

イヌ耳介正中動脈の血管反応性

伊 藤 隆

信州大学医学部皮膚科学教室
(主任: 高瀬吉雄教授)

Vascular Responsiveness of the Canine Intermediate Auricular Artery

Takashi ITO

Department of Dermatology, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Yoshio TAKASE)

Vascular responsiveness of the isolated and perfused canine intermediate auricular artery was examined by use of the stainless steel cannula insertion method. Norepinephrine, serotonin, tyramine, prostaglandin $F_{2\alpha}$, ATP and KCl produced dose-dependent increases in perfusion pressure. The order of potency for inducing vasoconstrictions was serotonin > norepinephrine > prostaglandin $F_{2\alpha}$ > tyramine > ATP > KCl. Histamine caused either slight biphasic responses or no changes in perfusion pressure. Competitive antagonism was observed in the following drug interactions: norepinephrine vs phentolamine, phenylephrine vs prazosin, xylazine vs yohimbine, but phenylephrine-induced vasoconstrictions were not significantly suppressed by yohimbine and xylazine-induced ones were inhibited in a non-competitive manner by prazosin. These results suggest that the canine intermediate auricular artery was contracted via not only α_1 - but also α_2 -adrenoceptors. Tyramine produced strong vasoconstrictions in the intermediate auricular artery but only weak ones in the mesenteric artery even though periarterial electrical nerve stimulation produced similar contractile responses in both arteries, which suggests that the former artery has predominant sensitivity to intraluminally administered tyramine; this may relate to the role of this artery in the regulation of skin blood-flow. Serotonin was thought to produce vasoconstrictions in the canine intermediate auricular artery via specific serotonergic receptors as shown by the competitive antagonism by methysergide, indicating that serotonin has some important roles in circulatory disturbances of the skin. *Shinshu Med. J.*, 34: 142-154, 1986

(Received for publication November 22, 1985)

Key words: dog ear artery, α -adrenergic receptor, serotonergic receptor, catecholamine release, isolated perfused artery

イヌ耳介動脈, α アドレナリン受容体, セロトニン受容体, カテコラミン放出, 摘出灌流動脈

I はじめに

皮膚は皮下組織を含めると体重の15-20%を占める臓器で、皮膚の血液循環は体温調節など生理的に重要な役割を果たしている¹⁾。また、皮膚の循環障害は血管炎、レイノー氏病そして血管閉塞性疾患など種々の病態でひきおこされ、皮膚疾患の中で重要な地位を占めている。

皮膚科領域では皮膚血管の研究はおもに病理形態学的方法²⁾、あるいは薬物投与に対する細小血管の反応性または血管透過性を観察する *in vivo* の方法³⁾⁻⁵⁾ などを用いて行われており、また近年ではレーザードップラー法を用いて皮膚の毛細血管血流を直接計測する手法も利用されるようになってきた⁶⁾。

一方、薬理学あるいは生理学領域の脈管研究は、螺旋標本や灌流標本など *in vitro* の方法を用いた研究が多くなされている。生理学的脈管研究の本質は血管平滑筋の興奮-収縮連関システムの解析であり、それが各種病態とどう関係しているかが問題となる。また、血管平滑筋の反応性には種差、臓器差、部位差、血管平滑筋の基本長などの要因が影響し⁷⁾、一定の結論が得られるにはいたっていない。

著者は Hongo と Chiba⁸⁾ によって開発され、Tsuji と Chiba⁹⁾ により改良されたカニューレ挿入法を、耳介皮膚への血流供給動脈であるイス耳介正中動脈に適用し、諸種の血管作動性物質に対する皮膚血管の反応性を詳細に検討した。

II 実験方法

摘出イス耳介正中動脈の定流量灌流標本作製し、血管収縮反応を灌流圧変化として記録した。すなわち体重6—24kgの雑種成犬65頭をペントバルビタール30mg/kgで静脈内麻酔し、ヘパリン200単位/kgを静注した後右総頸動脈より脱血屠殺し、両耳介正中動脈の耳介筋付着部より遠位側部分をただちに摘出した。また、一部のイスでは同時に腸間膜動脈のうち耳介正中動脈とはほぼ同等の外径の部分の摘出した。摘出したおのおの耳介正中動脈または腸間膜動脈から大きな分枝のない部分を選び、長さ5—10mmの分節として離断し、動脈標本として実験に用いた。1頭のイスより耳介正中動脈では2—4本、腸間膜動脈では3—5本の動脈標本作製した。動脈標本の外径は0.4—0.8mm (n=158) であった。

つぎに各離断動脈標本にステンレス・スチール製

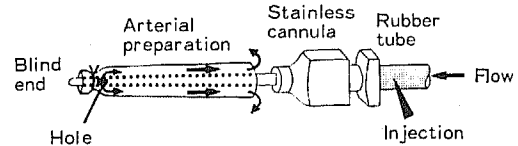


図1 動脈内挿入ステンレス・スチールカニューレおよび動脈標本の模式図。矢印は灌流液の流れの方向を示す。

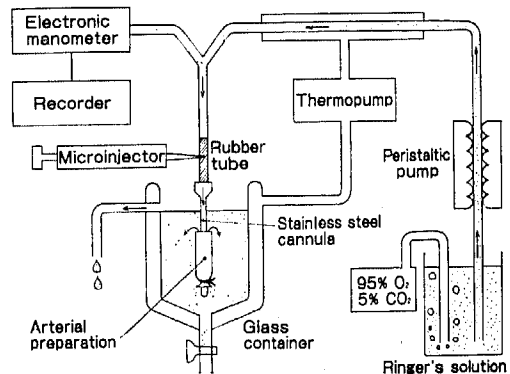


図2 灌流実験装置の模式図。矢印は灌流液の流れの方向を示す。

カニューレを挿入した。カニューレは27ゲージ(外径0.4mm)、長さ3cm、先端より5mmの部位に側孔を有する盲端である。動脈標本は盲端と側孔の間でカニューレに結紮固定した(図1)。したがって灌流保生液はカニューレの側孔より出て動脈標本の内腔(内膜側)を流れる。これらの操作は4—10°Cの保生液中で行い、内膜を損傷しないよう注意した。動脈標本とカニューレは保生液を満たしたガラス製オルガンバスに入れ thermopump (Taiyo Thermopump) を用い37°Cに保った。標本の灌流は蠕動型ポンプ (Harvard Apparatus Model 505-1210) を駆動して定流量灌流とした。灌流量は実験開始時に約100mmHgの基本灌流圧が得られるよう調節され、その灌流量は毎分1—2mlであった。灌流圧は electronic manometer (日本光電) を用いて計測し、動脈標本の収縮反応を灌流圧変化として記録した(図2)。灌流保生液は NaCl 118, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.3, MgCl₂ 1.2, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 25, ブドウ糖5.6 (mM) を含み、95%酸素と5%二酸化炭素の混合ガスを通気し、pHを約7.4に維持した。

