

原 著

ACE 阻害剤 (カプトプリル) の昇圧抑制機序の検討
— アンギオテンシン II 受容体遮断剤との対比 —湊口信也*, 伊藤裕康**, 横山仁美*, 今井洋子*
越路正敏*, 各務雅夫*, 宇野嘉弘*, 藤原久義*

要 旨

[目的] カプトプリル (CAP) の昇圧抑制機序を検討するため, ①交感神経末端アンギオテンシン (ANG) II 受容体を介するノルエピネフリン (NE) 遊離抑制作用と②NE に対する血管収縮抑制効果を ANG II 受容体遮断剤 (ロスアルタン, LOS) と比較した. [方法] pithed rat を用い, CAP (1 mg/kg) と LOS (1 mg/kg) 投与前後で, ①腰部交感神経電気刺激 (SNS) 直後の血漿 NE 濃度を測定, ②各用量の NE 静注による血圧上昇量, また, ③各頻度の SNS による血圧上昇量を求めた. [結果] ①CAP と LOS は SNS による血漿 NE 濃度の上昇を有意に抑制した. ②CAP は NE による用量-血圧反応曲線を有意に抑制したが, LOS は影響を与えなかった. ③LOS に CAP を重ね投与した後の頻度-血圧反応曲線は LOS 単独の曲線に比べ, さらに強く抑制されたが, LOS を CAP に重ね投与した後の曲線は, CAP 単独投与に比べ, 有意に抑制されなかった. [結論] CAP の昇圧抑制機序の一部は, ①交感神経末端からの NE 遊離抑制と, ②NE による“血管収縮抑制”作用であることが示唆された.

緒 言

交感神経末端にはアンギオテンシン (ANG) II 受容体が存在し, その刺激抑制によって交感神経末端からのノルエピネフリン (NE) 遊離抑制が生ずる¹⁾. しかし, ACE 阻害剤がかかる機序を介して交感神経末端からの NE 遊離を抑制するか否

かについては, まだ一定の見解が得られていない^{2,3)}.

今回, カプトプリル (CAP) の交感神経末端からの NE 遊離抑制と, NE による“血管反応性”におよぼす効果を ANG II 受容体遮断剤であるロスアルタン (LOS) と比較検討し, CAP の昇圧抑制機序に推定を加えた.

方 法

1. pithed rat の作成

重量約300 g の雄 Sprague-Dawley rat を用い, ペントバルビタール (1 mg/kg) 腹腔内投与による麻酔後, Fig. 1 に示すごとく, 左頸動脈にポリエチレンチューブを挿入し, 圧トランスデューサー (P 2310; American Gould CO., Ltd.) で平均血圧を記録した (WS-180 G; NIHON KOHDEN CO., Ltd.). 一方, 左頸静脈からポリエチレンチューブを挿入し, その先端を右房に位置し, 薬剤の注入に用いた. 気管切開後, 人工呼吸器 (Natsume Seisakujo 60 CO., Ltd.) を用い, 人工呼吸 (frequency: 60 回/分, tidal volume: 2 ml/100 g) 下に, 右眼窩から直径約1.5 mm のステンレス製 steel rod (先端 5 cm を除いてエナメル被膜した rod) を刺入, 脊椎管内を降下, 尾骨まで挿入して除神経した後, 筋弛緩薬であるツボクラリン (1 mg) を静注した. Stimulator (SEN-2201; NIHON KOHDEN CO., Ltd.) の陽極を pithing rod に, 陰極を背部皮下に接続した. 電気刺激はすべての実験操作終了後, 血圧が安定した約15分後から開始した.

2. ノルエピネフリン測定

第一回目の電気刺激を加え, 電気刺激直後に約

*岐阜大学医学部第二内科

**澤田病院

1 mlの血液を採取後, donor ratの血液 (1 ml)を静注した. 再び血圧が安定した後, 生理食塩水, CAP, LOSのいずれかを静注し, その後同様の操作を行った (Fig. 2, A).

