

〈ニセコ(札幌)カンファレンス〉

攣縮脳動脈における弛緩反応の変化と その分子機構の障害

東京大学医学部 脳神経外科 金 彪

1. はじめに

本日講演させていただくテーマは脳血管攣縮における薬理的弛緩反応の変化とその背景となる分子機構の障害についてであります。脳血管攣縮の原因については相変わらず明解な説明は得られていませんが、血腫との接触、取り囲まれること（encasement）が血管壁に及ぼす作用の結果であることは間違いのないところです。両者の interaction の結果として血管に起こる変化は従来さまざまな見地から検討されており、形態学変化¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、薬理的反応性⁶⁾⁷⁾⁸⁾、血管壁の伸展性 compliance⁹⁾¹⁰⁾、免疫学的な影響¹¹⁾¹²⁾などが報告されています。ここでご紹介する我々の一連の研究は、内皮を介する薬理的反応がどのように影響されるか、そして背景にある障害は何かを調べたものです。80年代に生理活性物質による血管弛緩が内皮を介して起こることが知られてきたのをきっかけに、攣縮血管でこの路線の研究を始めました。まず本題に入る前に血管薬理の新しい概念である内皮依存性弛緩反応とその分子機構について説明してから、攣縮脳血管でそれがどのように変化しているか最近の研究成果をご紹介します。内皮依存性弛緩（endothelium-dependent relaxation）という現象、それが内皮由来血管弛緩因子（endothelium-derived relaxing factor: EDRF）を介して起こること、EDRFの本態が何であるか、および平滑筋の中でそれがどのような機構を介して弛緩を起こすのかを説明します。続いて脳血管で観察される内皮依存性の反応が、攣縮の病態にあるとどのように変化し

ているのか、また変化の背景にはどのような原因があるのか、殊に弛緩の分子機構を担う second messenger の産生やさらにその基質供給の観点から動脈壁エネルギー代謝を分析した研究成果を示していきます。

2. 内皮依存性弛緩反応

内皮はいろいろな agonist に反応して内皮由来血管弛緩因子（EDRF）を放出し、平滑筋を非常に強力に緩めます。アセチルコリン、ヒスタミン、ブラジキニンなどの古典的 agonist も内皮を介して弛緩をおこします。アセチルコリンを加えても内皮がないときには緩まない、そんな簡単な事がわかったのは実は1980年ぐらいからです。バズプレッシン、ノルアドレナリンは本来収縮性の物質と一般に考えられていますが、内皮に依存して弛緩をおこす作用があります。また、逆説的に聞こえますが、凝集する血小板も内皮が存在すると、収縮でなく弛緩を起こします。内皮依存性弛緩の現象は、Furchgott という薬理学者によって最初に報告されました¹³⁾。70年代まではアセチルコリンによる弛緩は in vivo では強力に見られるが in vitro で取り出した血管では再現性が不良で、この違いの原因がよくわからないままでした。Furchgott はこれが標本を作る過程での段階の内皮の損傷にあることに気づいたわけです。内皮を保つように注意深く作った標本ではノルアドレナリンで収縮した血管はアセチルコリンによって緩みます。内皮を剥いでしまった標本ではこの弛緩はみられなくなります。内皮依存性弛緩反応は脳動脈でもみられます。Fig. 1 は血

AGGREGATING PLATELETS AND ISOLATED PORCINE BASILAR ARTERIES (in the presence of indomethacin)

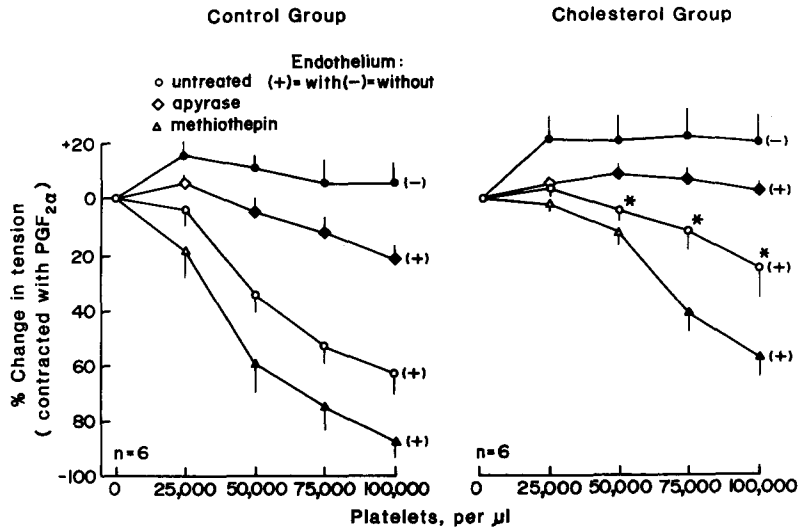


Fig. 1 Relaxations in rings of basilar arteries with and without endothelium, evoked by aggregating platelets during contraction with prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($2 \times 10^{-6} M$). Responses were recorded in the presence of indomethacin ($10^{-5} M$). The two figures represent results obtained in the control (left) and cholesterol-fed (right) pigs. Responses are expressed as percent changes in tension, with the contraction evoked by prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($2 \times 10^{-6} M$) as 100%. Filled symbols represent statistically significant difference from untreated rings with endothelium. Asterisks indicate statistically significant difference from untreated rings with endothelium in control group.

血小板に対するブタ脳底動脈の反応ですが¹⁴⁾、血小板浮遊液をガラスの器に入れてやって凝集を起こさせますと、内皮をはいでしまった動脈では強い収縮が起こりますが内皮を保ったものでは逆に強力な弛緩を起こします。メチオセピンというセロトニンのブロッカーをやりますとこの弛緩は強化され、apyrase というADPの分解酵素を加えてやりますとこの反応は殆ど消失します。すなわち凝集血小板から放出されるさまざまな物質のうち、ADPがこの反応を起こしていることがわかります。生理的意義として考えますと、血管壁が損傷されているときには血小板は血管の収縮を起こします。これは止血の vascular phaseとして大事な保護機構です。それに対し

内膜がintactである正常血管内で偶発的に起こった凝集の場合には内皮を介して弛緩拡張を起こし、血管内の凝集血小板が塞栓にならないように保護的な作用をもつわけです。

バゾプレッシンは後で示すように脳底動脈で内皮依存性弛緩をおこすペプチドですが、脳動脈に対する作用と内皮依存性の両方の見地から興味深い物質です¹⁵⁾。異なる部位の動脈に対して arginine vasopressin は全く違った作用をします。文字通り vasopressor として命名されたこのペプチドホルモンではありますが何と脳血管ではこれは vasodilator であります。犬の血管の仕事ですが、大腿動脈では内皮があろうがなかろうが収縮反応しかみ

