

一般演題 消化管 1

O-1. 胆汁・膵液の流入部位変更と消化管運動との相関の検討

東北大学大学院生体調節外科

佐藤 学, 柴田 近, 鹿郷 昌之, 木内 誠, 西條 文人, 林 啓一, 生澤 史江, 菊地 大介,
井本 博文, 佐々木 巖

【背景】肥満手術で Roux-enY gastric bypass や Bilio-pancreatic diversion (BPD) といった胆汁・膵液の流入経路を変更させる手術がよく行われている。一方で胆汁・膵液の流入部位と消化管運動との関係についての基礎的検討は不十分であり、不明な点が多い。【目的】胆汁・膵液の回腸への流入によって消化管運動がどのように変動するか検討すること。【対象と方法】ビーグル成犬を用いた。全身麻酔下を開腹し、胃前庭部、十二指腸、近位空腸 (Treitz 靱帯より 10 cm)、遠位空腸 (Treitz 靱帯より 100 cm) に運動測定用の Strain gauge force transducer を縫着した。control 群、総胆管を結紮して胆嚢回腸吻合を施行した biliary diversion (BD) 群、十二指腸乳頭部を円周状に切離して回腸に吻合する bilio-pancreatic diversion (BPD) 群、BPD モデルでさらに胆管を結紮し、胆嚢を十二指腸に吻合して膵液のみを回腸に流入させる pancreatic diversion 群 (PD) 群をそれぞれ 5 頭作製し、空腹期強収縮の頻度と伝播速度、食後期収縮の motility index、食後期持続時間を測定、検討した。【結果】control 群で空腹期に認められた強収縮の発現頻度の減少、伝播速度の遅延が BD、BPD 群で認められた。また食後期には、BD、BPD 群で control 群に比較して食後期の motility index の低下、食後期収縮持続時間の延長が認められた。PD 群はすべての測定項目で control 群とほぼ同様の傾向を示した。【結語】胆汁を回腸へ流入させると、空腹期、食後期ともに消化管運動に変化が認められた。このような変化は、回腸粘膜から放出される消化管ホルモンを介している可能性がある。

O-2. 食道癌根治術、再建胃管における ^{13}C 呼気試験法を用いたダンピング発生に関する検討

¹がん・感染症センター都立駒込病院外科, ²東邦大学大森病院

了徳寺 大郎¹, 三浦 昭順¹, 佐仲 雅樹², 宮本 昌武¹, 出江 洋介¹

【目的】 ^{13}C 呼気試験法を用い、食道癌術後の再建胃管機能の評価を行い、ダンピングとの関連を検討した。【対象】当院にて食道癌に対して食道亜全摘、胸骨後胃管再建術を施行し術後 10 ヶ月以上を経過した症例 18 例 (男:女=13:5) (S 群) と健康人 7 例 (N 群) を対象とした。再建胃管は全例半切胃管とし、作成には同一術者 2 名が担当した。【方法】 ^{13}C 呼気試験法: 検査食 (ラコール® 100 ml (大塚製薬) + ^{13}C 酢酸 Na 塩 100 mg + イージーゲル® (大塚製薬)) を用い、 T_{\max} (分) と C_{\max} (%dose/h) を検討した。試験食摂取前、後 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 210, 240 分に、呼気を採取し、呼気の測定は UBit-IR300 (大塚電子) を用いた。【結果】術後と健康人を比較すると T_{\max} (分) は 44.5: 52.5 (N.S.), C_{\max} (%dose/h) は 49.2: 28.5 ($p < 0.01$) であり、有意に S 群で C_{\max} は高値を示した。ダンピング発生別で比較するとダンピング発生無し (10 例): 発生あり (8 例) では T_{\max} は 50.5: 40 (N.S.), C_{\max} は 42.1: 59.7 ($p < 0.01$) となり、有意にダンピング発生群で C_{\max} が高値を示した。さらに $^{13}\text{CO}_2$ 変化量とインスリン、血糖の関連をみると血糖は $r=0.461$, インスリンは $r=0.511$ と $^{13}\text{CO}_2$ 変化量に相関を認めた。【結語】食道癌術後の再建胃管における本 ^{13}C 呼気試験の検討から、ダンピング症状の有無が $^{13}\text{CO}_2$ の変化量に相関することが示された。特に、この $^{13}\text{CO}_2$ の変化量は血糖、インスリンとの相関を認め、このことから本試験がダンピング症状に相関することが示唆された。 ^{13}C 呼気試験法は食道癌術後の機能を客観的にかつ簡便に示す有効な検査であると思われる。

O-3. 小腸ペースメーカ活動伝搬様式の微小電極アレイによる客観評価

名古屋大学医学部細胞生理学

澤村 健太, 渡辺 絢史, 中山 晋介

医学・生理学の教科書では、必ずと言ってよいほど、消化管の協調的運動（例えば蠕動運動）は内在する神経ネットワーク活動メカニズムにより説明される。1990年代に入り、消化管にもペースメーカの役割を果たす細胞の存在が明らかとなった。この細胞は受容体型チロシンキナーゼ c-Kit を大量に発現し、筋層間神経叢をネットワーク状に取り囲んで分布しており、その形態が Cajal の描いたスケッチによく似ていることから Cajal の間質細胞 (Interstitial cells Cajal : ICC) と慣用的に呼ばれている。私たちは、そのネットワーク状の分布特性から、ICC も協調的な消化管運動に何らかの貢献があるのではないかと考え研究を行ってきた。今回の研究は、特にその客観的評価指標を確立することを目的とし、さらに機能的な可塑性も統計評価した。8×8 (64 チャンネル) に配列された微小電極アレイ (Micro-electrode array : MEA) を使用して、約 1 mm² の記録エリア (電極間距離 150 μm) で電気的活動を同時計測した。TTX と Nifedipine を投与して神経と平滑筋の活動をブロックすることにより、消化管ペースメーカ電位活動を記録した。解析法として、スプライン補完した電位イメージングやパワースペクトルだけでなく、新たに位相差マッピングや距離-相互相関係数解析法を開発した。正常マウスの小腸筋層 (ICC の存在する筋層間神経叢を含む) では、周期的なペースメーカ電位が MEA 全面で記録され、システムティックな位相差を示した。一方、ICC ネットワークが著しく減少した *W/W^o* マウスの小腸筋層では、微弱な電位が連携せずに発生することを、客観的な指標 (位相差マッピング) を用いて描出することに成功した。さらに、この解析を応用して、5-HT₃ 作動薬と拮抗薬が、ICC ネットワークの機能連携に関して、それぞれ有為に強化/減弱することも評価することができた。

O-4. 脳腸機能相関における消化管ペースメーカの役割に関する時間空間的電気計測による研究

名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学

渡辺 絢史, 澤村 健太, 武川 紅年, 中山 晋介

過度の競争など高度のストレスが原因と推測されるが、うつ病患者の増加により平成 10 年度以降の日本の年間自殺者は連続して 3 万人を越える状況であり、その遺児も 1 万人に達する。このような社会的問題への対応策が渴望されている。「腹蔵なく話す」「腹黒い」「はらわた (腸) が煮えくり返る」など、人の脳機能と腸の関連は、古くから認知されるところである。また、ストレスは胃痛などの消化管異常をもたらすことを、私たちはよく経験する。最近の例では、ストレスによる機能性胃腸障害のために我が国の首相が辞任を余儀なくされるに至ったことは、記憶に新しい。このように、消化管は脳機能との関連において重要な位置づけにあり、その連携メカニズム解明は社会的問題への解決の糸口を与えることも期待される。本研究では、このような機能に関連すると考えられる消化管運動メカニズム解明のため、8×8 (64 チャンネル) に配列された微小電極アレイ (Micro-electrode array : MEA) を使用して、約 1 mm² の記録エリア (電極間距離 150 μm) でその電気的活動を同時計測した。TTX と Nifedipine を投与して神経と平滑筋活動をブロックし、消化管ペースメーカ電位活動を記録した。正常マウスの胃及び小腸筋層 (ペースメーカ細胞である Cajal の間質細胞ネットワークが存在する筋層間神経叢を含む) では、5-HT₃ 作動薬によりペースメーカ活動が活性化し、逆に拮抗薬により抑制される。一方、5-HT₄ 作動薬/拮抗薬は影響を与えなかった。また、精神的影響が少なくないとされる炎症性消化管疾患モデルである IL-10 ノックアウトマウスでは、ペースメーカ活動はその発生頻度や伝播速度において、顕著な違いが観察された。

O-5. マウス小腸のコリン作動性神経－平滑筋のシナプス伝達における M_2 と M_3 ムスカリン受容体サブタイプの役割

¹岐阜大学応用生物科学部獣医薬理学分野, ²岐阜大学大学院連合獣医学研究科病態獣医学連合講座, ³独立行政法人日本学術振興会, ⁴理化学研究所脳科学総合研究センター山田リサーチユニット, ⁵NIH 生物有機化学講座

松山 勇人¹, 海野 年弘^{1,2}, 坂本 貴史², 棚橋 靖行^{2,3}, 山田 真久⁴, Jurgen Wess⁵, 小森 成一^{1,2}

腸管におけるコリン作動性神経から平滑筋へのシナプス伝達を仲介するムスカリン受容体サブタイプの役割を明らかにする目的で, M_2 または M_3 サブタイプを欠損したマウスの小腸縦走平滑筋細胞から興奮性接合部電位 (EJP) を記録し, 野生型のもものと比較した. 膜電位反応はガラス微小電極法を用いて記録し, 経壁電気刺激 (0.5 msec, 30V, 5 パルス, 20 Hz) により EJP を誘発した. 【結果】野生型の標本に電気刺激を加えると EJP が発生し, その平均振幅は 7.4 ± 0.5 mV ($n=18$) であった. EJP は, tetrodotoxin ($1 \mu\text{M}$), atropine ($1 \mu\text{M}$), あるいは陽イオンチャネルのブロッカーの SK&F96365 ($10 \mu\text{M}$) を処置すると消失した. 一方, physostigmine (30 nM) を処置すると EJP の振幅は 11.4 ± 1.8 mV ($n=8$) に増大した. M_2 欠損型の標本においても atropine 感受性の EJP が記録され, その振幅 (1.5 ± 0.2 mV, $n=14$) は physostigmine 適用後に増大 (3.8 ± 0.4 mV; $n=13$) したものの, 野生型の場合よりも明らかに小さかった. M_3 欠損型では, physostigmine の適用後に EJP が検出されたものの, その振幅はわずか 0.9 ± 0.2 mV ($n=18$) であった. Physostigmine 適用後における M_2 または M_3 欠損型の EJP の振幅を足し合わせても, 野生型の振幅には全く及ばなかった. M_2/M_3 両欠損型では atropine 感受性の EJP は検出されなかった. 野生型の標本に百日咳毒素 (PTX; $100 \mu\text{g/Kg}$) を処置すると, EJP の発生は著しく抑制され, その振幅は 1.4 ± 0.4 mV ($n=19$) であった. 以上の結果は, マウス小腸縦走筋におけるコリン作動性神経－平滑筋のシナプス伝達には, M_2 と M_3 それぞれのサブタイプにより仲介される経路に加えて, M_2 と M_3 の両方の刺激を必要とする経路 (M_2/M_3 経路) が関与していることを示唆している. M_2/M_3 経路は PTX 感受性 G 蛋白質を介して陽イオンチャネルを活性化し, これが EJP の発生に主要な役割を果たしていると考えられる.

