

## 原 著

# 虚血性心疾患患者における抱合型ノルアドレナリンの脱抱合促進因子

## —pHの関与について—

湊口信也\* 伊藤裕康\* 各務雅夫\*  
 浅野喜代治\* 今井洋子\* 越路正敏\*  
 宇野嘉弘\* 横山仁美\* 鈴木孝彦\*  
 平川千里\*

## 要 旨

抱合型 noradrenaline (NA) が遊離型 NA に転換される場と転換の促進因子に検討を加えた。虚血性心疾患患者にて、(1)安静時、遊離型 NA 濃度は冠静脈洞血>大動脈血、抱合型 NA 濃度は冠静脈洞血<大動脈血を示し、総 NA 濃度は両血液間に差を認めなかった。(2)下肢動的運動負荷時、肘静脈血と肺動脈血において、遊離型 NA 濃度は増加、抱合型 NA 濃度は減少し、その増加量と減少量は、肺動脈血>肘静脈血を示した。このとき、肺動脈血の pH は有意の低下を示した。(3)全血 (100 ml) に脱抱合酵素である arylsulfatase を添加した際、pH 7.4 の条件下にて、aryl-sulfatase の 1 mg は遊離型 NA 濃度を増加、抱合型 NA 濃度を減少せしめたが、0.1 mg は両 NA 濃度に有意の変化を与えなかった。しかし、pH 7.1 にて、aryl-sulfatase の 0.1 mg は遊離型 NA 濃度を増加、抱合型 NA 濃度を減少せしめた。

以上の成績から、虚血性心疾患患者に運動負荷を加えたとき、心臓において、抱合型 NA の少なくとも一部は遊離型 NA に転換され、この促進因子の一つとして、血液 pH の低下が関与する可能性が示唆された。

## はじめに

血中の noradrenaline (NA) は遊離型 NA と抱合型 NA の型で存在し、抱合型 NA は総 NA の約70%という多くを占めるといわれている<sup>1)</sup>。抱合型 NA は生理活性をもたず、従来、単なる代謝産物であるとみなされ<sup>2)</sup>、その存在意義は明らかでなかった。一方、生体の各組織には脱抱合酵素の一つである arylsulfatase が存在し<sup>3)</sup>、この酵素によって抱合型 catecholamine (CA) は遊離型 CA に転換される可能性が示されてきている<sup>4)</sup>。当教室では、心疾患患者に軽度両下肢交互屈伸運動負荷を加えた際、肘静脈血の抱合型 NA 濃度は低下し、遊離型 NA 濃度は増加することを報告<sup>5)</sup>してきている。

今回の研究目的は、①抱合型 NA はヒト心臓にて遊離型 NA に脱抱合されているか否か、②心疾患患者に対する軽度運動負荷にて、抱合型 NA から遊離型 NA への転換が増強されるか否か、③抱合型 NA から遊離型 NA への脱抱合は血液 pH の影響を受けるか否かであり、その目的解明のため、3つの検討を行った。

## 対象と方法

## (1) 対象症例

(a) 安静時の大動脈血と冠静脈洞血における血漿 NA 濃度測定

対象症例は、Table 1 (a) に示すごとくの虚血

\*岐阜大学医学部第二内科

性心疾患患者 (n=10) であり, 旧 NYHA “心機能分類” class I-II の症例である. 平均年齢は 65.7 (±2.9) 歳であった.

(b) 下肢動的運動負荷前後における肘静脈血と肺動脈血の血漿 NA 濃度測定

対象症例は左心疾患患者 [n=17, Table 1 (b)] であり, 旧 NYHA “心機能分類” class I-II の症例である. 平均年齢は 66.3 (±1.9) 歳であった.

(c) 全血に arylsulfatase を添加したときの血漿 NA 濃度測定

対象症例は健常者 [n=16, Table 1 (c)] であり, 平均年齢は 30.0 (±1.1) 歳であった.

(2) 方法

(a) 安静時の大動脈血と冠静脈洞血における血漿 NA 濃度測定

胸部大動脈に pig tail catheter を, また, 冠静脈洞に Cournand catheter を留置し, 約20分の安静を保った後, 両 catheter から大動脈血と冠静脈洞血 (各 10 ml) を同時に採取し, 遊離型 NA と抱合型 NA 濃度を測定した.

