

血管拡張薬，ニトログリセリンの小動物心不全治療に関する基礎的研究

山本 滋

目次

| | 頁 |
|---------------------------------------|----|
| 緒言 | 1 |
| 第1章 正常動物における血管拡張薬の循環動態に及ぼす影響 | 4 |
| 第1節 ニトログリセリンとその他の作用機序の異なる血管拡張薬の | 4 |
| 正常動物における循環動態 | |
| I 実験目的 | 4 |
| II 実験材料および方法 | 5 |
| 1. 実験材料 | 5 |
| 2. 使用薬物 | 5 |
| 3. 実験方法 | 5 |
| III 結果 | 7 |
| 1. ニトログリセリン | 7 |
| 2. ヒドララジン | 8 |
| 3. ニフェジピン | 9 |
| 4. ベナゼプリル | 9 |
| 5. ニトログリセリンと各種血管拡張薬の比較 | 9 |
| 6. 付図, 付表 | 11 |
| IV 小括 | 25 |
| 第2節 経皮吸収製剤TTS-NTGが正常動物の | 26 |
| 循環動態に及ぼす影響 | |
| I 実験目的 | 26 |
| II 実験材料および方法 | 26 |
| 1. 実験材料 | 26 |

| | |
|----------------------------|-----|
| 2. 使用薬物 | 2 6 |
| 3. 実験方法 | 2 6 |
| III 結果 | 2 7 |
| 付図, 付表 | 2 8 |
| IV 小括 | 3 0 |
| 第3節 考察 | 3 1 |
| 第2章 心不全モデルに対するニトログリセリンの効果 | 3 4 |
| 第1節 左心房圧上昇を伴う左心不全モデルに対する効果 | 3 4 |
| I 実験目的 | 3 4 |
| II 実験材料および方法 | 3 5 |
| 1. 実験材料 | 3 5 |
| 2. 使用薬物 | 3 5 |
| 3. 実験方法 | 3 5 |
| III 結果 | 3 6 |
| 付図, 付表 | 3 7 |
| IV 小括 | 4 2 |
| 第2節 実験的犬糸状虫症に対する効果 | 4 3 |
| I 実験目的 | 4 3 |
| II 実験材料および方法 | 4 3 |
| 1. 実験材料 | 4 3 |
| 2. 使用薬物 | 4 3 |
| 3. 実験方法 | 4 3 |
| III 結果 | 4 4 |
| 付図, 付表 | 4 6 |
| IV 小括 | 5 3 |

| | |
|------------------------------|----|
| 第3節 考察 | 54 |
| 第3章 ニトログリセリンのイヌにおける耐性の発現について | 57 |
| 第1節 連続投与後の循環動態に及ぼす影響 | 57 |
| I 実験目的 | 57 |
| II 実験材料および方法 | 57 |
| 1. 実験材料 | 57 |
| 2. 使用薬物 | 57 |
| 3. 実験方法 | 57 |
| III 結果 | 58 |
| 付図, 付表 | 60 |
| IV 小括 | 62 |
| 第2節 連続投与後の冠状動脈結紮による心電図に及ぼす影響 | 63 |
| I 実験目的 | 63 |
| II 実験材料および方法 | 63 |
| 1. 実験材料 | 63 |
| 2. 使用薬物 | 63 |
| 3. 実験方法 | 63 |
| III 結果 | 64 |
| 付図, 付表 | 65 |
| IV 小括 | 68 |
| 第3節 考察 | 69 |
| 第4章 総括および結論 | 71 |
| 謝辞 | 74 |
| 引用文献 | 75 |

本学位論文はその主軸となす部分を以下の雑誌N o. 1 - 2 に投稿している。また、関連ある部分は雑誌N o. 3 - 6 に投稿している。

1. Yamamoto, S., Miyatake, K., Okamoto, Y., Minami, S., and Matsushashi, A.
(1993): Effects of nitroglycerin on hemodynamics in dogs with experimentally inserted heartworms. J. Vet. Med. Sci. 55: 217-220.
2. Yamamoto, S., Takemori, E., Hasegawa, Y., Kuroda, K., Nakao, K., Inukai, T., Sakonjyo, H., Nishimura, T., and Nishimori, T. (1991): General pharmacology of the novel angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril hydrochloride, effects on cardiovascular, visceral and renal functions and hemodynamics. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 41: 913-923.
3. Nakao, K., Yamamoto, S., and Inukai, T. (1989): Efficacy of the glyceryl trinitrate transdermal therapeutic system in a dog model of myocardial ischemia. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 39: 1421-1425.
4. 山本滋, 黒田佳代子, 野口清司, 中尾健三, 犬飼利也, 西村敬治, 森野久弥, 土山道夫, 左近上博司, 西森司雄 (1992): 新規カルシウム拮抗薬 Felodipine の一般薬理作用. *薬理と治療.* 20: 419-457.
5. Yamamoto, S., Takemori, E., Hasegawa, Y., Nakao, K., Inukai, T., Nomura, M., Morino, K., Tsuchiyama, M., Hasegawa, K., Ikeda, H., and Nishimori, T.
(1991): General pharmacology of the novel angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril hydrochloride, effects on central nervous and sensory

systems and other functions. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 41: 602-607.

6. Tanaka, M., Yamamoto, S., Nakao, K., Inukai, T., Ogawa, N., Katamura, H., Ohara, N., Shukunobe, K., and Ono, H. (1991): Antihypertensive action of the novel angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril hydrochloride in hypertensive rat models. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 41: 608-612.

緒言

我が国においても最近、飼育者の動物衛生に対する意識レベルの向上と獣医師自体の治療技術の向上が相まって、伝染病や感染症で死亡する動物が減少し、動物の高齢化が進んできている。その結果、人と同様に循環器疾患、白内障、癌、糖尿病などの成人病が増大し、これらに対する医療の開発、進展が要求されてきている。これらの疾患のひとつである心不全は弁膜症を頂点として、犬特有のフィラリア症が強く関係している多発疾患であり、根治療法の開発もさることながら当面の症状の緩解法に苦慮することが多い。

心不全時では、心拍出量は減少し、それに伴う末梢性代償機構としての交感神経系の緊張による末梢血管抵抗の上昇がみられる(64, 20)。このため左心室の後負荷および前負荷が増加し、左心室駆出抵抗が上昇する結果、心拍出量が減少し、左心室充満圧の上昇によって肺うっ血は益々悪化し、冠血流量の減少と PO_2 の低下が心筋酸素消費量を高めるため、心臓を連鎖的に衰弱させる結果となる(61)。

循環障害の治療の目的は基本的には予後の改善であるが、急性期にはなによりも救命が優先される。目標は重要臓器(脳、心臓、腎臓)の血流を維持し、肺うっ血による低酸素血症を改善することであり、循環動態的には負荷を除去して、心拍出量を増大させ、左心室拡張期圧を低下させることである(14)。

心不全の治療には強心薬、利尿薬およびカテコールアミン製剤がよく用いられてきた。強心薬にはジギタリスやG-ストロファンチンなどがあり、心臓に対して心筋収縮力を強める作用(陽性変力作用)、拍動数を減少する作用(陰性変周期作用)、房室結節興奮伝導を遅延させる作用(陰性変伝導作用)および心筋自動性の亢進作用(異所性自動能)の4作用が知られている。この作用の中で陽性変力作用は衰弱した心臓をさらに強制的に収縮させるため、心筋酸素消費量の増加をもたらし、逆に心機能を悪化させる可能性がある(35, 37)。利尿薬にはフロセミドやサイアザイドがあり、心不全における静脈のうっ滞、肺うっ血および腹水を軽減するために用いられているが、副作用として低ナトリウム血症、脱水、BUNおよびクレアチニンの上昇が発生することが知られている(46)。

カテコールアミン製剤にはドーパミン、ドブタミン、ノルエピネフリン等があり、心不全時に β_1 受容体の刺激による心臓収縮力を増加させる。カテコールアミン製剤を長期間使用すると、 β 受容体の密度の減少あるいはその感受性の低下によりダウンレギュレーション(4)が起こり、その効果が減弱するとされている。

以上に示した3種の心不全改善薬以外に近年、重症の心不全に対する血管拡張療法の効果が多く報告されてきている(54)。この作用機序としては、末梢血管を拡張して前負荷ないし後負荷を軽減し、その結果心臓の仕事量を減らして心筋酸素需要の減少をもたらす、心不全を改善することが考えられている。

血管拡張薬はその作用機序と作用部位により1)動脈拡張薬、2)静脈拡張薬、3)動静脈拡張薬の3群に分けられている。現在、動脈拡張薬にはヒドララジン、カルシウム拮抗薬、静脈拡張薬にはニトログリセリン、イソソルビド、動静脈拡張薬には α_1 遮断薬、アンギオテンシン変換酵素阻害薬が存在する。これらの血管拡張薬の中で、動脈拡張薬のヒドララジンは犬糸状虫による右心不全の治療に有効であることが知られている(48)。また、動静脈拡張薬のアンギオテンシン変換酵素阻害薬が犬の僧帽弁閉鎖不全症に用いられている(30)。しかし、静脈系拡張薬はニトログリセリンをはじめとして獣医界ではほとんど用いられていないのが現状である。ニトログリセリンは経口投与では肝臓で代謝を受け不活化されるため、静脈内投与あるいは粘膜から吸収させる投与方法に限られている。人では舌下用のニトログリセリンを用いることができるが、動物では口腔内に錠剤を保持することが困難であり、腔内や包皮内への投薬が試みられているが吸収が不確実である。ニトログリセリン軟膏の塗布により肺水腫や拡張型の心筋症による肺動脈高血圧症の治療が試みられたが、心拍出量、肺動脈圧、動脈圧および臨床症状を改善するまではいかなかった(8)と報告されている。また、静脈内投与ではニトログリセリンの薬理作用が一過性のため持続点滴を実施するしか効果が維持できない。これらにより臨床への応用が大きく制約されてきたといえる。したがって、小動物における臨床応用を目的にしたニトログリセリンの循環動態に関する報告はあまりない。最近、人の抗狭心症薬として経皮吸

収型のニトログリセリン製剤（T T S - N T G）が開発された（42）。この製剤は24時間の薬物の持続放出機能を有し、投与方法が皮膚貼付という簡便な方法であり、獣医師以外の人でも動物に貼付できる。しかしながら、T T S - N T Gを心不全の動物に使用して循環動態を改善したという報告が未だみられない。

一方、ニトログリセリンを長期間連続投与すると、耐性ができるといわれている（34）。ニトログリセリンの血管弛緩作用においてニトログリセリンが血管平滑筋細胞内に入った後、NOが生成され、さらにグアニル酸シクラーゼが生成され、その作用によってサイクリック-GMPが活性化されて弛緩する。この一連の反応の中で硝酸薬を連用すると、NOの生成が減少し弛緩反応が減弱する（32）。この現象がニトログリセリンの耐性と言われるものである。

本研究はニトログリセリンの犬の循環器系に対する効果を追究し、その臨床的效果を明確にするるとともに、心不全に対する新しい治療法として経皮吸収システムの臨床応用の可能性について検討した。すなわち、第1章では従来から心不全の治療に用いられている静脈内投与用のニトログリセリンと経皮吸収製剤T T S - N T Gの効果を正常動物を用いて比較するとともに、他の血管拡張薬の効果と比較することによって本剤の犬に対する循環動態に及ぼす効果を明らかにした。

第2章ではニトログリセリンの心不全に対する効果を追究するため、アンギオテンシンIIを冠状動脈内に投与して作製した実験的心不全モデルおよび犬糸状虫症による実験的右心不全モデルにそれぞれT T S - N T Gおよび静脈内投与用ニトログリセリンを投与して循環動態の改善効果を明らかにした。

第3章ではヒトで明らかにされているニトログリセリン耐性がT T S - N T Gの犬に対する14日間連続貼付によって発現するかどうかについて検討した。

第1章 正常動物における血管拡張薬の循環動態に及ぼす影響

最近獣医臨床においても血管拡張薬が使用されるようになってきた。血管拡張薬はその作用機序と作用部位により1) 動脈拡張薬, 2) 静脈拡張薬, 3) 動静脈拡張薬の3群に分けられている。動脈拡張薬にはヒドララジンとカルシウム拮抗薬が, 静脈拡張薬にはニトログリセリンとイソソルビドが, 動静脈拡張薬には α_1 遮断薬とアンギオテンシン変換酵素阻害薬がよく知られている。これらの血管拡張薬の中で, 動脈拡張薬のヒドララジンが犬糸状虫による右心不全の治療に用いられ(48), 動静脈拡張薬のアンギオテンシン変換酵素阻害薬が犬の僧帽弁閉鎖不全症に用いられている(30)。しかし, 静脈系を拡張させるニトログリセリンに関してはほとんど検討されていない。その理由は投与方法と作用持続時間にあると考えられる。最近, 人の抗狭心症薬として経皮吸収型のニトログリセリン製剤(TTS-NTG)が開発された(42)。この製剤は24時間の薬物の持続放出機能を有し, 投与方法が貼付という簡便な方法である。しかし, TTS-NTGの獣医臨床応用に関する報告はみられない。

そこで本章ではニトログリセリンの効果を明らかにするため作用機序の異なる血管拡張薬のヒドララジン, カルシウム拮抗薬のニフェジピンおよびアンギオテンシン変換酵素阻害薬のベナゼプリルを正常動物に投与して, 薬理作用の相違を検討した。さらに新しいニトログリセリンの経皮吸収製剤のTTS-NTGを正常動物に貼付し, 循環動態に及ぼす作用を静脈内投与のニトログリセリンと比較検討した。

第1節 ニトログリセリンとその他の作用機序の異なる血管拡張薬の

正常動物における循環動態に及ぼす影響

I 実験目的

本節では正常な犬および猫に対する各種血管拡張薬の循環動態に及ぼす影響を比較検討した。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

体重7.0-15.0kgの健康な雌雄ビーグル犬15頭および体重2.5-5.0kgの健康な雄ネコ7頭を用いた。

2. 使用薬物

ニトログリセリン（ミリスロール，日本化薬）を生理食塩液で希釈して用いた。

ヒドララジン（アプレゾリン，日本チバガイギー）をPEG400で懸濁して用いた。

ニフェジピン（シグマ）をPEG400で懸濁して用いた。

ベナゼプリル（チバセン，日本チバガイギー）を0.5%CMC-Naに懸濁して用いた。

3. 実験方法

ニトログリセリンとヒドララジンの循環動態の測定には，雌雄のビーグル犬を用いた。チオペンタールナトリウム（ラボナール，田辺）30mg/kgの静脈内投与により麻酔を導入し，気管チューブを挿管してハロタン（フローセン，武田）0.75-1%で実験中麻酔を維持した。

人工呼吸下で第5肋間で開胸し，大動脈起始部に電磁血流計プローブを装着し，電磁血流計（MFV-2100，日本光電）に接続し，心拍出量を測定した。左冠状動脈前下降枝を剥離し，パルスドップラー血流計用プローブを装着し，冠血流量を測定した。左心耳から先端型圧トランスデューサー（MPC-500，ミラー）を挿入し，ひずみ圧力アンブ（AP-601G，日本光電）に接続して左心房圧を測定した。大腿動脈よりカテーテ

ルを大動脈内に留置し、圧トランスデューサー（RP-1500，ナルコ）を介してひずみ圧カンプにより血圧を測定した。心拍数は血圧波より心拍計（AT-601G）で変換し測定した（Fig. 1）。

ニトログリセリンは5頭の犬に0.3, 1, 3, および10 μ g/kgの各量をそれぞれ循環動態が投与前の状態に回復し安定した後に静脈内投与した。また、5頭の犬に3 μ g/kg/min, 2時間静脈内持続点滴についても観察した。

ヒドララジンは5頭の犬に1mg/kgを1回静脈内投与した。

ニフェジピンは1群4頭の雄猫に0, 1, 3および10mg/kgをそれぞれ1回経口投与した。

ベナゼプリルは1群3頭の雄猫に0, 5, 25および100mg/kgをそれぞれ1回経口投与した。

ニフェジピンとベナゼプリルの循環動態の測定では血圧と心拍数を上記と同様の方法で測定した。

上記の各指標は熱ペン式レコーダー（WS-681G, 日本光電）を用いて連続的に記録した。

体表面積, 1回拍出量, 心係数, 総末梢血管抵抗およびダブルプロダクトは以下の方法で算出した。

$$\text{体表面積(m}^2\text{)} = 0.11 \times (\text{体重(kg)})^{2/3}$$

$$1 \text{ 回拍出量(l/beat)} = \text{心拍出量(l/min)} / \text{心拍数(beats/min)}$$

$$\text{心係数(l/min/m}^2\text{)} = \text{心拍出量(l/min)} / \text{体表面積(m}^2\text{)}$$

$$\text{総末梢血管抵抗(dyne}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^2\text{)} = \text{平均血圧(mmHg)} / \text{心係数(ml/min/m}^2\text{)} \times 1332$$

ダブルプロダクト(mmHg·beats/min)=収縮期血圧(mmHg)×心拍数(beats/min)

測定値はすべて平均値±標準誤差で示した。統計処理は対応のあるt検定を用いて有意差検定を行い、5%以下の水準をもって有意な差とした。

III 結果

1. ニトログリセリン

ニトログリセリンを0.3, 1, 3および10 μ g/kgを静脈内に投与すると、血圧、左心房圧の用量依存性の低下および心拍出量の増加がみられたが、その持続時間は1-3分間であった(Fig. 2)。そこでニトログリセリンの作用を持続させるためにニトログリセリンを静脈内に点滴投与した。

ニトログリセリン3 μ g/kg/minを2時間静脈内点滴投与したときの循環動態をFig. 3-5に示した。平均血圧は投与前では71 \pm 3mmHgであったが、ニトログリセリンを点滴投与している間、投与前に比べて8-10mmHgの有意な低下がみられた。投与終了後20分でも5mmHgの有意な低下が持続したが、投与中に比べて上昇傾向にあった。左心房圧は投与前では7.5 \pm 0.6mmH₂Oであったが、ニトログリセリンを点滴投与している間、0.8-1.0mmH₂Oの有意な低下または低下傾向にあった。投与終了後20分では投与前の値に戻った。心係数は投与前では2.24 \pm 0.07 l/min/m²であったが、ニトログリセリンを持続投与している間および投与終了後20分で投与前に比べて0.3-0.5 l/min/m²の有意な増加または増加傾向にあった。心拍数は投与前では100 \pm 3回/分であったが、ニトログリセリン点滴投与中および投与終了後20分でも投与前と比較してもほとんど変化が認められなかった。1回拍出量は投与前では11.6 \pm 0.4ml/回であったが、ニトログリセリンを点滴投与している間および投与終了後20分で投与前に比べて1.3-2.8ml/回の有意な増加

が認められた。総末梢血管抵抗は投与前では $2544 \pm 172 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$ であったが、ニトログリセリンを点滴投与している間、投与前に比べて $500 - 700 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$ の有意な低下が認められた。投与終了後20分でも末梢血管抵抗は有意な低下が持続したが、投与中に比べて上昇傾向にあった。冠血流量は投与前では $0.97 \pm 0.29 \text{ kHz}$ であったが、ニトログリセリンを点滴投与中および投与終了後で $0.14 - 0.33 \text{ kHz}$ の増加傾向がみられた。ダブルプロダクトは投与前では $9372 \pm 416 \text{ mmHg} \cdot \text{beats} / \text{min}$ であったが、ニトログリセリンを持続投与している間、 $800 - 1,200 \text{ mmHg} \cdot \text{beats} / \text{min}$ の有意な減少が認められた。投与終了後には元に戻る傾向にあった。

2. ヒドララジン

ヒドララジン $1 \text{ mg} / \text{kg}$ を静脈内投与した時の循環動態を Fig. 6-9 に示した。平均血圧は投与前では $68 \pm 4 \text{ mmHg}$ であったが、投与直後から $19 - 27 \text{ mmHg}$ の有意な低下を示し、2時間後も持続した。左心房圧は投与前では $7.6 \pm 1.0 \text{ cmH}_2\text{O}$ であったが、投与後30分までは $0.9 - 1.0 \text{ cmH}_2\text{O}$ の低下傾向を示した。その後徐々に上昇し投与後90-120分では $0.8 - 2.1 \text{ cmH}_2\text{O}$ の増加が認められた。心係数は投与前では $2.81 \pm 0.43 \text{ l} / \text{min} / \text{m}^2$ であったが、投与後30-120分に $0.6 - 2.0 \text{ l} / \text{min} / \text{m}^2$ の有意な増加を示した。心拍数は投与前では $91 \pm 7 \text{ 回} / \text{分}$ であったが、投与後60-120分に $40 - 71 \text{ 回} / \text{分}$ の有意な増加を示した。

1回拍出量は投与前では $16.1 \pm 2.2 \text{ ml} / \text{回}$ であったが、投与直後から投与後90分に $1.1 - 3.0 \text{ ml} / \text{回}$ の有意な増加または増加傾向がみられた。しかし、投与後2時間では投与前と比較してほとんど変化がみられなかった。総末梢血管抵抗は投与前では $2,168 \pm 560 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$ であったが、投与後30-120分に $1,000 - 1,250 \text{ dyne} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$ の有意な減少がみられた。冠血流

量は投与前では $0.86 \pm 0.08 \text{ kHz}$ であったが、投与後から増加し、 $5 - 120$ 分では $0.5 - 1.3 \text{ kHz}$ の増加が認められた。ダブルプロダクトは投与前では $8,328 \pm 890 \text{ mmHg} \cdot \text{beats}/\text{min}$ であった。投与後 30 分までは $1,400 - 1,800 \text{ mmHg}/\text{beats}/\text{min}$ の減少がみられたが、投与後 $90 - 120$ 分では $3,000 - 3,500 \text{ mmHg} \cdot \text{beats}/\text{min}$ の増加がみられた。

3. ニフェジピン

ニフェジピン $1, 3$ および $10 \text{ mg}/\text{kg}$ を 1 回経口投与した時の循環動態を Fig. 10-11 に示した。平均血圧は投与前では $125 - 145 \text{ mmHg}$ であったが、投与後 $3 - 5$ 分より下降が認められ、 $30 - 180$ 分では 1 および $3 \text{ mg}/\text{kg}$ で $46 - 50 \text{ mmHg}$ の血圧下降がみられた。 $10 \text{ mg}/\text{kg}$ では $30 - 180$ 分で $59 - 74 \text{ mmHg}$ の血圧下降がみられた。心拍数は投与前では $187 - 195$ 回であり、 $1, 3$ および $10 \text{ mg}/\text{kg}$ の量で投与後 $30 - 180$ 分で $7 - 28$ 回の減少がみられたが、用量依存性は認められなかった。

4. ベナゼプリル

ベナゼプリル $5, 25$ および $100 \text{ mg}/\text{kg}$ を 1 回経口投与した時の循環動態を Fig. 12-13 に示した。平均血圧は投与前では $125 - 136 \text{ mmHg}$ であり、ベナゼプリルの $5, 25$ および $100 \text{ mg}/\text{kg}$ を投与すると、投与後 $15 - 180$ 分に $8 - 30 \text{ mmHg}$ の下降がみられたが、用量依存性は認められなかった。心拍数はベナゼプリルの投与前では $212 - 218$ 回であったが、ベナゼプリルの投与によって変化しなかった。

5. ニトログリセリンと各種血管拡張薬の比較

ニトログリセリンとその他の血管拡張薬の循環動態を比較した。ニトログリセリン

($3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) は点滴投与120分の値, ヒドララジン $1 \text{mg}/\text{kg}$, ニフェジピン $1 \text{mg}/\text{kg}$ およびベナゼプリル $1 \text{mg}/\text{kg}$ は投与後120分の値で投与前を100%として比較し, 5%以下の水準をもって有意とした.

