高血圧モデルウサギの後肢筋誘発運動と Exercise Hyperemia の発現について

竹宮 隆・鈴木淳一*・前田順一・西村千尋**

Evidence of exercise hyperemia in WHHL rabbit hindlimbs

Takashi TAKEMIYA, Junichi SUZUKI*, Junichi MAEDA and Chihiro NISHIMURA**

These experiments were undertaken to assess the responsibility of arterioles to permit the reactive and exercise hyperemia in 9 Watanabe heritable hyperlipidaemic (WHHL) rabbit aged 6-17 months. Twelve normal rabbits, aged 6-17 months, were used as controls. Under stable condition of systemic blood pressure after anesthesia with urethane, venous outflow from the in situ hindlimb muscles was continuously measured by the drop count method.

The effect of sciatic nerve cut on muscle bood flow increase showed no significant difference in both rabbits. Reactive hyperemia after the release of femoral arterial occlusion was observed markedly in WHHL rabbits as well as in normal rabbits. Muscle exercise by 5 Hz stimulation of sciatic nerve end sectioned produced exercise hyperemia of 185.6±20 %(9) in the WHHL and of 190.2±41 %(16) in normal rabbits. No significant difference existed. However, vascular resistance in WHHL rabbit showed significantly higher values at rest and exercise, as compared with normal rabbit. Intravenous injection of norepinephrine (NE) produced decrease of muscle blood flow in WHHL rabbit. Exercise hyperemia (5 Hz) in NE-induced blood flow decrease showed similar pattern to the control (non-NE) in WHHL rabbit.

These results suggest that evidence of exercise hyperemia may be conceivable of active vascular response in artery-arteriole of WHHL rabbit hindlimb.

Key words : WHHL rabbit, Exercise hyperemia, Artery-arteriolar response

緒　言

人間の筋運動やウサギ後肢の誘発筋運動では exercise hyperemia（運動性高血流）が顕著に観察され，その血流増大量もほぼ運動強度に比例することが知られている[6,14,16,17]。特に，全身麻酔下のウサギ後肢末梢循環研究では，全身の血圧すなわち後肢への入力血圧が安定条件下に規制されているにもかかわらず後肢筋の誘発筋運動による運動性高血流が観察され，この理由に末梢血管の拡張すなわち細動脈平滑筋の弛緩による血管抵抗の減少が考えられている。誘発筋運動は坐骨神経の断端末梢部への電気刺激で得られており，細動脈の血管拡張の機構には局所の代謝性因子が優位に作用しているものと思われる。正常ウサギ後肢の末梢循環にみられるこのような運動性高血流は，一種の高血圧モデルウサギの後肢においてどのような応答を示すであろうか。現在までのところ，

* JICA Nepal Office, Kathmandu. Nepal
** 福岡大学体育学部運動生理学研究室

この病態ウサギの後肢筋運動と末梢循環に関する報告はない。

本研究では，本態性高脂血症を有する高血圧ウサギ（Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit : WHHL ウサギ）[20]を用い，その後肢筋生体内標本を中心に，reactive hyperemia（反応性充血）・運動性高血流・norepinephrine（NE）作用・NE 下の運動性高血流など各種の末梢循環実験を実施したので報告する。

実験方法

A．実験動物

実験には6～17月齢の日本種白色ウサギ（正常ウサギ）12羽（体重3.57±0.60kg，mean±S.D.）と同月齢の WHHL ウサギ11羽（体重3.52±0.45 kg，mean±S.D.）を雄雌の別なく用いた。これらのウサギを室温22°Cの環境下で飼育し，1日のうち朝8時から夜8時までを明期，夜8時から朝8時までを暗期とした。飼料には CE—4（オリエンタル酵母）を用い，水道水と共に自由に摂取させた。

