cyclic AMP と cyclic GMP の下部尿路平滑筋収縮機能に及ぼす影響

秋田大学医学部泌尿器科 (主任: 土田正義教授)

堂 北 忍

FUNCTIONAL ROLES OF CYCLIC AMP AND CYCLIC GMP
ON RABBIT URINARY BLADDER AND URETHRAL
SMOOTH MUSCLE CONTRACTION

Shinobu Dokita

Department of Urology, Akita University School of Medicine

(Director: Prof. Seigi Tsuchida)

It is suggested that cyclic AMP and cyclic GMP play regulatory roles in smooth muscle function. In order to clarify the role of cyclic AMP and cyclic GMP in the function of the lower urinary tract, I examined the effects of isoproterenol and sodium nitroprusside on contractile force and tissue content of cyclic AMP and cyclic GMP.

Isoproterenol ($10^{-8} - 10^{-4}M$) caused a relaxing effect in the rabbit urinary bladder dome, the bladder base and the urethra. The relaxation response by isoproterenol was mediated by cyclic AMP. The relaxation response and the increase in the cyclic AMP level were marked in the bladder dome.

Sodium nitroprusside ($10^{-8} - 10^{-4}M$) also caused a relaxing effect in the rabbit urinary bladder dome, the bladder base and the urethra. The relaxation response to sodium nitroprusside was mediated by cyclic GMP. The relaxation response and the increase in the cyclic GMP level were marked in the urethra.

The external addition of derivatives of cyclic AMP and cyclic GMP (dibutyl cAMP and 8-bromo cyclic GMP, $10^{-8} - 10^{-3}M$) also caused a relaxing effect in the bladder dome, the bladder base and the urethra.

These results demonstrated that both cyclic AMP and cyclic GMP were related to relaxation of the rabbit lower urinary tract smooth muscle. It seems that cyclic AMP may be mainly related to relaxation of the bladder dome and cyclic GMP may be mainly related to relaxation of the urethra.

要旨: cyclic AMP (cAMP) および cyclic GMP (cGMP) が平滑筋収縮機能に果たしている役割については、いまだ不明な点が多い。そこでウサギ膀胱および尿道の平滑筋切片を用いて cAMP および cGMP が下部尿路平滑筋収縮機能に果たす役割について検討した。isoproterenol を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道の平滑筋切片は弛緩し、組織内 cAMP 含量は上昇した。この弛緩作用および組織内 cAMP 含量の上昇は、膀胱体部で最も大きく、cAMP の上昇は弛緩作用に先んじていた。dibutyl cAMP を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道の平滑筋切片は弛緩した。

sodium nitroprusside を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道の平滑筋切片は弛緩し、組織内 cGMP 含量は上昇した。この弛緩作用および組織内 cGMP 含量の上昇は、尿道で最も大きく cGMP の上昇は弛緩作用に先んじていた。8-bromo cGMP を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道の平滑筋切片は弛緩した。以上の結果から、cAMP と cGMP はともに下部尿路平滑筋の弛緩作用において細胞内情報伝達物質としての役割を担い、cAMP は主として膀胱体部の弛緩作用に、cGMP は主として尿道の弛緩作用に関与していることが示唆される。

緒 言

cAMP は Sutherland ら¹⁾により血糖調節機構研究

中に発見され、その後、種々の臓器が機能を発現する際の細胞内情報伝達物質であることが明らかとなっ

た、cAMP との化学構造上の関連性から、cGMP もまた細胞内情報伝達物質として働いているのではないかと考えられ研究が進められている²⁾。

cAMP および cGMP が平滑筋収縮機能に果たす役割について、Goldberg³⁾は isoproterenol を投与すると平滑筋は弛緩し平滑筋組織内 cAMP 含量が上昇することから、cAMP は平滑筋を弛緩させるとし、acetylcholine を投与すると平滑筋は収縮し組織内 cGMP 含量が上昇することから、cGMP は平滑筋を収縮させると報告した。そして、彼は平滑筋の収縮と弛緩は cAMP と cGMP の相互の働きによって起こると考えた。しかしその後、Yamada ら⁴⁾はモルモット大腸紐に acetylcholine を投与すると、平滑筋細胞内 cGMP 含量の上昇は平滑筋の収縮より時間的に遅れて起こることを報告し、また Schultz ら⁵⁾はラットの精管に sodium nitroprusside を投与すると平滑筋は弛緩し組織内 cGMP 含量が上昇することを報告したため、cGMP が平滑筋の収縮に関与するかどうか疑問視されるようになった。

