

一酸化窒素合成酵素阻害薬投与ウサギにおける ニトログリセリンに対する血管反応性

山崎 豊*, 円山 啓司**, 大高 公成***
戸部 善継****, 真崎 容子****, 小泉 昭夫*****

要 旨

一酸化窒素 (NO) 合成阻害薬を前処理すると、ニトログリセリンの血管弛緩反応は抑制されず、むしろその作用は過剰となる。そこで、今回、NO 合成阻害薬を慢性的に投与しても同様の過剰反応が生じるかどうか検討するために、N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME 群) または生理食塩水 (対照群) を 10 mg/kg/day で 14 日間ウサギに投与し、ニトログリセリンの降圧作用を対照群と比較検討した。ニトログリセリン注入前の L-NAME 群の収縮期血圧は 168.3 ± 2.9 mmHg であり、対照群の 145.0 ± 5.0 mmHg に比べ、有意に上昇していた。拡張期血圧はそれぞれ 91.7 ± 7.6 mmHg, 83.3 ± 2.9 mmHg であり、有意差はなかったが、L-NAME 群で高値を示した。ニトログリセリンの持続注入、一回静注ともに、L-NAME 群で対照群よりも血圧の低値を示した。特に、一回静注においては、対照群で血圧低下後にリバウンド現象が見られたが、L-NAME 群では見られなかった。また、血圧低下時間も長かった。以上のことから、NO 合成阻害剤の投与下では、ニトログリセリンは過剰反応を起こし、予期せぬ血圧低下を招く可能性がある。

はじめに

内皮由来の血管弛緩因子として 1987 年 Moncada ら¹⁾ のグループによって報告された Nitric Oxide (以下 NO) は、可溶性グアニレートシクラーゼ (以下 sGC) を活性化し、cyclic GMP 産生を増大させて弛緩作用を示す²⁾。この NO は NO 合成酵素により、L-アルギニンのグアニド基から生成され、L-シトルリンに転換される。また、この反応は L-アルギニン誘導体である N^G-monomethyl-L-arginine (以下 L-NMMA), N^G-nitro-L-arginine (以下 L-NNA), N^G-nitro-L-arginine methyl ester (以下 L-NAME) 等の NO 合成酵素阻害薬によって抑制され、その結果、血圧は上昇する²⁾。

ニトロ化合物であるニトログリセリンの血管弛緩作用は、ニトログリセリンが細胞内で NO に変換されて発現すると考えられている^{3,4)}。しかし、NO 合成阻害薬の前処置後にニトログリセリンを投与しても、ニトログリセリンの血管弛緩反応は抑制されず、むしろその作用は過剰となると報告されている²⁾。そこで、今回、NO 合成阻害薬を慢性的に投与しても同様の過剰反応が生じるかどうか検討した。

対象と方法

2.5–2.6 kg の雄ウサギを用い、L-NAME 群と対象群の 2 群に分けた。L-NAME 群 (n = 4) では、酸素・空気 (40%)・イソフルラン麻酔下に腹腔内に浸透圧ポンプ (alzet mode 12 ML 4) を埋め込み、10 mg/kg/day の L-NAME を腹腔内に 14 日

*由利組合病院麻酔科

**秋田大学医学部救急医学講座

***仙北組合病院麻酔科

****秋田大学医学部麻酔学教室

***** 同 衛生学教室

間持続注入した。また、対照群 ($n=4$) では、同様に浸透圧ポンプを埋め込み、生理食塩水を同量同期間持続注入した。埋め込み14日後、ウサギを20 mg/kg のチオペンタールで導入し、気管切開を行い、その後は、酸素・空気 (40%)・イソフルラン麻酔 (0.5–1%) とバンクロニウムで麻酔を維持した。また、サーボベンチレータ900 (シーメンス、スウェーデン) を用い、一回換気量60 ml、呼吸数30回/min で調節呼吸を行った。大腿動脈にカテーテルを留置し、動脈圧はトランスデューサ (バクスター、USA) を用いて測定を行い、多用途計測記録装置 (RM6000、日本光電) にモニターし、8チャンネルのサーマルアレイレコーダ (WS 681 G、日本光電) に連続記録した。血圧安定後、ニトログリセリンを1, 5, 10, 20 mg/kg/min で10分間持続注入し、血圧の変化を比較検討した。続いて0.01, 0.05, 0.1, 0.2 mg/kg のニトログリセリンを一回静注し、その後の血圧変化を比較検討した。最後にL-アルギニン300 mg/kg を投与し、同様に比較検討した。尚、ニトログリセリンの静注は血圧が初期値に戻ってから次投与を行った。

