モルモット十二指腸平滑筋の非アドレナリン性 抑制性電位の二・三の特性

山口大学医学部 第一生理学教室

大 川 博 通

SOME PROPERTIES OF THE NON-ADRENERGIC INHIBITORY POTENTIALS IN THE DUODENAL SMOOTH MUSCLE CELLS OF THE GUINEA-PIG

Hiromichi OHKAWA

Department of Physiology, Yamaguchi University
School of Medicine, Ube 755

The inhibitory potentials (i.p.s) in the longitudinal and circular smooth muscle cells of the guinea-pig duodenum were recorded intracellularly. The amplitude and the time course of the i.p.s were similar in both muscle cells. The i.p.s were not blocked by atropine and guanethidine. Thus, the i.p. has non-cholinergic and non-adrenergic nature. Paired pulse with various intervals evoked two i.p.s. The amplitude of the second i.p. was smaller than that of the first. This decrease in the amplitude may be due to decrease in an amount of the released inhibitory transmitter. The i.p.s in the longitudinal muscle and the tension in the longitudinal direction were recorded simultaneously. No change in the tension was observed when the i.p.s were evoked. In the active preparations, the spontaneous action potentials were inhibited by the evoked i.p.s and the tension was reduced. The post-stimulus depolarization was intimately associated with the evoked i.p.s. The magnitude and the duration of the post-stimulus depolarization were depended on the preceding i.p.s. The evoked i.p.s in the longitudinal and circular muscle cells of the duodenum and the ileum were not affected by the periarterial nerve stimulation.

I. 緒 言

モルモット十二指腸平滑筋では、フィールド刺激によって、一過性の過分極(抑制性電位)がえられる。この抑制性電位は、アドレナリン性遮断剤によって影響をうけることなく(Ohkawa, 1983b), 他の消化管部位の平滑筋で見られるもの(Bennett ら, 1966b; Furness, 1969; Bywater ら, 1981; Bauer ら, 1982)と

同様、非アドレナリン性であることが確認されている。十二指腸平滑筋の非アドレナリン性抑制性電位の一般的な性質については、先に報告(Ohkawa, 1983a)されているが、本報告では、それらの特性に加えて、更に、二、三の興味ある性質について検討を加えた。

II. 実験方法

実験標本には、モルモットの摘出十二指腸から、長さ3 mm巾2 mmの小片を切り出して用いた。電気的活動性は、微小電極を用いて細胞内誘導を行った。電極は漿膜側から刺入してある。一部の実験では、縦走筋方向の張力を同時記録した。電気刺激は、3 mmはなした銀一塩化銀電極でフィールド刺激を行った。単一刺激のパルス巾は、通常0.3-0.5 msecであり、実験中は、刺激強度は一定にした。

十二指腸輪走筋から抑制性電位を記録すると

きは、標本の縦走筋層を剝離除去し、漿膜側から電極を刺入した。実験の一部では、回腸標本を用いているが、回腸縦走筋、輪走筋から抑制性電位を記録する場合も、同様の方法によった。Perivascular nerve stimulationを行なう場合には、十二指腸、回腸に血管を付着させたまま標本を摘出し、液外で電気刺激を行った。標本は長さ5 mmで、血管付着部の反対側で腸管を切り開いた。その他の実験方法は、既報(Ohkawa, 1983a)の通りである。

III. 実験成績

A. 十二指腸縦走筋および輪走筋の抑制性電位

モルモット十二指腸縦走筋では、単一刺激により抑制性電位がえられる(図1A)。縦走筋平滑筋の平均膜電位は -52.4 mV ($n=89$)であり、抑制性電位の平均パラメーターは、latency

64.9 msec, time to peak 145.8 msec, amplitude 16.7 mV, rate of hyperpolarization 118.4 mV/sec, half decay time 207.4 msec ($n=125$)であった。

この抑制性電位は、アトロピン 10^{-6} g/ml 存在下でも同様に生じ、そのパラメーターには変化はなかった(図1B)。また、プロプラノロール 10^{-5} g/ml によっても影響を受けない(図1C)。グアネシジン 10^{-5} g/ml も無効であった。抑制性電位の大きさは、同一刺激条件下においても、また、同一細胞においても、やや変動がみられるが、大きいものでは30 mV近くに達することもある。図1Dは、その1例を示してあり、抑制性電位のピークは -85 mVに達している。

