nifedipine のイヌ食道下端括約圧 (LESP) に対する影響

東北大学医学部 第三内科学教室

本 郷 道 夫

EFFECT OF NIFEDIPINE ON CANINE LESP

Michio HONGO

Third Department of Internal Medicine, Tohoku University
School of Medicine, Sendai

Nifedipine acts on smooth muscle cells to prevent the influx of calcium ions. The present study was undertaken to see wheather a relaxatory effect of nifedipine is present on esophageal smooth muscle as well as on vascular smooth muscle. The experiment was performed on anesthetized dog's lower esophageal sphincter pressure (LESP). Nifedipine (0.5 mg/kg) administered sublingually caused rapid and marked depression of LESP. LESP response to either AOC-tetragastrin (0.5 μ g/kg) or bethanechol (5 μ g/kg) was inhibited partially but markedly. This inhibition might be caused by prevention of calcium-ion influx. This depressant effect of nifedipine on LESP both in resting state and in stimulated state is able to apply to therapy of hypermotile disorders of the esophagus.

I. は じ め に

心筋および平滑筋の収縮には Ca^{2+} イオンが関与していることはよく知られている。すなわち、筋細胞膜における興奮過程において、細胞外から細胞内へ Ca^{2+} イオンの流入がおこることは Briggs (1962) により証明されている。一方、平滑筋は場合により膜の荷電状態とは無関係に細胞内の Ca 貯蔵部位から Ca を放出することにより収縮を行なうことができる (Bozler, 1969; Hurwitz, Joiner & von Hagen, 1969)。収縮系の活性化には、細胞内の Ca^{2+} イオンが重要であり、 Ca^{2+} イオンにより活性化された ATPase により ATP の分解がおこり、収縮エネルギーとして利用されるのである。ところで、細胞内への Ca^{2+} イオンの流入を抑制する“Ca 拮抗剤”の概念は Fleckenstein ら (1967, 1969) により確立されたといわれる。nifedipine はこの Ca 拮抗剤の一つであるが、

nifedipine に限らず Ca 拮抗剤の生体に対する作用は、従来主に心筋および血管平滑筋において研究されている。すなわち、Ca 拮抗剤は血管平滑筋の弛緩により冠血流量を増加すると同時に、心筋内での ATP-ase が活性化されないために ATP が保存され、酸素消費量が減少するといった作用のため、今日では一般に狭心症治療薬として広く用いられている。しかし、Ca 拮抗剤の本来の性格より、血管平滑筋や心筋以外の平滑筋に対しても弛緩作用があると考えられるが、報告はきわめて少ないのが現状である。そこで、今回は、消化管平滑筋運動の一つの指標として食道平滑筋のつくり出す食道下端括約圧 (以下 LESP) に対する Ca 拮抗剤—nifedipine の影響について検討を加えた。

II. 対象および方法

体重 7~14kg の雑種成犬 14 頭を 20 時間以上絶食の後、pentobarbital sodium (和光純薬製) 10~15mg/kg 静脈内投与により麻酔し、仰臥位に固定して実験を行なった。麻酔は、十分な筋弛緩が得られ、なおかつ、自発呼吸のある状態を保つよう、適宜 pentobarbital sodium を追加投与した。LESP は、長さ 75cm、外径 2mm、内径 1mm のポリエチレンチューブを使用し、先端は合成樹脂にて封印し、先端より 5cm の部に直径 1mm の側口を設けた。測定器具は、低圧用トランスデューサー (東洋測器 LPU-0.1-350-II)、増巾器 (三栄測器 Biophysigraph 180 system Type 1237) およびペン書き記録計 (三栄測器 Rectigraph 8S) より成り、トランスデューサーおよびポリエチレンチューブ内は持続注入器 (アトム 201) にて 0.5 ml/min の割合で蒸留水を灌流した。

LESP は、胃内圧を 0 点とし、station pullthrough により得られる 最大呼吸終圧点との差を cmH₂O

単位で表わした。薬剤投与時の変化は、測定口が最大呼吸終圧を示す位置に固定した状態で観察し、適宜、位置の修正を行なった。

nifedipine (バイエルジャパン、商品名アダラト Adalat) はカプセル内より注射器にて吸引し、0.5mg/kg 相当量を舌下投与した。この際の手技は、nifedipine の光による変化を防ぐため、可能な限り室内を暗くして行なった。

nifedipine 投与前および投与 60 分後に、AOC-テトラガストリン (日本化薬) 0.5μg/kg、またはベサネコール (吉富製薬) 5μg/kg を静脈内投与した。これらの薬剤は、前肢静脈内に留置した注射針より投与し、針内凝血防止のため、観察期間中、生理食塩水 30~60ml/hr の点滴を行なった。薬剤の体内注入を迅速にするため、投与直後 2ml の生理食塩水にて針内を flush した。