平均血圧ではニトログリセリンが $87 \pm 1\%$, ヒドララジンが $70 \pm 4\%$, ニフェジピンが $60 \pm 3\%$, ベナゼプリルが $80 \pm 7\%$ であり, ヒドララジンとニフェジピンが有意に下降した. 左心房圧ではニトログリセリンが $88 \pm 8\%$, ヒドララジンが $140 \pm 27\%$ であり, ヒドララジンで増加傾向が認められた. 心係数ではニトログリセリンが $126 \pm 11\%$, ヒドララジンが $173 \pm 14\%$ であり, ヒドララジンが有意に増加した. 心拍数ではニトログリセリンが $102 \pm 4\%$, ヒドララジンが $181 \pm 13\%$, ニフェジピンが $91 \pm 1\%$, ベナゼプリルが $97 \pm 6\%$ であり, ヒドララジンが有意に増加した. 一回拍出量ではニトログリセリンが $123 \pm 6\%$, ヒドララジンが $100 \pm 4\%$ であり, ニトログリセリンが有意に増加した. 総末梢血管抵抗ではニトログリセリンが $71 \pm 7\%$, ヒドララジンが $41 \pm 1\%$ であり, ヒドララジンが有意に低下した. 冠血流量ではニトログリセリンが $133 \pm 9\%$, ヒドララジンが $254 \pm 34\%$ であり, ヒドララジンが有意に増加した. ダブルプロダクトではニトログリセリンが $89 \pm 5\%$, ヒドララジンが $145 \pm 12\%$ であり, ヒドララジンが有意に増加した (Table 1).

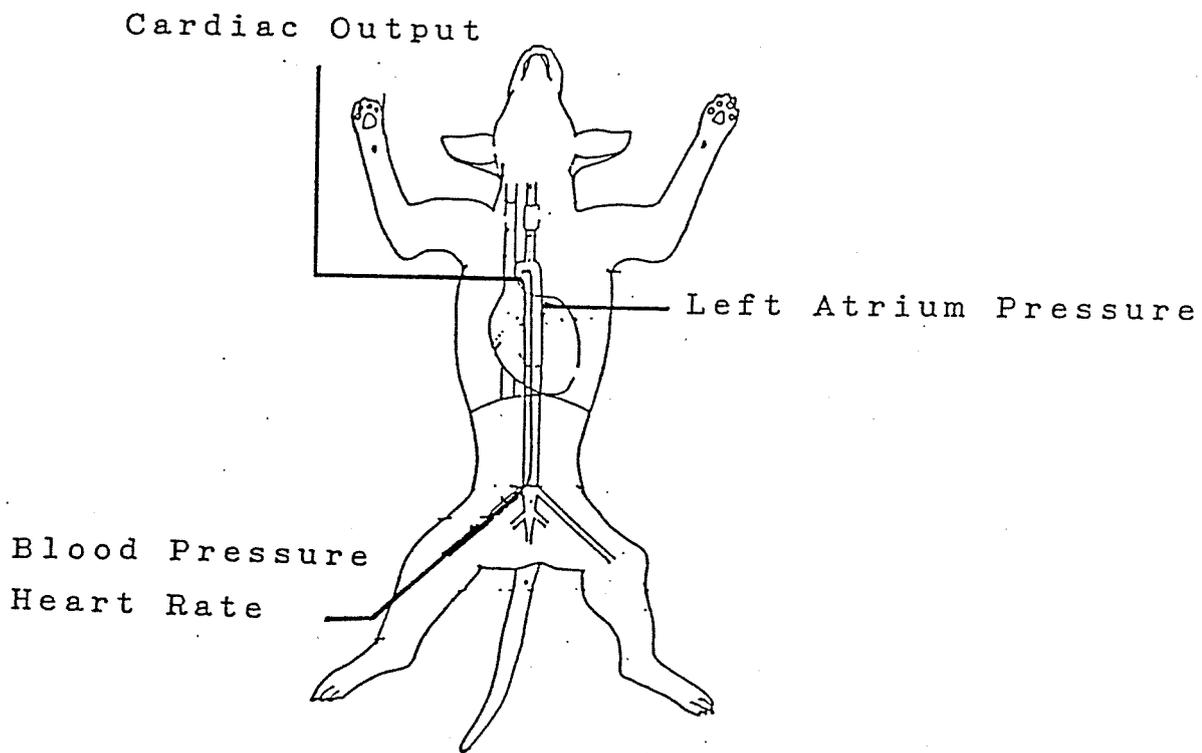


Fig. 1 Schema of experimental method

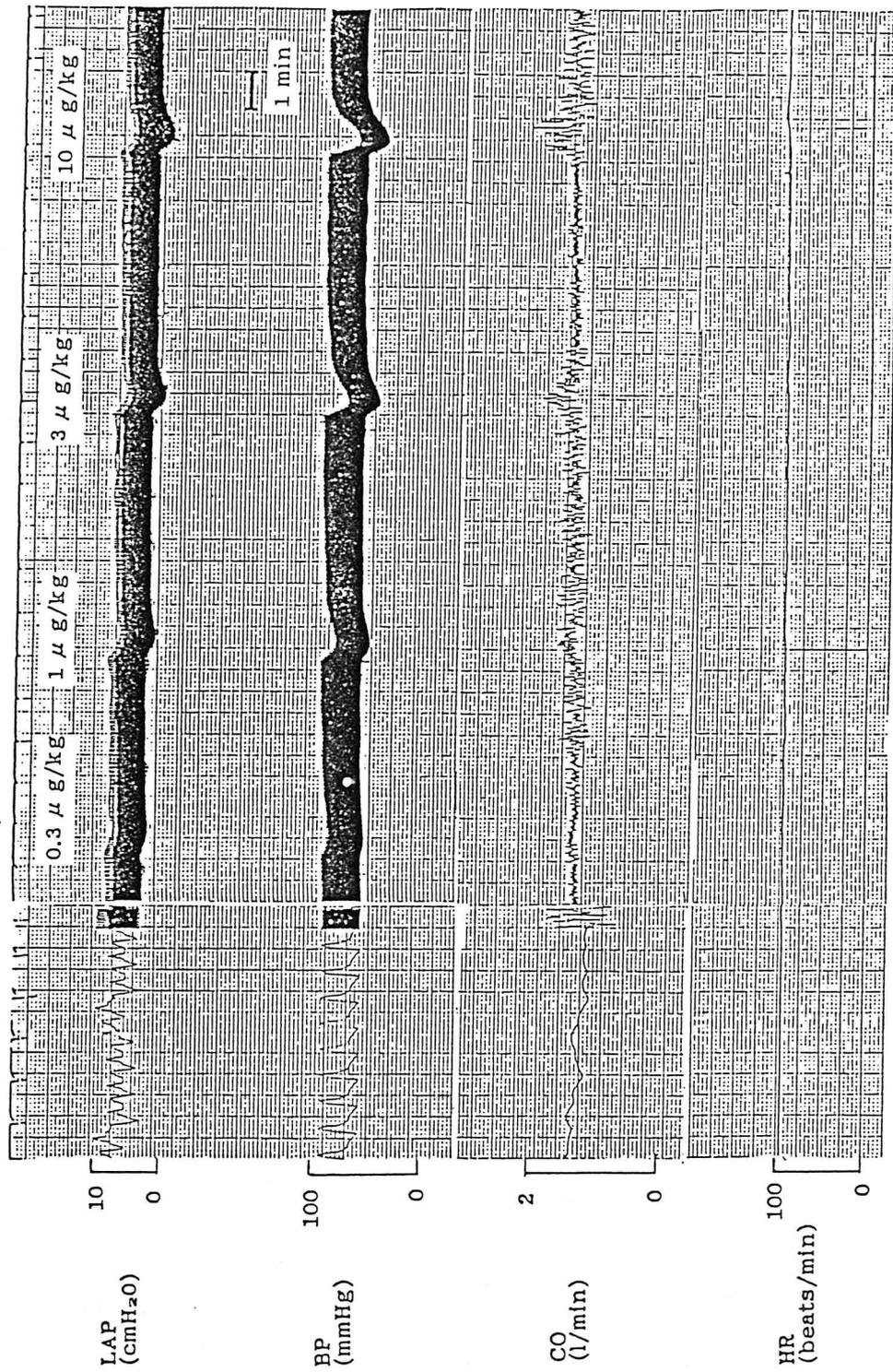


Fig. 2 Effects of intravenous nitroglycerin on left atrium pressure (LAP), blood pressure (BP), cardiac output (CO) and heart rate (HR) in anesthetized dog.

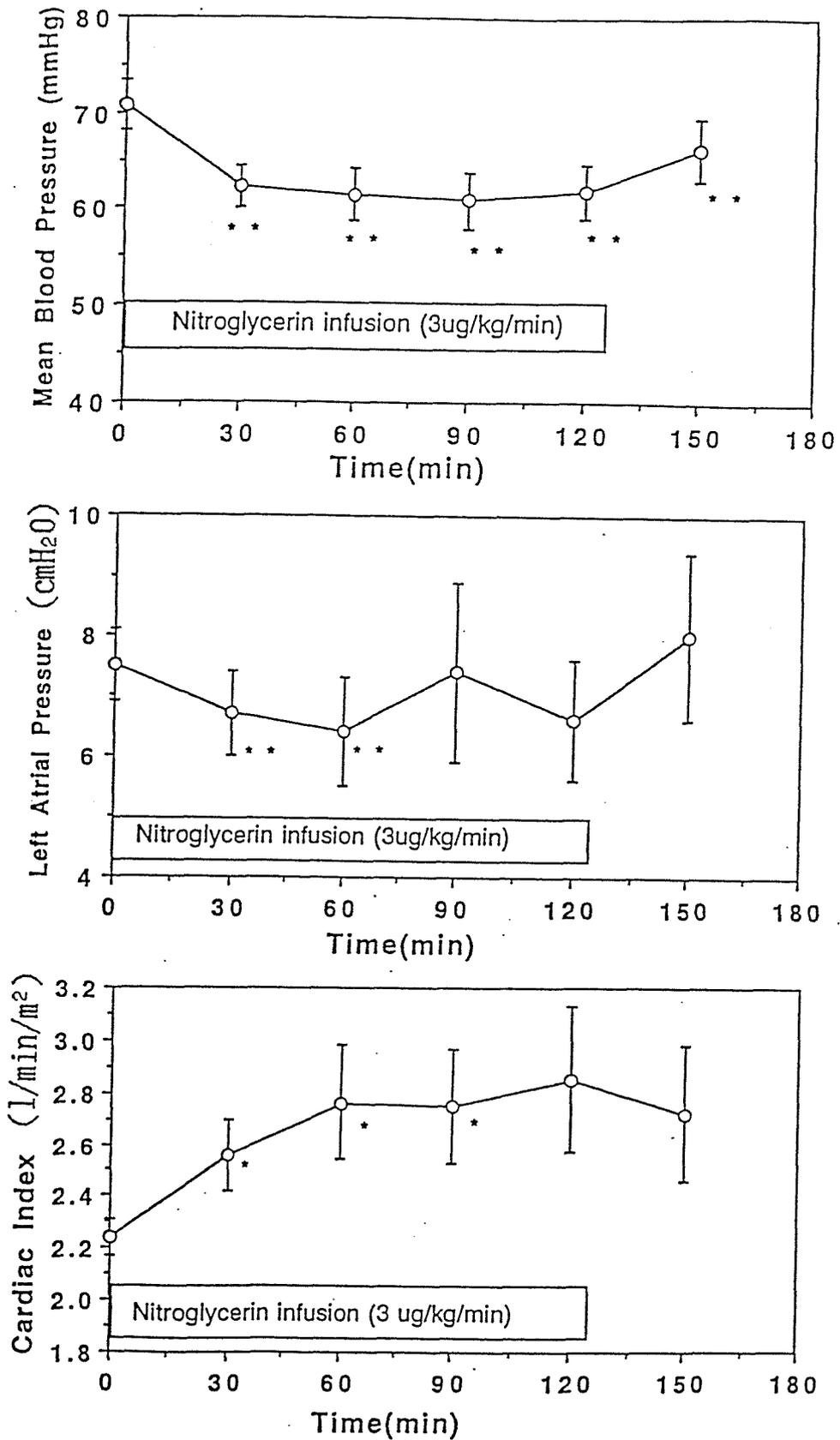


Fig. 3 Effects of nitroglycerin infusion on mean blood pressure, left atrium pressure and cardiac index in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5). *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

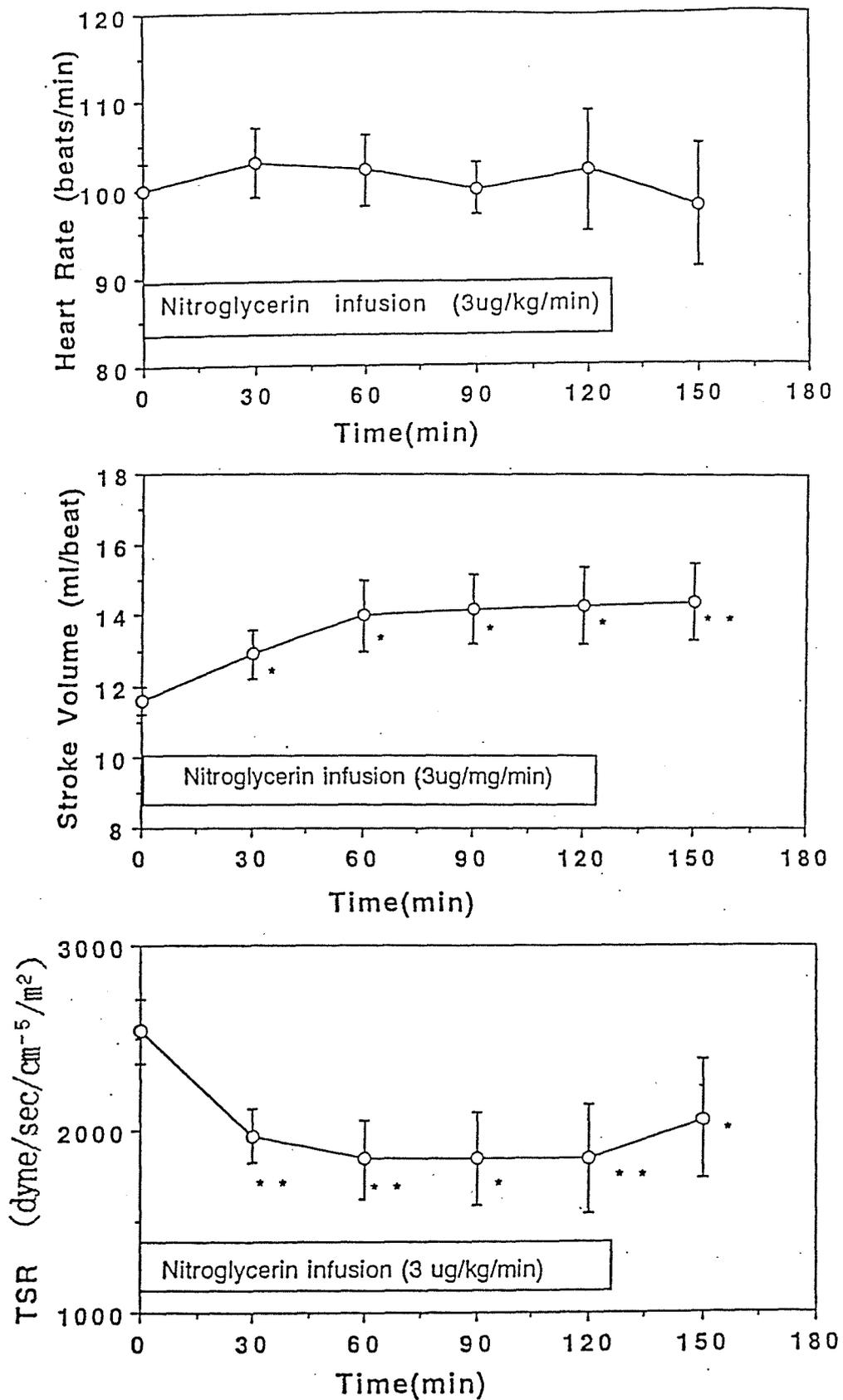


Fig. 4 Effects of nitroglycerin infusion on heart rate, stroke volume and total systemic resistance (TSR) in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5). *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

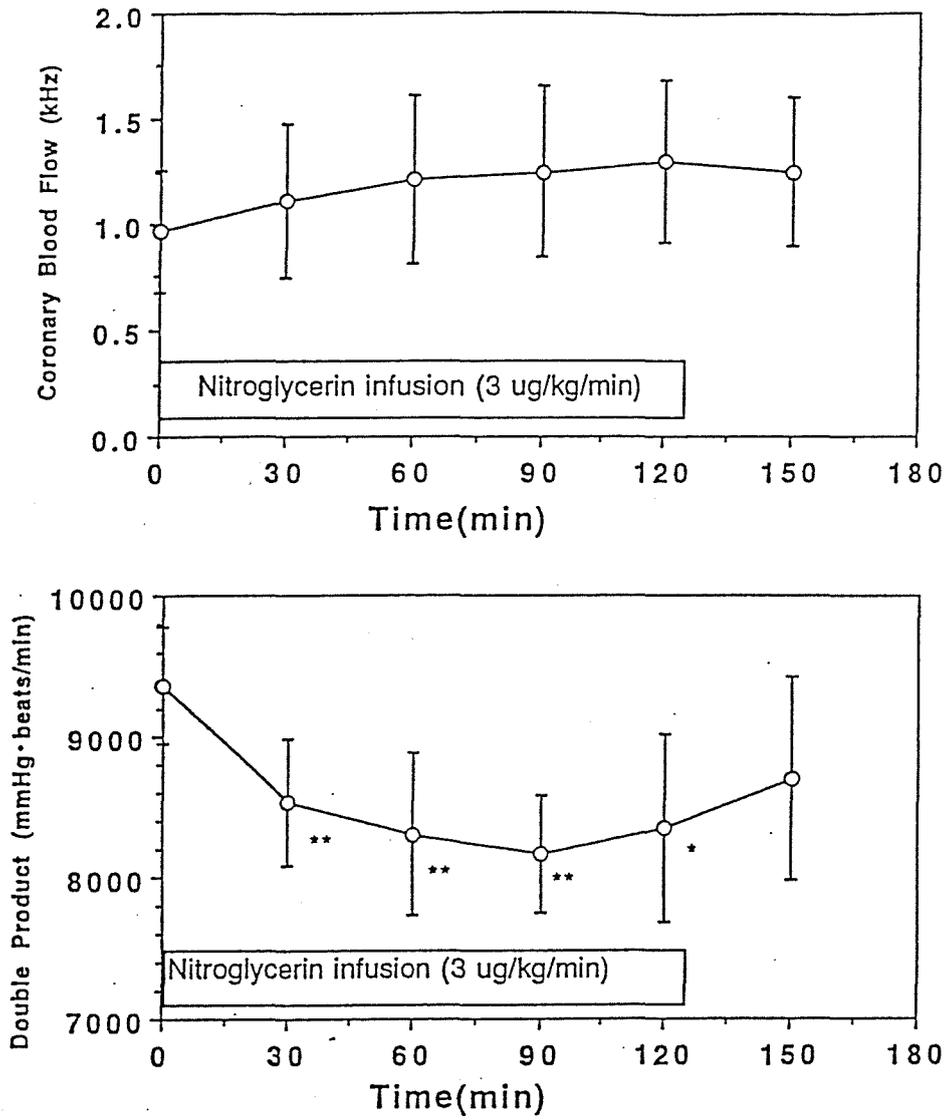


Fig. 5 Effects of nitroglycerin infusion on coronary blood flow and double product in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5). *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

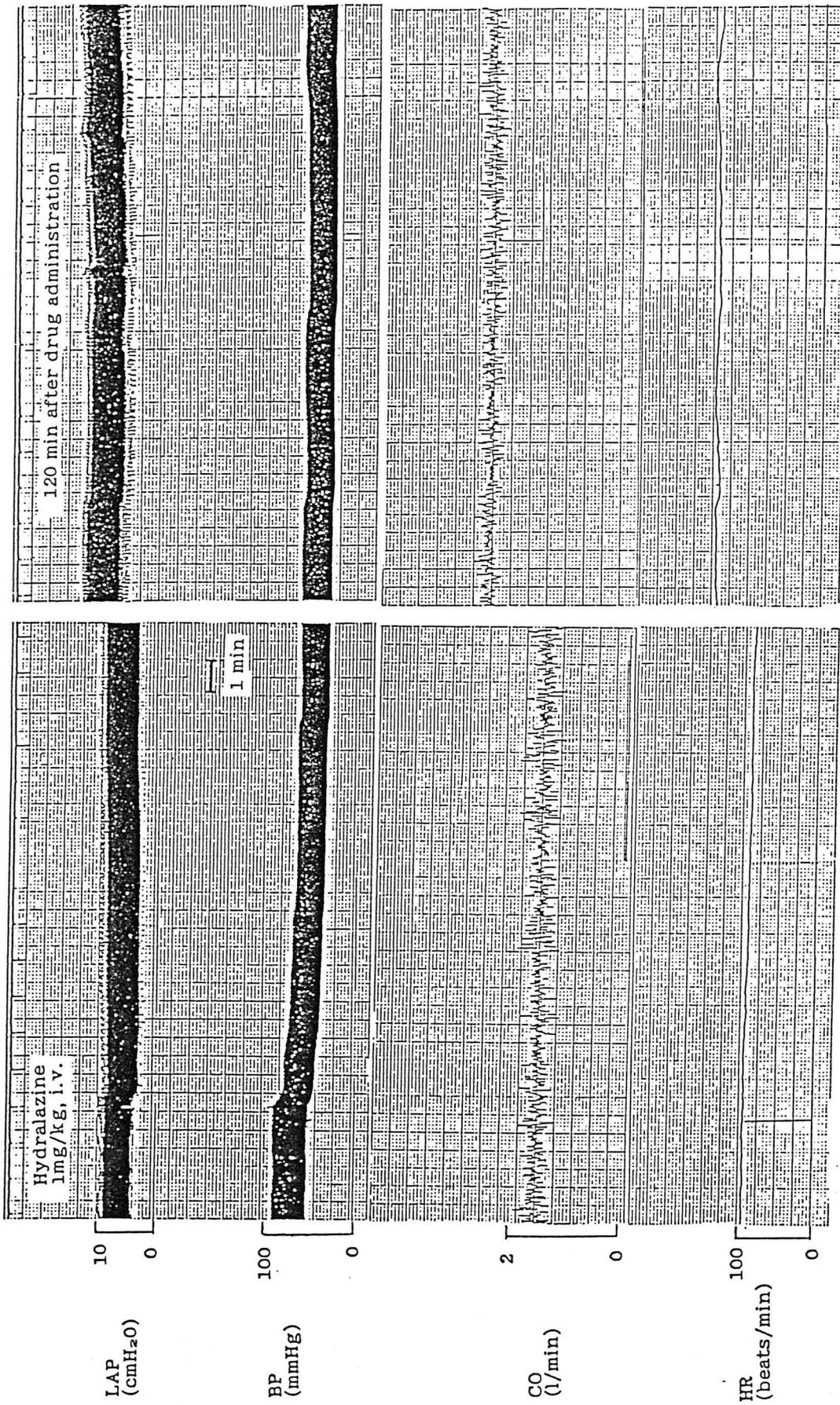


Fig. 6 Effects of intravenous hydralazine on left atrium pressure (LAP), blood pressure (BP), cardiac output (CO) and heart rate (HR) in anesthetized dog.