O-6. アシル化グレリンおよびデスアシルグレリンのラット大腸運動に対する作用

岐阜大学大学院連合獣医学研究科獣医生理学研究室

平山 晴子, 椎名 貴彦, 志水 泰武

グレリンは, 主に胃から分泌されるペプチドホルモンであり, 成長ホルモン分泌促進や摂食亢進といった作用がよく知られている. グレリンは, 3 番目のセリン残基が脂肪酸 (n-オクタン酸) でアシル化修飾された特徴的な構造をもち, この脂肪酸修飾がその活性発現に必須であると言われている. しかし近年, 脂肪酸修飾を受けていないデスアシルグレリンもアシル化グレリンとは異なる種々の作用をもつとの報告がなされている. 我々はこれまでに, 非ペプチド性グレリン受容体アゴニストが腰仙髄部の排便中枢を活性化し, 大腸の運動性を高めることを明らかにしてきた. しかし, ペプチドであるグレリンそのものの大腸に対する効果は詳細には検討されていない. そこで本研究では, アシル化グレリンおよびデスアシルグレリンのラット大腸運動への影響を解析した.

大腿動脈に設置したカテーテルから α クロラロースとケタミンの混合液を持続注入することによりラットの麻酔状態を維持した. 結腸と肛門にカニューレを挿入後, 肛門側へ圧トランスデューサーを接続して大腸内腔の圧変化を記録するとともに, 蠕動運動により肛門側へ推送された液量を測定し, 大腸の運動性を評価した.

アシル化グレリンを血中投与した場合, 大腸運動性に変化はなかったが, 脊髓腔内 (腰仙髄部) に投与すると用量依存的に強い蠕動運動の亢進が誘発された. 一方, デスアシルグレリンの脊髓腔内への単独投与は大腸運動に影響しなかった. しかし, アシル化グレリンの投与により誘発した蠕動亢進に対し, デスアシルグレリンの脊髓腔内投与は抑制効果を示した. また, RT-PCR 法により, グレリンおよびグレリン受容体 mRNA の脊髓における発現が確認された. これらの結果より, グレリンは脊髓において産生され, 腰仙髄部の排便中枢を介して大腸運動を調節すること, その調節にはグレリンの脂肪酸修飾が関与している可能性が示唆された.

0-7. ラット食道蠕動運動におけるカプサイシン感受性神経の役割

岐阜大学大学院連合獣医学研究科獣医生理学研究室

嶋 剛士, 椎名 貴彦, 志水 泰武

【目的】食道には、カプサイシン（CAP）の作用により強く興奮するCAP感受性の感覚神経が分布することが知られている。我々はこれまで、CAP感受性神経の興奮によって食道横紋筋の収縮反応が抑制されることを、摘出標本を用いて明らかにしてきた。しかし、摘出した食道標本では蠕動反射を再現することができないため、CAP感受性神経の持つ筋収縮抑制作用が蠕動運動においてどのように機能しているのかは依然として不明であった。そこで本研究では、食道蠕動の評価が可能な *in vivo* の実験系を確立すること、およびその実験系を用いて食道蠕動におけるCAP感受性神経の役割を明らかにすることを目的とした。【方法】ラットにウレタン麻酔を施し、頸部・腹部食道にカニニューレを挿入した。頸部カニニューレから生理食塩水を流入させ、食道内腔へと伸展刺激を与えることにより蠕動運動を惹起した。腹部カニニューレに圧トランスデューサーを接続して食道内腔の圧力の変化を記録するとともに、食道から送り出された液体の量を測定し、食道蠕動を解析した。また、ラット新生子に過剰量のCAPを投与することにより、CAP感受性神経を破壊した。【結果】食道内腔を伸展刺激したところ、内腔圧の変化を伴った液体の推送が生じた。この推送運動は、開胸して食道を観察したところ、収縮輪が口側から胃側へと移動する運動であった。このような伸展刺激で惹起される食道運動は、迷走神経切断により完全に消失した。これらの結果から、液体の推送は、迷走神経を介した食道蠕動運動によるものであることが確認された。CAP感受性神経を破壊したラットでは、蠕動運動によって送り出される液体の量が、コントロールと比較して増加した。【総括】本研究により、食道の蠕動運動を誘発できる *in vivo* 実験系を確立した。また、CAP感受性神経は食道の蠕動運動において抑制的に機能していることが示唆された。

0-8. 新生仔ラット食道筋の収縮制御機構

¹岐阜大学応用生物科学部獣医生理学研究室, ²京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科応用生物部門細胞機能学分野

中森 智昭¹, 椎名 貴彦¹, 志水 泰武¹, 藏本 博史²

【背景および目的】成熟ラットの食道は横紋筋のみで構成され、その運動は主に迷走神経によって制御されている。それに対して、出生直後のラットの食道筋層は、平滑筋から横紋筋に置き換わっていく過程にあり、横紋筋だけでなく平滑筋細胞も存在している。また、新生仔ラットの食道の横紋筋細胞の中には発達途中の未熟な細胞が含まれており、この細胞に対するコリン作動性神経の接続は形態学的に明瞭ではない。そのため、新生仔ラットの食道運動が成熟ラットと同様に迷走神経により制御されているかは不明である。そこで本研究では、新生仔ラットの食道筋の収縮制御機構について、摘出標本の機械的反応を指標にして検討した。【方法】出生直後（0日齢）のラットから胸部食道を分離し、オルガンバスに設置した。等尺性フォーストランスデューサーを用いて、輪走方向の食道筋運動を記録した。【結果】食道右側の迷走神経を電気刺激したところ、二相性の収縮反応が誘発された。一相目の反応は、横紋筋のニコチン性アセチルコリン受容体の阻害薬である α -ブングアロトキシンの投与によって消失した。一方、二相目の反応は、平滑筋のムスカリン性アセチルコリン受容体の阻害薬であるアトロピンの投与によって消失した。しかし、神経節遮断薬であるヘキサメトニウムは、二相どちらの収縮反応に対しても影響しなかった。また、これら二相性の反応はいずれも、ギャップ結合の阻害薬であるハロタンの投与により抑制された。【結論】以上の結果から、新生仔ラットの食道横紋筋および平滑筋運動はコリン作動性迷走運動神経によって制御されていること、その制御は神経節を介さないものであることが明らかとなった。さらに、ギャップ結合が新生仔ラット食道筋の収縮機構に関与していることが示唆された。

O-9. ラット胃底部における六君子湯の弛緩作用について

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

鬼頭 佳彦, 溝口 達也, 鈴木 光

六君子湯は8種類の生薬で構成される漢方製剤であり, 食欲不振, 食後膨満感, 悪心や嘔吐などの機能性胃腸症に広く使われている。六君子湯の効果は多岐に渡り, これまで胃貯留能改善作用, 胃排出能促進作用, グレリン分泌増加作用などが報告されてきた。しかしながら, 六君子湯の胃底部平滑筋細胞への直接作用についてはまだ調べられていない。今回我々はラット胃底部における六君子湯の弛緩作用について検討した。ラット胃底部輪走筋標本において六君子湯 (0.1-5 mg/ml) はエンブロスチル (PGE₂ アナログ) により誘発される持続性収縮を用量依存的に弛緩させた。六君子湯の弛緩作用はグアニル酸シクラーゼ阻害剤である ODQ の影響を受けなかった。六君子湯による弛緩は早い成分と持続性成分の二相性から成り, 早い弛緩成分は小コンダクタンス Ca 活性化 K (SK) チャネルの阻害剤であるアパミンにより消失した。同様の現象は高濃度カリウム溶液 (29.4 mM[K⁺]_o) 収縮時における六君子湯の弛緩でも観察された。次にガラス微小電極によって細胞内電位を測定した。六君子湯はエンブロスチルによる脱分極反応 (約 15 mV) を抑制した。六君子湯による過分極反応は早い成分と持続性成分の二相性から成り, アパミンにより早い過分極成分は消失した。また, 高濃度カリウム溶液による脱分極下では, 六君子湯による過分極反応は早い成分と持続性成分のいずれも強く抑制された。自然発症 2 型糖尿病ラットである GK ラットの胃底部輪走筋では NO 作動性神経の機能が低下していたが, 六君子湯は GK ラットの胃底部輪走筋を対照である Wistar ラットよりも強く弛緩させた。以上の結果から, 六君子湯は SK チャネルの活性化による膜の過分極反応と電位変化を伴わない平滑筋への直接的な作用によりラット胃底部輪走筋を弛緩させることが明らかとなった。

