

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

脈管学 (1991.01) 31巻1号:41~46.

微小肺塞栓症における,塞栓部位による昇圧応答の差に関する研究

川村祐一郎、長谷部直幸、松橋浩伸、山下裕久、飛世克之、小野寺壮吉

# 微小肺塞栓症における，塞栓部位による 昇圧応答の差に関する研究

## Study on the Mechanisms of Site-dependent Difference of Pressor Response in Experimental Pulmonary Embolism

川村祐一郎\* 長谷部直幸\* 松橋 浩伸\*  
山下 裕久\* 飛世 克之\* 小野寺壮吉\*

キー・ワード: Experimental pulmonary embolism, Isolated canine lung lobe, Latex microsphere, Local vasoconstrictive mechanism

〔要旨〕 中枢神経系，体循環系ならびに凝血の影響を除外する目的でイヌ摘出肺葉のヘパリン加自家血灌流を行い，この系に2種類の径の塞栓子を注入した。50 $\mu$ m 塞栓においては初期可逆的昇圧応答が認められたが，300 $\mu$ m 塞栓ではこの現象は乏しかった。このことより，内径50 $\mu$ m 近傍の肺動脈壁には微小肺塞栓により発動される何らかの局所的機能的メカニズムが内在するが，300 $\mu$ m 近傍ではこのメカニズムの関与は乏しいと考えられた。

### 緒言

急性肺塞栓症の病態は，血栓をはじめとする内因性あるいは外因性の塞栓子の流入による肺血流障害であり，重篤な場合は急性死亡の原因の一つに数えられる。本症における肺高血圧の出現には，従来塞栓子による物理的な血流遮断（機械的因子）<sup>1)</sup>に加え可逆的血管収縮（機能的因子）が関与するとされている。後者に属するものとして，神経性の反射<sup>2)</sup>ならびに主に血小板凝集過程で放出される serotonin<sup>3)</sup>，TXA<sub>2</sub><sup>4)</sup>などの液性因子が提唱されている。この血管収縮の関与の程度が塞栓部位すなわち比較的中枢部の塞栓であるか末梢であるかにより異なっていることが示唆されている<sup>5,6)</sup>が，そのメカニズムは未だ明確ではない。われわれは実験的微小肺塞栓（石松子，直径28~30 $\mu$ m）において，塞栓局所の肺血管自体に血管収縮応答が存在している可能性を推定してきた<sup>7,8)</sup>。Malik<sup>9)</sup>は200 $\mu$ m以下の塞栓子によるものを微小肺塞栓と定義して議論を進めているが，塞栓血管径の相違による血管収縮の程度の差にこの応答が関与しているか否かはきわめて興味深い問題である。そこで，中枢神経系，心臓・体循環系および凝血の影響を除外した実験系においてこの応答を検討した。すなわち，イヌ摘出肺

葉をヘパリン加自家血液で脈動灌流し，二つの異なった径の塞栓子（直径50 $\mu$ mと300 $\mu$ m）による応答の相違について検討した。その結果，今後の研究展開に示唆を与える知見を得ることができた。

### 実験方法

#### 1. 実験動物および肺葉摘出法

体重10kg前後の雑種成犬12頭を sodium pentobarbital 静脈麻酔（25mg/kg）後，人工換気下に両側第5肋間にて開胸，左または右の下葉を肺動脈，肺静脈，気管支を剝離切断して摘出し，灌流装置（下記）に装着した。肺葉の血流遮断から，摘出，装着，灌流開始に要する時間は4~5分であった。さらに，血流遮断と同時に灌流用血液約150mlを大腿動脈から採取した。

#### 2. 灌流装置

図1のように，従来の研究に用いた装置<sup>7,8)</sup>に，摘出肺葉の肺動脈，肺静脈，気管支を37°Cの恒温槽内に内径6mmのアクリルパイプに固定してつり下げ，肺動脈側からヘパリン加自家動脈血で灌流した。拍動ポンプ（Harvard 1405型）および気槽を連結することで生体の脈動流に近似させた。圧測定（日本光電 MPU0.5）は肺葉血管流入部および流出部において，また血流量測定（日本光電 MF46）は肺葉血管流入部においてそれぞれ行った。肺葉中心部をゼロレベルとし，平均流入圧15mmHg，平均流出圧5mmHgとなるよう灌流量を調節

