

教育講演

小腸移植後の腸管神経叢，筋層の形態学的，機能的変化

九州大学第一外科

杉 谷 篤

短腸症候群による末期吸収機能不全に対し，欧米では小腸移植が盛んに行われるようになってきた。本邦でも，生体部分小腸移植が施行された。しかし，他の臓器移植に比べて，拒絶反応をコントロールしにくいこと，吸収，運動機能不全が長期にわたり残存することなどのために，術後成績は良くない。

我々は，ヒトの小腸移植後 22 か月と 8 か月に慢性拒絶によって摘出されたグラフトを調べたところ，外来神経再生の欠如，腸管神経叢の障害，筋層の著明な肥厚と線維化を認めた。小腸移植は神経・リンパ管の離断，血管の切離・再吻合，保存，虚血再灌流障害，拒絶反応，免疫抑制剤の副作用というプロセスが不可避である。動物の小腸移植モデル，ヒトの標本を用いて，各段階が外来神経，腸管神経叢，筋層，粘膜に及ぼす影響を調べた。

ラットの慢性拒絶モデルでは，筋層が 2 倍以上に肥厚し，筋間神経叢の神経細胞の変性を認めた。イヌで，臨床小腸移植と同じ手技を用いて自家移植，急性拒絶，慢性拒絶モデルを作成した。保存，拒絶，免疫抑制剤の影響を除外できる自家移植群では，1 か月で下痢は止まり，体重も移植前と変わらなくなる。3 か月頃から血管軸に沿って交感神経の再生を認め，同時に腸管壁内のカテコールアミン含量が増したが，24 か月経っても正常の 50% にしか達しなかった。腸管神経叢，筋層の形態はどの時期においても正常群と比べて変化がなかった。MMC は 1 か月すると空腸吻合部を越えて伝播するようになった。小腸グラフトは外来神経の再生がなくても，内因神経と局所消化管ホルモンで消化呼吸，運動機能を保つことができる。急性拒絶群では全層性の虚血・壊死病変がグラフト全体に散在し，腸管神経叢の周囲に著明なリンパ球，好中球の浸潤，神経節細胞の変性，グリア細胞の増生，神経線維の染色性低下，筋層の変性が見られた。移植後同時期の自家移植群と比べて，筋細胞の数と大きさに差異はなかったが，*in vitro test* では *slow wave amplitude*, *inhibitory junction potential* が減少し，*mechanical activity* も低下し，神経・筋単位の障害が示唆された。慢性拒絶群では，下痢，腹部膨満，体重減少に代表されるグラフト機能不全を呈し，腸管の筋層は蒼白で，著明に肥厚しており，腸間膜リンパ節の腫大，リンパ管の拡張・蛇行を認めた。同時期の自家移植群に比べて，外来神経，内因神経ともに軽度の障害を受けていた。筋層の肥厚は，筋線維の著明な *hyperplasia* と *hypertrophy* によるものであった。筋層の間質にはリンパ球と好中球の浸潤が見られた。慢性拒絶で摘出したヒトの小腸グラフトの *in vitro test* では，*electrical* 及び *mechanical activity* はともに減少していた。

イヌの小腸を 24 時間保存したあと自家移植を行うと，粘膜は移植後 2 週間で正常と変わらぬ形態にもどるが，腸管神経叢の形態変化は 4 週間後も持続し，神経・筋単位の機能的回復も遅延していた。保存中にマクロファージ，好中球，リンパ球が筋層内に浸潤し，虚血再灌流障害の準備状態を作っている。ヒトの小腸の保存実験では 6 時間を過ぎると平滑筋機能は低下する。

小腸移植に含まれる手術手技，保存，虚血再灌流，拒絶，免疫抑制剤の各段階が，粘膜・腸管神経叢・筋層の形態，機能に障害を与えるので，そのメカニズムを解明し，できるだけ障害を少なくすること，障害からの回復を促進する工夫が臨床小腸移植の成績向上には必要である。

特別講演

電気刺激による生体内平滑筋活動の同定

東海大学医学部生理学教室

高比良 英 輔

著者は元来「平滑筋」の研究を専門とする人間ではなかったが、ある時期から、小児外科医、ないし小児外科を研修中の人々(難波貞夫、猪原則行、田村謙二、横山穰太郎—実験を共にした順に)と、下記の問題の解明にかかわってきた。それは、現象が、「反射」と名づけられていたこと、およびその反射をはじめて記載した人が、William Gowers (1845-1915) だった事実を負うところが大きい。

1970年代の後半、上記の横山君と難波君は、彼らの製作した直腸肛門反射測定装置を用いて、病理組織学的にはH病(無神経節腸管)と診断された患児の反射を、人工肛門造設後測定し、反応陽性なことを確認した。(難波、横山ほか、1978)。この事実を説明するために、二人は、それぞれ別個に、一種の'replacement theory'(代償説)を考えた。横山君の考えは、中枢性代償(壁内でなく脊髄機構による)、難波君の考えは末梢性代償(内括約筋ではなく外括約筋による)に重きをおいているが、外括約筋は脊髄神経支配だから、両者は同じ考えの二面ともいえる。

著者が実験に参加したのは、このあとである。難波君と著者は、伊勢原で、ネムブータルで麻酔したイヌを用いて、直腸肛門反射の主役は、内括約筋の一過性抑制であることを確認した(難波、高比良ほか、1979)。しかし、同様の圧下降が、他の筋活動の変化によっても生じるかどうかは麻酔の壁にはばまれて追求することができなかった。われわれは、除脳・脱麻酔標本を用いるしかないという結論に達したが、難波君は英国留学のため太田に転じたので、伊勢原では、実験に参加した猪原君、田村君の手によって、次のような事実が明らかになっていった。

1. 除脳・脱麻酔状態のイヌの、肛門管周囲輪状平滑筋には、活発な持続性自発活動が存在する。仙部脊髄前根の電気刺激または直腸伸展によって、腸管壁内ニューロンが駆動されると、輪状筋の自発活動は抑制され、肛門管内圧は、一過性に下降する。

2. 外肛門括約筋(肛門管周囲輪状骨格筋)は、仙部脊髄前根の電気刺激によって、 α 運動ニューロン経由の強縮を生じ、直腸伸展によっては、興奮性または制止性の反射出力を生ずる。しかし、内括約筋抑制反射とは、神経閾値および動作の時定数に明確なずれがあり、前者が後者を、機能的に代償することは不可能である。

3. さらに、仙部脊髄前根の電気刺激または直腸伸展によって駆動される、輪状筋とは異質の平滑筋活動のあることが判明した。それは、輪状筋とは相反(拮抗)的に神経支配され、通常、輪状筋抑制(内圧下降)時に、スパイク・バーストのパタンをもって出現する。スパイクの経過は、骨格筋のものよりおそい。この筋の収縮軸は、輪状筋とは異なる次元にあり、そのバースト出現時に肛門管の短縮が観察されるため、肛門管周囲縦走筋の活動と同定された。この筋の活動も、勿論、反射の内圧下降は代償できない。

4. 以上の諸事実から、肛門管周囲輪状筋の自発活動とその壁内ニューロンによる抑制は、他の効果器活動や神経機構によっては代償されることが判明した。かつて小児外科領域で報告された「H病の直腸肛門反射陽性」例(前述)は、その壁内ニューロンの染色性劣悪であったことが指摘されようが、すくなくも機能的には、その腸管は「無神経節」ではなかったと結論される。

(文献省略)

招待講演 1**From Neuron to Intestinal Peristalsis ; the Emergence of
Motor Patterns from Enteric Neuronal Circuits
and Smooth Muscle.**

Marcello Costa, Grant W. Hennig and Simon J.H. Brookes

Department of Physiology and Centre of Neuroscience, School of Medicine,
Flinders University, PO Box 2100, Adelaide 5001, SA Australia.

Bayliss and Starling at the turn of the century suggested that intestinal peristalsis is due to reflex pathways embedded within the intestinal wall. They formulated the so called "Law of the Intestine" which consist in the contraction of the circular muscle on the oral side and inhibition on the aboral side of a mechanical stimulus. They concluded that the identification of the neurons involved in these polarised reflex pathways would pose a remarkable challenge. Our laboratory has taken up this challenge over the past several years.

The Unravelling of the Enteric Neural Circuits

The enteric neurons can be studied in sheets of intact enteric plexuses (myenteric or submucous) viable for functional and morphological studies. A large number of neuronal markers have been found in subpopulations of enteric neurons. These include most transmitter substances found in central neurons, their enzymes, calcium binding proteins, intermediate filaments, intracellular messenger related molecules etc. By using a retrograde tracing method in organ culture, in combination with multiple labelling immunohistochemistry, we identified most classes of enteric neurons according to their morphology projections and chemical coding (14 myenteric and 4 submucous classes).

Enteric reflex pathways

We identified functionally the enteric neurons involved in the polarized ascending excitator and descending inhibitory, reflex pathways by using a partitioned organ. These studies demonstrated that the polarized enteric reflexes are composed of polyn neuronal pathways involving sensory, interneurons and motor neurons. In addition each class of neuron utilises combinations of transmitter mechanisms (multichemical transmission).

The role of enteric circuits in peristalsis

In the isolated segments of guinea-pig small intestine, peristalsis can be elicited by slow infusion of liquid. As the volume reaches a threshold, the circular muscle at the oral end contracts, marking the initiation of peristalsis, with the contraction propagating aborally to empty the segment.

Experimental manipulations in these preparations revealed that the enteric reflex pathways are essential for the initiation and propagation of the peristaltic contraction. Using a modular concept of the intestine we have developed a simple computer model that incorporates very simple features of neurons and more detailed topology of the neural circuits. The model simulates well two important features of peristalsis: the oral initiation and the aboral propaga-

tion of the contraction.

However, peristalsis does not appear to be just a reflex, but must be regarded as a motor pattern sustained by mechano-sensory feedback. The neural mechanisms underlying the initiation of peristalsis can be investigated in an open preparation of intestine in which slow controlled stretch still the initiation of peristalsis.

Quantitative spatio-temporal analysis of peristalsis

We have developed recently a simple way to portray the motions of the intestinal wall. Video images are plotted as a spatio-temporal map in which the diameter values along the segment over time are represented at a gray scale, with contractions in white. These maps enable a quantitative analysis of the intestinal movements.

Thus almost one hundred years from the seminal work of Bayliss and Starling, we are approaching a good understanding of the neural basis of intestinal peristalsis.

招待講演 2

エンドセリン系の働き：Hirschsprung 病から血圧調節まで

Haward Hughes Medical Institute. Research Laboratories, The University of
Texas Southwestern Medical Center at Dallas

柳 沢 正 史

エンドセリンは、ET-1, ET-2, ET-3 からなるペプチドファミリーで、ETA, ETB の二つの 7 回膜貫通型受容体を介してさまざまな作用を発揮する。ET-1 は内皮由来血管収縮因子として最初に同定された。21 残基の活性型エンドセリンは、38-41 残基の非活性型ビッグエンドセリンから、金属プロテアーゼであるエンドセリン変換酵素 (ECE-1, ECE-2) によって生成される。血管トーンスの異常を伴う様々な病態において、エンドセリンの役割が注目されてきた。

エンドセリンの生理的役割をさらに解明するひとつのアプローチとして、われわれはエンドセリン系を構成する上記遺伝子に対して、マウスを用いて系統的なジーンターゲティングを進めてきた。意外なことに、ノックアウトマウスの解析により、エンドセリンが特定の神経堤由来組織の正常発生のために必須であることが判明した。またこうしたノックアウトマウスの形質から、ETB 受容体および ET-3 遺伝子の異常がヒトにおいても Hirschsprung 病あるいは関連した神経堤異常を惹き起こすことがわかった。エンドセリン系は、G 蛋白質共役受容体を介する細胞間情報伝達系としては初めて、胚発生における根本的プログラミングに関与していることがはっきりした。

しかし残念なことに、こうしたノックアウトマウスの形質はすべて致死であるため、正常個体のホメオスタシスにおけるエンドセリンの役割をそのまま解析するのは困難であった。そこでわれわれは、いくつかの遺伝学的手段を用いてノックアウトマウスの致死形質を“rescue”し、エンドセリン系に欠陥のある成熟個体を作り出して主として腎・循環器系に関して生理学的解析を行っている。最近、ETB 受容体の欠損が食塩感受性高血圧を惹き起こすことがわかってきた。

会長講演

神経伝達物質からみた無神経節腺管の病態

慶應義塾大学医学部外科

横山 穰太郎

Langley が 1800 年代の終わりに交感、副交感神経系のほかに腸壁神経系を区分して以来、壁内神経系を有すると言う特徴的な消化管神経支配について種々の研究がなされ、コリン作働性神経、アドレナリン作働性神経、そして非コリン、非アドレナリン作働性神経の存在などが検索されるに至った。Hirschsprung 病の無神経節腸管は正常な蠕動運動を欠くと言う点で、また直腸肛門反射を欠如すると言うことから私達、小児外科医にとって、かつこのような腸管運動研究の material となった。過去 25 年にわたり私どもの教室で行なってきた神経伝達物質を中心とした正常ならびに無神経節腸管の研究結果に関し知見を述べたい。

定型的 Hirschsprung 病である S 状結腸以下の無神経節症で S 状結腸から肛門にいたる無神経節腸管は注腸造影で狭小像を示し、蠕動運動を欠除する。森川は acetylcholin esterase (Ach-E) の染色よりヒト正常腸管と異なり無神経節腸管で外来神経線維の増生があることを確かめた。狭小像を呈する無神経節腸管は acetylcholine (Ach) 優位なのか norepinephrine (NE) を欠いているのか、伊川は Ach 並びにムスカリン様レセプターの生化学的定量に成功し、前者はヒト無神経節で正常の 2~9 倍、後者は正常と同様に無神経節にも存在することを確かめた。地方斐沢は生化学的定量法により、NE、 α -adrenergic receptor を測定し、NE はヒト無神経節で正常の 2~3 倍、NE の受け皿である α -adrenergic receptor も正常と同様に存在することが解った。即ち無神経節腸管には Ach も NE も存在し、その受け皿も存在する。従ってこの両者は生化学的には平滑筋細胞に何らかの作用を及ぼしている。が、なぜ狭小像を呈するのか、なぜ動かないのか、斐沢の薬理実験で正常腸管では organ bath 内の field 刺激で正常腸管にみる non-adrenergic inhibitory の抑制が無神経節腸管では認められず収縮反応のみが認められた。同様な反応は松藤により正常ならびに無神経節内肛門括約筋においても認められ、無神経節の内肛門括約筋では非アドレナリン、非コリン作働性抑制反応を認めなかった。渡辺はマウス正常結腸と無神経節結腸における NO の関与についてアドレナリン、コリン作働性神経遮断剤投下に field 刺激を行なったところ正常結腸で弛緩反応が見られたが、その反応は近位結腸と遠位結腸で NO 合成酵素遮断剤ならびに NO 合成酵素の投与で異なり近位結腸では弛緩の減弱、回復を示したが、遠位結腸では反応性に乏しかった。無神経節結腸では非アドレナリン非コリン作働性の弛緩反応は見られなかった。NO 合成酵素遮断剤ならびに NO 合成酵素によって、無神経節結腸では弛緩反応の出現や自立性の収縮能に明らかな変化は認めなかった。

1899 年、Bayliss and Starling が“Low of the Intestine”という概念を提唱して以来、腸内反射、粘膜内反射に関してわが国にあっては福原らの立派な研究がある。そして今回、招待講演者、Costa 教授らの研究にみるごとく、近年、機能と形態学との関連において詳細且つ実証的な研究が展開されている。その一端は今回の招待講演で伺い知れるが、こうした研究を基に無神経節腸管の病態解明もまた更なる新たな展開が期待される。

シンポジウム Ⅰ

『気道平滑筋の調節』(SI-1~4)

座長：獨協医科大学薬理学 上 川 雄一郎
秋田大学第2外科 塩 谷 隆 信

シンポジウム Ⅱ

『胃食道逆流症の基礎と臨床』(SII-1~8)

座長：群馬大学 伊 東 漸
慶應義塾大学外科 森 川 康 英

シンポジウム Ⅲ

『消化管運動機能研究の基礎と臨床』(SIII-1~5)

座長：名古屋大学第一解剖学 鳥 橋 茂 子
金沢医科大学小児外科 伊 川 廣 道

S-1-1. 気道平滑筋弛緩反応の細胞内調節機構：Na-K-ATPaseの役割

東京女子医科大学第一内科

玉置 淳, 永井厚志

近年、平滑筋細胞内cAMP上昇に基づく気道拡張のメカニズムの1つとして、PKAによるCa²⁺-activated K⁺ channelの活性化に引き続く細胞膜の過分極が想定されている。一方、Na-K-ATPaseの活性化も、Na gradientを高めNa⁺-Ca²⁺交換系を介するCa²⁺の排出を促進するとともに、細胞膜過分極をきたしCa²⁺流入を抑制する。我々は、cAMPに依存する気道平滑筋弛緩反応におけるNa-K-ATPaseの役割を検討し、低酸素条件下における弛緩反応の低下と本酵素活性との関連を明らかにした。

コラゲナーゼ処理したイヌ気管平滑筋をカバースリップ上に培養し、95%O₂、5%CO₂の条件で顕微鏡下に筋細胞長を測定することにより収縮反応を評価した (Tamaoki et al, Br J Pharmacol 122: 112, 1997)。KCl (50mM)の添加により筋収縮が生じ、salbutamol (SAL)およびforskolin (FSK)はこれを濃度依存的に弛緩させた。以上の弛緩反応はRp-cAMPS (PKA阻害薬)処理で消失し、ouabain (0.3mM)により抑制された。筋細胞内cAMP濃度とouabain-sensitive ⁸⁶Rb uptakeはFSKにより濃度依存的に増加し、これら両者の間に有意な相関が認められた。Rp-cAMPSの存在下では、FSKによるcAMP増加はみられたが⁸⁶Rb uptakeは不変であった。また、SALおよびFSKによる筋弛緩は低酸素 (10%O₂, 5%CO₂, 85%N₂)で抑制され濃度-反応曲線は左方に0.5LogU移動したが、ouabain存在下では以上の効果は消失した。細胞内cAMP濃度の増加は低酸素による影響を受けなかったが、⁸⁶Rb uptakeの上昇は顕著に抑制された。

以上の成績より、PKAによる気道平滑筋細胞Na-K-ATPaseの活性化が筋弛緩に関わることが明らかであり、低酸素暴露はcAMP産生に影響を与えないがNa-K-ATPase活性を抑制することにより筋弛緩反応が減弱するものと考えられた。

S-1-2. 気道平滑筋の自律神経調節

東海大学医学部、内科学2

近藤哲理、小林一郎

気道平滑筋は副交感神経(迷走神経)から興奮性入力を受け、この入力には交感神経と非アドレナリン非コリン神経(NANC)によって抑制的に修飾される。我々は気道平滑筋の神経調節を検討するために、イヌ(NANCの関与は少ない)を対象とした実験を行った。迷走神経の起始核は延髄に存在する迷走神経背側核と後顔面神経核であり、これらの核の近傍には呼吸ニューロン群が豊富に分布する。組織化学的検討を行うと、後顔面神経核のニューロンは反回神経を介して気管を支配している。しかし、反回神経活動を詳細に検討すると、反回神経本幹は声帯を支配し、傍反回神経が気管平滑筋を支配すると考えられる。傍反回神経の活動には、持続性活動と、呼吸に同期した周期性活動が存在し、気管の収縮に持続性および周期性成分が存在する事実と一致している。さらに、気管平滑筋の筋電図を測定すると、消化管平滑筋々電図に類似した徐波が観察され、この活動は気管平滑筋の収縮と緩い相関を有していた。一方、迷走神経背側核は、迷走神経の本幹を介して気管支平滑筋を支配している。気管支径を連続測定して、気管平滑筋張力および横隔神経活動と比較すると、気管支は呼吸リズムと同期した収縮弛緩を繰り返しているが、気管の周期性収縮の時相は気管支よりやや遅れていた。また、呼吸中枢の刺激を行うと、呼吸活動の増加と共に、気管は持続的収縮を、気管支は周期的収縮を行う傾向が強い。このように気管と気管支平滑筋の収縮特性は異なっているが、迷走神経遠心性線維を電気刺激して気管と気管支の収縮を比較すると、相違の一部は延髄からの下行性指令の差異により、一部は気管と気管支平滑筋の収縮特性の差によると考えられる。このような、気管と気管支の収縮の相異は、換気の効率化や咳嗽増強の役割として考えると理解し易い。

S-1-3. 気道上皮由来の平滑筋調節因子 筑波大学臨床医学系呼吸器内科 内田義之

気道上皮細胞が気道平滑筋収縮に様々な影響を与えていることはよく知られている。喘息発作時に気道上皮が傷害され気道収縮活性が上昇する現象はその一つである。今回上皮由来の収縮物質・エンドセリン(ET)と弛緩性物質・一酸化窒素(NO)について喘息の病態との関連性から検討を行った。ETは、血管内皮細胞由来の強力な血管平滑筋収縮物質として見いだされたペプチドである。ETは肺では気道上皮細胞と血管内皮細胞に局在し、気道平滑筋に対して収縮作用を示す。その活性は既存の気道収縮物質の中で最も高く、気道平滑筋にET受容体が多数存在することより、ETは気道平滑筋に直接作用して収縮を示すと考えられている。喘息発作時には血清中あるいは気管支洗浄液中にETレベルが高値を示すことが知られている。一方、NOは血管内皮細胞由来平滑筋の弛緩性因子として明らかにされたが、神経伝達因子や微生物感染を防御するメディエーターとして生体の恒常性維持に重要な役割を担っている。気道で作られたNOは一部分呼気中に呼出される。喘息患者は発作中呼気中にNOが多量に放出しているとの報告が多く、喘息の病態生理にNOが関わっていると推定される。そこで、ETとNOの気道に対する作用をモルモットの喘息モデルをもちいて検討した。その結果、気道平滑筋収縮物質・ETも弛緩性物質・NOもその作用を阻害することにより喘息反応が抑制され、気道閉塞が改善された。ETの作用を阻害することによって平滑筋収縮が抑制されたか否かについては不明である。また、NOの作用を抑制することによって気道粘膜下の血管拡張や血漿滲出が抑制された。病態下での気流閉塞は複雑である。必ずしも、薬理的な気道平滑筋調節が気道閉塞の程度を規定しているとは限らない。

S-1-4. 気道の液性調節・ケミカルメディエーター 名古屋大学医学部保健学科 高木 健三

気道平滑筋機能は、自律神経系をはじめとして様々な影響を受けているが、液性の調節因子によっても制御されている。副腎髄質から分泌されるアドレナリン、心房および肺静脈から遊離される心房性ナトリウム利尿ペプチド Atrial Natriuretic Peptide (ANP)などが知られている。1980年代に、P. J. Barnesらは、副腎皮質から分泌されるコルチゾールが炎症の制御に重要な役割を果たしていること、例えば気管支喘息患者にみられる nocturnal asthma には、血漿中のアドレナリンとともにコルチゾールの日内変動による低下が関与していることをすでに報告している。また、明け方には血漿中 cAMP 濃度が低下するとともにケミカルメディエーターの一つである血漿中のヒスタミン濃度が上昇することも報告している。我々もその一部は追試して確認している。

そこで今回我々は、気道平滑筋液性の調節因子としてアドレナリン、ANP などの circulating hormones とヒスタミン、ロイコトリエンなどのケミカルメディエーターについて文献的に考察を加えるとともに、動物実験での成績も併せて報告する。

モルモット気道平滑筋をケミカルメディエーターによって収縮させて得られた張力に対して、 β 交感神経刺激薬、adenylate cyclase を活性化化するフォルスコリン、ANP、Brain Natriuretic Peptide (BNP)、C-type Natriuretic Peptide (CNP)などの ANP ファミリーに加えて、Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide (PACAP)や Uroguanylin も弛緩効果を示すことを in vitro 試験にて明らかにした。また、in vivo 試験では、ケミカルメディエーターを静脈内投与することにより得られる呼吸抵抗の増加に対しても、これらの物質が減少させることを明らかにした。さらに、ANP ファミリーについては血管透過性の亢進を抑制することを見いだした。これらの成績を考察するとともに、気道の液性調節機序についても述べる。

S-2-1. 胃食道逆流症患者における胃食道逆流発生のメカニズムの解明
-持続的無麻酔下食道胃内圧測定による分析-
大阪大学小児外科 大阪府立母子保健総合医療センター*
川原央好 岡田正 井村賢治*

従来、胃食道逆流現象は下部食道括約筋(LES)の静止圧が低いことによって起こると考えられていた。しかし、近年の成人や動物実験における胃食道逆流発生時の食道及びLESのmotilityの分析から、多くの逆流はLESが弛緩したときに起こっていることが明らかにされ、特にtransient LES relaxationと呼ばれる嚥下に伴わないLESの弛緩が逆流発生の主因となっていると報告されている。そこで、我々は胃食道逆流症の小児における逆流発生時の食道及びLESのmotilityについて内圧的に検討した。更に、Nissen噴門形成術を施行した結果、LESのmotilityがどのように変化して逆流が抑制されているかについても検討した。

方法：Dent sleeve manometric assemblyを用いたlow compliance infusion systemを用い、無麻酔下に食道、LES、胃内圧を持続的に測定した。

研究1：胃食道逆流症患者 25例を対象として、食後4時間にわたって持続的食道胃内圧を測定し、逆流発生のメカニズムを検討した。その結果、計264回の逆流のうち58%の逆流がtransient LES relaxationの時に見られたが、LES圧が持続的に低いときに起こった逆流は8%に過ぎず、小児においてもtransient LES relaxationが逆流の主たる要因と考えられた。

研究2：Nissen噴門形成術を施行した7例を対象として、術前後にLESのmotilityについて検討した。その結果、術前後でLESの基礎圧には有意な変化は認めなかったが、LES弛緩時のnadir pressureが術後に増加し、transient LES relaxationのおこる頻度も有意に減少した。従って、Nissen噴門形成術によってLESの基礎圧が増加して逆流が抑制されるのではなく、LESの弛緩運動の変化が逆流の抑制と関連している可能性が考えられた。

