

ヒト脳血管のアドレナリン受容体および クモ膜下出血後の変化

京都大学脳神経外科学教室 (指導: 半田 肇教授)

塚 原 徹 也

[原稿受付: 昭和60年7月23日]

Characterization of Adrenergic Receptors in Human Cerebral Arteries and the Alteration after Subarachnoid Hemorrhage

TETSUYA TSUKAHARA

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

The nature of adrenergic receptors in human cerebral arteries was characterized and the changes of these receptors after subarachnoid hemorrhage was examined using a radioligand binding assay. ^3H -prazosin, a selective alpha 1 antagonist, binding was performed by incubating aliquots of the cerebral arterial homogenates. Specific binding of increasing concentrations of ^3H -prazosin was saturable. Scatchard plot indicated a single class of binding sites, with $K_D=2$ nM and $B_{\max}=60$ fmol/mg protein. ^3H -yohimbine, a selective alpha 2 antagonist, binding was performed. Specific binding of increasing concentrations of ^3H -yohimbine was saturable. Scatchard plot of the saturation curve was curvilinear. Computer analysis of the data indicated two classes of binding sites, with $K_D=0.5$ nM, $B_{\max}=20$ fmol/mg protein and $K_D=30$ nM, $B_{\max}=250$ fmol/mg protein, respectively. Specific ^3H -dihydroalprenolol, a beta adrenergic antagonist, binding was saturable with $K_D=12$ nM and $B_{\max}=790$ fmol/mg protein. The analysis of inhibition of specific ^3H -dihydroalprenolol binding by adrenergic agents suggested that human cerebral arteries contain a high density of beta adrenergic receptors and that the receptors are classified into two types, namely beta 1 and beta 2 adrenergic receptors. The calculated ratio of beta 1 : beta 2 was approximately 4 : 6. Scatchard plot of ^3H -prazosin binding to human cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage was also of single class with slightly smaller B_{\max} , and K_D became about half of that of control group. ^3H -Yohimbine

Key words: Human cerebral arteries, Alpha adrenergic receptors, Beta adrenergic receptors, Subarachnoid hemorrhage, Receptor binding assay.

索引語: ヒト脳動脈, α アドレナリン受容体, β アドレナリン受容体, くも膜下出血, 受容体結合実験.

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

binding to the arteries after subarachnoid hemorrhage was of single class, though it was of two classes in the control group. High affinity sites of alpha 2 adrenergic receptors seem to disappear and both K_D and B_{max} of low affinity sites of alpha 2 adrenergic receptors became large after subarachnoid hemorrhage. K_D and B_{max} of 3H -dihydroalprenolol binding after subarachnoid hemorrhage were 14 nM and 1100 fmol/mg protein, respectively. The calculated ratio of beta 1 : beta 2 ratio was approximately 6 : 4. These data suggest that sympathetic denervation occurs in the cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage and that postsynaptic alpha 1 adrenergic receptors become sensitive to catecholamines. These functional changes of sympathetic innervation to cerebral arteries may be a cause of delayed vasospasm after subarachnoid hemorrhage.

I 緒 言

脳血管に分布するアドレナリン作動性神経は、脳血管の収縮・弛緩反応に関与することによって、脳血流の神経性調節に何らかの役割をはたしていると考えられている。生化学的方法、組織化学的方法によって、脳血管には、大量の noradrenaline が含まれていること^{9,11,22,24} また脳軟膜動脈に対して上頸交感神経節より豊富な交感神経線維の支配があることが確認されている^{8,12,22}。In vitro において、ヒト、ウサギ、ネコの脳動脈条片は α アドレナリン作動薬によって収縮すること、またこの収縮は濃度依存性であり、 α アドレナリン遮断薬によって遮断されることが報告されている^{6,7,9}。一方ヒト、ネコ脳動脈条片は α アドレナリン受容体遮断の条件下で、 β アドレナリン作動薬により弛緩することが報告されている^{7,9,33}。

アドレナリン受容体はその選択的作動薬に対する親和性によって、 α_1 、 α_2 ^{3,5,28}、及び β_1 、 β_2 ¹³ 受容体に分類されている。 α アドレナリン受容体について、Sakakibara らはイヌ脳動脈の noradrenaline による収縮は主に、 α_2 アドレナリン受容体を介しておくと報告しており²⁵、私たちも、ウシ脳動脈には α_2 アドレナリン受容体のみで α_1 アドレナリン受容体が検出できないことを報告した³⁵。イヌ、ウシ等の脳動脈は、他の頭蓋外動脈に比して、noradrenaline に対する反応性が有意に小さいことが知られていたが^{3,25}、頭蓋外血管で noradrenaline 性収縮を伝達すると報告されている α_1 アドレナリン受容体の欠除がこの低反応性の一因であると考えられた。一方、In vitro における脳動脈条片の noradrenaline に対する反応性には大きな種族差があることも報告され、ヒト脳動脈の norad-

renaline に対する反応性は、イヌ・ネコ等の実験動物より大きいことが知られている^{32,34,37}。このような反応性の相違は、 α アドレナリン受容体の相違に起因している可能性があると考えられる。

β アドレナリン受容体に関しては、著明な種族差は報告されていない。ヒト・ネコ脳動脈条片における isoproterenol による弛緩作用は選択的 β_1 アドレナリン遮断薬である practolol で遮断されること^{7,9}、及び、ウサギの脳血流は isoproterenol 投与によって増加するが、この増加作用も β_1 アドレナリン遮断薬で遮断されることより²⁶、脳動脈の β アドレナリン受容体は β_1 型であると報告されている。しかし、脳微小血管では β_2 アドレナリン受容体が優位であるとの報告もあり²⁰、脳動脈上の β アドレナリン受容体の性質は必ずしも明らかではない。

