

一般演題 1 (口演)

O1-1 前立腺肥大症の創薬標的としてのカルシウム活性化カリウムチャネルー前立腺間質肥大モデルを用いた検討ー

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・²大学院医学研究科腎・泌尿器科学分野、³大鵬薬品工業飯能研究センター

○大矢 進¹, 丹羽 里実¹, 小島 祥敬², 佐々木 昌一², 桜木 求³, 郡 健二郎², 今泉 祐治¹

中コンダクタンスカルシウム活性化カリウムチャネル (IK_{Ca} チャネル) は、その活性化により、T 細胞の増殖・分化や血管新生を促進することが知られている。本研究の目的は、最近、大鵬薬品工業において開発された前立腺間質肥大症モデルを用いて、IK_{Ca} チャネルの前立腺肥大症における新たな創薬標的分子としての可能性について検討することである。

リアルタイム PCR 法、DNA マイクロアレイ法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法を用いて、正常前立腺と肥大した移植泌尿生殖洞 (UGS) における IK_{Ca} チャネル発現を比較検討したところ、K_{Ca} 3.1 転写物及びタンパク質は、移植 UGS において有意に高いことが明らかとなった。そこで、IK_{Ca} チャネル阻害薬 (TRAM-34) の *in vivo* 投与による移植 UGS 重量への効果を検討したところ、濃度依存的に移植 UGS 重量は減少した。また、増殖細胞 (PCNA 陽性細胞) の割合は、上皮領域では、TRAM-34 投与の影響をほとんど受けないにもかかわらず、間質領域では、その割合が濃度依存的かつ有意に減少した。さらに、K_{Ca} 3.1 発現増大に転写促進因子 AP-1 の発現増大、転写抑制因子 REST の発現減少が関与することを示唆し、前立腺肥大症患者の前立腺針生検標本の一部においても同様の結果を見出した。上記の結果より、IK_{Ca} チャネル阻害薬は、前立腺肥大症の新規治療薬として有効である可能性が示された。

O1-2 膀胱三角部と近位尿道部においても尿路粘膜の β_3 受容体が膀胱平滑筋の収縮抑制に関与している

¹東京都健康長寿医療センター泌尿器科、²熊本労災病院医療情報部、³東芝病院泌尿器科、⁴東京大学医学部附属病院泌尿器科

○榎永 浩一¹, 吉田 正貴², 永田 卓士³, 津久田 和貴¹, 本間 之夫⁴, 粕谷 豊¹

【緒言】 非選択性 β 刺激薬である isoprenaline が膀胱体部上皮の β 受容体に作用して放出される物質が、平滑筋の carbachol 収縮を抑制していることが報告されている (Murakami S et al, BJU Int 99: 669-673, 2007)。更に、その放出には β_3 受容体が関与していることが示唆されており (Masunaga K et al, Neurourol Urodyn, 2010 (*in press*)), 今回我々は他の下部尿路 (膀胱三角部, 近位尿道部) においても同様の結果が得られるか? について検討した。

【方法】 プタ膀胱三角部および尿道近位部より粘膜ありと粘膜なしの条片を作成し、それぞれ筋浴槽内に懸垂固定した。Carbachol (CCh) 投与前に 10^{-5} M の β 刺激薬 (isoprenaline: 非選択性; dobutamine: β_1 選択性; salbutamol: β_2 選択性; BRL37344: β_3 選択性) をそれぞれ投与し、粘膜の有無で CCh 収縮反応への抑制を比較した。更に、isoprenaline 投与前に 10^{-6} M の β 抑制薬 (propranolol: 非選択性; CGP20712: β_1 選択性; ICI-118, 551: β_2 選択性; SR59230A: β_3 選択性) をそれぞれ投与し、粘膜の有無で CCh 収縮反応への抑制を比較した。

【結果】 Isoprenaline および BRL37344 は粘膜がある場合 CCh 反応曲線を有意に右方移動させたが、他の β 刺激薬では有意差は認められなかった。また、isoprenaline 投与前に SR59230A を投与すると、CCh 反応曲線の有意な右方移動は認められなくなった。

【結論】 膀胱三角部および近位尿道部粘膜の β_3 受容体が膀胱平滑筋の収縮抑制に関与している可能性が示唆され、膀胱体部と同様の結果が得られた。

01-3 塩酸誘発膀胱炎ラットモデルにおける膀胱機能、非神経性 ATP 放出および免疫組織染色による膀胱組織変化の検討

¹東京都健康長寿医療センター泌尿器科, ²熊本労災病院医療情報部, ³東芝病院泌尿器科, ⁴東京大学医学部附属病院泌尿器外科

○榎永 浩一¹, 吉田 正貴², 永田 卓士³, 津久井 和貴¹, 本間 之夫⁴, 粕谷 豊¹

【諸言】 間質性膀胱炎の病態について、尿路上皮からの ATP などの神経伝達物質放出の関与が考えられている。今回、塩酸誘発無菌性膀胱炎ラットモデルを用い、膀胱機能と膀胱条片からの非神経性 ATP 放出およびその免疫組織学的変化について検討した。