このように cAMP と cGMP が平滑筋収縮機能に果たしている役割に関しては今もなお議論されているが、明確な結論は出されていない。さらに下部尿路平滑筋収縮機能における cAMP および cGMP に関する報告はほとんどみられない。

そこで私は cAMP と cGMP が下部尿路平滑筋収縮機能に果たす役割を明らかにするため β 受容体を介して adenylylate cyclase 活性を上昇させる isoproterenol⁶⁾と、直接に guanylate cyclase 活性を上昇させる sodium nitroprusside⁷⁾を下部尿路平滑筋切片に投与したとき、平滑筋収縮張力と組織内 cAMP と cGMP 含量がどのように変化するかを検討した。さらに cAMP および cGMP の誘導体を下部尿路平滑筋切片に直接投与したときの収縮張力の変化を調べた。その結果、2、3 の興味ある知見を得たので報告する。

対象および方法

生後約 1 年、体重 2~3kg の雌の日本白色ウサギ 30 羽を用いた。無麻酔で頸動脈を切断して脱血屠殺し、開腹して膀胱と尿道を摘出し 95%O₂ + 5%CO₂ ガスで飽和した Krebs 液 (NaCl 133.6mM, KCl 4.7mM, CaCl₂·2H₂O 1.9mM, MgCl₂·6H₂O 1.2mM, glucose 8.3mM, pH 7.4) 中において、これより平滑筋切片を作製し実験対象とした。

I) 下部尿路平滑筋収縮張力の測定

膀胱体部と膀胱三角部から縦方向に長さ 10mm、幅 2

mm の平滑筋切片を作製した。尿道は縦に開いたあと輪状方向に長さ 5mm、幅 2mm の平滑筋切片を作製した。恒温槽は 2 重構造とし、外腔を 37℃ の恒温灌流装置に結合した。内腔容積は 3ml で、Krebs 液を満たし、95%O₂ + 5%CO₂ の混合ガスを持続的に通気した。筋切片の一端を 4-0 絹糸で恒温槽の底に固定し、もう一端を長さ 5cm の 4-0 絹糸を介して Statham 社製 UC-2 force transducer に接続し、筋切片を恒温槽内に懸垂した。筋切片にまず 1.0g の初期張力を与え、約 1 時間、恒温槽内に放置して規則正しい自発収縮張力 (active force) が発生するのを待った。薬剤投与開始時の基礎張力 (basal tension) は 0.2~0.4g であった。恒温槽内に濃度累積的に直接薬剤を投与し、薬剤投与前の peak contractile force (active force + basal tension) を control とし、100% で表示した。収縮張力の変化は薬剤投与 10 分後の peak contractile force を control に対する割合で表した。使用した薬剤は、1) isoproterenol hydrochloride (Sigma), 10⁻⁸~10⁻⁴M, 2) sodium nitroprusside (Sigma), 10⁻⁸~10⁻⁴M, 3) N⁶, 2'-O-dibutyryl cAMP (Sigma), 10⁻⁸~10⁻³M, 4) 8-bromo cGMP (Sigma), 10⁻⁸~10⁻³M である。

