

O1-1 膀胱排尿筋の心筋型トロポニン T (cTnT) の発見とその生理学的意義を探る

¹九州大学大学院医学研究院泌尿器科学分野, ²臨床薬理学講座, ³病理病態学講座, ⁴九州大学病院全身管理歯科

○梶岡 俊一¹, Nouval Shahab¹, 高橋 富美², 鬼丸 満穂³, 森田 浩光⁴, 関 成人¹, 内藤 誠二¹

【目的】 心筋や骨格筋の収縮メカニズムにおいてはトロポニン複合体 (TnT, TnI, TnC) が中心的な役割を果たすが, 平滑筋には存在しないと報告されてきた. ところが, 心筋型トロポニン T (cardiac Troponin T: cTnT) が, 平滑筋組織ととりわけ膀胱排尿筋に有意に存在していることを発見した. そこで膀胱排尿筋におけるトロポニンの確認をさらに詳しく検証し, その生理学的意義を cTnT ノックアウトマウス (cTnT^{-/-}) を用いて, 探索した.

【材料】 ヒト膀胱排尿筋 (平均年齢 68.9 ± 6.9 歳の男性 5 人, 女性 4 人), マウス膀胱排尿筋 [Wild Type (WT) 及び cTnT^{+/-}]

【方法】 分子生物学的手法 (RT-PCR (real time 含), Western Blotting, 蛍光免疫染色法, 膜脱膜化標本 (β-エスチンにより透過処理した標本の張力測定))

【結果】 ヒト膀胱排尿筋の RT-PCR の結果, 心筋型トロポニンの三量体 (cTnT, cTnI 及び cTnC) の全ての発現が検出されたが, Western Blotting 法では cTnT のみが検出できるレベルであった. また, ヒトの種々の平滑筋組織で real time RT-PCR 法を適用し比較検討したところ, cTnT に関しては膀胱での発現がもっとも多かった.

組織標本では cTnT は, 膀胱組織 (静脈を含む) の平滑筋内での発現を確認した. また培養細胞標本では, cTnT の発現は, トロポミオシンと共局在していた.

マウスの Wild Type ($n=28$; $N=8$) 及び cTnT^{+/-} ($n=29$; $N=8$) から膀胱を摘出し, 膜脱膜化標本を作成し, 各々の Ca 感受性を検討したところ, 高濃度 ($>1 \mu\text{M}$) 以上では, 有意差をみとめなかったが, 比較的低濃度 ($<1 \mu\text{M}$) では, cTnT^{+/-} の Ca に対する張力の感受性は有意に低下していた.

【結語】 ヒト及びマウス膀胱平滑筋に, 心筋型の TnT の存在を確認するとともに, cTnT が平滑筋においても, 生理学的な範囲内の収縮の感受性に関与していることを明らかにした. このトロポニンの発現が膀胱機能障害による過活動膀胱などの疾患と関連する可能性や, さらには, このトロポニンを制御することによって, これらの疾患の治療に転用できる可能性を示すことができた.

O1-2 マウス妊娠・非妊娠における 3 型リアノジン受容体の発現と機能変化

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, ²京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学分野

○松木 克仁¹, 竹本 将士¹, 山村 寿男¹, 大矢 進¹, 竹島 浩², 今泉 祐治¹

平滑筋細胞において細胞内 Ca^{2+} 動員機構は筋収縮や細胞増殖で重要な役割果たす. 筋小胞体 (SR) 膜上に存在するリアノジン受容体 (RyR) は, Ca^{2+} 動員機構の 1 つである Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離機構を担っている. RyR は子宮平滑筋細胞にも発現しているが, 妊娠・非妊娠による発現と機能の変化は不明な点が多く残されている. 近年, 子宮平滑筋において 3 型 RyR (RyR3) とそのドミナントネガティブ型スプライスバリエント体 (DNRYR3) の発現が示され, 妊娠期において重要な生理的制御を行うことが示唆された. 本研究では 3 型リアノジン受容体同型接合型遺伝子欠損マウス (RyR3KO) を使用し, 妊娠・非妊娠時 (妊娠末期) の子宮平滑筋での RyR の生理的機能と発現変化について検討した. RyR3KO マウスでの出産匹数, 胎生期, 妊娠可能週齢について検討したが, 有意な差は見られず妊娠・出産期において RyR3 は子宮機能に必須でない可能性が示唆された. RT-PCR 法とウエスタンブロット法による解析により, 非妊娠野生型マウス子宮平滑筋では DNRYR3 が RyR3 に対して優位に発現しており, 妊娠時には双方ともに発現量があり有意に減少していることが明らかとなった. 単離子宮平滑筋細胞における細胞内 Ca^{2+} 濃度測定では, RyR 開口薬のカフェイン投与によって Ca^{2+} 遊離が誘起されず, RyR 遮断薬テトラカイン投与によって自発性 Ca^{2+} 遊離が阻害されなかった. さらに, 自発性収縮測定では RyR 選択的遮断薬リアノジンによって妊娠・非妊娠子宮の双方で自発収縮の頻度, 強度ともに抑制されなかった. 一方, イノシトール 3 リン酸受容体 (IP_3R) 阻害薬 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) の投与により自発収縮の強度は強く抑制された. 特に妊娠子宮の自発収縮の 2-APB に対する感受性は非妊娠の約 100 倍上昇していることが明らかとなった. これらの結果からこれまでの報告とは異なり子宮平滑筋において RyR3 は重要な役割を担っておらず, 特に非妊娠期自発運動には IP_3R を介した Ca^{2+} 遊離機構の重要性が増す可能性が示唆された.

01-3 前立腺間質肥大モデルラットの移植泌尿生殖洞における大コンダクタンスカルシウム活性化カリウムチャネル発現

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大鵬薬品工業株式会社飯能研究センター, ³名古屋市立大学大学院医学研究科腎泌尿器科学分野

○丹羽 里実¹, 大矢 進¹, 山村 寿男¹, 桜木 求², 郡 健二郎³, 今泉 祐治¹

大コンダクタンスカルシウム活性化カリウム (BK_{Ca}) チャネル活性化により, 細胞膜は過分極し, 平滑筋収縮は抑制される. 前立腺平滑筋では, α_1 受容体刺激による平滑筋収縮に対して, BK_{Ca} チャネルが抑制的に働いていることが報告されている. 本研究では, ラット胎仔の未分化な前立腺組織である泌尿生殖洞 (UGS) を成体ラットの前立腺被膜下に移植して作製した前立腺間質肥大モデルを用いて, 移植 UGS における BK_{Ca} チャネル発現・活性について検討した. また, 前立腺肥大症患者の前立腺標本における BK_{Ca} チャネル発現についても検討した.