【方法】 成熟雌性 SD ラット膀胱に 0.4 N 塩酸を注入し、塩酸誘発膀胱炎ラットモデル (HCl 群) を作成した。注入 1 週間後に麻酔下にシストメトリーを行った。また、膀胱条片を筋浴槽に懸垂固定し、TTX 存在下で張力変化 (0~40 mN) を加え、マイクロダイアリシス法およびルシフェリン・ルシフェラーゼ法を用いて、膀胱条片からの非神経性 ATP 放出量を測定した。摘出膀胱の組織変化を HE 染色およびトリジンブルー染色、更には P2X₃, TRPV1, TRPV4 受容体の免疫組織染色を行った。

【結果】 Sham 群と比較すると、HCl 群ではシストメトリーにおいて有意な排尿回数の増加、non-voiding contraction の出現が認められた。また、張力依存性非神経性 ATP 放出の有意な増加が認められ、組織学的にはトリジンブルー染色で組織中肥満細胞の増加が観察された。P2X₃ 受容体陽性神経は上皮下および平滑筋層内にみられ、sham 群と比較して HCl 群で増加していた。また、TRPV4 受容体は主に上皮内に染色されており、これは HCl 群で sham 群と比較して増加していた。一方 TRPV1 受容体は、HCl 群で明らかな変化は認められなかった。

【結論】 HCl 群の膀胱の組織像は間質性膀胱炎に類似しており、非神経性 ATP 放出量の増加が確認された。また、HCl 群で P2X₃ 受容体、TRPV4 受容体の増加が認められた事より、非神経性 ATP 放出にこれらの受容体が関与している可能性が示唆された。

01-4 遠位結腸輪走筋における弛緩の動物種差

大阪府立大学 生命環境科学部 獣医学科 応用薬理学教室

○中西 信人, 新宅 一真, 中嶋 秀満, 東 泰孝, 竹内 正吉

【背景と目的】 結腸の弛緩運動は内容物の貯留と排泄を調節するために重要であり、その機能が変化することにより便秘など様々な症状が生じる。当研究室ではこれまで、マウスおよびラット遠位結腸縦走筋の弛緩運動における神経伝達物質の同定とその弛緩機序を明らかにしてきたが、輪走筋においては十分な検討がなされていない。そこで本研究では、マウスおよびラット遠位結腸輪走筋における弛緩運動における神経伝達物質の同定とその弛緩機序を明らかにすることを目的とした。【材料と方法】 雄性 C57BL/6J (8~12 週齢) マウス、および雄性 Wistar/ST (8~12 週齢) ラットの摘出遠位結腸輪走筋条片を作製し、NANC 条件下でマグヌス法により、経壁電気刺激 (EFS; 0.5 msec, 10 Hz, 40 V, 100 pulses) による反応と、外から適用した抑制性伝達物質による弛緩反応を、輪走筋方向に等張性に記録した。

【結果】 **マウス** ① EFS による弛緩は NO 合成酵素阻害薬である L-NNA により濃度依存性に抑制され、30 μ M の濃度ではほぼ完全に抑制された。② Ca²⁺-activated K⁺ channel 阻害薬は、EFS による弛緩に全く影響しなかった。③ 筋小胞体 (SR) の Ca²⁺ ポンプ (SEACA) 阻害薬である thapsigargin 0.01~0.1 μ M は EFS による弛緩を濃度依存的に抑制し、0.1 μ M の濃度で弛緩をほぼ完全に抑制した。**ラット** ① EFS による弛緩は L-NNA により濃度依存性に抑制され、30 μ M の濃度で最大約 70% の抑制を示した。また、PACAP antagonist である PACAP6-38 3 μ M の処置により、EFS による弛緩は約 20% 抑制された。② SK channel の阻害薬である apamin100 nM の処置により、EFS による弛緩は約 30% 抑制された。以上の結果より、遠位結腸輪走筋において、マウスでは NO が、ラットでは NO と PACAP が弛緩に関与することが明らかとなった。また、マウスでは弛緩に SR が大きく関与すること、一方ラットでは SK channel が弛緩に一部関与することが明らかとなった。

O1-5 PPAR α を介さないクロフィブレートによるマウス遠位結腸の弛緩

大阪府立大・院・生命環境科学・獣医学・応用薬理学

○西山 和宏, 東 泰孝, 中嶋 秀満, 竹内 正吉

【目的】 Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) α は多方面の生理機能を有し, 近年, PPAR α が血管平滑筋にも作用することが見出された. しかしながら, 消化管平滑筋における PPAR α の役割は全く不明である. 本研究では, マウス遠位結腸縦走筋を用いて PPAR α の関与の可能性について検討を行った.

