平滑筋膜における薬物作用*

高 柳 一 成**

要 旨 : 薬物-受容体相互作用は質量作用の法則に従い, 収縮薬と受容体の相互作用には Ca^{2+} または Mg^{2+} を必要とするが, 競合的拮抗薬と受容体との相互作用には特別なイオンを必要としない. 活性薬-受容体相互作用のあと発生する刺激は各収縮薬によって異なり, 収縮作用の強い薬物はごくわずかな受容体を占有するだけで最大反応に達し得る. ゆえに, このような薬物にはふつうは反応に関係しない受容体すなわち spare receptor (余剰受容体) が存在する. また, 平滑筋においては薬物受容体-薬物受容体相互作用 (cooperativity) を示唆する現象が観察される. ところで, β -アドレナリン受容体を介する反応または一部の非特異的平滑筋弛緩薬による反応は cyclic AMP の増加によると考えられるが, 多くの非特異的平滑筋弛緩薬は cyclic AMP と関係なく弛緩反応を起こす. 収縮薬によって使われる Ca^{2+} は各種収縮薬によって異なり, 非特異的弛緩薬による反応においても Ca^{2+} の移動の制御の仕方は各薬物によって異なる. なお, 収縮薬による反応が cyclic GMP によって引き起こされる可能性はきわめて小さい.

薬物受容体機構

薬物-受容体相互作用と栄養液中

の二価イオン

薬物受容体と cyclic nucleotides

収縮薬と Ca イオン

非特異的弛緩反応

受容体-受容体相互作用の可能性

おわりに

筋といっても, 骨格筋・心筋・平滑筋とあるが, 組織学的にも分化が進み, 細胞の大きな骨格筋においては収縮弛緩機序の研究も最も進んでいる. しかし, これに作用する薬物は少ない. これに対して, 心筋や平滑筋, ことに後者における収縮弛緩機序の研究は, 骨格筋と比較すると相当におくれているが, 心筋や平滑筋に作用する薬物は多種である. 本稿においては, 平滑筋における薬物作用について概説したい.

薬物受容体機構

受容体という概念は, Ehrlich (1900) や Langley (1906) によって古くから示されていたが, 近代薬理学へ薬物受容体なる概念を導入したのは, A. J. Clark (1926) である. Clark はカエルの摘出心臓を用いて, アセチルコン (ACh) を与えた場合, 心臓の運動を停止する濃度を求め, このとき, 溶液中のすべての ACh 分子が心筋表面に結合したとしても, 心筋表面のわずか $1/6,000$ を

おおうにすぎないことから, ACh が結合して薬理作用を発現する特種な部位を薬物受容体と呼んだ. そして薬物 (A) と受容体 (R) は質量作用の法則に従って相互作用をすると考えた¹⁾ : $A + R \rightleftharpoons AR$. さらに Clark は活性薬がその受容体と結合した場合, 同一薬理作用を示す薬物であれば, 薬物が異なっても, 薬物-受容体複合体 (AR) 形成後に発生するいわゆる収縮をひき起こすための刺激の強さはどの薬物においても等しいと考え, さらに生体の反応は全受容体に対する AR の生成率によって決まるとした. 換言すれば, 生体が最大反応の70%の反応を示すには, 薬物受容体も薬物によって70%が占有される必要があることになる. Clark の考え方はその後あまりかえりみられなかった. ところが, 1954年, Ariens²⁾ は活性薬の構造の一部を徐々に大きくしてゆき, 薬物による用量作用曲線の解析を行った. その1例を示したのが Fig. 1 である. 1, 3-dioxolane 誘導体はACh受容体へ作用するが, この誘導体の R を H から漸次大きな基として行った. R が H から Me になった場合, 有効濃度は小さくなり, さらに Et にすると逆に大きくなるが,

* Drug Actions in Smooth Muscle Membrane

** I. Takayanagi: 東京大学薬学部 (113 東京都文京区本郷)

Fig. 1 1,3-dioxolane誘導体の化学構造と薬理作用の関係, Pr: dualist (すなわちpartial agonist)

最大反応はいずれも同じであった。有効濃度の変化は四級アンモニウムのあとの原子 (H ははぶく) の 5 原子の長さが ACh 受容体とよく結合できるためと考えられている。ところが, R を Pr (C₃H₇-) にするとどんなに用量をましても, R が H, Me や Et である薬物への最大反応まで達しなかった。この Pr をもった薬物は ACh 類似の作用をも示すが, 同時に競合的拮抗作用 (アトロピン様作用) も有することが示された。このように最大反応が小さく, 活性薬としての作用と競合的拮抗作用の両方を有する化合物 (Fig. 1 で R が Pr のもの) を partial agonist (部分活性薬) と呼ぶ, R をさらに大きくすると競合的拮抗薬となる。Ariëns は partial agonist の作用機序を説明するために, Clark の考えを一部修正し

た。A+R $\rightleftharpoons$ AR となることはよいとして, AR 形成後生ずる刺激の強さは薬物によって異なる。例えば, Fig. 1 で R が Me のものに対して Pr の最大反応は 50% であるが, Pr-誘導体が受容体と複合体を形成した場合発生する刺激は Me-誘導体の 50% であると考えた。Ariëns は薬物-受容体複合体の形成後に発生する刺激の強さを示す概念として intrinsic activity (内活性) を用いた。Fig. 1 の Me-誘導体は intrinsic activity は 1 であり, Pr-誘導体のそれは 0.5 ということになる。ところが, 1956 年に Stephenson³⁾ は, Ariëns と類似の実験結果を得たが, いろいろ理論式を展開し, 異なる考え方を発表した。その詳細は紙面の都合上省略する。同年 Nickerson⁴⁾ は別の実験方法を用いて Stephenson と同じ考えを提出した。SY-28 がヒスタミン受容体と特異的にしかも非可逆的に結合することを示し, そして, SY-28 で一定時間 incubate した小腸は, なおヒスタミンへの反応が SY-28 を適用するまえの最大反応と同じであり, SY-28 の用量を増してゆくと, はじめのうちはヒスタミンへの最大反応は同じであり, 用量作用曲線は単に高用量側へ平行移動し, ついに最大反応が小さくなることを示した (Fig. 2)。ところで, Clark や Ariëns が考えたように, 最大反応を示すには 100% の受容体を占有する必要があるが, SY-28 で一部でも非可逆的に受容体が遮断されているのであれば, ヒスタミンへの最大反応は SY-28 で占有された分だけ小さくならなければならない。しかるに, 最大反応は変わらず用量作用曲線は高用量側へ平行移動したにすぎない。このことから, ヒスタミンが受容体の一部を占有しただけで最大反応に達し得ることが示唆されている。SY-28 の用量をさらに示すと受容体がより多く SY-28 に

