

原著

イヌ急性心不全モデルにおける NKH477の
血行動態に対する効果

高平 孝*, 細野 誠*, 崎玉克彦*

要 旨

麻酔イヌを用いて急性心不全モデル(冠動脈結紮及び僧帽弁腱索切断)を作成し, NKH477の心血管系に対する作用を検討した. 冠結紮及び僧帽弁腱索切断によって, 左心房内圧(LAP)の上昇と心拍出量(CO)の減少が認められ, 心機能曲線は右下方へ移動した. また, 冠結紮モデルでは心筋組織血流量が虚血部で減少し, 正常部においてもわずかに減少した. これら2つの心不全モデルに対しNKH477(0.15~0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)の持続静注は用量依存性にLAPを低下し, COを増加して心機能曲線を左上方へ移動させた. すなわちNKH477は, 上記心不全状態を改善させた. さらに冠結紮により減少した心筋組織血流量はNKH477により正常部では増加したが, 虚血部では維持されていた.

緒 言

フォルスコリンは *Coleus forskohlii* から抽出された diterpene¹⁾ であり各種細胞膜のアデニル酸シクラーゼを β 受容体を介さずに直接活性化し, 細胞内の cyclic AMP (cAMP) 濃度を増加させることが知られている²⁾. フォルスコリンによる cAMP の増加は, 心筋収縮力増加作用及び血管拡張作用をもたらすことが知られ³⁾, 心不全治療への応用が期待された. しかし, 水に難容な為, 治療薬として応用されるには至っていない. NKH477(6-(3-ジメチルアミノプロピオニル)フォルスコリン塩酸塩)は最近報告された新

しいフォルスコリンの水溶性誘導体である⁴⁾. NKH477の薬理学的プロフィールは母核であるフォルスコリンとほぼ同様であり, 細胞内 cAMP 濃度の増加による強力な血管拡張作用及び心収縮力増加作用を有することが確認されている^{4,5)}.

今回は, 静注したNKH477の不全心に対する血行動態学的特徴を明らかにすることを目的として以下の実験を行った. 実験は, 1) 虚血による心収縮力低下に基づく心不全と, 2) 左心室への容量過負荷に基づく心不全モデルとを, それぞれ, 麻酔開胸したイヌの冠動脈結紮及び僧帽弁腱索切断によって作製し, NKH477の効果を検討した.

方 法

雌雄のビーグル及び雑種イヌ(体重9~14kg)48頭を用いて実験を行った. ペントバルビタール30 mg/kgの静注により麻酔を導入し, 5 mg/kg/hrの持続静注によって実験中の麻酔深度を維持した. 気管カニューレを挿管し, 人工呼吸(20 ml/kg, 15回/min)下にて左第5肋間を開胸した. 冠結紮心不全モデル(冠結紮標本)は左冠動脈回旋枝の起始部から約2cmの部位をHarrisの方法⁶⁾に基づいて2段階を経て完全結紮し, また, 僧帽弁腱索切断心不全モデル(腱索切断標本)は左心耳から挿入した鋭利な鉤形の器具で腱索の一部を切断して作製した.

血圧は右大腿動脈に, 左心房内圧は左心耳から左心房内にそれぞれ挿入したポリエチレンチューブから圧トランスジューサ(Century Technology, CP-01)を介し, ひずみ圧力用アンプ(日本光電, AP-620G)により測定した. 心拍数は血圧脈波から瞬時心拍計(日本光電, AT-600G)により測定

*日本化薬株式会社 医薬事業本部 総合研究所薬理研究室

した。心拍出量は右大腿静脈から挿入し、肺動脈内まで導いた5Fのサーモダイリユーシオンカテーテルから熱希釈式心拍出量計算装置（日本光電, MLC-4200）を用いて熱希釈法により測定した。心拍出量以外の上記各指標はインク書き記録器（日本光電, WI-681G）上に連続的に記録した。体血管抵抗は平均血圧を心拍出量で除して得た。心筋酸素消費量の指標として収縮期血圧と心拍数の積であるダブルプロダクトを算出した。冠結紮標本では更に左心室内膜側組織血流量（正常部及び虚血部）を、Auklandら⁷⁾の組織水素クリアランス法により組織血流量計（Unique Medical, UPS-100）を用いて測定した。また、腱索切断標本では、冠動脈血流量を冠動脈左回旋枝に血流測定用プローブを装着し、電磁流量計（日本光電, MFV-2100）により測定、記録した。

冠結紮及び腱索切断の標本作製後、各指標が安定したところで NKH477 を用時生理食塩液に溶解し、0.15, 0.3 および 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ (0.2 ml/min) の投与速度で右橋側皮静脈から持続注入ポンプ（Harvard, Model 975C）を用いて1時間持続注入した。血行動態の観察は投与終了後2時間とした。また、同様に生理食塩液を0.2 ml/min の投与速度で持続注入し、対照群とした。

