

Measurement of difference of smooth muscle contraction in circumferential sections
at rabbit's descending thoracic aorta(DTA)

○ 学 城野 貴洋(名工大) 正 長山 和亮(名工大)
正 松本 健郎(名工大)

Takahiro SHIRONO, Nagoya Institute of Technology, Nagoya 466-8555
Kazuaki NAGAYAMA, Nagoya Institute of Technology
Takeo MATSUMOTO, Nagoya Institute of Technology

Key Words: Vascular biomechanics, Smooth muscle, Difference of contraction in circumferential sections

1. 緒言

血管の力学特性を解明することは、人工血管の開発等で必要となるだけでなく、高血圧・動脈硬化などの病態の解明にもつながると考えられている。このために主に用いられてきた実験方法に内圧-外径試験がある。内圧-外径試験は血管試料に内圧を負荷し、その時の外径を計測することにより、試料の内圧-外径関係を求めるものである。この内圧-外径関係を基にして血管の力学特性の解明が数多く行われてきた。

内圧-外径試験は血管壁周方向の力学特性が一様であるということを暗黙の前提として行われている。ところが最近、この前提が必ずしも正しくないことが明らかになってきた。すなわち、杉田ら(2003)¹⁾は内圧を負荷した血管壁の円周方向の伸長比が背側より腹側において有意に大きいことを報告している。彼らは、血管試料の同一円周上に周を4等分するように針を4本、表面に垂直になるように刺し、加圧時の血管の変形の様子を血管側面ならびに軸方向より撮影した。そしてこの画像より、針間の周方向間隔を計測し、加圧に伴う血管壁周方向の伸びの違いを計測した。ここから、加圧に伴い血管壁腹側の方が背側よりもよく伸びることを見出した。しかし彼らの実験では、血管壁内平滑筋が受動的な状態での計測が行われただけであり、平滑筋の周方向部位による収縮量の違いについては明らかにされてはいなかった。そこで本研究では、血管壁内平滑筋の周方向部位による収縮量の違いを調べることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 実験装置

実験装置の概略を Fig.1 に示す。圧力は、空気圧をリザーバで液圧に変え、これを試料に内圧として負荷した。圧力の測定には圧力トランスデューサ(TNF-R, Viggo-Spectramed)を用い、この出力電圧をストレインアンプ(AS1201, 日本電気三栄)で増幅し A/D 変換を有するデータ集録ハードウェア(DAQ-card 1200, National Instruments)を介して PC に取り込んだ。圧力制御は汎用計測・制御ソフト(LabVIEW Ver.6.1, National Instruments)で作成したプログラムを用い、電空レギュレータ(ITV0011-3CL, SMC)の入力電圧を制御することにより実施した。血管試料に刺した針の挙動は 1 台の CCD カメラ(CS3150, 東京電子工業)と 2 台のデジタルカメラで撮影した。ここで、血管試料を軸方向から観察できるように、先端にプリズムをつけ水密としたアクリル製の筒に CCD カメラを入れた。CCD カメラ

での画像はタイマ(VTG-33, 朋栄)を介し VCR(HR-VX100, ビクター)に接続することで画像記録した。また、2 台のデジタルカメラは軸方向と直行する 2 方向から撮影した。加えて、生理状態に近い環境で実験するために、試料槽内を Krebs-Henseleit 液(以下 KH 液)で満たした。槽の外側に恒温槽(TR2, 井内盛栄堂)で温水を循環させることで KH 液を 37°C に保つとともに、95% O₂+5% CO₂ ガスでバブリングすることで酸素加した。