【方法】 雄性 C57/BL6 マウスより遠位結腸縦走筋標本を作製した. マグナス法により電気刺激 (EFS) を行い NANC 条件下で認められる弛緩を等張性に記録した.

【結果】 代表的なアゴニストであるクロフィブレートは縦走筋を弛緩させることが明らかとなった. しかしながら, より選択的かつ特異的なアゴニストである Wy-14643 では, 弛緩反応を含め何ら著変を示さなかった. また, EFS 誘発持続性弛緩に対して, PPAR α アンタゴニストである GW9662 および T0070907 は著変を与えなかった. さらに, クロフィブレートによる弛緩に対して, 両アンタゴニストはなんら抑制効果を発揮しなかった. 引き続き, クロフィブレートによる弛緩機構について詳細な検討を行ったところ, NOS 阻害薬である L-NNA, sGC 阻害薬である ODQ, PKA 阻害薬である H89, さらに, 神経遮断薬である tetorodotoxin や各種 K⁺ チャネルブロッカーである glibenclamide, apamin, charybdotoxin, および XE991, いずれにおいても抑制されないことが明らかとなった. 加えて, 小胞体 Ca²⁺ ポンプ阻害剤である thapsigargin によっても抑制されなかった.

【考察】 以上の結果より, クロフィブレートは弛緩を引き起こすことが明らかとなったものの, その弛緩機構には, PPAR α は関与しないこと, また, 既存に知られている弛緩機構とも異なるメカニズムを介している可能性が示唆される.

O1-6 胃切除術後消化管運動障害に対するグルタミンの効果—基礎研究から臨床へ—

群馬大学大学院病態総合外科

○持木 彫人, 大野 哲郎, 小川 敦, 森田 廣樹, 矢内 充洋, 豊増 嘉高, 緒方 杏一, 安藤 裕之, 桑野 博行

消化器手術後消化管収縮障害の原因は腸管の乾燥や接触, 炎症, 交感神経など様々な要因が関係しているが, 明確な解答は得られていない. グルタミンは非必須アミノ酸であるが生体に侵襲が加わると, 生体内のグルタミン濃度が減少することが知られ, 術後にグルタミンを投与すると回復が早くなることが報告されている. このような背景から動物実験で胃切除後の消化管運動麻痺に対するグルタミンの効果を検討し, その結果をもとに臨床研究を行った.

【方法】 基礎研究: ビーグル犬を用いて全身麻酔下で幽門側胃切除術を行い, 残胃, 十二指腸, 小腸に force transducer を逢着し, 消化管運動を測定. グルタミン投与群 (2 g/day) とコントロール群に分け, 空腹期伝播性強収縮運動 (phase III) 発現までの時間を計測する. また血中のグルタミン濃度を術前, 術後に測定する. 臨床研究: 胃癌にて幽門側胃切除術を受けた症例を対象とし, 術後にグルタミン投与群 (15 例, マーズレン S; 3 g/day) とコントロール群 (16 例) に分け, 術後 12 日目に内圧測定法を用いて消化管運動を空腹期, 食後期に測定する. また, 血中のグルタミン濃度を術前, 術後に測定する.

【結果】 基礎研究: phase III 発現までの時間は投与群で 21.3 時間, コントロール群で 37.8 時間であり, 投与群で有意に早く消化管運動が回復した. グルタミンの血中濃度は術後, 両群ともに減少したが, 投与群の減少が有意に少なかった (POD 1: 740: 520 nmol/g). 臨床研究: 投与群は 60% の症例で phase III が観察されたが, コントロール群では 19% にのみ観察された ($P < 0.05$). 消化管運動能 (motility index) の比較では空腹期で投与群が 145 と有意に高い結果であった (コントロール群: 97). グルタミンの血中濃度は両群とも術後低下したが, 術後 12 日目の値は投与群が有意に高かった (450: 233 nmol/g).

【結論】 消化器手術後の運動機能障害 (術後腸麻痺) はグルタミンを術後投与することによって改善する可能性が, 基礎および臨床研究で示唆された.

一般演題 2 (口演)