各値は平均値±標準誤差で表し、初期値と冠動脈結紮後及び僧帽弁腱索切断後の値の平均値の差を paired t 検定によって、また NKH477 投与群と対照群の平均値の差を Dunnett の検定によって統計学的に解析し、 $P < 0.05$ の場合を有意差ありとした。

結 果

1. 冠結紮心不全モデル

冠結紮標本における NKH477 及び生理食塩液持続注入時の各指標の経時的变化を図1～3（各左）及び図5に示す。また、冠結紮による各指標の変化を表1に示す。冠結紮約60分後、左心房内圧は 5.1 ± 0.4 から 8.9 ± 0.4 cmH_2O ($P < 0.001$) へと上昇し、心拍出量は 1.3 ± 0.1 から 1.1 ± 0.1 L/min ($P < 0.001$) へと減少した。すなわち、心機能曲線は右下方へ移動した（図4左）。このとき収縮期血圧は 130.7 ± 2.8 から 116.3 ± 2.2 mmHg ($P < 0.001$) へ、拡張期血圧は 87.6 ± 2.1 から 77.8 ± 2.0 mmHg ($P < 0.001$) へと下降し、心拍数は 125 ± 4 から 135 ± 4 beats/min ($P < 0.001$) へと増加した。体血管抵抗は 78.1 ± 3.1 から 86.6 ± 4.0 mmHg·min/L ($P < 0.01$) へと増大したが、ダブルプロダクトはほとんど変化しなかった（表1）。心内膜側組織血流量は虚血部で 78.8 ± 4.8 から 19.5 ± 2.8 ml/min/100g ($P < 0.001$) へ激減し、正常部で 78.2 ± 4.6 から 61.9 ± 3.1 ml/min/100g ($P < 0.001$) へと減少した（図5）。

上記心不全状態下に NKH477 の 0.15, 0.3 及び 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 及び生理食塩液、0.2 ml/min を1時間持続静注した。左心房内圧、体血管抵抗及び心拍出量は用量依存性に改善した（図1及び図3各左）。したがって、心機能曲線は図4左に示すように0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の用量から左上方へ移動した。血圧は用量依存性に下降し、心拍数は増加した（図2左）。ダブルプロダクトはわずかに増

表1 麻酔犬の冠動脈結紮（急性心筋梗塞）及び僧帽弁腱索切断（急性僧帽弁閉鎖不全）による血行動態の比較

	収縮期血圧 (mmHg)	拡張期血圧 (mmHg)	心拍数 (beats/min)	左心房圧 (cmH_2O)	心拍出量 (L/min)	体血管抵抗 (mmHg ·min/L)	ダブルプロダクト (mmHg·beats/ min $\times 10^4$)	心筋組織血流量 (ml/min/100g)		冠動脈血流量 (ml/min)
								正常部	虚血部	
急性心筋梗塞										
初期値	130.7 ± 2.8	87.6 ± 2.1	125 ± 4	5.1 ± 0.4	1.3 ± 0.1	78.1 ± 3.1	1.6 ± 0.1	78.2 ± 4.6	78.8 ± 4.8	—
冠結紮後	116.3 ± 2.2 ***	77.8 ± 2.0 ***	135 ± 4 ***	8.9 ± 0.4 ***	1.1 ± 0.1 ***	86.6 ± 4.0 **	1.6 ± 0.1	61.9 ± 3.1 ***	19.5 ± 2.8 ***	—
急性僧帽弁閉鎖不全										
初期値	130.9 ± 3.3	87.4 ± 2.3	144 ± 4	4.7 ± 0.4	1.5 ± 0.1	70.7 ± 5.1	1.9 ± 0.1	—	—	19.8 ± 1.7
腱索切断後	128.0 ± 3.6	81.3 ± 2.4 *	167 ± 4 ***	14.7 ± 0.9 ***	1.3 ± 0.1 ***	77.0 ± 3.5	2.2 ± 0.1 ***	—	—	26.7 ± 1.8 ***

各値は24例の平均値±標準誤差で示した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (初期値に対する paired t 検定)。

