## ML-1.　私の研究の回顧と提言

群馬大学名誉教授

伊藤　漸

私は消化管機能の実態とその調節機構を解明するため，意識下のイヌで出来るだけ多くの生体内情報を取出せる慢性植え込み型センサーを開発し，イヌの消化管機能を長期･連続記録すべく努めた．それらは消化管収縮運動，消化管内 pH，各種消化液分泌，胃排出機能等に及ぶ．その結果，消化管機能は摂食を境にして，その前後で全く異なり，それらの調節機構も異なることが判明した．中でも，その役割が不明であった空腹期の収縮運動は次の摂食に対する準備としての役割が判明し，胃から始まる収縮運動はモチリンというペプチドにより調節され，さらに抗生物質の一種，エリスロマイシンがモチリンアゴニストであることを発見し，臨床研究への道を開いた．これらの研究結果は国際的に相応の評価を受けた．最近，こうした意識下動物での研究が激減しているが，消化管平滑筋のみならず，消化器の基礎研究は in vitro での研究同様，意識下動物での総合的研究がきわめて重要であることを強調したい．医学の対象はあくまで意識下のヒトである．

伊藤　漸教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和 35 年　3 月 | 群馬大学医学部卒業 |
| 昭和 40 年　3 月 | 群馬大学大学院医学研究科終了 |
| 昭和 40 年　3 月 | 医学博士（群馬大学） |
| 昭和 40 年　4 月 | 群馬大学助手（医学部第一外科） |
| 昭和 40 年　9 月 | 文部省在外研究員：米国ニューオリンズ市，チューレン大学・内分泌研究所講師（主任：A.V. Schally 教授，1977 年ノーベル賞受賞者） |
| 昭和 57 年　4 月 | 群馬大学教授（医療技術短期大学部） |
| 平成　2 年　4 月 | 群馬大学教授（内分泌研究所） |
| 平成　3 年　4 月 | 群馬大学評議員 |
| 平成　6 年　4 月 | 群馬大学内分泌研究所長 |
| 平成　6 年　7 月 | 群馬大学生体調節研究所長（改組による名称変更） |
| 平成　9 年　3 月 | 群馬大学定年退職 |
| 平成　9 年　4 月 | 群馬大学名誉教授 |

## ML-2.　日本平滑筋学会誌編集を経験して，和文誌から英文誌へ

近畿大学名誉教授

砂野　哲

昭和63年から15年間日本平滑筋学会雑誌の編集に携わりました．最初から最も悩まされたのは投稿数が少ないことで，15年間この問題と付き合いました．「雑誌の質が良くないから投稿しない」，「投稿が少ないから雑誌の質を上げることができない」，まさに「鶏と卵」の戦いがはじまったのです．

会員の要請もあり，平成9年に英文誌 Journal of Smooth Muscle Research（JSMR）に切り替えることにして，それまで投稿数が少なくて形骸化していたreferee制度も強化するつもりで外国の研究者にも編集委員会に入ってもらうようにしましたが，投稿数は増えませんでした．外国の出版社からの申し出もあり，出版をその会社に任せる話しもありました．実際，外国でも，日本平滑筋学会のユニークさは知られており，同社もそこに目をつけての申し出だったのです．残念ながら，投稿数の問題があって，これも実現しませんでした．それでも必要号数だけは出さなければなりませんでした．

こうして投稿数が増えないまま，平成12年8月，かねて論文数や内容，内外での知名度から，切望していた名市大鈴木光教授に引き受けてもらうことになりました．それから後のことは，現在のJSMRの内容と，関係者の顔ぶれからみても，この選択に誤りはなかったと自負しています．

今回は，この辺の日本平滑筋学会雑誌，JSMRの変遷と編集について話す予定です．

砂野　哲教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和38年 | 札幌医科大学卒業 |
| 昭和38-39年 | 東京共済病院インターン |
| 昭和39年　4月 | 札幌医科大学助手（生理学） |
| 昭和44年　5月 | 札幌医科大学講師（生理学） |
| 昭和46年11月 | ドイツ，キール大学教員（薬理学） |
| 昭和48年11月 | 帰国 |
| 昭和49年　8月 | 札幌医科大学助教授（生理学） |
| 昭和58年　1月 | 近畿大学教授（高血圧研究所） |
| 平成　2年　4月 | 近畿大学薬学部教授（機能形態学） |
| 平成　8年10月 | 近畿大学薬学部長（平成10年9月まで） |
| 平成13年　4月 | 近畿大学薬学総合研究所所長（退職まで） |
| 平成15年　3月 | 近畿大学退職 |
| | 近畿大学名誉教授 |

## ML-3.　平滑筋学会と私

名古屋大学名誉教授

富田　忠雄

平滑筋学会は1959年に「平滑筋筋電図研究会」として発足し，今年50回目の学会を迎えることになりました．私が平滑筋学会に初めて出席したのは英国から帰国した後に，栗山先生に誘われて第11回(1969年)の箱根での学会でした．九大の後藤昌義先生が1956年に教授，栗山熙先生も助教授として1957年に鹿児島大学へ赴任されて平滑筋(子宮筋)の研究を始められました．Dr Csapo (Rockefeller Institute)のところへ先ず後藤先生が，続いて栗山先生が留学されて子宮筋の研究をされ，さらに栗山先生はDr. Bülbring (Oxford) のところへ移られて，数多くの成果を挙げられました．栗山先生のお蔭で，私も一緒に研究を始めることが出来ました．後藤先生は「平滑筋筋電図研究会」の発足に関わられ，第6回平滑筋学会 (1964) を主催されました．平滑筋学会は基礎と臨床が一緒になったユニークな学会であることを強調されていました．

Bülbringや栗山教授の研究室は日本の多くの平滑筋研究者の育成や交流によって平滑筋学会とも深い関係があります．なお，東北大学の槙哲夫，鈴木泰三，白鳥常男先生達のお世話で，1968, 1977, 1985年に，ハワイで基礎，臨床の日米平滑筋セミナーが企画されたこともこの学会の発展に大きく寄与したと思います．今までを振り返ってみて，学会関係での横の繋がりによって非常に充実した研究生活を送れることが出来たと感じています．

富田　忠雄教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和30年 | 久留米医科大学卒業 |
| 昭和31年 | 九州大学医学部助手採用（生理学教室） |
| 昭和35～37年 | アメリカ合衆国（Florida大学）へ出張 |
| 昭和39～43年 | 英国（Oxford大学）へ出張 |
| 昭和43～47年 | 九州大学医学部助教授（生理学教室） |
| 昭和47～54年 | 福岡大学医学部教授（生理学教室） |
| 昭和54～平成7年 | 名古屋大学医学部教授（生理学教室） |
| 平成　7～11年 | 藤田保健衛生大学総合医科学研究所教授 |
| 平成11～14年 | 愛知県豊橋赤十字血液センター所長 |
| 現在に至る | |

## ML-4.　臨床と基礎の接点

尼崎中央病院

岡本　英三

日本平滑筋学会のルーツである日本平滑筋筋電図研究会の第一回は昭和34年東北大学第一外科槙　哲夫教授主催で行われた．私は阪大を昭和30年卒業し，一年のインターンを経て大学院生として第一外科に入局してまだ3年目の駆出し時代であった．先天的に大腸下部の腸壁内神経を欠如するヒルシュスプルング病の病態生理を研究をされていた植田隆先生の下で壁内神経の形態学的研究に没頭していたころである．植田先生はその以前からバルーン電極を肛門から挿入して直腸の平滑筋筋電図を腔内から記録しようと一生懸命であった．同じ頃尿管で平滑筋筋電図の研究をしておられた東北大学第一外科の白鳥常夫先生と語らい，基礎の先生に参加してもらってこの研究会を立ち上げられたと記憶している．私がこの研究会に初めて参加したのは第3回(徳島大学外科田北周平教授)からで，ヒト腸壁内神経叢の発生学を発表した．筋電図の研究会に形態学はそぐわないと思ったが，出題したのはこの回から筋電図だけでなく，平滑筋全般に関する演題も可ということになったからである．因みに第4回から平滑筋研究会と改称された．毎年本務に差し支えのない夏休みの時期に開催され，基礎と臨床の接点をめざす学術集会として私にとっては大変勉強になる楽しい学会であった．

岡本　英三教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和30年　3月 | 大阪大学医学部卒業 |
| 昭和31年　3月 | 大阪大学医学部付属病院実地修練終了 |
| 昭和31年　4月 | 大阪大学医学部第一外科教室に入局 |
| | 大阪大学大学院医学研究科入学 |
| 昭和31年　7月 | 第20回医師国家試験合格（医籍第159156号） |
| 昭和35年　3月 | 大阪大学大学院医学研究科修了 |
| 昭和36年　3月 | 医学博士の学位授与 |
| 昭和36年　4月 | 文部教官大阪大学助手医学部（外科学第一講座） |
| 昭和40年　6月 | 米国オハイオ州立大学コロンバス小児病院外科留学 |
| 昭和41年　7月 | 連合王国，フランス，スエーデン，西ドイツ等視察の上帰国 |
| 昭和44年　1月 | 文部教官大阪大学講師医学部（外科学第一講座） |
| 昭和48年　4月 | 兵庫医科大学教授（外科学第一講座） |
| 昭和50年　2月 | 兵庫医科大学評議員 |
| 平成　6年　4月 | 兵庫医科大学病院長 |
| 平成　8年　3月 | 兵庫医科大学理事 |
| （併任） | 兵庫医科大学医師会会長 |
| | 兵庫県医師会理事 |
| | 武庫川看護専門学校校長 |
| 平成12年　3月 | 定年退職 |
| | 兵庫医科大学名誉教授 |

## ML-5.　50年の歴史に纏わる思い出

奈良県立医科大学名誉教授

白鳥　常男

日本平滑筋学会と直接関係がないと思われますが，平滑筋運動に関係した思い出を述べさせて頂きます．

1　丹生治夫教授の尿管筋電図の素晴らしく立派な業績に改めて敬意を表し，その業績が評価されなかった悲劇的影響について．
2　迷走神経を切離すると幽門痙攣が起こると言ったのはProf. Dragstedt, L.R.と信じられて来ました．しかし，Prof. Dragstedt, L.R.は自分が言ったのではない，そして幽門痙攣は起こらないことも知っていた．
3　Prof. Wangesteen, O.H.は追試により，胃横切離により横切離下部胃に痙攣の起こる事を承認し，P.P.G.の減酸効果を検証された．深謝の極みでありました．
4　Prof. Longmire, W.P.が何故にP.P.G.の立派な実験を臨床応用にまで進展させなかったのかについても考察して見たい．

白鳥　常男教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和25年 | 東北大学医学部卒業 |
| 昭和26年 | 東北大学医学部第一外科入局 |
| 昭和36年 | 東北大学医学部第一外科講師 |
| 昭和46年 | 東北大学医学部第一外科助教授 |
| 昭和47年 | 奈良県立医科大学第一外科教授 |
| 昭和55年 | 奈良県立医科大学付属病院長 |
| 昭和63年 | 労働福祉事業団秋田労災病院長 |

## ML-6.　われわれの行なってきた食道機能検査法の研究から

[1]日本大学医学部第3外科元教授，[2]日本大学消化器外科

田中　隆[1]，田中　和彦[2]，宋　圭男[2]，山形　基夫[2]

私と平滑筋学会との関りは食道・噴門の運動機能の研究発表を通してであり，その始まりは徳島で開催された第4回（会長・田北周平教授）からであり，学会（当時研究会）で発表した内容についてはとっくに忘れてしまったが，懇親会で招待された阿波踊の桟敷は忘れ得ぬ記憶として残っている．

それ以後，食道内圧・pH測定法についての測定器具，測定法についての研究を第14報まで，また噴門機能異常として食道アカラシア，裂孔ヘルニア，食道胃逆流などの臨床研究について毎回のように発表してきた．

私なりに50年の歴史を振り返ってみて，とくに記憶に残っているのは第18回総会でのシンポジウム『下部食道噴門の運動機能とその異常』での各演者の研究成果が食道アカラシア取扱い規約にまで正文化されたこと，第21回の総会で恩師佐藤　博会長の命により「食道内圧に関する諸問題」なるシンポジウムを信大宮川　清教授と司会し，アンケートによる測定方法について討議したことがその後の統一見解にまでなったことなどである．

そのようなこともあって1993年，白鳥理事長ならびに諸先輩の推挙により第35回の総会を主催したが，主題として消化管の運動異常を取り上げ，実り多い会であったが，何よりも苦労したことは，歴代の会長のように想い出に残る懇親会をということで，デズニーランド内で唯一宴会の出来るクラブ33を借り切ったことである．

田中　隆教授　ご略歴

| | |
|---|---|
| 昭和28年　3月 | 日本大学医学部卒業 |
| 昭和28年　4月 | 駿河台日大病院にてインターン研修 |
| 昭和29年　6月 | 第16回医師国家試験合格　医籍登録第151745号 |
| | 日本大学医学部第3外科学教室助手 |
| 昭和33年　1月 | 同上　医局長 |
| 昭和34年　1月 | 医学博士の学位取得 |
| 昭和41年　4月 | 日本大学医学部専任扱講師 |
| | 駿河台日本大学病院病棟医長 |
| 昭和43年11月 | 公立山梨甲陽病院病院長 |
| 昭和45年　8月 | 駿河台日本大学病院外来医長 |
| 昭和46年　7月 | 駿河台日本大学病院消化器外科科長 |
| 昭和47年　1月 | 日本大学医学部専任講師 |
| 昭和51年　5月 | 駿河台日本大学病院外科副部長 |
| 昭和52年　2月 | 日本大学医学部助教授 |
| 昭和54年　6月 | 駿河台日本大学病院救急医療センター部長 |
| 昭和57年　4月 | 駿河台日本大学病院消化器外科部長 |
| 昭和62年　7月 | 日本大学医学部教授 |
| 昭和62年　9月 | 日本大学医学部附属板橋病院外科3部長 |
| 平成　1年　5月 | 日本大学医学部第3外科主任教授 |
| 平成　4年10月 | 日本大学医学部附属板橋病院病院長 |
| 平成　7年10月 | 定年退職 |

# SL-1.　食品成分や大腸内発酵産物が消化管平滑筋に与える影響

石巻専修大学理工学部学長

坂田　隆

食事成分の物理性が外筋層の発達に与える影響

第二次大戦中に英国で反すう動物の消化生理学や栄養学の研究が精力的に始まった．こうした反すう動物の研究の過程で，食品成分や食品成分を消化管内微生物が代謝して作る酢酸などの短鎖脂肪酸がさまざまな生理作用を持っていることが明らかになった．コーネル大学の Warner と東北大学の玉手は 1950 年代に独立に反すう胃の生後成長の研究を進めた．反すう家畜の前胃は，離乳時に容積，重量ともに約 10 倍大きくなるが，巧妙な実験によって固形物の摂取による嵩や摩擦の増大が反すう胃の筋層を発達させ，セルロースなどの難消化性糖質が反すう胃内の微生物によって分解された結果生じる短鎖脂肪酸が反すう胃粘膜を発達させることを証明した．

この結果は，食物中の特定の性質が消化管の構造や機能を変化させることを明らかにしたおそらく最初のもので，その後，同様のことがほ乳動物一般にも見られることが明らかになった．ただし，嵩の影響と摩擦の影響を区別した研究はない．また，外筋層の平滑筋の増殖やアポトーシスがこれらの要因によってどのように影響されるかを明らかにした研究もない．近年，消化管内容物の固形粒子と内容物の粘度との関係が明らかにされてきたが，こうした研究を通じて，「物理性」の影響を統合的に解明されるのではないかと期待している．

いっぽう，フランスのグループが動脈血レベルの低濃度の短鎖脂肪酸が消化管平滑筋細胞の増殖を促進することを示したので，短鎖脂肪酸が生体位で消化管平滑筋の増殖を刺激しないのかどうか，再検討が必要である．

大腸内細菌が生産する有機酸が消化管運動に与える影響

大腸には 1,000 種を超す細菌が高密度に生息しており，通常は食事中の難消化性糖質を主なエネルギー源として増殖する．この過程で短鎖脂肪酸や乳酸，ときにコハク酸などの有機酸が生産される．

矢島らの研究によると短鎖脂肪酸であるプロピオン酸や n-酪酸を生理濃度で大腸管腔内に流すと，遠位結腸では筋層が収縮し内容物を肛門方向に送る．ただし，数十分作用させると収縮は消失して，弛緩する．盲腸や近位結腸にはこうした作用が認められないが，無菌動物では盲腸や近位結腸でも短鎖脂肪酸による収縮が起こる．したがって，この作用には短期および長期の「なれ」が存在する．いっぽう，各種の有機酸をラットの盲腸内に 2 週間持続投与した星らの実験から，盲腸の持続性収縮の維持には短鎖脂肪酸が必要だが，低 pH やコハク酸は盲腸を弛緩させることが明らかになった．

さらに，フランスの Cherbut のグループの実験では回腸や盲腸から短鎖脂肪酸を作用させると胃排出を抑制することが明らかになった．この作用は迷走神経反射によると考えられている

短鎖脂肪酸による粘膜血流量の増加

小腸や大腸の粘膜に生理濃度の短鎖脂肪酸を作用させると，粘膜血流量が増大する．これは小動脈の平滑筋の弛緩によると考えられており，作用は酢酸が一番強い．短鎖脂肪酸のかなりの部分は受動拡散によるので粘膜血流量が増大すれば，短鎖脂肪酸の吸収が増加するし，酸素供給の増加によって粘膜上皮による短鎖脂肪酸の酸化も促進されることになるので，都合が良い．

以上のように，あまり生理作用が議論されることがない非水溶性食物繊維や，大腸内細菌の代謝産物が消化管の平滑筋に大きな影響を与えている．しかし，こうした作用の機構の解明はすすんでおらず，今後の研究が期待される．

## EL-1.　形態学から見たカハールの介在細胞

早稲田大学人間科学学術院健康福祉科学科

小室　輝昌

カハールの介在細胞（Interstitial Cells of Cajal : ICC）が消化管平滑筋運動のペースメーカー或は興奮の伝達役として認められて久しく，臨床的側面から疾病との関連の研究が進められる一方，消化管以外の臓器，泌尿器，生殖器，脈管等での検索も大きな広がりをみせている．ICC の形態学的特徴，即ち，分布，密度，配列，神経要素との接点あるいは平滑筋との結合の有無等は，その存在部位の筋運動を理解する重要な手がかりとなっている．また，研究の広がりの中で，ICC の多様な側面が明らかになる一方，類似細胞の報告も多く，その鑑別の上からも，形態，機能，分子マーカー等に関して，同定基準をどのように設定するか，あらためて問い直される時期にさしかかっている．本講演では，ICC 研究の歴史を簡単に振り返り，次いで，現時点までに広く認められている ICC の細胞組織学的特性，消化管各部の特徴について解説する．また，ICC に関し，局所的に顕著な形態学的特徴を示す胃幽門前庭部，回盲部の構造等，最近明らかになってきた知見についても，演者の所属する研究室での成果を中心に紹介する．なお，所見は，モルモット，ラット，マウスを材料とした免疫組織化学標本（KIT, PGP 9.5, Connexin），電子顕微鏡用標本の観察を中心にしたものである．以下には ICC に想定されている主な機能と関連のある特徴についてのみ記しておきたい．

—筋層間神経叢部 ICC-MP の特徴—

ICC-MP は slow wave の発信源として知られているが，その形態学的特徴は部位によって異なる．胃底では欠損し，胃体部より出現するが，分布は疎で筋層間神経叢との構造的関連性は低い．幽門前庭部では，よく発達した筋層間神経節周辺に多数の ICC-MP が観察されるが，集積の仕方は不規則で，神経節を囲むカゴ状構造は認められない．これに対し，小腸では，比較的規則的な長方形の繰り返しパターンを示す筋層間神経叢と重なるように ICC-MP の網状構造が発達しており，神経節を取り巻くカゴ状構造が明瞭に認められる．個々の ICC-MP は 3～5 本の突起を多方向にのばす典型的な多極性細胞の形を示す．また，結腸では筋層間神経叢は神経節の密集した不規則なパターンを示すが，ICC-MP が神経節をカゴ状に取り囲む点においては，小腸と似た様子を示す．しかし，盲腸では ICC-MP の分布はまばらで，網目が大きく疎な神経叢の周囲にわずかに観察されるにすぎない．

—筋層内 ICC の特徴—

神経支配の様子を示す一つの目安としての筋層内 ICC の配列，形状は，付随する神経叢の発達程度，走行パターンおよび平滑筋の筋束の大小等によって，かなりの変異を示す．小腸深部筋神経叢の ICC-DMP は，輪走筋層内 ICC の特殊なタイプと見做し得るが，多くは多極性で，突起間の連絡も多く，独自の網状構造を形成している．胃輪走筋層内の ICC-CM は，胃底では長い紡錘形の単純は双極性の細胞として観察されるが，胃体から幽門部にかけては，突起は分枝を増す傾向にあり，相互に連結して網状構造が見られるようになる．結腸の ICC-CM は突起が発達しており，多極性の形態を示す．一方，縦走筋層では，一般に神経叢の発達が悪く，付随する ICC-LM も少ない傾向にあるが，胃底，胃体，盲腸紐では単純な双極性の細胞が豊富に見られる．

