平滑筋収縮に伴う家兎動脈壁内ひずみ分布の変化* (弾性動脈と筋性動脈の比較)

松本 健郎^{*1}, 伊東 健太郎^{*2}, 佐藤 正明^{*1}

Change in Strain Distribution in Rabbit Arteries Due to Smooth Muscle Contraction (Comparison between Elastic and Muscular Arteries)

Takeo MATSUMOTO^{*3}, Kentaro ITO and Masaaki SATO

^{*3} Department of Mechanical and Systems Engineering, Nagoya Institute of Technology,
Gokiso-cho, Showa-ku, Nagoya-shi, Aichi, 466-8555 Japan

It has been suggested that smooth muscle contraction alters intramural strain distribution in the artery wall. To examine this hypothesis, change in *in vivo* strain distribution following smooth muscle contraction was compared between elastic and muscular arteries. Tubular and short ring-like segments of common carotid and femoral arteries were excised from rabbits as an example of elastic and muscular arteries, respectively. Pressure-diameter relationship of the tubular specimens and opening angle of the ring-like segments were measured under various levels of smooth muscle contraction to calculate *in vivo* strain distribution in the wall. The distribution became uniform in both arteries at a certain level of smooth muscle contraction. The level of the contraction was lower in the muscular artery than in the elastic artery.

Key Words: Biomechanics, Arterial Wall, Residual Strain, Residual Stress, Carotid Artery, Femoral Artery, Uniform Strain Hypothesis

1. はじめに

生体には温度やpH等の内部環境を一定に保つホメオスタシスが備わっているが、近年、応力やひずみなどの力学的因子に関してもこの働きのあることが指摘されている⁽¹⁾。例えば高血圧に曝された動脈壁^(2,3)や左心室壁⁽⁴⁾は肥厚し、収縮期の壁応力が正常血圧の場合と変わらぬよう動的平衡を保っていると報告されている。このようなホメオスタシスが、異なる個体の同じ器官同士の間だけでなく、ひとつの器官の異なる細胞同士の間でも成り立ちかつ、その器官内部が均質であるとする応力やひずみはその器官内で一様に分布することになる。動脈の場合、壁内の円周方向の応力やひずみが生理状態で壁厚方向に一定値を取るとすると、血管を非圧縮かつ等方・均質な厚肉円筒管と仮定することにより、体外に摘出された無負荷状態の血管壁には、内側に圧縮、外側に引張りの応力・ひずみが残留することが判る。実際、摘出血管を輪切りにしてリング状試料を切出し、一カ所を半径方向に切断す

ると弧状に開くことから、血管壁内で力学的ホメオスタシスが成り立っている可能性が指摘されている^(1,5,7)。この時、弧状に開いた試料の両端と円弧の中点を結んで得られる角度 α は開き角と呼ばれ、この開いた形状を基準(無応力)状態として生理状態のひずみを推定する研究も行われている。しかし、壁内が均質と見なされるラット胸大動脈について開き角を考慮して生理状態の応力・ひずみ分布を計算してみても、その分布は一様にはならないことが報告されている⁽⁸⁾。

この点に関し、我々は血管平滑筋の収縮を考慮することが重要と考えている。すなわち開き角は平滑筋の収縮弛緩によって大きく変化し、例えばラット胸部下行大動脈では、平滑筋弛緩状態の開き角は 60° 程度であるが、平滑筋収縮により 120° 近く増加する⁽⁹⁾。一方、家兎の場合には弛緩時の開き角はラットと同程度であるが、収縮量の段階的増加に伴い一旦 50° 程減少した後に増加に転じ、最大収縮時には収縮前と同程度の値に戻ることが明らかとなっている⁽¹⁰⁾。

平滑筋収縮により弧状に開いた試料の形状が変化する際には、平滑筋の発生する収縮力と平滑筋により圧縮される弾性板などの受動変形要素が発生する抗力が釣り合っているため、壁を均質と見なすレベルでは血管

* 原稿受付 2002 年 2 月 20 日。

^{*1} 正員, 東北大学大学院工学研究科(☎ 980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 01)。