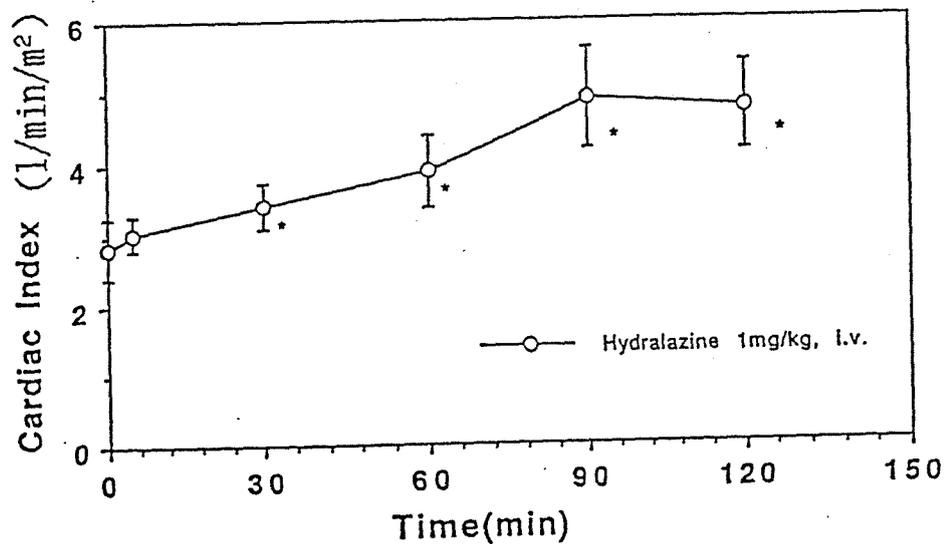
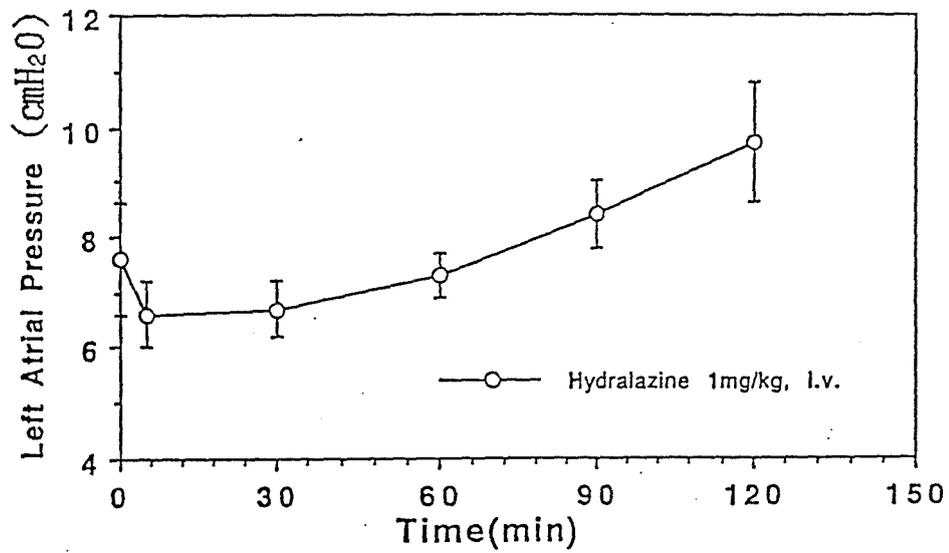
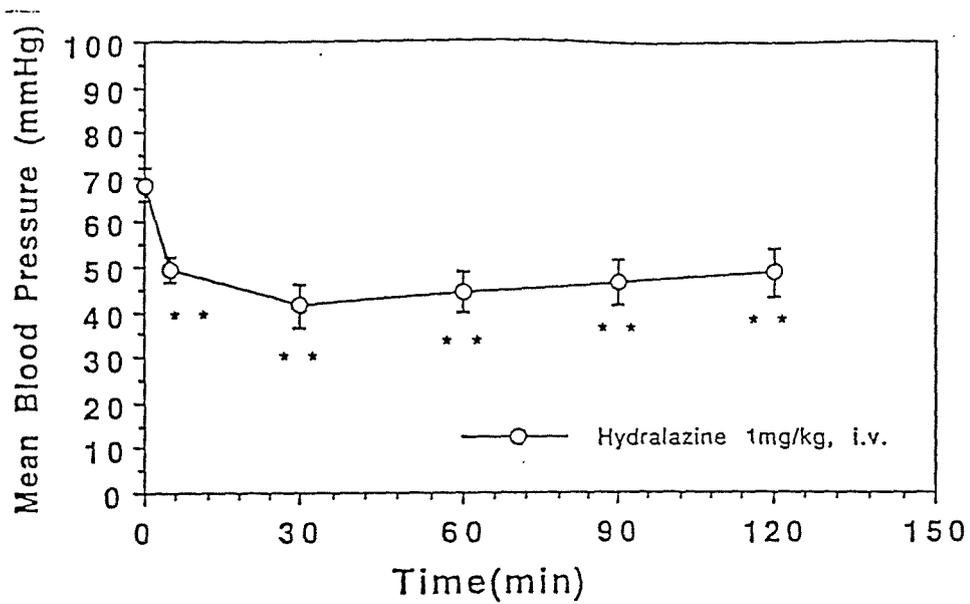


Fig. 7 Effects of intravenous hydralazine on mean blood pressure, left atrium pressure and cardiac index in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5). * p <0.05, ** p <0.01, Significant difference from before treatment.

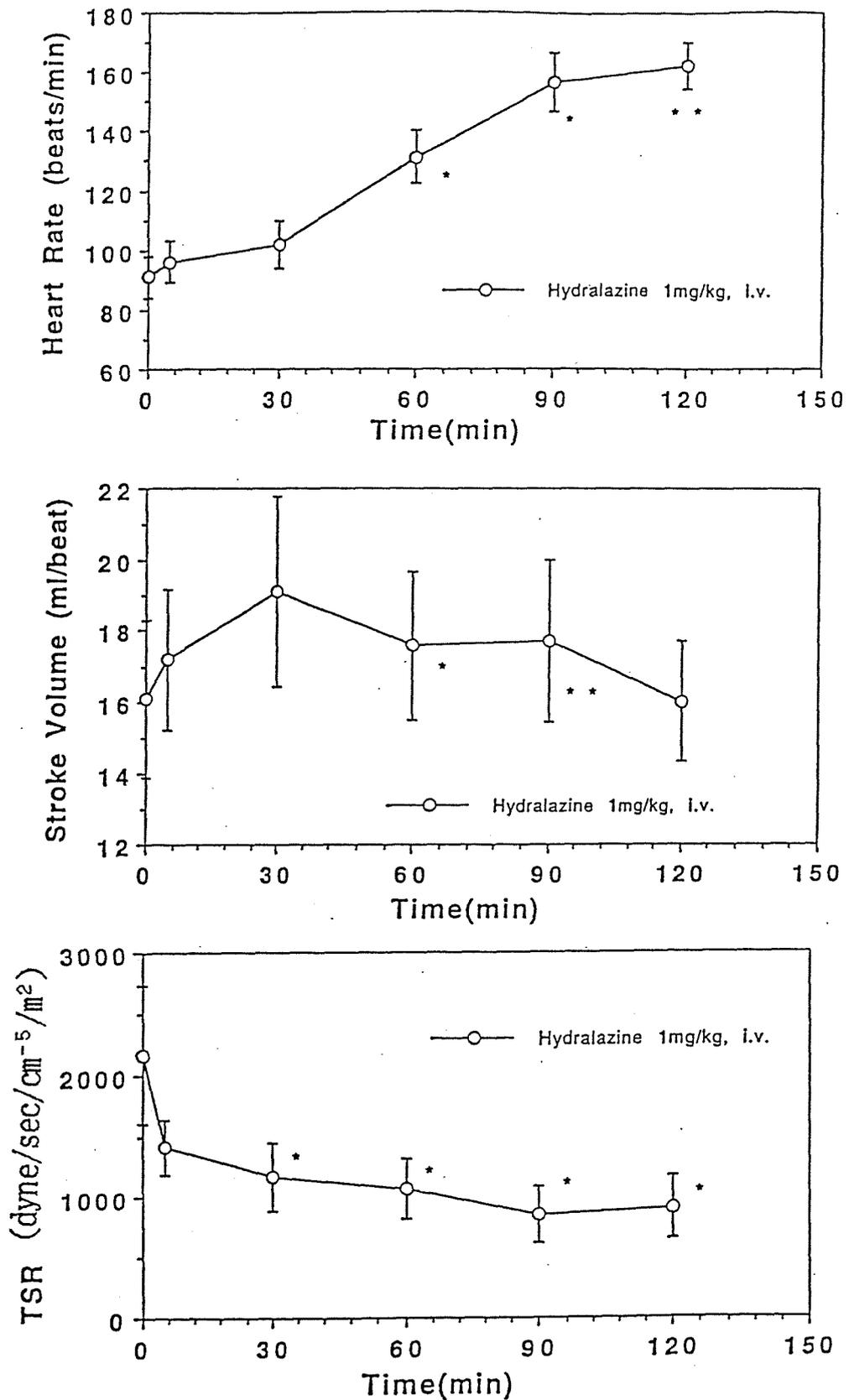


Fig. 8 Effects of intravenous hydralazine on heart rate, stroke volume and total systemic resistance (TSR) in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5). *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

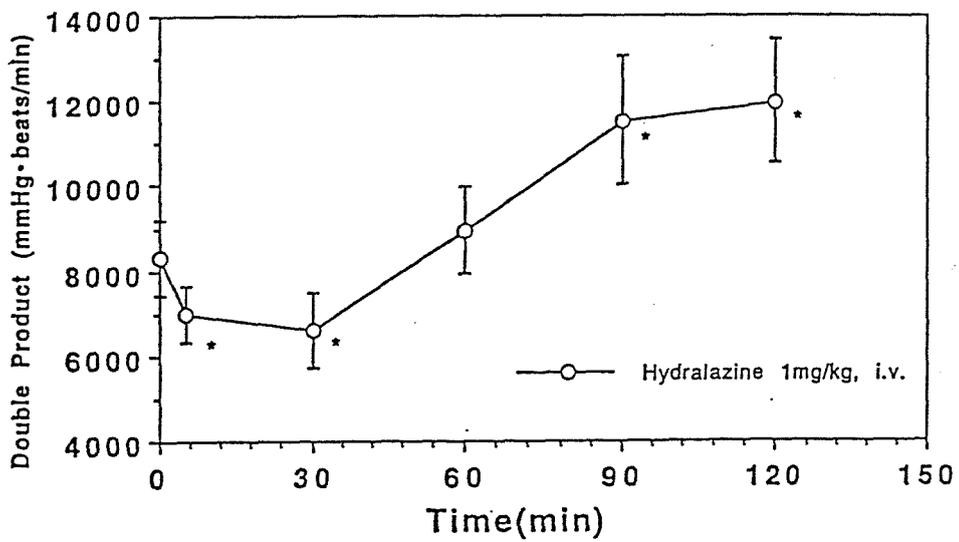
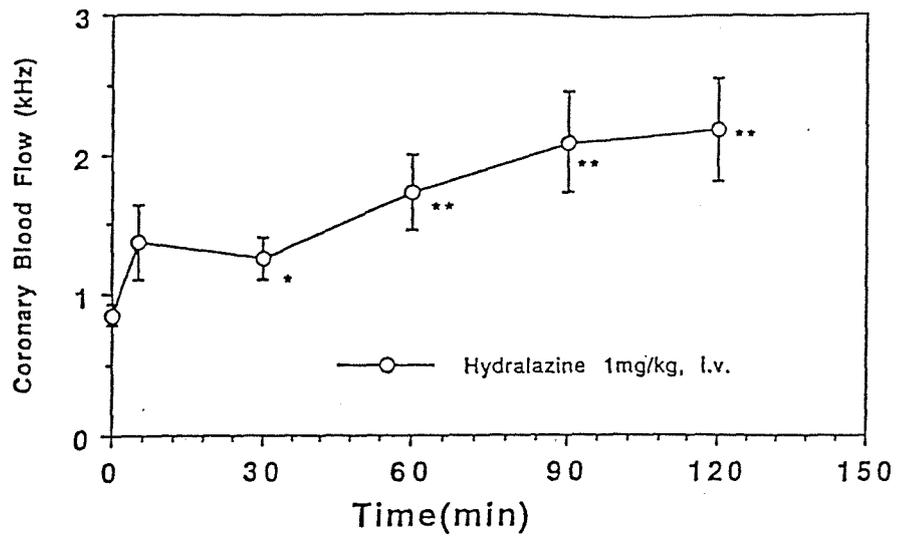


Fig. 9 Effects of intravenous hydralazine on coronerary blood flow and double product in anesthetized dogs. Each value is mean \pm S.E. (n=5) *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

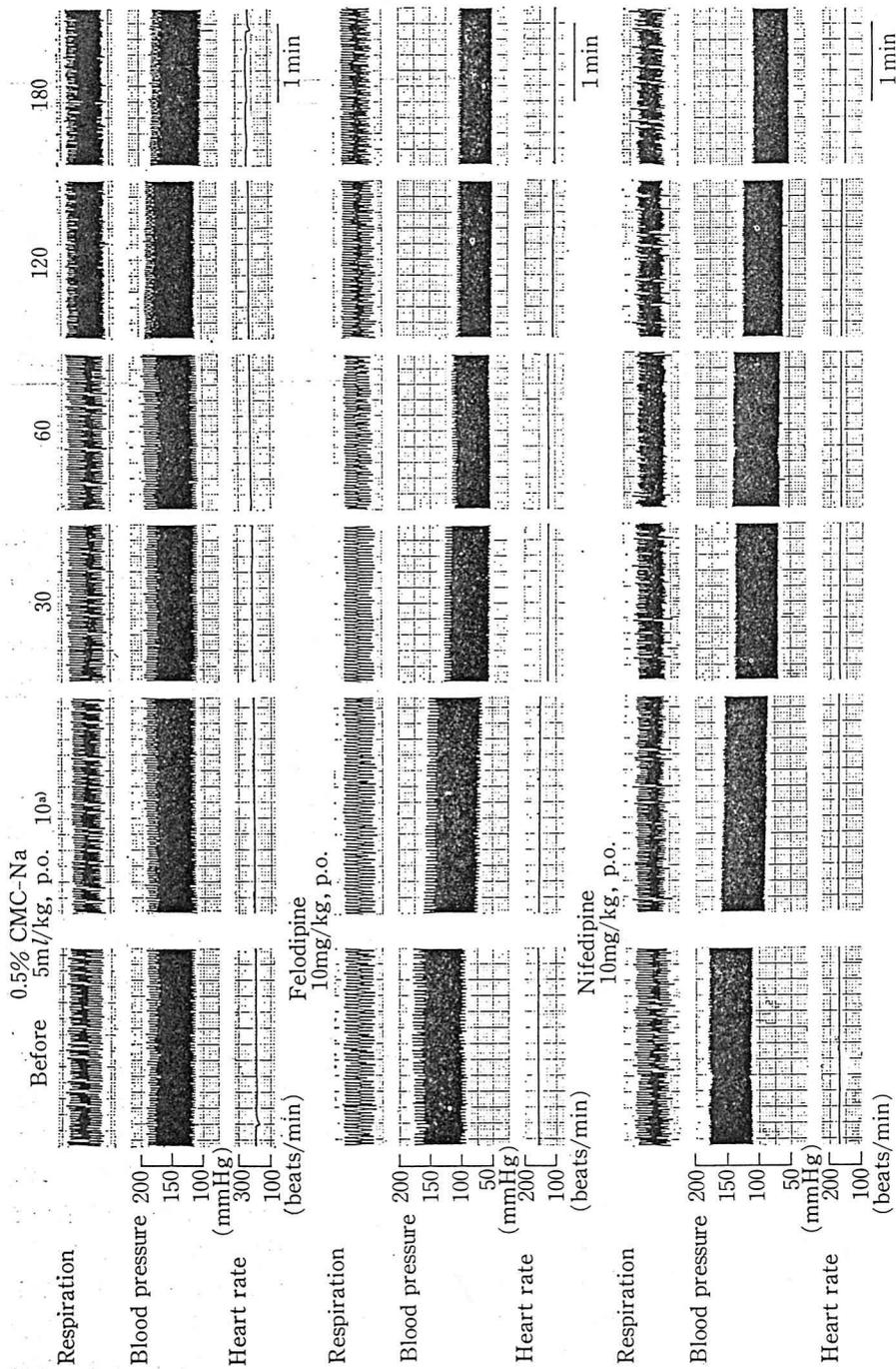


Fig. 10 Effects of nifedipine on blood pressure (BP) and heart rate in anesthetized cats.

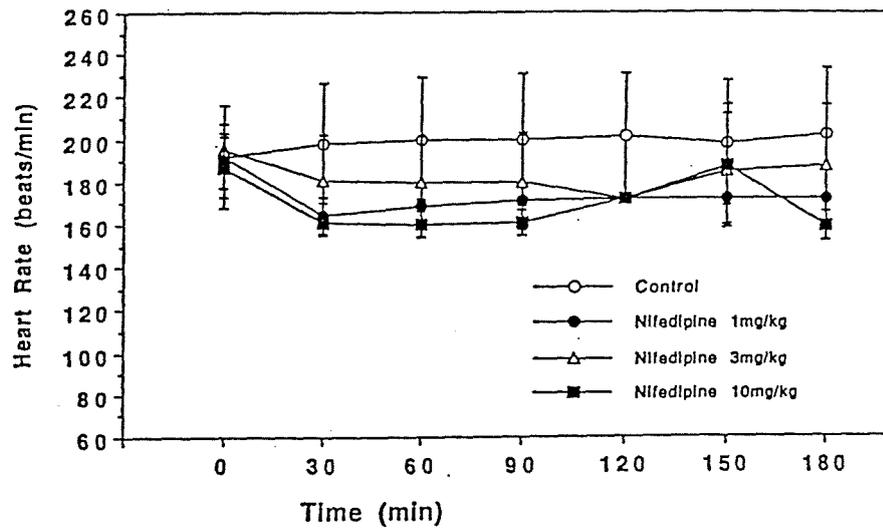
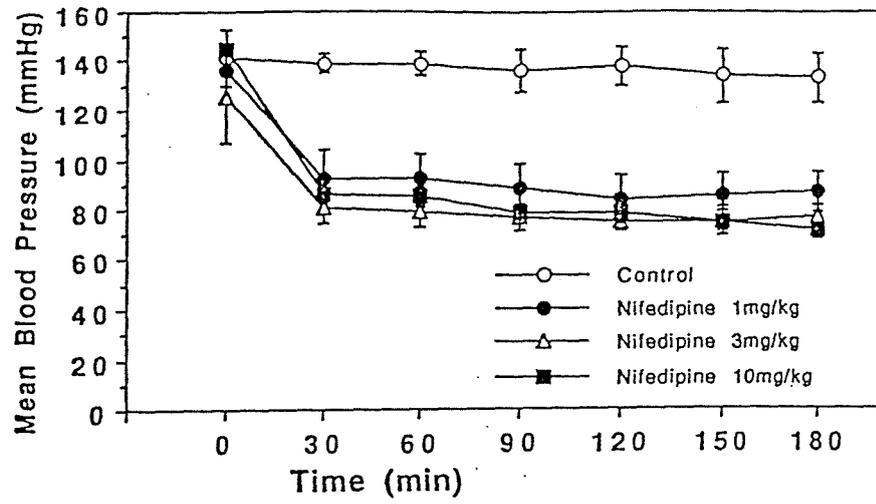


Fig. 11 Effects of nifedipine on blood pressure (BP) and heart rate in anesthetized cats. Each value is mean \pm S.E. (n=4).

