

第24回 日本平滑筋学会総会講演抄録 (I)

会 長 東京慈恵会医科大学教授 酒 井 敏 夫
昭和57年6月12, 13日 東京都 東京慈恵会医科大学

シンポジウム I

平滑筋とCaイオン

1. カエル胃平滑筋の収縮におけるCaイオン動態の検討

札幌医科大学 外科学第一講座

篠 原 義 文, 戸 塚 守 夫, 早 坂 晃

札幌医科大学 生理学第一講座

小 坂 功, 小 原 一 男, 藪 英 世

多くの場合, 平滑筋のKおよびACh拘縮は phasic および tonic な component からなる二相性収縮を示す (Kuriyama, 1981) が, ガマガエルおよびウシガエル胃輪状筋細束は, きわめて速い phasic 収縮のみを示す (篠原ら 1981)。

我々は, この輪状筋の興奮収縮連関機構を解明する目的で, K および ACh 拘縮を用いて, Ca イオン動態を中心に検討したので得られた成績を報告する。

材料および方法

材料および張力測定の方法は, 前報 (篠原ら, 1981) と同様である。 ^{45}Ca uptake は胃輪状筋細束 (直径約 $500\mu\text{m}$, 長さ 3cm) の両端を絹糸で結紮して, ガラスフックに両端を固定し, La^{3+} 法 (Deth, 1978) (10mM La^{3+} , $0^{\circ}\sim 2^{\circ}\text{C}$, 60分洗浄) により測定した。 loading 液中の ^{45}Ca は $1\mu\text{Ci/ml}$ とした。

結果ならびに考察

K 脱分極下の ACh 拘縮は, 脱分極直後には著明に抑制され次いで脱分極時間とともに回復し約 10 分後には control level 迄回復する (篠原ら, 1981)。 この際, ACh 添加前 30 秒間 1mM EGTA を含む $\text{Ca}^{2+}(-)$ 液および 1mM La^{3+} を含む $\text{Ca}^{2+}(+)$ 液で処理しても, ACh 拘縮はほとんど抑制

されなかった (Fig. 1-A)。 これらの事実から, この ACh 拘縮は, 細胞内 stored Ca^{2+} の遊離により発生する事が示唆される。 従って ACh 拘縮の脱分極時間依存性は, 細胞内 stored Ca^{2+} の消長あるいは stored Ca^{2+} の遊離の一時的な抑制のいずれかに起因するものと考えられる。 これらの点を明らかにする目的で, ^{45}Ca uptake 測定をおこなった。 normal Ringer 液および 117.5mMK 液中での ^{45}Ca uptake は, loading 30 分後には後者の方が約 30~40% 多かったが, 1 分以内ではその差は明らかでなかった (Fig. 1-B)。

次に normal Ringer 液で ^{45}Ca を 30 分 loading した後, 117.5mMK 液 (^{45}Ca を含む) に移して ^{45}Ca の uptake を測定すると, K 脱分極 10 分後に約 30% の uptake の増加が認められたが, 1 分以内では control との間に差は認められなかった (Fig. 1-C)。 他方, 外液 Ca^{2+} の関与を除外する目的で, 細胞内 stored Ca^{2+} の枯渇あるいは stored Ca^{2+} の遊離が著しく抑制されていると思われる K 脱分極 1 分後 (K 拘縮終了直後) より, $1\text{mM EGTA}\cdot\text{Ca}^{2+}(-)$ 液および $1\text{mM La}^{3+}\cdot\text{Ca}^{2+}(+)$ 液で処理を続けて, 脱分極 10 分後に ACh 拘縮を検討した。 その結果いずれの場合も control とほぼ同様の張力発生が認められた (Fig. 1-D)。

これらの事実から, K 脱分極直後に細胞内 stored Ca^{2+} が一時的に静止筋のそれより減少し

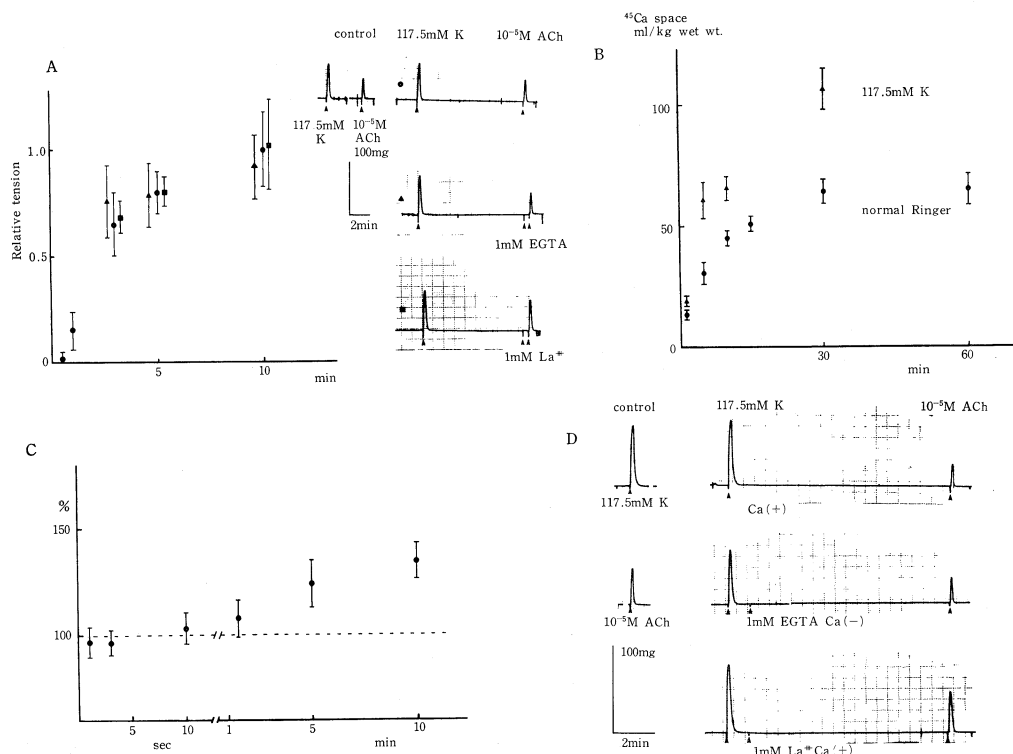


Fig. 1 (A) Relationship between ACh contracture tension and the depolarization time, in 117.5 mM K-depolarized bundle. ●: under 1.8 mM Ca^{2+} (+). ▲: 30 sec after immersion in Ca^{2+} (+), 1 mM EGTA solution. ■: 30 sec after immersion in Ca^{2+} (+), 1 mM La^{3+} . Each point, mean \pm S.D. (B) Time course of ^{45}Ca uptake in normal Ringer and 117.5 mM K solution. ●: normal Ringer. ▲: 117.5 mM K solution. Each point, mean \pm S.E. (C) Effect of the depolarization induced by 117.5 mM K solution on ^{45}Ca uptake 30 min after pre-loading of ^{45}Ca in normal Ringer solution. Each point, mean \pm S.E. (D) Effect of 1 mM EGTA and 1 mM La^{3+} on ACh contracture in 117.5 mM K-depolarized bundle. Upper, control; middle, 9 min after immersion in Ca^{2+} (+), 1 mM EGTA solution; lower, 9 min after immersion in Ca^{2+} (+), 1 mM La^{3+} solution.

ていた可能性は少なく、むしろ stored Ca^{2+} は一定量を保つか、もしくはむしろ増加傾向にあるものと考えられる。従って ACh 拘縮の K 脱分極時間依存性には stored Ca^{2+} 遊離の抑制が関与している事が示唆される。

ACh 拘縮の K 脱分極時間依存性は、あらかじめ Ca^{2+} (−) 液で前処理し K 拘縮が起らない条件下で脱分極を与えた場合にも同様の経過を示した (Fig. 2-A)。この事は、脱分極筋の細胞内 Ca^{2+} store からの Ca^{2+} 遊離には脱分極に伴う拘縮の有無は関係しない事を示唆する。

次に脱分極筋の Ca^{2+} 拘縮について、その脱分極時間依存性を検討した (Fig. 2-B)。normal Ringer 液から Ca^{2+} (−), 117.5mM K 液に変える事により脱分極を起こした場合は、K 拘縮を伴う。この

時の Ca 拘縮は、ACh 拘縮の場合と同様の脱分極時間依存性を示した (●印)。他方 Ca^{2+} (−) normal Ringer 液で前処理し、同様に脱分極を起こした場合は、K 拘縮を伴わない。この時の Ca 拘縮は、上述の Ca 拘縮の場合と異なり、脱分極による抑制の程度は浅く、脱分極時間とともに抑制が強まる傾向を示した (▲印)。

Ca 拘縮に関するこれらの事実は、ACh 拘縮の場合とは異なり、Ca 拘縮の脱分極時間依存性が脱分極に伴う拘縮の有無により異なることを示す。Ca 拘縮が Ca^{2+} の流入によって起るものと仮定すれば、Ca 拘縮に際して、1) 流入 Ca^{2+} が直接活性化を起こすかあるいは、2) 間接的に store から Ca^{2+} の遊離をひき起こし (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release), その結果活性化が起こるか、または、3) その両者

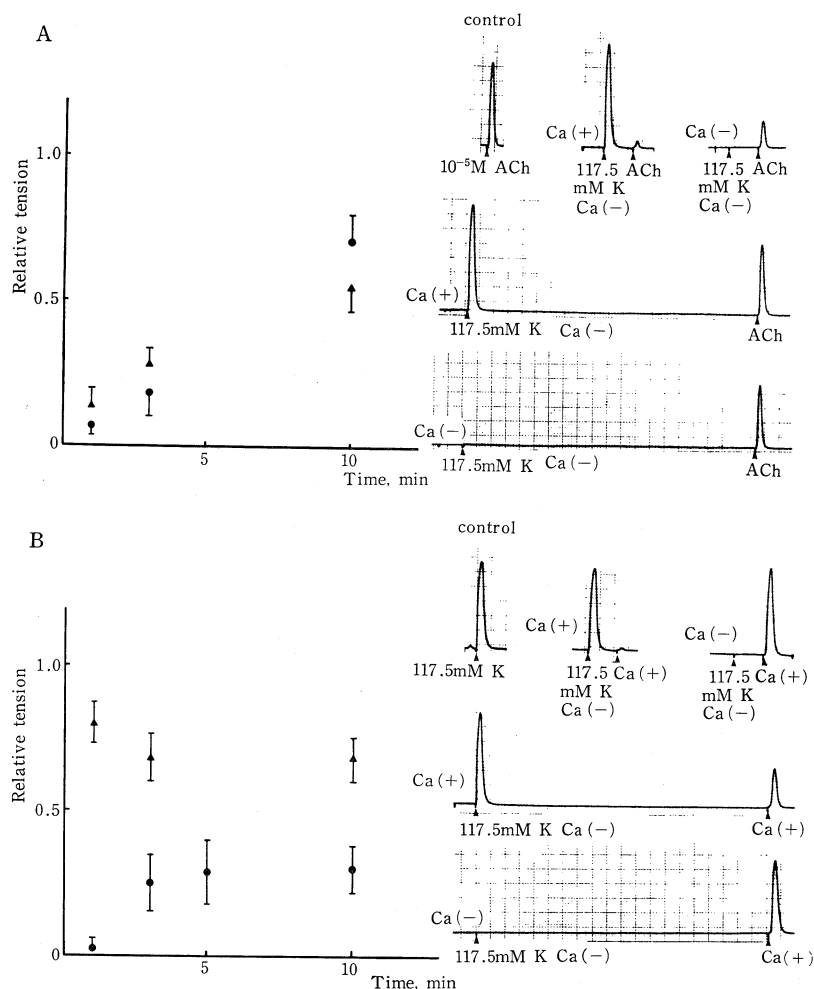


Fig. 2 (A) Relationship between ACh contracture tension and the depolarization time, in 117.5 mM K-depolarized bundle. K-depolarization was carried out under Ca(-) condition with (●) and without (▲) prior exposure to Ca-free Ringer solution for 5 min. ACh was applied without Ca²⁺. Each point, mean±S.D. (B) Relationship between Ca contracture tension and the depolarization time, in 117.5 mM K-depolarized bundle. K-depolarization was carried out under Ca(-) condition with (●) and without (▲) prior exposure to Ca-free Ringer solution. Each point, mean±S.D.

によって同時に活性化が起こるかのいずれかの可能性が考えられる。このうち、1)と3)の場合は脱分極による Ca²⁺の流入の抑制がほとんどないか、あるいは比較的軽度である場合に起こり、2)の場合は Ca²⁺の流入の抑制が比較的強い場合に起こると考えられる。従って、脱分極筋の Ca 拘縮の脱分極時間依存性が ACh の場合と似た傾向を示す条件下 (●印) では、2)により活性化が起こっているものと考えられる。他方脱分極に伴う拘縮

がない場合には Ca 拘縮の抑制が著しく軽度であることから、3)によって活性化が起こっているものと考えられる。

以上のように K 脱分極下に Ca²⁺流入の抑制や stored Ca²⁺の遊離の抑制が起こっていると仮定することにより上述の一連の成績は説明できるように思われるが、Ca²⁺の流入あるいは遊離以降のプロセスにおいて何らかの収縮抑制機構が介入する可能性をも考慮しておく必要がある。

文 献

- Deth, R.C. (1978). Effect of lanthanum and reduced temperature on ^{45}Ca efflux from rabbit aorta. *Am. J. Physiol.* **234**: C139-C145.
- Kuriyama, H. (1981) Excitation-contraction coupling in various visceral smooth muscles. In Biilbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W. and Tomita, T. (editors): *Smooth muscle*. p. 171-197, Arnold, London.
- 篠原義文ら (1981) ガマガエル胃平滑筋のカリウム拘縮とアセチルコリン拘縮. 日平滑筋誌 **17**: 179-181.

2. モルモット胃輪走筋に対するキニーネの 2 相性の効果

福岡大学医学部 第一生理学教室

坂 本 康 二

福岡 鳥 飼 病 院

那 須 康 典

モルモット胃輪走筋の自発性活動の本態は slow wave と呼ばれる緩徐な周期的膜電位の変動である。slow wave は膜電位非依存性の第 1 要素とこれによって引き起こされる膜電位依存性の第 2 要素から成っている (Ohba *et al.*, 1975)。第 1 要素の持続時間は温度と Na イオンの影響を強く受けることより、第 1 要素は Na-Ca 交換輸送によって発生していると報告されている (Tomita and Sakamoto, 1977)。一方脾 β 細胞において、キニーネは Na-Ca 交換輸送を抑制して細胞内 Ca イオン濃度の増大をもたらしてインシュリン分泌を促進させる (Herchuelly *et al.*, 1981)。よって本実験ではモルモット胃輪走筋の slow wave 発生機序を解明するためにキニーネの効果を検討した。

方 法

モルモット胃の幽門部付近の輪走筋を用いて蔗糖隔絶法で膜電位の変化と収縮の同時記録を行い、場合によっては微小電極で膜電位の変化を、organ bath で収縮と別々に記録した。

結 果

低濃度 ($10^{-6} \sim 10^{-4} \text{M}$) のキニーネでは、膜電位の大きな変化はみられないが、第 1 要素の持続時間の延長と相動性収縮の増大がみられる。自動性の頻度は逆に減少する。これらのキニーネの効果は濃度依存的で、収縮の大きさと、slow wave の持続時間 (ピークより 30% レベル) との間には

相関がみられる。自動性の頻度はキニーネの全ての濃度 ($10^{-6} \sim 10^{-3} \text{M}$) で減少する。このようなキニーネの効果はアトロピン ($5 \times 10^{-5} \text{M}$)、フェントールアミン (10^{-6}M)、インドメサシン (10^{-6}M) で変化を受けない。

高濃度 (10^{-4}M 以上) のキニーネでは、標本によって差がみられるが、特徴的なことは、第 1 要素の持続時間、slow wave の立ち上り速度の減少と、膜の脱分極、および相動性収縮の消失である。 10^{-3}M のキニーネでは膜は約 20 mV 脱分極して slow wave は消失し、相動性収縮はもちろんのこと、静止張力の増大もみられない。以上のようにキニーネの効果には濃度によって促進と抑制の 2 面性がみられる。

低濃度 ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) のキニーネの効果を更に検討するために、細胞外 Na イオン濃度を 65 mM, 30 mM, 16 mM, 0 mM と減少させた後のキニーネの効果と、キニーネ前処置後の Na イオンの効果を比較した。キニーネで前処置した後で Na イオンを 65 mM, 30 mM に減少すると、膜電位は変化しないが、第 1 要素の持続時間と、相動性収縮はさらに増大する。このような効果は、最初に Na イオンを減少した後にキニーネを与えても同じ結果が得られる。

一方 16 mM 以下の Na イオンの前処置で、膜の脱分極と拘縮が起こった後にキニーネを与えても、それ以上の拘縮の増大はみられない。しかしはじめにキニーネで前処置した後では Na イオンの減少で拘縮がみられる。

以上のように Na イオンが 16mM 以上存在すると低濃度のキニーネによる slow wave の第 1 要素の持続時間の延長と、相動性収縮の増大がみられるが、それ以下の濃度ではみられない。すなわちあらかじめ Na イオンを減少させて Na-Ca 交換輸送を抑制した筋ではキニーネによる持続時間と相動性収縮の増強効果はみられない。

考 察

低濃度 (10^{-4} M 以下) のキニーネによる相動性収縮の増大と slow wave 第 1 要素の持続時間の延長は、アトロピン、フェントールアミン、インドメサニンなどによって影響を受けないことよりキニーネの平滑筋への直接効果であると思われる。16mM 以上の Na イオンで前処置した標本ではキニーネの増強効果がみられるので、もし Na-Ca 交換輸送が充分抑制されていると、キニーネによる増強効果はみられないと思われる。低濃度のキニーネによる相動性収縮の増大には次の 2 つの可能性が考えられる。

1 つは slow wave の持続時間の延長による流入 Ca イオンの増加、他は Na-Ca 交換輸送の抑制による細胞内 Ca イオン濃度の増大である。

高濃度キニーネによる slow wave と収縮の抑制は膜の Ca-binding site の Ca イオンの dislocation の結果であろう (高井, 富田 1981)。というのは、高濃度キニーネの効果は Ca イオン除去の効果に良く似ている。

ま と め

- 1) キニーネはモルモット胃輪走筋に対して、相動性収縮の増大と抑制の 2 相性の効果を示す。
- 2) キニーネの全濃度域で、slow wave の持続時間 (30% レベル) と相動性収縮の間には相関がみられる。
- 3) 16mM 以下の Na イオン濃度ではキニーネによる収縮増強効果はみられない。
- 4) 高濃度キニーネで短縮した slow wave の持続時間は高濃度 Ca イオンの投与で回復するが、収縮の回復はみられない。

文 献

- Herchuelly, A., Lebrun, P., Carpinelli, A., Tonart, N., Sener, A. and Malaisse, W.J. (1981). Regulation of calcium fluxes in rat pancreatic islets. *BBA* **640**: 16-30.
- Ohba, M., Sakamoto, Y. & Tomita, T. (1975). The slow wave in the circular muscle of the guinea-pig stomach. *J. Physiol.* **253**: 505-516.
- 高井 章, 富田忠雄 (1981). 平滑筋におけるアドレナリンの α -抑制作用に対するキニーネの遮断効果. *Jap. Physiol. Soc.* **43**, (2), 49.
- Tomita, T. & Sakamoto, Y. (1977). In: *Excitation contraction coupling in smooth muscle*. Ed. by T. Casteels *et al.*, pp. 37-46, Elsevier, Amsterdam.

3. リンパ管平滑筋の興奮-収縮連関機構

—ブラディキニンの作用機序解析—

信州大学医学部 第一生理学教室

大 橋 俊 夫, 東 健 彦

クイーンズ大学医学部 生理学教室

Roddie, I. C.

はじめに

リンパ管壁における平滑筋の機械的な特性の変化は、壁全体の粘弾性特性の修飾と自発性活動の調節を通じ、受動的ならびに能動的なリンパ輸送

機転を制御する (Ohhashi, Azuma & Sakaguchi, 1980)。また、リンパ管平滑筋の内因的緊張は種々生理的活性物質によって体液性に調節されている。たとえばウシ腸間膜リンパ管平滑筋の場合、5-hydroxytryptamine, prostaglandin $F_{2\alpha}$, nora-

drenaline, histamine, dopamine, acetylcholine は、リンパ管平滑筋を収縮させ、リンパ流を促進させる。一方、isoproterenol, adenosine, ならびに adenine nucleotides はすべてこの平滑筋に弛緩反応を惹起する (Ohhashi, Kawai & Azuma, 1978)。今回は、こうしたリンパ管平滑筋細胞膜の電気的ならびに機械的活動に対する bradykinin (BK) の影響を検討した。加えて、その作用機序を activator Ca^{2+} の観点より詳細に検索した。

実験材料ならびに方法

実験は、ウシの腸間膜リンパ管を用いた。摘出後、周囲脂肪組織を丁寧に剝離し、長さ 20 mm の円筒状標本を作製した。各標本は灌流タイプ 容量 10 ml の臓器槽内に装着し、200 mg の基本張力を負荷後、発生張力を等尺性に記録しながら BK に対する用量一反応曲線を求めた。BK 反応の発生機構を検索する目的で、BK の用量一反応曲線に対する (1) α, β 遮断剤、抗セロトニン剤、抗ヒスタミン剤、indomethacin の影響、(2) Ca^{2+} 拮抗剤の影響、(3) 外液 Ca^{2+} 濃度の影響、(4) 外液 K^{+} 濃度の影響を詳細に調べた。加えて、リンパ管平滑筋膜の電気的活動に対する BK の影響について蔗糖隔絶法を用いて検討した。本法の詳細については別紙 (Azuma, Ohhashi & Sakaguchi, 1977) を参照されたい。保生液 (標準) には 37°C に加温した Krebs 液 [組成 (mM): NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO_3 25.0, NaH_2PO_4 1.2, CaCl_2 2.5, MgCl_2 1.2, glucose 5.5] を用い、実験中はたえず

95% O_2 + 5% CO_2 ガスの通気を行った。保生液の Ca^{2+} 濃度は、HEPES 緩衝系を用いた修正保生液 [組成 (mM): NaCl 120.0, KCl 5.9, CaCl_2 2.5, MgCl_2 1.2, HEPES 11.5, glucose 5.5] の Ca 濃度を増減させ、調整した。高 K 保生液は標準保生液の NaCl, NaHCO_3 , NaH_2PO_4 を同モルの KCl, KHCO_3 , KH_2PO_4 で置換し、作製した。

実験結果

(a) 10^{-10} — 4×10^{-6} M の BK は摘出したウシ腸間膜のリンパ管標本に用量依存性の収縮反応を惹起した。(b) BK 収縮反応は α 遮断剤 phentolamine (10^{-6} M), β 遮断剤 propranolol (10^{-6} M), 抗セロトニン剤 methysergide (10^{-6} M), 抗ヒスタミン剤 diphenhydramine (10^{-6} M), tetrodotoxin (10^{-6} M) の前処置を行ってもほとんど影響を受けなかった。(c) 5×10^{-5} M indomethacin の前処置により 10^{-7} M BK の収縮反応は対照の 32.8% に抑制された。同一標本の K 拘縮反応も同様に対照の 29.6% に抑制された。(d) 低濃度 (4×10^{-9} M) BK は静止条片のリンパ管平滑筋細胞膜をわずかに脱分極させ、活動電位を誘発した。これに付随して自発性収縮の重畳した緊張性収縮反応が認められた。自発性活動を呈する標本の場合、低濃度の BK は既存の活動電位頻度を高めた。(e) BK の用量一反応曲線 (図 1A, 白丸印) は Ca 拮抗剤 D-600 (10^{-4} M) の処置により、図 1A の黒丸印で示す曲線に移動した。すなわち閾値濃度は 10^{-10} M より 4×10^{-8} M に移り、 4×10^{-6} M の最大反応量は対照の

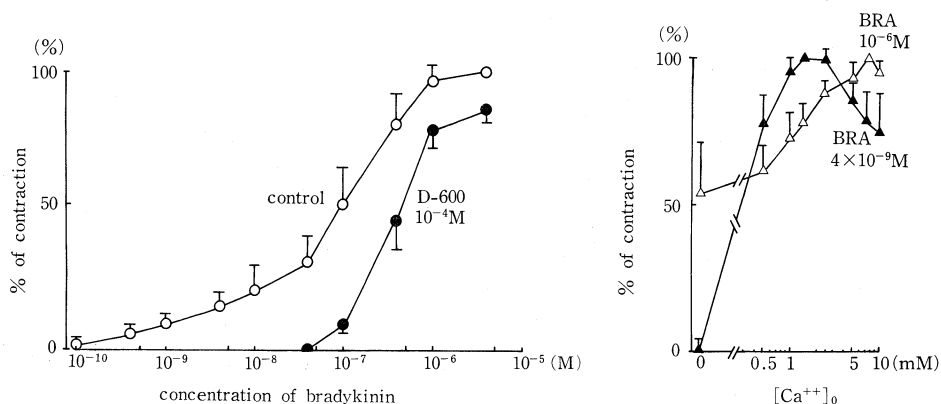


図 1. リンパ管平滑筋のブラディキニン反応に対する Ca 拮抗剤 D-600 (左図)、ならびに外液 Ca^{2+} 濃度 (右図) の影響
縦軸はそれぞれ最大発生張力を 100% として規準化した値を示す。

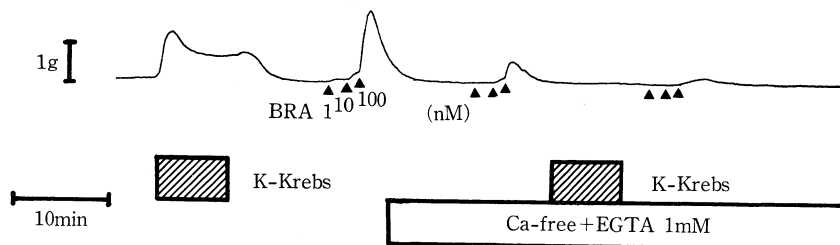


図 2. リンパ管平滑筋のK拘縮(第1番目記録)ならびに bradykinin(BRA)収縮反応(第2番目記録)に対する Ca^{2+} -欠除液の影響(但し 1mM の EGTA を含有する). Ca^{2+} 欠除保生液灌流 15 分にて K 拘縮反応は完全に抑制されるが、高濃度 (100 nM) BRA 反応は尚残存している。

約 85% に低下した。(f) 低濃度 ($4 \times 10^{-9} \text{M}$) BK で誘起された収縮反応は Ca^{2+} -欠除保生液中で完全に消失し、外液 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_0$) の増加にともない漸増し、 1.5mM $[\text{Ca}^{2+}]_0$ を越え、BK の収縮反応は逆に抑制された(図 1B)。一方、高濃度 (10^{-6}M) BK によって惹起された緊張性の収縮反応は、 Ca^{2+} -欠除環境下においても対照の 50% 以上の収縮反応を残した(図 1B)。(g) 高濃度 (10^{-6}M) BK は、K 拘縮状態にあるリンパ管標本に収縮反応を重畳し、その反応量は K 拘縮の最大反応量を凌駕した。(h) 高濃度 (10^{-7}M) BK は、1mM EGTA を含んだ Ca^{2+} -欠除保生液にて 30 分灌流した標本にもわずかな収縮反応を惹起したが、高 K^+ 、 Ca^{2+} -欠除保生液の反応は完全に抑制された(図 2)。

考 察

循環系における BK の生理あるいは病態生理学的役割についてはかなり詳細に研究されている(Haddy *et al.*, 1970)。ところがリンパ管平滑筋への直接作用を検索した報告は皆無に等しい。今回の実験結果は BK がリンパ管平滑筋に対しきわめて鋭敏な生体内物質であり、リンパ輸送機構に影響を及ぼすことが示唆された。さらにリンパ管平滑筋の収縮反応に関与する activator Ca^{2+} は(1)細胞外からの Ca^{2+} influx と(2)細胞膜に結合した

Ca^{2+} あるいは(3)細胞内 store に貯蔵されていた Ca^{2+} の遊離すべてに関与していることが判明した。事実、細胞内 store を示唆する形質膜下小胞、筋小胞体、ミトコンドリアはこのリンパ管平滑筋には顕著に発達していることが電顕で確認されている(Ohashi, Fukushima & Azuma, 1977)。

文 献

- Azuma, T., Ohashi, T. & Sakaguchi, M. (1977). Electrical activity of lymphatic smooth muscles. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **155**: 270-273.
- Haddy, F.J., Emerson, T.E., Scott, J.B. & Daugherty, R.M. (1970). The effect of the kinins on the cardiovascular system. *Handb. Exptl. Pharmacol.* **25**: 362-384.
- Ohashi, T., Fukushima, S. & Azuma, T. (1977). Vasa vasorum within the media of bovine mesenteric lymphatics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **154**: 582-586.
- Ohashi, T., Kawai, Y. & Azuma, T. (1978). The responses of lymphatic smooth muscles to vasoactive substances. *Pflugers Arch.* **375**: 183-188.
- Ohashi, T., Azuma, T. & Sakaguchi, M. (1980). Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics. *Am. J. Physiol.* **239**: H88-H95.

4. Effects of low temperature, sodium vanadate and ouabain on excitation and contraction of guinea-pig ureter

S. SUNANO

*Department of Physiology, Sapporo Medical College,
Sapporo, 060 Japan*

It is known that the action potential and contraction of guinea-pig ureter are dependent on extracellular Ca (Johnishi and Sunano, 1978; Bury and Shuba, 1976). Influxed Ca from extracellular space may trigger the contractile reaction of muscle protein. This Ca may be taken up by intracellular organellae or pumped out through cell membrane by an energy dependent process, and, thus, the relaxation of muscle may be brought about. Therefore, alteration of these process would cause changes in the contraction.

In the present experiments, condition which are thought to influence Ca transport, especially to cause the inhibition of Ca transport, were examined (Deth, 1978; Caroni and Carafoli, 1981).

Material and method

Guinea-pig ureters were used for the observation of electrical and mechanical activities. The former was measured isometrically by a mechanoelectronic transducer and the latter, by means of the double sucrose-gap method. Twitch contractions were initiated by electrical stimulation of 10 msec duration and supramaximal strength. Potassium contractures were induced by changing the incubation medium from normal to a K-Tyrode solution made by replacing all NaCl with KCl.

Results and discussion

Lowering of the temperature from 35°C to 30°C caused slight potentiation of the twitch contraction. Rates of the rise and fall of tension decreased and, thus the times to peak tension and to 80 percent relaxation were prolonged. Further decrease in the temperature, however, caused a decrease in twitch contraction height. The duration of action potentials increased, whereas the number of the spike potentials decreased.

NaVO₃, which has been known to inhibit Ca-ATPase (Caroni and Carafoli, 1981), caused slight elevation of basal tension and triggered spontaneous contractions. The twitch contractions evoked by electrical stimulations were potentiated. The height of the contraction in the presence of 1 mM of NaVO₃ was $133 \pm 4.4\%$ ($M \pm SE$, $n=6$) of the control. The rate of the rise of tension increased and that of the fall of tension decreased. Thus, although there was no significant change in time to peak tension, prolongation of relaxation time was observed.

NaVO₃ caused the depolarization of membrane and reduction of membrane resistance. The duration of the action potential was prolonged and the number of spike potentials increased by the application of the drug.

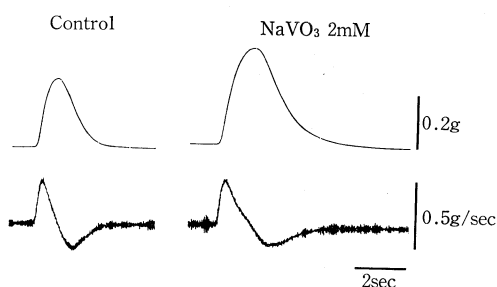


Fig. 1. Potentiation of twitch contraction by sodium vanadate (NaVO_3). Left: control. Right: 10 min after the application of 2 mM of NaVO_3 . Note the decrease in maximum rate of fall of tension in the presence of NaVO_3 .

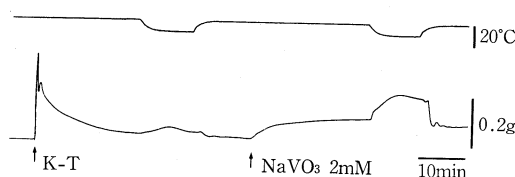


Fig. 2. Tension development by cooling and by NaVO_3 in depolarized preparation. The temperature of the incubation medium was decreased from 35°C to 20°C and, after 10min, rewarmed to 35°C as indicated in the top recording. The second cooling treatment was applied in the presence of 2 mM of NaVO_3 .

Since NaVO_3 also has an inhibitory action on Na, K-ATPase (Akera et al, 1979), the effects of ouabain were studied and compared with those of NaVO_3 . Ouabain of $5 \times 10^{-7}\text{M}$ caused slight potentiation of the twitch contraction. However, none of the rates of rise and fall of tension, and times to peak tension and 80 percent relaxation were altered significantly. Higher concentration of ouabain inhibited the twitch contraction.

Increasing K-concentration by 15 mM also caused potentiation of the twitch contraction without changing other parameters significantly.

Cooling treatment or NaVO_3 caused tension development of K-depolarized preparations. The cooling-induced contraction was greatly enhanced in the presence of NaVO_3 . These effects were similar to those that resulted from increasing Ca concentration.

It was suggested that lowering of the temperature potentiated the contraction mainly by inhibiting the extrusion of influxed Ca through cell membrane or the sequestration of Ca by intracellular organelles. NaVO_3 potentiates the contraction partly by altering membrane excitability and partly by inhibiting active Ca transport by membranous structures. These are different from those of ouabain and of increased K-concentration.

References

- Akera, T., Takeda, K., Yamamoto, S. and Brody, T.M. (1979). Effects of vanadate on Na^+ , K^+ -ATPase and on the force of contraction in guinea-pig heart. *Life Science* **25**: 1803-1812.
- Bury, V.A. and Shuba, M.F. (1976). Transmembrane ionic currents in smooth muscle cells of ureter during excitation. In: *Physiology of smooth muscle*, ed. by Bulbring, E. and Shuba, M.F.

Raven Press, New York, pp 65-75.

Deth, R. (1978). Effect of lanthanum and reduced temperature on ^{45}Ca efflux from rabbit aorta. *Am. J. Physiol.* 234: C139-C145.

Johnishi, J. and Sunano, S. (1978). The role of membrane electrical activities and extracellular calcium in high-K-induced contracture of guinea-pig ureter. *Jpn. J. Physiol.* 28: 1-16.

5. 等尺性に記録したモルモット盲腸紐の自発性収縮に対する 代謝阻害および verapamil の作用

三菱化成生命科学研究所 薬理

石田 行知, 高木 恵子

モルモット盲腸紐の活動を等尺性に記録すると分単位の周期の自発性収縮が (Golenhofen, 1970), 等張性に記録すると 5 秒単位の周期の自発性収縮が観察される (Ishida and Urakawa, 1974). 常法の等尺性測定では観察中に筋が弛緩し, 筋長が変化することがしばしばおこる. 今回, この変化を最小にするようにして自発性収縮を観察すると安定な成績をえることができたので, 低酸素状態および verapamil の自発性収縮に対する影響を検討した.

方 法

モルモット盲腸紐は栄養液の Ca を除去すると完全な弛緩状態になる. この性質を利用して, 盲腸紐を雄モルモット (300~400 g) から摘出後直ちに Ca を除去した栄養液 (Ca 除去液) に浸し, 十分弛緩したときに長さ 15mm の条片を作成し, 37°C に保温した Ca 除去液中に等尺性に懸垂した. 懸垂した後, 筋長をできる限り変化させずに測定を行なう手順およびそのときの筋の反応を図

1 に示した. まず, Ca 除去液中で筋に 0.05~0.1 g の張力を与え, つぎに Ca 2.5 mM を含む正常液に浸した. 正常液に浸した 30 分後に 40mM KCl を 10 分間投与し, 筋を収縮させた. その後, Ca 除去液に再び筋を 20 分間浸し, 再度 0.05~0.1 g の張力を与え, さらに正常液に浸し, 放置すると, 盲腸紐は規則的な自発性収縮を長時間にわたり安定して発生した.

正常液の組成は NaCl 136.8, KCl 5.4, CaCl_2 2.5, MgCl_2 1.0, NaHCO_3 11.9 および glucose 5.5 (mM) とした. Ca 除去液は正常液より CaCl_2 を除いて作成した. 栄養液には通常 95% O_2 , 5% CO_2 を, 低酸素状態では 95% N_2 , 5% CO_2 を通気した. 盲腸紐の収縮活動はストレンゲージ (東洋ボールドウィン, T-7-30) を介してポリグラフ (日本光電) に記録した.

成 績

モルモット盲腸紐は正常液中で, 規則的な自発性収縮を発生した. その自発性収縮の周期は標本

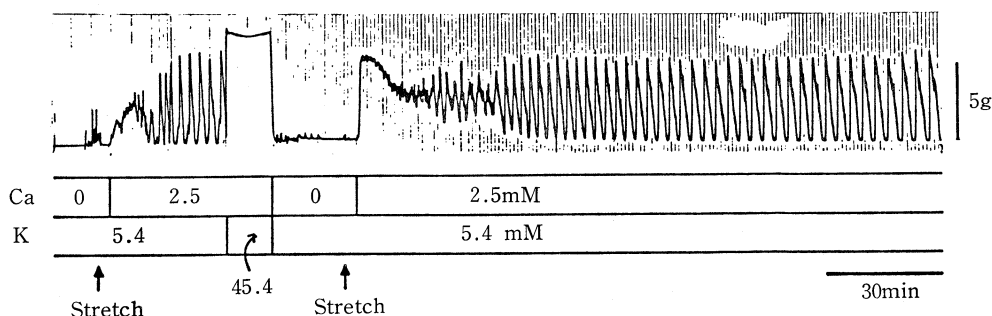


Fig. 1. Conditioning for observation of spontaneous contraction of guinea-pig taenia coli. Muscle was stretched to have 0.1 g basal tension, designated by "Stretch".

Table 1. Period duration of spontaneous contraction of the guinea-pig taenia coli during normoxic and hypoxic conditions. Normoxic and hypoxic conditions were made by bubbling 95% O₂, 5% CO₂ and 95% N₂, 5% CO₂, respectively.

	Period duration (min)		Ratio (B/A)
	Normoxic (A)	Hypoxic (B)	
1	9.50	15.35	1.62
2	2.73	4.09	1.50
3	3.43	3.11	0.91
4	4.96	5.97	1.20
5	3.62	4.56	1.26
6	3.90	5.47	1.40
7	4.25	7.53	1.77
8	5.03	4.90	0.97
9	4.27	5.65	1.32
10	4.25	2.76	0.65
11	7.32	8.32	1.14
12	6.52	6.79	1.04
13	7.38	4.01	0.54
14	10.05	8.56	0.85
Mean±S.E.M.	5.32±0.50	6.13±0.67	1.16±0.10

により 2~20 分の間に分布したが、その約 80% が 10 分以内に分布した。

正常状態から低酸素状態にすると、盲腸紐の自発性収縮の最大張力および一個の収縮の持続時間は抑制された。しかし、その周期はほとんど変化せず、正常状態に対する低酸素状態の比は 1.16 ± 0.10 ($n=14$) であった (表 1)。低酸素状態で栄養液中の glucose を除き、さらにヨード酢酸 (1mM) を与えると、盲腸紐の自発性収縮は完全に消失した。

カルシウム拮抗薬といわれる verapamil (10^{-6} M) を投与すると, Golenhofen and Lammel (1972) が報告したように、盲腸紐の自発性収縮の最大張力および収縮の持続時間は抑制されたが、その周期は変化しなかった。Ca 除去液中では自発性収縮は発生しなかった。

考 察

盲腸紐は非常に伸展し易く、一度 Ca 除去液に浸した後、正常液に浸しただけでは正確に等尺性測定を行なうことは困難であった。そこで、一度 KCl により収縮させた後、再び Ca 除去液に筋を浸し、筋長を固定し、再度正常液に浸すと、その後は盲腸紐がそれ以上大きく伸展することは少な

かった。これは、盲腸紐では筋の収縮要素に対して直列弾性要素が収縮反応に大きく影響する可能性があり、KCl による収縮によりこの弾性要素が十分伸展されたためにほぼ一定の等尺性測定が可能になったと考えられる。

上記のようにして測定された自発性収縮に対して、低酸素状態や verapamil の存在は個々の収縮の大きさは抑制したが、周期には影響を与えなかった。さらに Loh and Golenhofen (1972) は温度を 20°C 位にまで下げても、盲腸紐の分単位の自発性収縮の周期は変化しないことを報告した。以上のことから、等尺性に測定されるモルモット盲腸紐の自発性収縮の周期性は好氣的なエネルギー代謝や verapamil に感受性のあるカルシウムチャネルの変動が直接の原因ではなく、筋に固有のリズムであることが示唆される。

文 献

- Golenhofen, K. (1970). Slow rhythms in smooth muscle (minute rhythm). In: *Smooth Muscle*, ed. E. Bülbbring, A.F. Brading, A.W. Jones & T. Tomita. pp. 316-342. Edward Arnold. London.
- Golenhofen, K. & Lammel, E. (1972). Selective suppression of some components of spon-

taneous activity in various types of smooth muscle by Iproveratril (verapamil). *Pflügers Arch.* **331**: 233-243.

Ishida, Y. & Urakawa, N. (1974). Isometric and isotonic spontaneous contractions of guinea-pig taenia coli. *Jap. J. Pharmacol.*

24: 925-927.

Loh, D.V. & Golenhofen, K. (1970). Temperatureinflüsse auf die Spontanaktivität der isolierten Taenia coli vom Meerschweinchen. *Pflügers Arch.* **318**: 35-50.

