

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791721

研究課題名（和文） 肝微小血管の電気生理学的検討：アナフィラキシーショックにおける血圧調節機構の解明

研究課題名（英文） The electrophysiological study of vessels in liver: To investigate the mechanisms to control the blood pressure during anaphylaxis shock.

研究代表者

高野 博充 (TAKANO HIROMICHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：70410313

研究成果の概要（和文）：モルモットの肝静脈の単離標本を作製し、その張力と膜電位の測定に成功した。経壁神経刺激をすると、一過性の張力増大反応を起こした。この収縮は、Phentolamine 存在下で抑制された。Atropine 存在下では収縮の持続時間が短くなり、Guanethidine 追加投与で見られなくなった。Phenylephrine (Phe) は濃度依存的に収縮を起こし、Isoproterenol は弛緩を起こした。Noradrenaline (1 - 3 μM) は濃度依存的に収縮を起こしたが、10 μM では逆に収縮が抑制された。Acetylcholine は収縮を起こし、Phe 存在下でもさらに収縮を増大した。静止膜電位は $-45 \pm 5 \text{ mV}$ であった。ACh は張力の増大とともに膜を 5mV 脱分極させた。Phe も張力の増大とともに膜を 3mV 脱分極させた。以上の結果から、モルモット肝静脈はアドレナリン作動性およびコリン作動性の神経支配の興奮性の神経支配を受けており、 α 受容体とムスカリン様受容体が興奮性の、 β 受容体が抑制性の反応を担っていることが分かった。

研究成果の概要（英文）：The hepatic vein in guinea-pig was isolated from the liver to measure the vasoconstriction and membrane potential responses. Transmural nerve stimulation (TNS) evoked a significantly transient increase of the tension of the vessel. Phentolamine inhibited the vasoconstriction. Atropine decreased the duration of the vasoconstriction. In presence of both of atropine and guanethidine, the TNS evoked vasoconstriction was abolished. Phenylephrine (Phe) evoked the vasoconstriction dose-dependent manner. Noradrenaline (NA 1 - 3 μM) also evoked the vasoconstriction, but 10 μM NA inhibited the vasoconstriction. Acetylcholine (ACh) evoked the vasoconstriction. During Phe-evoked vasoconstriction, ACh increased the tension more. The resting membrane potential of the vessel was $-45 \pm 5 \text{ mV}$. Both ACh and Phe depolarized the membrane (3 mV). These results suggest that the guinea-pig hepatic vein innervated by both adrenergic and cholinergic nerves. The vasoconstriction is evoked through α receptors and muscarinic receptors. The vasodilatation is induced by β receptors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：蘇生学

1. 研究開始当初の背景

アナフィラキシーショックの際、肝静脈系の抵抗が上昇し、腹腔静脈系への血液の滞留を促し、心臓への静脈還流の減少をきたし、全身血圧の減少に寄与すると考えられている。これらの知見は肝臓の脈管系の血圧の測定によって得られてきた。

血管は液性因子やギャップ結合を介した膜電位変化の伝導といった方法で内皮細胞と平滑筋細胞が密接に連絡しあい、平滑筋張力を変えるメカニズムを有する。これらの機構は血管の部位、サイズによってさまざまであり、ある血管の知見を別の血管に当てはめることができない。

以上の問題から、肝臓内を走る局所血管の平滑筋組織としての生理学的研究が待たれていた。

2. 研究の目的

以下の二点を目標にした。

(1) 肝内血管の収縮および膜電位測定法の確立：

肝臓の中を走る血管は門脈、肝動脈、肝静脈に分かれるが、いずれも肝実質に覆われ、通常の方法では平滑筋組織としての生理機能の検討はできない。そこで、まず、その収縮力や膜電位の測定が可能な単離血管組織標本の作製方法の確立を目指す。

(2) 肝の微小血管の収縮弛緩機構の解明：

他の多くの血管で脱分極を起し収縮を起こす代表的なホルモンであり、神経伝達物質でもあるノルアドレナリンと内皮依存性に過分極や弛緩を起こす生体内液性物質であるアセチルコリンに対する反応を検討し、肝内血管の収縮機構の制御方法を検討する。さらに、この血管標本の末梢神経系を選択的に刺激し、神経制御機構を検討する。

3. 研究の方法

(1) 標本作成

モルモット(2週齢、雄)の肝臓右葉をナイフで切り開き、肝静脈の内面を露出させた。切断面の縁の血管と実質の間にピンセットを挿入し、そのまま血管を実質から剥離した。血管標本には枝分かれした血管に繋がる多くの穴が開いており、そのうちのひとつが含まれるように5 mm x 3 mmのストリップ標本を作製した。

(2) 血管張力測定

標本を、内皮側を上にしてシリコンを張ったチャンバーにピン止めし、37度のクレブス液灌流液中に置いた。標本に含まれる穴に、水平方向の小さな張力を測定できるように特別に作成した張力トランスデューサーを

