

招 待 講 演

特 別 講 演

会 長 講 演

招待講演

The Evolving Understanding of Lower Oesophageal Sphincter Function

Director of Nerve-Gut Research Laboratory
Department of Gastroenterology, Hepatology and General Medicine
Royal Adelaide Hospital, North Terrace, Adelaide SA 5000, Australia
John Dent

In the last 120 years, substantial insights have been gained into lower oesophageal sphincter (LOS) function. Vital to this progress has been the development of measurement techniques that provide reliable, continuous assessment of lower oesophageal motor activity, despite the substantial axial mobility of the sphincter: unfortunately, many studies on LOS function have used and continue to use measurement methods that do not satisfy this key requirement. As a result, the literature contains much misleading data and conclusions.

For decades, most research concentrated on the strength of the LOS tonic contraction: this is relevant to antireflux function, but of arguably greater importance is the occurrence and completeness of LOS relaxations that occur normally in relation to swallowing and also independently of this. High resolution (HR) manometry is now the “gold standard” technique for continuous evaluation of LOS motor function. By use of 16 to 36 point pressure sensors, spaced at 1 cm intervals, this technique monitors LOS pressure accurately in the face of sphincter movements.

The greatest gain from use of HR manometry for clinical purposes is in the diagnosis of achalasia. It is clear now that most other manometric techniques used for clinical diagnosis are inadequate for recognition of defective LOS relaxation. In the case of reflux disease, manometric methods that monitor LOS pressure have shown that transient LOS relaxations are the most important cause of gastro-oesophageal reflux. The control of these relaxations is now a major focus of research; they are induced by inhibitory nerves to the LOS, controlled by a hind brain pattern generator. HR manometry is now being applied to dissect out the contributions of transient LOS relaxations, hiatus hernia, abnormal diaphragmatic hiatal anatomy and function, and defective basal LOS tone in the pathogenesis of reflux disease.

Measurements of LOS motility, no matter how accurate, do not reveal the whole story about the mechanical function of this sphincter. Recognition of episodic flows across the sphincter simultaneously with measurement of LOS pressure greatly enhances insight. Techniques that provide this include fluoroscopy, pH monitoring and impedance monitoring.

The challenge of measurement of LOS motor activity continues to be widely underestimated. Further progress with patient care and research into LOS function depends on the use of carefully validated methods.

特別講演

グレリン研究の現状

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科社会・行動医学講座（心身医療科）

乾 明 夫

グレリンが1999年に胃より見出されてから、成長ホルモン分泌促進（GHS）をはじめとする内分泌系への影響や、摂食行動促進、情動、消化管運動調節など、多彩な作用が報告されてきた。またグレリン作用のかなりの部分は、迷走神経を介する機序によることも明らかとなった。グレリンにはN端側から3番目のセリンがアシル化を受けたアシルグレリンと、アシル化を受けていないデスアシル型が存在し、食欲や体重、消化管運動調節に異なった役割を有する可能性が推測されている。昨年末にはさらに、同じグレリン遺伝子産物であるオベスタチンが、食欲や消化管運動に抑制作用を有するペプチドとして、サイエンス誌上に報告された。このアシルグレリンと異なった作用を有するデスアシルグレリンやオベスタチンの存在は、グレリンファミリーの意義や役割に関し、更なる検討が必要であることを示唆している。

グレリンはまた臨床面においても、GHSとしての役割を超える臨床応用が考慮されている。現在、肥満や生活習慣病を念頭に、グレリン拮抗剤が開発されている一方で、悪液質や神経性食欲不振症などに対するアシルグレリン、もしくはそのアゴニストの応用も現実のものとなっている。

本講演では、そのようなグレリン研究のトピックスについて述べてみたい。

特別講演

排便反射のメカニズムとその可塑性

奈良県立医科大学医学部医学科生理学第二講座

高 木 都

統合的な機能である排便反射は多岐にわたる機能の協調作用により引き起こされ、強化されている。本研究では、主として直腸-直腸収縮反射(R-R 反射)と直腸-内肛門括約筋弛緩反射(R-IAS 反射)にターゲットを絞り、この両反射についてそのメカニズムを明らかにする。直腸を適度に加圧伸展すると伸展部位で収縮反射が数回起こる。それと同期して、内肛門括約筋の弛緩反射が起こる。これらの反射は、(1) 骨盤神経を求心路、遠心路とする仙髄レベルの促進反射、(2) 結腸神経を求心路、遠心路とする腰髄レベルの抑制反射、(3) 壁内神経系を介する内反射によって制御されている。さらにこれらの反射は(4) 求心路を骨盤神経とする橋排便反射中枢を介する腰髄レベルの結腸神経活動の抑制機構によって制御されている。すなわち、直腸における糞便の貯留には腰髄レベルの抑制反射が関与し、排便が起こるときにはこの抑制反射の脱抑制が鍵となることが示唆された。ついで、これらの反射経路の可塑性について検討した。モルモット腰仙髄損傷モデルにおいて損傷直後は外反射が働かなくなり【(3)のみが働く】、R-R 反射と R-IAS 反射は約 40% 程度に減弱するが、4 日目以降は回復した。すなわち内反射のみで十分な排便機能が発現してくる。一方、内反射経路を直腸と内肛門括約筋の間で切断する目的で直腸壁を切離した後縫合すると、術後 R-R 反射は変わらず起こるが、いったん消失した R-IAS 反射は術後 8 週目でコントロール群と有意差を認めないほど回復した。免疫染色組織像においても術後 8 週目では、吻合部を越えてつながる神経線維が観察された。R-IAS 反射の経日的な回復と一致して壁内神経系の再生が示された。Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) を縫合部位に持続的に作用させると壁内神経の再生は促進された。これらの研究により、排便反射のメカニズムを明らかにすると共に、それらのメカニズムは機能を保持する上で有利な可塑性を有することを明らかにした。さらに、その可塑性を利用した新たな治療法の開発の可能性が示唆された。

会長講演

わたしと消化管運動研究との係わり

川崎医科大学食道・胃腸内科

春 問 賢

学生時代の生理学については、講義も実験も苦い思い出ばかりである。私が卒業した広島大学には当時、銭場武彦先生、藤井一元先生など消化管の運動機能についての大家がおられることを知ったのは、卒業してかなりの時間が経ってからである。大学を卒業後に目指したのは胃癌の形態診断学であるが、恩師の三好秋馬先生には、消化性潰瘍や胃癌などの病気がどのような胃粘膜に出来るかを研究することを教えて頂いた。当時私が在籍した広島大学第一内科は、胃液検査とガストリンを中心とした消化管ホルモンの測定が研究の中心課題で、病理学を勉強させて頂いた私に与えられたものは「機能と形態からのアプローチ」であった。

胃液に存在する胆汁酸も胃粘膜の傷害因子として取り上げられ、十二指腸から胃に逆流した胆汁酸は、私にとっては胃潰瘍の原因としてよりも、萎縮や腸上皮化生の成因として興味があった。なんとか生理的に十二指腸・胃逆流を評価できないかと悩んでいる時に、体外式超音波法でその評価を行った。

Norway からの論文に出会った。その後、畠二郎先生や多くの共同研究者の努力で体外式超音波法による胃・十二指腸運動の評価を完成させることが出来た。当初の私の興味は十二指腸・胃逆流のみであったが、伊藤漸先生や藤井一元先生には生理学の重要性を、松枝啓先生、原澤茂先生、本郷道夫先生には FD なる病気があり、超音波法は病態の解明に使えることを教えて頂いた。その後、自律神経機能の評価、胃の適応性弛緩、大腸運動、顎下腺血流の評価など、学生時代には想像すら出来なかった楽しくかつ不思議な世界へと、多くの先生方との出会いにより迷い入ることが出来た。

シンポジウム

S1-1. ホルモンからのアプローチ

鹿児島大学大学院心身医療科¹, 滋賀医科大学第1解剖学²

浅川 明弘¹, 藤宮 峯子², 乾 明夫¹

モチリンは十二指腸を中心とした消化管に存在し、空腹期において、消化管の平滑筋に対して、直接、或いは迷走神経を介して作用し、胃から始まり順次回腸に向けて伝播していく、一連の強力な収縮運動に関与している。1999年に成長ホルモン放出促進因子受容体の内因性リガンドであるグレリンが、胃から同定された。グレリンは28個のアミノ酸より成るペプチドで、脂肪酸による修飾を特徴としている。グレリンとその受容体は、モチリン及びその受容体との間での構造上の相同性が高く、グレリンが新たなモチリンペプチドファミリーの一員であることが示唆される。グレリンは中枢及び末梢投与により摂食促進、胃排出亢進作用を示し、胃十二指腸の空腹期強収縮運動を誘発する。視床下部の neuropeptide Y (NPY) の発現はグレリン投与により増加し、摂食促進、空腹期強収縮運動はそれぞれ NPY Y1 受容体アンタゴニスト、抗 NPY 抗体により拮抗される。また、グレリンの静脈内投与は、迷走神経胃枝の電気活動を抑制し、迷走神経切断やカプサイシン処理は摂食促進作用を低下させる。一方、脂肪酸による修飾のないデスアシルグレリンの投与は、脂肪酸によって修飾されたグレリンとは逆に上部消化管の空腹期強収縮運動の頻度を減少させ、この作用は corticotropin releasing factor (CRF) type2 受容体のアンタゴニストにより拮抗される。グレリンの消化管運動調節作用は、グレリンおよびその受容体が消化管運動異常に関係する、様々な疾患に対しての創薬のターゲットとなる可能性を示唆している。本シンポジウムでは、消化管の主要な臓器である胃において同定されたグレリンの作用を中心に概説し、グレリンに関する最近の知見と peptide YY (PYY), pancreatic polypeptide (PP) についても言及する。

S1-2. 消化管の内臓知覚と運動からの視点

—セロトニンは消化管の知覚と運動に関与する—

長崎大学大学院医歯薬総合研究科生理学¹, 長崎大学理事²

松本 逸郎¹, 谷山紘太郎²

胃・腸管にとり込まれた食物が内臓求心性情報元となり脳は自律神経遠心性線維やホルモンを介し消化、吸収、代謝に関わる内臓諸器官を連繋よく統合的に調節する。消化管には薬物や病原菌をはじめ有害物も混入するのでそれらを監視し、排除又は摂食しないための防衛能も備わっている。知覚センサーは胃・腸管の粘膜上皮組織に汎く分布するクロム親和性細胞 (enterochromaffin cell: EC 細胞) などの内分泌細胞や味覚細胞で、消化管内腔の生理的刺激に感応し生理活性アミンやホルモンを粘膜固有層側に放出する。内臓からの求心性情報は主に迷走神経が担う。我々の観察では酸性線維芽細胞増殖因子 (acidic fibroblast growth factor: aFGF) またはグラム陰性菌成分であるリポポリサッカライド (LPS) は迷走神経求心性線維を介してそれぞれ発熱と摂食抑制を起し、セロトニン3型レセプター (5-HT_{3r}) アンタゴニストは aFGF 誘発の発熱と LPS 誘発の摂食抑制を軽減した。よって EC 細胞は消化管内腔の病態生理的刺激に応答し内包する 5-HT を放出し、5HT は粘膜固有層に終末部を延ばす迷走神経求心性線維の 5-HT_{3r} を介して延髄に入力し反射弓を形成し、視床下部へも投射し摂食抑制や炎症反応としての発熱などの病態生理的応答を惹起すると考えられる。消化管の運動は蠕動などの正常な運動の他に嘔吐や下痢なども含まれる。運動機能に関わるレセプターは壁内コリン作動性神経上に3種類存在する。運動に対して5-HT_{1r} はプレーキ的に、5-HT_{4r} はアクセル的にバランスを保って生理的運動を司っている。しかし5-HTの放出量が増加するとアクセルの5-HT_{3r} が作動して運動の異常昂進が起る。

S1-3. 脳腸相関と自律神経系—コレスチキニンとインターロイキン-1に着目して

国際医療福祉大学基礎医学研究センター

黒澤美枝子, 下重 里江

消化管運動などの機械的情報, 消化液分泌や摂取した食物による化学的情報は自律神経求心路を介して脳に伝えられ, 脳内で統合処理された後, 自律神経遠心路を介して, 消化管機能を調節する. 自律神経系はこのように脳と消化管の機能をうまく連携させるように常時働いている. すなわち自律神経は「脳腸相関」の主な担い手である.

十二指腸から分泌されるコレスチキニン(CCK)や感作されたマクロファージから血中に分泌されるインターロイキン-1(IL-1)は迷走神経求心性神経を刺激して, 脳の機能に影響を与える. 一方, 胃迷走神経遠心性活動に対してCCKやIL-1は抑制性的の影響を与え, 消化管機能を低下させる.

今回の発表では, 胃迷走神経の求心性活動並びに遠心性活動に対するCCKおよびIL-1の作用とその機序をわれわれの研究結果を中心に報告する.

血中のCCKは, 胃腸管の迷走神経求心性神経終末にあるCCK-A受容体に作用してその求心性活動を増加させる. 迷走神経求心性活動の増加によって胃迷走神経遠心性活動は反射的に減少し, その結果, 胃運動は低下する. CCK-A受容体は脳幹にも存在し, 血中のCCKの一部は脳幹へ直接作用し, 胃迷走神経遠心性活動を低下させる.

一方, 血中に分泌されたIL-1は, 血液脳関門が欠如している領域を介して脳に作用する他, 迷走神経求心性終末に存在するプロスタグランジンE₂受容体を介して脳機能に影響を与える. IL-1は迷走神経求心性活動に影響を与えない量でも, 胃迷走神経遠心性活動を低下させる. この低下もプロスタグランジンを介する.

S1-4. 胃運動機能と自律神経機能との相関性に関する検討

名古屋市立大学大学院医学研究科臨床病態内科学

神谷 武, 安達 啓, 平子 真, 鹿野美千子, 松久映理子, 木村玄次郎

【背景および目的】Functional dyspepsia(FD)の病態生理は多岐にわたるが, 胃運動機能異常, 自律神経機能異常はそれぞれその発症要因の一つにあげられる. また自律神経と胃運動機能との相互関係も推察されている. しかしこれまで患者のみならず, 健常者においても両者の相互関係を検討した報告はほとんどみられない. また胃運動機能測定法の一つである経皮的胃電図は, 自律神経機能を反映するとの報告もあるが, その具体的データは示されていない. 今回胃運動機能と自律神経機能をあわせて測定し, それぞれの相互関係を検討した. 【方法】20~40歳代の健常人ボランティア12名を対象とし, さらに一部FDの症例も含め, 胃運動機能および自律神経機能を同時に測定した. 胃運動機能として経皮的胃電図と¹³Cアセテート呼気試験による胃排出能検査を施行した. また自律神経機能の測定には加速度脈波変動スペクトル分析を用いた. これは定量的自律神経機能検査として知られる心拍変動のR-R間隔に一致する.¹³Cアセテート100mgを含有する試験食のメロンゼリー摂取前後, 胃電図および手指脈波を測定し, また試験食摂取後, 経時的に呼気を採取し, 呼気中¹³C濃度を測定した. 【結果】空腹期, 食後期の胃電図% of normogastria(全波形中の正常波形の占める%), パワー比と, 胃排出能の指標Half emptying time(T_{1/2}), Lag time(T lag)は有意な相関を示した. 加速度脈波a-a間隔変動HF成分の食後の変化率は, 胃電図のパワー比との相関がみられた. 【結論】胃電図と胃排出能, さらに自律神経機能を同時に測定し, その相互関係を検討することで, 上部消化管の運動機能をより多面的に評価することが可能になると考えられた. さらにFDの病態解明に結びつく可能性も示唆された.

S1-5. 胃排出と胃運動の関係・食後早期に何が起こるか？

群馬大学大学院医学部病態制御内科学¹，群馬大学医学部附属病院光学医療診療部²

財 裕明¹，下山 康之²，前田 正毅¹，名越 淳人¹，樋口 達也¹，栗林 志行¹，
河村 修¹，草野 元康²

1896年にCannon WBらが、X線による液状食、半固形食の胃排出測定を行って以来百有余年、様々な測定手法や解析方法が考案されてきた。胃排出測定の果たす役割は、胃の機能を評価するのに際し、未だ重要な位置を占めていることに異論はないであろう。機能性胃腸症という用語が出現し、注目されるようになり久しい。その病態解明のため、胃排出測定やgastric accommodationといった機能検査を用いた知見が数多く積み重ねられてきたが、消化器症状と胃排出異常の関係には未だ不明な点も多い。我々は何故、消化器症状と胃排出異常の関係を十分に解明できないのかという、以下の3つの視点から、連続的な呼吸採取による胃排出測定と胃内圧同時測定を行ってきた。1)胃排出能を経時的な変化として捉える 2)胃排出能とは貯留能(弛緩)と排出能(収縮)のバランスの問題である 3)貯留能と排出能のバランスとは?(治療のターゲットとなり得る?)。その結果、400 kcal/400 mlの液状試験食を用いた我々の実験系では、食後約25分が経過すると胃排出速度は抑制性の制御を受けるが、400 mlの水を摂取した場合はこのような変化は認められず、さらに液状試験食摂取時25分間のmotility indexと水摂取時のT-maxに至るまでのmotility indexに有意差が無いことを見出した。このシンポジウムでは、我々のこれまでの発表を交えながら、今後の研究の方向性を提案できれば幸いである。

S1-6. バロスタットを用いた胃噴門部弛緩能評価の覚醒イヌにおける基礎的実験：胃腸運動と胃噴門部弛緩能に対する消化管運動作用薬の効果

川崎医科大学生理¹，広島大学病院総合診療科²，川崎医科大学内科食道胃腸科³

古川 直裕¹，畑野 瑞恵¹，島谷 智彦²，楠 裕明³，本多 啓介³，田中 俊昭³，
春間 賢³，辻岡 克彦¹

[目的]胃噴門部弛緩能に対する種々の薬物の影響を、訓練可能なビーグル犬においてバロスタットを用いて検討した。[方法]ネンプター麻酔下にて、胃ろう管と静注用カテーテルを取り付け、胃体部近位側、胃前庭部、十二指腸の3か所にフォーストランスジューサを縫着した。2週間以上の回復期間の後、覚醒下にて胃ろう管より胃の近位部に伸展用バッグを挿入し、バロスタットを用いて最低基準伸展圧(MDP)を決定した後、以下の2通りの実験操作を行った。1)MDPからMDP+10 mmHgまでの胃噴門部の段階的伸展による圧-容積関係の投薬前後での測定。2)MDP+4 mmHgの定圧伸展時の胃噴門部容量に対する薬物もしくはその溶媒の効果の検討。今回用いた薬物は、消化管運動亢進薬であるモサプリド(5HT₄受容体刺激薬)とイトプリド(D₂受容体遮断薬)、そして、ヒトで実験的に胃噴門部の弛緩を強化したと報告のあるスマトリプタン(5HT₁受容体刺激薬)とパロキセチン(5HT再取り込み阻害薬)の4種とした。また、同じ手順の実験を24時間の絶食後と、液体流動食摂取3時間後の食後期の2つの相で行った。[結果]圧-容積関係において、胃噴門部のコンプライアンスは食後期の方が絶食期よりも大きかった。また、パロキセチン投与群では、無投薬群よりもコンプライアンスが小さい傾向にあった。定圧下における胃噴門部容量は、スマトリプタン投与によって増加し、パロキセチン投与によって減少する傾向があった。モサプリドやイトプリド、スマトリプタンの投与により、胃前庭部や十二指腸の収縮性は亢進する傾向にあったが、どの群においても胃体部の収縮性には一定の変化が認められなかった。薬物の効果は絶食期と食後期で異なる場合があった。胃噴門部の受け入れ容量の変化は、フォーストランスジューサで計測した収縮性の変化とは必ずしも一致しなかった。

S1-7. 飲水試験による Functional dyspepsia (FD) の病態診断の有用性について

東京慈恵会医科大学外科¹, 東京慈恵会医科大学精神科², 川口済生会総合病院³

中田 浩二¹, 川崎 成郎¹, 小曾根基裕², 仲吉 朋子¹, 羽生 信義¹, 柏木 秀幸¹,
原澤 茂³, 矢永 勝彦¹

近年, FD の病態として胃適応弛緩障害や内臓知覚過敏の関与が報告され注目されているが, 本邦ではこれらを調べる検査法はほとんど行われていない. バロスタット法は, 定量的で信頼性も高く研究目的には適しているが, 侵襲的であることが問題となる. 一方, drink test は簡便, 非侵襲的で臨床病態とも相関し日常診療的な検査法として期待されるが, maximum satiety まで飲み続ける欧米で行われている方法は患者の身体的心理的負担も大きく, また被験者の体重差を考慮していないことが問題となる. そこで飲水上限量を体重当りに設定した飲水試験を考案し, FD 患者の病態評価における有用性と再現性について検討した. 【方法】健常人 54 名と FD 患者 31 名に対し飲水試験 (体重 [kg] × 10 [ml] の水を 5 分間かけて均等な速度で飲水) を行い, 出現した腹部症状の強さと持続時間をスコア化し (スコア 0; 症状なし or 軽度症状 [30 分以内], スコア 1; 軽度症状 [30 分以上] or 中等度症状 [30 分以内], スコア 2; 中等度症状 [30 分以上] or 強度症状 or 全量飲水不可) 比較検討した. また健常人 24 名, FD 患者 16 名について飲水試験の再現性について検討した. 【結果】飲水試験でスコア 1 以上の患者の割合は 35.2% : 87.1%*, 上腹部症状の強さが中等度以上の割合は 37% : 84%*, 持続時間 10 分未満の割合は 41% : 88%* (健常人 : FD 患者, *p < 0.05) であった. 飲水試験を同一被験者に対し 2 回行ったところ, 健常人では 24 名中 22 名 (92%), FD 患者では 16 名中 16 名 (100%) でスコアが一致し, 再現性良好であった. 【結語】飲水試験は再現性に優れ, 簡便, 非侵襲的, 安価に行え日常診療への導入も容易であることから, FD 患者に対する新しい病態診断, 治療効果判定のツールとして有用である.