結果は平均±標準偏差で現し、統計処理には、

分散分析法と Scheffé F テストを用い、危険率5%未満を有意とした。

結 果

10 mg/kg/day の L-NAME 投与14日後では、L-NAME 群の収縮期血圧は 168.3 ± 2.9 mmHg であり、対照群の 145.0 ± 5.0 mmHg に比べ有意に上昇していた。拡張期血圧はそれぞれ 102.7 ± 10.3 mmHg, 87.7 ± 2.9 mmHg と有意差はなかったが、L-NAME 群で高い傾向にあった。

ニトログリセリンの1 μ g/kg/min までの投与では、L-NAME 群が対照群に比べ、有意に収縮期血圧は高かった (Fig. 1 A)。しかし、前値を100とした相対値で現すと、10および20 μ g/kg/min の投与で、逆にL-NAME 群で有意に低下していた (Fig. 1 B)。拡張期血圧には両群間に有意差はなかったが (Fig. 2 A)、相対値でみると、ニトログリセリン5, 10 μ g/kg/min 投与でL-NAME 群で有意に低下していた (Fig. 2 B)。

ニトログリセリンの0.2 mg/kg の投与では、収縮期血圧はL-NAME 群で有意に低下していた (Fig. 3 A)。これを相対値で比較してみると、0.01, 0.02, 0.1, 0.2 mg/kg の全ての投与量でL-NAME

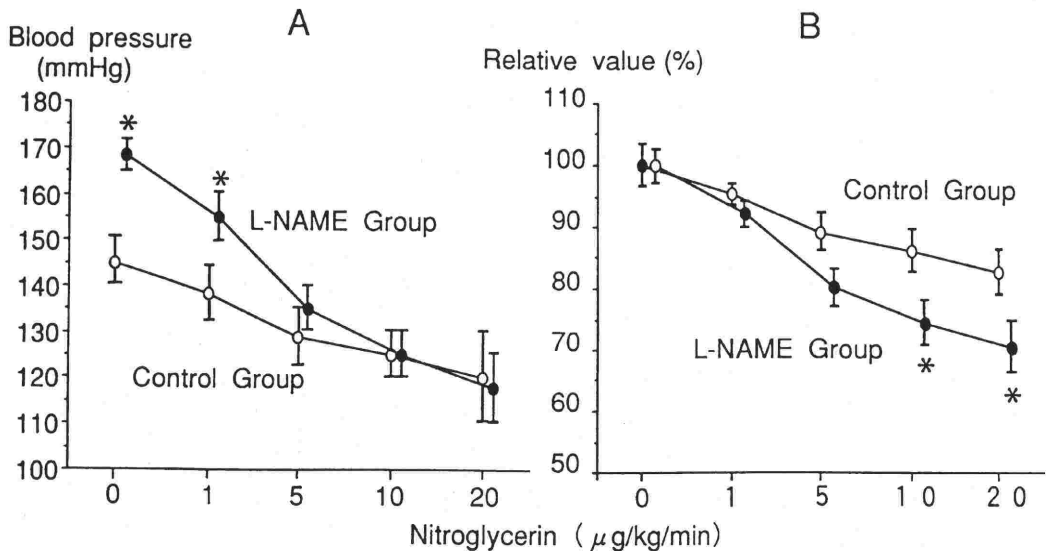


Figure 1. Systolic blood pressure after a continuous infusion of nitroglycerin

Data are means \pm SD. Baseline value in L-NAME group was significantly higher than in control group (A). Systolic blood pressures in L-NAME were significantly lower than in control group after the continuous infusions of 10 and 20 μ g/kg/min of nitroglycerin (B). * $P < 0.05$, compared with control group.