られません。ところが脳底動脈では内皮を剥いておくと反応が見られないが内皮が保たれていると非常に強力な弛緩を起こします。冠動脈では内皮がなくても多少の弛緩が起こりますが保たれていると一層強い弛緩が見られます。これを解釈すると生理的意義の点から興味深いところがあります。例えば shock のとき、循環血液量の減少によって視床下部から vasopressin が出ることが知られています。その血管床への効果としては体の一般の resistance vessel を収縮させて血圧を上げ、心臓と脳の動脈は弛緩させて vital organ への血流を保とうとしていると解釈されます。

3. 内皮依存性の収縮

脳血管固有に見られる興味深い現象として機械的な伸張による内皮依存性の収縮反応があります (Fig. 2)¹⁶⁾。切り出した脳底動脈標本をマイクロメータの付いた張力測定装置で急速に引っ張ってやります。内皮があります

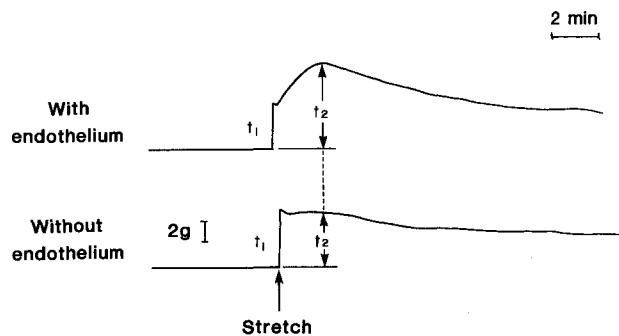


Fig.2 Isometric tension recording in two rings of the basilar artery of a subarachnoid hemorrhage dog. In rings with endothelium (upper trace), rapid stretching to the optimal length of the ring caused subsequent spontaneous contraction, whereas in rings without (lower trace), the tension continually declined. The tension required to reach optimal length by the passive stretching (t_1) and the peak tension of the contractile response (t_2) were measured. The ratio t_2/t_1 was used to express the amplitude of the contractile responses (Fig.6). In rings without endothelium, where the contractile responses were not observed, t_2 was measured as the tension at the same time point as the peak contraction was obtained in the paired ring with endothelium.

と伸張に続いて数分間収縮が見られますが内皮がない標本では見られません。機械的な張力に対する収縮の発生は、血圧の上昇にかかわらず血流を一定に保つ自動調節の機構として作用している可能性があります。Fig. 3は酸素の代わりに窒素を吹き込んでやって hypoxia にしてやった時に見られる反応です。内皮が intactである脳底動脈標本では収縮が見られますが内皮がない標本では見られません。また ADP, Ach, アラキドン酸などの活性物質に対して脳底動脈は内皮依存性の収縮を起こします。

その多くの反応は cyclooxygenase による prostaglandin の産生を介した反応で indomethacin を加えると消失します。

EFFECT OF ANOXIA ON CANINE BASILAR ARTERY

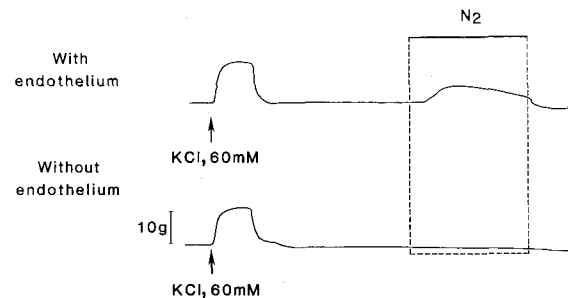


Fig.3 Responses of the basilar arteries to hypoxia. In rings with endothelium, switching the gas mixture from 95% O₂ to 95% N₂ caused contractions, which were not observed in rings without endothelium. The contractions were maintained after subarachnoid hemorrhage (SAH). Data shown as mean \pm SEM (n=8).

4. クモ膜下出血一血管攣縮での内皮依存性反応の変化

さて攣縮脳血管でこれらの反応がどのように変化しているかですが¹⁷⁾、Fig. 4は SAH 7日目の、arginine vasopressin (左)と bradykinin (右)に対するイヌ脳底動脈の内皮が intact な標本での反応を示したものです。正常対照群の動脈では dose-dependent に弛緩がよく見られるのに対し、攣縮動脈では内皮が intact であっても弛緩が出ません。Fig. 5には内皮を除去した標本でのこれらの agonist に対する反応を示します。弛緩が内

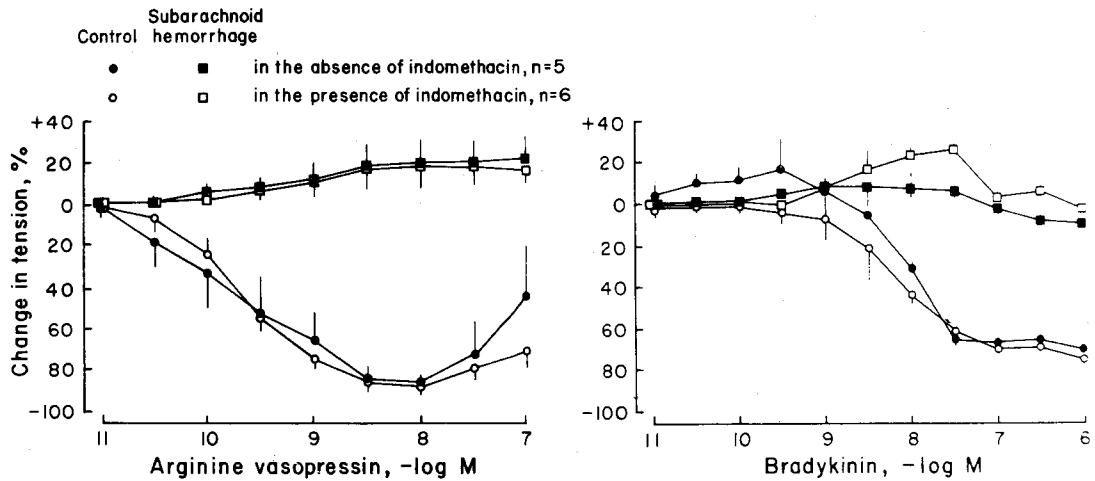


Fig.4 Left: Concentration-response curve to arginine vasopressin in basilar artery rings with endothelium in the absence and presence of indomethacin. The rings were contracted with uridine triphosphate ($3 \times 10^{-6} \text{M}$). Responses are expressed as percent of the maximal relaxation to papaverine (10^{-4}M). Data shown as mean \pm SEM.

