ANP のモルモット蝸牛壁血流に対する作用†

児 玉 章・北 原 正 章

緒 言

心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide; 以下 ANP と略す) は、心房細胞より分泌されるナトリウム利尿作用、血管拡張作用を持つペプチドホルモンであり、体液および循環の調節に重要な役割を演じていると考えられている。^{1,2} I-ANP を静注したラットのオートラジオグラフィーで、ANP の標的器官は腎臓、血管、副腎、脳、肺の他に、眼などにも存在することが明らかにされてきた³ が、1988年 Lamprecht²⁾ らは内耳にも ANP の受容器が存在することを初めて示し、内耳液バランスの調整に ANP が関与している可能性が示唆された。

本研究では、内耳液の調整に関与し得る ANP の内耳血流に及ぼす影響を、正常モルモットと、一般にメニエール病のモデルと考えられている内リンパ嚢硝酸銀腐蝕法³⁾ による内リンパ水腫モルモットとを用いて、蝸牛壁血流をレーザードップラー法で測定することにより検討したので、その結果を報告する。

方 法

正常群としては、表 1 に示すブライエル反射正常の体重 270~590 g の無処置のハートレー系モルモット 18 匹を用いた。

蝸牛壁血流量の測定は、レーザードップラー法 (Advance Laser Flowmeter, Model ALF 2100) を用いて行った。麻酔方法は 35 mg/kg のネブタールを腹腔内投与し、気管切開後レスピレータに接続し、塩化ツボクラリンで不動化した上で呼吸管理を行った。その後 ventral approach にて中耳骨包を開放し、中耳粘膜を除去後、蝸牛基底回転側壁の骨の一部をマイクロドリルで削削して平滑にし、マイクロマニピュレータを用いてレーザードップラー測定用プローブを同部に当て、蝸牛壁血流を測定した。薬剤投与用の静脈ラインは、大腿静脈または左頸静脈で確保した。また動脈ラインは右大腿動脈で確保し、圧測定用トランスデューサーと接続し平均血圧をモニターした。

表 1 正 常 群

動物 No	体重 (g)	投与薬剤	投与時間 (分)
28	270	ANP	15
29	300	ANP	15
39	430	ANP	15
58	500	ANP	15
61	300	ANP	15
62	340	ANP	15
30	300	マニトール	15
31	300	マニトール	15
43	400	マニトール	15
34	300	ANP	1
40	380	ANP	1
49	500	ANP	1
55	500	ANP	1
56	590	ANP	1
41	410	マニトール	1
44	400	マニトール	1
48	440	マニトール	1
60	300	マニトール	1

ANP は 7.5% マニトール液で希釈し、50 μ g/ml の濃度としたものを用いた。投与方法は、① 1.0 μ g/体重 (kg)/分の濃度で 15 分間での持続注入 (6 例)、② 1.0 μ g $\times$ 体重 (kg) $\times$ 30 (①の 30 分間相当量) を 1 分間での投与 (5 例) の 2 条件とした。また希釈液の 7.5% マニトールを、①②と同量、同様の方法での投与を各々 3 例、4 例に行いコントロールとした。

また内リンパ水腫群として、表 2 に示す内リンパ嚢に硝酸銀腐蝕法の処置を施行後 4 週~16 週経過したモルモット 12 匹を用い、①②と同様の方法で ANP を投与した (各 6 例ずつ)。

蝸牛壁血流の測定結果は、初期値を 1.0 とし、初期値に対する相対値を求め、各条件での平均値 $\pm$ 標準偏差で示すことにより、各条件での ANP の正常群・内リンパ水腫群各々の蝸牛壁血流に与える効果を検討した。血圧の変化も同様に平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。

† Effects of Atrial Natriuretic Peptide (ANP) on the Cochlear Blood Flow in Guinea Pigs
Akira Kodama and Masaaki Kitahara
滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室 (主任: 北原正章教授)

表 2 内リンパ水腫群

動物 No.	処置後飼育期間 (週)	体重 (g)	投与薬剤	投与時間 (分)
50	12	450	ANP	15
51	12	530	ANP	15
54	16	580	ANP	15
57	16	600	ANP	15
64	4	430	ANP	15
67	4	430	ANP	15
52	16	580	ANP	1
53	16	570	ANP	1
59	16	580	ANP	1
63	4	500	ANP	1
65	4	400	ANP	1
66	4	470	ANP	1

結 果

1. 15分間持続注入例 (正常群)

