ウサギ胃平滑筋の各種作用薬に対する収縮反応の発達

友 政 剛

群馬大学医学部小児科学教室 (主任: 黒梅恭芳教授)

(平成元年3月6日 受付, 平成元年5月11日 採択)

I 結 言

人及び数種の哺乳動物では, 出生前後の比較的短い期間に胃・小腸運動の急速な発達がみられる. 例えば Morriss ら¹⁾ は, 人の未熟児の十二指腸の収縮運動を測定し, 修正週齢30週頃に十二指腸の収縮力及び収縮回数が急速に増加することを認めた. また, Milla ら²⁾ は同様に人未熟児の胃・十二指腸運動を測定し, 修正週齢35週頃から migrating myoelectric complex (MMC) という成熟した運動パターンがみられるようになることを報告した. Bueno³⁾ らによれば犬や羊でも MMC が出現するのは周産期である. さらに人では, 新生児期にみられる nonmigrating rhythmic activity という未熟な運動パターンがその後消失する現象を我々が報告した⁴⁾. しかし, これらの周産期における胃・小腸運動の発達が何に起因するかは解明されていない.

消化管平滑筋の運動は様々な神経伝達物質やホルモンによって制御されている⁵⁾. したがって, それらの物質の分泌やそれに対する筋の反応性の発達が, 上記の消化管運動の発達に関与している可能性は高い. 実際に, 分泌に関しては以下のことが知られている. すなわち, 日齢1の人新生児では血中の motilin, neurotensin, gastric inhibitory peptide, enteroglucagon, gastrin, secretin 濃度は授乳の影響をあまり受けないが, 日齢24では授乳後に有意の上昇を示す⁶⁾. また犬では, 日齢9頃から血中の gastrin 濃度が上昇し, それと同時に胃前庭部が gastrin に反応して弛緩するようになる⁷⁾. 一方, それらの作用薬に対する消化管平滑筋の反応の発達についてはほとんど研究されていない.

本研究は, 様々な作用薬に対するウサギ胃平滑筋の収縮反応の加齢による発達を知る目的でおこなった.

II 材料および方法

1) 材料: 新生児 (日齢1) および離乳直後 (体重2.0~2.5kg: 週齢約11) の New Zealand White Rabbit を用いた. 新生児ウサギでは頭蓋内に, 離乳後ウサギでは静脈内に50~100mg/kg の pento-barbital を投与し, 直後に開腹した. 開腹後すみやかに胃を摘出し, 噴門から計って大弯の全長の20~25%の部位の胃大弯側にハサミを入れ, 胃壁全層を小片としてきりとった. その小片を生理食塩水で洗浄後, O₂ 95%, CO₂ 5%の混合ガスで持続的に発泡飽和した Krebs 液内で筋条片を作製した. すなわち, 顕微鏡観察下に漿膜をピンセットにてはぎ取った後, 輪状筋方向に長さ10mm, 幅2.0~2.5mm となるようにハサミで整形して作製した. 尚, Krebs 液の組成 (mM) は NaCl 115, KCl 4.6, MgCl₂ 2.1, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 21.2, CaCl₂ 2.5, glucose 15.5である.

2) 方法: この筋条片を Krebs 液を満たしたウェル (内容量1ml, アクリル製) 内で一端をウェルの底に, 他端を圧トランスデューサー (Grass model FT-03C) に接続した (図1). この時点では筋条片の長さは, 弛緩状態で張力が0となる長さにした. すなわちウェルとトランスデューサーの距離を, 筋が弛緩している状態でトランスデューサーが張力を感知する最短の長さとした. ウェル内の Krebs 液は O₂ と CO₂ の混合ガスで持続的に発泡飽和し, 液温を37°Cに保つようにウェルの周囲は温水で灌流した.

この状態で安定化のため1.0~1.5時間放置したあと以下の手順でウェルとトランスデューサーの距離を変え, 筋が最大の収縮力を発揮し得る筋条片の長さ (Lo) を決定した⁸⁾.

