

プロプラノロールの *in vivo*
イヌ左室心筋力-長さ関係へ
の効果

The effect of propranolol
on the myocardial force-
length relationship in the
in situ canine left ven-
tricle

吉原 光恵
竹田 幸一
門田隆太郎
中村 泰之
八木 繁

Terue YOSHIHARA
Kouichi TAKEDA
Ryutaro KADOTA
Yasuyuki NAKAMURA
Shigeru YAGI

Summary

The effect of β -adrenoceptor blockade on the wall performance of the *in situ* canine left ventricle (LV) was evaluated based on the LV end-systolic force-diameter (F_{es} - D_{es}) relation in 10 healthy mongrel dogs. LV diameter was measured with ultrasonic crystals, and LV pressure was measured with a micromanometer. Preload was altered by inferior vena caval (IVC) occlusion. In the control contractility state, the IVC was occluded for 7 sec. Blockade of the cardiac β -adrenergic nerves was induced with 2 mg/kg propranolol i.v.. Slopes (E_c) and extrapolated diameter intercepts (D_o) of the LV F_{es} - D_{es} relation were obtained from end-systolic data of the control contractility state and after the infusion of propranolol. E_c was used as an index for the inotropic state of the myocardium of the LV wall. IVC occlusion during 7 sec under the control contractility state produced little change in the heart rate. Thus, IVC occlusion for 7 sec avoided the major reflex change of autonomic tone. After the infusion of propranolol, the heart rate and E_c both decreased by 24 and 43% of the control value, respectively; whereas, D_o was not significantly altered. Therefore, it was suspected that the cardiac β -adrenergic nerve played an important role in maintaining myocardial contractility state of the *in situ* canine LV wall.

Key words

Cylinder model Myocardial contractility Ventricular performance

序 文

心臓の β 受容体を遮断することにより、心臓に負の変力作用が出現することは、摘出心筋標本

や丸ごとの心臓でともに観察されている。しかし丸ごとの心臓における心筋そのものの収縮性評価には、現在まで広く合意を得られた方法はない。したがって、丸ごとの心臓の心筋収縮性は、dP/

獨協医科大学 循環器内科
栃木県下都賀郡壬生町北小林 880 (〒321-02)

Department of Medicine, Division of Hypertension
and Cardiorenal Disease, Dokkyo University School
of Medicine, Mibu, Tochigi 321-02

Received for publication July 3, 1991; accepted August 1, 1991 (Ref. No. E-91-6)

dt_{max} , $mVcf$, E_{max} 等の種々の指標を用いて推測されているのが現状である. 最近我々は, 丸ごとの心臓における心筋そのものの収縮性評価の方法として, 収縮末期力-長さ関係の傾き (E_o) を用いる新しい理論的モデル (Fig. 1) を呈示し¹⁾, 動物実験²⁾やヒトでの実験³⁾から, この方法はほぼ妥当なものであることを確認した. そこで本研究では, 以上の理論的モデルを用い, 麻酔開胸犬でプロプラノロールを投与することにより, 心臓への β アドレナリン作動性神経が, 心筋そのものの収縮性能維持にどの程度強く関与しているかを定量的に評価しようと試みた.

方 法

1. 準備

10頭の健全な雑種成犬 (11.9 ± 1.7 kg) を用い, ペントバルビタール (26 mg/kg) で麻酔した. 方法の詳細は既報²⁾で述べたので, ここではその概略を示す. 気管内挿管による人工呼吸を行ないつつ, 左第4肋間で開胸して心を露出し, 心膜を切り開いた. 一對の超音波クリスタル (UDM5C, メック製) を左室前-後壁間に装着した. マイクロマノメーターカテーテル (MPC5000, ミラー製) を 37°C の温水表面でキャリブレーションした後, 左室心尖部から挿入し, 巾着縫合で固定した. 右の大静脈から薬剤や補液用のカテーテルを, また血液ガス分析用のカテーテルは右大動脈に挿入した. 前負荷を減少させるために, 下大静脈 (IVC) のまわりにゆるやかに紐をかけた (Fig. 2). 前負荷を減少させ, その間に左室圧-長さ関係ループの形状が安定しているか否かをオシロスコープ画面で確認した. すべてのデータはコンピューターシステム (PC9801VX21, NEC 製) により, 1 msec 間隔で固定ディスクに同時記録した.

