

教育講演

Neurogastroenterology — その由来と展望

群馬大学・名誉教授

伊藤 漸

消化器病学が science の一分野としての地位を確立したのは胃酸分泌の機序解明が進み、ガストリンやヒスタミン等の体液性調節因子が機能的にも形態学的にも物質として同定されてからである。かつてのPavlovを頂点とするNervism 全盛時代は Bayliss とStarlingによるセクレチンの発見によりホルモン全盛時代へと方向転換がなされた。数々の消化管ホルモンが登場し脳内にも同様の活性ペプチドの存在が確かめられると、それらはbrain-gut regulatory peptidesとして包括され一つの調節系を形成したかに見えたが、セロトニンやヒスタミンと言った非ペプチド性調節物質の存在は消化器の調節機構を画一的に統合しようという試みに矛盾を来し、他方神経性調節との整合性の点で混乱を来してきた感があった。しかしその後のさまざまな研究結果から、機能調節因子を単に情報を伝達する物質として捉えるならば生体機能の調節機構、特に消化器の機能調節は新しい概念に基づいて再構築さるべき時にさしかかったと言えよう。元来消化管の機能は外来神経系の他に消化管特有の独立した腸管神経系による調節が知られており、前述の矛盾や混乱も各分野での研究の進展の結果、調節の主体はやはり外来性及び内在性の神経系であって、消化管ホルモン等の体液性調節因子は神経性回路網の一因子とする新しい概念、すなわちNeo-Nervismとも称すべき考え方が誕生してきた。事実こうした新しく再構築された概念に基づく消化管機能の解釈は基礎研究でも臨床上の諸問題の解決にも有効な方向性を示している。例えば胆嚢の収縮はホルモンとしてのCCKで説明されてきたが、このCCKによる調節はCCK細胞を感覚性細胞とし、最終の情報伝達はAChによる神経回路網であり、モチリンの場合も同様である。一方、臨床的にはNUD(或いはfunctional dyspepsia)やIBSの病態解明は現在未解決であるが、こうした新しい概念に基づく研究こそが将来を展望出来る重要な手段となる。中でも重要なのは外来性・内在性を問わず求心性神経に関する研究であり、遠心性神経では促進系と抑制系の両面からの理解である。しかしそうした要望に応えうる方法、特に臨床研究での検査法は殆ど皆無であると言って良い状態である。今後はこうした観点に基づいた研究が未解決の諸問題に解決の糸口を与えることは確実であり、現在不足している方法論の確立こそがNeo-NervismとしてのNeurogastroenterologyにとって焦眉の急といえよう。

消化管機能と神経制御

東北大学医学部附属病院総合診療部

本郷道夫

消化管運動平滑筋の収縮と弛緩は、相性 (phasic) な運動と緊張性 (tonic) 運動とに大別される。消化管各部位は内容物を消化・吸収、および排泄のために混和・攪拌し、適切な部位へ貯蔵あるいは移送を行い、また各分節間の逆行性移動を防ぐなど、多彩な機能を有する。このような機能のための収縮/弛緩の運動は基本にはアクチンとミオシンの重合によって起こるが、協調運動のためには、神経性、液性因子の関与が重要である。消化管運動機能障害の面からみると、機能障害は平滑筋自体の障害 (myogenic) と神経機序の障害 (neurogenic) とにわけて考えられる。

消化管運動機能の観察にはさまざまな方法があるが、すべての要素を同時に観察することは困難である。従来の消化管運動の研究は相性収縮運動と内容物移動状況の観察にその焦点があてられ、様々な知識が集積されてきた。しかし、胃排出遅延を示す病態を例にとってみると、逆流性食道炎、機能性胃腸症 (functional dyspepsia)、糖尿病性ガストロパレーシスは、いずれも高頻度に胃排出遅延を示すものの、臨床症状あるいは臨床所見はそれぞれに異なる。したがって、胃排出遅延として表現される臨床所見は様々な背景を有することが推測される。また一方で、機能性胃腸症では必ずしも全ての症例で胃排出遅延を認めるとは限らないことが指摘されている。最近、消化管内臓知覚過敏とされるものの中には、知覚神経の機能異常ではなく消化管壁コンプライアンスの異常のために起こることが明らかにされつつある。したがって、このような病態の解明には緊張性弛緩に関する検討が必要になってくるであろう。

消化管平滑筋の収縮/弛緩は最終的にはアクチンとミオシンの反応によって規定されるものの、消化管運動機能障害はアクチン/ミオシンの異常よりも全体の協調運動を制御する機構の異常が大きく関与することになる。壁内神経叢やカハールの間質細胞などの壁在性神経系、迷走神経や交感神経などの外来性神経、そして液性因子の面を含めた消化管運動の検討が、今後の大きな課題となろう。その中でも、緊張性運動に関わる研究は、今だ適切な検討方法が確立されていない分野であり、今後の発展が望まれる。

特別講演 2

消化管における *c-kit* 遺伝子の分子病理学

大阪大学病理

廣 田 誠 一

c-kit 遺伝子は受容体型チロシンキナーゼ (KIT レセプター) をコードしており、そのリガンドは Stem cell factor (SCF) である。*c-kit* 遺伝子は、ネコの線維肉腫の原因癌遺伝子 *v-kit* の正常ホモログとしてクローニングされた。KIT レセプターは免疫グロブリンの細胞外領域に似た 5 個の繰り返し構造を持つ細胞外領域、細胞膜貫通領域、傍細胞膜領域と介在部により 2 つに分けられるチロシンキナーゼ領域から構成されている。正常の KIT レセプターは、SCF と結合して二量体を形成することにより活性化され、様々な細胞内シグナル伝達経路を介して特定の細胞の増殖や分化を誘導する。

1. 消化管における *c-kit* 遺伝子の機能喪失性突然変異の影響

KIT レセプターはマウスの第 5 染色体上の *W* 遺伝子座にコードされている。*W* 遺伝子座に機能喪失性突然変異を持つマウスを用いた研究から、メラノサイト・赤芽球・生殖細胞・マスト細胞の分化・増殖には KIT レセプターが必須であることがわかっていたが、1992 年にカハールの介在細胞 (Interstitial cells of Cajal; ICCs) にも KIT レセプターが発現していることが示された。我々はチロシンキナーゼ領域の突然変異により KIT レセプターの機能が喪失したラット (*Ws* ラット) を用いて、ICCs の分布と消化管運動の関係を調べた。*Ws/Ws* ラットの胃筋層内には KIT レセプター発現細胞は全く認められず、小腸の筋間神経叢でも著明に減少していた。また、幽門輪の機能異常に伴う胃内への著明な胆汁逆流と小腸の自発的収縮弛緩運動の障害がみられた。このことは、ICCs の分化・増殖にも KIT レセプターが必須であり、ICCs の欠損は消化管運動異常を起こすことを示したものである。

2. 消化管における *c-kit* 遺伝子の機能獲得性突然変異の影響

マスト細胞と ICCs は共に分化・増殖に KIT レセプターを必須としており、マスト細胞では *c-kit* 遺伝子の機能獲得性突然変異によるマスト細胞性腫瘍があることがわかっていた。そこで ICCs にも *c-kit* 遺伝子の機能獲得性突然変異による腫瘍発生があるのではないかと考えた。神経・平滑筋への明瞭な分化を示さずに起源不明とされていた Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) が ICCs の腫瘍である可能性を考え、KIT レセプターの免疫染色を行った。その結果、94% (46 例/49 例) に陽性像が得られ、6 例の GISTs のうち 5 例に傍細胞膜領域の欠失または点突然変異が認められた。これらの変異を 293T 細胞に導入すると、変異型 KIT レセプターは SCF による刺激なしでも恒常的に活性化しており、Ba/F3 細胞に導入すると、細胞は自律的に増殖するようになりヌードマウスに腫瘍を形成した。

我々は GISTs が多発した 60 才の女性例を経験した。この家系を詳しく調べると、この女性の甥と姪も多発性 GISTs により手術を受けていることがわかった。多発性 GISTs の患者では、腫瘍組織の DNA のみならず、末梢白血球の DNA にも *c-kit* 遺伝子の傍細胞膜領域に機能獲得性の突然変異がみられた。もう一つの GISTs 多発家系をみつけ、同様に *c-kit* 遺伝子の傍細胞膜領域に突然変異が存在することを示したが、多発性 GISTs の患者では、正常に見える小腸組織の筋間神経叢に ICCs の過形成と考えられる KIT レセプター陽性の紡錘状細胞の増殖も認められた。これらの事実は germline における *c-kit* 遺伝子の機能獲得性突然変異が、家族性に ICCs の過形成を起こし、これを前駆病変として多発性 GISTs が発生することを示したものである。

¹³C-Acetate Breath Test for the Measurement of Gastric Emptying

Y. Ghoo

KU Leuven, UZ Gasthuisberg
Gastrointestinal Pathophysiology
B - 3000 Leuven, Belgium

The gastric emptying of solid, liquid or semisolid meal differs greatly. Solids are predominately stored in the fundus. The distribution of liquids is more homogeneous in the whole stomach and the emptying process is most affected by volume and gravity. [¹³C]acetate is the substrate that has been used to measure gastric emptying of liquids by means of ¹³CO₂ breath test. The molecule is poorly absorbed in the stomach, rapidly absorbed in the small intestine and quickly oxidized.

The lecture will consist of four parts. **Part one**, Generalities about [¹³C]acetate test, i.e. test meal (liquid and semisolid) and test protocol, problems in evaluation of CO₂ production, measurement facilities, reproducibility, sensitivity and specificity, occurrence of lag phase, mathematical calculations and parameters of evaluation (time of ¹³CO₂ peak excretion and half emptying time), discussion on simplification of test procedures. **Part two**, Presentation of test applications, i.e. in children, in normal adults following position during test execution, effects of exercise, influence of endogenous NO production, in pathological conditions as diabetes, *Helicobacter pylori* infection, permeability in relation to altered motility, patients with dyspepsia (effect of cisapride), in HIV infected patients...**Part three**, Recent progress in the study of gastrointestinal transit, i.e. gastric emptying of solids and measurement of oro-cecal transit time, combination of breath tests, small intestinal transit and small intestinal half emptying time. **Part four**, Organisation and advices in performing ¹³CO₂ breath tests.

S1-1. ヒトの下部食道括約筋、幽門括約筋、内肛門括約筋における壁内神経調節

日本歯科大学外科*、日本大学第一外科

富田涼一*、藤崎 滋、朴 英智、君塚 圭、丹正勝久、福澤正洋

〔目的〕ヒト下部食道括約筋 (LES)、幽門括約筋 (PS)、内肛門括約筋 (IAS) における壁内神経系の調節機構は未だ不明である。今回、ヒト正常括約筋を用いて壁内神経系の役割を *in vitro* で検討した。〔対象と方法〕対象は、胃癌手術後 18 症例 (男性 12 例、女性 6 例、45-74 歳、平均 60.1 歳) と直腸癌手術後 8 症例 (男性 6 例、女性 2 例、48-72 歳、平均 54.6 歳) である。これら各摘出標本の正常部 LES、PS、IAS から筋状片 (1X0.5 cm) をそれぞれ、48 個、52 個、20 個作製した。研究方法は、mechanogram 法を用いて、各種自律神経遮断薬の投与前後での、筋状片に対する electrical field stimulation (EFS) 反応を検討した。なお、EFS は壁内神経刺激条件下に行い、研究に用いた筋状片は EFS に反応するもののみを使用した。また、tetrodotoxine 投与下では EFS 反応が遮断されることを確認した。〔成績〕LES と SP について；交感・副交感神経遮断前 EFS 反応は、両括約筋とも弛緩より収縮反応を有意に示した (それぞれ、 $P < 0.05$ 、 $p < 0.01$)。交感・副交感神経遮断後 EFS 反応は、両括約筋とも収縮より弛緩反応を有意に示した (それぞれ、 $P < 0.05$ 、 $p < 0.01$)。IAS について；交感・副交感神経遮断前 EFS 反応は、弛緩より収縮反応を多く示した。交感・副交感神経遮断後 EFS 反応は、収縮より弛緩反応を有意に示した ($P < 0.001$)。〔結論〕LES、SP、IAS の壁内神経系の調節機構は、興奮神経調節 (特に cholinergic nerve) が主に作用していた。そして、弛緩反応には、主に non-adrenergic non-cholinergic (NANC) inhibitory nerve が作用していると思われる。すなわち、これら括約筋の閉鎖 (収縮) は、主に cholinergic nerve 調節により、括約筋の開大 (弛緩) は NANC inhibitory nerve 調節によることが示唆された。なお、これら括約筋に対する、peptide hormone (VIP, substance P, neurotensin, motilin など) や nitric oxide の調節機構についても報告する。

S1-2. Bauhin 弁における括約筋機能の実験的検討および胃全摘術後に置換された回結腸における Bauhin 弁の機能評価

東京慈恵会医科大学外科

梶本徹也、向井英晴、羽生信義、高山澄夫、青木照明

Bauhin 弁 (ileocolonic junction: ICJ) には高圧帯が存在し、小腸内容の結腸への通過の調整や結腸内容の回腸への逆流防止などの括約筋機能が存在することが知られている。目的：(1) ICJ が、括約筋機能を有し終末回腸の内容物の通過に関与することを実験的に証明し、(2) 胃癌に対する胃全摘術後に回結腸を置換臓器として用いた症例を対象として、ICJ が再建臓器内で括約筋としての機能を保持するかどうかを確認することである。方法：(1) 全身麻酔下のブタを対象として、内圧測定カテーテルを用いて、pullthrough 後にスリーブが ICJ に位置するように固定し、回腸・結腸内に留置したバルーン拡張に対する ICJ 圧の変化を計測した。flowmeter を回腸末端に固定し、回腸内に注入した生理食塩水の flow と回腸・ICJ 圧の関係を観察した。(2) X 線透視下に内圧測定カテーテルを挿入し、スリーブが ICJ に位置するように固定した。基礎状態で食道・回腸・ICJ・結腸内圧を記録し、嚥下が各内圧に与える影響を検討した。結果：(1) Pullthrough において、ICJ は 15.6 ± 1.8 mmHg (mean \pm SE, $n=9$) の高圧帯を示した。ICJ 圧は回腸拡張により低下し ($P < 0.01$, $n=7$)、結腸拡張により上昇した ($P < 0.05$, $n=6$)。Yohimbine により惹起された回腸の収縮波は回腸内容物の flow をともない ICJ へと伝播した ($n=2$)。(2) 基礎状態において 4 例中 3 例に ICJ の tonic activity が観察された (11.3 ± 6.6 mmHg)。全症例において、ICJ に平均 7.1 c/m の phasic activity が、全計測時間の 57.5% に認められた。回腸から ICJ・結腸へと伝播する収縮波群が全症例の全 44 収縮波群で観察された。4 例中 3 例 (全 44 収縮波群中 29) において収縮波群の伝播中に ICJ はより高い tone を示した。嚥下にもなう食道の収縮波は全症例で下部食道までしか伝播しなかった。結論：(1) ブタの ICJ は括約筋機能を有し、回腸の排出能に関与しているものと思われる。(2) 胃全摘術後の再建臓器内において ICJ は高圧帯を示し、回腸→ICJ→結腸へと伝播する収縮波群が観察されたが、嚥下にもなう ICJ の弛緩・収縮反応はみられなかった。ICJ の括約筋としての運動機能は再建臓器内でも損なわれていないことが示唆された。

S1-3. 内肛門括約筋の神経性制御機構

聖路加国際病院小児外科¹、慶應義塾大学外科²、国立栃木病院小児外科³
 松藤 凡¹、横山 稔太郎²、平林 健³、渡辺 稔彦²、森川康英²

(緒言) 内肛門括約筋は、平常時には収縮し肛門管圧を保つことで禁制を維持し、排便時には弛緩して便を通過せしめる。解剖学的に内肛門括約筋は、腸管神経系と外来神経系(交感、副交感神経)から支配を受けている。今回、内肛門括約筋の神経支配様式と排便、禁制時の神経制御機構について薬理学的および生理学的に検討を加えた。

(実験方法) I, 神経支配様式に関する薬理学的検討: 内肛門括約筋筋条片をオルガンバス内で懸垂し、electrical field stimulation(EFS)および交感、副交感神経系の各種薬剤への反応を記録した。

II, 排便時の運動様式: force strain gauge transducer をイヌ内肛門括約筋と直腸、結腸に達し、意識下自然排便時の観察を行った。ヒトにおいては内圧法を用いて観察した。

III, 仙骨神経を介した制御: 麻酔下イヌの仙骨神経を電気刺激し、内肛門括約筋および直腸、結腸の反応を肛門内圧、内肛門括約筋筋電図、force strain gauge transducer を用いて観察した。

(結果) I, 神経支配に関する薬理学的検討: ①内肛門括約筋筋条片は、norepinephrine または EFS より収縮した。これらの収縮反応は phenolamine により抑制された。

② EFS による弛緩は、phenolamine, propranolol, atropine の前処置では影響を受けないが、tetrodotoxine の存在下では消失した。

II, 排便時の運動様式: 自然排便時に、結腸、直腸、内肛門括約筋に以下のような特徴的な運動パターンが観察された。

① 結腸に Giant Migrating Contraction(GMC) が出現して肛門側へと伝播した。

② この間直腸、内肛門括約筋は弛緩し便が排泄された。排便時の内肛門括約筋の弛緩は、直腸肛門抑制反射とは異なったパターンであった。

③ GMC が到達して直腸が収縮すると排便が終了した。

便意を催した時に結腸に GMC が出現していたが、排便をこらえている間は GMC の遠位側への伝播は中断し、上記の運動パターンは出現しなかった。この時内肛門括約筋は弛緩することがあった。

ヒト結腸肛門内圧: 結腸に GMC に相当する High Amplitude Propagating Contraction が出現し直腸へと伝播した。この間肛門管圧は低下して便が排泄された。III, 仙骨神経電気刺激: 自然排便時に見られた結腸、肛門運動パターンと類似した以下のような反応が誘発された。

① 結腸に収縮が躍起され遠位側へ伝播した。

② 直腸は弛緩または収縮した。

③ 内肛門括約筋は電気活動が抑制され弛緩し、肛門管圧は下降した。

(考察) 上記の結果から以下のごことが示唆された。

内肛門括約筋は、筋原性収縮に加えて外来神経である α - adrenergic 神経から興奮性支配を受け、腸管壁内神経系に属する non - adrenergic, non - cholinergic 神経により抑制性支配を受けている。

排便時には、結腸および直腸肛門の一連の協調運動として内肛門括約筋は弛緩する。これには腸管神経系が重要な役割を果たしている。中枢神経系からの刺激は仙骨神経を介して、この排便運動パターンを躍起する。

禁制時の排便運動パターンの抑制機構については今後の検討課題である。

S1-4. 排便における下部消化管ならびに括約筋の協調運動とその制御機構 - 基礎的並びに臨床的検討 -

慶應義塾大学医学部外科¹、慶應義塾大学医学部生理学²、国立栃木病院小児外科³、聖路加国際病院小児外科⁴
 森川康英¹、横山稔太郎¹、平林 健³、松藤 凡⁴、渡辺修一²、渡辺稔彦¹、藤野明浩¹、星野 健¹、北島政樹¹

strain gauge 慢性埋込犬(n=9)を用いて無拘束下に133回の自然排便時における結腸運動の観察を行った結果、排便時には大収縮(HAPC)が遠位結腸に出現し、この収縮は直腸に伝えられ(93%)、80%の例で直腸においては収縮に先立つ弛緩が認められた。そしてこの直腸の弛緩に引き続いて起こる収縮と括約筋の弛緩の一連の協調運動が排便に重要な役割を果たしていることを報告してきた。また、仙骨神経に対する電気刺激(5mA,0.5sec,10Hz)が同様の運動を誘発することを観察した。これらの観察を通じてイヌはケージ内に拘束されても自然排便が得られ無拘束時では遠位結腸に生じた大収縮に対する直腸以下の運動が異なることが観察された。すなわち排便のurgeとholdingの関係が生じ、多発する大収縮にたいして括約筋の弛緩がみられない状況も拘束下には観察されている。以上の実験結果を踏まえて、ヒルシウスブルグ病10例(開腹術式1例、腹腔鏡下術式9例)、直腸肛門奇形6例および仙尾部腫瘍1例の術後における下部消化管運動をforce transducerにより3点で同時に測定し、排便運動を観察した。ヒルシウスブルグ病10例はいずれも浣腸刺激により下部結腸に大収縮が出現し(132.0 ± 39.8mmHg)、これが直腸および肛門管に伝達された(evoked HAPC)。排便時には肛門管の弛緩および後収縮を伴い、動物における観察と本質的に同様な態度を示した。これらの症例は全例便意とともに自然排便が得られているが、直腸肛門反射は1例のみに陽性であった。高位鎖肛術後5例中4例は同様の反応を示したが仙骨奇形などの失禁例では刺激によるHAPC様波形の出現を認めていない。仙尾部原発横紋筋肉腫により恥骨直腸筋の右半を切除された症例では、浣腸刺激による収縮は認められるものの肛門側への伝達がなされず、さらに直腸における液体の保持は困難であった。ヒルシウスブルグ病術前例では刺激に対応する遠位結腸の収縮が観察されるもののその収縮圧は100mmHg以下であり直腸への伝達並びに括約筋の弛緩は見られない。

排便運動はHAPCの出現に密接に関係しており、さらに直腸の前弛緩と括約筋の協調運動が正常排便にとって重要な意味を持っているものと推察された。また、排便にかかわる括約筋運動の制御機構として下部結腸に対する神経支配、とくに仙骨神経の役割と、さらに上位中枢の関与が重要であることが示された。

S1-5. 直腸・括約筋反射における内括約筋と外括約筋の役割

東海大学医学部生理
高比良 英輔

現在、生理学または外科学の教科書、あるいは、一般向けの胃腸機能解説書——たとえば、マイケル・D・ガーシオン著 古川奈々子訳、セカンド ブレイン——腸にも脳がある！（2000年3月、小学館刊行）で、肛門括約筋を論ずる部分（p.199～205）では、はじめに、この括約筋が、内・外の二重構造から成ることが強調されている。