O2-1 ギャップ結合遮断薬 mefloquine の細胞膜に対する作用について

名古屋市立大学看護学部生理学

○山本 喜通

ギャップ結合遮断薬といわれる薬物の多くは細胞膜の性質を変化させる副作用を有し、それによって膜は脱分極することが多い。ここではギャップ結合遮断薬の一つである mefloquine の細胞膜に対する作用を、モルモット腸間膜動脈内皮細胞層の単離標本に conventional whole-cell clamp 法を適用して研究した。内皮細胞同士は豊富なギャップ結合により電氣的に連絡しており、その中の 1 個の細胞にパッチ電極を適用した状態では十分な膜電位固定は不可能であった。そこでギャップ結合を遮断するために何種類かの遮断薬から mefloquine を選んで投与した。Mefloquine 30 μM を投与すると 4~5 分程度で電極から見た入力抵抗が極めて増加し、ほとんどのギャップ結合が遮断されて標的細胞の膜電位固定が可能となった。Mefloquine 存在下の膜電位固定状態において 100 nM の ACh を投与すると大きな K^+ 電流が惹起された。この ACh 濃度は摘出したままの動脈標本における EDHF 反応でも閾値とされる濃度であり、mefloquine 存在下でも内皮細胞の ACh に対する生理的応答は保存されていた。一方、単離内皮細胞層標本で電流固定法により観察される静止膜電位は -10~-20 mV であったが、mefloquine を作用させると 20 mV 程度の過分極が生じた。細胞内外の Cl^- の濃度差をなくすと過分極が観られなくなることから、この過分極は 1 価陰イオンの透過性亢進が原因と考えられたが、mefloquine 存在下では Ni^{2+} や Zn^{2+} の膜透過性も亢進しており、透過性亢進は非選択的に起きている可能性がある。以上の結果から、mefloquine も他の遮断薬と同様に細胞膜の性質を変化させたが、有効濃度 (30 μM) では膜抵抗の大幅な減少による脱分極は起きないため、比較的使いやすい遮断薬と言えよう。

O2-2 マウス下肢虚血モデルにおけるプロスタグランジン E1 製剤の血管新生促進作用と NCX1 輸送体

¹福岡大・医・薬理学, ²福岡大・医・形成外科学, ³福岡大・医・総合医学研究センター, ⁴千葉大院・医学研究院・循環病態医科学, ⁵大阪大院・医学系研究科・循環器内科学

松井 雪子^{1, 2}, 喜多 紗斗美¹, ○伊豫田 拓也¹, 桂木 猛³, 小室 一成^{4, 5}, 岩本 隆宏¹, 大慈弥 裕之²

【背景】プロスタグランジン E1 (PGE1) は血管拡張作用や血小板凝集抑制作用より、閉塞性動脈硬化症治療薬として用いられる。近年末梢循環障害に対する治療法の 1 つとして血管新生療法が注目され、PGE1 も血管新生促進作用を示すと考えられているが、その作用機序は不明である。一方で血管新生の分子機序については各種成長因子やその受容体の関与が報告されてきたが、 Ca^{2+} の関与については未だ不明な点が多い。そこで今回微細脂肪粒子に PGE1 を封入した Lipo-PGE1 と NCX1 遺伝子改変マウスを用い、血管新生と Ca^{2+} シグナリングについて検討した。【方法】マウス大腿動脈を結紮して下肢虚血モデルを作製した。Lipo-PGE1 は 3 もしくは 10 $\mu\text{g/kg}$ を虚血日より 1 週間、尾静脈より投与した。虚血前および虚血後 1 週間毎にレーザードップラー画像血流計を用いて下肢血流量を計測し、また van Gieson 染色により、虚血下肢血管数を算定した。【結果】下肢虚血モデルにおける Lipo-PGE1 の投与は、虚血後の下肢血流量および虚血下肢血管数を優位に増加させ、同時に VEGF の発現および Akt のリン酸化を亢進させた。NCX1 ヘテロノックアウトマウス (N1KO) では、野生型と比較して下肢虚血後の血流回復が促進され、Lipo-PGE1 の投与は更なる血流回復効果を示した。eNOS 阻害剤の L-NAME の投与は Lipo-PGE1 投与群および N1KO 群の双方において下肢血流回復効果を顕著に抑制した。以上より Lipo-PGE1 による血管新生促進作用には VEGF-Akt-eNOS のシグナル経路が関与し、この eNOS の活性化が NCX1 を介した細胞内 Ca^{2+} シグナルにより制御されていると考えられた。Lipo-PGE1 ならびに NCX 阻害薬には、将来的に末梢動脈閉塞性疾患に対する治療薬としての可能性が期待される。

02-3 インドナガコショウ成分の血管平滑筋、内皮細胞および血小板に及ぼす作用

¹東北大院・薬・細胞情報, ²東北大・国際高等研究教育機構

○中畑 則道^{1,2}, 山下 春菜¹, 岩下 真也^{1,2}

今日では、環境の変化に伴い新たな疾病が広がっている。その1つに冷え症がある。冷え症は普通の人では冷たさを感じない温度でも、手足や腰などに不快な冷感を感じるほか、頭痛や肩こり、下痢や腹痛、集中力の低下など身体に様々な変調をきたす。冷え症の主因は末梢循環の停滞とそれとともなう代謝の低下であると考えられている。末梢循環を調節する臓器には様々あり、血管や血小板もその中に含まれる。一方、インドナガコショウは伝統的に冷え症の改善などを目的に用いられている。しかし、その科学は未だに明らかになっていない。そこで本研究では、インドナガコショウの血管平滑筋細胞、血管内皮細胞及び血小板に対する作用を明らかにすることを目的に検討を行った。

