

敗血症性ショック初期動物モデルにおける 心筋 β アドレナリン受容体を介した 陽性変力作用減弱に関する検討

松田直之*, 丸藤 哲*, 服部裕一**
菅野盛夫**, 劔物 修*

要 旨

敗血症性ショックにおける血圧低下の主因は、Nitric oxide (NO) の過剰産生により血管拡張が生じるためと考えられてきた。しかしながら、敗血症性ショックで認められる心収縮性低下が敗血症のどの時期より、どのような機序で生じるかについては、いまだ十分な解明が得られていない。本研究では、初期敗血症モデルとして lipopolysaccharide (LPS) 100 μ g/kg を静脈内投与したウサギを用いて、摘出乳頭筋標本での isoproterenol による陽性変力作用を検討した。その結果、乳頭筋標本の基礎収縮力に対照群と敗血症群に差は見られなかったが、LPS 投与3時間後で既に isoproterenol による濃度反応曲線が右方移動し、さらに6時間後では最大反応が減弱した。この陽性変力作用減弱は、N^G-nitro-L-arginine (L-NNA) 前処置により NO 産生を阻害しても改善されず、また、受容体結合飽和実験より求めた β アドレナリン受容体数や親和性に低下を認めなかった。敗血症では病初期より陽性変力作用の減弱が生じており、その原因として過剰に産生された NO 以外の要因が関与する。 β アドレナリン受容体数の変化よりむしろ受容体とその情報伝達系のカップリングが障害されている可能性が考えられる。

はじめに

敗血症性ショックにおける血圧低下の原因は、inducible nitric oxide synthetase (iNOS) の活性化により NO が過剰産生され、血管拡張反応が生じるためであると考えられてきた^{1,2)}。一方、敗血症が進行した状態では、心収縮性が低下することも知られている^{3,4)}。敗血症における心収縮性低下は敗血症のどの時期に、どのような機序で生じ、血圧低下に関与してくるのかは、いまだ十分な解明が得られていない。

近年、NO は血管平滑筋への弛緩作用のみならず、心機能調節機構を持つことが示唆されている。NO は心筋収縮を濃度依存的に二相性に変化させることが知られている。低濃度ではphosphodiesterase を抑制することで cyclic AMP を増加させて心筋収縮力を増加させ⁵⁾、高濃度になると直接的に心収縮力を抑制する⁶⁾ことが単離心筋細胞や Langendorff 心で認められている。敗血症性ショックでは NO が過剰に産生されることから、NO 過剰産生で心収縮性低下を説明しようとするいくつかの報告があり、iNOS の抑制により心収縮性の改善が得られた⁷⁾という知見はこれを支持している。しかしながら、敗血症性ショックの際に増加してくる種々のサイトカインは、直接作用として陰性変力作用を持つ^{8~10)}ことが知られており、必ずしも NO 過剰産生が心収縮力減弱の主たる要因とはいえないかもしれない。さらに、NO、活性酸素、LPS、tumor necrosis factor- α (TNF- α) や interleukins などによる直接的な陰性変力作用のみ

*北海道大学医学部麻酔学講座

** 同 情報薬理学講座細胞薬理学分野

ならず、これらにより、あるいは、別な機序により、二次的に誘導された細胞内情報伝達系の障害に基づく可能性も否定できない。NOと活性酸素により生じた peroxynitrites は、心筋のエネルギー代謝を抑制することも示唆されている¹¹⁾。Peroxynitrites は種々のタンパク質のチロシン残基をニトロ化し、ニトロチロシンを生成するため¹²⁾、ニトロ化を受けた標的タンパク質の機能修飾が細胞内情報伝達系を傷害し、それが心筋収縮性低下を引き起こす可能性がある。また、敗血症の進行した状態では、血中カテコラミン濃度が上昇することも知られており¹³⁾、高カテコラミン血症に基づく心筋障害を併発する可能性もある。このように、敗血症性ショックの進行により、心収縮力低下を生じさせる機序は、様々な要因が関与してくと考えられる。