血漿NE濃度はTHI蛍光法とHPLC (SHIMAZU LC-6 A, ZORBAX SCX-300, RF-500 LCA)を用いて測定した.

3. ノルエピネフリン静注による血圧反応

pithed ratを用い, 生理食塩水, CAP, LOSのいずれかを静注し, その前後にて各用量のNEをbolus静注した. NEによる平均血圧のピーク値を求め, 用量-血圧反応曲線を描いた. 次用量のNE静注は, 血圧がほぼ対照値に復した約1分後に行った (Fig. 2, B).

4. 電気刺激による血圧反応

pithed ratに生理食塩水, フェントラミン, LOS, CAPのいずれかを静注し, その前後にて各頻度の電気刺激を加え, 平均血圧のピーク値を求めた. 上昇した血圧がほぼ対照値に復した約1分後に次Hzの電気刺激を加え, 頻度-血圧反応曲線を描いた (Fig. 2, C).

5. 統計

値はすべて mean ± SE で表示した. 血圧反応曲線相異の検定は, 生理食塩水群をコントロール

群とする各薬剤群の overall significant difference を analysis of variance of the mean difference を用いて検討した. 2群間の比較は Student's t test を, 3群間の比較は two-way analysis of variance を用いた. いずれも $p < 0.05$ をもって統計学的に有意とした.

結果

1. 電気刺激による血漿ノルエピネフリン濃度の変化

Fig. 3 に示すごとく, 生理食塩水投与前 (control) と生理食塩水静注後 (saline) の電気刺激による血漿NE濃度には有意差を認めなかった. CAP静注前 (control) と静注後 (captopril) の電気刺激後に求めた血漿NE濃度はCAP群で有意に低値であった ($71.6 \pm 3.0\%$). LOS静注前 (control) と後 (losartan) の電気刺激後に求めた血漿NE濃度も, LOS群で有意に低値であったが, ($66.1 \pm 6.4\%$), CAP群とLOS群の血漿

