており (猪原と高比良, 1984)、最も多くの神経細胞を有しかつ他の消化管より強い交感・副交感神経の影響下にあることから、小腸の腸管神経節細胞とは異なる特性を有することが考えられた。本研究では、モルモットを用い、直腸アウエルバッハ神経節細胞の単一神経活動の記録を試み、これまで得られた小腸での腸管神経細胞の特性と比較した。

直腸は腹膜翻転部の上下約 2 cm にわたって切除し、粘膜および内輪筋層を剝離して、アウ

エルバツハ神経叢を外縦筋層上に露出した。微小ガラス電極 (3 M KCl, 60~100 MΩ) を用い、倒立顕微鏡下に単一神経細胞を刺入し、神経節間線維を細胞外電極 (白金製, 径 20 μm) で刺激した。また高圧窒素ガスにより駆動される微小注入機を用いてアセチルコリン (ACh), セロトニン (5HT), サブスタンス P などの物質を細胞外に投与しその応答を観察した。

直腸アウエルバツハ神経細胞には、主に2つのタイプがみられた。記録された59個の神経細胞のうち、34個 (57.6%) は活動電位に長持続性 (1-10 sec) の後過分極 (After-hyperpolarization) の続く AH/type 2 ニューロンであり、18個 (30.5%) は、活動電位を持たない type 3 ニューロンであった。ラット (Furukawa, 1986), ヒト (Brookes, 1987), モルモット (Wade, 1988) の大腸で多く報告された S/type 1 ニューロンは2個しか観察されず、部位によるニューロンタイプの差と思われた。直腸 AH/type 2 ニューロンの膜抵抗、静止膜電位など基本的性質は小腸 AH ニューロンとほぼ同じであり、その活動電位は脱分極性電位の細胞内注入や神経突起の逆行性刺激により容易に誘発された。AH ニューロンのスパイクは Ca 成分を含み後過分極は膜抵抗の減少を伴った。直腸 AH/type 2 ニューロンにも小腸 AH ニューロンにみられるのと同様の fast-EPSP (n=6), slow-EPSP (n=5) が観察された。サブスタンス P は slow-EPSP と似た膜の脱分極と興奮性の増加を誘発し、ACh と 5HT は fast と slow の2相性の応答を示した。一方、もうひとつの Type 3 ニューロンは AH/type 2 ニューロンと異なり膜電位は深く、膜抵抗は低く、その興奮性が低いのが特徴であった。type 3 ニューロンでは脱分極性電流の注入で活動電位を誘発することはできず、逆行性スパイクも見

られなかったが、多くの場合神経節周囲の節間線維から複数のシナプス入力 (fast-EPSP) がみられた。type 3 ニューロンは ACh の細胞外投与に対し、fast-EPSP と似た速い脱分極性の応答を示し、この応答は fast-EPSP とともにヘキサメソニウム (C6) で抑制され、ニコチン受容体を介していると思われた。また type 3 ニューロンには明らかな slow-EPSP は認められず、多くの場合 fast-EPSP には頻回の刺激によってその振幅の減少する、いわゆる “run down” 現象がみられ、小腸アウエルバツハ神経叢のシナプスと同様に ACh によるシナプス前抑制機構の存在が示唆された。

直腸壁内アウエルバツハ神経叢では S/type 1 ニューロンが少なく、小腸アウエルバツハ神経叢にはあまり見られない低興奮性かつ多シナプス入力を持つ type 3 ニューロンが多くみられた。その排便機能における役割についてはさらなる検討を要するものと思われた。

文 献

- Brooks, S.J.H., Ewart, W.R. and Wingate, D.L. (1987). Intracellular recording from myenteric neurones in the human colon. *J. Physiol.* **390**: 305-318.
- Furukawa, K., Taylor, G.S. and Bywater, R.A.R. (1986). An intracellular study of myenteric neurones in the mouse colon. *J. Neurophysiol.* **55**: 1395-1406.
- 猪原則行, 高比良英輔 (1984). 内括約筋活動から見た肘門内圧の制御機構. *日本平滑筋誌* **20**: 123-135.
- Wade, P.R. and Wood, J.D. (1988). Electrical behavior of myenteric neurons in guinea pig distal colon. *Am. J. Physiol.* **254**: G522-G530.
- Wood, J.D. (1987). Physiology of enteric nervous system. In: *Physiology of Gastrointestinal Tract*, ed: Johnson, L.R., pp. 67-110. New York, Raven Press.

モルモット小腸縦走筋、輪走筋の運動の筋間 神経細胞の細胞内電位に対する腸 間膜神経刺激の効果

岡山大学医学部 第二生理

高 木 都, 中 山 沃

モルモット小腸の運動に対する腸間膜神経刺激の効果については, Szolcsanyi and Bartho (1978) により, 感覚神経終末からの P 物質 (SP) 遊離を介するコリン性収縮反応が報告されており, Takaki ら (1987) も, 縦走筋の収縮反応については, 基本的には同じ報告を得ている. また, 組織学的にも Costa ら (1987) により腸間膜神経中には, SP や calcitonin gene-related peptide (CGRP) を含む知覚神経線維が含まれており, これらの線維が, 縦走筋, 輪走筋, 壁内神経叢に分布していることが報告されている. 今回, モルモット回腸の縦走筋, 輪走筋の運動とこれらを制御する筋間神経叢細胞の電気活動に対する腸間膜神経 (MN) 刺激の効果を検討し, この効果に SP, CGRP, Acetylcholine (Ach) の関与を示唆する結果を得たので報告する.

方 法

縦走筋, 輪走筋の運動は, Takaki ら (1987) の方法に従い, bidirectional MN loop を使用して記録した. 筋間神経叢細胞の膜電位は, Takaki ら (1988) の方法に従い bidirectional MN 付き縦走筋-筋間神経叢標本を使用し, 記録した. MN 刺激は, 主として 20 Hz, 0.5 msec, supra-maximal current で 10-30 秒間行った.

結 果

(1) 縦走筋および輪走筋の腸間膜神経 (MN) 刺激による収縮反応

guanethidine $2 \mu\text{M}$ 処理下で MN 刺激は, 縦走筋の収縮とそれに続く長い持続性の弛緩反応を起こした. この収縮反応の振幅は, hexamethonium (C_6 , $20 \mu\text{M}$) によりコントロールの

$57.6 \pm 3.0\%$ ($n=41$) に減弱し, 知覚神経線維に選択的に効く capsaicin ($1 \mu\text{M}$) により, $39.4 \pm 11.3\%$ ($n=7$) に減弱し, SP-脱感作により $33.2 \pm 15.0\%$ ($n=6$) に減弱した (Fig. 1A). 一方, 輪走筋では収縮のみを起こし, capsaicin ($1-3 \mu\text{M}$) により, 振幅は, コントロールの $54.3 \pm 16.0\%$ ($n=16$) に減弱し, ついで C_6 ($20-50 \mu\text{M}$) を加えると $11.9 \pm 7.7\%$ ($n=7$) に減弱した. また, SP 脱感作により, $39.1 \pm 18.4\%$ ($n=8$) に減弱した (Fig. 1B). したがって, 縦走筋と輪走筋の MN 刺激による収縮反応の性質は

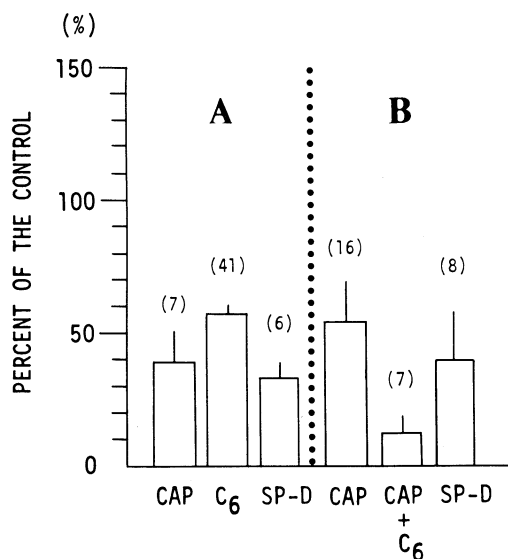


Fig. 1 Effects of capsaicin (CAP: $1-3 \mu\text{M}$), hexamethonium (C_6 : $20-50 \mu\text{M}$) and substance P-desensitization (SP-D: $0.2 \mu\text{M} \times 1-2$) on the contraction response to mesenteric nerve stimulation in the guinea pig ileum.

A: longitudinal muscle. B: circular muscle. Numbers in parenthese denote number of preparations.

Table 1. Effect of CGRP-D on the relaxation response to mesenteric nerve stimulation.

Control		Drug pretreatment	CGRP-D	
Amplitude(%)	Duration (sec)		Amplitude(%)	Duration (sec)
100% (n=17)	75.5±4.1 (n=17)	Guanethidine 2 μ M	20.6±9.1* (n=5)	33.4±17.2* (n=5)
		Guanethidine 2 μ M +		
		Atropine 2 μ M	24.6±5.8 (n=6)	34.1±2.4 (n=6)
		Guanethidine 2 μ M +		
		Atropine 2 μ M	13.5±8.3* (n=6)	30.3±13.6* (n=6)
		Histamine 0.3 μ M		

*All values are significantly different from the control values ($P < 0.05$ or less).

基本的には同じであった。

(2) 縦走筋の MN 刺激による弛緩反応

guanethidine (2 μ M) 処理下で見られる MN 刺激による長い持続 (75.5±4.1 sec; n=17) の非アドレナリン性弛緩反応は, CGRP 脱感作 (25 nM×2 for 10 min) によりコリン性収縮に影響を与えず, 弛緩反応のみ, その振幅, 持続時間をともに減少させた (Table 1). また, capsaicin (1 μ M) によりこの非アドレナリン性弛緩反応は消失した. また, atropin 処理後の純弛緩反応, ついで, histamine (0.3 μ M) 処理後, 筋緊張を上昇させた後の弛緩反応についても CGRP 脱感作は同様の結果を示した (Table 1). 一方, 輪走筋では MN 刺激で収縮反応しか得られないが, その反応は, CGRP 0.1-10 nM により, 自発運動にはさほど影響を与えられないで, 消失した.

(3) MN 刺激による筋間神経叢細胞の反応
capsaicin (0.1 mM) を細胞表面に局所的に作用させると, SP に類似した入力抵抗の増加 (222.7±40.5%; n=6) を伴う slow depolarization (振幅: 21.4±2.5 mV; 持続: 6.9±2.6 min; n=7) を起こした. Hirst and McKirdy (1974) の結果と異なり, MN 刺激によっても同様の slow EPSP (振幅: 24.5±5.5 mV; 持続: 37.4±58.9 sec; n=7) が, 腸管の腸間膜側に分布する神経節の 1/3 の神経細胞から得られた.

結 論

以上の結果を総括すると次のようである. す

なわち, 腸間膜神経刺激による, (1) SP, Ach の遊離を介する縦走筋, 輪走筋の収縮反応と, (2) CGRP の遊離を介する縦走筋の弛緩反応, 輪走筋での収縮の抑制作用の可能性と, (3) 筋間神経叢細胞に対する主として SP の遊離を示唆する slow EPSP が得られた.

文 献

- Costa, M., Furness, J.B. and Llewellyn-Smith, I.J. (1987). Histochemistry of the enteric nervous system. In: Physiology of the gastrointestinal tract. 2nd edn. ed. by Johnson, L.R., Raven Press, New York, Pl-40.
- Hirst, G.D.S. and McKirdy, H.C. (1974). Presynaptic inhibition at mammalian peripheral synapse? *Nature (Lond.)* **250**: 430-431.
- Szolcsanyi, J. and Bartho, L. (1978). New type of nerve-mediated cholinergic contraction of the guinea-pig small intestine and its selective blockade by capsaicin. *Nauny-Schmied. Arch. Pharmacol.* **305**: 83-90.
- Takaki, M., Jin, J.-G. and Nakayama, S. (1987). Involvement of hexamethonium-sensitive components in cholinergic contractions induced by mesenteric nerve stimulation in guinea-pig ileum. *Biomed. Res.* **8**: 195-203.
- Takaki, M. and Nakayama, S. (1988). Effects of mesenteric nerve stimulation on the electrical activity of myenteric neurons in the guinea pig ileum. *Brain Res.* **442**: 351-353.

イヌの中隔領域刺激による胃運動と 膵液分泌反応

川崎医科大学 第二生理学教室

岡田 博 匡, 古川 直 裕

中隔野の電氣的刺激により主として副交感性の反応が誘発され、血圧降下、徐脈、膀胱収縮、縮瞳などの発現が報告されている (Kabat ら, 1936; Kurotsu ら, 1958; Malmö, 1961; Covian ら, 1964; Calaresu ら, 1977)。また、ウサギでは胃運動の促進反応が報告された (Kurotsu ら, 1958)。しかし、イヌでの研究は見当たらない。今回、イヌの胃運動と膵液分泌に対する中隔領域刺激の効果について研究したので報告する。

実験方法

Ketamine (10 mg/kg)・chloralose (60 mg/kg) 麻酔イヌを用い、左側脳半球摘出により右側中隔野、終板傍回を露出し、直視下に刺激した。刺激電極として二連のガラス電極を用い、その一方に 50 μ m の白金線を封入し電気刺激 (0.2 mA, 3 msec, 2-50 Hz, 一般に 20 Hz) 用とした。他方のガラス管には 0.1 M の dl-ホモステイン酸を満し、その 0.5-2.0 μ l を圧注し、化学的に神経細胞体のみを刺激した。なお、脳弓は背側部であらかじめ切断した。胃運動は胃体部と前庭部の輪状方向の運動をストレンゲージ法で描記した。膵液分泌量は主膵管よりの流出量を光電式滴数計で測定した (1 滴が 10 μ l)。胃幽門括約部は粘膜下に結紮閉鎖した。

実験結果

主として外側中隔核、分界条床核、終板傍回、一部で内側中隔核、背側中隔核の電氣的、および化学的刺激により胃運動と膵液分泌の促進反応が発現した。図 1A に外側中隔核、B に分界条床核の電氣的刺激による促進効果の各一例を示す。胃運動には振幅、緊張、リズムの増加が認められた。34 頭での 76 点の刺激で胃前庭部運

動のリズムは増加し、1 分間に 2.7 ± 0.75 回から 3.7 ± 0.67 回 ($M \pm S.D.$) に増加した。分界条床核の刺激では一部の例で促進反応に先行して一過性の抑制反応が発現した。胃体部と胃前庭部とは一般に同一方向の反応を示したが、一部で胃前庭部の促進と胃体部の緊張低下を示した例もあった。

膵液分泌は電氣的刺激により対照値の $57 \pm 8.3 \mu$ l/5 分 ($M \pm S.E.$, $n=24$) から $231 \pm 34.5 \mu$ l/5 分に増加した。最大反応を示したものは 700 μ l/5 分にまで達した。また、化学的刺激により $71 \pm 31.5 \mu$ l/5 分から $153 \pm 47.4 \mu$ l/5 分に増加した。一部の刺激点では軽度の抑制反応が出現した。図 2 に膵液分泌の促進および抑制点の分布を示す。膵液分泌促進点の刺激では一般に胃前庭部運動の促進効果が同時に引き起こされた。また、逆に膵液分泌の抑制が引き起こされた点の刺激では胃運動も抑制された。

上述の胃運動と膵液分泌の促進反応に対する視床下部切断の効果を 7 頭で検索した。これらの促進反応は視床下部中間部レベルで内側部 (深さ 2 mm) の切断により減弱し、さらに外側視床下部 (深さ 4 mm) の切断により消失した。また、視床下部の背側または腹側半部のみの単独切断では消失せず、両者の切断で消失した。なお、これら促進反応は両側頸部迷走神経の切断後、あるいは atropine (50-100 μ g/kg) の投与後には消失した (図 1B)。

考 察

以上の結果より、中隔領域および終板傍回の電氣的あるいは化学的刺激が膵液分泌に対して主として促進的な効果を及ぼすことが初めて明らかにされた。また、胃運動に対してもウサギと同様にイヌでもこれらの領域が主として促進

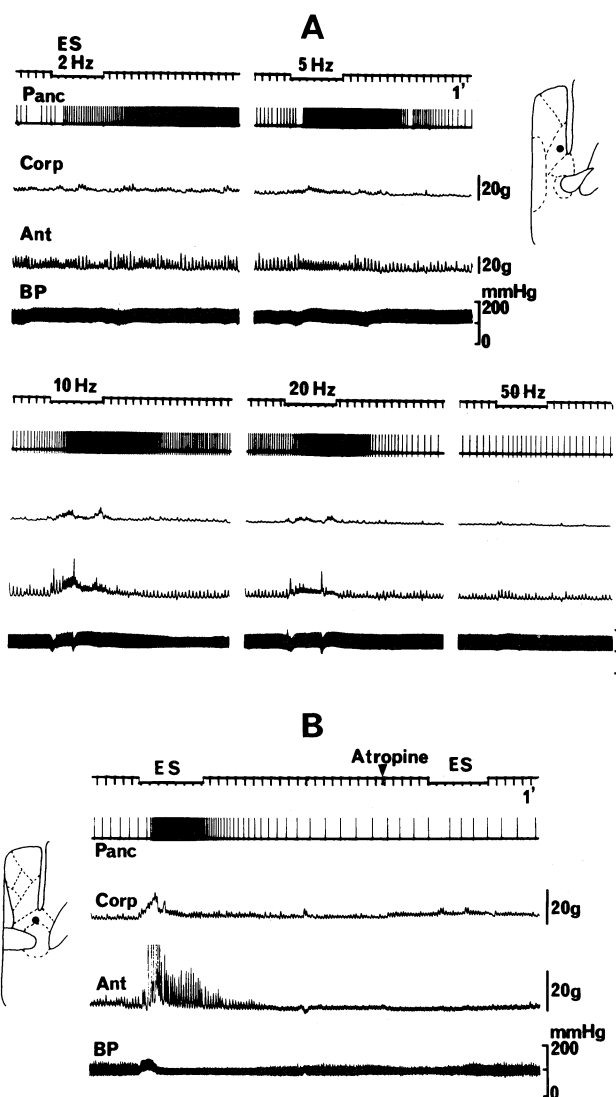


図 1. 中隔核の電気刺激による胃運動と膵液分泌反応

A: 外側中隔核刺激による反応。曲線は上より時標 (1 分), 膵液滴数 (1 滴 10 μ l) 胃体部, 胃前庭部の運動, 大腿動脈圧。ES: 電気刺激の時点 (強度 0.2 mA, 持続 3 m sec), B でも同様, 2-20 Hz の刺激で分泌増加。50 Hz では極めて軽度の反応。右の組織図中に黒丸で刺激点を示す。

B: 分界条床核の刺激による反応, 刺激頻度は 20 Hz。左の電気刺激 (ES) で膵液分泌量は 50 ml/5 分から 700 ml/5 分に増加した。胃体部の緊張上昇, 前庭部運動の亢進に注意。atropine 50 μ g/kg 投与後, 促反応は消失した。

的な作用を有することが確認された。慢性の無麻酔ネコでは中隔野の刺激により胃運動の変化が認められないという報告があるが, さらに検討を要する課題であろう。なお, 膵液分泌, 胃運動の両促進反応とも迷走神経中のコリン性線

維を介するものであることが明らかにされた。

結 論

イヌの中隔領域および終板傍回の刺激により, 視床下部, 迷走神経を介して膵液分泌・胃

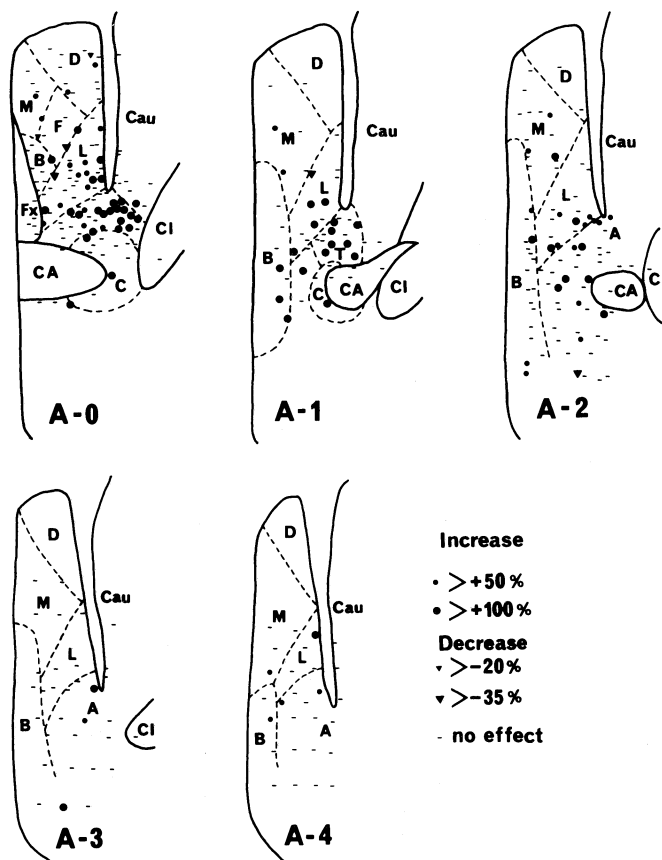


図2. 中隔核と終板傍回の刺激点を示す図。

A-0 は前交連の中心線での横断面図。

A-1, 2, 3, 4 は A-0 より 1 mm 間隔毎の吻側レベルでの横断面図。●印：汗液分泌の促進点，▼印：汗液分泌の抑制点，—印：無効果の点を示す。A: Nuc. accumbens, B: Diagonal band of Broca, C: Nuc. Commissura anterior, CA: Commissura anterior, Cau: Cuc. caudatus, CI: Capsula interna, D: Nuc. septalis dorsalis, F: Nuc. septalis fimbrialis, Fx: Fornix, L: Nuc. septalis lateralis, M: Nuc. septalis medialis, T: Bed nuc. of the stria terminalis.

