

ラットにおける門脈血流動態の末梢血圧に及ぼす影響

赤木玲子・須々木寛子*・田口里華**・赤木正明***

要 約

ラットにおける門脈の血流停止-再開による臓器障害を全身性的変化として捕らえ、その影響を明らかにするために血圧変動を指標として用い、検討した。ラットの血圧はウレタン麻酔下ではほぼ一定を保っているが、門脈の血流停止後血圧は急激に下降し、血流再開により血流停止前の血圧レベル以上の急激な上昇が見られた。この現象は迷走神経遮断薬の前処置、頸部迷走神経切断により有意な変化を示さなかったことから、迷走神経関与の可能性は極めて少ないと考えられる。門脈血流停止前後における血中カテコールアミン量の変動を測定したところ、血流停止時の血圧上昇過程には交感神経が影響していると考えられるが、血流再開後の血圧上昇には交感神経の影響だけでなく、何らかの体液性因子が存在する可能性が示唆された。抗酸化剤であるアスコルビン酸を静注することにより、血流停止直後の急激な血圧下降は血流再開後の血圧上昇共に有意に抑制され、このような血圧変動の過程には過酸化物質の産生が関与している可能性が示唆された。

緒 論

近年、我が国でも虚血性の脳・心臓疾患が増加しているといわれている。また、治療域においても臓器移植をはじめとして、一時血行遮断を伴った手術が多く見られるようになった。虚血による細胞への障害は疾患にせよ、治療にせよ重大な問題になっている。

虚血による細胞障害は大別して二つの過程に分けて考えることができる。一つは虚血中の無酸素下で進行する過程であり、もう一つは虚血後血流再開により不可避的に起こる活性酸素による障害過程である。¹⁾これらの細胞障害機構については様々な説があるが、その一つにフリーラジカル説がある。この説は、虚血および血流再開時にフリーラジカル生成を介した過酸化脂質による生体膜障害が起こるとする考えである。²⁾更にこの説に基づき、抗酸化剤投与が *in vivo* で虚血時と血流再開後の臓器障害を保護しうることが明らかになっている。³⁾しかし、虚血による細胞障害の分子レベルでの研究は数多

く進んでいるものの、その全身への生理的影響は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、血流の一時停止、更に血流再開による障害を全身性的変化で捕らえ、その生理的影響を検討したものである。

実 験 方 法

1. 実験動物

ウィスター系の雄ラットを温度25℃、湿度60%の環境下で体重200～250g になるまで飼育し、実験に用いた。飼育飼料としては、固型MF食（オリエンタル酵母工業株式会社）を使用し、水・飼料とも自由摂取とした。実験使用には、16時間絶食させたラットを用いた。

2. 血圧と心電図の測定

絶食させたラットに、カルバミン酸エチル（ウレタン、ナカライテスク株式会社）を1.25g/kg体重になるように腹腔内注射することにより麻酔し、左側大腿動脈にポリエチレンカテーテルを挿入し、DTX/PLUS血圧トランスデューサー（ビゴ・スペクトラメッドジャパン株式会社）に連結し、TYPE1236アンプ（日本電気三栄株式会社）で増幅した信号をペン書レコーダー（理化電気）で記録した。心電図は左右の前肢より針電極を用いて誘導した。TYPE1205D アンプ（日本電気三栄株式会社）で増幅した後、RECTI-HORIZ-8K（日本電気三栄株式会社）により記録を行なった。

3. 門脈血流の停止-再開モデル実験

体重200～250g のウィスター系雄ラットを麻酔下に開腹し、血圧・心電図測定用の装置に設置した。一時間後、門脈を動脈クレンメではさむことにより、人工的に門脈の血流を停止させ、20～60分後血流を再開して、この間の血圧・心電図を記録した。心拍数は、心電図より求めた。

