

## 第 30 回 日本平滑筋学会総会講演抄録 (II)

会 長 名古屋大学医学部教授 富 田 忠 雄  
期 日 1988 年 7 月 15 日(金)・16 日(土)  
会 場 名古屋市中小企業振興会館 (吹上ホール)

### 一 般 講 演 (II)

#### 術後逆流性食道炎に關与する下部食道 括約筋の収縮運動について

東京慈恵会医科大学 第 2 外科

阿 部 貞 信, 古 川 良 幸, 大 平 洋 一  
中 田 浩 二, 羽 生 信 義, 青 木 照 明

下部食道括約筋 (以下 LES) には, 胃食道逆流を防止する機構が存在し, その機能を, 破壊する外科手術後の逆流性食道炎が, 問題となっている. その病因と病態生理に関して, 種々の面より, 検討がなされているが, いまだ未解決な部分が多い. そこで, LES の逆流防止機構に対する迷走神経の關与, および胃切除術の及ぼす影響について, 実験的に検討した.

#### 方 法

雜種成犬を用い, 1. 対照, 2. 選択的近位迷走神経切離術 (以下 SPV) 3. 全幹迷走神経切離術 (以下 TV: 神経切離は胸腔内で施行) および, 4. TV+幽門側胃切除術 (以下 TV+GX: B-I 法再建) を作成した. これら実験犬の下部食道, 下部食道括約筋 (以下 LES), 胃体部に, strain gage transducer を縫着し, 食後期より空腹期にかけて, その収縮運動を記録した. さらに, silastic tube を胃体部より胃底部に向けて挿入し, この tube より造影剤を注入後, X 線透視下で, 胃食道逆流を観察した.

#### 結 果

対照犬においては, 食餌摂取終了後に, 基線

が大きく低下し, いわゆる receptive relaxation を示したのに対し, LES は, 基線がゆるやかに上昇し, 筋緊張の高まりが認められた (図 1a). 他方, 空腹期には, 胃体部の強収縮運動とまったく同期して, LES および下部食道に, 空腹期収縮が認められた (図 1b). このように, LES は胃体部運動に対し, 食後期と空腹期とで, 異なった収縮様式を示し, それぞれの時期に相対する合目的な胃食道逆流防止機構が認められた. SPV 後の食後期では, 胃体部の receptive relaxation は消失し, むしろ収縮運動が観察された. LES は食餌摂取とともに一過性に収縮するものの, 食後期全体としては, 基線の上昇は認められなかった. また空腹期の胃体部, LES においては, 強収縮期と休止期の区別が不明瞭となり, 特にこの現象は, LES において著明に認められた. TV 後の収縮運動を, 図 2a に示す. TV 後の食後期胃体部運動も, SPV と同様に, receptive relaxation が消失し, 持続時間の長い収縮運動がみられ, 一方, LES には, 基線の上昇が認められなかった. また, 食後 3 時間後には, 胃体部および LES に, 強い収縮運動がみられたが, 強収縮期と休止期の区別がつかず, LES には, 胃体部運動に対して, 協調性の

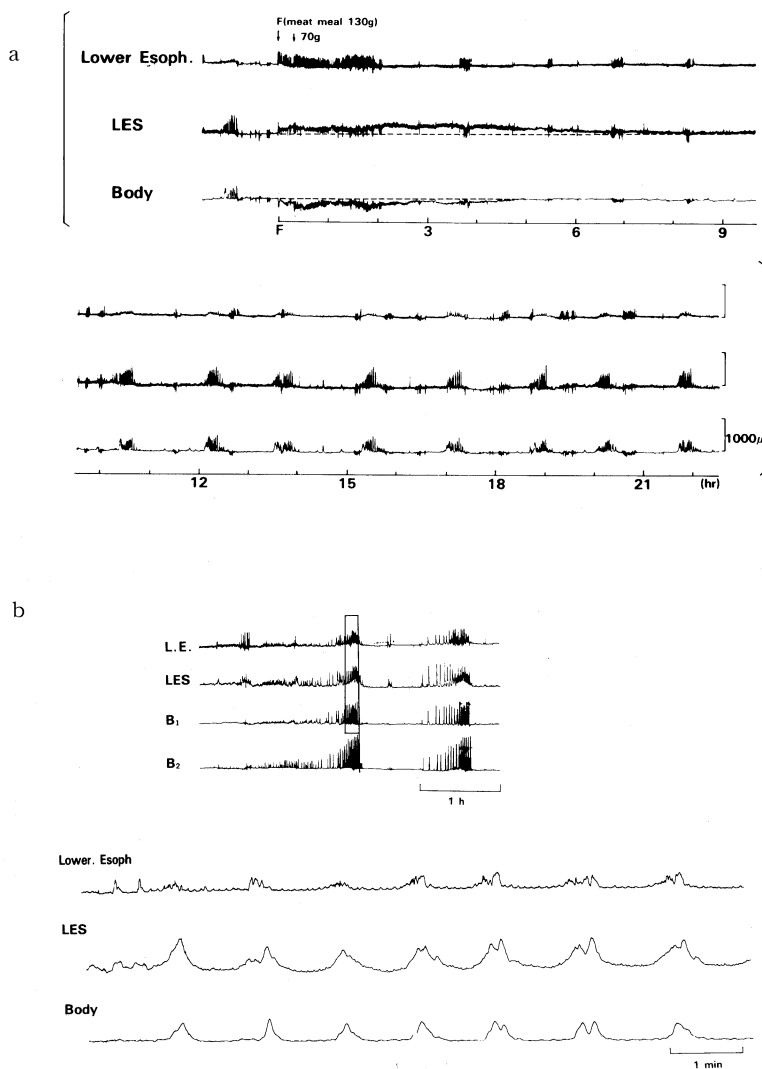


図1. 下部食道 (Lower Esoph.), LES, 胃体部 (Body) の収縮運動。

a. 食餌摂取後胃体部は基線が大きく低下し, receptive relaxation を示し, LES は, ゆるやかな基線の上昇を認め, LES 筋の緊張が高まることを, 観察された。

b. 空腹期強収縮運動を下段に, 速い記録スピードで示す。胃体部の収縮運動と同期して, LES, 下部食道にも, 空腹期強収縮運動が認められた。

ない収縮運動がみられた。TV 後の食後期収縮運動を図2bに速い記録スピードで示す。胃体部には, 持続時間の長い収縮運動が認められ, この時 LES にはこの運動に対応した収縮波が, 消失し, LES には食道の蠕動運動に対応した一過性の弛緩が認められた。TV+GX 後においては, LES, 胃体部の収縮運動は, TV と同様の収縮運動が認められ, 食後約8時間には, 十二指腸だけに, 空腹期の強収縮運動に類似した, 収

縮波群がみられた。この LES, 胃体部, 十二指腸の収縮波は, 互いに, 協調性が無く容易に十二指腸から胃へ, さらに胃から食道へと逆流がおこるものと, 考えられた。

X 線透視下の観察では, 対照を除く, すべての手術後に, 胃食道逆流が観察された。

## 考 察

SPV や TV のように, 迷走神経支配の欠如し

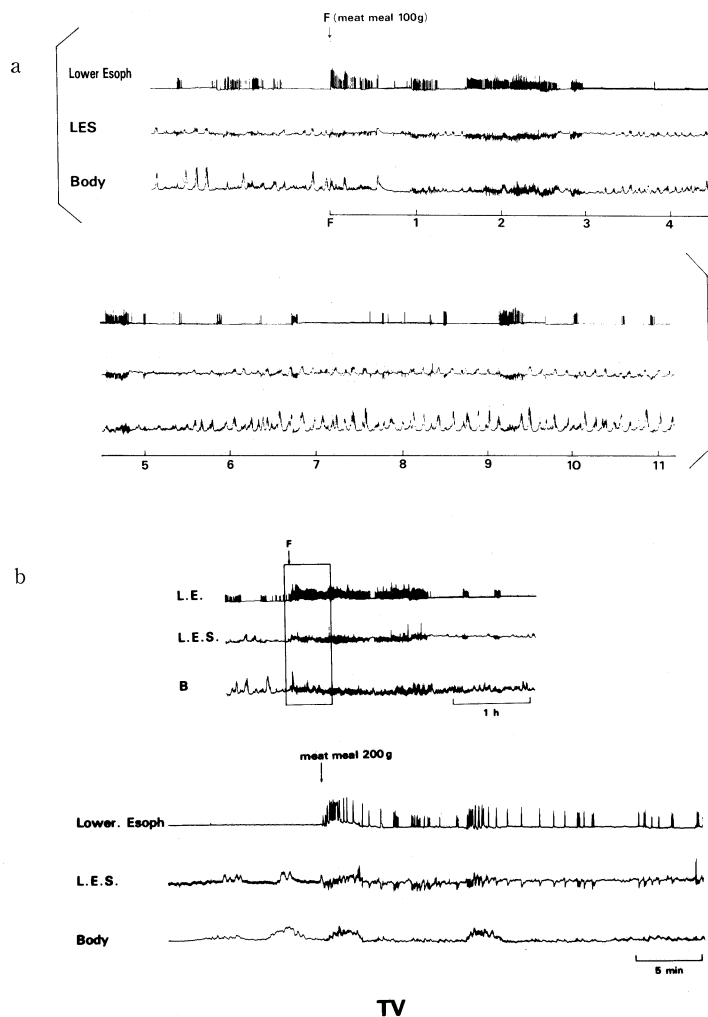


図 2. a. TV 後の収縮運動。

TV 後の食後期胃体部には, receptive relaxation が消失し, むしろ収縮運動が認められた. 食後約 3 時間には, LES, 胃体部に協調性の無い単調な収縮運動が認められた.

b. TV 後の食後期運動を下段に速い記録スピードで示す. 食餌摂取後胃体部は持続時間の長い収縮運動を示し, LES には, 基線の上昇が認められず, むしろ一過性の弛緩が観察された.

た胃体部には, receptive relaxation が消失し, むしろ持続時間の長い, 収縮運動を示した. 一方, LES においては, 対照犬に見られた基線の上昇は認められず, 胃体部と LES の収縮相関と, まったく逆の運動様式を示した. このことから, 胃の収縮による胃内圧上昇時に, LES は胃体部運動と対応した収縮運動を示さず, 胃食道逆流が, 容易に引き起こされるものと考えられた. しかし, これまで, 迷切術のみでは, その減酸効果のため, 症状として, あまり問題と

されなかったが, リンパ節郭清のため, 結果として, 迷切術と, 胃切除術を同時に行う胃癌手術の場合には, 十二指腸運動と残胃運動の協調性が消失し, さらに残胃が小さいため, 十二指腸液が, 容易に胃, 食道へと逆流し, 逆流性食道炎が, 惹起されるものと思われた.

## 文 献

阿部貞信(1987). 迷切術後のアカラシア様症状発現機構. 日本平滑筋誌 23: 203-206.

古川良幸(1987). 幽門輪の運動と機能および迷走神経切離術に対する幽門形成術の意義. 日本平滑筋誌 23: 75-102.

羽生信義(1987). LES の収縮運動と胃食道逆流のメカニズム. 消化器科 7: 339-346.

羽生信義(1983). 幹迷走神経切離術後のモチリン動態と胃運動様式, 胃排出に関する実験的研究. 日本平滑筋誌 19: 483-502.

大平洋一(1986). 胃切除後の残胃運動と消化管ホルモン. 日本平滑筋誌 22: 136-140.

## アカラシアにおける LES 弛緩機序に関する検討

東北大学医学部 第三内科学教室

氏 家 裕 明, 本 郷 道 夫, 奥 野 洋

### はじめに

アカラシアは、嚥下に伴う下部食道括約筋(以下 LES)の弛緩不全または消失, および食道体部の蠕動波の消失を主病態とする疾患で, LES 弛緩において重要な役割を演じているとされる節後抑制神経の障害が報告されているが(Dodds, *et al.*, 1981; Goyal and Rattan 1978), いまだ不明な点が少なくない. アカラシアでは, 食物の通過障害のため慢性的食道拡張刺激が加えられている. この食道拡張刺激の LES 弛緩に対する制御を見るため, バルーンによる食道拡張刺激を加え, LES の反応について検討を行った.

### 対象および方法

諸検査によりアカラシアと診断した男性 4 例, 女性 16 例の計 20 例(未治療 10 例, 強制拡張術(pneumatic dilatation: 以下 PD)後 10 例)を対象とした. 平均年齢は 44 歳, 病悩期間は 1 カ月~30 年, 平均 6 年 7 カ月である. 食道内圧検査は空腹時背臥位で行い, LES 圧測定には sleeve sensor を使用し, 胃底部呼気終圧を基準圧とした. LES 圧を 30 分間連続測定記録した後, sleeve 上端 5 cm から 15 cm の部位に装着したバルーンを, 10, 30, 50, 70, 100 ml の空気で拡張し LES の反応を測定記録した. 拡張時間は 10 秒で, 拡張中の空嚥下は禁止した.

手術症例は対象から除外した. 消化器症状を有しない男性 5 例, 女性 4 例の計 9 例, 平均年齢 21 歳を正常対照群とした.

### 結 果

基礎 LES 圧の連続測定記録では, 9 例(未治療 4 例, PD 後 5 例)で, 嚥下と関係ない LES 弛緩(Transient LES relaxation: 以下 T-LESR)(弛緩率>70%)をのべ 19 回認めた. 弛緩率は平均 91%, 持続時間は平均 19 秒である. バルーンによる拡張刺激により, 平常対照群では 10 ml で平均 78%, 100 ml で平均 86% の LES 弛緩率を示したのに対し, アカラシア患者では, 10 ml で, 未治療群, PD 施行群各々平均 4%, 6% で, バルーン容積が増すごとに LES 弛緩率の上昇は認めるものの, 100 ml でも各々平均 44%, 51% であり, すべてのバルーン容積において, 正常対照群との間に統計学的な有意差を認めた(Fig. 1, 2). アカラシア 20 例中 5 例で, 30~50 ml の拡張刺激に対し 70% 以上の LES 弛緩反応を認めたが, T-LESR との関連の検討では一定の関係は認められなかった. また, バルーン容積と知覚の関連の検討では, 正常対照群では, 30 ml 以下で 9 例全例が刺激を知覚したのに対し, アカラシア患者では, 20 例中 9 例が 50 ml 以上と知覚の閾値が高い傾向を示した. この傾向は PD 施行例でも同じであった.

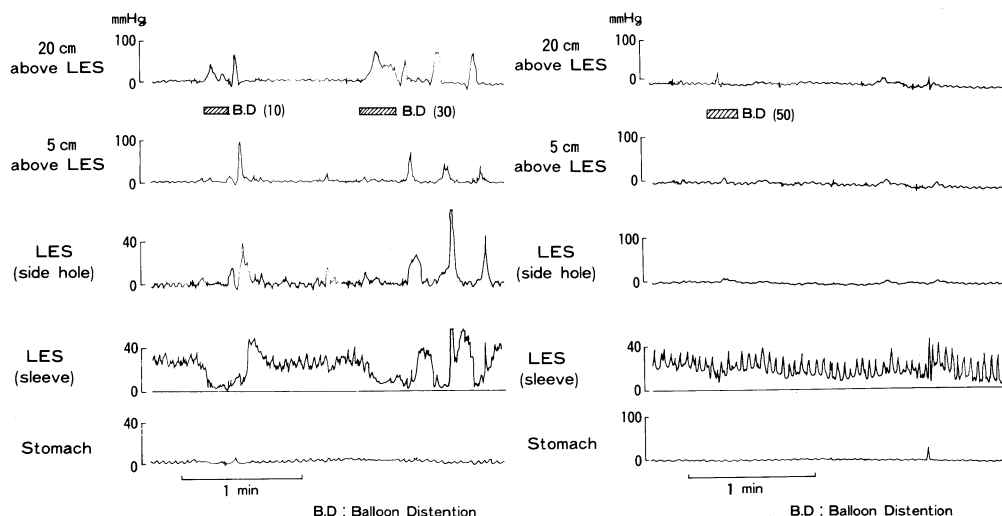


Fig. 1 Esophageal manometric tracing during balloon distention in normal volunteer (left) and in patient with achalasia (right).

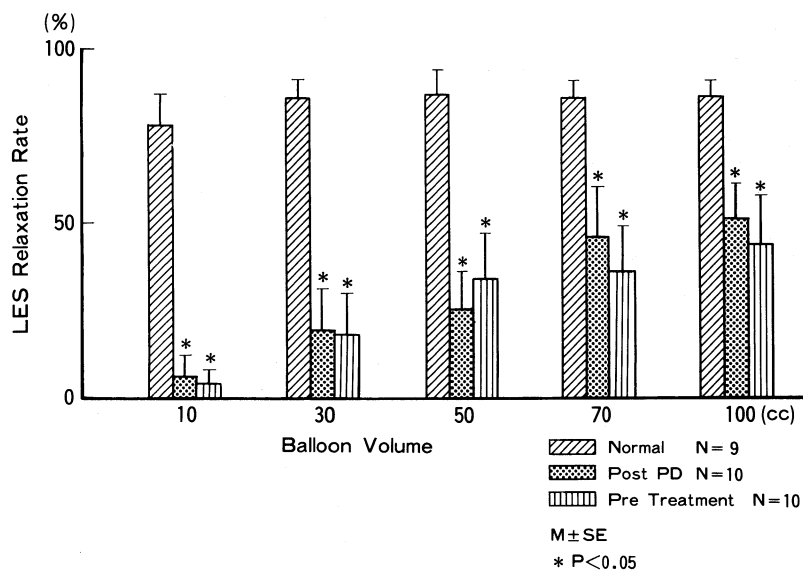


Fig. 2 Relaxation of LES in response to graded volume of balloon in normal volunteers and in patients with achalasia.

## 考 案

T-LESR は、逆流性食道炎あるいは正常人における胃食道逆流のひとつの機序として報告されているが (Dodds, *et al.*, 1982; 1984), LES の弛緩不全を特徴とするアカラシアでの T-LESR に関する報告はない。そこで、アカラシ

アにおける慢性的食道拡張刺激の LES に対する作用を調べる目的で、バルーンによる食道拡張刺激を行った。その結果、LES 弛緩を認めたのは 5 例で、うち 2 例では T-LESR を認めたが、残りの 3 例では T-LESR を認めなかった。したがって、食道内残存食物による慢性的な食道拡張刺激が T-LESR 発現の誘因である可能性

は低いと考えられる。正常人における拡張刺激による LES 弛緩は神経性の機序を介する反応であり、アカラシアではこの機序の障害が想定されることから、T-LESR の発現にこの神経機序の関与はないものと考えられ、別の局所的な神経機序の関与が推測される。一方、20 例中 5 例で、拡張刺激に対し 70% 以上の LES 弛緩反応を示したことから、従来その障害が想定されている神経機序は保たれている症例があると考えられ、アカラシアでも神経障害の程度に違いのあることが推測される。

## 文 献

Dodds, W.J. (1984). Current concepts about reflux esophagitis and esophageal clearance. In:

Esophageal and gastric emptying, edited by Dubois, A., Castell, D.O., pp 3-10, CRC press Inc. USA.

Dodds, W.J., Dent, J., Hogan, W.J., *et al.* (1981). Paradoxical lower esophageal sphincter contraction induced by cholecystokinin-octapeptide in patients with achalasia. *Gastroenterology* 80: 327-333.

Dodds, W.J., Dent, J., Hogan, W.J., *et al.* (1982). Mechanism of gastroesophageal reflux in patients with reflux esophagitis. *N. Engl. J. Med.* 307: 1547-1552.

Goyal, R.K. and Rattan, S. (1978). Neurohumoral, hormonal, and drug receptors for the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 74: 598-619.

## 経内視鏡的犬 Oddi 括約筋機能測定 —— 十二指腸内塩酸直接撒布および外因性 セクレチン投与における検討 ——

東海大学医学部 内科 6

三 浦 敏 洋, 原 澤 茂, 三 輪 剛

### はじめに

各種の胆膵疾患の発生機序解明や病態把握の目的で、Oddi 括約筋や胆管内圧の測定が行われてきたが、方法論的にも困難なことが多く、従来は外科領域で術中などに行われてきた。しかし近年、人において内視鏡の使用や X 線学的手法により非観血的に同部の内圧測定が内科領域においても行えるようになってきており、膵・胆道系疾患の病態の解明に加え、消化管ホルモンなどの各種薬物の Oddi 括約筋運動や膵・胆管内圧に与える影響についての検討も行われ、徐々に解明してきている。

また、動物実験における検討でも外科的手技を必要としてきたが、我々は内視鏡の手法を犬に用い、抗コリン剤の犬 Oddi 括約筋に及ぼす影響の検討を行い、動物実験でも経内視鏡的測

定法が応用可能であるとの結果を得たため、今回、塩酸の十二指腸内直接撒布の犬 Oddi 括約筋運動に及ぼす影響の検討を行った。

### 対象・方法

対象：体重 10 kg 前後の雑種成犬を用い、24 時間絶食後ネンブタール麻酔下に内圧測定を行った。

内圧測定：経内視鏡的 (Olympus, PJF) に hydraulic capillary infusion system を用いて open-tip infusion 法 (infusion rate: 0.27 ml/min) にて行った。基礎内圧測定終了後、double lumen catheter を用いて 0.1 N 塩酸 2 ml/min の十二指腸内直接撒布、または、セクレチン (Secrpan; Eisai, 1 U/kg) を一回静注投与し検討した。

血中セクレチン濃度測定：各負荷前、負荷後

5分, 10分, 15分に採血を行い, 大塚アッセイのRIA法にてセクレチン濃度の測定を行った。

## 成 績

### 1. Oddi 括約筋運動

犬 Oddi 括約部では律動収縮を認め, 同部の内圧は十二指腸内圧を0点とし peak 圧は  $53.1 \pm 2.2$  (m±SE) cmH<sub>2</sub>O, 基礎圧は  $13.1 \pm 1.2$  cmH<sub>2</sub>O で, 収縮頻度は  $17.4 \pm 0.2$  waves/min であった。

### 2. 十二指腸内塩酸直接散布の影響

0.1 N 塩酸の十二指腸内直接散布により, Oddi 括約筋運動は投与開始後約1分より徐々に収縮圧(主に peak 圧)の減少を認め, 約8分後には括約筋運動はほぼ消失した。10分間で塩酸投与中止後も括約筋運動の抑制はその後約10分間持続した(図1)。

塩酸負荷による血中セクレチン値は投与前値

$66.7 \pm 5.5$  pg/ml, 5分後  $136.2 \pm 13.9$  pg/ml, 10分後  $127.0 \pm 10.4$  pg/ml と投与後有意 ( $p < 0.005$ ) に上昇した(図2)。

### 3. 外因性セクレチン投与の影響

セクレチン 1 U/kg 投与により, Oddi 括約筋運動は抑制されたが, その効果は塩酸負荷時より弱かった。しかし, 血中セクレチン濃度は, 5分後  $198.1 \pm 27.9$  pg/ml, 10分後  $120.3 \pm 10.1$  pg/ml と塩酸負荷時と同等またはそれ以上に高値であった。

## ま と め

十二指腸内塩酸負荷による血中セクレチンの上昇や, また, 外因性セクレチン投与による Oddi 括約筋運動が抑制されることは以前より知られている。

今回, 犬を用いた十二指腸内塩酸直接投与の Oddi 括約筋運動におよぼす影響とセクレチン

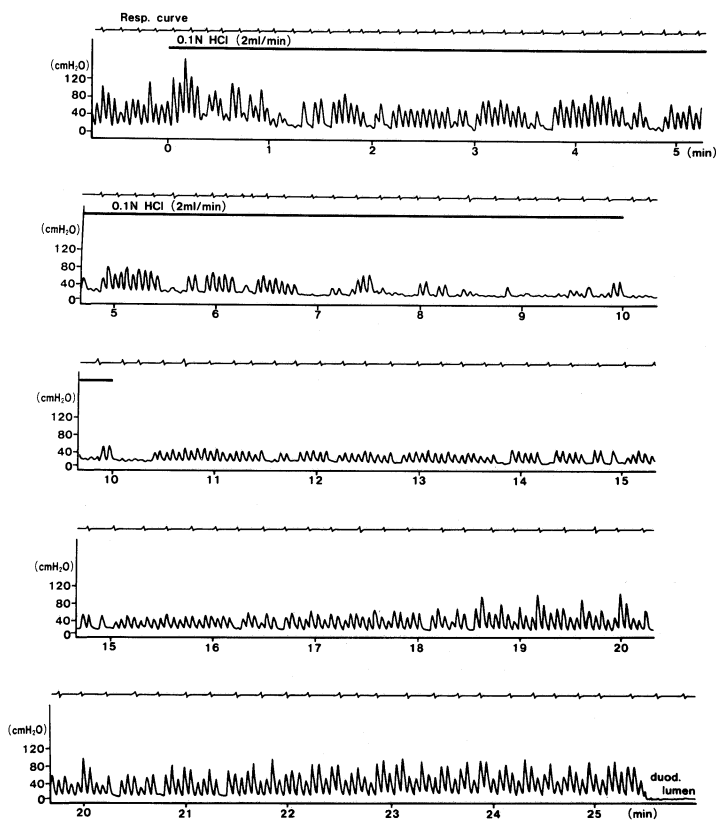


図1. 十二指腸内塩酸直接散布の犬 Oddi 括約筋運動に及ぼす影響  
塩酸負荷開始約1分後より括約筋運動の抑制が認められる。

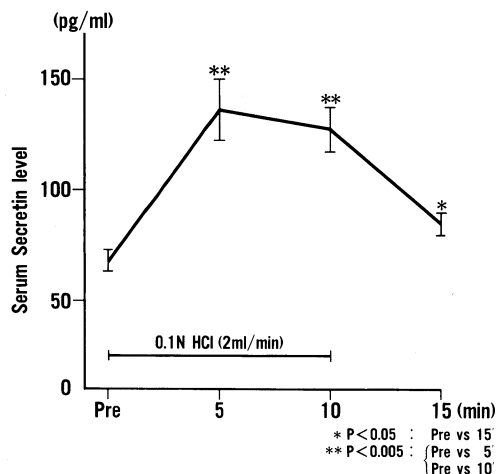


図2. Effect of topically applied 0.1N HCL on serum secretin level. 0.1N 塩酸の十二指腸内直接撒布により、血中セクレチン値は、有意の上昇を認めた。

の関与についての検討では、塩酸投与により、内因性セクレチンの上昇とともに Oddi 括約筋運動の抑制が認められたが、外因性セクレチン投与の検討から、塩酸負荷時の Oddi 括約筋運動

の抑制には、内因性セクレチンの上昇のみならず、今回検討の行えなかった CCK-PZ 等の他の消化管ホルモンの影響も関与している可能性が示唆された。

## 文 献

- Boden, G. (1975). Effects of intraduodenal amino acids, fatty acids and sugars on secretin concentration. *Gastroenterol.* 68: 722-727.
- Miura, T., *et al.* (1987). Endoscopic manometry of the sphincter of Oddi in dogs. Pharmacological effects of anticholinergic and selective antimuscarinic agents. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 12: 109-115.
- Nakayama, S. (1973). The effects of secretin and cholecystkinin on the sphincter muscle. In: *Gastro-Entero-Pancreatic Endocrine System*, ed. by Fujita, T., pp.145-154, Igakushoin, Tokyo.
- Scott, R.B., *et al.* (1984). Fasting canine biliary secretion and the sphincter of Oddi. *Gastroenterol.* 87: 793-804.