S1-8. 胃の知覚および弛緩機能研究におけるドリンクテストの有用性

愛知医科大学消化器内科¹, 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院内科²

飯田 章人¹, 小長谷敏浩¹, 金子 宏²

機能性ディスペプシア (FD) の病態として胃の知覚過敏や弛緩不全がある. 欧米から水または液体栄養剤を飲ませるドリンクテスト (DT) を行うと FD 患者では満腹容量が少ないという報告があるが, その意義は明らかではない. 健常人に胃 barostat 検査および DT を行いその意義を検討した. 【方法】男性健常ボランティア 18 名に対して, 透視下に最大容量 750 mL のバッグを経口的に胃内に留置した. Barostat 装置を用いて段階的にバッグを加圧し, 質問紙により感覚閾値, 痛み限界値の圧, 容量を測定した. 続いてバッグを腹圧 + 2 mmHg に保ち, 液体栄養剤 (300 kCal/200 mL) を 5 分間で飲用させ, その後 90 分間の最大容量を弛緩胃容量とした. DT は液体栄養剤を毎分 15 mL で飲み続けさせ, 5 分毎に満腹感および随伴症状を質問紙により評価し, 満腹感による感覚閾値, 満腹限界値の飲用量を記録, 随伴症状についても検討した. 【結果】1) Barostat 検査での平均感覚閾値は 11.8 mmHg, 281 mL, 痛み限界値は 22.1 mmHg, 630 mL であった. 2) DT の感覚閾値は 133 mL, 満腹限界値は 732 mL であった. 3) DT の満腹限界値と弛緩胃容量が $r=0.41$ と弱い相関を示した. 4) DT の随伴症状からは上腹部痛を訴える被験者は少なく, 腹部膨満感の感覚閾値と弛緩胃容量は $r=0.59$ と有意な相関を示した. 【結論】液体栄養剤毎分 15 mL 飲用による DT を行うことは胃の弛緩を反映させるにはよい方法と考えられた. DT の腹部膨満感閾値は弛緩胃容量を反映していると考えられ, FD 患者における腹部膨満感は胃の弛緩不全を反映している可能性が示唆された.

S1-9. 唾液動態からみた咽頭-食道協調運動の評価

東邦大学総合診療・急病科¹, 東邦大学血液・腫瘍科², 東邦大学消化器内科³

瓜田 純久¹, 石原 晋², 島田 長人¹, 杉本 元信¹, 三木 一正³

【目的】消化液は食物摂取に合わせて十分分泌され、食物と十分に接触することが重要である。耳下腺由来の唾液は消化に関与し、顎下腺由来の唾液は食物が食道を通過しやすいように滑りをよくする役割がある。実際に分泌された唾液が口腔内から速やかに食道へ移動しているか評価は困難である。そこで、今回、唾液腺シンチグラムを行い、唾液分泌、口腔内から上部食道までの移動を総合的に検討した。

【方法】問診 (Fscale) で胃食道逆流症と診断された 31 例 (平均年齢 55 歳, 男女比 13/18) を対象とした。早朝空腹時に 99mTcO₄-185-370Mq を静注し、背臥位で頭部用シェルに固定し、ガンマカメラにて正面像を 20 分間撮像した。その後、ハイシーを口に入れて唾液分泌を刺激し、さらに 20 分間撮像した。両側の耳下腺、顎下腺、甲状腺、口腔に関心領域を設定し、放射能の減衰曲線を作成し、唾液分泌パターンを検討した。さらに、甲状腺の上 (咽頭部) および心臓の放射能の影響を受けにくい甲状腺の下部 (上部食道) に関心領域を設定し、放射能の減衰曲線を作成した。

【結果】唾液分泌の指標である分泌刺激後 15 分後の平均 washout 率 50% 以下であったのは、72% であった。口腔内へ分泌された唾液が咽頭部から上部食道へ速やかに通過しない症例は 16/31 例に認められ、粘膜傷害を有しない NERD に多い傾向がみられた。

【まとめ】GERD 症例では唾液腺分泌障害は約 80% にみられ、口腔内へ分泌された唾液が速やかに下部食道へ到達しない咽頭-食道協調運動は 57% にみられた。咽頭-食道協調運動は消化管機能評価の新たな視点として、とくに GERD 症例では着目すべきと思われた。

S1-10. 古典的条件反応におけるヒト大腸平滑筋運動と中枢機能の評価

—過敏性腸症候群の病態解明に向けて—

東北大学大学院医学系研究科行動医学分野

金澤 素, 福土 審

背景: 過敏性腸症候群 (Irritable bowel syndrome: IBS) の症状発生のメカニズムの 1 つとして条件付け反応の役割が想定されているが、ヒトにおいてまだ古典的条件付け反応における消化管運動と中枢機能の関連性についてはよく知られていない。ヒト大腸平滑筋運動が体性侵害刺激の予期反応として条件付けされ、その際に特定の脳領域が賦活化するという仮説を検証した。

方法: 腹部症状を認めない右利き健常男性 9 例 (平均年齢 24 歳) を対象とした。条件刺激としてブザー音を、被条件刺激として右手背に 7 mA の経皮的電気刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation: TENS) を用いた。直腸結腸運動はバロスタット装置を用いて各刺激時の大腸内バッグ容量 (トーン) と収縮回数を測定した。脳血流は Positron emission tomography (PET) で評価した。3 回の条件付け (ブザー + TENS) 施行前後の条件刺激 (ブザーのみ) 時における大腸平滑筋運動と脳機能を比較した。

結果: 条件付け前には大腸トーン、収縮回数ともブザー音刺激のみによって変化しなかった。一方、条件付け後には条件刺激後に大腸トーンは変化しなかったが、収縮回数は有意に増加した (刺激前: 0 [0-2]/min vs 刺激後: 1 [0-2.5]/min, $P < 0.05$)。条件付け後のブザー音刺激中の脳血流は条件付け前に比較して前頭前野、前帯状回、島、頭頂葉の各領域が有意に賦活化された ($P \leq 0.001$, uncorrected)。

結論: ヒトにおいて大腸平滑筋運動は条件付けされる。認知・情動に関する脳領域がこのような古典的条件反応に何らかの役割を果たしているかもしれない。本研究結果は今後の IBS の病態解明・治療法の開発に役立つ可能性がある。

S2-基調講演 ^{13}C -標識薬物を用いた呼気試験

明治薬科大学薬学部薬品化学教室

梶原 正宏

H. pylori は哺乳動物の細胞には存在しないウレアーゼ活性が極めて高く胃壁から浸潤する尿素をアンモニアと炭酸ガスに分解する。 ^{13}C -尿素呼気検査の原理は ^{13}C -尿素は投与前の呼気中の $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 比をコントロールとする。 ^{13}C -尿素を経口投与後、20分—30分後の健常人呼気中に排出される炭酸ガスの $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 比は ^{13}C -尿素は分解されないため低値を示す。一方、感染者は*H. pylori*のウレアーゼにより ^{13}C -尿素は炭酸ガスとアンモニアに直ちに分解されるため、呼気中の $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 比は高値を示す。生検法と比較すると感度、特異度、精度とも極めて優良であった。

肝臓は薬物代謝の主要な臓器であり、 ^{13}C -フェナセチン、 ^{13}C -アミノピリン等も有用である。 ^{13}C -フェニルアラニン、 ^{13}C -チロシンの呼気基礎研究から食後7時間、経口投与量100 mg/人、30分以内で検査できることさらには肝硬変患者群では ^{13}C -呼気検査はChild-Pugh分類に良く一致することができた。

S2-1. ^{13}C -呼気試験を用いた *in vitro* 細胞毒性試験の開発

東京慈恵会医科大学医学部外科¹，東京慈恵会医科大学医学部消化器肝臓内科²，
東京慈恵会医科大学医学部生化学講座第1³

丸島 秀樹¹，松浦 知和²，大川 清³

医療の高度化や健康に関する国民の意識の高まりとともに、莫大な数の新薬および健康食品類の開発が進められている。これに伴い、新薬および健康食品類の摂取による肝臓を中心とした種々の臓器障害が多発しているが、ヒトが摂取する前に新薬候補化合物の毒性予測が可能であれば種々の臓器障害を予防することが可能となる。しかし、感度のよい *in vitro* の検定試験は開発されていない、*in vivo* での毒性試験が行われているが、動物愛護の観点や煩雑の割には感度が低い点など幾つかの問題点を有している。このような問題に対して、簡便で、コストパフォーマンスに優れ、感度のよい *in vitro* での細胞毒性試験の開発が急務となっている。我々は、① 組織再構築可能な高密度3次元培養装置(ラジアルフロー型パイオリクター)で細胞培養を行い臓器モデルとして使用、② ピロリ菌感染の診断や消化管の運動・機能を評価する際に用いられている簡便で感度の高い ^{13}C -呼気試験に着目、③ ^{13}C -呼気試験を *in vitro* で可能にする $\text{CO}_2 \cdot \text{Air}$ 混合ガス供給装置の開発を行い、これらを組み合わせることで *in vitro* での感度の高い毒性試験の開発を目指した。今回は、ヒト肝臓機能を保持する細胞を培養し、人工肝臓に見立て ^{13}C 安定同位体化合物を基質として加え、細胞で代謝され発生する $^{13}\text{CO}_2$ を赤外分光計で計測し、投与薬品による代謝変化を評価した。 $^{13}\text{CO}_2$ を用いた試験は、既存のグルコース値、乳酸値の測定と比べ、細胞の僅かな *viability* の変化を捉え、感度の高い細胞毒性試験であることが示された。

S2-2. 小動物を用いた生理的な実験系

明治乳業（株）研究本部食機能科学研究所

内田 勝幸

^{13}C で標識した尿素を用いた呼気テストは *Helicobacter pylori* の感染診断に幅広く用いられている。一方、1993年にGhoosらは ^{13}C で標識したオクタン酸をヒトに投与して経時的に呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ を測定することにより胃排出能を評価する方法を紹介した。その後、動物においても呼気テストにより胃排出機能や肝機能の評価が行われるようになったが、麻酔下に呼気を採取したり、呼気採取時に空気の循環を止めたり生理的な条件下という点では種々の問題があった。また、測定にあたってはガスマススペクトロメトリーなどを用いるなど測定手技や装置の点からも汎用性に欠けていた。

そこで、著者らは簡単に、無麻酔下で、しかも非侵襲的にラットやマウスの呼気を採取し、測定できるシステムの開発をめざし、以下のシステムを構築した。すなわち、動物を自由に動き回れるような大きさのチャンパーにいれ、常時チャンパーの底から吸引ポンプにより呼気を採取する、その際自動的にチャンパーの横にある穴から新鮮な空気がチャンパー内に供給される。吸引した呼気は経時的に呼気採取パックに貯め、UBiT-IR300にて測定するが、呼気パックをノズルに差し込むだけで簡単に測定できる。このように動物から無拘束、無麻酔下で呼気を採取し、簡単に測定値を得られるシステムを確立することができた(Uchida et al. J Pharmacol Sci 2005; 8: 388-395)。

本システムを用い、 ^{13}C で標識した酢酸やオクタン酸を投与することにより胃排出能を、アミノピリンを投与することにより肝機能を、Benzoyl-L-tyrosyl-alanineを投与することにより膵外分泌機能の評価ができることが明らかになった。また、病態や加齢による変化も明らかにすることができることから、本方法は病態生理の解明や薬効評価に有用な方法と考えられた。

S2-3. ^{13}C 法「標準法」におけるWagner-Nelson法解析の有用性と吸収能評価への応用

東京慈恵会医科大学外科¹，都立駒込病院消化器内科²，
協和発酵工業株式会社医薬マーケティング部³

川崎 成郎¹，中田 浩二¹，佐仲 雅樹²，野坂 千裕³，鈴木 裕¹，羽生 信義¹，
柏木 秀幸¹，矢永 勝彦¹

第44回本学会ワークショップで提唱された ^{13}C 法胃排出能検査(^{13}C 法)「標準法」は多くの施設に導入され普及しつつある。[目的](A)RI法と ^{13}C 法の同時測定により(1) $^{\circ}\text{C}$ 法の胃排出能評価指標；Tmaxの意味を明らかにする，(2) ^{13}C 法で問題となる代謝の影響を除くためWagner-Nelson(W-N)法解析を行いRI法と比較する，(B) ^{13}C 法「標準法」で異なる試験食を投与し比較することで(3)W-N法解析の有用性を検討する，(4) ^{13}C 法吸収能検査で問題となる胃排出速度と代謝の影響を受けにくい評価指標を明らかにする，ために検討を行った。[方法](A)健常人6名にGhoosらに準じた試験食を投与し，固形成分(卵黄)と液状成分(スープ)の胃排出能検査を行いRI法と ^{13}C 法を比較検討した。(B)健常人8名に水とラコールを用いた ^{13}C 法「標準法」を行い，胃排出速度と吸収能を比較検討した。[結果](1)TmaxにおけるRI法上の胃排出率は固形成分84%，液状成分79%であった。(2) ^{13}C 法(W-N法解析)とRI法の胃排出曲線は近似し両者に有意な相関が認められた。水とラコールを用いた比較では，(3)胃排出速度は水>ラコール(p<0.05)であり，W-N法解析により定量的な評価が可能であった。(4)吸収能では，水<ラコール(p<0.05)であった。従来の吸収能評価指標(Cmax, AUCx)は胃排出速度と代謝の影響を強く受け不適切であり，これらの影響を受けにくい新たな指標(AUC-Tmax, AUC-TW-N90%)を用いた評価が有用であった。[結論] ^{13}C 法「標準法」にW-N法解析を行うことでRI法に代替しうる定量的な評価が可能となり有用である。また吸収能の同時評価が可能であり，各消化器疾患や術後の病態解明に有用と考えられた。

S2-4. 膵外分泌機能不全診断における ^{13}C 標識脂肪を用いた脂肪消化吸収試験の有用性

弘前大学医学部第三内科¹, 弘前大学医学部保健学科病因病態検査学²

柳町 幸¹, 丹藤 雄介¹, 松本 敦史¹, 松橋 有紀¹, 志津野江里¹, 田村 綾女¹,
野木 正之², 田中 光¹, 中村 光男²

【背景】膵外分泌不全では脂肪を主とする各栄養素の消化吸収不良により高度な栄養障害をきたす。今回われわれは膵外分泌不全診断における ^{13}C 標識脂肪を用いた脂肪消化吸収試験の有用性について報告する。

【方法】対象は当科外来通院中の膵外分泌不全患者 13 例, 非脂肪便慢性膵炎患者 13 例, 健常者 23 例。早朝空腹時負荷食とともに ^{13}C 標識混合中性脂肪 200 mg を服用, 投与前, 投与後 30 分ごとに 8 時間まで呼気を採取した。採取した呼気は赤外線吸収分光計で測定。結果は健常者, 膵外分泌不全患者, 非脂肪便慢性膵炎患者の 3 群においてピーク値, ピーク出現時間, ^{13}C 8 時間累積回収率および 8 時間曲線下面積 (AUC) を算出し比較検討した。また膵外分泌不全患者群 10 例においては消化酵素補充療法前後の 8 時間累積回収率を比較した。

【成績】前値からみたピーク値は健常者 $64.7 \pm 18.0\Delta\%$, 膵外分泌不全群では $20.4 \pm 18.9\Delta\%$, 非脂肪便慢性膵炎群では $55.6 \pm 22.9\Delta\%$ であった。8 時間累積回収率は健常者 $14.5 \pm 3.9\%$, 膵外分泌不全群 $3.8 \pm 4.1\%$, 非脂肪便慢性膵炎群 $11.6 \pm 6.2\%$ であった。AUC の 3 群間の比較では健常者 $16,971 \pm 4,449\Delta\%$, 膵外分泌不全群 $4,951 \pm 4,981\Delta\%$, 非脂肪便慢性膵炎群 $14,024 \pm 7,583\Delta\%$ であった。ピーク値, 8 時間累積回収率, AUC すべて膵外分泌不全群で他の 2 群よりも有意に低値であった。しかし健常者と非脂肪便慢性膵炎群は有意差がなかった。ピーク時間は 3 群間で有意な差はなかった。また膵外分泌不全群の消化酵素補充療法前後の 8 時間累積回収率は $2.3 \pm 2.8\%$ から $5.9 \pm 3.2\%$ へ有意に増加した。

【結論】 ^{13}C 標識脂肪を用いた脂肪消化吸収試験は便中脂肪排泄量 5 g/日以上膵外分泌不全患者の診断に有用であることが示された。また消化酵素補充療法後の治療効果モニタリングにも有用である。

S2-5. ^{13}C -古稀ガス診断を用いた水害分泌機能検査法

弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科¹, 弘前大学医学部保健学科病因病態検査学講座²

松本 敦史¹, 野木 正之², 田中 光¹, 田村 綾女¹, 志津野江里¹, 松橋 有紀¹,
柳町 幸¹, 長谷川範幸¹, 丹藤 雄介¹, 松井 淳¹, 小川 吉司¹, 須田 俊宏¹,
中村 光男²

【目的】現在, 臨床現場で広く行われている膵外分泌機能検査法に, 6 時間蓄尿による PFD 試験があるが, 今回我々は, より簡便で反復しうる膵外分泌機能検査法として ^{13}C -dipeptide を用いた呼気試験について検討した。【方法】健常者 57 例, 膵外分泌機能不全患者 14 例を含む 105 例を対象とした。前日夕食後より絶食とし, 被験者に Benzoyl-L-Tyrosyl-[1- ^{13}C]Alanine 300 mg (東京ガス(株)総合研究所)溶液を服用させ, 90 分後までは 10 分毎, それ以降は 30 分毎に 180 分後まで呼気を採取し, 呼気中に含まれる $^{13}\text{CO}_2$ の $^{12}\text{CO}_2$ に対する存在比 (%) を UBiT-IR300 (大塚製薬) を用いて測定し, ピーク値及びピークに到達するまでの時間に関して検討した。【成績】 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比において, 健常者のピーク値の平均は 58.8 %, ピークに到達する時間は 20~50 分後であった。一方, 膵外分泌機能不全患者ではピーク値の平均は 27.3 % と, 健常者に比べ有意に低値を示し, ピークに到達する時間も 30~180 分後と幅広く, 健常者に比べ遅延傾向であった。 $^{13}\text{CO}_2$ 存在比のピーク値において, 健常者の Mean-1.5SD をカットオフ値とした場合, 膵外分泌機能不全診断の感度・特異度とも 100% であった。【結論】Benzoyl-L-Tyrosyl-[1- ^{13}C]Alanine を用いた呼気ガス診断は, 膵外分泌機能を反映する, 簡便で有用な検査法と考えられる。

S2-6. ¹³C-phenylalanine 呼気テストによる肝機能評価

日本大学医学部外科学講座消化器外科部門¹,
日本大学医学部先端医学講座探索医療・ゲノム・疫学部門²,
東京ガス株式会社総合研究所 安定同位体吸着グループ³

石井 敬基¹, 鈴木 茂², 河野 知久², 高山 忠利¹, 伊藤あすか³, 河野 匡³,
浅井 聰²

目的: 肝機能評価の方法として ¹³C-phenylalanine 呼気テスト (PBT) を 259 例施行した. PBT の結果と臨床症状, 肝機能評価に用いられる血液検査, 肝線維化の進行度, 肝臓の phenylalanine hydroxylase activity (PAHA) との関係を検討した. 方法と対象: 正常肝 82 例, 慢性肝炎 68 例, 肝硬変 109 例 (Child-Pugh A: 54, B: 30, C4: 25) の合計 259 例を対象に呼気テストを施行した. PBT は ¹³C-phenylalanine 10 mg/kg を内服し, 呼気を 15 分間隔で 90 分まで採取し, 結果は %¹³C dose/h で評価した. 結果: 1) PBT による肝障害診断の受診者動作特性曲線 (ROCcurve) の曲線下面積は 30 分値 (0.857) が最大であった. 2) 肝硬変患者の Child-Pugh A, B, C では 15, 30, 45 分値でそれぞれ間に有意差を認めた. 3) ICG15R と PBT の相関は 30 分値で最も高い負の相関を示し ($r = -0.59$), Child-Pugh score と PBT の相関も 30 分値で最も高い負の相関を認めた ($r = -0.58$). 4) 食道静脈瘤 (+) 例は食道静脈瘤 (-) 例に比べ総て点で有意に低値を示し, 食道静脈瘤有無の ROCcurve の曲線下面積は 30 分値が最大であった (0.822). 5) 肝癌の有無では, 肝癌 (+) は 15, 30, 45 分値で肝癌 (-) より低値を示し, 肝癌有無の ROCcurve 曲線下面積は 30 分値が最大であった (0.759). 6) PBT の結果と肝線維化進行度との関係では 30 分値が最も高い負の相関を示し ($r = -0.673$), 肝全体の PAHA の関係では, 30 分値が最も高い正の相関を示した ($r = 0.821$). 考察: 肝機能評価方法として PBT は有効であり, 30 分値は肝機能評価をする上で重要は値である.