II) 下部尿路平滑筋組織内 cAMP, cGMP 含量の測定

膀胱体部、膀胱三角部および尿道から湿重量約 100 mg の筋切片を作製した。95%O₂ + 5%CO₂ を持続的に通気し、37℃ の Krebs 液を満たした 10ml の恒温槽内に 30 分間筋切片を浸漬した。3-isobutyl-1-methyl xanthine (IBMX, Sigma), 10⁻⁶M を投与し、さらに 20 分間 incubation した。次に、薬剤を投与しなかった群と isoproterenol (10⁻⁶~10⁻⁴M) 投与 1, 3, 5 分後に筋切片を取り出した群および sodium nitroprusside (10⁻⁶~10⁻⁴M) 投与 1, 3, 10 分後に筋切片を取り出した群の 3 群に分けて測定をし、取り出した筋切片はただちに液体窒素で凍結した。

cAMP と cGMP の抽出は次のように行った。6% 過塩素酸 2.0ml を筋切片に加え、Polytron[®] で homogenization し、homogenate を 4℃ で 3,000rpm, 10 分間遠心した。上清を 30% KOH で中和したあと、4℃ で 3,000rpm, 10 分間遠心した。その上清を Yamasa cAMP および cGMP キットを用い、本間らの方法⁸⁾に従って測定した。すなわち cAMP を測定する場合は、得られた上清を succinyl 化し、¹²⁵I-succinyl cAMP および cAMP monoclonal 抗体を加え、約 24 時間、4℃ で incubation し、その後 charcoal に抗原抗体

複合物を吸着させ、free の ^{125}I -succinyl cAMP の放射能を γ -scintillation counter で測定した。組織内 cAMP 含量は cAMP 標準曲線から計算した。cGMP を測定する場合は ^{125}I -succinyl cGMP, cGMP monoclonal 抗体を用いて同様に行った。得られた結果は分散分析 (analysis of variance) により推計学的に検討した。

結 果

I) 下部尿路平滑筋収縮張力の変化

isoproterenol ($10^{-8} \sim 10^{-4}\text{M}$) を膀胱体部、膀胱三角部および尿道の平滑切片に投与すると、それぞれの収縮張力は濃度依存性に低下した。この弛緩作用は膀胱体部で有意に大きく、尿道で有意に小さかった ($p < 0.01$, Fig. 1)。膀胱、尿道平滑筋に isoproterenol を投与すると 2 ~ 5 分後に最大弛緩作用がみられた (Fig. 2)。次に dibutyryl cAMP ($10^{-8} \sim 10^{-3}\text{M}$) は膀胱体部平滑筋切片では 10^{-4}M 、膀胱三角部では 10^{-5}M 、尿道では 10^{-3}M 投与すると収縮張力は有意に ($p < 0.01$) 低下した (Fig. 3)。この弛緩作用は膀胱体部と膀胱三角部

Fig. 1 Dose-response curve for the effect of isoproterenol on contractile force in rabbit urinary bladder dome, bladder base and urethra. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments.

Isoproterenol caused a dose-dependent relaxing response in the rabbit urinary bladder dome, the bladder base and the urethra. This relaxing response was most marked in the bladder dome ($p < 0.01$).

Fig. 2 Representative tracing following administration of isoproterenol in urinary bladder dome. A maximum response was found 5 minutes after isoproterenol administration.

Fig. 3 Dose-response curve for the effect of dibutyryl cyclic AMP on contractive force in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments. Dibutyryl cyclic AMP caused a relaxing effect at 1mM in the bladder dome, and caused a relaxing effect at 0.1mM in the bladder base. Dibutyryl cyclic AMP was less potent in the urethra ($p < 0.01$).

で有意に大きかった ($p < 0.01$).

sodium nitroprusside ($10^{-8} \sim 10^{-4}\text{M}$) を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道の収縮張力は濃度依存性に低下した。この弛緩作用は尿道で最も大きい傾

向を認めたが、尿道と膀胱三角部の間に有意差がなかった (Fig. 4). 膀胱, 尿道平滑筋に sodium nitroprusside を投与すると 5~10 分後に最大弛緩作用がみられた (Fig. 5). 次に 8-bromo cGMP (10^{-8} ~ 10^{-3}

Fig. 4 Dose-response curve for the effect of sodium nitroprusside on contractive force in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Data are mean+s.e.m. of five experiments. Sodium nitroprusside caused a dose-dependent relaxing response in the bladder dome, the bladder base and the urethra. This relaxing response was marked in the urethra and the bladder base ($p<0.01$).