1.0 μ g/体重(kg)/分の濃度の ANP を15分間持続注入した時の、蝸牛壁血流と平均血圧 (mmHg) の変化を図1に示す。蝸牛壁血流は ANP 注入開始後15分までは約9%程度減少し、注入開始20分後頃 (注入終了5分) からは徐々に回復していた。注入開始後30分での蝸牛壁血流は、注入前の 0.97 ± 0.10 倍であった。その際、平均血圧の変化は、ANP 注入直後より6mmHg程度低下し、注入終了後より徐々に上昇し、注入終了後約3分で元のレベルに回復した。

同様の条件で ANP の希釈液である7.5% マニトール液のみを注入した際の蝸牛壁血流と平均血圧の変化を図2に示す。この条件では蝸牛壁血流、平均血圧には特に変化を認めなかった。

2. 1分間注入例 (正常群)

1.0 μ g/体重(kg)/分の濃度の ANP 30分間相当量を1分間で静注した際の、蝸牛壁血流と平均血圧の変化を図3に示す。蝸牛壁血流は、ANP 注入開始直後より急速に約20%近く減少したが、注入開始後およそ4分で回復し、注入開始後10分で注入開始前の 0.92 ± 0.06 倍と、7~8%程度減少した状態となった。

その際の平均血圧の変化は、ANP 注入開始直後から平均血圧は約20mmHg程度急速に低下し、注入開始後4分頃まではこの状態が持続し、その後徐々に回復を始め、注入開始後約10分ではば元の平均血圧に回復した。

コントロールとして1.0 μ g/体重(kg)/分の濃度の ANP 30分間相当量、即ち $1.0 \times \text{体重(kg)} \times 30/50\text{ml}$ の量の7.5% マニトール液のみを注入した際の、蝸牛壁血流と平均血圧の変化を図4に示す。この条件でのマニトール注入では、蝸牛血流・平均血圧に変化は見られな

図1 ANP 15分間注入の蝸牛壁血流と血圧に対する反応 (正常モルモット)。

蝸牛壁血流は、ANP 注入により僅かに減少し、注入終了後徐々に回復した。血圧は注入中僅かに低下し、注入終了後比較的速やかに回復した。

図2 マニトール15分間注入の蝸牛壁血流と血圧に対する反応 (正常モルモット)。

蝸牛壁血流、血圧ともに著変を認めなかった。

図3 ANP 1分間注入の蝸牛壁血流と血圧に対する反応(正常モルモット)。
蝸牛壁血流は、ANP 注入開始直後より減少した後一旦回復し、注入開始後10分では僅かに減少した状態となった。血圧は急速に低下したが、注入開始後10分ではほぼ回復した。

図4 マニトール1分間注入の蝸牛壁血流と血圧に対する反応(正常モルモット)。
蝸牛壁血流、血圧ともに著変を認めなかった。

った。

3. 15分間持続注入例(水腫群)

内リンパ水腫群として、右内リンパ嚢に硝酸銀腐蝕法を施行し4~16週経過したモルモットを用いて、①と同様に15分間のANP持続注入を水腫モルモットに施行した際の、蝸牛壁血流の変化を図5の上段に示す。蝸牛壁血流は図1の正常群の結果と同様、ANP注入後より僅かに減少し、注入開始後30分では注入前の 0.95 ± 0.11 倍であった。水腫作成後の飼育期間により12~16週の長期群と、4週の短期群とで検討すると、後者ではANP注入後、蝸牛壁血流はむしろ増加していた(図5下段)。

4. 1分間注入例(水腫群)

内リンパ嚢硝酸銀腐蝕法による水腫モルモットに、②と同様の方法でANPを1分間で静注した際の、蝸牛壁血流の変化を図6に示す。注入開始直後より蝸牛壁血流は約17%ほど急激に減少したが、注入開始後6分位ではほぼ元に回復し、注入開始後10分では注入前の 0.97 ± 0.05 倍であった。水腫作成後の飼育期間16週の長期群と、4週の短期群とでは差を認めなかった(図6下段)。