運動が主として促進されると結論される。

文 献

- Calaresu, F.R., Ciriello, J. and Mogenson, G.J. (1976). Identification of pathways mediating cardiovascular responses elicited by stimulation of the septum in the rat. *J. Physiol.* **260**: 515-530.
- Covian, M.R., Rodrigues, J.A. and O'Flaherty, J.J. (1964). Effects of stimulation of the septal area upon the blood pressure and respiration in the cat. *J. Neurophysiol.* **27**: 394-407.
- Kabat, H., Magoun, H.W. and Ranson, S.W. (1936). Reaction of the bladder to stimulation of points in the forebrain and mid-brain. *J. Comp. Neurol.* **63**: 211-239.
- Kurotsu, T., Sakai, A., Megawa, A. and Ban, T. (1958). The changes in blood pressure and gastric motility induced by electrical stimulation in the preoptic and septal areas. *Med. J. Osaka Univ.* **9**: 201-226.
- Malmö, R.B. (1961). Slowing of the heart rate after septal self-stimulation in rats. *Science* **133**: 1128-1130.

イヌの運動領刺激によって引き起こされる排尿の中断反応

川崎医科大学 生理学教室 (2)

古 我 知 成, 福 田 博 之

緒 言

ヒトの随意的排尿中断では、まず外尿道括約筋が収縮し、続いて膀胱が弛緩するといわれている (Hinman, *et al.*, 1954). このときの膀胱弛緩は大腦皮質の何処かからの出力によって排尿反射弓の何処かが抑制され、起こされるものと考えられるが、いまだ解決されていない問題である。この問題を検討するために、排尿中断時に確かに働いている外尿道括約筋支配錐体細胞が、排尿反射の抑制に関係しているかどうかを検討した。まず大腦皮質の外尿道括約筋支配領域を感覚性誘発電位の記録と皮質刺激により同定した。

実験方法

実験には nembutal (30 mg/kg) あるいは chloralose (60 mg/kg) で麻酔し、gallamine (2

mg/kg) で非動化したイヌを用いた。骨盤神経膀胱枝の求心性刺激で排尿反射を誘発し、反対側の膀胱枝と陰部神経尿道枝の遠心性活動を記録した。左大腦半球摘出後、骨盤および陰部神経刺激による感覚性誘発電位を右大腦半球十字後回からカッシュ被覆白金線電極 (外径 0.8 mm) で記録した。誘発電位が記録された部位の付近を微小ガラススピペットに封入した直径 50 μ m の白金線電極を表面より 1.5-2 mm 刺入して刺激した。

実験結果および考察

a. 大腦皮質誘発電位 骨盤および陰部神経刺激による一次感覚性誘発電位 (P1) は、大腦縦裂内面の十字後回 (s1, m1), 背側表面の十字後回吻側部、すなわち中心前回の縦裂に近い部位 (m2) および中心後回の縦裂に近い部位 (s2) より記録された (図 1)。これらの P1 の潜時は

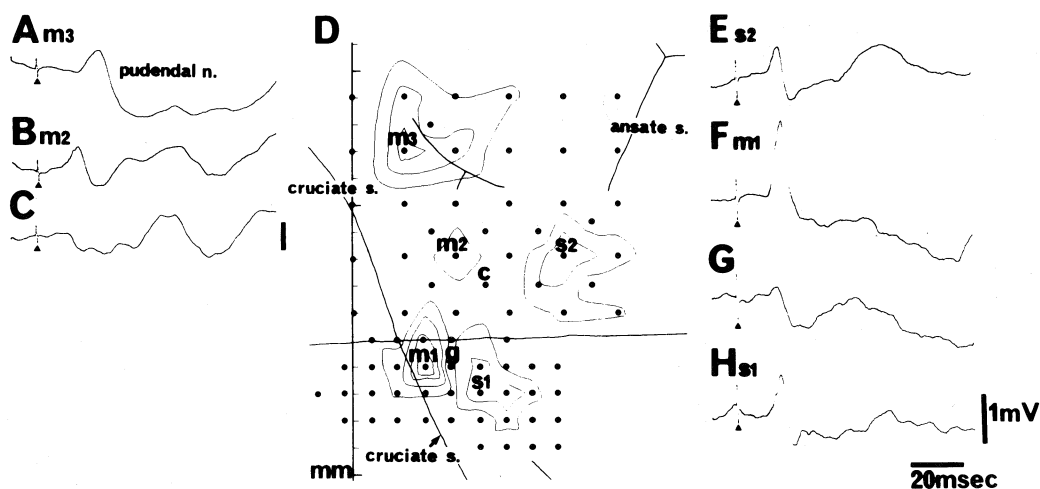


図 1. 陰部神経の求心性刺激 (0. Hz, 0.5 m sec, 12.5 V, ▲印のところ) による感覚性誘導電位線図 (D). 黒丸で示した各点より記録した。A-H はそれぞれ D に示した m3, m2, c, m1, g, s1 のポイントで記録された誘発電位を 30 回加算したもの。等電位線図は一番大きな P1 (F, m1) を 100% として、20% ごとの等電位線を書いたもので、5 つの部位に峰が認められる。

10-13 msec で、20 mg/kg 以上の nembutal 静注に影響されなかった。P1 は m2 よりも 4 mm 側方でも記録されたが (m3)，潜時は 2-5 msec 長かった。

b. 皮質刺激効果 上記 m1-3 を群パルス刺激 (400 Hz, 1 msec, 20 pulse, 200-500 μ A) すると陰部神経尿道枝に群発射 (潜時 18-23 msec) が誘発されたが、s1-2 の刺激では起こらなかった。m1-3 の刺激による尿道枝の群発射は刺激側延髄錐体を切断すると消失した。m1 部を真空ポンプで吸引除去した後も、m2 刺激により尿道枝群発射は誘発された。これらより、m1-3 はともに外尿道括約筋運動領であり、s1-2 は仙髄部感覚領であると考えられる。一方、m2-3 の刺激では薄筋支配神経にも群発射が誘発されたが、m1 の刺激では逆に同神経活動は抑制された。したがって、これら外尿道括約筋運動領の機能は異なっているものと考えられる。

c. 排尿反射の抑制 m1-3 を連続刺激 (100 Hz, 1 msec, 200-500 μ A) すると尿道枝に活動が誘発され、同時に骨盤神経膀胱枝の排尿反射活動が中断された (図 2A)。続いて刺激側の延髄錐体を切断し、群パルス刺激による尿道枝群発射が消失した後 (D)，再び排尿反射活動に対する効果を検討した。同活動は錐体路切断前と同様に中断され、尿道枝の活動も発現した (B)。しかし、その尿道枝活動は錐体路切断前に比べ減弱していた。この尿道枝活動は、橋排尿反射中枢により抑制されていた外尿道括約筋運動ニューロンが、皮質刺激により排尿反射中枢が抑制されたために、脱抑制された結果生じたものと考えられる。膀胱枝を低頻度で刺激すると反対側の同枝に 2-3 Hz の周期で増減する反射活動が誘発される。この周期が橋排尿反射中枢で形成されることは知られている (岡田と山根, 1974)。m1, m2 の群パルス刺激より、この周期は同刺激に同期された。この結果は、仙髄部運

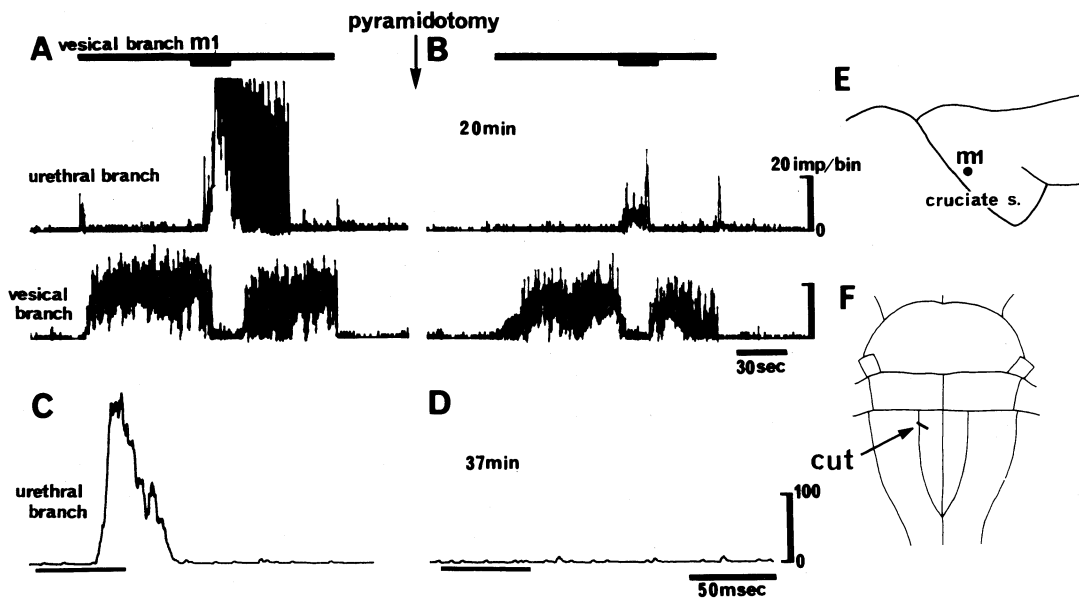


図 2. 大脳縦裂内面の十字後回 (E, m1) の刺激による排尿反射の抑制。A: 記録は上より左陰部神経尿道枝と左骨盤神経膀胱枝の遠心性活動の頻度曲線。膀胱枝の求心性刺激 (5 Hz, 0.5 msec, 15 V) により引き起こされた排尿反射は、m1 の連続刺激 (100 Hz, 1 msec, 500 μ A) で誘発された尿道枝の活動に同期して抑制されている。C: m1 の群パルス (400 Hz, msec, 20 pulse, 500 μ A) 刺激で誘発された尿道枝の活動 (30 回加算)。B, D: 延髄錐体を F に示した部位で切断した後は m1 の群パルス刺激で尿道枝に誘発されていた活動は消失した (D)。しかし、排尿反射は m1 の連続刺激で切断前と同様に抑制され、それに同期して尿道枝に活動が誘発された (B)。図中の時間は錐体路を切断してから時間を表す。

動領の錐体細胞によって橋排尿反射中枢が抑制されることを示唆している。

結 論

膀胱，尿道からの求心性活動は視床を介して大脳皮質の複数の仙髄部感覚領と外尿道括約筋運動領に投射している。外尿道括約筋運動領錐体細胞の軸索は延髄錐体を下降して同括約筋運動ニューロンに促進的に統合するとともに，脳幹における側枝を介して橋排尿反射中枢を抑制

しているものと考えられる。

文 献

- Hinman, F. Jr., *et al.* (1954). Vesical physiology demonstrated by cineradiography and serial roentgenography. *J. Radiol.* **62**: 713-719.
 岡田博匡, 山根正信(1974). イヌの膀胱運動のリズムをもった橋・中脳の単位放電. *自律神経* **11**: 46-57.

ネコ吻側橋網様核の膀胱平滑筋抑制作用

秋田大学医学部 泌尿器科

菅 谷 公 男, 西 沢 理, 鈴 木 隆 志
 小 浜 丈 夫, 能 登 宏 光, 原 田 忠
 土 田 正 義

緒 言

膀胱平滑筋の緊張に關与する脳幹神経機構について私たちは，1) ネコの橋排尿中枢(青斑核アルファ)への電気刺激や carbachol 注入で膀胱収縮と外尿道括約筋弛緩が起ること (Sugaya ら, 1987a)，2) 橋蓄尿中枢(橋外側被蓋野)の電気刺激で膀胱収縮の抑制と外尿道括約筋収縮が起ること (Nishizawa ら, 1987) と，3) 吻側橋網様核への carbachol 注入が膀胱と外尿道括約筋の両方を抑制すること (Sugaya ら, 1987b) を報告している。今回は，吻側橋網様核内の膀胱収縮抑制部位の正確な局在と，吻側橋網様核と橋排尿中枢，橋蓄尿中枢との機能的關係を調べ，膀胱平滑筋活動に吻側橋網様核がどの程度關与しているのか検討した。

実験方法

実験には halothane の吸入麻酔下に上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶ面で除脳したネコを用い，記録は除脳後三時間を経た脱麻酔状態で開

始した。膀胱内には，膀胱頂部から2本のカテーテルを挿入して水注入路と膀胱内圧測定路とした。外尿道括約筋には2本のワイヤー電極を刺入して筋電図を導出した。そして，ネコを脳定位固定装置に固定して四足立位とし，膀胱内への注水で反射性排尿を誘発してコントロールとした。次に，一管が薬剤注入用ガラス管でもう一管が電気刺激用 wood 合金封入ガラス電極から成る二重管(先端 20-50 μm)を用いて橋の数カ所に carbachol を注入した。carbachol は 0.1 M 磷酸緩衝液に溶解した 0.1 M 濃度溶液 0.1 μl を約 20 秒かけて圧注し，その後の反射性排尿の変化を観察した。また，下部尿路機能が抑制された時点で，橋排尿中枢または橋蓄尿中枢に連続電気刺激 (0.2 ms, 50 Hz, 20-100 μA) を加えて膀胱内圧と外尿道括約筋活動の変化を記録した。さらに，carbachol 注入の 30 分後に atropine を吻側橋網様核へ局注 (4 $\mu\text{g}/0.25 \mu\text{l}$) または静注 (2-4 mg) して反射性排尿の変化を観察した。薬剤注入部位や電気刺激部位には刺激電極から直流通電して微小破壊巣を作り，組織学的に部位を確認した。

実験結果

吻側橋網様核への carbachol 注入により膀胱収縮も外尿道括約筋活動も抑制され、コントロールの 2-5 倍の膀胱容量で溢流性尿失禁となった。膀胱と尿道が抑制されるまでの時間は Horsley-Clarke 軸上 P2-3 レベルの吻側橋網様核背側部への注入で最も短く、この部位では

薬剤充填ガラス管を刺入しただけで直ちに抑制効果が現れた例もあった(図1)。橋排尿中枢や橋蓄尿中枢への注入例では溢流性尿失禁となるまで5分以上経過した。この抑制状態で橋排尿中枢を電気刺激しても何ら変化は起こらなかったが、橋蓄尿中枢の電気刺激では刺激中に外尿道括約筋が活動した。atropine の吻側橋網様核への局注や静注後には再びコントロールと同じ

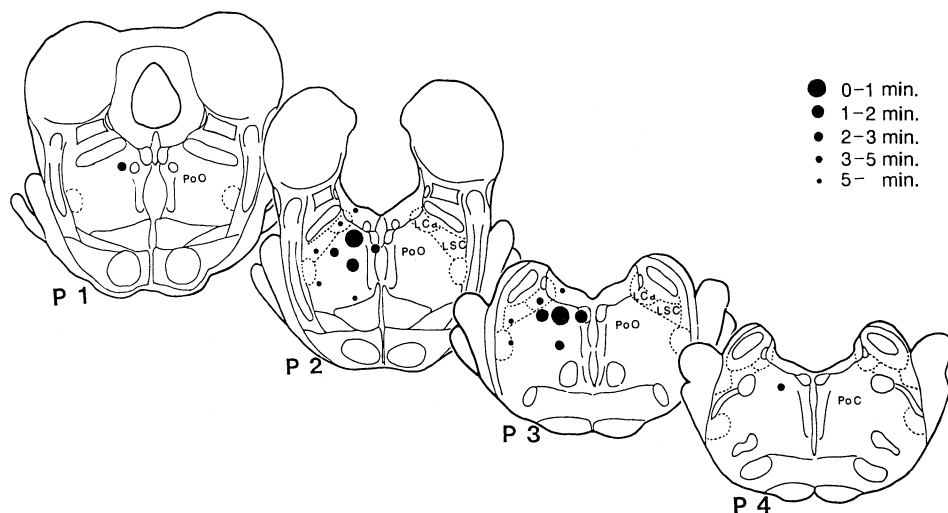


図1. carbachol 注入部位別の膀胱収縮抑制潜時。LC α , 青斑核アルファ; LSC, 青斑下核; PO0, 吻側橋網様核。

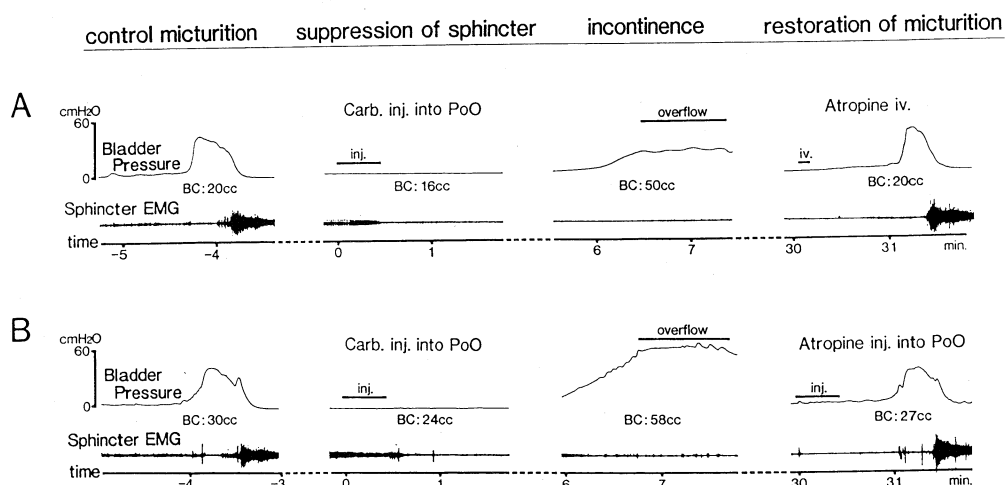


図2. carbachol および atropine 注入の前後における反射性尿の変化。carbachol 注入は反射性排尿を誘発する膀胱容量(BC)の80%量の生理食塩水を満たして行った。carbachol を吻側橋網様核(PO0)へ局注すると外尿道括約筋活動が抑制された。その後、膀胱内へ注水し続けると溢性尿失禁となった。carbachol 注入の30分後に atropine 4 μ g を吻側橋網様核へ局注(A)または2 mg を静注(B)して膀胱内へ注入すると再び反射性排尿が誘発された。

膀胱容量で反射性排尿を誘発できた (図 2).

