

家兎耳翼寒冷血管反射に対する皮膚電気刺激効果

竹岡みち子, 酒井秋男, 柳平坦徳, 上田五雨
信州大学医学部環境生理

Effect of Electric Stimulation on Cold-induced Vasooscillation in Rabbit's Ear Artery

Michiko TAKEOKA, Akio SAKAI, Yasunori YANAGIDAIRA and Gou UEDA
Dept of Environ. Physiol., Shinshu Univ. Sch. Medicine

Abstract : Both-side earlobes of 9 male rabbits in 25°C room air were locally exposed to 8°C water to keep the blood vessels properly tense. This tension allows the vessels a possibility of dilatation. Then the central artery of one (mainly right) ear was stimulated by an electrical stimulator under conditions of 30~300 Hz, 0.1~10 ms, 0.5~1.0 mA, and 30sec~1min. The vasoconstrictive and vasodilatative effects were detected by using thermistors on the both- side central arteries and partly by a laser-Doppler flow meter.

- 1) For 26 among total 45 electrical stimulation trials, vasoconstriction of the central ear artery occurred.
- 2) For 5 among 45 trials, vasodilatation occurred. For the remained 14, the effect was too small to be distinguished from irregular vasomotor fluctuations.
- 3) In two cases, cold induced irregular vasooscillation was fascilitated and in other two cases, it was inhibited by electrical stimulation.
- 4) Similar pattern changes as those in stimulated ears were seen in not-stimulated ears for every electrical stimulation.
Even by abdominal electrical stimulation, the same effects occurred in both- side ear central arteries.
- 5) Responsibility of vessels depended rather on the individuality than on the intensity of electric stimulation.

Key words : rabbit's ear, local cold, electric stimulation, vasomotion

家兎耳翼, 局所寒冷, 電気刺激, 血管運動性

はじめに

家兎耳翼の局所的寒冷暴露により、耳翼中心動脈に収縮・拡張性の動揺がおこる。このような局所寒冷暴露下の収縮は Noradrenarin (NA) によりおこり、拡張はその枯渇、血管平滑筋の疲労等によることが主に剔出血管を用いた研究で報告されている。Millard and Reite (1975) は⁴⁾、剔出したアヒル足動脈の灌流温度を35°Cから2°Cに下げると温度依存的に血流量が減少すると報告し、Gardner and Webb (1986) は⁵⁾ ラット尾の剔出動脈の灌流温を37°Cから4~12°Cに冷却すると、有意な血流減少が起こりその後血管の拡張

が続くが、これは交感神経刺激により放出された NA が枯渇するためと結論づけている。

著者等は無傷の家兎でこの寒冷誘発血管動揺を見ているが、冷却により血管を収縮させて緊張状態を作っておき種々の刺激を与えると、刺激に対してもっと積極的な拡張が起きることを認めている。

そこで今回、水温を8~10°Cに設定し、家兎耳翼中心動脈に不規則な寒冷誘発血管動揺をおこさせた後、その収縮、拡張メカニズムにおいて電気刺激がどのような影響を与えるか、耳翼皮膚に電極をおいて刺激し、その血流パターン変化を分析して、拡張物質、拡張神経等について考察した。

実験方法

室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ に設定された実験動物舎で飼育している2.6~3.4kgの雄家兎を用い、実験時は、室温 $25 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 、湿度60%の人工気象室内に1時間放置した後、実験を行った。家兎を背臥位に固定し、左右耳翼内側で、中心動脈の先端1/3にサーミスターピックアップをそれぞれテープにより添付し、右耳のみ、その1cm先端、同じく中心動脈上にレーザー・ピックアップを添付して、血流量の測定を同時に行い、サーミスターによる、温度を指標とした血流変化の確認を行った。

サーミスターは、MGAI-219（日本光電）を、またレーザー・ドップラーはLASERFLO-BPM403（学研）を使用した。記録はXYレコーダー、D-72B（理研電子）で行った。サーミスターは出力が $50\text{ mV} \cdot 20^\circ\text{C}$ であり現象の拡大が困難であるため、間に直流電圧補償回路を入れて直流電圧を打ち消し、記録計巾 25 cm が 4°C となるように拡大した。精度は 0.01°C である。