S2-7. 呼気試験・生体ガス分析による腸内環境の評価

東邦大学総合診療・急病科, 東邦大学血液・腫瘍科², 東邦大学消化器内科³

瓜田 純久¹, 石原 晋², 島田 長人¹, 杉本 元信¹, 三木 一正³

腸内細菌による発酵により, 水素, 二酸化炭素, メタン, 短鎖脂肪酸などが生成される. これらは膨満感の原因となるだけでなく, 消化管機能に影響を及ぼす. 消化管発酵の評価は困難であるが, 呼気試験を用いると容易である. 今回, 呼気試験・生体ガス分析による腸内環境の変化について述べる.

1. 消化管発酵の評価: 呼気中水素ガスは腸内細菌が唯一の発生源のため, 全消化管の発酵反応の程度を表す. 呼気中水素ガス濃度は萎縮性胃炎, 逆流性食道炎で有意に高値であった. 機能性胃腸症では消化管発酵亢進が 42% にみられ, 胃排出正常でも発酵亢進が 25% にみられた.

2. 発酵部位: 水素ガス発生部位を特定するために, 内視鏡下に胃・十二指腸内腔の水素ガスを測定した. 胃・十二指腸内腔水素ガスは萎縮性胃炎で高値であり, 特に十二指腸内腔では有意に高値であった.

3. 試験食による変化: 空腹時に水素発生がない症例でも, 食後に活発になる場合がある. ラクチュロースを腸管洗浄液に混入して飲用させ, 経時的に呼気中水素を測定すると, 通常は 90 分以降で呼気中水素ガスが上昇するが, 20-40 分でピークとなる症例が 25% みられた.

4. 胃排出速度との関連: 胃排出速度が遅延している症例で, 胃内腔だけではなく, 十二指腸内腔, 呼気中水素ガスともに高値であった.

5. 食後のガス産生: 胃内腔での発酵を評価するため, 内視鏡下にラクチュロース, カロリーメイト, 牛乳を胃内に散布し, 胃内腔の気体を採取して水素ガスの変化を観察した. すると, 順に 3.9%, 9.9%, 5.5% の症例で胃内腔水素ガスが 10 ppm 以上上昇した.

発酵生成物が消化管機能に影響することが明らかとなり, 胃内腔に持続的に流入する口腔内細菌が消化器症状を惹起する可能性が示唆された.

S2-8. ^{13}C 呼気テストによる胃排出能と口-盲腸通過時間の同時測定の可能性

愛知医科大学医学部消化器内科¹, 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院内科²,
愛知医科大学医学部放射線科³

今村 祐志¹, 金子 宏², 小長谷敏浩¹, 大野 和子³, 各務 伸一¹

^{13}C オクタン酸 (^{13}C -OA) を用いた呼気テストは胃排出能を測定する標準的な検査法の一つとなっている。 ^{13}C ラクトースウレイド (^{13}C -LU) を用いた口-盲腸通過時間 (OCTT) 測定の海外での報告がみられる。呼気法による胃排出能と OCTT 同時測定の可能性を検討した。【方法】対象は健常男性ボランティア 9 名。試験食はホットケーキに ^{13}C -OA 100 mg と ^{13}C -LU 500 mg および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA 37 MBq を混入したものとした。呼気採取は試験食摂取前と摂取後 15 分毎に 8 時間行った。RI 法は最初の 1 時間は 10 分毎に、以後 15 分毎に盲腸到達が確認できるまで撮影した。RI 法では胃排出能はカウント値から $T_{1/2}$ を求め、OCTT は盲腸領域の RI 活性が初めて検出された時点とした。呼気法では胃排出能は T_{max} および $T_{1/2}$ を算出し、OCTT は $^{13}\text{CO}_2$ が再上昇を示した時点を目録到達時間とした。【成績】胃排出能については、RI 法による $T_{1/2}$ と呼気法による $T_{1/2}$, T_{max} との間に強い正の相関関係 ($P < 0.05$) が得られた。呼気法による OCTT が評価できた症例は 9 例中 6 例であり、6 例の検討では良好な相関を示した。【結論】 ^{13}C -OA, ^{13}C -LU を用いる事により、胃排出能と OCTT が同時に評価可能である。しかし、 ^{13}C -LU による OCTT 測定が評価不能な症例が少なからずある事が課題である。

S3-1. 腹腔鏡下アカラシア手術後症例における内圧測定・pH モニターを用いた機能評価

酒田市立酒田病院外科¹, 東北大学大学院先進外科学分野²

渋谷 俊介¹, 宮崎 修吉², 宮田 剛², 神波 力也², 里見 進²

【背景】食道アカラシアの治療において腹腔鏡手術の導入以降は手術の担う役割が大きくなってきており、良好な手術成績が報告されている。しかし、術後の食道運動機能についてはまだ不明な点も多い。当科では、1999 年に腹腔鏡手術を導入して以降、食道内圧測定・24 時間 pH モニタリングにより術後の食道運動機能評価を行ってきたので報告する。

【方法】1999 年から 2004 年までの間に食道アカラシアにて腹腔鏡下手術を施行された 22 例(男性 11 例, 女性 11 例, 平均年齢 38 歳)を対象とした。X 線型では Sp 型 17 例 F 型 1 例 S 型 2 例で、術式では Heller-Dor 法が 17 例, Heller-Toupet 法が 5 例であった。食道運動機能の評価として食道内圧測定を、胃食道逆流の評価として 24 時間 pH モニタリングを行った。

【結果】LES 静止圧は、術前の 54.0 ± 16.7 から 18.0 ± 5.9 と正常化していた。3 例で正常化しなかったが、正常上限よりやや高めの値であった。食道体部運動では、蠕動運動の回復を認めたものが 1 例あった。dry swallow にて評価してみると圧収縮波の propagation を認めたものが 9 例あり、これらは 30 歳以下で Sp 型の症例であった。24 時間 pH モニタリングでは、%time pH blow 4.0 が 5% 以上で酸逆流のパターンを認めたのは、3 例ですべて食道胃接合部の全周剥離を行った症例であった。このうち 2 例では LA 分類で GradeA の逆流性食道炎を認めた。

【結論】アカラシアの治療には、LES 部における通過障害の改善と逆流防止機構の再構築という二律背反的なことが求められる。そのため食道内圧測定や 24 時間 pH モニタリングなどによる機能評価によって、筋層切開および逆流防止手術が適切であったかどうか十分に検討することが必要である。

S3-2. 24時間食道内圧, 36チャンネル食道内圧測定を用いた食道アカラシア術後の機能評価

岩手医科大学外科学第1講座

佐々木 章, 大淵 徹, 中嶋 潤, 大森 浩明, 池田健一郎, 若林 剛

【目的】食道アカラシアに対する腹腔鏡下 Heller-Dor (LHD) 後の食道運動を 24 時間内圧, 36 チャンネル内圧測定で検討した。

【対象と方法】1995 年 6 月より 2006 年 4 月までに LHD を施行した食道アカラシア 25 例を対象とした。24 時間内圧チューブは 4 チャンネルで, LES より口側 1 cm, 6 cm, 11 cm, 16 cm に固定し, 非制限下に 24 時間測定した。36 チャンネル内圧チューブは topographic format で内圧を color plot に変換し, 強い陽圧を示す LES を目安に咽頭から胃にチューブを留置した。内圧測定は座位で水嚥下を 10 回行い記録した。

【結果】術後 24 時間内圧測定による収縮波数の中央値は上部食道に比較して下部食道で減少していた (1.4 vs 0.7/min, $p=0.014$)。伝播性収縮波の割合は術前後で差が認められなかったが (0 vs 0.4%), 2 から 3 チャンネルで観察された不完全な伝播性収縮波は術後に増加した (31.9 vs 50%, $p=0.021$)。全例で術後に嚥下困難は改善したが, 胸痛は 4 例で残存し, 1 例は術後に出現した。術後に胸痛を認めた患者と認めない患者では収縮波数 (0.8 vs 0.9/min), 収縮圧 (25.5 vs 26.8 mmHg), 収縮時間 (3.2 vs 2.8 秒) に差を認めなかった。36 チャンネル内圧測定では topographic format により, 術前 (同期性収縮波, LES 弛緩不全, 食道内圧が胃内圧よりも高値), 術後変化 (LES 圧 10 mmHg 未満, 食道内圧は陰圧) が視覚的に観察できた。3 例で術後に伝播性収縮波が観察されたが, 病悩期間, 術前 LES 圧・食道最大横径との関連は認めなかった。

【結語】24 時間内圧, 36 チャンネル内圧測定は食道運動を詳細に検討でき有用と考えられた。アカラシア患者の胸痛は内圧所見と関連せず, LHD により完全に改善できなかった。伝播性収縮波出現例について臨床的意義を検討していく必要がある。

S3-3. 腹腔鏡下アカラシア手術の機能評価

北里大学外科

片田 夏也, 森谷 宏光, 二渡 信江, 桜本 信一, 小林 伸行, 菊池 史郎,
渡邊 昌彦

低侵襲性の腹腔鏡下アカラシア手術は本邦でも普及しつつある。アカラシアは機能性疾患であることから手術成績は食道機能検査による客観的な指標に基づき評価されることが望ましい。本研究では本術式の機能評価を行いその有効性を明らかにすることを目的とした。【対象と方法】現在までに本術式を施行したアカラシア 41 例 (年齢: 平均 44.1 歳, 分布: 23~74 歳, M: F=18: 23) を対象とした。手術は全例腹腔鏡下に施行され術式の内訳は Heller-Toupet 法: 31 例, Heller-Dor 法: 9 例, Heller 法: 1 例であった。手術による症状改善の評価として術前の dysphagia の程度を 10 としたときの術後 1 年の dysphagia score を患者に問診した。食道機能検査として術前と術後 3ヶ月に食道内圧検査を, 術後 3ヶ月に 24 時間食道 pH モニタリングを行った。【結果】術後 1 年の dysphagia score (mean ± SD) は 1.7 ± 1.2 と手術により dysphagia は軽減した。内圧検査における術前→術後の LES 圧 (mmHg) は $36.1 \pm 12.6 \rightarrow 16.1 \pm 7.1$ ($p < 0.01$) と術後有意に低下した。LES 弛緩率 (%) は $63.3 \pm 16.7 \rightarrow 81.2 \pm 10.0$ ($p < 0.01$) と術後有意に上昇した。食道体部の収縮波高は術前後で有意差を認めなかった。Heller-Toupet 法を施行した 25 例に対し術後 3ヶ月に食道 pH モニタリングを行った。そのうち 3 例 (12%) で %time pH < 4 がそれぞれ 4.5%, 5.8%, 14.1% と病的胃食道逆流を認めたが, 2/3 例では逆流の程度は軽度であった。【結論】腹腔鏡下アカラシア手術により LES 圧は低下, LES 弛緩率は上昇することが示され, その結果として逆流を防ぎつつ dysphagia が軽減されたと考えられた。本術式の有効性が機能評価により明らかにされた。

S3-4. 食道アカラシアに対する腹腔鏡下 Heller-Dor 噴門形成術の治療効果—症状改善と Timed barium esophagram (TBE) を用いた食道排出能の比較検討—

東京慈恵会医科大学外科

小村 伸朗, 中田 浩二, 坪井 一人, 川崎 成郎, 石橋 由朗, 柏木 秀幸,
羽生 信義, 矢永 勝彦

食道アカラシアは dysphagia を主症状とし, 食道排出能障害がその病態に深く関与することが知られている。近年, 食道アカラシアにおける簡便な食道排出能評価法として Timed barium esophagram (TBE) の有用性が報告され, 注目されている。【目的】食道アカラシアに対し教室で標準術式としている腹腔鏡下 Heller-Dor 噴門形成術 (LHD 法) の有用性を症状改善および TBE により prospective に比較検討した。【対象と方法】2003 年 4 月より 2005 年 3 月までに食道アカラシアの診断にて LHD 法を施行した 24 例を対象に, (1)術前上部消化管造影検査による拡張型, 拡張度の判定, (2)術前と術後 6 か月後に TBE による食道排出能検査 (45%w/v バリウム服用 1, 2, 5 分後のバリウム柱高 [H], 幅 [W], これらの積 [H×W] を算定, (3)術後 6 か月の dysphagia 改善度を 4 段階評価 (excellent, good, fair, poor) し, 完全消失 (excellent) を著効群, それ以外 (good, fair, poor) を非著効群とし, 2 群間における食道排出能を比較検討した。【成績】dysphagia の改善度は, 著効群 20 例 (83%), 非著効群 4 例 (17%) であった。著効群と非著効群において, 拡張型および術後在院日数に差はみられなかった。著効群では非著効群と比較して食道排出能にすぐれ, とくに TBE の 5 分値において有意であった。【結語】食道アカラシアに対する治療として LHD 法は有効であり, 術後の dysphagia 改善度は食道排出能と関連していた。TBE は食道排出能を簡便に評価することが可能であり, 食道アカラシアの機能評価および治療効果判定に有用と考えられた。

S3-5. 噴門部早期胃癌における迷走神経温存 J 型空腸囊間置噴門側胃切除術後の病態について

日本歯科大学生命歯学部外科学講座¹, 日本大学医学部救急医学講座², 日本大学医学部外科学講座³

富田 涼一¹, 丹正 勝久², 池田 太郎³, 越永 従道³

【目的】噴門部早期癌での胃全摘兼空腸間置術 (A 群) や噴門側胃切除術 (B 群) の迷走神経非温存では, 逆流性食道炎, ダンピング症候群, 小胃症をみるが, その予防に, 迷走神経温存 J 型空腸囊間置噴門側胃切除術 (C 群) を採用している。本術式 (C 群) の有用性を病態生理学的に検討した。【対象】A 群 20 例 (男 15 例, 女 5 例, 平均 61.2 歳), B 群 18 例 (男 12 例, 女 6 例, 平均 66.9 歳), C 群 8 例 (男 6 例, 女 2 例, 平均 61.7 歳), 対照 (D 群) 16 例 (男 10 例, 女 6 例, 平均 58.8 歳) を用い, 術後 1 年経過した時点で検査を行った。【方法と結果】問診; 早期ダンピング症候群は A 群 25%, B 群 16.7%, C 群 0%, 逆流性食道炎は A 群 25%, B 群 55.6%, C 群 0%, 1 回食事摂取量術前比較 80% 以上は A 群 15.0%, B 群 44.4%, C 群 100% で, C 群が A, B 群より有意に逆流性食道炎が少なく, 1 回食事摂取量は良好だった ($p < 0.05$)。下部食道 % 時間 pH > 7; A 群 68.4 ± 30.4%, B 群 9.3 ± 5.2%, C 群 6.7 ± 5.1%, D 群 5.7 ± 8.2% で A 群が B, C, D 群より有意に長かった ($p < 0.001$)。下部食道 % 時間 pH < 4; A 群 1.4 ± 2.2%, B 群 22.1 ± 9.7%, C 群 4.0 ± 6.3%, D 群 4.3 ± 2.6% で B 群が A, C, D 群より有意に長かった ($p < 0.01$)。代用胃排出機能; 代用胃残存率 50% 時間は, A 群 28.4 ± 9.7 分, B 群 66.4 ± 10.7 分, C 群 62.9 ± 25.1 分, D 群 52.9 ± 9.6 分, 120 分代用胃内残存率は A 群 5.2 ± 9.4 分, B 群 20.8 ± 10.3 分, C 群 14.8 ± 8.3 分, D 群 9.1 ± 12.2% で C 群は A, B 群より D 群に近い値を示した。【まとめ】C 群は A, B 群より逆流性食道炎, 小胃症, 早期ダンピング症候群の発生が無く生理的術式である。

S3-6. 噴門部早期胃癌における LES (lower esophageal sphincter) ・迷走神経温存噴門部分切除の術後機能とその評価 (4 チャンネル胃電図の導入の試み)

川崎医科大学消化器外科

松本 英男, 平井 敏弘, 村上 陽昭

【目的】噴門部の早期胃癌に対し, LES と迷走神経を温存して噴門側胃切除を行い食道と残胃を吻合する術式を開発した. 逆流症状もなく小胃症状も少ない再建方法で, 術後の残胃の評価も容易である. この術式の術後機能を評価し, 更なる評価法を試みている.

【対象・方法】2003年7月以降に9症例を経験した. 術後約1ヶ月に, 食道内圧測定と24時間食道pHモニターを施行し, 術後1年を経過した時点で内視鏡を行った. また4チャンネルの胃電図を用いて残胃の運動機能の評価を試みた.

【結果】術後1ヶ月の食道内圧測定ではいずれもLESの温存が確認できた(8/8). 24時間食道pHモニターは全例fraction time pH<4が5%以下であった(5/5). 内視鏡所見では3例に吻合部に限局する食道炎があった(3/9)ものの, いずれの症例も逆流, 嘔吐, 胸やけといった逆流症状は認めず小胃症状もなかった. 術後の胃透視では前庭部の蠕動を認めたが, 体部の蠕動は消失しており, 2例に消化酵素剤で改善する中等度のstasisを認めた. 経過中に2例に残胃癌の発生を認めたが内視鏡下に治療可能であった.