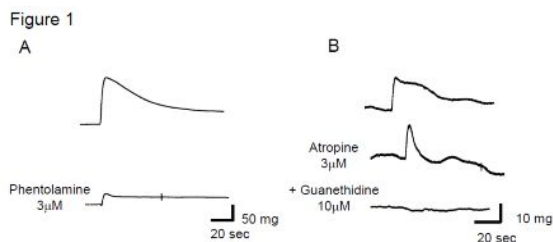
引っ掛けて、その部分の張力の変化を測定した。チャンバーには二枚の白金板を、標本を挟むように配置し、この板の間に電流を流すことで、経壁的電気刺激を行えるようにした。

(3) 膜電位測定

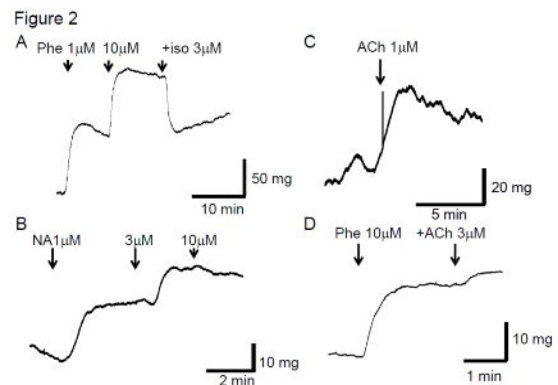
3M KCl 溶液を詰めたガラス微小電極を標本の上からアクセスできるように配置し、内皮側から刺入して、ガラス微小電極法により膜電位を測った。

4. 研究成果

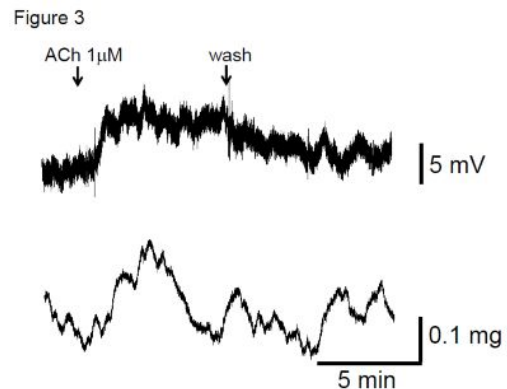
標本に経壁神経刺激(持続時間 50 μ s、頻度 20 Hz、1 sec)をすると、その張力が一過性に増大する反応を見せた(Figure 1)。この一過性の収縮は Tetrodotoxin (3 μ M) 存在下では見られなくなったので、血管周辺に存在する末梢神経を介する反応であることが分かった。この収縮は、 α 受容体アンタゴニストである Phentolamine (3 μ M) 存在下では大きさが抑制された(Figure 1A)。一方、ムスカリン様受容体アンタゴニスト Atropine (3 μ M) 存在下では収縮の持続時間が短くなり、交感神経阻害剤 Guanethidine (10 μ M) を追加投与すると見られなくなった(Figure 1B)。以上の結果から、モルモットの肝静脈にはアドレナリン作動性神経とコリン作動性神経が存在し、いずれも肝静脈の収縮反応を起こすことが示唆された。



α 受容体アゴニスト Phenylephrine (Phe, 1 - 10 μ M) は濃度依存的に収縮を起こし、その上に β 受容体アゴニスト Isoproterenol (3 μ M) を追加投与すると弛緩を起こした(Figure 2A)。交感神経伝達物質 Noradrenaline (1 - 3 μ M) は濃度依存的に収縮を起こしたが、10 μ M では逆に収縮が抑制された(Figure 2B)。Acetylcholine (ACh, 1 μ M) は収縮を起こしたが(Figure 2C)、Phe (10 μ M) 存在下、ACh (3 μ M) の追加投与はさらに収縮を増大した(Figure 2D)。以上の結果から、モルモット肝静脈には α 受容体、 β 受容体およびムスカリン様受容体が存在し、 α 受容体とムスカリン様受容体は収縮反応を、 β 受容体は弛緩反応を司っていることが示唆された。



この標本に内皮側からガラス微小電極を挿入して膜電位を測定したところ、静止膜電位は -45 ± 5 mV であった。ACh (3 μ M) は張力の増大とともに膜を 5mV 脱分極させた。Phe (10 μ M) も張力の増大とともに膜を 3mV 脱



分極させた (Figure 3)。

以上の結果から、モルモット肝静脈はアドレナリン作動性およびコリン作動性の神経支配の興奮性の神経支配を受けており、 α 受容体とムスカリン様受容体が興奮性の、 β 受容体が抑制性の反応を担っており、その収縮には膜電位の変化を伴うことが示唆された。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

- ① 高野博充, 橋谷光. Properties of the mechanisms of blood vessels in Guinea pig liver. 第 90 回日本生理学会大会 (2013 年 3 月 28 日, タワーホール船堀, 東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高野 博充 (TAKANO HIROMICHI)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号 : 70410313