

原著

## ラット腎の高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流に及ぼす人為的低血圧の影響

植木正明\* 横野 諭\* 小栗顯二\*

## 要 旨

人為的低血圧中の腎機能評価は一般には尿量により行なわれている。しかし、血圧の低下に伴う腎血流の減少は腎の好氣的代謝の抑制をきたす可能性がある。今回、人為的低血圧のラット腎の高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流に及ぼす影響を検討した。

エンフルレン麻酔下のラットにプロスタグランジン E<sub>1</sub> (以下 PGE<sub>1</sub>)、塩酸ニカルジピン (以下 NIC) を投与し、平均動脈圧を 50-60 mmHg に30分間維持した低血圧状態と、続いて降圧薬投与中止後の60分間の回復経過における腎の高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流を <sup>31</sup>P Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (以下 <sup>31</sup>P MRS) と電磁血流計を用いて測定した。

NIC による人為的低血圧では、腎血流は低血圧前値の約 40% に減少し、高エネルギー磷酸化合物代謝に大きな変化はみられなかった。一方、PGE<sub>1</sub> による人為的低血圧では、腎血流は低血圧前値の約 20% に減少し、ATP は約 50% に減少し、無機磷 (Pi) は約 300% に増加した。更に腎の細胞内 pH は 6.83 まで低下し、嫌氣的なエネルギー代謝が行われていた。同程度の降圧効果でも腎血流量は薬物間で異なり、腎血流の著明な減少から腎の好氣的代謝を抑制している場合もありうるということがわかった。

## はじめに

薬物により人為的に動脈血圧を低下させる人為

的低血圧は、手術野からの出血量を減少させることにより手術時間を短縮し、同時に輸血量の節減による輸血合併症を予防する目的で臨床的に用いられている<sup>1)</sup>。しかし、人為的低血圧により程度の差はあるものの生体はなんらかの影響を受けるため、種々の合併症を起こす可能性をもっている。腎臓に対しては乏尿、無尿、腎不全といった合併症が考えられる。臨床的には平均動脈血圧 50-65 mmHg の人為的低血圧が利用される<sup>1)</sup> が、多くの麻酔科医は腎機能の目安として術中尿量をモニターし、尿量の維持のために利尿薬の投与などを行っている。腎血流は平均動脈血圧が 80-180 mmHg の範囲では血流自己調節機能により維持されているが、人為的低血圧時の腎血流は平均動脈圧の低下とともに減少すると考えられる。腎血流の減少がクリティカルなレベル以下になると腎臓では低酸素症、嫌氣的解糖が引き起こされる可能性がある。

<sup>31</sup>P MRS は生きた動物の臓器の高エネルギー磷酸化合物代謝を非破壊的にかつ連続的に観測できる<sup>2),3)</sup>。今回、2種の降圧薬を用いた人為的低血圧によるラット腎の高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流に及ぼす影響を検討したので報告する。

## 方 法

## 実験動物

雄性ウイスター系ラット (体重 325-450 g) にペントバルビタール (50 mg/kg) を腹腔内投与後、血圧測定と降圧薬投与のために右大腿動・静脈にポリエチレンチューブ (PE-50, Clay-Adams) のカニューレーションを行った。次に気管切開を行い、空気・エンフルレン (0.5 MAC) 麻

\*香川医科大学麻酔・救急医学講座

酔下に人工呼吸器 (EVM-50A, アイカ) を用いて調節呼吸を行い, PaCO<sub>2</sub> を生理的範囲に維持した. その後左の腎臓を背部より露出させた.

**<sup>31</sup>P MRS**

測定装置は JEOL GSX 270WB (6.3 Tesla, 日本電子, 共鳴周波数: 109.25 MHz) を用いた. ラットはスペクトロメータのプロープの枠中に頭を上にした垂直位に固定し, 直径 10 mm のラジオ波送受信用コイルを露出した腎臓に密着させた. 周囲の筋肉組織からのシグナルの影響をできるだけ少なくするために銅箔を腎臓と筋肉組織との間に挿入した. ラットの体温はスペクトロメータの中に通してあるウォーマーコイルにて保持した. <sup>31</sup>P MRS スペクトルはパルス幅 10 μs, パルスの繰り返し時間 1 秒, 400回の信号加算を行い, フーリエ変換後に得た.