統計学的検討には、Student の *t*-test を用い、危険率 0.05 以下を有意差とした。

III. 結

A. nifedipine の静止 LESP に対する影響

nifedipine 0.5mg/kg 舌下投与により LESP は漸時下降する。すなわち、投与前 LESP は 25.0±8.9cmH₂O (mean±s.d.) であったが、5 分後にはすでに 22.2±7.5cmH₂O と下降傾向をみせ、10 分後には 18.4±5.5cmH₂O (*p*<0.01) となり、20 分後には 12.9±4.5cmH₂O (*p*<0.01) に低下し

果

た。30 分から 60 分まではほぼ同等の値を示しており、60 分以後、120 分まで観察した 2 例の場合には、ほぼ同等の低下が持続していた (図 1)。

B. テトラガストリン、ベサネコール刺激下の LESP に対する nifedipine の影響

AOC-テトラガストリン 0.5μg/kg 投与により、LESP は 21.8±5.4cmH₂O から 1 分後には 63.5

図 1. nifedipine 0.5mg/kg 舌下投与時の LESP の経時的变化
(n=11. M±S.D., ★ *p*<0.05, ★★ *p*<0.01, ¶ *p*<0.001)

図 2. AOC-テトラガストリン 0.5 µg/kg による LES の変化に対する nifedipine の影響. 実線は nifedipine 投与前 (n=8), 破線は nifedipine 0.5 mg/kg 舌下投与 60 分後 (n=7). (M±S.D., ★ p<0.05, ★★ p<0.01 (前値と比較して))

図 3. ベサネコール 5 µg/kg による LES の変化に対する nifedipine の影響. 実線は nifedipine 投与前 (n=7), 破線は nifedipine 投与 60 分後 (n=6). (M±S.D., ★ p<0.05, ★★ p<0.01 (前値と比較して))

図 4. nifedipine の LES 静止圧, および AOC-テトラガストリン, ベサネコールによる最大反応圧に対する影響. □ LES 静止圧, □ AOC-テトラガストリン 0.5 µg/kg に対する最大反応 LES, ▨ ベサネコール 5 µg/kg に対する最大反応 LES.

±36.8 cmH₂O (p<0.05) と最大反応を呈し, 5 分後にはほぼ前値と同等になった. nifedipine 0.5 mg/kg 舌下投与 60 分後に AOC-テトラガストリンの影響を検討すると, 12.7±4.0 cmH₂O から 1

分後に 18.0±4.6 cmH₂O (p<0.05) に上昇したが, nifedipine を投与しない場合に比べると, LES 上昇の実測値, および上昇率, とともに低下が著明であった (図 2, 図 4).

ベサネコール 5 µg/kg 投与前には LES は, 19.6±8.0 cmH₂O であったが, 投与 1 分後 55.1±34.7 cmHO (p<0.05), 2 分後 60.0±35.5 cmH₂O (p<0.01) となり, 5 分後以降, 徐々に低下していくのが認められた. 25 分までは前値に比して有意に高値を維持したが, 30 分には高値は示すものの, 有意差は認められなかった. nifedipine 投与 60 分後に同様の検討をすると, 10.3±2.7 cmH₂O から, ベサネコール 投与 1 分後に 15.8±6.2 cmH₂O に上昇したが, 統計学的に有意の上昇とはならなかった. すなわち, ガストリンの場合と同様, LES 上昇の実測値および上昇率ともに著るしい抑制をうけていることが認められる (図 3, 図 4).