6. 平滑筋収縮薬の作用におよぼす Ca^{2+} および血管拡張薬の影響

(ラット摘出門脈における実験)

近畿大学医学部 薬理学教室

村 上 典 子, 丹 羽 淳 子

山 西 博 道, 鈴 木 有 朋

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の大動脈での収縮薬の作用は正常血圧ラット (WKY) の作用に比し, 栄養液中の Ca^{2+} 量により影響を受けやすく, また血管拡張薬の作用は SHRSP と WKY との間で異なることが報告されている。しかし, 大動脈は機能的には抵抗血管とは異なり, また SHRSP の大動脈における変化が血圧上昇によるものかあるいは遺伝的なものかについては十分に明らかにされていない。私達は血圧の影響を直接うけにくく, 抵抗血管と類似する門脈を用いて上記の点について検討し, さらに Ca 収縮について検討を加えた。

実験材料および方法

生後約 1 年の雌雄の SHRSP および WKY の門脈をエーテル麻酔下で摘出し, 縦 10mm, 横 2mm の縦走条片を作製した。標本はマグナス装置に懸垂し, 300mg の荷重をかけ, 薬物によるトーンの変化は等尺性にトランスデューサーを介して記録した。栄養液には 30°C の Locke 液 (Ca 2mM を含む) または Ca 変量液を用い, 95% O_2 , 5% CO_2 の混合ガスで通気した。

実験に用いた収縮薬の濃度 (g/ml) は $\text{K}4 \times 10^{-3}$, Ba 10^{-3} , Noradrenaline (Nad) 5×10^{-7} および ACh 5×10^{-7} で概略の ED_{80} である。

実験成績および考察

A. Ca 収縮

正常液では外 Ca^{2+} の増量は収縮を生じなかつ

たが, 高 K (30mM) Ca (一) 栄養液中では Ca^{2+} は収縮を生じた。この収縮は低濃度 (0.5-1mM) では WKY と SHRSP との間に差はなかったが, 2mM 以上の収縮は WKY よりも SHRSP の方が大であった。5mM 収縮では SHRSP の方が約 2 倍の作用を示した。

これらの成績は SHRSP では Ca の利用性が亢進していることを示し, 膜の Ca 透過性の亢進および収縮たん白の Ca^{2+} の利用性の増大によると考えられ, 大動脈での報告 (Shibata *et al.*, 1973; Yanagawa & Suzuki, 1978) と一致する。

B. 収縮薬に対する外液 Ca^{2+} の影響

K, Noradrenaline (Nad), および ACh 収縮は栄養液中の Ca^{2+} 量の減量と一致して減弱したが, K, Nad 収縮では SHRSP の方が減弱が大であった。しかし, ACh 収縮では差はなかった (図 1)。

また, Ca^{2+} 量の増大は SHRSP では収縮の減弱がみられたが, WKY ではほとんど減弱はみられなかった。また, K および ACh の最大収縮を示す Ca^{2+} 量は WKY と SHRSP との間では差はなかったが, Nad 収縮では, WKY では 1mM, SHRSP では 4mM であった (図 1)。

これらの結果は SHRSP の Nad および K 収縮は WKY のそれに比し, 外液 Ca^{2+} 量の依存度が高いことを示す。また, SHRSP の Nad および ACh 収縮は, Ca^{2+} の高濃度での減弱が WKY よりも強かった。これは Ca^{2+} の高濃度で膜の安定化が起こり, 外液 Ca^{2+} の利用性が阻害されたためと考えられる。

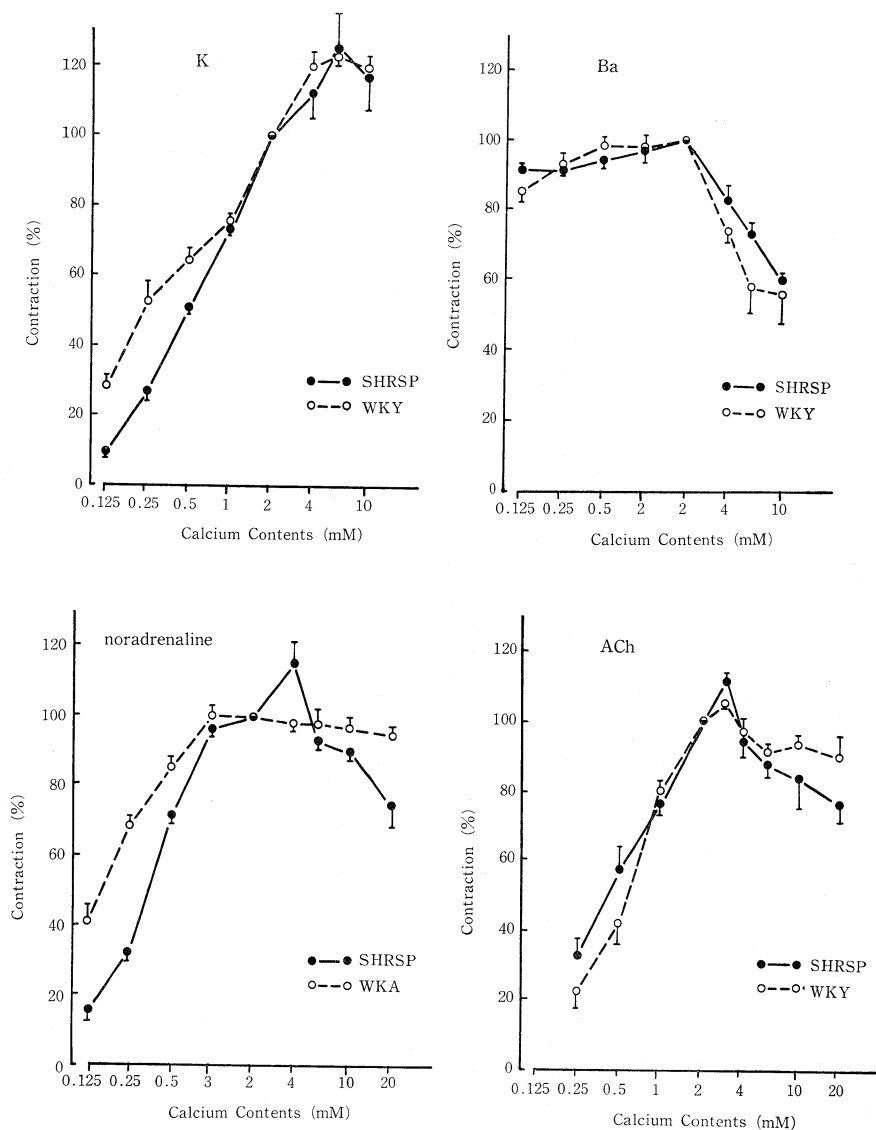


図 1. Ca 変量栄養液中における収縮薬の作用

Ba 収縮は外液 Ca^{2+} 量の減量により、軽度減弱（約 10%）を示したが、WKY および SHRSP において差はなかった（図 1）。Ba 収縮は外液 Ca^{2+} に依存性は少なく、 Ba^{2+} が直接収縮たん白に結合し収縮作用を示すものと考えられる。また、外液 Ca^{2+} 依存性は両者の間に差はないと考えられる。高濃度（4mM）では SHRSP と WKY のいずれも減弱したが、両者の間に差はなかった。

C. 血管拡張薬の影響

Ca 拮抗薬 diltiazem は K, Ba, Nad および ACh

のいずれの収縮薬に対しても濃度依存性に作用を抑制したが、SHRSP をより強く抑制し、これは K および Nad 収縮で特に著明であった（図 2）。同様の結果は Janis and Triggle (1973) により報告されている。

SHRSP の K および Nad 収縮は WKY のそれに比し外液 Ca^{2+} の依存性が高いことが前述の外液 Ca 量の影響の成績から明らかであるので、diltiazem の K および Nad 収縮に対する拮抗作用はこのためかもしれない。

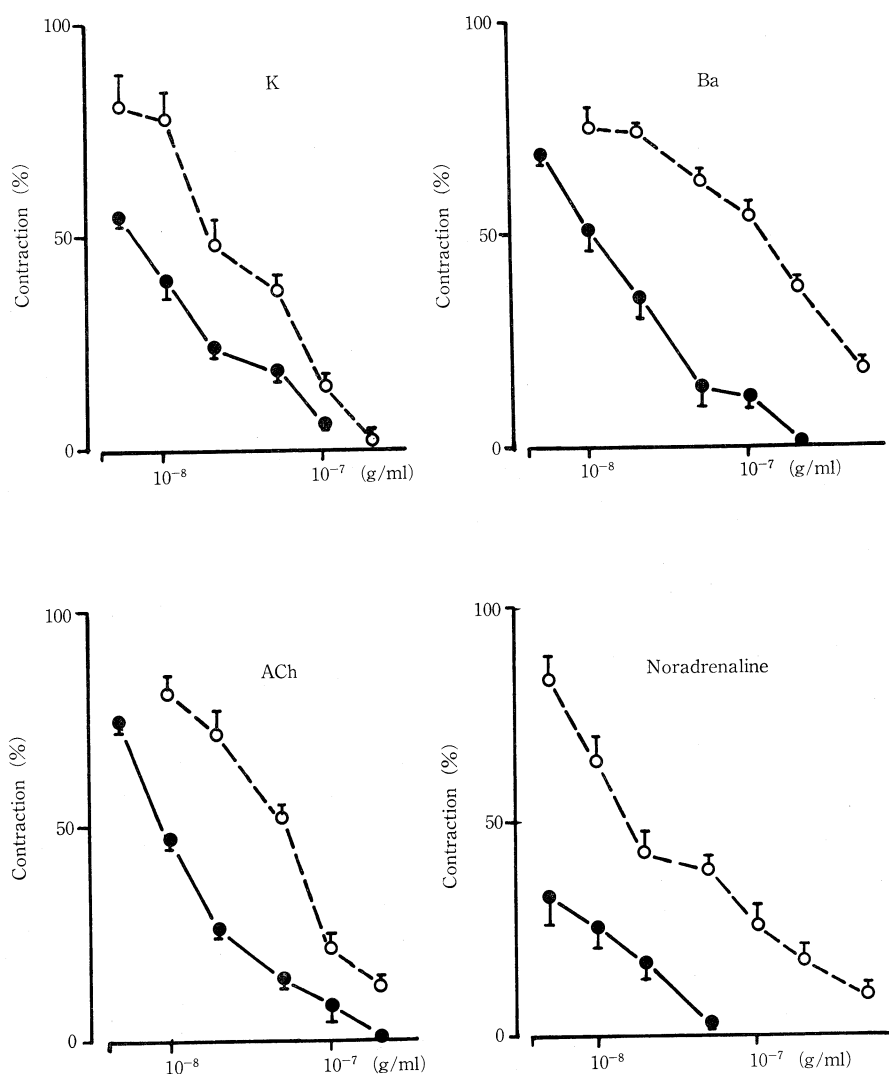


図 2. 収縮薬の作用におよぼす diltiazem の影響

●—● SHRSP ○---○ WKY

dibutyryl C. AMP および phosphodiesterase 阻害薬 Aminophylline の抑制作用はいずれの収縮においても濃度依存性の抑制を示し, WKY の方を強く抑制した. SHRSP の門脈では, C. AMP に対する感受性の低下および (あるいは) phosphodiesterase 活性の亢進が考えられ, D'Armiento *et al.* (1980) の報告と一致する.

β 受容体刺激薬の fenoterol の抑制作用はいずれの収縮薬に対しても濃度依存性の抑制を示したが, SHRSP と WKY の間に差はみられなかった. WKY と SHRSP の門脈での β 受容体の反応性に

は差はないと考えられる. しかし, 前述のように SHRSP では C. AMP に対する反応性が低下しているので SHRSP の β 刺激薬に対する反応性は亢進し, C. AMP の産生が高まり, そのため同じ位の抑制作用を示した可能性も考えられる.

上述の大動脈に比し, 血圧の影響をうけにくいとされる門脈においては SHRSP と WKY との間に差がみられ, 従来の大動脈の成績と類似したので, SHRSP の血管の薬物に対する作用の変化は遺伝的な要素の関与が示唆される.

文 献

- D Armientio, M., Lacerna, F., Lauro, R., Modesti, A., Verna, R. & Ceccarelli, G. (1980). Effects of prazosin on the cAMP system in the spontaneously hypertensive rat (SHR) aorta. *European J. Pharmacol.* **65**: 243-247.
- Janis, R.A. & Triggle, D.J. (1973). Effect of diazoxide on aortic reactivity to calcium in spontaneously hypertensive rats. *Can. J.*

Physiol. Pharmacol. **51**: 621-626.

- Shibata, S., Kurahashi, K. & Kushii, S. (1973). A possible etiology of contractility impairment of vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **185**: 406-417.
- Yanagawa, T. & Suzuki, A. (1978). Reactivity of vascular smooth muscle in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Jap. J. Smooth Muscle Res.* **14**: 119-126.

7. ラット虹彩平滑筋に対する Ca 拮抗薬及び Mn の作用

名古屋市立大学薬学部 薬品作用学教室
成 田 聡, 渡 辺 稔

ラット摘出虹彩縮瞳筋は Acetylcholine (ACh) に対し、散瞳筋は Norepinephrine (NE) に対して良い収縮反応を示す。また ACh に対して散瞳筋は、低濃度で弛緩、高濃度で収縮の二相性反応を示す (Narita and Watanabe, 1981, 1982)。

今回、我々は、これらの薬物及び Ca^{2+} -free・high K^+ 液中に加えられた CaCl_2 に対する両平滑筋の反応 (いわゆる Ca 収縮) に対し、Ca 拮抗薬及び Mn^{2+} がどのような作用を及ぼすかを検討したので報告する。

方 法

Wistar 系雄性ラットを股打放血致死させ、眼球を摘出した。縮瞳筋は瞳孔の縁に沿って切離しリング状の標本とし、散瞳筋は虹彩を放射方向に切り条片標本とした。標本は器官バス内に懸吊し、張力変化を等尺性に記録した。

ACh, NE は累積的にバス内に加えた。Ca 収縮は、 Ca^{2+} -free・high K^+ 液中に CaCl_2 を累積的に加えて生じさせた。Atropine (Atr) 及び phentolamine (Phen) 存在下の実験では、栄養液中に $1\mu\text{M}$ の Atr, $3\mu\text{M}$ の Phen を加えた。

Ca 拮抗薬の濃度は D-600, Diltiazem (DTZ) では $1\mu\text{M}$, Sodium nitroprusside (NaNP) では 0.1mM とし、 Mn^{2+} は 0.3mM とした。

実験結果

縮瞳筋の ACh 誘発収縮は Ca-free 栄養液中では抑制され、その最大反応は 50% となった。一方、各 Ca 拮抗薬は ACh の用量反応曲線に影響を与えなかった。 Mn^{2+} は高濃度の ACh に対する反応をいくぶん抑制した。

縮瞳筋の Ca 収縮は、Atr, Phen 非存在下では D-600, DTZ により中程度抑制されたが Na-NP の作用は弱かった。 Mn^{2+} も Ca 収縮を中程度抑制した。Atr, Phen 存在下では、D-600, DTZ の抑制作用はより強く発現した。Na-NP の作用はこの条件下でもごく弱かった (図 1)。

散瞳筋は高い筋トーンを持つ、この筋トーンは、各 Ca 拮抗薬により影響されなかったが、 Mn^{2+} はこのトーンを顕著に減少させた。また栄養液中の Ca 濃度を減少させると、それに伴ってトーンは減少し、Ca-free 液中では、ほぼ完全に消失した。

散瞳筋の NE 誘発収縮は Ca-free 液中では著しく抑制されたが、Ca 拮抗薬、 Mn^{2+} の影響を受けなかった。

散瞳筋の ACh 誘発弛緩、収縮反応は、栄養液中の Ca 濃度を減少させても、その最大弛緩は、ほとんど変化しなかった。収縮反応は外液 Ca 減少により、いくぶん抑制された。この ACh 誘発

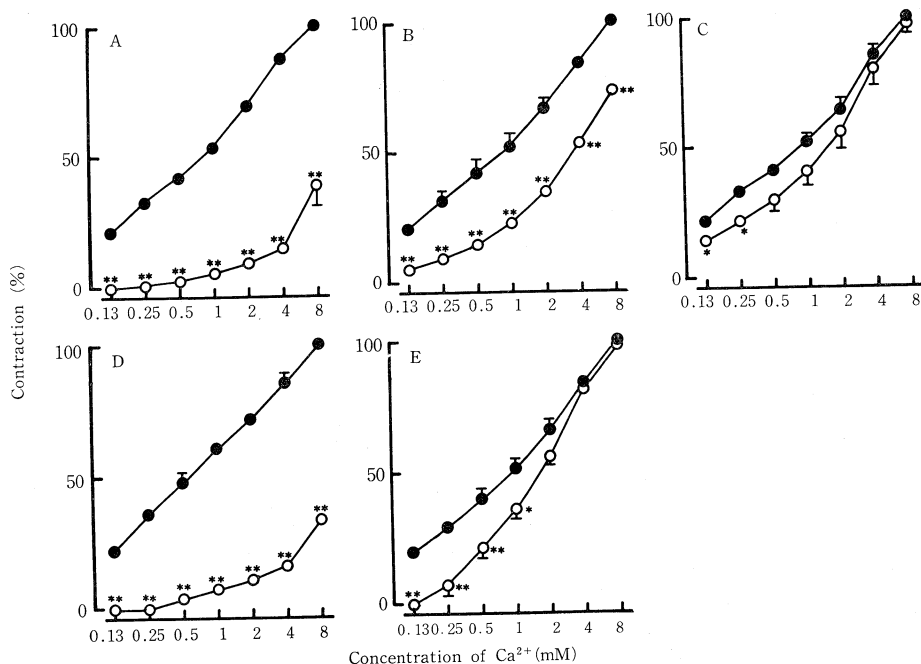


図 1. 脱分極ラット縮瞳筋の Ca 収縮に対する Ca 拮抗薬と Mn^{2+} の作用。Atropine と phentolamine 各 $1\mu M$ を添加。A: D-600 ($1\mu M$, 実験例数 (n)=6), B: diltiazem ($1\mu M$, n=5), C: sodium nitroprusside ($0.1 mM$, n=5), D: nifedipine ($1\mu M$, n=5), E: Mn^{2+} ($0.3 mM$, n=5). ●—●: 対照, ○—○: Ca 拮抗薬又は Mn 存在下. 各点について s.e.m と有意水準 (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$) を示した. シンボルの大きさ以下の s.e.m は省略した. 縦軸: 発生張力. 対照の最大反応を 100 とした.

反応は各 Ca 拮抗薬により影響されず, Mn^{2+} も, 筋トーンスを減少させた以外, 顕著な作用は認められなかった.

散瞳筋の Ca 収縮は, Atr, Phen 非存在下で, Ca 拮抗薬によりごくわずかに抑制されたにすぎなかったが, Mn^{2+} により明らかに抑制された. Atr, Phen 存在下においても散瞳筋の Ca 収縮は顕著な抑制を受けなかった. Mn^{2+} は, この条件下で, Ca 収縮を中程度だが有意に抑制した (図 2).

結 論

ラット虹彩平滑筋は, 筋トーンス, 収縮反応ともに外液 Ca 濃度に依存しているにもかかわらず,

有機化合物の Ca 拮抗薬に対して著しく抵抗性が高く, この性質は散瞳筋においてより顕著であった. Mn^{2+} に対しては, ある程度の感受性を示す事が明らかとなった.

文 献

- Narita, S. and Watanabe, M. (1981). Response of the isolated rat iris sphincter to cholinergic and adrenergic agents and electrical stimulation. *Life Sci.* **29**: 285-292.
- Narita, S. and Watanabe, M. (1982). Response of isolated rat iris dilator to adrenergic and cholinergic agents and electrical stimulation. *Life Sci.* **30**: 1211-1218.

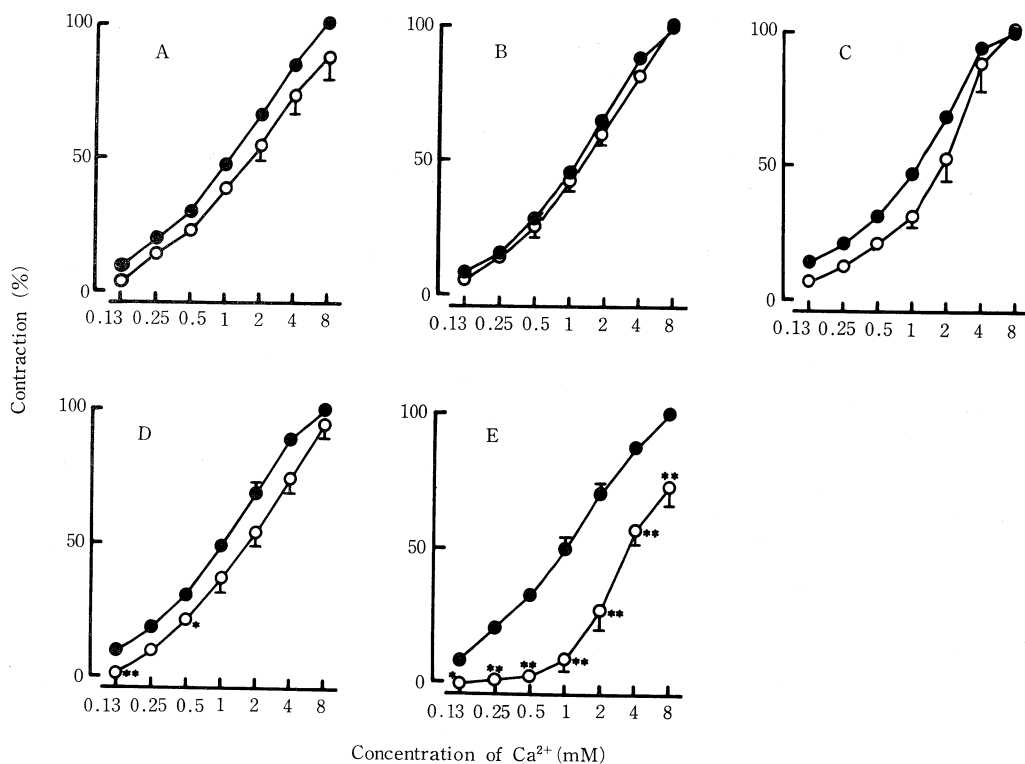


図 2. 脱分極ラット散瞳筋の Ca 収縮に対する Ca 拮抗薬と Mn^{2+} の作用. 実験例数を除き図 1 と同じ.
A: n=6, B, C: n=4, D, E: n=5.

8. 塩酸ジラゼプの家兎脳底動脈に対する作用とその比較

札幌医科大学 脳神経外科学教室

中 垣 陽 一, 齊 藤 孝 次, 佐 藤 修

札幌医科大学 第二生理学教室

砂 野 哲

緒 言

我々はクモ膜下出血後にみられる脳血管攣縮の発生機序に関する実験的研究に行ない、血管周囲の K 濃度の上昇が血管収縮反応を起こさせ、血管攣縮の一因になり得ると報告した (高山ら, 1980; 相馬ら, 1981). この収縮は細胞外 Ca に対する依存性が高いことから、本実験では Ca 拮抗剤に注

目し、攣縮抑制機序について実験的検討を行なった. 今回我々は Ca 拮抗剤として心血管系に対し他の拮抗剤と同様の作用を示すと考えられている塩酸ジラゼプ (Dilazep) の脳血管に対する作用を中心に比較検討した. Dilazep は二塩基性ジアミンのトリメトキン安息香酸誘導体で、薬理学的には持続的血管拡張作用を有する. 脳血管に対する作用機序についての報告は少なく、犬の脳血流量

による報告 (Buyniski *et al.*, 1972), 超音波ドプラー法を用いた報告 (葛谷, 1979), 脳波のパワースペクトラムを用いた報告 (六川ら, 1980) のみであり, 本実験のごとく直接脳血管に対する作用を検討した報告はない。

実験方法

家兎をネブタール麻酔下で脱血死させ, 脳底動脈, 頸動脈, 大動脈, 門脈を摘出し, 双眼顕微鏡下に巾 1mm のラセン状条片として切り出して, 95% O₂ と 5% CO₂ を通気し, 37°C, pH 7.2-7.3 に保った修正 Tyrode 液中に浸し, 条片の一端を mechano-electronic transducer に接続し, 発生張力を等尺性に測定して, インク書オシログラフで記録した。

結 果

A. 家兎脳底動脈高濃度 K 拘縮に対する効果の比較検討

脳血管は高濃度の K によって強い収縮反応を示す。K 拘縮では一過性の phasic contraction と持続性の tonic contraction がみられ, このような K 拘縮は頸動脈, 大動脈, 門脈においても認められた。図 1 のごとく K 拘縮に対する抑制効果は phasic および tonic contraction 共に, Dilazep 濃度 10^{-6} M より認められ, ED₅₀ は 5×10^{-6} M から 10^{-5} M の間にあった。この効果を更に頸動脈,

大動脈, 門脈に対する効果と比較したところ, 5×10^{-6} M と 10^{-5} M において有意に脳底動脈に対する効果が強かった。

また, ノルアドレナリン (NA) 収縮, セロトニン (5HT) 収縮においても, K 拘縮と同様に phasic contraction と tonic contraction が認められるが, これらの収縮に対する Dilazep の効果と K 拘縮に対する効果も比較した。NA および 5HT 収縮は Dilazep 濃度 10^{-6} M で抑制がみられ, 濃度依存性に抑制効果は増強した。K 拘縮に対する効果との比較では, phasic, tonic contraction 共に 5×10^{-6} M, 10^{-5} M の点で有意に K 拘縮に対する抑制が強かった。

B. Dilazep および Verapamil 弛緩の Ca 添加による反転

脳底動脈の K 脱分極時に Dilazep, Verapamil を添加すると, 濃度依存性の弛緩がみられる。この弛緩した筋に Ca を添加すると, Ca 量に応じて再び収縮に反転した。図 2 は 5×10^{-6} M Dilazep あるいは 5×10^{-8} M Verapamil 存在下で, Ca を 2 mM 毎 2 回添加した時の反転を示している。即ち 2 mM の Ca 添加により, Dilazep, Verapamil ともに 80~90% の収縮に反転し, 更に 2 mM の Ca 添加によりほぼ 100% の回復がみられた。

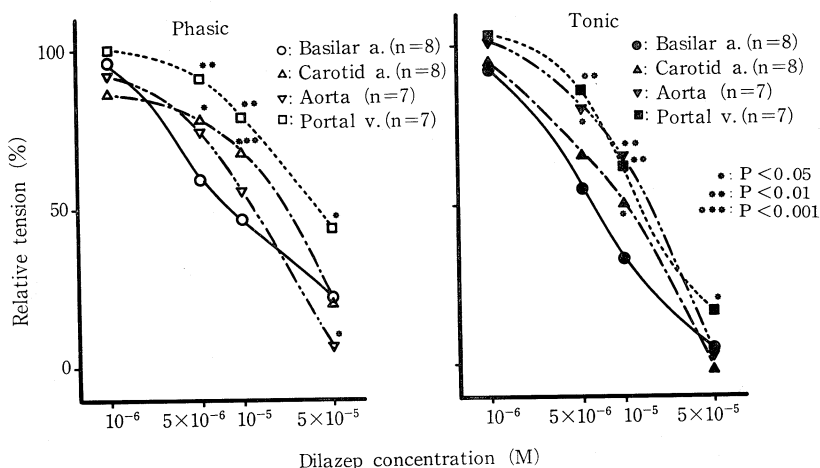


図 1. 各種血管平滑筋の K 拘縮に対する Dilazep の効果
縦軸はコントロールを 100% とし, 種々濃度の Dilazep 存在下の発生張力の比率を示す。
* 印は有意差を示す。

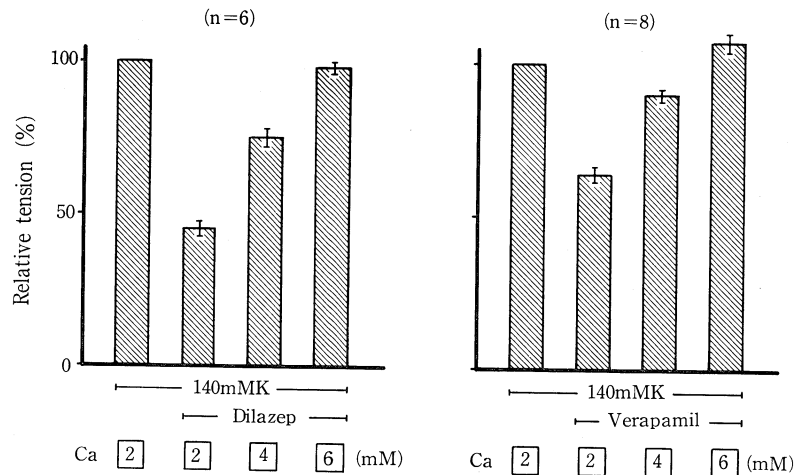


図 2. K 拘縮における tonic contraction の Dilazep および Verapamil による弛緩と Ca による反転.

Dilazep および Verapamil の添加前の tonic contraction を 100% とし、各条件下の張力を比率で表わした。□内の数値は Ca の最終濃度を示す。

考 察

本実験の結果 Dilazep は K, NA, 5HT 収縮のいずれに対しても収縮抑制作用があり、他の血管平滑筋と比較しても、脳血管に対する感受性が強かった。更に作用機序について Verapamil と同様に K 脱分極筋において強い弛緩作用がみられ、細胞外 Ca との拮抗が示唆された。またこの弛緩が Ca 添加により反転することは、Dilazep が脳血管においても平滑筋の収縮に必要な Ca と拮抗することによって、収縮の抑制あるいは弛緩をもたらすという考えを支持する結果である。なお、薬物による収縮の抑制は主として膜興奮の抑制によるものと考えられる。

文 献

Buyniski, J.P. *et al.* (1972). Cerebral and

coronary vascular effects of a symmetrical N,N'-disubstituted hexahydrodiazepine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **181**: 522-528.

葛谷文男 (1979). Dilazep の脳血流量におよぼす影響。一超音波ドプラーを用いた健常者での検討一, 診療と新薬 **16**: 1885-1892.

六川二郎ら (1980). 脳波のパワー・スペクトラムからみた脳循環促進剤の作用効果。一Dilazep の実験的研究一, 基礎と臨床 **14**: 249-254.

相馬 勤ら (1981). 外液 K 濃度上昇による家兔脳底動脈の薬物反応性の増強とその機序, 日平滑筋誌 **17**: 71-79.

高山 宏ら (1980). 摘出ウサギ脳動脈における K 濃度上昇による収縮, 日平滑筋誌 **16**: 271-283.

シンポジウム II

子 宮 筋

1. 妊娠末期ラット子宮縦走筋の自発性興奮発生と伝導

山口大学医学部 第一生理学教室

長 琢 朗, 小笠原 利 保, 加 藤 誠 志

分娩発現時の子宮運動はしばしば腸管の蠕動運動と類似の運動機能と考えられている。前者においては明らかにホルモン性の調節が優勢であり、特に分娩発来に関して自発活動の初発部位が何処にあるのか、子宮筋組織のどのような生理学的、薬理学的性質の変化が対応するのか等々未解決の問題が多く残されている。

実験結果

現在の実験では妊娠 20 日および 22 日のラット子宮の縦走筋摘出標本を用い、収縮活動、電気活動の細胞内記録、細胞外誘導を目安として比較を行った。1.2mM のマグネシウムを含んだ Krebs 液中では自発活動が少なく、この傾向は 22 日の子宮筋標本で著しい。マグネシウム欠除 Krebs 液において、微小電極法により得られた記録では 20 日、22 日の筋細胞について膜電位に大きな相異は認められない。活動電位は 20 日の筋組織で、徐電位がやや大きく、群放電中のスパイク電位の大きさが不揃いの傾向が見られた。

ゴム膜隔絶法により電気活動の細胞外誘導を行うと初発スパイク電位の極性を指標として、自発性興奮の伝導方向を知ることが出来る。筋条片によって卵巣側→腔側、卵巣側⇄腔側、卵巣側←腔側、のような 3 つのタイプの興奮伝導を示すが、20 日及び 22 日の筋組織約 160 条片について、上記伝導方向には有意の差が見られなかった。また、1.2mM マグネシウムを含んだ正常 Krebs 液中では自発性活動は低下するが、 3×10^{-4} U/ml オキシトシン、 10^{-7} g/ml PGF_{2α} 投与により誘

発された活動についても、伝導の方向性について妊娠 20 日と 22 日の筋条片について相異はなかった。故に分娩時には胎児は腔方向に搬出されると考えられるのに拘らず縦走筋組織自体によってこのような方向性が構成されるのではないことが判る。輪走筋の関与その他をも考慮に入れて生体内運動を理解する必要がある。

幅 1mm、長さ 3cm の筋条片について自発性収縮の大きさは概ね一定であるがリズムは不規則であったり規則正しいものがあった。後者について 1cm ごとに、糸で結紮するとその度に収縮リズムが倍加される。これは短い筋条片も自動能を有するが、長い条片では優位の歩調とによって全体の収縮リズムが決まることを示している。このメカニズムの解明も子宮全体の運動機能を理解するために必要であろう。

尚、分娩は通例、妊娠 22 日の午後に行われるが、現在の報告は妊娠 22 日の前前 10 時に得た子宮標本についての実験結果である。

ま と め

In vivo の子宮運動機能は体液成分、血中ホルモンにより著しく影響されると考えられる。故に in vitro 標本についての結論はそれなりの意義しか持たないと考えられるが、現在の実験結果に関する限り妊娠 22 日目の分娩発現についての運動機能を説明し得る所見は得られなかった。もう少し実験条件を複雑にして行くことが、in vivo の理解に役立つと考えられる。

2. ラット子宮平滑筋における K 拘縮と Na イオン

名古屋大学医学部 産婦人科学教室

正 橋 鉄 夫

名古屋大学医学部 第一生理学教室

富 田 忠 雄

高濃度の K イオンは脱分極性の収縮，すなわち拘縮を起こすために多くの実験に利用されている。モルモット結腸紐などの平滑筋では外液に Na が存在するかどうかで K 拘縮の大きさに差があることが指摘されているが，子宮筋ではまだ十分な注意は払われていない。ラット子宮筋においては，外液の Na を除去することにより持続的な張力が発生し，その張力は特に輪走筋においてホルモンの影響を強く受けることが報告されている（正橋，高井，富田，1981）。そこで今回我々はラット子宮の縦走筋および輪走筋を用いて，異った濃度の Na を含む高濃度 K 液により発生する張力に対するホルモン状態の影響を観察した。また，グルコースを除去したときの効果についても検討を加えた。

方 法

未妊，妊娠（妊娠 15-20 日），去勢（去勢後約 2 週間），およびエストロゲン処理（去勢約 2 週間後，estradiol-17 β bonzoate 5 μ g 4 日間処理）のウィスター系ラットを用いた。縦走筋，輪走筋とも幅 1mm，長さ 6mm の標本作製し，その張力発生を記録した。未妊子宮においては膣スメアをホルモン状態の指標とした。高濃度 K 液として，0, 10, 20, 40, 87.4mM の Na を含む 40mM K 溶液を使用し，Na を減少させるときには Tris で置換した。灌流液は 35°C，pH 7.4 に維持した。

結 果

K 拘縮は初期の相動性の収縮と，それに続く緊張性の収縮によりなっている。K の濃度を 40mM に保ちながら，外液の Na 濃度を変化させて収縮反応を記録すると，相動性収縮は未妊子宮では自発性収縮の 1~1.2 倍で Na 濃度とは関係なくほぼ一定であった。また，妊娠子宮では自発性収縮を示す標本は少なく，比較はできなかったが，この場合も外液の Na 除去で，相動性収縮が著明に影響を受けることはなかった。相動性収縮に続く緊張性収縮は K 濃度を増した後約 15 分ではほぼ一定の張力を維持するようになる。相動性収縮は Na 濃度に関係なくほぼ一定の張力を発生させるので，相動性収縮に対する K 投与後 15 分の緊張性収縮の割合を指標として，各ホルモン状態の緊張性収縮の張力を比較した（Table 1）。縦走筋においては，去勢，エストロゲン処理，妊娠のすべてにおいて外液の Na を除去することにより緊張性収縮は増強した。一方輪走筋では，エストロゲン処理および妊娠においては外液の Na 除去による緊張性収縮の増強が見られたが，去勢輪走筋では外液の Na は高 K 拘縮の緊張性収縮に大きな影響を与えなかった。子宮平滑筋では正常 K 濃度（5.9mM）でも外液の Na を 20mM 以下に減少させると持続的な張力の増加がみられる。未妊娠時では外液の Na を完全に除去すると輪走筋では相動性，縦走筋では緊張性の収縮が優勢である。こ

Table 1. The amplitude of the tonic contraction at 15 min after exposure to the excess K (40 mM) solution expressed in percentage of the phasic contraction (Mean \pm S.E., n=6)

	Circular		Longitudinal	
	87.4 mM Na	0 mM Na	87.4 mM Na	0 mM Na
ovariectomized	17.9 \pm 1.7	14.5 \pm 2.3	52.0 \pm 14.1	150.4 \pm 24.8
estrogen treated	37.4 \pm 8.6	107.8 \pm 23.9	105.6 \pm 9.0	178.0 \pm 9.3
pregnant	28.9 \pm 10.0	103.2 \pm 14.1	71.3 \pm 22.0	138.3 \pm 11.0

の Na 除去の拘縮は妊娠およびエストロゲン処理によって増強し、特に輪走筋の緊張性部分が外液の Na 濃度およびホルモン状態によって受ける影響は正常 Krebs 液から Na のみを除いた場合の収縮反応とよく一致しているといえる。

エストロゲン処理および妊娠子宮においては、Na が存在しない場合の高 K 液による緊張性収縮は外液のグルコースを除去することにより輪走筋、縦走筋ともに抑制された。一方去勢子宮では Na が存在しない場合でも抑制はみられなかった。Na が存在する場合には、エストロゲン処理でも、妊娠においても緊張性収縮は抑制されなかった。正常 Krebs 液から Na を除去したときに発生する拘縮においても同様に、妊娠子宮においてはグルコースを除去することにより O Na 拘縮が抑制される傾向がみられた。

考 察

外液の Na を除去することにより、各種平滑筋において脱分極および拘縮のおこることが知られている (van Breemen, Aaronson, and Loutzenhiser, 1979)。今回の実験における高濃度 K による拘縮に対しても Na 除去がその張力を増強することより、O Na 拘縮に対して脱分極以外の因子が関与している可能性が考えられる。また、外液のグルコースを除去した場合の効果から、エストロゲン

処理子宮および妊娠子宮では Na が存在しない場合、K 拘縮の張力維持に何らかの代謝過程が関与している可能性が示唆される。Ogasawara ら (Ogasawara, Kato, and Osa, 1980) はラット縦走筋においてエストロゲン処理により K 拘縮の緊張性収縮が増強することを観察し、Ca 流入の増加によるものと考察したが、今回の実験では縦走筋よりも輪走筋において、Na を含まない高 K 液による拘縮がエストロゲンによる影響を強く受けることが観察され、輪走筋の方が縦走筋よりもエストロゲンに対する感受性が高いと考えられる。

文 献

- Ogasawara, T., Kato, S. and Osa, T. (1980). Effects of estradiol-17 β on the membrane response and K-contracture in the uterine longitudinal muscle of ovariectomized rats studied in combination with the Mn activator. *Jap. J. Physiol.* **30**: 271-285.
- 正橋鉄夫, 高井 章, 富田忠雄 (1981). ラット子宮筋における O Na 拘縮. *日平滑筋誌* **17**: 243-244.
- van Breemen, C., Aaronson, P. & Loutzenhiser, R. (1979). Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle. *Pharmac. Rev.* **30**: 167-208.

