

OPC-18790の循環系への影響

田中 健* 峯尾和宜* 坂本篤裕*
唐沢富士夫* 佐藤哲雄*

要 旨

SD系の雄性ラットを用いて OPC-18790 [以下 OPC と略す] の循環系への影響を以下の3通りの方法で調べた。(1) *in vivo* で、OPC を累積的に静注して、血圧と心拍数の変化を観血的に測定した。(N = 4) (2) *in vitro* で、下行大動脈弓から血管輪を作成し、等尺性収縮モデルを作り、血管内皮の有無とインドメサシン投与の有無で四群に分け、OPC を累積的に投与し、血管内皮と prostanoid の影響を検討した。(N = 8 ないし 10) (3) working heart モデルを用いて、OPC を累積的に投与し、交感神経系や圧受容体反射の影響を除いて強心作用を検討した。(N = 5)

その結果、全身投与では用量依存性の血圧低下と、心拍数の増加が見られた。*in vitro* では、血管内皮や Prostanoid の影響はなく、用量依存性の血管拡張が認められた。ED₅₀(血管拡張の最大効果の50%をもたらす OPC 濃度)は、血管内皮のあるもので $3.89 \pm 3.39 \times 10^{-6} \text{M}$ 、ないものでは $1.73 \pm 1.39 \times 10^{-6} \text{M}$ であった。また、摘出心では、変時作用も変力作用も認めなかった。

以上から、OPC はラットにおける強心作用は認められず、血管拡張は用量依存性で、血管内皮や Prostanoid の機構を介する影響はほとんどなかった。また、種差のある可能性があるため、ヒトでの評価は心筋そのものに対する *in vitro* での証明を必要とすると考えられた。

緒 言

OPC-18790 は amlinone などと同様に phospho-

diesterase (PDE-III) を阻害して強心作用を生じる¹⁾。

強心配糖体は主として心不全の改善に使用されるが、その安全域が狭い。それゆえに安全な薬物が求められ、経口の β_1 刺激薬が用いられてきたが、ダウンレギュレーションという問題を生じてきた。更に、 β_2 受容体にのみ有効となるような場合も生じたりした。

このために、 β 刺激のない強心配糖体でない薬が囑望されて、PDE-III を阻害する薬が開発された。しかし、その有用性は確立していない。

細川ら¹⁾によると、イヌやウサギ、ブタでは、陽性変時作用を伴わない強心作用を認めたが、ラットでは変化は認めなかった。尾藤ら²⁾は、臨床用量を全身投与の結果、血圧の低下と心拍出量の増加が認められたと報告した。しかしながら、dp/dt の増加など強心作用の直接の確認はされていない。

これまでの報告は、動物実験での *in vivo* での心機能の評価が主で、交感神経系や圧受容体反射などの影響を除外した *in vitro* での評価や、血管内皮依存性の機構や prostanoid の関与についての報告はない。

そこで、今回は以下の3つの方法で OPC 循環系への作用を比較検討した。

- (1) *in vivo* で OPC を全身投与し、血圧、心拍数への影響を検討した。
- (2) ラット大動脈の血管輪の等尺性収縮モデルを用い、OPC の用量-弛緩反応曲線を求めると同時に、OPC の弛緩反応に Prostanoid や血管内皮が、関与するかどうかを検討した。
- (3) 灌流心モデルを用いて、心拍数、左室内圧の計測と、左室内 dp/dt を算出し、心臓への

*防衛医科大学校 麻酔学教室

直接作用を検討した。

実験方法

全ての実験で雄性の Sprague-Dawley ラット (165-345 g, 6-7週)を用いた。

(1) 全身投与

ラット ($n = 4$) を自発呼吸下でのセボフルラン麻酔で導入して尾静脈を確保後、ウレタン+クロラロース麻酔に切り替えて、気管内挿管して人工換気を行った。筋弛緩薬としてベクロニウムを用い、適宜追加投与した。

大腿動脈にカニューレーション(トランスデューサー: (日本光電), アンプ: RMP-6008 M (日本光電))し、観血的に血圧を記録(サーマルレコーダー: FA222 (日本光電))した。この状態で、約一時間の循環動態の安定を見た後、20分間隔で OPC を 0.03mg/kg から 3.0mg/kg まで累積的に投与して、血圧と心拍数を測定した。