^{*2} 東北大学大学院工学研究科(現: (株)ゼクセル)。
E-mail: takeo@bio.mech.nitech.ac.jp

壁内は無応力の状態にあると考えられる。従って、平滑筋収縮時の試料形状を基準として計算される生理状態のひずみ分布は、収縮要素と受動変形要素のひずみを平均した巨視的なひずみ分布であると言える。この巨視的ひずみ分布は開き角の変化だけでなく、生理状態の血管径の変化にも影響を受ける。すなわち、血管径が同じで開き角だけが増加すると、壁内のひずみの壁厚方向の平均値は変わらないものの、内壁側のひずみが減少し、外壁側のひずみが増加する。一方、開き角が変化せずに血管径が減少するとひずみの壁厚方向平均値が減少するばかりでなく、内壁側のひずみが外壁側のひずみに比べて大きく減少する。従って様々な平滑筋収縮状態における血管壁内のひずみ分布を求めるためには、平滑筋収縮状態を変化させながら開き角および生理的血压での血管径の変化を計測する必要がある。このようにして生理的血压における胸大動脈壁内のひずみを算出してみると、ラットにおいても家兎においても適当な平滑筋収縮状態において血管壁内のひずみ分布が一様になり得ることが判った^(9, 10)。

しかしこれまでの結果は弾性動脈に関するものであり、より平滑筋量が多く収縮の影響を受けやすいであろう筋性動脈に関しては不明であった。そこで本研究では典型的な筋性動脈である大腿動脈を取り上げ、平滑筋収縮に伴う血管壁内ひずみ分布の変化を調べた。また、これと血管径の類似する頸動脈について同様の実験を行い、血管の型の違いが平滑筋収縮に伴う壁内ひずみ分布の変化に及ぼす影響を考察した。

2. 方 法

2.1 試料 実験には8羽の成熟日本白色家兎(雄、体重3~3.5kg)を用いた。ネブタールの大量投与により屠殺した後、大腿動脈および総頸動脈より分岐のない部分を長さ10~15mm程度の円筒状のまま左右1本ずつ摘出した。実験毎にランダムに決めた側の円筒状試料の両端より軸方向長1mm程度の短円筒状試料をひとつずつ切出し、円周上の一箇所を切断し開き角測定用の試料とした。対側の円筒状試料は内圧-外径関係計測用の試料とした。内圧-外径試験用の試料摘出に際しては、生体内長を知るために摘出前の血管表面に5mm(総頸動脈)または2mm(大腿動脈)間隔でインク(ゲンチアンバイオレット)による点列を付けた。なお動物実験にあたっては“東北大学における動物実験に関する指針”に従った。

2.2 開き角の計測 詳細は既に報告した^(9, 11)ので概要を述べる。開き角測定用試料の外壁面をピペット(内外径それぞれ0.3, 0.5mm)で軽く吸引し、95%

O₂および5%CO₂ガスで酸素加した37℃のクレブス-ヘンゼライト(KH)液中に固定した。試料を実体顕微鏡に取付けたCCDカメラで撮影しつつ15~30分間放置し、形状が安定した時点でKH液にノルアドレナリン(NE)を濃度が10⁻⁹~10⁻⁵Mの範囲で段階的に上昇するように加えて平滑筋を収縮させ、これに伴う形状変化をそれぞれ変化が収まった時点でビデオ録画した。開き角は、画像を再生し、マウスと画像処理ボードを使用して試料形状をコンピュータに取り込み計算した。

2.3 内圧-外径関係の計測 円筒状試料をインク点列を参照しつつ生体内長に伸長し、37℃の酸素加KH液中で内圧-外径関係を求めた⁽⁹⁾。まず0~200mmHgの範囲で加減圧を5回程度繰返し、内圧-外径関係が安定した後、加圧時の平滑筋収縮前の内圧-外径関係を求めた。次に内圧を家兎の正常平均血压の80mmHg⁽¹²⁾に保ちつつ、開き角計測の場合と同様に、NE濃度を10⁻⁹~10⁻⁵Mの範囲で段階的に上昇させて平滑筋を段階的に収縮させ、それぞれ外径変化が収まった時点の外径を計測した。10⁻⁵Mでの計測の後、内圧を0mmHgに下げ200mmHgまで上昇させて平滑筋収縮時の内圧-外径関係を求めた。測定終了後、外径計測部位から幅1mm程のリング状試料を切出し、実体顕微鏡下に無負荷時の血管内外径(それぞれ d_i および d_o)を実測した。長軸径と短軸径を試料の裏表で計測し、得られた4値の平均を用いた。加圧時の血管内径 D_i は血管壁に非圧縮性を仮定し、次式から計算した：