まず, ウェルとトランスデューサーの距離を変えて筋条片の長さを1mm増加させる. この状態で5

Fig. 1. Recording system for muscle contractions. Muscle strips from rabbit proximal stomach were incubated in Krebs solution. Changes in the isometric tension were measured by the force transducer and recorded on the polygraph.

～10分間安静放置したあと、 $100\mu\text{M}$ になる量の bethanechol をウェル内に投与し、張力の変化（収縮力）を測定する。収縮が最大に達した後に排液し、ウェル内の Krebs 液を数回とりかえて筋条片を洗浄する。以上の操作を繰返すと、一般に bethanechol による張力の変化は筋条片の長さを増すとともに増加するが、やがてピークに達する。この時の長さを至適長さ (L_0) とした。これ以上の長さの増加は、逆に収縮力を減少させ、ついには筋の断裂に至る。

L_0 は総ての筋条片について決定した。 L_0 を決定した後、その筋条片の長さが L_0 の約95%になるようにウェルとトランスデューサーの距離を固定して実験を行った。100%の長さをういかなかった理由は、100%では収縮した際に筋条片が断裂する可能性が有るからである。各薬剤は実験当日に Krebs 液で適当な濃度に希釈した後、ピペットによってウェル内に投与した。投与後、筋の収縮反応がプラトーに至り、かつ、10分以上経過してから排液した。筋の収

縮力は薬剤投与後の収縮力 (N) を筋条片の断面積当りで表した。なお、断面積 (S) は $S = M/PL$ (M は重さ: gram, P は比重: gram/ml, L は長さ: cm) から計算した。

高濃度カリウム液による収縮をみた場合は、ウェル内の Krebs 液を排液し、直ちに当該濃度のカリウム液でウェルを満たした。この高濃度カリウム液は Krebs 液の NaCl を KCl に置き換えて作った。

各薬剤排液後はウェル内の Krebs 液を数回交換して、10分以上経過し、かつ、張力が薬剤投与前の値に戻ってから次の薬剤を投与した。原則として筋条片1箇所につき1種類の薬剤を低濃度から高濃度へ段階的に適用し、用量-反応曲線を作製した。

各作用薬による収縮に対する tetrodotoxin の影響は図2に示すプロトコルによって検討した。最初に、最大収縮を起こすよりやや少ない量の作用薬で収縮を測定する。30分後に同量の作用薬で再現性を確認した後、Krebs 液中に $3 \times 10^{-6}\text{M}$ の tetrodotoxin を加える。20分インキュベートし、再度同量の作用薬を加え、その収縮を先の収縮と比較する。すなわち、図の B/A を求めた。atropine ($3 \times 10^{-6}\text{M}$) の影響も同様のプロトコルによって検討した。

substance P または substance K による収縮に対する、高濃度の substance P または substance K による脱感作の影響は図3に示すプロトコルによって検討した。最初に $3 \times 10^{-9}\text{M}$ の substance P または substance K (図中 Tachykinin(1)) による収縮力を測定し、40分後に再現性を確認する。その5分後から $3 \times 10^{-7}\text{M}$ の substance P または substance K

Fig. 2. Protocol to evaluate the effect of tetrodotoxin on agonist-stimulated contractions. The response of the strip after the incubation with $3 \times 10^{-6}\text{M}$ tetrodotoxin (TTX) and the agonist (B) was compared to that after the incubation with the agonist alone (A).

Fig. 3. Protocol to evaluate the effect of desensitization by high dose substance P and substance K on contractions stimulated by lower dose of substance P and substance K. Responses of the strip to a tachykinin before (A) and after (B) the desensitization were compared.

