摘出ウサギ脳動脈における K 濃度上昇による収縮

札幌医科大学 脳神経外科学講座

(主任：佐藤 修教授)

高 山 宏, 相 馬 勤

札幌医科大学 生理学第二講座

(主任：宮崎英策教授)

砂 野 哲

CONTRACTION OF RABBIT CEREBRAL ARTERY CAUSED BY ELEVATED K⁺ *IN VITRO*

Hiroshi TAKAYAMA, Tsutomu SOHMA

Department of Neurosurgery, Sapporo Medical College, Sapporo

(Director: Prof. O. Satoh)

Satoru SUNANO

Department of Physiology, Sapporo Medical College, Sapporo

(Director: Prof. E. Miyazaki)

1. When the blood from rabbit or from human was subjected to hemolysis in the test tubes, K-concentration of serum was elevated to about 40 mEq/l. According to these result, the effects of K ion of the concentration up to 30 mM on the contractile response were studied.

2. When the K-concentration was elevated to 10 mM or 20 mM, a transient relaxation was observed. The relaxation, however, was transient and reversed into contraction. No relaxation was observed when K-concentration was elevated gradually.

3. Basilar artery showed higher sensitivity than carotid artery to the elevation of extracellular K-concentration and showed a contractile response to lower K-concentration. Sensitivity to noradrenaline, on the other hand, was lower than that of carotid artery.

4. The contraction by K was stronger in the preparation which showed spontaneous contractions. The contractile response to K was abolished by Ca removal, verapamil (10^{-5} M), La (10^{-4} M) or Mn (2 mM).

5. Phentramine (2×10^{-5} M) depressed the contractile response. TTX (5×10^{-7} g/ml), atropine (10^{-6} M) or methysergide (5×10^{-5} M) showed no effect on the contraction by K.

It was suggested that, although the contractile response to elevated K may be due, in part, to the released catecholamine, it was caused mainly by the direct action of K, especially by its depolarizing action.

Since the action was stronger in the preparation which showed spontaneous

contraction, the spike activity, in addition to the depolarization, might have important role for this contraction.

The contraction may be brought about by influxed Ca caused by the depolarization and/or action potential (Ca spike). It was also suggested that this effect can be one of the cause of the spasm of cerebral blood vessels.

I. 緒

クモ膜下出血後にみられる脳血管攣縮の機序に関しては多くの報告がなされてきた (Echlin, 1975; 戸田, 1975; 福内ら 1978). その原因としては内在性の血管作動物質やイオン環境の変化, とくに K 濃度の上昇などが考えられている.

ある種の動物を除いては凝血塊中で溶血が起るとその局所の K 濃度が上昇する可能性があるが, K 濃度の上昇は一般に平滑筋細胞の興奮性を高めることもよく知られている (Holman, 1958). 血管平滑筋においても K 濃度上昇による興奮性の上昇が報告されている (Axelsson et al., 1967; Kuriyama & Suzuki, 1978).

一方, 脳血管平滑筋での報告の多くは軽度の K 濃度の上昇が血管拡張をもたらすことに注目しており, 脳血管攣縮の原因とはなり難いと考えられている (Kuschinsky et al, 1972; Toda, 1974; Toda, 1975; 戸田 1975; Betz & Csornai, 1978).

言

しかしこの弛緩は electrogenic Na pump の活性化によるもので (Hendrickx & Casteels, 1974; Toda, 1974; Reiner, 1978), 一過性のものである可能性が強いが長時間の持続的観察を行った例は少ない (Toda, 1975; 戸田 1975).

本実験では K 濃度変化の効果を長時間にわたって観察し, 軽度の K 濃度上昇でも収縮が起り得ることをみた.

K 濃度の上昇はまた, 内在神経から伝達物質の遊離を促すことが最近報告されており (Rorenz & Vanhoutte, 1975; Vanhoutte & Verbeuren, 1976; Borda et al, 1977), これが収縮に影響を与えている可能性もある (Bengtsson, 1977).

これらのことを考慮に入れて, K 濃度上昇時にみられるウサギ脳血管収縮の機序について検討を加えた.

II. 実 験 方 法

本実験では体重 2.5~3.5 kg の家兎脳底動脈および頸動脈を使用した. ネンブータル麻酔下に脱血死させ, ただちに脳底動脈を付けたまま全脳を摘出し修正 Tyrode 液中にて保存した. 脳底動脈は双眼顕微鏡下にて周囲のクモ膜を除去し, 脳より摘出した. 全長 15~20 mm, 直径 0.2 mm の脳底動脈を二分して, それぞれより長さ 10 mm, 巾 0.2 mm のラセン状標本を作製して実験に使用した. なお, 以上の操作は修正 Tyrode 液中で 95%O₂+5%CO₂ 通気下に施行した.

正常液として修正 Tyrode 液を使用した. その組成は NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, NaHCO₃ 11.9 mM, NaH₂PO₄ 0.4 mM, CaCl₂ 2.0 mM, MgCl₂ 1.0 mM, glucose 5.6 mM であった. K 修正 Tyrode 液 (K-Tyrode と略) は溶液中の NaCl を全量, 等モルの KCl で置換して作成した. さらに Ca 除去下での実験ではこれらの液か

ら Ca を除去した液を使用した.

