

ウサギ膀胱平滑筋切片の張力に対する isoproterenol の作用

鳥取大学医学部泌尿器科学教室 宮 川 征 男

Section of Urology Department of Surgery, Yale University School of Medicine

Takashi Morita

Robert M. Weiss

EFFECT OF ISOPROTERENOL ON BASAL TENSION OF ISOLATED RABBIT BLADDER SMOOTH MUSCLE

Ikuo Miyagawa

Department of Urology, Tottori University School of Medicine, Yonago, Japan

Takashi Morita and Robert M. Weiss

Section of Urology Department of Surgery, Yale University School of Medicine

It has been reported that there is big difference in response to isoproterenol between in vitro muscle strip and in vivo whole body. In order to resolve this problem, we have examined the difference in dose-response, time-course and stretch-response to isoproterenol between the body and base of rabbit bladder.

We obtained the results that there was no qualitative difference in dose-response and time-course between these two regions and that stretching of the strips did not alter the effect of isoproterenol significantly. By these results, we can not explain the discrepancy of the potency between whole bladder and muscle strip. However, we have obtained the interesting result that the strips could be classified into stable and unstable, and stable strips responded to isoproterenol poorly, whereas unstable ones responded very strongly.

From this result, the difference in potency between whole bladder and muscle strip may be adequately explained: The potency and magnitude of the effect of isoproterenol on the urinary bladder is poor itself, as obtained in vivo and in vitro with whole bladder and stable muscle strips. However, in muscle strip study, the strips easily become unstable and the unstable strips respond to isoproterenol strongly.

要旨: β -交感神経薬剤である isoproterenol の膀胱平滑筋弛緩作用は in vivo や in vitro whole bladder study では弱く, muscle strip study では強いことが報告されている. この矛盾を解決する目的で, muscle strip study により膀胱平滑筋切片に対する isoproterenol の dose-response, time-course および stretch-response を体部と基部別に検討した.

Isoproterenol による弛緩作用は基部より体部で強かった. しかし, その弛緩作用の dose-response, time-course には両者間で本質的な差はなかった. さらに, 切片の伸展は isoproterenol の反応に著明な影響を与えなかった. 以上の結果からは whole bladder study と muscle strip study での isoproterenol の反応の違いの理由を明らかにすることはできなかった.

しかし, この検討を通じて興味深い結果を得た. すなわち, muscle strip study での切片には基礎張力が一定で自発収縮も規則的な安定型切片と, 基礎張力は不安定, 自発収縮も不規則な不安定型切片とあり, isoproterenol による弛緩は前者で弱く, 後者で強いことが確かめられた. 前者の安定型切片が, より生理的状态に近いものと仮定すれば, in vivo や in vitro whole bladder study では isoproterenol による弛緩が弱いことは理解できるし, muscle strip study では切片が不安定になり易いことを考えれば, isoproterenol で強い弛緩を示すことは納得できる.

緒 言

β -交感神経作動薬である isoproterenol の膀胱平滑筋への作用は再三検討され^{1)~21)}、弛緩作用であると報告されている。ところで、最近、Levin ら²¹⁾は本剤の作用について、ウサギを用い in vitro whole bladder study と muscle strip study で検討し、前者では膀胱内圧を僅か5%位しか下げなかったのに、後者では切片の張力を90%近くも下降させたと報告した。他の報告でも一般的に、isoproterenol の弛緩反応は in vivo⁵⁾⁶⁾¹²⁾¹³⁾¹⁷⁾や in vitro whole bladder study¹⁹⁾²¹⁾では弱く、muscle strip study¹⁾⁵⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁸⁾²¹⁾では強い。しかしながら、今日なお、膀胱平滑筋に対する isoproterenol の作用は強いのかあるいは弱いのか、そして何故、muscle strip study と whole bladder study では得られる結果に差があるのかは不明のままである。

