

原 著

犬脳動脈におけるカテコールアミンの局所分布
—ドーパミン線維の存在について—

名古屋大学医学部脳神経外科学教室 (主任: 景山直樹教授)

鈴木 善男, 岡田 知久

〔原稿受付: 昭和57年1月8日〕

Regional Distributions of Catecholamines in Dog Cerebral
Arteries—Existence of Dopaminergic Fibers

YOSHIO SUZUKI and TOMOHISA OKADA

Department of Neurosurgery, Nagoya University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. NAOKI KAGEYAMA)

The regional distributions of dopamine (DA) and noradrenaline (NA) were investigated in dog cerebral arteries using high performance liquid chromatography with electrochemical detection. The distribution patterns of these two amines are different since there is a wide fluctuation in the ratio between the concentrations of DA and NA. For example, the ratios of DA to NA in the anterior cerebral artery and anterior inferior cerebellar artery are 2-4 times higher than that in the basilar artery or middle cerebral artery, suggesting that DA has another role in addition to being a precursor of NA, that is, it may also act as a neurotransmitter contained in its own nerve fibers.

The concentrations of both amines following postganglionic sympathetic denervation were investigated. Postganglionic denervation by removal of the superior cervical ganglion produced a significant reduction in the concentrations of both amines on the ipsilateral side and also a mild reduction on the contralateral side, indicating that the removed ganglion innervated the cerebral arteries of both sides. However, there was an apparent discrepancy of decrease between DA and NA since the decrease of DA was less compared with the decrease of NA. These results suggest that a small amount of dopaminergic fibers exist in cerebral arteries which originate from the source different from the superior cervical ganglion.

Key words: Regional distribution, Dopamine, Noradrenaline, Cerebral arteries, High performance liquid chromatography.

索引語: 局所分布, ドーパミン, ノルアドレナリン, 脳動脈, 高速液体クロマトグラム.

Present address: Department of Neurosurgery, Nagoya University School of Medicine, Turumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466, Japan.

I はじめに

脳血管には、上頸神経節由来の交感神経終末が豊富に存在し、その主要神経伝達物質がノルアドレナリン (NA) であることはよく知られており、血管平滑筋に対する NA の反応や交感神経終末からの NA 放出機構に関連した報告は多い^{3-7,14-17,20,22-25,28,30}。しかし、NA よりもむしろ血管張力や脳循環に強い影響を示す、セロトニン、ヒスタミン及びドーパミン (DA) 等のアミン類の存在や作用機構は未だ不明な点が多い^{9,12,26}。

DA は、中枢神経系の重要な神経伝達物質の一つであり、in vitro 及び in vivo の実験で、脳血管に対して弛緩及び収縮の二相性の反応を示すことが知られている^{1,10,27}。DA 受容体を介する生理的反応は血管拡張作用であるとされ、DA や DA の agonist である apomorphine の血管内投与が脳血流を増加させ、脳酸素消費量やブドウ糖摂取量の増加をもたらすことが報告されている^{19,29}。

最近開発された電気化学検出器を組み合わせた高速液体クロマトグラムを用いることにより、簡便かつ正確に微量血管組織から、NA 及び DA の測定が可能となった。この高感度の定量法を用い、従来の形態学的方法によっては比較できなかった局所濃度分布の違いを^{9,11,23,24}、犬脳動脈、特に脳底部動脈において調べ、

更に、DA が NA の前駆物質として存在するだけなのか、神経伝達物質として独自の作用を脳血管でも営んでいるのかを明らかにする目的で、上頸神経節切除が両アミン濃度に与える影響の違いを検討した。