実験温度は 37°C に設定し, 溶液には 95%O₂+5%CO₂ の混合ガスの通気を行い pH 7.2~7.3 に保った. なお Mn あるいは La を用いた実験では Tris-buffer (pH 7.3) を使用し 100%O₂ で通気した.

血管条片は容積 5 ml の二重ガラス製液槽に装着して実験を行った. この液槽の外側槽に一定温度 (36°C) の温液を循環させ内槽の温度を一定にした. 条件の一端は mechano-electronic transducer (三栄測器製) に接続し等尺性張力発生を測定した. 張力は直流増巾器を介しインク書オシログラフで記録した (三栄測器製).

血管条片を軽度伸展して resting tension を脳底動脈条片では 200 mg, 頸動脈条片では 400 mg になるようにした. これらの条件下で 90 分以上平衡させて後に実験を開始した.

なお、本実験では溶血に伴う血清 K 濃度の変化も測定したが、その方法はつぎの通りである。まず、ウサギおよびヒトの股動脈より動脈血を無菌的に採血し、9 本の試験管に 3 ml ずつ密封し、37°C の恒温器中に放置した。一日毎に 7 日間、

さらに 14 日後の血清中の K 濃度を測定した。血清 K 濃度の測定は血液を 3000 回転、5 分で遠心後、炎光光度計（日立、205 形）を用いて行った。

III. 実 験 結 果

A. 溶血による血清 K 濃度の変化

ヒトおよびウサギの動脈血を 37°C の恒温器に入れておくと溶血が起り血清 K 濃度の上昇がみられた。ウサギでは 24 時間後には 32 mEq/l、2 日で 34 mEq/l と上昇して、2~3 日目ではほぼ最高値となり、その値は 40 mEq/l であった。一方、ヒトでは 1 日で 12 mEq/l、2 日で 23 mEq/l と上昇が遅く 4~5 日後に最高値に達した。その濃度は 38 mEq/l で、ウサギの場合とはほぼ近い値を示した。

この結果から以下の血管平滑筋に関する実験は主にこの範囲内の K 濃度に関して行なった。

Fig. 1. Relations between incubation period and serum K concentration. K concentrations of serum were measured after various period of incubation of whole blood at 37°C. Each point represents mean value of 3 to 6 experiments. Open circles: human blood. Closed circles: rabbit blood.

B. ウサギ脳底動脈の K 拘縮

溶液を正常 Tyrode 液から K-Tyrode 液に交換すると、条片の強い拘縮反応がみられた。この拘縮には phasic contraction と tonic contrac-

tion の区別の明確なものと、区別がつきにくものがあった。phasic contraction は 20~30 分後に完成され、その後張力は徐々に低下してきた。しかし 20~30 分後には張力が再び上昇してきて一定張力の tonic contraction に移行した。この tonic contraction は数時間にわたって持続した。

この K 拘縮は条片を正常 Tyrode 液で洗滌することにより元に戻った。K-Tyrode 液を正常 Tyrode 液に交換すると、条片は一時急激に、その後ゆるやかに弛緩したが、33 例中 15 例 (43%) では弛緩過程でもう一度一過性の張力上昇がみられ、元の静止レベルに戻るのに 30 分以上かかった。またこのうち 11 例 (73%) ではこの弛緩過程で自動性収縮がみられた。

なお、K 拘縮はくり返し施行すると次第に大きくなり、3 回目では最高に達した。従って以下の実験では第 3 回目の K 拘縮を対照とした。

C. 外液 K 濃度と張力

Fig. 2 は Tyrode 液の K 濃度を 10 mM, 20 mM, 30 mM と段階的に上昇させた場合の反応を示したものである。この標本では active tone があり K 濃度を 2.7 mM から 10 mM に上昇させると一過性の弛緩がみられた。この弛緩は 1~2 分で経過し、2~3 分後には反転して収縮がみられた。K 濃度を 20 mM から 30 mM に上昇させると、更に強い収縮の発生がみられたが、この場合は初期の弛緩反応はみられなかった。

K 濃度を 20 mM から 30 mM に上昇させると、強力な張力の発生がみられ拘縮様の収縮となった。この反応は自動性収縮を示す標本で著明にみられ (Fig. 2b), 30 mM K ではほぼ 140 mM K による K 拘縮に相当する張力の発生がみられた。なお、この標本では自動運動は K 濃度が 10 mM からみられ、20 mM で著明となり、30 mM では拘縮の出現とともに消失した。

Fig. 2. The effect of elevating K concentration on the tension of basilar artery. a: the preparation which showed no or only small spontaneous contractions. b: the preparation which showed high spontaneous activities. Each number ahead of letter K indicates the final K concentration in mM. Note the small and transient relaxation caused by 10 mM K.

対照として用いた頸動脈でも K 濃度上昇による張力の上昇がみられたが、この反応性は脳底動脈の場合とは多少異なっていた。K 濃度の上昇に対して比較的感受性が低く、脳底動脈でみられた K 濃度上昇時 (10 mM) にみられる一過性の弛緩反応はみられなかった。

これらの K 濃度と発生張力との関係は Fig. 3 に示した。なお、この図の発生張力は K 濃度上昇後の最大張力を測定したものである。

Fig. 3. The relation between K concentration and developed tension. The developed tensions were measured at the point when the tensions reached the maximum. Open circles: mean tensions of carotid arteries with SE ($n=6$). Closed circles: mean tensions of basilar arteries with SE ($n=11$).