(b) 下肢動的運動負荷前後の肘静脈血と肺動脈血における血漿 NA 濃度測定

Swan-Ganz catheter を主幹肺動脈に留置せしめ, ついで, 翼状針を肘静脈に留置, 20分の安静の後, Fig. 1 に示すプロトコールにしたがい, 仰臥位にて約 2 METS の両下肢交互屈伸運動負

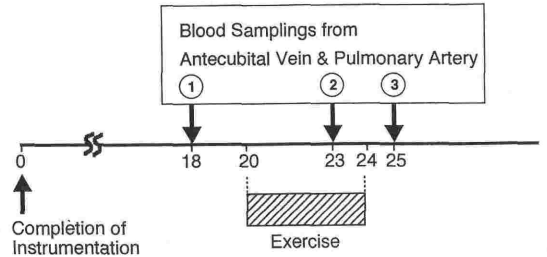


Fig. 1 Time schedule of the experiment  
Exercise=supine leg exercise

荷<sup>5)</sup>を4分間加え, 運動負荷前, 負荷中, 負荷後に肘静脈と肺動脈から同時採血 (1回 10 ml) を行い, 遊離型 NA, 抱合型 NA 濃度と肺動脈血の pH を測定した. Fig. 1 に示す①を対照値とし, ②または③の値のうち, より高値を示す値を運動負荷時の血漿 NA 濃度とした. なお, 血液 pH は全血を用い, pH 測定温度 37°C, RADIOMETER 社製 pH メータ (Copenhagen, ABL 300) にて測定した.

(c) Arylsulfatase 添加による抱合型 NA と遊離型 NA の変化と pH の影響

健常者の肘静脈から 100 ml の採血を行い, 全血 (100 ml) を温浴槽中にて 37°C に保持, 空気接触下に swirling しつつ, saline, 脱抱合酵素である arylsulfatase の 0.1 mg, 1 mg を添加した. Arylsulfatase は 2 用量とも 0.2 ml の saline に溶

Table 1 SUBJECTS

Heart Disease	Groups		
	(a)	(b)	(c)
Angina Pectoris	6	2	
Old Myocardial Infarction	4	10	
Aortic Regurgitation		3	
Dilated Cardiomyopathy		1	
Hypertensive		1	
Normal			16
Total	10	17	16

Group (a)=Plasma noradrenaline levels were measured at aorta and coronary sinus.

Group (b)=Plasma noradrenaline levels were measured at antecubital vein and pulmonary artery before and during exercise.

Group (c)=In vitro effects of arylsulfatase on plasma noradrenaline levels were investigated.

解して投与、また、saline は 0.2 ml を投与した。添加前、添加後 2, 4, 6 分の時点で血液 (各 10 ml) を採取し、遊離型 NA, 抱合型 NA 濃度を測定した。これとは別に、ビンに全血を密封して CO<sub>2</sub> を通気することにて pH を低下せしめ、arylsulfatase の 0.1 mg を添加した群を作製し、同様の検討を行った。

(3) 血漿遊離型 NA と抱合型 NA の測定法

(a) 血漿遊離型 NA 濃度

高速液体クロマトグラフィー (SHIMADZU LC-6A, ZORBAX, SCX-300) と trihydroxyindole fluorimetric (THI) 法 (RF-500LCA) により測定した<sup>6)</sup>。

(b) 血漿抱合型 NA 濃度

血漿 2 ml に 0.4 M の過塩素酸を加えて除蛋白後、上清液を 100°C の温浴槽にて16分間煮沸して脱抱合し、その後、遊離型 NA として高速液体クロマトグラフィーと THI 法にて測定した。16分間の煮沸により、NA は約30%分解されるため、この値で補正して抱合型 NA 濃度を求めた<sup>5)</sup>。

(4) 統計処理

値はすべて平均値±SE で表示し、(a) 2 群間の比較は、Student's t-test, (b) 同一群における 3 群間以上の比較は、two-way analysis of variance, (c) 他群間の 3 群以上の比較は、one-way analysis of variance を用い、Bonferroni 法にて検定した。いずれも、p<0.05 をもって統計学的に有意とした。

成 績

(a) 安静時の大動脈血と冠静脈洞血における血漿 NA 濃度

Fig. 2 に示すごとく、遊離型 NA 濃度は、大動脈血<冠静脈洞血を、抱合型 NA 濃度は、大動脈血>冠静脈洞血を示し、総 NA 濃度は、大動脈血と冠静脈洞血間に有意差を認めなかった。

(b) 下肢動的運動負荷前後における肘静脈血と肺動脈血の血漿 NA 濃度

Fig. 3 に示すごとく、運動負荷により、肘静脈血および肺動脈血の遊離型 NA 濃度はいずれも増加、抱合型 NA 濃度はいずれも減少し、それぞれの増加量と減少量は、肺動脈血>肘静脈血であった。また、Table 2 に示すごとく、運動負荷

