

Y-1 腎輸入・輸出細動脈平滑筋におけるミオシン軽鎖リン酸化に対するアンジオテンシン II の作用

¹旭川医科大学医学部生理学講座, ²カルガリー大学医学部平滑筋研究グループ

○竹谷 浩介¹, Kathy Loutzenhiser², Xuemei Wang², Iris Kathol², Michael P Walsh², Rodger Loutzenhiser²

腎輸入・輸出細動脈はそれぞれ糸球体の流入・流出抵抗を調節し、腎血流量や濾過率の制御に重要な役割を果たしている。これらの血管は糸球体を介して隣接しているにもかかわらず、その興奮収縮連関はかなり異なる。一方で、いずれの血管も Rho キナーゼの阻害剤 Y27632 により弛緩することから、Rho キナーゼを介した Ca^{2+} 感受性亢進機構が収縮調節に関与していることが示唆されている。本研究ではこれら 2 種類の腎細動脈平滑筋におけるアンジオテンシン II 誘導収縮時のそれぞれのシグナル伝達経路の探索を試みた。一般に、シグナル経路の探索には薬理学的手法と同時に生化学的手法により種々の制御タンパク質のリン酸化状態を定量する事が行われているが、腎細動脈は極めて微小であるため、これまで生化学的な解析ができなかった。そこで我々は超高感度のミオシンリン酸化定量法を開発し、シグナル伝達経路探索のための指標とした。アンジオテンシン II (10 nM) で刺激した腎細動脈平滑筋に於いて、いずれの場合もミオシン軽鎖のリン酸化量が増加したが、両者のリン酸化には大きな違いが見られた。アンジオテンシン II は輸出細動脈平滑筋に於いて、ミオシンの二重リン酸化 (pThr18, pSer19) を引き起こしたが、輸入細動脈平滑筋では通常のリン酸化 (pSer19) のみが見られた。このことはこれら 2 種類の腎細動脈に於いて異なる収縮制御機構が働いている可能性を強く示唆している。一方、Rho キナーゼ阻害剤 Y27632 は両血管に於いて、アンジオテンシン II によるミオシンリン酸化を同程度に阻害した。これは両血管の収縮に対する Y27632 の効果と一致していた。以上の結果は、両血管のアンジオテンシン II 誘導性収縮には Rho キナーゼ活性が必須であるが、それ以外の調節因子・シグナル経路は異なる可能性があることを示唆している。

Y1-2 Epac1 は血管障害時の内膜肥厚形成を促進する

¹横浜市立大学医学部循環制御医学, ²横浜市立大学附属市民総合医療センター臨床検査部, ³早稲田大学先進理工学部生命医科学科, ⁴徳島大学循環器内科

○加藤 優子^{1,2}, 横山 詩子¹, 奥村 敏¹, 南沢 享³, 佐田 政隆⁴, 宮島 栄治², 石川 義弘¹

【背景】血管形成術後の内膜肥厚には、血管平滑筋細胞 (VSMC) の遊走が大きな役割を果たす。我々は、Exchange protein activated by cyclic AMP 1 (Epac1) の発現が傷害後の血管で増加し、Epac1 が VSMC の遊走を促進することを報告した。

【目的】Epac1 欠損マウスを用いて Epac1 が、VSMC の遊走を促進する分子メカニズムを明らかにし、内膜肥厚形成に及ぼす影響を *in vivo* で検証する。

【方法】野生型および Epac1 欠損マウスの胸部大動脈 VSMC を、血管障害で主要な役割を担う血小板増殖因子 (PDGF) および塩基性繊維芽細胞増殖因子 (bFGF) で刺激し、顕微鏡下で細胞の移動距離を定量した。コフィリンの脱リン酸化と IQGAP1 を指標として細胞極性を、免疫組織化学染色を用いて検討した。さらに、野生型および Epac1 欠損マウスの大腿動脈をワイヤーで傷害した血管障害モデルを作製し、4 週間後に内膜肥厚度を評価した。