頸動脈では K 濃度 10 mM では張力発生はほとんどみられず (K 拘縮の $2.7 \pm 0.6\%$), K 濃度 20 mM 付近から張力が発生してきて、K 濃度が 30 mM では $20 \pm 8.2\%$ となった。しかし K 濃度 70 mM でも $79 \pm 10.8\%$ と低く、最大収縮は 140 mM K ((K-Tyrodé 液) ではじめてもたらされた。

一方、脳底動脈は K 濃度上昇に感受性が高く、K 濃度 10 mM で $11 \pm 7.0\%$ の収縮がみられ、20 mM では $45.4 \pm 10.4\%$ で、30 mM では $97 \pm 8.7\%$ とほぼ最大の収縮高を示した。この図に示したように、両動脈の濃度作用曲線はほぼ平行関係にあり、脳底動脈は頸動脈に比較して約 2 倍の感受性をもっていることがわかった。

D. K 濃度を徐々に上昇した効果とウアバイン

Fig. 4 は K 濃度を時間をかけて徐々に上昇した場合の反応を示している。この場合にはいずれの濃度においても弛緩反応はみられず、張力は徐々に増加していった。この結果は自動運動がみられた標本、みられなかった標本のいずれでも同様であった。

Fig. 4. Effect of gradual increase in K concentration. K concentration was increased gradually from 2.7 to 20 mM K. W; washing with Tyrodé solution with 2.7 mM K. In the final part of continuous record, the K concentration was increased to 20 mM abruptly. Note the transient relaxation induced by 20 mM K. Final record: contracture induced by 140 mM K.

なお、対照例として同じ標本で正常 Tyrodé 液から 20 mM に急激に上昇させた例を検討したが、この例では一過性の弛緩がみられてから収縮に転じた。この一過性の弛緩反応はまたウアバインの存在下で消失した。Fig. 5 に示した例で active tone を示す標本に 10 mM K を作用させると一過性の強い弛緩反応がみられた。この標本にウアバイン (10^{-6} M) を作用させると一過性の収縮が起り、やがて元のレベルに戻ったが、ここで K 濃度を 10 mM に上昇させると、弛緩反応は

Fig. 5. Effect of ouabain on the changes in tension. a: control. b: ouabain (10^{-6} M) was applied. c: the effect of 10 mM K in the presence of ouabain (1 hr after b). Note the abolishment of transient relaxation in c.

みられず持続性の張力発生が観察された。

E. 細胞外 Ca, ベラパミール Mn, La 等の効果

細胞外 Ca の効果をみるために、まず Ca 除去実験を行った。Fig. 6 に示した例は 20 mM で自動運動の著明な例であったが、細胞外 Ca 除去後 15 分経過してから K 濃度を 10 mM, 20 mM, 30 mM に上昇させても反応は全くみられなかった。さらに、Ca 除去下で 140 mM K による K 拘縮も消失した (Fig. 6c)。

Fig. 6. Effect of Ca removal on the tension development by elevated K. a: control. b: continuous record of a, K concentration was increased to 140 mM. c: abolishment of the effect of elevated K in the absence of Ca. d: Ca (2 mM) was reintroduced in the presence of 20 mM K. Each number indicates the ion concentration in mM.

Ca 除去下に K 濃度を 20 mM に上げておいて、15 分後に 2.0 mM の Ca を添加すると張力の発生と自動運動が観察された (Fig. 6d)。

Fig. 7 は K 濃度上昇による張力発生に対するベラパミールの効果を示したものである。20 mM で張力を発生させて 40 分後に 10^{-5} M のベラパミールを作用させると張力は急速に低下して 2~3 分で静止張力に戻った。この張力抑制は自動運動が著明な標本、自動運動がみられなかった標本のいずれでも同様であった (Fig. 7b)。さらに、同濃度のベラパミール存在下で K 拘縮を起させると弱い一過性の収縮がみられた (Fig. 7c) が、K 濃度が 20 mM に対しては全く反応がみられなかった (Fig. 7d)。

Fig. 7. Inhibition of the effect of K by verapamil. Upper trace of each record was taken from the preparation which showed high spontaneous contractions and lower, from the preparation which showed no rhythmic activities. a: K-contracture. b: tension induced by 20 mM K. Verapamil of 10^{-5} M was added. c: K-contracture in the presence of verapamil. d: effect of 20 mM K in the presence of verapamil.

K 濃度上昇による張力発生は Mn あるいは La の処理によっても抑制された。しかし、この抑制はベラパミールとは多少異なっていた。Fig. 8 に示したように 2 mM の Mn 存在下で K 濃度を 30 mM にすると最初の 15~20 分間は張力の発生はみられなかったが、約 20 分後より極めて緩徐な

Fig. 8. Tension development by K in the presence of Mn. a: tension induced by 30 mM K. b: effect of 30 mM K in the presence of Mn of 2.0 mM.

Fig. 9. Effect of La on tension development by elevated K. a, b, c.: tension by 10, 20, 140 mM K, respectively. d: effect of 20 mM K in the presence of 10^{-4} M La. 10 mM K was also ineffective in the presence of La. e: tension induced by 30 mM K in the presence of La. f: K-contraction (140 mM K) in the presence of La.