## 胃切除術後の胆嚢運動について

東京慈恵会医科大学 第2外科学教室

中 田 浩 二, 古 川 良 幸, 大 平 洋 一  
阿 部 貞 信, 羽 生 信 義, 青 木 照 明

## 緒 言

胃切除術後に胆嚢機能異常が高頻度で発生することが知られ、その機序の詳細については、体液性調節因子、神経性調節因子より論じられているがいまだ不明な点が多い。そこで、胃切除術および迷走神経切離術（以下迷切術）が、胆嚢運動機能に及ぼす影響を検討した。

## 方 法

雑種成犬を用いて、1. 対照、2. 胃切除術犬（迷走神経胃体部枝、肝枝を温存し B-1 法で再

建）3. 幹迷走神経切離術（以下幹迷切）+胃切除術犬（胃切除術に胸腔内で神経切離を施行）を作成した。これら実験犬の胃前庭部、十二指腸、胆嚢に strain gage transducer を縫着してこれらの収縮運動を昼夜連続記録した。さらに、胆嚢内胆汁量の測定および胆嚢造影を行うために、胆嚢内に silastic tube を留置した。胆汁量の測定は、シリンジにて、経時的に吸引し、測定後、胆嚢内へ戻し、胆嚢造影は、胆汁を吸引後、その容量と同量の造影剤を注入して X 線撮影を行った。また、胆嚢運動に対する調節機構を検討するために、対照犬に対して、CCK-OP

(50 ng/kg/hr), atropine (50  $\mu$ g/kg) を静注投与して、胆嚢胆汁量を測定した。

### 結果および結論

図1, a に、対照犬の胃、十二指腸運動と胆嚢

運動および胆嚢胆汁量の変動を示す。胃前庭部、十二指腸では食事摂取後、小収縮の連続する食後期運動と、食後約10時間後には、休止期と強収縮期を繰り返す空腹期運動が認められた。胆嚢の収縮運動は、食後早期に持続時間の長い収

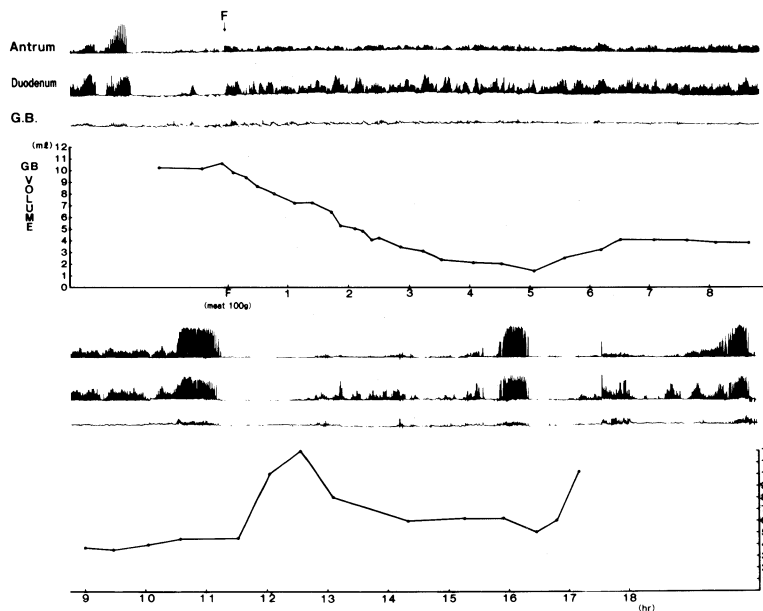


図1-a. 対照犬の胃十二指腸運動と胆嚢運動および胆嚢内胆汁量の変動。

胃十二指腸には、小収縮の連続する食後期運動がみられ、胆嚢には、持続時間の長い収縮波が認められた。空腹期には、胃十二指腸の強収縮運動と対応して、胆嚢にも収縮運動が認められた。胆嚢胆汁量は、食直後より次第に減少し、食後5時間後に最低2.0 mlに達した後、漸増し空腹期の休止期に急増した。空腹期の強収縮期には、胆汁量は、一過性に減少し、胃十二指腸の空腹期運動に対応して、胆嚢胆汁量の変動が認められた。

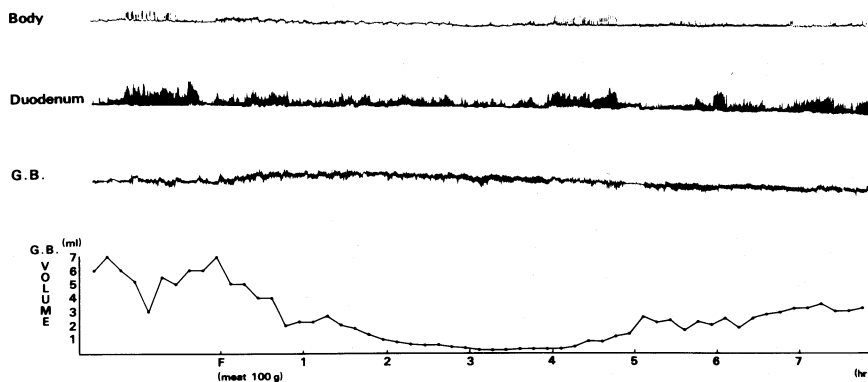


図1-b. 胃切除犬の胃十二指腸運動と胆嚢運動および胆嚢内胆汁量の変動。

胃十二指腸の食後期運動は短縮し、食後約6時間には、強収縮運動が認められ、胃内容の排出亢進が認められた。胆嚢内胆汁量は、食後早期に著明に減少し、空腹期には、強収縮運動を繰り返すうちに次第に漸増した。

縮波がみられ、空腹期には、胃十二指腸の強収縮運動に対応した収縮運動が認められた。胆嚢内胆汁量は、食後ゆるやかに減少し、最低 2.0 ml に達し、時間の経過とともに漸増し、空腹期の休止期に急増した。強収縮期には、胆汁量は一過性に減少し、胃十二指腸の空腹期運動に対応した胆嚢内胆汁量の変動が観察された。胆嚢造

影所見では、食直後より造影剤の排出が認められ次第にその容積を減じ、食後約 180 分後に胆嚢内造影剤が消失したにもかかわらず、胆嚢内胆汁量は 2.0 ml ほど存在した。このことから、食後期には、単に胆汁の排出ばかりでなく、胆汁の胆嚢内流入も起こっており、食後期と空腹期を通じて、胆嚢内胆汁は絶えず還流されてい

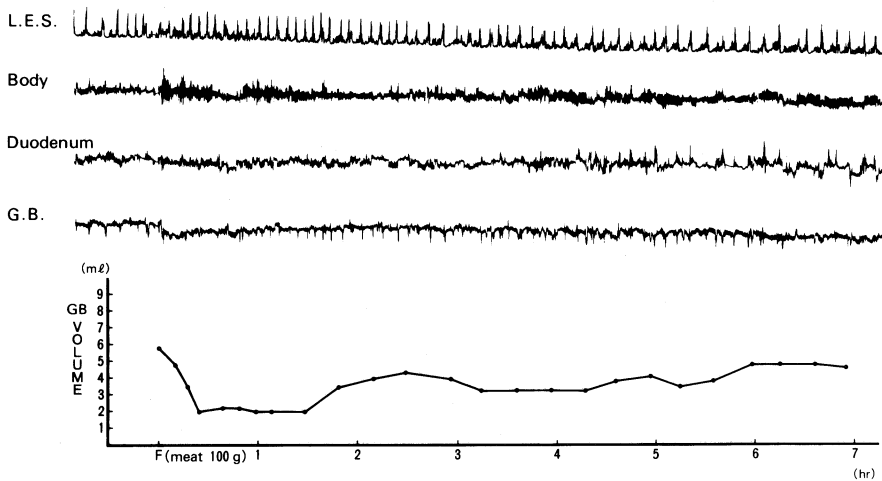


図 2-a. 幹迷切+胃切除犬の胃十二指腸運動と胆嚢運動の変動。

胃十二指腸の食後期には、単調な収縮運動がみられ、空腹期には、規則的な強収縮期と休止期が消失した。胆嚢内胆汁量の測定結果では、食後期に減少するものの収縮能が著明に低下し、食後早期に胆嚢拡張が認められた。

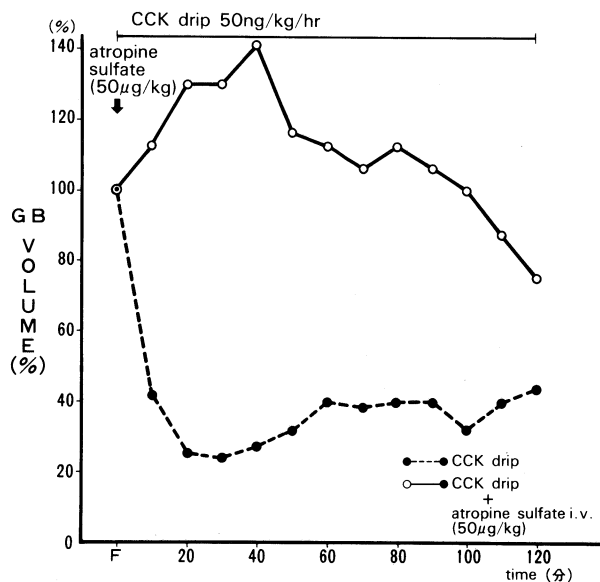


図 2-b. CCK-OP の胆嚢収縮作用に対する atropine の効果

atropine 前処置では、胆嚢収縮能の著明な低下を示し、むしろ胆嚢胆汁量は増加した。

ることになる。図1, bに示す胃切除術後では、対照犬と同じく、食後期と空腹期運動に2大別されたものの、食後約6時間にすでに空腹期強収縮運動が出現し、胃内容排出が亢進した。胆嚢胆汁量も胃排出の亢進に伴い急激に減少し低値を持続した。空腹期には、対照犬と異なり、休止期に急激な胆汁量の増加が認められず、強収縮運動を繰り返す内に次第に増加した。胆嚢造影の結果でも食後約130分後に造影剤が消失し、胆嚢内造影剤の排出亢進が認められた。このような胆汁排出、胆汁流入態度は、胃内容排出亢進による体液性因子の変化が関与しているものと考えられた。幹迷切+胃切除術後の胃十二指腸には、食後期に不規則な収縮運動が連続し、空腹期の強収縮期と休止期の区別が消失した。胆嚢胆汁量も、食後期に減少するものの、対照犬、胃切除犬と比べ、著明な収縮能低下が認められ、食後早期に胆嚢拡張がみられた(図2, a)。胆嚢造影の結果においても、食後約220分後に造影剤が消失し、胃切除犬と比べ明らかな排出遅延、胆汁鬱滞が認められた。次に、対照犬に対して、胆嚢収縮刺激として、CCK-OPの持続点滴静注を行い、atropine前処置の有無により胆嚢胆汁量の変化を検討した(図2, b)。

CCK-OPの静注開始後より胆汁量は著明に減少し、低値を持続したのに対し、atropine前処置によりこの反応は、著明に抑制され、むしろ胆汁量は増加し胆嚢は拡張した。このことから、CCK-OPの胆嚢収縮に対する作用は、迷走神経、特にcholinergic neuronを介する機序が考えられ、リンパ節郭清のため迷走神経が切離される胃癌胃切除術後の胆嚢運動障害には、胃切除術よりも迷走神経自体の影響が第一義的に関与しているものと推察された。

## 文 献

- 阿部貞信(1988). 術後逆流性食道炎に関与する下部食道括約筋の収縮運動について. 日平滑筋誌.
- Fischer, R.S. (1985). Cholinergic effect on gall-bladder emptying in humans. *Gastroenterol.* 89: 716-722.
- 古川良幸(1987). 幽門輪の運動と機能および迷走神経切離術に対する幽門形成術の意義. 日平滑筋誌 23: 2, 75-102.
- 羽生信義(1983). 幹迷走神経切離術後のモチリン動態と運動様式, 胃排出に関する実験的研究. 日平滑筋誌 19: 483-502.
- 大平洋一(1986). 胃切除術後の残胃運動と消化管ホルモン. 日平滑筋誌 22: 3, 136-140.

## 意識下成犬における幽門輪運動と その調節機序

兵庫医科大学 第一外科

鈴木 栄太郎, 岡本 英三, 豊坂 昭弘  
能勢 勝義, 松島 康博, 中村 章彦

兵庫医科大学 共同研究室

大滝 武, 植田 延生, 佐藤 浩治

## 緒 言

上部消化管運動ならびにその各部の運動相関は motilin を中心とした消化管ホルモンの面からかなり解明されつつあるが、幽門輪運動に関

してはまだ未知の部分が多く諸説意見の一致をみていないのが現状である。今回我々は意識下成犬を用い Strain gauge force transducer 法により胃・幽門輪・十二指腸運動の相関とその調節機序につき検討したので報告する。

## 方 法

雑種成犬5頭(10~14 kg)を用いた。strain gauge force transducer は胃体部・幽門輪より3 cmの胃前庭部・幽門輪・十二指腸の4カ所に輪状筋収縮が記録される方向に縫着した。胃体部、胃前庭部、十二指腸用 strain gauge は共和電業製 KFE-2-C1 (ゲージ長 2.0 mm, グリッド幅 2.2 mm), 幽門輪用は同 KFR-02-C1 (0.2 mm, 1.0 mm) を使用し伊藤(1976)の方法に従って作製した。

## 成 績

### 1) 空腹期幽門輪運動

幽門輪にも胃・十二指腸と同様に Interdigestive Migrating Contraction (IMC) と呼べる運動が観察された(図1)。空腹期幽門輪運動の特徴は、① phase II~III に収縮とともに弛緩が認められること、② phase II~phase III の前半には tonus が低下し、phase III の後半で tonus の上昇とともに収縮運動が優位となる、③ 胃・十二指腸の phase I といわれる静止期にも幽門輪は完全な運動静止が起らず不規則な小収縮がみられること、などが挙げられる。

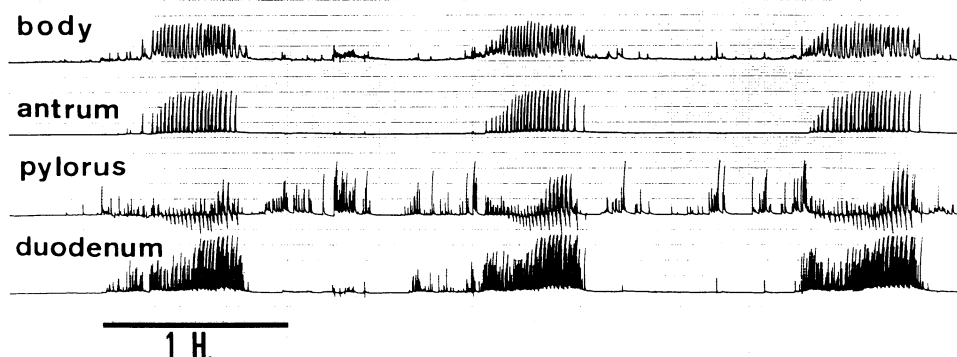


図1. 幽門輪にも IMC が観察され、その特徴は弛緩が認められることである。

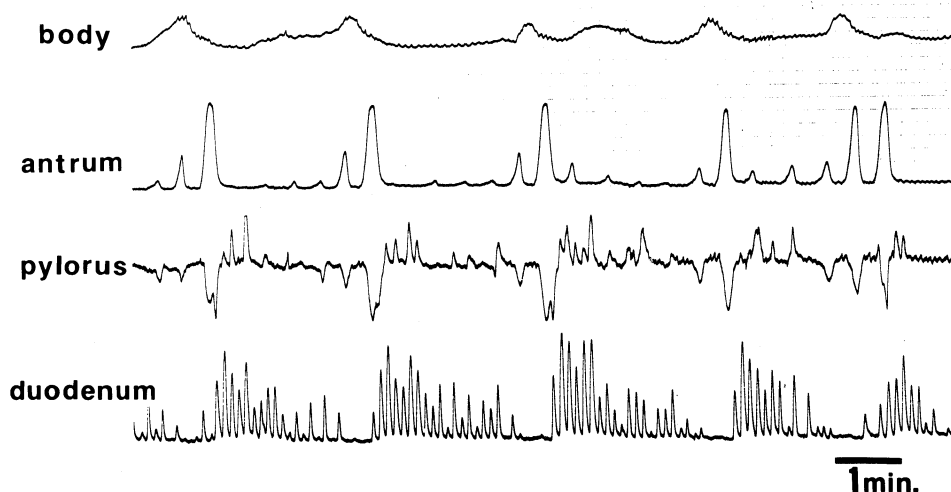


図2. IMC の phase III の早送り。胃前庭部の収縮と幽門輪の弛緩が同期し、これを契機として十二指腸収縮運動が開始する。

図2は phase III の早送り (50 倍速) である。早送りにより胃・幽門輪・十二指腸各部の運動の相互関係を詳細に検討すると、胃体部の収縮に続いて胃前庭部が収縮し、その収縮に同期して幽門輪が弛緩しているのが理解出来る。さらに胃前庭部の小収縮には幽門輪は小弛緩として反応し、大収縮には大弛緩として反応する。実験当初胃前庭部の大収縮・幽門輪の大弛緩のとき十二指腸はちょうど休止期となると理解していたが、早送りで観察すると十二指腸運動の休止期は胃前庭部の小収縮・幽門輪の小弛緩により始まり、胃前庭部の大収縮・幽門輪の大弛緩を契機として十二指腸には収縮運動が始まることが分かった。これが IMC における胃・幽門輪・十二指腸の運動相関であるが、この相関関係は Motilin・Morphine で誘発され、Atropine・Naloxone で抑制されることなどから迷走神経ならびに消化管ホルモンや Opiate が関与していることが示唆された。

## 2) 食後期幽門輪運動

摂食とともに胃体部はその tonus を下げ、いわゆる “receptive relaxation” が起こる。胃前庭部には 4~5 回/分の規則正しい、十二指腸には不規則な phasic contractions がみられる。幽門輪には収縮・弛緩とも観察され、収縮優位な時期と弛緩優位な時期が認められた。摂食時

刻・摂食量とも毎日一定であるにもかかわらず、食後期幽門輪運動の収縮優位・弛緩優位は時間的に一定せず、犬により日により異なった。注目すべきは食後期にも胃前庭部の収縮・幽門輪の弛緩という相互関係は空腹期と同様であった。この食後期運動は Atropine で抑制され、Naloxone では抑制されなかった。

## 結 語

1) 幽門輪にも IMC が観察されたが、胃前庭部の収縮に同期して弛緩がみられることが特徴であった。

2) 胃前庭部収縮・幽門輪弛緩という相互関係は Motilin・Morphine で誘発され、Atropine・Naloxone で抑制された。

3) 食後期幽門輪運動は収縮優位な時間帯と弛緩優位な時間帯が観察されたが、犬によりまた日により一定したものではなかった。また食後期幽門輪の弛緩も空腹期と同様胃前庭部の収縮に同期したものであった。

## 文 献

伊藤 漸 (1976). Extraluminal strain gauge force transducer の作製と慢性植込. 日本平滑筋誌 13: 33-43.

## 結腸憩室症における peptidergic nerve の意義について

日本大学医学部 第一外科

青 木 信 彦, 富 田 涼 一, 永 井 信 行  
宗 像 敬 明, 黒 須 康 彦, 岡 部 郁 夫  
森 田 建

## 緒 言

蠕動反射は壁内神経叢の non-cholinergic excitatory nerve, non-adrenergic inhibitory nerve が関与し、各種の消化管ペプチドがその neurotransmitter あるいは neuro-

modulator として挙げられてきている。しかし蠕動反射と消化管ペプチドの関係についてヒトの腸管を用いた生理・薬理的研究報告はない。そこで、我々は結腸内圧の上昇がその成因と考えられている結腸憩室症の蠕動反射と、これに関与するとされている Substance P, Neur-

otensin, VIP の 3 種の消化管ペプチドについて正常部結腸を対照として mechanogram にて検討した。

## 研究対象

大腸癌 37 症例の正常部結腸と、結腸憩室症 9 症例の憩室部結腸を用いた。なお、腸管は機械的損傷をできるだけ避け切除直前まで血行を保った。

## 研究方法

対照は正常部結腸を、結腸憩室症は憩室部結腸を長さ約 5 cm の結腸分節標本とし、図 1 のごとく 37°C の 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> 通気した Krebs 液中で腸管内腔に、バルーンカテーテルを挿入し、organ bath 内に固定した。バルーン刺激部から口側、肛門側へ各々約 1 cm おいた部位をセルフインクリップで保持し、約 1 時間を経て分節標本の運動が恒常期に入った後実験操作を加え、輪走筋方向の等張性運動をペンレコーダーにて記録した。刺激電極は吸引電極を用い、クリップのほぼ中央の漿膜面につけ、電気刺激条件は 50 V, duration 500  $\mu$ sec の矩形波にて頻度 10 Hz, 持続時間 1 秒とした。

実験は以下の二つに分けて行った。ただし、バルーン刺激は容量 1 ml とし、電気刺激による神

経刺激反応のある標本のみを用いた。

## 成績

実験 1: 交感・副交感神経遮断前後と全壁内神経遮断後の反応を観察したが、交感・副交感神経遮断前は図 2, 表 1 上段のごとく、正常部結腸では口側収縮-肛門側弛緩反応が、憩室部結腸では口側収縮-肛門側収縮反応が優位であったが、交感・副交感神経遮断後 (atropine  $5 \times 10^{-6}$  g/ml, phenoxybenzamine  $5 \times 10^{-6}$  g/ml, propranolol  $5 \times 10^{-6}$  g/ml) は正常部結腸では口側収縮-肛門側弛緩反応が増加し、憩室部結腸では逆に口側収縮-肛門側収縮反応が増加した。Tetrodotoxin (TTX:  $5 \times 10^{-7}$  g/ml) 投与後は正常部結腸ではバルーンによる反応が抑制される傾向にあり、憩室部結腸では交感・副交感神経遮断後に比べ、バルーンによる反応にあまり変化なかった。

実験 2: ペプチド反応を観察したが、図 3, 表 1 下段のごとく Substance P, Neurotensin では交感・副交感神経遮断後は正常部結腸、憩室部結腸ともに収縮反応を示し、TTX 投与後は、正常部結腸、憩室部結腸ともに交感・副交感神経遮断後より弱い収縮反応を示した。

VIP では交感・副交感神経遮断後は正常部結腸は弛緩反応を、憩室部結腸では無反応を示す

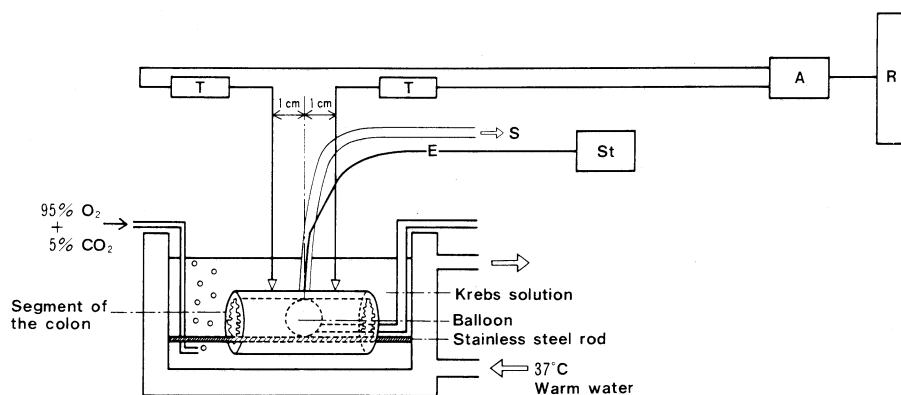


図 1. 実験模式図  
A: Amplifier  
E: Ag-AgCl electrode  
R: Recorder  
S: Suction  
St: Stimulator  
T: Transducer

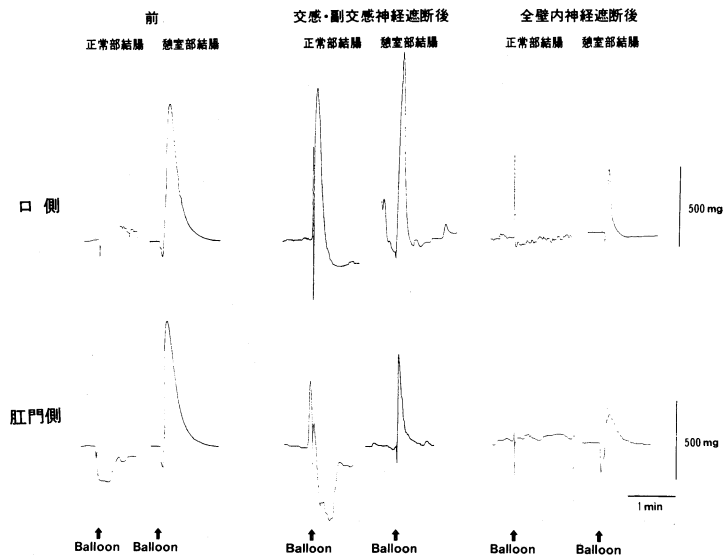


図2. バルーン刺激による蠕動反射

表1. バルーン刺激, ペプチイド投与による腸管の反応  
バルーン刺激による反応

	前		交感・副交感神経遮断後		全壁内神経遮断後	
	正常部結腸 n=31	憩室部結腸 n=9	正常部結腸 n=28	憩室部結腸 n=9	正常部結腸 n=11	憩室部結腸 n=9
口側収縮—肛門側弛緩	17 54.8%	1 11.1%	20 71.4%	0 0 %	1 9.1%	0 0 %
口側収縮—肛門側弛緩	10 32.3%	8 88.9%	4 14.3%	7 77.8%	1 9.1%	3 50.0%
無反応	4 16.9%	0 0 %	4 14.3%	2 22.2%	9 81.8%	3 50.0%

ペプチイド投与による反応

		交感・副交感神経遮断後		全壁内神経遮断後	
		正常部結腸	憩室部結腸	正常部結腸	憩室部結腸
SP	$1 \times 10^{-7}$ g/ml	11/17 64.7%	2/5 40.0%	2/8 25.0%	0/3 0 %
	$1 \times 10^{-6}$ g/ml	18/21 85.7%	4/6 66.6%	3/7 42.9%	1/3 33.3%
NT	$1 \times 10^{-7}$ g/ml	12/16 75.0%	5/6 83.3%	3/4 75.0%	1/1 100 %
	$1 \times 10^{-6}$ g/ml	14/17 82.4%	5/6 83.3%	8/9 88.9%	2/3 66.7%
VIP	$1 \times 10^{-7}$ g/ml	2/10 20.0%	0/5 0 %	0/4 0 %	0/1 0 %
	$1 \times 10^{-6}$ g/ml	5/10 50.0%	1/6 16.7%	0/7 0 %	0/2 0 %

ことが多く, TTX 投与後は正常部結腸, 憩室部結腸ともに VIP による弛緩反応は認められなかった。

## 結 果

### A. 正常部結腸

#### 1) バルーン刺激による口側収縮-肛門側弛

緩という局所蠕動反射を認めた。

2) 蠕動反射は non-cholinergic excitatory nerve, non-adrenergic inhibitory nerve を介すると思われた。

3) Substance P, Neurotensin, VIP による peptidergic nerve の調節が存在すると思われた。

## 交換・副交感神経遮断後 全壁内神経遮断後

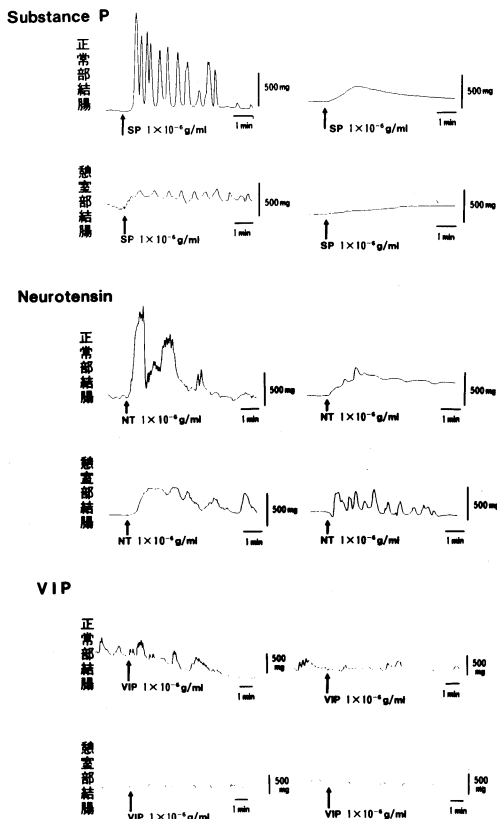


図3. ペプチド投与による反応

## ウサギ近側結腸の膨起運動と結腸紐の運動調節

岡山大学医学部第2生理学教室

渡 辺 喜 則, 山 里 晃 弘, 中 山 沃

ウサギの近側結腸には結腸膨起と結腸紐が存在している。結腸膨起は主に輪走筋からなり、結腸紐は膨起部分の縦走筋が集まり、紐状になっている。(Snipes et al., 1982)。結腸紐は数多くの研究者によって平滑筋の性質および壁内神経との関連性についての研究材料として用いられているが、結腸紐と結腸膨起との間での運動の関連性および相互の神経性調節に関する研究はほとんどない。そこで本研究では、ウサギ生体内あるいは摘出実験で、膨起と結腸紐との間で興奮の伝播が神経性であるのか、筋性である

## B. 憩室部結腸

1) バルーン刺激による口側収縮-肛側収縮という異常反射を認めた。

2) 異常反射は筋層自体の異常興奮性が関与していると思われた。

3) Substance P, Neurotensin による peptidergic nerve の調節は存在するが、VIP の調節は低下傾向にあった。

## 文 献

- Bayliss, W.M. and Starling, E.H. (1899). The movements and innervation of the small intestine. *J. Physiol.* 24: 99-143.
- Grider, J.R. and Makhlouf, G.M. (1986). Colonic peristaltic reflex: identification of vasoactive intestinal peptide as mediator of descending relaxation. *Am. J. Physiol.* 251: 40-45.
- Hukuhara, T., Yamagami, M. and Nakayama, S. (1958). On the intestinal intrinsic reflexes. *Jap. J. Physiol.* 8: 9-20.
- Painter, N.S. and Truelove, S.C. (1964). The intraluminal pressure patterns in diverticulosis of the colon. *Gut* 5: 365-373.
- Yokoyama, S., Ozaki, T. (1978). Functions of Auerbach's plexus. *日平滑筋会誌* 14: 173-187.

