

ラット大動脈における脈波伝播速度の測定に関する検討

藤田幸雄、吉岡伸彦、村松成司、片岡幸雄

(千葉大学教養部)

A study on the measurement of pulse wave velocity of the aorta in rats

Yukio FUJITA, Nobuhiko YOSHIOKA, Shigeji MURAMATSU
and Yukio KATAOKA

(The College of Arts & Sciences, Chiba University)

Abstract

The purpose of this investigation was to develop the method for the measurement of Pulse Wave Velocity (PWV) of the aorta in young (10 weeks old) and adult (31-38 weeks old) Wistar Control Rats (WCR) and Spontaneously Hypertensive Rats (SHR; 31-38 weeks old). We also evaluated the effect of the injection of an α_2 -adrenoceptor agonist (Clonidine) upon PWVs under various diastolic blood pressures.

The results were as follows;

- 1) Clear pulse waves were detected on carotid and femoral artery, PWVs were able to be measured under various diastolic blood pressures in various aged WCR and SHR.
- 2) There was no significant influence of Clonidine injection upon PWVs under various diastolic blood pressures in WCR.
- 3) The blood pressure in SHR showed remarkable changes during and or after injection of Clonidine in comparison with that in WCR.
- 4) There was no significant difference between PWVs in 10 weeks aged WCR and those in 31-38 weeks aged WCR.
- 5) PWVs in 31-38 weeks aged SHR were significantly greater than those in 31-38 weeks aged WCR.

【諸 言】

高血圧あるいは高脂血症が長期間継続した場合、大動脈のアテローム性硬化や線維筋性硬化が生じることが知られている。動脈硬化により動脈の本来もつ弾性に変化が生じてくるが、この弾性の指標として脈波伝播速度 (Pulse Wave Velocity; 以下PWVと略称する) がよく用いられており、ヒ

トや実験動物において測定されてきた³⁾⁸⁾¹⁰⁾¹⁶⁾。そしてこれらのPWVの値と大動脈内膜の脂肪沈着や変性を定量化した数値との間には、相関が認められることが報告されている²⁾¹⁹⁾²⁰⁾。

実験動物における観血的なPWVの測定法には種々の工夫がなされている。Macdonald (1968)⁸⁾ はイヌを使用し、動脈上のごく接近した2点の

脈波を動脈の側圧を利用する方法で同時記録し、下行大動脈の各部と腸骨動脈について、それぞれのPWVを求めている。Farrar et al. (1984)³⁾は大動脈弓内に挿入したカテーテルによる脈波形と、大腿動脈から胸部大動脈まで挿入したカテーテルによる脈波形を同時記録しながら、後者のカテーテルを5~10cmずつ引き抜いてゆく方法で、サルのPWVを測定した。また青木(1973)²⁾は吉村 et al. (1970)¹⁹⁾が行ったヒトにおける非観血的方法と同様の方法を用い、ウサギのPWVと動脈硬化度との関係を調べている。

これら比較的大きな実験動物に対し、ラットは成熟したものでも300g~600g程度であり動脈もきわめて細く、この実験動物においてPWVの測定を検討した報告はほとんど見あたらない。ラットは高脂食を負荷しても比較的アテローム性動脈硬化を起こしにくいとされている。しかし高血圧のモデル動物である自然発症高血圧ラット

(Spontaneously hypertensive rats; 以下SHRと略称する)¹⁰⁾では、加齢にともない線維筋性の硬化が認められており、種々の性質を有するラットの動脈を用いてその弾性に対する加齢や高血圧の影響、運動や食餌の影響などを調べることは、きわめて意義深いものと思われる。

本研究ではラットにおける大動脈波伝播速度の測定法を開発し、その問題点を検討するとともに、Wistar系のラットとSHRについて測定を行うことによって、加齢による変化、高血圧の影響などをあわせて検討した。

【実験方法】

実験には10週のウイスター系のラット (Wistar control rats; WCRと略称する) の雄6匹と31~38週齢のWCRの雄6匹、SHRの雄6匹を用いた。