2. プロトコール

まず動脈血の PO_2 は 100 mmHg 以上, PCO_2 は 40 mmHg 以下になるよう吸入酸素濃度, 呼吸数と一回換気量を調節した. データは最初に自律

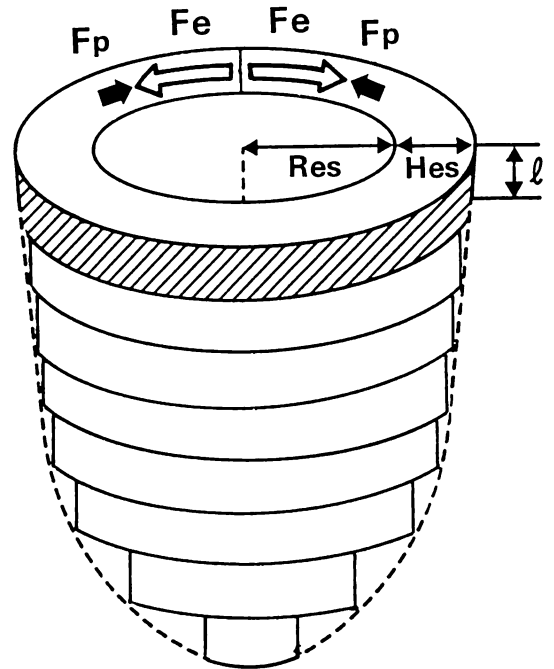


Fig. 1. Diagram of the cylinder model of the left ventricle.

R_{es} =end-systolic cylinder radius; H_{es} =end-systolic cylinder wall thickness; F_o =end-systolic circumferential force; F_p =end-systolic circumferential tensile force; l =cylinder height (1 cm).

神経を遮断しない状態で記録した (コントロール群: CTL 群). 前負荷を減少させるために, 速やかに IVC を 7 秒間結紮したが, 呼吸による胸腔内圧の変化を避ける目的で, 呼吸は停止して記録した. この結紮により左室収縮末期圧は 29.9 ± 8.4 mmHg 減少した. 自律神経反射の存在は, IVC 結紮により心拍数が 10 beats/min 以上変化する時と定義した⁴⁾. プロプラノロールを 2 mg/kg, アトロピンを 0.2 mg/kg 投与することにより, β アドレナリン作動神経と迷走神経をそれぞれ遮断し^{4,5)}, 少なくとも 10 分以上経過後に, 無呼吸の状態でも 20 秒かけ緩やかに IVC を結紮し, データの計測を行なった (プロプラノロール群: PRL 群). この結紮により左室収縮末期圧は 26.7 ± 6.1 mmHg 減少した. 実験中に不整脈は

