シンポジウム1　消化管機能研究における standard and new technique

S1-1　パルス励磁タイプ超高感度磁気インピーダンスセンサーによる生体磁気活動計測

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

○中山　晋介[1]，内山　剛[2]

どのような生体電気活動も同時に磁気活動を誘起する．この磁気活動を計測できれば，非接触・非侵襲的な生体電気活動評価を行うことができると考えられる．これまで，このような生体磁気計測を目的として，超伝導量子干渉デバイス（superconducting quantum interference device：SQUID）を利用する，心磁図，脳磁図等が開発されてきた．しかしながら，このSQUIDセンサー技術は，超伝導を維持するため超低温環境を必要とするうえ，環境磁気ノイズを低減するため特殊なシールドルーム内で計測されることが多いので，一個人や一研究室で使用するには物理的に巨大すぎまた高額でもある．

この問題を解決し，平滑筋・心筋さらに神経系も含め広く生体に分布する電気的興奮性細胞組織の生理的活動を非侵襲的計測を簡便に実現するため，私たちは磁気インピーダンス（magneto-impedanc）効果を利用した超高感度磁気センサーの応用を，現在，行っている．このセンサーヘッドは，CoFeSiBアモルファスワイヤーを磁心としたピックアップコイルで構成されている．このアモルファスワイヤーへ，CMOS IC によりトリガーされる適切な励磁パルスを供給することにより，磁気検出感度を10,000倍以上に飛躍的に向上させることができる．一方，CMOS IC はサンプルアンドホールド回路も同時トリガーすることより，センサーヘッドのピックアップコイル電圧を検出する．このシステムは1μs間隔でオペレーションできるので，生体の電気的活動に関して，ほぼリアルタイムでの磁気信号計測が可能となる．

今回の発表では，特に最近行ったヒト胸部表面における心臓磁気活動の空間分布に関して報告する．将来は，消化管などの平滑筋が分布する組織臓器の非侵襲的計測へと応用を展開したい．

S1-2　胃内容排泄速度評価を目的とした新規呼気試験プローブ^{13}C-uracilに関する薬物動態学的検討

[1]昭和大薬学部薬物動態学，[2]大塚製薬診断事業部，[3]大塚製薬製剤研究所，[4]大塚製薬徳島研究所

○杉山　恵理花[1]，稲田　睦[2]，国崎　純一[2]，飛田　和貴[2]，吉田　崇人[3]，樫本　稔留[3]，平尾　幸弘[4]，佐藤　均[1]

目的：近年，胃内容排泄速度（gastric emptying rate；GER）の評価法として^{13}C-octanoateや^{13}C-acetateなどを用いた^{13}C-呼気試験法が検討されている．今回，新たな^{13}C-プローブとして^{13}C-uracilに着目し，その体内動態を^{13}C-acetate，^{13}C-octanoateと比較し，GER評価系としての^{13}C-uracil呼気試験法の有用性について検討を行なった．

方法：^{13}C-uracil，^{13}C-acetate，^{13}C-octanoateをラットに経口投与後，消化管各部位（胃，十二指腸，空腸，回腸）からの薬物吸収性を比較検討した．また，各種GER低下条件下において^{13}C-uracil呼気試験を実施し，呼気中⊿^{13}C変動と胃内残存量との相関性についても検討を行った．

結果：検討した3種の^{13}C-プローブは，いずれも小腸からよく吸収されたが，^{13}C-acetate，^{13}C-octanoateは胃からも一部吸収されることが明らかとなった．一方，^{13}C-uracilは胃からはほとんど吸収されなかった．^{14}C-uracilをラットに経口投与後168 hrまでに呼気，尿，糞中にそれぞれ92.3，6.3，0.5%が回収された．また，GER低下条件下における^{13}C-uracil呼気試験では，呼気中⊿^{13}Cと胃内残存量との間に負の相関性が認められた．

考察：^{13}C-uracilは，胃からの吸収がほとんどないことが明らかとなり，GER評価呼気試験法の新たなプローブとして有用である可能性が示唆された．一方，^{13}C-acetate，^{13}C-octanoateは胃から一部吸収されることが明らかとなり，投与剤形によってはGER評価に注意が必要であることが示された．今後，臨床におけるGER評価系としての^{13}C-uracil呼気試験法の検討が期待される．

S1-3 覚醒犬における近位部胃弛緩能の評価：漢方薬“六君子湯”の急性および慢性投与が流動食自発摂取時の上部消化管運動反応に及ぼす影響

[1]川崎医療福祉大学・臨床栄養学科，[2]川崎医科大学・検査診断学，[3]川崎医科大学・総合臨床医学，[4]ツムラ研究所，[5]川崎医科大学・消化管内科学

○古川　直裕[1]，眞部　紀明[2]，楠　裕明[3]，今村　祐志[2]，加瀬　義夫[4]，服部　智久[4]，春間　賢[5]

［目的］ 近年我々は，胃ろう管を取り付けたビーグル犬を訓練することにより，覚醒大型動物の胃近位部の弛緩機能をバロスタットで評価することを試みてきた．今回は，高栄養流動食の経口摂取により誘発される胃の適応弛緩に，機能性胃腸障害の改善に効果が認められているツムラの漢方薬「六君子湯」がどのような影響を与えるかを，急性的な投与効果と慢性的な投与効果に分けて検討した．

［方法］ 実験にはビーグル犬4頭を用い，麻酔下にて，胃体部中央に胃ろう管，胃前庭部と十二指腸にフォーストランスジューサを装着した．2週間以上の回復期間後，一定圧で胃近位部を持続的に伸展し，その5分後に市販の高栄養流動食を自発的に経口摂取させて，その後の胃近位部の受け入れ容量と胃腸運動の変化を観察した．これを①高栄養流動食のみを摂取させた対照実験，②六君子湯原末2gを溶解した流動食を摂取させた急性効果検討実験，③六君子湯を10回以上与えた後に高栄養流動食のみを摂取させた慢性効果検討実験の3シリーズに分けて行ない，比較検討した．

［結果と結論］ ①高栄養流動食の経口摂取により，定圧下における胃近位部の受け入れ容量は著明に増加した（適応弛緩）．また，十二指腸運動は摂取後亢進する傾向を示し，胃前庭部運動は摂取後十数分より有意に低下した．②六君子湯混入食の摂取でも，胃近位部の適応弛緩と十二指腸運動の亢進傾向が認められたが，その程度は六君子湯混入例の方が有意に大きかった．また，対照実験で見られた胃前庭部の運動低下は認められなかった．③六君子湯の長期投与後には，対照群よりも胃近位部の適応弛緩と十二指腸運動の亢進が有意に増強した．また，胃前庭部の運動は摂取直後から軽度に亢進するようになった．

六君子湯は急性的および慢性的効果の両者において，高栄養流動食摂取による胃近位部の受入れ弛緩を増強し，胃腸運動を亢進することが明らかとなった．

S1-4 胃十二指腸機能検査スタンダード法としての体外式超音波法の現状と問題点

[1]川崎医科大学　総合臨床医学，消化管内科，検査診断学，[2]川崎医療福祉大学・臨床栄養学科

○楠　裕明[1]，春間　賢[1]，山下　直人[1]，本多　啓介[1]，井上　和彦[1]，石井　学[1]，今村　祐志[1]，眞部　紀明[1]，鎌田　智有[1]，塩谷　昭子[1]，畠　二郎[1]，古川　直裕[2]

