

# AMCoR

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

血管 (1993.09) 16巻3号:153～157.

モノクロタリン肺高血圧ラット摘出肺動脈の低酸素刺激に対する応答

小川裕二、武田昭範、小野寺壮吉、森田一豊、平山智也、  
飛世克之、菊池健次郎

原著 2

## モノクロタリン肺高血圧ラット摘出 肺動脈の低酸素刺激に対する応答

小川裕二, 武田昭範, 小野寺壮吉, 森田一豊, 平山智也,  
飛世克之, 菊池健次郎  
旭川医科大学第一内科

### I. はじめに

低酸素刺激に対し血管がどのように応答するのかはこれまで多くの研究がなされているが、いまだその詳細については不明な点が多く残されている。とくに肺動脈での低酸素に対する収縮応答は、古くから低酸素性肺血管攣縮(Hypoxic pulmonary vasoconstriction: HPV)として知られており<sup>1)</sup>、そのメカニズムについては今日もなお注目されている。一方、モノクロタリン肺高血圧ラットは豆科の植物である *Crotalaria spectabilis* の種子から抽出される pyrrolizidine alkaloid の monocrotaline (MCT) をラットに投与することで容易に作製できる肺高血圧症のモデル動物である<sup>2)</sup>。このラットの肺動脈の血管作動物質に対する反応性については、当教室の成績も含めて機能的な変化が認められており<sup>3,4)</sup>、肺高血圧の形成に関与していることが示唆されている。しかし、モノクロタリン肺高血圧ラットの肺動脈の低酸素刺激に対する反応がこれら血管作動物質と同様に変化しているか否か不明である。著者らは、これまで Sprague-Dawley ラット (コントロール) の肺動脈を用いた研究で、低酸素性肺動脈収縮応答のメカニズムについて報告してきた<sup>5)</sup>。そこで本研究ではモノクロタリン肺高血圧ラットより摘出した肺動脈を用い、低酸素に対する応答をコントロールのラットと比較し、低酸素刺激に対する肺動脈の反応性とその機序について検討した。

### II. 実験方法

生後5週齢の雄 Sprague-Dawley ラット (体重  $136.0 \pm 2.6$ g) を2群に分け、1群には MCT (Crotaline, Sigma) 40mg/kg を背部皮下に一回注射し、他の1群には生理食

塩水 2 ml/kg を注射してコントロール群とした。処置後3週間後のラットを用いた。

pentobarbital 20mg/kg 腹腔内注射による麻酔後、人工換気 (2 ml  $\times$  90/分: シナノ製作所, SN-480-6) 下に開胸、右室自由壁より20ゲージのカテーテルを刺入して右室圧を測定した (日本光電, MPU-0.5)。次に心肺を取り出して左主肺動脈を分離、長さ5mmの輪状標本を作製した。標本は内膜を温存し、マグヌス管内にステンレス製L字型フックを用いて懸垂した。栄養液として Krebs-Henseleit 液 (K-H液: 以下組成を mM で示す。NaCl, 118.1; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; MgSO<sub>4</sub>, 25.0; glucose, 11.0) を用いた。コントロールのガスとして、16% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> + balanced N<sub>2</sub> を用い、低酸素刺激は、0% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> + balanced N<sub>2</sub> にすばやく切り換えて行った。張力の変化は force displacement transducer (日本光電, TB612T) で測定した。初期張力は 1g とした。

1~2時間の平衡の後、以下の項目について低酸素に対する反応を観察した。

- 1) 血管収縮性物質を加えない状態。
- 2) phenylephrine  $2 \times 10^{-8}$ M にて前収縮させた状態。
- 3) BAY K 8644 に対する反応性と BAY K 8644  $10^{-6}$ M の低酸素性血管応答に及ぼす影響。
- 4) Nicardipine  $10^{-5}$ M 存在下での反応性。

本文および図中の結果は、平均値  $\pm$  標準誤差で表し、有意差検定は Student's t-test を用いた。

### III. 結 果

#### 1. モノクロタリン投与の効果。

コントロール群とモノクロタリン群の皮下注射後3週間目における体重はそれぞれ、 $295.2 \pm 7.1$ g と  $243.0 \pm 3.9$ g ( $P < 0.01$ )、右室の収縮期圧は  $21.3 \pm 0.7$ mmHg,  $51.0 \pm 2.0$ mmHg ( $P < 0.01$ )、右室と左室+心室中隔の重量比は

