

第 31 回 日本平滑筋学会総会講演抄録 (II)

会 長 山形大学医学部教授 石 川 誠
期 日 1989 年 7 月 21 日 (金)・22 日 (土)
会 場 ホテル蔵王

イヌ膀胱壁内尿管の活動電位

岩手医科大学医学部 泌尿器科学教室

熊 坂 康 二, 統 多香子, 佐 藤 滋
菅 一 徳, 川 村 繁 美, 瀬 尾 喜久雄
久 保 隆

岩手医科大学学長

大 堀 勉

緒 言

膀胱鏡, 尿管内圧測定等により, 壁内尿管に蠕動運動があることは認められているが, 壁内尿管の活動電位を記録した報告は見られない。そこで我々は, 壁内尿管の筋電図の誘導を試み, 活動電位を記録し得たので報告する。

実験対象及び方法

体重 6.9~35.0 kg (平均 13.1 kg) の雑種成犬 15 頭 30 尿管を使用した。サイアミラルナトリウムの静脈麻酔下に, 経腹膜的に後腹膜腔に達し, 膀胱瘻造設後, 膀胱尿管移行部より 6.5~9 cm 腎側の両側中部尿管に双極懸垂電極を置き, 下記実験 A, B を行なった。なお, 実験終了まで点滴速度は一定とし, さらに大腿動脈より血圧を連続記録し, 実験経過中有意な変動のないことを確認した。実験 A: 壁内尿管 (右 14, 左 1) を膀胱外より剝離後, 単極針状電極を約 5 mm 刺入し, 筋電図を記録した (実験 A, 平常時)。実験 B: 実験 A 終了後, 膀胱を切開し, 実験 A の対側尿管口後壁に単極針状電極を刺入, 筋電図を記録した (実験 B, 平常時)。その後ニフ

ロセミドを静注し, 尿管口より持続的に尿流出を認めた際の筋電図を記録した (実験 B, 利尿時)。記録した筋電図は, 放電頻度及び中部尿管の双極電極間と, 中部尿管双極電極から壁内尿管針状電極までの伝播速度を計測した。実験終了後, 膀胱及び両側膀胱近接部尿管を摘出し, 組織学的検索を行なった。なお, 筋電図判読不能例は結果より除外し, 実験 A, B 共に 13 尿管について検討した。

実験結果

実験 A の放電頻度 (回/分) の平均値 \pm SD は, 対照時中部尿管 6.6 ± 2.1 , 平常時中部尿管 7.4 ± 5.4 , 平常時壁内尿管 6.3 ± 5.0 であった。平常時中部尿管双極電極間の伝播速度, 及び平常時中部尿管双極電極から壁内尿管針状電極までの伝播速度 (mm/sec) の平均値 \pm SD は, それぞれ 28.8 ± 10.3 , 42.2 ± 31.4 であった。以上の如く, 膀胱外より剝離した壁内尿管では, 中部尿管とほぼ等しい放電頻度及び伝播速度の活動電位が記録された。

実験 B の放電頻度 (回/分) の平均値 \pm SD は, 対照時中部尿管 6.0 ± 3.3 , 平常時中部尿管 $7.3 \pm$

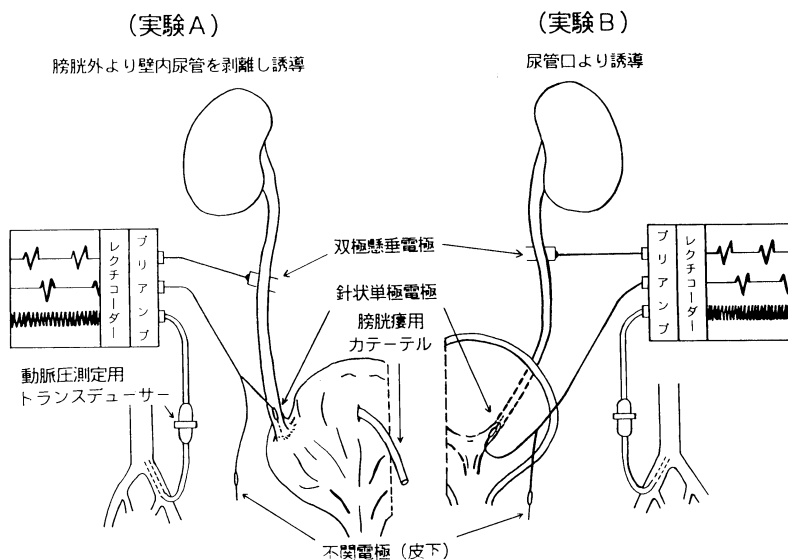


図1. 実験模式図

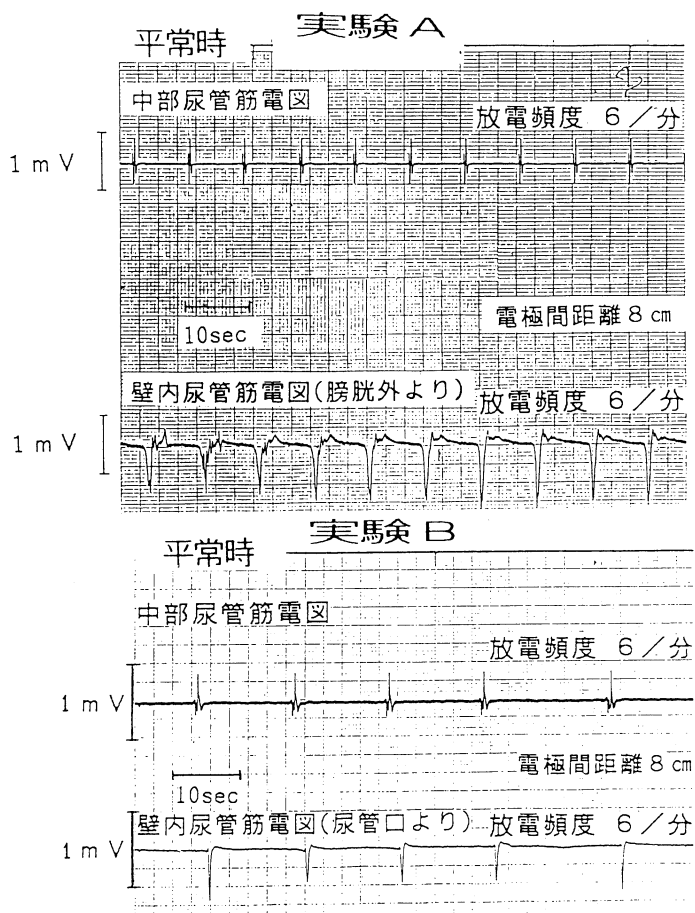


図2. 実験A及び実験Bの尿管筋電図

4.2, 平常時壁内尿管 6.1 ± 2.1 であった。平常時中部尿管双極電極間の伝播速度, 及び平常時中部尿管双極電極から壁内尿管針状電極までの伝播速度 (mm/sec) の平均値 \pm SD は, それぞれ 27.6 ± 8.3 , 32.4 ± 24.1 であった。以上の如く, 尿管口より誘導した筋電図でも実験 A 同様の結果であった。また, 利尿実験を施行しえた 6 頭 6 尿管では中部尿管で全例, 壁内尿管では 4 例に放電頻度の増加を認めた。肉眼的観察を行なった実験 B の平常時では, 尿管口に活動電位と一致する筋活動及び尿線を認めた。組織学的検索では, 壁内尿管の筋線維は壁内尿管から膀胱三角部に連続して存在していた。

考 案

尿管膀胱移行部の解剖及び機能については, Tanagho ら (1963) をはじめ多くの報告がある。本邦では, 土田 (1974) がヒト膀胱壁内尿管の機能において, 尿管末端部では積極的な尿管の収縮はなく, さらに尿管口より 1 cm 以内では活動電位は記録されないと報告している。一方, Blok ら (1985), Morita ら (1984) の尿管内圧測定法では壁内尿管でも, 膀胱外尿管で記録さ

れたものと同様な内圧変動が記録されると報告している。我々は, 臨床的に尿管口に尿噴出と一致した筋収縮があること等より, 平滑筋の特性として活動電位の存在を予測し, 壁内尿管の筋電図誘導を試みた。実験結果より, 壁内尿管の筋電図上, 中部尿管とはほぼ同様な放電頻度と伝播速度の活動電位が記録され, 壁内尿管にも上部尿管から伝播された活動電位が存在することが示唆された。

文 献

- 1) 土田正義 (1974). 膀胱尿管逆流防止機構に関する一考察. 日泌尿会誌 **65**: 1-5.
- 2) Tanagho, E.A. et al. (1968). The anatomy and function of the ureterovesical junction. Brit. J. Urol. **35**: 151-165.
- 3) Blok, C. et al. (1985). Dynamics of the ureterovesical junction; A qualitative analysis of the ureterovesical pressure profile in the pig. J. Urol. **134**: 818-824.
- 4) Morita, T. et al. (1984). Urometric evaluation of intramural ureter function with continual ureteral perfusion. Tohoku J. exp. Med. **143**: 373-379.

自律神経系薬剤に対する摘出ラット膀胱の 反応における加齢および性の影響

鳥取大学医学部 泌尿器科

門 脇 浩 幸, 高 橋 千 寛, 岡 崎 敏 也
佐 伯 英 明, 宮 川 征 男

緒 言

自律神経系薬剤に対する膀胱平滑筋の反応における加齢の影響については, これまでラット, ウサギなどを用いて様々な報告がなされているが一定した見解が得られているわけではない。また, 性差に関する報告はほとんど見られない。そこで今回私達はラット whole bladder を用いて, 思春期より壮年期に至る期間において, 各

種自律神経系薬剤に対する膀胱平滑筋の反応における, 加齢および性の影響について検討したので報告する。

実験対象ならびに方法

生後 2, 4, 7 カ月の雄, 雌 Wistar 系ラットを脱血屠殺し, 膀胱を摘出した。膀胱を 95% O_2 + 5% CO_2 を通気した 37°C Tyrode 液を満した恒温槽内に長軸方向に牽引し日本光電社製

FD ピックアップに接続した, 1 g の基礎張力を負荷して基線が安定するまで約 60 分間放置した後薬剤の投与を開始した. Phenylephrine (Phe), Clonidine (Clo), Isoproterenol (Iso), Acetylcholine (ACh) は濃度累積的に投与し, 用量負荷曲線を作製し ED_{50} を決定した. また Norepinephrine (NE) はそれぞれ一回ずつ 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M の各濃度について, 収縮張力の変化を測定した. 反応は各濃度で示した張力が初期張力の何 % にあたるか, すなわち % of basal tension で示した. 統計的有意差の決定には Student の t-test を用い $p < 0.05$ を有意差ありとした.

結 果

NE 10^{-8} – 10^{-7} M の低濃度ではほとんど反応を示さなかった. 10^{-6} M で 4, 7 カ月雄がわずかに収縮し他は弛緩した. 10^{-5} M では 2 カ月雄, 雌が弛緩し他は収縮した. 10^{-4} M では 2 カ月雌が弛緩し他はすべて収縮した. 10^{-5} , 10^{-4} M の 4,

7 カ月雄, 雌の収縮反応は雄が雌より有意に大きかった. Phe はラット膀胱において用量依存性の収縮を引き起こした(図 1). Phe の ED_{50} 値は加齢とともに低下し, また各年齢で雄が雌より小さかった(表 1). Clo は 10^{-3} M 以上の高濃度で有意な収縮反応を示したが, 各年齢および性において反応に差は認められなかった. Iso は用量依存性の弛緩反応を示した. Iso の ED_{50} 値は加齢によりほとんど差はなく, また各年齢で雄, 雌に差は認められなかった. ACh は著明な用量依存性の収縮を引き起こした. ACh の ED_{50} 値は加齢とともに大きくなる傾向にあったが, 各年齢で雄, 雌に差は認められなかった.

考 察

本実験の結果から, ラット摘出膀胱の α_1 -刺激剤に対する反応は加齢とともに大きくなり, また性差が存在し雄が雌より大きな反応を示すと考えられた. α_1 -刺激剤に対する反応は加齢により変化しないとする報告(Kolta ら, 1984)

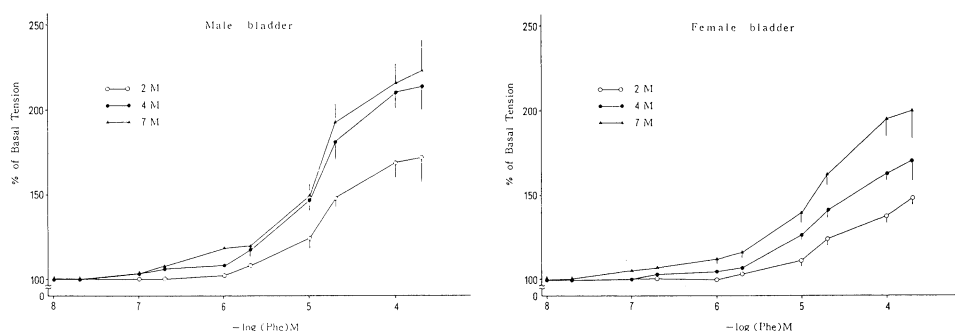


図 1 Dose-response curves for phenylephrine in the rat whole bladder. Each point represents the mean \pm S.E.

表 1 Phenylephrine が惹起する最大収縮値と ED_{50} 値 (平均 \pm S.E.)

Age(M)	Male		Female	
	Maximum (% of B.T.)	ED_{50} ($\times 10^{-5}$ M)	Maximum (% of B.T.)	ED_{50} ($\times 10^{-5}$ M)
2	171.5 \pm 14.6 ^{*,**}	2.0 \pm 0.2 ^{*,+}	148.6 \pm 3.7 ^{**}	3.0 \pm 0.8 ^{**}
4	213.5 \pm 13.7 [*]	1.5 \pm 0.5	170.9 \pm 12.8 ⁺	2.1 \pm 0.2 ⁺
7	222.7 \pm 18.5	1.1 \pm 0.3 [*]	199.7 \pm 15.7	1.5 \pm 0.2

* 同年齢の雌と有意に異なることを示している

** 同性の 4M, 7M と有意に異なることを示している

+ 同性の 7M と有意に異なることを示している

や、膀胱体部では加齢とともに反応が大きくなるという報告(Ordway ら, 1986a) などがみられ意見の一致をみない。今回の私達の実験は主として思春期から壮年期の変化をみており、彼らの実験が壮年期から老年期の変化をみたものであることを考えれば、これは観察時期の違いによるものと思われる。最近ウサギ尿道平滑筋の α -刺激剤に対する反応に性差が存在し、それに estrogen が関与している可能性を示唆する報告(森田, 1989) があり、私達の結果からもラット膀胱についても α_1 -刺激剤に対する反応には性差が存在すると考えられた。しかし、 α_2 -刺激剤に対してラット膀胱はほとんど反応を示さないと思われた。 β 刺激剤に対する反応には、加齢および性による差異は認められなかった。アセチルコリンに対する反応は加齢とともに、特に老年期に大きくなるという報告(Kolta ら, 1984) や、膀胱体部では変化しないが底部では老年期に大きくなるという報告(Ordway ら, 1986b) がある。私達の実験では壮年

期までの変化であるが、加齢とともに反応が小さくなる傾向がみられた。

文 献

- Kolta, M.G., Wallace, L.J. and Gerald, M.C. (1984). Age-related changes in sensitivity of rat urinary bladder to autonomic agents. *Mech. Aging Dev.* 27: 183-188.
- 森田 隆 (1989). 尿失禁に対する基礎的研究第2報 ウサギ尿道平滑筋の α -adrenoceptor subtype における性差について. *日泌尿会誌* 80: 416-423.
- Ordway, G.A., Esbenshade, T.A., Kolta, M.G., Gerald, M.C. and Wallace, L.J. (1986b). Effect of age on cholinergic muscarinic responsiveness and receptors in the rat urinary bladder. *J. Urol.* 136: 492-496.
- Ordway, G.A., Kolta, M.G., Gerald, M.C. and Wallace, L.J. (1986a). Age-related change in α -adrenergic responsiveness of the urinary bladder of the rat is regionally specific. *Neuropharmacology*. 25: 1335-1340.

受容体測定による家兎膀胱交感神経 β 受容体 サブタイプの性差年齢差の検討

秋田大学医学部 泌尿器科

近 藤 俊, 武 弓 俊 一, 土 谷 順 彦
森 田 隆

緒 言

自律神経系には年齢差や性差が存在することが知られており(Ordway et al., 1986; Shapiro, 1986), 臨床的に自律神経薬剤を使用する場合に注意が必要と思われる。最近, 尿失禁の治療に交感神経 β 受容体サブタイプ刺激薬剤の有用性が注目されている(森田, 1989)。そこで, 今回私達は家兎を用いて, 膀胱の交感神経 β 受容体の性差年齢差の問題を受容体の定量により検討したのでその結果を報告する。

実験方法

年齢6ヵ月と4年半~5年の雄と雌の日本白色種家兎を脱血屠殺し膀胱を摘出した。摘出した膀胱を頂部と底部に分けて receptor assay のための細胞膜を調整した。 β 受容体の定量は放射性 ligand に ^3H -DHA を用いた receptor binding 法で行った。Saturation experiment では調整した細胞膜を, 蛋白含有量が約 100 μg となるように Tris-Buffer で希釈し, ^3H -DHA (0.05~1.5 nM) と 30 分間反応させた。反応液は Whatman GF/B glass fiber filter で濾過し,

filter に付着した放射能を測定した。反応液に isoproterenol 10^{-6} M を加えた場合と加えない場合との差を受容体に対する特異的結合とした。得られた ^3H -DHA の飽和結合曲線からの方法により解離定数 (K_D) と受容体総数 (B_{\max}) を算出した (Rosenthal, 1967)。

Inhibition experiment では一定濃度の細胞膜と ^3H -DHA とを種々の濃度の抑制薬と反応させて、得られた結合抑制曲線から IC_{50} を求め、抑制定数 (K_i) を算出した (Cheng & Prusoff, 1973)。

実験結果と考察

表 1 に saturation experiment で得られた解離定数 (K_D) と最大結合部位数 (B_{\max}) の結果を各群毎に示した。 K_D はいずれの群でもほぼ同様の値であり、年齢差性差は認められなかった。受容体総数を示す B_{\max} についてみると、膀胱の部位では、いずれの群でも底部より頂部で B_{\max} が有意に大きく、 β 受容体が膀胱底部より膀胱頂部に多く存在することが分かった。年齢差では、膀胱底部では老齢雄が若齢雄より B_{\max} が有意に大きいことが分かった。雌ではこのような年齢差は認められなかった。性差では、若

表 1 家兔膀胱に対する ^3H -DHA の結合特性

	Base				Dome			
	Male		Female		Male		Female	
	K_D , nM	B_{\max} , fmol/mg	K_D , nM	B_{\max} , fmol/mg	K_D , nM	B_{\max} , fmol/mg	K_D , nM	B_{\max} , fmol/mg
Young	0.21 ± 0.04	24.3* ± 2.2	0.20 ± 0.02	44.5 ± 1.9	0.29 ± 0.06	64.8 ± 8.8	0.28 ± 0.09	64.3 ± 4.7
Old	0.12 ± 0.01	47.4** ± 5.1	0.12 ± 0.01	52.3 ± 3.6	0.11 ± 0.01	61.8 ± 3.9	0.09 ± 0.01	65.8 ± 5.4

数値は 3~4 回の実験の平均 \pm 標準誤差を示す。解離定数 (K_D) はいずれの群でもほぼ同様の値であり、年齢差性差は認められない。最大結合部位数 (B_{\max}) は、いずれの群でも底部より頂部で有意に大きい。年齢差では、膀胱底部で老齢雄の B_{\max} が若齢雄より有意に大きい。雌ではこのような年齢差は認められない。性差では、若齢雌で若齢雄より底部の B_{\max} が有意に大きい。老齢群ではこのような年齢差は認められない。膀胱頂部では B_{\max} に年齢差性差は認められない。

*: 同年齢群で有意な性差あり

**: 同性群で有意な年齢差あり

表 2 ICI 89 と ICI 118 家兔膀胱に対する抑制定数 (K_i)

		Base	Dome
Young ICI 89	Male	163 \pm 32	246 \pm 58
	Female	198 \pm 53	225 \pm 59
Young ICI 118	Male	2.44 \pm 1.09	1.86 \pm 0.55
	Female	1.70 \pm 0.48	1.61 \pm 0.26
Old ICI 89	Male	123 \pm 8	87 \pm 16
	Female	81 \pm 3	61 \pm 12
Old ICI 118	Male	3.08 \pm 0.44	1.14 \pm 0.55
	Female	1.13 \pm 0.09	0.76 \pm 0.32

数値は 3~4 回の実験の平均 \pm 標準誤差を示す。いずれの群でも ICI 118 の K_i が ICI 89 の K_i より小さいことが判明した。 K_i の値には、膀胱の部位の違い、年齢差、性差のいずれで比較しても有意な差異は認められない。

齢雌では若齢雄より底部の B_{max} が有意に大きいことが分かった。老齢群ではこのような年齢差は認められなかった。膀胱頂部では B_{max} に年齢差性差は認められなかった。

Inhibition experiment の結果では、すべての群で β_2 選択的抑制薬である ICI 118 の IC_{50} が β_1 選択的抑制薬のそれより小さいことが分かった。膀胱頂部での ICI 118 の IC_{50} と ICI 89 のそれとの差の幅は膀胱底部での差の幅より大きい傾向が認められた。各群の IC_{50} の値から抑制定数(K_i)を算出した結果を表 2 に示した。いずれの群でも ICI 118 の K_i が ICI 89 の K_i より小さいことが判明した。 K_i の値には、膀胱の部位、年齢差、性差のいずれで比較しても有意な差異は認められなかった。このことは、交感神経 β 受容体のサブタイプに関しては、家兎膀胱では年齢、性、膀胱の部位には関係なく β_2 受容体が優位であることを示している。

ま と め

今回の実験から、家兎の膀胱の交感神経 β 受容体の濃度には、膀胱底部で年齢差、性差が存在することが判明した。膀胱頂部の β 受容体濃度には年齢差性差は認められなかった。膀胱の

β 受容体のサブタイプには、膀胱の部位の差、年齢差、性差は認められず、 β_2 が優位であることが判明した。

文 献

- Cheng, Y.C. and Prusoff, W.H. (1973). Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50% inhibition (IC_{50}) of an enzyme reaction. *Biochem. Pharmacol.* **22**: 3099-3108.
- 森田 隆 (1989): 尿失禁に対する基礎的研究: 膀胱尿道機能に対する β_2 刺激剤の作用. 日泌尿会誌投稿中.
- Ordway, G.A., Esbenshade, T.M., Kolta, M.G., Gerald, M.C., Wallace, L.J. (1986): Effect of age on cholinergic muscarinic responsiveness and receptors in the rat urinary bladder. *J. Urol.* **136**: 492-496.
- Rosenthal, H.E. (1967). Graphic method for the determination of binding parameters in a complex system. *Anal. Biochem.* **20**: 525-532.
- Shapiro, E. (1986): Effect of estrogens on the weight and muscarinic cholinergic receptor density of the rabbit bladder and urethra. *J. Urol.* **136**: 1084-1087.

下部尿路平滑筋に対する tiotropamide の作用

秋田大学医学部 泌尿器科

森 田 隆, 近 藤 俊, 堂 北 忍
平 野 繁

はじめに

一般的に平滑筋細胞内における cAMP 又は cGMP 濃度の上昇によって平滑筋は弛緩する。尿路性器の平滑筋については、papaverine は phosphodiesterase を阻害することによって陰茎海綿体平滑筋を弛緩させ、isoproterenol 等の β 刺激剤は膀胱尿道平滑筋の adenylate cyclase を活性化し、sodium nitroprusside は膀胱尿

道平滑筋の guanylate cyclase を活性化して弛緩させることが知られている (Dohkita, 1988)。

Tyrosine 誘導体である tiotropamide は消化器系の平滑筋において antispasmodic 作用を有し、その作用は cAMP を介することが示唆されている (Vidal Y Plana, 1981)。そこで、tiotropamide の尿路平滑筋に対する作用を検討した。

実験方法

雌日本白色ウサギを脱血屠殺し、膀胱、尿道、胃、および結腸を摘出した。膀胱前壁から縦方向に、近位尿道から輪状方向に、胃および結腸から縦方向に muscle strip を切り出した。Krebs 液を満たした恒温液槽内で 40 分間 incubation し、IBMX, 10^{-5} M を加えてさらに 10 分間 incubation した後 tiropramide 10^{-7} ~ 10^{-4} M を 1 ~ 5 分間反応させ Amersham 社製 cAMP cGMP assay kit を用いて細胞内 cAMP, cGMP 含有量を測定した。膀胱尿道平滑筋については同様の muscle strip を Krebs 液を満たした恒温液槽内で Statham 社製 force transducer に接触し、tiropramide, 10^{-8} ~ 10^{-4} M を濃度累積的に投与して張力の変化を記録した。

成績

Tiropramide 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M は 1 分以内に膀胱平滑筋細胞内 cAMP 含有量をそれぞれ 35%, 50%, 83% control level (IBMX, 10^{-5}

M のみ投与した場合) より上昇させた。また tiropramide 10^{-7} M は膀胱平滑筋細胞内 cGMP 含有量を有意に上昇させなかったが、tiropramide, 10^{-6} , 10^{-5} M は、1 分以内に cGMP を control level よりそれぞれ 90%, 80% 上昇させた (図 1)。Tiropramide 10^{-7} M は膀胱平滑筋内 cAMP 含有量を 1 分以内に 35% ($p < 0.05$), 3 分以内に 70%, 5 分以内に 700% control level より上昇させたが、尿道、胃、結腸平滑筋内 cAMP 含有量を有意には変化させなかった。さらに tiropramide 10^{-7} M は測定した全ての平滑筋内で cGMP 含有量には影響しなかった。

Tiropramide, 10^{-8} ~ 10^{-4} M は膀胱平滑筋の自発張力を濃度依存性に低下させた。この弛緩反応は可逆的であり、Krebs 液で洗浄後張力は回復した (図 2)。また tiropramide 10^{-6} ~ 10^{-4} M は濃度依存性に Ach 10^{-5} M によって誘発された膀胱平滑筋収縮を抑制した。

本実験結果から tiropramide の平滑筋抑制作用は低濃度では cAMP を、高濃度では cAMP と cGMP の両方を介する可能性が示唆される。

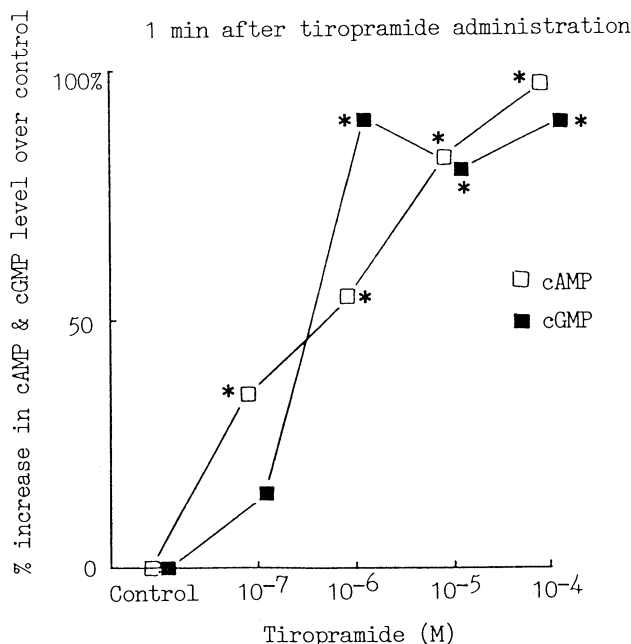


図1 雌ウサギ膀胱平滑筋内 cAMP, cGMP 含有量に対する tiropramide 10^{-7} ~ 10^{-4} M の効果。* は control からの有意な ($p < 0.05$) 上昇を表す。

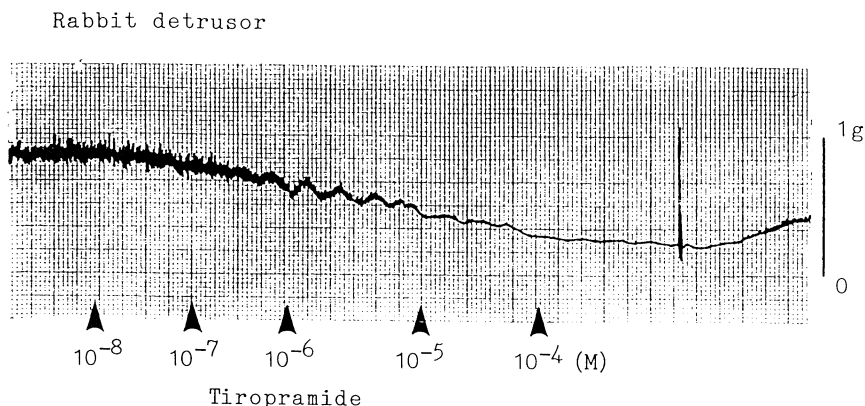


図2 雌ウサギ膀胱平滑筋自発収縮に対する tiopramide 10^{-8} ~ 10^{-4} M の効果。

さらに tiopramide は他の平滑筋に比較して膀胱に優位に作用する可能性が示唆される。 10^{-7} M の cAMP 含有量の上昇が膀胱平滑筋では5分後 control level と比較して約700%であったのに対し尿道平滑筋では約13%であり有意な上昇ではなかったことは、tiopramide が膀胱平滑筋を弛緩させて膀胱容量を増大させるように働く場合にも尿道が弛緩して尿失禁等が起こる可能性が薄いことを示唆している。

文 献

- Dohkita, S., et al. (1988) Functional roles of cyclic AMP and cyclic GMP on rabbit urinary bladder and urethral smooth muscle contraction. *J. Urol.* **139**: 199A
- Vidal Y Plana, R.R. (1981) Mechanism of smooth muscle relaxation by tiopramide. *J. Pharm. Pharmacol.* **33**: 19-24.

バクロフェンの下部尿路機能に対する作用

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

西 沢 理, 鈴木 隆 志, 菅 谷 公 男
小 浜 丈 夫, 福 田 孝, 松 崎 章
塚 田 大 星, 能 登 宏 光, 原 田 忠
土 田 正 義

バクロフェンは神経系に存在するガンマーアミノ酪酸 β 受容体に作用して、神経経路を抑制する薬剤であり、従来、尿道括約筋緊張を低下させる目的で、経口投与されてきた (Florante, et al., 1980). 最近、多発性硬化症や脊髄損傷により、膀胱容量の減少と、膀胱尿道非協調運動とがある症例に対して、バクロフェンのクモ膜下腔内投与を行ったところ、尿道括約筋の活動低下のみならず、膀胱容量の増加も得られたと

する報告が見受けられる (Nanninga, et al, 1988). しかし、本剤の下部尿路機能に及ぼす作用に関する基礎的検討は、2, 3 の報告が見受けられるのみで、十分とは言えない (Maggi, et al., 1987, Magora, et al., 1989). そこで、私たちは除脳イヌを対象として、バクロフェンの静脈内およびクモ膜下腔内投与前後で、膀胱内圧、尿道括約筋同時記録法を行ったところ、2, 3 の興味ある知見を得たので報告する。

対象および方法

対象は体重3~5 kg前後の雑種犬を使用した。実験方法のおおよそは既報(西沢ら, 1988)に準じて行った。エトレン吸入麻酔下に、前腕皮静脈内にカテーテルを挿入し、静脈路を確保した。続いて、下腹部正中切開を行い、膀胱頂部より2腔カテーテルを膀胱内に挿入し、一方の経路から内圧を測定し、他方からは生理的食塩水を注入できるようにした。筋電図を導出するために2本のワイヤー電極を尿道壁内に刺入した後、手術創を閉鎖して体位を腹臥位に変換して、上丘の高さで除脳を行った。次に、薬剤の投与に備えて、椎弓切除(Th13-L3)を行い、クモ膜下腔内でその先端が仙髄付近に位置するように硬膜外麻酔用カテーテル(容積0.3 ml)を挿入した。続いて、頭部を脳固定装置に固定し、体幹は胸椎棘突起および腸骨で固定した状態で、薬剤投与前と、前腕皮静脈からのone shot静注あるいはクモ膜下腔内注入によるバクロフェンの投与後に膀胱内に生理的食塩水を注入して、膀胱内圧と尿道括約筋筋電図とを記録し、下部尿路機能に関する検討を行った。なお、バ

クロフェンのクモ膜下腔内注入時には、含有液の容量を0.1 mlとし、0.3 mlの生理的食塩水を用いて、硬膜外麻酔用カテーテルを介して投与した。

成績および考案

薬剤投与前には膀胱内への生理的食塩水の注入に対して膀胱収縮とそれと協調する尿道括約筋の活動が生じ、反射性排尿が認められた。図1はバクロフェンのone shot静注前後の典型例である。この例では、投与前には5 mlの膀胱容量で、膀胱収縮が生じたが、0.01 mg/kg投与後には、9 mlの膀胱容量で膀胱収縮が生じた。また、0.3 mg/kg投与後には、膀胱収縮が消失し、30 mlの膀胱容量時に、溢流性尿失禁が生じた。図2はバクロフェンのクモ膜下腔内投与前後の典型例である。この例では、投与前には8 mlの膀胱容量で、膀胱収縮が生じたが、0.003 mg/kg投与後には、18 mlの膀胱容量で膀胱収縮が生じた。また、0.01 mg/kg投与後には、投与前に認められていた膀胱収縮が消失し、32 mlの膀胱容量時に溢流性尿失禁となった。さらに、尿道括約筋の電気的活動は、著明に低下してい

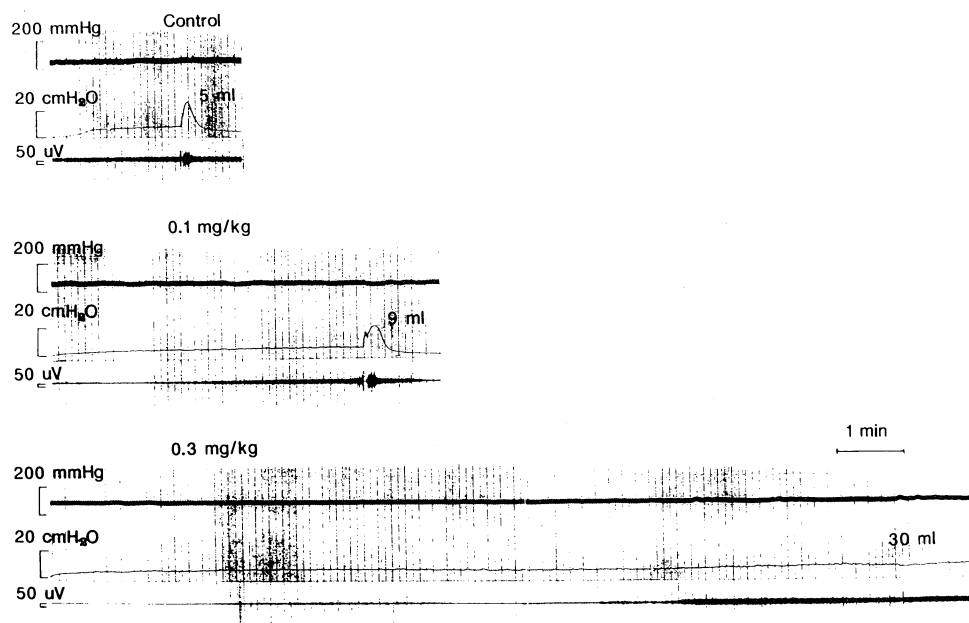


図1 バクロフェンのone shot静注前後の典型例

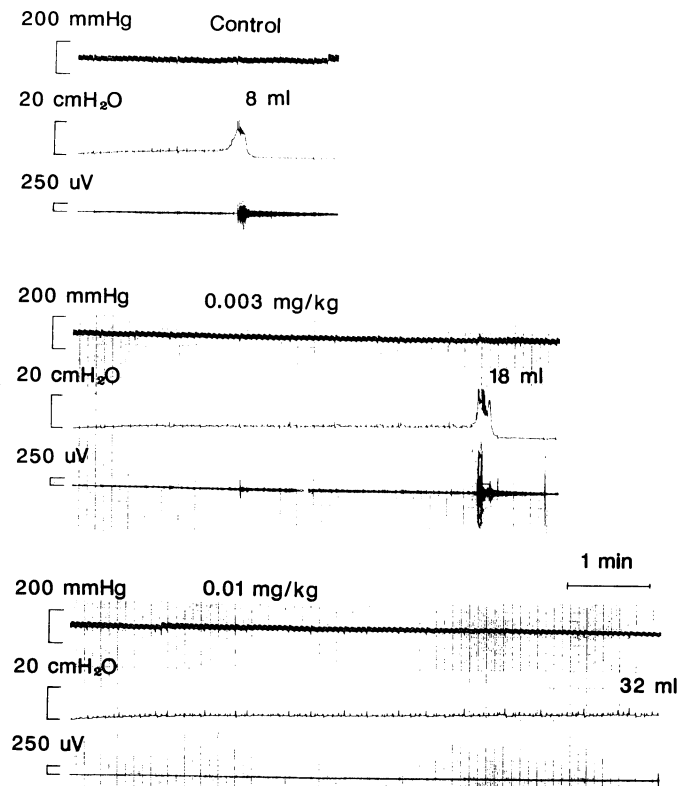


図2 バクロフェンのクモ膜下腔内投与前後の典型例

た。

バクロフェンの効果をまとめると、膀胱容量の増加、閾値圧の上昇、膀胱収縮圧の低下、尿道括約筋の活動低下であり、one shot 静注では 0.3 mg/kg、クモ膜下腔内注入では 0.003 mg/kg 投与後から、効果が発現する傾向が認められた。バクロフェンの作用部位は、橋排尿中枢、脊髓、骨盤神経節などが考えられるが、クモ膜下腔内投与は、静注投与の 1/100 程度の投与量で、抑制効果が生じた。以上から、脊髓レベルで強力な抑制作用を期待できるクモ膜下腔内投与法は、臨床への応用が可能と思われた。

文 献

- Florante, J., Leyson, J., Martin, B. and Scorer, A. (1980) Baclofen in the treatment of detrusor-sphincter dyssynergia in spinal cord injury patients. *J. Urol.* **124**: 82-84.

- Maggi, C.A., Santicioli, P., Giuliani, S., Furio, M., Conte, B., Meli, P., Gragnani, L. and Meli, A. (1987) The effects of baclofen on spinal and supraspinal reflexes in rats. *Arch. Pharmacol.* **336**: 197-203.

- Magora, F., Shazar, N. and Drenger, B. (1989) Urodynamic studies after intrathecal administration of baclofen and morphine in dogs. *J. Urol.* **141**: 143-147.

- Nanninga, J., Frost, F. and Penn, R. (1988) Effect of intrathecal baclofen on bladder and sphincter function. *J. Urol.* part2 **139**: 334A, abstract 687.

- 西沢 理, 菅谷公男, 小浜丈夫, 鈴木隆志, 松崎 章, 福田 孝, 能登宏光, 原田 忠, 土田正義(1988) オキシブチニンの下部尿路機能に対する作用. *日本平滑筋誌* **24**: 262-263.

排尿反射機構の再検討 —— チロプラミドの作用点 ——

東海大学医学部 第一生理

須 田 真, 尾 上 久一郎, 高比良 英 輔

われわれは、塩酸チロプラミド（以下 TP と略す）の試験研究にたまたま参加して、対象である「除脳犬の排尿反射」が、現代の眼で研究されていないことに気づいた。この反射は、多要素から成り、しかも継時的にその構成が変化する活動である。当然多数のパラメーターを含んでいるが、その一つであるべき膀胱利尿筋の電気活動に関しては、確たる同定の証拠を欠いていた。また、*in vivo* 実験で新しい薬物の作用を知ろうとすると、標示となる現象の特徴と、何が最も適切なパラメーターなのかを知ること、何よりも先立つ要請であるとわれわれは考えた。われわれはこの段階の実験を終り、同時に、TP の作用についても興味ある事実を観察したので、ここに報告したい。

実験方法

実験には、体重 10 kg 前後の雄の雑種成犬を用いた。ケタラル（10 mg/kg）筋注によって昏睡させた後、チトゾール（15 mg/kg）の静脈麻酔下で前四丘体レベルの両側除脳を行なった。下腹部を恥骨まで正中切開し、両側尿管のカニューレション、膀胱頂部よりダブルルーメンカテーテル（温リングル注入用と膀胱内圧測定用）の挿入、膀胱前壁、後壁と外尿道壁への電極の装着（尾上ら 1988）、および尿流量計測のため外尿道口からカテーテルを挿入した。また、大腿動脈からの血圧測定も行なった。犬は仰臥位に固定し、開腹して膀胱を露出したまま、観察できるようにした。膀胱内への温リングル液注入には、ロータリ型定量ポンプを使用し、脈流の影響を除くためにアキュムレータを介入した。注入方式は一回きりの注入と連続注入の 2 方式を用いた。電気活動の記録は、8 チャンネルポリグラフによる。骨格筋活動を除去する時には、バンクロニウム 0.1 mg/kg を静注し、人工

呼吸器により呼吸を補った。

結果と考察

1. 排尿反射のパターンには、多くのサブタイプが観察されたが、いずれにおいても膀胱内圧 (cystometry: CM) 上の昇圧相に対応して利尿筋からのスパイクが記録された。図 1 に排尿反射パターンの代表的なサブタイプを示す。

2. 利尿筋スパイクのうち、低周波で発射するもの (2 Hz, 3 Hz) を対象として周波数分析を行なった。CM の初期昇圧相では前壁利尿筋の活動 (3 Hz 附近) が、中期は前壁と後壁利尿筋 (2 Hz 附近) が、また末期では前壁と後壁利尿筋 (3 Hz 附近) の活動が、それぞれ CM 上の変動に対応してみられた。以上の結果より、この電気活動は、膀胱利尿筋の電気活動であると同定した。

3. TP (2 mg/kg iv) の投与では、以下の現象が観察された。

(1) 投与後数分では、CM 昇圧相の最高内圧値がコントロールに比較し約 1/2 小さくなった。

(2) 投与後 50 分～1.5 時間では、排尿潜時 (voiding latency, 以下 VL) が延長し、かつ CM の昇圧持続時間が長くなった。この時、利尿筋と外尿道括約筋のスパイク発射時間も昇圧時間に対応して延長したが、利尿筋のスパイクの振幅にはほとんど変化がなかった。

これは、利尿筋の tonus が低下し、蓄尿量 (infusion rate (ml/min) × VL (min)) が増大したため、反射性に体性神経系と自律神経系からのドライブが延長して、神経性の補償作用がはたらいたことによると考えられる。図 2 に TP 2 mg/kg 静注 50 分後の排尿反射パターンを示す。

以上の結果から、TP の作用点は、投与後短時

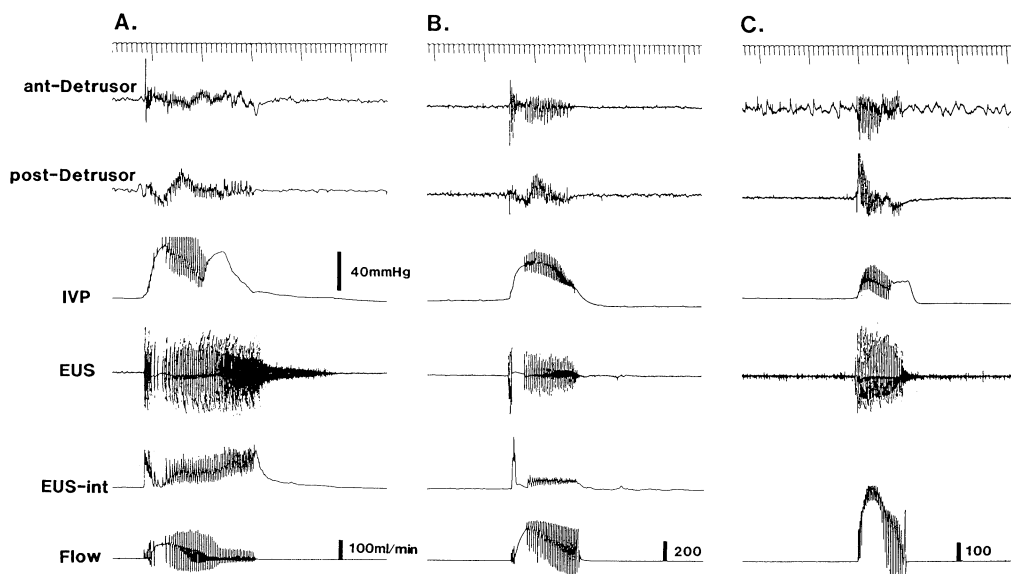


図1 排尿反射パターンのサブタイプ。Aは1回きりの注入（注入速度は10 ml/min），
B, Cは連続注入（注入速度：20 ml/min）。

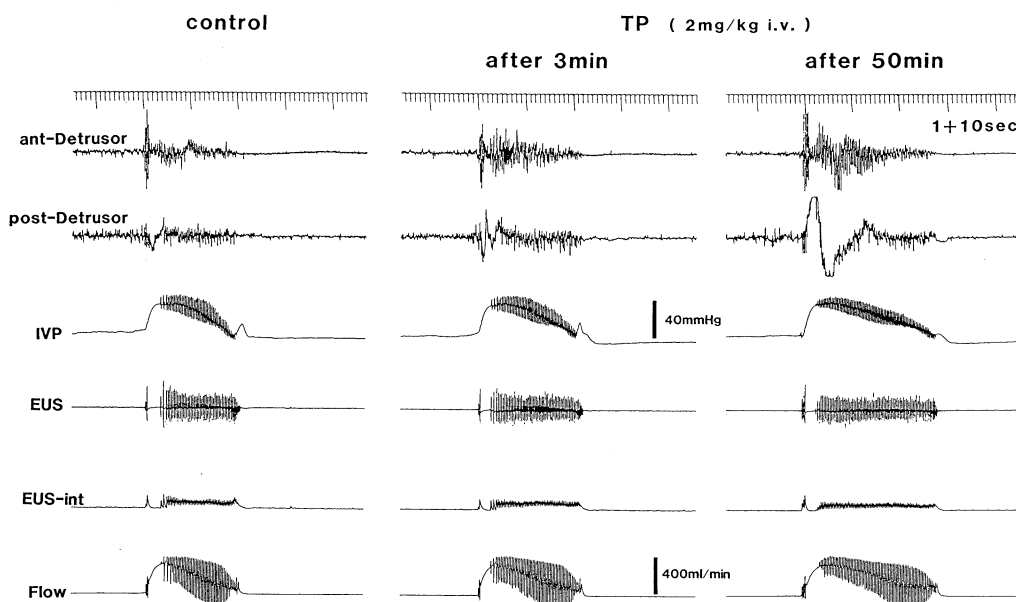


図2 チロプラミド 2 mg/kg iv 投与前，投与後3分，50分の排尿反射。いずれも連続注入（注入速度：20 ml/min）。IVP (CM)の収縮時間がcontrolに比較し，50分後では約1.5倍ほど延長している。

間では、膀胱収縮力の減弱、投与後1~1.5時間では、蓄尿量の増大となって現れるものと結論される。なお後者は、反射性収縮直前の膀胱の観察により、明確に把握できる。

文 献

Craggs M.D. and Stephenson J.D. (1976) The real

bladder electromyogram. *British Journal of Urology*, **48**: 443-451

尾上久一郎, 須田 真, 田村謙二, 高比良英輔, 清水勘治 (1988). 内尿道括約筋と内肛門括約筋の比較. *日本平滑筋誌* **24**: 428-429

ラット妊娠子宮の平滑筋及び内膜上皮細胞における gap junction の変化

佐賀医科大学 産婦人科

池 田 雅 彦, 瓦 林 達比古, 杉 森 甫

gap junction は、隣接する細胞間に存在する抵抗の低い連絡構造であり、興奮性及び非興奮性細胞の両方に存在する。子宮においては、分娩の直前において子宮平滑筋細胞間に急激な gap junction の形成がみられ、分娩が終了するとこれが速やかに消失することが Garfield ら (1978) により報告され、陣痛の発生機序との関係で注目された。一方、子宮内膜上皮細胞間にも tight junction とともに gap junction も観察され、その変化に関する報告 (Murphy 1978) は着床期を中心にした妊娠初期についてはみられ

るが妊娠後期についての報告はない。我々は今回の実験において、隣接する組織である子宮平滑筋と子宮内膜の gap junction の変化に注目し妊娠末期の関係について検討した。

方 法

150-200 g のウイスター系雌ラットの一侧卵管を結紮した後に妊娠させて作成した片側妊娠ラット子宮を 1/2 濃度のカルノフスキー固定液および 1% 四酸化オスミウムで固定後脱水し樹脂に包埋した。超薄切片作成後、酢酸ウラン

Table 1. Myometrial gap junctions before delivery and during parturition in rats

	Surveyed plasma membrane (mm)	No. of gap junctions	gap junction membrane/total membrane (%)
Day 21 of gestation			
longitudinal layer	4.60 (3)	7	0.094±0.050
circular layer	4.78 (3)	9	0.127±0.110
In labor			
longitudinal layer			
implanted horn	8.38 (5)	13	0.061±0.047
nonimplanted horn	12.11 (5)	11	0.072±0.074
circular layer			
implanted horn	10.80 (5)	49	0.294±0.021*
nonimplanted horn	7.17 (5)	29	0.205±0.099*

Mean±S.D.: () No. of rats

* Significantly different from in-labor longitudinal layer

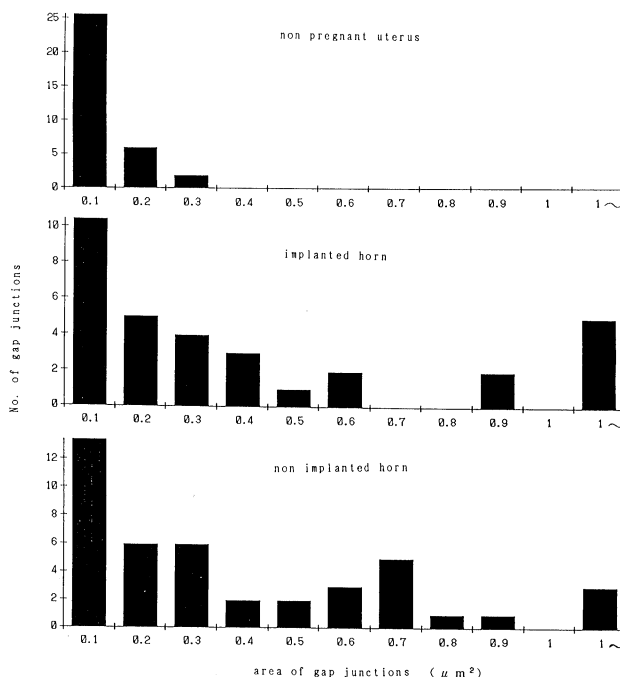


Fig. 1. Distribution of endometrial gap junctions

とクエン酸鉛による二重染色をおこない電子顕微鏡にて観察した。凍結切断法においては、3% グルタルアルデヒドにて固定、30% グリセリンに浸透した後に凍結切断しレプリカを作成した。gap junctionの長さ及び面積は写真上にて測定し、その変化を定量的に検討した。

結 果

超薄切片法による観察では、子宮平滑筋細胞間と内膜上皮細胞間に存在するgap junctionは、隣接する2細胞の細胞膜が近接した7層構造として、凍結切断法においては7-9 nmの粒子の結晶状の集合(PF face)として観察され、平滑筋細胞と内膜上皮細胞で、また妊娠の時期によりその形態に差がみられなかった。未妊娠子宮においては、子宮内膜上皮細胞間にはその面積が $0.25 \mu\text{m}^2$ 以下の小さなgap junctionのみが認められ、平滑筋細胞間にはgap junctionは観察出来なかった。一方、妊娠末期には子宮内膜上皮細胞間のgap junctionはその大きさを増し、観察された最大ものは $3.3 \mu\text{m}^2$ であっ

た。子宮平滑筋細胞間では、gap junctionは内側の輪走筋層において縦走筋層よりも約2倍多く認められた。妊娠末期の子宮平滑筋及び内膜上皮細胞において妊娠側と非妊娠側でgap junctionの形成に差はなかった。

考 案

子宮平滑筋細胞間において未妊娠ではgap junctionが観察されず妊娠末期特に分娩中に増加した。これはGarfieldらの報告(1978)と一致するが、Garfieldら(1982)は縦走筋と輪走筋におけるgap junctionに差がないとしておりこの点では我々の結果と異なる。一方エストロゲンを投与したラットにおいて輪走筋層に多くのを観察した報告(Merk 1980)もあり、また電気生理学的に両筋層は異なり(Kawarabayashi 1976)、同様の管腔臓器である小腸では輪走筋層にのみgap junctionが観察されるとの報告(Gabella 1981)もみられる。

子宮内膜上皮細胞間には平滑筋と異なり未妊娠時よりgap junctionが観察されるがその大

きさは小さく、平滑筋細胞間の gap junction が増加する妊娠末期に大きくなる。このことはこの2つの細胞間の変化が同一の原因により起きている可能性を示している。そしてその原因としては、同一個体の着床子宮側と非着床側で gap junction の形成に差がないことより胎児等による伸展は関与せずエストロゲン等のホルモンの影響が最も考えられる。

文 献

Gabella G. (1981) Gap junctions of the muscles of the small and large intestine. *Cell Tissue Res*

219: 469-488.

Garfield RE, Sims SM, Kannan MS, Daniel EE (1978) Possible role of gap junctions in activation of myometrium during parturition. *Am J Physiol* 235: C 168-C 179.

Kawarabayashi T, Osa T (1976) Comparative investigations of alpha- and beta-effects on the longitudinal and circular muscles of the pregnant rat myometrium. *Jap J Physiol* 26: 403-416.

Murphy CR (1978) Hormones and cell surfaces in the rat uterus. *J Anat* 126: 626-638.

Rat 子宮平滑筋単離細胞のホルモン負荷による変化

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

子宮平滑筋は、妊娠の進行と共に、その収縮性や組織構築に変化を及ぼしていることが知られている。これらの変化の背景には、子宮内容の増大と共に、内分泌学的な影響があることは、想像に難くない。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を用い、種々のホルモン環境の違いが、子宮平滑筋細胞の形態的变化に与える影響について検討し、更に至適酵素処理時間を指標とした、細胞間結合状態についても、検討を加えた。

方 法

未妊娠 Wistar 一今道系雌 Rat (200~250

gr.)を用い、卵巣摘出後、Estrogen (E) Depot 5 mg, 及び Progesteron (P) Depot 62.5 mg, をそれぞれ単独、及び両者混合にて皮下注した。ホルモン負荷後7日目に子宮を摘出し、組織をスライスして、通気した Ca-Tyrode HEPES (NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl₂ 1.0 mM, Glucose 5.6 mM, HEPES 4.2 mM) 内で平衡化の後、検体を mince し、更に、Collagenase, Papain を用い、酵素処理をした。酵素反応時間は、ホルモン負荷により異なることが予想された為、20~90 分間で異なる時間設定とした。酵素反応終了後、遠心・洗浄・濾過し、単離細胞を分離した。完全に分離した単離細胞を、光顕にて写真撮影し、トレースして、細胞長径を計測した。又、同時に採血し、血中 Estradiol, Progesteron を RIA にて測定した。

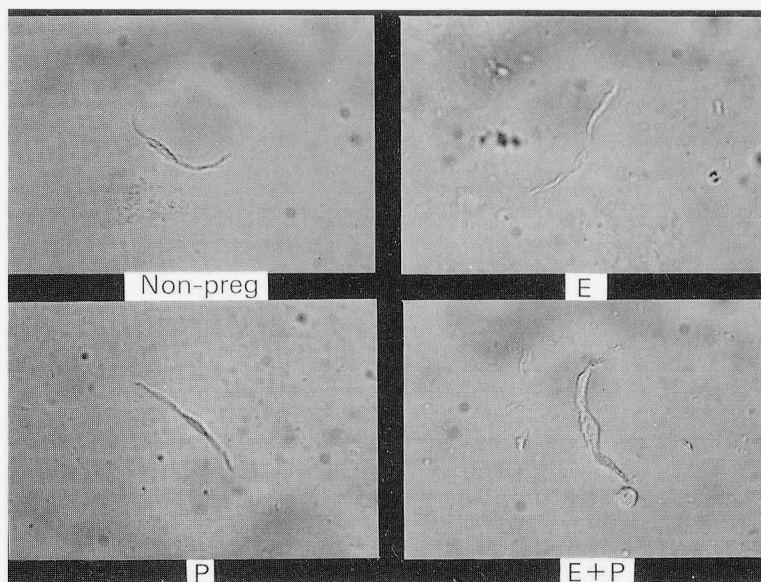


図1. 未妊娠及び各ホルモン負荷による単離細胞 (×100)

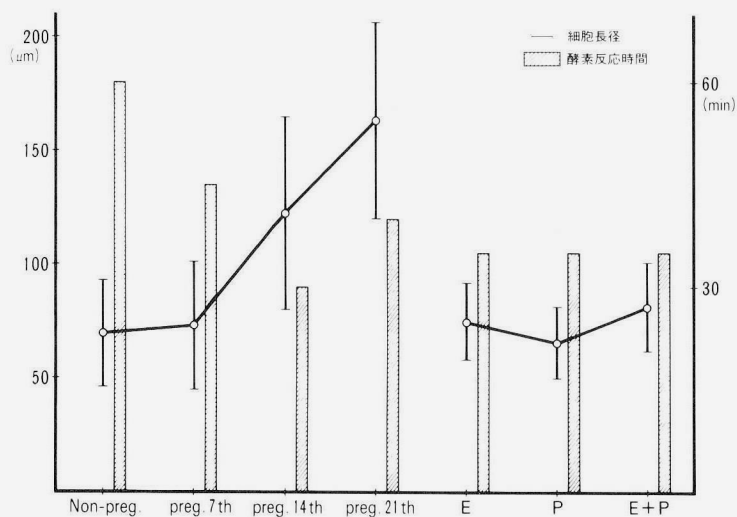


図2. 細胞長径及び酵素反応時間の変化

結 果

今回測定した、ホルモン負荷後の血中ホルモン値は、Estradiol: 1~10 ng/ml, Progesteron: 50~150 ng/ml で、これは妊娠10日目前後のレベルにあった。(図1)は、得られた単離細胞の光顕像で、これら単離細胞長径の実測値は、未

妊娠では、 $69.71 \pm 23.50 \mu\text{m}$, E投与群は、 $79.92 \pm 17.81 \mu\text{m}$, P投与群は、 $65.44 \pm 16.49 \mu\text{m}$, E+P投与群は、 $81.24 \pm 19.03 \mu\text{m}$ であった。未妊娠群とE+P投与群、P投与群とE+P投与群との間に、有意差が認められた。又、我々が前回報告した、妊娠・分娩・産褥各期の値と比較してみると、ホルモン投与群による細胞長径

の変化は、妊娠群に比べ、はるかに少なかった。ホルモン負荷のうち最も変化の大きかった E+P 投与群でも、その値は、おおむね妊娠 7 日目相当だった。我々の報告によると、妊娠各時期により単離細胞採取に要する Collagenase 処理時間に差を認めており、今回のホルモン負荷に於いても Collagenase 処理時間に差があることが予想された。しかし、各ホルモン投与群では、単離細胞採取に至適と考えられた酵素反応時間は、いずれも 35 分であり、ホルモンの投与方法による差はみられなかったが、未妊娠に比べ、明らかな短縮傾向がみられた。(図 2)

結 論

今回我々は、Estrogen、及び Progesteron の単独、或は Estrogen+Progesteron の組み合わせによるホルモン負荷を加えた Rat に於いて、子宮平滑筋単離細胞を作成し、細胞長径及び、酵素反応処理時間について検討した。単離細胞長径は、E+P 投与群に於いて、未妊娠及び P 投与群に比べて有意に増加していた。この結果により、E+P 両者の負荷により、はじめて細胞長径

に変化をもたらすのではないかと考えられた。しかし、妊娠各期との比較では、妊娠 7 日目と同程度で、妊娠 21 日目の約 50% の増大にとどまり、妊娠による細胞長径の増大には、胎仔などの子宮内容の増大が大きく関与していると考えられた。又、単離細胞作成に要した至適酵素反応時間は、未妊娠に比べて、ホルモン投与群で短縮しており、各種ホルモンが、細胞間結合状態の粗鬆化に強く関与していることが示唆された。

文 献

- 中野 真, 崎平公子, 清水良明, 落合和彦, 寺島芳輝, 百瀬和享, 丸山六三(1988), 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 —, 日本平滑筋学会誌 **24**(5): 327-328.
- 落合和彦, 蜂屋祥一, 丸山六三(1983), Rat 子宮平滑筋 skinned fiber 収縮系に於けるステロイドホルモンの影響について, 日本平滑筋学会誌 **19**(3): 146-149.
- 崎平公子(1989), Rat 子宮平滑筋細胞の妊娠性変化 — 妊娠・分娩・産褥期の細胞長の変化を中心として —, 慈恵医大誌 **104**: 141-151.