Fig. 2 SY-28 の非可逆的結合によるヒスタミンの用量作用曲線の変化

Fig. 3 薬物受容体機構の説明図

よって非可逆的に占有され、受容体が最大反応を生ずるだけ残っていないようになると最大反応が抑制されてくる。Nickerson はこのようなことから、ヒスタミンにはかねがね薬理反応に関与しない余分な受容体 (spare receptor: 余剰受容体)があると考えた。一方Stephenson³⁾は自分の実験結果から類似の考えをとり、いわゆる活性薬 (agonist) は受容体と結合した場合、非常に強い刺激を発生するので、受容体の一部を占有しただけで、最大反応を引き起こすに十分な強さの刺激を発生し得るが、partial agonist は複合体形成後に発生する刺激が小さいので、全受容体と結合しても発生した刺激の強さの合計が最大反応をひき起こすほど、大きくないと考えた。Stephenson は、刺激の強さを示す概念として efficacy を提出したが、計算するのに少々面倒なので、薬理学では Ariens の intrinsic activity を用いて薬物の性質を示している。ところで、Stephenson の考え方は Ariens のグループ²⁾によっても Nickerson の実験方法を用いて par-

tial agonist には spare receptor がないことが示され、Stephenson の考え方が、今日もっともたしかなものとなっている。これらの考え方を図示したのが Fig. 3 である。しかし、partial agonist は異なる 2 つの作用点に作用して、一方の作用点においては活性作用をひき起こし、同時に他の作用点に作用すると抑制作用を示す場合があり、Stephenson の考えのように単純ではない⁵⁾。

薬物-受容体相互作用と栄養液中の二価イオン

ところで、一般に薬物と受容体の相互作用は薬物のもっている陽価電と受容体側にある陰価電との間のイオン結合を他の補助的な基が助けることによって起こるものと単純に考えられていた。しかし、実際には Ca^{2+} や Mg^{2+} が関与している。

ヒスタミンと受容体の相互作用を例として話をすすめよう。dibenamine は薬理学の教科書では α -アドレナリン受容体を遮断する薬物とかがれているが、用量を少々

増すとヒスタミン受容体とも非可逆的に結合して遮断作用を示す。dibenamine による受容体との非可逆的結合は栄養液中の Ca^{2+} や Mg^{2+} の有無に関係しない^{6,7)}。すなわち、まず正常の Locke Ringer 液 (Ca^{2+} と Mg^{2+} を含む) 中でヒスタミンの用量作用曲線を求め、次いで Ca^{2+} のみを除いた栄養液、 Mg^{2+} のみを除いた栄養液または Ca^{2+} 、 Mg^{2+} の両方を除いた栄養液で incubate する。このとき dibenamine を加えておき、その後正常の Locke Ringer 液で十分に洗い、ヒスタミンの作用を検討すると、ヒスタミンの曲線はどの栄養液を用いても同じように抑制される。このことを利用する。まず、正常の Locke Ringer 液を用いて対照となるヒスタミンの用量作用曲線を求めておき、次いで受容体の保護薬としてヒスタミンまたは抗ヒスタミン薬例えば diphenhydramine の高用量を作用させてヒスタミン受容体を完全に占有しておき、この状態で dibenamine を加えると

dibenamine は受容体と結合しにくい。このあと十分に正常の栄養液で洗い、ヒスタミンの用量作用曲線を求めると対照の曲線と大略一致する。このようなことを薬物受容体の保護という (Fig. 4)。この受容体の保護をする段階で、正常の Locke Ringer 液の代わりに 2 価イオンをのぞいた各種栄養液を用いる。もし、 Ca^{2+} や Mg^{2+} がヒスタミンや diphenhydramine と受容体との結合に必須であるならば、これらイオンを除くとヒスタミンや diphenhydramine は受容体と結合できなくなるので、受容体は保護されない。もし、これらのイオンが必須でなければ、これらイオンを栄養液から除いてもなお受容体は保護できる⁵⁾。このような方法で実験した結果、ヒスタミンと受容体の結合には Ca^{2+} または Mg^{2+} のいずれか一方が必要であり、diphenhydramine と受容体との結合にはいずれのイオンも関係ないことが示された (Fig. 5, 6)⁸⁾。このことはさらに膜電位の観察によっても支持

Fig. 4 dibenamine による薬物受容体の非可逆的遮断とこれに対する収縮薬または競合的拮抗薬による受容体の保護の説明図

Fig. 5 正常 Locke Ringer 液中での Dibenamine によるヒスタミンの非可逆的抑制作用 (A) とヒスタミンによるヒスタミン受容体の保護 (B)

Fig. 6 Ca^{2+} と Mg^{2+} の両方をはぶいた Locke Ringer 液中での Dibenamine によるヒスタミン受容体の非可逆的遮断 (A), ヒスタミンによって受容体が保護できないこと (B) および競合的抗ヒスタミン薬 Diphenhydramine による受容体の保護 (C)

された⁹⁾。同様な方法で、 α -アドレナリン受容体⁸⁾、アセチルコリン受容体⁸⁾、セロトニン受容体¹⁰⁾においては活性薬 (agonist) と受容体との結合には Ca^{2+} または Mg^{2+} のいずれか一方または両方を必要とし、競合的拮抗薬との相互作用ではこれらイオンを必要としないこと

が示された⁸⁾。なお、 Ca^{2+} や Mg^{2+} の代わりに他の元素、例えば Sr^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Zn^{2+} などを用いても代用性は極めて小さい⁹⁾。