\* 旭川医科大学第一内科学教室  
1989年9月13日受付  
1989年12月6日受理

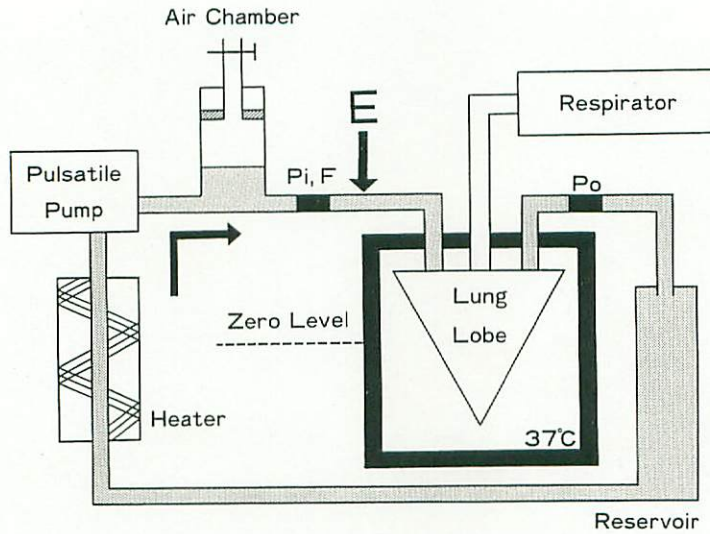


図1 灌流回路

した。小型レスピレーター（夏目製作所）および混合ガス（15% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, バランス N<sub>2</sub>）を用い、気道内圧が肺虚脱時 2cmH<sub>2</sub>O, 肺膨張時 7~10cmH<sub>2</sub>O となるように換気量を調節して陽圧換気を行った。

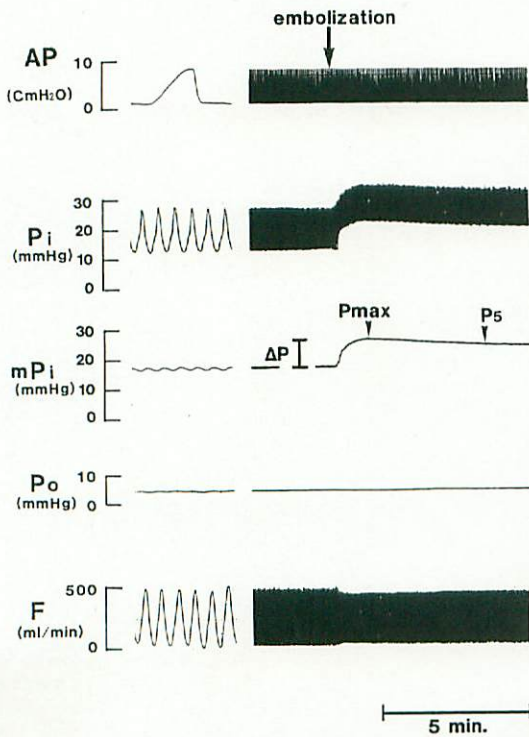


図2 50  $\mu\text{m}$  塞栓による各血行動態指標の変化

### 3. 肺塞栓作成

各血行動態指標の安定後、直径 50  $\mu\text{m}$  および 300  $\mu\text{m}$  の Uniform Latex Particle (Polystyrene DVB, Particle Information Services Inc. 製) およびの 50mg ずつ (50  $\mu\text{m}$ : 約  $4 \times 10^5$  個, 300  $\mu\text{m}$ : 約  $4 \times 10^2$  個) を生理食塩水約 1ml に懸濁し 1 回注入量とした (以下それぞれ LP50, LP300 と称する)。注入は肺葉流入部ゴム管 (図 1, E の部) より、6 分間隔で 4 回反復して行った。LP50 を注入した群を S 群 (N=7), LP300 を注入したものを L 群 (N=8) とし、この二つの群の昇圧応答を比較検討した。肺葉装着から実験終了までは約 40 分であった。塞栓前および 4 回塞栓後 6 分において灌流血液ガス分析を行い、低酸素血症がみられなかったことを確認した。また、気道内圧の変化ならびに実験終了後の塞栓肺葉および非塞栓肺葉湿乾重量比の比較検討より、肺水腫の出現の有無を確かめた。