実験に使用した薬物は dl-norepinephrine hydrochloride (三共), phenylephrine hydrochloride (興和), clonidine hydrochloride (Boehringer-Ingelheim), xylazine hydrochloride (Bayer), prazosin hydrochloride (含糖ファイザー), yohimbine hydrochloride (Sigma), tyramine hydrochloride (東京化成), imipramine hydrochloride (藤沢), serotonin creatinine sulfate (5-hydroxytryptamine 5-HT, Sandoz), phentolamine mesylate (Ciba), methysergide maleate (Sandoz), histamine dihydrochloride (和光), disodium adenosine triphosphate (ATP, 興和), prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$, 小野) および 塩化カリウム (KCl) である。薬物はすべて 0.9% の生理食塩水で希釈し、マイクロインジェクター (テルモ) を用いてカニユーレに接続したゴム管部より灌流経路中へ注入した。薬物溶液濃度は 1 回の注入量 0.01-0.03 ml にて薬物必要量を投与できるよう調製した。薬物注入は 3-4 分以上の間隔をあけ、個々の注入による反応が終了し灌流圧が元に回復した後にはじめて次の注入を開始した。用量-反応曲線は投与薬物量を漸増して作成し、拮抗剤の効果の観察には拮抗剤注入前後に用量-反応曲線を作成し比較する方法を用いた。

経壁電気刺激には、先端部を除きエナメルで被われ

た 2 本の白金線 (直径 0.5mm) を電極として動脈標本に装着し、電気刺激装置 (日本光電 SEM7130) を用いて持続 3 msec, 電圧 40-60V, 周波数 0.1-20Hz の矩形波刺激を行った。

実験結果は平均値士標準誤差で整理し、その統計学的処理には Student's t-test を用い、 $p < 0.05$ の場合を有意差ありとした。

Ⅲ 成 績

A 各種血管作動性物質に対する摘出イヌ耳介動脈の反応性

1 反応の反復性と持続性

Norepinephrine $0.1\mu\text{g}$ の注入により灌流圧は一過性に上昇し、2-3 分以内に基本灌流圧に戻った。4-5 分間隔で norepinephrine を反復注入しても tachyphylaxis は認められず、ほぼ同程度の収縮反応がみられ、反復性は良好であった (図 3)。同様の反復性は serotonin や KCl による収縮についても観察された。また、実験開始後約 8 時間までの観察ではこれらの薬物に対する標本の反応性はほとんど変化しなかった。これらの結果より本実験に用いた標本は、*in vitro* での血管反応性観察の必要条件である反復性と持続性を満たしているものと考えられる。

2 各種血管作動性物質に対する用量-反応曲線

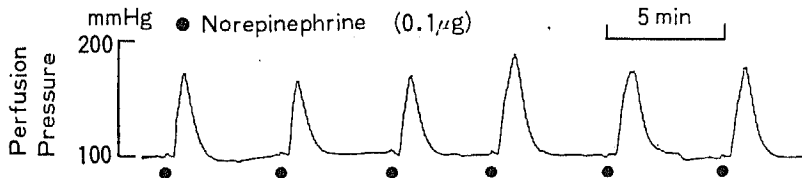


図 3 イヌ耳介正中動脈の norepinephrine $0.1\mu\text{g}$ 反復投与に対する血管収縮反応。・は注入時を示す。

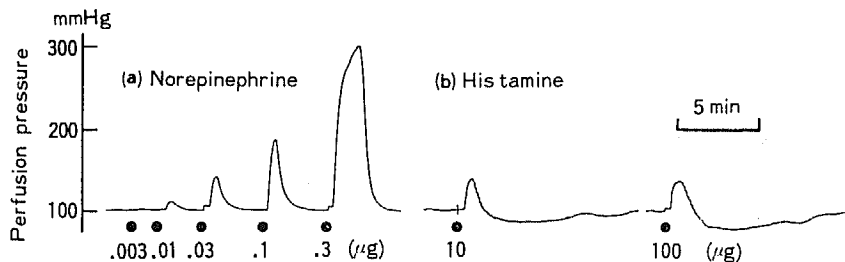


図 4 イヌ耳介正中動脈の norepinephrine (a) と histamine (b) の用量依存性反応の各 1 例。・は注入時を示す。

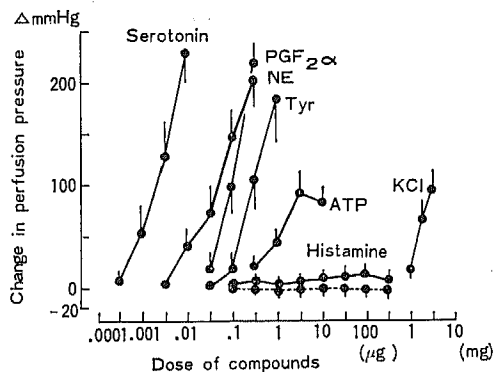


図5 7種の血管作動性物質に対する用量-反応曲線。NE: norepinephrine, $\text{PGF}_{2\alpha}$: prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$, Tyr: tyramine, ATP: adenosine triphosphate。点線は histamine による拡張反応を示す。各点は平均値を、縦線は標準誤差を示している(以下各図とも同標記で示す)。

Norepinephrine, tyramine, serotonin, $\text{PGF}_{2\alpha}$, ATP, histamine, KCl について、漸時注入量を増加し用量-反応曲線を作成した。Norepinephrine と serotonin は用量依存性に著明な収縮反応を示し、その閾値はおおの 0.003-0.01 μg および 0.0003-0.001 μg で、norepinephrine 0.3 μg および serotonin 0.01 μg では 200 mmHg に達する圧上昇がみられ、反応終了後 2-5 分を経過すれば tachyphylaxis はまったく認められなかった。典型的な norepinephrine に対する反応例を図 4 に示す。Tyramine, $\text{PGF}_{2\alpha}$, ATP も用量依存性の収縮反応を示したが、閾値の 10-30 倍を越す用量では tachyphylaxis が認められた。Histamine は弱い二相性の反応すなわち弱い収縮反応にひき続きやはり弱い比較的低く続く拡張反応を示し(図 4), tachyphylaxis が著明であり、また 14 標本中 6 標本ではまったく反応がみられなかった。KCl は 1 mg 以上の大量の注入で用量依存性の収縮反応を示した。これらの結果を図 5 に用量-反応曲線として一括して示す。