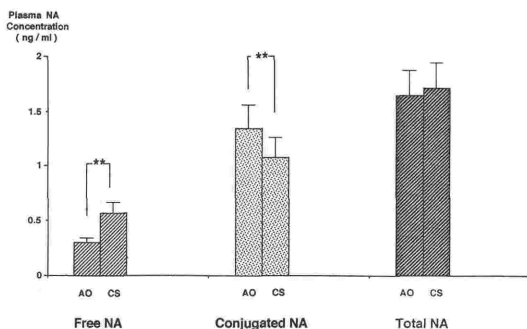


Fig. 2 Plasma levels of free, conjugated and total noradrenaline (NA) in the aorta (AO) and the coronary sinus (CS) [Mean ±SE]. \*\* p<0.01

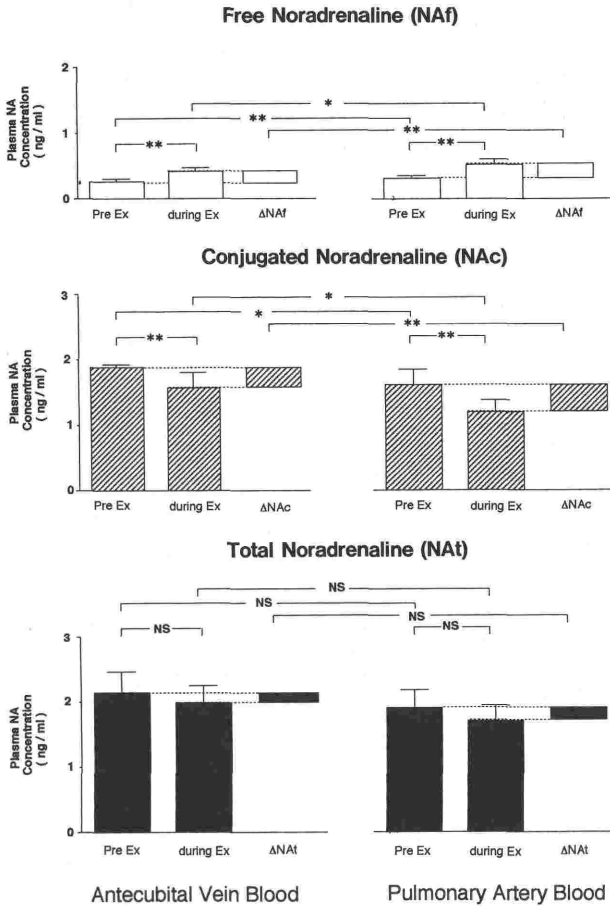
前後の肺動脈血における血液ガス値は、運動負荷により、PO<sub>2</sub> の低下、PCO<sub>2</sub> の上昇を示し、pH は有意に低下した。

(c) 全血に arylsulfatase を添加したときの血漿 NA 濃度

Fig. 4 に示すごとく、空気と接触下に全血を swirling しつつ、①saline, ②arylsulfatase 0.1 mg, ③arylsulfatase 1 mg を投与した群における 6 分間の pH はほぼ 7.4 を示した。このような pH 7.4 の条件下にて、saline 添加群 (①), arylsulfatase 0.1 mg 添加群 (②) における遊離型 NA と抱合型 NA 濃度には有意の変化を認めなかった。しかし、arylsulfatase 1 mg 添加群 (③) においては、添加後、4, 6 分に、ゼロ分に比して、遊離型 NA 濃度の有意の増加、抱合型 NA 濃度の有意の減少を認めた。一方、CO<sub>2</sub> 通気によって pH を 7.1 に低下せしめた条件下に arylsulfatase の 0.1 mg を添加したとき (④), 抱合型 NA 濃度の減少、遊離型 NA 濃度の増加が認められた。

考 察

抱合型 CA を遊離型 CA に転換しうる arylsulfatase などの水解酵素は多くの臓器に存在し<sup>3)</sup>, とりわけ、心房に多く認められるという<sup>3)</sup>。これらの報告から推定して、抱合型 CA は心臓で脱抱合され、遊離型 CA として再利用されている可能性がある。事実、ラットの摘出心臓を用いた冠灌流実験にて、抱合型 dopamine は、遊離型



**Fig. 3** Effects of exercise on plasma levels of free, conjugated and total noradrenaline (NA) levels in the antecubital vein vs the pulmonary artery (Mean ± SE, n=17).  
 \* = p < 0.05, \*\* = p < 0.01 EX = exercise, NS = not significant

**Table 2** Effects of exercise on the pH in the pulmonary artery blood (Mean ± SE, n=6)

	Rest	During exercise
pH	7.40 ± 0.01	7.38 ± 0.01*
PCO <sub>2</sub>	44.6 ± 1.7	48.4 ± 2.3*
PO <sub>2</sub>	39.9 ± 1.1	33.1 ± 1.6**
HCO <sub>3</sub>	27.5 ± 0.6	28.5 ± 0.7

\* = p < 0.05, \*\* = p < 0.01

dopamine に転換されることが示されている<sup>4)</sup>.

