From the Third Medical Clinic of Kyoto University Hospital

(Director: Professor M. Maekawa, M. D.)

Studies on Experimental Hypertension in Dogs Following Administrations of Butyric Acid

By

ZYUITSU TOYODA

(Received for Publication, January 30, 1959)

酪酸による實驗的高血壓の研究

豊田重市

京都大學醫學部内科學第三講座 (擔當 前川孫二郎教授)

Ketone bodies as β -hydroxybutyric acid increase frequently in diabetes mellitus, and butyric acid may be produced in the intermediate products of fat metabolism and increase in diabetes. As diabetes is frequently attended with hypertension, it seems that the disturbance of metabolism is related to the development of hypertension. From this point of view, the author researched for the cause of hypertension by producing experimentally the pattern of diabetes, and then investigated the pressor effect of butyric acid, which were injected into normal and preessoreceptor denerved dogs, and furthermore injected butyric acid intravenously for long time in order to produce sustained hypertension.

(1) 200 mg. of butyric acid was injected into vein or pulmonary artery of two normal anesthetized dogs. By the first administration, butyric acid unconstant reaction in systemic blood pressure (mean), which was pressor or depressor. By the second administration, butyric acid showed no remarkable changes in systemic pressure. Butyric acid had a slight depressor or pressor effect in pulmonary pressure (mean).

(2) 200 mg. of butyric acid was injected into vein or pulmonary artery of five anesthetized dogs, whose buffer nerves had been sectioned off, because such dogs react sensitively to pressor substances. Butyric acid had pressor effect of 6–54 mmHg in systemic blood pressure (mean) at 10

of 13 times, but had depressor effect of 10–24 mmHg at 3 times. The second and third administration of butyric acid had less pressor effect than the first administration, perhaps due to so-called tachyphylaxis. Butyric acid had pressor effect of 2–8 mmHg in pulmonary pressure (mean).

(3) In order to produce sustained hypertension experimentally, 10–40 mg. of butyric acid was repeatedly injected intravenously into two normal dogs, which were given orally with 0.25–0.5 mg of atropine sulphate for a time. The blood pressure did not rise in one dog, but in another it was elevated to 160–180 mmHg and sustained. Histologic changes in kidney were marked, simulating the changes in experimental renal hypertensive animals. These changes were found in two dogs, with or without hypertension, suggesting that these renal lesions were not proportional to the degree of hypertension.

These experiments showed that the disturbance of metabolism played an important role in the development of hypertension, but specific metabolic disturbance induced by a chemical substance as butyric acid were not sufficient to yield satisfactory results. Therefore Professor Maekawa postulated a new theory that the true cause of hypertension might be disturbances of the ATP-ATPase system of cardiovascular system, from his extensive experimental and clinical studies.

第1章 緒言

Neubauer (1910)¹⁾が高血壓と過血糖との間に屢々關連のある事を報告して以來、この問題は多くの人により論じられて來た (Tachau²⁾, Härle³⁾, Rosenbloom⁴⁾, Maranon

⁵⁾, Herrick⁶⁾, Mohler⁷⁾, Kramer⁸⁾, Mosenthal⁹⁾, Major¹⁰⁾, Fishberg¹¹⁾, Joslin¹²⁾, Friedberg¹³⁾, Bell¹⁴⁾, 黒川¹⁵⁾, 前川¹⁶⁾, 鹽田・井口¹⁷⁾等). 例へば鹽田・井口によると、糖尿病者に高血壓を伴う事は非糖尿のそれに比して約 4.7 倍、高血壓者に糖尿の表れる事は非高血壓者のそれに比

して約 5.9 倍である。この様に糖尿病と高血圧との間に相關関係を認める成績多く、糖尿病と高血圧の兩者に網膜炎・動脈硬化・腎疾患の如き變性脈管疾患の合併する事が知られている。これらの事より代謝障礙が高血圧の成立に關係する事が考えられる。