つと考えられた.

考 察

橋の青斑核複合体や網様体にはコリン受容性細胞の存在が知られている (Kimura ら, 1981). 本成績は膀胱平滑筋の筋張感が吻側橋網様核のコリン受容性ニューロンの活動に強く支配されていることを示唆している.

従来, 排尿の脳幹神経支配に関しては橋排尿中枢と橋蓄尿中枢の関係で説明されていたが (Kuru, 1965), 本成績から, 排尿時には橋排尿中枢が橋蓄尿中枢を抑制するとともに吻側橋網様核の膀胱収縮抑制作用をも抑制する必要があると考えられた. また, 蓄尿時には橋蓄尿中枢が橋排尿中枢を抑制し, 吻側橋網様核も橋排尿中枢の膀胱収縮作用を抑制していると考えられた. さらに, 橋蓄尿中枢と吻側橋網様核の間では括約筋活動に対しては相互に抑制しあい適切な活動レベルを維持していることが推定された. したがって, 下部尿路機能に関して吻側橋網様核は橋排尿中枢や橋蓄尿中枢と同程度の重要性を持

文 献

- Kimura, H., McGeer, P.L., Peng, J.H. and McGeer, E.G. (1981). The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *J. Comp. Neurol.* **200**: 151-201.
- Kuru, M. (1965). Nervous control of micturition. *Physiol. Rev.* **45**: 425-494.
- Nishizawa, O., Sugaya, K., Noto, H., Harada, T. and Tsuchida, S. (1987). Pontine urine storage center in the dog. *Tohoku J. Exp. Med.* **153**: 77-78.
- Sugaya, K., Matsuyama, K., Takakusaki, K. and Mori, S. (1987a). Electrical and chemical stimulations of the pontine micturition center. *Neurosci. Lett.* **80**: 197-201.
- Sugaya, K., Mori, S., Nishizawa, O., Noto, H. and Tsuchida, S. (1987b). Chemical stimulation of the pontine micturition center and the nucleus reticularis pontis oralis. *Neurorol. Urodyn.* **6**: 143-144.

イヌ血管平滑筋に対する α -hANP の弛緩作用における部位的相違 — 肺動脈の特異性 —

名古屋大学医学部 麻酔学教室・同薬理学教室

早 川 あけみ, 石 川 直 久, 河 西 稔
島 田 康 弘

はじめに

ヒト心房性利尿ペプチド (α -hANP) は, Na 利尿作用, 降圧作用があり, 水電解質バランスや血圧調節に関与している点, 注目すべき物質と考えられる. しかし種差により反応性は異なっておりラットやウサギではほとんどの動脈平滑筋を弛緩させ降圧効果が強力であるが (Garcia, *et al.*, 1984; O'Donnel, *et al.*, 1985; Winqvist, *et al.*, 1984), イヌでは多くの血管でその弛緩反応が小さい (Ishikawa, *et al.*, 1987)

ため, α -hANP の生理的意義に関してはまだ不明な点がある. 我々は既にイヌの肺動脈が他の動静脈系平滑筋に比して強く弛緩することを報告している. 本研究ではイヌの肺動脈血管平滑筋の ANF による弛緩反応を弛緩作用の弱い腎動脈を対照として比較検討した.

方 法

10 kg 前後の雑種成犬を用い肺動脈 (右下葉) および腎動脈を摘出しラセン状条片を作製し, これらを 95% O₂, 5% CO₂ の標準ガスでガス化

した 37°C の Krebs-Henselet (pH 7.4) を満たしたオーガンバス内に吊るしトランスデューサーを介して等尺性張力を測定記録した。なお、 Ca^{2+} free 液には EGTA (1 mM) を添加した。

結 果

イヌ肺動脈の α -hANP に対する弛緩反応は内皮細胞剥離の有無によって影響を受けなかった。したがって、 α -hANP の反応に EDRF の関与は否定的である。また guanylate cyclase を抑制する methytlthionine (10^{-5} M) を投与すると肺動脈条片の α -hANP に対する弛緩反応を 66% 減少させたが、腎動脈では抑制効果はなかった (Fig. 1)。肺動脈の methoxamine (3×10^{-5} M) 存在下での Ca^{2+} 濃度反応曲線に対する α -hANP の効果をみると α -hANP は非競合的に Ca^{2+} 誘発収縮を減弱させたが、腎動脈では抑制しなかった。Nifedipine (10^{-7} M) は腎動脈で競合的拮抗作用を示したが、肺動脈では control との差は見られなかった。硝酸イソソルビド (10^{-7} M) は肺動脈および腎動脈に対し

て非競合的に作用した (Fig. 2)。

考 察

α -hANP の血管弛緩作用は、血管平滑筋に対

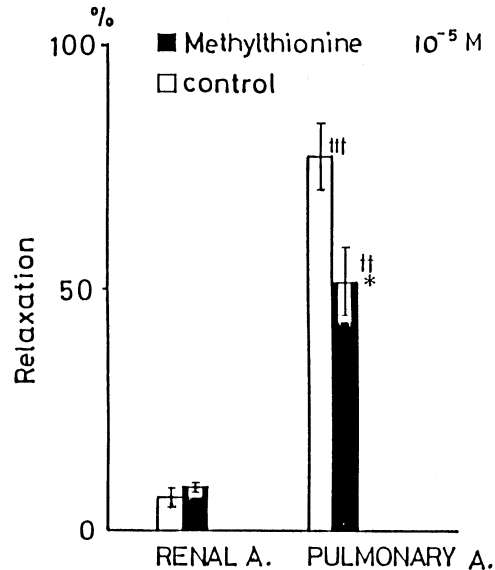


Fig. 1

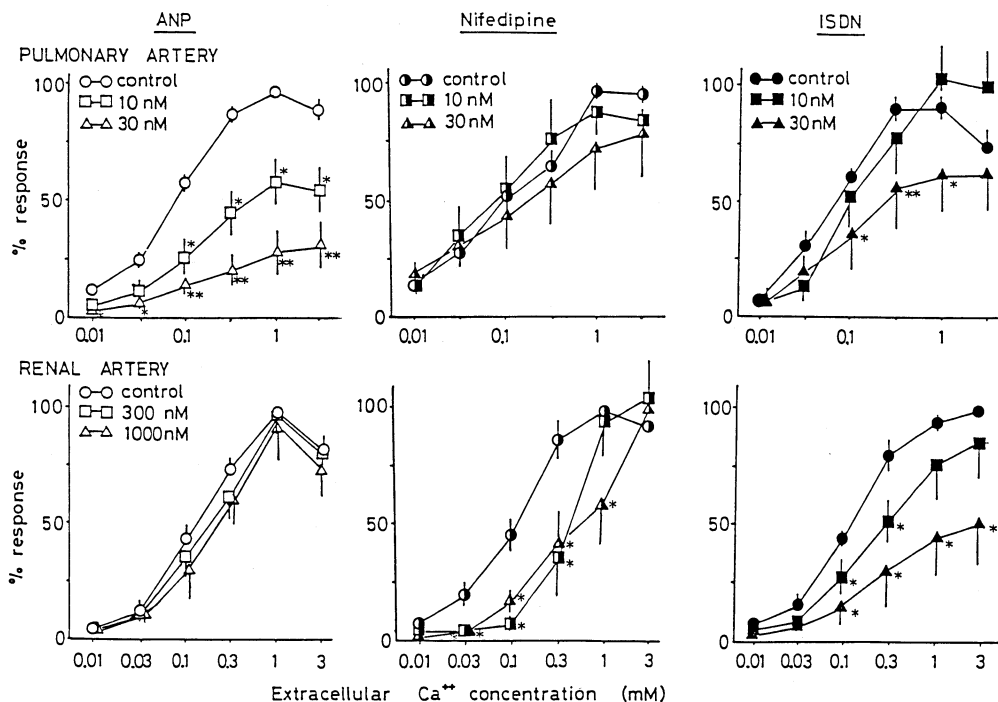


Fig. 2

する直接作用であることは既に報告されている (Faison, *et al.*, 1985). 今回我々の研究成果は肺動脈と腎動脈とで α -hANP に対する反応性の相違は、肺動脈平滑筋の弛緩作用が α -hANP 投与で細胞質内の C-GMP 増加の関与があり α -hANP receptor による GC 活性化への過程で腎動脈と異なり、平滑筋顆粒画分における GC 活性化に加えて可溶性画分での GC 活性化が強く関与する可能性が示唆された。 α -hANP に対する血管平滑筋の反応の部位的相違についてその理由を細胞内情報伝達系も含めてさらに検討する必要があると考えられた。

文 献

Faison, E.P., Siegl, P.K.S., Morgan, G. and Winquist, R.J. (1985). Regional vasorelaxant

selectivity of atrial natriuretic factor in isolated rabbit vessels. *Life Sci.* **37**: 1073-1079.
Gercia, R., Thibault, G., Cantin, M. and Genest, J. (1984). Effect of a purified natriuretic factor on rat and rabbit vascular strips and vascular beds. *Am. J. Physiol.* **247**: R34-R39.
Ishikawa, M., Hayakawa, A., Uematsu, T. and Nakashima, M. (1987). Heterogeneity in vasorelaxant effects of alpha-human atrial natriuretic polypeptide in the dog. *Japan J. Pharmacol.* **44**: 515-518.
O'Donnel, M., Garippa, R. and Welton, A.F. (1985). Relaxant activity of atriopeptins in isolated guinea pig airway and vascular smooth muscle. *Peptides* **6**: 597-601.
Winquist, R.J., Faison, E.P. and Nutt, R.F. (1984). Vasodilator profile of synthetic factor. *Eur. J. Pharmacol.* **102**: 169-173.

イヌ静脈平滑筋に対する種々生理活性物質の反応性とその部位差について

信州大学医学部 第一生理学教室

福 嶋 幸 代, 大 橋 俊 夫

はじめに

我々は数年来、静脈系の機能的構築について体系的に検索し、伸展特性やそれに対応する形態学的特性は体幹部静脈四肢静脈との間では著しい部位差の存在することを指摘してきた (Ohhashi, *et al.*, 1987). そこで今回は、イヌ体幹部、四肢ならびに頸部の静脈標本を用いて静脈平滑筋に及ぼす生理活性物質の反応性を解析し、その部位差について検討を行った。

実験材料と方法

実験には雑種成犬 75 頭を雌雄の別なく用いた。sodium pentobarbital (25 mg/kg, i.v.) により麻酔し、脱血屠殺後、直ちに体幹部、四肢ならびに頸部の静脈を摘出し、幅 5 mm の円筒状標本を作製した。標本は 37°C, pH 7.4 に維持

した Krebs 液で灌流された臓器槽内に装着した。基本張力 (約 0.3~0.5 g) を各標本に負荷し発生張力を等尺性に記録しながら、血管収縮物質 norepinephrine (NE), epinephrine (Epi), 5-hydroxytryptamine (5-HT), histamine, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ならびに血管弛緩物質 acetylcholine (ACh), isoproterenol (ISP), adenosine, ATP に対する cumulative 用量反応曲線を求めた。弛緩物質の用量反応曲線は 10^{-5} M の NE で持続灌流し、precontraction させた状態で測定した。

実験ならびに考察

血管収縮物質に対する用量反応曲線より、イヌ静脈平滑筋の特性地図を描いてみた (図 1)。全身の静脈平滑筋はカテコールアミン、5-HT に対してきわめて高い感受性があり、閾値濃度

は 10^{-7} M 程度であり、部位によりあまり差異が無い。反対に $\text{PGF}_2\alpha$ と histamine は部位によって著しい反応の違いが認められた。故に後者2物質の反応性の特性により静脈系を大別すると3つ、さらにそれを亜型に分離すると図に示すように6つのグループに分類できる。すなわちカテコールアミンの反応量に比べて、histamine, $\text{PGF}_2\alpha$ の反応量がきわめて低い腹部の体幹部静脈群、さらにカテコールアミン反応量も小さい腎静脈と横隔膜下の下大静脈群とカテコールアミン反応量が 80 mMK^+ 収縮量をはるかに凌駕する門脈、腎静脈下の下大静脈群の2亜型に分類できる(斜線、点線)。 $\text{PGF}_2\alpha$ の最大反応量がカテコールアミンのそれにはほぼ匹敵する静脈群：胸部、四肢、頸部の静脈、さらにカテコールアミン反応量自身が 80 mMK^+ 収縮量に比べても低い胸部の下大静脈、histamine の反応性がほとんど消失してしまう外側伏在静脈静脈の亜型にも分類できる(格子、縦線、白)。最後に PGF_2

α や histamine の最大反応量がカテコールアミンのその約1.5~2倍程度にまで到達する胸部対幹部静脈と連結する上肢・頸部の静脈群(黒)に分けることが出来る。

血管弛緩物質に対する用量-反応曲線より得られた結果を用いて、収縮物質と同様に特性地図を描いてみた(図2)。

血管物質の特性から静脈系を大別してみても、収縮物質で分類されたところにはほぼ一致して3つ、さらに亜型に分類すると5つのグループに分けられることが判明した。すなわち、図中で黒印をつけた部位を除いた静脈系では一般的にISPが最も顕著な弛緩反応を誘起する。そこにAChの反応性をつけ加えて大きく2群に大別できる。1群は腹部体幹部静脈、門脈、腎静脈で、AChは収縮が主体となっているグループである(斜線)。2群は胸部体幹部静脈、四肢、頸部の静脈群で、ACh反応は低濃度で弛緩、高濃度で収縮の2相性反応を示すグループである(格子)。第3グループは血管収縮反応を指標

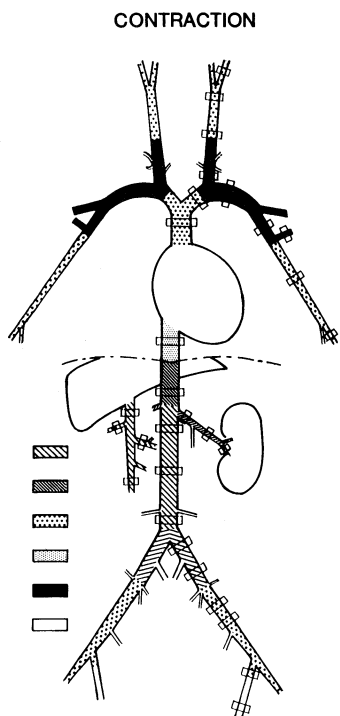


図1. 血管収縮物質より得られた静脈平滑筋の反応特性地図

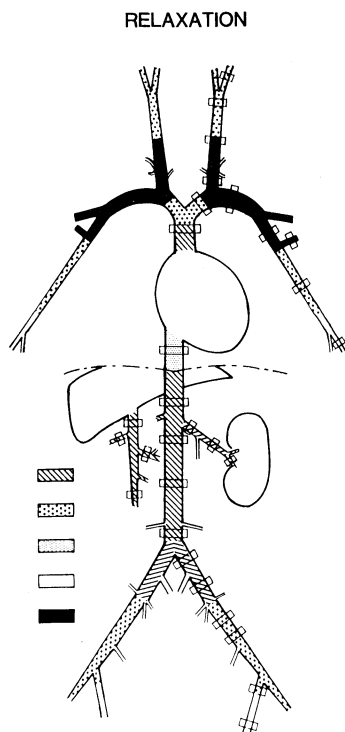


図2. 血管弛緩物質より得られた静脈平滑筋の反応特性地図

にした時にも特異静脈として分類された静脈群でAChが最も顕著な弛緩反応を誘起するグループである()。

これらの特性地図のもつ生理学的意義について今後、静脈伸展性の部位差、静脈弁の分布特性、アドレナリン作動性神経の分布密度などとの関連において検索を進める予定である。

文 献

松木孝道, 大橋俊夫(1986). 機能と形態からみた肺静

脈平滑筋の特性. 日本平滑筋誌 22: 269-271.

Ohhashi, T. and Morimoto, K. (1987). Functional and morphological characteristics of canine veins and venous valves. *Advances in Phlebology* p34-43.

大橋俊夫, 森本恵子, 東 健彦(1986). 静脈系の機能と形態. 脈管学 26: 289-292.

重井達朗, 市川朝洋, 石川直久(1983). 静脈系の発生と薬理. 脈管学 23: 11-16.

イヌにおける移植伏在静脈の生理学的変化

名古屋大学医学部 第一外科

山 田 育 男, 塩 野 谷 恵 彦

名古屋大学医学部 麻酔科

早 川 あけみ, 河 西 稔, 島 田 康 弘

近年, 高齢化, 食生活の欧米化とともに閉塞性動脈病変を有する患者が増加しており, 血行再建術の適応が広がっている. この中で小口径動脈のバイパス材料として大伏在静脈が好んで用いられている. しかし, 大動脈-冠動脈バイパスにおいて移植された大伏在静脈が攣縮を起こしたという報告(Frederic, 1981; Mark, *et al.*, 1981; Paul, 1982)があり, 剝離され高圧環境におかれた移植静脈がどのような変化をするのか実験モデルにより検討した.

方 法

雑種成犬の外側伏在静脈を通常行われる方法で手動的に拡張して大腿動脈に移植した. 移植後4週間(7頭), 8週間(7頭), 1年~2年(7頭)で摘出し, 37℃恒温槽内に吊りし, クレブス液で灌流, 各種薬剤を投与して発生する等尺性収縮張力の大きさを比較検討した. コントロールとして対側の外側伏在静脈を用い, 同時に対側大腿動脈とも比較した. 使用薬剤はカルバコール(10^{-6} ~ 10^{-3} M), 5-HT (10^{-8} ~ 10^{-4} M), ノルエピネフリン(10^{-8} ~ 10^{-4} M)である.