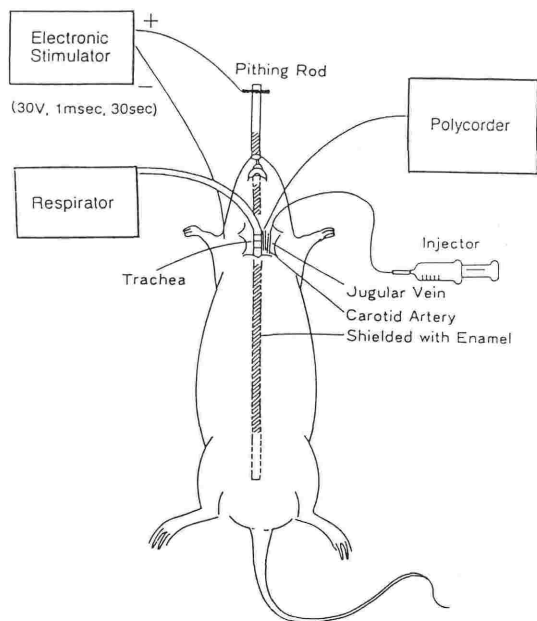


Fig. 1 Pithed rat model

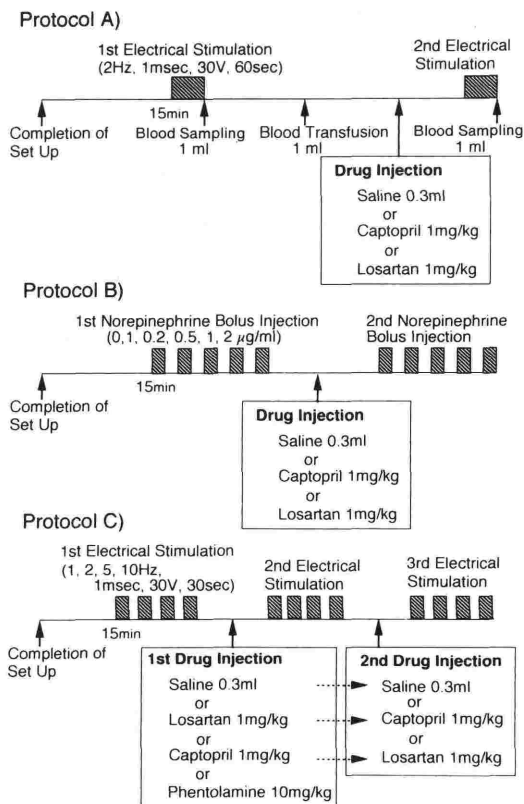


Fig. 2 Schedule of experiment

NE 濃度減少率には有意差を認めなかった。

2. ノルエピネフリン静注による血圧反応

Fig. 4 の左図は縦軸に NE による平均血圧の上昇量を、横軸に静注した NE の用量を取り、生理食塩水投与前 (control) と後 (saline) の用量—血圧反応曲線を示す。control における basal の血圧と生理食塩水投与後における basal の血圧間

には差を認めなかった (Table 1)。

NE は用量依存性の血圧上昇をもたらしたが、生理食塩水投与前後の用量—血圧反応曲線には有意差を認めなかった。

Fig. 4 の中央図は、CAP 静注前 (control) と後 (captopril) で NE の用量—血圧反応曲線を比較した図である。CAP は basal の血圧を低下せしめ、投与前 (control) の値に比して有意の低値を示した (Table 1)。

CAP 群の用量—血圧反応曲線は control 群に比し、有意に下方に位置した。

Table 1 Baseline Mean Blood Pressure Before and After Administration of Drugs in Each Group

	Before Administration (mmHg)	After Administration (mmHg)	
Norepinephrine Injection Group			
Saline (n=6)	45.4 ± 6.9	52.1 ± 4.3	
Captopril (1mg/kg, n=6)	43.4 ± 2.9	33.4 ± 3.1**	
Losartan (1mg/kg, n=7)	35.9 ± 2.9	26.1 ± 2.3**	
Electrical Stimulation Group			
Saline (n=6)	38.4 ± 3.6	39.2 ± 3.3	
Phentolamine (10mg/kg, n=5)	45.8 ± 2.0	41.8 ± 3.5	
Saline (n=6)	48.2 ± 2.4	50.0 ± 2.0	50.7 ± 1.9
Losartan + Captopril (1mg/kg, n=5)	41.8 ± 2.2	31.3 ± 2.5**	30.2 ± 2.8
Captopril + Losartan (1mg/kg, n=6)	44.4 ± 1.6	31.0 ± 1.6**	30.2 ± 1.6

Mean ± SE. **; p<0.01, compared to before administration

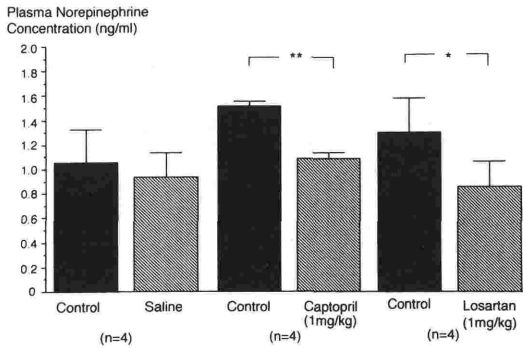


Fig. 3 Plasma norepinephrine concentration after electrical stimulation (2 Hz, 1 msec, 60 sec) in pithed rats (Mean ± SE). Both captopril and losartan significantly decreased plasma norepinephrine concentration (*; p<0.05, **; p<0.01).