Pentobarbital sodium 40mg/kgを腹腔内に投与

することによってラットを麻酔し保温板上に背臥位に固定後、各部の手術を行った (Fig. 1)。

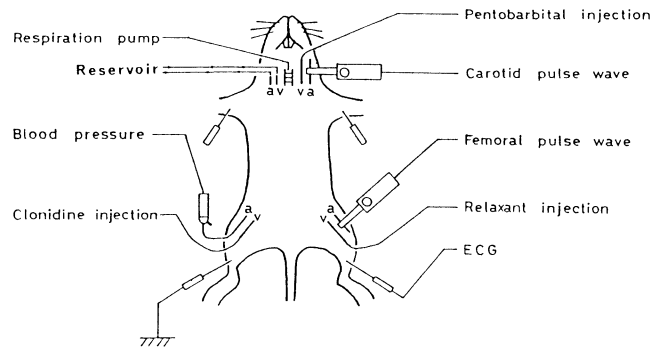


Fig. 1 ラットにおける大動脈脈波伝播速度測定の様式図

まず気管を露出してカニューレを挿入、このカニューレを呼吸ポンプにつなぎ、人工呼吸を行った。麻酔薬の追加投与は左総頸静脈に挿入したカテーテルを用いて、100μg/kg/minの割合で連続的に行った。大腿動脈血圧は、ヘパリンリンガーを満たしたカテーテルの一端を右大腿動脈に挿入し、他端を圧トランスデューサーに接続することによって測定した。また右の大腿動脈にもカテーテルを挿入、筋弛緩剤の投与に備えた。

これらの手技を施した後左総頸動脈及び左大腿動脈を露出、隣接する組織より分離し、それぞれに脈波検出用のセンサーを装着した。このセンサーは長さ20mm、先端部の横幅2mm、基部の横幅4mm厚さ0.2mmのプラスチックフィルム(中央部にストレインゲージ タテ6mm×ヨコ3mm、120Ω)を接着したもので、このフィルムの先端部位が動脈の外壁と接触する。脈圧によるこのフィルムの変形は、ブリッジ回路を用いることによりストレインゲージの抵抗値の変化として検出することができ、これを搬送波アンプリファイアに入力した。

このセンサーを総頸動脈、大腿動脈の2箇所装着して脈波形を同時記録し、両者の位相のずれを測定した。一方、左心室に隣接する大動脈起始部から2カ所のセンサーの装着部までの、脈波が

伝播してゆく距離を、実験終了後の解剖時にそれぞれ実測した。この距離の差を前述の位相の時間差で徐し、その商を大動脈のPWVと定義した。

さらにPWVの測定中に、モニターしている動脈圧を、拡張期血圧で50、75、100、125、150、175mmHgの値に変化させ、その条件での測定も行った。血圧を変化させるため右大腿動脈よりClonidineを投与する（5 μ g/kgを10分間かけて投与）方法と、右の総頸動脈から脱血する方法の2種類を用いた。この際脱血した血液はいったんリザーバーに貯留した後、左総頸静脈から還血した。それぞれの方法で同じレベルの拡張期血圧を設定してPWVを測定、両方法で得られた値の比較検討を行った。Clonidineの投与と脱血操作の順序はランダムに設定した。またECGを四肢誘導で記録した。

すべてのデータは、いったんデータレコーダーに収録後、デジタルオシロスコープにディスプレイして計測し、X-Yレコーダーにて収録した。

【実験結果】

1. ラットの麻酔下血圧に対するClonidine投与の影響

SHRとWCRの麻酔下直接血圧（収縮期血圧）がClonidine投与によって変化する経過をFig. 2に

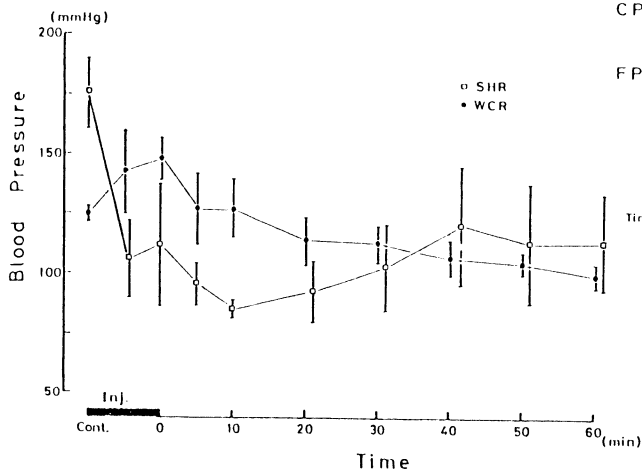


Fig. 2 Clonidine投与による血圧の経時的変化

まとめて示した。WCRではこの値は投与直後に若干の増加を示し、その後徐々に減少する。SHRでは投与直後から急激に減少し、投与終了からほぼ10分後に最低値に達する。この最低値は約90 mmHgであり、ほとんどすべての個体においてこの値は同じレベルであった。その後この収縮期血圧の値は時間経過とともに、徐々に回復してゆく。WCRに比べSHRは、Clonidine投与に対して反応が顕著であった。