DNA マイクロアレイ, リアルタイム PCR による遺伝子発現解析, ウェスタンブロット, 免疫組織染色によるタンパク質発現解析の結果, 移植 UGS に発現する BK_{Ca} チャネル α サブユニット K_{Ca}1.1 は, 正常前立腺と比較して有意に低かった. そこで, 正常前立腺組織と移植 UGS から酵素処理により間質細胞 (平滑筋細胞を含む.) を単離し, 膜電位感受性色素 DiBAC₄ (3) を利用して BK_{Ca} チャネル阻害薬による膜電位変化を測定したところ, 前立腺単離細胞において移植 UGS と比較して有意に大きな脱分極反応が観察された. また, 前立腺肥大症患者の前立腺標本を用いて, 免疫組織染色を行ったところ, 正常前立腺標本の間質領域で高頻度に観察された K_{Ca}1.1 陽性シグナルは, 前立腺肥大症患者の前立腺では有意に減少していた. 上記の結果より, 前立腺患者の前立腺平滑筋細胞では, K_{Ca}1.1 発現が低下しており, BK_{Ca} チャネル活性低下が前立腺肥大症における下部尿路障害に少なくとも一部影響を及ぼしている可能性がある.

01-4 ジスチグミンの膀胱収縮機能に対する増強効果の検討—神経電気刺激による収縮反応に対する影響と薬剤誘発性排尿障害に対する改善効果—

東邦大学薬学部薬理学教室

○小原 圭将, 小林 由里菜, 茅野 大介, 田中 芳夫

【背景・目的】当教室では, これまで, 低活動膀胱に伴う尿排出機能障害に対して適応される可逆的 ChE 阻害薬 distigmine (Dis) の膀胱標本における薬理作用を検討し, Dis による改善効果の機序の一端を明らかにしてきた. 本研究では, Dis の作用機序や膀胱収縮機能に対する作用の特徴をさらに明らかにすることを目的として, 神経電気刺激により誘発される膀胱標本の収縮反応に対する影響と atropine (Atr) で障害される排尿運動に対する改善効果を検討した.

【方法】モルモットならびにマウスから摘出した膀胱の排尿筋標本を作製し, 経壁電気刺激による収縮反応を記録した. また, シストメトリー法により, 麻酔下モルモットの膀胱内圧変動を記録した.

【結果】① Dis ($3 \times 10^{-7} - 10^{-6}$ M) は, モルモットとマウスのいずれにおいても, 経壁電気刺激により誘発され, α, β -mATP 非感受性の性質を示す排尿筋標本の収縮成分を顕著に増大させたが, Atr 非感受性の収縮成分は増加させなかった. ② Dis (0.03 mg/kg) は, Atr (0.3 mg/kg) によって抑制された排尿時の最大膀胱内圧 (IVP_{max}) を有意に増大させた. これに対して, 合成コリンエステルである bethanechol (Bet) は, 1.0 mg/kg では排尿運動のいずれのパラメータにも顕著な影響を与えなかったが, 3.0 mg/kg の用量で, 排尿反射を多発させ, 蓄尿時の膀胱運動も亢進させた.

【考察】Dis による膀胱収縮機能の増強効果は, ChE 阻害作用に基づく副交感神経—排尿平滑筋シナプス間隙のアセチルコリン濃度上昇とその後のムスカリン受容体の刺激を介したものであり, ATP によるプリン受容体を介した収縮の増強によるものではないことが示された. また, Dis が, 抗コリン作用による尿排出機能障害に対しても有効な治療効果をもたらす可能性も示された.

02-1 Th2 優位腸炎モデルにおける大腸平滑筋機能異常における PKC シグナル伝達経路の役割

¹九州大学大学院医学研究院病態制御内科学, ²Smooth Muscle Research Group, Department of Biochemistry & Molecular Biology, University of Calgary

○伊原 栄吉¹, Mona Chappellaz², 中村 和彦¹, 秋穂 裕唯¹, Justin MacDonald²

【背景】各種メディエーターを活性化する腸管炎症は、腸管平滑筋の性質に影響を及ぼし腸管運動異常を引き起こす。我々は、腸管平滑筋収縮には、いくつかのキナーゼ (ERK1/2, p38 MAPK 及び PKC) が関与し、Th2 優位腸炎モデルにおいて、ERK1/2 及び p38 MAPK が腸管平滑筋収縮性亢進に重要な役割を果たすと報告した。【目的】Th2 優位腸炎モデルにおける大腸平滑筋収縮異常に PKC が関与するか否かを検討した。【方法】Balb/c マウスに 5% DSS を 7 日間経口投与し、Th2 優位腸炎モデルマウスを作成し、その遠位大腸輪走平滑筋条片を用いて等尺性張力を測定した。【結果】大腸平滑筋には、cPKC (PKC α と PKC β /II) と nPKC (PKC δ と PKC ϵ) が発現し、収縮に関与すると考えられた。カルバコール (CCh) による収縮反応は、初期一過性収縮相とそれに続く持続性収縮相からなる。前回同様、炎症を惹起された大腸平滑筋条片において、CCh の収縮反応は約 2 倍に増強された。この収縮性亢進に、どの PKC アイソザイムが関与しているかを、3 種類の PKC 阻害剤、すなわち G6976 (PKC α と PKC β)、chelerythrine (PKC α , PKC β , PKC δ >PKC ϵ) または GF109203x (PKC α , PKC β , PKC ϵ > PKC δ) を用いて検討した。正常大腸平滑筋条片において、3 種類すべての PKC 阻害剤は、初期一過性収縮相及び持続相の両方を有為に抑制した。炎症を惹起された大腸平滑筋条片において、初期一過性収縮相の収縮性亢進は、chelerythrine 及び GF109203x により有為に抑制されたが、G6976 では、抑制されなかった。持続相の収縮性亢進は、3 種類すべての阻害剤により有為に抑制された。また、正常大腸平滑筋において、CCh 刺激による初期一過性収縮相に、CPI-17 の活性化が関与していたが、CPI-17 のリン酸化は、G6976 により抑制された。同様の結果は、炎症を惹起された大腸平滑筋においても認められ、正常大腸平滑筋のそれと比較し、CPI-17 の発現や活性化の程度に差を認めなかった。【考案及び結語】Th2 優位腸炎モデルにて、CCh 刺激が引き起こす大腸平滑筋収縮性亢進の初期一過性収縮相には、nPKC が関与し、持続相には、cPKC 及び nPKC の両方が関与すると考えられた。大腸平滑筋において、CPI-17 は、CCh 刺激の初期一過性収縮相に重要な役割をもつが、Th2 優位腸炎モデルにおける収縮性亢進には関与しなかった。