活性薬と受容体との相互作用に Ca^{2+} または Mg^{2+} が必須であることは平滑筋のマイクロソーム分画を用いた

Table 1 ネコ小腸縦走筋マイクロソーム分画による ^3H -ヒスタミンの取り込みと Ca^{2+} および Mg^{2+} の効果

	放射性 (平均値±標準誤差)	
	5分 incubation	10分 incubation
正常の Locke Ringer 液 (Ca^{2+} Mg^{2+} を含む)	148±9.2	132±8.4
Ca^{2+} を除いた栄養液	121±5.1	122±5.8
Mg^{2+} を除いた栄養液	134±6.3	129±5.2
Ca^{2+} と Mg^{2+} を除いた栄養液	100	100

8 例の平均による。

実験でも証明されている¹¹⁾。ネコの小腸はヒスタミンに対して比較的低用量で収縮を起こす。そこで、ネコの小腸縦走筋からマイクロソーム分画をとり、これによる ^3H -ヒスタミンの取込みに対する Ca^{2+} や Mg^{2+} の影響を検討すると、 Ca^{2+} と Mg^{2+} を除いた Locke Ringer 液を用いても ^3H -ヒスタミンの取込みはかなりあるが、これを 100% として Ca^{2+} または Mg^{2+} のいずれかを除いた Locke Ringer 液、または Ca^{2+} と Mg^{2+} の両方を含んだいわゆる正常の Locke Ringer 液を用いた場合は ^3H -ヒスタミンの取込みを求めると有意に増加している (Table 1)。一方、 Ca^{2+} または Mg^{2+} に依存した ^3H -ヒスタミンの取込みが非特異的なヒスタミンの結合点ではみられない：ウシ血清アルブミンにはヒスタミン受容体は存在しないと考えられるが、これに対する ^3H -ヒスタミンの結合へは Ca^{2+} も Mg^{2+} も全く影響を与えない。これらのことからヒスタミンと受容体が結合する場合には Ca^{2+} や Mg^{2+} を必要とし、ヒスタミンと非特異的結合点との相互作用の場合には Ca^{2+} や Mg^{2+} の関与はないと考えられる。 Ca^{2+} や Mg^{2+} と活性薬と受容

体との親和性の増加は、電気ウナギの発電器官にある ACh のニコチン受容体においても報告されている¹²⁾。また、 α -アドレナリン受容体と拮抗薬の相互作用には Ca^{2+} は関与しないことがウサギの子宮筋膜分画を用いて最近報告されている¹³⁾。

ところで、活性薬と受容体との相互作用に Ca^{2+} または Mg^{2+} がどのような機序で関与しているかは想像の域を出ないが、用いられた活性薬の中には ACh 様作用薬として butyltrimethylammonium も含まれており、これはキレートを作る可能性はないことから、少なくとも Ca^{2+} または Mg^{2+} が活性薬と受容体との結合をキレートを作ることによって助けるとは考えられない。多分薬物受容体には二つの型が存在し、その内の一つは Ca^{2+} または Mg^{2+} が存在するときにとりうるもので活性型であり、他の一つは Ca^{2+} および Mg^{2+} が存在しないときにとるもので不活性型である。これらは平衡関係にあり、活性型となったときのみ活性薬と結合でき、競合的拮抗薬は活性型および不活性型のいずれの型とも結合できる (Fig. 7)^{10,14)}。なお、 Ca^{2+} や Mg^{2+} の効果は Sr^{2+} によって代用されないことはすでに述べたが、正常の Locke Ringer 液中に Sr^{2+} を Ca^{2+} の 10 倍量加えても、 Ca^{2+} や Mg^{2+} の効果は影響されないので、 Ca^{2+} や Mg^{2+} の作用点に対する Sr^{2+} の親和性は小さいものとする (Fig. 8)¹⁴⁾。

薬物受容体と cyclic nucleotides

生化学的研究から、ATP は adenylate cyclase によって cyclic AMP となり、cyclic AMP は分解酵素である phosphodiesterase によって分解され、5'-AMP となることが知られている。この phosphodiesterase は methylxanthine 誘導体であるテオフィリンやカフェインで抑制さ

Fig. 7 薬物受容体の状態についての模型図。 Ca^{2+} , Mg^{2+} のいずれか一方または両方があると活性型となり、両イオンがないと不活性型へと変わる。活性薬は活性型とのみ相互作用する。

Fig. 8 正常の Locke Ringer 液に高用量の Sr^{2+} を加えた状態での Dibenamine によるヒスタミン受容体の非可逆的遮断 (A) とヒスタミンによる受容体の保護, 高用量の Sr^{2+} があってもヒスタミンで受容体が保護されたことは Ca や Mg の作用点に対して Sr の親和性が小さいことを示す。

れ, イミダゾールによって促進されることも知られている¹⁵⁾. β -アドレナリン受容体の刺激薬である isoprenaline は消化管平滑筋を弛緩させるが, この反応はカフェインで促進され, イミダゾールで長時間処理すると反応は減弱される¹⁶⁾. そこで isoprenaline を作用させ, 平滑筋の弛緩反応の時間経過を追いながら, 同時に平滑筋組織の cyclic AMP 量の変化を求めると, 弛緩が起こる前に cyclic AMP が有意に増加する (Fig. 9)¹⁷⁾. また isoprenaline の用量を増すと, 組織内 cyclic AMP 量も増え, 弛緩反応も増大する^{17,18)}. 一方, 消化管平滑筋では α -アドレナリン刺激薬である phenylephrine によっても弛緩反応を示すが, cyclic AMP の増加は伴わない¹⁹⁾. このようなことは isoprenaline による弛緩は cyclic AMP の増加によって引き起こされる可能性を示唆している. さらに, isoprenaline によって増加する cyclic AMP は β -アドレナリン遮断薬である propranolol によって抑制され, 同時に弛緩反応も遮断されるので¹⁸⁾, いずれも同一の β -アドレナリン受容体を介した反応であると考えられる.

ところで, β -アドレナリン受容体は Lands ら^{20,21)} により, さらに β_1 -受容体と β_2 -受容体に細分類されている. β_1 -受容体のあるものは心筋, 消化管などであり, β_2 -受容体は気管・気管支の平滑筋, 子宮などにある.