$$D_i = \sqrt{D_o^2 - (d_o^2 - d_i^2)} / \lambda_z \dots\dots\dots (1)$$

ここで D_o は加圧時の血管外径、 λ_z は血管軸方向伸長比(摘出時の長さに対する生体内での長さの比)である。

2.4 生理状態におけるひずみの算出 開き角と80mmHgにおける血管外径、ならびに無負荷状態の血管内外径を基に、種々の平滑筋収縮状態における生理状態の円周方向ひずみを計算した^(9, 11)。算出にあたっては血管壁が等方・均質・非圧縮性であり、リングの切断の前後で試料の平均周長および平均壁厚が不変で、試料形状は切断前は円、切断後は円弧であると仮定し、それぞれの平滑筋収縮状態における弧状に開いた状態を基準として算出した。すなわち、内圧負荷状態の半径方向座標 R における円周方向のひずみ $\varepsilon_\theta(R)$ は次のように与えられる：

$$\varepsilon_\theta(R) = \lambda_\theta(R) - 1 = \frac{\pi R}{\theta r} - 1 \dots\dots\dots (2)$$

ただし θ は円弧の中心角の半分 (すなわち円周角; $\theta = \pi - \alpha$) であり, r^* は R に相等する無応力状態における半径座標で

$$r^* = \sqrt{r_o^{*2} - \frac{\pi}{\theta}(R_o^2 - R^2)} \quad (3)$$

と表される. なお R_o は内圧負荷時の外半径, r_o^* は円弧の外半径で, 無負荷状態の内外半径をそれぞれ r_o , r_i とすると

$$r_o^* = \frac{1}{2} \left\{ \frac{\pi}{\theta} (r_o + r_i) + (r_o - r_i) \right\} \quad (4)$$

である. 本研究では壁内のひずみの不均一性を表す指標として内外壁ひずみ比 strain ratio $\varepsilon_\theta(R_i)/\varepsilon_\theta(R_o)$ を, 壁内ひずみの平均を表す指標として内外壁ひずみの平均値 $\{\varepsilon_\theta(R_i) + \varepsilon_\theta(R_o)\}/2$ を用いて壁内分布を評価した. なお計算に際しては, ひとつの血管より得られた2つの試料の同一条件における開き角の平均をその血管の開き角として用いた.

2.5 組織観察 開き角を測定した試料をホルマリン固定し, 血管の円周方向あるいは軸方向に垂直な断面で2~2.5 μ mの厚さに薄切した後, HE染色して組織標本を作製した. これをシステム顕微鏡 (AX70, オリンパス) に接続した全自動顕微鏡写真撮影装置 (PM-30, オリンパス) で撮影し, 現像した写真で濃青色に染まった細胞核の形状をもとに平滑筋の配向と分布密度を観察した. すなわち, 一般に平滑筋の核は細長く, その向きは細胞の長軸方向に一致している. そこで核が点状に写っている場合, 紙面に垂直に細胞が配向していると判断し, 核が線状に写っている場合, 紙面に平行に配向していると考えた. また, 核の数が細胞の数に比例すると考え, 核が点状に写っている領域に関して核の分布密度を算出し, これを平滑筋密度とした. 計測に際しては, 血管壁の円周方向に垂直な断面を中膜の壁厚で3等分して外膜側, 中央部, 内膜側の領域に分け, それぞれ一辺37 μ mの正方形の領域を設定し, その中に存在する核の数を目視にて求めた.

2.6 統計検定 データは mean $\pm$ SEM で表し, 有意差の検定には Student の t 検定を用い, 有意水準は5%とした.