3. 子宮・膣筋収縮機構, とくに細胞内 Ca store に 関する PGE₂, PGF_{2 α} の作用

奈良県立医科大学 産婦人科学教室
高 山 辰 男, 一 條 元 彦
小坂井 秀 宣, 石 橋 尚 武

緒 言

分娩生理を理解する上で、Ca の平滑筋収縮制御機構ならびに、これに及ぼす PGs. の作用を検討することは有用である。今回は収縮モデルとして子宮体部縦走筋の PGE₂, PGF_{2 α} による収縮を、弛緩モデルとして膣縦走筋の PGE₂ による弛緩を対象として以下の知見を得た。

方 法

Wistar 系ラットの子宮及び膣縦走筋を microscopy 下に幅 200 μ , 長 2,000 μ の細切片に切り出し、少容量 bath を用いた in vitro isometric contraction system を組み、2mM Ca 加 high K solution による拘縮 (以下 Ca-contracture と呼ぶ), Ca-free high K solution (以下 c. f. K. s. と略す) による弛緩, ついで c. f. K. s. 中で carbachol contraction

(以下 cch.c. と略す)を行なわせ、この張力を細胞内 Ca store の指標とした。又、cch.c. に及ぼす PGs. の影響から PGs. の作用機序を解析した。

なお実験は室温にて行ない、使用ラットは castration 後 estradiol benzonate 10 μ g/day 3 日間投与後の estrogen dominated rat を用いた。

成 績

a. 2mM Ca 10 分負荷後、c.f.K.s. 中で 5 分後の 10⁻⁴M cch.c. を 100% とすると Ca 5 分負荷時のそれは、子宮筋で 92.3 \pm 4.1%, 膣筋で 98.0 \pm 1.5% であった。

b. 2mM Ca 5 分負荷後、c.f.K.s. 中で 3 分後の 10⁻⁴M cch.c. を 100% とすると 5 分後のそれは子宮筋で 91.7 \pm 1.6%, 膣筋で 89.7 \pm 1.4% であり、20 分後のそれは子宮筋で 41.5 \pm 13%, 膣筋で 29.1 \pm 6.6% であった。

c. 2mM Ca 5 分負荷後、c.f.K.s. 中で 5 分後の 10⁻³M cch.c. を 100% とすると、10⁻⁴M cch.c. は子宮筋で 89.2 \pm 3.6%, 膣筋で 97.6 \pm 2.9% であった。(以上 mean \pm S.E. n=5-6)

a~c より本実験では 2mM Ca 負荷時間を 5 分、c.f.K.s. 中での carbachol 投与時間を 5 分後に、carbachol 投与濃度を 10⁻⁴M とすることを原則と

した。

d. 子宮筋において Ca 負荷後、c.f.K.s. 中で PGs. による一過性の収縮を行なわせると、その後の cch.c. は PGs. に dose-dependent な減少を示した (図 1)。

e. Ca と同時に PGE₂ を負荷し、その後 c.f.K.s. 中で cch.c. を行なわせると、PGE₂ 無投与に比べ、子宮筋では Ca-contraction は増強し、cch.c. は減少した。逆に膣筋では Ca-contraction は減少し、cch.c. は増強した (図 2)。

f. Ca 負荷後、c.f.K.s. 中で carbachol と同時に PGE₂ を投与した場合、PGE₂ 無投与例の cch.c. に比べ、子宮筋の cch.c. は増強し、逆に膣筋の cch.c. は減少した。

考 察

c.f.K.s. 中での cch.c. は細胞内 Ca の利用、おそらくは細胞内 Ca store に貯えられた Ca の放出が考えられる。Ca 負荷による Ca-contraction、ついで c.f.K.s. 中での cch.c. を規則正しく、くり返せば、cch.c. の大きさは一定化するので、この張力の大きさは細胞内 Ca store の指標と考えられる。収縮モデルにおいて、cch.c. を行なわせる前に、PGs. による収縮を行なわせると、その後の

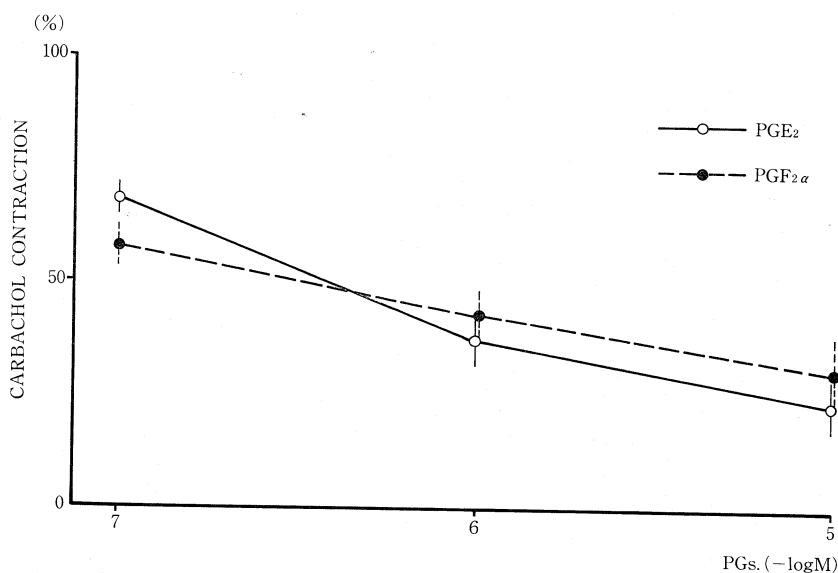


図 1. 2mM Ca 加高K液に 5 分間負荷し、次いで Ca-free 高K液中で、一過性の PGs. 収縮後の carbachol 収縮の比較。

PGs. 無投与の場合の carbachol 収縮を 100% とした。mean \pm S.E. N=6

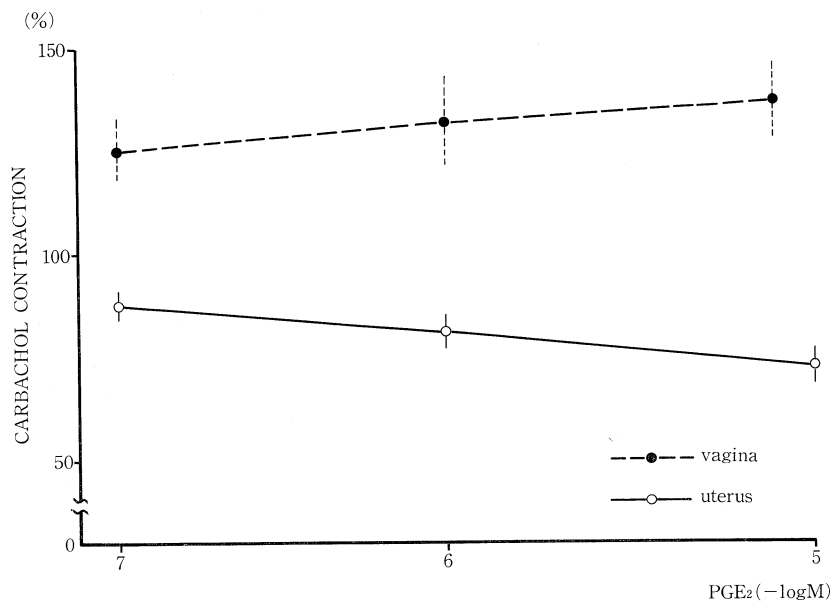


図 2. 2 mM Ca 加高K液と同時に PGE₂ を負荷した場合, その後の Ca-free 高K液中での carbachol 収縮の比較.

PGE₂ 無投与の場合の carbachol 収縮を 100% とした. mean±S. E. N=4-5

ch. c. は減少することより, PGs. による収縮には細胞内 Ca store よりの Ca 放出機序が関与することが示唆された. 弛緩モデルにおいて, cch. c. を行なわせる前に, PGE₂ による弛緩を行なわせると, その後の cch. c. は増強することより, PGE₂ による弛緩には, 細胞内 Ca store への Ca とり込み機序が関与することが示唆された. 又, c. f. K. s. 中で carbachol と PGE₂ を同時に投与した場合, cch. c. に増減が出現することから, Ca store には, PGE₂ に sensible なものと, carbachol に sensible なものが重複しているのではないかと考えられた.

ま と め

ラット子宮筋, 膣筋における PGs. による収縮, 弛緩機序を細胞内 Ca store を介した Ca の動態を中心に述べたが, 現時点で, はたして, PGs. の作用が細胞内 Ca store を介するものなのか否かについて, 明確な言及はひかえたい. 又, 本実験にお

いて, PGs. 作用時の細胞膜を介した Ca の流出, 入に関し, 十分な知見を得ていないので, 今後それらの可能性についてもさらに検討を加えたい.

文 献

- Carsten, M.E., *et al.* (1977). Effects of prostaglandins and oxytocin on calcium release from a uterine microsomal fraction. *J. Biol. Chem.* **252**: 1576-1581.
- Casteels, R., *et al.* (1979). The action of acetylcholine and catecholamines on an intracellular calcium store in the smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* **294**: 51-68.
- 経塚光夫ら (1979). 子宮平滑筋の収縮. 産科と婦人科. **46**: 57-64.
- Satoh, H., *et al.* (1981). Role of an intracellular Ca store in Trepibutone (AA-149)-induced relaxation of the depolarized smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *Jap. J. Pharmacol.* **31**: 593-599.

4. ラット子宮縦走筋の Ca free high K 溶液内での収縮

東北大学医学部 産科学婦人科学教室

経塚 光夫, 井戸川 敏彦, 山辺 紘猷
佐藤 章, 鈴木 雅洲

平滑筋の発生張力は、骨格筋や心筋と同様に筋形質内の Ca イオン濃度によってコントロールされていることが、モルモットの盲腸紐 (Endo *et al.*, 1977) やラットの子宮筋 (経塚, 他 1979) の skinned fiber の実験より知られている。しかし、収縮に使われる Ca イオンのソースは筋細胞が脱分極した時の細胞外 Ca の細胞内への流入であるか、細胞内 Ca store からの Ca の放出であるかは不明である。本実験ではラット子宮縦走筋を用い、脱分極下に細胞外 Ca イオンを free とする条件で細胞内 Ca store の存在および性質を検討した。さらにこの細胞内 Ca store の caffeine に対する反応についても検討した。

方 法

Wister 系, 未妊娠雌ラットの子宮体部縦走筋を使用し、一部モルモットの盲腸紐を使用した。切り出した筋をさらに実体顕微鏡下に巾 75~150 μm , 長さ 1~2mm の大きさに切り、生体内とはほぼ同じ長さになるよう両端を U ゲージトランスデューサーと bath に水平に固定し、等尺性に発生張力を測定した。固定後 Na, K, Ca, HEPES-Tris, dextrose をそれぞれ 150, 4, 2, 5, 5.6mM 含む溶液に 20~30 分間つけ安定させた。その後上記の溶液で Na を K に全置換した溶液 (以下 K-Ca 溶液と略) で K-contracture を数回おこし筋束が脱分極により収縮することを確認し、発生張力のある程度の目安とした。K-contracture の状態から、K-Ca 溶液から Ca を除き、かわりに膜の安定化の為に Mg を等量, EGTA を 4mM 含む溶液 (以下 G4 溶液と略) に変え、発生張力は resting level までもどる。再び K-Ca 溶液 (以下 K-Ca 溶液につけることを loading と呼ぶ) G4 溶液で洗浄後、G4 溶液に薬物を加えた溶液に変え、一過性の収縮が得られる (Ohashi *et al.*, 1974, Endo *et al.*, 1980)。この収縮の大きさは安定しており、同じ条件下ではかなりの再現

性を示す。

低 Ca 濃度溶液を作る場合には Ca と EGTA の $\text{pH}=7.40$ の見かけの結合定数を $10^{6.9}\text{M}^{-1}$ として計算した。温度は $25\pm 2^\circ\text{C}$ で行なった。

結 果

細胞内 Ca store

1) loading の後の G4 溶液内での一過性収縮は carbachol, 合成オキシトシン, prostaglandin E_2 , ATP などを作用させることにより発生した。
2) loading の時間を長くすると一過性収縮は次第に大きくなり 5 分間で約 90% までに達した。
3) loading 後の G4 溶液で洗う時間を長くすると収縮は次第に小さくなり、消失するのに数 10 分を要した。巾 75~150 μm の筋束で Ca が拡散して EGTA と結合する時間は数 10 秒と考えられるが、この一過性収縮が小さくなる時間経過はきわめてゆっくりしている。また G4 溶液で洗う途中で Ca free Na 溶液に変え、再び G4 溶液に変えて脱分極させても収縮はおこらない。さらに G4 溶液の EGTA を 20mM に増やしても収縮力に変化はみられないという点から、この一過性の収縮に使われた Ca は細胞内 Ca store から放出されたと考えられる。また loading 時に細胞内 Ca store に Ca が取り込まれると考えられる。
4) loading の後に G4 溶液で洗浄し、初めに低濃度の carbachol を作用させた後に G4 溶液で洗浄して、再び $2\times 10^{-4}\text{M}$ の carbachol を作用させると、初めの収縮は carbachol の濃度に依存して大きくなるが、 $2\times 10^{-4}\text{M}$ の carbachol による収縮は反対に小さくなってゆく。これよりこの細胞内 Ca store の Ca 容量は一定であると考えられる (図 1)。

Caffeine の作用

loading の後に G4 溶液中で caffeine を作用させると、ラット子宮縦走筋ではモルモットの盲腸紐のように収縮がみられない。しかし caffeine を洗浄した後での carbachol による一過性収縮は

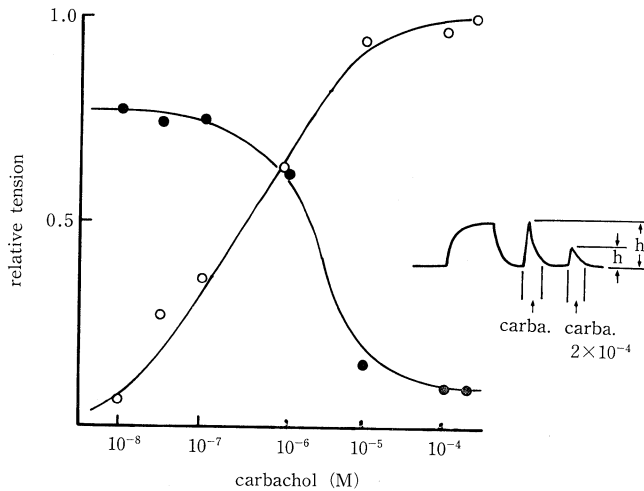


図 1. ○: はじめに作用させた carbachol による濃度作用曲線 ●: はじめに作用させた carbachol を洗浄後、再び carbachol 2×10^{-4} M を作用させた時の収縮の大きさ。はじめの carbachol により細胞内 Ca store より一部の Ca が放出され、carbachol 2×10^{-4} M で残りの Ca が放出されたと考えると、この細胞内 Ca store の Ca 容量は一定と考えられる。

の収縮と結びついていないと考えられる。

考 案

子宮平滑筋の活動電位の current carrier は、Na と Ca とも言われており、収縮の時の Ca イオンのソースは現在不明である。本実験の結果からは、子宮縦走筋細胞内にも骨格筋、心筋、盲腸紐と同様に収縮と結びつく Ca store があることが示された。この細胞内 Ca store の Ca は caffeine によって収縮をおこさないという点では他の筋の筋小胞体とは異なるように考えられるが、caffeine により Ca の量が減少することからは、筋小胞体との薬理学的類似性が示唆された。しかし caffeine によって放出されない Ca もこの Ca store に存在するので、子宮筋での細胞内 Ca store に関してはさらに検討が必要と思われる。

文 献

- Endo, M., Kitazawa, T., Yagi S., Iino M. and Kakuta Y. (1977). Some properties of chemically skinned smooth muscle fibers. In: *Excitation-contraction coupling in smooth muscle*. Ed. by Casteels, R., Godfraind, T. and Rüegg, J.C. Elsevier/North-Holland Biochem. Press: Amsterdam, New York, Oxford. 199-209.

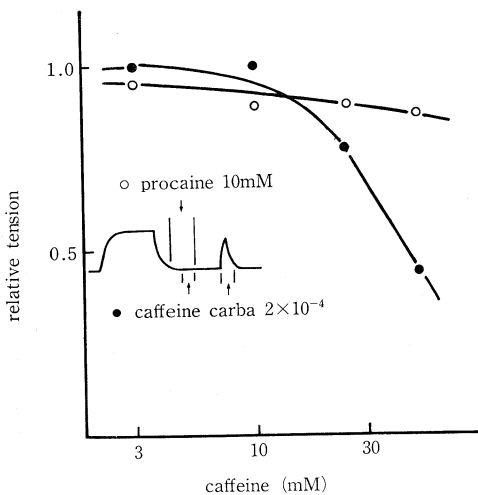


図 2. caffeine を前処理すると収縮は発生しない。しかし caffeine を洗浄後に carbachol 2×10^{-4} M を作用させると収縮は caffeine の濃度に依存して小さくなる。この caffeine の作用は procaine によって block される。

caffeine の濃度に依存して小さくなる。また、この caffeine の作用は procaine によって抑制された (図 2)。これより caffeine は細胞内 Ca store の Ca 量を減少させているが、その分の Ca は筋

- Endo, M., Kitazawa T. and Yagi S. (1980).
In: *Muscle contraction, its regulatory mechanism*. Ed. by Ebashi, S., Maruyama, K. and Endo, M. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/ Springer-Verlag, Berlin. 447-463.
- 経塚光夫, 今泉英明, 小野寺弘, 山辺紘猷, 鈴木雅洲,
一条元彦 (1979). 子宮平滑筋のグリセリン筋及

び chemically skinned fiber の Ca イオン感受性について. 日平滑筋誌 15: 217.

- Ohashi, H., Takewaki T. and Okada T. (1974).
Calcium and the contractile effect of carbachol in the depolarized guinea-pig taenia caecum. *Jap. J. Pharmac.* 24: 601-611.

5. 妊娠ラット子宮平滑筋 skinned fiber における Ca²⁺ 受容蛋白 (Calmodulin) の影響について

東京慈恵会医科大学 産婦人科学教室
落 合 和 彦, 蜂 屋 祥 一

東京慈恵会医科大学 第一生理学教室
馬 詰 良 樹, 増 田 允

三菱化成生命科学研究所 薬理研
丸 山 六 三

子宮筋の収縮機構や、陣痛の発来機序は、以前より内分泌学的な背景や、oxytocin, PGs などの収縮物質を中心に、臨床的には研究されてきた。一方、平滑筋の収縮機序は、単一筋線維の採取が困難なことや、その構造上の特徴から、分子生物学レベルでのメカニズムは、骨格筋ほど明確にされていない。

従来より我々は、saponin 処理法をラットに適用し、chemically skinned fiber を作製し、子宮筋の Ca²⁺ 感受性が妊娠期間中に変化する事を確認してきた (徳留, 1981)。今回、この変化が、何に起因するのかを確認する目的で、近年、Ca²⁺ 受容蛋白質として注目をあつめ、myosin 軽鎖リン酸化酵素の活性化因子としての calmodulin の, skinned fiber に及ぼす影響を検討した。

実験方法

Wister 今道系ラット、非妊娠群、妊娠初期 (在胎 7 日目)、妊娠末期 (在胎 21 日目) を用い、従来報告してきた方法に準じ (徳留, 1981; Ochiai *et al.*, 1981), 子宮平滑筋束 (5~6×0.3~0.4mm) を採取, saponin 60 µg/ml 30 分間で chemically skinned fiber を作製した。外液の Ca²⁺ を増加させ等尺性に張力を測定すると共に、外液に bovine brain より抽出した Calmodulin (100~1000 ng/ml)

を添加し、張力に及ぼす影響を検討した。

また、Saponin 処理によって溶出する組織内 Calmodulin (以下 CaM と略) を、phosphodiesterase 活性を指標として検討した。

つぎに、子宮収縮に及ぼす内分泌学的な背景を検討する目的で、非妊娠群に progesterone (2~20 mg) を皮下注射し、Ca 感受性に与える影響を検討した。

実験結果

非妊娠群では、CaM により、張力は著しく増強され、この傾向は、pCa<5 で著明であった。又、妊娠初期にも同様の傾向を示したが、妊娠末期では、pCa>6 で、張力の増強を認めるものの、pCa<5 での張力増強は見られなかった。dose response curve では、CaM (一) における contracting solution (pCa 4.54) による張力を 1.0 としたとき、非妊娠群、妊娠初期群で、CaM により左へ移動し、妊娠末期のそれと類似した傾向を示した。Saponin 処理溶液中に溶出する CaM を測定すると、非妊娠群 150 ng/ml、妊娠初期 300 ng/ml、妊娠末期 100 ng/ml 以下と、妊娠の経過とともに低下した。

progesterone 投与下での Ca²⁺ 感受性は、臨床投与量ではほとんど変化なく、大量投与で、わず

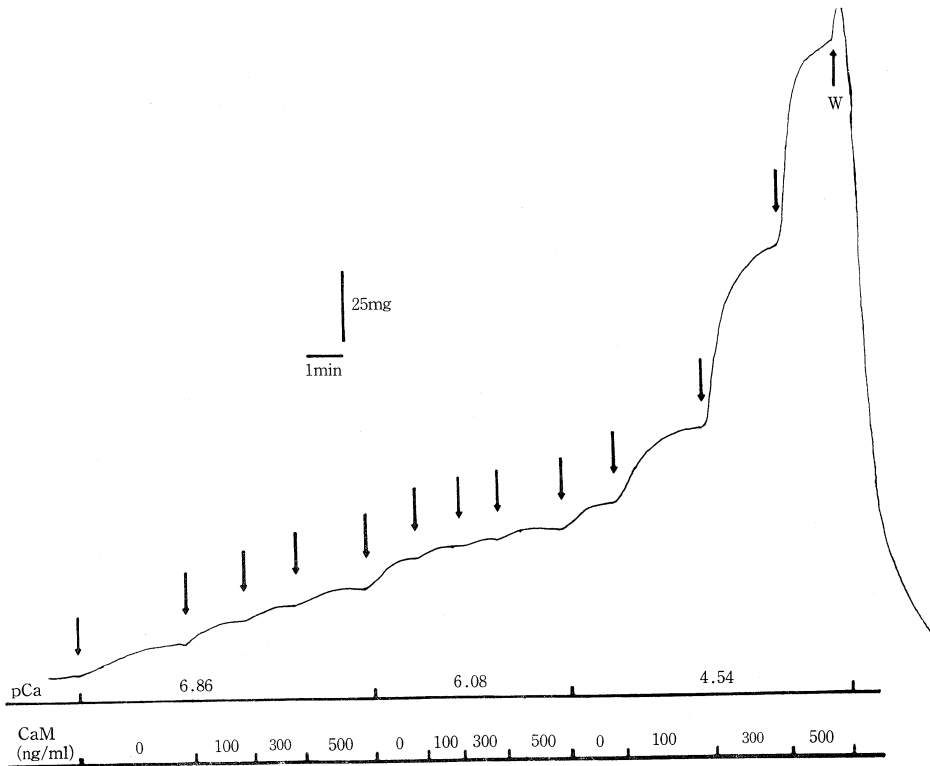


図 1. Calmodulin の張力に及ぼす影響 (非妊娠)

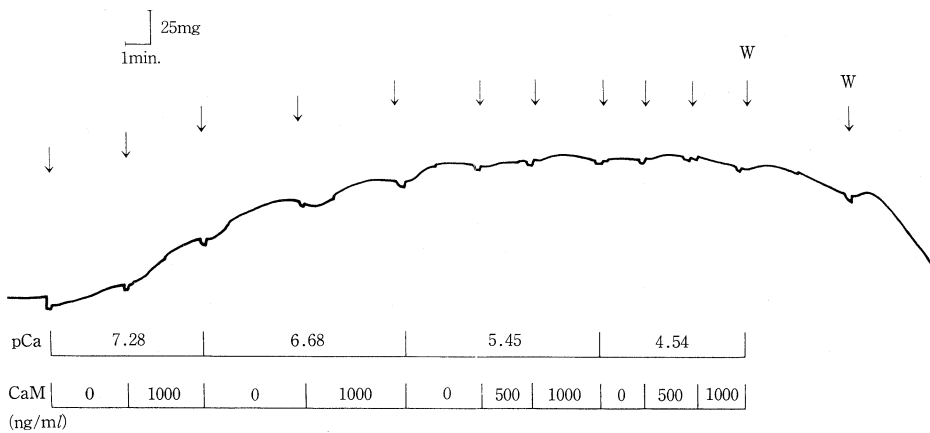


図 2. Calmodulin の張力に及ぼす影響 (妊娠 21 日目)

かに低下する傾向を認めた。

考 察

平滑筋収縮において、ミオシン軽鎖のリン酸化が、トロポニンに代る、アクトミオシン系の活性調節の機構であることが、多くの学者により提唱

されており、この反応を触媒するものが、CaM であるということが、Dabrowska ら (1978) によって確認されている。しかし、妊娠、分娩といった dynamic な生理現象を仕どる子宮筋においても同様なことがおきていることは確認されていない。今回の実験結果から、少なくとも CaM が子宮筋収

縮に何らかの作用を及ぼしている事が確認され、しかも妊娠の経過に伴ってその反応性に差があることが明らかとなった。この事実は、妊娠期間中に子宮筋の Ca^{2+} 感受性が変化する事と重大な係りがあるものと考えられる。我々は、この変化を組織内の CaM の結合状態の変化のためと考え、saponin 処理で溶出するであろう外液中の CaM 濃度を測定し、妊娠末期には減少している事を確認した。つまり、妊娠の経過に伴って細胞内 Ca^{2+} が上昇し、細胞内 free CaM と結合し、それが収縮系へ関与して、分娩時の強い収縮が惹起されると考えられる。そして、収縮系へ関与した CaM は、saponin 処理によっても外液へ溶出せず、そのため妊娠末期には外液の CaM は減少したのだろうと考えている。

又、progesterone 投与による結果は、一見、内分泌学的な背景を無視し得るようにも思えるが、progesterone 以外の steroid hormone の影響や、胎児側の因子、更には, fetoplacental-maternal の

複雑に絡み合った関与が予想される。

いずれにせよ、妊娠中の Ca^{2+} 感受性の変化を、CaM の存在だけでは説明できず、CaM の収縮系での binding site や affinity の問題や、これらが妊娠中に変化するのかといった問題、内分泌学的な背景が組織内 CaM に与える影響など、残された問題も多く、今後更に検討していきたい。

文 献

- Dabrowaka, R. *et al.* (1978). *Biochemistry* 17: 253-298.
- Ochiai, K. *et al.* (1981). Augmentation by calmodulin of Ca^{2+} induced tension development in saponintreated (chemically skinned) rat uterine smooth muscle fibers. *Biomedical Research* 2: 714-717.
- 徳留省悟 (1981). サポニン処理子宮平滑筋におけるカルシウム感受性, 東京慈恵会医大雑誌 96: 1~7.

シンポジウム III

下部食道機能

1. 噴門部逆流防止機能測定用スリーブセンサーの開発

名古屋大学医学部 第一外科教室

愛知県コロニー中央病院 小児外科

渡辺 芳夫, 伊藤 喬 広

長屋 昌宏, 山田 昂

胃食道逆流現象 (GER) を検討するに際して、噴門部の逆流防止能を直接評価することが重要である。私共は、臨床的にこの機能を食道透視、内視鏡、食道静止圧曲線に基づく食道内圧検査、下部食道 24 時間連続 pH 測定で検討してきた。しかし、全て、噴門の逆流防止能を直接に反映しているとは考えにくい。そこで、山田ら (1981) は、胃食道逆流現象に伴う common cavity phenomenon に基づいて、腹圧の上昇に対する LES の逆流防止能を、食道内圧の上昇から検討して報告した。しかし、これも腹圧が LES 圧に影響することもあると考えられ、LES そのものの逆流防止能を直接評価するとはいいがたい。一方、実験的に直接この機能を評価するためには、胃の内圧を上昇させて、食道に逆流が生じた時の圧で、LES の逆流防止能を検討し、分析している (DeMeester *et al.*, 1979; Pettersson *et al.*, 1980)。だが、これをそのまま生体に用いることはできない。そこで、私共は長時

間 LES 測定用に開発中のスリーブセンサーに工夫を加えて、逆流防止能が測定できるのではないかと考え、試作・検討をしてみた。

方 法

測定用センサーの構造は (図 1)、多重管を用いて、先端に長さ 5 cm、直径 4.5 mm、厚さ 100 μ m のバルンを作成し、そこに、1 本の加圧用の管を誘導した。このバルンの外側に、長さ 7 cm、直径 5.5 mm、厚さ 80 μ m のウレタン膜を被せて、2 重の膜構造とした。バルンと外側のウレタン膜の間に、胃側から食道側へ水が流れるように、多重管とウレタン膜に孔を開けた。これを Pettersson らが報告している LES のモデル (Pettersson *et al.*, 1980) を用いて、LES の圧および長さを変化させて、測定圧の変化を調べた。測定方法は、先に述べたスリーブセンサーのバルン内圧を上昇させ、注入圧の基定線が 100 mmH₂O 上昇する点まで加

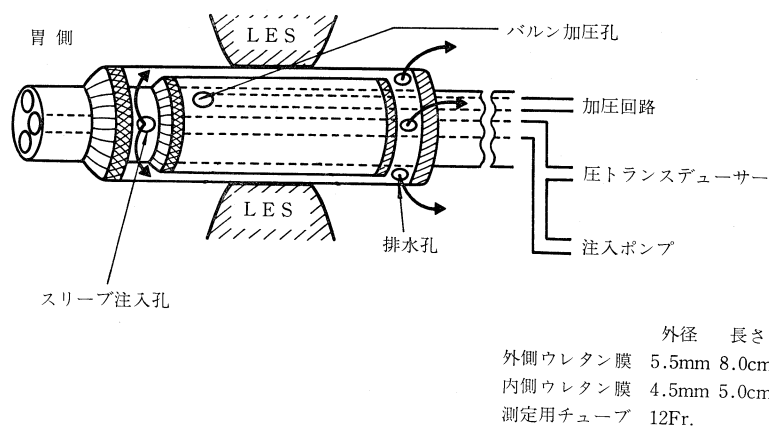


図 1. スリーブセンサーの構造

表 1. LES の圧と幅を変えた時の測定値の変化

幅 圧	10 mm	20 mm	30 mm	40 mm	相 関 係 数
125 mmH ₂ O	25	50	50	65	$r=0.82$
250 mmH ₂ O	75	100	100	150	$r=0.85$
375 mmH ₂ O	130	150	225	250	$r=0.94$
500 mmH ₂ O	170	225	300	325	$r=0.97$
625 mmH ₂ O	225	275	375	425	$r=0.98$
相 関 係 数	$r=0.99$	$r=0.99$	$r=0.99$	$r=0.99$	

圧した。そして、この点を0として計算した。つぎに、センサーをモデルの中に入れ、LESの圧と長さを決めた後、水の注入を再開し、逆流開始圧を測定した。

結 果

モデル LES の圧を上昇させると、同じ幅の LES の場合は、測定圧の上昇を認めた。また、同じ圧のもとでは、モデル LES の長さを長くすると、測定圧の上昇を認めた (表 1)。

考 案

DeMeester ら (1979), Pettersson ら (1980) の実験結果から、モデル LES の逆流防止能は、LES の圧と長さによって決定されと考えられる。また、私共のモデルそのものの逆流防止能も同様な結果を得ている。そして、今回、この測定法によって、同じ傾向が認められたことは、生体の噴門部逆流防止能を評価できる可能性が大きいと考えられた。一方、食道内への物質の刺激によって、LES の弛緩が生ずるとの報告 (Christensen and Iskandarani, 1981) があり、GER を検討する上で、この逆流防止圧のもつ意味は大きいと考えられる。

結 語

生体の噴門部逆流防止能を直接に調らべる方法

は、報告されていない。これを目的として、スリープセンサーによる測定を試みた。その結果、①胃から食道への注水ができる。②LESの圧と長さで統合された逆流防止能を測定できる。③カテーテルを留置したままで、繰り返し測定ができる。④測定用センサーの大きさは、容易に変えることができる。以上の4つの特徴を有しており、今後、低圧域の感度の上昇を討ることによって、生体への応用が可能となると考えられた。

文 献

- Christensen, J. & Iskandarani, M. (1981). Neuromuscular functions in esophageal smooth muscle of opossums as differently affected by veratrum alkaloid. *Gastroenterol.* **81**: 866-871.
- DeMeester, T.R. & et al. (1979). Clinical and in vitro analysis of determinations of gastroesophageal competence, a study of the principles of antireflux surgery. *Am. J. Surg.* **137**: 39-46.
- Pettersson, G.B. & Bombeck, C.T. (1980). The lower esophageal sphincter: Mechanisms of opening and closure. *Surgery* **88**: 307-314.
- 山田 昂ら (1981). Gross C 型食道閉鎖症根治術後の胃食道逆流症例の治療経験. 日小外会誌 **17**: 129-135.

2. PSS の食道病態—食道内圧と食道シンチグラムによる検討

筑波大学 臨床医学系外科

竹 島 徹

筑波大学 内科

桜 井 徹 志

筑波大学 放射線部

畠 山 六 郎, 秋 貞 雅 祥

全身性進行性硬化症 (PSS) における食道病変については数多くの報告がなされているが, その病態はなお不明確で, 診断方法は必ずしも確立しているとはいえない。今回われわれは PSS 症例の食道内圧と食道シンチグラムによる検討を行い, 2, 3 の知見を得たので報告する。

方 法

A. 対象

アメリカリウマチ協会による診断基準を満たす 13 例の PSS 症例である。PSS 症例の年齢は平均 54.9 歳, 罹病期間は Raynaud 現象出現以来, 平均 10 年である。食道に関する症状としては軽度例を含めると, 嚥下障害が 7 例, 胸やけなどの逆流症状が 7 例, 無症状 2 例であった。また食道胃バリウム造影では著変なし 8 例, 食道拡張 4 例, 食道裂孔ヘルニア 1 例であった。一方食道内視鏡検査で 4 例にビラン潰瘍型食道炎を認めている。

B. 食道内圧測定法

0.4ml/分の水注入法により, (i) 静止圧引き抜き法による LES 圧, (ii) カラ嚥下による中部および下部食道収縮圧, (iii) AOC-TP (1μg/kg) 静注 1 分後の LES 圧, を測定した。

C. 食道シンチグラム

^{99m}Tc-phytate (フチン酸) 500μCi と水 300ml 飲用後, 1 フレームあたり 15 秒間隔で 20 分間撮影したのち, 腹部帯で 30mmHg の腹圧を 10 分間加えて撮影した。全データをミニコンピュータ (シンチパック 230) に収録したのち, 食道下部に 5×6cm の関心領域 (ROI) を設け, 同部におけるカウントを経時的に求めた。

結 果

A. 食道内圧 (表 1)

1. LES 圧: PSS 12 例の無刺激下 LES 圧平均値は, 9.5 ± 6.6 (M±SD) cmH₂O で, LES 機能正常と考えられる健常対照群の値 16.7 ± 8.5 cmH₂O と比較して, 有意の低下を示した。

表 1. PSS の LES 圧と食道収縮圧
PSS の LES 圧 (cmH₂O)

	PSS	正常対照例	有意差
無 刺 激	9.5 ± 6.6 n=12	16.7 ± 8.5 n=26	P<0.05
AOC-TP 刺激	20.2 ± 11.0 n=11	34.0 ± 16.4 n=26	P<0.05

PSS の食道収縮圧 (cmH₂O)

	PSS	正常対照例	有意差
中 部 食 道	12.4 ± 11.0 n=12	19.7 ± 10.6 n=7	ns
下 部 食 道	13.4 ± 8.3 n=12	19.4 ± 6.2 n=7	P<0.05

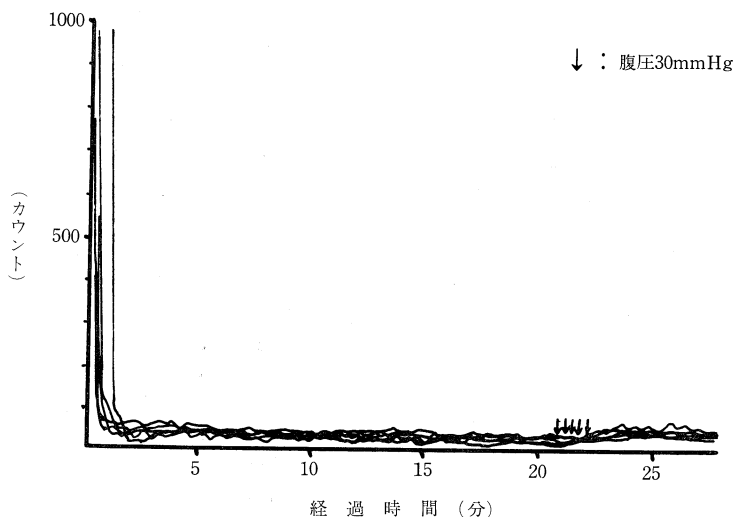
AOC-TP 刺激時では, PSS 症例で 20.2 ± 11.0 cmH₂O であり, 健常対照例の 34.0 ± 16.4 cmH₂O と比較して有意の低下を示した。

2. 食道収縮圧: カラ嚥下による食道収縮圧は中部食道で 12.4 cmH₂O, 下部食道で 13.4 cmH₂O であり, この場合健常対照例と比べて有意の低下を示した。

B. 食道シンチグラム (図 1)

図 1 上段は健常成人 5 例の食道シンチグラムの経時的变化を示す。RI 飲用後, 下部食道領域にお

食道シンチグラム (健常人5例)



食道シンチグラム (PSS 10例)

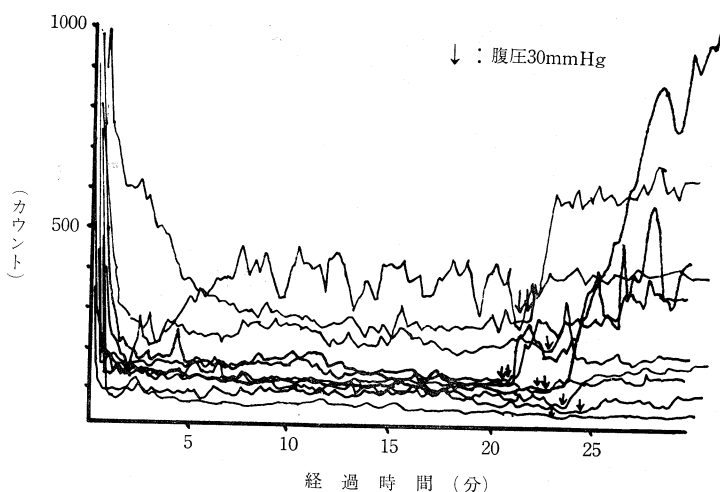


図 1. 食道シンチグラム (健常例と PSS)

けるカウントはただちに減少し、その後ほとんど一定の低いカウトレベルを維持した。したがって排出は良好で逆流も認められない。30mmHgの腹圧を10分間にわたって加えても、逆流はきわめて軽微であった。

図1下段はPSS 10例の食道シンチグラムの変化を示す。健常例と比較して食道排出遅延例が2例、易逆流例が3例、排出遅延+易逆流例が2例、正常例が3例であった。

また30mmHgの腹圧を加えて逆流を示したのは9例ではゞ全例であるが、このうち中等度以上の逆流を示した症例は4例であった。

個々の症例における症状、食道内圧検査所見、食道シンチグラム検査所見の対応を検討すると、逆流症状の有無に対応した結果を得られたのは、内圧測定では13例中5例、食道シンチグラムでは、10例中7例であった。また通過障害の症状の有無に対応した食道シンチグラムの結果が得られ

たのは、10 例中 7 例であった。

考 察

PSS の食道病変は本質的には嚥下運動に由来する収縮波の減弱が関与することが知られている (Atkinson ら, 1966)。今回の検討で LES 圧の減弱も確認された。この事実について野口ら (1978) は、PSS に特異的な所見ではないが、これらの所見を呈した場合に、食道機能異常の可能性が高いと指摘している。

われわれの用いたコンピューター処理による食道シンチグラムの利点は、1. 排出と逆流の定量化が可能、2. バリウム造影より放射線被爆がきわめて少い、3. バリウムあるいは、pH メータ挿管は非生理的、4. 酸の存在を必要とせず各種胃手術後の排出と逆流の測定が可能、5. 簡便で迅速、などにある。Fisher ら (1976)、Menin ら (1980) の報告でも逆流愁訴と内視鏡所見にきわめて密接に対応を示すとされたとおり、われわれも本法が通過障害と逆流の病態を客観的に detect できる優れた検査法であると考ええる。

結 論

1. 食道内圧測定から PSS 症例における食道運動と LES 機能の減弱を認めた。
2. 食道シンチグラムから、PSS 症例において食道排出遅延と逆流の両者が起り得る。
3. 食道シンチグラムは食道排出遅延と逆流を detect する優れた検査法であると考えられた。

文 献

- Atkinson, M. *et al.* (1966). Oesophageal change in systemic sclerosis. *Gut* 7: 402-408.
- Fisher, R.S. *et al.* (1976). Gastroesophageal (GE) scintiscanning to detect and quantitate GE reflux. *Gastroenterology* 70: 301-306.
- Menin, R.A. *et al.* (1980). Gastroesophageal scintigraphy to assess the severity of gastroesophageal reflux disease. *Ann. Surg.* 191: 66-71.
- 野口真利 他 (1978). PSS における食道病変の X 線診断, 臨放 23: 43-50.

3. 3 点 (食道・LES・胃) 圧同時測定による GER 誘発検査の評価

名古屋大学医学部 第一外科教室

愛知県コロニー中央病院 小児外科

山 田 昂, 伊 藤 喬 広

長 屋 昌 宏, 渡 辺 芳 夫

はじめに

GER の診断法として、食道胃透視、食道内圧測定、pH 連続測定、食道シンチグラム等がある。内圧測定では従来引き抜き法にて LES の静止圧を測定し、その圧、幅の値から GER が起こりやすい状態か否かを判定してきた。しかしその値から GER を診断することは必ずしもできない。それはこの方法では逆流現象を直接とらえて記録することができないからである。そこで我々は食道・LES・胃 3 点圧同時測定によって GER を記録して診断に使えるかを検討した。

方 法

内圧測定用チューブは小児の測定には日本シャープウッド社製の 3 重管を用いた。3cm 間隔に側孔をあけて圧測定孔とした。成犬の測定には Argyl 社製 Esophageal motility tube を使用した。これは 5cm 間隔に側孔のある多重管でできている。測定用チューブ中枢側には Y 字管をつけ、一方にはトランスデューサーを接続し一方には輸液注入ポンプを接続し、毎分 0.5ml の持続注入を行なった。

小児の測定は GOF の軽い麻酔、成犬はイソゾール静脈麻酔下に行なった。測定用チューブは鼻孔または口から挿入し、測定孔を胃内、LES 最高圧点、下部食道に位置させた。圧が安定したところ

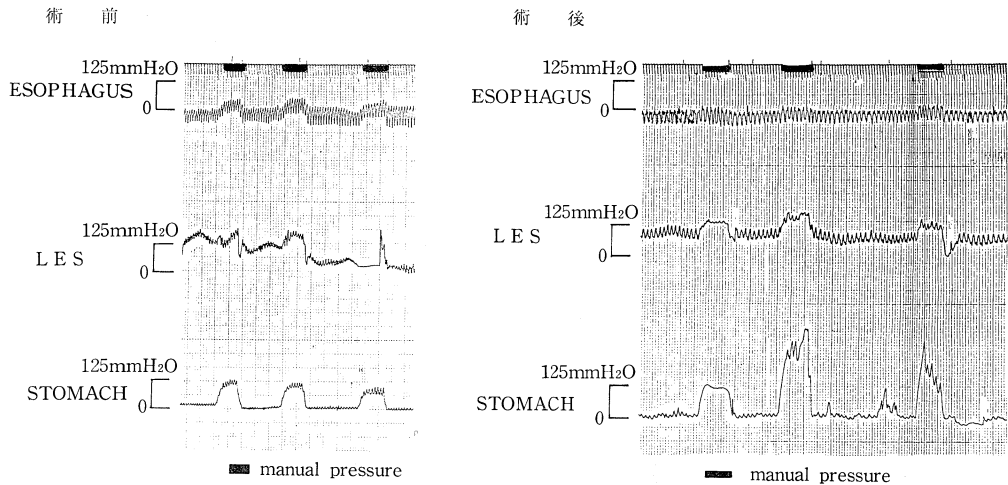


図 1. 食道裂孔ヘルニア+GER 症例

術前は腹圧負荷により食道内圧の上昇をみとめ逆流を確認した。

術後には腹圧負荷で食道内圧は上昇せず、逆流防止術が有効であったことを証明した。

で腹部を用手的に圧迫し、3点の圧変化を同時に記録した。

測定対象は、正常児、および透視、pH 連続測定で GER が確認された食道裂孔ヘルニア例、先天性食道閉鎖症根治術後例の逆流防止手術前後、そして雑種成犬であった。

結 果

他検査で GER をみとめない正常児および逆流防止手術成功例の計 7 例の測定では、腹圧負荷により胃内圧、LES 圧は上昇したが、食道圧は上昇

しなかった。一方他検査で GER が確認された 10 例では、腹圧負荷によって胃内圧の上昇とともに食道内圧も上昇した。その中で、圧迫解除とともに食道圧がもとにもどる例と、圧迫解除後も食道圧が高く、この間 LES 圧が低下しつづけ、次に食道に収縮波が出現すると LES 圧がもとにもどり、食道圧ももとにもどる例があった。これらの所見を確認するために雑種成犬を用い測定した。非逆流犬では腹圧負荷にて LES 圧は上昇したが食道圧は不変であった。逆流の有無は食道にチューブを入れ吸引して確認した。逆流犬は、開

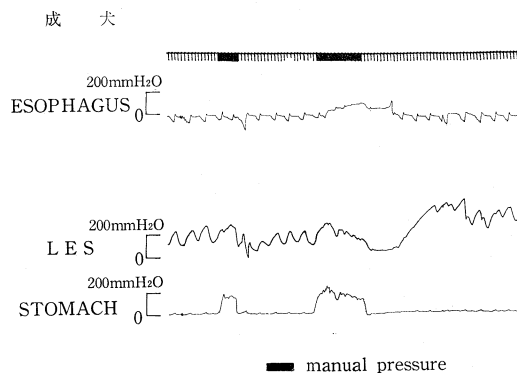


図 2. GER 陽性犬

腹圧負荷にて逆流がおり、食道圧は上昇する。腹圧解除しても食道内に逆流物があって食道圧が高いと反応性に LES は弛緩し、次に食道に収縮がおこって逆流物が排出されると食道圧、LES 圧はもとにもどる。

腹して胃大彎側をはずし胃底部を下方に引っばって His 角を開くことによって作成した。この犬では腹圧負荷にて容易に逆流がおこり食道圧が上昇した。

考 案

内圧測定による GER 診断法として Butterfield ら (1972) が common cavity test を報告し、その有用性について述べている。

我々は GER の診断法として、また LES の腹圧負荷に対する機能すなわち逆流防止能力を判断する方法として本法の有効性をしらべた。逆流のない例では腹圧負荷によって LES 圧は上昇するが食道内圧は上昇しない。これは胃内圧の上昇が噴門部で flap valve mechanism として働き、あるいは腹圧が腹部食道にかかって LES 圧が上昇し、これらが逆流防止のための barrier として働いているためであろう。一方逆流例では、LES が腹圧負荷に耐えられずに開いてしまい、食道と胃が共通腔になって胃内圧が食道に伝わり、食道圧の上

昇として記録される。

このように 3 点圧同時測定は腹圧負荷に対する LES の逆流防止能力の判定に役立ち、GER の診断、逆流防止術の効果判定に利用できると考える。また逆流後の下部食道、LES の動きもひきついて記録すると、食道の clearance を動的にとらえることができ、食道運動機能評価にも有用である。

文 献

- Butterfield, D.G., *et al.* (1972). A test of gastro-esophageal sphincter competence - The common cavity test. *Digestive Disease* 17: 415-421.
- Dodds, W.J., *et al.* (1981). Pathogenesis of reflux esophagitis. *Gastroenterology* 81: 376-394.
- 山田 昂他 (1981). Gross C 型食道閉鎖症根治術後の胃食道逆流症例の治療経験. 日小外会誌 17: 129-135.