今回、私たちは、 α_1 アドレナリン遮断薬である 3H -prazosin、 α_2 アドレナリン遮断薬である 3H -yohimbine、 β アドレナリン遮断薬である 3H -dihydroalprenolol (3H -DHA) を用い ligand binding 法により、ヒト脳動脈上の α 及び β アドレナリン受容体を定量的に分析した。

クモ膜下出血後の脳血管攣縮は、その予後に重大な影響を持つ問題であるが、原因はまだ明らかではない。クモ膜下出血後、髄液中や、血中の catecholamine 濃度が上昇するとの報告^{1,21}、ヒト脳動脈の noradrenaline 性収縮は他の実験動物の脳動脈より大きいことを^{32,34,37} 考慮すれば、臨床上のクモ膜下出血後の脳血管攣縮の原因究明のためには、脳血管アドレナリン作動性機構の働きを詳細に検討することが必要と考えられる。従って私たちは、クモ膜下出血後のヒト脳血管におけるアドレナリン受容体の変化をも定量的に解

析した。

II 実験材料および実験方法

実験材料

剖検の際、脳動脈(主に、脳底動脈、中大脳動脈、ウィルス輪)を脳表より剝離し、生理食塩水で洗浄後、ただちに -80°C の冷凍庫にて保存した。死亡確認後、冷凍庫保存にまで要した時間は2時間以内であった。

膜標品作成

冷凍庫よりとりだした脳血管は氷上で鉋により切り、さらに10倍量の50 mM ナトリウムリン酸緩衝液(pH 7.4)中で glass homogenizer を用いて細切した。homogenate を2枚のガーゼを通して濾過後、polytoron にてさらに細切した後、 $1,000\times g$ にて10分間遠沈した。その上清をさらに $100,000\times g$ において60分間遠沈後沈渣を50 mM ナトリウムリン酸緩衝液に再浮遊させたものを膜標品とした。標品中の蛋白量は Lowry らの方法¹⁸⁾にしたがって決定した。

結合実験

^3H -prazosin, ^3H -yohimbine, ^3H -DHA 結合は、膜標品を250 μl ナトリウムリン酸緩衝液中で 37°C 30分間 incubate することによって検討した。 ^3H -prazosin 及び ^3H -yohimbine 結合実験には、反応液中に100 μM phentolamine を含んだ系(非特異的結合)、phentolamine を含まない系(総結合)とを平行して行ない、総結合量より非特異的結合量を差引いて特異的結合量を算出した。 ^3H -DHA 結合については、100 μM phentolamine の代りに100 μM propranolol を含んだ系(非特異的結合) propranolol を含まない系(総結合)とを用いた以外は先と同様に行なった。

反応は氷温の緩衝液3 ml を反応液中加入することによって停止させ、反応液をGF/B glass filter を透して陰圧下に急速濾過させた。3 ml 緩衝液で2度洗浄後、filter を oven 内へ入れ乾燥させ、さらに scintillation 液8 ml を含む vial 中に移した。 ^3H -放射線量を Packard Tri-Carb scintillation spectrometer (Model 3255) により測定した。阻害曲線を得るために、解離定数に近い濃度の放射性リガンド(5.6 nM ^3H -prazosin, 22 nM ^3H -yohimbine 及び 15 nM ^3H -DHA) とそれぞれの作動薬、遮断薬を含む反応系で結合実験を行なった。

データ解析

クモ膜下出血以外の症例を対照群として、 ^3H -prazo-

sin 結合、 ^3H -yohimbine 結合については6例の、 ^3H -DHA 結合については4例の平均値に基づき飽和曲線を描き Bennet らの方法²⁾にしたがって Scatchard 解析を行なった。また、別上記3物質については各3例の平均値から阻害曲線を描き IC_{50} 値を算出し、 ^3H -DHA 結合についてはさらに Hofstee 解析を行なった。クモ膜下出血の症例では Scatchard 解析に ^3H -prazosin 結合、 ^3H -yohimbine 結合については5例、 ^3H -DHA 結合については4例の平均値を用い、Hofstee 解析に3例の平均値を用いた以外、全て同様に行なった。 ^3H -yohimbine 結合の Scatchard 解析、 ^3H -DHA 結合の Hofstee 解析は曲線となり、複数の結合部位を持つことが示された。したがって ^3H -yohimbine 結合、 ^3H -DHA 結合の解離定数と結合量は反応液中の ^3H -yohimbine 濃度、または ^3H -DHA 濃度の関数として nonlinear best-squared fit 法により FUJITSU MICRO 7 Computer を用い分析した。 ^3H -yohimbine 結合、 ^3H -DHA 結合はいずれも Olsen らが記載した two-independent binding site model (Eq. 1)²³⁾ によく一致することが明らかとなった。

$$B = B_{\max 1} \times \frac{S}{K_{D1} + S} + B_{\max 2} \times \frac{S}{K_{D2} + S} \quad (1)$$

ここで、 B は反応液中のリガンド濃度(S)の際の全結合量を明わしている。 $B_{\max 1}$ 、 $B_{\max 2}$ はそれぞれ解離定数 K_{D1} 、 K_{D2} を持つ独立した結合部位の最大結合量を表わしている。