のか、どのように神経が相互の運動を調節しているのか検討した。

## 方 法

実験には1.5~3 kgの雌雄のウサギを用いた。生体内実験では、ウレタン(1 g/kg, i.v.)麻酔の後、開腹し、近側結腸を露出して、結腸-盲腸境界部より、約3~5 cm 尾側の結腸紐および膨起から吸引単極電極を用い活動電位の記録を、また縫着トランスジューサ法でそれぞれの運動を記録した。摘出実験では、上記の麻酔の

後、結腸—盲腸境界部より約7 cm 尾側までの近側結腸を摘出し、1. 結腸膨起のみの標本、2. 結腸膨起の中央に結腸紐の入った標本、3. L字型で、結腸紐の端に結腸膨起のついた標本、4. L字型で、結腸膨起の端に結腸紐のついた標本の4種類を用いた。1, 2の標本ではfield stimulationで標本全体を、3, 4の標本では結腸紐あるいは結腸膨起を刺激し、膨起あるいは結腸紐の運動を記録した(図1)。

## 結 果

生体内での結腸膨起は自発運動を有し、この運動は尾側から口側へ逆行性に伝播し、その収縮頻数は13~14回/分であった。結腸紐では、しばしば強い収縮が周期的に現れるが、その最も短い周期は3~5分であった。このときに膨起も同時に強く収縮した。摘出実験では、前述の1~4の標本において、5, 10, 20 Hz, 0.2~0.5 msec, maximal currentの刺激で亢進効果が誘起された。1の標本では $C_6$   $10^{-5}$  Mあるいは5-HT  $5 \times 10^{-7}$  Mの脱感作(3回投与)によってのみ亢進効果は減弱したが、histamineおよびGABAの遮断剤、guanethidineは無効果であった。2の標本における電気刺激による収縮高は、5-HTの脱感作により減少した。3, 4の標本では、 $C_6$ 、guanethidine、5-HTの脱感作に

よって収縮高の減少が観察されたが、histamine、GABAの遮断剤は無効果であった。Substance Pによる脱感作は、電気刺激による亢進効果を減弱する場合と増強する場合があった。この亢進効果はatropine  $10^{-6}$  M投与後に、2, 3の標本では抑制後亢進効果に、1, 4の標本では抑制効果に変わったが、この抑制および亢進効果にguanethidine  $10^{-6}$  Mは無効果であった(図2, B<sub>1-4</sub>)。この残った2, 3の標本の亢進効果はindomethacin  $10^{-6}$  g/mlの投与で消失あるいは減弱したが、抑制効果はのこった(図2, C<sub>23</sub>)。1, 2の標本の抑制効果はindomethacinの投与では消失しなかったが(図2, C<sub>12</sub>)、tetrodotoxin  $10^{-7}$  g/mlの投与により残存した抑制効果は消失した(図2, D<sub>1-4</sub>)。0.5 sec以上の筋直接刺激による収縮は3, 4の標本では観察されなかった。

## 結 論

ウサギ結腸膨起は生体内において、Ehrlein(1982)、Ruckebuschら(1976)の報告とほぼ同じ頻度で収縮をし、その伝播方向は常に口側から尾側であった。本研究では結腸紐との間での運動の相互の関連性は強い収縮が膨起に起こった時にのみ存在した。摘出実験で電気刺激による結腸紐と膨起に亢進効果は、刺激によりコリ

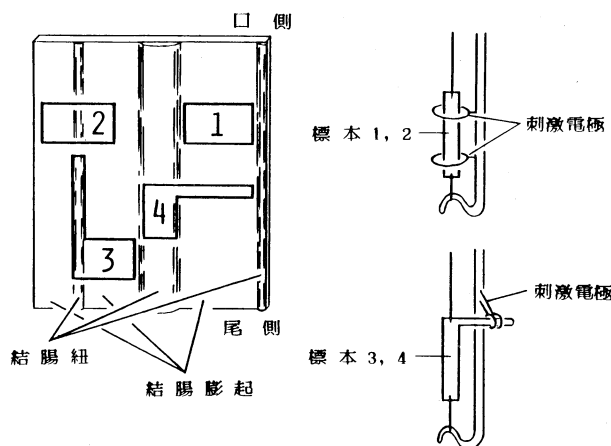


図1. 近側結腸における標本作成部分と実験方法。1. 結腸膨起のみの標本；2. 結腸紐の入った入った標本；3. 結腸の端に膨起のついた標本；4. 膨起の端に結腸紐のついた標本；1と2の標本の電気刺激はfield stimulationでおこない、輪走筋方向の運動を記録した。3の標本は結腸紐を電気刺激し、膨起の運動を、4の標本では膨起を刺激し、結腸紐の縦走方向の運動を記録した。

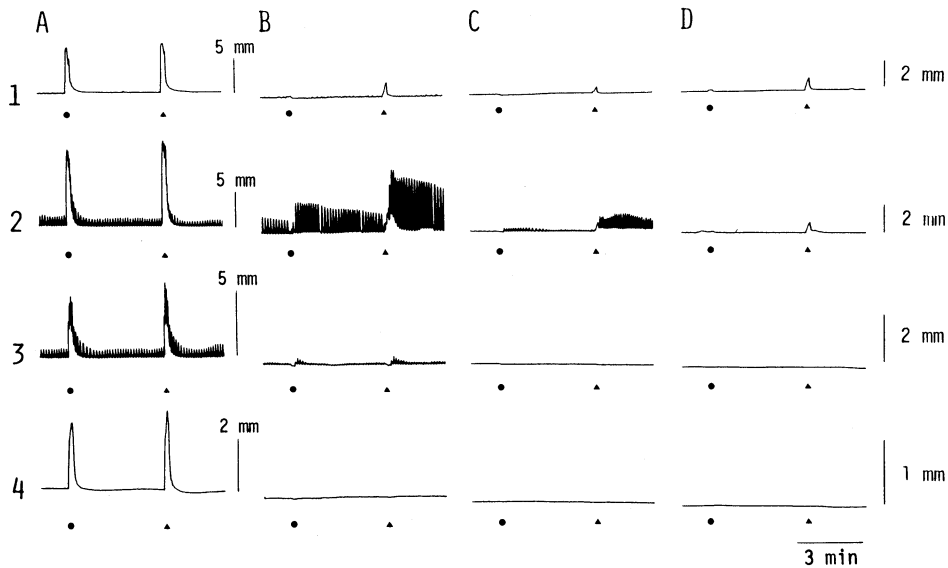


図2. 電気刺激反応に対する atropine, guanethidine, indomethacin と tetrodotoxin の効果. A, 対照; B, atropine  $10^{-6}$  M, guanethidine  $10^{-6}$  M 投与後; C, indomethacin  $10^{-6}$  g/ml 投与後; D, tetrodotoxin  $10^{-7}$  g/ml 投与後; 図中の1~4の数字は図1の1~4の標本に相当する. 刺激条件は●印が10 Hz, ▲印が20 Hz でいずれも0.5 msec, maximal current.

ン作動性神経の興奮が起こることによって誘起され、相互の抑制効果は非アドレナリン非コリン作動性神経によると考えられる。また atropine 投与後の亢進効果は、indomethacin により減弱し、膨起のみの標本には現れないことから、この亢進効果を誘起する細胞体は結腸紐に存在し、その線維が膨起に向かって走行し、その伝達物質の一部は prostaglandine ではないかと考えられる。

## 文 献

Ehrlein, H. -J., Reich, H. and Schwinger, M. (1982).

Physiological significance of the contractions of the rabbit proximal colon. *Quat. Exp. Physiol.* **67**: 407-417

Ruckebusch, Y. and Fioramonti, J. (1976). The fusus coli of the rabbit as a pacemaker area. *Experimentia* **32**: 1023-1024.

Snipes, R. L., Claus, W., Weber, A. and Hörnicke, H. (1982). Structure and functional differences in various divisions of the rabbit colon. *Cell Tissue Res.* **225**: 331-346

## Hirschsprung 病腸管における neuromedin U-8 の分布に関する 免疫組織化学的研究

九州大学医学部小児外科

川 名 隆 司, 広 瀬 龍一郎, 池 田 恵 一  
後 藤 誠 一

九州大学医療技術短期大学部解剖

灘 修 身

福岡市立こども病院外科

長 崎 彰, 大 神 浩

宮崎医科大学第二生化学

南 野 直 人, 松 尾 壽 之

### 緒 言

Neuromedin U-8 (NMU-8) は, 南野ら (1985) によりブタ脊髄から単離同定された 8 個のアミノ酸からなるペプチドで, ラットの子宮筋収縮活性と昇圧作用を有する. NMU-8 に類似したアミノ酸配列を有する神経ペプチドは殆どなく, この点で NMU-8 はこれまでにない全

く新しいタイプの神経ペプチドといえる (寒川ら, 1986). 中枢神経系における NMU-8 の分布については, Honzawa ら (1987) が詳細に報告しているが, 消化管における NMU-8 の検討は未だない. 今回我々は, 抗 NMU-8 抗体を用いた免疫組織化学的手技により, Hirschsprung 病腸管 (以下, H 病) における NMU-8 の分布を明かにし興味ある知見を得たので報告する.

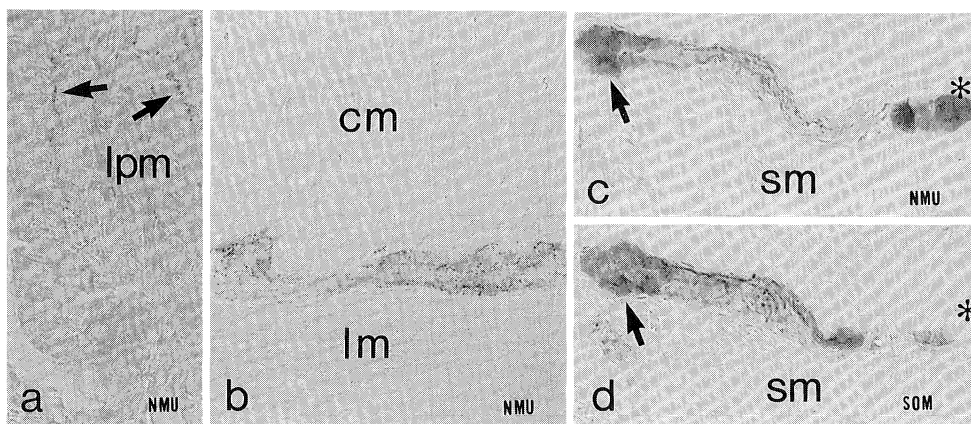


図 1a-d. 正常神経節部.

- 空腸の粘膜固有層における NMU-8 陽性神経.
- S 状結腸の筋間神経叢における NMU-8 陽性神経. 内輪筋層及び外縦筋層には認められない.
- S 状結腸下神経叢における NMU-8 の免疫染色. 陽性の胞体が見られる.
- c と連続切片で同一切面における SOM 染色.  
\* 印の胞体は SOM 陰性であるが矢印の胞体は NMU-8 と SOM の両者の免疫活性を有する.

## 方 法

生後2カ月から10歳までのH病患者14例に対し池田式Z型吻合術にて摘出したS状結腸を対象とした。コントロールとして、鎖肛患児の人工肛門摘除時のS状結腸及び胆道拡張症根治術時にRoux-en-Y脚の一部から採取した空腸を比較検討した。摘出腸管を0.1% コルヒチンを含むクレブス液 ( $O_2$  95%・ $CO_2$  5% の混合ガスを付加) に約10分間浸漬後、0.5% ピクリン酸・4% パラホルムアルデヒドを含むリン酸緩衝液で約1時間固定した。次いで、7% 蔗糖を含むリン酸緩衝液で洗浄し、クリオスタットにて厚さ16  $\mu$ m の凍結切片を作製した。1次抗体として抗 NMU-8 抗体、抗 somatostatin (SOM) 抗体、抗 vasoactive intestinal polypeptide (VIP) 抗体、抗 substance P (SP) 抗体を用い、B-SA 法により免疫組織化学的に染色した。また、一部の標本において、連続した2切片の一方を裏返し互いが鏡面となるように貼付し、それぞれに異なった一次抗体をかけ免疫染色をした。連続切片の撮影後、一方のフィルムは裏返しにして焼付け、前後の連続切片が同一切面にて比較できるようにした。

## 結 果

正常神経節部：空腸の粘膜固有層において、NMU-8 は varicosity を持つ繊細な神経線維として認められた (図1a)。H 病腸管正常神経節部のS状結腸の粘膜固有層では、NMU-8 の免疫活性は検出されなかった。同部の筋間神経叢内に varicosity を有する NMU-8 陽性の神経線維が証明されたが、内輪筋層及び外縦筋層には検出されなかった (図1b)。筋間神経叢における陽性の胞体は、空腸に比べ極僅かであった。これに対して、S状結腸の粘膜下層神経叢においては、比較的多数の NMU-8 陽性の胞体及び神経線維が証明された (図1c)。図1c と同一切面の連続切片における SOM の免疫染色を比較すると、NMU-8 陽性である\*印の胞体に SOM は検出されなかった。一方、矢印の胞体は NMU-8 と SOM の両者の免疫活性を有してい

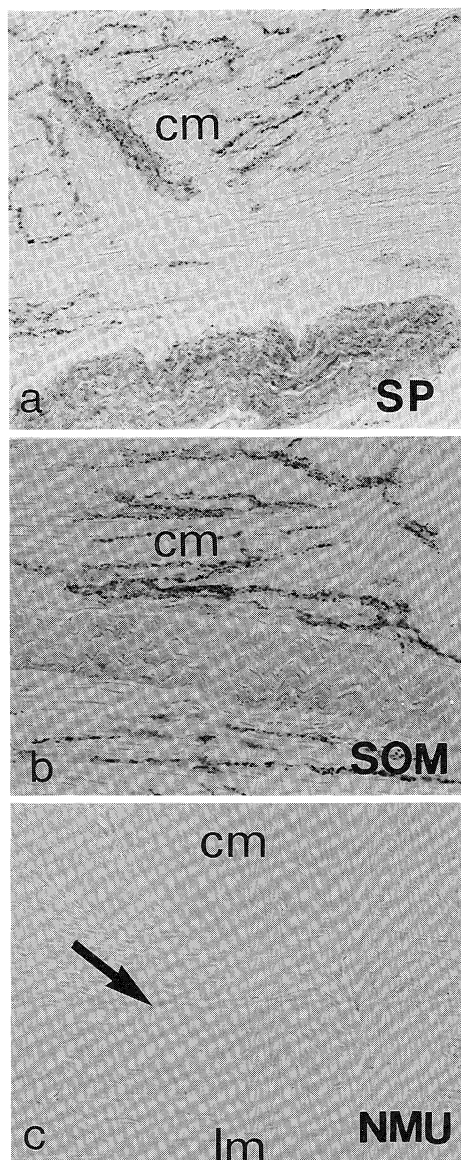


図2a-c. 無神経節部。

- 内輪筋層における屈曲蛇行、分枝する外来性の SP 陽性神経。肥大神経線維束内にも SP が証明される。
- 内輪筋層における外来性の SOM 陽性神経。
- 無神経節部においては、NMU-8 の免疫活性は完全に陰性であった。矢印は肥大神経線維束。  
(1 pm: 粘膜下層, cm: 内輪筋層, lm: 外縦筋層)

た(図1d)。この他、VIP及びSPは正常神経節部においては、腸管の全層にわたり広範に分布していた。

無神経節部：無神経節部遠位側の内輪筋層において、外来性のSP陽性神経は屈曲蛇行を呈し、太い神経線維束として認められた。肥大神経線維束内にもSPの免疫活性が見られた(図2a)。同様に、SOM陽性の外来性神経束も無神経節部遠位側の筋層に密に分布していた(図2b)。NMU-8は無神経節部においては、血管周囲の神経線維を含め全ての腸管内の神経に陰性であった(図2c)。

### 考察及び結論

粘膜下神経叢の一部の神経節細胞において、NMU-8はSOMと共存する可能性が示唆されたが、この意義については今後の検討が望まれる。NMU-8がS状結腸に比べ空腸により広範な分布を呈することから、NMU-8が消化吸収に関与している可能性が示唆される。NMU-8が腸管神経系においていかなる生理作用を持つ

か不明であるが、既知の神経ペプチドのいずれもH病腸管における内因性神経と外来性神経の両者に証明されるのに対し(川名ら, 1987), NMU-8は外来性神経には含まれず内因性神経にのみ特異的に局在する点で非常に興味深い神経ペプチドである。

### 文 献

- Honzawa, M. (1987). Topographic localization of neuromedin U-like structures in the rat brain: A immunohistochemical study. *Neuroscience* 23: 1103-1122.
- 寒川賢治(1986). ニューロメジン-脳, 脊髄に存在する新しい神経ペプチドー 代謝 23: 41-53.
- 川名隆司(1987). Hirschsprung病腸管におけるペプチド含有神経に関する免疫組織化学的研究. 日小外会誌 23: 372.
- Minamino, N. (1985). Neuromedin U-8 and U-25: Novel uterus stimulating and hypertensive peptides identified in porcine spinal cord. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 130: 1078-1085

## ヒルシュスプルング病の直腸肛門運動の新しい内圧的観察法

福岡市立こども病院外科

長 崎 彰, 住 友 健 三, 窪 田 正 幸  
生 野 猛

直腸を拡張すると肛門が弛緩し肛門内圧が下降する直腸肛門反射がヒルシュスプルング病では欠除しており、この現象がヒルシュスプルング病の診断法として利用されてきた。しかしヒルシュスプルング病でもときに直腸拡張に対して肛門管内圧が下降を示し、診断に迷うことがある(Meunier et al., 1978)。直腸肛門反射以外にヒルシュスプルング病に特徴的な内圧所見があると診断はより容易になる。Read(1984)は成人で直腸に生理食塩水を注入しつつ直腸肛門内圧を測定し、便秘患者に特徴的な所見を見出している。我々はこの方法を小児の2,3の疾

患に応用し報告してきた(長崎他, 1988)が、今回ヒルシュスプルング病の症例も少し集まったので、本検査法によるヒルシュスプルング病の特徴を検討してみた。

症例はヒルシュスプルング病8例(21日~4歳), 対照正常児13例(4ヶ月~8歳), および慢性便秘症25例(3歳~12歳)である。検査前浣腸で直腸を空虚にしておき、聞きわけのない児ではトリクロリールシロップおよびワコビタール坐薬の投与により鎮静を行った。被検児を仰臥位または右側臥位とし、通常の方法で直腸肛門の静止圧および直腸肛門反射を測定した

あと、12 Fr の 3 ルーメンチューブを直腸内に挿入し、第 1 のチューブで肛門内圧を、第 2 のチューブで直腸内圧を測定し、第 3 のチューブより 37°C に暖めた生理食塩水を 20~30 ml/min の速さで直腸内に注入した。注入量は肛門より生食がもれるまでとしたが、500 ml を限度とした。

正常児では全例、生食の注入後 3 分以内に肛門管静止圧が低下した (平均 31.5 cmH<sub>2</sub>O)。その後直腸と同様の波型を示したものの 6 例、本来の肛門波型と余り変らなかったものの 6 例で、大きな収縮波を示したのは 1 例のみであった。直腸の静止圧は生食注入により 2~4 cmH<sub>2</sub>O 上昇したが波型は変化なかった (図 1)。意識下に検査を行った 8 例中 7 例で便意が出現したが直腸圧は 6 例で、肛門圧は全例で上昇した。生食の肛門からのもれが見られるときの直腸肛門の圧変化はさまざまで一定の傾向はなかった。

ヒルシュスプルング病では生食注入後肛門内

圧が 10 分以後に下降したのが 3 例 (平均 15 cmH<sub>2</sub>O) で、3 例では全く下降せず。2 例では逆に上昇した (平均 20 cmH<sub>2</sub>O)。波型は全例生食注入前と変りなかった (図 2)。直腸では 3 例に収縮波が見られた。意識下に検査を行った 1 例では 500 ml 注入まで便意も発現せず、肛門から生食のもれもなかった。

慢性便秘症では生食注入後 3 分以内に肛門静止圧が下降したのは 2 例 (平均 36.5 cmH<sub>2</sub>O)、10 分以後に下降したのが 10 例 (平均 30.1 cmH<sub>2</sub>O)、全く下降しなかったのが 11 例、上昇したのが 2 例 (平均 22.5 cmH<sub>2</sub>O) であった。その後の波型は大きな収縮または弛緩を認めたのが 16 例、生食注入前と変りなかったのが 7 例、直腸と同じ波型を示したのが 2 例であった。意識下に検査を行った 15 例中 5 例に便意が出現したがこのとき全例で直腸圧が上昇したが、肛門圧が上昇したのは 2 例で、他の 2 例では下降し、1 例では変化しなかった。

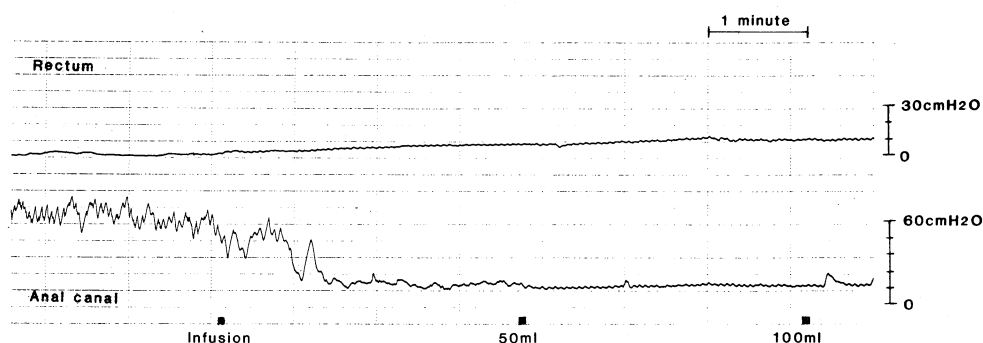


図 1.

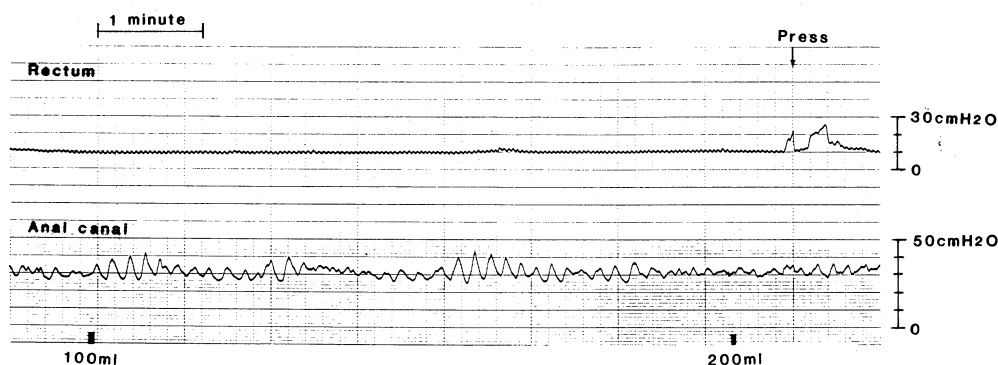


図 2.