Fig. 5 Representative tracing following administration of sodium nitroprusside in urinary bladder dome.

A maximum response was found 6 minutes after sodium nitroprusside administration.

M) を投与すると膀胱体部, 膀胱三角部および尿道平滑筋切片の収縮張力は濃度依存性に低下した (Fig. 6). この弛緩作用の大きさは膀胱体部, 膀胱三角部および尿道において有意差がなかった.

II) 下部尿路平滑筋組織内 cAMP, cGMP 含量の変化

isoproterenol (10^{-4} M) を投与したときの下部尿路平滑筋組織内 cAMP 含量の経時的变化をみると cAMP 含量の上昇は膀胱体部, 膀胱三角部および尿道のいずれにおいても投与 1 分後に最高値に達していた (Fig. 7). isoproterenol (10^{-6} ~ 10^{-4} M) を濃度累積的に投与すると cAMP 含量は濃度依存性に上昇し, その上昇の程度は尿道で有意に小さかった ($p<0.01$) が膀胱体部と膀胱三角部の間に有意差がなかった (Fig. 8). また isoproterenol (10^{-6} ~ 10^{-4} M) を投与すると cGMP 含量は有意の変化を示さなかった (Fig. 9).

sodium nitroprusside (10^{-4} M) を投与したときの下部尿路平滑筋組織内 cGMP 含量の経時的变化をみると cGMP 含量は膀胱体部, 膀胱三角部および尿道のいずれにおいても投与 1 分後に有意に ($p<0.01$) 上昇

Fig. 6 Dose-response curve for the effect of 8-bromo cyclic GMP on contractile force in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Data are mean+s.e.m. of five experiments.

8-bromo cyclic GMP caused a dose-dependent relaxing response in the bladder dome, the bladder base and the urethra. The relaxing effect did not differ among the bladder dome, the bladder base and the urethra.

Fig. 7 Time course of the effect of isoproterenol on cyclic AMP content in urinary bladder dome, bladder base and urethra. 0.1mM isoproterenol was added for the times indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments. Cyclic AMP level increased within one minute in the bladder dome, the bladder base and the urethra.

Fig. 8 Dose-response curve for the effect of isoproterenol on cyclic AMP content in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Isoproterenol was added for one minute at the concentrations indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments.

Isoproterenol caused a dose-dependent increase in cyclic AMP level in the bladder dome, the bladder base and the urethra. The increase in cyclic AMP level was marked in the bladder dome and the bladder base ($p < 0.01$).

し、以後10分まで漸次上昇していた (Fig. 10). sodium nitroprusside ($10^{-6} \sim 10^{-4}\text{M}$) を濃度累積的に投与すると cGMP 含量は濃度依存性に上昇し、その上昇の程度は尿道で有意に ($p < 0.01$) 大きかった (Fig. 11). また sodium nitroprusside ($10^{-6} \sim 10^{-4}\text{M}$) を投与すると cAMP 含量は有意の変化を示さなかった (Fig. 12).

考 察

Sutherland⁹⁾は受容体刺激剤を投与したとき、cAMP が細胞内情報伝達物質として働くためには以下の4つの条件が必要であると述べている。1) 刺激剤をその組織の homogenate に投与すると adenylate cyclase 活性が上昇しなければならない。2) 刺激剤を投与すると組織内 cAMP 含量が上昇し、しかも cAMP の上昇は濃度依存性であり、生理反応に先だって組織内 cAMP 含量が上昇しなければならない。3) cAMP あるいはその誘導体を組織に投与すると刺激剤と同様の効果が発現しなければならない。4) phosphodiesterase 阻害剤は刺激剤と同様の生理反応を引き起こすか、または協調的に作用しなければならない。Hardman¹⁰⁾は Sutherland が提唱した条件は cGMP が細胞内情報伝達物質として働く条件としても当ては