又脂肪の中間代謝として β オキシ酪酸の如きケトン體が生成され、殊に糖尿病におき著明に増加する。酪酸も又脂肪代謝の中間産物として生成の可能性があり、糖尿病では尙更である。著者は前川教授の示唆に基き、實驗的に糖尿病を模倣して高血圧の原因を探索せんとして實驗を行つた。即ち酪酸を麻酔した正常犬並びに調壓神経切除犬に靜注してその昇壓作用を吟味し、更に實驗的に持続性高血壓を作成する目的により、酪酸を正常犬に長期投與した。

第2章 急性実験

1. 實驗動物 體重 8~13kg の正常犬 2 匹と調壓神経切除犬 5 匹を使用した。後者は頸動洞神経と大動脈神経切除後全例におき血圧上昇を確認した。

2. 壓記録 鹽酸モルヒネ體重 1kg 當り 0.5mg 皮下注射して30分後オーロパン 0.25gr 靜脈内投與により實驗動物を麻酔した。麻酔した犬を背位に固定し、股動靜脈及び外頸靜脈を切開露出し、竹澤¹⁸⁾が詳細に報告した記録装置により股動脈壓・肺動脈壓・心電圖・呼吸曲線を光學的にオシログラフ用紙上に記録した。即ち血圧測定にはカシーターを切開露出した股動脈に直接に挿入固定し、肺動脈壓測定には外頸靜脈よりカシーターを挿入し X 線透視下に肺動脈分岐部にその尖端を位置せしめた。夫々のカシーターの他端は三方活栓を介して生理的食鹽水を充たした點滴装置と Hamilton 型血壓計¹⁹⁾に連結した。又血圧記録時以外はカシーター内腔が凝血を以て閉塞されない様に常に生理的食鹽水をカシーター内

腔を通じて點滴せしめた。平均血圧の測定には三方活栓を三方に開通せしめる事により點滴用のゴム管を壓記録系の側枝として介在させて適當の長さに壓閉して damper とした。呼吸曲線は犬の胸廓にマンセットを巻き呼吸運動によるマンセット内の壓の變化を記録装置内のタンブールに空氣傳導により導きタンブール附屬の槓杆の動きにより記録した。尙壓に對する零點の位置は全て前胸壁と後胸壁の中點を以てした。

3. 實驗材料 酪酸は 200mg 5cc の溶液として 10% 炭酸ソーダ 1.2cc で中和し直ちに股靜脈或はカシーターを介して肺動脈内に投與した。酪酸 200mg 初回投與後更に 10~20 分の間隔をおき第 2 回・第 3 回投與を行つた。

實驗成績

股動脈壓・肺動脈壓は全て平均血圧につきのべる。

I 正常犬

1) No. 43 動脈壓に對しては初回投與により最大 13mmHg 昇壓し約 20 分間持續したが、次回投與時には却えつて輕度 (6mmHg) 下降を認めた。肺動脈壓に對して各投與毎に輕度降壓 (0.6~2.6mmHg) を認めた (Fig. 1)。

2) No. 25 動脈壓に對しては初回投與により 20mmHg 降壓し 20 分間持續したが、次回投與により輕度 (2mmHg) 昇壓を認めた。肺動脈壓に對しては初回投與により 6mmHg 5 分間、次回投與により 3.5mmHg 5 分間の昇壓を認めた (Fig. 2)。

以上の如くに麻酔した正常犬の動脈壓に對しては初回投與により昇壓或は降壓を來し一定の傾向を示さない。又次回投與時には著變を認めない。肺動脈壓に對しては輕度昇壓或は輕度降壓を來した。

この様に正常犬に對しては一定の傾向を示さないが、

Fig. 1. Effect of butyric acid on systemic and pulmonary pressure in normal dog (No.43).

Fig. 2. Effect of butyric acid on systemic and pulmonary pressure in normal dog (No.25).