張力発生がみられ 120~150 分で最高値に達した。このときの発生張力は対照例の約 60% であった。

La (10^{-4} M) でも同様の結果が得られたが, Mn の場合と比較して張力発生速度がやや速く最大張力も大きい傾向にあった (Fig. 9)。

F. 添加ノルアドレナリンとセロトニンに対する反応

前述したように, K 濃度の上昇が内在神経から伝達物質の遊離をもたらす, これが収縮反応に関与する可能性がある。ここではまず, 外液に添加したノルアドレナリンとセロトニンの効果を検討した (Fig. 10)。

頸動脈に 5×10^{-5} M のセロトニンを作用させると, K 拘縮の 70% に相当する収縮がみられた。これに対して脳底動脈では 60% と反応性はやや低かった。ノルアドレナリンではこの差は更に大きく, 頸動脈では K 拘縮の 85% に相当するのに対して脳底動脈では 26.6% と反応性は極端に低かった。

G. フェントラミン, アデノシンおよびプロプラノロールの効果

上述のごとく脳底動脈のノルアドレナリンに対する反応は弱い, なお, 内在伝達物質としての可能性が示されているので (Duckles & Rapoport, 1979), まず α -遮断作用を有するフェントラミンの効果をみた。

Fig. 11 に示したように 10 mM K, 20 mM K, 30 mM K のいずれの収縮も 2×10^{-5} M のフェントラミンで抑制された。また, この濃度のフェントラミンでは K 濃度上昇時にみられる自動性収縮の抑制もみられた。さらに 140 mM K でみられた K 拘縮も抑制されたが, この場合の抑制は tonic contraction に強くみられ, 収縮曲線は phasic contraction のみの形に変化した。

種々の濃度の K による収縮とフェントラミンの抑制の程度は Fig. 12 に示した。この図の a に示したようにフェントラミン存在下では K 拘縮も K 濃度に 応じて拮抗的に抑制されることが示され

Fig. 10. Comparison of the tension development induced by 140 mM K, 5-HT and norepinephrine (NE) in basilar artery and carotid artery. a: basilar artery. b: carotid artery. Note the difference of the contraction induced by NE in basilar and carotid arteries. Note also the difference in the height of contraction induced by K and by NE in basilar artery.

Fig. 11. Effect of phentolamine on elevated K induced tension development. a: control. b: tension development in the presence of phentolamine of 2×10^{-5} M. Note the abolishment of rhythmic contraction at 20 and 30 mM K, and also the abolishment of tonic contraction at 140 mM K.

Fig. 13. Effect of adenosine on elevated K induced tension development. a and b were taken from the preparation which showed rhythmic contraction and no rhythmic contraction, respectively. Adenosine (Ade) of 10^{-5} M was added in the course of elevated tension induced by 30 mM K and washed out with the Tyrode solution containing 30 mM K. In b, adenosine was applied also in the course of contraction by 140 mM K (K-T).

Fig. 12. Inhibition of tension development at various concentrations of K. a: developed tension in the absence (open column) and in the presence of 2×10^{-5} M of phentolamine (hatched column). b: inhibition by phentolamine. Each column represent mean value of 6 experiments with SE.

た。しかし、b図に示したように抑制の程度は 10 mM を除いては K 濃度が高い方が弱かった。最大の抑制は K 濃度が 20 mM でみられ、その程度は $58 \pm 21.4\%$ であった。

アデノシンも K 上昇時にみられるノルアドレナリンの遊離を抑えることが知られている (Verhaeghe et al, 1977)。Fig. 13 に示したように、30 mM K による収縮は 10^{-5} M のアデノシンで強く抑制された。これは自動性収縮を示す標本および示さない標本の両者にみられたが、抑制の程度は前者で強く拘縮様の収縮から弛緩とともに自動運動が現われて、ほぼ 20 mM K による収縮のレベルまで抑制された。この抑制は可逆的で 30 mM K を含む Tyrode 液で洗滌すると、元のレベルに戻った。なお、140 mM K による拘縮では 10^{-5}

Fig. 14. Effect of methysergide. a: tension induced by 140 mM K (K-T), 20 mM K (20K) and 5-HT of 5×10^{-6} M. b: methysergide (Methy. 5×10^{-5} M) was applied and, after 20 min, 5-HT was added. c: effect of 20 mM K in the presence of methysergide. Note the elevated base line and transient relaxation in c.

M のアデノシンは効果を示さなかった。

プロプラノロールは 10^{-6} M で 20 mM K による収縮に対して全く影響を与えなかった。

IV. 考

脳血管攣縮の機序に関しては多くの報告があり、いまだに確定されていない。これらの報告を分類すると、セロトニンをはじめとする血管収縮物質 (Raynor et al, 1961; Buckell, 1964; Yamamoto, 1972; Peerless & Griffiths, 1975; Svendgaard, 1977; Dukles, 1977) や外部のイオン環境の変化、血管反応性の変化などである (山岸, 1972; Silverberg et al, 1977)。

このうちセロトニンやヒスタミン等の血管収縮物質は強度の収縮をもたらすが、高濃度で作用させた場合は脱感受性が起り持続性の収縮とはなり得ない可能性もある (Maengwayn-Davies et al, 1969; Silverberg et al, 1977; Boisverrt et al, 1979)。

イオン環境の変化としては溶血による K 濃度の変化がもっとも強い可能性をもっている。ヒト、ウサギ、ラット、ウマ等では血球内の K 濃度は細胞外よりも高く、溶血によって周囲 K 濃度の上昇が期待される。この可能性は従来クモ膜下出血による血管攣縮時に脳脊髄液の K 濃度上昇が著明でないことから否定されてきた (Wilkins &