われわれは胃十二指腸運動機能検査法として体外式超音波法（US）を考案し，数年前からは近位胃拡張能の評価法を加え，胃排出能，前庭部運動能，十二指腸胃逆流との計4項目を同時に評価している．検査に必要なのは，コンソメスープと記録用ビデオテープ，US診断装置のみであり，極めて簡便で非侵襲的な方法として，functional dyspepsiaの診療に大きな成果を挙げてきた．しかし，この方法を臨床応用している施設はわずかであり，真のスタンダード法として現在US法が普及しているとは言えない．今回われわれはUS法の問題点を抽出し，スタンダード法と成り得るための対策を検討する．

●近位胃拡張能評価；①測定場所が一定しない．②測定値（断面積）のみで比較することが困難．③他の方法との比較がない．などの問題点があり，①近位胃横断面が描出される左腋窩部にUSプローブを固定し，被験者は背臥位のままストローでスープを飲用する方法に変更．②投与前との面積変化率を比較に用いる．などの対策を行った．③に対しては今後の課題である．

●胃排出能評価；コンソメスープは肉汁であり，15分間の胃排出率は単なる液体試験食の排出動態だけでなく，肉を含む食事のinitial gastric emptyingの一部を評価しているのではないか．

●前庭部運動能；コンソメスープはCCK受容体を刺激する可能性が高いが，健常人では前庭部運動は低下しない．投与後に十二指腸ブレーキがかからないのはなぜか．

●十二指腸胃逆流；十二指腸と胃の圧較差が逆転することによって生じる現象であるが，この原因に十二指腸ブレーキ現象が関与しているのか．

それらの疑問の解明には更なる研究が必要であり，症状と関連する胃十二指腸運動機能障害の評価に，この方法が最適かどうかは不明であるが，US法は臨床的に簡便に用いることが出来る数少ない方法のひとつである．

S1-5　胃電図検査のパラメーター（%normal，%SWC）の臨床的意義に関する検討

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

（目的）　胃電図検査には様々なパラメータが存在するが，その臨床的意義が解明されていないものも多い．胃電図検査と ^{13}C 胃排出機能検査を用い，胃電図のパラメータである %normal と %SWC の臨床的意義を検証した．

（対象）　腹部愁訴のない健常人男性 4 人と腹部愁訴のある患者 3 人(非切除胃癌患者 2 人, 結腸癌患者 1 人)

（方法）　^{13}C 酢酸 100 mg で標識された 200 kcal/200 ml の試験食（ラコール）を 10 分かけて内服させた．安静仰臥位にて Breath ID system を用いて，90 分の連続呼気モニタリングを行った．同時に胃電図検査を行った．胃電図は Medtronic 社製の PolyGraf　EGG を用いて測定した．Ch1 は胃底部，Ch2 は胃体部，Ch3 は前庭部，Ch4 は幽門部が測定できるよう，皮膚に電極を装着した．POLYGRAM NET で分析，記録した．胃電図検査から %normal（正常周波数域の時間的割合）と %SWC（各チャンネル間に伝達された優位周波数の時間的割合）を算出した．^{13}C 胃排出機能検査から T1/2（呼気中に $^{13}CO2$ として排泄される ^{13}C 酢酸の総排泄量の 2 分の 1 が排泄されるまでの時間）を求めた．

（結果）　T1/2 と ch1 の %normal の相関係数は －0.90（P=0.005）であった．T1/2 と他のチャンネルの %normal とは相関は認めなかった．T1/2 と Ch1 と Ch2 間の %SWC の相関係数は －0.754（P=0.050）であった．T1/2 と他チャンネル間の %SWC とは相関は認めなかった．

（考察）　%normal の Ch1 は T1/2 と負の相関を示した．また Ch1，2 間の %SWC は T1/2 と負の相関を示した．このことから，胃底部における %normal，%SWC は胃排出機能に関連するものと考えた．

S1-6　容量負荷耐性を調べる new technique「飲水ドリンクテスト」の臨床的意義

東京慈恵会医科大学　外科

○中田　浩二，川村　雅彦，古西　英央，三森　教雄，石橋　由朗，小村　伸朗，羽生　信義，柏木　秀幸，矢永　勝彦

従来行なわれてきた胃の機能検査法は，貯留・排出能や収縮能などの運動機能評価が主体であり，腹部症状の出現に関わるメカニズムの解明は困難であった．胃・上部小腸には，摂取した水や食物を受容れる器としての大きさ（容量負荷耐性）が存在し，この働きが低下することにより「早期飽満感」「小胃症状」などの腹部症状の出現や食事量の減少に結びつくと考えられる．胃のコンプライアンス，適応性弛緩，内臓知覚を調べる検査法としては，胃内に定圧バルーンを留置するバロスタット法が gold　standard として存在するが，容量負荷耐性を調べる検査法はドリンクテスト以外には行なわれていない．

【目的】　機能性ディスペプシア（FD）および胃切除術が容量負荷耐性に及ぼす影響を調べ，飲水ドリンクテストの臨床的意義について検討した．

【方法】　健常人被験者 54 名，ローマ II 基準による FD 患者 31 名，幽門側胃切除 Billroth I 法再建（DGBI）患者 19 名に，飲水ドリンクテスト（DT：体重 [kg]×10　[ml] の常温の水を約 5 分間でストローで飲水し，出現する症状の強さ [1-3 点] と持続時間 [1-4 点] を DT 合計スコアとした）を行ない比較検討した．

【結果】　健常人，FD 患者，DGBI 患者の順に，DT 合計スコア平均は 2.7，4.9*，2.5，DT 合計スコア 4 点以上の割合は 30%，85%*，32% と FD 患者において有意に高かった．DGBI 患者のうち”大食すると腹部症状で不調”と回答した割合は，DT 合計スコア 3 点以下の 7%（1/14）に対して 4 点以上では 57%*（4/7）と有意に多くみられた．（* $p<0.05$）

【結語】　DT による容量負荷耐性は HV と比べ，FD では有意な低下がみられたが，DGBI では差を認めなかった．DGBI 患者では，容量負荷耐性の低下が食事による腹部症状出現の一因と考えられた．DT により疾病や手術にともなう容量負荷耐性異常を調べることが可能であり，腹部症状出現のメカニズムを調べる new technique として有用である．

シンポジウム 2　過活動膀胱（OAB）の基礎と臨床

S2-1　過活動膀胱の疫学とリスクファクター

[1]東北大学医学部泌尿器科，[2]東北大学医学部公衆衛生

○中川　晴夫[1]，池田　義弘[1]，寶澤　篤[2]，辻　一郎[2]，荒井　陽一[1]

過活動膀胱は尿意切迫感を主症状とし，多くの場合頻尿や夜間頻尿を伴う症状症候群であり，本邦における 40 歳以上の有病率は 12% 以上と報告され，特に高齢になるしたがって有病率が増加するといわれている．過活動膀胱の原因は神経因性と非神経因性に大別されるが，過活動膀胱の多くは非神経因性過活動膀胱である．この非神経因性過活動膀胱は原因不明なものがもっとも多く，その成因の解明が待たれている．

