モルモット心筋 catecholamine 量におよぼす catecholamine ならびに ouabain の影響について

斉藤 秀哉, 石崎 高志, 南 勝, 田辺 恒義

(北海道大学医学部薬理学教室)

(昭和44年2月22日受付)

緒 論

致死量の adrenaline 前投与動物^{1,2,3)}において心筋 norepinephrine (NEp) 量の著明な低下と心筋 epinephrine (Ep) 量の著明な増加の起ることが報告されている。また中毒量の強心配糖体前投与ラット⁴⁾において心筋 NEp 量の著明な低下の起ることも報告されている。しかしながら中毒量以下の用量の catecholamine (CA) および digitalis を動物に前投与した場合、心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかについての報告がない。さらにまた digitalis 投与後の動物に CA を投与した場合、心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかについても報告がない。今回われわれは血清 CA 量の測定に鋭敏な方法として近年開発した方法⁵⁾を用いて上記の未だ未解決な問題につき検討を加えた。すなわち、中毒量以下の CA、あるいは digitalis をモルモットに投与後心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかにつき検討した。また同一モルモットを用いて中毒量以下の digitalis を前投与した後、再び同量の CA を投与した場合心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかにつき検討を加えた。

方 法

1. モルモットに urethane 2g/kg 腹腔内注射を行ない第II肢誘導心電図を記録しながら、外頸静脈より Ep, NEp または ouabain をそれぞれ 50 μ g/kg を 1^m 間かけて持続注射した。一定時間後に心臓を摘出し、斉藤等の方法⁵⁾を用いて心筋 CA 量を測定した。CA 定量法の概略を以下に示す。

1) モルモット心筋に過塩素酸を加えて、心筋 homogenate を作成した。homogenate を遠心沈澱 (9000 r.p.m.) し除蛋白を行なった。

2) 除蛋白後、上清に K₂CO₃ を加え pH を 4 とした。再び遠心沈澱 (9000r.p.m.) を行ない、potassium perchlorate の沈澱を除去した。alumina batch 法 (pH 8.0, 加圧下) を用いて CA の吸着、精製、濃縮を行なった。aluminum oxide (Merck 71695 acid washed) は特別に精製して使用した。

3) 溶出液は 0.5N acetic acid を用いた。

4) Trihydroxyindole 反応は、potassium ferricyanide を酸化剤とし、pH 6.5 で行なった。

5) 蛍光測定には Aminco-Bowman 蛍光分光光度計を用い、excitation wave length 390m μ および 425 m μ , fluorescence wave length 500m μ で測定した。未処置モルモット心筋 CA 量 (対照群) と薬物前投与モルモット心筋 CA 量 (薬物投与群) との間の差の検定には Student's t test を用いた。

結 果

1) モルモットの外頸静脈に Ep 50 μ g/kg 静脈注射し、1^h 後においては心筋 NEp 量は 1.18 ± 0.12 (S.E.) μ g/g wet weight, Ep は 0.54 ± 0.16 (S.E.) μ g/g wet weight, total CA は 1.72 ± 0.20 (S.E.) μ g/g wet weight を示した。心筋 NEp 量は、対照群に比し有意の低下を示した ($P < 0.01$)。total CA 量は対照群に比し有意の低下を示した ($P < 0.05$)。心筋 Ep は対照群との間に有意の差がなかった (表1参照)。

2) モルモットの外頸静脈に NEp 50 μ g/kg 静脈注射し、1^h 後には心筋 NEp 量は 2.45 ± 0.16 (S.E.) μ g/g wet weight, 心筋 Ep 量は 0.72 ± 0.19 (S.E.) μ g/g wet weight といずれも対照群に比し増加傾向を示したが有意の差がなかった ($P < 0.1$) (表1参照)。

3) モルモット外頸静脈に ouabain 50 μ g/kg を静脈注射し、1^h 後には心筋 CA 量は心筋 NEp 量は 1.54

Table 1. Change in the myocardial catecholamine after administration of ouabain and catecholamine in guinea pigs.