なお, 収縮張力の比較は最大発生張力の大きさで行った.

結 果

コントロールの外側伏在静脈(以下静脈とする)の平均最大収縮張力はカルバコール(10^{-4} ~ 10^{-3} M)<5-HT (10^{-6} M)<ノルエピネフリン(10^{-4} M)で, 大腿動脈(以下動脈とする)ではカルバコールに対しては全く反応を示さないかあるいはごくわずかに弛緩した. 5-HT に対しては動静脈で反応性に差はなく, ノルエピネフリンに対しては静脈の方が大きな収縮張力を発生した($P<0.03$). 手動的に拡張した静脈ではいずれの薬剤に対しても反応しなかった.

移植静脈(以下グラフトとする)はいずれの時期においても静脈に比較してノルエピネフリン, 5-HT による最大発生張力の大きさは有意に小さくなっていたが($P<0.01$), カルバコールでは有意の差は認められなかった. また, いずれの薬剤に対しても移植期間による最大発生張力の大きさには有意の差は認められなかった(図1).

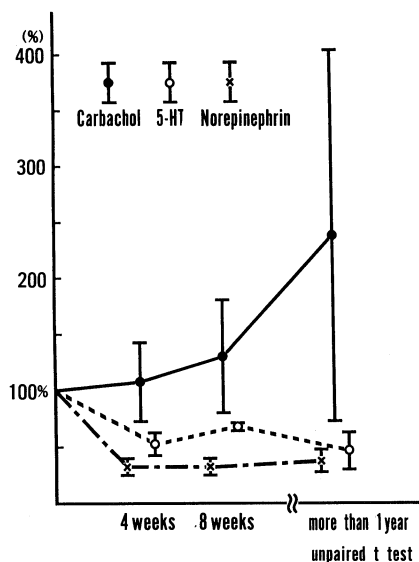


図1. control veinの最大発生張力を100%とした時のグラフトの最大発生張力の変化

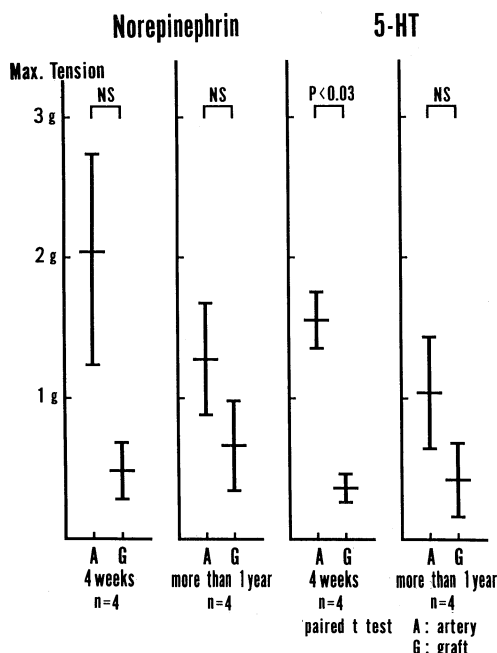


図2. 大腿動脈と、グラフトの最大発生弾力の比較

グラフトと動脈との比較ではノルエピネフリン、5-HT に対しいずれの時期においても動脈よりグラフトの方が発生張力が小さい傾向があったが、4週のグラフトの5-HT感受性だけに有意差があった(図2)。

移植静脈の約5分の1で自発性律動性収縮が

認められた。この収縮反応はフェントラミン、プロプラノロール、アトロピンでは抑制されず、ベラパミール、インドメサシンにより完全に抑制された。またこの自発性律動性収縮はカルバコール投与後にも認められることがあった。

考 案

外側伏在静脈と大腿動脈との最大の違いはカルバコールに対する反応性で、静脈が収縮したのに対し動脈は無反応ないしわずかな弛緩を示したことである。グラフトに関しては移植によりノルエピネフリン、5-HTに対する最大発生張力が小さくなった。一方、カルバコールに対しては静脈の10倍以上の張力を発生するものもあり、個体差が大きく移植による変化に有意差は認められなかったが、ノルエピネフリン、5-HTとは異なる変化を示した。動脈との比較ではノルエピネフリン、5-HTに対してはグラフトの方の発生収縮張力は弱いようである。4週、8週、1年以上いずれの時期に摘出した移植静脈においても移植期間による差はなく、拡張操作、高圧環境への移植後も若干の変質をしながらも静脈としての生理学的性質を保っていた。ウサギ外頸静脈の移植実験でノルエピネフリン感受性の低下、5-HTの感受性の出現の報告(Raymond, *et al.*, 1987)もあるが静脈部位差が大きく、以前のわれわれの実験ではイヌ外側伏在静脈の生理学的性質はヒト大腿静脈に類似していた。移植静脈は時に自発性律動性収縮を起こすことがあり、プロスタグランディンの関与が示唆された。

以上、移植伏在静脈静脈の攣縮の一因についてイヌ移植モデルにより検討した。

文 献

- Frederic, A.H., Jr. (1981). Aortocoronary vein graft spasm. *Chest* 80: 412-413.
- Mark, F.V., Demetrios, K., *et al.* (1981). Spasm of a saphenous vein bypass graft. *Chest* 80: 413-415.
- Paul, W. (1982). Angiographic documentation of spontaneous spasm of saphenous vein coronary artery bypass graft. *Am. Heart, J.* 103: 290-

292.

Raymond, G.M., Walter, S.D., *et al.* (1987). Responsiveness of vein bypass grafts to stimu-

lation with norepinephrine and 5-hydroxytryptamine. *J. Vasc. Surg.* 6: 32-38.

脳動脈平滑筋におけるノルエピネフリン 反応性の摘出後の経時的变化

信州大学医学部 第一生理

河 合 康 明, 横 山 伸, 大 橋 俊 夫

脳血管平滑筋の薬物反応性は、他臓器に血流を供給する血管の平滑筋反応性と比較すると、著しく異なる(Bohr, *et al.*, 1961). 特に, norepinephrine (NE) に対する脳動脈の収縮反応が小さいことは特徴的である (Toda and Fujita, 1973; Kawai, *et al.*, 1984). イヌやネコの脳動脈平滑筋に局在する α アドレナリン受容体のサブタイプは主に α_2 タイプであり、これが NE に対する低反応性の一因と考えられる (Sakakibara, *et al.*, 1982; Skarby, *et al.*, 1983). 一方、我々は摘出した脳動脈平滑筋の薬物反応性を観察し、 α アドレナリン作動薬に対する反応性は、摘出後の時間経過とともに上昇することを見いだした。本研究は、この現象の発現機序を検索することを目的として行った。

材料と方法

Sodium pentobarbital (30 mg/kg, i.v.) により麻酔し、脱血屠殺した雑種成犬から、内頸動脈、脳底動脈、さらに対照血管として外頸動脈、腸間膜動脈を摘出した。これらの標本から長さ 15 mm, 幅約 1.5 mm の螺旋条片を作製し、温度 36.5°C, pH 7.4 に維持した Krebs 液で灌流された臓器槽内に装着した。基本張力として 1.0~1.5 g 負荷し、等尺性トランスデューサーを用いて張力変化を記録しながら、各種血管作動物質に対する反応性を観察した。実験に際しては、標本を装着してから 90 分間放置し、静止張力が安定した後第 1 回目の薬物投与を行い、cumulative な用量-反応曲線を得た。その

後、1 時間ごとに同じ薬物の投与を繰り返し、反応性の経時的变化を検索した。

実験結果

脳底動脈、内頸動脈の NE 反応性は経時的に上昇し、第 5 回目の投与時 (5.5 時間後) に最大となった。図 1 に、内頸動脈の NE に対する用量-反応曲線を示す。第 2 回目の NE (10^{-4} M) に対する反応量を 100% として基準化すると、第 5 回目の NE (10^{-4} M) 反応量は、対照の 170% にまで上昇した。一方、外頸動脈、腸間膜動脈では、NE 反応性は極めて良い再現性を示

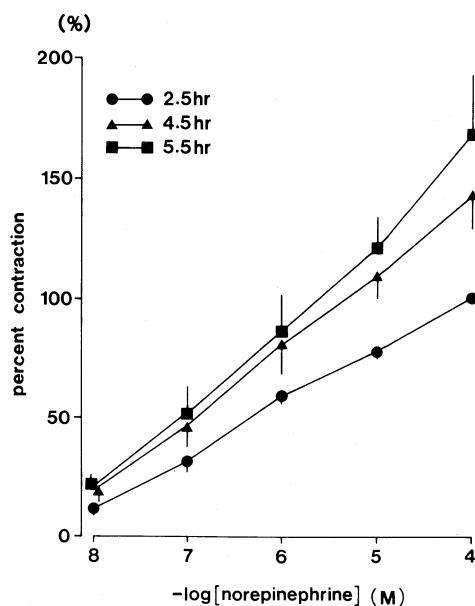


図 1. Norepinephrine に対するイヌ内頸動脈の用量-反応曲線における経時的变化。

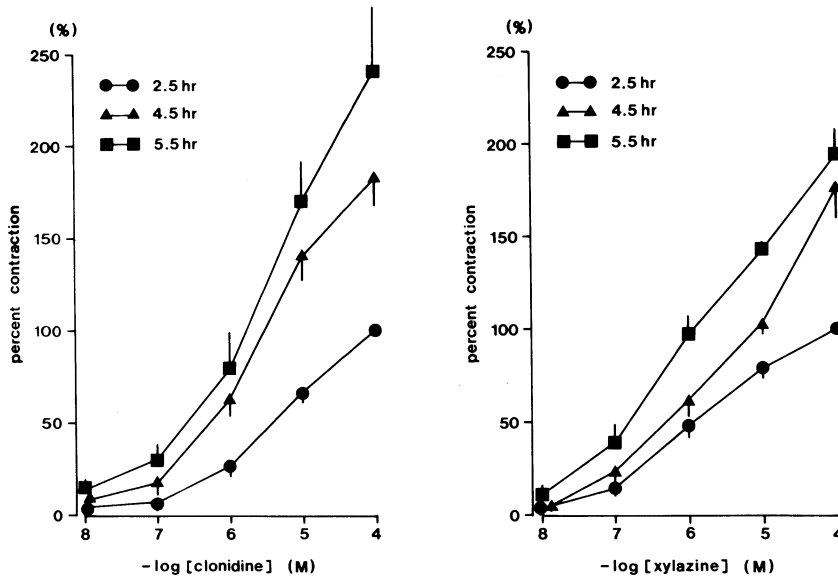


図2. Clonidine, xylazine に対するイヌ内頸動脈の用量-反応曲線における経時的変化。

し、時間経過による差はほとんど認められなかった。また、高 K 溶液、PGF₂ α に対する脳底動脈、内頸動脈の収縮反応は、2 回目以後安定しており、漸増現象を示さなかった。

次に、uptake blocker, β -blocker を処置した標本を用いて同様の実験を行った。Cocaine (uptake 1 blocker) 5×10^{-6} M, hydrocortisone (uptake 2 blocker) 10^{-5} M を実験開始直後から持続灌流した脳動脈標本では、NE 反応性の漸増現象はわずかに抑制される傾向を示した。一方、propranolol (β -blocker) 10^{-7} M 処置はこの現象に全く影響を与えなかった。

最後に、この NE 反応性漸増現象における α_1 、 α_2 受容体の役割について検討を行った。Phenylephrine (α_1 -agonist) は、イヌ脳底動脈、内頸動脈に対して用量依存性の収縮反応を誘起したが、第 2 回目以後の反応量には有意差が認められなかった。一方、clonidine, xylazine (α_2 -agonist) に対する反応は、NE 反応性と同様に、時間経過とともに著しい上昇を示し、第 5 回目における NE 10^{-4} M に対する反応は対照 (第 2 回目投与) の 2 倍以上に増大した (図 2)。

考 察

本実験の結果から、イヌ摘出脳動脈の NE 反応性は、時間経過に伴い漸時上昇することが判明した。この漸増現象は、高 K 溶液や PGF₂ α に対する収縮反応には認められないことから、平滑筋の contractility が非特異的に上昇した結果とは考えられない。NE の uptake 機構が一部関与する可能性は否定できないが、主な原因はシナプス後膜の受容体以後に存在することが示唆された。実験開始直後から propranolol 処置を施した標本においても漸増現象が認められることより、 β 受容体機構の関与は無いと考えられる。また、 α 受容体のサブタイプについて検討を加えた結果、イヌ摘出脳動脈標本における NE 反応性の経時の上昇は、 α_2 受容体特性の変化と関連していることが示唆された。

文 献

- Bohr, D.F., Goulet, P.L. and Taquini, A.C., Jr. (1961). Direct tension recording from smooth muscle of resistance vessels from various organs. *Angiology* 12: 478-485.
- Kawai, Y., Ohhashi, T. and Azuma, T. (1984).

Redistribution of flow between canine isolated internal and external carotid arteries by vasoactive substances. *Jpn. J. Physiol.* **34**: 457-468.

Sakakibara, Y., Fujiwara, M. and Muramatsu, I. (1982). Pharmacological characterization of the alpha adrenoceptors of the dog basilar artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **319**: 1-7.

Skarby, T.V.C., Andersson, K-E. and Edvinsson, L. (1983). Pharmacological characterization of postjunctional α -adrenoceptors in isolated feline cerebral and peripheral arteries. *Acta Physiol. Scand.* **117**: 63-73.

Toda, N. and Fujita, Y. (1973). Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ. Res.* **33**: 98-104.

犬門脈片における Millisrol および Long-Acting Somatostatin Analogue SMS201-995 の意義について

日本大学医学部 第一外科学教室

富田 涼一, 森田 建, 青木 信彦
永井 信行, 水野 敏彦, 宗像 敬明
黒須 康彦, 岡部 郁夫

緒 言

門脈圧亢進に伴って出現する種々の合併症の中で最も重篤なものとされているのは、胃食道静脈瘤からの出血であり、緊急出血例に対する薬物療法として、Vasopressin などの血管収縮剤が臨床的に用いられているが、最近、血管拡張剤である Nitroglycerin の注射剤である Millisrol の、門脈圧下降作用の有用性を当教室の水野が肝硬変症例について示唆した。さらに、活性ペプチドである Somatostatin が、胃食道静脈瘤からの出血の止血に有効であると欧米において報告されつつあるが、その生物学的半減期は2分から3分とされ短く、持続的治療効果が得にくい。そこで生物学的半減期が1時間から2時間と長い Octapeptide Somatostatin Analogue である Long-Acting Somatostatin SMS201-995 (以下 Sandostatin とする) が開発され、門脈圧下降剤として臨床例に応用されつつある。今回、我々は Millisrol と Sandostatin の門脈に対する薬理作用を検討する目的で、雑種成犬の門脈片を用いて、Mechanogram にて以下の研究を行い若干の知見を得たので報

告する。

研究方法

対象としては、11匹の雑種成犬を用いてネンブータル麻酔下に、脾静脈合流部から肝門部までの門脈本幹を摘出し用いた。なお、門脈摘出

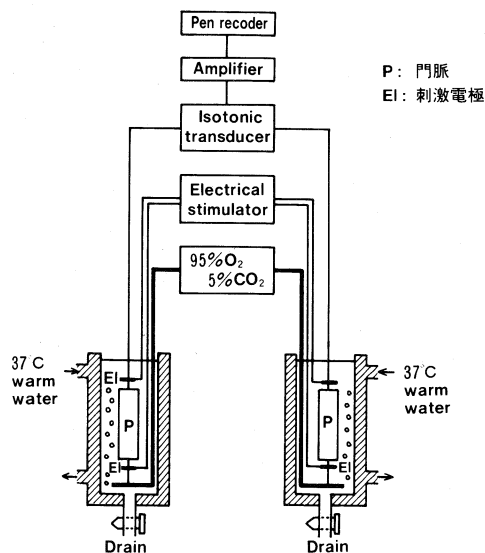


図1. 実験装置

に際しては、機械的損傷をなるべく避けるように注意した。

標本としては、門脈本幹の長軸方向に約4 mm、短軸方向に約15 mmの門脈片を作製して使用した(図1)。その門脈片をO₂ 95%, CO₂ 5%の混合気体を通気し、37°Cに保ったKrebs液中にセットし、約30分から1時間を経て門脈片の運動が安定した時期に、実験操作を加えて、短軸方向の等張性運動をペンレコーダーにて記録した。電気刺激はElectrical Field Stimulationとし(以下EFSと略す)、その刺激条件は神経刺激に適するLow Frequency Stimulationである5 Hzで、Duration 0.5 msec, Voltage 50

V、刺激時間は30秒として矩形波電撃の、Repetitive Stimulationとして行った。なお、研究に使用した門脈片はすべて先の神経刺激に反応する門脈片を用いることとした。また、実験は以下の3つに分けて行った。

結果および考察

実験1: 犬門脈片に非アドレナリン作動性抑制神経が存在するか否かを検討するため、交感、副交感神経遮断剤(Atropine 1×10^{-7} g/ml, Phenoxybenzamine 5×10^{-6} g/ml, Propranolol 5×10^{-6} g/ml)投与前後のEFS反応を観察した。遮断剤EFS反応は、図2-左のよう

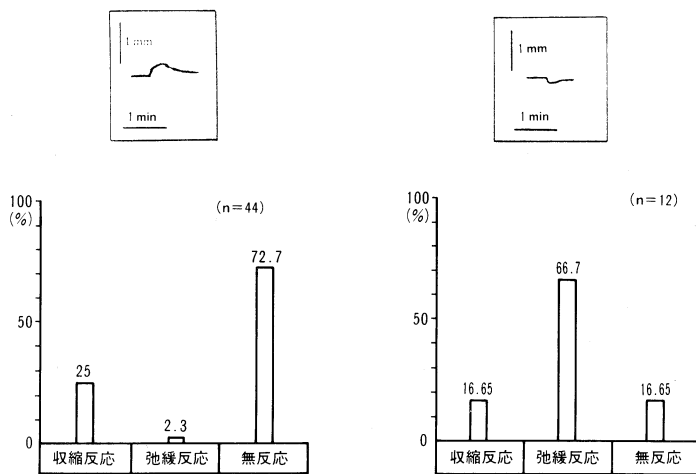


図2. 左: 交感、副交感神経遮断前におけるEFS反応, 右: 交感、副交感神経遮断後におけるEFS反応

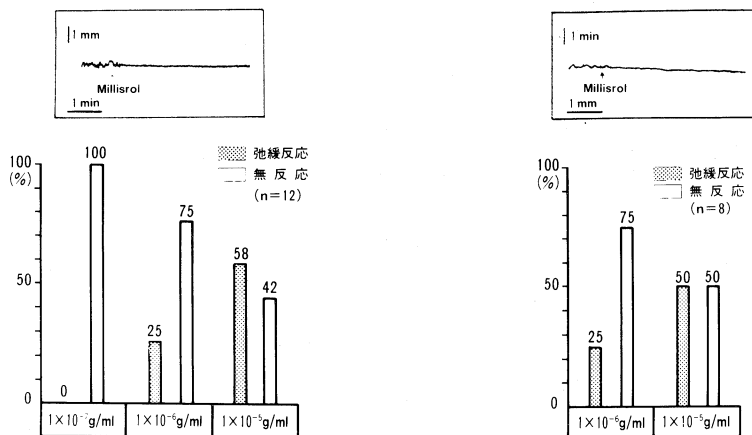


図3. 左: 交感、副交感神経遮断後のMillisrol (1×10^{-7} g/ml, 1×10^{-6} g/ml, 1×10^{-5} g/ml) に対する反応, 右: TTX 5×10^{-7} g/ml 投与後のMillisrol (1×10^{-6} g/ml, 1×10^{-5} g/ml) に対する反応

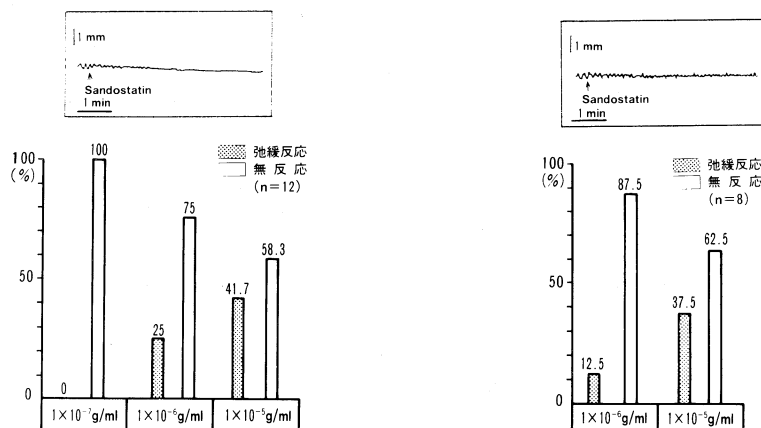


図4. 左: 交感, 副交感神経遮断後の Sandostatin (1×10^{-7} g/ml, 1×10^{-6} g/ml, 1×10^{-5} g/ml) に対する反応, 右: TTX 5×10^{-7} g/ml 投与後の Sandostatin (1×10^{-6} g/ml, 1×10^{-5} g/ml) に対する反応

に, 無反応を示した以外の門脈片は収縮反応を示すことが多い. 次に, EFS 反応を示した門脈片のみの遮断後 EFS 反応は, 図2-右のように, 弛緩反応を示す傾向が強くなった.