【結果】Epac1 欠損マウスの VSMC では野生型と比較して、PDGF の刺激による始点からの細胞遊走距離が有意に低下し (0.9-fold, $P<0.001$, $n=181,216$)、先端端でのコフィリン脱リン酸化をともなう極性を有する細胞の割合と、IQGAP1 陽性のラメリポディア形成の程度が有意に低下していた (0.07-fold and 0.4-fold, $P<0.05$, $n=5-7$)。bFGF の刺激でも同様の結果が得られた。さらに、血管障害モデルマウスにおける内膜肥厚度は、Epac1 欠損型マウスで野生型に比べ有意に低下していた (0.6-fold, $p<0.05$, $n=5$)。

【結論】Epac1 はコフィリンの脱リン酸化を介して極性形成を促進することで VSMC の遊走に関与し、さらに、血管傷害後の内膜肥厚形成に重要な役割を果たすことが示唆された。

Y1-3 2型糖尿病時における Akt/NOS 経路を介した血管弛緩反応減弱と GRK2/ β -Arrestin2 の関係

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

○田口 久美子, 小林 恒雄, 松本 貴之, 鎌田 勝雄

【目的】 糖尿病性血管障害の原因の1つとして血管内皮機能の低下, 特に NO 産生系の障害により生じることが知られている。我々は以前に $\alpha 2$ 受容体刺激による NO 産生は, Akt/eNOS 経路を介し, 2型糖尿病マウス胸部大動脈においてこの経路の活性減弱による内皮機能の低下・弛緩機能の減弱を報告した。近年, GRK2 (G-protein coupled receptor kinase 2) が内皮細胞において NO 産生を抑制的に制御していると報告された。最近, GRK2 の下流タンパクである β -Arrestin2 がインスリン刺激により Akt と結合し, インスリン抵抗性を改善するとの報告があった。そこで, 今回, 糖尿病時における Akt/eNOS 経路の活性減弱による血管内皮機能低下と GRK2/ β -Arrestin2 の関係について検討を行った。

【結果】 2型糖尿病マウスにおいて, 1) 血圧上昇, 胸部大動脈における clonidine ($\alpha 2$ 受容体刺激薬) 誘発血管弛緩反応の減弱および GRK2 発現の増加を示した。また, これらは, GRK2-inhibitor 処置濃度依存的に改善された。また, GRK2-inhibitor 処置によりインスリン抵抗性の改善も認められた。2) 胸部大動脈では, GRK2 活性が高く, 膜分画において GRK2 発現が増加していることが確認され, GRK2-inhibitor 処置により, これらの活性抑制, 発現減少を示したことから, GRK2-inhibitor は糖尿病時に GRK2 の膜移行を抑制していることが示唆された。3) clonidine 刺激時, β -Arrestin2 の膜移行が有意に抑制されていたが, GRK2-inhibitor 処置により膜移行が増加した。3) clonidine 刺激による Akt/eNOS 活性減弱は GRK2-inhibitor 処置により改善した。

【考察】 糖尿病時には, GRK2 の内皮細胞膜上への移行が異常に起こり, $\alpha 2$ 受容体刺激による β -Arrestin2 の膜移行を抑制的に制御することで, Akt/eNOS 活性が減弱し, NO 産生低下・弛緩反応の減弱・血圧上昇が認められたものと示唆される。また, 今回, GRK2-inhibitor により, GRK2 の膜移行を制御し, $\alpha 2$ 受容体刺激による β -Arrestin2 の膜移行が促進され, Akt/eNOS の活性化が生じた可能性が示唆された。同時に, GRK2-inhibitor によるインスリン抵抗性改善効果も示されたことから, 本研究は 2 型糖尿病に対する新しい治療戦略を提唱するものである。

Y1-4 ヒト近位尿道平滑筋のアドレナリン作動性神経 prejunctional site のムスカリン受容体はノルアドレナリン (NA) の放出を調節している

¹東京都健康長寿医療センター泌尿器科, ²熊本労災病院医療情報部, ³熊本労災病院泌尿器科, ⁴埼玉社会保険病院泌尿器科, ⁵東京大学医学部泌尿器外科学

○榎永 浩一¹, 吉田 正貴², 工藤 惇三³, 永田 卓士⁴, 本間 之夫⁵, 粕谷 豊¹

【緒言】 尿道の収縮はアドレナリン作動性神経から放出される NA により調節されているが, 尿道にはコリン作動性神経も分布しており, これから放出されるアセチルコリンはアドレナリン作動神経の prejunctional site に存在するムスカリン受容体を介し NA の放出を調節しているとの報告がある。今回はこのムスカリン受容体サブタイプを明らかにするとともに, 抗コリン薬の作用についても検討した。