本研究では、敗血症性ショック初期に着眼し、そのモデルとして lipopolysaccharide (LPS) 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内に投与したウサギを用いた。このモデルから摘出した右室乳頭筋におけるカテコラミンによる陽性変力作用を対照と比較検討し、カテコラミンの反応性がどのように変化しているかを検討した。本研究により、敗血症性ショック初期より既に陽性変力作用が減弱していることを見だし、さらにこの機序を明らかにすることで敗血症性ショックの循環動態機構を知る糸口にしようと考えた。

研究方法

(1) 敗血症動物の作成

New Zealand 白色ウサギ (体重 2 - 2.2 kg) に、endotoxin (E.coli 055 : B5 LPS No.8 B, List Biological Laboratories Inc, Campbell) 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 3 ml の 0.9% 生理的食塩水に溶かし、緩徐に耳静脈より静脈内投与し敗血症を作成した。対照群には、溶媒のみを投与した。

(2) 循環動態の測定

エーテル麻酔下に、右耳静脈より 22 G 静脈留置カテーテル (Becton DickinsonTM H-2895 A) を用いて、静脈路を確保した。また、耳動脈の発達したウサギを選び、左耳動脈と腹部大動脈に 22 G 静脈留置カテーテルを挿入し、Surgical Monitoring System (日本光電TM) にて、血圧と心拍数の持続測定を行った。閉腹後、血圧の安定を目安に、

LPS 投与を行った。

(3) 乳頭筋標本における収縮張力の測定

エーテル麻酔下に摘出した右室乳頭筋標本を、95%酸素 - 5%二酸化炭素の混合ガスを通気している液量 10 ml の器官槽に懸垂した。栄養液は Krebs-Henseleit 液 (NaCl 143.9; KCl 4.8; CaCl 2.5; MgSO₄ 1.2; KH₂PO₄ 1.2; NaHCO₃ 24.9; glucose 10.0 mM. pH 7.4) を使用し、液温を 32°C に維持した。乳頭筋の一端は張力トランスデューサ (日本光電TM TB-612 T) に絹糸で結合し、約 0.5 g の静止張力を負荷した。標本には持続 5 msec で拡張期刺激閾値の 1.5 倍の強さの矩形波を双極白金電極を通じて電気刺激装置およびアイソレタ (三栄測器TM 3F46, 5361) より 1 Hz の頻度で与えた。電氣的に駆動している乳頭筋標本の収縮を張力トランスデューサおよび前置増幅器 (日本光電TM PR5) を介し、ペン書きレコーダ (日本光電TM RTG-3026) に記録した。電氣的に駆動しながら、60 分以上放置し、収縮の安定した時期より実験を開始した。

乳頭筋標本には、isoproterenol を 10⁻¹⁰M から 10⁻⁶M まで累積的に作用させた。栄養液で充分洗浄した後に、さらに Ca²⁺ を累積的に 2.5 mM より 9.0 mM まで投与し、その最大反応により、isoproterenol により得られた収縮張力の諸値を補正し、% contraction とした。得られた陽性変力作用の濃度反応曲線より、最大反応および EC₅₀ 値を求め、この EC₅₀ 値より pD₂ 値 (-logEC₅₀) を得た。

いくつかの乳頭筋標本においては、器官槽内にあらかじめ L-NNA 100 μM を投与し、その後、isoproterenol を累積的に作用させた。L-NNA を加えない対照群との比較検討を行った。実験内容および詳細は isoproterenol に対する陽性変力作用の測定に準じた。

(4) 膜標品の作成

エーテル麻酔下に、ウサギより心臓を摘出し、直ちに pH 7.4 に調整した冷却 Tris 緩衝液 (Tris 75; MgCl₂ 25; EGTA 5; EDTA 1 mM) 中で心房、大血管および血液を除去した。得られた心室筋を鉏で細切した後、ホモジナイザを用いて 15 秒間摩砕し、さらに高速冷却遠心器 (日立TM 20 PR-5) で 4°C, 1000 × g で 10 分間遠心分離し、上清を得た。沈殿を Tris 緩衝液に再浮遊させ、再度同一