B．実験手順

ウサギは25%ウレタン水溶液（4 ml/kg）の腹腔内注入により麻酔し，背位に固定した。気管カニューレ挿入後，測定肢である右後肢の坐骨神経を，さらに両後肢の大腿動脈・静脈をそれぞれ露出した（Fig. 1）。以上の外科的処置終了後，抗凝固剤として Heparin（100IU）を耳朶静脈より注入した。非測定肢である左後肢の大腿動脈には血圧用カテーテルを挿入し，圧トランスデューサーを介して動脈血圧を測定した。血流量は，測定肢である右後肢の大腿静脈へ挿入したカテーテルから流出する血液を開放性のドロップカウンターにより計数し，分時変換器により1分間値として記録した。さらに，この値を後肢筋の湿重量100g 当りに換算し，ml/100g/min で算出した。リザーバーに貯留した血液は還流ポンプにより，非測定肢大腿静脈から体内に還流した。後肢筋の収縮運動は，切断した坐骨神経の末梢端を5 Hz，6 V の強度で1分間電気刺激することにより誘発した。測定肢の血管抵抗（VR）は，平均血圧（P）/血流量（Q）として算出した。反応性充血は，大腿動脈を動脈クレンメにより30秒間閉塞し観察した。NE は，耳朶静脈から点滴法により，生体内の最終濃度が4 μg/kg 体重になるような割合で連続注入した。

C．統計処理

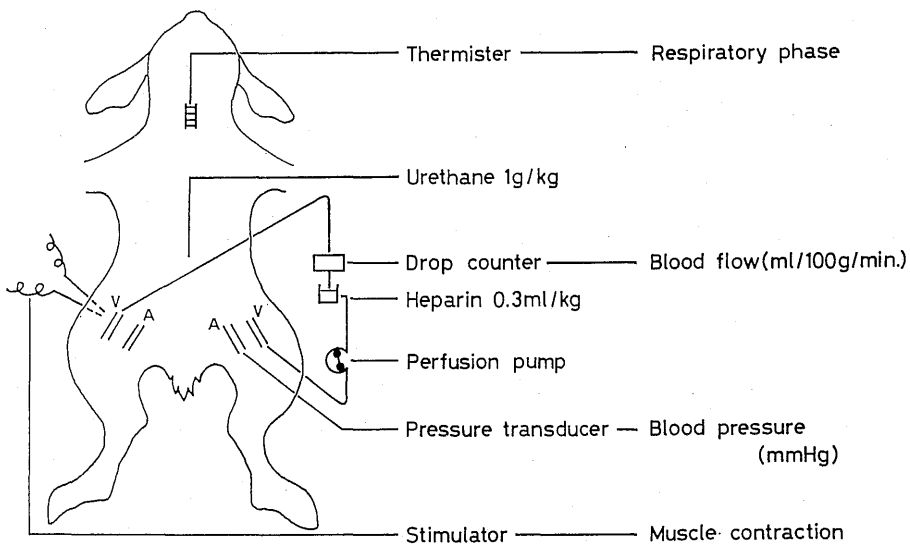

Fig. 1　Experimental arrangement for measurement of muscle blood flow by means of drop count method : Systemic blood pressure was kept constant after anesthesia with urethane

筋血流量と総末梢血管抵抗の絶対値及び相対値は，すべて平均値±標準誤差で示した。有意差検定にはStudentのt-testを用い，P<0.05をもって有意水準とした。

実験成績

A．各種の予備的血流応答実験

WHHLウサギ後肢筋の坐骨神経を切断すると，血流（ml/100g/min）は切断前の平均値（mean±S.E.(n)）3.05±0.92(5)から約3倍の値8.39±1.76(5)に達し，その後1～3分で約2倍の値4.12±2.10(5)にまでもどり，その血流値で定常状態を維持した。このとき，WHHL後肢末梢循環への入力血圧は収縮期血圧(124.4±18.1 mmHg, n=5）及び拡張期血圧（78.0±8.5 mmHg, n=5）ともに変化がなく，また，心拍数及び呼吸相にも変化が認められなかった。尚，WHHL実験と同じ時期に実施した正常ウサギの血流値は坐骨神経切断前の2.92±0.87(6)から切断後の定常状態値3.72±0.42に変化した。WHHLウサギと正常ウサギの坐骨神経切断後の定常血流値はともに切断前の約2倍のレベルを維持し，両者間には有意差が認められなかった。