\* 旭川医科大学第一内科 (〒078 旭川市西神楽4線5号3番地11)

First Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College  
4-5-3 Nishikagura, Asahikawa 078 Japan

モノクロタリン肺高血圧ラット摘出肺動脈の低酸素刺激に対する応答

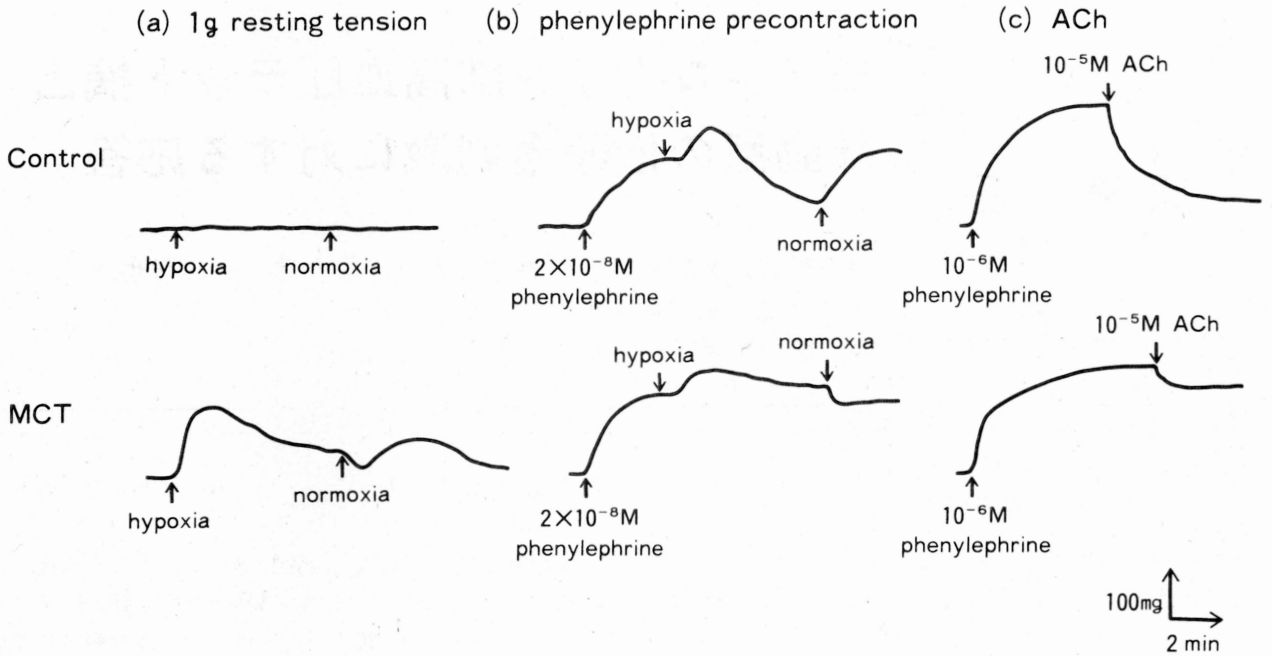


図1 コントロールおよびモノクロタリン (MCT) ラットの低酸素刺激、再酸素化およびアセチルコリン (ACh) に対する応答。1gの静止張力 (a),  $2 \times 10^{-8} M$  phenylephrineにて前収縮させた状態 (b), AChに対する弛緩反応 (c) を示す。