II 材料及び方法

1. 動物及び血管片摘出

実験には、体重 7-15 kg の雑種成犬を用いた。Sodium pentobarbital (45 mg/kg, i.p.) 麻酔を施し、急速脱血により屠殺後、脳を取り出し、手術顕微鏡下に注意深くクモ膜や結合組織を剥離し、脳動脈を摘出した。一側上頸神経節切除犬は術後 7 日目に同様に屠殺し、脳動脈を摘出した。脳動脈はドライアイス上で、18 部位に細分した。即ち、①椎骨動脈、②脳底部動脈 (尾側部)、③脳底部動脈 (吻側部)、④後下小脳動脈、⑤前下小脳動脈、⑥左上小脳動脈、⑦右上小脳動脈、⑧左後大脳動脈、⑨右後大脳動脈、⑩左後交通動脈、⑪右後交通動脈、⑫左中大脳動脈近位部 (M₁)、⑬左中大脳動脈遠位部 (M₂)、⑭右中大脳動脈近位部 (M₁)、⑮右中大脳動脈遠位部 (M₂)、⑯左前大脳動脈近位部 (A₁)、⑰右前大脳動脈近位部 (A₁)、及び⑱前大脳動脈遠位部 (A₂) である (図 1)。各血管片は Krebs 液で洗浄し、血液成分を取り除いた後、水分を吸い取り、細かく切り、重量測定後、カテコールアミン測定まで 1.5 ml のポリ

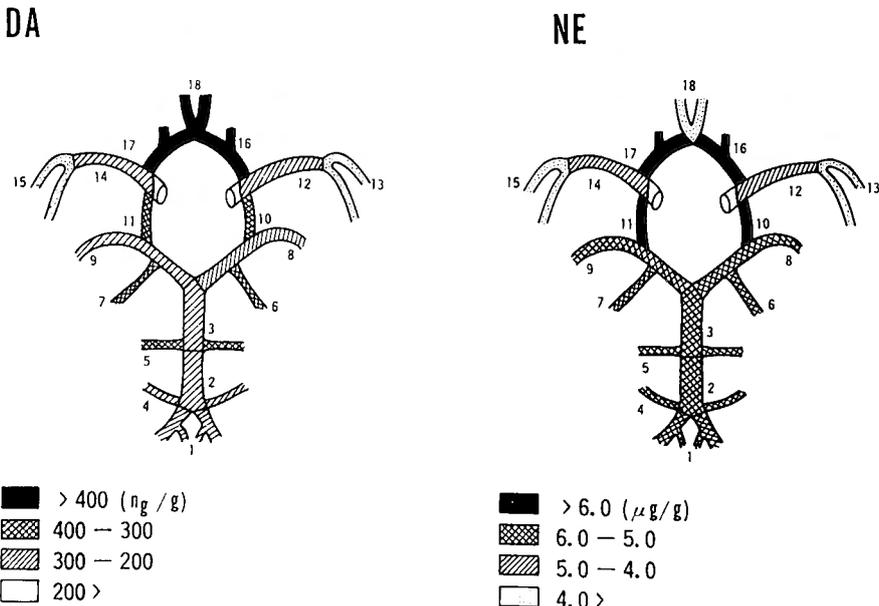


図 1 DA と NA 濃度の局所分布概要図。脳底部動脈を18部位に細分し、濃度差を4段階に分けた。図中の番号は表 1 の番号と一致する。

エチレン管に入れ、 -80°C で凍結保存した。

2. カテコールアミンの抽出及び測定

脳血管片を含んだポリエチレン管に、 0.1M HClO_4 , $200\mu\text{l}$, 5mM NaHSO_3 $10\mu\text{l}$, 0.2M EDTA $10\mu\text{l}$, 内部標準物質として dihydroxybenzylamine (DHBA) $100-20\text{ pmoles}$ を加え、超音波破碎後、 6500 xg , 4°C で15分間遠沈した。その上清に 1M Tris-HCl (pH 8.6) $400\mu\text{l}$, 2% EDTA, alumina 15mg (Woelm Co., neutral activity grade I) を加え、15分間振盪した。Alumina は Anton & Sayre の方法により酸で前処置したものをを用いた²⁾。上清を取り去り、alumina は蒸留水 1.0 ml で3回洗浄し、 0.1M HCl を加えて、カテコールアミンを溶出した。

