

原 著

Adriamycin 心筋症における β 受容体を介する noradrenaline 遊離反応

宇野嘉弘* 湊口信也* 今井洋子*
越路正敏* 各務雅夫* 横山仁美*
伊藤裕康* 平川千里*

要 旨

交感神経末端遊離促進性 β 受容体を介する noradrenaline (NA) 遊離反応が, Adriamycin 心筋症心不全において, どのようになっているかを検討するため, Adriamycin 心筋症 rabbit [日本白色種の雄, 体重 2.5 ± 0.04 kg: 投与量 1 mg/kg, 週 2 回 \times 8 週間静注] を用い, pentobarbital 麻酔下 (70 mg/kg bolus i. v., 15 mg/kg/hr 持続注入), adrenaline (0.06 μ g/kg/min) 持続静注時の血漿 NA 濃度を測定 (HPLC+THI 法), 無処置群 (Vehicle 群) と比較した. その結果, (1) adrenaline による血漿 NA 濃度の増加は, Vehicle 群 (n=7) に比して, adriamycin 処置群 (n=7) にて, 有意に小であった. (2) Vehicle 群において, adrenaline による血漿 NA 濃度の増加は propranolol によってほぼ完全に抑制された.

Adriamycin 心筋症心不全において, 遊離促進性 β 受容体を介する NA 遊離反応は, 低下していることが示唆された.

はじめに

心不全時, 代償機能の一つとして, 交感神経緊張亢進が生じ¹⁾, 血漿 noradrenaline (NA) 濃度が高値を示すことはよく知られている^{2), 3)}. 心不全時に増加した血中 NA は down regulation をもたらし, 心筋 β 受容体数を減少^{4), 5)}, さらに, 交感神経末端 α_2 受容体を刺激, 同所からの NA

遊離促進に対して抑制的に作動していることが考えられている⁶⁾. 一方, 交感神経末端には, β 受容体刺激により, 同所からの NA 遊離促進の生ずることが in vitro と in vivo の研究にて報告されている^{7), 8)}. しかし, この交感神経末端 β 受容体が心不全時に, どのような機能を果たしているかについての検討はなく, 明らかでない.

本研究は, adriamycin 投与によって作成した心筋症心不全 rabbit^{9), 10)} において, 交感神経末端 β 受容体が同所からの NA 遊離機構に関与しているか否かをみるべく, β 受容体刺激剤として少量の adrenaline を持続静注したときの血漿 NA 濃度の変化を無処置 rabbit と対比せしめることから検討した.

方 法

I) Adriamycin 心筋症 rabbit の作成

日本白色種 rabbit の雄 (体重 \pm SE: 2.5 ± 0.4 kg) を用い, McGrath らの方法^{9), 10)} により, adriamycin 1 mg/kg を耳静脈から週 2 回, 計 8 週間静注することにより, adriamycin 心筋症 rabbit (Adriamycin 処置群) を作成した. また, 同週齢の無処置 rabbit (Vehicle 群) を対照群とした.

II) 実験方法

Pentobarbital (70 mg/kg) を静注麻酔後, 人工呼吸器 (夏目製作所製) 使用下に polyethylene tube を左頸動脈内に留置し, これを用いて頸動脈圧を測定するとともに, 心拍数計 (日本光電社製, AT-601 G) を用いて心拍数を記録した. また, 同側頸静脈から右房内に挿入した polyethylene

*岐阜大学附属病院第二内科

tube を用い、薬剤の投与、あるいは心拍出量測定のための氷冷生水投与ルートとした。一方、股動脈から、thermister 付き catheter (American Edwards Laboratories 社製, 94-030-2.5 F) を挿入し、腎動脈下の下行大動脈内に留置、右房から 4°C の生水 (1 ml) を注入、心拍出量計 (AHS Japan 社製, COC-9520) を用い、約 1 分間隔で 3 回の心拍出量を測定した。心拍出量測定後、thermister 付き catheter を抜去し、polyethylene tube をこれに換えて挿入、この tube を用いて血漿 catecholamine 濃度測定用の血液採取を行なった。実験終了後、開胸して上記 polyethylene tube が右房内にあることを確認した。血圧、心拍数は頸動脈 tube から圧 transducer (米国 GOULD 社製, P 2310) に接続し、polycorder (日本光電社製, RMC-1100) を用いて記録した。