B α アドレナリン受容体を介する収縮反応

1 Norepinephrine による収縮に対する phentolamine の効果

イヌ耳介正中動脈が norepinephrine に対して鋭敏な収縮反応を示したことより、 α アドレナリン拮抗

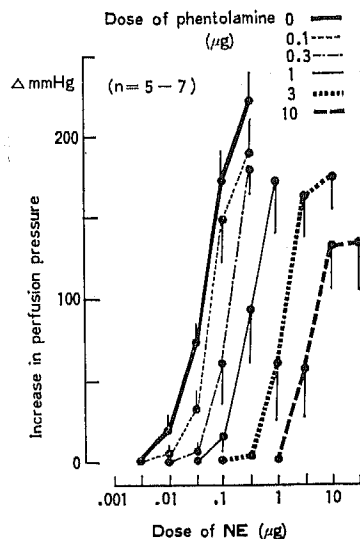


図6 イヌ耳介正中動脈の norepinephrine による収縮に対する phentolamine の効果。

剤である phentolamine を用いて norepinephrine の作用機序に検討を加えた。0.1-10 μg の phentolamine 前処置により norepinephrine に対する用量-反応曲線は用量依存的に右方へ平行移動し、競合的抑制がみられた。Phentolamine 3 および 10 μg 前処置では最大反応も軽度の抑制を受けた(図 6)。KCl 3 mg による収縮は phentolamine 10 μg 前処置によっても対照の $88 \pm 28\%$ であり有意の影響は受けなかった。

2 α アドレナリン受容体に関する薬理学的分析

Phentolamine を用いた実験結果より、norepinephrine による収縮は α アドレナリン受容体 (α -AR) を介していることが明らかとなったため、さらに α -AR の α_1 , α_2 両 subtype の関与についておのおの選択的作動薬 (phenylephrine: α_1 選択性, xylazine および clonidine: α_2 選択性) と拮抗剤 (prazosin: α_1 選択性, yohimbine: α_2 選択性) を用いて検討した。

a) 用量-反応曲線

Phenylephrine, xylazine, clonidine, norepinephrine に対してイヌ耳介正中動脈はほぼ同程度の用量依存性収縮反応を示した。すなわち閾値は 0.001-0.003 μg で、比較的大量の 0.3-1 μg では 200 mmHg を越す圧上昇がみられた。おのおのの薬物に対する用

量—反応曲線を図7にまとめて示す。

b) Prazosin (選択的 α_1 -AR拮抗剤) の効果

Phenylephrine, xylazine, clonidine の用量—反応曲線におよぼす prazosin (0.1–10 μ g) の効果を観察した。Prazosin は phenylephrine の用量—反応曲線を右へ平行移動させた (図8(a))。また prazosin は xylazine の用量—反応曲線も右へ移動させたがその効力は phenylephrine に対するより弱かつ

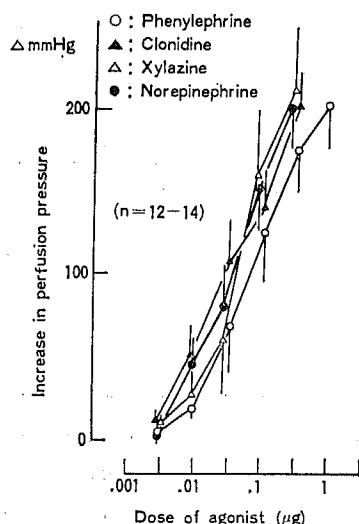


図7 イヌ耳介正中動脈の各種 α アドレナリン作動性物質に対する用量—反応曲線。

た (図8(b))。Clonidine の用量—反応曲線は prazosin によりやはり右方へ移動したが, 10 μ g の prazosin によっては最大反応も抑制された (図8(c))。KCl 3 mg による収縮は prazosin 10 μ g の前処置によっても対照の $87.6 \pm 16.3\%$ と有意の抑制を受けなかった。

c) Yohimbine (選択的 α_2 -AR 拮抗剤) の効果

Phenylephrine, xylazine, clonidine の用量—反応曲線に対する yohimbine (0.1–10 μ g) の影響を観察した。Phenylephrine による収縮は yohimbine によっては明らかな抑制を受けず, 用量—反応曲線はわずかに右へ移動したのみで, 抑制効果は有意ではなかった (図9(a))。Xylazine の用量—反応曲線は yohimbine によって著明に右へ平行移動した (図9(b))。Clonidine の用量—反応曲線は 0.1 μ g の yohimbine によっては大きく右へ平行移動したが 1 および 10 μ g の yohimbine の抑制効果はほぼ同程度で, yohimbine の投与量に依存した抑制はみられなかった (図9(c))。KCl 3 mg による収縮は yohimbine 10 μ g の前処置によっても対照の $101.4 \pm 20.8\%$ であり, ほとんど影響を受けなかった。

C カテコラミン遊離を介する収縮反応

イヌ耳介正中動脈摘出灌流標本が tyramine に対して著明な収縮反応を示したことより, 本動脈標本の収縮反応における交感神経の関与について検討を加えた。またイヌ腸間膜動脈を用いても同様の実験を行い比較対象とした。

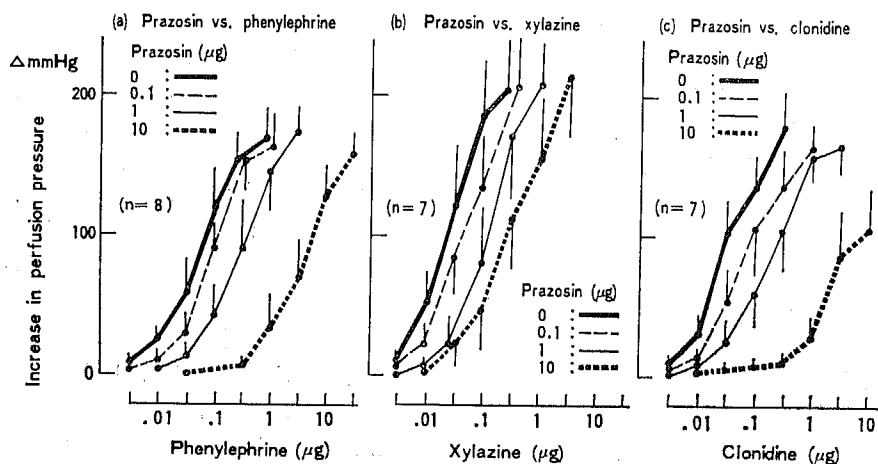


図8 イヌ耳介正中動脈の phenylephrine (a), xylazine (b), clonidine (c) による収縮に対する prazosin の効果。