ヒト子宮筋における prostaglandin E₂ 代謝に及ぼす各種 steroid hormone の影響について —— 15 hydroxy prostaglandin dehydrogenase, 9 keto reductase の精製及びその酵素活性に関する検討 ——

奈良県医科大学 産婦人科

奥 正 孝, 井 谷 嘉 男, 森 山 郁 子
一 條 元 彦

はじめに

prostaglandin E₂ (PG E₂) は、強力な子宮筋収縮作用を有しており、妊娠・分娩制御に広範な役割を担っているものと考えられている。一方、steroids hormone も妊娠制御機構、特に分娩発来機構に関し重要な役割を示すことが報

告されており、今回 PG と steroids の相互協調作用を明確にするため種々の検討を行った。PG の生体内での生理作用を明確にするためにはその産生・代謝・受容体を検討しなくてはならない。しかしながらその産生は非常に速やかであるため、生体内での生理作用の制御には産生機構よりむしろ速度の遅い代謝機構が重要である

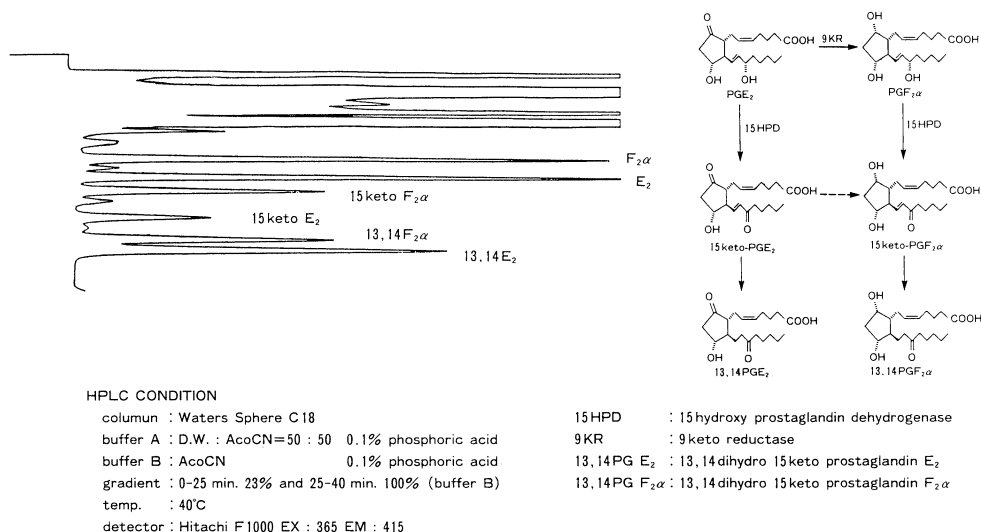


図1. HPLC chart (ADAM-PG) and prostaglandin E₂ metabolism map

との見解より, PG E₂ 代謝における key enzyme と称される 15 hydroxy prostaglandin dehydrogenase (15 HPD) 及び 9 keto reductase (9 KR) に関し, steroids との相互協調作用を検討した。

方 法

婦人科疾患にて摘出した子宮筋を homogenate し, 超遠沈にて cytosol 分画を得た。この分画を硫酸 40%-60% にて塩析し, 沈渣を, Pharmacia Q Sepharose column (35×300) にて分離し, 酵素活性の高い部分を Blue Sepharose CL6B に吸着させ, NAD による特異的溶出により 15 hydroxy prostaglandin dehydrogenase (15 HPD) 及び 9 keto reductase (9KR) を精製した。

生体内のシミュレーションとして cytosol 分画を用い, DHAS, progesterone, estradiol, cortisol 存在下における各種濃度の PG E₂ の転換速度を検討した。37°C で一定時間 incubation 後, Waters Sep Pak C₁₈ にて PG を抽出し, ADAM 試薬にて蛍光ラベル化し HPLC にて代謝物を定量した。(図1)

結 果

1) cytosol を用いた実験では, NAD, NADPH 共存下において 15 PG E₂ に約 80%, PG F₂ α に約 15% 転換された。PGE₂ の消失速度は estradiol により, Vmax 値で約 40% 亢進した。9KR による PG F₂ α の産生速度は DHAS 存在下において軽度亢進が認められた。3) 15 HPD による 15 PG E₂ の産生量は Vmax 値において, estradiol 存在下では約 45% の亢進を認めた。一方 cortisol 存在下では約 10% の抑制を認めた。(図2)

2) 一方, 精製酵素を用いた実験では 15 HPD 活性は DHAS, estradiol により dose dependent に著明に亢進した。しかしながら cortisol は逆にその代謝を抑制した。

考 察

cytosol を用いた実験では, estradiol は PGE₂ の消失速度を高め, 15 PG E₂ への転換を促進した。一方 cortisol は 15PGE₂ の産生を抑制した。また精製酵素を用いた実験でも, estradiol, cortisol は同様の作用をもたらした。しかしながら DHAS は精製酵素による系にお

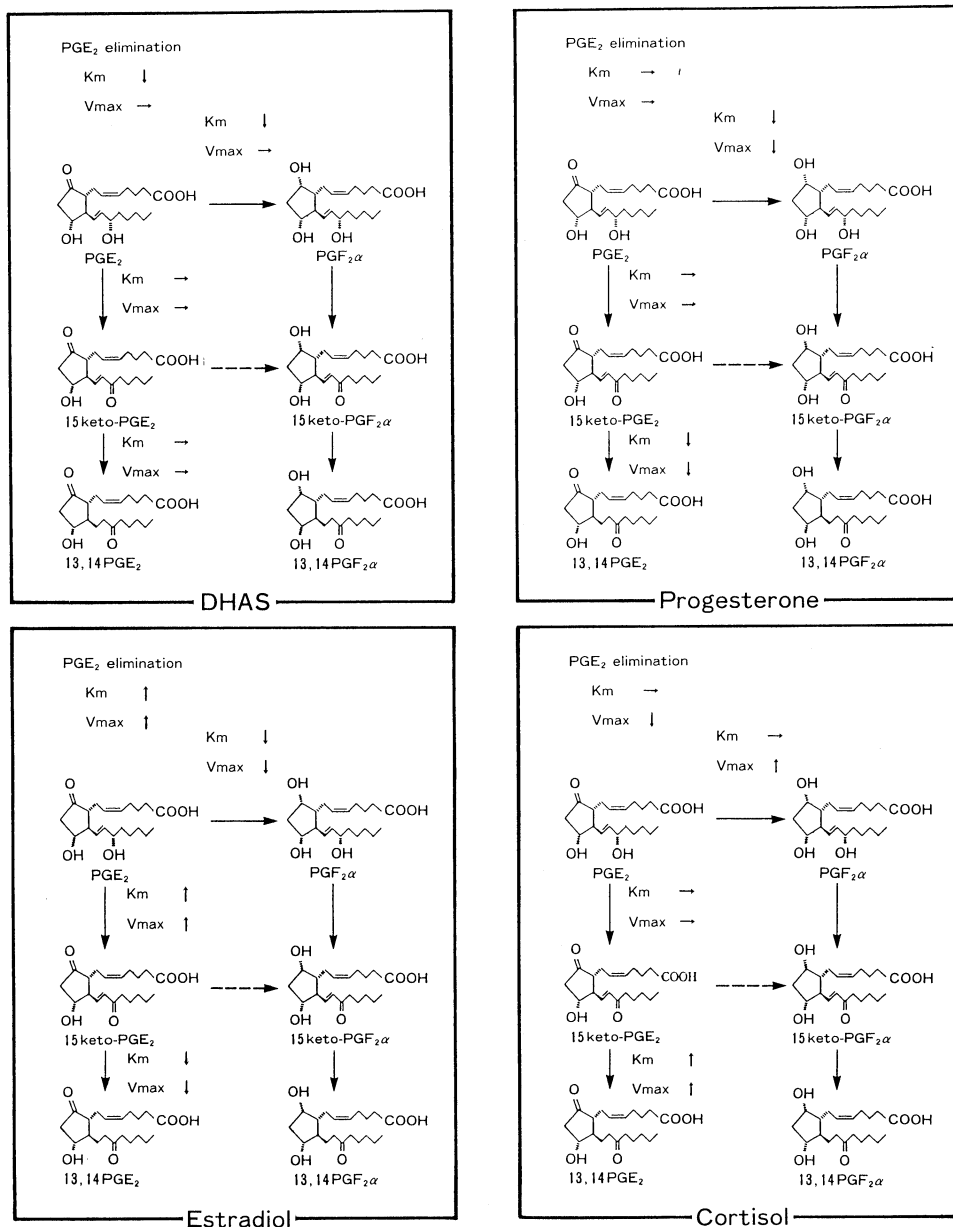


図2. Result of steroids' effect on prostaglandin E_2 metabolism

いてのみ 15 HPD 活性を著明に亢進した。

以上の成績より、妊娠末期において胎児・母体より大量に産生される cortisol が子宮筋における $PG\ E_2$ の 15 $PG\ E_2$ への転換、すなわち $PG\ E_2$ の不活性化を抑制し、さらに分娩発来時の estradiol 低下も同様に $PG\ E_2$ の不活性化を

抑制することにより、分娩進行に合目的に作用するものと理解される。以上の成績は、分娩誘導に関わる PG 及び steroids の相互作用を理解するうえで新しい知見と解される。

尚、DHAS, progesterone の意義に関しては現在再検討中であり、また 9 KR についても

種々の検討を加えている段階であるため、今回の発表は控えさせていただく。

子宮筋の steroids block と phosphoinoside-specific phospholipase C (PLC) 活性制御

奈良県立医科大学 産婦人科学教室

井谷 嘉男, 奥 正孝, 森山 郁子
一 條 元 彦

我々は妊娠子宮がその期間中において, progesterone (P), estrone (E_1), estradiol (E_2), estriol (E_3) などの高濃度 steroids 環境下に置かれていることに注目し, これら高濃度 steroids により, carbachol contraction 等が抑制されることを見出し, steroids が妊娠維持機構に重要な役割の担い手であること, すなわち 'steroids block' として報告した. (高山 1986). 近年, イノシトール燐脂質代謝回転 (PI response) とこれにともなう細胞内 Ca^{2+} 動態が平滑筋収縮調節機構の一つと目されている.

というのも, この代謝で生じる inositol, 4, 5-trisphosphate (IP_3) は, ウシ子宮筋の筋小胞体から Ca^{2+} 放出 (Carsten et al 1986) や, またウサギの mesenteric artery の skinned fiber にて張力の発生 (Hashimoto et al 1986) など, 種々の平滑筋細胞での Ca^{2+} store から Ca^{2+} release を促進し, 筋収縮を惹起することが確認されつつあるからである. そこで, 今回, 我々はヒト子宮筋よりこの PI response の制御段階を担う酵素である phospholipase C (PLC) を抽出し, その活性の特性, 及び高濃度 steroids

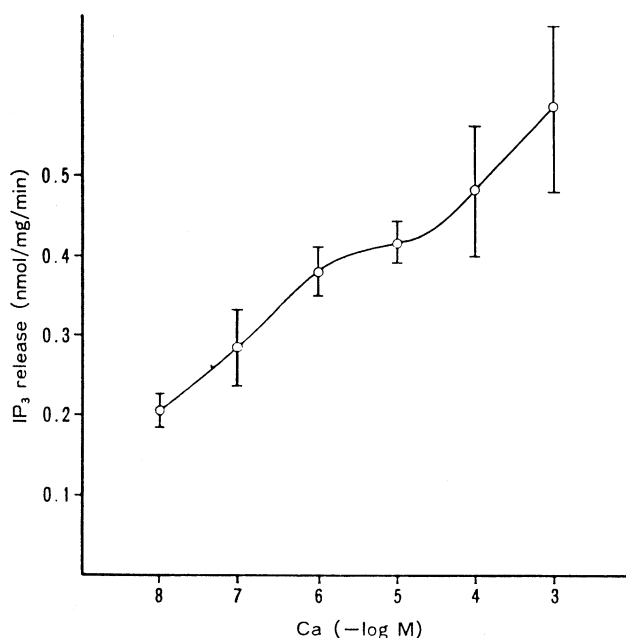


Fig. 1. Calcium dependence of PLC activity

The cytosol fraction was incubated with 3H - PIP_2 as substrate in medium containing 90 mM-KCl, 10 mM-LiCl₂, 20 mM-Imidazol buffer (pH 7.25), for 2 min at 35°C. Free Ca^{2+} concentration was varied using Ca^{2+} /EGTA buffer. The results shown are the mean values \pm S.D.

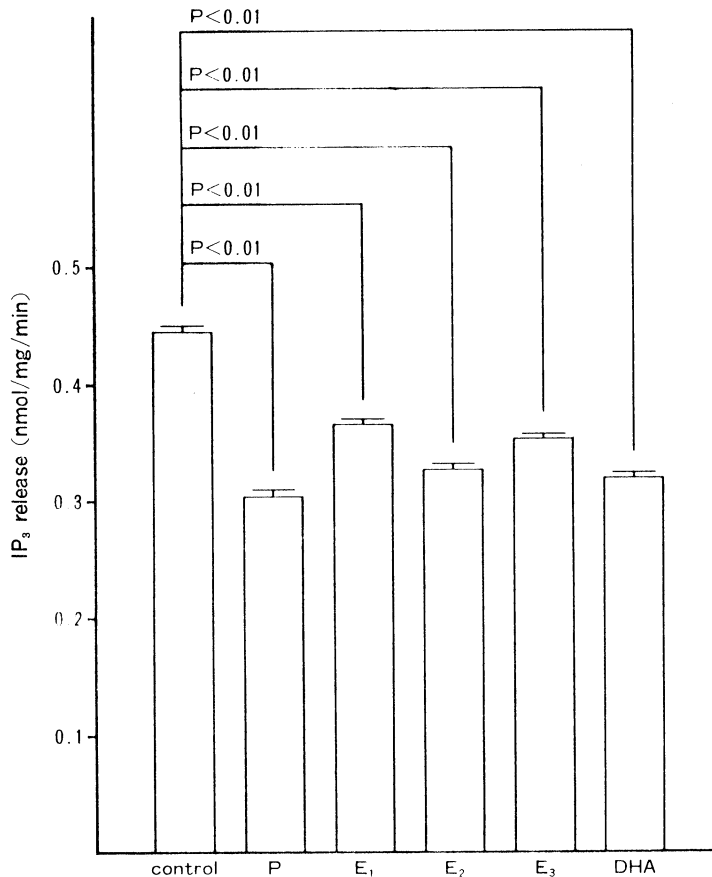


Fig. 2. Effects of steroids on PLC activity

The cytosol fraction was incubated with ^3H -PIP₂ as substrate in medium containing 90 mM-KCl, 10 mM-LiCl₂, 20 mM-Imidazol buffer (pH 7.25), for 2 min at 35°C. Free Ca²⁺ concentration indicated was buffered using Ca²⁺/EGTA buffer. P, progesterone 10⁻⁴ M; E₁, estrone 10⁻⁴ M; E₂, estradiol; E₃, estriol 10⁻⁴ M; DHA, dehydroepiandrosterone were added in medium each. The results shown are the mean values±S.D.

の PLC 活性におよぼす影響を検討した。

実験方法

患者の同意の下、ポローの手術または、帝切時に得られたヒト子宮筋試料より、5 容量の homogenizing buff (0.25M sucrose, 20mM imidazole, 1mM DTT, 1mM EGTA, pH 7.25) を用いて homogenize ののち、超遠心操作 (10⁴×g) にて cytosol fraction を得、この画分に含まれる PLC の活性を 20mM Imidazol または sodium acetate, Ca-EGTA buffer, 90mM KCl, の条件下にて [^3H] phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate ([^3H] PIP₂), non-labeled

PIP₂ を基質とし、水解産物である [^3H] inositolphosphates ([^3H] IP_n) の放射活性を測定した。

結 果

① ([^3H] IP_n は反応開始より最初の 2 分間は直線的に増加した。② PLC 活性は Ca²⁺ dependent に上昇し 10⁻³ M にて最大 5.76×10⁻¹⁰±1.06×10⁻¹⁰ M/min/mg protein となった。(Fig 1) なお、③ Ca²⁺ 10⁻⁵ M, 35°C, pH 7.25 における PLC 活性は 4.25×10⁻¹⁰±0.44×10⁻¹⁰ M/min/mg protein であった。④ ③ 条件下の、みかけの PLC Vmax 値は 9.23×

$10^{-10} \pm 2.7 \times 10^{-10}$ M/min/mg protein であった。⑤ PLC は Ca^{2+} 10^{-5} M, 35°C , において pH 6.8 付近にて最大活性 $1.166 \times 10^{-9} \pm 2.0 \times 10^{-11}$ M/mg \cdot protein/min をえた。⑥ 50mM MgCl_2 は PLC 活性をほぼ完全に抑制した。⑦ dehydroepiandrosterone (DHA) 10^{-4} M の添加は $3.32 \times 10^{-10} \pm 0.47 \times 10^{-10}$ M/mg \cdot protein/min と有意に control 値の 78% に低下させた。⑧ E_1 , E_2 , E_3 , P などの 10^{-4} M の添加は PLC 活性をそれぞれ $3.56 \times 10^{-10} \pm 0.19 \times 10^{-10}$, $3.09 \times 10^{-10} \pm 0.19 \times 10^{-10}$, $3.25 \times 10^{-10} \pm 0.15 \times 10^{-10}$, $2.83 \times 10^{-10} \pm 0.37 \times 10^{-10}$ M/mg \cdot protein/min と有意に control 値の 83%, 72%, 76%, 66% に低下させた。(Fig 2)

結 論

細胞内 Ca 動態に関与する PI response の制御段階の酵素 PLC をヒト子宮筋 cytosol より抽出しその活性の特性を PIP_2 を基質として用いることにより検討し、その Ca^{2+} 濃度依存性、 Mg^{2+} 濃度依存性を明らかにした。また、このヒト子宮筋より抽出した PLC の活性が高濃度の DHA, P, E_1 , E_2 , E_3 によって抑制されることを明らかにした。このことは PI-response を介する細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に、高濃度 steroids

が抑制的に作用している可能性を示唆する。すなわち 'steroids block' の機序の一端としては、高濃度 steroids が、この PI-response に抑制的に働くことによっている可能性が考えられた。

文 献

- Sasaguri T. et al. (1985) Dependence on Ca^{2+} of the activities of phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate phosphodiesterase and inositol, 4, 5-trisphosphate phosphatase in smooth muscles of the porcine coronary artery. *Biochem J.* **231**: 497-503.
- Roth B.L. (1987) Modulation of phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate hydrolysis in rat aorta by guanine nucleotides, calcium and magnesium. *Life Sci.* **41**: 627-634.
- 高山辰男 (1986) 子宮筋収縮機構におよぼす estrogen progesterone の作用. 日本平滑筋誌 **22**: 43-51.
- Carsten M.E. and Miller J.D. (1985) Ca^{2+} release by inositol trisphosphate from Ca^{2+} -transporting microsome derived from uterine sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Com.* **130** (3): 1027-1031.
- Hashimoto T. et al. (1986) Inositol 1, 4, 5-trisphosphate activates pharmacomechanical coupling in smooth muscle of the rabbit mesenteric artery. *J. Physiol.* **370**: 605-618.

産科臨床における子宮収縮の評価について

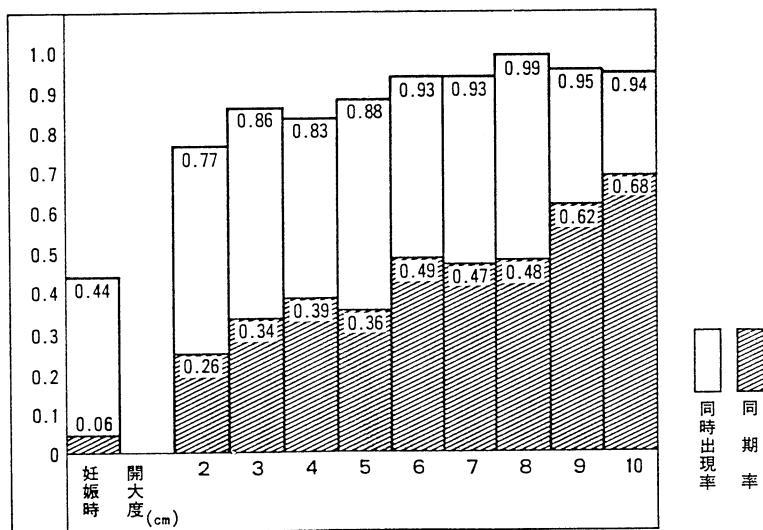
佐賀医科大学 産婦人科

瓦 林 達比古, 進 本 正 浩, 池 田 雅 彦
杉 森 甫

緒 言

産科臨床における子宮収縮の評価法には、子宮内圧を経腔的に測定する内測法と母体腹壁から間接的に収縮を記録する外測法とがあるが、前者は mmHg という絶対的圧表示は可能であるもののカテーテル挿入のための破膜が必要であり、妊娠中の収縮モニターには不適當である。

一方、後者は非侵襲性、簡便性において優れており、妊娠中から分娩時まで一貫した収縮モニターは可能であるが、強さの判定は困難でありその頻度と持続によって収縮の質的評価をせざるをえなかった。そこで、外測陣痛計を小型軽量化して母体腹壁上の 2 点から同時に子宮収縮を記録することにより、それらの収縮曲線の同時出現率やピーク同期率に注目した新たな収縮



分娩陣痛の開大度別同時出現率・同期率

(陣痛) 評価法の開発を試みた。

方 法

妊娠中期から分娩中の妊婦の子宮体部に相当する腹壁上に、各種の感圧器をテープやベルトによって圧着固定して子宮収縮を記録した。2チャンネルモニターは、径3.5 cmの2個の小型Guard Ring型陣痛計を装備した改良型トーイツMT430マルチ式アクトカルディオグラフを用い、母体腹壁上、子宮体上部と下部に15 cm以上離して装着し収縮を同時記録した。

結 果

母体腹壁からの子宮収縮の記録は、主として感圧器直下の腹壁の歪みを検出していて、簡単なFoil Strain Gaugeを張り付けるだけでも評価可能な収縮曲線が得られるが、発汗や体温の影響により基線が次第に変動し、長時間のモニターにはGuard Ring型の外測陣痛計が優れていた。陣痛計の大きさについては、収縮曲線の頻度や持続に関する限りは径3 cm位のものでも十分に記録することができた。次いで2チャンネルモニターを施行した。対象は当科で管理した自然分娩46例、誘発分娩39例、切迫早産18例計103例の妊婦であり、その5169収縮を

陣痛の種類別同時出現率・同期率

陣痛の種類	全陣痛数	同時出現率	同 期 率
妊娠陣痛	43	0.44	0.06
分娩陣痛	2,874	0.88	0.41
早産陣痛	614	0.78	0.27
早産陣痛 (維持群)	121	0.52	0.23
早産陣痛 (治療群)	493	0.85	0.28
CB挿入群	164	0.61	0.20

CB: cervical balloon

検討したところ71%が評価可能であった。その結果、妊娠時の子宮収縮は分娩時と比べ同時出現率、同期率いずれも低かった。早産例は両者共中間の値をとった。早産例を β_2 作動薬や硫酸マグネシウム点滴投与中の治療群と β_2 作動薬内服または安静のみの維持群に分けると、維持群は同時出現率は低くなるものの同期率は変化なかった。薬剤(オキシトシン, $\text{PGF}_2\alpha$)による誘発陣痛と自然陣痛には有意差はなかったが、子宮口開大4 cmを境としたlatent phaseとactive phaseについては同時出現率、同期率共に有意に後者の方が高かった。しかしながら、子宮口開大1 cmごとに分娩経過を追ってみる

と、開大にしたがって同時出現率、同期率は増加していくが、latent, active phaseの境界での有意差は認められなかった。

考 察

外測陣痛計による子宮収縮評価については、胎児心拍数陣痛計における心拍数変動の参照情報として収縮曲線が観察されてきたため、収縮自体の臨床的評価法は乏しいものであったが、1978年鈴木、中江は外測陣痛計による収縮曲線のパターン分類を提唱し、大体の臨床傾向を記述した。その後我々は、小収縮波の臨床的特徴について調査し、これは全体的な収縮性の亢進を意味するものであり、早産治療時出現頻度が高く、出現例の帝王切開率が有意に高いことなどを報告したが(Kawarabayashi et al., 1988)、これに先立って、外測陣痛計による収縮モニターにおいてさらに多くの情報を得るため子宮収縮の同期性に着目し、有効陣痛は2点モニターの立ち上がり点とピーク点の同期率が高まることなどを報告した(Nakahara et al., 1986)。今回は日常の臨床の流れの中で2チャン

ネルモニターを施行したが、同時出現率や同期率の観察により、妊娠時の子宮収縮に比し分娩中は両者共に次第に増加すること、早産例はその中間であること、早産状態の中にも収縮の質的違いが存在すること、誘発陣痛と自然陣痛には有意差のないことなどが判明した。この方法は統合された陣痛の評価に有用であり、今後症例を積み重ねていかなければならない。

文 献

- Kawarabayashi, T., Kuriyama, K., Kishikawa, T., Sugimori, H. (1988). Clinical features of small contraction wave recorded by an external tocodynamometer. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **158**: 474-478.
- Nakahara, H., Kawarabayashi, T., Ikeda, M., et al. (1986). Synchronization of uterine contractions recorded by Guard-Ring tocodynamometer. *Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol.*, **12**: 137-142.
- 中江信司(1978). 妊娠中後期子宮収縮の分析. 日産婦誌 **30**: 1637-1646.

モルモット精管収縮へのペラパミルの影響

大阪府立大学農学部 獣医薬理

畑 文明, 佐伯和子, 岸 功
竹内正吉, 矢ヶ崎 修

モルモット精管では神経伝達物質として、ATPがノルエピネフリン(NE)と共に下腹神経終末から遊離され、収縮反応をひき起していることが知られている(Meldrum & Burnstock, 1983; Sneddon & Westfall, 1984)。本報告ではカルシウムチャンネル遮断薬のペラパミルが、神経終末からのNEの遊離を選択的に抑制することを示す知見を得た。

方 法

モルモットから下腹神経-精管標本を得た。

吸引電極により神経刺激(Train Pulse, 20 Hz, 7あるいは0.25秒)を行ない、発生した張力を等尺性に記録した。ヘキサメトニウムで遮断される刺激を節前線維刺激、遮断されない刺激を節後線維刺激とした。また外部より直接薬物をorgan bathに適用し収縮反応をみた。遮断薬は刺激の8分前から処置した。

結 果

神経刺激による収縮は刺激直後に起る速い立ち上がりのphasic相(1st phase)とそれに続く

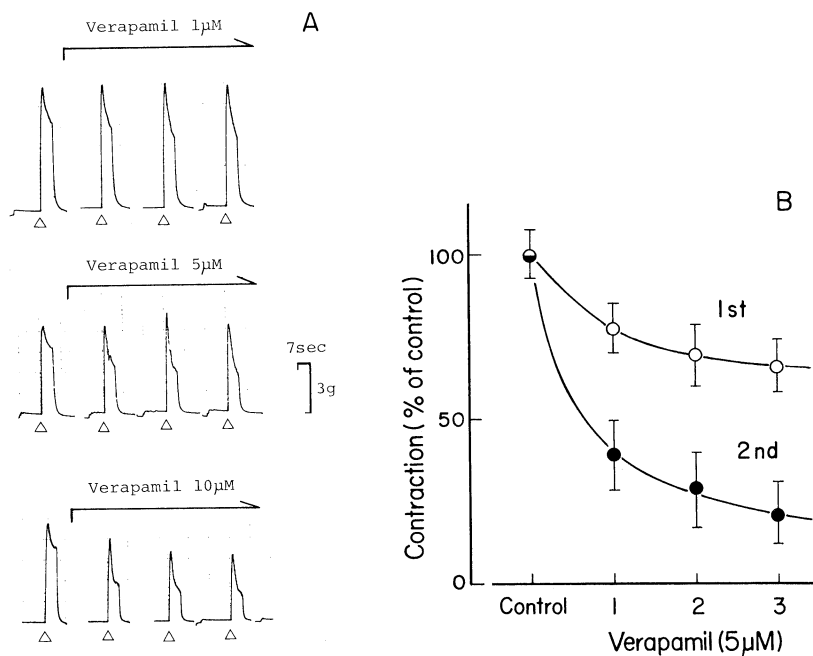


図1. モルモット精管収縮へのベラパミルの影響
(A) 1, 5, 10 μM ベラパミルの影響. Δ : 下腹神経節前線維刺激, 20 Hz, 7 秒, 10 分間隔で刺激 (B) ベラパミル (5 μM) 処置後の phasic 相 (1st) と tonic 相 (2nd). ベラパミル処置時間: 8 分 (1), 18 分 (2), 28 分 (3). 平均値 \pm 標準誤差 ($n=5$).

て起る持続性の tonic 相 (2nd phase) から成っていた. ベラパミルを前処置すると, phasic 相に比べ tonic 相が著しく抑制された (図1). この作用は 1 μM でみられ, 濃度を上げるに従い phasic 相も抑制されたが tonic 相の抑制が著しかった (図2). また処置時間を延長させるに従い tonic 相の抑制がさらに著明となった. α, β -methylene ATP (5 μM) を前処置すると, phasic 相が消失し tonic 相のみとなった. ベラパミルはこの収縮を処置時間に依存して有意に抑制した. 一方, プラズシン (1 μM) 前処置では収縮は phasic 相のみとなり, この収縮に対しベラパミルは 10 μM を用いても僅かな抑制を示したに留った. また神経刺激を短くし (10 V, 20 Hz, 0.25 秒) tonic 相の見られない twitch 様の収縮を起した場合にもベラパミルは抑制効果を示さなかった.

外部から適用した NE (1~100 μM) による収縮反応にはベラパミルは 10 μM を用いても僅かな収縮反応の増強が見られるのみで, 抑制

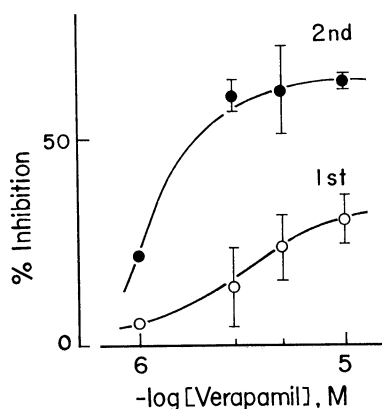


図2. ベラパミルの精管収縮抑制作用の濃度依存性
各濃度のベラパミル処置後 8 分の収縮反応の phasic 相 (1st) と tonic 相 (2nd) への抑制 (%) を示している. 平均値 \pm 標準誤差 ($n=3\sim5$).

することはなかった. 外部から適用した ATP (1~100 μM) による収縮反応には 1~5 μM ベラパミルは僅かに増強の傾向を示し, 高濃度 (10

μM)では著しく収縮を増強した。

以上の実験において、ジルチアゼム ($5\sim 10\ \mu\text{M}$)もベラパミルに似た効果を示した。ニカルデピンは効力が強く $0.1\ \mu\text{M}$ で似た効果を示した。

神経刺激による収縮反応へのベラパミルの効果は、節前、節後線維刺激の何れの反応に対しても大差なかった。

考 察

$5\ \mu\text{M}$ までのベラパミルは外部から適用したATP, NEによる収縮反応には著効を示さなかったことから、平滑筋への直接作用は少ないと思われる。一方、 $5\ \mu\text{M}$ のベラパミルは神経刺激による収縮反応の phasic 相に著効を示さなかったが、tonic 相を強く抑制した。以上のことから $5\ \mu\text{M}$ ベラパミルは下腹神経終末からのNEの遊離を抑制すると考えられる。他のカルシウムチャネル遮断薬、ジルチアゼム、ニカルデピンでも同様な効果が認められた。メディウム中の Ca^{++} を低下させた時は、phasic 相、tonic 相が同程度に速やかに抑制された。高濃度ベラパミルには局所麻酔剤に似た膜安定化効果が報告されているが、プロカインは本実験で

は両相を同程度に抑制した。本実験で考察されたベラパミルのNEの神経終末からの遊離抑制機序は現在不明である。また外部から適用したATPによる収縮を $10\ \mu\text{M}$ ベラパミルが著明に増強した機序も不明である。

今回の実験結果と、以前に示した PGE_2 が主としてATP遊離に影響を与えていることを示す結果(岸ら, 1988)と考え併せると、Co-transmitterとして遊離される両者の貯蔵、遊離機序が同一でない可能性が示された。

文 献

- 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.
- Sneddon, P. and Westfall, D.P. (1984) Pharmacological evidence that adenosine triphosphate and noradrenaline are co-transmitters in the guinea-pigs vas deferens. *J. Physiol.* **347**: 564-580.
- 岸 功, 佐伯和子, 竹内正吉, 畑 文明, 矢ヶ崎修 (1988) モルモット精管の神経刺激伝達物質とブロスタグランジンの働き. *日本平滑筋誌* **24**: 311-313.

モルモット肝外胆管収縮における アセチルコリン誘発性収縮の Ca^{2+} 機構

東北大学医学部 第三内科

鈴木 勲 志

同 応用生理

福 士 靖 江

同 第一生理

泉 井 亮

目 的

肝外への胆汁流出機構として、胆のうやOddi括約筋の収縮 (Behar & Binacani, 1980) や毛

細胆管の収縮 (Phillips et al, 1982) の関与が示唆されている。これらの収縮機構に加え、我々は肝外胆管の自発性収縮 (Suzuki et al, 1988) を報告した。この自発性収縮はカルシウム拮抗

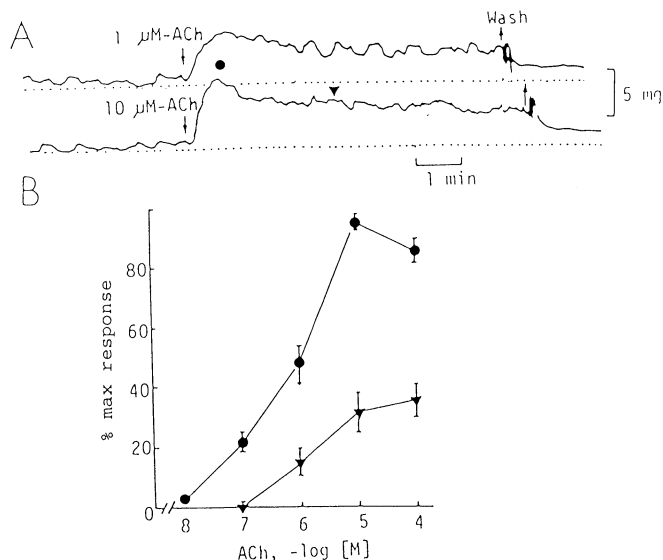


Fig. 1. Dose-response curve of the acetylcholine induced contraction of the guinea-pig hepatic duct

剤 (D-600) に対する反応性から ① D-600 に対する感受性が高く、細胞外からの Ca^{++} 流入による収縮, ② D-600 に対する感受性は低く、細胞内 Ca^{++} の遊離による収縮とに分類された。

今回は、肝外胆管の収縮とカルシウム機構とを更に明らかにするため、アセチルコリン (ACh) 刺激による収縮機構の検討を行なった。

材料と方法

200~300 g の雄性モルモットの肝外胆管を肝門部、胆のう胆管及び総胆管との接合部を結紮し、周囲の結合織を除去後に摘出した。組織を縦方向に切開して長さ 5 mm, 中 3 mm の標本を作製した。この標本を 95% O_2 , 5% CO_2 を通した 1 ml の krebs 液を満たした液槽中にけん垂し、その等尺性収縮を測定した。静止張力は 40 mg に調整した。ACh, D-600, テトロドキシン (TTX), Atropine を投与する際は、25 μ l を直接液槽中に加えた。無 Ca^{++} 溶液には、6.2 mM MgCl_2 , 1 mM EGTA を加えた。

結 果

1 ないし 10 μ M ACh 添加により、時間的経過の早い第 1 相の収縮 (●) とそれに続く時間的経過の長い第 2 相の収縮 (▼) とが出現した。

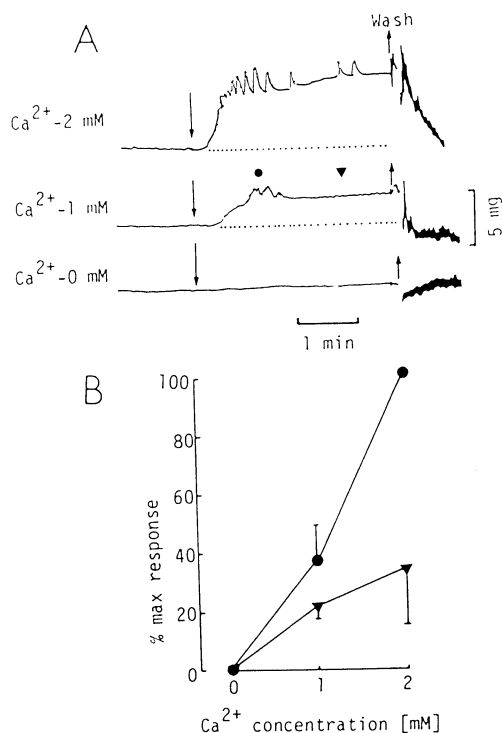


Fig. 2. Effect of Ca^{2+} concentration on the contraction induced by acetylcholine in the guinea-pig hepatic duct

(Fig 1A). 次に ACh 刺激の薬物用量曲線を求めた (Fig 1B). ACh 添加による第 1 相の最大収縮の平均値を 100% にした場合の各標本 ($n=10$) の第 1 相及び第 2 相の収縮の平均値を% で示した. 第 1 相の収縮は 10^{-7} M から出現し, 10^{-5} M で最大値を示した. 一方, 第 2 相の収縮は 10^{-6} M で出現し, 10^{-4} M で最大値を示した. これらの収縮は TTX ($10^{-7}\sim 10^{-8}$ M) では抑制されず Atropine (10^{-7} M) で抑制された. 次に D-600 による収縮への影響を検討すると, 10^{-6} M D-600 により 10^{-6} M の ACh による収縮は全て消失したが, $10^{-5}\sim 10^{-4}$ M の ACh 刺激では第 2 相の収縮が認められた. 更にこれらの収縮と Ca^{++} の関係について検討した. 液槽中 Ca^{++} 濃度を 1mM にすると第 1 相及び第 2 相の収縮が共に低下し, 0 Ca^{++} では全ての収縮が消失した (Fig 2A). 2mM Ca^{++} での最大収縮の平均値を 100% とした場合の各 Ca^{++} 濃度における第 1 相 (●), 第 2 相 (▼) の収縮を示す (Fig 2B). 1mM Ca^{++} で, 第 1 相の収縮が 60% の低下を示すのに対し, 第 2 相の収縮は 32% の低下を示し, 各収縮の外液 Ca^{++} に対する依存度が異なっていた. そこで, 外液中の K^{+} 濃度を 150mM として収縮を起させ, 持続収縮中に 10^{-4} M の ACh を添加すると, 第 2 相の収縮の

みを誘発した.

考 察

ACh により誘発される第 1 相の収縮は D-600 及び低 Ca^{++} で強く抑制されたことから, この収縮は Ca^{++} の流入によると考えられた. 一方, 第 2 相の収縮は 0 Ca^{++} で消失するにも拘らず D-600 に感受性が低い. 従って第 2 相の収縮に, Ca^{++} の細胞内流入は必要であるが, その Ca^{++} が直接収縮に結びつかない可能性が考えられる. 高 K^{+} 下に持続的収縮を誘発した状態で, ACh を添加すると第 2 相の収縮のみ誘発されることも考え合わせると, 第 2 相の収縮には Ca induced Ca release (Endo M. et al 1970) の機構が推定された.

文 献

- Behar, J. & Binacani, P. (1980).: J. Clin. Invest. **66**, 1231.
 Phillips, M.J., Oshio, C. & Miyairi, M. (1982).: Hepatology, **2**, 777.
 Suzuki, H., Fukushima, Y. & Wakui, M. (1988).: Tohoku J. exp. Med. **156**, 13.
 Endo, M., Tanaka, M. & Ogawa, Y. (1970).: Nature **228**, 34.

イヌの視床下部刺激による胆嚢からの胆汁排出反応と抑制反応

川崎医科大学 第二生理学教室

岡 田 博 匡, 古 川 直 裕

最近, ヒトで胆道シンチグラフを使用し, 偽食法によって神経性に胆汁排出が発現することが明らかにされた (Ellenbogen ら, 1986, Fisher ら, 1986). イヌでも食餌直後の頭相での胆汁排出の存在が示唆されている (Mathie ら, 1987, Scott ら, 1988). しかし, この反応発現の詳細な機序は明らかでない. 私達はイヌで, 摂食に関与する視床下部に胆汁排出を調節する部位が存在するかどうかを検索するため, この実

験を企画した.

実験方法

約 15 時間絶食した雑種成犬 40 頭を用い, ケタミン・クロラロース麻酔下に実験した. まず, 左大脳半球・間脳を除去して, 第 III 脳室壁を露出した. ついで腹部正中切開後, 胃幽門括約部は粘膜下に結紮閉鎖し, 胃液の十二指腸への流出を防いだ. 胆嚢底より圧記録用と内容量調節

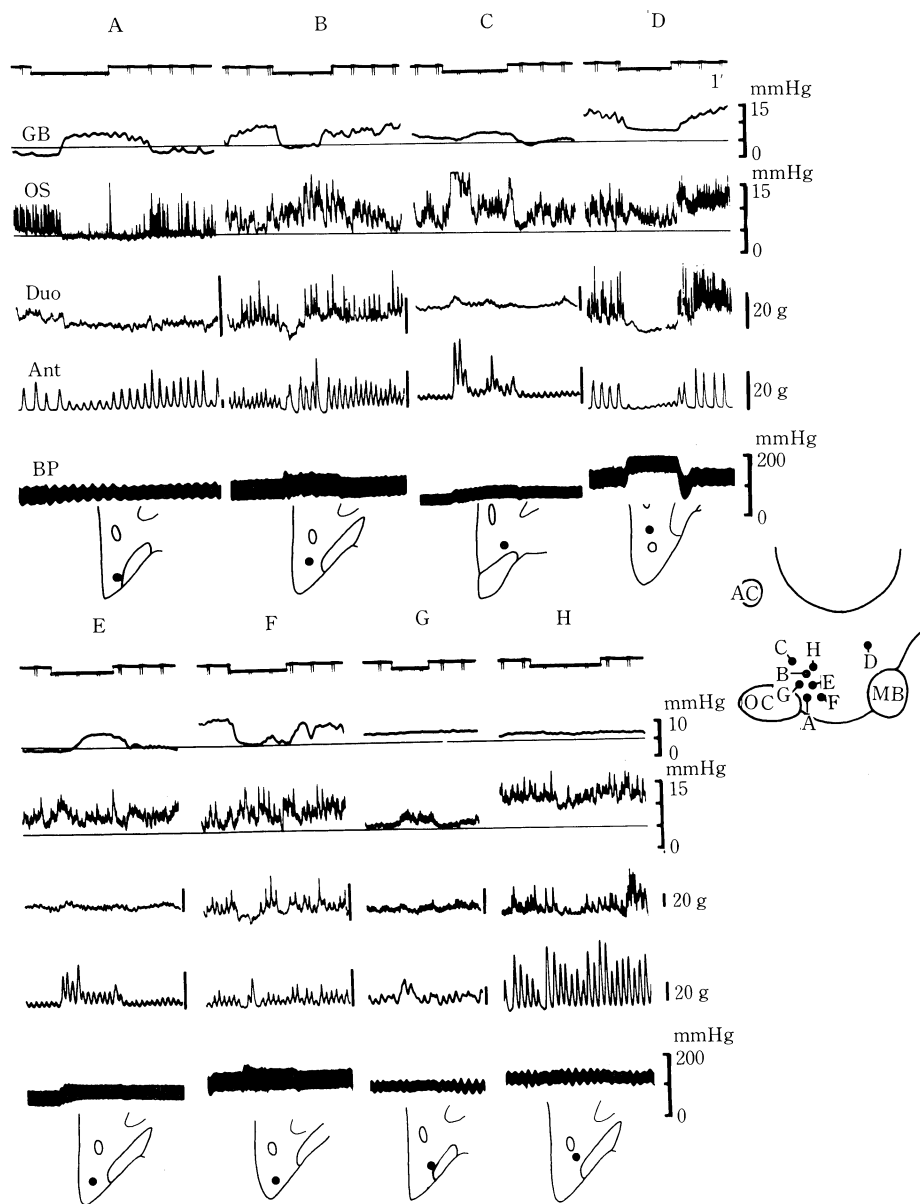


図1. イヌの視床下部刺激による胆嚢とOddi括約部の反応

曲線は上より、時標(1分)、胆嚢内圧(GB)、Oddi括約部灌流圧(OS)、十二指腸括約部より約2cm尾側部(Duo)、胃前庭部(Ant)の輪状方向の収縮、右大腿動脈圧(BP)。A~Hの各曲線の下視床下部横断面図と右側の側面図の●印は刺激点を示す。OC:視交叉, MB:乳頭体, AC:前交連。視床下部刺激の期間は時標の下向きの部分。

用の二本のポリエチレン管を挿入した。Oddi括約部の活動として総胆管より挿入したカニユーレを介して温 Tyrode 液を定流量(0.12 ml/分)で灌流し、その内圧変動を用いた。また、胃前庭部と十二指腸の収縮はストレン・ゲージ法で、

右大腿動脈圧とともに記録した。他の群では総胆管の途中を切開し、その両端にカニユーレを挿入し、体外にて閉鎖型の光電式滴数計に連結して、Oddi括約部を通しての排出量を測定した。視床下部刺激には直視下に直径 50 μ m のガ

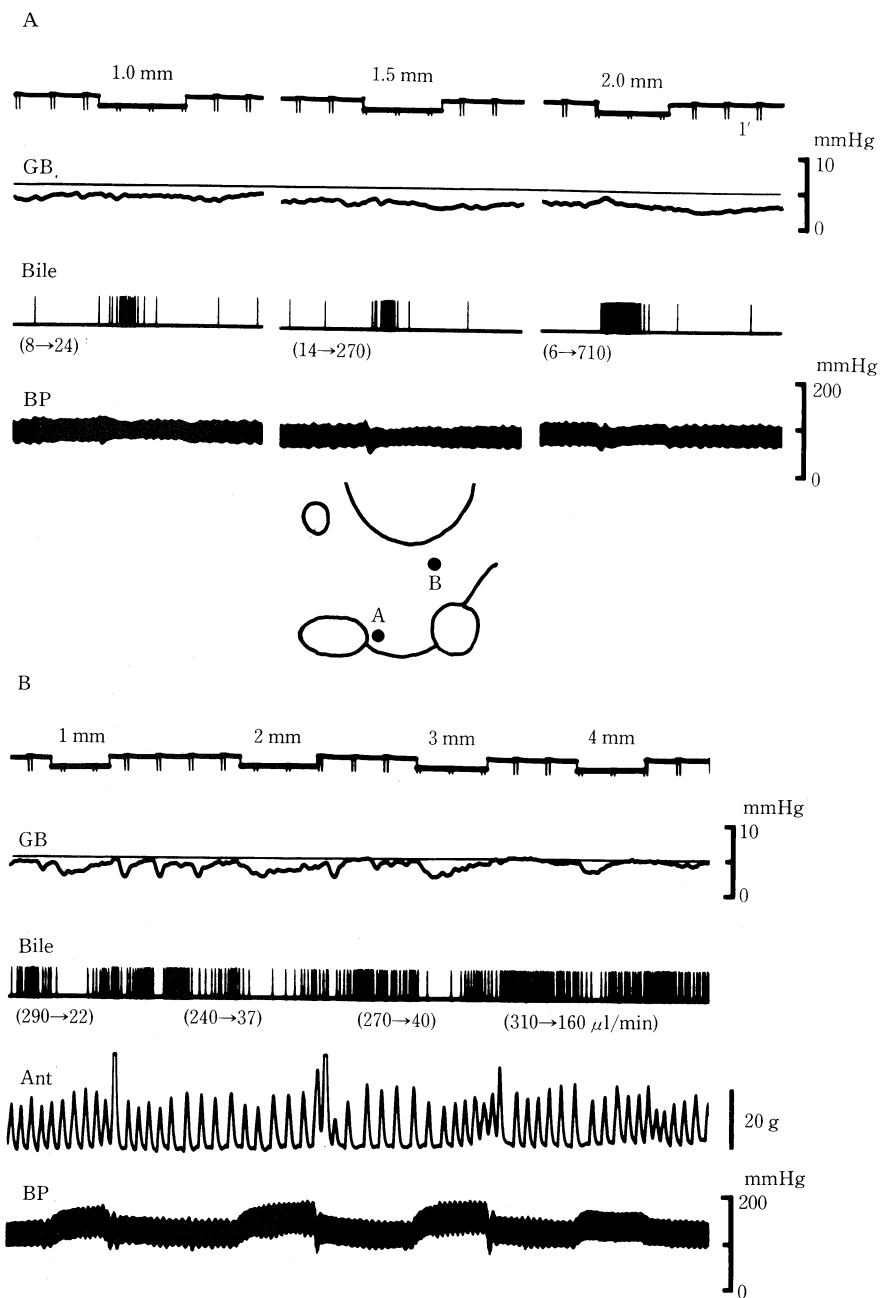


図2. イヌの視床下部刺激による胆汁排出反応と排出抑制反応。
 図A, Bの間の視床下部側面部の●印A, Bは電極の刺入部位を示す。図A, B最上段の数字は脳室壁表面より側方への刺入距離, Bile: 胆汁の排出滴を, 下部の数字は刺激前→刺激中の排出量(μ l/1分)を示す。他は図1と同じ。
 A: 前視床下野腹側部刺激による胆汁排出反応。
 B: 後視床下野刺激による胆汁排出抑制反応。

ラス被覆白金電極を右視床下部の種々の部位に刺入, 0.15~0.2 mA, 1 msec 一般に 30 Hz の矩形波を用いた。なお, 実験はガラミン投与, 人工呼吸下に行った。組織標本を作成し刺激部位を確認した。

実験結果

視床下部の種々の部位を刺激することによって発現した胆嚢内圧と, Oddi 括約部の反応は図 1 に示すような反応型に分けることができる。この中で A の反応型(胆嚢内圧上昇, Oddi 灌流圧低下)が胆汁排出に対して重要な型である。この型は視交叉の直尾側の前視床下野腹側部の刺激で得られ, 刺激開始後約 1 分の潜時で発現する。この時しばしば口腔底部の律動的咀嚼様運動が認められた。また同刺激によって 400~700 μ l/分の速度で胆汁が排出された(図 2A)。血漿 CCK 濃度には刺激前と刺激中との間で有意の変化はなかった(N=3)。同部位の刺激による A 型の反応は両側頸部迷走神経の切断によって消失した。また胆嚢内圧上昇反応はアトロピン (0.2 mg/kg) の静脈内投与によって消失したが, Oddi 括約部の灌流圧では軽度の弛緩反応が存続した。

視床下部中間部の腹側外側野(摂食中枢)の刺激によっては A 型の反応を得ることは困難であった。

後視床下野の刺激では, 胆嚢内圧の下降と Oddi 括約部灌流圧の上昇(図 1 の B 型)あるいは軽度下降(図 1D)が発現した。また, 胆嚢内への Tyrode 液の持続的灌流による液の排出は, 後視床下野の刺激により抑制された(図 2B)。類似の反応型は前視床下野の背腹中間部の刺激によっても認められ(図 1B), 血圧に昇圧反応が出現した。これらの反応は両側頸部迷走神経切断後にも存続し, プロプラノロール(2 mg/kg)投与によって胆嚢内圧と Oddi 括約部の灌流圧下降反応は消失し, 後者の昇圧反応は

フェントールアミン (2 mg/kg) の投与によって消失した。

考察と結語

前視床下野腹側部が迷走神経を遠心路として発現する胆嚢収縮, Oddi 筋弛緩による胆汁排出を起こす重要な部位であることが明らかになった。この部位は膵液, 胃液分泌に対しても促進的な影響を与える部位であることが知られている。迷走神経を介しての Oddi 括約筋の弛緩はアトロピン抵抗性であり, 非コリン性非アドレナリン性抑制であろう。

反対に胆汁排出を抑制する部位が後視床下野その他に存在することが明らかにされた。この抑制は迷走神経の切断実験及び α , β 遮断剤による成績より交感神経を介して発現すると云えるであろう (Persson, 1973)。

文 献

- Ellenbogen, S., Grime, S., Mackie, C., Calam, J., Springer, C., Jenkins, S.A. and Baxter, J.N. (1986). Mechanisms responsible for the cephalic phase of gall bladder emptying. *Gut* 27: A621 (abstract).
- Fisher, R.S., Rock, E. and Malmud, L.S. (1986). Gallbladder emptying response to sham feeding in humans. *Gastroenterology* 90: 1854-1857.
- Mathie, R.T., Plail, R.O. and Stubbs, R.S. (1987). Pressure changes in canine gall-bladder associated with emptying. *J. Physiol. (Lond.)* 393: 545-554.
- Persson, C.G.A. (1973). Dual effects on the sphincter of Oddi and gallbladder induced by stimulation of the right great splanchnic nerve. *Acta Physiol. Scand.* 87: 334-343.
- Scott, R.B. and Diamant, S.C. (1988). Biliary motility associated with gallbladder storage and duodenal delivery of canine hepatic biliary output. *Gastroenterology* 95: 1069-1080.

胆汁排出における総胆管十二指腸接合部の役割

長崎大学医学部 第二外科

持 永 信 夫, 松 元 定 次, 浦 一 秀
 杉 本 綱 之, 小 関 一 幸, 阿比留 浩 佳
 太 田 大 作, 塚 本 幹 夫, 角 田 司
 土 屋 涼 一

ウィスコンシン医科大学 外科

S.K. Sarna, R.E. Condon

結 言

空腹期における十二指腸への胆汁排出は、Migrating Motor Complex (MMC) と密接な関連性を持って周期的に行われている。この胆汁排出機序に関与するもののうち、Oddi 括約筋を含めた総胆管十二指腸接合部の役割を検討すべく、総胆管十二指腸接合部バイパスのモデルを作って、以下の実験を行った。

方 法

5 頭の雑種成犬を用い、strain gauge transducer を胃前庭部と十二指腸の総胆管十二指腸接合部レベルに、双極電極を十二指腸から回腸

末端までの 8 ケ所に縫着した。また下部総胆管を切断し、その両断端からシリコンチューブを挿入留置して体外へ誘導した。十二指腸中部にもチューブを留置して体外へ誘導した。コントロール実験の間は、総胆管からの 2 本のチューブを photometric drop-flow meter に接続して、正常時の胆汁流出を観察し、総胆管十二指腸接合部バイパス実験の間は、flow meter の中枢側に近位総胆管からのチューブを、末梢側には十二指腸へのチューブを接続して胆汁流出を観察した。

結 果

1. 十二指腸における MMC 周期(分)は、コ

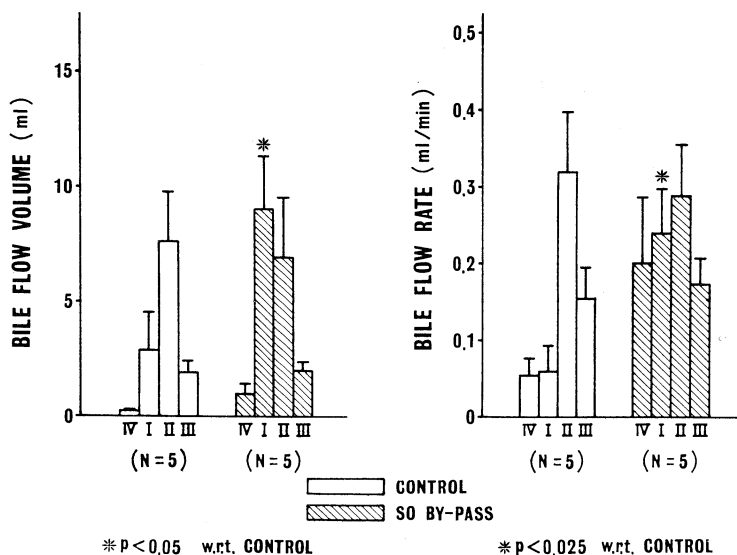


図1 十二指腸 MMC 周期の各 phase における胆汁流出量(左)と胆汁流出率(右)

ントロール時 91 ± 4 (M \pm S.E.) で、バイパス時には 82 ± 5 と短縮した。

2. 1.MMC 周期中の胆汁流出量 (ml/MMC 周期) は、コントロール時 12.5 ± 4.1 で、バイパス時には 18.9 ± 4.8 と増加した。この増加の要因は phase IV と I での流出量の増加であった。(図 1)

3. 胆汁流出率 (ml/分) は、コントロール時 0.14 ± 0.05 で、バイパス時には 0.24 ± 0.06 と増加した。この増加の要因は phase IV と I での流出率の増加であった。(図 1)。

4. MMC 周期中の胆汁流出パターンは、コントロール時は phase I で最低流量を示し、徐々に増加して phase II の終りに最高流量となる周期性を示した。バイパス時には胆汁流出は不規則で、明らかな周期性はみられなくなった。(図 2)

考 案

人や犬における総胆管十二指腸接合部は、総胆管末端部を Oddi 括約筋が取り囲み、更にその周りを十二指腸平滑筋が囲んだ状態となっている。従って Oddi 括約筋の機能と十二指腸平滑筋の機能を別々にとらえるよりも、双方を含めた総胆管十二指腸接合部として一括してその機能を考えるのが、より現実的であると考えられる。

今回の実験で我々は、正常空腹時の胆汁の十二指腸への流出が周期性を持って行われていることをまず確認した。

これに総胆管十二指腸接合部バイパスを行うと、この周期性はみられなくなり、更に興味あることには、MMC 周期は短縮されるにも拘わらず、1 MMC 周期中における胆汁流出量は増加していた。この胆汁流出量の増加の原因としては、第一に、胆嚢が胆汁を貯える時期である phase I において、胆汁流出がコントロールよりも有意に増加していたことより、バイパスによって、肝胆汁が胆嚢へ向わず直接十二指腸へ向うことが推察される。即ち、胆嚢における胆汁の濃縮過程が省かれて排出量が増加することが考えられる。第 2 に、バイパスによって MMC

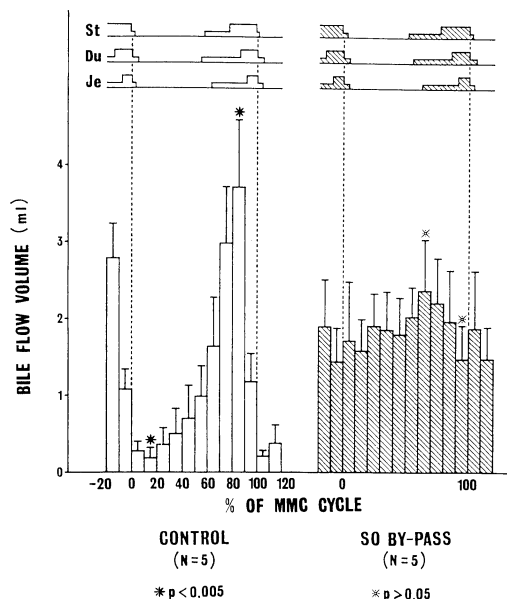


図 2 十二指腸 MMC 周期における胆汁流出パターン

周期の短縮がみられたことから、胆汁の腸肝循環の回転が早められていることが推察される。以上 2 つが総胆管十二指腸接合部バイパス時の胆汁流出量増加の原因として考えられた。

結 語

総胆管十二指腸接合部のバイパスにより、

1. 胆汁流出量および流出率は増加し、その要因は phase IV と I での増加によるものであった。

2. 胆汁流出の周期的パターンが破壊された。

以上より、総胆管十二指腸接合部の役割は、胆汁流出量の調節のみならず、流出パターンの調節にも重大な影響を与えるものであることが確認された。

文 献

- Boyden EA. (1957). The anatomy of the choleoduodenal junction in man. Surg, Gynecol & Obstet 104: 641-652.
- Eichhorn EP. and Boyden EA. (1955). The choledochoduodenal junction in the dog — A

res-tudy of dog's sphincter. Am J Anat 97: 431-459.

Mochinaga N., Sarna SK., Condon RE., Dodds WJ. and Matsumoto T. (1988). Gastroduodenal regulation of common duct bile flow in the dog. Gastroenterology 94: 755-761.

Sarna SK. (1985). Cyclic motor activity: migrat-

ing motor complex: 1985 Gastroenterology 89: 894-913.

Scott RB., Eidt PB. and Shaffer EA. (1985). Regulation of fasting canine duodenal bile acid delivery by sphincter of Oddi and gallbladder. Am J Physiol 249: G622-G633.

迷走神経切離と乳頭部括約筋機能との関係に関する実験的研究

徳島大学医学部 第一外科学教室

松村 敏信, 矢田 清吾, 古味 信彦

はじめに

胃切後においては胆石症の合併頻度が高く, その原因として迷走神経切離による胆嚢の収縮能の低下が注目されているが, 乳頭部機能との関係についての報告は少ない(中山, 1969; 水谷, 1978). 今回, 我々は迷切および幽門輪近傍における十二指腸切離と乳頭部括約筋機能との関係について急性実験を行い, 若干の知見を得たので報告した.

対象・方法

雑種成犬 11 頭を用い, チオペンタールナトリウム麻酔下を開腹し, 6 頭においては横隔膜上にて全幹迷走神経切離術(以下, 幹迷切), 5 頭においては幽門輪の肛門側 1 cm にて十二指腸切離術を行った. なお血管系は温存した. 乳頭部圧測定には, アーガイルメディカットカテーテル 16G, 長さ 70 cm を使用し, 先端を閉鎖し先端より 1 cm の所に径 1 mm の側孔を開け, 胆嚢管よりカテーテルを挿入, 側孔を乳頭部に留置し, カテーテル内に 0.3 ml/min の生食水を

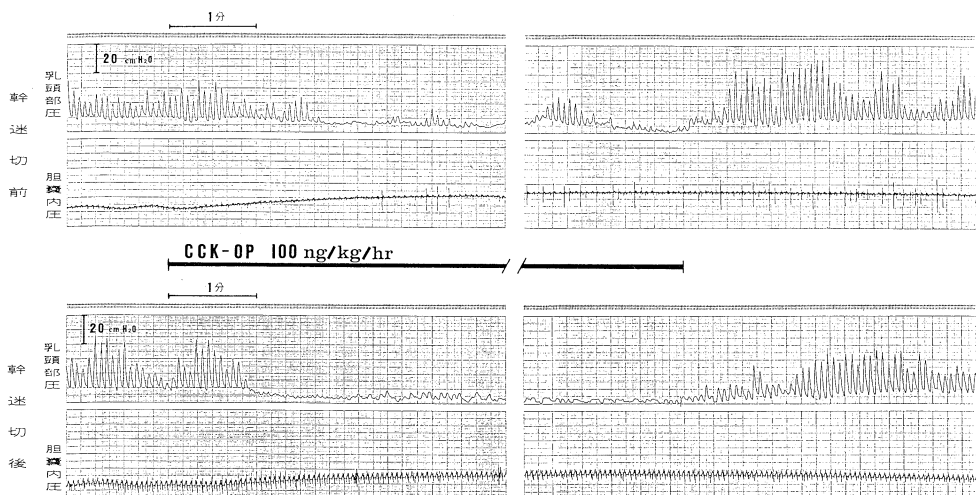


図 1: 幹迷切前後の乳頭部圧および胆嚢内圧と CCK-OP 投与による変化



図2: 十二指腸切離前後の乳頭部圧および胆嚢内圧と CCK-OP 投与による変化

持続注入する infusion system (平井, 1983) を用いて乳頭部圧を測定した。十二指腸内圧を基準として、収縮期圧, 弛緩期圧, 振幅, 収縮頻度を測定し乳頭部基礎圧とした。また, 幹迷切および十二指腸切離の前, 後1時間において, cholecystokinin-octapeptide (以下 CCK-OP) 100 ng/kg/hr を10分間投与し, CCK-OP の乳頭部括約筋運動に対する反応性が, 幹迷切および十二指腸切離により影響を受けるかどうかを調べた。また同時に, 胆嚢内にチューブを挿入し, 胆嚢内圧の変化も測定した。

結 果

乳頭部基礎圧のうち, 弛緩期圧, 収縮期圧においては, 幹迷切前後で差を認めなかったが, 振幅は, 幹迷切後増加傾向があった。また, 収縮頻度は幹迷切後減少傾向を認めた。十二指腸切離前後では, 弛緩期圧, 収縮期圧, 振幅に差はなかったが, 収縮頻度は十二指腸切離後有意に減少した。胆嚢内圧では, 幹迷切前後, および, 十二指腸切離前後で差を認めなかった。

CCK-OP 100 ng/kg/hr 投与の乳頭部運動に及ぼす影響をみると, 弛緩期圧では, CCK-OP の乳頭部括約筋運動に対する抑制効果は, 幹迷切前後で変化がなかった。また, 十二指腸切離後には切離前に比べて CCK-OP の抑制効果の

低下傾向を認め, 投与中止後の亢進現象は消失していた。収縮期圧, 振幅, 収縮頻度のいずれにおいても, CCK-OP の乳頭部括約筋運動に対する抑制効果は, 幹迷切前後で変化がなかったが, 十二指腸切離後には, CCK-OP の乳頭部括約筋運動に対する抑制効果は消失した。

胆嚢内圧では幹迷切前後, および十二指腸切離前後で, CCK-OP による胆嚢収縮効果に有意差は認められなかった。

考 察

胆汁の排出には, 胆嚢の収縮とともに乳頭部括約筋運動とも深い関係があり, 迷走神経ならびに消化管ホルモンの作用が重要であると考えられる。CCK-OP により十二指腸乳頭部括約筋運動は抑制される (Behar ら, 1980: 矢田ら, 1988)。その抑制効果が, 十二指腸切離後に消失したことから, CCK-OP の乳頭部括約筋運動に対する抑制効果発現には乳頭部より離れた近位の十二指腸が深く関わっていることが示唆された。

ま と め

雑種成犬を用い, 迷切および十二指腸切離と乳頭部括約筋機能との関係について調べ, 以下の結果を得た。

1. 幹迷切 1 時間後、乳頭部括約筋の収縮頻度の減少傾向を認めた。
2. 幹迷切 1 時間後も、乳頭部括約筋に対する CCK-OP の抑制効果を認めた。
3. 幽門輪近傍における十二指腸切離 1 時間後、乳頭部括約筋の収縮頻度は減少し、CCK-OP の乳頭部括約筋に対する抑制効果はほとんど消失した。

文 献

Behar, J. and Biancani, P. (1980). Effect of cholecystokinin and the octapeptide of

cholecystokinin on the feline sphincter of Oddi and gallbladder. Mechanism of action. J. Clin. Invest. 66: 1231-1239.