その他，各種 ICC サブタイプの示す個々の細胞としての特徴，他細胞要素との連絡等について触れ，これら形態学的特徴の示唆する生理学的意義について考察する．

## EL-2. TRP チャネル/$Ca^{2+}$ 流入チャネル群を巡る心血管の病態生理

福岡大学医学部生理学

井上　隆司

最近，電位以外の物理学刺激で活性化される $Ca^{2+}$ 流入チャネル群 TRP 蛋白質が注目を集めている．このチャネルは，生理活性物質による細胞膜脂質代謝の亢進や細胞内代謝の変化と連動して活性化されるだけでなく，細胞外環境から加わる種々の侵害刺激や人工化学物質によっても活性化され，細胞内に持続的な $Ca^{2+}$ 流入を引き起こす．TRP チャネルの活性化は，感覚伝導，内臓機能の発現・調節から細胞増殖・死に至るまで，生体の広範な機能に密接に関与しているが，心血管系の生理機能やその破綻としての病態においても重要な役割を果たしている証拠が次々に得られてきた．これまでの知見から，少なくとも 10 種以上の TRP アイソフォーム（TRPC1, TRPC3-6, TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPM4, TRPM7, TRPP2）が心血管系に高レベルで発現しており，種々の病態に関わっていることが明かとなってきた．例えば，神経体液性因子による血管緊張度（血管抵抗）の制御には TRPC6 チャネルを介した直接的あるいは間接的な $Ca^{2+}$ 流入（後者には電位依存性 $Ca^{2+}$ チャネルの脱分極による活性化や $Na^{+}/Ca^{2+}$ 交換機構の逆モード作動が関与する）が密接に関与しており，その発現バランス（特に TRPC3 に対して）の変化によって，原発性肺高血圧症や，食塩感受性高血圧，本態性高血圧やなどの血圧調節が生じることが強く示唆されている．また，血管障害後狭窄や動脈硬化などの閉塞性増殖性病変の進行過程には，TRPC1 発現増加による持続的な $Ca^{2+}$ 流入による増殖性転写因子系の活性化が重要な役割を果たしていることが，細胞外 TRPC1 特異的抗体（T1-E3）を用いた実験によって明らかとなってきた．更に，各種ストレスによる心肥大・変性過程においても，TRPC ファミリーの発現増加とそれに伴う持続的な細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度増加や $Ca^{2+}$ 依存性転写因子の活性化が，必須の機転として作動していることを支持する強力な証拠が遺伝子改変動物を用いた実験などによって得られている，このように，心血管系の TRP 蛋白質は，血圧制御などの短期的な機能調節だけでなく，心血管の構造的改変（リモデリング）にも密接に関わっていることが，次第に明らかとなってきた．本講演では，これらに対する最新の知見を解説すると同時に，これまで全く異なる経路を介して生じていると考えられてきた，神経体液性因子（化学受容体）あるいは機械刺激による細胞情報伝達が，TRPC6 チャネルの活性化に対して協働的に作用し，互いの情報伝達効率を著しく高めていることを強く示唆する最近の実験結果について紹介したい．

# シンポジウム1　$^{13}$C化合物を用いた消化器機能評価法

## S-1.　ラット呼気テストによる消化器機能評価法

明治乳業（株）研究本部食機能科学研究所

内田　勝幸，吉田　佳緒里，清水　喜美子，最上　おりえ

【目的】呼気テストは簡便で臨床でも広く用いられるようになってきたが，動物を用いた簡便な方法はこれまでなかった．我々は無麻酔無拘束下で簡便にラットの呼気テストを行う方法を考案した(J Pharmacol Sci 2005)．そこで，この方法を用いて各種消化器機能が評価できるか検討した．また，薬物の影響についても併せて検討した．【方法】動物はSD系の雄性ラットを一夜絶食し実験に用いた．標識物質を経口投与後，動物が自由に動き回れる大きさのチャンバーにいれ，吸引ポンプにより呼気を経時的に呼気パックに採取した．採取した呼気はUBiT-IR300にて測定した．評価した消化器機能は胃排出吸収機能，小腸通過時間および膵外分泌機能である．胃排出吸収機能は［1-$^{13}$C］acetic acidあるいは［1-$^{13}$C］octanoic acidを，小腸通過時間はlactose-［$^{13}$C］ureideを，膵外分泌機能はN-benzoyl-L-tyrosyl-L-［1-$^{13}$C］alanineをそれぞれ用いて評価した．【成績】本方法を用いることにより胃排出吸収機能を評価することが可能になり，酢酸およびオクタン酸を同じモル数で投与した場合，酢酸の感度の方が良かった．また，胃排出促進薬であるメトクロプラミドおよびモサプリドの作用および胃排出抑制薬であるアトロピンの作用を評価することができた．Lactose-ureideを用いることにより小腸通過時間が，また，N-benzoyl-L-tyrosyl-L-alanineを用いることにより膵外分泌機能も評価可能であった．【結論】本呼気システムは病態の解明や薬効評価など消化器機能研究に有用な方法であると考えられた．

## S-2.　$^{13}$C-uracil呼気試験の胃排出能検査としての有用性の検討

[1]川崎医科大学総合臨床医学，[2]川崎医科大学食道・胃腸内科，
[3]川崎医科大学検査診断学（内視鏡・超音波）

楠　裕明[1]，春間　賢[2]，畠　二郎[3]，石井　学[2]，佐藤　元紀[3]，蓮尾　英明[1]，眞部　紀明[3]，山下　直人[1]，本多　啓介[1]，角田　司[1]

【背景】$^{13}$C-acetate（アセテート）や$^{13}$C-octanoic acid呼気試験は，現在簡便かつ非侵襲的な胃排出能検査として普及しつつあるが，体内での吸収・代謝にバラつきがあり，検査結果の安定性が十分ではないと指摘されていた．そのため，安定した結果が得られる$^{13}$C化合物の開発が切望されていたが，uracilが同様な性質を持ち無害である上に，体内での吸収・代謝も安定していることが判明した．われわれは$^{13}$C-uracil（ウラシル）呼気試験が既存法の問題点を解決する可能性があると考えた．【目的】ウラシル呼気試験が胃排出能検査としての有用であり，安定性の点で優れていることを証明する．【対象と方法】対象は上腹部症状を有さない健常ボランティア7例とし，試験食はラコール200 kcal/200 mlを用いた．無投薬（胃排出能正常）状態とオクトレオタイド皮下注(胃排出能低下)状態でウラシルおよびアセテート呼気試験を行い，呼気ガス測定装置(UBiT-IR 300)を用いてΔ値（‰）を求めた．呼気排出速度曲線からm値，T1/2，Tlag（Tmax-calc）を算出し，Tmax実測値とともに胃排出パラメータとした．呼気採取は平滑筋学会ワークショップ標準案4時間法に準じた．【結果】ウラシル呼気試験のm値はアセテートより有意に高値であった．ウラシルおよびアセテート呼気試験のTmax実測値は7例中4例で20分の差が見られ，その他の排出評価パラメータにも多少の差が見られた．オクトレオタイド皮下注射後は両呼気試験とも各排出パラメータは遅延状態を示した．【結語】両試験とも胃排出検査法として有用と思われた．m値は$^{13}$C化合物の呼気への回収率を意味しており，ウラシルの体内動態はアセテートより安定していることが証明された．したがってウラシル呼気試験は胃排出試験としてアセテート呼気試験より正確である．しかしウラシルは高価であるため，今後多数例で両呼気試験の比較を行い，妥当性や使い分けの検討する必要がある．

## S-3. Wagner-Nelson 法解析導入による $^{13}C$ 呼気試験法胃排出能検査「新標準法」の提唱

[1]東京慈恵会医科大学外科学講座，[2]都立駒込病院内科，[3]協和発酵工業株式会社医薬マーケティング部

中田　浩二[1]，佐仲　雅樹[2]，野坂　千裕[3]，仲吉　朋子[1]，羽生　信義[1]，柏木　秀幸[1]，矢永　勝彦[1]

【背景】$^{13}C$ 呼気試験法胃排出能検査（$^{13}C$ 法）は第 44 回本学会総会ワークショップ（2002 年）で「標準法」が提唱され，簡便で非侵襲的な胃排出能検査として広く行われるようになった．「標準法」では，胃排出速度の評価指標に関して（1）Tmax（実測値）は RI 法の T1/2 と強く相関し信頼性が高いが定量性に欠ける点，（2）Ghoos らの指標（GEC, Tlag, T1/2）は fitting curve を用いる点と体内分布・代謝の影響を受ける点が問題とされデータの解析法に課題が残った．薬物動態学で用いられる Wagner-Nelson 法解析（WN）では，実測値に基づき体内分布・代謝の影響を除外できるため間接法である $^{13}C$ 法の新しい解析手法として期待される．【目的】RI 法との同時施行による $^{13}C$ 法（WN）の信頼性の検証と $^{13}C$ 法（WN）を用いた胃切除後の残胃運動能評価を試みた．【方法】（A）健常人（HV）6 名に Ghoos らに準じた試験食を投与し，液状成分を $^{99m}Tc$-DTPA と $^{13}C$-酢酸で，固形成分を $^{99m}Tc$-DTPA と $^{13}C$-オクタン酸でラベルし，摂取後 6 時間まで測定し両検査法の結果を比較した．（B）HV 12 名，幽門側胃切除後患者（DG）12 名と幽門保存胃切除後患者（PPG）10 名に $^{13}C$ 法（WN）を行い，残胃運動能を比較検討した．【結果】（A）RI 法と $^{13}C$ 法（WN）の胃排出曲線は近似し，両者間に有意な相関が認められた（$p<0.05$）．（B）試験食摂取後 40 分までの胃内残存率，T1/2 および貯留能（≒5 分後胃内残存率）は HV＞PPG＞DG の順で，各群間に有意差が認められた（$p<0.05$）．胃排出パターンは，HV では早期遅延-後期亢進，DG ではほぼ一定，PPG では早期亢進-後期遅延を呈した．【結論】$^{13}C$ 法（WN）では，RI 法と近似し経時的・定量的な評価が可能であり，「標準法」の問題点も解決された．また従来法では評価できなかった貯留能，胃排出パターンの評価が可能であった．以上より $^{13}C$ 法（WN）は信頼性，有用性にすぐれ「標準法」に替わる「新標準法」として妥当と考えられた．

## S-4. 固形食を用いたマウス胃排出呼気試験

[1]北里大学大学院医療系研究科，[2]北里大学東洋医学総合研究所

星野　卓之[1,2]，及川　哲郎[2]，花輪　壽彦[1,2]

【目的】ラットやマウスの呼気試験には，より非侵襲的な実験系が開発されつつある．今回我々は，簡便に作成できる固形試験食をマウスに自発摂取させる系を用いて $^{13}C$ 酢酸呼気試験を行ったので報告する．【方法】内田らによって確立された持続排気ポンプとチャンバーからなるシステムを利用した．行動実験で頻用される 20 mg のペレットに $^{13}C$ 酢酸ナトリウムを乾燥吸着させたものを試験食として用意し，毎回 2 個（40 mg 相当）使用した．試験食の自発摂取トレーニングは週 2 回のペースで計 4 回行った．本試験ではメトクロプラミド（0.3, 1, 3 mg/kg, p.o.）または硫酸アトロピン（0.3, 1, 3 mg/kg, i.p.）投与 30 分後に試験食を摂取させたマウスをチャンバー内に入れて呼気を採取した．呼気 $\Delta^{13}CO_2$ 測定には POC one（大塚製薬）を用い，最大濃度時間 Tmax と最大濃度 Cmax を求めた．検定には水投与群を対照として Dunnett's test を用い，$P<0.05$ を有意とした．【成績】メトクロプラミド投与で Tmax は用量依存的に減少し，3 mg/kg 投与群で有意差を認めた．Cmax については用量依存的に増加し，すべての群で有意差を認めた．硫酸アトロピン投与では用量依存的な Tmax 増加，Cmax 減少がみられ，すべての群で有意差を認めた．【結論】固形食を用いたマウス胃排出呼気試験で促進・遅延をもたらす薬物の効果が再現され，他薬物の評価にも活用できると考えられた．自発摂取で行う固体法は本来の食餌に近いことから液体法より非侵襲的・生理的であるといえる．また固形食は液状食より胃に貯留しやすいため胃排出能の軽微な変化を検出しうる可能性がある．

## S-5. Wagner-Nelson 法解析を用いた $^{13}$C オクタン酸呼気試験による固形食胃排出能検査について

[1]東京都立駒込病院内科，[2]東京慈恵会医科大学外科，[3]協和発酵医薬マーケッティング部

佐仲　雅樹[1]，中田　浩二[2]，野坂　千裕[3]

【目的】最近米国学会より，RI による胃排出測定法の標準化案が発表された（Am J Gastroenterol 2008；J Nucl Med 2008）．それによれば，試験食として 255 kcal のスクランブルエッグ食(255 kcal)を用い，指標として食後 1 時間，2 時間，4 時間の胃内停滞率（GR）を推奨している．これまで我々は，Wagner-Nelson 法解析(WN)を用いた $^{13}$C 呼気試験によって，RI 法と同じような GR 曲線が作成できることを報告してきた（Clin Exp Pharmacol Physiol 2007）．今回我々の目的は，GR1 時間値と 2 時間値を RI 法と WN-呼気試験で求め，比較することである．【方法】健常被験者 6 名にテクネシウムと $^{13}$C オクタン酸で標識した目玉焼きを含む食事（計 230 kcal）を摂取させ，15 分間隔で放射線活性を測定し（4 時間），同時に呼気を採取した（6 時間）．各方法によって GR 曲線を作成し，最も頻用される半量排出時間(T1/2)と，米国学会の推奨する GR1 時間値と GR2 時間値を求め，t 検定で比較した．【結果】両法で作成した GR 曲線はよく一致したが，食後 30 分までは，WN-呼気試験は RI 法による胃排出速度を過小評価する傾向があった．各指標は WN-呼気試験と RI 法との間に有意差はなかった（T1/2: 45.8±10.2 分 vs. 35.3±11.2 分，p＝0.051；GR1 時間値：38.4±11.8% vs. 32.8±14.5%，p＝0.084；2 時間値：7.05±4.86% vs. 9.88±8.60%；p＝0.237）ただし，T1/2 は WN-呼気試験の方が RI 法よりも長い傾向にあった．【結論】WN-呼気試験による GR1 時間値と 2 時間値は，RI 法と同等に正確な固形食胃排出の指標である可能性が示唆された．

## S-6. Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-$^{13}$C] Alanine を用いた呼気膵外分泌機能検査法と脂肪および窒素の便中排泄量との関連

[1]青森市民病院第一内科，[2]弘前大学医学部保健学科，[3]弘前大学医学部内分泌・代謝内科

松本　敦史[1]，高島　早百合[2]，今　昭人[3]，野木　正之[2]，柿崎　綾女[3]，佐藤　江里[3]，田中　光[3]，柳町　幸[3]，丹藤　雄介[3]，小川　吉司[3]，増田　光男[1]，中村　光男[2]

【目的】Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-$^{13}$C]Alanine を用いた呼気膵外分泌機能検査法は，便中脂肪排泄量(5 g/day 以上)で定義された膵外分泌機能不全と相関する検査法である事が知られている．一方 Benzoyl-L-Tyrosyl-[1-$^{13}$C] Alanine は膵由来の蛋白分解酵素 carboxypeptidase により [1-$^{13}$C] Alanine に遊離されるものであり，蛋白分解酵素の分泌能が低下すれば，便中窒素排泄量が増加するはずである．そこで我々は，本検査法と脂肪および窒素の便中排泄量との関連について検討した．【方法】本検査法は以下のように行った．即ち被験者の早朝空腹時の呼気を前値とし，Benzoyl-L-Tyrosyl- [1-$^{13}$C] Alanine 300 mg 溶液を被験者に経口投与し，その後 10 分毎に 90 分後まで，以降は 30 分毎に 180 分後まで被験者の呼気を採取し，呼気中の $\Delta^{13}CO_2$(‰)を経時的に求めた．一方，本検査法を施行した 28 例(膵外分泌機能不全 7 例，健常 1 例，糖尿病 18 例，肝硬変代償期 1 例，腎不全 1 例)に 72 時間の蓄便を行い，ガスクロマトグラフィー法により便中脂肪量，Ninhydrin 法により便中窒素量をそれぞれ測定した．既に酵素補充療法を行っている膵外分泌機能不全患者では，蓄便の 3 日前より蓄便終了後まで，一時的に消化酵素製剤を中止した．【結果】本検査法において，膵外分泌機能不全患者 7 例の $\Delta^{13}CO_2$ ピーク値の平均は 35.3 ‰ であり膵外分泌機能の正常な他の 21 例（60.8 ‰）より明らかに低値であった．また $\Delta^{13}CO_2$ ピーク値の低い被験者ほど，1 日平均の脂肪および窒素の便中排泄量は高値を示した．【結論】本検査法において $\Delta^{13}CO_2$ ピーク値が低値の場合，脂肪だけでなく窒素の便中排泄量も高値であった．従って，脂肪便を呈するような膵外分泌不全の状態では蛋白分解酵素の分泌も同様に低下している事が示唆された．膵由来の蛋白分解酵素 carboxypeptidase の分泌能を反映させた本検査法は，膵外分泌機能不全を診断するのに適切な検査法である事が示された．

## S-7. 膵臓疾患診断における $^{13}$C ジペプチド呼気テストの有効性と限界

[1]日本大学医学部付属練馬光が丘病院外科，[2]日本大学医学部外科学系消化器外科，
[3]日本大学先端医学系探索医療・遺伝子ゲノム部門

石井　敬基[1]，高山　忠利[2]，浅井　聰[3]

目的：C-末端に L-［1-$^{13}$C］alanine を導入した $^{13}$C-ジペプチド（Benzoyl-L-Tyrosyl-［1-$^{13}$C］alanine 以下 Bz-Tyr-Ala）呼気テストの膵外分泌機能測定における信頼性の確認と膵疾患の診断能を検討した．方法と対象：信頼性の確認は膵頭十二指腸切除を施行した 17 例を対象に，術中に挿入した膵管チューブ挿入時と抜去後に呼気テストを施行し，膵管チューブ挿入時の平均一日膵液量，最大膵液量，膵液中アミラーゼ分泌量と呼気テストの結果との関係について検討した．膵疾患診断能の検討には，健常成人 33 例，膵臓疾患症例 84 例（慢性膵炎 46 例，膵臓癌 38 例）117 例を対象とした．呼気テストは，Bz-Tyr-Ala 5 mg/kg を内服し，呼気を 10 分間隔で 90 分まで採取し，呼気中 $^{13}CO_2$ 存在比率を測定した．結果：1）呼気テストの結果と平均一日膵液量，最大膵液量，アミラーゼ分泌量との相関はそれぞれ 0.75（$p<0.0001$），0.86（$p<0.0001$），0.83（$p<0.0001$）であった．2）膵疾患の存在診断では，20 分値 26.3 ‰ で，受動者動作特性曲線（ROC 曲線）の曲線下面積は 0.840 で，感度 67.4%，特異度 87.8%，尤度比 5.5，陽性的中率 93.3% であった．3）慢性膵炎と膵臓癌症例の間に測定時間内の $^{13}CO_2$ 値に有意差は認めず，膵臓癌に対する診断能は 50 分値 28.2 ‰ で ROC 曲線 0.656，感度は 71.1%，特異度 56.4%，尤度比 1.6，陽性的中率 44.3% であった．結論：Bz-Tyr-Ala 呼気テストは膵外分泌機能測定のみならず，膵疾患の存在診断にも有効であるが，慢性膵炎と膵臓癌に鑑別診断には有効性が低いと考えられた．

## S-8. 肝切除ラットにおける $^{13}$C-phenylalanine 呼気試験の経時的変化

[1]東邦大学医療センター大森病院消化器外科，[2]東邦大学医療センター大森病院総合診療・急病科，
[3]東邦大学医療センター大森病院 NST，[4]東邦大学医学部衛生学

三浦　康之[1]，瓜田　純久[2]，鷲沢　尚宏[1,3]，今井　常彦[4]，渡辺　利泰[2]，名波　竜規[1]，
大嶋　陽幸[1,3]，金子　弘真[1]，杉本　元信[2]

【目的】phenylalanine は生体内では tyrosine に変換され，さらにフマル酸，アセト酢酸へと分解されて $CO_2$ が排出される．主要代謝部位は肝であり，血漿中濃度は肝細胞機能に依存することを利用して，$^{13}$C-phenylalanine 呼気試験が考案された．呼気中 $^{13}CO_2$ 排出が 20 分後に最大となることから，短時間で肝機能を評価でき，20 分後の $^{13}CO_2$ 排出速度が肝機能をよく反映することが報告されている．さらに，肝硬変では $^{13}CO_2$ 排出の最大値（Cmax）が低下し，最大となる時間（Tmax）も遅れることが報告されている．そこで，今回肝 3 葉切除したラットを用いて経時的に $^{13}$C-phenylalanine 呼気試験を施行し，その変化を検討した．【方法】生後 6ヶ月の Fisher 雄性ラットを用いて，エーテル吸収麻酔下に開腹し，肝 3 葉（約 70%）を切除した．術前，術後 1 週，2 週，4 週，6 週後に $^{13}$C-phenylalanine 呼気試験を行った．呼気試験は 24 時間の絶食後，100 mg/kg の $^{13}$C-phenylalanine を投与し，呼気採取装置を用いて 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 90, 120 分後に呼気を採取し，呼気中 $^{13}CO_2$ の変化を検討した．【成績】肝切除前では呼気中 $^{13}CO_2$ 排出は 20 分でピークとなり，平均 450 ‰ であった．術後 1 週では呼気中 $^{13}CO_2$ 排出は 30 分でピークとなり，平均 385 ‰ であった．術後 2 週では Tmax は 30 分と変化なかったが，Cmax は 461 ‰ と切除前まで回復していた．術後 4 週では Tmax が 25 分となり，6 週後では 20 分に回復するラットがみられた．【結論】ラットでは肝再生が速いことが知られているが，phenylalanine 呼気試験での検討では，Cmax は 2 週，Tmax は 6 週でほぼ切除前まで回復していた．

# シンポジウム2　大腸疾患術前・後の消化管機能と臨床的意義

## S-9.　モルモット直腸切離吻合後の壁内神経系の再生過程の解析とその促進法

[1]奈良県立医科大学医学部医学科生理学第二講座,
[2]奈良県立医科大学医学部医学科消化器・総合外科学講座,
[3]奈良県立医科大学医学部医学科分子病理学講座

高木　都[1]，勝井　錬太[1,2]，國安　弘基[3]，藤井　久男[2]，中島　祥介[2]，松吉　ひろ子[1]

