

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

呼吸 (1992.07) 11巻7号:898～901.

モノクロタリン投与ラットにおける低酸素性肺血管収縮応答の変化について

秋葉裕二、中野 均、松本博之、長内 忍、飛世克之、小野寺壮吉

## 短報

## モノクロタリン投与ラットにおける低酸素性肺血管収縮応答の変化について

秋葉 裕二 中野 均 松本 博之  
長内 忍 飛世 克之 小野寺壮吉

秋葉 裕二 中野 均 松本 博之ほか：モノクロタリン投与ラットにおける低酸素性肺血管収縮応答の変化について，呼吸 11(7)：898—901，1992

**要旨** モノクロタリン(MCT)投与ラット摘出灌流肺における低酸素性肺血管収縮(HPV)の変化と内皮由来弛緩因子(EDRF)および内皮由来過分極因子(EDHF)の関係について検討した。低酸素ガス吸入(2%O<sub>2</sub>)に対する HPV は対照と比べて MCT 投与後 4 日目と 7 日目で有意に減弱していた。しかし，EDRF 阻害剤の N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine を前投与すると，4 日目において対照よりも大きな HPV が生じた。EDHF 阻害剤として用いた tetraethylammonium では，MCT 投与 4 日目で HPV が有意に増強したが対照では有意な変化はなかった。これらから MCT 投与後早期に生ずる内皮障害に対して，EDRF および EDHF が大きく関与していると考えられた。

**キーワード**：モノクロタリン 内皮由来弛緩因子 内皮由来過分極因子 低酸素性肺血管収縮

## はじめに

モノクロタリン(MCT)投与早期のラットでは肺血管の内皮細胞障害が生ずる<sup>1)</sup>。このため肺血管の反応性に変化が起これり，低酸素性肺血管収縮(HPV)は修飾を受けると考えられる。我々は，MCT 投与ラットの HPV における内皮由来弛緩因子(EDRF)および内皮由来過分極因子(EDHF)の役割について検討した。

## 対象と方法

200~250 g の雄 Sprague-Dawley ラットを用い，コントロール(C)および MCT 40 mg/kg 皮下注後 4 日目(4D)，7 日目(7D)，14 日目(14D)の各群を対象とした。

Altered hypoxic pulmonary vasoconstriction in perfused lung from monocrotaline-treated rats

旭川医科大学第1内科

Yuji Akiba, Hitoshi Nakano, Hiroyuki Matsumoto, Shinobu Osanai  
Katsuyuki Tobise and Sokichi Onodera

First Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College,  
Asahikawa 078, Japan

平成3年11月25日受付，平成4年1月23日採用

pentobarbital sodium (5 mg/kg)で腹腔内麻酔後開胸し，肺動脈にカテーテルを挿入した。また，排液用カテーテルを左心房に留置して心肺を摘出し，灌流装置に装着した。人工換気は Harvard 社製 Model 680 E を用いて呼吸数毎分 60 回，換気量は 10 ml/kg，PEEP 2 cmH<sub>2</sub>O で行った。灌流は donor から採取した血液 20 ml を用い，38℃に加温し，Harvard 社製拍動ポンプ Model 1203 により 40 ml/kg/min の流量で行った。また，流入血液量は日本光電社製電磁血流計 MFV-3100 を用いて測定した。灌流圧は肺動脈流入部に日本光電社製圧トランスデューサー TP-400 T を装着して測定した。吸入気は normoxic gas O<sub>2</sub> 21.0%，CO<sub>2</sub> 5.0%，hypoxic gas O<sub>2</sub> 2.0%，CO<sub>2</sub> 5.0% を用いた。normoxic gas 吸入後に約 10 分間の hypoxic gas 吸入を 3 回行った。その後，EDRF の阻害剤として N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine (Sigma，以下 LNMMA) 10<sup>-4</sup>M を灌流系に加え，再び hypoxic gas 吸入を行い，平均肺動脈圧の変化 Δ mPAP (mmHg) を記録した。