正常ウサギの後肢筋血流においては顕著な反応性充血が観察されるが，WHHLウサギにおいても同じような反応を確認した。坐骨神経無傷時の30秒間の大腿動脈閉塞に伴う血流の低下，閉塞解除後の血流の急激な増大とその後の回復経過などが追試された。また坐骨神経切断後の反応性充血についても，閉塞中の血流低下はより顕著であり，回復曲線はやや緩慢になる傾向があった。要するに，反応性充血はWHHLウサギの後肢筋の末梢循環においても発現した。

B．運動性高血流の発現

Fig. 2上段のグラフは，WHHLウサギと正常ウサギの運動性高血流を比較したもので，両者の安静時の血流値(ml/100g/min, n)はそれぞれ4.46±0.31(9)及び4.83±0.49(16)であり，有意差はなかった。WHHLウサギの運動時の筋血流値は運動の開始と共に急激に増大し，50～60秒で最大値8.36±0.80(9)に達し，いっぽう正常ウサギの最大値は8.59±0.59(16)であった。安静時の血流値に対する変化量(%)はそれぞれ，WHHLウサギで185.6±20%正常ウサギで190.2±41%であった。両者には有意な差がみられなかった。誘発筋運動の終了後の筋血流は次第に減少し，6～7分で安静値に復帰した。この回復過程においてもWHHLウサギと正常ウサギに有意な差は認められなかった。Fig. 2の下段は血圧と血流から末梢循環抵抗の経時的な変化を示したグラフである。WHHLウサギの末梢循環抵抗は正常ウサギに比べ有意に大きな値を示した。

Fig. 3は，生体内の最終濃度が4 μg/kgになるようNEを連続注入している最中に誘発筋運動を実施して得た運動性高血流である。NEの注入前の血流量を100%としたとき，注入後の後肢血流量の運動前値はWHHLウサギで約15%，また正常ウサギで約5%減少した。血管平滑筋の収縮状態下で両者にそれぞれ5 Hz, 1分間の誘発筋運動を行うと，筋運動の開始10秒後のWHHL及び正常ウサギの筋血流はそれぞれ109.35±4.37%(14)及び132.21±4.82%10)であり，立上がりの血流量にはWHHLに有意な低下がみられた(P<0.01)。同じく，筋運動30秒後についても，それぞれ137.83±4.20%(14)及び162.48±8.09%(10)となり，WHHLウサギの血流量は正常ウサギのそれより有意に低い結果となった(P<0.01)。しかし，この立ち上がりの2点以外の運動性高血流及びNEによる血流の減少度には正常ウサギとWHHLウサギの間に有意な差異が認められず，ほぼ同等形状の運動性高血流を得た。

考　察

WHHLウサギは，人の家族性高脂血症のモデル動物であり，1973年にWatanabeによって開発された[20]。このウサギの一般的な特徴としては，血中の総コレステロールやトリグリセリドが一般の日本種白色ウサギに比べて8～14倍高く，VLDLやLDLもそれぞれ26倍，18倍に増加[20]，逆にHDLは正常ウサギの1/2に減少していることが報告されている[19]。さらに，5ケ月齢以上では100%のウサギにアテローム性の動脈硬化が，また16ケ月齢の60%に指趾関節部の黄色腫が認められている[20]。平均動脈血圧は約30%増加していることが報告されており，これは頸動脈洞や大動脈弓部位での血管の弾力性の低下による圧受容器の活動性の低下によるものと考えられている[8~10]。また，正常ウサギに比べて脈圧が増大しており，これは下行大動脈の弾力性低下によるものと考えられている[7,10]。この

