摘出胆嚢の自発性収縮と粘弾性質

川崎医科大学 第一生理学教室

(主任: 松村幹郎教授)

松 木 吉 継

SPONTANEOUS CONTRACTIONS AND THE VISCO-ELASTIC PROPERTIES OF THE ISOLATED GUINEA-PIG GALL-BLADDER

Yoshitsugu MATSUKI

The First Department of Physiology, Kawasaki Medical School, Kurashiki, Okayama
(Director: Prof. M. Matsumura)

The isolated guinea-pig gall-bladder showed the spontaneous changes in luminal pressure at the rate of 7-12/min at 38°C. These spontaneous contractions were increased in rates as the increase in luminal volume. On the other hand, they were reduced in rates and in amplitudes by lowering the temperatures. Decrease in $[Ca^{2+}]_i$ from 2.4 mM to 0.8 mM depressed or even abolished the spontaneous contractions, whereas increase in $[Ca^{2+}]_i$ from 2.4 mM to 7.2 mM produced slow pressure rise accompanied with small pressure fluctuations, suggesting that $[Ca^{2+}]_i$ was increased as the results of facilitation of Na-Ca exchange mechanism. The pressure-volume relation measured during the first inflation was steeper than that during the following deflation; namely, the gall-bladder showed plasticity. The visco-elastic property was investigated by recording the time course of the pressure change, stress relaxation, following the sudden increase in volume. Thus, the tissue visco-elasticity was divided into three components; the instantaneous elastic component and two visco-elastic components that had the time constants of 4-12 sec and of 5-10 min.

I. 緒

論

摘出した胆嚢の自発性律動的収縮の性質およびその薬物に対する反応は古くから調べられた (Halpert & Lewis, 1930). 自発性収縮については, 生体内において (Itoh & Takahashi, 1981; Magee *et al.*, 1984), 摘出試料において (Shaw & Health, 1974; Rutishauser, 1978), また部分条片において (原田, 1979), いくつかの報告がなされている. この自発性収縮の頻度や振幅は種々の条件によって影響されるが, 本研究においては, まず, 摘出した胆嚢について,

温度と細胞外 Ca^{2+} 濃度の効果を検討した.

平滑筋組織の力学的性質については, 骨格筋や心筋についてなされてきた方法にしたがって, 主として盲腸紐について, また, 動脈条片について, その性質が解明されてきた (Remington, 1957; Axelsson, 1970). 一般に, 平滑筋組織の粘弾性質の特徴は, 急に張力を増した時それに対応する長さの伸びがゆっくりと持続すること (クリープ), および, 急に伸張する時張力応答がゆっくりと持続的に減少すること (応

力緩和)が挙げられる。しかし、これらの粘弾性質には、組織によって相当の差異が認められている (Remington, 1957)。したがって、胆嚢の粘弾性質を調べてこれを他の平滑筋組織の性質と比較することは、胆嚢収縮の態様を理解す

る上で必要なことと考えられる。そのために、摘出胆嚢内の容積を急激に変えた時の内圧応答を求めて、その粘弾性質の特徴や所在について検討した。

II. 実験方法

実験材料には、雄モルモット (体重 300-400 g) をジエチルエーテル麻酔下で開腹し、胆嚢を速やかに摘出して用いた。実験装置の配列は図 1 に示される。平滑筋組織に対する試薬や酸素の拡散が速やかであるように、摘出胆嚢を反転し漿膜側を内側に粘膜側を外側にして用いることを試みたが、胆嚢の収縮に対して反転の操作の有無による影響は認められなかった。胆管より 2 本の注射針 (18 gauge) を挿入し、胆管部でナイロン糸 (4 号) でしばって固定した。2 本の針にはそれぞれチューブを接続しそれらの