4. 下部食道接合部機能の筋電図学的研究

—高位迷切と低位迷切との比較—

千葉大学医学部 第二外科学教室

紅 谷 明, 平 島 毅, 原 輝彦
桜 庭 庸 悦, 阮 逸 功, 大 宮 安紀彦
植 松 武 史, 佐 藤 博

我々は下部食道接合部における各種手術操作が食道運動機能に与える影響を調べる目的で犬を用いて筋電図学的検討を行ってきた。第 23 回本総会では下部食道筋層縦切開と横切離とを比較し、縦切開の方が横切離に比べより正常に近い筋電図出現様式をみせた事を報告したが (紅谷, 1977, 1980, 1981), 今回は犬を用い胸部迷切を行なった場合、迷切部位の高さの違いにより下部食道運動機能が受ける影響について筋電図学的に検討し若干の知見を得たので報告した。

実験方法

雑種成犬 15 頭を用い、食道および迷走神経に

手術操作を加えない対照群 5 頭、奇静脈の高さで胸部両側迷切を行なった高位迷切群 5 頭、食道胃接合部より 1.5cm 口側の部で両側迷切を行なった低位迷切群 5 頭の 3 群を作成した。各群とも雑種成犬をネンブタール 25mg/kg 静注にて麻酔した後開胸し、高位及び低位迷切群では前述の高さで迷切を行ない、さらに鉤状双極針電極を食道胃接合部、それより 1cm 口側、2cm 口側、3cm 口側の 4 点に刺入固定した。筋電図測定は各群とも術後 2 日目以降に無麻酔の状態で行ない、ミルク一口嚥下させた時の筋電図変化を測定した。記録は多用途監視記録装置 RM-45 を用い、時定数は 0.003 秒、hi-cut-filter は off とした。

成 績

対照群にミルク一口嚥下させると嚥下後まず 3 cm 口側の部に活動電位が出現し、順蠕動性に 2 cm 口側, 1 cm 口側, 接合部へと活動電位は波及して

いった。(表 1-a) は対照群 C-1 から C-5 の 5 頭について 5 回から 25 回の嚥下を行なわせ各嚥下に対して活動電位の出現率をまとめたものである。接合部以外の 3 点では各嚥下に対してすべて活動電位が出現しているが、接合部では C-1, C-2

表 1.

a) 対 照 群

部位 \ イヌNo.	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
3cm口側	回 回 5/5 % (100)	25/25 (100)	14/14 (100)	10/10 (100)	20/20 (100)
2cm口側	5/5 (100)	25/25 (100)	14/14 (100)	10/10 (100)	20/20 (100)
1cm口側	5/5 (100)	25/25 (100)	14/14 (100)	10/10 (100)	20/20 (100)
接合部	1/5 (20)	19/25 (76)	14/14 (100)	10/10 (100)	20/20 (100)

b) 高位迷切群

部位 \ イヌNo.	V _I -1	V _I -2	V _I -3	V _I -4	V _I -5
3cm口側	回 回 40/40 % (100)	25/25 (100)	11/11 (100)	20/20 (100)	27/27 (100)
2cm口側	0/40 (0)	25/25 (100)	8/11 (73)	20/20 (100)	0/27 (0)
1cm口側	0/40 (0)	0/25 (0)	0/11 (0)	16/20 (80)	0/27 (0)
接合部	0/40 (0)	0/25 (0)	0/11 (0)	4/20 (20)	0/27 (0)

c) 低位迷切群

部位 \ イヌNo.	V _{II} -1	V _{II} -2	V _{II} -3	V _{II} -4	V _{II} -5
3cm口側	回 回 30/30 % (100)	28/28 (100)	26/26 (100)	30/30 (100)	26/26 (100)
2cm口側	30/30 (100)	28/28 (100)	26/26 (100)	30/30 (100)	26/26 (100)
1cm口側	30/30 (100)	28/28 (100)	25/26 (96)	27/30 (90)	26/26 (100)
接合部	15/30 (50)	9/28 (32)	4/26 (15)	23/30 (70)	18/26 (69)

のごとく時に活動電位の出現がみられない事もあった。

高位迷切群 V_{I-1} から V_{I-5} の5頭についてミルクー口嚥下させた場合の活動電位出現率をまとめたものが(表 1-b)である。 V_{I-1} , V_{I-5} のように嚥下後活動電位が 3cm 口側のみに出現したものの, V_{I-2} , V_{I-3} のように活動電位が 2cm 口側まで波及したものの, V_{I-4} のように接合部まで出現したものの3つのパターンが認められた。ただし接合部まで活動電位が出現した V_{I-4} は, 各部位で活動電位がほぼ同時に出現し, いわゆる同期化が認められた。全体的にみると, 高位迷切群では迷切部より肛門側にはなれるにしたがって活動電位出現率は低下した。

低位迷切群 V_{II-1} から V_{II-5} の5頭の嚥下後活動電位出現率をまとめると(表 1-C)のごとくになる。 V_{II-1} , V_{II-2} , V_{II-5} の3頭は 3cm 口側から 1cm 口側までの部位ですべての嚥下に対して活動電位が出現し, V_{II-3} , V_{II-4} でも 1cm 口側で 90% 以上の活動電位出現率であった。接合部での活動電位出現率は他の部位にくらべて低かったが, 高位迷切群にくらべ明らかに対照群に近い活動電位出現様式をみせた。

ま と め

雜種成犬を用いて, 対照群, 奇静脈の高さで両側迷切を行なった高位迷切群, 食道胃接合部より 1.5cm 口側で両側迷切を行なった低位迷切群の3

群を作成し, 下部食道接合部の運動機能を筋電図の面から検討した。

対照群にミルクー口嚥下させると活動電位は口側から肛門側へ順蠕動性に波及したが, 接合部だけは時に活動電位出現をみない事もあった。

高位迷切群の嚥下後活動電位は, 迷切部より肛門側にはなれるにつれて, 出現率が低下し, 特に接合部およびそれより 1cm 口側では嚥下後活動電位はほとんど認められなかった。また, 接合部附近で活動電位が認められた例でも活動電位の同期化が認められ, 伝達障害を示唆させた。

低位迷切群では嚥下後活動電位はかなりの高率で接合部附近まで出現し対照群に似た活動電位出現様式をみせた。

以上より, 食道に対する迷走神経支配が低位で遮断された場合, 下部食道運動機能は比較的保たれるが, 高位で遮断された場合は明らかに影響を受けるものと思われた。

文 献

- 紅谷 明他 (1977). 下部食道接合部機能の筋電図学的研究. 日平滑筋誌 13: 239-240.
紅谷 明他 (1980). 下部食道接合部機能の筋電図学的研究 (第2報) 日平滑筋誌 16: 156-157.
紅谷 明他 (1981). 下部食道接合部機能の筋電図学的研究 —— 食道筋層縦切開と横切離との比較 ——. 日平滑筋誌 17: 217-218.

5. 選択的近位迷走神経切離術の下部食道括約筋機能に及ぼす影響

東海大学医学部 第二外科学教室

生 越 喬 二, 幕 内 博 康, 近 藤 泰 理
杉 原 隆, 三 富 利 夫

緒 言

消化性潰瘍患者の外科的治療として, 著者は, His 角より上方約 8cm の食道を剝離し, 迷走神経切離術を施行している。その為か, 術後高頻度に嚥下困難症状の発現を経験したので, その発生要因を探求する目的で迷切術前後に食道内圧測定を行うとともに, 胃酸分泌能, 胃排出能, 血中ガス

トリン放出反応, ドーパミン負荷試験を比較検討した。

方法と対象

対象は, 十二指腸潰瘍 17 例で, 全例選択的近位迷走神経切離術 (selective proximal vagotomy, SPV) 施行例で, そのうちの 10 例にテトラガストリン $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 負荷時の LES の反応をみた。食道

内圧測定は、以前に報告した方法を用い(幕内, 1981), 胃酸分泌能は、テトラガストリン $4\mu\text{g}/\text{kg}$ 筋注法, レギュラーインシュリン $0.2\text{U}/\text{kg}$ 静注法, ドーパミン $2\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 点滴静注法, 血中ガストリン値は, Cis kit を用い, 胃排出能は, アセトアミノフェン法を用いた。それぞれを術前, 術後1カ月, 3カ月, 6カ月, 12カ月に日を改めて行った。統計処理は, t , paired t および χ^2 検定を用い, $p < 0.05$ 以下をもって有意の差があると判定した。

結 果

(1) 術前術後ともに, 食道内圧測定値と胃酸分泌能, 血中ガストリン値, 胃排出能との間で有意な相関は認められなかった。(2) 嚥下困難症状は, 10例に認められ, 全例6カ月以内に消失した。(3) 術前の HPZ の長さは, $2.9 \pm 0.3\text{cm}$, 術後1カ月, $3.4 \pm 0.8\text{cm}$, 3カ月 $3.3 \pm 0.5\text{cm}$, 6カ月 $3.4 \pm 0.5\text{cm}$ で1年目では $3.0 \pm 0\text{cm}$ と回復し, 1カ月, 3カ月, 6カ月で有意に延長した。(4) LES 圧は, 術前 $14.2 \pm 6.0\text{mmHg}$, 1カ月 $13.6 \pm 4.9\text{mmHg}$, 3カ月 $13.5 \pm 6.6\text{mmHg}$, 6カ月 $13.6 \pm 5.1\text{mmHg}$, 1年目 $8.0 \pm 2.0\text{mmHg}$ と低下傾向を示したが, 有意の差は認められなかった。(5) 嚥下性弛緩(D.R.)の程度は, 術前 $97.6 \pm 5.6\%$, 1カ月 $53.6 \pm 20.6\%$, 3カ月 $52.5 \pm 17.1\%$, 6カ月 $90.0 \pm 10.0\%$, 1年目では $93.3 \pm 11.5\%$ と回復し, 1カ月, 3カ月では有意に低下した。(6) 嚥下より嚥下性弛緩最大値までの反応時間は, 術前 $2.3 \pm 0.8\text{秒}$, 1カ月 $4.3 \pm 1.5\text{秒}$, 3カ月 $4.3 \pm 1.0\text{秒}$, 6カ月 $2.6 \pm 0.9\text{秒}$, 1年目では $3.3 \pm 1.5\text{秒}$ と回復し, 1カ月, 3カ月では有意に延長した。

(7) 空嚥下時に curling および segmental contraction がくりかえし2度以上発生する症例を陽性例とすると, その発生頻度は, 術前 11.8%, 1カ月 35.7%, 3カ月 75%, 6カ月 60%, 1年目 0% と3カ月, 6カ月で有意に増加した。(8) 術後食道内圧測定時, 飲水時でも嚥下困難症状を呈する severe 群の HPZ の長さは, 術前 $2.8 \pm 0.4\text{cm}$ が術後 $3.2 \pm 0.4\text{cm}$, 固形物経口摂取時に有症状の moderate 群は, それぞれ, $2.8 \pm 0.4\text{cm}$, $3.8 \pm 1.1\text{cm}$, asymptomatic 群は, $3.0 \pm 0\text{cm}$, $3.3 \pm 0.5\text{cm}$ と moderate 群にのみ有意の差が認められた。嚥下より嚥下性弛緩最大値までの反応時間は, severe 群 $2.6 \pm 0.9\text{秒}$, $3.4 \pm 1.3\text{秒}$, moderate 群, $2.0 \pm 0.7\text{秒}$, $5.0 \pm 1.2\text{秒}$, asymptomatic 群 $2.4 \pm 4.5\text{秒}$, $4.5 \pm 1.5\text{秒}$ と, severe 群では有意の差が認められなかった。(9) 術後ドーパミン負荷試験で BAO よりも $0.2\text{mEq}/30'$ 以上に胃酸分泌が低下する 1M-N 群は, D.R. 減弱の程度が少なく, curling および segmental contraction の発生頻度が多く, 嚥下困難症状が 67% に認められた。胃酸分泌不変例の 1M-I 群は, D.R. の減弱が認められるが, curling および, segmental contraction の発生頻度が少なく, 嚥下困難症状は 45% に認められた。胃酸分泌が増加する 1M-P 群は, 全例嚥下困難症状が認められた(図1)。(10) 負荷前を 1.0 としてガストリン $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 静注時の LESP の変動をみると図2に示す如く, 1M-N 群は 1M-I 群に比し反応の低下が認められた。

考 察

消化性潰瘍 67 例の検討では, 嚥下困難症状が認められる術後1カ月, 3カ月は, 減酸効果が最

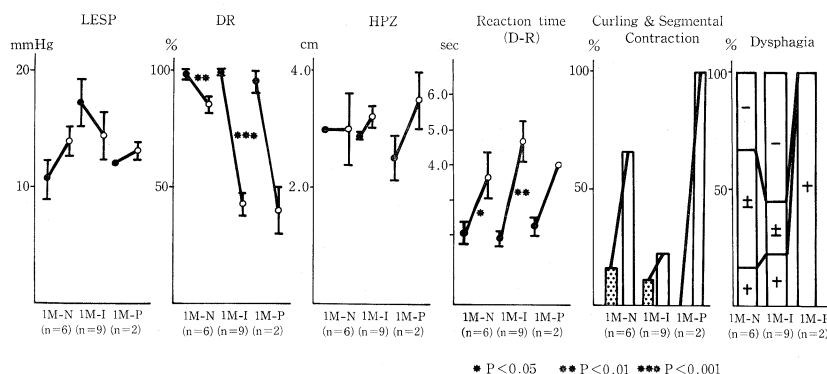


図1. ドーパミン負荷試験反応別と術前術後の食道内圧測定値および嚥下困難症状

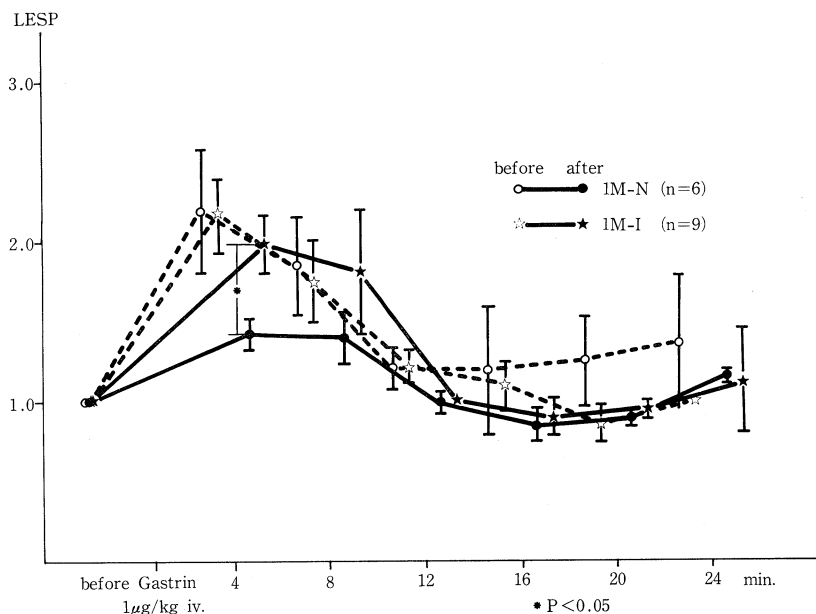


図 2. ドーパミン負荷試験反応別と術前術後の外因性ガストリンに対する LES の反応

大で、胃排出はやや亢進し、高ガストリン血症を呈する時期であり、ドレナージ効果が何らかの影響を及ぼしていることが示唆された(生越, 1982). 十二指腸潰瘍症例で、SPV 単独例少数例の検討ではあるが、嚥下困難症状と、D.R. の減弱、嚥下より嚥下性弛緩最大値までの反応時間の延長、curling および segmental contraction の発生頻度の増加との関係が、更に明確となった。しかし、ドーパミン負荷試験からの検討では、術後減酸効果が不十分で、胃排出遅延群の 1M-N 群で(生越, 1982), D.R. の減弱の程度が少なく、一方術後減酸効果が十分で、ほぼ満足な結果が得られている 1M-I 群では、D.R. の減弱は認められるが、curling および segmental contraction の発生頻度が少なく、しかも、嚥下困難症状の発生が少ないこと、更に、ガストリン負荷時の LES の反応で 1M-N, 1M-I 群で差が認められたことは興味あり、D.R. 嚥下より嚥下性弛緩最大値までの反応時間、外因性ガストリンに対する LES の反応の作用機序が異なることが示唆された。

ま と め

迷切術後の嚥下困難症状の発生要因として、denervation による嚥下性弛緩の減弱等の下部食道括約筋機能障害がまず考えられ、さらに、傍食道の手術操作及び炎症が加わったものと考えられた。

文 献

- 幕内博康ら (1981). 下部食道括約筋 (LES) の基礎と臨床—LES の神経遮断による反応を中心に—. 日平滑筋誌 17: 168-170.
- 生越喬二ら (1982). 選択的迷走神経切離術の胃酸分泌能、血中ガストリン放出反応、胃排出能、下部食道括約筋機能に及ぼす影響—特に迷切後嚥下困難症状について—. 日外会誌 83: 548-555.
- 生越喬二ら (1982). 迷走神経切離術後に発生する高ガストリン血症の検討—ドーパミン負荷試験よりの検討、消化管ホルモン (II)—消化管ホルモンと潰瘍—第 4 回 Gut hormone カンファレンス記録集, 218-224.

6. 食道裂孔ヘルニアにおける食道胃接合部の機能評価

慶応義塾大学医学部 外科学教室

上 野 滋, 横 山 穰太郎, 森 川 康 英

羽 金 和 彦, 中 野 美和子, 鎌 形 正一郎

遠 藤 昌 夫, 勝 俣 慶 三

緒 言

食道裂孔ヘルニアにおける GER の本態の詳細は未だ不明である。本疾患における食道胃接合部の機能を正確に評価することは、治療への指針を与えるとともに逆流防止機構の本態を知る上にも重要な示唆を与えてくれる。

目 的

我々は小児食道胃接合部を機能評価の総合的に行うため、食道胃透視、内圧測定、内視鏡、pH 引き抜き曲線、24時間持続食道内 pH モニタリングを行っている。

1972 年 1 月より 1982 年 3 月までに評価を行った症例は 60 例で、うち食道裂孔ヘルニアと診断された例は 7 例であった。今回我々は、これら 7 例の内圧測定、引き抜き曲線、24 時間 pH モニタリングの結果を重点的に検討し、本疾患における食道胃接合部の機能評価を試みた。

方 法

A. 内圧測定

a. 静止圧曲線：軽麻酔又は全身麻酔下に、単孔あるいは 3 孔の open tip catheter を鼻孔より挿入し station pull-through 法にて曲線を描かせた。

b. 圧・冷水刺激に対する反応：下部食道の昇圧帯 (HPZ) に受圧部を留置した後中部食道に拡張刺激あるいは冷水刺激を行い、HPZ の圧変動を見た。

c. 薬物刺激：HPZ に受圧部を留置した後、gastrin 2mcg/kg, atropine 0.02mg/kg を静脈内に投与し、圧変動を見た。

B. 食道内 pH 測定

a. 引き抜き曲線：測定用電極を鼻孔より挿入し station pull-through 法にて曲線を描かせた。b. 24

時間持続 pH 測定：pH 測定電極を中部食道に留置し、約 24 時間にわたり、平常と同様の経口摂取をさせながら、pH の変化を持続的に記録した。

結 果

A. 内圧測定

a. 静止圧曲線：ヘルニア症例の HPZ 圧値は、対照例に比し有意に低値を示した (図 1)。曲線は全く HPZ を認めぬ例や二峰性の HPZ を有する例など非定型的な曲線を描いた。術前・術後の内圧曲線を比較すると術後は正常に近い曲線となり、HPZ 圧は術前より上昇し、正常値と差がなくなった。

b. 圧・冷水刺激に対する反応：ヘルニア例も対照例と同様、HPZ 圧の低下が見られた。術前後で評価し得た例では術前に比し術後は HPZ 圧の

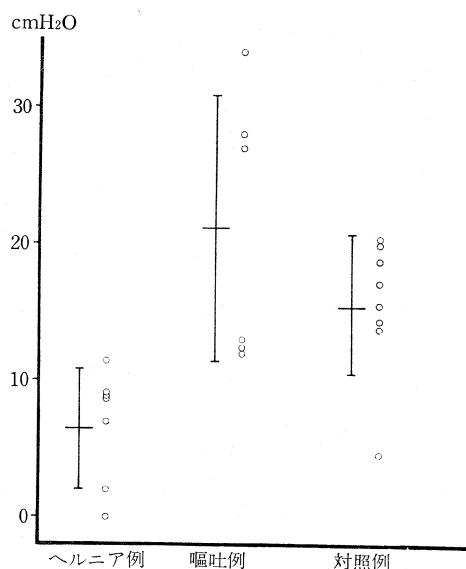


図 1. 食道裂孔ヘルニア・嘔吐・対照例の HPZ 圧

表 1. 持続 pH 測定の結果

	術 前	術 後	
逆 流 回 数 (回/24 hr)	40	131	11
逆 流 時 間 (%)	11.0	3.7	1.0
5 分以上逆流回数 (回/24 hr)	10	1	0
最大逆流時間 (分)	30	5	4.5

低下が少なかった。

c. 薬剤刺激：ヘルニア例も対照例と同様の圧変動を示した。術前後で評価し得た例では術前後で圧変動中に差を認めなかった。

B. pH 曲線

a. 引き抜き曲線：術前、術後において一定の傾向を示さなかった。

b. 持続 pH 測定：測定はのべ 3 例と少なかったが、pH 4.0 以下となった際逆流があったと判定すると、表の如く、術前後において逆流の時間、5 分以上逆流回数、最大逆流時間に差があった。

考 察

食道裂孔ヘルニアは食道胃接合部の逆流防止機構の破綻を来すことが多く、その病態は食道裂孔の解剖学的異常と、下部食道括約機構（以下 LES）の機能障害によると言われてきた。今回我々が検討した 7 例は、いずれもレ線上明らかな解剖学的異常と逆流による症状を伴っていた。

我々が HPZ とした部分は LES とほぼ同等と考えられ、我々の得た結果は LES 静止圧の低下が逆流防止機構の破綻を示している (Thomas, 1981) という従来の多くの報告を裏付けた。術前後の LES 圧については術後上昇とする報告 (Ellis,

1974) と、上昇しないとする報告 (Brennan, 1974) があるが、手術術式により術後の LES の変動を来すと考えられ、我々の行っている Nissen 法では前者に一致する結果が得られた。

我々が食道体部に与えた機械的刺激による LES の弛緩は食道蠕動運動機能を表現すると考えるがヘルニア症例にあっても正常と同様の蠕動運動機能を有する例があることが示された。術後圧の変動が少ないのは fundoplication の結果であると考えられた。

gastrin に対する LES の反応は正常と同様の反応を示したが、これは低下しているという報告 (Siewart, 1974) に反する。LES 静止圧の高さとの対比から反応を見ることが必要と考える。

引き抜き曲線は安静下に嘔吐を認めずに施行されれば補助的診断法となり得るが、信頼される情報を得るという点で普遍性に欠ける検査と考えられた。これに対し、持続 pH 測定は逆流現象をよりの確に表現する検査と考えられ、今後症例を重ねて検討することが必要と考える。

文 献

- Brennan, T.G. *et al.* (1974). The influence of the lower oesophageal sphincter pressure on the outcome of hiatus hernia repair. *Br. J. Surg.* **61**: 201-205.
- Ellis, F.H. *et al.* (1976). The effect of fundoplication on the lower esophageal sphincter. *S.G.O.* **143**: 1-5.
- Siewart, R. *et al.* (1974). Clinical and manometric investigation of the lower oesophageal sphincter and its reactivity to pentagastrin in patients with hiatus hernia. *Digestion* **10**: 287-297.
- Thomas, P.A. & Mann, C.V. (1981). *Alimentary sphincters and their disorders*. 4. The Gastro-oesophageal Sphincter. 75-99.

7. 食道胃 5 点同時圧測定法による食道閉鎖症術後の 食道噴門機能の検討

九州大学医学部 小児外科

林 田 裕, 池 田 恵 一, 水 田 祥 代
長 崎 彰, 住 友 健 三, 鮫 島 伸 二

8. 下部食道昇圧帯の非対称性と測定体位による変化

岩手医科大学 第一外科学教室

金 森 裕, 篠 福 哲 彦, 渡 辺 正 敏
石 田 薫, 近 藤 宗 廉, 森 昌 造

われわれは, LES (lower esophageal sphincter) の同一平面の方向による非対称性を検討し, 背臥位での昇圧帯 (high pressure zone) 圧は, 食道軸の 8 時, 0 時, 4 時の順に高く, 長さは 4 時, 0 時, 8 時の順に長いことを知った (金森ら 1981). 今回は, 従来の報告にはみられない昇圧帯の非対称性が体位によりいかに変化するかについて検討したので報告する.

対象と方法

食道内圧測定は 22~33 歳の健康人男子 20 例を対象とした. 12 時間絶食としたあと, opentip 法にて測定し, 3 個の側孔を同心円上 120° 間隔に有する内径 1.6mm の塩化ビニール製内圧チューブ (日本シューウッド社) を胃内に挿入し, 60mm/min の速度にてモータ使用の自作の引き抜き装置を用い, 0 時, 4 時, 8 時の三方向について連続的に引き抜き記録した. その際の水注入速度は 0.82 ml/min とした. 体位は背臥位, 右側臥位, 左側臥位, 腹臥位で検討した. 計測は, これまでのわれわれの報告と同様 (渡辺ら, 1978; 篠福ら, 1980, 1981), 胃および食道内圧の吸気呼吸中間点を基線とし, 得られた昇圧帯の検討は, 圧, 長さ, 面積, 胃食道内圧較差について行い, それぞれの体位による方向性の違いを検討した.

結 果

図は, 食道内圧測定 20 例で背臥位, 右側臥位, 左側臥位, 腹臥位で得られた成績について, 各体

位別に昇圧帯圧, 昇圧帯長および昇圧帯面積の平均値を方向別に図示した. 表は, これらの実値のまとめである. 以下成績を 0, 4, 8 時の順に平均値で示す. 背臥位での昇圧帯圧は, それぞれ 18.0, 14.5, 23.8mmHg, 右側臥位で 16.6, 14.3, 17.5mmHg, 左側臥位で 16.5, 16.2, 20.2mmHg, 腹臥位で 21.2, 17.2, 23.5mmHg であり, 全ての体位で 8, 0, 4 時の順に高い値を示した. また, 腹臥位では 8 時方向のみが背臥位と同等の値であった. 他は, 各方向とも最大の値であった. 0, 4, 8 時方向の昇圧帯長は背臥位でそれぞれ 47.8, 49.3, 38.7mm, 右側臥位で 51.5, 48.9, 45.5mm, 左側臥位で 52.2, 46.1, 41.5mm, 腹臥位で 59.9, 52.0, 47.8mm であった. すなわち, 背臥位では 4, 0, 8 時の順に, 他の体位では全て 0, 4, 8 時の順に長く, かつ, 各方向とも腹臥位で最長を示した. 0, 4, 8 時方向の昇圧帯面積は背臥位で 4.5, 3.3, 4.1cm², 右側臥位で 4.2, 3.1, 3.6cm², 左側臥位で 4.7, 3.3, 3.6cm², 腹臥位で 6.3, 4.1, 5.1cm² であり, 全ての体位で 0, 8, 4 時の順に大きく, 各方向共腹臥位で最大の値であった. 0, 4, 8 時方向の胃食道内圧較差は背臥位でそれぞれ 8.0, 7.0, 7.2mmHg, 右側臥位で 7.3, 6.1, 6.1mmHg, 左側臥位で 8.3, 7.7, 8.6mmHg, 腹臥位で 10.7, 8.8, 9.3mmHg であった. このように各体位とも, 方向による圧較差の違いは顕著でなかったが, 腹臥位では三方向とも最大の値を示した.

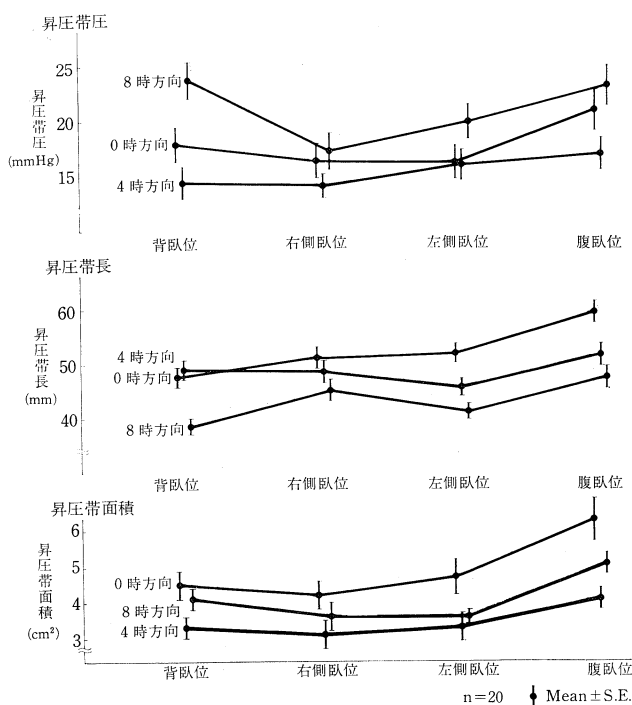


図 1. 測定体位による昇圧帯計測値の変動

表 1. ま と め

体 位	方 向	昇 圧 帯 圧 (mmHg)	昇 圧 帯 長 (mm)	昇 圧 帯 面 積 (cm²)	胃食道内圧較差 (mmHg)
背 臥 位	0 時	18.0±1.6	47.8±1.9	4.5±0.4	8.0±0.6
	4 時	14.5±1.5	49.3±1.8	3.3±0.3	7.0±0.5
	8 時	23.8±1.7	38.7±1.5	4.1±0.3	7.2±0.6
右 側 臥 位	0 時	16.6±1.6	51.5±2.0	4.2±0.4	7.3±0.6
	4 時	14.3±1.1	48.9±2.1	3.1±0.4	6.1±0.5
	8 時	17.5±1.7	45.5±2.0	3.6±0.4	6.1±0.4
左 側 臥 位	0 時	16.5±1.6	52.2±1.8	4.7±0.5	8.3±0.5
	4 時	16.2±1.4	46.1±1.7	3.3±0.4	7.7±0.5
	8 時	20.2±1.6	41.5±1.5	3.6±0.2	8.6±0.6
腹 臥 位	0 時	21.2±1.9	59.9±2.1	6.3±0.6	10.7±0.8
	4 時	17.2±1.5	52.0±2.1	4.1±0.3	8.8±0.7
	8 時	23.5±1.9	47.8±2.1	5.1±0.3	9.3±0.6

n = 20 Mean ± S.E.

考 按

通常，食道内圧測定は背臥位で行なわれ，検索し得た範囲では体位の変化による LES の検討はみあたらなかった。本実験では背臥位，右側臥位，

左側臥位，腹臥位での LES を検討したが，基本となる背臥位での圧は前回の報告（金森ら 1981）と同様に 8 時，0 時，4 時方向の順に大きかった。圧に関しては，背臥位でみられた非対称性は，他の 3 つの体位にも共通し，かつ，三方向共腹臥位

で最も高い圧が記録された。長さに関しては背臥位の場合と異なり、他の3つの体位共0時、4時、8時の順に延長をみたが、三方向共腹臥位で最長の値を示した。長さでは体位の変化により方向性にくずれが生じたが、この原因は明らかでなく今後も検討が必要である。しかし圧、長さのいずれも腹臥位で三方向共最大であったことから、LESが腹圧の上昇によって影響されることが示唆された。このことに関しては、DeMeesterら(1974)も実験的に検討し、昇圧帯圧の上昇には腹圧の影響を受ける腹部食道の長さの重要性を挙げており、LESに及ぼす腹腔内圧の影響は無視できないと考えられた。

結 論

測定体位による昇圧帯の検討では、圧、長さ、面積ともその測定体位による影響を受け、それぞれ若干異ったプロフィールを示したが、腹臥位での

昇圧帯が最大であったことは、腹圧のLESに対する影響が最も大きいと考えられ、このことは胃食道内圧較差が最大であったことから裏付けられた。

文 献

- DeMeester, T.R., Johnson, L.F. & Kent, A.H. (1974). Evaluation of current operations for the prevention of gastroesophageal reflux. *Ann. Surg.* **180**: 511-525.
- 簗福哲彦ら (1980). 食道裂孔ヘルニアの術式検討と術中内圧測定の意義. 日外会誌 **8**: 1099.
- 簗福哲彦ら (1981). 術中内圧測定による下部食道・噴門部術式の定量的評価と術後成績の予測. 日外会誌 **82**: 1033-1037.
- 金森 裕ら (1981). 下部食道昇圧帯の非対称性に関する再検討. 日平滑筋誌 **17**: 220-222.
- 渡辺正敏ら (1978). 術中内圧測定による昇圧帯面積の推移と逆流防止効果. 日平滑筋誌 **14**: 214.

一般講演 (I)

エラミミズの消化管運動の観察

島根大学理学部 生物学教室

内 藤 富 夫

環形動物貧毛類の消化管運動については、Millott (1943) が、主に露出した *Lumbricus terrestris* の消化管で、石灰腺附近にしばしば逆蠕動が生じることに加えていずれの部位でも蠕動が観察されると述べている。他方、Gardy (1957) は、X線を用いた手法により、*Lumbricus terrestris* の消化管に逆蠕動を認めている。貧毛類の消化管運動については報告が乏しい上に、このように記載が一定していない。これに鑑み、貧毛類の消化管運動の様式を把握する一助として、水棲動物エラミミズ *Branchiura sowerbyi* の正常消化管運動を観察した。

方 法

エラミミズの消化管は、低倍率の顕微鏡の下で、体壁をすかして直接観察することができる。大きめのスライドガラスとカバーガラスの間の一隅に紙片をはさんで隙間をつくり、ここに体長 1.6-4.5 cm のエラミミズを水とともに封じこんだ。このエラミミズの消化管を顕微鏡の下で観察するとともに、必要に応じて 1 秒 2 コマまたは 4 コマの速度で連続写真撮影を行なった。なお、室温は 17.0-23.5°C であった。

結 果

エラミミズの消化管は、口腔、咽頭、食道、腸に大別される。しかし、さらに食道を二分して、口側の無色の部位を前部食道、黄細胞にとりまかれた黒褐色を呈する部位を後部食道とした。また、腸を三分し、前半の体節にあわせた囊状部位を前部腸、尾部で黄細胞がなくかつ消化管の分節が不明瞭な部位を後部腸、両者の中間にあって管状となっている部位を中部腸とした。この区分を基準として行なった観察結果は次のとおりであ

る。

1. 摂食中にみられる食道の運動 摂食が開始されると同時に、前部腸の前端第 1 節または第 2 節に約 0.9-1.4 秒の間隔で律動収縮が発生し、これが咽頭後部まで上行した。この上行波は摂食中発生しつづけるが、摂食の停止とともに消失した。
2. 咽頭後部に発する下行波 咽頭後部に約 0.8-1.8 秒の間隔で律動的に収縮が発生し、これが下行波となって後部食道の半ばから前部腸のはじめにかけて伝播した。この運動は、摂食中を除き、食道に内容物のあるときは常にみられ、食道が空虚な場合には発生と休止を不定期な間隔でくりかえした。
3. 後部腸尾端に発する上行波 前部腸や中部腸に内容物のある場合、後部腸尾端に約 1.0-1.9 秒の間隔で、通常肛門の開閉をとともう律動的な運動が発生し、これが上行波となって、内容物の有無や食道の運動の有無に応じて、前部腸から前部食道ときには咽頭後部にまで伝播した。消化管が全長にわたって空虚な場合には、この運動は間歇的に発生し、また、肛門の開閉をとともなわないことも多い。さらに上行する収縮波も前部腸に至るとともに急速に減衰消失した。
4. 排便をとともう後部腸の運動 下行してきた内容物が後部腸に充滿してくると、後部腸口側部に突如強い収縮が発生し、これが急速に尾端まで伝播波及した。このとき後部腸の内容物が一気に体外へ排出された。この運動は一過性であり、内容排出後はただちに上記 3 の運動にかわった。
5. 消化管全長が空虚でしかも上記 2 や 3 の運動がみられない場合 前部食道では尾側部に時々しばらくの間律動的な収縮が発生し、また前部腸では方々に不規則な収縮が発生し、これらが口側、尾側または口・尾両側へと 1-数節伝播した。また、中部腸の尾側部では、やや広い範囲にわたって方々で浅い輪状収縮が発生し、これらが中部腸口側まで伝播し前部腸

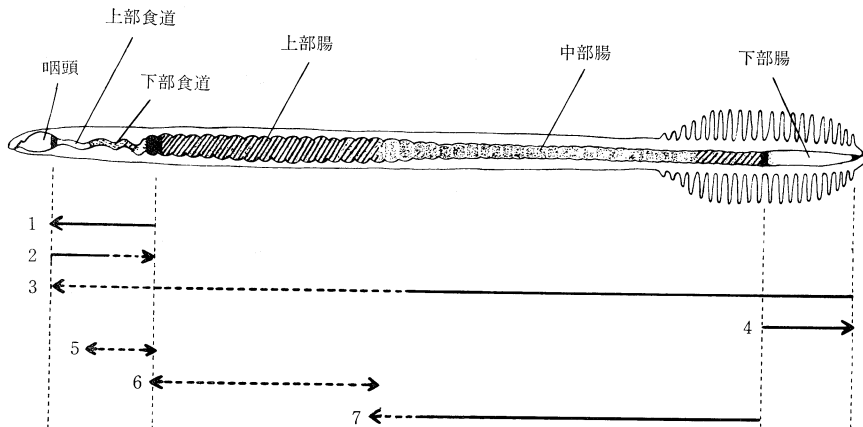


図 1. エラミズの消化管にみられる運動の発生部位と運動の伝播方向

消化管上の黒帯部および斜線部は運動の発生部位を示す。また下方の横矢印は発生した運動の伝播方向を示しており、点線部はここで運動が減衰消失することを示す。

1: 摂食時の運動, 2 および 3: 食道や腸に内容物のある場合の運動, 4: 排便をもたらす運動, 5, 6, 7: 空虚な消化管で上記 2 や 3 の運動がみられないときの運動

1, 2, 3, 4 は上にえがいたエラミズの消化管の黒帯部を発生源とし, 5, 6, 7 は斜線部を発生源とする。

に入るとともに減衰消失した。

光学顕微鏡による組織観察によれば、前部食道から後部腸に至るまで、消化管壁には外層が縦走筋層、内層が輪走筋層の二層の筋層があり、両層ともに横紋をもたない筋細胞が一行に点々とならんでできている。脊椎動物とちがって、両筋層間には神経叢はみられない。

考 察

観察された運動をまとめると図 1 のようである。摂食時や消化管内に内容物のある場合、消化管の運動は非常に活発であり、ある一定の部位を発生源とする伝播性の運動が観察される。他方、消化管内が空虚になると、消化管の運動は低調となり、長期にわたって運動が全く停止するということはないが、運動は一般に弱く、特に後部食道や前部腸では不規則な運動がみられるようになる。このような結果は Millott とは一致しない。しかし、Gardy のいう逆蠕動は後部腸尾端に発する上行波に相当すると思われる。エラミズの咽

頭や食道、後部腸では繊毛の発達が著しいので、この部位の内容物移動については繊毛のかかわりを考慮しなければならない。しかし、後部食道や前・中部腸で下行波あるいは上行波の伝播にあわせて内容物が尾方へ移動するのがしばしば観察されたので、後部腸の排便時の運動はもとより、他の上・下行波とともに内容移動の原動力となっていると考えられる。

文 献

- Gardy, M. (1957). Studies on the digestive tract of *Lumbrics terrestris*. *Biol. Rev. City Coll. New York* **19**: 2-7.
- Millott, N. (1943). The visceral nervous system of the earthworm: I. Nerves controlling the tone of the alimentary canal. *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B*, **131**: 271-295.