この両検討方法で isoproterenol の作用に差が生じる理由として以下の可能性を考えた。

1) isoproterenol の作用の dose-response と time-course は膀胱の部位によって大きく異なっている。

2) isoproterenol の作用は膀胱の伸展状態により大きく影響される。

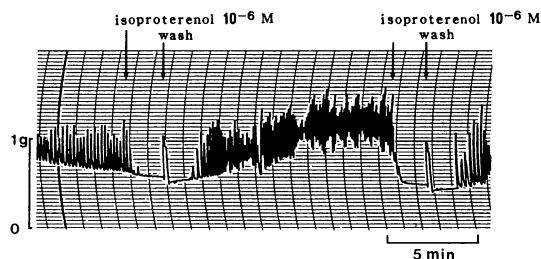
これらの疑問に答えるため、膀胱平滑筋での isoproterenol の dose-response, time-course および伸展にともなう作用の変化について、ウサギ膀胱で、体部と基部にわけ検討した。

対象および方法

体重約2.5kg の New Zealand 白ウサギを脱血、屠殺し、直ちに膀胱を取り出した。脂肪を取り除いた後、尿管口の高さで体部と基部に分け、体部の前および後壁、基部の三角部で垂直方向におのおの幅1mm、長さ7mm の切片を切り出した。各切片を Krebs 液 (NaCl 133mM, KCl 4.7mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.9mM, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.2mM, glucose 8.3mM; pH 7.4) 3.0ml を含む恒温槽内に漬け、一端を槽の底に固定、他端を Statham UC-2 isometric force transducer に4—0絹糸で固定した。実験中、恒温槽液には95% O_2 —5% CO_2 混合ガスを注入し、温度は37℃に保った。そして、以下の各実験を行った。

切片安定性と作用の強さ 13匹より切り出した膀胱体部前壁 (anterior body, 以下, AB), 同後壁 (posterior body, 以下, PB) および三角部 (trigone, 以下, T) おのおの50切片で検討した。30分の平衡 (equilibration) の後、槽液の isoproterenol (以下, ISP) 濃度を 10^{-6} mole (以下, M) とした。

Fig. 1 Difference of responses to isoproterenol between the stable and unstable strip. When the strip is stable, like left side, the response to isoproterenol is poor, whereas the strip is unstable, like right side, the response is great.



AB, PB, T のいずれの切片でも ISP 投与後、基礎張力は下降し、自発収縮は縮小〜消失した。Fig. 1に示すように ISP の作用は切片の安定性に大きく影響されるようであった。そこで各切片を以下の基準に従い安定型、不安定型、中間型に分類した：安定型 基礎張力（以下、張力）は安定し、自発収縮は規則的で一定しているもの。不安定型 張力は不安定で、自発収縮は不規則性で一定しないもの。中間型 いずれにも分類できないもの。

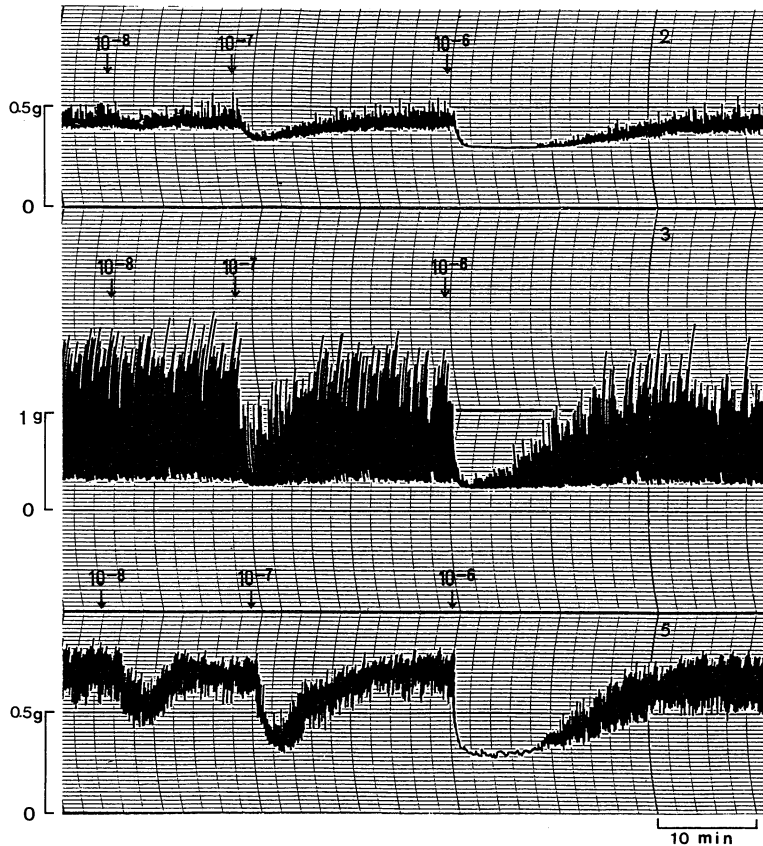
結果の分析は、各切片の各検討ごとに、張力の下降分が ISP 投与前の張力の何%になるか、すなわち弛緩率 (% relaxation) として算出し、AB, PB, T それぞれについて全切片、安定型切片、不安定型切片ごとの弛緩率の平均値を求めた。