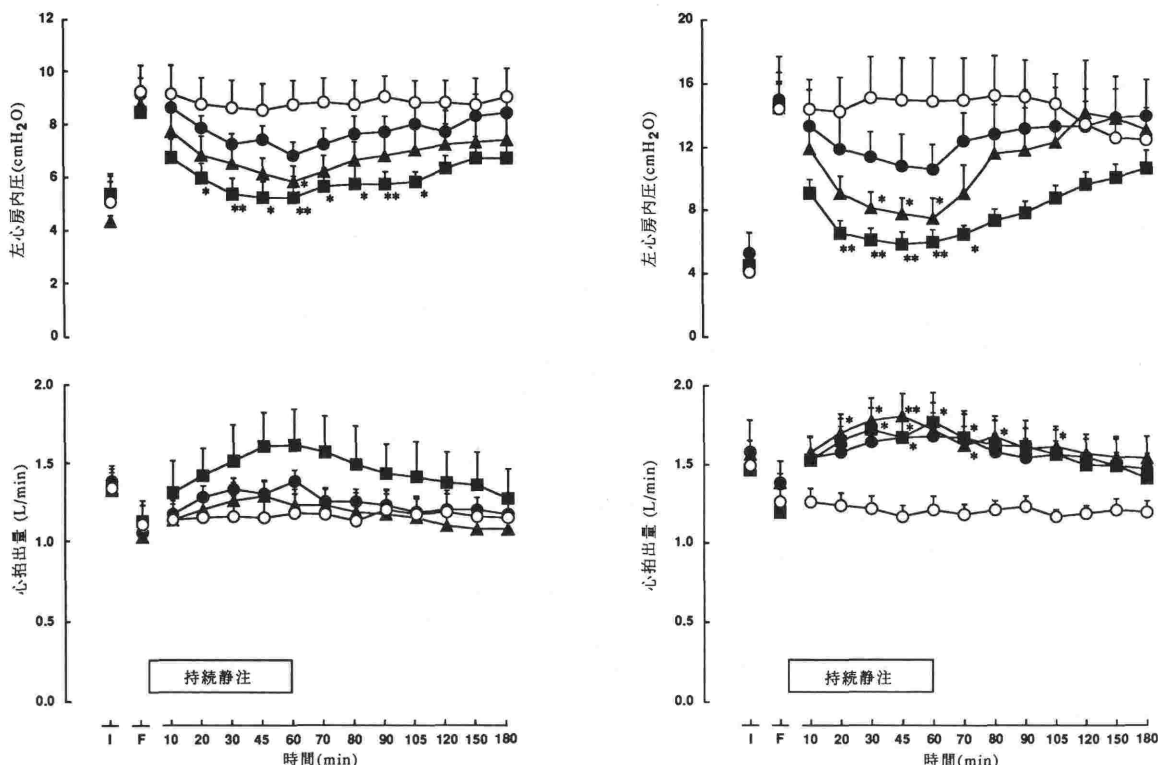


図1 麻酔イヌの冠動脈結紮(左)及び僧帽弁腱索切断(右)による心不全モデルの左心房内圧及び心拍出量に対するNKH 477持続静注の効果
 ○：生理食塩液, 0.2 ml/min, ●：NKH 477, 0.15 μg/kg/min, ▲：NKH 477, 0.3 μg/kg/min, ■：NKH 477, 0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した. *P<0.05, **P<0.01, (対照群に対するDunnettの検定).
 I: 初期値, F: 冠動脈結紮後(左), 腱索切断後(右)

加する傾向がみられた(図3左). 心内膜側組織血流量は正常部で増加し, 虚血部では不変であった(図5).

2. 僧帽弁腱索切断心不全モデル

腱索切断標本におけるNKH477及び生理食塩液持続注入時の各指標の経時的变化を図1~3(各右)及び図6に示す. また, 腱索切断による各指標の変化を表1に示す. 腱索切断約60分後, 左心房内圧は 4.7 ± 0.4 から 14.7 ± 0.9 cmH₂O (P<0.001)へと上昇し, 心拍出量は 1.5 ± 0.1 から 1.3 ± 0.1 L/min (P<0.001)へと減少した. すなわち, 心機能曲線は右下方へ大きく移動した(図4右). このとき収縮期血圧は 130.9 ± 3.3 から 128.0 ± 3.6 mmHgへ, 拡張期血圧は 87.4 ± 2.3 から 81.3 ± 2.4 mmHg (P<0.05)へとわずかに下降し, 心拍数は 144 ± 4 から 167 ± 4 beats/min (P

<0.001)へと増加した. ダブルプロダクトは 1.9 ± 0.1 から 2.2 ± 0.1 mmHg·beats/min $\times 10^4$ (P<0.001)へ増加したが, 体血管抵抗はほとんど変化しなかった(表1). 冠動脈血流量は 19.8 ± 1.7 から 26.7 ± 1.8 ml/min (P<0.001)へ増加した(図6).