本研究の無麻酔ヒトを対象とした安静時における大動脈血と冠静脈洞血の比較検討から、遊離型 NA 濃度は、大動脈血 < 冠静脈洞血であり、抱合型 NA 濃度は、大動脈血 > 冠静脈洞血であった

(Fig. 2). このとき、総 NA 濃度は大動脈血と冠静脈洞血で差を認めなく (Fig. 2), 抱合型 NA が心臓にて脱抱合され、遊離型 NA に転換されたことを示す。この成績から推定し、運動負荷時、肘静脈血に比して肺動脈血における遊離型 NA 濃度の増加と抱合型 NA 濃度の減少が大であった (Fig. 3) のは、運動負荷が心臓で抱合型 NA から遊離型 NA への転換を増強せしめた結果であることを示唆する。Arylsulfatase の酵素活性は酸性側において大であることが知られている<sup>7)</sup>. 本研究にても、運動負荷時、肺動脈血の pH は軽度であるが、有意に低下を示し (Table 2), 抱合型 NA から遊離型 NA への転換に、血液 pH が関与した可能性を示している。このように、本研究

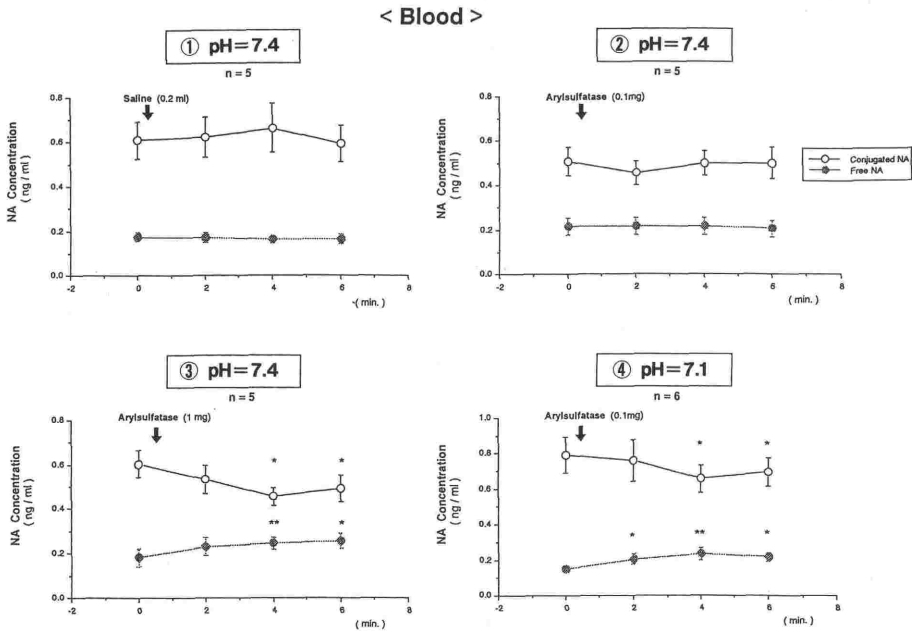


Fig. 4 Effects of arylsulfatase on free and conjugated noradrenaline (NA)

の結果は、一つの可能性として、心臓に存在する arylsulfatase を介し、抱合型 NA の一部は脱抱合されて遊離型 NA に転換し、これは、おそらく、心筋細胞外 pH の変化によって促進される可能性を示唆する。In vitro 実験にて、pH が7.4の全血の場合、arylsulfatase の 1 mg は抱合型 NA を脱抱合せしめた (Fig. 4③) が、arylsulfatase の 0.1 mg は脱抱合を発現せしめなかった (Fig. 4②)。しかし、pH を低下せしめた際、同用量の arylsulfatase は脱抱合を発現せしめた (Fig. 4④)。この in vitro 研究で用いた血液の対象者における年齢は他の対象者のそれよりも著しく若かった。加齢による arylsulfatase の脱抱合に与える影響は明らかでないが、この in vitro 実験の成績は上記推定の妥当性のある程度支持するものと思われる。