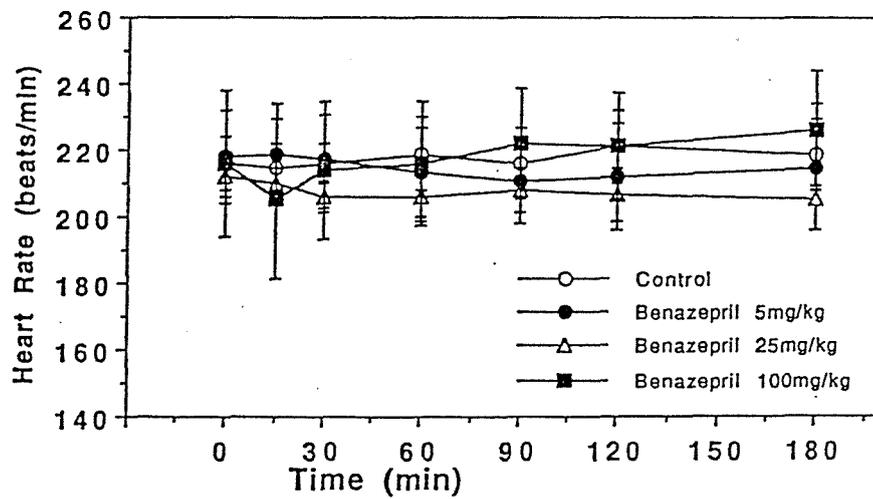
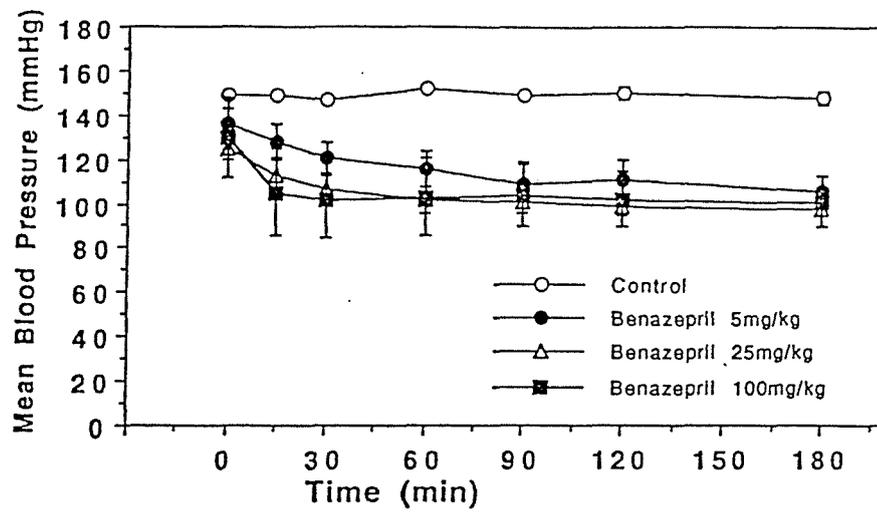


Fig. 13 Effects of benazepril on blood pressure (BP) and heart rate in anesthetized cats. Each value is mean \pm S.E. (n=3)

Table 1 Effects of nitroglycerin, hydralazine, nifedipine and benazepril on hemodynamics (expressed as percentage of before drug administration) in anesthetized dogs and cats

| % change | Nitroglycerin 3 μ g/kg/min | Hydralazine 1mg/kg | Nifedipine 1mg/kg | Benazepril 1mg/kg |
|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Mean Blood Pressure | 87 \pm 1 | 70 \pm 4 ** | 60 \pm 3 ** | 80 \pm 7 |
| Left Atrial Pressure | 88 \pm 8 | 140 \pm 27 | ND | ND |
| Cardiac Index | 126 \pm 11 | 173 \pm 14 ** | ND | ND |
| Heart Rate | 102 \pm 4 | 181 \pm 13 ** | 91 \pm 1 | 97 \pm 6 |
| Stroke Volume | 123 \pm 6 | 100 \pm 4 ** | ND | ND |
| Total Systemic Resistance | 71 \pm 7 | 41 \pm 1 * | ND | ND |
| Coronary Blood Flow | 133 \pm 9 | 254 \pm 34 * | ND | ND |
| Double Product | 89 \pm 5 | 145 \pm 12 ** | ND | ND |

Data represent mean \pm S.E. (n=3-5). *p<0.05, **p<0.01, significantly different from nitroglycerin.
ND: Not done.

IV 小括

1. ニトログリセリン

麻酔下の犬にニトログリセリン0.3, 1, 3および10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内に1回投与すると、一過性の血圧、左心房圧の用量依存性の低下および心拍出量の増加がみられ、3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ を持続静脈内投与では、平均血圧、左心房圧、総末梢血管抵抗およびダブルプロダクトの減少、心係数、1回拍出量および冠血流量の増加が認められたが、心拍数には変化がなかった。

2. ヒドララジン

麻酔下の犬にヒドララジン1 mg/kg を静脈内投与した結果、平均血圧、1回拍出量および総末梢血管抵抗の減少、左心房圧、心係数、心拍数、冠血流量およびダブルプロダクトの増加が認められた。

3. ニフェジピン

麻酔下の猫にニフェジピン1, 3および10 mg/kg を経口投与した結果、用量依存性の平均血圧の低下がみられ、心拍数の減少も認められた。

4. ベナゼプリル

麻酔下の猫にベナゼプリル5, 25および100 mg/kg を経口投与した結果、血圧の軽度の低下がみられたが、心拍数に変化が認められなかった。

5. ニトログリセリンと各種血管拡張薬の比較

ニトログリセリンと比べてヒドララジンは平均血圧、1回拍出量および総末梢血管抵抗を低下させ、左心房圧、心係数、心拍数、冠血流量およびダブルプロダクトを増加させた。ニフェジピンは平均血圧を低下させた。ベナゼプリルはニトログリセリンとほとんど違いが認められなかった。

第2節 経皮吸収製剤TTS-NTGが正常動物の循環動態に及ぼす影響

I 実験目的

本節では最近、人の狭心症および心不全の治療薬として開発されたニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTGについて検討した。TTS-NTGをFig. 14に示す。

TTS-NTGはニトログリセリンを経皮的に投与することにより、長時間にわたる安定した血中濃度を維持することを目的として開発された経皮吸収治療システムである。

TTS-NTGは1枚中(薬物放出有効面積: 10 cm^2)にニトログリセリン 25 mg を含有し、約 5 mg のニトログリセリンを放出するように設計されている(42)。このTTS-NTGを小動物臨床に実際に使用できるかを検討するため、麻酔下の正常犬にTTS-NTGを貼付して循環器系に対する作用を検索した。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

体重 $7.0 - 15.0\text{ kg}$ の健康な雌雄のビーグル犬15頭を用いた。

2. 使用薬物

ニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTG($25\text{ mg}/10\text{ cm}^2$, ニトロダーム-TTS, 日本チバガイギー)を用いた。

3. 実験方法

チオペンタールナトリウム(ラボナール, 田辺) $30\text{ mg}/\text{kg}$ の静脈内投与により麻酔を導入し、気管チューブを挿管してハロタン(フローセン, 武田) $0.75 - 1\%$ で実験中麻酔を維持した。

人工呼吸下で第5肋間で開胸し、左心耳から先端型圧トランスデューサー(MPC-500, ミラー)を挿入し、ひずみ圧力アンプ(AP-601G, 日本光電)に接続して左心房圧を測定した。大腿動脈よりカテーテルを大動脈内に留置し、圧トランスデューサ

— (RP-1500, ナルコ) を介してひずみ圧力アンプにより血圧を測定した。心拍数は血圧波より心拍計 (AT-601G) で変換し測定した。

循環動態が安定した後, 10-13肋骨部を剪毛しTTS-NTG (日本チバガイギー) を1/2枚, 1枚および2枚をそれぞれ5頭の犬の背部に2時間貼付した。その後剥離し, 30分後に循環動態を測定した。

測定値はすべて平均値±標準誤差で示した。統計処理は対応のあるt検定を用いて有意差検定を行い, 5%以下の水準を持って有意とした。

III 結果

平均血圧はTTS-NTG貼付前ではそれぞれ77.4±1.6 mmHg (1/2枚群), 76.8±3.3 mmHg (1枚群) および76.9±5.5 mmHg (2枚群) であった。TTS-NTG貼付後, 1/2枚群で5-6 mmHg, 1枚群で5-8 mmHg, 2枚群で8 mmHgの血圧の下降がみられ, 剥離後30分では何れの群も貼付前の値に戻る傾向が認められた。心拍数は貼付前では121±4回/分 (1/2枚群), 100±6回/分 (1枚群) および94±8回/分 (2枚群) であった。TTS-NTG貼付後, 1/2および1枚群ではほとんど変化が認めれなかったが, 2枚群では貼付中および剥離後30分で9-17回/分の有意な増加が認められた。左心房圧は貼付前ではそれぞれ5.1±1.0 cmH₂O (1/2枚群), 7.8±2.2 cmH₂O (1枚群) および6.3±1.7 cmH₂O (2枚群) であった。1/2枚群では貼付中0.5 cmH₂O, 1枚群では0.3 cmH₂O, 2枚群で0.5-0.8 cmH₂Oの下降傾向が認められた (Fig. 15)。

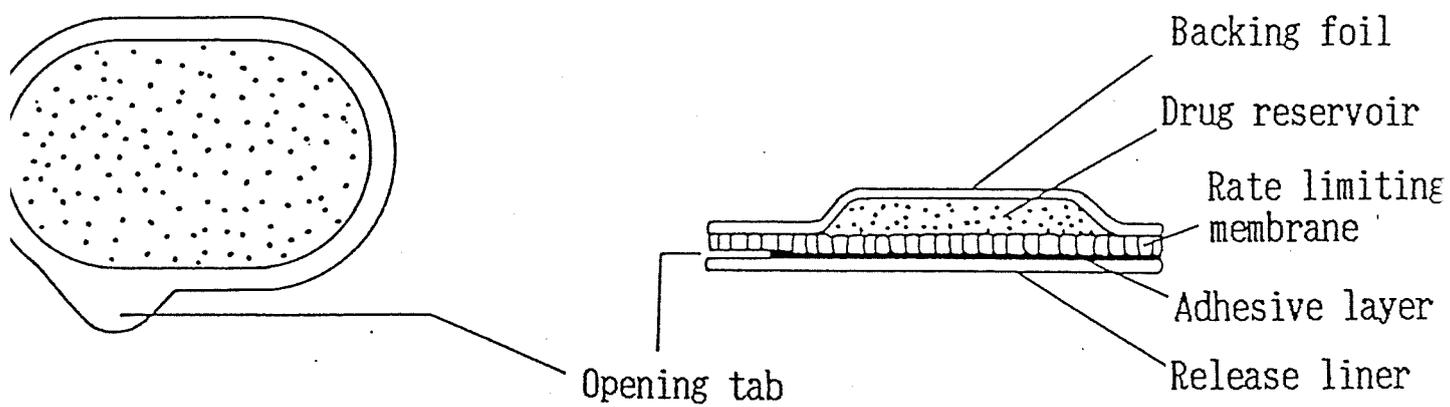


Fig. 14 Shema of TTS-NTG

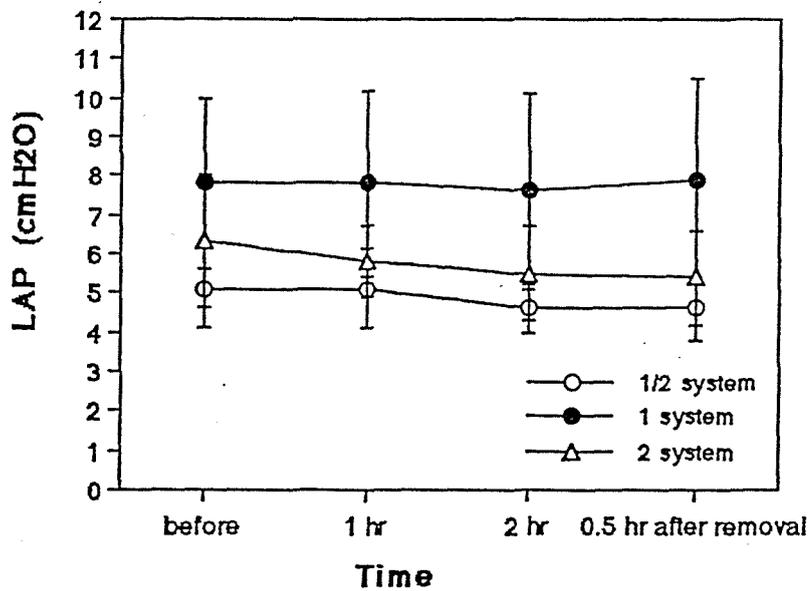
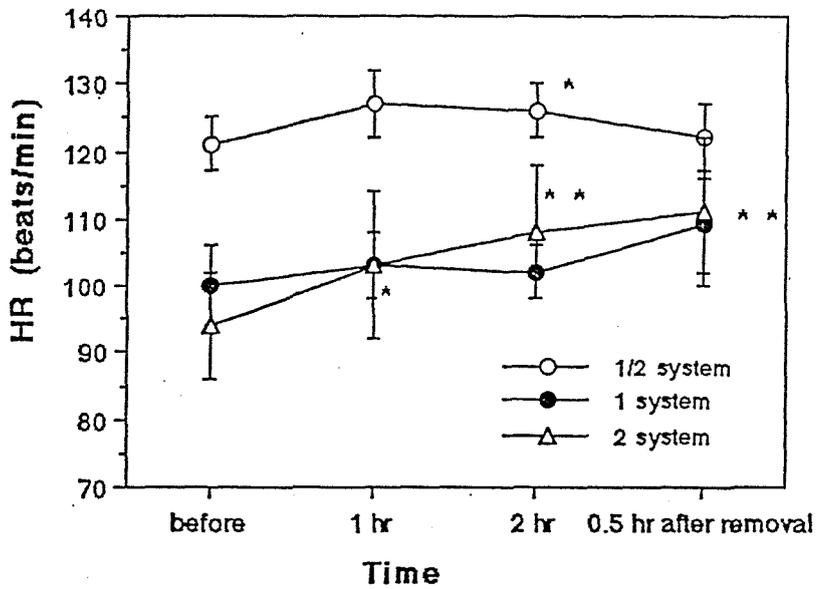
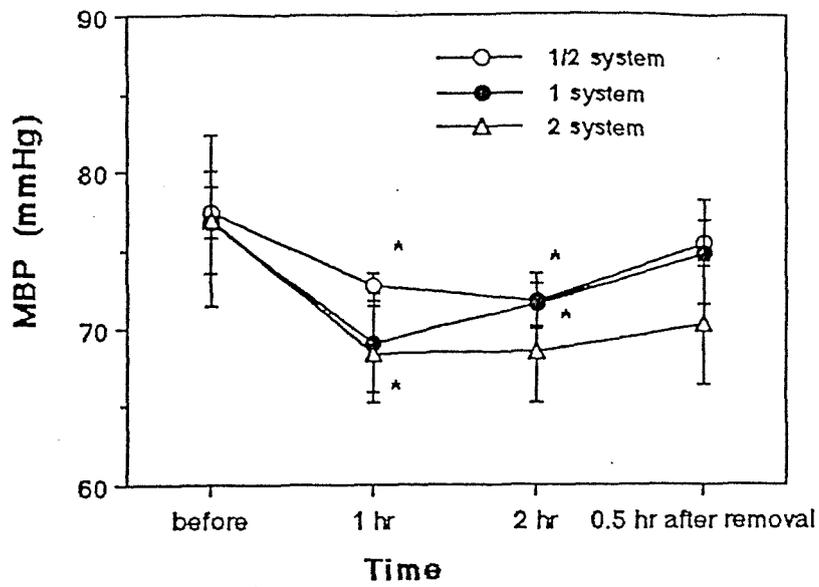


Fig. 15 Effects of TTS-NTG on mean blood pressure (MBP), heart rate (HR) and left atrial pressure (LAP) in anesthetized dogs.

Each value is mean \pm S.E. (n=5) *p<0.05, **p<0.01, Significant difference from before treatment.

IV 小括

麻酔下の犬にニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTGを1/2枚, 1枚および2枚貼付した結果, 平均血圧および左心房圧の低下が認められた. 心拍数に対してTTS-NTG 1/2および1枚貼付群では変化しなかったが, 2枚貼付群で増加した.

第3節 考察

ニトログリセリンは100年以上前から抗狭心症薬として用いられている(44)。その作用機序は血管に直接作用して血管を拡張するということがわかっていたが、その詳細な血管のターゲットは不明であった。最近ニトログリセリンやその他の一連のニトロ化合物がグアニレートシークラーゼの活性化により(17, 22, 28)平滑筋細胞内でサイクリックGMPを上昇させ、血管を弛緩させることがわかってきた(31, 56)。本剤は低用量で静脈を拡張させ、高用量で動脈も拡張させる薬物である(24)。この血管拡張作用によって狭心症ばかりでなく心不全にも用いられるようになってきた。ニトログリセリンの心不全を改善する機序としては、1)静脈を拡張させ、静脈還流量を減少させることにより肺血管抵抗を下げる。2)末梢動脈を拡張し、心拍出量を増加させる。3)心筋の酸素需要量を減らし、弱った心筋を保護する。という3点があげられている(23)。

そこで本章ではニトログリセリンの臨床的効果を明確にするため、作用機序の異なる血管拡張薬のヒドララジン、カルシウム拮抗薬のニフェジピンおよびアンギオテンシン変換酵素阻害薬のペナゼプリルを正常動物に投与し、循環動態を比較検討した。さらに新しいニトログリセリンの経皮吸収製剤のTTS-NTGを正常動物の背部に貼付し、循環動態を検討した。本実験でニトログリセリンを麻酔下の犬に静脈内投与すると、用量依存性の血圧の低下が認められたが、その持続時間は1-2分間であった。そこでニトログリセリンを $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の速度で2時間持続投与した。血圧は静脈内投与のニトログリセリンの方がTTS-NTGより下降が著明であった。静脈内投与のニトログリセリンおよびTTS-NTGいずれも投与終了とともに投与前の状態に戻る傾向であった。ヒドララジン、ニフェジピンは投与直後から血圧が低下し、2時間後も持続していたが、ペナゼプリルはほとんど変化しなかった。心不全の時には、循環血液中のみならず、組織レニン-アンギオテンシン系が亢進している(9)。アンギオテンシン変換酵素阻害薬のペナゼプリルが血圧に変化を及ぼさなかったのは本実験で用いた動物が正常血圧のため、レニン-アンギオテンシン系が活性化されていなかったと考えられる。左心房圧はニトログリセ

リン静脈内投与で低下傾向，TTS-NTGでも低下傾向が認められたが，ヒドララジンでは増加傾向になった。Kittleson ら（24）は冠状動脈閉塞による心不全モデル犬にヒドララジンを投与して心不全の指標となる左心室充満圧を測定しているが，ヒドララジンはほとんど左心室充満圧を変化させなかった。本実験の結果では左心房圧を増加させ，心不全に対して悪影響を及ぼすこともあったと考えられた。

左心房圧は肺に病変がない場合には肺動脈楔入圧とほぼ同じとされている（27）ので，ニトログリセリンは肺動脈圧を下げ，肺血管抵抗を減らすと考えられる。左心房圧の低下はニトログリセリンの血管拡張作用により静脈系に貯血され，心臓への還流量が減少した（13，56）結果であり，総末梢血管抵抗の低下は抵抗血管拡張作用（13，38）の結果と考えられる。

心筋の酸素消費量の指標となるダブルプロダクトはニトログリセリンでは持続投与している間減少したが，ヒドララジンでは投与後30分までは減少し，60-150分には増加した。この結果からニトログリセリンは心筋酸素消費量を減少させ，心不全を改善すると考えられる。ヒドララジンがダブルプロダクトを増加させた理由は心拍数の著しい増加によるものと考えられた。

本実験では循環動態についてニトログリセリンとヒドララジンは犬を，ニフェジピンとベナゼプリルは猫を用いて検討したが，ニトログリセリンとヒドララジンを猫に投与したときの循環動態（34，57）は本実験の犬の循環動態とほぼ一致する。また，ニフェジピンとベナゼプリルを犬に投与したときの循環動態（45，47）も今回の成績とほとんど変わらないので，今回用いた血管拡張薬は犬と猫における循環動態に関して種差がないと考えられた。

ニトログリセリン，ヒドララジン，ニフェジピンおよびベナゼプリルを比較した結果，ニトログリセリンは左心房圧，血圧および心筋酸素消費量を低下させ，心拍出量を増加させたが，心拍数に影響を及ぼさず，弱った心臓に負荷をかけないと考えられた。ヒドララジンは血圧を低下させ，心拍出量，心拍数，左心房圧および心筋酸素消費量を増加させ，

弱った心臓を強制的に収縮させる可能性があると考えられ、心不全に対して悪影響を及ぼすこともあると考えられた。ニフェジピンは血圧および心拍数を低下させたので、心筋収縮力を抑制すると考えられ、心不全に用いるべきでないと考えられた。ベナゼプリルは血圧および心拍数を変化させなかったため、急性心不全時に用いても循環動態を改善しないと考えられた。

ニトログリセリンの静脈内投与と経皮吸収製剤のTTS-NTGの力価比較は、左心房圧の低下の程度から判断すると、静脈内持続投与の $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ とTTS-NTGの2枚の作用がほぼ同じであると推測された。ニトログリセリンの静脈内投与はニトログリセリンがビニールチューブに吸着する性質を有するため(7)、ニトログリセリン専用の輸液セットを用いる必要があり、臨床的応用面で制約が生じる。しかしながら、ニトログリセリンの経皮吸収製剤は特殊な器材を必要とせず、24時間ニトログリセリンの血中濃度が維持でき(42)、剥離することにより、その作用を切ることができ、臨床面からもメリットが大きいと考えられる。また今回健康な動物に対しても、24時間の貼付が可能であったことは、元気の消失した犬では尚更応用がスムーズであり、獣医臨床応用上十分な価値を認めた。

本実験の結果からTTS-NTGは心不全状態時に増大した前負荷(左心房圧)および後負荷(抵抗血管の収縮)を改善することが示唆された。

第2章 心不全モデルに対するニトログリセリンの効果

第1章の結果から静脈内投与のニトログリセリンおよび経皮吸収製剤のTTS-NTGが正常動物において左心房圧（前負荷）および血圧（後負荷）を減少させることが明らかとなった。このことから、ニトログリセリンが実際に心不全の改善に効果を示すか否かを検討するため、心不全モデルを作製してニトログリセリンを投与した。ニトログリセリンの心不全を改善する作用機序としては、1) 静脈を拡張させ、静脈還流量を減少させることにより肺血管抵抗を下げる。2) 末梢動脈を拡張し、心拍出量を増加させる。3) 心筋の酸素需要量を減らし、弱った心筋を保護する(2, 21)。という3点がある。これらの作用を検討するため、第1節ではTTS-NTGを左心房圧上昇を伴う心不全モデルに貼付した。第2節では静脈内投与のニトログリセリンを獣医領域でよくみられる犬糸状虫による心不全を実験的に作製した心不全モデル動物に投与した。

第1節 左心房圧上昇を伴う心不全モデルに対するニトログリセリンの効果

I 実験目的

心不全時には静脈還流量が増加し、肺動脈圧や左心房圧の上昇がみられる。また、心拍出量を維持するため末梢血管が収縮している(40, 63)。この末梢血管の収縮の原因がレニン-アンギオテンシン系の亢進であり、血中および組織のアンギオテンシンII濃度の上昇がみられる(55, 60)。そのため、心不全を改善するためには、左心房圧の上昇を抑制することが重要である。そこで左心房圧を上昇させる心不全モデルを用いてTTS-NTGの作用を検討した。すなわち、冠状動脈内にアンギオテンシンIIを投与すると、冠血流量の減少による心筋酸素供給量が減少し、急性左心不全によって、左心房圧が上昇する(16)。

本節では血管収縮物質であるアンギオテンシンIIの犬の冠状動脈内投与による左心房圧上昇を伴う心不全モデルに対するTTS-NTGの効果を検討した。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

体重7.0-15.0kgの健康な雌雄ビーグル犬15頭を用いた.