Right: Concentration-response curve to bradykinin in basilar artery rings with endothelium, in the absence and presence of indomethacin. Responses were expressed as mean \pm SEM ($n=7$).

RESPONSES OF CANINE BASILAR ARTERY (without endothelium)

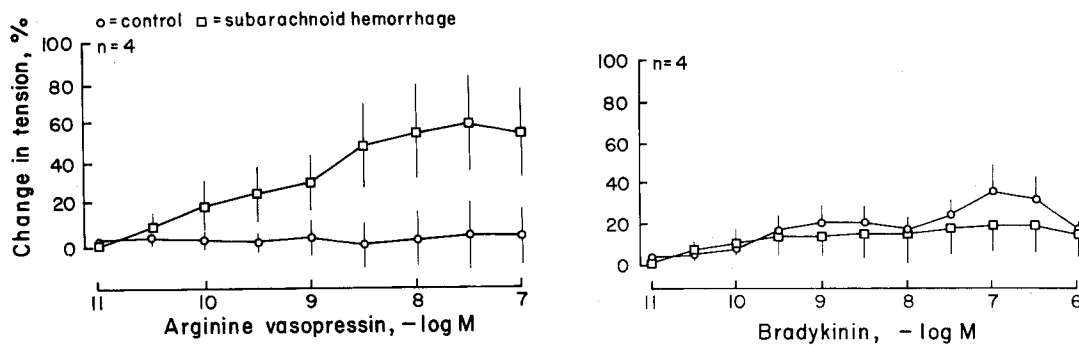


Fig.5 Responses to arginine vasopressin (above) and bradykinin (below) in basilar artery rings without endothelium, in the absence of indomethacin. The rings were contracted with uridine triphosphate ($3 \times 10^{-6} \text{M}$). Responses expressed as percent of the amplitude of the maximal relaxation of each ring to papaverine (10^{-4}M). Data shown as mean \pm SEM ($n=4$).

皮依存性であることが明らかです。一方、内皮依存性の収縮反応は、機械的伸張に対するものも hypoxia に対するもの、agonist に対するものいずれも攣縮動脈において減弱していませんでした (Fig. 6)。また ADP, Ach,

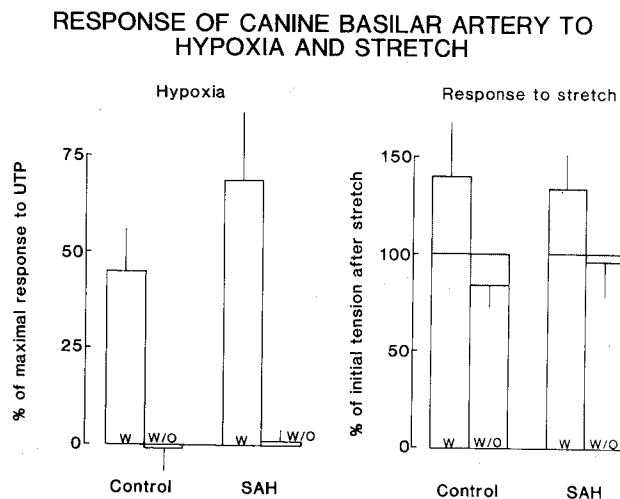


Fig.6 Endothelium-dependent contractions to hypoxia (left) and to mechanical stretching (right) in the control and in the subarachnoid hemorrhage (SAH) groups, in rings with (W) and without (W/O) endothelium. The contractile responses are expressed as the ratio of t_1 and t_2 (see Fig.2). Data shown as mean \pm SEM (n=8). No significant difference in the endothelium - dependent contractions was observed between the two groups.

アラキドン酸などの活性物質に対するの内皮依存性の収縮も減弱していませんでした (Fig. 7)。内皮依存性反応のうち、弛緩のみ消失して収縮は残存していることは、この変化が単純な内皮の脱落喪失によるものでないことを意味します。そこで次の仕事としてはこの内皮からの弛緩因子の放出自体を測定するために、Fig. 8 のような setup に脳底動脈をかけて EDRF の bioassay を行いました¹⁸⁾。

5. EDRF の bioassay

4 cm ぐらいの脳底動脈を取り出し、1 segment 当たり 35~40本の perforating branch をすべて結紮して漏れないようにします。Ringer 液で還流し、脳底動脈を通った還流液を冠動脈の標本 (検出標本) で受けてその弛緩を測定して bioassay します。還流液中に放出された EDRF の活性を検出するわけです。この検出標本に内皮

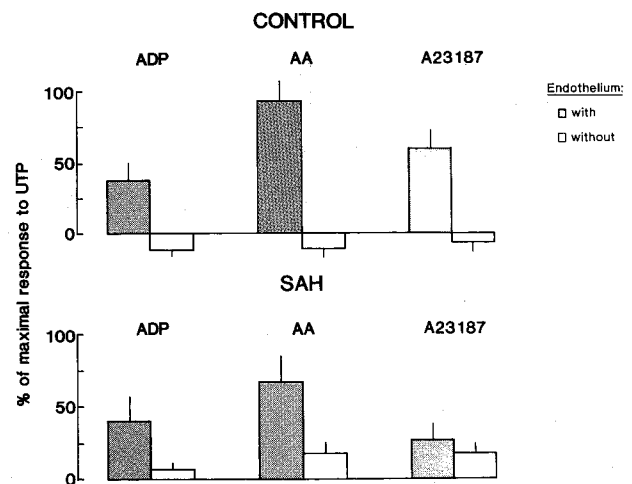


Fig.7 Summary of the endothelium-dependent contractions elicited by adenosine diphosphate (ADP; 10^{-4} M), arachidonic acid (AA; 10^{-5} M) and the calcium ionophore A23187 (10^{-6} M). The maximal response for each agent is shown. Contractions are expressed as percent of the maximal response to UTP. In the control group, the contractions were observed only in rings with endothelium. The endothelium-dependent contractions were maintained in the subarachnoid hemorrhage group. In the control group, relaxations were elicited in rings without endothelium, which changed into contraction in the subarachnoid hemorrhage group ($P < 0.05$). Data shown as mean \pm SEM (n=8).

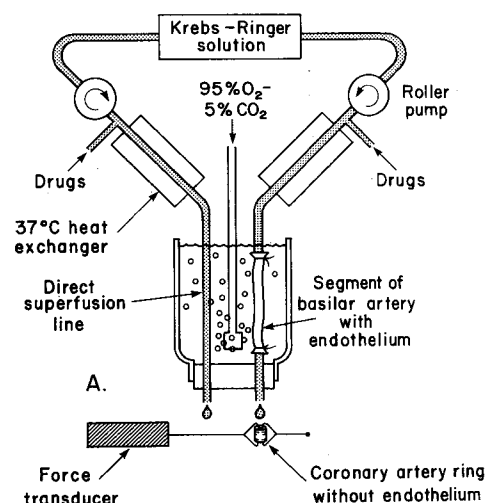


Fig.8 Schematic illustration of bioassay system for endothelium-derived relaxing factor, released from the basilar artery. See text for the measuring procedure.