常時 O_2 が供給された。胆嚢 (図 1, G) は実験槽中で表面から 1.0 cm の深さに浸した。この深さが変わると水圧によって胆嚢内圧もまた変わることになるので、深さが常に一定であるように特に注意を払った。胆管に装着したチューブのうちの 1 本は、初期容積を調節するための注入器 (図 1, C_2) と、容積変化を与えるための注入器 (図 1, C_1) とに連結された。注入器 C_1 の動きは差動トランス (図 1, E) によって電圧変化に変換し、容積変化分 (図 1, V) として記録することができた。他方のチューブは圧トランスジューサ (図 1, D, 日本光電 TN 型) に接続し、胆嚢内圧を測定記録した。圧トランスジューサの感度は最大 5 mV/cmH₂O であり、その応答速度は、1 msec 以内である。容積変化分ならびに内圧変化分は、それぞれ直記式ペンレコーダ (日本光電 RJG-4000 型) および陰極線オシロスコープに表示した。Krebs 液の組成は、NaCl, 117.6; dextrose, 11.7; KH₂PO₄, 1.2; MgSO₄ · 7H₂O, 0.4; CaCl₂, 2.4; (各単位; mM) である。温度を下げる時は恒温槽内の温湯を少しずつ冷水に置換し、温度を上げる時は冷水を少しずつ温湯に置換して、ゆっくりと一定温度環境を得た。

図 1. 実験装置の配列

A: 恒温槽, B: 温度計, C_1, C_2 : 注入器, D: 圧トランスジューサ, E: 差動トランス, F: 酸素パンプ, G: モルモット胆嚢, H: サーボモーター, K: 実験槽, M: ヒーター, T: 三方活栓

チューブから胆嚢内腔の空気を抜き去り、Krebs 液を注入した。液槽は 38°C に保持され、

III. 実験成績

A. 自発性収縮

摘出した胆嚢を、内外面を反転し、胆管にカニューレを挿入して圧トランスジューサに接続する。胆管内に Krebs 液を少しずつ注入して、初期内圧がよくよく認められる容積におくと、自発性収縮による内圧変動を記録することができる (図 2, F)。この自発性収縮のリズムは、8-12 回/分の頻度であり、必ずしも規則正しいも

のではなく、また、圧の振幅も均一ではない。既に省略で報告した通り (松木と松村, 1984)、この自発性内圧変動は初期容積の大きい程頻度が増し振幅は低下する。また、温度にも依存しており、筋槽内の液温を 38°C より低くする時、自発性収縮の頻度もその振幅も減少し、26°C 以下になると静止張力が僅かに上昇するにもかかわらず、自発性収縮は消失する。

図2. 自発性収縮の内圧変動に対する温度の影響
A: 25°C, B: 27-28°C, C: 30°C,
D: 32-35°C, E: 36°C, F: 38°C

自発性収縮は、テトロドトキシンの添加によってそのリズムや振幅が僅かであるが増強される(図3, A)。テトロドトキシンによる増強の機序については、これ以上調べられていないが、同様な結果は小腸平滑筋の壁内神経叢を含む試料についても報告されている(Bortoff & Muller, 1975)。自発性収縮は、また外液 $[Ca^{2+}]$ によっても影響を受ける。 $CaCl_2$ 濃度を正常 Krebs 液の 1/3 に当たる 0.8 mM に減少させると自発性収縮は停止する(図3, B・C)。また、 $CaCl_2$ 濃度を 3 倍の 7.2 mM に増す時は、持続的な内圧上昇が出現し自発性収縮がその上に重畳される(図3, D)。自発性収縮の頻度はそれ程変わらないが振幅はむしろ減少している。持続的な内圧上昇の潜伏時間は 2-2.5 分の長さには達して、それは単に Ca^{2+} が平滑筋細胞間隙に拡散する時間より長い。さらに、興味あることは、 Ca^{2+} 濃度を 7.2 mM から正常の 2.4 mM に低下させる時、新たな内圧上昇があることである。この収縮は一過性であるが弛緩が完了するには、2-3 分を要しておりやはり Ca^{2+} の細胞間隙からの拡散時間だけでは説明できない。