【目的】モルモット直腸切離吻合モデルを用いて，壁内神経切断後の排便反射の経日的な変化，吻合部の組織学的な変化を検討し，直腸肛門反射経路に関与する壁内神経の可塑性について解析すると共にその促進方法について報告する.【方法】肛門縁より3 cmのモルモット直腸を切離吻合した．全身麻酔・人工呼吸下で，肛門縁より5 cmの直腸に挿入したバルーンを加圧伸展した時の排便反射［直腸-直腸反射（R-R反射）および直腸-内肛門括約筋反射(R-IAS反射)］の測定を行った．また，5HT4 agonist（mosapride citrate）の効果の経日的な変化や，脳由来神経栄養因子（BDNF）局所投与後の排便反射•吻合部の組織学的形態の経日的な変化についても検討した.【結果】R-R反射反応は非手術例のコントロール群（C群）と有意差は認めなかった．R-IAS反射反応は術後1-4週目でC群に比べて有意に減少したが，8週目ではC群と有意差を認めないほど回復した．吻合部組織像の検討により，この時期に一致して吻合部を越えてつながる神経線維が観察された．Mosapridеもこの時期に一致して，R-RおよびR-IAS反射反応を増強した．BDNF局所投与群ではR-IAS反射反応の回復は術後2週目で見られ，吻合部を連絡する神経線維を認めた．また，吻合部においてBDNFの受容体であるTrkB陽性細胞，DLX2，p75，PCNA陽性細胞を認め，NF陽性細胞の数は有意に増加していた．さらに，BrdUで二重にラベルされたNF陽性細胞を認めた.【結語】直腸切離吻合術後，R-IAS反射の経日的な回復がみられ，それに伴う壁内神経系の再生が示された．さらに，BDNF局所投与は壁内神経系の可塑性を促進し，R-R反射とR-IAS反射からなる排便反射の回復を短縮させた．本研究は，直腸癌摘出後等におこる排便障害を早期に回復させる方法の開発に多いに貢献すると考えられる．

## S-10.　下部直腸癌低位前方切除術後における新直腸肛門機能について

[1]日本歯科大学生命歯学部外科学講座，[2]日本大学医学部外科学講座小児外科部門

富田　凉一[1]，五十嵐　誠悟[2]

【目的】下部直腸癌で低位前方切除術が行われた症例をsoilingの有無から2つに分類し，新直腸肛門における各種筋性因子から検討を加えた.新直腸肛門機能について検討を加えた.【方法】下部直腸癌低位前方切除28症例（男性19例，女性9例，年齢分布47-77歳，平均65.4歳）をsoiling陽性14例（A群）とsoiling陰性14例（B群）別に直腸肛門内圧検査を行った．対照には健常人29例（C群；男性19名，女性10名，平均56.5歳）を用いた.【成績】肛門管最大静止圧はA群ではB群より有意に低値($p<0.05$)，肛門管最大随意収縮圧はA群ではB，C群より有意に低値($p<0.05$，$p<0.01$)，直腸最大耐容量はA群では他2群より有意に低値（$p<0.01, p<0.05$），コンプライアンスはA群ではB群より有意に低値（$p<0.0001$），定型的直腸肛門反射陽性率はB，C群よりA群は有意に低値（$p<0.0001$），直腸圧はA群ではB，C群より有意に高値を示した（$p<0.01$）.【結論】soilingは，内・外肛門括約筋と直腸貯留機能低下，直腸圧増大により生じることが示唆された．なお，本検討では直腸肛門の筋性因子からの検討を加えた．

## S-11. 直腸癌に対する肛門温存手術後の排便障害と新直腸の運動障害との関連性

帝京大学ちば総合医療センター外科

幸田　圭史，安田　秀喜，小杉　千弘，山崎　将人，手塚　徹，樋口　亮太，杉本　真樹，平野　敦史，鈴木　正人

【目的】直腸癌に対する肛門温存手術（SPO）後には，排便障害が様々な形で生じ，その発症機転については，過去から括約筋障害，肛門挙筋の運動障害が指摘されてきた．これらに加え近年，新直腸の異常運動と，術後排便障害との関連性につき報告が散見される．我々は直腸癌手術に伴い新直腸への外部神経分布が変化することに着目し，その運動能を測定してきた．今回，排便障害との関連性について検討した．【方法】1，SPO 術後 81 名に対し術後 1 年～3 年にてアンケートによる排便機能を検討　2，同時に残存大腸の運動を，術後定期的な大腸内視鏡検査に際して約 1 時間，大腸内圧を測定する事で評価した．3，大腸輸送能はジッツマークを服用する事で計測した．【結果】1，SPO 81 名のうち，（超）低位吻合を行った 66 名において，IMA 根部郭清による上方向脱神経群（以後 D3 群）44 名中 24 名で口側からの蠕動波が新直腸に到達せず，また新直腸における不随意収縮（spasm）が 22 名に認められ，これらの異常は郭清を行わなかった D2 群（n＝22）に比し有意に多かった．2，81 名全例の解析では，新直腸の spasm の存在（n＝33）は multiple（incomplete）evacuations や urgency, major soiling など重度の術後排便障害の発症ときわめて有意に関連し，また spasm の存在は蠕動の伝播不良とも関連していた．3，（超）低位吻合を行った症例のうち新直腸への蠕動伝播を認めない症例では新 S 状結腸，新直腸部分の通過時間が有意傾向をもって蠕動波伝播のある症例にくらべて延長していた（6.3 vs 3.6 hrs, p＝0.06）．S 状結腸より口側までの伝播時間は差がなかった．【結語】直腸癌に対する SPO 症例，特に低位直腸吻合を伴う例での術中 D3 郭清は上方向の脱神経をともない，新直腸への口側からの伝播波を減少させ，また無秩序収縮（Spasm）を増加させ，これは術後排便障害の原因となることが示唆された．

## S-12. 直腸癌術後例の再建法別排便機能評価 —Fecoflowmetry による経時的変化の解析—

[1]新潟大学大学院消化器・一般外科，[2]久留米大学医学部外科学講座小児外科部門

小林　康雄[1]，八木　実[2]，飯合　恒夫[1]，谷　達夫[1]，丸山　聡[1]，畠山　勝義[1]

【背景】直腸癌術後排便機能評価にあたり，一般的に排便回数等の臨床スコアを用いることが多い．しかし，排便回数を正確に本人から聴取することは実際には難しいのが現状で，更に止痢剤，下剤を不定期に使用している場合も多く本来の排便機能を表現していない可能性もある．【目的】直腸癌術後症例の排便機能の変化に関し，臨床スコアや直腸肛門内圧検査（内圧検査）に加え，Fecoflowmetry（FFM）による客観的評価を行い検討する．【対象，方法】再建方法別に，Ra 直腸癌に対する低位前方切除術（LAR）施行例（Ra-LAR）（7 例）（A 群），Rb 直腸癌 LAR 施行例（Rb-LAR）（9 例）（B 群），超低位前方切除術（SLAR）J pouch 再建例（9 例）（C 群），SLAR-Coloplasty pouch 再建例（10 例）（D 群）に大別した．内圧検査として肛門管圧（静止圧：AP，意識的収縮圧較差 ASP），直腸静止圧（RP）を測定後，直腸内留置カテーテルより模擬便（37°C 加温生理食塩水（生食））を 20 ml/kg（体重 50 kg 以上は 1,000 ml）を目標に直腸肛門内圧モニター下に自然滴下注腸し，模擬便生食の下部結腸内耐容量（TV）を測定し，便意を生じた際に Fecoflowmeter（Uroflowmeter のスケールを改良）に排出させた．模擬便の耐容率（TR），排出率（ER），最大排出速度（Fmax），排出パターン（FFP），内圧所見，Kelly スコア（KCS）を算出しそれらの経時的変化を比較検討した．【結果】1）経時的に有意に改善を示した因子は，A 群の TR 及び Fmax，B 群の RP，C 群の AP 及び TR であった．2）C 群では RP 及び ER が逆に経時的に低下する傾向を認めた．【結語】直腸癌術後客観的排便機能評価は再建法に拘らず概ね，術後経過年数に伴い改善されるものと考えられた．

## S-13. Functional Bowel Disorders に合併した Functional Anorectal Disorders について

九州大学医学研究院保健学部門

壬生　隆一

（目的）排便機能は小腸結腸機能と直腸肛門機能によって規定されている．したがって，機能障害を評価するためには全てのこれらの機能を視野にいれて評価することが必要である．今回，ROME III に則って，Functional Bowel Disorders（FBD）に Functional Anorectal Disorders（FARD）を合併した症例について 2 つの疾患の関連性に関して研究を行ったので報告する．（方法）38 例の FBD を対象とした．これらの症例の主訴，身体所見（直腸肛門部圧痛），検査所見（排便造影，内圧検査，移送時間測定）から FARD の診断を行った．（結果）FBD で FARD を合併したのは 22 例（58%）であった．合併した FARD は便失禁 7 例，直腸肛門痛 9 例，排出障害 15 例であった．2 種合併は 7 例，3 種合併は 1 例であった．合併群の FBD は IBS-C 11 例，IBS-D 4 例，IBS-M 7 例であった．非合併群では IBS-C 6 例，IBS-D 6 例，IBS-M 3 例，Bloating 1 例であった．直腸肛門部圧痛は FARD 合併群では 79% あり，うち直腸肛門痛を訴えないのに圧痛があったのは 34% であった．また，FARD 非合併群でも直腸肛門痛を訴えないにもかかわらず，圧痛があったのは 54% であった．また排便造影でも排出障害がなくても 92% に異常所見が得られ，内圧検査でも排便障害の症状がないのに 92% に異常所見が認められた．（結論）FBD には FARD の合併率が高く，また，潜在的に合併している率も高く，下部消化管の機能障害は排便機能障害を含めて総合的に評価していく必要があると思われた．

## S-14. 直腸内圧運動型分類からみた輸送遅延型慢性便秘症例の検討

[1]日本大学医学部小児外科，[2]日本歯科大学附属病院外科

萩原　紀嗣[1]，富田　涼一[2]，草深　竹志[1]

【はじめに】輸送遅延型慢性便秘症（以下 STC）においては，消化管反射減弱や消化管運動異常が存在すると報告されている．そこで，今回われわれは，STC での胃大腸反射を解明するため，食事負荷前後での直腸運動型を検討した．【対象】対象は，STC 10 例（男性 4 例，女性 6 例，平均 51 歳）で，対照には，排便異常のない成人 10 例（男性 7 例，女性 3 例，平均 61 歳）を用いた．【方法】圧トランスデューサーを経肛門的に肛門管直上より 5 cm，10 cm の直腸内に留置し，食事前後それぞれ 2 時間の内圧波形を測定した．試験食（入院一般食，15～20 Kcal/kg）を 15 分～30 分で摂取させ，得られた直腸運動型について，対照群と STC 群を比較検討した．【結果】対照群の直腸内圧波形は，低振幅連続波，高振幅または基線上昇を伴う連続波，基線上昇のみ，および単相高収縮波，の 4 種類に分類された．対照群では，食事前は低振幅連続波，食事後はその頻度が有意に増加し，基線上昇波と単相高収縮波が観察された．STC 群では，食前運動型は対照群と同様だが，食事後に連続波頻度の増加はなく，基線上昇やその出現時間が有意に遅延し，単相高振幅波は見られなかった．【考察】対照群での食事後波形変化は排便反射，特に胃-直腸反射を示すと思われた．STC 群での食後の高収縮波欠如，連続波頻度増加の欠如，出現時間遅延などは，食事負荷から運動亢進状態への移行過程障害を示唆する．よって，STC では，食事摂取に伴う胃直腸反射機能障害による，食後期直腸運動低下が存在すると考えられた．

# パネルディスカッション1

## 血管平滑筋のメカノトランスダクションについて

— 序文 —

血圧・血流や心臓・血管の収縮・弛緩などの血行力学因子は循環系の即時的および中・長期的生理的調節のみならず構造的変化を伴う病態，例えば血管の肥厚，動脈硬化，心肥大，高血圧症や血管攣縮などの発症や進展とも深く関わると考えられている．細胞がどのように力学刺激を受け入れ，生理・病態反応や遺伝子発現に転換されるかの分子過程をメカノトランスダクションという．

近年，血管平滑筋や内皮細胞において力学入力センサーとして様々な分子が提唱されている．また，神経伝達物質やホルモンなどの化学液性因子による薬物受容体を介するシグナリングと力学受容のクロストークも血管平滑筋や内皮細胞で議論されている．

そこで，弘前の地で行われる第50回記念となる伝統ある日本平滑筋学会総会を主催される佐々木大輔会長の多大なご配慮をいただき，循環系のメカノトランスダクションについて，本学会において，議論を深める機会を得ることが可能となった．

本パネルディスカッションでは，はじめに，“細胞力覚”の名付け親でもある曽我部正博博士に，メカノバイオロジー研究の最前線についてお話し頂く．引き続き，渡邊 博之博士にメカノセンサーとして血管平滑筋や内皮細胞に発現している TRP チャネルの特性について，また，小原一男博士には，伸展刺激による脳動脈平滑筋におけるミオシン軽鎖リン酸化に関わる酵素特異性について，それぞれの関連分野の動向も踏まえてご発表いただく．さらには，古川賢一博士には血管リモデリングのうち，典型的な病的順応 (maladaptive) 変化をもたらすメカニカルストレスでもある高血圧症と形質変換，とりわけ血管平滑筋石灰化との関係について遺伝子から生物個体までを用いた知見の発表していただく．

加えて，フロアからのご発言を中心に，総合討論を予定する．これらを通して，平滑筋細胞を含めて生命体に加わるバイオメカニカルストレスの生理・病態での意義とその制御について意見交換の場が広がることが期待できる．

末尾ながら，本パネルディスカッションの開催にご尽力頂いた，日本平滑筋学会，佐々木大輔総会会長および関係諸先生に重ねて深謝申し上げる．

世話人
中山　貢一
古川　賢一

## P-1. メカノバイオロジーの幕開け：細胞力覚の最前線

[1]名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物物理
[2]科学技術振興事業団発展研究細胞力覚プロジェクト，[3]生理学研究所分子生理

曽我部　正博[1,2,3]

最近メカノバイオロジーという言葉をよく耳にする．機械刺激で生じる様々な生命現象を包括する新しい学問分野である．機械感覚をはじめ細胞の形態形成や運動，重力感知，あるいは心血管系の生理/病理など広範な現象に関わっており，基礎医学のみならず，循環器学，宇宙医学，理学療法などの応用科学とも密接に関連する裾野の広い分野である．メカノバイオロジーの根本課題の一つは細胞が機械刺激を感知する仕組みであり，我々はこれを“細胞力覚”と名付けた．細胞力覚の最前線は，力覚センサー分子の同定とその仕組みの解明にある．ここ10年間に，力覚センサーとしての機械受容（mechanosensitive, MS）チャネルの地位が確立され，分子生物学やバイオイメージングの飛躍的発展と相まって，研究が急速に展開している．細菌から人に至るあらゆる細胞に様々なMSチャネルが発現しており，いくつかの遺伝子も同定されているが，蛋白質の高次構造が判明しているのは2種類の細菌MSチャネルのみである．それらは細菌を雨水などの低浸透圧ショックによる破壊死から守っており，生命誕生の鍵ともなる分子であり，その活性化機構の詳細が原子レベルで解析進行中である．高等動物でもいくつかのMSチャネル遺伝子が同定されているが，注目されるのは，$Ca^{2+}$透過性のMSチャネルである．様々なMSCaチャネルが多くの細胞に発現しており，機械刺激を細胞内$Ca^{2+}$濃度に変換して種々の生理・病理反応を引き起こすからである．最近，TRPチャネルファミリーの一部がMSCaチャネルであることが解り，研究が加速している．一方，もう少し緩やかな反応に対応する受容体型や細胞骨格と関連した力覚センサーの存在も分かってきた．本講演では，力覚センサーを中心に，その活性化機構，循環系における役割，さらにはこれを標的とした創薬に関する最新の知見を紹介する．

## P-2. 血管メカノセンサーとしてのTRPチャネル

秋田大学医学部第2内科

渡邊　博之，伊藤　宏

単細胞生物を含むほとんどの細胞がメカニカルストレスにさらされており，その細胞応答は，環境変化に対する恒常性維持や細胞機能発現に重要な役割を果たしている．血管においても，内皮細胞は，ずり応力や伸展刺激などのメカニカルストレスを常に受けており，その変化を感知して一酸化窒素などの血管トーヌス制御因子を産生・放出する．また，血管平滑筋細胞も伸展刺激に反応して筋原性収縮を発生する．これらの機械受容・応答の多くは，細胞外からのCa流入と，それに引き続くCa依存性細胞内シグナル活性化を介した反応である．すなわち，それら血管メカノセンサーとしてのCa流入チャネルは，細胞外からの刺激を，細胞反応に変換するトランスデューサーの役割を担っているといえるだろう．しかし，これまでその血管メカノセンサーの分子実体は，不明であった．近年，これらCa流入チャネルの分子候補として transient receptor potential（TRP）チャネルが発見され，その後現在にいたるまで，数多くの研究成果が報告されてきている．血管内皮細胞では，TRPV4チャネルやTRPP1タンパクがずり応力のメカノセンサーとして注目されており，血管平滑筋細胞では，TRPC6, TRPV1, TRPV2, TRPM4チャネルがメカノセンサーとして働く可能性が示唆されている．とくに，TRPC6とTRPM4チャネルに関しては，antisense oligodeoxynucleotidesを用いた研究から，脳血管の筋原性収縮に重要な役割を果たしていると考えられている．本パネルディスカッションでは，血管メカノトランスダクションにおけるこれらTRPチャネルの役割について，最近の知見をまじえ紹介したい．

## P-3. 脳動脈平滑筋のメカノトランスダクション 力学刺激感受性キナーゼとホスファターゼ2Aの役割

[1]静岡県立大学大学院薬学研究科薬理学教室，[2]岩手医科大学薬学部分子細胞薬理学教室

小原　一男[1]，中山　貢一[2]

血管平滑筋のメカノトランスダクションに種々のプロテインキナーゼが関与することが知られている．我々はイヌ脳底動脈において伸展刺激によるRhoキナーゼ（ROCK）およびプロテインキナーゼC（PKC）を介するミオシン軽鎖（MLC）の3リン酸化が収縮に対し抑制的に作用することを報告した(EJP, 534 : 141, 2006)．本研究では，脳血管のメカノトランスダクション機構を明らかにする目的で，イヌ脳底動脈の伸展誘発性MLC3リン酸化におけるROCK，PKCおよびホスファターゼ2A（PP2A）の役割について検討した．

イヌ脳底動脈において，1.5Li伸展を15分維持するとMLCのリン酸化が亢進した．この際，リン酸化部位はSer-19，Thr-18とThr-9の3ケ所であった．また，イヌ脳底動脈で我々が同定した少なくとも4種のPKCアイソフォームのうち，伸展刺激はPKCαの活性を亢進した．クラシカルPKC阻害薬Go6976はこの活性化を抑制するとともに，MLC(Thr-9)のリン酸化を抑制した．さらに，Go6976処置で，伸展誘発性収縮の抑制は解除された．一方，ROCK阻害薬Y-27632はPKCαの活性とMLC(Thr-9とThr-18)のリン酸化を抑制したが，伸展誘発性収縮の抑制解除は認められなかった．また，伸展刺激はPP2Aの活性を抑制し，この抑制はY-27632により解除された．一方，PP2Aを阻害する低濃度オカダ酸はMLCの3リン酸化（伸展刺激と同部位）およびPKCαの活性化を惹起し，Go6976はこれらの反応を抑制した．

以上の結果とこれまでの我々の報告より，イヌ脳底動脈において伸展刺激はインテグリンで感受された後，SrcおよびROCKの活性化を介してPP2Aを抑制し，その結果活性化されたPKCαによりMLC3リン酸化が惹起され，伸展誘発性収縮を抑制することが示唆された．

## P-4. メカニカルストレスとしての高血圧と血管平滑筋の形質転換

弘前大学大学院医学研究科病態薬理学

古川　賢一

高血圧ならびに血管の石灰化は循環器疾患の重要な危険因子であることはよく知られているが，その両者の関係は明らかではない．そこで高血圧疾患のモデルである高血圧自然発症ラット（SHR）とコントロールとしての正常血圧ラット(WKY)の大動脈組織から単離した血管平滑筋細胞を用い，von Kossa染色で平滑筋細胞の石灰化の過程を観察した．コンフルエントまで培養した両細胞には石灰化は認められなかった．しかしコンフルエント後，更に6日間追加培養すると，WKY細胞ではわずかなvon Kossa染色が認められるのに対して，SHR細胞では時間依存的に進行する顕著な石灰化が観察された．そこでコンフルエント到達直後と追加培養6日後の間で石灰化関連遺伝子の発現を比較したところ，石灰化に関与する主要転写因子msx2，osterix，ならびにアルカリフォスファターゼ(ALP)のmRNA発現が，6日間の追加培養でWKYよりもSHRで著明に亢進していた．またALP活性も同様に亢進していた．一方，もう一つの石灰化に関与する転写因子runx2には有意な変化は認められなかった．更に血管平滑筋細胞の分化マーカーである平滑筋型α-actinは，6日間の追加培養でWKYでは発現が有意に亢進したのに対し，SHRでは変化は認められなかった．両細胞間における石灰化能の違いがメカニカルストレスとしての高血圧に関連するのかどうかを検討するため，高血圧誘発食を与えて高血圧にしたWKYラットの血管平滑筋の遺伝子発現を，通常食を与えたWKYラットのそれと比較したところ，前者で石灰化関連遺伝子の発現が有意に亢進した．以上のことは，高血圧ラットの血管平滑筋細胞の石灰化はmsx2 → osterix → ALPの経路を介して起こること，更にメカニカルストレスとしての高血圧が血管平滑筋細胞の形質転換を促し，その結果石灰化を促進したことを示唆する．

# パネルディスカッション2　ROME III の FD と IBS の診療への影響

## P-5.　総合診療科における dyspepsia 症状への対応

東邦大学総合診療・急病科

瓜田　純久，渡辺　利泰，日毛　和男，佐仲　雅樹，杉本　元信

【目的】FD，IBS の疫学調査では，診断基準が変更されると大きく異なる．今回，1年間外来で F-scale を用いたアンケート調査を解析し，FD の疫学的検討および総合診療科における dyspepsia 症状の取り扱いについて検討し報告する．【方法】2006年9月から1年間東邦大学総合診療・急病科外来で，初診患者全例を対象に，主訴に関わらず F-scale を用いたアンケート調査をお願いした．夜間・休日救急患者および救急車で来院した症例は除外した．草野らの報告に従い，FD 症状5項目(胃の張り，食後の胃もたれ，食後の悪心，食事中の満腹感，ゲップ)と GERD 症状の7項目に分類した．【成績】1年間で 6,616 例が受診した．男女比は 3,250 : 3,366 であり，年齢は 42.5±16.5 歳であった．FD 症状5項目の合計点が8点以上を FD と定義すると，FD 症例は 1,084 例（16.4%）であった．男性は 450 例（6.8%），女性は 634 例（9.6%）と女性に有意に高率にみられた．また，29 歳以下では 1,673 例中 374 例（22.4%）と最も高率であり，加齢とともに低下した．Rome III 基準の食後愁訴症候群の週 4-5 回以上感じる胃もたれ感，早期飽満感に相当する症状は，F-scale では胃の張り，食後の胃もたれ，食後の悪心，食事中の満腹感の4項目と思われる．このいずれかが4点を記録した症例は 140 例(12.9%)であり，これが6ヶ月以上前から症状があり，3ヶ月間は診断基準を満たす症例は 81 例(57.9%)であった．【結論】FD の診断は Rome III で定義された症状があり，他の内視鏡，腹部 US，血液検査などで異常がない場合になされるが，すべての症例が検査を受けることはなく，問診および病態の説明を行っただけでも症状が軽減する場合も少なくない．総合診療科外来において Rome III 基準を厳密に適応するメリットはさほど大きくないが，食後愁訴症候群，心窩部痛症候群など，定義が明らかとなり，問診のみで診断できる症例は増加していた．