各塞栓ごとに、流入圧 (Pi) およびその平均 (mPi), 流出圧 (Po) を記録した。mPi の、塞栓による最大昇圧時の値 (Pmax) およびこれと mPi の前値との差 ( $\Delta P$ ) を測定し、これらの値をもとに、塞栓による肺血管抵抗変化率 (%  $\Delta R_{\text{max}}$ ) を求めた。また Pmax と塞栓後 5 分の mPi の値 (P<sub>5</sub>) の差から、血管抵抗の減少率 (%  $\Delta R_s$ ) を求めた。

以上の各指標の群間の差異および反復塞栓による変化につき検討した。

### 4. 統計処理

数値はすべて平均値  $\pm$  標準誤差で表した。non-paired t test を用いて群間の差異を比較し、5% 以下の危険率で差があった場合に「有意差あり」とした。

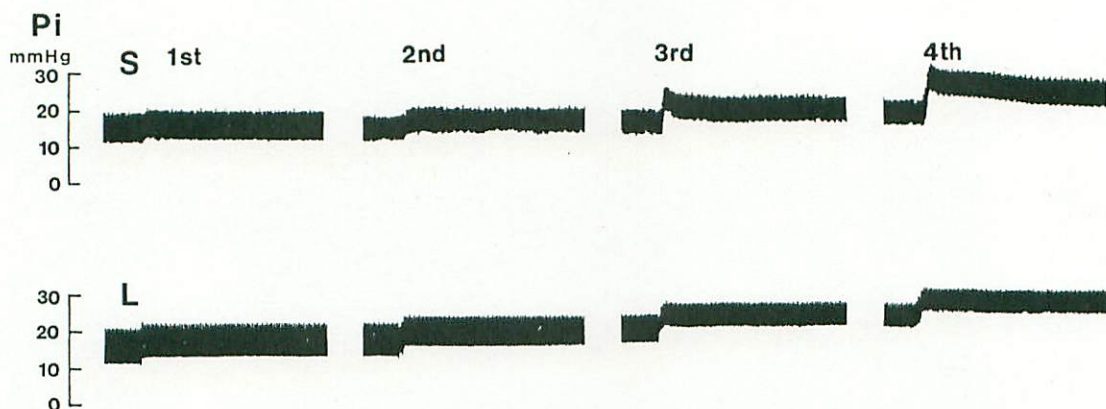


図3 肺葉流入圧 (Pi) の、4回の塞栓による変化

上段: S群 (50 $\mu$ m 塞栓)

下段: L群 (300 $\mu$ m 塞栓)

表1 4回の塞栓による  $\Delta P$ , Pmax,  $P_s$ , % $\Delta R_{max}$ , % $\Delta R_s$ の値

Groups	Embolization				
	1st	2nd	3rd	4th	
S (N=7)	$\Delta P$ (mmHg)	1.0 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.7	5.5 $\pm$ 1.1*
	Pmax (mmHg)	15.8 $\pm$ 0.8	16.6 $\pm$ 0.4	18.8 $\pm$ 0.8	23.3 $\pm$ 1.6
	$P_s$ (mmHg)	15.1 $\pm$ 0.4	15.9 $\pm$ 0.4	17.8 $\pm$ 0.5	21.5 $\pm$ 1.4
	% $\Delta R_{max}$ (%)	10.2 $\pm$ 0.8	15.4 $\pm$ 2.3	26.8 $\pm$ 7.0	41.9 $\pm$ 8.1*
	% $\Delta R_s$ (%)	-6.7 $\pm$ 1.7*	-5.9 $\pm$ 1.3**	-6.6 $\pm$ 2.0*	-9.2 $\pm$ 2.3**
L (N=8)	$\Delta P$	1.2 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.5
	Pmax	16.2 $\pm$ 0.3	17.4 $\pm$ 0.4	19.0 $\pm$ 0.8	20.9 $\pm$ 1.1
	$P_s$	16.1 $\pm$ 0.3	17.3 $\pm$ 0.4	18.9 $\pm$ 0.8	20.8 $\pm$ 1.1
	% $\Delta R_{max}$	12.1 $\pm$ 1.7	11.0 $\pm$ 2.3	12.7 $\pm$ 2.8	14.9 $\pm$ 2.8
	% $\Delta R_s$	-0.6 $\pm$ 0.2	-0.6 $\pm$ 0.3	-0.8 $\pm$ 0.3	-0.5 $\pm$ 0.4