このような抑制性電位は、輪走筋平滑筋においても見られる。図2Aは、輪走筋からえた抑制性電位で、単一及び反復刺激により生ずる抑制性電位を示してある。単一刺激による抑制性電位のパラメーターは、縦走筋からえられたものと、ほぼ同一であった。反復性の抑制性電位は、刺激頻度が大きく(6-10 Hz)なると過分極を維持するが、しかし、その過分極の大きさは、刺激持続中に徐々に減少し、もとの膜電位レベルへと減少する。このことは、縦走筋平滑筋においても、全く同様である。輪走筋の抑制性電位も、アトロピン (10^{-6} g/ml) 及びグアネシジン (10^{-5} g/ml) によって減弱や消失することはない。

図1. モルモット十二指腸縦走筋の抑制性電位と薬物効果。

A: 単一刺激による抑制性電位。B: アトロピン 10^{-6} g/ml, 上段はcontrol。C: プロプラノロール 10^{-5} g/ml, 上段はcontrol。D: 大きな抑制性電位。下段は膜電位と抑制性電位のピーク電位を示す。

図2. 十二指腸輪走筋の抑制性電位と薬物効果。

A: 単一および反復刺激による抑制性電位, B: アトロピン 10^{-6} g/ml 中における抑制性電位, C: グアネシジン 10^{-5} g/ml 中における抑制性電位, D: 低頻度および高頻度反復刺激による抑制性電位。

図3. 高頻度長時間刺激後の抑制性電位の回復。
A: 刺激前の抑制性電位と膜電位, B: 刺激 (30 Hz, 30 分) 直後の膜電位, C: 刺激直後からの抑制性電位の回復。

かった (図 2B, C)。図 2D は、2 Hz 及び 11 Hz の刺激を続けたときの抑制性電位を示している。低頻度刺激では、各抑制性電位の大きさはほぼ等しく、減弱は見られない。一方、高頻度刺激では、初期の過分極は大きい徐徐に減少する。このとき、Bywater ら (1981) の報告したような、刺激持続中の大きな脱分極は見られなかった。

縦走筋平滑筋で 30 Hz, 30 分の刺激を加えた前後の抑制性電位を図 3 に示してある。図 3A は刺激前で、単一の抑制性電位と、その膜電位 (-56 mV) である。図 3B は、30 分刺激直後の膜電位 (-53 mV) で、刺激前と、ほぼ同じである。図 3C は、反復刺激を止めた後の単一刺激による反応を示してある。上段に見るごとく、初期には抑制性電位はみられないが、時間経過と共に、徐々に回復するのが見られた。

B. Paired pulse による抑制性電位

標本に種々の間隔の paired pulse を加えると、連続した 2 つの抑制性電位が生ずる。これらは、2 つの pulse に対応した 2 つの抑制性電位であるが、パルス間隔により、その大きさに変化がみられた。図 4A は、その例を示してあ

図4. Paired pulse による抑制性電位.

A: Paired pulse による2つの抑制性電位. 数字はパルス間隔. B: r (A_2/A_1) とパルス間隔の関係.

図5. 十二指腸縦走筋の抑制性電位と張力.

A: 単一抑制性電位. BおよびC: 8 Hz および 11 Hz 刺激による抑制性電位. A, B, C 共に抑制性電位発生時の張力変化はみられない. B, C においては PSD による活動電位の発生と, これにともなう張力増加がみられる. D: Active な標本での抑制性電位. 抑制性電位により, 活動電位の抑制があり, これによる張力減少がある.

る. 第1の刺激による抑制性電位の大きさ(A_1)と, 2番目の抑制性電位の大きさ(A_2)の比($r = A_2/A_1$)を, パルス間隔に対してプロットしたのが図4Bである. 間隔が200 msec 前後でこの比は小さくなり, 間隔が長くなるにつれて, r は

1に近くなった.

C. 抑制性電位と張力

図5は, 縦走筋の抑制性電位と, 縦走筋方向の張力との同時記録である. 単一の抑制性電位が生じた時, 張力変化はえられなかった(図

図6. 抑制性電位と PSD.

A: 単一抑制性電位と PSD. B: 単一抑制性電位と PSD. 活動電位の発生がある. CおよびD: 反復性抑制性電位と PSD. PSD は大きく, 持続時間も長い. 活動電位の発生頻度も高い.

図7. 抑制性電位と periaxillary nerve stimulation.

A: 十二指腸縦走筋. B: 十二指腸輪走筋. C: 回腸輪走筋. D: 回腸縦走筋. 横棒及びアーチファクトは PNS を示す.