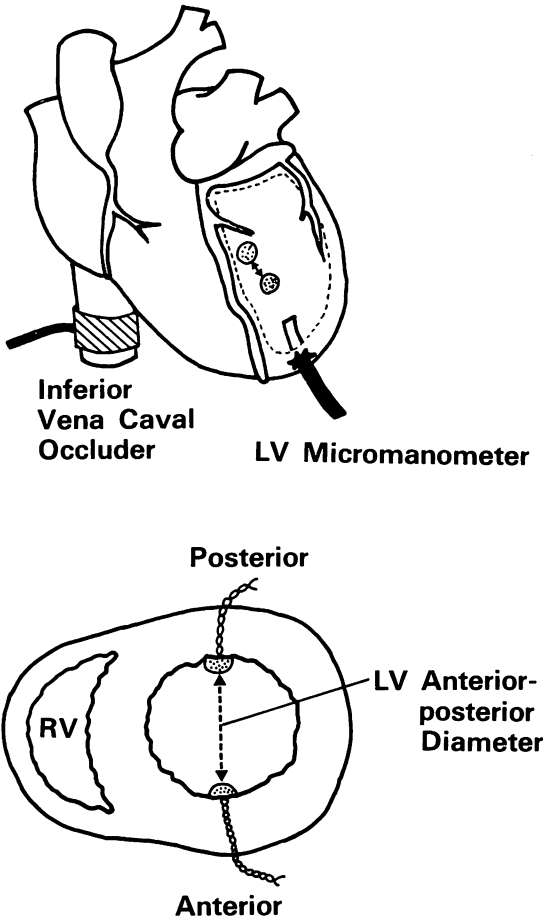


Fig. 2. Instrumentation and location of crystal pair for measurements of left ventricular (LV) diameter.

発生しなかった。実験終了直後、動脈血液ガスを再度分析したが、 PO_2 は 90 mmHg 以上、 PCO_2 は 45 mmHg 以下であった。また、心を停止させた後、クリスタルが正しく位置しているか否かを確認した。この実験中のマイクロマンオメーターのドリフトは 1.0 mmHg 以下であり、クリスタルは適切にセットされていた。我々の研究室で開発したソフトウェアを用いてデータを解析した。

3. データ解析と理論的背景

前負荷を変化させた時の瞬時の左室圧と内径データより、左室力-長さ関係のループを作図した。

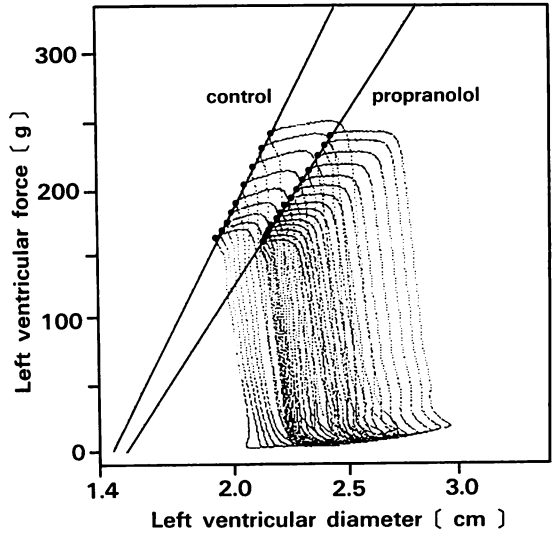


Fig. 3. Effect of propranolol on the left ventricular (LV) end-systolic force-diameter (F_{es} - D_{es}) relation.

Representative left ventricular circumferential force-diameter loops obtained from one dog during inferior vena caval occlusion. Upper left corners of loops represent end-systolic point in each cardiac cycle. Regression lines were estimated for each datum for LV F_{es} - D_{es} relation during the control contractility and after infusion of propranolol (2 mg/kg) and atropin (0.2 mg/kg). Results indicated that β -blockade significantly decreased the slope of the relation without change in the extrapolated diameter intercept.

左室心筋の収縮力 (F) は、 $F = P \cdot D / \pi a^{1,2)}$ の式より計算した (a は変換定数 $0.735 \text{ mmHg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^2$)。1頭のイヌから得られた典型的なループを Fig. 3 に示す。収縮末期点は力-内径ループの左上隅と定義した²⁾。本研究において左室収縮末期力 ($F_{es} = P_{es} \cdot D_{es} / \pi a$, ここに P_{es} = 左室収縮末期圧, D_{es} = 左室収縮末期内径) は心筋長と直線的な比例関係を示すと仮定した。したがって、左室収縮末期力 (F_{es}) は次の式で示すことができる^{1,2)}。

$$F_{es} = \pi E_c \cdot (D_{es} - D_0) \quad [g] \quad (1)$$

E_c は左室収縮末期力-長さ関係の傾きを示し、左室壁心筋の変力状態を表わす指標である。 D_0 はこの関係の内径切片であり、基準心筋長を示す。

Table 1. Effect of propranolol on left ventricular (LV) F_{es} - D_{es} relation (N=10)

	Controls	Propranolol	p value
Heart rate [beats/min]	140±27	106±19	<0.01
LV end-systolic pressure [mmHg]	121±22	111±16	NS
LV end-systolic diameter [cm]	1.87±0.29	2.22±0.38	<0.05
LV end-systolic force [g]	156±42	167±36	NS
LV F_{es} - D_{es} relation			
E_c [g/cm]	151±61	86±20	<0.05
D_o [cm]	1.50±0.22	1.56±0.30	NS

F_{es} - D_{es} relation=end-systolic force-diameter relation; E_c =slope of the LV F_{es} - D_{es} relation; D_o =extrapolated diameter intercept of the LV F_{es} - D_{es} relation; NS=not significant.