<sup>31</sup>P MRS 上の β-ATP は ADP, AMP などの影響をうけない ATP そのもののシグナルであるので, β-ATP のスペクトルの面積変化で腎組織 ATP 量変化とした. 一方, 細胞内 pH は <sup>31</sup>P MRS によって得られた無機燐のクレアチン燐酸 (PCr) からの化学シフト (σ) から以下の式から計算される<sup>4),5)</sup>.

$$pH = 6.75 + \log\{(\sigma - 3.27) / (5.69 - \sigma)\} \quad (1)$$

しかし, PCr のピークは腎臓では必ずしも認められないため (1) 式は腎臓では適応されない. Adam らは Pi~PCr 間の化学シフトと Pi~α-ATP 間のそれとに正の相関を見いだした<sup>6)</sup>.

$$\delta (Pi-\alpha-ATP) = 0.8\sigma + 8.82 \quad (2)$$

ここで δ(Pi-α-ATP) は Pi~α-ATP 間の化学シフトである. 以上より腎臓細胞内 pH を求めた.

**腎血流**

腎血流は電磁血流計 (MFV-1200, 日本光電) を用い, 直径 0.5 mm のプロープをラットの左の腎動脈に装着して測定した.

人為的低血圧は降圧薬投与で平均動脈圧が 50-60 mmHg によるよう30分間持続させ, その後降圧薬の投与を中止し, 60分間の回復経過をとった. 使用した降圧薬は PGE<sub>1</sub> と NIC の2種類で, その平均投与量は各々 16.6 μg/kg/min, 32.5 μg/kg/min であった. <sup>31</sup>P MRS 及び腎血流は低血圧導入前に対照値として3回, 低血圧中10分, 20分, 30分, その後降圧薬の投与を中止し10

分, 20分, 30分, 45分, 60分後に観測した. スペクトル及び腎血流はそれぞれ5例ずつ測定した.

測定値は平均値±標準誤差で示し, 統計学的検定は Student's t 検定により行い, p<0.05 を統計学的に有意差ありとした.

**結 果**

低血圧導入前の動脈血圧 (平均値±標準誤差, mmHg) は PGE<sub>1</sub> 群では 115.0±3.5, NIC 群で 114.8±3.9 であった. 低血圧状態30分後はそれぞれ 59.9±1.5, 59.9±1.5 で, 薬物間に有意差はなかった. 降圧薬投与中止60分後では, PGE<sub>1</sub> 群は 101.8±4.3 に回復したが, NIC 群では 64.8±2.5 と有意に血圧の低い状態が持続した.

PGE<sub>1</sub> 投与時の <sup>31</sup>P MRS スペクトルの経時変化を図1に示す. 主に6本のピークが認められる. 右から左へ (高磁場から低磁場) にむかってそれぞれ β-, α-, γ-ATP, PDE (phosphodiesterases), 無機燐 (Pi), PME (phosphomonoesters) である. このうち β-ATP, Pi の経時変化を示したものが図2である. 縦軸には降圧薬投与前の共鳴線の面積に対する百分率をとり, 横軸には経過時間をとっている. ATP については PGE<sub>1</sub> による変化は顕著で, 低血圧中 49.4±8.1% まで減少し, 投

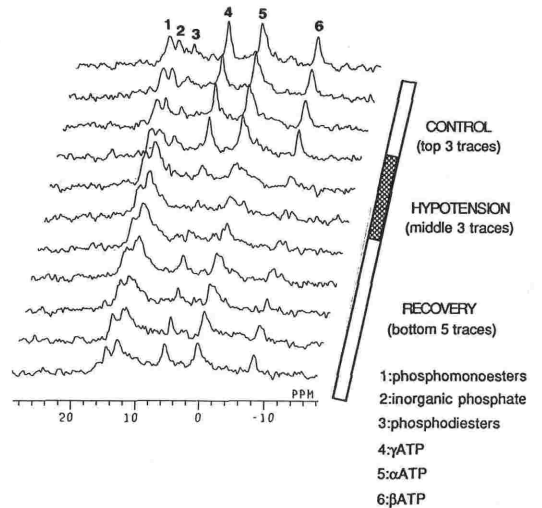


図1 PGE<sub>1</sub> による人為的低血圧前・中・後の <sup>31</sup>P MRS スペクトル  
人為的低血圧中 ATP のシグナルは減少し, Pi のシグナルは増加し, Pi のピークは高磁場側にシフトしていた