上記心不全状態下にNKH477の0.15, 0.3及び0.6 μg/kg/min及び生理食塩液, 0.2 ml/minを1時間持続静注した. 左心房内圧, 体血管抵抗及び心拍出量は0.15 μg/kg/minの用量から用量依存性に改善した(図1及び図3各右). したがって, 心機能曲線は図4右に示すように用量依存性に左上方へ移動した. 血圧はわずかに下降し, 心拍数は増加した(図2右). ダブルプロダクトはわずかに増加する傾向であった(図3右). 冠動脈血流量もすべての用量で増加傾向を示した(図6).

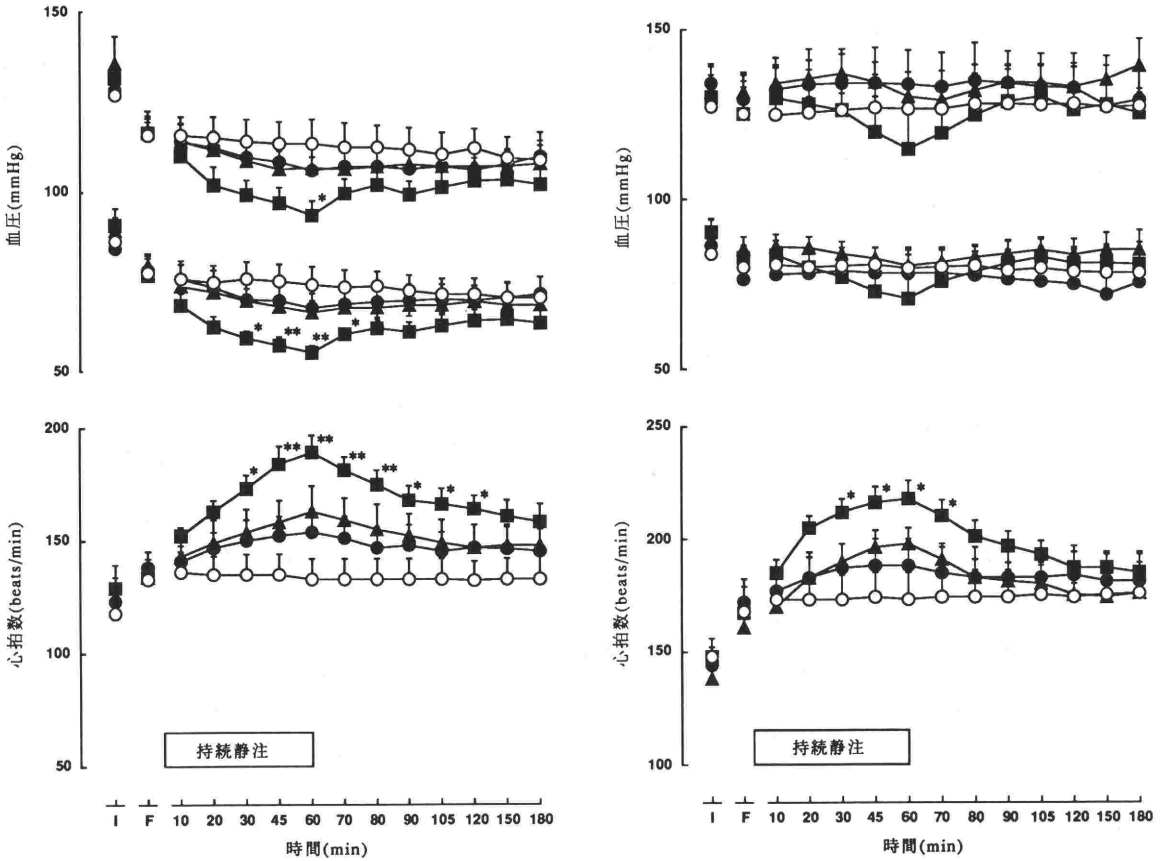


図2 麻酔イヌの冠動脈結紮(左)及び僧帽弁腱索切断(右)による心不全モデルの血圧及び心拍数に対する NKH 477持続静注の効果
 ○：生理食塩液, 0.2 ml/min, ●：NKH 477, 0.15 μg/kg/min, ▲：NKH 477, 0.3 μg/kg/min, ■：NKH 477, 0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した. *P<0.05, **P<0.01, (対照群に対するDunnettの検定).
 I：初期値, F：冠動脈結紮後(左), 腱索切断後(右)

考 案

急性心不全の治療法として、心筋梗塞などの心原性ショックを伴うような心不全にはカテコラミン^{8,9)}又はカテコラミンと血管拡張薬との併用療法^{10,11)}が用いられ、弁膜性疾患や高血圧を伴う、うっ血性心不全の場合には血管拡張薬による減負荷療法¹²⁻¹⁴⁾が汎用されている。著者らは先に冠動脈結紮及び僧帽弁腱索切断による心不全モデルを麻酔、開胸犬を用いて作製し、静注したニトログリセリン単独及びドパミンとの併用効果を両心不全モデルにおいて検討し、有用であることを報告した¹⁵⁾。これら心不全モデルの特徴は、冠結紮標本では心筋の虚血によって左心ポンプ機能が