Fig. 3. Effect of butyric acid on systemic and pulmonary pressure in pressoreceptor denervated dog (No.35).

之には或る種の血圧調節機能が働く事が考えられる。現在かかる血圧調節機能として頸動脈洞反射・大動脈反射²¹⁾があり、調圧神経切除動物は昇圧物質に鋭敏に反応するから、次にはかかる調節神経切除犬に酪酸を投与し昇圧を吟味した。

II 調圧神経切除犬

1) No. 35 動脈圧は初回投与により急激に 40 mmHg 昇圧し 4 分 30 秒間持続した。次回投与により 15 mmHg 昇圧し 3 分間持続した。肺動脈圧は 4 mmHg 20 分間、次回投与により 2 mmHg 3 分間の昇圧を認めた (Fig. 3)。

2) No. 41 動脈圧は初回投与により急激に 24 mmHg 降圧した後徐々に回復するも 20 分後にも前値に戻らない。次回投与により 20 mmHg 昇圧し 20 分後に前値に歸

えた。肺動脈圧は初回投与時には 2 mmHg 昇圧し 20 分間持続したが、次回投与により 4 mmHg 降圧し 8 分間持続した。

3) No. 45 動脈圧は初回投与時には軽い降圧の後に徐々に昇圧し最大 38 mmHg、17 分間持続した。第 2 回投与時には徐々に下り最低 10 mmHg 値の降圧を示し 20 分間持続した。第 3 回投与時には 20 mmHg 昇圧し 20 分間持続した。肺動脈圧に対しては各投与毎に 2~4 mmHg の昇圧を示すにすぎない (Fig. 4)。

4) No. 39 動脈圧は初回投与時には徐々に昇圧し最大 54 mmHg に達し 20 分間持続した。第 2 回投与時には軽度 (6 mmHg) の昇圧を認めた。第 3 回投与時には最大 16 mmHg 昇圧し 20 分間持続した。肺動脈圧は各投与毎に 2~7 mmHg の軽度昇圧を示した (Fig. 5)。

Fig. 4. Effect of butyric acid on systemic and pulmonary pressure in pressoreceptor denervated dog (No. 45).

Fig. 5. Effect of butyric acid on systemic and pulmonary pressure in pressoreceptor denervated dog (No. 39).

5) No. 40 動脈壓は初回投與時には最大 20 mmHg 昇壓し20分持續した。第2回投與時には却えつて 22mm Hg 降壓し20分間持續した。第3回投與時には最大 8mm Hg 昇壓し5分間持續した。肺動脈壓は各投與毎に 4~6 mmHg の軽度昇壓を示した。

以上酪酸 200 mg をのべ13回静脈又は肺動脈内に投與した。動脈壓に對しては13回中10回におき 6~54mmHg の昇壓を來したが、3回においては 10~24mmHg の降壓を來した。第2回第3回投與時は初回投與時より昇壓の度は弱いが、これは tachyphylaxis によるものと考えられる。肺動脈壓に對しては13回中12回には 2~8mm Hg の昇壓を來し、残りの1回は 4mmHg の降壓を來

した。かくの如くに調壓神経切除犬は正常犬にくらべてはるかに昇壓を來し易い。

第3章 慢性實驗

實驗方法

實驗動物として前實驗に正常犬として酪酸 400 mg を投與した No. 25・No. 43 の2匹を引續き使用した。體重は夫々 13kg・8.4kg である。

酪酸は 1cc 10mg の溶液として犬の前肢の皮下静脈内に週3回投與した。即ち No. 25 は 10mg 3回・20mg 20回投與し、尙8週目より硫酸アトロピン1日 0.25 mg 1週間経口投與した。No. 43 は酪酸 10mg 6回・