Dose-Response 5匹のウサギより得た AB, PB, T 各9切片で検討した。各切片に200~300mgの初期張力を加え、槽内の ISP 濃度を累積的に 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M にし、各濃度ごとに10分間観察し張力の変化を検討した。反応は AB, PB, T ごとに、各濃度で示した張力が初期張力の何%にあたるか、すなわち % of basal tension として評価した。

Time-Course Fig. 2に示すように、膀胱平滑筋切片の ISP への反応は比較的短時間内に回復するようであった。そこで、5匹のウサギより得た AB, PB, T 各8切片で time-course を検討した。ISP 濃度は累積的に 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M とし、各濃度ごとに ISP 投与後 2', 5', 10', 20', 30' の張力が、最初の張力の何%か、すなわち % of basal tension で示した。

切片伸展と ISP の作用 予備実験で膀胱壁は体部では充満時には空虚時の3倍位に、基部では約2倍に伸展されることが分った。以上の所見を基に、AB と

Fig. 2 Time-course of response to isoproterenol. Upper tracing shows response in anterior body, median tracing in posterior body, lower tracing in base.



PB では切片を1.25倍から4倍の伸展の範囲で、Tでは1.25倍から3倍の伸展の範囲でISPの作用の強さの変化を検討した。この検討には7匹のウサギより得たAB, PB, T各8切片を用い、ISP濃度は 10^{-6} Mとした。各伸展ごとにISP投与後示した張力が投与前の何%か、すなわち% of basal tension after isoproterenolで示した。

結 果

切片の安定性と作用の強さ Fig. 3にまとめるように、安定型切片に比べ、不安定型切片は強い弛緩反応を示した。AB, PB, Tそれぞれで、不安定型切片は安定型切片の3.2, 3.4, 4.0倍強い弛緩反応を示した。

AB, PB, Tでisoproterenol 10^{-6} Mに対する反応の強さを比較すると、PBの切片がもっとも強く弛緩し、ついでAB, Tの順であった。しかし、PBとABの差はごく僅かであり、ABおよびPBとTの差は大きく、不安定型切片ではABおよびPBはTの1.6倍および

1.8倍、安定型切片では1.4と1.5倍強い弛緩を示した。

Dose-Response AB, PB, Tのいずれにおいても、ISPの濃度の増加とともに切片の張力はより低下した(Fig. 4)。いずれの部位でも同時に(10^{-4} M)最大の反応を示し、AB, PB, TでED₅₀に有意の差はなかった。

Time-Course Fig. 5に示すように、膀胱平滑筋の反応はISP投与後2～5分で最大となり、その後、次第に消失していった。ISP濃度を増加すると、最大反応が強くなるとともに、この弛緩からの回復が遅延していくようになった。この傾向は膀胱の体部と基部で差がなかった。

Stretch-Response 切片を伸展した場合、体部および基部のいずれでも、それが非過伸展(体部3倍以下、基部2倍以下)ではISPの反応に変化はなかったが、過伸展切片ではISPの反応が軽度低下する傾向を示した。しかし、過伸展切片でのISPの反応の強さと非過伸展期の反応の強さの間には有意の差は得られな

Fig. 3 Difference of response to isoproterenol between the stable and unstable strips. Unstable strips responded highly as compared with stable strips. Posterior body strips (▨) and anterior body strips (■) show higher response than base strips (□).