が残っているとどこからEDRFが出ているのかわかりませんので冠動脈の内皮を完全に剥いておきます。内皮に作用して EDRF を放出させる arginine vasopressin とか bradykinin などの agonist を脳底動脈の上流から加えます。一方コントロールとしてステンレス管を並置して、その上流から同じように agonist を加えてやって冠動脈標本の反応を測定します。Fig. 9 はこの実験の典型的な

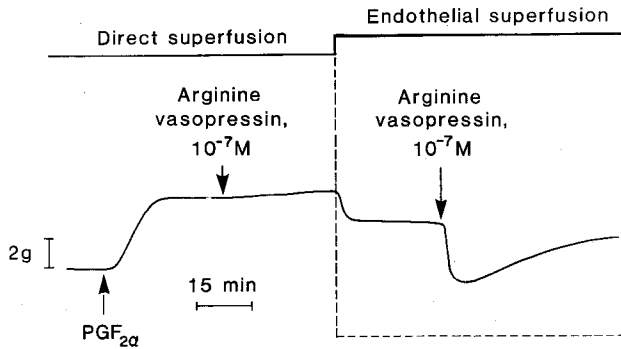


Fig.9 An example of recording during a Bioassay experiments. A coronary artery ring without endothelium (bioassay ring) was contracted with prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($4 \times 10^{-6} M$). When the contraction reached plateau, arginine vasopressin was given during direct superfusion. After switching the perfusion to the arterial line (endothelial superfusion), arginine vasopressin was added to the perfusate upstream of the basilar artery.

記録ですが、全体の還流液にプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ を加えてやって冠動脈標本を収縮させます。このときステンレス管を通じて arginine vasopressin をやっても何も起こりません。次に検出標本を脳底動脈 segment の下に移動しますと即座に弛緩が見られます。これは何も刺激のない状態でも脳底動脈セグメントから EDRF が自然に放出されている事を意味し、この現象を EDRF の basal release、基礎分泌と言っています。arginine vasopressin を脳底動脈の上流から加えてやりますと内皮は EDRF を放出し冠動脈標本は大きく弛緩します。Fig.10 はこの bioassay の測定結果を、クモ膜下出血一攣縮群と正常対照群とで比較したものです。EDRF 放出の刺激として arginine vasopressin と bradykinin とを用いましたが、驚いたことに、どちらに対しても EDRF の放出は減弱していませんでした¹⁸⁾。ここまでの結果を

簡単に整理しますとクモ膜下出血後の攣縮血管では内皮依存性の弛緩反応は減弱消失していましたが、内皮からの弛緩因子の放出は変化していなかったということになります。それでは障害されているのは受け手である平滑筋側の感受性、もしくは弛緩因子の伝達が問題ということになります。

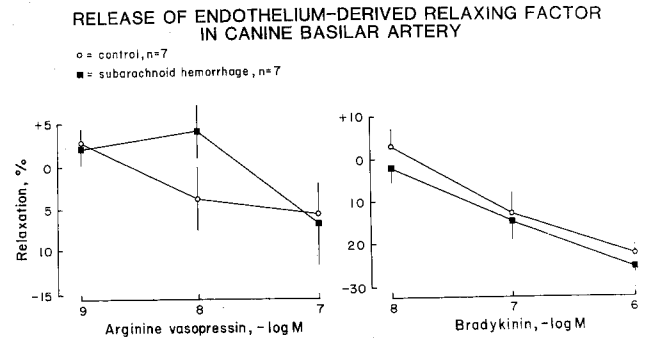


Fig.10 Left: Effect of increasing concentrations of arginine vasopressin on the release of endothelium - derived relaxing factor from canine basilar arteries studied under bioassay conditions. The relaxations of the bioassay coronary artery ring are expressed as percent of their response to sodium nitroprusside ($10^{-6} M$). Data shown as mean \pm SEM ($n=7$). Right: Effect of increasing concentrations of bradykinin on the release of endothelium - derived relaxing factor from canine basilar arteries studied under bioassay conditions. The relaxations of the bioassay coronary artery ring are expressed as percent of their response to sodium nitroprusside ($10^{-6} M$). Data shown as mean \pm SEM ($n=7$).

6. EDRF の本態と cyclic GMP

Fig.11のシェーマでは内皮依存性弛緩反応の機構を示しています。いろいろな活性物質に反応して内皮が EDRF を産生しますが、その本態は最近 NO、一酸化窒素であること、そして EDRF-NO が平滑筋の中で guanylate cyclase を刺激して cyclic GMP を上昇させることがわかってきました¹⁹⁾²⁰⁾。以前は cyclic GMP が何をしているのかよくわからなかったのですが今は平滑筋で強力に弛緩を起こすことがわかっています。EDRF と NO との共通点としてはどちらも非常に半減期が短いこ

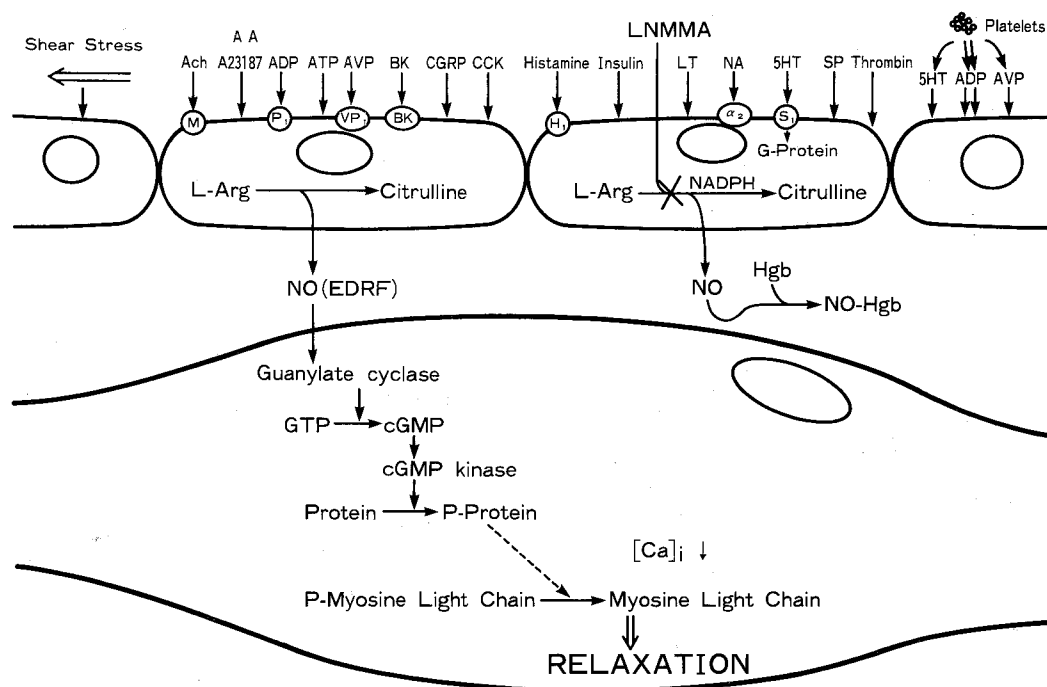


Fig.11 Schematic presentation of mechanisms of production /release of EDRF from the endothelium and subsequent relaxations in the smooth muscle.