測定には電気化学検出器 VMD-101 を組み合わせた高速液体クロマトグラム L-2000 型 (柳本製作所, 京都) を用いた。高速液体クロマトグラムのカラムは Yanapack ODS-T (柳本), 移動相として $0.1\text{M citrate buffer}$ (pH 4.5), 1% tetrahydrofuran, $1\text{mM sodium heptanesulfonate}$, $10\mu\text{M EDTA}$ をそれぞれ用いた。設定加電圧は 0.8V vs Ag/AgCl , 流速 0.7ml/min の条件下で行なった。

DA 及び NA の量は、内部標準物質 DHBA の量

から換算し、回収率は $60-70\%$ であった。

DA 及び NA の値は、すべて平均及び標準誤差で現わし、有意差検定は、Student's *t* test で行なった。

III 結 果

1. DA 及び NA 濃度の局所分布

表1に DA 及び NA 濃度の測定値を示す。図1からも明らかなように両アミンとも局所分布に著しい違いを認めるが、対称部位には左右差はなかった。DA はすべての部位で測定可能であり、前大脳動脈で最も高値に認められ 400 ng/g tissue 以上であった。この濃度は中大脳動脈近位部、後大脳動脈、脳底動脈及び後下小脳動脈の約2倍の値である。前大脳動脈に次いで、後交通動脈、前下小脳動脈及び上小脳動脈が高値を示し、測定した部位の中では、中大脳動脈遠位部が、 150 ng/g 以下で最も低値であった。

同様に、NA の局所分布も違いがあり、後交通動脈に $7.0\mu\text{g/g}$ 以上の最も高値が認められ次いで前大脳動脈近位部であった。椎骨動脈、脳底動脈、前下小脳動脈及び後大脳動脈が $5.0\mu\text{g/g}$ 以上の値を示し、後下小脳動脈、中大脳動脈及び前大脳動脈遠位部が $5.0\mu\text{g/g}$ 以下の濃度であった。特に中大脳動脈遠位部と

表1 犬脳動脈における DA 及び NA の含有量

	DA (ng/g)	NA ($\mu\text{g/g}$)	DA/NA (%)
1 椎骨動脈	246.7 \pm 38.7	5.338 \pm 0.334	4.6
2 脳底動脈 (尾側部)	213.7 \pm 36.1	5.441 \pm 0.410	3.9
3 脳底動脈 (吻側部)	228.3 \pm 41.2	5.818 \pm 0.526	3.9
4 後下小脳動脈	221.2 \pm 56.5	4.630 \pm 0.694	4.7
5 前下小脳動脈	382.8 \pm 92.9	5.008 \pm 0.508	7.6
6 左上小脳動脈	344.8 \pm 76.5	5.108 \pm 0.434	6.7
7 右上小脳動脈	359.8 \pm 51.9	5.438 \pm 0.515	6.6
8 左後大脳動脈	237.0 \pm 43.6	5.009 \pm 0.429	4.7
9 右後大脳動脈	244.2 \pm 40.0	5.108 \pm 0.507	4.8
10 左後交通動脈	385.1 \pm 62.8	7.126 \pm 0.697	5.4
11 右後交通動脈	392.2 \pm 99.3	7.449 \pm 0.796	5.3
12 左中大脳動脈 (近位部)	204.4 \pm 35.2	4.729 \pm 0.369	4.3
13 左中大脳動脈 (遠位部)	126.2 \pm 17.2	3.465 \pm 0.358	3.6
14 右中大脳動脈 (近位部)	200.1 \pm 40.0	4.656 \pm 0.402	4.3
15 右中大脳動脈 (遠位部)	144.0 \pm 34.3	3.657 \pm 0.365	3.9
16 左前大脳動脈 (近位部)	428.9 \pm 87.1	6.469 \pm 0.823	6.6
17 右前大脳動脈 (近位部)	413.9 \pm 84.5	6.444 \pm 0.483	6.4
18 前大脳動脈 (遠位部)	437.4 \pm 92.7	3.713 \pm 0.376	11.8