インドナガコショウ抽出物及びその成分の血管平滑筋細胞及び内皮細胞に対する作用を、ラット大動脈標本の血管拡張作用を指標に検討した結果、抽出物及び7つの含有成分は血管拡張作用を有することが明らかになった。それらについて血管内皮細胞を除去した血管標本に対する作用を検討した結果、5つの含有成分でそれらの持つ血管拡張作用が抑制された。すなわち、内皮除去により血管拡張作用が消失した成分は主に血管内皮細胞に作用し、消失しなかった成分は主に血管平滑筋細胞に作用していることが示唆された。一方、インドナガコショウ抽出物及びその成分の血小板に対する作用を、ウサギ洗浄血小板を用いて検討した結果、抽出物及びその含有成分で血小板凝集抑制作用を有することが明らかになった。

しかしながら、血管平滑筋細胞及び血管内皮細胞に作用し血管拡張作用を惹起する含有成分と、血小板に作用し血小板凝集抑制作用を現す含有成分には相関がなかった。従って、それぞれの細胞に特異的な異なる機序で作用し、生体内で協調的に働くことで末梢循環の停滞を改善する可能性が示唆された。

02-4 ブタ冠動脈平滑筋における緑茶カテキンの収縮増強機構について

静岡県立大学大学院薬学研究科薬理学教室

○小原 一男, 鶴飼 聖隆, 石川 智久

【目的】 緑茶の成分であるカテキン類は、抗酸化作用、抗がん作用、血圧降下作用などを持つことが知られている。最近、緑茶カテキン類がプロテインキナーゼC (PKC) 活性を抑制することにより血管を弛緩させ血圧を低下させる可能性が報告された。一方、緑茶カテキン類が血管を収縮させるとの報告もあり、緑茶カテキンの血管収縮に対する作用については不明な点が多い。我々はこれまでに緑茶カテキンが血管平滑筋の収縮を増強することを見いだした。そこで本研究では、ブタ冠動脈平滑筋における緑茶カテキンの収縮増強機構について検討した。

【方法】 ブタ冠動脈リング標本の等尺性張力を測定した。ミオシン軽鎖 (MLC) のリン酸化は等電点電気泳動法を、また、PKC の細胞質から細胞膜への移行はウエスタンブロット法を用いて測定した。

【結果および考察】 ブタ冠動脈平滑筋において、緑茶成分の1つであるエピガロカテキン (EGC, 1-200 μM) は、それ自身は収縮性に対してなんの影響も与えなかったが、80 mM KCl による収縮 (KCl 収縮) を濃度依存的に増強した。しかし、他の緑茶成分 (カテキン, エピカテキン, エピカテキンガレート, エピガロカテキンガレート) は収縮性になんの影響も与えなかった。また、EGC によりプロテインキナーゼC (PKC) δ が細胞質から細胞膜へと移行し、すなわち活性化された。さらに、EGC は80 mM KCl によるミオシン軽鎖 (MLC) のリン酸化を増強した。これら EGC の作用全てが PKC δ 阻害薬ロトレリンおよび過酸化水素分解酵素カタラーゼにより抑制された。一方、EGC の作用は Rho キナーゼ阻害薬 Y-27632 では影響されなかった。以上の結果より、EGC の KCl 収縮増強作用に過酸化水素による PKC δ 活性化を介する MLC のリン酸化の増強が関与することが示唆された。

02-5 血管平滑筋細胞における BK-VDCC 複合体の解析

名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学

○鈴木 良明, 山村 寿男, 大矢 進, 今泉 祐治

血管平滑筋細胞において、電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VDCC) と大コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル (BK チャネル) は筋小胞体上のリアノジン受容体 (RyR) と共に、時間的・空間的に Ca^{2+} 動態が制御された Ca^{2+} マイクロドメイン内で機能すると想定される。このようなドメインを安定化させる足場として、カベオリン 1 (Cav1) 等によって形成される細胞膜上の窪み構造 (カベオラ) が知られている。本研究では、BK チャネルと VDCC の分子間相互作用と、これに対するカベオラの機能的意義の解明を目的として、細胞膜上のイオンチャネル動態の 1 分子可視化を可能とする全反射蛍光 (TIRF) 顕微鏡とパッチクランプ法を用いて実験を行った。BK チャネルおよび VDCC の細胞内 C 末端に YFP あるいは CFP を融合させ、マウス大動脈平滑筋細胞に一過性に共発現させると、これらのイオンチャネルは共局在して蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を起こした。更に脱分極により VDCC から流入した Ca^{2+} は共局在する BK チャネルを直接活性化することが明らかとなった。よって、BK チャネルと VDCC の一部は機能的分子複合体を形成することが示唆された。更に、カベオリン 1 ノックアウトマウス (Cav1-KO) を用いた実験から、カベオラが BK チャネルと VDCC の分子間相互作用を促進させることが示唆された。これまで BK チャネルは主に loose coupling した RyR からの Ca^{2+} 遊離により活性化されると考えられてきたが、本研究により tight coupling した VDCC からの Ca^{2+} 流入によっても活性化され、この機能連関にはカベオラが重要であるという新たな知見が得られた。BK チャネル活性による過分極は過度の Ca^{2+} 流入を防いで血管及びその他の平滑筋の興奮性を制御し、平滑筋組織の適切な筋張力と正常機能の維持に寄与すると推測される。