Fig. 9 消化管平滑筋における isoprenaline 5×10^{-7} g/ml 投与後の張力および cyclic AMP 量の変化

β_1 -受容体を有する臓器と β_2 -受容体をもった臓器より得た各 adenylate cyclase 標本に対する isoprenaline, アドレナリンおよびノルアドレナリンの活性化の効力比は薬理反応の効力比に大略一致する²²⁾. また, sulbutamol や soterenol は β_1 -受容体に対するよりも β_2 -受容体をより強く刺激するが, adenylate cyclase の活情化も β_2 -

受容体をもった臓器から得た adenylylase 標本において強い。更に、 β_1 -受容体を選択的に遮断する practolol は β_1 -受容体をもった臓器から得た adenylylase 標本においてより強く isoprenaline の作用に拮抗する²³⁾。最近、薬物による adenylylase 刺激作用を検討し、器官全体を用いてえた β_1 受容体における効力と β_2 -受容体における効力との比は、膜分画においてえた効力比より大きいことなどから、 β -受容体はたしかに性質の違いから β_1 と β_2 に細分類できるであろうが、薬物が受容体へ到達するまでの分布の差によると考えられる部分もあるという報告も出されている²⁴⁾。しかし、このようなことは β -受容体を介した薬理反応が少なくともある部分は cyclic AMP の増加によることを示唆するものであろう。

cyclic AMP がどのような機序で生体反応を起こすかは十分には解明されていないが、平滑筋をグリセロールで処理し、膜機能を失わしたいわゆるグリセロール筋を作り、 Ca^{2+} と Mg-ATP で収縮させ、これに dibutyryl cyclic AMP 10^{-4}M の高用量を与えても収縮の緩解は起こらないので、cyclic AMP は収縮性タンパク質のところで作用をするのではない²⁵⁾。一方、結腸や血管平滑筋からとったマイクロソーム分画による Ca^{2+} の取込みは cyclic AMP または dibutyryl cyclic AMP によって促進される^{26,27)}。これらのことから、最も可能性のある考え方として、cyclic AMP が protein kinase を活性化し、平滑筋膜がリン酸化され、収縮性タンパク質への Ca^{2+} の供給がへり、平滑筋が弛緩するのであろう。

しかるに、薬理作用を発現するための β -アドレナリン受容体と cyclic AMP を生成する β -受容体とは別ではないかと疑問をなげかける人もある。その理由の一つは薬理反応を指標として得た用量作用曲線が cyclic AMP 量の増加を指標として求めた曲線より低濃度側にあることである。これについてはいろいろ説明されているが、 β -受容体に spare receptor があるのも原因の 1 つと考えられる。ごく最近まで β -受容体には非可逆的遮断薬はなかった²⁸⁾。そこで、isoprenaline を β -受容体へ結合させておき、これに光 (270~350 nm) を照射することにより Fig. 10 に示すように isoprenaline がラジカルを作り、これが受容体と非可逆的に結合する (光化学的親和標識)。このようにして β -受容体を非可逆的に遮断しておいても isoprenaline の用量作用曲線は平行移動をするのみで、最大反応が抑制されないので、spare receptor が可成あるものと考えられる²⁹⁾。ゆえに、isoprenaline がわずかの β -受容体と結合しただけで、最大反応まで

Fig. 10 isoprenaline による β -アドレナリン受容体の光化学的親和標識の説明図

達しうのに対して、cyclic AMP の増加は β -受容体の全部と結合するまで増加しつづけるであろう。このようなことが、二つの用量作用曲線の差になるもので、両者に差があって当然ということになる。また、少なくとも発情期のウサギの子宮では isoprenaline による抑制反応が propranolol で完全に遮断できないので³⁰⁾、この場合も二つの用量作用曲線に差があっても不思議ではない。

一方、Diamond と協力者達³¹⁾は KCl で脱分極したラット子宮において、isoprenaline の低用量で強い弛緩反応が起こるにもかかわらず組織内 cyclic AMP 量の変化は小さいので、isoprenaline による反応には cyclic AMP が関与しているかもしれないが、決定的な因子ではなからうと述べている。ところで、cyclic nucleotides の測定結果は各研究者によっても差があるようである。例えば、ラットの子宮を摘出すると律動的な自動運動をする。Diamond and Hartle³²⁾はこの自動運動には cyclic AMP 量の変化も cyclic GMP 量の変化も関係ないと報告したが、その後、Johanssen ら³²⁾は収縮の前に一過性の cyclic AMP の減少と cyclic GMP の増加を観察し、全く逆の結論を述べている。このようなことから報文においては実験条件も詳細に述べる必要があるようである。

ところで、cyclic GMP についてはトレモリンを与えた場合、cyclic GMP が増加することから、ACh の作用は cyclic GMP を介したものではないかと考えられた。そして、cyclic AMP と cyclic GMP はお互いに相反する作用を示すという仮説即ち陰陽説³⁴⁾が出された。しかし、平滑筋を収縮させる薬物はアセチルコリンのみならず、ヒスタミンや K^+ などでも組織内 cyclic GMP 量を増すことがわかり、更に最近、guanylate cyclase には生理的濃度の Ca^{2+} によって活性化されるものがあることが報告され³⁵⁾、収縮による cyclic GMP の増加は、平滑筋の脱分極に伴って細胞内に流入した Ca^{2+} が Ca^{2+} 依存性 guanylate cyclase を活性化したために cyclic GMP が増えたのであろうと考えられている³⁶⁾。また、ラット

の十二指腸縦走筋においてはセロトニンや ACh 様収縮薬で収縮を起こしても cyclic GMP の増加は観察されない³⁷⁾。このようなことから薬物による平滑筋の収縮は、cyclic GMP によって引き金がひかれるのではないという考え方が強い。しかし、Nilsson and Andersson³⁸⁾によると cyclic GMP は plasma membrane fraction からの Ca-遊離を促進するので、生成された cyclic GMP が収縮反応にある程度関与している可能性は十分に考えられる。

収縮反応は cyclic AMP の一過性の減少により誘発されるという考え方もある。Andersson¹⁷⁾は平滑筋に収縮薬を与えると収縮が起こる直前に、cyclic AMP が減り、その結果膜に結合していた Ca が遊離して収縮を起こすのであろうと考えている。また、胆のうはコレシストキニンによって収縮を起こすが、これは phosphodiesterase の活性が高められ、その結果 cyclic AMP の分解が促進され、収縮を起こすのであり、cyclic GMP は関係しないと考えられている³⁹⁾。cyclic AMP の減少だけで薬物による収縮反応のすべてを説明するのは問題があるようでもあるが、その一部にこのような機序があると考えられている。cyclic nucleotides と平滑筋の反応については賛否両方から書かれた著書⁴⁰⁾があり、参照されることをおすすめする。