と、平滑筋の guanylate cyclase に作用して cyclic GMP の増大を起こすこと、両者ともにヘモグロビンによって捕捉されることが上げられます。guanylate cyclase という酵素はなかにヘム基をもっていて、EDRF にしろ NO にしろこのヘム基に結合することによって酵素の活性化を起こします。ヘモグロビンのヘム基も EDRF/NO に同様の親和性をもっていて捕捉し、この競合関係のためにヘモグロビンが内皮依存性弛緩を抑制するわけです^{20) 21) 22)}。EDRF と NO がヘモグロビンと結合したときの吸光スペクトルの変化はどちらも同じであり、chemiluminescence と呼ばれる蛍光反応も同様に検出されることから、EDRF と NO は同一であると考えられています。しかし最初はこんな単純な構造の radical 分子が一体生体の中でどのようにつくられるのか疑問とされてきました。今は L-arginine が citrulline

に変換される過程で NO ができること、この過程は NADPH 依存性であることがわかっています。実際に細胞内に L-arginine を取り込ませておくと EDRF の放出は増大し、逆に L-arginine とは類似していながらこの酵素反応の substrate にならない、pseudosubstrate である l-n-monomethyl-arginine (LNMMA) を投与しておくと内皮依存性の反応は減弱します。シェーマはこれらの内皮依存性弛緩反応の分子機構を要約するものですが、いろいろな刺激に対して内皮は l-arginine を citrulline に変換しつつ NO を放出します。NO は平滑筋のなかに浸透し、guanylate cyclase のヘム基にはまって酵素を activate し、cyclic GMP が増大する。すると cyclic GMP-dependent kinase がはたらき、細胞内カルシウムの低下を介する径路および、介さない径路によって、ミオシン軽鎖の脱リン酸化を来たして平滑筋は弛緩します。

7. 脳血管攣縮における NO 反応性と cyclic GMP 産生

攣縮血管の EDRF に対する反応性を見るために NO そのものを *in vitro* で加えてやった実験が Fig.12 です²³⁾。正常脳底動脈では他の薬剤による弛緩に比べて非常に強力な弛緩が見られます。それに比して攣縮血管では弛緩が有意に減弱しています。NO にたいする脳底動脈の cyclic GMP の産生を radio-immunoassay で計りますと Fig.13 (中段) の結果が得られました²³⁾。正常血管においては、cyclic GMP 値は40秒のところで基礎値の60倍くらいの上昇を示します。この反応は攣縮血管では有意に落ちていきます。bradykinin は内皮に作用して EDRF を放出させる活性物質ですが、Fig.13 (上段) に示すよ

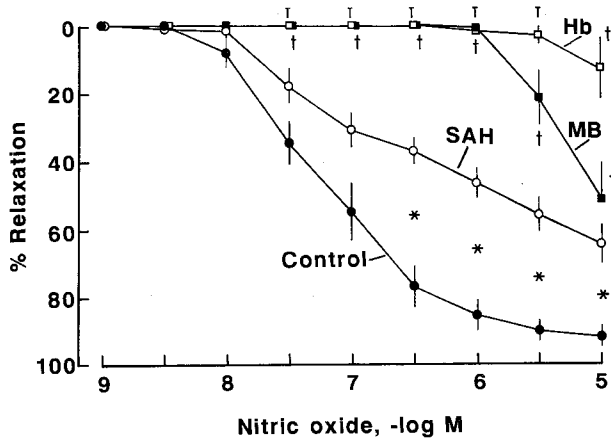


Fig.12 Concentration-response curves to nitric oxide in rings without endothelium of canine basilar arteries, in the control group (filled circles) and in the subarachnoid hemorrhage (SAH) group (open circles). The rings were first contracted with uridine triphosphate ($3 \times 10^{-6} \text{M}$). Relaxations are expressed as percentage of the maximal relaxation to papaverine ($3 \times 10^{-4} \text{M}$) plus diltiazem (10^{-4}M). The effects of hemoglobin (Hb; 10^{-5}M) (open rectangles) or methylene blue (MB; 10^{-5}M) (filled rectangles) were measured in rings of the control group after incubation with the agent for 20 minutes. Values shown are the mean \pm SEM ($n=5$). Asterisks indicate significant differences between the control and the subarachnoid hemorrhage group ($P < 0.005$ at 3×10^{-7} - 10^{-5}M). Crosses indicate a significant effect of hemoglobin ($P < 0.005$ at 3×10^{-8} - 10^{-5}M) or methylene blue ($P < 0.005$ at 3×10^{-8} - 10^{-5}M) on the relaxations in the control group artery.