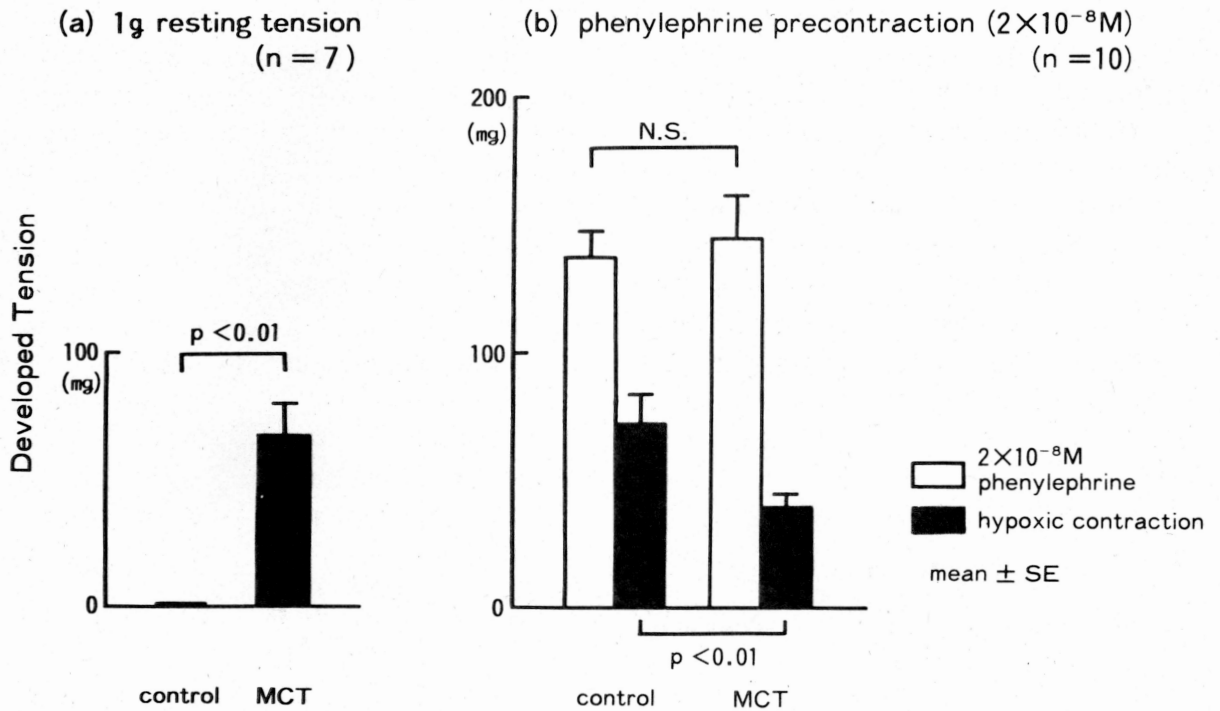


図2 コントロールおよびモノクロタリン (MCT) ラットの低酸素性収縮応答。1gの静止張力時 (a),  $2 \times 10^{-8} M$  phenylephrine前収縮時 (b) の反応性。

0.27±0.01, 0.58±0.02 (P<0.01) であり, モノクロタリン群で著明な肺高血圧と右室肥大が認められた.

2. 低酸素に対する応答.

1) 血管収縮性物質を加えない状態での反応性.

コントロール群の肺動脈では低酸素刺激に対して張力の変化はみられなかった. これに対し, モノクロタリン群の摘出肺動脈では低酸素刺激により張力の増加がみられた. この張力の増加は時間とともにやや減じ, 標準ガスにすると初期張力の状態に戻った. 標本によっては, 再酸素化後一過性の張力増加が観察された. (図1-(a))

2) phenylephrine 2×10<sup>-8</sup>Mにて前収縮させた状態での反応性.

コントロール群では, 一過性の張力の増加とそれに続く張力の低下が観察された. これに対し, モノクロタリン群ではphenylephrineの張力に差はなかったが, 低酸素性の張力の増加およびそれに続く低下はともに減弱した. なお, AChに対する弛緩反応はモノクロタリン群で著明に低下していた (図1-(b,c)).

図2には, この2群の低酸素性収縮応答のまとめを示す. 1gの静止張力時には, コントロールには張力の変化はみられなかったが, モノクロタリン群では, 67.5±6.1

mgの張力増加がみられた. また, phenylephrineによる前収縮のもとでは, phenylephrineによる張力増加は2者で差はなかったが (コントロール群: 137.6±4.6mg, モノクロタリン群: 142.2±8.1mg), 低酸素性の収縮応答は, コントロール群が72.2±5.2mg, モノクロタリン群が40.1±2.5mgとモノクロタリン群で減弱がみられた.