平井 勉 (1983). 膵管胆道合流異常の臨床並びに実験的研究. 四国医誌 39: 598-610.

水谷雅年ほか (1978). Caerulein の Oddi 括約筋抑制効果について. 日本平滑筋誌 14: 265-266.

中山 沃 (1969). 胆道系運動の神経性および化学的調節. 岡山医学会雑誌 81: 1-11.

矢田清吾, 古味信彦 (1988). Cholecystokinin octapeptide およびテトラガストリンの胃, 十二指腸ならびに乳頭部括約筋に及ぼす影響について. 日本平滑筋誌 24: 101-111.

ストレス環境下における胆汁排出動態の観察

弘前大学医学部 第二外科学教室

鳴 海 俊 治, 千 葉 茂 夫, 松 本 陸 郎
福 島 紀 雅, 高 橋 賢 一, 佐々木 睦 男
小 野 慶 一

緒 言

ストレスに対する反応として胃や腸の運動に関しては、種々の検討がなされ報告されているにもかかわらず、その胆道系に及ぼす影響に関しては報告も少なく、未だ不明の点が多い。今回我々は、不眠をストレス刺激(ストレッサー)としたストレス環境を作成し、その状態における摂食時胆汁排出動態を肝胆道 scintigraphy を用いて観察した。

対象と方法

対象は健常成人 volunteer で、ストレス群 7 例 (平均年齢 22.1 ± 1.4 歳) と対照群 22 例 (平均年齢 42.0 ± 17.8) である。被験者に前日 21 時よりの絶食ならびに全く睡眠をとらないよう協力を求め、不眠をストレッサーとしたストレス環境を設定した。翌日午前 9 時被験者に ^{99m}Tc -EHIDA (以下 RI) 5 mCi を静注し 60 分の安静後 pinhole collimator を用いて毎分 1 枚の

analog image の撮像と data 処理用 computer に 15 秒 1 frame (64×64 matrix) の dynamic data を収集した。RI 静注 10 分後 test meal (Calorie mate® 200 ml: Glucose 33.4 g, protein 6.7 g, Lipid 4.4 g) を約 30 秒-1 分かけて摂取させた。得られた dynamic image を display 上に再現し、それをもとに肝実質及び胆嚢に関心領域を設定し、それぞれの time activity curve を作成し、半減期補正, back ground 演算, ROI size に応じた curve 相互間の補正, 時間軸 smoothing などの処理を加えた後検討した。このようにして作成した胆嚢の time activity curve の模式図を図 1 に示す。図 1 のようにして Ejection period (EP), Ejection fraction (EF), Ejection rate (ER) を求め検討を加えた。また有意差は t 検定を用いて検討した。

結 果

図 2 上段に示すごとく EF はストレス群 $55.8 \pm 15.2\%$, 対照群 $60.9 \pm 19.6\%$ とほぼ同様で

Time activity curve

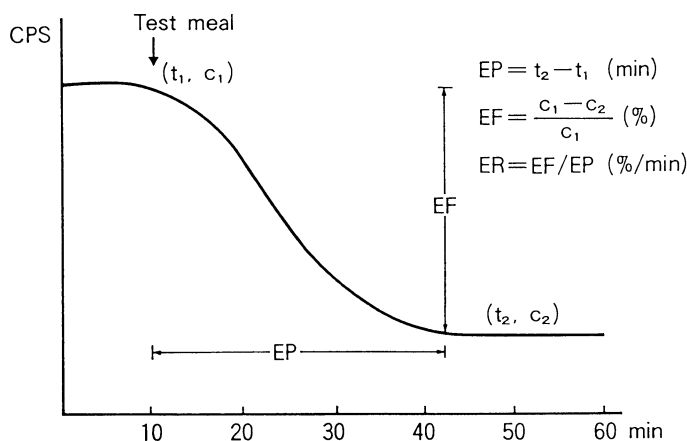


図1. 胆嚢の time activity curve 模式図

あったが、EPはストレス群 20.4 ± 5.2 min, 対照群 27.9 ± 7.3 min と有意に ($p < 0.05$) 短縮していた。また有意差は認められないものの ER がストレス群 $2.9 \pm 1.0\%/min$, 対照群 $2.3 \pm 0.8\%/min$ とストレス群において増加傾向にあった。

またストレス群7例のうち6例において、ストレスラーを負荷しない状態での摂食時胆汁排出動態を観察し得たが、図2下段に示すようにやはり EF は無負荷の状態と有意差を認めないが、EP ストレス状態 19.8 ± 4.8 min, 無負荷 28.8 ± 8.1 min とストレス負荷にて短縮傾向にあり、ER においてはストレス状態 $2.3 \pm 0.6\%/min$, 無負荷 $1.5 \pm 0.6\%/min$ と有意に増加していた ($p < 0.05$)。

考 察

以上より、不眠をストレスラーとしたストレス環境においては、摂食時における胆嚢の胆汁排出動態は平常時と比較すると Ejection period が短縮するのにもかかわらず、Ejection fraction には変化なく、その結果として Ejection rate の増加を認めた。

ストレス環境下では一般に胃の収縮は増強し、腸管内容の通過時間も短縮するとされるが、その胆道系に関する影響はほとんど解明されていない。今回の検討では不眠をストレスラーと

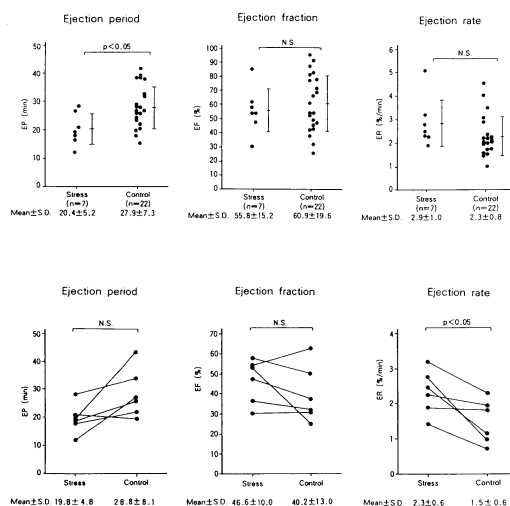


図2. 胆嚢の摂食時胆汁排出動態の比較

してストレス環境を作成したが、このような状況下においては、摂食時胆汁排出動態に関しても同様に胆嚢排出速度は亢進しており、短時間内に強い胆嚢排出が観察され、その排出が促進傾向にあることが示唆された。

文 献

- Cann, P.A. (1983). Psychological stress and the passage of a standard meal through the stomach and small intestine in man. *Gut* 24: 236-

240.
福島紀雅(1987). 肝胆道 scintigraphy による摂食時胆汁排出動態の観察. 胆膵の生理機能 3: 11-16.
中辻直之(1986). 胃・十二指腸潰瘍の胃内容排出動態. 日本平滑筋誌 22: 146-148.

- 佐藤昭夫(1985). ストレスの生理的しくみ. 医学と薬学 14: 988-1007.
高安博之(1988). 生体内胃収縮運動の観察—ラット・ストレスモデルにおける検討—. 日本平滑筋誌 24: 397-399.

胆嚢および Oddi 括約筋運動に対する胃切除および迷走神経切断の効果

岡山大学医学部 第一外科

森 雅 信, 森 隆, 三 村 久
小 林 達 則, 細 羽 俊 男, 折 田 薫 三

同 第二生理

山 里 晃 弘, 中 山 沃

胃切除および幹迷切は胆嚢の腫大化, 機能低下を起こすと共に, Oddi 括約筋運動にも強い影響を与え, その結果胆石を発現する原因になっていると言われている. そこで本研究では, 胃切除および幹迷切が胆嚢および Oddi 括約筋に対していかなる効果を発現するのかを犬を用いて検討した.

方 法

実験は 24 時間絶食した雑種成犬を用い, ネプタール 25 mg/kg, i.v. で麻酔, 開腹後, 胆嚢運動は容量 20 ml のゴム球を用いバルーン法で, Oddi 括約筋運動は総胆管に挿入したカニューレを介して, 持続注入器で 0.12 ml/min の割合で生理食塩水の灌流を行い, その圧変動を圧トランスデューサを介して記録した. 実験はすべてガラミン 2 mg/kg/hr, i.v. で不動化し人工呼吸下に行った.

対象は術後 2 週間 (n=3) および 1 カ月 (n=5) の慢性胃切除群と, 術後 2 週間 (n=9) および 1 カ月 (n=8) の慢性幹迷切群とした. 幹迷切は胸腔内, 横隔膜直上で行った. それぞれの群において, 1) 胆嚢の長, 短径および総胆管径 (簡易型ノギスで測定), 2) caerulein 10 ng/kg, i.v. により発生する胆嚢の収縮圧, 3) Oddi 括約筋平均基礎灌流圧, 4) caerulein の Oddi

括約筋運動への効果, について検討した.

結 果

胃切除群では, 胆嚢の長径, 短径共に正常値に比べ, 術後 2 週間で約 1.4 倍に, 1 カ月後で長径は約 1.2 倍, 短径は約 1.4 倍に増大した. 総胆管径は 2 週間, 1 カ月後共に約 2 倍にまで拡張した. いずれも術前値に比し有意差があった. 一方幹迷切群では, 胆嚢の長径, 短径共に術後 2 週間で約 1.2 倍, 1 カ月後で約 1.1 倍に増大したが, 胃切除群と比べ腫大化率は少なかった. また総胆管の拡張もほとんどみられなかった (図 1A, 1B).

胃切除群の caerulein により発生する胆嚢の収縮圧は, 正常で約 34 mmH₂O であったものが, 2 週間, 1 カ月後で約 45 mmH₂O とその収縮圧は増加していた. 幹迷切群でも術後 2 週間で約 42 mmH₂O, 1 カ月後で約 37 mmH₂O と増加しており, 胃切除群と同様の傾向がみとめられた.

正常犬の Oddi 括約筋は収縮と弛緩を繰り返す律動的な運動を呈し, その平均基礎灌流圧は約 5.8 cmH₂O であった. 胃切除群では術後 2 週間, 1 カ月において, 平均基礎灌流圧は約 7~8 cmH₂O と上昇した. 一方幹迷切群では術後 2 週間, 1 カ月共にほとんど基礎灌流圧の上昇は

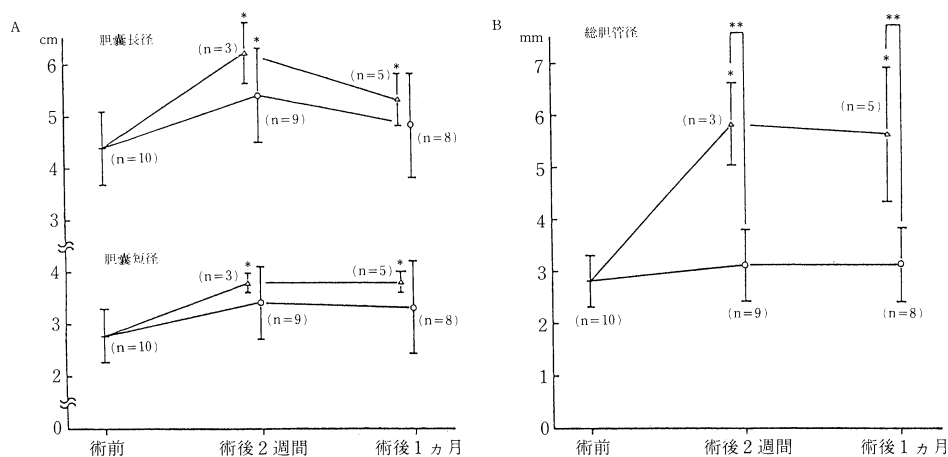


図1. 胆嚢の長, 短径(A)と総胆管径(B)に対する胃切除および胆嚢切の効果.

△胃切除後, ○胆嚢切後, *術前に対して $p < 0.01$, **胆嚢切に対して $p < 0.01$.

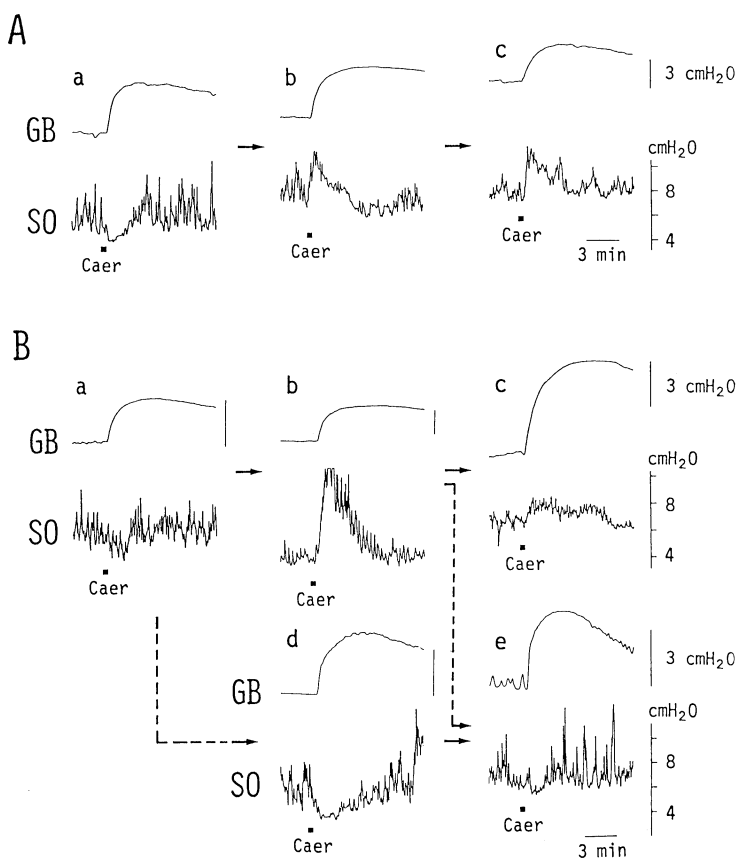


図2. CaeruleinのOddi括約筋抑制効果および胆嚢収縮に対する胃切除および胆嚢切の効果.

A, 胃切除群: Aa, 対照; Ab, 術後2週間; Ac, 術後1ヵ月; B, 胆嚢切群: Ba, 対照; Bd, 術後2週間; Bc, e, 術後1ヵ月; GB, 胆嚢; SO, Oddi括約筋; Caer; caerulein 10 ng/Kg i.v.

みられなかった(図 2A, 2B)。

正常犬において caerulein の投与は, Oddi 括約筋へ抑制効果を誘起した(図 2Aa, Ba)。胃切除群では術後 2 週間, 1 カ月共に caerulein による抑制効果が亢進効果へと逆転した(図 2Ab, Ac)。一方幹迷切群では, caerulein は術後 2 週間で, 9 例のうち 6 例(67%)に亢進効果を(図 2Bb), 3 例(33%)に抑制効果を(図 2Bd)誘起した。1 カ月後で, 8 例のうち 3 例(37.5%)に亢進効果を(図 2Bc), 5 例(62.5%)に抑制効果を(図 2Be)誘起した。

ま と め

胃切除は胆嚢を腫大化し, 総胆管を拡張させ, Oddi 括約筋の平均基礎灌流圧を上昇させた。また caerulein による胆嚢の収縮圧を上昇させ, Oddi 括約筋への抑制効果を亢進効果へと逆転させた。

幹迷切は胆嚢を腫大化させたが, 胃切除より腫大化率は少なかった。また総胆管の拡張,

Oddi 括約筋の灌流圧の上昇はおきなかった。caerulein による胆嚢の収縮圧は胃切除と同様に上昇したが, Oddi 括約筋への効果は, 術後 2 週間で亢進例が抑制例より多くなったが, 1 カ月ではこの例数が逆転し, 抑制例が亢進例より多くなった。

すなわち, 胆嚢, Oddi 括約筋機能異常は胃切除でも幹迷切でもおきるが, 胃切除の方がその影響が大きかった。

文 献

1. 小林達則, 細羽俊男, 山里晃弘, 三村 久, 中山 沃, 折田薫三(1988); Oddi 括約筋運動に及ぼす胃切除の効果. 医学のあゆみ **146**: 125-126.
2. 水谷雅年, 山里晃弘, 中山 沃(1978); Caerulein の Oddi 括約筋抑制効果について. 日本平滑筋誌 **14**: 265-266.
3. 山里晃弘, 中山 沃, 細羽俊男, 小林達則, 岡林孝弘, 高倉範尚, 坂田龍彦, 森 隆, 三村 久, 折田薫三(1988); 胃切除の Oddi 括約筋および胆嚢運動への効果. 日本平滑筋誌 **24**: 402-404.

胃切除後胆嚢運動機能と CCK

京都大学医学部 第一外科

角 昭一郎, 井 上 一 知, 戸 部 隆 吉

胆嚢運動は, 正常状態では主に迷走神経とコレシストキニン(CCK)による神経性及び体液性調節下にあるとされる。今回我々は胃切除後の胆嚢運動とこれら調節因子の関係について CCK を中心に検討した。

対象と方法

A (外因性 CCK 負荷): 京都大学第一外科で胃癌根治術を施行した 48 症例(男 33 名, 女 15 名, 平均年齢 55.6 歳)に対し, 術前・術後 1 カ月・術後 1 年において超音波断層装置を用いて空腹時胆嚢断面積を測定すると共に, 外因性 CCK であるセルレイン($0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$)を筋注した後 2 時間にわたり経時的に胆嚢断面積を測定し

て, 最大収縮率 $\{(1 - \text{最大収縮時の胆嚢断面積} / \text{空腹時胆嚢断面積}) \times 100\%$ を算出した(1)。対照として下部大腸癌根治術を施行した 6 症例に対し, 同様の観察を行った。

B (内因性負荷): Billroth-I 型再建を施行した上記症例中 15 例を対象として, 術前・術後 1 カ月及び 1 年においてクリニミール(エーザイ社製) 89 g を水 200 ml に溶解して経口負荷し, それによる胆嚢断面積と血中 CCK 濃度の変化を経時的に観察した。CCK の測定には当教室で確立した大分子型 CCK に特異的な RIA 系を用いた(2)。

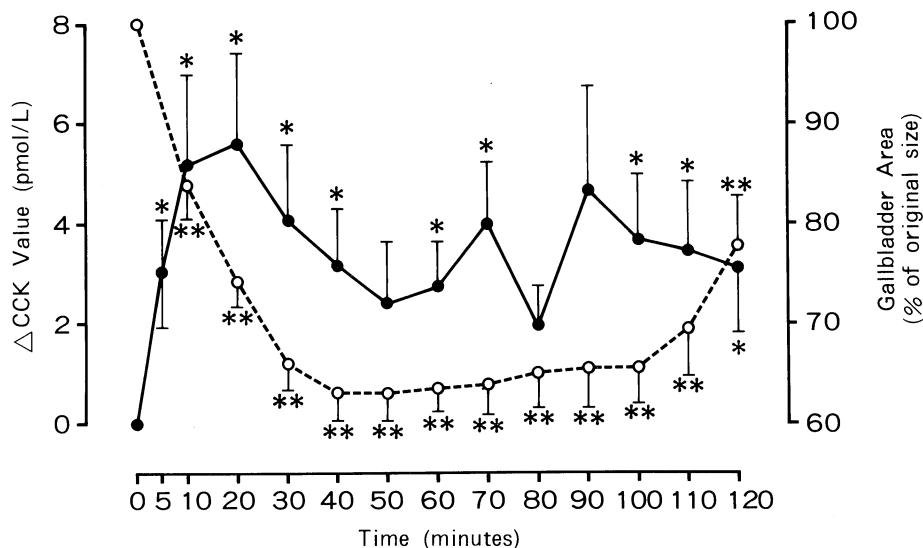


図1. Δ CCK and GBA in preoperative patients (n=9)

結 果

A (外因性 CCK 負荷): 空腹時胆嚢断面積は術前 ($11.7 \pm 0.4 \text{ cm}^2$) に対して 1 カ月後 $136.6 \pm 8.9\%$, 1 年後 $127.8 \pm 7.8\%$ と有意に ($p < 0.01$) 拡張したが, 対照群では有意の変化はなかった. セルレイン筋注による最大収縮率 (術前値: $58.4 \pm 2.2\%$) は術後 1 カ月では術前の $55.2 \pm 5.8\%$ まで有意に ($p < 0.01$) 低下した. しかし, 1 年後には術前の $91.7 \pm 7.4\%$ まで回復し, 術前と有意差を認めなかった.

B (内因性負荷): 術前症例の血中 CCK 値は負荷前値 ($9.5 \pm 1.9 \text{ pmol/L}$) から負荷後 20 分でピーク (増加分: $5.6 \pm 1.8 \text{ pmol/L}$) に達した後, 観察終了 (120 分後) まで有意の ($p < 0.05$) 上昇を示した (図 1). 術後 1 カ月 (負荷前値: $9.6 \pm 3.4 \text{ pmol/L}$) では負荷後 10 分 (増加分: 23.1 ± 6.5) をピークとする急激な上昇を示し, 直ちに下降に転じて 60 分以降前値に復した. 術後 1 年 (負荷前値: $7.9 \pm 1.1 \text{ pmol/L}$) でも同様に負荷後 10 分 (増加分: $22.4 \pm 4.3 \text{ pmol/L}$) のピークの後, 下降して 60 分以降前値に復した (図 2).

胆嚢断面積はこれに対応して, 術前症例では前値 ($12.5 \pm 0.8 \text{ cm}^2$) から後 40 分を底値 (負荷前値の $63.0 \pm 2.8\%$ まで収縮) として収縮した後

も 120 分まで有意の ($p < 0.01$) 収縮状態を持続したが (図 1), 術後は, 1 カ月 (負荷前断面積: $14.8 \pm 1.8 \text{ cm}^2$) で負荷後 30 分に前値の $65.3 \pm 5.9\%$ まで, 1 年 (負荷前断面積: $13.2 \pm 1.2 \text{ cm}^2$) では負荷後 20 分に前値の $61.3 \pm 5.8\%$ までいずれも術前と同程度に収縮した後, 速やかに再拡張した (図 2).

まとめ及び考察

空腹時胆嚢は胃切除後有意に拡張し, 術後 1 年においても回復しなかった. このことは, 空腹時胆嚢に対して胃癌根治術, 中でも迷走神経切離の影響 (3) が長期にわたる事を示唆しているものと思われる. 外因性 CCK による最大収縮率は術後 1 カ月で著明に低下したが, 術後 1 年では回復した. 術後早期には迷走神経支配の廃絶や手術操作等によって, 一過性に胆嚢壁の CCK に対する感受性が低下するものと想定される. 内因性刺激による CCK 放出は, 術前には持続的であったが, 胃切除後は早期に大量の放出が見られた後, 速やかに低下した. これに対応して, 胆嚢は術前には穏やかに収縮した後持続的収縮状態を示したが, 胃切除後は 1 カ月・1 年共に急速に収縮し速やかに再拡張した. これは胃の emptying time の変化 (4) を反映して

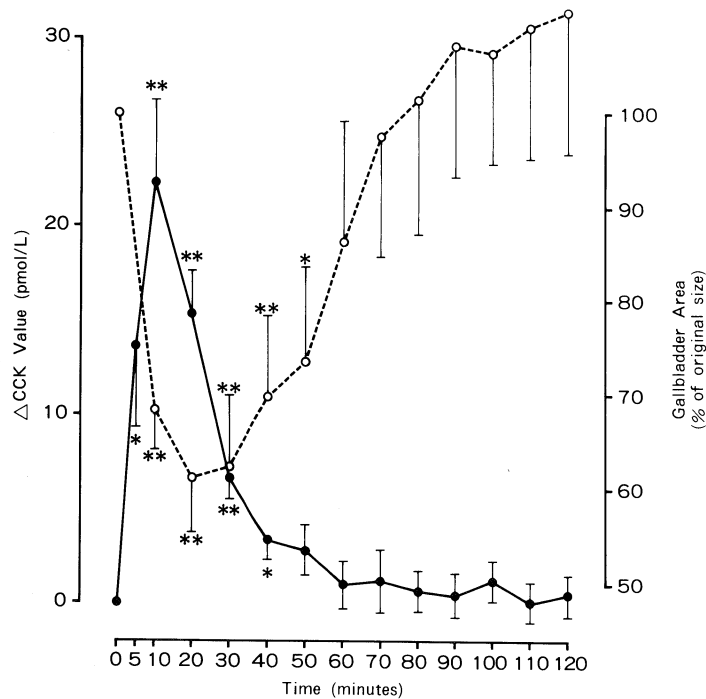


図2. Δ CCK and GBA in subtotally gastrectomized patients with B-I reconstruction 1 year after operation (n=9)

いると考えられるが、術後1カ月では大量のCCK放出により胆嚢のCCKに対する感受性低下が代償されるとの解釈も可能であろう。

文 献

- 1) 洲上 哲. (1989). 胃癌切除後における胆嚢超音波像および胆嚢運動機能—超音波検査による経時的観察—. 日外会誌, **90**: 64.
- 2) Inoue K., Fuchigami A., Hosotani R. et al. (1987). Release of cholecystokinin and gall-

bladder contraction before and after gastrectomy. *Ann Surg*, **205**: 27.

- 3) Johnson F.E. and Boyden E.A. (1952). The effect of double vagotomy on the motor activity of the human gall bladder. *Surgery*, **32**: 591.
- 4) MacGregor I., Parent J. and Meyer J.H. (1977). Gastric emptying of liquid meals and biliary secretion after subtotal gastrectomy and pyloroplasty in man. *Gastroenterol.* **72**: 195.

モルモット結腸紐単離平滑筋細胞に対する サイトカラシン B の影響

札幌医科大学 第一生理学教室

小 原 一 男, 染 谷 哲 史, 臼 木 俊 洋
藪 英 世

はじめに

最近, パッチクランプ法および単一平滑筋細胞の調製法が進歩したことにより, 平滑筋においてもカルシウムチャネル電流が直接測定できるようになった。しかし, 平滑筋を収縮させる薬物のカルシウム電流に対する影響を検討する際, 平滑筋細胞の収縮・変形がパッチクランプ法によるカルシウム電流の測定の障害となる。一方, モルモット結腸紐平滑筋において, 抗ミクロフィラメント剤のサイトカラシン B (CB) は静止電位および活動電位にほとんど影響を与えずにフィールド刺激による収縮を抑制することが報告されている¹⁾。また, 収縮要素の活性化に2万ダルトンのミオシン軽鎖 (LC_{20}) のリン酸化が重要であると考えられている。そこで, 我々はCBのパッチクランプ法への適用性を調べるためにモルモット結腸紐平滑筋において, 収縮性, 電位依存性カルシウムチャネル電流および LC_{20} のリン酸化に対するCBの影響を検討した。

材料および方法

材料として酵素処理により分離されたモルモット結腸紐単離平滑筋細胞²⁾を用いた。収縮性は1% アクロレインで固定した細胞の長さを測定することにより, また, LC_{20} のリン酸化はO'Farrell³⁾の方法を修正した等電点電気泳動/SDS ポリアクリルアミド電気泳動を組み合わせた二次元電気泳動法により検討された。電位依存性カルシウムチャネル電流はパッチクランプ法ホールセルモードにより測定された。

結果および考察

モルモット結腸紐単離平滑筋細胞は, 高濃度 K により短縮 (高 K 収縮) し, 約 15 秒でピークに達した。この短縮のピークの大きさは K 濃度に依存し, 約 100 mM K で最大に達した。CB ($10 \sim 70 \mu\text{M}$) は濃度依存性に高 K (70 mM) 収縮 (最大高 K 収縮の約 95%) を抑制し, $50 \mu\text{M}$ でほぼ完全に抑制した (図 1)。また, $50 \mu\text{M}$ CB による高 K 収縮の抑制は前処理時間依存性で約 15 分間前処理により収縮はほぼ完全に抑制された。一方, 電流をゼロに固定した状態で記録された静止膜電位は, $-45.7 \sim -65.5 \text{ mV}$ ($-50.6 \pm 5.1 \text{ mV}$, $n=18$) で, $50 \mu\text{M}$ CB はこの静止膜電位にはほとんど影響を与えなかった。また, 電位依存性カルシウムチャネル電流の大きさは $50 \mu\text{M}$ CB 15 分間前処理によってもほとんど影響されなかった。モルモット結腸紐平滑筋において, 高濃度 K により LC_{20} のリン酸化量は増加し, 約 10 秒で最大 (全 LC_{20} の $42.0 \pm 5.2\%$, $n=3$) に達した。 $50 \mu\text{M}$ CB 15 分間前処理によっても, このリン酸化量の増加は $40.8 \pm 4.8\%$ ($n=3$) とほとんど影響されなかった。CB はアクチンフィラメントの B 端に結合することが報告されている⁴⁾ことから, モルモット結腸紐平滑筋において, CB は膜の興奮性およびミオシン軽鎖のリン酸化にほとんど影響を与えずに直接アクチンフィラメントに作用して, ミオシンとの相互作用を妨げるることにより収縮を抑制すると考えられる。

カリクリン A (CL-A) は Ca^{2+} 非依存性の収縮を引き起こすことが報告されている⁵⁾。モルモット結腸紐単離平滑筋細胞において, CL-A (10^{-8} M) は外液 Ca^{2+} 非存在下にも非常にゆっ

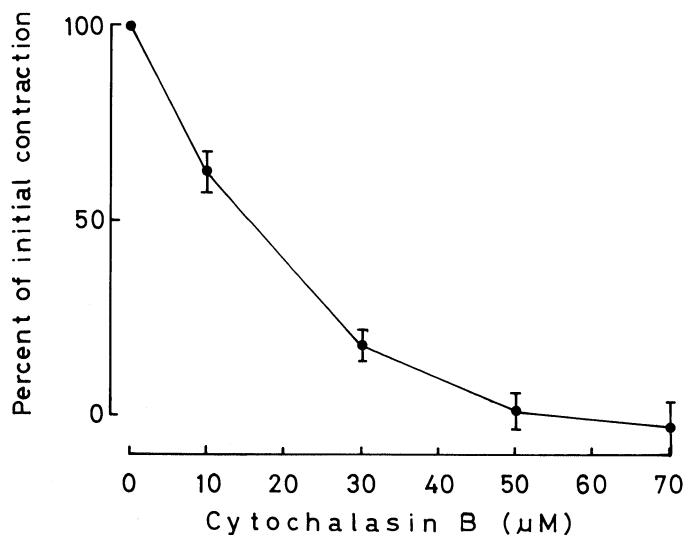


図1. モルモット結腸単離平滑筋細胞における高濃度 K (70 mM) による収縮に対するサイトカラシン B (CB) の抑制作用
収縮の大きさは CB 投与前を 100% とする。

くりした短縮を引き起こした。CB (50 μ M) はこの CL-A による短縮を強く抑制した。

以上より、CB のパッチクランプ法への適用は非常に有用であると考えられる。

文 献

- 1) Maruyama, T., Nagasawa, J. and Suzuki, T. (1973). Action of cytochalasin B on the contraction of smooth muscle of guinea pig taenia coli, vas deferens and rat uterus. *Tohoku J. exp. Med.*, **110**: 181-189.
- 2) Obara, K. (1984). Isolation and contractile properties of single smooth muscle cells from guinea-pig taenia caeci. *Jpn. J. Physiol.*, **34**: 41-54.
- 3) O'Farrell, P.H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of protein. *J. Biol. Chem.*, **250**: 4007-4021.
- 4) MacLean-Fletcher, S. and Pollard T.D. (1980). Mechanism of action of cytochalasin B on actin. *Cell*, **20**: 329-341.
- 5) Ishihara, H., Ozaki, H., Karaki, H. and Fusetani, N. (1988). Calcium-independent activation of smooth muscle contractile system by calyculin A isolated from marine sponge, *Discondermia calyx*. *Jpn. J. Pharmacol.*, **46**: 155 P.

モルモット結腸紐における β 効果に及ぼす 外液二価イオンの影響

山口大学医学部 第一生理学教室

井 上 浩 義, 丸 田 啓 示, 長 琢 朗

緒 言

カテコールアミンは、平滑筋に対し多くの場合、抑制効果を持つ。特にモルモット結腸紐に対する効果としては、 α 作用として過分極作用が β 作用として自発活動の停止が知られている (Bülbring and Tomita, 1969)。また、近年、 β 作用として過分極作用があることも報告されている (Tomita et al., 1985)。

今回、 β 作用の機序を解明するために、外液二価イオン (Mg, Mn, Co, Ca) 並びに Verapamil の干渉作用を観察し、Forskolin 等の作用も合わせ β 効果について検討を行った。

方 法

モルモットより摘出した結腸紐を 1 ml の chamber に固定し、Locke 溶液を灌流し、微小電極法により膜活動を記録した。溶液中の K イオン並びに Ca イオン濃度を変化させるときは、NaCl 濃度を調整することにより、容量オスモル濃度を一定に保った。

結 果

Mg イオンの効果

Mg-free の状態で β -agonist である Isoprenaline を $3 \mu\text{M}$ 加えると、スパイク電位の発生は停止し、わずかな過分極が認められた。しかし、 1.2 mM Mg 存在下では、Isoprenaline を加えることによって明らかに過分極量が大きくなった。尚、その効果は Isoprenaline 濃度を上げること ($10 \mu\text{M}$) で顕著になる (図 1)。Isoprenaline による過分極に及ぼす外部 K イオン濃度の効果は、濃度範囲によって異なる。つまり、高 K イオン濃度域に於いては、control 液と Isoprenaline 添加時における過分極量に大差はないが、低 K イオン濃度域では、Isoprenaline の影響が非常に大きくなる。また、その効果は Mg イオンによって強められた。Mg イオンそのものに関しては、外部 Mg イオン濃度が、 4.8 mM になるまではイオン濃度の増加とともに膜は過分極し、Isoprenaline の効果 (過分極) は高 Mg イオン濃度域に於いて顕著となった。次

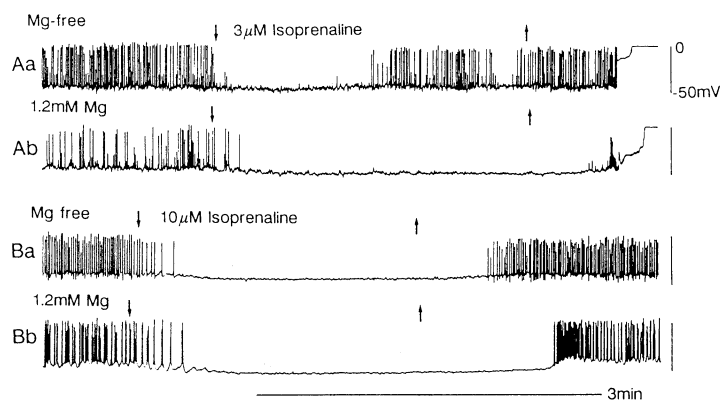


図-1 1.2 mM Mg 欠如下 (a) 及び存在下 (b) に於けるモルモット結腸紐の電気活動に及ぼす Isoprenaline の効果 (A, $3 \mu\text{M}$; B, $10 \mu\text{M}$)。

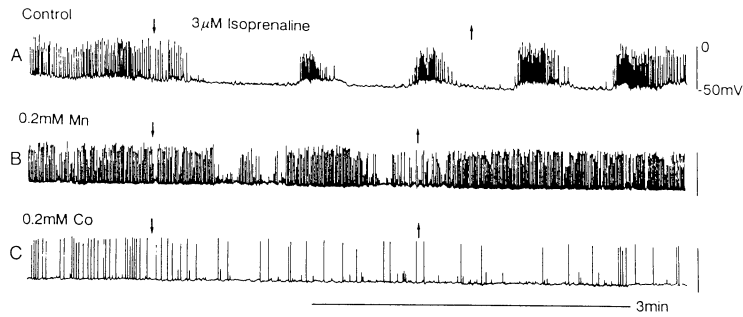


図-2 0.2 mM Mn (B)あるいは0.2 mM Co (C)イオンの存在下と欠如下(A)に於けるモルモット結腸紐の電気活動に及ぼす3 μ M Isoprenalineの効果。

に、cAMP 増加作用薬である Forskolin と Papaverine の膜に対する効果(過分極量)を調べると、Isoprenaline の場合と同様に Mg イオンによって強められるという結果を得た。

他の二価イオンの効果

Mn と Co イオンは、Mg イオンとは異なり、Isoprenaline による過分極量を減少させる効果を持つ(図2)。Ca イオンに関しては、control 液中よりも Ca イオン濃度を下げると、Isoprenaline による過分極量は減少したが、Ca イオン濃度を上げて Isoprenaline による過分極量に変化はなかった。また、Ca 拮抗剤である Verapamil を 0.5 μ M 加えた時と 2.0 μ M 加えた時では、Isoprenaline による過分極量はそれぞれ 6 mV, 5 mV となり、Verapamil-free の状態における過分極量(6 mV)とほぼ同じとなり、Mn, Co イオンの効果とは、明らかに異なった。

考 察

Isoprenaline によって生じる過分極は、外部 Mg イオンによって促進され、Mn および Co イオンによって抑制されたが、その抑制は Isoprenaline の作用によって生じる Ca-influx に於いて Mn および Co イオンが Ca イオンと競

合することで、Ca-antagonist として作用している結果だと思われる。また、従来、Isoprenaline によって生じる過分極は、Na pump と Ca pump の活性化によるものだと考えられてきたが、Isoprenaline による過分極量が、外部 K イオン濃度に影響され、TEA により抑制されること、並びに cAMP レベルを上昇させる Forskolin および Papaverine による過分極が Mg イオンによって高められることを考え合わせると、膜の過分極には、K-channel 活性が主要なかかわりを持ち、Mg イオンは cAMP を介して K-channel の活性を高めていることが示唆される。

文 献

- Bülbring, E. and Tomita, T. (1969). Increase of membrane conductance by adrenaline in the smooth muscle of guinea-pig taenia coli. *Proc. Roy. Soc. B.*, **172**, 89-102.
- Tomita, T., Tokuno, H., and Takai, A. (1985). Action of isoproterenol and epinephrine on the guinea pig taenia coli. studied by intracellular microelectrodes. *Jpn. J. Smooth Muscle Res.*, **21**, Suppl., 55-59.

モルモット結腸紐平滑筋に対するカリクリン A の影響

札幌医科大学 第一生理学教室

臼 木 俊 洋, 染 谷 哲 史, 小 原 一 男
藪 英 世

東京大学農学部 家畜薬理学教室

尾 崎 博, 唐 木 英 明

海綿より抽出された毒素, カリクリン A (CL-A) は強いプロテインフォスファターゼインヒビターであることが報告されている (Ishihara et al., 1989). 一方, 心筋において cAMP 依存性プロテインキナーゼを介するリン酸化が電位依存性カルシウムチャネルの開口を促進すると考えられている (Trautwein et al., 1987). 今回, 我々はモルモット結腸紐平滑筋における張力変化, 細胞内カルシウム濃度変化および電位依存性カルシウムチャネル電流に対する CL-A の影響を検討した.

方 法

モルモット結腸紐平滑筋組織を用い, 張力および細胞内カルシウム濃度変化をそれぞれ等尺性トランスデューサーおよび Fura-2 法により同時に測定した (Sato et al., 1988). また, 酵素的に単離したモルモット結腸紐平滑筋細胞を用い (Obara, 1984), 電位依存性カルシウムチャネル電流はパッチクランプ法ホールセルモード (Hamill et al., 1981) により測定された.

結果および考察

モルモット結腸紐平滑筋において, CL-A は高カリウムによる収縮よりも大きな収縮を引き起こした. この CL-A による収縮は外液カルシウム, EGTA およびカルシウムブロッカーにより影響されなかった. 一方, CL-A は細胞内カルシウム濃度を増加させた. この増加は高カリウムによる増加の 20~30% であり, EGTA およびカルシウムブロッカーにより抑制された. また, CL-A (1~100 nM) は濃度依存性に電位依存性カルシウムチャネル電流を増加させ, その

効果は 10 nM でほぼ最大となった. 10 nM CL-A はカルシウムチャネル電流をコントロールの 20~30% 増加させた. しかし, 閾膜電位, ピーク電流を発生させる膜電位および逆転電位には影響を与えなかった. 以上より, CL-A は電位依存性カルシウムチャネル電流を増加させることにより細胞内カルシウム濃度を増加させると考えられる. また, CL-A がプロテインフォスファターゼタイプ 1 および 2A を抑制する (Ishihara et al., 1989) ことから CL-A のカルシウムチャネル電流増加作用にチャネルタンパク質のリン酸化が関与している可能性が考えられる.

50 μ M dibutyryl cAMP, 1 μ M イソプロテレノールおよびプロテインキナーゼインヒビター H-8 (100 μ M) は電位依存性カルシウムチャネル電流に影響を与えなかった. また, dibutyryl cAMP と CL-A を同時に加えた場合, CL-A 単独投与と同程度の電流の増加を認めた. 心筋において cAMP 依存性プロテインキナーゼを介するリン酸化が電位依存性カルシウムチャネルの開口を促進すると考えられている (Trautwein et al., 1987) が, モルモット結腸紐平滑筋細胞における電位依存性カルシウムチャネルの開口には cAMP 依存性プロテインキナーゼの関与が少ないと考えられる.

以上より, モルモット結腸紐平滑筋において CL-A は電位依存性カルシウムチャネル電流を増加させることにより細胞内カルシウム濃度を増加させるが, この電流の増加には cAMP 依存性プロテインキナーゼの関与が少ないと考えられる.

文 献

- Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B. and Sigworth, F.J. (1981). Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch*, **391**: 85-100.
- Ishihara, H., Martin, B.L., Brautigan, D.L., Karaki, H., Ozaki, H., Kato, Y., Fusetani, N., Watabe, S., Hashimoto, K., Uemura, D. and Hartshorne, D.J. (1989a). Calyculin A and okadaic acid. Inhibitors of protein phosphatase activity. *Biochem Biophys Res Commun*, in press.
- Obara, K. (1984). Isolation and contractile properties of single smooth muscle cells from guinea-pig taenia caeci. *Jpn J Physiol*, **34**: 41-54.
- Sato, K., Ozaki, H. and Karaki, H. (1988). Changes in cytosolic calcium level in vascular smooth muscle strip measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator fura 2. *J Pharmacol Exp Ther*, **245**: 294-300.
- Trautwein, W., Cavalie, A., Flockerzi, V., Hofmann, F. and Pelzer, D. (1987). Modulation of calcium channel function by phosphorylation in guinea pig ventricular cells and phospholipid bilayer membranes. *Circ Res*, **61**. (Suppl 1): I-17-I-23.

モルモット輸精管単離平滑筋細胞における
Ba 電流に対するノルエピネフリンの作用

名古屋市立大薬学部 薬品作用

武 田 全 弘, 村 木 克 彦, 今 泉 祐 治
渡 辺 稔

血管平滑筋, その他各種平滑筋細胞における Ca 電流に対する様々な神経伝達物質の作用がこれまで報告されているが, その内容は多様かつ複雑であり, それらの作用機構等の詳細については未だ不明な点が多く残されている (Droogmans et al., 1987; Clapp et al., 1987; Benham & Tsien, 1988). 本研究では酵素処理により単離したモルモット輸精管平滑筋細胞に whole-cell clamp 法を適用し (Imaizumi et al., 1989), その神経伝達物質である norepinephrine (NE) の Ca および Ba 電流に対する作用について検討したのでここに報告する。

実験結果

生理塩類液中 (2.2 mM Ca) で, ピペット内液として 140 mM CsCl, 5 mM EGTA を用い, 保持電位 -60 mV から 0 mV への脱分極刺激により流れた Ca 電流は, 10 μ M NE により顕著に抑制を受けた (図 1, A-a). 外液の Ca を

Ba に置換し同様の実験を行ったところ, Ba 電流もまた NE により顕著に抑制を受けた (図 1, B-a). Ca および Ba 電流の peak の大きさについての抑制率は, Ca 電流の場合 63.8% (N=7), Ba 電流の場合 37.9% (N=10) となり, Ca 電流の方が強く抑制を受けることがわかった. さらに, NE により Ca および Ba 電流の不活性化の速度が速くなり, その程度は Ca 電流の方が大きかった (図 1, A-b, B-b). また, 1 μ M prazosin 存在下では 10 μ M NE による Ca 電流の抑制は起こりにくくなった. Ca による Ca 遊離機構に関係する細胞内 Ca 貯蔵部位の Ca をほぼ涸渇させる 5 mM caffeine 存在下で 10 μ M NE を投与すると, caffeine により一部抑制を受けていた Ba 電流はさらに抑制を受けた (図 2). このことから, 細胞内 Ca 濃度の上昇以外にも Ba 電流を抑制する機構が存在する可能性が考えられた. そこで GTP 結合蛋白の関与の可能性を考え, ピペット内液に 100 μ M

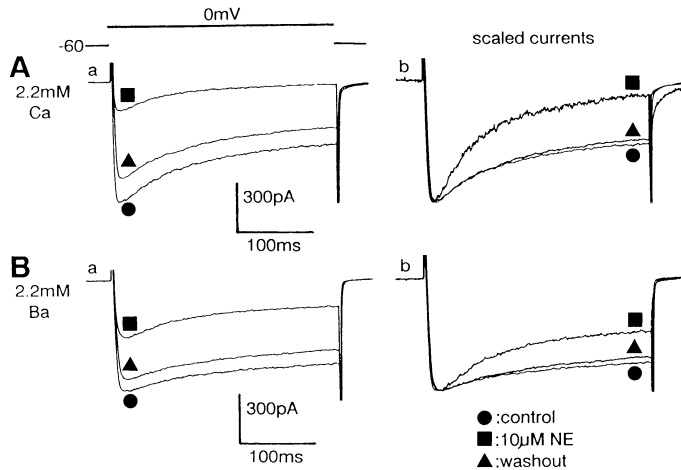


図1 A: Ca 電流に対する $10 \mu\text{M}$ NE の作用 (外液中 2.2 mM Ca) a: 保持電位 -60 mV から 0 mV へ脱分極させた時の Ca 電流.
b: peak の位置を合わせ規格化した Ca 電流.
B: Ba 電流に対する $10 \mu\text{M}$ NE の作用 (外液中 2.2 mM Ba) a: 保持電位 -60 mV から 0 mV へ脱分極させた時の Ba 電流.
b: peak の位置を合わせ規格化した Ba 電流.

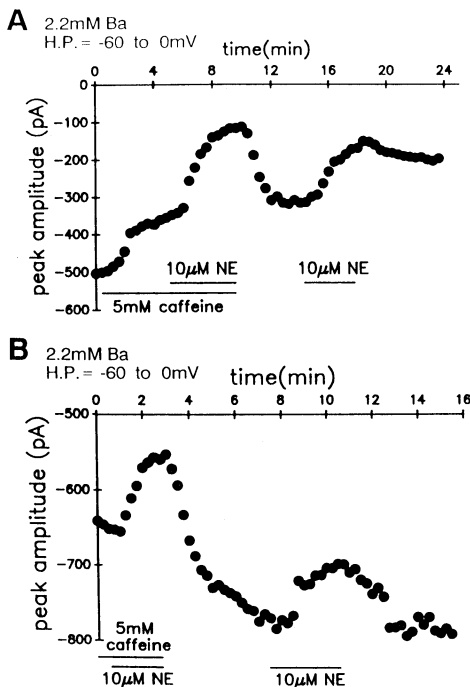


図2 A: Ba 電流に対する caffeine 及び NE の作用. 保持電位 -60 mV から 0 mV への脱分極刺激を定常的 (interval 16s, duration 50 ms) に与えたとき流れた Ba 電流の peak の大きさを時間に対してプロットした.
B: A と同様の図. この場合, 刺激条件は interval 15s で, 最初から 5 mM caffeine 存在下で実験を開始した.

GTP γ S を加え実験を行ったところ, Ba 電流の peak の大きさの抑制率は 85.3% ($N=7$) となり, GTP γ S により NE の作用が有意に増強された. 一方, ピペット内液に 1 mM GDP β S を加えた場合, Ba 電流の抑制率は 23.2% ($N=8$) となり, GTP β S により NE の作用は有意に抑制された.

考 察

NE により Ca および Ba 電流は抑制され, 不活性化の速度が速くなるが, この変化は Ca 電流においてより顕著であること, prazosin では起きにくくなることから, NE により α_1 受容体を介して SR からの Ca の遊離が起こり, 細胞内の Ca 濃度が上昇し, Ca による Ca channel の不活性化が起こる可能性がまず考えられた (Ohya et al., 1988). さらに, caffeine により SR の貯蔵 Ca を涸渇させた条件下においても NE により Ba 電流が抑制されることから, 何等かの GTP 結合蛋白を介する機構が働く結果, Ca および Ba 電流の抑制が起こる可能性が示唆された. この反応系における second messenger が何であるのか等の問題については今後, より詳細な検討が必要と考える.

文 献

- Droogmans, G., Declerck, I. & Casteels, R. (1987). Effect of adrenergic agonists on Ca^{2+} -channel currents in single vascular smooth muscle cells.; *Pflügers Arch.* **409**: 7-12.
- Clapp, L.H., Vivaudou, M.B., Walsh, J.V., Jr. & Singer, J.J. (1987). Acetylcholine increases voltage-activated Ca^{2+} current in freshly dissociated smooth muscle cells.; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **84**: 2092-2096.
- Benham, C.D. & Tsien, R.W. (1988). Noradrenaline modulation of calcium channels in single smooth muscle cells from rabbit ear artery.; *J. Physiol.* **404**: 767-784.
- Imaizumi, Y., Muraki, K., Takeda, M. & Watanabe, M. (1989). Measurement and simulation of noninactivating Ca current in smooth muscle cells.; *Am. J. Physiol.* **256**: C880-C885.
- Ohya, Y., Kitamura, K. & Kuriyama, H. (1988). Regulation of calcium current by intracellular calcium in smooth muscle cells of rabbit portal vein.; *Cir. Res.* **62**: 375-383.

Effect of vanadate on resting membrane potential, action potential and twitch contraction in guinea-pig ureter

Research Institute of Hypertension, *Research Institute of Oriental Medicine,
Kinki University

K. Shimamura, *K. Moriyama, S. Osugi,
K. Yamamoto, and S. Sunano

Electrical stimulation of ureter muscle evokes twitch contraction which depends on action potentials. Action potential of ureter of the guinea-pig has been shown to depend on Na and Ca influx (Shuba 1977, Imaizumi et al., 1989). It can be expected, therefore, that Na, K pump and Ca pump play important roles in regulation of muscle contraction. Vanadate has been known to inhibit both pumps and induce contraction in smooth muscle (Nechay, 1984). In guinea-pig ureter, vanadate has been shown to potentiate K-contraction and induce spontaneous twitch contraction (Sunano et al., 1987). In the present experiment, effects of vanadate on the action potential and twitch contraction of guinea-pig ureter were studied.

Material and Method

Ureters were dissected from guinea-pig and longitudinal preparations of 2 cm long were made. Contraction was recorded isometrically in Tyrode's solution at 37°C. Electrical pulse of 10 msec duration was applied at interval of 60 sec. Maximal rate of rise and fall of the twitch contraction was recorded by differentiation of changes in tension. Membrane potential was recorded intracellularly with microelectrode. Cellular Na content was measured by flame photometry. Ca free solution was made by omitting CaCl_2 from Tyrode's solution.

Results

Guinea-pig ureter showed twitch contraction of constant height in response to electrical stimulation. The contraction was

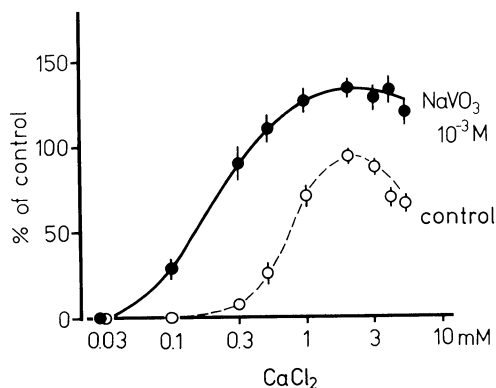


Figure 1 Effect of vanadate on the Ca concentration-twitch contraction height relation in guinea-pig ureter.

potentiated by vanadate at concentrations beyond 10^{-5} M. At higher concentration than 10^{-4} M, Spontaneous contraction was observed. Maximal increase in peak tension was observed at 10^{-3} M without increase in basal tension. Vanadate increased the rate of rise of contraction and the time to peak tension but decreased the rate of fall of tension with marked prolongation of contraction duration.

In Ca free solution, twitch contraction disappeared and was restored gradually with increase of CaCl_2 concentration up to 2 mM. In the presence of 10^{-3} M vanadate, the Ca concentration-response curve shifted leftward and upward (Fig. 1).

Resting membrane potential of ureter muscle was -53 mV and electrical stimulation evoked action potential which was constituted with spike and plateau. Vanadate 10^{-3} M depolarized the membrane about 5 mV and prolonged action potential duration by about 50% and increased number of spikes in an action potential by 100%. Spontaneous action potential was often initiated by vanadate.

Depolarization of the membrane about 10 mV by 15 mM K prolonged action potential

and increased spikes. It increased height, duration, rate of rise and fall of twitch contraction, and induced spontaneous twitch contraction.

Lowering temperature from 37°C to 30°C increased twitch height with increases in time to peak tension and duration of contraction. It decreased rates of rise and fall of contraction. Action potential duration was prolonged but no remarkable change was observed in spike number.

Intracellular Na content was increased by vanadate. Ouabain which increased Na content did not enhance twitch contraction height, indicating that Na, K pump inhibition dose not contribute to enhancement of twitch contraction.

These results suggest that the prolongation of the action potential and increase in the number of spike potential in the action potential are main causes of the potentiation of the twitch contraction by vanadate. Similar changes in action potential were reported in rat portal vein (Shimamura and Sunano 1988). In addition, the inhibition of Ca pump activity of the membrane system are involved also in the potentiation as in the case of the contraction at low temperature.

References

- Imaizumi, Y., Muraki, K. and Watanabe, M. (1989). Ionic currents in single smooth muscle cells from the ureter of the guinea-pig. *J. Physiol.* **411**: 131-159.
- Nechay, B.R. (1984). Mechanisms of action of vanadium. *Anm. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **24**: 501-524.
- Shimamura, K. and Sunano, S. (1988). Effects of sodium vanadate on the smooth muscle of the rat portal vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **337**: 347-353.
- Shuba, M.F. (1977). The effect of sodium-free and potassium-free solutions, ionic current inhibitors and ouabain on electrophysiological

- properties of smooth muscle of guinea-pig ureter. *J. Physiol.* **264**: 837-851.
- Sunano, S., Shimada, T., Kato, S. and Shimamura, K. (1987). Effects of sodium vanadate on smooth muscle of guinea-pig ureter and extracellular Ca. *Jpn. J. Smooth Muscle Res.* **23**: 55-66.
- Sunano, S., Kato, S., Moriyama, K. and Shimamura, K. (1988). Influence of sodium vanadate on the contractile action of vanadate in depolarized vas deferens and ureter of the guinea pig. *Arch. int. Pharmacol. Therp.* **293**: 196-208.

ラット子宮平滑筋の妊娠経過に伴う高濃度 K^+ , 低濃度 Na^+ 液における持続性収縮の変化について

日本獣医畜産大学 獣医薬理学教室

神 崎 淳 二, 清 水 一 政, 中 条 真二郎
浦 川 紀 元

緒 言

各種平滑筋は高濃度 K^+ 液の適用により持続性収縮を生ずるが, 外液中の Na^+ を全て K^+ で置換した等浸透圧性の高濃度 K^+ (iso-154 K^+) 液の適用では, 筋は一旦収縮した後, 漸次弛緩する. この弛緩の機序を以下の様に我々は分類している. 1) 高濃度の K^+ および Cl^- による細胞膨潤によるもの (ウサギ大動脈; Suzuki et al., 1981, モルモット気管; Shimizu et al., 1984), 2) 外液中の Na^+ 欠乏によるブドウ糖の取り込み抑制によるもの (モルモット膀胱および精管; Shimizu et al., 1984 and Shimizu et al., 1988, ラット膀胱; Kamizaki et al., 1988), 3) 両者の関与によるもの (ウサギ気管; Ueda et al., 1983, モルモット胆嚢, 精嚢及び盲腸紐; Shimizu et al., 1984, Shimizu et al., 1988 and Suzuki et al., 1980).

一方, 子宮筋については, 非妊娠(発情期)ラットの標本では高濃度 K^+ , 低濃度 Na^+ 液による持続性収縮の弛緩は細胞膨潤が関与していることを既に報告した (Kamizaki et al., 1988) が, 今回, 我々はラット子宮筋の妊娠の経過に伴う高濃度 K^+ , 低濃度 Na^+ 液による収縮後の弛緩の性格について検討した.

実験方法

妊娠ラットは, 発情前期の夜に雄ラットを同一ケージに入れ, 翌朝陰内に精子の存在を確認して, これを妊娠 0 日とし, 妊娠初期(妊娠 4 および 5 日目), 妊娠中期(妊娠 8~10 日目), 妊娠後期(妊娠 14 および 15 日目) および妊娠末期(妊娠 21 日目)の 4 期に分け, それらの摘出子宮筋標本をそれぞれ実験に使用した. 標本は, 子宮角部縦走筋を長さ約 10 mm, 幅約 2 mm の条片とし, マグヌス管中の修正タイロード液中に懸垂し, その収縮変化を等尺性に記録した. また, 各標本の相対湿重量は, 処置後の湿重量 (mg)/処置前の湿重量 (mg) で表した.

実験結果

妊娠初期の筋は, 高張性に加えた 60mM KCl (hyper-65 K^+) により直ちに収縮し, 約 30 分で最大に達した後, 一定のレベルを維持したが, iso-154 K^+ 液の適用により, 約 15 分で最大 (hyper-65 K^+ 収縮の約 110%) に達した後, 漸次抑制され, その 120 分後の張力は iso-154 K^+ 液適用時の最大収縮に対して, 11.6% であった (Fig. 1-A, Table 1-A). また, 妊娠中期および後期の筋でも妊娠初期のそれと類似の収縮パターンを示し, iso-154 K^+ 液適用後の張力の

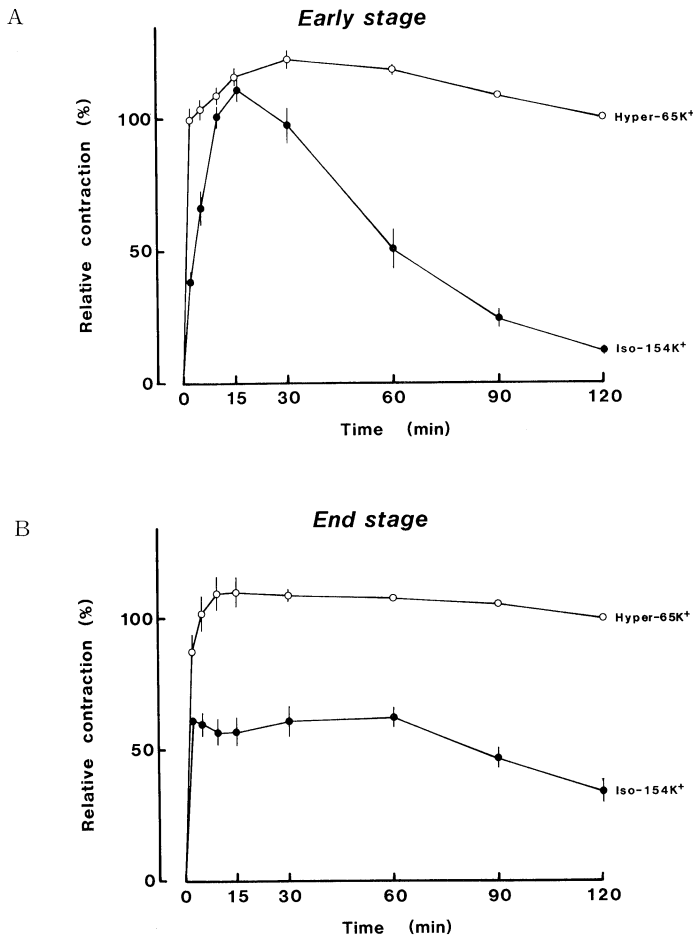


Fig. 1: Changes in tension of pregnant rat uterus in high K⁺ solution
Hyperosmotically added 65.4 mM KCl (hyper-65K⁺) or isosmotically substituted 154.2 mM KCl (iso-154K⁺) was applied at 0 min.
Muscle tension induced by hyper-65K⁺ solution at 120 min was the control (100%), and the mean \pm S.E.M. of five or six experiments is shown.
A: Early stage (Day 4 or 5 of pregnancy)
B: End stage (Day 21 of pregnancy)

120 分値はそれぞれ 16.4% および 14.4% であったが、妊娠中期の筋の最大収縮は対照の約 75% であり、妊娠初期のそれに比べて小さかった。一方、妊娠末期の筋の iso-154K⁺ 収縮は初期および後期の筋に比べ、最大収縮が対照の約 60% と小さく、また 120 分後の張力は最大収縮の 54.1% であり、抑制の程度は小さかった (Fig. 1-B, Table 1-A)。

妊娠各期の筋における iso-154K⁺ 液による張力の低下はショ糖を高張性に添加することにより回復した (Table 1-A)。また、妊娠初期の

筋においては、Cl⁻ よりも細胞膜の透過性が低い C₂H₅COO⁻ に置換することにより、iso-154K⁺ 液による抑制は軽減し、Cl⁻ よりも透過性が高い NO₃⁻ および I⁻ への置換では顕著に抑制された (Table 1-C)。しかし、その他の時期の筋においては、これらの序列は区々であった。

一方、妊娠初期の筋の iso-154K⁺ 液による張力の低下は栄養液中のブドウ糖 (5.5 mM) をピルビン酸 (5.5 mM) あるいはオキサザル酢酸 (5.5 mM) に置換しても張力の回復はみられなかつ

Table 1: Changes in developed tension and relative wet weight in pregnant rat uterus in iso-154K⁺ solution

Table 1-A

	Early stage	Middle stage	Late stage	End stage
Iso-154K ⁺ (Max.cont.)	100	100	100	100
Iso-154K ⁺	11.6±2.0 (5)	16.4± 3.6 (5)	14.4±3.9 (6)	54.1± 7.5 (6)
+ Sucrose 50 mM	90.3±2.7 (5)	99.2±14.9 (5)	57.4±5.7 (5)	115.5± 7.5 (5)
25 mM	74.0±4.9 (6)	103.1± 2.4 (5)	88.8±3.8 (6)	101.0± 8.5 (6)
+Pyruvate 5.5 mM	18.0±2.7 (6)	35.6± 2.9 (5)	50.3±7.6 (6)	113.9±13.4 (6)
+Oxalacetate 5.5 mM	21.5±3.7 (6)	42.4± 8.3 (5)	67.8±4.9 (6)	136.3±13.1 (6)

Table 1-B

	Early stage	Middle stage	Late stage	End stage
Control (PSS)				
Wet weight	0.93±0.01 (4)	0.92±0.02 (4)	0.98±0.02 (4)	1.00±0.01 (4)
Iso-154K ⁺				
Wet weight	1.15±0.01 (4)	1.16±0.04 (4)	1.02±0.02 (4)	1.03±0.02 (4)
(Cellular water content)	(1.66)	(1.70)	(1.40)	(1.28)
Iso-154K ⁺ + Sucrose 50 mM				
Wet weight	0.84±0.03 (4)	1.10±0.03 (4)	0.90±0.03 (7)	0.94±0.02 (4)
(Cellular water content)	(0.90)	(1.12)	(1.08)	(1.04)

Table 1-C

	Early stage		End stage	
	Maximal inhibition(%)	T _{1/2} (min)	Maximal inhibition(%)	T _{1/2} (min)
C ₂ H ₅ COO ⁻	44.4±5.8	128.2±9.8 (7)	88.2±4.3	48.5±3.5 (5)
Cl ⁻	88.6±1.7	67.3±4.9 (5)	45.3±7.3	125.2±9.2 (6)
NO ₃ ⁻	95.6±2.2	51.6±2.6 (8)	61.8±4.5	100.6±8.6 (5)
I ⁻	100	15.2±1.9 (6)	98.5±1.0	31.0±3.7 (5)

A: Effects of sucrose, pyruvate or oxalacetate on iso-154K⁺ induced contraction.