5A). 8-11 Hz の反復刺激による抑制性電位が生じているときも同様であった (図 5B, C). これらの刺激時には, post-stimulus depolarization が起こり, これに上乘する活動電位が発生

し, この活動電位に対応する張力増加(収縮)がある. 図 5D は, 自発性活動電位のみられる標本の場合であるが, 単一の抑制性電位により活動電位の発生は抑制され, 張力低下が認められた.

D. Post-stimulus depolarization (PSD)

縦走筋平滑筋においては、単一の抑制性電位のあとに PSD が生ずる。その大きさは一定していない (図 6A, B)。PSD が大きいときには、活動電位を生ずることもある (図 6B)。一般に、反復性抑制性電位後の PSD は大きく、活動電位も生ずる (図 6C, D)。PSD の持続時間は、単一抑制性電位による PSD では短かく (2-3 sec), 反復性抑制性電位による PSD では長かった (~6 sec, 図 6D)。

PSD 発生中に、更に単一刺激を加えると、抑制性電位を生ずるが、この大きさは最初の抑制性電位の大きさよりも大きい。また、反復性抑制性電位により PSD が発生しているとき、同

じ条件で刺激を加えると、同様に反復性抑制性電位を生ずるが、この最大過分極の大きさは、最初のものに比し大であった。

E. Periarterial nerve stimulation (PNS) と抑制性電位

十二指腸縦走筋 (図 7A)、輪走筋 (B)、回腸輪走筋 (C)、縦走筋 (D) において、単一および反復性の抑制性電位を生ぜしめ、同時に、各部の PNS を行った。PNS の刺激には、単一および反復刺激 (0.1-0.5 msec, 3-40 Hz) を用いた。結果は、図に示す如く、PNS による膜電位変化はえられなかったし、抑制性電位の発生も、PNS によって影響をうけなかった。

IV. 考

モルモット十二指腸縦走筋でえられる非アドレナリン性抑制性電位の一般的な性質については、先に報告 (Ohkawa, 1983a) したが、本実験でえられた抑制性電位の種々のパラメーターの値も、それらとほぼ同様であった。十二指腸以外の消化管各部の平滑筋の抑制性電位については、種々の報告 (Bennett ら, 1966b; Furness, 1969; Hidaka ら, 1969; Ito ら, 1971, 1973) があるが、それらと比較すると、抑制性電位の大きさが大きいのが特徴的であった。抑制性電位のピークも -85 mV と、抑制性電位の平衡電位 (Bywater ら, 1981) とされる電位に接近していた。

輪走筋においても抑制性電位がえられ、この電位は、アトロピンやアドレナリン性遮断剤で影響をうけない非コリン性、非アドレナリン性のものであることが確かめられた。興味あることは、いずれの場合でも、アドレナリン性の抑制性電位というものが観察されなかったことである。

Paired pulse による抑制性電位の大きさの比の減少がみられ、その理由として、抑制性物質の放出量の減少と平滑筋細胞膜における脱感作が考えられる。このことは、高頻度反復刺激による過分極レベルの減少についても同様である。一方、高頻度長時間刺激直後では、膜電位

察

は殆んど不変であるにもかかわらず、抑制性電位の発生はみられず、後に回復した。このことから、抑制性物質の涸渫が考えられ、paired pulse や反復刺激時においても、放出量の減少があることが示唆される。

図 5 に示したごとく、抑制性電位による張力低下は認められなかった。一方、抑制性電位による自発性活動電位の抑制がみられ、これに伴ない、張力の低下がある。このことは、フィールド刺激時の張力低下は、活動電位発生を抑制した間接的なものであることを示している。

Bywater ら (1981) は、PSD の発生が、カリウムイオンの細胞外蓄積によるとするのは疑わしいとのべており、PSD の発生機序については、未だ明らかでない。反復性抑制性電位による過分極が長い程、PSD が大きいことから、膜電位回復時の過渡現象と思われ、また、PSD の発生時間に比し、その回復は比較的ゆるやかであることから、PSD の発生と回復は、ことなる機構によるものであると考えられる。

モルモット大腸平滑筋においては、PNS の単一刺激では抑制性電位の発生はみられない (Furness, 1969)。本実験においても、十二指腸および回腸の縦・輪走筋においては、PNS の単一刺激による抑制性電位を観察することは出来なかった。一方、結腸紐平滑筋および大腸平滑

筋で、高頻度の持続的な PNS により、持続的な過分極がえられている (Gillespie, 1962; Bennett ら, 1966a). 本実験では高頻度の持続刺激によっても、膜電位の変化をうることができなかった。刺激条件などを再検討することが必要と思われるが、少くとも、外来神経と非アドレナリン性抑制性神経との直接的な関連は見出さなかった。