使用薬物

以下の薬剤を使用した。

l-adrenaline bitartrate, yohimbine hydrochloride (半井, 京都), *l*-noradrenaline bitartrate, (Sigma, St. Louis, USA), prazosin hydrochloride (Ciba-Geigy, Basel, Switzerland), butoxamine (Burroughs Wellcome Co, USA), metoprolol (AB Hässle, Sweden).

noradrenaline, adrenaline, isoproterenol は用時調整し、自然酸化分解を防ぐため、0.05%の ascorbic acid を加えた。この濃度の ascorbic acid は結果に影響を与えないことを予め確認した。

放射性リガンド

^3H -prazosin (specific activity 80.9 Ci/mmol), ^3H -yohimbine (specific activity 89.7 Ci/mmol), ^3H -DHA (specific activity 34.1 Ci/mmol) は New England Nuclear, Boston, M. A., USA より入手した。 ^3H -prazosin, ^3H -DHA は -20°C ethanol 中に遮光して保

存し、 ^3H -yohimbine は 5°C ethanol 中に遮光して保存した。用時蒸留水にて希釈し用いた。

III 結 果

1) ^3H -prazosin 結合

^3H -prazosin の特異的結合は反応液中の ^3H -prazosin 濃度増加にしたがって飽和性を示した (Fig. 1)。飽和曲線の Scatchard 解析は直線上に示され、したがって ^3H -prazosin の結合部位は単一であることが明らかとなった。解離定数 (K_D)、最大結合量 (B_{\max}) はそれぞれ 2 nM 、 $60\text{ fmol/mg protein}$ であった (Fig. 1)。

^3H -prazosin 結合の α_1 アドレナリン受容体特異性を α アドレナリン作動薬、遮断薬を用い検討し、 IC_{50} を表 1 にまとめた。アドレナリン作動薬では adrenaline に比して noradrenaline の親和性が高く、遮断薬では親和性の順位は prazosin $>$ phentolamine $>$ yohimbine となった。これらの結果は ^3H -prazosin の結合部位が α_1 アドレナリン受容体特異性を持つことを示している²⁸⁾。

2) ^3H -yohimbine 結合

^3H -yohimbine の特異的結合は反応液中の ^3H -yohimbine 濃度増加にしたがって飽和性を示した (Fig. 2)。飽和曲線の Scatchard 解析は曲線上に示され、コンピューターによるデータ解析により ^3H -yohimbine

結合部位には、2 種類の独立した結合部位の存在することが明らかとなった。高親和性部位の K_D 、 B_{\max} はそれぞれ 0.5 nM 、 $20\text{ fmol/mg protein}$ であり、低親和性部位は 30 nM 、 $250\text{ fmol/mg protein}$ であった。

^3H -yohimbine 結合の α_2 アドレナリン受容体特異性をアドレナリン作動薬、遮断薬を用い検討し、 IC_{50} 値を表 1 にまとめた。アドレナリン作動薬では noradrenaline に比して adrenaline の親和性が高く遮断薬では、親和性の順位は phentolamine \geq yohimbine $>$ prazosin となった。これらの結果は ^3H -yohimbine 結合部位が α_2 アドレナリン受容体特異性を持つことを示している²⁸⁾。

3) ^3H -DHA 結合

^3H -DHA の特異的結合は反応液中の ^3H -DHA 濃度増加にしたがって飽和性を示した (Fig. 3)。飽和曲線の Scatchard 解析は直線上に示され、 ^3H -DHA の結合部位は単一であった。 K_D 、 B_{\max} はそれぞれ 12 nM 、 $790\text{ fmol/mg protein}$ であった。 β アドレナリン作動薬、遮断薬を用い ^3H -DHA 結合部位の β アドレナリン受容体特異性を検討し、 IC_{50} 値を表 1 にまとめた。アドレナリン作動薬の中では isoproterenol の親和性が最も高く、親和性の順位は isoproterenol $>$ adrenaline $>$ noradrenaline であった。この結果は標品中に β_2

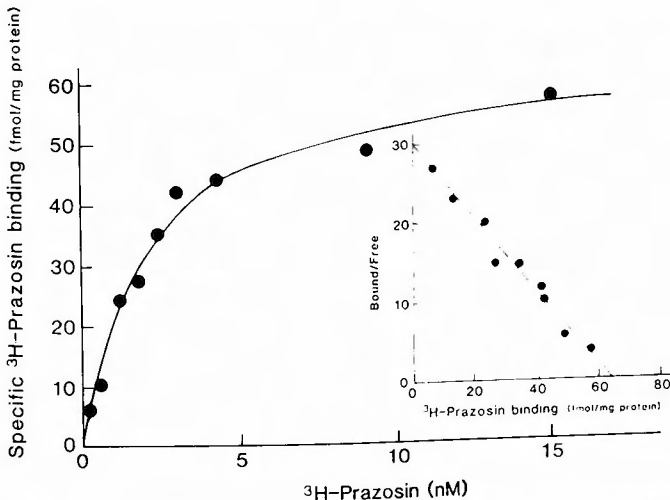


Fig. 1. Saturation of specific ^3H -prazosin binding to human cerebral arteries of non-SAH cases. Specific ^3H -prazosin binding, determined as described in the text, is plotted for increasing concentrations of added ^3H -prazosin. Each point represents the mean of 6 non-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot derived from the mean of the saturation curve. The slope of the plot was determined by linear regression analysis.