収縮薬と Ca イオン

薬物による平滑筋の収縮も収縮性タンパク質への Ca⁺ の供給を増すことによることは疑い余地もない。また、平滑筋においては筋小胞体の発達が乏しく、そのために、Ca の制御が細胞膜によって行われている可能性も一般的に考えられている。ところで、膜成分を含んだ平滑筋マイクロソーム分画による Ca の取込みは ATP の存在により増加することは特にとりたてて必要もないことであろう。最近、心筋の膜成分の Ca-取込みは K⁺ や Na²⁺ の適当濃度により促進されることが報告されている⁴¹⁾が、平滑筋から得られたものにおいても同様なことが想像される。

ところで、Boudouin-Legros and Meyer²⁷⁾はウサギの大動脈の平滑筋から得たマイクロソーム分画による Ca の取込みは ATP の存在で増加するが、大動脈を収縮させる Angiotensin II は Ca の取込みの抑制と取込まれた Ca の遊離を促進させるのに対し、Angiotensin の同族体で、大動脈収縮作用のないものは上に述べた作用がないことを報告している。さらに Nilsson and Andersson⁴²⁾はウサギの結腸のマイクロソーム分画へ Ca を付加して

おき、carbachol や ACh を与えると Ca²⁺ のすみやかな遊離を起こすことを示し、この遊離は cyclic AMP によって抑制されることを報告している。最近、ヒスタミンも腸管平滑筋から得たマイクロソーム分画へ Ca を付加しておいた場合、Ca の遊離を促進することが示された⁴³⁾。このようなことは収縮薬は直接 Ca²⁺ の取込みまたは遊離に影響を与えることにより、Ca²⁺ の収縮性タンパク質への供給を増加させるものと考えられる。

一方、平滑筋収縮薬の種類によって利用される Ca に差があるようである。モルモット胃の縦走筋はプロスタグランジン E₁ で収縮を起こすが、この収縮は栄養液から細胞内への Ca の流入を抑制する薬物すなわち Ca-拮抗薬によってほとんど影響をうけないのに対して、同じ標本の K⁺ に対する反応は Ca-拮抗薬によって強く抑制される。ACh に対する反応は Ca-拮抗薬によってこれらの中間的影響をうける。このことから、プロスタグランジン E₁ による収縮は、主として細胞膜に結合した Ca の遊離に依存しており、K⁺ は主として栄養液中の Ca の流入によって収縮を起こし、ACh は両方の Ca を利用して収縮を起こすのであろうと考えられる⁴⁹⁾。また、ウサギの結腸紐からえたマイクロソーム分画へ ATP 存在で Ca を取込め、この遊離に対して、ACh とヒスタミンでは影響の程度に差がある。ACh によってもヒスタミンによっても Ca の取込みはほとんど影響をうけないが、Ca-遊離をヒスタミンに比べて ACh の方がより強く促進する、そして、この ACh による促進効果はアトロピンによって抑制される (Table 2, 3)、また、ウサギ結腸紐の収縮反応は栄養液から Ca を除いた場合、ヒスタミンによる収縮の方が ACh による収縮よりも強く抑制される。これらのことから ACh による結腸紐の収縮はヒスタミンによる収縮に比し、細胞膜に結合した Ca により依存していると考えられる⁴⁵⁾。

非特異的弛緩反応

薬物受容体を介さないで、直接平滑筋へ作用して平滑筋を弛緩させる薬物の作用機序についても研究が進められている。薬理学の教科書によると、平滑筋の非特異的弛緩薬の代表的薬物がババペリンであることから、このような作用を示す薬物をババペリン様作用薬とよんでいる。ババペリン様作用薬の作用機序が少なくとも二つあることはすでに Ferguson の法則を利用した研究によって示唆されていた⁴⁶⁾。それによるとババペリンのように pKa が小さく生理的 pH では分子のほとんどが非解離型として存在している薬物はその物理化学的性質によっ

Table 2 Ca-遊離に対するヒスタミンとアセチルコリンの影響

Incubation time	0	30 sec	90 sec	240 sec
対 照	100	96±1.3	87±0.9	78±1.2
ヒ ス タ ミ ン ($5 \times 10^{-5}M$)	100	92±0.8	86±1.3	77±2.0
アセチルコリン ($5 \times 10^{-5}M$)	100	89±0.6*#	81±1.0*#	69±1.8*#

Paired *t*-test を行った.

*: 対照に対して $p < 0.01$ で有意

#: ヒスタミンに対して $p < 0.05$ で有意

ヒスタミンの作用は対照に対して有意でないが, アセチルコリンの作用が有意であることに注意.

Table 3 Ca-遊離に対するアセチルコリン, アトロピンの影響とアセチルコリンの作用に対するアトロピンの拮抗作用

Incubation time	0	30 sec	90 sec	24 sec
対 照	100	98±1.0	93±1.6	86±1.0
アセチルコリン ($5 \times 10^{-5}M$)	100	93±0.8	86±1.2	81±1.4
ア ト ロ ピ ン ($3 \times 10^{-6}M$)	100	99±2.1	92±1.8	87±1.9
アセチルコリン ($5 \times 10^{-5}M$) ア ト ロ ピ ン ($3 \times 10^{-6}M$)	100	96±1.5*	91±1.3*	87±2.0*

Paired *t*-test を行った.

*: アセチルコリン単独の場合の値に対して $p < 0.05$ で有意.