実験2: 交感, 副交感神経遮断下において, Millisrol, Sandostatin がいかなる反応を示すかどうか観察した. Millisrol (図3-左), Sandostatin (図4-左) とともに用量依存性に弛緩反応を示した.

実験3: Tetrodotoxin (TTX: 10^{-7} g/ml) 投与下に EFS を加え門脈片内全神経系が遮断されたことを確認し, Millisrol, Sandostatin を投与しその反応を観察した. Millisrol (図3-右), Sandostatin (図4-右) とともに弛緩反応を示したが, Millisrol は実験2と差がないが, Sandostatin は実験2に比してその弛緩反応の大きさは抑制される傾向にあった.

以上, 我々の行った実験条件下において得られた結果は以下のごとくであった.

(1) 犬門脈片には, 非アドレナリン作動性抑制神経が存在するものと思われた.

(2) 犬門脈片に対して, Millisrol は弛緩作用を用量依存性に示すが, 筋直接作用によるものと思われた.

(3) 犬門脈圧に対して, Sandostatin は弛緩作用を用量依存性に示すが, 神経を介しての作用と筋直接作用によるものと思われた.

文 献

- Clements, D., *et al.* (1986). Somatostatin in portal hypertension. *Scand. J. Gastroenterol.* **21** [Suppl. 119]: 256-258.
- Hellstrand, P., *et al.* (1985). Role of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the neurogenic vasodilation of the portal vein in the rabbit. *Regul. Pept.* **12**: 309-316.
- Lembcke, B., *et al.* (1987). Effect of the somatostatin analogue sandostatin (SMS 201-995) on Gastrointestinal, pancreatic and biliary function and hormone release in normal men. *Digestion* **36**: 108-124.
- 水野敏彦, 他(1987). ミリスロールの投与経路別, 全身門脈循環に与える影響. *基礎と臨床* **21**: 151-159.
- Wahren, J. and Eriksson, L.S. (1986). The influence of a long-acting somatostatin analogue on splanchnic haemodynamics and metabolism in healthy subjects and patients with liver cirrhosis. *Scand. J. Gastroenterol.* **21**[Suppl. 119]: 103: 108.

エンドセリン — 内皮由来血管収縮ペプチド — による血管収縮反応のメカニズム

筑波大学基礎医学系 薬理

石川 智久, 粕谷 善俊, 栗原 裕基

柳沢 正史, 後藤 勝年, 眞崎 知生

緒 言

Furchgott らによる内皮細胞由来血管拡張因子 EDRF の発見以来, 血管内皮細胞が血管の機能調節に重要な役割を担っている可能性が示唆されてきたが, 近年この EDRF のほかに血管収縮因子 EDCF も内皮細胞から分泌されることが示されてきた。我々は, ブタ大動脈内皮細胞の培養上清から EDCF と目される新しい内皮細胞由来の血管収縮性ペプチドの単離精製に成

功し, これをエンドセリン (ET) と命名した。この物質は, 既知のどのペプチドファミリーにも属さない全く新しいペプチドで, 非常に強力な血管収縮作用を有する。ET の mRNA が内皮細胞で発現していることは既に確認されており, 生体内で産生, 分泌されて循環系の機能調節に重要な役割を担っている可能性は非常に高い。今回, ET の血管収縮作用に着目しその作用メカニズムの検討を行った。

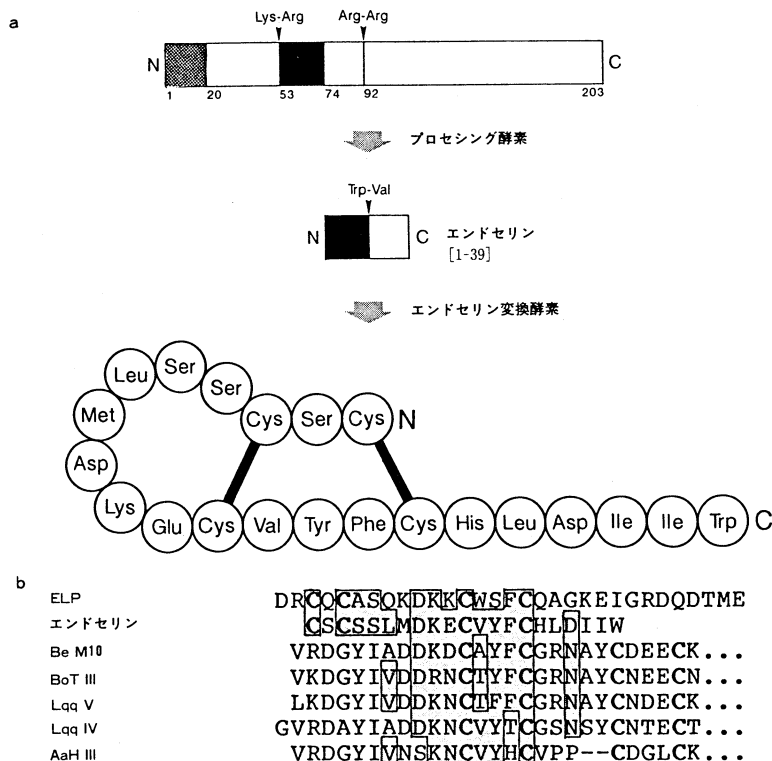


図 1. a. エンドセリンおよびエンドセリン前駆体の構造

□: シグナル配列, ■: エンドセリン

b. エンドセリンと α -サソリ毒との相同性

ELP: endothelin-like peptide, BeM10, BoT III, Lqq V, LqqIV, AaH III: α -サソリ毒

方 法

食用に屠殺されたブタから冠動脈を摘出して螺旋条片を作成し, endothelial cell を剝離した後, 95% O₂ + 5% CO₂ を通気し 37°C に保温した Krebs-Ringer 液中に懸垂し, 十分に平衡化した後, resting tension 1.25 g で等尺性収縮を記録した. 一方, 冠血管の中膜から常法に従って筋細胞膜標本を作成, クロラミン T 法によりラベルした ¹²⁵I-ET, およびジヒドロピリジン (DHP) 誘導体である ¹²⁵I-iodipine をリガンドに用いて受容体結合実験を行った.

結果・考察

ET による血管収縮反応は, 非常に強力で, 最大反応はカリウム脱分極による最大収縮にほぼ一致し, ED₅₀ は 0.5 nM であった. この ET による収縮反応は持続的であり, 洗浄しても回復しなかった. ET の用量-作用曲線は, 低濃度のニカルギピン存在下で右側に有意に平行移動し, Schild plot の傾きは約 1 となった. すなわち, ET の血管収縮作用は DHP 誘導体 Ca²⁺ チャンネルブロッカーにより, 競合的に拮抗されることが示された. 一方, 受容体結合実験による

Scatchard 解析からブタ冠状動脈の細胞膜上に Kd 値 0.29 nM, Bmax 値 340 fmol/mg の ET に対する単一特異的結合部位が存在することが示された. しかしながら, ET の特異的結合はニカルギジン 10⁻⁶ M により全く影響されなかった. また逆に, DHP 誘導体の特異的結合に対して, ET は何の影響も与えなかった. それ故に, ET と DHP 誘導体の受容体は異なることが示された.

結 語

以上の結果から, ET の血管収縮作用には電位依存性 Ca²⁺ チャンネルが関与し, DHP 誘導体により競合的に抑制されるが, その作用部位は DHP 受容体とは異なることが示唆される.

文 献

- Ito, Y., *et al.* (1988). Cloning and sequence analysis of cDNA encoding the precursor of a human endothelium-derived vasoconstrictor peptide, endothelin: identity of human and porcine endothelin. *FEBS let* **231**: 440-444.
Yanagisawa, M., *et al.* (1988). A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332**: 411-415.

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット 大動脈における内皮依存性弛緩作用と カルモデュリン阻害剤の効果

近畿大学医学部 寄生虫学教室

丹 羽 淳 子, 宮 里 昂

近畿大学医学部 薬理学教室

鈴 木 有 朋

Furchgott らの最初の報告以来, 内皮細胞由来血管弛緩因子 (EDRF) の検出が種々の血管系や血管作動物質を用いて行われてきた. これらの実験例から, 内皮依存性弛緩作用 (EDR) がいずれも細胞外 Ca²⁺ に依存していることが報

告され (Peach ら, 1987), EDRF 産生遊離および弛緩反応系に Ca 動員系が関与していることが示唆される. また高血圧症は EDR の減弱と関係があり (Mayhan ら, 1987), 高血圧自然発症ラット血管では Ca 利用性の変化があるとい

う報告は多い。

本実験では高血圧進展期における EDR の機能変化ならびにカルモデュリン (CaM) 阻害剤を用いて EDR における Ca-CaM 系の関与について比較検討した。

方 法

ウィスター京都 (WKY) および脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の雄性 10-12 週齢を用いた。血圧は WKY 126, SHRSP 201 mmHg であった。大動脈を摘出後ラセン条片を作成し、マグヌス装置に懸垂して弛緩反応を等尺性に記録した。プロスタグランディン (PG) $F_{2\alpha}$ で前収縮の後 ACh, ATP および A 23187 を適用し、弛緩率は収縮に対する比率で表した。

結果と考察

ACh, ATP, A 23187 による弛緩はサイクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメサシン $10 \mu\text{M}$ により抑制されず、グアニレートシクラーゼ阻害剤メチレンブルー $10 \mu\text{M}$ により完全に阻害された。またホスホリパーゼ阻害剤のメバクリンおよび NCDC, リボキシゲナーゼ阻害剤 NDGA によりいずれも減少した。この結果は従来報告された EDRF の性質を示す (De Mey ら, 1982) ものと考えられる。

ACh, ATP および A 23187 の EDR の結果を図 1 に示した。いずれの刺激薬に対しても SHRSP と WKY 間で有意の差を認めなかった。

細胞外 Ca^{2+} の依存性について 1 mM EGTA $\text{Ca}^{2+}(-)$ 栄養液中で弛緩反応を検討した。両ラットともに ACh, ATP および A 23187 による EDR は消失し、一方内皮除去標本や Na-ニトロプルシド (SNP) の反応には変化は認められなかった。SNP は平滑筋細胞に直接作用し、cGMP 量を増大させ EDRF と共通した過程を経て弛緩作用を生じると考えられている。

また細胞内 Ca^{2+} 遊出阻害剤 TMB-8 $50 \mu\text{M}$ の前処置により ACh $10, 100 \text{ mM}$ の EDR は有意に抑制され、一方 ATP および A 23187 の EDR には変化はなかった。内皮除去標本および SNP に対しても抑制は認められなかった。これらのことより EDR は内皮細胞の段階で、ACh では細胞外 Ca^{2+} と細胞内ストアからの遊離 Ca^{2+} が利用され、ATP および A 23187 では細胞外 Ca^{2+} に依存していることが示唆される。内皮細胞で EDRF と同時に産生されると考えられる PGI_2 量は EGTA や La^{3+} , TMB-8 処置により抑制されることが報告されている (Seid ら, 1983)。

Ca-CaM 系を検討するために W-5 $50 \mu\text{M}$, W-7 $50 \mu\text{M}$, トリフルオペラジン (TFP) $2-10$

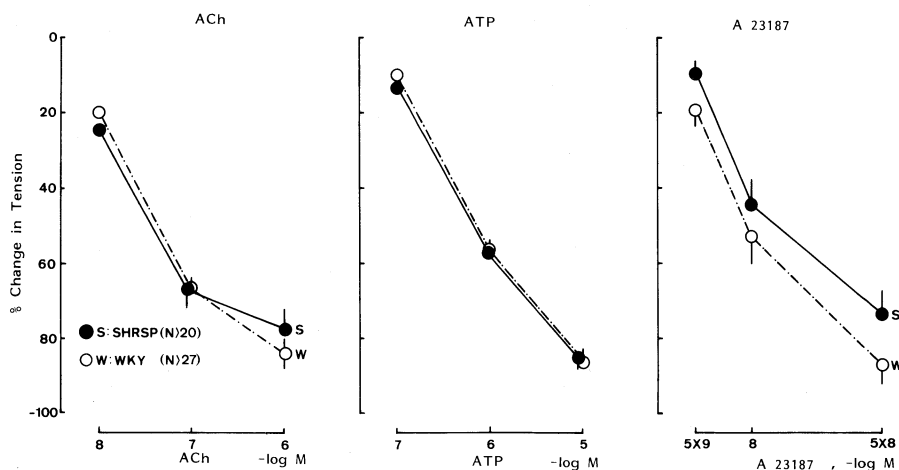


図 1. Endothelium-dependent relaxations induced by acetylcholine, adenosine triphosphate and Ca^{2+} ionophore A 23187 in aortic strips from SHRSP and WKY

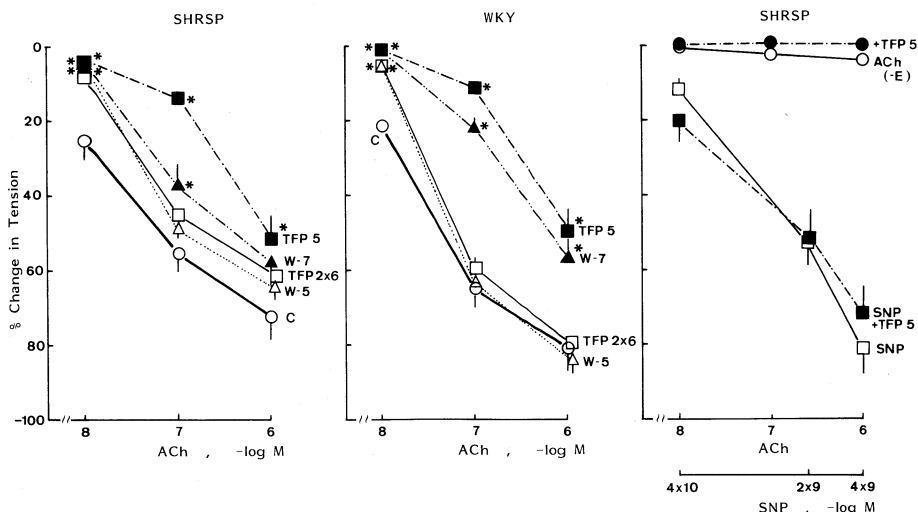


図2. Effects of calmodulin antagonists (W-5; 50 μ M, W-7; 50 μ M, trifluoperazine; 2 and 10 μ M) on acetylcholine- and sodium nitroprusside-induced relaxations in aortic strips from SHRSP and WKY

* $P < 0.05$, significant inhibition from control

C: with endothelium -E: without endothelium

μ M を添加した. ACh による弛緩反応曲線に対し, SHRSP, WKY ともに W-7, TFP 10 μ M は有意に右方移行させ, CaM 阻害作用が弱いとされる W-5 の効果は最小であった(図2). 阻害剤併用の ACh による最大弛緩値はコントロールの 70-90% を示した. 一方 ATP および A 23187 の EDR に対し CaM 阻害剤は抑制を示さなかった. また内皮除去標本や SNP に対しても抑制を認めなかった. 家兎大動脈において CaM 阻害剤はメタコリンと A 23187 の(Nagase ら, 1986)あるいはメタコリンのみ(Peach ら, 1987)の EDR を抑制したという報告がある.

PGF₂ α 1 μ M (両ラットで ED₅₀ 値)の収縮を 50% 抑制するのに必要とする ACh, ATP, SNP および 8-bromo-cGMP の濃度はいずれも SHRSP でやや高い傾向を示したが有意の差はなかった. また ACh の EDR に対する CaM 阻害剤の効果 (SHRSP: WKY (IC₅₀ ACh μ M/PG); W-7 0.44:0.45, TFP 10 μ M 0.89:1) にも両ラット間に著明な差を認めなかった.

以上の結果より, 細胞外 Ca²⁺ は EDRF の産

生遊離に必要であり ACh による EDR には Ca-CaM 系の関与が示唆される. また 10-12 週齢 SHRSP 大動脈においては EDR の障害は認められず, EDRF の機能変化が高血圧進展に関与している可能性は少ないと考えられる.

文 献

- De Mey, J.G., Claeys, M. and Vanhoutte, P.M. (1982). Endothelium-dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine triphosphate, thrombin and arachidonic acid in the canine femoral artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **166**: 166-173.
- Mayhan, W.G., Faraci, F.M. and Heistad, D.D. (1987). Impairment of endothelium-dependent responses of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Am. J. Physiol.* **253**: H1435-H1440.
- Nagase, H., Karaki, H. and Urakawa, N. (1986). The inhibitory effects of calmodulin antagonists on the endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Jpn. J. Smooth muscle Res.* **22**: 97-102.
- Peach, M.J., Singer, H.A., Izzo, N.J. and Loeb, A.L. (1987). Role of calcium in endothelium-

dependent relaxation of arterial smooth muscle. *Am. J. Cardiol.* **59**: 35A-43A.
Seid, J.M., Macneil, S. and Tomlinson, S. (1983).