数値はすべて平均 $\pm$ 標準誤差。

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

#### 実験成績

図2にS群における第4回目塞栓の代表的記録の一つを示した。塞栓子注入後、Piは急速に上昇し、約1分後に頂点を形成した後に緩徐に下降して、前値よりやや高い水準に落ち着くという、既報<sup>2,9)</sup>に示されている反応と同様の現象が観察された。またFの振幅は、この昇圧にはほぼ反比例して変化し、昇圧時に減少、降圧時に回復を示した。

図3にS群およびL群の、4回の塞栓によるPiの記録を比較して示した。S群では、第1回目および第2回目の昇圧応答に比し、第3回目および第4回目塞栓に

おけるそれは増加していたが、L群では明らかではなかった。またPiの可逆的な変化、すなわち頂点形成後の緩徐な下降もL群では明らかではなかった。両群における第1回目から第4回目塞栓までの $\Delta P$ , Pmax,  $P_s$ , % $\Delta R_{max}$ , % $\Delta R_s$ を表1に示した。S群においては、反復塞栓により% $\Delta R_{max}$ は漸増傾向にあったが、L群では増加はみられず、第4回目塞栓においては% $\Delta R_{max}$ は有意にS群で大きであった(図4)。また% $\Delta R_s$ を2群間で比較すると、第1回目から第4回目のいずれの塞栓においても有意にS群が小さであった(図5)。

なお、気道内圧が全経過を通じて不変であったこと、

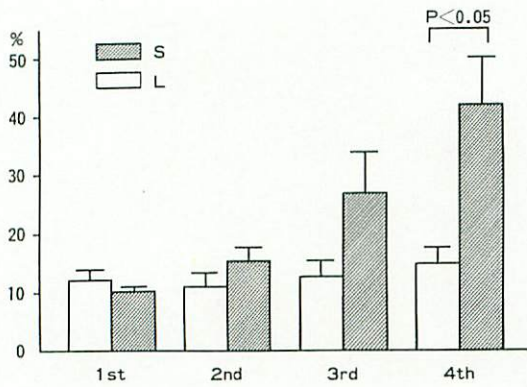


図4 %ΔRmaxの2群間の比較

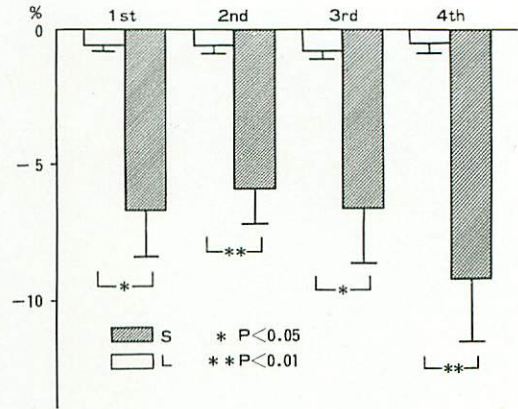


図5 %ΔR2の2群間の比較

また塞栓肺葉および非塞栓肺葉の湿乾重量比に有意差がなかったことから、いずれの群にも塞栓による肺水腫は生じなかったと考えた。

#### 考案

肺塞栓症における肺高血圧の成因に肺血管収縮がどの程度に関与するかという問題については、すでに多くの実験的研究がなされている。Hyland ら<sup>11</sup>は、径 0.17 mm から 5 ないし 6 mm の 6 種類の塞栓子をイヌ上大静脈より、平均肺動脈圧が 5~10 mmHg 上昇するまで持続注入したところ、これに要した塞栓子数はいずれの径のものについても、それとほぼ同径の推定肺血管数に等しいかやや上回っていたとしており、機械的閉塞の重要性を強調している。一側肺動脈を閉塞した際に非閉塞肺血管床の拡張 (distention) が出現して肺動脈圧上昇を緩和するとの報告もあり<sup>9)</sup>、有意な肺動脈圧上昇をもたらすには比較的太い肺動脈においては全肺血管床断面積のかなりの部分の閉塞が必要であると考えられる。一方、Dexter & Smith<sup>5)</sup>は石松子によるイヌ肺塞栓において推定血管数よりもはるかに少ない数の塞栓子により有意な肺高血圧が起りうることを指摘している。さらに Hageman ら<sup>3)</sup>、佐々木<sup>4)</sup>らはそれぞれ珪藻土および BaSO<sub>4</sub> (いずれも径 10~50 μm) の肺塞栓において塞栓に伴う肺動脈圧の可逆的上昇を観察している。これらの報告はいずれも、微小肺塞栓においては機能的肺血管収縮の関与が大きいことを示唆するものである。