【方法】 膀胱全摘術の患者から摘出した近位尿道より平滑筋条片を作成し, マイクロダイアリシス用チューブを挿入して, 0.05 mM のアスコルビン酸を含む Ringer 液を還流させながら, 等尺性トランスデューサーに接続して, 筋浴槽内に懸垂固定した。経壁電気刺激 (EFS) による張力変化を観察しながら還流液を回収し, その中に放出された NA 量を HPLC-ECD により測定した。各種抗コリン薬の NA 放出量に及ぼす影響について検討した。

【結果】 EFS は周波数依存性の NA 放出と尿道平滑筋の収縮を起こした。M1 選択薬の pirenzepin と M3 選択薬の 4-DAMP の前処置は EFS による NA 放出量と平滑筋の収縮に影響しなかったが, M2 選択薬の methoctramine の前処置は NA 放出量と平滑筋の収縮反応を有意に増加させた。プロピペリンとオキシブチニンの前処置は EFS による NA 放出量と平滑筋の収縮に影響をおよぼさなかったが, トルテロジンの前処置は NA 放出量と収縮を有意に増加させた。

【結論】 ヒト尿道のアドレナリン作動性神経の prejunctional site には M2 受容体が存在し, これが NA 放出量を抑制して尿道抵抗を調節していると考えられた。また, トルテロジンは M2 受容体に作用し, アドレナリン作動性神経からの NA 放出量を増加させ, 尿道抵抗を増加させることが示唆され, これが尿禁制機構メカニズムに関与している可能性が推察された。

Y1-5 マウス眼内平滑筋のムスカリン受容体刺激応答

旭川医科大学生理学講座自律機能分野

○赤尾 鉄平, 竹谷 浩介, 宮津 基, 高井 章

毛様体筋や瞳孔括約筋のムスカリン受容体刺激に応じた収縮の持続相においては、他の多くの平滑筋におけるのと同様、細胞外から流入する Ca^{2+} が重要な役割を演じている。先にわれわれは電気生理学的実験により、膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルが発現していないことを特徴とする毛様体筋において、この Ca^{2+} 流入が2種類の単位コンダクタンスの大きく異なる非選択性陽イオンチャネル (NSCCL と NSCCS) を介して起ることを示した。一方、RT-PCR 法や免疫染色により、分子候補としての TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC6 や Orai1 などの毛様体平滑筋細胞における発現を確認している。

しかし、眼内平滑筋細胞は、信号伝達系の毛様体筋細胞は伝達物質応答性を保持した状態での培養が困難であり、遺伝子 knock-down などの常套的手段が適用しにくい。そこで、電気生理学的に同定されたイオンチャネルと TRPC や Orai-1 との関連を突止めるには至っていない。そこで、遺伝子改変マウスの導入を目指した予備実験を開始した。従来、そのあまりの小ささからこの分野の生理学的研究にほとんど用いられてこなかったマウス眼球の毛様体-虹彩領域において、われわれはすでに M_3 型ムスカリン受容体などの発現している平滑筋細胞の同定に成功している。また、輪状に摘出した微小な瞳孔括約筋標本において carbachol 刺激による張力応答を安定的に記録する方法も確立した。さらに、単離した瞳孔括約筋細胞における細胞内 Ca^{2+} 測定にも取り組み、ほぼ安定的に記録が可能な段階に漕ぎ着けている。また、intact なマウス個体において瞳孔括約筋の収縮を、瞳孔のビデオ観察により実時間記録する方法を開発した。これは、実験に用いるのに有用な遺伝子改変マウスを手早くスクリーニングする有用な方法を提供するものと期待される。