O-10. 胎生 W マウスを用いたカハール介在細胞の発生に関する形態学的・分子生物学的解析

福井大学医学部形態機能医科学講座人体解剖学・神経科学領域

堀口 里美, 堀口 和秀, 野条 良彰, 飯野 哲

カハール介在細胞 (ICC) は腸運動の調節性細胞であり, c-KIT 受容体型チロシンキナーゼを発現する。小腸に存在する ICC サブタイプのうち筋層間神経叢領域の ICC (ICC-MY) は胎生期に c-KIT 依存性に発達することが示されている。W 変異マウスは c-KIT の細胞膜貫通領域に変異を持つため c-KIT 分子が細胞膜に組み込まれず, この受容体を介したシグナル伝達が不全となり, ICC-MY が発生しない。我々は W マウスを用いて胎生期における ICC の発生について形態学的・分子生物学的解析を行ってきた。抗 c-KIT 抗体による免疫染色の結果, 胎生 12 日 (E12) の W/W マウスにおいては, 野生型と同様に小腸の外周に c-KIT 陽性細胞が観察され始め, E13-14 ではその層の内側に平滑筋マーカー陽性の輪走筋が出現した。野生型では E16 以降 c-KIT 発現細胞の外側に平滑筋マーカー陽性の縦走筋層が生じ, これは始め c-KIT 陽性, 次いで c-KIT 陰性となり, c-KIT 陽性平滑筋マーカー陰性の ICC とは分離する。一方 W/W マウスにおいては縦走筋は野生型と同様に発生するが c-KIT 発現細胞は E16 以降減少し, E18 には消失した。この結果から, 縦走筋・ICC-MY 共通の前駆細胞である c-KIT 発現細胞は E16 頃までは c-KIT シグナル非依存性に発達し, ICC が縦走筋と分かれて分化し始める時期から c-KIT 依存性になると推定された。さらに, 胎生期の野生型・W/W それぞれから抽出・合成した cDNA をもとに, 遺伝子発現の差異の比較検討を行ない, ICC の発生に関わる候補遺伝子の探索を行った。E14 では TrkB, MSX2 など, 野生型マウス胎児にのみ強く発現する遺伝子が得られた。さらに胎生後期ではそれとは異なる遺伝子が得られ, ICC の胎生期発生は, その段階により異なる遺伝子の調節を受けることが示唆された。

一般演題 血管 1

O-11. 2 型糖尿病モデル胸部大動脈における内皮依存性弛緩反応の減弱と CaMKII 活性の影響について

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

小林 恒雄, 根本 真吾, 松本 貴之, 鎌田 勝雄

糖尿病性血管合併症は、高血糖状態を中心とした各種代謝異常や、血液学的異常から生じ、一部の機序として血管内皮細胞の NO 産生障害による血管平滑筋の弛緩機能不全が原因で生じることが知られている。また、NO 合成酵素 (NOS) は、現在いくつかの因子によりその活性が制御されていることが知られているが、近年、カルシウム / カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMKII) による NOS への関与が報告されたが、詳細は明らかにされていない。そこで今回我々は、CaMKII に焦点を絞り血管弛緩反応への影響と、2 型糖尿病時生じる血管内皮依存性弛緩反応の減弱について検討した。2 型糖尿病モデルである Goto-Kakizaki (GK) ラットから胸部大動脈を摘出し、螺旋状標本とし、ACh と A23187 (Ca-ionophore) 刺激による弛緩反応、NO 産生、NOS 活性を比較検討し、CaMKII 阻害薬による影響、phospho-CaMKII の発現を観察した。正常血管においては、ACh 刺激による弛緩反応、NO 産生、phospho-NOS 発現は、CaMKII 阻害薬である KN93 や、Lavendustin の前処置によって減弱が認められた。一方、A23187 刺激によるこれらの反応は、CaMKII 阻害薬によって影響を受けなかった。NOS 阻害薬は、ACh、A23187 弛緩反応をほぼ完全に消失した。糖尿病血管においては、正常血管に比べ ACh 刺激による弛緩反応、phospho-NOS、NO 産生の減弱が認められた。更に、CaMKII のリン酸化活性は、正常血管に比べ糖尿病血管において低下が認められた。NO ドナーである SNP による弛緩反応は、両群において変化は認められなかった。以上のことから、内皮依存性の NO 産生には、CaMKII を介する機序の存在が示唆されるが、受容体非依存性の Ca-ionophore による NO 産生には、CaMKII は介さないことが示唆された。更に、2 型糖尿病状態では、ACh 弛緩反応の減弱が生じ、この機序として、CaMKII の活性低下による NOS 活性、NO 産生の低下が原因であることが示唆された。

O-12. 2 型糖尿病ラット腸間膜動脈の endothelin-1 収縮増強には NO と MEK/ERK pathway が関与する

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

松本 貴之, 石田 恵子, 小林 恒雄, 鎌田 勝雄

【目的】Endothelin-1 (ET-1) は、種々の循環器疾患の発症・進展に重要な役割を果たしているが、2 型糖尿病を長期的に罹患した病態時における反応性及びそのメカニズムは、完全に明らかとはなっていない。そこで我々は、自然発症 2 型糖尿病ラットである Goto-Kakizaki (GK) ラット腸間膜動脈における ET-1 の血管収縮性変化とシグナル伝達に関して検討を行った。【方法】32~38 週齢の GK ラット及び対照の Wistar ラット腸間膜動脈における a) ET-1 induced contraction, b) ET_B receptor agonist (IRL-1620)-induced relaxation and NO production, c) protein expression (western blotting), d) ERK2 activity (ELISA), e) mesenteric ET-1 content に関して検討を行った。【結果】Wistar 群と比較し、GK 群において、ET-1 収縮の増強が認められた。この反応は、BQ123 (ET_A antagonist), PD98059, U0126 (MEK inhibitors) で有意に抑制された。一方、BQ788 (ET_B antagonist) 処置にて Wistar 群のみ増強が認められた。また、L-NNA (NOS inhibitor) あるいは、内皮除去で更なる増強が認められた。GK 群において IRL-1620 による弛緩反応の減弱並びに NO 産生の低下が認められた。MEK1/2 の発現、ERK2 活性、ET-1 content は GK 群で有意に増大していた。【考察】本研究によって、GK ラットにおける ET-1 収縮の増強は、ET_B receptor を介した NO による ET-1 収縮抑制系の障害ならびに、MEK/ERK pathway の増大が関与していることが明らかとなった。

O-13. エンドトキシンショックのモルモット小腸粘膜下細動脈の膜電位への影響

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

高野 博充, 鈴木 光

【目的】敗血症や感染細菌のエンドトキシンによって起こるショック時は血管の弛緩反応や神経伝達物質に対する反応低下が伴う。一方、腸間膜動脈において、エンドトキシンショック時には静止膜電位が正常よりも深くなっているが、 α 受容体アゴニストやアセチルコリンに対する反応は変化がなく、エンドトキシンショック時の体血圧の変化には腸間膜動脈レベルの動脈は寄与をしていないと報告されている。そこで、より末梢の細動脈に対するエンドトキシンの影響を調べた。【方法】モルモット（4-6 週齢）の腹腔内に生理食塩水に溶かした LPS（4 mg/kg）もしくは生理食塩水のみ（コントロール）を注射（2 ml/kg）した。6 時間後に小腸を単離し、粘膜層、平滑筋層を取り除いて粘膜下細動脈（直径 50~80 μ m）のついた粘膜下層シートにし、溶液で灌流しつつ倒立顕微鏡下に観察、Diamtrak システムを使用して粘膜下層細動脈の直径を測定した。また、同時にガラス微小電極法を用い、細動脈の膜電位を測定した。【結果と考察】静止膜電位はコントロールでは -75 ± 4 mV, LPS 投与群 -73 ± 7 mV で有意差はなかった。塩化バリウム（0.5 mM）を投与すると膜は脱分極し、コントロールでは -43 ± 7 mV, LPS 投与群 -43 ± 9 mV で有意差はなかった。アセチルコリン（ACh）を投与するとコントロールでは 15.1 ± 2 mV 過分極し、 10 ± 1.0 μ m 弛緩した。一方 LPS 投与群では ACh 投与により 11.2 ± 2 mV 過分極した、 8 ± 2 μ m 弛緩した。以上の結果からモルモット小腸粘膜下細動脈では、エンドトキシンによる静止膜電位の変化は少ないが、内皮細胞依存性弛緩反応が障害を受けている可能性が示唆された。

O-14. ブタ冠動脈平滑筋収縮に対するカテキン類の効果

静岡県立大学大学院薬学研究科薬理学教室

鵜飼 聖隆, 小原 一男, 石川 智久

【目的】緑茶は多種多様な成分を含み、古くから身体に対する有効性が言われている。その生理作用として抗酸化作用、抗がん作用、抗菌作用、抗アレルギー作用などが報告され、緑茶の健康効果が期待されることから、緑茶に含まれる活性成分（主にカテキン）に関する研究が盛んに行われている。また、緑茶摂取により冠動脈疾患率が低下するという疫学的研究も報告され、循環系に対する緑茶の作用も注目を集めている。しかし、血管平滑筋に対する緑茶カテキンの作用には不明な点が多いのが現状である。本研究では、ヒトの冠動脈との類似性が知られているブタ冠動脈平滑筋収縮に対するカテキン類の作用について検討した。

【方法】単離したブタ左冠動脈前下行枝でリング標本を作製し、1.5 g の至適張力を負荷、約 60 分間安定化させた。その後薬物処理を行い、等尺性張力を測定した。また、ミオシン軽鎖（MLC）のリン酸化レベルを等電点電気泳動法によって測定した。

【結果及び考察】冠動脈リング標本にカテキン類（エピガロカテキンガレート、エピガロカテキン（EGC）、エピカテキンガレート、エピカテキン、カテキン）を作用させたところ、これらカテキン類による直接的な収縮は見られなかったが、EGC のみが 80 mM KCl による収縮を濃度依存的に増強した。この増強反応は内皮の有無に関わらず見られた。また、80 mM KCl は MLC のリン酸化レベルを上昇させるが、EGC により MLC のリン酸化レベルの更なる上昇が認められた。EGC による収縮および MLC のリン酸化増強作用は、Protein kinase C（PKC） δ 阻害薬 Rottlerin により抑制された。以上の結果より、ブタ冠動脈平滑筋における EGC の収縮増強作用に PKC δ の関与が示唆された。

一般演題 血管 2

O-15. プリン作動性神経によるニワトリ前腸間膜動脈縦走平滑筋の抑制性調節

岐阜大学大学院連合獣医学研究科獣医生理学研究室

Alkayed Feras Walyed, 椎名 貴彦, Ammar Boudaka, 武脇 義, 志水 泰武

【背景と目的】腸間膜動脈は消化管への血流を調節する重要な血管である。哺乳動物の動脈とは異なり、ニワトリの前腸間膜動脈（AMA）には、輪走平滑筋の外側に縦走筋層が存在している。これまでに我々は、成熟ニワトリにおいては血管周囲神経から放出される ATP が、P2Y 受容体を介して AMA 縦走平滑筋の脱分極を誘発することを明らかにしてきた。今回、若齢ニワトリを用いたところ、ATP が AMA 縦走筋の脱分極ではなく、過分極反応を誘発することが明らかになったので報告する。【方法】5 週齢のニワトリから AMA 標本を摘出し、微小電極法によって縦走平滑筋細胞膜電位を導出した。オルガンバスにブラゾシン、プロプラノロール、アトロピンを適用して、非アドレナリン非コリン条件下の実験環境とした。また、RT-PCR によって AMA に発現しているプリン受容体（P2 受容体）を解析した。【結果】若齢ニワトリ AMA 縦走筋では、成熟ニワトリとは異なり、経壁電気刺激（EFS）によって過分極反応が引き起こされた。その反応は P2X 受容体阻害薬の適用および P2X 受容体作動薬による受容体の脱感作によって抑制された。内皮を除去した標本では、EFS による過分極反応は誘発されなかった。また、一酸化窒素（NO）合成酵素阻害薬およびグアニル酸シクラーゼ阻害薬の投与によっても抑制された。AMA 内皮には P2X 受容体 mRNA が発現していた。【考察】本研究の結果は、若齢ニワトリ AMA 縦走筋はプリン作動性神経による抑制性調節を受けていることを示唆している。その制御様式は、血管周囲神経由来の ATP が内皮細胞の P2X 受容体に作用して NO 合成を促進し、内皮から遊離した NO が縦走筋において過分極反応を引き起こすというものであると考えられる。