02-2 小児期 J 型回腸囊肛門吻合術後の新直腸肛門内圧からみた病態

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小児外科分野, 藤崎病院外科

○富田 涼一, 池田 太郎, 杉藤 公信, 藤崎 滋, 越永 従道

【目的】潰瘍性大腸炎 (UC) や家族性大腸腺腫症 (FAP) に対する J 型回腸囊肛門吻合術後 (JPAA) の排便機能は、小児では成人より良好とされているが soiling や incontinence に悩まされる症例も少数ながら存在する。そこで、小児 UC と FAP 症例に対する JPAA 術後における、新直腸肛門機能と soiling との関連を検討した。【方法】対象は UC5 例と FPC2 例に行われた JPAA 術後 7 症例 (男性 5 例, 女性 2 例, 10-15 歳, 平均 13.8 歳) である。これらを、回腸瘻閉鎖術後 6 か月目 (A 群; 全例が soiling を認めた) と 2 年目 (B 群; 全例が soiling が消失した) に分類して、対照 12 症例 (C 群: 男性 8 例, 女性 4 例, 12-18 歳, 平均 16.7 歳) を用いて、新直腸肛門機能を直腸肛門内圧検査法にて比較検討した。【結果】新直腸 (A, B 群)・直腸 (C 群) 肛門内圧検査では、A 群は B, C 群に比較して有意に肛門管最大静止圧と肛門管最大随意収縮圧が低下を示した ($p<0.05$)。新直腸 (A, B 群)・直腸 (C 群) 最小耐容量; A 群は B 群より少なかった。A, B 群は C 群に比較して有意に多かった ($p<0.01$)。新直腸 (A, B 群)・直腸 (C 群) 最大耐容量; A 群は B 群に比較してやや低値を示した。A, B 群は C 群に比較して有意に多かった ($p<0.01$)。コンプライアンス; A, B 群は C 群に比較して有意に高かった ($p<0.05$)。新直腸肛門弛緩反射; A 群では 6 例に非定型的弛緩反射を認め、1 例に無反射を認めた。B 群では 7 例に非定型的弛緩反射を認めた。C 群では全例が定型的弛緩反射を認めた。【結論】soiling は内・外肛門括約筋の手術操作による筋や支配神経損傷が考えられ、2 年目で損傷が改善すると思われた。

02-3 栄養材の半固形化が PEG 患者の消化管運動に与える影響—体外式超音波法による検討—

川崎医科大学¹総合臨床医学,²消化管内科,³検査診断学

○楠 裕明¹, 塚本 真知¹, 山下 直人¹, 本多 啓介¹, 井上 和彦¹, 石井 学², 今村 祐志³, 眞部 紀明³, 鎌田 智有², 塩谷 昭子², 畠 二郎³, 春間 賢²

【背景と目的】PEG (Percutaneous Endoscopic Gastrostomy) 患者に液体栄養材を投与した際に, 下痢や軟便が出現し, 「栄養材を半固形化する」ことが予防策とされている。しかし, 健常人では液体栄養材を半固形化して胃排出を検討した報告はあるが, PEG 患者で検討した報告は無い。一方, われわれは体外式超音波 (US) を用いた胃十二指腸運動機能検査法を確立しており, 今回は液体栄養材と半固形化栄養材投与後の胃運動を比較することを目的とした。【対象と方法】対象は PEG 患者 7 例とし, 神経疾患と糖尿病合併患者, 誤嚥性肺炎の既往がある患者は除外した。液体栄養材 (ラコール 225 Kcal/225 ml + 水 25 ml = 225 Kcal/250 ml) と半固形化栄養材 (ラコール 200 kcal/200 ml + イー ジー ゲル 25 kcal/50 ml = 225 kcal/250 ml : 20,000 pa/sec) を背臥位 (約 30 度ギャッジアップ) で PEG から投与し, US を用いて前庭部と体部の面積変化から胃排出を評価した。経時的に前庭部運動能が評価できた症例では, 幽門輪から 3 cm 以内の前庭部で, 収縮回数×収縮率を Motility Index (MI) として算出した。投与時間は液体, 半固形化材ともに 10 分間とした。【結果】胃排出は全例で評価可能であり, 半固形化栄養材の最終的な胃排出時間は, 7 例中 5 例で液体栄養材より短かった。投与直後から経時的に前庭部運動が評価できた症例は 2 例のみであり, 液体栄養材は投与後に一過性の MI の低下が観察された。【考案】一過性の MI の低下は, 十二指腸ブレイキによるものと考えられ, これによって最終的な胃排出時間は延長すると考えられた。栄養材の半固形による下痢予防メカニズムに, 全体の胃排出時間は関与が薄いと考えられるが, さらに多症例での検討が必要である。

02-4 c-Kit 遺伝子異常を持つ W ミュータントマウスにおける消化管カハール介在細胞

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, 堀口 里美

カハール介在細胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) は消化管においてペースメーカー機能や神経筋伝達の介在を担う間質性細胞であり, 受容体型チロシンキナーゼ c-Kit はカハール介在細胞の発生分化・増殖に関与が知られる分子である。c-Kit 遺伝子の機能低下型変異 (W 変異) は一部のカハール介在細胞の発生分化を阻害し, c-Kit 遺伝子の機能亢進型変異はカハール介在細胞の腫瘍化 (GIST) をもたらす。私たちは様々な c-Kit 遺伝子異常を持つ W ミュータントマウスでのカハール介在細胞の分布解析を行い, 一般に用いられる W/Wv との比較を行った。W/W は c-Kit 膜貫通領域欠損による c-Kit シグナル不全のため, 胎生期又は生後早くに重度貧血により死亡した。Wv/Wv は c-Kit660 の変異であり, キナーゼ活性の低下がある。カハール介在細胞は W/Wv と同様のパターンで消失減少していたが, 観察される細胞数はやや多かった。Wjic/Wjic は c-Kit595 変異によるキナーゼ活性の大幅な低下があり, カハール介在細胞は W/Wv と同様のパターンで消失減少していた。Wsh/Wsh は c-Kit 遺伝子プロモーター異常であり, 消化管で c-Kit は発現しないが, 一部のカハール介在細胞が観察された。W ミュータントにおいて消失減少するカハール介在細胞のサブタイプは胃 ICC-IM と ICC-MY, 小腸 ICC-MY, 結腸 ICC-IM と ICC-MY であり, 影響されないサブタイプは小腸 ICC-DMP, 結腸 ICC-SM であった。以上から, カハール介在細胞はそのサブタイプに応じて c-Kit キナーゼ活性に応じた発生分化を行うことが明らかとなり, 更に c-Kit に依存しないサブタイプがあることも明らかとなった。

