中枢神経性肺水腫に関する実験的研究

第 2 編

視束前野および視床下部破壊時における血中カテコール
体の変動について

神戸医科大学第一内科学教室（指導 友松達弥教授）

上 羽 康 之

EXPERIMENTS ON PULMONARY EDEMA OF
NERVOUS ORIGIN (PART II.)
CATECHOLS OF BLOOD PLASMA AT PREOPTIC
OR HYPOTHALAMIC LESION

BY

Yasuyuki Ueba

Department of Internal Medicine, Division I. Kōbe Medical College

(Prof.: Tatsuya Tomomatsu)

梗概 視束前野破壊による肺水腫は頸髄切断により発生が阻止され、破壊時の循環動態の変化がアドレナリン大量静注時の変化と一致していることより、視束前野破壊効果は交感性であり、そのインパルスは脊髄交感神経系を経て身体末梢に傳達されると思われる。これをさらに確実ならしめるために、血中カテコール体の化学的定量を行なった。すなわち視束前野破壊時の血中カテコール体の量は対照群および視床下部破壊群のそれに比しきわめて増加を示しており、アドレナリンによる肺水腫発生時の血中カテコール体と同濃度に達しうるのがあつた。以上より視束前野破壊による肺水腫は、交感神経系の興奮に基づく循環動態の変化に成因を求めることができると考える。視束前野破壊時の血中カテコール体の量は、対照群および視床下部破壊群に比し、きわめて増量しており、アドレナリンによる肺水腫発生時の血中カテコール体の量に達しうるのがあつた。また静注したアドレナリンは時間の経過とともにすみやかに減少し、通常20分以内に消失することが明らかにされた。よつて著者は視束前野破壊による肺水腫の成因は、交感神経系の興奮により惹起された循環動態の変化の結果であると思つている。

緒 言

中枢神経性の肺水腫、特に視束前野破壊により発生する肺水腫が前編にて述べたように脊髄神経系の遮断により防止され、かつ視束前野破壊によ

る循環動態の変化が、交感神経系の興奮による変化、すなわちアドレナリン投与時の変化ときわめて類似することより、肺水腫発生因子として視束前野破壊が交感性に反応し、交感神経系が興奮す

ることが容易に想像される。これを具体的に証明することはきわめて困難であるが、近時血中および尿中のカテコール体の存在が交感神経系の興奮による産物であると考えられているゆえ、かゝる循環動態の変化が交感神経系の興奮の結果分泌されるアドレナリン様物質に基因するものであるか否かを考察するため、前編に報告した各実験につき血中カテコール体の化学的定量を行なつた。

実験方法

実験動物は2 kg前後の家兎を使用し、腹腔内に体重1 kg当り1 gのウレタン25%水溶液を注射し充分麻酔した。カテコール体測定に要する採血に当つては、あらかじめEDTAチオ硫酸ソーダ溶液の予定採血量の $\frac{1}{3}$ 量を注射器にとり採血し、採血量は40ccとした。

視床前野破壊群。視床前野破壊により末梢動脈圧は上昇を示すが、上昇開始2分後に可及的すみやかに頸動脈より採血した。

視床下部破壊群。視床下部破壊により末梢動脈圧の動揺は軽微であるので、血圧の動揺とは無関係に破壊後2分同様に採血した。

既知アドレナリン静注群。アドレナリン0.1%溶液を体重1 kg当り1.0mgと0.3mgの2系列に分ち、静注後2分、3分、5分、10分、20分に採血した。かくして血中アドレナリン濃度の時間的推移を追究した。