培養平滑筋の分化と電気特性

東北大学医学部 応用生理学教室
丸 山 武 夫

平滑筋細胞は細胞相互間の電氣的結合状態は可成り複雑であり、その生理的性状から直ちに単一平滑筋の特性とみなすには可成り問題がある。我々は単一平滑筋の生理的性状を知る目的で、平滑筋細胞を単離し、培養をおこない、培養中の単一平滑筋細胞の膜電気特性を微小電極法、ブリッジバランス法の併用によって観察した。特に培養各時期における培養平滑筋細胞の膜電気特性に注目して観察をおこなった。

方 法

雄モルモット結腸紐由来(丸山, 1982)の平滑筋細胞を用いた。培養平滑筋細胞は培養液(75% Ham's F10+25% virus-screened FCS)を含んだ培養皿(60×15mm, Falcon, No. 3002)で5% CO₂, 5% O₂, 90% 空気のもとで湿度100%, 培養液中のpH 7.4に保ちながら培養をおこなった。培養液は3日に一度交換をおこなった。細胞膜膜電位、膜電位変化は3M KCL+10mM K-citrateを含んだガラス微小電極によっておこなった。微小電極の抵抗は80-100M ohm, 尖端電位は5mV以下のものを選んで使用した。細胞膜膜電位、膜電位変化の記録はガラス微小電極を平滑筋細胞に穿刺して、3分以上静止膜膜電位が安定しているものを選んでおこなった。実験は初代培養12時間(初代培養平滑筋細胞を12時間培養したもの)、初代培養168時間(初代平滑筋細胞を168時間培養したもの)、5回継代培養168時間(初代培養平滑筋細胞を5回継代し、その平滑筋細胞を168時間培養したもの)のそれぞれの時期の単一平滑筋細胞についておこなった。

結 果

A. 形態的性状

1. 初代培養12時間: 平滑筋細胞は紡錘形を帯びてくる。機械的的刺激, ACh(10^{-6} g/ml)による収縮はほとんど観察できなかった。

2. 初代培養168時間: 平滑筋細胞は扁平、紡錘形を帯び、機械的的刺激, ACh(10^{-6} g/ml)によって

収縮をする。

3. 5回継代培養168時間: 平滑筋細胞は著しく扁平、紡錘形を帯びてくる。機械的的刺激, ACh(10^{-6} g/ml)による収縮はみられなかった。

B. 電氣的特性

1. 初代培養12時間: 静止膜電位は -34.1 mV, input resistance は 26.5 M ohm, τ は 7.6 msecであった。細胞内通電によって outward current を与えるとゆるやかな graded potential が誘発される。この graded potential は TTX(10^{-6} g/ml)によって何ら変化を示さなかったが, 1.8 mM Co²⁺投与によって抑制された。ACh(5×10^{-7} g/ml)投与によって膜電位は脱分極を生じ, adrenaline(5×10^{-8} g/ml)によって膜電位は過分極を生じた。自発性の活動電位はほとんどみることではできなかった。

2. 初代培養168時間: 静止膜膜電位は -56.7 mV, input resistance は 82.3 M ohm, τ は 78.2 msecであった。細胞内通電によって outward current, inward current を与えると、立ちあがりの速い活動電位と、立ちあがりの速い活動電位とプラトーを伴った2つの型が記録された(Fig. 1)。また、自発性の活動電位もしばしば記録された(Fig. 2)。これら細胞内通電によって生ずる立ちあがりの速い活動電位、プラトー相、自発性の活

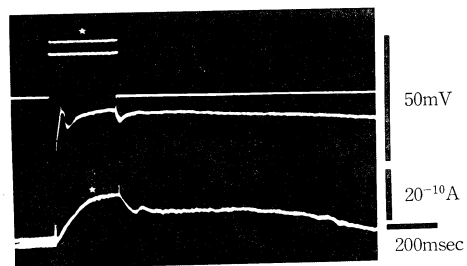


Fig. 1. 細胞内通電による細胞膜電位変化
 10^{-6} g/ml TTX 投与後10分の細胞膜電位変化。★ 5.4 mM Co²⁺投与後の細胞膜電位変化。

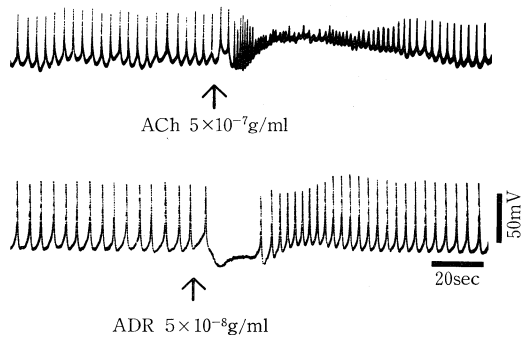


Fig. 2. 活動電位に対するアセチルコリン (ACh), アドレナリン (ADR) の作用

動電位は TTX (10^{-6} g/ml) によって何ら変化を受けなかったが, 5.4mM Co^{2+} によって抑制された。

Fig. 2 は自発性活動電位発生時の ACh, adrenaline の効果である。ACh (5×10^{-7} g/ml) 投与によって膜電位は小さなスパイクを伴って脱分極を生ずる。adrenaline (5×10^{-8} g/ml) 投与によって膜電位は一過性の過分極を示した。

3. 5回継代培養168時間: 静止膜電位は -54.4mV , input resistance は 66.7M ohm , τ は 18.3msec の値を示した。細胞内通電によって outward current を与えるとゆるやかな graded potential が誘発された。この誘発電位は TTX (10^{-6} g/ml) によって何ら変化を示さなかったが, 1.8mM Co^{2+} によって抑制された。自発性活動電位, ACh, adrenaline の膜電位の効果はみられなかった。

考 察

単一平滑筋の電気的性状についてはモルモット

結腸紐 (Purves, 1973, 1974), ガマ胃 (Singer, 1977), ヒト卵管 (Sinback, 1979) によってなされている。今回の実験は単一平滑筋細胞の一般的な膜電気特性を明らかにし, かつ継代培養を重ねるにつれて本来有している平滑筋細胞の薬剤の効果や, 興奮, 収縮という平滑筋細胞の基本的生理現象も変化していくことが明らかとなった。

文 献

- 丸山武夫 (1982). 培養平滑筋細胞の電気特性. 日本平滑筋誌 17: 297-298.
- Purves, R.D., Mark, G.E. and Burnstock, G. (1973). The electrical activity of single isolated smooth muscle cells. *Pflügers Arch.* 344: 325-330.
- Purves, R.D. (1974). Muscarinic excitation: A microelectrophoretic study on cultured smooth muscle cells. *Br. J. Pharmac.* 52: 77-86.
- Singler, J.J. and Walsh, J.V. (1977). Electrical properties of freshly isolated single smooth muscle cells. In: *Excitation contraction coupling in smooth muscle*. R. Casteels et al. eds, p. 53-60, Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- Sinback, C.N. and Shain, W. (1979). Electrophysiological properties of human oviduct smooth muscle cells in dissociated cell culture. *J. Cell Physiol.* 98: 377-394.

イモリ胃平滑筋の細胞単離と単一細胞の等尺性収縮

札幌医科大学 生理学第一講座

小坂 功, 藪 英 世

従来平滑筋の収縮機構解明のための研究には組織片を用いる場合が圧倒的に多いが, 組織片を用いる限り, 細胞レベルの性質を正しく理解することは困難である。最近, 単一平滑筋細胞を用いた研究が比較的多くなされるようになったが

(Bagby ら, 1971; Fay and Delise, 1973; Momose and Gomi, 1978), その等尺性収縮に関しては, ガマガエルの胃平滑筋 (Fay, 1975) およびイガイの収足筋 (Ishii and Takahashi, 1982) について報告されているにすぎない。

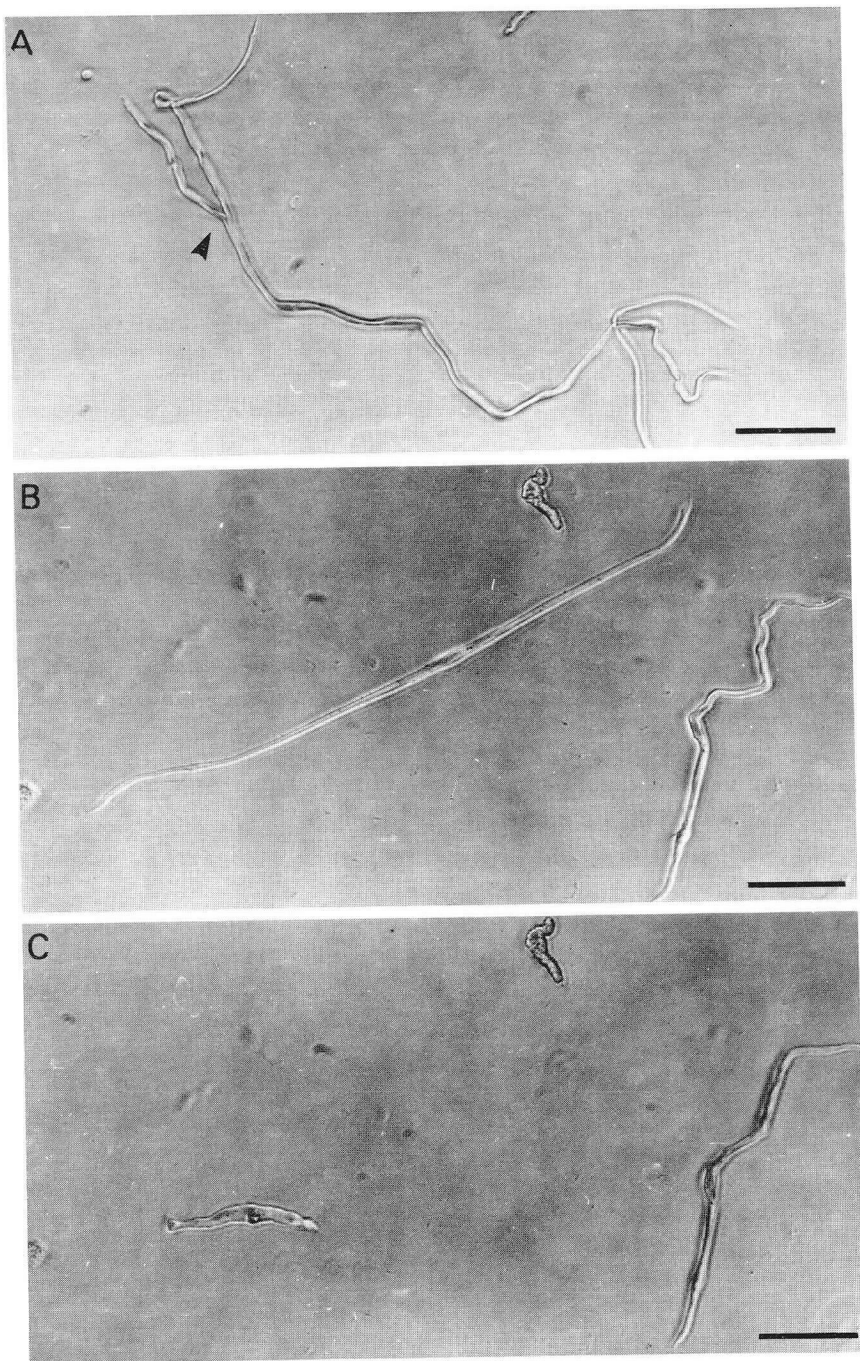


Fig. 1. Isolated single cells from the stomach circular muscle of the newt and their free contraction. A: relaxed cells. Note that a cell branches off at \blacktriangle . B: relaxed cells. C: free contraction induced by 10^{-3} M acetylcholine. Note that the longest cell seen in B was markedly contracted. Bar, $100\ \mu\text{m}$.

本報ではイモリの胃平滑筋について、その細胞単離の方法および単一細胞の等尺性収縮の検討を行なったので報告する。

材料および方法

イモリ (*Triturus pyrrhogaster pyrrhogaster*, *Triturus pyrrhogaster ensicauda*) の胃幽門部の輪状筋を用いた。

単一細胞の張力測定は、先端の内径を $10\mu\text{m}$ 前後にした 2 本のガラス毛细管に、酵素処理によって単離した細胞を吸引固定し (Fig. 2A 参照)、顕微鏡の光軸上に置いた一方のガラス毛细管によって遮断される光量の、収縮に伴う毛细管の歪みによる変化を、フォトダイオードにて電流変化として検出し、較正值により張力値に換算することにより行なった。このフォーストランスデューサの感度は約 500mV/mg 、コンプライアンスは $40\sim$

$50\mu\text{m/mg}$ である。

結果ならびに考察

A. 細胞の単離

イモリの胃より輪状筋のみを分離し酵素処理に供した。酵素処理の過程は以下の 2 つの方法が有効であった。まず第 1 は、 0.1% コラゲナーゼを含むリンゲル液中で 35°C にて 30 分間処理し、次いで 2mM EDTA を含む Ca-free, Mg-free 液中に移した。これによって細胞は $15\sim 30$ 分で単離し始めた。第 2 は、 0.2% コラゲナーゼおよび $0.2\sim 0.6\%$ ディスパーゼを含むリンゲル液中で、 35°C にて 45 分間処理し、次いでコラゲナーゼを除去した同液にて 30 分間洗滌した後、Ca-free, Mg-free 液中に移すと $5\sim 15$ 分で単離し始めた。

後者の方法で得られた単一細胞を Fig. 1 に示す。単離された細胞は紡錘形をしており、中央部

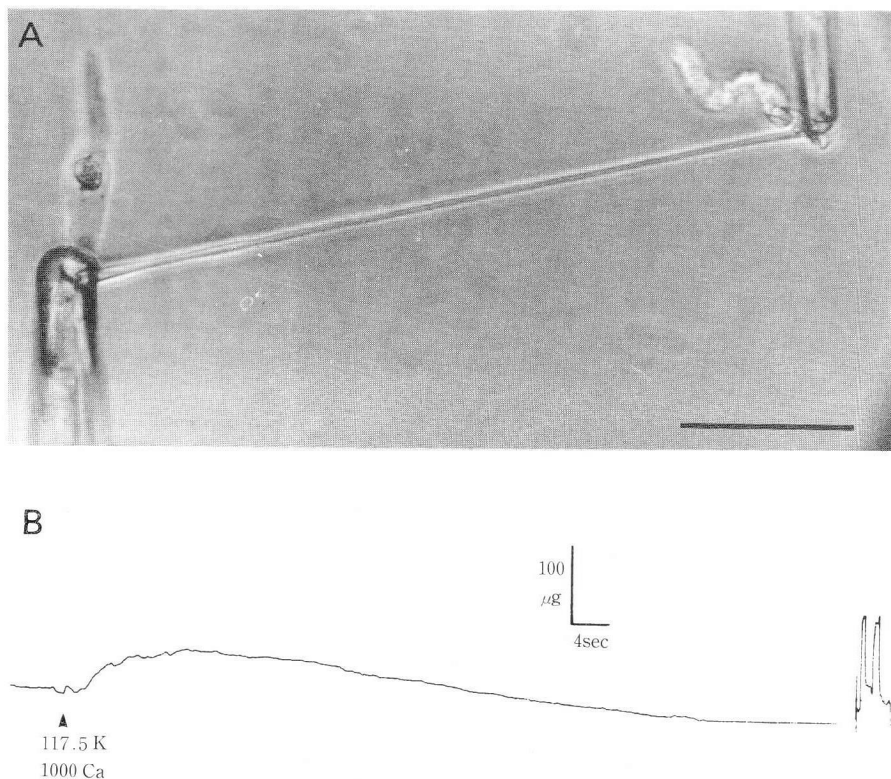


Fig. 2. Isometric contraction of a single cell isolated from stomach circular muscle of the newt. A: a single cell sucked in micro-glass capillary for isometric contraction. Bar, $100\mu\text{m}$. B: Isometric contraction induced by injecting the 117.5 mM K , 100 mM Ca -containing solution near the cell.

に核をもっていた。直径は太い部分で $4\sim 8\mu\text{m}$ であり、長さは最も長いもので $800\sim 900\mu\text{m}$ 、小数例ではあるが $1500\mu\text{m}$ に達するものも認められた。また、低頻度ではあるが先端部近くで細胞が分岐しているものも認められた (Fig. 1A 矢印)。

B. 単一細胞の free contraction

上述のようにして得られた単一細胞は多くの場合、 10^{-3}M アセチルコリン、 117.5mM K 溶液を周囲に注入することにより収縮した。また Ca-free, 117.5mM K 溶液中の細胞上に Ca を注入添加することによっても収縮した。なかには、これらの方法によっても収縮しない比較的長い細胞も認められたが、これは単離過程で損傷を受けたことによるものと思われる。アセチルコリンで収縮した例を Fig. 1C に示す。

C. 単一細胞の等尺性収縮

Fig. 2A に示すように単一細胞を毛細管に吸引し、さらに別の細胞をくさびの役割をさせるべく吸引して、張力発生によって抜け出ることのないように補強することにより等尺固定を行なった。この方法により、陰圧による細胞質の断裂を防止することができた。

このようにして細胞の等尺固定を行なった後、一方の毛細管を顕微鏡の光軸上に置き、他方の毛細管を移動することにより、静止張力が発生しない程度まで適量引き伸ばした後、張力測定に供した。Fig. 2B に 100mM Ca, 117.5mM K 溶液を細胞上に注入添加することにより惹起された拘縮の典型例を示す。K 溶液添加後約 2 秒で張力を発生し始め、約 12 秒後に最大となり、次いでゆる

やかに自発性弛緩を示し、約 1 分でほぼ完全に弛緩した。張力発生は約 $67\mu\text{g}$ で、単位断面積あたりにすると、 $1.36\text{kg}/\text{cm}^2$ であった。他の例においても約 $2\text{kg}/\text{cm}^2$ であった。また、 10mM Ca, 117.5mM K 液注入による拘縮では約 $5\text{kg}/\text{cm}^2$ 、K 脱分極下の 100mM Ca 注入による Ca 拘縮では少なくとも $4\text{kg}/\text{cm}^2$ の張力を発生した。これらの値は従来の単一平滑筋細胞の収縮張力 (Fay, 1975) と同じオーダーである。

文 献

- Bagby, R.M., Young, A.M., Dotson, R.S., Fisher, B.A. and McKinnon, K. (1971). Contraction of single smooth muscle cells from *Bufo marinus* stomach. *Nature* **234**: 351-352.
- Fay, F.S. and Delise, C.M. (1973). Contraction of isolated smooth muscle cells — structural changes. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **70**: 641-645.
- Fay, F.S. (1977). Isometric contractile properties of single isolated smooth muscle cells. *Nature* **265**: 553-556.
- Ishii, N. and Takahashi, K. (1981). Mechanical properties and contractile apparatus of isolated molluscan smooth muscle cells. *J. Gen. Physiol.* **78**: 19a-20a.
- Momose, K. and Gomi, Y. (1978). Studies on isolated smooth muscle cells. IV. Isolation and acetylcholine-contraction of single smooth muscle cells from taenia coli of guinea-pig. *J. Pharm. Dyn.* **1**: 184-191.

モルモット盲腸紐における伸長後の張力上昇現象

帝京大学医学部 第二生理学教室

木 村 秀 哉, 土 屋 禎 三, 杉 晴 夫

緒 言

横紋筋特に昆虫飛翔筋では、筋長を急速に増加させると、その後張力が飛躍的に上昇することが知られている。例えば筋肉を正弦波により振動させると負の粘性が発生する。一方平滑筋では、こ

の様な急速伸長による活性化についての報告は多くはないが、モルモット盲腸ヒモ等において機械的刺激が収縮を引き起こすことが知られている。しかしその機構については、腸管の運動の生理的機構がきわめて重要であるにもかかわらず、現在のところ詳しくは、研究されていない。今回我々

は、種々の薬物を用いて急速伸長後の張力上昇がどのようなメカニズムによって生ずるのか検討を加えた。

方 法

標本は体重 250g 未満の雌のモルモットの *taenia coli* を用いた。生体内長 20mm の標本的一端を張力計に他端を回転変位計のアルミ製のアームの端にそれぞれ金属フックを介して取りつけた。実験液には 95% O_2 , 5% CO_2 の混合気体を通し、かつ温度は $37^\circ C$ に保った。筋肉の伸長は回転変位計に取りつけたバネの力により瞬間的 (10ms/min) に行ない、伸長は生体長の 0~40% の範囲で行なった。

結 果

Krebs 液中で筋長を急速に増加させると、張力は伸長と同時に弾性要素に基づく急速な上昇の

後、一時的に減少し、その後著明な増加を示した。そしてこの際の最大収縮張力を、伸長による活性化の大きさとした。0~40% の範囲では、活性化は伸長の大きさに伴い明瞭に増加し、ほぼ直線に近い関係が存在した (図 1)。なお *taenia coli* においては通常自発性収縮が発生することが知られているが、3~5 分間隔で筋肉を伸長、弛緩させると、自発性収縮はほとんど見られなくなった。また伸長に伴い静止張力が発生することが予想されるので実験終了後 Ca^{2+} 欠乏液に入れかえ完全に弛緩させた後、同様に伸長し、静止張力のないことを確認した。

まず伸長による活性化が神経を介したものであるのかどうかを検討するために、神経の興奮を遮断するとされるテトロドトキシン $10^{-6} g/ml$ 中で実験を行なったが正常液中とほぼ同様の結果が得られた。次に伸長による活性化がアセチルコリンの遊離を介したものであるのかどうか検討するために抗コリン作働薬であるアトロピン $10^{-5} M$

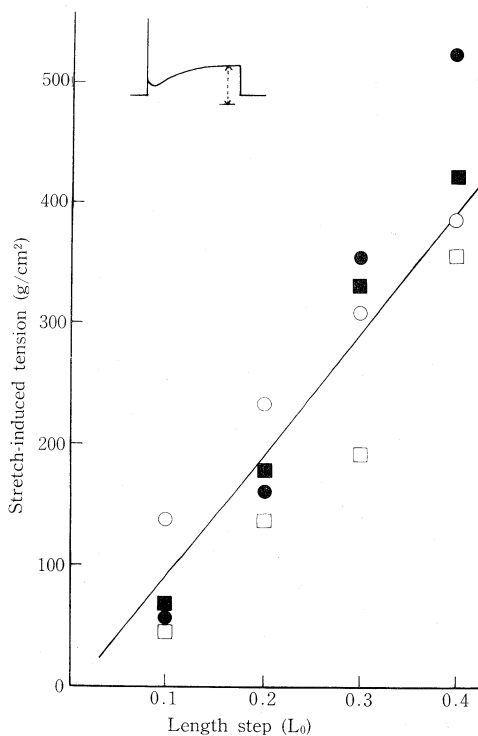


図 1. 急速伸長による増加張力と伸長の大きさの関係。各符号は同一標本で得られた結果を示している。挿図は張力の測定値を示す。増加張力と伸長の大きさの間には、0~40% の伸長範囲で直線関係が存在することが認められる。

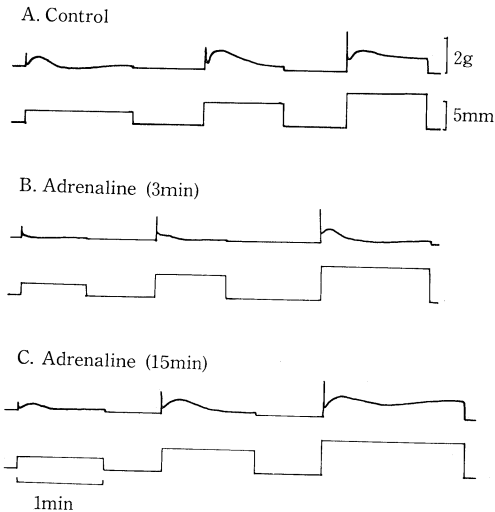


図 2. 急速伸長による張力増加に対するアドレナリン (10^{-6} g/ml) の効果. 筋長は生体内で 20 mm. アドレナリン投与 3 分後では活性化の抑制が見られるが, 15 分後では抑制は消失している.

中で実験を行なったが, 正常液中とほとんど差が見られなかった. 次にアドレナリン 10^{-6} g/ml 中で同様の実験を行なった. アドレナリン溶液に入れ, 3 分後では明らかに活性化の低下が見られた. また 15 分後では活性化は正常液中と同程度にまで回復した (図 2). Mn^{2+} 5mM 中で同様の実験を行なった結果自発性収縮は完全に停止し, 伸長による活性化も全く見られなかった. また Ca アンタゴニストであるベラパミール 10^{-5} g/ml 中でも Mn^{2+} と同様に全く活性化が見られなくなった. 更に Ca^{2+} 濃度を変化させその影響を調べた. Ca^{2+} 欠乏液に交換後 5 分で伸長による活性化は全く見られなくなり Ca^{2+} を正常液より増加させると活性化は減少し 20mM では正常液中の値の 20% 程度となった. 更に K^{+} イオン濃度を変えて実験を行なった. K^{+} 濃度 10mM では活性化は増大し, 145.5mM ではほとんど見られなくなった. 以上の他, 自律神経遮断薬であるヘキサメソニウム (C_6), α ブロッカーであるフェントラミン, β ブロッカーであるピンドロール, プロプラノロール, 局所麻酔薬であるプロカインなどを用いて実験を行なったが正常 Krebs 中での結果と有意な差はなかった. 上記の実験と平行して糖液間隙法により電位を測定したところ急速伸長後の張力上昇時には, スパイク発生頻度が増加することが判明

した.

考 察

taenia coli 平滑筋細胞は Ca^{2+} イオン依存性のスパイクを発生し, その発生頻度は膜電位に依存している事が知られており, 急速伸長による活性化現象においても筋肉が伸長されると膜電位が変化を受け, スパイク発生頻度が増加すると考えると以上の結果はよく説明されるし糖液間隙法での予備的結果ともよく一致する. またアドレナリンは膜電位を過分極させその作用は短時間であることが知られており今回の実験結果と時間的に対応すると思われる. Ca^{2+} イオン濃度増大に伴う活性化の減少は Ca^{2+} イオンによる膜の安定化作用によると思われる.

ま と め

以上の結果から急速伸長による活性化のメカニズムは, 昆虫飛翔筋における伸長—活性化現象と異なり, 明らかに膜電位が介在した現象であり, 伸長により膜電位が変化し, スパイク発生頻度が増加することにより張力が上昇すると考えられる.

文 献

- Bülbring, E. and Kuriyama, H. (1963). The effect of adrenaline on the smooth muscle of guinea-pig taenia coli in relation to the degree of stretch. *J. Physiol.* **169**: 198–212.
- Ichikawa, C., Suzuki, S. and Sugi, H. (1981). Stretch-induced activation in a molluscan smooth muscle. *Zool. Mag.* **90**: 524.
- 木村秀哉, 土屋禎三, 杉 晴夫 (1981). モルモット盲腸ヒモにおける伸長後の張力上昇現象. *日本生理誌* **44**: 127–128.
- Mashima, H. and Yoshida, T. (1965). Effect of length on the development of tension in guinea-pig's taenia coli. *Jap. J. Physiol.* **15**: 463–477.
- Nakayama, K., Ishii, K., Kato, H., Suzuki, S. and Sugi, H. (1981). Contractile activation of cerebral artery by quick stretch in calcium-free medium. Abstracts of fourth international symposium on vascular neuro-effector mechanisms, pp. 24–15.

モルモット結腸紐の K 拘縮と高エネルギー磷酸

名古屋大学医学部 第一生理学教室

高 井 章, アシュリー・フアラマルツ, 富 田 忠 雄

モルモット結腸紐の K 拘縮 (初期の相働性の部分とそれに続く緊張性の部分とからなる) については, 特にその緊張性の部分が, 外液のグルコースなどの代謝性物質に依存性であり (高井, アシュリー & 富田, 1981), また代謝阻害剤や低酸素状態によって強く抑制される (Pfaffman, Urakawa and Holland, 1965) ことなどが知られている。

今回, いろいろな条件の下で K 拘縮の大きさと, 細胞内の高エネルギー磷酸 (ATP とクレアチン磷酸とを合わせたもの, 「高エ磷」と略す) の濃度とを並行して観察したところ, 特に基質再投与の効果について, 結腸紐における代謝機構の特異性が明らかとなった。

方 法

摘出標本の一端を固定, 他端を等尺性張力トランスデューサに繋ぎ, 正常 Krebs 液に, 1 時間以上, 浸したのち, まず Ca 及びグルコースを含まない高 K 液 (20mM の Na を含む) 中で弛緩させておく。これへ, 30 分おきに 20 分間ずつ 2.4mM の Ca を再投与することによって起る拘縮を記録した。この間, グルコースや 3-hydroxybutyrate (3-HB) を加え効果を観察した。並行して, Luciferin-Luciferase 法により細胞内「高エ磷」の量を, また, 場合によっては, 酵素法によりグリコーゲンの量をも, 測定した。液中酸素濃度の測定には Clark 型の酸素電極を用いた。

結 果

グルコースのない液中で Ca の再投与による K 拘縮を繰返すと, 特に緊張性の部分は, 急速に小さくなり, 第 3 回目の Ca 投与の終りでは第 1 回目の最大張力の約 6% にまで減少してしまう。この間, 「高エ磷」の濃度は, 張力発生時に減じ, 弛緩時にはある程度の回復を見せる。この様に, 「高エ磷」濃度と張力の大きさとの間には相関関係が見られる。ただし, 上記の, 張力が 6% に減少した時点でも, まだ 24% の「高エ磷」が残っ

ている。ところで, 「高エ磷」の減少, 回復に際しては, クレアチン磷酸の変化の方が ATP の変化よりも常に大きいことが注目される (Born, 1956)。

K 拘縮の回復で張力が小さくなったところでグルコース (11.8mM) を再投与すると, 張力はすみやかに回復し, 「高エ磷」の濃度も上昇する。グルコースの替りに 3-HB (11.8mM) を用いても同様の結果が得られるので, これら代謝性物質の投与による張力の回復は, 酸化的磷酸化を介する ATP の再生によるものであると考えられる。

この基質再投与による張力の回復過程は, 低酸素状態に抵抗性が強く, 液の酸素分圧を室素の吹込みによって 10mmHg 以下に下げても, グルコースによる張力の回復はわずかに抑えられるのみであり, 3-HB による回復も, かなり強く抑えられるものの, なお明らかに観察される。一方, この時の「高エ磷」濃度は, 3-HB では有意に上昇するが, グルコースでは, 張力の大きな回復にもかかわらず, 余り上昇しなかった。

考 察

張力発生と「高エ磷」濃度との間には, かなりの相関が見られる。たとえば, Ca の再投与, 除去の回復に伴って, 「高エ磷」濃度は減少, 回復するし, また, 通常酸素濃度 (150mmHg 以上) におけるグルコースや 3-HB による張力の回復は, 「高エ磷」濃度の上昇に伴って起こる。

しかし, 必ずしも, 厳密な並行関係が見られるわけではない。たとえば, 「高エ磷」が 24% も残っているのに張力は最大張力の 6% に減少してしまう場合もあるし, また, 10mmHg の酸素分圧でのグルコース再投与は, 著明な「高エ磷」の回復を伴わずに, 張力を大きく回復させる。これらのことは, 収縮に用いられるのが「高エ磷」のうちの特定の一部のみである可能性, あるいは, 張力の発生には, 「高エ磷」の総量よりもその産生速度の関与が大きい可能性を, 考えさせる。

牛の腸間膜静脈平滑筋の酸素消費を調べた実験から酸化の磷酸化過程が十分な働きをするためには15%の酸素分圧でよいことが示唆されている(Paul and Peterson, 1975). 今回のわれわれの実験では, 10mmHgの酸素分圧下で, グルコースのみならず, 酸化の磷酸化を介してのみ代謝されるとされる3-HBも, 張力を回復させえた. この3-HBによる張力の回復は, 「高エ隣」の有意な上昇に伴って現れた. このことは, 結腸紐のミトコンドリア, 特にその電子伝達系の特徴を示すものと考えられる.

文 献

Born, G.V.R. (1956). The relation between

the tension and the high-energy phosphate content of smooth muscle. *J. Physiol.* **131**: 704-711.

Paul, R.J. and Peterson, J.W. (1975). Relation between length, isometric force, and O_2 consumption rate in vascular smooth muscle. *Am. J. Physiol.* **228**, 915-922.

Pfaffman, H., Urakawa, N. and Holland, W.C. (1965). Role of metabolism in K-induced tension changes in guinea pig taenia coli. *Am. J. Physiol.* **208**: 1203-1205.

高井 章, アシュリーファラマルツ, 富田忠雄(1981). モルモット結腸紐のK拘縮に対するグルコースの影響. 日平滑筋誌 17: 304-305.

ホモパントテン酸(HOPA)の腸管平滑筋に対する影響

東北大学医学部 応用生理学教室
福 士 靖 江, 岩 月 矩 之
宮城県整肢拓桃園
鈴 木 恒 彦

緒 言

ホモパントテン酸(HOPA)は分子量約232で, パントテン酸の β -alanine部分がGABAと置換した構造をもつ物質であり, 人体に存在する生体内物質である(Biserte, G. *et al.*, 1955). HOPAは, GABA類縁物質でありながらGABAと異なり, 脳血液関門を容易に通過し, 独自の強力な脳興奮抑制作用を有することが報告されている(Nishizawa *et al.*, 1966; Tsujino, 1962). また更に, HOPAにより脳内グルコース代謝の亢進, 脳内アミンの増加傾向が認められる(Danno *et al.*, 1978)ことから, 一見矛盾するような抑制, 賦活の両作用を有する物質であることが推測される. HOPAは, 臨床的に精神薄弱やてんかんに伴った行動異常, 脳炎後遺症, 心身障害児の改善に既に用いられている. しかしながら, これまで腸管平滑筋に対するHOPA効果についての知見は少ない. そこで我々は摘出腸管平滑筋標本を用いてHOPAがどのような作用機序をもつのか検討し

た.

方 法

モルモット(300g~400g)又はラット(150g~200g)から約1cmの長さの結腸紐標本を, また回腸標本は ileocaecal bulb から proximal の方向へ約5cm離れた部分を切り出し, その両端を液槽内に設置した張力記録用レバーに糸で固定した. 液槽は Krebs Ringer 液で満たし 5% CO_2 と 95% O_2 の混合ガスをバブリングし, 温度は $32^\circ C$ ~ $37^\circ C$ に保った. transmural 刺激は 0.3 msec, 10 Hz の矩形波を用い, 薬物に対する張力反応を等尺的に記録した.

結 果

A. HOPA のモルモット回腸に対する効果

モルモット回腸は HOPA により最初弛緩し約1分でそれが最大に達し, その後つづいて収縮がえられた. その効果は HOPA の比較的微量で(0.1 nM 位から効果がはじまる)発現し, 洗うと

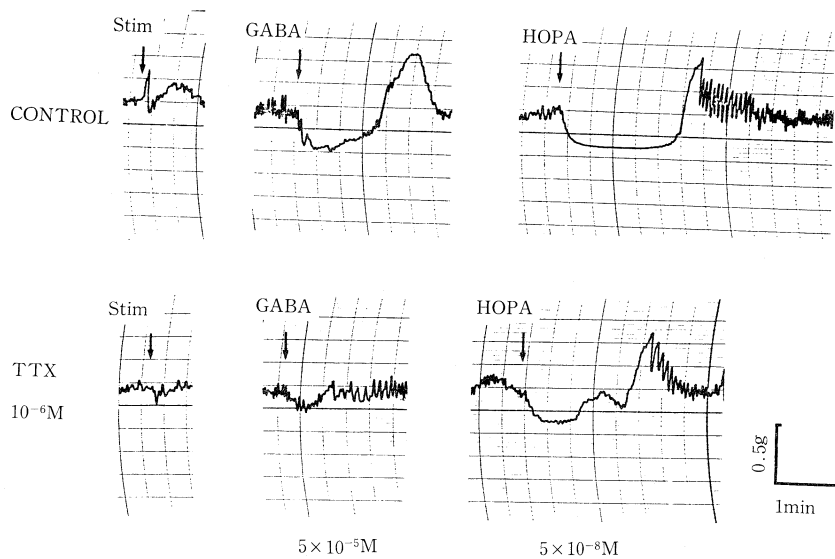


図 1. モルモット回腸における GABA と HOPA の効果の比較. 薬物の濃度は液槽での最終濃度を示している. transmural 刺激は 0.3 msec, 10 Hz 5 秒間の刺激である. TTX は反応をみる 15 分前から液槽に投与してある.

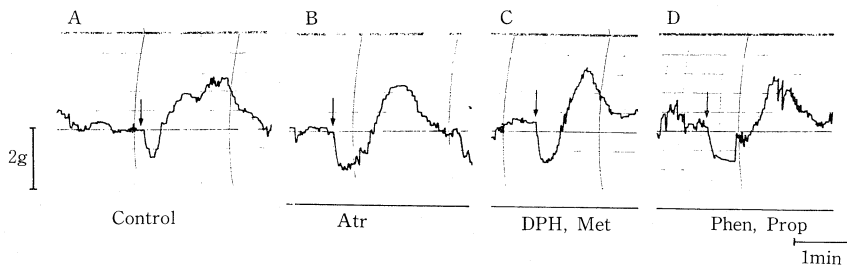


図 2. モルモット回腸における atropine, diphenhydramine, metiamide, phentolamine, propranolol の効果. (A) HOPA (4×10^{-8} M), (B) atropine (1.4μ M) 存在下で 10 分後に HOPA の反応をみた. (C) diphenhydramine (2μ M), metiamide (2μ M) を同時投与して 12 分後に HOPA の反応をみた. (D) phentolamine (1.7μ M), propranolol (1.3μ M) を同時投与し 10 分後に HOPA の反応をみた.

たゞちに元に戻る. 反応は濃度に依存し弛緩, 収縮共に最大反応は 3 nM でえられた. より高濃度では tachyphylaxis が生じた. 図 1 はモルモット回腸における HOPA の効果を GABA の効果と比較検討したものである. GABA は HOPA の約 1000 倍高い濃度で HOPA と同じような反応を示した. TTX (10^{-6} M) 存在下では GABA の効果は消失するが HOPA の効果は消失しない. 図 2 はそれぞれ atropine, diphenhydramine, metiamide, propranolol, phentolamine の存在下での HOPA の効果をみたものであるが, どの blocker も有意な抑制は示さなかった.

B. HOPA のラット回腸に対する効果

ラット回腸では, HOPA は収縮を起させた. その収縮は数秒で起り 13~30 秒で最大に達した. 又, 反応は濃度依存性でありモルモット回腸と同じく, 0.1 nM 位からはじまり, 3 nM で最大になった. TTX 存在下でも, その収縮は殆んど抑制されなかった. atropine, metiamide, diphenhydramine でもその収縮を有意に抑制することは出来なかった.

C. HOPA のモルモット結腸紐に対する効果

モルモットの結腸紐では HOPA により一過性の速い弛緩を起し, その後ひきつづいて収縮をも

たらしした。その効果は、約 10 nM 位から発現し、最大反応は 1 μ M でえられた。TTX 存在下でもその効果は影響をうけず、atropine, diphenhydramine, metiamide, phentolamine, propranolol によっても有意な抑制はみられなかった。

考 察

以上の結果より HOPA は種々の腸管平滑筋標本に対し効果をもつことが判明した。すなわち HOPA はラット回腸を収縮させ、又モルモット回腸および結腸紐に対しては弛緩、およびそれにひきつづく収縮という 2 相性の効果をもたらした。モルモットおよびラット回腸での HOPA 効果の濃度反応曲線には 2, 3 の共通した特徴がみられた。即ち、反応がどちらも約 0.1 nM から発現し、約 3 nM で最大に達し、より高濃度では tachyphylaxis を生じた。これらの事実は HOPA の作用に関与する受容体がモルモットとラットでは互いに似た性質を持っていることを示唆している。モルモット回腸および結腸紐がみられた HOPA による弛緩は phentolamine および propranolol 存在下でも起ることは、その弛緩は α および β -adrenoreceptor が刺激されて生ずるものではないことを示している。また更にモルモット回腸、および結腸紐、およびラット回腸でみられた HOPA による収縮が、atropine, metiamide, diphenhydramine 存在下でもみられたことはその収縮は、acetylcholine receptor および H_1 -, H_2 -receptor が刺激されて生じるものではないことを示している。HOPA は GABA 類縁物質であり互いに共通した構造を持つのでその作用を比較検討することは大変興味深い。HOPA と GABA はその作用はモルモット回腸では互いに似ているが

TTX 存在下で GABA の効果は殆んど消失するに比べ HOPA の効果は依然として残っている。これにより、HOPA は GABA と異なり (Krantis *et al.*, 1980), その作用は神経を介さず主として HOPA 特有の受容体を介してかあるいは腸管平滑筋細胞に直接作用するのではないかと思われる。

ま と め

HOPA の薬理学的作用を摘出腸管平滑筋標本を用いて調べた。HOPA は微量でも強力な作用をもち GABA と異なる作用機序をもつことが判明した。

文 献

- Biserte, G. *et al.* (1955). Chromatographie sur papier des acides aminés et polypeptides des milieux biologiques. VI.-Isolement d'une forme combinée de l'acide γ -aminobutyrique dans l'urine humaine. *Bull. Sté. Chim. Biol.* **37**: 831-837.
- 団野 保ほか (1978). Ca-Hopantenate (HOPATE) の生化学的研究. 田辺製薬研究報告, p. 99.
- Krantis, A. *et al.* (1980). γ -Aminobutyric acid stimulates intrinsic inhibitory and excitatory nerves in the guinea-pig intestines. *European J. Pharmacol.* **67**: 461-468.
- Nishizawa, N. and Kodama, T. (1966) Studies on homopantothenic acid. *Proc. Jap. Acad.* **42**: 841-846.
- 辻野儀一 (1962). γ -アミノ酪酸各種透導体, ことにホモパントテン酸の脳興奮性に及ぼす影響, *ビタミン*, **25**: 297-309.

無麻酔犬の消化管運動に対する Trimebutine maleate の作用

田辺製薬株式会社 薬理研究所

竹 永 秀 幸, 曲 渕 徹 雄

野 坂 邦 雄, 玉 木 元

Trimebutine maleate は臨床上、消化管機能異常の治療に有用な薬物であることが知られている (安部井ら, 1977). 動物実験においては、モル

モット摘出胃前庭部標本の運動に対して、規則的な律動性収縮運動を示す標本ではその振巾を減少させ、不規則的な収縮運動を示す標本に対しては

規則的な律動性収縮運動へ移行させる興味ある性質が認められている(竹永ら, 1982). しかし, 生体位標本における作用については十分な検討がなされていないので, より生理的条件下にあると考えられる無麻酔犬における消化管運動に対する *trimebutine maleate* の作用態度を *metoclopramide* および *hyoscine-N-butylbromide* と比較した.