図3. 自発性収縮の内圧変動に対する TTX, Ca^{2+} の影響。
A: マーク時点で TTX 10^{-5} M を含む Krebs 液に置換, B: マーク時点で 0.8 mM Ca^{2+} -Krebs 液に置換, 次のマーク時点で標準の Krebs 液 (2.4 mM Ca^{2+}) に置換, C: B と同じく Ca^{2+} 濃度を変える, B とは別の試料, D: マーク時点で 7.2 mM Ca^{2+} -Krebs 液に置換。

図4. 胆嚢内に Krebs 液の注入に対する内圧変化の過渡現象. 胆嚢内初期容積は, A: 0.225 ml, B: 0.425 ml, C: 0.725 ml. それぞれマーク時点で 0.1 ml 注入して容積変化を与える.

図5. 内圧-容積関係.
 ■: 容積増加直後の内圧と, 約 15 分後に定常に達した時の内圧とを示す. 定常値は破線で結んである.
 ▲: 容積減少の直後の内圧と約 15 分後に恢復する圧とを示す.

B. 内圧-容積関係

カニューレを通して Krebs 液を胆嚢内に注入して容積を増す時, 内圧は速やかに上昇した後, 次第に下降して 5 分後に定常に達する (図4). 定常に達した時の内圧変化と注入された Krebs 液の容積との値から胆嚢の内圧-容積関係を求めることができる (図5). 第1回の操作において, 内圧上昇が始まるのは, 容積が 0.05 ml においてであり, その後, 内圧は 0.6 ml までは徐々に 0.8 ml を超えると大きい勾配で上昇する. 容積の 12 倍の変化, すなわち筋線維の 2.3 倍の変化に対してその静止圧はそれ程大きく上昇はしないことになる. 液を吸引し容積を減少させると圧も低下するが, この時の内圧-容積関係を示す曲線は, 最初に容積を増して得られた曲線とは一致しない. 第2回の液注入の操作をおこなう時は, 第1回の操作の時にくらべて同じ容積に対する内圧は低く, このことは胆嚢もまた他の平滑筋器官と同様に塑性の存在することを示唆している.

C. 容積変化を与えた後の内圧変化の過渡現象

容積増大の直後に上昇した内圧は徐々に下降

図6. 胆嚢内に Krebs 液の注入に対する内圧変化の過渡現象。図4より紙送りを速くして得た記録。
A: 初期容積 0.1 ml に 0.1 ml 注入。上; 内圧変化で B の中間の記録と同じ較正。下; 容積変化で B の較正と同じ。
B: 初期容積 0.1 ml に 0.2 ml 注入。上と中; 内圧変化を異なる増幅感度で記録。下; 容積変化。

するが(図4), この下降相は最初に現われる速やかな下降相とその後に続くゆっくりした下降相との2相に区別できる。初期容積が 0.225 ml ないし 0.725 ml の範囲で異なっているが, 注入量を 0.1 ml とする時は, 下降相の全体的な経過は変わらない。図4には後続のゆっくりした内圧の下降相が示されているが, 図6には記録紙の送り速度を早くして最初の下降相を明瞭に示してある。ゆっくりした内圧変化の下降相の対数を時間に対して測定すると直線関係が得られる。この直線を時間0まで外挿し実際に測定される圧と延長線上の圧との差を再び対数にとって時間経過を求めるとやはり直線が得られる(図7)。したがって内圧変化の過渡現象は2種の時定数を持った指数関数の和としてあらわすことができる。すなわち, $P(t) = P_1 e^{-t/\alpha} + P_2 e^{-t/\beta}$, である。 $P(t)$ は容積の変化を与えた後時間 t における内圧の値であり, P_1, P_2 は内圧の常数, α および β はそれぞれ早い経過および遅

図7. 容積変化を与えた後の内圧変化の時間経過を実線で示す。内圧の値は対数目盛にとってある。
○—○: 初期容積 0.2 ml で 0.2 ml の容積増加を加える。
△—△: 初期容積 0.2 ml で 0.1 ml の容積増加を加える。
□—□: 初期容積 0.1 ml で 0.1 ml の容積増加を加える。
実線部の緩徐成分を時間0にまで外挿して細い点線で示す。実線の値と細い点線の値との差を破線で示す。