「括約筋の二重性」が、「肛門解剖学のモダンな構想」として提唱されたのは、1959年のJ.C. Goligherによるものが最初であろう。しかしGoligherは、その図に詳細な説明を与えているものの、「モダンな構想」とは何であるか、言葉の上で要約してはいない。これは、「モダンな構想」には、いくつかの問題点がふくまれていて、当時、形態学的にも確立しておらず、現在もまだ未解決なことによると思われる。

著者は1970年代の末から、1980年代の半ばまで、伊勢原で、除脳ネコおよびイヌ約200例について、小児外科の研究者たち、難波、猪原、田村、横山(稯)らと実験をおこなったが、当時は、臨床上の問題にとらわれすぎており、また、Goligherの問題提起も知らず、ただネムブタールの麻酔効果をさけるために、除脳標本の使用を示唆したり、平滑筋および横紋筋の固有の電気活動を記録するために、マクロの双極電極の位置を工夫したりしていたにすぎなかった。データのあるものは、難問として、その解釈を与えられず、現在までもちこされたが、今日はじめて、それがGoligherの「モダンな構想」に答えることに気づいたので、その二・三について報告する。

「モダンな構想」のなかで、重要な点は、内・外括約筋の肛門管の包囲が、「完全な並列二重性」ではなく、「つれた二重性」によることである。これは、前記ガーシオンの著書では無視されているが、肛門管壁の最下部は、内括約筋を欠いており、外括約筋のみから成っている。この事実は、外括約筋、すなわち横紋筋束が、反射の出力として機能的に単一の筋束から成るか、それとも、複数の筋束から成るかという、重要な問題と関連する。一方、内括約筋は、直腸輪状筋の連続した肥厚部にすぎないというGoligherの記載は、広く信ぜられ、ガーシオンにおいても繰返されているが、再考の余地はないであろうか。それらについて論じたい。

S2-1. 21世紀の平滑筋研究を展望する

S2-2. 名古屋大学医学部名誉教授¹、東京大学大学院農学生命科学研究科²、名古屋大学医学部名誉教授³、奈良県立医科大学名誉教授⁴、富田忠雄¹、唐木英明²、重井達朗³、白鳥常男⁴

悠久の時の流れにミレニアムという区切りをつけようとする風潮を前向きにとらえて、わが国が世界をリードした数少ない分野の一つである平滑筋運動の研究を振り返ると共に、その21世紀を展望したい。

基礎分野からは3名の演者を予定する。まず富田が『膜電位変化：「複雑系」の観点から』と題して論ずる。すなわち、平滑筋は組織として存在し機能するものであり、膜電位についても単細胞レベルの研究から複雑な多細胞レベルを対象とした研究に発展させることの必要性を中心に述べる。続いて唐木が『収縮制御系：「分子の移動」の観点から』と題して論ずる。すなわち、蛍光指示薬などの新たな技術開発により細胞内分子の動きが捉えられるようになり、収縮タンパク質とCa以外にも多くの分子が細胞構造の中を動く様子が明らかになりつつある現状を中心に述べる。続いて、特別発言として重井達朗名古屋大学名誉教授が『反応の部位差：「発生」の観点から』と題して論ずる。すなわち、血管反応は大きな部位差、種差があるが、個体発生および系統発生（進化）の観点からこれを見直すと、このような違いを生じた原因が浮き彫りになってくることを考察する（抄録参照）。

臨床分野からは、白鳥常男教授が『消化管運動：「臨床」の観点から』と題して論じられるが、その内容は次の抄録のとおりである。

S2-3. 反応の部位差：「発生」の観点から

名古屋大学名誉教授
重井 達朗

血管系を中心に、以下の点に触れながら、自他の成績を引用、考察してご参考に供したい。

(1) 門脈系平滑筋の特徴と部位差について：イヌの門脈系諸静脈には、縦走筋、自動性、コリン作動性興奮性神経支配があり、腸管に似た特徴を示す。同様の特徴が、下大静脈の特定の部位にも見られる。一方、門脈系の中で、脾静脈の性質は全く異なる。これらの部位差は、脊椎動物の体制と、静脈系発生の由来を反映していると思われる。

(2) 循環系の個体発生では、まず、内皮管から成る脊椎動物共通の初期循環路ができる。続いて、多くの変形を重ねて、成体の形になるが、この過程で血管系のいろいろな部位につきつぎと平滑筋が生じ、神経が分布する。流路の変遷はよく研究されているが、平滑筋出現の経過と、その直接の起源に関する情報はまだ少ない。

(3) 脊椎動物血管系における内皮、中膜平滑筋、交感神経の意義—その新しい見方：進化の過程で、脊椎動物の循環系には、二つの大きな変化が起こったらしい。すなわち、「内皮あるいは内皮管系」と、「交感神経／中膜平滑筋系」の出現、発達である。私どもは、後者は「内皮によって裏打ちされた脊椎動物の閉鎖循環系を、全体として制御する為に、新しく発達した機構」と考える*。

(4) 環形動物、原索動物の無内皮循環系では、一部の血管壁に筋が分化して、血液を拍動性に送っている。その実体は、一層の筋上皮（体腔臓側上皮）である。これは脊椎動物血管の中膜平滑筋とは異なる一方、脊椎動物の心筋とは、系統発生的に密接な関係があるという。

*T. Shigei, H. Tsuru, N. Ishikawa, K. Yoshioka: Pharmacol. & Toxicol. **83**, Suppl. 1, 99, 1998;

重井：日薬理誌 **113**, 367-370, 1999.

S2-4. 消化管運動：「臨床」の観点から

奈良県立医科大学名誉教授

白鳥常男

本学会は基礎の研究者の協力の下に、平滑筋電図研究の臨床応用を目指して発足した。この原点に立って、温故知新的考えから、私共の行って来た消化管運動の研究を回顧・展望して見る。

1)平滑筋学会と消化管運動研究の回顧

現在までの平滑筋学会の研究課題（演題、シンポ、特別講演など）の推移、消化管運動研究に関する歴史に触れ、文部省の「平滑筋電図に関する総合研究」、3回に及んだ「日米セミナー」などの果たした役割を考えながら、基礎的・臨床的研究成果が如何に臨床の場に役立って来たかを考察する。

2)消化管運動の研究はどこまで進んだか

胃運動について見ると研究当初は、胃の運動は迷走神経支配で、全てが説明されていた様に思われる。それが胃の横切離により、切離下部胃に幽門痙攣を含めた運動の異常亢進の起こることが明らかにされた事により、まず、迷走神経切離により幽門痙攣が起こると考えられて来た説が否定された。ついで、胃横切離の立場から再手術後の残胃の運動機能が見直され、外科医が長年望んで来た幽門保存胃切除術の開発に及んだ様に考えられる。その他、胃腸管の種々の進歩に触れて見たい。

3)臨床の立場から求められるものは何か

基礎的研究としては、胃横切離による異常亢進、**Receptive Relaxation**の発生機序、粘膜知覚による運動異常などたくさん挙げられると思われる。臨床に求められるものとしては、内圧・胃電図・排出機能・透視などの検査法の改善開発など挙げられるものは多い。また、胃手術後のQOLの評価・改善に、すでに解明された運動機能を良く理解し、応用することも望まれよう。

P-1. 腹部外科手術後急性期にみられる上部消化管運動障害の病態と治療について

慈恵医大 外科

中田浩二、羽生信義、向井英晴、西川勝則、梁井真一郎、宮川 朗、川崎成郎、古川良幸、青木照明

開腹術後の消化管運動障害は胃、十二指腸において最も著明にみられ、胃内容停滞をきたして悪心嘔吐や腹部膨満などの術後の消化器症状の要因となる。このため経鼻胃管留置期間の延長や食事摂取開始時期の遅延を余儀なくされ临床上の問題となっている。〔目的〕今回われわれは、開腹術後急性期の上部消化管運動を慢性実験犬を用いて観察し、その病態の解明を試みるとともに、上部消化管運動障害の遷延化がみられた自家小腸移植術犬の術後急性期における合成モチリンの効果について検討した。〔方法〕対照犬（単開腹）と自家小腸移植術犬（以下移植術犬）各6頭を作成し、術直後から術後2週目までの空腹期運動をstrain gauge transducer法により測定し、各部位における強収縮出現の時期および頻度と、運動様式について検討した。また、移植術犬の術後3日目に合成モチリン(0.1mcg/kg)を静脈内投与し、運動記録および透視下での胃内バリウム排出により、その運動効果を観察した。〔結果〕胃、十二指腸における強収縮は、対照犬では術後3~7日目に出現したが、術後3日目までは出現頻度の有意な減少がみられた。また、幽門輪において術後1日と3日目に高振幅収縮波の頻発が認められた。これらの上部消化管運動障害は、対照犬では術後7日以降消失したが、移植術犬では遷延化し、術後2週目においても強収縮出現頻度の有意な減少がみられた。合成モチリンの投与により、術後3日目の移植術犬の胃、十二指腸には強収縮様収縮が出現し、胃内バリウムのほとんど全てが十二指腸以下の小腸へと排出された。〔結論〕腹部外科手術後急性期の上部消化管運動障害には、胃、十二指腸の強収縮発現障害だけでなく、幽門輪における高振幅収縮波の出現(pylorospasm)も関与していると考えられた。合成モチリンの投与は、術後の上部消化管運動障害による胃内容停滞の治療に有用と考えられた。

P-2. 局所麻酔薬による回腸縦走筋収縮および消化管運動に対する抑制作用

日本大学松戸歯学部薬理学教室

久保山 昇、藤井 彰

〔目的〕我々は、第41回本学会においてモルモット回腸縦走筋を用いて、刺激薬(高K、Bay K8644、ACh、Histamine、BK)によって誘発する収縮反応を局所麻酔薬(LA)は、非競合的に抑制することを明らかにした。本研究では、迷走神経刺激時の腸管収縮に対するLAの抑制作用をマウス小腸輸送能で検討した。また、モルモット回腸縦走筋の収縮と細胞内遊離Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)を同時測定した。〔実験方法〕In vivo:マウス腸管輸送能の抑制作用は、24時間絶食、自由飲水したddY系マウスを1群7匹を用いて測定した。LA皮下投与15分後に、AChを皮下投与し、15分後に2%活性炭を経口投与した。活性炭投与30分後に腸管を摘出し、炭末輸送率を算出した。In vitro: fura-2負荷回腸縦走筋条片の収縮と細胞内遊離Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の同時測定は、モルモット回腸縦走筋標本に、Ca蛍光プローブfura-2を取り込ませて行った。〔結果〕In vivoのマウス腸管輸送能では、AChはマウス腸管輸送を用量依存的に促進した。LA単独では、Procaine(Pro)を除いていずれの用量においても腸管輸送能を抑制した。ACh刺激によるマウス腸管輸送の促進作用に対して局所麻酔薬は用量依存的に抑制した。その効力はDibucaineが最も強力で、Tetracaine>Bupivacaine>Mepivacaine>Prilocaine>Lidocaine>Benzocaine>Proの順であった。また、Ca拮抗薬もatropineと同程度に有意に抑制した。fura-2負荷回腸縦走筋条片の収縮と[Ca²⁺]_iの同時測定では、高K+およびACh刺激ともに[Ca²⁺]_iの増加に続いて回腸縦走筋の収縮反応が発生した。また、ACh収縮における[Ca²⁺]_i増加は、高K+より低いのに比較して、収縮は高K+収縮より大きかった。LAは、高K+およびACh刺激により誘発される収縮および[Ca²⁺]_iを共に抑制するが、AChより高K+刺激を約1.5倍強く抑制した。以上の結果より、受容体作動性チャンネルを介するCa²⁺流入より高K+脱分極依存性のL型Ca²⁺チャンネルを介するCa²⁺流入を強く阻害した。また、LAは、In vivoのマウス腸管輸送能に対する抑制効力と、回腸縦走筋のagonist収縮反応に対する抑制効力の間に正の相関関係が認められた。

P-3. 食道アカラシア術前、術後食道機能検査の検討

日本大学医学部第3外科

田中和彦, 佐藤 博信, 村山 公, 山形基夫, 宋 圭男, 深瀬知之, 小坂和子, 橋爪正明,
岩井重富, 田中 隆

食道アカラシアに対する外科治療において、十分な筋層切開による恒久的噴門拡張と食道胃逆流防止機構の再建をおこなう Girard-田中変法等の様々な術式が施行されるようになって以来、手術成績は飛躍的に向上している。さらに最近ではより低侵襲で外科治療が可能な腹腔鏡下術式が標準術式となりつつある。その一方で、術後症状の改善を認めても愁訴が残存する症例も認められる。

我々は正常成人5例および腹腔鏡下Girard-田中変法を施行した食道アカラシア10例のうち愁訴の残った4例に対し飲水負荷試験を施行し両者の比較検討を行うとともに、24時間食道内圧、pH測定も食道アカラシア1症例に施行し食道アカラシア術前、術後食道機能検査の検討をおこなったので報告する。測定機器は飲水負荷試験にはGaeltec社製カテーテルチップ型3chセンサーを使用、カテーテルを門歯より30cmで固定し、臥位のまま水道水を50mlを飲用、その後の静止圧の上昇、飲用前の静止圧までの回復時間を測定した。24時間食道内圧、pH測定ではsynectics社製MicroDigitrapperを使用、内圧センサー先端を食道胃接合部まで、pHセンサー先端を胃内まで挿入し測定した。健常人における飲水負荷試験での静止圧回復時間の平均は35秒で、内圧上昇の平均は22cm/H₂Oであった。それに対し愁訴の残る食道アカラシア術後症例では静止圧回復時間の平均は163秒で、内圧上昇の平均は19cm/H₂Oであり、愁訴の残る食道アカラシア術後症例においては静止圧回復時間の延長が認められた。24時間食道内圧測定では術前に胸痛が出現する症例において日中、夜間に同期性収縮波を認めた。pH測定では胃酸の逆流は認められなかった。食道アカラシアの術後食道機能の評価法として飲水負荷試験が、病態の把握に24時間食道内圧測定が有用と思われる。食道アカラシアにはまだ不明な点も多く、今後も詳細な検討が必要と考える。

P-4. 食道癌切除再建後の消化管運動機能障害と対策

大阪市立大学第2外科

大杉治司, 徳原太豪, 総野 進, 高田信康, 竹村雅至, 木下博明

胸部食道癌に対する切除後にみられる嚥下障害、逆流等の機能障害を予防する再建術式について検討した。対象と方法：1)胸部食道切除再建後；30例(Re群)、健常人；33例(C-1群)を対象に頸部食道壁進展刺激に対する上部食道括約筋(UES)の反応を内圧測定にて検討した。2)後縦隔亜全胃再建；20例(PM群)、胸骨後亜全胃再建；13例(RS群)、後縦隔空腸再建；5例(J群)、健常人；12例(C-2群)を対象に食道シンチグラフィにて嚥下動態を定量評価した。3)後縦隔経路の空腸再建；7例(j群)、細胃管再建；29例(ns群)、亜全胃再建；26例(fs群)を対象にBilitec2000を用いて気管分岐部(T)および裂孔部より5cm口側(H)における再建臓器内のポリルビン逆流を測定し、観察時間に対する百分率を%timeとした。結果：1)両群とも頸部食道壁進展刺激によってUES静止圧は有意に上昇した。その圧は反回神経麻痺の無いRe群；21例ではC-1群と差がなかったが、同麻痺合併Re群；9例では有意に低かった。2)嚥下後の頸部食道通過時間・口腔内残存量はC-2群に比べRS群で有意に遅延しかつ多かったが、他の群では差が無かった。PM群では反回神経麻痺8例の嚥下動態もC-2群と差が無かった。臥位嚥下2分後の再建臓器内口側の残存量もRS群では他の群より高値であった。頸部食道への逆流はRS群；44%、PM群；13%、J群；0%に、蠕動による排出はJ群にのみみられた。3)Hにおける%timeはj群；16%でns群；42%、fs群；45%より有意に低値であった。Tにおける%timeはfs群；25%、とj群；5%、ns群；14%より有意に高値であった。考案：食道癌根治術後では上部食道括約筋の逆流防止機能が低下しており、非生理的な胸骨後再建では頸部食道への逆流が多いことから、誤嚥性肺炎が危惧される。嚥下機能は生理的な後縦隔再建によって温存され、反回神経麻痺例でも正常に近い嚥下が可能である。空腸再建では蠕動による食物排出と十二指腸液逆流防止機能が期待される。胃再建では細胃管を用いることにより逆流を低下させることが出来る。結語：結語：食道切除後は生理的な後縦隔再建により反回神経麻痺例でも正常な嚥下が可能で、逆流防止には空腸再建が最もすぐれており、胃を用いる場合は細胃管が好ましい。

P-5. 胃切除術後に生じる食道運動機能異常

広島大学原医研腫瘍外科

山下芳典, 井上秀樹, 大田耕司, 吉田和弘, 平井敏弘, 峠 哲哉

[目的] 胃切除術後の逆流性食道炎の発症は手術後の患者のQOLを障害する最大の課題である。食道体部の蠕動波は逆流した消化液を胃に排出する clearance force として重要であり、逆流性食道炎の防止機構の役割を担っている。そこで胃切除術後の蠕動波の変化を中心に機能的に解析する。

[対象と方法] 幽門側胃切除術 16 例 (49-74 歳), 胃全摘術 7 例 (43-76 歳) を対象に, 術前および術後 1-6 ヶ月で検討した。食道内圧検査は station pull-through 法により下部および上部食道括約筋 (LES) を同定した後, 食道体部の上, 中, 下部の蠕動波を, 5 ml の飲水を負荷して各 10 回観察した (PC polygraph, Synectics)。また逆流性食道炎に関するアンケート調査 (30 点満点) に加え, 食道内, 残胃内の 24 時間 pH モニタリング施行した (LS-2, Synectics)。[結果] アンケートから算出した reflux score は全摘後に高かった (5.3, 3.9)。幽門側胃切除術後には LES は圧, 長さともに低下したが有意差はなかった。体部の蠕動波において, amplitude, duration は胃全摘術後に小さくなり (88.8, 85.0%), 幽門側胃切除後には大きくなる傾向を示した (120.0, 111.4%)。蠕動波の伝搬速度は切除範囲に関わらず手術後には遅くなり, 全症例で検討すると術前 3.76 から術後 3.23 cm/sec ($p=0.058$) と低下した。一方, 1 回の検査中に発生する異常波の出現については, 同時波の出現頻度は大きな変化はなかったが, 蠕動の途絶 (interruption) の発現頻度は何れの切除群でも増加した。特に幽門側胃切除術後の 1.8 回に比べ胃全摘術後では 4.9 回と有意に発症頻度は高く ($p=0.040$), また術前後の変化について全症例で検討すると, 1.0 から 2.7 回と有意に発現頻度は増加した ($p=0.043$)。24 時間 pH モニタリングでは術後の食道内のアルカリ化は示されなかったが幽門側胃切除術後の残胃内は有意にアルカリ化した。[結語] 胃切除術後には蠕動波の伝搬速度の低下や異常波の出現など食道蠕動波の機能的変化が生じ, 特に胃全摘術後に逆流愁訴とともに顕著であった。逆流性食道炎の対策として遺残食道の機能を賦活することはアプローチの 1 つと思われる。

P-6. 早期胃癌幽門側胃切除術後の病態生理学的検討—幽門輪温存の利点・欠点—

日本歯科大学外科*, 日本大学第一外科

富田涼一*, 青木信彦, 藤崎 滋, 池田太郎, 五十嵐誠悟, 萩原紀嗣,

野中倫明, 越永従道, 丹正勝久, 福澤正洋

術後 1 年以上経過した早期胃癌手術症例 (D₂, 根治度 A) について, 幽門輪温存の有無から術後における QOL と残胃機能を検討した。対象: 迷走神経非温存の幽門側胃切除術 34 例を, 幽門輪非温存術 24 例; A 群 (男性 15 例, 女性 9 例, 36-72 歳, 平均 60.4 歳), 幽門輪温存術 10 例; B 群 (男性 8 例, 女性 2 例, 34-72 歳, 平均 63.6 歳) に分けた。対照は健康人 10 例; C 群 (男性 10 例, 28-61 歳, 平均 49.8 歳) を用いた。方法と成績: 1) 直接問診法; 食欲良好例は, A 群 70.8% が B 群 100% より少なかった。早期ダンピング症候群 (全身症状陽性例) は, A 群 20.8% が B 群 0% より多かった。食後腹満感は, A 群 37.5% が B 群 80.0% より有意に少なかった ($p<0.05$)。残胃炎は, A 群 29.2% が B 群 0% より多かった。胆石症 (超音波所見) は, A 群 8.3% が B 群 0% より多かった。2) 胃内残存率 50% 時間 (全粥を試験食とした RI 法); A 群 61.8 ± 9.0 分, B 群 72.0 ± 12.5 分, C 群 47.8 ± 8.4 分で, A, B 群では C 群より有意に長かった ($p<0.01$)。3) アセトアミノフェン法 (オレンジジュース飲用後の 45 分値); A 群 $14.5 \pm 2.4 \mu\text{g/ml}$, B 群 $11.0 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$, C 群 $9.88 \pm 3.4 \mu\text{g/ml}$ で, A 群では B, C 群より有意に高値を示した ($p<0.01$)。4) 十二指腸空腹期強収縮帯; A 群では 62.5%, B, C 群では 100% に認められた。5) 空腹期ガストリン値; A 群 $48.3 \pm 7.4 \text{ pg/ml}$, B 群 $68.3 \pm 6.2 \text{ pg/ml}$, C 群 $93.0 \pm 17.9 \text{ pg/ml}$ で, A 群では B, C 群より, B 群では C 群より低値を示した (それぞれ $p<0.01$)。結果: 幽門輪を温存すれば, 胃切除後障害の発生は少なく, 空腹期十二指腸運動, 液性食物排出についての残胃運動機能, ガストリン分泌機能などが良好であった。しかし, 半固形食 (全粥) の排出機能低下が存在し, 多くの例が食後腹満感を訴え, それを自覚しない例 (20%) に残胃拡張を認めた。よって, 術後注意深く経過を観察し, 今後は迷走神経温存の有用性を評価する必要があると考える。

P-7. 胃切除術後の胃食道逆流を軽減するための再建術式の検討

愛知医科大学医学部第二外科

宮地正彦, 長谷川恒雄, 三浦 敦, 清田義治, 永田昌久

【目的】胃切除術後の胃食道逆流は QOL を悪化させる因子である。今回は胃切除術後に発生する胃食道逆流の病態について従来の Billroth I 法と Billroth II 法において検討した。最近の症例では胃食道逆流症を予防するために噴門後壁を食道後壁に巻き付け噴門形成を付加した Billroth I 変法、さらに残胃が小さい症例では Braun 吻合を追加した Billroth II 法での再建法を行い、その有効性について検討した。