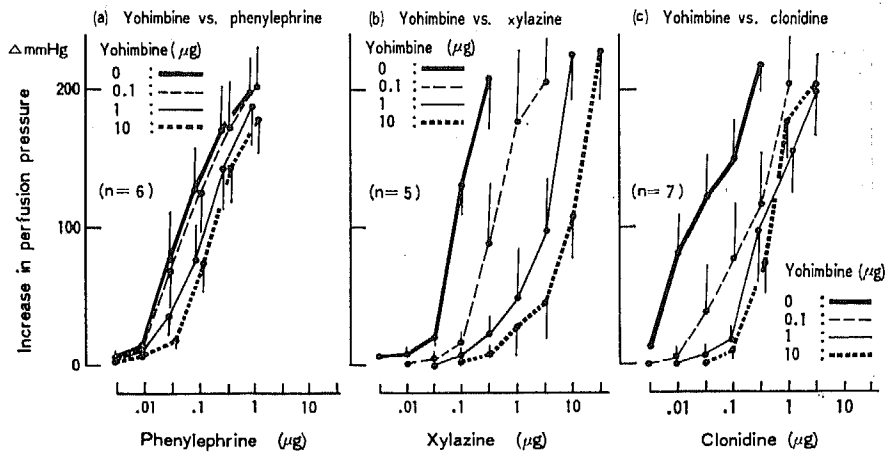


図9 イヌ耳介正中動脈の phenylephrine (a), xylazine (b), clonidine (c) による収縮に対する yohimbine の効果。

1 イヌ耳介正中動脈と腸間膜動脈の tyramine に対する反応性

耳介正中動脈では tyramine の0.03-0.1 μg を閾値として用量依存性の著明な収縮反応がみられ、1-3 μg では圧上昇は 200mmHg におよんだ。それに比較して腸間膜動脈では閾値は1-3 μg であり、100 μg という大量の tyramine によっても15-30mmHg程度の圧上昇しかみられなかった。一方 norepinephrine によっては感度は耳介正中動脈が若干腸間膜動脈に優るものの、両動脈とも用量依存性の著明な収縮反応を示し、

また KCl に対してはほぼ同程度の反応性を示した。両動脈の tyramine, norepinephrine, KCl に対する用量-反応曲線を図10に一括して示す。

2 Imipramine の効果

Tyramine による収縮反応が交感神経終末よりのカテコラミン放出によるものか否かを確認するために、交感神経終末での tyramine の取り込みを阻害する imipramine を用いて、その tyramine の用量-反応曲線におよぼす影響を観察した。図11に示すように耳介正中動脈では、tyramine の収縮作用は比較的少

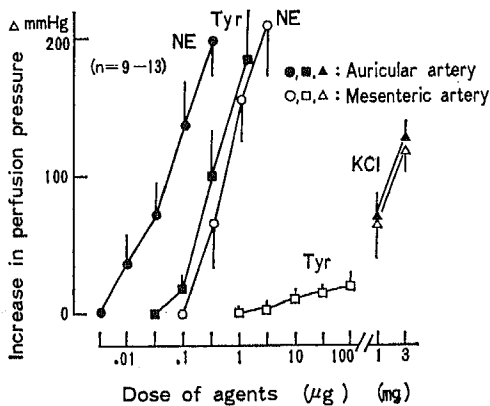


図10 イヌの耳介正中動脈 (intermediate auricular artery: ●, ■, ▲) と腸間膜動脈 (mesenteric artery: ○, □, △) の反応性の比較。NE: norepinephrine, Tyr: tyramine。

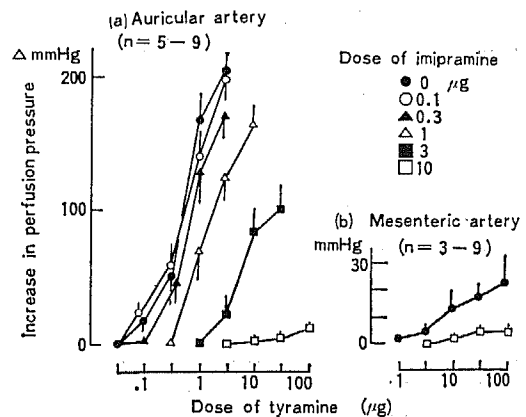


図11 イヌの耳介正中動脈 (intermediate auricular artery (a)) と腸間膜動脈 (mesenteric artery (b)) の tyramine (Tyr) による収縮に対する imipramine の効果。

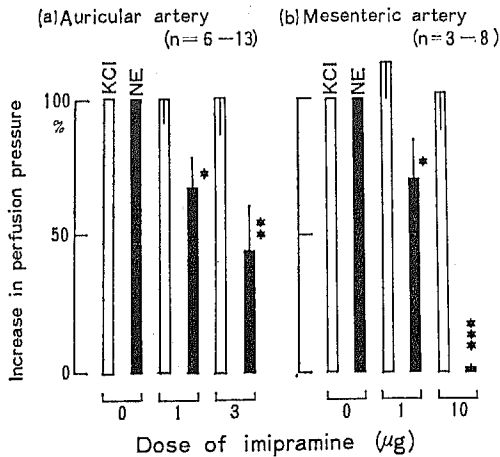


図12 イヌの耳介正中動脈 (intermediate auricular artery (a)) と腸間膜動脈 (mesenteric artery (b)) の KCl, norepinephrine (NE) による収縮に対する imipramine の効果。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ でおのおの対照と有意差あり。

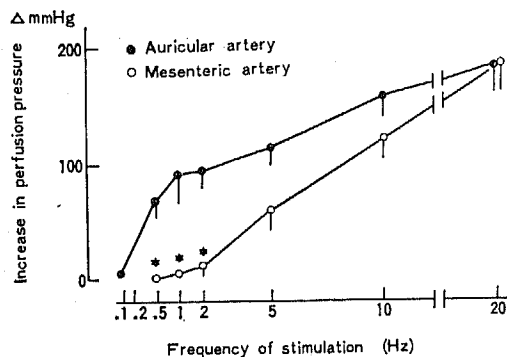


図13 イヌの耳介正中動脈 (intermediate auricular artery (●)) と腸間膜動脈 (mesenteric artery (○)) の経壁電気刺激に対する刺激頻度-反応曲線。* $p < 0.05$ で両動脈間に有意差あり。

量 (0.1-1 μg) の imipramine によって競合的に抑制され、比較的大量 (3-10 μg) の imipramine では最大反応も抑制された。腸間膜動脈では imipramine 10 μg のみにつき観察したが、tyramine による収縮はやはり最大反応の抑制を伴い、著明に抑制された。Norepinephrine による収縮はいずれの動脈においても 1 μg 以上の imipramine によって抑制されたが、KCl による収縮は有意な抑制を受けなかった (図12)。

3. 電気刺激に対する反応性

耳介正中動脈と腸間膜動脈の tyramine に対する

反応性の相違が両血管の交感神経支配の差に基づくものである可能性を考え、両動脈標本の経壁電気刺激を行い、反応性を観察した。その結果を刺激頻度-反応曲線として図13にまとめた。耳介正中動脈では 0.1 Hz という非常に低い刺激頻度で収縮反応が出現、刺激頻度依存性に収縮は増強し、1 Hz では約100 mmHg、20 Hz では約180 mmHgの圧上昇がみられた。これに対して腸間膜動脈では、反応のみられる最低刺激頻度は 1 Hz であったが、反応はやはり刺激頻度依存性に増強し、5 Hz 以上では耳介正中動脈との間で圧上昇に有意差はみられなかった。なお、いずれの動脈においても電気刺激による収縮反応は tetrodotoxin (1-3 μg) 処置によって完全に消失した。