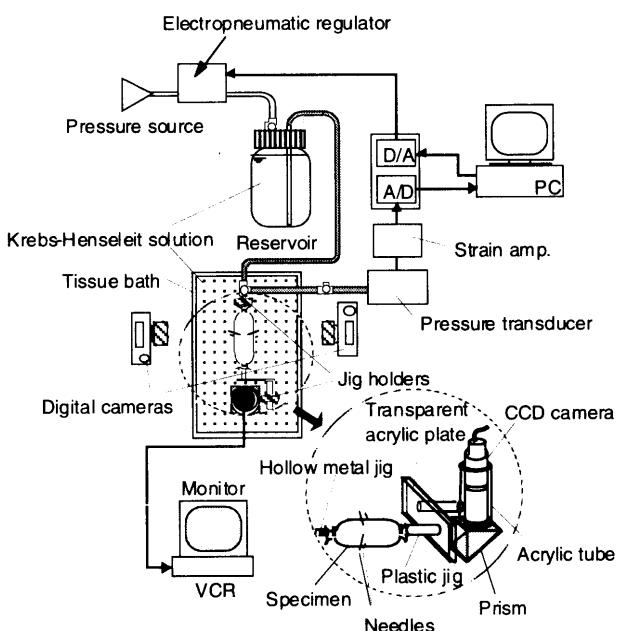


Fig.1 Experimental setup.

2.2 試料

血管試料として、ウレタンの大量投与で屠殺した日本白色家兔(オス、体重 2.5~3kg)の胸部下行大動脈を摘出した後、生体内長 30mm ごとに 3 本に分けたものを用いた。血管は、平滑筋の活性を保つために摘出後すぐに 4°C の KH 液に入れ、冷蔵庫で保管した。また、実験の際に生体内長および腹側がわかるようにするために、あらかじめ摘出前に gentian violet を用い腹側に 5mm 間隔で点列をつけておいた。実験は全て、摘出から 24 時間以内に行った。

2.3 針の概要

血管壁周方向を領域分けするため、針径 0.4mm の注射針(皮下針 1/5, MATSUYOSHI & CO., LTD.)を用いた。また針に次のように手を加えた。先端に瞬間接着剤を詰め中実

とした針を先端から 5~6mm のところで切断し、切断端をヤスリでとがらせた。また、実験時に針の脱落を防ぐため、針先端近くに瞬間接着剤を少量つけ試料に針を刺した。(Fig. 2)

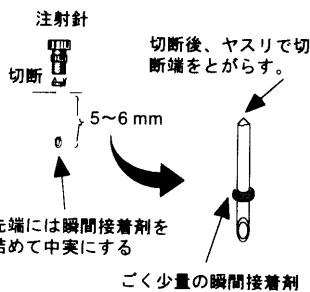


Fig.2 Fabrication of the marker needles.

2.4 実験手順

まず、実験装置に取り付ける前の血管長を計測し、実験装置に試料の長さが生体内長と同じになるように取り付けた。その後、日本白色家兎の平均血圧である 80mmHg を試料に内圧として負荷し、この状態で試料に針を 4 本、表面に垂直に外周を 4 等分するように刺した。そして約 1 時間この状態で放置した後、プレコンディショニングを行い、実験を開始した。実験の手順は以下の通りである。なお、実験は生理状態に近い環境で行うため、試料槽内の KH 液を 37°C に保つと同時に酸素加した。

(1) 平滑筋収縮前の内圧－外径試験

0mmHg から 20mmHg 毎に、一定圧に保ち 3 方向より画像を記録し、その後約 3mmHg/s の速度で加圧するという操作を 200mmHg に達するまで繰り返し行った。この後、200mmHg から 0mmHg まで約 3mmHg/s の速度で減圧した。

(2) 平滑筋収縮試験

0mmHg から 80mmHg まで約 3mmHg/s の速度で加圧し一定圧に保ち、まずノルアドレナリン(以下 NE)投与前の状態を 3 方向より画像記録した。その後、NE を試料槽に 10^{-5} M となるように投与した。平滑筋収縮による外径収縮が顕著に見られる投与後 10 分までは 1 分毎に 3 方向から画像を記録し、またその後の投与後 30 分までを 5 分毎に 3 方向から画像を記録した。そして投与後 30 分で収縮完了と見なし、80mmHg から 0mmHg まで 20mmHg 毎に一定圧に保ち、3 方向から画像記録をし、約 3mmHg/s の速度で減圧する、という操作を繰り返した。