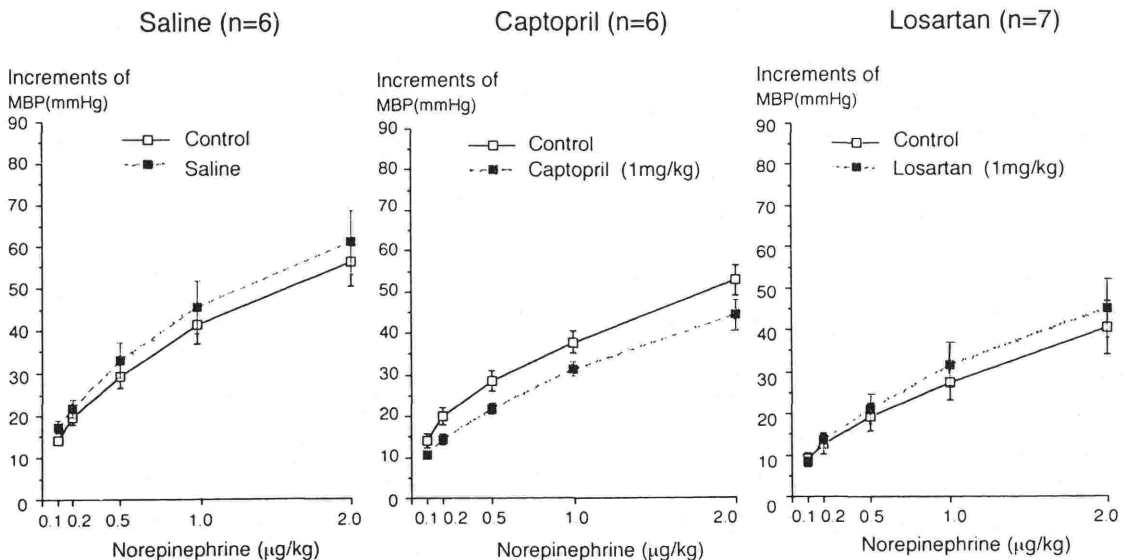


Fig. 4 Mean blood pressure (MBP) responses to norepinephrine injection in pithed rats (Mean ± SE). Dose-response curves to i.v. administration of norepinephrine were not altered by saline and losartan. The curves were significantly decreased by captopril (p<0.01, ANOVA).

Fig. 4 の右図は LOS 静注前 (control) と後 (losartan) における NE 投与時の用量-血圧反応曲線を示す。LOS により, basal の血圧は有意に低下した (Table 1)。しかし, LOS 投与前後において投与した NE による用量-血圧反応曲線には有意差を認めなかった。

3. 脊髄交感神経電気刺激による血圧反応

Fig. 5 の左図は縦軸に平均血圧の上昇量を, 横軸に電気刺激頻度を取り, 生理食塩水投与前 (control) と投与後 (saline) の頻度-血圧反応曲線を示す。生理食塩水により, basal の血圧に有意差は認められなかった (Table 1)。

生理食塩水投与前後における電気刺激によって, 血圧は刺激頻度依存性に上昇したが, control 群と生理食塩水群の頻度-血圧反応曲線間に有意差は認められなかった。

Fig. 5 の右図はフェントラミン静注前 (control) と後 (phentolamine) について同様に示した図である。フェントラミンによって, basal の血圧は明らかな低下を生じなかった (Table 1)。

フェントラミン投与後, 電気刺激による頻度依存性の血圧上昇はほとんど認められず, 頻度-血圧反応曲線は control 群のそれよりも有意に下方に位置した。

Fig. 6 の左図は, 生理食塩水投与前 (control), 第一回生理食塩水投与後 (1st saline) と第二回生理食塩水投与後 (2nd saline) における頻度-血圧反応曲線を示す。saline 投与前後における basal の血圧の間に有意差は無く (Table 1), 3 群の頻度-血圧反応曲線間にも有意差を認めなかった。

Fig. 6 の中央図は control, LOS 静注後 (losartan), さらに CAP を重ね静注後 (losartan + captopril) の頻度-血圧反応曲線を示す。LOS により, basal の血圧は有意に低下したが, さらに CAP を重ね投与しても, basal の血圧低下は生じなかった (Table 1)。