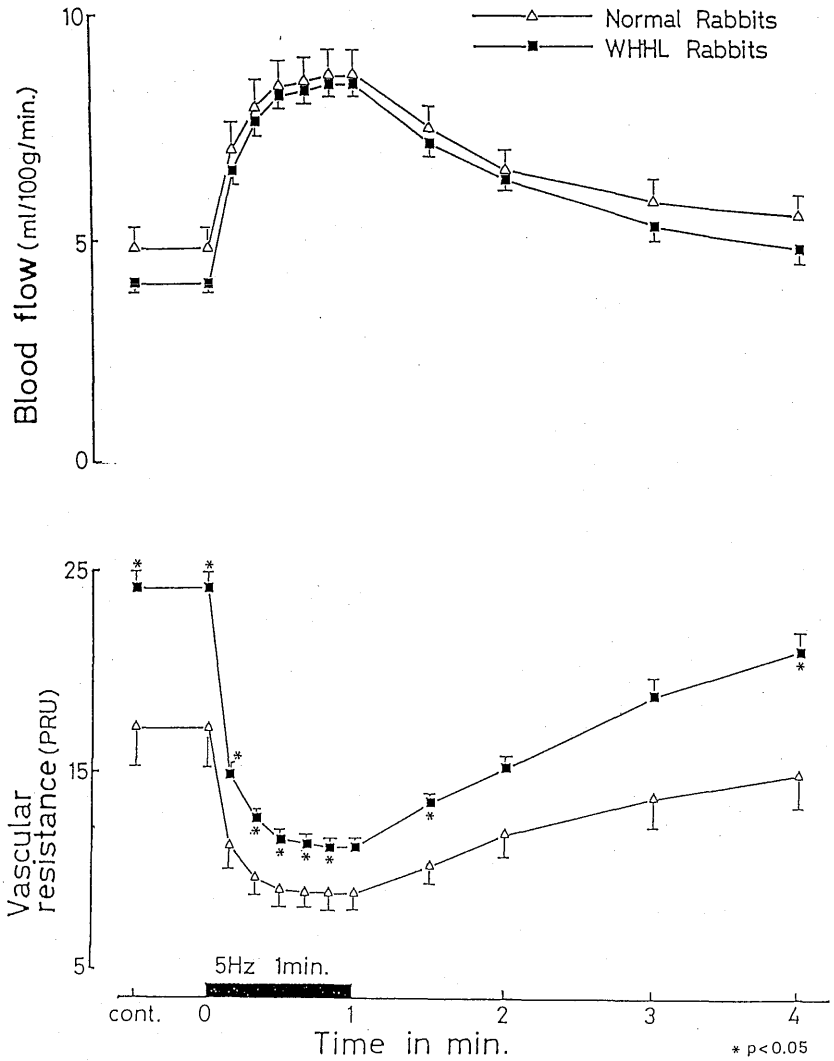

Fig. 2 Blood flow increase and vascular resistance decrease in skeletal muscle of normal rabbit (△) and WHHL rabbit (■) at rest and exercise : A significant increase in vascular resistance was observed in WHHL rabbit

平均動脈血圧や脈圧の増加は，本実験で用いたWHHLウサギ全てに観察された。

本実験において，筋組織へ入力する細動脈血圧はウレタン麻酔のもとに定常化されていることが前提であり，あとはポアゼイユの法則通り，血流の増減は筋微小循環網の血管抵抗の増減を示すものとして考察を進める[6]。坐骨神経の切断により後肢筋への神経性血管調節機構を排除した場合に後肢筋血流は著しく増加するが，これは主たる交感神経性血管収縮神経の作用が排除されたことに起因する血管緊張の低下によるものである。その後，徐々に血流量が減少してくる過程は，細動脈平滑筋の基本的な血管緊張を維持する機構が存在することによるものと思われる。このような坐骨神経の切断による後肢筋血流の変動量には[14,17]，正常ウサギとWHHLウサギの間に有意な差異が認められなかった。従って，WHHLウサギにおいても正常ウサギと同程度の交感神経性血管収縮作用が存