## P-6.　多面的病態検査法を用いた FD 識別に関する検討

[1]東京慈恵会医科大学外科学講座，[2]東京慈恵会医科大学精神医学講座

中田　浩二[1]，小曽根　基裕[2]，丸島　秀樹[1]，羽生　信義[1]，柏木　秀幸[1]，矢永　勝彦[1]

FD は一定基準（ROME III）を満たす上腹部症状を有し，かつ器質的疾患の除外により診断される機能性消化管障害である．FD の症状出現には胃運動機能（胃排出，適応弛緩）障害，内臓知覚過敏，心理的偏倚などの多様な病態が複合的，相補的に関与しており，個々の患者がどの病態異常を有しているかを知ることは，適切な治療法を選択する上で重要である．当科では FD 患者に対し多面的な病態検査を行い，FD 症状と各病態異常との関連性について検討してきた．一方，日常診療では FD の基準を満たさずに来院する患者も多く，治療において FD との識別が必要である．【目的】慢性的な胃もたれ症状を有する被験者に多面的病態検査法を行い，各病態異常と症状重度との関連性，および FD の識別における有用性を検討した．【方法】慢性的な胃もたれ症状を有し器質的疾患が除外された被験者6名に対し，(1) $^{13}$C 法胃排出能検査「標準法」，(2) 飲水ドリンクテスト，(3) 心理テスト（STAI, SDS, CMI），(4) 独自のディスペプシアアンケートを行った．上記 (1)～(3) の結果を0点；正常，1点；軽度異常，2点；異常の3段階にスコア化し，また日常的な FD 症状重度を強さ（1, 2, 3 点）と頻度（1, 2, 3 点）の合計点で表し，FD 症状と各病態との関連性を検討した．【結果】被験者 A, B, C, D, E, F の症状重度スコアはそれぞれ 6, 5, 3, 2, 2, 2 点であり，A, B は FD (ROME III) と診断された．病態機能検査の結果は同順に，(1) では 1, 2, 0, 1, 0, 2 点，(2) では 2, 2, 0, 1, 0, 0 点，(3) では STAI, SDS，CMI の合計で 5, 6, 3, 0, 0, 2 点，(1)～(3)の合計では 8, 10, 3, 2, 0, 4 点であった．【結論】FD では病態機能検査(1)～(3)の全てにおいて異常がみられ，その合計点が非 FD に比し著明に高値であった．当科で行っている FD の多面的病態検査法は，日常的な FD 症状重度をよく反映し，FD の症状出現にかかわる病態を明らかにするとともに FD と非 FD の識別にも有用と考えられた．

## P-7. 日本人のFD患者にRome III基準は適応され得るか？

[1]川崎医大内視鏡・超音波センター，[2]川崎医大食道・胃腸内科，[3]川崎医大総合診療部

眞部　紀明[1]，石井　学[2]，今村　祐志[2]，鎌田　智有[2]，楠　裕明[3]，畠　二郎[1]，
春間　賢[2]

【背景】2006年にRome III基準が作成されFunctional dyspepsia（FD）の診断基準がより明確になった．しかしながら，これまで本基準が日本人のFD患者に合致したものであるかについて検討した報告はない．【目的】本邦におけるFD患者の特徴について検討し，Rome III基準が日本人のFD患者にも適応できるかについて検討した．【対象】2006年11月から4ヶ月間に，何らかの上腹部症状を主訴に川崎医科大学附属病院消化器内科外来を受診した初診患者1,541例のうち，血液検査，腹部超音波検査および上部消化管内視鏡検査にて器質的疾患が除外された364例（男性170例，平均年齢54.5歳）を対象とした．【方法】全対象に「消化器症状」に関する問診調査を行った．質問内容は症状とその程度及び期間について聞いており，いずれも診察前に選択形式で患者自身に回答してもらった．【結果】対象をRome IIIに従い主症状により分類すると，食後愁訴症候群（PDS群）を161例（男性69例，平均年齢49.0歳），心窩部痛症候群（EPS群）を111例（男性42例，平均年齢46.7歳）に認め，両群にオーバーラップする症例を80例に認めた．また，GERD症状の合併率はPDS群で106例（65.8%），EPS群で73例（65.8%）であった．病悩期間はPDS群で4.6±0.4か月，EPS群で4.6±0.5か月であった．Rome III基準に適応できた症例はPDS群で61例（37.8%），EPS群で43例（38.7%）に過ぎず，その理由は症状の持続期間が6か月より短いためであった．【結論】FD患者の65%にGERD症状が認められ，PDSとEPSの間には，かなりの症例で重複が見られた．本邦におけるFD患者の病悩期間は平均4.6ヶ月であり，Rome III基準の「6か月」という期間は必ずしも妥当ではなかった．

## P-8. Water Drink TestによるFunctional Dyspepsiaの内臓知覚の検討

[1]東北大学病院心療内科，[2]東北大学大学院医学系研究科行動医学，
[3]東北大学病院総合診療部

森下　城[1]，庄司　知隆[1]，遠藤　由香[1]，相模　泰宏[1]，木村　裕子[1]，町田　知美[1]，
町田　貴胤[1]，佐藤　智子[1]，渡辺　諭史[2]，金澤　素[2]，福土　審[2]，本郷　道夫[1,3]

【背景】Functional Dyspepsia（FD）の症状出現要因の一つに内臓知覚過敏あるいは内臓知覚異常がある．しかし食事の影響を受けるPDSと食事の影響を受けないEPSの間での知覚過敏の違いの有無は不明である．Water Drink Test（急速水負荷試験：WDT）は非侵襲的に症状誘発が可能な胃機能評価法である．【目的】FDのサブタイプ（PDSとEPS）による内臓知覚および自覚症状の差異の有無を評価することを目的とした．【対象】Rome III診断基準に合致するFD（非患者）16名（男性8，女性8，平均24歳：EPS 8名，PDS 8名）を対象とし，健常者16名（男性8，女性8，平均22歳）を対照群とした．【方法】チューブストローにより，飲水量を被験者に確認できないようにして，ペットボトル飲料水を5分間で最大限可能なだけ飲水させた．飲水前，直後，10分，20分，30分に，0から4点のordinate scaleで上腹部症状（嘔気，満腹感，腹部膨満感，心窩部痛，心窩部不快感）を自己記載させた．【結果】飲水量は，EPS（800±117 ml），PDS（864±139 ml）と健常者群（853±80 ml）で，有意差はなかった（$p=0.919$, Kruskal-Wallis）．心窩部痛，心窩部不快感の2症状で，EPS，PDSおよび健常者群の間に主効果・交互作用を認めた（心窩部痛 $p<0.05$，心窩部不快感 $p<0.01$，repeated two-way ANOVA）．また，post hocで，腹部膨満感，満腹感，心窩部不快感および心窩部痛で直後と10分後に有意差を認めた．EPS，PDSで，満腹感で交互作用を認めた（$p<0.05$, repeated two-way ANOVA）．【結論】WDTによる飲水量は3群で同等だった．EPS，PDSおよび健常者で自覚症状が異なり，その発現機序が異なることが示唆された．

## P-9. 経鼻内視鏡下十二指腸酸投与による機能性胃腸症診断

[1]川崎医科大学内科学（食道・胃腸），[2]川崎医科大学総合診療部，[3]川崎医科大学検査診断学

石井　学[1]，楠　裕明[2]，眞部　紀明[3]，鎌田　智有[1]，本多　啓介[3]，垂水　研一[1]，
藤田　穣[1]，今村　祐志[1]，山下　直人[2]，佐藤　元紀[1]，山中　義之[1]，西　隆司[1]，
塩谷　昭子[1]，畠　二郎[3]，春間　賢[1]

（目的）Functional dyspepsia (FD) の病態を解明し，的確な治療法の選択を目的として，実地臨床の場で簡便に，かつ非侵襲的に行える手技の確立を目的とした．（対象と方法）上腹部症状を主訴に来院した患者のうち，Roma III 基準を満たす FD 27 例（男性 8 例，以下 FD 群），健常ボランティア 8 例（男性 3 例，以下健常群）を対象とし以下の検討を行った．早朝空腹期に経鼻内視鏡を挿入し器質的疾患のないことを確認した後，撒布チューブを十二指腸球部に挿入し，塩酸 20 ml（36.5°C, 0.1 N）を 1 分間で撒布し，内視鏡を抜去した．撒布開始時より 30 分後までに被験者が感じた上腹部症状を，Visual Analogue Scale（以下 VAS，最大 100 mm）で記録した．症状は，胃のもたれ感，胃の張り感など 12 種類の症状について程度の推移を記録し，12 種類の症状の最大の VAS の総和を Total score と定義し，症状の出現率，Total score に関して，FD 群と健常群で比較検討した．（結果）酸撒布後の上腹部症状の出現率は FD 群 81.5%，健常群 62.5% であり，FD 群で出現率が高い傾向にあった．Total score は FD 群 234.4±51.3，健常群 38.6±13.4（mean±SEM, $p<0.01$）であり，FD 群で健常群より有意に高い値を呈した．健常群の Total score は 90 以下であり，一方，FD では 100 以上の値を示した症例は 27 例中 17 例（63.0%）あった．（結語）FD 群は健常群と比較して十二指腸の知覚過敏性が亢進していた．経鼻内視鏡下酸負荷法を用いることにより，ルーチンの器質的疾患の診断とともに，十二指腸の酸に対する知覚過敏性を簡便に評価し，FD の的確な治療方針を決定できる可能性がある．

## P-10. Rome III 診断基準でみた過敏性腸症候群の便通サブタイプによる病態生理の相違

[1]東北大学大学院医学系研究科行動医学分野，[2]ノースカロライナ大学機能性消化管障害センター

金澤　素[1]，福土　審[1]，Whilliam E. Whitehead[2]

【目的】過敏性腸症候群（irritable bowel syndrome : IBS）の主要な病態生理として大腸伸展刺激に対する内臓知覚過敏と消化管運動機能異常が推測されている．Rome III 診断基準では，IBS の便通サブタイプは優位な便性状によって分類されるが，その病態生理の相違を詳細に検討した報告はあまりない．そこで我々は，IBS は便通サブタイプによって消化管知覚と運動機能が異なるという仮説を検証した．【方法】IBS 患者 129 例（下痢型 44，便秘型 29，混合型 45，分類不能型 11）ならびに健常者 30 例を対象とした．600 ml 容量のバロスタットバッグと内圧センサーが装着されたカテーテルを下行結腸に留置した．痛み閾値はバロスタット装置を用いて評価した．安静空腹期 10 分間，大腸伸展刺激 10 分間，回復期 15 分間，食後期 30 分間の消化管内圧（motility index : MI）と平均バッグ容量を同時に測定した．症状重症度を IBS severity index（IBSSI）を用いて評価した．【成績】健常群と比較して IBS 患者の重症度スコアは有意に高く，大腸伸展刺激中の MI は有意に上昇し，痛み閾値は有意に低下していたが，便通型による有意な違いは認められなかった．下痢型 IBS の安静時 MI，大腸トーンは便秘型と比較して有意に上昇していたが，それ以外の状態では両者に違いが認められなかった．IBS 患者全体の重症度スコアは痛み閾値と有意な負の相関を認めた．安静時 MI は下痢型 IBS では腹痛スコアと有意な正の相関を認め，便秘型では腹部膨満感スコアと有意な負の相関を認めた．【結論】大腸伸展刺激に対する内臓知覚過敏と消化管運動反応亢進は IBS の共通の病態生理であると考えられる．Rome III に基づく便通サブタイプによって症状に関連する消化管運動異常が異なり，内臓知覚過敏は便通に関わらず IBS 症状重症度と関連することが明らかになった．IBS 治療にあたっては，便通サブタイプによって異なる病態と共通の病態の両方を考慮する必要があると思われた．

## P-11. Rome III による FGID の分類，および Rome II との比較

[1]社会保険滋賀病院内科，[2]滋賀医科大学消化器内科

中島　滋美[1]，藤山　佳秀[2]

【目的】ROME III により Functional gastrointestinal disorders (FGID) の分類を行った．【方法】Rome III diagnostic questionnaire for the adult functional GI disorders を和訳し，FGID が疑われる外来患者に回答してもらい，演者が作成した自動解析ソフトで判定した．【結果】2007 年 5 月から 10 月までに 27 人が FGID と診断された．その内訳は，男 15 人，女 12 人，平均年齢 54.7 歳 (range : 20-82 歳) であった．27 人中 12 人が単独の FGID を有していたが，15 人が複数の FGID を合併していた．複数の FGID を 1 つずつ数えると，27 人で 46 の FGID を有していた．その内訳は，irritable bowel syndrome (IBS) と functional bloating (FB) が各 8 人，functional constipation が 6 人，functional dyspepsia と functional defecation disorder が 5 人ずつであった．ROME II の時と比べると，unspecified functional bowel disorder が減少し，IBS が増加した．心理社会的警告症状は，27 例中 14 人が陽性であり，coping 障害 10 人，不安とうつが各 6 人ずつであった．【結論】ROME III では，はっきりしない FGID (unspecified functional bowel disorder) が減少し，IBS の診断がつきやすかった．IBS と FB は，ROME III において最も頻度の高い症候群であった．FGID 患者の約半数が心理社会的警告症状を有していた．

# ワークショップ　下部尿路機能の基礎と臨床：尿路上皮の役割を中心に

## W-1.　下部尿路障害における $\alpha$ 受容体の役割
## 膀胱上皮細胞の創傷治癒におけるアドレナリン作動性 $\alpha$ 受容体の役割

[1]秋田大学・医学部・基礎看護学講座，[2]秋田大学医学部・器官制御医学講座

百田　芳春[1]，王　小軍[2]，松本-宮井　和政[2]，河谷　正仁[2]

【目的】頻尿と膀胱痛を主訴とする間質性膀胱炎は難治性の下部尿路疾患である。膀胱上皮細胞の膜透過性は間質性膀胱炎では亢進していることが報告されている。上皮細胞の透過性の調節には細胞接着因子および細胞骨格が関与している。そこで，膀胱上皮細胞のアドレナリン $\alpha_1$ 受容体（$\alpha_1$AR）の刺激による膀胱上皮細胞の細胞運動性および創傷治癒に及ぼす影響を検討した。【方法】マウスより膀胱上皮細胞の初代培養を行ない，以下のアッセイにおいてアドレナリン受容体活性化の影響を検討した。i）細胞の凹凸度を測定し，細胞骨格の変動をファロイジン染色およびパキシリンの免疫染色法により評価した。ii）タイムラプス法によって膀胱上皮細胞の運動性を比較した。iii）創傷治癒モデルにおいて検討した。【結果】i）上皮細胞の凹凸度はフェニレフリン（PE）の濃度が $10^{-8}$ M において最も上昇した。PE によって膀胱上皮細胞の外周部（特に仮足部分）において F-アクチンの構築に変化が見られた。ii）膀胱上皮細胞の移動速度は $\alpha_1$AR 刺激によって有意に増強し，アドレナリン $\beta$ 受容体刺激によっては有意な影響を受けなかった。また運動性に優位な方向性は見られなかった。iii）創傷治癒モデルにおいて PE は治癒速度を有意に早め，この作用はプラゾシン及びシロドシンによって抑制された。また，創傷面に位置する膀胱上皮細胞数と仮足の数は PE の投与によって有意に増加し，この作用はシロドシンによって阻害された。【結論】膀胱上皮細胞はその運動性及び細胞増殖を $\alpha_1$AR（少なくとも $\alpha_{1A}$ 受容体サブタイプ）によって調節されていることが示された。膀胱上皮細胞の $\alpha_1$AR サブタイプは膀胱上皮創傷の過程に重要な役割を示すと考えられる。従って間質性膀胱炎にも $\alpha_1$AR の活性化が関与する可能性が示される。

## W-2.　下部尿路機能と $\beta$ 受容体

熊本大学大学院・医学薬学研究部・泌尿器病態学分野

桝永　浩一，吉田　正貴

下部尿路において $\beta$ 受容体は主に外尿道括約筋収縮や尿路平滑筋弛緩に関与しているとされ，以前より $\beta_2$ 受容体刺激剤が腹圧性尿失禁治療薬として使用されてきた．下部尿路平滑筋，特に膀胱平滑筋弛緩に主に関与している $\beta$ 受容体 subtype は動物種により異なり，ヒト膀胱平滑筋弛緩において主要な $\beta$ 受容体 subtype は $\beta_3$ 受容体である事が報告されている．そこで膀胱平滑筋弛緩の観点より，過活動膀胱の治療薬として $\beta$3 受容体刺激剤が開発され，海外の治験でも過活動膀胱に対して良好な治療成績をおさめている．このような下部尿路平滑筋への作用の他に，ヒト尿路上皮には $\beta_1$・$\beta_2$・$\beta_3$ 受容体がそれぞれ存在する事が報告されており，また，非選択性 $\beta$ 受容体刺激剤である isopreterenol によりラット尿路上皮細胞からの NO 産生および放出が認められることより，近年では $\beta$ 受容体が尿路上皮を介して下部尿路機能に影響を及ぼしている事が示唆されている．また，以前より下部尿路平滑筋の carbachol 収縮において，上皮から放出される UDIF（Urothelium Derived Inhibitory Factor；上皮由来抑制因子）がその収縮を抑制している事が報告されているが，ブタを使った研究では isopreterenol により上皮から放出される UDIF も膀胱体部平滑筋の carbachol 収縮を抑制するとされている．今回，我々は 1）他の下部尿路（膀胱三角部，近位尿道部）の平滑筋にて UDIF による carbachol 収縮の抑制が認められるのか，2）carbachol 収縮の抑制が認められる場合，$\beta$ 受容体のどの subtype が UDIF の放出に関与しているのかについて検討した．本発表では，上記検討の結果を報告するとともに，下部尿路機能と $\beta$ 受容体について概説する．

## W-3. マウス膀胱平滑筋の自発活動制御における K channel の役割

[1]名古屋市立大学医学研究科細胞生理学分野，[2]名古屋市立大学医学研究科腎泌尿器科学分野

橋谷　光[1]，早瀬　麻沙[2]，郡　健二郎[2]，鈴木　光[1]

【目的】膀胱平滑筋の自発活動の変化は，過活動膀胱に代表される下部尿路症状の重要な成因の一つであると考えられる．マウス膀胱では，単離細胞を用いたパッチクランプ法および遺伝子欠損モデルにより K channel の機能が検討されてきたが，今回我々は自発活動電位および細胞内カルシウム(Ca)動態制御における K channel の役割を in situ で検討した．【方法】マウス膀胱平滑筋（UBSM）組織標本を用いて，細胞内電位記録および蛍光指示薬(Fluo-4)による細胞内 Ca 動態の観察を行った．【結果】マウス UBSM は静止膜電位が約-45 mV で，振幅約 50 mV の自発活動電位（SAPs）を 1-10 回/分程度発生した．Charybdotoxin（CTX, 0.1 $\mu$M : BK & IK channel blocker）および Iberiotoxin（IbTX, 0.1 $\mu$M : BK channel blocker）は SAPs の振幅を約 20 mV 増加させ，持続時間を延長したが，後過分極（AHP）を抑制しなかった．TEA（10 mM : Kv channel blocker）の追加投与は SAPs の振幅をさらに増加させ，AHP を消失させた．TEA は単独でも同様の効果を示したが，Stromatoxin（0.1 $\mu$M, Kv2.1 channel blocker）は無効であった．Apamin（0.1 $\mu$M : SK channel blocker）は単発の SAPs を群発化させる傾向を示したが，波形は変化させなかった．マウス UBSM は自発細胞内 Ca 濃度上昇を発生していたが，細胞間 Ca 伝播は観察されず，個々の UBSM における Ca 濃度上昇には全く同期性は見られなかった．自発 Ca 濃度上昇の振幅は CTX および IbTX により増加し，TEA によりさらに増大した．【結論】マウス UBSM の SAPs の再分極相には BK および TEA-sensitive Kv channel が関与しており，AHP は Kv channel の開口により形成され，また SK channel は活動電位の群発化を抑制していると考えられた．サブユニットを考慮した K channel の機能修飾は下部尿路症候治療の有用な選択肢であると思われた．

## W-4. エストロゲンは，過活動膀胱を改善する ?!

恒進会病院泌尿器科

松本　成史

過活動膀胱は，年齢とともに増加し，男性では前立腺肥大症に随伴した症状が多く，女性では 60 歳以降の更年期以降で増加してくる．われわれは，過活動膀胱の様々な原因の一つとして，性ホルモンの減少・変化が関係あると考えている．女性の更年期障害は血管運動神経系，精神神経系，運動器などの多種多様の不定愁訴を主訴とした症候群であり，実際に頻尿，残尿感，尿失禁などの尿路不定愁訴を有している場合も多い．女性更年期障害はその原因の一つにエストロゲンの欠乏が挙げられ，多くの不定愁訴がエストロゲンを補充することにより改善される．近年，膀胱にもエストロゲンレセプターが存在することも分かっている．そこで我々は頻尿，残尿感，尿意切迫感，および尿失禁等の過活動膀胱の症状に対してもエストロゲンが有効であると考え，更年期以降の女性を対象に，エストラジオール貼付剤（エストラダーム TTS™）を用いたエストロゲン補充療法を施行し，過活動膀胱に対する臨床的有効性を検討してきたので報告する．

## W-5. 上皮性ナトリウムチャネルの排尿に果たす役割

山梨大学大学院医学工学総合研究部泌尿器科学

荒木　勇雄，都　書棋

【目的】ENaC (Epithelial $Na^+$ Channel) は，感覚受容器におけるメカノセンサーの有力な候補である．今回，ヒト膀胱における ENaC の発現と閉塞膀胱における発現量の変化を解析するとともに，ラット排尿反射および膀胱上皮からの ATP 放出に対するアミロライド（ENaC 拮抗薬）の効果について検討した．