(2) 血管輪の等尺性収縮モデル

後頭部殴打の後に頸椎脱臼で絶命させたラットの胸部下行大動脈を摘出し、周囲組織をとり除いて 3mm づつに切り分けて血管輪を作成した。血管内皮は、ブレードでそぎ落す方法で除去した。

modified Krebs 溶液(組成: NaCl 118, KCl 4.8, MgSO_4 1.2, CaCl_2 2.5, NaHCO_3 24, NaH_2PO_4 1.2, glucose 11 (mM))を灌流させた 37°C のオルガンバス内に血管輪をフックで吊るし、歪み計で張力を測定し、アンプ(AS1203 (NEC三栄))を通してレコーダー(FA222 (日本光電))で記録する、血管輪の等尺性収縮モデルを作製した。

血管輪に張力を加えて、約90分安定化させ、最終的に 1g の張力を加えた。まず 80mM の KCl に対する張力を確認した。次にフェニレフリンで収縮させ、 10^{-7}M ないし 10^{-6}M のアセチルコリンに対する弛緩反応性の有無で内皮による弛緩の有無を確認した。その後、内皮の有無とインドメサシン投与の有無とで4群に分けて、あらかじめ 10^{-6}M (内皮のある群 ($n = 18$)) または 10^{-7}M (内皮の無い群 ($n = 19$)) のフェニレフリンで収縮させた後、OPC を 10^{-7}M から $3 \times 10^{-4}\text{M}$ まで累積的に投与し、その張力変化を記録した。この結果から用量-反応曲線を近似し、最大拡張の50%の拡張を得た濃度を ED_{50} として求めた。一部では、フェニレフリンをあらかじめ用いずに、OPC 投

与で拡張するかどうかを確認した。

(3) 灌流心モデル

ランゲンドルフの灌流心モデル³⁾をラットを用いて作製した。ペントバルビタールで (50mg/kg 腹腔内投与) 麻酔し、尾静脈から 150IU/kg のヘパリンを投与した後に心臓を摘出した。摘出心は $5\% \text{CO}_2 - 95\% \text{O}_2$ で平衡し氷冷した Krebs-Ringer Bicarbonate 溶液 (以下 KRB) (組成: NaCl 118, KCl 4.7, CaCl_2 1.25, MgSO_4 1.25, KH_2PO_4 1.25, NaHCO_3 24, glucose 15 (mM)) に浸して心停止させた。心臓の灌流には Kontes 社製の心灌流装置を用いて、 $95\% \text{O}_2 - 5\% \text{CO}_2$ 平衡の KRB 溶液で行った。摘出心の上行大動脈にカニューレーションし、ランゲンドルフ法とした。次いで、左房にカニューレーションし、灌流液流入を大動脈から左房に変更し、working heart model とした。

心摘出から5分以内に準備を終了した。前負荷は落差圧により流入圧 $15\text{cmH}_2\text{O}$ とし、後負荷は灌流液流出部に20ゲージ 0.5 インチ金属針の通過の圧抵抗でかけた。23ゲージ針を直接左室内に穿刺し、圧トランスデューサー(DX-360 (日本光電))にて左室内圧を測定した。同時に左室 dp/dt は、圧プロセッサー(EQ-601G (日本光電))にて左室圧より算出して、マルチチャンネルモニターに記録した。心拍数は、圧記録紙から算出した。

30分間の安定の後、OPC を 10^{-7}M から20分間隔で 10^{-4}M まで累積的に濃度を変化させて、左室内の dp/dt 、心拍数、冠動脈血流、大動脈血流そして左室圧を、同一のタイミングで測定した対照群 ($n = 5$) の値と比較した (OPC 群 $n = 5$) 。

統計処理等は同一群内もしくは実験系での値の変化の有意差の検定には分散分析を用いた。用量-反応曲線の ED_{50} など群間の値の有意差の比較検定には、 t -検定を用いた。 $P < 0.05$ を有意とした。 ED_{50} は、Sigmoid model を用いて、最小二乗法で近似する曲線のパラメーターの一つとして求めた⁴⁾。

結 果

(1) 全身投与の結果を Table 1 に示す。濃度依存性の血圧の低下と心拍数の増加が見られた。最高濃度では、測定後に一部の例で不可逆性の不整脈の出現と循環虚脱が認められた。心電図波形を記録していなかったため、その種類については不