III) 実験対象群

下記する 5 群について検討した。

- (1) Vehicle 群に saline (0.19 ml/min) を持続静注した群 (n=7)
- (2) Vehicle 群に adrenaline (0.06 μ g/kg/min) を持続静注した群 (n=7)
- (3) Adriamycin 処置群に saline (同量) を持続静注した群 (n=7)
- (4) Adriamycin 処置群に adrenaline (同量) を持続静注した群 (n=7)
- (5) Vehicle 群に propranolol (0.2 mg/kg bolus 静注 + 0.1 mg/kg/hr) を持続静注しつつ、saline (同量) を静注した群 (n=5)
- (6) Vehicle 群に propranolol (同量 静注 + 0.1 mg/kg/hr) を持続静注しつつ、adrenaline (同量) を持続静注した群 (n=5)

IV) 採血スケジュール

Pentobarbital (70 mg/kg) を bolus 静注し、その後、微量持続注入器 (テルモ社製持続点滴装置; STC-502) にて、15 mg/kg/hr を持続静注することにより麻酔した。

Fig. 1 に示すごとく、すべての実験セット終了時点をゼロ分とし、20 分間の待ち時間を設けて実験を開始した。定流量ポンプ (Harvard Apparatus 社製, Model 901, 一部改良) を用いて adrenaline あるいは saline を持続注入し、開始直前 (S₁)、開始 30 分後 (S₂)、60 分後 (S₃) に、各 4 ml の採血を行い、採血の都度、dextran (テルモ

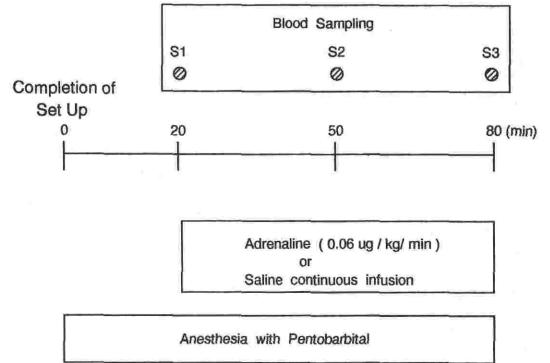


Fig.1 Time schedule of the experiments
⊗ represents blood sampling point.

社製, デキストラン40) の 2 ml を注入した。血漿 NA, adrenaline 濃度は高速液体クロマトグラフィ (島津社製 LC-6A) と trihydroxyindole fluorimetric detection により測定した。薬剤による血漿 catecholamine 濃度の変化は、S₁ の時点の血漿 catecholamine 濃度を対照値とし、S₂ と S₃ の時点の血漿 catecholamine 濃度の % 変化率 (S₂/S₁×100, S₃/S₁×100) として求め、両者の平均値をもって表記した。

V) 統計処理

値はすべて平均値±SE で表示し、Student's t-test と two way analysis of variance (ANOVA) を用いて検定した。

成績

1) 血行動態と心重量

Table 1 は、adriamycin 心筋症 rabbit (Adriamycin 処置群) と未処置 rabbit (Vehicle 群) における心重量、心重量・体重比、および実験開始前 (saline もしくは adriamycin 静注前) の血行動態を示した表である。Adriamycin 処置群の心重量、心重量・体重比は、Vehicle 群に比して、いずれも有意に大であった。一方、Adriamycin 処置群の心拍出量は、Vehicle 群に比して有意の低値を示したが、心拍数、平均血圧は両群間に有意差を認めなかった。

2) 血漿 NA, adrenaline 濃度

Table 2 は、Adriamycin 処置群と Vehicle 群について、実験セット終了 20 分後の対照値 S₁ における血漿 NA 濃度と血漿 adrenaline 濃度を示

Table 1 Hemodynamic Parameters, Body Weight and Heart Weight

	Vehicle Group	Adriamycin Group
	(n=14)	(n=14)
Body Weight (kg)	2.51±0.05	2.60±0.05
Heart Weight (g)	6.0±0.30	7.0±0.26*
Heart Weight/Body Weight (g/kg)	2.37±0.11	2.67±0.08*
Cardiac Output (l/min)	0.429±0.020	0.358±0.013*
Mean Arterial Pressure (mmHg)	73.3±3.9	71.1±4.9
Heart Rate (beats/min)	271±14	229±7*