03-1 モルモット腸間膜動脈内皮細胞におけるアセチルコリンにより不活性化される膜電流

¹名古屋市立大学看護学部, 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

単離したモルモット腸間膜動脈内皮細胞層標本を用い, ギャップ結合遮断薬の mefloquine 存在下で whole-cell patch clamp 法を適用して, 細胞膜電流に対するアセチルコリン (ACh) の影響を研究した. ACh は細胞内 Ca^{2+} 濃度を増加させることが知られており, それによってまず IK_{Ca} チャネルが素早く活性化し, 続いて非選択性陽イオンチャネルが徐々に活性化した. また, IK_{Ca} チャネルの活性化と同時に, 膜の基礎コンダクタンスの減少が観られた. 基礎コンダクタンスの減少は静止状態で開いている細胞膜のチャネルが閉じることに依ると考えられるが, 今回使用したような多細胞標本の場合, 細胞間の電氣的結合が阻害されても同じ効果が生じる. Mefloquine 存在下でもギャップ結合の一部は開いていると考えられるので, この基礎コンダクタンス減少が, 僅かに残ったギャップ結合チャネルが細胞内 Ca^{2+} 濃度増加により阻害されたことによる可能性もあった. そこで mefloquine 非存在下でパッチ電極 2 本を隣り合った細胞に適用し, 膜電流固定下でギャップ結合に対する ACh の影響を観た. その結果, 確かにギャップ結合は阻害されたがその発現は遅発性であり, これでは ACh 投与後すぐに起きる基礎コンダクタンスの減少は説明できず, やはり静止状態で開いている細胞膜のチャネルが ACh によって不活性化したものと考えられた. IK_{Ca} チャネルの活性化と基礎コンダクタンスをもたらすチャネルの不活性化が同期して起き, さらに charybdotoxin によって IK_{Ca} チャネルを阻害すると基礎コンダクタンスの減少も同時に消失するので, 両者の活動には何らかの関連がある可能性がある.

03-2 phospholipase C が関与する脳血管収縮経路

大津市民病院脳神経外科

○川那辺 吉文

エンドセリンは脳血管攣縮の発生に重要な役割を果たしている. 我々は, エンドセリンによる脳血管収縮に, ストア作動性カルシウムチャネルや 2 種類の非選択的陽イオンチャネル (NSCC-1/NSCC-2) を介した細胞外カルシウム流入が重要であることを見出し, 既に報告している. 今回我々は, エンドセリンによるカルシウムチャネルの活性化や血管収縮に対する phospholipase C (PLC) の役割について調べた結果を報告する.

PLC 依存性に活性化されるカルシウムチャネルを調べるため, カルシウム蛍光指示薬による細胞内カルシウム濃度測定法を用いた. また, 血管収縮に対する PLC の効果を調べるため, tension study を行った.

PLC 阻害剤である U73122 でウサギ脳底動脈血管平滑筋細胞を処理すると, ストア作動性カルシウムチャネルと非選択的陽イオンチャネル (NSCC-2) の活性化が抑制された. また, U73122 は, ストア作動性カルシウムチャネルや非選択的陽イオンチャネル (NSCC-2) に依存した, ウサギ脳底動脈収縮も抑制した.

以上よりエンドセリンで活性化されるカルシウムチャネルのうち, ストア作動性カルシウムチャネルと非選択的陽イオンチャネル (NSCC-2) は PLC 依存性に活性化されることが明らかとなった. また, PLC はストア作動性カルシウムチャネルや非選択的陽イオンチャネル (NSCC-2) 依存性の脳血管収縮にも重要であることが明らかとなった. PLC は脳血管攣縮をコントロールする新たな target になりうると考える.

03-3 Endothelial microparticles (EMP) の in vitro 産生系の確立と炎症 biomarker および bioactive carrier としての検討

¹富山大・院・分子医科薬理, ²アステラスファーマテック (株)・技術研究所, ³富山大・院・免疫バイオ,
⁴金沢工大・ゲノム生物学, ⁵国立長寿医療研究センター・遺伝子蛋白質研

○山本 誠士¹, 東英 梨月^{1,2}, 柳橋 努³, 生谷 尚士³, 長井 良憲³, 高津 聖志³, 宮崎 賢治¹, 堂本 光子⁴, 村松 昌⁵, 新飯田 俊平⁵, 服部 裕一¹

【はじめに】 近年, 血中に存在する endothelial microparticles (EMP) が metabolic syndrome, preeclampsia, sepsis などの疾患に伴い増加することが指摘されている。EMP は上記疾患を含む炎症性病態で血中に増加するとされるが, どの部位の血管から産生されるのか, どのようなメカニズムによって血管内皮細胞から出芽し放出されるのか, それ自身がどのような生物活性を有するのか未解明な部分が多い。

【方法】 マウス血管内皮細胞株である b.End5 に対して, 炎症性サイトカインおよび lipopolysaccharide (LPS) で刺激後, EMP の産生を flow cytometry によって解析した。炎症性サイトカインおよび LPS を作用させたときの細胞の炎症状態は, *Il6* および *Icam1* を炎症マーカーとして評価した。さらに走査型電子顕微鏡を用いた解析を行い, EMP が放出される際の細胞表面の詳細な観察を行った。また, mural cells に対する作用の解析も行った。

