

フェンタニール麻酔イヌにおける一酸化窒素合成阻害薬 (N^G-nitro-L-arginine-methyl ester) の左室収縮能 および弛緩能の抑制

羽 染 直 樹*, 光 畑 裕 正*, 斉 藤 仁*
竹 内 晴 彦*, 清 水 禮 壽*

要 旨

一酸化窒素(NO)は循環器系の生理的調節機能において重要な役割を果たしている。NO合成酵素阻害薬N^G-nitro-L-arginine-methyl ester(L-NAME)を60 mg·kg⁻¹投与したときのフェンタニール麻酔イヌでの左室機能について検討した。左室収縮能、弛緩能の指標はそれぞれ左心内圧の上昇率の正の最大値(dP/dtmax), 左室等容拡張期の心内圧変化の時定数Tを用いた。平均動脈圧が有意に上昇し、心拍出量及び一回拍出量は有意に低下した。(dP/dtmax/平均動脈圧)は投与30分後、時定数Tは90分後に有意に抑制された。L-NAMEは左室収縮能および左室弛緩能を抑制した。

はじめに

一酸化窒素(NO)は、NO合成酵素(NOS)によりL-アルギニンのグアニド窒素が酸化されて合成されるフリーラジカルで内皮細胞由来血管拡張因子(EDRF)として血管内皮細胞より放出され、血圧の調節において重要な役割を果たしている^{1,2)}。また、神経細胞やマクロファージなどの細胞でも産生され、生体の生理的調節機構において重要な役割を果たしている³⁻⁵⁾。NOS阻害薬の投与によりペントバルビタール麻酔イヌでは末梢血管収縮および心機能抑制を起こし⁶⁾、また、Chuらは、慢性実験系での覚醒イヌを用いた実験で、N^G-monomethyl-L-arginineは13±2分を最大

として90分以上持続する冠血管収縮を観察し、NOが冠循環調節においても重要な役割をはたしていると報告している⁷⁾。NOS阻害薬の心血管系および局所臓器循環に対する作用についていくつかの報告がみられるが⁸⁻⁹⁾、*in vivo*での左室弛緩能に関する報告は見あたらない。それ故、NOS阻害薬投与時の左室機能、特に左室弛緩能に対する作用を明らかにすることを目的として研究を行った。

臨床使用濃度の吸入麻酔薬はNO介在性の末梢血管拡張作用を抑制すると報告されているため^{10,11)}、フェンタニール麻酔イヌを用い、NOS阻害薬である、N^G-nitro-L-arginine-methyl ester(L-NAME)投与後の左室収縮能および左室弛緩能を検討した。

方 法

本研究は当施設の実験動物取り扱い委員会の承認を受けた後に行った。雑種イヌ7頭(体重10-16 kg)を対象とした。麻酔の導入はペントバルビタール30 mg·kg⁻¹の静脈内投与にて行い、内径8.5 mmのカフ付気管内チューブを挿管した。パンクロニウム0.1 mg·kg⁻¹を投与して筋弛緩を得た後に、動物用人工呼吸器(Harvard® piston ventilator)を用いて、呼吸数を毎分8-15回とし終末呼気二酸化炭素分圧が35-40 mmHgとなるように1回換気量を設定し、100%酸素により換気した。調節呼吸開始後手術前に0.1 mgのフェンタニールを投与し、続いてフェンタニール10-15 μg·kg⁻¹·h⁻¹を実験終了まで投与した。動脈血ガス分析にて

*自治医科大学麻酔科学教室

PaO₂が100 mmHg以上に維持されていることを確認した。

心拍数 (HR) は心電図 (ECG) の II 誘導をモニタリングし、記録して求めた。収縮期動脈圧、拡張期動脈圧、平均動脈圧 (MAP) は、右大腿動脈から腹部大動脈内に挿入したカテーテル先端型圧トランスデューサー (Millar MIKRO-TIP[®] catheter pressure transducer, 7F, SPC-370, Millar Instruments, Houston, TX, USA) により測定した。