(図中 Tachykinin(2)) で10分ずつ3回続けて収縮させる。さらに5分後初めと同じ作用薬 (3×10^{-9} M) で収縮力を測定して、初めの値と比較した。すなわち、図のB/Aを求めた。

各作用薬の最大収縮力および50%有効量 (ED_{50}) は非直線回帰分析⁹⁾ による用量-反応曲線から求めた。結果はすべて5本以上の筋条片における mean $\pm$ SEM で表した。二群間の比較には t 検定 (対応の無い場合) を用いた。

本研究で検討した作用薬は下記に示すとおりである。

1. bethanechol chloride (Merck, sharp and Dohme, West Point, PA)
2. cholecystokinin octapeptide (CCK-OP)
3. 5-hydroxytryptamine (serotonin) (以上 Sigma Chemical Co., St Louis, MO)
4. substance P
5. substance K
6. neuromedin K
7. neurotensin
8. bombesin
9. motilin (以上 Peninsula Laboratories, Belmont, CA)
10. gastrin (Ayerst Lab., Inc., New York, NY)
11. morphine (Wyeth Laboratories, Philadelphia, PA)

III 結 果

図4は各種作用薬に対する筋条片の収縮反応パターンを示したものである。上段は100 μ Mのbethanecholに対する反応で、ウェル内にbethanecholを加えると筋は直ちに収縮しその張力はbethanecholが洗い流されるまで維持される。同様の緊張性収縮はCCK-OP, substance K 及び neuromedin K に対しても認められた。substance K と neuromedin K に対しては全ウサギに、CCK-OP に対しては離乳後ウサギの5匹中3匹に認められた。

中段は10 nM の bombesin に対する反応で筋は bombesin に反応してすみやかに収縮するが、bombesin がそのまま Krebs 液中に存在していても、短時間のうちに自発的に弛緩した。このような相性収縮は高濃度カリウム液や neurotensin に対してもみられた。CCK-OP に対しては、総ての新生児ウサギと離乳後ウサギの5匹中2匹にみられた。

下段は1 μ Mの substance P に対する反応で、初期の相性収縮に引き続いて緊張性収縮が起る二相性の反応がみられた。このような二相性の反応は、新

Fig. 4. Qualitative differences in contractions. Muscle strips were incubated with each agonist and isometric tension was measured and recorded as described in Methods. The three types of contractions are shown.

生児ウサギの筋条片では10匹中8匹に認められた。残りの二匹では相性収縮のみがみられ、緊張性収縮は起らなかった。一方離乳後ウサギの筋条片では10匹中6匹に二相性の反応がみられた。残りの4匹では、相性収縮がみられず緊張性収縮のみがみられた。

同様の二相性の収縮は serotonin に対してもみられた。serotonin では新生児ウサギの全筋条片及び離乳後ウサギの5匹中3匹の筋条片に二相性の収縮がみられた。離乳後ウサギの2匹では緊張性収縮のみがみられた。

gastrin, morphine, motilin はどちらの年齢の筋条片にも測定感度以上の収縮を起さなかった。

図5はbethanecholに対する用量-反応曲線である。ED₅₀は新生児ウサギ、離乳後ウサギのどちらも約5.5 μ Mで有意の年齢差は認められなかった。100 μ M以上の濃度でどちらも最大収縮を起こした

Fig. 5. Effect of age on bethanechol stimulated contraction. Muscle strips from the proximal part of stomach of newborn rabbits (closed circles) and weanling rabbits (open circles) were incubated with various concentrations of bethanechol. Data represent the mean $\pm$ SEM of 6 separate experiments.

が、その収縮力は新生児ウサギが $305 \pm 54 \text{ mN/cm}^2$ で離乳後ウサギ $1140 \pm 73 \text{ mN/cm}^2$ の約4分の1であった。

図6はbombesinに対する用量-反応曲線である。やはりED₅₀に年齢差を認めなかったが、最大収縮は新生児ウサギ($152 \pm 37 \text{ mN/cm}^2$)が離乳後ウサギ($86 \pm 23 \text{ mN/cm}^2$)の約2倍であった。

図7に各作用薬に対する最大収縮力の年齢差をまとめた。substance P, serotonin については両相について示した。bethanechol, 高濃度カリウム液, substance P, substance K, neuromedin K に対しては離乳後ウサギは新生児ウサギより強い収縮を起こした。CCK-OP, neurotensin, serotonin については年齢差は認められなかった。bombesin に対してのみ新生児ウサギが離乳後ウサギより強い収縮をおこした。