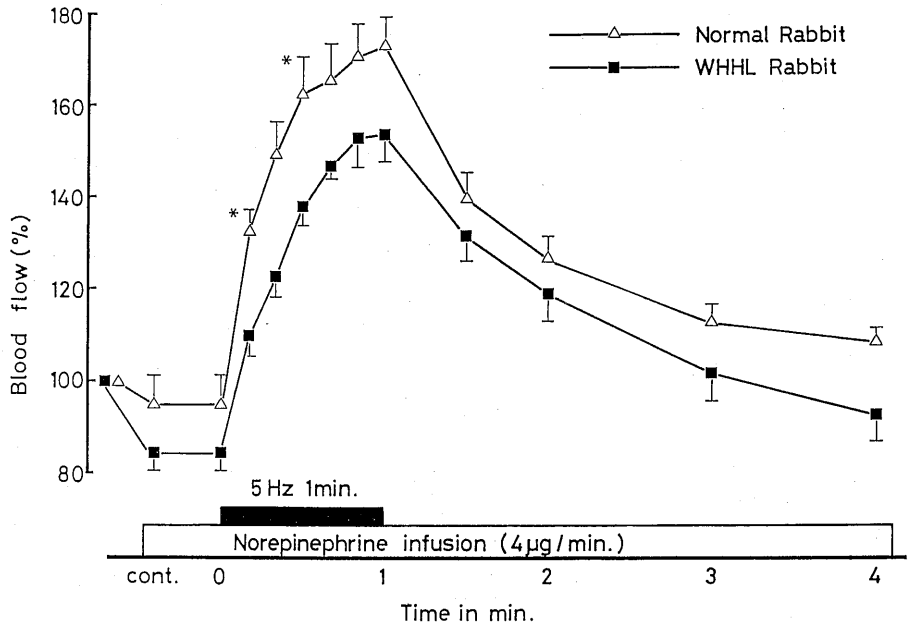

Fig. 3 Norepinephrine based blood flow increase in skeletal muscle of normal rabbit (△) and WHHL rabbit (■) before, during and after exercise

在し，同じく筋原性のトーヌス維持機構も作動していると考える。坐骨神経切断後にみられるような筋原性の局所血管調節は，Bayliss (1902) により初めて報告された[1]。それによると血管内圧の上昇は直接的に血管平滑筋の活動を刺激することになり，血管緊張を増大させるという。また，Folkow[5]は局所的な除神経を行った後でも骨格筋，皮膚，腸に明確な内因性血管緊張が維持されており，さらに代謝性の影響がほとんど無視できる条件下で血圧の変化に対する明らかな能動的筋原性血流調節が存在することを示している。

反応性充血の実験で血流が一時的に遮断され動脈圧が低下するような場合には，経壁圧の減少による筋原性の基本的血管緊張の減少と組織代謝産物の蓄積による代謝性の血管拡張作用との両者が関与し[6]，血流の再開では一過性の血流増大が起こる。この急激な圧の増加に対しては，毛細血管網の内圧を一定に保とうとする筋原性の自動調節作用が細動脈及び前毛細血管括約筋においてみられるのである。このため反応性充血は，運動性高血流と共に細動脈の反応性の指標になるとみることができる[17]。いっぽう，局所の自動調節作用には筋原性・代謝性の調節機構が関与しており，最近の研究では代謝性のフィードバックシステムが血流の変化に対して高い感受性を持ち経壁圧の変動を感知する筋原性調節機構の調節を行っているとも報告されている[2,3,11]。本実験に於いて，WHHL ウサギにも正常ウサギと同程度の反応性充血が観察され，また坐骨神経切断前後でもほぼ近似の反応がみられたことから，WHHL ウサギ後肢の血管応答性は末梢血管抵抗が大きいなりに（Fig. 2）かなり正常に維持されているものと考える。

一般に，運動時の筋血流増大現象は，主として細動脈平滑筋の弛緩に伴う血管拡張によるものとされている[6,15,17]。運動時には，K^+，乳酸，ATP，CO_2，H^+等の代謝産物が組織から放出され，これらは細動脈平滑筋や毛細血管前括約筋に対して強力な弛緩効果を発揮する[13,16]。また，運動神経終末からのアセチルコリン放出などもこれに関与していることが考えられる。本実験の後肢誘発筋活動では WHHL ウサギにも正常ウサギと同程度の血流増大が観察され(Fig. 2)，局所の代謝産物に対する細動脈平滑筋や毛細血管前括約筋の弛緩性応答は WHHL ウサギにおいても発現しうるものと判断する。