【結果】 b.End5 を用いた in vitro の系において, 炎症の強さに相関して EMP 産生量が増加することが明らかとなった。サイトカイン + LPS を b.End5 に作用させた場合, 最も炎症マーカーの発現が高いことが観察され, EMP の有意な産生増加を確認した。また, 共焦点顕微鏡を用いて高倍率での観察によって EMP の可視化に成功した。さらに, 走査型電子顕微鏡による観察から, EMP の shedding する様式が明らかとなった。驚くべきことに, 細胞が付着している培養皿側にも EMP の産生が確認された。Mural cells に対する作用は, さらに詳細に検討する必要があると考えられた。

【考察】 EMP の効率的な in vitro 産生系および測定系の確立に成功した。また, 血管内皮細胞の炎症状態を判定する鋭敏な biomarker としての有用性が示唆されるとともに, bioactive carrier としての作用も示唆された。以上の結果から, 血中 EMP 量を疾患 biomarker としてモニターすることによって, 炎症性疾患の有無, 重症度の診断, 治療の有効性の判断が可能であると考えられた。

03-4 糖尿病ラット冠動脈における内皮機能障害

名古屋市立大学大学院医学研究科薬理学分野

○梶栗 潤子, 伊藤 猛雄

糖尿病は冠動脈疾患発症の危険因子であり, 血管の内皮機能障害がこれらの疾患発生の主要因であると考えられているが, 糖尿病時の冠動脈内皮機能障害の発生機序の詳細は明らかではない。この点を明らかにするため, 我々は 2 型糖尿病モデル Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットとコントロールの Long Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを用いて, 糖尿病発症初期および糖尿病後期での冠動脈左前下行枝 (LAD) における内皮機能変化を検討した。

アセチルコリンによる charybdotoxin 感受性の内皮依存性膜過分極反応は, 糖尿病発症初期 (28 週齢) では変化が認められなかったが, 糖尿病後期 (48-50 週齢) では障害されていた。アセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応も同様な変化が認められた。糖尿病後期での内皮依存性弛緩反応の障害は内皮依存性 NO による弛緩反応よりもむしろ内皮依存性膜過分極因子 (EDHF) による弛緩反応に強く認められた。糖尿病後期の OLETF ラット LAD 内皮細胞の intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ (IK_{Ca}) channel 蛋白の発現は減少していた。

これらの結果より, 糖尿病後期のラット LAD では, IK_{Ca} channel 蛋白の発現減少によって内皮依存性膜過分極反応が減弱し, その結果として内皮依存性弛緩反応が減弱する可能性が示唆された。

04-1 イヌ脳底動脈平滑筋における緑茶カテキンの収縮増強作用について

静岡県立大学薬学部薬理学教室

○小原 一男, 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。そこで本研究では、イヌ脳底動脈平滑筋の収縮性に対する緑茶カテキン類の作用について検討した。

【方法】 イヌ脳底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 およびカルデスモン (CaD) のリン酸化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】 イヌ脳底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 μ M) 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、高濃度 K^+ (80 mM) による収縮 (高濃度 K^+ 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, エピカテキンガラート, エピガロカテキンガラート) は収縮性になんの影響も与えなかった。EGC の収縮増強作用は 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。また、EGC により PKC δ および CaD のリン酸化が増加した。この EGC による PKC δ および CaD のリン酸化はカタラーゼにより抑制された。しかし、EGC は高濃度 K^+ による MLC のリン酸化には影響を与えなかった。また、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 の高濃度 K^+ 収縮増強作用に過酸化水素による PKC δ の活性化を介する CaD のリン酸化の増強が関与することが示唆された。

04-2 ドコサヘキサエン酸 (DHA) の血管収縮抑制に関わる機序の解明を目指した基礎的検討ーエイコサノイド受容体を介した収縮に対する選択的抑制の可能性の再検証ー

東邦大学薬学部薬理学教室

○佐藤 恭輔, 小林 友也, 茅野 大介, 田中 芳夫

【目的】 我々は、第52回日本平滑筋学会総会で、 ω -3系多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸 (DHA) が、エイコサノイドによるラット胸部大動脈の持続性収縮を顕著に抑制することを報告した。本研究では、DHA の血管収縮抑制効果がエイコサノイド受容体を介した収縮に対して選択的であるか否かをさらに詳細に吟味する目的で、他の薬物受容体を介した収縮や高カリウム液による収縮に対する DHA の抑制効果を再検討した。また、血管内皮由来弛緩因子の関与や K チャネルの役割についても併せて検討した。

【方法】 ラット胸部大動脈ならびに腸間膜動脈リング標本を実験に供し、各種血管収縮刺激による持続性収縮に対する DHA の抑制効果を等尺性に記録した。

【結果】 ① DHA (10^{-5} M) は、80 mM KCl による収縮や、これとほぼ同程度の収縮高をもたらすフェニレフリン (Phe) による収縮はほとんど抑制しなかったが、U-46619 や PGF_{2 α} による収縮のほか、5-HT による収縮に対しては強い抑制を示した。② U-46619, PGF_{2 α} , 5-HT による持続性収縮に対する DHA の抑制効果は、内皮の有無、NOS や COX 阻害薬により影響を受けなかった。③ DHA は、80 mM KCl 収縮の3割程度の収縮高をもたらす場合は、Phe や High-KCl による収縮をほぼ完全に抑制した。④ DHA による収縮抑制は、4-アミノピリジンやアパミンにより影響を受けなかったが、テトラエチルアンモニウム (TEA) により減弱した。

【考察】 本研究結果から、DHA が、エイコサノイド受容体以外の受容体を介した血管収縮に対しても、これを抑制しうることが明らかとなった。また、DHA の血管収縮抑制効果は、血管平滑筋に対する直接作用によってもたらされ、その一部に、BK チャネルなどの K チャネルの活性化が関与する可能性も示唆された。

04-3 2 型糖尿病ラット上腸間膜動脈における細胞外 nucleotide 誘発収縮反応に対する losartan の効果

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

○石田 恵子, 松本 貴之, 田口 久美子, 小林 恒雄, 鎌田 勝雄

【目的】 細胞外 nucleotides は, 血管緊張性維持に重要な役割を果たしているが, 長期的 2 型糖尿病罹患状態での血管反応性変化やそのシグナル伝達については全く明らかになっていない. そこで, 2 型糖尿病モデル Goto-Kakizaki (GK) rat (37-42 週齢) を用い, ATP, UTP に対する感受性の変化, 並びにそのシグナル伝達に焦点をあて検討を行った. また angiotensin II type I receptor antagonist である losartan (25 mg/kg/day; 2 week) 投与群を作成し, その影響について検討した.