2. 大動脈脈波伝播速度に対するClonidine投与の影響

Fig. 3にPWV測定に用いたデータの一例を示した。図中の点線が両脈波の波形の立ち上がり時点を示し、その差分tが位相の時間的ずれを示している。

Clonidine投与によって血圧を変化させ測定したPWVと、脱血によって血圧を変化させて測定したPWVとの比較をFig. 4に示した。どの拡張期血圧においても、両方法との間に差は認められなかった。同一個体によって得られた両方法によるPWVの値の関係を表す分散図をFig. 5に示したが、両方法の間には0.990という相関係数を得た。

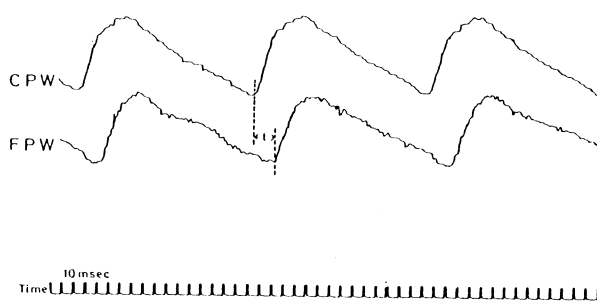


Fig. 3 大動脈脈波伝播速度測定に用いた生データの一つ上から頸動脈脈波（Carotid Pulse Wave; CPW）、大腿動脈脈波（Femoral Pulse Wave; FPW）、そして時標である

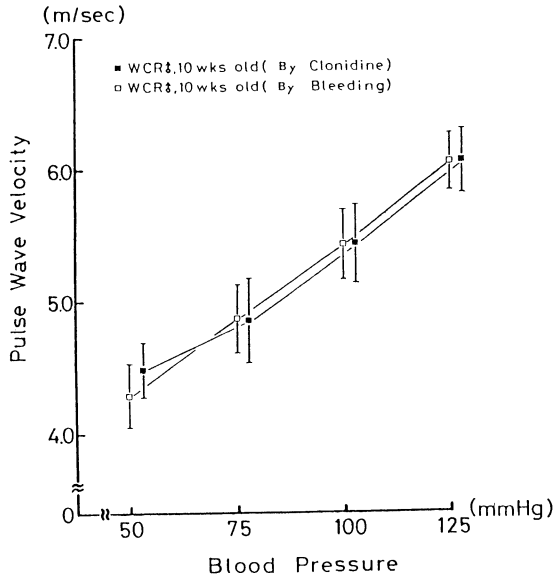


Fig. 4 Clonidineの投与による方法で得られたPWVと脱血による方法で得られたPWVとの比較

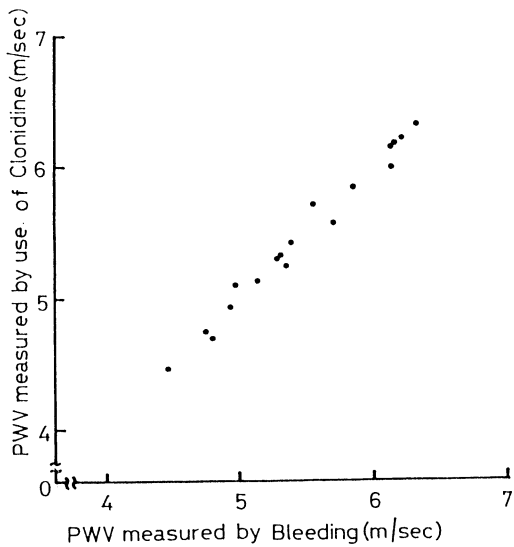


Fig. 5 Clonidineの投与による方法で得られたPWVと脱血による方法で得られたPWVとの相関

3. 加齢による影響とSHRにおける値

Fig. 6でWCRの雄の10週齢時のPWVと31~38週齢時のPWVを比較してあるが、どの拡張期血圧下でも両者に有意な差は認められなかった。また同図には31~38週齢のSHRとWCRにつ