以上のようにヒルシュスプルング病では直腸への持続的な刺激に対して肛門はほとんど変化を示さなかったが、これは壁内神経の欠除により直腸が受けた刺激が肛門へ伝達されないため、直腸肛門反射の欠除と同じ意義を有する。また直腸では正常児では見られない大きな収縮波を認めることがあったが、これは慢性便秘症同様末梢側の通過障害に対する口側腸管の興奮と考えられる。しかし肛門圧の下降を併わない点で慢性便秘症とは異っていた。このような特徴はヒルシュスプルング病の内圧診断に補助的役割を果たすものと期待される。

## 文 献

- Meunier, P., et al. (1978). Accuracy of the manometric diagnosis of Hirschsprung's disease J. Pediatr. Surg. 13: 411-415
- 長崎 彰, 他(1988). 生理食塩水直腸内注入法による特発性便秘症の内圧学的特徴. 日小外会誌 24: 427
- Read, N.W., et al. (1984). Differences in anal function in patients with incontinence to solids and in patients with incontinence to liquids. Br. J. Surg. 71: 39-42

## 内肛門括約筋機能不全に対する腸管平滑筋反転重積法の意義に関する実験的研究

金沢医科大学小児外科

南 部 澄, 伊 川 廣 道, 中 村 紘一郎  
梶 本 照 穂

石川県立中央病院小児外科

大 浜 和 憲

安静時の肛門管昇圧帯を維持する上で、内肛門括約筋（以下 IAS）は最も重要であり、昇圧帯の圧では 65%、長さでは 60%、面積は 55% を占めていることを昨年の本学会で報告した。これは、高位鎖肛症例の術後排便機能障害には適切な内肛門括約筋機能賦与術が必要であることを示唆するものである。著者らは、昇圧帯を形成する目的から Holschneider (1981) の方法に準じた腸管平滑筋反転重積術（以下重積術）の臨床応用の可能性について検討するため、以下の動物実験を行った。

### 実験方法

体重 7.5 kg から 13.5 kg ( $9.9 \pm 1.9$  kg) の雑種成犬 20 頭を用い、正常群 10 頭、IAS 切除群 5 頭、IAS 切除後、直腸粘膜を去皮し 2 層の腸管平滑筋を反転重積した重積群 5 頭の 3 群に分けて検討した。

この 3 群について、術後 24 週まで定期的に直腸肛門内圧検査（直腸肛門管静止圧曲線、直腸肛門反射）、筋電図検査（内・外肛門括約筋、直腸平滑筋、術後昇圧帯部平滑筋）を施行した。測定の方法、条件の詳細は論文（南部ら、1987）を参照されたい。なお、筋電図検査は、平滑筋には棘間 2 mm の双極型針電極を用い、時定数 0.1 秒、紙送り速度 2.5 mm/秒、30 Hz フィルターで、外肛門括約筋（以下 EAS）は、針電極を刺入し、時定数 0.03 秒、100 Hz フィルターを使用した。鎮静の維持はサイアミラールナトリウム 2.5 mg/kg を付加静注して行った。結果（図 1, 図 2）

正常群：直腸静止圧 (Pr)  $7.9 \pm 3.4$  cmH<sub>2</sub>O, 肛門管静止圧 (Pac)  $58.6 \pm 16.4$  cmH<sub>2</sub>O, 肛門管長 (L)  $1.6 \pm 0.4$  cm, 肛門管律動波 (F)  $37.2 \pm 7.3$  c/min. 直腸肛門反射 (RAR) は伸展刺激後 0.8 秒から 3.2 秒（平均 1.4 秒）の time lag を有す

内 圧 対 象	直腸静止圧 (Pr) cmH <sub>2</sub> O	肛門管静止圧 (Pac) cmH <sub>2</sub> O	肛門管長 (L) cm	肛門管律動波 (F) c/min	直腸肛門反射 (RAR)	肛門管内圧の 圧下降現象
正常群 (n=10)	7.9±3.4	58.6±16.4	1.6±0.4	37.2±7.3	10/10	
切除群 (n=5) 術後 24 周	7.2±2.5	25.5± 4.6	0.7±0.1	18.4±3.6	0/5	2/5 (40%)
重積群 (n=5) 術後 24 周	12.0±2.7	61.2±10.4	1.2±0.2	23.4±7.1	0/5	5/5 (100%)

図 1-a. 直腸肛門内圧値 (切除群, 重積群は術後 24 週時点の値を示す)

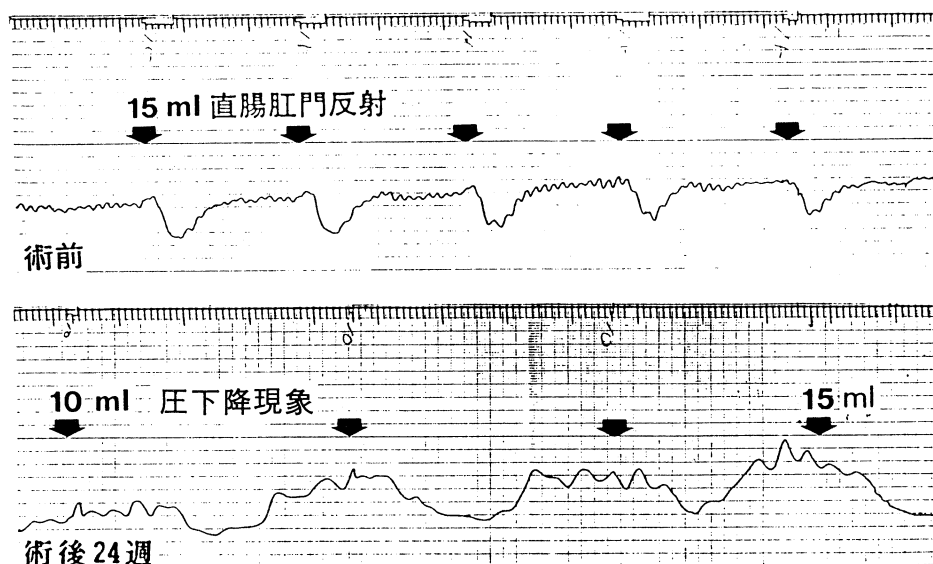


図 1-b. 直腸肛門反射 (術前), 肛門管内の圧下降現象 (術後 24 週)

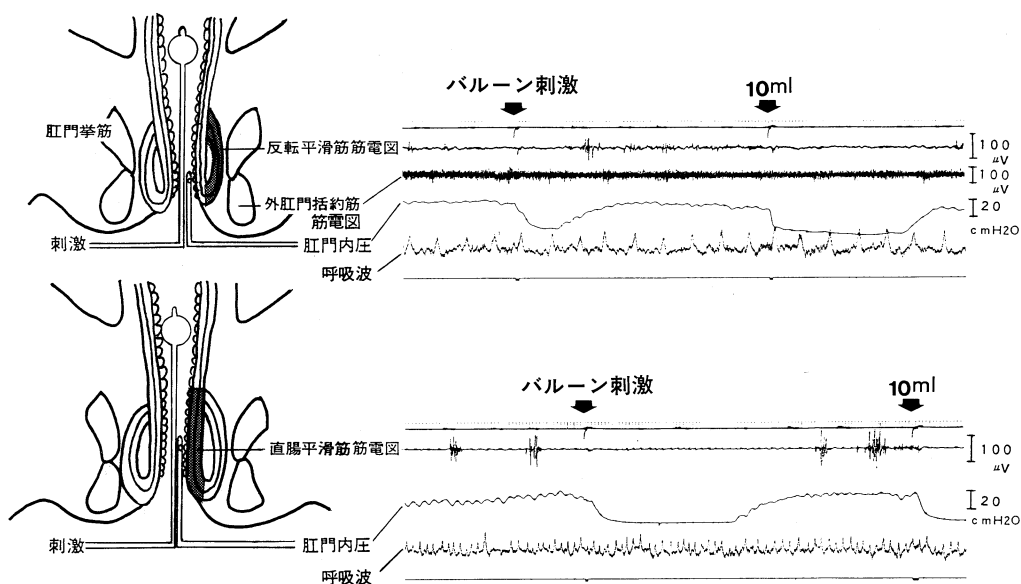


図 2. 重積群 (術後 24 週) バルーン伸展刺激時の昇圧部平滑筋筋電図, 肛門管内圧波形

る定型的反射が出現した。筋電図上、IAS から  $34.3 \pm 5.2$  c/min の頻度で、 $31.6 \pm 7.9 \sim 95.9 \pm 24.6 \mu\text{V}$  の振幅をもつノロスパイクが観察された。このノロスパイクは麻酔深度と良く相関し、Pac が低下すると不明瞭となり、上昇すると明瞭となった。RAR 出現時、ノロスパイクは消失した。EAS は安静時  $79.8 \pm 41.7 \mu\text{V}$  の振幅をもつ棘波が持続して導出され、RAR 出現には多くの場合棘波が制止性に減少していた。

切除群：術後 24 週の時点で、Pac  $25.3 \pm 4.6$  cmH<sub>2</sub>O, F  $18.4 \pm 3.6$  c/min と正常群に比べ有意に減少 ( $P < 0.01$ ) し、L は  $0.7 \pm 0.1$  cm と有意に短縮 ( $P < 0.001$ ) していた。RAR は全例認められないが、2 頭 (40%) に、0.2 秒から 20.4 秒と一定しない time lag で、圧下降時間が延長した肛門管内圧の圧下降現象が出現した。

重積群：術後 24 週の時点で、肛門管長が正常群と比較して若干短縮しているものの、ほぼ正常と近似した昇圧帯が形成されていた。RAR は認められないが、伸展刺激に対し、0.2 秒から 13.4 秒の time lag で、下降時間の延長した肛門管内圧の圧下降現象が全例に観察された。筋電図上、この昇圧帯部では術前に観察された IAS 由来のノロスパイクは導出されず、直腸平滑筋で観察された spike burst 波形が導出された。伸展刺激による内圧波形上の圧下降現象と一致して、昇圧帯部平滑筋からの spike burst が抑制され、圧波形が回復した時期に一致して再び spike burst が出現することが観察された (図 2)。

## 考 察

肛門括約筋不全に対する外科的治療は、昇圧帯を形成することを主眼において行なわれてきた (Kottmeier, 1967. Hakelius, 1978)。著者らの方法は、昇圧帯の形成とともに、非定型的ではあるが伸展刺激に対して肛門管内圧の圧下降現象が認められた。この圧下降は、本来の内肛門括約筋弛緩運動である直腸肛門反射とは異なるものであり、筋電図波形からは直腸縦走筋が関与する腸内反射を観察している可能性が示唆された。高位鎖肛術後の肛門括約全に対する本術式の効果は、特に内肛門括約筋機能賦与術式として昇圧帯を形成することに加え、排便運動における機能面からの有効性が示唆された。

## 文 献

- Hakelius, L., Gierup, J., Grotte, G. (1978). A new treatment of anal incontinence in children. free autogenous muscle transplantation. J. Pediatr. Surg., 13 : 77~82.
- Holschneider, A.M., Hecker, W.C. (1981). Reverse smooth muscle plasty a new method of treating anorectal incontinence in infants with high anal rectal atresia. J. Pediatr. Surg., 16 : 917~920.
- Kottmeier, P.K., Dziadiw, R. (1967). The complete release of the levator ani sling in fecal incontinence. J. Pediatr. Surg., 2 : 111~117.
- 南部 澄, 伊川廣道, 中村紘一郎, 梶本照穂, 大浜和憲 (1987). 内外肛門括約筋の肛門管昇圧帯構成に占める割合および昇圧帯形成に対する腸管平滑筋反転移植の意義に関する実験的検討。日本平滑筋誌, 23 : 315~318.

## 有茎移植付加人工肛門造設術の試み

富山医科薬科大学第2外科

新井英樹, 坂本隆, 竹森繁  
山下 敏, 山本克弥, 勝山新弥  
鈴木康将, 笠木徳三, 吉田真佐人  
永瀬敏明, 田近貞克, 田沢賢次  
藤巻雅夫

## はじめに

5年前より我々は、遊離腸管平滑筋を移植付加した人工肛門造設術を施行し報告してきた。排便状況、ストーマ管理、内圧、注腸、組織変化などから、一部には洗腸療法を加えているもののほぼ満足した結果を得ていた。しかし最近長期例において、移植漿筋層のしめつけが弱くなり萎縮ではないかと思われる症例を経験したため、縫着した漿筋層が長く生着し機能するにはどうすべきか、その可能性を求め、有茎移植を試みた。今回は動物実験と、3例に臨床応用したのでその結果について報告する。

## 方 法

10 kg 前後の雑種成犬5頭を使用した。図1の様に、下行結腸で結腸を切断し、その口側3

cmの結腸は移植する平滑筋として、結腸間膜の血管を温存し切除する。結腸間膜対側の漿筋層に縦に切開を入れ粘膜除去を行なった。止血にはボスミンガーゼを用いた。得られた漿筋層片を抗生物質溶解液でよく洗浄した後充分引きのばし、人工肛門開口部口側の結腸脚に、漿筋層を長軸方向に重ね合わせる様にさらにオーバーラップして縫着し結腸ストーマを作製した。人工肛門造設部位は、5頭とも下行結腸を使用し左側腹部とした。2ヶ月目と3ヶ月目に内圧測定を施行し、3ヶ月目で再開腹し、漿筋層の血流を測定し、平滑筋をまきつけた結腸をとり出し、in vitro にて筋電図と収縮曲線を記録し、組織標本を作製した。

## 結 果

1頭は2ヶ月で死亡したため、4頭について検

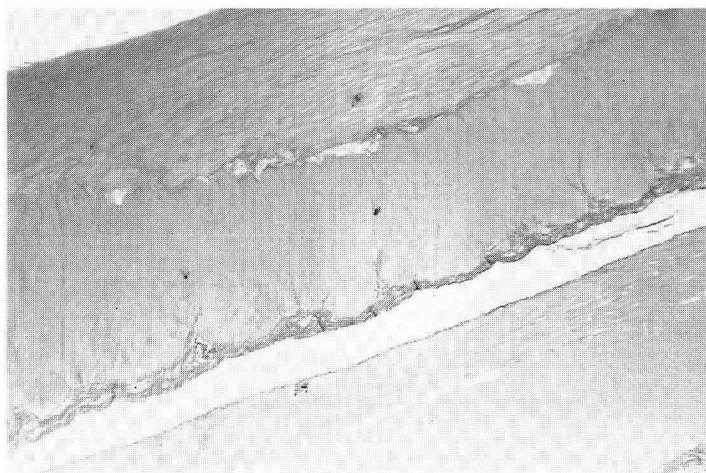


図1. 有茎移植, 犬, Azam 染色×10 下が移植平滑筋

索した。内圧測定は open tip 法と Balloon 法を用いた。open tip 法では明瞭な圧変化は認められなかったが、Balloon 法で4頭中3頭に移植部に一致した部分に昇圧帯を認めた。再開腹すると、4頭のうち3頭は移植部は肉眼的に収縮している状態で、その口側は拡張していた。瘢痕を思わせる所見はなかった。血流測定は、ケタールとGO全身麻酔下に測定した。UHメーター関電極を正常結腸筋層と移植平滑筋筋層に刺入固定し、基線が安定するまで待って水素を吸入せしめ、水素ガスクリアランスカーブを記録し、半減期を求め、血流量を算出した。平均して正常結腸筋層の65%~75%で、遊離移植した漿筋層より多い値であった。次に移植平滑筋の漿筋層片を作製し、Krebs液を灌流した標本槽にて、6時間にわたって筋電図と収縮曲線を記録した。電極は先端5~10 $\mu$ の自作のガラス吸引電極を使用した。約2分に1回の大収縮波が見られた。定常荷重1gで650mgの比較的規則正しい収縮で収縮に少し先行し約100mVの集合活動電位が認められた。これは正常結腸筋層のそれに近い動きであった。組織学的検索では、極く少組織量のfibrosisを示すもののほぼ正常に近く、Auerbach神経叢も保たれていた。肉芽形成はなかった。以上の実験後、実際3例の臨床例に応用した。移植片は同様の方法で、約10cmの結腸片を用いて作製した。1例は下行結腸に、他2例は横行結腸に造設した。施行後数ヶ月たった時点での排便状況は、1例は洗腸にて1日1回他2例は自然排便で1日1回

から2回であった。内圧検査では昇圧帯を認め移植部で規則正しい収縮が見られた。注腸検査でも、移植部の口側でバリウムが貯留し流出が抑制される傾向にあった。2例目は5ヶ月で死亡し剖検を行なった。組織検索では、正常漿筋層と変わらない厚さで残存し、組織反応がほとんどなく、軽度のfibrosisのみで肉芽形成もなかった。以上より臨床応用でも充分有用であると考えられた。

## 結 語

有茎平滑筋移植を付加した人工肛門は遊離平滑筋移植と比べ平滑筋の機能、形態は良好に保たれると考えられた。実験犬の1例に形態、機能とも保たれていたものの持続収縮がなく、有茎移植の場合「いかにdenervationするか」が今後の課題と思われた。

## 文 献

- 新井英樹ら(1985). 持続的排出の抑制を期待した人工肛門造設術—遊離腸管平滑筋移植付加工肛門造設術—日本平滑筋誌 21: 238-239.
- 新井英樹ら(1986). 遊離腸管平滑筋移植付加工肛門造設術 第2報: 1剖検例における移植平滑筋の組織学的変化について 日本平滑筋誌 22: 228-230.
- 新井英樹ら(1987). 遊離腸管平滑筋移植を付加した人工肛門造設術の実験的検討 日本平滑筋誌 23: 290-292.
- 岡本英三(1986). ヒルシュスプルング病と運動異常. Therapeutic Research 5: 1009-1021.

## 直腸伸展刺激と肛門管基礎律動収縮波の抑制

三重大学医学部第2外科

天 野 信 一, 塚 本 能 英, 鈴 木 宏 志

私たちはこれまで正常小児にみられる直腸肛門反射が直腸伸展刺激に対する肛門管基礎律動収縮波(BRC)の抑制を伴う肛門管内圧の下降であり、ヒルシュスプルング病患児ではBRC

の抑制を認めないことが診断の根拠となることを報告してきた。

今回、直腸肛門反射における直腸伸展刺激量と肛門管基礎律動収縮波が抑制されている時間

(BRC 抑制時間)との関係を検討することにより, BRC 抑制時間がヒルシュスプルング病患儿における BRC の無抑制と同様に, 内肛門括約筋の機能異常の評価に有用と思われるので報告する。

### 対象と方法

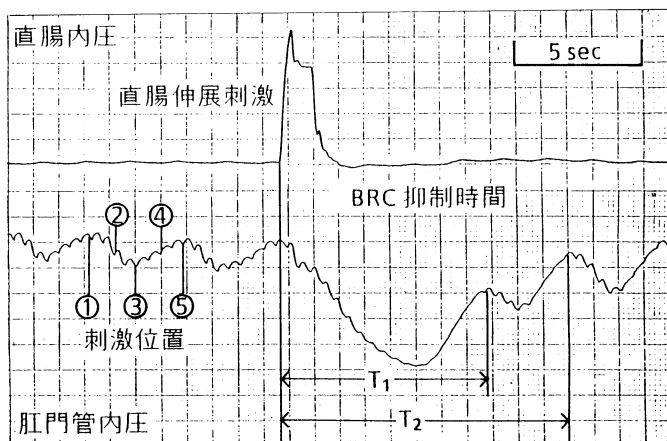
生後 3 ヶ月から 1 歳 6 ヶ月の特発性慢性便秘患儿 10 例を対象とし, トリクロロールシロップ (1.5 ml/kg) を用いて鎮静をはかり, 検査を行った。

直腸肛門内圧検査はこれまで教室で用いて来た constant infused-open tip 法により行った。直腸伸展刺激は大気圧下, 容量 30 ml のラテックスバルーンを用いて 2.5 ml ずつ増量する一過性の直腸伸展刺激にて行い, 刺激時の直腸バ

ルーンの容量およびその時の最高内圧を直腸伸展刺激量として検討した。

研究を進める上で, 直腸肛門反射における直腸伸展刺激の BRC 位相への影響, および BRC 抑制時間への影響をみるために, 直腸伸展刺激を表 1 上段のように, BRC の上昇相最上部 (1), 下降相中間部 (2), 下降相最下部 (3), 上昇相中間部 (4), 上昇相最上部復帰部 (5) の 5 点で行った。

なお, 私たちは第 28 回本学会において, 直腸肛門反射における BRC の抑制は, 長くとも BRC 再出現の第 1 波, 第 2 波までであることを報告していることから, BRC 抑制時間を検討するには直腸伸展刺激からそれぞれの波型までの時間, T1 (BRC 抑制時間), T2 を調べれば十分と考えた。



症例	刺激量 (ml)	T 1 (sec)						T 2 (sec)					
		①	②	③	④	⑤	M ± SD	①	②	③	④	⑤	M ± SD
1	10	9.5	10	10	9.5	9.5	9.7 ± 0.3	14	14.5	14	13.5	14	14.0 ± 0.4
2	17.5	12	12.5	13	13	13	12.7 ± 0.4	18	19	19.5	20	19	19.1 ± 0.7
3	12.5	10	10	10	9	9.5	9.7 ± 0.4	14	14	14.5	13.5	14	14.0 ± 0.4
4	10	10	10	10.5	11	10	10.3 ± 0.4	14	15.5	15.5	16	15	15.2 ± 0.8
5	10	11.5	11.5	11.5	10.5	11.5	11.3 ± 0.4	17.5	16.5	17.5	17.5	17.5	17.3 ± 0.4
6	7.5	10.5	11	11	10	12.5	11.0 ± 0.9	15.5	17	16.5	14	16.5	15.9 ± 1.2
7	7.5	18	17.5	17.5	18	17.5	17.7 ± 0.3	23	23	23	23	23.5	23.1 ± 0.2
8	5	11	10.5	11	10.5	11.5	10.9 ± 0.4	15.5	15.5	15.5	15.5	16	15.6 ± 0.2
9	15	9.5	10	10	9.5	10	9.8 ± 0.3	13.5	13.5	13	13.5	13.5	13.4 ± 0.2
10	15	11	10.5	11	10.5	11	10.8 ± 0.3	16.5	16	16.5	16	17	16.4 ± 0.4

表 1. 直腸肛門反射における直腸伸展刺激位置と肛門管基礎律動収縮波(BRC)抑制時間の測定方法(上段)および直腸伸展刺激と BRC 抑制時間 (T1, T2) の成績 (下段) を示す

## 結 果

1. 直腸伸展刺激と BRC 抑制時間: 対象とした 10 例の直腸伸展刺激量, BRC 各位相の刺激位置 (1) (2) (3) (4) (5) および BRC 抑制時間 T1, T2 のそれぞれの値およびそれぞれの症例の刺激量毎の平均および標準偏差の値を表 1 下段に示す. T1, T2 の値は直腸伸展刺激の位置 (1) (2) (3) (4) (5) の位相によらず, ばらつきも少なく, 直腸伸展刺激量が一定であれば一定の値を示した.

この結果から BRC 抑制時間は直腸伸展刺激量が一定であれば BRC 位相にかかわらず一定であり反射の反応量と評価でき, 直腸肛門反射, 内肛門括約筋機能評価の指標となると考えられ, BRC 抑制時間と直腸伸展刺激量(容量, 圧)との関係を検討した.

2. 直腸伸展刺激量と BRC 抑制時間: BRC

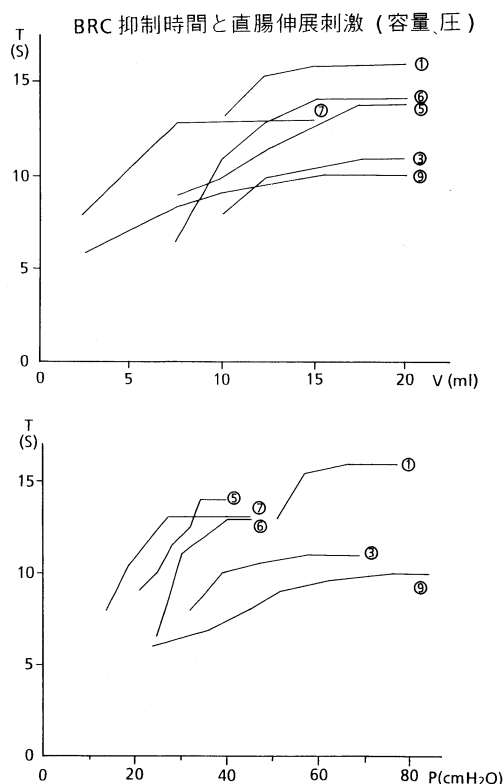


図 1. BRC 抑制時間 (T1) と直腸伸展刺激容量 (Vml) (上段) および直腸伸展刺激最高 (Pcm H<sub>2</sub>O) (下段) との関係を示す

抑制時間 (T1) と直腸伸展刺激容量 (V ml) との関係を 1 図上段に, 直腸伸展刺激最高圧 (P cmH<sub>2</sub>O) との関係を 1 図下段に示すが, いずれの場合も BRC 抑制時間はある刺激量まではその強さ, 量に依存して延長するが, 刺激量がそれ以上になると飽和し, 一定の値となり, 症例により固有の値に収束することが知られた.

## 考 察

肛門管の律動的な収縮運動は Lawson らにより内圧の観察, 記録が, Wankling らにより活動電位が初めて観察, 記録されているが, 肛門管内圧の律動的变化, 肛門管基礎律動収縮波のもつ臨床的意義は明らかではない. また, ヒルシュスプルング病では直腸肛門反射が欠如することが Lawson ら, Howard らにより報告されているが, 直腸肛門反射と肛門管基礎律動収縮波との関係を定量的に評価したものは調べた範囲ではこれまで認められない.

私たちは直腸肛門反射において肛門管基礎律動収縮波抑制時間の簡明な評価方法を考案し, 直腸伸展刺激量が一定であれば肛門管基礎律動収縮波の位相に関係なく一定であり, ある刺激量までは容量依存性に増加するが, それ以上では飽和し, 一定の値に収束し, しかも症例固有の値を示すことを明らかにし得た.

## 結 語

直腸肛門反射において肛門管基礎律動収縮波の抑制時間を評価することは, ヒルシュスプルング病において肛門管基礎律動収縮波の無抑制 (内肛門括約筋アカラシア) が診断根拠となると同様に, 内肛門括約筋の機能異常の評価を行い得る可能性が示唆された.

## 文 献

- 天野信一, 他 (1985) ヒルシュスプルング病における人工肛門造設前後の直腸肛門内圧検査の成績および直腸肛門反射陽性例の検討. 日本平滑筋誌 21: 233-236.
- 天野信一, 他 (1986). 直腸肛門反射陽性の判定—肛門管基礎律動収縮波の抑制—日本平滑筋誌 22:

225-227.

Howard, E.R., et al. (1968). Internal anal sphincter: observation on development and mechanism of inhibitory responses in premature infant and children with Hirschsprung's disease. Arch. Dis. Childh., 43: 569-578.

Lawson, J.O.N., et al. (1967). Anal canal pressures in the diagnosis of Hirschsprung's disease. J. Pediatr. Surg., 2: 544-552.

Wankling, W.J., et al. (1968). Basal electrical activity in the anal canal in man. Gut 9: 457-460.

## 意識下犬の自然排便機構に関する研究 —— strain gauge force transducer 法による自然 排便時結腸運動の記録 ——

兵庫医科大学第1外科

松 島 康 博, 岡 本 英 三, 豊 坂 昭 弘  
鈴 木 栄 太 郎, 能 勢 勝 義, 中 村 章 彦

兵庫医科大学共同研究室

大 滝 武, 植 田 延 生, 佐 藤 浩 治

### 緒 言

最近, Karaus と Sarna (1987) は意識下犬の誘発排便時の結腸運動を strain gauge force transducer 法によって観察し, その結果, 排便に先立って上部結腸に起こった giant migrating contraction (以下 GMC と省す) と呼ぶ強収縮が下部結腸に伝播到達したとき排便が起こると報告した. 今回我々は犬の自然排便機構について検討する目的で意識下における自然排便時の結腸運動を strain gauge force transducer によって記録し, さらに neostigmine, prostaglandin F<sub>2</sub> α, ヒマン油による誘発排便との比較を行った. その結果, 自然排便の際の結腸運動の特徴として Karaus らが報告した GMC のみならず, 彼らは言及しなかったが, GMC の初発に呼応して結腸下部では反射性弛緩が観察され, この弛緩が自然排便機構の今ひとつ重要な要素と考えられたので報告する.

### 実験方法

雑種成犬 6 頭を用いた. ネンブタール麻酔下

に正中開腹し, transducer (SG 1~SG 8) を回腸末端部 (SG 1), 結腸起始部 (SG 2), 腹膜翻転部直上結腸 (SG 8), および SG 2 と SG 8 の間を 6 等分する部位 (SG 3~SG 7) に輪状筋収縮が記録できる方向で縫着した. 食餌は 1 日 1 回, 一定時刻に与えた. また経過中各犬とも最低 1 回, neostigmine (30 μg/kg 静注), prostaglandin F<sub>2</sub> 200 μg/kg, hr 静注), ヒマン油 (30 ml 経口) による誘発排便実験を追試した. 結腸運動の分析には術後 7 日目以後の記録を用いた.

### 結 果

意識下犬の結腸運動は食餌摂取を境に空腹期と食後期に分けられるが空腹期では 5~15 分間持続する tonic contraction に phasic contraction が superimpose した収縮波群が 5~70 分の interval をもって記録され, 食餌摂取によってこの収縮波群の発生頻度は増加, いわゆる gastrocolonic response (Snape ら, 1979; Wright ら, 1980; Wiley ら, 1988) と呼ばれる結腸運動の亢進が観察された (図 1-a). 自然排便は各犬で 1 日に 1~3 回観察され, その際には

前述の収縮波群とは収縮力において明らかに異なる強収縮, GMC が主に上部結腸に初発し下部へ伝播する一方, この GMC の初発に呼応して結腸下部では弛緩が起こっていた (図 1-a, b). GMC の収縮持続時間は平均 20.7 秒で, また伝播速度は平均 1.6 cm 1 秒であった. 結腸最下部での弛緩は GMC が結腸最下部に到達するまで持続し, 排便は正しくこの弛緩中に観察さ

れ, 結腸最下部に GMC が到達したときには排便はすでに終了しているのが常であった. GMC の初発部位についてまとめると, 上部結腸が 44.7%, 中部結腸が 39.4%, 下部結腸が 15.9% であった. しかし結腸下部での弛緩は GMC の初発部位に関係なく観察され, 弛緩の程度についても便の性状や量との間に関連性は見られなかった.

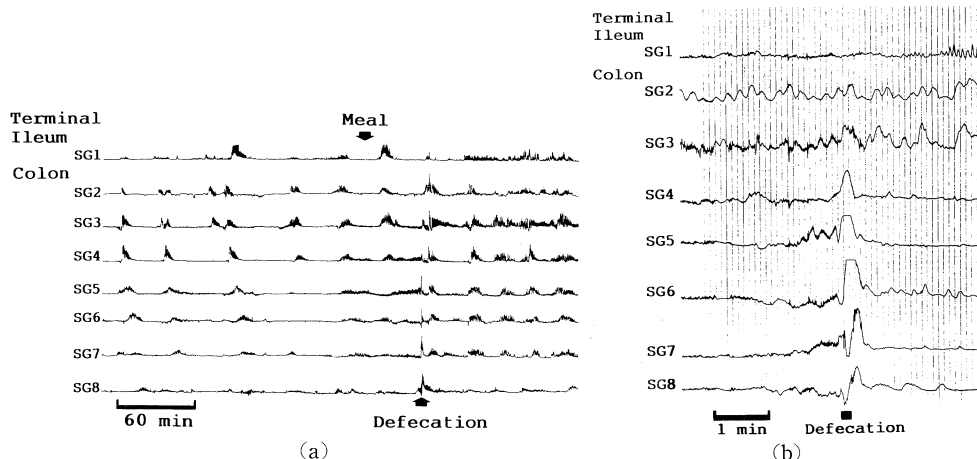


図 1. 空腹期および食後期の結腸運動と自然排便の際の GMC は主として上部結腸に初発し下部へ伝播する一方, GMC の起始に同期して結腸下部では弛緩が起こっており, 排便は結腸最下部の弛緩中に観察された (b).