【対象・方法】胃癌に対してリンパ節郭清を伴う胃切除術後に、従来の Billroth I 法 28 例 (B-I 群)、Billroth II 法 17 例 (B-II 群)、さらに最近の 10 例に噴門後壁を食道後壁に巻き付けるように横隔膜脚に固定した噴門形成を付加した Billroth I 変法 (B-I 変法群)、左胃大網動脈最終前前枝より口側で胃切除を行う小胃症例 4 例では Braun 吻合を追加した Billroth II 変法 (B-II 変法群) で再建した。B-I 群と B-II 群では、術後 1 年以上経過後に食道 24 時間 pH モニタリング、食道内圧測定を行った。また 4 群間での逆流症状の発生頻度について検討した。

【結果】逆流症状を呈した症例は、B-I 群では 32%、B-II 群では 47% と高率であったが、B-I 変法群、B-II 変法群の逆流症状併発率は、それぞれ 10%、0% と従来法と比べ、有意に減少し、夜間の逆流症状を有する例も認めなかった。内視鏡検査で食道炎と診断された症例の頻度は B-I 群では 11% で、B-II 群では 18% であったが、残胃炎の頻度はそれぞれ 53%、76% と高率であった。食道 24 時間 pH モニタリングで pH > 7.4 の %holding time が 4% 以上のアルカリ逆流例は B-I 群では 41% であり、B-II 群では 47% であり、逆流症例ではそれぞれ 66%、71% であった。食道内圧測定での下部食道括約筋圧は B-I 群、B-II 群ともに正常範囲内であったが、腹部長は短かった。

【考案・結語】従来の Billroth I 法、II 法での再建術後の胃食道逆流の頻度は高く、残胃内に逆流した腸液が逆流防止機構の減弱により食道内に容易に逆流することで生じていたが、噴門形成を付加した Billroth I 変法、Braun 吻合を追加した Billroth II 法で、減弱した逆流防止機構を補強することで胃食道逆流を減少させることができた。

P-8. 胃切除兼空腸嚢間置術における空腸嚢の運動機能の検討

岩手医科大学第 1 外科

旭 博史, 大森浩明, 清水光昭, 佐々木 章, 島田 裕, 山本政秀, 寺島雅典, 斎藤和好

【目的】空腸嚢を用いた再建術式は術後の小胃症状を予防するのに優れていると考えられる。そこで、胃切除術後の再建空腸とくに空腸嚢の運動を 24 時間内圧、pH 測定を行い検討した。

【対象と方法】対象は胃悪性腫瘍で胃切除を施行した 10 例で、術式の内訳は噴門側胃切兼空腸嚢間置 7 例、幽門側胃切兼空腸嚢間置 1 例、幽門側胃切兼空腸嚢間置 2 例。平均年齢は 58 歳であった。内圧の測定は術後 30 日を過ぎ、全粥の摂取が可能になった退院時に行なった。測定には MicroDigitrapper を使い、内圧および pH カテーテルを X 線透視下で留置し、24 時間連続して測定した。食事は 1 日 3 回とした。

【結果】通常の空腸嚢間置法では小胃症状が認められたが、空腸嚢間置法では認められなかった。pH 測定では間置空腸嚢内は pH6 前後で推移し、大きな変動はみられなかった。残胃内 pH は幽門側が 4 から 5 で推移し、噴門側では 6 前後で推移した。全例に逆流性食道炎はなかった。内圧測定では噴門側残胃には明らかな収縮波はみられなかったが、幽門側残胃には弱い収縮波がみられた。再建空腸には小腸の収縮波が記録された。平均内圧は噴門側空腸嚢が 23.8mmHg、幽門側空腸嚢 25.0、間置空腸 29.0、幽門側残胃 34.3、噴門側残胃内 22.5 であった。また、いわゆる空腹期強収縮(phase III)の出現が空腸嚢内、間置空腸、幽門側残胃で観察されたが、噴門側残胃ではみられなかった。観察された phase III は出現間隔、持続時間等が不規則で、pouch 内での内圧波形からは伝播の方向を決めることは難しかった。空腸嚢では phase III の平均出現回数は 11 回、間隔は 37 分、持続時間は 7.3 分、収縮波の頻度は 10.4 回/分。運動パターンで phase III の占める時間の割合は 14.5% であった。

【まとめ】臨床例でも間置空腸嚢内には不規則ではあるが空腸の運動パターンが観察され、欠落した胃の代替として十分な機能があると考えられ、空腸嚢作成は術後障害の少ない優れた術式である。

W-1. バリウム・マーカーによる胃排出検査法の開発とその臨床応用

群馬大学医学部第一内科

菊地一真, 河村 修, 草野元康, 森 昌朋

【目的】現在、胃排出検査の gold standard はアイソトープ法であるが、本法はわが国において必ずしも多数の施設で可能というわけではない。胃排出の遅延は functional dyspepsia や GERD 患者のみならず、糖尿病や強皮症患者でも認められ、この病態は全身管理の一部として治療されるべきである。一方、胃排出の亢進も消化管疾患の一病態と考えられるが、この方面の知見は非常に少なく、これは簡便な胃排出検査法が少ないことにも原因があると思われる。ここでは腸管の通過時間測定用に開発されたバリウム(Ba)・マーカー法を胃排出検査法に転用し、その臨床応用を行ったので報告する。【方法】基礎的な検討として健常人5名において、形(リング状、球状)、大きさ(2.0-4.5 mm)、比重(1.2-2.4)の異なる3種類の硫酸 Ba・マーカーを用いし、それぞれ20コ含有するゼラチン・カプセル3コを試験食(380 Kcal、比重1.2、カイゲン)とともに3 channel の strain gauge transducer (μ Digitrapper, Sweden) による胃内圧測定を併用しながら投与し、前庭部運動と最も相関するマーカーを選択した。その後、健常人(n=11人)、食道運動障害を認める強皮症(8)、認めない強皮症(24)、dysmotility-like dyspepsia (21)、下痢型の irritable bowel syndrome: IBS(7)、腹部症状を有する糖尿病患者(9)に前記の試験食とともに1カプセルを投与し、食後2-6時間にわたり1時間毎に腹部単純写真2枚を撮影し、胃から排出されたマーカーを数えた。強皮症患者の食道運動の評価は infused catheter (Arndorfer, USA) による内圧測定法で行った。【結果】健常人において胃前庭部の motility index と最も良く相関して排出されたのは、直径4.5 mm、リング状、比重1.2のマーカー(SITZMARKS, USA)であり、振幅が50 mmHg以上の比較的大きな収縮波と有意($p < 0.05$)に相関していた。疾患群で IBS 患者では2時間後の Ba・マーカーの排出は有意に亢進し、dyspepsia、食道運動障害のある強皮症患者、糖尿病患者で5時間後の排出が有意に($p < 0.05$, Kruskal Wallis test)低下していた。【結語】通常のレントゲン撮影装置のみで測定可能な Ba・マーカー法で、食後2、5時間の腹部単純写真の撮影することにより、胃排出の亢進および遅延のいずれの病態の診断も可能であることが示唆された。

W-2. ^{13}C 呼気試験胃排出能検査の標準化を目指した評価指標の検討

東京慈恵会医科大学外科¹、東京慈恵会医科大学消化器内科²、東京慈恵会医科大学放射線科³

梁井真一郎¹、中田浩二¹、羽生信義¹、鳥居 明²、宮川 朗¹、西川勝則¹、向井英晴¹、内山眞幸³、森 豊³、青木照明¹

【目的】 ^{13}C 呼気試験は放射線活性のない安定同位元素を用いる間接的な胃排出能検査法であり、非侵襲的な検査法として近年注目され行われるようになってきたが、その方法は施設により異なり統一されていないのが現状である。この新しい検査法の普及促進に際して、その位置づけを明確にし、試験食、測定ポイント、評価指標を統一し標準化をはかることは重要な課題である。今回われわれは、 ^{13}C 呼気試験の簡便な胃排出能評価の標準化を目的としてアイソトープ法(RI法)との同時測定結果を検討した。【方法】1. 健常人6名に試験食($^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ と ^{13}C -octanoic acid 100mgを卵黄に加え加熱調理した卵焼き1個、ロールパン1個、バター4g、コンソメスープ160ml、計230kcal)を摂取させ、ガンマカメラによる撮影と呼気の採取を試験食摂取後6時間まで行った。RI法と ^{13}C 呼気試験法の相関性について検討し ^{13}C 呼気試験における T_{max} が胃排出能評価の指標として適切であるか検討した。2. 健常人35名に ^{13}C 呼気試験を行い、T_{max} の mean \pm 2SD を求め、その結果より T_{max} の正常範囲の算出を試みた。【成績】1. ^{13}C 呼気試験法における T_{max} は、RI法の結果と強く相関が認められた。2. 健常人35名の測定値から算出した T_{max} の平均値は109 \pm 32分 (mean \pm SD) であり、正常域を mean \pm 2SD とすると45 - 173分が正常域と考えられた。【結論】RI法との間に強い相関が認められたことから ^{13}C 呼気試験における T_{max} は胃排出能評価の指標として適切であると考えられ、また、その正常域は45 - 173分と考えられた。T_{max} を指標として用いることにより、 ^{13}C 呼気試験を簡便な定性的胃排出能検査とすることが可能であると考えられた。

W-3. 胃排出能検査の標準法を目指した¹³C呼気試験の検討

広島大学第一内科¹⁾，公立三次中央病院消化器科²⁾

楠 裕明，春間 賢，青木信也，原 陸展¹⁾，畠 二郎²⁾

【緒言】¹³C呼気試験は放射線活性の無い安定同位元素を用いる間接的な胃排出能検査法であり，現在極めて非侵襲的な評価法として注目されているが，これまでの検討では試験食や評価項目が統一されていない。

【目的】呼気試験の適切な試験食と評価項目について最適なものは何かを検討した。【対象】対象はそれぞれの試験食で健常人1～3名ずつとした。【方法】早朝空腹期に¹³C-sodium octanoate または¹³C-sodium acetate (100mg)を含む試験食(生理食塩水，5%ブドウ糖液，コンソメスープ，Okunos-A，エンシュアリキッド，イントラリピッド，パンケーキ，パンとスクランブルエッグ，親子丼)を被験者に摂食させ，原則として摂食前及び摂食後2時間までを10分または15分毎，それ以後を30分毎に呼気を採取した。¹³CO₂濃度は質量分析機で測定し，排出パラメーターを算出した。評価項目としては lag phase, gastric emptying coefficient(GEC), half-emptying time($t_{1/2}$)，平均滞留時間mean residence time (MRT)，ピーク時間(T max)について比較検討した。各評価項目の算出はYamaoka, Ghooosらの方法に準じ，非線型最小二乗法を用いた。【結果】液体試験食としては評価の際に使用する排出パターンモデルが作りやすいことから，極めて早期に大部分が排出されるものより，脂質を含むものが適していると思われたが，固形食では特に優劣を認めなかった。評価項目としては排出の早い生理食塩水や5%ブドウ糖液でGECが実際の排出と解離がみられたが，その他の評価項目は排出能をよく反映していた。排出に時間を要する固形食ではMRTが最も有用な評価法と思われたが，その他の評価項目でも同様な評価結果が得られた。【考察】今後呼気試験を臨床の場で活用するためには，排出が遅れた症例でさらに検討を重ね，健常者との間に明確な違いがある試験食を選択し，評価項目も適宜選択する必要がある。

W-4. ¹³C-octanoic acid breath test による胃排出能の検討

東北大学医学部消化器病態学

北川 靖，大原秀一，下瀬川 徹

【目的】胃排出能測定法として¹³Cを用いた呼気試験がRI法と良好に相関することが報告されているが，試験食の設定，正常範囲の設定など解決しなければならない課題が残されている。今回我々は健常人を対象に¹³C-octanoic acid breath test を行い再現性，試験食の内容による影響について検討した。

【方法】対象は健常人14人(男性7人，女性7人，平均年齢24歳)。試験食は¹³C-octanoic acid 100mgを混入したスクランブルエッグ，食パン，マーガリン，水150mlで，試験食1を食パン1枚(250kcal)，試験食2を食パン2枚(330kcal)とし比較検討した。呼気採取時間はGhoosらの方法に準じ6時間で計19回とし，呼気中の¹³CO₂は質量分析法にて測定して，half-emptying time ($t_{1/2}$)，lag phase (tlag)，gastric emptying coefficient(GEC)，及び¹³CO₂総排泄量をもとめた。

【結果】2種類の試験食について各パラメーターを比較すると，試験食2で胃排出が遅れる傾向があったが有意差は認めなかった。再現性の検討として同一試験食での各パラメーターの差の平均，SD値，および個体内変動係数(CV_{intra})をもとめたところ，各パラメーターのCV_{intra}は $t_{1/2}$ が18.1%，tlagが18.4%，GECが11.0%であった。しかし今回の検討で¹³CO₂総排泄量が大きく異なる例があり，そのような場合各パラメーターも比較的大きく変動していた。そこで¹³CO₂総排泄量の差が10%未満の群11症例と，10%以上の群5例に分けCV_{intra}を求めたところ，¹³CO₂総排泄量の差が大きい群のほうが，CV値も大きく再現性に劣ると考えられ，このような群では胃排出の変動だけでなく，消化，吸収，代謝，排泄の過程の変動があると推測された。

【まとめ】固形食を用いた¹³C-octanoic acid breath test ではCV_{intra}が $t_{1/2}$ で約20%あり，本試験で胃排出能を評価するにはこの点を考慮する必要があると考えられた。また，同一被験者に同条件で2回本試験をおこなったなかで¹³CO₂総排泄量が異なる例があり，消化，吸収，代謝，排泄の過程の影響が推測され，再現性を高めるためには更なる検討が必要と考えられた。

W-5. 赤外分光分析装置を用いた¹³C-octanoic acid呼気試験法

-リアルタイムによる簡便な胃排出能検査として-

千葉大学第一内科¹⁾、多古中央病院内科²⁾、川鉄千葉病院内科³⁾、君津中央病院内科⁴⁾、船橋中央病院内科⁵⁾

新保 泉、山口武人、山口 和也、尾高健夫、露口利夫、税所宏光¹⁾、中島賢一³⁾、小出明範³⁾、関谷武司、駒 嘉宏⁴⁾、小山秀彦⁵⁾、

【目的】¹³C-octanoic acid呼気試験は、胃排出能の間接的検査法として有用である。しかし、頻回の検体採取や長い検査時間などが普及の妨げになっていると考えられる。今回我々は、より安価であり、リアルタイムに結果を得ることができる赤外分光分析装置を用い、本検査法の簡便化の可能性につき検討した。

【方法】健康者30例、胃排出遅延を有する疾患例5例を対象とした。試験食は¹³C-octanoic acid100mgを混入し卵黄1個で作ったスクランブルエッグ、トースト1枚、スキムミルク 140ml、総熱量280kcalであり、早朝空腹時に摂取させた。呼気は終末呼気バッグを用い、食前と食後15分毎に6時間採取し、赤外分光分析装置(UbiT-IR200)にて測定した。呼気曲線からピーク時間を求めた。

【結果及び考察】ピーク時間は健康者106.2分、胃排出遅延を有する疾患例190.0分であった。ピーク時間の正常範囲を健康人のmean±2SDとすると57.0~155.4分であった。胃排出遅延例では様々な排出パターンを認め、fitting curveに収束しない例が多くみられた。正常範囲を越えてピーク値を示す場合は排出遅延と考えられた。

赤外分光分析装置を用いてピーク値を指標とすることにより、¹³C-octanoic acid呼気試験を応用した胃排出検査の簡便化、低コスト化が図れると思われた。

W-6. ¹³C-acetate gastric emptying breath test 臨床応用のための基礎的検討

滋賀医科大学第二内科

小山茂樹、西山順博、石塚 泉、馬場忠雄

Dysmotility like functional dyspepsia の確定診断は、胃蠕動運動低下を証明しなければならない。現在まで、胃蠕動運動を測定する方法には、RI・US・X-P・manometry・EGG・double smpling法・アセトアミノフェン法・スルファメチゾール法などがあるが手技的煩雑さ・侵襲性・危険性・概算的など研究的位置づけから脱却できず、日常臨床上の検査としては応用しにくかった。1988年 Yvo Ghoosらの¹³C-acetate gastric emptying breath testの報告があったが、本邦においては検討されなかった。しかし、最近、安価な¹³C赤外線分光器が使用可能となり、数施設において検討され始めた。当教室では、水溶性である¹³C-acetateによる胃排出検査の臨床的応用を目的に、その基礎的検討を行っている。呼気¹³CO₂値から得られるグラフより、予測値AUC_∞をMicrosoft Excelマクロ機能を用い計算し、胃内¹³C-acetate残存率を $(1 - AUC_T / AUC_{\infty}) \times 100$ として表示できるように、Nonliner Analysis Software for Gastric Emptyを作成した。H.pylori(-)健康成人を対象に水400mlのliquid、日本平滑筋学会ガストログラム研究班提唱標準固形試験食のsolid胃排出時間を、^{99m}Tc-DTPAと¹³C-acetateとの同時測定により検討した。測定ポイントは10分間隔にて行った。Liquidの呼気 $\Delta^{13}CO_2\%$ ピーク時間は 26.0 ± 4.9 分、solidは 86.0 ± 29.4 分(m±SD)であった。RIと¹³Cとのlag Timeは66分であり、RI残存率曲線と¹³CO₂($1 - AUC_T / AUC_{\infty}$)%胃内残存曲線から、liquidは $T_{1/2}$ と、solidは $T_{1/2} \cdot 150RR$ において相関した。Prokineticsであるクエン酸モサブリド、シサブリドは固形食で有意に胃排出を短縮させた。しかし、¹³C呼気試験の問題点は、呼気採取及び長時間の検体採取である。前者は終末呼気バックの作成、後者は我々の作ったプログラムにて16点から5点採取にて可能であったためより臨床応用が可能と思われた。

1. ヒトにおける食道内への slow fluid infusion 刺激は二次蠕動波発現前に tonus の変化をもたらす
群馬大学医学部第一内科
前田正毅, 草野元康, 三梨桂子, 富澤さやか, 下山康之, 河村 修, 森 昌朋

【目的】 Opossum において食道内への slow fluid infusion (SFI) 刺激は粘膜の mechanoreceptor を介して二次蠕動波を発現させることが知られている (Kusano et al. AJP, 1996)。ここではヒトにおける SFI 刺激の影響を検討した。
【対象と方法】 9名の健常 volunteer において食道内圧 (LES 上 2.5、7.5、12.5 cm) を 3-channel strain gauge transducer (μ Digitrapper, Sweden)、2カ所 (LES 上 5、20 cm) の pH を微小ガラス電極 (ケミカル機器) で測定し、LES 上 5 cm に生食または 0.1 N 塩酸 を infusion pump (テルモ) を用いて 0.25 ml/sec で注入した。嚥下の指標として前顔部の筋電図 (日本光電) を記録した。注入は収縮運動 (二次蠕動波、同期性収縮、一次蠕動波) が生じるか、または 50 ml を終了するまで続けた。コリン作動性神経の影響を検討するため、硫酸アトロピン 80 μ g/kg IV の影響を検討した。各注入は 3 回ずつ行い、各注入の間には食道内 pH が 4 以上になるまで水嚥下を行い、その後空嚥下を繰り返した。【結果】 SFI 刺激は二次蠕動波の発現前に注入部位より口側で tonic contraction と肛門側で relaxation を来した。この現象の latency (秒)、tonus の上昇圧 (mmHg)、tonus の下降圧 (mmHg) の各パラメーターにおける、生食群、生食+アトロピン群、塩酸群、塩酸+アトロピン群の 4 群における値 (mean \pm SE) は latency (23 \pm 4、23 \pm 3、23 \pm 3、24 \pm 3)、上昇圧 (8.4 \pm 1.4、4.0 \pm 0.9、8.2 \pm 1.5、4.9 \pm 1.0)、下降圧 (8.0 \pm 1.2、6.9 \pm 1.0、8.5 \pm 1.2、7.3 \pm 1.0) であり、各パラメーターで生食群と塩酸群では差を認めず、アトロピンは上昇圧を有意に ($p < 0.05$) 抑制したが、下降圧には有意差を認めなかった。SFI 刺激は tonus の変化をもたらした後に二次蠕動波を発現させたが、生食群、生食+アトロピン群、塩酸群、塩酸+アトロピン群の 4 群で発現回数は計 27 回の注入中 16、19、22、15 回であり、塩酸+アトロピン群で有意に低かった。【結語】 ヒトにおいて食道内の SFI は二次蠕動波を発現するより早期に口側の tonic contraction と肛門側の relaxation を生じさせ、この現象の一部は cholinergic pathway によるものと思われた。Opossum においてはこの現象は認められないことから、ヒトでは非常に低い閾値から液体に対する逆流防止機構が存在しているものと推測された。

2. 細径超音波プローブを用いた逆流性食道炎における食道運動機能の評価

1) 広島大学第1内科 2) 広島大学医学部附属病院総合診療部 3) 広島大学医学部保健学科
○眞部紀明1), 春間 賢, 昌 二郎, 花ノ木睦巳, 楠 裕明, 島谷智彦2), 井上正規3),

【背景】 食道の収縮運動の評価は、マノメトリーによる内圧測定を中心としていくつかの方法が存在するが、これを断層像としてリアルタイムにかつ貫壁性に評価した報告は少ない。また、逆流性食道炎 (RE) の発症要因の一つとして、食道運動機能異常の関与が報告されている。

【目的】 細径超音波プローブを用いて飲水時の食道運動を評価し、健常人と RE 間の食道断層像での相違点について検討した。

【対象および方法】 健常人 10 例と RE 9 例を対象に、16Fr の Gastric tube を経鼻挿入し、更にその内腔に 20MHz の細径超音波プローブを挿入した。下部食道括約部 (LES) を同定した後、LES より 5cm、10cm、15cm、20cm 口側において、水 20cc を嚥下した際の筋層の収縮率、壁のコンプライアンス (最大伸展時の最大径)、収縮時間、内容物の通過速度についてそれぞれ評価した。