O-16. 平滑筋ミオシンは ROK によってカルシウム非存在下で、直接リン酸化され、滑り運動を最大速度で引き起こすことができる

山口大学大学院医学系研究科器官制御医科学講座生体機能分子制御学

川道 穂津美, 王 晨, 岸 博子, 加治屋 勝子, 高田 雄一, 徳森 大輔, 小林 誠

血管攣縮のような血管異常収縮の本態として、Rho キナーゼ（ROK）を介する Ca^{2+} 非依存性のミオシン軽鎖（MLC20）リン酸化→ Ca^{2+} 非依存性収縮が注目されている。その Ca^{2+} 非依存性の MLC20 リン酸化の分子機構として、*in vitro* 系において ROK は、1) MLC20 を直接リン酸化する事、2) ミオシン脱リン酸化酵素を阻害し間接的に MLC20 リン酸化を増加させる事、の 2 経路が報告されているが、明確に前者の可能性を否定することなく、後者の経路が主流/唯一の経路とされている。本研究では、この前者の可能性について検証してみた。検証にあたっては、ミオシンリン酸化や収縮に影響を与え得る他の分子（MLC キナーゼや脱リン酸化酵素等）の微量混入・関与を除外するために、2 種類の質量分析によって検証されたりコンビナント蛋白質のみを用い、純粋な実験系として、アクチン・ミオシン分子の滑り運動を 1 分子 *in vitro* motility 解析した。使用したリコンビナント平滑筋ミオシンは、確かに目的分子のみから構成されている事を MALDI-TOF/MS で同定した。また、MLC20 自体は、確かに非リン酸化型であることを LC-MS/MS で確認した。さらに、 Ca^{2+} 非存在下で、リコンビナント活性型 ROK は MLC20 を直接リン酸化する事を ProQ Diamond 染色と LC-MS/MS により確定した。アクチン・ミオシン分子の *in vitro* motility 解析において、この ROK によって Ca^{2+} 非依存性にリン酸化されたミオシンは、 $0.30 \mu\text{m}/\text{sec}$ という滑り運動を示した。この速度は、 Ca^{2+} 存在下、MLC キナーゼで MLC20 をリン酸化させて測定した時の最大値（ $0.27 \mu\text{m}/\text{sec}$ ）と同程度であった。さらに、活性型 ROK は、実際に、スキンド処理血管において、細胞質 Ca^{2+} ゼロの条件下でも、最大収縮に匹敵する大きな Ca^{2+} 非依存性収縮を引き起こした。現在、この Ca^{2+} 非依存性収縮能を有する MLC20 のリン酸化部位を質量分析で同定中である。

O-17. Role of neuronal NOS in vascular superoxide level and mitogen-activated protein kinase phosphorylation

¹奈良県立医科大学第二生理, ²香川大学医学部薬理, ³香川大学医学部第一内科

張 国興¹, 木村 正司², 村尾 孝児³, 小畑 孝二¹, 松吉 ひろ子¹, 高木 都¹

Role of nNOS in the regulation of vascular MAPK activity under basal and Ang II-stimulated conditions was investigated. Incubation with nNOS inhibitor (L-VNIO) significantly increased superoxide (O_2^-) levels in isolated aorta and VSMC from wild-type mice with increased MAPK phosphorylation. Both increases were inhibited by tempol, a superoxide dismutase mimetic, but not by a peroxynitrite scavenger, FeTPPS. The levels of O_2^- and phosphorylation of MAPK were higher in aorta from nNOS^{-/-} mice than from wild-type mice. These parameters were suppressed by tempol and oxypurinal (a xanthine oxidase inhibitor). In isolated VSMC or aorta from wild-type mice, Ang II-stimulation markedly increased the levels of O_2^- and MAPK phosphorylation. L-VNIO significantly reduced Ang II-induced increases of these parameters. Apocynin, an NAD (P) H oxidase inhibitor, further inhibited Ang II-induced increases of these parameters compared with L-VNIO treated group. FeTPPS did not suppress Ang II-induced increase of O_2^- levels, but markedly inhibited Ang II-induced MAPK phosphorylation. In contrast to wild type, Ang II failed to increase the levels of O_2^- and MAPK phosphorylation in isolated aorta or VSMC from nNOS^{-/-} mice. These results suggested that 1) In basal conditions, nNOS acts as antioxidant, reduces O_2^- accumulation and suppresses vascular MAPK phosphorylation. 2) In response to Ang II stimulation, NAD (P) H oxidase-derived O_2^- may induce nNOS uncoupling, potentiate Ang II-induced increase of O_2^- generation, and participate in Ang II-induced activation of vascular MAPK.

O-18. 血管平滑筋細胞における RyR3 機能解明とスプライス変異体発現解析

¹名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野, ²京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学分野

竹本 将士¹, 加藤 大樹¹, 山村 寿男¹, 大矢 進¹, 竹島 浩², 今泉 祐治¹

【目的】平滑筋においてリアノジン受容体 (RyR) を介した Ca^{2+} 放出は, 興奮時のみならず, 静止時においても自発的な Ca^{2+} 放出 (Ca^{2+} spark) として生じる. Ca^{2+} spark は近傍の Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル (K_{Ca}) を活性化し, 自発一過性外向き電流 (STOCs) を生じ, 静止膜電位や筋張力の調整に寄与している. 3 種の RyR サブタイプのうち平滑筋において主に RyR2,3 が発現しており, Ca^{2+} 誘発 Ca^{2+} 遊離 (CICR) 機構は主に RyR2 が担うと考えられている. RyR3 は Ca^{2+} 感受性が低く混合 4 量体を組む RyR2 の機能低下もたらすという報告がある. 一方, RyR3 が CICR 機構を増幅するという報告もあり, その生理機能は未だ不明な点が多い. さらに平滑筋では dominant negative (DN) RyR3 スプライス変異体も発現していることが知られている. 本研究では, RyR3 同型接合型ノックアウトマウス (RyR3^{-/-}) を用いて動脈における RyR3 および DN RyR3 の機能を検討した. 【結果及び考察】野生型マウス各種血管において, DN RyR3 の mRNA が野生型 RyR3 に対し同等以上発現していた. RyR3^{-/-} では DN も欠損していたが RyR2 の mRNA 発現は野生型と同等であった. caffeine による Ca^{2+} 遊離は RyR3^{-/-} において感受性が有意に亢進していた. また K_{Ca} 電流密度は両群間で有意な差は認められなかったが, STOCs は RyR3^{-/-} において frequency が 2.4 倍, 電流積分値が 1.5 倍に増大した. 以上の結果より, RyR3^{-/-} において RyR2 を介した自発的 Ca^{2+} 遊離機構の亢進により STOCs が増大したと考えられる. 従ってマウス血管平滑筋において DN RyR3 は RyR2 に対して抑制的に働いており, 間接的に静止膜電位に影響を及ぼす可能性が示唆された.

O-19. ペリサイト前駆細胞は中枢神経発生期に脳微小血管ヘリクルートされる

¹富山大学大学院分子医科学講座, ²東京医科歯科大学大学院分子腫瘍医学, UCSD, ³Department of Pharmacology, ⁴富山大学大学院免疫バイオ・創薬探索研究講座, ⁵富山大学医学部第一内科, ⁶国立長寿医療センター研究所運動器疾患研究部, ⁷京都大学医学部初期診療・救急医学分野

山本 誠士¹, 村松 昌², 大澤 毅², 高橋 宏行³, 高野 健一¹, 生谷 尚士⁴, 長井 良憲⁴, 高津 聖志⁴, 薄井 勲⁵, 戸邊 一之⁵, 新飯田 俊平⁶, 澁谷 正史², 松田 直之⁷, 服部 裕一¹

【はじめに】脳微小血管は血管内皮細胞とペリサイトによって構成される。近年、ペリサイトが脳微小血管の血流をコントロールすることが報告され、脳血管における生理学的重要性が示された。また脳血管周囲のペリサイトがBBBの機能発現に重要であるとも考えられている。一般的に、ペリサイトは血管周囲に存在する結合組織由来の間葉系細胞から発生・分化すると考えられているが、中枢神経系におけるペリサイトリクルートメントの詳細に関する検討はなされていない。

【方法】免疫組織化学的検討では、共焦点顕微鏡を用いて胎生期の脳血管発生を詳細に観察した。胎仔頭部より調整した細胞をFlow cytometry法で分画し、培養後ペリサイトマーカーで染色を行った。また、GFPマウス胚頭部より分画した細胞を用い、matrigel in vivo assay および explant culture を試み、GFP陽性細胞の動態を観察した。さらに、myeloid系細胞形成不全マウスを用いた検討も行った。

【結果】胎生10.5日のマウス胚の脳血管発生を詳細に観察した結果、ユニークな血球系マーカー陽性細胞(CD31⁺F4/80⁺CD45⁺細胞)が中脳背側部にリクルートされてくることを見出した。また、GFP陽性細胞を用いたmatrigel plug assay および explant culture の結果、GFP陽性細胞はペリサイトに分化し、inside vasculature を被覆することが示された。Myeloid系細胞形成不全マウスを用いた検討では、NG2陽性細胞の劇的な減少が観察された。

【結語】ペリサイトは血管周囲に存在する結合組織由来の間葉系細胞から発生・分化すると考えられているが、本研究の結果から、脳血管発生期におけるNG2陽性ペリサイトの少なくとも一部の起源は、造血幹細胞由来であることが強く示唆された。

一般演題 泌尿生殖器 1

O-20. マウス膀胱平滑筋の自発活動制御におけるK channelの役割

¹名古屋市西部医療センター城西病院泌尿器科, ²名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学分野, ³名古屋市立大学大学院医学研究科腎・泌尿器科学分野