【結語】本術式は簡便であり, 術後に逆流症状・小胃症状もなく, 残胃の観察も容易に行うことができることから, 噴門部の早期胃癌に対して有用な再建方法と考えられた.

S3-7. 幽門側胃切除術後の噴門部機能の評価

大阪市立大学大学院消化器外科

福原研一朗, 大杉 治司, 李 榮柱, 岸田 哲, 西沢 聡, 岩崎 洋,
吉田 佳世

【緒言】胃癌に対する機能温存を目指した手術が工夫され, 噴門部早期胃癌では噴門側胃切除が試みられている. 逆流症状による術後患者のQOL低下を予防する目的で, 空腸間置法, 空腸嚢間置法, 回結腸間置法などを用いた再建術式が行われている. そこで, 施行頻度が高い幽門側胃切除術における術後逆流状況と症状から噴門部機能について検討を行った.

【方法】根治的幽門側胃切除を施行した胃癌患者92例を対象に, 再建術式別にGroup A: Roux-Y法29例, Group B: Billroth 1法41例, Group C: Billroth 2法22例とした. まず全例にBillroth 1法を試み, 吻合部に緊張がかかる症例を無作為にRoux-Y法とBillroth 2法に振り分けた. 術14日目にBilitec 2000を用いて24時間ビリルビンモニタリング検査を行い, 残胃と食道への十二指腸逆流を測定し, 逆流時間の観察時間に対する百分率を% timeとした. なお, 観察期間中は白色経腸栄養食1,200 kcalを1日3回にわけて摂取した. また術3ヶ月後に症状や体調に関するアンケート調査を行った.

【結果】残胃への% timeはGroup A; 26.6, B; 47.3, C; 79.2%, 食道への% timeはGroup A; 1.6, B; 9.6, C; 31.8%であった. また食道と残胃への% timeには正の相関を認めた. アンケート調査では, Group Bで食事量の減少, Group Cで逆流症状が多く認められた.

【まとめ】幽門側胃切除術後では, 噴門部の食道への逆流防止機能は損傷を受けており, 残胃の大きさや変形よりもリンパ節郭清などによる手術侵襲が原因と思われた. 逆流症状の予防には食道および残胃への逆流を抑制することが肝要と思われた.

ワークショップ

W-1. 子宮平滑筋におけるプロテイナーゼ活性化型受容体の性ホルモンによる発現調節

九州大学大学院医学研究院分子細胞情報学

平野 勝也, 阿萬 紫, 金出 英夫

プロテイナーゼ活性化型受容体 (PAR) は, トロンピンやトリプシンなどの蛋白質分解酵素によって活性化される G 蛋白質共役型受容体である. 現在までに 4 種類の受容体が同定されている. トロンピンは PAR-1, PAR-3, PAR-4 に作用し, トリプシンは PAR-1, PAR-2, PAR-4 に作用する. 受容体の発現は, 臓器特異的に調節されるのみならず, 種々の病態で変動することが知られている. しかしながら, 発現調節の詳細は未だ不明である. 妊娠ラット子宮平滑筋において, トロンピンおよびトリプシンに対する収縮反応が非妊娠時と比べて著しく増強されることを見出した. PAR-1 発現は妊娠により約 10 倍に増加するが, PAR-2, PAR-3, PAR-4 は非妊娠, 妊娠いずれにおいても検出されなかった. トロンピンによる収縮はトリプシン前刺激により阻害されるが, トリプシンによる収縮はトロンピン前刺激の影響を受けなかったことから, トリプシン収縮にはトロンピン受容体の活性化は関与しないことが示唆される. すなわち, 妊娠子宮で認められるトロンピン収縮の増強は主に PAR-1 の発現増加によること, また, トリプシン収縮には既知の PAR 以外の受容体が関与し, この受容体も妊娠により発現が亢進することが示唆される. 非妊娠ラットに 17β エストラジオールあるいはプロゲステロンを投与すると, トリプシン収縮は妊娠の場合と同程度まで増強したが, トロンピン収縮は影響を受けなかった. プロゲステロンは PAR-1 発現を軽度増加させたが, エストロゲンは影響を与えなかった. 他の受容体はいずれの条件でも検出されなかった. 以上より, 想定されるトリプシン受容体の発現は性ホルモンに依存性であると結論される. 一方, 妊娠における PAR-1 発現亢進は, 性ホルモンに依存しないか, あるいは, 妊娠に伴う何らかの付加的因子を必要とすることが示唆される.

W-2. 妊娠 iNOS ノックアウトマウスにおける, 子宮筋収縮反応に対する NO と胎盤の影響～(1) 妊娠中期・後期の検討 (2) Lipopolysaccharide (LPS) 投与の検討～

福島県立医科大学産婦人科

高橋 秀憲, 大川 敏昭, 佐藤 章

【目的】iNOS により産生された NO は cGMP を介した妊娠子宮筋弛緩作用を持つ. 子宮筋 iNOS は妊娠後期まで発現, 分娩直前に減少し分娩に至るとされる. 一方, iNOS は炎症の際にも誘導されるが, 早産の一因である炎症と子宮筋に対する iNOS と NO の関与についての報告はなく, まして胎盤についての報告もない. 今回我々は, 子宮筋弛緩に対する iNOS, NO の関与と胎盤の影響について (1) 妊娠中期と後期の差 (2) 炎症の有無別に iNOS knockout (iNOSKO) マウスを用い検討を行った.

【方法】(1) 妊娠 14 日目および 18 日目の Wild (C57BL) と iNOSKO マウス子宮筋 (Ut) と胎盤を付着させた妊娠子宮筋標本 (Pl) を作成し, Krebs-Henseleit 液で充満したマグヌス装置内において懸垂し, Diethylamine-nitric oxide または 8-br-cGMP を加え等尺性収縮を観察した. (2) 妊娠 14 日目の Wild と iNOSKO マウスに LPS 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を腹腔内投与の有無で 2 群 (LPS+, LPS-) とし, それぞれの Ut と Pl の子宮筋収縮反応を同様に比較した.

【成績】(1) Wild および iNOSKO の Ut おいて妊娠中期, 後期ともに両薬物は用量依存性に有意な子宮筋弛緩を認めた. Wild (Pl) は妊娠後期のみ, iNOSKO (Pl) は妊娠中期・後期ともに両薬物の弛緩作用が Ut に比較し有意に減弱した. (2) Wild (LPS+) は Ut, Pl とともに両薬物の子宮筋弛緩作用を有意に減弱した. iNOS-KO (LPS+) は Ut, Pl とともに両薬物の有意な子宮筋弛緩作用を認めた, 両マウス (LPS+) とともに Pl は Ut より弛緩作用は減弱した.

【結論】妊娠子宮筋・胎盤の妊娠中期生理的 iNOS を介した NO の子宮筋弛緩作用を認めた. 妊娠後期に生理的 iNOS 作用は減弱, 分娩発来に関与すると考えられ, 胎盤はその効果を増強させた. 炎症の際は病態的過剰な iNOS により子宮筋弛緩作用が減弱し, 早産に関与する可能性が示唆された. 炎症時の胎盤 iNOS も子宮筋弛緩減弱に関与したことから, 絨毛羊膜炎などの子宮収縮には子宮一胎盤間での病態的 iNOS の関与が示唆された.

以上より妊娠子宮一胎盤の iNOS において生理的子宮収縮抑制作用と病態的な収縮抑制作用の減弱という 2 面性を明らかにした.

W-3. 妊娠高血圧腎症患者にみられる血管の機能異常

名古屋市立大学医学部産科婦人科¹, 名古屋市立大学医学部細胞分子薬理学²

鈴木 佳克¹, 山本 珠生¹, 梶栗 潤子², 渡邊 義将², 伊藤 猛雄²

【目的】妊娠高血圧腎症 (PE) は内皮機能異常との関連が考えられている。抵抗血管を用いてその機能異常について検討を行った。【方法】PE 患者 40 名と正常妊婦 60 名から、大網の抵抗動脈を得た。内皮+標本にてトロンボキサン類似薬 (STA₂) と skinned 標本にて Ca²⁺ の用量依存反応を検討した。L-ニトロアルギニンやジクロフェナック 存在下と非存在下で STA₂ 収縮にブラジキニン (BK) による内皮依存弛緩反応を検討した。NO ドナー、プロスタサイクリン (PGI₂) アナログと cGMP アナログの用量依存性反応を検討した。内皮+標本で微小電極法により BK による過分極反応を検討した。内皮+標本で BK 投与前後の PGI₂ 代謝物濃度や cGMP 濃度および内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) 発現量について検討した。【成績】PE 患者で STA₂ 収縮反応の感受性の増加がみられたが、収縮蛋白質の Ca²⁺ 感受性は変化していなかった。PE 患者で内皮依存性 NO と PGI₂ の弛緩は減弱していた。eNOS 発現量と cGMP 生成量を差を認めなかった。PE 患者で cGMP アナログによる血管の弛緩反応は減少していた。PGI₂ 産生量は減少していた。平滑筋細胞の静止膜電位と BK による膜過分極の大きさは同程度であった。【結論】PE 患者において内皮由来 NO と PGI₂ の反応が低下し、それは、cGMP 以降の反応性の低下と PGI₂ の産生障害が考えられた。一方 EDHF の機能は維持され、代償的に働いている。これらの内皮機能異常は他の循環器疾患と異なり本疾患に特徴的な血管機能異常である。

W-4. 子宮平滑筋の収縮調節に関与するイオンチャンネルに関する検討

福岡大学医学部産科婦人科¹, 福岡歯科大学細胞分子生物学²

井上 善仁¹, 大久保つや子², 岡部 幸司², 北村 憲司², 瓦林達比古¹

子宮平滑筋において収縮頻度の調節に関与するチャンネルについては未だ明確になっていない。我々は妊娠ラットおよび妊娠ヒト子宮平滑筋に微小電極法、電位固定法、等尺性収縮記録法などの方法を応用して収縮頻度調節に関与する可能性のあるチャンネルについて検討してきた。まずラット輪走筋においては心筋と同様に過分極により活性化されるイオン非選択的内向き電流 (I_h 電流) が存在し、これは細胞外に投与した Cs⁺ イオンにより容量依存的に抑制され、それに伴って収縮頻度も減少した。Na⁺ チャンネルも存在し、これは精子膜電位の付近では window current として膜の活動性を上昇させている事が示唆された。また T 型カルシウムチャンネルの亜型である $\alpha 1G$, $\alpha 1H$, $\alpha 1I$ サブユニットを encode する mRNA の発現量を comparative kinetic RT/PCR 法にて評価すると、縦走筋では $\alpha 1H$ mRNA は妊娠中徐々に増加したが、 $\alpha 1G$ mRNA は分娩時のみ発現量が増加すること、輪走筋では $\alpha 1H$ mRNA 発現は妊娠により変化を示さず、 $\alpha 1G$ mRNA は分娩時のみに増加することが分かった。さらにヒト妊娠子宮平滑筋においては T 型 Ca²⁺ チャンネルに 3 つの splice variant が存在することを見出した。これらの亜型 T 型 Ca²⁺ チャンネルを PCR 法により cloning し *Xenopus laevis* の卵に発現させ、その機能的な相違についても検討した。T 型 Ca²⁺ 電流の活性化や不活性化に亜型の間で相違があることが判明した。このようにラットにおいてもヒトにおいても種々のチャンネルが収縮頻度調整に関与しているものと考えられる。

W-5. 子宮平滑筋非選択性陽イオンチャンネルの性質と妊娠期間における発現様式の推移

広島大学大学院医歯薬学総合研究科産科婦人科学

三好 博史, 占部 智, 島筒里香子, 工藤 美樹

非選択性陽イオンチャンネル(NSCC)は子宮収縮制御機構のひとつと考えられている。我々は妊娠ラット子宮平滑筋細胞から2種類のNSCC電流を記録し陣痛周期やMgイオンの子宮収縮抑制作用との関連性を示したが、チャンネル蛋白の同定には至っていない。今回はATP受容体の一種であるP2Xとtransient receptor potential (TRP)チャンネルについてその発現様式を検討した。妊娠19日ラット子宮筋より抽出作成したcDNAを用いてP2XおよびTRPの発現をRT-PCR法により観察した。特にP2X4はrealtime PCR法にて妊娠性変化を検討、遺伝子をクローニングしEffectine法を用いてCOS-7培養細胞に導入し再発現させた電流をパッチクランプ法により記録した。各妊娠時期においてP2XはサブタイプX1, X3, X4, X6の発現を認めた。優位に発現したP2X4の発現をrealtime PCR法で定量したところ、分娩直前には非妊娠の約5倍、妊娠中期の約2倍の亢進を認めた。一方、TRPはC1, C3, C4, C6の発現を認めた。P2X4を導入したCOS-7細胞にATPを投与したところ矩形電流が濃度依存的に誘発された(IC₅₀=0.8 mM)。イオン透過性は子宮平滑筋細胞と同じくK>Cs>Li>Naであった。またUTP, GTP, ADPでも活性化され(ATP>UTP>GTP>ADP)、P2阻害剤スラミンとP2X特異的阻害剤PPADSに対しても同様な感受性を示した。一方、子宮平滑筋細胞では観察されなかった脱感作現象がCOS-7細胞では観察された。ラット子宮において妊娠末期にはP2X4の発現が亢進しており、再発現させた電流は子宮平滑筋細胞ATP受容体電流と性質がほぼ一致していた。P2X4チャンネルは子宮平滑筋細胞NSCCのひとつと考えられ子宮収縮制御機構との関連が示唆された。

教育セミナー

栗山賞受賞講演

教育セミナー

Strategies for Diagnosis and Treatment of Gastro-Oesophageal Reflux Disease

Director of Nerve-Gut Research Laboratory
Department of Gastroenterology, Hepatology and General Medicine
Royal Adelaide Hospital, North Terrace, Adelaide SA 5000, Australia
John Dent

Recognition of the usually characteristic pattern of reflux-induced symptoms is the cornerstone of diagnosis of reflux disease, since 50 to 60% of patients have no erosive oesophagitis and the diagnostic value of endoscopic minimal changes is unproven. When symptoms are chronic and typical, endoscopy is unnecessary at this stage of management, but should be done promptly if symptoms are non-specific or atypical, especially in older patients from populations with a high incidence of gastric cancer. Oesophageal pH monitoring has no role to play in initial management.

Full-dose proton pump inhibitor (PPI) therapy for 4 weeks is the best initial approach as this is most likely to relieve symptoms. Major early symptom relief satisfies patient expectations and is helpful diagnostically. If a patient is known to have Los Angeles grade C or D oesophagitis (about 10% of all reflux disease patients), daily PPI therapy is needed indefinitely, or antireflux surgery. In other PPI responsive patients, therapy should be withdrawn after 4 weeks in order to identify the minority that remains in symptom remission for long periods of therapy. Some traditional non-drug measures may help with this. If troublesome symptoms recur, this is not in itself an indication for endoscopy. Another course of PPI should be given for 2 to 4 weeks and then therapy stepped down to on-demand PPI or H₂-receptor antagonists, or daily half-dose PPI. If full-dose daily PPI is needed for effective maintenance, it is probably appropriate to endoscope the patient if this has not been done previously.

These mainstream pathways are supported by extrapolations of clinical trial data and limited formal research into competing management strategies. The role and timing of endoscopy is especially contentious and difficult to research.

Patients who respond poorly to an initial course of PPI should have endoscopy. If they remain poorly responsive on twice daily full-dose PPI further evaluation with oesophageal pH monitoring and other investigations should be considered.

栗山賞受賞講演

糖尿病動物における血管機能障害と PI3-K/Akt pathway の関与

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

小林 恒雄

糖尿病患者は、血管機能異常により各臓器、組織の血流の低下が原因により種々の合併症を誘発する。その一つである大血管障害として、冠動脈、脳動脈、下肢動脈のアテローム性動脈硬化等が知られ、血管障害の予防及び治療の研究が進められている。現在、糖尿病患者の多くは2型糖尿病であるが、この型の糖尿病研究は、適切なモデルが少ないことと自然発症糖尿病動物の価格が非常に高価な為に進んでいないのが現状である。そこで今回、新規2型糖尿病動物を作成すると共に、血管内皮細胞機能の検討を行った。糖尿病動物は、1.5 g/kg nicotinamide i.p. 前処置後、200 mg/kg streptozotocin (STZ) を i.v. 投与したマウスを用いた。投与後 12 週間後、血糖値の増加とインスリン値の増加が認められ、グルコース負荷試験においてもインスリン抵抗を伴った2型糖尿病様動物であると示唆された。この糖尿病動物における胸部大動脈の内皮機能において、ACh 刺激による弛緩反応、NO 産生、c-GMP 量は、変化が認められなかったが、クロニジン、インスリンにおける反応は、糖尿病群において減弱、及び産生量の低下が認められた。また、ACh 刺激は、Akt もしくは PI3-K 各阻害薬によって影響を示さないが、クロニジン、インスリンにおける弛緩反応、NO 産生、c-GMP 量は、これらの阻害薬によって完全に消失した。糖尿病血管における Akt タンパク発現、クロニジンによる Akt の活性化 (Akt リン酸化) は、減弱が認められた。以上の結果から 2 型糖尿病マウスの胸部大動脈において、PI3-K/Akt 経路を介する $\alpha 2$ 受容体刺激やインスリン刺激による NO 産生や血管弛緩の減弱が生じる。これは Akt の発現、活性の低下が関与することが示唆された。

栗山賞受賞講演

Spreading vasodilatation in resistance arteries

¹金沢医科大学医学部生理機能制御学, ²バース大学高野 博充¹, キム ドーラ², クリス ガーランド²

アセチルコリンのような動脈を過分極させる血管拡張剤を局所的に投与すると、投与部位から離れたところまで動脈の長軸にしたがって動脈全体が協調的な弛緩を起こす。われわれはこの spreading vasodilatation の機構を明らかにしようと研究した。Spreading vasodilatation は平滑筋細胞の膜電位の過分極反応の伝播を伴うが、それがこの spreading 反応の鍵となる機構と思われる。内皮細胞はそのような反応において重要な役割を果たしているように思われる。隣り合った内皮細胞どうしはギャップジャンクションを介して強くつながっている。ギャップジャンクションは細胞同士が直接コミュニケーションできるようにし、小さなサイズの分子や電流を通すことができる。このような内皮細胞を破壊した動脈標本では平滑筋細胞を過分極させる血管弛緩剤を局所投与しても局所で起こった弛緩の伝播は見られなくなったのである。一方、血管壁において内皮細胞層は周りを取り囲んでいる平滑筋細胞の層とは内弾性板によって隔てられている。近年、いくつかの動脈で、内弾性板に開いている穴を介して内皮細胞と平滑筋細胞が直接接触し、その間でギャップジャンクションをつくり、直接的な連絡路が形成されていることが確認された。この連絡路を介して内皮細胞層を伝播してきた弛緩信号が平滑筋細胞層に伝えられ、血管全体で協調的な弛緩反応を起こしていると考えられる。この伝播機構にはそれを促進する機構があるように見られるが、そのメカニズムはまだはっきりしていない。この spreading vasodilatation は抵抗血管網において血流を調整するのに重要な生理的役割を果たしているようである。

栗山賞受賞講演

Melastatin-Type transient receptor potential channel 7 is required for intestinal pacemaking activity

Department of Physiology and Biophysics,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea
Byung Joo KIM, Insuk SO, and Ki Whan KIM

Background & Aims: Interstitial cells of Cajal are pacemakers in the gastrointestinal tract, regulating rhythmicity by activating nonselective cation channels. In *Caenorhabditis elegans*, the melastatin-type transient receptor potential (TRPM) channel, especially TRPM7, was suggested as being involved in defecation rhythm. The aim here was to show that the nonselective cation channel in interstitial cells of Cajal in mouse small intestine has properties essentially identical to those of murine TRPM7, heterologously expressed in human embryonic kidney cells. *Methods*: The patch-clamp technique for whole-cell recording was used in cultured or single interstitial cells of Cajal. TRPM7-specific small interfering RNAs were used for specific inhibition of TRPM7. *Results*: Electrophysiological and pharmacological properties of the nonselective cation channel in interstitial cells of Cajal were the same as those of TRPM7. Reverse-transcription polymerase chain reaction, Western blotting, and immunohistochemistry all showed abundant and localized expression of TRPM7 messenger RNA and protein in mouse small intestine. Treatment of primary cultured interstitial cells of Cajal with TRPM7-specific small interfering RNA resulted in inhibition of pacemaking activity. *Conclusions*: TRPM7 is required for intestinal pacemaking. The protein is a likely potential target for pharmacological treatment of motor disorders of the gut.