【結果】 RE は健常人に比べて LES より口側 5cm、10cm における内輪筋の収縮率が有意に低下していた。縦走筋については、LES より 10cm、15cm、20cm において有意に収縮率の低下を認めた。また収縮時間については、LES より口側 5cm において RE で有意に延長していた。

【結論】 細径プローブ使用による超音波検査は飲水時における食道運動のリアルタイムな評価が可能であった。また、RE における食道筋層の収縮率の低下と収縮時間の延長は、RE の病態に関与している事が示唆された。

3. 塩酸イトブリド治療前後における糖尿病性胃麻痺患者の胃運動について -¹³C-acetate 呼吸胃排出機能検査による検討-

渡辺病院¹, 弘前大学医学部第三内科², 板柳中央病院³

渡辺 拓¹, 中村光男², 梶 麻子², 寺田明功³, 楠美尚子², 丹藤雄介², 長谷川範幸², 小川吉司², 須田俊宏²

【目的】自律神経障害を有する糖尿病患者では、胃運動の低下がしばしば認められる。糖尿病性胃麻痺は血糖コントロールの悪い糖尿病患者に多く、それ自体も血糖コントロール悪化の原因となっている。糖尿病性胃麻痺の治療には塩酸イトブリドが有効と考えられているが、今回我々は¹³C-acetateを用いて呼吸検査を行い、塩酸イトブリド治療前後で比較検討した。【対象及び方法】糖尿病性胃麻痺患者13例を対象とした。早朝空腹時にテストミールとして¹³C-acetate 100mgを混入したOKUNOS-A 300ml (300kcal)を摂取させ、経時的に呼吸採取を行い、呼気中¹³CO₂及び血糖値を測定した。次に同一症例に塩酸イトブリドを投与し、同様に呼気中¹³CO₂及び血糖値を測定した。【結果】呼気中¹³CO₂のピーク出現時間は塩酸イトブリド投与前では平均154.6分後であったが、投与後では平均120.0分後と改善が認められた。また、塩酸イトブリド投与後では血糖値の上昇傾向が認められた。すなわち、糖尿病性胃麻痺患者では¹³Cの呼気中排泄の増加が遅く、血糖値の上昇も低くなる傾向が認められたが、塩酸イトブリド投与により改善が認められた。これは糖尿病性胃麻痺患者の胃排出能の改善によりテストミール摂取後の血糖が上昇したためと考えられる。したがって、糖尿病性胃麻痺患者の血糖コントロールに塩酸イトブリド投与は有用であると考えられた。

4. ¹³C acetic acid によるクッキーを用いた胃排出能検査の検討

東海大学医学部消化器内科²¹, 埼玉県済生会川口総合病院²

財 裕明¹, 高安博之¹, 白井孝之¹, 高木敦司¹, 原澤 茂², 三輪 剛¹

背景：これまで様々な胃排出測定法が考案されてきたが、我々の教室においても、アセトアミノフェン法を用い、胃排出能と種々の消化器疾患の関係について報告を行ってきた。1990年頃より、¹³Cなどの安定同位元素標識化合物による胃排出測定法の報告が散見されるようになり、また、簡便で無侵襲な信頼性を兼ね備えた胃排出能測定方法の確立は、以前からの大きな課題でもあった。

目的：以上の背景を踏まえ、我々は簡便で、保存性にも優れ、カロリー負荷の調節も容易な固形食、クッキーによる¹³C acetic acidを用いた胃排出能測定法の確立を目指すとともにこの検査法のルーチン化に向けての問題点を検討する事とした。

方法：計200kcalで、100mgの¹³C acetic acidを含有する試験食、クッキーを摂取後、経時的に呼吸を採取。赤外分光分析装置により、呼気中¹³CO₂を測定。その変化により胃排出能を判定。

結果：標準曲線は、試験食摂取後60分にピークを有するなだらかなカーブとして描かれた。呼吸採取時間各々の呼気中¹³CO₂濃度の変化率のばらつきは、 $p < 0.0001$ であり極めて信頼性の高い検査方法である事が裏付けられた。また、Functional dyspepsiaの患者や、prokineticsの投与を行った被検者の排出カーブは、明確な有意差をもって、ピークが移動し、またその形状が変化する事が確認された。

結語：我々は、¹³C acetic acidを用いた、完全な固形食、クッキーによる胃排出能測定法を確立した。この測定法は、prokineticsの効果やfunctional dyspepsiaの病態を反映し得る十分な信頼性を有するとともに、ルーチン検査に十分対応可能であると考えられた。

5. 経静脈的脂肪投与によって生じる胃上部弛緩運動の制御機構

広島大学第2外科

羽路 一, 岡島正純, 吉川雅文, 小島康知, 大城望史, 平田雄三, 清水洋祐, 中島真太郎,
池田聡, 児玉真也, 中原雅浩, 川堀勝史, 浅原利正

【背景と目的】胃上部は様々な刺激に対して弛緩反応を示す。我々はこれまでに意識下雑種成犬を用いて、脂肪の経静脈的投与が胃上部に経口投与の場合とは異ったパターンの弛緩運動をひき起こすことを報告してきた。今回、脂肪の経静脈的投与によって胃上部に生じる弛緩運動における一酸化窒素(NO)とコリン作動性機構の関与を検討する目的で、以下の実験を行った。

【方法】あらかじめ胃瘻を造設した雑種成犬 (N=6) に、意識下無拘束でpolyethylene bagを胃上部に挿入留置し、これをBarostatに接続した。4mmHgにbag内圧を固定後、1) コントロールとして脂肪製剤である20%イントラリポス (1ml/kg i.v.) を投与し、胃運動の変化を60分間観察した。2) NO合成酵素阻害剤であるL-NNA (5mg/kg i.v.) 投与後に同様の実験を行った。3) アトロピン (0.1mg/kg i.v.) 投与後に同様の実験を行った。

【結果】1) コントロールのbaseline volume (脂肪投与前の胃内容量) は 56.9 ± 17.7 ml (Mean \pm SD) で20%イントラリポス静注後の胃内容量増加は 190.4 ± 70.5 mlであった。2) L-NNA投与によりbaseline volumeは 54.6 ± 11.9 mlから 66.0 ± 27.5 mlと増加したが、有意な変化は認めなかった。しかし、L-NNA前投与後では20%イントラリポス静注による胃内容量増加は 53.4 ± 41.8 mlとコントロールと比較し、有意に抑制された ($p < 0.005$)。3) アトロピン投与によりbaseline volumeは 48.1 ± 11.0 mlから 225.7 ± 83.0 mlと有意に増加した ($p < 0.005$)。アトロピン前投与後では20%イントラリポス静注による胃内容量増加は 26.5 ± 20.3 mlとコントロールと比較し、有意に抑制された ($p < 0.005$)。

【結語】脂肪の経静脈的投与による胃上部の弛緩反応にはNOとコリン作動性機構の関与が示唆された。

6. 高血圧ラットの胃平滑筋におけるイソプロテレノールの弛緩および過分極反応について

近畿大学ライフサイエンス研究所¹, 薬学部機能形態学²

島村佳一¹, 山本和夫¹, 関口富美子², 砂野 哲²

【目的】胃平滑筋には β -アドレナリン受容体を介する弛緩機構が存在することが知られている。高血圧ラットの胃平滑筋での報告は少なく、弛緩反応と膜電位反応との関係も明らかではない。今回、われわれは β -アドレナリン受容体作動薬イソプロテレノールを用いて、高血圧ラットの胃平滑筋における弛緩反応と膜電位変化について検討した。

【方法】16週齢の脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)および正常血圧のWistar Kyoto rat (WKY)よりエーテル麻酔下に胃を摘出し、胃底部輪状筋標本を作成した。Tyrode液中で等尺性収縮張力を記録した。膜電位記録には微小電極法をもちいた。

【結果】WKYおよびSHRSPの輪状筋標本は細胞外Ca依存性の緊張性自発収縮を発生した。緊張性自発収縮中にイソプロテレノールを作用させると濃度依存性の弛緩反応が生じた。イソプロテレノールによる弛緩反応にはSHRSPの標本においてWKYよりも高濃度を要した。フォルスコリンおよびdibutyryl cAMPは濃度依存性の弛緩反応を示したが、弛緩反応の大きさにはSHRSP、WKYの標本間に差はみとめられなかった。イソプロテレノールは輪状筋平滑筋細胞膜を濃度依存性に過分極させた。SHRSPの標本における過分極の程度はWKYにくらべ小さかった。フォルスコリンによる過分極反応にはSHRSP、WKYの標本間に差はみとめられなかった。

【結語】イソプロテレノールによる弛緩には細胞膜の過分極が一部関与すると考えられる。また、フォルスコリンによる弛緩反応や過分極反応が高血圧ラット標本、正常血圧ラットで差がないことから、高血圧ラット標本におけるイソプロテレノールの弛緩反応や過分極反応の低下は β -アドレナリン受容体からアデニル酸シクラーゼ活性化までの過程の異常によるものと思われる。

7. Glucagon は意識下犬の胃幽門輪弛緩運動を抑制するが、収縮運動は抑制しない

広島大学医学部総合診療部¹、広島大学医学部保健学科²、広島大学医学部第二外科³、日赤広島看護大学生理学⁴

島谷智彦¹、井上正規²、吉川雅文³、岡島正純³、藤井一元⁴

(目的) 先にわれわれは、glucagon は意識下犬において胃前庭部運動に対しては抑制的に作用し、一方十二指腸以下の運動に対してはむしろ促進的に作用するが、潜在的には抑制性機構が存在することを報告した(J. Smooth Muscle Res., 33: 145-162, 187-201, 1997)。今回は、胃幽門輪運動ならびに胃前庭部や十二指腸との協調運動に対する glucagon の作用について検討した。

(方法) 雑種成犬を用い、胃前庭部・幽門輪・十二指腸の運動を strain gauge force transducer 法で無麻酔無拘束下に記録した。

(結果) (1) Phase I の時期に glucagon (20 ~ 50 μ g/kg) を静脈内投与すると、胃前庭部においては何らの収縮も誘発しなかったが、幽門輪および十二指腸に強収縮を誘発した。(2) 自然発生の phase III の時期には、胃前庭部の強収縮と同期して幽門輪が弛緩し、一方、十二指腸の収縮と同期して幽門輪が収縮するという協調運動が観察された。同様の協調運動は motilin agonist の erythromycin (0.15mg/kg) の静脈内投与によっても誘発された。(3) これらの協調運動に対し、glucagon は幽門輪運動においては収縮を抑制することなく弛緩のみを抑制した。同時に、胃前庭部の収縮は強力に抑制したが、十二指腸の収縮は抑制しなかった。

(結論) これらの結果より、胃前庭部・幽門輪・十二指腸の各部位の運動において、神経・体液性調節機構に違いのあることが明らかであり、また、glucagon は十二指腸胃逆流を抑制する作用を有している可能性が示唆された。

8. 大建中湯胃内投与の空腹期および食後期運動におよぼす影響について

東京慈恵会医科大学外科学講座第2¹、東京慈恵会医科大学解剖学講座第1²

川崎成郎¹、中田浩二¹、羽生信義¹、古川良幸¹、向井英晴¹、西川勝則¹、梁井真一郎¹、青木照明¹、中尾誠利²、山下 廣²

[目的] 大建中湯(以下DKT)は山椒、人参、乾姜を主成分とし、消化管運動亢進作用を有することが知られている。しかし、空腹期と食後期の投与時期の違いによるDKTの運動効果を比較した報告はほとんどない。今回、われわれは慢性実験犬を用いDKTの投与時期の違いによる運動効果について実験的に比較検討した。

[方法] ビーグル犬5頭を全身麻酔下に開腹し、胃底部、胃体部、胃幽門洞部、十二指腸、空腸、回腸、近位および遠位結腸の漿膜面に strain gauge transducer を縫着し、胃体部よりシリコンチューブの留置を行った。消化管運動の観察記録を行い、空腹期(強収縮終了後20分)および食後期(液状食10kcal/kg摂取後60分)にDKTエキスを原末0.1g/kg(生食で15mlに混和)を胃内チューブより緩徐に投与した。消化管運動の解析は、まず肉眼的に収縮パターンの解析を行い、さらにコンピュータープログラムを用いて30分間の total amplitude(TA:全収縮波高の和)、mean amplitude(MA:平均収縮波高)、frequency(Fr:収縮頻度)を算出し、生食投与時(空腹期)またはDKT投与前30分(食後期)との比較を行った。

[結果] 空腹期には、DKT胃内投与後平均約1.5分で、胃に強収縮とほぼ同じ収縮波高を持ち、平均約13.8分の持続時間を持つ収縮波群の出現がみられ、生食投与時と比べてTA、MA、Frのいずれにおいても有意な運動亢進が認められた。また、この運動効果は投与部位である胃だけでなく、十二指腸、空腸にも観察された。これに対して食後期では、DKTの投与による明らかな収縮パターンの変化はみられずTA、MA、Frのいずれにおいても差は認められなかった。

[結論] 空腹期には、DKTの胃内投与により胃、十二指腸、空腸において消化管運動亢進作用がみられたが、食後期には明らかな運動効果は認められなかった。DKTの投与時期によりその運動効果は異なった。

9. モルモット胃底における β_3 -アドレナリン受容体に対するカルテオロールの部分活性作用について

東邦大学薬学部薬理学教室

堀之内孝広, 辻谷典彦, 小池勝夫

【緒言】私達は第101回日本薬理学会関東部会において、モルモット胃底に β_3 -アドレナリン受容体(β_3 -AR)が存在することを報告し、カテコラミン及び β_3 -AR作用薬による弛緩反応が β_3 -AR拮抗作用をも有する非選択的 β -拮抗薬であるブプラノロールによって競合的に拮抗されることも報告した。今回、一般的に β_1 -及び β_2 -ARの部分活性薬として知られているカルテオロールが、モルモット胃底に存在する β_3 -ARに対して部分活性薬として作用することを見出したので報告する。

【方法】モルモット胃底縦走筋標本を作製し、筋の反応は0.5gの負荷の下、等尺性に記録した。 β_3 -ARを介した弛緩反応は、選択的 β_1 -AR拮抗薬であるアテノロール 10^{-4} M及び選択的 β_2 -AR拮抗薬であるプトキサミン 10^{-4} M存在下、あらかじめプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ 3×10^{-6} Mで収縮させておいた標本に β -AR作用薬を累積的に投与することにより観察した。

【結果及び考察】モルモット胃底において、カルテオロールにより用量依存的な弛緩反応が生じたが(pD_2 値; 5.55 ± 0.06 , 内活性; 0.94 ± 0.02)、その反応はアテノロール 10^{-4} M及びプトキサミン 10^{-4} Mによってほとんど影響を受けなかった(pD_2 値; 4.91 ± 0.05 , 内活性; 0.94 ± 0.02)。しかしながら、アテノロール及びプトキサミン存在下、 β_3 -AR拮抗作用をも有する非選択的 β -拮抗薬であるブプラノロールによってカルテオロールの濃度反応曲線は濃度依存的に右方へ平行移動した(pA_2 値; 5.29 ± 0.07)。また、アテノロール及びプトキサミン存在下、カルテオロール(10^{-5} M)はイソプレナリン、ノルエピネフリン、エピネフリン及び β_3 -AR作用薬(BRL 37344及びCGP 12177A)による弛緩反応を弱いながらも有意に抑制した。それぞれの作用薬に対するカルテオロールのapparent pA_2 値は 5.71 ± 0.02 (イソプレナリン)、 6.04 ± 0.06 (ノルエピネフリン)、 5.97 ± 0.02 (エピネフリン)、 6.49 ± 0.06 (BRL 37344)及び 5.54 ± 0.05 (CGP 12177A)であった。これらの結果から、カルテオロールはモルモット胃底の β_3 -ARに対して部分活性薬として作用していることが明らかになった。

10. 覚醒イヌにおける胆嚢摘出後の十二指腸胃逆流増加機構とそれに対するマレイン酸トリメブチンの作用

田辺製薬創薬研究所¹⁾, 広島大学第二外科²⁾, 同第一内科³⁾

能城広司¹⁾, 谷口弘之¹⁾, 四方田英二¹⁾, 小野田有一¹⁾

岡島正純²⁾, 花ノ木陸巳³⁾, 春間 賢³⁾, 楠 裕明³⁾, 梶山梧朗³⁾

【背景と目的】胆嚢摘出(以下、胆摘)後に認められるdyspepsia様の上部消化器症状は胆摘後症候群として知られており、その成因の一つに胃内への胆汁逆流の増加が考えられている。本研究では胆摘後における十二指腸胃逆流の発生機序解明を目的として、イヌにおける胃・十二指腸運動および胃内への胆汁逆流に対する胆摘の影響を検討した。さらに胆摘イヌにおける消化管運動調整薬マレイン酸トリメブチン(トリメブチン)の効果を検討した。

【方法】雑種成犬の胃、幽門輪、十二指腸球部、十二指腸にstrain gauge force transducerを縫着し、胃瘻管を装着した。一部のイヌに胆摘を施して、空腹期3時間における上部消化管運動および胃液中胆汁酸濃度を測定し、対照群のそれと比較検討した。また、トリメブチン(3mg/kg/hr)の静脈内持続注入は胃液採取30分前より開始し、実験終了時まで維持した。

【結果】胆摘したイヌにおいて、胃液中総胆汁酸量が有意に増加した。また、胆摘により、空腹期Phase II収縮期における幽門輪弛緩頻度の増加が認められた。トリメブチンは、胆摘イヌにおける胆汁の胃内逆流を有意に抑制した。また、トリメブチンは、幽門輪弛緩頻度の低下と空腹期収縮サイクルの短縮作用を示した。

【まとめ】胆摘後の胆汁胃内逆流の増加に幽門輪の機能異常が関与し、トリメブチンは幽門輪弛緩頻度の低下と空腹期収縮サイクルの短縮作用により、胆摘後の胆汁胃内逆流増加を抑制することが示唆された。

11. IP3 受容体欠損マウス胃幽門部平滑筋の神経応答の変化

名古屋市立大学医学部第一生理学教室、*東京大学医科学研究所

鈴木 光・高野 博充・福田 裕康・山本 喜通・加藤 邦夫*・御子柴 克彦*

[目的と方法] IP3 受容体 (タイプ 1) 欠損マウスにおける胃幽門部平滑筋の支配神経の性質を調べた。実験は摘出平滑筋に経壁的に電気神経刺激を与え、誘発される等尺性収縮反応を指標にした。
[結果] 幽門部平滑筋で発生する自発収縮は、野生型マウスでも IP3 受容体欠損マウスでも見られたが、後者の方が頻度が低く不規則であった。高 K 液は両筋をほぼ同程度収縮させた。野生型マウスにおいて、経壁神経刺激は刺激中と刺激終了時に収縮反応を誘発した。前者はネオスチグミンで増強され、アトロピンで抑制されたのでコリン作動性神経から遊離されるアセチルコリンによる反応と考えた。ニトロアルギニンやアパミンは刺激時の収縮反応を増強し、アパミンは刺激終了時の収縮反応を抑制した。アセチルコリン (ACh) は自発収縮の頻度を増大させ、持続性収縮を誘発させた。ノルアドレナリン (NA) やニトロプルシド Na (SNP) は自発収縮を抑制した。IP3 受容体欠損マウスでは経壁神経刺激により、多くの場合刺激終了時の反応のみが誘発され、アパミンで抑制されたが、ネオスチグミン作用下では刺激時にもコリン作動性収縮が誘発された。ニトロアルギニンは神経刺激による収縮反応には無効であった。ACh は持続性収縮を発生させることなく自発収縮の頻度を増大させたが、この効果は野生型より低下していた。NA や SNP は自発収縮を抑制したが、SNP の抑制作用は野生型より低下していた。[結論] マウス幽門部平滑筋はコリン作動性興奮神経ならびに NO 作動性および非コリン非アドレナリン作動性抑制神経が分布しており、IP3 受容体欠損マウスでは平滑筋の収縮機能を変化させることなく自動能の低下や NO 作動性神経機能ならびにコリン作動性神経機能の低下などをきたしていることがわかった。

12. propylbenzilycholine mustard (PrBCM) 感受性及び抵抗性ムスカリン受容体を介した収縮反応の Ca^{2+} 感受性の相違とミオシン軽鎖の磷酸化

日本大学薬学部機能形態学研究室¹、東邦大学薬学部薬理学教室²

齋藤清茂¹、木澤靖夫¹、草間 貞¹、小池勝夫²、村上 元¹

私達はモルモット腸管平滑筋及び心筋のムスカリン受容体に PrBCM に感受性と抵抗性の 2 つのタイプが存在することを見出し、その受容体機構について検討してきた。モルモット回腸縦走筋を用いた検討から、部分活性薬の pilocarpine (Pilo) は PrBCM 感受性受容体を介して収縮反応を引き起こすのに対し、完全活性薬の carbachol (CCh) は正常標本では主に PrBCM 抵抗性受容体を、phenoxybenzamine (PBZ) 処理標本では PrBCM 感受性受容体を介して収縮反応を引き起こすこと、さらにそれぞれの受容体刺激により生じた細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の増加が同程度であるにもかかわらず、発生した収縮張力は PrBCM 感受性受容体を活性化した場合の方が、PrBCM 抵抗性受容体を活性化したときよりも大きく、 $[Ca^{2+}]_i$ と発生張力との関係が一致しないことを明らかにした。本研究では、この相違がミオシン軽鎖 (MLC) の磷酸化量の差に起因するものかを明らかにするために、PrBCM 感受性及び抵抗性受容体刺激時 ($[Ca^{2+}]_i$ の増加が同程度である条件下) における MLC 磷酸化量を二次元電気泳動法により求め、比較検討した。正常標本において、CCh (0.1 μ M) 及び Pilo (10 μ M) による MLC 磷酸化量の経時変化はほぼ一致しており、その最大値の間に有意な差はみられなかった。MLC kinase 阻害薬 KT5926 (3 μ M) または wortmannin (1 μ M) 存在下において、Pilo 及び PBZ 処理標本における CCh (10 μ M) は、正常標本における CCh と比較すると有意に大きな収縮を引き起こしたが、このとき MLC 磷酸化量の増加はみられなかった。これらの結果は、PrBCM 感受性及び抵抗性受容体を介した収縮反応における $[Ca^{2+}]_i$ と発生張力との関係の相違は MLC 磷酸化量の差によるものではなく、MLC の磷酸化に依存しない収縮経路 (静止レベルのミオシン軽鎖の磷酸化によって制御される収縮経路) による可能性が示唆された。