3) BAY K 8644に対する反応性

BAY K 8644に対する応答はモノクロタリン群で著明に亢進しており, 10<sup>-7</sup>Mから始まる収縮反応が観察された. コントロール群では10<sup>-5</sup>Mの高濃度でもほとんど収縮反応を示さなかった. また, 10<sup>-7</sup>MのBAY K 8644存在下でこの低酸素性収縮応答は52.2±3.2mgから90.5±9.4mgへ増強した (図3).

4) Nicardipine 10<sup>-5</sup>M存在下での反応性.

Nicardipine 10<sup>-5</sup>M存在下で低酸素性収縮応答は58.1±7.1mgから26.2±4.0mgへ減弱した (図4).

IV. 考 案

本研究では, コントロールラットの摘出肺動脈では血管収縮性物質を加えない状態で低酸素の刺激を加えても張力の変化はみられなかったが, モノクロタリン肺高血

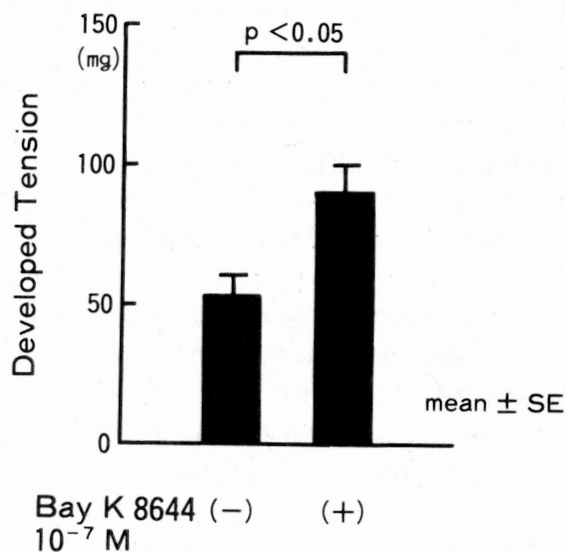
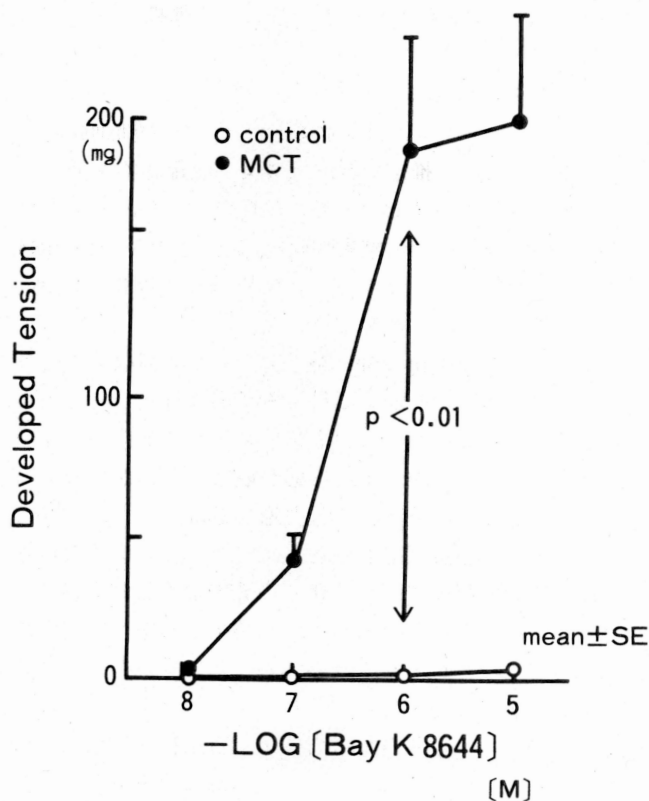


図3 BAY K 8644に対する用量反応曲線 (左) およびモノクロタリン (MCT) ラットにおけるBAY K 8644 (10<sup>-7</sup>M)の低酸素性収縮に及ぼす影響 (右).