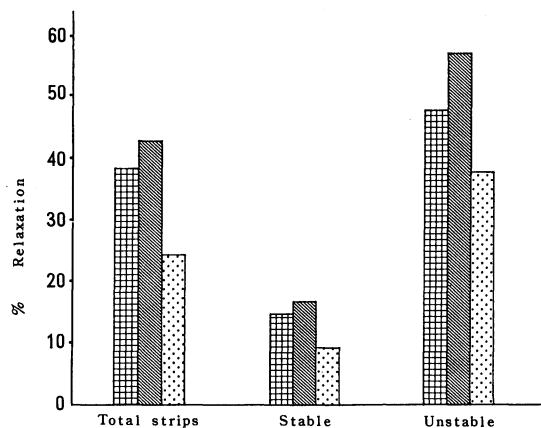


Fig. 4 The dose-response of the bladder to isoproterenol. Each value represents the mean of eight determinations.

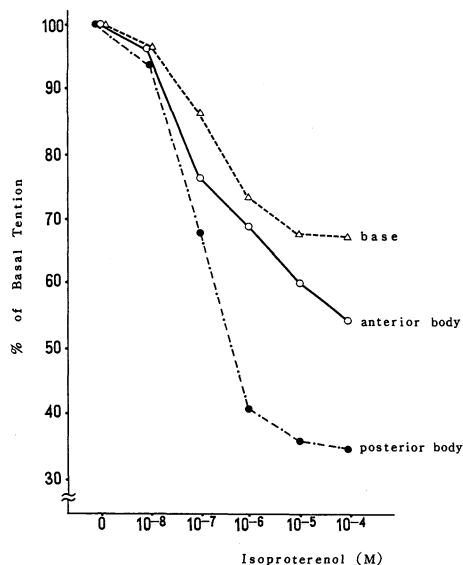
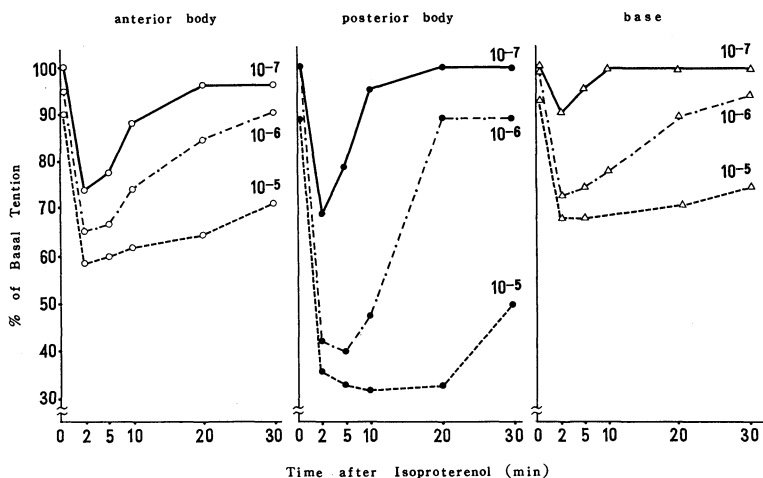


Fig. 5 Time-course of response to isoproterenol.



かった (Fig. 6).

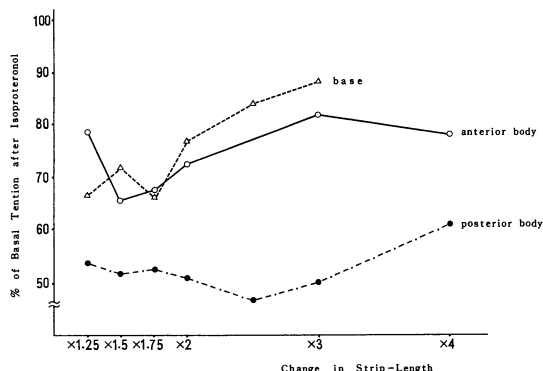
考 察

緒言で述べたように、膀胱平滑筋への isoproterenol の反応は in vitro whole bladder study と muscle strip study で大きく違っており、この差を生じる原因として、種々の可能性を考えた。すなわち、ISP の dose-response や time-course あるいは stretch-response は膀胱の部位により大きく異なっていると

いう可能性である。dose-response についてはいくつかの報告がみられたが、time-course や stretch-response に関する検討はみられなかったので、われわれは muscle strip study によりこれらの点を検討した。

Isoproterenol の反応を部位別に比較すると、体部は基部の1.4~1.6倍強い弛緩を示した。しかし、dose-response や time-course については体部と基部の間

Fig. 6 Stretch-response of the bladder to isoproterenol. In the overstretching phase, that is $\times 2$ in base and $\times 3$ in body, the response to isoproterenol appears to be decreased. However, there was no significant difference in the response to isoproterenol between in non-overstretching and overstretching stage.