Results were expressed as mean±SE. Significant difference as compared with the Vehicle Group. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$

Table 2 Plasma Catecholamine Levels Immediately before the Infusion of Saline or Adrenaline

	Vehicle Group	Adriamycin Group
	(n=14)	(n=14)
Noradrenaline (ng/ml)	0.239±0.028	0.333±0.037*
Adrenaline (ng/ml)	0.115±0.021	0.132±0.032

Results were expressed as mean±SE. Significant difference as compared with the Vehicle Group. * = $p < 0.05$

す。Adriamycin 処置群における血漿 NA 濃度は、Vehicle 群における血漿 NA 濃度に比して有意の高値を示した。一方、血漿 adrenaline 濃度は Adriamycin 処置群と Vehicle 群間に有意差を認めなかった。

3) Adrenaline が平均血圧と心拍数におよぼす影響

Adrenaline の持続静注は、Adriamycin 処置群と Vehicle 群の平均血圧、心拍数に有意の変化を与えなかった (Table 3)。

4) Adrenaline 静注が血漿 NA 濃度におよぼす影響

Fig. 2 は、Vehicle 群と Adriamycin 処置群に saline あるいは adrenaline を持続静注した時の血漿 NA 濃度変化を % 変化 $[(S_2 + S_3)/S_1 \div 2 \times 100]$ で示した図である。Vehicle 群にて、

adrenaline 持続静注時の血漿 NA 濃度変化は、saline 静注時の血漿 NA 濃度変化に比し、有意の高値を示した。しかし、Adriamycin 処置群においては、adrenaline 持続静注による血漿 NA 濃度の変化と、saline 静注による血漿 NA 濃度変化との間に有意差を認めなかった。

5) Propranolol 前処置後の adrenaline 持続静注による血漿 NA 濃度変化

Fig. 3 は、propranolol 前処置後に saline あるいは adrenaline を持続静注したときの血漿 NA 濃度変化を対比して示した図である。Propranolol 前処置後、saline 投与時と adrenaline 投与時の血漿 NA 濃度変化の間に有意差は認められず、これから考えて propranolol により、adrenaline による血漿 NA 濃度増加反応は抑制された。

Table 3 Changes in Heart Rate and Mean Blood Pressure due to the Infusion of Saline or Adrenaline

	Vehicle Group		Adriamycin Group	
	Saline (n=7)	Adrenaline (n=7)	Saline (n=7)	Adrenaline (n=7)
Heart Rate (%)	94.5±2.1	93.9±1.4	84.6±3.7	90.4±1.9
Mean Blood Pressure (%)	102.5±1.2	110.3±5.6	98.6±5.8	99.8±6.2

Results were expressed as mean±SE.

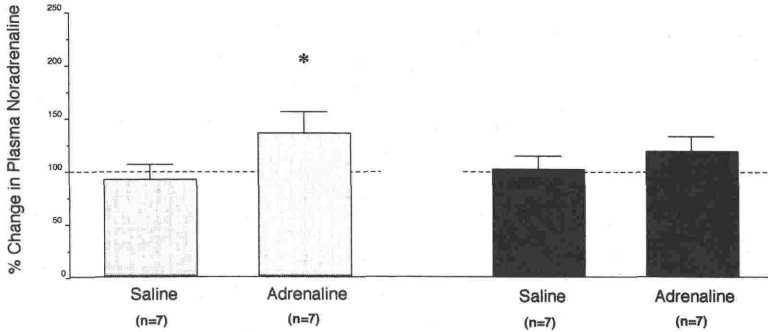


Fig.2 Percent change in plasma noradrenaline level after adrenaline infusion in anesthetized rabbits.

▨ represents vehicle treated rabbits.
 ■ represents adriamycin treated rabbits.

Columns show mean, bars show SE.

Significant difference as compared with saline group, * = $p < 0.05$

Statistical significance was assessed by two way analysis of variance.