13. 血小板・巨核球系白血病細胞株Meg-01のミオシン軽鎖のクローニング

北里大学内科学IV

渡辺 真理子、郡 美佳、東原 正明

【目的】 我々は、既にヒト赤血球および血小板のミオシンの生化学的性状は平滑筋細胞のそれに類似し、20-kDa軽鎖のリン酸化がactin-activated ATPase活性を制御していることを報告した (Biochemistry 28: 1642-1949, 1989; Blood 78: 3224-3231, 1991)。しかし、現在までに造血細胞のミオシン軽鎖のアミノ酸配列は報告されておらず、特に20-kDa軽鎖のリン酸化部位であるN末20個のアミノ酸配列に平滑筋ミオシンとの相同性があるのかは不明のままである。また、赤血球の20-kDa軽鎖は、SDS-PAGEでの分子量は19,500、血小板は20,000であり、血球の違いにより若干の相違がみられる。

今回、我々は造血細胞ミオシン軽鎖が平滑筋細胞ミオシン軽鎖とどの程度相同性があるのかを調べるため、ヒト血小板・巨核球系白血病細胞株Meg-01のミオシン軽鎖全長のクローニングを行い、一次構造の比較を試みた。

【方法】 Meg-01より、RNAを調製、oligotexビーズを用いてpoly (A)⁺RNA selectionを行った。その後、既に報告されている様々な動物種のミオシン軽鎖で保存されている場所を縮重プライマーに選択し、RT-PCRを行った。増幅されてきたDNAフラグメントをプラスミドベクターにサブクローニングし、塩基配列を決定した。さらに、5'-および3'-RACE法によりミオシン軽鎖全長のクローニングを試みた。

【結果および考察】 今回、血小板・巨核球系白血病細胞株Meg-01よりクローニングされた2種類のミオシン軽鎖は、様々な動物の筋肉や平滑筋などで報告されている17-kDaの必須軽鎖(MLC-3)や20-kDaの制御軽鎖(MKLC-2)と相同性が認められた。さらに、20-kDaの制御軽鎖のリン酸化を受けるアミノ酸残基も、既に報告されているchicken gizzard 20-kDaの制御軽鎖と一致しており、おそらくこれらのN末5個のアミノ酸残基(Ser-1, Ser-2, Thr-9, Thr-18, Ser-19)がリン酸化を受ける可能性が示唆された。

14. モルモット盲腸紐のV-1蛋白質およびmyosin レベルに対する低酸素の影響

三菱化学生命科学研究所¹、東海大学工学部工業化学科²

小林麻須美^{1,2}、本間隆夫²、鈴木伸英¹、山国 徹¹、石田行知¹

低酸素条件では、各種の代謝反応が変化し、筋肉の収縮能は低下する。モルモット盲腸紐は、酸素要求度が大きい平滑筋である。15分以上低酸素条件に曝すと、再び酸素を通気しても、盲腸紐の収縮能は完全には回復しない。回復しない原因の一部は、ATPを含むadenylate化合物の細胞内濃度が減少することにある (Ishida & Paul, 1989)。今回は、低酸素条件が盲腸紐の蛋白質レベルにどのような影響を与えるのかを検討した。

方法：モルモットから盲腸紐を摘出し、好氣的条件では95% O₂、5% CO₂を、低酸素条件では95% N₂、5% CO₂を栄養液に通気した。盲腸紐の収縮反応は等尺性に記録した。蛋白質レベルは、それぞれの実験条件で盲腸紐を液体窒素で凍結し、ホモジナイズ後、SDS-PAGEを用いて分離し、Coomassie Blueで染色した。ankyrin repeat 構造をもつV-1蛋白質の定量はWestern blotting法を用いた。V-1蛋白質mRNAはNorthern blotting法を用いて検出した。

結果：好氣的条件で高濃度K⁺ (40 mM)を投与すると、盲腸紐は持続的な収縮反応を引き起こした。低酸素条件ではK⁺の収縮反応は好氣的条件の10%に抑制された。低酸素条件後5分に再び酸素を通気すると、収縮反応は完全に回復した。低酸素暴露時間を0.25、1、2時間と長くすると、その時間に依存して再酸素通気による収縮力の回復率は83、75、57%に低下した。低酸素後2時間でV-1蛋白質量は約2倍に増加していた。一方、myosin重鎖は低酸素2時間後には明らかに減少していた。V-1蛋白質mRNAの発現は低酸素条件により上昇していた。考察：今回の結果から、低酸素長期暴露により、myosinが減少することにより、収縮能が非可逆的に抑制されることが示唆される。V-1蛋白質は成熟ラットの交感神経細胞の細胞質に強く発現する (Ymakuni et al., 1998)が、出生後の骨格筋ではV-1蛋白質の発現はmyosin発現増加とは逆に顕著に減少する (Furukawa, et al., 1999)。これらを総合すると、盲腸紐では、低酸素下でV-1蛋白質が増加してmyosinが減少することが考えられる。

15. 新しいカルシウム結合タンパク質 (S100C) による平滑筋機能制御機構

三重大学医学部薬理学教室

中 充子, 趙 小青, 田中利男

我々は長年にわたりカルシウム結合蛋白質の機能について、カルシウム結合蛋白質阻害剤を使用する薬理学的研究法により、その生理機能を明らかにしてきた。今回我々は、新しく見出したカルシウム結合蛋白質 S100C が平滑筋の収縮反応調節に関与していることを見出したので報告する。我々は既に、S100C の遺伝子をクローニングし、その構造を解析したところ特徴的なエクソン-イントロン構造を見出した。すなわち、最初のイントロンが開始コドン直後に存在することが明らかとなったが、この遺伝子構造は他の S100 蛋白質ファミリーには全く認められず、すべてのカルモデュリン遺伝子に存在することからカルモデュリンファミリーとの分子進化上の関係が示唆された。さらにプロモーター領域に少なくともニケ所の低酸素応答配列 (hypoxia response element) を認めるとともに、心筋、肺、血管平滑筋細胞において低酸素下で S100C mRNA および S100C 蛋白質の発現上昇を明らかにした。

そこで、S100C 蛋白質の作用機構を明らかにするために標的分子の探索を行ったところ、S100C 蛋白質は以前我々が見い出しているアネキシン I に加え、アクチンとカルシウム依存性に結合し、アクチン活性化ミオシン MgATPase 活性を阻害することが明らかになった。アクチンに対する親和性はアクチンとの共沈実験でカルシウム存在下において、 K_d は $1 \times 10^{-6} M$ であった。このアクチンに対する作用は、S100A1, S100A2, S100B などの S100 蛋白質ファミリーおよびカルモデュリンには認められなかった。さらに、アクチンと S100C 蛋白質の結合部位を解析した。アクチンと γ -S-リン酸化ミオシンの相互作用をカルボニン阻害するが、S100A1 とカルモデュリンはその阻害作用を回復させた。しかし、S100A2 は影響を与えず、S100C 蛋白質は相加的な阻害作用を示した。すなわち、S100C 蛋白質はカルボニンとは異なる分子機構によりアクチン MgATPase 活性を抑制することを明らかにした。

平滑筋の収縮機序はミオシン軽鎖のリン酸化反応が中心的機序と考えられてきたが、最近、ミオシン軽鎖のリン酸化反応以外の機序の存在が注目されている。今回の結果から、我々の見出した新しいカルシウム結合蛋白質 S100C は平滑筋収縮反応において、ミオシン軽鎖のリン酸化反応に関与しない、アクチン側の調節機序に関わっていることが示唆された。

16. ^{31}P NMR 法によるスキンド平滑筋 ATP 分解機構の検討

東京慈恵会医科大学・生理学講座第 1 (現東京医科大学生理学第一講座)¹, 東京慈恵会医科大学・医学科 4 年生²

渡辺 賢¹, 富田益臣²

^{31}P NMR は、非侵襲的に生体組織の代謝測定方法として、広く用いられている。平滑筋においても、 ^{31}P NMR を用いた細胞内リン化合物測定の試みがなされてきた (例えば、Nakayama ら;1988)。しかし、このような生筋標本を用いた方法での平滑筋代謝の定量的な検討には少なからず問題がある。すなわち、平滑筋では細胞内環境を一定に保つことが難しい。更に、平滑筋では一見同様にみえる細胞内環境においても、化学-力学変換機構の効率が変化することが知られている (いわゆる latch など)。

そこで、細胞内環境を一定に固定したまま定量的に細胞内リン化合物代謝の検討を行なう目的で、細胞膜をサポニンエステル的一种 β エスシンで化学的に破壊し、更に筋小胞体に Ca ionophore A23187 で孔を開けたスキンド標本がその周囲の人工細胞内液中の ATP を分解する過程を ^{31}P NMR を用いて測定した。

β エスシン処理モルモット盲腸紐スキンドファイバーは、筋弛緩条件下でも 1 mM/min 以上の速さで標本内部及び周囲の人工細胞内液 (弛緩液) の ATP を消費し、その消費速度は細胞内 ATPases 活性の高い骨格筋スキンドファイバーのそれに匹敵する。その由来は主に細胞内 ATPases によるものなのか、それとも ectoATPases (細胞外 ATPases の総称であり、細胞外に存在する神経伝達物質としての ATP の分解に寄与する) によるものなのかを明らかにするために、基質の種類や種々の ectoATPases 阻害条件が β エスシン処理平滑筋標本の ATP 分解過程に与える影響について定量的に検討を行い、生筋平滑筋標本 (ectoATPases が弛緩液 ATP 分解を引起す) や TritonX100 処理平滑筋標本 (細胞内 ATPases が弛緩液 ATP 分解を引起す) の結果と比較を行っている。本研究の途中経過を報告する。

17. 平滑筋研究のための新しい人工平滑筋組織：三次元培養した培養平滑筋細胞に再構築された平滑筋様収縮

明治薬科大学薬理学教室
大石一彦, 内田幸宏

平滑筋組織より単離培養した平滑筋細胞の収縮反応性を定量的に測定する系の確立は、平滑筋の収縮制御機構の分子的解析や平滑筋の分化制御の研究において重要な意義を持つ。我々は、コラーゲンゲルに培養平滑筋細胞を包埋して機械的な緊張を負荷することで、典型的な収縮性アゴニストに対して収縮張力を発生する紐状の平滑筋組織標本を再構成する方法を確立した。

モルモット胃底部の培養平滑筋細胞で作製した人工平滑筋組織標本は、 α アドレナリン作動薬やセロトニンなどのアゴニストに反応し、用量依存性に等尺性収縮を発生した。これらの収縮は細胞内外の Ca^{2+} に依存し、カルシウムチャネル阻害薬のD-600、MLCK阻害薬のML-9、Rho-キナーゼ阻害薬のY-27632で抑制されることより、典型的な平滑筋の収縮様式を保持していることが示唆された。しかしその一方で、胃底部組織本来の収縮反応性とは異なり、アセチルコリンに対する反応性が欠如していたが、このアセチルコリンに対する反応性は、標本を上頸神経節細胞と共培養することにより回復した。脳底動脈の培養平滑筋細胞で作製した人工平滑筋組織標本は、 α アドレナリン作動薬、セロトニン、アセチルコリンなどのアゴニストに反応し、用量依存性に等尺性収縮を発生した。しかしながら、これらの収縮は胃底部の標本とは異なり、 Ca^{2+} に非依存性の収縮成分が大きく、また、カルシウムチャネルを介して流入した Ca^{2+} は、収縮を逆に抑制した。この Ca^{2+} による収縮抑制は、標本を長期培養して平滑筋の分化程度を高めることで細胞外の Ca^{2+} に依存性の収縮を発生するようになった。

この人工平滑筋組織標本は、平滑筋細胞を取り巻く細胞外環境を人工的に制御することが容易であり、以上のように標本の培養環境を整えることで、平滑筋様の収縮反応性を自在に再構築することが可能である。

18. ラット胃単離平滑筋細胞における I_{Kr} 及び I_{Ks} 様成分の電気生理学的検討

名古屋市立大学薬学部薬品作用学
朝倉圭一, 大矢 進, 村木克彦, 渡邊 稔, 今泉祐治

分子的・電気生理学的検討により、心筋における遅延性流性カリウム電流成分 I_{Kr} と I_{Ks} に寄与しているチャネル遺伝子が明らかとなった。 I_{Kr} はERG1とMiRP1 (KCNE2) が会合して、また I_{Ks} はKvLQT1 (KCNE1) とIsK (KCNE1) が会合してそれぞれチャネル蛋白質を形成していると考えられている。当研究室ではラット胃平滑筋より、胃体部及び胃底部からERG1/KCNE2の、胃体部においてはさらにKCNE1/KCNE1のmRNA及びタンパク質の発現を確認しており、ラット胃平滑筋に心筋と同様ERG1/KCNE2やKCNE1/KCNE1から構成される I_{Kr} や I_{Ks} 様成分が発現している可能性が考えられた。これまでも胃平滑筋では、自発的膜電位変化 (slow wave) や静止膜電位形成などの膜興奮性にカリウム電流の関与が示唆されてきたが、 I_{Kr} ・ I_{Ks} 様成分に関しては検討されていない。そこで本研究ではラットの胃を胃体部と胃底部に分け、それぞれから単離した平滑筋細胞にホールセルパッチクランプ法を適用し、 I_{Kr} 様成分 (E-4031感受性電流成分) 及び I_{Ks} 様成分 (indapamide感受性電流成分) の測定を行った。ホールセルパッチクランプ法によりE-4031 (1 μM) 及びindapamide (100 μM) 感受性末尾電流成分の検討を行ったところ、-50 mVにおけるE-4031感受性末尾電流 ($I_{tail(E-4031)}$) は胃体部及び胃底部単離平滑筋細胞において共に全体の約40%を占め、 $I_{tail(E-4031)}$ 密度は共に約0.1 pA/pFであることが明らかとなった。一方、indapamide感受性末尾電流 ($I_{tail(indap)}$) は、胃体部単離平滑筋細胞においてのみ観察され約35%を占め、その密度は約0.2 pA/pFであった。以上の結果より、ラット胃単離平滑筋細胞において分子的・電気生理学的に I_{Kr} 及び I_{Ks} 様成分が部位特異的に発現しており、これらが胃平滑筋における膜興奮性の制御に一部寄与している可能性が示された。

19. ウシ毛様体平滑筋細胞における非選択性陽イオンチャンネルのムスカリン受容体刺激による活性化にかかわる信号伝達経路

名古屋大・院・医・細胞生理学講座・分子動態学¹, 名古屋大・院・医・眼科²
高井 章¹, 高井佳子², 三宅養三²

[目的] ウシ毛様体平滑筋ではM₃受容体の刺激により一種の非選択性陽イオンチャンネルの開口によると考えられる電流応答が観察される[Takai et al. (1997) *Pflügers Arch.* 433, 705-712]。今回、我々はこの電流応答に伴うノイズの解析を行い、この単一チャンネルコンダクタンス(γ)と平均開口時間(τ)とを予想した。また、この平滑筋における trp チャンネル遺伝子の発現を RT-PCR 法を用いて検討した。

[方法] コラゲナーゼ処理により単離したウシ毛様体筋細胞に全細胞モードの膜電位固定法を適用し電流を記録した。灌流液には 10 mM-HEPES で pH を 7.4 に滴定した正常生理食塩水(PSS)をもちいた。電極は K⁺ を含まない、100 mM Cs aspartate, 5 mM-BAPTA ([Ca²⁺]=70 nM) and 200 mM-GTP (pH 7.0) を含む液を用いた。実験は全て 30°C でおこなった。RT-PCR に使用したプライマ対は、ヒトまたはマウスで報告されている 7 種類の trp (trp1-trp7) 遺伝子の塩基配列をもとに、チャンネル孔形成部とされる 100-130 アミノ酸配列に当たる部位の全域を挟むように設計した。

[結果] 膜電位を -50 mV に保持して、CCh (2 μ M) を灌流液中に投与すると、著明にノイズの増加を伴う内向き電流が観察された。そのパワースペクトルと非定常分散の分析から、 γ と τ はそれぞれ 39 pS と 17 ms と見積もられた。電極液に 2 mM-CCh を含む PSS を用い、in-situ パッチ法で記録すると、ノイズ解析で得られたのと同様の γ (31 \pm 1 pS) と τ (10 \pm 1 ms; n=8) をもつチャンネルの開口が観察された。電極内の GTP を GTP γ S で置き換えると、CCh の投与なしでも徐々にチャンネルが開口するのが観察された。この CCh に対する反応は灌流液中に thapsigargin を投与してもチャンネルの活性化は見られず、1 μ M 以上の濃度ではかえって不可逆的な抑制が見られた。RT-PCR 法による遺伝子解析の結果から、ヒト trp3 および trp6 にきわめて類似した trp が多く発現していることが明らかになった。

[結論] ウシ毛様体平滑筋の非選択性陽イオンチャンネルがムスカリン受容体刺激により開口する際の信号伝達は、いわゆる容量依存性の経路ではなく、何らかの G 蛋白を介する経路を介するものであることが示唆された。また、RT-PCR により、G 蛋白経路の調節を受ける非選択性陽イオンチャンネルを形成するとされている trp3 および trp6 がこの組織で発現していることが明らかになった。電気生理学的に捉えられたチャンネルとこれらの遺伝子との関連に興味を持たれる。

20. 電位依存性 Ca チャンネル α 、 β サブユニットの一時的発現における tail current の動態

名古屋大学医学部内科学第二講座¹, 名古屋大学医学部細胞情報科学細胞生理学講座², 名古屋大学医学部病理学第二講座³, 東北大学医学部分子薬理学講座⁴
青山昌広¹, 中山晋介², 岩下寿秀³, 村上 学⁴, 伊藤 康¹, 山本健市¹

(目的) 平滑筋の多くは活動電位を示し、そのスパイクは電位依存性 Ca チャンネルの活性化に起因する。一方、気管や血管における平滑筋は、静止膜電位や脱分極時にみられる持続性の張力(緊張状態あるいは緩徐な収縮)も同種の電位依存性 Ca チャンネルを通じた Ca イオンの継続的流入によると考えられている。このように平滑筋の Ca チャンネルは、一過性のものから持続的な機能にまで関与する。平滑筋に存在する Ca チャンネルは、強い脱分極によって第二の開口状態へ移行する。この第二の開口状態は、通常の開口状態と特性が異なり、脱分極中に不活性化せず、再分極時にゆっくりと脱活性化される。広範囲の機能にかかわる平滑筋の Ca チャンネルに、このような複数の開口状態が存在する事は興味深い。今回の実験では、培養細胞系を用いて電位依存性 Ca チャンネルにおける複数の開口状態と補助サブユニットの関係を調べた。

(方法) ウサギ肺由来の α 1-Cb サブユニットを安定発現させた CHO α 9 細胞を用いて、これに β サブユニット (β 2a, β 2c, β 3) の plasmid DNA をそれぞれ transfection した。Whole cell voltage clamp 下で電位依存性 Ba 電流を記録した。Holding potential は -60mV とした。4 ~ 5sec の conditioning pulse (+80mV) としたあとの再分極時の脱活性化特性を調べた。

(結果) conditioning pulse を与えた場合では、tail current の amplitude も大きく脱活性化の時定数も通常より大きかった。この tail current は Ca チャンネル作動薬である BAY K 8644 存在下でさらに大きくなり時定数もさらに延長した。各 β サブユニットにおける tail current の変化を見ると、 β 2c では α 1-Cb のみの場合と比べ tail current に有意な変化は見られず、機能的な変化は見られなかった。 β 3 では明らかに amplitude と脱活性化の時定数の大きな tail current が得られ、 α 1-Cb と β 3 の共発現が第二の開口状態への移行を促進していると考えられた。

21. モルモット腸間膜動脈最終分岐部の新型nifedipine非感受性Ca²⁺チャンネルを介したNa⁺電流の性質
九州大学大学院医学系研究科生体情報薬理
森田浩光, 井上隆司, 伊東祐之

以前、我々はモルモット腸間膜動脈最終分岐部以降の平滑筋細胞に高密度に存在し、現在、生理学的に分類されているどのタイプとも異なった性質を示す高電位活性化型 (HVA) nifedipine非感受性Ca²⁺チャンネルの存在を明らかにした。今回、我々はこの新型Ca²⁺チャンネルのNa⁺イオンの透過性について検討し、他のHVA Ca²⁺チャンネルの性質と比較した。

細胞内液を140mM CsCl溶液とし、灌流液の二価イオンを除去し、140mM NaCl + 200 μM EDTA + 10 μM nifedipineの溶液の条件下で、-100mVから各電位への脱分極パルスにより活性化されるNa⁺電流 (I_{Na(Ca)}) を観察した。I_{Na(Ca)}は-70mV付近から活性化され、-20mV付近で最大振幅を示した。活性化のV_{0.5}は-35.2mVで、不活性化のV_{0.5}は-61.6mVであった。これらの結果は、灌流液を5mMのBa²⁺として計測した時の電流 (I_{Ba}) と比較すると約20mV陰極側にシフトしていた。さらにI_{Na(Ca)}はI_{Ba}よりも最大振幅量が約10倍大きく、また脱活性化の時間も約2倍遅くなった。このI_{Na(Ca)}は、10 μMのtetrodotoxinに全く感受性を示さなかったが、nimodipine 10 μMにより約48%の抑制を受けた。これらの結果はI_{Ba}の時とほぼ同様であった。またI_{Na(Ca)}は、Cd²⁺ 100 μMにより完全に抑制された (IC₅₀=0.4 μM; EDTA無添加)。以上の結果から、このI_{Na(Ca)}は新型nifedipine非感受性Ca²⁺チャンネルを介した電流であり、その高Na⁺透過性、二価イオン除去による電位依存性の変化等、他のHVA型Ca²⁺チャンネルに報告されている性質と良く一致することが明らかになった。

22. イヌ脳底動脈における浸透圧変化によるL型カルシウムチャンネル電流増強作用に対するハービマイシンA感受性チロシキナーゼの関与について

静岡県立大学薬学部薬理学教室
小原一男, 木村 誠, 中山貢一

平滑筋細胞において電位依存性L型カルシウムチャンネル(VDC)電流が浸透圧変化による機械的刺激により増強されることが報告されている。一方、VDCがチロシキナーゼにより調節される可能性が示唆されている。そこで、イヌ脳底動脈単離平滑筋細胞において、浸透圧変化によるVDC電流増強作用に対するチロシキナーゼの関与について検討した。