明であった。

(2) 予めフェニレフリンで収縮させないものは、OPCによる拡張は認められなかった。フェニレフリンで収縮させた4群のうちでは、いずれも濃度依存性の血管拡張作用を認めた。その作用のonsetは1ないし2分程度だが、peakに達するのに10ないし15分を要した。インドメサシンの有無によっては、その弛緩反応曲線には有意な差が認められなかった。また、血管輪をフェニレフリンで収縮させると攣縮が多少とも生じたが、OPCの投与でその発生に変化はなかった。

内皮のあるものとそうでないものでは、前者の方で弛緩反応の曲線が右方移動しOPCに抵抗する傾向が見られたが、有意差はなかった。(Table 2)

ED₅₀に関しては、血管内皮の有無による有意差は認められなかった。

(3) 灌流心でのOPCに対する反応の結果を、対照群の値と共にTable 3に示した。

対照に比べて、心拍数、dp/dt、冠動脈血流、大動脈血流や左室圧についても、有意差を認めなかった。

Table 1 Changes of HR and mean BP after OPC administration

OPC conc. (mg/kg)	control	0.03	0.1	0.3	1	3
HR (/min)	410.3±109	405±115	406±121	419±116	456±101	511±51*
mean BP (mmHg)	117.4±17.3	92.75±21.0	91.2±26.7	90.3±21.4	82.6±23.6	63.6±28.6*

Table 2 % relaxations of endothelial tensions after OPC administration

OPC conc. (M)	10 ⁻⁷ M	3×10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁶ M	3×10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M
E(-)I(-) (n=9)	7.665±8.783	15.70±16.957	33.98±28.15	66.97±35.96	94.19±6.69
E(-)I(+) (n=10)	9.371±.105	26.50±26.98	38.09±24.19	80.66±7.974	95.98±3.257
E(+)I(-) (n=10)	7.154±8.781	12.52±15.06	19.44±22.34	39.68±31.34	71.25±15.60
E(+)I(+) (n=8)	16.43±18.54	25.11±23.58	32.57±23.18	54.78±19.33	78.54±10.42
OPC conc. (M)	3×10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M	3×10 ⁻⁴ M	ED 50*	
E(-)I(-) (n=9)	96.83±5.375	99.43±3.824	100.1±3.722	216±195E-8	
E(-)I(+) (n=10)	98.21±3.23	99.54±2.733	100.7±2.749	129±83E-8	
E(+)I(-) (n=10)	84.00±8.644	93.22±6.014	97.33±4.450	471±384E-8	
E(+)I(+) (n=8)	86.91±7.560	93.56±5.322	97.12±5.400	306±294E-8	

E(-)：内皮なし，E(+)内皮あり，I(-)：インドメサシン群投与，I(+)：インドメサシン投与

Table 3 Changes of cardiac parameters after OPC administration

OPC conc. (M)	pre	10 ⁻⁷ M	3×10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁶ M
HR (bpm)	340.8±21.8(336±18.9)	336±18.9(331.2±24.9)	331.2±18.2(331.2±23.4)	326.4±21.5(331.2±30.1)
SVP max (mmHg)	116±6.52(118±6.71)	118±2.74(121±9.62)	116±4.18(117±7.58)	112±4.47(113±5.70)
dp/dt (mmHg/s)	2960±329(2860±195)	3020±164(3040±351)	2860±152(2980±268)	2820±192(2840±167)
Aortic Flow (ml/min)	33.28±0.867(33.32±1.60)	33.68±.867(33.24±1.93)	32.72±1.40(32.6±2.52)	32.32±1.40(31.68±2.01)
Coronary Flow (ml/min)	13.52±.522(13.76±1.08)	13.28±.769(13.44±.727)	12.4±.938(12.72±.769)	12.4±1.02(12.16±.780)
OPCconc. (M)	3×10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M	3×10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M
HR (bpm)	326.4±21.5(326.4±31.1)	319.2±21.8(321.6±31.06)	316.8±24.88(316.8±34.57)	316.8±24.9(312±40.7)
SVP max (mmHg)	110±5(112±4.47)	105±5(110±6.12)	103±4.18(105±6.12)	103±2.74(104±6.52)
dp/dt (mmHg/s)	2780±228(2780±179)	2680±192(2720±192)	2600±235(2600±200)	2540±182(2580±228)
Aortic Flow (ml/min)	31.96±1.14(31.44±1.99)	31.4±1.00(31.2±1.90)	31.16±1.02(30.32±1.86)	30.76±1.46(30.32±1.86)
Coronary Flow (ml/min)	12.0±.080(11.76±607)	11.84±1.01(11.28±.955)	11.76±1.08(10.64±1.15)	11.44±1.15(10.48±1.04)