頻度-血圧反応曲線は LOS によって control よりも有意に下方に, また, CAP 投与により, さらに有意の下方移動を示した。

Fig. 6 の右図は, CAP 静注後 (captopril) に LOS を重ね静注した際 (captopril + losartan) の頻度-血圧反応曲線を示す。CAP により, basal の血圧は有意に低下したが, LOS の重ね投与により, さらなる有意の低下は生じなかった (Table 1)。

頻度-血圧反応曲線は CAP により, 有意の下方移動を生じたが, LOS の重ね投与により, さらなる有意の下方移動は認められなかった。

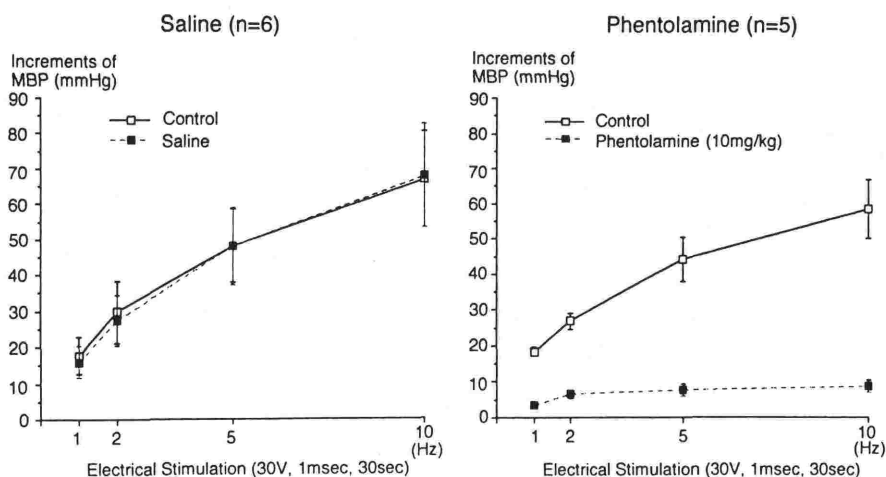


Fig. 5 Mean blood pressure (MBP) responses to electrical stimulation in pithed rats (Mean \pm SE). Frequency-response curves to electrical stimulation were not altered by saline. On the other hand, the curves were significantly decreased by phentolamine ($p < 0.01$, ANOVA).

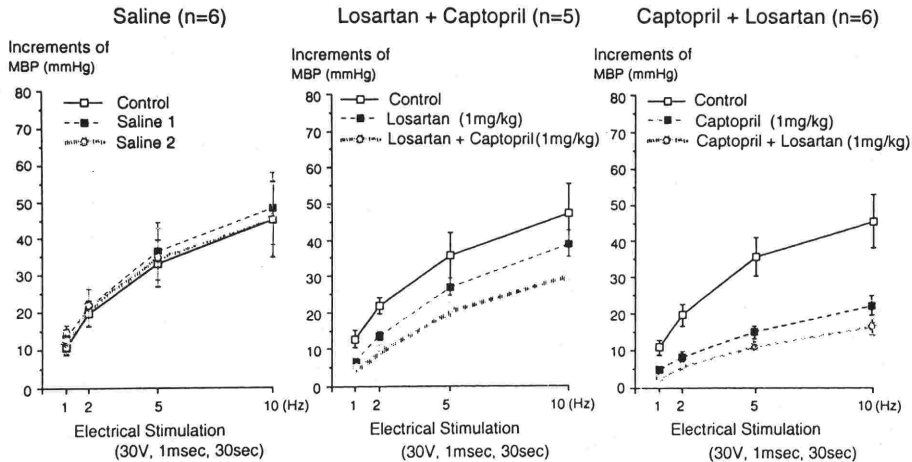


Fig. 6 Mean blood pressure (MBP) responses to electrical stimulation in pithed rats (Mean \pm SE). Three frequency-response curves to electrical stimulation were not altered by two times saline injection. The additive treatment with captopril to losartan further decreased the curves ($p < 0.01$, ANOVA). The additive treatment with losartan to captopril did not alter the curves.