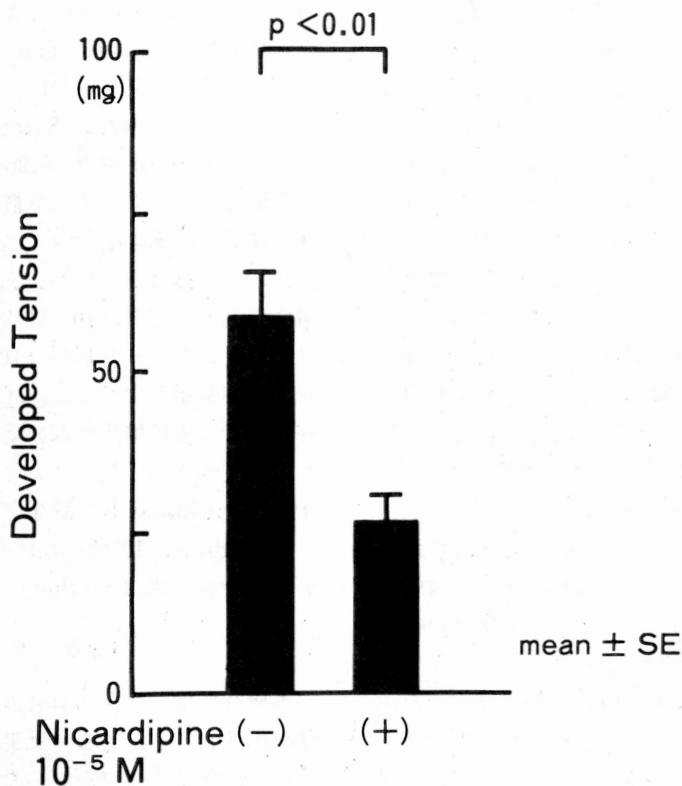


図4 モノクロタリン (MCT) ラットでの低酸素性収縮応答におよぼすニカルジピンの効果。  
(n=6)

圧ラットの肺動脈では低酸素刺激により張力の増加がみられた。一般に、ラットの摘出血管を用いた実験（とくに太い血管）では、静止状態では低酸素性収縮応答は発現し難く、あらかじめ血管収縮物質で前収縮させておくと発現しやすいことが報告されている。<sup>6,7)</sup> この点、モノクロタリン肺高血圧ラットの肺動脈では低酸素性収縮応答の感受性が亢進していると思われる。

低酸素刺激による血管の収縮応答の機序についてはこれまでに諸説がある。そのひとつは、低酸素刺激により血管平滑筋の脱分極がおこり電位依存性 Ca チャネルが開き、細胞外の Ca が流入し収縮するという機序である。<sup>8,9)</sup> これは、血管平滑筋の膜電位を測定した研究<sup>10)</sup> や BAY K 8644 が肺動脈の低酸素性収縮反応を増強させたという研究<sup>11)</sup> からも支持されている。そこで、著者らは電位依存性 Ca チャネルの関与について検討した。まず、BAY K 8644 に対する血管反応性であるが、同薬物によりモノクロタリン肺高血圧ラットの肺動脈は比較的低濃度の  $10^{-7}M$  からはじまる用量依存的な収縮反応を呈した。BAY K 8644 は Ca アゴニストであり、静止した摘出血管では張力に影響を及ぼさないが、脱分極した血管平滑筋では収縮を引き起こすことが知られている。<sup>12)</sup> し

たがって、モノクロタリン肺高血圧ラットの肺動脈は脱分極傾向にあると推定でき、低酸素性収縮応答を発現しやすかった要因のひとつと考えられた。また、モノクロタリン群でみられた低酸素性収縮応答は BAY K 8644 存在下で増強し、ニカルジピンで減弱した結果もこの機序が関与していることを支持した。

これに対し、phenylephrine であらかじめ前収縮させておいた状況下での低酸素に対する反応は静止状態でみられた反応と異なっていた。コントロールでは、一過性の収縮反応とそれに続く弛緩反応が観察されたが、モノクロタリン群では低酸素性の張力増加分はコントロールに比べ小さく、弛緩反応も減弱していた。このような血管収縮物質で前収縮させた状態での低酸素性収縮応答については、その一部に以下のような特徴と機序が想定されている。すなわち、この収縮応答には内皮の存在が必要であり、それまでアゴニスト自体あるいはトーンズの増加したことによって刺激されている EDRF の産生が<sup>13)</sup> 低酸素性刺激によって抑制され、相対的に収縮反応に転じるという機序である。<sup>5,14)</sup> モノクロタリン肺高血圧ラットでは、ACh による内皮依存性の弛緩反応は著明に減弱していることから、phenylephrine であらかじめ収縮させた