H. メチセルジャイド、カルバコール、アトロピン、テロドトキシンの効果

Fig. 14 に示した実験で正常 Tyrode 液中で 5×10^{-6} M のセロトニンを作用させると K 拘縮の約 41% の収縮がみられた。セロトニン洗滌後に 5×10^{-5} M のメチセルジャイドを作用させると、標本は弱い持続性の収縮を示したが、ここに 5×10^{-6} M のセロトニンを作用させても効果はなかった。この濃度のメチセルジャイドの存在下で張力が増加した状態で K 濃度を 20 mM にすると一過性の強い弛緩反応の後、反転して収縮反応がみられた。この収縮の程度は対照より強くなっていた。

カルバコール (10^{-6} M) は 20 mM K による収縮を軽度 (20%) 抑制したが、アトロピン (10^{-6} M) は K 上昇による収縮には全く影響を与えなかった。

20 mM K による収縮中に 5×10^{-7} g/ml のテロドトキシンを作用させても、あるいはテロドトキシ前処理筋に 20 mM K を作用させてもその収縮には影響がなかった。

按

Levitt, 1971)。しかし凝血塊という閉鎖系を考えるならば限局された攣縮に関与する可能性は十分考えられる。

一般に K 濃度の上昇は平滑筋細胞膜を脱分極させ収縮をもたらす (Axelsson et al, 1967; Somlyo & Somlyo, 1968; Kuriyama & Suzuki, 1978)。さらに自発放電のみられる場合にはその放電頻度は増し、収縮はさらに強いものになることが知られている (Holman, 1958; Shimo & Holland, 1966; Johnishi & Sunano, 1978)。

しかし、脳血管では期待される K 濃度上昇時には脳血管の拡張がみられることから、脳血管攣縮の原因とはなり難いと考えられてきた (Toda, 1974)。またこの弛緩はウシの顔面動脈、冠動脈、ヒツジの頸動脈、大腿動脈、冠動脈等でも認められている (Gebert et al, 1969)。

この K 濃度上昇による脳血管の弛緩は electrogenic Na pump の活性化による過分極によってもたらされると説明されている (Toda, 1974)。しかし、他の血管平滑筋において低 K 濃度から急速に K 濃度を中等度上昇させた場合の electro-

genic Na pump の活性化に伴う過分極は一過性であって、やがて脱分極してくることも報告されている (Hendrickx & Casteels, 1974; Reiner, 1978).

これらのことを考慮して、K 濃度上昇の効果、とくに長時間処理した場合の効果を再検討した。

本実験ではまずウサギ全血を用いて溶血により血清電解質、とくに K 濃度がどの程度上昇しうるかを検討した。溶血にともなう K 濃度の上昇は極めてゆるやかで 4 日で最高に達したが、この時期はまた脳血管攣縮の発生時期とも一致する。このことはまた、急速な K 濃度上昇による electrogenic Na pump の活性化が起りにくいことを示唆する。また K 濃度は最高 40 mEq/l まで上昇することが確認されたのでこの濃度までの K 濃度上昇を中心に脳底動脈の反応性について検討を加えた。

外液の K 濃度を 2.7 mM から 10 mM あるいは 20 mM に上昇させると多くの標本、ことに active tone を示した標本では弛緩反応がみられた。

ウアバインは平滑筋の electrogenic Na pump を抑制することが報告されているが (Casteels et al, 1971; Hendrickx & Casteels, 1974), 本実験でもこの弛緩反応はウアバインで抑制された。このことからこの弛緩反応が electrogenic Na pump の活性化によるものであることが示唆された。この反応は他の平滑筋の電気現象で示されたように一過性で、長時間 K 増加液中に放置しておくとかやがて収縮反応に転じた。この結果は Biamino & Wessel (1973) がラット大動脈で得た結果と一致し、脳底動脈でも軽度の K 濃度上昇により最終的には収縮がみられることがわかった。脳血管をはじめ多くの血管平滑筋における K 濃度依存性の報告の多くは短時間 K 処理時のものであり、この点からも再考慮されるべきと云えよう。とくに、本実験では正常 Tyrode 液の K 濃度を 2.7 mM としたが、これは髄液の K 濃度に近い値で、この点を中心として K 増加の効果を検討したので、この濃度からみると軽度の K 濃度上昇によって脳血管平滑筋が収縮し得ることが示唆された。

electrogenic Na pump による弛緩の可能性はまた、K 濃度を徐々に上昇させていった実験でも

示された。この実験では弛緩反応はみられず、K の上昇とともに張力が次第に上昇してきたが、これは electrogenic Na pump の活性化が起らなかったことを意味する。さらに、クモ膜下出血においてイオン環境が変化する場合は極めて徐々にかかることが溶血実験からも明らかなので、実際には K 濃度の急激な上昇実験よりは、上昇長時間後の反応について検討すべきであることが示された。なお、このような測定方法では K 濃度が 30 mM においても 140 mM による最大収縮に匹敵する収縮が起ることも示された。

この収縮は一般に自動運動を示した血管で強くみられた。また、頸動脈と比較して低い濃度の K で強い収縮がみられた。一般に太い動脈に比して細い動脈では自発放電がみられることが知られており、この自発放電のみられる標本で K に対する反応性が高いことを意味すると考えられる。