図8はsubstance Pに対する相性収縮の用量-反応曲線である。新生児ウサギのED₅₀は1.8nMで離乳後ウサギのED₅₀, 134nMの約70分の1であった。

表1に各作用薬のED₅₀を示した。substance Pおよび serotonin の両相について新生児ウサギのED₅₀は離乳後ウサギのED₅₀より有意に小さかった。他の作用薬については有意差が見られなかった。

表2はsubstance Pとsubstance Kが同じ受容体を介して筋を収縮させるのかどうかを知る目的で、それぞれ作用薬の収縮において他者による脱感作が

Fig. 6. Effect of age on bombesin stimulated contraction. Muscle strips from the stomach of newborn rabbits (closed circles) and weanling rabbits (open circles) were incubated with various concentrations of bombesin. Data represent the mean $\pm$ SEM of 6 separate experiments.

Fig. 7. Effect of age on the maximum stress induced by each agonist. Maximum stress was calculated from the dose response curve in muscle strips from newborn (open bar) or weanling (closed bar) rabbits. An asterisk (*) indicates a significant difference ($p < 0.05$) from the result in newborn. Data represent the mean $\pm$ SEM of at least 5 separate experiments.

Fig. 8. Effect of age on the first phase of substance P stimulated contraction. Muscle strips from the stomach of newborn rabbits (closed circles) or weanling rabbits (open circles) were incubated with various concentration of substance P. The first phase or phasic component was noted in all of 10 strips from newborns and 6 out of 10 strips from weanlings. Data represent the mean $\pm$ SEM of the data.

Table 1. Effect of age on ED_{50} .

	Newborn	Weanling
Bethanechol, μ M	5.6 (4.8–6.6)	5.5 (4.5–6.8)
K ⁺ , mM	29 (25–33)	23 (21–27)
CCK-OP, nM	10.2 (7.2–14.5)	4.4 (3.2–5.9)
Neurotensin, nM	2.8 (1.3–5.8)	18.2 (12.6–26.3)
Bombesin, nM	1.4 (0.8–2.3)	1.1 (0.9–1.3)
Substance P		
1 st phase, nM	1.8 (0.7–3.0)	134 (83–219) *
2 nd phase, nM	7.7 (3.8–15.6)	443 (259–759) *
Substance K, nM	0.9 (0.5–1.8)	0.8 (0.4–1.4)
Neuromedin K, nM	21 (12–36)	78 (40–148)
Serotonin		
1 st phase, nM	34 (17–68)	980 (540–1780) *
2 nd phase, nM	22 (12–44)	540 (280–1050) *

Values are mean and 95% confidence range calculated from at least 5 separate experiments.

An asterisk (*) indicates a significant difference from the result in newborn.

Table. 2. Effect of substance P and substance K desensitization on responses of rabbit gastric smooth muscle to substance P and substance K.

	after desensitization by substance P (3×10^{-7} M)	after desensitization by substance K (3×10^{-7} M)
substance P (3×10^{-9} M)– stimulated contraction	51.7 $\pm$ 33.3%*	100.8 $\pm$ 12.6%
substance P (3×10^{-9} M)– stimulated contraction	94.8 $\pm$ 3.8%	47.4 $\pm$ 5.5%*

See text for desensitization protocol.

Values are mean $\pm$ SEM of four separate experiments.

*indicates significant difference from unity.

おこるか否かを検討した結果である。低濃度の substance P による収縮は高濃度の substance P による前処置によって51.7%に減弱したが高濃度の substance K による前処置の影響は受けなかった。低濃度の substance K による収縮は高濃度の substance P の前処置の影響は受けなかったが高濃度の substance K の前処置によって47.4%に減弱した。

tetrodotoxin や atropine は, atropine が量依存的に bethanechol の用量—反応曲線を shift させた以外には, いずれの作用薬による収縮についても影響を与えなかった。bethanechol による収縮への atropine の影響についてはすでに報告した⁸⁾。