疫学調査はその疾患の有病率や年齢分布を知ることができるだけではなく，疾患の危険因子となる併存症や生活習慣などをあきらかにすることによりその疾患の原因究明の端緒となることが多い．また，疾患を発生しない要因を探ることにより，疾患の予防法の開発につながる可能性がある．危険因子をもとにその疾患の原因が明らかとなることにより，新たな治療法の開発にもつながることもおおい．今回のシンポジウムではこれまで文献的に報告されてきた危険因子を紹介するとともに我々が行った高齢者に対する疫学調査の結果を報告する．

これまで行われた過活動膀胱に関する疫学調査では，過活動膀胱の危険因子として年齢（若年 < 高齢），性別（女性 < 男性），閉経，身体活動性，心の健康，居住地域，肥満，便秘，睡眠障害などが報告されている．我々は 2003 年に仙台市内の一地域で 70 歳以上の高齢者に対する疫学調査を行った．この疫学調査では肥満，うつ傾向，飲酒が危険因子として明らかとなった．しかし，これまで報告されてきた年齢や性別に関しては 70 歳以上の高齢者においては危険因子とは認められなかった．これらの調査の背景とその実際について今回のシンポジウムで紹介する．

S2-2　中枢疾患と過活動膀胱　―排尿筋過活動によるものを中心に―

千葉大学医学部附属病院　神経内科

○内山　智之，山本　達也，榊原　隆次，桑原　聡

排尿機能には尿を一旦膀胱にためる蓄尿機能と溜めた尿を体外に出すための排出機能がある．これらは膀胱と尿道の平滑筋および横紋筋の協調運動，さらには自律神経と体性神経で構成される複雑な神経系によって調節されている．神経疾患では，この下部尿路支配神経系の各部位に，疾患特異的な障害が生じることが知られている．このためその病変と障害の程度に応じて，さまざまな型の排尿障害をきたしうる（神経因性膀胱）．大別すると，脳病変では，蓄尿障害が多く，排尿反射の脱抑制が関連していると考えられている．脊髄病変では，蓄尿と排出の両障害をきたすことが多く，排尿反射の脱抑制と随意的排出の賦活障害が関連し，また末梢神経病変では，排出障害が多く，排尿反射自体の障害が関連していると考えられている．

本シンポジウムのテーマである過活動膀胱（overactive bladder：OAB）は比較的新しい概念であるため，中枢疾患での検討は未だ少なく，その頻度，病態･機序，治療などについては不明なことが多い．そこで我々は，臨床研究として，文献および我々の施設のデータから，各神経疾患における OAB の病態に関する検討を行った．特に排尿機能検査上で認められる排尿筋過活動（detrusor overactivity：DO, 以前の排尿筋過反射，無抑制収縮）および検査中の尿意切迫，膀胱知覚増強（特に以前定義されていた“感覚性尿意切迫”），初発尿意時や最大尿意時膀胱容量の低下などとの関係に注目した．また神経疾患の OAB の機序として，最近，中枢神経系の反応の違いから解釈しようとする試みがなされている．我々も，神経疾患モデルを用いた基礎研究から，OAB の病態に対して中枢神経の各部位の反応が異なることを見出している．

本シンポジウムでは，神経疾患における過活動膀胱について，基礎および臨床的検討の結果と文献的考察をまじえながら概説する．

S2-3　ボンベシン3型受容体欠損マウスの膀胱・前立腺における自律神経受容体機能の変化

東邦大学医学部泌尿器科学講座

○上村　修一，中島　耕一，小林　秀行，原　啓，森田　隆，石井　延久

【背景】 2型糖尿病においては，尿意切迫のような過活動膀胱や排尿時に括約筋の弛緩が見られない排尿筋括約筋協調不全など様々な異常が高頻度に起こる事が知られるようになった．ボンベシン受容体サブタイプ3欠損マウス（BRS-3欠損マウス）は，肥満や高血圧や高インスリン血症を呈し，糖負荷試験によって高血糖や高インスリン血症が誘発され，インスリン負荷試験では血糖値の降下が減弱することが報告されている．
【目的】 2型糖尿病における排尿障害に自律神経受容体がどのように関与しているかを検討するため，BRS-3欠損マウスを用いて，下部尿路（膀胱・前立腺）の自律神経受容体の変化を調べた．
【方法】 月齢14-16カ月のBRS-3欠損マウスの膀胱，前立腺組織より平滑筋切片を作成し張力変化を測定した．　前立腺平滑筋においてはKCl，Phenylephrineに対する収縮反応，およびα1A阻害薬のWB-4101存在下のPhenylephrinに対する収縮反応を測定した．膀胱平滑筋においてはKClおよびCarbacholに対する収縮反応を測定した．また，Carbachol収縮下のIsopreterenolに対する弛緩反応を測定した．次に，収縮実験に使用した組織と同時に採取した膀胱平滑筋組織においてムスカリン受容体（M2，M3）の発現量をRT-PCR法にて確認した．
【結果】 膀胱のCarbacholに対する収縮力はBRS-3欠損マウスにおいて正常マウスより有意に大きいことが判明した．また，Isoproterenolの惹起する弛緩反応はBRS-3欠損マウスにおいて正常マウスより有意に大きいことが判明した．ムスカリン受容体M2，M3の遺伝子発現量は正常マウスと比較してBRS-3欠損マウスにおいて強い発現傾向を示すことが判明した．
【考察】 BRS-3欠損マウス膀胱においてはムスカリン受容体の機能が有意に亢進していることを示唆している．そして，BRS-3欠損マウス膀胱においてM2，M3遺伝子発現量が強い傾向が観察された事は，ムスカリン受容体を介する膀胱の収縮亢進が受容体量の増加による事を示唆していると考えられた．また，BRS-3欠損マウス膀胱においてはβ受容体の機能亢進が起きていることを推測させる．

S2-4　膀胱上皮からのATP分泌を制御するCa^{2+}の役割

秋田大学大学院医学系研究科　器官・統合生理学講座

○松本-宮井　和政，善積　克，河谷　正仁

膀胱上皮は伸展などの機械刺激や化学刺激に応じてATPを分泌することが知られている．分泌されたATPは求心性神経線維終末の$P2X_3$受容体を介して知覚神経活動を起こし，膀胱壁の伸展具合，つまり膀胱内畜尿量のシグナルを伝える．ATPは膀胱平滑筋にも作用して収縮を引き起こす．これらATPの作用から考えて，ATP分泌の異常亢進は過活動膀胱の原因の1つとなりうる．そこで我々は，ウッシングチャンバーを用いたATP測定系により，マウス膀胱上皮からのATP分泌メカニズムを精査した．静水圧によって膀胱壁を伸展させると，静水圧に比例して膀胱上皮から分泌されるATP量も増加した．ヘパリンを用いて小胞体IP_3受容体をブロックするとATP分泌は抑制されたことから，小胞体からのCa^{2+}放出は膀胱上皮からのATP分泌を駆動することが示された．小胞体からCa^{2+}が放出されて小胞体内のCa^{2+}が涸渇すると，貯蔵量作動性Ca^{2+}チャネルを通じて細胞外からのCa^{2+}流入が誘発される．膀胱上皮にはTRPC1やOrai1といった貯蔵量作動性Ca^{2+}チャネルmRNAが発現していることが確認されたことから，我々は貯蔵量作動性Ca^{2+}流入がATP分泌に果たす役割を調べた．興味深いことに，2-APBやML-9といった貯蔵量作動性Ca^{2+}流入阻害薬は伸展刺激によるATP分泌を亢進させた．この亢進効果は細胞外Ca^{2+}が存在しているときにのみ観察されたことから，細胞外からの貯蔵量作動性Ca^{2+}流入はATP分泌を抑制していると示唆された．つまり，小胞体からのCa^{2+}放出がATP分泌を駆動し，引き続いて起こる貯蔵量作動性Ca^{2+}流入はATP分泌を負に制御して適切な分泌量を規定していると考えられる．TRPC1，Orai1といった貯蔵量作動性Ca^{2+}チャネルは過活動膀胱治療の新たな標的分子となる可能性がある．