20 mg 29回・40 mg 15回投與し、10週目より硫酸アトロピン1日 0.25 mg 5週間及び1日 0.5 mg 2週間経口投與した。

血圧は觀血的に水銀マンノメータにより平均血圧として略週2回測定した。又適宜に検尿(蛋白・糖・沈渣)を行った。

實驗終了後犬を股動脈より脱血致死せしめた後直ちに心・肺・脾・腎・副腎を摘出坪量した。更に諸臓器を10%ホルマリン溶液に固定し、ツェロイデン包埋切片としヘマトキシリン・エオジン二重染色を施して組織學的検査を行った。

實驗成績

I 血 壓

No. 25 前値 134 mmHg. 實驗開始後より7週間略125 mmHgを示し、硫酸アトロピン経口投與により血圧は動搖したが、昇壓は認められなかつた (Fig. 6).

No. 43 前値 132 mmHg. 實驗開始後より漸次上昇し6週目には174 mmHgに昇壓し、その後硫酸アトロピン投與中も170 mmHg前後の昇壓状態を保ち最高180 mmHgを示した (Fig. 7).

Fig. 6. Effect of prolonged administration of butyric acid on blood pressure in dog (No. 25).

Fig. 7. Effect of prolonged administration of butyric acid on blood pressure in dog (No. 43).

II 検尿所見

實驗開始直後は軽度蛋白尿、尿沈渣に赤血球・白血球を認めたが、約2週間にして消失した。之は前實驗におき酪酸400 mgを投與した爲と考えられる。然しその後の経過においては尿に特別な所見を認めなかつた。

III 病理學的所見

腎所見

No. 25 剖検により腎表面には所により帽針頭大の陷

没あり、被膜は肥厚しているが、實質より剥離は容易である。組織學的にはボーマン氏囊の肥厚・増殖・結締織化・細小動脈の内膜肥厚等を認めた (Fig. 8).

No. 43 剖検により腎表面は帽針頭大の陷没多數あり、被膜は肥厚し且つ剥離困難である。割面にも白色の小斑點多數認めた。組織學的に糸球體に萎縮あり、ボーマン氏囊内への硝子様物質の滲出、ボーマン氏囊の肥厚、尿細管の變性萎縮、間質に小圓形細胞浸潤を認め

Fig. 8. Kidney of dog (No. 25) treated with butyric acid: Thickening and fibrosis of Bowman's capsule, thickening of media of arteriole and obliteration of its lumen.

Fig. 9. Kidney of dog (No. 43) treated with butyric acid: Atrophy of glomeruli, exudation of hyaline substance in capsular space, thickening of Bowman's capsules, degeneration and atrophy of tubuli, and cell infiltration in interstitium.

た (Fig. 9).

又腸間膜の小動脈中膜に肥厚を認めた者もあるが、その他の諸臓器には著變を認めなかつた。

第4章 考 按

酪酸は正常尿の中に痕跡的に存在し、熱性疾患・白血病・肝疾患及び糖尿病に於き増量する²¹⁾。最近クロマトグラフィーにより血液中の量も定量されている²²⁾。自然界に存在する脂肪酸は殆んど例外なしに偶數個の炭素を持つてゐるが、これが Knop の β 酸代により一時に炭素2個づつ失つてゆくと、結局どの脂肪酸よりも酪酸を生じ、この酪酸が更に β 酸代を受けるとアセト醋酸になる。又實際酪酸を糖尿病又はフロリヂンを注射した動物に與えるか、分離した肝臓内を灌流させると殆んど定量的にアセト醋酸その他のケトン體に變えられる²³⁾。かくの如くに酪酸とケトン體との間には密接なる關係がある。

酪酸の生理作用としては筋肉の收縮性を障碍する事なく、運動神経を麻痺するという古い報告²⁴⁾があるが、酪酸自身の血壓作用に関する文献は見ない。n-butylamine²⁵⁾は昇壓性アミンの一つであるが、これは n-valin が脱炭酸して生じたと考えられている。只最近荒木等²⁶⁾は酪酸を家兎に靜注して血壓作用を調べている。即ち酪酸は毒性強く、中和して投與したり、或は家兎を麻酔しても上昇下降一様でなく昇壓作用は明確でない。