Calcium, calmodulin and the production of prostacyclin by cultured vascular endothelial cells. *Bioscience Reports* **3**: 1007-1015.

血管内膜の抗血小板活性、血管拡張作用および cGMP レベルは加齢により減弱する

徳島大学薬学部 薬物学教室

守 時 英 喜, 谷 岡 麻 生, 上 田 晴 康
石 田 行 雄

緒 言

私達はラット腸間膜動脈と胸部大動脈で histamine による内膜依存性拡張反応が加齢とともに減弱してゆき、同時に cGMP の産生も低下することを明らかにした。そしてそれらの要因として血管内皮細胞の機能低下か、あるいは guanylate cyclase 活性の低下によることを示唆した (Moritoki, *et al.*, 1986; 1988)。

今回はラット胸部大動脈を用いて、① ACh や ATP による拡張反応と cGMP の産生が加齢の影響をうけるか否か、② cGMP-phosphodiesterase 活性が変動するか否か、③ さらに血管内膜の血小板凝集活性が変動するかどうか検討した。

実験方法

各々の週齢のラットの動脈のリング状切片を Krebs 液に懸垂し、静止張力は週齢に応じて 0.5~1.0 g を負荷した。EC₈₀ に相当する norepinephrine で血管を収縮させておき、拡張物質を累積的に適用し拡張効果をしらべた。

結 果

拡張反応

ACh によるラット大動脈の内膜依存性拡張反応は 6 週齢から 12, 44 週齢と週齢の増加とともに減弱してゆき、100 週齢ではほとんど拡張

反応はおこらなくなっていた(図 1)。ATP に対する拡張反応はより早期に減弱してゆき、40 週齢を境に消失した。

cGMP 産生

最大拡張反応をひきおこす濃度の ACh (10 μ M)、あるいは ATP (100 μ M) を適用すると cGMP の産生は増大した。内皮を損傷させた標本では cGMP レベルの上昇は認められなかった。図 1 に示すように、80~90 週齢のラット血管の cGMP 産生量は 4 週齢の標本の 15% 程度に低下していた。ATP についても同様の結果が得られた。

cGMP-phosphodiesterase (PDE) 活性

cGMP-PDE 阻害剤, M & B 22948 (M & B) は phenylephrine による収縮を濃度依存的に抑制した。M & B (10 μ M) による抑制は若いラットの血管よりも老化ラットの血管で著しかった(図 2)。さらに M & B (100 μ M) によってひきおこされる cGMP の蓄積は、100 週齢以上の血管では 4 週齢の血管の 3 倍以上に達していた(図 2)。対照として用いた cAMP-PDE 阻害剤 Cilostazole による Phe-収縮抑制も、また cAMP 蓄積も加齢の影響をうけなかった。したがって血管では cGMP-PDE 活性が増大して cGMP の蓄積を妨げているものと考えられる。

抗血小板活性

10-20 週齢の比較的若いラット大動脈の内腔灌流液に ACh (3~30 μ M) を添加しておく

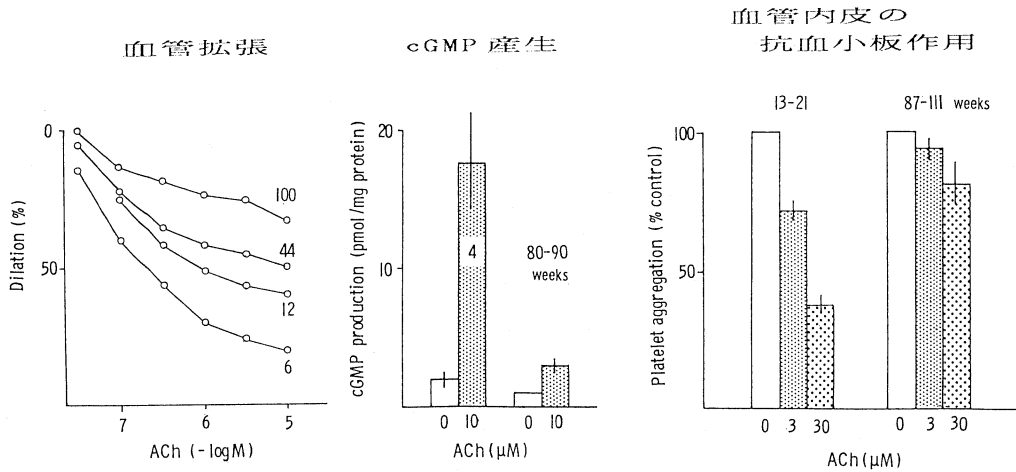


図1. AChの効果と加齢

左: AChによる拡張は加齢とともに減弱している, 中: ACh (10 μ M)によるcGMPの産生も老化血管では減少している, 右: ACh (3.30 μ M)を血管内腔に適用すると内腔灌流液に抗血小板活性が認められる, この活性も加齢により低下している.

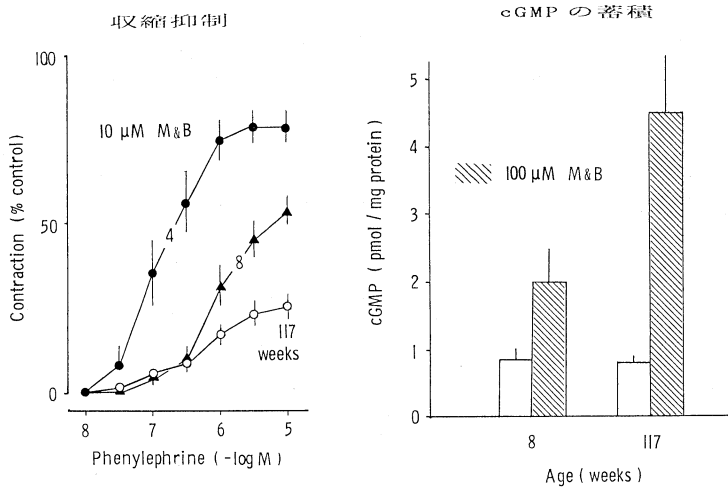


図2. M & B 22948の効果と加齢

左: Phenylephrine-収縮に対するM & B 22948 (10 μ M)の抑制効果は老化血管で著しい, 右: M & B (100 μ M)によるcGMPの蓄積は若いラット血管よりも老化血管で著しい.

図1に示すように血小板の凝集を抑制した, 血管内膜を損傷させておくと抑血小板活性は著しく低下したため, 活性の大部分は内皮由来のものと考えられる. 87~110週齢の老化ラット血管灌流液の抗血小板作用は10-20週齢のものに比べて低下していた(図1).

Cyclooxygenase 阻害剤 indomethacin (100 μ M)で血管を処理するとこの活性は消失した

ため, prostanoid が関与していることが示唆された.

考 察

AChとATPによるラット胸部大動脈の内膜依存性拡張反応は加齢にともない減弱したが, これは①血管平滑筋のcGMP産生能の低下によると考えられるが, ②cGMP-PDE活

性の増大にともなう cGMP の分解亢進も示唆された。③ また一方では prostanoid と考えられる血管内膜の血小板凝集阻害因子の産生能が加齢とともに減弱してゆくことも明らかになった。

謝 辞

本研究の一部は文部省科学研究費(60571048, 一般研究 C, S. 60, 61, 62 年度)によって行われた。

References

- Moritoki, H., Hosoki, E. and Ishida, Y. (1986). Age-related decrease in endothelium-dependent dilator response to histamine in rat mesenteric artery. *Europ. J. Pharmacol.* **126**: 61-67.
- Moritoki, H., Tanioka, A., Maeshiba, Y., Iwamoto, T., Ishida, U. and Araki, A. (1988). Age-associated decrease in histamine-induced vasodilatation may be due to reduction of cyclic GMP formation. *Br. J. Pharmacol.* in press.

Influences of endothelium on the contraction of rat aorta by noradrenaline: a comparative study of the response of aorta from spontaneously hypertensive rats.

Research Institute of Hypertension, Research Institute
of Oriental Medicine*, Kinki University

S. Osugi, K. Shimamura, K. Moriyama* and S. Sunano

It has been known that the endothelium modulates contractions by certain contractile stimulants (Vanhoutte *et al.*, 1986). This indicates that endothelium-derived relaxing factor (EDRF) and/or contractile factor (EDCF) would be involved in the contraction by these stimulants. The endothelium and endothelium-dependent relaxation have been known to be impaired in blood vessels of hypertensive rats (Mayhan *et al.*, 1987).

In the present study, the influences of endothelium on contraction by noradrenaline in rat aortae were studied, and those in preparation from stroke prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) and normotensive Wistar Kyoto rats (WKY) were compared.

Material and methods

Male, 15-17 weeks old SHRSP and WKY

were used. Blood pressure of these animals were measured by a tail-cuff method. The ring preparations of the width of 1 mm were made from the thoracic aorta. In a half of the preparations, the endothelium was removed by gently rubbing the intimal surface with soft rubber. The preparations were suspended in 10 ml organ baths containing Tyrode's solution maintained at 37°C and bubbled continuously with a gas mixture of 95% O₂, 5% CO₂. The changes in tension was measured isometrically by a mechanoelectric transducer, and recorded on a thermal-pen writing recorder.

Results and discussion

Mean systolic blood pressures of SHRSP and WKY were 244 ± 2.4 mmHg and 131 ± 2.0 mmHg, respectively ($p < 0.001$). In the first

series of the experiment it was confirmed that the endothelium-dependent relaxation of aorta from SHRSP was impaired. The relaxation was observed by the application of 10^{-5} M acetylcholine to the preparation precontracted by 5×10^{-7} M noradrenaline. The relaxation of endothelium-intact preparation by acetylcholine was significantly smaller in aorta from SHRSP than that from WKY (Fig. 1). The endothelium-rubbed preparations from both WKY and SHRSP showed no relaxing response to acetylcholine. Since it has been known that the endothelium-derived relaxation are mediated by the production of cyclic GMP, the difference in the endothelium-derived relaxation can be brought about either by the difference in the production of EDRF, production of cyclic GMP or the sensitivity to cyclic GMP. In the present experiment it was shown that the relaxation by sodium nitroprusside, which is mediated by the production of cyclic GMP by direct action of the drug on smooth muscle, was identical in WKY and SHRSP prepara-

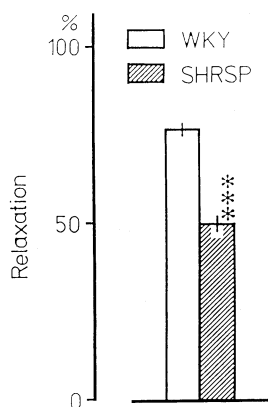


Fig. 1 Endothelium-dependent relaxation in aortae from WKY and SHRSP. The preparations were contracted by 5×10^{-7} M noradrenaline and, at the peak of the contraction, the relaxations were induced by 10^{-5} M acetylcholine. The relaxations were expressed as percentages of the contraction height. *** $p < 0.001$

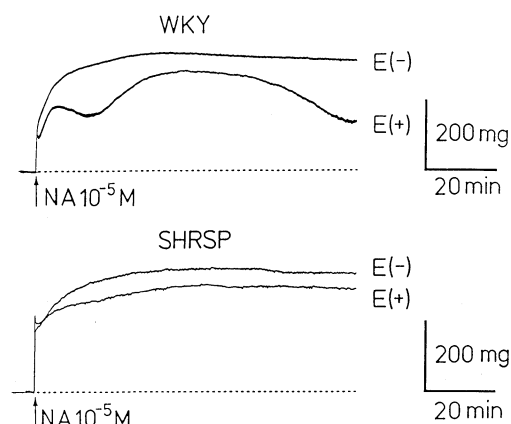


Fig. 2 Contractions by noradrenaline in endothelium-intact and -removed preparations. E(+) and E(-) indicate the preparation with and without endothelium respectively.

tions or rather greater in the latter. The results suggest that the impaired endothelium-dependent relaxation is due to the impairment of endothelium and its release of EDRF.

The basal tone of the preparations was higher in the aorta from SHRSP, especially in endothelium-removed preparation of SHRSP. The preparations from WKY and SHRSP showed different response to noradrenaline. The contraction by noradrenaline was greater in endothelium removed preparation both in WKY and SHRSP aortae. The contraction height was almost same in endothelium-removed preparation from WKY and SHRSP when the basal tone was included. The time course of the contraction by 10^{-5} M noradrenaline was also different in WKY and SHRSP preparations. In WKY preparation with intact endothelium, the contraction was basically composed of two components of contraction and associated with the spontaneous tension oscillations, while endothelium-intact preparation from SHRSP showed monophasic sustained contraction without tension oscillations (Fig. 2). In the endothelium-rubbed preparation, nora-

drenaline induced monophasic sustained contraction both in preparations from WKY and SHRSP and the contraction was always greater than endothelium-intact one. These results indicate that EDRF is involved both in the contraction and tension oscillation induced by noradrenaline and that the influence of endothelium is less in SHRSP aorta due to the impairment of endothelium.

References

- Mayhan, W.G., Faraci, F.M. and Heisted, D.D. (1987). Impairment of endothel-dependent responses of cerebral arterials in chronic hypertension. *Am. J. Physiol.* **253**: H1435-H1440.
- Vanhoutte, P.M., Rubanyi, G.M., Miller, V.M. and Houston, D.S. (1986). Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. Rev. Physiol.* **48**: 307-320.

モルモット大動脈のカリウム, ノルエピネフリンによる収縮反応および ATP 含量に対する代謝阻害の影響

三菱化成生命科学研究所 筋生理
石 田 行 知

モルモット盲腸紐のカリウム(K)による収縮反応は、窒素通気や栄養液から基質(ブドウ糖)を除去するなどの代謝阻害により、顕著に抑制される(Urakawa & Holland, 1964; Ishida, *et al.*, 1984). 一方, ウサギ大動脈では, K 収縮は窒素通気により抑制されにくい, ノルエピネフリン(NE)収縮は抑制されると報告されている(Coburn, *et al.*, 1979). 今回, モルモット大動脈の ATP 含量および収縮反応に対する代謝阻害条件の影響を調べ, 大動脈における収縮反応とエネルギー代謝の関係や細胞内における代謝の局在を知ろうとした.

方 法

モルモット胸大動脈を摘出し, 内皮細胞を除去した. 旋条片を栄養液(37°C)に浸した. 栄養液に 95% O₂, 5% CO₂ を(好氣的条件), または 95% N₂, 5% CO₂ を(低酸素条件, pO₂ < 10 mmHg) 通気した. 収縮反応は等尺性に記録した. 筋の ATP および phosphocreatine (PCr) 含量は luciferase 法により測定した.

結 果

好氣的条件で, K (40 mM) または NE (5 μ M) を投与すると, 大動脈は持続的な張力を発生した. K と NE の張力はそれぞれ約 60 と 70 mN/mm² であった. 筋を低酸素条件にさらすと, K 収縮は約 30% 抑制され, また NE 収縮は 80% 抑制された.

好氣的条件でブドウ糖を除去し, 2-deoxyglucose (10 mM) を投与すると (glucose 除去), K および NE による収縮反応は漸時抑制された. Glucose 除去 1 時間後, K 収縮は対照の約 90% に, 6 時間後には 75% に, また NE 収縮は 1 時間後 80%, 6 時間後 50% に抑制された. さらに, 低酸素条件で glucose 除去すると, K 収縮も NE 収縮もほとんど消失した.

好氣的条件で, 筋の ATP 含量は約 0.6 mM/kg 湿重量, PCr 含量は 0.4 mM/kg であった. K および NE 投与はそれらの含量を変化させなかった. 収縮薬が存在しないとき, 低酸素条件 1 時間処置はそれらの含量に影響をおよぼさなかったが, glucose 除去 1 時間処置により ATP

と PCr 含量は共に約 70% 減少した。

低酸素条件で、K および NE が存在しても ATP 含量は有意な ($p < 0.05$) 変化をしなかったが、PCr 含量は 40~50% 減少した。Glucose 除去下で K または NE を 1 時間処置すると、ATP と PCr 含量は共に約 80% 減少した。

考 察

低酸素条件および glucose 除去は、大動脈の NE による収縮反応を K による反応よりも大きく抑制した。収縮薬の種類の違いによって代謝阻害条件の抑制程度が異なるということは、代謝阻害条件が受容体を介する興奮収縮連関を選択的に抑制する機構が血管平滑筋に存在することが示唆される。

低酸素条件では、収縮薬が存在するとき、筋の PCr 含量は減少したが、ATP 含量には有意な変化はみられなかった。一方、glucose 除去は収縮薬の有無にかかわらず、ATP と PCr 含量を顕著に低下させた。これは、大動脈の ATP や PCr 含量が筋の解糖系活性に大きく依存していることを示唆する。

Glucose 除去下では、ATP や PCr 含量が減少しているのに、低酸素条件よりも収縮抑制度合いが小さいことは、ATP や PCr 含量が収縮反応と無関係に変動し得ることを示す。これらの結果からさらに、大動脈の収縮に要するエネルギーは細胞内に貯蔵された高エネルギーリン酸化合物ではなく、収縮時に必要に応じて合成供給されることが示唆される。すなわち、ATP や PCr は、Lynch & Paul (1985, 1987) が唱え

るように、血管平滑筋細胞内で、少なくとも機能的に、局在化されていると考えられる。また、ATP や PCr が減少していてもかなりの程度の収縮反応が生じることは、血管平滑筋の収縮に必要なとされるエネルギーは他の筋肉よりも小さいことが推測される。

謝 辞

本研究の実験に助力下さった本多弘美氏に衷心より感謝する。

文 献

- Coburn, R.F., Grubb, B. and Aronson, R.D. (1979). Effect of cyanide on oxygen tension dependent mechanical tension in rabbit aorta. *Circ. Res.* **44**: 368-378.
- Ishida, Y., Takagi, K. and Urakawa, N. (1984). Tension maintenance, calcium content and energy production of the taenia of the guinea-pig caecum under hypoxia. *J. Physiol.* **347**: 149-159.
- Lynch, R.M. and Paul, R.J. (1985). Energy metabolism and transduction in smooth muscle. *Experientia* **41**: 970-977.
- Lynch, R.M. and Paul, R.J. (1987). Compartmentation of carbohydrate metabolism in vascular smooth muscle. *Am. J. Physiol.* **252**: C328-C334.
- Urakawa, N. and Holland, W.C. (1964). Ca^{45} uptake and tissue calcium in K-induced phasic and tonic contraction in taenia coli. *Am. J. Physiol.* **207**: 873-876.

