小腸の slow wave におよぼす酵素の影響

昭和大学医学部 第二生理学教室

(主任：市河三太教授)

竹 中 晃 子・市 河 三 太

EFFECTS OF ENZYMES ON INTESTINAL SLOW WAVE

Akiko TAKENAKA and Santa ICHIKAWA

Department of Physiology, Showa University School of Medicine, Tokyo.

Effects of several enzymes on the slow wave of rabbit jejunum were examined. Nagarse, α -chymotrypsin and pronase which are protease reduced the amplitude of slow wave but did not affect on the frequency. Lipase and lysozyme, which catalyze the hydrolysis of triglyceride and mucopolisaccharide, respectively, had no effect on the amplitude and frequency of slow wave. The contributions of proteins, lipids and hydrocarbons in smooth muscle cell membrane to slow wave were discussed.

小腸に見られる *pacesetter potential* すなわち slow wave は Na イオンの周期的な流入流出によると言われている¹⁾。また slow wave の発現には細胞内 ATP および外液の Na イオンが必要であり、代謝阻害剤や ouabain の作用により slow wave が消失するから Na-K ATPase の Na

pump 作用が slow wave の発生に関与している^{2,3)}。

われわれは小腸に存在している物質の slow wave への関与を知る手がかりを得ようとして、各種分解酵素を漿膜面から作用させてその影響を調べてみた。

実 験 方 法

ウサギの回腸を摘出し、酵素を含んだ Krebs 氏液中に一定時間 37°C に保って浸した後取り出し、Krebs 氏液で3回よく洗浄した後、約10分間 slow wave を記録した。その後、再び酵素液中に一定時間浸した後、同じ方法で電位変動を記録した。slow wave の記録には先端直径 0.5mm のガラス管圧電極を使用し、回腸は数 cm の長さに切り、ガラス管をその内腔に通し Krebs 氏液中に装置した。slow wave の大きさは電極装着後約3分間で90%、7分で50%、10分で10%に低下する。このため装着後3分の時の記録から slow wave の大きさを求め、さらに電極の位置を3回変えて、それらの測定値の平均値を slow

wave の振幅とした。また酵素の濃度は nagarse 1.5×10^{-4} g/mL, α -chymotrypsin, pronase は 5×10^{-5} g/mL, lipase, lysozyme は 10^{-3} g/mL である。lipase は pH 5.5 が活性の至適 pH であるから、pH 5.5 の液に小腸を一定時間漬けた後、正常 Krebs 氏液中に移して slow wave の記録を行った。これは小腸を浸した Krebs 氏液の pH を酢酸緩衝液を用いて 5~5.5 にすると電位変動は見られなくなるが pH 7.3 に戻すと slow wave, spike が約2分で完全に回復して現われるからである。

実験に用いた Krebs 氏液の組成は NaCl 134, KCl 5.9, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.5, NaH₂PO₄ 1.4,

NaHCO_3 15.5, glucose 5.6 mM, pH 7.3 である.

実 験 結 果

蛋白質加水分解酵素である nagarse を作用させると図 1 に示したように時間の経過と共に slow wave は減少する. この slow wave の大きさと頻度の変化とを, 酵素の処理時間に対して目盛ると図 2 の曲線 A および C の白丸のようになる. すなわち slow wave の大きさは約 3 分間の nagarse 処理により 50% に減少するが, 頻度はほとんど変化しない. 他の蛋白質加水分解酵素である α -chymotrypsin, pronase の処理によって

も図 2 の曲線 B および C の Δ , $\square$ 印で示したごとく nagarse と同様な経過をとる. すなわち, これらの酵素により作用を受ける蛋白質は slow wave の大きさに影響を与えているが, 頻度には関与しないといえる.

糖質分解酵素である lysozyme および脂質の分解酵素である lipase は slow wave の大きさにも, また頻度にも全く影響を及ぼさなかった.