[方法] ホールセルパッチクランプ法を用いて保持電位 -80 mV から +10 mV への脱分局刺激により VDC を通るバリウムイオンをチャージキャリアーとする内向き電流(I_{Ba})を測定した。浸透圧変化は外液のマンニトール濃度を 150 mM (等張) から 0 mM (低張) へ減少させることにより行った。

[結果] 外液を等張液から低張液へ置換することにより細胞容積とI_{Ba}は外液の浸透圧に依存して増加した。細胞容積の増加とI_{Ba}の増加との間には非常に良い相関関係が認められた。しかし、浸透圧変化は閾膜電位、ピーク電流を与える電位および逆転電位には影響を与えなかった。浸透圧変化によるI_{Ba}の増強はVDCブロッカーのニカルジピンで抑制された。チロシキナーゼ阻害薬のゲニステイン、ハービマイシンAおよびラベンダスチンAは低張液により増強されたI_{Ba}を抑制した。また、ゲニステインは等張条件下でもI_{Ba}を抑制したが、ハービマイシンAはI_{Ba}に影響を与えなかった。一方、ゲニステインの不活性化型誘導体のダイドゼインは等張および低張条件下でもI_{Ba}に影響を与えなかった。また、チロシホスファターゼ阻害薬のオルトバナジン酸ナトリウムは等張および低張条件下でI_{Ba}を増強した。

[考察] イヌ脳底動脈における浸透圧変化によるL型カルシウムチャンネル電流増強作用にハービマイシンA感受性チロシキナーゼが関与する可能性が示唆された。(Br. J. Pharmacol., in press)

23. 消化管 Slow wave とそのペースメーカー細胞：培養組織小塊標本での検討

名古屋大学大学院・医学専攻・細胞生理学¹、名古屋大学大学院・医学専攻・分子細胞学²
 中山晋介¹、鳥橋茂子²

【目的】 消化管運動は、Slow wave と呼ばれる緩徐な自発性の膜電位変動によって駆動される。このSlow wave の発生機構について多くの解析が行われ、動物種や消化管部位の差異により、電位依存性や電位非依存性などいくつかの種類のペースメーカー様式が提示された。また一方、癌原遺伝子c-kitを発現する細胞がペースメーカーである可能性が示されているが、未だ結論には至っていない。これは単離細胞においては、Slow wave 発生・観察が、難しいことに起因すると考えられる。そこで本研究では、Slow wave の発生を比較的容易に再現できる消化管の培養組織小塊（細胞塊）を開発し、この標本も用いて検討した。

【方法】 マウス小腸から、筋層（筋層間神経叢含む）を摘出して細切した後、酵素処理によって作成した細胞塊の培養を行った。

【結果】 免疫染色を行ったところ、培養3-4日において、細胞小塊中には平滑筋と神経細胞が（生きたまま）存在していた。また、抗c-kit抗体陽性細胞も存在し、ネットワーク状の形態を示した。この細胞小塊の辺縁にあり、カバーガラスに定着した細胞から、whole-cell voltage clamp法を用いて電流記録を行ったところ、規則正しい内向き電流のオシレーション（周波数：約14-20/分、液温35℃）が観察された。このオシレーションは温度依存的であり、室温では大きく抑制された。しかし、電位依存性NaチャンネルやCaチャンネルの阻害剤であるTTX(tetrodotoxin)やnifedipineでは、その周期は影響されなかった。一方、その形態からペースメーカーと思われるいくつかの単離細胞でも膜電流を記録した。そこでも細胞塊から得られたものと同質の内向き電流オシレーション（周波数が膜電位非依存性）が観察された。観察後に染色したところ、c-kit陽性細胞であった。細胞塊標本は、in vivo と in vitro の研究をつなぐ良い試料となる可能性が示唆された。

24. ヒト膀胱平滑筋における acetylcholine と ATP 放出量におよぼす加齢の影響

熊本大学医学部泌尿器科

吉田正貴、榎留彰人、米納 誠、瀬下博志、宮本 豊、村上滋孝、岩下 仁、宮前公一、上田昭一

【緒言】 膀胱平滑筋の収縮には副交感神経から放出される acetylcholine (ACh) が主要な役割を演じているが、他にも様々な神経伝達物質の関与が知られている。この中でATPは膀胱収縮反応のアトロピン抵抗性収縮に強く関係していることが示唆されている。我々はこれまでにヒト膀胱平滑筋において、このアトロピン抵抗性収縮が加齢により増加することを報告してきたが、今回はin vitro マイクロダイアリス法を用い、ヒト膀胱平滑筋の経壁電気刺激時のATPおよびAChの放出量に対する加齢の影響について検討した。

【方法】 膀胱癌にて手術時に摘出したヒト膀胱より平滑筋条片を作成し、臓器用透析プローブをこれに貫通させ、リンゲル液を透析液として2 μl/minで灌流させながら、Krebs-Henseleit液を満たした20mlのorgan bath内に懸垂固定し、等尺性トランスデューサーを介して張力変化を記録した。経壁電気刺激 (supramaximum voltage, pulse duration 0.5msec, frequency 20Hz, train of pulse 2sec, 10分間) を行いながら、透析液を10分おきに回収し、回収した透析液はHPLCに注入してAChおよびATP量を測定した。AChについては透析液にイソプロピルホモコリンを内部標準物質として混合し、電気化学検出器付きHPLCにて、ATPについては紫外検出器でその吸光度の変化を検出し、標準液のクロマトグラムから一点絶対検量線法で計算した。

【結果】 AChとATPの検出限界は0.02および0.1pmol/injectionであった。経壁電気刺激によるACh放出量は加齢に伴い有意に減少し、年齢とACh放出量は有意の負の相関関係を示した。一方、ATP放出量は加齢とともに有意に増加し、年齢とATP放出量の間には有意の正の相関が認められた。またアトロピン感受性収縮はACh放出量と、アトロピン抵抗性収縮はATP放出量との間にそれぞれ有意の相関関係が認められた。

【結論】 ヒト膀胱平滑筋では加齢に伴い経壁電気刺激時のATP放出量の増加とACh放出量の減少が認められ、これが加齢に伴う膀胱収縮力の低下やアトロピン抵抗性収縮の増加と関係している可能性が示唆された。

25. モルモット膀胱平滑筋に対するイソプロテレノールの作用

名古屋市立大学医学部第1生理学教室¹、名古屋市立大学医学部泌尿器科教室²
橋谷 光¹、中平洋子^{1,2}、福田裕康¹、鈴木 光¹

モルモット膀胱平滑筋標本を用いて自発活動に対するイソプロテレノールの細胞内作用機序を検討した。ガラス微小電極による細胞内電位記録とFura-PE3による細胞内カルシウム蛍光比の変化を指標に実験を行った。すべての膀胱平滑筋標本で自発活動電位とこれに伴って起こる細胞内カルシウム濃度の上昇が観察され、これらはニフェジピン(10 μ M)で抑制された。膀胱平滑筋の静止膜電位は約-40 mVで、イソプロテレノール(0.01-1 μ M)は濃度依存性に膜を過分極させ自発活動電位の発生を抑制した。イソプロテレノールによる過分極はプロプラノロール1 μ M存在下では見られなかった。フォルスコリン10 μ Mも膜を過分極させて自発活動電位の発生を抑制した。またイソプロテレノールの過分極作用はプロテインキナーゼA阻害剤であるH-89(10 μ M)およびRp-cAMP(25 μ M)で抑制された。以上よりイソプロテレノールは β 受容体を活性化し細胞内サイクリックAMPを上昇させプロテインキナーゼAを介して膜の過分極を起こすと考えられた。イソプロテレノールによる過分極はカリウムチャネル阻害剤であるグリベンクラマイド(10 μ M)、カリブドキシシ(0.1 μ M)、アバミン(0.1 μ M)、4アミノピリジン(1 mM)およびバリウムイオン(0.1 mM)で抑制されなかったが、高カリウム溶液中(30 mM)では抑制された。またイソプロテレノールによる過分極はウワバイン(10 μ M)および、低カリウム溶液(0.5 mM)で抑制されたので特殊なカリウムチャネルないしナトリウムポンプが関与していると考えられた。イソプロテレノール(0.01-1 μ M)およびフォルスコリン10 μ Mは自発カルシウム濃度上昇を抑制した。これらの抑制作用および過分極作用はCPA(10 μ M)存在下でも見られたので細胞内カルシウム貯蔵部位へのカルシウム取り込みの関与は少ないと考えられた。イソプロテレノール(0.01-1 μ M)およびフォルスコリン10 μ Mはウワバイン(10 μ M)存在下では自発カルシウム濃度上昇を抑制したが、高カリウム溶液中(30 mM)ではあまり抑制しなかった。以上よりイソプロテレノールには主に膜を過分極させ自発活動電位の発生を抑制することにより自発細胞内カルシウム上昇を抑制して膀胱平滑筋の弛緩に関わると考えられたが、少なくとも高カリウム溶液中では細胞内カルシウムの著明な変動を伴わずに膀胱平滑筋の弛緩を起こす機序も関与していると考えられた。

26. モルモット膀胱平滑筋の自発活動の組織内伝播

名古屋市立大学医学部第1生理学
福田裕康、高野博充、橋谷 光、鈴木 光

膀胱平滑筋における自発活動の伝播を検討する目的で2本のガラス微小電極を用いた細胞内電位記録と蛍光指示薬による細胞内カルシウム濃度の記録を行った。FuraPE3AM(10 μ M)を摂取させたモルモット膀胱平滑筋繊維束標本(0.5 X 2mm)から細胞内電位と細胞内カルシウム濃度の同時測定をおこなった。膀胱平滑筋の静止膜電位は約-40mVであり、1分間に10-20回の自発活動電位と、それに伴う細胞内カルシウム濃度の上昇が観察された。ほとんどの標本で細胞内カルシウム濃度の上昇は筋繊維束の最も外側で発生して繊維束内を拡がった。細胞内カルシウムを測定する(20ms間隔)と筋繊維長軸に沿った方向では1mm以上離れた場所でも完全に同期していたが、筋繊維走行と垂直方向に約300-500 μ m離れた場所では、数100msのずれが観察された。また、自発的な細胞内カルシウム反応の拡がりのほとんどは一端から他端まで到達したが、一端から始まり途中で消失するものも見られた。2本の微小電極を用いて自発活動電位の伝播を観察すると、筋繊維長軸に沿った方向では500 μ m離れて電極を挿入しても10ms以下のずれしか認められないが(sampling rate 1ms)、細胞内カルシウムと同様に垂直方向では数100msのずれが観察された。また、nifedipine存在下で自発活動を消失させた後、1本の微小電極を通して細胞内通電をおこない、他の電極で電気緊張電位を記録したところ、筋繊維に対し垂直方向では緊張電位の振幅は著しく減少し約50 μ m以上離れると観察されなかったが、長軸方向では約900 μ mまで観察できた。細胞のcouplingの方向性をneurobiotin(2% W/V)を微小電極から細胞内に注入し観察した。Neurobiotinを充填した微小電極から自発活動電位を観察した後、細胞を固定し共焦点顕微鏡を用いて染色させた細胞を観察した。Neurobiotinは筋繊維の長軸方向にそって数個の周辺細胞に拡がっていたが、筋繊維と垂直方向への拡散は確認できなかった。以上の結果から、膀胱平滑筋束では自発活動電位とそれに伴う細胞内カルシウム濃度の上昇がみられ、筋繊維の長軸方向により伝播しやすいことがわかった。

27. In vivo microdialysis法を用いたラット膀胱平滑筋から放出されるアセチルコリン放出量の測定

熊本大学泌尿器科

稲留彰人, 吉田正貴, 米納 誠, 瀬下博志, 宮本 豊, 村上滋孝, 宮前公一, 岩下 仁, 高橋 渡, 上田昭一

【目的】膀胱平滑筋は骨盤神経から放出されるアセチルコリンによりムスカリン受容体を介し収縮反応を示し、排尿において重要な役割を果たしていると考えられている。ところで、microdialysis法は神経伝達物質の測定において最近広く用いられている方法であるが、泌尿器科領域においてはあまり報告されていない。我々はこれまで *in vitro* において膀胱平滑筋からのアセチルコリン (ACh) 放出量を microdialysis法を用いて検討してきたが、今回 *in vivo* microdialysis法を用いて、ラットの骨盤神経を電気刺激した際の ACh 放出量と、それに対するアトロピンの効果を検討した。

【方法】約 200g の雌性 SD ラットを 900mg/kg の urethane 麻酔下に開腹し、両側尿管、骨盤神経を結紮切断し、経尿道的に 20G のカテーテルを膀胱内に挿入し、圧トランスデューサーを用いて膀胱内圧を測定した。また、膀胱壁に専用の透析プローブを貫通させ、エゼリン入りリンゲル液を 2 μ l/min で還流させ 10 分毎に透析液を回収し高速液体クロマトグラフィーに注入、分析して ACh 量を測定した。骨盤神経刺激は片側の骨盤神経をフック型双極電極に乗せ、電気刺激 (supramaximum voltage, 1msec duration, frequency 1-10Hz, 5times at 1min intervals) を行った。また、アトロピン 0.05-0.1mg/kg を経静脈的に投与し、投与前と比較した。

【結果】膀胱は骨盤神経刺激により 2 相性の収縮反応 (rapid phase, tonic phase) を示し周波数依存性にいずれの収縮反応も増加反応を示した。ACh の測定感度は 10fmol/injection であった。刺激前の ACh 放出量は約 36fmol/injection で、これも周波数依存性に増加反応を示した。アトロピンにより膀胱収縮 (tonic phase) は有意に抑制されたが、ACh 放出量には有意な変化は認められなかった。

【結論】ラット膀胱において、骨盤神経刺激は周波数依存性に膀胱収縮反応、ACh 放出量を増加させた。アトロピンにより膀胱の収縮反応は抑制されたが、アセチルコリンの放出量には有意な差は認められなかった。以上より、この方法は *in vivo* における膀胱平滑筋からの神経伝達物質の測定に有用であることが示唆された。

28. ブタ尿道平滑筋における ATP 感受性カリウムチャンネルに及ぼす新規カリウムチャンネル開口薬 ZD6169 の二相性効果

九州大学大学院医学研究院生体情報薬理学

寺本憲功, 柚木貴和, 伊東祐之

【目的・方法】近年、尿失禁症の治療薬として膀胱平滑筋の ATP 感受性カリウムチャンネル (K_{ATP} チャンネル) を標的チャンネルとする種々のカリウムチャンネル開口薬が開発されてきた。ZD6169 は *in vivo* 実験において膀胱選択性を示すことが報告されているが電気生理学的解析はほとんど行われていない。またカリウムチャンネル開口薬による尿道平滑筋の筋弛緩反応は膀胱選択性とは相反する作用でありその有無を検討することはその薬理作用を考える上で大変重要であると考えられる。今回我々はブタ尿道平滑筋から酵素処理により単離した平滑筋細胞の K_{ATP} チャンネルに及ぼす ZD6169 の効果をパッチクランプ法により検討した。

【結果】ホールセル電流固定下で ZD6169 ($\geq 1 \mu$ M) を投与すると濃度依存的な過分極反応が惹起され glibenclamide 追加投与により抑制された。一方 ZD6169 ($\geq 30 \mu$ M) を投与すると一過性の過分極に引き続き脱分極反応が惹起された。ZD6169 ($\geq 30 \mu$ M) を除去すると再び一過性の過分極が生じその後 ZD6169 投与前の膜電位に回復した。次にホールセル電位固定法下に ZD6169 を累積投与すると内向き整流性 K^+ 電流 (I_{ZD} : 細胞外液 140 mM K^+ , 細胞内液 140 mM K^+ の実験条件、保持電位、-50 mV) が惹起され 10 μ M ZD6169 投与により I_{ZD} が最大 (約 250 pA) が観察され 100 μ M 投与により I_{ZD} は完全に消失した。ZD6169 (100 μ M) を除去すると再び内向き整流性 K^+ 電流が生じこの一過性の内向き K^+ 電流は glibenclamide 前投与により完全に抑制された。

【考察】ZD6169 は尿道平滑筋の K_{ATP} チャンネル活性に対して二相性の反応を惹起した。すなわち低濃度では K_{ATP} チャンネルを活性化するのに対して高濃度ではそのチャンネル活性を抑制した。一方膀胱平滑筋では濃度依存的に K^+ 電流を増強するのみであり ZD6169 は従来のカリウムチャンネル開口薬にはない膀胱選択性を有する可能性が示唆された。

29. ラット膀胱平滑筋プリン受容体のサブタイプ

日本大学医学部生理学教室
高尾 恭一、國分 眞一郎

我々は、ラット膀胱平滑筋に少なくとも2種類のP2-purinoceptorが存在し、それらが生理的な収縮において重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。本研究ではラット膀胱平滑筋におけるP2-purinoceptorのサブタイプを検討した。単離膀胱平滑筋細胞にfura-2を付加して各種アゴニストによる細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)変化を検討したところ、細胞外Ca²⁺存在下に α , β -MeATP(10⁻⁹M~10⁻⁴M)、ATP(10⁻⁸M~10⁻⁴M)ともに[Ca²⁺]_iを上昇させたが、細胞外Ca²⁺非存在下では前者は[Ca²⁺]_iを上昇させなかったにもかかわらず、後者はやはり濃度依存性に[Ca²⁺]_iを上昇させた。細胞外Ca²⁺非存在下における、[Ca²⁺]_i上昇効果における各種薬剤の効果はATP>UTP>ADP>UDPの順であった。RT-PCR法による検討では、P2X1, P2Y2, P2Y4, P2Y1の発現を認め、それらの発現量をABI PRISM 7700により定量的比較を行ったところ、それぞれ、5.4 x 10⁸, 3.7 x 10⁷, 4.9 x 10⁵, 2.9 x 10⁶ (copies/ μ g RNA)であり、P2X1とP2Y2の発現量が多いことが明らかとなった。以上の結果より、ラット膀胱の生理的な収縮においてP2X1とP2Y2の寄与が大きいことが示唆された。

30. 子宮頸管縫縮術は早産を誘発するか—子宮頸管熟化と子宮筋収縮への影響—

慈恵医大産婦人科
大浦訓章、斎藤元章、齋藤絵美、落合和彦、田中忠夫

(目的)子宮頸管縫縮術は、子宮収縮や絨毛羊膜炎がある場合、その改善後に行うとされている。しかし待機することにより頸管が熟化・開大し、縫縮術が不完全となり早産へ進行していくことがある。今回我々は子宮頸管縫縮術モデルラットを用い、子宮頸管の熟化および子宮筋収縮性に頸管縫縮術がどのような影響を及ぼすか検討した。(方法)Wistar系ラットを用い、未妊娠、妊娠5日目、妊娠17日目に開腹、幅3mmのテフロン糸にて腹腔内で子宮頸管を縫縮した。また妊娠5日目のものには、E.Coli1.0 x 10⁹cfuにて頸管炎を起こした群を作成し、同様に縫縮した。対照は各々の未結紮群とした。48時間後に開腹し、子宮頸部および子宮分岐部の子宮筋を摘出した。頸管熟化の指標として、ハイドロキシプロリン量をトータル量と、塩可溶性分画に分け測定した。また妊娠17日目群に対してSDS電気泳動用bufferにて透析、タンパク定量を行いI、III型コラーゲンを解析した。子宮筋収縮性の指標として、gapjunctionの特異タンパクであるconnexin43と、オキシトシンレセプター(OTR)の発現を、RT-PCR法にて比較した。(成績)子宮頸部の可溶性ハイドロキシプロリンの割合は、対照群に比し、未妊娠、妊娠5日目、妊娠5日目頸管炎群では有意に上昇せず、妊娠17日目では上昇し、頸管の熟化を認めた。また、III型のコラーゲン比が、頸管縫縮群では減少した。connexin43の発現は、妊娠17日目では明らかな発現の増強を認め、妊娠5日目頸管炎群においても、軽度発現が増強した。他群では発現の差はなかった。OTRは、妊娠17日目の縫縮群のみ発現し、収縮性の亢進を認めた。(結論)妊娠17日目のラット子宮筋ではCa感受性の亢進がみられ、この時期の頸管縫縮術は早産を誘発する可能性が示唆された。妊娠中期以前のCa感受性の低い時期では、頸管炎が存在していても頸管熟化は認められず、子宮筋の収縮性が軽度であり、頸管縫縮術による早産の誘発は少ないことが確認された。

31. 妊娠ラット子宮輪走筋細胞における3種類のKチャンネルと膜電位制御機構における役割

広島大学医学部産科婦人科学
三好博史, 大濱紘三

子宮平滑筋細胞はL-type Caチャンネルが開き、細胞内Ca濃度が上昇して収縮するが、その開閉は細胞膜電位により制御されている。そこで膜電位を制御しているKチャンネルに着目し、その電気生理学的特性やCaチャンネル制御における役割をpatch clamp法を用いて検討した。妊娠18-21日のラット子宮輪走筋層より酵素法で単離した子宮平滑筋細胞にwhole-cell patch clamp法およびinside-out patch clamp法を応用し、Kチャンネル電流を記録解析した。Ca-free細胞外液で保持電位 -80mV から脱分極させると、緩やかに立ち上がり徐々に減衰する比較的大きな外向き電流と、約1/3の細胞に速やかに立ち上がり減衰する一過性外向きK電流が観察された。前者はtetraethylammonium (TEA)に感受性が高く遅延性矩形K電流と考えられ、後者は4-aminopyridine(4AP)に感受性が高く神経細胞などで観察されるA電流と性質が似通っていた。これらの電流に対する他の特異的阻害剤の効果についても検討した。inside-out法では細胞内Ca濃度が 10^{-6}M 以上で開き始める単一外向き電流が記録された。単一コンダクタンスは 250pS でcharybdotoxinに非常に感受性が高く、Ca依存性Kチャンネルのなかでもmaxi-Kチャンネルとみなされた。子宮平滑筋細胞には少なくとも3種類のKチャンネルが存在すると考えられた。子宮収縮において遅延性矩形K電流は発生した活動電位の再分極相に相当し、Caチャンネルを閉じ収縮を終息させる。maxi-Kチャンネルは収縮時のみならず細胞内Ca濃度が上昇した際に開き、膜電位を過分極し活動電位の発生を抑制する。一過性外向きK電流は活動電位の立ち上がり相で活性化され、その発生を抑制することが示唆された。