Maximal contraction induced by iso-154K⁺ solution was the control (100%). All the values were obtained 120 min after the application of high K⁺ solution. The mean±S.E.M. are shown, and numbers in parenthesis indicate number of experiments.

B: Changes in relative wet weight and relative cellular water content in iso-154K⁺ solution.

Each value was obtained 120 min after the beginning of each incubation. The mean±S.E.M. are shown, and numbers in parenthesis indicate number of experiments. The ratio of cellular water content was calculated by the following equation;

Ratio of cellular water content

$$= \frac{\text{Relative wet weight (treated muscle)}}{\text{Relative wet weight (control muscle)}} \times \frac{\{1 - (\text{relative ECS} + \text{relative dry weight})\}(\text{treated muscle})}{\{1 - (\text{relative ECS} + \text{relative dry weight})\}(\text{control muscle})}$$

C: Changes in tension in iso-154K⁺ solution which Cl⁻ was substituted with various anions.

The mean±S.E.M. are shown, and numbers in parenthesis indicate number of experiments.

たが、妊娠中期以降の筋における張力の低下はこれらの置換により回復し、その回復の程度は妊娠の経過と共に増加し、とくに妊娠末期の筋では顕著であった (Table 1-A)。

妊娠初期および中期の筋の iso-154K⁺ 液適用後の湿重量の変化については、妊娠後期および末期のそれに比べて顕著に増加し、その 120 分値はそれぞれ 1.15, 1.16, 1.02 および 1.03 であった (Table 1-B)。また、細胞間隙量および乾燥重量を 0.54 および 0.17 と仮に定めて、この湿重量の値から細胞内水分量を計算すると、妊娠初期および中期のそれは他の時期に比べて大きな値を示した。妊娠初期および中期でみられた湿重量の増加は、ショ糖を高張性に添加することにより元に復した。

考 察

妊娠初期の子宮筋では、iso-154K⁺ 液の適用により張力は低下し、この低下した張力はショ糖の高張性添加により回復したが、ブドウ糖をピルビン酸あるいはオキザル酢酸に置換しても回復せず、さらに陰イオンの細胞膜の透過性の序列 ($I^- > NO_3^- > Cl^- > C_2H_5COO^-$) と iso-154K⁺ 液適用による張力の低下率の序列は一致した。また細胞内水分量の変化については、iso-154K⁺ 液の適用により増加し、ショ糖の高張性添加により元に復した。

一方、妊娠中期以降の筋においても、iso-154K⁺ 液の適用により張力の低下がみられたが、この張力の低下は妊娠初期の筋と同様、ショ糖の高張性添加により回復し、さらにブドウ糖のピルビン酸あるいはオキザル酢酸への置換で回復し、とくに末期の筋においては顕著であった。細胞内水分量については、妊娠中期の筋では iso-154K⁺ 液の適用により増加したが、後期および末期の筋では妊娠中期の筋ほど増加しなかった。

以上の成績から、ラット妊娠子宮筋における

高濃度 K⁺、低濃度 Na⁺ 液による持続性収縮の低下は、妊娠初期の筋においては、非妊娠ラットの発情期の筋における成績と同様、細胞膨潤の関与が大きいと思われ、妊娠中期以降では細胞膨潤とこれに外液中の Na⁺ 欠乏によるブドウ糖の取り込み抑制の両者が関与していると思われる。これはラット子宮筋の収縮における外液中のブドウ糖への依存度が妊娠の経過と共に増加することを示唆している。

文 献

- Kamizaki, J., Shimizu, K., Nakajyo, S. and Urakawa, N. (1988). A comparative study on the contraction induced by high K⁺/Na⁺ deficient solution in rat uterus or urinary bladder. *Jap. J. Pharmacol.* **47**: 179-188.
- Shimizu, K., Yaguchi, S., Kometani, A., Nakajyo, S., Ozaki, H. and Urakawa, N. (1984). A comparative study on the contraction induced by high K/Na deficient solution in the trachea, gall bladder and urinary bladder in guinea-pig. *Jap. J. Pharmacol.* **34**: 231-239.
- Shimizu, K., Tahara, K., Nakajyo, S. and Urakawa, N. (1988). Effects of the high K⁺/Na⁺ deficient solution on mechanical response and wet weight of tissue in vas deferens and seminal vesicle in guinea-pig. *Jpn. J. Smooth Muscle Res.* **24**: 13-21.
- Suzuki, T., Karaki H. and Urakawa, N. (1980). Mechanism of inhibition of concentration by high K, Na deficient solution in smooth muscle of guinea-pig taenia coli. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **248**: 43-49.
- Suzuki, T., Karaki H. and Urakawa, N. (1981). Inhibition of contraction by swelling of vascular smooth muscle in high KCl, low Na solution. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **250**: 195-203.
- Ueda, F., Kishimoto, T., Karaki, H. and Urakawa, N. (1983). High K-induced contractions in rabbit and monkey tracheal smooth muscle. *Jpn. J. Smooth Muscle Res.* **19**: 541-549.

光で生じる神経反射を介さない縮瞳現象について

山口大学医学部 眼科学教室

鈴木 亮, 芳野 秀晃

網膜を除去した虹彩筋標本を用い, 光刺激による瞳孔の反応を調べた。

摘出筋標本は照度に依存して収縮した。収縮高はハムスターでは光遮断の時間に無関係であった。紫外線と可視光線では瞳孔反応に差がみられた。

光照射による収縮は tetrodotoxin, 交感副交感神経遮断薬, substance P 遊離阻止薬や polyphloretin phosphate で顕著な抑制を受けなかった。Quinacrine や procaine は 30 分以上たって縮瞳反応を濃度依存性に抑制した。

高等哺乳動物ハムスターにも網膜機能を介さない瞳孔の反応があることがわかった。

序

網膜がなくても下等の脊椎動物 (カエル, ウナギ等) の虹彩は光刺激に収縮することが 19 世紀からよく知られている。しかし高等の哺乳動物では光に対する瞳孔の反応は網膜と副交感神経を介したものである⁽¹⁾。

最近増田⁽²⁾等はラット瞳孔散大筋の光反射を記録し, 網膜を介さない瞳孔反応を報告している。

哺乳動物に網膜を介さない瞳孔反応が存在するか否か, ハムスターを用い, 網膜を完全に除去した虹彩標本をつくって調べた。

方 法

ハムスター眼球の強膜, 網膜, 硝子体, 水晶体を除去し瞳孔径を測定した。この方法は内在性の筋のトーンスや薬物洗浄後の筋機能回復を知ることができないが, 多数の眼を処理でき簡便なので, スクリーニングを含め本実験に用いた。

また別に以前報告してきた方法 (3) に従ってウサギ, ウシの虹彩を摘出し, 等張, 等尺性に張力を記録した。必要に応じハムスターに 0.08 cc nembutal を皮下注射した。

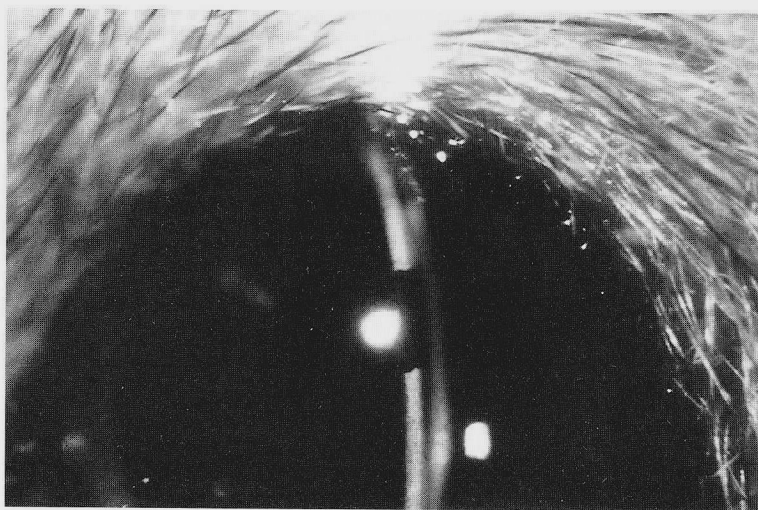


図1 ハムスターの眼, 縮瞳している。

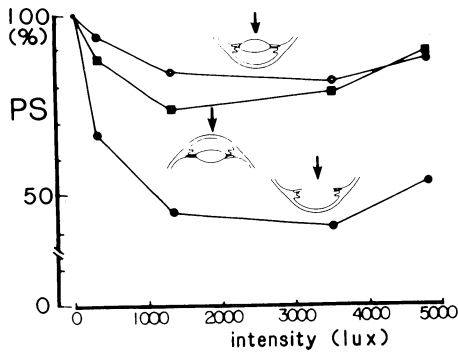


図2 光照射法と瞳孔径の変化。

結 果

ハムスター瞳孔

図1のごとく dim light 下で瞳孔径は 400 μm と極度に縮瞳している。角膜と虹彩が接しているかのごとく、前房が極めて浅い。

照明装置 (FI-150 杉浦電子) から、集光器により均一なスポット照明をファイバーで導き、各々専用のフィルターで目的とする波長を得た。

1% atropine 点眼で散瞳させた後、光遮断を行うと瞳孔はわずかながら更に散瞳した。光刺激を行うと atropine 存在下でも瞳孔は更に縮瞳した。死亡後は瞳孔は散大し、光刺激で縮瞳した。

光照射

同じ光量であっても光の照射条件によって瞳孔径の変化に著明な差がみられた。すなわち図2に示したごとく、虹彩上皮側から照射した場合が一番効果があった。

光遮断時間と光照射の時間経過

光遮断を 30 秒～120 分まで変化させたとき

の光刺激効果は照度の強弱と無関係であった。

可視光線では照射後の縮瞳は速やかに生じたが、紫外線では最大反応までに 60～90 sec の長い時間を必要とした。

考 按

ハムスター瞳孔は可視光線に対し縮瞳した。この縮瞳は in vivo でも in vitro でも観察された。死亡後も光で縮瞳した。眼球を摘出しても、眼球を切除して網膜を除去しても光照射で縮瞳したので、虹彩筋自体の特徴と考えた。

この光収縮は副交感および交感神経遮断薬のもとでも観察された。また substance P (SP) 遊離阻止薬や tetrodotoxin のもとでも観察されたので神経を介さない反応と一応考えることができる。

下等の脊椎動物ではこのような光収縮反応が存在することが知られている。高等哺乳動物ではこのような例はあまり報告されていない⁽²⁾。

文 献

- 1) Thompson, H.S. (1980). The pupil and the autonomic nervous system. In "Neuro-Ophthalmology. Vol. 1" (Ed Lessell, S. & van Dalen, J.T.W). Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton, 226-240.
- 2) 増田 豊, 今泉祐治, 渡辺 稔(1985). ラット虹彩散瞳筋の光誘発性収縮について, 日本平滑筋誌, 21(4): 332-334.
- 3) Suzuki, R. and Kobayashi, S. (1983). Different effects of substance P and vasoactive intestinal peptide on the motor function of bovine intraocular muscles. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 1566-1571.

イヌ, サル肺静脈平滑筋の律動性収縮

信州大学医学部 第一生理

堀内 哲吉, 松木 孝道, 大橋 俊夫

はじめに

肺静脈系は左心室に直結し左室拡張末期容量調節機構として重要な役割を果たしていることが想定されるが, 未だ詳細な解析はなされていない. 従来より我々はこうした肺静脈系にも体静脈系と同様に機能ならびに形態学的特性に著しい部位差種差が存在することを報告してきた(松木, 大橋, 1986, 1987). 今回我々は, イヌおよびサルの肺静脈平滑筋に自発的, あるいは各種生理活性物質投与により誘起される律動的収縮を見出し, その発現機序を解析し2~3の知見を得たので報告する.

実験材料と方法

実験は体重6~15 kgの雑種成犬, 体重4~12 kgの日本猿を雌雄の別なく用いた. イヌはpentobarbital (25 mg/kg, i.v.), サルはketamine (30 mg/kg, i.m.) により麻酔し, 総

頸動脈より脱血屠殺した. 直ちに左心房を含めた肺全体を摘出し実験に供した. Krebs液中で, 縦隔部の肺静脈を摘出し, 幅5 mmの円筒状標本および縦方向標本を作製した. 標本は37°C, pH 7.4に維持したKrebs液で灌流した臓器槽内に固定し, 円筒状標本には0.5 g, 縦方向標本には1.0 gの基本張力を負荷した. まず, ① prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), norepinephrine (NE), epinephrine (Epi), serotonin (5-HT), histamine (Hist)の投与により誘起される張力変化を等尺性に記録しながらその用量反応曲線を求めた. また, ②それぞれの生理活性物質の用量反応曲線において, ほぼ最大反応を得る濃度を用いて律動性収縮の発生率を求めた. そうした予備実験の後に, ③律動性収縮のリズムと振幅変化を指標として, 生理活性物質の用量反応関係を求めた. ④ $PGF_2\alpha$ あるいは5-HTで誘起された律動性収縮のリズムと振幅に及ぼす phentolamine, propranolol, atropine, tetra-

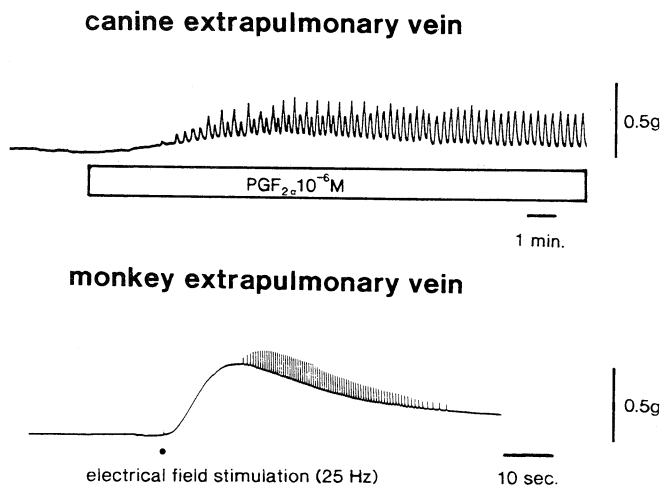


図1. 縦隔部肺静脈標本の律動性収縮の典型例. 上段; イヌ縦隔部肺静脈縦標本を prostaglandin $F_2\alpha$ ($10^{-6} M$)で持続灌流した際に観察された反応. 下段; サル縦隔部肺静脈円筒状標本を25 Hzで経壁電気刺激した際の反応.

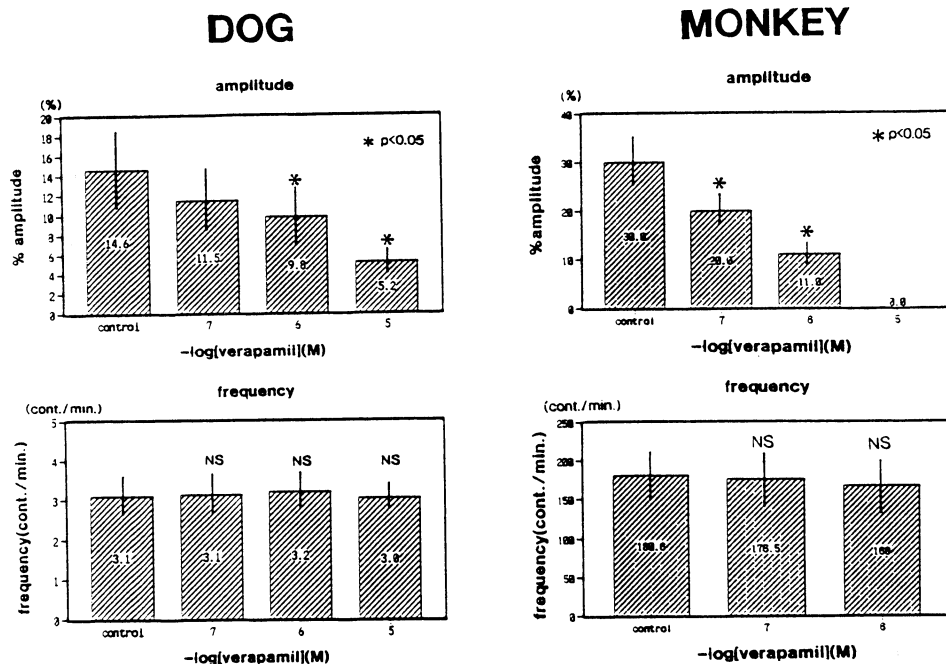


図2. 律動性収縮反応の振幅とリズムに対する verapamil の作用, 左図; イヌ縦隔部肺静脈標本において prostaglandin $F_{2\alpha}$ (10^{-6} M) により誘起された律動性収縮の振幅 (上段) と収縮頻度 (下段). 右図; サル縦隔部肺静脈標本において norepinephrine (10^{-6} M) により誘起された律動性収縮の振幅 (上段) と収縮頻度 (下段). % amplitude; 80 mM K^+ による収縮量を 100% として基準化した相対的収縮量, frequency (cont./min.); 1 分当りの収縮回数.

odotoxin (TTX), verapamil, nifedipine, $MnCl_2$ の影響を観察した. 次に, ⑤ この律動性収縮の発生機構を解析する目的で, EGTA 1 mM を含んだ Ca-free Krebs solution を用いて, その外液 Ca^{2+} の依存性を検索した.

実験結果

① 図1はイヌおよびサルの縦隔部肺静脈標本で観察された律動性収縮の典型例を示している. このような律動性収縮の発生率はイヌ, サルを問わず縦隔部の肺静脈標本の方が肺実質内の肺静脈標本に比べて高かった. ② イヌ縦隔部肺静脈標本においては $PGF_{2\alpha} > 5-HT > NE > Epi > Hist$ の順に律動性収縮が誘起されたが, 自発性収縮は認められなかった. 一方 ③ サル縦隔部肺静脈では $NE > Epi > Hist$ の順に律動性収縮が観察されたが $PGF_{2\alpha}$ および 5HT の投与では律動性収縮は全く観察されなかった. また, 約 4 分の 1 の標本に生理活性物

質によらない自発的な律動性収縮が観察された. ④ イヌ縦隔部標本で $PGF_{2\alpha}$ により誘起された律動性収縮の振幅とリズムは用量依存的に増加した, また phentolamine, propranolol, atropine, TTX の処置の前後でその振幅およびリズムに有意な変化は見られなかった. ⑤ イヌ縦隔部標本で $PGF_{2\alpha}$ により誘起された律動性収縮あるいはサル縦隔部肺静脈標本において NE により誘起された律動性収縮の両者の振幅は verapamil の前処置により, 濃度依存的に抑制されたが, そのリズムは 10^{-7} M \sim 10^{-5} M の濃度範囲では抑制されなかった (図2). ⑥ Ca^{2+} 欠如保生液に置換することにより律動性収縮は消失し, Sr^{2+} の添加により復元した.

考 察

脈管平滑筋の自発性収縮, 律動性収縮については門脈系および筋型リンパ管系の平滑筋をはじめとして多くの報告がある (Johansson,

1967; 大橋, 1980). 今回我々がイヌおよびサル肺静脈で観察した律動性収縮も筋原性由来のものでありその発現には外液 Ca^{2+} が重要な役割を果たしていることが想定される.

文 献

Ohhashi, T., Azuma, T. and Sakaguchi, M. (1980). Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics. *Am. J. Physiol.* **239**: H88-H95.

Johansson, B. and Ljung, B. Sympathetic control of rhythmically active vascular smooth muscle as studied by a nerve-muscle preparation of portal vein. *Acta Physiol. Scand.* **70**: 299-311, 1967.

松木孝道, 大橋俊夫 (1986) 機能と形態からみた肺静脈平滑筋の特性. 日本平滑筋雑誌, **22**: 269-271.

松木孝道, 大橋俊夫 (1987) サル肺静脈平滑筋における histamine 反応性の部位差. 日本平滑筋雑誌, **23**: 383-385.

サル静脈平滑筋に対する種々生理活性物質の 反応性とその部位差について

信州大学医学部 第一生理学教室

福 嶋 幸 代, 大 橋 俊 夫

はじめに

我々は数年来, 静脈系の機能的構築について体系的に検索し, 伸展特性やそれに対応する形態学的特性には体幹部静脈と四肢静脈との間で著しい部位差の存在する事を指摘してきた (Ohhashi et al., 1987). 今回は静脈平滑筋の反応特性の部位差を検討するために, サル各部位の静脈標本を用いて, 生理活性物質に対する反応性の検索を行い特性地図を描いてみたので報告する.

実験材料と方法

実験には日本ザル 38 頭を雌雄の別なく用いた. ケタラル (50 mg/kg, i.m.) により麻酔し, 脱血屠殺後, 直ちに, 体幹部・四肢ならびに頸部の静脈を摘出し, 幅 4 mm の円筒状標本を作製した. 標本は 37°C, pH 7.4 に維持された Krebs 液で灌流した臓器槽内に装着した. 標本には, 80 mM 高 K 保生液で最大収縮反応を指標として求めた至適張力約 0.3~1.2 g を基本張力として負荷した. 発生張力を等尺性に記録しながら, 血管収縮物質 norepinephrine (NE),

epinephrine (Epi), 5-hydroxytryptamine (5-HT), histamine, prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) ならびに血管弛緩物質 acetylcholine (ACh), isoproterenol (ISP), adenosine, ATP に対する cumulative な用量反応曲線を求めた. 弛緩物質の用量反応曲線は 10^{-5} M の NE で持続灌流し, 標本を precontraction させた状態で測定した.

実験ならびに考察

血管収縮物質に対する用量反応曲線より, サル静脈平滑筋反応性の特性地図を求めた (図 1). $\text{PGF}_{2\alpha}$ と histamine の収縮反応特性とカテコールアミンのそれとを比較して, サルの静脈反応性を分類してみると, 図に示すように大別して 3 つのグループに分類できた. 第 1 のグループは, $\text{PGF}_{2\alpha}$ と histamine の収縮反応がカテコールアミンのそれを明らかに凌駕する体幹部静脈と上肢・頸部静脈群である (■). 第 2 のグループは, $\text{PGF}_{2\alpha}$, histamine の収縮反応とカテコールアミンのそれがほぼ等しい下肢深部静脈群である (▨). 第 3 のグループはカテコールアミンの収縮反応が逆に $\text{PGF}_{2\alpha}$ の反

CONTRACTION

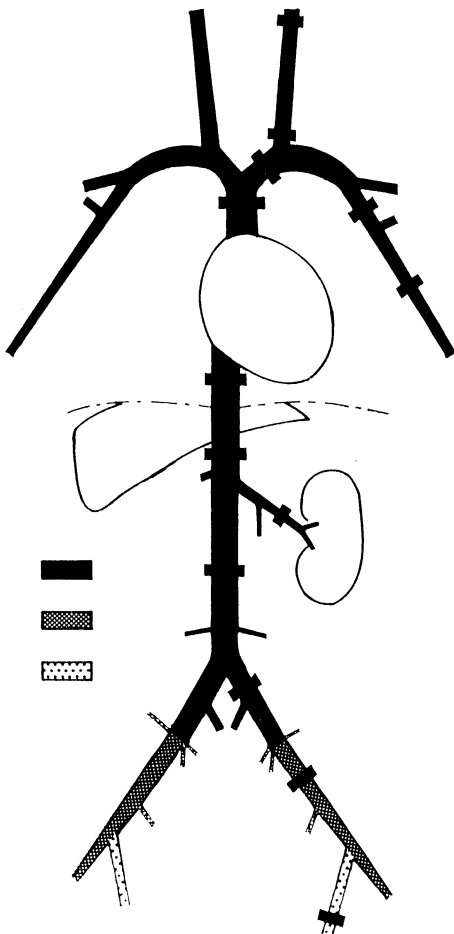


図1: 血管収縮物質より得られたサル静脈平滑筋の反応特性地図

RELAXATION

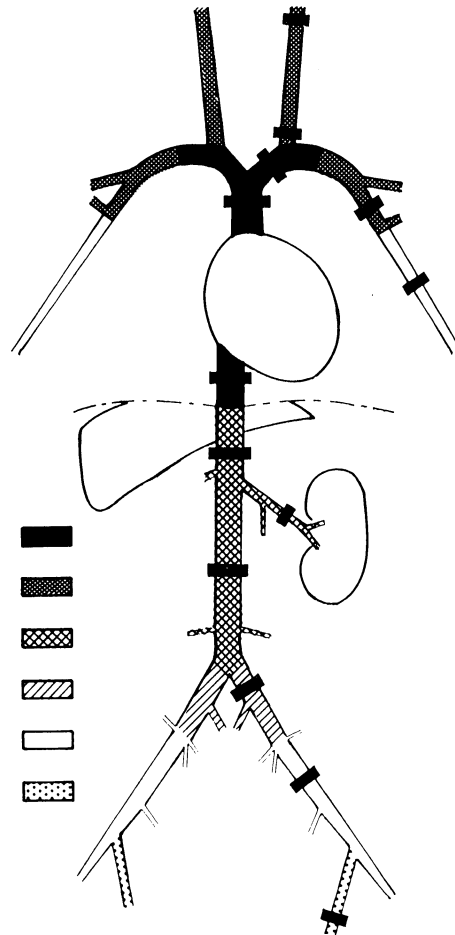


図2: 血管弛緩物質より得られたサル静脈平滑筋の反応特性地図

応を凌駕し、さらに histamine 反応が急激に低下する皮下を走行する外側伏在静脈群である (■)。

血管弛緩物質に対する用量-反応曲線を求め、この弛緩量を指標としてサル静脈平滑筋反応の特性地図を求めた (図2)。

血管弛緩物質の反応特性からサル静脈系を分類すると大別して3つ、さらに亜型を含めると6つのグループに分けられることが判明した。第1のグループはISPで顕著な弛緩反応を示し、AChも著しい収縮反応に引き続いたわずかな弛緩反応を惹起する胸部体幹部静脈群と、そ

の亜型で、ISPの弛緩反応が漸次低下する腋窩、内頸静脈群である(■, ■)。第2のグループはISP、AChで弛緩反応を示す点で第1のグループに類似するが、AChの収縮反応が第1グループの静脈系に比べて明らかに低下している腹部体幹部静脈群と、その亜型でISPの弛緩反応が漸次低下していく腸骨静脈群である(■, ■)。第3のグループは、AChの反応がほとんど消失し、ISPの弛緩反応も低下する上・下肢の静脈群である。皮下を走行する外側伏在静脈はその亜型で、用いた全ての物質に対する弛緩反応がほとんど認められないグループ

である (□, ■)。

以上, 血管収縮, 弛緩物質の反応性よりサル静脈系の特性地図を描いてみると, 体幹部, 四肢殊に下肢の静脈系で著しい静脈平滑筋反応性の部位差の存在することが判明した。その差異の生理学的意義について今後, 静脈伸展性の部位差, 静脈系の分布特性, 自律神経の分布特性などとの関連において検索が必要である。

文 献

Ohhashi, T., Morimoto, K. (1987). Functional

and morphological characteristics of canine veins and venous valves. *Advances in Phlebology* p 34-43.

大橋俊夫, 森本恵子, 東 健彦 (1986) 静脈系の機能と形態. 脈管学, **26**: 289-292.

福嶋幸代, 大橋俊夫 (1988) イヌ静脈平滑筋に対する種々生理活性物質の反応性とその部位差について, 日本平滑筋誌, **24**: 241-243.

重井達朗, 市川朝洋, 石川直久 (1983) 静脈系の発生と薬理, 脈管学, **23**: 11-16.

気管平滑筋におけるエンドセリンと受容体作動薬の作用

東京大学農学部 獣医薬理学教室

唐 木 英 明, 尾 崎 博, 大 山 達 也
坂 田 清, 佐 藤 晃 一

1. はじめに

我々は, 血管平滑筋の収縮と細胞内 Ca 濃度 ($[Ca]_i$) の同時測定の結果, 収縮張力と $[Ca]_i$ の相関が各種の薬物により変化することを報告した (Karaki et al., 1988; Sato et al., 1988). 今回はその機作を明らかにすることを目的として, ノルエピネフリン, プロスタグランジン $F_{2\alpha}$, 最近発見された内因性血管収縮物質エンドセリンおよび C-キナーゼ活性化作用を持つホルボールエステル (12-deoxyphorbol 13-isobutyrate, DPB) と高濃度 K の作用について, さらに検討を行った。

2. 実験方法

ラット大動脈螺旋条片の $[Ca]_i$ を, fura-2 蛍光法 (Ozaki et al., 1987) により収縮張力と同時に測定した。

3. 実験結果

(1) 正常液中での作用: K (72.7 mM), ノルエピネフリン (1 μ M), プロスタグランジン $F_{2\alpha}$

(10 μ M) および DPB (1 μ M) の添加により $[Ca]_i$ の上昇後速やかに収縮が発生し, 持続した。他方, エンドセリン (30 nM) による収縮の立上がりは $[Ca]_i$ の増加速度に比べて非常に遅く, その後 $[Ca]_i$ はほとんど変らないか, むしろ減少するにもかかわらず, 収縮張力は増加し続けた。これらの持続性収縮の間に, ベラパミル (10 μ M) を適用すると, K による $[Ca]_i$ 収縮張力ともに静止レベル付近まで減少した。ノルエピネフリン, プロスタグランジン $F_{2\alpha}$, エンドセリン, DPB 存在下では, ベラパミルは $[Ca]_i$ を静止値にまで減少させたが, 収縮張力を一部しか抑制しなかった。その後外液 Ca を除去すると $[Ca]_i$ はさらに減少したが, 収縮の一部は依然として残存し, 図 1 に, 対照, ベラパミル存在下, ならびに Ca 除去下での, 各種刺激薬存在下における $[Ca]_i$ と収縮張力との対応を示す。(2) Ca 除去液中での作用: Ca 除去液中では $[Ca]_i$ は急速に静止値以下に減少した。ここに K を適用しても無効であった。他方, ノルエピネフリンは一過性に $[Ca]_i$ と収縮張力を増加させ, その後 $[Ca]_i$ の減少と小さな持続性

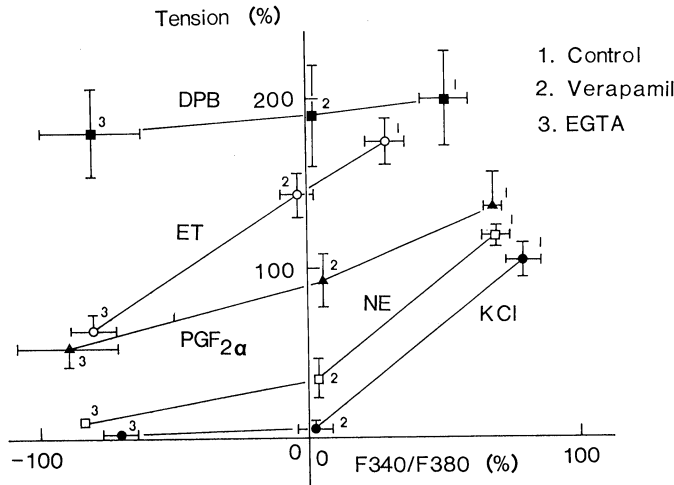


図1. ラット大動脈の、各種刺激薬存在下における $[Ca]i$ と収縮張力の対応。KCl (72.7 mM), ノルエピネフリン ($1 \mu M$), プロスタグランジン $F_2\alpha$ ($10 \mu M$), エンドセリン ($30 \mu M$) および DPB ($1 \mu M$) による $[Ca]i$ と収縮がほぼ一定となった後(対照), ベラパミル ($10 \mu M$) と EGTA ($4 mM$) を累積的に加えた。ベラパミル存在下では、いずれの場合も $[Ca]i$ は静止レベル付近まで減少するが、収縮はDPB>エンドセリン>プロスタグランジン $F_2\alpha$ >ノルエピネフリン>KClの順で残存した。さらにEGTAを加えると、 $[Ca]i$ は静止レベル以下に減少するが、収縮張力はDPB>エンドセリン>プロスタグランジン $F_2\alpha$ >ノルエピネフリン>KClの順で残存した。100%は予め行なった高濃度Kに対する反応。

収縮を発生させた。2度目のノルエピネフリン適用は $[Ca]i$ を変えずに持続性収縮のみを起こした。プロスタグランジン $F_2\alpha$, エンドセリンもほぼ同様の $[Ca]i$ の変化をもたらしたが、一過性収縮の大きさはNEによるものより小さく、持続性収縮はNEによるものより大きかった。DPBは $[Ca]i$ を変化させずに持続性収縮を起こした。

(3) $[Ca]i$ と収縮張力との相関： $[Ca]i$ と張力の対応から、ノルエピネフリン、プロスタグランジン $F_2\alpha$ および DPB はK と比べ、同じ $[Ca]i$ でより大きな収縮を起こすことが示された。エンドセリンの場合、投与後しばらくは $[Ca]i$ に比べ収縮が小さいが、その後 $[Ca]i$ に比べ収縮は大きくなった。それ自身作用を示さない低濃度 ($30 nM$) の DPB は、K による収縮を $[Ca]i$ を変えずに増強した。

4. 考 察

以上の成績から、高濃度 K の収縮作用は Ca チャンネルの開口による $[Ca]i$ の増加によるこ

と、ノルエピネフリンおよびプロスタグランジン $F_2\alpha$ の収縮作用は Ca 遊離と Ca 流入による $[Ca]i$ の増加に加えて、収縮蛋白系の Ca 感受性の増加と、Ca 非依存性の機作によるものと考えられた。エンドセリン収縮もこれと同一の機作によるが、投与直後には Ca 感受性を低下させることが示唆された。DPB が Ca 流入による $[Ca]i$ の増加、Ca 感受性の増加に加え、Ca 非依存性収縮を起こしたこと、ノルエピネフリン、プロスタグランジン $F_2\alpha$, エンドセリンはイノシトール磷脂質代謝回転を促進することから、これら受容体作動薬による収縮の持続相には C-キナーゼの活性化が関与するものと考えられた。

文 献

- Karaki, H., Sato, K. and Ozaki, H. (1988). Differential effects of norepinephrine and KCl on the cytosolic Ca-tension relationship in vascular smooth muscle of rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* **151**: 325-328.

Sato, K., Ozaki, H. and Karaki, H. (1988). Changes in cytosolic calcium level in vascular smooth muscle strip measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator fura-2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **246**: 294-300.

Ozaki, H., Sato, K., Satoh, T. and Karaki, H.

(1987). Simultaneous recordings of calcium signals and mechanical activity using fluorescent dye fura-2 in isolated strips of vascular smooth muscle. *Japan. J. Pharmacol.* **45**: 429-433.

気管平滑筋電気活動の測定

東海大学医学部内科 II

近 藤 哲 理, 太 田 保 世, 山 林 一

同 生理 I

田 村 謙 二, 尾 上 久一郎, 高比良 英 輔

気道平滑筋の電気的特性は細胞内電極による研究が多く行われ、イヌ、ヒト、ウシでは自発性の膜電位変化をおこさず、テトラエチルアンモニウムなどで K^+ チャンネルのブロックを行えば活動電位を発生するとされている⁽¹⁾。しかし、最近、イヌの気道平滑筋で自発性の電気活動測定の可能性を推定させる論文も認められるため⁽²⁾、本研究では、*in vivo* での検討を行ってみた。

対象および方法

実験対象は上丘吻側端で除脳した雑種成犬 12 頭、パンクロニウムで非動化し 100% 酸素での人工呼吸を行った。頸部にて迷走神経を両側露出。右側開胸の上、胸郭内で星状神経節とこれより遠位の交感神経を露出した後、交感神経線維の中枢端を切断し、末梢端に電気刺激用電極を装着した。気管分岐部直上の縦隔内で気管切開し、人工呼吸を縦隔内の気管切開へ移した。

気道平滑筋の電気活動は、22G の注射針に直径 0.13 mm のテフロン被覆した銀/塩化銀線を挿入し、甲状軟骨より約 2 軟骨輪尾側で経皮的に気管内腔に刺入、被覆をはがした電極先端が気管平滑筋に留置されたことを気管支鏡で観察し、注射針を除去、2 本の電極を双極電極として用いた。気道径は容積 15 mL のバルーンによ

て測定。電気刺激は持続時間 0.5 m 秒の square pulse train を用いた。

プロトコール

(1) 自発活動の測定。(2) 人工呼吸を一時的に停止し、迷走神経反射による気管収縮を誘発。(3) 交感神経遠位端を 20 Hz, 5 V で 5~10 秒間電気刺激。(4) 両側迷走神経切断後、右側迷走神経を 20~50 Hz, 5~30 V で 10 秒間電気刺激。(5) 右側迷走神経を低頻度 (<10 Hz), 低強度 (<10 V) で長時間 (>30 秒) 刺激。(6) 迷走神経の長時間刺激中に交感神経の電気刺激。(7) 迷走神経刺激直前に交感神経刺激、及びこの逆の順序の刺激。(8) 気道内にメサコリン約 50 mg 注入。

結 果

約半数の動物で図 1 のような自発性の平滑筋電気活動が得られた。この活動は人工呼吸の相とは同期せず、血圧の自発性の変動と同期しており、電気活動の認められる時期には、気管平滑筋も収縮を行っている。人工呼吸を一時的に止めると、全例で持続性の活動と気管平滑筋の収縮が得られた。この正弦波様の徐波の周波数は最大値で平均 0.5 Hz, 振幅の最大値は平均約 50 μ V であった。

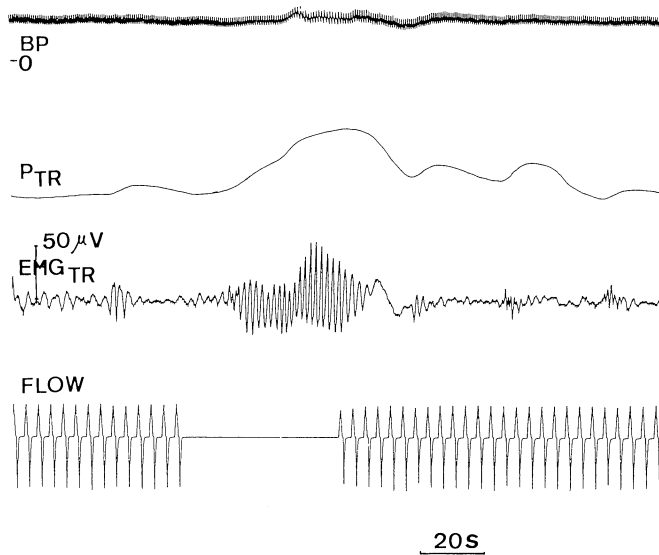


図1. 気管平滑筋電気活動。上より血圧 (BP), 気道径 (P_{TR} , 上方変位が収縮), 気管平滑筋電気活動 (EMG_{TR}), 人工呼吸のフロー (FLOW)。迷走神経 intact で気管平滑筋は1分間数回の自発性の収縮・弛緩を繰り返す, この収縮相に気管平滑筋の活動増加を認める。人工呼吸の停止により気管は持続性の収縮を続け, 電気活動も持続的に認める。

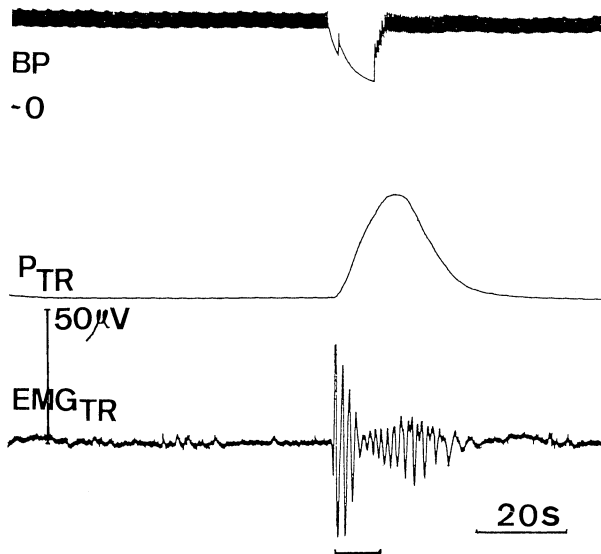


図2. 迷走神経両側切断後右迷走神経の電気刺激, 20 Hz, 5 V の電気刺激により気管平滑筋は phasic な収縮をし, この収縮相に平滑筋電気活動を認める。また, 弛緩相にも低振幅の電気活動が存在する。

迷走神経の切断後, 末梢端を電気刺激すると, 図2のような, phasic な気管平滑筋の収縮と, 平滑筋の収縮相に正弦波様の電気活動が得られた。刺激電圧の増加あるいは刺激頻度を増加す

ると収縮の強度は増加し電気活動の振幅も大きくなったが, 定量化を行うには至らなかった。

低電圧・低頻度で迷走神経を連続刺激すると気管平滑筋の収縮を維持できたが, 収縮の維持

にもかかわらず電気活動は徐々に低下した。

迷走神経切断前、迷走神経切断後遠位端の連続刺激時、いづれも交感神経の電気刺激により、気管平滑筋は弛緩した。電気活動は抑制されたが、完全な消失には至らなかった。

迷走神経刺激直前に交感神経刺激を行うと、気管収縮・電気活動は共に抑制されたが、逆の順序での刺激では明らかな抑制効果は得られなかった。

気管内にメサコリンを注入すると気管の収縮と共に平滑筋の電気活動が出現した。

結 論

イヌの気管平滑筋は周波数約 0.5 Hz の正弦波様の電気活動を示し⁽³⁾、この活動は気管の収縮と関連を持っている。迷走神経の活動はこの電気活動に促進的に作用し、交感神経の活動は抑制的に作用する。交感神経による抑制は気道周囲神経節の節前レベルで作用している。気管平滑筋の電気活動と収縮の間には 1 対 1 の相関

はみられず⁽⁴⁾、薬物—収縮連関のような別の要素の介在をも考慮すべきである。

文 献

- 1) Stephens, N.L. (1987).: State of art Airway smooth muscle. *Am Rev Respir Dis* **135**: 960-975.
- 2) Kannan, M.S., L.P. Jager, E.E. Daniel and R.E. Garfield. (1983). Effects of 4-aminopyridine and tetraethylammonium chloride on the electrical activity and cable properties of canine tracheal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Therap* **227**: 706-715.
- 3) Small, R.G. (1982). Electrical slow waves and tone of guinea-pig isolated trachealis muscle: effects of drugs and temperature changes. *Br J Pharmac* **77**: 45-54.
- 4) Suzuki, H., K. Morita. and H. Kuriyama. (1976). Innervation and properties of the smooth muscle of the dog trachea. *Jap J Physiol* **26**: 303-320.

家兎気管平滑筋の β -作動薬に対する反応性と脱感作現象

昭和大学医学部 第2生理学教室

井 上 和 明, 坂 井 泰, 稲 津 正 人

緒 言

家兎気管平滑筋の収縮は主としてアセチルコリン (ACh) 系を介して行なわれていることを我々は既に報告した。(Inoue et al., 1989) 一方弛緩反応については、代表的なものに β -アドレナリン受容体を介したものが存在しており、G 蛋白、アデニル酸シクラーゼ (A.C.) を介して細胞内 c-AMP を上昇させることが知られている。喘息においては β 受容体の異常が病因の一つと考えられている。(Gamboa et al., 1987) 我々は Shampain らの方法 (Shampain et al., 1982) に準じてアルテナリアで感作した喘息モデルの感作家兎の作成を行い、対照の家兎と合

わせて検討を行った。また β 作動薬の頻回の吸入により問題となる脱感作現象 (Fernandes et al., 1988) についても検討を行った。

方 法

体重 3~3.5 kg の雄性家兎を Pentbarbital 麻酔下 (20 mg/kg iv) に頸動脈へ、テフロンチューブをカニューレションして放血致死させ、その後迅速に気管を摘出して、気管軟骨リング 2 個分の太さの条片を作成して、95% O₂ と 5% CO₂ の混合ガスを通気した 37°C の Krebs-Henselite 溶液中に懸垂して、張力が安定した後に実験に供した。感作家兎の作成方法は、生後 24 時間以内にアルテナリアと水酸化ア

ルミニウムの腹腔内投与を行うことにより感作を開始し、以後1, 2, 3, 5, 7, 9週にアルテナリアの腹腔内投与を行い、11週目にアルテナリアと水酸化アルミニウムの皮下注を行い一連の感作過程を終了し以後隔週でアルテナリアの腹腔内投与を続けた。感作の度合はPassive cutaneous anaphylaxis (PCA) にて確認した。今回実験に供した家兎の抗体価は32倍から256倍であった。

結 果

気管平滑筋のIsoproterenol (Iso) に対する反応性は、家兎とモルモットでは著明な種差が認められた。感作群及び対照群における弛緩反応を比較すると、KCl 60 mM, ACh 10^{-6} M による収縮後の洗浄の場合は、対照群に比して感作群で著明な弛緩の遅延が認められた。

Electrical field stimulation (EFS) に対する収縮反応は感作群において5 Hz, 10 Hzでは有意に($P < 0.05$) 増強され、20 Hz, 40 Hzにおいても増強傾向が認められた。Iso による反応には脱感作が観察され、脱感作後KCl 30 mM, EFS 20 Hzの収縮反応は、抑制をうけるものの時間とともに回復傾向がみられ、1時間後には

KCl 30 mM で約85%、EFS 20 Hzでは、ほぼ100%の回復が認められた。Carbachol (CCh) の収縮に対するForskolin (FK) 10^{-6} M による拡張反応は脱感作中にも認められた。Iso 10^{-4} M による拡張反応を比較すると、対照群に比して感作群では、その反応が遅延していた。(図1-A)

CCh収縮に対するIso 10^{-4} Mの拡張率は対照群に比して感作群で有意に($P < 0.01$) 低かった。FK 10^{-6} M 存在下ではIsoによる拡張率は対照群に比して感作群で 10^{-6} M, 10^{-4} Mとも有意に($P < 0.05$) 低かった。(図1-B)

考 察

EFSによる収縮反応は感作群では5 Hz, 10 Hzで有意の増強を認めたが、Atropine処置で消失することより、コリン作動性神経の高まりが有意に関与している事が示唆された。Isoに対する反応を両群で比較すると 10^{-6} Mでは差が見られないものの、 10^{-4} Mでは有意差があることにより、Isoに対する感受性以外に β 受容体の質的量的変動のある事が推察された。またFK存在下ではIso 10^{-6} M, 10^{-4} Mで両群の拡張反応にともに有意差のみられることより、感

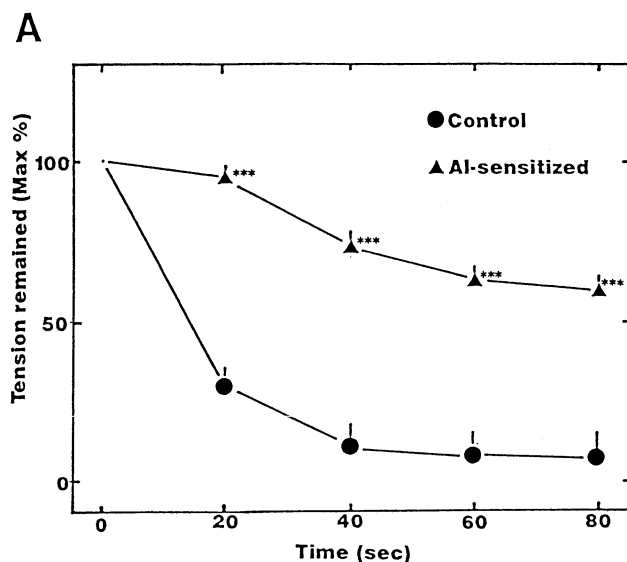


図1A Carbachol 3×10^{-7} M による収縮に対するIsoproterenol 10^{-4} Mの拡張反応の経時的変化
Al; アルテナリア, *** $p < 0.001$

B

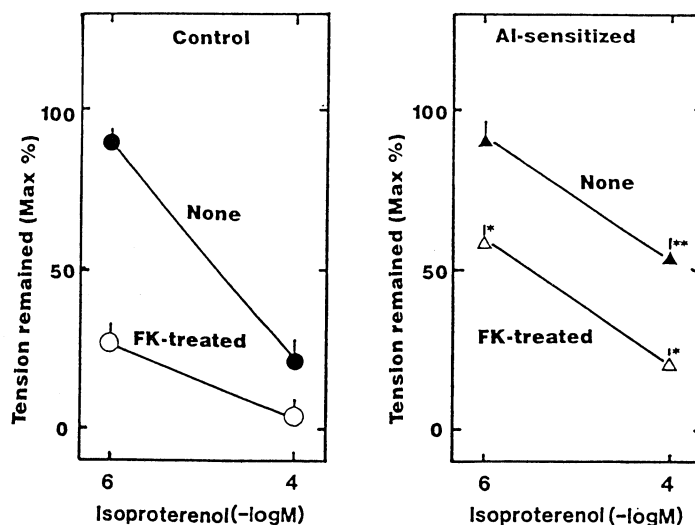


図 1B Forskolin 10^{-6} M 存在下及び非存在下での Carbachol 3×10^{-7} M による収縮に対する Isoproterenol の拡張反応

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

作群では β 受容体から G 蛋白を介した A, C への情報伝達に異常が存在する可能性が示唆された。EFS による収縮反応および KCl 30 mM の反応が Atropine 感受性であることより ACh の遊離抑制が occurring している事が示唆される。今後 β 受容体の質的量的変動, G 蛋白系, cAMP の量的変動についても検討が必要と思われる。

文 献

- Inoue, K., Sakai, Y. and Homma, I. (1989). Does substance P relate to the contraction-relaxation cycle in isolated rabbit tracheal smooth muscle. Jpn. J. Physiol suppl in press.
- Fernandes, L.B., Knight, D.A., Rigby, P.J., Spina, D., Paterson, J.W. and Goldie, R.G. (1988). β -Adrenoreceptor desensitization in guinea-pig isolated trachea. *Europ J pharmacol* **157**: 135-145.
- Gamboa, P.M., Oehling, A., Sanz, M.L. and Castillo, J.G. (1987). Decrease of β -receptors in asthmatic and rhinitic patients. *Allergol Immuno pathol* **15**: 65-68.
- Shampain, M.P., Behrens, B.L., Larsen, G.L. and Henson, P.M. (1982). An animal model of late pulmonary responses to Alternaria challenge. *Am Rev Respir Dis* **126**: 493-498.

非心臓性胸痛患者における食道運動機能異常

東北大学医学部 第三内科

西 村 成 夫, 本 郷 道 夫, 氏 家 裕 明
奥 村 洋, 山 田 昌 彦, 上 野 正 道
豊 田 隆 謙

はじめに

虚血性心疾患様の胸痛を訴えるが循環器系精査にて異常の見られない症例が, 少なからず存在する. この「非心臓性胸痛」は種々の疾患に起因すると考えられるが, そのなかで食道機能異常の関与が注目されている. そこで「非心臓性胸痛」における食道機能異常の関連性を検討するため食道内圧測定を中心に検討を行った.

対 象

1984年1月から1989年6月までの間に当院当科を受診した循環器系に原因がないと考えられる胸痛を有した76例(男23例, 女53例)を対象とした. 年齢は16-79歳(平均52歳)であった. 胸痛の病悩期間のあきらかな55例ではその平均が32カ月であった. 胸痛以外の症状を伴わないものは25例であった. 消化器症状を伴うものは51例で, 胸焼け: 26例, 嚥下困難: 25例, 逆流症状: 18例, げっぷ2例を認めた. 冠動脈造影は13例に施行されたが, 胸痛の原因となるような病変は認められなかった.

方 法

infused catheterを用い, lower esophageal sphincter (LES)圧, 嚥下時LES弛緩率, 食道体部蠕動波高及び持続時間を測定した. 同時に, 体部異常運動である, 同期性収縮・反復性収縮等についても観察・記録した. 塩酸灌流試験(Bernstein test), 上部消化管透視・内視鏡検査もあわせて施行した.

結 果

臨床診断上食道を含めた消化器系に異常を認

めなかったのは76例中4例であり, 他の72例では何らかの異常が認められた(表1-a). その内訳は, アカラシア16例(21.1%), 逆流性食道炎17例(22.4%), 膠原病などの全身性疾患8例(10.5%), 消化器疾患3例(3.9%), そして内圧上何らかの異常を示すが器質的異常のない「食道運動機能異常群」28例(36.8%)であった. 「食道運動機能異常群」は内圧所見よりさらに4亜群に分類し得た(表1-b). 即ちA群; LES圧のみ著高の1例, B群; 同期性収縮を主とした食道体部異常運動の出現する11例, C群; 蠕動波高増大または持続時間の延長のある8例(図1), D群; 蠕動波高減少またはLES圧減少があるが, Bernstein test 陰性の8例であった. またB群及びC群のような食道体部異常収縮はアカラシア16例中11例, 逆流性食道炎17例中4例においても認められた.

表 1-a 臨床診断

正常食道所見	4例 (5.3%)
アカラシア	16例 (21.1%)
逆流性食道炎	17例 (22.4%)
全身性疾患	8例 (10.5%)
消化管疾患	3例 (3.9%)
食道運動機能異常群	28例 (36.8%)

表 1-b 食道運動機能異常群

A群	LES圧のみ著高	1例
B群	食道体部異常運動出現	11例
C群	蠕動波高増大または持続時間延長	8例
D群	蠕動波高減少かLES圧低下 Bernstein test 陰性	8例

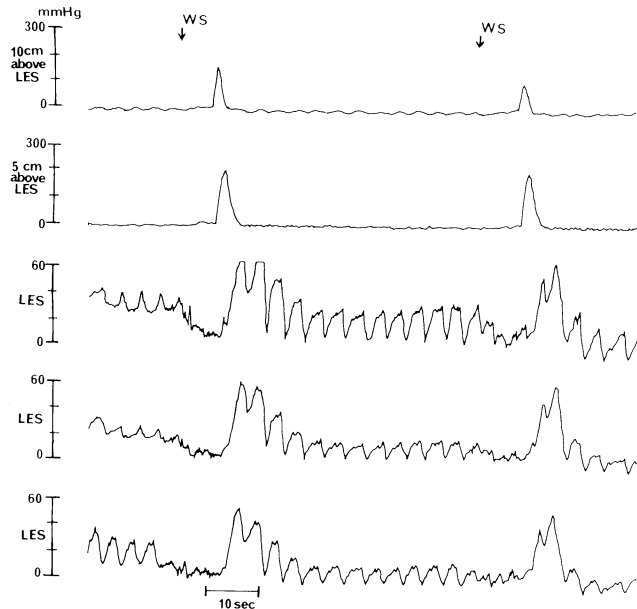


図1. 食道運動機能異常群の1例
矢印の嚥下(WS)に続いて食道体部に200 mmHg以上の波高の蠕動波が出現。LES圧及びLES弛緩率は正常。

考 按

今回私達が分類した「食道運動機能異常群」のB群とC群は共に食道体部異常収縮を呈しており、この両者にてその67.9%を占めた。またこれと同様の異常がアカラシアや逆流性食道炎にも認められた。このことは食道体部異常収縮が食道由来の胸痛の原因である可能性を示唆すると考える。食道運動機能異常と胸痛の直接の関係を明らかにするには薬剤または機械的刺激による検討が必要である(Richter, et al., 1985; Richter, et al., 1986)。また長時間記録による食道運動の解析も有用である(Jansens, et al., 1986; Peters, et al., 1988)。しかし非胸痛時でも食道運動に大きな異常を認めることは食道運動機能異常が胸痛発生に関わる重要な因子であることを示すと考える。

結 語

「非心臓性胸痛」症例中に高頻度に食道機能異常

を認めた。また食道由来の胸痛の原因のひとつに食道体部異常収縮があることが示唆された。

文 献

- Janssens, J., Vantrappen, G. & Chillbert, G. (1986). 24-hour recording of esophageal pressure and pH in patient with noncardiac chest pain. *Gastroenterology*. **90**: 1978-84.
- Peters, L., Maas, L., Petty, D., et al. (1988). Spontaneous non cardiac chest pain. Evaluation by 24-hour ambulatory esophageal motility and pH monitoring. *Gastroenterology* **94**: 878-86.
- Richter, J.E., Barish, C.F. & Castell, D. (1986). Abnormal sensory perception in patients with esophageal chest pain. **91**: 845-52.
- Richter, J.E., Hackshaw, B.T., Wu, W.C., et al. (1985). Edrophonium: A useful provocative test for esophageal chest pain. *Ann. Intern. Med.* **103**: 14-21.

胃内酸度と胃排出能

東北大学医学部 第三内科

山田 昌彦, 本郷 道夫, 氏家 裕明
奥野 洋, 西村 成夫, 上野 正道
豊田 隆謙

公立黒川病院 内科

林 義峰

東北労災病院 放射線科

奥山 信一

はじめに

固形食胃排出能は、胃の酸・ペプシンによる消化作用と胃運動機能の両者を反映する総合作用と考えられる。しかし、酸分泌動態と胃排出能の関連については過剰な酸が固形物消化のプロセスを加速して胃排出を促進させるのか、あるいは胃前庭部や十二指腸の酸性化により液性因子もしくは神経性機序を介して抑制するものか、十分な報告がなされていない。これまでの報告は生理的状況における検討ではなく、いずれも実験的状況におけるもので平常の食事とはかけ離れた試験食を用いている。そこで我々は

健常者 12 名を対象として RI 標識固形試験食を用いた胃排出能検査を行い、同時に、経鼻的に胃内に挿入した微小 pH 電極により胃内 pH の測定を行い両者の相関について検討を行った。

対象と方法

消化器疾患の既往のない健常者（男子 12 名）を対象とした。年齢は 29.7 ± 3.6 （平均 \pm SD）歳である。5 時間以上の絶食後、経鼻的に微小電極を胃内に挿入し、pH メモリー計により胃内 pH の測定を行った（本郷ら, 1988）。pH 電極挿入 30 分後に RI 標識固形試験食を投与した。

Intragastric pH after meal

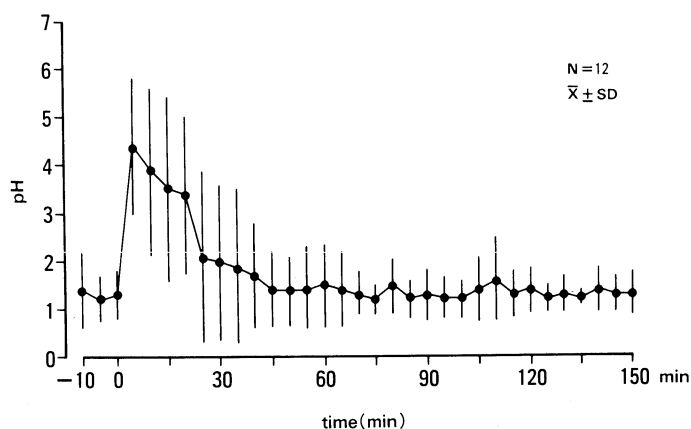


図 1: 胃内 pH の変化。食後一過性に pH の上昇が認められるが、60 分以降は食前とほぼ同じ値となる。

Intragastric Hydrogen Ion Conc. & Gastric Emptying

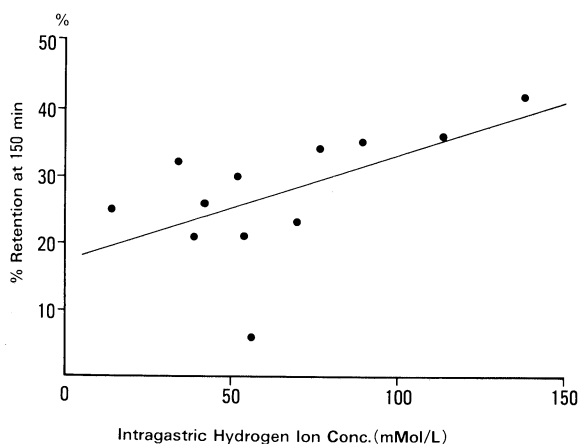


図2: 食後の平均水素イオン濃度と150分胃内残存率との関係。両者の間には統計学的に有意の相関が認められた。

試験食は18 MBq ^{99m}Tc スズコロイドにより標識したオムレット試験食(590 Kcal)を用いた(林ら, 1988)。胃内 pH と胃排出能との関連を調べ、食後の胃内の状況を総合的に評価するため、胃排出能の指標として 1) 150 分胃内残存率 2) 個々の胃内残存率曲線より求めた胃排出速度(本郷, 1987)、また酸分泌能の指標として 3) 食後150分間の平均胃内 pH、4) 食後150分間の平均水素イオン濃度を用いて検討を行った。なお水素イオン濃度は5分毎の胃内 pH 値より算出した。

結 果

12名の胃排出曲線は正常範囲内にあり、150分後の胃内残存率は $28 \pm 8\%$ であった。個々の胃排出曲線より求めた胃排出速度は $0.52 \pm 0.07\%/分$ であった。胃内 pH は食後一過性の上昇を示したが、食後60分以降は食前とほぼ同等の pH 値を示した(図1)。水素イオン濃度でも同じ傾向が認められた。食前の平均胃内 pH は 1.2 ± 0.5 、食後150分間の平均胃内 pH は 1.8 ± 0.6 となった。

胃内酸度と胃排出との関連は、食後の胃内酸度の高いものほど胃排出が遅く、胃内酸度があまり高くないものほど胃排出が速くなる傾向が認められた(図2)。食前の胃内酸度と胃排

出能の間には有意の相関は認められなかった。

考 案

胃内 pH の面からみた酸分泌亢進症例では、消化のプロセスの進行による胃排出促進の現象はなく、むしろ胃内酸度が抑制的に関係しているのが認められた。これまでの文献的報告では、pH を極端に変更した食品を用いたり(Hunt, 1962)、直接酸を十二指腸に注入して十二指腸内の酸性化を行って液体食の胃排出が遅延することが報告されている(Cooke, 1974)。

今回の我々の検討成績では生理的条件下でも、これらの実験的データと同様の傾向が認められた。胃内酸度が胃排出に対して抑制的に作用する現象には、酸による消化の過程とは別の機序が関与していることが推測される。高酸分泌における胃排出遅延のメカニズムには胃前庭部あるいは十二指腸からのフィードバック機構の存在が考えられるが、その機序の詳細な解明にはさらに検討が必要であろう。胃内酸度と胃排出能との関係をさらに解明することにより、両者の関係の破綻した状態はより興味のもたれる領域になると考えられる。

文 献

Cooke, A.R. (1974). Duodenal acidification. Role

of the first part of the duodenum in gastric emptying and secretion in dogs. *Gastroenterology* 67: 85-92.