値は14匹の犬の平均 \pm 標準誤差である。

前大脳動脈遠位部は 3.5 $\mu\text{g/g}$ 前後の低値を示した。

DA/NA 比率を百分率で現わしてみると、全体で5.5%であるが、部位差が著しい(表1)。前大脳動脈遠位部が11.8%と比率が最も高く、前下小脳動脈の7.6%、上小脳動脈の6.7%と続き、中大脳動脈遠位部や脳底動脈は3.6~3.9%と最も低値を示した。

2. 上頸神経節切除の DA 及び NA 濃度に対する影響

一側上頸神経節切除後7日目では、手術側の DA 及び NA 濃度とも有意に減少し、反対側にも軽度の減少が認められた(図2, 図3)。それ故、上頸神経節切除による影響を検討する場合、手術後の反対側をコントロールとして用いることは不可能であり、非手術例をコントロールとして比較した。対称部位の比較では、手術例の中大脳動脈と後交通動脈に対する影響が最も顕著で、NA は各々95%以上の減少 ($p < 0.001$) を認めたが、螢光法による報告の如く完全に消失することではなく、まだ充分測定可能な量の NA が残存した(図2)。同じ血管で DA は約75%の減少 ($p < 0.05 \sim p < 0.01$) を認め、NA と DA の減少率は NA の方が著しく、両アミンでの不一致が明らかになった(図3)。対称部位が近接する前大脳動脈近位部や後大脳動脈では、手術側の NA の減少が、各々75.4% ($p < 0.001$)、87.0% ($p < 0.001$) と中大脳動脈や後交通動脈に比較すると低く、DA の減少は前大脳動脈近位部で38.2%、後

大脳動脈で62.2% ($p < 0.05$) と更に低かった。このように NA と DA の減少率は上頸神経節切除により一致することではなく、常に NA が DA の減少率を越えていることが明らかになった。又、一側上頸神経節切除により手術側だけでなく、反対側にも両アミンの減少が認められ、これは対称部位が近接する前大脳動脈近位部及び後大脳動脈でより顕著であった。

IV 考 按

電気化学検出器を組み合わせた高速液体クロマトグラムの使用により、微量組織中のカテコールアミンの高感度な定量測定が簡単な操作で可能となった。今回、実験に用いた犬脳底部動脈のすべての部位に充分検出可能範囲内の DA 及び NA 濃度が含まれており、NA は DA の約10~25倍の濃度を示した。DA と NA では、脳動脈での分布様式が異なるが、両アミンとも最も高濃度の部位が前大脳動脈近位部と後交通動脈に認められた。即ち、ウィリス輪の主要部位であり、この所見は、組織螢光法で交感神経終末の密度分布を調べた報告と一致する¹¹⁾。しかし、今回のデータは、ネコの組織螢光法で比較した内頸動脈系の方が椎骨脳底動脈系よりも交感神経終末が多いという報告とは相入れないものがある²¹⁾。何故なら、中大脳動脈は脳底動脈やその分枝に比較して、NA も DA も低値を示したからであり、これは動物種差間による違いを意味して