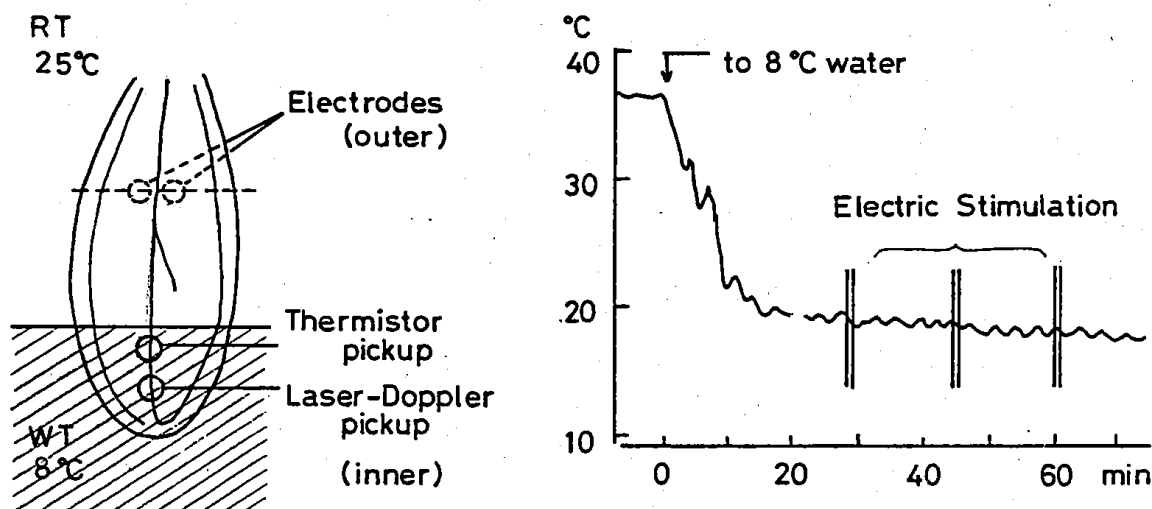
右耳付け根より1/3の外側皮膚表面に、中心動脈を挟んで 2 cm の間隔をおいて電極を2枚張り付け、耳翼表面電気刺激の電極とした。

以上の準備後、耳翼先端の局所冷却を行った。これは、冷却により交感神経を刺激し、血管にある程度の緊張を持たせた状態で、電気刺激による収縮・拡張効果を出し易くする目的を持っている。

方法としては、両耳翼の先端より約1/3、サーミスターピックアップの 0.5 cm 上までを $8 \sim 10^\circ\text{C}$ の水中に暴露し、その初期にはサーミスターが外面の水温に影響されて温度は急激に下がるが、 $10 \sim 15$ 分で安定するので、その安定した後に電気刺激を加え、中心動脈の血流変化を測定した（図1）。

恒温槽はハーケF 2-Cを用いて水温を一定にし、刺激装置は三栄3 F 31を用いて、周波数 $30 \sim 300\text{ Hz}$ 、 $0.1 \sim 10\text{ ms}$ 、 $0.5 \sim 1.0\text{ mA}$ の繰り返し電気パルス 30 秒 ~ 1 分発生させた。これは電流実効値として、あばれの起こる直前の強さである 0.9 mA を得るための設定である。刺激は、耳中心動脈の寒冷誘発波が谷になった時点で行い、更に下降する変化を収縮、刺激前の山より明らかに上昇するものを拡張と判定して分類した。一回90分の実験で $30 \sim 300\text{ Hz}$ の周波数で3回の刺激を与えることを規準とし、9匹の家兎を用いて、一週間の回復期間をおいて繰り返した。

Fig.1 Left panel : Locations of thermistor pickup, laser-Doppler pickup and electrode. Right panel : Electric stimulation timing after immersion of earlobes.



結果

9匹の家兎を用い、全回数45回の電気刺激を、右耳翼に対して行った。その45例中、電気刺激により、刺激耳翼中心動脈に判定可能な変化を生じた例は31例であった。残りの14例は寒冷誘発波に吸収されてしまい、変化が検出できないので刺激効果はないと判定した。変化を示した31例のうち、刺激開始直後に、寒冷暴露により生じる周期 30 秒 ~ 2 分、波高 $0.5 \sim 3^\circ\text{C}$ 程度の不

規則波を越えた温度の急下降、即ち血流の減少が見られたもの（図2）が26例、温度の上昇、即ち血流の増加が見られたもの（図3）が5例であった。温度変化のあった31例では、ほぼ全例で刺激耳と反対の左耳の中心動脈にも、波高、波長とも刺激側と類似度の高いパターン変化を示した。反対耳で刺激側より逆に多少反応波型の変化の鋭い例もみられた。