低下し、心拍出量の減少、左室充滿圧の上昇から左心房圧の上昇を来とし、重要臓器への血流量を維持するために体血管抵抗の増加が起こったと考えられた¹⁵⁾。また、腱索切断標本では左心室から左心房への血液の逆流によって左心室への急激な容量負荷が起こり、左室充滿圧の上昇からポンプ機能障害を生じ、肺高血圧、右室仕事量の増大が引き起こされた病態と考えられた¹⁵⁾。

今回の結果も同様に、冠結紮標本では心拍出量の減少、左心房圧の上昇及び体血管抵抗の増加が特徴であり、腱索切断標本では心拍出量の減少、左心房圧の上昇、心拍数及びダブルプロダクトの増加が特徴であった(表1)。この状態にNKH 477を持続静注(0.15,0.3及び0.6 μg/kg/min)したと

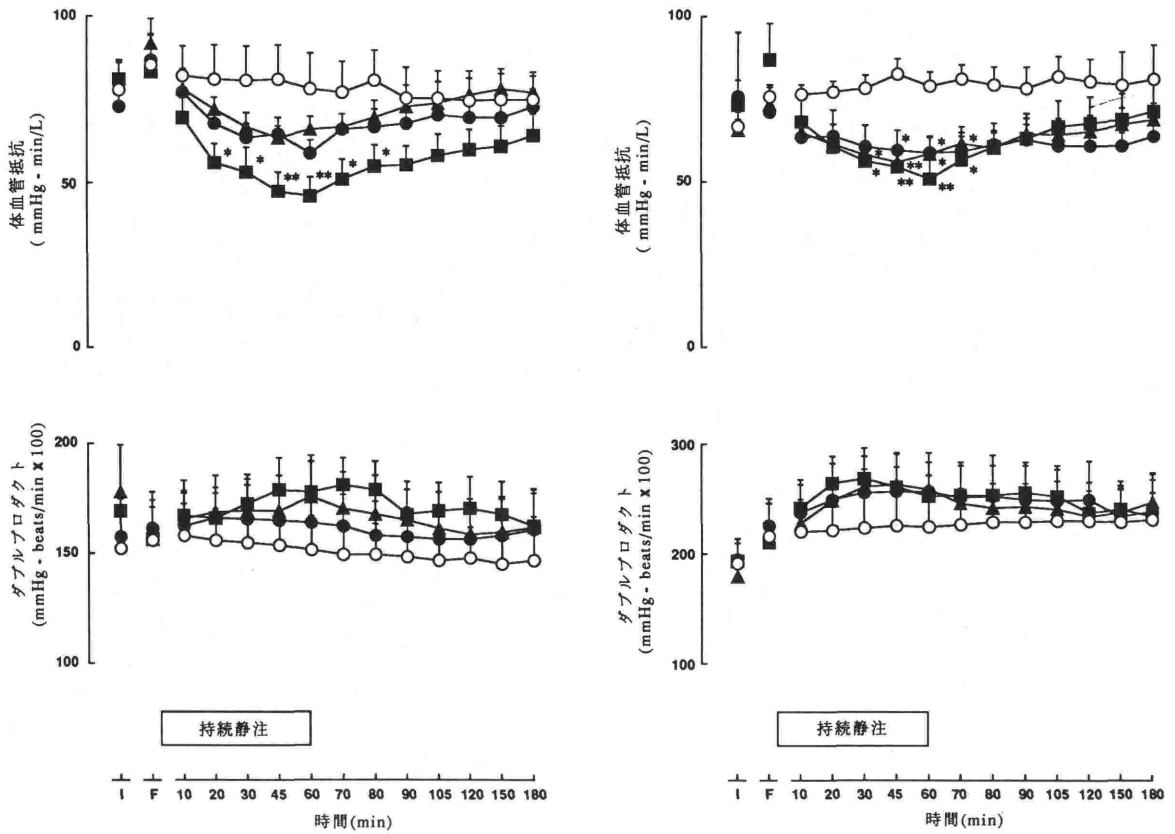


図3 麻酔イヌの冠動脈結紮(左)及び僧帽弁腱索切断(右)による心不全モデルの体血管抵抗及びダブルプロダクトに対するNKH 477持続静注の効果

○：生理食塩液，0.2 ml/min，●：NKH 477，0.15 μg/kg/min，▲：NKH 477，0.3 μg/kg/min，■：NKH 477，0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した．*P<0.05, **P<0.01, (対照群に対するDunnettの検定). I：初期値，F：冠動脈結紮後(左)，腱索切断後(右)