S-2-2. 健常者、逆流性食道炎患者におけるnifedipine内服の胃食道逆流に及ぼす影響

日本医科大学第3内科
山田久木、岩切勝彦

下部食道括約部(LES)圧低下を来す薬剤、食事の摂取は胃食道逆流(GER)を誘発すると考えられ、GER発生の防止のため、これらの薬剤、食事の摂取を控えることが重要であるとされている。しかし、GER発生のメカニズムは健常者、逆流性食道炎患者とも一過性LES弛緩が主な原因であるとされ、LES圧低下によるGER発生は少ないとされている。LES圧低下のGERに及ぼす影響は明らかでない。今回、高血圧症の第一選択薬剤として広く使用され、LES圧の低下を来すことが報告されているnifedipineを使用し、健常者、逆流性食道炎患者におけるnifedipine内服のGERに及ぼす影響を検討した。対象：降圧剤を内服していない境界型高血圧症患者で上部消化管内視鏡検査において萎縮性胃炎以外の所見を認めない健常者11人(男5人、女6人、平均年齢63.9歳)と降圧剤を内服していない境界型高血圧症患者でLos Angeles分類、grade Cを認めた逆流性食道炎患者10人(男4人、女6人、平均年齢69.0歳)である。方法：早期空腹時にnifedipine非投与時の試験食(600kcal、液体食)摂取後3時間(09:00-12:00)の食道内pHモニタリングを施行。また、同様な試験食摂取30分前にnifedipine 10mgを内服させ食後3時間(13:00-16:00)のpHモニタリングを施行した。pHモニタリングの測定は背臥位にて行った。食道内酸逆流は食道pH 4.0未満の時間率にて評価した。また、nifedipine内服後のnifedipine血中濃度をHPLC法により測定した。結果：健常者ではnifedipine内服のGERに及ぼす影響は認めなかった。逆流性食道炎患者ではnifedipine内服により、食後0-3時間、食後1-2時間における食道内酸逆流が有意に増加した。nifedipineの最高血中濃度は健常者、逆流性食道炎患者間に差は認めなかった。結語：逆流性食道炎患者ではnifedipineの内服は食後のGERを増加させ、食道炎を増悪させる可能性が考えられた。

S-2-3. 胃食道逆流症の病態の解明に関する臨床および実験的研究

山梨医科大学第二外科、新潟大学医学部小児外科*、同生理学第二**
 高野邦夫、八木 実*、腰塚浩三、桜井裕幸、荒井洋志、大矢知昇、中込 博、
 多田祐輔、岩渕 真*、本間信治**、

小児胃食道逆流症(GER)の病態を明らかにする目的で、消化管内圧検査により分析検討した。さらに、臨床例の結果に基づいて動物を用いて実験を行い、GERの成因とその治療法の評価とともに、GERによる今後の問題点に関して興味ある知見が得られたので報告する。【対象と方法】(臨床研究) 小児食道疾患および食道静脈瘤(EV)症例に対してGERの臨床診断を行うとともに、術前後に行った胃食道内圧測定所見をretrospectiveに再検討し、下部食道括約筋部(LES)機能・胃食道運動機能およびGERの解析を行うとともに、胃電図の検討を加え正常例と比較した。尚、正常例としてソケイヘルニア手術施行30例を対象とし、EV例では全例食道離断および食道下部・胃上部の血行郭清を行った。(実験) SD系雄性ラットを用いてEsophagogastroplasty(EGP)によるGERモデルを作成するとともに、食道胃運動異常の一因として迷走神経障害が示唆されたためvagotomyを行い、術前および術後4週目に胃食道内圧測定・透視・pH測定によりLES運動機能を分析した。さらにGERの治療法として推奨されたpyloroplasty(PP)を加え評価し、術後9~12ヶ月後に再開腹して胃・食道の組織学的変化を検討した。【結果】(臨床研究) 臨床的にGERと診断された症例では、食道波の伝播異常とともに一過性LES弛緩(TLESR)を認め、胃の運動異常やGastric emptying time(GET)の延長が長期に継続していた。EV症例では術後早期にLES機能が低下したが、経時的に改善した。(実験) EGPまたはvagotomyによりLES機能は障害され、PPによりGETは短縮した。一方、LESおよび幽門輪の機能障害による長期の消化液の逆流により、胃および食道に細胞増殖やdysplasiaが認められた。【結語】 GER発現の病因は、胃を中心とした消化管の運動調節障害であり、LES機能低下とともに食道・胃・十二指腸の協調運動の欠如がTLESRやGET延長の要因となると考えられた。またその一因として迷走神経障害が示唆された。

S-2-4. 逆流性食道炎重症度と食道胃機能の検討

東海大学内科6
 浅野 健、高安博之、原澤 茂、三輪 剛

<目的> 胃食道逆流は逆流性食道炎の発生において不可欠な因子とされている。胃食道逆流の原因としてLESPを代表とする逆流防止機構の破綻、逆流内容物排除の障害、胃排出能の低下、酸分泌能の亢進などがあげられている。本研究では、逆流性食道炎患者における胃食道逆流を食道pH、内圧、及び胃排出能、胃液分泌能の面から評価し、食道炎内視鏡的重症度と比較検討をした。<対象、方法> 当院の内視鏡検査にて、びらん・潰瘍型逆流性食道炎と診断された21例を対象とした。24時間食道pH測定検査、食道内圧検査、胃排出能検査、胃液検査を施行し、消化器症状および疾患を有さない健常者10例と比較検討した。<結果> 24時間食道pH測定検査における総逆流時間では、逆流性食道炎内視鏡的重症度分類であるLos-Angeles 分類 Grade A,B,C,D群で正常群と比較し有意な逆流時間の増加を認めた。また、各Grade 間の比較においても有意な逆流時間の差を認めた。総逆流回数、5分以上持続する逆流回数においてもGradeA,B,C,D群で正常群と比較し有意な回数の増加を認めた。逆流性食道炎群のpH測定中の体位を、立位と夜間睡眠中の仰臥位に分け比較検討してみると逆流時間、逆流回数の増加は立位において仰臥位より多く認められた。GradeD群においてはA,B,C 群に比較し仰臥位での酸逆流の増加が多く認められた。内圧検査においてLESPでは逆流性食道炎各群ともに正常群と比較し圧の低下を認めた。食道第一蠕動波ではGradeC,D群で正常群に比較し有意な波高の低下を認めた。胃排出能ではGradeD群で遅延を認め、胃酸分泌能ではGradeD群で酸分泌亢進を認めた。<結語> 逆流性食道炎内視鏡的重症度分類であるLos-Angeles 分類と食道胃機能の間には相関が認められた。胃排出遅延、酸分泌亢進、そして仰臥位での酸逆流増加は食道炎重症化の因子と考えられた。

S-2-5. 胃食道逆流防止に關与する空腹期食道同期性収縮運動の検討

兵庫医科大学 第一外科

土生秀作、三嶋康裕、北村健介、岡本英三

胃食道逆流防止には多くの機構が関与する。食道側因子として食道下部括約部(LES)の機能が主たるものと理解されている。一方、食道運動には移送能としての一次、二次蠕動運動に加え、三次収縮運動として扱われる同期性収縮がみられるが、その機能は解明されていない。今回我々は strain gage force transducer を用い意識下での食道運動を経時的に観察することにより食道の逆流防止機能の一つと考えられる食道同期性収縮運動をとらえ、その出現機序、伝播機構について検討したので報告する。

日内の食道運動には下行性伝播性収縮運動で構成される収縮波群と同期性収縮運動で構成される収縮波群が記録された。後者の同期性収縮波群は空腹期、胃IMC phaseIII の出現時のみに観察され、個々の収縮波の解析では、LES収縮が先行、LESの収縮が持続する間、上行性に収縮の伝播がみられるも、食道各部での収縮のピークが一致する収縮運動であった。幹迷切胃IMC消失時、この食道同期収縮運動は出現しなかったが、motilin 投与胃強収縮運動誘発時には出現、さらに下部食道での筋層環状離断(壁内神経離断モデル)では離断部口側食道への伝播がみられなかった。以上のことからこの食道同期性収縮運動の発生機序には胃IMC phaseIII が関与し、伝播経路は壁内神経を介するものと考えられた。空腹期の胃強収縮出現時のみに出現するこの食道同期性収縮運動は、その収縮様式が LES、下部食道の収縮を補佐する形で上部食道の収縮が生じており、胃強収縮時の胃食道逆流防止に關与する食道の特異的収縮運動と考えられた。

S-2-6. 胃食道逆流症の食道運動機能について

—食道シンチグラフィーによる評価—

広島大学第一内科

花ノ木睦巳、春間賢、畠二郎、津賀勝利、青木信也

岡本英一、楠裕明、山下直人、隅井浩治、梶山梧朗

胃食道逆流症の病態として食道運動機能異常が指摘されているが、多くの食道運動機能検査は非生理的、侵襲的であり、手技・解析に技術を要する。簡便な食道運動機能の評価法を確立することを目的とし、食道シンチグラフィーを用いて胃食道逆流症の食道運動機能の評価した。無症状健常人38名(男11名、女27名、平均年齢50.4歳)および胃食道逆流症患者26名(男12名、女14名、63.2歳)を対象とした。立位にて $^{99m}\text{TcO}^+$ を含む水20mlを口に含み一気に嚥下させ、関心領域(ROI)を頸部(U)、中部(M)、下部(L)食道に設定し、嚥下後0.5秒間隔で30秒後までシンチ量を経時的にカウントし、コンピューター処理の上グラフ化し、得られた結果を以下の3項目を用いて解析、評価した。(a) T1-T3 time; ROI-Uのpeak timeからROI-Lのpeak timeまでの時間(秒) (b) 90%排出時間; ROI-Lのpeak countが90%排出されるのに要する時間(秒) (c) 30秒後胃内排出率; ROI-Lでの30秒後の排出率(%) (結果) 健常人に比較して胃食道逆流症患者は、T1-T3 timeと90%排出時間の有意な延長、30秒後胃内排出率の有意な低下を認めた。内視鏡的にびらん、発赤などの異常所見を認めず胃食道逆流症状のみを呈する胃食道逆流症患者にも食道通過時間が延長する傾向を認めた。食道通過時間延長は、24時間食道pHモニタリングにおける5分以上逆流回数の増加、最長逆流時間の延長と関連が認められた。(結語) 胃食道逆流症患者の食道通過時間延長は酸のクリアランスの低下に関連し胃食道逆流症の発生に關与していると考えられた。生理的、非侵襲的、客観的、簡便な食道シンチグラフィーは有用であると考えられた。

S-2-7. 胃食道逆流症—小児自験例での検討—

群馬県立小児医療センター外科、放射線科*

鈴木則夫、土田嘉昭、高橋 篤、黒岩 実、池田 均、畠山信逸*

下部食道噴門機能の異常により症状が表れた場合を胃食道逆流症 (Gastroesophageal Reflux : GER) と総称し、GER の判定には腹部超音波検査、上部消化管造影、^{99m}Tc-ミルクシンチグラムなどの画像診断の他、食道内圧測定、24 時間食道 pH モニタリング等の噴門食道機能検査や、食道内視鏡検査が行われる。この内 24 時間食道 pH モニタリングは GER の診断法として最も信頼度の高い検査と思われるが、小児の病的 GER (GER disease :GERD) の明確な診断基準はまだない。そこで自験 GER 症例での 24 時間食道 pH モニタリング測定結果を pH ワーキング・グループのガイドラインでの評価、逆流時間率 (pH index) 4.0 %、cut-off 値で再検討し、GERD 自験例での各種検査結果を検討して報告する。pH 測定の再検討には 1982 年 7 月から 1997 年 12 月までの 15 年半に、われわれの施設で 24 時間食道 pH モニタリングを施行した 152 例、238 回の測定を対象とした。内訳は嘔吐や反復性肺炎などで GER が疑われた 109 例、137 回、噴門形成を施行した 31 例、81 回、噴門形成例を除く食道閉鎖症術後 12 例、20 回の測定で、従来の GCMC score による判定結果を pH index での結果と比較した。GCMC score の正常値上限を pH 4.0 以下、全逆流数、逆流時間率、5 分以上逆流数、最長逆流時間 (分) の各 4 項目での 2SD 以内、8 点を採用すると、GCMC score 7-17 点、pH index 2.6-4.7 % の範囲で、13 回 (5.46 %) の測定が両者の結果に discrepancy を呈したが、手術適応や治療法決定の上で問題となった症例はない。噴門形成 31 例の病型は滑脱型食道裂孔ヘルニア (滑脱型) 15 例、食道裂孔ヘルニアを伴わない GER (GER 症例) 12 例、混合型食道裂孔ヘルニア (混合型) 4 例で、混合型、滑脱型の症例では高率に手術適応となり、GER 症例は 90 % 以上が保存療法に反応して軽快したが、GER 症例で手術適応となったものの中には脳障害、肺炎、食道狭窄などの合併症を伴ったものが多い。

S-2-8. 胃食道逆流症に対する腹腔鏡下噴門形成術の初期成績と問題点

東京慈恵会医科大学外科

小村伸朗、羽生信義、柏木秀幸、青木照明

教室にて施行した腹腔鏡下噴門形成術の初期成績と問題点について報告する。これまで 25 例に対して腹腔鏡下噴門形成術を施行した。内訳は Nissen 噴門形成術 (2 例は噴門部の calibration を未施行) 14 例、Toupet 型噴門形成術 5 例であり、十二指腸潰瘍合併例に対しては Toupet 型噴門形成術 + 選近迷切 2 例 (1 例に Finney 型噴門形成術を付加)、Dor 型噴門形成術 + 選近迷切 4 例 (1 例に Finney 型噴門形成術を付加) であった。平均観察期間は 1 年 1 か月 (1 か月 ~ 4 年) であった。手術時間は 120 ~ 460 分 (中央値 225 分)、胃管挿入日数 1 ~ 8 日 (中央値 1 日)、食事開始時期 2 ~ 14 日 (中央値 3 日)、術後在院日数 10 ~ 60 日 (中央値 15 日) であった。術前、Savary & Miller I 度が 15 例、II 度が 2 例、III 度が 8 例であったが、術後には 1 例を除き食道炎は治癒した。pH モニタリング (22 例に施行) では 20 例に明らかな異常逆流 (pH < 4 holding time が 4.2 % 以上) を認めたが、術後には 4 例を除き正常域まで回復した。食道裂孔ヘルニアを 24 例で認めたが、術後には 2 例を除き完全に修復できた。胸やけを中心とする胃食道逆流症由来の症状は 1 例を除き消失し酸分泌抑制薬の投与を必要としなかった。噴門部の calibration を施行しなかった 1 例で狭窄症状が出現し、腹腔鏡下に再手術を施行した。上述のごとく腹腔鏡下噴門形成術の初期治療成績は良好と考えられ、今後はわが国における標準術式となることが期待される。

S-3-1. 無麻酔成犬における排便時の結腸、直腸、肛門の協調運動の観察

聖路加国際病院小児外科, *慶應義塾大学外科, **同生理
松藤 凡, *横山 穰太郎, *平林 健, **渡邊 修

はじめに: ストレインゲージを用いた犬の結腸運動の観察から, 排便時には **giant migrating contraction (GMC)** が出現することが知られている. ヒト大腸内圧では **high-amplitude propagated contraction** と便秘や排便との関連が報告されている. 一方, 中枢神経が排便の発現や抑制にも大きく関与していることは周知のことである. 今回, 我々は, 排便時の結腸と直腸肛門の運動をストレインゲージを用いて記録し検討を加えた.

方法: 雑種成犬6頭の近位結腸, 遠位結腸, 直腸および内肛門括約筋にストレインゲージを縫着し, 慢性犬を作製した. 各々の犬毎に最低1回ケージ内での24時間連続測定とケージ外に連れ出して排便を誘発した際の記録を数回行った. 測定はすべて意識下に行った.

結果: 合計 144 時間の連続測定と 66 回の排便時の記録から, 以下の結果が得られた. (1) 排便は, 結腸で生じた GMC が直腸まで伝播した時に生じる. 直腸まで達しなかった GMC に排便は伴いにくい (80%:14%, $p<0.05$). (2) この際, 直腸 (時に遠位結腸も) は収縮に先立って弛緩する. すなわち, 直腸の弛緩収縮運動が排便時に特徴的に認められる (91%). 内肛門括約筋も排便に先立って弛緩する. (3) 犬は排便に先立ってケージ内を嗅ぎまわり可能な限りケージ内での排便を堪えるように見える. この間には, GMC は遠位結腸で停止することが多い.

考察: 排便には, 結腸 GMC の直腸への伝播, 直腸の弛緩収縮連関, 内肛門括約筋の弛緩が重要な役割を果たしている. さらに排便は, これらの臓器の連続した協調運動の結果である. 排便, 禁制の際には中枢神経からの影響は, 随意筋である外肛門括約筋だけでなく, 自律神経を介して大腸運動にも影響を与える可能性が示唆された.

S-3-2. 内肛門括約筋部平滑筋細胞の括約筋機構の電気生理学的検討

九州大学医学部小児外科, Mayo Clinic生理学教室*
窪田 正幸, 水田 祥代, JH Szurszewski*

[背景] 内肛門括約筋は, 括約筋機能, 即ち高い筋のトーンスを保ちながら, 排便時には弛緩を維持する機能を有している. しかしこの括約筋機能の筋原性並びに神経原性調節機構には不明な点が多い.

[方法] 犬, 猫の肛門管部を摘出し, 双眼顕微鏡下に4x8 mm程度の輪状筋標本を作成し, 37°C Krebs液灌流下で標本の半側よりガラス微小電極法にて平滑筋細胞の電気的膜活動を記録し, 筋標本の他側より等尺性収縮を同時記録した. 経壁の神経刺激には, 一對の白金電極を用いた.

[結果] 犬内肛門括約筋: 肛門縁部より筋層肥厚の認められる2cmの範囲の輪状筋層を, 直腸に隣接する部位 (近位部), 最も肛門縁に近い部位 (遠位部) とその中間部の3部分に分け検討した. 自発膜活動は, 各部位でspikeを伴わない律動的な膜電位変化が認められ, 同時に各律動波に対応する収縮が認められた. 律動波の頻度は近位部, 中間部, 遠位部の順に 6.8 ± 2.4 c/min ($n=16, \pm SD$), 15.9 ± 3.6 c/min (51), 24.1 ± 3.8 c/min (38)で, 遠位部側ほど高頻度で, 中間部と遠位部では, 各収縮が融合する結果, ある一定のmuscle toneが形成されていた. 経壁の神経刺激に対しては, 近位部・中間部では膜の急峻な過分極を伴う弛緩反応が認められたが, 遠位部では長く持続する膜脱分極反応と収縮反応が観察された. フェントラミン (10^{-6} M) 存在下では長く持続する緩やかな膜過分極に変化し, 同時に弛緩反応が認められた. 猫内肛門括約筋: 犬と同様の結果であったが, 遠位部を比較した場合, 犬よりもさらに早い頻度の自発膜活動 (32.2 ± 4.3 c/min (15))と神経刺激に対する顕著な興奮性反応が認められ, フェントラミン存在下では緩やかな膜過分極反応を伴う弛緩反応へと変化した.

[結語] 内肛門括約筋は, 早い頻度の自発膜活動と興奮性交感神経支配により筋のトーンスを維持し, 抑制神経により持続的な弛緩反応がもたらされているものと結論された.

S-3-3. 腸管神経細胞が生き続けるための機構について

— 神経栄養因子レセプターとアポトーシス調節因子の発現に関する検討 —

都立清瀬小児病院 外科

広部誠一、林 隼、鎌形正一郎、向井基、増山宏明、岡陽一郎、田中裕之、石田治雄

【目的と方法】消化管運動機能の中枢である腸管神経細胞は再生できず、その機能を維持していくためには適正な数の神経細胞が生存し続ける事が必要である。そのために神経栄養因子や細胞死（アポトーシス）調節因子が関与しているのではないかと考え検討した。代表的な神経栄養因子である NGF は神経細胞にあるレセプター *trk* と結合し神経細胞の生存、機能を維持する。栄養因子の不足や虚血などにより神経細胞死へと誘導されると、その過程で細胞死を阻止する因子 *bcl-2* や細胞死を促進する因子 *bax* などのアポトーシス調節因子が関与している事が他の神経系では知られている。今回、正常腸管（ヒト、ラット）での神経栄養因子レセプター *trk* とアポトーシス調節因子 *bcl-2* と *bax* の発現を免疫組織化学的に観察し、さらに腸管神経細胞の数が少ない *hypoganglionosis* 症例でのそれらの発現の異常を検討して、その病態について考察した。

【結果】正常腸管：*trk* は新生児より大人まで同程度の発現を持続して認めた。*bcl-2* は出生前後の時期に豊富な発現を認め、それ以降の発現は乏しかった。*bax* は胎生期より大人まで同程度の発現が持続していた。*hypoganglionosis* 腸管：基本的に低形成の神経叢では *trk*、*bcl-2*、*bax* 共にその発現が減少していたが、低形成が軽度の部位で *bcl-2* のみが高発現している症例を認めた。

【考察】神経細胞の生存に不利な環境では、*bcl-2*、*bax* は正常の base line の発現より増減して細胞死への過程を調節していると考えられている。神経細胞の数が少ない *hypoganglionosis* では神経栄養因子レセプター *trk* の発現が低下し生存に不利な環境にあるが、*bcl-2* が高発現している部位では低形成の程度が軽度であった。このことは *bcl-2* が細胞の生存を助ける因子として関与している可能性があり、腸管神経系でも神経栄養因子やアポトーシス調節機構が関与していると考えられた。

S-3-4. 消化管運動調節に関わる *c-kit* 発現細胞の細胞学的特性

早稲田大学人間科学部人間基礎科学科

小室輝昌、関 馨介、石川浩一、堀口和秀

カハールの介在細胞 (ICC) が消化管運動ペースメーカー—或いは、運動調節機構として働くとする仮説は現在、広く受け入れられる傾向にあり、ICC = ペースメーカー = *c-kit* 発現細胞 の等式の成り立つことが示される一方、*c-kit* に依存することなく分化成熟する ICC の存在も明らかになりつつあり、ICC の細胞学的問題は、新たな局面に入ったと言える。本研究では、消化管各部位、各組織層における *c-kit* 発現細胞の細胞学的、機能的異型性の有無を検討するため、免疫組織化学的ならびに電子顕微鏡的に検索を行った。材料には、*c-kit* 遺伝子に突然変異をもつ *Ws/Ws* ラットおよび同腹の正常ラット *+/+* を用い胃、小腸、大腸の ICC の存在部位として知られる各組織層の間質性細胞について観察、比較した。また、モルモット各器官の観察により、ICC の種差についても検討した。筋層間神経叢の領域および輪走筋層内にみられる ICC は、消化管の部位に拘わらず、共通の微細構造上の特徴、即ち、豊富なミトコンドリア、大きな gap-junction、神経要素との密接等を示すが、後者ではこれに加え、基底膜、caveolae も観察された。これらの細胞は *Ws/Ws* ラットでは観察されなかった。一方、小腸の深部筋神経叢では、輪走筋内のものに類似した細胞がみられたが、この細胞は *Ws/Ws* ラットでも観察された。胃には深部筋神経叢に相当する神経叢は無く、これに付随する ICC も存在しない。大腸の筋層下神経叢の ICC は小腸深部筋神経叢の ICC に類似し、*Ws/Ws* ラットでも観察された。以上の観察結果は、各器官、組織層の ICC が *c-kit* 依存度、細胞学的特性において異なることを示唆するものであり、その機能的多様性について考察する。

S-3-5. エンドセリン B 受容体欠損ラットの消化管平滑筋の形態と運動性について —— ヒルシュスプルング病態モデル動物の消化管の解析 ——

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室、*名古屋大学医学部解剖学教室
尾崎博、堀正敏、唐木英明、*鳥橋茂子

最近、エンドセリン B 受容体欠損マウスが作出されたが、このマウスが腸管神経節を欠除し、その結果下部消化管閉塞にともなう巨大結腸を呈することが明らかとなり、ヒルシュスプルング病の病因の一端が解明された。この研究をきっかけとして、以前からヒルシュスプルング病のモデル動物として系統化されていたラット (aganglionosis rat: AR ラット) が、やはりエンドセリン B 受容体を欠損することが明らかにされた (Kumagai et al., 1996)。今回我々は、ヒルシュスプルング病の消化管病態を明らかにすることを目的として、この AR ラットの消化管の解剖学的特徴ならびに運動性についての検討を行った。

【結果】1)神経叢と消化管の状態: AR ラットは生後 7-10 日で死亡した。狭窄部は回腸下部にまで及び、この部位では神経叢は欠損していた。2)平滑筋層: 平滑筋層の厚さを対照および AR ラットで比較すると、神経叢を欠く結腸、盲腸では、輪走筋層および縦走筋層ともに AR ラットでその細胞数が増加していた。3)収縮性: 回腸の狭窄部とそれより上部の膨大部における高濃度 K、カルバコールおよびエンドセリン-1 による収縮を単位湿重量当たりで比較すると、狭窄部で収縮性が増大していた。大腸に関しても、狭窄部の収縮性が対照と比べ増加傾向にあった。4)腸内フローラとマクロファージ: 回腸の消化管内容物を採取し、腸内フローラを比較した。正常ラットでは lactobacilli を主体としていたが、AR では総菌数ならびに嫌気性菌数が正常の盲腸レベルに達し、腸内フローラの正常なコントロールが行われていないことが明らかとなった。これらの変化と呼応して、回腸の粘膜下および筋層間に分布するマクロファージの増加が観察された。

【考察】以上の成績から、1)AR ラットは神経叢の欠損が小腸下部にまで及ぶ重篤な病態を示す、2)狭窄した部位の平滑筋層は肥大する、3)狭窄した部位の平滑筋の収縮性は増大する、3)小腸のフローラは通常では大腸に見られるパターンに変化する、さらに 4)異常な腸内フローラを反映して免疫機能が亢進している、などが明らかにされた。以上の成績は、ヒルシュスプルング病の消化管病態管理の一助となることが期待される。

要望演題 1

『活性酸素ラジカルと血管平滑筋調節機構』

座長：星薬科大学機能形態 鎌田 勝男
神奈川歯科大学薬理 岡部 栄逸朗

要望演題 2

『消化性潰瘍形成と胃運動』

座長：島根医科大学 沖 充
東京電力病院 中村 正彦

Y-1-1. ギャップ結合抑制薬による内皮細胞依存性弛緩反応の変化

名古屋市立大学医学部第一生理学教室

福田 裕康、山本 喜通、鈴木 光

[目的]血管平滑筋の収縮弛緩は内皮細胞から遊離される EDRF, EDHF, PGI₂ などの物質により制御されている。平滑筋や内皮細胞間はギャップ結合により機能的に連結されており、それぞれの細胞間における興奮伝達も報告されている。そこで 18 β-glycyrrhetic acid (GA)によりギャップ結合を遮断し、内皮細胞依存性弛緩反応におけるギャップ結合の関与について調べた。[方法]摘出したモルモット大動脈の輪状標本を作成し、等尺性張力を測定した。筋を高K液 ([K⁺]_o=26-38mM) あるいは noradrenaline (NA)で収縮させ、substance P (SP)により誘発させた内皮依存性弛緩反応の振幅を、収縮張力の相対値で測定した。Nitroarginine (L-NA)及び diclofenac (DF)により一酸化窒素(NO)及び PGI₂ の産生を抑制した。[結果と考察] L-NA と DF の存在下において、SP は内皮細胞依存性に NA で収縮させた筋をおよそ 72%弛緩させ、この弛緩は主に EDHF によると考えた。GA はこの弛緩をさらに20%に低下させたので、EDHFによると考えた弛緩にはギャップ結合を介する成分がおよそ7割ほど含まれていると思われた。高K液により収縮させた筋において、SPによる弛緩の振幅は33%で、この弛緩はL-NAで消失したので主にNOにより誘発されると考えた。GAはこの弛緩を24%に減少させたので、NOによる弛緩もわずかに抑制することがわかった。内皮細胞除去標本において、GAは静止張力を増大させ、NAや高カリウム液による収縮の閾値を低下させ、低濃度による収縮を増強させたが、カリウム収縮の最大値を低下させたので、平滑筋を脱分極させる作用などが推定された。[結論] GA の効果から内皮細胞依存性弛緩反応には NO、EDHF、PGI₂ などに加えて、ギャップ結合を介する過分極に起因する成分も含まれていることが推定されたが、GA には平滑筋への直接作用も推定された。