で質的な差はなく、いずれの部位でも同じ濃度の isoproterenol で、投与後同じ時間に、同じ種類の反応を示した。さらに、膀胱の伸展は非過伸展の範囲内であれば、全く、過伸展でも有意には isoproterenol の作用には影響を与えなかった。そして、これらの検討の結果からは whole bladder study と muscle strip study での isoproterenol の反応の差を説明することはできないと考えられた。

しかしながら、われわれは非常に興味ある結果を得た。すなわち、muscle strip study での各切片は安定型と不安定型に分類され、安定型切片は isoproterenol により弱い弛緩しか示さないが、不安定型切片は強い弛緩を示したことである。そして、この結果より whole bladder study と muscle strip study での isoproterenol への反応の違いは説明し得ると考えられた。すなわち、膀胱平滑筋に対する isoproterenol の弛緩作用は、in vivo や in vitro whole bladder study および muscle strip study の安定型切片でみられるように、本来、弱いものである。しかし、muscle strip study では切片が恒温槽の中で不安定になり易く、不安定型切片では isoproterenol により強い弛緩を示すので、一般的に、muscle strip study では強い弛緩という結果が得られるのではないかと。

この推測は、膀胱の安定型切片と不安定型切片では膜電位が異なっている²⁾。そして、isoproterenol の作用の一部は膜電位を脱分極させることにより発現する¹⁶⁾

という報告を考慮すれば、より妥当なものと考えられる。しかし、安定型切片と不安定型切片の違いの理由については今後の検討を待たねばならない。

今回の検討で、膀胱の体部と基部では isoproterenol による反応に差があるとの結果を得た。この結果についてはこれまでも報告されており⁷⁾⁹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、両部位での β -交感神経受容体の分布の差によると考えられている。膀胱での isoproterenol の作用の time-course や stretch-response について検討した報告は見当たらない。膀胱切片では isoproterenol による弛緩反応が、isoproterenol の存在下にもかかわらず、比較的短時間で回復するという結果は、興味深い。

Rohner & Hannigan¹⁶⁾はウサギの膀胱で isoproterenol の作用は cyclic AMP により伝達されるとの所見を得、Brown & Bunn²²⁾はラットの上頸神経節を用いて、isoproterenol 投与後の cyclic AMP の量の時間的推移を調べ、10分後には上昇しており、以後、漸減するのを認めた。これらの所見に基づいて考えると、膀胱でも isoproterenol 投与後 cyclic AMP は 2~5 分で最大となり、以後、漸減していなければならないが、この点の解明も今後の検討に待ちたい。

結 語

Isoproterenol のウサギ膀胱平滑筋に対する作用を muscle strip study を用いて体部と基部と別に検討し、以下の結果を得た。

1. Isoproterenol の弛緩作用は基部より体部で強かった。しかし、dose-response, time-course および stretch-response には両部位間で本質的な差はなかった。

2. 切片には基礎張力が一定で自発収縮も規則的な安定型切片と、基礎張力は不安定、自発収縮も不規則な不安定型切片とあり、isoproterenol による弛緩は前者で弱く、後者で強いことが確かめられた。

膀胱平滑筋に対する isoproterenol の作用についての従来の検討では、in vivo や in vitro whole bladder study では弛緩作用が弱い、muscle strip study では強いと報告されているが、今回の検討の安定型切片がより生理的状态に近いものと仮定すれば、生理的状态により近い in vivo や in vitro whole bladder study では弛緩が弱いことは容易に理解できるし、muscle strip study では不安定型切片になり易いと考えれば、弛緩が強いことは納得できる。

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えていただき、御校閲を賜りました恩師後藤甫教授に深甚なる謝意を表し