いて得られたPWV値も示したが、どの拡張期血圧下においても、SHRの値はWCRの値に比べて有意に高かった。

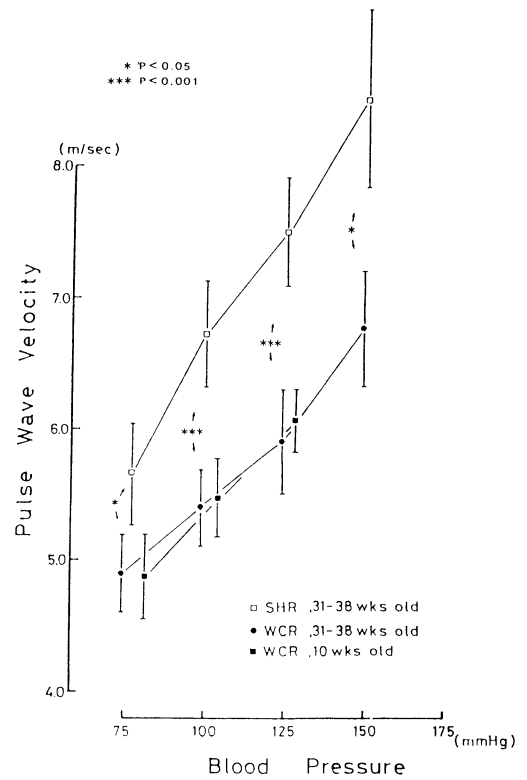


Fig. 6 各拡張期血圧下で得られたPWVの各群間の比較

【考 察】

SHRは遺伝的に高血圧を発症するが、発症の初期においては動脈系の変性を伴わない末梢血管抵抗の上昇のみが認められる。そしてさらに高血圧が持続し定着した段階になると、二次的な変化として大動脈、細動脈等に器質的な変性が生じてくる。第一にみられる末梢血管抵抗の上昇には、循環調節系の中でも神経性の要因が主に関与していることが指摘されているが¹²⁾、これは交感神経血管収縮線維の活動レベルの上昇⁶⁾⁷⁾という形で現れる。動脈系の器質的な変化といった非神経性の要因は、主に高血圧が発症した後それを維持することに関与していることが報告されている¹⁷⁾。

SHRの高血圧は無麻酔下において調べられてきたが、麻酔下でもSHRの血圧は通常血圧のラットより高値を示す。麻酔の導入が血圧を変化させることは十分に考えられるところであり、Smith & Hutchens (1980)¹⁵⁾は各種の麻酔薬がWistar系のラットやSHRの血圧に対する影響を詳細に調べ、ラットの麻酔によく用いられるPentobarbital sodiumは末梢血管抵抗を下げ、動脈血圧を低下させることを報告している。

Clonidineは α_2 -リセプター刺激薬であり、とくに中枢性 α_2 -リセプター刺激により中枢を介して交感神経を抑制することが知られている⁴⁾。31~38週齢のSHRではすでに動脈系の器質変化が生じており、高血圧の要因がかなり非神経性のものに移行しているものと思われる。しかし一方ではPentobarbital sodium麻酔の影響下においても反応が速くまた顕著であるという結果が得られたことから、この週齢のSHRでも交感神経中枢の活動レベルは、WCRよりもかなり高いものであることが推察される。

PWVの測定は各拡張期血圧下で行い、その血圧の操作にはClonidineの投与によるものと、総頸動脈からの脱血によるものの2種類を設定した。脱血により血圧を低下させることは物理的な方法であり、薬理的な方法によって血圧を操作することに比べて、大動脈にたいする影響が少ないと考えられる。しかしながら手術を要する箇所が多く、また脱血した血液を貯留中に保温、凝固防止などの措置を取らなければならず、還血後のラットに対して与える影響はかえって大きくなる可能性がある。