Y-1-2. 糖尿病ラット腸間膜動脈床における内皮依存性弛緩反応の変化の検討と解明

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室

牧野綾子、鎌田勝雄

糖尿病はインスリン作用不足によって高血糖をはじめとする広範囲な代謝異常を生じ、特有の慢性合併症、例えば細小血管症や神経障害を引き起こす疾患である。血管機能変化の解明はこの病態時における血管障害の進展や臓器合併症の誘発を妨げるのに不可欠であるが多彩な因子が複雑に絡み合い未だ明らかにされていない。そこで今回 10 週令 STZ 誘発糖尿病ラットを用い、全身血圧を最もよく反映すると言われている腸間膜動脈床における内皮依存性血管弛緩反応の変化を検討した。AChによる弛緩反応は糖尿病時において有意に右にシフトしており感受性が低下していることが示唆された。腸間膜動脈床における ACh の弛緩反応には EDNO, EDHF 及び弛緩性 prostanoids が関与していることが知られており、各々の阻害薬を用いてこの機能変化の要因を検討した。両群伴に L-NOARG 処置により同程度右にシフトし、indomethacin 処置による影響は受けなかった。しかし high-K⁺ 処置後の反応は最大弛緩率が有意に減弱し、さらに用量反応曲線が両群で重なった。つまり糖尿病群で認められた内皮依存性弛緩反応の減弱には EDHF が関わっているものと考えられる。ACh 誘発弛緩反応の経時変化を検討したところ、糖尿病群で有意に持続力の低下が認められた。対照群においては L-NOARG, indomethacin, high-K⁺ 及び L-NOARG + indomethacin の併用処置による影響は受けなかったが、糖尿病群においては high-K⁺ 処置においてのみ変化を受けず、他の薬物を処置したときには更に持続力が低下した。以上のことから糖尿病時における内皮依存性弛緩反応の機能不全には EDHF が関与しており、その持続力の低下が主な要因と思われる。またこの機能変化は STZ 投与 3 週目に既に認められ、腸間膜動脈床においては高血糖が引き金となって起きる内皮細胞機能変化は胸部大動脈よりも早い時期に生じることが示唆された。

Y-1-3. 活性酸素に対する血管平滑筋脱膜標本収縮機構の感受性

神奈川歯科大学・口腔生理学, *薬理学
和田聡子, 岡部栄逸朗*

〔目的〕本研究の目的は、血管平滑筋脱膜標本を用いることにより、細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 遊離機構に free radicals がどのような様式で作用するか検討することである。特に細胞内の inositol 1,4,5-trisphosphate(IP_3)誘発性 Ca^{2+} 遊離機構(IICR)と Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離機構(CICR)の2種類の機構を介した収縮反応に対する影響を検討した。

〔方法〕New Zealand 白色家兎より腸間膜動脈を摘出し、輪状標本を作成した。これを生理的食塩水を満たした臓器槽内(1 ml)で 10 mg の負荷を与えて水平に設置し、等尺性張力変化を測定した。 α -toxin(50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)で 13 分間処置して脱膜標本を作製し、 IP_3 , caffeine(Caf) および norepinephrine(NE)による収縮実験を行った。free radicals の発生は hypoxanthine (HX, 100 μM) 存在下で xanthine oxidase (XO, 0.01 U/ml)を反応させることによって得た。

〔結果・考察〕 IP_3 (250 μM), Caf(30 mM)および NE(10^{-5} M)は脱膜標本を一過性に収縮させた。HX-XOを 30 分間処置すると Caf 収縮, NE 収縮は有意($P < 0.05$)に抑制されたが、 IP_3 収縮には影響がなかった。Caf 収縮に対する HX-XO の効果は superoxide dismutase(SOD, 100 U/ml)によってほぼ完全に抑制された。一方、NE 収縮に対する効果は SOD により増強され、catalase(CAT, 10 U/ml)により抑制された。NE 収縮は H_2O_2 (500 μM)30 分間処置によっても抑制され、この効果は CAT 処置によって消失した。以上の結果より、superoxide radical($\text{O}_2^{\cdot -}$)は Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離機構(CICR)に作用し、この機能で誘発される血管平滑筋収縮を減弱させることが示唆された。また、アドレナリン受容体機能は $\text{O}_2^{\cdot -}$ よりむしろ H_2O_2 に高い障害感受性を示すと考えられた。

Y-1-4. 血管平滑筋アドレナリン作動性収縮機構に対するヒドロキシルラジカルの影響

神奈川歯科大学薬理学教室

○ 萩原鉄也, 李 昌一, 庄司洋史, 岡部栄逸朗

〔目的〕血管平滑筋神経末端のアドレナリン作動性収縮機構に対する活性酸素ラジカル、とくに反応性の高いヒドロキシルラジカル($\text{HO}\cdot$)の作用様式を表面灌流法と電子磁気共鳴(ESR)法を併用し、電気刺激に応答するnorepinephrine(NE)放出とこれに伴う血管収縮を指標として検討した。

〔方法〕摘出イヌ腸間膜静脈のラセン状条片を作成し、Muldoonらの方法(Am. J. Physiol. 236; H263 - H267, 1979)に従い、懸垂したラセン状標本を95% O_2 , 5% CO_2 により通気したKrebs-Ringer 溶液で表面灌流し、標本の両側に平行に設置した 0.6 mm platinum wire により経壁的電気刺激(ES; 9 V, 2 msec, 5 Hz)を行った。サンプリングは平衡灌流によって90 分間安定させた後に開始し、各々10 分間、計100 分間行った。電気刺激により放出された内因性norepinephrine (NE) による標本の等尺性変化と放出 NE 量を高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて行った。これと平行して表面灌流法でサンプリングされた灌流液に含まれるラジカルをDMPOをスピントラップ剤としてESR 法により検出した。 $\text{HO}\cdot$ の影響を検討するため、Fenton 試薬 (0.3 mM H_2O_2 /0.2 mM FeSO_4)を含んだ灌流液を1回目のES終了時から2回目のES終了時までの30分間灌流させた。

〔結果・考察〕Fenton 反応由来の $\text{HO}\cdot$ ラジカルを標本に30 分間暴露すると、神経末端から放出されたNEによる血管収縮反応は顕著に抑制された。一方、NEの放出量に変化は認められなかった。このことは、 $\text{HO}\cdot$ ラジカルがシナプス後作用として、血管平滑筋のNE感受性を低下させたことを示唆した。また、 Ca^{2+} free Krebs-Ringer 溶液で表面灌流した場合、ESに反応した収縮反応に対する $\text{HO}\cdot$ ラジカルの効果を確認することはできなかった。しかし、 $\text{HO}\cdot$ ラジカルを曝露している間のNEの放出量は増大し、その増加はESとは無関係のものであった。この結果は、 Ca^{2+} 非依存性のシナプス前膜NE放出機構が存在しており、この機構が $\text{HO}\cdot$ 感受性である可能性を示唆する。

Y-1-5. fructose 誘発高血圧ラット腎灌流標本における血管反応性の検討
星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
山下王史、鎌田勝雄

糖尿病時には細小血管障害が生じており、この原因として内皮細胞の機能低下が考えられる。今回、高血圧、高 insulin 血症を引き起こす fructose 負荷動物 (F)、対照動物、STZ 誘発糖尿病動物 (D) の腎血管床を用いて、内皮細胞及び平滑筋細胞の機能変化を Krebs-Henseleit 液を灌流し、ACh、SNP、Met の反応で観察した。血圧は、tail-cuff法で測定し比色法で血漿中の生化学的パラメーターを測定した。又 NO 代謝物である NO_2^- 、 NO_3^- を HPLC によって測定した。血圧は D で 12 週齢時に僅かな低下が見られたが F は初期から上昇した。D は glucose、triglyceride、cholesterol 値は増加し、insulin 値は減少した。F では各値とも増加した。ACh による弛緩反応は D や F で減弱が観察されたが SNP による弛緩反応は変化が認められなかった。Met は D、F 共にやや左にシフトし最大反応も増強を示した。 NO_2^- 、 NO_3^- は basal において D 及び F で減少を示し、ACh 刺激後も減少した。12 週齢時に D で血圧が低下したのは心機能低下が考えられる。D、F 共に、生化学的パラメーター値が増加したので、糖尿病で生じる糖代謝異常と脂質代謝異常に関与していると考えられる。又 F で血漿 insulin 値が増加したので insulin は分泌しているが insulin 受容体反応以後が障害を受けていると推測される。D、F は ACh で弛緩反応の減弱が見られ SNP では変化が認められず、 NO_2^- 、 NO_3^- 量が減少したことから D、F は内皮細胞が障害を受けていると示唆される。Met の収縮反応で D、F で最大収縮の増加が見られたのは、内皮細胞損傷により NO 産生が減弱し Met の収縮に対する抑制が低下したか、Met に対する平滑筋の感受性が増加した等の理由が考えられる。以上の結果から fructose を慢性的に処置することにより高血糖、高 insulin 血症、高血圧を引き起こすことが示唆され、且つ、NIDDM のモデル動物として有用ではないかと推測される。

Y-1-6. 静脈内麻酔薬プロポフォールによる酸化ストレス誘発性血管平滑筋反応性変調の抑制
神奈川歯科大学薬理学教室

○小林 裕, 岡部栄逸朗

【目的】新しい静脈麻酔薬プロポフォール (2, 6-diisopropylphenol) は麻酔の導入、覚醒が速やかであることなどの利点を有し、近年その臨床使用頻度が急激に増加している。本研究の目的は、プロポフォールがハイドロキシルラジカルによる α - 受容体を介した血管平滑筋収縮反応および内皮細胞依存性弛緩反応の抑制効果にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることにある。

【方法】麻酔下に放血致死させた雄性ウサギ (体重 1.5 ~ 1.8 kg) より腸間膜動脈を摘出し、リング標本 (O.D. 1.5 ~ 2.0 mm) を作製した。標本を 10 ml 容の organ bath 中に 0.5 g の負荷をかけて懸垂し、90 分間安定させた。リング標本に norepinephrine (NE) 10^{-6} M を投与した際の収縮反応および NE 前収縮させたリング標本に acetylcholine (ACh) 10^{-6} M を投与することによって生じる内皮細胞依存性弛緩反応に対する Fenton 試薬 (H_2O_2 ; 1.5×10^{-4} M, FeSO_4 ; 10^{-4} M) 5 分間処置による抑制効果とプロポフォールによる影響を検討した。

【結果・考察】(1) リング標本に Fenton 試薬を 5 分間前処置することにより NE 10^{-6} M 投与による収縮反応および ACh 10^{-6} M 投与による弛緩反応はコントロールの 50 ~ 60% まで抑制された。(2) プロポフォール 10^{-5} M は Fenton 試薬 5 分間処置による抑制効果をプロテクトした。以上の結果から、プロポフォールは活性酸素種による血管平滑筋機能障害に対して保護的に作用することが示唆された。

Y-1-7. 一酸化窒素ラジカル ($\cdot\text{NO}$) の微量定量 : ESR法を用いた検討

神奈川歯科大学薬理学教室

○ 庄司洋史, 李 昌一, 岡部栄逸朗

【目的】生体内で産生されるNOを検出する方法の一つにESRを用いたスピントラッピング法がある。現在, *in vitro* でのスピントラッピング試薬として2-(4-carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl 3-oxide (carboxy-PTIO) が主として用いられ, これによりNOの微量検出が可能であるとされている。しかし, carboxy-PTIOや, carboxy-PTIOがNOをトラップすることにより産生されるcarboxy-PTIはそれぞれラジカル種であり, これに加えて, carboxy-PTIは反応環境に還元系が存在した場合には必ずしもcarboxy-PTIO-NO反応依存性に生成されるとは限らない。そのため, NOの定量には不適當なトラッピング試薬であると考えられている。そこで, carboxy-PTIOにかわるスピントラッピング試薬として, N-(dithiocarboxy) sarcosine (DTCS) 鉄錯体を用い, NOの微量定量を試みた。

【方法】NOドナー3-(2-hydroxy-1-methylethyl-2-nitrosohydrazino)-N-methyl-1-propanamide (NOC-7)から放出されるNOをFe(DTCS)₂ 錯体によりトラップし, X-band ESRを用いてNO-Fe (DTCS)₂ スペクトルを計測した。また, 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidinyloxy (TEMPOL) を指標とし, NO-Fe (DTCS)₂ 濃度のtime courseをモニターした。

【結果・考察】NOC-7から放出されるNOをFe(DTCS)₂錯体によりトラップしESR測定したところ, NOC-7濃度と生成されたNO付加体濃度間に1:1の直線関係を得ることができ, したがってESRを用いたNO定量に応用できることが確認された。また, NO付加体は水溶液中で2時間にわたりほぼ安定, すなわち酸化還元等の影響を受けにくいことから, 生体系への応用も可能であると考えられる。NOC-7は確立された反応条件下で等濃度のNOを生成する。我々の用いた計測システムの検出限界はNOC-7 1.0 μM ~であった。

Y-2-1. 潰瘍治癒過程におけるCajal細胞の胃内での分布及び平滑筋細胞との関連について

慶応義塾大学病院内科¹⁾、

東京電力病院内科²⁾

岸川 浩¹⁾、 中村 正彦²⁾、 亀谷 宜隆¹⁾、

三浦 総一郎¹⁾、 織田 正也¹⁾、 石井 裕正¹⁾、

(はじめに) 近年、消化管の蠕動運動のペースメーカー機能を持つ細胞としてCajal細胞が注目されている。これは消化管の平滑筋細胞と神経との間に介在する細胞であり、特に胃においては筋層間神経叢に位置するものがペースメーカー機能として重要な働きをしていることが知られている。しかし、これが消化性潰瘍の治癒過程においていかなる動態を示すかは明らかではない。我々はこのCajal細胞に特異的に発現する原癌遺伝子産物であるc-Kitに対する特異抗体を用いて、ラットの酢酸潰瘍の治癒過程における胃内のCajal細胞の分布と平滑筋および各種神経線維との関連を免疫組織学的な手法で検討したので報告する。

(方法) 4週令の雄性Wistar系ラットを開腹し胃底腺部と前庭腺部の境界部に100%酢酸を用いて酢酸潰瘍を作成、3日、7日、14日後に屠殺し、Zamboni液にて固定した。これを抗c-Kit抗体単独、または抗neurofilament抗体、抗acetylcholinesterase抗体、抗S100抗体などと抗c-Kit抗体との二重染色を蛍光抗体法にて行い蛍光顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。また一部の組織はrhodamine-phalloidinにより二重染色し平滑筋の分布と対比した。

(結果) c-Kit陽性細胞は酢酸潰瘍作成7日後より再生上皮近傍の粘膜固有層内に対象群と比し多数分布した。一部は肥厚した粘膜筋板の局在と一致した。また神経線維の再生とは並行しなかった。

(結論) Cajal細胞が消化性潰瘍における粘膜筋板の運動異常や潰瘍の再生機転に関与している可能性が示唆された。

Y-2-2. 胃生検組織における粘膜内平滑筋細胞と筋線維芽細胞の関連一胃潰瘍症例における変化一

*東京電力病院内科、**慶應義塾大学消化器内科

中村正彦*、岸川 浩**、石井裕正**

胃粘膜内平滑筋細胞は、粘膜筋板より伸展し、胃底腺の基底部を中心に巻き巻くように分布する。近年この平滑筋細胞の収縮が分泌に関係することが示唆されている。一方、筋線維芽細胞(Mf)は、Majnoらにより線維芽細胞の活性型として提唱され、増殖因子などとの関連も指摘されている。そこで、胃潰瘍症例粘膜内のMfの形態、分布の変化、平滑筋細胞との関連につき主に組織化学の観点から検討した。(実験材料および方法) 胃潰瘍症例は、CLO test陽性の胃潰瘍症例の除菌前後の胃潰瘍辺縁部の胃組織を内視鏡で採取し、Zamboni固定液で処理後、Mfの分布をPR 2D3抗体を用いて蛍光抗体間接法でconfocal laser microscopeにより観察した。また、bFGFに対する抗体、rhodamine-phalloidinを用いて、内皮細胞、f-actinの局在と比較検討した。(結果) 胃潰瘍症例急性期には、紡錘型のMfが多数観察され、癒痕期には線維状の形態に変化した。bFGF免疫活性は、活動期には筋線維芽細胞と内皮細胞上に観察されたが、治癒期には内皮細胞にのみ認められた。また、phalloidinとの反応性は、活動期には筋線維芽細胞に全般的に観察されたが、癒痕期には消失し、その周辺の平滑筋細胞と区別しえた。(結論) Mfは、胃潰瘍症例では活動期にはbFGF免疫活性を示し、再生粘膜、特に除菌後に線維状の形態に変化した。平滑筋細胞とはその分布が癒痕期に異なることが示された。

Y-2-3. ラットのストレス胃潰瘍の微小循環の変化；血管鑄型法と免疫組織化学的研究

島根医科大学動物実験施設

権田辰夫, 吾郷昭夫, 沖 充

ストレス潰瘍は胃粘膜の防御能の低下に緊密に関連し、特に胃粘膜の血流量の減少が重要な役割を果たしていると考えられている。今回我々はストレスによって生じた胃粘膜の微小循環の変化を血管鑄型法と、免疫組織化学的に血管周囲神経と内皮由来のエンドセリン(ET-1)、一酸化窒素合成酵素(eNOS)を染色する事により形態学的に観察した。[材料と方法] Wistar系雄ラットを14時間水浸拘束し、ネブタール(30mg/kg, ip)で麻酔後胸大動脈よりMERCOC(大日本イグ)を注入した。樹脂が重合した後、セブチルアルコール乾燥後走査電顕(S-800)で観察した。免疫組織化学的標本はパラフィン切片を抗チロシンヒドロキシラーゼ(TH)抗体, 抗ET-1抗体, 抗eNOS抗体を用いてABC法で染色した。

[結果] ラットを水浸拘束すると胃粘膜に点状のビラン像が認められた。血管鑄型の観察では対照群の規則正しい毛細血管の配列に比較し、ビラン部粘膜の毛細血管網は乱れ、胃内腔に面した毛細血管は狭小化し丈が低くなっていた。免疫組織化学的には、ビラン部粘膜の血管周囲神経線維は非ビラン部粘膜及び対照群のものに比べ、THは強陽性に染色されていた。ビラン部粘膜の血管内皮細胞にはET-1やeNOSが強陽性に染色された。

[結語] ビラン部粘膜では血管鑄型法により毛細血管の狭小化がみられ、その領域の血管内皮細胞に血管収縮物質のET-1が強陽性に染色され、TH陽性神経が強陽性に染色された事より、粘膜の血管収縮による微小循環の異常が胃粘膜の障害に密接に関係している事が考えられた。

Y-2-4. 再発性消化性潰瘍における胃運動機能の検討

名古屋市立大学第三内科

神谷 武, 長尾俊宗, 安藤高司, 翠 尚子, 小林由佳, 平子 真, 原美千子

【目的】消化性潰瘍発症、およびその臨床的特徴である再発の病態生理には不明な点が多く、また胃運動機能との関係も明らかでない。これらの関係を検討する目的で、再発性の胃潰瘍、十二指腸潰瘍に対し胃運動機能を測定した。

【方法】2回以上の再発歴を有するM, A領域の胃潰瘍患者32名(男22名, 女10名。27-64歳)、球部十二指腸潰瘍患者27名(男18名, 女9名。23-61歳)を対象とし、また健康成人10名(男9名, 女1名。20-61歳)をコントロールとして胃運動機能を測定した。胃運動機能の評価には経皮的胃電図(EGG)とアセトアミノフェン法による液体食の胃排出能を用い、消化性潰瘍患者では内視鏡的に診断した活動期、癒痕期にそれぞれ測定を行い比較検討した。EGGの測定は、流動試験食200ml摂取前後それぞれ15分間行い、それぞれの中心周波数と試験食摂取前後のパワー比を算出した。

【結果】健常群のEGGでは、食前、食後期とも10名全員に0.04-0.06Hz(2.4-3.6cpm)の正常域に中心周波数を有するスペクトルが観察された。そして食後期には中心周波数の有意な増加を認め、正常者の食事摂取直後にみられるとされる一過性の徐波(postprandial dip: PD)は8名に認めた。胃潰瘍群では、EGGの周波数異常を活動期には32名中17名、癒痕期でも15名に認め、またPDは癒痕期でも14名に認めるのみであった。十二指腸潰瘍群では、EGGの周波数異常は活動期には27名中11名にみられたが、癒痕期には5名に減少した。PDは癒痕期には16名に出現を認めた。胃排出能は、胃潰瘍群では活動期、癒痕期ともに健常群に比し有意に低下していたが、十二指腸潰瘍群では、活動期癒痕期とも健常群と有意差はなかった。

【結論】消化性潰瘍の病態で、特に胃潰瘍再発に胃運動機能異常が関与する可能性が示唆された。

Y-2-5. 胃・十二指腸潰瘍患者における胃排出機能の異常

東海大学内科 6

長谷部哲理、浅野 健、小長谷 稔、原澤 茂、三輪 剛

〔緒言〕 上部消化管疾患の病態として、以前より胃運動機能異常が重要な因子と考えられている。特に、胃・十二指腸潰瘍患者においては、胃内容物の十二指腸への排出機能が密接に関係するとされている。そこで、胃・十二指腸潰瘍患者における胃排出能をアセトアミノフェン法を用いて検討した。

〔対象および方法〕 内視鏡検査にて確認された胃潰瘍および十二指腸潰瘍患者を対象に、以下の項目別に検討した。1) 年代別 2) 潰瘍占居部位別 3) ステージ別 4) 胃酸分泌能別 5) 初発・再発別 6) 胃角部の胃潰瘍の深さ別に、アセトアミノフェン法の45分値を用いて胃排出能を検討した。

〔結果〕 1) 胃潰瘍患者においては胃排出能の遅延が認められ、胃角部において最も遅延が高度であった。ステージ別には、活動期において最も胃排出能の遅延が認められ、潰瘍の治癒経過に従い軽快した。胃酸分泌能別には、MAOとは無関係に胃排出能は遅延が認められ、各群間に有意差は認められなかった。胃角部小弯の胃潰瘍の初発例と再発例においては、初発例に比較して再発例において胃排出能の遅延の傾向を認めた。胃角部小弯の胃潰瘍の深さ別には、UL4群がUL2~3群に比較して胃排出能は遅延の傾向であったが有意差は認められなかった。一方、十二指腸潰瘍患者においては胃排出能は亢進が認められた。ステージ別には活動期に最も胃排出能は亢進していたが、治癒過程期、癒痕期との間に有意差は認められなかった。胃酸分泌能別には、MAOが20mEq/h以上の高酸群において胃排出能の亢進が顕著であった。初発例と再発例の比較では、初発例に比較して再発例において胃排出能の亢進の傾向が認められた。

〔結語〕 胃排出能の面からは胃潰瘍と十二指腸潰瘍は異なった病態であり、胃排出能の異常は、胃および十二指腸粘膜の防御因子の減弱に関与すると考えられた。

Y-2-6. 胃穿孔における上部消化管運動の検討

兵庫医科大学第1外科

北村謙介、土生秀作、三嶋康裕、中井謙之、竹内雅春、岡本英三

<目的> 潰瘍及び穿孔病態の消化管運動を検討した報告は少ない。今回我々は、潰瘍形成から穿孔に至るまで、及び穿孔後治療における上部消化管運動の経時的変化を検討する目的で以下の実験を行った。

<対象および方法> 10-15kg 雑種成犬を対象とした。あらかじめ胃体部、幽門部、十二指腸、小腸に strain gauge force transducer を慢性縫着し正常空腹期及び食後期運動を記録した後、経時的に潰瘍形成から穿孔に至る病態モデルを作製すべく浅麻酔下にて食道静脈瘤治療に用いる O-ring を使用し内視鏡下に胃壁深層結紮を加え潰瘍穿孔モデルを作製した。検討は (1) 胃壁結紮から穿孔まで、(2) 穿孔時、(3) 穿孔後 (4) 穿孔部閉鎖術後で消化管運動を観察記録し検討した。

<結果> (1) 結紮後胃十二指腸小腸で規則的な IMC を認めた。潰瘍形成時期では胃十二指腸で不規則な強収縮運動が観察された。(2) 穿孔時：食事摂取を契機に穿孔症状出現に伴い胃十二指腸小腸は、ともに食後期の律動的収縮運動から低振幅不規則運動に移行した。(3) 穿孔後は不規則低振幅波形が持続し、保存的管理群では運動の回復は見られなかった。(4) 縫縮手術後では術後早期に先ず小腸に空腹期運動パターンの回復を見、その後胃十二指腸に IMC 運動パターンの回復が見られた。

<まとめ> 胃壁結紮による人工的な潰瘍形成及び、それに続く穿孔病態の消化管運動を観察した。筋層に及ぶ潰瘍形成には胃では不規則な空腹期運動の亢進を認めた。又穿孔により同時に収縮運動の抑制が見られ、保存的観察では運動回復は認めなかった。

一 般 演 題 ・ ポ ス タ ー

O-1-1. ウサギ下部食道括約筋における非アドレナリン非コリン作動性 (NANC) 弛緩反応の検討
岡山大学歯学部歯科麻酔科¹、神戸大学医学部麻酔科²
梶谷 淳¹、尾原秀史²

【目的】ウサギ下部食道括約筋 (LES) の輪走平滑筋におけるNANC弛緩の機序について検討する。【方法】ウサギLES条片を作成し、マグヌス法で等尺性張力変化を記録した。【結果】①30mMのKClを投与すると、一過性の小さな収縮の後に弛緩反応が出現し、やがて膜の脱分極による強い収縮が認められる。この弛緩反応はatropine (3×10^{-6} M)、guanethidine (3×10^{-6} M) 存在下でも認められた。②KClによる弛緩反応は神経遮断薬 tetrodotoxin (10^{-6} M) で完全に抑制された。③NO合成酵素阻害剤であるニトロアルギニン (L-NNA, 10^{-4} M)、guanylate cyclase inhibitorであるmethylene blue (10^{-6} M)、NO捕捉剤であるcarboxy-PTIO (3×10^{-4} M) の前処置はKClによる弛緩反応に影響しなかった。④VIP拮抗薬 (10^{-7} M) は弛緩反応に影響しなかったが、VIP desensitizationはKClによる弛緩反応を約70%抑制した。⑤charybdotoxin (10^{-7} M) の前処置は弛緩反応を増強し、apamine (10^{-6} M) の前処置は弛緩反応を抑制した。【考察】ウサギLESのNANC弛緩においては、KCl刺激により放出されるVIPが主な役割を果たしている。NOの関与は否定的で、他に未知の神経伝達物質が関与していることが示唆された。