IV 考 察

消化管の運動は胎生の比較的早い時期から認め得る。人の小腸の遊離標本は胎生8週頃には acetylcholine に反応して収縮する¹⁰⁾。生体内でも, Pritchard¹¹⁾ らが羊水造影法を用いて胎生25週以降の胎児において, 胃と小腸の運動を確認している。ウサギでも胎生13日ごろには腸管の遊離標本が acetylcholine に反応する¹²⁾。

一方, 消化管運動に関係のある様々な神経伝達物質やホルモンの存在も胎生の比較的早い時期から認められ¹³⁾, これらの物質が早くから平滑筋の収縮運動の制御に関与していることが想像される。本研究においても日齢1のウサギ胃平滑筋の遊離標本が様々な平滑筋作用薬に反応した。その ED₅₀ は 10^{-9} ~ 10^{-7} M と低値であり生体内においてもそれらの物質が出生直後から胃運動の制御に関与している可能性が示唆された。

しかしながら, その収縮反応には, 離乳後ウサギ

と比べて差が認められた。第一に, bethanechol, 高濃度カリウム液, substance P, substance K, neuro-medin K に対しては新生児ウサギの筋条片は離乳後ウサギに対して約3~4分の1の最大収縮しか起こさなかった。

これらの作用薬による収縮力の年齢差は以下に挙げる理由によって, 作用薬に対する筋の感受性の差によるのではなく, 筋自身の最大収縮能力の差によると思われる。すなわち, 1) 著者らはすでに, 新生児ウサギの胃平滑筋が離乳後ウサギのそれよりもむしろ多数の muscarin 受容体を持つこと, かつその受容体が高い親和性を持ちよく分化したM2受容体であることを認めている⁸⁾。2) 高濃度カリウム液による筋の収縮は膜電位依存性であり受容体を介さないことが知られている。3) 図7に明らかなように, 上記5つの作用薬はいずれも比較的強い収縮をおこすものであり, 比較的弱い収縮しかおこさない neurotensin, CCK-OP, serotonin では年齢差が見られない。

本研究で使用した作用薬の中では bombesin のみが新生児ウサギに離乳後ウサギより強い収縮を起こさせた。Ghatei らは人剖検例の肺において, bombesin の組織内濃度は新生児期に成人の約10倍であると報告している¹⁴⁾。また, Gillan らは胎児循環遺残症による死亡例を含む剖検例の検討から, 新生児期の肺において bombesin が平滑筋の収縮に関与していることを示唆している¹⁵⁾。消化管については同様の報告はみられないが, 新生児期に bombesin が相対的に重要な役割を果している可能性は否定できない。

ED₅₀ の変化すなわち効力の変化は substance P と serotonin に対してみられた。どちらも新生児ウ

サギに対してより強力であった。substance P と serotonin はどちらも腸管神経叢内に存在し、腸管の蠕動運動に関与すると考えられている¹⁶⁻¹⁸。また、モルモットの回腸では serotonin は直接筋の受容体に作用する他 substance P や acetylcholine 作動性の神経を介して作用することが知られている¹⁹。本研究の結果からすると、これらの物質の作用は tetrodotoxin や atropine によって影響されず、ウサギの胃では筋に対する直接作用である可能性が高いと考えられた。

本研究において、substance P に対する筋の反応性 (ED_{50}) と substance K に対するそれが異なった発達のしかたを示したことは興味深い。

substance P, substance K (別名 neurokinin A), neuromedin K (別名 neurokinin B) の3つの作用薬はC末端のアミノ酸配列が酷似しており作用もほぼ同じであるため tachykinin という名で総称されている。各種動物の様々な器官の平滑筋が tachykinin に対する受容体を有するが、それらの受容体は一般に上記3つの tachykinin のすべてに対して反応する²⁰⁻²⁸。しかし、それぞれの tachykinin に対する親和性は等しくなく、どの tachykinin に対して最も高い親和性を持っているかは受容体ごとに異なっている。それによって tachykinin の受容体は現在の所3種類に分類されている²⁰⁻²⁵。substance P と substance K にほぼ等しく高い親和性を示す受容体は SP-P または NK-1, substance K に高く substance P に低い親和性を示すものは SP-E または NK-2, neuromedin K に最も高い親和性を示すものは SP-N または NK-3 と呼ばれている。