()内は対照値

mean ± SEM

考 察

OPCの全身的な投与で、今まで動物⁶⁾やヒト²⁾で見られたのと同様に、今回の実験でも心拍数の増加と血圧の低下が確認された。そこで、血管の拡張作用と強心作用とがあるのかどうかを個々に検討するために、血管輪の等尺性収縮モデルと、working heart モデルを使用した。

その結果は、薬物の強心作用自体には否定的なものであったが、そのアプローチとしては、単純に全身投与を行うのみならず、交感神経系や圧受容体反射などの影響を除いた心臓への直接の作用と、大血管への影響とを明解に分けて確認できた。この方法は、循環系への影響の評価に際しては有用なものと考えている。

OPCの作用としては、今回の結果から主に血管拡張作用があり、内皮に依存しないか、その割合が小さく無視できるほどに思われた。インドメサシンの影響もなかったので、Prostanoidの関与もないと考えられた。

その一方で、摘出心において明らかになったように、変時作用も変力作用も認められなかった。

このため、イヌやウサギなどに見られた強心作用¹⁾はラットでは認められなかったことになる。従って種差の存在が示唆され、ヒトでは心筋自体への影響が直接確認されていないので、臨床的有用性について断定は出来ない。その評価には、強

心作用の確認を例えば *in vitro* で生検したヒト心筋に対する直接の収縮反応で見ると、慎重かつ厳密なものを要すると思われた。さらに、本薬物の当初の目的を考慮すれば、動物実験においても麻酔下や心不全時など心抑制のある状態に今回のような実験系で評価する必要がある。

結 語

OPCの循環系への作用を、SD系雄性ラットを用いて、*in vivo* では血圧と心拍数への影響を、*in vitro* では血管輪の等尺性収縮モデルで血管拡張作用と、working heart model で強心作用とを検討した。

その結果強心作用を認めず、用量依存性の血管の拡張作用が認められた。また、内皮依存性の機構や prostanoid の関与はないか他の機序で代償可能な程度と思われた。

文 献

- 1) Hosokawa T, Mori T, Fujiki H, et al : Cardiovascular actions of OPC-18790: a novel positive inotropic agent with little chronotropic action. *Heart Vessels* 7 : 66-75, 1992
- 2) 尾藤博保ほか：麻酔時の循環抑制に対する OPC-18790 の作用. 第40回 日本麻酔学会総会 [盛岡] 報告. O-082, 1993
- 3) Morgan HE, Chua BHL, Fuller EO, et al : Regulation of protein Synthesis and degradation during *in vitro* cardiac work. *Am J Physiol* 238 : 431-442, 1980

Cardiovascular Effect of OPC-18790 (PDE-III inhibitor)

Ken Tanaka, Fujio Karasawa, Atsuhiko Sakamoto,
Kazunori Mineo, Tetsuo Sato

Department of Anesthesiology, the National Defense Medical College, Saitama, Japan

We examined cardiovascular effects of OPC-18790 [OPC] on rats using following 3 methods; (1) in vivo: Effects of OPC on blood pressure and heart rate to investigate the whole body cardiovascular effects ($n = 4$) (2) in vitro: changes of isometric tensions of aortic rings with endothelium or without it precontracted by phenylephrine to determine the effect of OPC on the vascular smooth muscle and endothel. (4 cases) (3) in vitro: direct effects of OPC on the heart using "working heart" model. OPC [10^{-7} M to 3×10^{-4} M] was administrated cumulatively in each method.

Neither inotropic nor chronotropic actions were

found. And there was remarkable vascular relaxation ($p < 0.05$: at 3.0 mg/kg (case(1)), 10^{-5} M (case (2)) . Prostanoids played no or little role. ED_{50} 's [concentrations at which OPC dilates vessels to 50% of maximum dilation] were $3.89 \pm 3.39 \times 10^{-6}$ M (with endothelium) and $1.73 \pm 1.39 \times 10^{-6}$ M (without it), respectively.

From this study, OPC seemed to act as a vascular relaxant mainly on vascular system in rats. To prove inotropic effect for humans, there should be a strict evaluation including in vitro study of effect of OPC on isolated heart muscles.

Key words : OPC-18790, PDE-III inhibitor, Whole body, Endothelium, Working heart, Cardiovascular