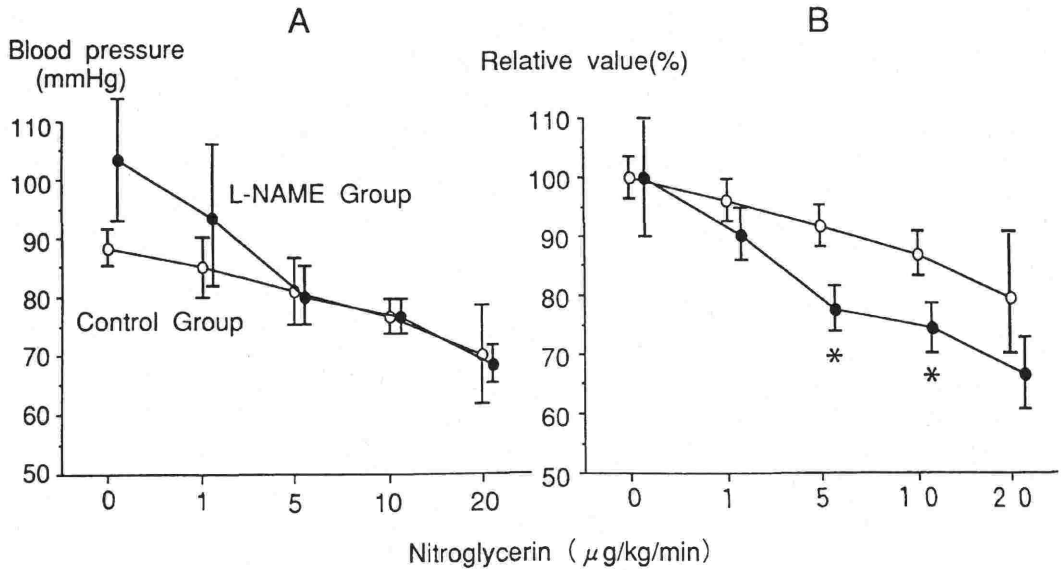


Figure 2. Diastolic blood pressure after a continuous infusion of nitroglycerin
 Data are mean \pm SD. Baseline value in L-MAME group was lower than in control group, but there was no significant difference (A). Diastolic blood pressures in L-NAME group were significantly lower than in control group after the continuous infusions of 5 and 10 μ g/kg/min of nitroglycerin (B). * $p < 0.05$, compared with control group.

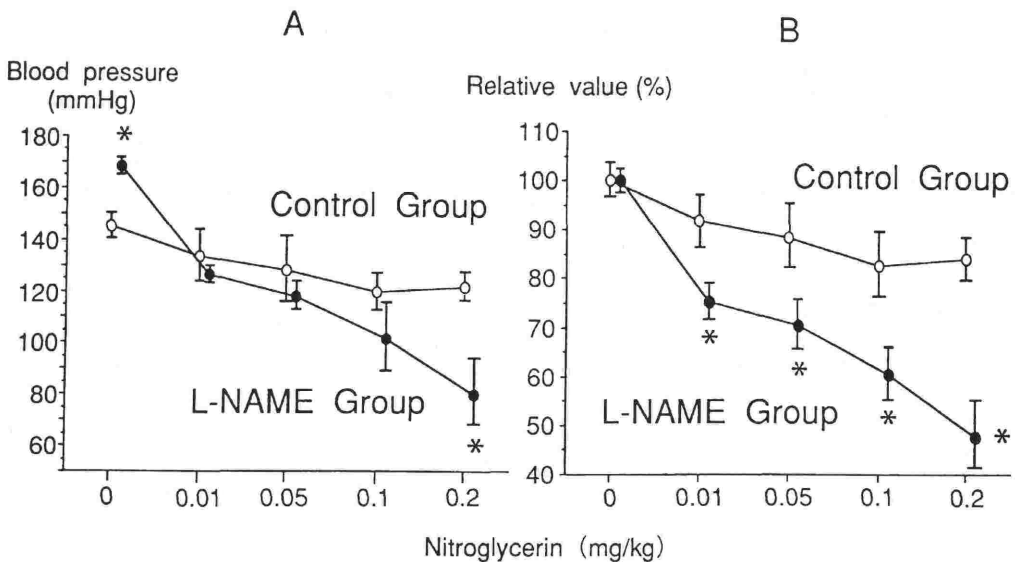


Figure 3. Systolic blood pressure after a bolus administration of nitroglycerin
 Data are mean \pm SD. Baseline value in L-NAME group was significantly higher than in control group (A). Systolic blood pressures in L-NAME group were significantly lower than in control group after the administrations of nitroglycerin (B). * $p < 0.05$, compared with control group.