【方法】膀胱癌患者から正常膀胱粘膜を，前立腺肥大症患者から閉塞膀胱粘膜を得た．膀胱粘膜における各 ENaC subunit（$\alpha, \beta, \gamma$）蛋白および mRNA の発現を，免疫蛍光染色法および real-time PCR 法にて検討した．雌ラットにおいて，ウレタン麻酔下に膀胱瘻より生食或いはアミロライドを膀胱内に持続的に注入して膀胱内圧を測定した．また，膀胱切片を Krebs 液で満たしたマグヌス管に懸垂し，伸展を加えることによって放出される ATP 量を測定した．

【成績】1）ENaC 蛋白の発現は，ヒト閉塞膀胱では明瞭であったが，正常膀胱では乏しかった．ENaC 蛋白は膀胱上皮に局在していた．各 ENaC subunit mRNA の発現量は，正常膀胱に較べて閉塞膀胱において顕著な増加を示し，各患者の蓄尿症状スコアと有意な相関を認めた．

2）1 mM アミロライドの膀胱内灌流によって，正常ラットの排尿間隔は有意に延長した．最大膀胱内圧に変化はなかった．ラット正常膀胱粘膜には全ての ENaC subunit が発現しており，閉塞膀胱における発現量と差がなかった．

3）ラット膀胱全層切片からの ATP 放出量は，粘膜を剝離した膀胱切片に較べて有意に多く，膀胱からの ATP 放出量の 90% 以上は粘膜由来であった．全層切片に伸展を加えると ATP 放出量は有意に増加したが，1 mM アミロライド存在下では有意な増加はなかった．

【結論】膀胱上皮に発現する ENaC は，伸展刺激による膀胱上皮からの ATP 放出を調節することにより膀胱知覚神経伝達に関与している．したがって，ヒト閉塞膀胱における ENaC の過剰発現は，下部尿路閉塞に伴う過活動膀胱の発症メカニズムに関与している可能性がある．

# 一般演題　血管平滑筋 I

## O-1.　モルモット腸間膜動脈・細動脈内皮細胞に対する低濃度亜鉛イオンの影響

[1]名古屋市立大学看護学部生理学，[2]名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

山本　喜通[1,2]，鈴木　光[2]

重金属イオンのいくつかは高濃度で投与した場合，細胞内カルシウム濃度を増加させることが知られている．血管内皮細胞でも，0.1 mM 以上の $Zn^{2+}$ で ACh 投与と同様の過分極が起きた．一方，生理的には 10 $\mu$M 以上の亜鉛が血漿中に存在する．そのほとんどはアルブミンと結合しているが，一部はイオンの状態で存在する．摘出標本を用いた実験を行う場合，$Zn^{2+}$ の存在はほとんど無視されてきた．そこで今回の実験では，摘出したモルモット腸間膜動脈・細動脈の電気的活動がサブマイクロモルレベルの $Zn^{2+}$ で影響されるかどうかを確かめた．まずモルモット腸間膜動脈から内皮細胞層を単離して得られた多細胞標本に whole-cell patch clamp 法による膜電位固定法を適応したところ，静止膜コンダクタンスが $Zn^{2+}$ により減少した．次に平滑筋層と内皮細胞層を保ったままのモルモット腸間膜細動脈を内外反転させた標本を使い，その内皮細胞に whole-cell patch clamp 法による膜電流固定法を適応して膜電位を測定したところ，$Zn^{2+}$ で数 mV の過分極が惹起された．血管平滑筋と内皮細胞の静止膜電位はほぼ同じであるが，平滑筋の方が少し深くなっている．また，単離した内皮細胞の静止膜電位は −10 mV より浅い．つまり，平滑筋と内皮細胞が電気的につながっている生理的条件下では，内皮細胞から平滑筋に向かって電流が流れることによって両者がほぼ同じ静止膜電位を保っていると考えられる．$Zn^{2+}$ によって内皮細胞の静止膜コンダクタンスが低下すると平滑筋から見た負荷が軽減されるため，内皮細胞（および平滑筋細胞）が過分極したと推定できる．生理的濃度の $Zn^{2+}$ は血管内皮細胞の膜電位に無視できない影響があることが示された．

## O-2.　ラットならびにモルモットの胸部大動脈平滑筋の $\beta$-アドレナリン受容体（$\beta$-受容体）

[1]東邦大学薬学部薬理学教室，[2]千葉大学大学院医学研究院分子生体制御学

田中　芳夫[1]，高橋　裕美[1,2]，粕谷　善俊[2]，小池　勝夫[1]

【目的】$\beta$-受容体には，現在，$\beta_1$-$\beta_3$ の 3 種類のサブタイプの存在が知られている．これらのサブタイプの生体内における主たる存在部位は，$\beta_1$ は心筋，$\beta_2$ は気管・子宮平滑筋，$\beta_3$ は脂肪細胞，消化管・膀胱平滑筋である．$\beta$-受容体は，血管平滑筋にも存在しており，一般には，そのサブタイプは $\beta_2$ であると認識されている．しかし，これまでの論文を詳細に吟味してみると，導管動脈を代表する大動脈の $\beta$-受容体サブタイプに関しては，報告が意外な程少ない上に，明快な結論が示されていない．本研究では，薬理学研究で汎用されるラットならびにモルモットの胸部大動脈を用いて，弛緩反応に関与する $\beta$-受容体サブタイプの薬理学的評価系の確立とその同定を目指して検討を開始した．【方法】Wistar 系雄性ラットならびに Hartley 系雄性モルモットの胸部大動脈の内皮除去標本を実験に供し，カテコラミンによる弛緩反応を等尺性に記録した．【結果】ラット大動脈では，イソプレナリンによる弛緩反応に，プロプラノロール（Prop）感受性ならびに Prop 非感受性の 2 種類の $\beta$-受容体が関与することを見出した．また，3 種類のカテコラミン（イソプレナリン・アドレナリン・ノルアドレナリン）の効力順位とサブタイプ選択的 $\beta$-受容体拮抗薬を用いた濃度反応曲線の解析結果から，Prop 感受性 $\beta$-受容体が主として $\beta_2$-受容体，Prop 非感受性 $\beta$-受容体の一部が $\beta_3$-受容体であることも見出した．一方，従来はほとんど報告がなされていないモルモット大動脈においても，イソプレナリンにより $\beta_2$-受容体を介すると推定される強力な弛緩反応が誘発されることを見出したが，イソプレナリンの繰り返し刺激により，タキフィラキシーが出現した．【結論】胸部大動脈平滑筋には，ラットとモルモットのいずれの場合も弛緩反応に関与する $\beta_2$-受容体が存在するが，後者には特異的な受容体制御機構が存在する可能性が示唆された．

# 一般演題　血管平滑筋 II

## O-5.　血管平滑筋の異常収縮におけるコレステロールと細胞膜ラフトの関与

[1]山口大学大学院医学系研究科器官制御医科学講座生体機能分子制御学,
[2]独立行政法人科学技術振興機構 JST イノベーションプラザ広島小林プロジェクト

加治屋　勝子[1], 岸　博子[1], 川道　穂津美[1], 高田　雄一[2], 徳森　大輔[2], 郭　鳳玲[1,2], 王　晨[1], 小林　誠[1]

【目的】Rho キナーゼ(ROK)を介する血管平滑筋のカルシウム非依存性収縮は，血管攣縮などの血管異常収縮の主因として注目されている．我々は，その上流の因子としてスフィンゴシルホスホリルコリン(SPC)を同定した．SPC は，従来知られている G 蛋白質や C キナーゼ系とは独立して，SPC → Fyn チロシンキナーゼ→ ROK という新規のシグナル経路によって異常収縮を引き起こし，実際に，*in vivo* で血管攣縮を誘発した．さらに，ヒト血管では，SPC による異常収縮の大きさは，血清総コレステロール (Chol) 値および LDL-Chol 値と正相関を示し，HDL-Chol 値とは逆相関を示した．一方，脂質異常症で増加した Chol は，細胞膜に均一に蓄積するのではなく，膜ラフトという膜ドメインに限局して蓄積することが知られている．そこで，本研究では，SPC によって引き起こされる血管平滑筋の異常収縮と膜ラフトとの関係について検討した．【方法と結果】膜ラフトのマーカー分子を用いて，シグナル分子の細胞内局在を調べると，SPC により Fyn と ROK は細胞質から膜ラフトへ移動した．Chol 除去剤によって膜ラフトを消失させると，SPC による Fyn と ROK の移動および異常収縮が抑制されたが，高 K 脱分極によるカルシウム依存性収縮には無効であった．また，BIACORE を用いて，人工モデル膜に対する SPC の結合性を調べると，ラフト特有脂質である Chol とスフィンゴ脂質の膜中含有率の増加により，SPC の結合量が増加した．さらに，走査型電顕と原子間力顕微鏡を用いて，脂質組成の異なる膜の表面形状と性状を解析したところ，血管異常収縮のシグナル伝達経路と膜構造の均一性と安定性との関連が示唆された．【結論】Chol とスフィンゴ脂質に富んだ膜ラフトは，血管平滑筋異常収縮のシグナル伝達の反応の場として，重要な役割を果たしていると考えられた．

## O-6.　血管平滑筋の筋張力調節機構における RyR3 の機能解明

[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野,
[2]京都大学薬学研究科生体分子認識学分野

加藤　大樹[1]，山村　寿男[1]，大矢　進[1]，竹島　浩[2]，今泉　祐治[1]

【目的】平滑筋において筋小胞体膜上のリアノジン受容体 (RyR) を介した $Ca^{2+}$ 放出は，興奮時のみならず，静止時においても自発的な $Ca^{2+}$ 放出（$Ca^{2+}$ spark）として生じることが知られている．$Ca^{2+}$ spark は近傍細胞膜上の $Ca^{2+}$ 活性化 $K^+$ チャネル（$K_{ca}$）を活性化し，自発一過性外向き電流（STOCs）を生じ，静止膜電位や筋張力の調整に寄与している．3 種の RyR サブタイプのうち平滑筋においては RyR2, 3 が発現しており，興奮収縮連関における $Ca^{2+}$ 誘発 $Ca^{2+}$ 遊離（CICR）機構は主に RyR2 が担うと考えられている．RyR3 は最も $Ca^{2+}$ 感受性が低く RyR2 に対して Dominant Negative に働くという報告がある．一方，RyR3 が CICR 機構を増幅するという報告もあり，その生理機能は未だ不明な点が多い．本研究では，3 型リアノジン受容体同型接合型ノックアウトマウス(RyR3$^{-/-}$ を用いて胸部大動脈における RyR3 の静止膜電位への寄与を検討した．【方法】mRNA 発現量は Real-time PCR 法を用いて測定した．RyR 機能を検討するため $Ca^{2+}$ 蛍光指示薬として fura2/AM 用い細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度変化を Argus/HiSCa で測定した．STOCs 及び $K_{ca}$ 電流はホールセルパッチクランプ法を用いて測定した．【結果】RyR1, 2 や $Ca^{2+}$ チャネル (Cav 1.2) など各種細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度制御に関わるタンパクの mRNA 発現量を検討したところ，RyR3$^{-/-}$ において野生型マウスに比べて有意な差は認められなかった．caffeine による $Ca^{2+}$ 遊離は RyR3$^{-/-}$ において感受性が有意に亢進していた．また $K_{ca}$ 電流密度は両群間で有意な差は認められなかったが，STOCs は RyR3$^{-/-}$ において frequency が 2.4 倍，電流積分値が 1.5 倍に増大した．【結論】RyR3$^{-/-}$ において各種 $Ca^{2+}$ 制御タンパクの mRNA 発現量や $K_{ca}$ チャネル機能は変化していないが，RyR2 を介した自発的 $Ca^{2+}$ 遊離機構の亢進により STOCs が増大したと考えられる．従って胸部大動脈において RyR3 は RyR2 に対して抑制的に働いており，間接的に静止膜電位に影響を及ぼす事が示唆された．

## O-7. 糖尿病時のインスリン欠乏と過剰時における血管弛緩反応の変化と Akt/NOS pathway の関与について

星薬科大学医薬研機能形態

小林　恒雄，田口　久美子，根本　真吾，松本　貴之，鎌田　勝雄

糖尿病性血管合併症は，高血糖状態を中心とした各種代謝異常や，血液学的異常から生じることが考えられている．また，2 型糖尿病時や 1 型糖尿病時のインスリン投与によって生じる血中インスリン濃度の増加は，正常な血糖値にもかかわらず，血管障害の悪化進行に強く関与している．そこで今回我々は，糖尿病時（高血糖）とインスリン慢性投与時によって生じる血管内皮依存性弛緩反応の変化について，Akt/NO 合成酵素/NO-pathway に焦点を絞り比較検討した．STZ 糖尿病ラット，インスリン処置を行った動物から胸部大動脈を摘出し，螺旋状標本とし，ACh，クロニジン弛緩反応，NO 産生，Akt/NOS 発現，活性を比較検討した．正常血管における ACh 弛緩反応とクロニジン弛緩反応は，Akt 阻害薬の前処置によって弱い減弱が認められた．インスリン欠乏時の糖尿病状態では，ACh 刺激による phospho-NOS, NO 産生に変化は認められなかったが，ACh 弛緩反応の減弱が認められた．一方，クロニジン刺激は，弛緩反応に変化が認められず，NO 産生，phospho-NOS，Thr308-p-Akt の増加が認められた．また，この糖尿病状態の血管においては，正常動物と比較し，Akt 阻害薬によるクロニジン弛緩反応を強く抑制した．インスリン処置した糖尿病時においては，NOS 発現，Akt 発現の増加，ACh 刺激による NO 産生の増加が認められ，弛緩反応は改善した．一方，クロニジン刺激は，NO 産生，phospho-NOS，Thr308-p-Akt，Ser473-p-Akt の減弱が認められ，正常動物と比べ弛緩反応の減弱が認められた．以上のことから，インスリン欠乏時の糖尿病状態では，ACh 弛緩反応は減弱するが，Thr308-p-Akt pathway を介する NO 産生の増加により，クロニジン弛緩は減弱しない．一方インスリン投与下では NOS，Akt の発現は増加するが，Thr308-，Ser473-p-Akt 活性の低下による NOS 活性，NO 産生の低下によってクロニジン弛緩反応を減弱させることが示唆された．

## O-8. LPA 刺激が誘導する，新しい活性酸素シグナル伝達系を介した血管平滑筋組織因子発現

[1]福岡大学医学部薬理学教室，[2]テネシー大学獣医学部病理生理

伊豫田　拓也[1,2]，Cui Mei-Zhen[2]，岩本　隆宏[1]

【背景】Lysophosphatidic Acid（LPA）は oxLDL を構成する分子の 1 つで，粥状動脈硬化プラーク領域への集積が認められている．我々はこの LPA が血管平滑筋細胞に作用し，Egr-1 発現を介して凝血因子 Tissue Factor（TF）の発現を誘導することを既に報告した．TF はその凝血応答を通じて血小板を活性化させるが，この活性化血小板も LPA ソースの 1 つであることから，LPA によってエンドレスな凝血サイクルが誘導され，血栓形成の関わる血管病態を進行・悪化させている可能性がある．そこで今回ラット培養血管平滑筋細胞を用い，LPA 刺激による TF 発現の機序について検討した．【結果・結論】培養血管平滑筋細胞において LPA による刺激は，主要な MAPK, ERK, JNK, p38 のリン酸化を誘導し，うち ERK 及び JNK の阻害剤は LPA 刺激に伴う Egr-1 発現を阻害した．この時 ERK 阻害剤は，JNK 活性化も同時に阻害した．ERK 阻害剤は LPA 刺激が誘導する細胞内活性酸素レベルの上昇も阻害し，その一方で種々の抗酸化剤は JNK 活性化及び Egr-1 発現を阻害した．これらの結果は ERK と JNK が ROS を挟んで縦方向に並び，Egr-1 発現を制御していることを示唆する．この時の ROS 産生制御因子の 1 つとして PKC が推測されたが，LPA は培養血管平滑筋細胞においても一部 PKC ファミリー分子の活性化を誘導していた．その後の種々の PKC 阻害剤や dominant-negative 体を用いた検討より，PKC $\delta$ が，ERK, JNK の活性化，そして Egr-1 発現を制御することが明らかとなった．以上より，LPA 刺激によって誘導される Egr-1 及び TF の発現には，PKC $\delta$ を介した ERK → ROS → JNK という新たなシグナル伝達経路が関与する可能性が示唆された．

## O-9. Preparation of lipid raft from human vascular smooth muscle (VSM) and proteomic identification of its protein composition

[1]山口大学大学院医学系研究科生体機能分子制御学，[2]佐賀大学医学部麻酔蘇生学講座，
[3]科学技術振興機構（JST）小林プロジェクト

王　晨[1]，岸　博子[1,3]，高田　雄一[1,3]，川道　穂津美[1,3]，加治屋　勝子[1,3]，前田　祥範[2]，
中島　幹夫[2]，小林　誠[1,3]

【目的】Hypercholesterolemia is a major risk factor for cardiovascular events. Rho-kinase (ROK)-mediated $Ca^{2+}$-sensitization of VSM plays an essential role in abnormal VSM contraction such as vasospasm. Our recent findings have indicated that a sphingosylphosphorylcholine (SPC)/Fyn/ROK pathway mediates $Ca^{2+}$-sensitization, and that serum cholesterol (CHOL) in human directly potentiates such novel pathway. Moreover, the depletion of CHOL by $\beta$-cyclodextrin ($\beta$-cdx) destroyed the CHOL-enriched membrane lipid rafts and abolished the SPC-induced ROK translocation and $Ca^{2+}$-sensitization, suggesting the ROK translocation to lipid rafts. Taken together, we hypothesize that not only CHOL, but also lipid rafts possibly mediates the cell signaling of SPC-induced $Ca^{2+}$-sensitization. To elucidate the mechanism (s) by which lipid rafts promotes the abnormal VSM contraction in human, as a first step, we tried to prepare lipid rafts from human VSM and proteomic approach was applied to clarify their protein composition. 【方法】Lipid raft fractions were obtained by a sucrose density gradient ultracentrifugation and were confirmed by western blot using raft marker proteins, caveolin-1 and flotillin-1. Proteomic analysis was performed by MALDI TOF-MS.【結果】Proteomic analysis has identified several proteins copurified with lipid rafts, including lipid-anchored proteins, GPI-anchored proteins, membrane proteins, signaling molecules and so on. 【結論】Some of them will be novel signaling molecules contributing to the $Ca^{2+}$-sensitization through SPC/Fyn/ROK pathway.

# 一般演題　下部消化管

## O-10. 過敏性大腸症候群患者における $\beta_3$-adrenoceptor genetic polymorphism の検討

[1]岩手医科大学医学部消化器・肝臓内科，[2]岩手医科大学医学部病理学講座（分子診断病理学分野）

千葉　俊美[1]，菅井　有[2]，鈴木　一幸[1]

【背景】ヒト $\beta_3$-adrenoceptor (AR) は消化管，骨格筋，心筋そして気道の平滑筋に発現すると言われており，Trp64Arg が肥満，インスリン抵抗性糖尿病，インスリン非依存性糖尿病早期発症およびその合併症に相関すると言われているが，消化管機能異常との相関については明らかにされていない．【目的】過敏性大腸症候群（IBS）患者と Trp64Arg の polymorphism について検討する．【対象】Rome III 基準の条件を満たす IBS 患者 81 例とコントロール群 68 例を対象とした．【方法】IBS 患者から採取した末梢血液中の DNA を抽出および精製し，$\beta_3$-AR 遺伝子部位を PCR により特異的に増幅し，制限酵素により切断してそのパターンにより genotype を決定した．【結果】$\beta_3$ AR の（C/C+T/C）型において，IBS 群（63.0%）はコントロール群（45.6%）と比較して有意に高い結果を得られた（$P<0.05$）．【結論】$\beta_3$ AR の polymorphism が，IBS の病態に関連していることを示唆した．

## O-11. 機能性便秘における睡眠状態と成長ホルモン，自律神経機能，消化管機能の関連の検討

[1]東北大学病院心療内科，[2]東北大学病院総合診療部，[3]株式会社花王東京研究所

相模　泰宏[1]，小野　茂之[3]，鈴木　裕二[3]，本郷　道夫[2]

【背景】便通状態と睡眠には密接な関係がある．機能性便秘を呈する女性には不眠を呈することが多く，特に睡眠前半の覚醒が多く認められる．成長ホルモン（GH）は入眠後の徐波睡眠の出現に伴って分泌の亢進が起こり，身体の疲労回復に寄与している．消化管運動は自律神経の支配を受けるが，同時に睡眠－覚醒リズムと同様にサーカディアンリズムを有している．以上より，機能性便秘では睡眠障害に加えて，GH 分泌や消化管運動，ひいては自律神経の機能にも異常が起こっているという仮説が成り立つ．【目的】機能性便秘を呈する女性において，睡眠状態と GH 分泌，自律神経機能，消化管運動機能の関連を健常女性と比較することにより検討し，仮説を検証する．【対象】19-28 歳の，健常女性 11 名と機能性便秘を呈する女性 18 名（睡眠障害 10 名にあり）．【方法】8 日間睡眠日誌を記載してもらい，記載最後の 2 日間を全被検者同条件で宿泊してもらい，睡眠時胃電図測定（7 日目），睡眠時心電図測定（8 日目），就寝前後の採血，採尿（8 日目）を行う．質問紙にて健常者群，便秘－良眠群，便秘－睡眠障害群にグルーピングし，各群で自律神経機能（心電図），胃運動機能（胃電図），plasma GH などの変化を解析し検討する．【結果】起床直後の血中 GH は便秘－睡眠障害＜便秘－良眠＜健常者となった．便秘－睡眠障害群は有意に健常者群よりも低値を呈した（$p=0.007$, Mann-Whitney test）．心電図での R-R 間隔における High Frequency（HF），Low Frequency（LF）は便秘－睡眠障害群で高値となる傾向が見られた．胃電図の振幅の変化は 3 群で有意な差は認められなかった．【結論】便通状態が睡眠状態と関連しているのみならず，自律神経機能や夜間の成長ホルモン分泌にも影響している可能性を示唆する結果であった．