著者も又酪酸 200 mg を中和して麻酔した正常犬の靜脈内或はカシータにより肺動脈内に投與したが、一定の成績を認めず、荒木等の正常家兎における成績と一致した。而し調壓神経切除犬は正常犬に比較して昇壓を來し易く、13回中10回におき 6~54 mmHg の上昇を來した。第2回・第3回投與時は初回投與時より昇壓の度は弱く tachyphylaxis によると考えられる。

次に實驗的に持続性昇壓を作成するために、2匹の正常犬に酪酸を長期靜脈内に投與した。調壓神経切除犬は正常犬にしらべて、酪酸に對し昇壓を來し易いので、頸動脈洞反射を抑制するために、一時硫酸アトロピンを経口的に投與した。2匹中1匹におき持続性昇壓を來した。而も腎變化は強度であり、實驗的腎性高血壓におけると同じ變化である。又荒木等²⁶⁾も白鼠の腹腔内に酪酸を長期投與し、血壓上昇を認めているが、腎變化は軽度であるという。

上記の如くに酪酸は犬殊に調壓神経切除犬には著明な昇壓作用があり、且つ犬・白鼠に長期投與により持続性血壓上昇を來し、腎變化は實驗的腎性高血壓と一致する。以上により代謝障礙が高血壓の成立に重要な役割を果たす事が明らかである。然し酪酸の如き單一の化學物質による程度の代謝障礙では高血壓の成立に充分でなく、この事は正常犬は勿論、調壓神経切除犬においても、生體の順應反應 (tachyphylaxis) の表れる事よりも明らかである。

更に前川教授²⁷⁾は多くの實驗的並びに臨床的研究より、血壓上昇をエネルギー代謝乃至新陳代謝より検討し ATP-ATPase 系に着目し、高血壓の眞の原因は心脈管系の系の ATP-ATPase 障礙にある事を明にされた。

第5章 總 括

β オキシ酪酸の如きケトン體が糖尿病におき増加を來し易いが、酪酸も脂質の中間代謝として生成の可能性があり、糖尿病においては尙更である。又糖尿病は高血壓も伴う事が多く、従つて代謝障礙が高血壓の成立に關係する事が考えられる。前川教授の示唆に基き、著者はかかる觀點より糖尿病を模倣して高血壓の原因を探索せんとして實驗を行つた。即ち酪酸を正常犬並びに調壓神経切除犬に靜注して昇壓作用を吟味し、更に實驗的に持続性高血壓を作成する目的により、酪酸を正常犬に長期投與した。

1) 酪酸 200 mg を麻酔した2匹の正常犬の靜脈内或

は肺動脈内に投與した。動脈壓（平均壓）に對しては初回投與により昇壓或は降壓を來し、一定の傾向を示さない。次回投與に際して著變を認めない。肺動脈壓（平均壓）に對しては軽度昇壓或は軽度降壓を來した。

2) 酪酸 200 mg を麻酔した 5 匹の調壓神経切除犬の靜脈内或は肺動脈内にのべ 13 回投與した。動脈壓（平均壓）に對しては 13 回中 10 回におき 6~54 mmHg の昇壓を來したが、3 回においては 10~24 mmHg の降壓を來した。第 2 回・第 3 回投與時は初回投與時より昇壓の程度は弱く、これは tachyphylaxis によると考えられる。肺動脈壓（平均壓）に對しては 13 回中 12 回におき 2~8 mmHg の昇壓を來したが、1 回は 4 mmHg の降壓を來した。

3) 酪酸 10~40 mg を 2 匹の正常犬の靜脈内に長期投與し、更に昇壓を容易にする爲に硫酸アトロピン 0.25~0.5 mg を一時經口投與した。1 匹は昇壓を來さなかつたが、他の 1 匹は 160~180 mmHg（平均壓）の持続性昇壓を來した。組織學的に腎に糸球體の萎縮、ボーマン氏囊の肥厚・増殖、尿細管の變性・萎縮、細小動脈の内膜肥厚等を認めた。この腎變化は昇壓を認めない犬にもあり、昇壓と平行しない。