Y1-6 ATL 細胞膜表面上への CD3 の発現にはミオシン軽鎖 (MYL9) が不可欠である

北里大学医学部血液内科学

○青木 卓巳, 宮崎 浩二, 東原 正明

【背景】我々は第52回本学会において、血液細胞から3種類のミオシン軽鎖 (MLC-2A, MLC-2B, MLC-2C) を同定し、その中で血管平滑筋のミオシン軽鎖とアミノ酸配列が酷似している MLC-2C (一般名: MYL9) が、ATL 細胞 (Jurkat 細胞) 膜表面上への CD3 の発現機序に深く関与している可能性があることを発表した。今回、我々はその事象を裏付ける新たな実験結果を得たので追加報告する。

【方法】① CD3 が細胞膜表面上に強発現している ATCC の Jurkat, Clone E6-1 における MYL9 の発現の有無を RT-PCR で調べた。② 10%FCS を添加した RPMI1640 の下で培養し始めた際の Jurkat 細胞は CD3 の細胞膜表面上への発現は抑制されており、MYL9 の発現も RT-PCR にて認められないが、それを長期間培養し続けた際の CD3 の表面発現率の変化をフローサイトメトリーで測定し、MYL9 の発現の有無を RT-PCR で調べた。③ Jurkat 細胞を TPA 処理し 24 時間後の CD3 の表面発現率の変化と MYL9 の発現の有無を調べた。

【結果と考察】① Jurkat, Clone E6-1 において MYL9 の発現が確認された。② 約2ヶ月間培養した Jurkat 細胞では、CD3 の表面発現率の増加を 30% 程度認め、MYL9 の発現も確認された。③ TPA 処理した Jurkat 細胞では、CD3 の表面発現率の増加を 60% 程度と有意に認めるも、明らかな MYL9 の発現は確認されなかった。この CD3 の表面発現率と MYL9 の発現の乖離の原因について現在検討中である。

我々は既に MYL9 を発現していない Jurkat 細胞にその遺伝子を導入すると、細胞膜表面上へ CD3 が発現することを報告した。これらの結果から、ATL 細胞膜表面上への CD3 の発現において、ミオシン軽鎖 (MYL9) の発現が不可欠であるということが推測される。

Y1-7 血管平滑筋収縮の Ca^{2+} -sensitization を特異的に抑制可能な新規の植物由来成分

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

○宮成 健司, 野地本 和孝, 岸 博子, 加治屋 勝子, 高田 雄一, 木村 友彦, 萩原 弘, 小林 誠

前触れなく突然発症する血管攣縮は、突然死の主要な原因の1つであるが、その病態として、Rho キナーゼによる血管平滑筋収縮の Ca^{2+} -sensitization が注目されている。我々は、その上流の病的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。タンデム型質量分析計により測定されたヒト髄液中 SPC 濃度は、血管攣縮患者では20~30 倍も増加しており、実際にイヌ髄腔内に投与された SPC は、重篤な脳血管攣縮を引き起こした。さらに、SPC による血管攣縮は Rho キナーゼ阻害剤で抑制されたことから、血管攣縮における SPC/Rho キナーゼ経路の重要性が示唆された。次に、我々は、血圧維持を担う血管の Ca^{2+} 依存性収縮を抑制せずに、SPC による Ca^{2+} -sensitization のみを抑制する特効薬を探索し、エイコサペンタエン酸 (EPA) を見出した。実際に、EPA はヒトの脳血管攣縮に対して著効を示した。EPA は、魚油の成分でもあるため、病気になった後にしか処方できない医薬品とは異なり、食品として、血管病になる“前”に摂取可能であり、真の血管病予防が可能であるという利点を有する。しかしながら、魚油は、海洋汚染などの環境の影響を受け易く、供給が不安定である。そこで、我々は、環境を制御しやすく、安定供給が可能な植物に着目した。多くの植物を探索した結果、SPC による Ca^{2+} -sensitization を強力に抑制する植物を発見した。しかしながら、同時に血管の Ca^{2+} 依存性収縮も抑制したため、液体クロマトグラフィーによる分離を行った結果、SPC による Ca^{2+} -sensitization を抑制し、 Ca^{2+} 依存性収縮をほとんど抑制しない分画を見出すことができた。これらの結果は、この植物中に血管攣縮の抑制成分が含まれている可能性、および血管病を予防できる機能性食品としての可能性、を示唆している。