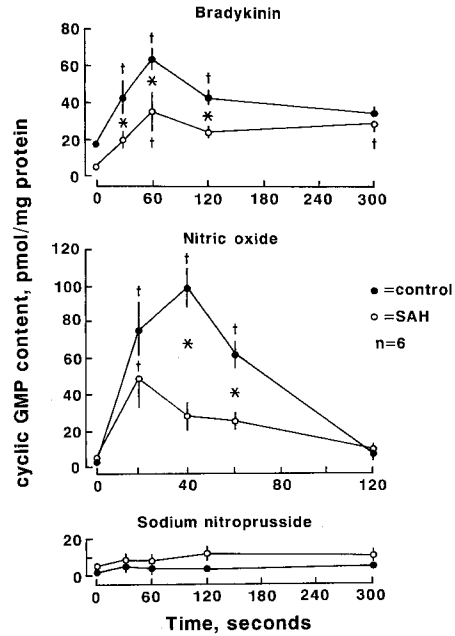


Fig.13 Kinetics of the effect of bradykinin (10^{-7}M , rings with endothelium, top), nitric oxide (10^{-6}M , rings without endothelium, middle) and sodium nitroprusside (10^{-6}M , rings without endothelium, bottom), on the levels of cyclic GMP in canine basilar arteries. Filled circles indicate data in the control group and open circles indicate those in the subarachnoid hemorrhage (SAH) group. The cyclic GMP levels are expressed as pmoles per mg of proteins. Values shown are mean \pm SEM (bradykinin; $n=8$ and $n=7$, nitric oxide; $n=8$ and $n=5$, sodium nitroprusside; $n=6$ and $n=6$, for the control and the subarachnoid hemorrhage group, respectively). Asterisks indicate significant differences between the control and the subarachnoid hemorrhage group (bradykinin; $P < 0.05$ at 30, 60 and 120 sec, nitric oxide; $P < 0.01$ at 40 and 60 sec, two-way factorial analysis followed by Bonferroni method of one-way analysis of variance). Crosses indicate significant increases compared to the basal (0 second) level within each curve (bradykinin; $P < 0.05$ at 30, 60 and 120 sec in the control group, $P < 0.05$ at 30 sec in the subarachnoid hemorrhage group; nitric oxide; $P < 0.05$ at 20, 40 and 60 sec, $P < 0.05$ at 20 sec in the subarachnoid hemorrhage group; Bonferroni method of one-way analysis of variance). The duration of the responses to nitric oxide was significantly shorter in the subarachnoid hemorrhage group ($P < 0.001$, positive interaction term in the two-way factorial analysis).

うに内皮から出た EDRF/NO に対する cyclic GMP の反応も減弱しています。このように cyclic GMP の産生能が攣縮脳動脈で低下している事がわかりました。一方、cyclic GMP の analogue であって、膜を透過する 8-Br-cyclic GMP を与えたときの弛緩反応を見ますと、攣縮脳動脈で低下しておらず、むしろ正常動脈より反応が亢進しているぐらいでした (Fig.14)。このことは cyclic GMP によって活性化される cyclic GMP-dependent kinase 以降の弛緩の機構は保たれていることを示唆しています。

RESPONSE OF CANINE BASILAR ARTERIES TO 8-BROMO-CYCLIC GMP (without endothelium)

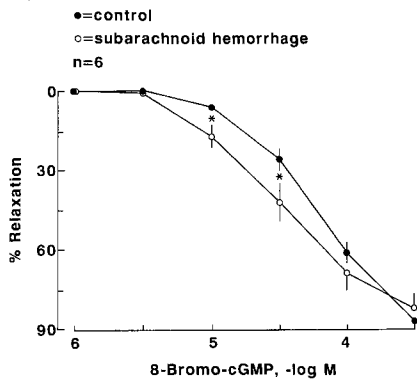


Fig.14 Concentration - response curves to 8 - bromo - cyclic GMP in rings (without endothelium) of canine basilar arteries, in the control group (filled circles) and the subarachnoid hemorrhage (SAH) group (open circles). The rings were contracted with uridine triphosphate ($3 \times 10^{-6} M$). Relaxations are expressed as percentage of the maximal relaxation to papaverine ($3 \times 10^{-4} M$) plus diltiazem ($10^{-4} M$). Values shown are the mean \pm SEM (n=6). Asterisks indicate significant differences (P < 0.05) between the control and the subarachnoid hemorrhage group.

8. 高エネルギー磷酸含量の変化と代謝障害

Guanylate cyclase は GTP を基質として cyclic GMP を産生します。GTP は ATP 同様、高エネルギー磷酸であります。そこでエネルギー代謝の障害が背景にあって、原料である GTP が低下している可能性を探るために、脳底動脈の高エネルギー磷酸の含量を測定しました²⁴⁾。血管の代謝を止めてやるために 0℃, hypoxia, glu-

cose-free の Ringer 液に採取、血腫を除いた後、液体窒素で凍結、過塩素酸の中で homogenize した後、HPLC を用いて ATP, ADP, AMP, GTP, GDP, クレアチン磷酸を計ります。Fig.15の左は正常血管、右は攣縮血管の homogenate のクロマトグラムです。後者で単に ATP のピークが低だけでなく、ATP と ADP の比を見ますと正常血管に対して逆転しています。すなわち、高エネルギー磷酸の絶対量が減っているだけでなく、いわば充電状態が低いことを示唆しています。クレアチン磷酸は ATP, GTP などの細胞の homeostasis に重大な影響をもつ三磷酸が減少したとき、直ちに ADP, GDP, AMP, GMP に対して高エネルギー磷酸基を供給する貯水池のような機能を持っているわけですが、このクレアチン磷

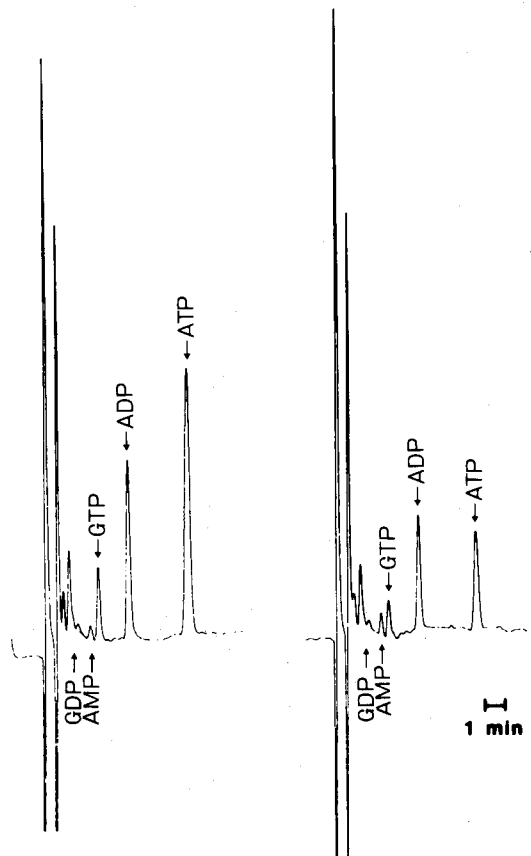


Fig.15 Chromatograms of extracts from canine basilar artery in the control (left) and the SAH (right) groups. Note the relative reduction of ATP peak to that of ADP in the spastic arteries (right).