一 般 演 題

1. ニトログリセリン慢性投与ウサギの腸間膜動脈内皮細胞における一酸化窒素産生の減少

名古屋市立大学医学部産科婦人科学¹, 名古屋市立大学医学部薬理学²

山本 珠生¹, 鈴木 佳克¹, 梶栗 潤子², 渡邊 義将², 伊藤 猛雄²

【目的】高血圧や糖尿病の病態形成に、活性酸素による血管内皮機能障害が関与しその機能改善に、Angiotensin II 1型受容体阻害薬 (AT1R blocker; ARB) や L-アルギニン (L-Arg) や葉酸などのビタミン類投与の有用性が報告されている。ウサギへのニトログリセリン (NTG) 慢性投与により作成した活性酸素による腸間膜抵抗動脈内皮機能障害に対する L-Arg や葉酸の効果を検討した。【方法】雄白色ウサギに NTG を 10 日間連続投与した群 (NTG 群), NTG と ARB を同時投与した群ならびに対照群の 3 群を作成した。腸間膜動脈を摘出し内皮温存標本を作製した。一酸化窒素 (NO) 感受性蛍光色素や Ca^{2+} 蛍光指示薬を用い, 生体内内皮刺激物質であるアセチルコリン (ACh) 添加による細胞内 NO 濃度 ($[NO]_i$) と細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を測定した。活性酸素消去薬 Mn-TBAP, 活性型葉酸 5-MTHF+L-Arg, tetrahydrobiopterin の前駆体 sepiapterin を前投与し同様の検討を行った。

【成績】NTG 群では対照群に比して ACh による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇に差を認めなかったが, $[NO]_i$ 上昇は有意に減弱し, 内皮細胞での $[Ca^{2+}]_i$ 非依存性の NO 産生減少が明らかとなった。これは, sepiapterin 前投与により回復せず, Mn-TBAP や 5-MTHF+L-Arg により回復した。NTG と ARB 同時投与群では NO 産生減少は認めなかった。

【結論】本検討より, 血管内皮では NTG 慢性投与により AT1R 活性化を介した活性酸素の発生が増加することにより, L-Arg 量が減少し NO 産生が減少するものと考えられた。この結果は, 活性酸素が関与するある種の内皮機能障害に対する L-Arg 投与の有用性を示唆する。

2. ラット腸間膜動脈血管弛緩反応の内皮細胞除去による増強機序

岡山大学大学院医歯薬総合研究科臨床薬学¹, 就実大学薬薬効解析²

ワタニ

岩谷有希子¹, 能木 沙織¹, 高山 房子¹, 見尾 光庸², 川崎 博己¹

【目的】血管内皮細胞は内皮由来弛緩因子と収縮因子双方を産生することによって, 血管緊張度を調節しているばかりでなく, 内因性および外因性血管作動物質の血管反応に対しても過度の反応とならないように適正にコントロールしている。本研究室では, 腸間膜動脈抵抗血管における一酸化窒素 (NO) 供与体である sodium nitroprusside (SNP) による血管弛緩反応が内皮細胞除去によって増強されることを明らかにしている。この増強効果は, 内皮細胞由来収縮因子の消失が主な原因と考えられてきた。本研究では, この機序を明らかにする目的で, 血管平滑筋側の細胞内情報伝達系に着目し, 検討を行った。SNP は NO を通じて cGMP を介して弛緩反応を起こすことが知られている。従って, 特に cGMP を介する細胞内伝達経路に注目した。

【実験方法】実験は, 体重 350~400 g の Wistar 系雄性ラットを用い, 摘出ラット腸間膜動脈血管床の灌流標本を作製した。標本は毎分 5 ml の一定流量で Krebs 液を灌流し, この時の灌流圧変化を血管緊張度変化として測定した。血管内皮細胞除去は sodium deoxycholate (SD) を用いた。灌流圧を上昇させた後, セカンドメッセンジャー (cGMP), または, その細胞内濃度を増加させる物質を 5 分間灌流した。

【結果及び考察】膜型グアニル酸シクラーゼ (GC) 活性を生じる ANP, 8-Br-cGMP, 及び, ホスホジエステラーゼ 5 阻害薬の Sildenafil の弛緩反応は, 内皮細胞除去後に増大した。一方, 可溶性型 GC 活性を起こす YC-1 及び BAY41-2272 による弛緩反応は内皮細胞除去によって増大しなかった。以上の結果より, 内皮細胞除去による弛緩反応増大機序は, 膜型 GC を介する細胞内情報伝達系に変化が起きたことによる可能性が考えられる。

3. モルモット腸間膜動脈内皮細胞の ACh による膜電位反応における標本間変動

名古屋市立大学看護学部生理学¹, 名古屋市立大学大学院医学研究科細胞制御²

山本 喜通^{1,2}, 鈴木 光²

ACh による血管内皮細胞の過分極反応は持続性であることが多いが, 標本によっては一過性の過分極に脱分極が続く反応を示す. この標本間変動の原因を調べるため, モルモット腸間膜動脈から内皮細胞層を単離して得られた多細胞標本に, 穿孔パッチによる膜電位固定法を適応して ACh により活性化される電流系を観察した. 平滑筋層を欠くこの標本では, 静止膜電位は -10 mV より正側にあった. 電極内液の Cl^- 濃度を 25 mM と 150 mM にすることによって $[\text{Cl}^-]_i$ を変化させると, ACh による過分極は低 $[\text{Cl}^-]_i$ では持続性, 高 $[\text{Cl}^-]_i$ では一過性となり, $[\text{Cl}^-]_i$ の差が標本間変動の原因であることが示唆された. 膜電位固定実験では, ACh により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が増加すると, K^+ 電流と Cl^- 電流が惹起された. BAPTA-AM により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加を抑制すると, これらの電流も抑制されたことから, 各々 Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルと Ca^{2+} 活性化 Cl^- チャネルによる電流と考えられた. 高 $[\text{Cl}^-]_i$ 状態では Cl^- 電流が時間とともに増大することが, 一過性の過分極反応の原因と思われる.

4. ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスの摘出腸間膜動脈における血管内皮由来過分極因子 (EDHF) に対する反応性の変化

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態学

松本 貴之, 小林 恒雄, 鎌田 勝雄

【目的】内皮由来過分極因子 (EDHF) は, 血管径が小さい程重要な因子である. 糖尿病ラットでの EDHF 反応性変化に対して検討を行ってきたが, 今回は, 糖尿病マウスについて検討した. 【方法】streptozotocin (STZ) 投与後, 十週後の動物及び対照動物から腸間膜動脈を摘出し, リング標本より acetylcholine (ACh) による弛緩反応を観察した. 又, 各種阻害薬 [L-NNA (NOS inhibitor), indomethacin (COX inhibitor), K^+ channel inhibitors] 又は lysophosphatidylcholine (LPC) を処置した後, 弛緩反応を観察した. 腸間膜動脈における superoxide 産生, 遺伝子発現についても検討した. 【結果】対照群と比べ, 糖尿病群における ACh の弛緩反応は減弱していた. L-NNA, indomethacin 同時処置における EDHF 様弛緩反応は糖尿病群で減弱していたが, charybdotoxin, apamin 同時処置という EDHF を阻害した条件下での弛緩反応には変化が認められなかった. EDHF 様弛緩反応は LPC 処置で減弱が認められた. Superoxide 産生は糖尿病群で増加し, 対照群では LPC 処置にて著明な産生増加が観察された. gap junction 構成成分の connexin (Cx) mRNA 発現は, 予想に反し, 糖尿病群で増加した. 【考察】糖尿病マウス腸間膜動脈も, ラットと同様 EDHF 様弛緩反応の障害が観察された. EDHF 様弛緩反応は, LPC により減弱することが明らかとなり, LPC は superoxide を産生するので, これが EDHF 反応に何らかの障害を及ぼすことが明らかとなった. 今後, 本モデルにおける更なる EDHF 様弛緩反応の減弱メカニズムの解明を行う予定である.

5. 下大静脈再生過程における平滑筋再生の組織学的検討

埼玉医科大学消化器一般外科¹, 鈴鹿医療科学大学²

鳥井 孝宏¹, 宮澤 光男¹, 合川 公康¹, 大谷 吉秀¹, 小山 勇¹, 筏 義人²

血管新生, 発生機序に関して分子生物学的に解明されてきているが, 実際の大静脈の血管再生に関しては全く不明である。我々は, 過去において, 下大静脈に生体吸収性ポリマーのパッチを移植すると, その部分に native と同様の血管が再生してくることを示した (J Gastrointest Surg 2005; 9: 789)。今回は, この移植モデルを用い, 実際の下大静脈平滑筋の再生過程を検討した。(方法) 雑種ブタの肝下部下大静脈を 3×2 cm 大に切除し, その部分に同じ大きさの生体吸収性ポリマーで作製したパッチを移植した。細胞は播種しなかった。パッチ移植後 2 週, 3, 6 ヶ月, 1 年でパッチ部の組織を採取し, 組織学的に再生過程を検討した。(結果と考察) ポリマーは移植後 2 週では移植部に存在していたが, 移植後 3 ヶ月以降では組織学的に検出されなかった。パッチ移植部の血管内皮細胞は, 移植後 2 週ではほぼ native と同様となり, factor 8 陽性に染色された。内皮下の中膜部分の平滑筋は, 移植 6 ヶ月ではほぼ native と同様になったが, 移植 6 ヶ月では, 外膜の縦走平滑筋はほとんど形成されていなかった。移植 1 年のパッチには, 縦走平滑筋の形成は認められたが, native と比較しわずかであった。肉眼的には, 移植 3 ヶ月で移植部は native と同様となった。全ての移植したブタにおいて, 犠牲死時, 移植部に血栓形成, 瘤の形成は認められなかった。このモデルにおける下大静脈の血管内皮再生は, 下大静脈損傷の非常に早期に起こり, その後, 中膜が形成され, その後外膜が形成されてくることが示された。また, 完全な下大静脈の再生には, 1 年以上の期間が必要と考えられた。しかし, 移植後 1 年においても, 瘤の形成がなくこのようなパッチを腹部静脈再建に利用可能と考えられた。(まとめ) 下大静脈の全層性の再生には 1 年以上を要することが示された。

6. イヌ脳底動脈における伸展誘発性ミオシン軽鎖 3 リン酸化と Rho/Rho キナーゼおよびプロテインキナーゼ C の関与について

静岡県立大学大学院薬学研究科分子薬理学

小原 一男, 中山 貢一

【目的】血圧・血流などの血行力学因子は, 血管に対して機械的刺激として作用する。脳動脈は力学刺激に対し収縮・弛緩などの即時的な応答を示す。イヌ脳底動脈においては緩徐伸展刺激により, 刺激直後からミオシン軽鎖 (MLC) の 1 リン酸化とともに筋原性収縮が誘起される。しかし, 伸展刺激を 15 分間持続すると, MLC の 3 リン酸化が亢進し, 収縮は抑制される (Obara et al. EJP 534: 141-151, 2006)。本研究では MLC の 3 リン酸化の意義とそれに関わる力学刺激感受性キナーゼである Rho キナーゼおよびプロテインキナーゼ C (PKC) の役割を検討した。【方法】イヌ脳底動脈リング標本に機械刺激装置を用いて 1 mm/秒の速度で初期筋長の 1.5 倍の伸展刺激を 15 分間加えた。MLC のリン酸化および PKC の活性化はそれぞれ等電点電気泳動法および SDS-PAGE とイムノブロット法を用いて測定した。【結果】イヌ脳底動脈において緩徐伸展刺激により MLC の Ser-19, Thr-18 および Thr-9 に相当する 3 か所のリン酸化が亢進した。さらに, 伸展により Rho/Rho キナーゼおよび PKC α や PKC δ が活性化された。このリン酸化は MLC キナーゼ阻害薬 ML-9 や cPKC 阻害薬 Go6976 により部分的に, また, Rho キナーゼ阻害薬 Y-27632 によりほぼ完全に抑制されたが, PKC δ 阻害薬ロトレリンでは影響されなかった。一方, Go6976 存在下で収縮の抑制が一部解除されたが, ML-9 や Y-27632 では解除されなかった。【考察】伸展刺激を続けると, Rho キナーゼや PKC α の活性化を介して MLC の 3 リン酸化が亢進され, 筋原性収縮抑制に作用する。脳動脈は力学刺激に対して正および負の両方の調節機構を持つことが示唆される。

7. The novel compounds which have inhibitory effect on the Ca²⁺-independent abnormal vascular smooth muscle contraction to an extent comparable to the effects of eicosapentaenoic acid

Department of Molecular Physiology and Medical Bioregulation, Yamaguchi University Graduate School of Medicine¹

Research Institute of Genome-Based Biofactory, AIST²

Laboratory of Bioresources Chemistry, Division of Marine Biosciences, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University³

Chen Wangka¹, Hiroko Kishi¹, Shigehiko Nishimura¹, Fengling Guo¹, Naoki Morita², Satoru Ohgiya², Masashi Hosokawa³, Kazuo Miyashita³, Hozumi Kawamichi¹, Katsuko Kajiya¹, Dan Xu¹, Sei Kobayashi¹

Rho-kinase (ROK)-mediated Ca²⁺-independent abnormal contraction of vascular smooth muscle (VSM) plays a pivotal role in the pathophysiology of vasospasm. We previously identified sphingosylphosphorylcholine (SPC) and Fyn as upstream signal molecules of ROK-mediated Ca²⁺-independent abnormal contraction of VSM and found that eicosapentaenoic acid (EPA) can selectively inhibit such abnormal events without affecting Ca²⁺-dependent normal VSM contraction by blocking the translocation of Fyn to plasma membrane. Moreover, we reported that EPA was clinically and highly effective in preventing vasospasm after subarachnoid hemorrhage. However, EPA is limited to oral administration and thus unsuitable for clinically serious patients unable to ingest orally. We therefore screened for novel compounds which could inhibit Ca²⁺-independent abnormal VSM contraction and could substitute for EPA. Tension study of VSM showed that several compounds inhibited SPC-induced abnormal VSM contraction, to an extent comparable to the effects of EPA. These results suggest that these newly found compounds would be the candidates for novel therapeutic drugs for vasospasm and substitute for EPA.

8. 血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮における Fyn チロシンキナーゼの重要性

山口大学大学院医学系研究科器管制御医科学講座生体機能分子制御学

郭 鳳玲, 川道穂津美, 岸 博子, 苗 俊英, 三輪さおり, 加治屋勝子, 徐 丹, 小林 誠

血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮の主要なシグナル分子として Rho キナーゼ, プロテインキナーゼ C が注目されている。我々は, プロテインキナーゼ C 系とは独立して, 選択的に Rho キナーゼを活性化してカルシウム非依存性収縮を引き起こす分子として, スフィンゴシルホスホリルコリン (SPC) を同定した。さらに, SPC が, Src ファミリーチロシンキナーゼ (Src-TK) の活性化を介して, Rho キナーゼを活性化し, カルシウム非依存性収縮を引き起こす事を見出したが, Src-TK の中でも, どのチロシンキナーゼ分子が関与しているかは不明なままである。本研究では, 血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮に関与しているチロシンキナーゼ分子を同定することを目的とした。ウェスタンブロット解析では, Src-TK 分子群の中でも, Fyn と c-Src の発現が血管平滑筋に認められた。SPC は, Src-TK の中でも Fyn を細胞質から細胞膜へ移動させたが, c-Src は移動させなかった。SPC はヒト冠動脈平滑筋の培養細胞を著明に収縮させたが, RNA 干渉 (siRNA) によって Fyn をノックダウンさせた培養細胞では, SPC による収縮が抑制された。RNA 干渉作用の無いコントロール siRNA を作用させても, SPC による細胞収縮には影響がなかった。さらに, Fyn の役割を検討するため, バキュロ・ウイルスシステムでリコンビナント Fyn を作製した。β エスシンによるスキンド血管平滑筋において, 活性化型 Fyn は, カルシウム非依存性収縮を引き起こした。この Fyn による収縮は, Rho キナーゼ阻害薬 Y27632 によって抑制された。不活性化型 Fyn は, 受容体アゴニスト (U46619) + GTP による収縮を抑制した。以上の結果から, Fyn チロシンキナーゼは, Rho キナーゼを介した血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮において重要な役割を果たしていると考えられた。

9. ラット胸部大動脈のイソプレナリンによる弛緩反応に関与する β -アドレナリン受容体サブタイプに関する薬理学的検討

東邦大学薬学部薬理学教室

宮川 瑞穂, 通川 広美, 田中 芳夫, 小池 勝夫

【目的】血管平滑筋の β -アドレナリン受容体(β -AR)のサブタイプと生理的役割を解明する目的で、ラット胸部大動脈標本の isoprenaline (ISO) による弛緩反応を薬理的に解析した。【方法】Wistar 系雄性ラットの胸部大動脈の内皮除去標本(ラセン標本)を実験に供した。Phenylephrine (10 μ M)にて持続性の収縮を惹起させ、カテコラミン (ISO; adrenaline, AD; noradrenaline, NA) の濃度反応曲線に対する各種 β -AR拮抗薬の影響を Schild plot 解析した。【結果】1) ISO, AD, NA の pD_2 値を基にした効力順位は、ISO > AD > NA の順となり、気管平滑筋同様、 β_2 -AR の優位性が示された。2) 非選択的 β_1 -、 β_2 -AR拮抗薬である propranolol (Prop, 0.01-0.1 μ M) は、ISO による弛緩反応を競合的に拮抗し、 pA_2 値は 8.4 と算出された。ISO の濃度反応曲線は、0.1 μ M より高濃度の Prop によってもそれ以上影響を受けなかった。3) ISO の濃度反応曲線は、選択的 β_1 -AR拮抗薬である atenolol (≤ 1 μ M) によっては影響を受けなかったが、1 μ M atenolol 存在下において、選択的 β_2 -AR拮抗薬である ICI-118,551 により競合的に拮抗され、その pA_2 値(8.8)は β_2 -AR に対する値と一致した。4) 非選択的 β -AR拮抗薬である bupranolol は、Prop (1 μ M) 存在下における ISO の濃度反応曲線に対して競合的に拮抗し、算出された pA_2 値(6.0)は β_3 -AR に対する値と一致した。【考察】ラット胸部大動脈における ISO による弛緩反応は、Prop 感受性 (typical) ならびに Prop 非感受性 (atypical) の β -AR を介することが明らかとなった。また、Prop 感受性 β -AR には主として β_2 -AR が、Prop 非感受性の β -AR には β_3 -AR が関与する可能性が示された。

10. 糖尿病時の高インスリン血症と血管反応及びそれに対するベザフィブラート慢性投与による効果

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態学

野上高五郎, 小林 恒雄, 松本 貴之, 鎌田 勝雄

目的 糖尿病患者にインスリンを処置する場合は非常に多いが、インスリン慢性投与時に観察されるインスリン抵抗状態は高インスリン血症を誘発し、血管機能障害を誘発し、合併症を発症させるという報告が多数ある。そこで、1型糖尿病モデルラットに高濃度インスリンを慢性投与して高インスリン血症惹起し、血管反応性について検討した。

方法 雄性 Wistar 系ラットに streptozotocin (STZ: 65 mg/kg) を尾静脈投与し、8週経過した糖尿病ラットに高濃度インスリン(13.3 U~66.6 U/kg/day, s.c.)あるいはインスリン+ベザフィブラート(100 mg/kg/day, p.o.)を同時期に2週間投与し、摘出胸部大動脈における血管反応の検討を行った。