3. 結果

3.1 平滑筋収縮に伴う開き角変化 平滑筋収縮に伴う開き角の変化を図1に示す. 上が円筒状試

料の中枢側から得た試料についてのもの, 下が末梢側についてのものである. いずれの試料においても同様の結果が得られた. すなわち, 薬物投与前(control)の開き角は総頸動脈CCA, 大腿動脈FAともにはほぼ同じ値で有意差はなかった. NE濃度の上昇に伴ない大腿動脈の開き角は 10^{-7} Mまで単調に減少した. 一方, 総頸動脈においては, 10^{-8} Mまでは変化はなかったが, これを越えると濃度上昇に伴う有意な減少が見られた. 両者で開き角がcontrol時に比べて有意に減少するNEの最低濃度をみると, 総頸動脈は 10^{-7} Mであったが, 大腿動脈では 10^{-8} Mであった. また, 大腿動脈は総頸動脈と比較して低濃度領域で有意な変化が見られた. このように開き角は, 総頸動脈より大腿動脈において平滑筋収縮に敏感に反応し変化することが判った.

3.2 平滑筋収縮に伴う内圧-外径関係変化

図2にNE投与前および 10^{-5} mol/l投与時の内圧-外径曲線を示す. 図中曲線は内圧0, 20, 50, 80, 100, 150, 200 mmHgにおける外径の平均をスプライン関数でそれぞ

Fig.1 Effect of smooth muscle contraction on opening angle of common carotid (CCA) and femoral (FA) arteries.

れ結んだものである。薬物投与前には両動脈とも内圧の上昇とともに変形しづらくなる典型的な血管の変形特性を示していた。一般的に筋性動脈よりも弾性動脈の方が変形能に富むことが知られているが、今回の結果でも変形しづらくなる内圧は総頸動脈の方が高く、100 mmHg以下での変形も総頸動脈の方が大きかった。一方、平滑筋収縮後の内圧-外径関係は両動脈とも外径が小さくなる方に移動したが、同じ内圧における外径の収縮量は100 mmHg以下の低圧領域で著しく、とくに大腿動脈においてその傾向が強かった。実際、外径収縮量を薬物投与前の外径で規格化した収縮割合が最大となる内圧は総頸動脈では 56 ± 8 mmHg (mean $\pm$ SEM, $n=8$) であったのに対し、大腿動脈では 27 ± 8 mmHg ($n=7$) であり、両者には有意差 ($P<0.02$) があった。しかし、収縮率の最大値は総頸動脈 $18.4 \pm 2.1\%$ 、大腿動脈 $24.6 \pm 4.1\%$ で危険率5%では有意差は見られなかった。

図3に80 mmHgにおける血管外径の変化を示す。両者ともNE濃度が 10^{-7} Mまでは外径に有意な変化は見られず、以後、濃度上昇に伴う径収縮が観察された。収縮割合に関しては総頸動脈と大腿動脈には有意差は見られなかった。

3.3 生理状態におけるひずみ分布 ひずみ分布のアンバランスを表すパラメータとして、血管内壁側のひずみを外壁側の値で除したstrain ratioとNE濃度の関係を図4に示す。大腿動脈、総頸動脈いずれについても低濃度領域では内壁側のひずみが外壁側よりも小さかった。その後、両者ともに濃度が上昇するにつれひずみは一樣に近づき、高濃度領域では再び内壁側でのひずみが小さくなった。ひずみ分布が一樣に近

づくNE濃度は大腿動脈が低く、残留ひずみの指標である開き角の変化と同様な傾向を示していた。これより、両動脈とも適当な平滑筋収縮状態でひずみ分布は一樣になり得るが、それを与えるNE濃度は筋性動脈で低いことが判った。一方、血管内外壁のひずみの平均値をNE濃度との関係は図3に示した外径の変化と同様であり、NE濃度が 10^{-7} mol/lになるまでcontrolと差がなく、その後、有意に減少するという変化を示した。

3.4 組織観察 両動脈の代表的な組織像を図5に示す。血管円周方向に垂直な断面を示したものである。いずれの血管においても中膜の全層にわたって平滑筋の核は点状に見えており、どちらの血管においても平滑筋がほぼ円周方向に向いていることが判る。

平滑筋の核の密度の計測結果を図6に示す。代表的な1羽の家兎の総頸動脈ならびに大腿動脈の組織標本

Fig.3 Effect of smooth muscle contraction on the outer diameter of common carotid (CCA) and femoral (FA) arteries at a physiological pressure (80 mmHg).

Fig.2 Effect of smooth muscle contraction on pressure-diameter relationship of common carotid (CCA) and femoral (FA) arteries.