【方法】 GK 群, Wistar 群, 及び losartan-treated GK 群より摘出した上腸間膜動脈を用い ATP, UTP による累積収縮反応について検討した. また ATP, UTP 刺激による, phospho-cPLA₂ level, prostanoids 産生量, superoxide 産生量, COX-1, COX-2, P2Y₂-, P2Y₄-, P2Y₆-receptor 発現について検討した.

【結果・考察】 Wistar 群と比較して GK 群において 1) ATP, UTP 誘発収縮反応性増大 (この反応は COX inhibitor, cPLA₂ inhibitor, P2Y antagonist および内皮除去により抑制された), 2) ATP, UTP 刺激下の PGE₂ 産生量, p-cPLA₂ level 増大, 3) COX-1, COX-2 発現増加, 4) superoxide 産生量増大, 5) P2Y₂, P2Y₆-receptor 発現は同程度であったが P2Y₄-receptor 発現減少が認められた. Losartan 投与により 1) ATP, UTP 誘発収縮反応, 2) UTP 刺激下の PGE₂ 産生量, 3) UTP 刺激下の p-cPLA₂ level, 4) COX-2, P2Y₄-receptor 発現, 5) superoxide 産生が是正された. 以上より, 2 型糖尿病時における ATP, UTP 収縮反応性の増大は P2Y-receptor を介した cPLA₂/COX 経路の活性によることが明らかとなった. また losartan はこれら pathway を抑制したが, これには酸化ストレス低下が一要因だと考えられる.

04-4 自動細胞イメージングシステムを用いた, 血管平滑筋異常収縮の新規シグナル分子探索の客観的ハイスループット化

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

○岸 博子, 徳森 大輔, 川道 穂津美, 加治屋 勝子, 木村 友彦, 萩原 弘, 宮成 健司, 王 晨, 高田 雄一, 張 影, 小林 誠

これまでに我々は, 血管平滑筋異常収縮のシグナル伝達経路として, スフィンゴシルホスホリルコリン (SPC)/Fyn/Rho キナーゼ経路を見出した. 更に, Fyn から Rho キナーゼの活性化に至る機構を解明するため, Focused Proteomics の手法により, Fyn の下流分子を探索し, 候補分子群を同定した. その中には複数の細胞骨格関連分子が含まれていたため, それらが真に血管平滑筋異常収縮へ関与するか, ハイスループットで機能解析を行う必要があるが, 全ての候補分子の組換え蛋白を作成し, スキンド血管平滑筋で検討するには, 非常に時間がかかる. 一方, 血管平滑筋細胞の形態と細胞骨格を, 通常の蛍光顕微鏡で観察する方法は, 時間は節約できるが, 観察可能な細胞数が限られ, 観察者の主観が入る恐れがある. そこで, 今回は, 自動細胞イメージング装置 (ArrayScanV^{TI}) を用い, SPC 刺激による細胞収縮と細胞骨格構築の変化を, 客観的に自動・定量解析するシステムの構築を目指した. 同装置は, 蛍光顕微鏡を内蔵し, 細胞形態と細胞骨格構築の変化を, 多チャンネル蛍光画像として, 全自動で取得・解析できる. ヒト冠状動脈平滑筋細胞を, 96 穴プレートに培養し, 細胞体を Green CMFDA で蛍光標識後, SPC で刺激し, F アクチンはローダミン-ファロイジン染色, 中間径フィラメントは免疫蛍光染色し, 収縮と細胞骨格構築の変化を, 多重パラメータの独自のアルゴリズム解析により定量的に評価した. SPC 刺激後, 細胞形態, F アクチン, 中間径フィラメントに関連する複数のパラメータが, 統計学的有意差をもって変動し, SPC による細胞収縮と, 細胞骨格の構築変化を反映していると考えられた. また, F アクチンと, 中間径フィラメントで, 異なる挙動を示すパラメータがあり, F アクチン構築と, 中間径フィラメント構築は, 独立した動態変化を示す可能性が示唆された.

04-5 内皮依存性血管弛緩作用を有する新規の魚類由来ペプチド

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

○木村 友彦, 萩原 弘, 岸 博子, 加治屋 勝子, 高田 雄一, 宮成 健司, 小林 誠

血管内皮依存性の血管平滑筋弛緩は、高血圧や血管攣縮など血管の異常な過剰収縮を減弱させる作用を有しており、血管緊張制御における役割は極めて重要である。加齢、酸化ストレス、脂質異常症などにより血管内皮細胞の機能が障害されると、内皮依存性血管弛緩も障害されるため、血管緊張異常による血管病の発症リスクが増加する。本研究では、この内皮機能障害による血管緊張異常を是正し予防可能な食品のスクリーニングを行った。その結果、魚類由来ペプチド中に、内皮依存性の冠動脈弛緩作用を有する成分を見出したので報告する。まず、食品として使用可能な蛋白分解酵素処理によって魚類由来のペプチドを得た。外膜を除去した後、ブタ冠動脈平滑筋条片の内皮の温存・除去は、 40 mM K^+ による収縮に対する $1\text{ }\mu\text{M}$ ブラジキニンによる弛緩反応の有無で判断した。魚類由来ペプチドは、安静時張力には影響がなかった。内皮を温存したブタ冠動脈平滑筋条片を 40 mM K^+ によって収縮させ、定常状態になった時点で、魚類由来ペプチドを投与した。魚類由来ペプチドは、濃度依存性に一過性の血管弛緩を引き起こし、 4 mg/mL の場合には、ブラジキニンによる弛緩反応の約 40% の血管弛緩を引き起こした。この血管弛緩は、内皮を除去したブタ冠動脈平滑筋条片では、抑制されたが、完全に抑制されなかったことから、内皮依存性および内皮非依存性の血管弛緩と考えられた。次に、内皮依存性弛緩因子である一酸化窒素 (NO) の関与を検討するため、NO 合成酵素の阻害薬であるモノメチル-L-アルギニン (3 mM L-NMMA) を投与したところ、魚類由来ペプチドによる血管弛緩は阻害された。以上の結果から、魚類由来ペプチドは、内皮依存性に冠動脈弛緩を引き起こすと共に、内皮非依存性に血管平滑筋を直接弛緩させる作用を有していると考えられた。さらに、内皮依存性の冠動脈弛緩には、NO の関与が示唆された。