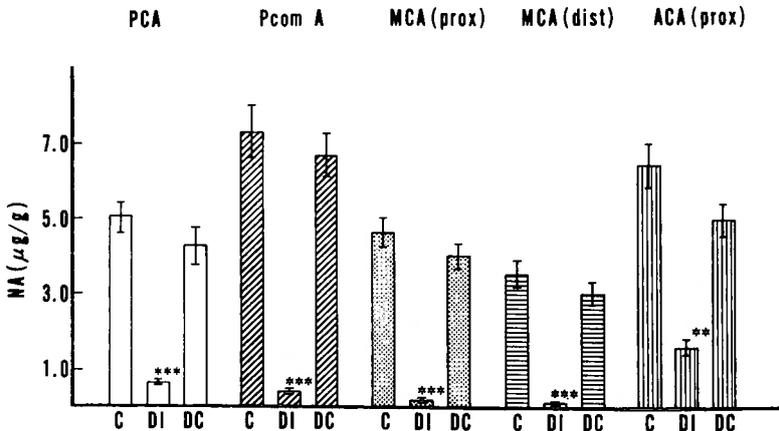


図2 上頸神経節切除7日後の NA 濃度に対する影響。切除例は10匹の平均±標準誤差である。

PCA: 後大脳動脈, PcomA: 後交通動脈, MCA (prox): 中大脳動脈近位部, MCA (dist): 中大脳動脈遠位部, ACA (prox): 前大脳動脈近位部, C: 対照群, DI: 切除例手術側, DC: 切除例反対側

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

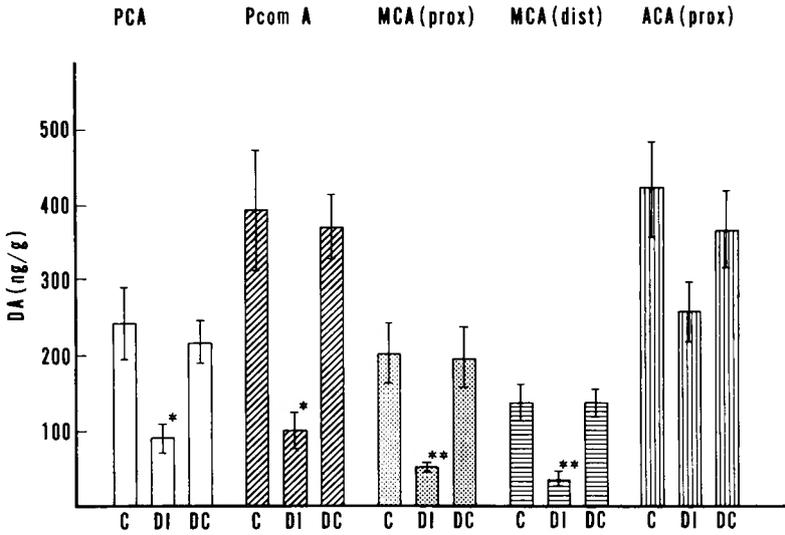


図3 上頸神経節切除7日後のDA濃度に対する影響. 切除例は10匹の平均±標準誤差である.
 PCA: 後大脳動脈, PcomA: 後交通動脈, MCA (prox): 中大脳動脈近位部, MCA (dist): 中大脳動脈遠位部, ACA (prox): 前大脳動脈近位部, C: 対照群, DI: 切除例手術側, DC: 切除例反対側
 * p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001

いるものと考えたい。

表1に示した如く、NA濃度に対するDA濃度の比率が部位により異なることは興味深いことである。例えば、前大脳動脈遠位部が最も高い値を示し、次いで前下小脳動脈、上小脳動脈と続き、脳底動脈や中大脳動脈遠位部が最も低い値を示した。この比率の異なる理由にははっきりしないが、DAはNAの前駆物質として存在しているだけで、上述の部位差はその代謝回転の違いによるという可能性も全く否定することはできないが、それよりむしろDAが神経伝達物質としてそれ自身独自の神経終末内に含まれ、その分布密度の違いが反映されている可能性の方が高いのではないかと考える。それ故、このDAとNAの関係を明らかにする目的で上頸神経節切除による除神経が両アミン濃度にどのように影響するか検討した。

上頸神経節切除により、脳動脈、特に脳底部動脈では、術後2日目以降、完全にNAは消失するといわれてきたが^{3,6)}、今回の結果では、最も減少率の著しかった中大脳動脈や後交通動脈でも、まだ充分信頼に足る測定可能範囲内の値が残存することが明らかになった。この矛盾はたぶん測定感度の違いによるものと思われる。切除後、残存するNAの量は、明らかに両側の対称部位が近接する動脈、即ち、前大脳動脈