ウサギ胃平滑筋を用いた本研究の結果では、neuromedin K に比べて substance P と substance K の ED_{50} が明らかに低く、これらに対する受容体の反応が生理的に重要であると考えられたが、そのうち substance P に対する ED_{50} が加齢によって低下するのに対して substance K に対する ED_{50} には加齢による変化が見られなかった。このことから2つの可能性が考えられる。第1は新生児ウサギの胃平滑筋が2種類の tachykinin 受容体を持つ可能性である。その場合、一方の受容体は substance P に優位に反応し加齢によって親和性が低下または数が減少するが、他方の受容体は substance K に優位に反応し加齢の影響をうけないと考えられる。第2は新生児ウサギが1種類の受容体を持ちそれが加齢に

よって変化する可能性である。すなわち、新生児ウサギの受容体は両方の tachykinin に反応し (NK-1 受容体)、加齢と共に SK に優位に反応する受容体 (NK-2 受容体) に変化するか置き換わる可能性がある。

そこで、新生児ウサギにおいて substance P と substance K が同じ受容体を介して筋を収縮させるのかどうかを脱感作現象を利用して検討した。仮に前述の第一の可能性が正しければ高濃度の substance P や substance K によって受ける脱感作の有無はそれぞれの受容体によって異なることが予想される。すなわち高濃度の substance P による前処置は substance P に親和性の強い受容体を脱感作させ、その直後の substance P による収縮を減弱させるが、substance K による収縮には影響を与えず、高濃度の substance K による脱感作では逆が起ることが予想される。一方、仮に第2の可能性が正しければ脱感作の影響はどちらの tachykinin による収縮にも現れると考えられる。

検討の結果は第一の可能性が正しいことを示した。すなわちウサギ胃平滑筋には、少なくとも2種類の tachykinin 受容体が共存することが示唆された。このことは筋条片が substance P に対しては2相性の収縮を起すのに対して substance K に対しては緊張性収縮のみを起すというように、2つの作用薬に対して異なった収縮反応を示すことと矛盾しない。

最近になり、一つの組織に2種類以上の tachykinin 受容体が共存しうる可能性が示唆されている^{20, 26-28}。例えば、Burcher ら²⁷ は以下の現象を報告している。¹²⁵I で標識した substance P のモルモットの小腸平滑筋に対する特異的結合は、未標識の substance P によって未標識の substance K によるよりも強力に阻止される。一方、¹²⁵I で標識した substance K の同組織に対する特異的結合は未標識の substance K によって未標識の substance P によるよりも強力に阻止される。本研究の結果も新生児ウサギの胃平滑筋に、異なった収縮のパターンおよび異なった発達のパターンを示す少なくとも2種類の tachykinin 受容体が存在することを示している。このことは一つの組織に複数の tachykinin 受容体が共存しうることの新たな証拠であると考えられる。

消化管運動は様々な物質が複雑に関係しあうこと

によって制御されている。しかし、それらの物質の生体内における役割は多くの場合明瞭でなく、かつ、それらの物質間の相互関係も不明な点が多い。したがって本研究から直ちに対象とされた物質の生体内での役割を知ることはできない。しかし、ウサギ胃平滑筋のそれらの物質に対する反応が年齢とともに相対的に変化することは本研究の結果から明らかであり、この変化が新生児期における消化管運動の発達にとって重要な因子のひとつであることは十分に考えられる。

V 総 括

新生児および離乳後のウサギ胃平滑筋の各種作用薬に対する収縮反応の発達を検討し以下の成績を得た。

1) 新生児および離乳後のウサギ胃平滑筋は bethanechol, CCK-OP, neurotensin, bombesin, substance P, substance K, neuromedin K, serotonin, 高濃度カリウム液に反応して収縮した。これらの収縮反応は tetrodotoxin によって影響されず、また bethanechol による収縮以外は atropine によっても影響されなかった。gastrin, morphine, motilin に対する反応はみられなかった。