条件で遠心分離し、上清を得た。両上清をあわせて超遠心器(日立TM70P-73)を用いて4℃, 100,000×gで30分間遠心分離し、得た沈殿をTris緩衝液に浮遊し再度同一条件で分離して、膜標品を得た。膜標品は蛋白濃度が1-2mg/mlになるようにTris緩衝液に再浮遊させ、実験まで-80℃に保存した。蛋白定量はウシ血清アルブミンを標準として、Lowryの方法¹⁵⁾で行った。

(5) [¹²⁵I]-iodocyanopindlol ([¹²⁵I]-ICYP) 結合飽和実験

[¹²⁵I]-ICYP (2046-2167 Ci/mmol) の膜標品への結合を急速濾過吸引法で測定した。Tris緩衝液(Tris 50; MgCl₂10 mM, pH 7.4) に一定蛋白量の膜標品100 μl および25-6400 pM の [¹²⁵I]-ICYP (New England NuclearTM) を加え37℃で30分間インキュベートした。その後、氷冷したTris緩衝液 5 ml を加え、直ちに Whatman GF/C フィルタで吸引濾過し、さらに、同フィルタを氷冷したTris緩衝液で3回洗浄した。フィルタ上に残存する放射活性は、ガンマカウンタ(アロカTM ARC 600) で測定した。非特異的結合は10 μM propranolol 存在下で同様の実験を行い求めた。以上より得られた結果より、Scatchardの方法¹⁶⁾を用いて、解離定数(K_D) および最大結合(B_{max}) を求めた。

(6) 統計学的検討

得られた諸値はすべて平均値±標準誤差で示した。統計学的検討は、三群間の比較に一元配置分散分析を使用し、有意差を認めた場合は、ポストホックテストとしてSheffe検定を用いた。二群間の検討には、対応のある、あるいは、対応のないStudent's t testを用いた。いずれの場合も、危険率5%未満を統計学的に有意差ありとした。

実験結果

(1) 血行動態の観察

LPS投与前の血圧(収縮期血圧/拡張期血圧)および心拍数の基礎値(n=4)は116±0.2/62±0.3 mmHg, 258±0.3/分であった。LPS投与5分後より約40分間、心拍数には変動が見られなかったが、一過性の血圧低下(80±0.3/55±0.2 mmHg)が生じた。LPS投与の3時間後に、再び持続する血圧低下(87±0.3/58±0.2 mmHg)が生じ、この時期より心拍数は増加し、LPS投与4時間後には、

320±0.3 bpmに固定した。LPS投与の6時間後より、極度の低血圧(66±0.3/52±0.2 mmHg)が持続し、LPS投与後7時間を過ぎると、耳動脈での血圧測定は不可能となった。この時点での、腹部大動脈血圧は58±0.3/47±0.2 mmHgであった。LPS投与後の循環動態を記録した典型例を図1に示す。実験に用いたウサギはすべて、24時間以内に死亡した。

(2) isoproterenolによる陽性変力作用

ウサギ乳頭筋標本を1 Hzで電氣的に駆動した際の基礎収縮力は対照群(312 mg±34; n=10)、敗血症3時間群(298±37 mg; n=10)、敗血症6時間群(286 mg±31; n=10)と差を認めなかった。この乳頭筋標本にisoproterenolを累積的に投与すると、各群ともに収縮力は濃度依存的に増加したが、その濃度反応曲線は敗血症3時間群で有意に右方移動が見られ、また、最大反応は敗血症6時間群で低値を示した(図2)。すなわち、isoproterenolの最大反応は対照群で224±25% (n=5)、敗血症3時間群で222±15% (n=5)であったのに対し、敗血症6時間群では128±10% (n=5)と有意に低下した(p<0.01)。また、pD₂値は対照群が8.55±0.07であるのに対し、敗血症3時間群で8.10±0.02 (p<0.01)、敗血症6時間群で8.03±0.01 (p<0.01)と、敗血症により有意な感受性低下を示した。

L-NNA前投与においても、isoproterenolの最大反応は、対照群で212±22% (n=5)、敗血症3時間群で207±16% (n=5)、敗血症6時間群で120±11% (n=5)と、L-NNAを無処置の場合