腎盂内ホルマリン注入による腎盂の 組織学的変化と尿管活動電位

岩手医科大学医学部 泌尿器科

続 多香子, 船 木 広 英, 清 野 耕 治
新 里 滋, 佐 藤 滋, 菅 一 徳
久 保 隆, 大 堀 勉

緒 言

我々は犬の尿管内にホルマリンを7分間および30分間注入閉塞した時の尿管壁の傷害の程度と、活動電位の変化を観察し(続, 1986; 新里, 1987), 30分間閉塞すると傷害は筋層に及び、活動電位が消失することを報告した。そこで今回は、腎盂内のみにホルマリンを30分間注入閉塞した時の尿管の活動電位の変化を、生理食塩水注入の場合と比較したのでその結果を報告する。

実験方法 (図1)

雑種成犬13頭26尿管を用い、サイアミラールナトリウムによる静脈麻酔下で、経腹膜的に両側尿管を露出した。まず、中部尿管を銀製双極電極にのせて対照時の尿管筋電図を記録した後、尿管バルンカテーテル(Rüsch社製5Fr. 内容量0.5ml)を両側尿管口から腎盂まで挿入し、0.5mlの水でバルンを膨隆させた後、30gの錘で

カテーテルを牽引して腎盂尿管移行部を圧迫した。カテーテル末端には三方活栓を接続し、一方を圧トランスジューサに連結して腎盂内圧測定用とした。三方活栓の残りの一方から実験Aとして生理食塩水を、実験Bとして10%ホルマリン液を1.0ml注入して30分間閉塞状態とした。次に、カテーテルを開放して腎盂内に注入した液体を完全に流出させた後カテーテルを抜去した。カテーテル注入時より抜去時まで連続的に尿管筋電図を記録し、放電頻度を計測した。

実験終了後に腎盂および尿管の組織標本を作成し、光学顕微鏡で観察した。

実験結果

1. 尿管筋電図の推移: カテーテル挿入時には全尿管の5%, 牽引時には全尿管の15%の筋電図が消失した。注入後は実験Aで42%, 実験Bで23%, カテーテル抜去後には実験Aで29%, 実験Bで46%の筋電図が消失し、実験Aでは筋電図再出現例が増加し、実験Bでは消失

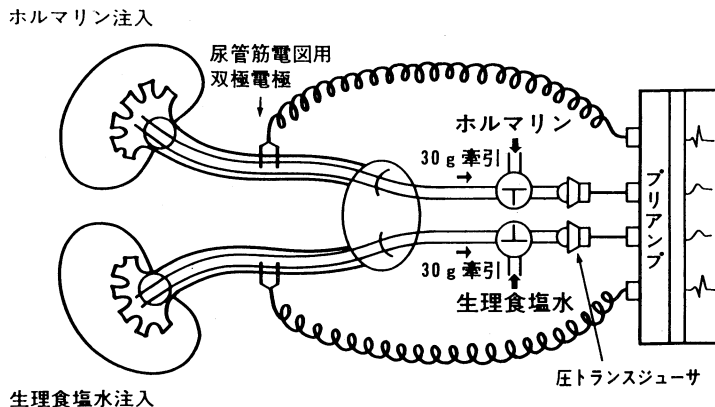


図1. 実験模式図

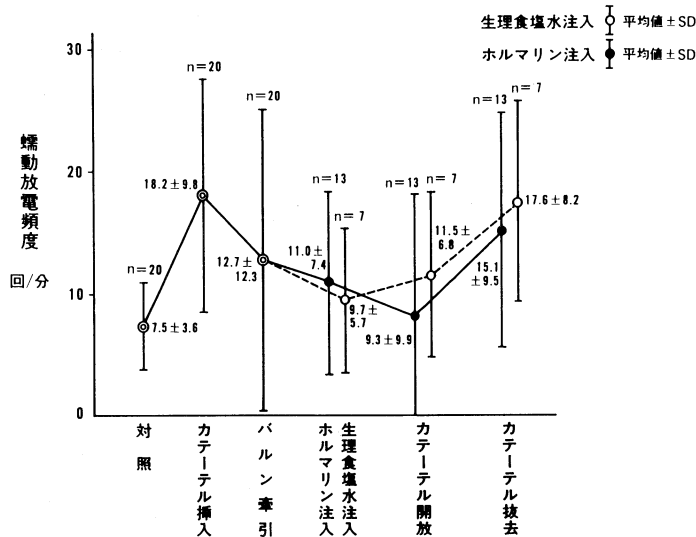


図2. 尿管蠕動放電頻度の推移

例が増加する傾向を認めた。

2. 尿管筋電図の放電頻度(回/分)(図2): 対照時は 7.5 ± 3.6 , カテーテル挿入時は 18.2 ± 9.8 と増加したが, カテーテル牽引時には 12.7 ± 12.3 とやや減少する傾向を示した。実験Aでは, 注入後 9.7 ± 5.7 , カテーテル開放後 11.5 ± 6.8 と著変なく推移し, カテーテル抜去後は 17.6 ± 8.2 と頻発する傾向を認めた。実験Bでは, ホルマリン注入後 11.0 ± 7.4 , カテーテル開放後 9.3 ± 9.9 , カテーテル抜去後 15.1 ± 9.5 であり, 実験Aと有意差なく推移したが, 筋電図の出現様式は不規則になる傾向を認めた。

3. 筋層の組織学的所見: 1) 腎盂—実験Aでは29%に軽度の変化を, 実験Bでは77%に変性を認めた。2) 上部尿管—実験Aでは56%に, 実験Bでは76%に変化を認めた。3) 下部尿管—実験Aでは29%, 実験Bでは69%に変化を認めた。

4. 腎盂筋層の組織所見と尿管筋電図: 腎盂筋層の変性は実験Aでは注入時筋電図消失例の33%, 非消失例の50%に, また, 実験Bでは注入時消失例の75%, 非消失例の80%に認め, 腎盂筋層の変性の程度と筋電図の有無との間には関連を認めなかった。

結 語

腎盂尿管移行部をバルンカテーテルで圧迫した後, 腎盂のみにホルマリンを注入して筋層まで傷害し, 腎盂の興奮を消失させた場合, 活動電位が消失したのは約40%の尿管であり, 残りの60%の尿管では筋電図の出現様式は不規則になるものの放電頻度には変化を認めなかった。また, 腎盂の組織学的変化の程度と筋電図の有無との間には関連を認めなかった。以上の所見は, 尿管には不規則な自發放電があり, 規則性を保つ機構が腎盂腎杯系にあることを示唆するものである。

また, 尿管筋層に変化があっても活動電位が消失しなかったのは, 筋層の変性の原因がホルマリンによる化学的傷害ではなく, カテーテルによる機械的傷害であるためと思われる。

文 献

- 新里 滋ら(1987). 上部尿路機能に関する研究 第29報. 尿管内ホルマリン注入による尿管の組織学的変化と活動電位. 日本平滑筋誌 23: 348-350.
- 続多香子(1986). 上部尿路機能に関する研究 第27報. 急性上部尿路内圧上昇の尿管活動電位に及ぼす影響. 日本平滑筋誌 22: 509-523.

オキシブチニンの下部尿路機能に対する作用

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

西 沢 理, 菅 谷 公 男, 小 浜 丈 夫
 鈴 木 隆 志, 松 崎 章, 福 田 孝
 能 登 宏 光, 原 田 忠, 土 田 正 義

膀胱の過活動性状態時に生じる頻尿などの症状に対しては、まず薬物療法が試みられることが多く、抗ムスカリン剤、平滑筋弛緩剤、ベーター刺激剤、カルシウム拮抗剤などが用いられている。最近、抗ムスカリン、平滑筋弛緩、局所麻酔などの作用を有するオキシブチニンが過活動性膀胱に対して優れた成績を示すことが報告されているが (Kawabe, *et al.*, 1986, Gajewski and Awad, 1986), ウロダイナミックパラメーターへ及ぼす影響に対する厳密な検討を含めた報告は少ないようである。今回、私たちは除脳イヌを対象とした *in-vivo* 実験により本剤の下部尿路機能に対する効果について、ウロダイナミックパラメーターへ及ぼす変動を中心として検討したので報告する。

対象および方法

対象は体重 3~5 kg 前後の雑種犬 7 頭を使用した。実験方法のおおよそは既報 (Nishizawa, *et al.*, 1984) に準じて行った。Thiamylal sodium (15-20 mg/kg) の腹腔内投与により麻酔を導入し、前腕皮静脈にカテーテルを挿入してオキシブチニンの投与路を作成した。次に下腹部正中切開を行い、膀胱頂部より 2 腔カテーテルを膀胱内に挿入し、一方の経路から内圧を測定し、他方からは生理的食塩水を注入できるようにした。筋電図を導出するために 2 本のワイヤー電極を尿道壁内に刺入した。続いて、手術創を閉鎖して体位を腹臥位に変換して、上丘の高さで除脳を行った。頭部を脳固定装置に固定し、体幹は胸椎棘突起および腸骨で固定した。

コントロール時とオキシブチニン投与後に膀胱内に生理的食塩水を注入して、膀胱内圧と尿道括約筋筋電図とを記録し、下部尿路機能に關

する検討を行った (図 1)。オキシブチニンの投与は one shot 静注で行い、投与量は 30, 100, 300 $\mu\text{g/kg}$ の三段階とした。コントロール時と各投与量投与後 3-5 分より膀胱内注入を開始し、それぞれ、1 回、合計で 4 回の排尿サイクルを惹起した。

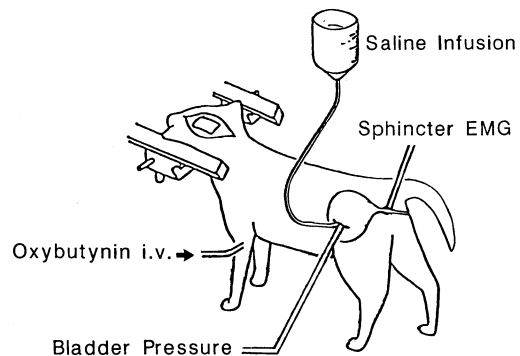


図 1. 実験方法模式図

成績および考案

対象とした 7 頭全例においてコントロール時、オキシブチニン投与後のいずれにおいても膀胱収縮とそれと協調する尿道括約筋の活動が生じ、反射性排尿が認められた。ウロダイナミックパラメーターの変動をみると、蓄尿時のパラメーターでは膀胱容量が 30, 100, 300 $\mu\text{g/kg}$ 投与後のいずれにおいても増加した。排出時のパラメーターでは最大膀胱内圧のみに 300 $\mu\text{g/kg}$ 投与後に有意の減少が認められた (表 1)。本実験成績からは作用機序としてこの薬剤が有する平滑筋弛緩、抗ムスカリン、局所麻酔作用の働き方の程度については決定的なことは言えない。しかし、コリンナージック作用がおもに作用していると思われる排尿時におけるパラメー

表 1. オキシブチニンの排尿動態パラメータへ及ぼす作用

	膀胱容量	閾値圧	最大膀胱内圧	排尿量	排尿時間	残尿量
	ml	cmH ₂ O	cmH ₂ O	ml	sec	ml
コントロール	15.3±15.5	20.3±6.5	37.7±7.3	13.8± 6.4	10.3±3.6	1.4± 2.8
30 µg/kg	18.0±15.7*	21.4±5.9	37.7±8.8	14.4±15.2	10.3±1.8	3.6± 3.4
100 µg/kg	19.3±17.3*	21.7±7.6	35.4±8.0	11.4± 9.8	10.7±3.1	8.1±10.4
300 µg/kg	20.6±18.3*	21.7±7.2	34.0±7.1*	10.4± 8.4	11.7±5.7	8.1±10.4

*: P<0.05. n=7, Mean±SD

ターへ対して本剤が与えた影響をみると、最大膀胱内圧が 300 µg/kg 投与後のみにおいて有意の減少を示したことから、その影響は小さかったものと判断された。したがって、本実験で示した本剤の抗ムスカリン作用の強さはこれまでの in-vitro 膀胱平滑筋筋条片を用いた基礎的検討 (Fredericks, *et al.*, 1975, Fredericks, 1978)と同様で、平滑筋弛緩作用と比較すれば、弱いものと考えられた。蓄尿時のパラメーターへの影響をみると、膀胱容量がオキシブチニン 30, 100, 300 µg/kg 投与後のいずれにおいても増加しており、排出時のパラメーターに対するよりも、効果が明らかに認められている。これは、蓄尿時と排出時とはコリナージック作用の関与する程度が異なることによるものであり、抗ムスカリン作用が弱くても、平滑筋弛緩作用と局所麻酔作用とが働いた結果によるものと思われた。

以上からオキシブチニンは膀胱活動に対する抑制作用を明らかに有しており、過活動性膀胱症例に対して有用であると考えられた。

文 献

- Fredericks, C.M., Anderson, G.F. and Krelulen, D.L. (1975). A study of the anticholinergic and antispasmodic activity of oxybutynin (Ditropan) on rabbit detrusor. *Invest. Urol.* **12**: 317-319.
- Fredericks, C.M. (1978). Comparative in vitro effects of imipramine, oxybutynin and flavoxate on rabbit detrusor. *Urology* **12**: 487-491.
- Gajewski, J.B. and Awad, S.A. (1986). Oxybutynin versus propantheline in patients with multiple sclerosis and detrusor hyperreflexia. *J. Urol.* **135**: 966-968.
- Kawabe, K., Abe, S., Kanda, T. and Tei, K. (1986). Clinical reevaluation of the effect of oxybutynin on uninhibited neurogenic and reflex micturition. *Urol. Int.* **41**: 16-20.
- Nishizawa, O., Satoh, S., Harada, T., Nakamura, H., Fukuda, T., Tsukada, T. and Tsuchida, S. (1984). Role of the pudendal nerves on the dynamics of micturition in the dog evaluated by pressure flow EMG and pressure flow plots studies. *J. Urol.* **132**: 1036-1039.

下部尿路平滑筋に対する VIP の作用

秋田大学医学部 泌尿器科

堂 北 忍, 森 田 隆, 平 野 繁

近 藤 俊, 土 田 正 義

緒 言

Vasoactive intestinal polypeptide(以下 VIP と略す) は, non-cholinergic, non-adrenergic neurotransmitter のうちで最も有力視されている物質のひとつである。

今回私達は, 下部尿路平滑筋に対する VIP の作用を検討したので報告する。

実験方法

VIP を投与した時の筋張力の変化は, 以下のように測定した。体重 2-3 kg の白色家兎を脱血屠殺し, 膀胱と尿道を摘出した。膀胱体部および底部から長さ 10 mm, 幅 3 mm の筋切片を切り出し, 尿道から輪状の筋切片を切り出した。切り出した筋切片は, Krebs-Ringer 液を満たした恒温槽中に懸垂し, 1 g の初期張力を与えた

後, VIP を投与し等長性収縮張力変化を測定した。

VIP 投与後の平滑筋細胞内 cyclic AMP 含有量の測定は, まず膀胱体部, 底部, 尿道から約 100 mg の筋切片を切りだした。Krebs-Ringer 液を満たした恒温槽中で, isobutyl-methyl-xanthine 投与下に incubation した後, VIP を加え, 所定の時間に筋切片を切り出し, 液体窒素で凍結した。このように処理した筋切片を homogenization した後, trichloacetic acid 法で cyclic AMP を抽出した。Cyclic AMP の測定は, Amersham cyclic AMP assay Kit を用い, radioimmuno assay 法によって, 細胞内 cyclic AMP 含有量を測定した。

結 果

図 1 に VIP を 0.1 nM から 0.1 μ M まで投与

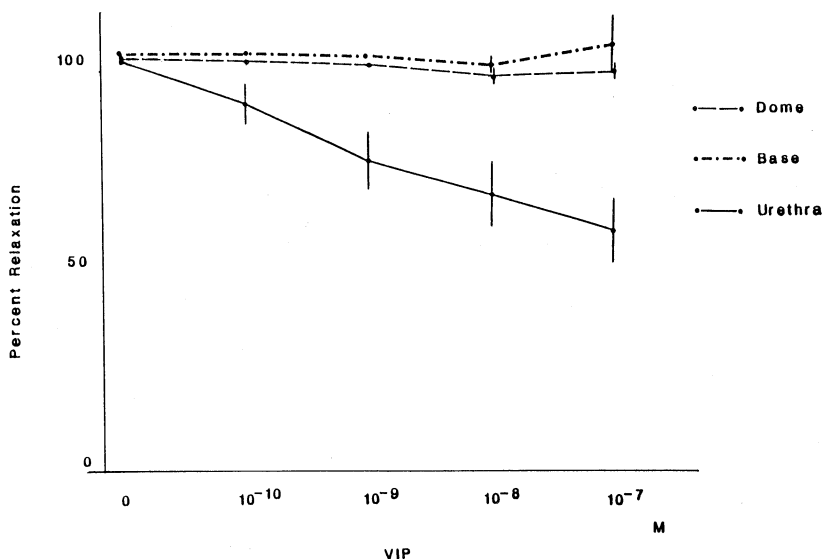


図 1. 膀胱体部 (Dome), 膀胱底部 (Base), 尿道 (Urethra) に VIP を 0.1 nM から 0.1 μ M まで投与した時の収縮張力の変化。Mean \pm S.E., n=4).

した時の膀胱体部, 膀胱底部, 尿道平滑筋の収縮張力の変化を, 投与前を100%として% relaxationで表した. 膀胱体部と底部平滑筋いずれにおいても0.1 nMから0.1 μ Mまでの範囲内で, 収縮張力の変化は認められなかった. 尿道平滑筋は, VIPを0.1 nMから0.1 μ Mまで投与した時, 濃度依存性に収縮張力が低下した.

VIP 0.1 μ Mを投与し, 3分, 5分, 10分後に, 膀胱体部, 膀胱底部平滑筋細胞内cyclic AMP含有量の変化をVIP投与前を100%として表した(図2). VIP 0.1 μ M投与した時, 膀胱体部と底部平滑筋のいずれも, 3分, 5分, 10分後の細胞内cyclic AMP含量の有意な上昇は認められなかった. 尿道平滑筋にVIP 0.1 μ Mを投与し, 5分後に, 細胞内cyclic AMP含量を測定したが, cyclic AMP含量の上昇は認められなかった.

考 察

下部尿路平滑筋および膀胱からの primary

afferent nerveや脊髄内にVIPの存在が証明されている. これまでの報告をみると, VIPは膀胱, 尿道を弛緩させるという報告(Levinら, 1981)や, VIPは膀胱および尿道の収縮作用には影響を及ぼさないとする報告(Finkbeiner, 1983)などがみられ, 意見の一致をみない. 今回の私達の実験結果では, VIPは尿道を弛緩させたが, 膀胱体部と底部には収縮作用に影響を及ぼさなかった. VIPの分布については尿道に最も多く分布し, 膀胱底部がこれに次ぎ, 膀胱体部に最も少なく分布していると報告されている(Larsenら, 1981)が, 私達の結果で尿道のみが弛緩したことは, この報告と関連があると思われた. 一方, 膀胱からの primary afferent pathwayに豊富にVIPが含まれているという報告(de Groatら, 1985)もあり, 私達の結果で膀胱平滑筋の収縮がVIPによって影響を受けなかったことと併せて考えるとVIPは主として afferent neurotransmitterとして関与しているとも考えられた.