2. 使用薬物

ニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTG(25mg/10cm², ニトロダーム-TTS, 日本チバガイギー)を用いた. アンギオテンシンII(ペプチド研)は生理食塩液に溶解し, 30, 100および300ng(液量30μl)を冠状動脈内に投与した.

3. 実験方法

チオペンタールナトリウム(ラボナール, 田辺)30mg/kgの静脈内投与により麻酔を導入し, 気管チューブを挿管してハロタン(フローセン, 武田)0.75-1%で実験中麻酔を維持した.

人工呼吸下で第5肋間で開胸し, 左冠状動脈前下降枝起始部から約2cm末梢側にプローブを装着し, パルスドップラー血流計(PD-1, バルベイーフィッシャー)を用いて冠血流量を測定した. 左心耳から先端型圧トランスデューサー(MPC-500, ミラー)を挿入し, ひずみ圧力アンプ(AP-601G, 日本光電)に接続して左心房圧を測定した. 大腿動脈よりカテーテルを大動脈内に留置し, 圧トランスデューサー(RP-1500, ナルコ)を介してひずみ圧力アンプにより血圧を測定した. 心拍数は血圧波より心拍計(AT-601G)で変換し測定した.

左冠状動脈前下降枝起始部から約1cm末梢側にPE-20のポリエチレンチューブ(クレイアダムス)を接続した27G注射針を挿入固定し, アンギオテンシンIIを注入するために用いた(Fig. 16). 動物は10-13肋骨部を電気バリカンおよび電気カミソリで剪毛し, TTS-NTG1/2枚, 1枚および2枚を各5頭に貼付した. アンギオ

テンシンII（ペプチド研）は30，100および300 ngの各量を用時生理食塩液に溶解し，TTS-NTG貼付前，貼付1および2時間後，および剥離30分後に液量30 μ lにして冠動脈内に投与した．アンギオテンシンII投与前後各パラメーターの変化につき，薬剤貼付前の値と貼付中および剥離後の値を比較した．

測定値はすべて平均値±標準誤差で示した．統計処理は対応のあるt検定を用いて有意差検定を行い，5%以下の水準をもって有意とした．

III 結果

アンギオテンシンII 30，100および300 ngを冠動脈内投与すると，それぞれ237-322，365-548および496-646 Hzの用量依存的な冠血流量の減少が認められた（Fig. 18）．なお，冠血流量の初期値は895.5±101.5 Hz（n=15）であった．左心房圧は0.6-1.9，3.0-5.7および7.1-10.0 mmH₂Oの用量依存的な上昇が認められた（Fig. 19）．また，心拍数にはほとんど作用しなかったが，血圧は上昇させる傾向（0-5 mmHg）がみられた（Fig. 20）．TTS-NTG貼付中，アンギオテンシンIIによって惹起された冠血流量の減少は1/2枚群で190-208 Hz，1枚群で125-205 Hz，2枚群で68-191 Hzの何れも有意な抑制が認められた（Fig. 18）．アンギオテンシンIIによって惹起された左心房圧の上昇もまた1/2枚群で5.4 mmH₂O，1枚群で2.6-6.3 mmH₂O，2枚群で9.1 mmH₂Oの何れも有意な下降が認められた（Fig. 19）．TTS-NTGの剥離後30分後には薬剤貼付前値に回復する傾向が認められた．

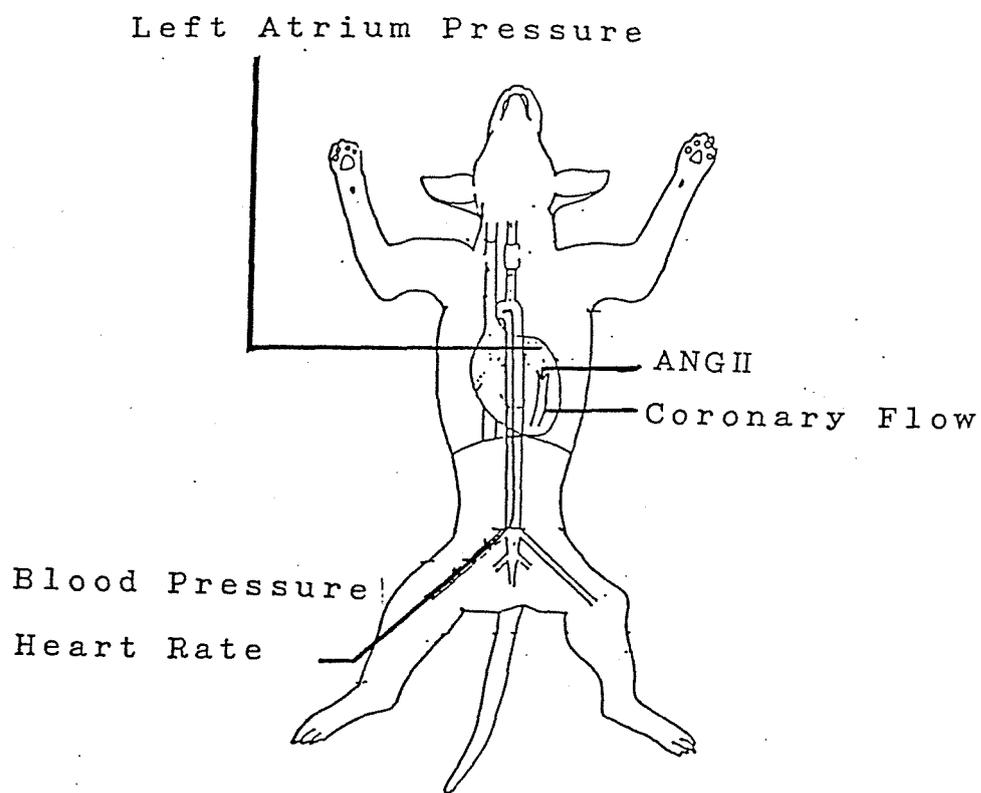


Fig. 16 Schema of experimental method

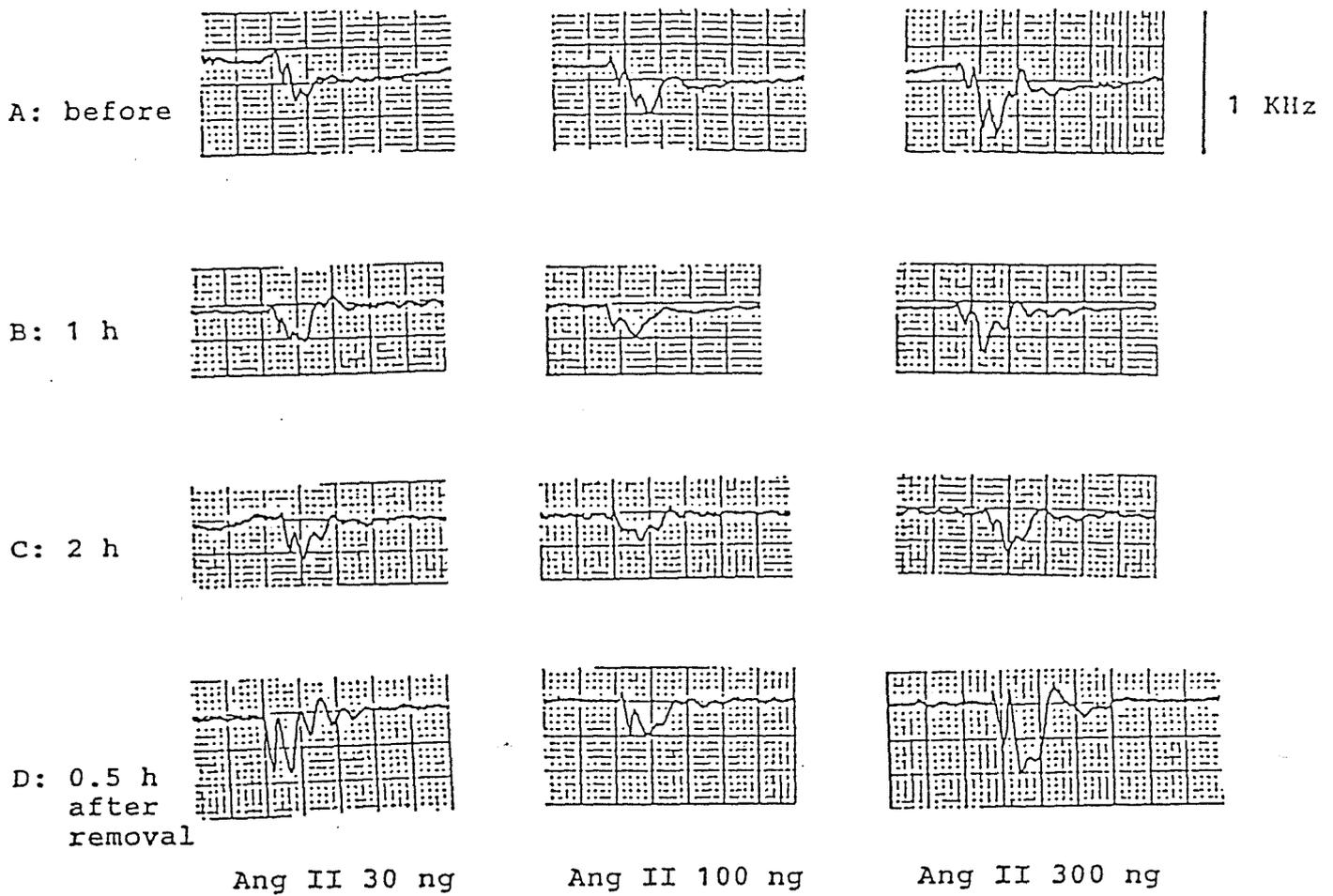


Fig. 17. Effect of TTS-NTG on Ang II induced coronary flow decrease in the dog

Ang II was injected intra-coronary at 30, 100 and 300 ng.

panel A: before TTS-NTG application

panel B: 1 hr after TTS-NTG application (1 system)

panel C: 2 hr after TTS-NTG application (1 system)

panel D: 0.5 h after removal of TTS-NTG

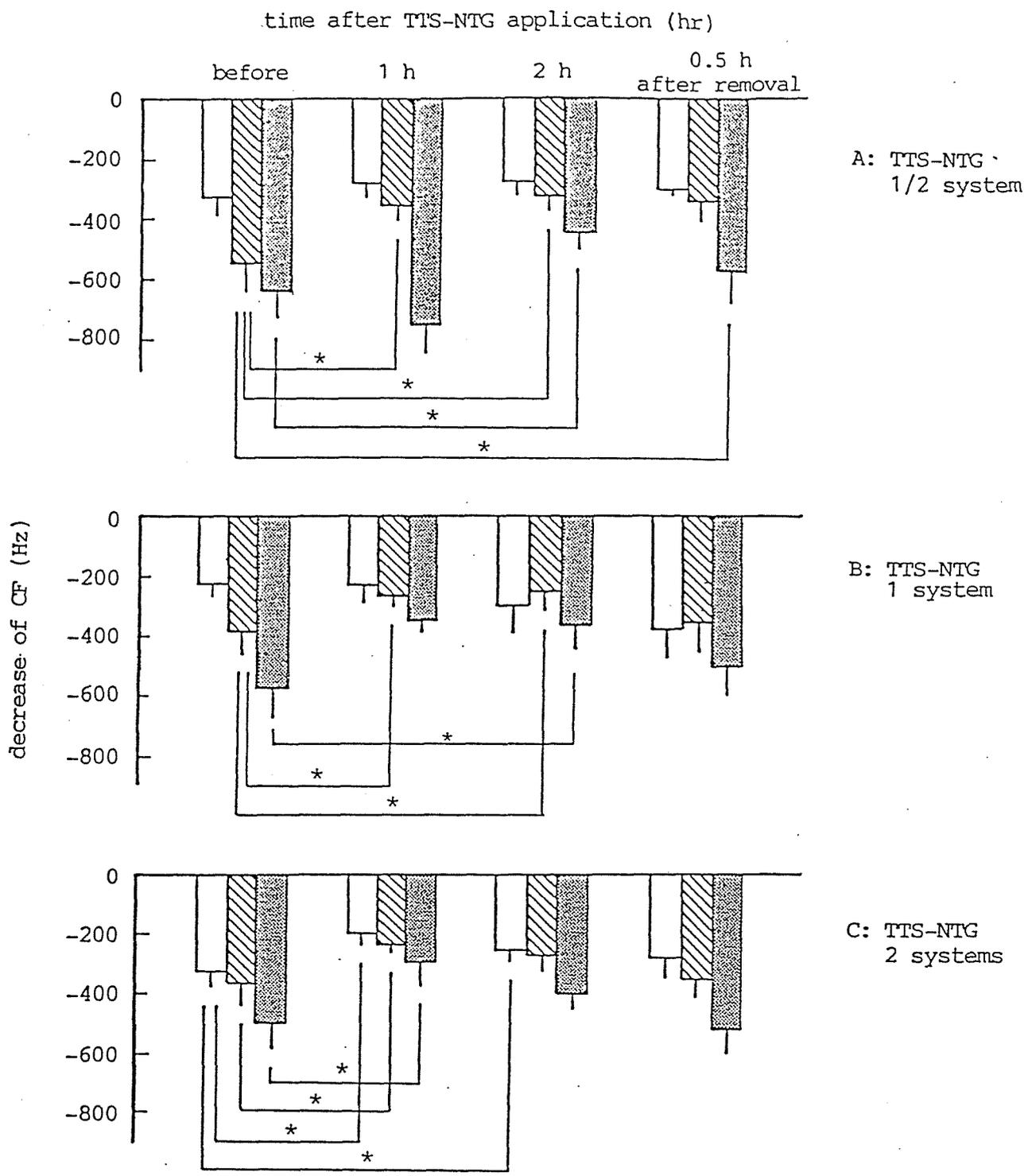


Fig. 18 Effect of TTS-NTG on changes in coronary flow (CF) induced by intra-coronary injection of angiotensin II (Ang II) in the dog.
 □ Ang II 30ng (N=5); ▨ Ang II 100ng (N=5); ▩ Ang II 300ng (N=4-5).

*P<0.05 vs before by Student's paired-t test.

panel A: TTS-NTG 1/2 system; panel B: TTS-NTG 1 system; panel C: TTS-NTG 2 systems.

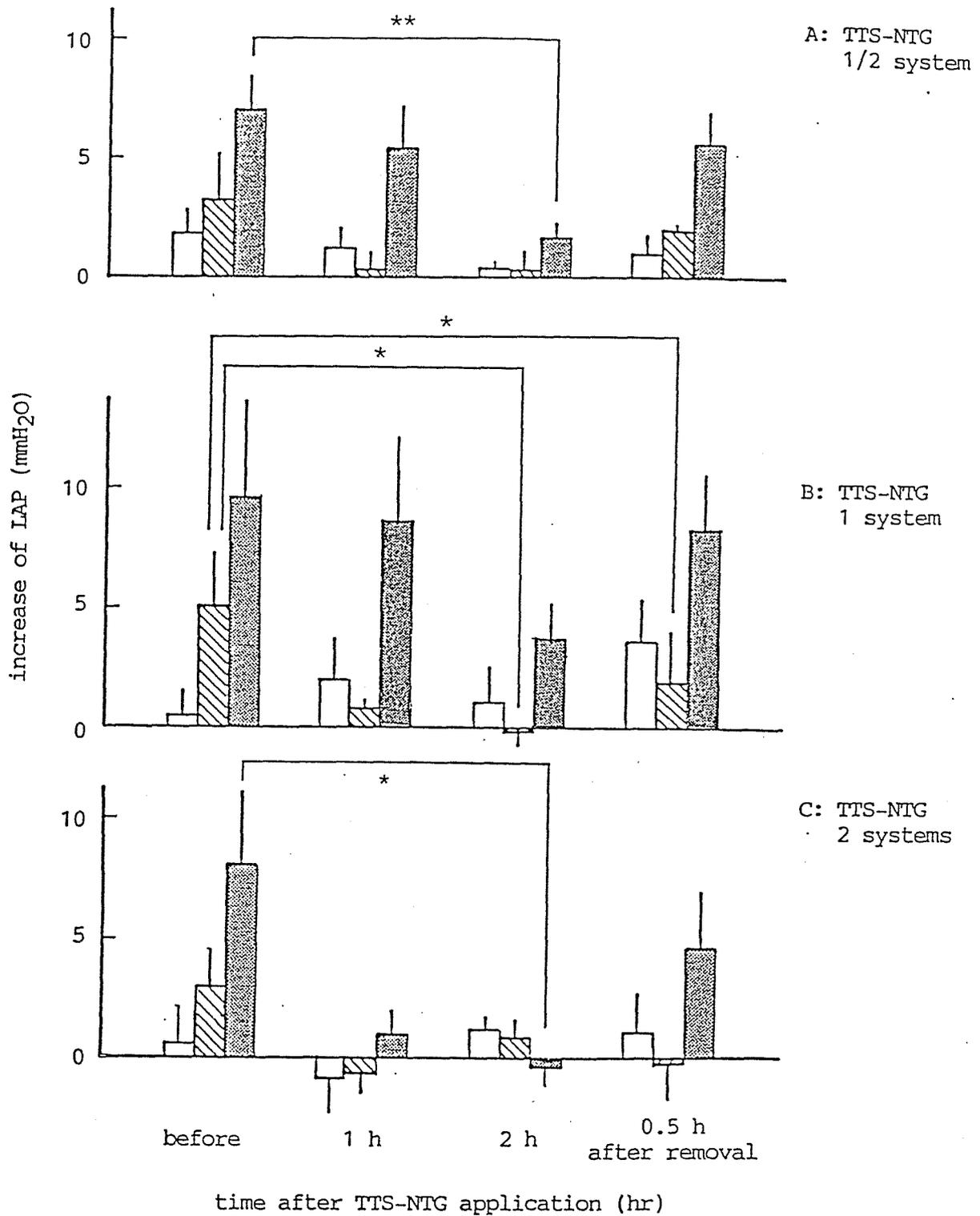


Fig. 19 Effect of TTS-NTG on changes in left atrial pressure (LAP) induced by intra-coronary injection of Ang II in the dog.

□ Ang II 30ng (N=4-5); ▨ Ang II 100ng (N=4-5);
 ■ Ang II 300ng (N=4-5).

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before by Student's paired-t test.

panel A: TTS-NTG 1/2 system; panel B: TTS-NTG 1 system;

panel C: TTS-NTG 2 systems.