02-6 エンドセリンによる EGF receptor transactivation に対する電位非依存性カルシウムチャネルの役割

大津市民病院脳神経外科

○川那辺 吉文

エンドセリンは細胞増殖因子として血管平滑筋細胞に作用し、動脈硬化の形成に重要である。我々は、ウサギ内頸動脈血管平滑筋細胞において、エンドセリンによる細胞外 Ca^{2+} 流入の大部分が電位非依存性 Ca^{2+} チャネル、すなわち 2 種類の非選択的陽イオンチャネルとストア作動性 Ca^{2+} チャネルを介していることを明らかにした。これら 3 種類の Ca^{2+} チャネルは、2 種類の Ca^{2+} チャネルブロッカー SK&F 96365 と LOE 908 で薬理的に分類可能であった。さらに、エンドセリンによる血管平滑筋細胞増殖は、これらの Ca^{2+} チャネルを介した細胞外 Ca^{2+} 流入に全面的に依存している。今回の研究では、エンドセリンによる血管平滑筋細胞増殖に重要である、epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase の活性化に着目し、EGFR tyrosine kinase 活性化に対する、電位非依存性 Ca^{2+} チャネルを介する細胞外 Ca^{2+} 流入の関与を調べることにした。SK&F 96365 と LOE 908 により、エンドセリンによる EGFR 活性化は、濃度依存性に抑制された。SK&F 96365 と LOE 908 の EGFR 活性化を 50% 抑制する濃度は、これら薬剤がエンドセリンによる Ca^{2+} 流入を 50% 抑制する濃度と同様であった。したがって、SK&F 96365 と LOE 908 は電位非依存性 Ca^{2+} を介した細胞外 Ca^{2+} 流入をブロックすることで、エンドセリンによる EGFR 活性化を抑制したと考えられた。以上より、エンドセリンによる EGFR 活性化に、電位非依存性 Ca^{2+} チャネルを介した細胞外 Ca^{2+} 流入が重要であることが明らかとなった。

一般演題 3 (口演)

03-1 迷走神経温存の有無からみた幽門輪温存幽門側胃切除術式について

日本歯科大学生命歯学部外科学講座, 日本大学医学部外科系分野小児外科部門, 藤崎病院外科

○富田 涼一, 藤崎 滋, 池田 太郎, 越永 従道

【目的】 今回, 早期胃癌における幽門輪温存幽門側胃切除術後 (PPG) 症例を, 迷走神経温存の有無から 2 つに分類し, それらの術後 QOL と残胃排出機能について検討を行った. 【対象と方法】 対象は, 迷走神経温存 PPG 16 例 (A 群; 男性 10 例, 女性 6 例, 平均 60.1 歳) と, 迷走神経非温存 PPG 20 例 (B 群; 男性 12 例, 女性 8 例, 平均 61.4 歳) である. これら症例を直接問診法, 腹部超音波検査, 残胃排出機能検査などから比較検討した. 【成績】 食欲低下, 逆流性食道炎症状, 早期ダンピング症状, 体重減少などを認める症例は A, B 群ともに少なく有意差はなかった. なお, A, B 群ともに食後腹部膨満感を訴える症例を認めた. 術後胆嚢結石は, B 群に A 群より有意差をもって多く認めた ($p < 0.05$). 固形食および液体食胃排出機能は A, B 群間に有意差は認めなかった. 【結論】 術後 QOL と残胃排出機能は, 迷走神経温存の有無による差はなかった. しかし, 術後胆嚢結石は, 迷走神経を温存した方が発生防止に良いと思われた.

03-2 胃切除術が術後消化管機能 (排出能・吸収能) に及ぼす影響についての検討

¹東京慈恵会医科大学 外科学講座, ²消化管外科

○中田 浩二, 川村 雅彦, 古西 英央, 三森 教雄, 石橋 由朗, 小村 伸朗, 羽生 信義, 柏木 秀幸, 矢永 勝彦

【背景】 胃癌の外科的治療として行なわれる胃切除術は, 消化管機能に影響を及ぼし胃術後障害の発生要因になると考えられる. 胃切除後には, 摂取した食物が急速に小腸内へと流入し小腸負荷が増大することや再建経路の違いなどが, 吸収能にも影響を及ぼすと考えられるが, その詳細は明らかにされていない.