K 上昇時にみられる平滑筋の収縮には膜の脱分極によるものと、脱分極時にみられるスパイク放電によるものがあることが知られており、後者による収縮は前者のそれよりも大きいことが多い。このような場合には軽度の脱分極によっても強い収縮が起ることが期待される (Imai & Takeda, 1967; Johnishi & Sunano, 1968)。ウサギ脳血管の強度の収縮もこのような機構によるものであらう。

一般に平滑筋の K 濃度上昇による収縮反応は細胞外 Ca に対する依存性が高く、細胞外 Ca の流入によっておこることが推察されている (Van Breemen et al, 1973; Deth & van Breemen, 1974)。本実験でも細胞外 Ca 除去により収縮反応がみられなくなり、また Ca 拮抗剤として知られているベラパミールの存在下でも抑制された。このことは他の脳血管の報告と一致し細胞外 Ca の流入によることを示す。

K 濃度の軽度上昇は膜の脱分極と同時に、スパイク放電頻度の増加をもたらすと考えられている。先に述べたように、本実験における軽度の K 濃度上昇による収縮は自動性収縮を示した標本で強く観察されたことから、この収縮はスパイク電位によるものと考えられる。平滑筋の活動電位が Ca スパイクであることが知られているので、Ca 除去あるいはベラパミール存在下ではこのスパイク放電が消失して収縮が抑制されるのであらう。

この可能性は Mn あるいは La が、この収縮を抑制することからも示唆された。Mn は Ca スパイクを抑制することが知られており (Nonomura et al, 1966), 中等度の K 濃度上昇による収縮の抑制はこのスパイク放電の抑制によるものと考えられる。

このように、ウサギ脳底動脈では膜の脱分極、スパイク放電のいずれによる収縮も細胞外 Ca に依存性が高いことが示唆された。

血管平滑筋において外液 K 濃度の上昇は内在神経から伝達物質の遊離を促進することが知られている (Vanhoose et al, 1976)。これらの物質は K 濃度上昇による収縮に影響を与えることも他の平滑筋で報告されている。血管平滑筋でもラット尾動脈で K による収縮がフェントラミンで抑制されることが知られている (Webb et al, 1978)。

脳血管攣縮におけるノルアドレナリンの関与も報告されているが (Fraser et al, 1970), 一般には脳血管平滑筋は添加ノルアドレナリンに対する反応が弱いことが知られている。本実験においても 140 mM K による収縮に対して 26.6% の収縮しかみられなかった。

しかし、脳血管でも Adrenergic innervation があることは組織化学的に証明されており (Lee & Bevan, 1976), 神経の電気刺激によってもノルアドレナリンが遊離され収縮が起ることも報告されている (Duckles & Rapoport, 1979), これらの報告では内在ノルアドレナリンが十分な収縮を起し得ることを示唆している。

これらの可能性から抗アドレナリン作動物質の影響をみた。

フェントラミンは K 濃度上昇による収縮を軽度抑制した。このことは、内在ノルアドレナリンが K 濃度上昇による収縮の一部に遊離ノルアドレナリンとして関与していることを示す。この遊離はテトロドトキシンによって抑制されないことから、電気刺激の場合とは異なり、内在神経の活動電位による遊離ではなく持続性の脱分極によるものと考えられる。この傾向は K 濃度上昇時にみられるノルアドレナリンの遊離を抑えるとされているアデノシンでも、K 濃度上昇による収縮の抑制

がみられた。

またプロプラノロールが無効であることから遊離ノルアドレナリンの β 作用は関係していないものと考えられる。

セロトニンは脳血管の強力な収縮物質として知られている。本実験でも K 拘縮の 40~70% に達する収縮がみられた。セロトニンはまた伝達物質としての可能性も報告されている。

これらのことから、K によるセロトニン作動神経あるいは他の内在神経からのセロトニンの遊離と、この遊離セロトニンの収縮反応への関与も考慮してその遮断剤であるメチセルジャイドを用いた実験を行った。

5×10^{-5} M のメチセルジャイドはセロトニンによる収縮を完全に抑えたが、K 濃度上昇による収縮は全く影響を受けなかった。この事実よりこの収縮にはセロトニンの関与はないと云えよう。

さらに、脳血管平滑筋においてはコリン作動性神経の存在も知られているが (Florence & Bevan, 1979), アトロピンが K 濃度上昇による収縮を抑制あるいは増強させないことから、この神経系の関与はないと考えられる。

以上、脳血管における K 濃度上昇による収縮反応について考察した。この収縮反応には一部に遊離カテコールアミンの関与も考えられるが、主として K の直接作用によるものと考えられる。

K 濃度上昇は膜を脱分極させ血管平滑筋を収縮させる。ことに自動性収縮が出現することからみて、自発性放電を有する血管平滑筋では、これによる収縮が加って強い強縮になると考えられた。

さらに、一般によく知られている軽度の K 濃度上昇による弛緩反応は一過性の electrogenic Na pump 活性化によるもので、長時間の高 K 適用、あるいは長時間をかけて徐々に K 濃度を上昇させた場合にはみられなくなることがわかった。

このように凝血塊という閉鎖系の中で K 濃度が上昇した場合は、それだけで十分な収縮の原因となりうることを示された。K 濃度の上昇はまた諸種収縮物質に対する反応性を上げることがあり (Sohma et al, 未発表), この方面からも再度重要視されるべきと考えられる。

V. 結

語

1. 試験管内でウサギ, ヒトの動脈血を溶血させると, K 濃度は 40 mEq/l 前後まで上昇した. この結果より本実験ではウサギ脳底動脈条片を用いて, 30 mM までの K 濃度上昇による収縮について検討した.