酸を計ってみますと攣縮血管では著しく低下しています (Fig.16)。Fig.17はこの測定を行ったシリーズの6匹のクモ膜下出血群のイヌの血管撮影ですが、激しい攣縮を起こしたこれらの6匹について HPLC の測定結果をまとめますとFig.18、19のような結果になりました。まず脳底動脈中の GTP の値は正常対照群に比して約60%ぐらいに落ちていました。クレアチン燐酸はもっと著明な低下を示しまして正常対照群の約15%ぐらいのところまで落ちてしまっています。ATP も約40%ぐらいに落ちてしまいます。以上は血管のそれぞれの標本の蛋白量を分母として表したのですが、血管に炎症反応や線維化が起きていると細胞構成に変化をきたし平滑筋の蛋白量が結合組織由来の蛋白に置き替わっている可能性があります。そこで三燐酸と二燐酸の比を計算してみましたのがFig.20です。GTP/GDP、ATP/ADP はいわば電池がどれだけ充電されているかという指標ですが、ともに正常群の約半分ぐらいに減少しています。総クレアチン

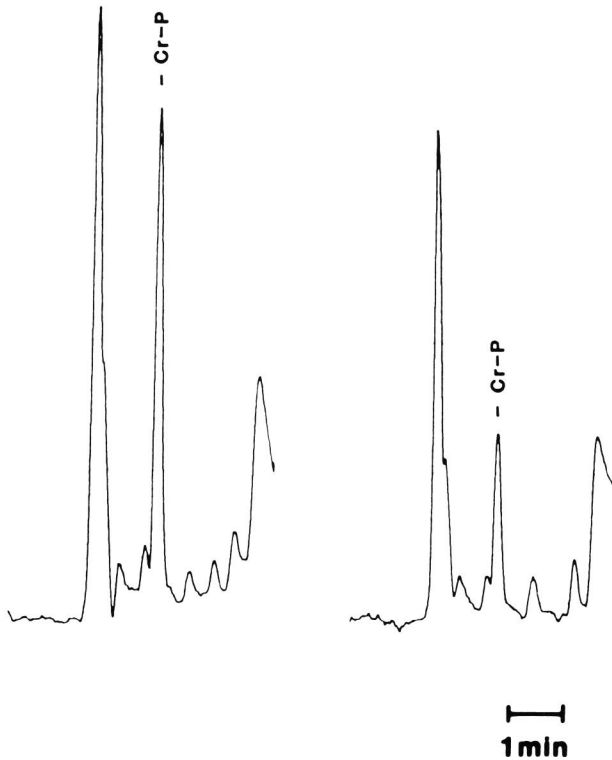


Fig.16 Chromatograms of extracts from canine basilar artery in the control (left) and the SAH (right) groups. Peaks representing creatine-phosphate.

に対するクレアチン燐酸の比はさらに低下が顕著で約1/5ぐらいになっています。これらの結果は攣縮脳血管においては著明な代謝障害が起きていることを意味します。

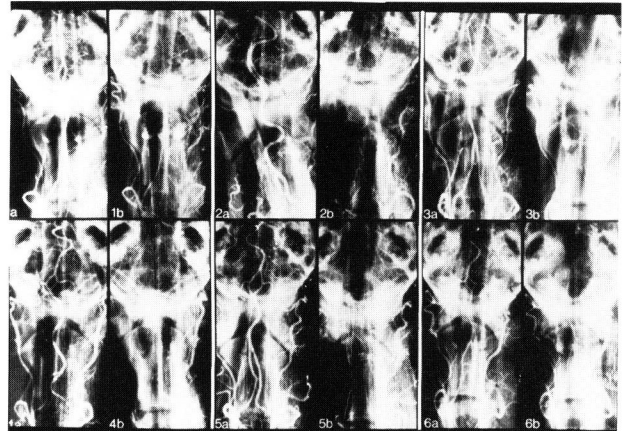


Fig.17 Angiograms of the canine basilar artery prior to (1a-6a), and one week after (1b-6b) subarachnoid hemorrhage, taken in the six animals used in the present study. Subarachnoid hemorrhage was induced by two injections of 11-13 ml of autologous venous blood into the cisterna magna (day 0 and day 2).

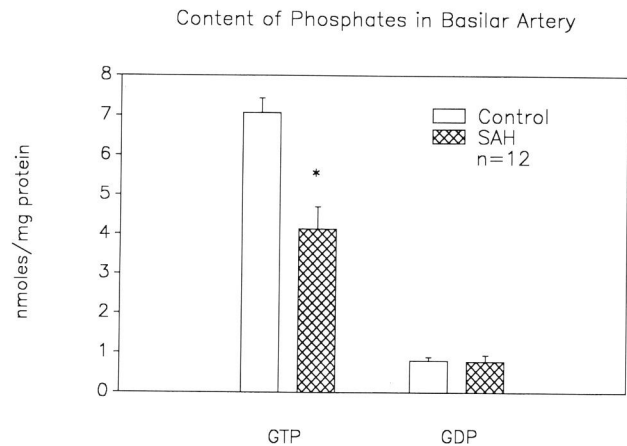


Fig.18 Contents of guanosine phosphates in the canine basilar artery. The contents are normalized to total amount of protein in each sample tissue. Data shown as mean \pm SEM. (n = 12, two samples from each animal). Asterisks indicate significant differences between the control and the subarachnoid hemorrhage (SAH) groups.

Content of Phosphates in Basilar Artery

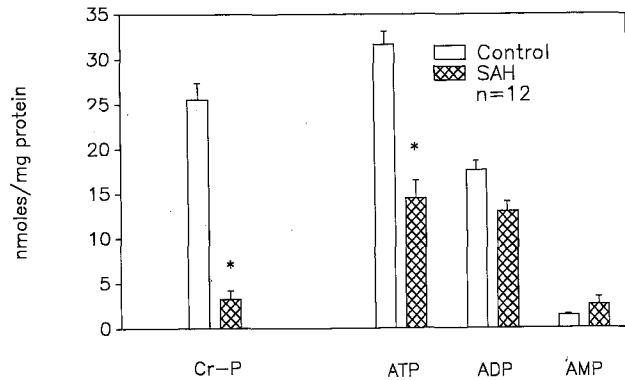


Fig.19 Contents of creatine phosphate (Cr-P) and adenosine phosphates in the canine basilar artery. The contents are normalized to total amount of protein in each sample tissue. Data shown as mean \pm SEM. (n = 12, two samples from each animal). Asterisks indicate significant differences between the control and the subarachnoid hemorrhage (SAH) groups.