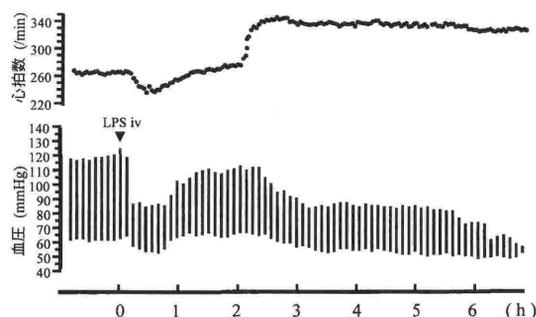


図1 Lipopolysaccharide (100 μg/kg) をウサギに静脈内投与した際に見られた血圧および心拍数変動の典型例

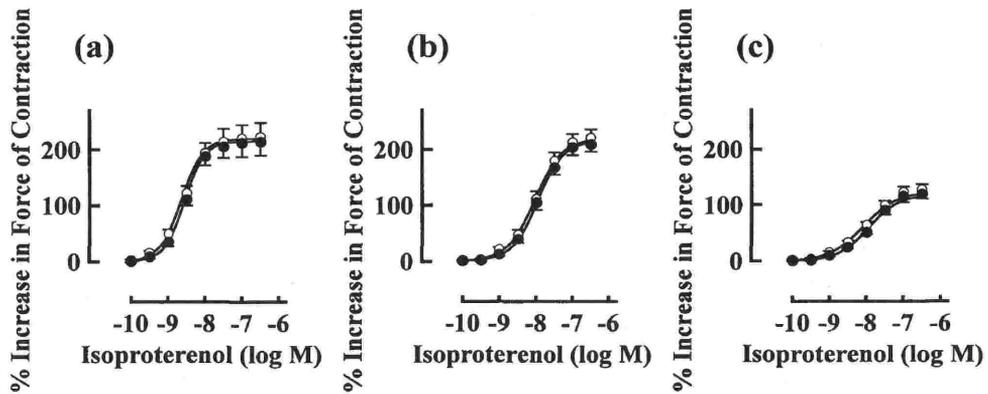


図2 (a) 対照群 (b) 敗血症3時間群および (c) 敗血症6時間群より作成したウサギ乳頭筋標本における isoproterenol の濃度反応曲線および L-NNA の影響 (○: L-NNA 未処置群, ●: L-NNA 前処置群)

と各群において差が認められなかった。また、 pD_2 値も対照群で 8.48 ± 0.09 、敗血症3時間群で 8.06 ± 0.04 、敗血症6時間群で 7.96 ± 0.03 と、L-NNAを前投与しない群と差が認められず、L-NNAの前処置により、敗血症乳頭筋での isoproterenol による陽性変力作用減弱の回復は見られなかった(図2)。

(3) [^{125}I]-ICYP 結合飽和実験

心室筋標品における [^{125}I]-ICYP 結合飽和実験より得られた、対照群および敗血症3時間群、敗血症6時間群の濃度結合曲線の典型例を図3に示す。 [^{125}I]-ICYP の特異的結合は、対照群、敗血症3時間群、敗血症6時間群ともに飽和性であり、Scatchard プロットを行うと、それぞれ相関係数 -0.9840 、 -0.9685 、 -0.9853 で、直線に回帰することができた。対照群および敗血症3時間群、敗血症6時間群の [^{125}I]-ICYP に対する最大結合能 B_{max} は各々 152 ± 23 ($n=5$)、 139 ± 9 ($n=5$)、 162 ± 17 ($n=5$) fmol/mg protein で、各群間に差を認めず、解離定数 (KD) もそれぞれ、 52 ± 12 、 48 ± 6 、 51 ± 13 nM と、各群間に差を認めなかった。

考 察

本研究は敗血症性ショック初期モデルとして、LPSを少量投与したウサギを用い、敗血症性ショック初期段階で、既にカテコラミンによる陽性変力作用が減弱していることを乳頭筋標本を用いて示

した。さらに、このモデルにおける陽性変力作用減弱は、 β アドレナリン受容体の数や親和性の低下によらず、また、これまで敗血症性ショックの主たる誘導因子とされてきたNOの直接的な作用を介さずに生じていることを明らかにした。