2. 外液の K 濃度を 2.7 mM から 10 mM または 20 mM と急激に上昇させると, 一過性の弛緩反応がみられたが, この弛緩は一過性でやがて収縮反応に転じた. 一方, K 濃度を徐々に上昇させると弛緩反応はみられず収縮反応のみがみられた.

3. 脳底動脈は頸動脈に比し, 外液の K 濃度に非常に高い感受性を有し, 低い K 濃度でも強い持続的な収縮がみられた. しかしノルアドレナリン (5×10^{-5} M) には弱い収縮しかしめさなかった.

4. K による収縮は自動性収縮の強い標本ほど強く観察された. この収縮は細胞外 Ca 除去, ベ

ラパミール (10^{-5} M), La (10^{-4} M) および Mn (2 mM) により抑制された.

5. また, フェントラミン (2×10^{-5} M) により軽度抑制された. しかしテトロドトキシン (5×10^{-7} g/ml), アトロピン (10^{-6} M) およびメチセルジャイド (5×10^{-5} M) の作用はうけなかった.

以上より, ウサギ脳血管における軽度の K 濃度上昇による収縮反応には, 一部に遊離カテコラミンの関与も考えられるが, 主として K による直接作用 (脱分極) が主体と考えられた. 特に自動性収縮が強い標本ほど強い持続的な収縮がみられたことから, この収縮反応には K による膜の脱分極の他に自発放電が加って, 更に強い収縮になるものと推察される. K による脱分極あるいはスパイク発生時に流入する Ca によって収縮が起ると考えられ, 脳血管攣縮の一因となり得ることが示唆された.

文

献

- Axelsson, J. *et al.* (1967). Influence of the ionic environment on spontaneous electrical and mechanical activity of the rat portal vein. *Circulation Research*. **21**: 609-633.
- Betz, E. & Csornai, M. (1978). Action and interaction of perivascular H^+ , K^+ and Ca^{++} on pial arteries. *Pflügers Arch.* **374**: 67-72.
- Bengtsson, B. (1977). The role of intramural noradrenaline in the potassium induced contraction of non-estrogenized smooth muscle. *Acta physiol. scand.* **101**: 112-121.
- Biamino, G. & Wessel, H.J. (1973). Potassium induced relaxation of vascular smooth muscle: A possible mechanism of exercise hyperaemia. *Pflügers Arch.* **343**: 95-106.
- Borda, J., Shuchleib, R. & Henry, P.D. (1977). Effects of potassium on isolated canine coronary arteries. Modulation of adrenergic responsiveness and release of norepinephrine. *Circulation Research*, **41**: 778-786.
- Boisvert, D.P.J. *et al.* (1979). Cerebrovascular responses to subarachnoid blood and serotonin in the monkey. *J. Neurosurg.* **50**: 441-448.
- Buckell, M. (1964). Demonstration of substances capable of contracting smooth muscle in the hematoma fluid from certain cases of ruptured cerebral aneurysm. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **27**: 198-199.
- Casteels, R., Droogmans, G. & Hendrickx, H. (1971). Electrogenic sodium pump in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli. *J. Physiol.* **217**: 297-313.
- Deth, R. & van Breemen, C. (1974). Relative contributions of Ca^{++} influx and cellular Ca^{++} release during drug induced activation of the rabbit aorta. *Pflügers Arch.* **348**: 13-22.
- Drakontides, A.B. & Gershon, M.D. (1972). Studies of the interaction of 5-hydroxytryptamine and the perivascular innervation of the guinea-pig caecum. *Br. J. Pharmacol.* **45**: 417-434.
- Duckles, S.P. & Rapoport, R. (1979). Release of endogenous norepinephrine from a rabbit cerebral artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **211**: 219-224.
- Duckles, H.T. (1977). In vitro studies of prolonged cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol. Scand.* (Suppl. 64) **56**: 322-323.
- Echlin, F.A. (1975). Causative mechanism in cerebral vasospasm. In: Subarachnoid hemorrhage and cerebrovascular spasm. ed by Smith, R.R. and Robertson, J.T. Charles Thomas Publisher, Springfield, Illinois. pp 13-37.
- Florence, V.M. & Bevan, J.A. (1979). Biochemical determinations of cholinergic innervation in cerebral arteries. *Circulation Research*. **45**: 212-218.