2) bethanechol, 高濃度カリウム液, substance P, substance K, neuromedin K による収縮は離乳後ウサギが新生児ウサギより大であった。bombesin による収縮は新生児ウサギのほうが大であった。

3) substance P, serotonin の ED_{50} は離乳後ウサギが新生児ウサギより大であった。

以上のような、消化管平滑筋のアゴニストに対する反応性の差が新生児期にみられる消化管運動の発達に関与していることが想像された。

稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜った黒梅恭芳教授に深く感謝致します。

なお、本論文の一部は American Gastroenterological Association (1988) および第35回北関東医学会において発表した。

文 献

- Morriss, F. H., Moore, M., Weisbrodt, N. W. and West, M. S.: Ontogenic development of gastrointestinal motility: IV. Duodenal contractions in preterm infants. *Pediatrics*, 78: 1106-1113, 1986.
- Milla, P. J. and Fenton, T. R.: Small intestinal motility patterns in the perinatal period. *J. Pediatr. Gastroent. Nutr.*, 2 (Suppl. 1): 141-144, 1983.
- Bueno, L. and Ruckebusch, Y.: Perinatal development of intestinal myoelectrical activity in dogs and sheep. *Am. J. Physiol.*, 237: E61-E67, 1979.
- Tomomasa, T., Itoh, Z., Koizumi, T. and Kuroume, T.: Nonmigrating rhythmic activity in the stomach and duodenum of neonates. *Biol. Neonate*, 48: 1-9, 1985.
- 田中千賀子, 楠 正人, 藤井一元, 松尾 裕, 岸本真也: 消化管運動の調節機構, 三好秋馬, 伊藤 漸編, 消化管機能調節剤, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1985, 98-140頁.
- Lucas, A., Bloom, S. R. and Aynsley-Green, A.: Development of gut hormone responses to feeding in neonates. *Arch. Dis. Child.*, 55: 678-682, 1980.
- Malloy, M. H., Morriss, F. H., Denson, S. E., Weisbrodt, N. W., Lichtenberger, L. M. and Adcock, E. W., III.: Neonatal gastric motility in dogs: maturation and response to pentagastrin. *Am. J. Physiol.*, 236: E562-E566, 1979.
- Tomomasa, T., Hyman, P. E., Hsu, C. T., Jing, J. and Snape, W. J., JR.: Development of the muscarinic receptor in rabbit gastric smooth muscle. *Am. J. Physiol.*, 254: G680-686, 1988.
- BMDP Statistical Software, Dixon, W. J. ed., University of California press, 1985.
- Hart, S. L. and Mir, M. S.: Adrenoceptors in the human foetal small intestine. *Br. J. Pharmacol.*, 41: 567-569, 1971.
- Pritchard, J. A.: Fetal swallowing and amniotic fluid volume. *Obstet. Gynecol.*, 28: 606-610, 1966.
- Gershon, M. D. and Thompson, E. B.: The maturation of neuromuscular function in a multiply innervated structure: development of the longitudinal smooth muscle of the foetal mammalian gut and its cholinergic