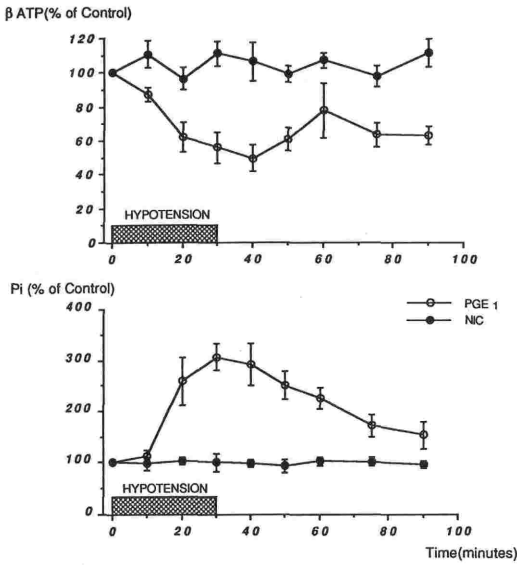


図2 人為的低血圧前・中・後のATP, Piの変化  
PGE<sub>1</sub>による人為的低血圧中 ATP は約50%に減少し, Pi は約300%に増加した

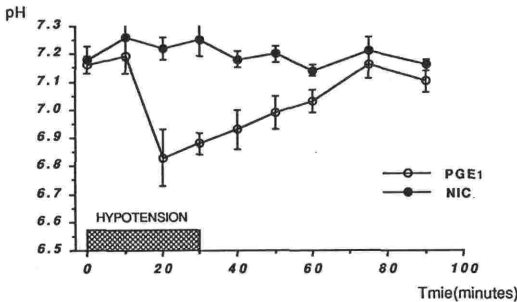


図3 人為的低血圧前・中・後の細胞内 pH の変化  
PGE<sub>1</sub>による人為的低血圧中細胞内 pH は6.83まで低下した

与中止60分経過しても  $62.9 \pm 5.5\%$  であった。一方 NIC ではほとんど変化がなかった。Piにおいても, PGE<sub>1</sub>による変化は顕著で, 低血圧中  $306.7 \pm 27.2\%$  まで増加し, 投与中止60分経過しても  $153.6 \pm 25.8$  であった。一方 NIC ではほとんど変化がなかった。

次に腎の細胞内 pH の経時的変化を図3に示す。PGE<sub>1</sub>では, 低血圧前の pH は  $7.16 \pm 0.03$  で, 低血圧中に  $6.83 \pm 0.10$  まで低下し, 投与中止60分後では  $7.10 \pm 0.04$  まで回復した。一方 NIC ではほとんど変化を認めなかった。

図4は低血圧期および回復期の腎血流の経時的

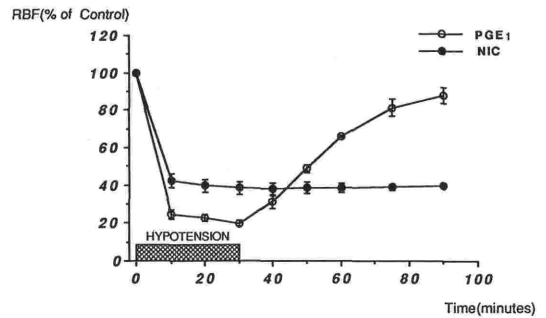


図4 人為的低血圧前・中・後の腎血流の変化  
PGE<sub>1</sub>による人為的低血圧中腎血流は約20%に減少し, NICでは約40%に減少した

変化である。低血圧前値に対する百分率を縦軸に, 横軸には経過時間を示す。PGE<sub>1</sub>による低血圧30分経過時の腎血流は低血圧前値の  $19.8 \pm 1.6\%$  に減少したが, 投与中止後は血圧の回復とともに腎血流も増加し, 投与中止60分後には  $88.2 \pm 4.1\%$  まで回復した。一方 NIC による低血圧30分値の腎血流は人為的低血圧前値の  $38.4 \pm 3.2\%$  まで減少し, 投与中止後は血圧の回復がみられないのと同様, 投与中止後60分を経過しても  $39.6 \pm 1.6\%$  であった。