早瀬 麻沙¹, 橋谷 光², 山田 健司¹, 窪田 泰江³, 小島 祥敬³, 伊藤 恭典¹, 佐々木 昌一³, 郡 健二郎³, 鈴木 光²

【目的】膀胱平滑筋の自発活動の亢進は、下部尿路症状の重要な成因の一つであると考えられる。マウス膀胱では、単離細胞を用いたパッチクランプ法および遺伝子欠損モデルによりK channelの機能が検討されてきたが、今回我々は自発活動電位および細胞内カルシウム(Ca)動態制御におけるK channelの役割をin situで検討した。【方法】マウス膀胱平滑筋(UBSM)組織標本を用いて組織標本を用いて、細胞内電位記録およびCa蛍光指示薬(Fluo-4)による細胞内Ca動態の観察を行った。【結果】マウスUBSMは静止膜電位が約-45 mVで、振幅約50 mVの自発活動電位(SAPs)を1-10回/分程度発生した。Charybdotoxin(CTX, 0.1 μM: BK & IK channel blocker)およびIberiotoxin(IbTX, 0.1 μM: BK channel blocker)はSAPsの振幅を約20 mV増加させ、持続時間を延長したが、後過分極(AHP)を抑制しなかった。TEA(10 mM: Kv channel blocker)の追加投与はSAPsの振幅をさらに増加させ、AHPを消失させた。TEAは単独でも同様の効果を示したが、Stromatoxin(0.1 μM, Kv 2.1 channel blocker)は無効であった。Apamin(0.1 μM: SK channel blocker)は単発のSAPsを群発化させる傾向を示したが、波形は変化させなかった。マウスUBSMは自発細胞内Ca濃度上昇を発生していたが、細胞間Ca伝播は殆ど観察されず、個々のUBSMにおけるCa濃度上昇の同期性は低かった。自発濃度上昇の振幅はCTXおよびIbTXにより増加し、TEAによりさらに増大した。またTEAによって個々のUBSMにおけるCa濃度上昇の同期が上昇した。【結論】マウスUBSMのSAPsの再分極相にはBKおよびTEA-sensitive Kv channelが関与しており、AHPはKv channelの開口により形成され、またSK channelは活動電位の群発化を抑制していると考えられた。サブユニットを考慮したK channelの機能の解析は、下部尿路症状の治療開発において有用であると思われる。

O-21. 過活動膀胱における Kit 陽性間質細胞の役割

¹名古屋市立大学大学院医学研究科腎・泌尿器科学分野, ²名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

窪田 泰江¹, 小島 祥敬¹, 早瀬 麻沙¹, 佐々木 昌一¹, 橋谷 光², 鈴木 光², 郡 健二郎¹

【目的】消化管の自動運動の源は、c-kit 遺伝子によりコードされるレセプター型チロシンキナーゼである KIT を発現しているカハルの間質細胞（interstitial cells of Cajal: ICC）であり、ICC が欠損すると消化管運動が低下すると言われている。最近同様に自動運動を有する膀胱においても、同様の形態学的特徴を持つ Kit 陽性の間質細胞が発見され、膀胱における自発活動の発生機序と間質細胞との関係が注目されている。現在我が国でも多くの患者数を持つ過活動膀胱の病態においても、間質細胞が関わっている可能性が高い。本研究では、Kit 陽性間質細胞の果たす役割と OAB 発生機序との関連に焦点をあてて検討した。【方法】モルモットを用いて尿流出路閉塞モデルを作成し、排尿回数、一回排尿量などを経時的にモニターした。術後1, 2, 4週目に膀胱を摘出して Kit 陽性細胞の量的変化を免疫抗体法により検討した。また BOO モデルモルモットを用いて膀胱内圧測定を行ない、KIT に対する抑制因子であるメシル酸イマチニブ（商品名グリベック）の作用を検討した。【成績】Kit 陽性間質細胞は、閉塞期間に比例して閉塞モデルの膀胱粘膜下層および漿膜側を中心に、正常膀胱に比べ増加していた。また閉塞膀胱では1回排尿量が正常と比べ有意に減少しており、膀胱内圧測定では non-voiding contraction（排尿前収縮）も異常に増加していた。Kit を抑制する因子であるグリベックは、BOO モデルにおいて排尿圧を変化させることなく、non-voiding contraction を抑制し、排尿間隔を延長させることが判った。【結論】以上の研究結果から、Kit 陽性間質細胞は細胞間情報伝達の経路として、または神経筋伝達の介在細胞として働いており、過活動膀胱の病態では、尿路上皮から求心性知覚神経へのシグナル伝達に関与している可能性が考えられた。

O-22. マウス膀胱括約筋における muscarinic 3 受容体を介する弛緩における prostaglandins の関与

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学教室

竹内 正吉, 河崎 哲也, 中嶋 秀満, 東 泰孝

これまで、マウス膀胱括約筋標本を用いて、muscarinic 3 (M3) 受容体サブタイプの活性化により括約筋が弛緩することを明らかにした。また、この弛緩機構の一部に一酸化窒素 (NO) と ATP が関与していることを示唆した。本研究では、さらに M3 受容体を介した弛緩機構について詳細な検討を行った。【方法】マウス (C57BL/6) 膀胱括約筋標本 (0.8 mm×2.0 mm) を、Tyrode 液を満たした organ bath に装着し、noradrenalin (NA) により前収縮させた標本における carbachol (CCh) による弛緩反応を等尺性に記録した。【結果】NA 10 μM 処置による収縮張力が一定となった後に、CCh 1~10 μM を処置すると濃度依存性に弛緩が生じた。この CCh による弛緩は cyclooxygenase (COX) 阻害薬である indomethacin 1 μM により著しく抑制された。次に prostaglandin E2 (PGE2) 1~100 nM は NA 前収縮標本を濃度依存性に弛緩させたが、PGI2 100 nM は標本を弛緩させなかった。続いて CCh による弛緩は EP1/2 antagonist である AH6809 10 μM により有意に抑制された。しかしながら、EP1, EP3 および EP4 antagonists (1 μM) は、CCh による弛緩に影響しなかった。各 EP agonists の効果について調べたところ、EP2 agonist 1~100 nM は濃度依存性に弛緩を生じたが、一方 EP1, EP3 および EP4 agonists (100 nM) は全く作用を示さなかった。また、Protein kinase A (PKA) の阻害薬である H-89 は CCh および EP2 agonist による弛緩を有意に抑制した。【考察】今回の結果より、M3 受容体の活性化は主に COX の活性化による PGE2 の産生とそれに続く EP2 受容体-PKA の活性化を介して弛緩を生じることが示唆された。また、NO と ATP を介する系より関与の程度が大きいと思われる。

一般演題 消化管 3

O-23. 女性に認められた Rectocele の直腸肛門機能について

¹日本歯科大学生命歯学部外科学講座, ²藤崎病院外科

富田 涼一¹, 五十嵐 誠悟¹, 藤崎 滋²

【目的】直腸の形態学的異常である rectocele 症例に直腸肛門内圧検査を行い, その病態生理学的特徴を検討した。【方法】排便時に残便感, 排便困難, 慢性便秘などを訴え, 当科を受診した患者に defecography を行い, rectocele と診断された 33 症例 (A 群) である。年齢分布は 23-79 歳, 平均 52.1 歳であった。対照として, 健康人女性 12 症例 (B 群) (16-67 歳, 平均 47.2 歳) を用いた。直腸肛門内圧検査は, low compliance infused open tip 法により行った。【成績】肛門管長; A 群と B 群に差はなかった。肛門管最大静止圧; A 群は B 群に比較して有意に低値を示した ($p<0.01$)。3) 肛門管最大随意収縮圧; A 群は B 群に比較して有意に低値を示した ($p<0.01$)。4) 直腸最小知覚量; A 群は B 群に比較して有意に高値を示した ($p<0.05$)。5) 直腸最小耐容量; A 群は B 群に比較して高値を示した。6) 直腸最大耐容量; A 群は B 群に比較して低値を示した。7) コンプライアンス; A 群は B 群に比較して有意に低値を示した ($p<0.05$)。8) 安静時直腸内圧; A 群は B 群に比較して有意に高値を示した ($p<0.05$)。9) 直腸肛門反射; A, B 群間に差は認めなかった。【結論】排便障害を有する rectocele 症例では, 内外括約筋能, 直腸壁弾性能, 直腸知覚能などの低下を認め, 直腸内圧は高かった。

O-24. オメプラゾールの胃活動電位におよぼす効果

名古屋市立大学大学院医学研究科消化器・代謝内科学

神谷 武, 鹿野 美千子, 田中 守, 海老 正秀, 水島 隆史, 平田 慶和, 溝下 勤,
村上 賢治, 久保田 英嗣, 谷田 諭史, 片岡 洋望, 加藤 岳史, 今枝 憲郎, 城 卓

【目的】プロトンポンプ阻害薬 (Proton pump inhibitor: PPI) は強力な酸分泌抑制作用を有し, 消化性潰瘍, 逆流性食道炎の治療薬として用いられている。また近年 Functional dyspepsia (FD) に対する有効性も報告されている。オメプラゾールは PPI の一つで, 本邦でも日常臨床に広く使用されている。FD において胃運動機能異常, 胃活動電位の異常は以前より報告があるが, その治療薬であるオメプラゾールの胃活動電位に対する影響に関してはこれまで報告はない。今回, オメプラゾールの胃活動電位におよぼす効果を経皮的胃電図 (Electrogastrography: EGG) を用いて検討した。【方法】対象は健康成人ボランティア 12 人 (男 8 名, 女 4 名, 24~47 歳) で, オメプラゾール内服前に EGG を試験食摂取それぞれ 30 分間測定した。ついでオメプラゾール 1 錠 (20 mg), 1 日 1 回朝食後に 1 週間内服した後, 再度 EGG を同様に測定し内服前と比較検討した。【成績】全体でみると, オメプラゾール内服後に空腹期の EGG 正常波形比率 (% of normogastria) の有意な増加を認めた。食後期の % of normogastria, 試験食摂取前後のパワー比には有意な変化を認めなかった。個々の例をみると, 約半数にパワー比の増加傾向を認めた。しかしばらつきも大きかった。【結論】オメプラゾールは EGG の改善方向に作用することが示された。この結果はオメプラゾールの, Functional dyspepsia に対する効果を説明する作用機序の一つとなりえる可能性が示唆された。

O-25. Combined Multichannel Intraluminal Impedance and Manometry (MII-EM) を用いた咽喉頭異常感症の評価