実験方法

体重 14~21 kg の雄性雑種成犬 11 頭を用いた. Na-pentobarbital 麻酔下で開腹し, 胃体部, 胃前庭部, 十二指腸, 空腸, 回腸ならびに結腸の各部位に埋込型フォーストランスジューサーを輪状筋方向の収縮運動が測定できるように縫着し, 術後約 2 週間経過してから実験に供した. 1 日 1 回犬用固型飼料 20 g/kg を摂食させ, 摂食約 20 時間後から無麻酔下における消化管各部位の運動を同時に記録した. 被検薬物は桡側皮静脈から投与した.

結 果

無麻酔犬の消化管運動のパターンは, すでに報告されているよう (Itoh, *et al.*, 1978) に, 空腹期と食後期に大別された. すなわち, 空腹期においては, 胃から回腸末端まで肛側性に伝播する強い収縮群 (interdigestive migrating contractions: IMC) の発生とそれに続く静止期が周期的に繰り返され, 食後期では, 連続的な収縮運動が発現した. そこで, 薬物の作用は空腹期の運動静止時お

よび食後期の運動発生時において検討した.

空腹期の運動静止時における *trimebutine maleate* の代表的な作用を図 1 に示した. *trimebutine maleate* 1 mg/kg の投与によりおもに小腸ならびに結腸に小さな収縮運動が発生し, 3 mg/kg では胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 結腸のいずれの部位にも著明な収縮運動の発現が認められた. この 3 mg/kg の投与で誘発された収縮運動は, IMC に較べて, いずれの部位においても, その持続時間は短かったが, 振巾はほぼ等しく, 特に, 胃前庭部および十二指腸の収縮パターンは IMC に類似していた. 3 mg/kg で誘発された収縮運動の発現潜時は, 胃では 5.3 ± 1.7 min ($n=7$) であり, 1 min 以内に発現する小腸および結腸に比べて明らかに遅かった. なお, 1 mg/kg 投与においては, 胃および小腸における IMC の発生間隔 (運動静止期) が短縮した. この運動静止期を短縮させる作用は静脈内持続注入によっても認められている (山田ら, 1982).

他方, 食後期の運動発生時においては, *trimebutine maleate* (1, 3 mg/kg) の投与により, 胃前庭部および十二指腸の運動を用量依存的に抑制したのに対して, 空腸, 回腸および結腸では亢進作用を示した.

Metoclopramide は空腹期の静止時において, 1 mg/kg で胃前庭部および十二指腸に振巾の小さい連続的な収縮運動を発生させ, IMC とは明らかに異なった運動パターンを示した. 空腸および回腸にも小さな収縮運動が誘発される例も認められ

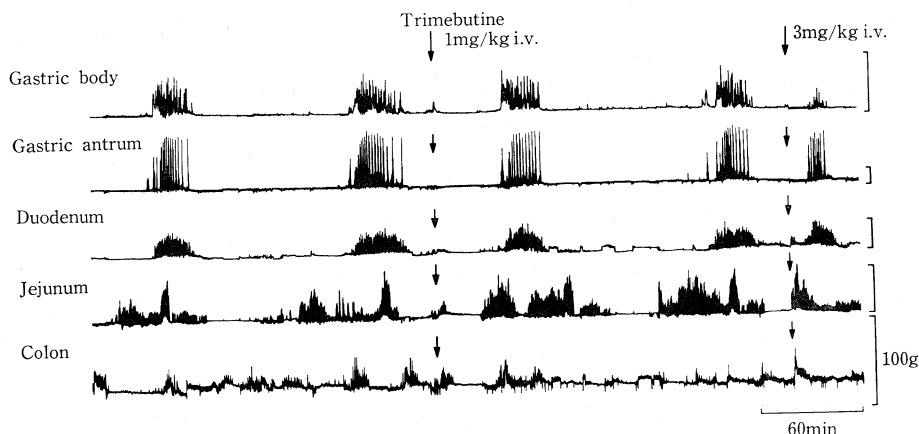


図 1. 無麻酔犬の空腹期の運動静止時における *trimebutine maleate* の作用 (静脈内投与)

たが、胃、十二指腸に比べてその程度は、明らかに弱く、結腸においては、ほとんど影響をおよぼさなかった。他方、食後期の収縮運動に対しては、1mg/kgで胃前庭部の運動をわずかに亢進させた以外は、明らかな作用を示さなかった。

Hyoscine-N-butylbromide は、0.1mg/kgで、空腹期の運動静止時に対して何ら作用を示さず、食後期においては、各部位の消化管運動を著明に抑制した。

まとめ

無麻酔犬の消化管運動に対して、trimebutine maleate は、空腹期の運動静止時に投与すると、消化管各部位に暫時持続する収縮運動を発生させ、あるいは、静止期を短縮させた。他方、食後期の運動発生時に対しては、胃前庭部および十二指腸の運動を抑制したが、空腸、回腸および結腸の運動は亢進させた。このように、trimebutine

maleate は消化管部位ならびにその生理的状態の違いにより、亢進、抑制の二面的な作用を示し、metoclopramide や hyoscine-N-butylbromide とは質的に異った作用を有することが認められた。

文 献

- 安部井徹ら (1977). 各種消化器愁訴に対する TM-906 の効果. 臨床評価 5: 189-203.
 Itoh, Z. et al. (1976). Motilin-induced mechanical activity in the canine alimentary tract. *Scand. J. Gastroenterol.* 11 suppl. 39: 93-110.
 竹永秀幸, 曲渕徹雄, 玉木 元 (1982). モルモット摘出胃自動運動に対する trimebutine maleate (TM-906) の作用. 日薬理誌 80: 163-168.
 山田健二, 飯塚元洋, 高市雄之 (1982). 無麻酔犬の空腹期胃・小腸運動に対する trimebutine maleate の作用. 日平滑筋誌 18: 45-55.

モルモット気管平滑筋の収縮維持における Na イオンと プロスタグランディン

名古屋大学医学部 附属病院手術部
河 西 稔

名古屋大学医学部 第一生理学教室
富 田 忠 雄

気管平滑筋は Krebs 液中で他の多くの平滑筋と異なり自発性を示さず持続性緊張性の収縮を示すのみである。生化学的にはモルモットの気管平滑筋では $\text{PGE}_2 > \text{PGF}_{2\alpha} > 6\text{-Keto PGF}_{1\alpha} = \text{TxB}_2$ の順で自発性、あるいは刺激下で産生されている (Burka J. F., et al., 1981) と報告されており、 PGE_2 が、その持続性収縮に関与している可能性も指摘されている (Ono T. et al., 1979)。正常 Krebs 液中で一定に保たれていた筋緊張は、外液の Na を除くと、一過性の弱い収縮後、かえって次第に減少してくる。この張力の減少は Na を再投与すると濃度依存性に回復してくる。これらのことより Na が正常状態における筋緊張の維持になんらかの形で関与していることが推測される。今回の実験では Na がプロスタグランディン (PG) の産生に影響を与えている可能性を調べてみた。

実験方法

実験条件を一定に保つ為、既に報告したように (河西, 富田, 1981), Isoprenaline (10^{-6} M) によって弛緩させ、250mg の張力を発生するまで標本を伸展させ、Isoprenaline を洗い流し、再び一定の持続性収縮が発生するのを持って以下の実験を行った。①PG 合成阻害剤である Indomethacin, Mefenamic acid, Aspirin を投与する。② PGE_1 , E_2 , $\text{F}_{2\alpha}$ の効果を調べる。③PG 合成阻害剤存在下で同様に PGE_1 , E_2 , $\text{F}_{2\alpha}$ を投与する。④PG 合成阻害剤存在下で細胞外の Na 濃度の影響を調べる。

結 果

①Krebs 液中での持続性収縮 (0.5~1.0 g 程度の張力) は PG 合成阻害剤で、濃度依存性に抑制され、Indomethacin では 5×10^{-6} M, Mefenamic acid では 5×10^{-6} M, Aspirin では 10^{-3} M で、5~30 分後に完全に弛緩してしまう。この弛緩は、このまま PG 合成阻害剤を作用させていると、4 時間たっても保たれ、回復する傾向はみられない。②外因性の PGE_1 (10^{-7} g/ml 以上), PGE_2 (10^{-8} g/ml 以上) では、濃度依存性に一過性の弛緩作用が認められるが完全に弛緩することではなく、ある程度の張力を維持し、作用時間を長くすると張力の回復は正常 Krebs 液中でみられるレベルに近づく、この回復は PGE_2 の方が E_1 より大きい。PGF_{2α} は濃度依存性 (5×10^{-8} ~ 5×10^{-6} g/ml) に収縮する傾向が認められる、しかしその張力増強作用は、カルバコールやヒスタミンに比して非常に弱い。③PG 合成阻害剤存在下で完全に弛緩させた後に PGE_1 , E_2 を投与すると PGE_1 は 10^{-7} g/ml, PGE_2 は 5×10^{-9} g/ml で明らかに張力が発生し、その後、この収縮の程度は濃度を増してもそれ程、変化しない。 PGE_1 より PGE_2 の方が大きい張力を発生するが、Krebs 液中で PG 合成阻害剤を投与していない時に発生する張力をこえることはない。PGF_{2α} は濃度依存性 (5×10^{-8} ~ 5×10^{-6} g/ml) に収縮を起し、 5×10^{-6} g/ml では、1.0 g を越える最大収縮を示す。この収縮は PGE_2 を投与すると正常 Krebs 液中でみられる収縮のレベルまで、すみやかに抑制され PGE_1 を加えるとさらに抑制程度が強まるが、ある程度の張力は保たれる。④PG 阻害剤存在下で細胞外 Na を除去 (Tris, Choline 置換) すると、一過性に大きい張力を発生し、10~20 分後を頂点として再びゆるやかに弛緩してくる場合と、弛緩せず一定の張力を保ったまま経過する場合が認められる。40~60 分間 O-Na 液で処理した後、PG 合成阻害剤存在下の Krebs 液にもどすと頸部の気管平滑筋では完全に弛緩し張力の回復がみられないのに対し胸部の

気管平滑筋では、一旦完全に弛緩した後、約 20 分で再び張力が回復してくる。O-Na から漸次、Na 濃度をあげてゆくと頸部では Na が加わった時は、ほとんど張力を発生しないが胸部の気管平滑筋では約 40 mM から濃度依存性に張力を発生する。この収縮は Atropine, phentolamine, diphenhydramine で、ほとんど影響されないが、多くの標本では SRS-A の拮抗剤である FPL 55712 (2.5×10^{-6} M) で完全に抑制される。

考 察

モルモット気管平滑筋の持続性収縮は、PG 合成阻害剤で強く抑制され、PG がこの収縮に深く関与しており、しかも PGE_2 が、その主役をはたしていることが考えられる。O-Na で処理した後では PG 合成阻害剤で影響を受けない収縮が発生する。この傾向は頸部よりも胸部の気管平滑筋で顕著であり、部位による性質の差が認められる。Na を除去したとき張力が減少するのは、PG 産生が抑えられる可能性と、PG に対する反応性の低下の可能性が考えられる。胸部気管平滑筋でみられる O-Na 処理後の PG 合成阻害剤によって抑制されない収縮は、リポキシゲナーゼの活性が高まり、leukotriene か、その類似物質の産生によるものではないかと考えられる。

文 献

- Burka J.F. *et al.* (1981). Immunological and non-immunological synthesis and release of prostaglandins and thromboxanes from isolated guinea pig trachea. *Prostaglandins*. **22**: 683-691.
- 河西 稔, 富田忠雄 (1981). モルモット気管平滑筋の張力発生と Na イオン. *日平滑筋誌* **17**: 241-242.
- Ono, T. *et al.* (1979). Interaction between aspirin and prostaglandins in the isolated guinea-pig tracheal muscle. *Japan. J. Pharmacol.* **29**: 865-875.

モルモット胃平滑筋における Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) の影響

昭和大学医学部 第二生理学教室

大内 みち子, 市河 三太, 安田 典子

従来より Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) をヒトに静脈内投与すると胃の痛みを伴った吐気, 尿意のおこることが報告されている (Almgvist, 1972). 1977 年に TRH の免疫活性が消化管, 脾臓に見い出されて以来 (Morley, *et al.*), brain-gut peptide として知られるようになり, 一方消化管の運動, あるいは胃酸分泌における TRH の生理的役割が注目されている (Morley *et al.*, 1979; Furukawa *et al.*, 1980).

今回, 我々はモルモットの胃幽門洞部を用い, その機械曲線, 電気現象を指標に TRH の作用を検討した.

方 法

モルモット胃幽門洞部を摘出, 小彎側を切開, 粘膜剝離後, 大彎側に沿って縦走筋方向の条片とその上部より輪走筋方向の条片を作成した. 機械曲線は, マグヌス法にて巾 3mm, 長さ 15mm の標本を用い O_2 97%, CO_2 3% を通じた修正 Krebs 液中で FD ピックアップ (日本光電) を介して記録した. 電気現象は, 巾 1mm, 長さ 10mm の標本を用い sucrose gap 法にて観察した.

結 果

1. TRH は, 縦走筋の自動性収縮に対し一過性に *tonus* の上昇を示し頻度にはほとんど影響しなかった. この作用は, 10^{-9} M の濃度より用量依存性を示し, 10^{-6} M でほぼピークに達した. 又, 11 例中 4 例では一過性の *tonus* の上昇の後に振巾の抑制, その後増強という 3 相性の反応を示した. 輪走筋の自動性収縮に対しては, 10^{-7} M よりわずかな収縮の亢進を引きおこした. 両標本の TRH による張力変化を ACh による最大張力に対する割合で表わすと縦走筋では $31.8 \pm 4.6\%$ (mean \pm SE, $n=4$), 輪走筋では $5.7 \pm 1.7\%$ (mean \pm SE, $n=5$) であった (図 1).

2. 縦走筋の電気現象に対する TRH (10^{-5} M) の

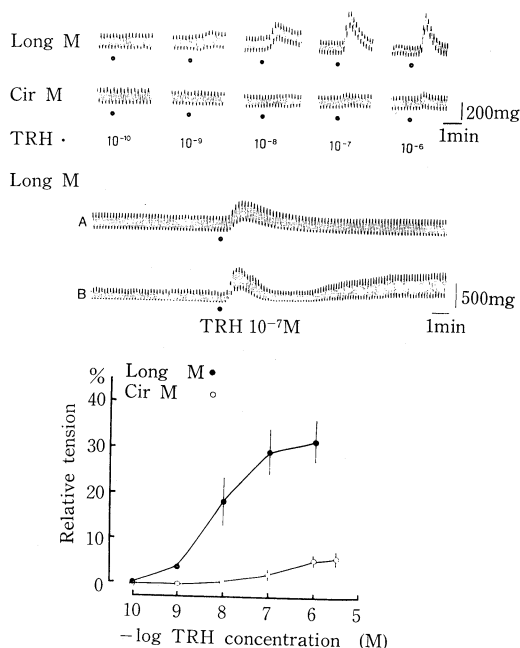


図 1. 上: 縦走筋, 輪走筋の自動性収縮に及ぼす TRH の作用. ●は TRH の投与, 10^{-10} ~ 10^{-6} はそのモル濃度を表わす.
中: 縦走筋の自動性収縮に及ぼす TRH, 10^{-7} M の作用でみられる 2 つの型を示した. A は 11 例中 7 例に, B は残り 4 例にみられた.
下: TRH による張力変化を ACh によって引き起こされた最大張力を 100% としてプロットした用量作用曲線. ●は縦走筋 ($n=4$), ○は輪走筋 ($n=5$) を表わす.

作用は, 正常 Krebs 液中では, 一過性の脱分極とそれに伴い spike 電位の増強がみられるが, その後 slow wave と spike の抑制がみられる場合もあった. Physostigmine, 10^{-7} M により spike 電位の数が增加するが, その後の TRH の投与では, 脱分極と著明な spike 電位の増強がみられた.

3. 縦走筋における TRH の作用は TTX, 3×10^{-7} M 前処置で消失, atropine, 10^{-7} M で *tonus* の下降に転じた. 又 physostigmine, 10^{-7} M で増強されたが, C_6 , 10^{-4} M 前処置では影響されな

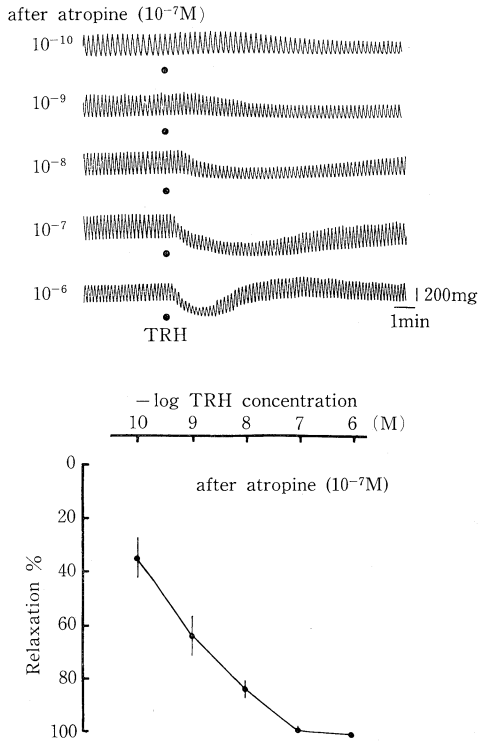


図 2. 上: Atropine, 10^{-7} M 存在下での縦走筋の自動性収縮に対する TRH の影響. 左の 10^{-10} – 10^{-6} は、投与した TRH のモル濃度を、●は投与した時点を表わす.

下: 上の実例をもとに TRH の影響を tonus の変化として表わし、 10^{-6} M を 100% として濃度に対してプロットした ($n=5$).

かった. TRH, 10^{-9} M は外液中に与えた ACh による収縮に影響しなかった.

4. 縦走筋に atropine 10^{-7} M 存在下で TRH を作用させると自動性収縮は、用量に依存して抑制された. 10^{-10} M では、約 4 分の潜伏期の後に自動性収縮の振巾が抑制されたが、高濃度になるに従い潜伏期が短縮し、tonus の下降を伴うようになる. 10^{-6} M では一過性の反応の後に tonus は回復し同時に振巾の増大が観察された (図 2). これらの反応は、guanethidine, phentolamine, propranolol 各々 10^{-6} M, C_6 , 10^{-4} M 前処置で影響されなかったが、TTX, 3×10^{-7} M で消失した.

5. Somatostatin 10^{-6} M は、縦走筋の TRH による tonus 上昇作用を著明に抑制したが、ACh による収縮高は、正常 Krebs 液中、TRH 10^{-7} M 存在下、及び somatostatin 10^{-6} M + TRH 10^{-7} M 存

在下、いづれも変化がなかった. これに対し Met-enkephalin 10^{-6} M, naloxone 2.7×10^{-7} M は TRH の作用をわずかに抑制する傾向にあるが、著しい影響は示さなかった.

考 察

モルモット胃幽門洞部縦走筋は、輪走筋に比して TRH に対する感受性が有意に高いことが観察された. 縦走筋に対する TRH の作用は、TTX ですべて遮断されたため壁内神経に働いていることが知られる. しかも physostigmine は TRH の tonus 上昇作用を亢進し、atropine は、tonus を下降に転じること、ACh 収縮に対して TRH は影響しないことから壁内のコリン作働性神経に作用し、末端から ACh を遊離させることによる反応であるといえる. 又、 C_6 前処置で変化しなかったことから nicotinic receptor を介した反応ではないと思われる.

Atropine 存在下でみられる tonus の下降は、guanethidine, phentolamine, propranolol, C_6 で消失しないが、TTX で消失することから、非アドレナリン性抑制性神経の nicotinic receptor 以外の部位に働き抑制物質の遊離を介して引き起こされた反応であることが知られた. 従って TRH は、コリン作働性神経と非アドレナリン性抑制性神経の双方を刺激すると思われる.

Somatostatin は、モルモット回腸のコリン作働性神経からの ACh 遊離を抑制し、非アドレナリン性抑制性神経を刺激することが知られる (Furness and Costa, 1979) が、本実験に於ても TRH の亢進作用を抑制し、相互関係の存在が示唆された. これに対し Met-enkephalin, naloxone は、わずかしか抑制しなかったことから内因性の opioid peptide が TRH の作用を modify する可能性は、少ないように思われた.

文 献

- Almqvist, S. (1972). Clinical side effects of TRH. *Front. Hormone Res.* 1: 38–44.
- Furness, J.B. and Costa, M. (1979). Actions of somatostatin on excitatory and inhibitory nerves in the intestine. *Eur. J. Pharmacol.* 56: 69–74.
- Furukawa, K. et al. (1980). Effects of Thyro-

tropin releasing Hormone (TRH) on the isolated small intestine and taenia coli of the guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.* **64**: 279-287.

Morley, J.E. *et al.* (1977). Thyrotropin-releasing Hormone in the gastrointestinal tract.

Biochem. Biophys. Res. Comm. **79**: 314-318.

Morley, J.E. *et al.* (1979). The effects of Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) on the gastrointestinal tract. *Life Sci.* **24**: 1059-1066.

ヒト胃幽門括約部平滑筋に関する基礎的研究 (第2報)

兵庫医科大学 第一外科学教室

岡 空 達 夫, 岡 本 英 三, 桑 田 圭 司

豊 坂 昭 弘, 大 橋 秀 一, 鈴 木 栄 太 郎

劉 燦 太 郎, 朱 明 義

昨年 の 第 23 回 本 学 会 総 会 に お い て, ヒ ト 胃 幽 門 括 約 部 平 滑 筋 に 対 す る Acetylcholine, Adrenaline, Isopreterenol, Tetragastrin, CCK-PZ, Secretin の 効 果 を 胃 各 部 輪 状 筋 の そ れ と 比 較 し, Adrenaline お よ び Tetragastrin の 効 果 に 差 異 が あ る こ と を 報 告 し た. 今 回 は 静 止 時 の 自 動 収 縮 運 動 お よ び 膜 電 位 の 変 化, な ら び に Tetraethylammonium (TEA), Vasoactive intestinal polypeptide (VIP), Prostaglandin E₁ (PGE₁), お よ び Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) の 効 果 に 関 し て 比 較 検 討 し た.

対象および方法

手 術 時 に 摘 出 し た 病 変 の な い 幽 門 括 約 部 の 輪 状 方 向 標 本 を 材 料 と し て 使 用 し た. 対 照 に は 同 時 に 摘 出 し た 胃 底 部, 体 部, 前 庭 部 の 輪 状 筋 を 用 い た.

O₂ 97%-CO₂ 3% の 混 合 気 体 を 通 気 し, 37°C に 保 温 し た Krebs-Ringer 液 内 で 0.3cm×1.5cm の 筋 条 片 の 等 尺 性 運 動 を 日 本 光 電 製 FD ピ ッ ク ア ッ プ お よ び ひ ず み 圧 力 用 増 幅 器 を 介 し て 記 録 し, 静 止 時 の 自 動 運 動, な ら び に 上 記 薬 剤 を 投 与 し た 際 の 運 動 あ る い は 張 力 の 変 化 を み た.

次 い で 伊 東 ・ 栗 山 の 記 載 し た 方 法 に よ る 二 重 蔗糖 隔 絶 法 を 用 い て 静 止 時 な ら び に 上 記 薬 剤 投 与 時 の 膜 電 位 の 変 化 お よ び 張 力 の 変 化 を 記 録 し た. な お, 電 位 記 録 に は 日 本 光 電 製 微 小 電 極 用 増 幅 器 お よ び 前 置 増 幅 器 を 用 い た.

成 績

A. 静止時の運動と電気現象 (図 1)

静 止 時 胃 各 部 で は 自 動 収 縮 運 動 が み ら れ, そ の

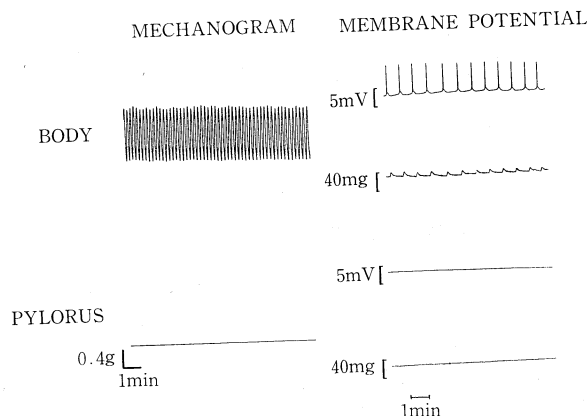


図 1. 静止時の等尺性運動記録と膜電位

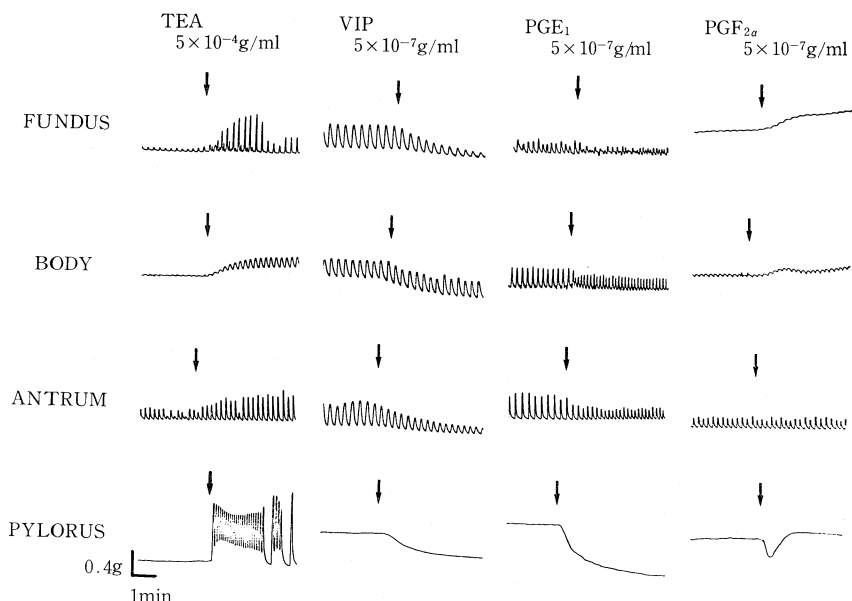


図 2. 各種薬剤の筋張力あるいは運動におよぼす効果

頻度は底部で平均毎分 3.45, 体部で 4.65, 前庭部で 4.34 であった. 三者の差は有意ではなく, 胃の全平均は毎分 4.35 であった. これに対し幽門括約部では自動収縮運動は認められなかった.

膜電位の記録では既に知られているように, 胃各部では *slow wave* が認められ, 時には *spike* 放電を重ねることも観察された. *slow wave* の頻度は底部で平均毎分 2.23, 体部で 2.53, 前庭部で 2.34, 胃の全平均 2.42 であった. また振幅は底部で平均 6.33mV, 体部で 10.1mV, 前庭部で 14.0mV であり, 肛門側ほど振幅が増す傾向をみせたが有意差はなく, 胃の全平均で 10.6mV であった. それに対し幽門括約部では *slow wave* は 1 例も認めることがなかった.

B. 各種薬剤の効果 (図 2)

1. TEA: 胃各部では筋収縮の増強を認め, 幽門括約部では強い収縮運動が発生するのを認めた. 膜電位は, 胃各部では軽度の脱分極と *slow wave* の頻度増加ならびに *spike* 放電の振幅の増高が重なって筋収縮の増強を招来しているのがわかった. 一方幽門括約部では TEA の灌流により軽度の脱分極と共に新たに *slow wave* が発生し, 収縮運動をもたらすのがわかった.

2. VIP: 胃各部では筋収縮の抑制あるいは弛緩そして幽門括約部では筋弛緩が認められた. そ

して膜電位は胃各部では *slow wave* の振幅の減少と過分極, 幽門括約部では過分極が観察された.

3. PGE₁: 胃各部では収縮頻度の軽度増加を伴う収縮高の抑制を認めた. この際膜電位でも *slow wave* の頻度の増加と振幅の減少を認めた. 一方, 幽門括約部は著明な弛緩が認められ, 膜の過分極に伴っているのが観察された.

4. PGF_{2α}: 胃底部, 体部では張力の増加が認められたが, 前庭部には全く効果を示さず, 幽門括約部に対しては一過性の弛緩のち, 軽度の収縮をもたらす, 部位による効果の差異を認めた. 膜電位をみると, 底部・体部では *slow wave* の増加と脱分極が張力の増加に伴っており, 幽門括約部では弛緩に伴う過分極のみがみられ, 一過性の弛緩のちにおこる収縮に伴う電気現象は不明であった.

ま と め

1. ヒト胃幽門括約部輪状筋の性質を, 等尺性運動記録および蔗糖隔絶法を用い, 胃各部 (底部, 体部, 前庭部) の輪状筋を対照として比較検討した.

胃各部輪状筋は等尺性運動記録で自動収縮運動が, 蔗糖隔絶法で *slow wave* が認められたのに対

し、幽門括約部では両者ともに1例も認められなかった。

2. 薬剤の効果に関しては、収縮あるいは運動の増強は膜電位の脱分極、slow wave の頻度の増加、spike 放電の振幅の増高に伴っており、弛緩あるいは運動の抑制は膜電位の過分極や slow wave の減少に伴うという点では各部共通であった。今回検討した薬剤では TEA, VIP, PGE₁ には胃各部と幽門括約部との間に差異は認めなかったが、PGF_{2α} の効果において胃底部・体部と幽門括約部との間に差を認めた。

前回の成績をも加え、幽門括約部は静止時の自動運動がない点、2〜3の薬剤や消化管ホルモンに特異な効果を有する点から、他部とは異なる特異な作用を有することが示唆された。

空腹期ペプシン分泌における体液性調節

群馬大学医学部 第一外科学教室

中 屋 光 雄, 相 沢 勇

伊 藤 漸, 中 村 卓 次

空腹期における胃収縮運動は、強い収縮波群 (interdigestive migrating contractions, IMC) が一定の静止期をはさんで一定間隔でくりかえし、IMC 発現に血中 immunoreactive motilin (IRM) が重要な役割を演じていることはすでに報告した通りである (Itoh, *et al.*, 1978a). さらに迷走神経遮断胃体部のう (Heidenhain pouch) の収縮運動も主胃の IMC に同期して増強することが知られている (Itoh, *et al.*, 1978b). 本研究では Heidenhain pouch (以下 pouch) 内の pepsin 分泌動態と IMC 及び IRM の関係について報告する。

方 法

体重 10〜15 kg の雑種成犬 4 頭に Heidenhain pouch を作製した。pouch, 胃体部及び前庭部の漿膜に force transducer をそれぞれの輪状筋収縮がとれる方向に縫着した。実験は術後 4 週より開始し食餌は 1 日 1 回定時に与えた。採血及び薬物投与は上大静脈に慢性留置した Silastic tube より行なった。

pouch 内の胃液を採取するために外径 5 mm の

- ## 文 献
- El-Sharkawy, T.Y., Morgan, K.G., and Szurszewski, J.H. (1978). Intracellular electrical activity of canine and human gastric smooth muscle. *J. Physiol.* **279**: 291-307.
- Hara, Y. and Ito, Y. (1979). The electrical activity recorded from smooth muscle of the circular layer of the human stomach. *Pflügers Arch.* **382**: 145-153.
- Ito, Y., Suzuki, H. and Kuriyama, H. (1977). Effects of caffeine and procaine on the membrane and mechanical properties of the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery. *Jpn. J. Physiol.* **27**: 467-481.

ビニールチューブに外径 1.5 mm のビニールチューブを挿入しそれぞれ採取口、注入口とした。実験時には pouch に慢性留置した cannula に上記の装置を挿入し、0.04N HCl 3.0 ml を注入口より注入し採取口より採取した。

空腹期の判定は食餌摂取後、最初の IMC が主胃に発現した時点とし、注入、採液、採血は 10 分間隔で行なった。

pepsin 濃度は日本消化器病学会ペプシン測定委員会試案により、IRM 濃度はすでに報告した通り (Itoh, *et al.*, 1978a), radioimmunoassay 法により測定した。

結 果

図 1 は 3.5 時間の pouch, 胃体部及び前庭部の収縮運動と血中 IRM 濃度、pepsin 分泌の変化を記録したものである。主胃の IMC に同期して pouch の収縮運動、pepsin 分泌も増強し IMC 終了に伴いしだいに下降している。IRM 濃度と pepsin 分泌量は有意に相関した ($p < 0.05$)。主胃 IMC の終了前 60 分から終了後 60 分までの実験

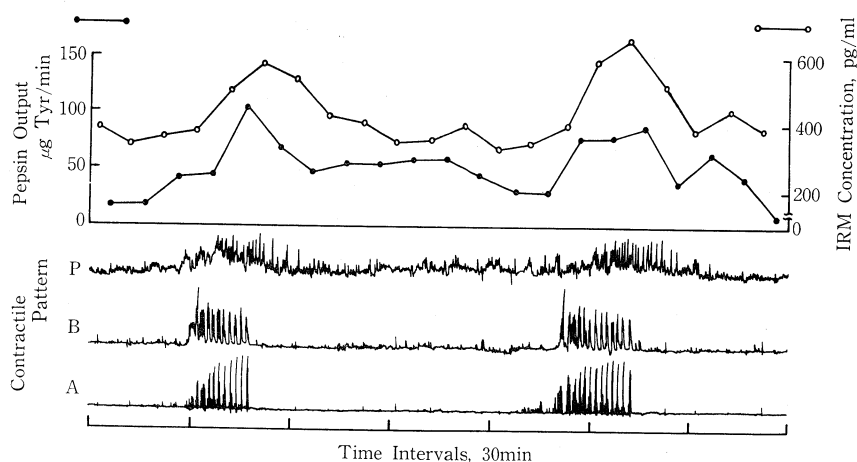


図 1. 空腹期における pouch, 及び主胃の収縮運動と血中 IRM, pepsin 分泌の変化
P: pouch, B: 主胃体部, C: 主胃前庭部

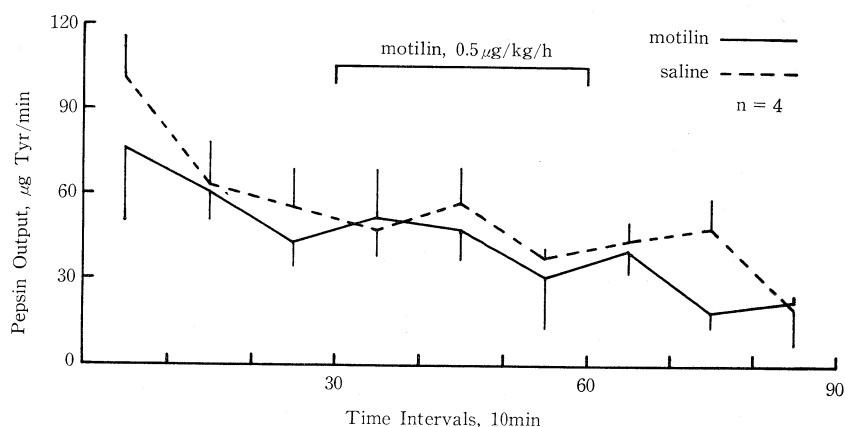


図 2. アトロピン投与時の pepsin 分泌におよぼす motilin の作用

成績では pepsin 分泌は IMC 終了前 30 分より増加し終了直後の 10 分で最高値 $126 \pm 24 \mu\text{g Tyr/min}$ となり以後しだいに低下, 終了後 60 分で最低値 $54.3 \pm 4.8 \mu\text{g Tyr/min}$ となった. 血中 IRM 濃度は終了前 60 分で最低値 $338 \pm 33.9 \text{ pg/ml}$ となり 40 分より有意の上昇を示し終了直前の 10 分で最高値 $589 \pm 58.3 \text{ pg/ml}$ に達し以後しだいに低下した.

IMC 終了後 30 分より合成 motilin $0.5 \mu\text{g/kg/h}$ を 30 分持続静注すると pouch, 及び主胃に自然の IMC と酷似した収縮運動が観察され pepsin 分泌もそれに伴い上昇した.

主胃に IMC が発現し最高収縮の 80% の収縮運動が観察された時点でアトロピンを持続静注す

ると pouch 及び主胃の収縮運動は直ちに停止した. pepsin 分泌はアトロピン投与と同時に低下し投与終了時点まで低値を持続した. アトロピン静注後 30 分より合成 motilin を 30 分持続静注しても pouch 及び主胃のいずれにも IMC は発現せず pepsin 分泌の増加も認められなかった (図 2).

考 察

胃空腹期収縮に一致して血中 IRM が上昇し合成 motilin を投与すると IMC に酷似した収縮運動を発現することから IMC 発現に motilin が重要な役割を演じていることは確かである. さらに IMC に同期して胆のう収縮が認められ空腹期の胆のう収縮, 胆のう内胆汁動態にも motilin が関与

していることも明らかにされている (Itoh, *et al.*, 1982). 一方 Vantrappen 等は 1979 年 IMC と共に胃液分泌及び胆汁分泌が亢進することを報告し、これを空腹期周期的活動の secretory component と位置づけている。

今回の実験では空腹期の Heidenhain pouch 内の pepsin 分泌が血中 IRM 濃度と極めて高い相関を示し合成 motilin 投与により pouch 及び主胃に IMC を惹起させるだけでなく pepsin 分泌も亢進することが明らかとなった。このことは空腹期における pepsin 分泌にも motilin が重要な役割を演じていることを推定させる。

アトロピン投与により自発性の収縮運動及び pepsin 分泌共に抑制され、この間に合成 motilin を投与しても pouch 及び主胃に収縮運動は発現せず pepsin 分泌反応もみられなかった。このことは motilin の pepsin 分泌作用は収縮運動の場合と同様に cholinergic な経路を介していると考えられる。

本研究に用いた pouch 内胃液の採取装置は当研究室で独自に開発したものである。実験に共した 4 頭のうち 3 頭の実験では注入液の回収率は $98.7 \pm 1.0\%$ 、注入による内圧の上昇は 57.9 ± 3.2

mmHg で自発性収縮に伴う内圧上昇を超えない。また 10 分間隔で注入、採液をくり返すことにより IMC の持続時間、静止期の持続時間にほとんど影響を及ぼさないことが確認され、pouch 内胃液採取に極めて有用な装置と考えられる。

文 献

- Itoh, Z. *et al.* (1978 a). Changes in plasma motilin concentration and gastrointestinal contractile activity in conscious dogs. *Am. J. Dig. Dis.* **23**: 929-935.
- Itoh, Z. *et al.* (1978 b). Interdigestive motor activity of Heidenhain pouches in relation to main stomach in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* **234**: E333-E338.
- Itoh, Z. *et al.* (1982). Interdigestive gallbladder bile concentration in relation to periodic contraction of gallbladder in the dog. *Gastroenterology*, **83**: 645-651.
- Vantrappen, G.R. (1979). The secretory component of the interdigestive migrating motor complex in man. *Scand. J. Gastroent.* **14**: 663-667.

Conscious dog における胃運動の神経-体液性促進機構について

広島大学医学部 第二生理学教室

藤 井 一 元, 米 原 修 治

同 上 第二外科学教室

上 田 敏 明, 高 杉 純 好

先に著者らは、コリン作動性神経（迷走神経性、内臓神経性）およびガストリン刺激によって胃粘膜から遊離されるヒスタミン（藤井ら, 1978）の胃運動に対する役割を明らかにする目的で、麻酔イヌの全胃、denervated pouch および摘出胃輪走筋標本を用い、これらの運動の神経-体液性促進反応に対するヒスタミン遊離阻害剤 (cepharanthine, CR) およびヒスタミン H_1 -receptor antagonist (chlorpheniramine, CPM) の影響を検討した。その結果、コリン作動性神経による胃平滑筋の直接的支配機構の他に、コリン作動性神経がガストリン分泌細胞を刺激してガストリンの遊離を

促し、このガストリンが胃壁中のヒスタミン分泌細胞を刺激して放出されたヒスタミン (Takasugi *et al.*, 1979; Fujii *et al.*, 1981) が胃平滑筋活動を促進させるという神経-体液性促進機構の存在を指摘した (藤井ら, 1979)。

本研究は、これら麻酔イヌで認められた胃運動の神経-体液性促進機構が生理的機構として存在するか否かを検討する目的で、conscious dog を用いて、全胃および denervated corpus pouch 運動の神経-体液性促進機構を追求した。

方 法

Pentobarbital sodium 麻酔下に、胃体部大彎側に denervated pouch を作製し、その漿膜側に strain gauge force transducer を縫着してその運動を記録した。主胃の運動は、幽門前庭部の運動を pouch の場合と同様の方法によって記録した。実験は手術後 4 週間から無麻酔下に行った。コリ

ン作動性神経の刺激は、2-Deoxy-D-glucose (2-DG) の静注 (100 mg/kg/10 min) によった。内因性ガストリンの刺激は feeding (2% ペプトン加試験食) によった。血清ガストリン値はラジオイムノアッセイ法で測定した。

実験結果

1. 主胃の運動は 2-DG 静注 (100 mg/kg/10 min)

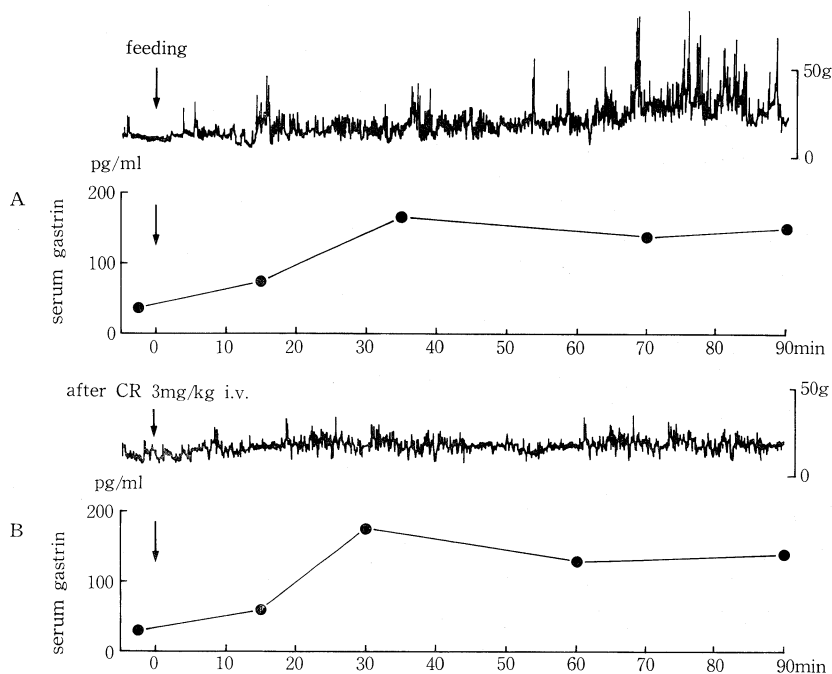


図 1. 2-DG 刺激による胃幽門前庭部促進反応に対する迷走神経および内臓神経切断の影響

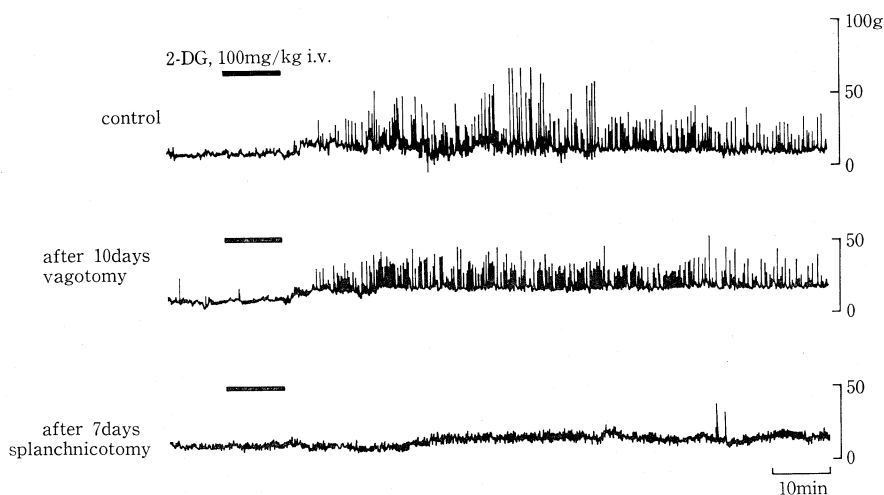


図 2. Feeding (↓) によって生ずる denervated corpus pouch 運動の促進反応、血中ガストリン上昇反応に対する cepharanthine 静注の影響

終了2~3分後から tone の上昇を伴った促進反応(図1, 上)を生じ, この反応は90分~120分間持続した. 2-DG 刺激による主胃運動促進反応は, 横隔膜下で, 迷走神経の前, 後枝, 腹腔枝および肝枝をすべて切断 (truncal vagotomy, TV) したのちにも, 迷走神経無傷時の促進反応に比べやや弱いながら認められた(図2, 中). この迷走神経切断後の2-DG 刺激による促進反応は両側内臓神経の切断によって消失した(図1, 下).