### 考 案

人為的低血圧は, 術野からの出血を減少させる目的で臨床的に用いられているが, 全身血圧を低下させることによる諸臓器の血流分布, 灌流圧, 代謝の変化や使用薬物による各臓器に対する特異的作用について検討されなければならない。例えば, 腎臓の場合, 臨床的な腎機能の目安として尿量をモニターし, 尿量の減少時には安易に利尿薬の投与などが行なわれている。

腎血流は平均動脈血圧が  $80-180 \text{ mmHg}$  の範囲では血流自己調節機能により維持されているが, 臨床的には平均動脈血圧  $50-65 \text{ mmHg}$  の人為的低血圧が利用されており<sup>1)</sup>, さらに, 血流自己調節機能は麻酔薬によっても変化する<sup>2)</sup>ので, 人為的低血圧時の腎血流は平均動脈圧の低下とともに減少すると考えられる。腎血流の減少がクリティカルなレベル以下になると腎臓では低酸素症, 嫌氣的代謝が引き起こされる可能性がある。今回, このような疑問点を解決する目的で人為的

低血圧がラット腎の高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流に及ぼす影響を検討した。

高エネルギー磷酸化合物代謝は磷核磁気共鳴法 ( $^{31}\text{P}$  MRS) を用いて測定した。本法は生きた動物の臓器の高エネルギー磷酸化合物代謝を非破壊的にかつ連続的に観測できるため、脳<sup>8)</sup>、心臓<sup>9)</sup>、肝臓<sup>10)</sup>、腎臓<sup>11)</sup> など多くの臓器代謝の研究に応用されている。

今回、人為的低血圧に使用する降圧薬としては  $\text{PGE}_1$  と  $\text{NIC}$  を使用した。 $\text{NIC}$  による低血圧では、腎血流は低血圧前値の約 40% に減少したが、 $^{31}\text{P}$  MRS 上での ATP, Pi に大きな変化はみられなかった。一方、 $\text{PGE}_1$  では低血圧導入により腎血流は低血圧前値の約 20% に減少し、 $^{31}\text{P}$  MRS 上著明な嫌氣的エネルギー代謝が行なわれていた。これは、同程度の降圧作用であっても  $\text{PGE}_1$  の方が  $\text{NIC}$  より腎血流抑制作用が強いということを意味している。

$\text{PGE}_1$  はヒトでは人為的低血圧中、腎血管を拡張し腎血流を維持するという臨床応用されているが、 $\text{PGE}_1$  には種特異性があり、ラットでは腎血管の収縮作用があるとの報告<sup>12)</sup> は今回の結果を支持している。

今回の結果では、平均血圧が 59 mmHg と同程度の人為的低血圧時にも降圧薬によっては腎血流の減少の程度には差があり、腎血流が低血圧前値の 20% に減少すると、嫌氣的なエネルギー代謝が生じていた。人為的低血圧では、薬物による直接的な臓器代謝の抑制以外にも、同程度の降圧作用であっても臓器血流を抑制し臓器代謝を著明に抑制することもありうる。したがって、人為的低血圧の臨床的応用の際には、使用薬物による生理的变化と安全限界を知っておくことが必要である。

## ま と め

人為的低血圧のラット腎における高エネルギー磷酸化合物代謝と腎血流に及ぼす影響を検討した。同程度の降圧作用であっても  $\text{PGE}_1$  の方が  $\text{NIC}$  より腎血流抑制作用が強く、 $\text{PGE}_1$  による低血圧中、腎臓では嫌氣的なエネルギー代謝が行わ