05-1 モルモット近位結腸粘膜下層のカハールの介在細胞の形態学的解析

早稲田大学大学院人間科学研究科

○玉田 宏美, 小室 輝昌

カハールの介在細胞 (Interstitial cells of Cajal : ICC) は、消化管運動のペースメーカー細胞、または、神経伝達介在機能を持つ細胞として知られてきており、これまで、主に消化管筋層内に分布するサブタイプについて多く研究がされてきた。しかしながら、最近に至り、筋層外に分布するサブタイプ、すなわち、漿膜下の ICC (ICC-SS) や粘膜下結合組織層における ICC (ICC-SP) の存在が報告され、新しい機能も推定されている。そこで、本研究では、モルモットの近位結腸での粘膜下結合組織層の ICC-SP について、免疫組織化学的手法と電子顕微鏡観察によって、形態学的解析を行った。

材料としては、盲腸と接する約 5 cm ほどの部分を近位結腸として使用し、ICC を標識する c-Kit と、神経を標識する PGP9.5 による免疫染色を行った。それらの全載伸展標本と切片標本での観察により、粘膜下結合組織層の粘膜下神経叢周辺に、多極性の形態を示す Kit 陽性の細胞が発達し、ネットワークを構成しているのが観察された。また、平滑筋を標識する α -Smooth Muscle Actin と c-Kit との二重染色によって、ICC-SP が粘膜筋板に近接して存在するのが観察された。電子顕微鏡観察では、ICC-SP は、gap junction で結合し、カベオラや中間径フィラメントを豊富に持つなど、ICC の典型的な微細構造の特徴を示す細胞として同定された。

粘膜下神経叢には、粘膜の分泌や血管を制御する神経が含まれていることが知られており、ICC-SP についても、神経要素と協調した同様の機能が推定される。また、粘膜筋板と ICC-SP との近接像からは、粘膜筋板の収縮制御への関与なども示唆されるが、免疫組織化学染色標本による全体像の把握と、電子顕微鏡観察による高解像力の知見と合わせて、さらに考察を深めたい。

05-2 オメプラゾールの胃運動機能におよぼす効果

名古屋市立大学大学院消化器代謝内科学

○神谷 武, 鹿野 美千子, 田中 守, 塚本 宏延, 岡本 泰幸, 海老 正秀, 平田 慶和, 水島 隆史, 村上 賢治, 志村 貴也, 溝下 勤, 森 義徳, 谷田 諭史, 片岡 洋望, 城 卓志

【目的】 プロトンポンプ阻害薬 (PPI) は強力な酸分泌抑制作用をもち, 消化性潰瘍, 逆流性食道炎の治療薬として臨床に用いられている. また PPI の Functional dyspepsia に対する有効性も, 欧米で多数報告されている. オメプラゾールは本邦では最初に臨床応用された PPI で, 日常臨床に広く使用されている. オメプラゾールが胃排出能および影響に対する報告はいくつかあるが, その結果は遅延させる, 変化ないと分かれている. また胃電図に対する効果に関してはこれまで報告はない. 今回, オメプラゾールの胃運動機能に対する影響を検討することを目的とした.

【方法】 対象は健康成人ボランティア 12 人 (男 8 名, 女 4 名, 24~47 歳) で, オメプラゾール内服前に胃運動機能を測定した. ついでオメプラゾール 1 錠 (20 mg), 1 日 1 回朝食後に 1 週間内服した後, 再度胃運動機能を測定し内服前と比較検討した. 胃運動機能の評価には空腹期, 食後期の経皮的胃電図 (EGG) と, ¹³C アセテート呼吸試験による胃排出機能を用いた.

【結果】 EGG では, オメプラゾール内服後に空腹期の正常波形比率 (% of normogastria) の有意な増加を認めた. 食後期の % of normogastria, 試験食摂取前後のパワー比には有意な変化を認めなかった. 胃排出能検査では, 排出能の指標 lag time, half emptying time とも有意な変化を認めなかった. しかし個々の例をみると, 約半数に胃排出の促進効果を認めた.

05-3 糖尿病性胃運動異常に関与するジアシルグリセロールキナーゼ活性

¹文京学院大学保健医療技術学部生理学薬理学研究室, ²昭和大学医学部第二生理

○坂井 泰^{1,2}, 石田 行知¹, 野部 裕美¹

糖尿病合併症の研究は動脈硬化をはじめとした心臓血管病に関する報告は多いが, 膨満感などの不定愁訴に関与していると考えられる胃運動異常発症機構については未だ明らかではない. 我々はストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット (DM) の胃底部平滑筋ではアドレナジック β -受容体数の半減, プロテインキナーゼ C (PKC) 活性の増加が起こることを報告している. 今回, ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) 活性について検討した. ノルエビネフィリン (NE) による胃底部平滑筋の収縮反応は対照群では弛緩が多く観察されたが, DM ではその反応の多くは収縮を示した. この収縮は PKC 阻害剤である H-7 や staurosporin で完全に抑制された. DM ではホルボールエステル (PE) で収縮が誘発されたが対照群ではほとんど誘発されなかった. 細胞内 PKC 活性は H-7 および staurosporin で抑制され PE 依存性に増加した. PE 刺激により Ca^{2+} 依存型 PKC- β アイソザイム及び Ca^{2+} 非依存型 PKC- ϵ アイソザイムの膜転移反応が確認された. DGK 活性は DM において対照群の約 2.5 倍に増加したがこの活性値は $10 \mu\text{M}$ カルバコール (CCh) を 5 分処置した活性と同定度であり, DM においては CCh 存在下で活性変動は観察されなかった. DM の DGK 活性はインスリン処理 2 週間で有意に阻害された. 又, これらの DGK 活性は $3 \mu\text{M}$ R59022 や $3 \mu\text{M}$ ネオマイシンで有意に阻害された. 胃平滑筋組織内の主構成脂肪酸のうち DM ではドコサヘキサエン酸が有意に増加し, この増加はインスリン処理で有意に阻害された. 糖尿病下における胃運動異常には DGK 活性の増加が関与し, この活性にドコサヘキサエン酸の増加が関与している可能性が示唆された.