結果 糖尿病ラットの血糖値は著明に増加していたが、インスリン慢性投与によって、対照群と同程度になった。糖尿病群では ACh による内皮依存性弛緩反応の著明な減弱が認められ、この減弱はインスリンを慢性投与することにより改善した。indomethacin 処置下における clonidine による弛緩反応は、糖尿病群と対照群間に差はなかった。糖尿病にインスリン慢性投与した群においてこの弛緩反応が減弱していたが、インスリンとベザフィブラートを同時に慢性投与した糖尿病群では、clonidine による弛緩反応を改善された。一方、インスリン処置は、ET-1, NE, Kx^+ による収縮反応を増強したが、ベザフィブラートを同時に慢性投与しても影響は認められなかった。

考察 糖尿病群に高濃度のインスリン慢性投与は、ACh による内皮依存性弛緩反応の改善する一方、clonidine による弛緩反応の減弱が認められた。また、ベザフィブラートの併用投与は、この障害に対し有効である可能性が示唆された。

11. 逆流性食道炎患者の重症度の違いによる一過性 LES 弛緩時の胃酸逆流パターン

日本医科大学消化器内科

岩切 勝彦, 川見 典之, 田中由理子, 林 良紀, 琴寄 誠, 川上 明彦, 坂本 長逸

【目的】われわれは健常者においても LES 直上では重症逆流性食道炎 (RE) 患者と同様な胃酸逆流がみられるが, 健常者では胃酸が LES 直上に留まるのに対し, 重症 RE では容易に胃酸がより口側へ上昇することを明らかにした。今回, 軽症 RE を含め, RE の重症度の違いによる胃酸逆流後の胃酸上昇パターンを明らかにする。【方法】対象は LA 分類 grade C の重症 RE 患者 12 例, LA 分類の grade A または B の軽症 RE 患者 13 例, 健常者 13 例である。食道内圧検査は 21 チャンネルのサイドホールを有するカテーテルを使用し infused catheter 法により, 食事(692 kcal, 脂肪 33%) 摂取後 3 時間座位にて測定した。また同時に LES 口側 2 cm および LES 口側 7 cm の食道 pH を測定した。【成績】一過性 LES 弛緩頻度, LES 口側 2 cm での一過性 LES 感の胃酸逆流の合併率 (少なくとも瞬時の pH 1 以上の低下) は各群間に違いはみられなかった。LES 口側 7 cm での重症 RE 患者 (50.9% (28.3-72.5), median (interquartile range)) での一過性 LES 弛緩時の胃酸逆流合併率は, 健常者 (5.7% (3.8-6.2), $p < 0.0001$), 軽症 RE 患者 (27.7% (14.2-45.9), $p = 0.0056$) に比し有意に高率であった。また軽症 RE 患者の一過性 LES 弛緩時の胃酸逆流合併率は健常者に比し有意 ($p = 0.0009$) に高率であった。【結論】胃酸逆流発生後の胃酸上昇パターンは, 重症な RE になるに従い胃酸は容易に口側へ上昇した。RE 発症の過剰な胃酸曝露時間の原因の一つであると考えられた。

12. Nizatidine の一過性 LES 弛緩と食道内酸曝露時間に及ぼす影響について

日本医科大学消化器内科

岩切 勝彦, 田中由理子, 川見 典之, 林 良紀, 琴寄 誠, 川上 明彦, 坂本 長逸

【目的】Nizatidine (NIZ) は重症逆流性食道炎 (RE) を多く含むにも拘らず, 他の H2RA に比し RE の治癒率が高率であることが報告されている。酸分泌抑制に大きな違いはないことから, NIZ が胃酸逆流の主な原因である一過性 LES 弛緩 (TLESR) に何らかの影響を与えている可能性も考えられる。われわれは健常者の TLESR 頻度, LES 直上での TLESR 時の胃酸逆流の合併は重症 RE と同様であることを報告していることから, 今回健常者に対する NIZ の TLESR に及ぼす影響を検討した。【方法】健常者 10 例に対して NIZ (300 mg, 分 2) または Placebo (PLA) を 1 週間内服させた後, 食事(692 kcal, 脂肪 33%) 摂取後 3 時間の食道内圧・pH 測定を座位にて少なくとも 1 週間以上の間隔で 2 回行った。検査当日は薬剤 (NIZ または PLA) を朝内服, また午後行われる検査開始前 1 時間にも同薬を内服した。2 回目の検査は内服薬を換え行った。投薬の順番は無作為に決定した。【成績】NIZ は PLA に比し, 食後 0-3 時間の TLESR 頻度 (NIZ: 16.5 回/3 h (16.0-19.0), median (interquartile range), PLA: 22.0 (17.0-22.0), $p < 0.05$), TLESR 時の胃酸逆流合併率 (24.7% (12.5-76.4), 74.4 (54.2-76.9), $p < 0.05$), 食道内 pH 4 未満の時間率 (0.2% (0.1-1.0), 2.8 (1.1-3.7), $p < 0.01$) を有意に減少させた。【結論】軽症 RE は TLESR に伴う胃酸逆流により, わずかに過剰な食道内の胃酸曝露を呈し発症することから, NIZ は軽症 RE 治療に適する薬剤であると考えられた。

13. オレキシン A のマウス空腸伸展刺激における役割

大阪府立大学生命環境化学研究科獣医学専攻応用薬理

東 泰孝, 佐藤 友治, 置塩 豊, 中嶋 秀満, 畑 文明, 竹内 正吉

【目的】オレキシンは食欲促進や睡眠覚醒に関与するだけでなく、腸管神経系においても、オレキシンおよびその受容体が存在することから腸運動における関与が示されている。事実、演者らはマウス小腸において非アドレナリン非コリン作動性弛緩の一部にオレキシンが関与することを見出した。今回はマウス空腸における上行性収縮および下行性弛緩におけるオレキシンの役割について検討を行った。【方法】ICR 雄性マウス (8 週齢) より空腸を摘出し、タイロッド液内に懸垂した。腸管内に挿入したバルーン内に空気を注入し伸展刺激を行った。伸展刺激時のバルーンの口側における上行性収縮および肛門側における下行性弛緩を等張性に記録した。【結果】伸展刺激による上行性収縮はアトロピン、ヘキサメトニウム、あるいはテトロドトキシンによりほぼ完全に消失した。オレキシン-1 受容体アンタゴニストである SB-334867-A はこの上行性収縮を有意に抑制した。外からのオレキシン添加は輪走筋を収縮させたが、この収縮はアトロピン、ヘキサメトニウム、あるいはテトロドトキシンにより完全に消失した。ニコチン添加による輪走筋収縮はヘキサメトニウムにより完全に消失したが、SB-334867-A 添加による影響を受けなかった。次に、伸展刺激による下行性弛緩はテトロドトキシンにより完全に抑制され、ヘキサメトニウムあるいは SB-334867-A によりそれぞれ 40% 抑制された。オレキシン添加はアトロピン存在下では輪走筋の弛緩を引き起こしたが、この弛緩はヘキサメトニウムにより全く抑制されなかった。また、ニコチン添加による輪走筋の弛緩は SB-334867-A によって何ら影響を受けなかった。以上の結果より、オレキシンは上行性および下行性神経経路の両方において介在神経の伝達物質として働いており、さらに上行性経路ではコリン作動性神経の上流で作用していることが明らかとなった。

14. マウス小腸平滑筋細胞における電位依存性 Ca チャネルの抑制性調節に関わるムスカリン受容体サブタイプ

岐阜大学応用生物科学部獣医薬理¹, 岐阜大学連合獣医学研究科病態獣医², 理研脳科学研究センター³, NIDDKD 生物有機化学⁴

海野 年弘¹, 棚橋 靖行², 松山 勇人¹, 山田 真久³, Jurgen Wess⁴, 小森 成一¹

腸管平滑筋細胞における電位依存性 Ca チャネルの活性は、ムスカリン受容体刺激により抑制されることが知られている。しかし、同チャネルの抑制効果発現に関与する受容体のサブタイプは明らかにされていない。本研究では、この点を明らかにする目的で、M₂ または M₃ サブタイプを欠損したマウスの小腸縦走筋細胞における電位依存性 Ca チャネル電流 (I_{Ca}) に対するカルバコール (CCh) の効果を解析し、野生型マウスの場合と比較した。I_{Ca} はホールセルパッチクランプ法により記録し、-60 mV の保持電位から 0 mV に達する脱分極パルス (持続時間: 30 msec) を 0.1Hz の頻度で繰り返し与えることにより誘発した。【結果】野生型マウスから単離した細胞において CCh (100 μM) を適用すると、I_{Ca} の振幅が徐々に減少して 2-3 分でプラトーに達するような持続性抑制が発現した。CCh 適用 3 分後における I_{Ca} の抑制率は約 65% であった。M₂ 欠損型では、野生型と同様に I_{Ca} の持続性抑制が発現した。しかし、その抑制率は約 30% であり、野生型と比較して有意に小さかった。M₃ 欠損型では、CCh 適用初期に I_{Ca} の抑制が発現したものの、その抑制は一過性であり、CCh 適用 3 分後における抑制率は約 8% にすぎなかった。M₂ と M₃ の両サブタイプ欠損型の細胞では、CCh を適用しても I_{Ca} は抑制されなかった。以上の結果は、マウス小腸縦走筋細胞における電位依存性 Ca チャネルの抑制効果の発現には、M₂ と M₃ それぞれのサブタイプにより仲介される経路に加えて、M₂ および M₃ の両サブタイプの刺激を必要とする経路も関与することを示唆している。

15. マウス小腸の自発活動に対する大建中湯の効果について

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞機能制御学

鬼頭 佳彦, 鈴木 光

マウス小腸自発活動に対する大建中湯の効果を、収縮張力測定法と細胞内電位誘導法を用いて検討した。マウス回腸縦走筋標本は1分間に20-30回の頻度で自動収縮していた。大建中湯は濃度依存的(0.1-10 mg/ml)に自動収縮増強反応を惹起した。高濃度の建中湯は、投与直後の抑制効果の後に収縮反応を引き起こした。この抑制反応は一酸化窒素合成酵素阻害剤(LNNA)で消失した。大建中湯10 mg/mlは2相性の収縮反応(一過性の早い収縮反応の後にゆっくりとした収縮)を誘発した。大建中湯1 mg/mlによる収縮はアトロピンで約50%が抑制され、テトロドトキシン(TTX)の追加投与により約80%にまで抑制された。次に、筋間神経叢に分布するカハールの介在細胞(ICC-MY)が発生するペースメーカー電位と輪走平滑筋細胞が発生するスローウェーブに対する大建中湯の効果について検討した。ニフェジピン、アトロピン、TTX存在下で、大建中湯1 mg/mlはICC-MYと輪走平滑筋細胞の膜を脱分極させ、それぞれの振幅を抑制したが、発生頻度と最大立上がり速度には影響を与えなかった。以上のことから大建中湯はマウス小腸において自律神経終末からアセチルコリン、一酸化窒素、その他の伝達物質を遊離させて収縮弛緩反応を惹起させているものと思われた。細胞内電位誘導法の結果より、大建中湯はマウス小腸のペースメーカー機構には影響を与えないことが明らかとなった。また、大建中湯は直接平滑筋細胞に作用し、膜を脱分極させTTX抵抗性(すなわち筋原性)の収縮反応を引き起こすものと思われた。

16. マウス下部腸管において pancreatic polypeptide は Y4 受容体を介して運動性亢進を惹起する

万有製薬つくば研究所

藤川 徹, 守屋 隆一, 伊藤 順子, 菅野 哲也, 鈴木 順, 金谷 章生, 袋田 尚宏

【背景, 目的】Pancreatic polypeptide (PP)は消化管ホルモンの一種であり、また NPY Y4 受容体に高い親和性を持つことが知られている。これまで PP が腸管運動の生理に関与していることは報告されているが、その生理学的意義や作用機序についていまだ不明な点が多い。そこで今回腸管に対する PP の作用についてマウス摘出腸管を用いて詳細に検討した。【方法】マウス回腸及び結腸を 37 度の栄養液を満たした organ bath 内に初期張力 0.5 g で懸垂し、等尺的に張力を測定した。マウス PP (mPP) 適用による腸管の運動性の変化を収縮力及び運動頻度の点で解析した。【結果】C57BL/6 マウス近位結腸及び遠位結腸において mPP (0.01-1 μ M) は縦走筋方向にも輪走筋方向にも収縮を惹起し、遠位結腸においては自動運動の頻度も増加させたが、回腸において mPP は運動亢進作用を示さなかった。この作用が Y4 受容体を介するか否か確認するために Y4 受容体欠損(Y4KO)マウスにおいて検討したところ、C57BL/6 マウスで見られた結腸における mPP による運動亢進作用は完全に消失した。C57BL/6 マウスと Y4KO マウスの間で acetylcholine 及び substance-P による収縮に差は見られなかった。また Y4 受容体 mRNA の発現を real-time-RT-PCR 法を用いて検討したところ、結腸において発現が認められたが、回腸においてはほとんど観察されなかった。【結論】マウス回腸において mPP は運動亢進作用を示さなかったが、マウス結腸において mPP は Y4 受容体を介して収縮及び運動頻度の増加を惹起することが示された。このことより PP と Y4 受容体は下部消化管輸送能に関与している可能性が示唆された。

17. 刺激性下剤の大腸運動に対する部位特異的作用とその壁叢内機序

千葉大学大学院医学研究院腫瘍内科学¹, 千葉大学大学院薬学研究院薬物治療学²

小林 倫子^{1,2}, 尾高 健夫¹, 山口 武人¹, 土屋 静子², 中村 智徳², 矢野 眞吾²

【背景】慢性便秘における刺激性下剤の長期使用は、薬物耐性をきたし便通コントロールを困難とさせることが少なくない。しかし、刺激性下剤の薬理学的な作用機序は現在なお不明である。今回、刺激性下剤の消化管自動運動に対する作用を観察し、その薬理学的作用を明らかにする目的で検討を行った。【方法】ddy系マウスに sennoside A 30 mg/kg を経胃的に投与した。軟便を確認した後、投与より 5-6 時間後に大腸を摘出し、その標本を 4 部位に切断した。Krebs-Henseleit solution に静置し、その自発運動を isotonic transducer (縦走筋方向の収縮)、pressure transducer (輪走筋方向の収縮) を用いて記録した。さらに、atropine, phentolamine, propranolol, L-NNA, tetrodotoxin を処置し、神経遮断条件での自発運動の変化についても観察した。【成績】SennosideA 投与群では、大腸の縦走筋の運動に対して proximal (P) および mid-proximal (MP) では顕著な影響は見られなかったが、mid-distal (MD) および distal (D) では振幅の有意な促進が見られた。一方、輪走筋の運動に関しては、MP, MD, D では明らかな影響は見られなかったが、P で周波数の抑制傾向と振幅の有意な抑制が見られた。P の対照群の反応は non-adrenergic non-cholinergic (NANC) 条件で有意に減少したが、sennosideA 投与群では影響は見られなかった。【結論】刺激性下剤投与後の摘出大腸において、上部大腸では輪走筋の運動が抑制方向に、下部大腸では縦走筋の運動が促進方向に働くことが観察された。刺激性下剤の投与による輪走筋に対する抑制反応には神経性以外の機序の関与が推測された。

18. エストロゲンによる消化管運動機能障害機構

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理

堀 正敏, 下村 綾, 尾崎 博

【背景】過敏性腸症候群 (Irritable Bowel Syndrome, IBS) は重要な消化器の慢性機能性疾患であるが、その要因の一つとして女性ホルモンが挙げられる。また、妊娠期や排卵前後、ホルモン剤服用時などではしばしば便秘を呈することが良く知られており、女性ホルモン、特にエストロゲンが消化管運動に関与していると考えられる。しかし、女性ホルモンによる消化管平滑筋運動機能障害の分子機構についてはほとんどわかっていない。【目的】本研究では、組織培養法により摘出回腸を 17β -エストラジオール (Est) で長時間処置した標本を用いて、消化管平滑筋の収縮能の変化を検討した。さらに、卵巣摘出 Est 過剰投与ラットから摘出した消化管組織を用いて、in vitro での成績と比較した。【結果】組織培養した回腸縦走筋組織においてカルバコール (CCh) 刺激による収縮は Est の濃度と培養日数に依存して抑制された。この条件下の回腸平滑筋において、抑制性 RhoA 関連 GTP 結合タンパク質である Rnd2 と Rnd3 の発現量が増加していた。さらに、RhoA/ROCKs を介した Ca 感受性増加機構において、CCh 刺激によって増加する CPI-17 のリン酸化量が顕著に抑制されていた。一方、卵巣摘出 Est 過剰投与ラットから摘出した回腸組織においても、CCh 収縮の抑制と Rnd2 ならびに Rnd3 のタンパク質発現の増加が認められた。【考察】エストロゲンは Rnd の発現を増加させることによって RhoA/ROCKs 系を抑制し、CPI-17 のリン酸化レベルの低下を介して収縮の Ca 感受性を低下させ、回腸平滑筋の収縮張力を抑制することが示唆された。本研究はエストロゲンによる消化管運動機能障害の分子機構の一端を解明したものであり、ホルモンバランスの乱れを原因とする IBS の治療法開発の糸口となることが期待される。

19. 体外式超音波による便の分布の評価—便通異常症例における検討—

川崎医科大学食道・胃腸内科¹, 川崎医科大学検査診断学(超音波・内視鏡)²

佐藤 元紀¹, 畠 二郎², 楠 裕明¹, 眞部 紀明², 田中 俊昭¹, 石井 学¹, 春間 賢¹

(はじめに)便通異常は日常臨床でよく経験する主訴の一つである。便通異常の診断は主に患者の訴えによりなされるため、便通異常の客観的な評価が行われる事は少ない。

(目的) 体外式超音波により健常者やIBSなどの便痛異常のある患者の大腸の便の分布を評価する。

(対象) 2005年5月から12月までの8ヶ月間に便通異常を主訴に当科外来を受診され体外式超音波検査を施行した34例(下痢型IBS 9例, 便秘型IBS 12例, その他の便秘 13例), および基礎疾患および便通異常の訴えない無症状対照者29例。

(方法) 体外式腹部超音波を用い, 早朝空腹期に無処置で大腸各部位(上行, 横行, 下行, s状結腸, 直腸)の大腸横径を計測した。そして下記のindexを用いて便の分布を評価した。

Constipation index; CI (全体の平均径)

= (上行+横行+下行+S状結腸+直腸の各横径の和) を5で除したもの

Left/Right ratio; L/R ratio (右側の平均を左側で除した値)

= (下行結腸+S状結腸の横径の和) を(上行結腸+横行結腸の横径の和) で除したもの。

Rectal index; RI (直腸内径を平均径で除した値)

= (直腸横径の和) を constipation index で除したもの

(結果) 対照者のindexの平均値はCI=14.6, L/R ratio=0.20, RI=0.06であった。

便秘型IBSのCI, L/R ratioは健常人より高値であった。下痢型IBSのindexはL/R ratio, RIともに低値となった。

(考察) IBS, 弛緩性便秘症などの便通異常を呈する疾患の便の分布はそれぞれ特徴があり, 機能的疾患の診断の一助になると考えた。

20. Fecoflowmetry から見た潰瘍性大腸炎術後排便機能評価

—下部直腸癌結腸嚢再建例との比較—

新潟大学大学院消化器・一般外科¹, 久留米大学医学部外科学講座小児外科部門²,
新潟県立吉田病院外科³

小林 康雄¹, 八木 実², 岡本 春彦³, 飯合 恒夫¹, 谷 達夫¹, 畠山 勝義¹

【背景】潰瘍性大腸炎(UC)の外科治療として大腸全摘術・回腸嚢再建が標準術式であるが術後の客観的排便機能評価法が少ないのが現状である。【目的】Fecoflowmetry (FFM)を中心にUC術後の客観的排便機能評価とその排便機能の特徴を解明する。【対象および方法】UCに対し大腸全摘回腸嚢再建を施行した13例(I群)(術後5.6±3.7年), 下部直腸癌に対し超低位前方切除術J型結腸嚢再建を施行した9例(C群)(術後6.2±2.2年)を対象とした。FFMに先立ち内圧検査として肛門管圧(静止圧: AP, 意識的収縮圧較差 ASP), 再建直腸静止圧(NRP)を測定後, 直腸内留置カテーテルより模擬便(37°C加温生理食塩水(生食))を直腸肛門内圧モニター下に20 ml/kg(体重50 kg以上は1,000 ml)を目標に自然滴下注腸し下部結腸内耐容量(TV)を測定, 便意を生じた際にFecoflowmeterに排出させた。模擬便の耐容率(TR), 排出率(ER), 最大排出速度(Fmax), 排出パターン(FFP), 内圧所見, Kelly臨床スコア(KCS)を算出し比較検討した。【結果】1) ERはI群ではC群に比し有意に高値(p=0.05)で, NRPおよびKCSはI群ではC群に比し有意に低値であった(各々p=0.01, 0.0005)。2) C群では術後経過年数とAP, TRとの間に有意な相関が認められた(各々r=0.77, 0.82; p=0.01, 0.005)。3) I群では術後経過年数とFmaxとの間に有意な相関が認められた(r=0.67, p=0.01)。【結語】I群はC群と術後同様の経過年数でERが高値にも拘わらず臨床スコアが低値で, 術後経過年数と共に改善されたのは総合的な排出力を示すFmaxのみであった。ことから再建臓器の特異性により排便状況も異なることが示唆された。