S2-5　慢性膀胱虚血による蓄尿障害発生メカニズム

福島県立医科大学泌尿器科

○野宮　正範，佐川　幸司，高橋　則雄，國分　周子，小川　総一郎，宍戸　啓一，相川　健，山口　脩

【背景】 過活動膀胱は，加齢と共にその有病率が増加し，QOL を著しく低下させる．超高齢化社会を迎えて，過活動膀胱の病態解明と治療法の開発は急務である．最近の疫学調査から，生活習慣病と過活動膀胱の関連性が指摘され，動脈硬化症は過活動膀胱発生機序の一つとして注目されるようになった．

【目的】 慢性膀胱虚血ラットモデルの開発と慢性膀胱虚血による蓄尿障害発生機序の解明．

【対象と方法】 16 週 S-D 雄ラット（体重 450 g 前後）を，コントロール群，sham 群，AI（Arterial endothelial injury）群の 3 群に分けて検討した．AI 群は，両側鼠径部に皮切を置き，大腿動脈を同定後，2Fr Fogarty カテーテルを総腸骨動脈まで挿入し，拡張させたバルーンを数回引き抜き，内皮内膜を擦過傷害後，2% コレステロール食で 8 週間飼育した．sham 群は，偽手術後，2% コレステロール食で 8 週間飼育，コントロール群は，普通食（0.09% コレステロール）で 8 週間飼育した．この 3 群における，無麻酔非拘束下膀胱内圧測定，膀胱血流測定，腸骨動脈と摘出膀胱の組織学的検討，加えて酸化ストレスマーカーと炎症性サイトカイン定量を行い比較検討した．

【結果】 組織学的検討では，AI 群にのみ膀胱栄養動脈の動脈硬化性閉塞性変化を認めた．さらに，蓄尿時の AI 群の膀胱血流は有意に低下した．また，AI 群の摘出膀胱では，酸化ストレスマーカーと炎症性サイトカインの増加ならびに COX-2 の発現を認めた．AI 群の膀胱内圧測定では，排尿反射性収縮の有意な増加を認め，機能的には排尿筋過活動であることが示された．

【考察】 本研究の結果から，慢性膀胱虚血と排尿サイクルに従って繰り返される虚血再灌流は，膀胱壁に酸化ストレス反応と炎症性サイトカインの放出および COX-2 発現を引き起こすと考えられ，機能的にはこれらの病態が関与する排尿筋過活動を呈することが示唆された．

S2-6　ラット膀胱粘膜下微小血管の収縮特性

[1]名古屋市立大学医学研究科・細胞生理学分野，[2]早稲田大学人間科学部

橋谷　光[1]，藤田　康平[1]，高野　博充[1]，三井　烈[2]，鈴木　光[1]

【背景】 過活動膀胱（OAB）の発症には，尿流出路閉塞や代謝性疾患による膀胱壁の虚血が関与している．粘膜下微小循環は，求心性神経を介した情報伝達に関わる各種細胞群の代謝維持に重要であり，膀胱容量や内圧の変化に適応して血流を維持する機構を有することが推測される．

【方法】 ラット膀胱より微小血管を含む粘膜下組織標本を作製し，血管壁追跡システム（DIAMTRAK）を用いて，細静脈および細動脈径の変化を計測した．また細静脈平滑筋より細胞内電位記録および細胞内 Ca^{2+} イメージングを行った．

【結果】 細静脈平滑筋は毎分約 5 回の自発収縮を発生していた．自発収縮は nicardipie および CPA により消失し，2-APB によっても停止したが ryanodine は無効であり，また niflumic acid および DIDS によっても抑制された．血管径と細胞内電位変化の同時記録により，自発収縮は先行する自発一過性脱分極に伴って起こることが示された．細静脈平滑筋は細胞間で同期した細胞内 Ca^{2+} 上昇を生じ，nicardipie は同期性を消失させ個々の平滑筋の Ca^{2+} 変化を現弱させた．Nicardipie 抵抗性 Ca^{2+} 上昇は CPA により消失した．一方，細動脈では自発収縮は認められなかったが，経壁神経刺激により収縮を生じた．神経性収縮は prazosin により著しく減弱し，yohimbine により増強した．RS-17053（α1A 阻害薬）も神経性収縮を抑制したが，BMY 7378（α1D 阻害薬）は無効であった．

【結論】 膀胱粘膜下細静脈は，筋小胞体からのイノシトール 3 リン酸受容体を介した Ca^{2+} 遊離により Ca^{2+} 感受性 Cl^- チャネルを開口し，電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャネルを介した Ca^{2+} 流入により自発収縮を発生していると考えられた．また細動脈は交感神経性ノルアドレナリンにより主に α1A を介した収縮を生じると考えられた．細静脈の自発収縮は血管壁に対する圧や伸展に拮抗して血流を維持するのに合目的であり，細動脈神経性収縮の薬理学的特性は α 受容体阻害薬による OAB の蓄尿症状の改善を説明し得ると考えられた．

S2-7　過敏性腸症候群患者における間質性膀胱炎症状の検討

[1]東北大学病院 心療内科　[2]同 総合診療部

○町田　貴胤[1]，遠藤　由香[1]，庄司　知隆[1]，町田　知美[1]，本郷　道夫[2]

[背景]　過敏性腸症候群（IBS）と間質性膀胱炎（IC）とは，共に微細炎症，神経系を介した過敏反応などの共通点を有する．しかし，その関連性についての報告は少ない．
[目的]　IBS 患者における IC 症状の有無を明らかにする．
[対象]　東北大学心療内科通院中の IBS 患者 26 名を対象とした．
[方法]　調査時点における症状重症度を，調査票を用いて調査した．IBS 症状は IBS 質問票，IC 症状は O' Leary と Sant の質問票の症状スコアと問題スコアで調査した．併せて，健康関連 QOL を SF-36 で評価し，身体的健康度（PCS）と精神的健康度（MCS）との関連について解析を行った．
[結果]　IBS スコア 50 以上の重症群（n=11）と 50 未満の軽症群（n=15）に分けて検討すると，IBS 病型，性別，年齢に差を認めなかったが，IC 症状スコア 10 以上のものは重症 IBS 群 11 名中 3 名に，IC 問題スコア 8 以上のものは重症 IBS 群で 1 名に認められた．平均値でみると，重症 IBS 群では軽症 IBS 群よりも IC 症状スコア，問題スコア共に高値を示し，SF-36 でも PCS，MCS 共に低値を示した．IBS スコアと IC 症状スコア，問題スコアとの間には有意の相関が認められた．
[結語]　IBS 重症度と IC 重症度の間に相関が認められ，両者の病態に共通の要素のあることが示唆された．