05-4 マウス消化管筋層における線維芽細胞様細胞の組織学的検討

福井大学医学部人体解剖学

○堀口 和秀, 飯野 哲

線維芽細胞様細胞 (Fibroblast-like cell; FLC) は、典型的な線維芽細胞様の微細構造を有する細胞であり、消化管筋層に広く分布している。FLC は消化管筋層に存在する別の間質性細胞であるカハール介在細胞 (Interstitial cells of Cajal; ICC) とは微細構造上の特徴や免疫組織化学的手法により識別可能である。ICC に関しては消化管運動の調節性細胞として広範な生理学的・形態学的研究が進められている一方、FLC と消化管運動との関連を示唆する研究は乏しいのが現状である。そこで本研究では、マウス消化管筋層における FLC について免疫組織化学的・微細形態学的観察を行い、同細胞の細胞生物学的特性や、消化管運動調節機構への関与について検討した。免疫染色の結果、輪走、縦走各筋層内および両筋層間の FLC は血小板由来増殖因子 α 受容体 (PDGFR α) や SK3 チャネルを発現するが CD34 は陰性であることが示された。一方、漿膜下の FLC は PDGFR α , SK3 に加えて CD34 も陽性であった。微細形態的には、FLC はよく発達した粗面小胞体によって特徴付けられ、ICC よりも細胞の輪郭は不整であり細胞体から多方向に細い突起を伸張していた。細胞膜に基底膜やカベオラは認められなかった。各筋層内および両筋層間の FLC はシナプス小胞を多数含む神経終末と高頻度に密接することに加えて、周囲の平滑筋細胞との間に小さなギャップ結合を形成しているのが観察された。一方、漿膜下結合組織層の FLC には、神経との密接像や平滑筋との結合は観察されなかった。以上の結果から、各筋層内および筋層間の FLC の消化管運動調節への関与が示唆された。一方、漿膜下の FLC については、他の結合組織に存在する一般的な線維芽細胞に近いタイプの細胞であると考えられた。

05-5 細胞内 ATP 濃度低下は平滑筋収縮タンパク質フィラメント格子状配列を攪乱する

¹首都大学東京, ²東京慈恵会医科大学, ³文京学院大学, ⁴JASRI/Spring-8

○渡辺 賢¹, 木村 雅子², 田口 美香², 竹森 重², 湯本 正寿², 石田 行知³, 八木 直人⁴

モルモット盲腸紐は酸素依存性が高いことが知られている。我々は高濃度 K 存在下での低酸素導入により細胞質画分のみオシン量が減少し、再酸素通気によりみオシン量が回復すること、又みオシン沈降係数は好氣的条件では 6S に、低酸素条件では 10S に最大分布し、かつ低酸素条件ではみオシン ATPase 活性が顕著に低下することを見出した (小林ら, 第 45 回平滑筋学会抄録, J-24)。これらの結果から、低酸素条件で細胞内 ATP 濃度が減少した場合では、みオシンフィラメント構造が攪乱し、少なくとも一部のみオシン分子が解離することが示唆される。そこで今回、X 線回折法を用いて盲腸紐筋フィラメント格子状配列が ATP 濃度によって影響されるか検討を行った。【方法】X 線回折実験は高エネルギー加速器研究機構および SPring-8 の小角散乱ステーションにおいて行った。盲腸紐標本を β -escin によってスキンド処理した標本に高輝度放射光を照射し、得られた X 線回折像を Imaging Plate (GE Healthcare) により記録した。その赤道反射回折プロファイルを更に MATLAB (MathWorks) により解析し、筋タンパク質フィラメントの格子状配列に対する細胞内 ATP 濃度低下の影響を検討した。【結果および考察】弛緩状態ではっきりみられる幅広の赤道反射は、人工細胞内液から ATP およびクレアチンリン酸を除去することによって顕著に減弱した。又、ATP・クレアチンリン酸の再添加により一部回復した。赤道反射は筋収縮タンパク質の格子状配列に由来すると考えられるので、この結果は筋収縮タンパク質フィラメント構造が ATP 濃度低下により確かに攪乱されていることを示す。現在、赤道反射プロファイルの詳細についての解析を進めており、ATP 濃度低下によって攪乱される筋収縮タンパク質フィラメント構造の同定を進めている。

05-6 選択的セロトニン再取り込み阻害、ルボキサミンマレイン酸塩の腸壁内神経損傷後の *in vivo* 再建に対する効果

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分子病理学講座,
³奈良県立医科大学医学部医学科消化器総合外科講座

○川原 勲¹, 松吉 ひろ子¹, 國安 弘基², 後藤 桂¹, 小畑 孝二¹, 藤井 久男³, 高木 都¹

【背景と目的】 排便反射（直腸－直腸収縮反射とそれと同期して起こる直腸－内肛門括約筋弛緩反射により構成されている）における腸壁内神経の果たす役割は重要である。臨床では、排便機能障害を有する患者に対して、各種薬物療法にて症状を緩和しているのが実情である。従って、腸壁内神経の再生・新生を促進させる方法を確立することは、排便機能障害の根本的治療の開発に繋がる可能性が期待される。本研究では、内因性セロトニンを増加させることにより、損傷された腸壁内神経の再生・新生促進作用が得られるかどうかを明らかにする。

【方法】 ハートレー系雄性モルモットおよびウイスター系雄系ラットに対して直腸切離吻合術を行い、選択的セロトニン再取り込み阻害薬であるフルボキサミンマレイン酸塩（Selective Serotonin Reuptake Inhibitor: SSRI）を局所投与2週間後に、直腸－直腸収縮反射と直腸－内肛門括約筋弛緩反射を測定し、併せて直腸吻合部の免疫組織学的観察を行った。比較検討には、腸壁内神経の再生や新生が促進され、直腸－内肛門括約筋弛緩反射の回復を促進する5-HT₄受容体刺激薬クエン酸モサプリド（Mosapride citrate: Mos）を使用した。

【結果】 ラット SSRI 投与群では、吻合部において再生した神経線維・新生した神経細胞は観察されなかった。一方、Mos 投与群では、再生した神経線維・新生した神経細胞が観察された。モルモット SSRI 投与群で、直腸－内肛門括約筋弛緩反射の回復を調べた結果、Mos 投与群と異なり、直腸－内肛門括約筋弛緩反射の回復は見られなかった。

【結論】 内因性のセロトニンの放出が期待される SSRI の局所投与2週間後では、直腸切離吻合術後の切断された神経の再生・新生および直腸－内肛門括約筋弛緩反射の回復は見られなかった。