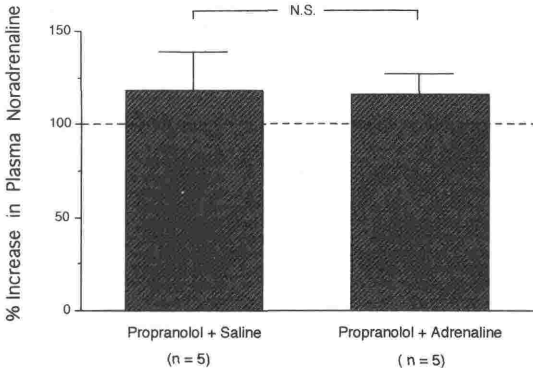


Fig.3 Percent change in plasma noradrenaline level in anesthetized vehicle treated rabbits pretreated with propranolol (0.2 mg/kg bolus injection + 0.1mg/kg/hr infusion).

Columns show mean, bars show SE.
 Statistical significance between 2 groups was assessed by Student's t-test.
 N. S. = not significant

考 察

本研究で用いた adriamycin の投与量 (1mg/kg, 2回/週, 8週間投与) は, ウサギにおいて確実なる低拍出量性心不全を作成することが証明されている^{9),10)}. 本研究においても, Adriamycin 処置群にて, 心拍出量減少を認め (Table 1), 血漿 NA 濃度は高値を示していた

(Table 2).

Adrenaline の 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の持続注入⁸⁾ は, 交感神経末端の β 受容体を選択的に刺激し, 同所からの NA 遊離増大をもたらす用量といわれ, これ以上の用量を用いた場合, 交感神経末端 α_2 受容体を刺激, 同所からの NA 遊離は減少することが示されている¹¹⁾. 本研究においても, adrenaline の上記用量を持続静注した結果, 血漿 NA 濃度は著しく増加 (Fig. 2), これは, β 遮断剤である propranolol によってほぼ完全に抑制された (Fig. 3). このことは, adrenaline 持続静注による血中 NA 増加は, β 受容体を介した反応であることを示唆している. この adrenaline の用量は NA の clearance に影響を与えない¹¹⁾ ことから, adrenaline 持続静注によって生じた血漿 NA 濃度の増加は, 主として, ①中枢性 β 受容体刺激と, ②交感神経末端 β 受容体刺激により, 遊離増加した NA であると考えられる. しかしながら, adrenaline は脳血液関門を通過しにくいという報告¹²⁾ を考慮するならば, adrenaline による血漿 NA 濃度増加は, 主として②の交感神経末端 β 受容体を介したものと推定される.

Adriamycin 処置群において, adrenaline 持続静注による血漿 NA 濃度の増加は, Vehicle 群に比して, 小であった (Fig. 2). この成績は,

Adriamycin 処置群において、おそらくは、主として、交感神経末端 β 受容体を介する NA 遊離反応が低下していることを示唆する。

Adriamycin 処置群において、 β 受容体を介する noradrenaline 遊離反応が低下することの機序として、交感神経末端 (presynaptic) において、① β 受容体数が減少 (down regulation), ② β 受容体への親和性 (affinity) が低下, ③細胞内情報伝達系が傷害されているなどの可能性が考えられる。Adriamycin 心筋症 rabbit の心筋 (postsynaptic) においては、 β 受容体数が減少しているという報告と、細胞内情報伝達系の障害が生じているという報告を認める^{13,14)}。心筋 β 受容体数の減少あるいは細胞内 cyclic AMP 合成抑制は、1) 心不全によって生じた血中 catecholamine 増加による down regulation のためと、2) adriamycin そのものの毒性による変性作用のためなどが推論されているが^{13,14)}、その機序は明らかでない。

一方、本実験で用いた adriamycin の用量では、心筋 β 受容体数の減少も、細胞内 cyclic AMP の合成抑制も生じないという報告¹⁴⁾ もあり、この成績を参考にして本研究において認められた成績を推論するならば、交感神経末端 β 受容体を介する反応の低下は、postsynaptic β 受容体の障害に先んじて生じた presynaptic β 受容体の障害によるものである可能性が高い。