O-1-2. セルレイン負荷によるLES反応のアトロピンによる逆説的変調

東北大学心療内科、同総合診療部*
菅原 隆、福土 審、本郷道夫*

【目的】コレシストキニン(CCK)はヒトにおいて下部食道括約筋(LES)圧を低下させ、一過性LES弛緩(TLESR)を誘発させるが、アカラシア患者では逆にTLESRを生じさせることなくLES圧を上昇させる。一方、アトロピンはLES圧およびTLESRの頻度ともに低下させることが報告されている。CCKならびにコリン作動系はLES圧とTLESRの調節に関与していることが推察されるが、その関連性は不明である。LES圧とTLESRへの関連を検証する目的で、健常男性8名を対象にアトロピンならびにCCKのアナログであるセルレインを投与することによりLES圧の変化およびTLESRの出現の有無を検討した。

【方法】灌流式内圧測定システムにより、スリーブセンサーを用いてLES圧の測定を行った。セルレイン(40ng/kg)単独静脈内投与の場合とアトロピン(15 μ g/kg)投与後にセルレインを投与した場合それぞれの投与後15分間におけるLES圧の変化およびTLESRの出現を評価測定した。

【結果】セルレイン単独投与の場合、LES圧は 20.5 ± 2.9 mmHg (mea \pm SD) から 6.8 ± 1.8 mmHg ($p < 0.01$) へと有意に低下し、8例中7例にTLESRが観察された。一方、アトロピンを前投与した場合、アトロピン投与によりLES圧は 20.8 ± 4.0 mmHg から 6.3 ± 1.1 mmHg ($p < 0.01$) へと低下したが、その状態でセルレインを投与するとLES圧は 14.9 ± 3.4 mmHg ($p < 0.01$) へと有意な上昇を示し、TLESRの出現を認めなかった。

【結論】健常者において、アトロピンはセルレインによるLESの反応を逆説的に変化させ、TLESRを抑制する。このことからLES圧およびTLESRの調節機構にはCCK作動性神経とコリン作動性神経の相互作用の存在が推察される。

0-1-3. 胃電図からみた食道閉鎖術後胃食道逆流症例の検討

新潟大学医学部小児外科、第二生理*

八木 実、本間信治*、岩瀨 真、内山昌則、大滝雅博、山崎 哲

食道閉鎖症例で術後時に胃食道逆流症（以下 GER）を認め対応に苦慮することがある。今回我々は本症術後例に対し GER を含めた胃運動障害の有無を胃電図（以下 EGG）を用い検討したので報告する。

【対象】食道閉鎖術後遠隔期症例（以下 EA 群）13 例（平均年齢 7.6 歳）と対照群として健常例（以下群）5 例（平均 8.2 歳）を対象とした。【方法】記録は原則として空腹期食後期各々 30 分安静臥床下に仰臥位で、安静臥床不可能な年少児は自然睡眠下に行った。試験食は経腸栄養剤クリニミール（1kcal/ml）を用い 10kcal/kg 投与した。銀塩化銀電極を用い心窩部での双極誘導としデータレコーダーに保存後 AD 変換しパーソナルコンピューターにて最大エントロピー法（MEM 法）で約 2 分毎に周波数解析しランニングスペクトルアレイ、スペクトルの平均加算、ピークスペクトルパワー比を算出した上で平均ピーク周波数（PSF）とその不規則性（PSFV; PSF の SD）も算出し EA 術後 GER 症例の特徴を検討した。【結果】EGG 上ピーク周波数に乱れを有する dysrhythmia（以下 DR）は EA 群 13 例中 5 例に認められた。DR 例 5 例中 3 例（60%）は空腹期食後期を問わず DR を認め、残り 2 例（40%）は食後期のみ DR を認めた。更に DR 例 5 例中 3 例（60%）が GER 症例であった。PSF は DR 例（空腹期 3.97 ± 0.896 cpm、食後期 3.79 ± 0.588 cpm）、非 DR 例（空腹期 2.90 ± 0.266 cpm、食後期 3.20 ± 0.288 cpm）で DR 例で有意に高値を示した（ $p < 0.05$ ）。PSFV は DR 例（空腹期 1.35 ± 0.809 cpm、食後期 1.97 ± 0.425 cpm）、非 DR 例（空腹期 0.539 ± 0.338 cpm、食後期 0.629 ± 0.263 cpm）で DR 例で有意に高値を示した（ $p < 0.05$ ）。【結語】EA 群中に EGG 上、胃運動障害例が存在し、その中に GER 症例が含まれていたことより、EA 術後 GER 例には DR を伴う可能性が高いものと推察された。

0-1-4. 食道閉鎖症術後の食道噴門機能の検討

鹿児島大学小児外科

加治 建、高松英夫、野口啓幸、田原博幸、福重隆彦、池江隆正、林田良啓、村上研一

先天性食道閉鎖症（以下本症）の術後合併症の中で、胃食道逆流症（以下 GER）は頻度の高い疾患として知られている。今回我々は、本症術後症例の食道噴門機能を測定したので報告する。【対象と方法】対象は、当科で本症の手術を行い食道噴門機能を検査した 16 例である。検査時年齢は 3 ヶ月から 7 歳で、本症の病型は、Gross 分類で A 型 1 例、C 型 13 例、D 型 1 例、E 型 1 例であった。食道噴門機能は食道造影、食道内圧検査、食道 24 時間 pH 測定、内視鏡検査を行い長屋らのスコアリングを用いて臨床評価を行った。【結果】本症術後の LES 圧および幅の平均値は、13.5mmHg と 14.7mm で比較的良好に保たれていた。経時的な内圧測定が可能であった 7 症例では、加齢と共に症状の改善した症例において LES 圧もしくは幅が改善する傾向を示した。ジョンソンの pH スコアが、26 点以上（長屋のスコア 0 点）を示した症例は 4 例で、その中で臨床症状を有する症例が 3 例あり、長屋のスコアの合計点が 3 点以下となった 2 例に対して逆流防止手術を施行した。症状を有する 1 例は加齢に伴いスコアの改善を認め経過を観察している。症状を有しない 1 例は、ジョンソンの pH スコアのみが高値で持続しており年 1 回の定期的な検査が必要な状態である。最終的に GER を認めた 3 例と食道狭窄症を合併した 1 例（食道狭窄症根治術時）に逆流防止術を行った。【結語】加齢とともに LES 圧もしくは幅の改善が見られる症例があり、本症術後の GER に対する手術適応の決定には経時的観察が必要であり、種々の検査を組み合わせた総合的評価は、GER の手術適応を決定するのに有用であると考えられた。

O-1-5. アカラシアの病態解明におけるmicrotransducer法による食道内圧測定の意義

東京慈恵会医科大学外科

梁井真一郎、羽生信義、山本 尚、宮川 朗、西川勝則、中田浩二、森田茂生、
古川良幸、青木照明

アカラシア症例に24時間microtransducer法による食道内圧測定を行い、その測定法の臨床的な意義について検討した。〈対象〉上部消化管造影、上部内視鏡検査、およびinfusion法による食道内圧測定で診断されたアカラシア症例 9例で、その内訳はspindle type 6例、flask type 2例、sigmoid type 1例である。拡張度はI度 1例、II度 7例、III度 1例である。〈方法〉infusion法はDent sleeveでArndorfer pumpを用いて仰臥位で測定した。microtransducer法は5 cm間隔の6チャンネル製のmicrotransducerを食道内4ヶ所、下部食道括約筋(LES)、胃内に留置しレントゲン撮影でその位置を確認後24時間の測定を行った。食事や生活は通常どおりにできるだけ制限しないこととした。〈結果〉infusion法ではLESの弛緩の欠如と同期性の収縮波のみが全例に観察された。microtransducer法による24時間食道内圧測定では食事摂取時以外にspindle typeでは食道蠕動様運動や下部食道に強い収縮波が認められることがあり、これに一致してLESの弛緩も認められた。健常例では食事摂取時の測定でも食道収縮波の伝播が認められたが、アカラシアでは同期性の収縮波のみが観察された。その収縮波の出現頻度は健常例と比較して差がみられなかったが、持続時間は長く、収縮波高は低かった。さらに食事摂取時以外に食道収縮波にともなうLESの弛緩が認められた症例は食事摂取時にもLESの弛緩が認められた。また、spindle type 6例中4例にはアカラシアでも夜間にLESに空腹期収縮(IMC)の出現がみられた。〈まとめ〉microtransducer法による24時間食道内圧測定では従来の短時間のinfusion法とは違った所見が得られ、アカラシアの病態解明に有用と考えられた。

O-1-6. 胃手術後の嚥下機能 とくに愁訴と食道透視、内視鏡所見について

日本大学第3外科

佐藤博信、村山 公、大塚善久、鈴木武樹、宋 圭男、深瀬知之、田中和彦、松下佳代、
田中 隆、岩井重富

【目的】胃癌手術では幽門側胃切除術でもリンパ節郭清や血行郭清のために噴門部の手術操作が必要になることもめずらしくない。まして胃全摘術において噴門部は切除され、食道空腸吻合術により再建されることが多く、下部食道噴門括約筋機構の破綻は必須である。そこで胃癌術後における嚥下機能、とくに嚥下食道期における患者の愁訴についてアンケート調査を行いスコア化による評価を試みた。さらにバリウムによる食道透視、内視鏡による吻合部内径計測を行い検討した。【対象と方法】1985年12月より1995年2月までに当教室で手術した胃癌症例のうち調査時に無再発と考えられ、アンケートを行い得た89例を対象とした。年齢は40~84歳(平均60.0)歳で男女比は75:14であった。胃癌術式は胃全摘術26例、幽門側胃切除術63例で、胃全摘術のうち13例は空腸間置術(IP群)、残りの13例はR-Y吻合術(RY群)であった。幽門側胃切除術はすべてB-I吻合であった。アンケート項目は食事の際に①胸やけがする②逆流する感じ③胸のあたりが痛い④胸のあたりがあつい⑤ものがかえる⑥しみる感じ⑦口のなかに苦みがある⑧食欲不振とした。さらにそれぞれ(1)ない(2)いわれてみればある(3)何日かに一度ある(4)1日中続くか就眠時におこるの4段階評価とした。これらをスコア化して全項目で症状の全くないものが8ポイントとし、すべての項目で(4)であれば32ポイントになるように評価した。さらにバリウムによる嚥下評価ならびに内視鏡による吻合部内径計測を行った。【成績】胃切除術群と胃全摘術群において愁訴をポイント数で検討すると胃切除群63例では、8~22ポイント(平均10.49±SD3.1)に対して、胃全摘術群では9~30ポイント(平均13.57±SD5.1)で有意($P<0.01$)に胃全摘術群が高かった。またバリウムによる嚥下時間測定でも胃全摘群に延長がみられた。吻合部内径計測では5mm未満の症例は44例中2例(4.5%)であった。

O-1-7. 腹部食道形成からみた高齢者 GERD の逆流防止機構と外科治療

三重県立看護大学
天野信一

高齢者GERD(本症)は摂食障害、呼吸障害の原因となり、若年例に比しQOLが著しく損なわれる。本症の病態生理を胃食道内圧、24時間pHモニターから観察、LES機能を呼吸変換点(RIP)、LES最高圧点(MAX)の位置関係から検討、逆流防止機構における腹部食道形成の意義を評価し、外科治療に応用してきた。【対象、方法】食道造影診断による食道裂孔ヘルニア(HH)10例(77.8±6.8歳)、GER症例17例(76.3±6.0歳)、対照6例(72.5±3.1歳)を対象に、胃食道内圧はGR800、micro-tip transducer(Gaeltec社製)を用い、LES機能(圧:LESPmmHg、長:LESLcm)、LESLに占めるRIP、MAXの遠位側長(dL_{RIP} 、 dL_{MAX} cm)、及び dL_{RIP}/dL_{MAX} (S_{LES})を術前後、術中は操作毎に測定した。GER症例は $S_{LES} < 1$ をGER_a、 $S_{LES} \geq 1$ をGER_bとし、24時間pHモニターはpH100(Gaeltec社製)を用い、pH<4の逆流スコア(S_{GER})を検討した。逆流防止術はFiller変法(食道裂孔縫縮、胃底部食道縫着によるHis角、腹部食道形成)にて、8例(76.3±8.0歳:HH6例、GER2例)に行った。【結果】術前:1.対照:LESP25.2±5.6、LESL6.1±1.7、 dL_{RIP} 3.8±1.2、 dL_{MAX} 3.4±1.4、 S_{LES} 1.22±0.31、2.GER:(1)GER_a:LESP14.6±4.9、LESL7.0±2.7、 dL_{RIP} 3.3±1.7、 dL_{MAX} 4.5±1.6、 S_{LES} 0.74±0.25、(2)GER_b:LESP21.3±5.1、LESL5.4±1.6、 dL_{RIP} 3.4±1.0、 dL_{MAX} 3.4±1.0、 S_{LES} 1.60±0.96とLESの口側への滑脱を認めた。3.HH:5例ではRIPは不明瞭、LESP25.6±17.8、LESL5.1±2.8であった。術中:(a)横隔食道靱帯切離:LESP16.3±7.0、LESL5.6±1.8、(b)右脚縫縮:LESP 23.6±7.1、LESL6.1±1.3、(c)His角形成:LESP 27.1±9.5、LESL6.4±1.4と5cm以上のLESが形成され、術後:LESP18.5±4.2、LESL5.9±1.0、 dL_{RIP} 4.6±0.8、 dL_{MAX} 3.2±1.1、 S_{LES} 1.63±0.61と低圧、十分な長さの腹部食道が形成され、摂食障害は改善、 S_{GER} も術前26.3±10.7から術後7.8±2.2と著明に改善した。【結語】高齢者GERDの逆流防止機構においては腹部食道の役割が大きく、外科治療には十分な長さの腹部食道形成が逆流防止の要点と考えられた。

O-2-1. 胃内および十二指腸内CAPSAICIN投与の消化管運動に対する作用とその機序

東北大学第一外科

柴田 近、佐々木巖、内藤広郎、上野達也、舟山裕士、福島浩平、小川 仁、

佐藤 俊、橋本明彦、松野正紀

CAPSAICINは唐辛子の辛味の主成分であり、知覚神経末端に作用することが知られている。以前われわれはCAPSAICINの胃内投与が神経反射によって結腸運動を亢進させ排便を誘発することを報告した。＜目的＞CAPSAICINの胃内および十二指腸内投与の全消化管運動に及ぼす効果、その作用機序を検討すること。＜方法＞雑種成犬を用い、胃2ヵ所、十二指腸、空腸2ヵ所、回腸2ヵ所、近位結腸の計8ヵ所で消化管運動を測定した。空腹期にCAPSAICIN 1, 5, 10 mgを胃内または十二指腸内に投与し、投与後15分間の消化管運動を全部位で定量化した。また、胃内CAPSAICINの消化管運動亢進作用に対するアトロピン（ムスカリン受容体拮抗剤）、ヘキサメソニウム（ニコチン受容体拮抗剤）、オンダンセトロン（セロトニン3受容体拮抗剤）、FK-888（ニューロキニン1受容体拮抗剤）の静脈内投与の抑制効果を検討した。＜結果＞胃内のCAPSAICINは胃前庭部、十二指腸、近位空腸、近位結腸の運動を亢進したが、胃体部、遠位空腸と回腸には作用を示さなかった。一方、十二指腸内CAPSAICIN投与は全消化管に対してどの用量でも亢進効果を認めなかった。胃内CAPSAICIN 10 mgの消化管運動亢進効果をアトロピンは全ての部位で抑制し、ヘキサメソニウムは胃前庭部以外の運動亢進を抑制したが、オンダンセトロン、FK-888はどの部位でも抑制作用を示さなかった。一方、胃内CAPSAICIN 5 mgの近位結腸運動亢進効果をオンダンセトロン、FK-888は抑制した。＜結論＞胃内CAPSAICINは上部消化管と近位結腸の運動を亢進させるが、その作用機序は部位により異なっていた。胃前庭部-上部小腸の運動亢進にはコリン受容体が、近位結腸の運動亢進にはコリン受容体の他にセロトニン3受容体、ニューロキニン1受容体が関与していると考えられた。その一方で、十二指腸内CAPSAICINは全消化管に対して亢進効果を認めなかった。

O-2-2. 意識下ラットの胃十二指腸運動の特性とvincristineの影響

-ミニチュアフォーストランスジェネレーターによる検討-

群馬大学小児科 金子浩章、田端雅彦、友政 剛

群馬県立小児医療センター外科 高橋 篤

【背景】 vincristine(VCR)の副作用として、一部の症例で嘔気・嘔吐、食欲不振を認めるが、VCRによる上部消化管運動異常についてはあまり知られていない。

【目的】 意識下ラットの正常胃十二指腸運動を調べ、さらにVCRの影響を検討する。

【方法】 Wistar系雄性ラット、体重400-500gを対象とした。胃前庭部後壁と、幽門から2.5cm肛門側の十二指腸の漿膜側にフォーストランスジェネレーター (F08-IS, スタージェル)を逢着し、増幅器を通じてパーソナルコンピュータに接続した。術後1,3,6,7,9,12日目に、空腹時と食後の運動を記録し、市販ソフトウェア(イットスター,スタージェル)で解析した。また、術後6日目に、VCR 0.75mg/kgを静注して、control(0.9% NaCl)と比較した。

【結果】 空腹時十二指腸では、周期的な収縮波群が術後6日目ほぼ全例(n=12)に出現した。このphase 3と思われる波形群は、 39.2 ± 0.8 Hzの収縮波が、 239 ± 9.4 秒間持続し、1時間に 5.2 ± 0.7 回の周期で出現した。空腹時胃運動には同様な周期性を認めなかった。薬剤投与3日後(術後9日目)の胃運動の積分値の、薬剤投与前(術後3日目)に対する比は、VCR群：空腹時 $25.1 \pm 10.3\%$ 、食後 $24.1 \pm 9.4\%$ 、control群：空腹時 $104.5 \pm 42.1\%$ 、食後 $116.0 \pm 27.3\%$ であり、VCR群で低下する傾向を認めた。十二指腸運動には両群に差は認めなかった。(数値：mean \pm SE)

【まとめ】 意識下ラットの胃十二指腸運動を記録し、空腹時十二指腸にphase 3を認めた。また、VCR 0.75mg/kgは胃収縮運動を低下させた。

O-2-3. イヌの空腹期上部消化管運動に対するglicentinの効果

1) 東北大学第一外科 2) 仙塩総合病院 3) 日清製粉(株) 創薬研究所
 上野達也、佐々木巖、内藤広郎、柴田 近、舟山裕士、福島浩平、松野正紀¹⁾、
 大根田昭²⁾、佐々木一幸、佐藤岳也³⁾

glicentinは腸管グルカゴンの主要構成ペプチドであるが、その消化管運動に対する作用についてはほとんど知られていない。以前、われわれはglicentinが胃前庭部の食後期収縮を抑制することをイヌで報告した。今回の実験の目的はglicentinの空腹期の上部消化管運動に対する効果を意識下のイヌを用いて検討することである。＜対象と方法＞雑種成犬を用いた。全身麻酔下に開腹し、strain gauge force transducerを輪状筋収縮が記録できる様に、胃体部、胃前庭部、十二指腸、空腸に逢着した。2週間の回復期間の後に意識下で消化管運動を測定した。食餌投与は1日1回とした。空腹期に特有の伝性強収縮波群(MMC)を最低1回記録した後、次のMMCのphase III開始5-10分後に1または4nmol/kg-hrの用量のglicentinまたはglucagonを生食20mlに溶解し、30分かけて静脈内投与した。生食20mlを30分かけて静脈内投与した際の反応を対照とした。また、motilin誘発性のMMCに対する効果を検討するために、イヌmotilin0.4μg/kg-hrを30分間静脈内投与し、投与開始15分後に1nmol/kgのglicentinまたはglucagonをone shotで静脈内投与した。glicentinまたはglucagon投与後30分間の波形下面積を計算し、運動の定量化に用いた。＜結果＞glicentinは用量に関係なくどの部位でも自然に起こるMMCに対する作用を全く示さなかった。一方、4nmol/kg-hrのglucagonは胃のMMCを抑制したが、十二指腸と空腸の運動には影響しなかった。1nmol/kg-hrのglucagonは有意の作用を示さなかった。motilin誘発性のMMCに対して1nmol/kgのglicentinは抑制効果を示さなかったが、同用量のglucagonは胃でmotilin誘発性のMMCを抑制し、小腸運動には影響しなかった。＜結語＞glucagonは自然に起こる胃のMMCとmotilin誘発性MMCを抑制したが、glicentinは空腹期上部消化管運動に対して効果は示さなかった。

O-2-4. 慢性小腸狭窄(慢性イレウス)における血清モチリン値の検討

兵庫医科大学第一外科
 三嶋康裕、土生秀作、北村謙介、岡本英三

(はじめに) 前回の本総会において、我々は慢性小腸狭窄(慢性イレウス)はその腸管運動変化より、早期、中期、後期、晩期の4期に分類出来る可逆性の変化であると報告した。今回我々は、慢性イレウスにおいて、その早期より胃・十二指腸運動の抑制が見られることに注目し、胃・十二指腸運動に関与するモチリンと慢性イレウス経過との関連について検討を行った。(対象及び方法) 成犬を対象に、慢性イレウスモデルを作製し、小腸狭窄開始直後より狭窄解除後までの腸管運動を連続記録した。血清モチリン値は、慢性イレウスの経過に対応して、狭窄開始直後、狭窄後早期、中期、後期、晩期及び解除後について測定した。

(結果) 狭窄開始直後、周期; 100~120分間隔、血清モチリンの基礎値; 136.1 ± 26.5 pg/ml、ピーク値; 698.6 ± 297.3 pg/ml。狭窄開始後早期、一回目摂食後周期性消失、血清モチリン値; 116.9 ± 17.3 pg/ml。中期、周期性消失、血清モチリン値; 153 ± 19.1 pg/ml。後期、周期性消失、血清モチリン値; 153.3 ± 10.3 pg/ml。晩期、周期性消失、血清モチリン値; 85.7 ± 2.8 pg/ml。解除後、胃・十二指腸IMCの回復に伴って、血清モチリン値の周期性の回復が見られた。

(まとめ) 慢性イレウスでは、血清モチリン値は早期より周期性を失い、狭窄開始直後の基礎値に近い値で推移した。腸管運動の疲弊する晩期には血清モチリン値は低下し、狭窄解除後胃・十二指腸IMCの回復に伴って周期性の回復が見られた。(結語) 以上より慢性イレウスの早期から後期においては、狭窄部口側での腸管内容の停滞、貯留による食後期様の刺激の遷延によって血清モチリン値の周期性が消失し、また晩期においては全腸管の機能障害によって、血清モチリン値の低下が生じることが示唆された。

0-2-5. 意識下ラットの十二指腸と空腸運動に対する小腸虚血再灌流障害の影響

群馬県立小児医療センター外科、群馬大学小児科*
高橋 篤、金子浩章*、田端雅彦*、友政 剛*

【背景と目的】腸管の虚血再灌流（I/R）障害はショック時など種々の病態で生じると考えるが、腸管運動に対する影響は明らかとは言えない。そこで、ラット *in situ* モデルでI/R障害の十二指腸空腸運動に対する影響を検討した。【方法】400g前後のWistar系雄性ラットを用い、実験の2日前に開腹して上腸間膜動静脈根部（I/R部）にシリコンカテーテルをかけておき、幽門より2.5cmとトライツ靭帯より約10cm肛門側の十二指腸、空腸にそれぞれフォーストランスジューサーを装着した。実験当日、ラットを仰臥位固定後再開腹し、収縮運動を意識下に測定した。I/Rは前述の部位を血管鉗子を用いたクランプ解除で行った。ラットは虚血60分群と1分群（実験コントロール群）の2群に分け、虚血前30分、虚血中と再灌流後あわせて150分の測定を行った。【結果】①実験コントロール群では十二指腸、空腸とも規則的な収縮波群が出現し、一部の十二指腸収縮波群は空腸に伝播した。測定中それらの運動には変化がなかった。②虚血中の十二指腸では虚血前と比べ変化が認められなかった。③虚血中の空腸では収縮波群の発生が増加または不規則となった。④再灌流後の十二指腸では、再灌流直後の10-20分間に収縮波群は抑制され、その後収縮波群は再度出現したが、虚血前あるいは虚血中と比べ運動は抑制されていた。⑤再灌流後の空腸では、十二指腸と同様に再灌流直後の10-20分間に収縮波群は抑制され、その後運動は抑制された。さらに、収縮波群と同期した収縮時間の長い（10秒前後）収縮波も出現した。【考察】虚血再灌流に伴う腸管の低酸素状態や炎症性変化は局所腸管機能に変化を惹起し、さらに、この局所の変化は再灌流に伴い非虚血腸管にも影響を与えられた。

0-3-1. RI胃排出能検査を用いた術後胃の運動機能評価における特殊性と問題点について

慈恵医大外科

中田浩二、羽生信義、梁井真一郎、高山澄夫、宮川 朗、山本 尚、向井英晴、
西川勝則、古川良幸、青木照明

上部消化管手術後にみられる消化器症状や術後障害の病態を解明するためにはRI胃排出能検査のような信頼性の高い検査法が有用と考えられるが、残胃、胃管、代用胃などの術後胃ではしばしば摂取量や術後胃への貯留量の減少がみられるため、従来行われてきた排出能の評価だけでは十分とは言えない。【目的】今回われわれは術後胃の運動機能を評価する上での特殊性と問題点について示すとともに、排出能に加えて貯留能、小腸内流入速度についても検討を加え、術後胃のより全体的な運動機能評価を試みた。【方法】健康人7名(A群)、胸骨後経路に細径胃管で再建した食道癌患者3名(B群)、幽門輪温存胃切除術を施行した早期胃癌患者3名(C群)、胃全摘術後に回結腸間置法(ICI)再建を行った胃癌患者のうち術後早期(約1カ月)5名(D群)と後期(6カ月以上)5名(E群)にRI固形試験食を用いた胃排出能検査を行い、貯留能は食事摂取量と食直後の(術後)胃内貯留量を、排出能は食直後に(術後)胃内に貯留した試験食の排出動態を、小腸内流入速度は食直後にすでに小腸内に流入した試験食の量とその後の経時的な小腸内流入量を指標とし、比較検討した。【結果】貯留能：B、D群ではしばしば摂取量の減少が、B、D、E群では食直後の(術後)胃内貯留量の減少がみられ貯留能の低下が認められた。排出能：A群と比較しE群では近似した緩徐な排出が、B、D群では排出亢進が、C群では排出遅延が認められた。小腸内流入速度：A、C群では試験食の小腸内への経時的な緩徐な流入が、B、D、E群では食直後に試験食の小腸内への急速流入が認められた。【結論】術後胃ではしばしば貯留能低下がみられるため、排出能だけでなく貯留能評価も合わせて行う必要があると考えられた。食物の消化吸收の場である小腸側から食物の流入速度を検討することは術後のダンピング症状、下痢や栄養障害などの病態を解明する上で有用と考えられた。