	N	Norepinephrine	Epinephrine	Total Cathcholamine
		$\mu\text{g/g tissue} \pm \text{S.E.}$	$\mu\text{g/g tissue} \pm \text{S.E.}$	$\mu\text{g/g tissue} \pm \text{S.E.}$
Control	5	1.97 ± 0.18	0.53 ± 0.09	2.50 ± 0.22
Ouabain	5	1.54 ± 0.33	0.53 ± 0.09	2.07 ± 0.40
Epinephrine	6	1.18 ± 0.12 ($P < 0.01$) ^{a)}	0.54 ± 0.16	1.72 ± 0.20 ($P < 0.05$) ^{a)}
Ouabain, Epinephrine	6	1.30 ± 0.28	0.65 ± 0.17	1.78 ± 0.39
Norepinephrine	6	2.45 ± 0.16 ($P < 0.1$) ^{a)}	0.72 ± 0.19	3.17 ± 0.26 ($P < 0.1$) ^{a)}
Ouabain, Norepinephrine	6	1.72 ± 0.30 ($P < 0.1$) ^{b)}	0.57 ± 0.23	2.29 ± 0.42 ($P < 0.2$) ^{b)}

Ouabain : $50 \mu\text{g/kg}$ i.v. 2 hours prior to sacrifice

Catecholamine : $50 \mu\text{g/kg}$ i.v. 1 hours prior to sacrifice

a) significant difference from control

b) significant difference from norepinephrine

± 0.33 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, 心筋 Ep 量は 0.53 ± 0.09 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, total CA 量は 2.07 ± 0.40 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight を示した. ouabain 処置後, 心筋 NEp が減少傾向を示したが対照群に比し有意の変化ではなかった (表1参照).

4) 同一モルモット ouabain $50 \mu\text{g/kg}$ に静脈注射し 1^h 後, Ep $50 \mu\text{g/kg}$ を投与した場合には心筋 NEp は 1.30 ± 0.28 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, Ep は 0.65 ± 0.17 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, total CA は 1.78 ± 0.39 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight となった. これらの値は Ep 単独投与群に比較して有意の差がなかった (表1参照).

5) 同一モルモットに ouabain $50 \mu\text{g/kg}$ 静脈注射し, さらに 1^h 経過後 NEp $50 \mu\text{g/kg}$ を投与した場合には心筋 NEp は 1.72 ± 0.30 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, 心筋 Ep は 0.57 ± 0.23 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight, total CA は 2.29 ± 0.42 (S.E.) $\mu\text{g/g}$ wet weight を示した. 心筋 NEp および心筋 total CA は NEp 単独投与群に比し減少傾向を示したが, 有意の変化ではなかった ($P < 0.1$). 心筋 Ep は NEp 単独投与群との間に有意の差がなかった (表1参照).

6) 第II肢誘導心電図を記録することにより, ouabain あるいは CA 投与後に中毒症状が出現するかどうかを確かめた. すなわち本実験においては, ouabain および CA 投与後心電図上に不整脈 (房室分離, 期外収縮, 心房性頻搏症および心室性頻搏症など) の発現した場合, これらの薬物による中毒と見做した. ouabain あるいは CA の $50 \mu\text{g/kg}$ 投与 1^h 後には, 心電図上除脈傾向および PQ 時間延長傾向が認められ, さらに T 波逆転は22例中3例に見られた. 軽度の ST 低下が ouabain 投与群に認められた. しかしながら不整脈 (房室分離, 期外収縮, 心房性頻搏症および心室性頻搏症) は全く発現しなかった. したがって上記薬物中毒量の判定基準より, われわれの使用した $50 \mu\text{g/kg}$ の ouabain あるいは CA は中毒量以下と見做し得た.

考 按

致死量の Ep 前投与ラット^{1)~3)}および猫⁴⁾においては末梢組織中の NEp が著明に低下し, 同時に Ep が心筋に取込まれることが報告されている.