この血管収縮には、従来、血小板から遊離するとされる液性因子<sup>3, 4)</sup>や神経系の反射<sup>2)</sup>の関与が重要視されてきた。しかし、摘出灌流肺でも<sup>7)</sup>、さらにその非血液成分灌流でも<sup>8)</sup>この血管収縮がみられることから、われわれは、塞栓血管壁に局在する因子を強調してきた。従来の研究では、in vivo であるため体循環系や神経系の影響

が除外されていない<sup>11, 5)</sup>か、あるいは摘出肺葉を用いた場合でも塞栓子の大きさの差による反応の相違が検討されていない<sup>4)</sup>。そこでわれわれは、体循環系、神経系および凝血の影響を除外した上で、微小塞栓子と、それより径の大きな塞栓子による昇圧応答の差を検討した。

今回用いた latex particle は、比重は 1.05 と血液に近似し、また形状はほぼ完全な球形でかつ大きさも均一である。Hyland ら<sup>11)</sup>は、polystyrene sphere が肺内にほぼ均等に分散し、なおかつその径に相応した血管を閉塞したことを塞栓後の肺動脈造影で確認しており、われわれの実験でも、肺葉流入部より約 5 cm 近位で注入したので、ほぼ同様の分散および閉塞のしかたをしたと考えてよい。また、1 回注入量 (50 mg) は、前述のごとく LP50 は LP300 の約 10<sup>3</sup> 倍の粒子を含む。これらによる塞栓の結果を比較検討する場合、それぞれの径のイヌ肺動脈数の比<sup>9)</sup>および血管収縮の関与の差<sup>5)</sup>などの要因を当然考慮しなければならない。しかし、第 1 回目の塞栓による昇圧が群間で差がなく、また肺葉循環を安定に保ちながら 4 回反復塞栓を可能とさせたのであるから、使用量として適切であったということが出来る。

本実験の結果、最も注目すべき点は、塞栓に伴う初期可逆的昇圧応答が S 群 (50 μm) にも認められ、L 群 (300 μm) では明らかでなかったことである。このことは、50 μm 近傍の径の塞栓においては、300 μm 近傍のそれに比し血管収縮が起こりやすいということを示すものと考えられる。この可逆的応答のメカニズムとして昇圧に引き続く動脈シャントおよび recruitment の出現も想定しうる<sup>3)</sup>。しかし、本実験系に石松子を適用した教室の山下の成績<sup>11)</sup>では、流出圧を上昇 (15 mmHg) させてあらかじめ血管床をある程度開大させて塞栓子を注入した際にも同様の応答が観察されている。今回の S 群の成績はこの石松子塞栓と本質的に同一で、昇圧後の動脈

脈シャントや recruitment の関与は小さく、可逆的血管収縮が主であるとするのが妥当である。さらに、本実験系の設定条件から、それぞれの径の局所肺血管壁自体の収縮性すなわち局所肺血管に内在するメカニズムの差に基づくものと考えてよい。

ただし、そのメカニズムの解明は本実験結果のみからは困難である。300  $\mu\text{m}$  前後から 50  $\mu\text{m}$  前後の肺動脈の構築は、全周性に平滑筋を有する筋性動脈から、末梢へ向かうに従って次第に平滑筋成分の少ない動脈へ移行するという<sup>12)</sup>。すなわち、本実験結果は、平滑筋成分の少ない方の肺動脈により強い収縮が起こったという一見奇異な結果を生んだことになる。しかし、Johnson<sup>13)</sup>によれば、血管平滑筋における瞬時の伸展に対する収縮応答すなわち筋原性反応 (myogenic response) は、multi-unit smooth muscle からなる比較的太い血管よりもむしろ single-unit smooth muscle を含むとされる細い血管においてより明瞭に認められるという。われわれが従来石松子肺塞栓の初期可逆的昇圧応答の機序として推定してきた<sup>7, 8)</sup> この筋原性反応は、同時に塞栓部位による血管反応性の違いの一つの説明となり得よう。しかしながら、この反応を含めた平滑筋の収縮反応に与える血管内膜の影響についてはなお不明である。血管内膜に存在する拡張性の因子としては PGI<sub>2</sub><sup>14)</sup> が最も重要なものと考えられる。その肺循環系における役割についても研究が集積されてきており<sup>15, 16)</sup>、われわれも目下、PGの塞栓後の流出に部位による差があるか否かについて本実験系を用い検討中である。また PG 以外にも、血管内膜由来の因子として EDRF<sup>17)</sup> が最近注目されている。さらに、内膜に破壊性に働く幾つかの物質を内皮細胞自身が放出することが知られてきており<sup>18, 19)</sup>、それらの肺循環系における役割を検討していくことも、この可逆的応答の機序の解明に結びつくかも知れない。