い経過の時定数である。時定数 α は実験試料により異なるばかりでなく, 与える容積変化の大きさ, 操作の回数などによりかなりの範囲に異なる。図7の例では, α は 4-5 秒, β は 6-9 分であり, これを含めた5の試料から得られた記録を測定した結果, α は 4-12 秒, β は 5-10 分である。応力緩和の経過から, 胆嚢は静止状態においては, 2種の粘弾性質を持つ複合模型としてあらわされることが示唆される。容積変化直後の内圧応答を, 記録紙の紙送りを早くしてさらに速い時間経過について得られた記録を図8に示す。容積変化には 0.15 sec を要しており, この時の圧変化が最大に達するには, 容積変化が完了してから約 10 msec の遅れを持っている。圧記録には, 60-70 c/sec の振動が重畳されているが, これは実験装置の固有振動によるものであ

図8. 胆嚢内に Krebs 液を注入した直後の内圧変化で図6よりも速い記録, 初期容積 0.2 ml で 0.2 ml の容積増加を加える。

り, また記録装置の固有振動は 50 c/sec である。これら測定記録装置の固有振動は, 最初の大きい圧上昇の振幅や時間の遅れの中にも含まれているはずで, 実際には内圧の振幅は小さくその応答はより速やかであろうと推測される。しかし, もし約 10 msec の遅れがそのままあるとしても, この遅れを担う要素は先に解析した

小さい時定数であらわされる要素よりも瞬時的であり純弾性に近いものと考えられる。

要約すると, 容積変化に対する内圧変化の経過から胆嚢壁には3種の要素が含まれることが示唆された。第1は純弾性要素であり, 第2要素は4-12秒の時定数, 第3要素は5-10分の時定数を持つ粘弾性要素である。

IV. 考

A. 自発性収縮の性質

生体内における胆嚢の自発性収縮は強く, その最大内圧は, 犬では 20-30 cm 胆汁の圧に達する (Magee *et al.*, 1984)。摘出胆嚢についても自発性収縮が常に見られる。Rutishauser (1978)は, 39 例中 8 例に認められたとしているが, 本研究においては, 摘出モルモット胆嚢 45 例中 50% 以上に認められ, 自発性収縮の頻度は 7-12 回/分, 振幅は 0.5-4 cmH₂O に達する。振幅については, モルモット生体内の自発性収縮による内圧上昇は 5 mmHg (0.7 kPa) である報告 (Shaw & Health, 1974) とくらべてやや低い値であるが, 0.7-2 mmHg (0.1-0.3 kPa) とも報告されており (Rutishauser, 1978), ほぼ同じ値といってよい。原田ら (1984) は, イヌ胆嚢の条片の大きさにより律動性収縮の頻度が異なることを見出しているが, 大きい条片では約 6.5 回/分の頻度が示されており, これと近似の頻度である。このような自発性収縮は胆嚢の容積に依存していて, 内容を増す時自発性収縮の頻度が増し振幅が減少することをわれわれは既に報告したが (松木と松村, 1984), 温度による

察

効果をも示した。盲腸紐においては, その自発収縮はスパイク電位にともなって生じており, このスパイク電位は盲腸紐の伸張によって頻度が増すことが知られている (Bülbring & Kuriyama, 1963; Mashima & Yoshida, 1965)。胆嚢の自発収縮もまた伸展によって脱分極が起こりスパイク発射の頻度が増加していると推測される。また, 盲腸紐のペースメーカにおけるスパイク電位の発生頻度が温度によって大きく影響される (Bülbring & Kuriyama, 1963) 事実が示されており, 胆嚢においても同様の温度効果が働いて自発収縮の頻度が減少すると推測される。