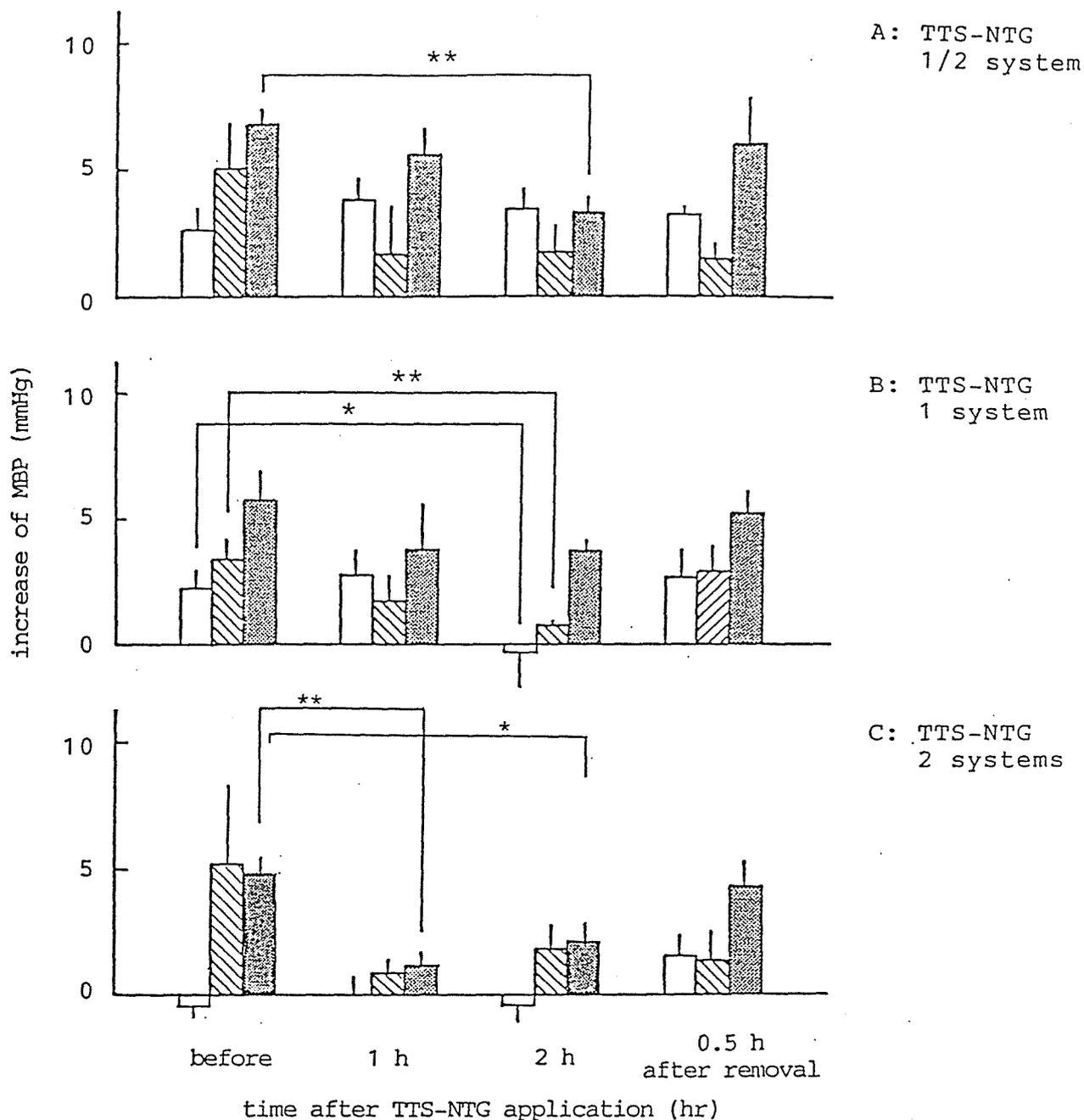


Fig. 20 Effect of TTS-NTG on changes in mean blood pressure (MBP) induced by intra-coronary injection of Ang II in the dog. □ Ang II 30ng (N=5); ▨ Ang II 100ng (N=5); ▩ Ang II 300ng (N=5). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs before by Student's t-test. panel A: TTS-NTG 1/2 system; panel B: TTS-NTG 1 system; panel C: TTS-NTG 2 systems.

IV 小括

1. 麻酔下の犬にアンギオテンシンII 30, 100および300 ngをそれぞれ冠状動脈内に投与すると, 用量依存的に冠血流量の減少および左心房圧の上昇が認められた.
2. TTS-NTG貼付によりアンギオテンシンIIの冠状動脈内投与による冠血流量の減少と左心房圧の上昇が抑制された.

第2節 実験的犬糸状虫症に対するニトログリセリンの効果

I 実験目的

第1章の結果からニトログリセリンは左心房圧を低下させる作用が認められた。獣医領域で右心不全としては犬糸状虫症が最も多く、治療が困難な疾病である。その病態は犬糸状虫が肺動脈に寄生し、肺動脈狭窄が起こり肺高血圧症となる(3, 49)。そこで本節では実験的に犬糸状虫による肺高血圧症を作製してニトログリセリンの作用を検討した。本実験では急性犬糸状虫症(大静脈症候群)における急性心不全への対応を考えて速やかに薬理作用が発現する静脈内投与のニトログリセリンを用いた。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

犬糸状虫未感染の体重4.0-12.0kgの雌雄の雑種犬6頭を用いた。

2. 使用薬物

ニトログリセリン(ミリスロール, 日本化薬)を生理食塩液で希釈して用いた。

3. 実験方法

4頭にペントバルビタール(ダイナボット)麻酔を施し、頸静脈より肺動脈内にフレキシブルアリゲーター鉗子を用いて犬糸状虫感染犬の心臓から摘出した犬糸状虫成虫を7-36隻挿入した(Table 2)。他の2頭は無処置群とした。挿入後4-5週間に、X線検査を実施した後、ペントバルビタール麻酔を施し人工呼吸下で開胸し、大動脈弓に電磁血流計用プローブ(日本光電)を装着し、電磁血流計(MFV-2100, 日本光電)に接続し、心拍出量を測定した。右心室壁より肺動脈内に先端型圧トランスデューサー(MPC-500, ミラー)を留置し、ひずみ圧力用アンプ(AP-601G, 日本光電)に接続し、肺動脈圧を測定した。股動脈内にカテーテルを留置し、圧トランスデューサー

(MX-800, メディックス)に接続し, ひずみ圧力用アンプ(AP-601G, 日本光電)を通して血圧を測定した. 心拍数は瞬時心拍計(AT-601G, 日本光電)を用いて血圧波形より測定した(Fig. 21). 股静脈内にカテーテルを留置し, 薬物投与とした. 循環動態が安定した後, ニトログリセリン1, 3および10 μ g/kg(ミリスロール, 日本化薬)を静脈内投与した. 薬物投与は低用量から高用量の順に投与し, 投与間隔は循環動態が投与前の状態に戻ってから投与し, 最低15分間とした.

薬物投与後, 肺動脈圧が最も低下した時に, その他の循環動態のパラメーターも測定した.

体表面積, 1回拍出量, 心係数および総末梢血管抵抗は以下の方法で算出した.

$$\text{体表面積(m}^2\text{)} = 0.11 \times (\text{体重(kg)})^{2/3}$$

$$1 \text{ 回拍出量(l/beat)} = \text{心拍出量(l/min)} / \text{心拍数(beats/min)}$$

$$\text{心係数(l/min/m}^2\text{)} = \text{心拍出量(l/min)} / \text{体表面積(m}^2\text{)}$$

$$\text{総末梢血管抵抗(dyne}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^2\text{)} = \text{平均血圧(mmHg)} / \text{心係数(ml/min/m}^2\text{)} \times 1332$$

$$\text{肺血管抵抗(dyne}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}\cdot\text{m}^2\text{)} = \text{平均肺動脈圧(mmHg)} / \text{心係数(ml/min/m}^2\text{)} \times 1332$$

測定値はすべて平均値 \pm 標準誤差で示した. 統計処理は対応のあるt検定を用いて有意差検定を行い, 5%以下の水準をもって有意とした.

III 結果

犬糸状虫を挿入後4-5週間目に4頭のうち3頭に肺動脈の怒張がみられ, その中の1

頭は腹水の貯留もみられた (Table 2, Fig. 22). 犬糸状虫挿入群の肺動脈圧は 21.5 ± 6.6 mmHg と対照群の $4.2 - 7.1$ mmHg に比較して有意に高かった (Fig. 23). ニトログリセリンの $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与では肺動脈圧をほとんど変化しなかったが, 3 あるいは $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与では肺動脈圧はそれぞれ 3.3 あるいは 4.6 mmHg 下降した. 肺動脈圧の低下はニトログリセリン投与後 $3 - 5$ 分間持続した. ニトログリセリンの $1 - 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与では平均血圧を $12.0 - 25.7$ mmHg 用量依存的に低下させた. ニトログリセリンの $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与では肺血管抵抗は有意に減少した (Fig. 24). 心拍数はニトログリセリンの 1 あるいは $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与で変化しなかったが, $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ の投与で増加する傾向を示した. ニトログリセリンの投与は心拍数および総末梢血管抵抗には影響を及ぼさなかった (Fig. 25).

Pulmonary artery pressure

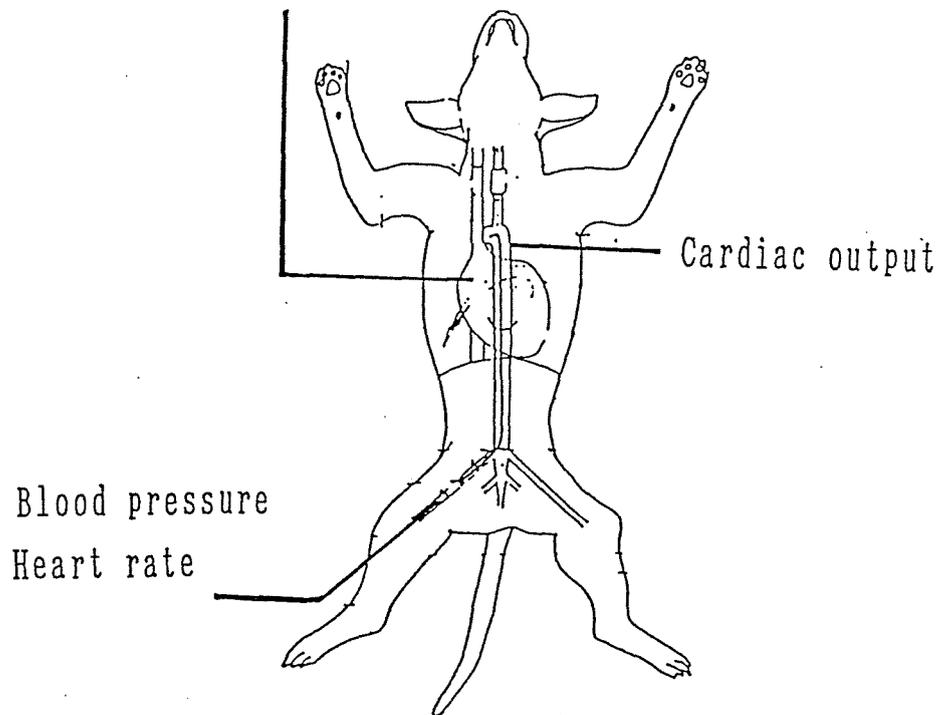


Fig. 21 Schema of experimental method



Fig. 22 Engorgement of pulmonary artery

Table 2 Experimental dogs

| | No. | Sex | B.W.(kg) | No.of inserted heartworms | Obtained clinical findings after treatment |
|-------------------------|-----|------|----------|---------------------------|--------------------------------------------|
| Heartworm inserted dogs | 1 | Male | 4.0 | 7 | Ascites |
| | | | | | Engorgement of pulmonary artery |
| | 2 | Male | 5.0 | 19 | Engorgement of pulmonary artery |
| | 3 | Male | 7.0 | 36 | |
| | 4 | Male | 12.0 | 26 | Engorgement of pulmonary artery |
| Control dogs | 5 | Male | 8.0 | 0 | - |
| | 6 | Male | 11.0 | 0 | - |

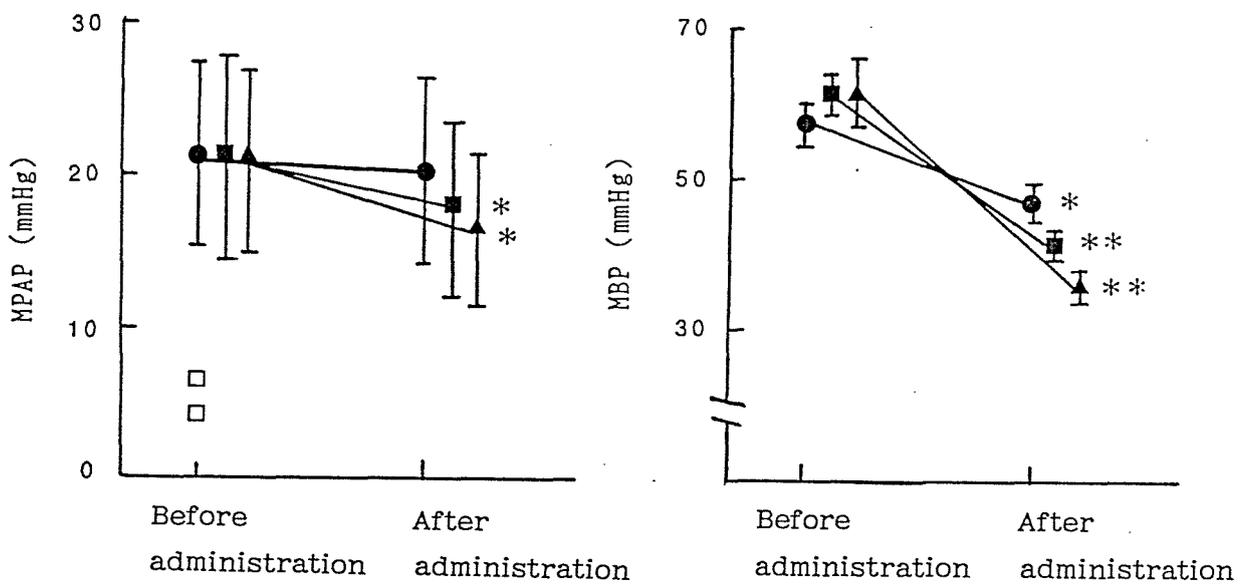


Fig. 23 Effect of nitroglycerin $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ (-●-), $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ (-■-) and $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ (-▲-) on mean pulmonary arterial pressure (MPAP) and mean blood pressure (MBP) in the dogs inserted heartworms into the pulmonary artery. □: Mean pulmonary arterial pressure in control.

Data represent mean \pm S.E.(n=4). *:p < 0.05, **: < 0.01, significantly different from before.

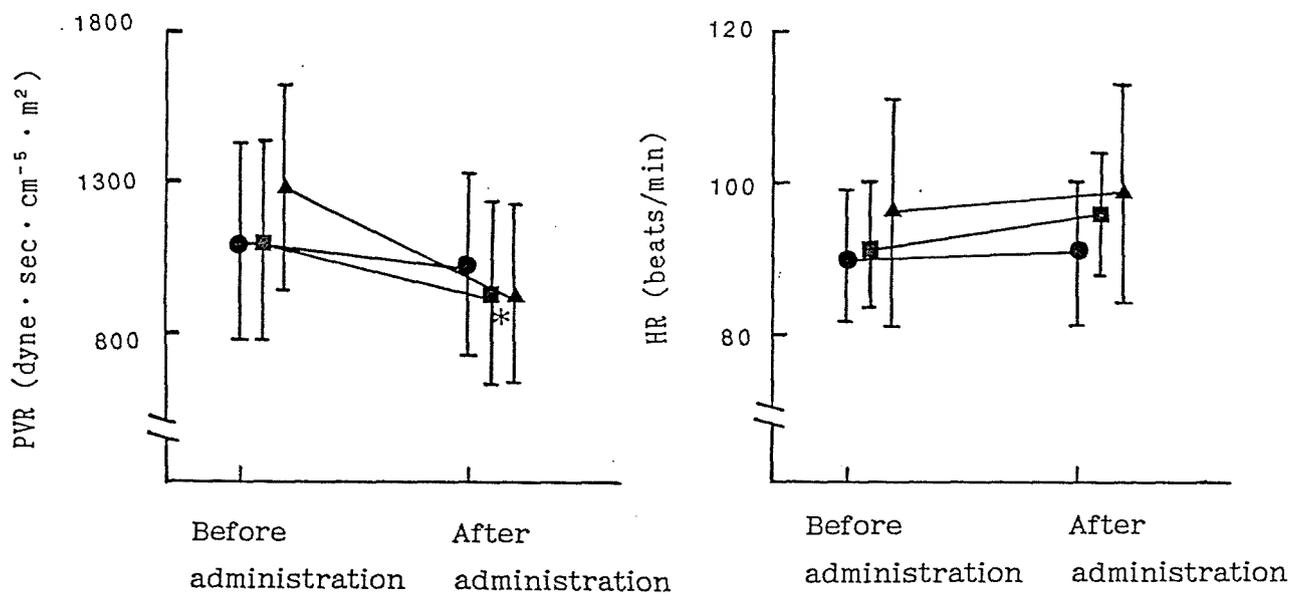


Fig. 24 Effect of nitroglycerin 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (- ● -), 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (- ■ -) and 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (- ▲ -) on pulmonary vascular resistance (PVR) and heart rate (HR) in the dogs inserted heartworms into the pulmonary artery.

Data represent mean \pm S.E.(n=4). *:p < 0.05, significantly different from before.

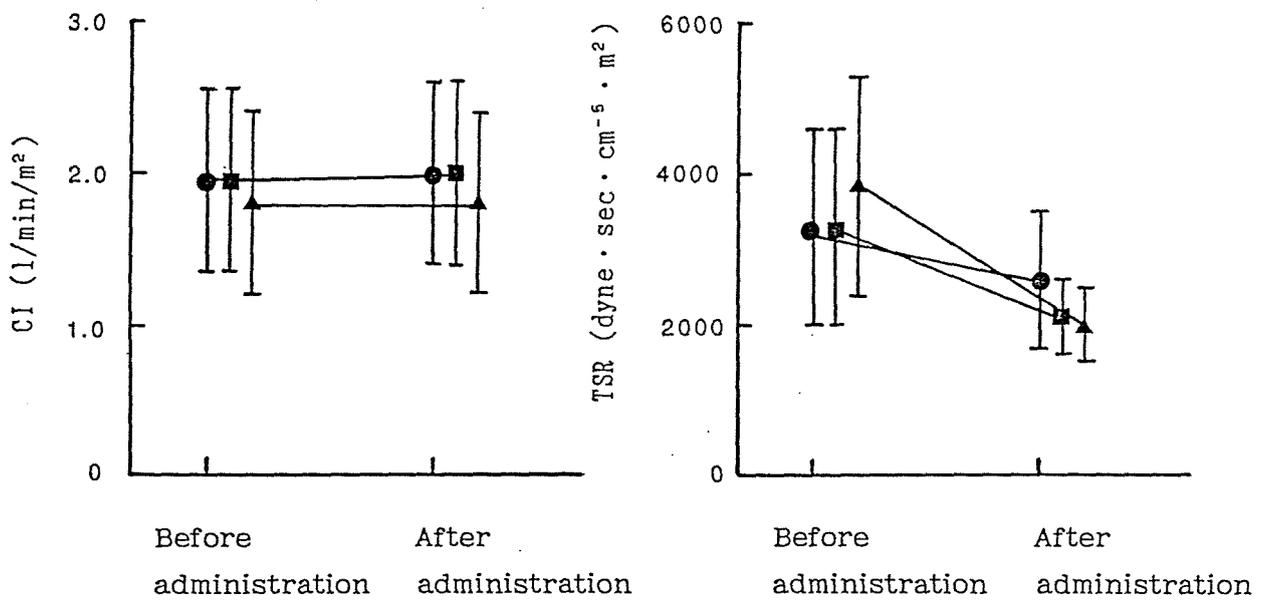


Fig. 25 Effect of nitroglycerin $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ (- ● -), $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ (- ■ -) and $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ (- ▲ -) on cardiac index (CI) and total systemic resistance (TSR) in the dogs inserted heartworms into the pulmonary artery.

Data represent mean \pm S.E.(n=4).