収縮末期力 (F_{es}) と内径 (D_{es}) の値を用いて E_c と D_o を求めた. 計測したデータから F_{es} - D_{es} 関係の直線回帰式は式 (2) で表現される.

$$F_{es} = A \cdot (D_{es} - B) \quad [g] \quad (2)$$

A は回帰定数, B は X 軸切片である.

したがって, E_c と D_o は式 (1), (2) から, 式 (3), (4) として得られる.

$$E_c = A/\pi \quad [g/cm] \quad (3)$$

$$D_o = B \quad [cm] \quad (4)$$

すべてのデータは当研究室で開発したソフトウェアとコンピューターシステム (PC9801VX21, NEC 製) を用いて処理した. このシステムを用いて, 力-内径関係ループを描き, 心周期の収縮末期点を決定し, F_{es} - D_{es} 関係の回帰式と E_c と D_o の値を算出し, F_{es} - D_{es} 関係式の推定直線を自動的に描いた. データはすべて平均値±標準偏差 (SD) で表現した. 平均値の差の検定は, Student's paired t 検定にて行なった. 最小自乗法によって F_{es} - D_{es} 関係の回帰直線を決定した.

結 果

CTL 群と PRL 群における無負荷時の心拍数, 左室収縮末期圧, 内径, 力と E_c , D_o のデータを Table 1 に示す. CTL 群と PRL 群ともに, 前負荷の減少で心拍数は有意に変化せず (CTL 群 140±27 対 143±29 bpm, PRL 群 106±19 対 105±19 bpm), また心拍数の変化はすべてのイヌ

で 10 beats/min 以下であった. したがって, 7 秒間の IVC の結紮法では自律神経の大きな反射を引き起こさないと推測された. IVC 結紮で左室収縮末期圧は CTL 群で 121±22 から 91±18 mmHg に, PRL 群で 111±16 から 84±12 mmHg までそれぞれ減少した. プロプラノロール注入により, 無負荷時の心拍数は 140±27 から 106±19 beats/min と約 24% の有意 ($p<0.01$) な減少を示した. また左室収縮末期内径は, 1.87±0.29 から 2.22±0.38 cm へと有意 ($p<0.05$) に増加した. しかし, 左室収縮末期圧 (121±22 対 111±16 mmHg) と力 (156±42 対 167±36 g) は有意な変化を示さなかった.

CTL 群と PRL 群ともに左室収縮末期力-長さ関係は良い直線的比例関係にあった. E_c はプロプラノロール注入により約 43% の有意な減少を生じた (151±61 対 86±20 g/cm, $p<0.05$). しかし, D_o には有意な変化がみられなかった (1.50±0.22 対 1.56±0.30 cm). これらの結果は, 麻酔開胸犬の左室心筋において, プロプラノロールは変力状態を 43%, 変時状態を 24% 低下させたが, 力-長さ関係の長さ切片には変化を及ぼさないことを示していた.