Y1-8 血管平滑筋アクチン・ストレスファイバーの形成におけるパキシリンの重要性

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

○張 影, 岸 博子, 加治屋 勝子, 高田 雄一, 小林 誠

Rho キナーゼ (ROK) は、繊維芽細胞のストレスファイバー (SF) 形成において重要な役割を果たしている。我々は、その上流の新規シグナル分子として Fyn チロシンキナーゼを同定した。線維芽細胞において、活性型・不活性型 Fyn は、それぞれ ROK 依存性にアクチン SF 形成を促進・抑制した。スフィンゴシルホスホリルコリン (SPC) で細胞を刺激すると、内在性 Fyn が活性化され、ROK 依存性にアクチン SF が形成された。さらに、SF 形成時には、細胞接着斑において、Fyn と接着斑キナーゼ (FAK) が、アクチン SF 末端部位で共局在している事を見出した。近年、分子量 68 kDa のパキシリンが、細胞接着斑に関与し、また、細胞骨格に関するアクチン結合タンパク質と結合している事が知られている。しかし、細胞接着斑における、アクチン SF 末端部位での Fyn - FAK 複合体の構築と SF 形成に果たすパキシリンの役割については、報告は皆無である。さらに、このアクチン SF 形成システムが血管平滑筋細胞において果たす役割についても全く不明である。そこで本研究では、血管平滑筋細胞において、SPC 刺激によるアクチン SF 形成のシグナル伝達機構におけるパキシリンの役割を検討した。HaloTag-Fyn 野生型と、HaloTag-Fyn 変異体 (活性型と不活性型) を、ヒト冠状動脈平滑筋細胞に強制発現させた後、SPC で刺激し、免疫沈降法と細胞免疫蛍光染色法を用いてシグナル分子間相互作用を検討した。その結果、SF 形成時には、アクチン SF 末端部位において Fyn-FAK 複合体とパキシリンは相互作用する事が分かった。さらに、RNA 干渉によってパキシリンをノックダウンすると、SPC によるアクチン SF 形成が抑制された。以上の結果から、SPC/Fyn/ROK 経路による血管平滑筋アクチン SF の形成において、パキシリンは重要な役割を果たしていると考えられた。

Y2-1 5-HT₄ 受容体作動薬モサブリドによるマウス回腸切離吻合術後の腸壁内神経系再生・新生促進作用の 2 光子顕微鏡による in vivo イメージング法での解析

¹奈良県立医科大学医学部医学科生理学第二講座, ²奈良県立医科大学医学部医学科分子病理学講座, ³奈良県立医科大学医学部医学科消化器総合外科学講座, ⁴自然科学研究機構生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門

○後藤 桂¹, 加藤 剛⁴, 國安 弘基², 松吉 ひろ子¹, 川原 勲¹, 藤井 久男³, 鍋倉 淳一⁴, 高木 都¹

【背景と目的】我々はこれまでに 5-HT₄ 受容体作動薬クエン酸モサブリド (以下 MOS) は, 下部消化管切離吻合術後に, 損傷した壁内神経系の再生・新生促進作用を有することを見いだしている。しかしホールマウント標本を用いた吻合部の組織修復過程で生じる肉芽組織深部の詳細な観察は, これまで共焦点顕微鏡励起光の深部到達度に限界があり不可能であった。そこで本研究では壁内神経細胞が蛍光標識された遺伝子改変マウスを用い, 高深部到達性かつ低侵襲性の赤外領域光を励起光源とする非線形光学系-2 光子励起顕微鏡 (以下 2PM) を用いて小腸切離吻合術 (SITRA) 後形成される肉芽組織深部の in vivo イメージングを施行した。更に損傷腸壁内神経系の再生・新生促進作用に対する MOS の効果の解析を試みた。【方法】Thy1 promoter GFP H-line マウスを用い第 1 群は無処置とした (SITRA-)。第 2 群及び 3 群においては Nembutal 麻酔後, 外来性自律神経は温存して SITRA を施行し, 術後飲水のみ (SITRA+MOS-) 及び, 術後 100 μ M MOS 溶液を飲水投与し (SITRA+MOS+), 経過観察を行った。術後 7 日目にマウスを再度麻酔後, 回腸を測定チャンバーに固定, 2PM 下で肉芽組織深部の観察を行った。【結果】SITRA- 群において縦走筋層と輪走筋層の境界で神経叢及び神経節が認められた。SITRA+MOS- 群では, 肉芽組織内に神経節は認められなかったが SITRA+MOS+ 群では新生したと思われる神経節が認められた。【結論】2PM によるイメージング法は従来観察が困難であった肉芽組織深部の観察に有用である事が示唆された。また SITRA 後, 短期間の (~1 週間) MOS 投与でも神経新生効果がみられることが明らかとなった。今後更に観察を進め定量的な解析を施行する予定である。