## O-12. 結腸内カプサイシン投与の結腸運動亢進・排便誘発効果とその作用機序

東北大学大学院医学系研究科生体調節外科

林　啓一，柴田　近，上野　達也，鹿郷　昌之，木内　誠，西條　文人，佐藤　学，生澤　史江，佐々木　巌

「背景」排便時，大腸には波高が高く伝播速度の速い巨大伝播波収縮（giant migrating contractions, GMCs）が出現し，下痢時にはこの GMCs が頻発することが報告されている．GMCs を制御することは下剤や排便誘発剤の開発へとつながる可能性がある．我々は，昨年の本学会で capsaicin 結腸内投与が結腸運動を亢進させ排便を誘発し，その作用はコリン作動性神経を介する事を報告した．その後，外来性神経切離モデルを作成し，結腸への外来性神経の役割などを検討したので追加報告したい．「目的」capsaicin 結腸内投与の回・結腸運動，排便に及ぼす効果とそのメカニズムを検討する事．「方法」ビーグル犬を用い strain gauge force transducer を回腸末端，結腸に縫着・固定し，消化管の輪状筋収縮を測定した．生理食塩水，Capsaicin 1, 2, 5, 10 mg 結腸投与における，また拮抗薬存在下での消化管運動と排便に対する効果を検討した．さらに結腸への外来性神経切離モデルも作製し，除神経下におけるカプサイシン結腸内投与の効果も検討した．外来性神経，壁在神経叢の関与を検討するために結腸ループモデルも作成し検討する予定である．「結果」capsaicin 5 mg, 10 mg の投与直後から結腸に GMCs を高頻度に誘発し，排便を誘発した．Atropine と hexamethonium 存在下では capsaicin 結腸内投与の GMCs・排便誘発効果は抑制されたが，その他の拮抗薬はこの排便誘発効果を抑制しなかった．また，外来性神経切離モデルでは，カプサイシン結腸内投与による結腸運動亢進・排便誘発効果の減弱が見られた．「結語」capsaicin 結腸内投与は結腸運動を亢進させ排便を誘発し，その作用はコリン作動性神経，腸管への外来性神経の関与が重要であると考えられた．

## O-13. 腸管リズム運動による精神衛生改善について

名古屋大学医学研究科細胞生理学

劉　紅年，中山　晋介

【目的】日本では，年間3万人の自殺者がいると言われていますが，その内10%は，うつ病の存在が疑われています．うつ病治療薬としてSSRIが使われているように，うつ病にセロトニンが深く関わっていることは明らです．セロトニンは脳内に全身の2%しかなく，90%以上が胃腸管に存在します．本研究では腸管のリズム運動による脳内セロトニン系の活性化の可能性を，健常者を対象として10年間の追跡調査を行いました．【方法】1. 中国伝統太極拳（腸管リズム賦活運動）を用いて9項目のアンケート調査を実施する．2. 練習歴は1年未満の初心者から10年以上の健康な成人（男29，女79）．【結果】1. 週1回，30分以上の腸管リズム賦活運動を行った後に，90%の被験者に気分改善がみられた．この幸福感は2-3日維持され，特に2年以上練習した人では，この傾向は顕著であった．2. 週3回，1回30分以上の腸管リズム賦活運動を行うと，殆どの被験者が精神の充足感，楽観的になると報告した．3. すべての消化器症状を訴えた人が，腸管リズム賦活運動を行った後，便秘，下痢の症状が改善されたと報告した．これらの結果は，定期的な腸管リズム賦活運動によって，脳内セロトニン系が活性化され，精神衛生に役立つことを示唆している．【考察】本研究では，中国伝統太極拳運動は，腸管に存在するセロトニンの全身への還流により，精神衛生に良い影響を与える事を示したといえる．今後この研究を発展させることにより，うつ病の予防，治療と同時に消化器症状改善のためのメカニズムを明らかすることが期待できる．

# 一般演題　平滑筋-その他

## O-14. 食道胃接合部における内斜筋（sling fiber）と早期 バレット食道の分布

[1]埼玉医科大学国債医療センター包括的がんセンター消化器病センター消化器外科，
[2]獨協医科大学病理部，[3]癌研究所病理部

佐藤　貴弘[1]，加藤　洋[2,3]，山口　茂樹[1]，小澤　修太郎[1]，小山　勇[1]，大谷　吉秀[1]

Esophago-gastric junction（EGJ）の組織学的判定は，これまで，食道の縦軸に沿って連続短冊状に切り出された切片上で，種々の所見（食道固有腺，扁平上皮島など）をプロットしながら行って来た．一方，現在，日本では，内視鏡的に観察される柵状血管下端をEGJとする方法が，もっとも信頼度の高いEGJ判定法である．そこで，この所見を，従来の組織学的判定法に取り容れることを試みた．対象と方法胃食道接合部を含む食道癌切除症例87例を対象とした．また，胃食道接合部を含む食道癌あるいは胃癌切除10例に対して生標本にてバリウムにアガロースゲルを混ぜてカルミンにて着色し，血管造影および鋳型標本を作製した．結果造影剤注入により，柵状血管は，静脈性であり，粘膜筋板直上あるいは筋板内を縦軸に並行に走っており，従来の過小評価EGJよりも肛門側で，粘膜あるいは粘膜筋板より粘膜下層に貫通していることがわかった．通常切除標本においても，柵状血管下端の判定はある程度可能であり，この所見を追加することにより，より正確なEGJの組織学的同定が可能になった．squamo-columnar junction（SCJ）およびEGJは小弯側を底部とするU字形を示した．この方法で確定されるEGJを基に，早期Barrett食道の進展を検討したところ大弯側より小弯側の方により早く起こる可能性が示唆された．考察大弯側と小弯とでは内斜筋すなわちsling fiberの分布が異なり，大弯側の方が小弯側に比べ密であり，3層構造を形成している．この筋肉の収縮機能は大弯側の方が優れていると考えられ，胃酸逆流防止機構に大弯と小弯とで不均衡が生じているものと考えられた．

## O-15. 長期低酸素ストレスによる消化管平滑筋収縮タンパク系 Ca 感受性増加機構の抑制

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室

堀　正敏，北岡　優佳，大濱　剛，尾崎　博

【背景と目的】慢性の炎症性腸疾患では重篤な虚血障害を伴うが，消化管平滑筋の収縮機能が長期の低酸素ストレスによりどのような影響を受けるのだろうか？本研究では消化管筋層組織培養法を用いて，低酸素負荷による消化管平滑筋収縮に対する影響について検討した．【方法】ラット回腸組織培養標本を作製し，無血清培地下で長時間の低酸素ストレス（2% $O_2$，3 日間）を負荷した．対照として通常酸素負荷（20% $O_2$，3 日間）した組織培養標本を用意した．収縮測定実験は正常酸素条件下（95% $O_2$，5% $CO_2$通気）にておこなった．【結果と考察】低酸素負荷標本では，高濃度 K 収縮はほとんど抑制されなかったのに対して，カルバコールによる収縮反応が有意に抑制された．すなわち，長期の低酸素負荷が，収縮タンパク系の Ca 感受性増加機構を選択的に障害する可能性が考えられた．また，この収縮抑制作用は，グリベンクラミド，SOD ならびに L-NMMA の処置によって回復しないことから，低酸素負荷後の再酸素通気による酸化ストレスに起因するものではないことが示唆された．長期低酸素負荷した標本では，カルバコール刺激による CPI-17 と MYPT1 のリン酸化が顕著に抑制されていた．さらに各収縮制御タンパク質の発現量を解析したところ，RhoA のタンパク質発現が低酸素負荷ストレスにより顕著に抑制されていた．以上の成績から，長期低酸素負荷は，RhoA の発現低下をもたらすことで CPI-17 や MYPT1 のリン酸化を介した収縮タンパク系の Ca 感受性増加機構を選択的に障害することが明らかになった．この成績は，炎症性腸疾患における消化管運動機能障害を説明する新しい分子機序の一つと考えられた．

## O-16. ウシ毛様体筋の収縮調節に関与する複数の $G_{q/11}$ 共役経路

[1]旭川医科大学生理学講座自律機能分野，[2]旭川医科大学眼科学講座

高井　章[1]，宮津　基[1]，安井　文智[2]

【背景】毛様体筋の収縮は，伝達物質アセチルコリンによる $M_3$ 型ムスカリン受容体（$M_3R$）の刺激により開始され保持される．一般に $M_3R$ の関与する反応は，$G_{q/11}$ 蛋白（$G_{q/11}$）に共役した信号伝達経路を介して現れるが，毛様体筋においてその下流に接続する系の本体については不明の点が多い．最近，YM-254890（YM）という一種の depsipeptide が $G_{q/11}$ の特異的阻害剤であることが報告された．今回，ウシ毛様体筋においてカルバコール（CCh）で誘発される収縮，細胞内 $Ca^{2+}$（$[Ca^{2+}]_i$）上昇および受容体作動性非選択性陽イオンチャネル（NSCC）電流に対するこの YM の効果を検討した．【方法】等尺性張力はウシ毛様体から摘出した平滑筋束より記録した．酵素処理で単離後，ガラス表面で 1-5 日培養した毛様体筋細胞を用い，Fluo-4 蛍光法により細胞内 $Ca^{2+}$ の変動を，膜電位固定法により全細胞膜電流を記録した．【結果と考察】CCh（2 $\mu$M）投与により発生した収縮の持続相に YM（0.05-10 $\mu$M）を投与すると，収縮は濃度依存性に抑制された．YM 除去後，CCh への反応性は時定数 140 h の指数関数的時間経過で回復した．$Ca^{2+}$ イオノフォアの一種 ionomycin（1-10 $\mu$M）も持続的収縮を起したが，それは CCh 刺激による収縮の 50-60% であった．Ionomycin 存在下での CCh 添加により張力は速やかに CCh による収縮のレベルまで上昇したが，さらに YM（0.5-1 $\mu$M）を加えると CCh 添加前レベルに戻った．Rho キナーゼ阻害剤の一つ Y27632（10 $\mu$M）は，CCh が誘発した収縮の持続相を約 50 % 抑制した．単離細胞において，CCh は $[Ca^{2+}]_i$ の上昇と，二種類の NSCC 電流の活性化を起したが，YM（3-10 $\mu$M）の細胞外投与は，それらの初期相，持続相とも完全に抑制した．毛様体筋の収縮調節には，$M_3R$-$G_{q/11}$ の下流に接続する信号伝達因子として，$Ca^{2+}$ 流入経路として機能する NSCC に加え，ミオシン軽鎖燐酸化レベルを修飾する RhoA/Rho キナーゼ系など，複数の機構が寄与することが示唆された．

## O-17. 毛様体筋収縮調節に関与する受容体作動性陽イオンチャネルの活性化機構の検討

[1]旭川医科大学生理自律機能，[2]名古屋大学医学部眼科

宮津　基[1]，大日向　浩[1]，高井　佳子[2]，高井　章[1]

【目的】毛様体筋の持続的収縮に必要な細胞外からの $Ca^{2+}$ イオン流入経路として機能するムスカリン受容体作動性非選択性陽イオンチャネルの特性を解析するとともに，その活性化機構に関して，細胞内 $Ca^{2+}$ ストアーの枯渇が関与しているか否かについて，細胞内 $Ca^{2+}$ ストアー放出薬であるカフェインの効果について検討する．また，小胞体のカルシウムセンサーの分子本体として注目されるSTIM1 蛋白質の存在を検討する．【方法】細胞内 $Ca^{2+}$ の変動は，同酵素処理で単離したウシ毛様体筋細胞を用い，Fluo-4 蛍光法により記録した．上記と同様のウシ単離毛様体筋細胞において電位固定法により全膜電流を記録．STIM1 の発現の検討には RT-PCR と免疫蛍光顕微鏡法とを併用した．【結果】カフェイン (20 mM) により一過性のカルシウム上昇とそれに続く持続的なカルシウム上昇が観察された．細胞外液カルシウムフリーの条件下では，前者は観察されたが，後者は観察されなかった．カフェイン投与により－50 mV の膜電位で内向きのホールセル電流が観察された．この電流のノイズ解析から，カルバコールによって活性化される 2 種類の非選択性陽イオンチャネル［NSCCL (35 pS) と NSCCS (100 fS)］の中で，カフェインは NSCCS のみを開口させることがわかった．RT-PCR によりウシ毛様体筋束に STIM1 の mRNA が検出された．短期培養した毛様体筋細胞を digitonin 処理の後，STIM1 の特異抗体を用いて，$IP_3$ レセプター1 の特異抗体と 2 重蛍光染色すると，細胞内に両者が球状に共局在した．【結論】ウシ毛様体筋のムスカリン受容体刺激により活性化される NSCCs のひとつは，細胞カルシウムストアーが枯渇されることによって活性化される可能性が考えられた．その活性化を仲介すると考えられる STIM1 の発現が確認された．

## O-18. Isoproterenol 刺激による膀胱上皮における claudin-4 の局在変化

[1]東邦大学薬学部薬理学教室，[2]日本大学松戸歯学部生理学講座，
[3]千葉大学大学院医学研究院分子生体制御学

通川　広美[1]，吉垣　純子[2]，粕谷　善俊[3]，田中　芳夫[1]，小池　勝夫[1]

【目的】膀胱において $\beta$ 受容体刺激は，平滑筋の弛緩を引き起こし，蓄尿を促進的に調節している．もし蓄尿において上皮組織が崩壊すれば，膀胱は，細菌・結晶などの傷害性尿中物質に暴露され，炎症や平滑筋の過剰な運動性を引き起こしかねない．本研究の目的は，蓄尿に伴って伸展する上皮組織が，どのようにしてバリア機能の維持を行っているかを明らかにすることである．今回，タイトジャンクション (TJ) 構成分子である claudin-4 に着目し，Isoproterenol (Iso) 刺激がその細胞内局在に与える影響について検討したので報告する．【方法】Wistar ラットより摘出した膀胱を Iso 刺激し，claudin-4 の細胞内局在および mRNA 量に与える影響を，免疫蛍光染色，ウェスタンブロット及び RT-PCR により検討した．claudin-4 の detergent 不溶性画分への回収率を調べる場合には，膀胱上皮を 1% Triton-X-100 により可溶化し，14,000 g 遠心で得られる上清と沈渣を，それぞれ detergent 可溶性画分と不溶性画分とし，これをウェスタンブロットに供した．【成績】claudin-4 は 3 層からなる上皮組織の細胞と細胞の接着部位に広く存在した．上皮細胞膜上の claudin-4 抗体で検出される蛍光シグナルの量は，Iso 刺激により増加した．しかし claudin-4 の mRNA 量は，Iso 刺激により有意な変化は認められなかった．TJ タンパク質の detergent 不溶性は，TJ がその足場タンパク質と共に膜上に集積する状態を反映する性質として考えられている．detergent 不溶性画分への claudin-4 の回収率は，Iso 刺激により増加した．【結論】以上の結果から，Iso 刺激により claudin-4 がタイトジャンクション部位へ移行することによって，バリア機能の維持に寄与する可能性が示唆された．

# 一般演題　上部消化管

## O-19.　combined multichannel intraluminal impedance and manometry を用いた新たな食道運動機能の評価

[1]川崎医大内科学食道・胃腸科，[2]川崎医大内視鏡・超音波センター，[3]川崎医大総合診療部

筒井　英明[1]，眞部　紀明[2]，石井　学[1]，今村　祐志[1]，鎌田　智有[1]，楠　裕明[3]，畠　二郎[2]，春間　賢[1]

【背景】食道運動機能評価として，従来からの内圧測定だけでなく食塊の通過状態（bolus transit）の評価も重要であると言われている．近年，従来からの内圧法にインピーダンス法を組み合わせた combined multichannel intraluminal impedance and manometry（MII-EM）が開発され，bolus transit と食道内圧（EM）の同時測定が可能となった．【目的】各種食道運動機能性疾患における bolus transit を評価した．【対象】2007 年 9 月より 2008 年 4 月の間に MII-EM を施行した 36 例（男性 22 例，平均年齢 60.3 歳）【方法】6 時間以上の絶食の後，鼻腔よりカテーテルを挿入後，水 5 cc×10 回，ゼリー 5 cc×10 回をそれぞれ嚥下させ，EM と bolus transit を同時評価した．使用機種は Sandhill Scientific 社製 INSIGHT で，9 チャンネル EFT カテーテルを用いた．EM 所見は Spechler と Castell らの診断基準に従い，bolus transit は complete bolus transit（CBT）の出現率で評価した．【結果】EM 所見により，ineffective esophageal motility（IEM）15 例，食道アカラシア（Ach）10 例，diffuse esophageal spasm（DES）3 例，scleroderma（Scl）2 例，正常 6 例に分類された．Ach と Scl は水，ゼリーのいずれも CBT は認めなかった．IEM は水 10.3%，ゼリー 19.6% に，DES は水 11.0%，ゼリー 13.3%，EM 所見正常例では，水 91.3%，ゼリー 89.2% に CBT を認めた．【結論】MII-EM により，食道運動機能性疾患には，bolus transit が完全に障害されている群と一部温存されている群が存在する事が判明した．bolus transit は食道運動機能の新たな一つの評価項目になり得ると考えられた．

## O-20.　胃電図による胃術後運動機能評価

川崎医科大学消化器外科

村上　陽昭，松本　英男，甲斐田　裕子，齋藤　あい，窪田　寿子，東田　正陽，平林　葉子，岡　保夫，奥村　英雄，浦上　淳，山下　和城，平井　敏弘，角田　司

消化管機能のひとつの検査法として，胃電図があるが，単極誘導であったため，臨床応用には導入が難しかった．4 チャンネルが同時に解析できる胃電図システムが新たに開発された．健常人，胃切除患者の胃電図を測定し，比較検討した．対象は 40 歳以上の健常人 13 人，胃部分切除 7 人，迷走神経温存腹腔鏡補助下幽門側胃切除術 6 人，幽門側胃切除 7 人に 4 チャンネル胃電図を施行した．安静，仰臥位で空腹時に胃電図を測定した．空腹時は 20 分間，測定した．胃電図は Medtronic 社製の PolyGraf EGG Extension Cable 4channels，EGG 表面電極を用いて測定した．POLYGRAM NET で分析，記録した．空腹時測定が終了すると，市販のおにぎりを 2 個，お茶を摂取させ，同様の肢位で，直後に胃電図を 20 分間測定した．食事負荷前後の正常優位周波数の時間的割合，各チャンネルの伝播率を比較した．食事負荷により各術式とも，正常優位周波数の増加を認めた．伝播率は幽門側胃切除が他の術式に比して劣っていた．4 チャンネルで同時に測定解析できるシステムであり，胃術後機能評価に有用である可能性が示唆された．

## O-21. 連続的 $^{13}$C 胃排出呼気試験への Wagner-Nelson 法の適応

[1]協和発酵医薬マーケティング部，[2]群馬大学附属病院光学医療診療部，
[3]群馬大学大学院病態制御内科学

野坂　千裕[1]，下山　康之[2]，財　裕明[3]，保坂　浩子[3]，河村　修[3]，草野　元康[2]

【目的】$^{13}$C 標識化合物を用いる胃排出測定法は非侵襲的であるため有用性が高い．その解析には Ghoos が提唱したパラメータが用いられてきた．ところがシンチ法のパラメータと比較すると，数値にズレが生じることが報告されている．これは呼気試験の結果が，胃排出のみならずその後の代謝過程まで包含することに由来する．Wagner-Nelson (W-N) 法は薬物動態の考えに基づいた解析法である．消失速度から代謝量を推計し補正することで，胃からの排出をより正確に推測することができるとされている．今回，すでに我々が報告した粘調度を変化させた流動試験食での結果 (Shimoyama et al, Neurogastro Motil, 2007) を W-N 法にて再解析し考察を加えた．【方法】健常人 11 名に $^{13}$C 酢酸ナトリウム 100 mg を溶解した水，低粘調流動食（400 kcal, 400 mL），高粘調流動食（ペクチンを含有）を摂食させ，連続呼気モニタ装置 (Breath-ID) にて測定を行った．データを W-N 法にて解析した．【結果】低粘調流動食を摂取した場合，摂取直後から始まる急速な胃排出の後，一旦遅滞しその後再びゆっくりとした排出が始まるという 2 段階の排出が観察された．各段階における 50% 排出時間は，0.27±0.09 hr および 1.68±0.42 hr であった．高粘調流動食でも同様な 2 段階の胃排出が認められた．50% 排出時間は 0.27±0.12 hr および 1.39±0.37 hr であった．一方，水の場合 2 段階の胃排出は認められなかった．【結論】W-N 法による解析によって，流動食摂取後約 1 時間内において胃排出が 2 段階に調節されている可能性が示唆された．そのうち後期排出はカロリーの有無，粘性で影響を受けていた．呼気胃排出試験の W-N 法による解析は胃排出パターンの分類や，胃排出の feedback 機構の解明などに有用であると推測された．

## O-22. バリウム入りホットケーキによる胃内分布観察の試み

[1]川崎医科大学内科学（食道・胃腸），[2]川崎医科大学検査診断学（内視鏡・超音波），
[3]川崎医科大学総合臨床医学

今村　祐志[1]，眞部　紀明[2]，藤田　穣[1]，垂水　研一[1]，鎌田　智有[1]，楠　裕明[3]，
塩谷　昭子[1]，畠　二郎[2]，春間　賢[1]

【目的】摂取した食物は胃底部に貯留し，徐々に前庭部に移動するとされている．胃底部の貯留能障害により食物の胃内分布異常をきたし，機能性ディスペプシアの一因とも考えられている．胃底部の弛緩反応や食物の胃内分布に関する報告は，シンチグラフィーやバロスタット法を用いたものが多く，簡便な検査法が少ないのが現状である．食物の胃内分布を簡便に観察する検査法として，バリウム入りホットケーキを用いたレントゲン撮影の有用性を検討する．【方法】対象は健常男性ボランティア 10 名 (22～25 歳)．試験食はホットケーキミックス（日清製粉）100 g と牛乳 100 cc およびバリウム粉（カイゲン）20 g を混ぜて焼いたものとして，検査中は水分の摂取をしなかった．空腹時に試験食を摂食し，摂食直後に腹部単純レントゲンを座位あるいは立位で撮影した．胃角を指標に，近位胃および遠位胃に分けて，近位胃はさらに胃底部（穹窿部）と胃体部に分けて試験食の分布を検討した．試験食が多く分布している部は白く，少ない部は黒く見えるが，画像解析ソフト (Scion Image) により数値化して評価した．【結果】被検者は試験食を違和感なく全量摂取でき，試験食摂取後に腹部症状は出現しなかった．全例でレントゲン写真により試験食の胃内分布の評価が可能であった．9 例では試験食が胃底部のみに貯留せず，胃体部にもひろく分布していることが肉眼的に観察できた．画像解析を行うと，穹窿部よりも遠位胃に有意に試験食が多く分布しており，通説とは違う結果が得られた．【結論】少量のバリウムを混入したホットケーキによるレントゲン撮影は簡便に食物の胃内分布を観察することができた．また，食物は胃底部のみに貯留せず胃体部にも分布する可能性が示された．今後，機能性ディスペプシアなどの病態解明などへの応用が期待される．