また，C 群および 4D 群については，3 回の hypoxic

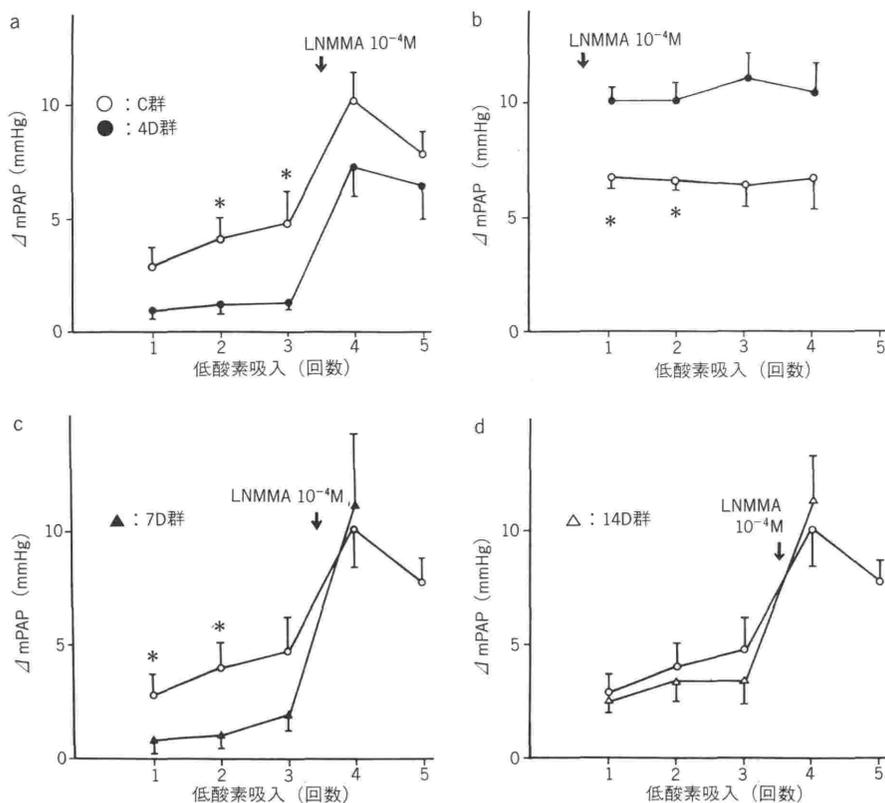


図1 低酸素性肺血管収縮(HPV)の変化—LNMMA投与前後での比較  
 $\Delta$ mPAP:平均肺動脈圧の変化量(mmHg), LNMMA:  $N^G$ -monomethyl-L-arginine, C:対照, 4D, 7D, 14D:モノクロタリン, 投与後4日, 7日, 14日(mean $\pm$ SE, \*:  $p < 0.05$ )

gas吸入の後に potassium channels blocker であり EDHFの阻害剤である tetraethylammonium (Sigma, 以下 TEA)  $10^{-3}$ M 投与前後で同様の検討を行った。

結果は mean $\pm$ SE で表した。また, 有意差の検討は unpaired t-test を用い  $p < 0.05$  を有意とした。

## 結果

normoxic gas吸入中の灌流血  $P_{aO_2}$  は C群で  $103.3 \pm 4.3$  Torr, MCT群で  $99.4 \pm 4.1$  Torr, hypoxic gas吸入中 HPVのピークでは C群で  $22.0 \pm 1.1$  Torr, MCT群で  $24.3 \pm 0.9$  Torr であった。

灌流開始後 normoxic gas吸入中の平均肺動脈圧は C群が  $8.9 \pm 1.2$  mmHg, 4D群で  $10.3 \pm 0.6$  mmHg と有意差はなく, 7D群で  $12.3 \pm 1.6$  mmHg, 14D群で  $15.0 \pm 0.9$  mmHg といずれも C群より有意に上昇していた。3回の hypoxic challenges 前の平均肺動脈圧は C群では, 順に  $8.9 \pm 1.2$  mmHg,  $9.2 \pm 1.1$  mmHg,  $9.8 \pm 1.1$  mmHg であった。各群とも hypoxic gas吸入の繰り返しによって, normoxic gas吸入中の平均肺動脈圧は上昇する傾向を認めたが軽度であった。

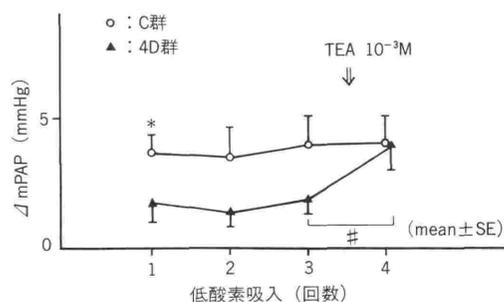


図2 TEA投与前後での HPV の変化  
 TEA: tetraethylammonium  
 (\*:  $p < 0.05$  #:  $p < 0.05$ )

hypoxic gasに対する平均肺動脈圧の変化即ち HPV は C群に比べて 4D群で有意に小さく, 両群とも LNMMA投与後 HPVは増強を示した(図1 a)。また, あらかじめ LNMMAを投与した後に hypoxic gasに対する平均肺動脈圧の変化を比較すると, 4D群でより大きな HPVが認められた(図1 b)。7D群では, 4D群と同様に C群と比べて HPVは有意に小さく, LNMMA投与後 HPVは増強を示した(図1 c)。C群と 14D群では平均肺

動脈圧の変化は LNMMA 投与前後とも両群間で有意差はなかった(図 1 d)。

C 群と 4D 群における HPV に対する TEA の効果は、C 群では TEA  $10^{-3}$ M 投与後に有意な変化はなかったが、4D 群では同量の TEA 投与で有意に増強した(図 2)。

### 考 案

MCT はラットに進行性の肺高血圧症をもたらすことが知られているが、肺高血圧症の成立に先行して肺血管の内皮障害が生ずることが報告されている<sup>1)</sup>。MCT 投与ラットの肺血管の反応性に関しては、摘出肺や肺動脈リングにより様々に検討されているが、一定の見解が示されていない。また、低酸素刺激に対する反応についても明らかでない。MCT 投与後 4 日目で KCl や angiotensin II (A II) に対する昇圧反応が一過性に亢進し、以後は漸減するという報告<sup>2)</sup>がある。一方、5-hydroxytryptamine や A II に対する反応性は、MCT 投与後 7 日目以後から徐々に増大していくという報告もされている<sup>3)</sup>。