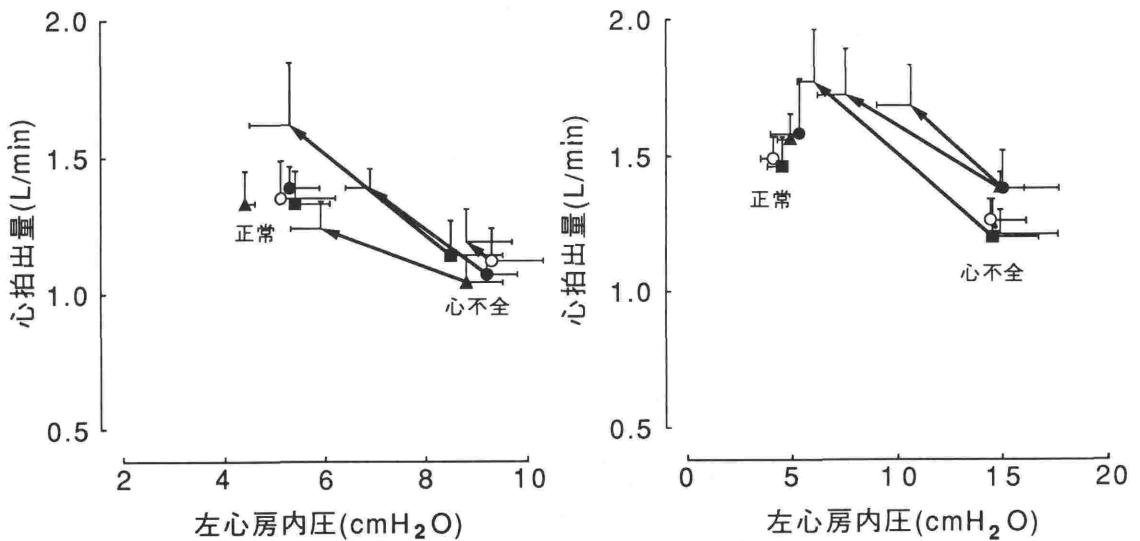


図4 麻酔イヌの冠動脈結紮(左)及び僧帽弁腱索切断(右)による心不全モデルの左心房内圧及び心拍出量に対するNKH 477持続静注の効果

○：生理食塩液，0.2 ml/min，●：NKH 477，0.15 μg/kg/min，▲：NKH 477，0.3 μg/kg/min，■：NKH 477，0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した.

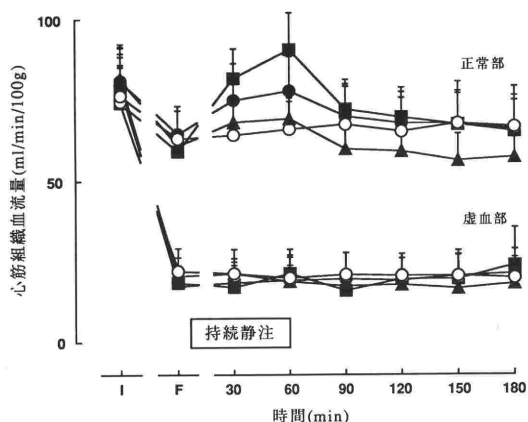


図5 麻酔イヌの冠動脈結紮による心不全モデルの心筋組織血流量に対する NKH 477 持続静注の効果

○：生理食塩液，0.2 ml/min，●：NKH 477，0.15 μg/kg/min，▲：NKH 477，0.3 μg/kg/min，■：NKH 477，0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した. I：初期値，F：冠動脈結紮後.

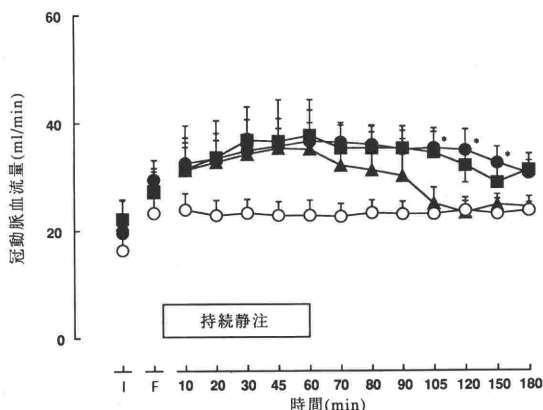


図6 麻酔イヌの僧帽弁腱索切断による心不全モデルの冠動脈血流量に対する NKH 477 持続静注の効果

○：生理食塩液，0.2 ml/min，●：NKH 477，0.15 μg/kg/min，▲：NKH 477，0.3 μg/kg/min，■：NKH 477，0.6 μg/kg/min. 各値は6例の平均値±標準誤差で示した. *P<0.05, (対照群に対する Dunnett の検定). I：初期値，F：腱索切断後