¹川崎医科大学附属病院食道・胃腸内科, ²川崎医科大学内視鏡・超音波センター, ³川崎医科大学総合臨床医学, ⁴川崎医科大学耳鼻咽喉科

筒井 英明¹, 眞部 紀明², 今村 祐志², 藤田 穰¹, 垂水 研一¹, 楠 裕明³, 塩谷 昭子¹, 畠 二郎², 原田 保⁴, 春間 賢¹

【背景】咽喉頭異常感症は日常臨床でよく遭遇するが、その病態は不明な点が多い。最近 GERD の一病変として注目され、PPI が奏功する症例もあるが、効果が認められない事も多い。一方、咽喉頭異常感症の病態として、食道運動機能異常が指摘されている。combined multichannel intraluminal impedance and manometer (MII-EM) は食道運動機能評価として、従来からの内圧測定だけでなく食塊の通過状態 (bolus transit) の評価も可能である。近年、従来からの内圧法にインピーダンス法を組み合わせた MII-EM が開発され、bolus transit と食道内圧 (EM) の同時測定が可能となった。【目的】今回 MII-EM を用いて、咽喉頭異常感症における bolus transit および upper esophageal sphincter (UES) を評価した。【対象および方法】咽喉頭異常感症が 7 名 (男性 6 名, 女性 2 名, 平均年齢 58.5 歳)。咽喉頭異常感症については耳鼻科疾患を否定し、PPI 内服を 2 週間しても症状が軽快しないものとした。健常者 (男性 9 名, 女性 1 名, 平均年齢 34.7 歳)。6 時間以上の絶食とし、鼻腔よりカテーテルを挿入後、水 5 cc×10 回、ゼリー 5 cc×10 回をそれぞれ嚥下させ、EM と bolus transit を同時に評価した。使用機種は Sandhill Scientific 社製 INSIGHT で、9 チャンネル EFT カテーテルを用いた。検討項目は EM 所見が complete bolus transit (CBT) を食道運動機能評価に用い、UES の評価に Amplitude および duration を用いた。EM 所見は Spechler と Castell らの診断基準に従い、bolus transit は CBT の出現率で評価した。【結果】7 例中 IEM が 4 例、正常が 3 例であった。UES については、control 群はと比較し、咽喉頭異常感症は Amplitude および duration の低下を認めた。【結論】咽喉頭異常感症の中に IEM および UES の機能異常の症例が認められた。

O-26. 健常人における Multichannel Electrogastrography の測定 食事負荷, 年齢, 性差, BMI における検討

川崎医科大学消化器外科

村上 陽昭, 松本 英男, 斎藤 あい, 甲斐田 祐子, 窪田 寿子, 東田 正陽, 平林 葉子, 岡 保夫, 奥村 英雄, 浦上 淳, 山下 和城, 平井 敏弘

単極誘導の胃電図は多数報告されているが、単極誘導であるため部位的評価ができず、電気的活動の伝播の評価も不可能であった。4 極を同時に測定できる Multichannel electrogastrography (以下 M-EGG) が開発された。胃電図による機能評価の報告は多くあるが、M-EGG を使用した報告は報告されていない。健常人に対して M-EGG を測定し、食事負荷の影響、年齢、性差、BMI (Body Mass Index) の面から検討し、臨床導入の可能性を検討した。(対象) 健常人 36 名 (36±17.1 歳, 男性 25 人 女性 11 人)。(方法) 6 個の電極を貼付した。各電極を PolyGraf® に接続した。おにぎり 2 個摂取させ、食前、食後 20 分測定した。電気信号は Polygram NET にて解析した。(結果) Ch1, Ch2 において %normal は食前に比して食後で有位に上昇していた (P=0.0046, P=0.015)。優位出力は 1Ch において、食後は食前に比べ、有意に上昇し、(P=0.043)。2Ch においても同様に食後は食前に比較して有意に上昇した (P=0.049)。優位出力は 4Ch において食前値のみ女性の方が有意差をもって高値であった (P=0.036)。食前値、食後値とも、各チャンネルと年齢に明らかな相関は認めなかった。電気的活動と BMI との相関を検討すると、3Ch で %normal の食前値と BMI に負の相関が認められ (相関係数 -0.343 P=0.040)、4Ch で優位出力の食後値と BMI に負の相関を認めた (相関係数 -0.467 P=0.011)。(まとめ) 食事負荷、性差、BMI は胃電気的活動に影響を及ぼし、年齢は影響を及ぼしてはいない結果となった。M-EGG は非侵襲的検査であり、日常診療に導入できると考えられた。胃運動機能に関連があると考えられる疾患に対する客観的指標として有用と思われる。

O-27. 胃壁再生モデルによる平滑筋再生過程の検討

¹埼玉医科大学国際医療センター消化器病センター消化器外科, ²奈良県立医科大学住居医学

合川 公康¹, 宮澤 光男¹, 利光 靖子¹, 岡田 克也¹, 小山 勇¹, 筏 義人²

【目的】胃粘膜の再生修復過程は多くの検討がなされているが、平滑筋の再生過程は、有用なモデルがなく、その報告はほとんどない。今回我々は、広範囲胃壁欠損部への生体吸収性ポリマー（Bioabsorbable polymer: BAP）移植後の平滑筋再生過程を経時的に検討したので報告する。【方法】雑種ブタを全身麻酔下に開腹し、胃体中部前壁を8×8 cm 切除し（ブタ胃体中部の約1/3周）、ここに同サイズに形成したBAPをパッチ状に移植し欠損を閉鎖した。このBAPはポリカプロラクトンとポリ乳酸の50:50共重合体をポリグリコール酸の繊維で補強したものである。パッチ移植後3, 5, 10週後にブタを再開腹し、胃を全摘出し、パッチ移植部を肉眼的、組織学的に観察した。【結果】パッチ移植後、3週では直径約4 cm、5週では直径約1 cmの潰瘍が観察されたが、10週では潰瘍は消失し、周囲のnative粘膜と肉眼的に区別がつかなかった。組織学的に平滑筋を観察すると、移植後3週から5週にかけて、平滑筋は潰瘍底には存在せず、潰瘍縁付近は、native組織より連続性に徐々に薄くなる固有筋層と、非連続性に島状の筋組織が認められた。粘膜筋板は、潰瘍底に近づくに従って配列が乱れ、不連続となっていた。さらに潰瘍に隣接した部分では、多量の結合組織内にびまん性に α SMA陽性細胞が存在した。パッチ移植10週後は、粘膜筋板、固有筋層とも、native胃壁同様に再生していたが、筋束はやや細い傾向にあった。筋肉内のS100タンパク発現は、ほぼnative同様であった。【考察・結語】胃全層欠損後の胃壁再生モデルにおける固有筋層再生は、欠損周囲のnative組織より延伸する連続性の再生に加え、結合組織内に非連続性の再生が示唆された。

一般演題 血管3

O-28. 糖尿病初期における2型糖尿病ラットの冠動脈内皮機能変化とスタチンの効果

名古屋市立大学大学院医学研究科薬理学

梶栗 潤子, 山本 珠生, 渡邊 義将, 伊藤 祥江, 伊藤 倫太郎, 伊藤 猛雄

糖尿病は冠動脈疾患発症の危険因子であり、血管の内皮機能障害がこれらの疾患発生の要因であると考えられているが、糖尿病発生時の冠動脈内皮機能障害の発生機序の詳細は明らかではない。我々は、糖尿病発生初期の2型糖尿病モデル動物OLETFラット（O群）の冠動脈を用い、その内皮機能変化についてコントロール動物のLETOラット（L群）と比較することにより検討した。また、これらに対するHMGCoA還元酵素阻害薬プラバスタチンの効果についても検討した。

プラバスタチン（100 mg/kg/日）は、OLETFラットに20週齢より8週間、飲水投与した（P群）。各群の冠状動脈前下降枝（LAD）を用い、アセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応や膜電位変化、活性酸素産生、NAD（P）H oxidase コンポーネントやNO合成酵素（eNOS）タンパクの発現変化を測定した。

O群で活性酸素産生の増加とNAD（P）H オキシダーゼコンポーネントやeNOSタンパクの発現が増加していたが、P群ではこれらの増加は正常化していた。L-NAMEはO群で活性酸素産生増加を抑制した。一方、O群でアセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応や膜過分極反応に変化は認められなかった。

これらの結果より、糖尿病発生初期のO群のLADでは、活性酸素産生の増加や“eNOS uncoupling”が発生しているにもかかわらず、eNOSの発現増加により、内皮由来NOによる弛緩反応が維持されていると考えられた。また、この時期には内皮由来過分極因子の機能変化も認められなかった。これらの結果は、これまでの大動脈や腸間膜動脈での報告とは異なり、冠動脈特有の変化であることが示唆された。また、プラバスタチンのインスリン抵抗性発症後からの投与によりO群の活性酸素産生増加を抑制したことより、この薬剤が血管機能障害の発症や進展の予防に有益である可能性が示唆された。

O-29. PKG リン酸化による血管受容体作動性 Ca^{2+} チャネル TRPC6 チャネルの活性化モード転換機構

福岡大学医学部生理学

井上 隆司, 菅 忠, 瓦林 靖広, 本田 啓

TRPC6 チャネルは血管系に広範に発現し, 神経体液性因子や機械刺激によって活性化される Ca^{2+} 動員を介して, 血管緊張度や血管リモデリングにおいて重要な役割を果たしていると考えられている. TRPC6 チャネルの活性化様式には, 少なくとも受容体刺激・機械刺激, 自発活性の3つのモードが知られている. 最近の我々の研究から, このチャネルの活性化モードの転換には, リン酸化を介した制御が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた. 本研究では, このうちプロテインキナーゼ G (PKG) を介したリン酸化の影響について検討した. TRPC6 蛋白質を発現した細胞に, ホスホリパーゼ C 共役型受容体のアゴニストであるカルバコールを投与すると, ノイズ増加を伴う非特異的陽イオン電流が活性化された (I_{TRPC6}). I_{TRPC6} の受容体を介した活性化後に機械刺激 (低浸透圧刺激, ずり応力, 電極内陰圧, 膜膨隆物質) を与えると, 更に強い電流の増大が観察された. この機械刺激の増強効果は PLA_2 の siRNA ノックダウンや 20-HETE の産生阻害によってほぼ完全に抑制された. 受容体刺激による I_{TRPC6} 活性化や機械刺激による I_{TRPC6} 増大作用は, 数分間の PKG 活性化物質処置によってほぼ完全に抑制された. 一方, 細胞内に長時間 (20 分以上) にわたり PKG 活性化物質 8-bromo-cGMP を投与すると, 受容体刺激や機械刺激の非存在下においても, I_{TRPC6} 様特性を示す自発性電流の再出現が観察され, この電流の出現は PKG 阻害薬 KT5823 の同時投与によって完全に抑制された. 同様の性質を示す自発性電流の活性化は, アクチン細胞骨格の脱重合薬サイトカラシン D 投与によっても誘発された. 以上より, PKG による TRPC6 チャネル蛋白質のリン酸化は, 受容体・機械刺激によるチャネル活性化を抑制するだけでなく, 自発活性モードへの転換を促進することが示唆された.