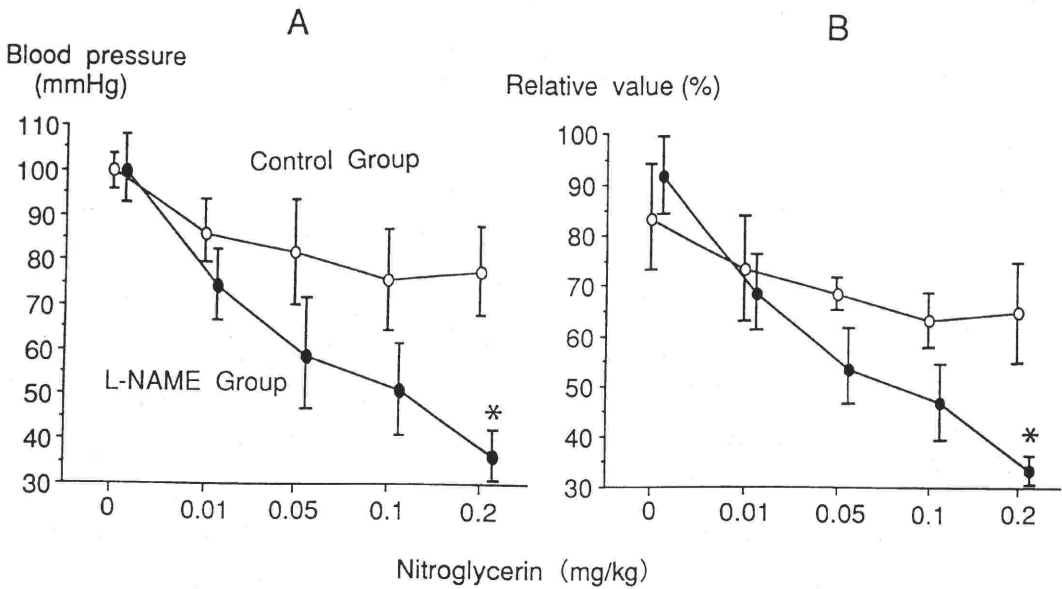


Figure 4. Diastolic blood pressure after a bolus administration of nitroglycerin

Data are mean \pm SD. Diastolic blood pressures in L-NAME group were significantly lower than in control group after the administration of 0.2 mg/kg of nitroglycerin (A, B). * $P < 0.05$, compared with control group.

群の収縮期血圧は対照群よりも有意に低下していた (Fig. 3 B). ニトログリセリンの0.2 mg/kg の投与では、拡張期血圧はL-NAME群で対照群に比し、実測値、相対値とも有意に低下していた (Fig. 4).

対照群では、ニトログリセリンによる血圧低下後に一過性の血圧上昇 (リバウンド現象) が認められたが、L-NAME群では認められなかった。また、ニトログリセリンによる血圧低下時間 (反応時間) も長かった (Fig. 5)。

L-アルギニンの300 mg/kgの投与では、L-NAME群で収縮期、拡張期血圧とも、対照群に比べ有意に低下していた (Fig. 6)。

考 察

今回の研究から、L-NAMEを用いて、内因性のNO合成を14日間抑制したウサギにニトログリセリンを投与しても、ニトログリセリンに対する血管弛緩反応は抑制されず、むしろ、その弛緩反応は対照群より過剰であった。これはNO合成阻害薬の静注により、一時的に内因性のNO合成を阻害した急性実験の結果とほぼ同様であった²⁾。

この過剰反応の原因として、内因性NO合成抑

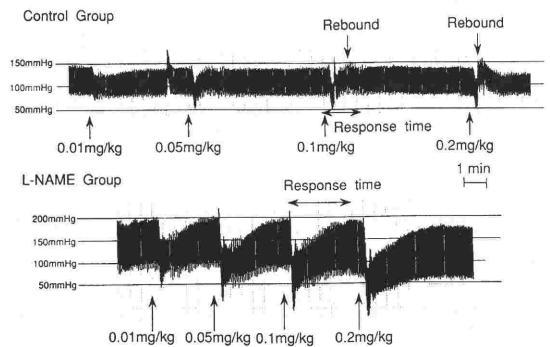


Figure 5. Systolic blood pressures after the bolus administrations of nitroglycerin in L-NAME and control animals