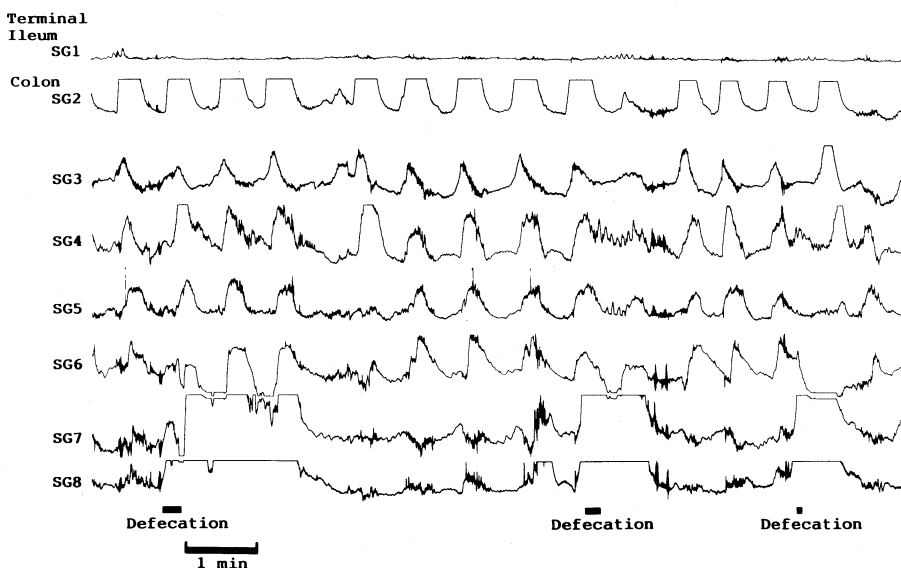


図 2. neostigmine ( $30 \mu\text{g}/\text{Kg}$  i.v.) による誘発排便. 上部結腸に GMC が群発しそれぞれ下部へ伝播していたが, 結腸下部では弛緩が起こらず, 便の排泄は結腸下部の収縮に一致していた.

次にヒマン油による誘発排便では自然排便と同様の結腸運動が記録された。しかし neostigmine と prostaglandin  $F_2\alpha$  ではほぼ同様の結果が得られ、neostigmine による誘発排便 (図 2) では、薬物投与後犬は急激に便意を示すと共に上部結腸に GMC が群発しそれぞれ肛門側に伝播していた。その伝播速度は平均 2.13 cm/秒と、自然排便より速い傾向にあったが、統計学的有意差は認められなかった。しかし排便は結腸最下部の収縮に一致して起こり、弛緩は見られなかった。すなわち自然排便とは結腸下部に弛緩が起こらなかったこと、便の排泄が結腸最下部の収縮に一致していた点で異なっていた。このことから、薬物の投与量の問題もあるが、これら薬物による誘発排便と自然排便とは根本的に異なった機序で起こることが示唆された。

## 結 語

意識下犬の自然排便機構の本態として、結腸

の GMC のみならず、この GMC の初発に呼応して起こる結腸下部での反射性弛緩が重要であると考えられた。

## 文 献

- Karaus M. and S.K.Sarna. (1987). Giant migrating contractions during defecation in the dog colon. *Gastroenterology* 92: 925-933.
- Snape W.J.Jr., et al. (1979). The gastrocolic response: evidence for a neural mechanism. *Gastroenterology* 77: 1235-1240.
- Wiley J., et al. (1988). Participation of gastric mechanoreceptors and intestinal chemoreceptors in the gastrocolonic response. *Gastroenterology* 95: 1144-1149.
- Wright S.H., et al. (1980). Effect of dietary components on gastrocolonic response. *Am.J. Physiol.* 238: G228-G232.

## 電気活動からみた、内肛門括約筋の生理的特徴に関する検討 (内肛門括約筋筋電図第 3 報)

慶応義塾大学医学部外科学教室

三本松 徹, 横 山 稔太郎, 田 村 哲 郎  
森 川 信 行, 星 野 健, 遠 藤 昌 夫  
勝 俣 慶 三

我々はこれまでヒトの内肛門括約筋筋電図を導出、記録しており、既に本学会誌に第 1 報 (1985), 第 2 報 (1986) を発表している。今回、犬を用い、内肛門括約筋の生理的特徴について検討し、新たな知見を得たので報告する。

## 対象および方法

動物実験には雑種成犬 12 匹を用いた。麻酔の比較検討のために種々の方法を試みたが、筋電図および肛門管内圧の測定方法はヒトの報告と同様の手法をとった。

## 結 果

1) 麻酔条件による筋電図の変化—犬を非動化するために静脈麻酔 (バルビツレート系, ケタミン) 或は吸入麻酔 (ハロセン) を用いたが、何れの麻酔方法でも投薬量が一定の閾値を越えると肛門管は完全に弛緩し、電気活動の導出は不可能となった。体動を止め、且つ内肛門括約筋を弛緩させない麻酔方法としてハロセン吸入麻酔とケタミン+チオペンタール麻酔が最も適切であった。筋弛緩薬 (バンクロニウム) 投与で肛門管内圧は一過性に下降したが、短時間で再

上昇し、その後の記録に影響を与えなかった。

2) 長時間記録による内圧、筋電図の変化—安定した麻酔が得られた場合には可能な限り長時間の記録を行った。記録中、筋電図の周波数はほぼ一定であったが、肛門管内圧の一過性の下降が観察された(図1)。また、内肛門括約筋の電気活動は10~20分の周期で活動—停止を繰り返しており、これに対応して肛門管内圧も上昇—平坦を繰り返した。

3) 内肛門括約筋口側と肛門側の2箇所と同時に筋電図を導出した。口側では肛門側より遅い周期の電気活動を呈したが、肛門管内圧律動波はさらに低周波数であった(図2)。

## 考 察

我々のヒト内肛門括約筋筋電図に関する報告(1985, 1986)では全身麻酔下に検査を施行したが、一部の被検者では電気活動が記録できなかった。これは、動物実験で示されたように内肛門括約筋の麻酔薬感受性が高いことが要因であると推定される。

肛門管内圧の変動は時に内肛門括約筋筋電図上の変化を伴わないで起こることがあるがこれは筋電図が単に2点間の電位差を記録しており内肛門括約筋の総体的な活動を表してはいないためと推定される。筋電図活動が周期的に停止して肛門管内圧がフラットになる現象は田村ら

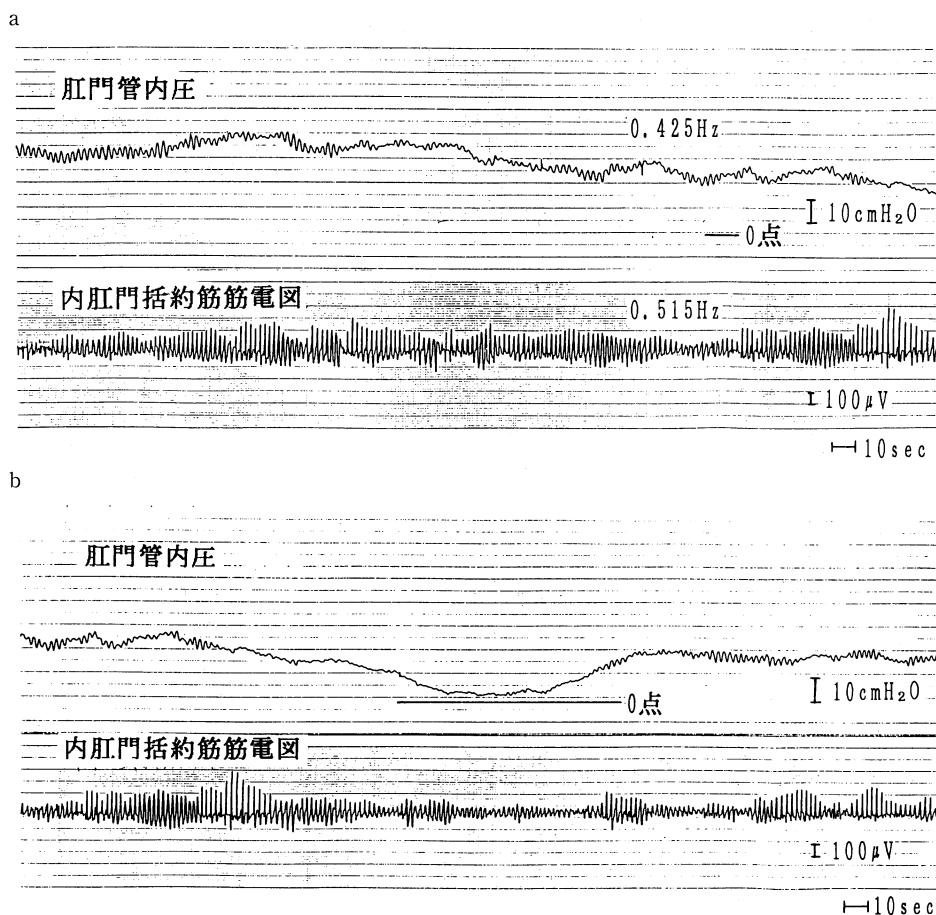


図1. 犬の肛門管内圧と内肛門括約筋筋電図。内圧律動波、筋電図ともにヒトより早い周期の活動を呈している(a)。肛門管内圧が一過性的の変動を示すことがあるが筋電図上周波数の変化はみられない(b)。

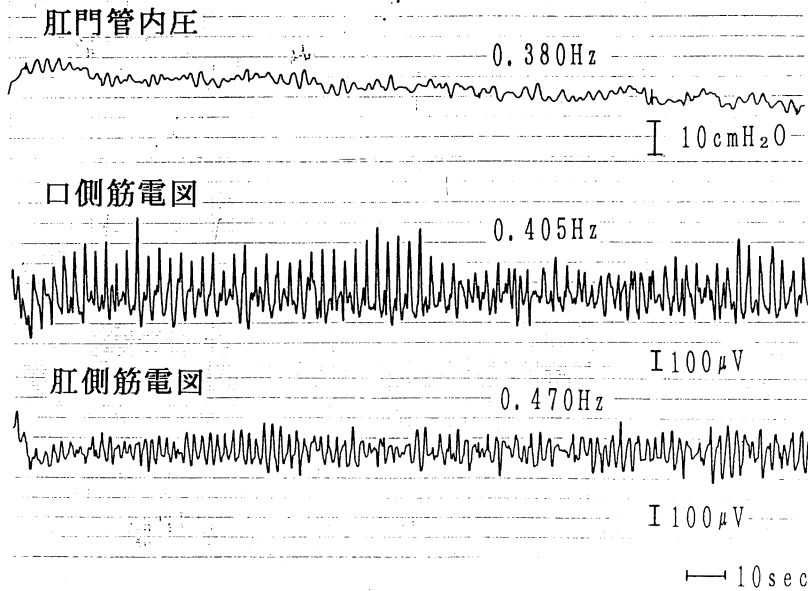


図2. 内肛門括約筋口側と肛門側（距離：7 mm）での筋電図同時記録。周波数は高い順に肛門側筋電図＞口側筋電図＞内圧律動波である。

(1985)の除脳下の実験でも観察されており，単に麻酔薬の影響とは考えられない。しかし，我々の実験条件下で観察された内肛門括約筋の周期的抑制が，無麻酔の生理的条件下でも起こっている現象か否かは今後に検討を要する。

内肛門括約筋の口側と肛側での電気活動の相違は，窪田ら（1986）の細胞内電極を用いた研究結果と一致する。我々が既に報告（1986）したとおり，肛門管内圧律動波と内肛門括約筋筋電図の周波数は近似するが一致しておらず，内肛門括約筋の部位による電気活動の差がその一因である可能性がある。しかし，律動波は口側の電気活動よりもさらに遅く，これだけでは充分説明しかねる一面がある。Huizinga ら（1985）は早い周期の電気活動では収縮の加重現象が起きて，筋電図と収縮が1対1で対応しないと報告したが，このような機序で内圧と筋電図の間に不一致が起こる可能性も否定できない。

## 結 語

犬を用いて内肛門括約筋筋電図導出を行い以

下の知見を得た。

- 1) 内肛門括約筋は麻酔薬感受性が高く，容易に弛緩反応を起こす。
- 2) 麻酔条件下の実験で，内肛門括約筋は周期的に抑制され，それに伴い内圧も平坦となる。
- 3) 内肛門括約筋肛側と肛門側では異なった周期の電気活動を呈する

## 文 献

- Huizinga, J.D. (1985). Electrophysiologic control of motility in the human colon. *Gastroenterology* 88: 500-511.
- 窪田正幸(1986). 犬内肛門括約筋平滑筋細胞の電気的膜性質と神経支配. *日本平滑筋誌* 22: 224-225.
- 三本松 徹(1985). 臨床例における内肛門括約筋筋電図の検討. *日本平滑筋誌* 21: 217-219.
- 三本松 徹(1986). 肛門管内圧変動と内肛門括約筋筋電図. *日本平滑筋誌* 22: 232-234.
- 田村謙二(1985). 肛門管壁における内括約筋と縦走筋の機能的相関に関する研究. *日本平滑筋誌* 22: 439-453.

## モルモット精管の神経刺激伝達物質とプロスタグランジンの働き

大阪府立大学農学部家畜薬理

岸 功, 佐伯 和子, 竹内 正吉

畑 文明, 矢ヶ崎 修

プロスタグランジン (PG) の役割が種々臓器の交感神経系でも調べられてきた。精管では PG がノルエピネフリン (NE) の遊離を抑制することが示唆された (Hedqvist ら)。その後モルモット精管では ATP と NE が下腹神経終末より Co-transmitter として遊離され, phasic 相と tonic 相から成る収縮を起すことが報告された (Meldrum ら)。今回モルモット精管の収縮反応での神経伝達物質の働きと PG の役割を検討した。

## 方 法

モルモットから下腹神経-精管標本を得た。標本を 37°C の Krebs Ringer を含む Organ Bath に装着した。下腹神経の電気刺激または外部から Organ Bath に薬物を適用することにより収縮反応を起した。節前線維または節後線維を刺激 (duration 0.1 msec, supramax. volt., 7 sec, 5~80 Hz) した。PG は 5 分間、遮断薬は 8 分間前処置した。張力を等尺性に記録した。

## 結 果

精管は下腹神経の節前、節後線維刺激により Hz 依存性に収縮し、80Hz で最高に達した。これらの収縮は TTX ( $1 \mu\text{M}$ ) で遮断された。節前線維刺激による収縮は  $\text{C}_6$  (0.5 mM) で遮断された。収縮の波形は刺激直後の速い立ち上がりの phasic 相とそれに続く持続性の tonic 相から成っていた。PGE<sub>2</sub> 前処置は phasic 相の立ち上がりを遅くし、tonic 相の収縮を高めた (図 1A) PGE<sub>1</sub> は E<sub>2</sub> と同等の効果を示したが F<sub>2</sub> $\alpha$  は弱かった。 $\alpha, \beta$ -methylene ATP 前処置により phasic 相が消失し、tonic 相のみとなった。PGE<sub>2</sub> はこの収縮には影響しなかった。一方、ブラゾシン前処置により phasic 相のみとなった。

PGE<sub>2</sub> はこの収縮の立ち上がりを遅くし、収縮を少し強めた (図 1A, 表 1)。一方、PGE<sub>2</sub> は外部から適用した NE, Ach による収縮には影響しなかった。しかし外部からの ATP による収縮を有意に増強した。50  $\mu\text{M}$  ATP による収縮、 $58.3 \pm 6.1 \text{ g/g}$  精管が PGE<sub>2</sub> 処置により  $104.4 \pm 9.0 \text{ g/g}$  精管 ( $n=8$ ) となった。栄養液中の  $\text{CaCl}_2$  を除き、高  $\text{K}^+$  (50 mM) 収縮が消失した条件下でもこの増強作用は部分的に残った。

TMB-8 により ATP による収縮は時間と共に減弱したが PGE<sub>2</sub> の収縮増強作用は認められた。SC-19220 (SC) は外部からの ATP による収縮および PG による ATP 収縮増強作用に効果を示さなかった。また下腹神経節後線維刺激による収縮にも影響しなかった。一方、下腹神経節前線維刺激による収縮を SC は著明に抑制した。抑制は phasic 相, tonic 相ほぼ同程度だった。濃度依存性、時間依存性が見られ作用の強さは標本間で著しい差があった。PGE<sub>2</sub> の立ち上がり遅延と tonic 相の収縮増強作用は SC 存在下でも同じ傾向が見られた (図 1B, 表 1)。

## 考 察

PGE<sub>2</sub> が下腹神経節前および節後線維刺激による収縮の立ち上がりを遅くしたこと、外部からの ATP, NE による収縮を遅らせなかったことから、PGE<sub>2</sub> が節後線維終末からの ATP 遊離を遅らせることが示唆された。一方外部からの NE や Ach による収縮に影響せず、ATP による収縮を増強したことは、PGE<sub>2</sub> が筋側で ATP による収縮を特異的に増強したことを示している。その作用として、 $\text{Ca}^{++}$  除去の結果と、細胞内貯蔵場所からの  $\text{Ca}^{++}$  動員を抑制するとされる TMB-8 の結果から細胞内の  $\text{Ca}$  動員機

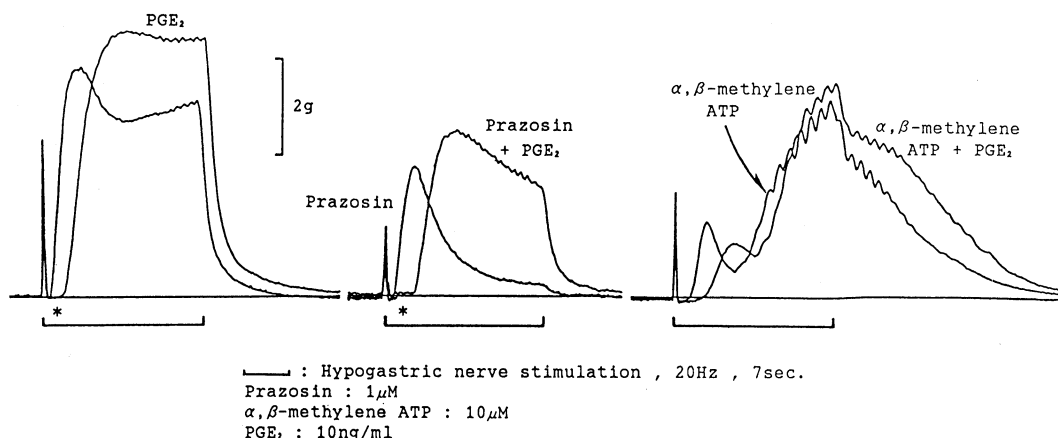


図1-A. モルモット下腹神経節前線維刺激による精管収縮とPGE<sub>2</sub>の影響. 最初の鋭いピークは神経刺激開始を示す artifact. \*はdelayを示す. (同じ傾向の結果が節後線維刺激によっても得られた: 本文参照)

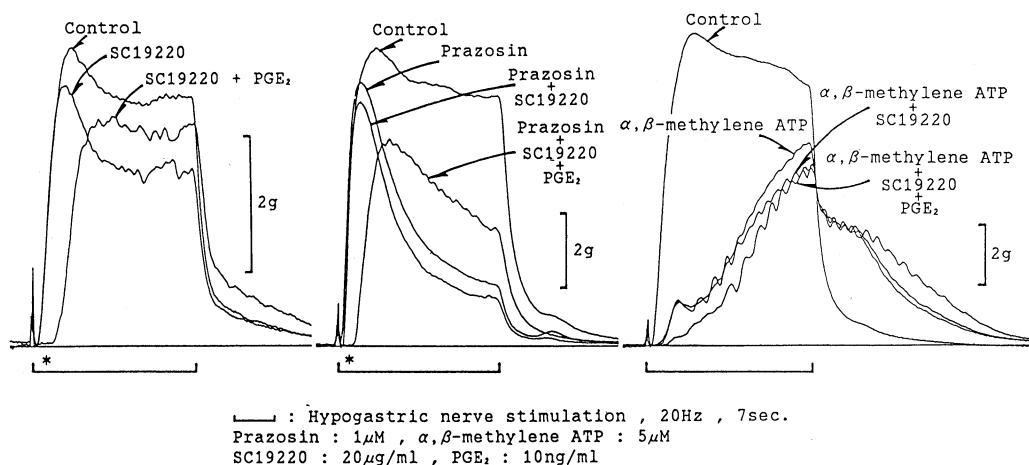


図1-B. 下腹神経節前線維刺激による精管収縮へのSC-19220とPGE<sub>2</sub>の影響

序への関連が示唆された. SCはPGE系の受容体遮断作用を持つとされている. 本実験では節前線維刺激時のみ作用が見られた. SCは節後線維終末, 筋側へは作用せず交感神経節に働いたと考えられる. このことはPGの作用機作の多様性を意味しているのかも知れない. 今回の結果はPGE<sub>2</sub>がモルモット精管でNEではなくATPによる神経伝達にプレとポスト接合部で関与していることを示している. 収縮波形へのPGの影響はKnollらの報告と一致しているが, TrachteはPGが収縮の両相を抑制した

表1. 精管収縮のPhasic相のPGE<sub>2</sub>によるdelay図1で見られたdelay(\*)をまとめたものである.

Delay (sec)	
PGE <sub>2</sub>	0.82 $\pm$ 0.16(5)
Prazosin+PGE <sub>2</sub>	0.97 $\pm$ 0.10(4)
SC19220+PGE <sub>2</sub>	0.70 $\pm$ 0.06(6)
Prazosin+SC19220+PGE <sub>2</sub>	0.91 $\pm$ 0.15(6)

Mean $\pm$ S.E., n=( )

と報告している。兎の精管、経壁刺激等が相違の理由と思われる。殊に副交感神経終末からも ATP が遊離され、かつ交感神経興奮との相互作用が黒川らにより指摘され、精管経壁刺激による結果の解析には注意を要すると思われる。

## 文 献

- Hedqvist, P. and Von Euler, U.S. (1972). Prostaglandin-induced neurotransmission failure in the field-stimulated, isolated vas deferens. *Neuropharmacol.* 11: 177-187.
- Knoll, J., Illés, P. and Torma, Z. (1975). The effect of PGE<sub>2</sub> on contraction delay and velocity of the field stimulated guinea-pig vas deferens. *Neuropharmacol.* 14: 317-324.
- Kurokawa, M. and Tsunoo, A. (1988). Purinergic excitatory and inhibitory actions of parasympathetic nerves on the guinea-pig vas deferens. *Jap. J. Pharmacol.* 46: 66p.
- Meldrum, L.A. and Burnstock, G. (1983). Evidence that ATP acts as a co-transmitter with noradrenaline in sympathetic nerves supplying the guinea-pig vas deferens. *Europ. J. Pharmacol.* 92: 161-163.
- Trachte, G.J. (1985). The influence of prostaglandins on neurotransmission in the rabbit isolated vas deferens. *Prostaglandins* 29: 47-59.

## 精管の電圧固定筋細胞の 2 価陽イオンの動向に対する DBcAMP の影響について

東北大学医学部応用生理学

猪 又 八 郎

## 緒 言

内臓平滑筋におけるアドレナリン  $\beta$  作動性弛緩反応機構について、従来 Ca イオン動態と cyclicAMP との関連性に主焦点をおき検討を加えた報告が数多くみられるが、筋膜過程、特にイオン電流を対象にした知見は少ない(結腸紐; Inomata, 1987)。

本実験ではモルモット精管平滑筋にみられる  $\beta$  受容体活性化による negative inotropic response について、筋膜に焦点をおき Ca チャネルに対する細胞内 cycli と AMP の調節機能の存在の可能性について検討するために精管の電圧クランプ筋標本の Ca および Ba 両イオン電流に対する dibutyryl cycli と AMP (DBcAMP と略す) の影響についてしらべ比較検討を加えた。

## 実験方法

体重 250-300 g の雄モルモットの精管縦走筋

を筋条片標本として用いた。多細胞電圧クランプ法は我々の既報 (Inomata ら, 1985) に従った。環境液として 2.5 mM Ca または Ba イオン含有の Krebs 液および Na free tetraethylammonium (TEA) 液を使用した。これら溶液の Node 領域の温度は約 32°C に保った。

使用した薬物は DBcAMP (第 1 製薬および Sigma 製) と  $\beta$  遮断剤として propranolol (日研化学製) であり、その適用濃度はそれぞれ  $1.5 \times 10^{-4}$  g/ml と  $1 \times 10^{-6}$  g/ml であった。

## 実験結果

1. 正常 Krebs 液電流クランプ下では、Ca 活動電位には DBcAMP により、静止電位に影響することなく、振幅、脱分極、再分極両相の上昇がみられ、薬物除去によりこの反応が一過性に増強した後、元の活動電位の形状に戻る。一方、電圧クランプ筋標本では、Ca イオン電流については、この逆転電位にいたるまでの脱分極領域の内向き電流は、DBcAMP 投与により増

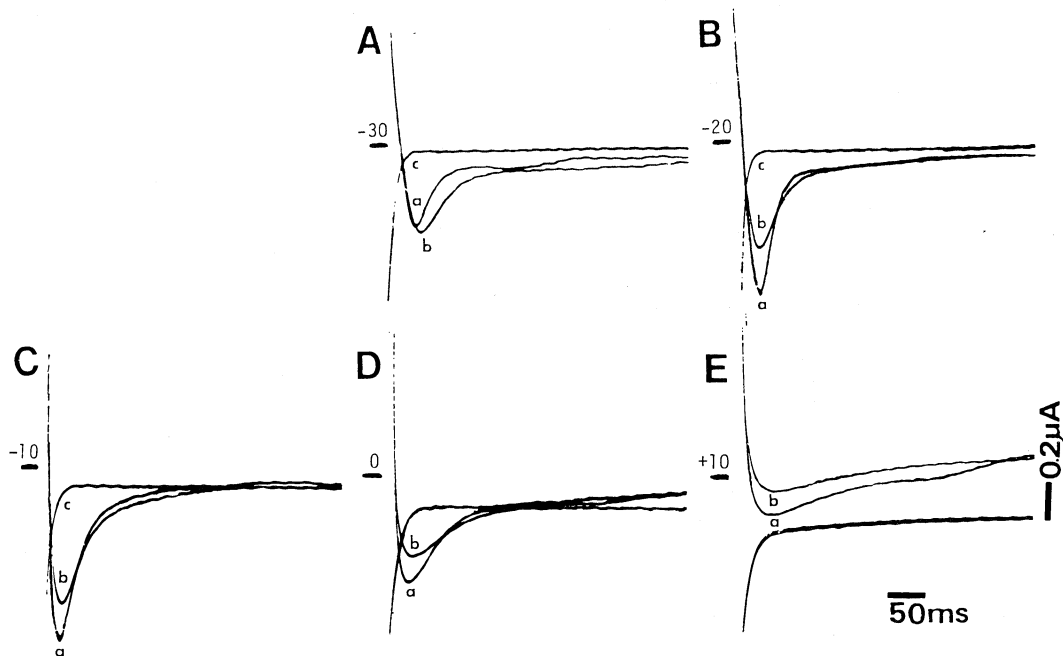


図1. Ba イオン電流に対する DBcAMP の影響, a, b トレースは DBcAMP 投与前後の膜イオン電流, A, B, C, D, E の電流ゼロレベルの左側の数字は固定電位  $-40$  mV からの脱分極ステップ電位レベルを表わす. B, C, D, E の速い内向き電流 b が a より小さいのに対して A では内向き電流は a より大きいことに注目.

大し, 最大コンダクタンスの上昇とともに最大 Ca イオン電流は  $-0.58 \pm 0.11 \mu\text{A}$  から  $-0.72 \pm 0.12 \mu\text{A}$  ( $n=7, p=0.02$ ) に有意に上昇した. ただしこの逆転電位は, 投与前後で  $21.4 \pm 3.1$  および  $23.9 \pm 3.2$  mV ( $n=8$ ) をそれぞれ示し有意差はみとめられなかった.

これに対して  $2.5$  mM-Ba 液電圧クランプ筋標本では, 内向き Ba イオン電流は速い不活性化 (transient) 成分とこれに続く遅い不活性化 (long lasting) 成分の 2 相から形成されるが, DBcAMP 投与により, 後者の電流成分は殆ど影響を受けないが, 前者の成分は著しく変化する. すなわち低い脱分極領域では, この Ba イオン電流は増大するのに対して, 高い脱分極領域ではこのイオン電流応答は抑制され (図 1 参照), 最大 Ba イオン電流は  $-0.7 \pm 0.1 \mu\text{A}$  から  $0.5 \pm 0.1 \mu\text{A}$  ( $n=8, n=0.002$ ) と減少し, この電流の逆転電位も平均約  $7$  mV 負性側に移動した.