0-3-2. 3D超音波法を用いた胃の体積測定による液体食胃排出能の評価。—Bモード超音波法(前庭部断面積による評価)との対比—

広島大学第一内科

楠 裕明、春間 賢、山下直人、吉田成人、青木信也、花ノ木睦巳、岡本英一、畠 二郎、
隅井浩治、梶山梧朗

【背景、目的】3D超音波法は血管の走行などの解明に用いられることが多かったが、近年になって消化管領域へも応用されるようになり、胃の体積も直接測定が可能になってきた。また、我々はこれまで体外式超音波を用いて前庭部断面積の変化率を測定し、液体食負荷後の胃排出能を評価してきたが、MRI法や3D超音波法のように実際の胃の体積変化を測定したものではなかった。今回は3D超音波法を用いて胃の体積を測定し、その変化率で胃排出能を評価し、従来の体外式超音波法によるものと比較することにより、胃排出能の指標としての有用性を検討した。【対象】健康対象10例とした。(男性9例、女性1例、平均年齢32.5歳)【方法】液体試験食としてコンソメスープ400ml(13.1kcal)負荷後に、3D超音波で胃の体積を通常のBモード超音波法で前庭部断面積を測定した。観察は負荷直後、5分後、10分後、15分後に行ない、その変化率から排出曲線を算出した。胃の体積は前庭部縦走査で、幽門輪から胃角部または胃体下部までの約5cmを平行に走査した。その後5mm間隔で胃の断面積をトレースし、5mmの高さの円柱を累積することにより体積を算出した。前庭部断面積はBモード超音波を用いて、縦走査で腹部大動脈と上腸間膜動脈を同時に描出し、同一断面で描出される胃前庭部断面積をキャリパーでトレースして測定した。【結果】実際の測定時間は全例1回30秒以内であり、全例で体積測定が可能であった。3D超音波法で測定した胃の体積と、Bモード超音波で測定した前庭部断面積の変化率を用いた排出曲線はほぼ一致したが、一部に解離する例が見られた。一致しない例には蠕動波や胃の強い変形による胃内の分布異常が関与していた。【結語】3D超音波法は非侵襲的に短時間で正確に胃の体積の測定が可能である。さらにいろいろな角度からの立体的表示が可能であることから、胃内分布と胃排出能の関連性の検討などにも応用可能であると思われた。

0-3-3. 24時間内圧・pH測定による胃手術後再建空腸の運動機能異常の検討

岩手医科大学第一外科

旭 博史、大森浩明、清水光昭、寺島雅典、佐々木章、島田 裕、斎藤和好

胃手術後には胃の生理的機能の部分的あるいは完全な消失に加え、付加される迷走神経切離術、および消化管ホルモンの分泌異常により、消化管運動障害を引き起こすことが知られている。そこで、胃手術後の再建空腸運動を空腸内圧・pH測定を行い検討した。

対象と方法：胃全摘後Roux en Y吻合5例、幽門側胃切除4例(Billroth I、II各1例、残胃十二指腸間有茎空腸間置2例)、噴門側胃切除(食道残胃間空腸pauch間置1例)を対象とした。全例胃癌症例で、平均年齢は58歳、空腸運動の測定は術後30日を過ぎ、全粥の摂取が可能になった退院時に行った。測定にはMicroDigiTrapper(Synectics社製)を用い、経鼻的に内圧(3チャンネル)およびpH測定用のカテーテル(2チャンネル)をX線透視下で挿入し、24時間連続して測定した。

成績：胃手術後の挙上空腸内pHは7前後で推移し、残胃内pHは4から5を示した。内圧測定では再建空腸には小腸の収縮波が記録されたが、残胃には明かな収縮波がみられなかった。平均内圧は挙上空腸が26.5mmHg、間置空腸、十二指腸、空腸pauchがそれぞれ31、残胃内圧は25.5であった。また、運動パターンではいわゆるphaseⅢの出現が挙上空腸、間置空腸、十二指腸で観察された。しかし、噴切空腸pauch間置では明かな収縮波がみられなかった。観察されたphaseⅢは出現間隔、持続時間等が不規則で空腹期のみならず食後期にもみられ、肛門側への伝播が消失する場合もみられた。挙上空腸ではphaseⅢの平均出現回数は15.4回、間隔は63分、持続時間は4.2分、収縮波の頻度は10.4回/分。運動パターンでphaseⅠ、Ⅱ、Ⅲの占める割合はそれぞれ82、10、8%であった。

まとめ：臨床例でも挙上空腸、間置空腸に不規則な運動パターンが観察された。phaseⅢの出現には迷走神経の関与は少なく、間隔が不規則なことから出現頻度の調節に関与していると思われる。

0-3-4. Ileocolonic junctionの運動機能の神経学的特性の解明および回腸排出能に対する影響
- 全身麻酔下のブタにおける検討東京慈恵会医科大学外科¹⁾、社会保険桜ヶ丘総合病院外科²⁾梶本徹也²⁾、羽生信義、青木照明¹⁾

Ileocolonic junction(ICJ)には括約筋機能が存在することが知られているが、その神経学的機序については不明な点が多く、回腸排出に関するICJの役割についてもほとんど報告はない。**目的：**ICJの括約筋機能の神経学的性質を解明し、回腸の内容物の通過に関するICJの機能を観察する。**方法：**全身麻酔下のブタを対象とした。(1)内圧測定カテーテルをsleeveがICJに位置するように固定した。回腸・結腸内に留置したバルーンの拡張刺激によるICJ圧の変化を計測し、自律神経作動薬のICJ圧に及ぼす影響と回腸・結腸刺激に対するICJの反応の変化を検討した。(2)Flowmeterを回腸末端に留置し、回腸内に注入した生理食塩水のflowと回腸・ICJ圧の関連性を観察した。**結果：**(1)Pullthroughで、ICJは 15.6 ± 1.8 mmHg(mean \pm SE, n=9)の高圧帯を示した。Tetrodotoxin(TTX)投与によってICJ圧は変化しなかった(n=3)。ICJ圧は回腸刺激により低下し(P<0.01, n=7)、結腸刺激により上昇した(P<0.05, n=6)。いずれの反応もTTXにより消失した(n=3)。ICJ圧はbethanecol(n=6)とL-NAME(n=7)により上昇し(P<0.01, P<0.05)、isoproterenol(n=6)とsodium nitroprusside(n=6)により低下した(P<0.05, P<0.01)。L-NAMEにより回腸刺激による抑制的なICJ反応は保たれたが遅延し(n=7)、L-NAMEとpropranolol双方の存在下ではこの反応は消失した(n=4)。(2)Yohimbineにより惹起された回腸の収縮波はflowを伴ってICJへと伝播した(n=2)。**結論：**ICJは括約筋機能を有し、筋原性と考えられるICJ圧はmuscarinic agonistとnitric oxide(NO) antagonistによって上昇し、 β adrenergic agonistとNO donorによって減少した。回腸・結腸-ICJ反射は神経経路を介し、回腸-ICJの抑制反応はNOと β アドレナリン経路を介在していることが示唆された。また、ICJは回腸の排出能に関与しているものと思われた。

0-3-5. 中枢性胃弛緩反応
東北大学心療内科、同総合診療部*
庄司知隆、福土 審、本郷道夫*

【目的】胃受容性弛緩は胃底部から胃体部の平滑筋弛緩により摂取食物を貯留するリザーバー機能として知られている。われわれは胃受容性弛緩には脳相があると仮説し、胃弛緩反応をbarostat法を用いて検証した。

【方法】健常者10例（男性5例、女性5例）を対象とした。12時間以上の絶食ののちpolyethylene製balloon（直径10cm、容量1000ml）を経口的に胃体部に挿入留置した。安静座位ののちSynectics社製barostat装置によりminimal distending pressure (MDP)+ 2 mmHgの定圧で胃を拡張し、computer softwareにより胃内容量を測定した。30分間base line測定に続きsham feeding（エンシュアリキッド6分間）を行い、30分間測定した。balloonをdeflateして20分間安静させたのち再び30分間base lineを測定し、tube feeding（エンシュアリキッド250ml）を行い、30分間測定した。sham feeding後に味覚と腹部症状を、tube feeding後に腹部症状をVisual Analog Scale (VAS)にて自己記録させた。

【結果】sham feeding後胃体部容量増加が10例中9例に認められた。増加パターンはphasicあるいはperiodicであった。base lineの平均容量は 90.8 ± 48.5 mlからsham feeding後 129.0 ± 64.6 mlへ有意に増加した ($p < 0.05$)。平均変化量は $38.2 (-11.0 - 121.0)$ mlであった。tube feeding後9例中9例に容量増加がみられた (base line; 133.5 ± 53.4 ml, tube feeding; 274.0 ± 97.9 ml, $p < 0.01$)。平均変化量は $140.0 (10.0 - 312.0)$ mlであった。味覚に関しては10例すべてが好ましいと回答したが、味覚の好意度と胃容量変化量とに関連はみられなかった。

【結論】健常者において脳相胃弛緩反応が観察された。胃弛緩反応に対する中枢の影響が示された。

0-4-1. 胆嚢摘出後の上部消化管運動異常の検討 (第1報)

－胆嚢摘出の空腹期収縮の周期に及ぼす影響－

広島大学第一内科¹⁾, 第二外科²⁾, 広島女学院大学生理学³⁾

島谷智彦¹⁾, 堀川陽子¹⁾, 井上正規¹⁾, 梶山梧朗¹⁾, 吉川雅文²⁾, 有田道典²⁾,
岡島正純²⁾, 藤井一元³⁾

〔背景と目的〕胆嚢摘出後に様々な症状を訴える症例がしばしば経験され、postcholecystectomy dyspepsiaの概念が提唱されている。その病態の1つとして、胆嚢摘出後の十二指腸胃逆流および胃食道逆流の増加が報告されているが、その機序についての報告はほとんどみられない。今回われわれは、胆嚢摘出前後における上部消化管運動について比較検討した。

〔方法〕雑種成犬を用いた。あらかじめpentobarbital麻酔下に開腹して、胃前庭部・幽門輪・十二指腸および空腸の漿膜面の輪状筋方向にstrain gauge force transducerを縫着し、手術の影響が消失する2週間目以降に、無麻酔無拘束下に消化管運動を記録した。一定期間記録後に開腹的に胆嚢を摘出した。なお、胆嚢は胆嚢管を十分残して切除し、迷走神経幽門枝を温存した。回復後にも同様に記録し、既報の如くmotility indexを算出して有意差検定をおこなった。

〔結果〕①PhaseⅢ収縮の波型や持続時間には胆嚢摘出前後で有意な変化は観察されなかった。②PhaseⅢ収縮において、胃前庭部－幽門輪－十二指腸の収縮波のcoordinationにも胆嚢摘出前後で変化は観察されなかった。③胆嚢摘出後にはphaseⅠの時期に不規則な食後期様またはphaseⅢ様強収縮がしばしば観察され、phaseⅢ収縮の周期は胆嚢摘出後にはF検定において有意に($p < 0.01$)大きなバラツキが認められた(摘出前: 82.8 ± 21.5 分 ($n=41$), 摘出後: 88.8 ± 71.1 分 ($n=37$) (mean \pm S.D.))。

〔まとめ〕胆嚢摘出後にphaseⅢ収縮の周期が不規則となる傾向が観察され、上腹部の不定愁訴の原因である可能性が示唆された。その機序については、体液性調節機構を中心とした今後の検討が必要であると考えられた。

0-4-2. ウサギ総胆管十二指腸接合部(CDJ)における抑制神経伝達 - PACAPの役割 -

九州大学医学部薬理学教室

伊東祐之、井本昭彦、井上隆司

ウサギ総胆管十二指腸接合部(CDJ)におけるNANC性抑制性神経-効果器伝達の薬理学的特性を微小電極法および収縮記録法により検討した。L-NAME (10^{-4} M) 及びアパミン (5×10^{-6} M) はアトロピン、グアネシジン (各 10^{-6} M) 及び5-HT (10^{-5} M) 存在下で電気的フィールド刺激(EFS)により発生するNANC弛緩の大きさをそれぞれ対照の約40%に抑制した。しかしL-NAME (10^{-4} M) とアパミン (5×10^{-6} M) の同時投与によりNANC弛緩が完全に抑制されることはなかった。EFSはアトロピン及びグアネシジン (各 10^{-6} M) 存在下に二相性の抑制電位(以下IJP)を引き起こした。アパミン (5×10^{-8} M ~ 5×10^{-6} M) はIJPの第一相の大きさを用量依存性に、最大で約70%抑制した。対照的にL-NAME (10^{-4} M) はIJPの大きさや静止膜電位に全く効果を示さなかった。PACAP-38 ($>10^{-8}$ M) はウサギCDJの平滑筋細胞に用量依存性の膜過分極をもたらし、この膜過分極は徐々に正常レベルにまで再分極した。アパミン (5×10^{-7} M) の前処置によりPACAP-38 ($>10^{-6}$ M) による膜過分極は完全に抑制された。また、PACAP-38持続存在下での膜再分極時にIJPの第一相の大きさは対照値の40~60%に抑制されたが、緩徐な時間経過の第二相は全く影響を受けなかった。同様のIJP第一相の大きさの抑制はPACAP拮抗剤であるPACAP (6-38) の投与や、PACAP-27やPACAP-38に対するモノクローナル抗体の長時間投与によっても観察された。さらにPACAP (6-38) 存在下で観察されるIJPの第一相の残りの部分は、 $\alpha\beta$ mATP (10^{-3} M) による脱感作により完全に消失した。これらの実験結果からCDJにおけるNANC弛緩はアパミン及びL-NAME感受性部分よりなり、前者は膜電位依存性にそして後者は膜電位非依存性に発現し、アパミン感受性NANC弛緩にはPACAPが重要な役割を果たしていることが示唆された。

O-4-3. モルモット腸神経叢での μ 受容体を介したACh遊離抑制とAutoinhibition
大阪府立大学・獣医薬理
畑文明、西脇秀幸、西東規子、竹内正吉

コリナージック神経からのACh遊離をモルヒネが抑制することは古くから知られているが、その作用の詳細は不明である。私達はモルモット腸神経叢で、外来性および内在性オピオイドが働く受容体を検索した。また、オピオイドによるACh遊離抑制とムスカリニック受容体を介したAutoinhibitionとの関連を調べた。【方法】モルモット回腸より壁内神経叢の付着した縦走筋標本を作成した。5 μ Mエゼリン存在下に標本を1あるいは10 Hz, 50 V, 200 pulsesで経壁電気刺激し、浴液中に遊離されたAChをHPLCで測定した。【結果】①モルヒネ(10 μ M)は低頻度(1 Hz)刺激によるACh遊離を抑制したが、高頻度(10 Hz)では影響しなかった。②アトロピン(1 μ M)によるAutoinhibition解除下にはモルヒネは高頻度での遊離をも抑制した。③ナロキソン(1 μ M)は低頻度での遊離を増加させたが、高頻度では影響しなかった。Autoinhibition解除下には高頻度での遊離をも増加させた。④ベタネコール(300 μ M)によりAutoinhibitionを充分にかけると、低頻度での遊離は抑制され、さらにモルヒネを適用してもそれ以上の抑制は見られなかった。⑤ μ アゴニストのDAMGOはモルヒネ同様低頻度での遊離のみ抑制し、Autoinhibition解除下には高頻度での遊離をも抑制した。⑥ κ アゴニストのU-50488は全ての条件下で遊離を抑制した。 δ アゴニストのPDPDEは顕著な効果を示さなかった。⑦ μ アンタゴニストのCyprodimeは低頻度刺激およびAutoinhibition解除下の高頻度刺激による遊離を増加させた。⑧ κ アンタゴニストのnor-Binaltorphimineは顕著な効果を示さなかった。【考察】モルモット回腸縦走筋標本でのACh遊離は μ および κ 受容体活性化により抑制されるが、内在性オピオイドは μ 受容体を介して働いていることが示された。また、この作用はムスカリニック受容体を介したAutoinhibition機構が充分に働いている時には役割を果たしておらず、両ACh遊離抑制機構の関連が示唆された。

O-4-4. 準生理的環境下においてIh電流がモルモット小腸平滑筋自動能発現に果たす役割

九州大学医学部薬理学教室
柳田展江、井上隆司、伊東祐之

目的及び方法：モルモット小腸平滑筋の自動能発現における過分極活性化電流(hyperpolarization-activated current, Ih)が果たす役割について、パッチクランプ法及び微小電極法により検討した。

結果：モルモット回腸よりコラゲナーゼで単離した縦走平滑筋細胞に、ナイスタチン穿孔法を適用し、過分極によって活性化される電流を記録した。保持電位-60mVから-120mVへ7.5秒間の過分極パルスを与えると、時間依存性の内向き電流(Ih)が誘発された。生理的条件下でのIhの逆転電位は約-30mV付近で、外液中の1mMCsによりほぼ完全に抑制された。またIhの特異的ブロッカーといわれるZD7288(10 μ M)はこの電流を完全に抑制した。-120mVにおけるIh電流の最大コンダクタンスは平均値約1nSで、静止膜コンダクタンスの数倍であった。一方Ih活性化には高い温度依存性が観察され、温度上昇により活性化曲線は右方移動し、5度あたり約+15mV右方移動した。このIhが、生理的な過分極でどの程度活性化されるか更に検討する目的で、微小電極法による膜電位記録から計算される電流値とIh理論値とを比較した。温度依存性による補正を加えたIhは、36度ではペースメーカー相における内向き電流の数分の1を占め、自動能発現機序へのIhの関与が示唆された。次に自律神経作用薬の効果について検討した。10 μ Mノルアドレナリンは温度上昇の場合と同様に、Ih活性化曲線を右方移動させた。

結論：以上よりIh電流は、高い温度依存性を示すことが判明した。また、これまでの低温、室温で行われてきた実験では、この電流が過小評価されていた可能性が考えられ、消化管の自動能におけるIh電流の生理的重要性が示唆された。

O-4-5. 単抗体ACK2投与マウスにおけるc-Kit免疫陽性細胞の変動

名古屋大学医学部解剖学第一講座、 *熊本大学医学部薬理学第二講座
鳥橋 茂子、 西 勝英*

これまでの研究からマウスの消化管筋層に分布するInterstitial Cells (ICs)は癌源遺伝子*c-kit*を発現し、*c-kit*シグナス系を介して発生、分化することが知られている。そして一群のc-Kit免疫活性陽性細胞すなわちICsは消化管運動のペースメーカーとして機能し、また他の一群の陽性細胞は神経から平滑筋への神経伝達を調節する機能をもつことはすでに報告されている。我々は以前、マウスのc-Kitレセプター特異抗体(ACK2)を出生直後のマウスの腹腔に投与する実験を行った。投与されたACK2は競合的にリガンドとレセプターの結合を阻害し、その結果 c-Kitレセプターの機能は抑制された。そしてc-Kit陽性細胞の数は激減し、マウスは消化管運動障害による腸閉塞症状を呈した(Cell Tissue Res. 280:97-111 1995)。しかし、その実験過程で陽性細胞がどのような経過をたどるかについての詳しい解析はなされていない。今回、ACK2投与により、c-Kit陽性細胞が消化管の各部位でどのような形態学的変化を生じるかに注目して再度投与実験を試みた。

その結果、以下のことがわかった。1)c-Kit陽性細胞の種類、分布域により、ACK2投与後の態度は異なっていた。すなわち全く影響を受けず正常に分化する細胞群、発生が遅延する細胞群、そして形質転換して平滑筋への分化を示す細胞群が認められた。2)生後8日で抗体の投与を中止すると、陽性細胞の数は再び増加し、生後1ヵ月で、ほぼ正常に戻ったが、胃底部の陽性細胞は回復しなかった。

0-5-1. 結腸アウエルバッハ AH 神経細胞に対する活性酸素の作用

神奈川歯科大学・口腔生理学
田村謙二, 高橋聡子

腸管神経叢に存在する AH 神経細胞は、その多くが複数の軸索を持つ多極神経細胞で、活動電位に続く長持続性後過分極 (after-hyperpolarization: AH) がその名前の由来である。形態学的には AH 神経の終末の多くは、同神経叢内の神経節細胞に終わっていることが知られており、消化管運動機能の神経性調節機構において、神経機能の統合を行っていることが示唆されている。一方、クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患では、粘膜病変の悪化とともに消化管運動が障害される。そこで本研究では、これらの炎症性疾患の原因の一つである局所血流障害が、運動障害を引き起こしている可能性を検討するため、血流障害が起因となて発生する活性酸素が AH 神経細胞に与える影響を検討した。実験には体重 200 - 350 g の雄のモルモットを用いた。頭部を殴打撲殺の後、下行結腸を摘出し粘膜層および内輪状筋層を剥離することにより、アウエルバッハ神経叢を外縦筋層上に露出した標本を作成した。2M KCl を先端に充填したガラス微小電極を、神経叢内の単一神経細胞に刺入して細胞内電位を記録し、ヒポキサンチン溶液(hypoxanthine: HX)にキサンチン酸化酵素(xanthine oxidase: XO)を加えることで発生させた活性酸素の作用を検討した。今回の実験では 15 個の AH 神経細胞の細胞内電位を記録する事ができた。これらの神経細胞の静止膜電位、膜抵抗、活動電位の値はこれまで報告されたものと同じ範囲内にあった。HX ($10 \sim 100 \times 10^6$ モル) に XO (0.01 unit/ml) を加えたクレブス溶液を与えると、膜抵抗の増加 (4 個、57.1%)、AH の振幅と持続の抑制 (12 個、80.0%) が観察された。これらの抑制性作用は superoxide dismutase (38 unit/ml) の添加により阻害できた。この結果から、活性酸素は腸管神経に対し抑制性の作用を持つことが示唆され、炎症性疾患での運動機能障害の原因となっていることが示唆された。

0-5-2. 平滑筋収縮系の Ca^{2+} 感受性増強における newly synthesized ATP の役割

大阪府立大学・獣医薬理
竹内正吉, 平山信恵, 石井利明, 西尾英明, 畑 文明

【目的】平滑筋収縮時のエネルギー供給系として、creatine kinaseによりADPとphosphocreatine (PC)から新たに生合成されたATPが重要であることを膜透過性にした種々の平滑筋を用いて明らかにしてきた。今回、平滑筋収縮系の Ca^{2+} 感受性増強に新たに生合成されたATPが関与するか否かを検討した。【方法】ラット近位結腸縦走筋標本を膜透過性にした後、ATPとPCあるいはATPのみが存在する条件下での $1 \mu M$ Ca^{2+} 収縮に対するアゴニストやPKC活性化薬の Ca^{2+} 感受性増強作用を調べた。【結果】ATPとPC存在下において、 $1 \mu M$ Ca^{2+} によるtonic収縮が一定になったところで、carbachol (Cch)とGTP, GTP_rあるいはPDBuを処置すると更に収縮した(Ca^{2+} 感受性増強作用)。CchとGTPによる増強は低分子量Gタンパク質のRho活性を阻害するC3酵素処置により著しく抑制されたが、PKC阻害剤PKC₁₉₋₃₆によっては全く影響を受けなかった。PDBuの作用はPKC₁₉₋₃₆によってのみ抑制された。浴液からPCを除くと、これら作動薬の Ca^{2+} 感受性増強は認められなくなり、浴液中のATP濃度を2倍にしても作用は消失したままであった。creatine kinase阻害剤であるDNFB処置下においても、 Ca^{2+} 感受性増強は認められなくなった。浴液へのADP_rSの添加は Ca^{2+} 感受性増強に影響しなかったことから、 Ca^{2+} 感受性増強が認められないのは平滑筋細胞内のADPの蓄積によるものではない。PC除去下においても、phosphatase阻害剤を処置するとtonic収縮は著しく増加した。PC存在下にATPの代わりにADPを加えた条件下の Ca^{2+} 収縮において、各種作動薬は Ca^{2+} 感受性増強を示した。【結論】以上の結果は、平滑筋収縮系の Ca^{2+} 感受性増強にcreatine kinaseにより産生されたnewly synthesized ATPが必要であることを示唆している。

0-5-3. 自然発症糖尿病ラット結腸の運動障害に対する電気生理学的検討

名古屋市立大学第一生理
今枝憲郎, 高野博充, 鈴木 光

【目的】 NIDDMモデルの自然発症糖尿病ラットを用い, 遠位結腸輪走平滑筋において糖尿病性消化管合併症の一つである大腸運動障害の成因を電気生理学的に検討した. 【方法】 NIDDMモデルにOLETFラット, そのコントロールにLETOラットを用いた. 遠位結腸輪走筋の10 x 2 mm長の筋条片を切離し, Krebs液灌流下にガラス微小電極を平滑筋細胞に刺入し膜電位を測定した. また, 筋層間神経の経壁電気刺激により誘発される抑制性接合部電位(i.j.p.)を記録した.

【結果】 血糖はコントロール群 171 ± 36.0 mg/dl (n=9)に対しDM群では 370 ± 95.5 mg/dl (n=20)と高かった. 静止膜電位はコントロール群 -45.0 ± 2.1 mV (n=33)に比べDM群 -42.1 ± 2.4 mV (n=68)と有意に浅かった. Noradrenaline (NA, 10 nM ~ 10 μ M)は濃度依存的に膜を過分極させ, DM群ではNA 1 μ M (cont. 13.5 ± 3.0 mV, n=6; DM 9.1 ± 4.7 mV, n=12)と10 μ M (cont. 20.2 ± 2.6 mV, n=6; DM 15.1 ± 3.7 mV, n=12)において有意に抑制されていた. 神経刺激で誘発されるi.j.p.はatropine (1 μ M), guanethidine (5 μ M)で変化しなかったのでNANC i.j.p.と考えられ, NOS阻害剤のL-NNA (0.1 mM)では全く抑制されず, Ca^{2+} -activated K^+ channel blockerであるapamin (0.1 μ M)で一部抑制され, apaminとcharybdotoxin (ChTX, 0.1 μ M)の同時投与で消失した. i.j.p.の振幅は刺激の強さに依存して増大し, DM群においては振幅が有意に小さかったのと, 電気刺激より過分極が発生するまでの遅延時間がコントロール群 133 ± 9.3 ms (n=5)に対しDM群 145 ± 4.2 ms (n=5)と有意に延長していた. 【結論】 1. DM群では静止膜電位が浅く, NAへの感受性の低下が認められた. 2.ラット遠位結腸でみられるNANC i.j.p.には, apamin及びChTX感受性の K^+ channelの関与が示唆された. 3.DMラットでは自律神経障害によるi.j.p.の抑制が示唆された.

