

アシドーシスが未熟な血管の機能にあたえる  
影響に関する基礎的研究

課題番号 5670702

平成6年度科学研究費補助金  
一般C 研究成果報告書

平成7年3月  
研究代表者 中西敏雄  
(東京女子医科大学医学部助教授)

## はしがき

本研究はアシドーシスが血管におよぼす収縮、弛緩作用が、未熟な血管ではどうなのか、その発達に伴う変化について調べることが目的である。

## 研究組織

研究代表者 中西敏雄 (東京女子医科大学医学部助教授)

研究分担者 門間和夫 (東京女子医科大学医学部教授)

研究経費	平成5年度	1 4 0 0 千円
	平成6年度	8 0 0 千円
	計	2 2 0 0 千円

## 研究発表

### 学会誌

(1) EFFECT OF ACIDOSIS ON CONTRACTION, INTRACELLULAR pH, AND CALCIUM IN THE NEWBORN AND ADULT RABBIT AORTA. Toshio Nakanishi, Hong Gu, and Kazuo Momma. J. Molecular Cellular Cardiology 投稿中

(2) EFFECT OF ACIDOSIS ON CONTRACTION, INTRACELLULAR pH, AND CALCIUM IN THE RABBIT MESENTERIC SMALL ARTERY. Toshio Nakanishi, Hong Gu, and Kazuo Momma. Pediatric Research 投稿中

アシドーシスは日常診療上、小児、大人を問わず経験するものである。また胎児の動脈血は正常でも低酸素、アシドーシスの状態である。成人では体血管（脳動脈、筋への動脈など）はアシドーシスで弛緩し、肺血管は逆に収縮することが知られている。血管が拡張すれば血行は良くなり、血管抵抗は低下する。逆に血管が収縮すれば血管抵抗は上昇し、血液は行きにくくなり、それがさらに低酸素、アシドーシスをもたらすという悪循環に陥ることもある。なぜアシドーシスの作用が血管部位により逆なのかはわかっていない。アシドーシスが血管に及ぼす作用の機序を調べたり、その機序が発達に伴ってどのように変化するかをしらべることは、小児、胎児の病態生理を理解し治療する上で非常に重要である。しかし、アシドーシスが血管におよぼす収縮、弛緩作用が、未熟な血管ではどうなのか、その発達に伴う変化についてはまったく調べられていない。

発達過程の心筋に対するアシドーシスの影響や細胞内pH調節機構についての研究は日本国内外ともに私の研究が主なものとなっているが、私のこれまでの研究で、大人の心臓では機能低下をきたすようなアシドーシスに小児、胎児の心臓が耐えられること、同じ程度のアシドーシスにたいし胎仔、新生仔などの未熟心筋では成熟心筋に比べて細胞内pHの低下が少ないことが明らかになった。しかし血管での研究は皆無で未知の分野である。

一般的に心筋や血管の収縮は細胞内のカルシウム (Ca)濃度が高いほど促進され、細胞内pHが低いほど低下する。細胞内pHはNa<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>交換やHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Cl<sup>-</sup>交換により調節されている。前者では細胞内H<sup>+</sup>イオンが細胞外Na<sup>+</sup>と交換に細胞外へ排出される。後者では細胞内HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオンが細胞外Cl<sup>-</sup>イオンと交換され、結果的にH<sup>+</sup>イオンが細胞外へ排出される。

本研究では体動脈（大動脈など）の未熟な血管を用い、1) アシドーシスが血管収縮に与える影響、2) 細胞内pH調節、3) アシドーシス下での細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度調節について研究した。

## 平成5年度の研究

肺動脈と体動脈（大動脈など）の未熟な血管を用い、1) アシドーシスが血管収縮に与える影響、2) 細胞内pH調節、3) アシドーシス下での細胞内Ca濃度調節について研究した。

実験動物：胎生28日の胎仔家兎（妊娠満期は31日）、生後3日の新生仔、生後6カ月の成獣家兎を用いた。実験標本：下行大動脈、左右肺動脈を摘出し、1-2mmの長さに切断しリング状の標本を作製した。実験装置：血管標本を倒立顕微鏡のステージに作ったバスの上におき、灌流液を灌流した。血管の収縮力を張力トランスジューサーで測定し、細胞内pHは水素イオン感受性色素 BCECFを、細胞内Ca濃度はCa感受性色素 fura-2を用い測定した。

実験結果：コントロールの液は5% CO<sub>2</sub> で飽和し pH 7.4 とし、アシドーシスは20%CO<sub>2</sub>で飽和し pH 6.8 とした。1) 50 mM KCl を含む液で灌流し血管の中等度収縮を起こさせた後、アシドーシスにすると、成獣大動脈では収縮は一過性に経度低下した後コントロールに戻ったが、未熟大動脈では大きく弛緩したままであった。成獣肺動脈は一過性に弛緩した後、むしろ収縮した。未熟肺動脈では大きく弛緩した。

2) アシドーシス時の細胞内pHは未熟血管、成獣血管ともに同程度に低下した。

3) アシドーシス時の細胞内Caは両年齢群でともに同程度上昇した。

結論：アシドーシスが血管収縮に与える弛緩作用は未熟血管でより大きいとその機序は細胞内pHやCa濃度の変化では説明できず、筋肉固有の性質に起因するのかもしれない。

## 平成6年度の研究

直径100-200 uの微小な抵抗血管を用いて研究をおこなった。

実験動物：胎生28日の胎仔家兎（妊娠満期は31日）、生後3日の新生仔、生後6カ月の成獣家兎を用いた。実験標本：腸間膜動脈（直径100-200 uの小血管）を摘出し、1-2mmの長さに切断しリング状の標本を作製した。血管に直径20uのタングステン線を通し左右からひっ

ばって張力をかけた。実験装置：血管標本を倒立顕微鏡のステージに作ったバスの上におき、灌液を灌流した。血管の収縮力を張力トランスジューサーで測定した。細胞内 pH は水素イオン感受性色素 BCECF を、細胞内 Ca 濃度は Ca 感受性色素 fura-2 を用い測定した。実験計画：コントロールの液は 5% CO<sub>2</sub> で飽和し pH 7.4 とし、アシドーシスは 20% CO<sub>2</sub> で飽和し pH 6.8 とした。

研究成果：成獣ではアシドーシスにより血管収縮は 70% of C に低下し、その後  $95 \pm 5\%$  of C に回復した。一方新生仔ではアシドーシスで  $68 \pm 3\%$  of C に低下したままで回復しなかった。細胞内 pH は成獣、新生仔ともにコントロールの 7.1 からアシドーシスで 6.9 に低下し両年齢群で差はなかった。細胞内 Ca 濃度の指標である fura-2 の蛍光比は成獣ではアシドーシスで 1.40 から 1.30 に一過性に低下しその後 1.42 に上昇した。新生仔ではアシドーシスで 1.80 から 1.75 に一過性の低下の後、1.82 にまで回復した。アシドーシスによる蛍光比の低下幅、上昇幅は両年齢群で差はなかった。以上の結果より未熟な血管ではアシドーシスによる血管弛緩作用がよりおおいこと、その差は細胞内 pH や Ca の変化では説明できないことが分かった

以下に 投稿中の論文を掲載し 成果報告とする。