ころ，冠結紮又は腱索切断により上昇した左心房圧（前負荷）及び減少した心拍出量は用量依存性に改善し，心機能曲線はほぼ正常に復した。また，冠結紮標本では有意（ $P < 0.01$ ）に増加した体血管抵抗（後負荷）も同様に改善した。すなわち，NKH477は心収縮力増強作用^{4,5)}による心拍出量の増加及び血管拡張作用^{4,16)}による前後負荷軽減に

より心不全改善効果を示すと考えられた。

また，冠結紮標本のように心筋虚血のため心収縮力が低下し，心機能曲線が右下方へ移動している重症心不全の場合，ニトログリセリンのような血管拡張薬を投与すると前負荷（左心房圧）の低下とともに心拍出量も減少してしまうことがある^{7,15)}。その場合，カテコラミンとの併用が有効となり，実際臨床使用されている^{10,11)}。この血管拡張薬とカテコラミンとの併用による治療効果を NKH477は単剤で発揮できることから，重症心不全の患者には著効を示すと考えられる。更に，重症又は慢性心不全患者ではβ受容体の down regulation が指摘され¹⁷⁾，カテコラミンの効果減弱（耐性現象）についても報告^{18,19)}されている。したがって，β受容体を介さない NKH477はカテコラミン耐性の患者にも有効と考えられ，その臨床効果が期待される。

一方，腱索切断標本では左室充満圧が大きく上昇（左心房圧が 4.7 ± 0.4 から 14.7 ± 0.9 cmH₂O）し，心拍出量が減少してポンプ機能障害を生じ，心仕事量は異常に亢進（心拍数及びダブルプロダクトの増加）した状態であった。NKH477は血管拡張作用（前，後両負荷軽減）及び陽性変力作用により $0.15 \mu\text{g/kg/min}$ の用量から左室充満圧を正常に復し，心拍出量を増加させてポンプ機能障害を改善させた。心拍数も投与量に依存して増加したが，心筋酸素消費量の指標となるダブルプロダクトにほとんど影響しなかった。しかも冠動脈血流量はいずれの投与量においても増加傾向を示し，心筋酸素の需給バランスを良好に保つと考えられる。

虚血性心疾患を伴った心不全患者において冠灌流圧及び虚血部心筋の血流を維持することが当初の治療目的となる。これら冠血流量を規定する因子として，冠動脈壁の緊張度及び拡張期血圧の維持²⁰⁾が重要となる。今回の冠結紮標本において NKH477は，冠結紮により低下した拡張期血圧を更に低下させたが，虚血部心内膜側の血流量は良く維持され，正常部心筋の血流量は増加傾向を示した（図5）。拡張期血圧の低下にもかかわらず心筋組織血流量は良好に保たれたが，これらの作用は NKH477による心拍出量の増加，左室充満圧（左心房圧）の低下及び強力な冠血管拡張作用⁵⁾によって冠血管床が拡張したためと考えられる。

結 論

NKH477の持続注入は、冠結紮及び僧帽弁腱索切断によるイヌの急性心不全状態を改善させた。したがってNKH477は、虚血性心疾患及び僧帽弁閉鎖不全に伴う急性心不全のいずれの場合にも心臓への前、後両負荷軽減及び強心作用によって治療効果を発揮するものと考えられる。