考 按

ANPは、1979年 de Bold らがラット心房抽出物に

利尿作用、血管拡張作用のあることを報告、1984年松尾、寒川らがヒト心房より分離同定し、ナトリウム利尿作用、血管平滑筋弛緩作用のあることを明らかにして以来、多くの施設で研究されている。ANPの受容器は腎臓、血管、副腎、脳、肺、眼などに存在する¹⁾という。これまでに得られたANPの知見としては、ナトリウム利尿、血管拡張による降圧作用²⁾の他に、不整脈、うつ血性心不全などの循環器疾患や腎不全などの病態でANPの血中濃度が著明に上昇すること³⁾、高濃度のANP存在下では受容器にdown-regulationの生じること⁴⁾、レニン-アンギオテンシン系と拮抗する日内変動を示すこと⁵⁾、臨床実験より生体内での半減期は約2分であることなどが明らかにされている。こうした状況下、1988年Lamprechtら⁶⁾はANPの受容器が内耳組織の中でも、血管条、膨大部と卵形嚢の分泌上皮に存在することを示し、眼における毛様体、脳室における脈絡膜が体液のホメオスタシスの維持に関係するのと同様に、内耳でもリンパ液のバランスに関係し、メニエール病などの機能的な障害による疾患とANPとが関連している可能性がある⁷⁾と考えた。これらの報告を総括すると、ANPは全身の体液のホメオスタシス維持と深く関わっており、主に循環器系に強く作用が発現するが、内耳組織にも直接あるいは間接に作用が及び、メニエール病などの機能的な障害による内耳疾患と、ANPとが関係している可

図5 ANP 15分間注入の蝸牛壁血流に対する反応(水腫モルモット)。

上段には水腫例全例の、下段には水腫作成後の飼育期間の長期群と短期群別に、蝸牛壁血流の変化を示す。短期群では、蝸牛壁血流は僅かに増加した。

図6 ANP 1分間注入の蝸牛壁血流に対する反応の比較(水腫モルモット)。

上段には水腫例全例の、下段には水腫作成後の飼育期間長期群と短期群別に、蝸牛壁血流の変化を示す。両群で差を認めなかった。

能性が推察される。そこで、内耳動態の指標の一つである蝸牛壁血流に ANP が及ぼす影響を、正常モルモット群と内リンパ水腫モルモット群とを用いて、今回実験的に検討してみた。

内耳血流には、何等かの自動調整機能が存在するものの、やはり全身血圧の影響を受ける⁸⁾⁹⁾とされる。ANP の内耳への作用を検討するためには、ANP 投与により全身血圧の変化が軽度な条件下での蝸牛血流の変化が捉えられれば、ANP の蝸牛壁血流に及ぼす作用を解明することが出来るのであるが、本剤投与により血圧がほとんど変化せずに蝸牛壁血流が変化する条件は、予備実験では見いだせなかった。今回適用した ANP の 15 分間持続注入と 1 分間注入の 2 条件では、ANP 投与に反応していずれも平均血圧と蝸牛壁血流が減少した。特に 1 分間注入では、平均血圧は約 20 mmHg 程度急激に低下し、注入前の血圧に回復するのにおよそ 10 分を要した。しかし蝸牛壁血流は、ANP 注入開始後 1 分で最低値を示し、正常群、水腫群共に注入開始後 3~4 分という比較的短時間ではほぼ注入前の血流量に回復していた。これは、モルモットの脱血により蝸牛壁血流の変化を調べた山本¹⁰⁾の実験結果と同様であり、いわゆる内耳血流の自動調整機能が作用したものと考えられる。他の血管拡張

作用・降圧作用のある薬物と蝸牛壁血流の関係では、パパベリン、塩酸ジラゼブの投与により血圧が低下したにもかかわらず蝸牛壁血流は増加した報告¹¹⁾もあり、この報告での蝸牛壁血流の変化と今回のわれわれの結果とを対比してみると、正常群に対する ANP 投与では蝸牛壁血流を少なくとも増加させる作用は認め難いと言わざるを得ない。

一方、内リンパ水腫群では、ANP 投与に対し正常群と僅かながら異なる反応を示した。まず、ANP 15 分持続投与では、水腫作成後の飼育期間により、蝸牛壁血流の平均値で僅かながら差があった。即ち、水腫作成後の飼育期間が 4 週と短い群では、ANP 注入後 30 分の時点での蝸牛壁血流は平均 1.05 ± 0.02 倍であるのに対し、水腫作成後の飼育期間が 12 週から 16 週と長い群では、平均 0.90 ± 0.11 倍であり、水腫作成後短期間の群の蝸牛壁血流はむしろ増加していた。また、ANP 1 分投与では、投与後 10 分の時点での蝸牛壁血流は、正常群の 0.92 ± 0.06 倍に対し、水腫群では 0.97 ± 0.05 倍であり、平均値で僅かながら差を認めた。これは、正常例と水腫例とでは ANP が何等かの異なった作用を及ぼした可能性が考えられる。内リンパ水腫状態での蝸牛壁血流については、マイクロスフェア法で検討し正常例と特に差が