なお、流入圧上昇に伴って出現した血流波振幅の減少については、すでに山下がモデル回路実験を通して報告した<sup>20)</sup>。すなわち肺動脈優位の収縮を示す 5HT の投与ではこの減少は著明であり、選択的に肺静脈を収縮させる histamine ではきわめてわずかであった。塞栓実験においても、この振幅減少から血管収縮の様式ならびにその局在について間接的に検討が可能と思われるが、今後の課題といえよう。

## 結 語

中枢神経系、体循環系ならびに凝血の影響を除外する目的でイヌ摘出肺葉のヘパリン加自家血灌流を行った。この系に 50  $\mu\text{m}$ 、300  $\mu\text{m}$  という 2 種類の径の塞栓子を注入したところ、50  $\mu\text{m}$  塞栓においては初期可逆的昇圧応答が認められたが、300  $\mu\text{m}$  塞栓ではこの現象は乏し

かった。内径 50  $\mu\text{m}$  近傍の肺動脈壁には、塞栓により発動される何らかの局所的機能的メカニズムが内在することが明らかであるが、300  $\mu\text{m}$  近傍では乏しいと考えられる。このメカニズムを検討していく上で、局所肺動脈内膜に存在する因子や平滑筋の機能、さらにそれらの相互作用といった点についての今後の研究が望まれる。

なお、本論文の要旨は、第28回日本脈管学会総会(1987年10月3日、東京)において発表した。

## 参 考 文 献

- 1) Hyland, J. W., Smith, G. T., Mcguire, L. B. et al.: Effect of selective embolization of various sized pulmonary arteries in dogs. *Am. J. Physiol.*, **204**: 619~625, 1963.
- 2) Niden, A. H. and Aviado, D. M.: Effects of pulmonary embolism on the pulmonary circulation with special reference to arteriovenous shock in the lung. *Circ. Res.*, **4**: 67~73, 1956.
- 3) Hageman, W. E., Wentling, D. G. and Pruss, T. P.: Interaction of vasoactive agents and microemboli on the pulmonary circulation. *Eur. J. Pharm.*, **22**: 295~303, 1983.
- 4) 佐々木憲二: 肺塞栓症の肺循環動態における、血管作動性物質の作用に関する実験的研究. *日胸疾会誌*, **17**: 327~342, 1979.
- 5) Dexter, L. and Smith, G. T.: Quantitative studies of pulmonary embolism. *Am. J. Med. Sci.*, **35**: 641~648, 1964.
- 6) Dalen, J. E., Hynes, F. W., Hoppin, F. G. et al.: Cardiovascular responses to experimental pulmonary embolism. *Am. J. Cardiol.*, **20**: 3~9, 1967.
- 7) 小野寺壮吉, 下村寿太郎, 小林 毅他: 微小肺塞栓症における肺動脈圧上昇機構—摘出灌流肺葉塞栓実験—. *胸疾会誌*, **12**: 669~674, 1974.
- 8) 長谷部直幸, 山下裕久: 実験的微小肺塞栓における初期昇圧応答に関する研究—筋原性因子の検討—. *北海道医誌*, **59**: 149~165, 1984.
- 9) Malik, A. B.: Pulmonary microembolism. *Physiological Reviews*, **63**: 1114~1207, 1983.
- 10) Harris, P., Segel, N. and Bishop, J. M.: The relation between pressure and flow in the pulmonary circulation in normal subjects and in patients with chronic bronchitis and mitral stenosis. *Cardiovasc. Res.*, **2**: 73~83, 1968.
- 11) 山下裕久: 微小肺塞栓症における初期昇圧応答に関する実験的研究. *北海道医誌*, **57**: 479~490, 1982.
- 12) Reid, L. M.: The pulmonary circulation: Remodeling in growth and disease. *Am. Rev. Resp. Dis.*, **119**: 531~546, 1979.