文 献

- 1) Seamon KB, Daly JW: Forskolin, cyclic AMP and cellular physiology. *Trends Pharmacol Sci* 4: 120-123, 1983
- 2) Metzger H, Lindner E: The positive inotropic acting forskolin, a potent adenylate cyclase activator. *Arzneimittel Forschung* 31: 1248-1250, 1981
- 3) Lindner E, Dohadwalla AN, Bhattacharya BK: Positive inotropic and blood pressure lowering activity of a diterpene derivative isolated from *coleus forskohlii*: forskolin. *Arzneimittel Forschung* 28: 284-289, 1978
- 4) Hosono M, Takahira T, Fujita A, et al: Cardiovascular and adenylate cyclase stimulant properties of NKH477, a novel water-soluble forskolin derivative. *J Cardiovasc Pharmacol* 19: 625-634, 1992
- 5) Ishizuka O, Hosono M, Nakamura K: Profile of cardiovascular effects of NKH477, a novel forskolin derivative, assessed in isolated blood-perfused dog heart preparations. : comparison with isoproterenol. *J Cardiovasc Pharmacol* 20: 261-267, 1992
- 6) Harris AS: Delayed development of ventricular rhythms following experimental coronary occlusion. *Circulation* 1: 1318-1328, 1950
- 7) Aukland K, Bower BF, Berliner RW: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res* 14: 164-187, 1964
- 8) Pozen RG, Dibianco R, Katz RJ: Myocardial metabolic and hemodynamic effects of dobutamine in heart failure complicating coronary artery disease. *Circulation* 63: 1279-1285, 1981
- 9) Smith TW, Braunwald E: The management of heart failure. In "Heart Diseases" (Braunwald E, ed.); Saunders WB, Philadelphia: 509-570, 1980
- 10) Lobe HS, Ostrenga JP, Gaul W, et al: Beneficial effects of dopamine combined with intravenous nitroglycerin on hemodynamics in patients with severe left ventricular failure. *Circulation* 68: 813-820, 1983
- 11) Cohn JN, Franciosa JA: Selection of vasodilator, inotropic or combined therapy for the management of heart failure. *Am J Med* 65: 181-188, 1978
- 12) Armstrong PW, Armstrong JA, Marks GS: Pharmacokinetic-hemodynamic studies of intravenous nitroglycerin in congestive cardiac failure. *Circulation* 62: 160-166, 1980
- 13) Rothbaum DA, Dillon JC, Feigenbaum H: The effect on nitroglycerin upon pulmonary and left atrial pressure in patient with mitral stenosis. *Am Heart J* 91: 156-162, 1976
- 14) Packer M, Meller J, Medina N: Determinant of drug response in severe chronic heart failure. 1. Activation of vasoconstrictive forces during vasodilator therapy. *Circulation* 64: 506-514, 1981
- 15) 古田康彦, 高平 孝, 桜井正夫ほか: イヌ急性心不全モデルにおけるニトログリセリン静注及びドパミンとの併用の血行動態に対する効果. 呼と循 34: 273-280, 1986
- 16) 姫田美穂子, 坂下裕佳, 藤原 良ほか: 新規フォルスコリン誘導体 NKH477の摘出血管拡張作用の特徴 — 投稿準備中
- 17) Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, et al: Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 307: 205-211, 1982
- 18) Colluci WS, Wright RF, Jaski BE, et al: Milrinone and dobutamine in severe heart failure. : differing hemodynamic effects and individual patients responsiveness. *Circulation* 73: III 175-183, 1986
- 19) 井上通敏, 佐藤秀幸: 心不全における交感神経, カテコールアミンの動態. 内科 58: 1317-1321, 1986
- 20) 木野昌也, 久保新一郎: 抗狭心症薬剤の臨床応用. *Prog Med* 4: 1321-1326, 1984

Cardiovascular effects of NKH477 in experimental canine heart failure

Takashi Takahira, Makoto Hosono
Katuhiko Sakitama

Pharmacology Section' Research Laboratories
Pharmaceuticals Group' Nippon Kayaku Co., Ltd., Tokyo, Japan

We examined the cardiovascular effects of NKH477, a novel water-soluble forskolin derivative, in a model of acute heart failure caused by left circumflex artery ligation or chordal cut of the mitral valve in open-chest dogs anesthetized with pentobarbital. Ligation increased left atrial pressure (LAP) from 5.1 ± 0.4 to 8.9 ± 0.4 cm H₂O ($P < 0.001$) and decreased cardiac output (CO) from 1.3 ± 0.1 to 1.1 ± 0.1 L/min ($P < 0.001$), myocardial blood flow (MCBF) in normal region from 78.2 ± 4.6 to 61.9 ± 3.1 ml/min/100 g ($P < 0.001$) and ischemic region from 78.8 ± 4.8 to 19.5 ± 2.8 ml/min/100 g ($P < 0.001$). Intravenous infusion of

$0.15 \mu\text{g/kg/min}$ of NKH477 improved LAP to 6.9 ± 0.5 cm H₂O and CO to 1.4 ± 0.1 L/min and increased MCBF in normal region to 77.6 ± 11.0 ml/min/100 g, but not ischemic region. Chordal cut increased LAP from 4.7 ± 0.4 to 14.7 ± 0.9 cm H₂O ($P < 0.001$) and decreased CO from 1.5 ± 0.1 to 1.3 ± 0.1 L/min ($P < 0.001$). Intravenous infusion of $0.15 \mu\text{g/kg/min}$ of NKH477 improved LAP to 10.6 ± 1.6 cm H₂O and CO to 1.7 ± 0.2 L/min. These results show that intravenous infusion of NKH477 may have beneficial effects in acute heart failure following acute myocardial infarction or rupture of the chordae tendineae of the mitral valve.

Key Words : NKH477, Heart failure model, Hemodynamics, Acute myocardial infarction, Acute mitral regurgitation