大動脈のような弾性型の動脈では、細動脈のような筋型のものと異なり、交感神経血管収縮線維の分布はほとんどないと考えられており、ヒトにおけるPWV測定の際にはこの活動の影響は無視できる範囲であるとされている¹⁹⁾²⁰⁾。ラットの大動脈壁には α_2 -リセプターが存在することが知られており¹³⁾¹⁴⁾、血中へのClonidineの投与がPWVに

影響を与える可能性も考えられるところである。しかしながらこのClonidineの投与によって得られた各血圧下でのPWVと、脱血による方法で得られたPWVとの間には、差が認められなかった。またラットと同じく動脈壁に α_2 -リセプターの存在が確認されているウサギを用いた実験では、Noradrenalin (Norepinephrine)の投与がPWVに与える影響は、拡張期血圧が60mmHg以下の時だけであり、それ以上の血圧下ではPWVには変化が認められないという結果が得られている¹⁾。今回のPWV測定で設定した拡張期血圧は75mmHg以上であり、本研究で行ったClonidineの投与がPWVに与える影響は、ほぼ無視できるものと思われる。

PWV測定に用いた今回の方法は、2箇所を同時計測した脈波形の位相差を測定し、この値でそれぞれへの伝播距離の差を除くというもので、原理的にはWoolam et al. (1962)¹⁶⁾と同様である。300~600g程度の体重であるラットの動脈径はウサギ、イヌ等に比べてかなり小さいものである。そのため脈波検出用のセンサーの装着には細心の注意が必要となる。予備実験段階で、脈波形を安定して検出できる部位を検討したところ、走行が直線的で手術も比較的簡便なことから、総頸動脈、大腿動脈の2箇所が最適であると判断した。この2箇所から得られた脈波形からPWVの測定値を得るには、それぞれ心臓から総頸動脈を上行してゆく脈波と、下大動脈を下行してゆく脈波の速度に差がないという仮定が必要である。

しかしながらこの両動脈では壁厚や直径が異なる上、分岐や屈曲の程度にも差がある。このことが脈波の伝播にどの程度の影響があるかについてはまだまだ不明な点が多く、さらに検討してゆきたい。

SHRの大動脈においては、血圧の状態に応じた適応性の中膜肥厚が生じることが知られており、これは線維筋性硬化と呼ばれる変化と考えられる。Nordborg & Johannsson (1979)⁹⁾はSHRの動

脈では中膜厚／内径比が増大していることを示しており、またGreenberg(1979)⁵⁾も血圧に依存したSHRの動脈の肥厚を認めている。Yamori(1976)¹⁰⁾は高血圧の存在により、その物理的ストレッサーに対してコラーゲン、非コラーゲン蛋白の合成が促進することを見いだしている。31～38週齢程度のSHRにおいてはこれらの器質的な変化が十分に生じているものと推察でき、これが血管弾性に影響を与えて各拡張期血圧下におけるPWVの有意な増加につながったものと思われる。またWCRなどの通常血圧のラットでは、動脈弾性に対する加齢の影響はほとんどなく、PWVも変化しないものと考えられる。

以上のことから、PWVはラットの大動脈においても十分測定可能であり、大動脈の弾性を示す指標の1つとなつてと思われる。またこの測定値に対してClonidineの投与が与える影響は認められず、この投与下におけるPWVの測定値の信頼性が示された。このPWV測定法を用いることにより、SHR等疾患モデル動物を含むラットの動脈に対して、運動や食餌、薬物等の影響を調べることが可能となるものと考えられる。

【要 約】

本研究ではラットの大動脈において脈波伝播速度(PWV)を測定する方法を開発しその問題点を検討するとともに、Wistar系のラット(WCR)と自然発症高血圧ラット(SHR)を用いて、PWVの値に対する高血圧の影響、加齢の影響をあわせ検討した。その結果は以下の通りである。

1)ラットの総頸動脈、大腿動脈において脈波形を検出することが可能であり、種々の拡張期血圧下においてPWVを得た。

2)PWV測定中に拡張期血圧を操作するため、脱血による方法とClonidineを投与する方法を用いたが、両方法で得られたPWVの値の間には差は認められなかった。

3)SHRではWCRよりもClonidineに対する降

圧反応が顕著であった。

4)10週齢のWCRと31～38週齢のWCRの間には、PWVの差は認められなかった。

5)31～38週齢のSHRでは同週齢のWCRに比べ、PWVが有意に高かった。

【参考文献】

1) Aars,H.: Diameter and elasticity of the ascending aorta during infusion of nor-adrenaline.