0-5-4. ヒルシュスプルング病腸管におけるExocytosis (開口放出) 関連蛋白質

杏林大学医学部小児外科, 同 生理学教室*
蕪澤融司, 伊藤泰雄, 関 信夫, 赤川公朗*

ヒルシュスプルング病の無神経節部腸管では増生した外来神経が無神経節部平滑筋に興奮性の神経支配を持つことが示唆されている. 今回はこの増生した外来神経におけるexocytosis (開口放出) 関連蛋白質の存在の有無を検討した. 対象はヒルシュスプルング病根治術時に得られた正常および無神経節部腸管を用いた. 開口放出関連蛋白質のうち, SNAP (soluble NSF attachment protein), NSF (N-ethylmaleimide sensitive fusion protein), synaptotagmin, synaptobrevine, HPC-1, SNAP-25の6種を選択した. 検索したすべての蛋白質がヒルシュスプルング病の正常部腸管神経系に存在することを確認した. 一方無神経節部では内輪筋の神経線維はSNAP, NSF, synaptotagmin, synaptobrevineでは明瞭に染色されたがHPC-1, SNAP-25の染色性は正常部に比較し低下していた. HPC-1を培養系の神経細胞で選択的に阻害すると樹状突起が増生することが実験的に確認されている. ヒルシュスプルング病患児より得られた正常S状結腸の神経系は6種の抗原に対して基礎実験に用いたラット直腸部と同様な染色性を示した. 一方, 無神経節部直腸の内輪筋層では6種のうちSNAP, NSF, synaptotagmin, synaptobrevineでは内輪筋内神経線維が染色されたのに対しHPC-1, SNAP-25では内輪筋内の神経線維の染色性は低下していた. 無神経節部腸管では正常部とは異なり外来神経が増生していることは良く知られているが増生の病態は不明である. 従ってヒルシュスプルング病無神経節部での外来神経の増生は同部でHPC-1の染色性が低下していることと関連している可能性もあり今後の検討を要する.

0-5-5. ヒルシュスプルング病無神経節結腸の増生外来神経に関する免疫組織学的研究

名古屋大学小児外科、*安城更生病院小児外科

渡辺芳夫、石黒土雄、安藤久實、瀬尾孝彦、村橋 修、原田 徹、伊藤不二男、金子健一郎、堀沢 稔*

ヒルシュスプルング病 (H病) の無神経節腸管では、粘膜下層と筋層間に外来神経が増生し、それぞれ独自の神経網を形成すると考えられる。H病の無神経節腸管の粘膜下層の神経と筋層間の神経の免疫組織学的特徴と、結腸の外来神経支配の解剖学的特徴を明かにする目的で、伸展標本を用いて検討し、興味ある所見を得たので報告する。**対象と方法**：H病根治術時に得られた結腸(n=6)と正常S状結腸(n=5)を対象とし、粘膜下層と固有筋層の伸展標本を作製し、免疫染色した。1次抗体は抗neurofilament 200 (NF)、抗PGP9.5、抗substance P (SP)、抗calcitonin gene related peptide (CGRP)、抗vasoactive intestinal peptide (VIP)、および抗tyrosine hydroxylase (TH)抗体を用いた。NFはTexas redで、その他の抗体はFITCで標識して2重染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、NFとその他の抗体陽性神経とを同時に観察した。**結果**：H病の肛門側無神経節腸管の筋層間には、SPとCGRPが少なく、VIPとTHの多い、縦走するNF陽性の太い神経束を認めた。太い神経束が分岐した細い神経線維は、NF陰性で、PGP 9.5が陽性、VIPは一部陽性、SP、CGRPおよびTHは陰性であった。粘膜下層では、NF陽性で、SP、CGRP、VIPとTHも陽性の神経線維と、NF陰性でPGP9.5陽性、VIP以外の抗体が陰性の増生した細い神経線維を認めた。正常対照の粘膜下層および筋層間の神経叢には、今回使用した抗体と陽性に反応する神経線維を多く認めた。**考察**：H病の無神経節結腸に存在する筋層間の外来神経は、SPとCGRPの陽性線維が少なく、交感/副交感神経の遠心性神経が主体であると考えられた。一方、粘膜下層には、SPとCGRP陽性線維が多く、副交感神経の求心性神経線維が多く含まれている。しかし、H病に特異的な粘膜下層の増生した神経の多くは、PGP9.5とVIPが陽性で、他の抗体が陰性であることから、筋層間の増生した神経に由来していることが推測された。

0-6-1. 雑種成犬を用いた排便運動に対する電気生理学的検討 (第2報)

国立栃木病院小児外科¹、慶應義塾大学医学部外科²、生理⁴、聖路加国際病院小児外科³
平林健^{1,2}、松藤凡³、横山穰太郎²、羽金和彦¹、吉岡成浩²、星野健²、森川康英²、北島政樹²、渡辺修一⁴、

排便運動に対する基礎的検討を目的として、雑種成犬を用い、仙骨神経に電気刺激を加えることにより、仙骨神経と、結腸ならびに直腸肛門管運動の関係を電気生理学的に検討した。

(対象) 雑種成犬を雌雄の区別なく用いた。

(方法) ①ストレインゲージ (以下 ST) を、近位結腸、遠位結腸、直腸、内肛門括約筋に横軸方向に縫着し、意識下排便時の各腸管運動を観察した。②椎弓切除を加え、仙骨神経を露出し、第1、第2、第3仙骨神経に電気刺激を加え、各腸管運動を観察した。

(結果) ①自然排便時は、遠位結腸の収縮に引き続き、直腸および内肛門括約筋が弛緩し排便が開始した。その後、遠位結腸から直腸及び内肛門括約筋に収縮運動が伝播し、排便が終了した。②仙骨神経電気刺激時に、6例中4例において、遠位結腸の収縮とともに、直腸に弛緩運動が生じ、6例中2例では、遠位結腸の収縮に遅れ、直腸に収縮運動が生じた。

(考察) 自然排便時は、遠位結腸に起こる収縮運動と同時に、直腸および内肛門括約筋に弛緩運動が生じ、排便が開始する。引き続いて直腸及び内肛門括約筋に収縮運動が起こり、排便が終了する。同様に、仙骨神経に電気刺激を加えることにより、遠位結腸の収縮運動と、それに連動した直腸の収縮運動を示す場合と、弛緩運動を示す場合が観察された。以上より、自然排便時に認めた結腸、直腸、肛門管にみる収縮弛緩の一連の運動に対して、仙骨神経の関与が示され、仙骨神経電気刺激を用いた下部結腸運動ペースメーカー作成の可能性が示された。

0-6-2. 安静時ならびに排便時における下部大腸運動に関する研究

金沢医科大学小児外科
谷内真由美、小沼邦男、伊川廣道

研究目的) 排便時における下部大腸の外来神経系の役割を明らかにすることを目的として、今回は排便を含む下部大腸運動を観察する実験犬を作成した。排便時、安静時、睡眠時について比較した。

実験方法) 2頭のビーグル犬 (約10kg) を全身麻酔下に開腹し以下の4カ所の大腸にSGT (strain gage force transducer) を装着した。: 1) 後腸間膜動脈流入部より5cm口側、2) 後腸間膜動脈流入部、3) 2の5cm肛門側、4) 腹膜翻転部。ここからの導線を体外に引き出しフォーストランスジューサー専用テレメーターDAS-800Tを介して術後1カ月より記録を開始しスターメディカル社製の解析ソフトエイトスターを用いて解析した。

結果) 2頭のビーグル犬でのべ15回の排便状態を記録した。1) 後腸間膜動脈流入部ならびに5cm肛門側の部位では他の部位よりも収縮頻度も収縮力も大きく活動性の亢進を認めた。2) 排便時にはその他の時間に比べて収縮頻度も収縮力も大きい傾向にあった。3) 排便時には4カ所全てのSGTから収縮波が測定された。これはgiant migrating contractionに相当すると思われ、すべての排便時に観察された。

0-6-3. 結腸移送時間遅延型慢性便秘症の病態生理学的検討

日本大学第一外科、同救急医学*

富田 涼一、宗像 敬明、五十嵐 誠悟、萩原 紀嗣、野中 倫明、丹正 勝久*

結腸移送時間遅延型慢性便秘症の病態解明を目的に手術摘出標本を用い壁内神経系について検討した。対象；排便回数が1回/1-2週の慢性便秘症例(A群)5例(男1例、女4例、40-64歳、平均51.8歳)の左結腸と、対照は排便異常のない早期大腸癌症例(B群)15例(男性6例、女性9例、44-68歳、平均55.2歳)の左結腸である。慢性便秘症例が結腸移送時間遅延型(特に左結腸)であることを追腸法、marker法、defecography法、anorectal manometry法などで確認し、subtotal colectomyを施行した。術後2-10年経過し排便回数は1回/1-3日で全例が満足している。方法；各種自律神経遮断剤、消化管ホルモンの反応をmechanogram法で検討した。成績；1)交感・副交感神経遮断前後のelectrical field stimulation反応；遮断前では収縮、弛緩反応は各々A群は55.6%、44.4%、B群は18.4%、81.6%で、A群はB群より有意に収縮反応を示した($p < 0.05$)。遮断後では収縮、弛緩反応は各々A群は38.9%、61.1%、B群は0%、100%で、B群はA群より有意に弛緩反応を示した($p < 0.01$)。2)交感・副交感神経遮断後のVIP反応；VIP($1 \times 10^{-7} \text{g/ml}$)投与で弛緩反応がA群22.2%、B群86.8%に認められ、B群はA群より有意に弛緩反応を示した($p < 0.01$)。3)交感・副交感神経遮断後のsubstance P反応；substance P($1 \times 10^{-7} \text{g/ml}$)投与で収縮反応がA群27.7%、B群89.5%に認められ、B群はA群より有意に収縮反応を示した($p < 0.01$)。結論；A群はB群より明らかに非アドレナリン非コリン作動性抑制神経、VIP神経、substance P神経が減少していた。以上のことより、A群には壁内神経系の異常が存在しており、そのために排便遅延を来しているものと考えられた。よって、subtotal colectomyはA群に適した手術術式である。

0-6-4. Hybrid Logistic Functionによるモルモット消化管運動数式化の試み

奈良県立医科大学第二生理学教室、第一外科学教室*

杉森志穂*、米田 諭、森田敏裕*、藤井久男*、中野博重*、高木 都

消化管運動の評価には、amplitude、frequency、およびそれらを組み合わせたmotility index等が用いられているが、いずれを用いても収縮・弛緩の各相の解析や、運動パターンの比較を行うのは困難である。今回、消化管運動の新しい評価法として収縮力-時間曲線の数式化を試みた。

【方法】Hartley系雄性モルモットから回腸末端部と、福原らによりpacemaker部位と名付けられた結腸自動運動発生部位を含んだ近位側結腸を摘出し、strain gauge force transducerを用いて、回腸末端部のフィールド刺激に対する単収縮と、近位側結腸の逆行性自動運動を等尺性に記録した。収縮力-時間曲線および最大収縮力とその時の時間で標準化した曲線を、コンピュータを用いて以下のHybrid Logistic Functionによってカーブフィットし、最適なパラメータA~Gを求めた。

$$F(t) = \frac{A}{1 + \exp\{-(4B/A)(t-C)\}} - \frac{D}{1 + \exp\{-(4E/D)(t-F)\}} + G$$

【結果】回腸末端部単収縮、近位側結腸自動運動はともにHybrid Logistic Functionによくフィットし、相関係数 $r = 0.9939$ 以上であった。標準化曲線のパラメータを、両者で比較すると、パラメータB以外のすべてのパラメータに差を認めた。

【結論】収縮力-時間曲線をHybrid Logistic Functionによるカーブフィットを用いて数式化することにより、回腸末端部の単収縮と、近位側結腸の逆行性自動運動のパターンに違いがあることが示された。今後、この方法を用いることにより、薬物投与による消化管運動の変化や、病態モデルでの消化管運動が定量的に評価できる可能性が示唆された。

O-6-5. 二分脊椎および脳性麻痺患児におけるSITZMARKSの利用

東北大学 心療内科¹⁾、総合診療部²⁾、拓桃医療療育センター³⁾
遠藤由香、福土 審¹⁾、本郷道夫²⁾、小林康子³⁾

【背景】二分脊椎 (SB) や脳性麻痺 (CP) 患者では、重症の便秘を認めることが多く、便失禁などの肛門機能障害も見られる。病態把握のためには消化管運動機能検査が有用であるが、小児では侵襲的な検査は困難である。【目的】検査手技が簡便かつ非侵襲的であるSITZMARKSを用いて、SBおよびCPの患児の消化管通過時間を測定し、病態を明らかにする。【対象および方法】SB 7例 (男3例、女4例、5~13歳)、CP 4例 (男1例、女3例、6~17歳) を対象とした。放射線不透過マーカー (SITZMARKS) 20個を朝食と共に内服させ、24時間毎に腹部単純写真を撮影し、体内のマーカーの移動を観察した。【結果】マーカー10個が下行結腸を通過する平均時間は、SB群では86時間、CP群では23時間で健常成人 (17時間) と比してSB群で顕著な延長を認めた。同様にS状結腸を通過する平均時間は、SB群では103+ α 時間、CP群では95時間で健常成人 (21時間) よりも顕著な延長を認めた。各撮影時間におけるマーカーの平均的分布状況を表すジオメトリックミーン (GM) は、両群とも健常成人より144時間までの全てのポイントで小さかった。S状結腸におけるマーカーの平均滞在時間は、SB群で計測可能であった4例の平均で29+ α 時間、CP群で72時間と健常成人 (2時間) より著明に延長していた。【考察】排便障害はSB群およびCP群に共通して認められる。しかしSB群では消化管通過時間全般が著明に遅延していたのに対し、CP群では下行結腸までの通過時間延長は軽度であり、S状結腸での滞在時間が著明に延長していた。従ってSB群では神経障害が消化管運動機能全般に影響を及ぼしている一方、CP群では障害の主体が直腸肛門機能であり、いわゆる outlet obstructionであると推測された。

0-7-1. ラット大動脈平滑筋におけるアンギオテンシン II の収縮制御機構

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、尾崎 博、唐木 英明

【目的】 レニン・アンギオテンシン系から産生されるアンギオテンシン II (AGII) は、血圧ならびに電解質調節に極めて重要な役割を果たす血管収縮性ペプチドである。AGII の血管平滑筋に対する作用についてはこれまで多くの報告があるものの、そのほとんどは培養平滑筋細胞を用いた解析であり、血管組織を用いた収縮機構の解析はほとんどなされていない。そこで、本研究ではラット大動脈標本を用いて Ca^{2+} とミオシンのリン酸化動態の解析から AGII の収縮制御機構について検討した。 【結果】 AGII (100 nM) による収縮は、筋小胞体からの Ca^{2+} 遊離による収縮 (第 1 相) と、これに 1 分以上遅れて発生する細胞外からの Ca^{2+} 流入に起因する収縮 (第 2 相) に分けられ、その後、筋は急速な脱感作により静止レベル近くまで弛緩した。この AGII 収縮は 1 型 AG 受容体 (AT_1 受容体) の特異的拮抗薬、KRH-594 により濃度依存性に抑制されたことから、 AT_1 受容体を介した収縮であることが示唆された。正常栄養液中での AGII 収縮において、第 1 相と第 2 相におけるミオシンのリン酸化量を高濃度 K^+ のそれと比べると、より少ない細胞内 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の増加で多くのミオシンのリン酸化が認められ、 Ca^{2+} 感受性増加作用が認められた。しかしこの時、第 1 相ではごくわずかの収縮反応が認められるのみで、ミオシンのリン酸化と収縮の間に乖離が認められた。一方、この乖離は第 2 相では消失し、ミオシンのリン酸化の増加に依存した収縮が発生した。ベラパミルと La^{3+} によって外液からの Ca^{2+} 流入を阻害した状態で AGII を投与すると、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は一過性に上昇するのに対して、ミオシンのリン酸化は一過性に増加した後も静止レベル以上のリン酸化量を示し、 Ca^{2+} 感受性の増加が認められた。この時の AGII 収縮は、正常栄養液中での反応と同様、反応初期では収縮とミオシンのリン酸化の間に乖離が認められ、その後ミオシンのリン酸化に依存した張力を発生した。 【考察】 以上の成績から、AGII による血管収縮の Ca^{2+} 感受性増加作用は、他の血管収縮性物質と比べて弱いことが示唆された。また、収縮の初期においては、他の受容体刺激による収縮と異なり、ミオシンのリン酸化量と収縮との間に乖離が認められた。

0-7-2. Thapsigargin は豚腎動脈において内皮依存性の収縮と弛緩の両反応を引き起こす。

九州大学医学部 心臓血管研究施設 分子細胞情報学部門
伊原 栄吉、平野 勝也、西村 淳二、金出 英夫

【目的】 血管内皮細胞は、収縮及び弛緩物質を産生する。血管局所における内皮依存性弛緩反応に関する研究は多いが、内皮依存性収縮反応に関する研究は少なく、その機序には未だ不明な点が多い。本研究では、Thapsigargin (TG) を用いて内皮依存性収縮、弛緩反応の機序を明らかにする。

【方法】 内膜温豚葉間腎動脈条片に蛍光色素 Fura-2 を負荷し、表面蛍光測光法を用いて平滑筋 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と張力変化を同時測定した。

【結果】 豚腎動脈を $1 \mu\text{M}$ phenylephrine で刺激すると、持続性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と張力発生を認めた。この収縮の最中に thapsigargin を投与すると、まず $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 低下を伴った一過性の弛緩反応、続いて急峻な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を伴った一過性の収縮反応が生じた。この 2 相性の反応は、10 nM 以上の TG で認められ、弛緩、収縮の両相とも濃度依存性に増大した。1 μM TG により、張力は弛緩相で投与前の $45 \pm 7.7\%$ に低下し、収縮相で $225.8 \pm 18.0\%$ に上昇した。NO 合成阻害剤、L-NAME (10 μM) で前処置すると、弛緩相の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と張力の低下は強く抑制され、収縮相の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と張力の上昇は、その程度に変化はなかったが、持続的になった。一方、thromboxane A₂ (TXA₂) / prostaglandin H₂ 受容体遮断薬、ONO-3708 (10 μM)、及び TXA₂ 合成酵素阻害剤、OKY-046 (10 μM) は、いずれも、収縮反応を強く抑制し、弛緩反応の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と張力の低下を増強し、持続的な低下とした。

【総括】 豚腎動脈において、TG は内皮依存性に、弛緩と収縮の両反応を同時に引き起こすこと、その弛緩には主に NO が、収縮には TXA₂ が関与することが明らかとなった。

O-7-3. イヌ脳底動脈伸展誘発収縮におけるフォスファターゼ抑制にともなう張力とミオシン軽鎖のリン酸化の乖離
静岡県立大学薬学部薬理学教室
小原一男、内野万有美、小出昌代、田辺山幸、中山貢一

【目的】平滑筋の収縮調節にミオシン軽鎖(MLC)のリン酸化が重要な役割を演じていると考えられているが、イヌ脳底動脈において緩徐(1mm/sec)な伸展刺激による張力の発生とMLCのリン酸化の間に乖離が認められたことから、今回、その発生機序について検討した。

【方法】イヌ脳底動脈リング標本に機械刺激装置により伸展を加え、発生した張力を等尺性に記録した。MLCのリン酸化は等電点電気泳動法/イムノブロットイング法により測定した。

【結果】テトラエチルアンモニウム(5 mM)存在下、緩徐伸展刺激により張力と細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) は一過性に上昇したが、伸展15分後にはほぼ静止状態まで減少した。一方、伸展刺激によりMLCのリン酸化量は増加するが、伸展15分後でもなおこの高レベルを維持していた。電気泳動により伸展時4本のバンドが認められた。伸展刺激による張力発生と伸展1分後のMLCのリン酸化の増加は、ミオシン軽鎖キナーゼ阻害薬のML-9(100 mM)前処置により完全に抑制されたが、伸展15分後のMLCのリン酸化量は薬物未処置のときの約50%にまで増加した。また、伸展刺激による張力発生直後にML-9を作用させると伸展15分後のMLCのリン酸化量は伸展1分後のものよりもやや増加する傾向が認められた。伸展15分後のMLCのリン酸化は低分子量G蛋白質Rhoの阻害薬C3により抑制された。一方、フォスファターゼ阻害薬のオカダ酸(OA)により80 mM KClによる収縮は抑制されたが、MLCのリン酸化量は高いレベルが維持されていた。また、OAによる電気泳動パターンは伸展時のものと類似していた。

【考察】以上の結果より、ミオシンフォスファターゼの抑制が張力の発生とMLCのリン酸化を乖離させる可能性が示唆された。

O-7-4. ウサギ門脈単離平滑筋細胞におけるカルシウムスパークと自発一過性外向き電流の同時測定
名古屋市立大学 薬学部 薬物治療学, *薬品作用学
山村寿男, 大井義明, *渡辺稔, 今泉祐治

自発一過性外向き電流(STOCs)は、細胞内に局在する Ca^{2+} 貯蔵部位である筋小胞体からの自発的な Ca^{2+} 遊離、すなわち“ Ca^{2+} スパーク”による大コンダクタンス Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネル(BKCaチャネル)の活性化により生じると考えられている。そこで、 Ca^{2+} スパークの二次元蛍光画像解析とSTOCsの電気生理学的測定とを高速走査型共焦点レーザー顕微鏡(Nikon RCM-8000)とホールセルパッチクランプ法を組み合わせると同時にを行った。ウサギの門脈を酵素処理することにより得た単離平滑筋細胞を-40 mVに電位固定し、 Ca^{2+} 蛍光指示薬として100 μ M fluo-3をパッチピペットから細胞内に負荷した。細胞内 Ca^{2+} 濃度の蛍光画像は、 170×27.5 あるいは $170 \times 55.0 \mu$ m で8.25ないしは16.5 msごとに取得した。その結果、1個の細胞内に1個もしくは複数の Ca^{2+} スパークが観測され、 Ca^{2+} スパークとSTOCsが同期して生じる現象が観察された。そして、STOCsに同期するような Ca^{2+} スパークは、比較的細胞膜直下(<1 μ m)に存在し、この部位で起こる Ca^{2+} スパークだけがSTOCsを生じさせることが示唆された。またSTOCとそれに対応する Ca^{2+} スパークの速度論的パラメーター(上昇時間・半値幅)は、ほぼ一致した。以上のことより、細胞膜直下に存在する筋小胞体のうちのいくつかによる Ca^{2+} スパークが近接する細胞膜上のBKCaチャネルを活性化し、1対1の関係でSTOCを生じさせることが示唆された。また、 Ca^{2+} スパークが細胞膜直下に占める面積とSTOCsの大きさの比較から、直下に Ca^{2+} スパークの生じるような筋小胞体が存在する細胞膜上にはBKCaチャネルが密集している可能性も示唆された。

0-8-1. STZ 誘発糖尿病ラット大動脈の弛緩反応及び収縮反応における慢性インスリン処置の効果
星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
小林恒雄、鎌田勝雄

糖尿病は様々な血管合併症を誘発し、当研究室においてもSTZ 誘発糖尿病ラット大動脈において内皮依存性弛緩、平滑筋収縮の異常を報告している。そこで今回我々は、長期的糖尿病状態は、さらに血管の何らかの構造的変化も引き起こしているのではないかと考え、streptozotocin 投与後 6 週間の進行した糖尿病ラットに、インスリンを処置することによる血管平滑筋収縮、及び内皮依存性弛緩反応の変化を検討した。実験には、雄性的 Wistar 系ラット、及び streptozotocin 75 mg/kg を尾静脈注射することにより作成した糖尿病ラットを用いた。インスリン処置群は、STZ 投与後 6 週間の動物にインスリンを 4 週間処置した。弛緩反応及び収縮反応は、摘出した胸部大動脈を螺旋状標本として用いた。mRNA の発現の変化の比較検討には、RT-PCR 法を用いた。ACh による内皮依存性弛緩反応は、糖尿病時に減弱したが、インスリン処置によって改善した。high-K⁺ の収縮反応は、糖尿病において減弱したものの、インスリン処置時に改善された。NA の収縮反応、及び L-NNA、indomethacin 前処置時の NA の収縮反応は、糖尿病時にはほとんど変化が見られなかったが、インスリン処置によって著明に増強した。 α_1 -receptor の mRNA の発現は、糖尿病時に変化は見られないが、インスリン処置時に α_1 -receptor の発現が増加していた。以上のことから、進行した糖尿病時にインスリンを処置することによっても、弛緩の減弱は改善することが示唆された。しかし、このような状態でのインスリン処置は、NA の収縮反応、感受性を増強した。この収縮反応の増加は、 α_1 -receptor の発現の増加によることが示唆された。

0-8-2. Fructose 誘発インスリン抵抗性ラットにおける胸部大動脈と腸間膜動脈床の血管機能変化

星薬科大学医薬品化学研究所機能形態研究室
北畑智英、鎌田勝雄

インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) ではインスリン抵抗性をきたすことが特徴的である。ラットに fructose を慢性的に処置すると、インスリン抵抗性を示し高血圧を誘発することが知られており、これは NIDDM モデルとなり得ることが報告されている。そこで今回、IDDM モデルとして STZ 誘発糖尿病ラット、インスリン抵抗性及び NIDDM モデルとして fructose 誘発高血圧ラットを用いて胸部大動脈及び腸間膜動脈床における血管機能変化を観察しインスリン抵抗性と高血圧の関連について検討した。

10 % fructose 水を 12 週間慢性的に投与することにより、高血糖、高インスリン血症、高血圧、さらには高 triglyceride 血症、高 cholesterol 血症を発症した。このことより、fructose 慢性処置により NIDDM のモデルを形成し、高血圧を合併することが示された。Fructose 誘発高血圧ラットにおいて、ACh による弛緩は胸部大動脈で有意に減弱し、腸間膜動脈床では変化がないこと、SNP による弛緩は胸部大動脈、腸間膜動脈床ともに変化がないことより、胸部大動脈において内皮細胞の障害が示唆された。また、Met による α_1 受容体を介した収縮反応が、腸間膜動脈床でのみ fructose 群で有意に上昇したことに関しては、腸間膜動脈床では内皮細胞障害認められなかったことから、この収縮の増大は α_1 受容体の感受性の増大、受容体数の増加が主な要因であることが示唆された。 β -agonist である Iso による弛緩反応が胸部大動脈、腸間膜動脈床共に fructose 群で有意に減弱したことより平滑筋細胞上の β 受容体の感受性の低下、受容体数の減少が示唆された。以上のことより fructose の負荷は、摘出部位選択性はあるものの様々な機能的血管障害を引き起こし得ることが示唆された。更にそれら血管障害が血管収縮を増大させ、高血圧を発症させる要因の一つであると考えられる。