本郷道夫ら (1988). 24 時間胃内 pH の解析, cimetidine 200 mgQID および 800 mgUID の影響. 日消誌 85: 659-666.

本郷道夫 (1987). 糖尿病性 gastroparesis に対する

domperidone 長期投与の効果. 臨床消化器内科 2: 513-516.

Hunt, J.N. & Knox, M.T. (1962). The regulation of emptying of meals containing citric acid and salt of citric acid. *J Physiol* 163: 34-45.

林 義峰ら (1986). 胃排出能検査における固形試験食の検討. 日消誌 83: 1298-1303.

腹部不定愁訴患者における空腹期上部 消化管運動異常について

群馬大学医学部 第一内科

草 野 元 康, 関 口 利 和, 西 岡 利 夫
松 崎 勉, 河 村 修, 菊 地 一 真
宮 崎 誠, 杉 山 雅, 土 岐 宗 利
大和田 恒 夫

緒 言

食思不振・腹部膨満感・腹痛など, 様々な腹部不定愁訴を訴えるが明らかな病変の存在が証明できない患者には, 消化管の運動異常が有るものと推測し, 空腹期の上部消化管運動を長時間測定したところ, 腹部不定愁訴患者では空腹期強収縮 Interdigestive migrating complex (IMC) の発現障害が高率に存在することが明らかにされたので報告する。

対 象

対象は腹部不定愁訴患者 10 例 (愁訴群: 男 5 例, 女 5 例 平均年齢 40.4 才) であり, 全例上部内視鏡検査, 超音波検査, 生化学検査などで明らかな所見を認めなかった。消化管運動検査前の診断名は食思不振 4 例, 慢性膵炎疑い 2 例, 十二指腸炎 1 例, ビラン性胃炎 1 例, 過敏性腸症候群 1 例, PSD (Psychosomatic disease) 1 例であった。対照群として健常 volunteer 8 例を用いた。

方 法

消化管運動は infused catheter 法による内圧

測定法で, 胃から上部空腸までの運動を測定した。同時に, 血中 motilin を 10 分毎に測定した。消化管運動測定は初期測定期間として 160 分～300 分間観察した後, 症例によっては Cisapride 4 mg IV, Erythromycin 0.1～1.5 mg/kg IV などの消化管運動賦活剤を投与した。初期測定時間内に発現した IMC を胃から発現する GI-IMC と, 十二指腸以下から発現する I-IMC に分類し (西岡ら, 1980), 両群で GI-IMC, total IMC = (GI-IMC) + (I-IMC) の発現頻度を比較した。

結 果

健常群では全例で初期測定時間内に 1～2 回の GI-IMC を観察した。愁訴群のうち 4 例で GI-IMC 発現をまったく認めず, その中の 1 例では I-IMC が 1.33 回/時間と高頻度に発現していた。GI-IMC の発現を認めた 6 例中の 4 例では GI-IMC の発現頻度の減少があり, 2 例では IMC は正常に発現していた。健常群での GI-IMC と total IMC の発現頻度はそれぞれ, 0.54 ± 0.06 , 0.57 ± 0.04 であり, 愁訴群では 0.21 ± 0.07 , 0.42 ± 0.13 (回/時間 mean \pm SE) であった。愁訴群では GI-IMC の発現頻度は健

Normal subjects

Name	Age	Sex	Recording time (min)	Incidence of GI-IMC	Incidence of I-IMC	Frequency of GI-IMC (number/hour)	Frequency of total IMC (number/hour)
1) M.J.	19	♀	230	1	1	0.26	0.52
2) T.M.	24	♂	190	2	0	0.63	0.63
3) K.K.	22	♂	250	2	0	0.48	0.48
4) U.E.	22	♂	190	2	0	0.63	0.63
5) S.S.	21	♂	320	2	0	0.38	0.38
6) T.T.	22	♂	160	2	0	0.75	0.75
7) S.K.	24	♂	240	2	0	0.50	0.50
8) M.H.	22	♂	180	2	0	0.67	0.67
22.0 ± 0.57			220 ± 18.1			0.54 ± 0.06	0.57 ± 0.04

non-ulcer dyspepsia

Name	Age	Sex	Diagnosis	Recording time(min)	Incidence of GI-IMC	Incidence of I-IMC	Frequency of GI-IMC (number/hour)	Frequency of total IMC (number/hour)
1) I.Y.	53	♀	Anorexia	200	2	0	0.6	0.6
2) O.T.	32	♂	Chr.pancreatitis	300	1	1	0.2	0.4
3) N.S.	19	♂	Gastritis	270	0	6	0	1.33
4) T.M.	59	♀	Chr.pancreatitis	160	1	0	0.38	0.38
5) J.M.	59	♂	IBS	280	2	0	0.43	0.43
6) K.T.	58	♀	Anorexia	160	0	0	0	0
7) T.K.	24	♀	Anorexia	250	0	0	0	0
8) O.K.	47	♂	Duodenitis	250	1	0	0.24	0.24
9) S.M.	28	♀	Anorexia	280	0	0	0	0
10) T.H.	25	♂	PSD	220	1	2	0.27	0.82
40.4 ± 5.16				237 ± 15.9			0.21 ± 0.07	0.42 ± 0.13

IBS : Irritable Bowel Syndrome

PSD : Psychosomatic Disease

mean ± S.E.

図 1a 健康群および腹部不定愁訴患者群

常群より有意に低く, total IMC の発現頻度も低い傾向を認めた(図 1a, b). 愁訴群の中で GI-IMC が発現しない症例では motilin が上昇しても IMC が発現しない症例や(図 2), motilin が上昇しても GI-IMC ではなく, I-IMC が発現する症例が存在した. また愁訴群では, 各種薬剤投与により胃腸運動を亢進させると, 嘔吐などの過剰反応を示したり, 胃十二指腸運動は亢進しても IMC は発現しない症例が存在した.

考 察

腹部不定愁訴患者の中には GI-IMC がまったく発現しない症例が存在し, GI-IMC の発現頻度は減少していた. また, 逆に I-IMC が頻回に発現する症例など, 高率に IMC の発現障害を認めた. IMC が減少している患者では腸内細菌の異常増殖を認めた (Vantrappen ら, 1977) とか, 胃排出遅延の患者では IMC が少ない

(Labo ら, 1986)などの報告もあり, IMC を中心とした消化管の運動障害が腹部不定愁訴患者の病態と密接に関連しているものと考えられる. この IMC の発現障害の機序であるが, 十二指腸潰瘍患者でも同様な現象が認められ(草野ら, 1987), motilin は胃からの IMC を発現すべく上昇してもなんらかの抑制機序が胃に対して作用しているために, 胃からの IMC が生じないものと考えられる.

この抑制機序の一つは外来神経系と考えられる (Stanghellini ら, 1983) が, 腹部不定愁訴患者の中でも食思不振という情緒的な要素を主訴とする患者に, IMC の発現障害を多く認めたのは興味深いことである.

結 語

腹部不定愁訴患者には胃から発現する IMC の減少が認められ, このことが病態と密接に関

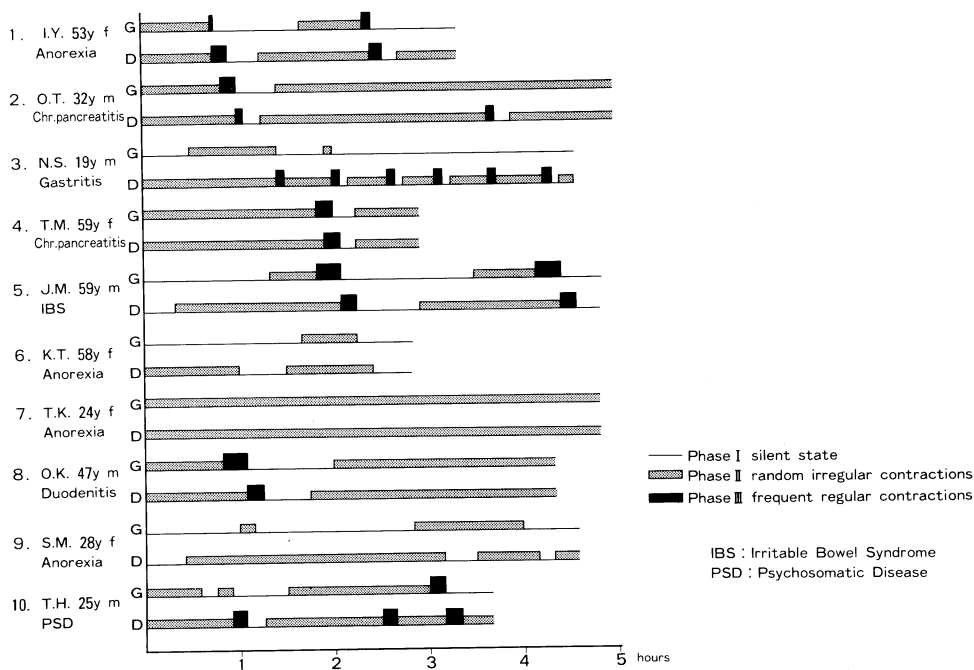


図 1b 腹部不定愁訴患者の空腹期胃十二指腸運動

S.M. 28ys female Anorexia

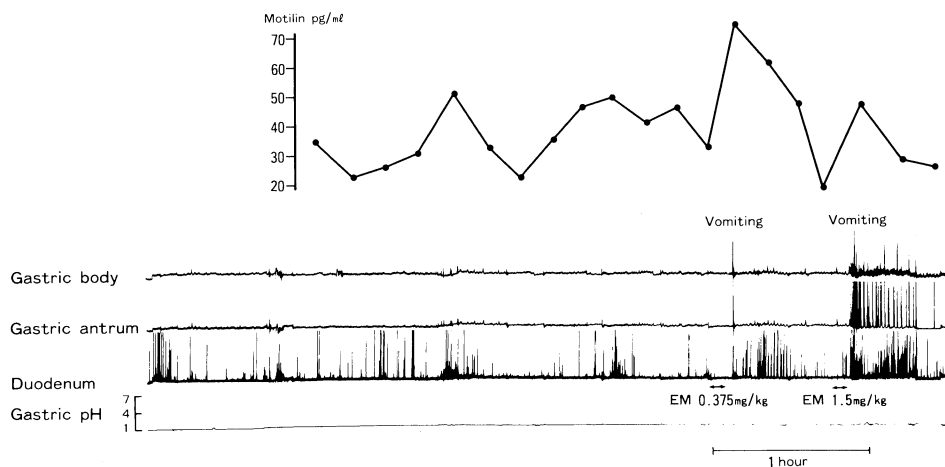


図 2. 胃体部・前庭部はほとんど運動せず、十二指腸は phase I~II を繰り返している。モチリンは十二指腸運動に伴ない増減しているが、胃・十二指腸とも IMC は発現していない。低濃度の Erythromycin 投与でも嘔吐をきたし、胃・十二指腸運動は亢進するが、IMC は発現しない。嘔吐に伴ないモチリンは上昇している。

連しているものと考えられた。

文 献

西岡利夫ら, (1980). ヒト胃十二指腸運動に及ぼすセ

クレチンの影響—特に十二指腸の Secretin-induced migrating motor complex 発現に関する研究. 日消誌 77: 1879-1889.

Vantrappen, G., et al. (1977). The interdigestive

- motor complex of normal subjects and patients with bacterial overgrowth of the small intestine. *J. Clin. Invest.* **59**: 1158-1166.
- Labo, G., et al. (1986). Interdigestive gastroduodenal motility and serum motilin levels in patients with idiopathic delay in gastric emptying. *Gastroenterology* **90**: 20-26.
- 草野元康ら, (1987). 十二指腸潰瘍患者における胃十二指腸運動とモチリン動態. *日消誌* **84**: 1579-1590.
- Stanghellini V., et al. (1983) Stress-induced gastroduodenal motor disturbances in humans: Possible humoral mechanisms. *Gastroenterology* **85**: 83-91.

新規消化管運動賦活薬 HSR-803 の消化管運動賦活作用の 発現機序の検討

北陸製薬中央研究所

岩 永 裕 氏, 宮 下 直 志

群馬大学 内分泌研究所

近 藤 洋 一

同 医療技術短期大学部

水 本 明 良, 伊 藤 漸

緒 言

N-[4-[2-(dimethylamino)ethoxy]benzyl]-3,4-dimethoxybenzamide hydrochloride (HSR-803)は消化管の運動障害, 特に胃排出能低下に起因する消化器不定愁訴の治療を目的として新規に合成された消化管運動賦活薬である。われわれはすでに, HSR-803 が覚醒犬の消化管運動を用量依存的に増大させることを見いだした。消化管の運動は神経性と体液性の支配を受けているが, 特に迷走神経が重要な役割を担っていると考えられている。そこで今回われわれは HSR-803 の消化管運動賦活作用の発現機序を解明する目的で acetylcholine (ACh) 収縮反応に対する影響を *in vivo*, *in vitro* の両面から検討した。

方 法

in vivo: 雌雄雑種犬を pentobarbital (30 mg/kg, i. v.) 麻酔下, 胃体部, 前庭部, 十二指腸, 空腸, 小腸中央部, 回腸, 上行及び下行結腸の各漿膜面に輪状筋方向の収縮がとれるよう

force transducer を慢性的に縫着した。HSR-803 は単独及び抗 dopamine 作用の場合単回投与で, 抗 acetylcholinesterase (AChE) 作用の場合持続投与するものとした。

in vitro: Hartley 系雄性モルモットより胃, 空腸, 結腸を摘出し, すばやく粘膜を除去して胃輪状筋, 空腸, 結腸縦走筋標本を作製した。ACh 誘発収縮に対する作用は胃で, 経壁電気刺激収縮に対する作用は胃, 空腸, 結腸で検討した。収縮反応は Tyrode 液中で等尺性に記録し, 刺激条件は 0.5 ms, 10Hz (胃), 1 Hz (空腸, 結腸) 15 V, 30 sec とした。また抗 AChE 作用は true cholinesterase (Sigma) を用い DTNB 法にて測定し解析した。

結 果

in vivo: HSR-803 は 1 mg/kg 以上の用量で食後期消化管運動, 特に上部消化管運動を著明に亢進させた。一方, 食後期, 空腹期を問わず HSR-803 は dopamine 1 mg/kg-hr によって完全抑制された胃運動を用量依存的 (0.3-3 mg/kg) に回復させ, さらに図 1 に示すように

ACh (0.05 mg/kg-min) により誘発された収縮運動を増大させた, この効果は neostigmine (Neo) でも見られ, 用量依存的 (1-10 mg/kg-hr) なものであった.

in vitro: HSR-803 (10^{-6} M) と Neo (10^{-8} M) は ACh 誘発胃収縮を有意に増大させたが, domperidone (Dom, 10^{-5} M) では変化なかった.

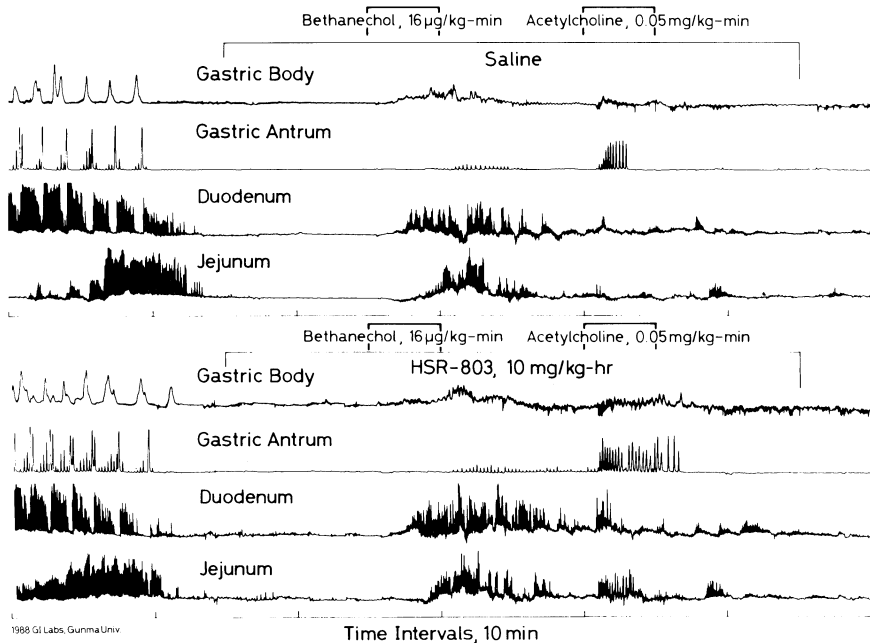


図1: 空腹期覚醒犬における HSR-803 の抗 AChE 作用. 上段: 生理食塩水持続投与下に於ける acetylcholine (ACh, 0.05 mg/kg-min) と bethanechol (Beth, 16 µg/kg-min) による収縮反応を示す. 下段: HSR-803 (10 mg/kg-hr) 投与下に於ける ACh と Beth による収縮反応を示す. ACh 誘発収縮は HSR-803 投与下, 著明に増大しているが, Beth 誘発収縮には差がみられない.

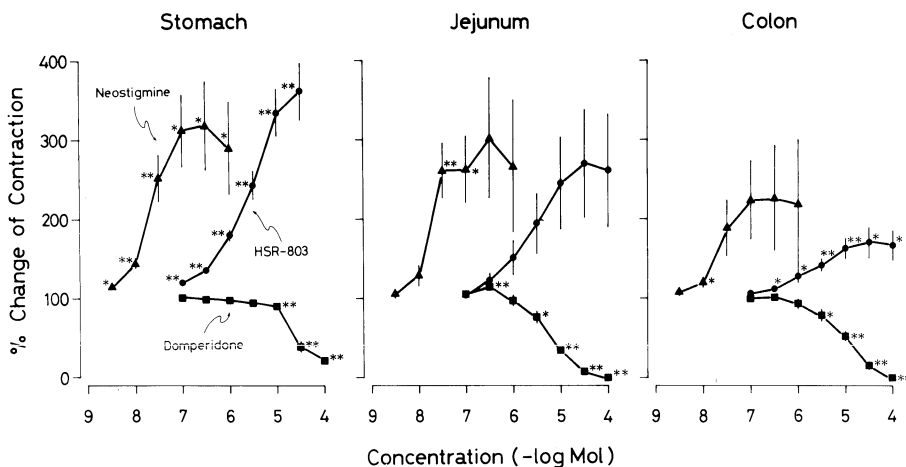


図2: モルモット胃, 空腸, 結腸平滑筋標本の経壁電気刺激収縮に対する neostigmine, HSR-803, domperidone の効果. 刺激条件は, 0.5 msec, 15 V, 10 Hz (胃輪状筋) または 1 Hz (空腸・結腸縦走筋), 30 sec とし, 等尺性張力変化を測定した. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

HSR-803 と Neo は胃, 空腸, 結腸の経壁電気刺激収縮反応を濃度依存的に増強させ, Dom はむしろこれを抑制した(図 2). 一方 AChE 活性に対し HSR-803, Neo, Dom はいずれも濃度依存的な阻害作用を有し, IC_{50} は各々 2.9×10^{-6} M, 2.3×10^{-8} M, 1.7×10^{-5} M であった. また, HSR-803 の AChE 阻害作用発現は Neo と異なり lag time がなかった.

考 察

生体内物質である dopamine が胃運動を抑制することはよく知られているが (Valenzuela, 1976, Bech ら, 1982), dopamine は胃において神経からの ACh 遊離を阻害し, dopamine D_2 拮抗薬はこれに拮抗することが報告されている (Kusunoki ら, 1985). HSR-803 の dopamine 運動抑制に対する改善効果も抑制された ACh 遊離を増加させた結果と考えられる. また in vitro において HSR-803 は外因的に投与した ACh による収縮及び経壁電気刺激誘発収縮を増大させたが, これは AChE 阻害作用を有する薬物でみられる効果 (Galli ら, 1984, Kounenis ら, 1988) と一致した. ACh 収縮増大は in vivo でも認められ, AChE 活性の阻害作用も確認された.

HSR-803 は dopamine 拮抗作用を介して ACh 遊離を改善し, さらに抗 AChE 阻害作用により ACh 分解を抑制することで消化管運動賦活作用を発現するものと推定された.

文 献

- Valenzuela, J.E. (1976). Dopamine as a neurotransmitter in gastric relaxation. *Gastroenterology*. **71**: 1019-1022.
- Beck, K., Hovendal, C.P., Andersen, D. (1982). Effect of dopamine on pentagastrin-stimulated gastric antral motility in dogs with gastric fistula. *Scand. J. Gastroenterol.* **17**: 103-107.
- Kusunoki, M., Taniyama, K., Tanaka, C. (1985). Dopamine regulation of [3 H] acetylcholine release from guinea-pig stomach. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **234**: 713-719.
- Galli, A., Mantovani, P., Pepeu, G. (1984). Effect of ranitidine on ilealmyenteric plexus preparation and on acetyl- and butyrylcholinesterase. *Biochem. Pharmacol.* **33**: 1845-1850.
- Kounenis, G., Voutsas, D., Koutsoviti-Papadopoulou, M., Elezoglou, V. (1988). Inhibition of acetylcholinesterase by the H_2 -receptor antagonist nizatidine. *J. Pharmacobio-Dyn.* **11**: 767-771.

セロトニン 3 (5-HT₃) 受容体拮抗剤の 消化管運動に対する作用

大日本製薬総合研

吉 田 直 之, 伊 藤 継 孝, 唐 澤 忠 彦

群馬大学 医療技術短期大学部

岩 永 裕 氏, 水 本 明 良, 伊 藤 漸

緒 言

最近, 消化管神経系に 5-HT₃ 受容体が存在し, 消化管運動の調節に重要な役割を果たしていることが報告されている (Richardson and Engel, 1986). 今回, 胃から結腸に至る消化管の

運動に対する 5-HT₃ 受容体拮抗剤の作用を食後期及び空腹期の覚醒犬を用いて検討した. また, 摘出ウサギ十二指腸標本に対する作用も検討した.

方 法

体重 10-14 kg の雑種成犬 4 頭を用いた。麻酔下 (ペントバルビタール Na, 30 mg/kg, i.v.) で胃体部から下部結腸に至る消化管の各部位に force transducer (伊藤, 1976) をそれぞれの輪状筋収縮がとれる方向に縫着した。術後 2 週間目より連続的に消化管運動を測定した。同時に上大静脈内に留置したシリコンチューブを用いて採血し、血中 motilin 濃度を RIA 法により測定した。薬物はすべて静脈内に投与した。また、摘出ウサギ十二指腸標本を用い、その等張性収縮を記録した。薬物は motilin 投与 3 分前に添加した。5-HT₃ 受容体拮抗剤として、GR-38032F (GR), ICS-205-930 (ICS), BRL-43694 (BR1), 及び BRL-24924 (BR2) を用いた。

結 果

1) 食後期の消化管運動に対する作用

GR, ICS, 及び BR1 は 0.1-1.0 mg/kg, i.v. で消化管運動に作用を示さなかった。一方, BR2

(0.01- 1.0 mg/kg, i.v.) は用量依存的に胃から結腸までの運動を同時に亢進した (図 1a)。

2) 空腹期の消化管運動に対する作用

休止期 (phase I) に BR2 (0.1-1.0 mg/kg, i.v.) を投与すると消化管全域に著明な収縮運動が発現した。一方, ICS, BR1 (0.1-1.0 mg/kg, i.v.) では収縮運動は発現しなかったが、続いて起こる interdigestive migrating contractions (IMC) において、胃収縮と十二指腸収縮の一部が消失し、小腸以下の伝播性収縮には影響が認められなかった。また、この時の血中 motilin 濃度の上昇に対しては影響を示さなかった (図 1b)。さらに, natural および motilin (0.3 μ .g/kg-hr) による胃の phase III 発現時に投与すると, GR, ICS, BR1 (0.01-0.1 mg/kg, i.v.) は胃収縮を抑制し、十二指腸収縮波群の形状にも変化 (bell shaped contraction) を認めた。しかし小腸以下の伝播性収縮は抑制されなかった (図 2a, b)。

3) 摘出ウサギ十二指腸標本に対する作用

Motilin (10^{-8} M) による収縮に対してすべて

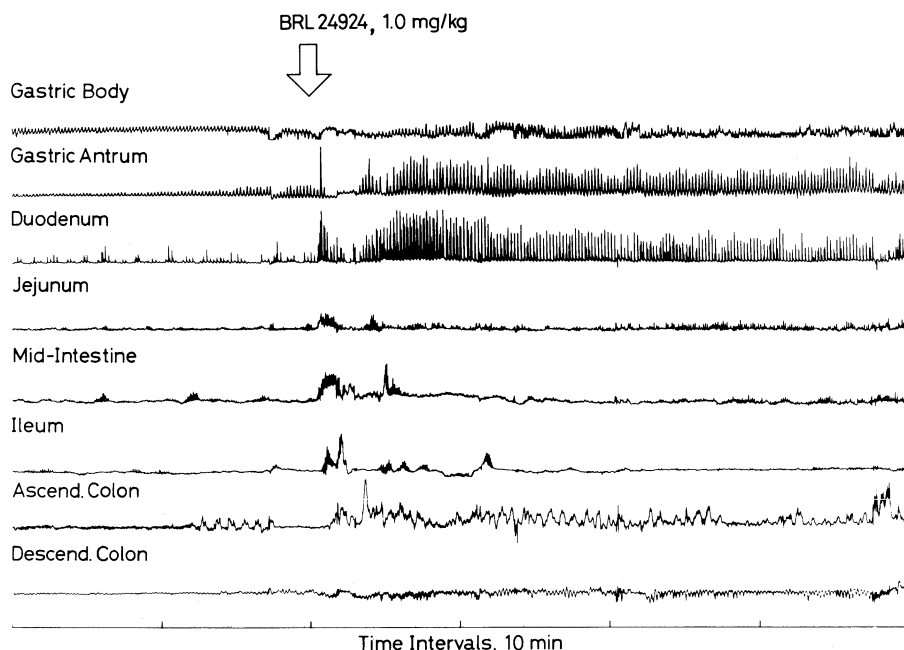


図 1a; 食後期の消化管運動に対する BR-24924 の作用

BRL-24924 (1 mg/kg, i.v.) は胃から結腸に至る運動を著明に亢進していることがわかる。

の 5-HT₃ 拮抗剤 (10⁻⁵ M) は抑制作用を示さなかった。

考 察

これまで 5-HT₃ 拮抗剤として一括されてきた化合物も消化管運動に対する作用から検討すると消化管運動を亢進するものとししないものとに分類される, 亢進作用を有するもの (BR2) は食後期, 空腹期共に作用を示した. BR2 は metoclopramide と類似構造を持ち cholinergic nerve から acetylcholine の遊離を促進して, 消化管運動を亢進することが報告されている (Sanger, 1987). 亢進しないもの (GR, ICS, BRI) は, 空腹期及び外因性 motilin による phase III の胃収縮だけを特異的に抑制する性

質があることが認められた. これら薬剤は phase III の血中 motilin 濃度の上昇や摘出十二指腸標本の motilin による収縮に作用しないことから, 5-HT₃ 拮抗剤 (亢進しないタイプ) は, motilin の放出には関与せず, 平滑筋以外の部位で motilin の作用を抑制するものと考えられる. 従って, 5-HT₃ 受容体は空腹期における IMC の発現に何等かの役割を果たしている可能性が示唆される.

文 献

1. Richardson, B.P. and Engel, G. (1986) The pharmacology and function of 5-HT₃ receptors. *Trends Neurosci.* 9: 424-428.
2. 伊藤 漸 (1976) Extraluminal strain gauge

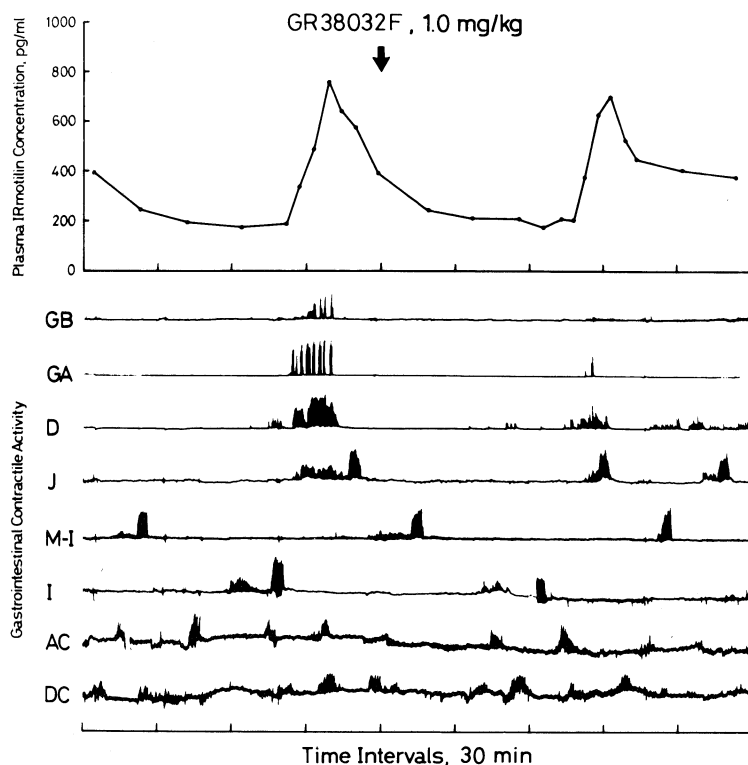


図 1b; 空腹期における消化管運動及び血中 motilin 濃度に対する GR-38032F の作用
休止期 (phase I) に GR-38032F (1 mg/kg, i.v.) を投与しても収縮運動は発現しなかったが, 続いて起こる IMC において, 胃収縮と十二指腸収縮の一部が消失し, 小腸以下の伝播性収縮には影響を認めない. また, この時の血中 motilin 濃度の上昇に対しては影響しない. GB; gastric body, GA; gastric antrum, D; duodenum, J; jejunum, M-I; Mid Intestine, I; Ileum, AC; Ascend. Colon, DC; Descend. Colon

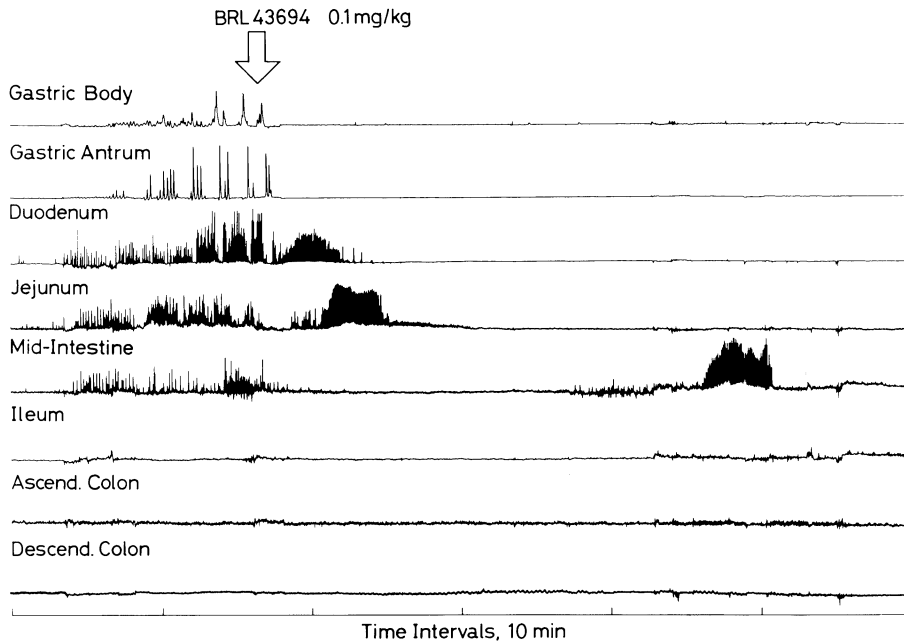


図 2a; 空腹期の phase III activity に対する BRL-43694 の作用
BRL-43694 を phase III 発現時に投与すると、胃収縮を抑制し、また十二指腸収縮波群の形状の変化 (bell shaped contraction) が認められる。

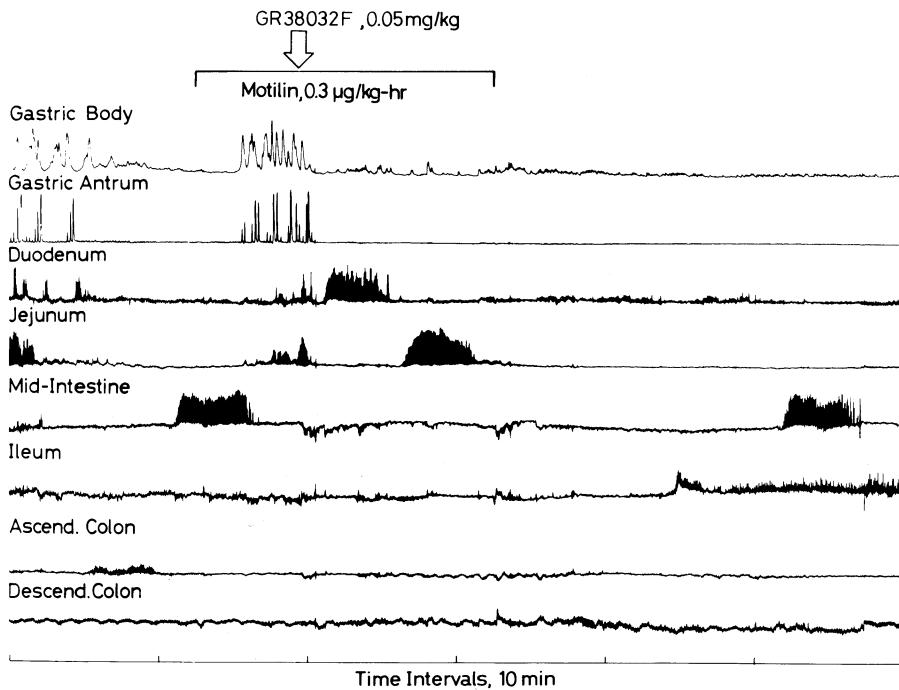


図 2b; Motilin による phase III activity に対する GR-38032F の作用
GR-38032F は Motilin による phase III activity を natural phase III と同様に抑制する。

transducer の作製と慢性植込, 日本平滑筋誌 13: 33-43.

3. Sanger, G.J. (1987) Increased gut cholinergic activity and antagonism of 5-hydrox-

ytryptamine M receptors by BRL-24924: potential clinical importance of BRL-24924, Brit. J. Pharmacol. 91: 77-87.

覚醒犬の消化管運動に対するセロトニンの作用

群馬大学 医療短期大学部

岩 永 裕 氏, 水 本 明 良, 伊 藤 漸

緒 言

Serotonin (5-HT) は腸管壁内神経叢における神経伝達物質であり平滑筋上およびコリン作動性神経上の 5-HT 受容体に作用して消化管を収縮させることが知られている。近年, 5-HT₂ 受容体拮抗薬が合成され消化器系疾患への応用が試みられているが, これら拮抗薬の評価の基礎となるべき 5-HT の作用を全消化管で同時に観察した報告はほとんどない。今回われわれは胃から結腸に至る消化管運動に対する 5-HT の作用を食後期および空腹期の覚醒犬を用いて検討した。

方 法

雌雄雑犬 (10-16 kg) を pentobarbital (30 mg/kg) で麻酔し, 張力トランスジューサーを胃体部, 前庭部, 十二指腸, 空腸, 小腸中央部, 回腸, 近位および遠位結腸の漿膜面に輪状筋収縮が記録できるよう慢性的に縫着した。手術より回復後, 空腹期 Phase I および食後期に 5-HT (10-300 μ g/kg-hr) を静脈内に 20 分間持続投与した。5-HT 反応は注入開始 5 分後から 10 分間の平均収縮力と頻度を測定し, 収縮力は Phase III の最大収縮力に対する % で, 頻度は cycle/min で表わした。

結 果

食後期: 図 1-上に示すように, 5-HT (30-300 μ g/kg-hr) は前庭部, 十二指腸, 空腸にお

いて用量依存的に収縮力を有意に増大させ, それより下位の消化管においても増大傾向を認めた。また収縮頻度に対し図 1-下に示すように, 胃前庭部, 回腸, 結腸を除く部位で用量依存的に有意の増加が見られた。この運動亢進は 5-HT 注入開始直後より全消化管でほぼ同時に発現し注入終了と同時に消失した。

空腹期: 収縮力は, 図 2-上に示すように回腸を除く全消化管で用量依存的に増大した。特に胃体部でも Phase III 様の収縮が発生した。図 2-下に示す収縮頻度では, 小腸全域および近位結腸で用量依存的な増加が見られた。この時期の 5-HT 誘発運動亢進も 5-HT 注入直後より全消化管で同時に発現し, 注入終了後には素早く消失してこれらの収縮が肛門側へ伝播する事はなかった。5-HT 誘発収縮は atropine (0.05 mg/kg) で著明に抑制されたが, 一部収縮反応が残存した。この atropine 抵抗性収縮は methysergide (300 μ g/kg) により完全に消失した。

行動変化: 5-HT を 100 μ g/kg-hr 以上投与した場合, 排便例を認めたが下痢は見られなかった。その他嘔吐等の行動異常は認められなかった。

考 察

5-HT は覚醒犬において主として上部消化管運動を用量依存的に亢進し, この反応は収縮力と収縮頻度の増大からなっていた。5-HT による収縮は, 前庭部, 十二指腸, 空腸での 300 μ g/kg-hr 投与時の収縮頻度と phase III 時のもの

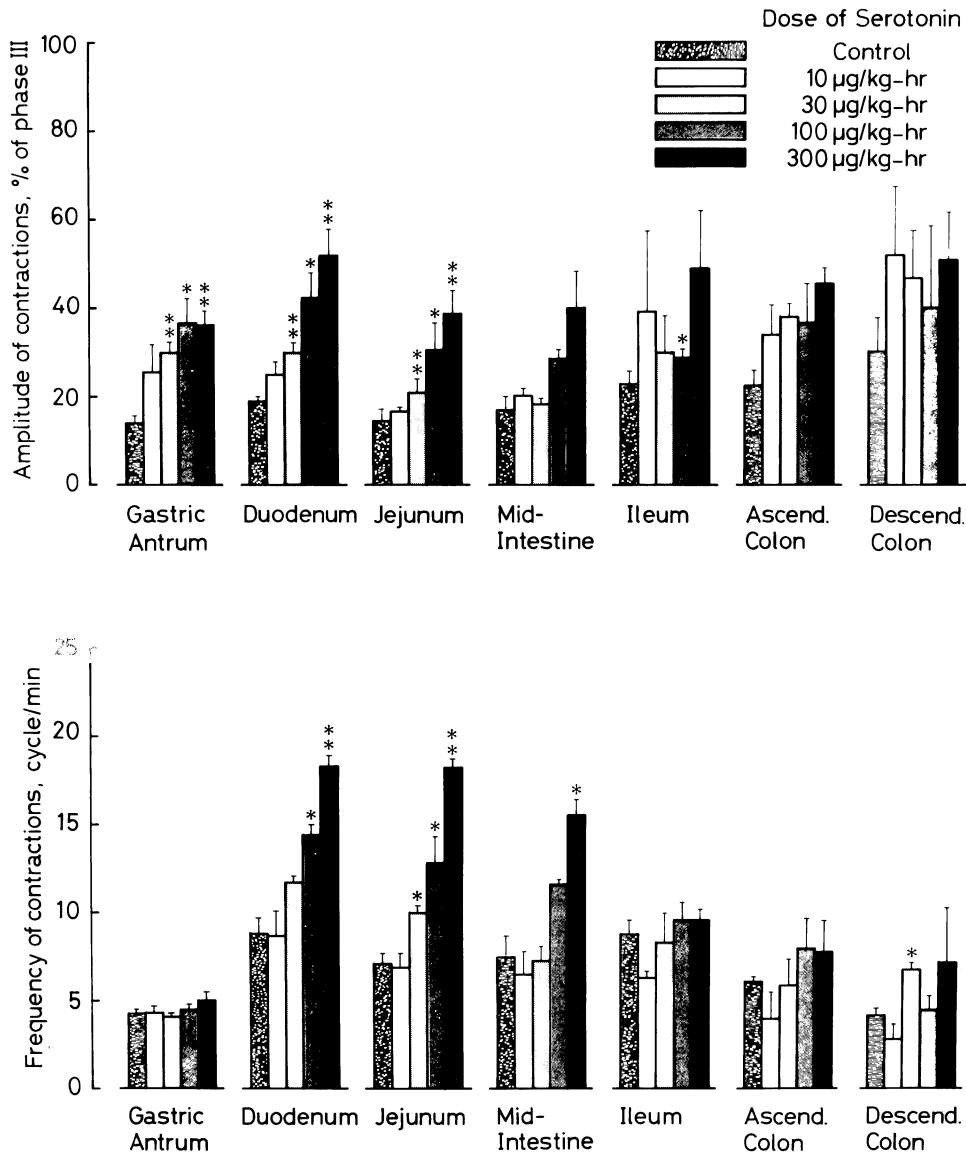


図1 食後期覚醒犬の消化管運動に対する5-HTの静脈内投与による効果。上段：各消化管の収縮力における変化をPhase IIIの最大収縮力に対する変化率(%)で示した。下段：各消化管の収縮頻度における変化をcycle/minで示した。食後期において胃体部は受容性弛緩の状態にあるため収縮反応の定量を行なわなかった。各値は4頭(各3回ずつ投与)のmean±SEを示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

(Itoh ら, 1976)が一致し、さらに胃体部も収縮させる点で phase III と類似していた。しかし、収縮力が phase III よりやや弱いこと、前庭部及び十二指腸の収縮波群の形状に差のあること、収縮が伝播しないことの点で phase III とは異なっていた。今回の結果は覚醒犬の小腸運

動での報告(Ormsbee ら, 1984, Pilot ら, 1983)と一致したが、小腸での5-HT誘発収縮が伝播するとの報告もある(Bjorck ら, 1988)。5-HT (300 µg/kg-hr) による収縮は atropine (0.05 mg/kg) で著明に抑制されたが一部残存し、これは平滑筋上の5-HT受容体に直接作用する

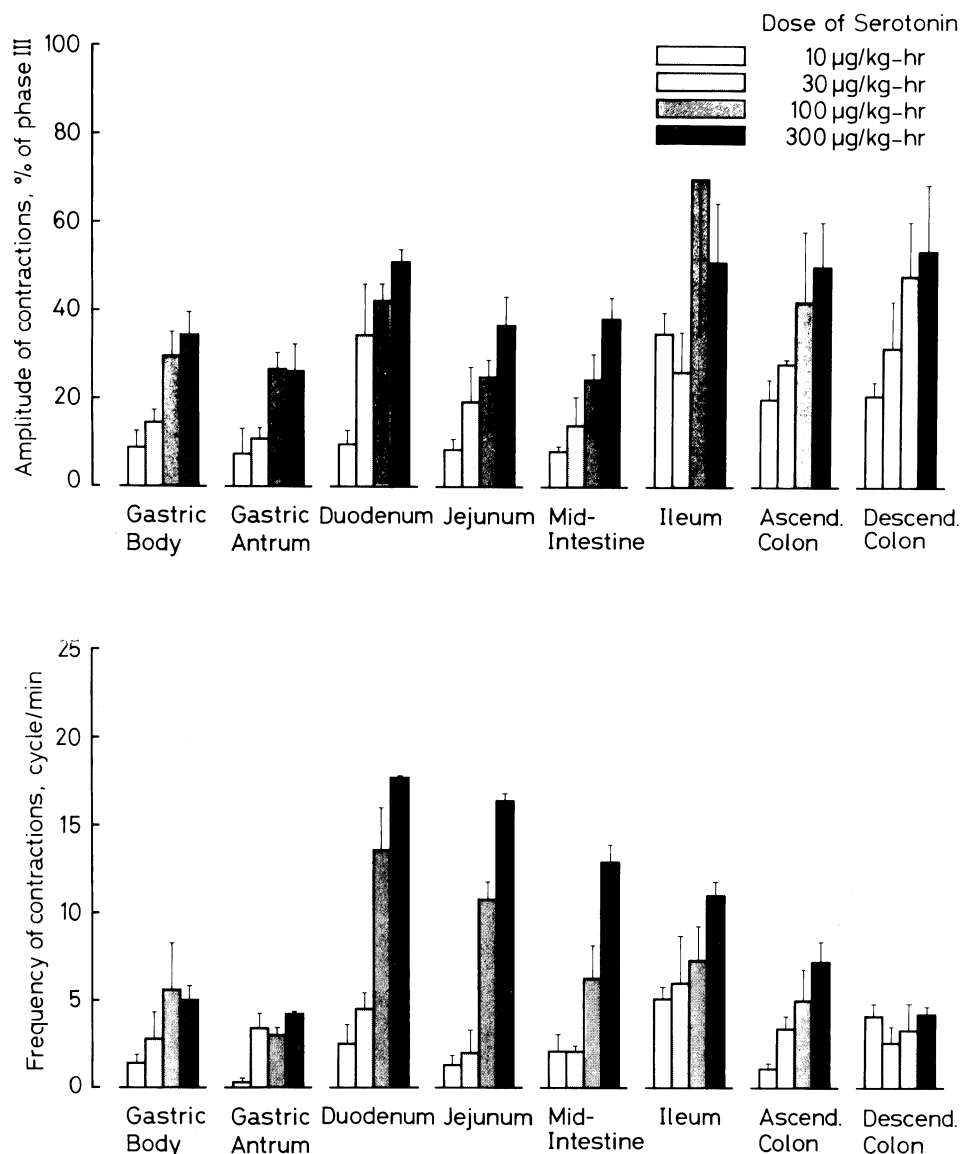


図2 空腹期覚醒犬の消化管運動に対する5-HTの静脈内投与による効果。上段：各消化管の収縮力における変化をPhase IIIの最大収縮力に対する変化率(%)で示した。下段：各消化管の収縮頻度における変化をcycle/minで示した。各値は4頭(各3回ずつ投与)のmean±SEを示す。

(Costa ら, 1979)methysergide (300 µg/kg)で完全に消失した。これらの結果は外因性に投与した5-HTが異常行動を誘発することなく全消化管にわたって運動を発現させること、主としてコリン作動性機構を介して消化管運動を亢進させるが、一部直接作用も関与することを示唆している。

文 献

- Itoh, Z., Honda, R., Hiwatashi, k., Takeuchi, S., Aizawa, I., Takayanagi, R., Couch, E.F. (1976). Motilin-induced mechanical activity in the canine alimentary tract. Scand. J. Gastroent. 11: (Suppl. 39) 93-110.

Ormsbee III, H.S., Silber, D.A., Hardy, F.E.Jr. (1984). Serotonin regulation of the canine migrating motor complex. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **231**: 436-440.

Pilot, M.A., Thompson, H.H., Zera, G.P. (1983). Effect of 5-hydroxytryptamine on canine intestinal motility during fasting. *J. Physiol.* **343**: 88-89 p.

Bjorck, S., Ahlman, H., Dahlstrom, A., Phillips, S. F., Kelly, K.A. (1988). Serotonergic regula-

tion of canine enteric motility (measured as electrical activity) and absorption: physiologic and morphologic evidence. *Acta. Physiol. Scand.* **133**: 247-256.

Costa, M., Furness, J.B. (1979). The sites of action of 5-hydroxytryptamine in nerve-muscle preparations from the guinea-pig small intestine and colon. *Br. J. Pharmac.* **65**: 237-248.

SG 法による覚醒犬の空腹期伝播性収縮波群 (IMC) についての基礎的検討

近畿大学医学部 第一外科

香 山 仁 志, 康 謙 三, 杉 本 憲志郎
安 富 正 幸

空腹期上部消化管運動の特性は100% 順行性に伝播する空腹期伝播性収縮波群 (IMC) が周期的に発生することであり, その生理的作用から house keeper と命名されている, 本研究では SG 法により覚醒犬の上部消化管運動の連続記録を行ない, 各部位における IMC の phase III について伝播速度, 発生頻度, 持続時間といった従来のパラメーターに加えて, 食後空腹期パターン停止時間 (DIMC) を検討した。

実験方法

雑種成犬を用いた, 開腹下に胃前庭部・十二指腸および上部小腸×2 (トライツ韌帯より 10 cm, 20 cm), 中部小腸×2, 下部小腸×2 (回盲

弁より 20 cm, 10 cm) の 8 か所に自作の SG を縫着した。術後 2 週間目より覚醒下で連続記録を行なった。経過中イヌは 1 日 1 回 17:00 に固形飼料を与え, 飲水は自由とした。記録の分析は IMC の phase III につき各部位別に伝播速度, 発生頻度, 持続時間を算出するとともに, 食後最初の phase III が出現するまでに要した時間: DIMC (Duration of postprandial Interruption of Migrating Complex) を各部位別に測定した。

結 果

図 1 は Dog 4 の食後 10 時間を経過した時点から約 7 時間の記録である。胃・十二指腸に初

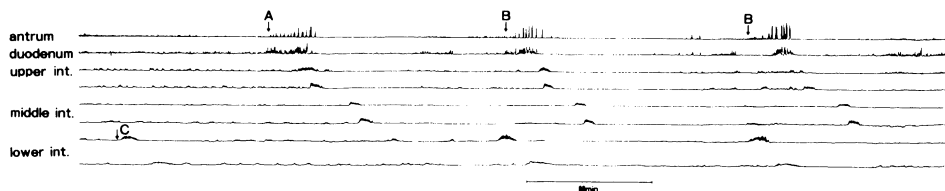


図 1 (Dog 4) の空腹期消化管運動

食後 12 時間経過して胃に最初の IMC (矢印 A) が出現し, 約 100 分間隔で周期的に繰り返され (矢印 B), 順次肛門側へ伝播している。矢印 C は先行した小腸 IMC を示す。

表1 Duration of postprandial Interruption of Moter Complex (DIMC) in each site
duration of postprandial interruption of motor complex (hr)

dog no.	antrum	upper int.	middle int.	lower int.
1	14:10	8:55	5:25	6:20
2	8:05	6:50	4:50	5:45
3	14:00	12:40	8:30	9:25
4	11:30	11:45	9:20	10:20
5	13:40	11:20	8:55	9:50
6	10:05	10:15	10:45	11:20

発した IMC の phase III (矢印 A) が順次肛門側へ伝播して約 120 分で回腸終末に到達する。その後も矢印 B に示すように胃・十二指腸に 100~120 分間隔で IMC が周期的に繰り返され、肛門側へ順次伝播される空腹期パターンが次の摂食まで続くのである。しかしこの犬では矢印 C のように、小腸 IMC が胃・十二指腸に先行して発現していた。

各部位別にみた phase III の持続時間は上部小腸 6.59 ± 1.11 分と最長であるが、下部小腸 6.46 ± 0.72 分とは差がなく中部小腸 5.19 ± 0.26 分に比べ有意に長かった。一方胃 IMC は肛門側へ 100% 順行性に伝播し、計 129 時間の記録中 77 個の IMC が出現しており、phase III の発生間隔は 100.5 ± 7.5 分であった。

各部位別にみた phase III の伝播速度は上部小腸 4.85 ± 0.81 cm/min, 中部小腸 2.32 ± 0.53 cm/min, 下部小腸 0.81 ± 0.08 cm/min の順に肛門側に向かうにつれ伝播速度は遅延していた ($P < 0.01$)。食後空腹期パターン停止時間 (DIMC) については、表 1 のように小腸 IMC が胃・十二指腸 IMC に先行する例が 6 頭中 4

頭にみられ、胃に始発した収縮波群が順次肛門側へ伝播するという従来の IMC の定義とは異なる結果であった。

考察とまとめ

IMC の phase III について算出された各部位別の伝播速度、発生頻度、持続時間は Szurzewski (1969) や Code ら (1975) の報告とよく合致していた。

一方、食後空腹期パターン停止時間 (DIMC) の検討では、中・下部小腸 IMC が胃・十二指腸 IMC に先行する例が優勢を占めた。データから除外したが少量の食餌摂取に際しては、胃・十二指腸が食後期パターンに移行した時点でも中・下部小腸 IMC が継続していた例もみられた。Ruckebusch らによれば、草食の牛や羊では食後も IMC が継続しており、むしろ IMC が上部消化管運動の基礎リズムであり、摂食によって体液性・神経性の IMC 抑制回路が作動していると推察している。われわれの結果も彼らを支持するもので各部位の感受性に応じた抑制機構の存在が示唆された。

文 献

- Code, C.F., Marlett, J.A. (1975).: The interdigestive myo-electric complex of the stomach and small bowel of dogs. *J. Physiol.* **246**: 289-309.
- Szurzewski, J.H. (1969).: A migrating electric complex of the canine small intestine. *Am. J. Physiol.* **217**(6): 1757-1763.
- Ruckebusch, Y., Bueno, L. (1976).: The effect of feeding on the motility of the stomach and small intestine in the pig. *Br. J. Nutr.* **35**: 397-405.

ラット摘出十二指腸の Tachykinin 類に対する 反応性の生後発育に伴う変化

東京女子医科大学 薬理学教室

古 川 恭 子, 入 江 かをる, 村 木 篁
野 本 照 子

緒 言

ラット小腸の運動性は, atropine により抑制される部分が僅かで, noncholinergic な神経伝達物質の関与が示唆され (Ruwart et al., 1979), substance. P (SP) や neurokinin (NK) が消化管の noncholinergic excitatory neurotransmitter として提唱されている (Bartho and Holzer, 1985). ラット十二指腸には SP 様物質が高濃度に存在することが知られ, 内因性 tachykinin が消化管の運動を修飾することが示唆され (Holzer et al., 1986), 外因性 tachykinin 類により収縮反応を示すことが報告されている (Maggi, et al., 1986). そこでこの研究は生後発育に伴うラット十二指腸の SP, NKA および NKB に対する反応性の変化について検討した.

方 法

Wistar-今道ラットの生後 1~70 日令の摘出十二指腸切片を用い, 浴温 32°C の modified

Locke 中における張力の変化を等張性に記録した. 生日を 0 日とし, 23 日令で離乳した.

結 果

1) SP (2×10^{-7} M) に対する反応
ラット摘出十二指腸は, SP に対して生後 1 日令から収縮反応を示し, 7~14 日令で最大に達し, 成熟に至るまで, phasic および tonic の 2 相性の収縮を示した (Table 1). この収縮反応は hexamethonium の前処置により影響をうけなかったが, hyoscine 又は tetrodotoxin (TTX) 前処置により, 生後 21 日令まで主として phasic 収縮が部分的に阻害された. SP に対する hyoscine (2.5×10^{-7} M, 15 min) 又は TTX (10^{-6} M, 15 min) の前処置後の残余反応は, ほぼ同程度であり, 7 日令で約 30%, 21 日令で約 70% であった. 以上の結果から生後 3 週までの SP 収縮の一部は, コリン作動性節後線維末端からの ACh 遊離を介する反応であることが示唆される. 70 日令の標本では hyoscine 又は TTX 前処置により全く抑制されず, 筋直接作

Table 1. Postnatal development of the response to substance P (2×10^{-7} M) in the duodenum of rat.

Age (days)	n	Body weight (g)	Preparation weight (mg)	Substance P-induced Response (mm)		Response (mm) Preparation (mg) $\times 100$	
				P.C.	T.C.	P.C.	T.C.
1	10	6.5 \pm 0.2	34 \pm 0.6	0.8 \pm 0.2	1.8 \pm 0.4	0.24	0.53
7	7	13.0 \pm 0.3	52 \pm 1.4	4.8 \pm 0.4	6.5 \pm 0.5	0.93	1.25
14	8	29.0 \pm 0.5	74 \pm 2.2	7.6 \pm 0.7	5.3 \pm 0.4	1.02	0.71
21	4	43.0 \pm 1.3	98 \pm 6.2	5.9 \pm 0.8	4.5 \pm 0.7	0.60	0.47
28	4	74.0 \pm 1.5	199 \pm 3.5	5.5 \pm 0.4	3.7 \pm 0.3	0.27	0.19
70	8	345.0 \pm 4.8	437 \pm 11.3	2.8 \pm 0.3	2.7 \pm 0.2	0.06	0.06

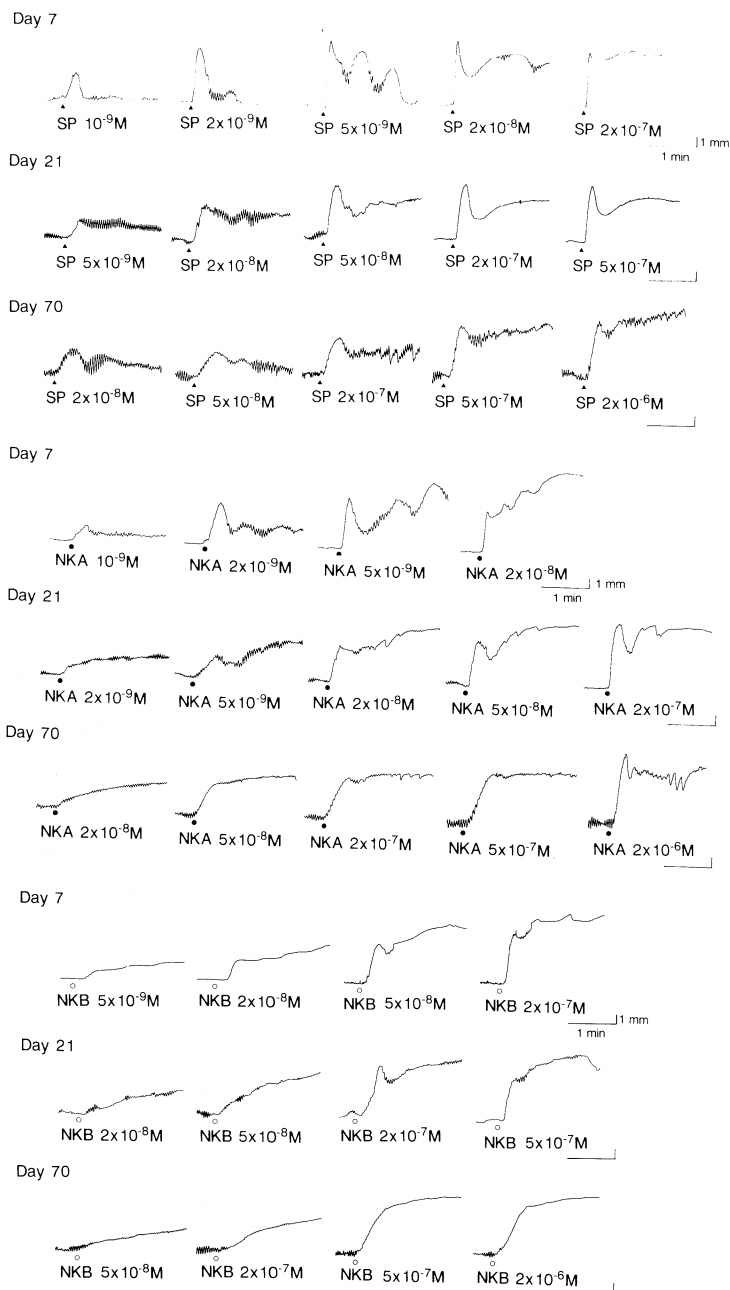


Fig. 1. Mechanical response to substance P (SP), neurokinin A (NKA) and neurokinin B (NKB) of duodenal segments from rats of various ages.

用による収縮と考えられる。

2) SP, NKA および NKB に対する反応
用量-反応曲線から得た pD_2 値を, SP, NKA, NKB の順に示すと phasic 収縮 (注加後 30 sec 以内の最高値) については, 7 日令, 8.9, 8.9, 7.7;

21 日令, 7.6, 8.5, 8.0; 70 日令, 7.0, 7.4, 6.3 であり, tonic 収縮 (注加後 2 min 以内の最高値) は, 7 日令, 8.1, 8.5, 8.0; 21 日令, 7.5, 8.4, 7.4; 70 日令, 6.7, 7.7, 7.1 であった。低濃度の NK に対する反応は, SP に比して 2 相性が明確でな

く、NKB-収縮は70日令では、tonic収縮が主であった(Fig. 1)。

考 察

以上の実験結果からラット摘出十二指腸は、1) SPに対し生後1日令から成熟に至るまで一貫して、2相性の収縮を示し、21日令までの収縮はACh遊離を介した神経性および筋性反応から成り、hyoscine, TTXにより主としてphasic相が抑制される。tonic相が神経性反応を示すモルモット回腸と対照的であった。3週令以後に神経性反応は消失し70日令ではSPに対し専ら筋性反応を示すので内因性tachykinin類による腸管運動調節の直接的な関与が示唆される。2) SP, NKA, NKBの7, 21, 70日令の標本における pD_2 値の比較からphasic, tonic収縮反応ともにNKAに対して最も親和性が高くラット十二指腸はSP-K型の組織であることが示唆され、Buckら(1984)の結合実験の結果と一致する。いずれのtachykininも7日令でもっとも pD_2 値が高く、21, 70日令と次第に低くなる傾向を示したが、成長に伴う受容体の変化の反映か、或いは平滑筋のtoneその他

の寄与があるのかは今後の問題である。

文 献

- Bartho, L. and Holzer, P. (1985). Search for a physiological role for substance P in gastrointestinal motility. *Neuroscience*, **16**: 1-35.
- Buck, S.H., Burcher, E., Shults, C.W., Lovenberg, W. and O' Donohue, T.L. (1984). Novel pharmacology of substance K-binding sites: a third type of tachykinin receptor. *Science*, **226**: 987-989.
- Holzer, P. Holzer-Petsche, U and Leander, S. (1986). A tachykinin antagonist inhibits gastric emptying and gastrointestinal transit in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, **89**: 453-459.
- Maggi, C.A., Gluliani, S., Manzini, S., Santicioli, P. and Meli, A. (1986). Motor effect of neurokinins on the rat duodenum: Evidence for the involvement of substance K and substance P receptors. *J. pharmacol. Exp. Ther.*, **238**: 341-351.
- Ruwart, M.J., Klepper M.S. and Rush B.D. (1979). Evidence for noncholinergic mediation of small intestinal transit in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **209**: 462-465.