アトロピン単独によっては Ca-遊離にほとんど影響を与えないが, アセチルコリンの Ca-遊離促進作用が抑制されていることに注意

て薬理作用を発現する. 他のグループは多くの合成鎮痙薬のように pKa が大きく, 生理的 pH で分子の多くが解離型として存在する薬物で, イオン化した分子が膜の表面から作用すると考えられる. 近年, パパベリンが phosphodiesterase (PDE) の強い抑制薬であることが報告され, cyclic AMP との関係が検討された. Pösch et al.⁴⁷⁾によってパパベリンが PDE 活性を抑制することが報告されたあと, パパベリンによって弛緩した腸管平滑筋ではたしかに cyclic AMP が増加していることが示され⁴⁹⁾, さらにパパベリンによる弛緩反応に先立って cyclic AMP の組織濃度が増すことが明らかにされた⁴⁸⁾. さらに PDE を阻害する濃度と平滑筋を弛緩させる濃度の間に有意の差がないことは, パパベリンによる弛緩反応が少なくとも一部は PDE 阻害による cyclic AMP の増加によることを示唆している⁴⁸⁾. 初期にはすべてのパパベリン様作用薬は PDE 阻害によって作用を発現すると考えられたが⁴⁹⁾, 市販されている合成鎮痙薬にはパパベリン様作用があっても, PDE 活性にはほとんど影響を与えず⁵⁰⁾, またこれらによって完全に弛緩した平滑筋では cyclic AMP が増していない¹⁸⁾ことがみだされ, パパベリン様作用薬には主として cyclic AMP を介した機序で弛緩反応を起こすものと, cyclic AMP に依存しな

い機序によるもの, さらにこの中間になるものがあると考えられるようになった^{48,51)}.

Cyclic AMP を介さないで平滑筋を非特異的に弛緩させる合成鎮痙薬としてアスパミノール (1, 1-diphenyl-3-piperidinobutanol HCl) やベナクチジンがある. これらの薬物とパパベリンの間にはいろいろ作用態度に差がある. パパベリン, アスパミノール, ベナクチジンはいずれもアセチルコリンやヒスタミンによる腸管平滑筋の反応を非競合的に抑制するが, この抑制は栄養液中の $CaCl_2$ を 10~20 倍に増すと, アスパミノールとベナクチジンの抑制作用は強く弱められるが, パパベリンの作用はあまり影響されない⁵²⁾. これに類した結果はラットの子宮においても観察されている⁵³⁾. また, アスパミノールやベナクチジンは腸管平滑筋のマイクロソーム分画による Ca-取込みを抑制する. ここに用いられたマイクロソーム分画はアセチルコリンエステラーゼ, Na, K-ATPase, 5'-nucleotidase などの活性を示す vesicle である⁴⁵⁾. ゆえにこの vesicle は少なくとも一部は膜表面が表となっていると考える. またアスパミノールとベナクチジンは KCl で脱分極し, Ca の透過性をよくした消化管平滑筋の $CaCl_2$ による収縮を競合的におさえる (Fig. 11). このようなことからこれら薬物が膜表面に結合して細胞

Fig. 11 脱分極消化管平滑筋における CaCl_2 の用量作用曲線に対するアスパミノールの影響

内への Ca の流入を抑制することにより平滑筋の弛緩を起すものと考えられる⁵²⁾。パパペリンは、PDE 活性の阻害により細胞内 cyclic AMP 量が増加し、膜と結合する Ca を増すことにより収縮性タンパク質への Ca の供給を減少させるほか、脱分極平滑筋等では栄養液から

の Ca の取込みを抑制することによっても平滑筋を弛緩させる⁵⁴⁾。さらに、パパペリンはこのような作用機序のほか酸化のリン酸化を抑制することが知られており、薬物による持続的な収縮すなわち tonic 相はこの機序によって抑制されると考えられている^{55,56)}。

ところで、平滑筋の収縮弛緩を司る Ca の制御にミトコンドリアが関与している可能性があるかどうかという問題がある。ラットの子宮筋において細胞内 Ca が $1 \mu\text{M}$ またはそれ以上になったときはミトコンドリアが Ca の制御に加わることも考えられている⁵⁷⁾が、正常の状態ではあまり大きな役割をしているとは考えられず、平滑筋の収縮弛緩は主として膜における機構により制御されていると考えられる。

受容体受容体間相互作用の可能性

ある薬物受容体がある受容体に関係のない薬物によって影響をうけるかという問題である。消化管平滑筋である taenia caecum (taenia coli) は isoprenaline によって弛緩する。ところが、ACh 様作用を示す butyltrimethyl ammonium (BuTMA) の高用量で収縮している標本に isoprenaline を与えても弛緩は起こらない。そこで BuTMA が存在しない場合 isoprenaline を与えることによ

Fig. 12 butyltrimethylammonium bromide (BuTMA) による taenia caecum (taenia coli) の収縮と isoprenaline および papaverine による拮抗ならびにこれらに伴う cyclic AMP 量の変化 () : cyclic AMP 量 (p moles/mg protein), cyclic AMP 量の変化の有無は大文字で示された数字と同じ文字にダッシュのついたもので示された数字を比較すること、例えば A : 4.43 ± 0.58 と A' : 4.77 ± 0.55 を比較する。

下の実験は 5-HT による反応が消失したあとに行ったものである。

Fig. 13 セロトニン (5-HT) の反応の反復投与による消失とアセチルコリン (ACh) 投与によるセロトニン (5-HT) による反応の出現 Iso : isoprenaline, 濃度の単位 : g/ml.

って cyclic AMP が増加することを確かめておいて, BuTMA で収縮を起こし, 同用量の isoprenaline を与えても cyclic AMP は増えない (Fig. 12)⁵²⁾. isoprenaline を与えておいて光照射をすると β -アドレナリン受容体が非可逆的に遮断されることはすでに述べたが, BuTMA で収縮した標本に isoprenaline を与えて光照射をしても β -受容体の非可逆的遮断は起こらない⁵⁸⁾. これらのことは BuTMA が存在すると β -受容体は何らかの影響をうけて isoprenaline と相互作用できなくなることを示唆している. 近年, β -アドレナリン受容体は例えばカエルの赤血球膜を用いた実験などから, 全受容体の10%以下が占有されることにより, 受容体の親和性が減ること, すなわち negative cooperativity が知られているが, 異なった受容体間でもこれに類似したことが起こり得るのかは今後の問題である. ところで, 逆に親和性が増す現象もある. ラットの気管平滑筋ではセロトニンは平滑筋に直接作用して収縮をおこすが, セロトニンを繰返し与えると収縮しなくなる. このとき ACh で収縮させておきセロトニンを与えると, セロトニンによる収縮があらわれる³⁹⁾. このセロトニンによる新しい収縮は抗セロトニン薬で特異的に遮断されるほか, いろいろな実験からセロトニン受容体を介した反応であることが明らかであり

(Fig. 13), これらのことから ACh で収縮させると新たにセロトニン受容体が新生されるのか, または一度不活性化されたセロトニン受容体が活性化されてセロトニンによる収縮が現れるかのいずれかであろう⁶⁰⁾. またモルモットの輸精管において, ACh を与えると α -アドレナリン受容体が新しくできる可能性も報告されている⁶¹⁾. このようなことは活性薬を与えておく膜に構造変化が起こり, その活性薬以外の受容体が不活性化されたり, 逆に活性化される可能性を示唆しているようである.