IV. 考

平滑筋の収縮に Ca²⁺ イオンが必要であることは良く知られており, 食道平滑筋もその例外ではない. ことに, 食道下端括約圧を維持するのに Ca²⁺ イオン, ことに細胞外液中の Ca²⁺ イオン濃度 [Ca²⁺]_{ext} が重要であるといわれ (de Carle *et*

案

al., 1977), その最大収縮力および収縮速度も [Ca²⁺]_{ext} に依存することが指摘されている (Cohen & Green, 1973). 一方, active tension の発生には, actin と myosin の cross bridging が必要であり, そのためには actomyosin ATPase の活

性化に必要な一定量の細胞内 Ca^{2+} イオンの存在が不可欠である。細胞内 Ca^{2+} イオンの増加には、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ext}}$ が細胞膜をこえて細胞内へ流入すること、あるいは細胞内に結合している Ca^{2+} イオンの遊離が必要である。また、腸管平滑筋の active potential の発生には $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ext}}$ の存在が必要であることも示されている (El-Sharkaway & Daniel, 1975)。

ところで、ニトロ化合物は冠拡張効果のみならず、平滑筋弛緩作用を有することが知られている (Nickerson, 1975)。また、今回実験に用いた nifedipine は、臨床的には虚血性心疾患における冠拡張効果を有するもので、細胞内への Ca^{2+} イオンの流入を阻害する事によりその効果を発揮するものである。nifedipine と同様に細胞内への Ca^{2+} イオン流入を阻害するいわゆる Ca 拮抗剤としては verapamil があげられる。verapamil は guinea-pig の結腸ヒモ、門脈、胃、尿管などの平滑筋に対して action potential および tention の低下をきたすことが知られ (Golenhofen & Lammel, 1972; Mayer *et al.*, 1972)、また、LESP も nifedipine と同様に verapamil で抑制されることが示されている (Weiser *et al.*, 1976; Goyal & Rattan, 1978, 1980; 本郷ら, 1980b)。

nifedipine については、イヌ食道下端括約筋片において基礎状態での phasic contraction のみならず、アセチルコリンによる tention の増大をも抑制することが報告されている (Golenhofen *et al.*, 1979)。コモリネズミ (opossum) を用いた実験でも、食道下端括約筋片のカルバコールに対する反応性を抑制することが、verapamil にも nifedipine にもあることが証明されている (Fox & Daniel, 1979)。ヒトにおいて nifedipine の経口投与が LESP を低下させ、食道運動亢進状態の患者 (アカラシアおよび diffuse esophageal spasm) の治療に有効であるといわれている (Weiser *et al.*, 1978, 1977)。

今回、私の行ったイヌにおける実験でも、in vivo の状態で nifedipine の舌下投与は LESP を

低下するだけでなく、ガストリンやベサネコールによる LESP の上昇をも抑制することが認められた。LESP の抑制作用は、少なくとも 60 分以上持続することが認められ、120 分まで観察した少数例では、LESP は 120 分でも 60 分値とほぼ同等の値を示すことが認められた。

Fox & Daniel (1979) によれば、カルバコールは細胞外の Ca^{2+} イオンの細胞内への流入を促すことのほか、細胞内結合 Ca^{2+} イオンの遊離・活性化をおこすことによって筋収縮をおこすといわれる。したがって、今回の実験で観察された nifedipine 投与後のベサネコール投与による LESP の軽度上昇は、細胞内 Ca^{2+} イオンの遊離・活性化によって出現したと考えられる。一方、ガストリンの LESP 上昇機序は詳細には解明されていないが、アトロピンはガストリンによる LESP の上昇を抑制しない (Rattan, Coln & Goyal, 1976; 本郷および石森, 1979) ことより、少なくともガストリンによる LESP の上昇にはコリン作動系は関与しないと考えられる。しかし、nifedipine の作用機序は $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ext}}$ の細胞内流入の抑制と考えられるので、今回の実験成績からするとガストリンは $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ext}}$ の細胞内流入を促進させる可能性も考えられる。

Weiser ら (1977, 1978) によれば、イヌにおいては、nifedipine 20mg 経口投与 20 分後にペンタガストリン 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内投与したところ、LESP の上昇は全く認められなかった。今回の私のイヌにおける実験結果では、nifedipine 0.5mg/kg の舌下投与は、テトラガストリン 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による LESP の上昇を部分的に抑制したに留まった。この違いは Weiser らの投与した nifedipine の量が、経口ではあるが、私の投与量の約 3 倍に達しているためと思われる。

nifedipine の LESP 低下作用は、LESP 亢進状態であるアカラシア、diffuse esophageal spasm の治療に有用であろうといわれているが、東北大学第三内科においても 7 例のアカラシア患者に試みて 6 例の有効例 (本郷ら, 1980a) をみている。

V. ま と め

Ca 拮抗剤の 1 つである nifedipine は、イヌにおいて静止 LESP の低下をひきおこし、さらにガ

ストリンあるいはベサネコールといった 2 つの異った刺激による LESP の上昇をも抑制するこ

とが認められた。この nifedipine の LESP に対する抑制作用は、アカラシアや diffuse esophageal spasm の治療に応用できる可能性があると考えられる。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜りました後藤由夫教授（第三内科）、ならびに御指導・御協力を賜りました石森章教授（中央検査部）に深く感謝いたします。