現在、様々な敗血症モデルが提示されているが、これまでの多くのエンドトキシン投与による敗血症性ショックモデルは、ヒトでの敗血症性ショックを必ずしも反映していないという指摘がある¹⁴⁾。これまで心筋収縮性の変化を論じた多くの報告は、動物へのエンドトキシンを1 mg/kg以上の大量静脈内投与としており、エンドトキシン投与後より心拍出量の減少、体血管抵抗の増大を示し、warm shockを模倣できず、ヒト敗血症の進行した状態に合致しないと考えられる。通常、ヒト敗血症ではエンドトキシン濃度が 1000 pg/mlを越えることは珍しく、体血管抵抗はNO産生過剰に伴い低下し、代償性に心拍出量は保たれている。現在、ヒトの敗血症状態に近いモデルとして、エンドトキシンを浸透圧ポンプで持続投与するモデル¹⁷⁾、腹腔内へ投与するモデル¹⁸⁾、そして μ g/kgレベルの少量静脈内投与モデル¹⁴⁾が知られている。これらでは、体血管抵抗の低下、心拍出量の維持というヒト敗血症初期に近い状態が得られている。本研究では、敗血症性ショック初期状態を模倣する目的で、LPSの静脈内投与量を 100 μ g/kgと比較的少量とした。本投与量では、LPS投与の6時間後まで、直腸温と耳で測定した末梢温との温度