2. 2-DG 刺激によって生じた主胃運動促進反応は atropine 静注 (0.05 mg/kg) によって消失した. ヒスタミン遊離阻害剤 (CR, 3 mg/kg i. v.), ヒスタミン H_1 -receptor antagonist (CPM, 2 mg/kg) 静注によっては, tone の上昇反応のみが抑制され, 律動収縮は影響を受けなかった.

3. Denervated pouch の運動は, 2-DG の静注後10~12分間の潜時を経て促進され, 65~90分間持続した. この反応は CR, CPM, atropine および外来神経の切断(迷走神経および内臓神経の切断)によって消失した.

4. Feeding 刺激によって血清ガストリン値の上昇と共に denervated pouch 運動の亢進が認められた(図2, A). CR を静注したのちの feeding 刺激では, 血清ガストリン値上昇反応が認められるにもかかわらず, pouch 運動の亢進は認められなかった(図2, B).

考 察

1. 2-DG がコリン作動性胃運動促進神経の起始細胞を興奮させることは, 2-DG による胃運動促進反応(迷走神経を介する促進反応および内臓神経を介する促進反応, 図1)が atropine 静注によって消失した事実によって示されている.

2. 2-DG によって denervated pouch 運動の亢進が認められた事実は, コリン作動性神経の興奮によって放出されたガストリンを介する神経一体液性の胃運動促進機構(藤井, 長尾, 1977)の存在を示唆するものである.

3. CR によって2-DG 刺激あるいは feeding による血中ガストリン値上昇反応は何等影響を受けないにもかかわらず, denervated pouch の運動促進反応が消失した事実(図2, B)は, コリン作動性神経刺激あるいは化学的刺激によって放出されたガストリンが, pouch 壁内のヒスタミン分泌細胞を刺激してヒスタミンを遊離させ, このヒスタミンが胃平滑筋活動を促進させる(藤井ら, 1979)という胃運動促進機構が存在することを示すものと考えられる.

結 語

先に著者らが無麻酔イヌについて明らかにした胃運動の神経一体液性促進機構が, 生理的機構として存在するか否かを conscious dog を用いて検討した結果, conscious dog においても, コリン作動性神経→ガストリン→ヒスタミン→胃平滑筋活動促進という神経一体液性胃運動促進機構の存在が認められた.

文 献

- 藤井一元, 長尾由尚 (1977). 神経性ガストリン分泌と胃運動. 日平滑筋誌 13: 191-195.
- 藤井一元, 高杉純好, 長尾由尚, 土岐尚親 (1978). 胃粘膜ヒスタミンの神経性分泌とその作用. 日平滑筋誌 14: 240-242.
- 藤井一元, 高杉純好, 土岐尚親 (1979). 神経性胃運動促進機構におけるヒスタミンの役割. 日平滑筋誌 15: 155-157.
- Fujii, K., Takasugi, S. and Toki, N. (1981): Effect of cepharanthine on neuro-humoral excitatory response of gastric movement in dog. *Jpn. J. Physiol.* 31: 613-623.
- Takasugi, S., Fujii, K. and Toki, N. (1979): Role of histamine in gastric motor excitatory response caused by nerve stimulation in dog. *Hiroshima J. Med. Sci.* 28: 195-200.

微小血管径測定装置の試作：その生理学的応用

長野工業高等専門学校 電気工学科

坂 口 正 雄

信州大学医学部 第一生理学教室 心脈管病研究室

大 橋 俊 夫, 福 嶋 孝 義, 東 健 彦

はじめに

われわれは、最近、イメージセンサを利用した非接触型脈管外径測定装置を開発した (Sakaguchi, *et al.*, 1979; 1980). 今回は、工業面で使用されている万能投影機とイメージセンサを組み合わせ、 $100\mu\text{m}$ から 7mm におよぶ応範囲な脈管外径を計測できる *in vitro* 実験用の高分解能脈管外径測定装置を製作した (坂口ら, 1982). 装置の概要と生理学的応用例を報告する.

装置の構成

本装置は、光源部と万能投影機、スクリーンに設置した2台のイメージセンサとそのビデオ信号処理回路からなる (図 1). 万能投影機 (ニコン VM-8A) は正立正像のユニット型投影機で20倍の固定倍率を有し、スクリーンの有効径は 204mm である. イメージセンサ (松下電子 MEL512KV) は512個のフォトダイオードアレイ (ピッチ 28

μm) と MOS シフトレジスタが集積されたもので、アレイの長さは 14.3mm である. 投影機の倍率を考慮すると、1台のイメージセンサによる測定寸法の最大値は約 $700\mu\text{m}$, 分解能は $1.4\mu\text{m}$ である. スクリーンに固定したノギス (三豊 N20) 上に2台のイメージセンサが設置されている (図 1). すなわち、1台のイメージセンサは本尺のジョウに、他の1台はスライダのジョウにそれぞれ固定されている. 被測定寸法が $700\mu\text{m}$ を越える場合においても、スライダを移動して投影像の両端が2台のイメージセンサに重なるようにすれば脈管の外径測定が可能となる.

ビデオ信号処理回路は、イメージセンサ駆動回路、外径絶対値表示回路、外径変化アナログ出力回路に大別できる. クロックパルス (142.86KHz) をダウンカウントして得たスタートパルスが1台のイメージセンサのレジスタに印加されると、自動的に512個のフォトダイオードが掃引され、掃引終了と同時にエンドオブスキャン (EOS) 信号

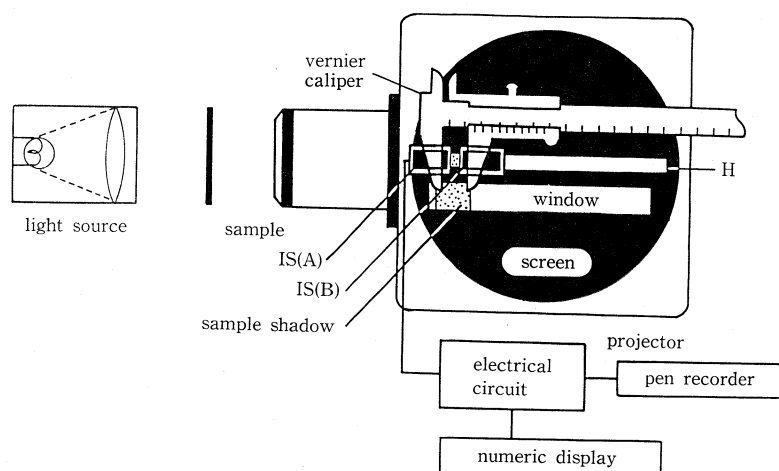


図 1. 装置構成模式図

IS : イメージセンサ

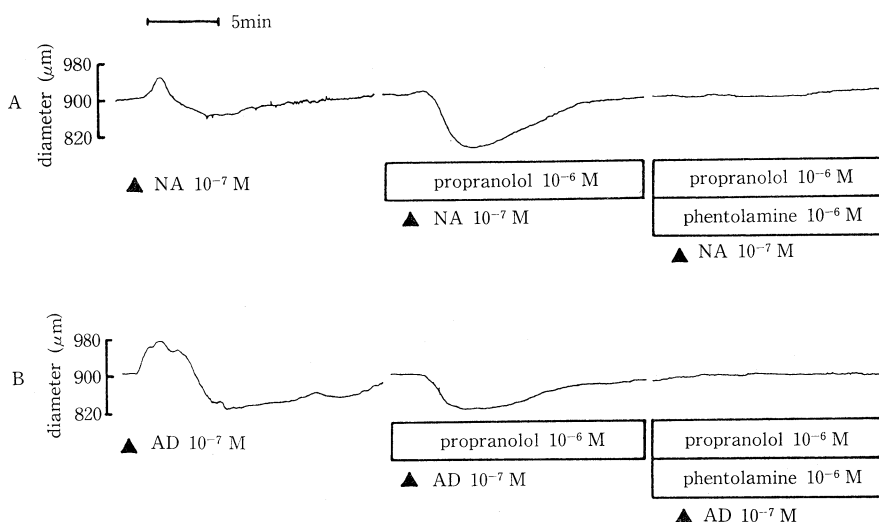


図 2. イヌ伏在動脈 (外径 900 μm) における noradrenaline (NA) ならびに adrenaline (AD) 反応に対する α , β 遮断剤の影響

が発生する。EOS 信号は次段のイメージセンサのスタートパルスとなり、2 台のイメージセンサは直列的に継がることができる。あたかも 1024 ビットのフォトダイオードアレイが動作していることになる。ビデオ信号は投影像とフォトダイオードアレイとの重畳部分における欠落したパルス列である。この欠落部分のパルス数は 1.4 倍された後、イメージセンサ間距離がプリセットされている計数回路に導びかれ、加算される。計数出力は符号器を経て脈管外径をデジタル表示する。同時に計数出力は D/A 変換器、直流増巾器を経て、アナログ的にも出力される。デジタル表示部は最大 99.999 mm の表示が可能で、表示周期は 0.35 秒、アナログ回路は 0.4 V/10 μm の感度を有し、周波数応答の上限は 20 Hz である。

生理学的応用例

本装置を摘出したイヌ伏在動脈に適用した。pentobarbital sodium 麻酔下、生体内で外径 200~1000 μm の伏在動脈にカニューレレーションを行い、長さ 20 mm の円筒状標本を作製、摘出した。標本は容量約 30 ml の灌流型臓器槽内に生体長に伸展した状態で装着し、標本内腔はマリ奥特びんを

用いて約 70 mmHg で定圧灌流を行った。標本安定後、一定濃度のカテコールアミンを臓器槽内に注入し、その反応性を比較検討した。

図 2 は外径約 900 μm の伏在動脈に対する noradrenaline (NA), adrenaline (AD) 反応の典型例である。血管外径は 10⁻⁷ M の NA を投与するとまず拡張し、その変化量は基本外径の約 7% に及ぶ。ひきつづいて外径は短縮し、約 5 分で最高の短縮量を呈する。

同一標本に 10⁻⁶ M の β 遮断剤、propranolol 前処置後、同一量の NA を投与すると、血管拡張作用は完全に抑制され、収縮反応が著明に増加し、その短縮量は基本外径の 17% にも達する (図 2-A)。さらに、同一標本に 10⁻⁶ M の α 遮断剤、phentolamine を追加処置すると、NA の血管反応性は完全に消失する。こうした事実から、この血管拡張反応は β 受容体刺激効果として出現したものであろう。次に、ほぼ同一外径の伏在動脈に AD を投与すると予想通り著しい血管拡張反応が誘起され、ひきつづいて同程度の血管短縮反応が認められた (図 2-B)。この AD 反応は β 遮断剤の前処置により血管収縮反応に逆転し、さらに α 遮断剤の追加処置により収縮反応は完全に抑制さ

れた。一方、外径 $4\sim 500\mu\text{m}$ の伏在動脈の場合、NA を投与すると顕著な血管短縮反応のみが出現し、図2に示したような拡張反応は全く認められない。同程度の外径をもつ伏在動脈に対するAD反応は血管外径の拡張反応をほとんど示さず、わずかな短縮反応のみを呈する。この短縮反応は α 遮断剤により完全に消失する。

以上の事実から、外径 $200\sim 1000\mu\text{m}$ 程度の伏在動脈においては、カテコールアミンの β 受容体分布に著しい部位差の存在することが判明した。

参 考 文 献

Sakaguchi, M., Ohhashi, T., Azuma, T. (1979).

A photoelectric diameter gauge utilizing the image sensor. *Pflügers Arch.* **378**: 263-268.

Sakaguchi, M., Ohhashi, T., Azuma, T. (1980). A camera-type diameter gauge applicable to small blood and lymph vessels. *Pflügers Arch.* **388**: 261-265.

坂口正雄, 大橋俊夫, 福嶋孝義, 東 健彦 (1982). 高分解能スケールセンサの試作とその生理学的応用, 医用電子と生体工学 **20**: 461.

リンパ管の自発性収縮に対する自律神経の調節機構

信州大学医学部 第一生理学教室

大 橋 俊 夫, 東 健 彦

長野工業高等専門学校 電気工学科

坂 口 正 雄

はじめに

リンパ管に内在する自発性収縮は能動的リンパ輸送機構の主体である。ウシ腸間膜リンパ管には顕著な自発性収縮が存在し (Ohhashi, Azuma and Sakaguchi, 1980), 壁平滑筋の内因性緊張は壁に分布する postganglionic sympathetic nerve と non-adrenergic inhibitory nerve によって調節されている (Ohhashi and Roddie, 1981)。今回はこのウシ腸間膜リンパ管の自発性収縮に注目し, その頻度・振幅に対する経壁電気刺激の影響を弁を含む標本と含まない標本を用いて比較検討した。

実験材料ならびに方法

食肉用に屠殺されたウシの腸間膜より外径 $2\sim 3\text{mm}$ のやや太い集合リンパ管を摘出した。周囲脂肪組織を丁寧に剝離した後, 幅 5mm の円筒状標本を弁を含むものと含まぬものとの二種類作製した。各標本は 37°C に加温された Krebs 液 (組成 [mM]: NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO_3 25.0, NaH_2PO_4 1.2, CaCl_2 2.5, MgCl_2 1.2, glucose 5.5)

灌流下の臓器槽に装着した。保生液はたえず $95\%\text{O}_2 + 5\%\text{CO}_2$ 混合ガスの通気を行い, pH を 7.4 に維持した。基本張力 200mg を各標本に負荷し, 円周方向の発生張力を等尺性に記録しながら, 自発性収縮を誘起させ, 電気刺激実験を行った。経壁刺激には標本の両側に固定した白金電極を使用した。リンパ管壁内に分布する神経を選択的に興奮させるため, 2Hz , 50V , 0.5ms の方形波パルスを用いた (Ohhashi, *et al.*, 1980)。使用薬剤は tetrodotoxin (TTX) (Sigma), dl-noradrenaline hydrochloride (NA) (三共), phentolamine mesylate (Ciba-Geigy), isoproterenol hydrochloride (ISP) (日研化学), propranolol hydrochloride (住友化学), atropine sulfate (田辺製薬), hexamethonium bromide (Sigma), guanethidine monosulphate (Ciba-Geigy), cocaine hydrochloride (Duncans Flockhart) である。

実験結果

図1上段に示すように, 弁を含まない標本の場合, 電気刺激により自発性収縮頻度は著明に増加

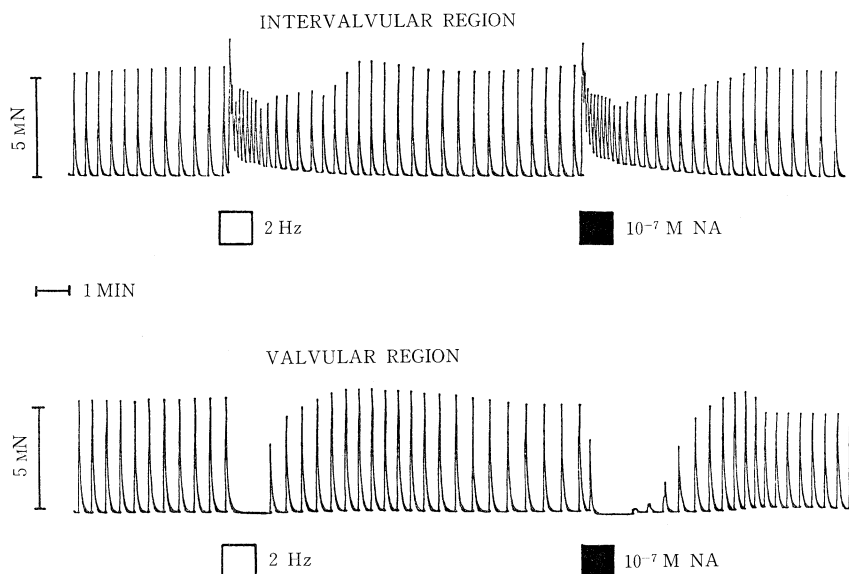


図 1. ウン腸間膜リンパ管の弁を含む標本 (VALVULAR REGION) と弁を含まない標本 (INTERVALVULAR REGION) に対する電気刺激 (2 Hz, 0.5 ms, 50 V) ならびに外因性 noradrenaline (10^{-7} M NA) 反応の典型例.

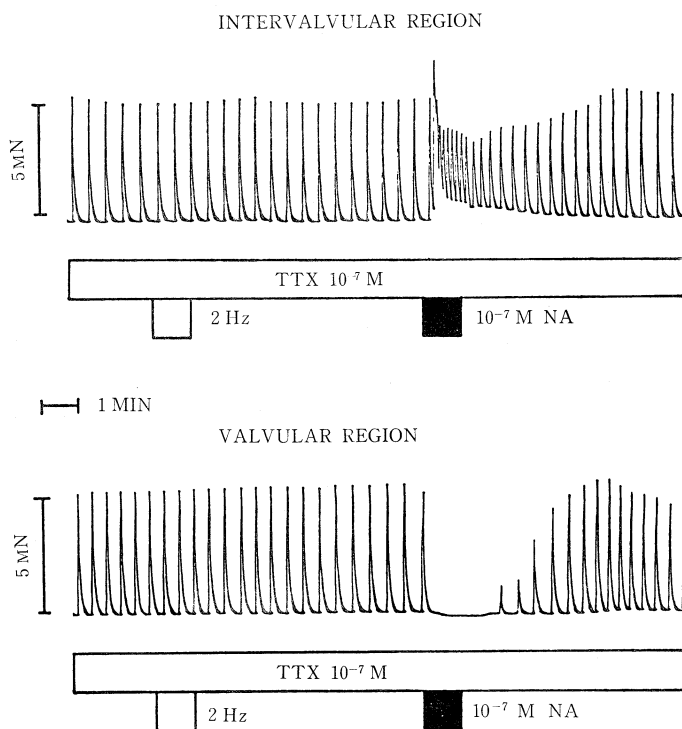


図 2. 電気刺激 (2 Hz, 0.5 ms, 50 V) ならびに外因性 noradrenaline (10^{-7} M, NA) 反応に対する 10^{-7} M tetrodotoxin (TTX) の影響.
INTERVALVULAR REGION : 弁を含まない標本
VALVULAR REGION : 弁を含む 標本

し、その反応は電気刺激頻度 (0.5~16 Hz) に依存して増強した。同一標本に 10^{-7} M の NA を作用させると、電気刺激反応と同様、収縮頻度の著しい増加が認められた。 10^{-7} M TTX を前処置すると、電気刺激による正の変時作用は、図2上段に示すように完全に抑制されるが、外因性 NA 反応は全く影響を受けなかった。この電気刺激反応は α 遮断剤 phentolamine (10^{-7} M) の処置により負の変時作用に逆転し、 β 遮断剤 propranolol (5×10^{-7} M) の追加処置により完全に消失した。さらにこの正の変時作用は 5×10^{-7} M cocaine の前処置で増強し、自発性収縮の重畳した緊張性収縮を示した。また 10^{-6} M guanethidine の処置により完全に消失した。

一方、弁を含む標本の大部分 (15 例中 11 例) の場合、図1下段に示すように、同一条件の電気刺激をリンパ管標本に印加すると、既存の自発性収縮は刺激持続中消失した。同一標本に、 10^{-7} M NA を添加すると、この電気刺激反応と類似した自発性収縮の消失反応が認められた。 10^{-7} M TTX (図2下段) あるいは 10^{-6} M guanethidine の処置によりこの電気刺激反応は完全に消失したが、外因性 NA 反応は図2下段に示すように、ほとんど影響を受けなかった。電気刺激反応は 5×10^{-7} M β 遮断剤の処置により、わずかな正の変時作用を呈するに至るが、これは 10^{-7} M α 遮断剤の追加処置により消失した。また 5×10^{-7} M cocaine の前処置を行うと、電気刺激による自発性収縮の抑制時間が延長する傾向を示した。こうした標本は外因性 ISP (10^{-9} ~ 10^{-6} M) に対し、負の変力・変時作用を用量依存性に呈した。両標本の電気刺激作用は 10^{-7} M atropine, 10^{-7} M hexamethonium の前処置を施こしても全く影響を受けなかった。

考 察

われわれの実験結果を総括すると、ウシ腸間膜リンパ管には交感神経節後線維が密に分布しており、その化学伝達物質は noradrenaline であることが示唆される。この結論は、最近われわれが

glyoxylic acid 法を用いて、ウシ腸間膜リンパ管に多数の aminergic fiber を証明した事実ともよく符号する。蛍光線維のスペクトル解析より化学伝達物質は noradrenaline であることが予想されていた (Ohhashi *et al.*, 1982)。加えて、われわれは電顕観察により、ウシ腸間膜リンパ管に多数の無髄神経線維が外膜より内皮直下にまで侵入し、その神経末端に多数の small granular vesicle が含有されていることを確認している (大橋, 1979)。

また、この実験よりリンパ管平滑筋のカテコールアミン受容体の分布に著しい部位差が存在し、弁近傍で β 受容体が優位を占めていることが判明した。この事実は、内因性緊張に対する電気刺激の実験結果 (Ohhashi and Roddie, 1981) や薬理学的解析の実験事実ともよく一致する。しかしこの部位差の生理学的意味については今後の検討を待たねばならない。

文 献

- 大橋俊夫 (1979). 主幹リンパ管の機能とリンパ流. 脈管学 19: 159-166.
- Ohhashi, T., Azuma, T. & Sakaguchi, M. (1980). Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics. *Am. J. Physiol.* 239: H88-H95.
- Ohhashi, T., McHale, N.G., Roddie, I.C. & Thornbury, K.D. (1980). Electrical field stimulation as a method of stimulating nerve or smooth muscle in isolated bovine mesenteric lymphatics. *Pflügers Arch.* 388: 221-226.
- Ohhashi, T. & Roddie, I.C. (1981). Relaxation of bovine mesenteric lymphatics in response to transmural stimulation. *Am. J. Physiol.* 240: H498-H504.
- Ohhashi, T., Kobayashi, S., Tsukahara, S. & Azuma, T. (1982). Innervation of bovine mesenteric lymphatics: From the histochemical point of view. *Microvasc. Res.* in press.

Sr²⁺ 環境下におけるラット門脈平滑筋の自動能

名古屋市立大学医学部 第一生理学教室

山 本 喜 通, 堀 田 健

種々の平滑筋において, Ca はスパイクの発生や収縮装置の活性化のみならず, 膜の Na, K 透過性の調節や自動能の発現等数多くの役割を担っている. 又, その多様性が Ca を扱った実験結果の解析を複雑にしている一つの原因ともなっている.

Sr は Ca の代用になるといわれるが, 両者の作用には質的量的な差があり, 外液の Ca を Sr で置換すると電気的機械的活動が変化する. 生理的状态での複雑な Ca の働きを知る一つの手掛りとして, Sr 環境下での平滑筋活動のメカニズムを研究した.

方 法

ラット門脈を摘出して容量 0.75 ml の槽に固定し, 外膜面から微小電極を刺入して膜電位を観察すると同時に, 試料の一端をトランスデューサに接続して等尺性張力を測定した. 外液の温度は 35°C に保ち, 毎分 3 ml の速さで槽を灌流した.

結果及び考察

外液の Ca を Sr (2.5 mM) で置換すると, スパイクに続いて Ca 液中では観られなかったプラトー電位が発生した (図 1a). この Sr 環境下でのスパイク及びプラトーの発生メカニズムを知る為, 以下の実験を行った.

外液の Sr 濃度を 2.5 mM から 10, 20 mM と増加させると (図 1b, c), スパイクの peak potential と rate of rise 及び fall が増大し, プラトーの持続時間も増加したがプラトー電位はかえって低下し, その上にスパイク放電が出現した. 収縮力は高 Sr 液中で増大した. Sr は Ca channel を通って流入し, スパイクを発生させるといわれる (Uvelius *et al.*, 1974). 又, 二価陽イオンの流入によって生ずるスパイクの peak potential はそのイオンの平衡電位に達し, それはそのイオンの 10 倍の濃度変化に対し, 35°C では 30.5 mV 変化するはずである (Reuter, 1973). 図 1 の実験における各活動単位最初のスパイクについて, peak

potential を $\log[Sr]_0$ に対してプロットすると直線関係が見出されたが, その傾きは 10 倍の $[Sr]_0$ 変化に対して 15.2 mV であり, 理論値の約 1/2 であった. このことから, このスパイクの upstroke は inward Sr current により, 又 peak 及び downstroke は inward current の不活化というよりは別の outward current により決定されていることが示唆された.

TEA (20 mM) を作用させると持続的なプラトー状態となり, 膜電位は 0 V 付近まで脱分極する. その状態で細胞外電極を用いて通電し, conditioning repolarization をかけるとスパイクが発生したが, その rate of fall は rate of rise に比し極めて小さかった. このことから, スパイクの downstroke が TEA でブロックされる outward K current によって形成されていると考えられる.

通電によって生ずる electrotonic potential の大きさがプラトー相では休止期より小さかったことから, プラトー相では膜のイオン透過性が亢進していることがわかった. この環境下では膜透過性が増すと脱分極をもたらしイオンとしては Sr, Cl 及び Na が挙げられ, このいずれかがプラトー発生に関与していると考えられる. しかし図 1 で示された如く, 高 Sr 液中でプラトー電位が低くなったことから, Sr のプラトーへの関与は小さいといえる.

外液の Cl を膜不透過性の benzenesulfonate による置換で control の 134 mM から 7.4 mM に減少させたところ, プラトー電位は変化しなかった (図 2a). Cl の関与も大きくないといえる. 次に sucrose による置換で Na を control の 25% まで減少させると, プラトー電位は著しく小さくなり, さらに Na free にすると一時的な活動停止に続いて, 脱分極とそれに伴うスパイクの頻発及び拘縮が起きた (図 2b-d). Na を戻すと, プラトーは回復した (図 2e). プラトーは外液 Na に大きく左右され, 膜の Na 透過性亢進により生じていると考えられる.

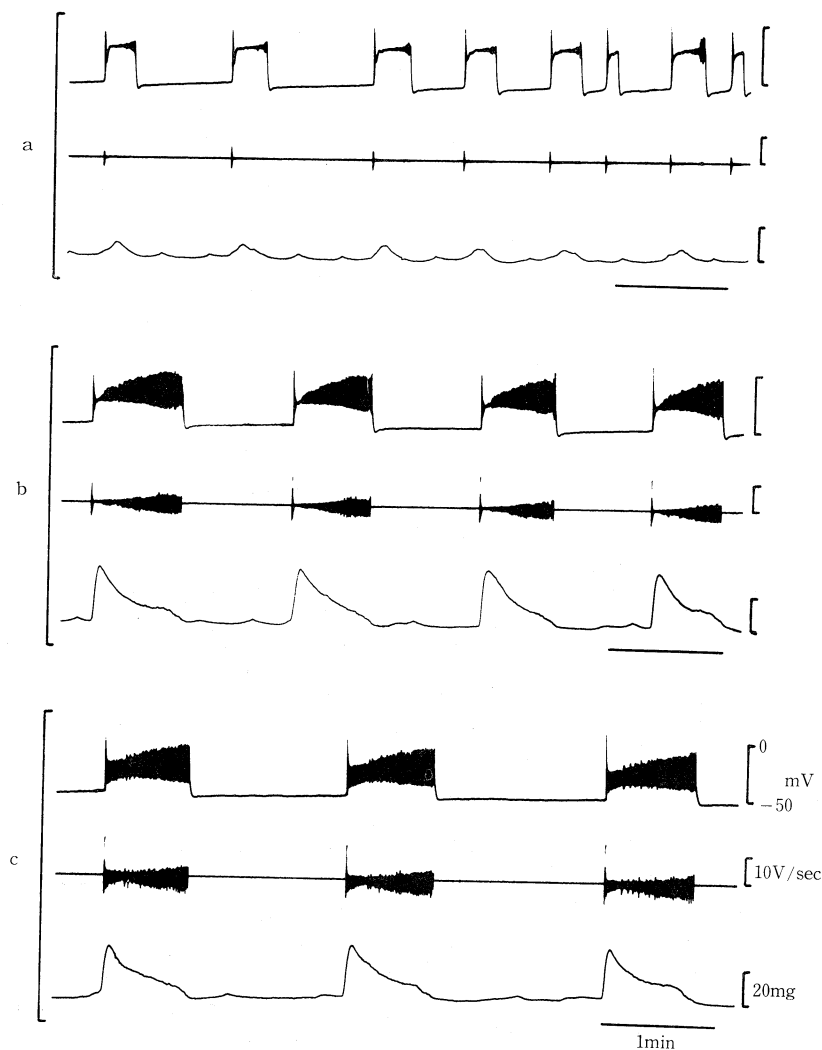


図 1. The Sr-induced activity at various concentrations of Sr. The upper trace shows the electrical activity, the middle trace the dv/dt relation of the electrical activity, and the lower trace the mechanical activity. The activities; a, in Sr 2.5 mM; b, in Sr 10 mM; c, in Sr 20 mM.

次にその Na current がどの channel を通って流入しているかを調べる為、Ca channel をブロックするといわれる Mn (1 mM) を作用させた。Mn によりスパイク及びプラトーは消失し、通電で脱分極させてもスパイクやプラトーは生じなかった。Mn 存在下で Sr を 20 mM に増加させると、スパイク及び収縮は起きたがプラトーは形成されなかった。このことから、Na がいわゆる Ca channel を通って流入することによりプラトーが形成されることが考えられる。

ネコの小腸平滑筋等では、外液の Ca を Ca キレート剤で除くとスパイクを伴わないプラトーだけを持つ自发放電が観察され、それは Ca channel を通る Na current によるという (Prosser *et al.*, 1977)。膜に結合した Ca がキレート剤の作用で除かれたり Sr と置換されたりすると、Ca channel のイオン選択性が低下して Na の通過を許すようになり、プラトーが発生すると思われる。このことから、Ca は Ca channel がイオン選択性を持つ上でも重要な働きをしていることが推察される。

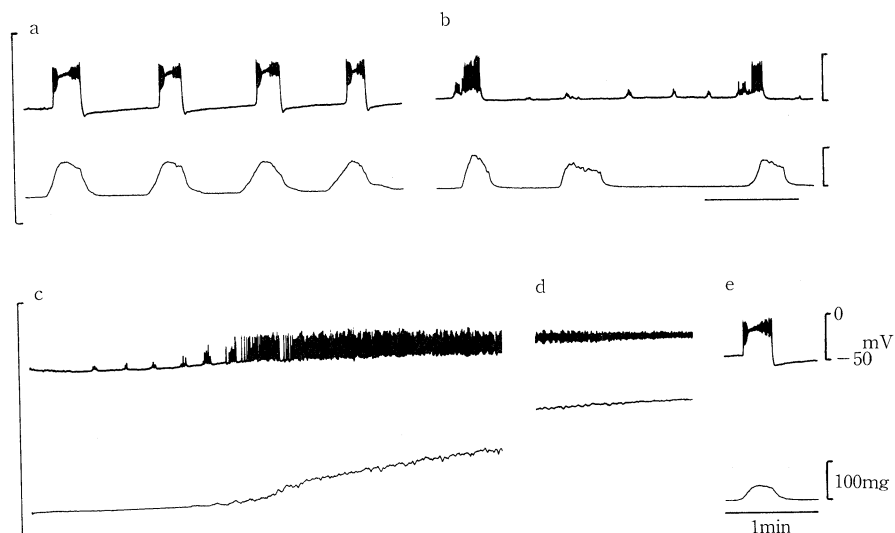


図 2. Effect of Cl and Na depletion on the Sr-induced activity. The upper trace shows the electrical activity and the lower trace the mechanical activity. Cl was replaced with benzenesulfonate and Na with sucrose. Sr-induced activity; a, in Na 120.7 mM & Cl 7.4 mM and b, in Na 30.2 mM & Cl 7.4 mM. At the beginning of c, all Na was replaced (Cl 7.4 mM). d is also the recording in Na-free solution and the interval between c and d was about 3.5 min. e shows recovery of the Sr-induced activity in Na 120.7 mM & Cl 7.4 mM.

文 献

- Prosser, C.L. *et al.* (1977). Prolonged potentials in gastrointestinal muscles induced by calcium chelation. *Am. J. Physiol.* **233**: C19-C24.
- Reuter, H. (1973). Divalent cations as charge

carriers in excitable membrane. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **26**: 3-43.

- Uvelius, B., Sigurdsson, S.B. and Johansson, B. (1974). Strontium and barium as substitutes for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Blood Vessels* **11**: 245-259.

イヌ門脈の自発性収縮に対する液性調節機構

信州大学医学部 第一生理学教室 心脈管病研究室

中 川 治 一, 大 橋 俊 夫, 東 健 彦

門脈の自発性収縮に対するカテコールアミンの作用については、従来より研究されている (Funaki and Bohr, 1964; Tohausson *et al.*, 1967). われわれは、イヌ門脈の自発性収縮の頻度と振幅に及ぼす norepinephrine と acetylcholine の影響を、*in vivo* において観察した (中川ら, 1981). 本研究では、イヌの摘出門脈標本を用いて、カテコールアミン、acetylcholine、insulin、glucagon ならびに

消化管ホルモンの影響を比較検討した。

実験方法

実験には体重 5~25kg の雑種成犬を用いた。Pentobarbital sodium (30mg/kg i.v.) で麻酔し、脱血屠殺後、肝門部付近の門脈を摘出した。一定規格の軸方向条片を作製し、37°C に加温した Krebs 液 (NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO₃ 25.0,

NaHPO₄ 1.2, glucose 5.5, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2 [mM]) を満したマグヌス管内に装着した。実験中、絶えず 95% O₂+5% CO₂ を通気して pH を 7.4 に維持した。標本を体内で測定した生体長に伸展後、発生張力を等尺性に記録しながら、自発性収縮の頻度と振幅に対する各種生体内物質の影響を観察した。使用した薬物は、dl-norepinephrine hydrochloride (NE) (三共), l-isoproterenol hydrochloride (Isp) (日研化学), acetylcholine chloride (ACh) (第一製薬), phentolamine mesylate (Ciba-Geigy), propranolol hydrochloride, pentagastrin (住友化学), atropine sulfate (田辺製薬), pancreozymin, secretin (エーザイ), insulin (Duncan, Flockhart) および glucagon (Eli Lilly) である。

結果ならびに考察

1. カテコールアミンの作用：摘出したイヌの門脈の軸方向条片は、 1.8 ± 0.3 回/分という一定のリズムで自発性収縮を誘起した。そうした標本に NE を投与すると、自発性収縮の頻度は濃度依存性に増加し、その閾値濃度は 9.7×10^{-10} M であった。 9.7×10^{-9} M NE 投与で自発性収縮頻度は対照の 135% に達した。この濃度範囲の NE は、自発性収縮の振幅ならびに基本張力に対しては、ほとんど影響を及ぼさなかった。この NE 作用は、 10^{-7} M phentolamine 処置により競合的に抑制された。その際の K_B 値は 1.1×10^{-8} M であった。一方、 β 作用薬 Isp を投与すると、自発性収縮の頻度は濃度依存性の減少を示し、 4×10^{-7} M Isp は自発性収縮の頻度を対照の 40% に低下さ

せた。しかし、基本張力にはほとんど変化を認めなかった。 10^{-7} M propranolol 処置により、この反応は消失し、高濃度 Isp (8×10^{-7} M) は自発性収縮頻度を増加させた。以上より、イヌ門脈の自発性収縮における歩調取り活動は、 α 受容体刺激により増加し、 β 受容体を介して抑制されることが判明した。

2. ACh の作用：ACh は NE と同様、 1.1×10^{-9} M より濃度依存性に門脈条片のリズムを促進させた。この反応は 10^{-7} M atropine 処置により競合的に抑制され、閾値濃度は 5.5×10^{-7} M に移動した。ACh のリズム促進作用は、 10^{-7} M phentolamine 処置を施してもほとんど影響を受けなかった。この事実から、ACh の自発性収縮頻度に対する促進作用は、門脈平滑筋への直接作用で、ムスカリニック受容体を介して誘起されることが示唆された。

3. 消化管ホルモンの作用：図 1A に示すように、secretin はイヌ門脈の自発性収縮頻度を濃度依存性に増加させた。その閾値濃度は 0.01 unit/ml であった。Cumulative に 5 unit 以上投与すると、基本張力もわずかに増加する傾向が認められた。このセクレチンによるリズム促進作用は、 10^{-7} M phentolamine 処置を施してもほとんど影響されなかった。この結果 5 例をまとめたものが図 2A である。閾値濃度は 2×10^{-4} unit/ml であり、 2×10^{-2} unit/ml の secretin は自発性収縮の頻度を対照の約 200% に増加させた。他の消化管ホルモン、pentagastrin, pancreozymin は門脈の自発性収縮にほとんど影響を及ぼさなかった。

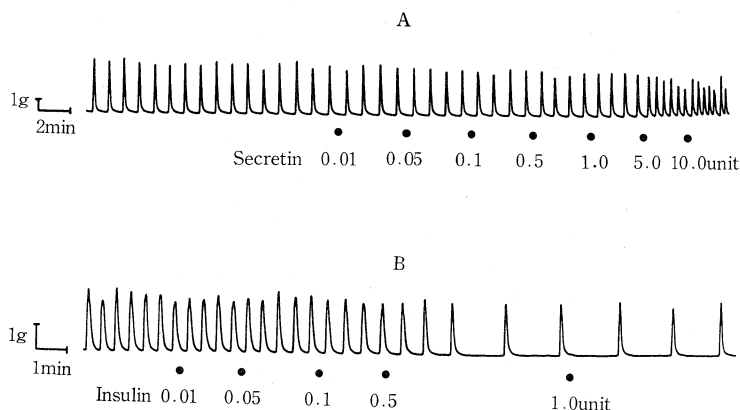


図 1. イヌ門脈の自発性収縮に対する secretin (A) および insulin (B) の影響

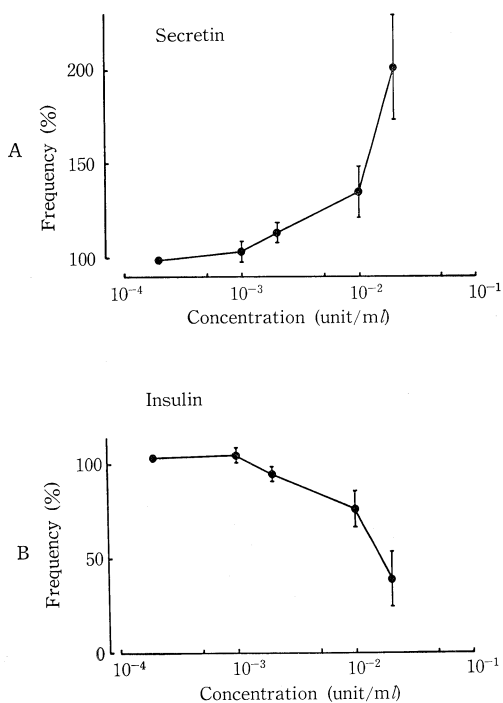


図 2. Secretin(A) および insulin(B) の門脈自発性収縮に対する濃度-頻度曲線 (それぞれ $n=5$, 縦線は標準誤差を示す)

4. insulin, glucagon の作用: 膵臓のランゲルハンス島より分泌される内分泌ホルモン, insulin と glucagon は門脈血に分泌され全身に運ばれることが知られている (Field, 1972). そこでわれわれは, 門脈自発性収縮に及ぼす両ホルモンの影響を比較検討した. insulin 作用の典型例が図 1B に示

してある. insulin は 0.1 unit 以上を臓器槽内に投与すると, 濃度依存性のリズム低下を誘起した. この結果 5 例をまとめたのが図 2B である. 閾値濃度は 10^{-3} unit/ml であり, 2×10^{-2} unit/ml で対照の約 39% に自発性収縮頻度は低下した. このリズム抑制現象は, 10^{-7} M propranolol の処置によっても全く影響を受けなかった. この濃度範囲は, insulin による糖尿病治療時の血中濃度範囲にほぼ匹敵し (三村, 1982), こうした治療時の門脈循環への影響が示唆された. 一方, glucagon は門脈の自発性収縮に, ほとんど影響を及ぼさなかった.

文 献

- Field, J.B. (1972). *Handbook of physiology* ed. by Greep and Astwood: *Endocrinology* Vol. 1., p. 505, American Physiological Society, Washington, D.C.
- Funaki, S. and Bohr, D.F. (1964). Electrical and mechanical activity of isolated smooth muscle of the rat. *Nature* **203**: 192-194.
- Johansson, B. et al (1967). Electrical and mechanical characteristics of vascular smooth muscle response to noradrenaline and isoproterenol. *Circ. Res.* **21**: 619-636.
- 三村悟郎 (1922). 石山俊次 (編), 今日の治療指針 1982 年版, 医学書院, 東京.
- 中川治一ら (1981). In vivo におけるイヌ門脈の自発性収縮. 日平滑筋誌 **17**: 240-241.