21. J型回腸囊肛門吻合術後における胃小腸回腸囊輸送機能について

日本歯科大学生命歯学部外科学講座¹, 日本大学医学部救急医学講座², 日本大学医学部外科学講座³

富田 涼一¹, 丹正 勝久², 五十嵐誠悟³, 池田 太郎³, 越永 従道³

【目的】潰瘍性大腸炎（UC）に対するJ型回腸囊肛門吻合術後（J型回肛吻合）の排便回数と胃小腸回腸囊輸送機能の関連は不明である。両者の関連性を研究した。【対象と方法】UCでJ型回肛吻合40症例で、排便回数が6回以下/日26症例（A群；男16例，女10例，平均36.6歳）と、排便回数が7回以上/日14症例（B群；男10例，女4例，平均40.9歳）の2群に分け臨床的評価を行った。そして、radiopaque marker法で両群間の胃小腸回腸囊輸送機能を検討した。【成績】1) 排便状態；B群はA群より有意に夜間排便回数が多く、残便間を認め、便とガスの区別が不良であり、残便感を伴う症例が多かった（それぞれ、 $p < 0.05$ ）。また、soiling はB群がA群より有意に多く（ $p < 0.001$ ）、incontinence はB群の2症例のみに認められた。なお、有形便はA群がB群より有意に多く認めた（ $p < 0.001$ ）。2) 胃小腸回腸囊輸送機能；胃通過時間（h；hour）は、A群がB群より延長していた。小腸通過時間はA群がB群より有意に延長していた（ $p < 0.001$ ）。回腸囊通過時間はA群がB群より有意に延長していた（ $p < 0.001$ ）。全消化管通過時間はA群がB群より有意に延長していた（ $p < 0.001$ ）。【結論】小腸回腸囊通過時間が短縮例では、排便回数が多く排便状態の不良症例を多く認めた。

22. ヒト陰茎海綿体平滑筋細胞株の細胞増殖に関する検討

大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学（泌尿器科学）

小森 和彦，辻村 晃，高尾 徹也，中山 治郎，平井 利明，植田 知博，木内 寛，藤田 和利，松岡 庸洋，宮川 康，高田 晋吾，奥山 明彦

【目的】ヒト血管，気管支などの平滑筋は細胞株が樹立され，一酸化窒素（NO）が平滑筋の拡張のみならず細胞増殖を抑制することが報告されている。今回われわれは，ヒト陰茎海綿体平滑筋細胞株を樹立し，NO donor および勃起不全治療薬であるPDE-5 inhibitorの細胞増殖に対する影響を検討した。

【方法】文書による同意を得た陰茎癌患者の手術時に採取した陰茎海綿体正常組織由来の細胞集団を継代培養の後，免疫染色およびWestern blotにてsm-actin, desmin, calponinの発現を検討した。次に，NO donorであるSNP（Sodium Nitroprusside）およびSNAP（S-nitroso-N-acetylpenicillamine），PDE-5 inhibitorであるVardenafil HCl（レビトラ[®]）の細胞増殖に対する効果をMTS（3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium）assayにて検討した。

【結果】得られた細胞集団は，一様にsm-actin, desmin, calponin陽性で，平滑筋細胞であることが確認された。SNPおよびSNAPを添加すると増殖は促進され，Vardenafil HClを加えても増殖は促進される傾向を認めた。

【考察】陰茎海綿体平滑筋細胞はNOにより増殖は抑制されずむしろ促進されることが示唆された。またPDE-5 inhibitorを加えると増殖傾向を認めたことから平滑筋細胞はcGMPにより増殖する可能性も示唆された。今後はPDE-5 inhibitorを加えて細胞内cGMPが増えるか検討予定である。

23. ラット腎杯尿管標本蠕動起始部位のCa動態解析とシミュレーション

日本大学医学部生理学¹, 東京医科学大生理学第一講座², 名古屋大学大学院医学専攻細胞生理学³, 埼玉大薬学部⁴

山下 俊一¹, 小西 真人², 中山 晋介³, 中林誠一郎⁴, 國分眞一朗¹

我々は昨年の本学会で、マクロズーム顕微鏡 (OLYMPUS MVX10) を用いてラット腎杯尿管標本の細胞内Ca動態を観察する手法を報告した。本法では巨視的に蠕動起始部位を同定した後、スムーズにクローズアップすることで個々の細胞のふるまいに注目することができる。

Ca濃度上昇は、その起始部位が蠕動運動の起始部位と一致しており、蠕動運動と同様に下流に伝播した。起始領域には複数個のCa濃度上昇を示す細胞が存在するが、常に同一の細胞が最初にCa濃度上昇を示すわけではなく、収縮毎に異なる細胞が最初のCa濃度上昇を示すゆらぎが観察された。また、同一細胞から発生した場合でも伝播経路も毎回同じではなくゆらぎを示した。ヘプタノールによりギャップジャンクションを阻害すると標本全体への周期的な伝播は失われ、個々の細胞が固有の周期でCa濃度上昇を示すようになった。

以上の観察より、我々は自発的Ca濃度上昇を示す細胞たちが電氣的にゆるく結合することでゆらぎを示しながらペースメーカーを構成する可能性を考えている。そこで、この可能性の確からしさを非線形電気化学振動子を配列するシミュレーションにより検討した。鉄が硫酸銅中で電気分解する際の電流変化は自励し、かつ活動電位と酷似した変化を示す。異なる周期で自励する非線形電気化学振動子を硫酸銅溶液槽内に配列することで一定周期の全体振動を発生することができた。全体振動は一部の振動子を休止させてもほぼ同一の周期で継続した。全体振動の下流への伝播は一方向性であり、休止振動子を迂回して伝播した。非線形電気化学振動子配列系は腎杯ペースメーカーメカニズムの研究に新知見を提供する新たなツールとなる可能性がある。

24. 臭化ジスチグミンによる下部尿路機能の改善効果について

東邦大学薬学部薬理学教室

関谷 更沙, 通川 広美, 田中 芳夫, 小池 勝夫

【目的】臭化ジスチグミン (Dis) は、手術後や前立腺肥大・糖尿病などの慢性疾患に付随して発症する排尿筋低活動に伴う尿排出機能障害に対して適応される長時間持続性の cholinesterase (ChE) 阻害薬である。Dis の排尿困難に対する改善効果は、ChE 阻害に基づく副交感神経節後線維-膀胱 (排尿) 平滑筋のシナプス間隙における acetylcholine (ACh) の濃度上昇を介した排尿平滑筋の収縮力増強に起因すると推察されている。しかしながら、Dis の下部尿路機能に対する作用はこれまでほとんど検討されておらず、臨床的な有効性や有用性を説明する根拠は十分とは言えない。本研究では、*in vivo* ならびに *in vitro* の評価系を用いて、Dis による下部尿路機能の増強効果を検討した。【方法】シストメトリー法とバルーン法を用いてモルモットの膀胱内圧変動を記録するとともに、カテーテルの引き抜き法により尿道内圧を記録した。また、摘出排尿平滑筋標本を用いて張力変化を記録した。【結果】① Dis (0.03-0.1 mg/kg) は、蓄尿時の最小膀胱内圧には影響を与えずに排尿時の最大膀胱内圧を有意に増加させ、その増強効果は少なくとも4時間持続した。一方、neostigmine (Neo: 0.01-0.1 mg/kg) は、用量依存的に排尿時の最大膀胱内圧を増加させたが、その増強効果に持続性は認められなかった。② Dis (0.1-0.3 mg/kg) は、尿道内圧に影響を与えなかった。③ Dis (0.1-30 μ M) は、基礎張力を著しく上昇させることなく、摘出排尿平滑筋標本における ACh の濃度反応曲線を有意に左方移動させた。一方、Neo (0.1-30 μ M) は、ACh の濃度反応曲線を左方移動させたが、基礎張力の上昇効果も顕著であった。【考察】Dis は、膀胱容量の低下や尿道抵抗の増加を引き起こすことなく、排尿反射に伴う排尿平滑筋の収縮力を著明にかつ持続的に増強させることが明らかとなり、尿排出機能障害に対する有効性ならびに有用性が示された。

25. 慢性脊髄損傷ラット膀胱からの PGE₂ 放出と膀胱組織変化の検討

熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学

榎永 浩一, 吉田 正貴, 稲留 彰人, 松本 賢士, 米納 誠, 甲斐 信幸, 杉山 豊,
本多 次朗, 前田 喜寛, 里地 葉, 高橋 渡, 上田 昭一

【目的】最近, 過活動膀胱の発生機序について, 膀胱上皮の役割が注目されており, 上皮由来の PGE₂ が膀胱求心性神経に作用して排尿反射を促進することが, その機序の一つであると考えられている。今回, 慢性脊髄損傷ラットにおいて, 膀胱条片からの PGE₂ の放出量とそれに及ぼす膀胱上皮および膀胱条片の伸展の影響, 免疫組織化学染色について検討した。

【方法】成熟雌性ラットの胸椎 8-9 間の脊髄を切除し, 用手排尿にて 10 週間排尿管理後に膀胱を摘出して平滑筋条片を作成した。マイクロダイアリス法を用いて膀胱より放出される PGE₂ 放出量を RIA にて測定し, それに対する膀胱上皮の有無及び膀胱条片の張力の変化の影響を検討した。更に, 膀胱組織における S-100 蛋白, CGRP, COX-2 および EP-1 受容体の免疫組織化学染色を施行した。

【結果】脊髄損傷ラットの膀胱条片からの PGE₂ 放出量は上皮の有無に拘らず, 対照群と比較して有意に増加していたが, 上皮を有する条片での産生量が有意に高かった。上皮を有する膀胱条片では, 条片の張力の増加により PGE₂ 放出量の増加が観察され, その増加率は対照群に比較して脊髄損傷ラットで有意に高かった。上皮を有さない条片では膀胱張力の変化は PGE₂ 放出量にほとんど影響を及ぼさなかった。更に免疫組織学的検討において, 脊髄損傷ラット膀胱では対照群と比し, S-100 蛋白陽性神経の減少, CGRP 陽性神経, COX-2 および EP-1 受容体の増加が認められた。

【結論】PGE₂ の放出には膀胱上皮が関与していると考えられ, 上皮由来の PGE₂ 放出は条片の伸展により増加することより, 蓄尿期の膀胱伸展に伴う PGE₂ 放出量の増加が推察された。また, 免疫組織化学染色結果より慢性脊髄損傷における排尿筋過活動のメカニズムの一端として, 知覚 C 線維の活性化と EP-1 受容体の関与が示唆された。

26. Na⁺/Ca²⁺ 交換輸送体 (NCX) 過剰発現膀胱平滑筋における生理機能変化

名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学¹, 福岡大学医学部薬理学²

堀田 真吾¹, 村田 秀道¹, 山村 寿男¹, 大矢 進¹, 岩本 隆宏², 今泉 祐治¹

平滑筋において細胞内 Ca²⁺ 濃度は, 細胞膜及び筋小胞体膜に存在する Ca²⁺ 遊離チャネルや Ca²⁺ 輸送体などの Ca²⁺ 動員・除去機構により巧みに調整されている。Na⁺/Ca²⁺ 交換輸送体 (NCX) は平滑筋細胞の収縮制御に関わる重要な Ca²⁺ 輸送体と考えられているが, 膀胱平滑筋活動時及び静止時における寄与については不明な点が多い。本研究では平滑筋特異的 NCX1.3 過剰発現マウス (TG) の膀胱平滑筋を用いて実験を行い, 収縮機構及び Ca²⁺ 動態にどのような変化が生じているのか検討を行った。

膀胱平滑筋組織を用いて収縮張力測定実験を行い, 野生型マウス (WT) と TG を比較したところ, アセチルコリン (ACh) 投与により引き起こされる収縮及び高 K⁺ 溶液による脱分極を介した収縮が大きく減少していることを発見した。しかし, 興味深いことに静止時に観察される自発的な収縮に関しては, WT ではほとんど観察されないが, TG では頻繁に観察され, 大きさ, 頻度共に増加していることがわかった。単離膀胱平滑筋細胞における Ca²⁺ 蛍光強度比測定では, ACh によって引き起こされる最大 Ca²⁺ 濃度上昇は両マウス間で差がなかったが, その後の持続的な Ca²⁺ 濃度上昇は TG で大きく減少していた。一方, 外液の Na⁺ 除去により NCX が逆方向に働いて引き起こされる Ca²⁺ 濃度上昇については TG で大きく増加していることを発見した。今回の実験で NCX1 過剰発現膀胱と正常膀胱を比較することにより, アゴニスト刺激による収縮時には NCX は順方向に働き Ca²⁺ 濃度及び収縮力を調整すること, 静止時には少なくとも順方向には機能しない可能性が高いことがわかり, 今後, 膀胱平滑筋の Ca²⁺ 動態及び収縮・弛緩機構を調べていく上で重要なツールになりうることを示唆された。

27. FD 症例における胃排出能・胃貯留能の特徴 —造影剤含有カプセル法による評価法の有用性と問題点—

東京警察病院消化器センター内科

鈴木 剛, 平野 正憲

【目的】我々は以前より固形食胃運動機能評価法として造影剤含有カプセル法を用いて胃運動機能評価を行ってきた(延べ500名)。同法は胃内で溶解を受けながら胃内移動・胃外への排出されるカプセルを直接観察できる胃運動機能評価法であり, 近位胃貯留能も把握可能である。今回FDにおける病態の特徴・薬剤反応性を総括することを目的とした。【対象】FD 104(運動不全75, 潰瘍様型29例), 健常例23例, FD症例中6例に itopride (150 mg/day), 13例に mosapride (15 mg/day), 10例に fucoidan(沖縄モズク由来 fucoidan 500 mg/day), 5例(全例潰瘍様型FD)に omeprazole (20 mg/day) 負荷を行った。【方法】早朝空腹時に造影剤含有カプセル15個を Okunos 200 ml (200 Cal) とともに咀嚼せずに内服し, その後0, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 min の9回 X線透視下にて胃内, 近位胃内カプセル個数をカウントした。各薬剤負荷に関しては未投薬下に1回目同法施行後2週間内服し, 2回目検査を施行し評価した。【結果】(1)FD群は健常群よりカプセル胃排出, 近位胃貯留能ともに有意に低下していた。運動不全型FD, 潰瘍様型FDともに同等に排出障害, 貯留能障害を認めた。(2) 薬剤負荷においては itopride, mosapride, fucoidan, omeprazole ともに胃排出機能は改善されたが, 貯留能の改善は itopride 投与例にのみ確認された。(3) 検査施行不可症例や副作用症例は認めなかった。【まとめ】同法によりFDにおける胃運動機能障害(排出能・貯留能)とその程度が明らかとなった。また薬剤負荷前後の客観的評価が可能であり, 薬剤間にその反応性の違いを認めた。

28. 胃適応性弛緩と胃内圧に及ぼす Ecabet sodium の作用

広島大学大学院分子病態制御内科学¹, 広島大学病院光学医療診療部²,
川崎医科大学内視鏡・超音波センター³, 川崎医科大学内科学・食道胃腸科⁴

松本 善明¹, 眞部 紀明², 福本 晃¹, 山口 敏紀¹, 中尾 円¹, 満岡 裕¹,
畠 二郎³, 春間 賢⁴

【背景】Functional dyspepsia (FD)の病態に胃適応性弛緩(Gastric adaptive relaxation: GAR)異常の関与が報告されている。我々は以前より胃穹窿部断面積を体外式超音波検査(US検査)で測定することで, 生理的条件下での胃貯留能が評価できることを報告してきた。一方 Ecabet sodium (EB)は胃の防御因子増強薬であるが, 動物実験において内因性 NO を介した胃の弛緩作用があることが指摘されている。しかしヒトでの報告はない。【目的】ヒトにおいてGARと胃内圧に及ぼすEBの作用を検討する。【対象】健常男性8人, 年齢 38.6 ± 2.1 歳, BMI 24.9 ± 0.4 kg/m² 【方法】前日夕刻より絶食後, 早朝から検査を開始した。まず対象に内圧センサー(SYNECTIC MEDICAL社製 μ DIGITRAPPER 2Mb)を経鼻挿入し, 空腹時とEB服用後60分にそれぞれミネラルウォーターを100 ml ずつ計5回飲用し, 100 ml 毎に胃内圧の測定と, 同時にUS(東芝 Medical社製SSA-770, 中心周波数3.75 Mhz convex probe)で胃前庭部横断面積, 胃穹窿部横断面積を測定した。【結果】全例で胃内圧検査およびUS検査が可能であった。EB服用の有無に拘わらず胃内圧は水100 ml 飲用後に一過性に低下し, その後徐々に上昇した。また, 有意差を認めないものの胃内圧はEB服用後に低下傾向を認めた。一方, US検査では水負荷にて用量依存性に穹窿部の拡張を認めた。EB服用後は服用なしの場合と比較し500 ml 飲水後の穹窿部面積では有意差を認めないものの300 ml 飲水時の面積の優位な上昇を認め穹窿部を早く拡張させる作用を有することが示唆された。【考察】ヒトにおいてもEBはGARに作用することが示され, 今後FD患者にも応用可能と考えられる。

29. ^{13}C 化合物による消化管機能検査を用いた漢方処方薬の薬効評価

北里大学大学院医療系研究科¹, 北里研究所東洋医学総合研究所²

星野 卓之^{1,2}, 及川 哲郎², 蒲生 裕司^{1,2}, 渡辺 浩二^{1,2}, 伊東 秀憲^{1,2}, 正田 久和^{1,2},
小田口 浩^{1,2}, 若杉安希乃^{1,2}, 花輪 壽彦^{1,2}

【目的】これまで我々は GERD 患者などに対し漢方外来で頻用される半夏厚朴湯において胃排出能改善効果があることを報告してきた。逆に胃もたれなどの副作用を持つ生薬である地黄を含む牛車腎気丸について、 ^{13}C 化合物を用いた消化管機能検査により胃排出能低下作用がみられるか検討した。【方法】健康成人男性 15 名を対象とし、牛車腎気丸エキス (TJ-107) 7.5 g/日を 2 週間投与した。その前後で胃排出能検査として ^{13}C 酢酸 Na を用いた呼気試験法 (以下 ^{13}C 法) を第 44 回日本平滑筋学会ワークショップ標準案-4 時間法で行った。同様に半夏厚朴湯投与群も設定し検討を行った。【結果】牛車腎気丸投与群では 3 例で投与開始後 3 日目から胃もたれを訴えたが、全例で 2 週間の内服が可能であった。 ^{13}C 法から求められる胃排出能の指標とされる実測値の Tmax と計算上の Tmax で増加する傾向がみられ、T 1/2 においては投与後で有意に増加した ($p < 0.05$)。半夏厚朴湯投与群ではこのような増加はみられなかった。【結論】健康成人において、牛車腎気丸は胃排出を遅延させる可能性が示唆された。さらに様々な漢方処方の薬効評価法として利用する試みとして、 ^{13}C 化合物による消化管機能検査をマウスで行った結果についても言及する。