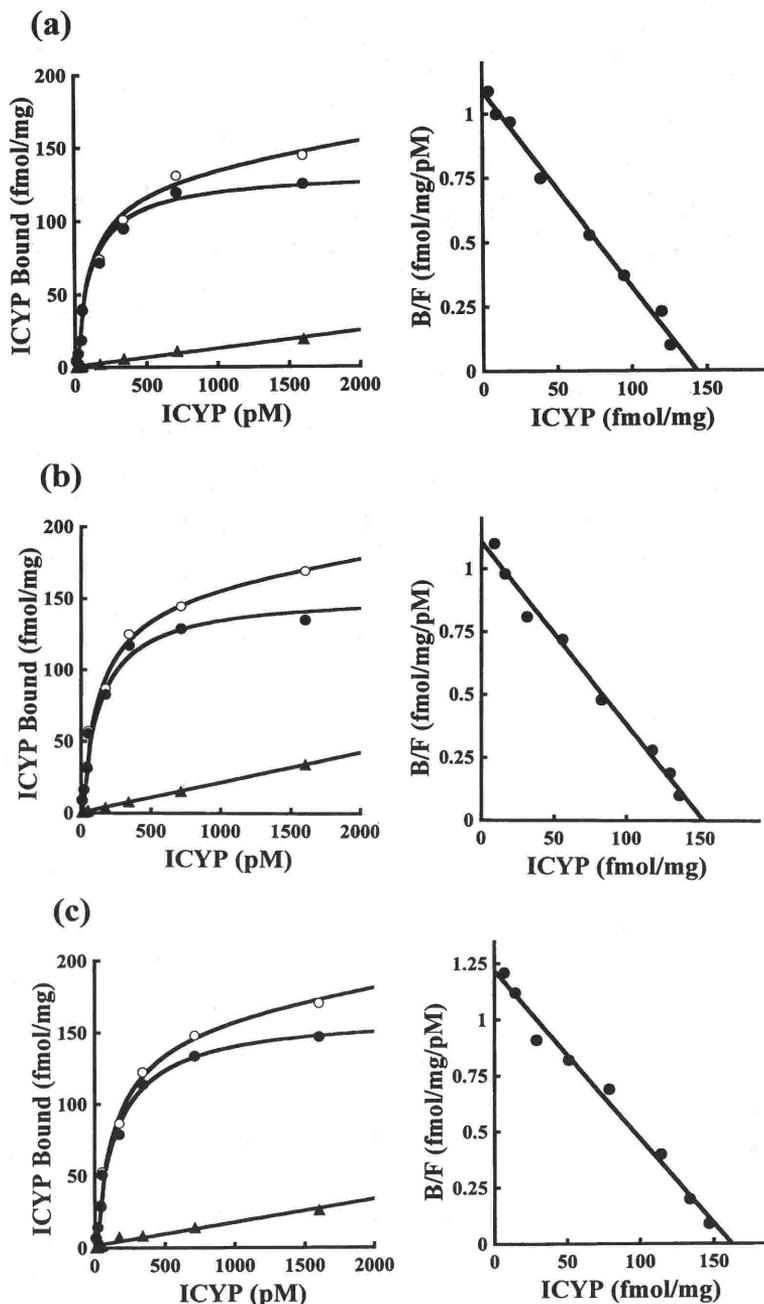


図3 (a) 対照群 (b) 敗血症3時間群および (c) 敗血症6時間群より作成したウサギ心室筋標品に対する $[^{125}\text{I}]$ -ICYP の結合曲線 (左図) (○: 全結合, ●: 特異的結合, ▲: 非特異的結合) と Scatchard プロット (右図)

解離が, LPS 投与前と比較し増大しなかった (松田ら: 未発表データ)。したがって, 本投与量により, 投与後少なくとも6時間まで, warm shock を模倣できると考えられる。

こうした敗血症初期モデルにおいて, 耳動脈で測定した血圧は, LPS 投与の3時間後で既に持続する低血圧が認められ, さらに, 6時間後では血圧測定が困難となった。この血圧の2変化点で,

摘出乳頭筋標本での isoproterenol による陽性変力作用が減弱していた。すなわち、warm shock において既に、カテコラミンに対する感受性が低下し、さらに敗血症性ショックの進行とともに、その最大反応が低下することを認めた。この原因として、持続する低血圧により心筋細胞に虚血性変化が生じたことが懸念される。しかし、この2時点より摘出した乳頭筋標本の基礎収縮力には、対照群と差が見られなかった。また、プロスタグランジン E₁ (0.02–0.1 μg/kg/min) を耳静脈より持続投与し、敗血症群と類似する血圧低下を生じさせた低血圧ウサギモデルから摘出した乳頭筋標本でも、3時間群、6時間群ともに、isoproterenol による陽性変力作用には、対照群と差を認めなかった(松田ら：未発表データ)。これらの結果から、血圧低下のために収縮蛋白に虚血性変化が生じ、敗血症群で陽性変力作用が減弱したとは考えにくい。本研究は、こうした心筋虚血以外のメカニズムで、敗血症性ショック初期において既に陽性変力作用が減弱されることを示唆する。

著者らはこれまで、細胞内情報伝達系の変化を、糖尿病ラットを用いて報告しており^{19,20)}、今回、同様な観点から敗血症モデルで、βアドレナリン受容体結合実験を行った。しかし、少なくとも敗血症性ショック初期段階では、βアドレナリン受容体数およびその親和性には変化を認めなかった。すなわち、カテコラミンの陽性変力作用が減弱する機序として、βアドレナリン受容体下流の情報伝達系が変化している可能性が予測される。本研究結果は、臨床においてカテコラミンを使用しても、心収縮力増強効果は十分に得られないことを示唆している。敗血症での末梢血管抵抗の減弱は心臓の後負荷を減弱させることで、むしろ、心臓の観点から見ると、敗血症初期状態から生じる心収縮性低下を補うように働いていると考えられる。本研究では、LPS 投与の3時間後および6時間後では血中カテコラミン濃度に対照群との差を認めなかったものの、8時間後では対照群に比較して有意なカテコラミン値の上昇(血漿 dopamine 値：328±36 vs. 78±9.8, 血漿 noradrenaline 値：972±32 vs. 358±25, 血漿 adrenaline 値：633±30 vs. 167±19 pg/ml, n=4) が認められた。敗血症性ショック中期もしくは後期では血中カテコラミン濃度の上昇のためにβアドレナリン受容体数や親