Y2-2 胃切除患者における愁訴調査と胃電図検査との関係

川崎医科大学消化器外科

○村上 陽昭, 松本 英男, 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】胃切除患者における愁訴調査と Multichannel electrogastrogram (M-EGG) との関係进行明らかにする。

【対象】迷走神経を切断した幽門側胃切除術 (DG) を施行された患者 16 人と迷走神経を温存した幽門側胃切除術 (VP-DG) を施行された患者 11 人。

【方法】術後 2 週間後に M-EGG を測定した。Medtronic 社製の PolyGraf EGG を用いて測定し, POLYGRAM NET で分析, 記録した。空腹時測定が終了後, 市販のおにぎりを 2 個, お茶と共に摂取させた。食前後, 各 20 分間測定した。幽門側胃切除術後のため評価対象チャンネルは Ch1 (胃底部), Ch2 (胃体上部) とした。胃電図パラメーターは %normal (正常周波数域の時間的割合) と %slow wave coupling (%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) を使用した。また愁訴調査として Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) の日本語版を使用した。

【結果】VP-DG 症例で酸逆流スコアと食後の %slow wave coupling (%SWC) が負の相関を示した。(相関係数 -0.59 $p=0.05$) DG 症例では酸逆流スコアと食後 %SWC の間には相関は認めなかった。両群共に, 他の症状スコアと %normal と %SWC との間には相関は認めなかった。

【考察】腹部症状の発生には迷走神経に含まれる知覚神経が重要な役割を果たしていると考えられている。DG 群では迷走神経を切断しているために臨床症状が抑制され, M-EGG の測定値と GSRS スコアの間に相関を認めなくなったと考えた。一方, VP-DG では迷走神経が温存されていることから, 臨床症状の抑制が発生せず, M-EGG の測定値と GSRS スコアの間に相関を認めたと考えた。

Y2-3 TS-1（経口抗悪性腫瘍剤）の有害事象発生の予測因子についての検討～¹³C 呼気試験による小腸吸収能と 5-FU 血中濃度と有害事象は相関するの～

川崎医科大学消化器外科

○東田 正陽, 松本 英男, 遠迫 孝昭, 牟田 優, 甲斐田 祐子, 窪田 寿子, 村上 陽昭, 平林 葉子, 岡 保夫, 奥村 英雄, 浦上 淳, 山下 和城, 平井 敏弘

【目的】 TS-1 内服中に有害事象の発生は稀でない。当科では TS-1 の 5-FU 血中濃度測定を実施し、その個人差は大きく、血中濃度が高値になる症例は有害事象の発生が多い。この血中濃度測定は繁雑であり患者の負担も大きい。そこで、非侵襲的方法により TS-1 血中濃度を予測することを目的に、¹³C 呼気試験を用いることにより小腸吸収能を計測し、TS-1 血中濃度との相関関係を検討し簡便な TS-1 の 5-FU 血中濃度の指標となりうるかを検討する。さらに有害事象の予測規定因子として、CDHP や尿中ウラシル/ジヒドロウラシル、単核球中 DPDmRNA を測定し、5-FU 血中濃度と比較し有害事象の予測因子になりうるかを検討する。

【対象と方法】 07 年 5 月～2011 年 4 月における TS-1 内服患者、31 名。¹³C 酢酸を内服し、Breath ID™を用いて小腸吸収能を評価し TS-1 の血中濃度との相関関係を検討した。また、CDHP や尿中ウラシル/ジヒドロウラシル、単核球中 DPDmRNA を測定し、5-FU 血中濃度を比較した。