—Angiotensin II による腎動脈平滑筋弛緩—

dipyridamole と cyclooxygenase 阻害剤との相互作用

滋賀医科大学 薬理学教室

戸 田 昇, 山 本 正 人

はじめに

angiotensin (ANG) II は摘出イヌ腎および大脳動脈条片を弛緩する. この弛緩は, (1) ANG II 拮抗薬処置によって消失し, (2) cyclooxygenase 阻害剤処置で収縮に転じ, (3) tranlylcypromine と

15-hydroperoxy arachidonic acid 処置によって抑制される. したがって, ANG II 受容体刺激により血管壁から prostaglandin (PG) I_2 が遊離されることにより弛緩がひき起こされると結論した (Toda, 1981; Toda and Miyazaki, 1981). 今回は, dipyridamole と phthalazinol (EG 626) が ANG II

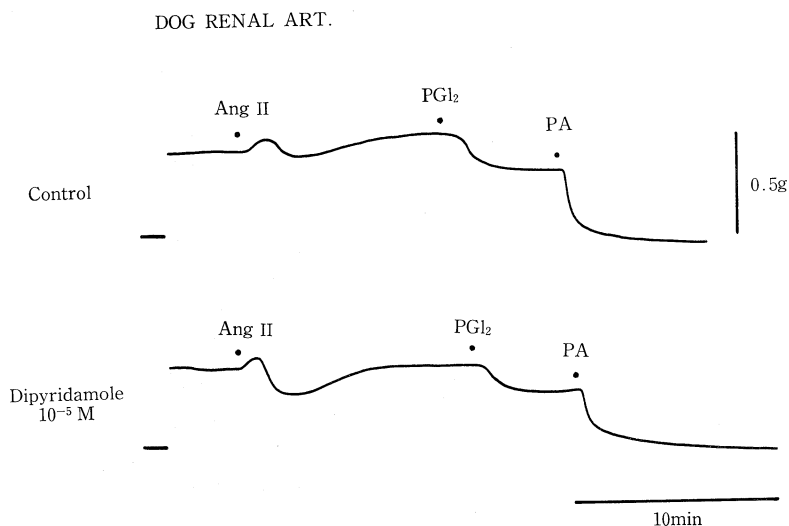


図 1. 腎動脈条片における dipyridamole 処置前後の ANG II 作用の比較. 動脈は $\text{PGF}_{2\alpha}$ によって予め軽度収縮させた. ANG II 10^{-7}M , PGI_2 10^{-8}M , papaverine (PA) 10^{-4}M の順に薬物を適用した.

および PGI_2 によってひきおこされる弛緩に対してどのような影響を及ぼすか, また, cyclooxygenase 阻害剤と dipyridamole の間にどのような相互作用があるかを検討した. 実験には摘出イヌ腎動脈ラセン状条片標本を使用した. 標本は 37°C 栄養液に懸垂し, その等尺性張力変化を記録した. 標本は $\text{PGF}_{2\alpha}$ で軽度収縮させ, 安定したところに ANG II 10^{-7}M 又は PGI_2 10^{-8}M を適用した. 最後に papaverine 10^{-4}M を適用し, 得られた最大弛緩を 100% とした.

dipyridamole と phthalazinol の作用

ANG II による腎動脈の弛緩反応は dipyridamole 10^{-5}M 前処置によって有意に増強された. その一例を図 1 に示す. PGI_2 の弛緩作用もまた dipyridamole によって増強されたが, 増強の程度は ANG の場合 100% であったのに対して PGI_2 の場合は 22% と前者の方が明らかに著明であった. したがって ANG 作用の増強は, 遊離された PGI_2 の作用の増強のみによるのでないと考えられる. おそらくは, ANG による PGI_2 の合成・遊離を dipyridamole が促進したのであろう. dipyridamole による弛緩が aspirin 前処置によって抑制されないことから, dipyridamole 自身が PGI_2 の遊離をひきおこすとは考えられない. また, Blass たち (1980) は血管条片又は homogenate において, ア

ラキドン酸および PGH_2 からの PGI_2 の産生を dipyridamole が促進すると報告している. ANG によってアラキドン酸が遊離され, endoperoxides からの PGI_2 の合成が dipyridamole によって促進されるために ANG の弛緩作用が増強されたのであろう.

EG 626 に dipyridamole と同様 cyclic AMP 産生増加や血小板凝集阻害作用が認められている. ANG II の弛緩作用は EG 626 によって増加されなかったが, PGI_2 の作用は有意に増強された. EG 626 による PGI_2 作用の増強は血小板凝集の面でも認められている (Tanaka *et al.*, 1980). しかし, 少なくとも ANG によってひきおこされる内因性 PGI_2 の合成と遊離は促進されない様である.

dipyridamole と aspirin 又は indomethacin の相互作用

aspirin 10^{-5}M 以上の処置は ANG II の弛緩を強く抑制し, 度々これを収縮に転じた. 同一標本において, aspirin の抑制作用を観察したあと, dipyridamole と aspirin の併用処置下で ANG の作用をみると弛緩の抑制は著しく軽減された. aspirin の抑制作用を減弱する dipyridamole の効果は, aspirin による抑制が不完全な場合にのみ認められた. aspirin 高濃度によって ANG 弛緩が完

全に収縮に転じた場合には dipyridamole の濃度を増しても弛緩の回復はみられなかった。

indomethacin 3×10^{-8} M 以上の用量によっても ANG の弛緩作用は抑制された。dipyridamole は indomethacin 3×10^{-8} M による抑制を減弱した。

EG626 には、dipyridamole のように aspirin や indomethacin の抑制作用を減弱する効果はみられなかった。

ま と め

dipyridamole は PGI_2 合成酵素を活性化することによって血管壁での内因性 PGI_2 の産生を促進するようである。この効果は cyclooxygenase が aspirin や indomethacin によって部分的に阻害された場合にも、 PGI_2 の合成を回復する様に有意に作用するようである。dipyridamole が endoperoxides から PGI_2 への過程に作用する限り、このものが PGI_2 の合成を促進しても、aspirin や indomethacin の thromboxane A_2 合成阻害に対して抑制的に働くとは考えられない。このことから、虚血性心疾患および脳疾患の治療と予防に cyclooxygenase 阻害剤を用いる場合、これら阻害剤に dipyridamole を併用することは合理的であると考え

えられる。ただし、cyclooxygenase 阻害が強く現われる用量の aspirin 治療下では dipyridamole の PGI_2 合成促進の効果は期待出来ない。

文 献

- Blass, K. E., Block, H. U., Forster, W. and Ponicke, K. (1980). Dipyridamole: a potent stimulator of prostacyclin (PGI_2) biosynthesis. *Br. J. Pharmacol.* **68**: 71-73.
- Tanaka, K., Harada, Y., Iwata, M. and Katori, M. (1980). Potentiation of anti-aggregating activity of PGI_2 by 7-ethoxycarbonyl-6,8-dimethyl-4-hydroxy-methyl-1(2H)-phthalazinone (EG626) in rabbit platelets in vitro. *Prostaglandins* **20**: 255-268.
- Toda, N. (1981). Mechanism of vascular smooth muscle relaxation induced by angiotensins. In: *Mechanisms of vasodilatation*. Edited by P.M. Vanhoutte and I. Leusen, pp. 153-159, Raven Press, New York.
- Toda, N. and Miyazaki, M. (1981). Angiotensin-induced relaxation in isolated dog renal and cerebral arteries. *Am. J. Physiol.* **240**: H247-H254.

機能と形態からみた静脈平滑筋の heterogeneity

信州大学医学部 第一生理学教室

村 瀬 恵 子, 大 橋 俊 夫
福 嶋 幸 代, 東 健 彦

はじめに

容量血管として知られる静脈系では、低圧レベルにおける壁の伸展性が動脈壁に比べ、非常に大きいことが知られている (Alexander, 1963, 長谷川および東, 1971)。同時に、静脈伸展性の変化は静脈血流量を調節し、心機能に影響を及ぼしている (Guyton, 1956)。一方、この静脈壁の伸展特性は壁平滑筋の緊張変化によって修飾される。われわれは従来より静脈平滑筋の内因性緊張維持に対する液性ならびに神経性調節様式について解析をすすめてきた (大橋ら, 1981)。本研究では、イヌより摘出した下腿部の静脈標本を用いて、壁の粘

弾性特性の部位差について、生理学的ならびに形態学的見地から検討を行った。

実験材料ならびに方法

実験は体重 10~20 kg の雑種成犬 16 頭を用いて行った。イヌは pentobarbital sodium (25 mg/kg i. v.) で麻酔後、脱臼屠殺し、総腸骨静脈、外腸骨静脈、大腿静脈、伏在静脈をただちに摘出し、各静脈より、一定規格の円筒状標本を作製した。標本は生体長に伸展して、37°C に加温した Krebs 液 (組成 (mM): NaCl 120.0, KCl 5.9, NaHCO_3 25.0, NaH_2PO_4 1.2, CaCl_2 2.5, MgCl_2 1.2, glucose

5.5) を満たした臓器槽内に装着した。実験中はたえず、95% O_2 +5% CO_2 の通気を行い、保生液の pH を 7.4 に維持した。Krebs 液で内腔を灌流し、標本を安定させた後、injection pump を用いて、標本の容積を一定速度で増減し、内圧—半径関係を求めた。この半径測定には、最近我々が開発したイメージセンサを使用した非接触型血管外径測定装置を用いた (Sakaguchi, Ohhashi and Azuma 1978)。保生液に、 10^{-4} M dl-noradrenaline hydrochloride (NA) (三共) を添加し、静脈平滑筋

を賦活化させた後、同様の方法で、内圧—半径関係を測定した。あわせて、使用静脈標本すべてを 2.5% glutaraldehyde で固定し、光顕 (HE 染色, Azan 染色, Elastica 染色) ならびに電顕観察に供した。

実験結果

1. 総腸骨静脈, 外腸骨静脈, 大腿静脈, 伏在静脈標本を用いて, transmural pressure を 0~20 cmH_2O まで変化させた際の内圧—半径関係を求

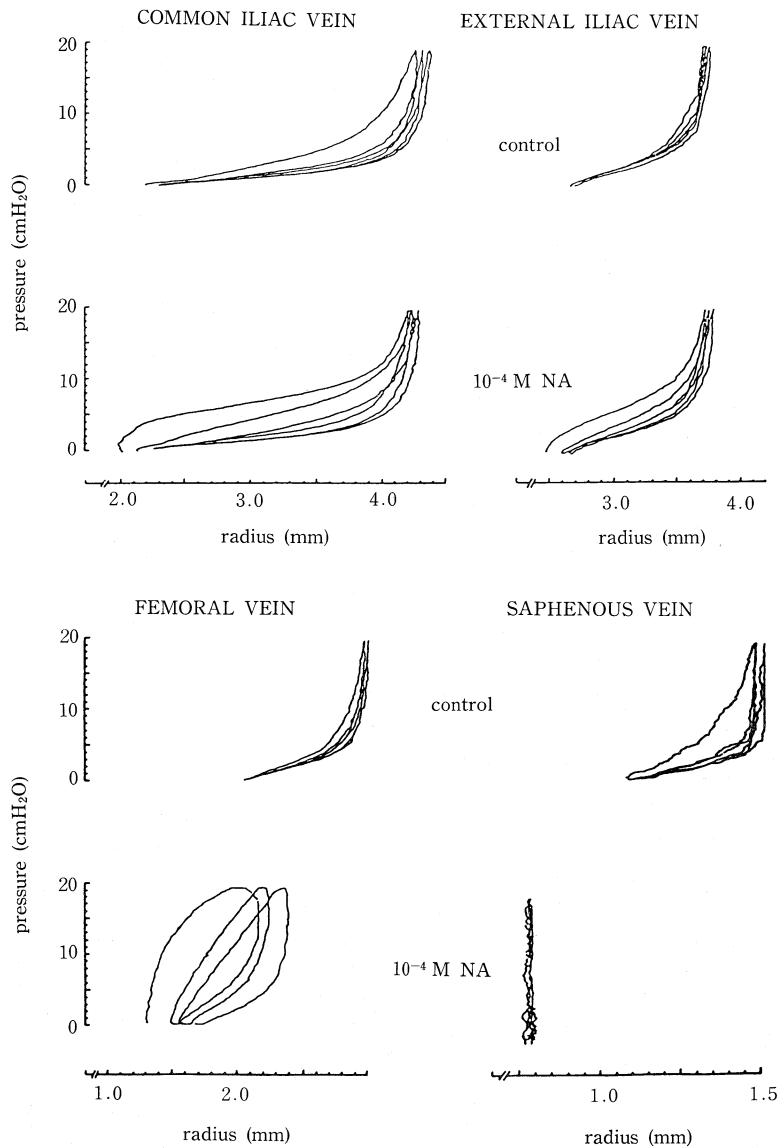


図 1. 下腿部静脈標本における対照ならびに壁平滑筋賦活時の内圧—半径関係

めた。各静脈とも 0~10cm H₂O の内圧変化による外径変化はきわめて顕著であるが、10cm H₂O 以上の内圧を負荷すると外径はほとんど変化を示さなかった。すなわち低圧レベルにおける大きな伸展性が示唆された(図1)。外径の変化率の2乗を縦軸に、内圧を横軸に取った曲線の勾配から 0~5cm H₂O 範囲の distensibility を算出すると、総腸骨静脈のそれはきわめて大きく、外腸骨静脈以下の粘弾性特性と大きな差異の存在することが判明した。一方、外腸骨、大腿、伏在静脈標本の場合、末梢に行くに従って、この distensibility はしだいに低下する傾向を示した。

2. NA 10⁻⁴M で静脈壁平滑筋を賦活化させ、各静脈標本の内圧一半径関係を求めると、大腿静脈標本の場合、外径は約 30% 短縮し、内圧一半

径曲線は著明な hysteresis loop を示した。伏在静脈標本では、外径の短縮率は約 20% であり、0~20cm H₂O の内圧負荷では外径はほとんど変化を示さなかった。一方、総腸骨、外腸骨静脈標本では、NA 投与により、外径はわずかに短縮するが、内圧一半径曲線の形は対照とあまり差がなく、hysteresis loop の面積も小さかった。各静脈標本の 0~5cm H₂O の範囲の distensibility は NA 投与により、顕著に低下するが、その低下率は伏在静脈標本でもっとも著しく、総腸骨静脈標本で一番小さいことが判明した。

3. 各静脈標本を、光顕、電顕を用いて検索した。その結果、総腸骨静脈壁は、一層の内皮細胞と、その直下に、3~4 層の平滑筋細胞層、それらに混在する弾性線維が認められた。外膜は大

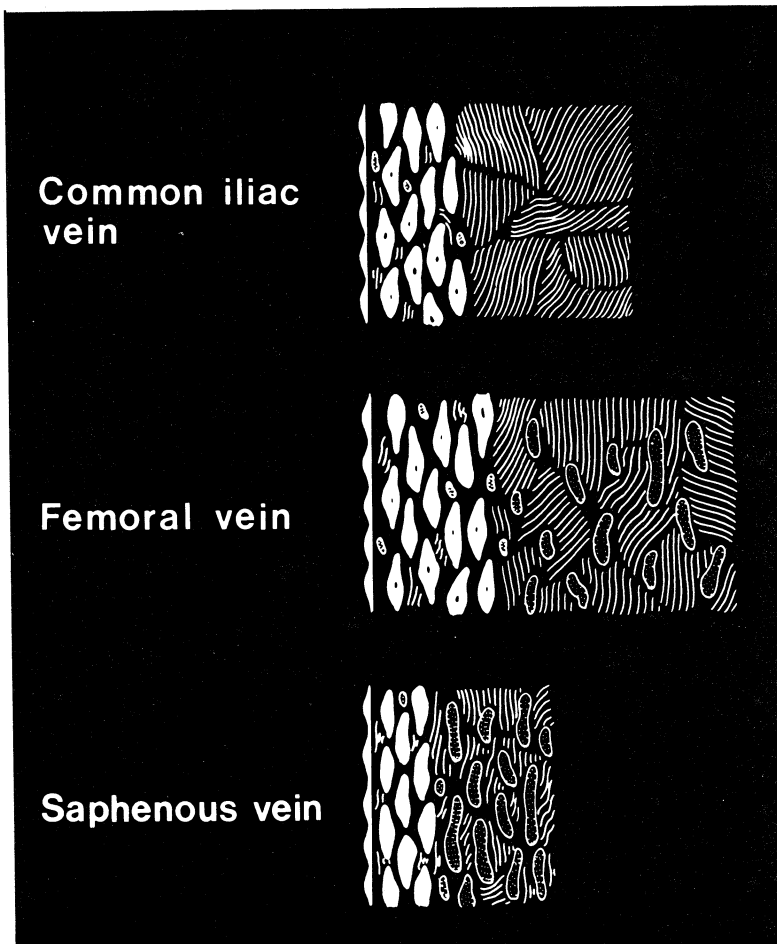


図 2. 総腸骨、大腿ならびに伏在静脈横断面の模式図

□ : 平滑筋細胞 ▨ : 弾性線維 ▩ : 膠原線維

部分膠原線維で占められ、弾性線維は、ほとんど存在しなかった。一方、大腿静脈では、壁は厚く、内皮直下に、4~5層の紡錘形の平滑筋が存在し、弾性線維がその間に混在していた。外膜は、弾性線維層がきわめてよく発達していた。末梢の伏在静脈では、壁構成成分の特徴は、大腿静脈と差異がないが、壁厚に対する弾性線維含量が増加していることが判明した。これらを模式的に示したのが図2である。

考 察

総腸骨、外腸骨、大腿、伏在の各静脈間には、低圧レベルにおける伸展特性に、顕著な部位差が存在し、これは、各静脈壁の弾性線維分布密度のちがいに対応していると考えられる。さらに、静脈壁平滑筋賦活時の伸展特性の変化は、平滑筋の収縮により、壁構築に変化が発生し、低圧レベルの伸展特性に線維成分の関与する割合が増大したと考えれば説明しうるものと思われる。

結 語

下腿の静脈間には、壁の伸展特性に顕著な部位

差が存在し、その境界は外腸骨静脈付近にあることが判明した。

文 献

- Alexander, R.S. (1963). The peripheral venous system. In: *Handbook of Physiology, Circulation*. pp. 1075-1098.
- Guyton, A.C., G.G. Armstrong, Jr., and P.L. Chipley (1956). Pressure-volume curves of the entire arterial and venous systems in the living animal. *Amer. J. Physiol.* **184**: 253-258.
- 長谷川正光, 東 健彦 (1971). 主要静脈系の応力一歪曲線とその伸展性. 脈管学 **11**: 275-280.
- 大橋俊夫, 東 健彦, 村瀬恵子 (1981). 生理活性物質の反応性における静脈平滑筋の heterogeneity. 脈管学 **21**: 550.
- Sakaguchi, M., Ohhashi, T. and Azuma, T. (1979). A photoelectric diameter gauge utilizing the image sensor. *Pflügers Arch.* **378**: 263-268.

平滑筋収縮薬の作用におよぼす Ca 変量液および平滑筋麻痺薬の影響 (ラット摘出精管における実験)

近畿大学医学部 薬理学教室

丹 羽 淳 子, 村 上 典 子, 東 野 英 明
吉 村 由 美, 鈴 木 有 朋

輸精管平滑筋は神経支配が強く、自律神経との関連において注目すべき平滑筋として知られている。またラット摘出精管においては薬物作用に部位差のあることが報告され、これは前立腺から副睾丸側に沿って、神経支配や受容体分布に違いがあることとともに観察されている (Pardal, *et al.*, 1981; Kasuya and Suzuki, 1979a; Kasuya and Suzuki, 1979b)。

本実験では収縮薬に対する作用、Ca 減量の影響、鎮けい薬の効果について前立腺側と副睾丸側で比較検討を行なった。

方 法

生後約6ヶ月の雌性 Wistar Kyoto ラットより摘出した精管は、前立腺側と副睾丸側に分離するために3つに切断して中央部は除き、両端部のみを使用した。

標本には1gの荷重をかけ、薬物によるトーマスの変化はマグヌス法によって等尺性に記録した。栄養液には30°C Locke 液を用い、95% O₂, 5% CO₂ の混合ガスでたえず通気した。

結果および考察

収縮薬による用量作用曲線を求めた。前立腺

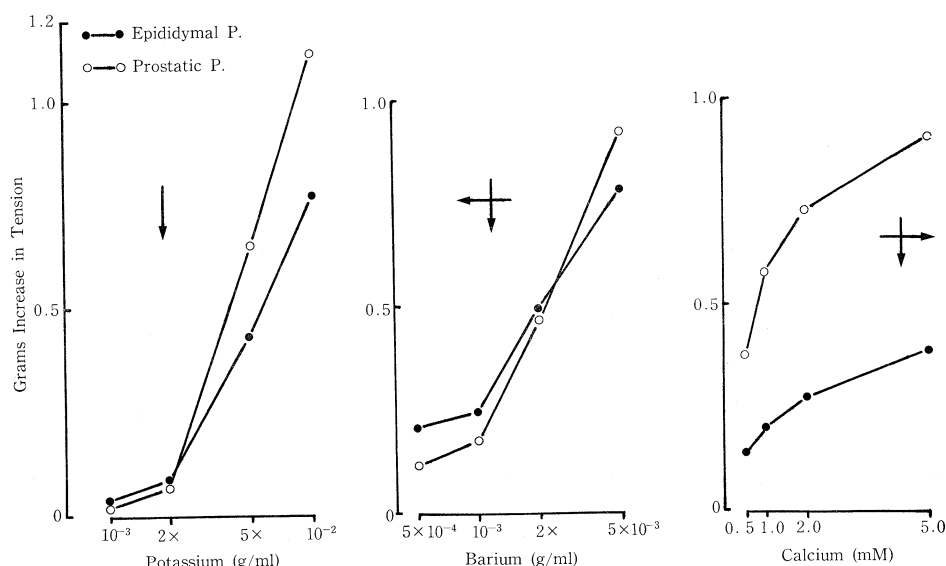


Fig. 1 Log dose-response curves in the prostatic and the epididymal portion of the rat vas deferens. Each point represents a mean value.

(P) 側と比した副辜丸 (E) 側における曲線の感受性と反応性の移行を矢印で示した (Fig. 1, Fig. 2).

K 収縮の反応性は P 側で大きく、感受性には差がなかった。また K の収縮形は E 側では phasic contraction において最大収縮を示し、tonic contraction と明瞭に区別された。P 側の収縮ではこの区別が不明瞭で、最大収縮は tonic contraction において得られた。これは Vardolov と Pennefather (1976) の報告とは一致しない。Ba 収縮は E 側で、Ca 収縮は P 側で大きくであった。

Norepinephrine (NE) 収縮は反応性、感受性ともに E 側で大きく、Dopamine 収縮では反応性は E 側で大きくであったが感受性には差がなかった。

Acetylcholine (ACh) 収縮は NE 収縮と同様に感受性、反応性ともに E 側で大きくであった。ACh の E 側の収縮は Atropine によって選択的に抑制され、一方 P 側の収縮は Hexamethonium によって遮断されたが E 側の収縮にはほとんど影響しなかった。また選択的ムスカリン受容体作用薬の Methacholine は E 側で収縮を生じたが P 側には作用しなかった。神経節作用薬 Tetramethylammonium は P 側で収縮を生じ、遮断薬による実験結果を支持した。これらの成績は ACh 収縮は E 側では主にムスカリン受容体を介し、P 側ではニコチン受容体を介していることを示し、Kasuya

と Suzuki (1979b) の報告と一致した。

Serotonin (5-HT) 収縮は反応性は E 側で大きくであったが、感受性は P 側で大きくであった。5-HT による反応性は他の収縮薬に比して著しく小さく、5-HT 受容体の Ca availability の低下を示すものと考えられる。

収縮薬の作用において、非特異的収縮薬の反応性は P 側で大きくであった。これは、ラット精管の P 側は E 側より太く平滑筋層の発達していることを反映しているのかもしれない。一方、受容体を介する作用薬の反応性は E 側で大きかった。これは、精管平滑筋が神経支配の強いことによって説明され、特にコリン作働性神経とアドレナリン作働性神経系の関与は顕著であった。

栄養液中の Ca 減量の影響を K, NE, ACh 収縮で比較した。Ca の減量にともなって収縮はいずれも減弱した。減弱の程度は ACh 収縮では両部位に差は認められなかったが、K と NE 収縮では E 側で大きくであった。

K 収縮に対する鎮けい薬の効果を両部位で比較した。鎮けい薬として用いた Aminophylline, Fenoterol, Papaverine, Diltiazem はともに濃度依存性の抑制を示した。Aminophylline, Fenoterol, Papaverine による抑制効果は両部位で有意の差はなかったが、Diltiazem の抑制は E 側で大きく

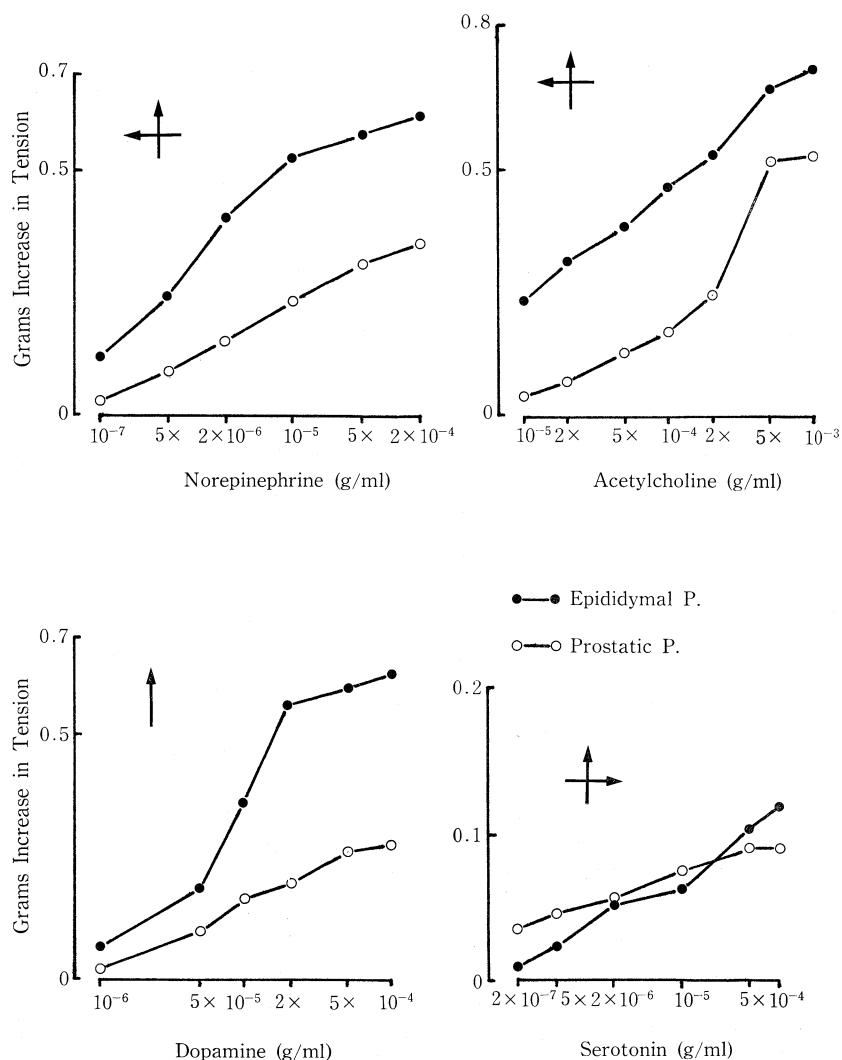


Fig. 2 Log dose-response curves in the prostatic and the epididymal portion of the rat vas deferens. Each point represents a mean value.

あった。

これらの結果はK収縮に対して細胞外Caの依存性はP側よりE側で大きく、cAMPに関する抑制効果には両部位に差はないことを示す。ラット精管において β 受容体が存在し、IsoproterenolはE側よりP側でBa収縮を強く抑制した(Borda, *et al.*, 1981) 報告とは異なった。

文 献

Borda, E.S., *et al.* (1981). Alpha and beta sympathetic responses to isoproterenol by

the isolated rat vas deferens. *Pharm. Res. Commun.* **13**: 487-499.

Kasuya, Y. and Suzuki, N. (1979a). Variation of postjunctional natures along the length of the rat vas deferens as a cause of regional difference in the sensitivity to norepinephrine. *Arch. int. Pharmacodyn.* **241**: 24-31.

Kasuya, Y. and Suzuki, N. (1979 b). Regional differences in the distribution of cholinergic receptors in the rat vas deferens. *Jap. J. Pharmacol.* **29**: 313-315.

Pardal, J.F., *et al.* (1981). ^3H -noradrenaline

metabolism in the isolated epididymal and prostatic portions of the rat vas deferens.

Life Sci. **29**: 1583-1589.

Vardolov, L. and Pennefather, J.N. (1976).

Regional variation in the distribution of alpha-adrenoreceptors in the vas deferens of the rat. *Arch. int. Pharmacodyn.* **221**: 212-222.

ラット輸精管に対するノルアドレナリンの作用

名古屋大学医学部 第一生理学教室

アシュリー ファラマルツ

徳 納 博 幸, 富 田 忠 雄

最近, 家兎の耳動脈, 肺動脈および伏在動脈において, ノルアドレナリン (NA) によって生ずる緊張性収縮は外液の Ca に依存しないことが報告されている (Casteels, Raeymaekers, Suzuki and Van Eldere, 1981). 輸精管も血管と同様に NA によって収縮を起すので, その反応に Ca 非依存性の要素が含まれているかどうかを調べてみた.

方 法

ラット輸精管を用いたが, 副睾丸 (E) 側と前立腺 (P) 側とで NA に対する反応が異なることが知られているので (Pennefather, Vardolov and Heath, 1974; Kasuya and Suzuki, 1978), 標本としては約 5mm, 長さで約 1mm 径のものを等間隔で 4 個取り出した. 副睾丸側からそれぞれ, E₁, E₂, P₁, P₂ とよぶ. 標本は約 1ml の容量の標本槽に取り付け, 1 分間に 2ml の流速で灌流し, 35°C に保った. 張力の発生はストレインゲージおよびペレンコーダーを用いて等尺性に記録した. すべての実験は β 受容体遮断剤であるプロプラノロール (10^{-5} M) の存在下で行なった.

結 果

NA を与えると 5×10^{-7} M 程度以上の濃度で収縮反応が現われ, E₁ および E₂ では持続性の張力増加の上に, 高頻度で繰り返す単収縮が持続的に現われる. P₁ および P₂ では緊張性の収縮を示すが, 10^{-5} M 以上になると反応の初期に単収縮が現われるようになる. しかしその数は少なくすぐ緊張性の収縮に移行する. E 側では NA の濃度が高くなると, 初期の単収縮は大きい一過性 (1~2 分) の相動性の収縮に変化し, その後ゆるやかに増加する

緊張性収縮を伴う. この収縮の上に再び単収縮の群発が現われる場合が多い. この緊張性収縮の最大値は NA の濃度が高いほど遅れて現われ, 10^{-4} M の NA を 2~4 分与えたときには 10 分以上で最大に達する.

外液の Ca を除き, 0.5~1mM の EGTA を加えた液中で NA を与えると, 単収縮は発生しないが, 緊張性の張力発生が観察される. この大きさは標本によって差があり, P 側で小さく, E 側で大きい傾向があるが, E₁ においては正常液でみられる緊張性収縮の 30~100% に相当する. O Ca 液中で収縮を起す NA 濃度の閾値は Ca 存在下と大きい差はなく, 10^{-6} M 程度であり, 最大反応は 10^{-4} M 以上で得られる. 高濃度になると, NA を洗い去って弛緩が起るまでの時間が長くなる傾向がみられる. これらの反応は α 遮断剤のフェントラミン (10^{-5} M) で完全に消失する.

Ca 除去液中で繰り返し NA を投与すると反応の立ち上り速度が速くなり, 最大張力が増加し, NA の洗い流し後の弛緩開始時間が遅れ, 弛緩速度が遅くなる. この傾向は Ca を除いて 100 分程ではほぼ定常に達するが, 200 分以上でも反応が小さくなることはみられない. 長時間 Ca 除去液中で NA を投与し, その反応がほぼ一定になったところで, 0.5~2.4mM の Ca で 20~30 分間処理すると, その後に発生させる O Ca 液中での NA の反応は抑制される.

2×10^{-4} M ベラパミールは高濃度 (40mM) の K による拘縮は消失させるが, NA に対する反応は消失させない. また, O Ca 液中での NA の反応はベラパミール存在下でも観察される. 外液 Na を K や Tris で完全に置換すると Ca が存在しな

いときでも、ゆるやかに張力が増加してくる。この状態では NA の反応は強く抑えられる。O Ca O Ca 液で処理したあと、Na のみを加えると弛緩がみられるが、同時に NA に対する反応も完全に回復する。

考 察

0.5~1mM EGTA を含む O Ca 液中でも NA によって持続性の張力が発生し、20 分間隔で 5 回以上繰り返しても反応が小さくなることはなく、むしろ大きくなる傾向がみられる。さらに Ca で処理すると、かえってこの反応は抑制される。このようなことから、O Ca 液中での NA による収縮は細胞内貯蔵部からの Ca の遊離によって起ると考えるよりも、むしろ NA によって Ca イオンに依存しない過程を介して収縮機構が活性化されるためと考える方が妥当であると思われる。Ca が存在しないとき、Na を除くと NA による場合と同程度の張力が発生し、NA の反応は殆んど消失する。このことから、細胞内 Na の減少は NA と同じような Ca 非依存性の収縮反応を引き起すものと考えられる。

ラット輸精管における NA に対する Ca 非依存性の反応は動脈血管平滑筋でみられるものと本質

的に同じ収縮機序によるものと考えられ、恐らくミオシンの磷酸化が Ca イオン以外の因子で行われる結果収縮が起るのではないかと推定される。Ca を含んだ正常液中でみられる NA の反応に対する Ca 非依存性収縮の関与は小さいものと考えられるが、この収縮過程の生理学的意義については今後の研究課題である。

文 献

- Casteels, R., Raeymaekers, L., Suzuki, H. and Van Eldere, J. (1981). Tension response and ^{45}Ca release in vascular smooth muscle incubated in Ca-free solution. *Pfugers Arch.* **392**, 139-145.
- Kasuya, Y. and Suzuki, N. (1978). Regional differences in the effects of denervation, cocaine and chronic reserpine administration on the responses of the rat vas deferens to norepinephrine and acetylcholine. *Arch. int. Pharmacodyn.* **236**, 202-213.
- Pennefather, J.N., Vardolov, L. and Heath, P. (1974). Regional variation in the response of the rat vas deferens to field stimulation, to noradrenaline and to tyramine. *Clin. Exptl. Pharmacol. Physiol.* **1**, 451-462.

TEA 液下の輸精管平滑筋の Ca イオンチャネルに対する ノルアドレナリンの作用

東北大学医学部 応用生理学教室

猪 又 八 郎, 三 又 知 文, 泉 井 亮

緒 言

モルモット輸精管平滑筋に対するカテコラミンの α -興奮作用と β -抑制作用の正常 Krebs 液下でのイオン機構について、電圧クランプ法による解析を行い、その結果を逐次、報告してきた（三又および猪又, 1980; 三又および猪又, 1982）。

今回、さらにこの平滑筋細胞膜の Ca イオンチャネル（猪又ら, 1978; Inomata *et al.*, 1982）に対する α -興奮作用の調節機構をしらべるために、K イオンチャネルの特異的遮断剤である tetraethylammonium (TEA) イオン含有液下で、

電圧クランプ法を用いて、膜イオン電流を観測し、これに対するノルアドレナリン (NA) の影響についてしらべ、二、三の知見を得たので報告する。

方 法

主として 250~350 g の雄モルモットを使用し、これより摘出した輸精管組織より、前立腺側の縦走筋層を剝離し、直径約 200 μm 、長さ約 8 mm の筋標本を作成した。環境液には、正常 Krebs 液の Na イオン濃度 50%, 68mM を TEA イオンに置換した溶液（ただし、Ca イオン濃度は 2.5 mM, K イオン濃度は 5.9 mM）を用いた。

使用した薬物はL型ノルアドレナリン(NA), β 拮抗剤プロプラノール (PROP) (住友化学) および α 拮抗剤フェントラミン (PHENT) であり, それぞれの投与した薬物の最終濃度は NA, 5×10^{-6} g/ml, PROP, PHENT 5×10^{-7} g/ml である.

電圧クランプは二重蔗糖隔絶法を用いた.

結果と結語

TEA 液下では, 正常 Krebs 液下に比べて, 僅かに膜電位は脱分極し, これに伴い一定度のプラトー相をもった自発性活動電位が長時間にわたって発生する.

NA の β 作用効果を遮断するために PROP を前投与した後, NA を加えた. NA 投与により静止膜電位は -47.0 ± 1.3 mV から -45.9 ± 1.4 mV ($n=27$) に脱分極し, これに伴い自発性活動電位の大きさは減少するが, この放電頻度は増加する傾向を示した. ただし使用した濃度の範囲内では, PROP と PHENT のそれぞれの単独投与による自発性活動電位に対する影響は認められなかった.

電流クランプ下では, 条件過分極通電により自発性活動電位を抑制し, 脱分極パルスによる誘発活動電位に対する NA の影響をしらべた. 活動電位の大きさは, NA の投与により 56.9 ± 1.4 mV, ($n=14$) から 49.9 ± 1.8 mV, ($n=14$) に, その立ち上り速度は 1.8 ± 0.1 V/sec, ($n=14$) から 1.3 ± 0.1 ($n=14$) にそれぞれ減少したが, 再分極相のプラトウの持続時間は NA の投与前後で 95.9 ± 10.5 msec ($n=14$) と 100.1 ± 11.9 msec ($n=14$) をそれぞれ示した. 両者の間に有意差は認められなかった.

電圧クランプ下では Ca イオン電流は NA 投与により着しく抑制され, その逆転電位も $+20.7 \pm 3.2$ mV ($n=12$) から $+11.9 \pm 3.0$ mV ($n=12$) に負性側に移動した. Ca イオンの最大電流 ($\max I_{Ca}$) およびそのコードコンダクタンス (\bar{g}_{Ca}) の値は, NA の投与により 1.03 ± 0.11 $\mu A/\mu F$ ($n=12$) から 0.69 ± 0.06 $\mu A/\mu A$ ($n=12$) に, 52.3 ± 5.9 $\mu S/\mu F$ ($n=10$) から 39.8 ± 4.5 $\mu S/\mu F$ ($n=10$) へとそれぞれ著しい減少を示した.

これに対して, 外向き K イオン電流は NA の投与により殆んど影響を受けない. すなわち K イオ

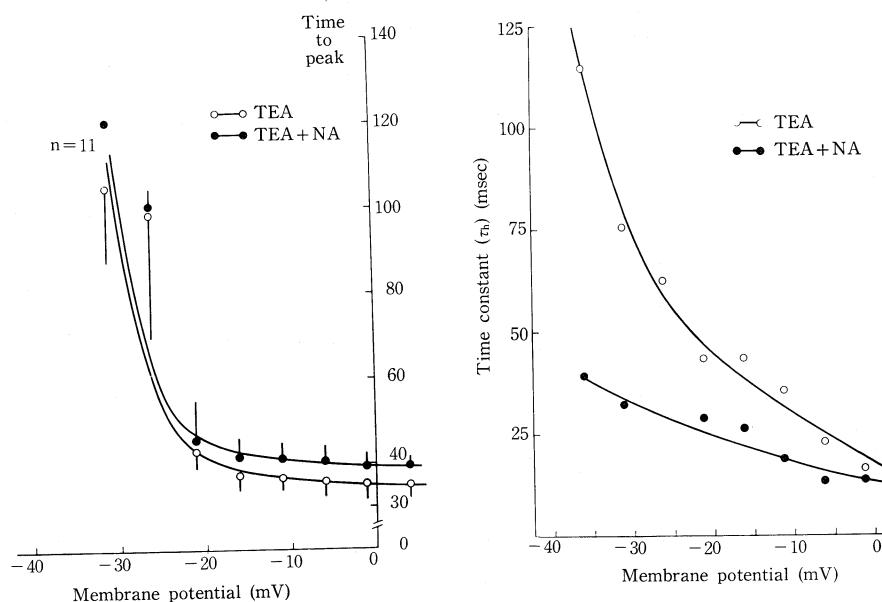


図 1. Ca イオン電流の電位依存性の活性化過程と不活性化過程のノルアドレナリンの影響

ンのコードコンダクタンス (\bar{g}_K) およびスローブコードコンダクタンス (G_K) の値には, 投与前後で有意差は認められなかった. ただし, リークコードコンダクタンス (G_l) は, NA 投与により, $2.81 \pm 0.24 \mu S/\mu F$ ($n=12$) から $2.50 \pm 0.17 \mu S/\mu F$ ($n=12$) に有意に減少する傾向を示した.

つぎに, Ca イオン電流の波形分析により, そのカINETイクス, 電位依存性の活性化過程 (τ_m) と不活性化過程 (τ_h) をしらべてみると, NA の投与により各電位の τ_m は延長するのに対して, τ_h は各電位レベルで減少し, 特にこの減少の程度は, 電位レベルが固定電位レベルに近づくに従い, 著しいことが確かめられた (図1 参照).

以上, TEA 液下では, 輪精管平滑筋の膜イオン電流に対する NA の調節機構は, 正常 Krebs 液下とは異なり Ca イオン電流を抑制し, K イオン電流に影響を与えないという相反するイオン機構が

作動することが確かめられた.

文 献

- 猪又八郎, 丸山芳夫, 鈴木泰三 (1978). 輪精管平滑筋の2価陽イオン電流の定常状態の不活性化について. 日本生理誌 40: 304-305.
- 三又知文, 猪又八郎 (1980). 輪精管平滑筋の膜イオン電流に対する カテコールアミンの作用. 日平滑筋誌 16: 184-185.
- 三又知文, 猪又八郎 (1982). 輪精管平滑筋の膜イオン電流に対する イソプロテレノールの作用. 日本生理誌 44: 118.
- Inomata, H. and Mimata, T. (1982). Ionic mechanism of excitation in nonvascular smooth muscle. In: *Vascular neuroeffector mechanisms*. Ed by J.A. Bevan et al., Raven Press, New York.