以上の DBcAMP の膜イオン電流に対する効

果は,  $\beta$  遮断剤, propranolol の存在下でも同様に認められた.

### 結論と考察

① Ca イオン電流は DBcAMP により増強されるのに対して, Ba イオン電流は抑制されるという Ca イオンチャンネルを流れる 2 つの 2 価イオン電流に著しい反応挙動の相違があることがわかった. ② DBcAMP による Ca イオン電流の増強反応はこの筋標本の  $\beta$  受容体活性化による negative inotropic response とは矛盾するが, DBcAMP は細胞内 cAMP 同様の伝達調節因子として働く外に, 異なる特異的薬理作用を発現したと推定すれば説明し易い. ③ 心筋 (Bean, 1985), 神経細胞 (Narahashi ら 1987) で指摘されているように, この筋細胞でも Ba イオン電流の 2 成分の DBcAMP に対する感受性が異なることは Ba イオンチャンネルに少なくとも 2 つの異なるチャンネルの存在が示唆される.

## 文 献

- Bean, B.P.(1985). Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. Differences in kinetics, selectivity, and pharmacology. *J. Gen. Physiol.* 86: 1-30.
- Inomata, H. and Kao, C.Y. (1985). Actions of  $Ba^{2+}$  on ionic currents of the guinea-pig taenia coli. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 233: 112-124.
- Inomata, H. (1987). Effect of dibutyryl cyclic AMP on ionic currents in the guinea-pig taenia coli. *J. Muscle. Res. Cell. Mot.* 8: (2) 283.
- Narahashi, T., Tsunoo, A. and Yoshii, M. (1987). Characterization of two kinds of calcium channels in mouse neuroblastoma cells. *J. Physiol.* 383: 231-249.

モルモット輸精管平滑筋における noradrenaline の  
細胞内  $Ca^{2+}$  の消退に与える影響

東北大学医学部応用生理学教室

福 士 靖 江

第1生理学教室

泉 井 亮

第3内科学教室

鈴 木 勃 志

## はじめに

平滑筋の収縮の大きさを決定するものとして、細胞内  $Ca^{2+}$  の濃度変化という要素に限って考察する場合、細胞内に流入、または遊離される  $Ca^{2+}$  量と、細胞内から消退する  $Ca^{2+}$  量とのバランスで考える必要がある。

さて、noradrenaline が、輸精管平滑筋を収縮させ、さらに電気刺激に対してもより大きな収縮をひき起こすことはよく知られた事実であり、これは主に  $Ca^{2+}$  の遊離 (Wakui & Fukushima, 1986) として流入する  $Ca^{2+}$  量の増大によると理解されている。それでは、noradrenaline は  $Ca^{2+}$  を消退させる機構にどのような影響を与えるのであろうか。この問題を検討する目的で、本実験は、モルモット輸精管平滑筋標本を用いて、noradrenaline による筋の静止張力の変化と、電気刺激に対する収縮の時間経過の変化と、両者が低温という状態下でどのように変化するかを調べた。

## 実験方法

モルモット (190-240 g) から輸精管を摘出史、そのほぼ中央部を中点とする長さ約 8 mm、直径約 1 mm の縦走筋標本を作成した。標本は Krebs 液で満たした 5 ml の液槽中に懸垂し、静止張力を 250 mg 負荷し、その等尺性張力変化を記録した。又、神経の要素をのぞくために、Krebs 液にはあらかじめ atropine  $10^{-7}$  M, guanethidine  $10^{-6}$  M, TTX  $10^{-8}$  M を投与した。液槽中の温度を急速に変化させる実験には、シャープの冷熱装置を用い、一定速度で液槽中の Krebs 液の灌流を行い、約 30 秒以内に液槽中の温度を変化させることができるようにした。

## 結 果

本組織は電気刺激により  $Ca^{2+}$  性のスパイクを発生し、少し遅れて張力が発生した。又、その張力の大きさは活動電位の数と関連した。こ

れにより、本組織に於いては、その張力の大きさは細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度ときわめて相関することを確認した。次に、収縮の基本的な性質を解析した。すなわち、収縮の peak からの大きさと時間経過を片対数で plot すると、ピーク時から数秒の間は直線性を示した (Fukushi & Wakui, 1988)。これは、 $\text{Ca}^{2+}$  が細胞内から消退する過程は、大きく一種類の要素であることを意味する。また、decay phase の time constant は収縮の大きさの如何にかかわらず殆ど変わらなかった。noradrenaline を投与すると、筋の静止張力は上昇し、電気刺激によって生ずる収縮の大きさが増強した。また、収縮の time to peak と decay phase の time constant が延長した。低温 ( $30^{\circ}\text{C} \rightarrow 10^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$ ) にすると、同じような傾向をそれぞれの温度に依存して示した。低温下で、noradrenaline の投与を行ったところ、 $10^{\circ}\text{C}$  においても静止張力は noradrenaline によって更に上昇した。しかし電気刺激による収縮は、 $20^{\circ}\text{C}$  までは更に増大したが、 $10^{\circ}\text{C}$  に於いては抑制された。一方収縮の time to phase は  $20^{\circ}\text{C}$  までは延長したが、 $10^{\circ}\text{C}$  では有意差はみられなくなった。しかし decay phase の time constant は  $10^{\circ}\text{C}$  においても更に延長した。

## 考 察

以上の結果は noradrenaline が細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  を消退させる機構を抑制することを示しており、このことが、収縮を増大させる要素の一つになっている可能性を示唆する。静止張力への影響および低温との関連性を考えあわせると、noradrenaline の作用部位は、低温の作用部位 (Kurihara et al, 1974) とは異なることが推察される。

## 文 献

- 福士靖江, 泉井 亮 (1988). 平滑筋における Iss-prenaline の張力低下作用について 日本生理誌 50: (1), 14
- Kurihara, S., Kuriyama, H. & Magaribuchi, T. (1974). Effects of rapid cooling on the electrical properties of the smooth muscle of the guinea-pig urinary bladder. J. Physiol., 238: 413-426.
- Wakui, M. & Fukushi, Y. (1986). Possible relationship between the release calcium ions and inactivation of the potassium conductance induced by noradrenaline in smooth muscle of the guinea-pig vas deferens. Tohoku J. exp. Med., 150: 381-389.

## Ca イオンに対する家兎膀胱の Denervation supersensitivity

名古屋大学泌尿器科

齊 藤 政 彦, 近 藤 厚 生

碧南市民病院泌尿器科

後 藤 百 万

## 目 的

平滑筋の収縮は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に依存している。現在  $\text{Ca}^{2+}$  channel には Voltage dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel と Receptor operated  $\text{Ca}^{2+}$  channel の 2 つが考えられている。ところで、支配神経が切断、変性などを受けると神経

伝達物質などに対して Denervation supersensitivity が発生する。今回、除神経膀胱での  $\text{Ca}^{2+}$  イオン、アセチルコリンに対する反応を実験し、 $\text{Ca}^{2+}$  channel との関連性について考察を加えた。

## 実験方法

雌家兎の仙骨神経を切断し、1 週後に薬理実

験に供した。その間排尿は自然溢流にまかせ手圧排尿およびカテーテル導尿は実施しなかった。コントロール群 12 匹、除神経群 13 匹を用いて実験を行った。イソゾール麻酔下で膀胱容量を測定し次にその湿重量を測定した。薬理実験は以下の様に行った。粘膜を除去し、10 mm×2 mm の筋切片を作成し、10 ml の Krebs 液を満たした実験浴槽内に懸垂、切片の一端は force displacement transducer に接続し、切片の等長張力変化を記録した。1 g の一定張力を切片に付加し 30 分間 incubation 後実験を開始した。アセチルコリンを  $10^{-9}$  M~ $10^{-2}$  M の濃度で cumulative に浴槽溶液内に添加し、張力変化を観察した。次に 30 分間 incubation 後、Ca-free Krebs 溶液に置換し、さらに 30 分間 incubation し  $\text{CaCl}_2$  を cumulative に添加、Ca

イオンに対する反応性の変化を観察した。最後に Ca イオンに対する反応性の亢進の原因の追求を試みた。 $10^{-6}$  M ベラパミール  $10^{-6}$  M ベラパミール  $10^{-6}$  M 塩酸プロカイン存在下で、 $\text{CaCl}_2$  を添加し反応を観察した。また、 $10^{-6}$  M インドメタシン、40 mM KCl 存在下での筋切片の Ca イオンに対する反応を調べた。

## 結 果

膀胱の容量、湿重量ともに除神経膀胱で有意に増大した。アセチルコリンに対する反応は有意に増大し、除神経 1 週後でアセチルコリンに対して denervation supersensitivity があると判断された。Ca イオンに対する反応も除神経膀胱では著明な亢進が認められた。この反応は Ca entrance blocker であるベラパミールにより

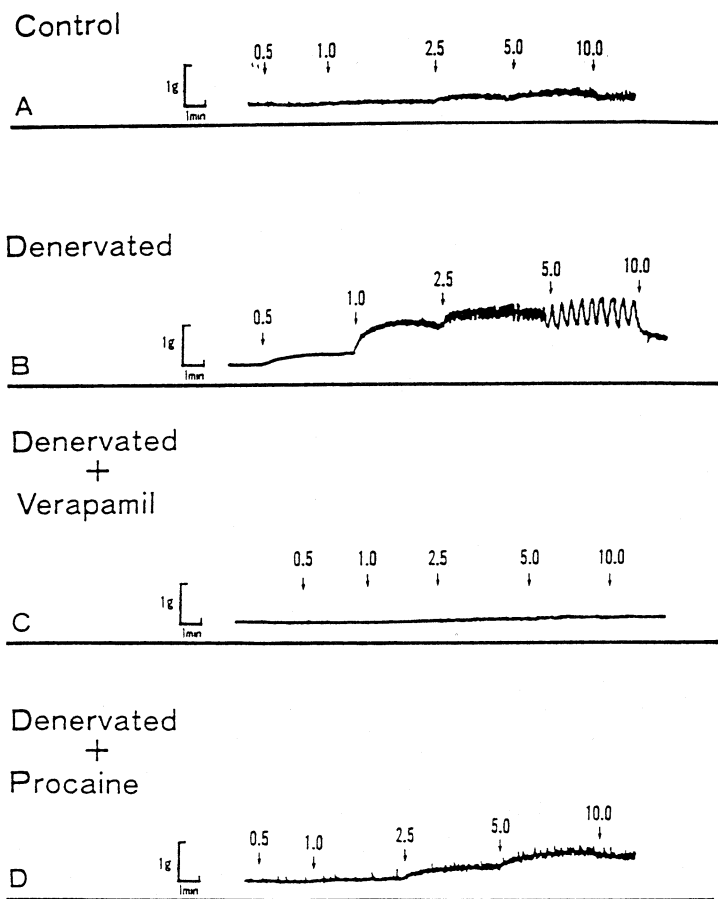


図 1.

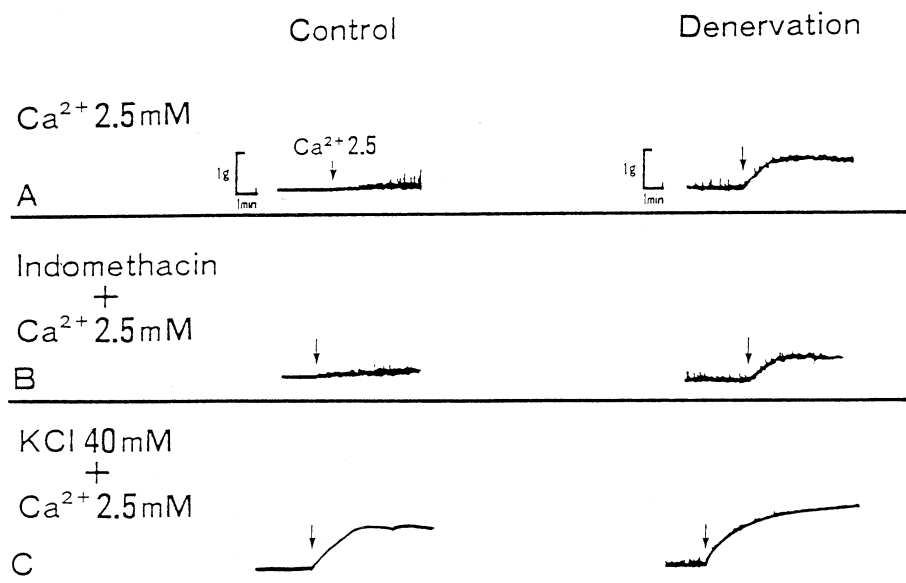


図 2.

ほぼ完全に抑制されたが, Ca-induced Ca release blocker である塩酸プロカインでは部分的に抑制されたのみであった(図 1). また PG の合成阻害剤であるインドメタシンの存在下では除神経膀胱の反応は, コントロールに比べて何も添加しない時の図 2 A 同様, 有意に大きい, 図 2 C に示すごとく KCl によりあらかじめ細胞膜を脱分極させた筋切片では除神経膀胱とコントロールの反応に有意差は認めなかった. 以上より, 除神経膀胱の Ca イオンに対する反応性の亢進は筋細胞の脱分極により発生していると考えられ, よって, Voltage dependent Ca channel の透過性の亢進が原因と考えられた.

## 考 察

除神経 1 週後, 膀胱の湿重量, 容量ともに有意に増大した. アセチルコリンに対しては Denervation supersensitivity が証明された. 除神経膀胱では平滑筋細胞膜における Ca イオンの透過性の亢進が存在することが判明し, これ

は Voltage dependent Ca channel の透過性が亢進しているためであることが強く示唆された. Fleming らは (1973) はその denervation supersensitivity に関する総説の中で denervation supersensitivity の発現のメカニズムは細胞膜の膜電位の上昇によると結論している<sup>1)</sup>. 今回, Ca イオンおよびアセチルコリンに対して denervation supersensitivity が証明されたが, これはそれぞれ, Ca イオンは voltage dependent, アセチルコリンは receptor operated の Ca channel の透過性が亢進しているためと考えられた.

## 文 献

- Fleming, W.W., McPhillips, J.J. and Westfall, D.P. (1973). Post junctional supersensitivity and subsensitivity of excitable tissues to drugs. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 68. 55-119.

## 実験的糖尿病ラットにおける輸精管平滑筋に対する norepinephrine 反応性の変化と $\text{Ca}^{2+}$ 動態の変化

星薬科大学薬学部 薬理学教室

森 辰也, 鎌田 勝雄, 粕谷 豊

### 緒 言

糖尿病は、一般に内因性インスリンの絶対的あるいは相対的な欠乏によって生じる代謝異常に基づく疾患で、多くの合併症を伴う。合併症には、動脈硬化、網膜症、腎症、高血圧、神経障害等があげられ、これら合併症は自律神経系の機能障害と密接な関係があるといわれている。近年、実験的糖尿病ラットにおいて、脳内 monoamine の代謝変化 (Chu et al., 1986), 胃平滑筋における acetylcholine (ACh) に対する感受性亢進 (Kamata et al., 1988), および血管平滑筋における norepinephrine (NE) に対する感受性亢進 (Kamata et al., in press) 等の報告がある。ところで輸精管平滑筋は、血管平滑筋と比較して交感神経支配が密であり、合併症としての神経機能障害を検討するうえで、指標となると考えられる。そこで今回実験的糖尿病ラットを作製し、糖尿病時における輸精管平滑筋の薬物感受性を検索すると共に、自律神経系の機能変化についても検索した。

### 実験方法

実験的糖尿病ラットは、wistar 系雄性ラット (8 週齢) に streptozotocin (60 mg/kg) を尾静脈より単回投与して作製した。実験には投与後 8~11 週間経過したラットを使用した。血糖値はオルトトルイジンホウ酸法により測定し、血糖値 400 mg/dl 以上のラットを糖尿病群として使用した。ラットの後頭部を殴打後、瀉血し輸精管を摘出した。標本は、陰囊側と前立腺側に分けて用い、95%  $\text{O}_2$  + 5%  $\text{CO}_2$  混合ガスを通気し、37°C  $\pm$  0.5°C に保温した Krebs-Ringer 液を入れた organ-bath 中に 0.5 g の静止張力をかけて懸垂し、収縮反応は等尺性に記録した。電

気刺激条件は、頻度 10 Hz, パルス幅 1 msec, パルス数 10, 電圧 10 V, 10 秒間隔とした。

### 結 果

陰囊側では、対照群と糖尿病群に著明な変化は観察されなかった。前立腺側における薬物反応は、(1) NE による収縮反応：対照群の ED50 値は、 $1.40(\pm 0.30) \times 10^{-4}$  M, 糖尿病群の ED50 値は、 $1.41(\pm 0.42) \times 10^{-5}$  M であり、危険率 1% で有意な差が認められた。即ち、NE の用量反応曲線は、糖尿病群では左方へ移行し、また最大収縮力も増強した (図 1)。(2)  $\text{Ca}^{2+}$  free 80 mM 等張性高  $\text{K}^+$  脱分極筋に対する  $\text{Ca}^{2+}$  による収縮反応：対照群の ED50 値は、 $2.23(\pm 0.20) \times 10^{-3}$  M, 糖尿病群の ED50 値は、 $1.41(\pm 0.10) \times 10^{-3}$  M であり、危険率 1% で有意な差が認められた。 $\text{Ca}^{2+}$  の用量反応曲線は、糖尿病では左方へ移行し、また最大収縮力も増強した (図 2)。(3) Bay K 8644 による収縮反応：対照群では、ほとんど収縮反応は起こらなかったが、糖尿病群では、著明な収縮が観察された。(4) 電気刺激による収縮反応に対する clonidine (CL) および neuropeptide Y (NPY) の作用：CL と NPY は電気刺激に対する収縮反応を用量依存的に抑制したが、抑制率において対照群と糖尿病群の間で有意な変化は観察されなかった。

### 考 察

ラット輸精管の前立腺側では、陰囊側と比較して神経支配が密であると報告されている (Zieher et al., 1971)。今回、実験的糖尿病ラットの輸精管における神経系障害は、前立腺側についてのみ観察されたと考えられる。前立腺側では、NE に対する著明な感受性亢進が認めら

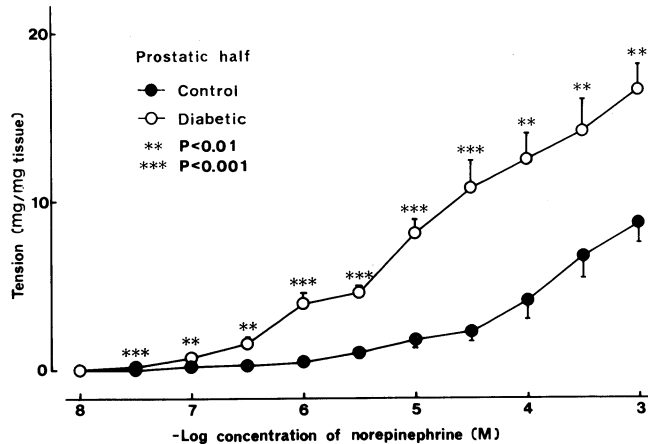


図1. 前立腺側輸精管平滑筋に対する norepinephrine の収縮作用

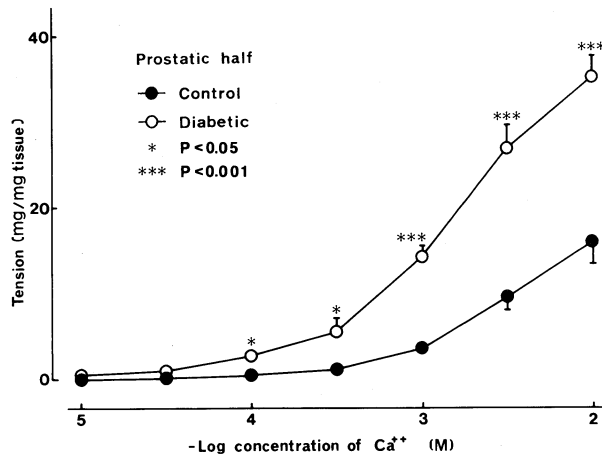


図2. 前立腺側輸精管平滑筋における Ca<sup>2+</sup>-free 80 mM 等張性高 K<sup>+</sup>脱分極筋に対する Ca<sup>2+</sup>の効果

れ、最大収縮力も増強されていた。また 80 mM 高 K<sup>+</sup> 脱分極筋における収縮も有意に増強されていたことより、voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel (VDC) の活性化が示唆された。また VDC 作動薬である Bay K 8644 の収縮反応は、糖尿病群でのみ著明に観察されたことにより、一層強く VDC の亢進が示唆された。ところで電気刺激に対する CL および NPY の反応は両群において有意差はなく、交感神経終末の変化はないと考えられる。

## 文 献

Chu, P.C. Lin, M.T. Shian, L.R. and Leu, S.Y.

(1986). Alterations in physiologic functions and brain monoamine content in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes*. **35**: 481-485.

Kamata, K. Miyata, N. and Kasuya, Y. (1988). Mechanisms of increased responses of the aorta to  $\alpha$ -adrenoceptor agonists in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* (in press).

Kamata, K. Sakamoto, A. and Kasuya, Y. (1988). Changes in sensitivity of the rat stomach fundus to various drugs in streptozotocin-induced diabetic rats. *Japan. J. Pharmacol.* **47**: 99-102.

Zieher, L.M. Jaim-Etcheverry, R. (1971).  
Regional variations in the distribution of nora-

drenaline along the rat vas deferens. *J. Pharm. Pharmacol.* 23: 61-63.

## 妊娠ラットと妊娠ヒト子宮筋の自発性活動電位と収縮の比較

佐賀医科大学産婦人科

瓦 林 達比古, 岸 川 忠 雄, 杉 森 甫

### はじめに

子宮は平滑筋細胞からなる空洞臓器であり、本来筋肉の収縮により内容を排出する事にその生理的役割がある。従って分娩時の子宮収縮は胎児の娩出力として必須のものではあるが、反面収縮時には子宮胎盤血流量が減少し、胎児にとっては周期的にくり返す低酸素の大きなストレスともなっている。そこで、分娩中の子宮は児の予備能の範囲内で娩出に最も効率的な持続時間をもって収縮し、そのストレスから児が回復に要する時間は弛緩しなければならない。子宮のこのような収縮性の制御は活動電位変化

によってなされており、現在までに小動物の電気生理学的研究は多数あったがヒト子宮筋の報告は乏しく、ヒトの分娩現象理解の為のモデルとして動物実験結果を用いるのにも限界があった。そこで今回共通の討論材料を得る為に、妊娠ラットと妊娠ヒト子宮筋の自発性活動電位と収縮の基本的な特徴について比較することとした。

### 実験方法

材料：ラット子宮は妊娠 18 日、21 日の分娩前と分娩中のものを使用し、妊娠日数は雌雄を一晚同一ケージに入れ翌朝雌の膈内に精子がい

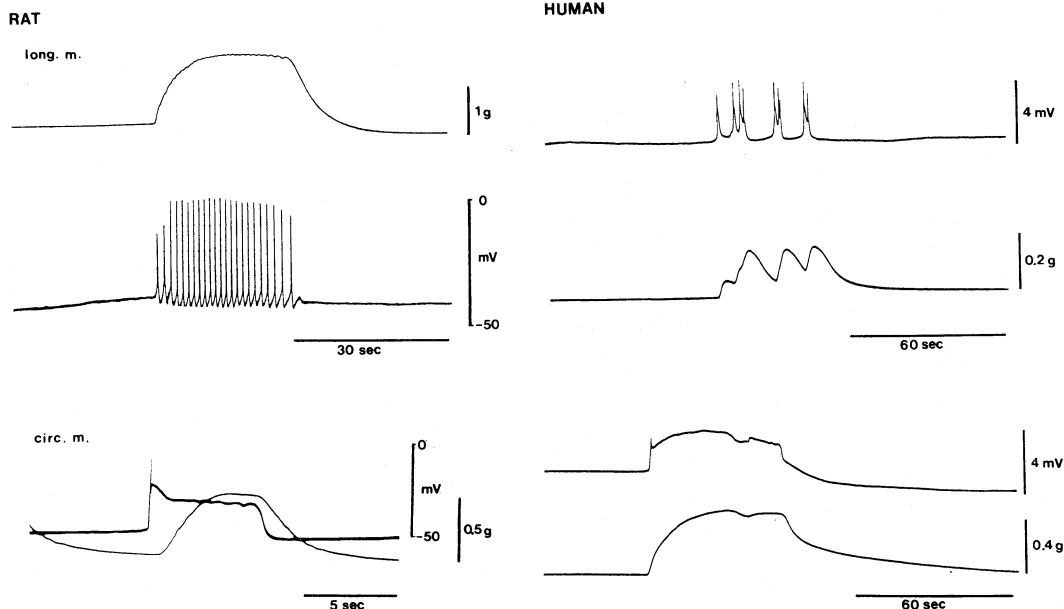


図 1. 妊娠ラットとヒト子宮筋の自発性活動電位と収縮。ラットは微小電極法、ヒトは単一蔗糖隔絶法により記録した。

れば妊娠0日として算定した。ヒトにおいては妊娠8, 16, 28, 33, 35週各1例, 37-41週20例の婦人の帝王切開時子宮峡部の上部切開縁より, または摘出子宮より子宮筋片を採取した。採取に当たってはできる限りの承諾を得て行なった。

方法: 実体顕微鏡下に幅1-2 mm, 長さ5-7 mm, の子宮筋片を切り取り, 容積1 ml の容器中に垂直につりさげ等尺性子宮収縮を記録した。電気現象は微小電磁法(ラット)と単一蔗糖隔絶法(ヒト)により, 収縮も同時記録した。灌

流液は34-36°C, 97% O<sub>2</sub>+3% CO<sub>2</sub> で飽和したKrebs液を使用した。

### 実験結果

ラット子宮は縦走筋と輪走筋を明らかに区別でき, 妊娠に伴う自発性活動電位と収縮の変化も異なっている。特に輪走筋では分娩直前からプラトー型活動電位がスパイク型に劇的に変化し, それに応じて収縮性的変化も惹起された。ヒト子宮筋は筋束の走行は不規則であるが, 妊娠週数や漿膜側, 内膜側の標本採取部位の違いに

表1. 妊娠ラットと妊娠ヒト子宮筋の自発収縮高, 頻度, 持続の比較。

RAT(day 21 delivering)			
	MAX, TENSION (g/cm <sub>2</sub> )	FREQUENCY (min <sup>-1</sup> )	DURATION (sec)
Circ, M, (N=17)	25.2±3.3	1.3 ±0.2	20.3±1.1
Long, M, (N=25)	135.8±8.4	1.91±0.05	35.2±3.9
N : NUMBER OF RATS		(MEAN±SE)	
HUMAN			
GROUP	MAX, TENSION (g/cm <sup>2</sup> )	FREQUENCY (min <sup>-1</sup> )	HALF DURATION (sec)
Full-term Preg, (isthmic muscle)			
Labor pain(-)			
serosal side (N=13)	60.2± 8.7	0.079±0.015	79.2± 8.9
endomet, side (N=17)	59.2± 7.9	0.127±0.020	65.9± 6.2
total (N=30)	59.6± 5.7	0.106±0.014	71.7± 5.1
Labor pain(+)			
serosal side (N=4)	52.4±18.9	0.132±0.048	104.0± 34.2
endomet, side (N=5)	61.7±14.0	0.150±0.046	66.0±14.8
total (N=9)	57.5±10.8	0.142±0.031	82.9±17.3
(corpus muscle) (N=5)	30.5± 9.7	0.109±0.021	101.0±14.4
Mid Preg, (isthmic muscle) (N=2)	61.2± 3.3	0.081±0.016	66.0±19.0
Early Preg, (corpus muscle) (N=10)	44.7± 5.9	0.096±0.015	113.4±15.5
N : NUMBER OF EXPERIMENTS		(MEAN±SE)	

よっても自発収縮パターンに大きな差はなかった。自発収縮の持続や頻度の周期性は同一強度の規則的な電気刺激によってもあまり影響されず、基本的な細胞膜の周期的な興奮性によって規定されているものと思われた。自発性活動電位については、妊娠末期ヒト子宮筋ではプラトー電位が比較的多く認められるもののスパイク放電群も記録でき、2種類の活動電位パターンの存在が明らかになった。それらの活動電位と収縮はよく同期した。そこで、妊娠時期および標本採取部位の違いによる自発収縮の最大収縮高、頻度、持続を計測して比較したが、ヒト子宮筋においてはいずれも有意差は認められなかった。ラット子宮筋との比較では、全体的なパターンは縦走筋に似るものの、収縮高はすべて縦走筋と輪走筋の値の中間値をとり頻度は低く持続は長かった。