イヌ迷走神経知覚線維の逆行性興奮は 小腸運動調節機能をもたない

岡山大学医学部 第二生理

水谷雅年, 柵屋俊昭, 中山沃

モルモットの摘出回腸では、腸間膜神経を刺激すると、その中に含まれる知覚神経が逆行性に興奮して、P物質(SP)性の運動促進が起こると信じられている(Szolcsányi & Barthó, 1978; Barthóら, 1982)。私達は、イヌの生体内実験で腸間膜神経を刺激すると、SP性の運動促進が起こるが、これは迷走神経節前線維が腸壁内のSPニューロンを興奮させることによるのであって、知覚神経の逆行性興奮によるのではないと結論した(Neyaら, 1989)。ネコで

は、迷走神経中の知覚神経のみを逆行性に刺激すると、胃にコリン性の収縮が起こるが、SP性の収縮は起こらなかった(Tsubomuraら, 1987)。

本研究では、迷走神経の知覚線維が小腸運動を促進するかどうかを調べ、知覚神経が逆行性に有意な運動調節機能を有するかどうかを検討した。

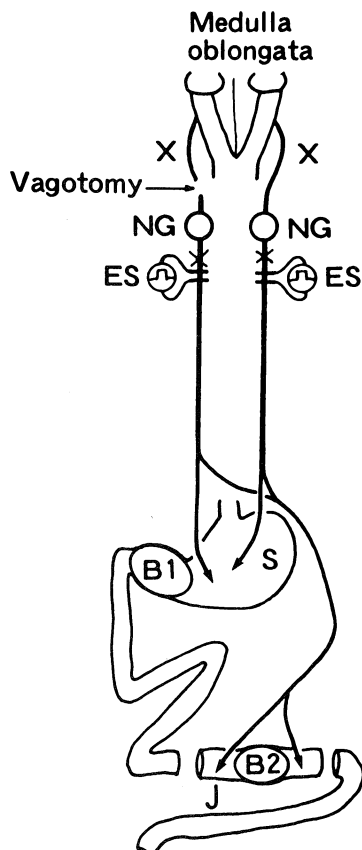


図1. 実験方法模式図

X: 迷走神経, NG: 節状神経節, ES: 電気刺激, S: 胃, B1: 胃前庭部のゴム球, J: 空腸, B2: 空腸のゴム球

実験方法

実験には雑種成犬 13 頭を用いた。ペントバルビタール (25 mg/kg, i.v.) 麻酔下に、頸部迷走神経中の遠心性線維を退化させ、求心性の知覚線維のみを残す目的で、一側の迷走神経を節状神経節の中枢側で二重に結紮した後に切断した (図1)。

実験は手術後 21-37 日目に行った。動物はケタミン (10-20 mg/kg, i.m.) で麻酔した後に、人工呼吸下に 50 mg/ml ウレタン、0.5 mg/ml ガラミンおよび 50 mg/ml グルコースを含む乳酸リンガー液を点滴静注 (5 ml/kg/h) し、麻酔を維持すると共に、非動化した。終末呼気の二酸化炭素濃度は 34-43 mmHg に、平均血圧は

100 mmHg 以上に保った。

胃と小腸の運動をゴム球-圧トランスジューサ法で記録し、同時に大腿動脈圧も記録した。迷走神経は頸部で刺激し、胃腸運動および血圧への効果を調べた (図1)。また、迷走神経切断術を施した側の頸部迷走神経の切断末梢端から電気活動を記録し、小腸の加圧伸展に応じる放電が得られるかどうかを調べると共に、節状神経節中に SP, カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 等のペプチドを含むニューロンが存在するかどうかを免疫組織化学的に検索した。

結 果

正常側の迷走神経を電気刺激すると、胃と小腸に強い収縮が起こり、心拍緩徐と血圧降下も同時に起こった。ところが、あらかじめ迷走神経切断術を施した側の迷走神経刺激は、胃運動を軽度促進したが (対照の $12.8 \pm 3.4\%$)、空腸の運動および血圧、心拍数には全く無効であった (図2)。

迷走神経切断を行った側の頸部迷走神経から、空腸の加圧伸展に対応して神経活動を増すユニット放電が得られた。

迷走神経切除術を行った側の節状神経節には、正常側と同様に、Nissl 染色で多くの神経細胞がみられた。また、SP と CGRP の抗血清に免疫活性を有する細胞が両側で存在した。vasoactive intestinal polypeptide (VIP) とコレシストキニン (CCK) の陽性細胞は見つからなかった。

結 論

以上のことから、迷走神経切断術を施した側の頸部迷走神経では遠心性線維は退化し、知覚線維のみが機能していること、この知覚線維の逆行性興奮によって小腸運動は影響を受けないことが明らかとなった。

したがって、少なくともイヌの生体内では副交感神経中に含まれる知覚神経 (ペプチドニューロンを含む) は、その逆行性興奮によって小腸運動を調節する機能を持たないと考えられる。

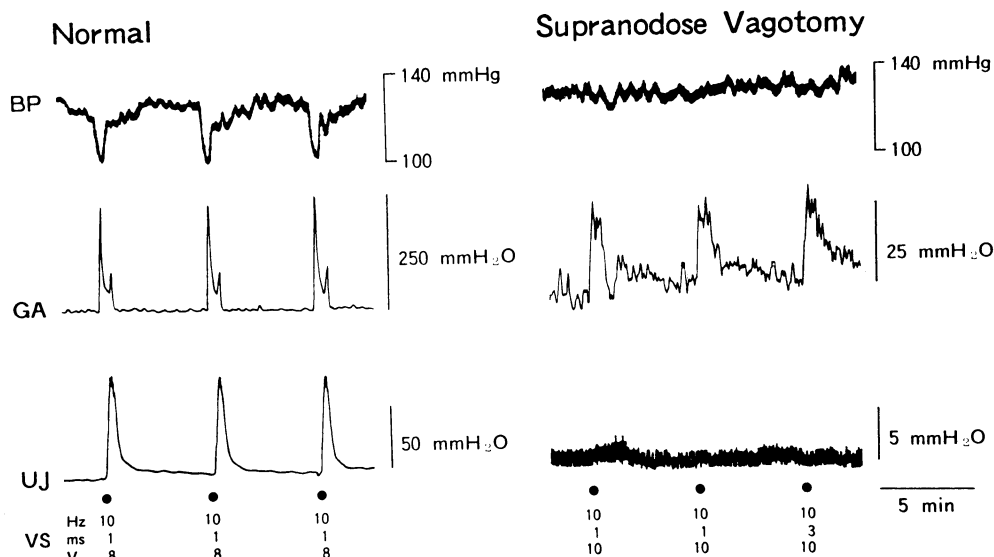


図2. 正常側と迷走神経切除術を施した側での頸部迷走神経刺激(VS)による血圧(BP), 胃前庭部(GA)および上部空腸(UJ)運動に対する効果

文 献

- Barthó, L. et al. (1982). Evidence that the contractile response of the guinea pig ileum to capsaicin is due to substance P. *J. Physiol.* **332**: 157-167.
- Neya, T., Mizutani, M. & Nakayama, S. (1989). Involvement of substance P neurons in contractions of canine small intestine produced by mesenteric nerve stimulation. *J. Auton. Nerv. Syst.*, in press.
- Szolcsányi, J. & Barthó, L. (1978). New type of nerve mediated cholinergic contraction of guinea pig small intestine and its selective blockade by capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **305**: 83-90.
- Tsubomura, T. et al. (1987). Gastric excitation by stimulation of the vagal trunk after chronic supranodose vagotomy in cats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **241**: 650-654.

小腸広範切除後分節腸管を加えた小腸運動機能の筋電図学的研究(第2報)

東邦大学医学部 第2外科

和田 俊 洋, 小 沢 哲 郎, 島 田 長 人
村 国 均, 出 口 久 次, 北 原 信 三
継 行 男

第29回本学会において小腸広範切除の近位分節腸管(空腸)の間置に伴う小腸運動機能の変化について報告したが, 今回は遠位回腸を逆

蠕動性に間置した場合の小腸運動機能について追加検討したので報告する。

臨床における小腸広範切除後の short bowel

syndrome に対する外科的治療としては種々の術式があり、今回の逆蠕動性腸管間置はそのなかのひとつであるが、間置腸管の部位やその長さが問題となってくる。そこで我々は筋電図学的に無操作犬を対照として近位逆蠕動分節と遠位逆蠕動分節との比較検討を行なった。

方 法

成犬を用い、全麻下に無操作犬(以下第一群)は十二指腸空腸曲より 10 cm の部位に電極 E1 を、以下回腸終末まで E2 E3 E4 E5 E6 の合計 6 ケ所に装着した。近位空腸間置群(以下第二群)は回腸終末 10 cm を残して約 75% の小腸広範切除し約 10 cm の近位空腸を逆蠕動性に間置し端々吻合を行なった。次に電極を十二指腸曲より 10 cm 32 cm 54 cm の空腸に E1 E2 E3, 間置腸管の術後の口側に E4, 肛門側に E5, 回腸終末に E6 を装着した。遠位回腸間置群(以下第三群)は同じく小腸広範切除後約 10 cm の遠位回腸を逆蠕動性に間置し端々吻合を行ない電極を装着した。(図 1)

術後 4 週目に 24 時間絶食にして無麻酔下に空腹期 24 時間と食後期 6 時間に亘り連続筋電図を記録した。観察対象としては basic electric rhythm (以下 BER) 及び interdigestive migrating electric complex (以下 IMEC) の発現様式、伝播速度及び伝播様式について検討した。

成 績

1. BER の頻度は第一群では E1 から E6 に至る間に約 23% 減少し、第二群では上位の吻合下部で 27%, 下位の吻合下部で 26% と階段状に減少し、全体では 46% の減少率を示した。第

三群では上位の吻合下部で 42%, 下位の吻合下部で 3% 減少し、全体では 44% の減少率を示した。(図 2)

2. 各群における IMEC の伝播様式は、第一群で E1 より E6 まで順次下方に伝播し、第二群及び第三群とも E1 E2 E3 E5 E4 E6 と回腸終末へ伝播された、図 3 は第一群で E3 から E4 へ、第二群で E5 から E4 へ、第三群で E4 から E6 へ IMEC が伝播するのを示す。

3. 表 1 は各部位の IMEC の持続時間を示したものです。持続時間の平均は第一群で 5.4 ± 0.4 min, 第二群で 7.9 ± 0.9 min (分節腸管 8.7 min) 第三群で 7.1 ± 0.8 min (分節腸管 6.4 min) であった。

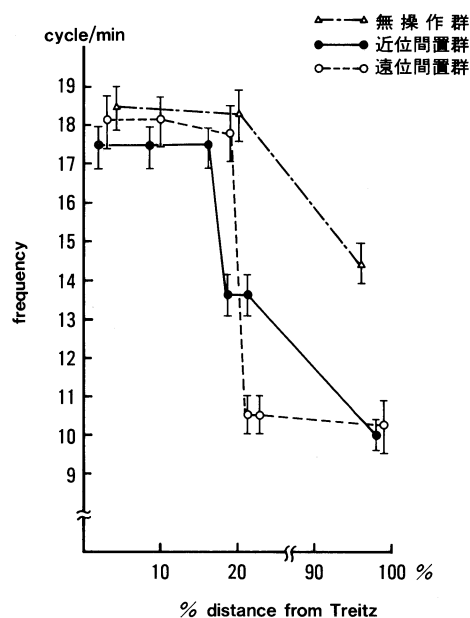


図 2 Frequency of BER

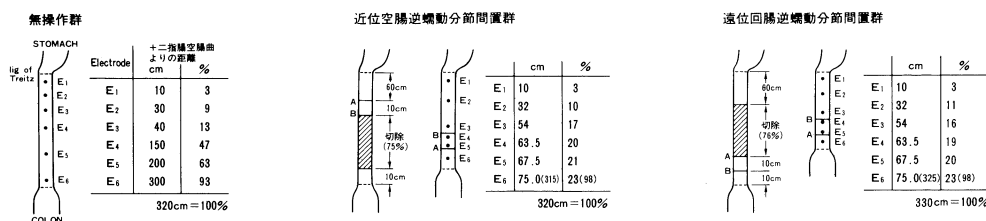


図 1 実験方法

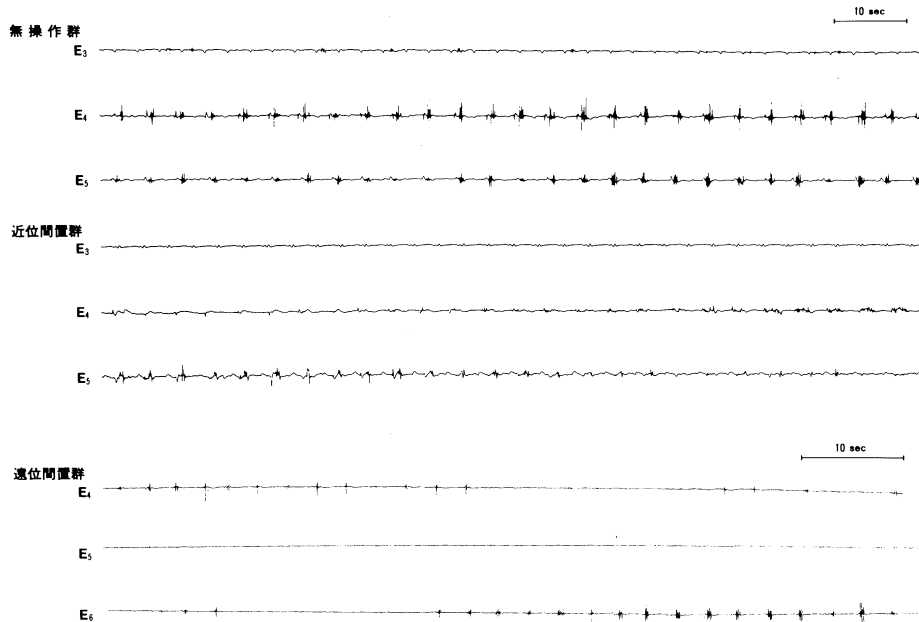
図3 E₃~E₆ IMEC の伝播様式

表1 各部位の IMEC duration (min)

	無操作群	近位間置群	遠位間置群
E ₁	5.0±0.7	8.0±1.6	8.7±2.1
E ₂	5.6±0.4	7.2±2.8	7.3±2.1
E ₃	4.6±0.4	7.1±2.0	6.9±1.9
E ₄	5.7±1.3	7.7±1.8	6.5±1.9
E ₅	6.0±0.4	9.8±1.7	6.3±1.8
E ₆	5.8±0.4	7.6±4.7	6.9±2.2

表2 IMEC elapsed time (E₁→E₆)

実験群	伝播時間 (min)
無操作群	136.3±6.4
近位間置群	126.0±23.3
遠位間置群	73.7±12.7

4. IMEC の伝播速度を部位別にみると、第一群の上部空腸で毎分 4.5 cm 回腸終末で 1.3 であった。第二群の上部空腸で 6.2 cm, 分節腸管で 0.5 cm, 回腸終末で 0.12 cm であり、第三群の上部空腸で 3.4 cm, 分節腸管で 1.0 cm, 回腸終末で 0.7 cm であった。(図4)

5. IMEC の total elapsed time (E₁-E₆) は

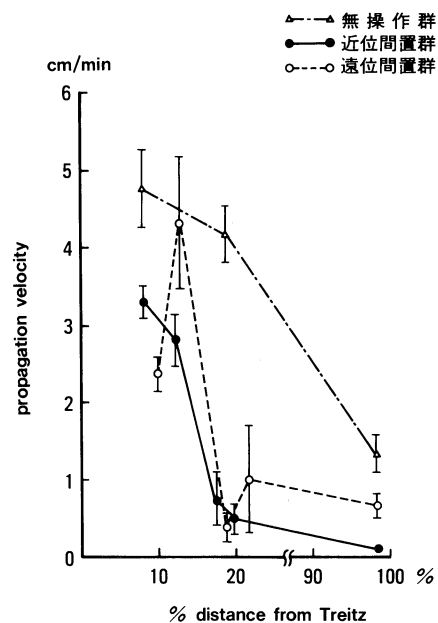


図4 IMEC propagation velocity

第一群で 136.3±6.4 min, 第二群で 126.0±23.3 min, 第三群で 73.7±12.7 min であった。(表2)

6. IMEC24 時間発生数は第一群で 9-10 回, 第二群で 7 回, 第三群で 6 回であった。

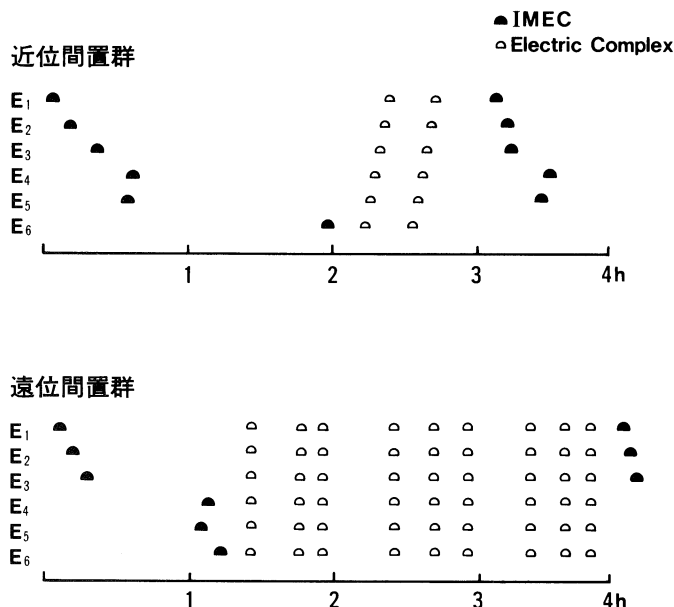


図5 Electric Complex Duration IMEC

7. IMEC の発生間隔に第二群では逆蠕動性と思われる Electric Complex が2-3回 E6 より E1 に伝播された。

第三群では9-11回全部位に同時に出現する Electric Complex が観察された。(図5)

8. 食後期の変化は食餌投与により IMEC が速やかに消失し食餌投与後連続6時間の記録でも IMEC の出現は見られなかった。

ま と め

1. BER の発生頻度は遠位になる程減少傾向にあるが、横切による減少も認められた。2. IMEC は分節腸管において逆蠕動性に間置しても本来の伝播様式に従って空腸より回腸終末へ伝播された。3. IMEC の伝播速度は回腸終末に至る間に減少するものの分節腸管間置群とも分節腸管を加えることによりさらに遅延する傾向にあった。4. IMEC の全小腸伝播時間で近位間置群のほうが遠位間置群より延長していたことは近位間置群のほうが short bowel syn-

drome に対してより有用であると考えられる。5. IMEC の発生間隔に小腸全体に発生する Electric Complex の逆蠕動性伝播も何らかの代償機構と考える。

文 献

- Carson, G.M. Bedi, B.S. and Code, C.F. (1972). Mechanism of propagation of intestinal interdigestive myoelectric complex. *Amer. J. Physiol.* **222**: 1027-1033.
- Code, C.F. and Marlett, J. (1975). The interdigestive myoelectric complex of the stomach and small bowel of dogs. *J. Physiol.* **246**: 289-309.
- 小沢哲郎 (1985). Interdigestive Migrating Electric Complex の伝播機構に関する研究. *日本平滑筋誌* **21**: 79-87.
- 椿秀三千 (1985). 空腹期における小腸平滑筋筋電図. *東邦医学会誌* **32**: 323-329.
- 和田俊洋 (1987). 小腸広範切除後分節腸管を加えた小腸運動機能の筋電図学的研究. *日本平滑筋誌* **23**: 265-268.

狭小腸管の運動異常とその病態

三重大学医学部 第二外科

天 野 信 一, 塚 本 能 英, 鈴 木 宏 志

狭小腸管はヒルシュスプルング病の無神経節細胞腸管, 潰瘍性大腸炎の鉛管状腸管, 食道アカラシアの下部食道, 結腸 segmental oligoanglionosis の腸管などにみられる。

今回, 私どもはこれら狭小腸管の運動異常の病態を腸管の内圧測定から生理学的に, neuron score から組織学的に, 造影から動態影像学的に検討を加えてきたので報告する。

対象と方法

1. 対象: 対象はヒルシュスプルング病患者 6 例はいずれも乳児, 人工肛門造設例であり, short segment aganglionosis, S 状結腸人工肛門造設例 5 例, および long segment aganglionosis, 横行結腸人工肛門造設例 1 例であり, 潰瘍性大腸炎 6 例, 虚血性大腸炎狭窄型 1 例, 結腸 segmental oligoanglionosis 2 例, 食道アカラシア 6 例, 特発性慢性便秘 5 例はいずれも成人例である。

2. 方法: (1) 結腸(食道)内圧測定: 定量持続注入法を用いて, ヒルシュスプルング病患者には 8 Fr 3 lumen catheter に 3 cm 間隔に側孔を穿ったものを, 成人の結腸, 食道内圧測定には 14 Fr 5 lumen catheter に 5 cm または 10 cm 間隔に側孔を穿ったものを用い, 安静時および塩化メタコリン (0.03-0.04 mg/kg 皮下) 負荷, 硫酸アトロピン (0.01-0.015 mg/kg 静注) 負荷時の内圧測定を行った。(2) 注腸(食道)造影: バリウム液を用いて造影し, ビデオに収録, コマ送り再生した。(3) 組織学的検索: (a) アセチルコリンエステラーゼ (Ach-E) 染色: カルノフスキー法に準じて Ach-E 染色を行った。(b) neuron score: HE 染色を行った標本の 1 cm 当たりの壁内神経節細胞数と核最短径を測定しヒストグラムを作成し, 平均核最短径について検討を加えた。

結 果

1. ヒルシュスプルング病: 組織学的には aganglionosis であり, Ach-E 染色では活性線維の増生を認め, 注腸造影では aganglionic segment は口側の動きによる passive な運動を認めるのみであった。結腸内圧は安静時動きを認めず, 塩化メタコリン負荷, 硫酸アトロピン負荷においても内圧変化, 肛門管基礎律動収縮波数の変化をも認めなかった。

2. 結腸 segmental oligoanglionosis: 狭小部結腸の Ach-E 染色では活性線維の増生を認めないものの, 切除腸管の neuron score では狭小部(下行結腸)の神経節細胞の著明な減少と変性を認めた。結腸内圧では安静時の内圧変化

表 1 狭小腸管症例の neuron score を示す。

Auerbach 神経叢神経節細胞数および核最短径			
症 例	年齢	細胞数 (個/cm)	核最短径 (μm)
結腸 segmental oligoanglionosis			
1. 女	47	1.5	7.5±2.0
2. 男	51	3.0	6.5±1.1
潰瘍性大腸炎			
1. 男	22	38.0	8.5±1.5
2. 女	23	15.1	7.7±1.5
3. 男	21	19.7	8.7±1.4
4. 男	12	26.7	8.3±1.7
5. 男	30	28.7	8.9±1.7
虚血性大腸炎			
1. 女	67	26.9	6.8±1.7
特発性慢性便秘			
1. 男	23	21.9	10.8±1.9
2. 男	61	21.3	8.8±1.8
3. 女	23	10.2	8.3±1.7
4. 女	22	8.1	8.5±2.3

は乏しいものの、塩化メタコリン投与では大収縮波の頻発をみたが、硫酸アトロピン投与により抑制され、同時に行った注腸造影では狭小部は塩化メタコリンにより更に狭小化し、硫酸アトロピンにより、前の状態にもどった。

3. 潰瘍性大腸炎, 虚血性大腸炎: Ach-E 染色では活性線維の増生を認めず, neuron score にも異常を認めず, 注腸造影では鉛管状に著明な狭小化を認めるものの, 結腸内圧検査では塩化メタコリン, 硫酸アトロピン負荷においても

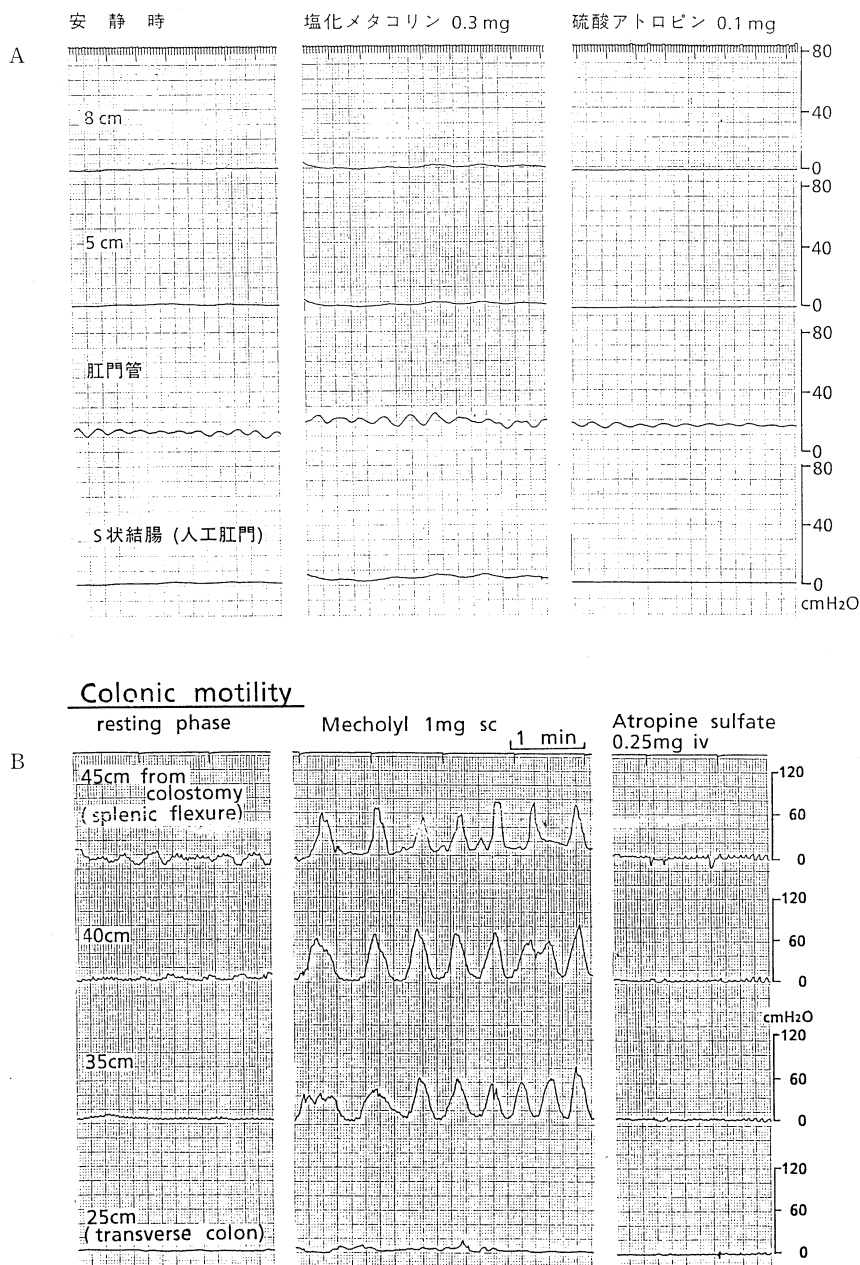


図 1. 結腸(食道)内圧曲線を示す。A. ヒルシュスブルング病, 7ヶ月男児, S 状結腸人工肛門造設, B. 結腸 segmental oligoganglionosis, 51 才男性。

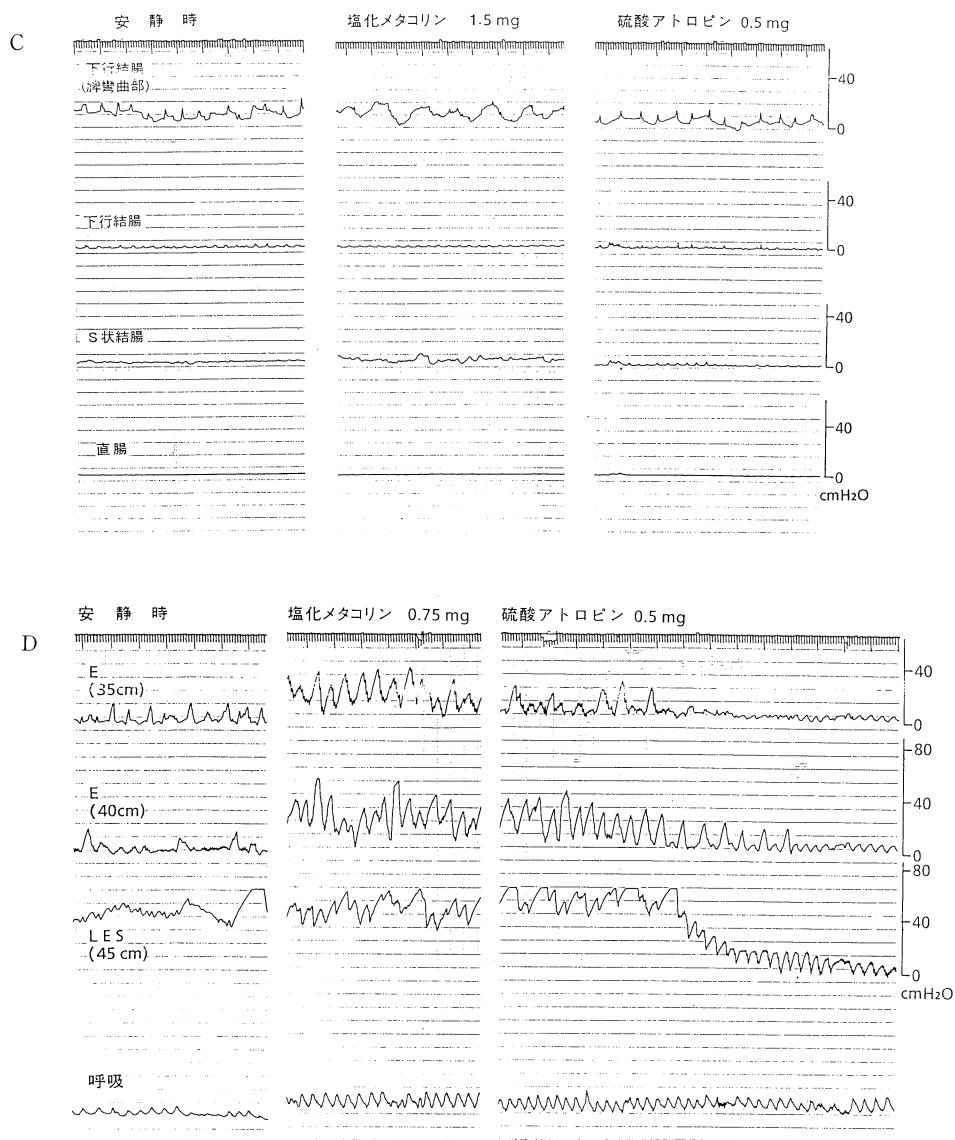


図1. 結腸(食道)内圧曲線を示す。C. 潰瘍性大腸炎左側型 moderate active 67才, 男性の結腸内圧を, D. 食道アカラシア, 56才, 女性の食道内圧を示す。

内圧変化を認めなかった。

4. 特発性慢性便秘: Ach-E染色, neuron scoreに異常を認めず, 注腸造影, 結腸内圧測定においても圧変化を認めなかった。

5. 食道アカラシア: 塩化メタコリン投与により著明な圧上昇をきたしたが, 硫酸アトロピン投与により, 抑制された。

考察と結語

狭小腸管の成因は結腸 segmental oligoganglionosisでは不明であるが, その運動異常は食道アカラシア同様に腸管壁内圧神経節細胞の変性, 減少によるものと考えられ, 潰瘍性大腸炎, 虚血性大腸炎では腸管の狭小化は壁内神経節細胞の異常によるものではなく, 炎症による腸管

の器質的变化によると考えられた。ヒルシュスプルング病腸管は先天性無神経節細胞のため除神経状態にあり、薬剤不応性であり、二次的腸管壁内神経節細胞の異常による運動異常とは異なっていた。

文 献

1. 天野信一, 他 (1986): Segmental oligoganglionosis による結腸偽性腸閉塞症の結腸, 直腸肛門機能の検討. 日本平滑筋誌, 22: 219.
2. 天野信一, 他 (1988): 結腸運動機能評価におけるメコリール試験の意義. Ther. Res. 8 supp 11: 319.
3. Okamoto E. et al (1967): Selective destruction

of the myenteric plexus: Its relation to Hirschsprung's disease, achalasia of the esophagus and hypertrophic pyloric stenosis. J. Pediatr. Surg. 2: 444.

4. Hukuhara t. et al (1961): Effects of destruction of intramural ganglion cells on colonic motility: possible genesis of congenital megacolon. Jpn. J. Physiol. 11: 635.
5. Schuffler M.D. et al (1982): Chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction caused by a degenerative disorder of the myenteric plexus: The use of Smith's method to define the neuropathology. Gastroenterology 82: 476.

SG 法による空腹期イヌ大腸収縮運動のパターン分類とペースメーカーの推定

近畿大学医学部 第一外科

康 謙 三, 杉 本 憲志郎, 香 山 仁 志
安 富 正 幸

空腹期大腸運動については Sarna ら (1984) が伝播性 (CMMC) と非伝播性収縮波群 (NMMC) に分類して検討しているが, 腸内容を肛門側へ運搬する伝播性収縮波群が約 80% にとどまり 20% はむしろ攪拌に作用していると予想している. 何れにせよ 100% 順行性であ

る上部消化管運動に比較して大腸運動は複雑なパターンをとる. 本研究では覚醒犬での空腹期大腸収縮運動の連続記録から全ての大腸収縮波を隣接部位との相互関係により 4 つのパターンに分類するとともに, 特にペースメーカーとしての重みを表現する意味で各部位の独立係数 (I

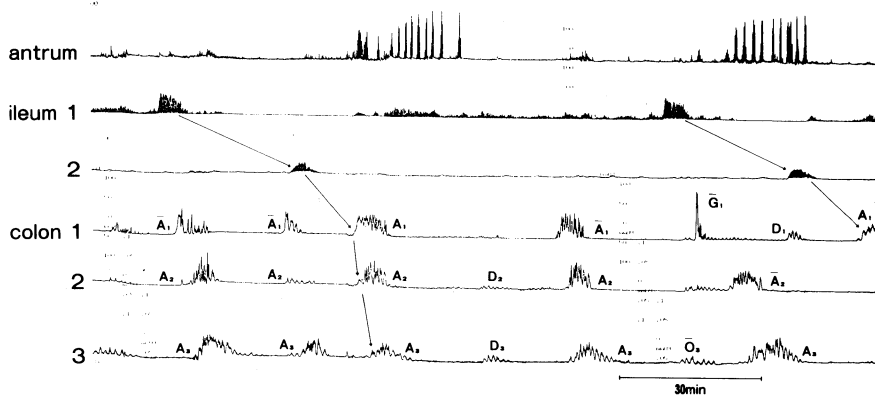


図 1. 回盲部伝播性と大腸運動のパターン分類

Table 1. Classification of colonic motor complex and calculation of Motility Index or Independency Index

dog no.	recording period (min)	recording site	number of colonic motor complex								duration (min)	MI (%) ^{*1}	II (%) ^{*2}
			A	A	O	O	D	G	G	total			
7	1450	colon 1	8	35	5	0	8	0	0	56	5.12±1.95	19.8	76.8
		2	46	9	1	3	5	0	0	64	6.22±2.07	27.9	26.6
		3	52	7	1	1	8	0	0	69	8.31±4.04	38.9	23.2
		4	42	0	0	1	21	0	0	64	10.85±6.90	47.9	34.4
8	1210	colon 1	10	35	1	0	6	0	1	53	7.24±2.49	31.7	79.2
		2	43	2	3	1	3	1	0	53	6.95±2.05	30.4	11.3
		3	37	2	2	2	4	1	0	47	8.76±3.17	33.4	17.0
		4	28	0	0	3	9	1	0	41	11.22±3.23	38.0	31.6
9	1280	colon 1	9	35	5	0	5	0	2	56	7.51±2.35	32.8	73.7
		2	36	5	1	4	7	2	1	56	8.56±3.05	37.5	30.4
		3	37	3	2	1	5	3	0	51	9.72±3.43	38.7	17.6
		4	27	0	0	3	12	3	0	45	11.53±3.86	40.5	33.3

*1 MI=[(total number of colonic motor complex)×duration]/(reording period)

*2 II=[Σ((A+O+G)+D)]/(total number of colonic motor complex)

D) の算出を試めた。

実験方法

雑種成犬を用いた。開腹下に胃前庭部・十二指腸および回腸×2と大腸×4の8カ所に自作のSGを縫着し、術後2週目より覚醒下での連続記録を行なった。空腹期運動について以下の項目を検討した。

1. IMCの回盲部伝播率(図1)
2. 大腸各部位のMotility Index (MI)=(収縮波群の持続時間の総和)/全観察時間で算出した。

3. 大腸収縮波群のパターン分類:(図1)

隣接するSGを2か所以上に渡って伝播する収縮波群を順行性(A: aboral migrating complex)と逆行性(O: oral migrating complex)に分類し、隣接のSGとは無関係に発生する収縮波群を非伝播性(D: discrete complex), さらに1日数回発生するmass movementsを表現しているとされる伝播性大収縮波(G: giant migrating contraction)の4種に分類した。伝播性収縮波A, O, Gについては始発部位に[—]を冠した。

4. 各部位のIndependency Index (II): 上

記の分類に従って[—]を冠したA, O, Gと非伝播性Dを隣接部からの独立収縮波として, II=Σ(独立収縮波)/全収縮波で算出した。

結果

1. 回腸IMCの95/116(81.6%)が回盲部を超え大腸へと伝播した。

2. 表1に示すように、収縮波群の発生頻度は口側結腸で高く、持続時間は肛門側で長い。両者の積であるMIは肛門側へいくに従って高い値を示した。また、colon 1における収縮波群の発生頻度は2.5cycle/hrで小腸IMC(0.6 cycle/hr)の約4倍であった。

3. 大腸各部位のIIはcolon 1で70~80%と最も高い値を示し、colon 4でそれに次いでいた。すなわち大腸起始部に最大のペースメーカーが、次いで直腸近辺に第2のペースメーカーの存在が示唆された。

4. colon 1に発生した収縮波群のうち138/171(80.7%)がcolon 3まで到達する伝播性収縮波群であった。

まとめ

上部消化管IMCは100%順行性であるのに

対し、結腸起始部の大腸収縮波群の発生頻度はIMCの約4倍で、肛門側への伝播率は80%に留まった。したがって、IMCに同期して大腸へ流入した腸内容を順次肛門側へ運搬するCMMCが大腸運動の主体であるが、20%のNMMCが腸内容の攪拌と吸収に作用していると推察される。今回の検討では肉眼的判定によるパターン分類とMI・IIの分析に終わったが、MI・IIともにコンピューター解析(Parkerら: 1987)による客観的、定量的評価が必要である。

文 献

康 謙三ら(1984). 筋電図, メカノグラムによる con-

scious dogの24時間大腸運動の記録と消化管ホルモンの作用について. 日平滑筋会誌 20: 363-365.

康 謙三, 安富正幸(1986). 特集IV 腸管運動と括約筋機能を中心に. 大腸肛門誌 39: 819-929.

Parker, R. et al. (1987). Patten-recognition program for analysis of colon myoelectric and pressure data. Dig. Dis. Sci. 32: 953-961.

Quigley, E.M. et al. (1984). Distinctive patterns of interdigestive motility at the canine ileocolonic junction. Gastroenterology 87: 836-844.

Sarna, S.K. et al. (1984). Colonic migrating and nonmigrating motor complexes in dogs. Am. J. Physiol. 246: G355-360.

腸コリナージック神経活動に対するムスカリンの作用と 内因性プロスタグランジン

大阪府立大学農学部 家畜薬理

竹 内 正 吉, 木 川 晋 一, 矢ヶ崎 修

緒 言

モルモット回腸壁内神経叢において、コリン作動性神経の終末にムスカリン受容体が存在し、acetylcholine (ACh) 放出を抑制することが知られている(Kilbinger, 1977)。近年、ムスカリン作動薬の適用により神経細胞体が興奮することが示され(Morita et al., 1982)、また、ムスカリン受容体の活性化によりACh放出が増加するとの報告がなされた(Kilbinger, 1984)が、この受容体の性質やそのACh放出作用については、ほとんど検討されていない。そこで、ムスカリン受容体を介するACh放出の性質を詳細に調べ、ニコチン受容体刺激時のACh放出と比較検討した。内因性プロスタグランジン(PGs)は、受容体を介する刺激によるACh放出を調節している(Yagasaki et al., 1984)。そこで、ムスカリン受容体の刺激によるACh放出にも内因性PGsが関与しているかを、あわせて検討した。

方 法

壁内神経叢が付着した回腸縦走筋標本を $[^3\text{H}]$ choline ($10 \mu\text{Ci}$)を含む 37°C 、 $\text{O}_2\text{-CO}_2$ 通気下のタイロード氏液内に懸垂し、30分間電気刺激を行なうことにより $[^3\text{H}]$ cholineを取込みました後、Hemicolinium-3を含むタイロード氏液で60分灌流し、余剰の $[^3\text{H}]$ cholineを除去した。このような標本を用い、各種刺激により浴液中に放出される $[^3\text{H}]$ 量をシンチレーションカウンターにより測定した。Muscarine (Musc)により放出された $[^3\text{H}]$ 量の約85%は $[^3\text{H}]$ AChであることは確認した。

結 果

Muscは $1\text{-}100 \mu\text{M}$ の範囲で濃度依存性に $[^3\text{H}]$ 放出を生じた(図1)。Musc $100 \mu\text{M}$ による $[^3\text{H}]$ 放出量はnicotine (Nic, $61.6 \mu\text{M}$)による放出量の約4倍であった。このMusc ($100 \mu\text{M}$)誘発性 $[^3\text{H}]$ 放出はatropine ($1 \mu\text{M}$)及

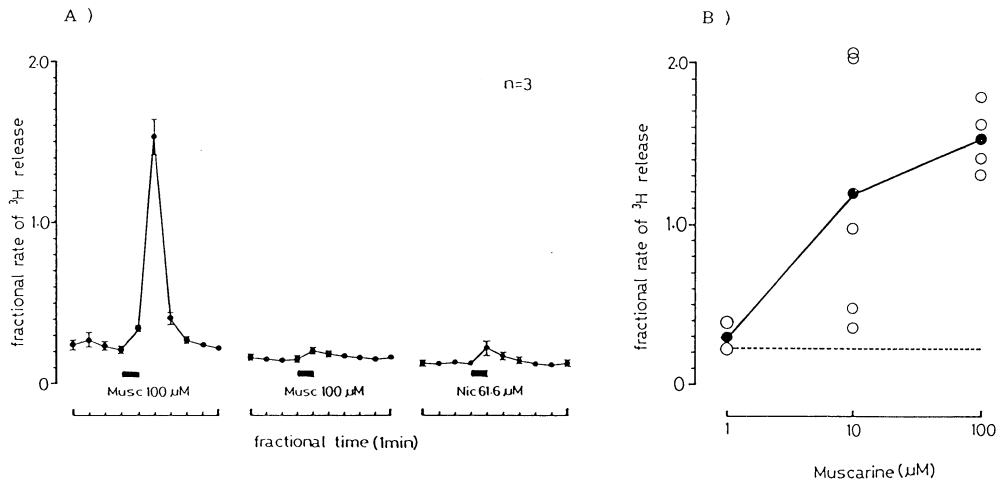


図1. A) Muscarine によるモルモット回腸壁内神経叢からの ^3H 放出
縦軸は各フラクションで放出された ^3H 量をそのフラクションに存在する全 ^3H 量で割った値 (fractional rate) を, 横軸は1分毎のフラクショナルタイムを示す. 黒バーは muscarine (100 μM) または, nicotine (61.6 μM) 処置を示す. 刺激は24分間隔で行ない, 刺激5分後より15分間標本を灌流した. 各値は, 平均値とS.E.を示す.
B) ^3H 放出に対する Muscarine の濃度作用曲線
縦軸は, A) と同じで ^3H 放出のフラクショナルレートを, 横軸は muscarine の濃度を示す. 黒マルは, 各濃度における ^3H 放出の平均を, 白マルは, 各濃度で実際個々の標本より放出された ^3H 放出量を示す. 点線は, 自発性 ^3H 放出の平均値を示す.

び外液 Ca^{2+} 除去により完全に消失したが, tetrodotoxin (TTX, 1 μM) によって完全には抑制されなかった. Hexamethonium (C_6 , 300 μM) では若干の抑制傾向が認められたが, 有意ではなかった. Musc は 10 nM より濃度依存性に再現性ある縦走筋の収縮を生じ, 最大収縮を示した 1 μM でも $[\text{H}]$ 放出をわずかに増加させたにすぎないので, Musc による $[\text{H}]$ 放出は筋収縮作用による二次的なものではないと思われる. Musc は反復投与した場合, 2回目以降 $[\text{H}]$ 放出はみられなかった. 投与間隔を最大 60 分まで延長しても, 放出は認められなかった(図1). 一方, Nic を反復投与した場合には常に同等量の ACh 放出がみられた. Nic 刺激 (61.6 μM) あるいは電気刺激後, Musc (100 μM) 誘発性 $[\text{H}]$ 放出は著しく抑制されたが, Musc (100 μM) 投与後の Nic 及び電気刺激誘発性 $[\text{H}]$ 放出はほとんど影響を受けなかった. このことは, 内因性に放出された ACh によってもムスカリン受容体は脱感作されることを示す. Musc (100 μM) 誘発性 $[\text{H}]$ 放出は PG 合成阻害剤

である indomethacin (IND, 2.8 μM) により有意に抑制され, この抑制は PGE_2 (14.3 nM) により回復した (表1). Musc (1 μM) は電気刺激誘発性 $[\text{H}]$ 放出を抑制したが, この抑制は, IND によりほとんど影響を受けなかった.

表1 Muscarine の ^3H 放出作用の対する内因性 PGs の関与

Effect of IND on muscarine-evoked ^3H release from longitudinal muscle strip

agents	Fractional rate of ^3H release
Muscarine 100 μM	
Control n=3	0.681 \pm 0.240
IND 2.8 μM n=3	0.103 \pm 0.044*
IND 2.8 μM n=3 + PGE_2 5nM	0.305 \pm 0.091**

IND は muscarine 刺激の 30 分前から処置し, PGE_2 はサンプリング溶液内に添加した. * は control との有意差 ($P < 0.05$) を示す. ** は IND 処置との有意差 ($P < 0.05$) を示す.

考 察

モルモット回腸壁内神経叢において, Musc は $[^3\text{H}]$ ACh 放出を増加した. この放出が, atropine や TTX で抑制され, C_6 で抑制されなかったことから, Musc がコリン作動性神経細胞体上のムスカリン受容体を刺激することにより, 作用を示したものと思われる. しかし, $100 \mu\text{M}$ という高濃度においてのみ安定した放出が得られること, また反復興奮性のないことなどから興奮性ムスカリン受容体は興奮しにくく, 脱感作されやすいと考えられる. このムスカリン受容体の脱感作については, 更に詳細な検討が必要である. 内因性 PGs はムスカリン受容体を介した ACh 放出にも重要な調節作用を持つことが示されたが, これは, PGs が受容体を介した刺激による ACh 放出に生理的役割をもつという以前の結論 (Takeuchi et al., 1987) を支持する. しかし, 終末のムスカリン受容体の作用には内因性 PGs の関与は少ないと思われる.

文 献

Kilbinger, H. (1977). Modulation by oxotremor-

ine and atropine of acetylcholine release evoked by electrical stimulation of the myenteric plexus of the guinea-pig ileum. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., **300**:145-151
Kilbinger, H. (1984). Facilitation and inhibition by muscarinic agonists of acetylcholine release from guinea-pig myenteric neurones: mediation through different types of neuronal muscarinic receptors. Trends Pharmacol. Sci. (Suppl.), **5**:49-52

Morita, K., North, R.A. and Tokimasa, T. (1982). Muscarinic agonists inactivate potassium conductance of guinea-pig myenteric neurons. J. Physiol., **333**:125-139

Takeuchi, T., Okuda, M. and Yagasaki, O. (1987). The difference of contribution of endogenous prostaglandins to various agents which induce ACh release from guinea-pig ileum myenteric plexus. Japan. J. Pharmacol., **43**:180P

Yagasaki, O., Funaki, H. and Yanagiya, I. (1984). Contribution of endogenous prostaglandins to excitation of the myenteric plexus of guinea-pig ileum: are adrenergic factor involved? Eur. J. Pharmacol., **103**:1-8

小腸平滑筋の非アドレナリン性抑制性電位に対する カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の作用

山口大学医学部 第一生理

大 川 博 通

はじめに

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は神経ペプチドであり, CGRP 様免疫活性を有する神経が消化管壁に存在することが知られている (Fehér et al, 1986). Maggi ら (1986) は, CGRP がキャプサイシン感受性感覚神経線維から遊離され, この CGRP による腸管平滑筋への直接的な抑制作用と, 非アドレナリン性非コ

リン性 (NANC) 抑制性ニューロンの活性化によって腸管運動が抑制されるという仮説を提唱している.

本実験では, CGRP が NANC 抑制性ニューロンに作用し, 活性化をおこすか否かを, NANC 抑制性電位を細胞内記録して検討した.

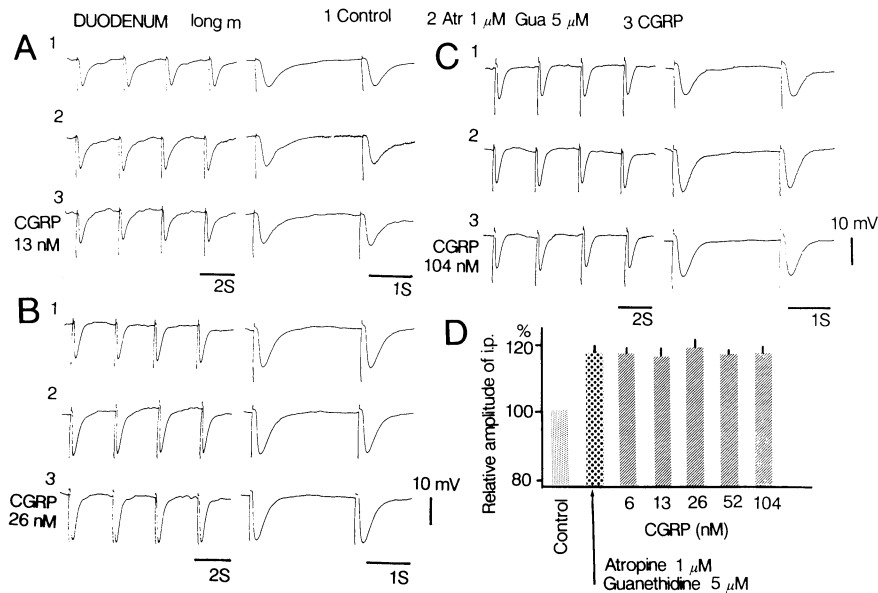


図1. 十二指腸縦走筋の非アドレナリン性抑制性電位に対する CGRP の作用

方 法

モルモット十二指腸および回腸部から全層標本 (3 mm×5 mm) を摘出し、縦走方向の自発性収縮、電気刺激 (10 ms, 20 Hz, 2 秒間, 3 分間隔) による収縮、縦走筋の自発性活動電位及びフィールド刺激 (0.5 ms) によって生ずる NANC 抑制性電位を細胞内記録し、これらに対する CGRP (6-104 nM) の作用を調べた。標本は、CGRP 投与前に、アトロピン 1 μM, グアネシジン 5 μM で処理した。十二指腸部の筋層間神経叢ニューロンの活動性を細胞外記録し、これに対する CGRP (26-104 nM) の効果も検討した。

結 果

十二指腸および回腸標本の自発収縮は CGRP によって軽度の抑制を受け、トーンもやや減少した。Evoked contraction の大きさも CGRP により減少が見られた。

小腸縦走筋の静止膜電位 (-51.5 ± 2.5 mV) は、CGRP 処理中では有意な差は見られなかった。一方、縦走筋の自発性活動電位は CGRP 処理中において、発生の抑制あるいは消失が見ら

れた。十二指腸縦走筋の NANC 抑制性電位に対する CGRP の効果を図1に示してある。NANC 抑制性電位の大きさは、アトロピン処理により、やや増大する (約 120%) が、CGRP (6-104 nM) 投与によっては変化がなかった (図1, D)。回腸縦走筋においても同様な結果が得られた。小腸縦走筋は、正常液中及びアトロピン・グアネシジン処理中において頻回刺激を与えると、持続した NANC 抑制性電位の後に rebound excitation が起こり、活動電位の発生が見られる。CGRP 投与後には、刺激後の脱分極の大きさ及び活動電位の発生が抑制された。

筋層間神経叢ニューロンの活動性を記録し、single spike 活動が得られた。しかし、CGRP は、この活動性に対しては効果がないように思われた。

考 察

CGRP による腸管運動の非アドレナリン性非コリン性抑制 (Maggi et al, 1986; Takaki et al, 1989) が、NANC 抑制性ニューロンの活性化によるものか否かを検討した。結果は上述の如く、自発収縮は NANC 抑制を受けたが、CGRP 処理によっては、NANC 抑制性電位は

その大きさを変えず、また、CGRP-induced NANC 抑制性電位の発生も見られなかった。これらの結果から、CGRP は NANC 抑制性ニューロンの活性化はもたらさないものと推察される。一方、自発性活動電位の抑制や rebound excitation の抑制、evoked contraction の大きさの抑制から、CGRP は小腸平滑筋に対して直接的な抑制作用(non-neurogenic NANC 抑制)をもつものと考えられる。

文 献

Fehér, E., et al. (1986). Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerve fibers in the small intestine of the guinea-pig: electron-

microscopic immunocytochemistry. *Cell Tissue Res.*, **245**: 353-358.

Maggi, C.A. et al. (1986). Extrinsic origin of the capsaicin-sensitive innervation of rat duodenum: possible involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the capsaicin-induced activation of intramural non-adrenergic non-cholinergic neurons. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, **334**: 172-180.

Takaki, M., Jin, J.G. and Nakayama, S. (1989). Possible involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in non-cholinergic non-adrenergic relaxation induced by mesenteric nerve stimulation in guinea pig ileum. *Brain Res.*, **478**: 199-203.

筋間神経叢刺激によるモルモット回腸の収縮に対する capsaicin の抑制効果について

岡山大学医学部 第二生理

金 吉 光, 高 木 都, 中 山 沃

緒 言

近年、組織学および生理学的な研究によりモルモット小腸には capsaicin-感受性の外来性の知覚神経支配が存在すると考えられている。Capsaicin は腸壁内でこの神経の終末から神経ペプチドを遊離させ、結果的に小腸の運動に影響を及ぼすことが知られている (Holzer, 1988)。今回、内在性神経(筋間神経叢)選択的な刺激による上行性収縮反応に対する capsaicin の抑制効果について検討したので報告する。

実験方法

尾側に筋間神経叢の付着した縦走筋層(LM-MP)を残した長さ2-3 cmのモルモットの摘出回腸標本の縦走筋方向の等張性収縮をトランスデューサーで記録した。LM-MPあるいは運動を記録している回腸をフィールド刺激(20 Hz,

0.1 ms, 最大刺激強度, 15 秒間)した。

結果と考察

LM-MP 刺激によって、回腸縦走筋の上行性収縮反応が生じた。この収縮反応は刺激電極と腸管との間で LM-MP を切断、損壊した後に、あるいは tetrodotoxin ($0.2 \mu\text{M}$) の投与後に消失したので、LM-MP の神経組織が選択的に刺激されて起こったものである。一方、直接、回腸のフィールド刺激によって、生じた収縮反応も tetrodotoxin の投与後消失した。

Capsaicin ($0.3\text{--}10 \mu\text{M}$) は濃度依存的に LM-MP 刺激による上行性収縮反応を抑制した (Fig. 1a)。低濃度 ($0.3\text{--}3 \mu\text{M}$) では、同濃度の capsaicin の2回目投与、あるいは実験を行う8-12日前に腸間膜神経を切断し、外来神経を退化させた (denervation) 標本では capsaicin の抑制効果は認められなかった。この capsaicin の抑制効果は外来性の神経を介してひき

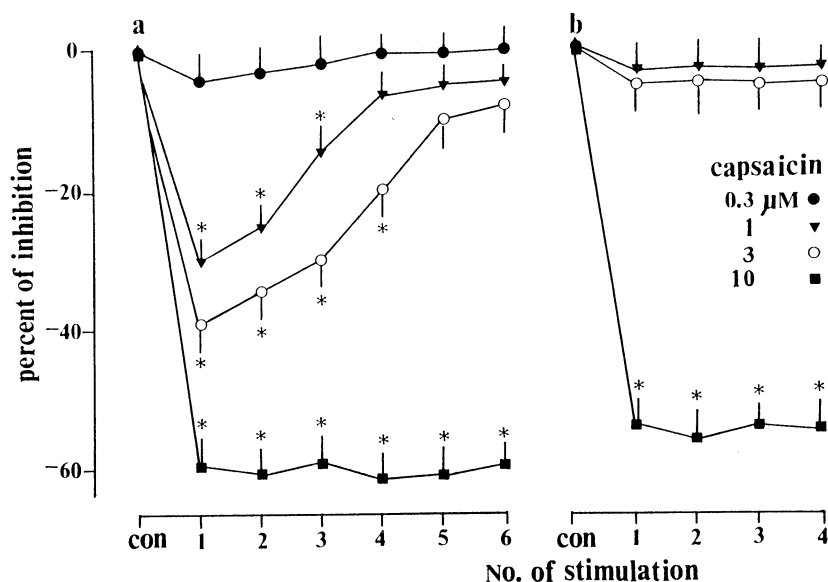


Fig. 1. Inhibitory effect of capsaicin on the contractions evoked by electrical stimulation of the LM-MP (a) and the intact segment (b). The control responses (con) were obtained before administration of capsaicin. Numbers show consecutive trains (5-min interval) of stimulation. * $p < 0.05$, significantly different from control.

起こされたと考えられる。しかし、高濃度 (10 μM) では、2 回目投与、あるいは denervation 標本でも抑制効果が認められたので、高濃度の capsaicin の抑制効果は非特異的な作用によるものであると推測されている (Holzer, 1988)。一方、低濃度の capsaicin は直接、回腸のフィールド刺激によって生じた収縮反応にはほとんど影響を与えなかった (Fig. 1b)。

Ruthenium Red (RR) は神経組織において Ca^{2+} の流入を抑制して、外来性の知覚神経終末からの capsaicin による神経ペプチド遊離を抑制すると報告されている (Maggi ら, 1988)。RR (0.1–3 μM) は LM-MP 刺激による上行性収縮反応自身には有意の変化を与えなかったが、濃度依存的に capsaicin による上行性収縮反応の抑制効果を減少させた (Fig. 2a)。

モルモットの腸管ではカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 含有神経線維は壁内神経叢に分布しているが、その大部分は外来性であると報告されている (Costa ら, 1987)。Capsaicin は外来性の CGRP 線維から CGRP を遊離さ

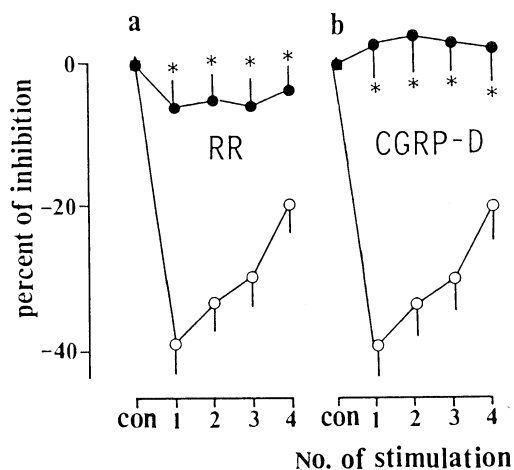


Fig. 2. Effects of Ruthenium Red (RR, 3 μM) and desensitization to CGRP (CGRP-D) on the inhibitory effect of capsaicin. Number and symbols are the same as in Fig. 1.

せ、直接あるいは壁内抑制ニューロンを介して縦走筋の運動を抑制されている (Maggi ら, 1986)。本実験では capsaicin による上行性収縮反応の抑制効果に CGRP が関与

しているかを調べるため, CGRP に対する脱感作 (CGRP-D) を用いた。CGRP-D は LM-MP 刺激による上行性収縮反応自身には有意の効果を示さずに, capsaicin による上行性収縮反応の抑制効果をほとんど完全に消失させた (Fig. 2b)。

結 論

以上の結果から, 筋間神経叢刺激による上行性収縮反応に対する capsaicin の抑制効果には外来性神経からの CGRP の遊離が関与しており, RR はこの遊離を阻害して, capsaicin の作用を抑制すると推測される。

文 献

Costa, M., Furness, J.B. and Liewllyn-Smith, I.J. (1987). Histochemistry of the enteric nervous system. in *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 2nd edn. L.R. Johnson ed. (Raven Press, New York).

Holzer, P. (1988). Local effector function of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*. **24**: 739-768.

Maggi, C.A., Manzini, S., Giuliani, S., Santicioli, P. and Meli, A. (1986). Extrinsic origin of the capsaicin-sensitive innervation of rat duodenum: possible involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in the capsaicin-induced activation of intramural non-adrenergic non-cholinergic neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **334**: 172-180.

Maggi, C.A., Santicioli, P., Geppetti, P., Parlani, M., Astolfi, M., Predelles, P., Patacchini, R. and Meli, A. (1988). The antagonism induced by Ruthenium Red of the action of capsaicin on the peripheral terminals of sensory neurons: further studies. *Eur. J. Pharmacol.* **154**: 1-10.