Fig.4 Effect of smooth muscle contraction on strain distribution of common carotid (CCA) and femoral (FA) arteries at a physiological pressure (80 mmHg).

の外膜側, 中央部, 内膜側において, それぞれランダムに選ばれた6点で計測した結果である. 同じ標本における領域による差はなかった. また, 3領域をまとめて比較すると, 大腿動脈の核の密度が総頸動脈に比較して有意に多く, 総頸動脈よりも大腿動脈で平滑筋密度が高いことが示唆された.

Common carotid artery

Femoral artery

Fig.5 Histological pictures of common carotid and femoral arteries. Inner surface faces upwards. HE stain.

Fig.6 Special density of smooth muscle nuclei of common carotid (CCA) and femoral (FA) arteries.

4. 考 察

本研究では平滑筋収縮が血管壁内の力学環境に与える影響を血管の型の面から比較した. 対象として家兔を用い, 弾性動脈の例として総頸動脈, 筋性動脈の例として大腿動脈を取り上げた. 平滑筋の段階的収縮に伴うそれぞれの血管の外径変化, 開き角変化を求め, これより壁内ひずみ分布の変化を調べ, 血管の型の違いの影響を考察した.

血管壁内ひずみ分布に対する平滑筋収縮・弛緩の影響は, まず, ラット胸大動脈で調べられており⁽⁹⁾, 開き角が平滑筋収縮に伴い増加し, これにより壁内のひずみ分布が一様になる内圧が上昇することが指摘されている. ところが家兔の中動脈を対象とした今回の場合, 開き角は両方の血管とも平滑筋収縮に伴い減少した. 平均値としては総頸動脈ではNE濃度が 10^{-6} Mを超えた時点から, 大腿動脈では 10^{-7} Mを超えた時点から上昇に転じたが, この上昇は有意ではなかった. NEの低濃度領域における開き角の減少と高濃度領域における増加は家兔胸大動脈で観察されている^(10, 13). 家兔胸大動脈の場合には, 血管壁の内側85%程度の平滑筋が円周方向に, それより外側の平滑筋が血管軸方向に配向しており, この両層の平滑筋の収縮力のバランスにより, このような応答が見られるのではないかと推測されている. 一方, 総頸動脈や大腿動脈では図5に示すように軸方向に走行する平滑筋は観察されず, 家兔胸大動脈のようなメカニズムは考えにくい. 家兔総頸動脈や大腿動脈において, 同様の平滑筋走行を有するラット胸大動脈となぜ逆の反応が生じるのか, そのメカニズムの解明は今後の課題である.

平滑筋収縮に伴う開き角の応答を両動脈で比較すると, 大腿動脈の方が収縮に対し敏感であった. 大腿動脈は総頸動脈と比べて平滑筋の割合が多いと考えられる. このためNEによる平滑筋収縮の影響がより強く出るために, 低濃度でも応答が見られたものと考えられた. 一方, 外径収縮に関しては, 大腿動脈の方で収縮が最大になる圧力が低い点以外はあまり違いが見られなかった. 平滑筋収縮に対する応答が開き角と比べて高濃度で生じた原因のひとつは, 開き角が平滑筋収縮力の壁内の僅かな不均衡 (数kPa) によっても影響を受ける⁽¹⁴⁾のに対し, 径収縮は壁内全層の平滑筋が内圧に抗する応力 (数100kPa) を発生しなくては生じないからではないかと考えられる. このため血管型の差も見られなかったのではないかと推察される.

大腿動脈, 総頸動脈いずれについてもNEの低濃度領域では内壁側のひずみが外壁側よりも小さかった.