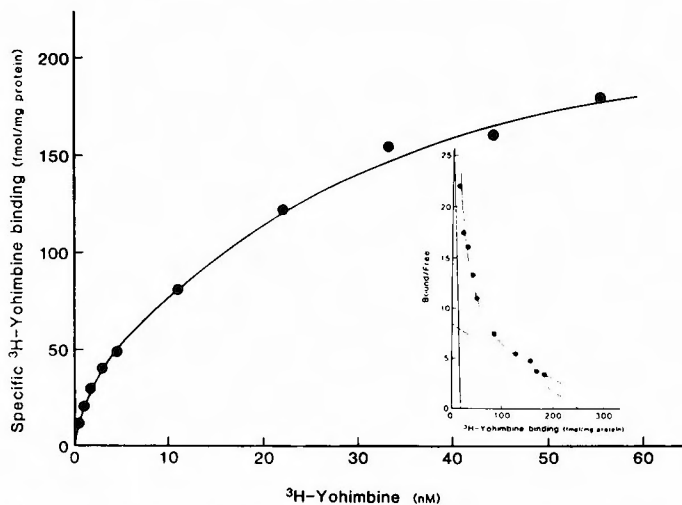


Fig. 2. Saturation of specific ^3H -yohimbine binding to human cerebral arteries of non-SAH cases. Each point represents the mean of 6 non-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot of the saturation curve. The slope of the plot was determined by nonlinear regression analysis.

アドレナリン受容体の存在を示すものであった¹³⁾ β アドレナリン遮断薬では propranolol の親和性が最も高く、単相性の阻害曲線を示した。選択的 β_1 アドレナリン遮断薬である metoprolol 及び選択的 β_2 アドレナリン遮断薬である butoxamine は2相性の阻害曲線を示し、 ^3H -DHA 結合部位には、2種類の独立した結合部位、すなわち β_1 アドレナリン受容体、 β_2 アドレ

リン受容体が存在すると考えられた。それぞれの阻害曲線の Hofstee 解析は曲線となり2種類の独立した直線の総和により近似された。2種の直線はそれぞれ、 β_1 、 β_2 アドレナリン受容体を示していると考えられ、 β_1 アドレナリン受容体： β_2 アドレナリン受容体の比を算出した。metoprolol の阻害曲線より $\beta_1/\beta_2=40/60$ 、butoxamine の阻害曲線より $\beta_1/\beta_2=39/61$ と算出され

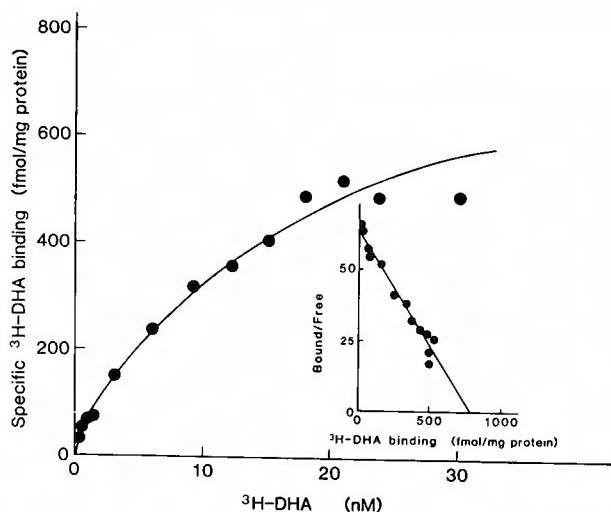


Fig. 3. Saturation of specific ^3H -DHA binding to human cerebral arteries of non-SAH cases. Each point represents the mean of 4 non-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot of the saturation curve. The slope of the plot was determined by linear regression analysis.

Table 1. IC_{50} values of various drugs inhibiting 3H -prazosin, 3H -yohimbine and 3H -DHA binding to human cerebral arteries. Each value is the mean of 3-non-SAH cases. IC_{50} is the concentration of drugs that reduces the specific bindings by 50%.

Drug	IC_{50} (μM)		
	3H -prazosin site	3H -yohimbine site	3H -DHA site
noradrenaline	490	790	48
adrenaline	1,000	44	16
isoproterenol	—	—	3.7
phenolamine	1.3	0.17	—
prazosin	0.00012	19	—
yohimbine	11	0.42	—
propranolol	—	—	0.098
metoprolol	—	—	9.7
butoxamine	—	—	1.9

た (Fig. 4).

4) SAH 後の 3H -prazosin 結合

SAH 後の脳血管膜標品において Scatchard 解析により 3H -prazosin 結合の K_D , B_{max} を算出した. K_D ; 1 nM, B_{max} : 50 fmol/mg protein であり, 対照群に比して K_D は50%に減少 B_{max} は80%に減少し

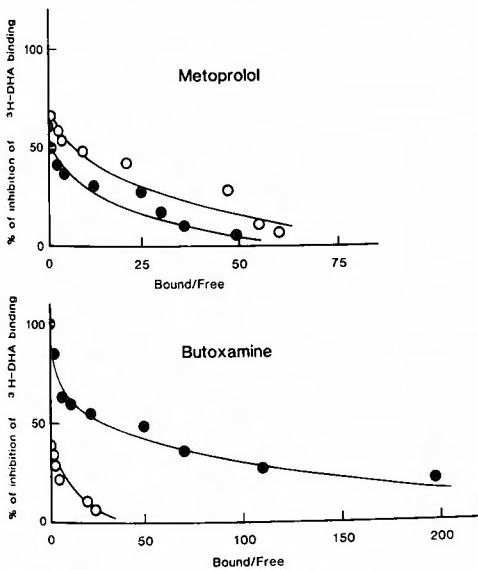


Fig. 4. Hofstee plots for the displacement curves of 3H -DHA binding by selective beta 1 (metoprolol) and beta 2 (butoxamine) antagonists; non-SAH group (●) and SAH group (○). Each point represents the mean of 3-non-SAH cases or 3-SAH cases.