以上の實驗によつても代謝障礙が高血壓の成立に重要な役割を果たす事が明らかであるが、酪酸の如き単一の化學物質による程度の代謝障礙では生體の順應反應により高血壓の成立に不充分である。而し前川教授は更に廣範なる實驗並びに臨床的研究より、高血壓の原因は心脈管系の ATP-ATPase 系にある事を明にされた。

本論文要旨は昭和 28 年 3 月第 17 回日本循環器學會宿題報告（前川教授）の一部として發表された。

擱筆に當り御懇篤なる御指導と御校閲を辱うした恩師前川教授に深甚なる謝意を表し、御鞭撻御援助を賜つた鷹津助教授に敬意を捧げる。又終止御協力を頂いた三瀬、荒木、河北、竹澤、依藤、井口、大林、坂口、杉島各博士に衷心より感謝する。

REFERENCES

- 1) Neubauer, E., *Biochem. Ztsch.* **25**: 284, 1910.
- 2) Tachau, H., *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* **102**: 597, 1911.

- 3) Härle, F., *Ztschr. f. klin. Med.* **92**: 124, 1921.
- 4) Rosenbloom, J., *J. Lab. & Clin. Med.* **7**: 392, 1922.
- 5) Maranon, G., *Zentralbl. f. inn. Med.* **43**: 169, 1922.
- 6) Herrick, W. W., *J.A.M.A.* **81**: 1942, 1923.
- 7) Mohler, H. K., *J.A.M.A.* **84**: 243, 1925.
- 8) Kramer, D. W., *Am. J. Med. Sci.* **176**: 23, 1928.
- 9) Mosenthal, H. O., *Am. J. Med. Sci.* **176**: 762, 1928.
- 10) Major, S. G., *Arch. Int. Med.* **44**: 798, 1929.
- 11) Fishberg, A. M., *Hypertension and Nephritis*, p. 723, Philadelphia, 1954.
- 12) Joslin, E. P. et al., *The Treatment of Diabetes Mellitus*, p. 334, Philadelphia, 1935.
- 13) Friedberg, C. K., *Disease of the Heart*, p. 951, Philadelphia, & London, 1951.
- 14) Bell, E. T., *J. Clin. Endocrinol.* **10**: 828, 1950.
- 15) Kurokawa, T., *Folia Endocrinol. Japonica* **27**: 141, 1951.
- 16) Maekawa, M., *Shinryo* **6**: 379, 1953.
- 17) Shiota, T., Iguchi, M., *Jap. Circulation J.* **19**: 314, 1955.
- 18) Takezawa, H., *Jap. Circulation J.* **20**: 546, 1956.
- 19) Hamilton, W. F., *Am. J. Physiol.* **107**: 427, 1934.
- 20) Hering, H. E., *Karotissinusreflexe auf Herz und Gefäße*, Dresden u. Leipzig, Steinkopf, 1927.
- 21) Loebisch, W. F., *Harnanalyse*, p. 129, Wien u. Leipzig, 1893.
- 22) Schambye, P., Philipson, A. T., *Nature* **164**: 1094, 1949.
- 23) Baldwin, E., *Dynamic Aspect of Biochemistry*, p. 470, Cambridge, 1952.
- 24) Abderhalden, E., *Biochemische Handlexikon*, Ite Band, p. 960, Berlin, 1911.
- 25) Schroeder, H. A., *Hypertensive Diseases*, p. 129, Philadelphia, 1953.
- 26) Araki, H. et al., *Jap. Circulation J.* **22**: 360, 1958.
- 27) Maekawa, M., *Jap. Circulation J.* **17**: 153, 1953.