S2-8　OAB 治療の現状と新規治療ターゲット

滋賀医科大学医学部泌尿器科学

○荒木　勇雄

下部尿路機能障害の発生メカニズムの解明のためには，生理的な排尿反射調節機構の理解が欠かせない．これまで排尿反射の研究の中心は膀胱遠心路であり，抗コリン薬（ムスカリン受容体拮抗薬）の内服療法は今日の過活動膀胱（OAB）治療の中心となっている．また，β3 アドレナリン受容体作動薬（YM-178, KUC-7483 など）が近いうちに利用可能となれば，良好な効果と副作用の軽減が期待される．

近年，排尿反射調節における膀胱求心路の役割の重要性が認識され，求心路における情報伝達メカニズム，特に蓄尿における膀胱壁の伸展といった機械的刺激が電気的な知覚神経情報へと変換される Mechano-sensory transduction のメカニズムが注目され，多くの知見が報告されている．特に，様々な感覚器においてメカノセンサー候補分子とされている Degenerin/Epithelial Na^+ Channel（ENaC）ファミリーや TRP（Transient Receptor Potential）チャネルファミリーに属する陽イオンチャネルは，機械感受性，化学感受性，温度感受性などを有しており，膀胱においても周辺環境を感知するセンサーあるいはトランスデュサーとして有望視される．これらイオンチャネルは，膀胱上皮・知覚神経終末・排尿筋などの膀胱の末梢知覚感受システムに発現し，膀胱求心性神経伝達においても重要な役割を担っている可能性が報告されている．

本シンポジウムでは，これらイオンチャネルの Mechanosensory transduction メカニズムにおける役割と OAB など下部尿路機能障害の発生メカニズムにおける関与について，最新の知見に基づいて考察し，新規 OAB 治療薬開発のためのターゲットとしての可能性を探る．

シンポジウム 3　平滑筋におけるシグナル伝達研究のカッティングエッジ

S3-1　脳微小血管へリクルートされるペリサイト前駆細胞の起源

[1]富山大学大学院 分子医科薬理学講座，[2]国立長寿医療センター研究所 遺伝子蛋白質解析室，[3]金沢工業大学 ゲノム生物工学研究所，[4]東京医科歯科大学大学院 分子腫瘍医学，[5]東京大学 保健・健康推進本部，[6]名古屋大学 医学部 救急，集中治療医学分野

○山本　誠士[1]，村松　昌[2]，東　英梨月[1,3]，堂本　光子[3]，大澤　毅[4]，高橋　宏行[5]，高野　健一[1]，新飯田　俊平[2]，澁谷　正史[4]，松田　直之[6]，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に存在する間葉系細胞または神経堤細胞由来であるとされるが，いまだ詳細は明らかではない．
【方法】 神経発生期のマウス胎仔脳に対し免疫組織染色を行い，共焦点顕微鏡を用いて脳血管発生を詳細に観察した．また，野生型マウスと比較して，myeloid 系細胞形成不全マウスを用いた検討を行った．さらに，ペリサイト前駆細胞の起源をより明確にするために，血球系細胞特異的 YFP 発現マウスによる fate mapping study，lymphoid 系細胞形成不全マウスなどの免疫組織化学的解析を行った．
【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，貪食能を有する macrophage 系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，fate mapping study では，NG2 陽性細胞は血球系を起源とすることが示された．さらに myeloid 系細胞形成不全マウスを用いた検討では，野生型マウスと比較して NG2 陽性細胞の劇的な減少が観察された．しかしながら，lymphoid 系細胞形成不全マウスでは有意な差が観察されなかった．
【結語】 本研究の結果から，脳血管発生期における NG2 陽性ペリサイトの起源は，macrophage 系細胞由来であることが強く示唆された．さらに，貪食能を有する成熟した macrophage 系細胞が，脱分化から再分化または新たに機能獲得を行って NG2 陽性ペリサイトに分化する可能性が示唆された．

S3-2　Focused Proteomics による，血管平滑筋異常収縮の新規病的シグナル分子の探索

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，中島　彰子，川道　穂津美，加治屋　勝子，王　晨，高田　雄一，小林　誠

血管攣縮などの血管異常収縮の本態は，Rho キナーゼ（ROK）を介した血管平滑筋収縮のカルシウム感受性増強（Ca^{2+}-sensitization）である．この血管異常収縮 Ca^{2+}-sensitization の病的シグナル伝達経路として，我々は，sphingosylphosphorylcholine（SPC）/Src family tyrosine kinase（Src-TK）/ROK 経路を見出し，本経路は血管攣縮の主因として注目されている．更に，Src-TK の中でも，Fyn が病的シグナル分子である事を同定し，前回の本総会で報告した．しかし，Fyn から ROK の活性化に至る機構は不明である．そこで，今回我々は，Fyn ⇒ ROK のシグナル伝達を仲介する病的分子を同定するため，Focused Proteomics の手法を用いて，Fyn の下流分子を探索した．Fyn の下流分子は，異常収縮刺激時にチロシンリン酸化率が変化する事に着目し，ヒト冠状動脈平滑筋細胞を SPC で刺激後，チロシンリン酸化蛋白質を抗リン酸化チロシン抗体で標識した磁気ビーズにて濃縮した．その後，チロシンリン酸化蛋白質を SDS-PAGE 電気泳動で分離し，PVDF 膜に転写後に，金コロイド染色により可視化した．SPC 刺激によりチロシンリン酸化率が変化する蛋白質のバンドを切り出して，酵素処理後，タンデム型質量分析計（nanoLC-MS/MS）により 21 個の蛋白質を同定した．これらの蛋白質の機能をデータベース解析したところ，細胞骨格（6 個），輸送（5 個），酵素（3 個），細胞周期（2 個）に関連する蛋白質であった．残りは，G 蛋白関連蛋白質，代謝関連蛋白質，転写因子が各 1 個ずつあり，機能不明の蛋白質が 2 個あった．現在これらの蛋白質が真に異常収縮に関与するか，遺伝子ノックダウン等による機能解析を進めており，それらの結果も報告したい．

S3-3　セロトニントランスポーターの消化管ペースメーカー活動への作用

名古屋大学医学部細胞生理学講座

○谷口　瑞毅，劉　紅年，中山　晋介

1　目的

中枢神経系，腸神経系では，セロトニン（5-HT，5-hydroxytryptamine）を神経伝達物質として共有している．うつ治療薬としてSSRI（Selective Serotonin Reuptake Inhibitor）が使われているように，うつ病にセロトニンが深く関わっている．うつ病の詳しいメカニズムは未だ不明であるが，重要な身体症状として消化管の運動不全が知られている．一方，消化管における自発性電位リズムの根源はICC（Interstitial Cells of Cajal）細胞内の Ca^{2+} Oscillationであることが最近の研究から分かってきた．本研究では，ICCペースメーカ活動への内因性セロトニンの関与を調べるため，セロトニントランスポーターへ作用する薬剤の影響を解析した．

2　方法

BALB/C，W/W^{v} マウスから小腸の標本を作製した．薬剤の投与による細胞内 Ca^{2+} 濃度変動を記録した．また，細胞外電位活動を微小電極アレイを用いて記録した．

3　結果

5-HT，SSRI投与後にICCの Ca^{2+} Oscillationの増大することが観察できた．一方，細胞外からの Ca^{2+} 流入阻害剤は，この作用を抑制した．これらの結果は，5-HT受容体のシグナルは細胞外からの Ca^{2+} 流入を引き起こすことによってICCのペースメーカー活動を促進することを示唆している．