図 1. ウサギ摘出回腸における slow wave. nagarse を作用させると時間経過とともに slow wave の大きさは減少する

図 2. ウサギ摘出回腸 slow wave の大きさならびに頻度と各種蛋白加水分解酵素処理時間との関係。これら酵素処理を受けた蛋白質は slow wave の大きさに影響を与えるが頻度にはほとんど関与しない

考 察

nagarse の作用により slow wave の大きさは低下するが頻度は影響を受けない。Takenaka & Yamagishi (1969)⁴⁾ によるとイカ巨大神経を nagarse 溶液で灌流すると活動電位に plateau を生じ持続時間が長くなる。我々の場合、細胞外導出であるので同一に論ずることはできないが、圧電極を用いて得られる電位変動は細胞膜電位の変化の一部を現わしている⁵⁾ から、nagarse により slow wave の形が変化しないこと、また頻度に変化が見られないことなどから、神経の細胞膜に対する nagarse の作用と平滑筋細胞膜に対する作用とはその作用に大きな差が見られる。

lysozyme や lipase により slow wave の大きさ、頻度が全く影響をうけないことは、それぞれの酵素の基質であるムコ多糖類および triglyceride がたとえ平滑筋細胞に存在していたとしても、これらは slow wave の発生に関与していないと思われる。最近、脂質ではリン脂質が電気ウナギの発電器官から分画した Na-K ATPase 活

性発現に重要な役割を演じていること⁶⁾ また糖質ではシアル酸が Ehrlich の腹水癌や肉腫細胞表面膜の荷電に影響を与えていること⁷⁾ 等が注目されてきているので、これらリン脂質分解酵素やシアル酸分解酵素により slow wave がどのように変化するか興味ある問題であるがこれについては他の機会を待ちたい。

界面活性剤、特に triton X-100 の作用により slow wave の頻度が低下する⁸⁾。界面活性剤は細胞膜の脂質に作用すると考えられている。slow wave は膜の Na-K ATPase の作用によると D. Job ら (1969)^{2,3)} は述べており、その Na-K ATPase は細胞膜の脂質と結合して活性を発現していることを考えると、界面活性剤により頻度が低下し、蛋白質分解酵素の作用により slow wave の振幅が減少することは、slow wave の発生についてその分子機構を考える上に何らかの示唆を与えているのではないかと考えられる。

ま と め

ウサギ摘出回腸の slow wave に対する種々の酵素の影響を調べた。蛋白質分解酵素である nagarse, α -chymotrypsin, pronase により slow wave の振巾は低下したが、頻度は変化しなかつ

た。lipase, lysozyme によっては slow wave の振巾、頻度ともに変化を受けなかった。以上の結果より slow wave の発生に關与する蛋白質、糖質、脂質についての考察を加えた。

文

献

- 1) Job, D.D.: Ionic basis of intestinal electrical activity. *Am. J. Physiol.*, **217**, 1534-1541, 1969.
- 2) Liu, J., Prosser, C.L. and Job, D.D.: Ionic dependence of slow waves and spikes in intestinal muscle. *Am. J. Physiol.*, **217**, 1542-1547, 1969.
- 3) Job, D.D.: Effect of antibiotics and selective inhibitors of ATP on intestinal slow waves. *Am. J. Physiol.*, **220**, 299-306, 1971.
- 4) Takenaka, T. and Yamagishi, S.: Morphology and electrophysiological properties of squid giant axons perfused intracellularly with protease solution. *J. Gen. Physiol.*, **53**, 81-96, 1969.
- 5) Bortoff, A.: Slow potential variations of small intestine. *Am. J. Physiol.*, **201**, 203-208, 1961.
- 6) Goldman, S.S. and Albers, R.W.: Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase IX. The role of phospholipids. *J. Biol. Chem.*, **248**, 867-874, 1973.
- 7) Wallach, D.F.H. and Esandi, M.V.P.: Sialic acid and the electrophoretic mobility of three tumor cell types. *Biochem. Biophys. Acta*, **83**, 363-366, 1964.
- 8) Takenaka A. and Ichikawa, S.: The effects of detergents on the slow wave frequency of rabbit jejunum. in preparation, 1974.

(1974 年 4 月 3 日受付)