32. 妊娠ラット子宮平滑筋におけるトロンビン受容体発現増加と収縮反応の増強

九州大学大学院医学系研究科附属心臓血管研究施設分子細胞情報学
新谷可伸, 平野勝也, 西村淳二, 金出英夫

【目的】トロンビンはprotease-activated receptors (PARs) を介して、血管平滑筋収縮や血小板凝集を引き起こすが、子宮平滑筋に対する作用は明かではない。本研究では、ラット子宮平滑筋収縮に及ぼすトロンビンの作用を明らかにし、妊娠に伴う反応性の変化と、その機序を明らかにする。

【方法】表面蛍光測光法を用いて、Fura-PE3負荷ラット子宮平滑筋条片の細胞質 Ca^{2+} 濃度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)変化と発生張力を同時測定した。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 及び張力レベルは、非刺激時(5.9mM K^+)の値を0%、 40mM K^+ 脱分極刺激時の値を100%として相対的に表した。子宮平滑筋におけるトロンビン受容体、PAR 1、の発現を逆転写PCR法により解析した。

【結果】非妊娠ラット子宮平滑筋(10-12週齢)において、トロンビンは、濃度依存性($\geq 0.03\text{units/ml}$)に、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を伴う収縮を引き起こした。1 unit/mlの濃度で最大収縮反応が得られ、その収縮の程度は 40mM K^+ 脱分極による収縮の40%であった。一方、妊娠19日齢のラット子宮平滑筋において、0.01 unit/ml以上の濃度で、トロンビンは持続的な収縮を引き起こした。1 unit/mlで最大反応が得られたが、3 units/ml、10 units/mlではむしろ収縮反応は減弱した。妊娠子宮において、1 unit/mlトロンビンが引き起こす $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と発生張力は130%、140%であり、非妊娠子宮における反応と比べて3倍の増強が見られた。非妊娠子宮にわずかに認められたPAR 1 mRNAの発現は、妊娠により10倍以上増加した。増加の程度は妊娠日数によっては変化がなかった。一方、 β -actin mRNAの発現は約3倍に増加した。

【総括】トロンビンはラット子宮平滑筋を収縮させること、さらにこの収縮は妊娠によって著しく増強されることが明かとなった。妊娠によるトロンビン収縮反応の増強は、トロンビン受容体の発現増加によると考えられた。トロンビンの生理機能の一つとして、分娩後の子宮収縮と引き続く生物学的止血機構に関与することが示唆された。

33. LPS 暴露による消化管平滑筋収縮抑制作用機序

= 消化管常在型マクロファージからの iNOS と COX-2 の誘導 =

東京大学・院・農学生命科学・獣医薬理¹、名古屋大学・院・医学研究科・分子細胞学²
堀 正敏¹、鳥橋茂子²、佐藤晃一¹、尾崎 博¹、唐木英明¹

【目的】腸炎や敗血症発症時において血中のLPS濃度が増加すると消化管運動の低下をきたすことが知られているが、その作用機序については明らかではない。本研究では、摘出回腸組織標本をLPSとともに器官培養することにより、LPSによる消化管平滑筋収縮抑制機序について検討した。【結果】摘出回腸標本をLPS 100 μ g/ml で4時間処置すると、charbachol (CCh)による収縮反応は有意に抑制され、この時 iNOS と COX-2 の mRNA レベルが有意に増加していた。iNOS と COX-2 のタンパク質レベルでの発現を組織免疫染色法で検討したところ、縦走筋と輪走筋の筋間層に両抗体に陽性反応を示す細胞が検出された。iNOS を産生する細胞は常在型マクロファージを特異的に認識する ED-2 抗体で染色され、さらに FITC-dextran を取りこむ貪食作用を有することも示された。一方、平滑筋細胞における iNOS と COX-2 の発現はほとんど検出できなかった。さらに、酵素抗体法により、LPS を暴露した回腸組織からは PGI_2 と PGF_2 の産生が確認された。LPS とともに、COX 阻害剤である indomethacin 10 μ M を処置すると、iNOS の mRNA の発現は有意に抑制された。一方、NOS の阻害剤である N^G -monomethyl-L arginine (L-NMMA) 300 μ M を LPS とともに処置しても、LPS による iNOS の mRNA 発現には影響しなかった。また、COX-2 の mRNA の発現は indomethacin あるいは L-NMMA によって影響されなかった。LPS により抑制された CCh 収縮は、LPS とともに indomethacin または L-NMMA を作用させることにより、有意に回復した。【考察】LPS の暴露により、消化管平滑筋筋間層に分布する常在型マクロファージで iNOS と COX-2 が誘導され、これから産生される NO と PGs により消化管運動が抑制されることが示唆された。また、マクロファージにおける iNOS 発現は COX-2 を介した PGs により増加される可能性が示唆された。これらの反応は腸炎や敗血症時の消化管運動不全の発症機序の一因となっていると考えられる。

34. LPS による iNOS 誘導は IL-1 β 遺伝子発現を介している

徳島大学薬学部薬理学教室
久山哲廣、山下裕美子、福井裕行

我々はラット胸部大動脈標本を lipopolysaccharide (LPS; endotoxin) で刺激すると、L-arginine に対して弛緩反応を示すようになることを見だし、この弛緩反応の発現は血管平滑筋において inducible type の NO synthase (iNOS) が誘導されたことによることを明らかにしてきた。今回、LPS による iNOS 発現機序を代表的な炎症性サイトカインである IL-1 及び遺伝子発現に関与する蛋白キナーゼとの関連から検討した。mRNA 量は RT-PCR 法を用いて定量した。

血管標本を LPS で処理することにより産生される iNOS mRNA は、IL-1 receptor antagonist を同時処置することにより濃度依存的にほぼ完全に抑制された。LPS は IL-1 の産生遊離を介して iNOS 遺伝子を発現することが示唆された。LPS 適用後 IL-1 β mRNA 量は速やかに増大し、適用1時間後にはほぼプラトーに達した。なお、同標本においては IL-1 α mRNA の存在は LPS 処置の有無にかかわらず見い出されなかった。tyrosine kinase 阻害薬である herbimycin A は LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生ならびに LPS による IL-1 β mRNA 産生を共に抑制した。LPS による IL-1 β 遺伝子発現及び IL-1 β による iNOS 遺伝子発現に至る情報伝達経路に tyrosine kinase が関与していることが示唆される。PKC 阻害薬である Ro 31-8220 も同様に LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生ならびに LPS による IL-1 β mRNA 産生を抑制した。近年、PKC は cPKC, nPKC, aPKC の少なくとも3種の isoforms に分類できることが知られている。cPKC 及び nPKC を阻害する calphostin C は LPS 及び IL-1 β による iNOS mRNA 産生を抑制したが、LPS による IL-1 β mRNA 産生には影響を与えなかった。なお、IL-1 β による iNOS mRNA 産生は cPKC 阻害薬である Go 6976 により部分的に抑制された。以上の結果より、ラット大動脈平滑筋標本において LPS は IL-1 β 遺伝子を tyrosine kinase/aPKC 依存的に発現させて IL-1 β を産生遊離し、これが autocrine/paracrine 的に平滑筋に働くことにより tyrosine kinase/cPKC/nPKC 依存的に iNOS を発現させている可能性が示唆された。

35. 大建中湯小腸内投与の消化管運動に対する効果

東北大学医学部第一外科

金 学林, 柴田 近, 内藤広郎, 舟山裕士, 福島浩平, 児山 香, 上野達也, 松野正紀, 佐々木 巖

背景: 大建中湯は腸閉塞に対して有効であることが知られているが、その作用機序については不明な点が多い。以前、われわれは大建中湯を胃内に投与すると胃前庭部、十二指腸、空腸にコリン受容体、セロトニン3受容体を介した収縮が引き起こされることを報告した。しかしながら、大建中湯は実際の臨床の場では、イレウスチューブから小腸内に投与されることがしばしばである。目的: 大建中湯の十二指腸、空腸内投与が上部消化管運動に及ぼす効果とその作用機序について検討すること。対象と方法: 雑種成犬を用い、胃前庭部、十二指腸、近位空腸 (Treitz 靱帯より 60 cm)、遠位空腸 (Treitz 靱帯より 120 cm)、の 4 カ所に消化管運動測定用の strain gauge force transducer を縫着した。シリコンチューブを十二指腸、近位空腸にチューブ先端が force transducer 縫着部のすぐ近位に位置するよう留置した。一定の回復期間の後に意識下で消化管運動を測定した。空腹期に大建中湯 0.5, 1.5, 3.0 g を十二指腸内、または空腸内に投与した際の消化管運動の変化について検討した。さらに、大建中湯 1.5 g により誘発された収縮に対する atropine, hexamethonium, ondansetron, phenolamine, propranolol の影響について検討した。収縮の定量化には大建中湯投与後 15 分間の波形下面積を motility Index (MI) として算出した。結果: 大建中湯の十二指腸内投与は十二指腸に始まり遠位空腸に伝播する、3-5 分持続する収縮を引き起こしたが、胃前庭部は全く反応しなかった。MI は全ての大建中湯の用量について対照群との間に有意差が認められたが、最大反応は大建中湯 1.5 g の時に認められた。空腸内投与でも同様に大建中湯投与部位の遠位側に伝播性収縮が認められたが、投与部位より口側には何ら収縮を認めなかった。MI は用量依存性に増加し、全ての大建中湯の用量について有意差が認められた。大建中湯により誘発された収縮は atropine, hexamethonium により抑制されたが、ondansetron, phenolamine, propranolol には影響されなかった。結語: 大建中湯の小腸内投与は投与部位より肛門側に伝播性収縮を引き起こした。この収縮はコリン受容体を介した収縮であり、アドレナリン受容体、セロトニン 3 受容体は関与していないと思われた。このような大建中湯の作用が腸閉塞改善に関与している可能性が高いと考えられた。

36. 一酸化窒素によるラット近位結腸平滑筋弛緩の細胞内機序

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理

杉本圭祐, 藤田秋一, 竹内正吉, 畑 文明

我々は以前に、ラット近位結腸縦走筋において、一酸化窒素 (NO) が細胞内 cyclic GMP の変動や膜電位の変化とは無関係に弛緩を生じることを示した。本報告では、NO の弛緩の細胞内機序をさらに検討した。(方法) Wistar ラット近位結腸から粘膜を除いた条片 (2 x 7 mm) を作成し、縦走筋方向の張力と細胞内 Ca^{2+} の変動を fura-2 を用いて同時測定した。(結果) 1. 予め Carbachol で収縮させた標本において、NO donor である NOR1 は弛緩と細胞内 Ca^{2+} の減少を濃度依存性に生じた。両者の変動の程度は良く並行した。2. NOR1 による弛緩は、Apamin や Charybdotoxin によって全く影響されなかった。3. PKG 阻害薬 Rp-8-Bromo cGMPs によっても全く影響されなかった。4. 標本を Ca^{2+} 非存在下で、SR Ca^{2+} -ATPase 阻害薬の Thapsigargin (TG) を処置した後、正常 Ca^{2+} 濃度溶液に戻すと '容量性 Ca^{2+} 流入' により、収縮した。NOR1 はこの状態の標本には殆ど作用を示さなかった。5. cGMP-PKG 系の働きをさらに確認するため、膜透過性の cGMP analog である 8-Bromo cGMP の反応を調べた。高濃度 (30 μ M) 適用すると、 Ca^{2+} 減少を伴うある程度の弛緩を生じたが、これらの反応も標本を TG 処置することにより消失した。(考察) ラット近位結腸縦走筋では、一酸化窒素は SR の Ca^{2+} 取り込みを促進し、細胞内 Ca^{2+} 濃度を低下させることによって弛緩を生じていることが示唆された。一方、外因性の cGMP による PKG の活性化も同様な作用を示すが、通常の NO の弛緩作用には、この系は含まれていないと考えられる。

37. Hybrid Logistic Function によるヒト直腸内圧曲線数式化の試み

奈良県立医科大学第2生理学教室¹, 奈良県立医科大学第1外科学教室²
 杉森志穂², 山内昌哉², 藤井久男², 中野博重², 高木 都¹

【背景】我々は、これまでに、摘出モルモット腸管を用い回腸単収縮反応および近位側結腸自動運動の収縮力-時間曲線の Hybrid Logistic Function による数式化を行い, Hybrid Logistic Function が収縮力-時間曲線とよくフィットすること, この方法により両者の運動のパターンの違いを表現できることを報告した。そこでこの Hybrid Logistic Function による数式化を消化管運動の新しい評価法として臨床応用できるのではないかと考えてきた。

【目的】今回我々は Hybrid Logistic Function によるヒト直腸内圧曲線の数式化を試みた。

【方法】直腸癌患者6例(術前3例, 術後3例)を対象とし, グリセリン浣腸の前処置後, 左側臥位にて外径2.5mmのポリエチレンチューブを肛門より挿入して脱気水30ml/hrの注入を行いながらオープンチップ法にて直腸内圧曲線を約20分間記録した。記録した直腸内圧時間曲線をコンピュータをもちいてデジタル化した後, 直腸内圧時間曲線および最高内圧とその時間で標準化した曲線を以下の Hybrid Logistic Function を用いてカーブフィットし, パラメータA~Fをもとめた。

$$F(t) = A / [1 + \exp \{-(4B/A)(t-C)\}] - D / [1 + \exp \{-(4E/D)(t-F)\}] + g$$

【結果】 Hybrid Logistic Function はヒト直腸内圧時間曲線とよくフィットした。標準化曲線のベストフィットパラメータの平均は, 術前患者(n=36 waves)で A=1.46 ± 0.33, B=2.09 ± 0.23, C=0.53 ± 0.05, D=1.54 ± 0.26, E=1.79 ± 0.17, F=1.53 ± 0.08, 術後患者(n=60 waves)では A=1.45 ± 0.11, B=1.96 ± 0.02, C=0.55 ± 0.003, D=1.58 ± 0.06, E=1.71 ± 0.36, F=1.57 ± 0.05 であり, 術前術後でほぼ同じ値となり, 直腸内圧時間曲線の圧変化のパターンに差違はみられなかった。

【結論】 Hybrid Logistic Function によりヒト直腸内圧曲線の数式化が可能であったことから, 今後様々な病態での消化管運動の評価法としてこの手法を用いることができると考えられる。

38. ラット遠位結腸の cyclic AMP を介した弛緩における筋小胞体の役割

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学研究室
 竹内正吉, 杉本圭祐, 藤田秋一, 畑 文明

これまで, ラット遠位結腸における nonadrenergic, noncholinergic (NANC)性弛緩の伝達物質の一つがVIPであり, VIPは細胞内の cyclic AMP の増加, charybdotoxin(ChTX)感受性 K⁺ channel の開口を介して弛緩を生じることを明らかにしている。今回, cyclic AMP を介した弛緩における筋小胞体の役割について検討した。【方法】Wistar ラット遠位結腸から2x7mmの縦走筋標本を作成し, 縦走筋方向の張力と細胞内 Ca²⁺濃度の変動を fura-2 を用いて同時測定した。【結果】Isoproterenol(IPR)は予めcarbacholで収縮させた標本を濃度依存性に弛緩させ, 同時に細胞内 Ca²⁺濃度の減少を生じた。IPRによる弛緩は protein kinase A の阻害薬 Rp-8 bromo cAMPS により有意に抑制された。ChTX 100nMは IPR による濃度-弛緩曲線を右方に移動した。Apaminは全く影響しなかった。標本を Ca²⁺非存在下で, 筋小胞体 Ca²⁺-ATPase 阻害薬の thapsigargin を処置した後, 正常 Ca²⁺濃度溶液に戻すと, 容量性 Ca²⁺流入による収縮を生じた。この収縮に対して IPR の低濃度は全く作用を示さなかった。高濃度では弛緩を生じたが, 細胞内 Ca²⁺濃度は変化しなかった。この IPR による弛緩は ChTX により影響されず, Rp-8 bromo cAMPS により抑制された。一方, VIP によっても弛緩と細胞内 Ca²⁺濃度の減少を生じた。これらの VIP による反応は ChTX により抑制された。また, thapsigargin 処置後の標本では VIP の抑制作用は認められなくなった。【考察】ラット遠位結腸縦走筋標本において, 細胞内 cyclic AMP の増加は筋小胞体への Ca²⁺の取り込み増加, 筋小胞体からの Ca²⁺放出による ChTX 感受性 K⁺ channel の活性化により弛緩を生じるものと思われる。高濃度 IPR による Ca²⁺の減少を伴わない弛緩は収縮機構の Ca²⁺感受性低下によるものと考えられる。

39. PACAP のラット遠位結腸平滑筋における弛緩機序の発育に伴う変化

大阪府立大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理
山崎安子, 藤田秋一, 竹内正吉, 畑 文明

以前にラット遠位結腸平滑筋の NANC 性弛緩において、NO と VIP の関与の程度が発育とともに変化することを報告した。また、弛緩の一部に PACAP も tyrosine kinase-SK channel 系を介して関与していることを報告した。本報告では PACAP の弛緩作用機序が発育に伴って変化するか否かを調べた。【方法】2, 8 週齢の Wistar ラットから得た遠位結腸条片の縦走筋方向の運動を、 $1 \mu\text{M}$ アトロピン、 $5 \mu\text{M}$ グアネチジン存在下に等張性にマグナス法で記録した。経壁電気刺激 (EFS; 10 Hz, 10 s, 30 V) による弛緩と、外から適用した薬物による弛緩を記録した。【結果】2 週齢 ①外から適用した PACAP により濃度依存性の弛緩が生じた。SK channel の阻害薬 apamin はごく僅かな抑制効果しか示さなかった。② tyrosine kinase の阻害薬 tyrphostin 25 は低濃度の PACAP による弛緩には効果を示さず、高濃度による弛緩を僅かに抑制した。③ PKA 阻害薬 Rp-8 bromo cAMPS は著しく弛緩を抑制した。④ EFS による弛緩は PACAP アンタゴニスト PACAP₆₋₃₈ により約 50% 抑制されたが、Rp-8 bromo cAMPS を適用してもそれ以上抑制されなかった。また tyrphostin 25 によってもそれ以上抑制されなかった。⑤ EFS による弛緩は L-NOARG により 80% 抑制されたので、NO と PACAP の相互作用を検討した。外からの PACAP の弛緩が L-NOARG により抑制され、一方外からの NO による弛緩も PACAP₆₋₃₈ により抑制された。8 週齢 ①外から適用した PACAP による弛緩は apamin により濃度依存的に抑制された。②また Rp-8 bromo cAMPS および tyrphostin 25 によりそれぞれ約 50% 抑制された。③ EFS による弛緩は PACAP₆₋₃₈ および tyrphostin 25 によりそれぞれ約 40% 抑制された。④ EFS による弛緩は L-NOARG で 35% 抑制された。外からの PACAP と NO による弛緩はそれぞれ L-NOARG と PACAP₆₋₃₈ により影響されなかった。【考察】2, 8 週齢で NANC 性弛緩の PACAP によるコンポーネントは約半分と変わらないが、2 週齢では主として cAMP-PKA 系を介して働いており、SK channel の関与はない。8 週齢では tyrosine kinase-SK channel 系が加わり、ともに PACAP の細胞内伝達系として働いていることが示唆された。また 2 週齢では NO による伝達系との相互作用が示唆された。

40. 排便反射時における腰部交感神経の役割

奈良県立医科大学第一外科¹, 奈良県立医科大学第二生理学²
山内昌哉¹, 杉森志穂¹, 藤井久男¹, 中野博重¹, 高木 都²

(目的)直腸癌に対する外科治療としての低位前方切除術ではリンパ節郭清に伴い腰部交感神経系の下腸間膜動脈神経に障害が生じ、これが術後排便機能障害を起こす原因の一つと考えられる。我々は、腰部交感神経の排便反射、特に直腸-直腸反射と直腸-内肛門括約筋反射に対する役割を検討した。

(方法)モルモットをウレタン麻酔下にガラミンで非動化し人工呼吸を行った。長さ 1.5 cm 大のラテックスバルーンを肛門より 4 cm 挿入し、0.6 ml の温水で直腸を加圧伸展させ、直腸-直腸反射性収縮と直腸-内肛門括約筋反射の張力変化を測定する。測定の際は、1. 無処置(control) 2. 第 13 胸髄横断、3. 下腹神経切断、4. 腰部結腸神経切断、5. 仙髄破壊を組み合わせて行い、さらに外来神経を除外された腸管に guanethidine, L-NAME を投与し同様の測定を行った。

(結果)無処置群では、直腸伸展加圧に伴って直腸-直腸反射性収縮が全例に見られ、それに伴い直腸-内肛門括約筋反射性弛緩が認められた。腰部結腸神経を切断するとこれらの反射は増強した。一方、第 13 胸髄を横断すると直腸-直腸反射および直腸-内肛門括約筋反射は消失し、下腹神経を切断しても変化はなかった。しかし、腰部結腸神経切断で直腸-直腸反射性収縮が再出現し、直腸-内肛門括約筋反射性弛緩も認められた。続いて仙髄破壊を行い、腸壁内反射成分のみにすると、両反射は消失した。これに L-NAME を投与すると直腸-直腸反射性収縮が再出現し、直腸-内肛門括約筋反射は収縮反応に変わった。

(まとめ)直腸加圧伸展により腰部結腸神経は腰髄レベルの抑制反射を引き起こすが、その活動は上位中枢により完全ではないが抑制されているために、直腸の反射性収縮と内肛門括約筋の反射性の弛緩を起こす。一方、壁内神経を介する内反射性の反応は L-NAME で増強されることより NO 性壁内ニューロンが直腸および内肛門括約筋の弛緩に関与していることが示唆された。

41. モルモット結腸紐自発収縮に対する Y-27632 の効果

九州大学大学院医学系研究科 心臓血管研究施設 分子細胞情報学講座¹, 九州大学大学院医学系研究科 生殖発達医学専攻 小児外科学講座²
 家入里志^{1,2}, 西村淳二¹, 平野勝也¹, 金出英夫¹, 水田祥代²