O-30. 血管平滑筋における $\text{P2X}_{1/5}$ ヘテロ複合体チャネルの機能的発現

¹九州大学病院全身管理歯科, ²九州大学大学院歯学研究院口腔細胞工学, ³九州大学大学院医学研究院泌尿器科学, ⁴熊本保健科学大学保健科学部

森田 浩光¹, 杉原 恵美^{1,2}, 松田 美穂², 梶岡 俊一³, 伊東 祐之⁴, 平田 雅人², 安部 喜八郎¹

血管平滑筋における P2X チャネルは, P2X_1 サブタイプのみが機能的に発現し, 交感神経や知覚神経, その他血管平滑筋周囲を取り巻く様々な細胞から放出される ATP により収縮制御がなされていると考えられてきた. しかし我々は, ラット大動脈, 大脳動脈及び腸間膜動脈において $\text{P2X}_{1/5}$ ヘテロ複合体の存在を検知し, また $\text{P2X}_{1/5}$ 様電流を記録したので報告する. 酵素的に単離したラット大動脈, 大脳動脈及び腸間膜動脈各々の平滑筋細胞に対し, パッチクランプ法にて電流を測定した. 細胞内液 140 mM CsCl の条件下で, 保持電位を平滑筋の静止膜付近である -60 mV に固定し, α, β -methylene ATP ($10 \mu\text{M}$) を投与すると, P2X_1 チャネル様の急速不活性化を示す内向き電流に続き, 持続性内向き電流も活性化された. これらの電流は, P2X チャネル阻害薬である TNP-ATP, PPADS 及び suramin の投与によって同様に抑制された. さらに, ATP ($10 \mu\text{M}$) 投与によっても同様に急速不活性化及び持続性内向き電流が活性化され, ATP 洗浄時に $\text{P2X}_{1/5}$ に特徴的なバウンド電流が観察された. この $\text{P2X}_{1/5}$ 様電流は, 2-methylthio ATP, ATP γ S, ADP, UTP によっても活性化された. 機能的に効果のある P2X_1 及び P2X_5 の抗体を同時にパッチピペットより細胞内へ投与すると, 電流は殆ど消失した. また, ウエスタンブロット法により各血管において, P2X_1 及び P2X_5 の高い発現がみられ, 免疫沈降により P2_1 と P2X_5 の結合が確認された. 以上の結果から, ラット大動脈, 大脳動脈及び腸間膜動脈平滑筋には P2_1 及び P2X_5 チャネルがヘテロ複合体を形成し, 細胞外 ATP や UTP により活性化制御が行われていることが示唆された.

O-31. Fyn チロシンキナーゼは、血管平滑筋収縮カルシウム感受性増強における Rho キナーゼ上流の新規シグナル分子である

山口大学大学院医学系研究科器官制御医科学講座生体機能分子制御学

岸 博子, 川道 穂津美, 加治屋 勝子, 王 晨, 高田 雄一, 徳森 大輔, 小林 誠

Rho キナーゼ (ROK) による血管平滑筋収縮のカルシウム感受性増強 (Ca^{2+} -sensitization) は、血管攣縮の病態生理において、重要な役割を果たしている。我々は、これまでに sphingosylphosphorylcholine (SPC) が、Src family tyrosine kinase (Src-TK) の活性化を介して、ROK による Ca^{2+} -sensitization を引き起こし、更に、この経路が protein kinase C と独立している事を見出した。血管平滑筋は、Src-TK の中で、Fyn と c-Src を発現している事を確認したため、今回我々は、Fyn と c-Src のどちらが、SPC/ROK 系による Ca^{2+} -sensitization を引き起こすシグナル分子なのか検討した。免疫染色では、培養血管平滑筋細胞において、SPC は、Fyn の細胞質から形質膜への移動を引き起こしたが、c-Src の細胞内分布は変化しなかった。培養血管平滑筋細胞において、RNA 干渉による Fyn の特異的なノックダウンにより、SPC による収縮は抑制された。また、constitutively-active Fyn (ca-Fyn) および dominant-negative Fyn (dn-Fyn) 変異体の強制発現により、それぞれ細胞の著明な収縮と弛緩を引き起こした。更に、 β -escin スキンド血管平滑筋条片において、ca-Fyn 組換え蛋白の細胞質への導入は、 Ca^{2+} -sensitization を引き起こし、これは Y-27632 により抑制された。これに対し、dn-Fyn 組換え蛋白の導入は、SPC による Ca^{2+} -sensitization だけでなく、GTP γ S や GPCR アゴニストによる Ca^{2+} -sensitization も抑制した。更に、タンデム型質量分析計を用いたフォーカスド・プロテオミクスにより、Fyn 下流のシグナル分子の候補が同定された。以上の様に、ROK による血管平滑筋収縮の Ca^{2+} -sensitization において、Fyn が新規のシグナル分子である直接的な証拠が得られた。

一般演題 消化管 4・他

O-32. マウス消化管筋層に分布する c-Kit 陰性線維芽細胞の免疫化学的特徴

福井大学医学部形態機能医科学講座人体解剖学・神経科学領域

飯野 哲, 堀口 和秀, 堀口 里美, 野条 良彰

カハール介在細胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) は消化管筋層においてペースメーカー機能や神経筋伝達の介在を担う間質性細胞であり、受容体型チロシンキナーゼ c-Kit を特異的に発現する。筋層内には ICC とは異なる細胞学的特徴を持つ c-Kit 陰性間質細胞が知られ、線維芽細胞あるいは線維芽細胞様細胞と呼ばれる。今回私たちは、マウス消化管筋層において c-Kit 陰性線維芽細胞を免疫組織化学的に検討し、受容体型チロシンキナーゼ PDGF 受容体 α とカリウムチャネル SK3 の 2 分子を特異的に発現することを見出した。本細胞は紡錘形あるいは卵円形の細胞体に複数の細胞質突起を持ち、その辺縁は更に細かな棘状の突起を有した。輪走筋や縦走筋内においては双極性に近い細胞が長軸を周囲の平滑筋細胞と同じ方向に伸ばし、両端の突起は更に複数に分かれる形態を示した。筋層間では多極性の突起を持つ細胞が観察され、細胞同士は互いの突起によりネットワークを構成した。ICC が存在する部位では本細胞が隣接して観察された。また本細胞は消化管神経の周囲に密に分布し、筋層間神経節を取り囲んだり、筋層内神経線維束に沿って分布した。ICC が分布しない領域、例えば胃底部筋層間や漿膜下層にも本細胞が観察された。漿膜下層においては多極性細胞がネットワークを作っていた。ICC を欠損した領域を持つ *W*^W ミュータントマウスにおいて PDGF 受容体 α および SK3 発現細胞を観察すると、正常マウスと同様の分布を示していた。これまでに c-Kit 陰性細胞は CD34 や SK3 を発現することが報告されており、私たちの観察によりマウス筋層においては PDGF 受容体 α と SK3 を共に発現する線維芽細胞 / 線維芽細胞様細胞であることが明らかとなった。

O-33. サブナノテスラ超高感度磁気センサーによる平滑筋活動計測：21世紀の平滑筋電図？

¹名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学, ²名古屋大学大学院工学研究科電子情報システム

中山 晋介¹, 内山 剛²

日本平滑筋学会は、1959年に平滑筋電図学会として発足し半世紀を迎える。この間に平滑筋の電気的挙動を測定する方法として、スクロースギャップ、細胞内電極、パッチクランプなど、様々な新技術が導入され研究が活性化されてきた。本年度の総会は「51年目の原点への回帰」がテーマとして開催される。そこで、平滑筋電図へ応用できる新しい技術を私たちも提示できればと考える。現在、私たちは、名古屋大学のオリジナル要素技術である超高感度磁気センサーを生体応用し、産業へも結びつけるべく開発研究を行っている。この新しいサブナノテスラレベル超高感度磁気センサーの作動原理は、パルス磁気インピーダンス (pulse magneto-impedance: PMI) 効果と呼ばれるものであり、MI素子である磁性体アモルファスワイヤーと計測部であるピックアップコイル及びパルス発生のためのCMOS ICのハイブリッド回路によって構成される。このように本磁気センシング技術は、SQUID (superconducting quantum interference device) のような大がかりな装置を必要とする低温環境下での超伝導型磁気センサーとは全く異なり、生体温で作動し計測できるという大きな利点を持つ。そのため生体標本に近接して磁気信号計測できるので、検出感度・空間分解能の向上に関しても有利である。さらに、特別な磁気シールドを使用しなくても計測できるという簡便性も併せ持つ。今回の発表では、ヒト個体での心磁図計測及び、摘出平滑筋細胞組織が発生する自発性電気活動に同期した磁気信号の計測について報告する。また、今後の生命科学・医療分野への応用の可能性についても考察する。

O-34. ウシ毛様体筋におけるエンドセリン-1刺激に対する収縮応答とその信号機構

旭川医科大学生理自律機能

石居 信人, 宮津 基, 荻野 大, 高井 章

【背景】血管収縮ペプチドの一種 endothelin-1 (ET-1) は、眼房水を含め眼球内に広く存在する。眼内におけるET-1の生理的役割は未だ不明であるが、眼圧の調節分子の一つとして機能している可能性が提唱されている。今回、房水流出率の主要な調節因子である毛様体筋に対するET-1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。Fluo-4蛍光法による細胞内Ca²⁺記録と電位固定法による全膜電流記録には、酵素処理で単離した毛様体筋細胞を用いた。ET受容体の発現の検討にはRT-PCRと免疫蛍光顕微鏡法とを併用した。