【目的】 13C-酢酸呼吸気試験 (13C-AABT) により胃切除術が術後排出能と吸収能に及ぼす影響を検討した.

【方法】 健常人 (HV) 20 名, 幽門側胃切除 Billroth I 法 (DGBI) 患者 18 名, 胃全摘術後患者 9 名に 13C-AABT を行なった. 液状試験食 (ラコール [200 kcal/200 ml] に 13C-酢酸 Na 塩 100 mg を混和) の摂取前と摂取後 3 時間まで呼吸を採取し, 経時的な 13CO₂ 存在比を赤外分光分析装置にて測定した. 排出速度の評価指標として Wagner-Nelson 解析により算出した 50% 排出時間 (T50%WN) を, 吸収能の評価指標として薬理学上吸収能を表す Aa (=AUC_∞ · Kel · Vd) を用いて比較検討した.

【結果】 T50%WN は, HV, DGBI, TGRY の順に 29.3, 4.5*, 3.2* 分であり, HV と比べて DGBI, TGRY では有意な排出亢進が認められた (* $p < 0.05$). 一方, Aa は, HV, DGBI, TGRY の順に 30.8, 29.8, 24.8* %dose/hr であり, HV と比べて DGBI では差を認めなかったが, TGRY では有意な吸収能の低下が認められた (* $p < 0.05$).

【結論】 胃切除後の吸収能の低下は, 排出亢進よりも再建経路 (食物の十二指腸通過の有無) の影響が大きいと考えられた.

03-3 過敏性腸症候群患者における β_3 -adrenoceptor および Cholinergic receptor muscarinic 3 genetic polymorphism の検討

¹岩手医科大学医学部内科学講座（消化器・肝臓内科分野），²岩手医科大学医学部病理学講座（分子診断病理学分野），³岩手医科大学薬学部薬物代謝動態学講座

○千葉 俊美¹，小野寺 沙織¹，鈴木 一幸¹，菅井 有²，幅野 渉³

【背景】 ヒト β_3 -adrenoceptor (AR) および Cholinergic receptor muscarinic 3 (CHRM3) は消化管の平滑筋に発現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】 過敏性腸症候群 (IBS) 患者と β_3 -AR および CHBM3 の遺伝子多型について検討した。【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， β_3 -AR および CHBM3 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】 β_3 AR の T/C 型において，IBS 群はコントロール群と比較して有意に高い結果を得られた ($P<0.05$)。一方，CHBM3 遺伝子多型は IBS 群およびコントロール群では有意差は認められなかったが，罹病期間において 3 年以上罹患している IBS は 3 年未満と比較して T/C 型において有意に高い結果を得られた。【結論】 β_3 AR および CHRM3 の polymorphism が，IBS の病態治療に関連していることを示唆した。

03-4 TS-1（経口抗悪性腫瘍剤）血中濃度と有害事象の予測規定因子についての検討 ～¹³C 呼気試験による小腸吸収能と CDHP（ギメラシル），5-FU 血中濃度などは相関するの～

川崎医科大学 消化器外科

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

< 目的 >

TS-1 内服中に有害事象の発生により減量，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，その個人差は大きく，血中濃度が高値になる症例は有害事象の発生が多い。この血中濃度測定は複雑であり患者の負担も大きい。そこで，非侵襲的方法により TS-1 血中濃度を予測することを目的に，¹³C 呼気試験を用いることにより小腸吸収能を計測し，TS-1 血中濃度との相関関係を同定，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。さらに有害事象の予測規定因子として，CDHP や尿中ウラシル/ジヒドロウラシル，単核球中 DPDmRNA などを測定し，各々との相関関係にて有害事象の予測因子になりうるかを検討する。

< 対象と方法 >

07 年 5 月～2010 年 7 月における進行胃癌，食道癌の TS-1 内服患者，29 名。¹³C 酢酸を内服し，Breath ID™ を用いて小腸吸収能を評価し TS-1 の血中濃度との相関関係を検討した。また，CDHP や尿中ウラシル/ジヒドロウラシル，単核球中 DPDmRNA を測定し，5-FU 血中濃度を比較した。

< 結果 >

平均年齢は 67.1 歳。男：女比 = 22：7。

5-FU 濃度 (AUC) と小腸吸収能 (AUC) には相関関係を認めなかった (相関係数 0.05)。術式別，TS-1 投与量別で検討しても相関関係を認めなかった。しかし，小腸吸収の消失率 (Kel) と 5-FU 濃度 (AUC) には相関関係を認めた (相関係数 0.459, $p=0.01$)。胃癌別にも相関関係を認めた (相関係数 0.481, $p=0.027$)。しかし，有害事象発生との検討では，分散分析にて 5-FU 血中濃度高値例では $P=0.04$ と有意差を認めたが，Kel 値については $P=0.166$ と明らかな有意差を認めなかった。