【結果】 平均年齢は 67.1 歳。5-FU 濃度 (AUC) と小腸吸収能 (AUC) には相関関係を認めなかった (相関係数 0.05)。小腸吸収能 Cmax と 5-FU 血中濃度の Cmax に相関を認めた。また小腸吸収の消失率 (Kel) と 5-FU 濃度 (AUC) には相関関係を認めた (相関係数 0.459, $p=0.01$)。しかし、有害事象発生との検討では、分散分析にて 5-FU 血中濃度高値例では $P=0.04$ と有意差を認めたが、Kel 値については $P=0.166$ と明らかな有意差を認めなかった。さらに 5-FU 血中濃度と CDHP, DPD との関係についても検討したため報告する。

【考察】 ¹³C 呼気試験による小腸吸収能は 5-FU 血中濃度の予測因子になりうる可能性がある。

Y2-4 消化管ペースメーカ活動の空間的共時性解析

名古屋大学医学部

○谷口 瑞毅, 劉 紅年, 中山 晋介

消化管ペースメーカ活動において、ネットワークを形成している ICC 細胞 (Interstitial Cells of Cajal) がペースメーカ細胞として働き、電気活動の伝播にも貢献しているということが、明らかになってきている。この研究では、ICC がどのように連携作用しているか、どのような内因性物質によって作用しているかについて、微小電極アレイ (microelectrode array: MEA) を利用して、腸管ペースメーカ活動の空間的共時性を解析した。

相互相関と位相差マッピング (phase-shift map) は、組織学的及び機能的な違いに基づく腸管ペースメーカ活動における変化を立証するのに役立った。

野生型 (wild-type: WT) マウスと、ペースメーカ細胞数が減少しネットワークに障害のある W/W^p マウスの小腸筋層を用いて計測を行った。TTX と Nifedipine を投与して、平滑筋と神経活動を抑制し、ICC の電位活動を観察した。WT マウスでは、ペースメーカ電位の電気伝播が見られたのに対して、 W/W^p マウスでは、不規則で微弱な活動が発生していたが、方向性のある伝播は見られなかった。

WT マウス小腸筋層標本では、5-HT の投与によりペースメーカ電位振幅の増大だけでなく、ペースメーカ活動の空間的なカップリングが増強された。また、5-HT の取り込みを阻害する SSRI である fluoxetine の投与でも同じ様な作用を認めた。一方、 W/W^p マウスでは 5-HT, fluoxetine 投与は殆ど影響しなかった。これらの結果は、内因性 5-HT は ICC ペースメーカ活動に重要な働きをすることを示唆した。

Y2-5 パルス励起型磁気センサによる平滑筋組織発生磁気活動計測

名古屋大学医学部

○熱田 諭志, 新見 孝夫, 内山 剛, 中山 晋介

生体には電氣的活動興奮を発生する様々な臓器組織が存在する。この活動に伴い発生する磁界を超高感度の磁気センサを用いて検出できれば、医学・生物学において広く応用できる非侵襲的な生体活動計測法となりうる。

本研究では、パルス励起型磁気センサ (MI センサ) を改良して感度を pT レベルまで向上することにより、モルモットの平滑筋組織において発生する自発性電気活動に伴う生体磁場を初めて検出することに成功した。まず、ペースメーカ電位を規則正しい周期で発生させるモルモット胃前庭から幽門部の筋層組織において、磁気信号を電気信号と同時に計測した。この2つの信号の同期は、計測される磁気信号が胃筋層内のペースメーカ電位活動により生じたものであることを示した。

また、モルモット盲腸紐、門脈、膀胱等の平滑筋組織からも不規則ではあるが、自発的な磁気信号を検出することができた。さらに、 K^+ チャネルをブロックするテトラエチルアンモニウム (TEA) を投与して、自発性スパイクを頻発させた場合に、大きな磁気信号の変化を観察することができただけでなく、スパイク電位と同期する磁気活動も同時計測した。

使用した MI センサのノイズレベルは、電流に換算して $1\mu A$ 程度である。私たちはこの MI センサの磁気感度・特異性の向上へ取り組んでおり、いくつかの改良点を見いだしている。今後、ES 細胞や iPS 細胞から作成する再生医療組織等の機能評価や、心電計のような日常的な生体磁場の検査ツールとできるよう開発を進めたい。