モルモット回腸筋間神経叢の 5-HT ニューロンの機能的な極性

岡山大学医学部 第二生理

金 吉 光, 祢 屋 俊 昭, 中 山 沃

結 言

免疫組織学的手法によりモルモットの腸管には 5-hydroxytryptamine (5-HT) を含むニューロンが存在する。また, このニューロンは筋間神経叢で長い尾側への投射をしているとの報告がある (Costa ら, 1982)。本実験では, 選択的筋間神経叢刺激によって引き起こした上行性と下行性の輪走筋収縮を指標として, 種々の 5-HT の受容体拮抗薬を用いて, 5-HT ニューロンの機能的極性が組織学的極性と一致するかどうかを検討した。

実験方法

長さ約 3 cm の摘出モルモット回腸片で, 中

央部 (約 1 cm) のみ筋間神経叢の付着した縦走筋層 (LM-MP) を残して, 他の層を剥脱し, 両端部は無傷の標本を作成し, 使用した。両端部の無傷部分の輪走方向の等張性収縮をトランスデューサーで記録し, LM-MP をフィールド刺激 (20 Hz, 0.2 ms, 最大刺激強度) で 15 秒間刺激した。

結果と考察

LM-MP 刺激によって, 両端部の無傷部で上行性と下行性収縮反応が生じた。刺激電極と記録部位との間で LM-MP を切断, 損壊, あるいは tetrodotoxin (0.2 μ M) を投与した後は, これらの収縮反応は消失したので, 上行性および下行性収縮は LM-MP の神経組織が選択的

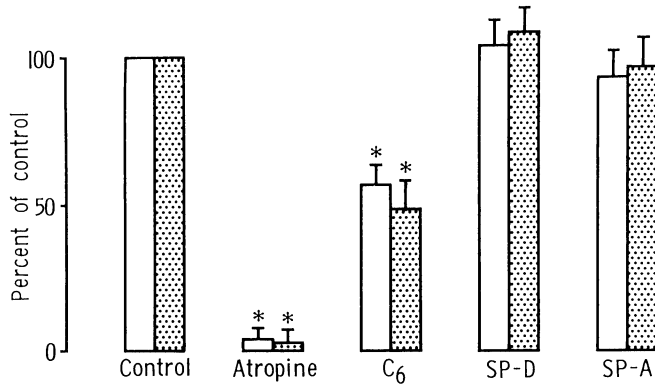


Fig. 1. Effects of atropine, hexamethonium (C₆) desensitization to substance P (SP-D) and SP antagonist, (D-Pro⁴, D-Trp^{7,9})-SP (SP-A) on the ascending (white bars) and descending contractions (dotted bars). *p<0.05. Significantly different from control.

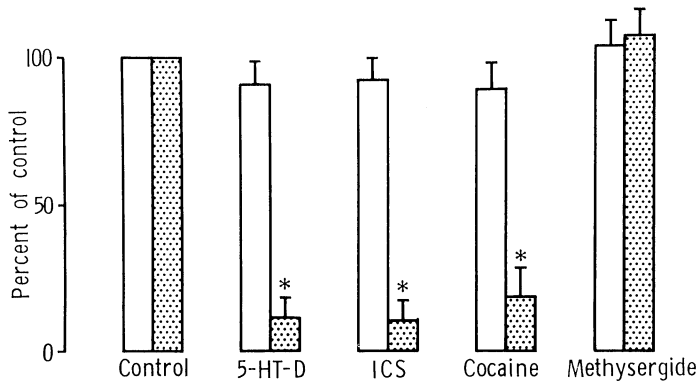


Fig. 2. Effects of desensitization to 5-HT (5-HT-D), ICS 205-930 (ICS), cocaine and methysergide on the ascending (white bars) and descending contractions (dotted bars). *p<0.05. Significantly different from control.

に刺激されて起こったものであり、電気刺激された部位の LM-MP から遊離されたトランスミッターが拡散して、運動を記録している腸管を収縮させたのではないことは明らかである。

図 1 で示すように、上行性あるいは下行性収縮反応は、atropine (1 μ M) で消失した。それ故、これらの収縮反応はムスカリン受容体を介するコリン性収縮であることが示唆される。Hexamethonium (10 μ M) で処理した後、上行性あるいは下行性収縮反応はいずれも約 30% 抑制されたが、P 物質に対する脱感作 (SP-D) あるいは P 物質の拮抗薬 (SP-A), (D-Pro⁴, D-Trp^{7,9})-substance P ではいずれの収縮反応も

全く影響を受けなかった (図 1)。

上行性及び下行性の興奮性神経路での 5-HT ニューロンの関与を調べるため、種々の 5-HT 受容体の拮抗薬を使用した。その結果、神経組織に存在する 5-HT 受容体をブロックすると言われている ICS 205-930 (Richardson ら, 1985) 及び cocaine (Fozard ら, 1979) はそれぞれ濃度 1 μ M で、下行性収縮反応を著明に抑制 (約 90%) し、上行性収縮反応にはほとんど抑制 (約 10%) しなかった (図 2)。一方、筋組織に存在する 5-HT 受容体のみをブロックする (Costa ら, 1979) と言われている methysergide (0.2-10 μ M) 投与後には下行性及び上行性

いずれの収縮反応も影響を全く受けなかった(図2). 5-HT に対する脱感作によっては神経と筋肉組織に存在する 5-HT 受容体がブロックされると報告されている(Brownlee ら, 1963). 5-HT 受容体を脱感作(5-HT-D)した後には下行性収縮反応は ICS 205-930 あるいは cocaine のように強く抑制されたが, 上行性収縮反応はほとんど影響を受けなかった(図2).

下行性収縮反応は Atropine で消失され, 神経性 5-HT 受容体の拮抗薬で抑制されたので, 5-HT ニューロンは下行性興奮性神経路の介在ニューロンとして働くと考えられる。

結 論

筋間神経叢の 5-HT ニューロンの形態的な極性分布(下行性投射)が機能的極性に反映されている。5-HT ニューロンは輪走筋を支配する下行性の興奮性神経路で, 介在ニューロンとしてコリン性ニューロンに促進性入力を送っていることを示唆している。

文 献

- Brownlee, G. and Johnson, E.S. (1963). The site of the 5-hydroxytryptamine receptor on the intramural nervous plexus of the guinea pig isolated ileum. *Br. J. Pharmacol.* **21**: 306-322.
- Costa, M. and Furness, J.B. (1979). The sites of action of 5-HT in nerve muscle preparations from the guinea pig small intestine and colon. *Br. J. Pharmacol.* **65**: 237-248.
- Costa, M., Furness, J.B., Cuellar, A.C., Verhofstad, A.A.J., Steinbusch, H.W.J. and Elde, R.P. (1982). Neurons with 5-hydroxytryptamine-like immunoreactivity in the enteric nervous system: their visualization and reactions to drug treatment. *Neuroscience*. **7**: 351-363.
- Fozard, J.R., Mobarok, A.T.M. and Newgrosh, G. Blockade of serotonin receptors on autonomic neurons by (-)-cocaine and some related compounds. *Eur. J. Pharmacol.* **59**: 195-210.
- Richardson, B.P., Engel, G., Donatsch, P. and Stadler, P.A. (1985). Identification of serotonin M-receptor subtypes and their specific blockade by new class of drugs. *Nature*, **316**: 126-131.

腸管壁内神経組織異常疾患における免疫組織化学的検討

慶応義塾大学医学部 外科

広 部 誠 一, 横 山 稷太郎, 遠 藤 昌 夫
松 藤 凡, 原 真 一, 田 村 哲 郎
浮 山 越 史

目 的

先天的な腸管運動機能障害を呈する疾患として腸管壁内神経節細胞を欠如する Hirschsprung 病(H 病)が代表的だが, 最近神経節細胞は存在するがその構築にさまざまな異常を認める疾患が報告されるようになった。しかしこれらの疾患の病態はまだ十分に解明されていない。今回われわれは H 病および腸管壁内神経叢の低形性(hypoganglionosis)を呈した症例に

対しその神経組織の構築異常の解析を試みた。marker として神経細胞に特異的な細胞骨格蛋白である Neurofilament (NF) と, 神経終末に局在するシナプス小胞の特異蛋白である Synaptophysin (SY) に対するモノクローナル抗体を用い免疫組織化学的に検討した。

方 法

正常, H 病, hypoganglionosis(症例 1, 2)腸管の新鮮凍結切片を作成し間接法による免疫組

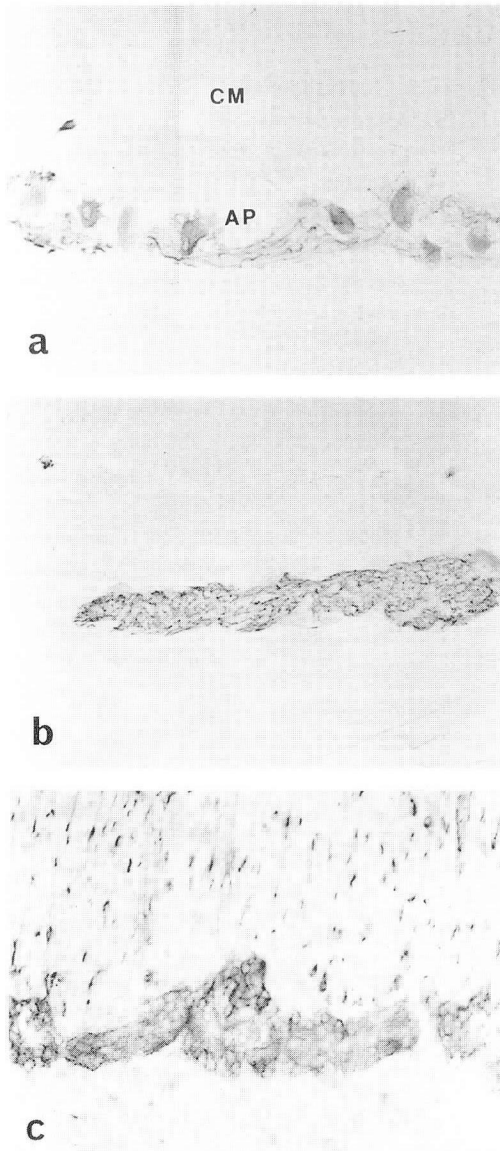


図1 正常腸管における局在 (a NR4, b 2F11, c SY38)

組織染色を行ない光顕にて観察した。用いたモノクローナル抗体は、NF に対しては clone NR4, 及び 2F11 の 2 種類を用い対比した。SY に対しては clone SY38 を用いた。

結 果

1. 正常腸管

a. NF の局在: NR4 では Meissner (以下

M), 及び Auerbach (以下 A) 神経叢内の神経節細胞体の核周囲の細胞質全体及び神経線維に局在を示すが、筋層内、粘膜下織の神経叢以外の部位の神経線維にはほとんど局在を認めなかった (図 1a)。2F11 では M 及び A 神経叢内では、神経節細胞周囲の神経線維に豊富な局在を示した。また筋層内、粘膜下織、粘膜筋板の神経線維にも局在を認めた (図 1b)。

b. SY の局在: M 及び A 神経叢内に豊富な局在を認め、筋層、特に内輪筋層に斑点状の豊富な局在を認めた (図 1c)。

2. H 病無神経節部

a. NF の局在: NR4, 2F11 により共に筋層、筋層間、粘膜下織の太く増生した神経線維束に豊富な局在を認めた (図 2a)。また 2 つの抗体間で染色性、分布に差を認めなかった。

b. SY の局在: 筋層特に内輪筋層に斑点状に局在を認め、粘膜筋板、血管周囲にも局在を認めた。その分布は正常対照と同程度であった (図 2b)。

3. 症例 1

a. NF の局在: NR4, 2F11 の 2 つの抗体間で染色性に差を認め、NR4 では低形成の A 神経叢内での染色性が著しく減弱していた (図 2c)。2F11 では、低形性の A 神経叢での染色性は保たれ、筋層や粘膜下織の神経線維での染色性も正常対照と差を認めなかった (図 2d)。

b. SY の局在は、低形性の A, M 神経叢内、筋層内に認め正常対照と同様の染色性を示した。

4. 症例 2

a. NF の局在: NR4, 2F11 とともにその染色性は、A, M 神経叢内、筋層、粘膜下織の神経節細胞、神経線維において非常に乏しかった (図 2e)。

b. SY の局在は、低形性の A, M 神経叢内に認めるが、筋層内では認めなかった (図 2f)。

考 案

モノクローナル抗体は抗原分子上の限局した部位にしか結合しないため、それを用いた組織化学により、その抗原分子の構造変化が端的に

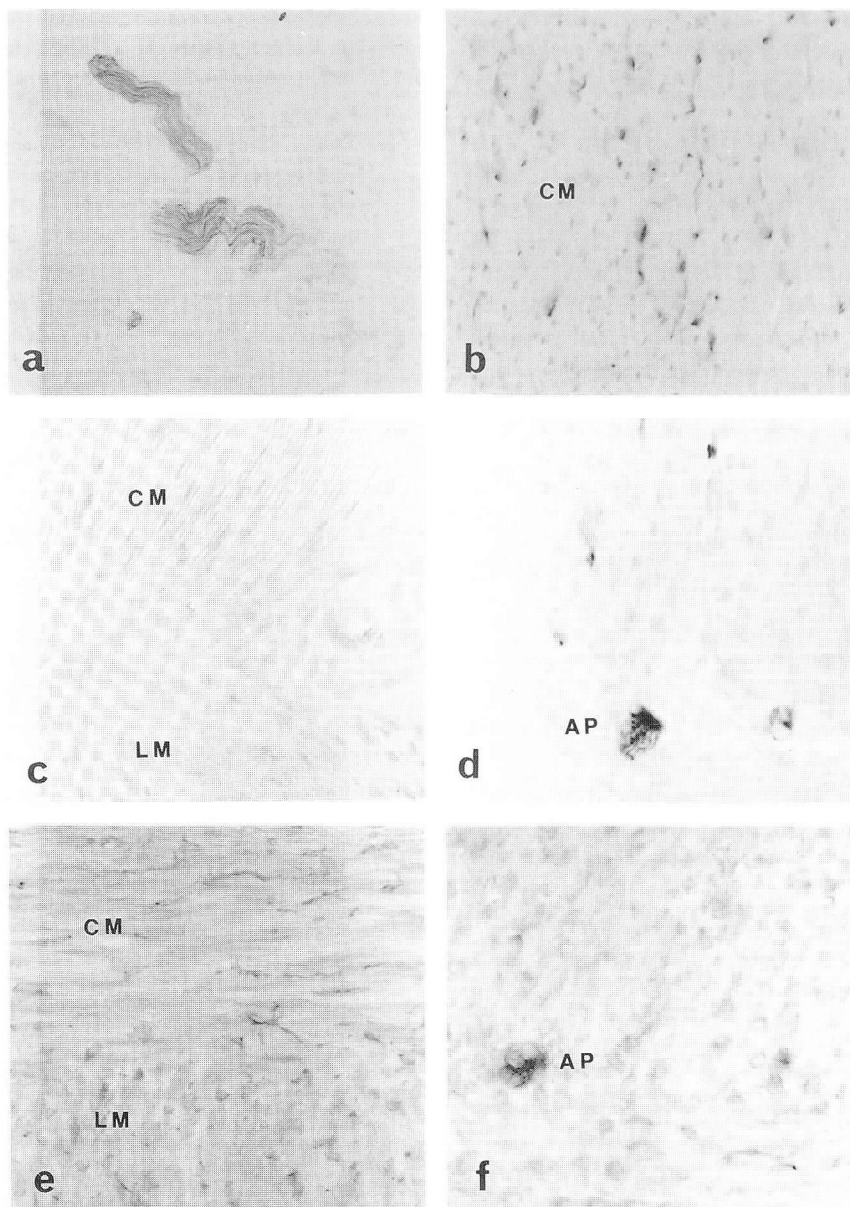


図2 a, b. H病無神経節腸管における局在 (a NR4, b SY38)
 c, d. 症例1における局在 (a NR4, b 2F11)
 e, f. 症例2における局在 (a 2F11, b SY38)

その染色性に反映されると考えられる。H病では、無神経節腸管での増生神経線維に正常では遠位側の神経線維に局在しないNR4の局在を認めた事は、増生神経線維でのNFの量的のみならず質的な増生変化を反映していると思われる。SYの局在を無神経節腸管の筋層に認めた

ことはそこにシナプス小胞を有する神経終末部の存在を示唆していると思われる。hypoganglionosis病では、症例1ではNR4, 症例2ではNR4, 2F11の認識している抗原分子の構造異常が示唆され、これらの疾患ではさまざまなNFの構造異常が関与していると思われる。SY

に関する検討では、SY38の局在を筋層内に症例1では認めたが症例2では認めず、神経終末部の構造異常も症例2では関与していることが示唆された。

文 献

1. Bishop, A.E., et al. (1985). Combined immunostaining of neurofilaments, neuron specific enolase, GFAP and S-100. A possible means for assessing the morphological and functional status of the enteric nervous system. *Histochem.* 82: 93-97.
2. Wiedermann, B., Franke, W.W. (1985). Ident-

tification and localization of Synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. *Cell.* 41: 1017-1028.

3. Debus, E., et al. (1983). Monoclonal antibodies specific for GFA protein and for each of the neurofilament triplet polypeptides. *Differen.* 25: 193-203.
4. Klick, P., et al. (1984). Hirschsprung's disease studied with monoclonal antineurofilament antibody on tissue section. *Lancet.* 1: 652-654.

ラット腸管の pull through 手術による 交感・副交感神経の変化について

杏林大学医学部 小児外科・第一外科*

荏 澤 融 司, 伊 藤 泰 雄, 薩摩林 恭 子
松 井 香津子*

はじめに

小児外科領域では Hirschsprung 病や鎖肛など上位の腸管を肛門部まで引き降ろす、いわゆる pull through 手術をしばしば経験する。これらの疾患の手術成績は主に臨床の評価および直腸肛門反射の有無などの点から検討されてきた。今回は直腸肛門反射に密接な関係を持つ交感・副交感神経系の変化を検討する目的でラットを用いて実験的検討を行った。

方 法

エーテル麻酔下に体重 140~200 g の Wistar 系雄性ラット (n=7) を開腹し、肛門から結腸中央部(下腸間膜動脈の支配領域)まで摘出した。残った結腸の口側端を上腸間膜動脈を栄養動脈とし、肛門まで引き降ろし経肛門的に吻合した。手術後約 1 年、体重 400~500 g となった時点で、エーテル麻酔下に直腸肛門内圧検査を行った後、直腸肛門部を摘出した。内圧検査は

8 French size の側孔を持ったチューブを使用、10 ml/hr の constant infusion 法にて測定した。対象として体重 400~500 g の同系ラットを用いた。交感神経はグリオキシール酸を用いたカテコールアミン蛍光染色(Torre, 1976)、副交感神経は Karnovsky-Roots (1964) によるアセチルコリンエステラーゼ染色を行い、組織化学的に検討した。

結 果

(1) 直腸肛門内圧検査: 肛門縁より 0.3 cm の部位から、律動波 (30 Hz) を伴う高さ約 15 cm H₂O の高圧帯が存在し、内肛門括約筋の位置を示した。内肛門括約筋の位置にカテテル先端を留置し、口側のバルーンを拡張刺激 (0.8 ml) すると定型的な直腸肛門反射が出現した。一方、pull through 手術後のラット肛門部では律動波の周期は対象に比べ遅く (12~18 Hz)、口側バルーンの拡張刺激にて 1 例のみに律動波の休止を認めたが、他はいずれも無反応であっ

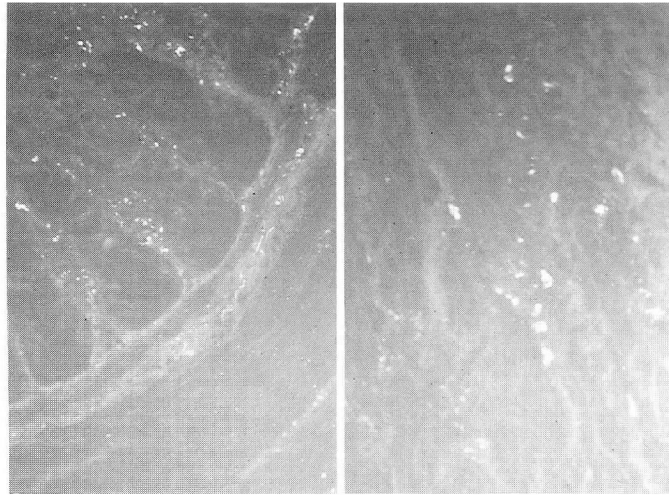


図-1 カテコールアミン蛍光染色

(左) 対象ラットの結腸中央部、(右) pull through 手術後の肛門部：対象ラットに比べ手術後、肛門部に位置を移された腸管ではカテコールアミン蛍光が著明に増加している。

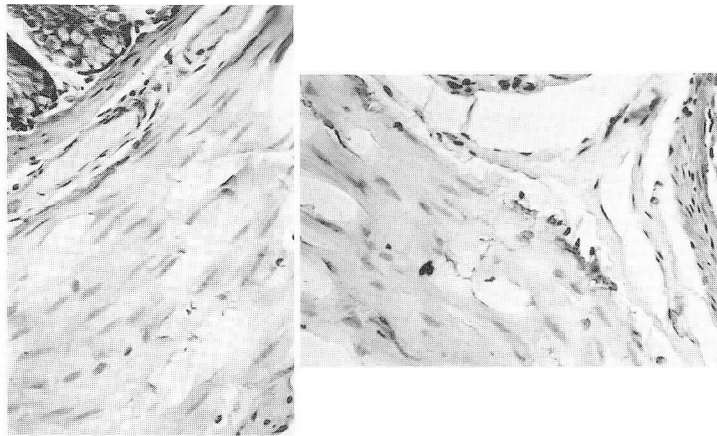


図-2 アセチルコリンエステラーゼ染色

(左) 対象ラットの結腸中央部、(右) pull through 手術後の肛門部：手術後では筋層内にも陽性線維を認める。

た。

(2) カテコールアミン蛍光染色 (図-1)：対象ラットの結腸中央部ではカテコールアミン蛍光陽性は粘膜内、Meissner 神経叢、Auerbach 神経叢に認めた。しかし筋層内には明らかな蛍光は認めなかった。pull through 手術後の肛門部の筋層（手術前は結腸中央部に位置）では対象ラットの結腸中央部や内肛門括約筋に比較してカテコールアミン蛍光が著明に増加していた。

(3) アセチルコリンエステラーゼ染色 (図-2)：対象ラットの結腸中央部では粘膜下、筋層間にアセチルコリンエステラーゼ陽性線維を認めたが、筋層内には明らかな陽性線維は認めなかった。pull through 手術後の肛門部（手術前の結腸中央部）では筋層内にも陽性線維を認める例もあった。

考 察

直腸を伸展すると内肛門括約筋が弛緩する現

象は直腸肛門反射として知られる。この反射には壁内神経系と仙骨神経が関与しているとされる(猪原, 1984)。Hirschsprung 病などの手術後, pull through した腸管の肛門部で直腸肛門反射が陽性化する例がある(勝俣, 1980)。正常の直腸肛門反射には仙骨神経が関与していることから手術後の反射陽性化と仙骨神経の関係は興味深く、手術後の腸管に外来神経が innervation するか否かが問題となる。今回の実験からラットの内肛門括約筋部は結腸中央部に比べ、交感・副交感神経の支配が豊富であることが認められた。一方, pull through 手術により肛門部に位置を移された腸管でカタコールアミン蛍光の増加, アセチルコリンエステラーゼ陽性線維の増加など内肛門括約筋に類似した変化を認めた。このことは pull through された腸管への外来神経の re-innervation の可能性を示唆す

るとも考えられる。今後更に機能的な面での検討を加えたい。

文 献

- 猪原則行, 高比良英輔(1984)。内括約筋の電気活動からみた肛門内圧の制御機構。日本平滑筋誌 20: 123-135
- Karnovsky M.J. & Roots L. (1964). A direct coloring thiocholine method for cholinesterase. J. Histochem. Cytochem. 12: 219-221
- 勝俣慶三ら(1980)。Hirschsprung 病の pitfalls。小児外科 12: 625-630
- Torre J.C. & Surgeon J.W. (1976). A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique: The SPG method. Histochemistry. 49: 81-93

イヌの口腔・咽頭壁の化学的刺激および上喉頭神経の求心性刺激による胆汁排出

川崎医科大学 第二生理

古 川 直 裕, 岡 田 博 匡

はじめに

胆汁の排出は腸相において CCK を介して促進されることはよく知られているが、最近、それに先行した胆汁の排出が報告されている(Fisher et al., 1986; Mathie et al., 1987)。しかし、腸相以前における胆汁排出の調節機構に関してはあまり報告がない。今回、我々は口腔・咽頭領域の化学的刺激で胆汁排出が促進されることを見出したので報告する。

方 法

実験にはケタミン (10 mg/kg, i.m.)・クロロコース (50 mg/kg, i.v.) 麻酔イヌ 15 頭, ケタミン・除脳イヌ 13 頭を用い、ガラミン投与・人工呼吸下に実験した。口腔・咽頭壁刺激は 50 ml

の種々の溶液を口から注入し、頸部食道に通したカニューレから排出させることによって行い、上喉頭神経の求心性刺激としては持続 1 msec, 1-2 V, 主に 20 Hz の矩形波電気刺激を約 3 分間与えた。胃幽門括約部は粘膜下に結紮した。20 頭では Oddi 括約部を通しての Tyrode 液の持続灌流圧と胆嚢内圧、および十二指腸の輪状筋方向の運動 (strain gage 法) を同時に描記した。また、他の群 8 頭では胆嚢内圧と同時に、Vater 乳頭部に縫着したキャップにより採取した胆汁を光電式滴数計に導いて胆汁排出量を測定した。

結 果

1-2 M の食塩水, 0.05-1 N の塩酸による口腔・咽頭壁の化学的刺激により、潜時 0.5-1 分間

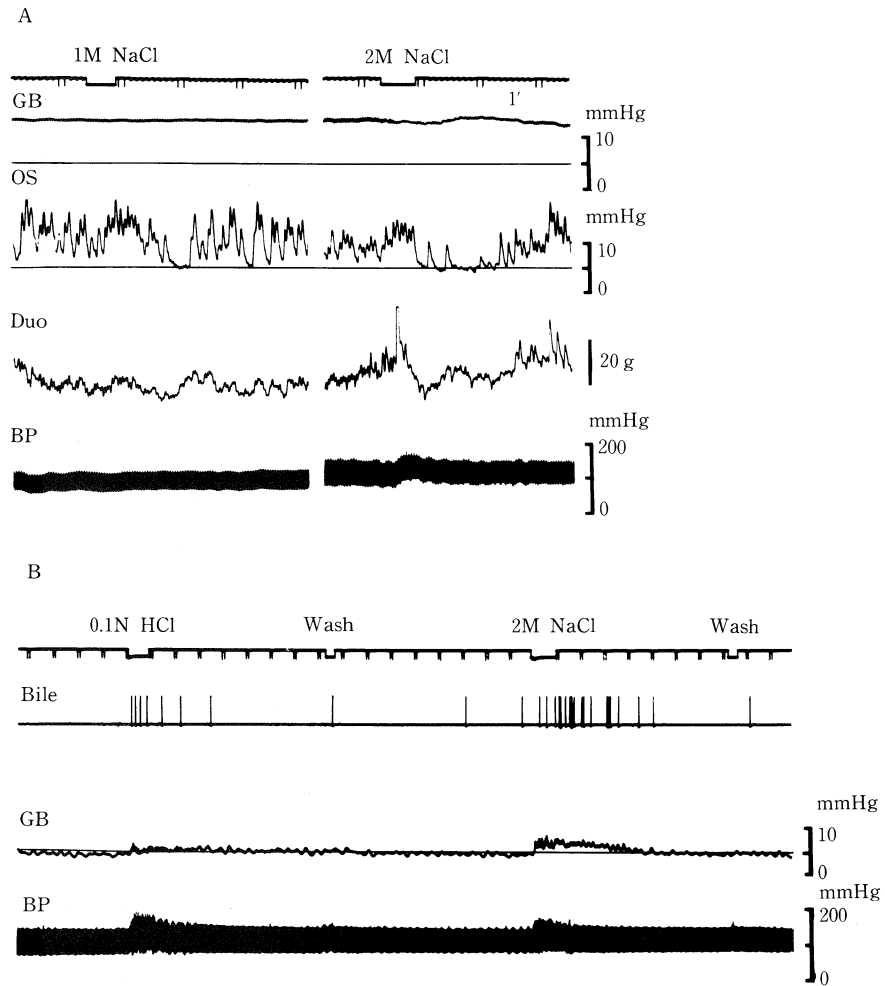


図1. 口腔・咽頭壁の化学的刺激による Oddi 括約部の弛緩反応と胆汁排出増加反応
 A. 食塩水による口腔・咽頭壁刺激で誘発された Oddi 括約部の弛緩反応。麻醉イヌ。
 B. 口腔・咽頭壁の化学的刺激による胆汁排出増加反応。除脳イヌ。
 GB: 胆嚢内圧, OS: Oddi 括約部の持続灌流圧, Duo: 十二指腸の輪状筋方向の運動, BP: 大腿動脈圧, Bile: Vater 乳頭部から排出された胆汁の滴数 (1 滴 15 μ l).
 Wash は水 100 ml の注入を示す。時標は 1 分。
 A 右, 2 M の食塩水注入では胆嚢内圧が軽度上昇していることに注意。

で 1-2 分間の Oddi 括約部の収縮頻度の減少と基礎圧の下降が引き起こされた。胆嚢内圧は同刺激により軽度の上昇を示す場合と、変化の認められない場合があった。同刺激により胆汁の排出は著明に増加した。水・Tyrode 液, 50% Glucose 溶液, あるいは 0.05 M 硫酸キニーネ溶液による刺激では両運動, あるいは胆汁の排出には変化が認められなかった。頸髄 (C3-C4) 切断動物においてもこれらの反応は認められ、横

隔膜直上部での迷走神経切断により完全に消失した。アトロピンの投与後には胆嚢の促進反応は消失したが、軽度の Oddi 括約部の弛緩反応がなお残存した。胆汁の排出促進はほとんど認められなくなった。また、これらの反応は舌咽・反回神経の切断後にも認められ、上喉頭神経の切断により消失した。さらに、舌・舌咽・反回神経の求心性刺激も試みたが、これらの刺激では両運動に変化は見られなかった。上喉頭神経

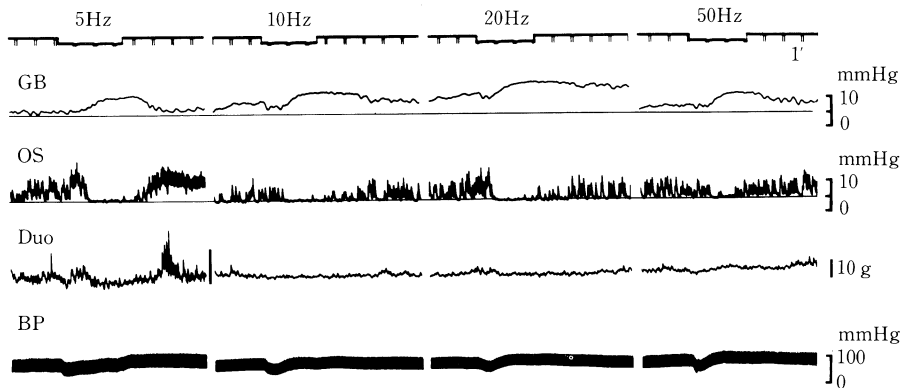


図2. 上喉頭神経の求心性刺激による胆嚢内圧上昇とOddi括約部運動の抑制反応(刺激頻度効果)
 麻酔イヌ、頸髄をC3-C4で切断してある。他の説明は図1と同じ。
 5-20 Hzの刺激頻度では反応の大きさはあまり変わらないが、50 Hzではかえって反応が小さくなった。

の求心性刺激によっては、1-1.5分の潜時で胆嚢内圧の上昇とそれに同期したOddi括約部の運動抑制が認められ、胆汁の排出も著明に増加した。これらの反応も頸髄切断動物では認められたが、両側頸部迷走神経切断により完全に消失した。アトロピン投与の効果も口腔・咽頭壁の化学的刺激の場合と同様であった。

考 察

今回の実験で、口腔・咽頭壁の化学的刺激により、迷走神経を介した胆嚢内圧の上昇と、Oddi括約部の運動抑制が発現し、胆汁排出が起こることが示された。この胆嚢内圧上昇はアトロピン投与により消失したが、Oddi括約部の運動抑制は依然として残存した。しかし、アトロピン投与後にはOddi括約部の運動が減少してしまうことや、胆汁の排出の増加がほとんど起こらなくなる事から、Oddi括約部の運動抑制にはコリン性の促進性線維の活動減少による抑制の関与も否定できない。また、今回は消化管ホルモンの測定は行っていないが、迷走神経切断で反応が完全に消失することから、少なくともCCKの関与は考えにくい(Adrian et al., 1983)。胆嚢内圧とOddi括約部の運動についての交感神経の作用についてはPersson (1973)のネコでの報告があるが、今回の実験では明らかにされていない。

結 論

この実験で、イヌの口腔・咽頭壁の化学的刺激により上喉頭神経を求心路とし、迷走神経を遠心路とした胆嚢内圧の上昇とOddi括約部の弛緩反応が引き起こされ、胆汁の排出が起こることが明らかにされた。

文 献

- Adrian, T.E., Bloom, S.R. and Edwards, A.V. (1983). Neuroendocrine responses to stimulation of the vagus nerves in bursts in conscious calves. *J. Physiol.* **344**: 25-35.
- Fisher, R.S., Rock, E. and Malmud, L.S. (1986). Gallbladder emptying response to sham feeding in humans. *Gastroenterology* **90**: 1854-1857.
- Mathie, R.T., Plail, R.O. and Stubbs, R.S. (1987). Pressure changes in canine gall-bladder associated with emptying. *J. Physiol.* **393**: 545-554.
- Persson, C.G.A. (1973). Dual effects on the sphincter of Oddi and gallbladder induced by stimulation of the right great splanchnic nerve. *Acta Physiol. Scand.* **87**: 334-343.

胆汁の十二指腸への流入が空腹期消化管運動におよぼす影響

長崎大学医学部 第二外科

小 関 一 幸, 阿比留 浩 佳, 塚 本 幹 夫
 太 田 大 作, 杉 本 綱 之, 浦 一 秀
 松 元 定 次, 持 永 信 夫, 角 田 司
 土 屋 涼 一

ウィスコンシン医科大学 外科

S.K. Sarna, R.E. Condon

はじめに

空腹期消化管運動において、通常十二指腸に始まる強収縮運動 (phase III) が回腸末端へと伝播する現象 (Migrating Motor Complex: MMC) と十二指腸への胆汁流入量の変動とは密接な関係があり、十二指腸の phase II の後半に胆汁流入量が増加することが明らかにされている。今回我々は、十二指腸への胆汁流入の有無と MMC 発現との関係について検討した。

方 法

体重 10~15 kg の雑種成犬 4 頭を用いた。全麻下に開腹し、胃前庭部 (幽門輪より 4 cm 近位

側) と総胆管十二指腸接合部レベルの十二指腸 (幽門輪より 4 cm 遠位側) に各々 1 個の strain gauge force transducer (SG) を装着し、幽門輪より 20 cm 遠位側の十二指腸、トライツ靱帯直下、小腸の 25%, 50%, 75%, 及び回腸末端より 20 cm 近位側に各々 1 個の双極電極 (E) を装着した。総胆管を切離し、その両断端より各々 1 本のカテーテルを挿入、体外へ誘導、接続し、内瘻を行なった。約 2 週間の回復期の後、14~16 時間の絶食の上、内瘻時の空腹期消化管運動を記録した。その後、カテーテルの体外接続部をはずし外瘻、即ち、十二指腸への胆汁流入遮断を行ない、MMC の変化を約 3 日間観察し、再び内瘻にもどし、その変化をみた。

内瘻

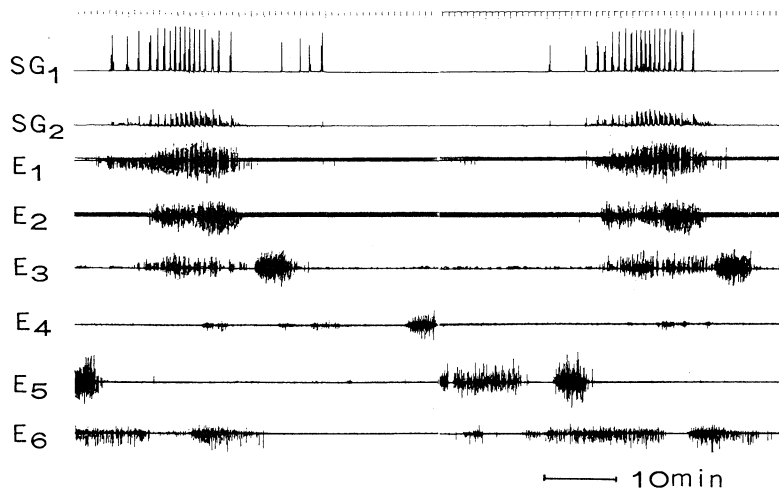


図 1-a. 内瘻時には十二指腸より始まる正常な MMC が認められる。

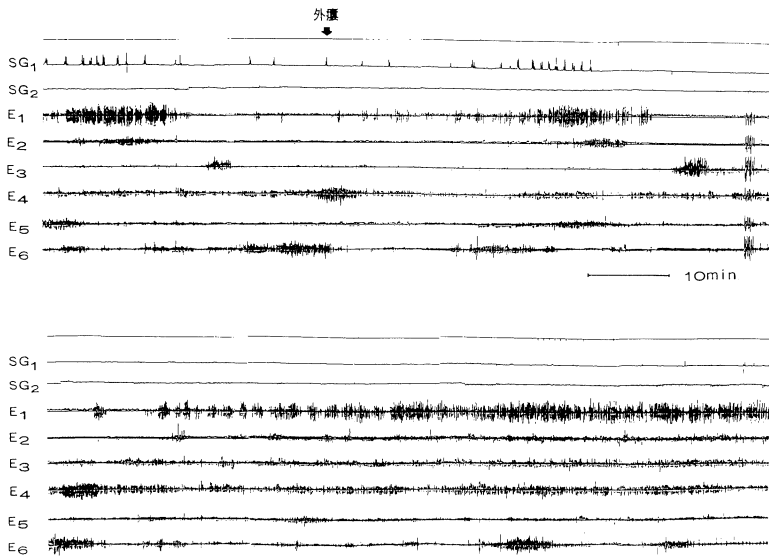


図 1-b. 外瘻後、十二指腸よりの MMC が消失している。

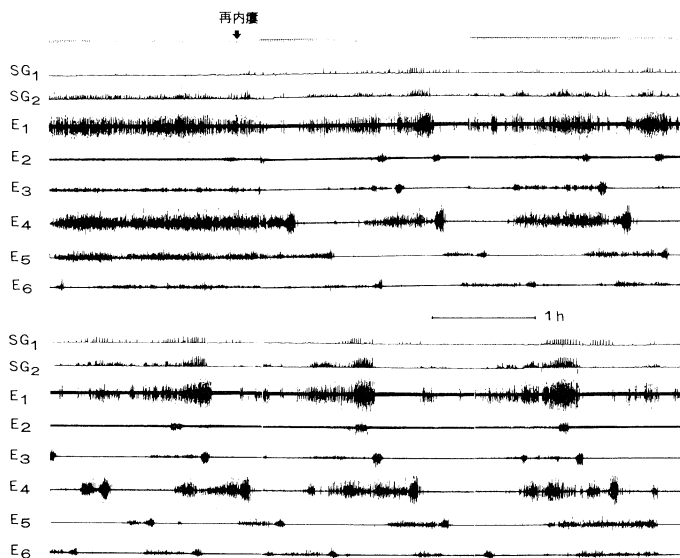


図 1-c. 再内瘻時には十二指腸よりの MMC が再現している。

それに加え、4 頭中 2 頭の犬の胆道外瘻時に自家胆汁、生理食塩水を十二指腸側カテーテルより持続注入 (10 ml/h) し、空腹期消化管運動の変化を観察した。

結 果

1) 内瘻時の空腹期消化管運動 (図 1-a)

内瘻時には、十二指腸より始まる正常な

MMC を認めた。

2) 外瘻時の空腹期消化管運動 (図 2-b)

外瘻当日は、内瘻時に MMC が出現することを確認し、外瘻化を行なった。すべての犬において外瘻化当日に十二指腸よりの MMC は消失した。外瘻開始より最終 MMC までの時間、いわゆる MMC 消失時間は平均 167 分であった。その後は十二指腸よりの phase III は出現

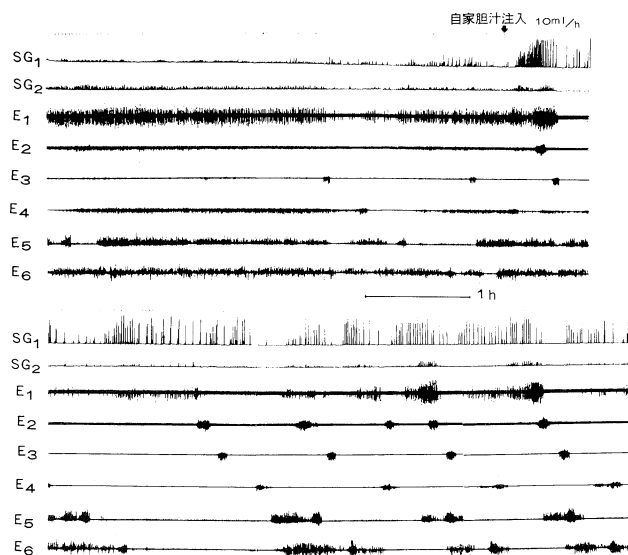


図 2-a. 外瘻時の MMC 消失時期での自家胆汁の十二指腸への持続注入 (10 ml/h) では、十二指腸よりの MMC の出現を認める。

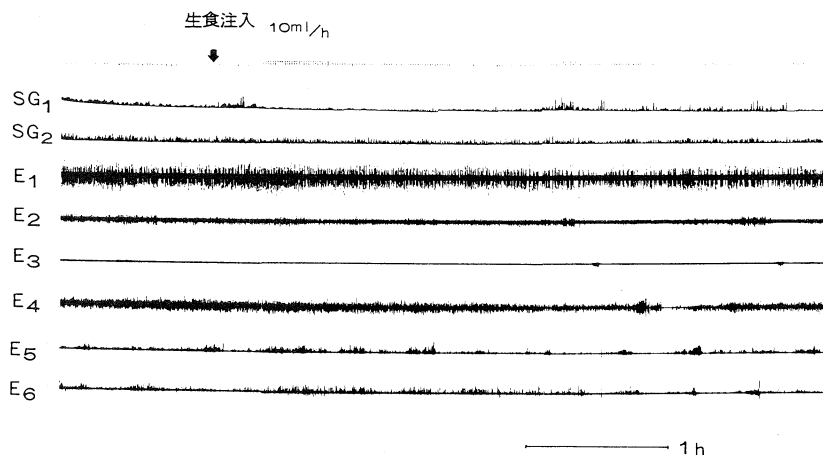


図 2-b. 生理食塩水の持続注入 (10 ml/h) では、MMC は出現しなかった。

せず、ほとんど下部小腸においてのみ phase III の出現を認めた。

3) 再内瘻時の空腹期消化管運動 (図 1-c)

再内瘻当日は、2~3 時間の外瘻時の記録において十二指腸よりの phase III の出現がないことを確認後、再内瘻を開始した。再内瘻後はすべての犬において十二指腸よりの MMC の再現をみた。MMC 出現までの時間は平均 472 分であった。内瘻時と再内瘻時の MMC 周期, migration time, 十二指腸 phase III の持続時間

を比較したが、有意な差はなかった。

4) 外瘻時の MMC 消失時期での自家胆汁の持続注入 (図 2-a)

外瘻時、2 頭の犬において各々 2 回、自家胆汁の十二指腸への持続注入を行なった。注入量は Mochinaga の文献を参考にし、空腹期胆汁流入量のほぼ平均値と考える 10 ml/h とした。計 4 回中 3 回に十二指腸よりの MMC の出現をみた。MMC 出現までの時間は平均 56 分であった。また、内瘻時の MMC と比較して変化は認

めなかった。

5) 外瘻時の MMC 消失時期での生理食塩水の持続注入 (図 2-b)

同様に各々2回計4回行なった。注入量は自家胆汁時と同量の 10 ml/h とした。すべてに十二指腸よりの MMC の再現を認めなかった。

考察および結論

MMC の発現機序は、現在 1) 外来神経支配、2) 内在神経支配、3) 体液性支配の観点から追及されているが、未だ詳細には解明されていない。今回の結果より、十二指腸への胆汁流入が、空腹期消化管運動に影響をおよぼし、特に十二指腸よりの MMC 発現に関与していることが示唆された。胆汁流入のいかなる因子が MMC 発現に関係しているかは、今後明らかにすべき問題である。

文 献

DiMagno, E.P. et al. (1979). Relationships

among canine fasting pancreatic and biliary secretions, pancreatic duct pressure, and duodenal phase III motor activity-Boldyreff revisited. *Dig. Dis. Sci.* **24**: 689-693

Keane, F.B. et al. (1981). Relationships among canine interdigestive exocrine pancreatic and biliary flow, duodenal motor activity, plasma pancreatic polypeptide, and motilin. *Gastroenterology* **78**: 310-316

Mochinaga, N. et al. (1988). Gastroduodenal regulation of common duct bile flow in the dog. *Gastroenterology* **94**: 755-761

Sarna, S.K. (1985). Cyclic motor activity; Migrating motor complex. *Gastroenterology* **89**: 894-913

Scott, R.B. et al. (1983). Regulation of the fasting enterohepatic circulation of bile acids by the migrating myoelectric complex in dogs. *J. Clin. Invest.* **71**: 644-654

ヒト空腹期胆嚢運動と胃十二指腸運動、血中 motilin および CCK 濃度との関連について

群馬大学医学部 第一内科

河 村 修, 草 野 元 康, 西 岡 利 夫
松 崎 勉, 菊 地 一 真, 杉 山 雅
宮 崎 誠, 土 岐 宗 利, 大和田 恒 夫
関 口 利 和

1. はじめに

今回、われわれは、超音波断層装置を用いて、胆嚢の大きさの変動によりヒト空腹期の胆嚢運動を測定し、空腹期の胆嚢運動と、胃十二指腸運動、血中 motilin および CCK 濃度との関連を検討したので報告する。

2. 対象と方法

対象は、健常人男 5 例 (平均年齢 28.4 ± 13.5

歳)、十二指腸潰瘍患者および腹部不定愁訴患者男 5 例 (44.3 ± 17.4 歳)である。胃十二指腸運動測定には、infused catheter 法を用い、胆嚢運動測定には、超音波断層装置 (アロカ SSD256) を用い、連続してビデオ録画した (ソニー U-MATIC)。血中 motilin および CCK 濃度は、10 分毎に採血し、2 抗体法にて測定した。胃および十二指腸運動は、胃前庭部および十二指腸下行脚の運動を指標とし、phase 1 から phase 3 に分類し、さらに phase 2 を 2 等分し、早期 (phase

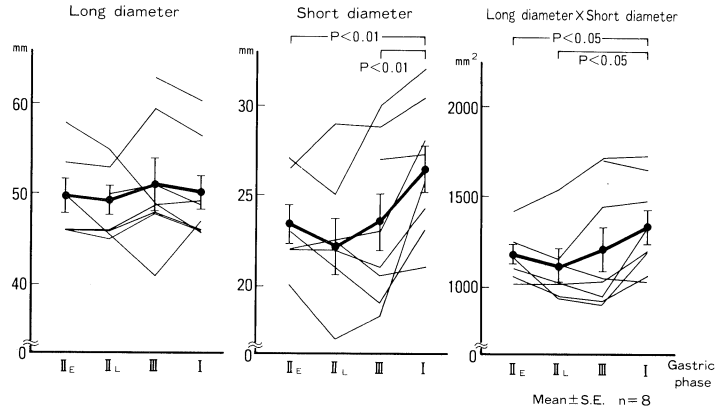


図 1-a. Changes of gallbladder size in normal subjects

2E) と後期 (phase 2L) とに分けた。各 phase 毎に、胆嚢の短径、長径、短径×長径の平均を算出し、大きさの指標とした。

3. 結 果

健常人では、胃より発現する IMC (GI-IMC) が計 8 回観察され、まず、この 8 回の IMC について、胆嚢の大きさ、血中 motilin および CCK 濃度を検討した。胆嚢の短径は、phase 2E および phase 3 に比べ phase 1 で有意に大きく、短径×長径も同様の変動を示した。しかし、長径については有意な大きさの変動を認めなかった (図 1-a)。胃が phase 3 より phase 1 に移行すると、十二指腸がいまだに phase 3 であっても、胆嚢の短径は、すでに有意に大きくなっていた (図 1-b)。血中 motilin 濃度は、phase 1 および phase 2E に比べ phase 2L および phase 3 で有意に高かった (図 1-c)。motilin は、胃が phase 3 より phase 1 に移行すると、十二指腸がいまだに phase 3 であっても、motilin はすでに有意に低くなっていた (図 1-d)。血中 CCK 濃度については明らかな変動は認められなかった。十二指腸潰瘍患者および腹部不定愁訴患者 5 例と健常人 1 例において、胃運動のみられない intestinal IMC (I-IMC) が計 6 回観察され、同様に胆嚢の大きさ、motilin、CCK について検討したが、明らかな変動は認められなかった (図 2-a, b)。

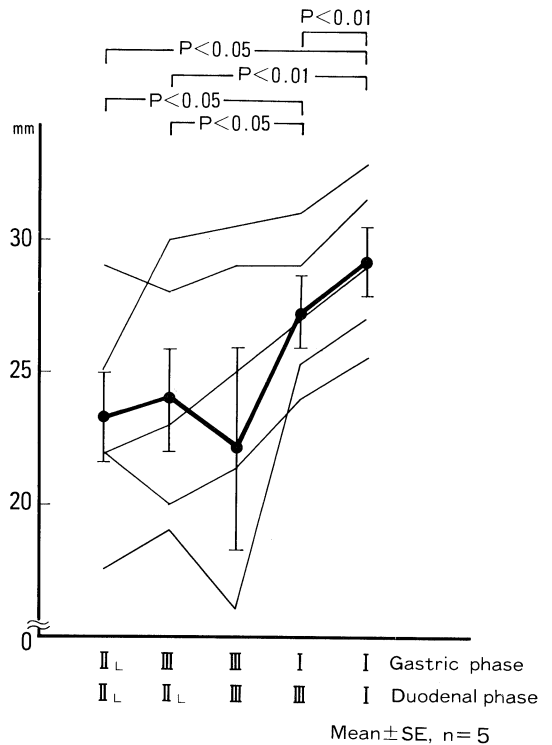


図 1-b. Changes of short diameter of gallbladder in normal subjects

4. 考 察

空腹期の胆嚢運動に関しては、Itoh ら (1) が、イヌにおいて、strain-gauge method により、十二指腸の phase 2 に一致して tonic contraction が胆嚢に発現したと報告している。ま

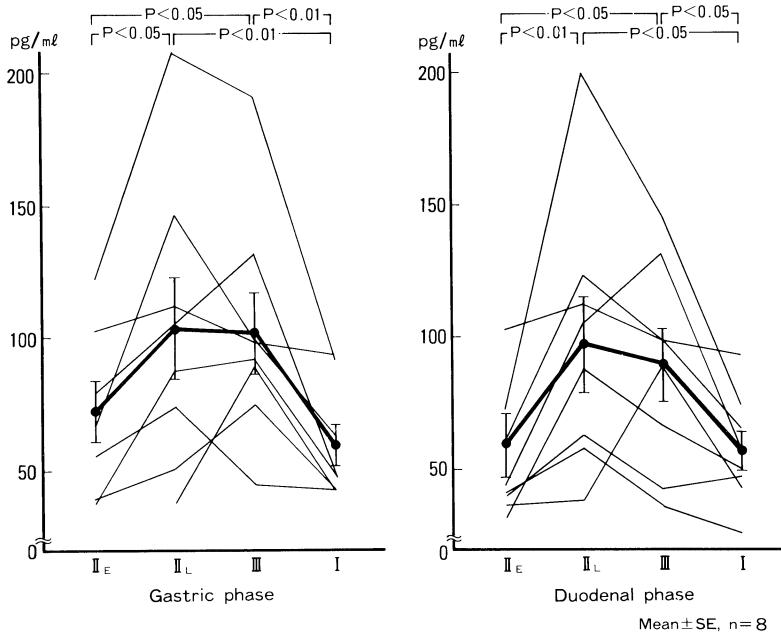


図 1-c. Changes of serum motilin in normal subjects

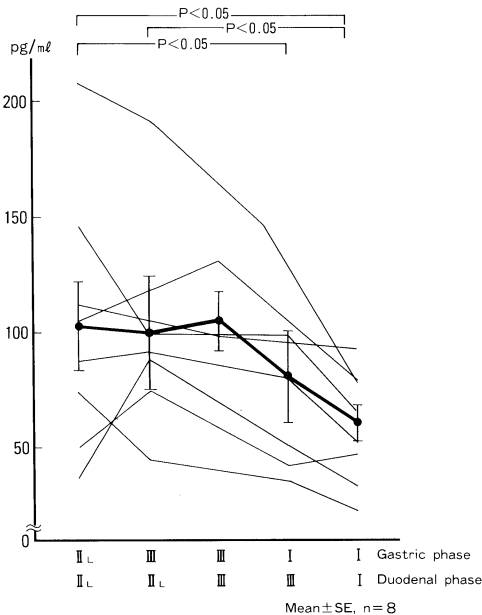


図 1-d. Changes of serum motilin in normal subjects

その短径が, phase 2E, phase 3 に比べ phase 1 で有意に大きく, これらの報告に一致する結果と考えられる。われわれは, ヒトの IMC については, 胃運動を伴う gastrointestinal IMC (GI-IMC) と, 胃運動を伴わない intestinal IMC (I-IMC) の 2 種類があることをすでに報告している (3)。この I-IMC は, 胃十二指腸潰瘍や, 腹部不定愁訴患者において高率に認められることから, 不全型の IMC, 障害された IMC と考えられる。この I-IMC の発現時に, 胆嚢運動に明らかな変動を認めなかったことより, 胃運動と胆嚢運動との間には密接な関連があるものと推察された。空腹期の胆嚢運動の調節機序については, 胆嚢運動と胃運動が motilin と連動していることより, motilin が両者の協調運動を mediate している可能性は否定できないが, motilin が直接的には胆嚢の平滑筋を収縮させないこと (4) や, atropine 前処置により IMC および胆嚢運動がともに消失すること (5) より, 空腹期の胆嚢運動調節の最終経路はコリン作動性である可能性が強い。この点に関しては, 今後の詳細な検討が必要と考えられる。

た, Kraglund ら (2) は, scintigraphy を用いた研究で, ヒトにおいて, 胆嚢の counts が, 小腸の phase 2 に一致して 8~32% 低下したと報告している。今回のわれわれの検討では, 胆嚢は,

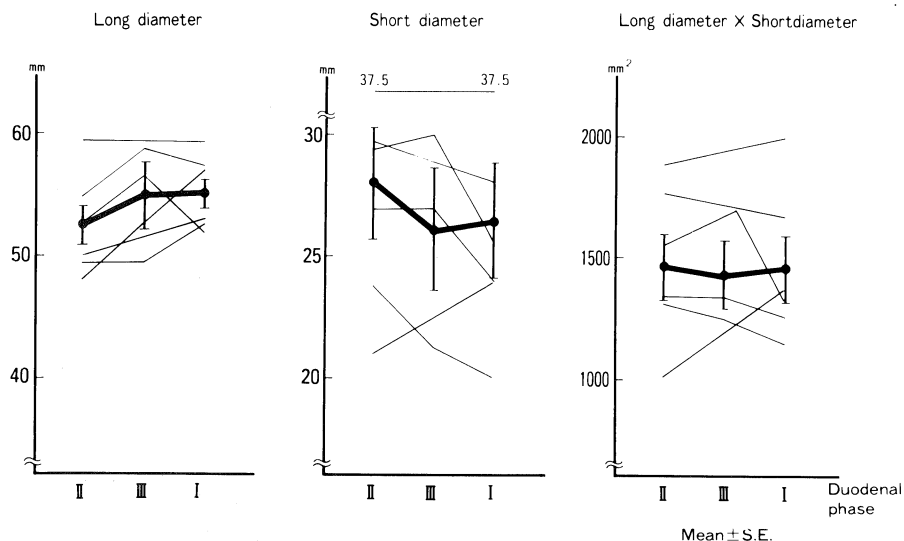


図 2-a. Changes of gallbladder size before and after I-IMC

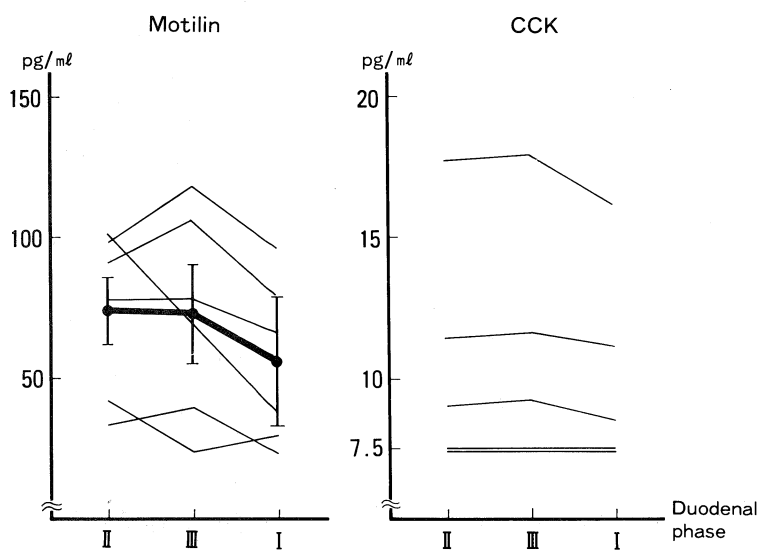


図 2-b. Changes on serum motilin and CCK before and after I-IMC

文 献

- 1) Itoh Z, Takahashi I. (1981). Periodic contractions of the canine gallbladder during the interdigestive state. *Am J Physiol* **242**: G426-432.
- 2) Kraglund K, et al. (1984). Gallbladder emptying and gastrointestinal cyclic motor activity in humans. *Scand J Gastroenterol* **19**: 990-994.
- 3) 西岡利夫, 関口利和ら (1981). ヒト胃十二指腸運動と十二指腸内 pH との関連に関する研究. *日本消化器病学会雑誌* **78**: 2065-73.
- 4) Pomeranz IS, et al. (1983). In vitro effects of pancreatic polypeptide and motilin on contractility of human gallbladder. *Dig Dis Sci* **28**: 539-544.
- 5) Takahashi I, et al. (1982). Comparison of

gallbladder contractions induced by motilin
and cholecystokinin in dogs, Gastroenterology

82: 419-424.

胸部食道切除後の胆嚢運動機能

山口大学医学部 第二外科・同放射線部*

足 立 淳, 本 田 英 司, 村 上 卓 夫
鈴 木 敏, 山 田 典 将*

胆嚢運動に及ぼす迷走神経の影響についてはなお不明な点が多い。我々は、食道癌切除術が両側迷走神経切離を伴うが、肝十二指腸靱帯を全く操作しないことに着目し、シンチグラムを用い食道癌切除患者の術前術後の胆嚢運動機能について検討を加えた。

対象・方法

昭和 63 年 5 月から平成元年 5 月までに経験した食道癌 19 例のうち、切除症例で肝胆道疾患の既往がなく、術前食道通過障害もなく、術前術後に胆道シンチグラムを施行しえた 8 例を対象とした。性別は、男性 7 人、女性 1 人。年齢は、37 歳-67 歳まで、癌の主占拠部位は、Iu 1 例、Im 5 例、Ei 2 例である。深達度は a_0 6 例、 a_2 1 例、 a_3 1 例、リンパ節転移は、 n_0 7 例、 n_2 1 例である。再建は、全て挙上胃管を用い、胸骨後食道胃吻合 5 例、胸腔内食道胃吻合 3 例である。幽門形成術は全例に施行した。なお、術後のシンチグラムは術後 2 カ月から 6 カ月に行なった。

使用装置は、東芝 medium energy general purpose collimator model ROC-930A を東芝 digital gamma camera GCA-A/W² に装着し、これを on line system にて東芝 medical image processor model GMS-550u に接続したものである。

12 時間絶飲食の被検者を半座位とし、^{99m}Tc-PMT ImCi を肘静脈より静注し、30 分後に全粥 50 g クリニミール 10 g の混合食を与えた。anal-log image は静注と同時に開始し、以後 90 分間

1 分毎に 64×64 matrix の flame mode としてコンピューターに収録した。その後、このイメージを再生し胆嚢に関心領域 (ROI) を設定して 1 分毎の count 数を測定し time activity curve を得た。摂食開始時間を T_{30} 、その時の胆嚢 ROI の count 数を V_{30} 、胆嚢 ROI count 数が最大となるまでの時間を T_{max} 、その時の count 数を V_{max} とし、この count 数が減少し始める時間を T'_{max} 、その時の count 数を V'_{max} とした。そして、count 数が最小となるまでの時間を T_{min} 、その時の count 数を V_{min} とし各パラメーターを次のように定義した。Filling Time = $T_{max} - T_{30}$, Latent Time = $T'_{max} - T_{max}$, Ejection Time = $T_{min} - T'_{max}$, Filling Fraction = $(V_{max} - V_{30}) / V_{max}$, Ejection Fraction = $(V'_{max} - V_{min}) / V'_{max}$

結 果

術後 Filling Fraction に関しては、増加したもの 7 例、減少したもの 1 例であった (Fig. 1)。術後 Ejection Fraction に関しては、増加したもの 6 例、減少したもの 2 例であった (Fig. 2)。又、術後 Filling Time に関しては、延長したもの 5 例、同一のもの 1 例、短縮したもの 2 例、Latent Time に関しては、延長したもの 3 例、同一のもの 3 例、短縮したもの 2 例、Ejection Time に関しては、延長したもの 4 例、同一のもの 1 例、短縮したもの 3 例であった。

術後 Filling Fraction が減少した 1 例は、深達度 a_3 で迷走神経を巻き込んでおり術前胃内容の停滞を認め、術後改善した症例である。又、

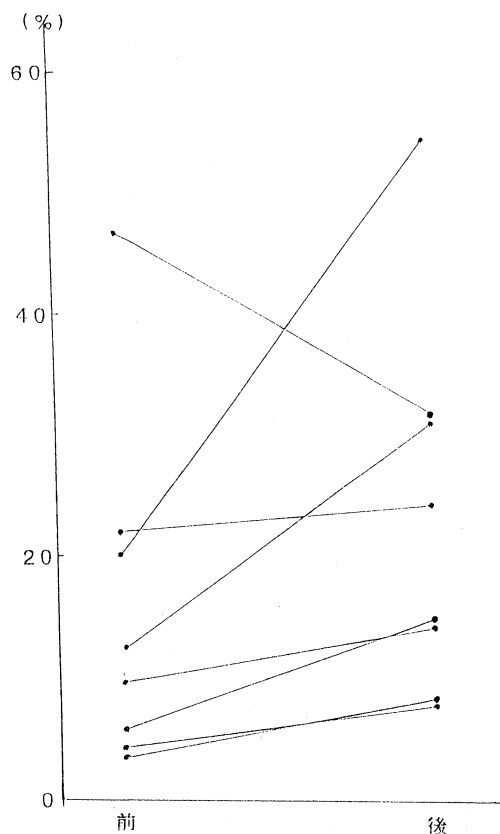


Fig. 1 術前・術後の Filling Fraction の推移

術後 Ejection Fraction が減少した 2 例のうち、1 例は幽門形成術が不完全で術後胃内容の停滞を発生した 1 例であり、もう 1 例は女性で術後シンチ施行時期が 6 カ月と最も遅かった症例である。

結 語

食道癌術後の胆嚢運動機能は今回の検索では、Filling Fraction に関しては、増加する傾向がみられ迷切の影響と考えられた。又、Ejection Fraction に関しても増加する傾向がみられ、少なくとも胆嚢収縮運動に及ぼす迷走神経切離の影響は少ないように思われた。Filling Time, Latent Time, Ejection Time に関しては、一定の傾向を見いだせなかった。今後さらに症例を加え検討したい。

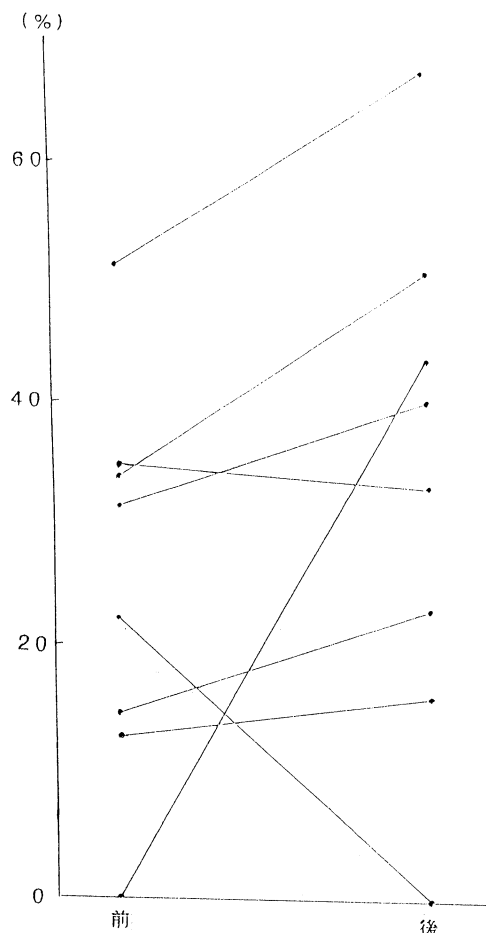


Fig. 2 術前・術後の Ejection Fraction の推移

文 献

- Krishnamurthy, G.T., Bobba, V.R., and Kingston, E. (1981). Radionuclide ejection fraction: a technique for quantitative analysis of motor function of the human gallbladder. *Gastroenterology*. **80**: 482-490
- Krishnamurthy, G.T., Bobba, V.R., McConnell, D., Turner, F., Mesgarzadeh, M., and Kingston, E. (1983). Quantitative biliary dynamics: introduction of a new noninvasive scintigraphic technique. *J. Nucl. Med.* **24**: 217-223
- Mackie, C.R., Baxter, J.N., Grime, J.S., Hulks, G., and Cushieri, A. (1987). Gall bladder emptying in normal subjects a data base of clinical cholescintigraphy. *Gut*. **28**: 137-141
- Sarva, R.P., Shreiner, D.P., Van Thiel, D., and

Yingvorapant, N. (1985). Gallbladder function: methods for measuring filling and emptying. *J. Nucl. Med.* 26: 140-144

Shaffer, E.A., McOrmond, P., and Duggan, H.