ます。

References

- 1) Edvardsen, P. and Setekleiv, J.: Distribution of adrenergic receptors in the urinary bladder of cats, rabbits and guineapigs. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **26**, 437—445, 1968.
- 2) Salimi, M., Setekleiv, J. and Skobba, T.J.: The sensitivity of adrenergic excitatory and inhibitory receptors in the smooth muscle of the rabbit urinary bladder. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **27**, 213—224, 1969.
- 3) Todd, J.K. and Mack, A.J.: A study of human bladder detrusor muscle. *Brit. J. Urol.*, **41**, 448—454, 1969.
- 4) Gregg, R.A., Boyarsky, S. and Labay, P.: Blocking of beta adrenergic receptors in the urinary bladder using sotalol. *South. Med. J.*, **62**, 1366—1373, 1969.
- 5) Nergardh, A. and Boréus, L.O.: Autonomic receptor function in the lower urinary tract of man and cat. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, **6**, 32—36, 1972.
- 6) De Groat, W.C. and Saum, W.R.: Sympathetic inhibition of the urinary bladder and of pelvic ganglionic transmission in the cat. *J. Physiol.*, **220**, 297—314, 1972.
- 7) Raezer, D.M., Wein, A.J., Jacobowitz, D. and Corriere, J.N. Jr.: Autonomic innervation of canine urinary bladder. Cholinergic and adrenergic contributions and interaction of sympathetic and parasympathetic nervous systems in bladder function. *Urology*, **11**, 211—221, 1973.
- 8) Elmér, M.: Inhibitory β -adrenoceptors in the urinary bladder of the rat. *Life Sci.*, **15**, 273—280, 1974.
- 9) Awad, S.A., Bruce, A.W., Carro-Ciampi, G., Downie, J.W., Lin, M. and Marks, G.S.: Distribution of α - and β -adrenoceptors in human urinary bladder. *Brit. J. Pharmacol.*, **50**, 525—529, 1974.
- 10) Dave, K.C. and Dhattiwala, A.S.: Adrenoceptors of the guineapig urinary bladder. *Brit. J. Pharmacol.*, **58**, 37—41, 1976.
- 11) Raezer, D.M., Benson, G.S., Greenberg, S.H., Corriere, J.N. Jr., Jacobowitz, D.M. and Wein, A.J.: Innervation of trigonal area of canine urinary bladder. *Urology*, **7**, 369—375, 1976.
- 12) Norlén, L., Sundin, T. and Waagstein, F.: Beta-adrenoceptor stimulation of the human urinary bladder. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **43**, 26—30, 1978.
- 13) Creed, K.E.: The role of the hypogastric nerve in bladder and urethral activity of the dog. *J. Pharmacol.*, **65**, 367—375, 1979.
- 14) Levin, R.M. and Wein, A.J.: Distribution and function of adrenergic receptors in the urinary bladder of the rabbit. *Mol. Pharmacol.*, **16**, 441—448, 1979.
- 15) Levin, R.M., Shofer, F.S. and Wein, A.J.: Cholinergic, adrenergic and purinergic response of sequential strips of rabbit urinary bladder. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **212**, 536—540, 1980.
- 16) Rohner, T.J. Jr. and Hannigan, J.: Effect of norepinephrine and isoproterenol on *in vitro* detrusor muscle contractility and cyclic AMP content. *Invest. Urol.*, **17**, 324—327, 1980.
- 17) Maggi, C.A. and Meli, A.: Modulation by β -adrenoreceptors of spontaneous contractions of rat urinary bladder. *J. Auton. Pharmacol.*, **2**, 255—260, 1982.
- 18) Eaton, A.C. and Bates, C.P.: An *in vitro* physiological study of normal and unstable human detrusor muscle. *Brit. J. Urol.*, **54**, 653—657, 1982.
- 19) Levin, R.M. and Wein, A.A.: Response of the *in vitro* whole bladder (rabbit) preparation to autonomic agonists. *J. Urol.*, **128**, 1087—1090, 1982.
- 20) Abdel-Rahman, M., Galeano, C. and Elhilali, M.: New approach to study of voiding cycle in cat. Preliminary report on pharmacologic studies. *Urology*, **22**, 91—97, 1983.
- 21) Levin, R.M., Brendler, K. and Wein, A.J.: Comparative pharmacological response of an *in vitro* whole bladder preparation (rabbit) with response of isolated smooth muscle strips. *J. Urol.*, **130**, 377—381, 1983.
- 22) Brown, D.A. and Dunn, P.M.: Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate and β -effects in rat isolated superior cervical ganglia. *Brit. J. Pharmacol.*, **79**, 441—449, 1983.

(1985年5月31日受付)