# 一般演題　消化器・その他

## O-23.　経腸栄養剤の粘稠度が消化管運動に及ぼす影響—イヌを用いての基礎的検討—

東北大学生体調節外科学分野

佐藤　学，柴田　近，上野　達也，鹿郷　昌之，木内　誠，西條　文人，林　啓一，
生澤　史江，菊池　大介，佐々木　巌

【背景】胃瘻からの経腸栄養剤(EN)投与が増加している．ENの半固形化，すなわち粘稠度増加が胃食道逆流による肺炎，急速排出による下痢などの合併症を減少させ，EN投与が短時間ですむため通常の食事摂取に近く，生理的であるとして考えられている．しかしENの粘稠度と消化管運動との関連から示した基礎的データは殆どみられない．【目的】胃瘻から投与する経腸栄養の粘稠度が消化管運動に及ぼす影響を用いて検討する．【対象と方法】ビーグル成犬を用いて，全身麻酔下で開腹し，胃体部，胃前庭部，十二指腸，近位空腸にstrain gauge force transducerを縫着し消化管運動を測定した．胃底部にEN投与経路とする金属カニューラを留置した．固形食400 kcal経口摂取を対照群とし，EN 400 ml 2時間投与群，5分投与群，2,000，7,000，20,000 cpと投与時間と粘稠度の異なる投与群を設定した．測定項目は，受容性弛緩の程度と持続時間，食後期収縮持続時間，投与後60～90分の食後期収縮波形下面積（胃前庭部，十二指腸，近位空腸）とした．【結果】受容性弛緩の程度は固形食群と比べてEN2時間投与群で小さく，粘稠度の上昇に伴い増加し，20,000 cpでほぼ固形食群と同等であった．時間は粘稠度増加に従い長くなる傾胃排出を反映する食後期収縮持続時間は粘稠度増加に従い長くなった．食後期収縮波形下面積は粘稠度増加に従い長くなった．全ての測定において固形食摂取に近い運動パターンを示した．【まとめ】ENの粘稠度増加により消化管運動パターンは固形食に近づき，より生理的である可能性が示されたことに今回の検討が基礎的根拠となりうる可能性を示した．

## O-24.　消化管内圧測定の過去から未来へ—入口（食道）と出口（肛門）—

[1]町田市民病院外科，[2]東京慈恵会医科大学外科，[3]聖マリアンナ医科大学救急医学

羽生　信義[1,2]，西川　勝則[1,2]，岩淵　秀一[1]，湯田　匡美[1]，安江　英晴[1,2]，薄葉　輝之[1,2]，
川野　勧[1,2]，飯野　年男[1,2]，三好　勲[1,2]，水野　良児[1,2]，古川　良幸[2]，中田　浩二[2]，
梶本　徹也[2]，仲吉　朋子[2]，田中　雄二郎[2]，矢永　勝彦[2]，川崎　成郎[3]

内圧測定は古くから行われ，消化管運動機能検査では唯一診療保険点数が算定されているが，一般臨床で普及しているとは言えない．その最大の理由は得られた結果が分かりにくく，診断・治療に直結しないことである．最近の解析機能の急速な進歩により内圧測定の画像化が行われ，今まさにこの点が解決されようとしている．（食道内圧）1976年にArndorferのインフュージョンポンプ・Dentスリーブが開発され，食道内圧測定システムは確立した．Dodds，Dentらは自らシステムの開発に携わり，本法を武器として多くの世界的な研究を行った．演者らもアカラシアのLESにおけるCCK-OPに対するparadoxical responseや逆流性食道炎における一過性LES弛緩現象を確認し，本法はLESの動きを見事に捉えた．1990年代に水の灌流が不要なマイクロトランスデューサー法が普及してきた．アカラシア患者をインフュージョン法と本法で測定してみると前者は仰臥位で食道内に水が貯留すると収縮波を拾わないことがあり，後者の方が生理的と考えられたが，LESの細かい研究には不適であった．最近高解像の食道マノメトリーが登場し，1 cm間隔に36個のセンサを持ち，「点」で測定された圧を「面」に広げて食道機能として視覚的に表示されるようになった．（直腸肛門内圧）保険点数表に検査内容の5項目が掲載されているが，これを見ただけで難しそうで消化器外科医でも入り込めない．肛門内圧では立体画像化が可能となった．スターメディカル株式会社（東京）の協力を得て行った健常人と直腸低位前方切除術後の3D画像を見ると誰もが一目瞭然にその機能の違いを理解できる．（まとめ）高解像のマノメトリーや画像化により従来の内圧測定は機能検査に進化している．今後機能障害の分類や治療に重要なツールになることが期待される．

## O-25. $^{13}$C-Acetate 呼気試験と 5-FU 内服の Bioavailability に関する検討

川崎医科大学消化器外科

東田　正陽，松本　英男，平井　敏弘，村上　陽昭，窪田　寿子，平林　葉子，岡　保夫，奥村　英雄，浦上　淳，山下　和城，角田　司

進行胃癌の術後補助化学療法として TS-1 が有効性を示された ACTS-GC trial の結果をふまえると，標準手術後の進行胃癌に対する TS-1 内服は標準的治療として認められた．同試験の結果では grade 3-4 の有害事象の頻度が小さく，良好なコンプライアンスを示している．しかし我々の施設においても補助化学療法に TS-1 を用いてきたところ，有害事象の発生により減量，休薬を余儀なくされる患者をしばしば認める．当科では TS-1 の 5-FU 血中濃度測定を実施しているが，経口プロドラッグであるがためにその個人差は大きく，血中濃度が高値になる症例は有害事象の発生が多いことが認められている．よって，この内服薬の血中濃度を把握することは 6-12ヶ月間の長期内服治療に際して有害事象発生の予測及び，減量などの処方内容変更を考慮する上で重要である．この血中濃度測定は繁雑であり患者の負担も大きい．そこで，非侵襲的方法により TS-1 血中濃度を予測することを目的に，$^{13}$C 呼気試験を用いることにより小腸吸収能を計測し，TS-1 血中濃度との相関関係を同定，検討し，より簡便な TS-1 の 5-FU 血中濃度推移の指標となりうるかを検討する．＜対象と方法＞ 胃癌標準術式後，stage II～IIIB の進行胃癌症例で TS-1 内服患者において，$^{13}$C 酢酸を内服し，Breath IDTM を用いて連続呼気採取施行し，小腸吸収能を評価し，TS-1 の血中濃度との相関関係を検討する．＜期待される効果＞ 胃癌術後，TS-1 内服患者において，非侵襲的に血中濃度を予測し，今後発生し得る有害事象の予測，及び投与量の検討をすることができると期待される．

## O-26. エパルレスタットによる糖尿病患者の胃排出機能への影響

[1]弘前大学医学部保健学科，[2]弘前大学医学部内分泌・代謝内科

高島　早百合[1]，松本　敦史[2]，今　昭人[2]，野木　正之[1]，田中　光[2]，柳町　幸[2]，丹藤　雄介[2]，中村　光男[1]

【目的】糖尿病患者において，手足のしびれ等の末梢神経症状を有する場合に，治療としてアルドース還元酵素阻害剤であるエパルレスタット（商品名：キネダック）が用いられる事がある．一方で，自覚的な末梢神経症状がある場合，同時に自律神経機能も障害されていることが多く，消化管では，しばしば胃排出機能障害を合併する．今回我々は，エパルレスタット内服治療により，胃排出機能にどのような影響があるのかを検討した．【方法】当院通院中の糖尿病患者を対象として，エパルレスタット使用群（K 群：12 例），非使用群（C 群：11 例）の 2 群に分類し，以下の方法で胃排出機能を評価した．即ち，被験者に $^{13}$C-acetate 100 mg を混合した OKUNOS-A300 ml を服用させ，180 分後まで 10 分間隔で呼気を採取した．呼気検体は赤外分光分析装置 UBiT-IR 300（大塚製薬）を用いて測定され，呼気中 $^{13}CO_2$ の $^{12}CO_2$ に対する割合〔$^{13}CO_2$ 存在比（‰）〕が，前値と比較しどの程度変化しているか〔$\Delta^{13}CO_2$（‰）〕を経時的に求め，$\Delta^{13}CO_2$ 存在比（‰）のピークに到達するまでの時間（Tmax）を胃排出機能の指標とした．以前の報告に従い，Tmax が 90 分以内となる場合を正常とした．両群の HbA1c，糖尿病罹病期間等の臨床的背景はほぼ一致していた．また K 群におけるキネダックの平均服用期間は 6.2 年であった．【結果】Tmax の平均は K 群：70.9 分，C 群：108.3 分であり，K 群と比較し C 群では Tmax が有意に遅延していた．一方，今回の試験で胃排出機能が正常となったのは，K 群：81.8%，C 群：41.7% であった．【結論】胃排出機能は，胃平滑筋による胃の規則的な蠕動運動により保たれている．エパルレスタットは，主に糖尿病性末梢神経障害の改善のために使用されていたが，胃排出機能低下に関与する自律神経障害の改善作用もある事が示唆された．

# 一般演題　平滑筋と薬物

## O-27.　短鎖トリグリセライド（トリアセチン）が覚醒下イヌの上部消化管運動に及ぼす効果

[1]信州大学医学部統合生理学，[2]香川大学医学部細胞情報生理学，
[3]川崎医療福祉大学医療技術学部臨床栄養学科，[4]川崎医科大学生理学

逢坂　和昌[1,2]，古川　直裕[3]，畑野　瑞恵[4]，辻岡　克彦[4]

【背景および目的】脂肪類の中でも，短鎖トリグリセライドが消化管運動に及ぼす影響については，あまり検討されていないが，我々は，以前に短鎖トリグリセライドの一つであるトリアセチンが，覚醒下のイヌでの胃排出を遅らせることを報告した．胃からの排出遅延は，胃近位部の貯留能や胃遠位部および十二指腸の収縮能の変化に起因することから，トリアセチンは上部消化管の運動に影響を及ぼしているものと考える．そこで今回我々は，胃近位部の受入れ容量と胃前庭部および十二指腸の収縮性に対する，トリアセチンの効果を検討した．【方法】ビーグル犬に，慢性的に胃ろう管，および胃前庭部と十二指腸にフォーストランスジューサを装着した．手術後2週間以上の回復期を待ち，覚醒下にて，胃ろう管より胃近位部に伸展用バックを挿入し，バロスタットに接続した．バロスタットを用いて胃近位部を一定内圧(5 mmHg)で伸展し，測定開始から5分後に，トリアセチン（10, 20, 40 mg/kg）および温水を胃内へ投与し，その後10分間測定を続けた．なお，実験は24時間絶食後の空腹期と，液体流動食の摂取2-3時間後の食後期の2相で行った．【結果】トリアセチンの投与直後から胃噴門部のバック容量の増加が認められた．なお10 mg/kgの用量では，効果は認められなかった．また胃前庭部の運動は，40 mg/kgのトリアセチンの投与で投与直後に一過性に抑制されたが，その他では一定の変化を示さなかった．一方，十二指腸の運動は，投与直後から10分後にかけて亢進した．この効果のパターンは，空腹期と食後期で大差がなかった．【結論】胃内に投与したトリアセチンは，胃近位部を弛緩させ，十二指腸部では運動の亢進をもたらした．このように，トリアセチンは胃近位部，胃の遠位部，および十二指腸の運動に異なる効果を及ぼすことにより，排出遅延を生じさせることが明らかとなった．

## O-28.　糖尿病性血管障害に対する losartan 及び simvastatin による治療効果

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態

竹之内　康広，小林　恒雄，松本　貴之，鎌田　勝雄

【目的】現在，糖尿病は現在増加の一途を辿っており，糖尿病による合併症で重要なものは血管障害に関連し，血管障害や腎症から高血圧を合併する可能性が高いことが知られている．当研究室において作成した2型糖尿病モデルマウスを用いた実験において，血管内皮依存性弛緩であるPI3-K/Akt経路を介した弛緩に障害が生じることが明らかとなった．そこで今回我々は，simvastatin及びlosartanを慢性投与し治療についての検討を行った．【方法】Streptozotocin（STZ）の投与前nicotinamideを投与することにより，膵$\beta$細胞を保護しインスリン合成能を残した2型糖尿病モデルマウスを作成した．薬物慢性処置はそれぞれ粉末給餌中に混ぜ，STZ＋nicotinamide投与後8週目から4週間与えた．血管反応性の検討は摘出した胸部大動脈をリング標本とし，等尺性に反応を記録した．血中パラメータは各種キット，タンパク発現はウェスタンブロット法を用いて行った．【結果】PI3-K/Akt経路を介した弛緩であるclonidine及びadrenomedullinによる弛緩反応は糖尿病群で減弱が見られたがlosartan及びsimvastatin慢性処置により改善した．Total　Aktタンパク発現量はcontrol群に比べ糖尿病群において減少が見られたがsimvastatin慢性処置群においてcontrolレベルまで増加した．また，clonidine刺激後のAktのリン酸化タンパク量も糖尿病群で減少し，simvastatin慢性処置群ではcontrolレベルに改善が見られた．Aktを抑制する因子であるPTENのリン酸化タンパク，GRK2タンパクの検討を行ったところ，糖尿病群でcontrol群に比べ増加が見られたがlosartan慢性処置でcontrolレベルになった．しかし，simvastatinによる影響は観察されなかった．【考察】losartanは糖尿病群でのAktを抑制するGRK2及びリン酸化PTENのタンパク過剰発現を抑制し，simvastatinはAktタンパク量を是正して 糖尿病によるPI3-K/Akt経路の血管障害を改善させる事が明らかとなった．

## O-29. 新規子宮収縮抑制剤 bedoradrine（KUR-1246）の臓器および受容体特異性と自然分娩遅延作用について

福岡大学医学部産婦人科

井上　善仁，吉里　俊幸，瓦林　達比古

【目的】産科臨床で $\beta_2$-アドレナリン受容体（$\beta_2$-AR）作動薬は子宮収縮抑制剤として多用されているが，その臓器および受容体特異性が十分でないことから生じる副作用のため使用が制限される例がある．このためより特異性の高い薬物の開発が求められている．今回の研究では新規 $\beta_2$-AR 作動薬である bedoradrine の臓器および受容体特異性と分娩遅延効果を検討することを目的とした．【方法】$\beta_1$-, $\beta_2$-, $\beta_3$-AR を発現した CHO 細胞に対して bedoradrine, ritodrine, isoprenaline を投与して産生される cAMP 量を測定することで受容体特異性を評価した．次に妊娠 21 日の Spraque-Dawley 系ラットから子宮，心房，気管，大腸の筋切片を作成し，等尺性収縮記録法を用いて bedoradrine，ritodrine，isoprenaline の収縮抑制効果を測定した．また分娩が開始した妊娠 21 日のラットに bedoradrine あるいは生理食塩水を投与して自然分娩の遅延効果を検討した．【成績】cAMP 産生における $EC_{50}$ 値から得られた bedoradrine の $\beta_2$-AR 受容体特異性は $\beta_1$-，$\beta_3$-AR に対して 831.8 倍，125.9 倍であり，ritodrine の 39.8 倍，12.0 倍と比較して非常に高い $\beta_2$-AR 受容体特異性を示した．また各臓器での収縮抑制効果における $EC_{50}$ 値から得られた bedoradrine の子宮特異性は心房，気管，大腸に対して各々2,277 倍，1,549 倍，217 倍であり，他の 2 剤と比較して非常に高い子宮特異性を示した．Bedoradrine は妊娠ラットの自然陣痛を用量依存的に抑制し，0.03 $\mu$g/kg/min による分娩の遅延時間は約 5.5 時間であった．【結論】bedoradrine は従来の $\beta_2$-AR 作動薬と比較して非常に良好な受容体および臓器特異性を有し，早産治療薬として有望な薬物である．

## O-30. 自然発症高血圧ラットにおける尿路生殖器平滑筋の血流と NOS 遺伝子発現に及ぼすドキサゾシンの影響

熊本大学大学院医学薬学研究部泌尿器病態学分野

米納　誠，桝永　浩一，吉田　正貴

【目的】自然発症高血圧ラット（SHR）に前立腺肥大症（BPH）や排尿筋過活動が発生することが報告されている．また SHR では，内皮依存性の海綿体平滑筋の弛緩も低下している．これは高血圧による骨盤内の虚血が膀胱/海綿体平滑筋の線維化を引き起こし，また NOS の発現を低下させることによると推察される．$\alpha_1$ 遮断薬であるドキサゾシンは下部尿路症状(LUTS)のみならず，勃起障害(ED)も改善することが報告されているが，基礎的にあまり検討されていない．そこで今回我々は，SHR を用いて尿路生殖器の血流と NOS 遺伝子発現に及ぼすドキサゾシンの影響について検討した．【方法】10 週齢の SHR にドキサゾシン（30 mg/kg/day），ニフェジピン（30 mg/kg/day）あるいは vehicle を 4 週間投与し，正常血圧コントロールとして WKY ラットを用いた．蛍光マイクロスフェアを用いて局所血流量を測定し，real-time RT-PCR 法で NOS 遺伝子発現変化を定量的に解析した．【結果】ドキサゾシンとニフェジピンはともに SHR の平均動脈圧を有意に低下させた．WKY ラットに比べて，SHR の前立腺，膀胱，陰茎への血流量は低下し，膀胱と陰茎の nNOS 遺伝子の発現と陰茎の eNOS 遺伝子の発現も低下していた．ニフェジピンは尿路生殖器の血流と NOS 遺伝子発現に影響を及ぼさなかったが，ドキサゾシンの投与により SHR の尿路生殖器の血流量は有意に増加し，低下していたこれら遺伝子の発現も有意に増強した．【結論】ドキサゾシンは SHR の尿路生殖器において血流と NOS 遺伝子発現に特異的な変化を引き起こした．本研究によって得られた成果は，高血圧患者に BPH/LUTS，ED が合併すれば，$\alpha_1$ 遮断薬の積極的な適応となる可能性を示唆すると推察された．

# 一般演題　ミオシン関連

## O-31.　X 線回折法による平滑筋細胞収縮フィラメントのリモデリング観測の試み

[1]東京医科大学細胞生理学講座，[2]高輝度光科学研究センター/SPring-8，
[3]文京学院大学保健医療学部　理学療法学科，[4]東京慈恵会医科大学分子生理学講座，
[5]東京慈恵会医科大学麻酔科学講座

渡辺　賢[1]，八木　直人[2]，石田　行知[3]，竹森　重[4]，山口　真紀[4]，木村　雅子[4]，
湯本　正寿[1,5]

平滑筋細胞では，収縮タンパク質フィラメント細胞内分布の量的･空間的な変化（リモデリング）が起こり，それが力学特性の動的変調をもたらすことが推察されているが，実体は不明である．平滑筋収縮フィラメントのリモデリングの実体解明を目標として（財）高輝度光科学研究センター（SPring-8）で細胞膜を化学的に破壊したスキンド盲腸紐平滑筋標本の力学応答･小角散乱の同時測定を実施している．現在までに，コントラストの強い筋フィラメント構造由来反射像を得ることに成功した．この過程で，ミオシン ATPase 阻害薬ブレビスタチンが Ca イオン活性化収縮時におけるミオシンフィラメント由来 14.4 nm 子午反射の強度と収縮張力をともに減少させることを見出した．ミオシンフィラメント量減少，またはミオシンフィラメント構造の撹乱によると結果を解釈できる．更に，細いフィラメント格子様配列由来の 11.4 nm 赤道反射強度も明らかに減弱し，平滑筋細胞内ではミオシンフィラメント構造が細いフィラメントの配列に大きな影響を持つことが推測された．X 線回折法は平滑筋収縮タンパク質リモデリング研究の有効な実験手段になることが期待される．

## O-32.　Qdot 融合抗体を用いた一分子追跡法による平滑筋ミオシン動態の観察

[1]東京医科大学細胞生理学講座，[2]独立行政法人科学技術振興機構，
[3]東京慈恵会医科大学麻酔科学講座

小比類巻　生[1,2]，湯本　正寿[1,3]，渡辺　賢[1,2]

【目的】Qdot 融合抗体を用いて平滑筋細胞内の平滑筋ミオシン（SMM）1 分子の動きを観察し，生きた平滑筋細胞内におけるミオシンの動態を観察・解析する．【方法】モルモット盲腸紐を $\beta$-escin，Triron-X100 等の界面活性剤で処理し，細胞膜の透過性を増したスキンド標本を作製，これに Qdot-抗 SMM 融合抗体を導入した．細胞内で SMM に結合した Qdot の蛍光シグナルをレーザー蛍光顕微鏡と CCD カメラを用いてリアルタイムで観察した．また，Intact な平滑筋組織や単離平滑筋細胞に Qdot-抗 SMM 融合抗体を導入し，同様に細胞内ミオシンの動態の観察を行った．【成績】細胞内に導入された Qdot の蛍光シグナルは，振幅の小さいブラウン運動と思われる特徴的な動きを示した．この Qdot 蛍光シグナルを数分にわたって追跡すると，シグナルがブラウン運動をしながら細胞内を移動していく様子が観察された．細胞外の遊離 Qdot は細胞外液中をブラウン運動しているのが観察された．【結論】今回，高輝度・長寿命の蛍光体である Qdot を抗体と融合させた Qdot 融合抗体を細胞内へ導入し，細胞内の Qdot シグナルをリアルタイムで観察することに成功した．細胞内液には多くのタンパク質や細胞骨格のネットワークが含まれており，細胞外液に比べて粘性が高くなっている．このため細胞内に導入された Qdot は細胞外で遊離状態にある場合よりもその運動が制限されると考えられる．平滑筋細胞内には，フィラメントを形成しているミオシン以外に単量体ミオシンのプールが存在するという説があり，細胞内でのブラウン運動が観察された Qdot シグナルはこの単量体ミオシンに結合していると推測される．今後，機能を保持した平滑筋細胞内のミオシン動態を観察することにより，平滑筋の収縮機構解明に役立つ知見を得られると期待している．