0-8-3. ラット総肝動脈の非アドレナリン非コリン作動性神経性弛緩について

近畿大学高血圧研究所、*薬学部機能形態

島村佳一、山本和夫、関口富美子*、砂野 哲*

動脈平滑筋の収縮は血液中のアゴニストによる平滑筋の直接刺激および種々の内皮由来因子を介した間接的機構による調節のほか、神経性調節を受けている。ラット肝動脈では内皮依存性弛緩による調節は Zigmunt らによって明らかにされているが、神経性調節については知られていない。今回われわれはラット総肝動脈の非アドレナリン非コリン作動性神経性弛緩について検討した。

[方法] 5週齢の雌性ラットよりエーテル麻酔下に総肝動脈を摘出した。リング標本を作成し 37°C の Tyrode 液中で等尺性収縮力を記録した。標本をアルギニンバゾプレシンで収縮させ、電気刺激装置をもちいて矩形波パルスのフィールド刺激を加えた。

[結果] バゾプレシンによる安定な前収縮中にアセチルコリンを作用させると前報のとうり内皮依存性弛緩が観察された。グアネチジン処理およびアトロピン存在下に、バゾプレシン前収縮を発生させ電気刺激を加えると弛緩反応が観察された。刺激頻度を増加させると弛緩反応の増大および持続時間の延長がみとめられた。テトロドトキシン処理により電気刺激による弛緩反応は消失した。ニコチン作用させると電気刺激と同様の弛緩反応が生じた。電気刺激またはニコチンによる弛緩はニトアルギニン存在下にも観察された。高濃度のカプサイシンを作用させると電気刺激ならびにニコチンと同様のまたはより大きな弛緩反応が生じた。弛緩の持続は長いながらもとの張力に回復した。カプサイシン作用後の収縮中に電気刺激やニコチン作用させたが弛緩反応は生じなかった。

[考察] ラット総肝動脈にはカプサイシン感受性の非アドレナリン非コリン作動性血管拡張神経が存在することが明らかになった。一酸化窒素はこの弛緩に関与しないと考えられる。

0-9-1. Clenbuterol のラット子宮平滑筋収縮に及ぼす影響

山形大学産科婦人科
酒井 伸嘉, 広井 正彦

Clenbuterol (CL) は β_2 選択性の高い薬剤であり、気管支喘息や腹圧性尿失禁などの治療に用いられている。今回、我々は CL のラット子宮平滑筋収縮に及ぼす影響を、現在子宮収縮抑制剤として臨床的に最も応用されている β 刺激剤の ritodrine (RT) と比較検討した。方法として、非妊時、妊娠後期(妊娠第18日)及び分娩時(第22日)の Wistar ラットより子宮縦走筋標本を作成し、その等尺性収縮を Magunus 装置にて観察し、過剰 K^+ (40 mM) と oxytocin (10^{-8} M) 収縮に対する CL の抑制作用を RT と比較した。その結果、CL は RT 同様に過剰 K^+ と oxytocin の両誘発収縮を用量依存性に抑制した。CL (vs. RT) が過剰 K^+ 収縮を50%抑制させるには、非妊時ラットで 6.5×10^{-12} M (vs. 1.2×10^{-6} M)、妊娠後期(この時期のみ20%抑制として評価した)で 3.9×10^{-9} M (vs. 6.4×10^{-5} M)、分娩時で 9.0×10^{-8} M (vs. 4.1×10^{-5} M) の濃度を要した。また、oxytocin 収縮でのそれらは非妊時で 2.9×10^{-9} M (vs. 6.4×10^{-7} M)、妊娠後期で 4.3×10^{-13} M (vs. 3.3×10^{-8} M)、分娩時で 7.7×10^{-9} M (vs. 2.9×10^{-5} M) であった。さらに、非妊時ラットにおいて、過剰 K^+ 収縮後の CL 投与では RT に比較して desensitization がより早期に (td; 429 sec, vs. 731 sec)、強く (R/D; 0.19, vs. 0.04) 出現した。このように CL はラット子宮平滑筋において非妊時、妊娠後期、分娩時いずれの時期においても RT に比べ強力な収縮抑制作用が認められ、今後 desensitization に関する検討はさらに必要だが、子宮収縮抑制剤としての臨床応用が期待される。

0-9-2. 子宮局所感染モデルラットにおけるgap junction発現の検討

東京慈恵会医科大学産婦人科
斎藤絵美, 大浦訓章, 中野 真, 落合和彦, 田中忠夫

【目的】子宮内感染によって妊娠子宮平滑筋は収縮を起こし早産の原因に関与していることは明白な事実である。感染によってgap junctionが増加することは子宮収縮の原因のひとつである。gap junctionは子宮平滑筋の収縮の同調に役立つ細胞間接触であり、分娩直前に急激に増加をし、分娩後12時間では顕著に減少している。以前我々は妊娠10日目のラット腹腔内にE.Coliを接種した腹腔内感染モデルで、妊娠17日目の子宮筋gap junction数は非感染群と比較して増加していることを報告した。今回、子宮筋に直接E.Coliを接種し感染を起こしたモデルでgap junctionはどのくらいの期間維持しているのか、抗生剤治療にて発現にどのような影響をもたらすのか検討した。【方法】Wistar-今道系雌ラット(180~230g)に対し妊娠14日目に開腹、子宮筋卵膜間にE.Coliを接種した。対照は同部位に生食を注入した。接種菌量は 1.0×10^7 cfuと 1.0×10^5 cfuの2群。接種後1日目、5日目に開腹をし接種部の子宮筋を摘出した。また抗生剤使用群は、E.Coli接種当日より連日腹腔内に抗生剤を投与し5日目に子宮筋を摘出した。摘出した子宮筋束を電顕標本とし、細胞膜1000 μ mあたりに換算しgap junction数を比較した。【成績】対照群に対しE.Coli投与群では1日目、5日目ともgap junction数は増加していた。 1.0×10^7 cfuと 1.0×10^5 cfuの接種量群では、1日目より数が増加し両群間に有意差はなかったが、5日目では1日目よりも数が減少しており、 1.0×10^5 cfu群のほうが減少が顕著であった。抗生剤投与群では1日目では同様に増加していたが、5日目では対照群よりは増加しているものの抗生剤非投与群と比べると少なかった。【結論】感染によりgap junction数は増加し、感染は慢性期より急性期のほうが数は増加をしていた。しかし感染が強く組織学的に炎症性壊死所見がある場合は逆に減少した。抗生剤投与によってその数の減少傾向がみられたが対照群よりは増加しており、一度感染を起こすと子宮平滑筋は易収縮性になることが示唆された。

O-9-3. プタ子宮筋のacetylcholine誘発性収縮に関するmuscarine受容体subtypeの解明

酪農学園大学獣医学部薬理学教室
 種池哲朗、内山史一、広瀬佳代、北澤多喜雄

【背景と目的】子宮において、副交感神経節後線維より放出されるacetylcholine(ACh)は、muscarine受容体(m-R)に作用し筋収縮を興奮性に調節する。現在、m-Rは遮断薬を用いた結合阻害及び収縮抑制実験から、M1, M2, M3, M4の4種類に分類されており、子宮には主にM2 typeが存在するといわれている(ラット,モルモット)。しかし、子宮に存在するm-Rsubtypeは種差、性周期、妊娠により異なることが推測される。今回我々はプタ子宮筋に存在するm-Rの特徴を収縮、受容体結合及び細胞内情報伝達物質測定実験から明らかにする。【方法】収縮実験は、プ(発情前期)子宮角から作製した輪走筋標本(CM)を用いて行い、機械的活性は等尺性に測定した。平滑筋に分布するcholine作動性神経は、経壁電気刺激(TMS, 0.6msec)により興奮させた。受容体結合実験には、CMから作製した粗製膜試料を用い、m-R subtypeは、³H-QNB結合に対する遮断薬の解離能から推察した。子宮筋のinositol 1,4,5-trisphosphate(IP3)及びcAMPは、トリカゴ酢酸で抽出後assay kitで測定した。

【結果】①ACh(pD₂=6.08), carbachol(6.18), methacholine(6.35)及びmuscarine(6.33)は、CM標本を濃度依存性に収縮させた。一方、pilocarpine, McN-A-343では収縮反応は認められなかった。②AChによる収縮は、5種類のm-R遮断薬により競合的に抑制された。抑制力価(pA₂)は、4-DAMP(8.83)>tropicamide(7.17)>himbacine(7.01)>pirenzepine(6.42)>AF-DX116(5.96)の順であった。③TMS誘発性収縮は、4-DAMP(pIC₅₀=8.27), tropicamide(6.73), himbacine(6.4), pirenzepine(6.27), AF-DX116(6.00)により濃度依存性に抑制された。④³H-QNBは、1種類の受容体に飽和性に結合し、そのK_d及びB_{max}は0.92nM及び126.6 fmol/mg proteinであった。m-R遮断薬は、³H-QNB結合を濃度依存性に阻害した。作用力価(pK_i)は、4-DAMP(8.18)>tropicamide(6.78)>pirenzepine(5.46)>AF-DX116(5.12)の順であった。⑤AChは、子宮筋のIP₃量を一過性に増加させたが(5秒後、1.8倍, p<0.05)、cAMP量には有意な影響を与えなかった。【まとめ】遮断薬の力価順序、受容体刺激がIP₃生成を亢進することから、プタ子宮筋でACh収縮を仲介するm-RはM3 typeと考えられた。

O-9-4. ウシ毛様体平滑筋細胞に存在するムスカリン作動性非選択性陽イオンチャネルのノイズ解析

名古屋大医学部・眼科¹, 第一生理²

高井佳子¹, 徳納博幸², 高井章²

ウシ毛様体平滑筋には M₃ 型ムスカリン受容体刺激に伴い開口するある種の非選択性陽イオンチャネルの存在することが示唆されている[Takai *et al.*(1997) *Pflugers Arch.* **433**, 706-712]。今回、ノイズ解析の手法により、このチャネルの単位コンダクタンスと平均開口時間の推定を試みた。実験にはコラゲナーゼ処理により単離した平滑筋細胞を用い、カルバコール(CCh)投与に伴う膜電流の変化を全細胞クランプ法により観察した。電流記録は 2 kHz の取込み速度でデジタル化し、FFT 法によりパワー密度スペクトル(PDS)を求めた。細胞外灌流用の正常生理液の組成は次の通り (mM): NaCl, 127; KCl, 5.9; CaCl₂, 2.4; MgCl₂, 1.2; D-glucose 11.8; HEPES, 10 (pH7.4; NaOH で滴定)。液温は常に 30°C とした。電極は次の組成の液で満たした (mM): Cs-aspartate, 100; NaCl, 6; MgCl₂, 5; Na₂ATP, 5; HEPES, 20; BAPTA, 5; 遊離 Ca²⁺, 70 nM (pH 7.0; NaOH で滴定)。膜電位を -40 mV に固定した状態で CCh (2 μM) を 30 秒間だけ投与すると 10±1 pA (n=25) の内向きの電流が観察され、それに伴って明らかな電流ノイズの増加が見られた。投与開始から 5-15 秒の反応が安定した部分の PDS を計算し、投与直前 10 秒間の PDS を差し引いたものを反応の S(f) として算出した。こうして得られたデータは単一の Lorentz 関数 $S(f)=S(0)/[1+(f/f_c)^2]$ でよくフィットでき、それにより S(0)=0.14±0.01 pA²s, f_c=60±1 Hz (n=10) と推定された。これらの値より、CCh 投与により開口するチャネルは最低限 数 pS の単位コンダクタンスをもつこと、その平均開口時間は 20 ms 程度であることが予想される。

0-9-5. ラット脳幹の排尿と勃起の促進部位と抑制部位

琉球大学泌尿器科

菅谷公男、小田正美、呉屋真人、宮里 実、砂邊 毅、米納浩幸、宮里朝矩、小山雄三、

秦野 直、小川由英

目的：排尿機能と男性性機能は下部尿路を共に用いる。性機能が発現している間は排尿機能は抑制されているはずである。そこで、ラット脳幹の電気刺激で排尿か勃起に関与する部位を探索し、これらの部位が排尿と勃起の両機能にどのように関わっているのか検討した。

方法：SD系成熟雄ラット20頭を用いた。ハロセン麻酔下に両側尿管と膀胱頸部を結紮し、尿管中枢側は開放にし、膀胱頂部からカテーテルを挿入して等容量性膀胱内圧測定路とした。陰茎背神経には刺激用ワイヤー電極を設置し、陰茎海绵体に25 G針を刺入して陰茎内圧測定路とした。閉創の後、頭蓋骨を除去して上丘前縁で除脳し、麻酔を止めてラットを脳定位固定装置に固定した。陰茎背神経の電気刺激で陰茎内圧が上昇することと、等容量性律動性膀胱収縮が出現することを確認した後、脳幹内に刺激用ガラス電極を刺入して膀胱収縮誘発部位と陰茎内圧上昇部位を探した。脳幹刺激では陰茎内圧上昇中の膀胱内圧の変化を観察した。その後、一時的なハロセン麻酔下に胸髄を切断して脊損状態での膀胱内圧と陰茎内圧の変化を観察した。

結果：陰茎背神経の電気刺激では陰茎内圧が上昇し、その間の律動性膀胱収縮は抑制された。脳幹の電気刺激ではBarrington核の刺激で膀胱収縮が起こり、青斑下核と大縫線核の刺激で陰茎内圧の上昇と律動性膀胱収縮の抑制が観察された。急性脊損後は陰茎内圧は律動的に上昇しだし、陰茎背神経の刺激でも陰茎内圧の上昇が起こったが、膀胱は生食を膀胱内に追加注入しても膀胱収縮は起きなかった。

結論：勃起の中樞は腰仙髄にあり、排尿の中樞は橋のBarrington核である。脳幹は全体として勃起を抑制しているが、橋の青斑下核と大縫線核は勃起の惹起と排尿抑制の両方に関与している。

0-9-6. 結合実験法によるウシ前立腺における α_1 -アドレナリン性受容体サブタイプ性状の解析

1) 新潟薬大薬理、2) アリゾナ大学医学部薬理、3) 新潟薬大臨床薬理
長友孝文¹⁾、丸山恵子²⁾、中村隆志¹⁾、服部薫¹⁾、大貫敏男¹⁾、渡邊賢一³⁾

抗高血圧薬として臨床的に利用されている α_1 -アドレナリン性受容体遮断薬(α_1 -遮断薬)が、前立腺肥大症などの治療薬としても使用されるようになった。近年、我々の研究室も結合実験法によりウシ前立腺に α_1 -アドレナリン性受容体(α_1 -受容体)サブタイプが存在することを報告^{1, 2)}してきた。一方、 α_1 -受容体サブタイプの1つである α_{1L} -受容体(³H-prazosin に対して低親和性を示す)が前立腺にも存在し、その機能的役割などについても注目されている。そこで、この研究は、結合実験法を用いてサブタイプ(α_{1H} -および α_{1L} -受容体)に対する α_1 -遮断薬などの置換力価を評価し、ラット脳あるいは心臓の置換力価と比較検討した。【実験方法】ウシ前立腺より粗細胞膜を含む分画を遠心分離により分離し、結合実験法をおこなうまで -80°C にて保存した。結合実験法は、³H-prazosin を用いて、Scatchard 解析によりBmax 値および解離定数(Kd 値)を、また各薬物の置換力価(pKi 値)は置換実験によって求めた。【結果】ウシ前立腺の細胞膜には親和性の異なる2つの³H-prazosin の結合部位が存在した。Bmax およびKd は、101.6 nM, 11.8 fmol/mg protein(α_{1H} -受容体)および3371.4 nM, 50.5 fmol/mg protein(α_{1L} -受容体)であった。一方、各 α_1 -遮断薬の α_{1H} -および α_{1L} -受容体に対するpKi 値は、9.82 \pm 0.32, 8.65 \pm 0.14(プラゾシン)、9.13 \pm 0.47, 8.99 \pm 0.32(タムスロシン)、8.45 \pm 0.34, 6.95 \pm 0.38(アモスラロール)、7.78 \pm 0.31, 6.56 \pm 0.15(ラベタロール)および7.18 \pm 0.08, 7.10 \pm 0.35(ケタンセリン)であった。特に、タムスロシンは、他の薬物と比較して α_{1L} -受容体に対して高い置換力価を示した。また、ラット脳および心臓における α_1 -遮断薬のpKi 値についても報告する。

1) Maruyama et al. J Pharmacobio-dyn 14, 315-319 (1991)

2) Maruyama et al. J Pharm Pharmacol 44, 727-730 (1992)

P-1-1. モルモット胃幽門前庭部のslow waveに対するBa²⁺およびTEAの作用

藤田保健衛生大学総合医科学研究所
畑 忠善、富田忠雄

モルモット胃平滑筋における自発性電気活動であるslow waveの発生機序はまだ解明されていない点が多い。細胞内Ca²⁺で活性化されるK⁺チャンネルの遮断剤であるcharybdotoxinはslow waveの振幅を大きくし、収縮を増強させるが、発生頻度には影響を与えないと報告されている(Suzuki et al., 1993)。本実験では内向き整流K⁺チャンネルの関与について検討するため、このチャンネルを抑制するとされているBa²⁺およびTEAの作用を調べてみた。Ba²⁺は30-100μMの濃度で5-10mVの脱分極を起こし、slow waveの頻度を増加させるが、slow waveの持続時間を延長させる作用は示さなかった。外液のCa²⁺を1/3以下に減少させると5mV程度の脱分極と共に、slow waveの立ち上がり速度が遅くなり、持続時間が短縮し、頻度が落ちてくるが、これらの変化はBa²⁺によって回復する傾向はみられなかった。このことはslow waveの発生にL型のCa²⁺チャンネルを介しての内向き電流が関与していないことを示唆し、nifedipineが影響を与えないという結果と一致している。Ba²⁺による脱分極は内向き整流K⁺チャンネルが-65mV程度の膜電位付近でもある程度活性状態にあり、外液のK⁺を除いたときの脱分極もこのチャンネルを介した電流の減少が部分的に関与している可能性が考えられる。TEAも10-20mMの濃度でBa²⁺に似た作用を示すが、これらの作用以外にslow waveの上に大きいスパイクを発生させ、収縮を著明に増強させる。このスパイクおよび収縮の著明な増強はnifedipineで抑制され、細胞内Ca²⁺で活性化されるK⁺チャンネルのTEAによる遮断のためのCa²⁺の内向き電流の相対的増強で説明できる。

P-1-2. モルモット胃幽門前庭部輪走筋におけるslow waveを駆動している電位の性質

藤田保健衛生大学総合医科学研究所平滑筋学部門
富田忠雄、畑 忠善

モルモット胃幽門前庭部の輪走筋における自発性電気活動(slow wave)は、再分極相に肩が現れる場合が多い。この肩は20mV程度の上部の第2要素とそれよりも持続の長い(10-15sec) 10-15mVの下部の第1要素との移行部に対応していると考えられる。稀に、この第1要素と持続時間がほぼ等しく、40-50mVの振幅をもつ矩形波に近い形の電位が記録される。恐らくこの電位は周囲の平滑筋細胞に電気緊張的に第1要素として広がり、この脱分極によって第2要素を引き起こしているものと推測される。このためこの電位を駆動電位(driving potential)と呼ぶことにする。この電位は縦走筋層と輪走筋層の間、もしくは縦走筋層に面した輪走筋層から記録され、イヌの結腸の粘膜直下の輪走筋層の表層に存在している、いわゆる間質細胞(interstitial cell)が発生しているものと本質的に同じ電位と考えられる。

通常のslow waveの最大立ち上がり速度は0.1V/sec程度であるが、駆動電位は1V/sec程度で、振幅が大きだけでなく、立ち上がり速度が速い特徴がある。駆動電位はnifedipineで殆ど影響を受けないが、slow waveの第1要素の持続時間に影響を与えるもの(K⁺, Cl⁻除去、その後の再投与、caffeineなど)は駆動電位の持続時間にも同じ影響を与える。しかし、caffeineやcromakalimはslow waveの振幅を抑えるにもかかわらず、駆動電位の振幅には著明な影響を与えない。このことはslow waveと駆動電位は違ったイオン機構で発生してしていることを示唆している。いまのところ駆動電位が記録出来る頻度が低いため分析が充分出来ず、この電位のイオン機構については不明である。

P-1-3. 胃排出能からみた胃(球部)・空腸端側吻合術後の幽門輪機能の検討

近畿大学医学部第一外科

富室哲也、康 謙三、香山仁志、孫 永煥、丸山貴正

安富正幸

【目的】我々はPpPDの実験モデルとして「 Vater乳頭をボタン状に残して十二指腸を切除する方法」を用いている。このモデルでも幽門輪と球部を温存すると臨床例と同様に術後早期の胃排出遅延がみられたが大弯側幽門輪を一部切除する幽門輪斜切法によって術後の胃排活動態が良好となることを既に報告している。今回は全切除・部分切除・温存の3群の幽門輪機能を胃排出機能から検討した。

【方法】ビーグル成犬を全身麻酔下にて開腹し、幽門輪を全切除後十二指腸を空置しBillroth-Ⅱ法式に幽門空腸端側吻合を施行した切除群、幽門輪と球部2cmを温存し球部空腸端側吻合を施行した温存群、大弯側幽門輪を部分切除した斜切群の3群を作成した。各群とも迷走神経および右胃動脈は温存した。胃排出能の測定は試験食(カロリーメイト100ml、肉缶60g)にアセトアミノフェン0.5gを混入した食事を摂取させ、前、30、45、60分後に静脈採血し、血中アセトアミノフェン濃度(FPIA法)を測定した。術前と術後2、4Wに胃排出機能を測定し各群の比較検討を行った。

【結果】切除群では術前平均 11.2、術後2W 17.4、術後4W 18.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と術後2Wには急速排泄が認められ、温存群ではそれぞれ10.6、7.7、16.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と切除群とは逆に術後2Wでは胃排出遅延を認めたのに対し、斜切群ではそれぞれ13.0、11.6、16.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と術前と比較しても有意差なく経過していた。

【結語】Billroth-Ⅱ法式胃(球部)・空腸端側吻合術後の幽門輪機能を検討したところ、斜切群では温存群および切除群に比べ術後早期の胃排出運動は良好に保たれていた。

P-1-4. Ex vivo ラット十二指腸血管灌流モデルにおけるVIP、PACAPおよびNO(nitric oxide)の腸管運動に対する作用滋賀医大解剖¹、第二外科²、静岡県立大学大学院生活健康科学研究科³山本寛¹、桑原厚和³、藤村昌樹²、藤宮峯子¹

【目的】消化管平滑筋弛緩におけるVIP、PACAPおよびNOの作用は、muscle strip や isolated muscle cell を用いて詳細に調べられているが、腸管運動に対する作用は十分に検討されていない。今回、我々はラット十二指腸灌流モデルを用いてVIP、PACAPおよびNOの腸管運動に対する作用を検討した。

【方法】Wistar系雄性ラットを用いてex vivo 十二指腸血管灌流モデルを作成し、規則的、自律的な腸管収縮(Clusters of Phasic Contractions;CPC)からなる内圧波をモニターし、薬剤投与前後の10分間のmotor index(MI)の比すなわち%MI/10minを、収縮活性の評価に用いた。

【結果】VIP、PACAP27、PACAP38は用量依存性にCPCを抑制し、その抑制効果はatropine、hexamethonium、tetrodotoxinの前処置により影響されなかったが、VIP antagonistであるVIP(10-28)およびNO合成阻害剤であるN^G-nitro-L-arginine(L-NA)により阻害された。また、VIP、PACAPsは、tetrodotoxin存在下にacetylcholineにより増強されるCPCを完全に抑制した。さらに、L-NAの単独投与によりCPCは増強されたが、VIP(10-28)により影響されなかった。

【結論】VIP、PACAPsは平滑筋に直接作用し、ラット十二指腸の腸管運動を抑制した。この作用はNOを介すること、またVIP、PACAPsが平滑筋上の同一受容体を共有することが示唆された。

P-1-5. モルモット盲腸紐におけるイソプレナリン及びサルブタモールによる弛緩反応に関与する β -受容体サブタイプについて
東邦大学薬学部薬理学教室
堀之内孝広, 小池勝夫

今回、私達はモルモット盲腸紐におけるイソプレナリン（非選択的 β -活性薬）及びサルブタモール（選択的 β_2 -活性薬）による弛緩反応に関与する β -受容体サブタイプについて検討した。

イソプレナリン及びサルブタモールはモルモット盲腸紐において濃度依存的な弛緩反応を起こし、イソプレナリン及びサルブタモールの濃度反応曲線はプロプラノロール、ブプラノロール及びブトキサミンによって濃度依存的に右方に平行移動した。Schildプロットを行い、イソプレナリン及びサルブタモールに対するプロプラノロールの pA_2 値を求めたところ、それぞれ8.43と8.88であった。同様にイソプレナリン及びサルブタモールに対するブトキサミンの pA_2 値を求めたところ、それぞれ6.46と6.68であった。また、イソプレナリン及びサルブタモールに対するブプラノロールの pA_2 値はそれぞれ8.60と8.69であった。しかしながら、 β_1 、 β_2 及び α -受容体を介した反応を除去した条件下、即ち、アテノロール $3 \times 10^{-4}M$ 、ブトキサミン $10^{-4}M$ 及びフェントラミン $10^{-6}M$ 存在下においてはイソプレナリン及びサルブタモールによる弛緩反応はプロプラノロールによって影響を受けず、ブプラノロールによって右方へ平行移動した。Schildプロットによりブプラノロールの pA_2 値を求めたところ、イソプレナリン及びサルブタモールに対してそれぞれ5.77と5.97であった。

以上の結果から、モルモット盲腸紐においてイソプレナリン及びサルブタモールによって生じる弛緩反応は β_2 -受容体に加えて β_3 -受容体をも介していると考えられる。

P-2-1. 短腸症候群のトポグラフィックまたは等パワー胃腸電図
 新潟大学医学部生理学第二教室*、小児外科学教室
 本間信治*、八木 実、内山昌則、渡辺直純、岩渕 眞

序：トポグラフィックまたは、等パワー胃腸電図作成法による、マッピングにより、周波数帯域の最大パワー域 (maximal power foci=MPF) の分布表示が可能となった。上腹部3cpmのMPFは胃の活動を、下腹部の3-6cpmのMPFは大腸の、8-12cpmのそれは主に小腸の活動を反映する証拠を得てきている。今回は、新生時期から乳児期にかけて小腸広範囲切除が行われ、短腸症候群 (残存小腸4-43cm) となった6例の学童期の胃腸電図を27部位より記録し、マッピングを行い、検討した。方法：上腹部、下腹部、計27部位より仰臥位で胃腸電図 (時定数=5秒、high cut=0.5 Hz) を記録し、最大エントロピー法で周波数分析を行い、各周波数帯のMPFのマッピングをした。また、仰臥位で、全消化管透視ビデオ撮影を行い、造影剤の移動を追跡し、胃、小腸、大腸の位置、走行を確認した。また、へそ、剣状突起や前腸骨きょくを基準として、トポグラフィック胃腸電図との大きさのマッチング、対応を行い、各周波数帯のMPFの局在と、胃、小腸、大腸の位置、走行を比較した。結果：3-6cpmのMPFは胃、大腸の走行に、8-12cpmのMPFは小腸の走行に沿って、概ね一致するが、大腸の走行に8-12cpmのMPFも認められた。1cpmのMPFは胃、小腸、大腸の走行に沿っても認められた。平均加算でのMPFの数は空腹期では残存小腸の長さに比例する傾向が認められた。結語：周波数的検討で、小腸は8-12cpmの活動を主に、大腸の運動は広範囲の周波数活動をすると言う報告を確認できた。