電気刺激開始直後の血管温度下降の後、刺激を中止したあとで、不規則だった寒冷誘発温度動揺が活性化

されたものが2例みられた。1例では300 Hz, 1 ms, 0.9 mA, 30秒の電気刺激によって動揺が大きくなり、5分程続いた後もとに戻った。また1例では、28分間温度動揺が止まっていた耳で、300 Hz, 2 ms, 0.6 mA, 30秒の刺激を2回繰り返すと、周期40秒、波高0.5°C位の波が出始めた。

これら電気刺激による寒冷誘発動揺の賦活化とは逆に、不規則にでていた動揺が、電気刺激によって消失してしまうものも2例認められた。

応答性の高いレーザー・ドップラー組織血流計では、図3に示すように電気刺激直後に、サーミスターの温度変化では測定できない血流変化が起きている現象を捕まえている。

寒冷暴露の耳翼からは遠隔部である右側腹皮膚表面の電気刺激によっても、刺激開始直後に左右耳の中心動脈で、左右類似性の高い温度の下降及び上昇変化がみられた。また右側腹の刺激でも神経系の賦活化はみられた。

Fig.2 Vasoconstriction of right-ear (RE) and left-ear (LE) central arteries by electric stimulation (30 ~ 300 Hz, 0.1 ~ 10 ms, 0.5 ~ 1.0 mA, 30sec ~ 1min) measured by thermistor methods.

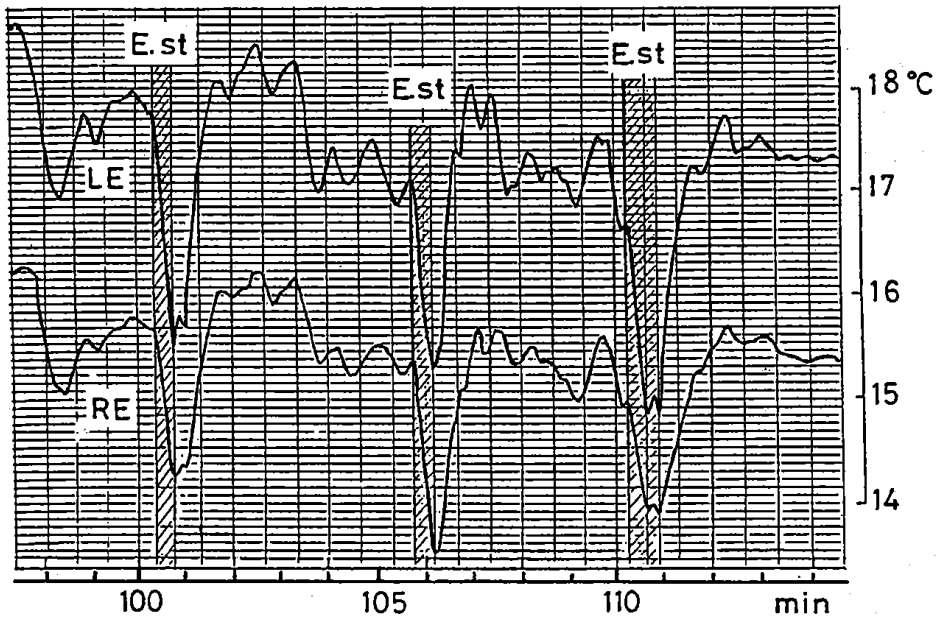
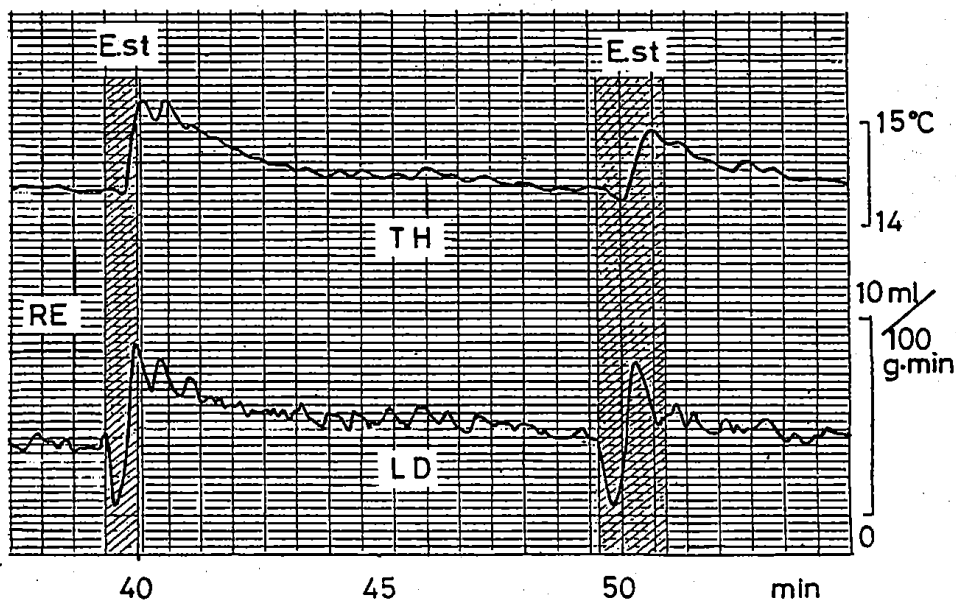