D Serotonin による収縮反応

イヌ耳介正中動脈標本が serotonin に対してきわめて鋭敏な収縮反応を示したことより、その収縮反応に関与する受容体について検討を加えた。

1 Methysergide の効果

Serotonin 受容体 (SR) と特異的に拮抗する methysergide を用い、serotonin の用量-反応曲線におよぼす効果を観察した。図14に示すように serotonin の用量-反応曲線は比較的少量 (0.01-0.1 μg) の methysergide 前処置によってほぼ平行に右へ移動し、競合的抑制がみられたが、1 μg 以上の methysergide を用いると用量-反応曲線の移動は平行でなくなり、最大反応も抑制された。

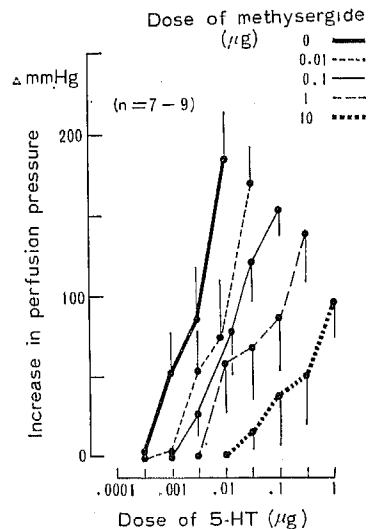


図14 イヌ耳介正中動脈の serotonin (5-HT) による収縮に対する methysergide の効果。

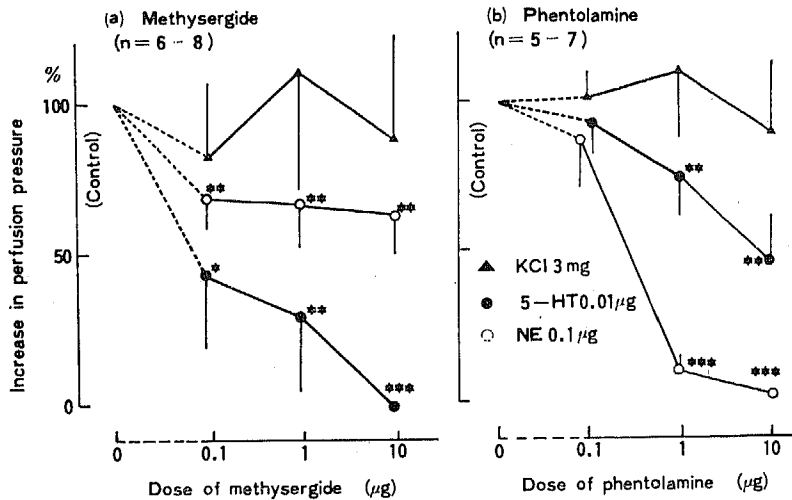


図15 イヌ耳介正中動脈の KCl, serotonin (5-HT), norepinephrine (NE) による収縮に対する methysergide (a) と phentolamine (b) の効果。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ でおのおの対照と有意差あり。

2 α アドレナリン受容体 (α -AR) の関与

Serotonin による収縮反応に α -AR が関与しているか否かを serotonin および norepinephrine に対する methysergide と phentolamine の効果を比較し検討した。Methysergide は serotonin (0.01 μ g), norepinephrine (0.1 μ g) による収縮をともに有意に抑制したが、その効力は serotonin に対する方が強く、また norepinephrine に対する methysergide の効果は用量依存性でなく、0.1-10 μ g の methysergide による抑制はほぼ同程度であった (図15(a))。Phentolamine は serotonin (0.01 μ g) および norepinephrine (0.1 μ g) による収縮をいずれも用量依存性に抑制したが、その効力は norepinephrine に対する方が優っていた (図15(b))。なお、methysergide, phentolamine ともに KCl 3 mg による収縮には有意の影響をおよぼさなかった。

IV 考 察

A 各種血管作動性物質に対する反応

血管作動性物質の動脈に対する作用については、*in vivo* および *in vitro* のいずれの方法をも含めて多大な研究がなされている。皮膚血管の特性を有するものとしてウサギ耳介動脈¹⁰⁾ やイヌ伏在静脈¹¹⁾ を用いた報告では、norepinephrine の収縮作用が serotonin のそれより強力であるとされているが、ヒト側頭

動脈¹²⁾ やヒト指動脈¹³⁾ では serotonin が norepinephrine より強力な収縮作用を示すと報告されている。今回の実験ではイヌ耳介正中動脈は norepinephrine より serotonin に対してより鋭敏に反応した。動物種差、部位差、血管径など複雑な要素が関与しているであろうが、イヌ耳介正中動脈の norepinephrine および serotonin に対する反応性は皮膚を灌流する血管としてはヒトに近いと考えられる¹⁴⁾。

イヌ耳介正中動脈は ATP, PGF_{2 α} に対しても強い収縮反応を示したが、今回の実験では詳しい検討は加えなかった。また histamine は二相性の反応 (収縮およびそれに続く拡張) を惹起したが、これは用いた標本の約半数においてのみ観察され、残り半数ではまったく反応はみられなかった。Histamine 受容体の H₁, H₂ 亜型と関連して非常に興味あるもので、今後の研究課題としたい。

B α アドレナリン受容体 (α -AR) を介する収縮反応

血管のシナプス後 α -AR に関しては種々の血管を用いて研究されており、 α_1 および α_2 両亜型の存在が知られている¹⁵⁾。静脈を用いた *in vitro* の実験では functional なシナプス後 α_2 -AR の存在が示されている¹⁶⁾¹⁷⁾ が、動脈における α_2 -AR の存在はおもに *in vivo* の研究あるいは放射性同位元素を用いた receptor assay 法を用いて示された結果であり¹⁶⁾⁻²¹⁾, *in vitro* の functional な α_2 -AR の存在を報告