カテコール体測定法：Weil-Malhelbe¹⁾の変法を基礎とした。

試薬： アルミナ、酸処理を施したもの。

0.2M醋酸ソーダ

pH 8.4調製用ペロナル緩衝液

0.4N醋酸

無水エチレンジアミン

エチレンジアミン2塩酸塩

カテコール体の吸着： 採取血液は一部ヘマトクリット測定に供し、残りより血漿を分離した後、等量の醋酸ソーダを加え1.0gのアルミナ混入後、ペロナル緩衝液にてpH 8.4となし充分振盪し、アルミナにカテコール体を吸着さす。またあらかじめ既知（この場合10mcg）のアドレナリンを加えた血漿についても同様に行なう。これは回収率算出のために使用する。

溶出： 吸着したアルミナを型のごとく、炭酸ソーダにてpH 8.4に調製した蒸留水にて数回洗滌し、次いで0.4N醋酸にて振盪溶出し硝子フィルターにて溶出液をアルミナより分離する。

定量： 溶出液を二分し、一方に蛍光強度の基準にするために1 mcgのアドレナリンを加え、おののちにエチレンジアミンおよびエチレンジアミン2塩酸塩を加えた後、水浴上にて60°C、30分間加温後蛍光強度を測定した。蛍光強度の測定は蛍光々度計(日立製)を使用し、励起フィルター 365, 二次フィルター53を使用した。

かくしてえられた蛍光強度の読みより血漿1 l中のカテコール体の量は下の式により算出した。

実験成績

対照群の血中カテコール体の量は表Iに示すように8~33mcg/lである。視床前野破壊群の血中カテコール体の量は表IIに示すように、その値は実験動物によりきわめて相違を示しているが、対照群の値に比しすべてはなほだ高値を示している。肉眼的にも顕微鏡的にも肺に肺水腫像を半数以上に認め、肺体係数も正常値に比し大なる値をとつていた。視床下部のみの破壊にては対照群よりわずかにカテコール体の増加を認めるが、視床前野破壊群と較べるときわめて低率であり、肺は軽微のうつ血、肺体係数軽度増加を示すに過ぎずほとんど正常であつた。

血漿1 l中のカテコール体の量

$$= \frac{(\text{サンプルの蛍光強度}) - (\text{ブランクの蛍光強度})}{(\text{アドレナリン/mcgの蛍光強度})} \times \frac{100}{\text{回収率}} \times \frac{1000}{\text{サンプル中の血漿量}}$$

サンプル中の血漿量

$$= \text{サンプル量} \times \left\{ 1 - \left\{ \frac{100 (\text{EDTAチオ硫酸ソーダ量})}{(\text{EDTAチオ硫酸ソーダ量} + \text{採血量}) \times (100 - \text{Ht})} \right\} \right\}$$

Table I. Catechols in Blood Plasma in Normal Rabbits.

Case Number	70	71	72	76	77
Lung Body Ratio	0.41	0.38	0.42	0.45	0.42
Catechols mcg/L.	12.2	10.6	8.6	33.0	8.0

Table II. Pulmonary Findings and Catechols in Blood Plasma at Preoptic Lesion and at Hypothalamic Lesion.

Preoptic Lesion

Case No.	Lesion of Diencephalon				Lung Body Ratio	Microscopic Finding				Macroscopic Finding	Catechols mcg/L.
	P O	A H A	M H A	L H A		Intra-alveolar Edema	Congestion of Pulm. Capillary	Intra-alveolar Bleeding	Interstitial Edema		
73	×	×		×	0.58	—	+	+	+	C	248.0
74	×	×		×	0.50	±	+	—	+	1	156.0
75	×	×		×	0.66	+	+	+	+	3	2073.4
78	×	×	×	×	0.47	—	+	—	—	C	136.0
79	×	×	×	×	0.66	+	+	+	+	2	983.0
92	×	×	×	×	0.60	—	+	—	—	C	120.4
93	×	×		×	0.69	+	+	+	+	3	1727.2
94	×			×	0.74	+	±	+	+	4	2310.6
95	×	×		×	0.88	±	±	+	+	4	3368.0
96	×	×	×	×	0.71	+	±	+	+	3	2635.0
					0.65±0.11						