和性が低下してくる可能性があり、敗血症初期治療での過量のカテコラミン持続投与は、心筋細胞に対して、むしろ、その後の病態を増悪させる可能性がある。

敗血症性ショックにおける心収縮性低下をきたす要因として、近年、NO が注目されている。敗血症において NO は、血管内皮細胞やマクロファージ以外に、心筋細胞由来で過剰産生されることも知られている。LPS 投与の3時間後に、心筋細胞に iNOS mRNA の最大発現および iNOS 活性の上昇が認められる²¹⁾。こうした心筋細胞由来で過剰産生された NO は、心収縮力を抑制することが知られており、現在その機序は、1) トロポニン I のリン酸化による収縮蛋白の Ca²⁺感受性の低下、2) cyclic GMP を介した protein kinase G の活性化による L 型 Ca²⁺電流の抑制、3) phosphodiesterase 活性の増加による cyclic AMP の低下などが考えられている⁶⁾。モルモットに 4 mg/kg の LPS を腹腔内投与したモデルではその4時間後に L 型 Ca²⁺電流の約55%の抑制が生じたという報告があるが²²⁾、この作用機序として、過剰産生された NO の関与が示唆されている。しかし、本研究では L-NNA 投与により乳頭筋における NO 合成を阻害しても isoproterenol による陽性変力作用の回復は認められなかった。乳頭筋実験における器官槽内の NO 濃度は、栄養液による数回の洗浄により、既に生体内での血中 NO 濃度よりはるかに低い値となっている可能性があり、また、乳頭筋で産生された NO は直ちに栄養液中に拡散されて、器官槽内の NO 濃度が高値を示さないために NO の直接的な影響が除外されているのかもしれない。NO 合成酵素の阻害が敗血症における陽性変力作用を改善するか否かは、生体内にあらかじめ NO 合成酵素阻害薬を投与しておいた標本との比較も必要かもしれないが、少なくとも本研究では、NO の直接作用以外の要因が、陽性変力作用減弱に関与することを示したと結論される。

これまで NO 以外にも、LPS⁸⁾ や TNF-α^{9,10)} が iNOS 誘導とは無関係に、直接的に心筋収縮力抑制をおこすことが示されてきた。これらを含めたサイトカインにより、βアドレナリン受容体の細胞内情報伝達系に障害が生じていることも否定できない。LPS を静脈内投与した生体内で高濃度で生じたサイトカインが細胞内情報伝達系に障害を

導き、その結果として、 β アドレナリン受容体を介した陽性変力作用が減弱しているかどうかについては、現在、研究を進めている。

結 語

敗血症性ショックはその進行に伴い心収縮性低下をきたすことが知られてきたが、既に敗血症初期段階でウサギ摘出乳頭筋標本のカテコラミンによる陽性変力作用が減弱していた。この陽性変力作用の減弱は、 β アドレナリン受容体数の減少や親和性の変化によらなかった。NOの直接作用以外の要因が関与し、受容体と細胞内情報伝達系とのカップリングに変化を与えている可能性が推測される。

文 献

- 1) Moncada S, Higgs A : Mechanisms of disease : the L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329 : 2002-2012, 1993
- 2) Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, et al : The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* 321 : 280-287, 1989
- 3) Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, et al : Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 100 : 402-409, 1984
- 4) Parker JL, Adams RH : Development of myocardial dysfunction in endotoxin shock. *Am J Physiol* 248 : H 818-826, 1985
- 5) Kojda G, Kottenberg, Niv P, et al : Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circ Res* 78 : 91-101, 1996
- 6) Kelly G, Baligand JL, Smith TW : Nitric oxide and cardiac function. [Mini Review] *Circ Res* 79 : 363-380, 1996
- 7) Bargit S, Petra F, Wilhelm S, et al : Endotoxin and cytokines induce direct cardiodepressive effects in mammalian cardiomyocytes via induction of nitric oxide synthetase. *J Mol Cell Cardiol* 28 : 1631-1639, 1996
- 8) Ulrich KM, Christian WF, Axel G, et al : Endotoxin-induced contractile dysfunction in guinea pig hearts is not mediated by nitric oxide. *Am J Physiol* 268 : H2460-