B. 内圧—容量曲線

静的な内圧—容積曲線は, 容積を増した後の測定する時間によって異なる。容積を増した直後では内圧の上昇は大きい。15-20 分後には低下する。応力緩和 (stress relaxation) の現象である。また, 最初に容積を増加して求めた曲線と, その後で容積を減らして得た曲線とは著しく異なる。塑性 plasticity による性質である。これらは, 他の平滑筋組織にも共通の性質である。

が (Remington, 1957), 胆嚢については, 内圧上昇にともなって水の移動が増して容積が徐々に減少する可能性を除外できないであろう。Heintze ら (1978) は内圧上昇によって胆嚢壁の水の再吸収が促進されるが, その効果は速やかに発現し約 20 分でもとの値にもどることを示している。これは応力緩和の完了する時間経過とほぼ一致しており, 実験装置の操作の上からは等容積に保持していても, 水の再吸収による容積減少の要因が含まれる可能性を考慮しなければならないだろう。定常状態に達した後の内圧の値を測定して得た内圧-容積関係は, 盲腸紐や動脈条片から得た一次元の試料について得られた結果と定性的に一致する。

C. 静的粘弾性質

摘出胆嚢に急激な容積増大を与える時, 内圧は速やかに上昇した後, 最初約 7 秒の時定数で下降し, その後ゆっくりした時間経過で下降していく。つまり, 内圧減退の経過は 2 種の指数関数の和として表現することができることが明らかになった。Remington (1957) は, 膀胱平滑筋について急に力を加えた時の長さの変化を調べ, 同様な速い経過の伸展と遅い経過の伸展とが含まれることを報告し, また, Axelsson (1970) は, 弛緩状態の盲腸紐に急激な伸展を加

えた後の応力緩和の時定数は 0.3-0.4 sec であることを示している。伸展直後の速やかな応答を調べると, この 2 種の粘弾性要素の他に, 速い内圧上昇をもたらすところの純弾性に近い要素が含まれており, 合計, 3 種類の要素から構成されていることがわかる。

もともと胆嚢の壁には多数の弾力線維が平滑筋線維の間に入りこんで不規則に配列されている (福原, 1973)。Krebs 液中において弱い自発収縮をくり返している状態の胆嚢組織の粘弾性が筋細胞にあるか結合織にあるかは明確ではないが, Mulvany & Warshaw (1981) は, 腸間動脈については, その剛度の少なくとも 1/2 以上は筋細胞に由来すると説明している。Remington (1957) は組織を 3 種の弾性率を持つ複合模型として考える時, 最も弱いスプリングは弾性組織を, 中間のものは筋組織を, 最も強いものはコラーゲン線維に対応すると考えている。この考え方を胆嚢について適用すると, 純弾性に近い成分はコラーゲンに, 次の時定数の小さい成分は筋組織に相当すると考えられる。時定数の大きい成分は単一組織の性質とみなすにも余りにもその対応が緩徐である。おそらく, 胆嚢内で筋組織などの配列が変り再配列が完了するまでの時間を含むと推測される。

V. 結

1. 摘出モルモット胆嚢は, 38°C で 7-12 回/分の自発性内圧変動を示す。この自発性収縮は, (1) 温度低下で, 頻度と振幅が減少する。(2) 標準 Krebs 液 (2.4 mM Ca^{2+}) から 0.8 mM Ca^{2+} -Krebs 液に置換すると, 内圧低下および自発性収縮は消失する。(3) 標準 Krebs 液から 7.2 mM Ca^{2+} -Krebs 液に置換すると, 次第に内圧上昇をきたす。

2. 内圧-容積関係は, 最初に容積を増加した曲線は, その後で容積を減らした曲線より急勾配である。胆嚢の塑性を示している。

3. 粘弾性質は, 容積変化に対する内圧変化

語

の経過から胆嚢壁には, 3 種の要素が含まれる。① 純弾性要素, ② 4-12 秒の時定数の粘弾性要素, ③ 5-10 分の時定数の粘弾性要素, である。

本論文の要旨は, 1984 年 7 月 16 日, 第 26 回日本平滑筋学会総会にて発表した。

稿を終えるにあたり御指導, 御校閲を賜りました川崎医科大学第一生理学松村幹郎教授に深謝いたします。同時に, 本研究に御協力をいただいた同教室各位に感謝します。

文

Axelsson, J. (1970). Mechanical properties of smooth muscle and the relationship between mechani-