- 13) Johnson, P. C. : The myogenic response. In : Handbook of Physiology, Sec. 2, vol. II, Vascular Smooth Muscle, ed. by Bohr, D. F. et al., American Physiological Society, Bethesda, 1980.
- 14) Vanhoutte, P. M. and McGoon, M. D. : The endothelial cell. In : Abnormal Pulmonary Circulation, ed. by Bergofsky, E. H., Churchill Livingstone, New York, 1986.
- 15) Schellenberg, R. R., Duff, M. J., Foster, A. et al. : Histamine releases PGI<sub>2</sub> from human pulmonary artery. Prostaglandins, 32 : 201~209, 1986.
- 16) Pearlman, M. B., Lo, S. K. and Malik, A. B. : Effect of prostacyclin on pulmonary vascular response to thrombin in awake sheep. J. Appl. Physiol., 60 : 546~553, 1986.
- 17) Furchgott, R. F. : Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. Circ. Res., 53 : 558~573, 1983.
- 18) Selvaraj, P. M., Goodwin, J. D. and Ryan, U. S. : Superoxide anion release by pulmonary endothelium : response to phorbol ester and Ca ionophore. Fed. Proc., 46 : 140, 1987.
- 19) Piper, P. J. and Galton, S. A. : Generation of leukotriene B<sub>4</sub> and leukotriene E<sub>4</sub> from porcine pulmonary artery. Prostaglandins, 28 : 905~913, 1984.
- 20) 山下裕久, 羽根田俊, 登坂 聡他 : 肺循環系におけるセロトニン, ヒスタミンの作用部位—肺昇圧物質の作用部位に関するモデル実験による考察. 日胸疾会誌, 23 : 767~775, 1985.

## Study on the Mechanisms of Site-dependent Difference of Pressor Response in Experimental Pulmonary Embolism

Kawamura, Y., Hasebe, N., Matsushashi, H., Yamashita, H., Tobise, K. and Onodera, S.

The First Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College, Asahikawa, Japan

**Key Words** : Experimental pulmonary embolism, Isolated canine lung lobe, Latex microsphere, Local vasoconstrictive mechanism

Pulmonary hypertension due to pulmonary embolism has been attributed not only to mechanical obstruction of pulmonary vessels but also to some functional factors, including neural reflex or platelet-derived vasoconstrictive substances. In addition, local vasoconstrictive mechanisms might exist in pulmonary arterial wall itself. On the other hand, some studies indicated that the degree of vasoconstriction was different according to the lodging site of emboli, in other words the size of emboli. In the present study, we discussed whether the local vasoconstrictive mechanisms participated in the site-dependent difference in pressor responses due to pulmonary embolism.

Canine lower lung lobes were excised to exclude influences of the central nervous system and perfused by heparinized blood to exclude also influences of blood coagulation. Two emboli of different sizes (50  $\mu$ m and 300  $\mu$ m in diameter) were injected into the lobes. Change in the inflow pressure was measured and percent increase in pulmonary vascular resistance (%  $\Delta$ R) was calculated.

Complex inflow pressure changes composed of, in sequence, a rapid increase, the peak after 1 minute

and a slow fall were observed in 50  $\mu$ m embolization. However, they were not clear in 300  $\mu$ m embolization. Stepwise increase in %  $\Delta$ R was apparent in the repetitive 50  $\mu$ m embolization. Significant differences in %  $\Delta$ R were seen between the 1st and the 3rd ( $p < 0.05$ ), and the 1st and the 4th ( $p < 0.01$ ) embolizations. In 300  $\mu$ m, however, no significant differences were seen.

These results suggest that vasoconstriction occurred more easily in the obstruction of the arteries of about 50  $\mu$ m in diameter than about 300  $\mu$ m. When we consider the setting of this system, this difference in the pulmonary arterial contractility may be based on the difference in mechanisms which exist in local vascular wall itself. Although it is difficult to clarify the mechanisms, one of them might be the "myogenic response" i. e., contraction of vascular smooth muscle that is elicited by an application of force to the muscle. In addition, it would be very important to consider the factor in the vascular endothelium, such as PGI<sub>2</sub> or EDRF. These substances' role in modifying the contractile response in pulmonary embolism may be a very interesting area of further investigation.