(3) 平滑筋収縮後の内圧－外径試験

平滑筋収縮前の内圧－外径試験と同様の操作を行うことにより実施した。

2.5 画像解析

軸方向画像のパソコンへの取り込みおよび画像解析には、画像解析用ソフト(NIH Image 1.62 f, NIH)を用いた。

まず軸方向画像と半径方向画像のスケールが等しくなるように画像を拡大した。その後、半径方向画像から針の根本位置を確認し、また軸方向画像から針の傾きを確認し、Fig.3 に示すように作図することにより軸方向画像上での根本位置を決定した。

このようにして決定した針根元位置から各針間の区間円周長を算出した。区間円周長の計測方法としては、杉田ら(2003)の行った計測方法に従った¹⁾。

区間円周長を計測した後、次の式を使うことによって、NE 投与 t 分後の区間 n の収縮率を算出した。

$$\% \Delta L_{nt} = \frac{L_{n0} - L_{nt}}{L_{n0}} \times 100$$

L_{nt} : NE 投与 t 分後の区間 n の円周長

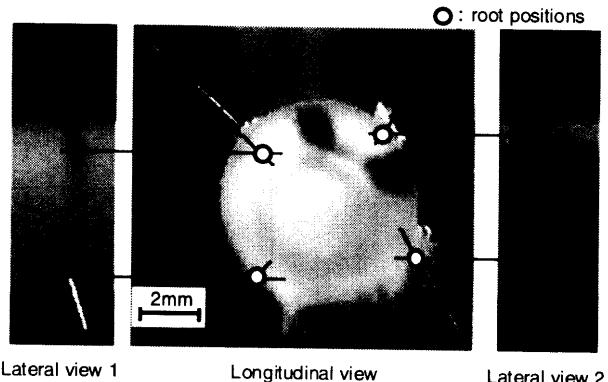


Fig.3 Determination of the root positions of the needles.

3. 結果および考察

NE 投与 10 分後の収縮率を区間毎にまとめたものを Fig.4 に示す。腹側の収縮率は $30.0 \pm 4.4\%$ であるのに対して、背側の収縮率は $17.8 \pm 4.2\%$ とこれより有意に小さかった。一方、左右の収縮率には有意差はなく、腹側と背側の値のほぼ中間であった。

このような結果が生じた原因として以下のことが考えられる。すなわち生体内では、胸部下行大動脈は背骨に沿っているため、血管壁の背側は拘束されているが、腹側はあまり拘束されてはいない。このため、心拍に伴って血管は腹側の方がよく収縮・拡張する。このように、より大きな繰り返し引張を受けていることで、血管壁腹側の平滑筋の方が背側の平滑筋よりも力学的反応が活発になっているのではないかと考えられる。

今後は、組織観察や単離した平滑筋細胞の引張試験を行い、今回の結果の原因究明をする予定である。

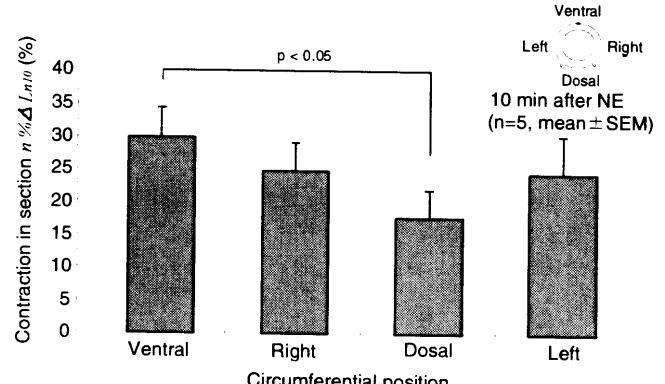


Fig.4 Difference among circumferential positions at smooth muscle contraction. (10 min after NE)

参考文献

- 1) 杉田修啓, 松本健郎, 佐藤正明: 軸方向からの観察による血管壁内ひずみの周方向領域別計測, 日本機械学会論文集 A 編, 69 卷 677 号 (2003)