めることができると述べている。私はこの条件に基づいて本研究を進めた。

本研究成績にて、 β 受容体刺激剤である isoproterenol を投与するとウサギの膀胱、尿道平滑筋切片は濃度依存性に弛緩し組織内 cAMP 含量は濃度依存性に上昇することが判明した。しかも isoproterenol による平滑筋の弛緩作用に先だって組織内 cAMP 含量の上昇が起こっていた。さらに cAMP の誘導体である dibutyryl cAMP¹¹⁾ を投与すると isoproterenol と同様に膀胱、尿道平滑筋は弛緩した。以上の実験成績はウサギの膀胱、尿道平滑筋において isoproterenol による弛緩作用は β 受容体を介し、cAMP を細胞内情報伝達物質として起こることを示唆している。

cAMP が下部尿路平滑筋に果たす役割については Rohner ら¹²⁾、Levin ら¹³⁾の報告がある。Rohner らは isoproterenol、norepinephrine を投与すると犬の膀胱体部平滑筋切片は弛緩し組織内 cAMP 含量は上昇したと述べている。Levin らはウサギの膀胱体部、膀胱三

Fig. 9 Dose-response curve for the effect of isoproterenol on cyclic GMP content in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Isoproterenol was added for one minute at the concentrations indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments. Isoproterenol did not cause a significant increase in cyclic GMP level in the bladder dome, the bladder base and the urethra.

Fig. 10 Time course of the effect of sodium nitroprusside on cyclic GMP content in urinary bladder dome, bladder base and urethra. 0.1mM sodium nitroprusside was added for the times indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments.

Cyclic GMP level by sodium nitroprusside increased within one minute to a certain level, and continued to increase until ten minutes in the bladder dome, the bladder base and the urethra.

角部平滑筋切片に isoproterenol を投与すると膀胱体部では組織内 cAMP 含量は有意に上昇したが、膀胱三角部では組織内 cAMP 含量は有意に上昇しなかったと述べている。本研究では膀胱体部、膀胱三角部平滑筋のいずれにおいても isoproterenol を投与すると組織内 cAMP 含量は有意に上昇しており、膀胱三角部における組織内 cAMP 含量の変化が Levin ら¹³⁾の成績と異なっていた。両者の違いの原因は明らかでないが、本研究において isoproterenol を投与すると膀胱三角部平滑筋の収縮張力は低下したのであるから、私の実験成績のように組織内 cAMP 含量は上昇してしかるべきである。Latifpour ら¹⁴⁾は radioligand binding technique を用いた研究で、ウサギの膀胱体部、膀胱三角部および尿道のいずれにも β 受容体が密に分布しており、その程度は膀胱体部、膀胱三角部、尿道の順に大きいと述べている。この報告からも膀胱体部、膀胱三角部および尿道平滑筋には β 受容体が分布し、 β 受容体を介して組織内 cAMP 含量が上昇し、弛緩作用が起こると考えられる。これまでの報告¹²⁾¹³⁾は iso-

proterenol を下部尿路平滑筋組織に投与すると弛緩作用が起こり、cAMP 含量が上昇することを報告しているにすぎず、本研究で isoproterenol を投与したときの弛緩作用と組織内 cAMP 含量上昇の経時的変化を比較検討した結果、弛緩作用に先だって組織内 cAMP 含量の上昇が起こることを明らかにした。

Katsuki ら⁷⁾は牛の気管支平滑筋やラットの小腸平滑筋などに sodium nitroprusside を投与すると guanylate cyclase 活性が上昇したと述べているが、cGMP が膀胱、尿道平滑筋収縮機能に果たす役割に関する報告は私が調べたり限りでは見当たらない。本研究で sodium nitroprusside を投与すると膀胱、尿道平滑筋切片は濃度依存性に弛緩し組織内 cGMP 含量は濃度依存性に上昇する成績を得た。しかも sodium nitroprusside による弛緩作用に先だって cGMP 含量の上昇が起こった。そして cGMP の誘導体である 8-bromo cGMP¹⁵⁾を投与すると sodium nitroprusside と同様に

Fig. 11 Dose-response curve of the effect of sodium nitroprusside on cyclic GMP level in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Sodium nitroprusside was added for ten minutes at the concentrations indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments. Sodium nitroprusside caused a dose-dependent increase in cyclic GMP level in the bladder dome, the bladder base and the urethra. The increase in cyclic GMP level was most marked in the urethra ($p < 0.01$).