考 察

臨床において心収縮性を適切に評価することは極めて重要である. 臨床では従来から心収縮性

を評価する指標として、駆出率 (EF), 平均円周短縮速度 (mVcf), dP/dt_{max} 等が広く用いられているが、これらは前負荷、後負荷の影響を受け、左室心筋それ自体の性能を正確に評価し得ないとされている。1973年に Suga & Sagawa ら^{6,7)}はイヌの摘出心臓の実験から左室圧-容積関係を用いて前負荷、後負荷の影響を受けない指標 (E_{max}) を提案した。しかしこの指標にも二つの問題点がある。第1は E_{max} は左室の大きさに依存することである。第2は容積切片 (V_d) の非恒常性と負の V_d の問題である。 V_d の非恒常性とは、心筋収縮性を变化させた時に V_d が変化してしまうことである。負の V_d の問題とは左室で V_d が負の値になるということである。もし左室収縮末期圧-容積関係が直線的関係ではなく上に凸の曲線であれば、外挿して得られた V_d がカテコラミン投与で変化したり、負の値になることはあり得ることである。以上の問題点を克服するため、我々は心筋の力-長さ関係で表現される心筋収縮特性に焦点を当てた数学モデル (円筒モデル¹⁾, 活性連結橋モデル⁸⁾) を提案した。左室収縮末期力-長さ関係の直線の傾き E_e は、心筋の収縮性能を表わす指標となり得る。このモデルは生理的状態の心臓において、 E_e を間接的に求めるためのものである⁹⁾。この方法により求めた E_e は、イヌ左室心筋の収縮性を表わす適当な指標であることが判明した²⁾。したがって本研究ではこの E_e を用いて、プロプラノロールによるイヌ左室心筋の収縮性変化を評価しようと試みたのである。

β ブロッカーによる心収縮性低下に関する過去の知見として、佐々木ら¹⁰⁾は健常者を含む種々の心疾患70例を対象として、peak-systolic pressure / end-systolic volume index を用いて調べた。その結果、プロプラノロール (2-4 mg/kg, i.v.) にて、その指標の値は 20.6% 減少した。また、 dP/dt_{max} は 15.4%, EF は 14.7%, mVcf は 15.0% それぞれ減少した。Sapru & Sharma¹¹⁾による心疾患患者12例におけるプロプラノロール (10 mg, p.o.) の心収縮性への影響の比較検討の結

果では、 dP/dt_{max} は 11% 減少した。また Corbo ら¹²⁾の normotensive rabbits と SHR を用いたプロプラノロールの心収縮性に対する影響の報告では、プロプラノロール (0.55 mg/kg, i.v.) により dP/dt_{max} は、normotensive rabbits で 28%, SHR で 89%, mVcf は normotensive rabbits で 5%, SHR で 7%, また、end-systolic pressure-volume ratio は、normotensive rabbits で 33%, SHR で 50% それぞれ減少した (値は文献 11 の Fig. 10 より我々が計算したものである)。今回の実験結果では、プロプラノロール (2 mg/kg, i.v.) により E_e は 43% 減少した。その程度に差はあるものの、心筋収縮性が減少したという今回の事実は過去の知見と同様であった。

カテコラミンによる心筋収縮性調節機構に関しては、カテコラミンは adenylate cyclase を刺激し、次に ATP より cyclic AMP を形成し、この cyclic AMP が第2メッセンジャーとして Ca^{2+} の働く部位に作用すると考えられている。現在のところ in vitro の実験から想定される作用部位は、1) 活動電位第2相での Ca^{2+} の流入の増加 (slow inward current), 2) 筋小胞体における Ca^{2+} 能動輸送の促進¹³⁾, 3) 筋原線維トロポニン C への Ca^{2+} 親和性の変化などである。1) に関して Reuter ら^{14,15)}は、心筋細胞の β アドレナリン作動性神経刺激により slow inward current の増加をみたことを示し、また Trautwein ら¹⁶⁾と Osterrieder ら¹⁷⁾は、それぞれ single heart cell に cyclic AMP-dependent protein kinase の触媒サブユニットを注入することにより、slow inward current が増加したと報告している。一方、心臓に対するカテコラミンの β 作用は、単収縮での収縮時間の短縮 (abbreviation of systole) と発生張力の増大 (陽性変力効果) である。後者の主な機序は、筋小胞体における Ca^{2+} の能動輸送の促進により拡張期に筋小胞体の Ca^{2+} 蓄積能が増し、その結果として次の収縮期に Ca^{2+} の放出量が増加すると考えられている^{18,19)}。摘出心筋における Ca^{2+} transient と発生張力を同時に測定し

た実験では, カテコラミン投与によりこの両者の増大が観察された^{20,21)}. また, その増大は投与量に比例していた. Ca^{2+} transient は心筋細胞内の free Ca^{2+} 濃度を表わすので, 以上の結果から, β 遮断薬は心筋細胞内の free Ca^{2+} 濃度を減少させることが容易に推測される.

