

23. マイクロダイアリス法による小腸壁内神経からのACh遊離の測定

1)長崎大学医学部第二外科 2)同第二薬理

古市 哲¹⁾、谷山紘太郎²⁾、中尾勲一郎¹⁾、高原 裕¹⁾、円城寺昭人¹⁾、古井純一郎¹⁾、兼松隆之¹⁾

【目的】消化管運動においてアセチルコリン (ACh) は重要な神経伝達物質であり、現在in vitro下にて、アイソトープ (³H-choline) を取り込ませた摘出モルモット腸管からの³H-ACh遊離の測定が行われている。しかし生体下でのACh遊離の測定は困難とされ、未だその測定は国内外のいずれでも行われていない。ACh遊離の測定を生体下に行うことで、様々な状況下 (消化管運動調節剤の注入など) での神経伝達と消化管運動との関係、薬物効果の判定などが直接証明されるのではないかと考え、中枢神経系で用いられているマイクロダイアリス法を適用し、直接ACh遊離の測定を試みた。

【方法】雑種成犬を用い小腸辺縁動脈のやや中枢に薬剤動注用のカテーテルを挿入し動注モデルを作製した。動注にて灌流される範囲の小腸壁にstrain gauge force transducer及び小腸壁内筋層に壁内灌流用カテーテル (臓器用透析プローブ: EICOM社) を固定した。Cisapride (消化管運動賦活調整剤) を動注用カテーテルよりA群: 0.001mg/kg・min、B群: 0.003mg/kg・min、C群: 0.01mg/kg・minを各々2分間かけて投与した。Cisapride投与前、投与後でのACh値の変化をHPLC-ECDにて測定し、同時に腸管の運動の変化をstrain gauge force transducerを用いて測定した。

【結果】ACh値は、Cisapride投与前: 1.00 ± 0.40 pmol/15min に比べA群: 1.08 ± 0.43 pmol/15min、B群: 1.35 ± 0.68 pmol/15min、C群: 1.49 ± 0.77 pmol/15minとも濃度依存性に上昇傾向を認め、とくにC群において投与前に比べ有意に上昇を認めた ($P < 0.05$)。腸管運動は投与中のみ運動亢進を認めた。更にTime Courseでは、動注30分後迄にACh遊離の有意な上昇を認めた。

【結語】1) 生体下での腸管壁内神経叢刺激に伴う壁内ACh遊離量および消化管運動の同時測定が可能であった。2) 本実験は生体内での薬剤等の物質の重要性を直接解明するのに有用であると考えられた。

24. 家兎およびヒト膀胱平滑筋収縮時のATP放出量の測定

熊本大学 泌尿器科

吉田正貴、稲留彰人、高橋 渡、米納 誠、瀬下博志、池田和義、上田昭一

【目的】膀胱平滑筋の収縮にはアセチルコリンをはじめ様々な神経伝達物質の関与が知られている。またアトロピン抵抗性収縮を惹起する神経伝達物質としてATPが示唆されている。今回我々は家兎およびヒト膀胱平滑筋に対して経壁電気刺激(EFS)を行い、マイクロダイアリス法を用いてATPの定量を行った。またヒト膀胱平滑筋に対してはATP放出量に対する加齢の影響も検討した。

【方法】8週齢雌家兎および膀胱癌患者20例より摘出した正常膀胱体部より平滑筋条片を作成した。臓器用透析プローブをこれに貫通させ、Ringer液を透析液として灌流させながら、Krebs-Henseleit液を満たしたorgan bath内に懸垂固定し、等尺性トランスデューサーを介して張力変化を記録した。透析液を10分毎に回収しながら経壁電気刺激 (EFS: pulse duration 0.2-0.3msec, frequency 2-50 Hz, train of pulse 2 sec)を行い、透析液は15 μ lを高速液体クロマトグラフィーに注入してUV検出器でATP量を測定した。【結果】ATPの検出限界は0.05pmol/injectionであり、刺激前でのATP放出量は家兎では 0.23 ± 0.05 pmol/injection、ヒトでは測定感度以下であった。家兎およびヒト膀胱平滑筋はEFSにより周波数依存性の収縮反応を示し、ATP放出量も周波数依存性に増加した。1.0 μ Mのtetrodotoxinの前処置にてEFS刺激による収縮反応およびATP量の増加は有意に抑制された。ヒト膀胱平滑筋においてはEFS時のATP放出量は加齢により増加し、両者の間には有意の正の相関が認められた。【結論】本法により膀胱平滑筋から放出されるATP量の測定が可能であることが示唆され、アトロピン抵抗性収縮に関与する神経伝達物質の解析に有用と考えられた。またヒト膀胱平滑筋では加齢に伴うATP放出量の増加がみられアトロピン抵抗性収縮との間になんらかの関係がある可能性が推察された。