4　考察

SSRIは消化管ペースメーカー細胞の Ca^{2+} Oscillationを増強し，かつ自発性電位の振幅を増大した．このSSRIのICCを活性化作用は，内因性5-HTの細胞外濃度の上昇による細胞外からの Ca^{2+} 流入の増大を介して惹起されると考察された．この成果は，うつ病，過敏性腸症候群や胃十二指腸潰瘍等の精神と身体症状の関連が疑われる疾病の病因理解に繋がることが期待される．

S3-4　ミオシン軽鎖（MYL9）のT細胞性白血病株におけるCD3発現誘導への関与

北里大学医学部 血液内科学

○青木　卓巳，渡辺　真理子，宮崎　浩二，檀原　幹生，東原　正明

【背景】 CD3はT細胞の抗原レセプター（TCR）を構成する膜抗原鎖の総体で，γ鎖，δ鎖，ε鎖，（ζ鎖）からなる．成熟T細胞や胸腺細胞の細胞膜上に発現しているが，T細胞性腫瘍では，しばしばその細胞膜上のCD3発現が認められない．その機序を明らかにすることは，細胞性免疫や腫瘍化の機序を解明する上で重要であるが，未だ不明のままである．我々は今回，ミオシン軽鎖MYL9（variant 1）が，T細胞性白血病株においてCD3の細胞膜上への発現に深く関与していることを示唆する結果を得たので報告する．

【方法】 Jurkat野生株にMYL9（transcript variant 1）を遺伝子導入し強制発現させたJurkat変異株を作製し，野生株と比較検討しつつ，以下の実験を施行した．

①CD3の細胞膜上の発現量をフローサイトメトリーで評価した．②IntraPrep™を用いて膜透過処理を施し，細胞質内も含むCD3全体の発現量を測定した．

【結果と考察】 ①MYL9を遺伝子導入したJurkat変異株におけるCD3の発現率は，野生株（～2%）に比べ有意に増加した（～30%）．②いずれの細胞株においても，細胞全体でのCD3の発現率はほぼ同程度（70%～）であった．

我々は，既にMYL9遺伝子が単球・マクロファージ系白血病細胞株（U937，A-THP-1等）に発現し，リンパ球系細胞株には発現されないことを報告した（*J. Smooth Muscle Res.* 44(1)：29-40，2008）．今回の結果より，Jurkat野生細胞株において，細胞質内で産生されたCD3が細胞膜表面上に輸送される過程が，何らかの機序で障害されており，それをミオシン軽鎖（MYL9）の強制発現で克服できることが示唆された．

S3-5　消化管平滑筋の収縮における Ca^{2+} 感受性増加には CPI-17 と MYPT1 のリン酸化がともに不可欠である

[1]東京大学　大学院農学生命科学研究科　獣医薬理学教室，[2]山口大学　農学部獣医学科　獣医薬理学研究室，[3]山口大学　大学院医学系研究科　生体機能分子制御学

○森　大祐[1]，大浜　剛[2]，村田　幸久[1]，岸　博子[3]，小林　誠[3]，堀　正敏[1]，尾崎　博[1]

【背景，目的】 血管平滑筋の収縮はミオシン軽鎖キナーゼとミオシン軽鎖脱リン酸化酵素により調節され，後者の活性はCPI-17（T38）およびMYPT1（T696，T853）のリン酸化により制御されている．本研究では消化管平滑筋の収縮機構におけるCPI-17とMYPT1の役割を検討した．【方法】ラット回腸平滑筋で収縮反応，western blotによるリン酸化反応およびβ-escin脱膜化標本による Ca^{2+} 感受性増加機構を検討した．【結果】ラット回腸平滑筋でcarbachol（CCh）（1 μM）刺激は一過性の収縮と持続性の収縮を生じた．無刺激時にはMYPT1（T696，T853）のリン酸化のみ認められた．CCh刺激時にはCPI-17（T38）とMYPT1（T853）のリン酸化量が増加し，このときCPI-17（T38）のリン酸化はPKC阻害剤Go6976（1 μM）またはROCK阻害剤Y-27632（10 μM）により抑制され，MYPT1（T853）のリン酸化はY-27632により消失した．またCCh収縮も両阻害剤により抑制された．β-escin脱膜化標本においてはCPI-17（T38），MYPT1（T696，T853）各々に対するリン酸化抗体処置により，いずれの場合もCCh（1 μM）＋GTP（100 μM）による Ca^{2+} 感受性増加は消失した．【考察】回腸平滑筋の受容体刺激による収縮においては，PKCとROCKを介したCPI-17（T38）のリン酸化，ROCKを介したMYPT1（T853）のリン酸化および静止時におけるMYPT1（T696）のリン酸化がいずれも生じることで初めて Ca^{2+} 感受性増加が生じることが示唆された．

S3-6　2型糖尿病時におけるGRK2を介したAkt/eNOS経路の抑制と血管弛緩反応の減弱

星薬大・医薬研・機能形態学

○田口　久美子，小林　恒雄，松本　貴之，鎌田　勝雄

糖尿病性血管障害の原因の一つとして，内皮細胞からのNO産生低下による血管平滑筋の弛緩の減弱が報告されている．我々も2型糖尿病時において α_2-receptor刺激によって産生されるNOが，Akt/eNOS経路の減弱によって低下することを報告している．また，GRK（G-protein coupled receptor kinase）は，GPCRのシグナル伝達において重要な役割を果たしていることはよく知られている．最近，GRK2が内皮細胞におけるNO産生を抑制的に制御しているのではないかと報告された．そこで今回，糖尿病時における α_2-receptor刺激によるAkt/eNOS経路の減弱とGRK2の関与について検討を行った．また，Angiotensin II（Ang II）は，糖尿病時に引き起こされる血管障害のメディエーターの一つであることがよく知られている．そこで AT_1 receptor antagonistであるLosartanの慢性投与による影響も検討した．

その結果，2型糖尿病マウス胸部大動脈において，1）Akt/eNOS経路を介するclonidine（α_2 agonist）刺激による血管弛緩反応は減弱し，NO産生は減少した．GRK2 inhibitor存在下では，clonidine刺激によるNO産生の増加が認められた．また，GRK2 inhibitorをosmotic mini-pumpを用いて連続投与するとclonidine刺激による弛緩反応も改善した．2）clonidine刺激によりp-Aktやp-eNOS発現は，Control群に比べ減少したが，GRK2 inhibitor存在下のclonidine刺激では，*Thr*^{308} p-Aktや*Thr*^{495} p-eNOSの発現において著明な回復を示した．3）GRK2にはβγ subunitのbinding siteがあることからGallein（βγ subunit inhibitor）存在下でclonidine刺激による弛緩反応やp-Aktおよびp-eNOS発現について検討したところ，両反応とも抑制されたことから，Akt/eNOS経路の上流にGRK2やβγ subunitが存在することが明らかとなった．4）GRK2発現は内皮細胞で増加し，更に膜分画において増加していることが明らかとなった．5）上記結果がLosartanを慢性投与することにより改善され，血中Ang IIとGRK2発現の間には正の相関があることが明らかとなった．

以上のことから，糖尿病時には，血中Ang IIの増加により AT_1 receptorが刺激をうけることで内皮細胞膜上のGRK2が増加し，このGRK2が*Thr*^{308} p-Aktや*Thr*^{495} p-eNOSを抑制的に制御することでNO産生が低下し，血管平滑筋における弛緩反応を減弱させたことが明らかとなった．