た (Fig. 5).

5) SAH 後の 3H -yohimbine 結合

SAH 後の脳血管膜標品に対する 3H -yohimbine 結合の Scatchard 解析は直線となり, α_2 受容体高親和性部位は検出されず, 低親和性部位のみが検出された. K_D , B_{max} はそれぞれ 50 nM, 460 fmol/mg protein であり, 対照群に比していずれも約2倍に増大した (Fig. 6).

6) SAH 後の 3H -DHA 結合

SAH 後の脳血管膜標品に対する Scatchard 解析は直線となり, K_D , B_{max} はそれぞれ 14 nM, 1100 fmol/mg protein であった (Fig. 7). 対照群に比して K_D には著明な変化を認めなかったが B_{max} は約40%増加した. metoprolol による 3H -DHA 結合阻害曲線の Hofstee 解析により SAH 後の脳血管上の β_1 アドレナリン受容体と β_2 アドレナリン受容体の存在比は $\beta_1/\beta_2=62/38$ と算出され, butoxamine による阻害曲線より $\beta_1/\beta_2=71/29$ と算出された. β_1, β_2 を総和した総結合量が SAH 後約40%増大することを考慮すると SAH 後 β_1 アドレナリン受容体はほぼ2倍に増大し, β_2 アドレナリン受容体は, 不変または若干の減少傾向にあることが明らかとなった.

IV 考 察

1) α アドレナリン受容体

3H -prazosin 及び 3H -yohimbine を用いた結合実験により, ヒト脳血管上には α_1 及び α_2 アドレナリン受

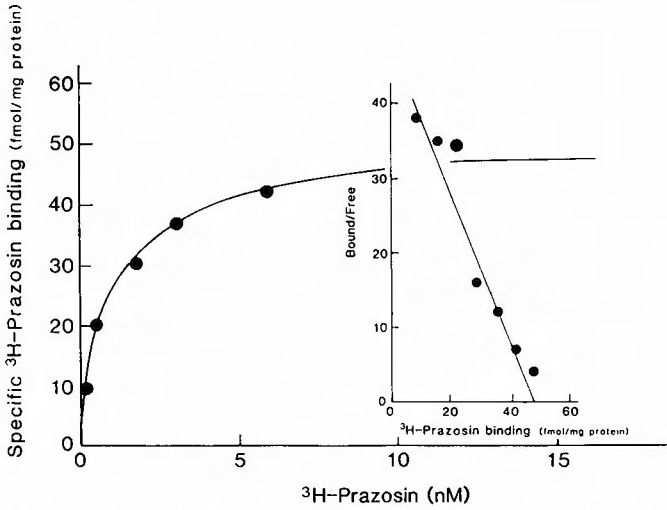


Fig. 5. Saturation of specific ³H-prazosin binding to human cerebral arteries of SAH cases. Each point represents the mean of 5-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot of the saturation curve. The slope of the plot was determined by linear regression analysis.

容体が存在することが示され、その性質が明らかとなった。頭蓋外血管においては、交感神経刺激による収縮反応は、主として α_1 アドレナリン受容体を介しておこり、血中 catecholamine による収縮反応は、 α_2 アドレナリン受容体を介しておこるとの可能性が報告されている^{14,15}。しかし、Sakakibara らは、イヌ脳動脈の noradrenaline 収縮は、 α_2 アドレナリン受容体を

介しておこることを示し²⁵、このため脳動脈は noradrenaline に対し反応性が低いであろうと結論づけている。また、ネコ中大脳動脈の noradrenaline 収縮も α_2 アドレナリン受容体を介しておこると報告されている^{19,27}。私たちも ³H-prazosin, ³H-yohimbine を用いた結合実験で、ウシ脳動脈には α_2 アドレナリン受容体のみが存在し、 α_1 アドレナリン受容体が検出でき

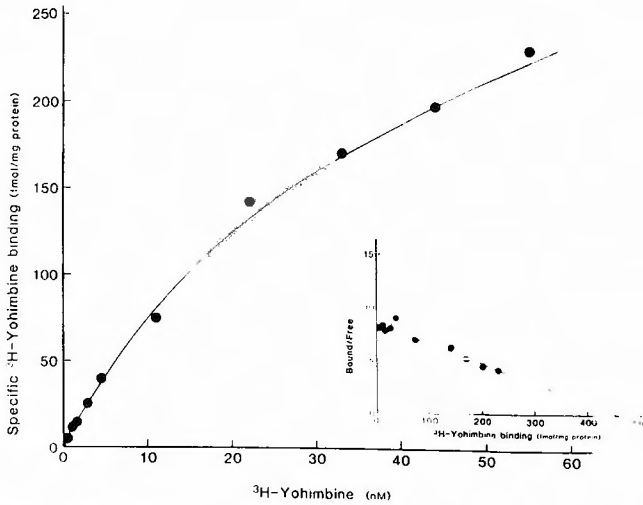


Fig. 6. Saturation of specific ³H-yohimbine binding to human cerebral arteries of SAH cases. Each point represents the mean of 5-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot of the saturation curve. The slope of the plot was determined by linear regression analysis.