最近 Sobel⁵⁾ 等は, ラットに 5mg/kg の Ep を注射すると 4^h 後に心筋内 NEp が著明に低下し, 同時に Ep が心筋内に著明に増加することを確認した. 同時に心筋 mitochondria の P/O 比の低下が起った. 今回われわれは中毒量以下の用量の Ep あるいは NEp をモルモットに前投与し, 心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかにつき検討した. Ep $50 \mu\text{g/kg}$ 静注 1^h 後モルモットの心筋 CA 量を測定すると心筋 NEp の低下が観察されたが ($P < 0.05$) 心筋 Ep の増加は認められなかった. また NEp $50 \mu\text{g/kg}$ 投与 1^h 後には心筋 NEp は増加傾向を示したが有意の増加ではなかったし, また心筋 Ep は全く変化しなかった. 同一条件下 Ep 静注後

には心筋 mitochondria の酸化的磷酸化は変化を受けなかったが、NEp 静注後には心筋 mitochondria の酸化的磷酸化が軽度の抑制を受けた⁶⁾。すなわち中毒量以下の Ep 投与 1h 後のモルモット心筋では心筋 CA 量と mitochondria 機能変化の間には相関関係がなかった。特に Ep 投与後心筋への Ep の取込みが起ることは大量 Ep の投与時のみに観察される所見と推測されよう。

大量の ouabain 投与ラットでは心筋 NEp 量が顕著に低下するという報告がある⁴⁾。今回われわれは、中毒量以下の用量の ouabain を前投与後モルモット心筋 CA 量が如何なる影響を受けるかにつき検討した。われわれの成績は ouabain 50 μ g/kg 静注 1h 後ではモルモット心筋 CA 量は有意の変化を受けないことを示し、同一条件下で心筋 mitochondria の酸化的磷酸化が ouabain によって顕著に障害された⁶⁾。従って ouabain による心筋 NEp 遊離作用は心筋 mitochondria におけるエネルギー産生系に対する ouabain 作用とは無関係におこるものと考えられよう。次に ouabain 前投与後 Ep を投与した群では、Ep 単独投与群に比し、心筋 CA 量は有意の変動を起さなかった。この事実から Ep による心筋 NEp 遊離作用は ouabain によって影響されないことが推察される。

ouabain 前投与のモルモットに NEp を投与した場合には、心筋中 NEp 量および total CA 量は NEp 単独投与の場合に比し減少傾向を示したが、有意の減少ではなかった。Dengler ら⁷⁾は *in vitro* の実験において、心筋切片への NEp 取込みが ouabain により抑制されることを報告した。また最近、低温下では、犬血清中外因性 NEp 量が ouabain 処置後高値を示すことが報告された⁸⁾。われわれの実験結果は、常温下において、モルモット心筋への外因性 NEp の取込みが ouabain によって抑制されないことを示した。

結 論

モルモットの心筋内 norepinephrine および epinephrine 含量が外因性の catecholamines (非中毒量の静注) によって如何なる変化を受けるか、またこの変化が digitalization によって如何に影響されるかについて研究し、次の結果を得た。

- 1) 外因性の epinephrine は心筋内 norepinephrine 含量を低下させたが、心筋内 epinephrine 含量には変化を与えなかった。
- 2) 外因性の norepinephrine は心筋内 catecholamine を増加させる傾向を示した。
- 3) 非中毒量の ouabain で処置されたモルモット心筋内の norepinephrine 含量は正常値よりやや低下の傾向を示したが有意な変化ではなかった。
- 4) ouabain 前処置によって外因性 norepinephrine の心筋取込み増加は抑圧されなかった。

文 献

- 1) Adén, N. E. & Magnusson, T. : Biochem. Pharmacol. Suppl., 12, 66 (1963).
- 2) Westfall, T. C. : Acta Physiol. scand., 63, 336 (1965).
- 3) Sobel, B., Jequier, E., Sjoerdsma, A. & Lovenberg, W. : Circulation Research, XIX, 1050 (1966).
- 4) Cession-Fossion, A. : Compt. Rend. Soc. Biol., 156, 1192 (1962).
- 5) Saito, H., Woronkow, S. & Myers, B. : Jap. Circulat. J. in press.
- 6) 門間芳夫, 齊藤秀哉, 南 勝, 石崎高志 : 日薬理誌, 投稿中.
- 7) Dengler, H. J., Michaelson, I. A., Spiegel, H. E. & Titus, E. : Intern. J. Neuropharmacol., 1, 23 (1962).
- 8) Cottien, M. deV., Logan, M. E. & Moore, J. I. : J. Pharm. & Exp. Therap., 155, 231 (1967).