30. 指尖血流測定を用いた Functional dyspepsia の自律神経機能評価

— 胃十二指腸運動との相関 —

川崎医科大学内科学食道胃腸科¹, 川崎医科大学検査診断学²

田中 俊昭¹, 楠 裕明¹, 畠 二郎², 眞部 紀明², 石井 学¹, 佐藤 元紀¹,
垂水 研一¹, 武田 昌治¹, 本多 啓介¹, 春間 賢¹

【背景】自律神経機能異常は Functional dyspepsia (以下 FD) の病態生理の一つと考えられている。【目的】超音波ドプラ法を用いた指尖血流測定を自律神経機能の評価法として応用し、FD 症例における自律神経機能異常の有無、自律神経機能と消化管運動機能との関連性を検討する。【対象】FD 症例 19 例 (男性 4 例, 女性 15 例, 平均年齢 43.4 ± 15.6 歳), 健康人 75 例 (男性 34 例, 女性 41 例, 平均年齢 28.1 ± 7.1 歳)。【方法】被験者を静かな環境で仰臥位とし、右手第 2 指の指尖にプローブを接触させ、指尖より約 1 cm 程度中枢側の固有掌側指動脈分岐の血流波形をパルスドプラのスペクトラム解析で評価した。安定した波形が得られた時点を前値とし、寒冷刺激中と刺激解除後 5 分間のドプラ波形の推移を記録した。寒冷刺激は対側手掌に冷水の入った氷嚢を 1 分間押し当てた。流速の変化の指標として刺激前の流速を V_{pre} , 刺激後最低流速を V_{min} , 刺激解除 5 分後の流速を V_{post} , 流速の低下率を %dec とし、反応時間の指標として、刺激開始から流速が減少し始める時間を T1, 最低値に達する時間を T2, 流速が回復し始める時間を T3, 流速が前値に回復する時間を T4 とした。その後、既報の如くコンソメスープを用いた胃十二指腸運動機能検査を施行し、胃排出能, 前庭部収縮能, 十二指腸胃逆流を測定した。【結果】FD は健康人と比べ V_{pre} と %dec が低値であったが、その他の指標に明らかな差は見られなかった。胃十二指腸運動と指尖血流ともに異常を認めた症例は 13 例 (68.4%) であり、両者とも正常の症例はなかった。胃十二指腸運動異常のみは 4 例 (21.1%), 自律神経機能異常のみは 2 例 (10.5%) であった。【結語】FD 症例は健康人より交感神経の優位な状態であり、自律神経機能と胃十二指腸運動には相関が認められる。

31. 鏡映像描写ストレスが胃腸電図に及ぼす影響

悠遊健康村病院

本間 信治

急性ストレス（鏡映像描写）が、心拍、呼吸数、胃腸電図に及ぼす影響を検討してきた。今回は、3と6 cpm群の周波数変動係数と、不安、鬱尺度、LF/HFとの相関を検討した。〈方法〉被検者は48（男性42、女性6）名で、新潟大学医学部倫理委員会の承認を得た研究課題（第179号）である。胃腸電図は、胸腹部16部位から改変脳波計で記録（時定数5秒、高周波遮断0.5秒）した。同時に、サーミスターで呼吸数を、ホルター心電計（フクダ電子）で心拍数を記録、LF/HFを計算した。安静時記録（20-30分間）後、鏡映像描写でストレスを負荷（5分以上）、その後カップヌードル（日清製粉）を食事負荷とした後、20-30分記録した。〈結果〉安静時LF/HFは安静時、ストレス負荷時、および食後の呼吸数と負に相関し、安静時とストレス負荷時心拍数とは正に相関した。安静時LF/HFは、上腹部安静時の6 cpm群の平均周波数と、鬱尺度は心か部と上腹部安静時の6 cpm群の平均周波数と負に相関した。不安尺度は心か部と下腹部のストレス負荷時の6 cpm群のパワー含有率比と正に相関、安静時LF/HFは、上腹部と下腹部のストレス負荷時の3 cpm群のパワー含有率比と正に相関した。変動係数と不安、鬱尺度間には相関がみられず、安静時LF/HFと上腹部食後の6 cpm群の変動係数との間のみ負の相関がみられた（ $p < 0.05$ ）。〈結語〉心か部、上腹部、下腹部の平均値ではなく、各16記録部位の変動係数との相関も検討する必要があると考えた。

32. 肝外胆管における平滑筋再生過程の組織学的検討—人工胆管移植モデルを用いて—

埼玉医科大学消化器一般外科¹、鈴鹿医療科学大学医用工学²

宮澤 光男¹、鳥井 孝宏¹、合川 公康¹、大谷 吉秀¹、小山 勇¹、筏 義人²

成熟胆管細胞の一つの前駆細胞と考えられている oval cell あるいは Hering 管周囲の細胞がどのように成熟胆管細胞になるか組織学的な研究はほとんどない。我々は、生体吸収性ポリマーで作製した人工胆管を native の肝外胆管と置換すると、その移植部分に胆管上皮細胞が再生し、native と同様の胆管が再生してくることを示した（Am J Transplant 2005, 1541）。この移植モデルを用い、肝外胆管の平滑筋がどのように再生するか組織学的に検討した。（方法）生体吸収性ポリマーで作製したチューブ状の人工胆管（ABD）を用い移植実験を施行した。ABD には移植前、細胞等は播種しなかった。雑種ブタを ABD 移植のレシピエントとした。胆嚢管合流部付近の総胆管を切断後、総胆管の十二指腸側を結紮。肝側の native の総胆管の断端と ABD を吻合した。さらに、十二指腸下降脚に 5 mm 大の穴をあけ、ABD の他方断端とその十二指腸の穴を縫合した。neo-bile duct は移植後経時的に採取し組織学的に観察した。筋芽細胞のマーカーとして desmin 染色を用いた。（結果と考察）ABD 移植後 3, 7 週において、desmin 陽性細胞が胆管上皮下にほぼ均等に認められた。ABD 移植後 12 w, 6 ヶ月も十二指腸側からあるいは、肝臓側から desmin 陽性細胞が連続して分布するのではなく、再生胆管に均等に認められた。その desmin 陽性細胞の量は経時的に増加した。移植後 6 ヶ月でも native の肝外胆管より desmin 陽性細胞量は少量であった。（結語）このモデルの肝外胆管再生は末梢循環細胞がポリマー移植部分に生着し、移植部に均等に平滑筋が再生してくると思われた。大きな肝外胆管損傷後の完全な肝外胆管再生には 6 ヶ月以上の期間を要すると思われた。

33. 消化管運動及び食事摂取量における Growth hormone releasing peptide (GHRP)-2 の効果

東北大学医学部生体調節外科

工藤 克昌, 柴田 近, 舟山 裕士, 福島 浩平, 高橋 賢一, 小川 仁, 上野 達也, 神山 篤史, 林 啓一, 佐々木 巖

Growth hormone secretagogue (GHS) 受容体の生理的リガンドであるグレリンは、消化管運動を亢進させ、食事摂取量を増加させる。我々は、GHS 受容体の合成性リガンドである GHRP-2 の数分間の食後期上部消化管運動抑制効果および、食事摂取量を増加効果について前回の本会で報告したが、この二つの効果の関連やその機序については明らかになってはいない。今回我々は、GHRP-2 の消化管運動抑制効果、食事摂取量増加効果に対する各種拮抗薬と、迷走神経切離の影響を検討した。方法：雑種成犬の、胃体部・前庭部・十二指腸・空腸に strain gauge force transducer を縫着した。術後 2 週間の回復期間をおいた後、意識下で消化管運動の測定を行った。拮抗薬の検討では、食事投与 90 分後にフェントラミン、プラゾシン、ヨヒンビン、プロプラノロール、ナロキソン、オンダンセトロン、FK-224、L-NAME の存在下で、GHRP-2 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、生食を静注し、消化管運動に対する効果を検討した。また迷走神経切離（幹迷走神経切離・幽門形成術）後に、食事投与 90 分後に GHRP-2 0.5, 2.5, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、生食を静注し、消化管運動に対する効果を検討し、さらに食事投与直前に GHRP-2 を 0.5, 2, 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、生食を静注した後、固形食を投与し、その後 2 時間の食事摂取量を計測した。結果：GHRP-2 の食後期上部消化管運動抑制作用は、特に胃前庭部においてフェントラミン、ヨヒンビンの存在下で消失した。また迷走神経切離は、GHRP-2 の食後期上部消化管運動抑制効果と食事摂取量を増加させる効果には影響しなかった。結論：GHRP-2 の食後期上部消化管運動抑制作用は、 $\alpha 2$ 受容体拮抗剤で消失し、迷走神経切離後でも認められたことから、末梢の $\alpha 2$ 受容体を介した反応である可能性が示された。

34. 低酸素環境におけるモルモット胃輪走平滑筋の自発電気活動のメカニズム

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞機能制御学

中村 江里, 横井 剛, 鈴木 光

胃平滑筋ではカハールの間質細胞がペースメーカー電位を発生しそれが縦走平滑筋及び輪走平滑筋に伝播する。輪走平滑筋では伝播した電位に筋束間ペースメーカー細胞から発生する再生電位が加算され緩電位 (Slow wave) が形成され、蠕動運動の起動力となっている。昨年の平滑筋学会総会において、消化管における病態モデルとして低酸素環境が消化管平滑筋に及ぼす影響を検討した結果を報告した。その後、微小電極による細胞内電位測定と fura-2 蛍光指示薬による細胞内 Ca^{2+} 濃度測定を用いて更に細胞内機序について検討を行ったのでその結果を報告する。細胞内 Ca^{2+} 濃度測定の結果、 Ca^{2+} オシレーションの頻度の増加及び振幅の減少が観察された。細胞内電位測定の結果、ペースメーカー細胞電位・台形電位（縦走筋から記録される）・緩電位・再生電位（筋束間ペースメーカー細胞から記録される）全ての電位において、頻度の増加が観察された。これらの変化は全て可逆的であった。緩電位の頻度増加作用のメカニズムを解明するために、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位の関与に着目し、 Ca^{2+} -ATPase の抑制薬である CPA (10 μM) 存在下で実験を行った。その結果 CPA 存在下では頻度増加作用は有意に抑制された。ペースメーカー電位の発生にミトコンドリアの関与が報告されていることから、解糖系の抑制薬である IAA (100 μM) 存在下で実験を行った。その結果 IAA 存在下でも頻度増加作用は有意に抑制された。これらの結果から、低酸素環境では細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位及びミトコンドリアを介して自発電気活動の頻度を増加させることにより代償のメカニズムを働かせていることが示唆された。

35. ヒト血液細胞におけるミオシン・スーパーファミリー分子の遺伝子レベルでの発現動態の検討

北里大学医学部医療系大学院¹, 北里大学医学部血液内科², マサチューセッツ医科大学生理学教室³

白田 茂樹¹, 宮崎 浩二², 東原 正明², 池辺 光男³

【緒言】種々の細胞において古典的および非古典的ミオシンが同定され、現在、18種のミオシン分子からなるスーパーファミリーを形成する。非古典的ミオシンは、幾つかは遺伝疾患の原因遺伝子であるが、多くはその機能解明には至っていない。ミオシン・スーパーファミリー分子は、種々のヒト組織において発現が報告されているが、ヒト血液細胞において、発現やその機能を検討した研究はほとんどない。

【目的】本研究は、ヒト臍帯血および成人末梢血のリンパ球において、ミオシン・スーパーファミリー分子の遺伝子レベルでの発現動態を検討する。

【方法】1) ヒトの組織で発現が確認されている非古典的ミオシン (I-C, brush border-I, I-beta, V, VI, VIIA, IXA, IXB, XV ミオシン分子) について RT-PCR 法を施行した。2) 各 PCR 産物を 32 P 標識プローブとし、臍帯血および末梢血リンパ球に対し、ノザンプロット法を施行した。

【結果】(1) RT-PCR 法およびノザンプロット法の結果より、ヒトリンパ球においては、今回対象とした非古典的ミオシン (I-C, brush border-I, I-beta, V, VI, VIIA, IXA, IXB, XV) 全てが、遺伝子レベルで発現していた。(2) ヒトリンパ球における非古典的ミオシンの発現量は、非筋型ミオシン IIA に比し、いずれも低かった。(3) 非古典的ミオシン分子において、臍帯血/リンパ球間での発現シグナルの違い、ミオシン分子間での発現量の明らかな相違は認めなかった。

【考察と結語】今回、臍帯血および末梢血リンパ球において、非古典的ミオシン (I-C, brush border-I, I-beta, V, VI, VIIA, IXA, IXB, XV) 全てが存在することを、遺伝子レベルではじめて証明した。

36. ミオシン II 阻害薬が平滑筋スキンド標本収縮に与える影響

東京医科大学細胞生理学講座¹, 東京慈恵会医科大学産婦人科学講座², 国立中興大学 (台湾)³, 群馬大学大学院医学系研究科臓器病態薬理学⁴

渡辺 賢¹, 中野 真², 張 嘉文³, 小濱 一弘⁴, 吉山 伸司⁴

ミオシン II 阻害薬として知られる butane dione monoxime (BDM) は、横紋筋スキンド標本収縮を可逆的に抑制するが、平滑筋スキンド標本収縮はほとんど抑制しない (Watanabe, 1993 など)。近年、強力な BDM 様のミオシン II 阻害剤として N-benzyl-p-toluene sulphonamide (BTS) や blebbistatin が発見されたが、平滑筋収縮に対するそれらの影響は不明点が多い。そこで、モルモット盲腸紐 β エスシン処理スキンド標本収縮に対する BTS 及び blebbistatin の作用を検討した。BTS は Ca^{2+} 活性化収縮を mM 程度、blebbistatin 30-100 μM で顕著に抑制し、効果は可逆性であった。又、この抑制効果には温度依存性がみられた。これらのミオシン II 阻害薬は、平滑筋収縮研究に有用であると考えられる。

37. 気道平滑筋における Th2 サイトカインによる MMP-1 の発現とその収縮能への影響

九州大学大学院医学研究院生体情報薬理

大池 正宏, 太田 良紀, 伊東 祐之

【目的】気道過敏性は気道収縮能の過剰によって生じ, 閉塞性気道疾患の成因のひとつとされる。炎症メディエーターである IL-4 や IL-13 などの Th2 サイトカインは閉塞性気道疾患の原因となるが, その気道過敏性との関連には不明の点が多い。本研究は, Th2 サイトカインの収縮能への影響とその機序を明らかにすることを目的とした。【方法】本研究にはコラーゲンゲルに包埋した培養ウシ気道平滑筋細胞を使用し, ゲル収縮の変化としてその収縮能を評価した。mRNA の発現量はリアルタイム PCR によって検討した。【結果】ウシ気道平滑筋細胞を包埋したコラーゲンゲルの ATP による収縮は, IL-4 で前処置することで減少し, IL-13 による前処置で増大した。ところが, IL-4 と IL-13 の両者とも, 気道平滑筋細胞の細胞内カルシウム濃度変化や収縮蛋白のリン酸化には影響を与えず, Th2 サイトカインによるゲル収縮の変化は, 包埋した平滑筋細胞の収縮能への作用によるものではないと考えられた。一方, リアルタイム PCR で mRNA 発現量を比較したところ, MMP-1 (matrix metalloprotease 1, 間質型コラーゲナーゼ) の mRNA の発現が IL-4 と IL-13 で増大し, その発現量の増大は IL-4 でより著明であった。その他の MMP の mRNA 発現には IL-4 と IL-13 による影響を認めなかった。MMP を非特異的に阻害する Galardin によって IL-4 と IL-13 によるゲル収縮能の変化が消失した。さらに, 低濃度の MMP-1 の投与によってゲル収縮が増大し, 高濃度の MMP-1 によって収縮は減少した。【考察】以上の結果より, Th2 サイトカインが気道収縮に影響を与えることが示唆されたが, その機序は平滑筋細胞の収縮能自体の変化ではなく, 平滑筋細胞からの MMP-1 分泌による細胞外基質の変化によるものと考えられた。

38. ウシ毛様体筋のカルバコール誘発収縮に対する G_q 阻害剤 YM-254890 の効果

旭川医科大学生理学第 1

安井 文智, 宮津 基, 高井 章

【背景】副交感神経支配の平滑筋である毛様体平滑筋の収縮は筋細胞膜表面に存在する M₃ サブタイプのムスカリン受容体の刺激により開始される。その初期相は, G_{q/11} 蛋白(G_q)に共役した信号伝達経路を介する細胞内からの Ca²⁺ 遊離によって起る。収縮持続相についても Ca²⁺ は必須だが, この場合 Ca²⁺ 供給は受容体作動性の陽イオンチャネルを介する細胞外からの流入による。しかし, 持続相における Ca²⁺ に関与する信号伝達経路については, 従来ほとんど調べられていない。最近, depsiptide の一種 YM-254890 (YM)が G_q の働きを特異的に抑制することが報告された。今回, ウシ毛様体筋においてカルバコール(CCh)で誘発される収縮と細胞内 Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i)上昇に対する YM の効果を検討した。

【方法】等尺性張力記録にはウシ毛様体から摘出した平滑筋束を用いた。細胞内 Ca²⁺ の変動は, 酵素処理で単離した毛様体筋細胞を用い, Fluo-4 蛍光法により記録した。

【結果と考察】2 μM の CCh 投与により発生した収縮の持続相に YM (0.05-10 μM) を投与すると, 収縮は濃度依存性に抑制された。収縮が完全に抑制されたあとに YM を数時間にわたり洗い流しても, CCh への反応性はほとんど回復しなかった。単離細胞において, CCh (10 μM)は [Ca²⁺]_i の上昇を起したが, YM (3-10 μM)の細胞外投与により, その初期相, 持続相とも完全に抑制された。これらの YM の抑制作用はいずれも時間依存性で, 特に 30°C 以下の温度ではきわめて遅く現れた。毛様体筋のムスカリン受容体刺激による収縮には, 初期相のみならず持続相においても G_q に共役した信号伝達経路が関与している可能性がある。

39. 毛様体筋収縮調節に関する受容体作動性陽イオンチャンネルと TRPC チャンネルとの関連性の検討

旭川医科大学生理学第1¹, 名古屋大学大学院医学専攻眼科²

宮津 基¹, 安井 史智¹, 高井 佳子², 高井 章¹

【目的】毛様体筋の持続的収縮に必要な細胞外からの Ca^{2+} イオン流入経路として機能するムスカリン受容体作動性非選択性陽イオンチャンネルと, その分子本体候補として注目される TRPC 型陽イオンチャンネルとの関連性を検討する。

【方法】ウシ単離毛様体筋細胞において電位固定法により全膜電流を記録。筋束における張力記録には等尺性トランスデューサを使用。各種 TRPC の発現の検討には RT-PCR と免疫蛍光顕微鏡法とを併用した。

【結果】カルバコール (CCh; 0.01-100 μM) 投与により発生する電流のノイズ解析から, CCh が2種類の非選択性陽イオンチャンネル [NSCCL (35 pS) と NSCCS (100 fS)] を開口させることがわかった。外液陽イオンをすべて Ca^{2+} で置換しても CCh 刺激による電流発生は観察された。 Gd^{3+} や SKF96365 (100 μM) は両チャンネル電流および収縮持続相を抑制した。 RT-PCR によりウシ毛様体筋に TRPC1, 3, 4 および 6 の mRNA が検出された。短期培養した毛様体筋細胞の表面膜の細胞質側をこれらの TRPC の特異抗体を用いて蛍光染色すると約 1 spot/ μm の抗体結合を認めた。

【結論】ムスカリン受容体刺激に伴い NSCCL と NSCCS が開口, 収縮持続相に必要な Ca^{2+} の流入経路を形成するものと考えられる。それらの有望な分子本体候補である TRPC のいくつかが筋細胞膜に発現していることが確認された。