## 考 察

以上より、妊娠ヒト子宮筋においてもプラトー電位やスパイク放電群を発生する筋束が存在して収縮性を制御し、その自発活動の周期性にはヒト固有のものが存在する事が明らかになった。そしてその周期性の保持力は強く容易に強縮などに移行しない事も示唆され、はじめに述べた分娩現象の特徴を考えると目的に適ったものである事がわかった。ヒト子宮筋の活動電位パターンや収縮高値より、筋走行の不規則性や結合組織成分の混在による収縮への影響だけではなく、ラットの縦走、輪走筋に相当する筋束の存在の可能性も示唆された。

## 結 語

ヒト子宮は固有の周期性で自発収縮を発生し、性格の異なる筋束の集合体である事が示唆された。

## 分娩後ラットの子宮輪走筋の拘縮の発生機序

山口大学医学部 第一生理学教室  
丸 田 啓 示, 長 琢 朗

## 緒 言

分娩前ラット子宮輪走筋は、Mg-free Krebs 液中で安定した静止張力を伴う規則正しい自発収縮を発生する (Osa and Ogasawara, 1983)。一方、分娩後輪走筋の収縮性は分娩前と異なることに我々は最近気づいた。本研究では、分娩後における輪走筋の収縮性変化を追跡するとともに、その発生機序を検討した。

## 方 法

雌 Wistar 系ラット(分娩後 10-65 時間)より子宮を摘出し、縦走および輪走筋条片を作製した。標本を Mg-free Krebs 液 (37°C) で灌流しながら、等尺性収縮または細胞内膜活動を記録

した。様々の濃度の Mg および Ca 検液は、それぞれ 1M MgCl<sub>2</sub> および CaCl<sub>2</sub> ストック液を溶液に添加し作製した。使用した薬物は、EGTA、テトラカイン、スベルミジン、スベルミン、アスピリンおよびインドメサシンである。

## 結 果

分娩後 10-21 時間の子宮輪走筋の収縮活動を観察した (図 1)。分娩後 10-14.5 時間の標本は活発な自発収縮を示し、Mg (0.6-4.8 mM) 添加により静止張力が減少し自発収縮は抑制あるいは増強された (図 1A, B)。分娩後 16-21 時間の標本では自発収縮がなく、電気刺激しても反応がなかった。しかし、Mg 添加により張力が減少し自発収縮が発生した (図 1C, D)。輪走筋は、分

娩後の時間経過に伴い、静止張力が増加し拘縮を呈することが判明した。

分娩後 10 時間の標本は、スパイクおよびプラトー電位よりなる活動電位を示した。Mg (1.2 mM) 添加により膜電位は 2 mV 過分極し、活動電位の発生頻度が減少した。分娩後 38 時間の頻

度において、膜電位は -25 mV に持続的に脱分極していた。Mg 添加により膜電位は 16 mV 過分極し、活動電位が発生した。

分娩後 15-38 時間の標本の収縮活動に及ぼす外液 Ca および各種薬物の効果を調べた。静止張力は Ca 濃度 (0.6-4.8 mM) に依存して変化し

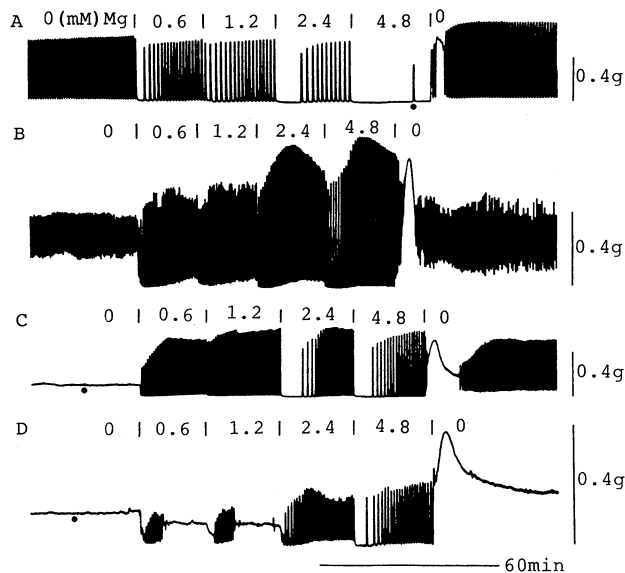


図 1. 分娩後 10 時間 (A), 14.5 時間 (B), 16 時間 (C), 21 時間 (D) における輪走筋の収縮活動および Mg の効果。黒丸は電気刺激を示す。

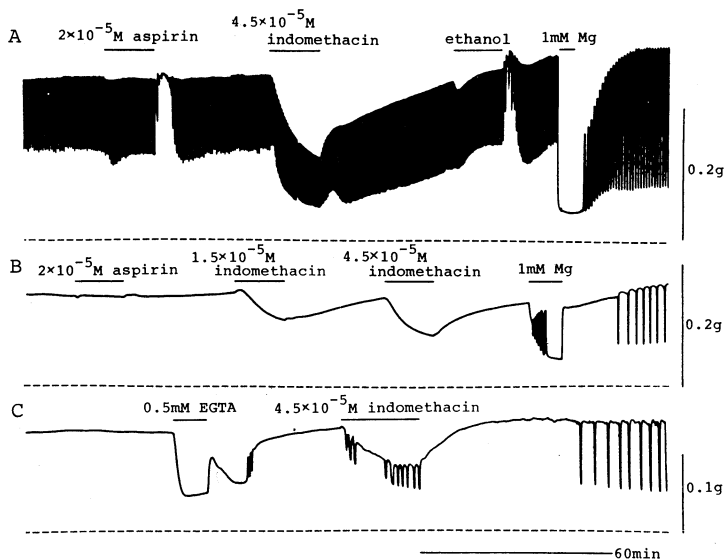


図 2. 分娩後 21 時間 (A), 35 時間 (B), 40 時間 (C) における輪走筋の収縮活動およびアスピリン、インドメサジンの効果。破線は最大弛緩レベル。

た。外液 Ca 除去により静止張力は減少し、拘縮は抑制された。自発収縮も消失した。テトラカイン (1 mM), スペルミジン (0.3, 1 mM) およびスベルミン (1 mM) にも顕著な静止張力の減少あるいは拘縮の抑制作用があった。

プロスタグランディン合成阻害剤の効果を調べた(図 2)。 $2 \times 10^{-5}$  M アスピリン投与により、分娩後 21 時間の標本の静止張力はわずかに減少した。 $1.5, 4.5 \times 10^{-5}$  M インドメサシンにより、分娩後 21, 35, 40 時間の標本の静止張力は減少し拘縮は抑制された。持続性脱分極を示した標本(分娩後 39 時間)において、インドメサシン投与により膜電位は過分極し活動電位が発生した。

分娩後 20-65 時間の縦走筋の収縮および膜活動を調べた。スパイクおよびプラトー電位よりなる活動電位に呼応して自発収縮が発生した。持続性脱分極、拘縮は観察されなかった。 $1.2$  mM Mg 添加により膜電位は過分極 (2-3 mV) し、活動電位の頻度が減少した。静止張力および自発収縮は若干抑制された。

## 考 察

ラット子宮輪走筋は分娩後 10-40 時間に静止張力が増加し拘縮を示した。この変化は膜電位の脱分極を伴った。拘縮は、外液 Ca に依存し、Mg 添加により抑制された。Ca 拮抗作用のあるスペルミジン、スベルミンおよびテトラカイン (Chideckel et al., 1985; Maruta and Osa,

1987) によっても拘縮は抑制された。分娩後拘縮は、形質膜を介しての Ca 流入の増大に起因すると考えられる。分娩後拘縮は、インドメサシンにより抑制された。Ca 流入増大へのプロスタグランディンの関与が示唆される。一般にインドメサシンの効果は不可逆的である (Flower, 1973) が、本実験においては可逆的であった。インドメサシンには Ca 拮抗作用もある (Northover, 1977)。従って、プロスタグランディンの関与は不確定である。

## 文 献

- Chideckel, E.W., et al. (1985). Polyamines and putrescine relax respiratory tract smooth muscle in the guinea-pig. *Eur. J. Pharmacol.*, 116: 187-190.
- Flower, R.J. (1974). Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol. Rev.*, 26: 33-67.
- Maruta, K. and Osa, T. (1987). Electro-physiological effects of tetracaine on the longitudinal muscle of rat uterus in various ionic environments. *Jpn. J. Physiol.*, 37: 851-869.
- Northover, B.J. (1977). Indomethacin-A calcium antagonist. *Gen. Pharmac.*, 8: 293-296.
- Osa, T. and Ogasawara, T. (1983). Effects of magnesium on the membrane activity and contraction of the circular muscle of rat myometrium during late pregnancy. *Jpn. J. Physiol.*, 33: 485-495.

## Rat 子宮平滑筋単離細胞 ——妊娠、分娩、産褥期の細胞長の変化を中心として——

東京慈恵会医科大学 産婦人科

中野 真, 崎 平 公 子, 清 水 良 明  
落 合 和 彦, 寺 島 芳 輝

昭和大学薬学部 薬学薬理

百 瀬 和 享

三菱化成生命化学研究所

丸 山 六 三

### 目 的

妊娠による子宮平滑筋の形態的变化は、従来主として組織構築の変化を、超微形態や免疫組織学の手法を用いて捉えられてきた。しかし、個々の細胞を単離したときの変化については、その採取が困難なことから、あまり報告されていない。今回我々は、百瀬らの方法に準じ、Collagenase 処理により得られた Rat 子宮平滑筋単離細胞の妊娠、産褥の変化について、各時期別に、その細胞長径を計測し、また、細胞間結合状態を、Collagenase 処理時間の違いにより検討を行った。

### 方 法

Wistar-今道系雌ラット非妊娠および妊娠7日目、14日目、21日目、産褥7日目、14日目において速やかに子宮を摘出し、子宮内容および子宮内膜、血液成分を可及的に除去した後、組織をスライスし、通気したCa-Tyrode HEPES (NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.0 mM, Glucose 5.6 mM, HEPES 4.2 mM) 内で平衡化を行った後、検体をminceした。mince後Collagenase 1 mg, Papain 50  $\mu$ l, 1% BSAを含むCa-Tyrode HEPESを加え酵素処理した。酵素処理時間は妊娠産褥各時期により単離細胞の回収率が変化するため20分から90分の間で異なる設定をした。酵素処理後、再びTyrode

HEPESを加え遠心及び洗浄をし、200  $\mu$ m程度のナイロンメッシュで濾過し細胞を分離した。完全に分離した単離細胞のみを光顕にて写真撮影後、トレースし細胞長径を計測した。

### 結 果

得られた単離細胞の長径は非妊時には平均69.71  $\mu$ mで、妊娠7日目では平均73.27  $\mu$ m、妊娠14日目には平均122.65  $\mu$ mと非妊時の約2倍となり、妊娠21日目では163.49  $\mu$ mで、妊娠内容の増大がもっとも顕著な14日目から21日目よりも、7日目から14日目にかけた増大率のほうがむしろ大きいことが注目された。(図1)また、産褥7日目では69.28  $\mu$ m、14日目では64.73  $\mu$ mと、分娩後7日目で非妊時に復していた。一方今回我々の行った単離法では、Collagenase処理時間の差により細胞単離状態に違いがあり、至適時間は妊娠産褥各時期により異なっていた。(図2)至適酵素反応時間は妊娠初期から中期にかけて短くなり、妊娠21日目には逆に長い時間を要していた。また産後は筋細胞長は7日目までに非妊時に復していたが、酵素反応時間は非妊時より短く、細胞間結合は未だ妊娠の影響が残っていると考えられた。

### 結 論

Collagenを中心とした筋細胞の結合状態は、妊娠の進行と共に急速に疎となるが、妊娠末期

にはむしろ強固となり、産褥期には非妊時の状態に回復していくのに7日から14日間を要することが確認された。以上のことより、妊娠による筋細胞の増大は、妊娠14日目までに約2倍

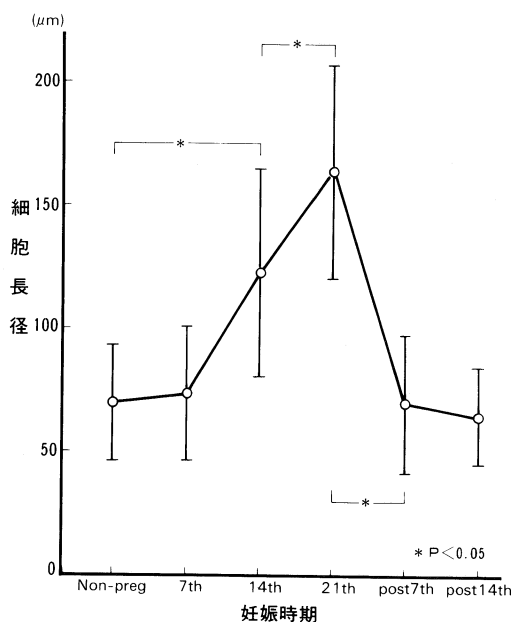
となり、胎児を含めた子宮内容のもっとも増大する妊娠中期以降では、細胞長の増大よりもむしろ筋細胞がstretchされた状態になり、分娩時の強大な収縮力の発現に好都合な環境が作られていることが示唆された。またこれらの環境づくりには細胞間の結合状態が関与していることが想像された。

## 文 献

Maruyama, I., Yoshida, C., Kobayashi, M., Oyamada, H. and Momose, K. (1987). Preparation of single smooth muscle cells from guinea pig taenia coli by combinations of purified collagenase and papain. *Journal of Pharmacological Methods* 18: 151-161.

百瀬和享, 五味保男(1980). アセチルコリン感受性モルモット結腸紐細胞の分散法に関する検討—単離平滑筋細胞の研究第6報—, 日本平滑筋学会誌 16: 29-36.

崎平公子, 中野 真, 清水良朗, 落合和彦, 寺島芳輝(1988). Single cell methodによるRat子宮平滑筋単離細胞の妊娠性変化, 第40回日本産婦人科学会総会学術講演会抄録, S328.



Case	non-preg.	preg. 7th	preg. 14th	preg. 21th	post 7th	post 14th
(n)	(97)	(73)	(53)	(132)	(79)	(74)
$\bar{x}$	69.71	73.27	122.65	163.49	69.28	64.73
( $\pm$ SD)	$\pm 23.50$	$\pm 27.10$	$\pm 42.08$	$\pm 43.08$	$\pm 28.23$	$\pm 19.72$

図1. 妊娠時期別のSingle cellの細胞長径

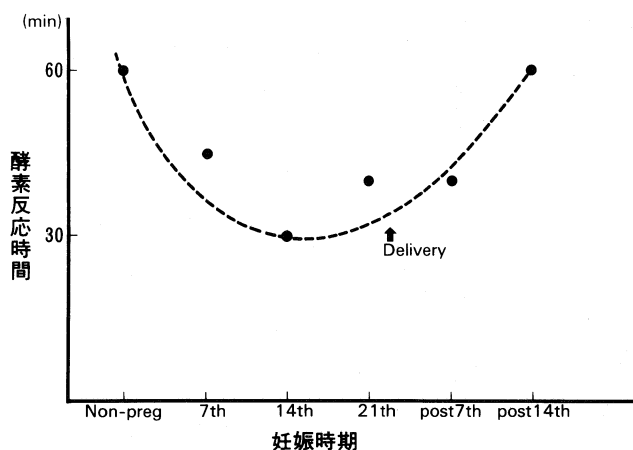


図2. 妊娠時期別至適酵素反応時間

## ラット子宮縦走筋単一細胞の収縮

東北大学医学部産科婦人科

経塚光夫, 秋山直道, 岡村州博  
矢嶋 聰

マクマスター大学

E.E. Daniel

我々はこれまで子宮平滑筋の細胞内 Ca store について, 子宮の筋束を用いた実験を行ってきたが, 今回 rat 子宮縦走筋の単一細胞を作成し, 細胞外の拡散や Ca 結合部位, 神経の作用, 細胞間の結合などによる影響を除き, 細胞内 Ca store について検討したので, 筋束と比較しながら報告する。

## 方 法

200-300 g の wistar 系未妊 rat にエストロゲン負荷後, HEPES を 27 mM 含みイオン組成は Krebs 溶液とほぼ同じで, BSA, trypsin inhibitor を含む溶液に子宮をとり出した。内膜及び輪走筋の大部分を除去し, 細片した後 0.5~1.0 g の筋を collagenase (Sigma type IA) を 4800~4900 単位を含む 15 cc の溶液に入れ, 30℃ で 50 分間 incubate した。洗浄後再び低濃度 (1500 単位) の新しい collagenase を含む溶液で 30 分間 incubate し, collagenase を洗浄後 30 分間 incubate し, ゆるく結合している細胞を遊離し, ナイロンメッシュでろ過し, 単一細胞の suspension を作成した。(Kyojuka M. et al. 1987)。これに各刺激剤を投与し acrolein で固定し, 位相差顕微鏡で, image splitting micrometry (Bitar and Makhlof 1982) で紡錘形をした単一細胞を 68 個測定し, 同じ実験を 3 回繰り返した。

## 結 果

trypan blue を用いた viability test では 80~90% の単一細胞が色素を exclude した。単一細胞の長さは  $66.9 \pm 15.6$  (Mean  $\pm$  S.D.) で  $37.5 \sim 122.9 \mu\text{m}$  に分布していた。この平均値は

Gabella (1976) の方法により電顕写真から測定した同じ細胞の in situ での長さより 14~18% 短縮していた。 $10^{-5}$  M carbachol による刺激では値は  $52.8 \pm 11.5 \mu\text{m}$  であった。carbachol による濃度作用曲線では, 筋束 (巾 1 mm, 長さは 1 cm) と単一細胞を  $EC_{50}$  で比較すると, 単一細胞の方が約 1/100 低く, とともにアトロピンで block された。KCl による濃度作用曲線では, 有意の差はなかった。BAY K 8644 の作用は, とともに 4 mM K 濃度では見られず, K 濃度を上昇することにより単一細胞では濃度作用曲線が左方に移動し, 筋束では左方移動と最大張力の増強がえられた。またこれらの作用は nitrendipin によって抑制された。以上のことより, 作成された単一細胞は carbachol に対する反応性は異なるが, 膜電位と Ca channel は保たれていると思われる。

Ca free 溶液内での carbachol による収縮は, 単一細胞では 15~30 秒の間に peak があ

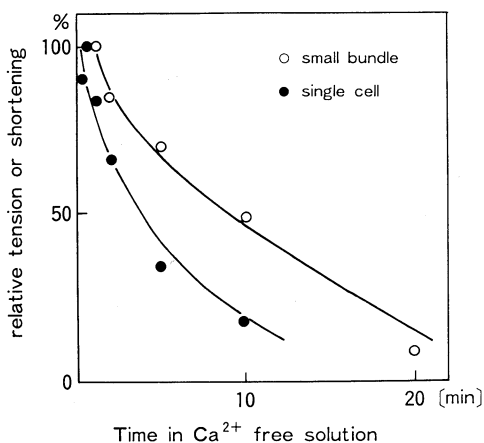


図 1.

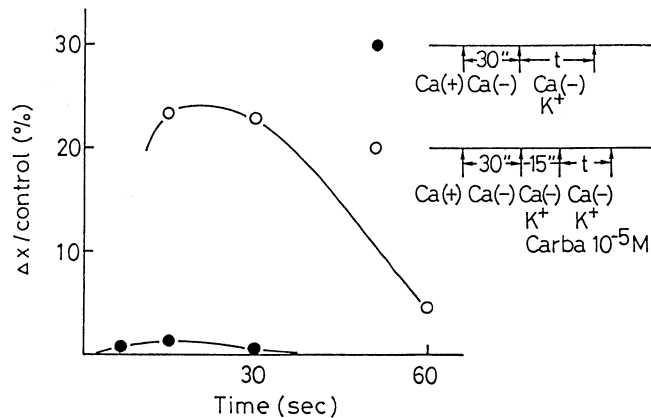


図 2.

り、その後弛緩し1分後には peak の 30% 程度の収縮を示した。筋束(巾  $100\ \mu\text{m}$ , 長さ  $1\ \text{mm}$ ) (Kyojuka 1983) でも同様の経過であった。Ca 含有溶液内では、単一細胞は peak の後に弛緩するが、60~70% の収縮が10分後も持続した。筋束では長い peak の後に phasic contraction が続いた。外液を Ca free にしてから carbachol を加えるまでの時間と収縮の大きさの関係は、単一細胞では、収縮の減少の半減期は約 160 秒であったのに対し、筋束では10分後にも約 50% の収縮がみられた。(図 1)

単一細胞を外液 Ca free の状態にしてから、K 濃度を  $82\ \text{mM}$  まで上昇させた時には、収縮がみられなかったが、外液の Ca free にし K 濃度を上げた後 15 秒後に carbachol を加えると、一過性の収縮がえられた (Fig. 2)。

## ま と め

1. collagenase 処理により rat 子宮縦走筋の単一細胞を作成した。この細胞は carbachol, KCl に対し収縮を示し、BAY 8644 の効果も K 濃度を上げることにより見られた。

2. 単一細胞は Ca free 溶液内でも carbachol によって収縮したが、KCl では収縮しな

かった。

3. 単一細胞は Ca free-high K 溶液内で carbachol により一過性の収縮をおこした。

これらのことにより rat 子宮縦走筋の平滑筋細胞内には、外液 Ca free の状態で脱分極させても Ca の放出はおこさないが、cholinergic receptor と coupling した細胞内 Ca store の存在することが示唆された。

## 文 献

- Bitar, K.N. and Makhoulf. (1984). Reference on smooth muscle cells: characterization by contraction and specific antagonists. *Am. J. Physiol.* 242: G400-G407.
- Gabella G. (1976). Quantitative morphological study of smooth muscle cells of the guinea pig taenia coli. *Cell Tissue Res.* 170 (2): 161-186.
- Kyojuka M. (1983). Contraction of rat uterine smooth muscle in Ca free high K solution. *Biomed. Res.* 4: 523-532.
- Kyojuka M. et al. (1987). Calcium and contractions of isolated smooth muscle cells from rat myometrium. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 65: 1966-1975.

## ヒト及びラット子宮平滑筋のアゴニストに対する 収縮性の比較検討 (主に筋小胞体作用)

福岡大学産婦人科

和 泉 秀 隆, 市 原 次 郎, 白 川 光 一

### はじめに

子宮平滑筋の収縮-弛緩は、細胞内自由 Ca 濃度の増減に依存し、細胞内自由 Ca 濃度の増加は、電位依存性の Ca 流入、受容器依存性の Ca の流入、及び細胞内 Ca 貯蔵部位からの Ca の遊離によると考えられる。また、細胞内 Ca 濃度の減少は、Na-Ca 交換機構と Ca ポンプ機構による (Masahasi and Tomita, 1982) と考えられている。血管や腸管平滑筋等の子宮以外の平滑筋では細胞外から流入した Ca は一度細胞内 Ca 貯蔵部位に蓄えられ、Ca 貯蔵部位からの遊離 Ca によって収縮がおこるとされているが (Iino, 1981. and Itoh et al., 1981), 子宮筋では、細胞内の Ca 動態について生理学的に調べられた報告は少ないようである。そこで、妊娠の維持・陣痛発来を理解する目的で、ヒト及びラット子宮筋の収縮性 (主として細胞内 Ca 貯蔵部位) について検討した。

### 実験方法

ラットでは非妊娠と妊娠の初期から後期にかけての縦走筋と輪走筋を用い、ヒトでは帝王切開時に患者の同意を得て採取した子宮峡部筋や子宮摘出を行なわねばならなかった子宮筋を用い、幅 0.1 mm, 長さ 0.5 mm の微小筋肉切片を作製し、その等尺性張力を測定した。またヒトでは収縮性を妊娠週数や陣痛発来の有無に対して検討した。

### 結 果

ラットでは、自発収縮、過剰 K やアゴニストによる単位断面積あたりの張力は妊娠の進行に伴い増加した。また、妊娠の進行に伴う ACh や oxytocin による収縮力の増大は、118 mM-K 収

縮の増大に比較して顕著であった。ヒトでは陣痛発来に意義を持つと思われる oxytocin に対する反応は、妊娠後期では 118 mM-K による収縮より大となった。妊娠末期のヒト・ラット双方において、118 mM-K による収縮は、一過性の phasic contraction と持続する tonic contraction からなり、tonic な部分に oxytocin を投与するとさらに張力を発生した。これらのことから、妊娠末期では電位依存性の収縮力より受容器依存性の収縮力が増大し、pharmacomechanical coupling が重要な意味をもってくると考えられる。ラットでは、還流液の Ca を除去した条件下 (2 mM EGTA を含む) にて 118 mM-K は収縮をおこさないのに対し、ACh は収縮をおこし、妊娠の進行に伴ってこの収縮力は増大した。ヒトにおいても、Ca 除去の条件下にて 118 mM-K は収縮をおこさないのに対し、oxytocin は収縮を示した。このことから、ヒトにおいてもラット同様、細胞内 Ca 貯蔵部位の存在が示唆された。caffeine はラットの縦走筋では収縮をおこさなかったが、輪走筋では収縮をおこし、妊娠の進行に伴い caffeine による収縮は減少した。ヒト峡部筋で、caffeine に対する反応は非妊娠子宮では大きく、妊娠末期では小であった。ヒトでは妊娠末期、caffeine に対する反応のある標本とない標本があり、このことを妊娠週数、陣痛の有無について検討した。妊娠 40 週以前の群と 40 週以後の群との間で有意差の検定を行ったが症例数が少なく有意の差を見いだし得なかった。緊急帝王切例で陣痛の発来した群と予定帝王切例で陣痛の未だ発来しない群との間でも同様であった。今後症例を重ねて検討する予定である。

## 考 察

子宮平滑筋では電位依存性と受容器依存性の収縮機構があり、妊娠後期では受容器を介した反応が重要であると示唆される。ラットではAChに感受性のある細胞内Ca貯蔵部位は増加し、形態学的には妊娠の進行に伴って細胞内Ca貯蔵部位(sarcoplasmic reticulum)が増加するとの報告(Devine et al., 1972)もある。しかし、ヒト・ラットともにcaffeineに対する反応は妊娠の進行に伴い減少する。このことから、caffeineに感受性のある細胞内Ca貯蔵部位が妊娠の進行に伴い減少するか、その性質が妊娠の進行に伴い変化することが考えられる。

## 文 献

- Devine, et al. (1972). Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles. *J. Cell Biol.* 52: 690-718.
- Iino, M. (1981). Tension responses of chemically skinned fibre bundles of guinea-pig taenia caeci under varied ionic environments. *J. Physiol.* 320: 449-467.
- Itoh, T. et al. (1981). Excitation-contraction coupling in smooth muscle cells of the guinea-pig mesenteric artery. *J. Physiol.* 321: 513-535.
- Masahasi, T. and Tomita, T. (1983). The contracture produced by sodium removal in the non-pregnant rat myometrium. *J. Physiol.* 334: 351-363.