制による高血圧の関与が考えられる。確かに、L-NAME 10 mg/kg/dayの14日間の持続投与により、L-NMMA 100 mg/kgを雄ウサギに一回静注した結果⁵⁾とほぼ同程度の血圧上昇が見られていた。また、同様にラットにL-NAMEを添加した飲料水を飲ませると、実験的高血圧状態が引き起こされ、内因性のNO合成・放出の抑制が高血圧発症の一因となりうるとの報告もある⁶⁾。さらにNO合成抑制による内皮細胞障害、白血球の膠着、遊走は動脈硬化形成を促し、その結果血管内皮障害とそ

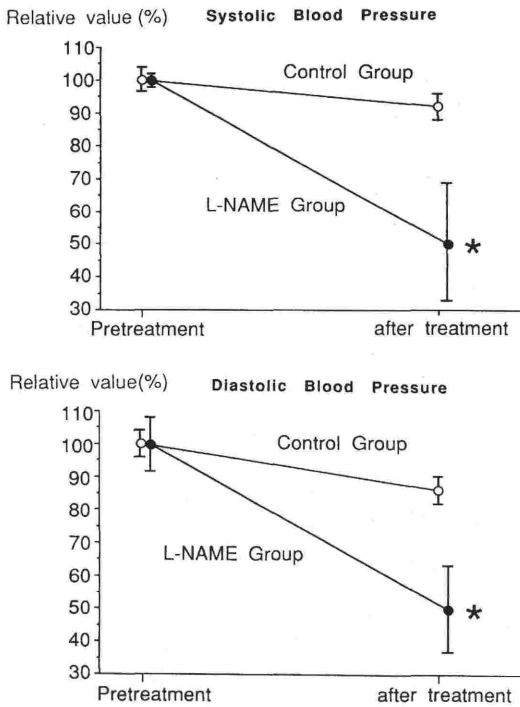


Figure 6. Effects of L-arginine on systolic blood pressure in L-NAME and control groups. Data are mean \pm SD. Systolic and diastolic blood pressures in L-NAME group were significantly lower than in control group after the administrations of 300 mm/kg of L-arginin (upper, lower) * $p < 0.05$, compared with control group.

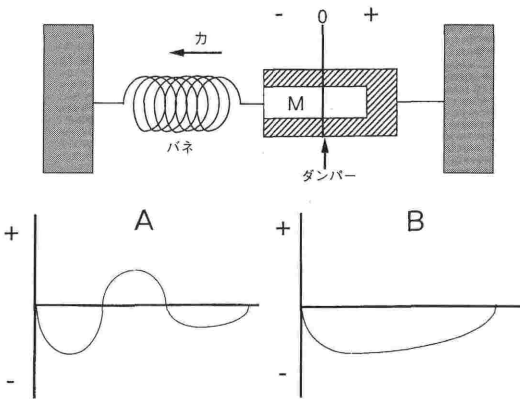


Figure 7. Schema for explanations of rebound phenomenon and potentiation of relaxation to nitroglycerin.

れに伴う血管の硬化が生じる。確かに、L-NAME 5 mg/kg/day を飲み水に加え、長期間飲ませると、腎の細動脈硬化が生じると報告されている⁵⁾。今回の研究では、動脈硬化については検討しなかったが、14日間の L-NAME 10 mg/kg/day の持続投与により、内因性の NO 合成は抑制され、血管壁の硬化を伴った高血圧状態になりつつあったと推測する。これらのことから、今回の研究で見られたニトログリセリンに対する過剰弛緩反応や 0.2 mg/kg のニトログリセリン静注による弛緩反応後のリバウンド現象が対照群で見られたが、L-NAME 群では見られなかった理由を Fig. 7 に示す系で説明できると考える。外部からの力により M (この M の動きは血圧変動) が動くときと仮定すると、この系にバネが存在するときには、Fig. 7 A に示すような減衰運動が起こり、バネの関与がない時には Fig. 7 B に示すような単純な運動が M に生じる。この M の動きは対照群で見られた血圧変動そのものであり、バネの関与のために血圧変動は時間とともに減衰していく (Fig. 7 A)。Fig. 7 B の動きは、L-NAME 群の血圧変動に類似している。つまり L-NAME が持続投与された血管はバネの関与がなくなった系に近く、そのため、L-NAME 群では血圧を一定に保つバネの役割が消失し、ニトログリセリンに対する血管の反応性が過剰となったものと考えられる。