運動負荷時、静脈血の PCO<sub>2</sub> は増加し、pH は低下することが知られ、また、虚血時、心筋細胞の pH は低下を示すことも知られている<sup>8)</sup>。今回、本研究にみられた肺動脈血の pH 低下が心臓で生じた結果であるのか、運動負荷下肢で生じた結果であるのかの検定を行っておらず、今後の検討に待たねばならないが、上記虚血性心疾患患者に生じた運動負荷時肺動脈血における脱抱合促進の一

部は、おそらく、運動負荷→心筋細胞アシドーシスの発現→血液 pH の低下→arylsulfatase 酵素活性の亢進→抱合型 NA から遊離型 NA への脱抱合促進なる機序が働き、発現した可能性が推定される。

ま と め

虚血性心疾患患者において、抱合型 NA の少なくとも一部は、心臓で脱抱合→遊離型 NA に転換され、運動負荷は、この脱抱合を促進、その促進因子の一つとして pH 低下の関与している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Jonnson, G. A., Baker, C. A., Smith, R. T.: Radioenzymtic assay of sulfate conjugate of catecholamines and dopa in plasma. *Life Sci.* 26: 1591-1598, 1980.
- 2) Haggendal, J.: The presence of conjugated adrenaline and noradrenaline in human blood plasma. *Acta Physiol Scand* 59:255-260, 1963.
- 3) 大内 武, 石村泰子, 水口和生, 他: 抱合型カテコールアミンの各種臓器における脱抱合反応について. *臨床病理* 22: 211-212, 1991.
- 4) Hug, A. H. M. M., Matsuoka, S., Kurahashi, Y., et al.: Dopamine 4-sulfate: Effects on isolated perfused rat heart and role of atria. *Life Sci.* 43:

- 1599-1606, 1988.
- 5) 各務雅夫, 伊藤裕康, 湊口信也, 他: 血漿抱合型 noradrenaline の場所と動態に関する研究—特に左心ポンプ機能障害と動的運動負荷の関与について—。循環制御 13: 441-448, 1992.
- 6) Ishimura, K., Ito, H., Minatoguchi, S., et al.: Responses of peripheral venous pressure and plasma catecholamine concentration to supine leg exercise. —A study in patients with mild congestive heart failure. Jpn. Circ. J. 52:119-130, 1988.
- 7) Bergmeyer, H. U., Grassl, M., Walter, H. E.: In methods of enzymatic analysis. Bergmeyer H. U. ed.: VCH. Weinheim. W. Germany-Deerfield Beach. FL. 3rd Ed. Vol. 2:157, 1983.
- 8) Ichihara, K., Haga, N., Abiko, Y.: Is ischemia induced pH decrease of dogs myocardium respiratory or metabolic acidosis? Am. J. Physiol. 246:653-657, 1984.

**A precipitating factor of deconjugation of conjugated noradrenaline in patients with ischemic heart disease**  
—a participation of pH in blood—

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

2nd Department of Internal Medicine, Gifu University  
School of Medicine, Gifu, 500, Japan

We investigated the site and the precipitating factor of deconjugation of plasma conjugated noradrenaline (NA). We compared the plasma levels of free and conjugated NA simultaneously at the coronary sinus and the aorta in patients with ischemic heart disease (n=10). We also measured plasma levels of free and conjugated NA at the antecubital vein and the pulmonary artery simultaneously before and during dynamic leg exercise in cardiac patients (n=17). Furthermore, we investigated the effects of arylsulfatase (0.1 mg, 1 mg) on plasma levels of free and conjugated NA in the 100 ml of whole blood from healthy subjects (n=16) under condition of physiological (7.4) or low (7.1) pH in blood.

1) Plasma level of free NA was higher in the coronary sinus than in the aorta. Plasma level of conjugated NA was lower in the coronary sinus than in the aorta. There was no significant difference in plasma level of total NA between the coronary sinus and the aorta.

2) Plasma level of free NA increased and plasma level of conjugated NA decreased during exercise in both the antecubital vein and the pulmonary artery. The increase in plasma free NA and the decrease in plasma conjugated NA were both greater in the pulmonary artery than in the antecubital vein.

3) Under condition of pH 7.4 in blood, the addition of 1 mg of arylsulfatase led to a significant rise in plasma NA level and a significant decrease in plasma conjugated NA level but 0.1 mg of arylsulfatase hardly affected plasma level of free or conjugated NA. However, 0.1 mg of arylsulfatase led to a significant rise in plasma NA level and a significant decrease in plasma conjugated NA level under condition of pH 7.1 in blood.

These findings suggest that, in patients with ischemic heart disease, plasma conjugated NA can be deconjugated, at least in part, in the heart and that one of the precipitating factors of deconjugation is the low pH in blood.

**Key words:** plasma conjugated noradrenaline, deconjugation, arylsulfatase, blood pH, coronary sinus.