## ラットの子宮筋および支配神経の性ホルモンによる影響

日本歯科大・新潟・口腔解剖学

寺 木 良 巳, 前 村 実 満

### はじめに

子宮には少なくとも2種の伝達物質を異にする神経終末が見出されている。そしてその分布、密度については種により差異がみられる。

コリン作動性とアドレナリン作動性の両神経終末の存在部位も近年、より明らかにされ、両神経の共同支配の可能性も見出されるようになった。また平滑筋細胞との関係においても神経筋接合部の形態がより明らかにされつつある。このように平滑筋細胞と自律神経との関係のほかに子宮筋においてはEstrogen, Progesteronなどホルモンの影響が少なくないことは従来より指摘されてきた。今回、子宮を支配する両神経が性周期あるいは性ホルモン剤投与によってどのように影響されるかについて検討した。

### 材料と方法

成熟したWistar系雌ラットを用いた。性周

期は陰スメアにより観察した。薬物はestradiol dipropionate 20  $\mu$ g, progesteron 100  $\mu$ g/ratを実験前日、1回皮下に投与した。屠殺開腹後、子宮を摘出し試料とした。ノルアドレナリンの検出はFalck & Hillarpの蛍光組織学的方法により行った。アセチルコリンエステラーゼの証明はKarnovskyの方法により行った。電顕試料は2.5% グルタルアルデヒド、2.5% ホルムアルデヒドの混合液(0.1 M リン酸緩衝液, pH 7.4)で前固定、緩衝液で洗滌、オスミウム酸(0.1 M リン酸緩衝液)で後固定し、脱水後エポン 812 樹脂に包埋し、切片を観察に供した。

### 結 果

Estradiol 前処置によりラット子宮は肥大し、水分貯留がみられ、重量も増加した。子宮筋の微細構造をみると、平滑筋細胞とその間を埋める結合組織からなり、平滑筋細胞は紡錘形で核の両端が円い円柱形を呈し、核小体の発達が見られる(図1)。この時期における平滑筋細胞は

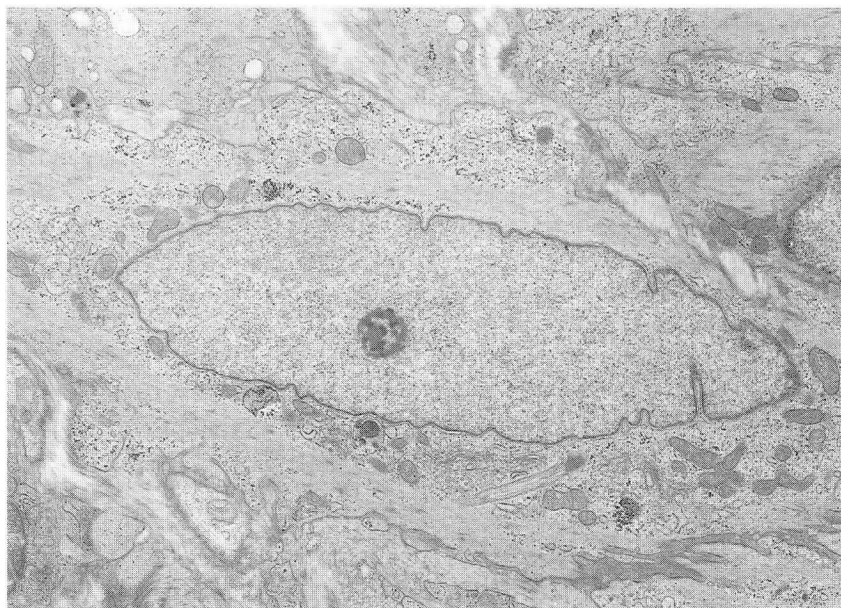


図1. Estradiol 処理ラット子宮平滑筋細胞

核は両端が円い円柱形で細胞のほぼ中心にあり、核小体が見える。細胞質の全域に均等に分布する多数の微細なミオフィラメントからなる、筋形筋質核の周り小型のゴルジ装置、細長い糸粒体、少量の粗面小胞体、グリコーゲン果粒などが存在する (×7,000)。

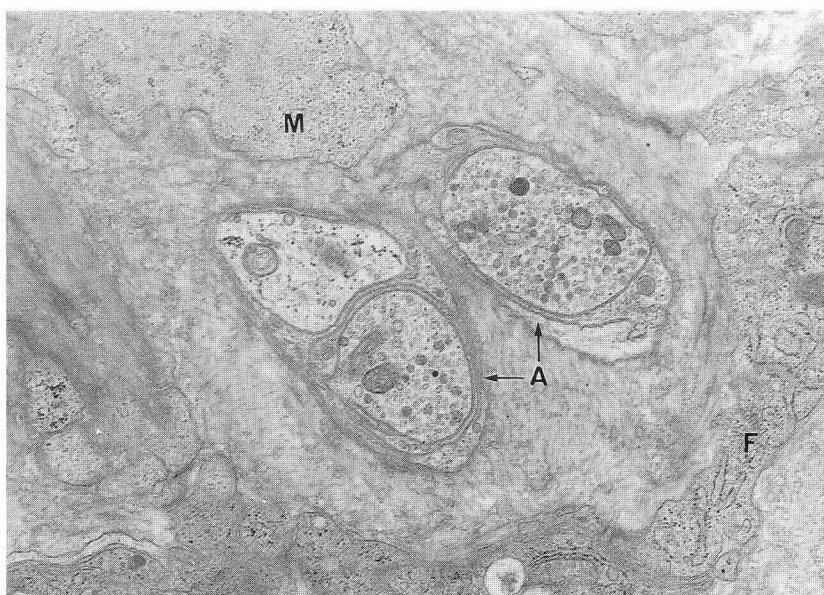


図2. Estradiol 処理ラット子宮筋内に見られたカテコールアミン作動性終末 (A), 終末軸索中には小型の芯をもった小胞を見られる (×24,000).  
M, 平滑筋細胞, F, 線維芽細胞.

未だ成熟過程にあると考えられる。平滑筋組織に分布する神経終末は血管周辺あるいは筋層周辺に見られ、アドレナリン作動性の終末は軸索内に電子密度の高い芯をもつシナプス小胞として見られた。一部シュワン細胞に被われている(図2)。

子宮筋層内における自律神経の分布をみると子宮体部横断切片の所見では内輪状筋の外側寄りと外縦走筋の内側寄りに比較的多く存在し、神経線維は緩やかに迂曲走行し、筋線維内に入ると目立って少なくなることが観察される。

子宮内自律神経の蛍光強度あるいは活性に性周期により差異が見られるかどうか検討した。その結果、estrus, diestrus, metestrus, proestrus 各期におけるアドレナリン作動性線維の分布は estrus 期において蛍光強度も密度も最も高く diestrus 期において低かった。またコリン作動性線維も estrus 期において染色の強度、密度も diestrus 期に較べて高かった。

## 考 察

従来より子宮平滑筋がコリン作動性とアドレナリン作動性の両神経終末をもつことが知られている。Sporrny ら(1957)は子宮の神経についてネコを用い、子宮平滑筋細胞と神経終末との間は密接に接していることを報告している。今回、ラットにおいても同様に神経の終末が一

部シュワン鞘で被われ、シナプス小胞をつくっているのが観察された。また筋細胞と接するところに神経終末のシナプス小胞がみられ、神経と筋とが接することが観察された。

ホルモンの神経への影響について Thorbert ら(1979)はヒト子宮のアドレナリン作動性伝達物質は妊娠などによって減少することを報告している。またラットについては Adham ら(1969)が性周期により強度または活性に変化があることを述べている。今回、ラット子宮で estradiol, progesteron 処理、性周期によってコリン作動性、アドレナリン作動性の両神経におよぼす影響が大であることが知られた。

## 文 献

- Adham, N. and Schenk, E. (1969) Autonomic innervation of rat vagina, cervix, and uterus and its cyclic variation. *Am. J. Obst. & Gynec.* 104: 508-516.
- Sporrong, B. et al. (1977) Electron microscopy of adrenergic, cholinergic, and "p-type" nerves in the myometrium and special kind of synaptic contacts with smooth muscle cells. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127: 811-817.
- Thorbert, G. et al. (1979) Adrenergic innervation of the human uterus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 135: 223-226.

## 摘出ラット anococcygeus 筋のノルアドレナリン収縮に およぼす低温の影響

獨協医科大学 薬理

石 井 竹 夫, 下 康 郎

### はじめに

我々は、ラットおよびゴールデンハムスターから摘出した気管筋の acetylcholine, 5-hydroxy-tryptamine および substance P 収縮が栄養液温度の低下によって増大すること、な

らびにこの反応性増大が Ca の排出機構の抑制によっていることを明らかにした (Ishii and Shimo, 1985, 1986, 1987)。同様の cooling 効果は、摘出したイヌ伏在静脈の noradrenaline 収縮においても認められている。しかし、この増強は平滑筋に存在する  $\alpha_2$  受容体での nora-

drenaline の親和性増大によると考えられている (Flavahan et al., 1985, Flavahan and Vanhoutte, 1986). 一方, ラット anococcygeus 筋は血管と同様にアドレナリン作動性神経が密に分布し, noradrenaline によって興奮作用を示

すことが報告されているが, この筋の noradrenaline 収縮は主として  $\alpha_1$  受容体を介して生じる. そこで今回, 我々はこの摘出ラット anococcygeus 筋を用い, noradrenaline の収縮におよぼす温度の影響を検討した.

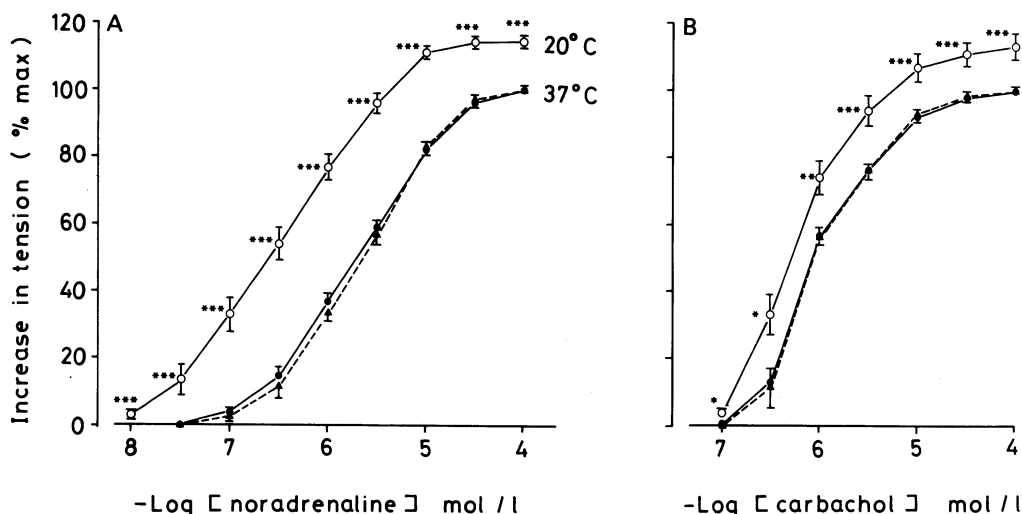


Fig. 1. Cumulative concentration-response curves for the tension increases of the rat anococcygeus muscles caused by noradrenaline (A) and carbachol (B) at 37°C and 20°C. The ordinate scale represents the response as a percent of the initial maximum response caused by noradrenaline or carbachol. The symbols represent the initial concentration-response curve obtained at 37°C (●) and the second concentration-response curve after 20 min incubation with Krebs bicarbonate solution at 37°C (▲, time-matched control) or at 20°C (○). Each point is the mean value from 6-18 experiments and vertical bars represent SEM. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$  when compared with the values of the initial concentration-response curve (unpaired t-test).

Table 1. Influence of cooling on  $-\log EC_{50}$  values of noradrenaline, methoxamine and carbachol in the rat anococcygeus muscle

Agonists		−Log <sub>10</sub> EC <sub>50</sub> (mol/l)			
		n	1st curve at 37°C	2nd curve at 20°C	Concentration ratio
Noradrenaline					
Control		9	5.73±0.08	6.46±0.11***	5.93±0.96
Nortriptyline	1 μ mol/l	7	6.45±0.12	6.57±0.10	1.37±0.11
Nortriptyline	10 μ mol/l	8	5.88±0.06	5.93±0.07	0.18±0.56
Hydrocortisone	30 μ mol/l	6	5.74±0.16	6.64±0.12***	8.21±1.02
6-Hydroxydopamine		8	7.39±0.08	7.81±0.05**	2.63±0.18
Methoxamine		6	7.02±0.06	7.06±0.13	0.12±0.66
Carbachol		6	6.02±0.04	6.20±0.04**	1.57±0.13

Each value is the mean  $\pm$  SEM and n indicates the number of experiments.

\*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; these were compared with the values at 37°C using unpaired Student's t-test.

## 方 法

ウィスター系ラット(雄 200-350 g)から一対の anococcygeus 筋を摘出した。これらを混合ガス通気下 Krebs bicarbonate 液 (10 ml) を含む organ bath 内に懸垂し、その張力変化を記録した。一部の実験では 6-hydroxydopamine で交感神経終末を破壊した除神経標本を用いた。

## 結 果

ラット anococcygeus 筋において、栄養液温度の低下 (cooling) は noradrenaline と carbachol の用量-作用曲線を左側へシフトし (NA 5.9 倍, CCh 1.6 倍)、最大反応を増大させた (Fig. 1, Table 1)。一方、 $\alpha_1$  agonist である methoxamine の用量-作用曲線は低温によって上方にのみ移動した。 $\alpha_2$  agonist である BHT-920 および KCl の収縮反応は逆に抑制された。6-hydroxydopamine あるいは uptake 1 阻害薬 nortriptyline ( $1-10 \mu\text{mol/l}$ ) を前処理すると、 $37^\circ\text{C}$  での noradrenaline の用量-作用曲線は左側へシフトした。このとき cooling による anococcygeus 筋の noradrenaline に対する感受性増大は大部分抑制された (Table 1)。しかし最大反応の増強は影響を受けなかった。uptake 2 阻害薬である hydrocortisone ( $30 \mu\text{mol/l}$ ) は  $37^\circ\text{C}$  での noradrenaline 収縮および cooling 効果にほとんど影響を及ぼさなかった (Table 1)。アドレナリン受容体に対する noradrenaline と methoxamine の解離定数 ( $K_A$ ) 値およびムスカリン受容体に対する carbachol の  $K_A$  値は cooling によってほとんど影響を受けなかった。anococcygeus 筋の noradrenaline 筋の収縮と carbachol 収縮は、Ca 拮抗薬 diltiazem に対して抵抗性を示した。また栄養液中の Ca を除去しても noradrenaline, methoxamine そして carbachol は anococcygeus 筋を収縮させることができた。この収縮反応は cooling によって増大した。Ca 除去液中 ( $37^\circ\text{C}$ ) の methoxamine 収縮と carbachol 収縮は Ca-ATPase 阻害薬  $\text{NaVO}_3$  を前処理することによって増大した。この増強効果は  $20^\circ\text{C}$  で

は認められなかった。

## 考 察

摘出ラット anococcygeus 筋の冷却は、noradrenaline の用量-作用曲線を左側へシフトした。これは血管平滑筋ですでに報告されているように cooling による  $\alpha$  受容体の親和性増大を示唆する。しかし、 $20^\circ\text{C}$  で得られた noradrenaline と methoxamine の解離定数値は  $37^\circ\text{C}$  で得られた値とほとんど同じであり、cooling による左側へのシフトを  $\alpha_1$  受容体での親和性増大で説明することはできない。多分、このシフトは noradrenaline の神経への取り込み阻害によっていると思われる。なぜなら神経へ取り込まれない methoxamine の用量-作用曲線は左側へシフトしないからである。除神経標本あるいは uptake 1 阻害薬を用いて得られた実験結果はこれを支持する。また今回の実験において、cooling は noradrenaline の用量-作用曲線を上方にも移動させた。この増強は Ca-ATPase 阻害薬の効果と類似しており、平滑筋における Ca 排出機構の抑制によると思われる。

## 文 献

- Flavahan, N.A., Lindblad, L.-E., Verbeuren, T.J., Shepherd, J.T. and Vanhoutte, P.M. (1985). Cooling and  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenergic responses in cutaneous vein: role of receptor reserve. *Am. J. Physiol.* 249: H950-955.
- Flavahan, N.A. and Vanhoutte, P.M. (1986). Effect of cooling on  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -adrenergic responses in canine saphenous and femoral veins. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 238: 139-147.
- Ishii, T and Shimo, Y. (1985). Cooling-induced supersensitivity to acetylcholine in the isolated airway smooth muscle of the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 329: 167-175.
- Ishii, T and Shimo, Y. (1986). Cooling-induced augmentation of the contractile response of the golden hamster tracheal muscle to substance P in vitro. *J. Pharm. Pharmacol.* 38:

403-405.

Ishii, T. and Shimo, Y. (1987). Effect of cooling on ovalbumin-induced contraction of the tra-

cheal muscle isolated from actively sensitized rat. Arch. int. Pharmacodyn. 287: 133-145.

## Effect of Bay K 8644 on twitch contraction of guinea-pig ureter

Research Institute of Hypertension

K. Shimamura, S. Osugi and S. Sunano

Research Institute of oriental medicine, Kinki University

K. Moriyama

Bay K 8644, a Ca agonistic dihydropyridine derivative has been shown to enhance contraction in heart and smooth muscle (Schramm, 1983). These effects are extracellular Ca dependent and attributed to enhancement of voltage dependent Ca channel (Droogman, 1986, Hess, 1984), and thought to be due to an increase of opening time of the channel. The twitch contraction of smooth muscle in guinea-pig ureter longitudinal muscle were reported to be dependent on extracellular Ca, and evoked action potential to be dependent on Ca and Na (Kuriyama, 1970, Shuba, 1981). In the present study, we examined effect of Bay K 8644 on twitch contraction of guinea pig ureter and discussed with relation to evoked action potentials.

### Methods

Guinea-pig ureter of 10 mm long was suspended in an organ bath containing modified Tyrodes solution. Composition of the solution was NaCl 137, KCl 5.4,  $\text{CaCl}_2$  2.0,  $\text{MgCl}_2$  1.0, Glucose 5.4,  $\text{NaHCO}_3$  11.9,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.4 (mM), and was aerated with  $\text{O}_2$  95% and  $\text{CO}_2$  5% at 37°C. Twitch contraction of longitudinal muscle was evoked by field

electrical stimulation and was recorded isometrically with force-displacement transducer. Membrane potential was recorded intracellularly. In Na free solution, Na was replaced by Tris and pH was adjusted by HCl at 7.4 and in Ca free solution,  $\text{CaCl}_2$  was omitted from modified Tyrode's solution.

### Results and Discussion

Height of twitch contraction was dependent on Ca contraction of the medium; it was maximum around  $10^{-3}$  M and the twitch contraction was abolished when Ca was lower than  $10^{-4}$  M. In the presence of Bay K 8644 of  $10^{-6}$  M, threshold of Ca concentration for twitch contraction decreased to below  $3 \times 10^{-5}$  M and Ca concentration-contraction relation curve was shifted to the left and also upward. In the presence of Ca ( $2 \times 10^{-3}$  M), Bay K 8644 increased the height of twitch contraction concentration dependently between  $10^{-8}$  M and  $10^{-6}$  M. The drug increased the duration and the maximum rate of rise and fall of contraction. Bay K 8644 induced a tension increase when it was applied during the 50 mM K induced tonic contracture. Both the enhanced twitch contraction and K-contracture in the presence of

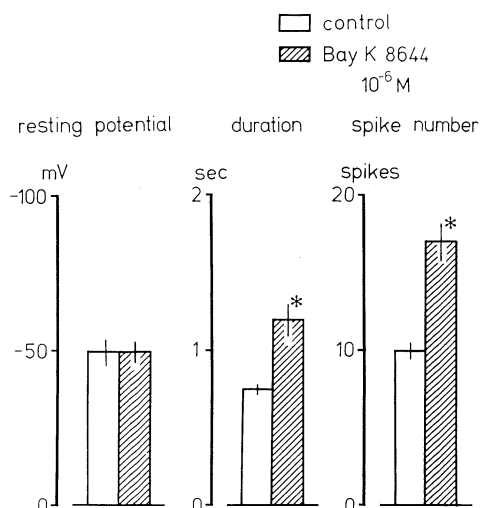


Fig 1. Resting potential and parameters of action potential of guinea pig ureter evoked in the presence and absence of Bay K 8644  $10^{-6}$  M. \* $p < 0.01$

Bay K 8644 were inhibited by nifedipine or Ca removal.

Resting membrane potential of ureter muscle cell was about -50 mV and electrical field stimulation evoked potential which was composed of spike and plateau potentials. Bay K 8644 did not alter the resting membrane potential but increased the duration of the action potential and number of spike in the action potential (Fig. 1). In the absence of Na, Bay K 8644 increased the height of twitch contraction as well as action potentials. But in the absence of Ca, no effect of the drug on the evoked potential change could be observed.

Increases in twitch height in the absence of Na and in K-contraction height by Bay K 8644 indicate facilitation of voltage dependent Ca channel. The changes induced by the drug in action potential may contribute to an increase of Ca ion influx through voltage dependent Ca channels and presumably to an increase of twitch contraction height.

## References

- Droogmans G. and Galleweart G. (1986).  $\text{Ca}^{2+}$  - channel current and its modification by the dihydropyridine agonist Bay K 8644 in isolated smooth muscle. *Pflügers Arch.* 406: 259-265.
- Hess, P. Lansma J.B. and Tsien, R.W. (1984) Different mode of Ca channel gating behavior by dihydropyridine Ca agonists and antagonist. *Nature* 311: 538-544.
- Kuriyama H. and Tomita, T. (1970) The action potential in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli and ureter studied by the double sucrose-gap method. *J Gen. Physiol.* 55: 147-162.
- Schramm, M., Thomas, G., Towart, R. and Eranckowiak, G. (1983) Activation of Calcium channels by novel 1, 4-dihydropyridines. A new mechanism for positive inotropics or smooth muscle stimulants. *Arzneimittelforschung* 33: 1268-1272.
- Shuba, M.F. (1981) Smooth muscle of the ureter: the nature of excitation and mechanisms of action of catecholamines and histamine. In *Smooth Muscle: an Assessment of Current knowledge.* ed. Bulbring, E., Brading, A.F. Jones, A.W. and Tomita, T. pp.377-384. London Edward Arnold.

## モルモット尿管平滑筋に存在する Ca 非依存性 一過性 K 電流 ( $I_A$ ) について

名古屋市立大, 薬学部, 薬品作用

村 木 克 彦, 今 泉 祐 治, 渡 辺 稔

### 緒 言

$I_A$  は神経及び心筋等においてその存在が知られる一過性 K 電流で, その性質については詳細な報告がなされている (Rogawski, 1985). しかし哺乳類平滑筋においては, その存在が最近示されたものの性質は明らかとなっていない (Beech & Bolton, 1988; Imaizumi et al., 1988). 本研究では酵素処理により単離したモルモット尿管平滑筋細胞に吸引電極を用いた whole cell-clamp 法を適用し  $I_A$  の存在とその性質を明らかにした. 実験ではこの細胞で非常に大きな Ca 依存性 K 電流を抑制するため, 外液に 1 mM  $\text{Cd}^{++}$  と 2 mM tetraethylammonium (TEA) を加え, 以下の結果を得た.

### 実験結果

膜電位固定下で  $-70$  mV の保持電位から脱分極させると,  $-20$  mV 以上の電位で速い立ち上がり和不活性化を示す一過性外向き電流が観察された (図 1). Double-pulse 法により求めた条件刺激の電位と定常状態での活性化及び不活性化の関係は Boltzman の式によく適合し,  $1/2$  活性化及び不活性化電位はそれぞれおよそ 5 mV,  $-40$  mV であった. 従ってこの一過性外向き電流の大きさは保持電位に強く依存し, 静止膜電位付近 ( $-60$  mV) では約 10% 程度不活性化されている. 不活性化からの回復をやはり Double-pulse 法で測定したところ, その時間経過は 1 つの指数関数で近似され, 時定数は保持電位が  $-70$  mV の時, 約 100 ms であった. この電流の逆転電位は外液 K 濃度を 10 倍にすると約 52 mV 変化したが, 外液の Na や Cl 濃度を変化させても殆ど影響がなかった.

K-channel blocker である TEA を投与しても ( $2-30$  mM)  $I_A$  は殆ど抑制されなかった.  $I_A$  に特異的な抑制薬として知られる 4-aminopyridine (4-AP: Thompson, 1982) は 0.3 mM からこの電流を抑制し,  $\text{IC}_{50}$  は約 2 mM であった (図 2). また 4-AP 存在下で脱分極の paired pulse を与えると第 2 pulse による  $I_A$  のほうが第 1 pulse によるものよりも大きいことから 4-AP が脱分極により K channel から解離することが示唆された (Thompson, 1982). Quinidine

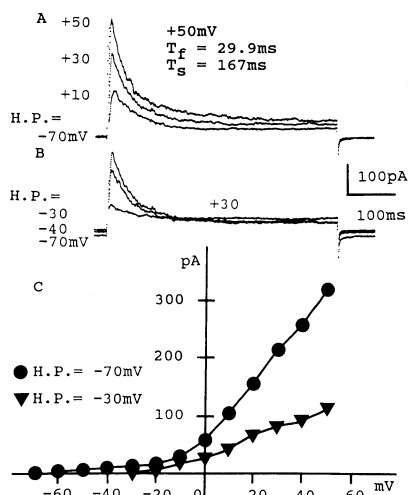


図 1. A: 単一尿管平滑筋細胞を膜電位固定下, 保持電位 (H.P.)  $-70$  mV から  $+10$ ,  $+30$ ,  $+50$  mV に脱分極させた時の一過性外向き電流 ( $I_A$ ). Ca 依存性 K 電流及び Ca 電流を抑制するため, 1 mM  $\text{Cd}^{++}$ , 2 mM TEA を外液に加えてある.  $+50$  mV で観察された  $I_A$  の不活性化過程は 2 つの指数関数の和で近似され, その時定数は 29.9 及び 167 msec となった. 他の電流でも 2 つの指数関数の和で近似される例が多かった. B: 膜電位をより脱分極側に保持すると  $+30$  mV まで脱分極された時に惹起される  $I_A$  が抑制される. C: 保持電位を  $-70$  あるいは  $-30$  mV にした時の  $I_A$  の電流-電圧曲線.

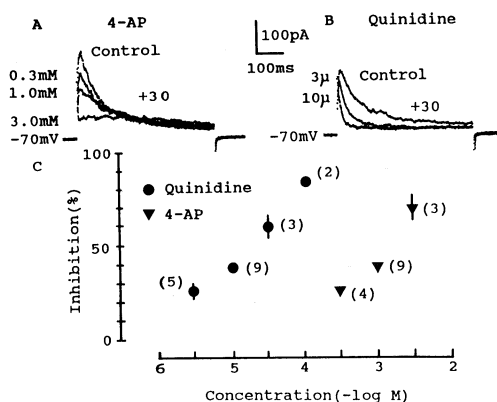


図2. 保持電位 $-70$  mV への脱分極により惹起された  $I_A$  に対する 4-AP 及び quinidine の作用. A: 4-AP は用量依存的に  $I_A$  の peak を抑制した. B: quinidine は  $I_A$  の不活性化を著しく早めた.  $I_A$  の peak よりも 100 msec 後の制が大きい. C: 4-AP と quinidine の用量-作用曲線.  $IC_{50}$  はそれぞれ約 2 mM, 20  $\mu$ M であった. 括弧内は例数. 各シンボルは平均値土標準誤差を表す.

(qui) も 4-AP 同様低濃度 (3  $\mu$ M) から  $I_A$  抑制し (Imaizumi & Giles, 1987),  $I_A$  の不活性化を著しく速くした (図2). このことは qui が open-channel blocker であることを示唆している. qui の  $IC_{50}$  は約 20  $\mu$ M であった. 4-AP, qui とともに  $I_A$  の不活性化曲線の 1/2 不活性化電位に大きな変化を与えなかったが, 曲線の傾きを 4-AP は減少させ, qui は増大させる傾向がみられた.

## 考 察

モルモット尿管平滑筋細胞で見られた一過性

外向き電流は, 主に K を carrier ion とし, その性質は神経細胞等で知られている  $I_A$  に極めて近いことが明らかとなった. この平滑筋の活動電位は長いプラトー相 ( $-10$  mV, 500-1000 msec) とその上に反復性のスパイクが乗る, 特異なものである.  $I_A$  はプラトー電位で 50 msec 以内にかなり不活性化されるので, 再分極電流としては活動電位の最初のスパイクの部分にのみ関係している様に思われる. むしろ活動電位の値付近で Ca 電流と拮抗しその発生を遅延させる役割を持っているかも知れない.

## 文 献

- Beech, D.J. & Bolton, T.B. (1988). A transient, voltage-dependent potassium current recorded from single smooth muscle cells of the rabbit portal vein. *Pflügers Arch.* 411: Suppl. 1, R200.
- Imaizumi, Y. & Giles, W. (1987). Quinidine-induced inhibition of transient outward current in cardiac muscle. *Amer. J. Physiol.* 253: (Heart Circ. Physiol. 22) H704-708.
- Imaizumi, Y., Muraki, K. & Watanabe, M. (1988). Ionic currents in single smooth muscle cells from the ureter of the guinea pig. *J. Physiol.* in press.
- Rogawski, M.A. (1985). The A-current: how ubiquitous a feature of excitable cells is it? *Trends in Neurosci.* 8: 214-219.
- Thompson, S. (1982). Aminopyridine block of transient outward current. *J. Gen. Physiol.* 80: 1-18.