考 案

本研究で用いた pithed rat model は、除神経状態で副腎髄質を刺激することなく、選択的に腰部交感神経を刺激することが可能である⁴⁾。このような pithed rat の電気刺激による血圧上昇反応は非選択的 α 遮断剤であるフェントラミンによってほぼ完全に抑制された (Fig. 5) ことから、電気刺激による血圧上昇は交感神経末端から遊出された NE による血管収縮にもとづく反応と考えられ、血圧反応から交感神経末端の NE 遊離抑制—促進に推定を加えた。

CAP の昇圧抑制機序の一つとして、ANG II 産生の減少⁵⁾→交感神経末端 ANG II 受容体を介する NE の遊離減少¹⁾が推測される。しかし、ACE 阻害剤が交感神経末端から NE 遊離を抑制するかどうかについては、一定の見解が得られておらず、NE の遊離を促進するという報告²⁾、抑制するという報告³⁾など明確にされていない。本研究においては、CAP と LOS はともに電気刺激による血漿 NE の上昇を抑制し (Fig. 3)、CAP は交感神経末端の ANG II 受容体を介して NE 遊離の一部を抑制していることが示唆された。

一方、ACE 阻害剤 (CAP) は pithed rat において NE 静注による血圧上昇を抑制し、“血管反応

性”を低下せしめること⁶⁾、また、ANG II 受容体遮断剤 (LOS) は NE 静注による血圧上昇を抑制することなく⁷⁾、また“血管反応性”の低下は生じないといわれている。本研究でも、LOS は NE 静注による血圧上昇反応に影響を与えなかったが、CAP は NE 静注による血圧上昇反応を抑制した (Fig. 4)。このような CAP の NE による“血管反応性”低下作用の機序として、細胞内 Ca 放出抑制⁸⁾、PGI₂遊離→血管拡張作用による相殺効果^{9,10)}などが推定されている。予備実験ではあるが、ブラジキニン B2 受容体拮抗剤 (HOE 140) 前処置により、CAP の NE 静注による血圧上昇の抑制は消失することが認められ、CAP の NE による血管収縮抑制効果は、CAP→ブラジキニン増加→EDRF 遊離による相殺の可能性が推定される。

pithed rat model を用いた場合、電気刺激による昇圧反応は basal の血圧が低くなったとき、血圧上昇は抑制されることが報告されている¹¹⁾。CAP あるいは LOS は、いずれも単独で basal の血圧低下をもたらしたが、CAP に LOS、あるいは LOS に CAP を重ね投与した場合、新たな basal の血圧低下は生じなかった (Table 1)。それゆえ、CAP の電気刺激による昇圧反応抑制効果を検討するにあたり、CAP と LOS の重ね投与を

行った。LOS 投与後に CAP を重ね投与した場合、CAP は LOS 単独投与時よりも電気刺激による昇圧反応を強く抑制した (Fig. 6)。一方、CAP 投与後に LOS を重ね投与した場合、CAP は電気刺激による昇圧反応を強く抑制したが、LOS 追加投与によって、さらなる昇圧反応の抑制はみられなかった (Fig. 6)。前者では、LOS によって交感神経末端からの NE 遊離が抑制され、さらに CAP による ANG II 生成減少による交感神経末端からの NE 遊離抑制に、NE に対する“血管反応性”の低下作用が加わり、昇圧反応がさらに抑制された結果と推定される。一方、後者にては、CAP の交感神経末端 NE 遊離抑制作用と NE による“血管反応性”低下作用が LOS による交感神経末端からの NE 遊離抑制作用を上回り、LOS 追加投与によるさらなる NE 遊離抑制がほとんど生じなかったためと推定される。

結 論

ACE 阻害剤の昇圧抑制機序として、少なくとも①交感神経末端の ANG II 受容体刺激を減少、交感神経末端からの NE 遊出を抑制すること、② NE による“血管反応性”の低下をもたらすことの2つの機序が関与していることが示唆された。