- Fraser, R.A.R. *et al.* (1970). Noradrenergic mediation of experimental cerebrovascular spasm. *Stroke*, **1**: 356–362.
- 福内靖男, 田中耕太郎, 後藤文男 (1978). 脳血管攣縮の病態生理—脳血管攣縮物質—循環器科 **3**: 43–55.
- Gershon, M.D. *et al.* (1977). Serotonergic neurons in the peripheral nervous system: Identification in gut by immunohistochemical localization of tryptophan hydroxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**: 3086–3089.
- Gebert, G. *et al.* (1969). The Response of isolated arteries and veins to potassium, osmolarity and drugs. *Ärztliche Forschung*, **22**: 381–398.
- Hendrickx, H. & Casteels, R. (1974). Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle cells. *Pflügers Arch.* **346**: 299–306.
- Holman, M.E. (1958). Membrane potentials recorded with high resistance microelectrodes and the effects of changes in ionic environment on the electrical and mechanical activity of the smooth muscle of the taenia coli of the guinea-pig. *J. Physiol.* **141**: 464–488.
- Imai, S. & Takeda, K. (1967). Actions of calcium and certain multivalent cations on potassium contracture of guinea-pig's taenia coli. *J. Physiol.* **190**: 155–169.
- Johnishi, J. & Sunano, S. (1978). The role of membrane electrical activities and extracellular calcium in high-K-induced contracture of guinea pig ureter. *Jap. J. Physiol.* **28**: 1–16.
- Kuriyama, H. & Suzuki, H. (1978). Electrical property and chemical sensitivity of vascular smooth muscle in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol.* **285**: 409–424.
- Kuschinsky, W. *et al.* (1972). Perivascular potassium and pH as determinations of local pial arterial diameter in cats. A microapplication Study. *Circulation Research*, **31**: 240–247.
- Lee, T. J.-F., Su, C. & Bevan, J.A. (1976). Neurogenic sympathetic vasoconstriction of the rabbit basilar artery. *Circulation Research*, **39**: 120–126.
- Lorenz, R.R. & Vanhoutte, P.M. (1975). Inhibition of adrenergic neurotransmission in isolated veins of the dog by potassium ions. *J. Physiol.* **246**: 479–500.
- Maengwyn-Davies, G.D. *et al.* (1969). Comparison of contracting agents on the isolated guinea pig aortic strip. *Arch. int. Pharmacodyn.* **178**: 344–350.
- Peerless, S.J. & Griffiths, J.C. (1975). Plasma catecholamines following subarachnoid hemorrhage. In: "Subarachnoid hemorrhage and Cerebrovascular spasm", ed. by Smith, R.R. *et al.* C.C. Thomas, Springfield, pp 148–156.
- Raynor, R.B., McMurtry, J.G. & Pool, J.L. (1961). Cerebrovascular effects of topically applied serotonin in the cat. *Neurol.* **11**: 190–195.
- Reiner, O. (1978). The role of the electrogenic sodium pump in the potassium relaxation of the rabbit ear artery. *Naunyn-Schmedieberg's Arch. Pharmacol.* **303**: 213–220.
- Shimo, Y. & Holland, W.C. (1966). Effects of potassium on membrane potential, spike discharge, and tension in taenia coli. *Am. J. Physiol.* **211**: 1299–1304.
- Silverberg, G.D. *et al.* (1977). Escape of isolated cerebral artery segments from serotonin-induced contractions. *Acta Neurol. Scand.* (Suppl. 64) **56**: 320–321.
- Somlyo, A.V. & Somlyo, A.P. (1968). Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **159**: 129–145.
- Svendgaard, N.A., Edvinsson, L. & Owman, CH. (1977). Changes in sensitivity of cerebral vessels to noradrenaline and 5-hydroxytryptamin in the presense of subarachnoid blood. *Acta. Neurol. Scand.* (Suppl. 64) **56**: 318–319.
- 戸田 昇 (1976). 血管平滑筋—とくに脳動脈平滑筋の収縮と弛緩について—臨床生理 **6**: 24–33.
- Toda, N. (1974). Responsiveness to potassium and calcium ions of isolated cerebral arteries. *Am. J. Physiol.* **227**: 1206–1211.
- Toda, N. (1975). Nicotine-induced relaxation in isolated canine cerebral arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **193**: 376–384.
- 戸田 昇 (1975). 摘出脳動脈平滑筋における誘発 K⁺ 弛緩の機序. 日平滑筋誌 **11**: 264–265.
- Van Breemen, C. *et al.* (1973). Factors controlling cytoplasmic Ca⁺⁺ concentration. *Phil. Trans*, **13**, 265: 57–71.
- Vanhoutte, P.M., Verbeuren, T.J. & Lorenz, R.R. (1975). Effects of potassium ions on nerve endings and effector cells in adrenergically innervated vascular smooth muscle. *Smooth muscle Pharmacology and physiology, Inserum*, 425–442.
- Vanhoutte, P.M. & Verbeuren, T.J. (1976). Inhibition by acetylcholine of the norepinephrine release evoked by potassium in canine saphenous veins. *Circulation Research*, **39**: 263–269.
- Verhaeghe, R.H., Vanhoutte, P.M. & Shepherd, J.T. (1977). Inhibition of sympathetic neurotransmission in canine blood vessels by adenosine and adenosine nucleotides. *Circulation Research*, **40**: 208–215.

- Webb, R.C., Vanhoutte P.M. & Bohr, D.F. (1978). Effect of potassium on the mechanical activity of rat tail artery. *Arch. int. Pharmacodyn.* **236**: 329-330.
- Wilkins, R.H. & Levitt, P. (1971). Potassium and the pathogenesis of cerebral arterial spasm in dog and man. *J. Neurosurg.* **35**: 45-50.
- 山岸俊一 (1972). 血管平滑筋の収縮機構, 第5回脳神経外科特別問題懇話会, 東京, pp 109-116.
- Yamamoto, Y.L. *et al.* (1972). Experimental vasoconstriction of cerebral arteries by prostaglandins. *J. Neurosurg.* **37**: 385-397.

(1980 年 9 月 8 日受付)