膀胱, 尿道平滑筋は弛緩した。以上の実験成績は, sodium nitroprusside による膀胱, 尿道平滑筋の弛緩作用は cGMP を細胞内情報伝達物質として起こることを示唆している。

以上の成績を総括すると cAMP と cGMP はともに下部尿路平滑筋組織の細胞内情報伝達物質として働き, 下部尿路平滑筋を弛緩させることがわかった。そして isoproterenol を膀胱体部, 膀胱三角部および尿道に投与すると膀胱体部で収縮張力の低下および cAMP 含量の上昇が最も大きかったことから cAMP は主として膀胱体部の弛緩に関与し, sodium nitroprusside を膀胱体部, 膀胱三角部および尿道に投与すると尿道で収縮張力の低下および cGMP 含量の上昇が最も大きかったことは cGMP は主として尿道の弛緩に関与していることを示唆している。

一般に, 蓄尿時には膀胱の β -adrenergic 反応と尿道

Fig. 12 Dose-response curve for the effect of sodium nitroprusside on cyclic AMP content in urinary bladder dome, bladder base and urethra. Sodium nitroprusside was added for ten minutes at the concentrations indicated on the abscissa. Data are mean $\pm$ s.e.m. of five experiments. Sodium nitroprusside did not cause a significant increase in cyclic AMP level in the bladder dome, the bladder base and the urethra.

の α -adrenergic 反応が関与し, 排尿時に膀胱の cholinergic 反応が関与するとされている¹⁶⁾。モルモット大腸紐に acetylcholine を投与すると収縮後の自発性弛緩相に cGMP 含量が上昇するという報告⁴⁾や, 牛の血管平滑筋に α 受容体刺激剤を投与すると平滑筋は収縮し cAMP 含量が減少するという報告¹⁷⁾を考えあわせると, 本研究で膀胱体部が cAMP 含量の上昇で弛緩し, 尿道が cGMP 含量の上昇で弛緩したという成績は, 蓄尿時における β -adrenergic 反応および排尿時の cholinergic 反応を考える上で非常に興味深い。

結 論

雌ウサギ膀胱, 尿道平滑筋切片を用いて, cAMP と cGMP が膀胱, 尿道平滑筋収縮機能に果たす役割を検討した結果, 以下の結論を得た。

1) isoproterenol を投与すると膀胱体部, 膀胱三角部および尿道平滑筋切片は弛緩し組織内 cAMP 含量は上昇した。dibutyryl cAMP を投与すると下部尿路平滑筋切片は同様に弛緩した。この結果から膀胱, 尿道平滑筋における isoproterenol の弛緩作用は cAMP

を細胞内情報伝達物質として働くために起こることが示唆された。

2) sodium nitroprusside を投与すると膀胱体部、膀胱三角部および尿道平滑筋切片は弛緩し組織内 cGMP 含量は上昇した。8-bromo cGMP を投与すると下部尿路平滑筋切片は同様に弛緩した。この結果から膀胱、尿道平滑筋における sodium nitroprusside の弛緩作用は cGMP を細胞内情報伝達物質として働くために起こることが示唆された。

3) isoproterenol を投与すると膀胱体部でも弛緩作用および組織内 cAMP 含量の上昇が最も大きかったことから、cAMP は主として膀胱体部の弛緩に関与し、sodium nitroprusside を投与すると尿道で弛緩作用および組織内 cGMP 含量の上昇が最も大きかったことから、cGMP は主として尿道の弛緩に関与することが示唆された。