れていた。

(本論文の要旨は、第11回日本循環制御医学会総会(札幌, 1990)にて発表した。)

## 文 献

- 1) Miller, E. D.: Deliberate Hypotension: Anesthesia edited by Miller, R. D., Churchill Livingstone Inc., New York, 1949-1970, 1986.
- 2) Gadian, D. G., Radda, G. K.: NMR studies of tissue metabolism. *Annu. Rev. Biochem.* 50: 69-83, 1981.
- 3) Shulman, R. G.: NMR spectroscopy of living cells. *Sci. Am.* 248: 86-93, 1983.
- 4) Gadian, D. G., Radda, G. K., Richards, R. E., et al.:  $^{31}\text{P}$  NMR in living tissue: the road from a promising to an important tool in biology. In: *Biological Applications of Magnetic Resonance*, edited by Shulman, R. G., Academic, New York, 463-535, 1979.
- 5) Seo, Y., Murakami M., Watari, H., et al.: Intracellular pH determination by  $^{31}\text{P}$  NMR technique. The second dissociation constant of phosphoric acid in a biological system. *J. Biochem.* 94: 229-234, 1983.
- 6) Adam, W. R., Koretsky, A. P., Weiner, M. W.:  $^{31}\text{P}$ -NMR in vivo measurement of renal intracellular pH: effects of acidosis and  $\text{K}^+$  depletion in rats. *Am. J. Physiol.* 254: F904-F910, 1986.
- 7) John, D. C., Thomas, J. B.: Effects of anesthetic agents on autoregulation of renal hemodynamics in the rat and dog. *Am. J. Physiol.* 230: 652-657, 1976.
- 8) 横野 論, 宮崎正夫, 小栗顯二, 他: 磷核磁気共鳴法を用いた無酸素状態及び蘇生時における in vivo rat 脳内エネルギー代謝の研究. 京都府立医科大学雑誌, 92: 1227-1232, 1983.
- 9) Takami, H., Furuya, E., Tagawa, K. et al.: NMR-Invisible ATP in Rat Heart and Its Change in Ischemia. *J. Biochem.* 104: 35-39, 1988.
- 10) Rheal, A. T., Manfred, B., Edward, G. J. et al.: In vivo and vitro  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy of rat liver treated with halocarbons. *Biochim. Biophys. Acta.* 993: 92-99, 1989.
- 11) Siegel, N. J., Avison, M. J., Reilley, H. F. et al.: Enhanced recovery of renal ATP with postischemic infusion of ATP-MgCl<sub>2</sub> determined by P-31NMR. *Am. J. Physiol.* 245: F530-F534, 1983.
- 12) Gerber, J. G., Nies, A. S.: The Hemodynamic Effects of Prostaglandins in the Rat. Evidence for Important Species Variation in Renovascular Responses. *Circ. Res.* 4: 406-410, 1979.

## The dynamic changes of high-energy kidney phosphorous compounds and renal blood flow during deliberate hypotension in rats

Masaaki Ueki, Satoshi Yokono and Kenji Ogli

Department of Anesthesiology and Emergency Medicine,  
Kagawa Medical School, Kagawa 761-07, Japan

We studied the effects of deliberate hypotension (50% decrease in mean arterial pressure) on the metabolism of the renal high-energy phosphorous compounds and renal blood flow in 20 rats under enflurane anesthesia. The dynamic changes of high-energy kidney phosphorous compounds and blood flow were measured by  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{31}\text{P}$  MRS) and electromagnetic flow meter. Prostaglandin  $\text{E}_1$  decreased ATP

up to 50% of that control value and increased  $\text{P}_i$  more than 3 times. The intracellular pH decreased to 6.83 during induced hypotension. The renal blood flow decreased to 20% of that control value by  $\text{PGE}_1$  administration. On the other hand, nicardipine did not show remarkable changes of ATP,  $\text{P}_i$  and intracellular pH in spite of decreased renal blood flow (40% of the control value).

**Key words:**  $^{31}\text{P}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^{31}\text{P}$  MRS), deliberate hypotension, high-energy phosphorous compounds, renal blood flow