アウエルバッハ神経叢ニューロンの持続的な活動性は、正常液中でえられる (North ら,

1977; Williams ら, 1979)。一方、十二指腸平滑筋では、自発性（電気刺激を加えることなく発生する）の抑制性電位はえられず、電気刺激時のみにしか抑制性電位は発生しない。このことは、アウエルバッハ神経叢ニューロンの持続的な活動と抑制性電位の発生とは、直接に結合するものではないことを示唆する。

消化管平滑筋に対する非アドレナリン性抑制性支配は、その存在を含めて、再検討が必要である。

V. 結

1. モルモット十二指腸縦走筋および輪走筋の非アドレナリン性抑制性電位を、微小電極で細胞内記録した。これら両筋からえられた非アドレナリン性抑制性電位のパラメーターは、ほぼ等しいものであった。

2. 縦走筋では、paired pulse により、2つの抑制性電位がえられるが、ピーク比($r=A_2/A_1$)は、パルス間隔が 200 msec 附近で最小となった。高頻度長時間刺激後の単一刺激に対応する抑制性電位はみられなくなるが、後に回復する。これらの結果は、非アドレナリン性抑制性物質の放出の減少乃至涸竭を示唆する。

3. 縦走筋の抑制性電位と張力の同時記録で

語

は、抑制性電位に対応する張力減少はみられなかった。フィールド刺激時の張力低下は、抑制性電位による自発性活動電位の発生抑制にもとづくものと思われる。

4. PSD 発生時の単一および反復性抑制性電位の大きさは、最初の抑制性電位の大きさに比し大きい。PSD の大きさおよび持続時間は、先行する抑制性電位の状態に依存していた。

5. 十二指腸縦走筋・輪走筋および回腸縦走筋・輪走筋から非アドレナリン性抑制性電位を記録し、これらの部位の PNS を行ったが、PNS に対応した膜電位変化はえられなかった。また、抑制性電位は PNS の影響をうけなかった。

文

献

- Bauer, V. and Kuriyama, H. (1982). Evidence for non-cholinergic, non-adrenergic transmission in the guinea-pig ileum. *J. Physiol.* **330**: 95-100.
- Bennett, M.R., Burnstock, G. and Holman, M.E. (1966a). Transmission from perivascular inhibitory nerves to the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* **182**: 527-540.
- Bennett, M.R., Burnstock, G. and Holman, M.E. (1966b). Transmission from intramural inhibitory nerves to the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* **182**: 541-558.
- Bywater, R.A.R., Holman, M.E. and Taylor, G.S. (1981). Atropine-resistant depolarization in the guinea-pig small intestine. *J. Physiol.* **316**: 369-378.
- Furness, J.B. (1969). An electrophysiological study of the innervation of the smooth muscle of the colon. *J. Physiol.* **205**: 549-562.
- Gillespie, J.S. (1962). Spontaneous mechanical and electrical activity of stretched and unstretched intestinal smooth muscle cells and their response to sympathetic nerve stimulation. *J. Physiol.* **162**: 54-75.
- Hidaka, T. and Kuriyama, H. (1969). Responses of the smooth muscle membrane of guinea pig jejunum elicited by field stimulation. *J. gen. Physiol.* **53**: 471-486.
- Ito, Y. and Kuriyama, H. (1971). The properties of the rectal smooth muscle membrane of the guinea-pig in relation to the nervous influences. *Jpn. J. Physiol.* **21**: 277-294.

- Ito, Y. and Kuriyama, H. (1973). Membrane properties and inhibitory innervation of the circular muscle cells of guinea-pig caecum. *J. Physiol.* **231**: 455-470.
- North, R.A. and Williams, J.T. (1977). Extracellular recording from the guinea-pig myenteric plexus and the action of morphine. *Eur. J. Pharmacol.* **45**: 23-33.
- Ohkawa, H. (1983a). Properties of the inhibitory junction potentials recorded from the smooth muscle cells of the guinea-pig duodenum. *Tohoku J. exp. Med.* **140**: 197-207.
- Ohkawa, H. (1983b). Inhibitory junction potentials of the guinea-pig duodenum in the treatment with catecholamines. *Tohoku J. exp. Med.* **140**: 209-219.
- Williams, J.T. and North, R.A. (1979). Vasoactive intestinal polypeptide excites neurones of the myenteric plexus. *Brain Res.* **175**: 174-177.

(1983年8月23日受付)