Takeda らはイヌ in vivo 左室心筋において, Ca^{2+} 負荷により E_c が増大したと報告し²⁾, E_c は筋小胞体から放出された Ca^{2+} 濃度を直接的に反映すると, 理論モデルを用いて予測した^{22,23)}. また正常ヒト左室心筋の E_c は, 個人間の心筋長の差異にもかかわらずほぼ一定の値を示し, カテコラミン投与で増大した³⁾. β 遮断薬はカテコラミンが誘発する adenylate cyclase に対する作用を遮断し, 心筋収縮性を低下させると考えられる¹⁴⁾ので, プロプラノロールにより E_c が減少した事実は, E_c の理論的意味, E_c に関する過去の実験結果, β 遮断薬の薬理作用等と良い整合性があった.

結 語

プロプラノロール投与で心拍数は 24% 減少し, E_c も 43% 減少した. 他方, D_o は有意に変化しなかった. したがって, 心臓の β 受容体刺激は in vivo 左室収縮性維持に強く関与していることが, この左室壁心筋の変力状態を表わす新しい指標からも示された. また, プロプラノロール静注で E_c が低下したのは, 心筋細胞内の free Ca^{2+} 濃度の減少を反映していることが, 我々のモデルから理論的に推測された.

要 約

心臓のアドレナリン性 β 受容体を遮断することによる左室収縮性に及ぼす影響を, 左室収縮末期力-内径 (F_{es} - D_{es}) 関係を用いて, 10 頭の健全な雑種成犬で評価した. 左室内径は超音波クリスタルにより, また左室圧はマイクロマノメーターにより測定した. 前負荷は下大静脈 (IVC) を結紮し変化させた. コントロール群 (CTL 群) で

は, IVC を 7 秒間結紮しデータを記録した. 次にプロプラノロールを 2 mg/kg 静注し CTL 群と同様な方法でデータを記録した (PRL 群). F_{es} - D_{es} 関係の傾き (E_c) と内径切片 (D_o) は, それぞれの群の収縮末期のデータから求めた. E_c は左室壁心筋の変力状態を表わす新しい指標である. CTL 群では 7 秒間の IVC の結紮で心拍数は有意に変化しなかった. したがってこの方法では大きな自律神経反射を避け得たと推測された. PRL 群では CTL 群に比較し, 無負荷時の心拍数は 24% 有意に減少し, E_c も 43% 有意に減少した. 他方, D_o は有意に変化しなかった. したがって, 心臓の β 受容体刺激は in vivo 左室心筋収縮性維持に強く関与していることが, この左室壁心筋の変力状態を表わす新しい指標からも示された. また, プロプラノロール静注で E_c が低下したのは, 心筋細胞内の free Ca^{2+} 濃度の減少によることが, 我々のモデルから理論的に推測された.

謝 辞

実験の準備にあたり, 下川, 生田目両氏から優れた技術的援助を頂いたことに深く感謝申し上げます.

文 献

- 1) Takeda K, Shimizu T, Yamamoto H, Yagi S: Human left ventricular end-systolic pressure-volume relationship in a cylinder model. *Jpn Heart J* **29**: 689-707, 1988
- 2) Takeda K, Takeda M, Shimizu T, Yagi S: Approximation of various canine left ventricular end-systolic relations by a cylinder model. *Am J Physiol* **258**: H1300-H1311, 1990
- 3) Takeda K, Tamano K, Okamura A, Kobayashi N, Shimizu T, Kadota R, Yamamoto H, Yagi S: Slope of the human left ventricular end-systolic force-length relation is independent of myocardial length. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* **261**: H1060-H1066, 1991
- 4) Little WC, Freeman GL, O'Rourke RA: Simultaneous determination of left ventricular end-systolic pressure-volume and pressure-dimension relationships in closed-chest dogs. *Circulation* **71**: 1301-1308, 1985