文 献

- 1) Hughes J, Roth RH: Evidence that angiotensin enhances transmitter release during sympathetic nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 41: 239-255, 1971
- 2) Schwieler JH, Kahan T, Nussberger J, et al: Converting

enzyme inhibition modulates sympathetic neurotransmission in vivo via multiple mechanisms. *Am J Physiol* 264: E631-637, 1993

- 3) Majewski H: Angiotensin II and noradrenergic transmission in the pithed rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 14: 622-630, 1989
- 4) Gillespie JS, Maclaren A, Pollock D: A method of stimulating different segments of the autonomic outflow from the spinal column to various organs in the pithed cat and rat. *Br J Pharmacol* 40: 257-267, 1970
- 5) Ondett MA, Rubin B, Cushman DW: Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science* 196: 441-444, 1977
- 6) De Jonge A, Knape JTHA, Van Meel JCA, et al: Effect of captopril on sympathetic neurotransmission in pithed normotensive rats. *Eur J Pharmacol* 88: 231-240, 1983
- 7) Wong PC, Price MA, Chiu At, et al: Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. VIII. Characterization of functional antagonism displayed by Dup 753, an orally active antihypertensive agent. *J Pharmacol Exp Ther* 252: 719-725, 1990
- 8) Kondo K, Okuno T, Suzuki H, et al: Effects of Captopril and prostaglandin I₂ on vasoconstrictor responses to norepinephrine and potassium ions in rat mesenteric artery. *Jpn Heart J* 22: 617-625, 1981
- 9) Mullane KM, Moncada S, Vane JR: Prostacyclin release induced by bradykinin may contribute to the antihypertensive action of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* 7: 1159-1161, 1980
- 10) Vanhoutte PM, Auch-Schwelk W, Biondi ML, et al: Why are converting enzyme inhibitors vasodilators? *Br J Clin Pharmacol* 28: 95S-104S, 1989
- 11) Henrion D, Egleme C, Criscione L, et al: Blood pressure, the renin-angiotensin system and neurogenic vasoconstriction in pithed rats. *J Pharmacol* 41: 766-769, 1989

**The Mechanism for Inhibiting Effect of ACE inhibitor (Captopril) on the Pressor Response
—A Comparison with an Angiotensin II Receptor Antagonist—**

Shinya Minatoguchi, Hiroyasu Ito*, Hitomi Yokoyama, Yoko Imai,
Masatoshi Koshiji, Masao Kakami, Yoshihiro Uno, Hisayoshi Fujiwara

2nd Department of Internal Medicine, Gifu University School of Medicine, Sawada Hospital*
Gifu, Japan

We investigated the mechanism for inhibiting effect of captopril on the pressor responses, by comparing with losartan. Plasma norepinephrine concentrations were measured during the sympathetic nerve stimulation (SNS, 2 Hz, 1 msec, 60 sec) before and after the administration of captopril (1 mg/kg, i.v.) or losartan (1 mg/kg, i.v.). The pressor responses to exogenous norepinephrine were obtained before and after the administration of captopril (1 mg/kg, i.v.) or losartan (1 mg/kg, i.v.). The pressor responses to SNS before and after the administration of losartan (1 mg/kg, i.v.) with additive treatment with captopril (1 mg/kg, i.v.) or captopril (1 mg/kg, i.v.) with additive treatment with losartan (1 mg/kg, i.v.). Both captopril and

losartan significantly decreased plasma norepinephrine concentration. Dose-response curves to i.v. administration of norepinephrine were not altered by losartan, but were significantly decreased by captopril. Captopril and losartan (1 mg/kg) decreased the frequency-response curves to a similar extent. The additive treatment with captopril to losartan further decreased the curves. However, the additive treatment with losartan to captopril did not alter the curves. It is suggested that captopril decreases the pressor responses to SNS by both norepinephrine release inhibiting effect and decreasing "vascular reactivity" to norepinephrine.

Key Words : Captopril, Losartan, Norepinephrine, Angiotensin II receptor, Pithed rat

(Circ Cont 17 : 223~229, 1996)