2本の肺動脈カテーテルを右外頸静脈より挿入し、各々の先端を肺動脈及び右心房内に留置して肺動脈圧 (PAP) 及び右心房圧 (RAP) を測定した。左大腿動脈内にポリエチレン・カテーテルを留置して動脈血を採決した。乳酸加リンゲル液投与のため右大腿静脈内にポリエチレン・カテーテルを留置した。

胸骨正中切開により開胸し、心膜を切開して心臓を露出し、pericardial cradleとした。次に大動脈起部から脂肪体を除去し、適切な大きさの電磁血流計 (FB-140T, 日本光電) を上行大動脈起始部に設置し、流量計 (MFW2100, 日本光電) に接続し、動脈血流量及び心拍出量 (CO) を連続的に測定した。カテーテル先端型圧トランスデューサー (Millar MIKRO-TIP[®] catheter pressure transducer, 6 F, SPC-360, Millar Instruments) を左室尖端の刺傷を介して左室内へ挿入し、左心室内圧 (LVP) を測定した。アナログデジタル変換器付アナログ分化回路装置 (Contractility Unit 1323, NEC 三栄) により LVP の上昇率 (dP/dt) を測定した。全てのデータは multichannel polygraph (NEC 三栄) により連続的に記録した。LVP, dP/dt および ECG のデータは multichannel photographic oscillograph (Visigraph[®] 5L37, NEC 三栄) に紙送り速度 50 cm·s⁻¹ で記録し、左室弛緩機能の指標として等容拡張期の左室内圧変化の時定数 (T) を計測した¹²⁾。鼻腔内体温をモニタリングし、外部保温装置により体温を 37°C 前後に維持した。

血行動態が安定した後、上記の各パラメーターを記録した。L-NAME (Cat. No. N-5751, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA) 投与直前の値を対照値として記録し、10 ml の生理食塩水に溶解した L-NAME 60 mg·kg⁻¹ を 30 秒間で静脈内に投与し、投与後 90 分まで連続的に記録した。実験終了まで乳酸加リンゲル液を 100 ml·kg⁻¹·h⁻¹ の速度に

て投与した。

一回拍出量 (SV) は、CO を HR で除することにより求めた。左室収縮能、弛緩能の指標はそれぞれ左心内圧の上昇率の正の最大値 (dP/dt_{max})、左室等容拡張期の心内圧変化の時定数 T を用いた。時定数 T は Weiss らの方法により求めた¹²⁾。時定数 T は片対数グラフの対数軸に LVP、横軸に時間 (msec) をとり、それぞれの値をプロットして得られる直線の勾配の負の逆数である。

全てのデータは平均±平均誤差で示し、統計検定は分散分析で行い、対のデータは Fisher's protected least significant different test を用いて検定した。危険率 p<0.05 を有意とした。

結 果

対照値に比較して、MAP は L-NAME 投与後 5 分から 60 分にかけて有意に上昇し、CO は 10 分から 90 分にかけて有意に低下した (図 1)。一方 HR には L-NAME 投与後 2 分より減少傾向を示したが、有意差がみられなかった。

RAP は投与後から 90 分後にかけて上昇傾向を示したが、有意差はなかった。(図 2)

LVEDP は投与後より 15 分後まで上昇傾向を示したが、15 分から 30 分にかけて減少し、45 分後に最低値を示し、その後 90 分にかけて上昇傾向を示したが、有意差はなかった (図 2)。

SV は対照値と比較して 30 分から 90 分にかけて有意に減少した (図 3)。dP/dt_{max} は 30 分まで変化を認めなかったが、30 分の時点で低下傾向を示した (図 3)。後負荷の影響を除くため用いたパラメータ dP/dt_{max}/MAP は、投与直後より徐々に低下し、30 分後に有意に低下した (図 4)。T 値は L-NAME 投与後徐々に延長し、90 分後には有意に上昇した (図 3)。