## O-33. ミオシンII阻害薬ブレビスタチンがスキンド気管平滑筋収縮に与える影響

[1]東京医科大学細胞生理学講座，[2]東京慈恵会医科大学麻酔科学講座，
[3]独立行政法人科学技術振興機構

湯本　正寿[1,2]，小比類巻　生[1,3]，小西　真人[1]，渡辺　賢[1,3]

［目的］ミオシンII阻害薬ブレビスタチンは，モルモット盲腸紐，ラット肛門尾骨筋スキンド標本のCaイオン活性化収縮を10-30 μM程度で有意に抑制すること，その際収縮フィラメントである太いフィラメント，細いフィラメントの構造を明らかに撹乱する(小比類巻ら；第49回日本平滑筋学会総会，渡辺ら；第48回日本平滑筋学会総会)．気道平滑筋では，太いフィラメント構造および細いフィラメント構造のリモデリングが生理的に行われていること(例えばSeow；2005)から，気道平滑筋ではより低濃度のブレビスタチンにより収縮抑制とフィラメント構造撹乱が起こることが予想される．この可能性を検討するため，今回はブレビスタチンのモルモット平滑筋収縮への影響について力学実験を行った．［方法］モルモット気管平滑筋に200 μM β-escinおよび20 μM Ca ionophore A23187処理を行い，スキンド標本を作製した．Caイオン活性化収縮による力学応答を測定し，ブレビスタチンの影響を検討した．力学応答測定後に標本をTCA固定し，ミオシン軽鎖のリン酸化のレベルをウエスタンブロット法にて評価した．［結果］10 μM以上のブレビスタチンはどのCaイオン濃度においても収縮張力を抑制した．収縮張力－Caイオン濃度関係をHill式で回帰し解析した結果，ブレビスタチンが最大張力を抑制するが，収縮のCaイオン感受性には影響しないことが明らかになった．また，ブレビスタチンはミオシン軽鎖のリン酸化レベルには影響を与えなかった．［結論］モルモット気管平滑筋スキンド標本では，スキンド盲腸紐・肛門尾骨筋と同様に，ブレビスタチンがアクチン－ミオシン相互作用の直接阻害により収縮抑制が起こる，と考えられる．また，スキンド気管標本では，スキンド盲腸紐・肛門尾骨筋より低濃度でブレビスタチンによる収縮抑制が観察されることから，気管平滑筋では，ブレビスタチン収縮フィラメント撹乱がより起こりやすい可能性が示唆された．

## O-34. Myosin 6の白血病細胞株における発現と局在の検討

[1]北里大学医学部血液内科学，[2]杏林大学医学部解剖学，[3]マサチューセッツ医科大学生理学

東原　正明[1]，臼田　茂樹[1]，青木　卓巳[1]，宮崎　浩二[1]，川上　速人[2]，池辺　光男[3]

【目的】Myosin superfamilyの幾つかは遺伝性疾患の原因遺伝子であり，ヒトの細胞においてもその機能解明がおこなわれている．しかし，ヒト血液細胞においてはmyosin 2以外のmyosin superfamilyの発現や機能を検討した研究報告はない．我々は18クラスの中で唯一アクチンフィラメントをマイナス端方向へ移動し，マウス及びヒトの難聴の原因や癌の播種にも関わっているmyosin 6の白血病細胞株における発現と局在を解析した．【方法】13種の白血病細胞株を使用した．未処理およびTPAによる分化誘導後のmyosin 6のmRNA及びタンパク質の発現量や細胞内局在を，RT-PCR，western blotting及び免疫染色法(共焦点レーザー顕微鏡)を用いて検討した．cytochalasin D，colchicine及びbrefeldin A (BFA) 処理後についても同様の検討を行なった．【結果】myosin 6のmRNAは，一部のリンパ球系と巨核球系，全ての単球系と赤芽球系細胞に発現していたが，HL60には発現していなかった．HL60はTPA処理後，単球・マクロファージ系に分化するが，myosin 6のmRNA発現量は時間及び濃度依存性に増加し，タンパク質発現量もまた時間依存性に増加した．HL60において，myosin 6とRab 8の共染色では，myosin 6は核の周囲と細胞質に顆粒状に染色され，両者は共存していた．3種類の阻害剤を用いてアクチン及び微小管の重合阻害後，及びゴルジ体崩壊後の局在を検討した結果，cytochalasin D処理後は細胞質辺縁部が，colchicineおよびBFA処理後は，主に核の周辺が染色された．【結論】myosin 6は単球・マクロファージ系細胞においてRab 8と共にtrans-golgi network (TGN)・細胞膜間において小胞輸送に関わっている事が考えられた．myosin 6及びRab 8が結合した小胞のエンドサイトーシスはアクチンフィラメントに依存し，エキソサイトーシスは微小管に依存している事が考えられた．

# 一般演題　ユビキタスペースメーカーI

## O-35.　モルモット回盲部におけるカハールの介在細胞の形態学的解析

[1]東京女子医科大学解剖学・発生生物学，[2]早稲田大学人間科学学術院

宮本（菊田）幸子[1]，小室　輝昌[2]

【目的】消化管運動におけるペースメーカーあるいは興奮伝達機構として重要な役割を担うことが知られているカハールの介在細胞（Interstitial cells of Cajal；ICC）は，消化管の様々な部位でその存在が報告されているが，回盲部におけるICCの分布については，これまでのところほとんどわかっていない．そこで我々は，回盲部の運動制御においてもICCが重要な役割を担っている可能性を考え，回盲部におけるICCの分布ならびに形態的特徴を，免疫組織化学的に解析することを試みた．【方法】モルモット（*Cavia porcellus*）回盲部のICC，神経ならびに平滑筋を免疫組織化学的に検出した．ICCの検出にはKit抗体，神経要素の検出にはPGP9.5（Protein Gene Product 9.5）抗体，平滑筋の検出にはSMA（Smooth Muscle Actin）抗体を用いた．【結果】長く突起を伸ばした双極性あるいは多極性のICCは回盲部の筋層においても，豊富に観察されたが，その分布様式には回盲部の中でもさらに部域的相違が認められた．また，回盲弁および回盲弁近傍では粘膜下層にも，しばしば突起によってマイスナー神経叢と密接する双極性あるいは多極性のKit陽性細胞が観察された．回盲弁では筋層と粘膜筋板を結ぶ筋束が認められたが，粘膜下層のKit陽性細胞の中には，それらの筋束を包むように突起を伸ばすものや，粘膜筋板と密接して突起を伸ばすものも認められた．【結論】本解析により，モルモット回盲部にも豊富なICCの存在することが明らかとなった．このことから，回盲部の運動制御にもICCが深く関わっている可能性が示唆された．粘膜下層のKit陽性細胞が新たなICCサブタイプである可能性およびその機能については，今後更なる解析を進めていく予定である．

## O-36.　モルモット消化管におけるカハールの介在細胞（ICC）の組織学的特徴

早稲田大学人間科学研究科

国沢　裕美，小室　輝昌

カハールの介在細胞（ICC）は，消化管において運動のペースメーカーおよび神経信号の伝達役として働くことが知られている．消化管各部の機能を知る手がかりとして，ICCの分布の様子は良く研究されている一方で，同じサブタイプに属するICCの配列や各部位での形状の相違については充分検討されてきていない．そこで，本研究では，モルモットを材料として，各消化器官に分布するICCの形，大きさ，配列，網状構築の有無について免疫組織化学的手法によって，詳細な検討を行った．なお，ICCにはKIT抗体，神経要素にはPGP 9.5抗体を用いて検出を行った．筋層間神経叢部のICC-MPは，消化管のほぼ全長に亘って観察されるが，小腸や結腸では多極性の突起を持ち，神経節を囲む規則的な網目構造を形成するのに対し，盲腸では細胞相互の連絡が疎な配列を示す細胞として観察された．また，胃においてICC-MPは胃底部では存在せず，胃体部から出現，幽門前庭部では非常に発達しており，不規則な束状・集塊状をなす細胞群として観察された．一方，輪走筋層内のICC-CMは，全体として双極性の形状を示すものの，二次突起の発達程度は部位によって大きく異なることが明らかとなった．胃においては，胃底部では単純な長い双極性の形を示し，胃体部から幽門部では分枝の発達の度合いを増し，細胞の全長も長くなる傾向を示した．ICC-CMについても小腸と結腸では比較的似た特徴が観察された．盲腸ではICC-MPおよびICC-CMの両者とも胃体の特徴と類似する点が認められた．これらICCの器官における類似性，相違点に関し，生理学的知見との関連のもとに考察する．

## O-37. カハール介在細胞の発生に関わる遺伝子群

福井大学医学部形態機能医科学講座人体解剖学・神経科学領域

堀口　里美，堀口　和秀，野条　良彰，飯野　哲

カハール介在細胞(ICC)は，消化管ペースメーカーないしは神経と筋の間に介在して神経刺激を伝える，腸運動の調節性細胞である．ICC は受容体型チロシンキナーゼである c-Kit を特異的に発現し，この受容体を介したシグナリングは同細胞の発生・分化・表現型の維持に必須であることが分かっている．しかしながら，ICC の発生に関わるその他の分子についての研究はきわめて乏しいのが現状である．本研究では，ICC の発生に関わる分子機構を遺伝子レベルで解明することを目的とし，同細胞の発生初期段階において発現量の変化する遺伝子を探索した．ICC 前駆細胞に特異的に発現する遺伝子を探索するため，c-kit 変異マウス（W/W）及び同腹野生型マウスの胎生期中腸における遺伝子発現を比較検討した．先行研究により中腸筋層に c-Kit を発現する ICC 前駆細胞の存在が報告されている胎生 14 日において，野生型マウス，W/W マウスそれぞれから抽出合成した cDNA によりサブトラクションを行い，差次的遺伝子群の情報を得た．並行して同時期の野生型マウスおよび W/W マウス中腸 cDNA を用いて DNA マイクロアレイ法を用いて発現解析を行った．この結果，胎生 14 日の野生型マウス中腸にのみ発現している遺伝子候補が数種見出された．そのうち，ICC の初期発生に関与する可能性のある遺伝子として trkB および msx 2 に注目した．前者は BDNF(脳由来神経栄養因子)をリガンドとする神経栄養因子受容体，後者はホメオボックス遺伝子の一つであり，いずれも身体各部位において種々の細胞の発生制御に関わる遺伝子であるが，本研究によりカハール介在細胞の発生への関与が示唆された．

## O-38. カハール介在細胞は cGMP シグナル伝達系分子を発現する

福井大学医学部形態機能医科学講座人体解剖学・神経科学領域

飯野　哲，堀口　和秀，野条　良彰

目的：一酸化窒素 NO は，消化管において運動や分泌吸収を制御する重要な因子であり，標的細胞に存在する可溶性グアニレートシクラーゼ sGC を活性化し cGMP を産生する．私たちは消化管筋層のほぼ全てのカハール介在細胞（interstitial cells of Cajal；ICC）が NO 合成酵素含有神経に近接し，かつ sGC を発現し，NO 刺激により cGMP を産生すると報告した．cGMP は cGMP 依存性キナーゼ(cGK)，cGMP 依存性フォスフォジエステラーゼ（PDE）などに作用し細胞機能を調節する．私たちはモルモット消化管において cGMP シグナルに関与するこれらの分子群を免疫組織化学的に検討した．方法：カハール介在細胞を c-Kit 抗体で標識し，sGC, cGKI, cGKI 基質である IRAG（IP3 receptor associated cGK substrate)，PDE5 の抗体を用いた 2 重免疫染色を行い，共焦点レーザー顕微鏡で画像化した．結果：消化管全体にわたりカハール介在細胞は nNOS 神経に近接し sGC を発現していた．消化管筋層では cGKI 型の発現が知られるので，アイソフォーム $\alpha$ と $\beta$ の発現を調べたところ，消化管全体で cGKI$\beta$ が ICC と平滑筋細胞，神経細胞に観察された．cGKI$\alpha$ は胃と盲腸の筋層内 ICC に発現した．消化管における cGKI の基質の一つ IRAG は，ほぼ全ての ICC と平滑筋に発現した．PDE は cGMP の加水分解により cGMP シグナルを調節するため，cGMP 特異的 PDE5 を検索すると，ほぼ全ての ICC と一部平滑筋に発現した．結論：モルモット消化管筋層において，cGMP シグナル関連分子群 cGKI, IRAG, PDE5 が ICC に強く発現することが明らかとなった．ICC は cGMP シグナルを通して消化管運動調節に関与すると考えられる．

# 一般演題　ユビキタスペースメーカーII

## O-39.　モルモット胃幽門部における特異的な電気生理学的運動とカハール間質細胞（interstitial cells of Cajal, ICC）との関連

[1]JR 九州病院外科，[2]オーストラリア国立大学 JCSMR ニューロサイエンス

柳田　展江[1,2]

【目的】胃排出機能は胃遠位側及び十二指腸の協調運動により調節されるが，各々の部位のメカニズムはよく知られていない．今回胃幽門側平滑筋の電気生理学的特徴について幽門括約筋からの距離および胃前庭部と比較し，ICC 分布の変化と関連して検討した．【方法】モルモットの胃を摘出し微小電極法を用いて輪走平滑筋の slow wave を測定した．胃幽門部は幽門括約筋より口側 5 mm までを用い，ICC は kit を用いた免疫染色法により検出した．【結果】胃幽門部では胃前庭部と比較して，静止膜電位は 6.5 mV 更に脱分極し，低頻度，高振幅の slow wave が観察されたが，複数の脱分極ピークをもつ特徴的な波形を示し，そのピーク数は幽門括約筋に近づくにつれ増加した．胃幽門部 slow　wave は 0.5 mM カフェイン投与により消失した．また 0.25 mM$Ca^{2+}$ 及び 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) により slow wave は消失し膜は脱分極したことから，その生成には一定レベルの細胞内及び細胞外 $Ca^{2+}$ の両方を必要とすることが示唆された．$Ca^{2+}$ 依存性 $Cl^-$ チャネル阻害薬投与では slow wave は頻度，振幅ともに著明に減少した．以上の結果は既に報告されている胃前庭部 slow wave における secondary component の特性とよく一致し，intramuscular ICC (ICC-IM) に由来する成分と考えられているが，primary component，即ち myenteric ICC (ICC-MY) に由来する成分とは異なることが示唆された．免疫染色法では ICC-MY は幽門括約筋に近づくにつれ次第にその密度が減少したのに対し，ICC-IM は全域に渡って検出された．【結論】今回の報告から，胃遠位側では幽門活約筋からの距離によって slow wave の特性は異なり胃各部位の運動を特徴付けていると考えられ，このことが胃排出能を調節していることが示唆された．また胃幽門部 slow wave の発生機序には胃前庭部と比べ異なるメカニズムの関与が示唆され，ICC-MY ではなく，ICC-IM がより大きく影響していると考えられた．

## O-40.　マウス胃幽門前庭部における ICC-MP の形態学的解析

早稲田大学大学院人間科学研究科

古谷　朋子，小室　輝昌

【目的】筋層間神経叢部のカハールの介在細胞 (ICC-MP) は，消化管運動のペースメーカーの役割を担っている細胞として知られているが，胃では領域により分布が異なり，胃底部では欠損し，胃体部から出現し始め，幽門前庭部では特に豊富に分布する部位のあることが報告されている．本研究では，マウス胃幽門前庭部における ICC-MP の密集した構造に注目し，この部位の ICC-MP の微細構造上の特徴について明らかにする．【方法】生後 6 週齢のマウス（体重 25～30 g，雌）の胃幽門前庭部を材料として，透過型電子顕微鏡ならびに免疫組織化学的手法を用いて形態学的検索を行った．なお，免疫組織化学染色には，ICC には c-Kit 抗体，神経要素には PGP 9.5 抗体を用いた．【結果および結論】マウス胃全載伸展標本の免疫組織化学染色では，幽門前庭部の限られた部分に，Kit 陽性の ICC-MP が豊富に観察された．同様部位の電子顕微鏡観察を行ったところ，輪走縦走両筋層間に挟まれた部位で神経節を取り巻くように ICC-MP が存在し，かつ，神経節間の組織間隙にも多数の ICC が認められた．これらの細胞は微細構造上，豊富なミトコンドリアや中間径フィラメントを含む細胞質，細胞膜に認められるカベオラの存在などから ICC と同定された．これらの細胞は，超薄切片の微小な範囲においてもしばしば多数の細胞体，細胞突起によって，密接あるいは層をなし，gap junction によって結合しているのが観察された．また，シナプス小胞を多数に含む軸索終末と密接する像も観察された．マウス胃幽門前庭部の限局した部位において，ICC-MP が密集し，gap junction によって結合することが確認された．この構造の生理的意義については，いまだ十分な解釈を得られていないが，断続中の観察を含めて，さらに検討，考察する予定である．

## O-41. ラット胃噴門部における単電位発生機序について

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学

鬼頭　佳彦，鈴木　光

近年，消化管平滑筋組織内に分布するカハールの介在細胞（interstitial cells of Cajal；ICC）に関する研究が進み，緩電位(スローウェーブ，Slow wave)発生の源は筋間神経層に分布し網目状のネットワークを形成しているICC-MY（myenteric ICC）であること，また小さな一過性脱分極である単電位（Unitary potential）の発生源は筋層内ICC（ICC-IM, intramuscular ICC）であることが明らかとなった．当初は自発活動の歩調取り機構解明が消化管運動の研究において最も重要な課題であったということもあって，ICC-MYについての研究が急速に発展したのに対し，ICC-IMについては形態学的研究が主であり電気生理学的研究は精力的にはなされていない．今回我々はラット胃噴門部を用いて単電位の発生機序について検討した．ラット胃噴門部から幅約0.4 mm，長さ約0.8 mmの輪走筋標本を作成し，ガラス微小電極によって細胞内電位を測定した．輪走平滑筋細胞は静止膜電位が－40 mVから－50 mVで，単電位を不規則に発生していた．NOドナーであるSNP（3 μM）投与により膜は5 mV程度過分極し，単電位はほぼ消失した．一方，ATP感受性Kチャネル開口薬のピナシジル（1 μM）は膜を10 mV程度過分極させたが，単電位を消失させなかった．細胞内Caポンプの阻害剤であるシクロピアゾン酸(5 μM)は膜を約10 mV脱分極させた後，単電位を消失させた．また，PLC阻害剤のNCDC（30 μM）は膜を数mV過分極させ，単電位を消失させた．シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシン（10 μM）は膜を数mV過分極させ，単電位の発生を減少させた．インドメタシン存在下において，PGE2アナログであるエンプロスチル(150 ng/ml)は，膜を約10 mV脱分極させ単電位を再発生させた．以上の結果から，ラット胃噴門部では内因性プロスタノイドが細胞内Ca動員機構を介して単電位発生に寄与している可能性が示唆された．

## O-42. モルモット胃体部輪走平滑筋における自発活動の電位依存性

[1]名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学，[2]オーストラリア国立大学

鈴木　光[1]，Hirst G. David E.[2]，橋谷　光[1]

摘出したモルモット胃体部輪走平滑筋の単一筋束標本（長さ200～300 μm）を用いて，胃全体の活動の歩調とりであると考えられている緩電位（slow potentials）の電位依存性について調べた．静止電位における緩電位の振幅ならび発生頻度はそれぞれ20～30 mVならびに4～6回/分で，通電により膜を過分極させると振幅は増大し頻度は低下し，脱分極させると振幅は減少し頻度は増加した．静止時に不規則に発生している単電位は，膜を-70mV位より負に過分極させると発生頻度は低下した．過分極が－80 mV位になると緩電位の発生は停止した．2APB ($IP_3$受容体抑制薬，10～20 μM，CCCP（ミトコンドリアのプロトノフォア，0.1～0.3 μM），シクロピアゾン酸(CPA：小胞体Ca-ATPase抑制薬，10～20 μM)，タプシガルジン(小胞体Ca-ATPase抑制薬，1～3 μM)は膜を脱分極させ，2APBは緩電位の振幅を抑制し発生を不規則にさせ，CCCP, CPA, タプシガルジンは緩電位ならびに単電位の発生を抑制した．通電により膜を再分極させ緩電位の変化を観察すると，2APBは頻度の電位依存性を低下させ，振幅の電位依存性を抑制した．CCCPは緩電位振幅の電位依存性を変化させることなく頻度の電位依存性を低下させた．CPAは緩電位振幅の電位依存性を変化させずに，緩電位頻度の電位依存性を消失させた．CPAの作用は可逆的であったが，タプシガルジンの作用は不可逆的であった．高K溶液（13 mM）は膜を脱分極させ，緩電位の頻度を上昇させ，緩電位の振幅を低下させたが，通電により膜を変化させたところ緩電位の振幅，頻度ともに電位依存性は変化していなかった．これらの結果から，胃体部において観られる緩電位には電位依存性があり，その振幅は主として小胞体機能に依存し，発生頻度は小胞体のCa保持機能とミトコンドリア活動に依存していることがわかった．

## O-43. 微小電極アレイ（MEA）を利用した小腸ペースメーカ活動評価法

名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学

中山　晋介，大石　遼太郎

背景）筋層間神経層の Cajal 間質細胞（ICC-MyP）はネットワークを形成し，基礎的ペースメーカリズムを発生する．その形態的な特徴から，Cajal 細胞は消化管の協調運動にも重要な働きをすると考えられる．目的）ICC-MyP のネットワーク形成の機能的な重要性を解明するため，野生型（WT）と $W/W^v$ マウスの小腸筋層標本におけるペースメーカ電位活動を比較した．方法）約 1 mm 四方の範囲の細胞外電位を，8x8 微小電極アレイ（電極間距離，各 150 $\mu$m）で同時に計測した．神経と平滑筋活動を抑制するため TTX と Ca 拮抗薬ニフェジピンを投与した．結果/考察）WT マウスの小腸筋層標本では，基礎的ペースメーカ電位活動は，顕著な連動を示した．一方，$W/W^v$ マウス小腸筋層標本が発生する電位の振幅は極端に小さく，またその活動は微小な記録部位においても連携していなかった．パワースペクトルによる解析では，WT マウスで ICC-MY の活動周波数と一致する著名なピークが見られたが，$W/W^v$ マウスにはこのようなピークはみられなかった．このスペクトルにおいて，0.15-0.5 Hz 範囲のスペクトルパワーは，WT マウスにおいて有意に大きいことが分かった．これまで，ペースメーカ細胞ネットワークの障害は，免疫染色など形態学的な手法が用いられてきた．本研究の測定法・解析法は，新たに機能の面からペースメーカ細胞ネットワークの評価法を提供する．