(1980). Quantitative cholescintigraphy: assessment of gallbladder filling and emptying and duodenogastric reflux. *Gastroenterology.* 79: 899-906

胃切除後の胆嚢運動について

東京慈恵会医科大学 第二外科

中 田 浩 二, 古 川 良 幸, 阿 部 貞 信
大 平 洋 一, 森 田 茂 生, 橋 本 慶 博
飯 倉 基 正, 羽 生 信 義, 青 木 照 明

胃手術後に、胆石症が高頻度で発生することが知られている。その要因の1つとして、胃手術後の胆嚢運動機能障害が考えられる。そこで、胃手術が胆嚢運動に及ぼす影響について、雑種成犬を用いた実験犬を作成し、観察した。さらに、対照犬を用い、外因性CCKを投与し、アトロピン処置、ヘキサメトニウム処置を行うことにより、意識下におけるCCKの胆嚢収縮機構について、検討した。

方 法

1. 対照犬, 2. 胃切除術犬(迷走神経温存),

3. 幹迷切術+胃切除術犬(胸腔内で迷走神経を切離), を作成し、これら実験犬の胃前庭部、十二指腸、胆嚢に strain gage transducer を縫着しその収縮運動を昼夜連続して記録した。また、胆嚢底部より silastic tube を挿入し、この tube より胆嚢内胆汁を経時的に吸引、測定し、ただちにゆっくりと胆嚢内に再注入し、胆嚢内胆汁量の変動を観察した。さらに、吸引した胆汁量と同量の造影剤を胆嚢内に注入し、X線透視下で、食後期の胆汁排出動態を観察した。また、対照犬にCCK-OP (1 ng/kg/min) 1時間の持続点滴静注を行い、アトロピン(30 μ g/kg)、ヘキ

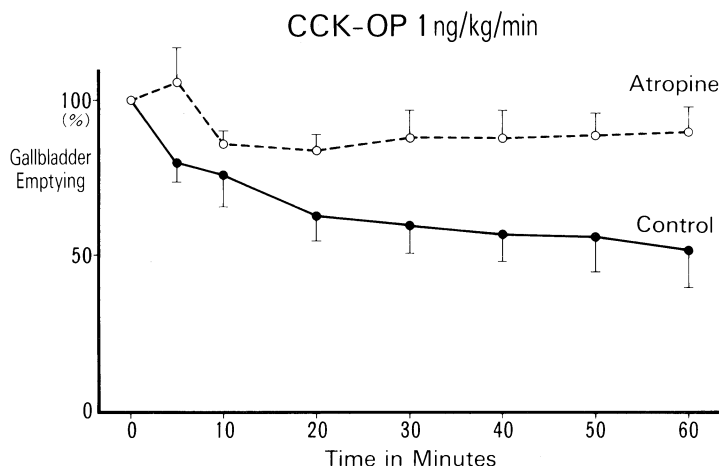


図1. CCK-OP (1 ng/kg/min) infusion における対照群と、アトロピン処置群の胆嚢内胆汁量の変化
アトロピン処置群では、明らかな胆嚢収縮の抑制がみられた。

CCK-OP 1 ng/kg/min

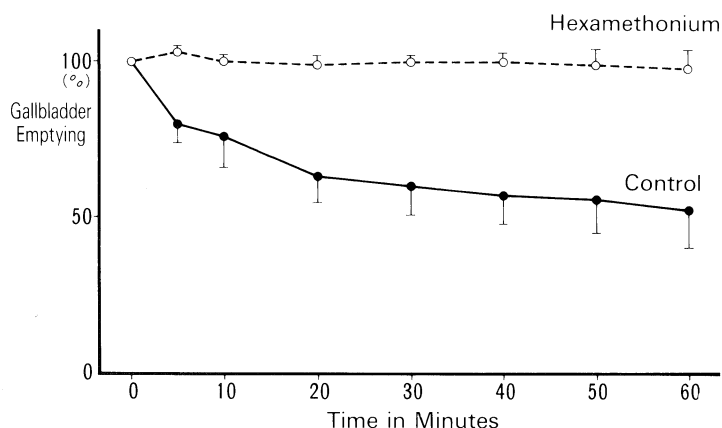


図2. CCK-OP (1 ng/kg/min) infusion における対照群とヘキサメトニウム処置群の胆嚢内胆汁量の変化

ヘキサメトニウム処置群では、ほぼ完全に胆嚢収縮が抑制された。

サメトニウム (20 mg/kg) を CCK-OP (1 ng/kg/min) 持続点滴静注開始 10 分前および開始後 20 分後に投与した。

結 果

対照犬、および胃切除術犬では、胃、十二指腸は、食餌摂取後、小収縮の連続する食後期運動と、休止期と強収縮期を繰り返す空腹期運動に二分された。胆嚢運動は、食後早期に持続時間の長い収縮がみられ、空腹期には、胃、十二指腸の強収縮運動と対応して、収縮がみられた。胆嚢胆汁量は、食後ゆるやかに減少し、しばらく低値を持続し、空腹期に向い漸増した。空腹期には、強収縮期に一過性に減少し、胃、十二指腸の空腹期運動と対応した胆嚢胆汁量の変動がみられた。幹迷切術+胃切除術犬の残胃、十二指腸運動では、食後期に不規則な収縮運動が連続し、空腹期には、休止期と食後期の区別が不明瞭となった。胆嚢胆汁量は、食後期に減少するものの、対照犬、胃切除術犬と比べ、収縮能が低下し、食後早期より胆嚢拡張がみられた。幹迷切術+胃切除術犬の胆嚢造影では、対照犬、胃切除術犬と比べ、胆嚢内の造影剤排出は遅延した。対照犬に CCK-OP (1 ng/kg/min) の持続点滴静注を行うと、30 分で約 40%、60 分で約

50% の収縮率を示した。これは、食餌(meat 20 g/kg)摂取後の胆嚢収縮にほぼ等しく、一応、生理的な投与量と考えられた。これに対して、アトロピン処置をすると(図1)、胆嚢収縮は、有意に抑制された。また、ヘキサメトニウム処置(図2)では、胆嚢収縮は完全に抑制された。

結 語

1. 迷走神経の温存された、対照犬、胃切除術犬では、食後期の胆嚢収縮、胆汁排出は良好に保たれ、胆嚢運動は、胃、十二指腸と協調した収縮態度を示した。幹迷切術+胃切除術犬では、食後の胆嚢収縮能は低下し、食後早期より胆嚢拡張がおこり、胆汁うっ滞がみられた。このことより、胃手術後の胆嚢運動機能障害には、胃切除術よりも、むしろ迷走神経切離術の影響が大きいものと考えられた。

2. 意識下における生理的量の CCK (1 ng/kg/min) の投与では胆嚢収縮が、ヘキサメトニウム、アトロピンによりほぼ完全に抑制されることより、生理的量の CCK 投与では、胆嚢収縮においてコリン作動性神経を介する間接作用が、大きくかかわっており、コリン作動性神経が、胆嚢収縮において神経性の運動調節のみならず、体液性の運動調節においても重大なる役

割を演じているものと考えられた。

胃切除後の胆嚢収縮能について

獨協医科大学 第2外科

手塚 幹雄, 矢尾板 勤, 多賀谷 信美
佐藤 直毅, 門馬 公経, 門脇 淳
小暮 洋暉, 田島 芳雄

はじめに

胃切除後胆石症の発生機序については、従来より迷走神経切離による胆嚢の運動機能の異常と、胆汁組成の変化がその2大要因と考えられているが、なお不明な点が少なくない。そこで、胃切除後における胆嚢収縮能について、超音波断層法を用い検討を行った。

対 象

胃切除+Billroth-I法再建25例、胃切除+Billroth-II法再建7例、胃全摘+ ρ , Roux-en-Y再建24例、胸部食道全摘+胃管再建6例の

計62例を胃切除後群（以下、胃切群）とした。上腹部手術の既往のない症例39例を正常対照群（以下対照群）とした。

方 法

乾燥卵黄製剤（ダイアン顆粒）を経口投与し、その前後の胆嚢最大断面積を超音波断層法により測定した。経口投与前を空腹時断面積、経口投与後の最大収縮時を収縮時断面積とし、これらより胆嚢収縮率を算出した。

結 果

(1) 症例分布

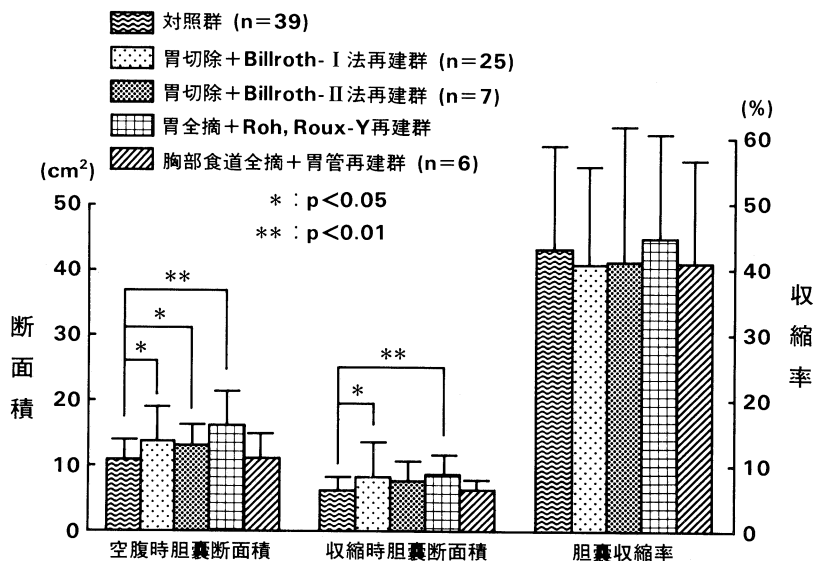


図1. 再建術式別の比較

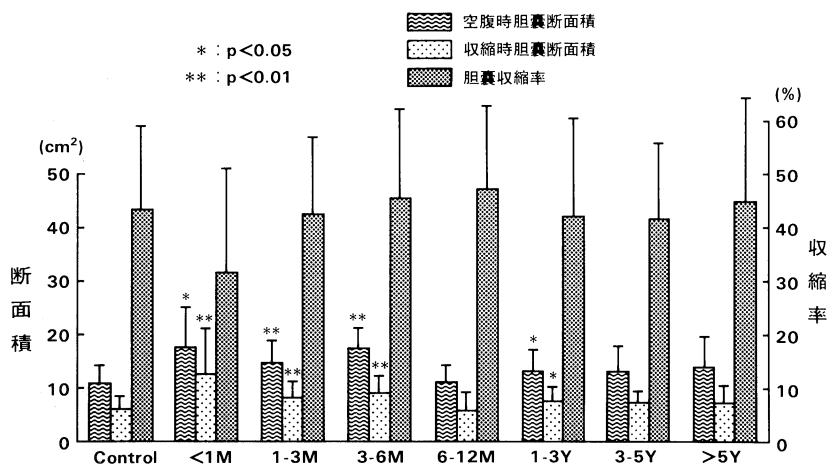


図 2. 術後期間別の比較

胃切群の平均年齢は 60.4 ± 11.1 歳, 対照群は 59.4 ± 11.6 歳であった. 男女比は胃切群で男 41: 女 21, 対照群で男 28: 女 11 であった.

(2) 対照群と胃切群の比較

対照群と胃切群の空腹時断面積は, それぞれ $11.0 \pm 3.3 \text{ cm}^2$, $14.6 \pm 5.3 \text{ cm}^2$, 収縮時断面積は $6.2 \pm 2.5 \text{ cm}^2$, $8.3 \pm 4.1 \text{ cm}^2$, 胆嚢収縮率は $43.5 \pm 17.6\%$, $42.8 \pm 17.8\%$ であった. 空腹時断面積と収縮時断面積は対照群に比べ, 胃切群において有意に大きかったが, 胆嚢収縮率には有意な差はみられなかった.

(3) 再建術式別の比較

空腹時断面積, 収縮時断面積は, 対照群に比べいずれの群も拡大していた, 胆嚢収縮率は対照群の $43.5 \pm 17.6\%$ に対し, 胃切除+Billroth-I 法再建群で $41.2 \pm 17.0\%$, 胃切除+Billroth-II 法再建群で $41.6 \pm 25.4\%$, 胃全摘+ ρ , Roux-en-Y 再建群で $45.1 \pm 17.2\%$, 胸部食道全摘+胃管再建群で $41.4 \pm 17.4\%$ と各術式間で有意な差は認められなかった.

(4) 術後期間別の比較 (図 2)

空腹時断面積と収縮時断面積は, 対照群に比べ 3~6 カ月後まで有意に拡大していた. 胆嚢収縮率は, 対照群の $43.5 \pm 17.6\%$ に対し, 1 カ月未満 $31.6 \pm 20.7\%$, 1~3 カ月 $42.8 \pm 15.6\%$, 3~6 カ月 $45.6 \pm 18.6\%$, 6 カ月~1 年 $47.4 \pm 12.8\%$, 1~3 年 $42.5 \pm 19.4\%$, 3~5 年 $41.9 \pm 17.0\%$, 5 年以上

$45.1 \pm 20.4\%$ であった. 胆嚢収縮率は 3~6 カ月で対照群と同程度の値となり, この時期に回復するものと考えられた.

(5) 有胆石群と無胆石群の比較

胆嚢内に胆石の認められたものは胃切群 62 例中 7 例 (11.3%) で, これら有胆石症例はいずれも無症状であった. 胃切除より胆石発見までの期間は, 1 例が術後 2 年 4 カ月で, 他の 6 例はすべて術後 5 年以上の長期経過例であった. 有胆石群, 無胆石群の空腹時断面積, 収縮時断面積, 胆嚢収縮率には有意差はなかった.

(6) 有胆嚢炎群と無胆嚢炎群の比較

超音波断層法にて胆嚢炎と診断された症例は胃切群 62 例中 10 例で, 全例とも胆嚢炎によると思われる症状は認められず, このうち胆石の合併を認めたものは 1 例であった. 両群間の空腹時断面積, 収縮時断面積, 胆嚢収縮率には有意差は認められなかった.

結 語

胃切除後は空腹時および収縮時の胆嚢容積が対照群より増大しており, 胆嚢内は胆汁うっ滞状態となることが推測された. 胆嚢収縮率は術直後低下するが, 術後 3~6 カ月頃に対照と同程度に回復した. また, 有胆石例の胆嚢収縮率は対照群と比べ有意差はなく, 胆石形成と胆嚢収縮率低下には直接の関連はないものと考えられ

た。したがって、胃切除後胆石の成因としては胆嚢収縮能の低下よりも胆嚢内の胆汁うっ滞や胆汁組成の影響が大きいものと推測された¹⁻⁴⁾。

文 献

- 1) Tezuka M. (1987). Clinical and Experimental studies on the postgastrectomy cholelithiasis. Dokkyo J. Med. Sci. 14: 45-63.
- 2) 高橋 徳, 石川羊男, 山村武平, 他 (1984). 胃亜全切除後の胆のう収縮能—超音波映像下での検討—, 日消外会誌, 17: 2006-2011.
- 3) 洲上 哲, 宮下 正, 井上一知, 他 (1986). 胃切除後胆嚢機能障害—胆嚢超音波像および胃切除後愁訴について—, 日消外会誌, 19: 2150-2153.
- 4) 伊藤 徹, 小西敏郎, 真船健一, 他 (1986). 胃切除後の胆嚢機能障害—とくに術後早期に発生する胆石症について—, 日消外会誌, 19: 2154-2157.

緊張が尿道内圧曲線に及ぼす影響

秋田大学医学部 泌尿器科

菅 谷 公 男, 西 沢 理, 能 登 宏 光
鈴 木 隆 志, 小 浜 丈 夫, 松 崎 章
原 田 忠, 土 田 正 義

はじめに

尿水力学的検査法のひとつである尿道内圧曲線記録法 (UPP) は安静時の尿道内圧を連続的に記録する方法であるが、繰り返し記録するとしばしば再現性が得られないことがある (近藤, 1984)。私たちはこの原因のひとつが緊張の程度の差によると考え、通常の UPP (ordinary UPP) に加えて緊張を解かせた状態での UPP

(relaxed UPP) と、 α 遮断剤の phentolamine 投与後の UPP (phentolamine UPP) を行って比較検討した。

対象と方法

排尿障害の有無にかかわらず当科で尿流量測定、膀胱内圧測定と外尿道括約筋筋電図の同時記録を行った男性 47 例と女性 18 例の計 65 例を対象とした。UPP は会陰部から刺入した 2 本

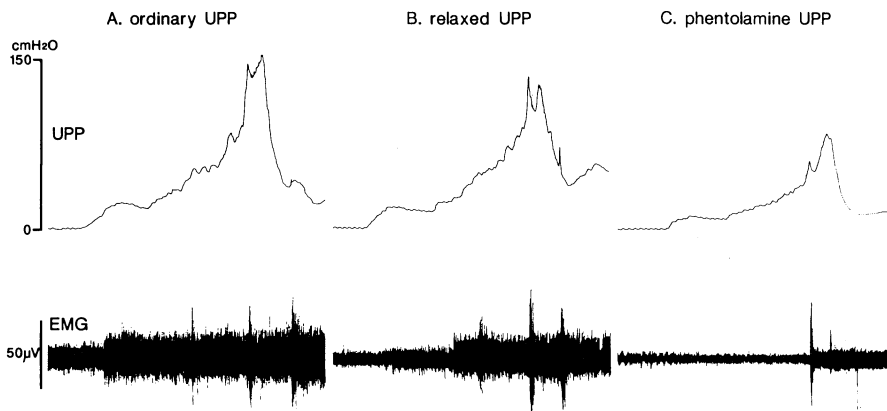


図 1. 同一症例における 3 種類の尿道内圧曲線と外尿道括約筋筋電図の同時測定。前立腺肥大症の例。ordinary, relaxed, phentolamine UPP の順に尿道内圧と外尿道括約筋活動が低下し尿道尿道反射も減弱する。

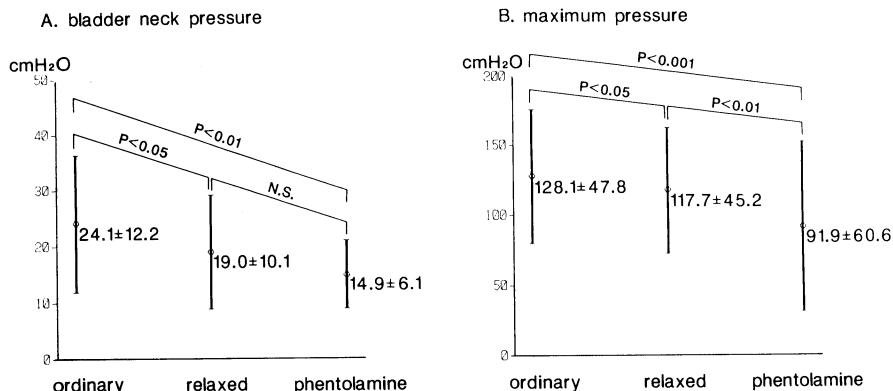


図2. 3種類の尿道内圧曲線における膀胱頸部圧(A)と最大尿道閉鎖圧(B)の変化。膀胱頸部圧は尿道内圧の立ち上がりから5 mmの所の圧を示す。図中の数値は平均内圧±標準偏差を示し、Pは有意差の危険率を、N.S.は有意差のないことを示す。

のワイヤー電極で外尿道括約筋筋電図を同時記録しながら行った。まず4個の側孔のある8 Frカテーテルを用いて膀胱空虚時のordinary UPPを行った。カテーテルの引き抜き速度は25 mm/minで水注入速度は3 ml/minとした。次に、軽く口を開かせ全身の緊張を取るように命じてrelaxed UPPを行った。男性9例と女性6例の計15例ではrelaxed UPP後にphentolamine 100 μ g/kgを静注してphentolamine UPPを行った。3種類のUPPで膀胱内圧、5 mm間隔の尿道内圧、最大尿道閉鎖圧と外尿道括約筋筋電図を比較した。

結 果

ordinary UPP時の外尿道括約筋筋電図は60例で評価できた。内圧測定部位が膀胱内から膀胱頸部におよぶと筋電図の振幅が増強し、最大閉鎖圧部では更に筋活動が増強する尿道尿道反射を認めたのは男性38例と女性3例の計41例(68.3%)で、有意($p < 0.005$)に男性に多かった(図1)。relaxed UPPで膀胱頸部から男性では5-15 mm、女性では5-10 mmの平滑筋性内尿道括約筋部の尿道内圧が5 cmH₂O以上下降した例を頸部圧下降とし、外尿道括約筋部の最大尿道閉鎖圧が10 cmH₂O以上下降した例を最大圧下降とし、両者が下降した例を全般的下降として評価した。65例中で頸部圧下降のみ

と最大圧下降のみはそれぞれ9例、全般的下降が14例で圧下降があったのは計32例(49.2%)であった。疾患別では前立腺肥大症で手術適応のある18例中下降例が6例(33.3%)と少なかったのに対し、神経内科的疾患がありながら下部尿路に関する訴えのない10例中の下降例は7例(70.7%)と多かった。ordinary UPP時に比べてrelaxed UPP時に筋電図活動が减弱したのは測定できた59例中26例(44.1%)であった。また、尿道尿道反射は4例で消失した。relaxed UPPで圧下降のあった32例中、筋電図活動が减弱しなかったのは10例であった。phentolamineの投与により尿道内圧は更に下降し、筋電図活動も减弱する傾向があった(図1, 図2)。最大圧に関してはordinary, relaxedとphentolamine UPPの間にはそれぞれ有意な圧下降があった。頸部圧に関してはordinaryとrelaxed UPPの間の圧下降は有意であったが、relaxedとphentolamine UPPの間には有意差はなかった。phentolamineを投与した15例中3例で最大圧の下降がみられなかったが、これら3例は、直腸癌手術後の患者1例と、脊髄炎患者の2例であった。

結 論

今回の検討から、横紋筋性外尿道括約筋部のみならず平滑筋性内尿道括約筋部も緊張の程度

により内圧が変化することが分かった。また、尿道内圧曲線の測定時には尿道尿道反射が出現する例が多かったことから、尿道内圧曲線の再現性の問題は、全身の緊張レベルの変化と尿道尿道反射の出現に起因していると考えられた。更に、phentolamine による尿道弛緩の効果(Nordling ら, 1981, Gajewski ら, 1984)は全身の緊張を解かせた状態での UPP で想定可能と思われた。

文 献

近藤厚生(1984). 尿道閉鎖圧曲線の臨床的意義. 神経

進歩, 28: 418-423.

Nordling, J., Mayhoff, H. and Hald, T. (1981). Sympatholytic effect on striated urethral sphincter. A peripheral or central nervous system effect?. Scand. J. Urol. Nephrol., 15: 173-180.

Gajewski, J., Downie, J. and Awad, S.A. (1984). Experimental evidence for a central nervous system site of action in the effect of alpha adrenergic blockers on the external urinary sphincter. J. Urol., 132: 403-409.

膀胱尿道平滑筋および尿道横紋筋機能に及ぼす β_2 刺激剤の効果

秋田大学医学部 泌尿器科

森 田 隆, 近 藤 俊, 武 弓 俊 一
堂 北 忍, 塙 篤 美, 川 原 敏 行
小 倉 泰 伸, 土 谷 順 彦, 西 本 正
土 田 正 義

はじめに

ウサギ, ヒトの膀胱平滑筋の β 受容体のサブタイプは β_2 が優位であることが報告されている(森田, 1989). 従って臨床的に膀胱を弛緩させるために β_2 刺激剤の投与は適用と考えられる。しかし、蓄尿および排尿は膀胱と尿道の機能の協調によって行われるため、 β_2 刺激剤の臨床応用にあたっては、 β_2 刺激剤の尿道機能に対する作用を検討する必要がある。尿道は平滑筋と横紋筋である外尿道括約筋から構成されているので、本研究ではウサギを用いて膀胱尿道の筋切片に対する β_2 刺激剤の効果を検討し、合わせて尿失禁を訴える患者に膀胱弛緩を目的として経口 β_2 刺激剤を投与した。

摘出ウサギ膀胱尿道切片を用いた薬理実験

雌白色日本ウサギ(生後約1年, 2 kg)から膀胱体部平滑筋(縦方向), 尿道平滑筋(輪状)お

よび外尿道括約筋(輪状)を 2×8 mm の筋切片として採取し、Krebs 液中で張力を測定した。

β_2 刺激剤であるテブレタリン(藤沢), クレンブテロール(帝人)は、 10^{-6} M フェントラミン存在下で膀胱・尿道平滑筋を濃度依存性に弛緩させ、外尿道括約筋を濃度依存性に収縮させた(図1)。

尿失禁患者に対する Urodynamic Study

尿失禁を主訴として来院した4名の患者に、クレンブテロール $40 \mu\text{g}/\text{日}$ を朝夕の2回に分けて2週間服用させた。服用前後にチストメトリーと UPP を記録した。

4名の血圧、脈拍は投与前後で変化しなかったが、1名で服用2日後に軽い両手の振戦が出現した。初期尿意量、最大膀胱容量は有意に増加し、最大尿道閉鎖圧も増加したが、機能的尿道長は投与によって減少した(表1)。尿失禁の程度は全例で改善または消失した。

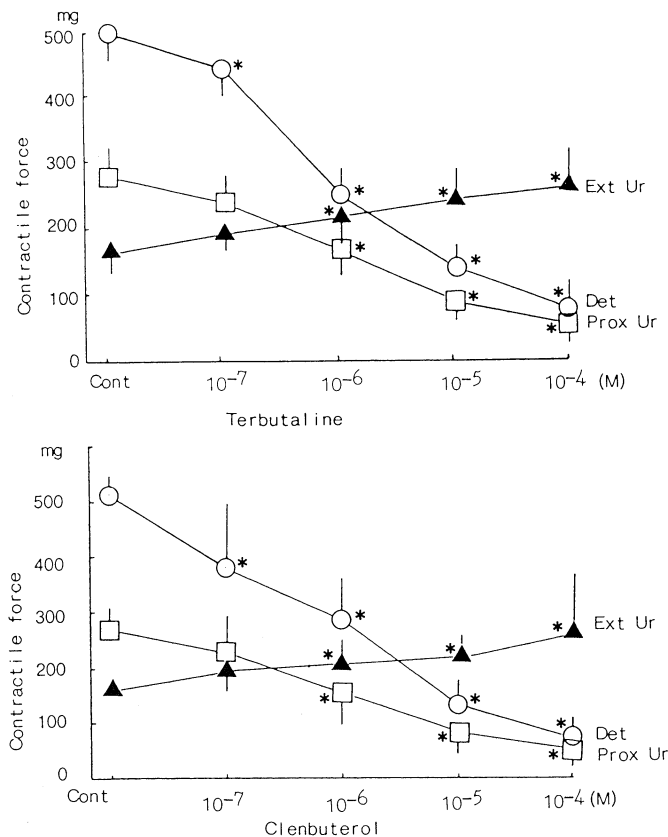


図1. 雌ウサギ膀胱 (Det) 尿道 (Prox Ur) 平滑筋および外尿道括約筋 (Ext Ur) の収縮に対するテレブタリン, クレンブテロールの作用. *はコントロール (投与前) と比較して有意な ($P < 0.05$) 収縮を示す.

表1 クレンブテロール投与前後のチストメトリー, UPP の記録. *は有意 ($p < 0.05$) な変化 (増加又は減少) を示す.

症 例		初期尿意量 (ml)	最大膀胱容量 (ml)	最大膀胱排尿圧 (cmH ₂ O)	最大尿道閉鎖圧 (cmH ₂ O)	機能的尿道長 (cm)	残尿 (ml)
58 才 女性	投与前	30	85	106	105	5.0	0
	投与後	110	150	80	115	3.0	0
16 才 男性	投与前	30	40	65	72	3.3	0
	投与後	60	80	58	90	2.5	0
50 才 女性	投与前	120	200	104	94	3.8	0
	投与後	140	220	100	100	3.0	0
44 才 女性	投与前	130	180	100	102	4.2	0
	投与後	150	200	96	106	3.0	0
平 均 + 標準誤差	投与前	78 ± 55	126 ± 76	94 ± 17	93 ± 13	4.1 ± 0.6	0
	投与後	115 ± 40*	162 ± 62*	84 ± 17	103 ± 9*	2.9 ± 0.2*	0

* $P < 0.05$

考 案

膀胱平滑筋には β_2 受容体が優位に存在し, β_2 刺激剤であるテレブタリン, クレブテロールはウサギ膀胱平滑筋を弛緩し, ヒト膀胱容量を増大した。しかし, ウサギ尿道平滑筋も弛緩し, ヒト UPP で機能的尿道長は短縮した。一方ウサギ外尿道括約筋は収縮し, ヒト UPP で, 外尿道括約筋部で記録される最大尿道閉鎖圧が上昇した。これらの事実 β_2 刺激剤が, 膀胱平滑筋を抑制し, 尿道横紋筋を興奮させることによって, 尿失禁の治療に有効である可能性を示唆している。尿道平滑筋に対する β_2 刺激剤の効果が尿失禁治療に有利に働くのか不利に働くのか不明で

あるが, 内括約筋は弛緩することによって閉じるような構造がある (Gjone, 1966) ことも示唆されており, 今後多数の患者に投与することによって明らかになると考えられる。

文 献

- Gjone, R. (1966). Peripheral autonomic influence on the motility of the urinary bladder in the cat. III. Micturition. *Acta Physiol. Scand.* **66**: 81-90.
- 森田 隆(1989). 尿失禁に対する基礎的研究. 第1報 ウサギ, イヌ, ヒト膀胱平滑筋の収縮張力および細胞内 cAMP 含量に及ぼす β 受容体サブタイプ刺激剤の影響. *日泌尿会誌* **80**: 407-415.

気管平滑筋の細胞内 Ca 濃度と収縮張力に対する種々の収縮薬と cAMP 関連弛緩薬の作用

東京大学農学部 獣医薬理学教室

尾 崎 博, 権 成 春, 多治見 政 臣
唐 木 英 明

1. はじめに

最近我々は, 蛍光色素 fura-2 を用いて平滑筋の細胞内 Ca 濃度 ($[Ca]_i$) と収縮張力を同時に測定する方法を開発した。今回は, この方法を用いて, 気管平滑筋における収縮張力と $[Ca]_i$ とに対する種々の収縮薬および弛緩薬の作用について検討を行なった。

2. 実験方法

イヌ気管平滑筋条片 (1.5×5 mm) を, fura-2/AM (5 μ M) を含む栄養液で 3-4 時間処理した後, 恒温槽に横位に固定し, 一端を歪圧力計に連結した。これに 340 nm および 380 nm の励起光を交互に照射し, 生じる蛍光変化量を生物蛍光測定装置 (CAF100, 日本分光製) を用いて張力とともに測定した (Ozaki et al. 1987; Sato et al. 1988)。

3. 実験結果

(1) 高濃度 K とカルバコールの比較

K (72.7 mM), カルバコール (1 μ M) の添加により $[Ca]_i$ の上昇後速やかに収縮が発生し, 持続した。K およびカルバコールは濃度依存性に $[Ca]_i$ と収縮張力を増加し, 両者の間には正の相関関係が得られた。しかし, K に比べカルバコールは同程度の $[Ca]_i$ の増加に対して, 大きな収縮を発生させた (図 1)。

(2) ホルボールエステルの作用

ホルボールエステル (12-deoxyphorbol 13-isobutyrate (DPB) (50 nM) は静止筋においてはほとんど作用を示さなかった。しかし, K 収縮の途中で 50 nM DPB を投与すると, $[Ca]_i$ の変化を伴わずに, 収縮張力は増強された。高濃度 (1 μ M) の DPB は $[Ca]_i$ をむしろ減少させ, 静止張力を増加させた。K 収縮に対しても,

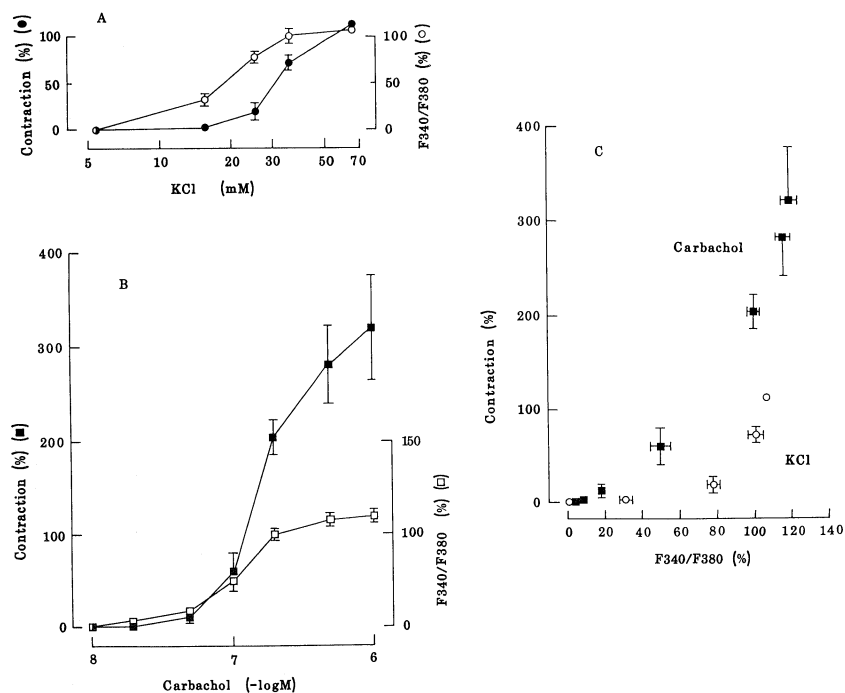


図1. イヌ気管平滑筋の $[Ca]_i$ と収縮張力に対する、各種濃度の KCl およびカルバコールの作用。予め行なった KCl (72.7 mM) に対する反応を 100% としてある。KCl およびカルバコールは累積的に投与した。A, KCl の作用。B, カルバコールの作用。C, $[Ca]_i$ と収縮張力との関係。

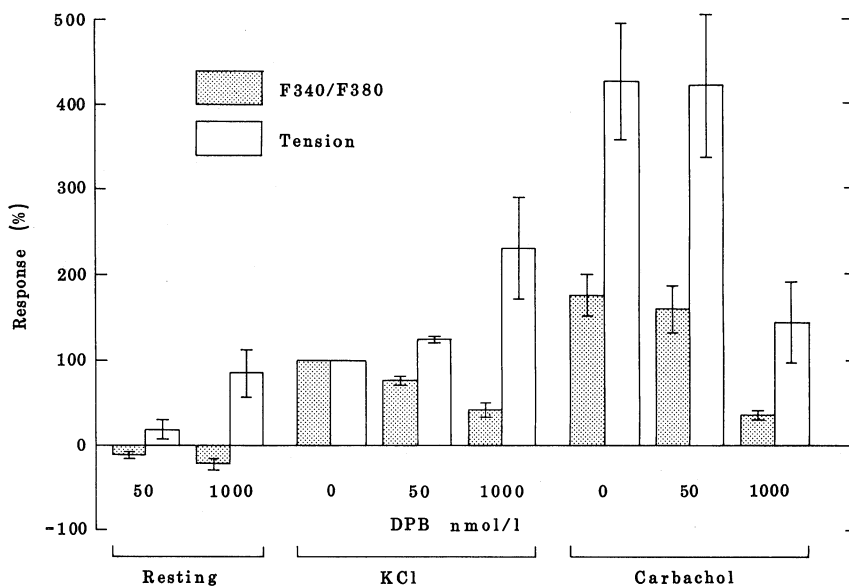


図2. イヌ気管平滑筋の、静止時、KCl 収縮時およびカルバコール収縮時の、 $[Ca]_i$ と収縮張力に対する DPB の作用。それぞれの収縮張力が一定となった後、50 および 1000 nM の DPB を加えた。予め行なった KCl (72.7 mM) に対する反応を 100% としてある。

DPB ($1\ \mu\text{M}$)は $[\text{Ca}]_i$ を減少させ、収縮を増強した。カルバコール収縮に対しては、 $50\ \text{nM}$ および $1\ \mu\text{M}$ のDPBは濃度依存的に、 $[\text{Ca}]_i$ および収縮をとともに抑制した(図2)。

(3) 抑制薬の作用

Kおよびカルバコールの持続性収縮の間に、ベラパミル($10\ \mu\text{M}$)を適用すると、 $[\text{Ca}]_i$ 、収縮張力ともに抑制した。ベラパミルはカルバコールと比べK収縮に対してより強い抑制を示した。Kによる持続性収縮時に、イソプロテレンオールおよびフォルスコリン($1-10\ \mu\text{M}$)を適用すると、 $[\text{Ca}]_i$ に影響することなく収縮張力のみを抑制した。一方、これらの抑制薬はカルバコールによる $[\text{Ca}]_i$ と収縮張力の増加をとともに抑制した。

4. 考 察

以上の成績から、気管平滑筋において高濃度Kの収縮作用はCaチャンネルの開口による $[\text{Ca}]_i$ の増加によること、カルバコールの収縮作用はCa流入による $[\text{Ca}]_i$ の増加に加えて、収縮蛋白系のCa感受性の増加が関与するもの

と考えられた。DPBは、収縮蛋白系のCa感受性の増加をもたらすこと、およびカルバコールはイノシトール磷脂質代謝回転を促進することから、カルバコールの収縮作用にはC-キナーゼの活性化も関与するものと考えられる。他方、ベラパミルはCa流入の抑制により弛緩を起こすが、cAMP量の増加は、収縮蛋白系のCa感受性の減少と、Ca流入の抑制とにより収縮抑制を起こすものと考えられる。

文 献

- Ozaki, H., Sato, K., Satoh, T. and Karaki, H. (1987). Simultaneous recordings of calcium signals and mechanical activity using fluorescent dye fura-2 in isolated strips of vascular smooth muscle. *Japan. J. Pharmacol.* **45**: 429-433.
- Sato, K., Ozaki, H. and Karaki, H. (1988). Changes in cytosolic calcium level in vascular smooth muscle strip measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator fura-2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **246**: 294-300.

塩化トロスピウムの下部尿路機能に対する作用

秋田大学医学部 泌尿器科学教室

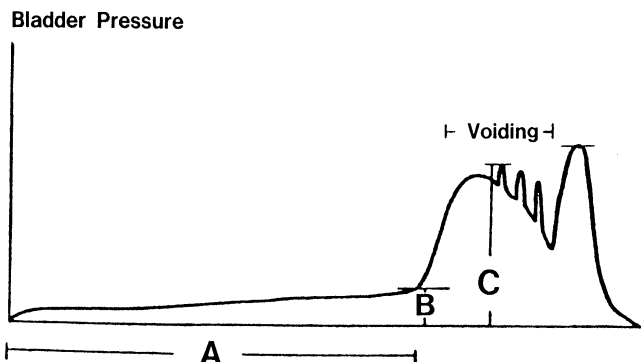
鈴木 隆 志, 西 沢	理, 菅 谷 公 男
小 浜 丈 夫, 松 崎	章, 福 田 孝
塚 田 大 星, 原 田	忠, 土 田 正 義

はじめに

塩化トロスピウムはアトロピン様抗アセチルコリン作用を有し、過活動状態の膀胱に対して有用性が期待されるが、排尿動態パラメーターに及ぼす影響の検討は行われていなかった。私達は、除脳イヌの実験により下部尿路機能への効果について、排尿動態パラメーターの変化を検討したので報告する。

対象及び方法

体重3~5 kgの雑種イヌ13頭を使用した。実験方法は、既報¹⁾²⁾に準じて行った。GOEにより吸入麻酔を維持し、右前肢皮静脈を塩化トロスピウムの投与路とした。下腹部正中切開により両側尿管にカテーテルを挿入し、以下の尿管は結紮した。膀胱頂部から2腔カテーテルを挿入し、一方は膀胱内圧の測定路に、他方は生食水の注入路とした。尿道括約筋筋電図の導出のため



A : threshold volume

B : threshold pressure

C : maximum bladder pressure

排尿動態パラメーター（コントロールに対する百分率）

	膀胱容量	閾値圧	最大膀胱内圧	排尿量
(N)	%	%	%	%
Control (13)	100	100	100	100
0.03mg/kg (7)	124±5**	82±12	79±8*	95±14
0.1mg/kg (13)	136±18+	93±8	83±5**	88±13
0.3mg/kg (12)	164±30+	96±11	76±4**	108±21
1.0mg/kg (7)	160±49	123±36	88±5+	99±31

+: p<0.1, *: p<0.05, **: p<0.01, Mean±S. E.

Fig. 1 膀胱容量、閾値圧及び最大膀胱内圧の模式図（上段）。

投与後の排尿動態パラメーターをコントロール時に対する百分率の平均値表示にしたもの（下段）。

めに、ワイヤー電極を2本尿道壁に刺入した。脳固定装置に装着し、体幹を胸椎棘突起と腸骨で固定して四足立位とし、四丘体の上丘の高さで除脳を行った。

コントロール時と塩化トロスピウム投与後に生食水を注入し、膀胱内圧と尿道括約筋筋電図を同時に記録した。投与量は0.03, 0.1, 0.3及び1.0 mg/kgの連続3濃度とし、4回の排尿サイクルを惹起した。

膀胱容量、閾値圧、最大膀胱内圧、排尿量及び残尿量の7項目の排尿動態パラメーターを検討した（Fig. 1）。測定値は、コントロールに対する差及び百分率に対して対応のあるt検定により統計学的処理を加え、有意差を検討した。

成績

13頭中12頭において、コントロール時及び塩化トロスピウム投与後のいずれでも、膀胱収縮とそれと協調する尿道括約筋の活動が生じ、反射性排尿が確認された。血圧及び呼吸には、大きな変動はなかった。蓄尿時パラメーターの膀胱容量及び閾値圧の推移と、排尿時パラメーターの最大膀胱内圧、排尿量の推移をFig. 2に示す。

投与後の排尿動態パラメーターを、コントロール時に対する百分率の平均値表示にしたものをFig. 1に示す。閾値圧及び排尿量には、有意の変化はなかった。膀胱容量及び最大膀胱内

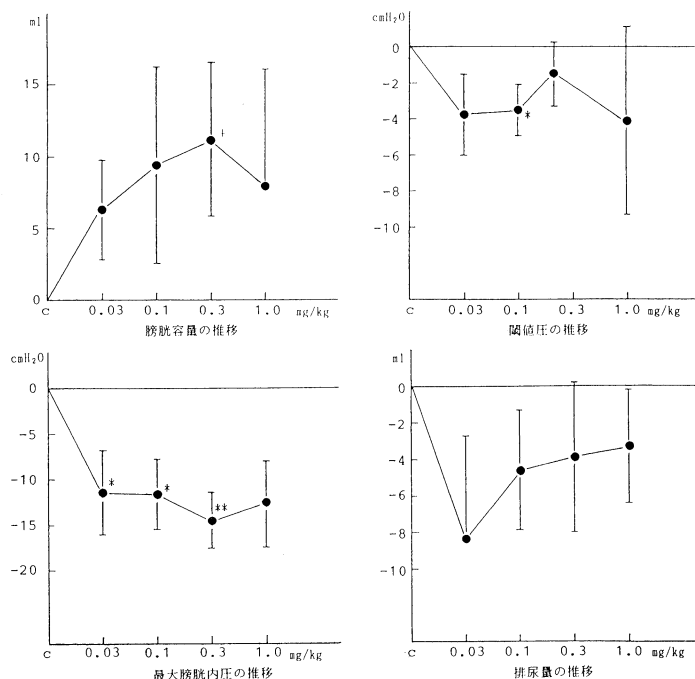


Fig. 2 膀胱容量、閾値圧、最大膀胱内圧及び排尿量の推移。

圧は 0.03 mg/kg で $124 \pm 5\%$ 及び $79 \pm 8\%$ となり、0.1 mg/kg で $136 \pm 18\%$ 及び $83 \pm 5\%$ 、0.3 mg/kg で $164 \pm 30\%$ 及び $76 \pm 4\%$ となった。統計学的検討では、膀胱容量が 0.03 mg/kg で有意に増加し、最大膀胱内圧は 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg で有意に減少した。

考 察

塩化トロスピウムは西ドイツのフレーゲル社において開発されたノルトロパン誘導体の一種である。アトロピン様抗アセチルコリン作用を有し、副交感神経末梢を特異的に抑制し、胃腸管、胆管及び尿路に選択的かつ強力に作用する³⁾。

下部尿路機能に対する平滑筋弛緩作用あるいは抗ムスカリン作用には、断定的なことは言えない。主にコリン作動性効果が作用する排尿時のパラメーターの変化では、最大膀胱内圧が有意の減少を示し、影響は大きいものと判断された。残尿に関しては増加あるいは増加傾向が認められたが、臨床上問題となる排尿機能の低下

を生ずるとは考えにくいと思われた。

蓄尿時のパラメーターへの変化をみると、膀胱容量が 0.03 mg/kg でのみ有意に増加し、効果が弱いと考えられる。蓄尿時と排尿時ではコリン作動性効果の程度が異なるためであり、抗ムスカリン作用に比較して平滑筋直接弛緩作用が弱い事³⁾⁴⁾によるものと思われる。膀胱容量は、膀胱内圧と比較して平滑筋直接弛緩作用により影響を受け易いことが示唆された。

以上から、本剤は過活動性膀胱に対する薬剤としての可能性を有する薬剤であると思われる。

ま と め

除脳イヌ 13 頭を用いて、塩化トロスピウムの下部尿路機能の排尿動態パラメーターに及ぼす効果を中心として検討を加えた。膀胱活動に対する抑制作用が明らかに認められ、無抑制膀胱収縮を抑制する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Nishizawa, O., Satoh, S., Harada, T., Nakamura, H., Fukuda, T., Tsukada, T. and Tsuchida, S. (1984). Role of the pudendal nerves on the dynamics of micturition in the dog evaluated by pressure flow EMG and pressure flow plots studies. *J. Urol.*, **132**: 1036-1039.
- 2) Nishizawa, O., Fukuda, T., Matsuzaki, A., Moriya, I., Harada, T. and Tsuchida, S. (1985). Role of the sympathetic nerve in bladder and urethral sphincter function during the micturition cycle in the dog evaluated by pressure flow EMG study. *J. Urol.* **134**: 1259-1261.
- 3) 伊藤隆太, 平岩 崒, 市川雅常, 鈴木良邦, 志村光久, 小島文夫, 藤井邦伸, 鳥嶋豊成, 岡崎みづる (1971). 8α -benzyloxy-6, 10-ethano-5-azoniaspiro [4.5] decane chloride (Spasmex) の薬理. *応用薬理*. **5**: 759-787.
- 4) Antweiler, H., Lauterbach, F., Lehmann, H.D., Ubel, H., Vogel, G. (1966). Zur Pharmakologie und Toxikologie von Azoniaspiranen in der Nortropin-bzw. Pseudonortropin-Reihe, *Arzneimittel-Forsch.* **16**: 1581-1591.

モルモット盲腸紐平滑筋のカルバコール誘起
short-term desensitization 時における
収縮抑制と K-channel の役割

明治薬科大学 第2薬理学教室

島 田 誠 也, 内 田 幸 宏

多くの細胞や組織では高濃度の刺激薬を用いて長時間受容体を刺激すると, その受容体を介した反応性が低下する現象 (desensitization) が知られている. これは一般に受容体の親和性の変化や数の減少によると考えられている. そこで我々は誘起時間依存的にこれらがどう変化し, desensitization が何に起因するかを知るために, 10^{-4} M Carbachol をいろいろな時間 (10 min, 30 min, 12 hr) 処理することによって誘起されるモルモット盲腸紐平滑筋のムスカリン様受容体の desensitization について検討した.

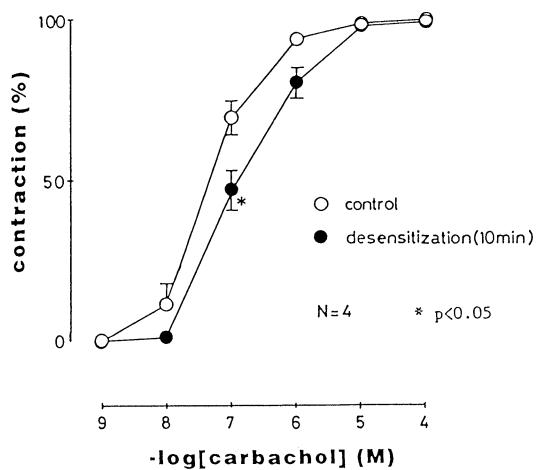
方 法

10^{-4} M Carbachol を 10 min, 30 min, 12 hr 処理する事によってそれぞれの収縮反応がどのように変化するかをマグヌス装置を用いて等張的に記録し用量-作用曲線を作成した. また, その処理時間における受容体の数と刺激薬に対する結合親和性の desensitization による変化を調べるために [3 H]QNB 結合実験を行い, さら

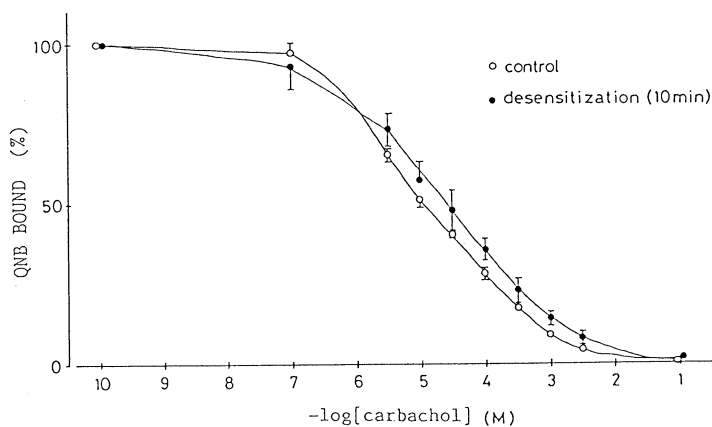
に Carbachol によるその置換曲線を作成した. つぎに K⁺-channel blocker である TEA (10^{-3} M), apamin (10^{-7} M) を含む栄養液中で 10^{-4} M Carbachol 10 min 処理を行い収縮反応を観察し K⁺-channel の役割について検討した.

結果・考察

収縮反応の用量-作用曲線より 10 min 処理から誘起時間依存的に desensitization が誘起されていることが確認された (Fig. 1 上). しかし [3 H]QNB 結合実験やその Carbachol 置換曲線より Hill 定数がいずれの場合にも変化がなく受容体が desensitization によって協同性に影響を受けないことが示された. また, [3 H]QNB と Carbachol による置換曲線より 30 min, 12 hr 処理では親和性の低下が認められたが, 10 min 処理では変化が認められなかった (Fig. 1 下). このことより 10 min 処理での desensitization の機構が受容体以降であるこ

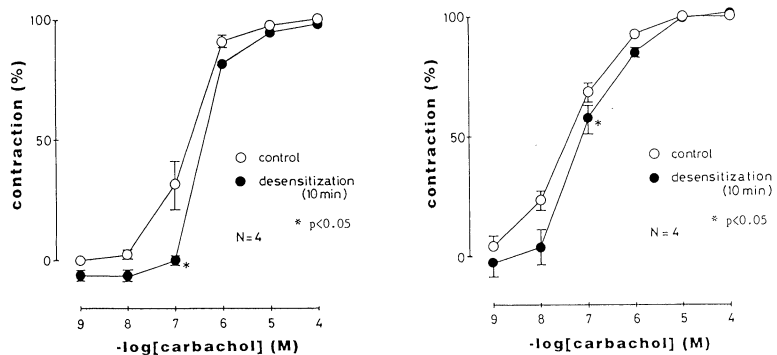


Desensitization induced by treatment with carbachol for 10min



Inhibition by carbachol of [³H]QNB binding after 10min desensitization

Fig. 1



Effect of 10^{-3} M TEA on 10min desensitization

Effect of 10^{-7} M apamin on 10min desensitization

Fig. 2

とが示唆された。

平滑筋の興奮性は K^+ の透過性により大きく修飾される。そこで 10 min 処理での desensitization の発生機構として、 K^+ -channel 活性化による静止電位の過分極状態方向への変化により desensitization が起こる可能性があるため、 K^+ -channel blocker である TEA (10^{-3} M), apamin (10^{-7} M) を用いて検討した。その結果、TEA, apamin 共に、Carbachol の低濃度側における desensitization が増大し高濃度側

における desensitization は抑制された (Fig. 2)。これは、低濃度側と高濃度側の desensitization では発生機構が異なり、高濃度側で K^+ -channel が大きく関与しているためと思われる。

以上のことから、受容体の親和性変化を伴わない desensitization の存在が確認され、その発生機構の一つとして K^+ -channel の役割が大きく関与していることが示唆された。

Ca 非存在下における子宮平滑筋収縮の 細胞内 Ca 濃度上昇に伴う抑制

明治薬科大学 第二薬理学教室 (*現 東京田辺製薬)

福 崎 厚*, 内 田 幸 宏

緒 言

発情期ラット子宮筋は、Ca を含まない栄養液中においても、オキソトシンなどにより持続的な収縮 (Ca-free 収縮) の発生が可能である (Sakai and uchida 1980)。オキソトシン誘起の Ca-free 収縮は、細胞内 Ca 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 上昇を介さない収縮機構で発生することが示唆されている (松尾, 内田 1988)。

一方、細胞内に流入した微量の Ca が Ca-free 収縮に対して抑制的に作用し、弛緩を引き起こす現象 (Ca 反転) が報告されている (Sakai and uchida 1980) が、バナデート誘起の Ca-free 収縮は、他と異なり Ca 反転しない (五木田, 内田 1986)。

今回、Ca 感受性蛍光指示薬 fura-2 を用いて、バナデート誘起の Ca-free 収縮及び微量 Ca の作用について検討した。

方 法

松尾らの方法 (松尾と内田 1988) に従い、Ca 欠除液中において、発情期ラット子宮縦走筋標本に fura-2 を取りこませた。

バナデート (3×10^{-5} M) 及び、Ca を 10^{-4} M より累積投与した時の反応について、標本に 340 nm 及び、380 nm の励起光を照射した時の 500 nm の蛍光強度 (F_{340} , F_{380}) を測定し、 $[Ca^{2+}]_i$ の指標として F_{340}/F_{380} を求め、一連の反応における細胞内 Ca 濃度変化を検討した。

結 果

バナデートにより、 F_{340}/F_{380} の変化を伴わずに Ca-free 収縮が発生した (Fig. 1)。そこに Ca 10^{-4} M を加えたところ、 F_{340}/F_{380} の増加と同時に Ca 反転が起こった。さらに Ca が累積すると、 F_{340}/F_{380} の増加に伴い収縮へと転じた。

考 察

バナデート誘起の Ca-free 収縮は、オキソトシン誘起のもの同様に、細胞内 Ca 濃度上昇を介さないことが示唆された。通常、バナデートは $H_2VO_4^-$ としてアニオンチャネルより細胞内に入るとされている。子宮筋においても、バナデート誘起の Ca-free 収縮がアニオンチャネル遮断薬 DIDS により抑制されたという成績 (Suga and Uchida 1989) は、これを支持す

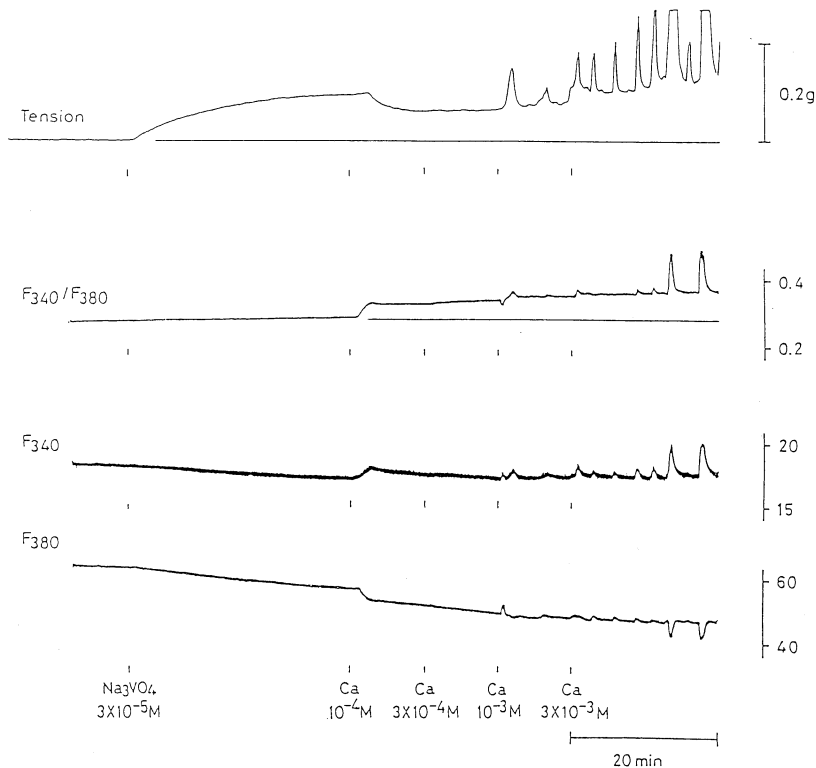


Fig. 1. Effects of vanadate and Ca on tension and fluorescence in the absence of external Ca

るものである。

一般に、Ca-free 収縮は種々のキナーゼ阻害剤により著明に抑制される(荏部ら 1989)ことから、タンパクリン酸化を介することが示唆される。バナデートは自身のホスファターゼ抑制作用により、収縮機構のいずれかのタンパクリン酸化(例えばミオシン軽鎖のリン酸化)を促進し、収縮を引き起こしているものと推測される。

本実験系においては、バナデート誘起の Ca-free 収縮が、 10^{-4} M Ca により Ca 反転した。これは、前述のバナデート誘起の Ca-free 収縮は Ca 反転しないという報告に矛盾する。そこで、この原因について検討した結果、fura-2 をロードする際に標本を Ca 欠除液中において通常より 3 時間長くインキュベートしたことが原因と判明した。それにより、細胞膜がスキンドされ、外液中の Ca が細胞内に流入し易くなったと考えられる。この時、仮に標本がスキンドされた

状態であったにせよ、同じ条件下において、オキソシンにより、Ca-free 収縮の発生が可能であることから、通常のスキンドとは異なり、受容体の構造を維持したまま部分的に permeabilize されたものと考えられる。

以上の結果から、Ca 非存在下において発生した収縮は、細胞内に微量の Ca が流入すれば、抑制された弛緩に転じることが明らかになった。このように、Ca-free 収縮を発生している平滑筋は、細胞内において微量の Ca を感知し得るのであるから、Ca-free 収縮が細胞内 Ca 濃度上昇を介さないことはむしろ当然であると考えられる。

文 献

- 五木田智夫, 内田幸宏(1986) “Ca 反転”(微量 Ca による収縮抑制)を起こす “Ca-free 収縮” と “Ca 反転” を起こさない “Ca-free 収縮” の機序について 日本平滑筋誌 22: 307-310.

苅部英寿, 五木田智夫, 内田幸宏(1989) 投稿中
松尾克郎, 内田幸宏(1988) fura-2 を用いた子宮筋の
収縮と細胞内カルシウム濃度の同時測定 日本
平滑筋誌 24: 460-462.

Sakai, K. and Uchida, M. (1980) A Ca reversal
phenomenon: differentiation of excitatory
and inhibitory roles of Ca in uterine smooth

muscle contraction. Jap. J. Pharmacol. 30:
394-396.

Suga, O. and Uchida, M. (1989) IP_3 accumulation
during Ca-free contraction of rat uterine
smooth muscle. Jap. J. Pharmacol. 49: 286 p.