考 案

L-NAME は、他の報告^{6,8)}と同様に MAP を有意に上昇させ、また CO 及び SV を有意に低下させた。HR は減少傾向を示したものの有意差はみられなかった。HR に関しては、本結果と同様に、NOS 阻害薬はわずかな変化を起こすのみとする報告がある^{6,13)}一方、NOS 阻害薬は HR を減少させる報告がある^{8,14)}。NOS 阻害薬の心拍数に関する作用は議論のあるところである。

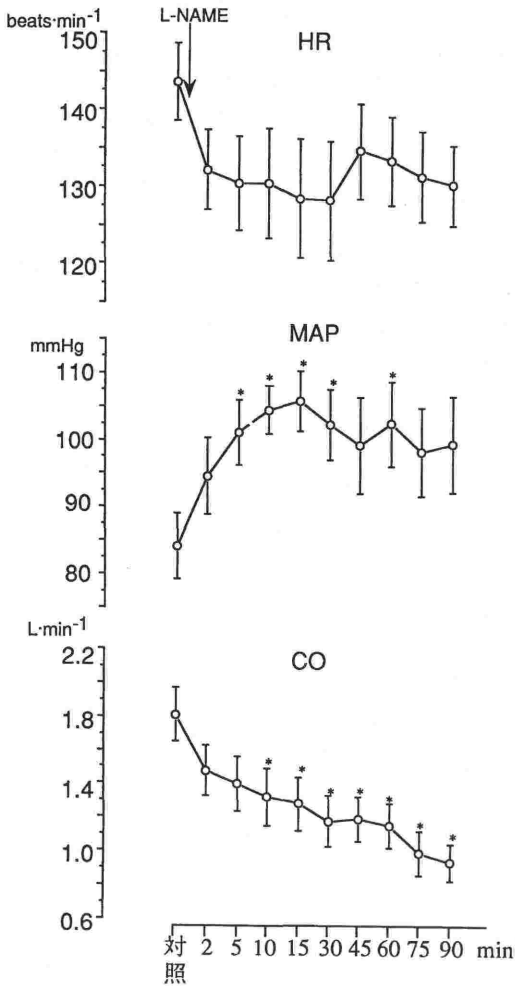


図1 心拍数 (HR), 平均動脈圧 (MAP) 及び心拍出量 (CO) の変化データは平均±平均誤差で示す。
*対照値 (L-NAME 投与直前の値) に対して危険率 $p < 0.05$ にて有意

CO は, L-NAME 投与後10分から有意に抑制された. この投与後早期の CO の低下は, (1) dP/dt が対照値に比べほとんど変化のないこと, (2) LVEDP が平均 2 mmHg のわずかな変動であることおよび (3) HR と SV が有意な変動ではないことより, 心収縮力の抑制よりは後負荷の急激な上昇により引き起こされたものと考えられる. Gardiner らも⁸⁾ラットによる実験において 0.1~10 $mg \cdot kg^{-1}$ の L-NAME の投与後の総末梢コンダクタンスの低下による後負荷の増加により, その直接的な作用により CO が低下することを明らかにし