4. 血中カテコールアミンの定量法

ヘパリン（ナカライテスク株式会社）を800U/kg 体重になるように静注した後、右側大腿静脈に挿入した留

*岡山市立芳田小学校 **倉敷記念病院 ***徳島文理大学薬学部薬理学教室

置カニューレ（アーガイルメディカットカニューレ 日本シャーウッド株式会社）から200 μ l 経時的に採血し、直ちに、3,000rpm、5分間遠心分離して血漿を得た。得られた血漿にEDTA0.1M、内部標準である3,4-dihydroxybenzylamine (DHBA) 1 mg、活性アルミナ30mg、1.5Mトリス緩衝液 (pH8.6) 1 mlを添加し5分間振とうした後3,000rpm、3分間遠心分離した。液相を除去した後、蒸留水5mlを加え、振とう、遠心分離、液相除去を2回繰り返す、アルミナを洗浄した。洗浄アルミナ層に100 μ mole EDTAを含有する2%酢酸溶液200 μ lを添加し数秒間攪拌した後、10分間静置した。5,000rpm、5分間遠心分離した上清50 μ lを液体クロマトグラフィー用サンプルとした。液体クロマトグラフィーは、移動相にオクタンスルホン酸ナトリウム2.5mmolとEDTA 20 μ molを含有する0.1Mリン酸緩衝液 (pH 3.5) とメタノール混液 (86:14) を使用し、流速1 ml/min でMA-ODSカラム (4 mm ϕ \times 250 mm) により分離し、設定加電圧+700mV vs Ag/AgClの電気化学検出器でカテコールアミンを検出した。エピネフリン、ノルエピネフリン、ドーパミンの溶出位置は、標準物質をカラムにアブライすることにより決定した。各カテコールアミンの量は、標準物質により検量線を作成し、その検量線より求めた。

実験結果

1. 門脈血流の停止-再開による血圧および心拍数の変動

図1に門脈血流の停止-再開による典型的な血圧の変動と心拍数の変化を示した。門脈結紮後、急激な血圧下降にひき続き、持続的な血圧下降が起こり、脈派の振幅も減少傾向を示した。約10分後、徐々に血圧の回復傾向がみられたが、結紮前の状態までには回復しなかった。尚、データには示していないが、門脈血流停止時間1時間以内では、低血圧は、完全には回復しなかった。一方、心拍数は門脈血流停止後の血圧下降にともない減少する傾向を示し、血流再開まで除脈が続いた。門脈血流を停止している間、空腸から回腸にかけての消化管は、著しくうっ血し、肝臓は虚血を思わせる変色が観察された。血流停止20分後、門脈血流を再開したところ、血圧は脈波の振幅増大を伴って急激に上昇し、血流停止前より高い状態が持続した。約10分後より徐々に下降傾向を示し、約40分後には血流停止前のレベルに回復した。このとき心拍数は、血圧の急上昇にともない一時的に減少したが、その後徐々に増加し、40分後には元の心拍数のレベルに達した。消化管に見られたうっ血状態も、血流再開後緩

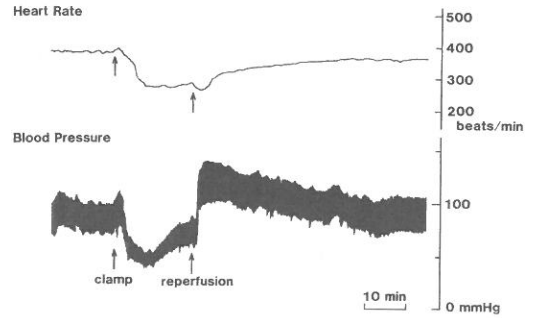


図1 ラットにおける門脈血流停止-再開による血圧及び心拍数の変動

やかに改善され、肉眼的にはほぼもとのレベルに回復した。尚、データには示していないが、回復後の空腸を顕微鏡下に観察すると、粘膜層から筋層にかけての白血球の著しい浸潤が見られた。