< 考察 > 有害事象の予測についてさらなる検討が必要である。

03-5 六君子湯の胃運動機能、自律神経におよぼす効果

名古屋市立大学大学院消化器・代謝内科学

○鹿野 美千子, 神谷 武, 田中 守, 海老 正秀, 水島 隆史, 平田 慶和, 村上 賢治, 志村 貴也, 溝下 勤, 久保田 英嗣, 谷田 諭史, 片岡 洋望, 城 卓志

六君子湯は Functional dyspepsia (FD) の腹部症状に対して有効とされ、その作用として血中グレリンの上昇、胃排出の促進などの報告がある。しかし胃運動の基盤となる胃活動電位、あるいは自律神経に対する影響に関してはこれまで報告はない。今回、六君子湯の胃活動電位、胃排出能、自律神経機能におよぼす効果を検討した。

【方法】 対象は健康成人 10 人（男 7 名、女 3 名）で、胃活動電位の測定には経皮的胃電図（EGG）を用い、同時に ^{13}C アセテート呼吸試験で胃排出能を評価した。また心拍変動スペクトル分析により自律神経機能を測定した。EGG は、 ^{13}C アセテート 100 mg を含有する半固形試験食摂取前後それぞれ 20 分間測定し、% of normogastria, % of tachygastria, パワー比を算出した。また試験食摂取前、および摂取後経時的に呼吸を採取し、呼吸中 ^{13}C 濃度から half emptying time (T 1/2) と lag time (T lag) を算出し、胃排出能の指標とした。自律神経機能は、試験食摂取前、摂取後 10, 20, 40 分に脈波を測定し、心電図 R-R 間隔に一致する加速度脈波 a-a 間隔を計測し、スペクトル分析にて HF 成分（副交感神経の指標）、LF/HF（副交感神経と交感神経のバランス）を評価項目とした。ついで六君子湯 1 回 1 包（2.5 g）、1 日 3 回朝食前に 1 週間内服した後にそれぞれ同様の測定を行い、内服前と比較検討した。

【結果】 六君子湯内服前の EGG では、食後に中心周波数の増加を認めた。内服後の EGG では、空腹期の % of normogastria の増加と食後期の % of tachygastria の有意な減少を認めた。パワー比には全体では有意な変化を認めなかったが、半数にパワー比の増加を認めた。胃排出能は、内服後に促進傾向がみられたが有意差はなかった。心拍変動 HF 成分、LF/HF とも内服前後で有意な変化を認めなかった。

【結論】 六君子湯は胃運動の促進方向に作用することが示された。この結果は六君子湯の、FD に対する効果を説明する作用機序の一つとなりえると考えられた。

03-6 大建中湯の胃内投与・結腸内投与による結腸運動亢進作用と各種拮抗剤の影響の検討

東北大学大学院生体調節外科

○菊地 大介, 柴田 近, 鹿郷 昌之, 木内 誠, 西條 文人, 田中 直樹, 林 啓一, 佐藤 学, 生澤 史江, 井本 博文, 佐々木 巖

〈はじめに〉 大建中湯を上部消化管内投与すると、投与部位を含む肛門側の消化管運動を亢進させ、これらはコリン作動性神経を介した反応であることが知られている。しかし、胃内投与の結腸運動に対する効果は、はっきりしていない。また、結腸内投与は結腸運動を亢進させるが、その作用機序は不明な点が多い。

〈目的〉 大建中湯の胃内投与・結腸内投与による結腸運動に対する効果、及びその作用機序をイヌを用いて検討する。

〈対象と方法〉 成犬 5 頭を用いた。全身麻酔下に、まず上大静脈に静脈ルートとしてシリコンチューブを留置した。次に開腹し、回腸末端、結腸 3 カ所の計 4 カ所に strain gauge force transducer を縫着した。大建中湯投与ルートとしてシリコンチューブを胃内及び近位結腸内に留置した。

〈実験内容〉 a) 大建中湯の胃内投与・結腸内投与による結腸運動に対する効果と用量-反応関係の確認：空腹期に胃内、結腸内に大建中湯 2.5, 5 g (生理食塩水 50 ml に溶解) を bolus で投与し、結腸運動に対する効果を検討した。同じ実験を 1 頭につき 2 回行い、2 回の平均値をそのイヌの代表値として用いた。b) 各種拮抗剤の影響の検討：結腸運動に対する効果の作用機序を検討するために、同じイヌを用いて各種拮抗剤の効果について検討した。大建中湯の胃内投与・結腸内投与の 5 分前にムスカリン受容体拮抗剤の atropine, ニコチン受容体拮抗剤の hexametonium, 5-HT₃ 受容体拮抗剤の ondansetrone を投与した。

〈結果〉 大建中湯の胃内投与、結腸内投与により容量依存性に結腸運動亢進作用を有する事を認めた。また各種拮抗剤の中、atropine, hexametonium は結腸運動、排便誘発効果を低下させたが、ondansetrone では大建中湯の作用を変化させなかった。