おわりに

膜における薬物作用という薬物受容体の分離精製にふれるべきであるが, 残念ながら平滑筋における研究は電気魚類の発電器官を用いた ACh のニコチン受容体の研究に比べるとはるかにおくれており, 小稿では省略した. 薬物の作用は膜との相互作用によって発現することはたしかであるが, 平滑筋においては今後の研究に残された分野が大きい.

文 献

- 1) Clark, A. J.: *J. Physiol.*, **33**: 530 (1926)
- 2) Ariëns, E. J.: *Molecular Pharmacology*, Vol. I,

- Academic Press, London, New York (1964); Ariëns, E. J.: *Arch. int. Pharmacodyn., Ther.*, **99**, 32 (1954)
- 3) Stephenson, R. P.: *Brit. J. Pharmacol.*, **11**: 379 (1956)
 - 4) Nickerson, M.: *Nature*, **178**: 697 (1956)
 - 5) 高木敬次郎・高柳一成：平滑筋の生理および薬理 (板東, 高木, 江橋編), p 187, 南江堂, 東京, 京都 (1974)
 - 6) Takagi, K. and Takayanagi, I.: *Japan. J. Pharmacol.*, **19**: 520 (1969)
 - 7) Tuttle, R. R. and Moran, N. C.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **169**: 299 (199)
 - 8) Takagi, K., Takayanagi, I. and Liao, C. S.: *European J. Pharmacol.*, **19**: 330 (1962)
 - 9) Liao, C. S., Takayanagi, I. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **23**: 77 (1973)
 - 10) Takayanagi, I., Liao, C. S. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **26**: 382 (1976)
 - 11) Takayanagi, I., Liao, C. S. and Takagi, K.: *European J. Pharmacol.*, **28**: 230 (1974)
 - 12) Cohen, J. B., Weber, M. and Changeux, J.-P.: *Mol. Pharmacol.*, **10**: 904 (1974)
 - 13) Williams, L. T. and Lefkowitz, R. J.: *Mol. Pharmacol.*, **13**: 304 (1977)
 - 14) Takayanagi, I.: Stable Strontium (ed. by Skoryna, S.C.) in press.
 - 15) Butcher, R. W. and Sdtherland, E. W.: *J. Biol. Chem.*, **237**: 1244 (1962)
 - 16) Takagi, K., Takayanagi, I. and Tsuchida, Y.: *Japan. J. Pharmacol.*, **22**: 403 (1972)
 - 17) Andersson, R. G. G.: *Acta Physiol. Scand., Supl.* **382**: 1 (1972)
 - 18) Inatomi, N., Takayanagi, I., Uchida, M. and Takagi, K.: *European J. Pharmacol.*, **26**: 73 (1974)
 - 19) Takayanagi, I., Uchida, M., Inatomi, N., Tomiyana, A. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **22**: 869 (1972)
 - 20) Lands, A. M., Arnold, A., McAulif, J. P., Lundueno, F. P. and Brown, T. G.: *Nature*, **214**: 597 (1967)
 - 21) Lands, A. M., Buzzo, H. J. and Lundueno, F. P.: *Life Sci.*, **6**: 2241 (1967)
 - 22) Burges, R. A. and Blackburn, K. J.: *Nature New Biol.*, **235**: 249 (1972)
 - 23) Murad, F.: *Biochem. Biophys. Acta*, **304**: 181 (1973)
 - 24) Coleman, A. J. and Somerville, A. R.: *Brit. J. Pharmacol.*, **59**: 83 (1977)
 - 25) Takagi, K., Takayanagi, I. and Tomiyama, A.: *Japan. J. Pharmacol.*, **21**: 477 (1971)
 - 26) Andersson, R. and Nilsson, K.: *Nature New Biol.*, **238**: 119 (1972)
 - 27) Baudouin-Legros, M. and Meyer, P.: *Brit. J. Pharmacol.*, **47**: 377 (1973)
 - 28) Atlas, D., Steer, M. L. and Levitzki, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **73**: 1921 (1976)
 - 29) Takayanagi, I., Yoshioka, M., Takagi, K. and Tamura, Z.: *European. J. Pharmacol.*, **38**: 179 (1976)
 - 30) Nesheim, B.-I., Osnes, J.-B. and Oye, J.: *Brit. J. Pharmacol.*, **53**: 403 (1975)
 - 31) Diamond, J. and Holmes, T. G.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **53**: 1099 (1975)
 - 32) Diamond, J. and Hartle, D. K.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **52**: 763 (1974)
 - 33) Johansson, S. Andersson, R. G. G.: *Experientia*, **31**: 1314 (1975)
 - 34) Goldberg, N. D., Haddox, M. K., Wicol, S. E., Glass, D. B., Stanfsrd, G. H., Kuehl, F. A. and Estensson, R.: Advances in Cyclic Nucleotide Research (ed. by Drumond, G. I., Greengard, P. and Robinson, G. A.: Vol. 5: p. 307, Raven Press New York (1975)
 - 35) Wallach, D. and Pastan, I.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **72**: 859 (1976)
 - 36) Schultz, G. and Hardman, J. G.: Advances in Cyclic Nucleotide Research (ed. by Drumond, G. I., Greengard, P. and Robison, G. A.), Vol. 5: p.339, Raven Press, New York (1975)
 - 37) Takayanagi, I., Ohkubo, H. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.* **26**: 501 (1976)
 - 38) Nilson, K. B. and Andersson, R. G. G.: *Acta Physiol. Scand.* **99**: 246 (1977)
 - 39) Andersson, K.-E., Andersson, R. G. G., Hender, P. and Persson, C. G. A.: *Life Sci.*, **20**: 73 (1977)
 - 40) The Biochemistry of Smooth Muscle. (ed. by Stephens, N. L.) p.261-360. University Park Press, Bartimore (1977) (示した頁の各論文を参照)
 - 41) Jones, L. R., Besch, H. R. Jr. and Watanabe, A. M.: *J. Biol. Chem.* **252**: 3315 (1977)
 - 42) Nilsson, K. B. and Andersson, R. G. G.: *Acta Pharmacol. Tox.*, **40**: 389 (1977)
 - 43) Uchida, M. and Takagi, K.: *European J. Pharmacol.* **39**: 413 (1977)
 - 44) Ishizawa, M. and Miyazaki, E.: *Experientia*, **33**: 376 (1977)
 - 45) Takayanagi, I., Homgo, T. and Kasuya, Y.: *J. Pharm. Pharmacol.* **29**: 775 (1977)
 - 46) 高木敬次郎・高柳一成：医学のあゆみ, **86**: 121 (1973)
 - 47) Pösch, G., Juan, H. and Kukovetz, W. R.: *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **264**: 293 (1969)
 - 48) Inatomi, N., Takayanagi, I. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **25**: 63 (1975)
 - 49) Pösch, G. and Kukovetz, W. R.: Advances in Cyclic Nucleotide Research (ed. by Greengard, P., Paoletti, R. and Robinson, G. A.), Vol. 1, p.195, Raven Press, New Ysrk (1972)
 - 50) Takayanagi, I., Uchida, M., Abe, T., Tomiyama, A. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **23**: 573 (1973)
 - 51) Pösch, G. and Umfahrer, W.: *Naunyn Schmiedeberg's*