2. 血流変動に及ぼすアスコルビン酸の影響

門脈血流の停止-再開における平均血圧の経時変化を図2に示した。アスコルビン酸 (0.6 mmole/kg) を門脈結紮前1分に尾静脈より静注し、門脈血流の停止-再開実験を行なうと、血流停止直後の急激な血圧下降は有意に抑制されたが、その後徐々に血圧は低下し、門脈血流停止10分後の血圧は対照との間に有意差は認められなかった。門脈血流停止20分後、血流を再開させたところ血圧は結紮前のレベルまで回復しそのまま安定したが、血流再開後の血圧の急激な上昇は、有意に減弱化さ

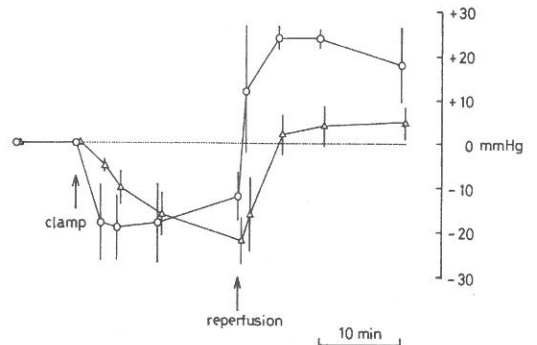


図2 アスコルビン酸の門脈血流停止前後の血圧変動に及ぼす影響

門脈血流停止前の平均血圧を0とし、その後の平均血圧の変化を±の増減で示した。結果は3例の平均±標準誤差としてマル (○) で表わし、アスコルビン酸静注後の門脈血流の停止-再開における平均血圧の経時変化を、3例の平均±標準誤差としてサンカク (△) で表わした。

れた。なおデータには示していないが、アスコルビン酸を門脈血流停止18分後に同量を静注し、2分後血流を再開させると血圧は結紮前のレベルまで回復したがそれ以上の上昇は見られなかった。

3. 門脈血流の停止-再開時における血中カテコールアミンの変動

門脈血流の停止-再開前後における血中カテコールアミン量の変動を図3に示した。門脈血流を停止した後、持続的な血圧下降の見られる5分後に採血を行ない血中のカテコールアミン量を定量したところ、血流停止前に比べて有意な差は見られなかった。徐々に血圧の回復傾向が見られる15分後では、カテコールアミンは、血流停止前よりも有意な増加が見られた。また、血圧が血流停止前よりも高い状態を維持している門脈血流再開25分後のカテコールアミンは、血流停止後15分よりも減少しているものの血流停止前と比べると、依然として有意差が見られた。血圧の安定が見られる血流再開後35分のカテコールアミンは、更に大きな有意差を示していた。

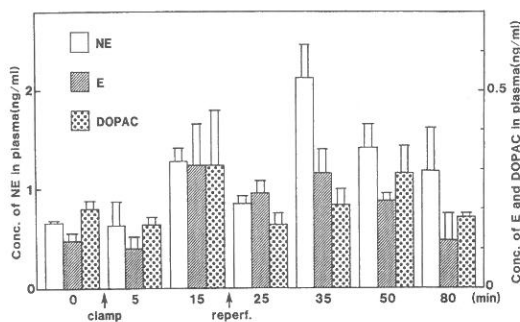


図3 門脈血流停止前後における血中カテコールアミン濃度の変動

NEはノルエピネフリン、Eはエピネフリン、DOPACは代謝産物を表わし、5例の平均±標準偏差として表わした。

考 察

血圧変動には、神経系、心臓の作用、さらには末梢血管の作用によるものなどの関与が考えられる。門脈血流の停止-再開時の血圧変動(図1)がいかなる機序で起こるのかについて以下に考察する。門脈血流停止時において、空腸から回腸にかけての消化管に著しいうっ血と共に収縮が見られた。このことにより、迷走神経関与の可能性を確かめる目的で、迷走神経遮断薬である硫酸アトロピンを5mg/kgになるように前処置した後、門脈血流停止-再開の実験を行なった。このときの血圧は、門脈血流停止-再開の典型的な変動(図1)と同様な傾