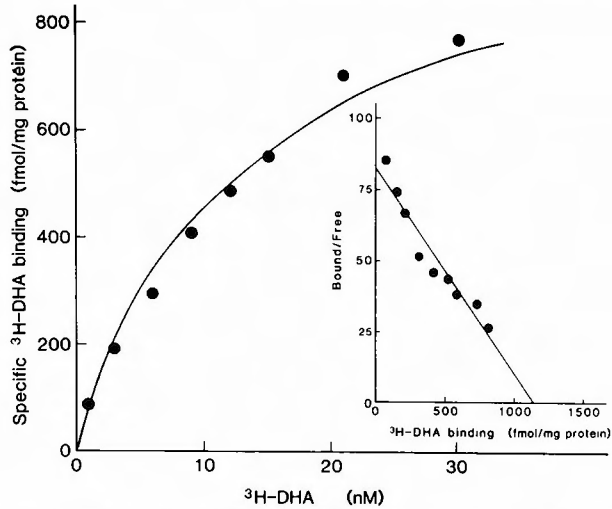


Fig. 7. Saturation of specific $^3\text{H-DHA}$ binding to human cerebral arteries of SALL cases. Each point represents the mean of 4-SAH cases. The inset shows the Scatchard plot of the saturation curve. The slope of the plot was determined by linear regression analysis.

ないことを明らかにした³⁵⁾。このように、脳動脈は、 α_2 アドレナリン受容体がシナプス後膜にも存在し収縮に関与し、 α_1 アドレナリン受容体の働きが明らかでない典型的な血管であると考えられていた。しかし、一方で、脳動脈の noradrenaline 反応性には大きな種族差があり、ヒト・サルの脳動脈は、イヌ脳動脈に比して noradrenaline 反応性が高いとの報告がある^{34),37)}。また、ヒト・サルの脳動脈の noradrenaline 収縮は prazosin で遮断されると報告されている^{34),37)}。今回 $^3\text{H-prazosin}$ を用いた結合実験により、ヒト脳動脈上に α_1 アドレナリン受容体の存在が示された。頭蓋外血管では主に α_1 アドレナリン受容体が noradrenaline 収縮に関与するとされ、同受容体の存在か、ヒト脳動脈において、noradrenaline 反応性の高い一因であろうと考えられた。

α_2 アドレナリン受容体に関しては、種族差は著明ではない。ヒト脳動脈上の α_2 アドレナリン受容体は高親和性部位と低親和性部位の2種に分類されたが、イヌ脳動脈上の α_2 アドレナリン受容体も同様に2種に分類されることを観察している³¹⁾。イヌ脳動脈においては、シナプス前膜に位置する α_2 アドレナリン受容体は、交感神経終末よりの noradrenaline 分泌を抑制し、シナプス後膜に位置する α_2 アドレナリン受容体は収縮に関与すると報告されている²⁹⁾。結合実験で明らかにされた、2種の α_2 アドレナリン受容体が

シナプス前に位置するのか、あるいはシナプス後に位置するのかを交感神経摘除によって確認した³¹⁾。脳動脈は、上頸交感神経節より一側性に神経支配をうけ同神経節摘除によって除神経されることが報告されている^{8,12,22)}。私たちの実験でも、上頸交感神経節摘除一週間後には、脳動脈中の noradrenaline 含量は対照群に比して5%以下となった³¹⁾。この除神経された脳血管では外来性 noradrenaline に対する反応性は変化なかったが結合実験では高親和性 α_2 アドレナリン受容体が消失し、低親和性 α_2 アドレナリン受容体のみ残存することが観察された³¹⁾。このことより高親和性 α_2 アドレナリン受容体はシナプス前膜に存在し、低親和性 α_2 アドレナリン受容体はシナプス後膜に存在するものと考えられた。ヒト脳動脈での α_2 アドレナリン受容体の働きは明らかではないが、結合実験ではイヌ脳動脈の α_2 アドレナリン受容体と同様の性質を持つことにより、機能的にも、イヌ脳血管上の同受容体と類似して交感神経終末よりの noradrenaline 分泌抑制及び血管収縮に関与するものと予想される。

2) β アドレナリン受容体

β アドレナリン遮断薬である $^3\text{H-DHA}$ を用いた結合実験で、ヒト脳血管上の β アドレナリン受容体の存在が明らかとなった。 $^3\text{H-DHA}$ は β_1, β_2 両アドレナリン受容体に類似の親和性を持っているため、 β_1, β_2 を拮抗した総 β アドレナリン受容体が定量できると

されている³⁶⁾。今回の実験においても、³H-DHA の結合部位は単一であり β_1, β_2 アドレナリン受容体を選択性をもたないとされる propranolol, isoproterenol は単相性に ³H-DHA 結合を阻害した。しかし β_1, β_2 それぞれに選択性をもつ薬剤による阻害曲線は二相性であり、 β_1, β_2 アドレナリン受容体に相当すると考えられた。Hofstee 解析によりヒト脳血管上の β_1/β_2 の比は約 4/6 と算出された。

ヒト脳血管では isoproterenol による血管拡張は β_1 アドレナリン受容体を介しておくと報告されている⁹⁾。脳血管上の β_2 アドレナリン受容体の機能は明らかではないが、他の血管では、シナプス前膜に位置し、noradrenaline 遊離を促進するとの報告がある²⁹⁾。結合実験のみでは受容体の位置を決定づけることは不可能であるが、以上の報告を考慮すれば、ヒト脳血管では、 β_1 アドレナリン受容体は主にシナプス後膜に、 β_2 アドレナリン受容体は主にシナプス前膜に位置するものと予想される。