Acta Physiol.Scand., 83, 133-138, 1971.

2) 青木一雄: 生体家兎大動脈弾性特性に関する研究—in situにおける脈波速度および口径変化について —

脈管学, 13, 149-166, 1973.

3) Farrar,D. J., Bond,M. G., Sawyer,J. K. and Green,H. D.:

Pulse wave velocity and morphological changes associated with early atherosclerosis progression in the aortas of cynomolgus monkeys. Circ.Res., 18, 107-118, 1984.

4) Frisk-Holmberg,M.: Effect of clonidine at steady state on blood pressure in spontaneously hypertensive rats.

Acta,Physiol.Scand., 120, 37-42, 1984.

5) Greenberg,s., Palmar,E. C. and Wilborn, W. M.: Pressure-independent hypertrophy of veins and pulmonary arteries of spontaneously hypertensive rats. Characterization of function, structural and histochemical changes.

Clin. Sci. Mol. Med., 55, 31s-36s, 1978.

6) Iriuchijima,J.: Sympathetic discharge rate in spontaneously hypertensive rats . Jap. Heart J., 14, 350-356, 1973.

7) Judy,W. V.,Watanabe,A. M.,Henry,D. P., Besch Jr., H. R.,Murphy,W. R. and Hockel,G. M.: Sympathetic nerve activity; Role in regulation of blood pressure in the

spontaneously hypertensive rat. *Circ. Res.*, 38, Suppl. II, 21-29, 1976.

8) Macdonald, D. A. : Resional pulse-wave velocity in the arterial tree. *J. Appl. Physiol.*, 24, 73-78, 1968.

9) Nordborg, C. and Johansson, B. B. : The ratio between thickness of media and internal radius in cerebral, mesenteric and renal arterial vessels in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Sci.*, 57, 27s-29s, 1979.

10) Nye, E. R. : The effect of blood pressure alteration on the pulse wave velocity. *Brit. Heart J.*, 26, 261-265, 1964.

11) Okamoto, K., Tabei, R., Fukushima, M., Nosaka, S., Yamori, Y., Ichijima, K., Haebara, H., Matsumoto, M., Maruyama, H., Suzuki, Y. and Tamegai, M. : Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats.

Jap. Circ. J., 30, 703-716, 1966.

12) Okamoto, K., Nosaka, S., Yamori, Y. and Matsumoto, M. :

Participation of neural factor in the pathogenesis of hypertension in the spontaneously hypertensive rat.

Jap. Heart J., 8, 168-180, 1967.

13) Ruffolo, R. R. Jr., Yaden, E. L. and Waddell, J. E. : Receptor interactions of imidazolines. V. Clonidine differentiates postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes in tissues from the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 213, 557-561, 1981.

14) Ruffolo, R. R. Jr., Waddell, J. E. and Yaden, E. L. :

Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes defferentiated by yohimbine in tissues from the rat.

rat aorta.

J. Pharmacol. Exp. Ther., 217, 235-240, 1981.

15) Smith, T. L. and Hutchens, P. M. : Anesthetic effects on hemodynamics of spontaneously hypertensive and wistar-kyoto rats. *Am. J. Physiol.*, 238, H539-H544, 1981.

16) Woolam, G. L., Schnur, P. L., Vallbona, C. and Hoff, H. E. :

The pulse wave velocity as an early indicator of athero-sclerosis in diabetic subjects.

Circulation, 15 533-539, 1962.

17) Yamori, Y. : Neural and non-neural mechamisms in spontaneous hypertention. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 51, 431s-434s, 1976.

18) Yamori, Y. : Vascular protein metabolism in the pathogenesis of hypertension. *Jap. Circ. J.*, 40, 879-886, 1976.

19) 吉村正蔵、須階二郎、岡村哲夫、長谷川元治、林 哲郎、中村葉二、大塚文輝、白川幹郎、藤井清史、青木一雄 :

大動脈脈波速度検査法、呼吸と循環、18, 101-107, 1970.

20) 吉村正蔵、長谷川元治、荒井親雄、阿部正威、相沢義則、川崎 健、三川武彦 : 脈波伝播速度と動脈硬化、臨床病理、21, 79-86, 1973.

(1990年12月1日受付)