P-2-2. 胃全摘、胃亜全摘、大腸全摘術前後のトポグラフィックまたは等パワー胃腸電図
 -手術前後のパワーの比較-
 新潟大学医学部、生理学第二教室*、外科学第一教室
 本間信治*、渡辺直純、丸田智章、長谷川潤、早見守仁、松尾仁之、田宮洋一、
 武藤輝一、畠山勝義

序：14-27部位から同時記録した胃腸電図をもとに、トポグラフィックまたは、等パワー胃腸電図法を開発し、最大パワー域 (maximal power foci=MPF) の局在 (胃腸電図マップ) を描くことが可能となった。胃全摘と胃亜全摘後は上腹部 (supraumbilical=S) の3cpmのMPFの数が減少し、大腸全摘術後は下腹部 (infraumbilical=I) の3-6cpmのMPFの数が減少することより、上腹部の3cpmのMPFは胃の活動を、下腹部の3ないし6cpmのMPFが大腸活動を反映していることを報告してきた。今回は術前後の胃腸電図マップに用いたデータの数値、ことにパワーの比較を試みた。

方法：右足くびを基準とした単極誘導で、上腹部17部位 (へそより上)、下腹部10部位の計27部位から胃電図 (時定数=5秒、high cut=0.5 Hz) を記録し、最大エントロピー法で周波数分析し、各周波数帯のMPFのマッピングを行った。

結果：胃全摘 (n=6)、胃亜全摘 (n=6) では、術後、3cpmのパワーの絶対値も減少傾向にあり、術後/術前のパワー比は対照 (=1) に比べ、有意に低下していた。大腸全摘術後 (n=7) は8cpmのパワーの絶対値が対照に比し増加していた。infraumbilicalに限局すると、3cpmのパワーの絶対値が大腸全摘群 (n=12) では、対照に比し、有意に減少していた。3と6cpmの (S/I) のパワー比は、大腸全摘群で増加傾向にあり、胃全摘、胃亜全摘群では減少傾向にあった。

結語：以上の結果は、上腹部1部位の双極誘導の結果とも一致し、上腹部の3cpmのMPFは主として、胃由来であり、下腹部の3-6cpmのMPFは大腸由来であると言う、これまでの想像を支持するものと思われる。

P-2-3. 動揺病に伴う胃電図の変化—ベクトル胃電図による試み—

¹航空医学実験隊, ²防衛医大生理学第2, ³同内科学第2, ⁴同防衛医学研究センター
徳丸治^{1,2}, 河野俊彦², 高田裕子¹, 水本千恵子¹, 宮原透³, 芦田廣⁴, 辰濃治郎²

【目的】一方向の誘導から得られる胃電図は、胃の位置の移動などにより振幅が変動するため、観察された電位の変化を解析することが困難である。小山らは、この欠点を補う方法として、直交する2方向で記録した胃電図からその軌跡を平面上に再構成するベクトル胃電図を考案し、等確率楕円を用いて振幅を含めた胃電図の解析を行った(小山ら, 1994)。我々は、直交する2方向で記録した胃電図により周波数帯域毎のベクトル胃電図を作成し、動揺病に伴う胃電図上の変化を解析した。【方法】動揺病は被験者を上下軸の周りに60度毎秒で回転させながら、軸を1Hzで前後に振らせる(0~30度)ことにより誘発した。電極配置は小山らの方法に準じ、剣状突起と臍とを結ぶ線分の上1/4の横断線をX軸(左向きを正方向)、左鎖骨中線をY軸(下向きを正方向)とした。データはサンプリング周波数32HzでA/D変換し、64秒を1エポックとして高速フーリエ変換を行い、各周波数成分毎にXY平面において合成されるベクトルの軌跡を描き、経時的な変化を観察した。【結果】3 cycle/min (cpm)付近の成分はその大きさや長軸の方向がほぼ一定の安定した楕円を描いていたが、それ以外の周波数ではこのような安定した軌跡は認められなかった。装置の回転が開始されると、3 cpmの軌跡の縮小や、長軸の向きの変化がみられた。Tachygastriaの成分に一過性に大きな軌跡が出現することもあったが、3 cpmのように安定して認められることはなかった。【考察】動揺病に伴って胃電図は3 cpmのパワーが減少し、より高い周波数帯域のパワーが増加すると言われている(Stern, et al, 1987)。3 cpm付近に安定して認められた楕円の軌跡は胃電図のペースメーカーを反映していると考えられる。我々のベクトル胃電図を用いた解析により、動揺病時の胃電図上の変化をこのペースメーカーの変化と他の周波数における一過性の波として捕らえることが可能であると考えられる。

P-2-4. マイクロマノメトリーを用いた未熟児の食道と下部食道昇圧帯(LES)機能の検討

大阪大学小児科¹, Gastroenterology², Neonatology³ and Biomedical Engineering⁴, Women's and Children's Hospital, Gastrointestinal Medicine⁵, Royal Adelaide Hospital, Adelaide, 大阪大学小児外科⁶
三木 和典^{1,2}, Taher Omani², Geoffrey Davidson², Robert Fraser⁵, Ross Haslam³, Wendy Goldsworthy³, Malcolm Bakewell⁴, 川原 央好^{5,6}, John Dent⁵

胃食道逆流(GER)は未熟児でよく見られるが、その病態生理についてはほとんど知られていない。私たちは、マイクロマノメトリー・システムを用いて、食道とLESの運動機能を調べた。【対象と方法】Adelaide Women's and Children's Hospital入院中の合併症のない健康な未熟児・新生児25例(修正在胎週数33-40週)を対象とした。脱気した滅菌蒸留水を0.05 ml/分/channelの速度で灌流し、食道体部・LES・胃内圧を測定した。最初の12例(32 studies)は、LES圧を授乳前後15分間測定し、次の20分間は食道体部とLESの運動を同時に記録した(Study1)。次の13例(28 studies)は、授乳終了後2時間食道体部とLESの運動パターンを記録した。胃内容の逆流は、common cavity episodeにより内圧的に同定した(Study2)。【結果】Study1では、授乳前後とも、食道胃接合部に昇圧帯(LES)が認められ、LESは嚥下とほぼ同時に弛緩した。LES圧(平均±SEM)は、授乳前が授乳後より高値であった(20.5±1.7 vs. 13.7±1.3 mmHg, p<0.0005)。食道体部運動では、蠕動波(26.6%)が非蠕動波(同時収縮波 31.1%・伝播障害波 34.6%・逆蠕動様波 6.3%)に比べ少なかった。Study2では、511回のLES弛緩のうち、55%が単一嚥下波に、23%が多発嚥下波に伴うもので、22%が一過性LES弛緩(TLESR)であった。Common cavity episodeの大部分(94%)はTLESRの間に起こった。Common cavity episodeを伴うTLESRは、伴わないTLESRに比べLES弛緩時間が長かった。【結論】健康な未熟児では、TLESRがGERの主要なメカニズムであることが示唆された。一方、食道体部の運動機能はまだ十分に統合されておらず、逆流物のクリアランスの悪さにつながる可能性があると考えられた。

P-2-5. ラット空腸における外来神経除去後の腸管筋層間神経叢への影響

関西医科大学第2外科、*第2解剖

明平圭司、中根恭司、飯山 仁、井上健太郎、佐藤睦哉、奥村俊一郎、岡村成雄、
日置紘士郎、*上山禎造、*杉本哲夫

(目的) 胃全摘術などの再建腸管運動に関与する外来神経の影響をみるために、基礎研究としてラット空腸を用いて外来神経除去後の腸管筋層間神経叢(Auerbach神経叢)の変化を免疫組織学的に検討した。

(方法) SD系雄性ラットを用いて、A群：外来神経除去+腸管両端切離再吻合、B群：外来神経除去+腸管両端切離再吻合、C群：単開腹の3群の慢性実験ラットモデルを作成した。次に術後2週、4週、6週、8週のA群、B群の各ラットを環流固定した後、腸管を摘出し、各免疫染色(CGRP(カルシトニン遺伝子関連ペプチド)・VIP(血管作動性腸管ペプチド)・galanin)およびNADPH(NOの活性酵素)染色した上で各視野内の神経線維をカウントし、腸管筋層間神経叢の変化を比較検討した。

(結果) B群においては、各染色および各術後で神経線維に変化は認めなかった。A群においては、VIP、NADPHの各染色では、術後神経線維に変化はなかったが、galanin染色では、術後経過とともに神経線維は減少し、術後8週でほぼ消失していた。また、CGRP染色では、神経線維は術後2週でほとんど消失しており、術後6週より徐々に再現しはじめ、術後8週でほぼ50%再現していた。

(結語) 1.ラット空腸を用いて腸間膜の外来神経が腸管神経叢へ与える影響を免疫組織学的に比較検討した。2.CGRPおよびgalanin各染色では、外来神経除去後早期には腸管筋層間神経叢において神経線維の減少を認め、術後8週になるとCGRP染色では、神経線維の再現を認めた。3.外来神経除去は、腸管の収縮運動に関与しているコリン作動性神経に強いダメージを与えており、長期経過とともに回復してきていると考えられる。

P-2-6. ブタ消化管運動に対するモチリンの役割とインシュリンおよび血糖の関連性

○原 茂雄¹、原 尚道¹、山本園子¹、富澤伸行¹、斎藤敬司²、鈴木秀樹³、水本良明³、伊藤 漸³
岩手大学農学部獣医学科家畜外科学教室、²CSKリサーチパーク、³群馬大学生体調節研究所

目的：空腹期運動を調節するとされている motilin が、ブタの肛側伝播性強収縮波群(IMC)の発生に対してイヌと同様の作用を持つか調べた。また、空腹期における消化管運動と内因性 insulin および血糖の関連性についても検討した。さらにアトロピン(Atr) およびヘキサメトニウム(C6) を用いて motilin の作用の神経伝達経路について検討した。**材料と方法**：ミニブタ(5頭、体重43-62kg)を用いた。運動の導出には胃体部、幽門部、十二指腸、空腸および回腸に force transducer を8個縫着し、臓器運動測定装置(スターメディカル製)を用いて連続的に行った。またブタ motilin のアナログである Leu¹³-motilin(LMT)を0.3, 0.1, 0.03, 0.01 μg/kgの用量で投与(i.v.)した。さらに Atr (0.06mg/kg i.v. 後0.06mg/kg/h)および C6 (2.0mg/kg i.v. 後 2.0mg/kg/h)の投与下にLMT0.3 μg/kgを投与した。LMTの投与時期は絶食30時間以降における胃運動の休止期とし、自律神経遮断薬の投与はLMT投与の10分前とした。実験中の血中 motilin 濃度をRIA法、insulin 濃度をenzyme immunoassay 法、血糖を血液自動分析装置で各々測定した。胃十二指腸の収縮反応の分析には画像解析ソフト(NIH image, USA)を用い、投与前後の波形面積を比較・検討した。**結果**：ブタの空腹期における胃体部、幽門部および十二指腸以下の小腸の収縮運動はIMCとして認められた。motilin 濃度は空腹期において周期的に変動し、その濃度の上昇に従って胃に強収縮(phase III)が発生した。insulin は motilin とほぼ同調して変動したが血糖値に著変は認められなかった。空腹期におけるLMT投与により用量依存性に胃・十二指腸球部にphase IIIが発生したが、それ以下では認められなかった。またLMT投与による胃の収縮反応および内因性 insulin は、Atr および C6 によって抑制された。**考察**：motilin は空腹期における胃小腸のIMCの発生に関与しており、その作用機序はコリン作動性神経を介しているものと考えられた。なお、IMC発生に対する insulin および血糖、LMTの関与についてさらに検討を要することが考えられた。

P-2-7. Barostat System による W 型回腸囊内圧測定

新潟大学第一外科¹⁾、同第二生理学教室²⁾

早見守仁¹⁾、本間信治²⁾、丸田智章¹⁾、長谷川 潤¹⁾、渡辺直純¹⁾、
松尾仁之¹⁾、畠山勝義¹⁾

目的：当科では潰瘍性大腸炎治療に大腸全摘術後、W型回腸囊を作成 (IPAA) し良好な QOL を得てきている。我々は回腸囊機能を評価するため、その内圧変化と経皮的電気現象を記録、解析してきた。今回は、Barostat System を用い、W型回腸囊のコンプライアンスを測定する事を目的とした。方法：W型回腸囊の 6 例を対象とした。作成したバルーンを経肛門的に回腸囊内に挿入し、SVS/Barostat system (Synectics) を用いて 2 分毎に 2mmHg ずつ負荷圧を上昇させた時の容量を記録し、回腸囊コンプライアンスを測定した。計測中、①最初にバルーンの膨張を感じた時、②最初に便意を感じた時、③これ以上耐えられないと感じた時を申告してもらい、それぞれ①感覚閾値容量、②最少排便感容量、③最大耐容量とした。あわせて当科作成の排便機能等にアンケート形式で答えてもらい、臨床スコアとした。結果：感覚閾値容量は $108.5 \pm 23.2\text{ml}$ (mean \pm SE, n=6) であった。最少排便感容量は $233.8 \pm 45.9\text{ml}$ であった。最大耐容量は $295.2 \pm 34.6\text{ml}$ であった。感覚閾値容量と最少排便感容量間、最少排便感容量と最大耐容量間に正の相関を認めた。最少排便感容量時のコンプライアンスは最大耐容量と正の相関を認めた。最少排便感容量時と最大耐容量時のコンプライアンスはそれぞれ 17.2 ± 4.6 、 $10.3 \pm 2.9\text{ml/mmHg}$ であり、術後期間、排便機能臨床スコアとの間に正の相関を認めた。また単位時間内の相動的容量変化波の数 (PVE) と臨床スコアの間には負の相関が見られた。考察：排便臨床スコア、最少排便感容量時と最大耐容量時のコンプライアンスは術後期間と正に相関しており、IPAA の機能は術後期間とともに改善していることが示された。最少排便感容量時のコンプライアンスは最大耐容量と正の相関があり、便貯留量を反映するものと考えられた。自覚的臨床スコアの改善は、機能的には回腸囊のコンプライアンスの増大と PVE の回数の減少が関与するものと考えられた。

P-3-1. ウサギ動脈における α_{1A} -アドレナリン受容体サブタイプを介する収縮反応の検討

東邦大学薬学部薬理学

佐藤 光利、榎本 圭介、高柳 一成、小池 勝夫

ウサギ動脈において、 α_1 -アドレナリン受容体の受容体数が部位によって異なっていること、そして、この受容体数は作用薬に対する反応性とよい相関を示すことをすでに高柳ら(1991)は報告している。また、ウサギ動脈には複数の α_1 -アドレナリン受容体サブタイプが存在することも報告されている。本実験では、 α_{1A} -アドレナリン受容体サブタイプに着目して、この受容体サブタイプを介した収縮反応の性質と受容体数との関係を検討した。10週齢の雄性日本在来種白色家兔を撲殺瀉血後胸部および腹部大動脈、腸間膜、腎および腸骨動脈の5部位を摘出し内皮除去標本作製した。収縮実験では標本を35℃に保温し、95% O_2 +5% CO_2 の混合ガスを十分通気した栄養液内に懸垂し、等尺性に収縮反応を測定した。また、各部位の膜標本を用いて $[^{25}I]$ HEATの結合実験を行った。Ca²⁺チャネル拮抗薬のニカルジピン(10⁻⁵ M)存在下でノルエピネフリン収縮に対する5-メチルウラピジルのpA₂値は6.73~7.06となり低い値を示した。Ca²⁺非存在下におけるノルエピネフリン収縮に対する5-メチルウラピジルのpA₂値も6.83~7.12となり低い値を示した。クロロエチルクロニジン処理後のノルエピネフリンのpD₂値は腸骨動脈>腎動脈>腸間膜動脈>腹部大動脈>胸部大動脈の順になった。クロロエチルクロニジン処理標本における $[^{25}I]$ HEAT結合実験では各々の部位でHillプロットから得られたHill係数は1と有意な差は無く解離定数(K_d値)は0.20~0.26 nMの一定の値を示した。また、収縮実験から得られたノルエピネフリンのpD₂値と $[^{25}I]$ HEAT結合実験から得られたBmax値の対数は、良い相関性を示した(傾き=-0.69, r=0.961)。以上より、ウサギ動脈系における α_{1A} -アドレナリン受容体サブタイプを介した収縮反応性の部位差は一部には受容体密度の差によることが示唆された。

P-3-2. 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット脳底動脈における内皮依存性弛緩の障害

近畿大学薬学部機能形態学研究室 *高血圧研究所

奥田広志、島村佳一*, 山本和夫*, 関口富美子, 砂野 哲

血管内皮は内皮由来の多くの因子を遊離して、血管平滑筋の収縮を調節しており、内皮依存性弛緩にはNOやEDHFが関与することが知られている。高血圧ラットで内皮依存性の減弱が報告されており、我々はSHRSPを用いてaortaなどで内皮依存性弛緩の減弱について検討してきた。本実験では、ラット脳底動脈における内皮依存性弛緩に関与する諸因子について検討した。

[方法] 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)および対照の正常血圧ラット(WKY)から、エーテル麻酔下に脳底動脈を摘出し、巾1.5 mmのリング標本作製し37℃のTyrode液中で等尺性収縮を記録した。その際、標本は10⁻⁸ Mのバゾプレシンで前収縮を発生させた。

[結果] 内皮正常標本は、バゾプレシン前収縮中にアセチルコリンを作用させると濃度依存性の弛緩が生じ、内皮除去標本は弛緩が生じなかった。10⁻⁵ Mのアセチルコリンは最大弛緩を形成し、時間経過の早い相(第1相)と遅い相(第2相)とで構成されていた。最大弛緩の大きさはSHRSPでWKYに比べ減弱していた。NO合成酵素阻害薬のニトロアルギニン存在下では、第2相が消失したが第1相はほとんど同じ大きさで残存した。ニトロアルギニンとK⁺30 mM存在下ではアセチルコリン弛緩は完全に消失した。内皮除去標本において、NO donorのSNPやK⁺ channel openerのpinacidilによる弛緩は、SHRSPとWKYの間で差がみられなかった。

[考察] ラット脳底動脈において、アセチルコリンは二つの相よりなる内皮依存性弛緩を起こした。第1相と第2相は、それぞれ主にNOとEDHFが関与していることが示唆された。

P-3-3. モルモット食道粘膜筋板における外液 Ca^{2+} 依存性カフェイン収縮

獨協医科大学 薬理学
内田幸介、上川雄一郎

種々の平滑筋臓器において、高濃度のカフェインは細胞内貯蔵 Ca^{2+} の放出による一過性の収縮を引き起こすことが知られている。これまでわれわれは、モルモット食道粘膜筋板での受容体作動薬(アドレナリン、アセチルコリン、ヒスタミン、エンドセリン)による収縮反応が、細胞外液の Ca^{2+} 依存性で、受容体作動性 Ca^{2+} チャネルを介するものであり、細胞内貯蔵 Ca^{2+} の放出はほとんど関与しないことを報告してきた。そこで今回、この標本におけるカフェイン収縮の特徴を検討した。Hartley系雄性モルモットから摘出した食道粘膜筋板において、カフェイン(10mM)は通常の Tyrode液中(Ca^{2+} 1.8mM)では、わずかな一過性の収縮反応を引き起こした(カルバコール $10\mu\text{M}$ による最大収縮高の10%以下)。しかし、Tyrode液中の Ca^{2+} 濃度を、2倍(3.6mM)、3倍(5.4mM)に増やすと、 Ca^{2+} 濃度の上昇に伴って、カフェイン(10mM)による収縮高は増大した(カルバコール $10\mu\text{M}$ による最大収縮高の50%程度)。このカフェイン(10mM)による一過性の収縮は、 Ca^{2+} -free EGTA(0.1mM)含有 Tyrode液中では完全に消失した。また、この収縮反応はニカルジピン($0.3-1\mu\text{M}$)の前処置によってもほとんど抑制された。これらの結果から、モルモットの食道粘膜筋板におけるカフェイン収縮は、電位依存性L型 Ca^{2+} チャネルを介した細胞外からの Ca^{2+} 流入によって起こるものであり、細胞内貯蔵 Ca^{2+} の放出はほとんど関与しないものと考えられる。

P-3-4. モルモット気管平滑筋における isoprenaline および sodium nitroprusside による弛緩作用と外液Naイオン濃度

名古屋大学第2内科、藤田保健衛生大学総合医科学研究所*
竹本正興、高木健三、荻野佳代*、富田忠雄*

モルモット気管から摘出した平滑筋における carbachol (Cch, $1\mu\text{M}$)による持続性収縮は外液の Ca^{2+} 濃度に強く依存し、 $0.1\mu\text{M}$ isoprenaline (IPN) および $3\mu\text{M}$ sodium nitroprusside (SNP) によってほぼ完全に抑制される。この弛緩は nifedipine によって影響を受けず、筋小胞体(SR)の Ca^{2+} の取り込みを阻害する thapsigargin あるいは cyclopiazonic acid でも弱い影響しか受けない。これらの結果は IPN および SNP による弛緩作用には L 型チャネルを介した Ca^{2+} 流入の抑制はなく、SR への Ca^{2+} の取り込みの促進もあまり関与していないと考えられる。外液の Na^+ を N-methyl-D-glucamine (NMDG) あるいは sucrose で置換すると、NMDG では非常に弱い収縮しかみられないが、sucrose では Cch の場合の $1/4$ 程度の収縮が発生する。この収縮は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を伴っている。Cch 収縮の途中で Na^+ を除くと、濃度依存性に NMDG でも sucrose でも弱い抑制がみられ、完全置換では約 30% 程の弛緩が起こる。また、IPN による弛緩も SNP によるものも Na^+ を除くと同程度に濃度依存性に抑制され、 Na^+ 濃度が正常のときの 5% 程度の弛緩しかみられなくなる。 Na^+ 除去による弛緩の抑制作用は Na^+ を再投与することにより 5 分程度でほぼ完全に回復する。 K^+ 除去や ouabain ($10\mu\text{M}$) によっても Na^+ 除去と同様に IPN および SNP の弛緩作用は強く抑制される。IPN および SNP による弛緩は Na^+ または K^+ 除去あるいは ouabain で抑制されるので、これらの弛緩には Naポンプの活性化で細胞内 Na^+ 濃度が減少し、この結果 Na-Ca 交換過程を介して細胞内 Ca^{2+} 濃度が減少するという機序が関係している可能性が考えられる。

P-3-5. Guinea pigの前立腺平滑筋の収縮性に対する加齢の影響

札幌医科大学医学部泌尿器科学教室¹⁾・同第1生理学教室²⁾
 田中吉則¹⁾・舩森直哉¹⁾・塚本泰司¹⁾・長島雅人²⁾・當瀬規嗣²⁾・藪 英世²⁾

【目的】前立腺肥大症による排尿障害は加齢とともに増加する。前立腺肥大症による下部尿路閉塞は、腺組織の腫大に加えて前立腺平滑筋の緊張の増大が関与していると言われている。そこで、8週齢と12ヶ月齢Guinea pigの前立腺平滑筋を用いて、前立腺平滑筋の収縮の特徴を薬理学的手法を用いて検討した。【対象と方法】8週齢と12ヶ月齢のGuinea pigの前立腺より平滑筋切片を作製した。筋切片を95% O₂と5%CO₂の混合ガスにて通気し、37°Cに保ったphysiological salt solution液を満たしたorgan bath内に0.5 gの張力を加えて懸垂固定し、等尺性収縮を記録した。【結果】100mMの高濃度KCl溶液の投与によって惹起された収縮については、単位質量あたりの張力において加齢による明らかな違いを認めなかった。また、収縮張力は細胞外Ca濃度により濃度依存的に増大し、Ca遮断薬であるnisoldipineにより抑制された。一方、 α 交感神経作動薬であるphenylephrineでも収縮が起こり、その張力は濃度依存的に増大した。また、その濃度張力曲線は、8週齢と比較して12ヶ月齢の前立腺平滑筋において高濃度側にシフトしていた。protein kinase Cのactivaterであるphorbol 12 myristate 13 acetate (PMA) (10^{-11} ~ 10^{-6} mM)では両群とも収縮は起こらなかった。【結論】高濃度KCl収縮は加齢によって影響を受けず、収縮機構自体の変化は起こらないと考えられた。また、高濃度KCl収縮は電位依存性Ca channelの関与が考えられた。一方、 α 交感神経作動薬による収縮は、加齢により影響を受けたがその反応性はむしろ低下していた。また、 α 交感神経作動薬による収縮は、protein kinase Cを介さない経路が関与していると考えられた。

P-3-6. ラット子宮縦走筋ミオシン軽鎖のリン酸化に及ぼすオキシトシンの影響

佐賀大学応生科、*福岡大学産婦人科、#佐賀医科大学産科婦人科
 杉元 和宏、塚本 卓治、*瓦林 達比古、#杉森 甫

【目的・方法】ミオシン軽鎖は、子宮平滑筋において、自発収縮発生に重要な役割を有している。妊娠ラット子宮平滑筋は、内膜側の輪走筋と漿膜側の縦走筋とに分離することが出来る。今回、輪走筋とくらべ娩出力により直接関与すると考えられている妊娠ラット子宮縦走筋を研究試料として用いた。また、脳下垂体後葉ホルモンの1つであるオキシトシンは、子宮平滑筋の自発収縮を顕著に促進する。そこで本研究では、妊娠中の哺乳動物子宮平滑筋の自発収縮調節機構におけるオキシトシンとミオシン軽鎖の役割についての知見を得るため、妊娠中期(15日目)、妊娠後期(18日目)及び、妊娠末期(21日目)のラット子宮から縦走筋組織片を調製し、そのミオシン軽鎖に及ぼすオキシトシンの影響をイムノブロット法を用いて調べた。【結果】抗ミオシン軽鎖抗体により20 kDaと15 kDaとの見かけ上分子量の異なるミオシン軽鎖が検出された。また、この見かけ上二種のミオシン軽鎖の検出は、ミオシン軽鎖のリン酸化による可能性が考えられた。そこで、Western ブロット後、抗リン酸化セリン抗体及び抗リン酸化トレオニン抗体と反応させたところ、見かけ上、15 kDaのミオシン軽鎖のみが抗リン酸化セリン抗体及び、抗リン酸化トレオニン抗体と反応することが認められた。この泳動度の異なる2つのミオシン軽鎖は各妊娠周期のラット子宮縦走筋で観察された。しかしながら、オキシトシン処理した縦走筋の場合、試験されたすべての妊娠周期において見かけ上15 kDaのミオシン軽鎖の上昇が認められた。更に、その上昇の程度は、妊娠21日目において最も顕著であった。