Fig.3 Vasodilatation of right-ear (RE) central artery caused by electric stimulation.

TH: Thermistor, LD: Laser-Doppler



考 察

血管は交感神経により、常にある一定の緊張状態を保ってはいるが、この状態では種々の刺激により拡張傾向を補えることが困難である。そこで、Kalsner (1974) は⁶⁾ 剔出した家兎耳翼中心動脈を使って、その灌流液に NA を加えて更に血管を緊張させて実験を行っている。著者等は外因的 NA 投与の代わりに、冷却により交感神経を刺激して血管により強度の緊張を持たせ、電気刺激に対する収縮・拡張効果を出し易い状態を作った。著者等はこの局所冷却条件として、長年 -20°C 、 -15°C 、 -7°C 、 0°C 、 8°C 、 15°C の暴露温を中心に検討してきたが、今回の電気刺激による効果をより明確に判定するためには 8°C が最適であると考へ実効した。即ち、 -7°C 以下の暴露温では寒冷誘発波の規則性が強すぎ、電気刺激の効果が打ち消されてしまったため、やや不規則な波をだす 8°C を最適暴露温と設定したのである。水温 8°C 暴露による寒冷不規則誘発波は、1時間半～2時間で小さくなり消える特徴を持っている。

次に電気刺激であるが、自律神経は広く分布しているので、一定の領域に電気刺激ができるよう、中心動脈を挟んで2 cmの間隔をおいて電極を貼った。刺激の周波数については、Blumberg and Wallin (1987) の⁷⁾ 論文によれば人足の peroneal naeve 電気刺激には2～5 Hz の、また Kalsner (1974) は⁶⁾ 剔出した家兎耳翼中心動脈の電気刺激には5 Hz の低周波を用いているが、著者等の行っている無傷家兎耳翼中心動脈では3 Hz、30 Hz の低周波でも、300 Hz でも結果に差がなかったため、主に電流実効値の測定できる30～300 Hz を使用し電気刺激を行った。電流実効値は、あばれのおこる直前の強さ、即ち0.9 mA を目標に設定した。

電気刺激により起きた収縮は交感神経刺激により NA が放出されたと解釈できるが、拡張に関しても多くの研究がなされている。

Blumberg and Wallin (1987) は⁷⁾、人足 peroneal nerve の、痛みが起きる強度の電気刺激で拡張反射を起こしており、この拡張が交感神経切除により起きなくなることを確認している。また、人を暖めた後、交感神経切除または皮膚神経麻酔をすると皮膚血流が減少するという報告もあわせて、彼らは電気刺激による血管拡張の機序として収縮性神経系の抑制とともに拡張神経の活性化の可能性を示唆している。

Owen and Bevan (1984) に⁸⁾ よれば、剔出した家

兎耳翼を用い、histamine で収縮させておいた血管が、外因性に投与した acetylcholine で拡張し、その拡張を atropine がブロックするというムスカリン様受容器の存在を、中心動脈より細い側枝で特に著しく示している。

一方、Kalsner (1974) は⁶⁾ 剔出した家兎耳翼中心動脈で電気刺激により血管拡張を認めているが、この拡張が atropine, mepyramine によりブロックされないと報告している。また、剔出したアヒル、ニワトリ足の pedal nerve を電気刺激して起きた血管の拡張は、atropine 及び metiamide でブロックされないで、この拡張は acetylcholine 系でも histamine 系でもなく、purinergic 系や peptide 系に困るのではないかと報告が McGregor (1979) によりされている⁹⁾。