H2465, 1995

- 9) Murray DR, Freeman GL : Tumor necrosis factor - α induces a biphasic effect on myocardial contractility in conscious dogs. *Circ Res* 78 : 154-160, 1996
- 10) Ursula MW, Heike S, Ralph F, et al : Tumor necrosis factor - α is cardiodepressant in pathophysiologically relevant concentrations without inducing inducible nitric oxide synthase or triggering serious cytotoxicity. *J Mol Cell Cardiol* 29 : 2915-2923, 1997
- 11) Richard S, Karen LD, Gary DL, et al : Peroxynitrite impairs cardiac contractile function by decreasing cardiac efficiency. *Am J Physiol* 272 : H1212-H1219, 1997
- 12) Ye YZ, Strong M, Huang ZQ : Antibodies that recognize nitrotyrosine [review] *Methods Enzymol* 269 : 201-209, 1996
- 13) Maddens M, Sowers J : Catecholamines in critical care [review]. *Crit Care Clinics* 3(4) : 871-882, 1987
- 14) Fink MP, Heard SO : Laboratory models of sepsis and septic shock [review]. *J Surg Res* 49(2) : 186-196, 1990
- 15) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 16) Scatchad G : The attraction of proteins for small molecules and ions. *Ann NY Acad Sci* 51 : 600-672, 1949
- 17) Fish RE, Spitzer JA : Continuous infusion of endotoxin from an osmotic pump in the conscious, unrestrained rat : a unique model of chronic endotoxemia. *Circ Shock* 12 : 135-149, 1984
- 18) FinK MP, Fiallo V, Stein KL, et al : Systemic and regional hemodynamic changes after intraperitoneal endotoxin in rabbits : development of a new model of the clinical syndrome of hyperdynamic sepsis. *Circ Shock* 22 : 73-81, 1987
- 19) Gando S, Hattori Y, Akaishi Y, et al : Impaired contractile response to beta adrenoceptor stimulation in diabetic rat heart : Alterations in beta adrenoceptors-G protein-adenylate cyclase system and pospholamban phosphorylation. *J Pharmacol Exp Ther* 282 : 475-484, 1997
- 20) Matsuda N, Hattori Y, Gando S, et al : Diabetes-induced downregulation of β 1-adrenoceptor mRNA expression in rat heart. *Biochem Pharmacol* (in press), 1999
- 21) Alan NB, Olga MJ, Richard S : Rapid increase in inducible nitric oxide synthase gene expression in the heart during endotoxemia. *Eur J Pharmacol* 303 : 141-144, 1996
- 22) Zhong J, Hwang, Adams HR, et al : Reduced L-type calcium current in ventricular myocytes from endotoxemic guinea pigs. *Am J Physiol* 273 : H2312-2324, 1997

**Depressed Positive Inotropic Effect of Myocardial
 β -Adrenoceptor Stimulation in Animal Models
as an Early Phase of Septic Shock**

Naoyuki Matsuda*, Satoshi Gando*, Yuich Hattori**,
Morio Kanno**, Osamu Kemmotsu*

Departments of Anesthesiology* and Pharmacology**, Hokkaido University School of Medicine
Sapporo, Japan

Endotoxin-induced septic shock is associated with hypotension due to vasodilation by nitric oxide overproduction. However, it is poorly understood whether cardiac dysfunction observed in septic shock is related to hypotension. The aim of this study was to investigate possible mechanisms underlying the impaired contractile response to β -adrenoceptor stimulation at an early phase of septic shock. Septic shock was induced in Newzealand White rabbits by administration of lipopolysaccharide (LPS : 100 μ g/kg iv). Papillary muscles isolated from the septic hearts 3 and 6 hours after LPS administration exhibited marked

reductions in the positive inotropic response to isoproterenol regardless of whether 100 μ M *N*^w-nitro-L-arginine was present. The density of myocardial β -adrenoceptors and the affinity of myocardial β -adrenoceptors to catecholamine were unaffected by LPS pretreatment. These results suggest that the impaired contractile response to β -adrenoceptor stimulation observed in septic myocardium is not caused by the direct inhibition of NO. Alterations in coupling of β -adrenoceptors to the signaling pathways rather than the decreased density of the receptors may contribute to the impaired response.

Key words : Septic shock, LPS, β -adrenoceptors, Nitric oxide

(Circ Cont 20 : 18~25, 1999)