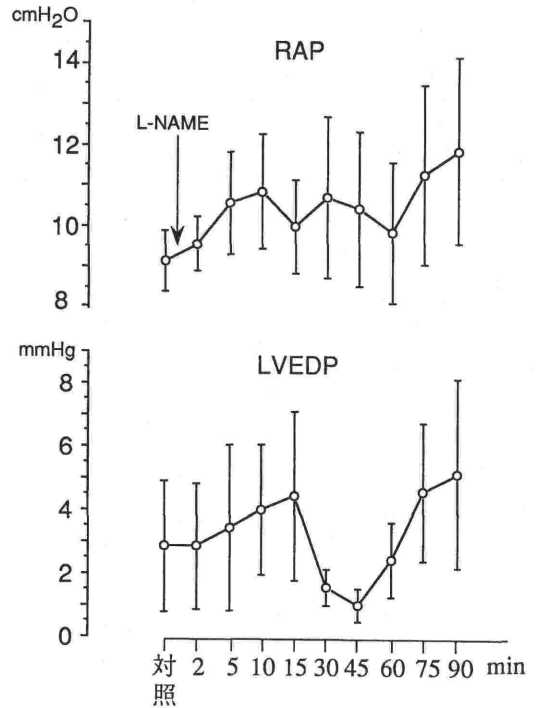


図2 右心房圧 (RAP) 及び左室拡張終期圧 (LVEDP) の変化

ている.
L-NAME 投与30分以後の SV の有意の減少は心拍数の大きな変化のないことと後負荷の影響を除いたパラメーター $dP/dt_{max}/MAP$ の有意な低下より, 後負荷の上昇とともに左室収縮能の低下によるものと推測できる. しかし, $dP/dt_{max}/MAP$ の有意な低下は30分時点のみであり, LVEDP の低下が同時点でみられることより, 前負荷の減少が dP/dt_{max} の減少を引き起こしている可能性も否定できない. しかしながら, 30分以後の LVEDP の変動と dP/dt_{max} の変動が一致していないこと, また HR の変動がわずかであるにも拘わらず, SV が90分にかけて持続的に有意に低下していることより, CO の減少が前負荷の減少のみでは説明することができなく, 左室収縮能の抑制が存在することが示唆される. 今回の結果と同様に Klabunde らは⁶⁾, ペントバルビタール麻酔イヌを用いた実験から NOS 阻害薬 N^G -monomethyl-L-arginine (NMA) $100 mg \cdot kg^{-1}$ 投与による心収縮力の抑制は左室前負荷の影響のみで説明することはできなく, 有意ではないが dP/dt の減少がみられ

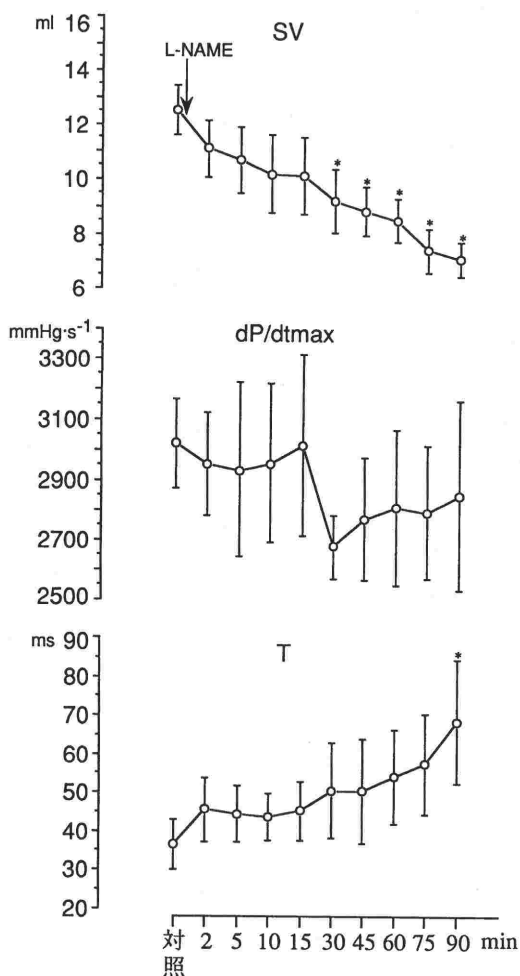


図3 一回拍出量 (SV), 左室内圧の上昇率の最大値 (dP/dt max) 及び時定数 T の変化
*対照値 (L-NAME 投与直前の値) に対して危険率 p<0.05にて有意

たことより左室収縮力の障害によると推測している。Chuら⁷⁾はNMAの投与ではdP/dtの減少は観察されなかったと報告しているが、投与量が5mg·kg⁻¹と少量であるためdP/dtの減少がみられなかったと考えられる。L-NAMEはNMAに比較して約10倍の効力があるため⁸⁾、本実験で使用したL-NAME 60mgはNMAの600mgに相当し、Klabundeらの実験で使用した以上の投与量を用いて行ったことになる。また、Gardinerら⁸⁾もSV、胸部大動脈流量の上昇率 (dF/dt) の正の最大値 (+dF/dtmax) および最大大動脈流量の著明な減少が同時にみられることより、L-NAME投与によ