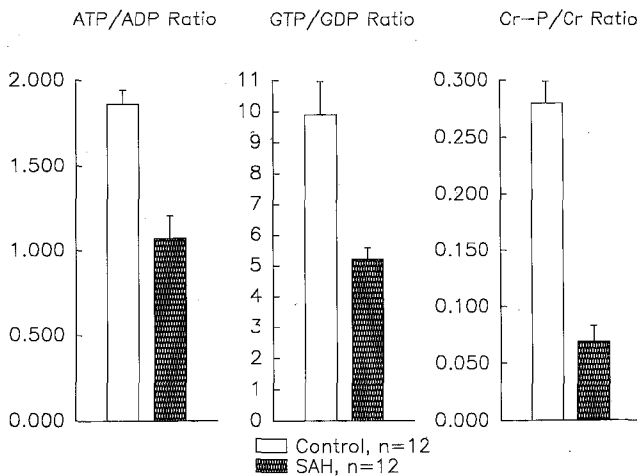


Fig.20 Ratios of ATP/ADP, GTP/GDP and that of creatine phosphate (Cr-P) to total creatine, (Cr) in the canine basilar artery. To measure total creatine, a colorimetric method was used after conversion of creatine phosphate to creatine by hydrolysis. Data shown as mean \pm SEM. (n = 12, two samples from each animal). Asterisks indicate significant differences between the control and the subarachnoid hemorrhage (SAH) groups.

9. 終わりに

ここで示しました一連の研究結果をまとめますと、a) クモ膜下出血後の攣縮脳動脈では代謝障害が起こっていて高エネルギー磷酸の含有量が低下し、b) その一つである GTP の低下が、GTP を基質として作られる second messenger、cyclic GMP の産生障害の少なくとも一因となり、c) cyclic GMP に依存した弛緩機構が障害されて EDRF に対する平滑筋の反応性が低下、内皮依存性弛緩が減弱消失します。すなわち最初に観察された vasopressin や bradykinin に対する内皮依存性弛緩の消失は、こうした平滑筋の細胞環境におこっている大きい変化の一部としてあるのだと言えそうです。一方こうした代謝の障害は収縮能にも影響するはずで、実際に攣縮脳底動脈で最大収縮力を測ってみますと (Fig.21)、著明に低下していますし、血管壁の compliance も低下しています²⁵⁾。これらを総合して考えますと、やはり脳血管攣縮というのは生理的収縮の持続状態ではなく、平滑筋の正常の制御機構を逸脱した根本的な代謝障害、機能障害の結果として出来上がった血管の狭小化状態であると言えるでしょう。

MAXIMAL CONTRACTION TO KCL IN CANINE BASILAR ARTERIES

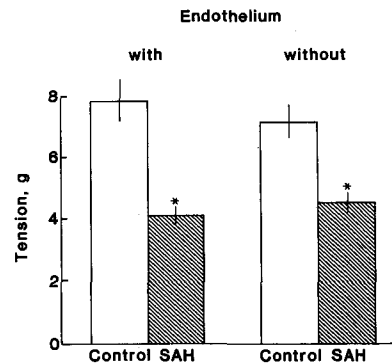


Fig.21 Maximal contraction to KCl in rings with and without endothelium in the control (open bars) and subarachnoid hemorrhage (SAH) group (shaded bars). Measurements were made at optimal length in each ring. Data presented as means \pm SEM (n = 32, 4 rings from each of eight different animals). The asterisks indicate a significant difference between the two groups (P < 0.05, Student's unpaired t-test).

文 献

- 1) Alksne JF and Branson PJ : Pathogenesis of cerebral vasospasm. *Neurological Res* 2 : 273-282, 1980
- 2) Fein JM, Flor WJ, Cohan SL, Parkhurst T: Sequential changes of vascular ultrastructure in experimental cerebral vasospasm. *Myonechrosis of subarachnoid arteries. J Neurosurg* 41 : 49-58, 1974.
- 3) Hughes JT, Schanchi PM: Cerebral artery spasm. A histological study at necropsy of the blood vessels in cases of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*, 48 : 515-525, 1978.
- 4) Mayberg MR, Okada T, and Bark DH: The significance of morphological changes in cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 72 : 626-633, 1990
- 5) Smith RR, Clower BR, Peeler DF and Yoshioka J: The Angiopathy of subarachnoid hemorrhage: angiographic and morphological correlates. *Stroke* 14 : 240-245, 1983
- 6) Nakagomi T, Kassell NF, Sasaki T et al: Impairment of endothelium-dependent vasodilatation induced by acetylcholine and adenosine triphosphate following experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 18 : 482-489, 1987
- 7) Wellum GR, Peterson JW, Zervas NT : The relevance of in vitro smooth muscle experiments to cerebral vasospasm. *Stroke* 16 : 573-581, 1985
- 8) White RP : Multiplex origins of cerebral vasospasm. In Price TR, Nelson E(eds); *Cerebrovascular diseases. Eleventh Princeton Conference. New York, Raven Press, p307-319, 1979*
- 9) Bevan JA, Bevan RD and Frazee JG : Functional arterial changes in chronic cerebrovasospasm in monkeys: an in vitro assessment of the contribution to arterial narrowing. *Stroke* 18 : 472-481, 1987
- 10) Kim P, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM : Alteration of mechanical properties in canine basilar arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 71 : 430-436, 1989
- 11) Ostergaard JR, Kristensen BO, Svehag SE et al : Immune complexes and complement activation following rupture of intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 66 : 891-897, 1987
- 12) Peterson JW, Kwun BD, Hackett JD, Zervas NT : The role of inflammation in experimental cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 72 : 767-774, 1990
- 13) Furchgott RF and Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 : 373-76, 1980.
- 14) Shimokawa H, Kim P, Vanhoutte PM : Endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets in isolated basilar arteries of control and hypercholesterolemic pigs. *Circ Res* 63 : 604-612, 1988
- 15) Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM: Vasopressin causes endothelium-dependent relaxations of the canine basilar artery. *Circ Res*, 55 : 575-579, 1984.
- 16) Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM : Endothelium-dependent contraction to stretch in canine basilar arteries. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol* 21) H671-H673, 1987.
- 17) Kim P, Sundt TM, Vanhoutte PM : Alterations in endothelium-dependent responsiveness of the canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 69 : 239-246, 1988
- 18) Kim P, Lorenz RR, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM : Release of endothelium-derived relaxing factor after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 70 : 108-114, 1989
- 19) Palmer RMJ, Ferrige AG, and Moncada S. 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327 : 524-526.
- 20) Furchgott RF, Vanhoutte PM: Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 3 : 2007-2018, 1989
- 21) Gibson QH, and Roughton FJW. 1957. The kinetics and equilibria of the reactions of nitric oxide with sheep haemoglobin. *J. Physiol. (Lond.)* 136 : 507-526.
- 22) Martin W, Villani GM, Jothianandan D, Furchgott RF : Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 232: 708-716, 1985.
- 23) Kim P, Schini V, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM: Reduced production of cyclic GMP explains the loss of endothelium-dependent relaxations in the canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *Circ Res* 70 : 248-256, 1992
- 24) Kim P, Jones JD, Sundt TM Jr: Decrease of high-energy phosphates in the spastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* (in press) 1992
- 25) Kim P, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM : Alteration of mechanical properties in canine basilar arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 71:430-436, 1989