3) SAH 後のアドレナリン受容体の変化

SAH 後ヒト脳動脈の α_1 アドレナリン受容体に関しては、 K_D が約50%に減少した。ヒト脳血管では α_1 アドレナリン受容体を介して noradrenaline 性収縮がおこると報告されており、SAH 後、noradrenaline に対する感受性が高まる可能性がある。実験的 SAH 後、脳血管の catecholamine 感受性が高まったとの報告があるが^{16,17)}、ヒト脳血管でも SAH 後同様の経過がおこる可能性を示すものである。

α_2 アドレナリン受容体に関しては、SAH 後の脳血管で、シナプス前膜に位置すると思われる高親和性 α_2 アドレナリン受容体が検出されなかった。SAH 後血管中の noradrenaline 含有量が著明に減少することも観察されており、SAH 後の脳血管では交感神経の除神経様現象がおこるものと考えられる。しかもこれらの変化は SAH 発生後、いわゆる遅発性脳血管攣縮が発現するとされる時期以前にみられることも特徴的である。動物実験で、SAH 後の交感神経除神経は、1~2 週間以内に回復期があると報告されているが^{16,17)}、SAH 後のヒト脳血管でも同様に回復期があれば、シナプス前 α_2 アドレナリン受容体の機能低下が、noradrenaline の分泌過剰をひきおこす可能性があると考えられる。低親和性 α_2 アドレナリン受容体の機能はヒト脳血管において必ずしも明らかでないが、シナプス後膜に位置し、 α_1 アドレナリン受容体に比してその

作用は弱い収縮に関与すると考えられる。同受容体に関しては、 B_{max} の増加が観察されたが同時に K_D も増大し受容体そのものの機能は低下しているものと考えられる。 α_2 アドレナリン受容体は Ni^{++}, Mg^{++} などの金属イオンによってその感受性が変化するとの報告があり¹⁰⁾、脳血管においてもくも膜下出血後、赤血球等より由来する高濃度の Fe^{++} 等金属イオンに長時間接触すれば、その機能に変化をきたす可能性がある。 β アドレナリン受容体に関しては、SAH 後 K_D の変化は著明でないが、 β_1 アドレナリン受容体の B_{max} が増大した。 β_2 アドレナリン受容体については著明な変化が観察されなかった。 β_1 アドレナリン受容体はシナプス後膜に位置し、血管拡張に関与していると考えられる。除神経にともなってシナプス後の受容体密度が増加するとの報告があり³⁰⁾、 β_1 アドレナリン受容体の増加は、低親和性 α_2 アドレナリン受容体の場合と同様に、シナプス前の交感神経除神経による影響と考えられる。 β_1 アドレナリン受容体は血管拡張に関与し SAH 後、同受容体の密度が増加することは、血管攣縮に対し、予防的かつ合目的な反応であるといえる。選択的 β_1 アドレナリン作動薬が血管攣縮の予防に何らかの役割をはたす可能性があると考えられる。

結 論

- 1) ヒト脳血管上に α_1 及び α_2 アドレナリン受容体が検出された。 α_1 アドレナリン受容体の存在がヒト脳血管における noradrenaline 高感受性の原因であると考えられた。 α_2 アドレナリン受容体は、高親和性部位・低親和性部位に分類され、高親和性部位は、シナプス前に、低親和性部位はシナプス後に存在すると考えられた。
- 2) ヒト脳血管上に β_1 及び β_2 アドレナリン受容体が検出された。 β_1 アドレナリン受容体と β_2 アドレナリン受容体の存在比は約 4:6 であった。
- 3) クモ膜下出血後、脳血管上のシナプス前アドレナリン受容体では機能低下、シナプス後アドレナリン受容体では機能亢進がみられた。
- 4) クモ膜下出血後、脳血管上の交感神経は除神経状態となり、それにともなってシナプス後膜上の α_1 アドレナリン受容体の感受性が高まるが、この機序が脳血管攣縮の発生に関与しているものと考えられた。