運動時の末梢循環動態を観察する場合，交感神

経活動の優勢な状況下での筋活動を想定することはより現実の競技運動に近いと思われ，われわれはこれまでにNEの連続注入下での坐骨神経末梢端刺激による筋活動を行ってきた[15]。その結果，NEによる末梢血管の収縮が顕著な状態であっても[12]，筋活動による代謝性または筋原性の血管拡張因子が優位に作用することは確認されるところとなった。本研究に於いても正常ウサギと同様にWHHLウサギにNEの連続注入を行った。その結果，運動性高血流が観察された(Fig. 3)。従って，WHHLウサギにおいても，NEによる血管収縮応答の存在およびその影響下での筋活動による血管拡張の促進がみられたことになる。交感神経性血管収縮神経による血管平滑筋の収縮作用は抵抗血管である小動脈—細動脈系に作用し，いっぽう代謝性の血管拡張作用は毛細血管前括約筋に作用するとの報告もなされている[4]。また，抵抗血管であっても下流の細い部分では神経性の影響が小さく，代謝性の影響が優位であるとの知見もある[2]。われわれの先の研究では，NE連続注入下の筋活動時に血流量が低いレベルであるにもかかわらず，NE注入前と同等の微小循環系の血液濃縮が起こることを確認している[4,15]。この血液濃縮は毛細血管前括約筋の弛緩による静水圧の増加によるものと考えられ，神経性および代謝性の血管調節機構に部位差が存在することを裏付けている。また，神経性の血管収縮による血流量の低下から，運動時のperformance低下が予想されるわけであるが，Thompson (1983)[18]らは，この血流量の減少は，毛細血管濾過係数の増加によって補われており，運動時の酸素摂取量低下を防いでいると報告している。本実験で行ったNE連続注入による運動時のモデル実験では，局所の微小循環網は小動脈—細動脈系と毛細血管前括約筋—毛細血管系の2段階で調節され局所の恒常性維持に合致した血流調節を行っているものと考える。

本研究では，家族性高脂血症を有する一種の高血圧モデルと考えられているWHHLウサギの筋微小循環動態，特に細動脈の応答性を正常ウサギと比較検討してきた。その結果，WHHLの末梢抵抗は正常ウサギに比べ優位に高いものの，血流の反応パターンには差が認められず，WHHLウサギにおいても局所の恒常性維持に合致した筋微小循環網の血流調節機構が働いているものと考える。

結　語

WHHLウサギの細動脈応答性を坐骨神経の切断，運動性高血流，反応性充血およびNE作用下の運動性高血流などの観点から検討した。その結果は次の通りである。

1）坐骨神経の切断により，その直後の後肢筋血流量は3倍に増大し，その後約2倍の値で安定した。正常ウサギとの間には有意な差がみられなかった。反応性充血の発現がみられた。30秒間の大腿動脈閉塞で後肢筋の血流量は直ちに減少し，閉塞解除後は急激に増大し，その後閉塞前の値に復帰した。WHHLウサギと正常ウサギの間に有意な差はなく，これは坐骨神経切断の前後においても同様であった。

2）WHHLウサギ後肢筋の末梢循環には運動性高血流の発現がみられた。5 Hz，1分間の誘発筋運動により，後肢筋の血流量は急激に増大し，50〜60秒後で最高値に達した（normal： 8.59±0.59ml/100g/min, n=16, WHHL： 8.36±0.80 ml/100g/min, n= 9）。筋運動の終了後は次第に減少し，6〜7分で運動前の値まで回復した。この傾向は正常ウサギに類似した。但し，末梢血管抵抗は安静時，運動性高血流時ともにWHHLウサギの方が正常ウサギより有意に大であった。NEの静注によりWHHLウサギ後肢筋の血流量は減少したが，NE下の誘発筋運動は顕著な運動性高血流を誘起した。

以上より，家族性高脂血症を有し，一種の高血圧モデルと考えられているWHHLウサギの後肢末梢循環系においては末梢循環抵抗に増大はあるものの，正常ウサギとほぼ同様の細動脈血流の応答性が確認され，局所の恒常性維持に必要な血流調節がなされているものと考える。

稿を終るに当り，WHHLウサギの提供を含む種々のご高配を賜った神戸大学渡辺嘉雄博士に心からお礼申しあげます。

参　考　文　献

1）Bayliss WM (1902) : On the local reaction of the arterial wall to changes of internal pressure. J Physiol 28 : 220-231.