S3-7　2 型糖尿病マウス腸間膜動脈における 5-HT 収縮増強と Rho kinase, Src kinase pathway との関係

星薬科大学・医薬品化学研究所・機能形態研究室

○石田　恵子，松本　貴之，田口　久美子，小林　恒雄，鎌田　勝雄

糖尿病は昨今，増加の一途を辿っており，腎症，網膜症，末梢神経障害といった三大合併症を誘発する他，脳梗塞，心筋梗塞などのリスクファクターとなる重大な疾患である．糖尿病性血管合併症は，種々の因子により血管弛緩収縮系の異常，特に平滑筋細胞のシグナル伝達の異常により血管機能不全を惹起させることが知られている．

5-hydroxytryptamine（5-HT）は，末梢においては血小板より放出される血管収縮性の神経伝達物質である．近年，高血圧患者や糖尿病患者の血中 5-HT level の上昇といった知見や，5-HT$_{2A}$ antagonist による血圧低下作用や腎保護作用といった報告から，5-HT と高血圧や糖尿病といった血管障害を引き起こす疾患との関与が示唆され始めている．しかしながら 2 型糖尿病 chronic stage における 5-HT 反応性の変化についてはあまり明らかとなっていない．そこで今回，2 型糖尿病モデル ob/ob mice（27-32 週齢）摘出腸間膜動脈を用い，5-HT に対する感受性並びにその分子メカニズムに焦点を当て検討を行った．

実験にはマウスより摘出した腸間膜動脈をリング標本とし，organ bath 中に懸垂し，5-HT による累積収縮反応について検討を行った．各種阻害薬は反応開始 30 分前より処置した．

5-HT による収縮反応性は，対照群（Lean）と比較して ob/ob 群において有意に増大していた．この 5-HT 収縮反応は両群において，1）nitric oxide synthase inhibitor（N^G-nitro-L-arginine）前処置により増大した．2）cyclooxygenase inhibitor（indomethacin），protein kinase C inhibitor（chelerythrine）前処置では影響は認められなかった．3）MEK/ERK pathway inhibitor（PD98059）前処置では減弱した．ob/ob 群における 5-HT 収縮増大は，Rho-kinase inhibitor（Y27632）や Src kinase inhibitors（PP1 analog or Src kinase inhibitor I）前処置により抑制された．また，5-HT（10^{-6}M）により 10 分間刺激した腸間膜動脈をサンプルとし，Rho A 活性（ELISA 法），PERM，Rho-kinase isoforme（ROCK1，ROCK2），p-Src，Src，5-HT$_{2A}$ receptor 発現量（Western blotting 法）を検討した．両群間において 5-HT$_{2A}$ receptor，Rho A，Rho-kinase isoforme 並びに Src 発現量に変化は認められなかった．しかしながら ob/ob 群において Rho A 活性，PERM，p-Src 発現が増大していた．以上の結果より，ob/ob mice 腸間膜動脈における 5-HT 収縮反応性の増大は，Rho-kinase 並びに Src kinase 活性の増大が関与していることが明らかとなった．

シンポジウム 4　炎症と平滑筋（血管，気管，消化管）

S4-1　ショックにおける末梢組織内乳酸の検討

[1]聖マリアンナ医科大学救急医学，[2]国際医療福祉大学病院外科

○大橋　仁志[1]，平　泰彦[1]，川崎　成郎[2]

【背景】 炎症が発生すると，サイトカインや乳酸などが上昇する．乳酸は，循環状態の指標とされ，重症例での予後判定因子として簡便に測定可能である．

末梢血管内より組織に浸透した物質を回収する方法として Microdialysis 法（MD 法 = 生体内物質透析回収法）がある．組織に流出した乳酸，ピルビン酸などの測定が可能である．

【目的】 末梢組織内の乳酸，ピルビン酸を測定し，ショックにおける早期の発現を評価する．

【方法】 Wistar rat を用いた controlled study．①循環血液量減少性ショック：脱血により平均動脈圧（MAP）40 mm±5 mm Hg に 50 分間維持した群（n=8）．対照群：（n=4）．②敗血症性ショック：LPS（E. coli）40 mg/kg を腹腔内に投与（n=8）．対照群：生理食塩水を腹腔内に投与（n=4）．末梢組織代謝の指標として，末梢血管を避けて，腹壁皮下と筋肉内にプローベを挿入し，組織間質液を回収した．その組織間質液中の乳酸，ピルビン酸を MD 法により測定した．同時に，平均動脈圧（MAP）と血中乳酸値を測定した．

【結果】 ①循環血液量減少性ショック：MAP 低下に伴い，血中と末梢組織乳酸は上昇を示した．末梢組織内ピルビン酸は減少傾向であった．②敗血症性ショック：血中と末梢組織乳酸，ピルビン酸は上昇傾向であった．

【考察】 乳酸/ピルビン比（LP 比）は組織失調の評価に有効と考えられている．①循環血液量減少性ショックでは，末梢組織内乳酸は上昇，ピルビン酸は減少した．LP 比は上昇し，特に有用な指標であった．②敗血症性ショックは，末梢細胞の酸素呼吸障害，言い換えればミトコンドリア内における呼吸障害が示唆される病態である．従って LP 比よりも常に上昇傾向である乳酸，ピルビン酸が指標として有効であった．

S4-2　Adenosine 5´-triphosphate（ATP）によるブタ気道平滑筋の収縮機構

[1]東北大学病院総合診療部，[2]東京女子医科大学呼吸器内科，[3]東北大学呼吸器内科，[4]仙台気道研究所

○奈良　正之[1]，長岡　深雪[2]，玉田　勉[3]，田村　弦[4]，本郷　道夫[1]

ATP は炎症性メディエーターとして気管支喘息の病態に関与するが，気道平滑筋への直接効果は不明な点が多い．我々は電気生理学的手法（パッチクランプ法）により，ATP がブタ気管平滑筋細胞に及ぼす効果を検討した．ATP（100 μM）を細胞外から投与すると内向き電流が惹起された．ATP は P2X 受容体（陽イオン選択性のチャネル）または P2Y 受容体（G 蛋白共役性受容体）を介すると考えられるが，電流はホスホリパーゼ C 阻害薬には反応せず，P2X 受容体を介した電流と考えられた．この電流は非特異的 P2X 受容体阻害薬（PPADS，suramin）では抑制されないものの，$P2X_4$ 受容体の特異的エフェクターである ivermectin を投与すると約 3 倍に増強するため，$P2X_4$ 受容体を介した電流であることが示唆された．RT-PCR 解析, Western blot 解析, 免疫染色において平滑筋細胞上に $P2X_4$ 受容体の存在を確認した. 非特異的 Ca^{2+} チャネル阻害薬（SKF-96365）はこの電流を約半分に抑制する一方，ATP により上昇する細胞内 Ca^{2+} 濃度を抑制し，ATP で収縮した平滑筋を弛緩させた．以上のことから，ATP は $P2X_4$ 受容体を介した Ca^{2+} 流入を惹起することで気道平滑筋の収縮に寄与していることが示唆された．

S4-3　食道 ESD 後狭窄における筋線維芽細胞の役割

[1]埼玉医科大学国際医療センター　消化器病センター，[2]済生会川口総合病院　病理診断科

○合川　公康[1]，宮澤　光男[1]，岡田　克也[1]，利光　靖子[1]，岡本　光順[1]，野中　康一[1]，喜多　宏人[1]，伴　慎一[2]，小山　勇[1]