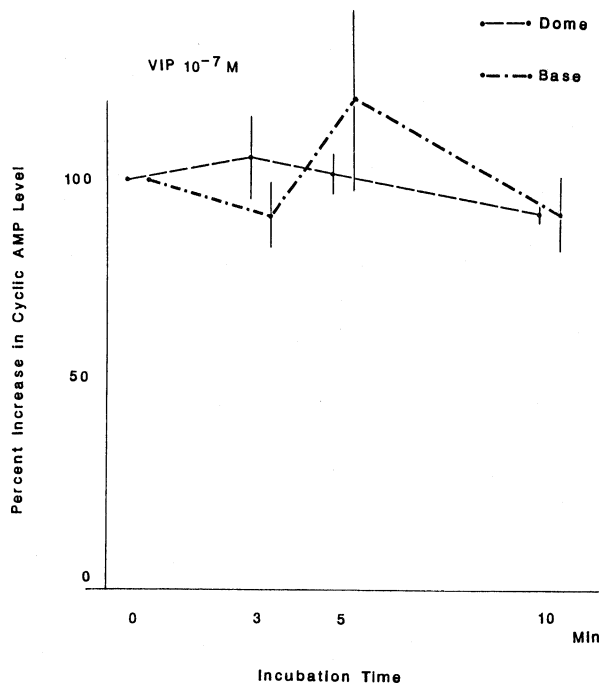


図2. 膀胱体部(Dome), 膀胱底部(Base)にVIPを0.1 μ M投与した時の平滑筋細胞内cyclic AMP含量の時間的变化.
(Mean \pm S.E., n=4).

VIPは上頸神経節では細胞内 cyclic AMP を介して働くという報告がある (Volle ら, 1982) が, 今回の私達の結果では, 尿道の弛緩作用が cyclic AMP を介して働くことは証明されず, 尿道の VIP を介する弛緩作用がどのようなメカニズムで起こるのかは今後の検討が必要と思われる。

文 献

- de Groat, W.C. and Kawatani, M. (1985). Neural control of the urinary bladder: possible relationship between peptidergic inhibitory mechanisms and detrusor instability. *Neurourology and Urodynamics* 4: 285-300.
- Finkbeiner, A.E. (1983). In vitro effects of vasoactive intestinal polypeptide on guinea pig urinary bladder. *Urology* 22: 275-277.
- Larsen, J.J., Ottesen, B., Fahrenkrug, J. and Fahrenkrug, L. (1981). Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the male genitourinary tract. Concentration and motor effect. *J. Urol.* 19: 211-213.
- Levin, R.M. and Wein, A.J. (1981). Effect of vasoactive intestinal peptide on the contractility of the rabbit urinary bladder. *Urol. Res.* 9: 217-218.
- Volle, R.L. and Patterson, B.A. (1982). Regulation of cyclic AMP accumulation in a rat sympathetic ganglion: effects of vasoactive intestinal polypeptide. *J. Neurochem.* 39: 1195-1197.

膀胱平滑筋 Chemically Skinned Fiber の 特性と閉塞膀胱における変化

福島県立医科大学 泌尿器科

山 口 脩, 金 谷 昇二郎, 野 口 雅 継
深 谷 保 男, 白 岩 康 夫

膀胱平滑筋の細胞内収縮機構は, 腸管や血管平滑筋と比較すると, まだ検討が十分されていない。今回はサポニン処理 (Saida and Nonomura, 1978) による skinned fiber を用いて, MgATP, Mg^{2+} の影響を調べるとともに, 閉塞膀胱における Ca^{2+} の感受性も検討したので報告する。

対象および方法

日本白色ウサギから摘出した膀胱を実体顕微鏡で観察し, 幅 0.3 mm, 長さ 4.0 mm の筋切片を筋束に沿って切り出した。この筋切片を organ bath 中につるし, 張力を等尺性に記録した。はじめに酸素化した Locke 液中で, K 拘縮と carbachol 収縮を観察したのち, organ bath 溶液を 0.1 mg/ml のサポニンを含む弛緩液 (130 mM KCl, 20 mM Tris-maleate, 5 mM

$MgCl_2$, 3mM ATP, 4 mM EGTA, pH 6.8, 20°C) に交換し, 30-40 分間の処理で skinned fiber を作製した。 Ca^{2+} を含む収縮液は, 2 mM EGTA に種々の濃度の $CaCl_2$ を組み合わせて調整した。なお, 5羽のウサギには手術により尿道不完全閉塞を作製し, 3週目の閉塞膀胱を実験に使用した。

結果および考察

サポニン処理によって得られた膀胱平滑筋 skinned fiber は, 5×10^{-7} M の Ca^{2+} で張力発生が起こり, Ca^{2+} の濃度を増すごとに発生張力も増大し, 10^{-5} M で最大となった (図 1)。サポニン処理前の intact な筋切片では, これらの Ca^{2+} 濃度に対し張力発生を認めなかった。また, skinned fiber に高濃度 K 溶液や carbachol (10 μ M) を投与しても, 生筋で記録された K 拘

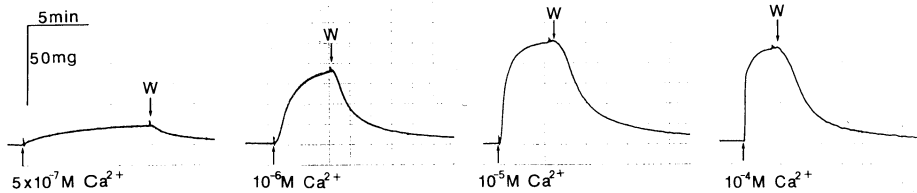


図1. 膀胱平滑筋 skinned fiber の Ca^{2+} に対する収縮反応. W は、弛緩液による洗浄を示す.

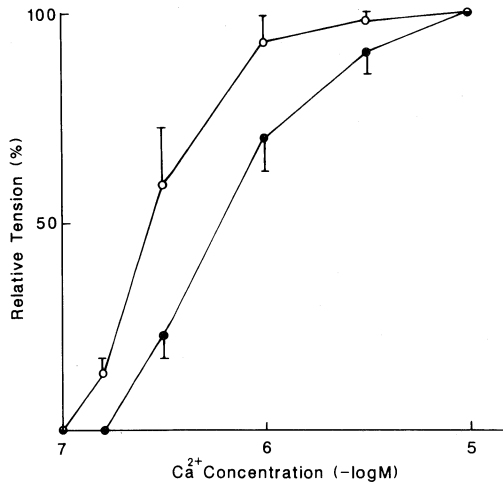


図2. Skinned fiber の pCa-張力曲線.
●は正常膀胱, ○は閉塞膀胱を表わす.

縮や carbachol 収縮はほとんど起こらず、まれに出現しても生筋の場合の 7% 以下であった。したがって今回使用した大きさの筋切片では、30 分から 40 分間のサポニン処理で、細胞膜が関与しない skinned fiber を作製することができた。

膀胱平滑筋 skinned fiber の pCa-張力曲線は、 MgATP の濃度を 7 mM に増加させると、 Ca^{2+} の低濃度側に偏位した。また、 Ca^{2+} を含ま

ない弛緩液中でも、 Mg^{2+} の濃度を 6-8 mM まで増加させると、緩徐な張力発生が記録された。これらの所見は、盲腸紐や血管平滑筋で報告されている skinned fiber の一般的性質とほぼ一致する (Saida and Nonomura, 1978; Gordon, 1978)。

閉塞膀胱では skinned fiber の Ca^{2+} に対する感受性が高まり、 $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ で張力発生がはじまり、各濃度における張力は正常膀胱の skinned fiber より有意の増加を示した(図2)。すなわち尿道閉塞は、skinned fiber の pCa-張力曲線を左方へ偏位させることが明らかとなった。この現象から、閉塞膀胱では収縮蛋白の相互反応を増強するような何らかの変化が起きていることも推定されるが、閉塞膀胱の細胞膜安定性の問題などがあり、今後種々の角度から十分検討する必要がある。

文 献

- Gordon, A.R. (1978). Contraction of detergent-treated smooth muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**: 3527.
- Saida, K. and Nonomura, Y. (1978). Characteristics of Ca^{2+} - and Mg^{2+} -induced tension development in chemically skinned smooth muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* **72**: 1-14.

イヌ膀胱平滑筋の収縮抑制と細胞内 cyclic AMP 生産における β -adrenoceptor subtype の役割

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

平野 繁, 森田 隆, 西本 正
堂北 忍, 近藤 俊, 塙 篤美
土田 正美

緒 言

イヌやウサギ膀胱には多くの β -adrenoceptor が存在し, 膀胱平滑筋に β -agonist を投与すると弛緩することが知られているが (Levin, *et al.*, 1979), その subtype についての詳細な報告はない. そこで私達は, イヌ膀胱平滑筋に β_1 , β_2 -agonist を投与して平滑筋細胞内で産生される second messenger である cyclic AMP の組織内含量を測定し, 同時に膀胱平滑筋の収縮張力を調べることによって, 膀胱平滑筋の β -adrenoceptor subtype の分布を検討した.

実験対象および方法

(I) 雌雑種成犬を用い, pancuronium bromide を静注して膀胱を摘出した. Muscle strip を膀胱の体部および三角部から切り出し, Krebs Ringer 液を満たした恒温液槽に固定した. 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M の dl-isoproterenol (Iso, β), dobutamine hydrochloride (Dob, β_1), terbutaline sulfate (Ter, β_2) を濃度累積的に投与し, 収縮張力の変化を測定した.

(II) (I) と同様に Muscle strip を膀胱の体部および三角部から切り出し, 37.0°C , Krebs Ringer 液を満たした恒温液槽に固定し, 10^{-6} ~ 10^{-4} M の濃度の Iso, Dob, Ter を 1 分, 3 分, 5 分, 10 分間反応させ, 平滑筋細胞内 cyclic AMP 含有量の測定をした. Cyclic AMP の抽出には 6% trichloroacetic acid (TCA) 法を用いた.

結 果

Iso, Dob, Ter (10^{-8} ~ 10^{-4} M) は, 膀胱体部および, 三角部平滑筋の自発収縮および基礎張力を濃度依存的に抑制した. 抑制反応を膀胱体部と三角部と比較すると, 各薬剤とも濃度全域にわたって体部と三角部で有意差はみられなかった (図 1). Iso, Dob, Ter (10^{-6} ~ 10^{-4} M) 投与時の細胞内 cyclic AMP 含有量は, 膀胱体部および三角部平滑筋において各薬剤とも濃度依存的に上昇した. この時の cyclic AMP 濃度の上昇率を膀胱体部と三角部において比較すると, 有意な差はみられなかった (図 2). 膀胱体部と三角部平滑筋の cyclic AMP 含有量をそれぞれの薬剤間で比較したが, 有意差は認められなかった.

考 案

一般に平滑筋における β -adrenoceptor を介する弛緩反応には, β_2 -subtype が関与すると言われている (Barnes, *et al.*, 1983) が, 最近, guinea-pig の回腸や, イヌ冠状動脈の β -adrenoceptor を介する弛緩作用には β_1 -subtype が関与しているという報告 (O'Donnel, *et al.*, 1985; Grassby, *et al.*, 1984) や, ネコや guinea-pig の気管においては β_1 , β_2 両方の subtype が関与している (Zaagsma, *et al.*, 1984) という報告がある. 膀胱平滑筋において, β -adrenoceptor を介する弛緩反応に β_1 , β_2 いずれの subtype が関与するのか, これまではっきりと知られていなかった. 本実験から, イヌ膀胱平滑筋における α -adrenoceptor を介する弛緩反応は, 体部においても三角部においても

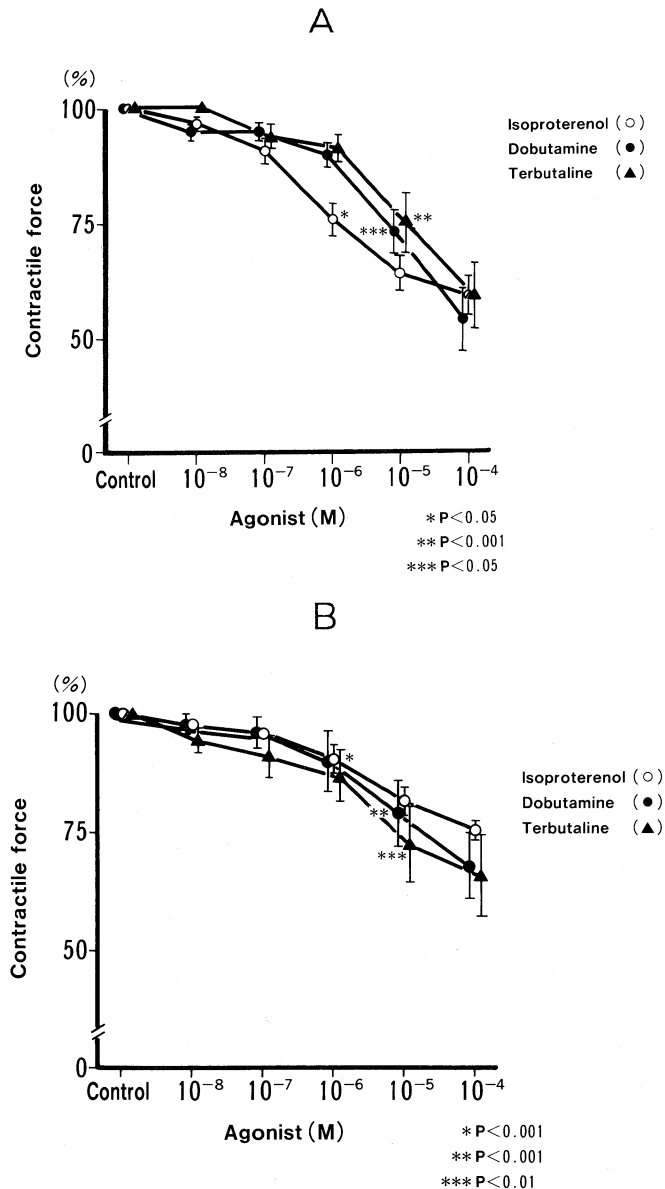


図1. A: Isoproterenol (○), dobutamine (●), terbutaline (▲) 投与時のイヌ膀胱体部平滑筋収縮張力の変化. (mean \pm S.E., $n=5$). B: Isoportoenol (○), dobutamine (●), terbutaline (▲) 投与時のイヌ膀胱三角部平滑筋収縮張力の変化. (mean \pm S.E., $n=5$).

β_1 , β_2 両方の subtype が関与し, それらの β_1 , β_2 両方を介する反応は, いずれも細胞内 cyclic AMP 含有量の上昇によって起こることが明らかになった. イヌ膀胱平滑筋の β -receptor において β_1 , β_2 いずれの subtype が優位かについては, dobutamine (Dob, β_1) と terbutaline (Ter, β_2) によって生ずる弛緩反応が, 膀胱体部

平滑筋, 三角部平滑筋の間で有意差がなかったことや, 膀胱体部と三角部平滑筋において, dobutamine (β_1) および terbutaline (β_2) の惹起する cyclic AMP の上昇に有意差がみられなかったことから, イヌ膀胱体部および三角部平滑筋においては, β_1 , β_2 の両方の β -adrenoceptor subtype が同程度に存在していることが

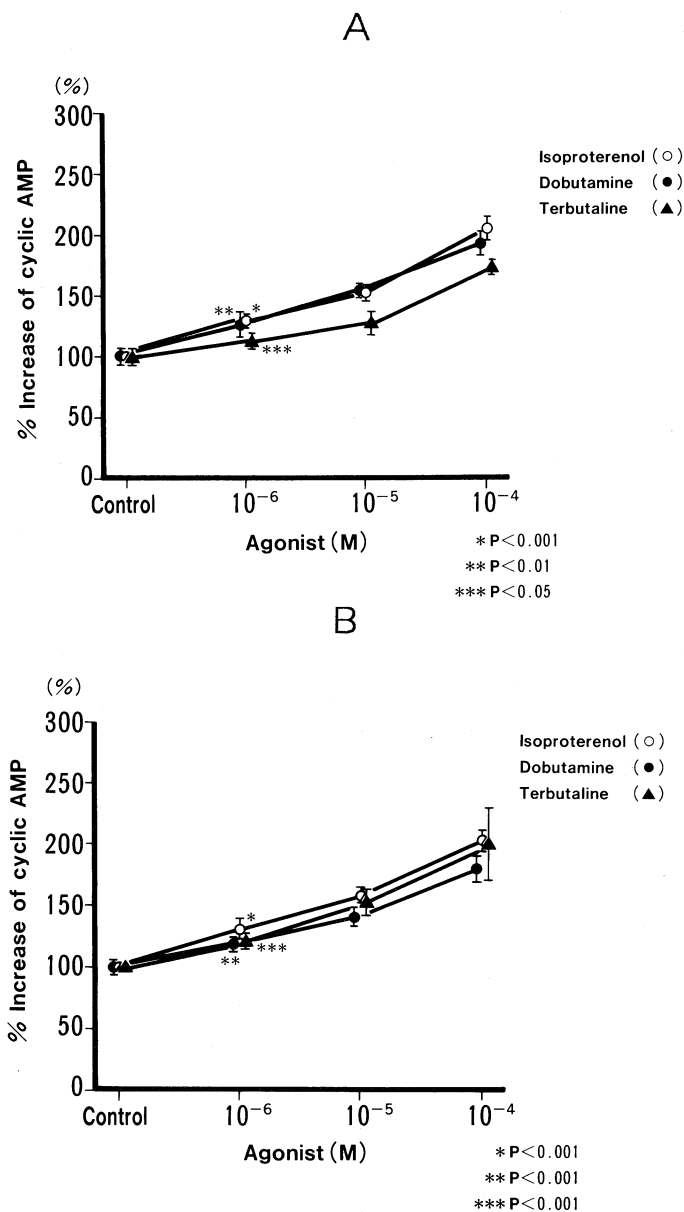


図2. A: Isoproterenol (○), dobutamine (●), terbutaline (▲) 10^{-6} ~ 10^{-4} M 投与時のイヌ膀胱体部平滑筋 cyclic AMP 含有量の変化. (mean \pm S.E., $n=10$). B: Isoproterenol (○), dobutamine (●), terbutaline (▲) 0^{-6} ~ 10^{-4} M 投与時の膀胱三角部平滑筋 cyclic AMP 含有量の変化. (mean \pm S.E., $n=10$). 投与前の (control) の cyclic AMP 含有量を 100% として表わした.

推察された.

文 献

Barnes, P.J., Nadel, J.A., Skoogh, B.E. and Roberts, J.M. (1983). Characterization of beta

adrenergic subtypes in canine airway smooth muscle by radioligand binding and physiological responses. J. Pharmacol. Exp. Ther. **225**: 456-461.

Grassby, P.F. and Broadley, K.J. (1984). Charac-

- terization of beta-adrenoceptors mediating relaxation of the guinea-pig ileum. *J. Pharm. Pharmac.* **36**: 602-607.
- Levin, R.M. and Wein, A.J. (1979). Quantitative analysis of alpha and beta adrenergic receptor densities in the lower urinary tract of the dog and the rabbit. *Invest. Urol.* **17**: 75-77, 1979.
- O'Donnel, S.R. and Wanstall, J.C. (1985). Response to the beta-2 selective agonist procaterol of vascular and atrial preparations with different functional beta-adrenoceptor populations. *Br. J. Pharmac.* **84**: 227-235.
- Zaagsma, J., van der Heiden, P.J., van der Schaa, M.W. and Bank, C.M. (1984). Differentiation of functional adrenoceptors in human and guinea pig airways. *Eur. J. Respir. Dis. Supp.* **135**: 16-33.