以上のように血管の拡張神経については様々な論議をよんでおり、著者等も atropine によるブロックも試みてはいるが今現在良い効果を得ていない。しかし、家兎耳翼の arterio-venous anastomoses にはアセチルコリンエステラーゼの存在が Iijima and Tagawa (1976) により確認されており¹⁰⁾、対象を更に細い血管までレーザー・ドップラー組織血流計等を使って拡張神経存在の可能性を検討していきたい。

これら、電気刺激により生じた変化は、与えた刺激条件の変化、即ち、3～300 Hz、電流強度変化等よりも、ウサギの個体差に大きく依存しており、9匹中電気刺激に対して反応性の良いウサギ5匹では、刺激を繰り返しても毎回同じく変化を示し、効果がみられないウサギ4匹では、刺激を繰り返しても変化の検出は困難であった。

ここに示したような寒冷血管反射に対し、収縮・拡張の反応の度合が大であることは、局所寒冷暴露に対し、凍傷の発生を防ぐ能力となると考えられる。

要 約

家兎耳翼を局所的に 8°C の水で寒冷暴露することにより血管を緊張させた状態を作った。その条件下で中心動脈の回りを電気刺激し、中心動脈の血管の拡張・収縮をサーミスターを用いて血流の増減としてとらえ、分類した。一部レーザー・ドップラー組織血流計での測定も行った。

電流実効値の測定できる30～300 Hz の周波数で、パルス特性0.1～10 ms、0.5～1.0 mA、全体として30秒～1分の電気刺激を9匹の家兎で45回行った。

- 1) 45回中26回で刺激側耳翼中心動脈に収縮が起った。
- 2) 45回中5回で拡張が起った。あとの14回は、寒冷

- 誘発波に打ち消されて判定できないものと、変化を示さなかったものである。
- 3) 電気刺激により寒冷誘発不規則波が活性化され波高の大きな規則波にか変わったものが2例、逆に抑制され消失した例も2例みられた。
- 4) 電気刺激側と反対側の耳で、刺激側と同傾向のほぼ同じ大きさの血流変化が見られた。腹部の電気刺激によっても左右耳翼に同傾向の反射が生じた。
- 5) 電気刺激によって起きる血管の拡張・収縮反応は、家兎の個体差に大きく依存し、反応性の高い5匹では毎回変化を示したが、反応性の低い4匹では常に変化は見られなかった。

文 献

- 1) Tekeoka, M., Yanagidaira, Y. and Ueda, G. : Long - term thermoregulatory vasoreactions of rabbit's ear in response to subfreeze stimulus.
In : Hales, J. R. S. (ed.), Thermal physiology : pp 213-216, Raven Press, New york, 1983
- 2) Ueda, G. and Takioka, M. : Computer analyses for thermoregulatory cold vasooscillation. In : Hales, J. R. S. (ed.), Thermal physiology : pp 209-212, Raven Press, new York, 1983
- 3) Takeoka, M. and Ueda, G. : Effect of needle puncture on cold induced vasooscillation. In : Ueda, G. (ed.), High Altitude Med. Sci., pp 399-403, Shinshu Univ., Matsumoto, 1988
- 4) Millard, W. R. and Reite, O. B. : Peripheral vascular response to norepinephrine at temperatures from 2 to 40°C. J. Appl. Physiol., 38 (1) : 26-30, 1975
- 5) Gardner, C. A. and Webb, R. C. : Cold - induced vasodilation in isolated, perfused rat tail artery. Am. J. Physiol., 251: H176-H181, 1986
- 6) Kalsner, S. : A vasodilator innervation to the central artery of the rabbit ear. Br. J. Pharmac., 52 : 5-12, 1974
- 7) Blumberg, H. and Wallin, B. G. : Direct evidence of neurally mediated vasodilatation in hairy skin of the human foot. J. Physiol., 382: 105-121, 1987
- 8) Owen, M. P. and Bevan, J. A. : Acetylcholine induced endothelial - dependent vasodilation increases as artery diameter decreases in the rabbit ear. Experientia, 41 : 1057-1058, 1984
- 9) McGregor, D. D. : Noncholinergic vasodilator innervation in the feet of ducks and chickens. Am. J. Physiol., 237 (2) : H112-117, 1979
- 10) Iijima, T. and Tagawa, T. : Adrenergic and Cholinergic innervation of the arteriovenous anastomosis in the rabbit's Ear. Anat. Rec., 185 : 373-380, 1976