背景：食道に対し広範に内視鏡的粘膜下層剥離術（ESD）を行うと高頻度に狭窄をきたす．そのため，食道表在がんの治療適応が制限されているのが現状である．食道表在がんの低侵襲治療確立のためには，ESD 後狭窄の機序とそれを考慮した狭窄予防法の開発が不可欠である．今回大動物を用い, 全周性 ESD 後, 狭窄に至る経過を内視鏡的，組織学的に検討し，狭窄予防におけるステロイド剤の効果を評価した．

方法：①ESD 後狭窄の組織学的検討；3 頭のブタの食道に長径 2 cm 全周性の粘膜欠損を作成し，その治癒過程を内視鏡的に観察するとともに，それぞれ，ESD 後 1 週，3 週，2 ヶ月後に食道を摘出し病理学的に検討した（経過観察群）．②ステロイド局注の狭窄予防効果；2 頭のブタに①同様の粘膜欠損を作成後，第 1 週後より毎週，ステロイド局注を施行し，その経過を内視鏡的に観察するとともに，8 週で食道を摘出し組織学的に検討した（ステロイド局注群）．

結果：①経過観察群すべてにおいて，1 週間後から ESD 部の軽度狭窄を認め，3 週間後にはピンホール状の完全狭窄をきたした．組織学的には 1 週間後に潰瘍底の肉芽組織と筋層の間に横走する myofibroblast（MF）の増生を認めた．3 週間後には潰瘍は完全に再生上皮に覆われ，粘膜下層は MF のさらなる増生を認めた．また，狭窄部に隣接した筋層は薄くなっていた．② ESD 後ステロイド局注群では内視鏡的には 8 週後にも強い狭窄は認めずファイバーは通過可能であったが，粘膜欠損部は再生上皮に覆われていなかった．また，粘膜下層の MF はステロイド非投与群と比較すると少なかった．

考察：食道 ESD 後狭窄の一因として粘膜下層の MF の増加が考えられた．ステロイド局注は，MF 増加を抑制し，狭窄の進行を軽減させることが示唆された．また，MF の増加は骨髄細胞由来以外に平滑筋細胞からの脱分化も関与している可能性が示唆された．

S4-4　DSS 誘発腸炎モデル W/W^{v} 変異マウス回腸の収縮および電気活動の変化

奈良県立医科大学　生理学第二講座

○松吉　ひろ子，中川　正，川原　勲，後藤　桂，張　國興，小畑　孝二，高木　都

【はじめに】 われわれは，これまで肥満細胞が先天的に欠損している W/W^{v} 変異マウス回腸において，筋層間のカハールの間質細胞（ICC-MY）が先天的に欠損しており，筋層深部の ICC（ICC-DMP）と NO 作動性の腸壁内神経とのクロストークにより，不規則な収縮と電気活動を示すことを明らかにしてきた（*Auton Neurosci* **119**：25-35，2005）.【目的】本研究の目的は，(1) この変異マウスに 3% のデキストラン硫酸ナトリウム（DSS；分子量 40,000）を 7 日間飲ませて腸炎モデルを誘発できるかどうかを調べること，(2) 腸炎モデルが誘発できればこの変異マウス回腸の収縮と電気活動がどのように変化するかを調べることである.【結果】肥満細胞が欠損していても，この W/W^{v} 変異マウス結腸に腸炎を誘発することができた．そして見かけ上は腸炎を起こしていない回腸の収縮と電気活動は，DSS を飲ませていない W/W^{v} 変異マウスの回腸と比べて，さらに長い活動静止期を示す不規則な収縮とスパイク電位を伴う活動電位の発生が見られた．この長い活動静止期は N-nitro-L-arginine methyl ester（L-NAME）投与により，顕著に短縮した．この変異マウス回腸には肥満細胞は欠損しているので，これらの効果に肥満細胞から発生する iNOS/NO が関与する可能性は除外できる．そこで，抗 nNOS 抗体と抗 iNOS 抗体による免疫染色の結果，nNOS 陽性神経の発現は炎症モデルでも変わらないが，iNOS の発現は強くなっていた.【結論】W/W^{v} 変異マウス DSS-腸炎モデル回腸における長い活動静止期を示す不規則な収縮は，ICC-DMP と iNOS を発現している腸壁内 NO 作動性神経のクロストークに起因すると結論される．

S4-5　Th2 優位腸炎モデルにおける大腸平滑筋の収縮性亢進に，ERK1/2 及び p38 MAPK シグナル伝達経路が重要な役割を果たす

[1]北九州市立医療センター消化器科，[2]Smooth Muscle Research Group，Department of Biochemistry & Molecular Biology，University of Calgary，[3]九州大学大学院医学研究院病態制御内科学

伊原　栄吉[1]，Lori Moffat[2]，Mona Chappellaz[2]，Michael Walsh[2]，秋穂　裕唯[3]，中村　和彦[3]，三澤　正[1]，Justin MacDonald[2]

【背景】 各種メディエーターを活性化する腸管炎症は，固有筋層平滑筋の性質自体に影響を及ぼし，腸管運動異常を引き起こすと考えられている．くも膜下出血などの病的状態においては，血管平滑筋収縮装置カルシウム感受性の変化が重要な役割を果たすが，RhoK，PKC，ZIPK 及び ILK などが関与する．一方，我々は腸管平滑筋においては，ERK1/2 及び p38 MAPK が収縮機能に重要な役割を果たすと報告した.【目的】Th2 優位腸炎モデルにおける大腸平滑筋収縮異常に ERK1/2 及び p38 MAPK が関与するか否かを検討した.【方法】Balb/c マウスに 5%　DSS を 7 日間経口投与し，Th2 優位腸炎モデルマウスを作成し，その遠位大腸輪走平滑筋条片を用いて等尺性張力を測定した.【結果】腸炎を惹起した大腸組織では，IL-4 及び IL-6 の有意な上昇を伴う Th2 優位腸炎モデルが作成できた．カルバコール（CCh）による収縮反応は，炎症を惹起された大腸平滑筋条片において約 2 倍に増強されたが，KCl 脱分極刺激による収縮反応には影響を与えなかった．また，α-toxin 処理，大腸平滑筋脱膜下標本において，CCh 刺激によるカルシウム感受性増加の程度は，炎症を惹起された大腸平滑筋条片において有意な増加を認めた．すなわち，Th2 優位腸炎における大腸平滑筋収縮異常の重要な機序の一つにカルシウム感受性変化が関与していた．この炎症を惹起された大腸平滑筋条片の収縮性亢進は，ERK1/2 経路阻害剤（PD98059, U0126）及び p38MAPK 阻害剤（SB203580, SB202190）の前処置により抑制された．さらに免疫組織染色の結果，ERK1/2 及び p38MAPK の発現量は，炎症を惹起された大腸平滑筋において有為に増加していた.【考案及び結語】Th2 優位腸炎モデルにおいて，大腸平滑筋収縮性亢進に ERK1/2 及び p38 MAPK が重要な役割を果たす．しかるに，MAPK がどのような機序で腸管平滑筋収縮に貢献するかは未だ完全には明らかでない．そこで，本発表では MAPK が MLCP を制御することにより，腸管平滑筋収縮に寄与する可能性についても同時に論ずる．