ないとする報告¹²⁾もあるが、水素クリアランス法で蝸牛壁血流を検討した北野¹³⁾によれば、水腫群の蝸牛壁血流は正常群に比べ有意に減少していたという。矢沢³⁾は組織学的検討から、内リンパ水腫による血管条の萎縮を報告したが、北野¹³⁾は水腫作成後の飼育期間が長期のものが蝸牛壁血流が減少する傾向にあり、これは蝸牛管の血管条への圧迫による萎縮の程度の進行により、蝸牛壁血流が減少したと考えた。水腫例に15分間 ANP を持続注入した所、水腫作成後長期例と短期例とで僅かながら差が見られたことは、血管の萎縮のない段階であれば ANP が蝸牛壁血流を増加させることを示唆している可能性がある。また、内リンパ水腫群の1分間 ANP 投与後10分の時点で蝸牛壁血流が正常群よりも僅かながら高値を示したことも、やはり内リンパ水腫に対し ANP が血管条で作用し、水腫が軽減されたために蝸牛壁血流が僅かながら増加したのかも知れない。

結 語

ANP を正常モルモットと水腫モルモットに投与し、蝸牛壁血流の経時的变化をレーザードップラー法で測定した。正常群と水腫群とは以下の点で異なる傾向にあった。即ち ANP 15分間投与群では、水腫作成後の飼育期間の短期例では、同飼育期間が長期の例に比べ、投与後の蝸牛壁血流がやや増加していた。また、内リンパ水腫群の1分間 ANP 投与後10分の時点で蝸牛壁血流は、正常群よりも僅かながら高値を示した。内リンパ水腫例と正常例とで、ANP の作用発現が異なる可能性を述べた。

文 献

- 1) 大沼規男：ANP receptor の分布と意義。最新医学 43：71-76, 1988
- 2) Lamprecht J, Gottesberge AMM：The presence and localization of receptors for atrial natriuretic peptide in the inner ear of the guinea pig. Arch Otorhinolaryngol 245：300-301, 1988
- 3) 矢沢代四郎：内リンパ水腫に関する組織学的研究。耳鼻臨床 74：2450-2506, 1981
- 4) 山路 徹：ホルモンとしての ANP。最新医学 43：19-26, 1988
- 5) 斉藤能彦, 中尾一和, 菅原 照, 他：心房性ナトリウム利尿ポリペプチド (ANP) の臨床応用とその問題点。最新医学 43：118-127, 1988
- 6) 内山安男, 渡辺 剛：ANP の分泌機構と日周リズム。最新医学 43：27-31, 1988
- 7) Gottesberge AMM, Lamprecht J：Localization of the atrial natriuretic peptide binding

sites in the inner ear tissue—possibly an additional regulating system. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 468：53-57, 1989

- 8) 川上理郎：血圧低下による蝸牛血流変化の観察。Ear Res Jpn 20：323-324, 1989
- 9) 川上理郎：レーザードップラー法による蝸牛血流量の観察。日耳鼻 91：1066-1071, 1988
- 10) 山本好一, 久保 武, 松永 亨：実験的内リンパ水腫モルモットの蝸牛血流と血圧。Equilibrium Res Suppl 7：144-146, 1991
- 11) 岡本文里, 長谷川誠, 小林憲明：塩酸パパベリンと塩酸ジラゼブのモルモット蝸牛血流に対する作用：レーザードップラー法による計測。Ear Res Jpn 19：486-488, 1988
- 12) Larsen HC, Albers F, Jansson B, et al：Cochlear blood flow in endolymphatic hydrops. Acta Otolaryngol (Stockh) 106：404-408, 1988
- 13) 北野 仁：メニエール病の内耳血流量に関する実験的研究。耳鼻臨床 76：2761-2794, 1983

Abstract

This study was designed to evaluate the effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on the cochlear blood flow (CBF) of normal guinea pigs and of guinea pigs with experimentally induced endolymphatic hydrops. ANP was administered intravenously and the CBF was measured with a Laser-Doppler-Flowmeter. When ANP was injected for 15 minutes, the CBF of guinea pigs with hydrops induced 4 weeks previously was higher than that of those with hydrops induced 12 to 16 weeks previously. When ANP was administered in large quantities for one minute, the CBF at 10 minutes was slightly higher in hydrops induced guinea pigs than in normal guinea pigs. The mechanism in normal and in hydrops induced guinea pigs after ANP administration appears to be different.

Key words : cochlear blood flow, endolymphatic hydrops, atrial natriuretic peptide (ANP)

(原稿到着：平成4年7月29日
別刷請求先：児玉 章
〒520-21 大津市瀬田月輪町
滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室)