Hypothalamic Lesion

80		×	×	×	0.51	—	+	+	—	C	35.0
81		×	×	×	0.45	—	—	—	—	0	44.2
82			×	×	0.41	—	—	—	—	0	13.2
83		×	×	×	0.48	—	+	—	+	C	48.0
84		×	×	×	0.50	—	+	+	+	C	51.0
					0.47±0.04						

家兎に体重 1 kg 当り 1 mg のアドレナリンを静注すると典型的な肺水腫の発生をみる²⁾ ゆえ、私は 1.0 mg/kg、および 0.3 mg/kg のアドレナリンを耳静脈より注射し、静注後の家兎の症状と血中カテコール体の時間的推移を観察した。1.0 mg/kg の場合、静注後末梢動脈圧の急激な上昇とともに動物は興奮状態を呈し、瞳孔散大、呼吸促進、血圧上昇は、やく 10 分間持続し、ときに淡紅色泡沫状の液体の喀出とともに動脈圧は下降に転じ死に至るか、あるいは血圧は再び上昇に転じ注射前圧よ

りやや低値で維持し、そのまま数時間生命を保つ。肺は肉眼的にも病理組織学的にも典型的な肺出血性水腫像を呈していた。0.3 mg/kg 静注にては末梢動脈圧は 1.0 mg/kg と同程度上昇するが持続時間は短く、肺に軽度のうつ血を認めるに過ぎなかつたが、ただ 1 例肺水腫の発生を認めた。

かかる二種の濃度のアドレナリン静注後の時間的経過による血中カテコール体の量は表Ⅲ、図に示すごとくで、きわめて急激に減少消失した。採血は同一動物よりは 1 回に止めたために、同一動

Table III. Variation of Catechols Level in Blood Plasma with Lapse of Time after Adrenalin Injection.

Adrenalin 1.0mg/kg					Adrenalin 0.3mg/kg				
Case No.	Lapse of Time	Intra-alveolar Edema	Lung Body Ratio	Catechols mg/L.	Case No.	Lapse of Time	Intra-alveolar Edema	Lung Body Ratio	Catechols mcg/L.
105	2	+	0.88	6105	121	2	—	0.42	2730
106		+	0.78	6040	122		—	0.44	3100
107		+	0.92	8750	123		—	0.40	3220
108	3	+	0.96	4200	124	3	±	0.50	1740
109		+	0.91	3950	125		—	0.41	1690
110		+	0.86	3900	126		—	0.41	1500
111	5	+	0.95	940	127	5	+	0.65	880
112		+	0.93	1480	128		—	0.51	700
113		+	1.14	1710	129		—	0.44	655
114	10	+	0.86	620	130	10	—	0.37	75
115		+	0.92	590	131		—	0.45	45
116		+	0.67	260	132		—	0.39	20
117	20	+	1.17	60	133	20	—	0.42	8
118		+	0.84	55	134		±	0.48	30
119		+	1.00	70	135		—	0.41	25

Fig. Variation of catechols level in blood plasma with lapse of time after adrenalin injection.

物についての血中濃度の推移をみることは不可能であつた。表よりも明らかなごとく、いずれの系

列にても静注後やく20分にて血中カテコール体の量は正常範囲に近づいている。

考 案

視床下部および視床前野が自律神経中枢であり、その部の機能、構造に関しては多くの実験的研究^{3)~8)}もあり、また刺激実験にさいし特に視床下部の電氣的刺激により、血中カテコール体の増量することは Grant⁹⁾, Houssay¹⁰⁾, Bender¹¹⁾の報告があり、鈴木¹²⁾も副腎静脈血で平均12倍、最高41倍にまで増加したとしている。