近位部や後大脳動脈に高かった。更に、一側上頸神経節切除後、反対側にも軽度の減少が認められ、これらのことより上頸神経節由来の交感神経は両側支配であり、前交通動脈や脳底動脈分岐部を介して反対側へ神経線維が延びているものと思われた。同様の結果が、ネコやサルを使った実験で報告されている^{13,18)}。

上頸神経節切除後、NAと同様DAもコントロールと比較すれば、有意に減少したが、すべての部位でNAの減少に比較すれば明らかに軽度であった。特にそれはDA濃度の高い前大脳動脈近位部で著明であった。このNAとDAの減少率が平行しないという事実からも、DAがNAの前駆物質として同じ神経終末内だけに存在するとは考え難く、やはり、脳底部動脈には、上頸神経節以外の場所に由来しているDA線維終末が存在し、上頸神経節切除後も残存し、それが減少率の差となって現われたのであろうと思われる。脳動脈に分布すると思われるこれらのDA線維は、直接血管壁に作用したり、交感神経終末からのNA放出に影響を与えたりして脳血流調節に重要な役割を果たしているものと推測されるが、何処に由来し、どのような機序に関連しているかなどは、今後の興味あるテーマであろう。

V 結 語

① 犬脳底部動脈における DA 及び NA 濃度の局所分布及び一側上頸神経節切除が両アミン濃度に与える影響を検索した。

② DA と NA では分布様式が異なり、DA 濃度は前大脳動脈で最も高く、後交通動脈、前下小脳動脈、上小脳動脈の順であった。一方、NA 濃度は後交通動脈で最高値を示し、次いで前大脳動脈近位部であった。中大脳動脈遠位部は両アミンとも低値を示した。NA に対する DA の比率も部位差があり DA が単に NA の前駆物質として存在する可能性の少ないことを示唆した。

③ 一側上頸神経節切除による NA の減少は、両側に認められ、前大脳動脈近位部や後大脳動脈のような両側の動脈が近接する部位では、反対側の NA 減少が著明であった。この事実は上頸神経節由来の交感神経が両側支配であることを明らかにした。

④ 上頸神経節切除による DA の減少は、NA に比較すると軽度であり、DA が NA の前駆物質としてだけ存在するのではなく、上頸神経節以外の場所由来した独自の神経終末内に存在するものと思われた。