献

- cal and electrical activity. In: *Smooth muscle*, ed. by Bülbbring, E., Brading, A.F., Jones, A. W. and Tomita, T., pp. 285-315, Edward Arnold Pub., London.
- Bortoff, A. and Muller, R. (1975). Stimulation of intestinal smooth muscle by atropine, procaine, and tetrodotoxin. *Am. J. Physiol.* **229**: 1609-1613.
- Bülbring, E. and Kuriyama, H. (1963). The effect of adrenaline on the smooth muscle of guinea-pig taenia coli in relation to the degree of stretch. *J. Physiol.* **169**: 198-212.
- Ebashi, S. (1980). Regulation of muscle contraction. *Proc. R. Soc., Ser. B. Biol. Sci.* **207**: 259-286.
- Halpert, B. and Lewis, J.H. (1930). Experiments on the isolated whole gallbladder of the dog. *Am. J. Physiol.* **93**: 506-520.
- 原田正夫 (1979). イヌ胆嚢条片運動について ——胆嚢条片運動に関する研究 (第1報)——. 日本平滑筋誌 **15**: 1-19.
- 原田正夫ら (1980). イヌ胆嚢条片運動について ——胆嚢条片運動に関する研究 (第3報)——. 日本平滑筋誌 **16**: 1-6.
- Heintze, K., Petersen, K.-U. and Busch, L. (1978). Effects of hydrostatic pressure on fluid transfer by the isolated gallbladder. *Pflügers Arch.* **373**: 9-13.
- 福原 武 (1973). 消化管運動のメカニズム. 141-212, 文光堂, 東京.
- Itoh, Z. and Takahashi, I. (1980). Periodic contractions of the canine gallbladder during the inter-digestive state. *Am. J. Physiol.* **240**: G183-G189.
- Katase, T. and Tomita, T. (1972). Influence of sodium and calcium on the recovery process from potassium contracture in the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* **224**: 489-500.
- Magee, D.F., Naruse, S. and Pap, A. (1984). Vagal control of gall-bladder contraction. *J. Physiol.* **355**: 65-70.
- Mashima, H. and Yoshida, T. (1965). Effect of length on the development of tension in guinea-pig's taenia coli. *Jpn. J. Physiol.* **15**: 463-477.
- 松木吉継, 松村幹郎 (1984). 胆嚢平滑筋の収縮性と動的粘弾性. 日本平滑筋誌 **20**: 336-338.
- Mulvany, M.J. and Warshaw, D.M. (1981). The anatomical location of the series elastic component in rat vascular smooth muscles. *J. Physiol.* **314**: 321-330.
- 小原一男ら (1984). サポニン処理単離平滑筋細胞における Ca^{2+} induced Ca^{2+} release 機構. 日本平滑筋誌 **20**: 279-281.
- Osa, T. (1971). Effect of removing the external sodium on the electrical and mechanical activities of the pregnant mouse myometrium. *Jpn. J. Physiol.* **21**: 607-625.
- Remington, T.W. (1957). Extensibility behavior and hysteresis phenomena in smooth muscle tissues. *Am. Physiol. Soc., Washington, D.C.* 138-153.
- Rutishauser, S.C.B. (1978). Effect of bile salts on the motor activity of the guinea-pig gallbladder in vitro. *Quart. J. Exp. Physiol.* **63**: 231-276.
- Shaw, H.M. and Heath, T.J. (1974). The gallbladder of the guinea-pig: its concentrating and contractile abilities. *Comp. Biochem. Physiol.* **49**: 231-240.

(1985年3月4日受付)