また前編にて述べたように視床前野破壊が交感性に反応し、脊髓交感神経系の興奮が考えられるところより、血中カテコール体の増量が当然予想される。

測定方法について

現在までカテコール体の測定法は主として生物学的的方法によつていたが、近時カテコール体がアルミナによつて特異的に吸着されることを利用し、資料よりのカテコール体の精製、濃縮が可能となり、濃度の高い測定資料がえられるようになったこと、螢光法によつて定量反応の感度が上昇

したこと、またその操作が生物学的方法よりも簡便なことより、化学的定量法が広く使用されるようになった。かゝる方法によつてえられた血中カテコール体の量については、すでに Weil-Malhelbe¹⁾, Volk¹³⁾, Taylor¹⁴⁾ が報告しているが、その値にはまだ相当の開きが認められる。すなわち、(1) 血中に分泌されたカテコールアミンはきわめて急激に非活性化、または分解される。

(2) アルミナによる回収率の低下、変動。(3) エチレンジアミン法による場合、ブランク自身に相当大なる蛍光強度があり、蛍光光度計による検出感度に制限をうけること、(4) エチレンジアミン縮合はきわめて緩徐であり時間を要することなど、なお測定上改善を加える余地が残されている。この点に対し私は次のような改善を加え測定を行なつた。(1) 採血にさいし EDTA チオ硫酸ソーダを使用しカテコール体の分解、破壊を防ぎ、かつ血液凝固を阻止した。(2) アルミナは酸処理後、高度の乾燥状態にて貯蔵し、吸着能の低下を防ぎ、常に既知カテコールアミン附加対照の作成により回収率を算出、測定誤差の減少につとめた。(3) 従来エチレンジアミン水加物が使用されていたが、純度上昇によりブランク自身の蛍光強度の低下がみられることより、98%エチレンジアミンを再蒸留したものを使用し、縮合には水浴上にて充分加温後測定した。

測定値について

アルミナによつて吸着されるカテコール体はアドレナリン、ノルアドレナリンの他、前駆物質である DOPA (Dihydroxyphenyl-alanine), DOPAMIN (Oxytyramine) および分解物質と考えられる酸カテコールが含まれている。このうちエチレンジアミン法によつて縮合蛍光を発するものは DOPA 以外のものであり、その測定値は DOPA 以外のカテコール体の加算値を示している。それゆえ測定値相互間に量的差異を認めるとき、そのいかなる成分に量的差異があるかは明確ではないが、その増加一般が交感神経系の興奮という一連の現象の各様相に関与するものであるゆえ、そ

の量的差異を論じることは有意と考えられる。さらに測定資料中のカテコール体の濃度が大であるほど測定誤差が小であることより、可及的大量の血液を採取したが、そのため同一動物につき術前、術後の血中濃度を比較しえず、またかゝる大量の出血のために出血性ショックの招来されることが考えられる。この影響については Greever¹⁵⁾, Walker¹⁶⁾ により血中アドレナリンが相当増加すると報告されている。私の対照群の成績も正常の血漿中濃度よりも高値をとっている。かゝる点を考慮しても実験群のカテコール体の量に著明な差を認める。

すなわち視束前野破壊群にては対照群および視床下部破壊群に比し、全例に血中カテコール体の増量が認められる。このように実験的に肺水腫が惹起された例においてカテコール体の増加がみられ、特にその数例の血中濃度はアドレナリン静注による肺水腫発生時の血中濃度に匹敵していることより、かゝる増加が肺水腫発生の主たる役割をしめているのではないかと考えられる。