稿を終るに臨み、御指導御校閲を頂きました景山直樹教授に謝意を表します。さらに御指導・御討論を頂きました三重大学医学部薬理学教室日高弘義教授に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Alutra BM, Gebrewold A, et al: Biphasic responsiveness of rat pial arteries to dopamine—direct observation on the microcirculation. *Br J Pharmacol* **69**: 543-544, 1980.
- 2) Anton AH and Sayre DF: A study of the factors affecting the aluminum oxide trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines. *J Pharmacol Exp Ther* **138**: 360-375, 1962.
- 3) Conde MV, Marin J, et al: Adrenergic vasoconstriction of the goat middle cerebral artery. *Am J Physiol* **235**: 131-135, 1978.
- 4) Dahl E: The innervation of the cerebral arteries. *J Anat* **115**: 53-63, 1973.
- 5) 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.
- 6) Duckles SP and Bevan JA: Pharmacological characterization of adrenergic receptors of a rabbit cerebral artery in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* **197**: 371-378, 1976.
- 7) Duckles SP and Rapoport R: Release of endogenous norepinephrine from a rabbit cerebral artery. *J Pharmacol Exp Ther* **211**: 219-224, 1979.
- 8) Edvinsson L, Owman C, et al: Concentration of noradrenaline in pial vessels, choroid plexus, and iris during two weeks after sympathetic ganglionectomy or decentralization. *Acta Physiol Scand* **85**: 201-206, 1972.
- 9) Edvinsson L, Owman C, et al: Autonomic nerves, mast cells, and receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. *Brain Res* **115**: 377-393, 1976.
- 10) Edvinsson L, Hardebo JE, et al: Action of dopamine agonists on brain vessels in vitro and after in vivo microapplication. *Acta Neurol Scand (Suppl)* **64**: 350-351, 1977.
- 11) Falk B, Mchedlishvili GI, et al: Histochemical demonstration of adrenergic nerves in the cortex-pia of rabbit. *Acta Pharmacol Toxicol* **216**: 133-142, 1965.
- 12) Grimson BS, Robinson SC, et al: Effect of serotonin on internal and external carotid artery blood flow in the baboon. *Am J Physiol* **216**: 50-55, 1969.
- 13) Hernandez-perez MJ and Stone HL: Sympathetic innervation of the circle of Willis in the macaque monkey. *Brain Res* **80**: 507-511, 1974.
- 14) Iwayama T, Furness JB, et al: Dual adrenergic and cholinergic innervation of the cerebral arteries of the rat. *Circ Res* **26**: 635-646, 1970.
- 15) Kuschinsky W and Wahl M: Alpha receptor stimulation by endogenous and exogenous norepinephrine and blockade by phentolamine in pial arteries of cats. *Circ Res* **37**: 168-174, 1975.
- 16) Lee T J F, Su C, et al: Neurogenic sympathetic vasoconstriction of the rabbit basilar artery. *Circ Res* **39**: 120-126, 1976.
- 17) Lluch S, Gomez B, et al: Adrenergic mechanism in cerebral circulation of the goat. *Am J Physiol* **228**: 985-989, 1975.
- 18) Marin J, Slaices M, et al: Bilateral innervation of the cerebral arteries by the superior cervical ganglion in cats. *J Neurosurg* **53**: 88-91, 1980.
- 19) McCulloch J and Harper AM: Cerebral circulation—effect of stimulation and blockade of dopamine receptors. *Am J Physiol* **233**: 222-227, 1977.
- 20) Nelson E and Rennels M: Innervation of intracranial arteries. *Brain* **93**: 475-490, 1970.
- 21) Nielsen KC and Owman C: Adrenergic innervation of pial arteries related the circle of Willis in the cat. *Brain Res* **6**: 773-776, 1967.
- 22) Nielsen KC and Owman C: Contractile response and amine receptor mechanisms in iso-

- lated middle cerebral artery of the cat. *Brain Res* **27**: 33-42, 1971.
- 23) Ogushi N: Adrenergic fibers to the brain and spinal cord vessels in the dog. *Arch Jpn Chir* **37**: 294-303, 1968.
- 24) Sato S and Suzuki J: Anatomical mapping of cerebral nervi vasorum in the human brain. *J Neurosurg* **43**: 559-568, 1975.
- 25) Sundt TM Jr and Winkelmann RK: Humoral responses of smooth muscle from rabbit subarachnoid artery compared to kidney, mesentery, lung, heart and skin vascular smooth muscle. *Stroke* **3**: 717-725, 1972.
- 26) Toda N and Fugita Y: Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ Res* **33**: 98-126, 1973.
- 27) Toda N: Influence of dopamine and norepinephrine on isolated cerebral arteries of the dog. *Br J Pharmac* **58**: 121-126, 1976.
- 28) Urquilla PR, Marco EJ, et al: Pharmacological receptors of the cerebral arteries of the goat. *Blood Vessels* **12**: 53-67, 1975.
- 29) Von Essen C: Effects of dopamine on the cerebral blood flow in the dog. *Acta Neurol Scand* **50**: 39-52, 1974.
- 30) Whal M, Kuschinsky W, et al: Effect of 1-norepinephrine on the diameter of pial arterioles and arteries in the cat. *Circ Res* **31**: 248-256, 1972.