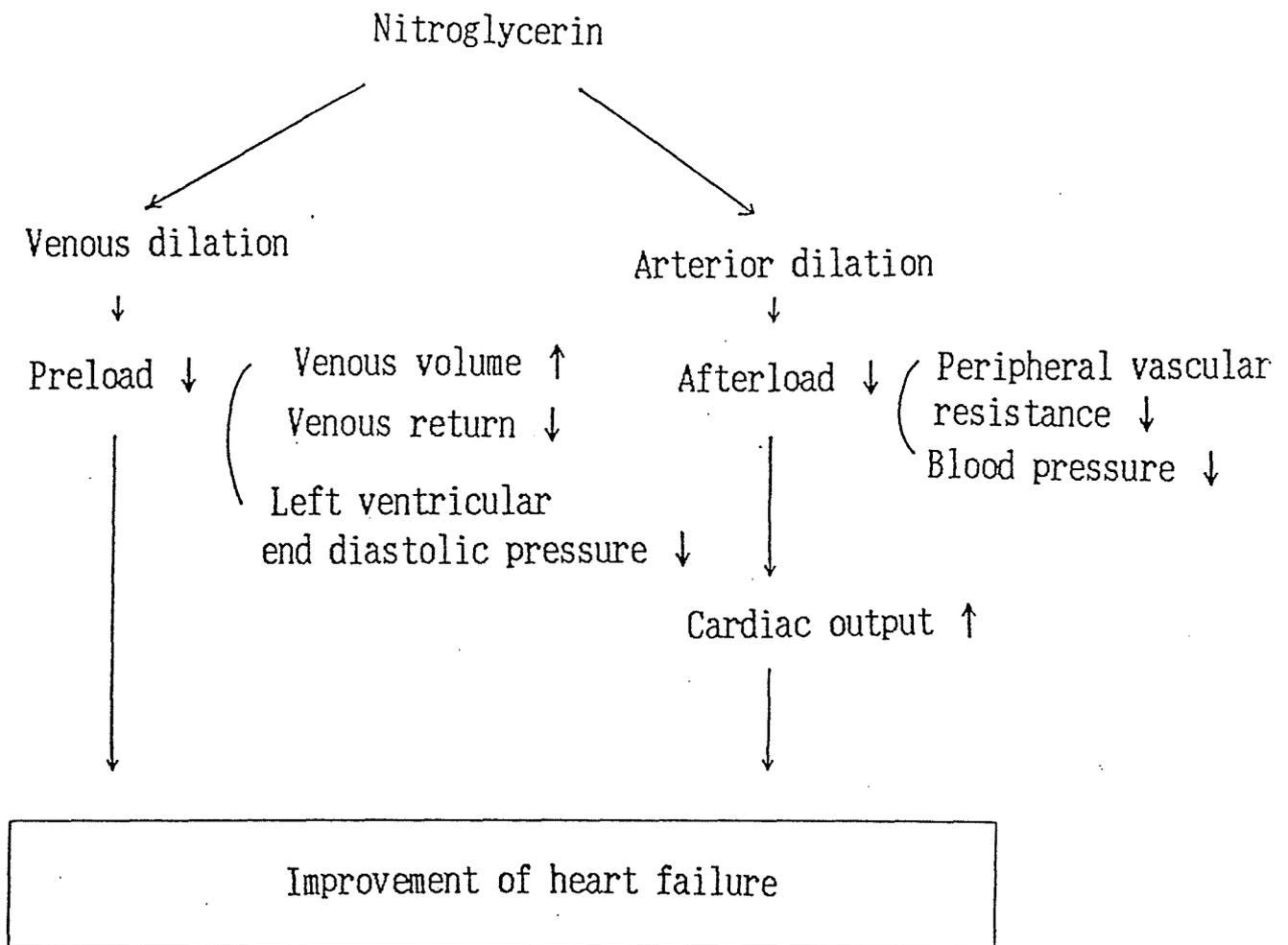


Fig. 26 Effects of nitroglycerin on heart failure

↑: increase ↓: decrease

IV 小括

1. 犬の肺動脈内に犬糸状虫を挿入して作製した右心不全モデルにおいて挿入後4 - 5週目に有意な肺動脈圧の上昇が認められた。
2. この実験モデルにおいてニトログリセリンの3および10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の静脈内投与で肺動脈圧は下降し、明らかに肺血管抵抗を減少させることができた。

第3節 考察

肺動脈圧の低下は前負荷の減少につながる(52)。高用量のニトログリセリン(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)では心拍数の増加傾向がみられたが、その原因は血圧の低下による反射性の頻脈(43)と考えられた。また、第1章で正常動物にTTS-NTGを貼付したとき、頻脈が認められなかったのは血圧の下降が著明でなかったからと考えられ、橋本(18)も、ニトログリセリンの静脈内投与の場合、血圧下降が著明なため、圧受容体反射による交感神経興奮を介して頻脈が起こるが、経皮的なニトログリセリンの投与では血圧の下降が少ないため頻脈がほとんどないとしている。本実験ではニトログリセリンによる心拍出量および心係数の変化は認められなかった。本実験ではニトログリセリンを静脈内単回投与しか実施しなかったが、第1章のニトログリセリンの持続投与の結果から投与中は肺動脈圧および血圧の下降が持続すると考えられる。

Taylorら(59)は亜硝酸剤による心拍出量と左心室充満圧の関係を調べているが、亜硝酸剤は左心室充満圧を著明に減少させるが、心拍出量をほとんど変化させないとしている。本実験結果もTaylorらと同様にニトログリセリンが心拍出量を変化させずに、肺動脈圧を減少させた。

心不全では一般的には、十分な心拍出量を得て、末梢臓器組織への還流が維持されるように、静脈および動脈は収縮状態にある(26)。この血管系の変化は神経および体液性調節機構によってもたらされ、心不全状態に適応していくための合目的変化と考えられる。しかし、この変化は心臓に対する負荷を免れないため、心不全を進行させる結果となる。ここに心不全に対する血管拡張療法の原点がある。血管拡張薬の基本は、後負荷、前負荷を減少させ、心臓の負担を減らしながら心拍出量を維持増加させることにある(Fig. 26)。心機能を決定する本質的要素として前負荷、後負荷、心収縮力、心拍数がある。血管拡張薬は原則的に心筋に対して直接作用を有さず、血管平滑筋を弛緩させることにより間接的に心不全状態の臨床症状および循環動態に改善をもたらす(6)。

心不全を惹起させ、かつ悪化させる物質としてアンギオテンシンIIが知られている。ア

ンギオテンシンIIは血管収縮作用を持つ生理活性物質(11, 51)であり, 冠状動脈も収縮させる(19). 冠状動脈内へのアンギオテンシンII投与による左心房圧の上昇は心筋への酸素供給量が減少したため左室ポンプ機能の低下が原因と考えられる. ニトログリセリンは心臓表面の冠状動脈に対して特異的に拡張させる作用を有しており(12), この効果はTTS-NTGの貼付によって冠血流量の低下を抑制したことからも明らかで, その結果心筋への酸素供給量を増加させ, 心機能が改善し左心房圧の上昇を抑制したと考えられた.

急性犬糸状虫症における全身症状は虫体の肺動脈寄生による肺動脈高血圧症が右心室拡大を引き起こし, 静脈系のうっ滞によって肝, 腎機能の減弱を引き起こすことが知られている. さらに病状の進行によって肺機能の低下は全身低酸素を引き起こし, 左心機能の不全が発生すれば, 腎機能は著しく障害され, 腎からのアンギオテンシンIIの分泌の亢進が活発となることが知られている(50). 以上の病態生理は多くの研究者によって解明されているところであるが, この循環不全に対しては現在ヒドララジンが推奨されている. しかし, ヒドララジンが肺動脈圧を上昇させるので, 注意が必要であるという報告(48)や, 実験的肺高血圧においてヒドララジンが肺動脈圧を下げないという報告(33, 39), 原発性肺高血圧症においても肺動脈圧を変化させないとする(53)報告もあり, 最良の薬物とは言い難い状況である. 著者の第1章の成績においても平均血圧は下げるものの, 左心房圧はかえって上昇しており, フィラリア症の循環状態を考えた場合極めて問題な作用と言わざるを得ない. 第1章の結果からニトログリセリンには左心房圧を低下させる, つまり前負荷を軽減させる作用が認められ, かつアンギオテンシンII負荷モデルにおいても極めて良好な反応がみられたことからニトログリセリンはフィラリア症心不全犬に対してこれまでの薬剤の中では極めて良好な循環改善を発現する薬物と推察できた.

犬糸状虫を挿入した犬の肺動脈圧は 21.5 ± 6.6 mmHgで正常の犬の $4.2 - 7.1$ mmHgに比べて上昇しており, ニトログリセリンを3および $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ の静脈内投与で, 肺動脈圧の低下が認められた. この反応は肺毛細血管抵抗の減弱によること

が、第1章の成績でも明かであることから、フィラリア症の病態改善薬としてはニトログリセリンが他の血管拡張薬より有効な薬物であるといえる。

結論として、TTS-NTGには心不全を改善する作用を有し、静脈内投与のニトログリセリンには犬糸状虫による肺動脈高血圧症を改善する作用があると示唆された。

第3章 ニトログリセリンのイヌにおける耐性の発現について

第2章の結果からTTS-NTGが犬の心不全を改善することが示唆された。人の臨床では血管拡張薬を長期連用する場合に最も重要な問題は耐性が生じ(1)、薬物の効果が消失あるいは減弱することである。長期間舌下投与されたニトログリセリンに対する耐性が出たという報告もある(62)。モルモットにニトログリセリンテープを長期間連続貼付して薬理作用の減弱を調べた報告(15)があるが、犬に関する報告はみられない。そこで犬における耐性の発現の有無を検索するため、以下の実験を実施した。

第1節 連続投与後の循環動態に及ぼす影響

I 実験目的

犬にTTS-NTGを連続貼付した後に、静脈内にニトログリセリンを投与し、その効果の減弱の有無と耐性の発現を検索する。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

心疾患のない健康な雌雄のビーグル犬10頭を用いた。

2. 使用薬物

ニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTG(25mg/10cm²、ニトロダーム-TTS、日本チバガイギー)と生理食塩液で希釈したニトログリセリン(ミリスロール、日本化薬)を用いた。

3. 実験方法

5頭のビーグル犬の胸部を電気カミソリで剪毛したあとTTS-NTG(25mg/10cm²)1枚を1日1回24時間、14日間にわたって連続貼付した。

T T S - N T G が人工的に剥脱しないように犬用ジャケットを犬に着用させた (T T S - N T G 貼付群) . これにより貼付期間中 T T S - N T G の脱落を完全に予防することができた.

14 日目, 24 時間の最終貼付の終了後, T T S - N T G を剥離し, 約 2 時間後にチオペンタール (ラボナール, 田辺) $30 \text{ mg} / \text{kg}$ の静脈内投与により麻酔を導入し, 気管チューブを挿入してハロタン (フローセン, 武田) $0.75 - 1\%$ で実験中麻酔を維持した. 股動脈内にカテーテルを留置し, 圧トランスデューサー (R P - 1500, ナルコバイオシステム) に接続し, ひずみ圧力用アンプ (A P - 601G, 日本光電) を通して血圧を測定した. 心拍数は瞬時心拍計 (A T - 601G, 日本光電) を用いて血圧波形より測定した. 循環動態が安定した後大腿静脈よりニトログリセリン (ミリスロール, 日本化薬) $0.3, 1.0, 3.0$ および $30 \mu \text{g} / \text{kg}$ を静脈内投与し, 血圧 (収縮期血圧, 拡張期血圧, 平均血圧) ならびに心拍数に現れる反応を観察した. 実験方法を F i g . 27 に示した. 上記の各指標は熱ペン式レコーダー (W S - 681G, 日本光電) を用いて連続的に記録した.

別の 5 頭のビーグル犬をコントロール群 (T T S - N T G 非貼付群) として同様にハロタン麻酔下でニトログリセリン静脈内投与し, T T S - N T G 貼付群との差異を比較した.

測定値はすべて平均値 ± 標準誤差で示した. 統計処理は対応のない S t u d e n t の t 検定を用いて有意差検定を行い, 5% 以下の水準をもって有意とした.

III 結果

ニトログリセリンの静脈内投与によりコントロール群, 貼付群ともに用量依存的な降圧反応を示したが, 0.3 および $1.0 \mu \text{g} / \text{kg}$ の低用量ではコントロール群の平均血圧差がそれぞれ $6.3 \pm 1.0 \text{ mmHg}$ および $19.0 \pm 1.5 \text{ mmHg}$ であったのに対し, 貼付群ではそれぞれ $2.6 \pm 0.7 \text{ mmHg}$ および $12.8 \pm 1.7 \text{ mmHg}$ であり, コントロール群に比べて変化が弱く, ある程度の耐性をうかがわせた (T a b l e 3).

しかしながら、この低用量のニトログリセリンの静脈内投与時においてもなお、TTS-NTG貼付群での血圧の下降は十分明確であった。高用量（3.0, 10および30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）のニトログリセリンの静脈内投与時の血圧反応は貼付群（3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 22.7 \pm 1.6 mmHg, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 32.5 \pm 1.6 mmHg, 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 36.3 \pm 2.2 mmHg）にはコントロール群（3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 25.1 \pm 1.1 mmHg, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 33.1 \pm 2.4 mmHg, 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 35.9 \pm 3.1 mmHg）の間に差がなかった。心拍数はニトログリセリンの静脈内投与時に用量依存的に増加した（対照群の心拍数差: 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 9 \pm 2回/分-30 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 66 \pm 12回/分）。この心拍数に対する反応ではニトログリセリン0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の静脈内投与時についてのみTTS-NTG貼付群の反応（0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 2 \pm 1回/分）が弱かった。

Fig. 27 Experimental method of vasopressor responses to the intravenous nitroglycerin in dogs.

| | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | Vasopressor responses |
|---|-------|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|---|---|-----------------------|
| | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | | |
| | (Day) | | | | | | | | | | | | | | | |

T : TTS-NTG application

Table 3 Vasopressor responses to the i.v. injection of nitroglycerin in dogs(Δ change).

| Dose μ g/kg | Control | | | | TTS-NTG** | | | |
|--------------------|-----------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | S B P mmHg | D B P mmHg | M B P mmHg | H R beats/min | S B P mmHg | D B P mmHg | M B P mmHg | H R beats/min |
| 0.3 | 8.3 \pm 1.7 ^{b)} | 5.2 \pm 0.6 | 6.3 \pm 1.0 | 9 \pm 2 | 4.2 \pm 0.6* | 1.8 \pm 0.8** | 2.6 \pm 0.7** | 2 \pm 1** |
| 1.0 | 23.3 \pm 2.9 | 16.8 \pm 1.0 | 19.0 \pm 1.5 | 23 \pm 3 | 15.4 \pm 1.7* | 11.4 \pm 1.7* | 12.8 \pm 1.7* | 15 \pm 3 |
| 3.0 | 31.2 \pm 2.0 | 22.2 \pm 1.5 | 25.1 \pm 1.1 | 28 \pm 4 | 25.6 \pm 1.4* | 21.2 \pm 2.1 | 22.7 \pm 1.6 | 28 \pm 3 |
| 10 | 39.7 \pm 2.3 | 29.8 \pm 2.7 | 33.1 \pm 2.4 | 44 \pm 6 | 36.6 \pm 0.9 | 30.5 \pm 2.2 | 32.5 \pm 1.6 | 30 \pm 6 |
| 30 | 42.2 \pm 2.4 | 32.8 \pm 3.5 | 35.9 \pm 3.1 | 66 \pm 12 | 40.0 \pm 1.2 | 34.5 \pm 2.8 | 36.3 \pm 2.2 | 41 \pm 7 |

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control by Student's t-test

a) TTS-NTG(25mg/10cm², 1 system) was applied 24 hours for 14 days

b) all the figures represent mean \pm S.E. of the Δ change

SBP : systolic blood pressure

DBP : diastolic blood pressure

MBP : mean blood pressure

H R : heart rate

IV 小括

犬にT T S - N T Gを14日間連続貼付した後、ニトログリセリンを静脈内投与し、その降圧反応を検討した。その結果、T T S - N T Gの連続貼付は静脈内投与のニトログリセリンの降圧作用をほとんど減弱しなかった。

第2節 連続投与後の冠状動脈結紮による心電図に及ぼす影響

I 実験目的

小動物にTTS-NTGを連続投与したとき、耐性のため抗心不全作用が減弱しないかを検討するために本実験を実施した。犬の冠状動脈を結紮すると、心電図のST segment上昇が観察される(10)ため、本節ではTTS-NTG連続貼付群と1回貼付群のニトログリセリンの作用を心電図のST上昇を指標として比較検索した。

II 実験材料および方法

1. 実験材料

心疾患のない健康な雌雄のビーグル犬15頭を用いた。

2. 使用薬物

ニトログリセリンの経皮吸収製剤TTS-NTG(25mg/10cm², ニトロダーム-TTS, 日本チバガイギー)を用いた。

3. 実験方法

胸部を電気カミソリで剪毛したあとTTS-NTG(25mg/10cm²)1枚を1日1回24時間、14日間にわたって連続貼付した。TTS-NTGが剥されないように犬用ジャケットを犬に着用させた(TTS-NTG連続貼付群5頭)。

14日目、24時間の最終貼付の終了後、TTS-NTGを剥離し、チオペンタール(ラボナール, 田辺)30mg/kgの静脈内投与により麻酔を導入し、気管チューブを挿入してハロタン(フローセン, 武田)0.75-1%で実験中麻酔を維持した。

人工呼吸下に第5-6肋間で開胸した。心嚢膜切開後、左冠状動脈下行枝の分枝を剥離し結紮した。心電図は結紮した分枝の左室壁領域内ならびに領域外の心表面より単極誘導を用い、不関電極を右後肢に設置して記録した。冠動脈分枝結紮後、経時的に心電図上よ

りSTの偏位を求め、結紮前値からの変化分を ΔST (mV)とし、TTS-NTG (25 mg / 10 cm², 1枚)貼付時の抑制効果を検討した。TTS-NTGは結紮2時間前に貼付した。貼付部位は10-13肋骨部であり、この胸部をTTS-NTGの貼付前に電気バリカンと電気カミソリで剪毛した。実験方法をFig. 28に示した。

耐性の有無を調べるために一回貼付群(5頭)およびコントロール群(非貼付群5頭)を設けた。

測定値はすべて平均値±標準誤差で示した。統計処理は対応のないStudentのt検定を用いて有意差検定を行い、5%以下の水準をもって有意とした。

III 結果

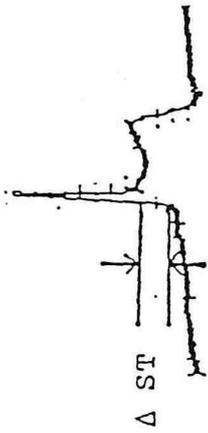
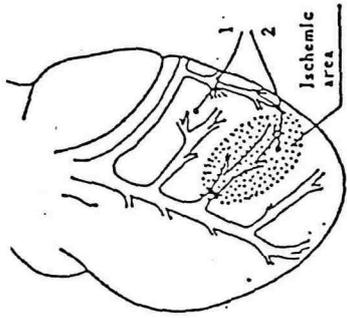
左冠状動脈前下降枝の分枝結紮後に、分枝流域内の心電図上でみられるSTの上昇は対照群で3.93-5.01 mV, TTS-NTG連続貼付群で1.33-2.70 mV, TTS-NTG1回貼付群で0.86-2.77 mVであった。ST上昇は、14日間の連続貼付の有無と関係なく、明らかに抑制され、その程度は連続貼付の有無に関して有意な差が認められなかった(Fig. 29, 30)。

Fig. 28 Experimental method of the ST elevation of ECG after coronary ligation.

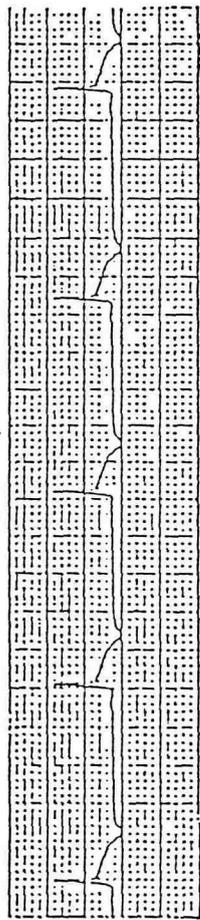
| | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | Coronary ligation |
|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------------|
| | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| (Day) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 14 | 14 | 14 | A |

T : TTS-NTG application

A : 2hr after cumulative TTS-NTG application

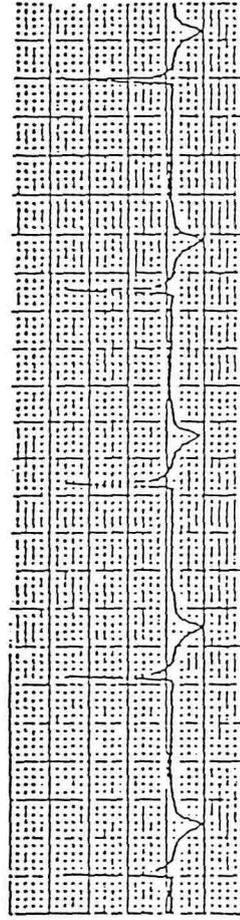
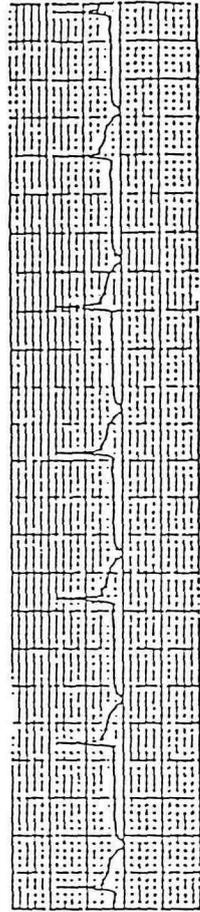


before ligation

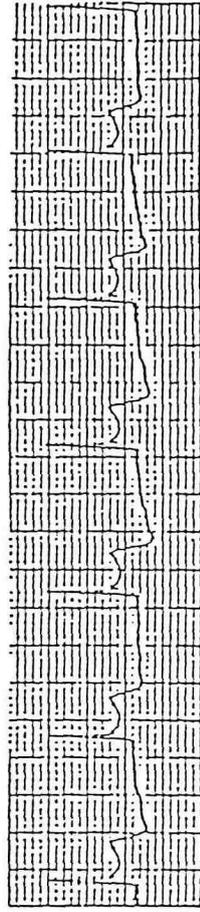


1)

after ligation



2)



25 mV

1 sec

- 1) Epicardial ECG in non-ischemic area
- 2) Epicardial ECG in ischemic area

Fig. 29 ST elevation of ECG induced by coronary ligation in the dog

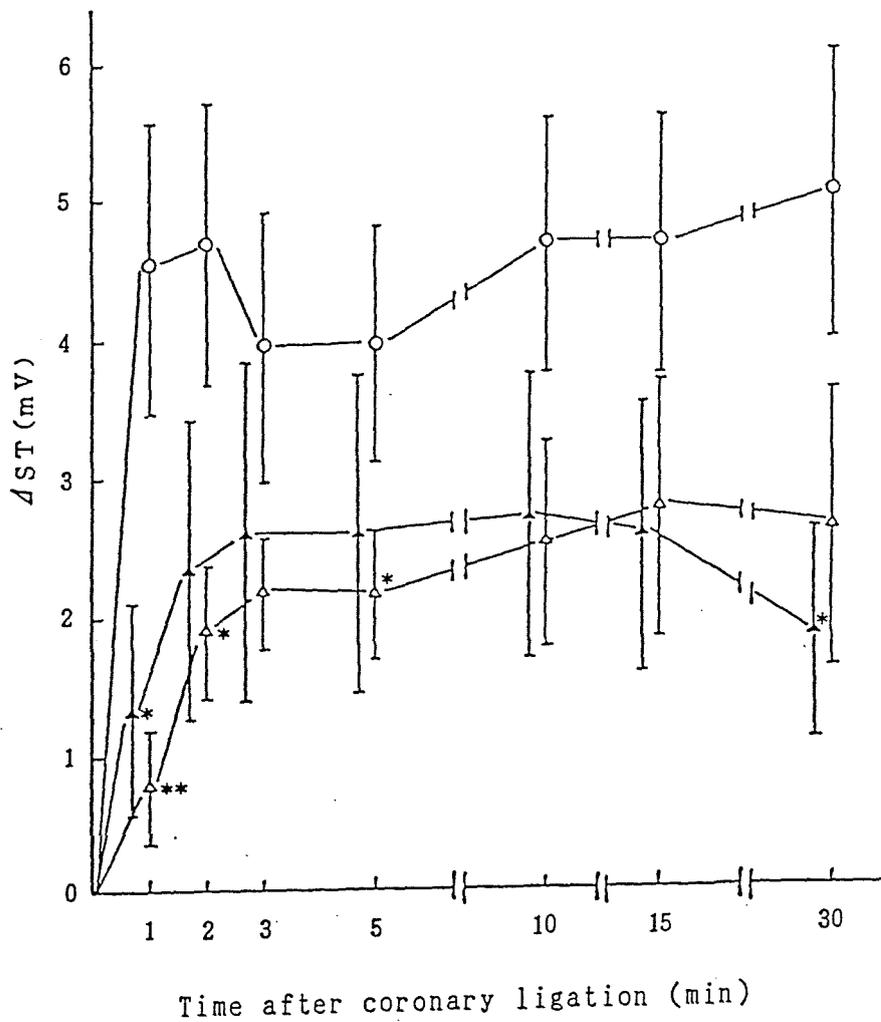


Fig. 30 Effect of TTS-NTG on the ST elevation of ECG after coronary ligation.