今回の検討において、4D 群では C 群と比べて normoxic gas 吸入中の平均肺動脈圧は有意な差を示さなかったが、HPV は明らかに減弱していた。しかし、14D 群では、対照群とほぼ同様な HPV を呈した。MCT 投与 4 日目頃は、病理組織学的に肺血管の炎症性の内皮細胞障害が主体となる時期といわれている<sup>4)</sup>一方、14 日目ではその回復の時期に一致している。従って MCT 投与早期では、内皮細胞障害に基づいて肺胞低酸素に対する肺血管の反応性に変化が生じている可能性がある。

4D 群では EDRF 阻害剤の LNMMA をあらかじめ投与することで、C 群よりも強い HPV が観察された。EDRF が内皮の伸展刺激によって放出されることが報告されているが、normoxic gas 吸入中の平均肺動脈圧では、この場合も両群間に有意差はなかった。従って C 群、4D 群で肺血管の機械的なトーンスの差によって反応性が異なるということは考えにくかった。肺胞低酸素が肺血管内皮からの EDRF の産生を刺激するという見解<sup>5)</sup>があり、MCT 投与後早期における HPV の減弱には、EDRF がより大きな役割を果たしていると考えられた。また、14D 群では平滑筋層の増勢に基づいて収縮力が増大している可能性がある一方で、平均肺動脈圧上昇に伴う内皮の機械的

刺激が EDRF 産生を促している可能性も考えられた。14D 群ではこれらの変化の結果 C 群と同様な HPV を呈したと考えられた。

Hasunuma ら<sup>6)</sup>はラット摘出肺の実験から TEA が HPV を増強させることを示した。4D 群では、C 群で HPV の変化が生じない量の TEA 投与によって HPV の増強が観察された。TEA は非特異的ではあるが、potassium channels を block する。また、MCT 投与ラットの肺動脈内膜の膜電位がより過分極の状態にあるという報告がある<sup>7)</sup>。従って、MCT 投与早期の低酸素刺激に対する肺血管の反応性の変化には、potassium channels ないしは EDHF の関与が示唆された。

### ま と め

1) 肺高血圧症が完成する前の MCT 投与早期の段階では、HPV の減弱が認められた。2) MCT 投与早期における HPV の減弱に EDRF および EDHF が大きな役割を果たしていると考えられた。

### 文 献

- 1) Rosenberg HC, Rabinovitch M. Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 255: H 1484—H 1491, 1988
- 2) Altieri RJ, Olson JW, Gillespie. Altered pulmonary vascular smooth muscle responsiveness in monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 236: 390—395, 1986
- 3) Hilliker KS, Roth RA. Increased vascular responsiveness in lungs of rats with pulmonary hypertension induced by monocrotaline pyrrole. *Am Rev Respir Dis* 131: 46—50, 1985
- 4) Ghodsi F, Will JA. Changes in pulmonary structure and function induced by monocrotaline intoxication. *Am J Physiol* 240: H 149—H 155, 1981
- 5) Pohl U, Busse R. Hypoxia stimulates release of endothelium derived relaxant factor. *Am J Physiol* 256: H 1585—H 1600, 1989
- 6) Hasunuma K, Yamaguchi T, O'Brien RF, Rodman DM, McMurtry IF. Effects of EDRF and EDHF on pulmonary vascular control (Abstract). *Am Rev Respir Dis* 141: A 481, 1990
- 7) Suzuki H, Twarog BM. Membrane properties of smooth muscle cells in pulmonary hypertensive rats. *Am J Physiol* 242: H 907—H 915, 1982

## Abstract

## Altered hypoxic pulmonary vasoconstriction in perfused lung from monocrotaline-treated rats

Yuji Akiba, Hitoshi Nakano, Hiroyuki Matsumoto, Shinobu Osanai, Katsuyuki Tobise and Sokichi Onodera

First Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College,  
Asahikawa 078, Japan

It is well known that monocrotaline (MCT) induces pulmonary vascular endothelial injury prior to the establishment of pulmonary hypertension. We examined the roles of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) on hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) in the rats treated by a single injection of MCT (40 mg/kg). The rats were divided into four groups—control, 4 days (4 D), 7 days (7 D) and 14 days (14 D) after MCT treatment. Pulmonary vasoreactivity to hypoxia (2% O<sub>2</sub>) was investigated in isolated perfused rat lungs. HPV was significantly attenuated in the 4 D and the 7 D groups. After treatment of N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine (as an EDRF inhibitor), HPV was more strongly enhanced in the 4 D group than in the control. After treatment of tetraethylammonium (as an EDHF inhibitor), HPV was significantly enhanced in the 4 D group but unchanged in the control. Thus, we concluded that both EDRF and EDHF played an important role in the attenuation of HPV in the 4 D group, which may be associated with early endothelial damage induced by MCT.