- exitatory, adrenergic inhibitory, and nonadrenergic inhibitory innervation. *J. Physiol. Lond.*, 234 : 257-277, 1973.
- 13) Buchan, A. M. J., Bryant, M. G., Polak, J. M., Gregor, M., Ghatei, M. A. and Bloom, S. R. : Development of regulatory peptides in the human fetal intestine, in *Gut hormones*, Churchill Livingstone, New York, 1981, pp, 119-124.
 - 14) Ghatei, M. A., Sheppard, M. N., Henzen-Logman, S., Blank, M. A. Polak, J. M. and Bloom, S.R. : Bombesin and vasoactive intestinal peptide in the developing lung : Marked changes in acute respiratory distress syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 57 : 1226-1232, 1983.
 - 15) Gillan, J. E., Pape, K. E. and Cutz, E. : Association of changes in bombesin immunoreactive neuroendocrine cells in lungs of newborn infants with persistent fetal circulation and brainstem damage due to birth asphyxia. *Pediatr. Res.*, 20 : 828-833, 1986.
 - 16) Wood, J. D. and Mayer, C. J. : Slow synaptic excitation mediated by serotonin in Auerbach's plexus. *Nature*, 276 : 837, 1978.
 - 17) Morita, K., North, R. A. and Katayama, Y. : Evidence that substance P is a neurotransmitter in the myenteric plexus. *Nature*, 287 : 151-152, 1980.
 - 18) Bartho, L., Holzer, P., Donnerer, J. and Lembeck, F. : Evidence for the involvement of substance P in the atropine-resistant peristalsis of the guinea-pig ileum. *Neuroscience Letters*, 32 : 69-74, 1982.
 - 19) Buchheit, K. H., Engel, G., Mutschler, E. and Richardson, B. : Study of the contractile effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the isolated longitudinal muscle strip from guinea-pig ileum : evidence for two distinct release mechanisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 329 : 36-41, 1985.
 - 20) Watson, S. P. : Are the proposed substance P receptor subtypes, substance P receptors? *Life Sci.*, 35 : 797-808, 1984.
 - 21) Lee, C. M., Iversen, L. L., Hanley, M. R. and Sandberg, B. E. B. : The possible existence of multiple receptors for substance P. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 318 : 281-287, 1982.
 - 22) Growcott, J. W., Jamieson, A., Tarpey, A. V. and Topham, L. D. : Further evidence for multiple tachykinin receptors. *Eur. J. Pharm.*, 86 : 59-64, 1983.
 - 23) Burcher, E. and Buck, S. H. : Multiple tachykinin binding sites in hamster, rat and guinea-pig urinary bladder. *Eur. J. Pharm.*, 128 : 165-177, 1986.
 - 24) Lee, C., Campbell, N. J., Williams, B. J. and Iversen, L. L. : Multiple tachykinin binding sites in peripheral tissues and in brain. *Eur. J. Pharmacol.*, 130 : 209-217, 1986.
 - 25) Buck, S. H. and Shatzner, S. A. : Agonist and antagonist binding to tachykinin peptide NK-2 receptors. *Life Sci.*, 42 : 2701-2708, 1988.
 - 26) Hosoki, R., Hisayama, T. and Takayanagi I. : Pharmacological evidence for the possible coexistence of multiple receptor sites for mammalian tachykinins in rabbit iris sphincter smooth muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 335 : 290-295, 1987.
 - 27) Burcher, E., Buck, S. H., Lovenberg, W. and O'Donohue, T. L. : Characterization and autoradiographic localization of multiple tachykinin binding sites in gastrointestinal tract and bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 236 : 819-831, 1985.
 - 28) Lee, C., Campbell, N. J., Williams, B. J. and Iversen, L. L. : Multiple tachykinin binding sites in peripheral tissues and in brain. *Eur. J. Pharm.* 130 : 209-217, 1986.

DEVELOPMENT OF AGONIST-MEDIATED GASTRIC SMOOTH MUSCLE CONTRACTION IN THE RABBIT

TAKESHI TOMOMASA

Department of Pediatrics, Gunma University School
of Medicine, Maebashi, 371, Japan.

(Director : Prof. Takayoshi Kuroume)

We used muscle strips from rabbit proximal stomach to study developmental changes in response to putative agonists. Strips from neonatal (1 day old) and weanling (11 weeks old) rabbits were stimulated by agonists and the contractions were recorded. Maximal stress and ED₅₀ were calculated from the dose response curves. Maximal stress increased with age for bethanechol, high extracellular K⁺, substance P, substance K, and neuromedin K, but not for serotonin, cholecystokinin-octapeptide, or neurotensin. Bombesin stimulated larger contractions in neonates. Gastrin, motilin and morphine had no effect at either age. ED₅₀'s for substance P and for serotonin in neonates were 24 to 800 times less than those seen in weanlings.

These data suggest that developmental changes in gastrointestinal motility seen in the neonatal period might be due to modulation of muscle responses to agonists.

Key words : Smooth muscle, Development, Bombesin, Serotonin, Substance P