○-○ Control (n=5)

△-△ TTS-NTG 1 system was applied 2 hrs before coronary ligation (n=5)

▲-▲ TTS-NTG 1 system was applied 24 hrs for 14 days (n=5)

Each value is mean ± S.E. *p < 0.05, **p < 0.01, Significant difference from control.

IV 小括

犬にTTS-NTGを14日間連続貼付した後、冠状動脈結紮により心電図のST上昇を誘発した。TTS-NTGの連続貼付はST上昇の抑制を減弱しなかった。

第3節 考察

ニトログリセリンの耐性については昔から報告されているが、とくに火薬工場でニトログリセリンにさらされている人々の間でみられてきた。作業者が就業して初めの数日中に重篤な頭痛を体験するが、その後耐性を生じ、頭痛が治まる。その後その仕事から離れて数日後に頭痛が再び現れるというのが”月曜病 Monday disease”である(43)。このような現象が臨床においても出現し、ニトログリセリンの長期連用により効果が減弱するといわれている。

本実験ではビーグル犬にTTS-NTGを14日間連続貼付した後、静脈内にニトログリセリンを投与したときの血圧と心拍数の変化をTTS-NTG非投与群と比較検討した。ニトログリセリン $0.3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ではTTS-NTG連続投与した群で降圧反応の減弱と心拍数の減少が認められたが、 $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 以上ではTTS-NTG連続投与群と非連続投与群との間に差がみられなかった。

さらにビーグル犬にTTS-NTGを14日間連続貼付した後、TTS-NTGを一旦剥して冠状動脈を結紮し、再度TTS-NTGを貼付して心電図上のST上昇の程度をTTS-NTG非貼付群と比較検討した。ST上昇の程度はTTS-NTGの連続貼付群と非連続貼付群との間に差が認められなかった。ニトログリセリンがST上昇を抑制したのは結紮部位以外の冠血流量を増加させたため(5)、虚血領域にも側副血管を通して血流が送られたと考えられる。

ニトログリセリン1および $10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ を24時間静脈内持続投与した後、冠状動脈を取り出し、ニトログリセリンを作用させると、 $10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の標本では細胞内のサイクリックGMPの増加が抑制されるとしている(41)。このことは高用量のニトログリセリンを長期間用いると、耐性が生じることを示唆している。ヒトの心不全において、TTS-NTGを用いると、血中ニトログリセリン濃度が低いため、耐性が生じにくいとされている(25)。

以上の結果からTTS-NTGを使用しているとき、効果の減弱が生じた場合、高用量

の静脈内投与のニトログリセリンを用いると薬理作用の減弱がないことがわかった。

T T S - N T Gは冠状動脈結紮によるS Tの上昇に対して耐性を生じないことがわかった。

結論としてT T S - N T Gを心不全の動物に長期間用いる場合、ニトログリセリン特有の耐性が出現しないことが示唆された。

第4章 総括および結論

総括

現在、獣医臨床において血管拡張薬は様々の疾病に用いられるようになってきた。今までは心不全の治療には心臓の収縮力を増強させるジギタリスが第一選択として用いられてきた。ジギタリスは安全域が狭く、至適治療量を設定するのが困難である。また、ジギタリスは弱った心臓を強制的に収縮させるので、逆に心臓を悪化させる可能性がある。そこで現在、心不全の治療に血管を拡張して前負荷ないし後負荷を軽減し、その結果心臓の仕事量を減らして心筋酸素需要の減少を起し、心不全を改善する血管拡張薬が使われるようになってきた。血管拡張薬には動脈系を拡張するヒドララジン、静脈系を拡張する亜硝酸薬（ニトログリセリンなど）であるが、最近カルシウム拮抗薬やアンギオテンシン変換酵素阻害薬も血管拡張薬として用いられてきている。しかし、これらの血管拡張薬の中で特にニトログリセリンは投与方法が静脈内投与でしかも一過性の効果しか期待できず、使用に大きな制約があった。したがって、臨床応用を目的に実際に小動物において循環動態を観察したという報告は少ない。

そこでニトログリセリンの臨床的効果を明確にするため、ニトログリセリンと作用機序の異なる血管拡張薬として、今まで犬糸状虫症の治療薬として用いられてきたヒドララジン、カルシウム拮抗薬のニフェジピンおよびアンギオテンシン変換酵素阻害薬のベナゼプリルを正常動物に投与し、循環動態を比較検索した。その結果、ニトログリセリンは左心房圧および血圧を下降させた。ヒドララジンは血圧を下降させたが、心拍出量および心拍数の増加、左心房圧の上昇がみられた。ニフェジピンは血圧の下降がみられた。ベナゼプリルは循環動態にほとんど影響を及ぼさなかった。以上の結果から、ニトログリセリンは小動物の心不全に対し他の血管拡張薬よりも臨床的効果が優れていると考えられた。

ニトログリセリンはいままで獣医学領域では静脈内投与しか用いられていなかった。ニトログリセリンを静脈内投与すると、薬理作用が持続しないので、持続投与しか効果がなかった。本実験では最近ヒトの狭心症で用いられている経皮吸収型の製剤 T T S - N T G

貼付とニトログリセリンの持続静脈内投与について正常動物を用いて循環動態を比較した。その結果、T T S - N T Gとニトログリセリンの持続静脈内投与とも心拍数に影響を及ぼさずに左心房圧の上昇を抑制し、投与終了後には速やかに循環動態は元に回復した。

次に心不全モデルを作製し、ニトログリセリンの効果を検索した。冠状動脈内にアンギオテンシンIIを投与による左心房圧上昇をT T S - N T Gは抑制した。さらに獣医臨床で心不全の中で最も臨床例が多い犬糸状虫による右心不全モデルにニトログリセリンを投与すると、肺動脈圧の上昇を抑制した。

最後にニトログリセリンの副作用、特に連続投与時にみられる効果の減弱つまり耐性について検討した。T T S - N T Gをイヌに14日間連続投与した後、ニトログリセリンの静脈内投与に対する血圧の下降を検討した結果、低用量では若干の血圧下降の抑制が認められたが、高用量のニトログリセリン投与では血圧下降の抑制が認められなかった。さらに同様の方法でT T S - N T Gをイヌに14日間連続貼付した後、再びT T S - N T Gを貼付し、冠状動脈結紮による抗心虚血作用を検討した。その結果、連続貼付の有無に拘らず、抗心虚血作用に有意な差がみられず、T T S - N T Gには耐性が生じていないと考えられた。

以上の結果からT T S - N T Gは静脈内投与用ニトログリセリンと同様に小動物において耐性の発現をほとんどもたらさずに心不全を改善することが期待され、特に肺動脈高血圧症、左心房圧上昇を伴う心不全には良好な作用が期待でき、また健康犬に対する長期の貼付も可能であったことから獣医臨床における心不全改善薬として十分期待の持てる薬剤であることが明らかとなった。

結論

血管拡張薬のひとつであるニトログリセリンの静脈製剤と経皮吸収製剤のT T S - N T Gの循環動態を小動物を用いて検討した。

1. 正常動物を用いてニトログリセリンと作用機序の異なる血管拡張薬の循環動態を麻酔下で検討した。ニトログリセリンの静脈製剤およびT T S - N T Gは血圧および左心房圧を下降させたが、心拍数および心拍出量に影響を及ぼさなかった。
2. 心不全モデル動物にT T S - N T Gを貼付すると、左心房圧の上昇を抑制した。
3. 実験的犬糸状虫症に対してニトログリセリンを静脈内投与すると、肺動脈圧の上昇を抑制した。
4. ニトログリセリンの耐性を検討するため、T T S - N T Gを14日間連続貼付後、再度ニトログリセリンを静脈内投与した。その結果、降圧反応を若干抑制したが、心電図のS T上昇の抑制を減弱しなかった。

以上のことからT T S - N T Gは獣医臨床応用に十分期待できる薬剤と結論された。

謝辞

本研究は鳥取大学農学部教授松橋 皓博士の御鞭撻と御懇篤なる御指導並びに御校閲の賜物であり、ここに深甚なる謝意を表します。

本研究の遂行並びに論文の作成にあたり、御校閲と御懇篤な御指導を賜りました山口大学農学部教授中間實徳博士並びに鳥取大学農学部助教授南 三郎博士に衷心から御礼を申し上げます。

また本研究の遂行に当たって、多大の御協力を戴いた鳥取大学農学部獣医学科家畜外科学教室員の諸氏に謝意を表します。

最後に本研究の推進に御支援を賜った日本チバガイギー株式会社研究開発統括部柴原宣夫統括部長，前臨床研究部岩堂俊雄部長，生物研究室室長中尾健三博士並びにチームリーダー米谷元彦博士に心より謝意を表します。

引用文献

1. Abrams, J. (1978): Nitroglycerin tolerance: Fact or fancy.
Proc. Cardiol. 4: 113.
2. Abrams, J. (1985): Hemodynamic effects of nitroglycerin and long-acting nitrates. Am. Heart. J. 110: 216-224.
3. Atkins, C. E., Keene, B. W., and McGuirk, S. M. (1988): Investigation of caval syndrome in dogs experimentally infected with *Dilofilaria immitis*.
J. Vet. Inter. Med. 2: 36-40.
4. Bristow, W. R., Ginsburg, R., Minobe, W., Cubicciotti, R. S., Sageman, W. S., Lurie, K., Billingham, M. E., Harrison, D. C., and Stinson, E. B. (1982): Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic-receptor density in failing human hearts. N. Engl. J. Med. 307:205-211.
5. Chiariello, M., Gold, H. K., Leinbach, R. C., Davis, M. A., and Maroko, P. R. (1976): Comparison between the effects of nitroprusside and nitroglycerin on ischemic injury during acute myocardial ischemia.
Circulation. 54: 766-773.
6. Cohn, J. N. (1992): Mechanisms of action and efficacy of nitrates in heart failure. Am. J. Cardiol. 70: 88B-92B.

7. Cossum, P. A., Galbraith, A. J., Roberts, M. S., and Boyd, G. W. (1978):
Loss of nitroglycerin from intravenous infusion sets. *Lancet*. II: 349-350.
8. Delellis, L. A. and Kittleson, M. D. (1992): Current uses and hazards of
vasodilator therapy in heart failure. pp700-708. *Current Veterinary Therapy*
XI (Kirk, R. W. ed.) W. B. Saunders Company, Philadelphia.
9. Dzau, V. J. (1988): Circulating versus local renin-angiotensin in
cardiovascular homeostasis. *Circulation*. 77 (suppl. I.): I-4-I-13.
10. Epstein, S.E., Kent, K. M., Goldstein, R. E., Borer, J. S., and
Redwood, D.R. (1975): Reduction of ischemic injury by nitroglycerin during
acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 292: 29-35.
11. Fasciolo, J. C. (1990): The experimental observation that led to discovery
of angiotensin. *Hypertension*. 16: 194-198.
12. Feldman, R. C., Pepine, C., and Conti, R. (1981): Magnitude of dilation
of large and small coronary arteries by nitroglycerin. *Circulation*. 64:
324-332.
13. Flaherty, J. T., Reid, P. R., Kelly, D. T., Tailor, D. R., Weisfeldt, M. L.
and Pitt, B. (1975): Intravenous nitroglycerin in acute myocardial
infarction. *Circulation*. 52: 132-139.

14. 福崎恒 (1990): 慢性うっ血性心不全治療の原則, pp209-221, 最新内科学大系
第30巻 循環不全-心不全, ショック. (杉本恒明, 矢崎義雄, 泰江弘文 編)
中山書店, 東京.
15. 古田康彦, 高平孝, 桜井正夫, 細野誠 (1986): Nitroglycerin Tape (NT-1) の薬理
作用 (3) 1回貼付による持続的効果ならびに反復貼付による耐性発現の有無.
応用薬理, 32: 873-878.
16. 古田康彦, 高平孝, 桜井正夫 (1986): Nitroglycerin Tape (NT-1) の薬理作用 (3)
Angiotensin II 誘発冠血管収縮に対する効果. 応用薬理 32: 885-888.
17. Gruetter, C. A., Gruetter, D. Y., Lyon, J. E., Kadowitz, P. J., and
Ignarro, L. J. (1981):
Relationship between cyclic guanosine 3':5' monophosphate formation and
relaxation of coronary arterial smooth muscle by glyceryl trinitrate,
nitroprusside, nitrate and nitric oxide: Effect of methyle blue and
methemoglobin. J. Pharmacol. Exp. Ther. 219: 181-186.
18. 橋本敬太郎.(1987): 血管拡張薬としての冠拡張薬. pp44-47. 血管拡張薬の使い方
(広沢弘七郎, 関口守衛編) 南江堂, 東京.
19. Heistad, D. D., Abboud, F. M., Mark, A. L., and Schmid, P. G. (1975):
Effect of hypoxemia on responses to norepinephrine and angiotensin in
coronary and muscular vessels. J. phramacol. Exp. Ther. 193: 941-950.

20. Higgins, C. B., Vatner, S. F., Franklin, D., and Braunwald, E. (1972):
Effects of experimentally produced heart failure on the peripheral vascular response to severe exercise in conscious dogs. *Circ. Res.* 31: 186-194.
21. Honig, C. R., Tenney, S. M., and Gabel, P. V. (1960): The mechanism of cardiovascular action of nitroglycerin. *Am. J. Med.* 29: 910-923.
22. Ignarro, L. J. and Kadowitz, P. J. (1985): The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25: 171-191.
23. Ilbawi, M. N., Idriss, F. S., Deleon, S. Y., Berry, T. E., and Paul, M. H. (1984): Hemodynamic effects of intravenous nitroglycerin postoperative pediatric patients. *Circulation.* 70 (suppl II): 25.
24. Imhof, P. R., Ott, B., Frankhauser, P., Chu, L. C., and Holder, J. (1980): Difference in nitroglycerin dose-response in the venous and arterial beds. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 18: 455.
25. Jordan, R. A., Seth, L., Casebolt, P., Hayes, M. J., Wilen, M. M., and Franciosa, J. (1986): Rapidly developing tolerance to transdermal nitroglycerin in congestive heart failure. *Ann. Intern. Med.* 104: 295-298.
26. Katz, A. M. (1991): The cardiomyopathy of overload: A hypothesis.

J. Cardiovascu. Pharmacol. 18 (Suppl 2): 568-571.

27. 木全心一 (1990): 循環諸量とその測定法pp11-18. 最新内科学大系第29巻
循環機能検査法 (杉本恒明, 矢崎義雄, 泰江弘文 編) 中山書店, 東京.
28. Kimura, H., Mittal, C. K., and Murad, F. (1979): Increases in cyclic GMP
levels in brain and liver with sodium azide an activator of guanylate
cyclase. Nature. 257: 700-702.
29. Kittleson, M. D. and Hamlin, R. L. (1983): Hydralazine pharmacodynamics in
the dog. Am. J. Vet. Res. 44: 1501-1505.
30. Kuehn, N. F. (1986): Using vasodilator agents to treat heart failure due to
chronic mitral regurgitation. Vet. Med. 700-711.
31. Kukovetz, W. R., Holzmann, S., Wurm, A., and Poch, G. (1979): Evidence for
cyclic GMP-mediated relaxant effects nitro-compounds in coronary smooth
muscle. Naunyn-Schmiederbergs Arch. Pharmacol. 310: 129-138.
32. Kukovetz, W. R. and Holzmann, S. (1990): Mechanisms of nitrate-induced
vasodilatation and tolerance. Eur. Clin. J. Pharmacol. 38 (suppl 1):
S9-S14.
33. Lee, K. Y., Mollony, M. B., Slykeman, L., and Prewitt, R. M. (1983):
Effects of hydralazine and nitroprusside on cardiopulmonary function when

a decrease in cardiac output complicates a short-term increase in pulmonary vascular resistance. *Circulation*. 68: 1299-303.

34. Leier, C. V. (1985): Nitrate tolerance. *Am. Heart. J.* 110: 224-232.
35. Leier, C. V. (1992): Current status of non-digitalis positive inotropic drugs. *Am. Heart. J.* 69: 120G-129G.
36. Leitold, M., Laufen, H., and Yeates, R. A. (1986): Comparative hemodynamics action of glycerol-2-nitrate and glycerol trinitrate in various species and the pharmacokinetics of glycerol-2-nitrate in the dog. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 36: 1752-1756.
37. Lejemtel, T. H. and Sonnenblick, E. H. (1984): Should the failing heart be stimulated? *N. Engl. J. Med.* 310: 1384-1385.
38. Mason, D. T. and Braunwald, E. (1965): The effects of nitroglycerin and amyl nitrate on arteriolar and venous tone in the human forearm. *Circulation*. 32: 756-766.
39. Mclean, R. F., Prielipp, R. C., Rosenthal, M. H., and Pearl, R. G. (1990): Vasodilator therapy in microembolic porcine pulmonary hypertension. *Anesth. Analg.* 71: 35-41.
40. Minami, M., Yasuda, H., Yamazaki, N., Kojima, S., Nishijima, H., Matsumura,

- N., Togashi, H., Koike, Y., and Saito, H. (1983): Plasma norepinephrine concentration and plasma dopamine-beta-hydroxylase activity in patients with congestive heart failure. *Circulation*. 67: 1324-1329.
41. Miyauchi, N., Takahashi, M., Fujioka, H., and Kinoshita, M. (1993): Dissociation of hemodynamic and coronary arterial tolerance to nitroglycerin in dogs. *J. Cardiovascu. Pharmacol.* 21: 767-773.
42. Muller, P., Imhof, P. R., Burkart, F., Chu, L. C., and Gerardin, A. (1982): Human pharmacological studies of a new transdermal system containing nitroglycerin. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 22: 473-480.
43. Murad, F. (1990): Drugs used for treatment of angina. pp. 764-783. In: Goodman and Gilman's. *The pharmacological Basis of Therapeutics*, 8 th ed. (Gilman, A. G. ed.), Pergamon Press, New York.
44. Murrell, W. (1879): Nitroglycerine as a remedy for angina pectoris. *Lancet*. 1: 642-646.
45. Nakazawa, M., Sawanobori, T., Iwasaki, K., and Imai, S. (1991): Hemodynamic effects of benazeprilat in the anesthetized dog with acute left ventricular failure. *Jpn. J. Pharmacol.* 56: 369-375.
46. Naranjo, C. A., Busto, U., and Cassis, L. (1978): Furosemide-induced adverse reactions during hospitalization. *Am. J. Hosp. Pharma.* 35: 794.

47. 岡田忠夫, 中西 晃, 岡 太一, 三ヶ島 浩, 阿南惟毅, 芦馬利明, 乾 淳,
今村 博. (1973): Nifedipine の一般薬理作用. 基礎と臨床. 7: 3286-3298.
48. 大石 勇. (1990): 犬糸状虫症の対症療法 pp177-184. 犬糸状虫症 (大石 勇 編)
文英堂, 東京.
49. Olson, N. C., Scott, J. B., Stoffs, W. V., and Robinson, N. E. (1982):
Central blood volume and lung extravascular thermal volume in dogs with
dirofilariasis. Am. J. Vet. Res. 43: 1019-1022.
50. Packer, M. (1992): Pathphysiology of chronic heart failure. Lancet. 340: 88.
51. Page, I. H. (1990): Hypertension research. Hypertension. 16: 199-200.
52. Rothbaum, D. A., Dillon, J. C., and Feigenbaum, H. (1976): The effect of
nitroglycerin upon pulmonary and left atrial pressure in patients with
mitral stenosis. Am. Heart J. 91: 156-162.
53. Rubin, L. J. and Peter, R. H. (1980): Oral hydralazine therapy for primary
pulmonary hypertension. N. Eng. J. Med. 302: 69-73.
54. 篠山重威, (1981): 血管拡張薬と減負荷療法, 日薬理誌. 78: 127-137.
55. Schmid, P. G., Mayer, H. E., Mark, A. L., Heistad, D. D., and Abboud, F. M.

- (1977): Differences in the regulation of vascular resistance in guinea pigs with right and left heart failure. *Cir. Res.* 41: 85-93.
56. Schultz, K. D., Schultz, K., and Schultz, Z. (1971): Sodium nitroprusside and other smooth muscle relaxants increase cyclic GMP levels in rat ductus deferens. *Nature.* 265: 750-751.
57. Sim, M. F., Yates, D. B., Parkinson, R., and Cooling, M. J. (1988): Cardiovascular effects of the novel arteriovenous dilator agents, flosequinan in conscious dogs and cats. *Br. J. Pharmacol.* 94: 371-380.
58. Taira, N., Imai, Y., and Hiwatari, M. (1980): Differential effects of nitroglycerin, trimetazidine, verapamil and SK & F24260 on venous return as revealed by the open-loop method in the dog. *Jpn. J. Pharmacol.* 30: 449-461.
59. Taylor, S. H., Silke, B., and Nelson, G. I. C. (1982): Principles of treatment of left ventricular failure. *Eur. J. Heart.* 3. (suppl. D.):19-43.
60. Watkins, L, Jr., Burton, J. A., Haber, E., Cant, J. R., Smith, F. W., and Barger, A. C. (1976): The renin-angiotensin-aldosterone system in congestive heart failure in conscious dogs. *J. Clin. Invest.* 57: 1606-1617.
61. 安田寿一 (1991): 心不全の病態生理, pp495-509. 新生理学大系第16巻. 循環の生理学. (入沢宏, 熊田衛 編) 医学書院, 東京.

62. Zelis, R. and Mason, D. T. (1975): Isosorbide dinitrate. Effect on the vasodilator response to nitroglycerin. *J. A. M. A.* 234: 166-170.
63. Zelis, R., Flaim, S. F., Liedtke, A. J., and Nelis, S. H. (1981):
Cardiocirculatory dynamics in the normal and failing heart. *Annu. Rev. Physiol.* 43: 455-476.
64. Zelis, R. and Flaim, S. F. (1982): Alteration in vasomotor tone congestive heart failure. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 24: 437-459.

END