したものは少ない。1980年、Ruffolo ら²²⁾はラット大動脈を用いて functional なシナプス後 α_2 -AR の存在を示し、以後この血管は α_2 -AR を有する動脈の典型と考えられてきた²³⁾²⁴⁾。しかし、種々の α_1 および α_2 -AR の選択的作動薬や拮抗剤を用いた実験結果からは単純にはラット大動脈に α_2 -AR が存在するとはいえず²⁵⁾²⁶⁾、さらに Digges と Summers²⁷⁾は yohimbine の立体異性体を用いてこの血管における α -AR は単一の α_1 -AR であるとしている。また、 α_2 -AR 選択的作動薬および拮抗剤として一般に用いられ、今回の実験でも使用した xylazine と clonidine および yohimbine は、いずれも十分な α_2 -AR 選択性を有していないことも指摘されている¹⁵⁾²⁸⁾²⁹⁾。このように functional なシナプス後 α_2 -AR の存在を証明することは必ずしも容易ではない。今回の実験では phenylephrine による収縮は prazosin によって競合的に拮抗され、yohimbine によっては有意の抑制を受けなかったことより、 α_1 -AR を介していると考えられる。Xylazine による収縮は yohimbine によって競合的に拮抗されたが、prazosin によっても抑制を受けた。ただし、prazosin の xylazine に対する作用は yohimbine より弱くまた抑制は競合的ではなかった。Xylazine による収縮が prazosin によって抑制されたことは xylazine には α_1 -AR 刺激作用もあることにより説明可能で²³⁾、イヌ耳介正中動脈の xylazine による収縮は主として α_2 -AR を介していると考えられる。Clonidine による収縮反応は prazosin と yohimbine のいずれによっても非競合的抑制を受けたが、これは clonidine の α_2 -AR 作動薬としての選択性が不十分なためと考えられる²⁸⁾。一方、Chiba と Tsukada³⁰⁾は今回の実験と同じ方法を用いて、イヌ腸間膜動脈標本は norepinephrine および phenylephrine には鋭敏な収縮反応を示すが、xylazine および clonidine には反応しなかったと報告している。このことも考慮に入ると、イヌ耳介正中動脈の摘出灌流標本は α_1 のみでなく α_2 -AR を介しても収縮反応を惹起される特性を有しているといえよう。ただし、 α_1 および α_2 -AR がおのおの独立して存在しているのか、 α_1 と α_2 の両性質を有する単一の α -AR が存在するのか、あるいは通常の α_1 、 α_2 -AR には分類できない別の型の α -AR の存在を想定すべきか²⁶⁾³¹⁾³²⁾については今回の実験結果から結論を下すことはできず、今後さらに検討を加えたい。また血管平滑筋における α_2 -AR の存在意義は十分に解明

されているとはいえないが、耳介正中動脈は主として皮膚に血流を供給する動脈であり、この標本が α_1 、 α_2 -AR のいずれを介しても鋭敏な収縮反応を示したことは、体温調節などに関連した生理的皮膚血流調節にこれらの受容体が何らかの役割を果たしていることを示唆するものと思われる³²⁾³³⁾。

C カテコラミン遊離を介する収縮反応

イヌ耳介正中動脈は腸間膜動脈と比較して、内臓側から投与された tyramine に対して非常に鋭敏な収縮反応を示すことが今回の実験により示された。以下この両血管の tyramine に対する反応性の差異について考察を加えたい。

まず、血管平滑筋の量あるいは収縮力そのものは KCl に対する反応性にほとんど差のないことから特別な相違はないと考えられる。また norepinephrine に対する感受性についても、耳介正中動脈が腸間膜動脈と比較して若干鋭敏な収縮反応を示してはいるが、tyramine に対する反応性の差を説明し得るほどの差異ではない。

交感神経節後線維分布密度の差は考えやすい理由ではある。低頻度の電気刺激に対しては耳介正中動脈が明らかにより鋭敏に反応したが、生理的範囲内にあると思われる 5 あるいは 10 Hz の刺激³⁴⁾では両血管で有意の差がみられなかったこと、さらに Hayashi ら³⁵⁾は螺旋標本にしたイヌ腸間膜動脈が tyramine によって著明な収縮反応を示すことを報告しており、交感神経節後線維分布密度の差を両血管の tyramine に対する反応性の差の主たる理由とすることは困難に思われる。また、交感神経節後線維の分布様式も問題となるが、ほとんどの動脈においては交感神経節後線維は外膜下、中膜表層部までにその分布が限られており³⁶⁾、耳介正中動脈と腸間膜動脈の間に明らかな差は想定しにくい。ただしこれら交感神経支配に関して厳密に論じるためには、組織化学的方法などによる直接的な検討が必要であろう。また、今回の実験で、経壁電気刺激に対する収縮反応が tetrodotoxin によってほぼ完全に消失したことは、電気刺激による血管平滑筋の直接刺激の可能性を否定するものであるし、Chiba と Tsukada³⁷⁾が示したように本実験に用いた経壁電気刺激法は特異的に交感神経を刺激している可能性が大きいとは考えられるものの、交感神経遮断剤や α アドレナリン拮抗剤の効果については今回の実験では検討しておらず、今後の課題としたい。

最後に catecholamine store の差についてであ

るが、Brandao ら³⁸⁾は tyramine による刺激と電気刺激とでは norepinephrine の放出様式が異なり、tyramine によっては小胞外軸索形質内にある norepinephrine が放出される可能性のあることを指摘している。イヌ耳介正中動脈にこのような tyramine に感受性の高い norepinephrine store が豊富であるとすれば、腸間膜動脈との tyramine に対する反応性の差を説明できるかもしれない。

結局、今回の実験結果からは両血管の反応性の差について理由を明確にはなし得なかったが、耳介正中動脈と腸間膜動脈との tyramine に対する反応性の差はきわだったものであった。皮膚に分布する血管は norepinephrine store が豊富であるとされており³⁹⁾⁴⁰⁾、また皮膚血管の緊張度の変化は体温調節などに関連した生理的皮膚血流調節において重要な要素であり、他臓器に分布する血管と比較してその収縮による血流量減少率は非常に高いことが知られている¹⁾。内臓側から投与された tyramine に対してイヌ耳介正中動脈が鋭敏な収縮反応を示す理由は不明といわざるを得ないが、皮膚血流調節に関して何らかの意義を有する可能性が考えられ⁴⁾、今後さらに検討を加えたい。

D Serotonin に対する反応性

Serotonin 受容体(SR)と α -AR とには相関のあることが知られている。Apperley ら⁴²⁾および Purdy ら⁴³⁾はウサギ大動脈では serotonin と norepinephrine とはおおの異なる受容体に結合するが、ウサギ耳介動脈では同一の受容体に結合すると考えられると報告している。また Tayo⁴⁴⁾によればウサギ耳介動脈には SR は存在せず、serotonin, norepinephrine とともに α -AR を介して作用するという。Stevens と Moulds¹³⁾はヒト指動脈および側頭動脈では serotonin は α -AR でなく特異的な SR を介して作用していると報告している。このように serotonin の作用とその特異的受容体との関係は実験に用いられる血管部位あるいは動物種差によって異なっている。

今回の実験で methysergide は比較的少量では serotonin の作用を競合的に抑制したが、phentolamine は serotonin に競合抑制を示さなかった。また methysergide は norepinephrine による収縮を抑制はしたが、その効力は serotonin に対するより弱くまた非競合的抑制であり、逆に phentolamine の serotonin に対する抑制効果は norepinephrine に対するより弱かった。これらの結果は Carroll ら⁴⁵⁾