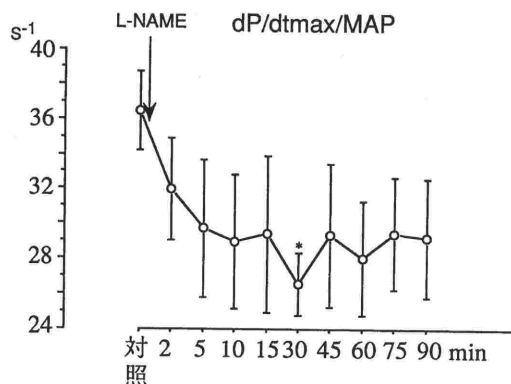


図4 dP/dt max/MAP の変化
*対照値 (L-NAME 投与直前の値) に対して危険率 p<0.05にて有意

り負の変力作用があると報告している。

L-NAMEの左室弛緩能に対する作用に関しては著者らの知る限り報告はされていない。T値は、実験動物間での測定値のばらつきが大きいため、L-NAME投与30分以後の徐々に延長しているが、90分後にしか有意の延長はみられなかった。しかし、少なくともL-NAME投与により90分後には左室弛緩能が抑制されていたことは明らかにできた。本研究は90分で実験を終了しているが、L-NAMEの心循環系に対する作用は2時間以上持続することが報告されているので⁸⁾、90分以後観察を続ければ左室弛緩能の抑制がより明らかにできた可能性が考えられる。

本研究の結果からL-NAMEが左室収縮能および左室弛緩能を抑制することを明らかにできた。左室収縮能および左室弛緩能の抑制の機序としては、NOS阻害薬が冠血管収縮をおこすことより^{9,15)}、NOS阻害薬の末梢血管収縮作用による後負荷の増加と冠血流量の低下によることが推測される。

本研究は開胸下で行い、また実験準備として大動脈起始部への電磁血流計の装着や左室先端部から左室内へのカテーテル留置など比較的大きな手術侵襲がある実験設定であるが、現在まで同様な実験設定でいくつかの報告をしている^{16~18)}。本研究においても循環動態が十分安定してから測定を開始しているため、急性動物実験としての結果として考察に耐えるものであると考えられる。しかし、本研究の結論は、あくまでこのように比

較的侵襲の大きな実験条件下での成績に基づくものであることを留意しておく必要がある。

L-NAME とその光学異性体である D-NAME は、L-NAME に見られる NO 産生阻害による血管収縮作用を持たないことが確認されている⁸⁾。D-NAME は左室機能に対する影響がないことが推測できたとしても、厳密な意味では D-NAME 投与群との比較もする必要があったと考えられる。しかし、対照群としての D-NAME 投与群との比較を行わなかったことが、投与前値との比較の結果である本研究の結論には大きな影響は与えないものと考えられる。

結 論

フェンタニール麻酔イヌにおいて、L-NAME は MAP の上昇と CO の減少を起こす。L-NAME は左室収縮能および左室弛緩能を抑制することで、直接的な負の変力作用を示した。この負の変力作用が CO の減少の要因の1つとして考えられる。フェンタニール麻酔イヌにおいて、NO は心血管系の調節に関して重要な役割を担っていることが考えられる。