Adriamycin 心筋症 rabbit において、交感神経末端 β 受容体を介する NA 遊離促進反応は、低下していることが示唆された。

文 献

- 1) Leimbach, W. N., Wallin, B. G., Victor, R. G., et al.: Direct evidence from interneuronal recordings for increased central synaptic outflow in patients with heart failure. *Circulation* 73:913-919, 1986.
- 2) Chidsey, C. A. Harrison, D. C. and Braunwald, E.: Augmentation of the plasma norepinephrine responses to exercise in patients with congestive heart failure. *N. England J. Med.* 267: 650-654, 1984
- 3) Francis, G. S., Goldsmith, S. R., Levine, T. B., et al.: The neurohumoral axis in congestive heart failure. *Ann. Intern Med* 101:370-377, 1984
- 4) Bristow, M. R., Ginsburg, R., Minobe, W., et al.: Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic receptor density in human hearts. *N. England J. Med.* 311:819-823, 1982.
- 5) Hasking, G. J., Esler, M. D., Jennings, G. L., et al.: Norepinephrine spillover to plasma in patients with congestive heart failure. *Circulation* 73: 615-621, 1986.
- 6) Watanabe, H., Minatoguchi, S., Hirakawa, S., et al.: Increase in plasma NA concentration after the administration of phentolamine in the patients with "latent" left-sided heart failure. *Jpn Circ J* 53:1497-1505, 1989.
- 7) Starke, K.: Regulation of Noradrenaline Release by Presynaptic Receptor Systems. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 77, 1-24, 1977.
- 8) Majewski, H., Schurr, C., Starke, K., et al.: Modulation of NA release through activation of presynaptic beta-adrenoreceptors. *J. auton. Pharmac.* 3:47-60, 1983.
- 9) MacGrath, B. P., Jover, B. F., Trigg, L., et al.: Adriamycin-induced cardiomyopathic heart failure in the rabbit. In; Kawai, C., Ablmann, W., eds. *Pathogenesis of Myocarditis and Cardiomyopathy.* Tokyo Press,.: 121-133, 1987.
- 10) MacGrath, B. P., Jover, B. F., Trigg, L., et al.: Beneficial effect of fenoldopam on systemic and regional hemodynamics in rabbits with congestive heart failure. *J. Pharmacol.* 11:483-488, 1988.
- 11) Majewski, H., Hedler, L., Starke, K., et al.: Dual effect of adrenaline on NA release in the pithed rabbit. *J. Cardiovasc Pharmacol* 7:251-257, 1985.
- 12) Majewski, H. L., Helder, L., and Starke, K.: The NA release rate in the anaesthetized rabbit: Facilitation by adrenaline. *Arch Pharmacol* 321: 20-27, 1982.
- 13) Goormaghtigh, E., Chatelain, P., J., et al.: Evidence of a specific complex between adriamycin and negatively-charged phospholipids. *Biochem Biophys Acta* 597:1-14, 1980.
- 14) Signal P. K.: Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. *J Mol Cell Cardiol* 19:817-828, 1987.
- 15) Woodcock, E. A., Arnolda, L. F., McGrath, B. P.: Ventricular β -adrenoreceptors in adriamycin-induced cardiomyopathy in rabbits. *JMol Cell Cardiol* 20:771-777, 1988

**Modulation of noradrenaline release via
release enhancing β -adrenoceptors in rabbits with
adriamycin-induced cardiomyopathy**

Yoshihiro Uno, Shinya Minatoguchi, Yoko Imai
Masatoshi Koshiji, Masao Kakami, Hitomi Yokoyama
Hiroyasu Ito and Senri Hirakawa

Second Department of Internal Medicine
School of Medicine, Gifu University

We investigated the role of release-enhancing β -adrenoceptors in noradrenaline release in rabbits with cardiomyopathy produced by adriamycin (1 mg/kg, i. v., twice a week for 8 weeks). Plasma noradrenaline levels were measured before, 30 min and 60 min after the start of continuous intravenous administration of adrenaline (0.06 μ g/kg/min) in adriamycin-treated and vehicle treated rabbits in anesthetized subjects. In anesthetized condition, adrenaline increased plasma noradrenaline levels in vehicle-treated rabbits. However, in

the adriamycin-treated rabbits, adrenaline had no effect on the plasma noradrenaline level. Pretreatment with propranolol (0.2 mg/kg, bolus i. v. + 0.1 mg/kg/hr, continuous infusion) almost completely abolished the rise in plasma noradrenaline level associated with adrenaline infusion in vehicle-treated rabbits. These results suggest that in rabbits with adriamycin-induced cardiomyopathy, the noradrenaline release from the sympathetic nerve endings via the activation of release enhancing β -adrenoceptors is reduced.

Key Words: Presynaptic β -adrenoceptors, adriamycin-induced cardiomyopathy, adrenaline, noradrenaline, pithed rabbit.