- Arch. Pharmacol.*, **293**: 257 (1976)
- 52) Takayanagi, I., Yamashita, H., Manda, T. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **27**: 311 (1977)
- 53) Uruno, T., Takayadagi, I., Kubota, K. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **24**: 219 (1974)
- 54) Tomiyama, A., Takayanagi, I. and Takagi, K.: *J. Pharm. Pharmacol.*, **25**: 65 (1973)
- 55) Santi, R., Ferrari, M. and Contessa, A. R.: *Biochem. Pharmacol.*, **13**: 153 (1964)
- 56) Ferrari, M.: *Pharmacol. Res. Commun.*, **6**: 97 (1974)
- 57) Janis, R. A., Crankshaw, D. J. and Daniel, E. E.: *Amer. J. Physiol.*, **232**: C50 (1977)
- 58) Takayanagi, I., Kondo, N. and Takagi, K.: *European J. Pharmacol.*, **38**: 197 (1976)
- 59) Limbird, L. E. and Lefkowitz, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **251**: 5007 (1976)
- 60) Takayanagi, I., Ishida, Y. and Takagi, K.: *Japan. J. Pharmacol.*, **22**: 701 (1972)
- 61) Iijima, A. T. and Reiffenstein, R. J.: *Brit. J. Pharmacol.*, **44**: 364p (1972)

国際人工臓器学会での印象

いささか旧聞に属するが、昨 8 月 26 日から 3 日間にわたって東京で行われた国際人工臓器学会 (ISAO) での、膜に関係した研究動向について印象をまとめてみたい。

人工臓器分野で膜は、人工腎臓、人工肝臓、人工肺、人工脾臓などに、血液透析膜、血液濾過膜、ガス透過膜、血液還流用マイクロカプセル化膜、酵素固定膜などとしてかわりを持っているのは衆知の通りである。今回の学会は発表者が大部分ドクターであることもあり、膜素材、膜開発そのものを直接の研究対象として取りあげた例は少なく、新しい膜を用いたデバイスの臨床効果という取り組みが主たる発表内容となっている。

特に注目される研究動向としては、新しい人工腎臓療法としての血液濾過に多大の関心が向けられていることがあげられ、本学会で唯一の Special Panel Symposium のテーマとして取りあげられた。このような血液濾過に対する関心は昨春に行われた米国人工内臓学会 (ASAI O) 以来のもので、今後しばらくは続く一つの大きな動きであろう。このシンポジウムでは Polyacrylonitrile 膜、Polysulfone 膜、Polycarbonate 膜、Polymethylmethacrylate 膜などの比較的新しい膜を使っての Hemofiltration (濾過+補液)、Hemodiafiltration (透析+濾過+補液) の臨床経験が紹介される一方、従来は血液透析にしか使われていなかった Cuprophane® 膜についても、前記新規膜で懸念されるところの有用物損失が少なくなるという観点で、濾過膜としての見直しが行われている。これらの新しい治療法は従来の透析法での合併症を、中分子量毒性物質の除去能向上などの効果で消去しようものとして期待されている。現状ではその有効性はまだ確認されていないにもかかわらず、このように精力的に研究が進められるようになったのは、そのような療法に使

い得るデバイスが入手しやすくなったからにほかならず、技術主導的な療法転換が試みられている。この療法の将来は、中分子量物質の解明の進展と、治療費を削減するシステムになりうるかということにかかっている。前者については、物質自体および臨床症状との関係の解明は徐々にではあるが進展が見られており、また、少なくとも臨床効果の一つの指標として一般化しつつあると言える。

人工肝臓に関しては、中分子量物質の透析能に優れる Polyacrylonitrile 膜での血液透析、Collodion-Albumin, Collodion, Polyacrylamide などによるマイクロカプセル化活性炭や Amberlite® XAD-4 による血液還流、Cellulose acetate 膜での血漿分離と活性炭吸着を組み合わせた血漿還流、の 3 手法が主要な方法であるが (他に交換血漿、肝細胞利用などの生体材料を利用する療法もある)、この中のどれが better であるのかは、それぞれかなりの症例数があるにもかかわらず結論が出ていないのが現状である。またどの方法にしても救命率は非常に低いので、本当に役立っているのかも疑われる状態である (Panel Symposium の主題は "Is Hepatic Assist Useful?")。臨床側にも客観的評価規準設定が必要とされる一方、技術的にもまだまだ検討の余地のある対象で、人工腎臓での初期段階に相当するレベルであると言える。

以上の人工腎臓、人工肝臓以外での人工臓器分野での今後の膜のかかわりを予測するには、米国 NIH の Dr. Burton の話が参考になろう。NIH が研究助成をしようとしている対象に、体外血液浄化、そのための酵素や抗体の固定化技術があげられている。即ち膜で実現するとすれば従来の膜に比べて種々の意味で選択性あるいは機能を数段向上させる方向が考えられる。(酒井 良忠)