稿を終るあたり御指導、御校閲を賜った恩師土田正義教授に心より感謝致します。また終始直接の御指導を頂いた森田隆講師に深謝致します。さらに、多大なる御協力を頂いた教室員一同に御礼申し上げます。

なお本論文の要旨は第29回日本平滑筋学会総会、第83回アメリカ泌尿器科学学会総会において発表した。

文 献

- 1) Sutherland, E.W. and Rall, T.W.: Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J. Biol. Chem.*, 232, 1077—1091, 1958.
- 2) Ashman, D.F., Lipton, R., Melicow, M.M. and Price, T.D.: Isolation of adenosine 3',5'-monophosphate from rat urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 11, 330—334, 1963.
- 3) Goldberg, N.D., Haddox, M.K., Nicol, S.E., Glass, D.B., Sanford, C.H., Kuehl, F.A. Jr. and Estensen, R.: Biological regulation through opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP: The yin yang hypothesis. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, 5, 307—330, 1975.
- 4) Yamada, T. and Obara, K.: Changes in cyclic AMP and cyclic GMP levels in the contraction-relaxation cycle of isolated smooth muscle cells from guinea-pig taenia caeci. *Jap. J. Smooth Muscle Res.*, 21, 25—37, 1985.
- 5) Schultz, K.D., Schultz, K. and Schultz, G.: Sodium nitroprusside and other smooth muscle-relaxants increase cyclic GMP levels in rat ductus deferens. *Nature*, 265, 750—751, 1977.
- 6) Ahlquist, R.P.: A study of adrenotropic receptors. *Amer. J. Physiol.*, 153, 586, 1948.
- 7) Katsuki, S., Arnold, W., Mittal, C. and Murad, F.: Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. *J. Cyclic Nucleotide Res.*, 3, 23—35, 1977.
- 8) Honma, M., Satoh, T., Takezawa, J. and Ui, M.: An ultrasensitive method for the simultaneous determination of cyclic AMP and cyclic GMP in small volume samples from blood and tissue. *Biochem. Med.*, 18, 257—273, 1977.
- 9) Sutherland, E.W. and Rall, T.W.: The relation of adenosine-3',5'-phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones. *Pharmacol. Rev.*, 12, 265—299, 1960.
- 10) Hardman, J.G.: Cyclic nucleotides and smooth muscle contraction: Some conceptual and experimental considerations. in *Smooth Muscle*, 1st. ed., p. 256, Edward Arnold (Publishers) Ltd., London, 1981.
- 11) Drummond, G.I. and Hemmings, S.J.: Inotropic and chronotropic effects of dibutyryl cyclic AMP. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, 1, 307—316, 1972.
- 12) Rohner, T.J. and Hannigan, J.: Effect of norepinephrine and isoproterenol on in vitro detrusor muscle contractility and cyclic AMP content. *J. Urol.*, 17, 324—327, 1980.
- 13) Levin, R.M., Ruggieri, M.R., Hypolite, J. and Wein, A.J.: Betaadrenergic stimulation of cyclic AMP production in the rabbit urinary bladder. *Neurourology Urodynamics*, 5, 227—233, 1986.
- 14) Latifpour, J., O'Hollaren, B., Morita, T., Wheeler, M.A. and Weiss, R.M.: Effects of sex on the characteristics of autonomic receptors in lower urinary tract. *Fed. Proc.*, 45, 565, 1986.
- 15) Schultz, K.D., Bohme, E., Kreye, V.A.W. and Schultz, G.: Relaxation of hormonally stimulated smooth muscular tissues by the 8-bromo derivative of cyclic GMP. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 306, 1—9, 1979.
- 16) Wein, A.J. and Barrett, D.M.: Voiding Function and Dysfunction, p. 53—76, Year Book Medical Publishers, Inc., Boston, 1988.
- 17) Anderson, R., Nilsson, K., Wikberg, J., Johanson, S., Mohme-Lundholm, E. and Lundholm, L.: Cyclic nucleotides and the contraction of smooth muscle. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, 5, 491—518, 1975.

(1989年5月17日受理)