ニトログリセリンを持続静注した場合には、対照群でもリバウンド現象が見られなかった。これは一回静注の場合よりも最初の M の動き (血圧変動) が小さかったためにリバウンド現象が生じなかったのかもしれない。事実、ニトログリセリンの 0.01 mg/kg と 0.05 mg/kg の一回静注の場合にはリバウンド現象は見られていない。

高血圧、動脈硬化等の病的状態で L-arginine による血圧低下の増強が報告されている。確かに、本研究でも対照群よりも L-NAME 群で、L-arginine による血圧低下が増強していた。この原因として、病的状態の血管内皮での L-arginine の利用障害が考えられている⁷⁾。しかし、L-arginine を前処理してもニトログリセリンの弛緩反応には差がなかったことから⁷⁾、ニトログリセリンの過剰反応を L-arginine の利用障害から説明することはできない。

以上をまとめると、持続的に L-NAME が投与

されたウサギに、ニトログリセリンを投与すると、血管の過剰弛緩反応が見られた。これらウサギは動脈硬化を伴った高血圧モデルと近似していることから、動脈硬化を有する高血圧患者へのニトログリセリンの投与は予期せぬ血圧の低下を招く危険性がある。

文 献

- 1) Palmer MJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginin. *Nature* 333 : 664-666, 1988
- 2) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43 : 109-142, 1991
- 3) 今井昭一: いわゆる亜硝酸化合物の血管拡張作用の機序. *医学のあゆみ* 148 : 71-74, 1989
- 4) Persson MG, Agvald P, Gustafsson LE: Detection of nitric oxide in exhaled air during administration of nitroglycerin in vivo. *Br J Pharmacol* 111 : 825-828, 1994
- 5) Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S: Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 3375-3378, 1989
- 6) Baylis C, Mitruka B, Deng A: Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 90 : 278-281, 1992
- 7) Pieper GM, Piltier BA: Amelioration by L-arginine of a dysfunctional arginine/nitric oxide pathway in diabetic endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol* 25 : 397-403, 1995

Vasodilative Action of Nitroglycerin in Rabbits with Chronic Blockade of Nitric Oxide Synthesis

Yutaka Yamazaki*, Keiji Enzan**, Kosei Otaka***
Yoshitsugu Tobe****, Yoko Masaki****, Akio Koizumi*****

Department of Anesthesiology, Yuri Kumiai Hospital*,
Department of Anesthesiology, Senboku Kumiai Hospital***,
Departments of Emergency Medicine**, Anesthesiology****, and Hygiene Medicine*****,
Akita University School of Medicine, Akita, Japan

To investigate the vasodilative action of nitroglycerin in white rabbits with chronic blockade of nitric oxide synthesis, the animals were divided into two groups. We infused N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) intraperitoneally for 14 days at the rate of 10 mg·kg⁻¹·day⁻¹ using an osmotic pump, and in control group infused saline at the same rate, and then, we compared the changes of systolic blood pressure after administration of nitroglycerin with the control group. Systolic blood pressure before administration of nitroglycerin in the L-NAME group was significantly higher than that in the control group (168.3 ± 2.9 mmHg, 145.0 ± 5.0 mmHg,

respectively). Diastolic blood pressure before administration of nitroglycerin in the L-NAME group was higher than that in the control group, but there was no significant difference. Systolic blood pressure after either a continuous infusion or a bolus injection of nitroglycerin in the L-NAME group was lower than that in the control group. Particularly, rebound phenomenon to vasodilation after a bolus injection of nitroglycerin was observed in the control group, but not in the L-NAME group. We conclude that nitroglycerin may cause the unexpected vasodilative action in the condition of chronic blockade of endogenous NO synthesis.

Key Word : Nitroglycerin, Nitric Oxide, Rabbit, Vasodilative response, Osmotic pump

(Circ Cont 17 : 554~559, 1996)