その後、両者ともに濃度が上昇するにつれひずみは一樣に近づき、高濃度領域では再び内壁側でのひずみが小さくなった。一方、ラット胸大動脈壁においては低濃度領域では内壁側のひずみが外壁側より大きく、NEの濃度上昇とともに相対的に内壁側のひずみが減少し、やがて内壁側のひずみの方が外壁側より小さくなるという経過を辿る⁽⁹⁾。この差は、NE投与前の開き角が総頸動脈においても大腿動脈においても200°以上と大動脈に比べて極めて大きいことが関係していると予想される。すなわち、いずれの血管においても平滑筋が収縮してない状態では生理的血压で壁内ひずみ分布は一樣になっていないが、平滑筋の収縮とともにstrain ratioは1に近づき、ある程度収縮した段階でひずみ分布は一樣になっている。このように考えると、家兎中動脈とラット大動脈の平滑筋収縮による開き角の変化は互いに逆の変化であるが、ひずみ分布を一樣に近づける方向の変化という点では同じ生理的意義を持つ変化ともいえる。

ところで、ひずみ分布が一樣に近づくNE濃度は大腿動脈が低く、残留ひずみの指標である開き角の変化と同様な傾向を示していた。これより、両動脈とも適当な平滑筋収縮状態でひずみ分布は一樣になり得るが、それを与えるNE濃度は筋性動脈で低いことが判った。この結果は筋性動脈の方が弾性動脈よりも平滑筋割合が高いことを考慮すると妥当な結果である。しかし血中NE濃度は通常、せいぜい 10^{-8} M程度と言われており、今回得られたひずみが一樣となるNE濃度、特に総頸動脈における濃度の1/100程度である。体内の血管平滑筋はNEのみによって収縮を誘起されているわけではなく、複数の血管収縮物質や自律神経からの刺激により、基本となる収縮状態（トーン）を保っている。これらの因子による血管平滑筋の収縮状態がどの程度のものであるのか、今後検討する必要がある。

今回の解析では血管壁を均質と仮定した。しかし、例えばウシの胸大動脈では内壁側と外壁側で弾性係数が大幅に異なる⁽¹⁵⁾ことが報告されている。壁の不均質性を考慮した解析が今後、必要と言える。

以上、平滑筋の段階的収縮に伴う家兎総頸動脈、大腿動脈壁内のひずみ分布の変化について述べてきた。ラットや家兎の胸大動脈同様、これらの血管においても平滑筋収縮がひずみ分布に大きな影響を与えていた。血管壁内応力・ひずみ分布の議論において、平滑筋の収縮・弛緩に対する配慮は欠くことができない。

最後に、本研究の一部は文部省科学研究費・奨励研究(A) (08750094ならびに09750095)の補助を受けた。実験では東北大学工学部・小川原凱紀技官の協力を得た。記して謝意を表する。

文 献

- (1) Fung, Y.C., *Biodynamics: Circulation*, (1984), 54, Springer-Verlag.
- (2) Matsumoto, T. and Hayashi, K., *ASME J. Biomech. Engng.*, 116-3 (1994), 278.
- (3) Wolinsky, H., *Circ. Res.*, 30 (1972), 301.
- (4) Grossman, W., Jones, D. and McLaurin, L.P., *J. Clin. Invest.*, 56 (1975), 56.
- (5) Liu, S.Q. and Fung, Y.C., *ASME J. Biomech. Engng.*, 110 (1988), 82.
- (6) Takamizawa, K. and Hayashi, K., *J. Biomechanics*, 20 (1987), 7.
- (7) Vaishnav, R.N. and Vossoughi, J., *Biomedical Engineering II, Recent Developments*, Hall, C.W., Editor, (1983), 330, Pergamon Press.
- (8) Matsumoto, T. and Hayashi, K., *ASME J. Biomech. Engng.*, 118-2 (1996), 62.
- (9) Matsumoto, T., Tsuchida, M. and Sato, M., *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 271 (1996), H1711.
- (10) 菅原静華, 松本健郎, 高澤和幸, 佐藤正明, 日本機械学会第33期東北支部総会・講演会講演論文集 (1998), 19.
- (11) 松本健郎, 永野史朗, 佐藤正明, 日本機械学会論文集C編, 63-607 (1997), 853.
- (12) Saito, M., Terui, N., Numao, Y. and Kumada, M., *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*, 251 (1986), H742.
- (13) 菅原静華, 東北大学大学院工学研究科, 修士論文 (1998)
- (14) Matsumoto, T. and Hayashi, K., *1991 Advances in Bioengineering*, Vanderby, R., Jr., Editor, (1991), 631, ASME.
- (15) Ohashi, T., Matsumoto, T., Abe, H., Aoki, T. and Sato, M., *Cellular Engineering*, 2-1 (1997), 12.