【結果と考察】ET-1 (1-100 nM) は濃度依存性に張力を発生させた。この張力応答は、(1) ムスカリン受容体刺激への応答でみられるような一過性の早い立上がり相を欠き、数分～10分間かかってプラトーに達する緩徐な時間経過をとる、(2) 細胞外液Ca²⁺除去またはGq/11阻害剤YM-254890により完全に抑制される、(3) ET_A受容体阻害剤BQ-610で濃度依存性に抑制されるがET_B受容体阻害剤BQ-788では抑制されない、などの特徴を示した。同一の単離毛様体筋においてcarbachol (CCh) とET-1はいずれもCa²⁺上昇を起した。全膜電流の測定では、ET-1投与により、CCh刺激によって開口することが知られる2種類の非選択性陽イオンチャネルのうち単位コンダクタンスが比較的大きい(35 pS)もののみの開口が観察された。ET_A受容体の特異抗体を用いた免疫蛍光染色により筋細胞膜におけるその稠密な発現を確認した。これらの結果は、ET-1刺激はET_A受容体を介しGq/11と共役した信号伝達経を介して毛様体筋を収縮させるが、CCh刺激とは一部異なる経路を使用している可能性を示唆する。

O-35. 葉酸 +L-アルギニン持続投与は妊娠高血圧腎症の発症予防に有効か

¹名古屋市立大学医学部産科婦人科, ²名古屋市立大学医学部薬理

鈴木 佳克¹, 山本 珠生², 梶栗 潤子², 伊藤 猛雄²

【目的】妊娠高血圧症腎症(PE)は、高血圧と蛋白尿を主症状とし、母体の血液循環不全や胎児の発育不全を発症する。近年、血管内皮機能障害とその病態形成との関係に注目が集まっている。我々はPEでは上腕動脈における血管内皮機能が減弱し、血液中の血管内皮由来弛緩因子 nitric oxide (NO) の基質である L-アルギニン (LARG) 量が減少していることを明らかにした。また、循環器疾患を有する患者への葉酸 (FA) の慢性投与は NO 機能障害を改善すると報告されている。妊娠初期に血管内皮機能の低下がみられた妊婦の内皮機能異常を FA と LARG 投与が改善するか否かを検討した。【方法】妊娠初期 (12~15 週) に同意を得て、上腕動脈での flow mediated vasodilatation (FMD) を測定した。血管内皮機能の低下がみられた妊婦 (FMD の 1 分値が 110% 以下) に対して、FA 0.8 mg+LARG 1 g/日を妊娠 16 週から分娩まで投与した群 (FL (+) 群, n=8)。FA+LARG を投与しなかった内皮機能低下妊婦を FL (-) 群 (n=8)、%FMD が 110% より大きい妊婦を内皮機能正常妊婦 (C 群, n=10) とした。投与前、投与開始 3 週後、妊娠 30 週、分娩前に FMD、赤血球内 LARG と FA 濃度、血清中 soluble Flt 1 (sFlt1) と NOx 濃度を測定した。【成績】PE 発症は、FL (+) 群 1 名、FL (-) 群 3 名、C 群 0 名であった。FA (+) 群の %FMD は、C 群と同程度にまで増加した。FA (-) 群は低値のままであった。FL (+) 群の赤血球内 FA 値と LARG 値は有意に増加した。LARG 値は PE 発症妊婦において低下した。しかし、血清 NOx 濃度は、LARG+FA 投与や PE 発症に関わらず、変化しなかった。sFlt1 濃度は LARG+FA 投与に関わらず、PE 発症患者において発症前に高値となった。【結論】妊娠初期から血管内皮機能の低下を認めた妊婦では PE を高率に発症した。FA+LARG 投与は血管内皮機能を改善し、PE の発症を予防する可能性が示唆された。LARG 値の低下は、PE 発症に関係し、その摂取は PE の発症を予防する可能性がある。

一般演題 泌尿生殖器 2

O-36. ヒト尿管における部位別に見た収縮力と α_1 -アドレナリン受容体遮断薬の効果

名古屋市立大学大学院医学研究科腎・泌尿器科分野

佐々木 昌一, 窪田 泰江, 伊藤 恭典, 早瀬 麻沙, 小島 祥敬, 郡 健二郎

【目的】私たちは α_1 -アドレナリン受容体 (AR) サブタイプのうち、ヒト尿管収縮に最も関与するサブタイプは α_{1A} であることを報告してきた。尿管結石患者の排石促進に α_{1A} -AR 遮断薬を使用するに当たり、上部尿管と下部尿管において尿管の収縮力や薬の効果に違いがあるかどうか検討した。【方法】手術を施行された未治療の腎癌患者 (51 例) の上部尿管、膀胱癌患者 (23 例) の下部尿管を、当施設の倫理委員会の承認のもと患者の同意を得て用いた。尿管は 95%O₂+5%CO₂ で通気した Krebs 液を含む organ bath 内に初期負荷約 0.5 g で懸垂し、張力は等尺性収縮法を用いて測定した。フェニレフリン (α_1 -AR 刺激薬) の最大収縮力およびその収縮反応に対するシロドシン (α_{1A} -AR 遮断薬) の拮抗作用を評価した。【結果】上部および下部尿管のフェニレフリンによる最大収縮力 (mN) はそれぞれ 0.53 ± 0.11 , 0.39 ± 0.08 , 収縮作用の強さを示す pD₂ 値は 4.94 ± 0.10 , 4.88 ± 0.12 , シロドシンの拮抗作用の効力を示す pK_B 値は 9.78 ± 0.20 , 9.36 ± 0.16 (mean \pm SE) といずれも上部尿管で高値を示したが有意差を認めなかった。【結論】 α_1 交感神経刺激によるヒト尿管の収縮力は上部尿管と下部尿管に差はなく、シロドシンによる拮抗作用は上下部とも同等であった。 α_{1A} -AR 遮断薬はいずれの部位の尿管結石の排石にも有用であることが示唆された。

O-37. 高血圧に関連した膀胱機能障害の解明—新たな発症機序と α_1 遮断薬の作用メカニズム—

熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学分野

米納 誠, 山本 泰弘, 今西 彩, 深川 淳至, 吉田 正貴

【目的】自然発症高血圧ラット (SHR) に排尿筋過活動や前立腺肥大症が発生することが報告されている。我々は以前 doxazosin の投与により SHR の尿路生殖器の血流量は有意に増加し、低下していた NOS 遺伝子の発現も有意に増強することを報告し、これらが高血圧患者に合併した下部尿路症状/前立腺肥大症の治療における α_1 遮断薬の作用機序の一つであると推察した。今回、高血圧に関連した膀胱機能障害の発症機序を解明し、治療における新たな標的を同定するために、SHR の膀胱を用いて遺伝子発現変化を解析した。

【方法】10 週齢の SHR と正常血圧 WKY ラットに doxazosin (30 mg/kg/day), nifedipine (30 mg/kg/day) を 4 週間投与し、排尿パターンを観察した。ラット膀胱における遺伝子発現変化を、microarray による網羅的解析をもとに real-time RT-PCR 法で定量的に解析した。

【結果】WKY ラットに比べて、SHR の排尿回数は増加し、1 回排尿量は低下していた。SHR の膀胱において、microarray 解析同様に Adcy2, Adcy3, Rgs2, Rgs3, Rgs4, Arhgdia の発現低下と Arhgef1, Arhgef11, Arhgef12, Gefa, Rock1, Rock2 の発現増強は PCR でも確認された。排尿パターンとこれらの遺伝子発現における SHR と WKY ラット間の差異は、doxazosin の投与により縮小したが、Arhgdia, Rock1, Rock2 の発現を除き、nifedipine による影響を受けなかった。

【結論】SHR の膀胱では、G-protein signaling pathway に関連するいくつかの遺伝子の特異的発現により、アセチルコリンなどで活性化される G_q 及び $G_{12/13}$ を介する情報伝達系が亢進する一方、 β アドレナリン受容体を介するアデニル酸シクラーゼ系は減弱している可能性が示唆され、これらが SHR における排尿筋過活動の一因になると推察された。 α_1 遮断薬はこれらの遺伝子発現を調節することが示唆され、高血圧患者で下部尿路症状/前立腺肥大症が合併していれば、 α_1 遮断薬の積極的な適応となりうると考えられた。

O-38. ヒト及びブタ膀胱排尿筋の ATP 感受性 K チャネルの比較検討

¹九州大学大学院医学研究院泌尿器科学, ²全身管理歯科九州大学病院, ³英国オックスフォード大学薬理学

梶岡 俊一¹, Nouval Shhab¹, 森田 浩光², 杉原 恵美², Alison Brading³, 関 成人¹, 内藤 誠二¹

目的：ヒト膀胱排尿筋の K_{ATP} チャネルをパッチクランプ法のシングルチャネルモードで直接的に観察し、ブタ膀胱排尿筋の K_{ATP} チャネルとその特性を比較検討した。材料と実験方法：ヒト膀胱排尿筋とブタ膀胱排尿筋にパッチクランプ法を適応し、 K_{ATP} チャネルの電気生理学的特性を明らかにするとともに、RT-PCR 法、Western Blot 法を用いて、各々のチャネルを構成しているサブタイプを検索した。結果：ホールセル電位固定法では、K チャネルオープナーである levromakalim $1 \mu M$ 以上で、濃度依存的に外向き電流を惹起し、この電流は ATP 感受性 K チャネルの阻害剤であるグリベンクラミドによって特異的に抑制された。この外向き電流は $10 \mu M$ levromakalim で約 100 pA の大きさを示し、ヒト・ブタ膀胱排尿筋ともほぼ同等の潜在力を示した。シングルチャネルレベルの検討は、cell-attached 法で $100 \mu M$ levromakalim によりヒト・ブタ排尿筋双方で、約 12 pS の大きさの K チャネルが観察され、inside-out 法にモードを変換するとチャネルランダウンを認めた。このチャネルは guanosine diphosphate (GDP) により再活性化され、ATP 投与により抑制されたことより、この 12 pS-K チャネルはヒト・ブタ膀胱排尿筋の K_{ATP} チャネルであることを直接的に証明した。双方の K_{ATP} チャネルは、現在まで報告のあった平滑筋 K_{ATP} チャネルの特性と類似の性質を示した。RT-PCR 法、Western Blot 法では、ブタ膀胱排尿筋では K_{ATP} のイオンチャネル構成は Kir6.1+SUR2A のサブユニットからなり、ヒト膀胱排尿筋では Kir6.1+SUR2B の構成からなることを明らかにした。結語：膀胱排尿筋の K_{ATP} チャネルを初めてシングルチャネルレベルで直接的に示した。膀胱排尿筋の K_{ATP} チャネルは他の臓器の平滑筋と類似の性質を示したが、膀胱排尿筋において、ヒトとブタでは、チャネル構成がことなることが判明した。