文 献

- 1) Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, et al: Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 15: 486-492, 1990
- 2) Wang YX, Pang CY: Pressor effect of N^G-nitro-L-arginine in pentobarbital-anesthetized rats. *Life Sci* 47: 2217-2224, 1990
- 3) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *P Reviews* 43: 109-134, 1991
- 4) Moncada S, Higgs EA: Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 21: 361-374, 1991
- 5) Lowenstein CJ, Snyder SH: Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell* 70: 705-707, 1992
- 6) Klabunde RE, Ritger RC, Helgren MC: Cardiovascular actions of inhibitors of endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) formation / release in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol* 199: 51-59, 1991
- 7) Chu A, Chambers DE, Lin C-C, et al: Nitric oxide modulates epicardial coronary basal vasomotor tone in awake dogs. *Am J Physiol* 258: H1250-1254, 1990
- 8) Gaidiner SM, Conpton AM, Kemp PA: Regional and cardiac hemodynamic effects of N^G-nitro-L-arginine-methyl ester in conscious, Long Evans rats. *Br J Pharmacol* 101: 625-631, 1990
- 9) Humphries RG, Carr AK, Nicol AK, et al: Coronary vasoconstriction in the conscious rabbit following intravenous infusion of L-N^G-nitro-L-arginine. *Br J Pharmacol* 102: 565-566, 1991
- 10) Johns RA: Endothelium, anesthetics, and vascular control. *Anesthesiology* 79: 1381-1391, 1993
- 11) Hart JH, Jing M, Bina S et al: Effects of halothane on EDRF/cGMP-mediated vascular smooth muscle relaxations. *Anesthesiology* 79: 323-331, 1993
- 12) Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML: Hemodynamic determinants of the time-course of fall in canine left ventricular pressure. *J Clin Invest* 58: 751-760, 1976
- 13) Bower EA, Law ACK: The effects of N^w-nitro-L-arginine methyl ester, sodium nitroprussid and noradrenaline on venous return in the anaesthetized cat. *Br J Pharmacol* 108: 933-940, 1993
- 14) Rees DD, Palmer RMJ, Scholz R, et al: Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 101: 746-752, 1990
- 15) Amezcua JL, Dusting GJ, Palmer RMJ, et al: Acetylcholine induces vasodilation in the rabbit isolated heart through the release of nitric oxide, the endogenous nitrovasodilator. *Br J Pharmacol* 95: 830-834, 1988
- 16) Mitsuhashi H, Hasome H, Saitoh J, et al: Evaluation of left ventricular diastolic function in IgE-mediated anaphylaxis in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 39: 791-796, 1995
- 17) Mitsuhashi H, Saitoh J, Takeuchi H, et al: An inhibitor of the nitric oxide synthase N^w-nitro-L-arginine-methyl ester attenuates hypotension but does not improve cardiac depression in anaphylaxis in dogs. *Shock* 3: 447-453, 1995
- 18) Saitoh J, Mitsuhashi H, Takeuchi H, et al: In vivo production of nitric oxide in the canine heart in IgE-mediated anaphylaxis. *Shock* 1996 (in press)

A Nitric Oxide Synthase Inhibitor, N^G -nitro L-arginine-methyl ester, Inhibits Left Ventricular Systolic and Diastolic Function in Fentanyl-anesthetized Dogs

Naoki Hasome*, Hiromasa Mitsuata*, Jin Saitoh*,
Haruhiko Takeuchi* and Reiju Shimizu*

*Department of Anesthesiology, Jichi Medical School, Minami Kawachi, Tochigi, Japan

Nitric oxide (NO), synthesized from the terminal guanidino nitrogen atom of L-arginine by a constitutive nitric oxide synthase in vascular endothelial cells, plays an important role in the physiological regulation of blood flow and blood pressure. We assessed the effect of a nitric oxide synthase inhibitor, N^G -nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME), on left ventricular (LV) systolic and diastolic function in fentanyl-anesthetized dogs. The maximum rate of rise of LV pressure (dP/dtmax) and the time constant of the fall of isovolumic LV pressure (T) were measured as indices of LV systolic function and diastolic function, respectively. T is the inverse negative of the slope of the line

obtained by plotting the natural logarithm of the fall in LV pressure beginning at maximum negative dP/dt to the level of LV end-diastolic pressure against time. L-NAME significantly increased mean arterial pressure (MAP) and significantly decreased cardiac output and stroke volume. L-NAME significantly inhibited dP/dtmax/MAP (To correct the effects of afterload on dP/dt, the variable was calculated as dP/dtmax divided by MAP) at 30 min, and significantly increased T at 90 min after the administration. In conclusion, L-NAME depresses both LV systolic and diastolic function in fentanyl-anesthetized dogs.

Key Words : N^G -nitro-L-arginine-methyl ester, Fentanyl, The time constant, dP/dtmax

(Circ Cont 18 : 30~35, 1997)