稿を終るにあたり御懇篤な御指導と御校閲を賜りました。京都大学脳神経外科学教授 半田 肇先生、同薬理学教授 藤原元始先生に深甚なる感謝の意を捧げます。また長期

にわたり実験理論，データ解析に御指導を頂きました京都大学薬理学教室 谷口隆之先生，同神経内科学教室 下浜 俊先生に深謝の意を表します。そして実験に多くの協力を頂いた浜松労災病院脳神経外科部長 西川方夫先生，福井赤十字病院脳神経外科部長 武内重二先生に深謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Benedict CR, Loach AB: Clinical significance of plasma adrenaline and noradrenaline concentrations in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **41**: 113-117 (1978).
- 2) Bennet JP Jr: Methods in binding studies. In: Yamamura HI, Enna SJ and Kuhar MJ (eds) *Neurotransmitter* (1978).
- 3) Dalske HF, Harakal C, et al: Catecholamine content and response to norepinephrine of middle cerebral artery. *Proc Soc Exp Biol Med* **146**: 718-721 (1974).
- 4) Docherty JR, McGrath JC: A comparison of pre- and post-junctional potencies of several alpha-adrenoceptor agonists in the cardiovascular system and anococcygeus muscle of the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **303**: 107-116 (1980).
- 5) Drew GM, Whiting SB: Evidence for two distinct types of postsynaptic α -adrenoceptor in vascular smooth muscle in vivo. *Br J Pharmacol* **67**: 207-215 (1979).
- 6) Duckles SP, Bevan JA: Pharmacological characterization of adrenergic receptor of a rabbit cerebral artery in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* **197**: 371-378 (1976).
- 7) Edvinsson L, Owman C: Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating the vasomotor responses of cerebral arteries in vitro. *Circ Res* **35**: 835-849 (1974).
- 8) Edvinsson L, Aubineau P, et al: Sympathetic innervation of cerebral arteries: Prejunctional supersensitivity to norepinephrine after sympathectomy or cocaine treatment. *Stroke* **6**: 525-530 (1975).
- 9) Edvinsson L, Owman C, et al: Autonomic nerves, mast cells, and amine receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. *Brain Res* **115**: 377-393 (1976).
- 10) Glossmann H, Hornung R: Alpha₂ adrenoceptors in rat brain. The divalent cation site. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **314**: 101-109 (1980).
- 11) Hartman B, Udenfriend S: The use of dopamine- β -hydroxylase as a marker for the central noradrenergic nervous system in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **69**: 2722-2726 (1972).
- 12) Iwayama T: Ultrastructural changes in the nerves innervating the cerebral artery after sympathectomy. *Z Zellforsch Mikroskop Anat* **109**: 465-480 (1970).
- 13) Lands AM, Arnold A, et al: Differentiation of receptor systems activated by sympathetic amines. *Nature* **214**: 597-598 (1967).
- 14) Langer SZ, Massingham R, et al: Presence of post-synaptic α_2 -adrenoceptors of predominantly extrasynaptic location in the vascular smooth muscle of the dog hind limb. *Clin Sci* **59**: 225s-228s (1980).
- 15) Langer SZ, Shepperson NB: Recent developments in vascular smooth muscle pharmacology: the post-synaptic α_2 -adrenoceptor. *Trends Pharmacol Sci* **3**: 440-444 (1982).
- 16) Lobato R, Marin H, et al: Effect of experimental subarachnoid hemorrhage on the adrenergic innervation of cerebral arteries. *J Neurosurg* **53**: 477-479 (1980).
- 17) Lobato R, Marin J, et al: Cerebrovascular reactivity to noradrenaline and serotonin following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* **53**: 480-485 (1980).
- 18) Lowry OH, Rosebrough NJ, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275 (1951).
- 19) Medgett IC and Langer SZ: Characterization of smooth muscle α -adrenoceptors and of responses to electrical stimulation in the cat isolated perfused middle cerebral artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **323**: 24-32 (1983).
- 20) Nathanson JA: Cerebral microvessels contain a β -2 adrenergic receptors. *Life Sci* **26**: 1793-1799 (1980).
- 21) Neil-Dwyer G, Cruickshank J, et al: The urinary catecholamine and plasma cortisol levels in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci* **22**: 375-382 (1974).
- 22) Ohgushi N: Adrenergic fibers to the brain and spinal cord vessels in the dog. *Arch Jap Chir* **37**: 294-303 (1968).
- 23) Olsen RW, Bergman MO, et al: γ -Aminobutyric acid receptors binding in mammalian brain: heterogeneity of binding sites. *Mol Pharmacol* **19**: 217-227 (1981).
- 24) Peerless SJ, Yasargil MG: Adrenergic innervation of the cerebral blood vessels in the rabbit. *J Neurosurg* **35**: 148-154 (1971).
- 25) Sakakibara Y, Fujiwara M, et al: Pharmacological characterization of the alpha-adrenoceptors of the dog basilar artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **329**: 1-7 (1981).
- 26) Sercombe R, Aubineau P, et al: Pharmacological evidence in vitro and in vivo for functional beta 1

- receptors in the cerebral circulation. *Pflügers Arch* **363**: 241-244 (1977).
- 27) Skärby T, Andersson KE, et al: Characterization of the postsynaptic α -adrenoceptor in isolated feline cerebral arteries. *Acta Physiol Scand* **112**: 105-107 (1981).
- 28) Starke K: α -Adrenoceptor subclassification. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* **88**: 199-236 (1981).
- 29) Stjärne L, Brundin J: β_2 -adrenoceptors facilitating noradrenaline secretion from human vasoconstrictor nerves. *Acta Physiol Scand* **97**: 88-93 (1976).
- 30) Taniguchi T, Kurahashi K, et al: Alterations in muscarinic cholinergic receptors after pre-ganglionic denervation of the superior cervical ganglion in cats. *J Pharmacol Exp Ther* **224**: 674-678 (1983).
- 31) Taniguchi T, Tsukahara T, et al: Alpha adrenoceptors in dog cerebral arteries. *Japan J Pharmacol* **39** (Suppl): 13P (1985).
- 32) Tanishima T: Cerebral vasospasm: comparison of contractile responses in isolated human and canine basilar arteries. *Brain and Nerve* **35**: 323-329 (1983) (in Japanese).
- 33) Toda N: The action of vasodilating drugs on isolated basilar, coronary and mesenteric arteries of the dog. *J Pharmacol Exp Ther* **191**: 139-146 (1974).
- 34) Toda, N: Alpha adrenergic receptor subtypes in human, monkey and dog cerebral arteries. *J Pharmacol Exp Ther* **226**: 861-868 (1983).
- 35) Tsukahara T, Taniguchi T, et al: Characterization of alpha adrenoceptors in pial arteries of the bovine brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **324**: 88-93 (1983).
- 36) U'Prichard DC, Bylund DB, et al: (\pm)- 3 H-epinephrine and (-)-dihydroalprenolol binding to β_1 - and β_2 -noradrenergic receptors in brain, heart, and lung membranes. *J Biol Chem* **253**: 5090-5102 (1978).
- 37) Usui H, Fujiwara M, et al: Differences in contractile responses to electrical stimulation and α -adrenergic binding sites in isolated cerebral arteries of humans, cows, dogs and monkeys. *J Cardiovas Pharmacol* **7** (Suppl. 3): S47-S52 (1985).