- 5) Vatner SF, Higgins CB, Franklin D, Braunwald E: Extent of carotid sinus regulation of the myocardial contractile state in conscious dogs. *J Clin Invest* **51**: 995-1008, 1972
- 6) Suga H, Sagawa K: Instantaneous pressure-volume relationships and their ratio in the excised, supported canine left ventricle. *Circ Res* **35**: 117-126, 1974
- 7) Suga H, Sagawa K, Shoukas AA: Load independence of the instantaneous pressure-volume ratio of the canine left ventricle and effects of epinephrine and heart rate on the ratio. *Circ Res* **32**: 314-322, 1973
- 8) Takeda K: Active cross-bridge model: Reproduction of the myocardial force-length-time relation and the left ventricular pressure-length-time relation in systole. *Jpn Heart J* **31**: 43-69, 1990
- 9) Takeda K, Yagi S: A new viewpoint for evaluation of the left ventricular myocardial contractility: Theoretical integration of myocardial force-length relation and left ventricular end-systolic relations. *Cardioangiology* **26**: 233-244, 1989 (in Japanese)
- 10) Sasaki T, Matsuzaki M, Takahashi Y, Toma Y, Uchida T, Ogawa H, Naito H, Matsuda Y, Kumada T, Kusukawa R: Significance of non-invasive parameter (PSP/ESVI) in assessing left ventricular contractility. *J Cardiogr* **11**: 543-551, 1981 (in Japanese)
- 11) Sapru RP, Sharma PL: The effect on myocardial contractility of a new β -adrenergic receptor blocking drug, penbutolol. *Br J Clin Pharmacol* **6**: 515-520, 1978
- 12) Corbo M, Wang PR, Li JKJ, Chien YW: Effect of propranolol on the myocardial contractility of normotensive and spontaneously hypertensive rabbits: Relationship of pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharmacokinetics Biopharm* **17**: 551-570, 1989
- 13) Katz AM, Tada M, Kirchberger MA: Control of calcium transport in the myocardium by the cyclic AMP-protein kinase system. *Adv Cyclic Nucleotide Res* **5**: 453-472, 1975
- 14) Reuter H: Localization of beta adrenergic receptors, and effect of noradrenaline and cyclic nucleotides on action potentials, ionic currents and tension in mammalian cardiac muscle. *J Physiol (London)* **242**: 429-451, 1974
- 15) Reuter H, Scholz H: The regulation of the Ca conductance of cardiac muscle by adrenaline. *J Physiol (London)* **264**: 49-62, 1977
- 16) Trautwein W, Taniguchi J, Noma A: The effect of intracellular cyclic nucleotides and calcium on the action potential and acetylcholine response of isolated cardiac cells. *Pflügers Arch* **314**: 307-314, 1982
- 17) Osterrieder W, Brum G, Hescheler J, Trautwein W, Flockerzi V, Hofmann F: Injection of subunits cyclic AMP-dependent protein kinase into cardiac myocytes modulates Ca^{2+} current. *Nature* **298**: 576-578, 1982
- 18) Fabiate A, Fabiate F: Relaxing and inotropic effects of cyclic AMP on skinned cardiac cells. *Nature* **253**: 556-558, 1975
- 19) Fabiate A, Fabiate F: Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiol Rev* **57**: 71-108, 1977
- 20) Morgan JP, Blinks JR: Intracellular Ca^{2+} transients in the cat papillary muscle. *Can J Physiol Pharmacol* **60**: 524-528, 1982
- 21) Endoh M, Blinks JR: Action of sympathomimetic amines on the Ca^{2+} transients and contractions of rabbit myocardium: Reciprocal changes in myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} mediated through α - and β -adrenoceptors. *Circ Res* **62**: 247-265, 1988
- 22) Takeda K: Chemical kinetics and the basic hypothesis of an active cross-bridge model. *Cardioangiology* **29**: 312-316, 1991 (in Japanese)
- 23) Takeda K, Kadota R, Yagi S: Time-varying myocardial elastance of canine left ventricle. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* **261**: H1544-H1562, 1991