向を示し、有意差は見られなかった。更に、両側の頸部迷走神経を切断し、1時間後に同様な門脈血流停止-再開実験を行なったところ、アトロピン前処置実験と同様、有意差は見られなかった。このことより門脈の血流停止-再開における血圧変動には、迷走神経の関与の可能性は極めて少ないと考えられる。

一方、両側の副腎を摘除したラットについて同様な実験を行なうと、門脈血流停止後にしばらくして見られる血圧の回復が見られなかった。すなわち、この過程には交感神経が関与している可能性が示唆された。そこで、門脈血流停止前後における血中カテコールアミン量の変動と血圧変動との関係について検討したところ、以下に述べる興味深い知見が得られた。すなわち、門脈血流停止15分後の血圧上昇時には、血圧は血流停止前のレベルまでには回復しなかったが、血中カテコールアミン量は有意に増加していた。このことから、門脈血流停止15分後に見られた血圧上昇過程には血中カテコールアミンの増大が影響しているものと考えられる。ところが、門脈血流再開25分後の血圧上昇時の血中カテコールアミン量は、血圧が著明な上昇を示しているにもかかわらず、血中カテコールアミン量はむしろ有意に減少していた。

(図3)このことより、血流再開後の血圧上昇には、交感神経の影響というよりもむしろ血流再開による何らかの体液性の血圧上昇因子が関与している可能性が強く示唆された。門脈の血流を停止することにより肝臓は一時的な酸素欠乏状態となり、細胞は著しく障害を受けるが、その後血流を再開することにより、酸素欠乏による障害は修復されるものの、更にフリーラジカル生成を介した過酸化障害を受けるということが知られている。¹³⁾また、本実験において観察された、消化管うっ血後の白血球の浸潤は、白血球による活性酸素種の産生を示唆している。そこで、門脈血流再開時におけるこのような血圧変動に対して抗酸化剤として知られるアスコルビン酸がいかなる効果を及ぼすかについて検討してみた。図2に示すように、門脈血流停止-再開における平均血圧の経時的変化は、アスコルビン酸を静注することにより対照実験に比べて有意差を生じた。まず第一に、早期の急激な血圧下降が抑制されたことであり、第二に、門脈血流再開後の急激な血圧上昇が抑制されて、高血圧状態が見られなくなったことである。門脈から肝臓への血流が一時的に停止することにより局所のうっ血が起こり、その結果心臓へ回帰する血液量が減少するため、全身への血流量も減少し、そのために心機能の低下にともない血圧はある程度下降すると考えられる。アスコルビン酸によって血圧下降が一時的に抑制された時の心拍数は、アスコルビ

ン酸未処置の場合は減少した(図1)にもかかわらず、門脈血流を停止しても減少せず、結紮前との間に有意差は無かった。すなわち、アスコルビン酸のこのような作用には心臓に対する何らかの影響が関与している可能性も考えられる。ここで仮定された体液性の血圧上昇因子としては、対照臓器における酸素欠乏状態と、白血球の

浸潤を考え合わせて、オキシラジカルが関与している可能性が高いと私たちは考えているが、現在、ラジカルスカベンジャーを用いて、さらに検討を加えている。

本研究は一部、森永乳業株式会社の研究助成金の補助により行われたものである。

参 考 文 献

- 1) 西田俊郎, 川島康生, 田川邦夫: 虚血障害の分子機作: 代謝 VOL.24, P.379-387(1987)
- 2) 川崎尚: 臓器虚血障害の保護: 代謝 VOL.24, P.389-399(1987)
- 3) 川崎尚, 住元一夫: 虚血臓器障害とその保護: 蛋白質核酸酵素 VOL.33, P.501-510(1988)
- 4) 井上正康: 活性酸素毒性と細胞膜病態: 第7回関東肝臓集談会記録集「細胞膜」P.61-71 (1990)

平成3年9月11日受付

平成3年9月17日受理