がヒト側頭動脈について報告したものと同一傾向を示しており、イヌ耳介正中動脈の serotonin に対する収縮反応は主として特異的 SR を介して惹起されており、 α -AR の関与は部分的にすぎないと考えられる⁴⁶⁾。

Serotonin は血小板に含まれその凝集によって放出されることから、諸種の血管障害において血管攣縮や血管閉塞に重大な関与をしていると考えられている⁴⁷⁾⁴⁸⁾。主に皮膚を灌流するイヌ耳介正中動脈が特異的 SR を有し、かつ serotonin に対してきわめて鋭敏な収縮反応を示したことは、皮膚科領域においても血小板凝集による serotonin 放出が血行障害の成立に重要な因子であることを裏付けるものといえよう。

E 耳介正中動脈について

イヌ耳介正中動脈は耳介背面ほぼ中央に存在し、主に耳介背面皮膚と耳介軟骨に血流を供給する動脈である。軟骨の血液需要は少なく、したがって本動脈は主として皮膚を灌流する血管と考えられる。皮膚循環の調節には細小動脈から毛細血管ないし細小静脈にかけての微小循環が重要な要素となっており、耳介正中動脈の反応性を観察することで皮膚循環全体を代表させることはできない。しかし皮膚の微小循環を *in vitro* の実験モデルで観察することは手技的に必ずしも容易ではなく、耳介皮膚を主に灌流する支配血管である本動脈を皮膚血管の *in vitro* の実験モデルとすることは妥当と考えられる。

皮膚血管の反応性は身体部位によって異なり、特に皮膚血管の動静脈吻合であるいわゆる皮膚グロームス存在の有無による部位差は重要である。皮膚グロームスは指趾、耳介、鼻尖、尾などに存在し⁴⁹⁾、かかる部位では環境温度変化や精神的興奮などにより生理的に血行動態が顕著な変動を示す。またヒトにおいては、レイノー氏病、全身性進行性強皮症、全身性紅斑性狼瘡、凍瘡などに伴う血行障害性皮膚症状は指趾に好発するが、レイノー氏病を除き後3疾患では耳介もその好発部位である。このように耳介皮膚血管は生理的にも病態下においても重要な役割を有しており、その血管反応性を研究する皮膚科学的意義は大である。また、すでに述べたようにイヌ耳介正中動脈はその反応性においてヒトの主として皮膚を灌流する動脈に近い特性を有しており、皮膚の生理的・病態下での血行障害機序の解明に有用な標本といえる。

本論文の要旨は、第58回日本薬理学会総会(1985年3月)および第49回日本皮膚科学会東日本学術大会

(1985年10月)において発表した。

稿を終わるにあたり、御指導、御校閲を賜りました

本学薬理学教室千葉茂俊教授、ならびに恩師高瀬吉雄教授に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) Celerander, O. and Folkow, B. : A comparison of the sympathetic vasomotor fibre control of the vessels within the skin and the muscles. *Acta Physiol Scand*, 29 : 241-250, 1953
- 2) Ryan, T. J. : Cutaneous circulation. In : Goldsmith, L. A. (ed.), *Biochemistry and physiology of the skin*, pp. 817-877, Oxford University Press, New York, 1983
- 3) Tur, E., Tur, M., Maibach, H. I. and Guy, R. H. : Basal perfusion of the cutaneous micro-circulation. *J Invest Dermatol*, 81 : 442-446, 1983
- 4) Marks, R., Sawyer, M. and Barlow, J. W. : Glucocorticoid-induced vasoconstriction in canine skin. *Arch Dermatol Res*, 277 : 318-322, 1985
- 5) Chan, C. and Ford-Hutchinson, A. : Effects of synthetic leukotrienes on local blood flow and vascular permeability in porcine skin. *J Invest Dermatol*, 84 : 154-157, 1985
- 6) Guy, R. H., Tur, E. and Maibach, H. I. : Optical techniques for monitoring cutaneous micro-circulation. *Int J Dermatol*, 24 : 88-94, 1985
- 7) Bohr, D. F., Goulet, P. L. and Taquini, A. C. : Direct tension recording from smooth muscle resistance vessels from various organs. *Angiology*, 12 : 478-485, 1961
- 8) Hongo, K. and Chiba, S. : A new method for measuring vascular responsiveness of relatively larger arteries of dogs. *J Pharmacol Methods*, 9 : 83-91, 1983
- 9) Tsuji, T. and Chiba, S. : Potentiating effect of methysergide on norepinephrine-induced constriction of the isolated internal carotid artery of the dog. *Jpn J Pharmacol*, 34 : 95-100, 1984
- 10) De La Lande, I. S., Victoria, A. C. and Waterson, J. G. : The interaction of serotonin and noradrenaline on the perfused artery. *Br J Pharmacol*, 28 : 255-272, 1966
- 11) Yamamoto, M., Sakaki, H., Taira, N. and Hashimoto, K. : Responses of the canine saphenous vascular bed to various biogenic and foreign substances. *Tohoku J Exp Med*, 101 : 299-309, 1970
- 12) Carroll, P. R., Ebeling, P. W. and Glover, W. E. : The responses of the human temporal and rabbit ear artery to 5-hydroxytryptamine and some of its antagonists. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 52 : 813-823, 1974
- 13) Stevens, M. J. and Moulds, R. F. : Pharmacological comparison of human isolated digital arteries and metacarpal veins. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 9 : 129-138, 1982
- 14) Ito, T. and Chiba, S. : Vascular responses of isolated canine intermediate auricular artery to vasoactive substances. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 268 : 225-231, 1984
- 15) Van Zwieten, P. A. and Timmermans, P. W. M. W. M. : Cardiovascular α_2 -receptors. *J Mol Cell Cardiol*, 15 : 717-733, 1983
- 16) De May, J. G. and Vanhoutte, P. M. : Uneven distribution of postjunctional α_1 - and α_2 -like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle. *Circ Res*, 48 : 875-884, 1981
- 17) Vanhoutte, P. M. : Heterogeneity of postjunctional vascular α -adrenoceptors and handling of calcium. *J Cardiovasc Pharmacol*, 4 : s91-s96, 1982
- 18) Constantin, J. W., Gonnell, D. and Weeks, R. A. : α_1 and α_2 vascular adrenoceptors in the dog. *Eur J Pharmacol*, 66 : 281-286, 1980
- 19) Starke, K. and Docherty, J. R. : Types and functions of peripheral α -adrenoceptors. *J Cardiovasc Pharmacol*, 4 : s3-s7, 1982
- 20) Gerold, M. and Haeusler, G. : α_2 -Adrenoceptors in rat resistance vessels. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 322 : 29-33, 1983
- 21) Weiss, R. J., Webb, R. C. and Charles, B. S. : Alpha-2 adrenoceptors on arterial smooth