ときのEDRFの産生量はコントロールに比べ少ないことが予想され、低酸素時のEDRF産生低下の効果(すなわち収縮収縮応答)が発現し難いものと考えられた。

低酸素性血管拡張反応の機序も現在のところ不明な点が多く残されている。本実験では低酸素刺激時に、収縮反応がみられた後弛緩反応が観察されたが、このように収縮反応が持続しない現象は摘出灌流肺を用いた実験でも観察され、これは曝された酸素分圧のレベルが関係していると考えられている。<sup>15)</sup> また、最近、弛緩反応の機序のひとつとして、ATP感受性Kチャンネルの関与が報告されており、<sup>16)</sup> 本モデルでも検討中である。

以上より、モノクロタリン肺高血圧ラットの摘出肺動脈は静止張力下でも低酸素刺激により収縮応答を示した。この収縮の発現には、電位依存性Caチャンネルがこの収縮に大きく関わっており、同血管が脱分極傾向にあることが発現を容易にしていると思われた。また、低酸素刺激時の血管の応答については、種差、部位差、実験条件などにより反応が異なることが知られているが、病態によっても反応性および発現機序が異なることが示唆され、低酸素性血管応答の多様性がうかがわれた。

#### 謝 辞

本稿執筆の機会を与えて頂いた日高弘義教授に心から感謝いたします。

なお、この研究の一部は文部省の科学研究費一般研究(No.04770520)の助成による。

#### 文 献

- 1) Von Euler, U.S. and Liljestrand, G. : Acta. Physiol. Scand., 12, 301-320 (1946)
- 2) Hayashi, Y., Hussa, J.F. and Lalich, J.J. : Lab. Invest., 16, 875-881 (1967)
- 3) Takenaka, T., Ogawa, Y. and Tobise, K. : Jpn. Circ. J., 54, 515-523 (1990)
- 4) Altieri, R.J., Olson, J.W. and Gillespie, M.N. : hypertension, 236, 390-395 (1985)
- 5) Ogawa, Y., Kawabe, J., Onodera, S. et al. : Jpn. Circ. J., 57, 228-236 (1993)
- 6) Rodman, D.M., Yamaguchi, T., O'Brien, R.F. and Mcmurtry, I.F. : J. Pharmacol. Exp. Ther., 248, 952-959 (1989)
- 7) Bennie, R.E., Packer, C.S., Powell, D.R., Jin, N. and Rhoades, R.A. : Am. J. Physiol., 261, L156-L163 (1991)
- 8) Bergofsky, E.H. and Holtzman, S. : Circ. Res., 20, 506-519 (1967)
- 9) Mcmurtry, I.F., Davidson, A.B., Reeves, J.T. and Grover, R.F. : Circ. Res., 38, 99-104 (1976)
- 10) Harder, D.R., Madden, J.A. and Dawson, C. : J. Appl.

Physiol., 59, 1389-1393 (1985)

- 11) Mcmurtry, I.F. : Am. J. Physiol., 249 H741-H746 (1985)
- 12) Schramm, M., Thomas, G. Towart, R. and Franckowiak, G. : Arzneim. forsch., 33, 1268-1272 (1983)
- 13) Ohno, M., Ochiai, M., Taguchi, J., Hara, K., Akatsuka, N., Kurokawa, K. : Biochem. Biophys. Res. Comm., 173, 1038-1042 (1990)
- 14) Rodman, D.M., Yamaguchi, T. Hasunuma, K., O'Brien, R.F. and Mcmurtry, I.F. : Am. J. Physiol., 258, L207-L214 (1990)
- 15) Sylvester, J.T., Harabin, A.L., Peake, M.D., Frank, R. S. : J. Appl. Physiol., 49, 820-825 (1980)
- 16) Daut, J., Maier-Rudolph, M., Von Beckerath, N., et. al. : Science, 247, 1341-1344 (1990)