2）Boegehold MA and Johnson PC (1988) : Responce of arteriolar network of skeletal muscle to sympathetic nerve stimulation. Am J Physiol

254 : H919-H928.

3) Borgestrom P, Grande PO and Mellander S (1984) : An evaluation of the metabolic interaction with myogenic vascular reactivity during blood flow autoregulation. Acta Physiol Scand 122 : 275-284.

4) Flaim SF, Crede W, Beech A, Nellis SH and Zelis R (1979) : The effect of norepinephrine on active hyperemia in the canine gracilis muscle. Circ Res 44 : 660-666.

5) Folkow B (1949) : Intravascular pressure as a factor regulating the tone of the small vessels. Acta Physiol Scand 17 : 289-310.

6) Folkow B and Neil E (1973) : Circulation. Oxford University Press (訳) 入内島十郎「循環」, 真興交易医書出版部, pp.256-274.

7) Hasegawa M and Watanabe Y (1983) : Distensibility characteristics of the thoracic aorta from WHHL-rabbit. Biorheology 20(1) : 85-86.

8) Hosomi H, Kaizuka T, Chatani H, Katsuda S and Watanabe Y : Effect of atherosclerosis in the arterial pressure control system in WHHL-rabbit. Biorheology 18(1) : 78-79.

9) Hosomi H, Katsuda S, Motochigawa H, Morita H and Hayashida Y (1984) : Sensitivity of rapidly acting arterial pressure control system in concious adult rabbits at different ages. Jpn J Physiol 34 : 793-801.

10) Hosomi H, Katsuda S and Watanabe Y (1986) : Effect of atherosclerosis on the responsiveness of the rapidly acting arterial pressure control system in WHHL rabbits. Cardiovasc Res 20 : 195-200.

11) Mellander S (1988) : Myogenic mechanisms in local vascular control. Acta Physiol Scand 133 (suppl 571) : 25-41.

12) Savard G, Strange B, Kiens B and Richter EA (1987) : Noradrenalin spillover during exercise in active versus resting skeletal muscle in man. Acta Physiol Scand 131 : 507-515.

13) Skinner NS and Costin JS (1970) : Interaction of vasoactive substances in exercise hyperemia : O_2, K^+, and osmolality. Am J Physiol 219(5) : 1386-1392.

14) 竹宮　隆，橋爪和夫，田中幸夫，橋羽裕規男，高瑞鐘(1982)：水素ガスクリアランス法による家兎後肢骨格筋とその腱の組織血流量について．体力科学31(1)：41-50.

15) 竹宮　隆 (1982)：Norepinephrine 連続注入下の exercise hyperemia について．筑波大学体育科学系紀要5：145-151.

16) Takemiya T, Higuchi Y and Maeda J (1983) : Two patterns of blood flow increase during muscle pump action produced by FM-stimulation. Bull Institute of Health & Sport Sciences, University of Tsukuba 6 : 233-244.

17) 竹宮　隆(1984)：運動時の全身循環と微小循環について．(編) 広田公一，浅見俊雄「人間と身体運動」，杏林書院，東京，pp.121-134.

18) Thompson LP and Mohrman DE (1983) : Blood flow and oxygen consumption in skeletal muscle during sympathetic stimulation. Am J Physiol 245 : H66-H71.

19) 若杉隆伸(1986)：遺伝性高脂血症家兎のリポ蛋白の特徴とその成因に関する研究．金沢大学十全医学会雑誌95(4)：730-747.

20) Watanabe Y (1980) : Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit): -Incidence and development of atherosclerosis and xanthoma-. Atherosclerosis 36 : 261-268.