また、視束前野の破壊にさいし中枢より直接カテコール体が分泌されないこと、あるいは交感神経末梢および副腎髄質を刺激するホルモンが分泌されるのでないことは、脊髓切断により肺水腫の全く発生しないことよりも明らかで、血中に増量したカテコール体は脊髓交感神経より伝播された身体末梢の交感神経より、また副腎髄質よりの分泌に基因するものと考えられる。またこの増量したカテコール体は、アドレナリン静注時の血中濃度が時間的経過とともにきわめてすみやかに減少している点より考え、同様に急速な減少経過をとるものと思われる。この点について多くの研究家の非活性化、または分解過程についての議論がある。組織固定、すなわちある種の蛋白と結合し非活性化されるという説¹⁷⁾、フェノール核のエステル化¹⁸⁾、MAO によるアミノ基脱¹⁹⁾、キノン型への酸化²⁰⁾などの説があげられており、これらがきわめてすみやかに行なわれるとしている。よつて視束前野破壊後カテコール体の測定値は採血する

時間と関係があり、時間の経過とともにすみやかな分解が起こることを考慮にいれるべきだ。

さて視束前野破壊による肺水腫と、アドレナリン静注による肺水腫との間の発生機構上の類似点をあげると、次のごとくである。

1) 視束前野の破壊が交感性に反応し、かゝる興奮が脊髄神経系を伝播し、末梢の交感神経を刺激するということが、すなわちアドレナリンによる交感神経末梢刺激効果と同様の効果のあること、

2) 視束前野破壊により生ずる循環動態の変化が、アドレナリン静注時の変化と一致していること、

3) 血中カテコール体がいずれへもきわめて増加していること、の三点である。

よつて視束前野破壊による肺水腫が、中枢の交感性反応に基づく脊髄交感神経の興奮により分泌されたカテコール体の循環動態に及ぼす変化の結果、発生したものであらうと思われる。

結 論

視束前野破壊時血中カテコール体の著明な増加を認め、その量はアドレナリンによる肺水腫発生時の血中カテコール体と同濃度に達しうることを明らかにした。そのゆえに視束前野破壊による肺水腫は交感神経系の興奮に基づく循環動態の変化に成因を求めることができると考える。

(本論文の要旨は昭和35年4月第24回日本循環器学会にて発表した)。

文 献

- 1) Weil-Malherbe, H. & Bone, A.D.: *Biochem. J.* 51: 311, 1942. —2) 友松達弥, 他: *日循会誌*, 23: 437, 1959. —3) 黒津敏行: *日本臨床*, 14: 678, 1956. —4) 堺 章: *日本臨床*, 16: 66, 1958. —5) Wang, S.C. & Ranson, S.W.: *Am. J. Physiol.* 132: 5, 1964. —6) Ranson, S.W., Kabat, H. & Magoun, H.W.: *Arch. Neur. Psychiat.* 33: 467, 1935. —7) Magoun, H.W., Kabat, H. & Ranson, S.W.: *Arch. Neur. Psychiat.* 34: 931, 1935. —8) Katsuki, S. et al.: *Kumamoto Med. J.* 8: 180, 1955. —9) Grant, P., Lindgren, P., Rosen, A. & Uvnäs, B.: *Acta Physiol. Scand.* 43: 135, 1958. —10) Houssay, B. A. & Molinelli, E. A.: *Comp. rend. Soc. Biol.* 93: 1954, 1925. —11) Bender, M.B. & Weinstein, E.A.: *Am. J. Physiol.* 119: 615, 1942. —12) 鈴木達二, 他: *日生理誌*, 13: 28, 1951. —13) Volk, A. & Price, H.L.: *J. Clin. Invest.* 35: 857, 1956. —14) Taylor, J. N.: *Am. J. Physiol.* 195: 663, 1958. —15) Greever, C. J. & Watts, D.T.: *Circulation Res.* 7: 192, 1959. —16) Walker, W.F. et al.: *Am. J. Physiol.* 197: 773, 1959. —17) Kutschera, H.: *Schweiz. Med. Wschr.* 78: 135, 1948. —18) Clark, W.G.: *J. Pharm. Exp. Therap.* 101: 6, 1951. —19) Blaschko, H.: *Pharm. Rev.* 4: 415, 1952. —20) Angenent, W.J. & Koell, G.B.: *J. Physiol.* 119: 102, 1953.