文 献

- Bozler, E. (1969). Role of calcium in initiation of activity of smooth muscle. *Amer. J. Physiol.* **266**: 671–674.
- Briggs, A.H. (1962). Calcium movements during potassium contracture in isolated rabbit aortic strips. *Amer. J. Physiol.* **203**: 847–852.
- Cohen, S. & Green, F. (1973). Mechanism of esophageal muscle contraction, evidence of an inotropic effect of gastrin. *J. Clin. Invest.* **52**: 2029–2040.
- de Carle, D.J. *et al.* (1977). Calcium dependence of neuromuscular events in esophageal smooth muscle of the opossum. *Amer. J. Physiol.* **232**: E547–E552.
- El-Sharkaway, T.Y. & Daniel, E.E. (1975). Ionic mechanism of intestinal electrical control activity. *Amer. J. Physiol.* **229**: 1287–1289.
- Fleckenstein, A. *et al.* (1967). Zum Wirkungsmechanismus neuartiger Koronardilatoren mit gleichzeitige Sauerstoffeinsparungen. *Z. Kreisf. Forsch.* **56**: 716–744.
- Fleckenstein, A. *et al.* (1969). Eine neue Gruppe kompetitiver Ca^{2+} -Antagonisten (Iproveratril, D600, Prenylamin) mit Hemmeffekten auf die elektromechanische Koppelung im Warmblüter-Myokard. *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* **307**: R25.
- Fox, J.E.T. & Daniel, E.E. (1979). Role of Ca^{2+} in genesis of lower esophageal sphincter tone and other active contractions. *Amer. J. Physiol.* **237**: E163–E171.
- Golenhofen, K. & Lammel, E. (1972). Selective suppression of some components activity in various types of smooth muscle by iproveratril (verapamil). *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* **331**: 233–243.
- Golenhofen, K., Weiser, H.F. & Siewert, R. (1979). Phasic and tonic types of smooth muscle activity in the dog. *Acta-Hepatogastroenterol.* **26**: 227–234.
- Goyal, R.K. & Rattan, S. (1978). Effects of sodium nitroprusside and verapamil on lower esophageal sphincter pressure. *Gastroenterology* **74**: 1040.
- Goyal, R.K. & Rattan, S. (1980). Effects of sodium nitroprusside and verapamil on lower esophageal sphincter. *Amer. J. Physiol.* **238**: G40–G44.
- 本郷道夫, 石森 章 (1979). LESP と消化管ホルモン, 日平滑筋誌 **15**: 117–119.
- 本郷道夫ら (1980a). アカラシア患者の LESP——特にニフェジピンの影響について——, 第 66 回日本消化器病学会抄録集 p. 649.
- 本郷道夫ら (1980b). verapamil の食道下端括約圧に対する影響, 第 22 回日本消化器病学会秋季大会講演予報集 p. 175.
- Hurwitz, L., Joiner, P.D. & von Hagens, S. (1967). Calcium pools utilized for contraction in smooth muscle. *Amer. J. Physiol.* **213**: 1299–1304.
- Mayer, C.J., van Breeman, C. & Casteels, R. (1972). The action of lanthanum and D600 on the calcium exchange in the smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli. *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* **337**: 333–350.
- Nickerson, M. (1970). Vasodilator drugs. In *The pharmacological basis of therapeutics*. Edited by L.S. Goodman & A. Gillman. New York, Macmillan, p. 729–743.
- Rattan, S., Coln, D. & Goyal, R.K. (1976). The mechanism of action of gastrin on the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* **70**: 828–835.
- Weiser, H.F., Golenhofen, K. & Siewert, R. (1976). Different types of tonic activity in smooth muscle of canine stomach and lower esophageal sphincter. *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* **365**: R31.
- Weiser, H.F. *et al.* (1977). Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Nifedipine auf die glatte Muskulatur der Ösophagus. *Z.f. Gastroenterologie* **11**: 691–698.
- Weiser, H.F. *et al.* (1978). Clinical and experimental studies on the effect of nifedipine on smooth muscle of the oesophagus and LES. In *Gastrointestinal motility in health and diseases*, edited by H.L. Duthie, Lancaster, MTP, p. 568–574.

(1981 年 1 月 16 日受付)