- muscle : Selective labeling by [³H] clonidine. *J Pharmacol Exp Ther*, 225 : 559-604, 1983
- 22) Ruffolo, R.R. Jr., Yaden, E.L. and Waddell, J.E. : Receptor interactions of imidazolines, V. Clonidine differentiated postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes in tissues from the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 213 : 557-561, 1980
 - 23) Ruffolo, R.R. Jr., Waddell, J.E. and Yaden, E.L. : Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbine in tissues from the rat. Existence of alpha-2 adrenergic receptors in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther*, 217 : 235-240, 1981
 - 24) Ruffolo, R.R. Jr., Waddell, J.E. and Yaden, E.L. : Heterogeneity of postsynaptic alpha adrenergic receptors in mammalian aortas. *J Pharmacol Exp Ther*, 221 : 309-314, 1982
 - 25) Dowing, O.A., Wilson, K.A. and Wilson, V.G. : Competitive and non-competitive blockade of α -adrenoceptors of rat aorta by prazosin. *Br J Pharmacol*, 73 : 290p, 1981
 - 26) Randrianitsoa, A., Heitz, C. and Stoclet, J.C. : Functional characterization of postjunctional α -adrenoceptors in rat aorta. *Eur J Pharmacol*, 75 : 57-60, 1981
 - 27) Digges, K.G. and Summers, R.J. : Effects of yohimbine stereoisomers on contraction of rat aortic strips produced by agonists with different selectivity for α_1 - and α_2 -adrenoceptors. *Eur J Pharmacol*, 96 : 95-99, 1983
 - 28) Docherty, J.R. and McGrath, J.C. : A comparison of pre- and post-junctional potencies of several alpha-adrenoceptor agonists in the cardiovascular system and anococcygeous of the rat. Evidence for two types of postjunctional alpha-adrenoceptor. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 312 : 107-116, 1980
 - 29) McGrath, J.C. : Evidence for more than one type of postjunctional α -adrenoceptor. *Biochem Pharmacol*, 34 : 467-484, 1982
 - 30) Chiba, S. and Tsukada, M. : Vasoconstrictor responses of isolated and perfused canine mesenteric arteries to alpha-adrenoceptor agonists. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 271 : 241-248, 1984
 - 31) Stevens, M.J. and Moulds, R.F. : Are the pre- and post-synaptic α -adrenoceptors in human vascular smooth muscle atypical? *J Cardiovasc Pharmacol*, 4 : s129-s133, 1982
 - 32) Ito, T. and Chiba, S. : Existence of two types of postjunctional alpha adrenoceptors in the isolated canine intermediate auricular artery. *J Pharmacol Exp Ther*, 234 : 698-702, 1985
 - 33) Janssens, W.J. and Verhaeghe, R.H. : Yohimbine inhibits the potentiation by moderate cooling of norepinephrine-induced contractions of canine blood vessels. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 256 : 173-174, 1982
 - 34) Folkow, B. : Impulse frequency in sympathetic vasomotor fibres correlated to the release and elimination of the transmitter. *Acta Physiol Scand*, 25 : 49-76, 1952
 - 35) Hayashi, S., Miyasaki, M. and Toda, N. : Responsiveness to vasoactive agents of cerebral and mesenteric arteries in an elastic and a muscular artery of the rabbit. *Br J Pharmacol*, 68 : 473-478, 1980
 - 36) Owen, M.P., Walsley, J.G., Mason, M.F., Bevan, R.D. and Bevan, J.A. : Adrenergic control in the three artery segments of diminishing diameter in rabbit ear. *Heart Circ Physiol*, 14 : H320-H326, 1983
 - 37) Chiba, S. and Tsukada, M. : Different sensitivity of blocking effects of α -adrenoceptor blocking agents on vascular responses to intraluminal norepinephrine and periarterial stimulation in isolated dog arteries. *Jpn J Pharmacol*, 38 : 83-89, 1985
 - 38) Brandao, F., Rodrigues-Pereira, E., Monterio, J.G. and Osswald, W. : Characteristics of tyramine-induced release of noradrenaline: Mode of action of tyramine and metabolic fate of the transmitter. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 331 : 9-15, 1980
 - 39) Bevan, J.A., Bevan, R.D., Purdy, R.E., Robinson, C.P., Su, C. and Waterson, J.G. : Comparison of adrenergic mechanisms in an elastic and a muscular artery of the rabbit. *Circ Res*, 30 : 541-548, 1972

- 40) Lee, T. J. F., Araki, H. and Su, C. : Tyramine-induced contractions in the rabbit ear and basilar arteries. *J Cardiovasc Pharmacol*, 3 : 956-976, 1981
 - 41) Chiba, S. Ito, T. and : Predominant sensitivity to tyramine in the isolated intermediate auricular artery of the dog. *J Auton Pharmacol*, 5 : 109-114, 1985
 - 42) Apperley, E., Femiuk, W., Humphrey, P. P. A. and Levy, G. P. : Evidence for two types of excitatory receptor for 5-hydroxytryptamine in dog isolated vasculature. *Br J Pharmacol*, 68 : 215-224, 1980
 - 43) Purdy, R. E., Hurlbut, D. E. and Rains, L. A. : Receptor for 5-hydroxytryptamine in rabbit ear artery and aorta. *Blood Vessels*, 18 : 16-27, 1981
 - 44) Tayo, F. M. : Agonist action of yohimbine on the perfused rabbit central ear artery. *Blood Vessels*, 19 : 197-202, 1982
 - 45) Carroll, P. R., Morgans, D. and Glover, W. E. : Blockade by phentolamine of the potentiation of histamine-induced vasoconstriction caused by serotonin and methysergide in the rabbit ear artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 4 : 43-48, 1977
 - 46) Ito, T. and Chiba, S. : Responses of isolated canine intermediate auricular arteries to 5-hydroxytryptamine and methysergide. *Eur J Pharmacol*, 104 : 105-110, 1984
 - 47) Moulds, R. F., Iwanov, V. and Medcalf, R. L. : The effects of platelet-derived contractile agents on human digital arteries. *Clin Sci*, 66 : 443-451, 1984
 - 48) Blackshear, J. L., Orlandi, C., Garnic, J. D. and Hoolenberg, N. K. : Differential large and small vessels responses to serotonin in the dog hindlimb; *in vivo* role of 5-HT₂ receptor. *J Cardiovasc Pharmacol*, 7 : 42-49, 1985
 - 49) Jukubovic, H. R. and Ackerman, A. B. : Structure and function of skin. In : Moschella, S. L. and Hurley, H. J. (ed.), *Dermatology*, 2nd ed., pp. 1-74, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1985
-

(60. 11. 22 受稿)