【目的】 Rho kinase 阻害薬である Y-27632 は特異的に Rho kinase を抑制し、Ca²⁺ 感受性を下げることで平滑筋を弛緩させる。本研究ではモルモット結腸紐を用いて消化管平滑筋自発収縮に対する Y-27632 の作用を検討した。

【方法】 Fura-PE3 表面蛍光測光法を用いてモルモット結腸紐平滑筋条片の細胞質 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) 変化と発生張力を同時測定した。いずれも非刺激時(5.9mMK⁺)を0%、60mMK⁺ 脱分極刺激時を100%として相対的に表した。実験はテトロドトキシン(1 μM)存在下で行った。

【結果】 1)自発収縮はテトロドトキシン(1 μM)及びアトロピン(1 μM)で抑制されなかった。2)60mMK⁺脱分極下で細胞外 Ca²⁺ 濃度を段階的に上昇した際に得られる Ca²⁺-張力関係を基本的な Ca²⁺-張力関係と定義した。細胞 Ca²⁺(2.5mM)存在下で観察される自発収縮の Ca²⁺-張力関係はこの基本的な Ca²⁺-張力関係よりも左方に位置する傾向がみられた。3)60mMK⁺脱分極刺激がひき起こす持続的[Ca²⁺]_i上昇に対して10 μM Y-27632 は影響を与えなかった。4)60mMK⁺脱分極刺激の発生張力に対しては低濃度(<300nM)では有意な抑制効果はみられなかったが1 μM 以上では有意差をもって抑制した。5)自発収縮に対しては100nM Y-27632 は[Ca²⁺]_iを下げることなく発生張力を77.4 ± 6.6%と有意に抑制した。

【総括】 Y-27632(100nM)はモルモット結腸紐平滑筋自発収縮の発生張力を[Ca²⁺]_iを低下させることなく抑制した。モルモット結腸紐の自発収縮には Rho kinase が一部関与していると考えられた。

42. モルモット結腸の部位による運動パターンの相違

国立国際医療センター消化器科

大和 滋、正田良介、村岡 亮、秋山純一、山下浩子、朝山雅子、岡裕之、吉永秀哉、猿田雅之、正木尚彦、林 茂樹、松枝 啓

【背景および目的】 結腸において分節運動と蠕動運動の異なる運動パターンが存在し、これらは各々内容物の攪拌、輸送に関与している。我々は以前からヒト結腸蠕動運動の存在を報告してきたが、今回モルモット結腸を用い、近位および遠位結腸において分節運動と蠕動運動の出現が異なるか否かを検討した。【対象および方法】 モルモット結腸を摘出し、全長約50cmのうち近位部(盲腸から約5cm肛側)および遠位部(肛門から約12cm口側)の各々約7cmを用いた。摘出結腸の近位端を結紮、遠位端をガラス管に接続し、organ bath内に水平に固定した。結腸およびガラス管内には外液と同様のKrebs液を充満させ、ガラス管にelectro-magnetic flow meter (SKALAR, オランダ)を接続し結腸内容の流量を測定した。ガラス管の遠位端から、結腸内に3cmH₂Oの圧を加え定常状態とし、さらに1~6cmH₂Oの圧を負荷し、結腸運動を誘発した。さらに結腸の縦走筋方向の張力をisometric transducerにて測定し、輪状筋方向の収縮を肉眼的に観察した。【結果】 モルモット摘出結腸の近位部において、圧負荷により、分節運動が出現した(12.3回/分)。この運動に一致して、内腔のto and froの流量も増加した(3 vs 8cmH₂O: 0.7 vs 5.3ml/分)。一方、遠位結腸においては、圧負荷により肛門側に伝播する、内腔が完全に閉塞する強い収縮(蠕動運動)が規則的かつ反復性に出現した(1.9回/分)。この運動に一致して、内腔の流量は肛門側方向へ最大となり(3 vs 8cmH₂O: 0.3 vs 7.6ml/分)、縦走筋方向の張力も最大となった。【考案】 結腸の部位により異なる運動パターンが独立して観察されたことにより、各々の運動に対する生理学的、薬理的な検討が可能となると思われた。【結語】 モルモット摘出結腸において、圧負荷により近位結腸では頻回な分節運動が、遠位結腸では肛門側へ伝播する蠕動運動が出現し、明らかな運動パターンの相違を認めた。

43. モルモット回腸縦走筋の内在性ヒスタミン遊離の性質

昭和大学薬学部薬理学教室
黄 洋一、百瀬和享

【目的】組織中の内在性ヒスタミン含量は、概ねその組織に分布する肥満細胞の数に相関する。モルモット回腸の肥満細胞は、ほとんどが粘膜層、粘膜下層および腸管膜に局在しており、縦走筋層には全体の僅か2%が分布するに過ぎない。しかし、縦走筋には、腸管膜に匹敵する多量の内在性ヒスタミンが存在している。我々は、縦走筋の内在性ヒスタミンについて検討し、これが平滑筋細胞に由来することを示唆してきた。一方、肥満細胞からヒスタミンを遊離する種々の薬物の存在が知られている。そこで、本研究では、これらの薬物による縦走筋および腸管膜肥満細胞のヒスタミン遊離の性質について比較した。

【方法】モルモット回腸縦走筋あるいは腸間膜を、Tyrode HEPES 溶液 0.5 mL 中、薬物の存在下および非存在下でインキュベート (37°C, 30 min) した。それぞれの溶液中の遊離ヒスタミン量を、高速液体クロマトグラフィー・ポストカラム o-phthalaldehyde (OPA) 誘導体化法により測定した。結果は、組織中の内在性ヒスタミン含量に対する遊離ヒスタミン量の割合で示した。

【結果・考察】Compound 48/80 (C48/80) は、ラット腹水肥満細胞からヒスタミンを強力に遊離するが、モルモットの肥満細胞は C48/80 に非感受性であることが報告されている。まず、C48/80 (10 μ M) のヒスタミン遊離作用について検討した。その結果、C48/80 は、モルモット腸間膜のヒスタミンを遊離しなかったが、縦走筋から 0.15% の僅かなヒスタミンを遊離した。次に、モルモット腸間膜肥満細胞からヒスタミンを遊離することが知られている、プロタミンの作用について検討した。プロタミン (0.4 mg/ml) は、縦走筋から 0.42%、また、腸間膜から 0.55% と同程度のヒスタミンを遊離した。次に、70 mM KCl 処理の影響について検討した。KCl は、縦走筋から 0.53% のヒスタミンを遊離したが、腸間膜のヒスタミンを遊離しなかった。最後にイオノマイシンの作用について検討した。イオノマイシン (1 μ M) は、縦走筋のヒスタミンを 0.43% 遊離した。これは 70 mM KCl によるヒスタミン遊離と同程度であった。一方、イオノマイシンによる腸間膜ヒスタミンの顕著な遊離 (3.1%) が認められ、その遊離量は、縦走筋のおよそ 7 倍であった。

以上の結果は、これらの薬物に対する縦走筋のヒスタミン遊離の性質が、腸間膜肥満細胞とは異なることを示している。従って、縦走筋の内在性ヒスタミンは、肥満細胞に由来するものではないことが強く示唆される。

44. モルモット胸部大動脈に存在する α_1 -アドレナリン受容体の性質について

東邦大学薬学部薬理学教室
山本佳久、小池勝夫

【緒言】モルモット胸部大動脈に存在する α_1 -アドレナリン受容体 (以下 α_1 -AR) のサブタイプに関する報告はいくつか存在するが、数種のアンタゴニストの pA_2 値と各 α_1 サブタイプにおける既報の数値 (pA_2 値または pK_i 値) とを比較し、それらの相関関係からサブタイプを同定した報告はない。そこで、我々はモルモット胸部大動脈のノルアドレナリン誘発収縮に対する 5 種類のアンタゴニスト (プラゾシン, WB 4 1 0 1, 5-メチルウラピジル, BMY 7 3 7 8 およびタムスロシン) の pA_2 値を算出し、結合実験および機械的応答より得られた既報の数値と比較することにより、サブタイプの同定を試みた。

【実験方法】Hartley 系雄性モルモットを撲殺瀉血後、直ちに胸部大動脈を摘出し、結合組織、内皮を取り除いた後、長さが約 5 mm になるように細切し、リング標本とした。この標本に 2 本のワイヤーを通し、一方を固定し、他方を糸を介してトランスデューサーに連結させ、37°C に保温した Locke-Ringer 液で満たされたオルガンバス (20 ml) 内に初期張力 0.5 g の負荷をかけて懸垂した。90 分の平衡化後、薬物による反応を等尺性に記録した。

【結果】ノルアドレナリンは胸部大動脈標本を濃度依存的に収縮させた。5 種類のアンタゴニスト (プラゾシン, WB 4 1 0 1, 5-メチルウラピジル, BMY 7 3 7 8 およびタムスロシン) はいずれもノルアドレナリンの濃度反応曲線を濃度依存的に右方へ平行移動させ、シルドプロットより得られた帰直線の傾きは 1 と有意な差はなく、 pA_2 値はそれぞれ 7.83, 8.20, 7.78, 5.73 および 9.59 であった。これらの値を既報のデータと比較したところ、 α_{11} -AR の存在が報告されているウサギ腸管動脈、膀胱三角部、尿道、前立腺およびヒト下部尿路平滑筋における各アンタゴニストの pA_2 値と 1 対 1 の相関関係が得られた。

【考察】今回用いた 5 種類のアンタゴニストはいずれもノルアドレナリン誘発収縮に対し、1 対 1 の競合的拮抗作用を示すことが明らかになった。また、既報の各 α_1 -AR サブタイプにおける pA_2 値もしくは pK_i 値との比較から、モルモット胸部大動脈に存在する α_1 -AR は、 α_{11} -AR が存在すると言われる臓器 (ウサギ腸管動脈、膀胱三角部、尿道、前立腺およびヒト下部尿路平滑筋) のそれと薬理的に非常に類似した性質を有することが示唆された。

45. PDGFは血管平滑筋よりプロスタグランジンを遊離させ平滑筋収縮を抑制する

東京大学大学院農学生命科学研究科RI施設¹、東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室²
佐藤晃一¹、堀 正敏²、尾崎 博²、唐木英明²

血小板由来増殖因子 (PDGF) はもっとも強い細胞増殖因子の一つとして知られており、その長期作用については多くの知見が得られている。近年、このような長期的な細胞増殖作用に加えて、PDGFの急性作用として、血管平滑筋に直接作用して細胞内Ca濃度を増加させ収縮を起こす作用や、血管内皮細胞に作用して一酸化窒素(NO)を放出し弛緩作用を起こすという結果も報告されている。今回我々は、PDGFが血管平滑筋に作用して、抑制性プロスタグランジン類を産生し、血管弛緩作用を起こすことを明らかにした。【方法】雄性日本白色ウサギ(2-3kg)を放血致死させた後、腸間膜動脈を摘出しリング状標本を作製した。血管内皮細胞は一部の実験をのぞき剥離した。収縮張力は等尺性に測定し、プロスタグランジンI₂およびE₂は酵素免疫法を用いて測定した。【結果】正常栄養液中で静止状態の内皮剥離標本にPDGF(1-200 ng/ml)を投与しても、張力に変化は認められなかった。一方、10 μM ノルエピネフリン収縮に対して、PDGF(1-200 ng/ml)は濃度依存性の弛緩作用を示した。シクロオキシゲナーゼ阻害薬であるインドメタシン(10 μM)を30分間前処置すると、PDGFによる弛緩作用は完全に阻害された。しかし、NO合成酵素阻害薬であるL-NMMA(200 μM)を30分間前処置しても、弛緩作用は影響を受けなかった。内皮剥離標本にPDGF(100 μM)を適用すると、外液中へのPGL₂およびPGE₂の放出量は有意に増加した。PGL₂アナログであるアイロprost(1 μM)またはPGE₂(1 μM)の投与により、ノルエピネフリン収縮は有意に抑制された。Ca除去液中ではPDGFによるプロスタグランジン産生は完全に抑制された。さらに、内皮付着標本において、PDGFのPGL₂産生能は内皮剥離標本と比較して有意に抑制され、この抑制作用はL-NMMA処置により完全に解除された。【考察】以上の結果より、PDGFは血管平滑筋に作用しプロスタグランジン(PGL₂およびPGE₂)を産生・放出することにより血管収縮を抑制すること、また、プロスタグランジン産生機構はCaに依存しており、内皮細胞から放出されるNOにより抑制されることが明らかとなった。

46. 腸間膜細動脈のニフェジピン非感受性Ca電流・細胞内遊離Ca([Ca²⁺]_i)上昇・血管径減少に対するmibefradilの効果について

九州大学大学院医学系研究科生体情報薬理
田中 潔、森田浩光、中島 匡、伊東祐之、井上隆司

最近、モルモット・ウサギ・ラット等の腸間膜細動脈には、ニフェジピンに抵抗性を示す、新しいタイプの高電位活性化/急速不活性化型Caチャネル(NI-VDCC)が優勢に発現していることが報告されているが、Cd²⁺、Ni²⁺以外にこのCaチャネル活性を完全に抑制する阻害薬は知られていない。今回我々は、NI-VDCCと類似性を示すT-型、R-型Caチャネルの強力な阻害薬、mibefradilが、同程度の効力でNI-VDCCを抑制し、更にこれに伴う[Ca²⁺]_i上昇・血管径減少を有意に減少させることを見出したので報告する。結果：(1)モルモット腸間膜細動脈から酵素的に単離した平滑筋細胞を電位固定し(保持電位-80mV;電極内液:CsCl;細胞外液:5mM BaCl₂及び10 μM nifedipineを含むKrebs液)、0mVへ脱分極させると、NI-VDCCを介する電流(NI-I_{Ca})が活性化された。この電流はmibefradilによって、頻度依存性かつ濃度依存的に抑制された(K_i=1.02 μM, n=1)。更に保持電位を-60mVにするとK_i値の有意な減少がみられた(0.38 μM)。(2)fura-2AMをloadした細動脈組織片に過剰Kを急速投与して誘発されるCa²⁺蛍光増加も、1-10 μM mibefradilによって濃度依存的抑制を受けた。(3)ウサギ腸間膜細動脈を管内圧固定し、ビデオ画像解析によって外径変化を観察した。10 μM nifedipine存在下に、過剰K(77mM)で誘発した細動脈外径の減少(正常K濃度時の外径の約50%)は、1及び10 μM mibefradil前投与によってそれぞれ約40、80%抑制された。(結論)mibefradilによるNI-I_{Ca}抑制の効力及び様式(頻度・電位依存性)はT-型、R-型Caチャネルに報告されている結果と良く一致した。また、Ca²⁺蛍光、血管径変化測定の結果から、NI-VDCCを介すると考えられるCa流入が、腸間膜細動脈の[Ca²⁺]_iや筋緊張調節に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

47. 高脂血症に伴う血管平滑筋緊張異常の新しい分子機構： スフィンゴ脂質とRhoキナーゼ(RK)の役割

山口大学医学部生理学第一講座¹, 山口大学医学部外科学第一講座²

小林 誠¹, 森景則保^{1,2}, 轟一池田奈津子¹, 最上紀美子¹, 水上洋一¹, 江里健輔²

高血圧症や血管攣縮などの血管緊張異常の病態として、血管平滑筋のCa²⁺非依存性収縮([Ca²⁺]_i増加の程度だけでは説明できない異常収縮)が注目されている。一方、高脂血症においては、血清総コレステロール(Chol)濃度の増加に伴って、冠動脈疾患の発症頻度が増加することが知られている。特に、Chol濃度が200mg/dlを越えると冠動脈疾患リスクが増加することが知られている。しかしながら、このChol濃度とCa²⁺非依存性収縮との関係は不明であり、また、その分子機構も明らかにされていない。最近、我々は、スキンド血管平滑筋標本を用いて、Rhoキナーゼ(RK)の酵素活性領域のリコンビナント蛋白(活性型RK)を血管平滑筋の細胞内に直接投与することによって、RKがCa²⁺非依存性収縮を引き起こす情報伝達因子である事を報告した。今回、我々は、ヒトおよび動物(正常および高Chol血症)の血管標本におけるCa²⁺非依存性収縮と血清Chol濃度の関係、およびその原因となる細胞内情報伝達機構を検索し、RKとの関連について検討した。

α-トキシシンやβ-エスシンによるスキンド血管平滑筋において、スフィンゴ脂質の一つであるスフィンゴシルフォスフォリルコリン(SPC)は、[Ca²⁺]_i一定で、かつG蛋白の活性化に必要なGTPが無い条件下でも、Ca²⁺非依存性収縮を引き起こしたが、トリトンXによるスキンド標本には無効であった。RK阻害薬は、SPCによる収縮をほぼ完全に阻害した。従って、これらの結果から、SPCは、RKの上流にあって、Ca²⁺非依存性収縮を引き起こす新規の細胞内情報伝達因子である事が示唆された。一方、ヒトにおいては、正常Chol濃度(<220mg/dl)の患者さんから得た血管では、SPCによる異常収縮は、ほとんど認められなかったが、高脂血症(>220mg/dl)患者さんから得た血管では、急激に増加し、その収縮の大きさはChol濃度と強い相関を示したが、他の危険因子(喫煙、糖尿病)とは相関が低かった。さらに、高脂血症治療薬によって、Chol濃度が低下した患者さんから得た血管では、SPCによるCa²⁺非依存性収縮は抑制されていた。また、Chol負荷ウサギの血管においても、ヒト血管と同様な結果が得られた。さらに、高脂血症ウサギから得た血管をChol吸着剤であるβサイクロデキストリンと作用させると、SPCによる収縮は消失した。

以上の結果より、SPC-RK情報伝達系は、ヒトの高脂血症に合併する血管緊張異常の発症に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。さらに、総Chol濃度を220mg/dl以下にコントロールすることは、動脈硬化予防やブランクコントロールのみでなく血管緊張異常を予防する上でも有意義であるものと考えられた。

48. streptozotocin 誘発糖尿病ラット腸間膜動脈における流れ負荷に対する内皮依存性血管反応の変化について

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

織田修一, 鎌田勝雄

血管内皮細胞は血管内腔を覆う細胞層であるが、様々な血管調節機能を有することが知られている。その中の収縮・拡張機能において、内皮細胞は物理的あるいは化学的な刺激に反応して、血管収縮・弛緩物質を産生し血管のtoneを調節している。この収縮・弛緩物質の産生を調節している生理的因子の一つとして血流があり、内皮細胞は血流の影響によりその形態や機能が変化することが知られている。我々は糖尿病態において血流が内皮細胞に及ぼす影響について検討するため、streptozotocin(STZ)誘発糖尿病ラット腸間膜動脈に流れ負荷を与え、そのときの血管反応を観察した。

STZ誘発糖尿病ラット群と対照群の流れ負荷時の灌流圧には有意な差はみられなかった。また、両群にTrition Xを前処置して内皮細胞を除去したところ、対照群では流速の上昇にしたがって灌流圧が有意に増大したが、STZ群では灌流圧が増大したものの有意差は認められなかった。Indomethacin(Indo, 10⁻⁵M)前処置下では両群ともに有意な差は認められなかった。NO合成酵素阻害薬であるL-NOARG(10⁻⁴M)及び、可溶性guanylate cyclase阻害薬であるmethylene blue(MB, 3 × 10⁻⁵M)を前処置すると、対照群では灌流圧が有意に増大したが、STZ群では未処置時と比べて差は認められなかった。K⁺-channel blockerであるtetraethylammonium(TEA, 10⁻²M)を前処置すると、対照群及びSTZ群で灌流圧が有意に増大した。Indo、L-NOARG、MB、TEAを前処置すると、対照群では流速の上昇にともなって灌流圧が著明に増大した。また、STZ群でも有意に上昇したが、対照群に見られたような著明な灌流圧の増大はなかった。以上のことより、ラット腸間膜動脈床においても流れ刺激を与えた場合、刺激に応じて収縮反応が生じ、この収縮反応に内皮細胞由来弛緩物質(NO, EDHF)が制御していることが明らかとなった。一方、STZ誘発糖尿病ラットでは流れ刺激に対する血管収縮反応そのものが減弱していることが考えられる。

49. ブタ冠動脈単離平滑筋細胞における代謝障害時の大コンダクタンスCa²⁺依存性K⁺チャネルの活性化
名古屋市立大学 薬学部 薬品作用学
山村寿男, 村木克彦, 渡邊 稔, 今泉祐治

冠動脈の攣縮や狭窄による冠血流量の減少によって、低酸素状態が誘発されると、生体は冠動脈を弛緩させ、冠血流量を増加させようとする。代謝障害時に細胞内ATP量の減少により活性化されるATP感受性K⁺ (K_{ATP})チャネルと、ATPによって駆動されるCa²⁺排出系が阻害された結果として活性化される大コンダクタンスCa²⁺依存性K⁺ (BK)チャネルが、この弛緩機構に関与していると考えられている。しかしながら、それらのチャネルの寄与の程度については、まだ十分に検討されていない。そこで本研究では、代謝障害を誘発した際の細胞内Ca²⁺動態を細胞内小器官(ミトコンドリアや筋小胞体)と細胞膜上のK⁺チャネルを中心に、その解明を試みた。ブタ冠動脈単離平滑筋細胞に、100 μM Indo-1を記録電極内より負荷し、共焦点蛍光顕微鏡(Nikon RCM-8000)による二次元Ca²⁺画像解析法とホールセルパッチクランプ法を適用し、同一細胞より、細胞内Ca²⁺動態と電気現象を同時に測定した。また、Rhodamine-123を用いてミトコンドリアの膜電位変化も測定した。代謝障害は、1 μM FCCPの添加と外液中の14 mM グルコースを2-デオキシ-D-グルコースに全置換することによって誘発した。電流固定下、代謝障害によって、細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の増加が観察され、それに伴って細胞膜の過分極が誘発された。この過分極は、主にイベリオトキシン感受性成分で、グリベンクラミド感受性成分は僅かだった。同一条件下で、10 μM レブクロマカリムは、グリベンクラミド感受性の過分極を誘発した。また、保持電位を-40 mVに固定したときに観察される自発一過性外向き電流は、代謝障害による[Ca²⁺]_iの上昇に伴い増強され、イベリオトキシンにより抑制された。以上の結果より、ブタ冠動脈単離平滑筋細胞において、少なくとも本実験条件下で生じた代謝障害では、K_{ATP}チャネルよりむしろ、BKチャネルが主に活性化されることが明らかとなった。