

氏名 (本籍)	いしかわよしひろ (神奈川県) 石川 義 広
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	甲第 57 号
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 1 項該当
学位論文題名	犬の心負荷時における心房性ナトリウム利尿ペプチドの変化に関する実験的 研究
論文審査委員	(主査) 教授 高 橋 貢 (副査) 教授 鈴 木 立 雄 教授 渡 植 貞一郎

論 文 内 容 の 要 旨

細胞外液量の調節に関与するホルモンとして、主に生体の脱水に対する防御機構として作用するアルドステロン、バソプレシンなどが知られていたが、最近では心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) が溢水状態に反応し、積極的に利尿を誘発すると同時に血圧降下作用を示すホルモンとして注目されている。ANP は、主に心房組織内において合成、貯蔵ならびに分泌されることから、これまで単に血液の循環ポンプとして考えられていた心臓は、さらに内分泌器官としての役割を担っていることが判明した。

ANP の分泌は、生体内において物理的、生化学的、および神経的に調節されているが、特に心房に対する内圧を介した物理的な刺激が分泌に重要であるとされている。また、ANP は心不全、腎不全あるいは高血圧症に関連してその血中濃度が上昇することが知られており、特に心疾患においては、その重症度に応じて高値を示し、臨床症状の増悪、改善にともない増減する。このような ANP 分泌の生理的変動は、心臓を内分泌器官として位置付けるだけではなく、心疾患の診断および治療を考慮するうえで極めて重要な機能である。しかしながら、これまでの報告において、ANP の分泌にはいくつかの異なるメカニズムが存在することが示唆されているものの、詳細な分泌機序に関しては十分に検討されていない。

このことから著者は、ANP の分泌機序について、物理的調節に着目し、特に左心系に対する負荷が ANP 分泌にどのように影響をおよぼすかを知る目的で、

1. 心肺標本作製時における ANP 濃度の変化

心肺標本は、腹大動脈および腹部の後大静脈からカニューレーションを行い胸腔内で作製し、体外循環用の人工心肺装置および末梢血管抵抗に代るスターリングのレジスターを用い、心臓に対する前負荷ならびに後負荷を調節して循環動態を維持した。この心肺標本を用いて ANP の分泌機序を解明する場合、非生理的な閉鎖循環が、ANP 分泌に対してどのような影響をおよぼすか否かを知る必要がある。そこで心肺標本作製したのち、可能な限り正常に近い心機能が維持される様に循環をコントロールし、負荷操作を行わず経時的に血漿中 ANP 濃度を測定してその変化を観察するとともに、循環血液の性状および心臓カテーテル法によって測定された各心機能のパラメーターと ANP 濃度の推移を観察した。ANP 濃度は Marumo らの方法により Radioimmunoassay (RIA) 法で測定した。

その結果、心肺標本で約 90 分間の循環中、ANP 濃度は時間経過にともない直線的に増加した。また、

心・血管内(右心房, 肺動脈, 左心室, 大動脈)における ANP 濃度に有意差は認められなかった。心肺標本作製後の心内圧は, 全体的に一定の値を維持するように調節したが, 左心室拡張末期圧(LVEDP), 平均右心房圧(RAm)および平均肺動脈圧(PAm)は上昇傾向を示し, 左心室最大収縮期圧(LVpks), 左心室内圧の変化率の最大値(LV max. dp/dt)ならびに心拍数(HR)は時間経過とともに減少する傾向が認められた。しかし, これらのパラメーターの変化はわずかであり, ほぼ正常範囲内の変動であったことから, 無負荷時における心肺循環は, ANP 分泌に対して直接的に大きな影響をおよぼさないものと思われた。血液性状については血液温度, 血液ガス, 電解質(Na, K, Cl, Ca)ならびに浸透圧について測定した。循環血液の温度および血液ガスは, 循環に直接影響をおよぼすことから, あらかじめ条件設定を行った。血液温度は生体に近い38°C前後に維持され, 血液ガスは, 純酸素の付加によって酸素分圧が100 mmHg以上の高値を示したが, 二酸化炭素分圧およびpHはほぼ正常範囲内で推移した。また, Na 濃度および浸透圧は比較的高値を示したが, 心肺標本循環中に大きな変化は認められず, その他の電解質もほぼ安定して推移した。

以上の成績から, 心肺標本を用いて ANP 分泌に関する実験を計画する場合には, ANP の経時的な増加を考慮して評価する必要があることが判明した。また, この経時的な ANP の増加は実験例ごとに異なるものの, その変化は直線的であり, 心肺標本作製後初期の ANP 濃度の変化から, その増加率を推定することが可能であった。このことから, 心負荷時における ANP 分泌動態を評価できることが確認された。

2. 心肺標本の心負荷時における ANP 濃度

心肺標本の循環における ANP 濃度の変化に関しては, 増加率は実験例ごとに異なるものの, 循環中経時的に上昇することが確認された。この成績にもとづき, 心肺標本作製し30分間循環させた後, 直接左房に対し容量負荷を加え, 心内圧, 心拍数ならびに血漿中 ANP 濃度について観察し, 左心系への負荷に対する ANP 分泌反応について検討を加えた。容量負荷は, 左心耳の先端部よりカテーテルを挿入し, ポンプを用い全体の循環血液量を変化させずに, 心肺標本を循環する血液を直接左房内に送血できる回路を構成して実施した。心負荷の方法は, 心肺標本作製後30分を経過したのち, 心臓への血液還流量を一定とし, 左房側から急速な血液容量負荷を加えた。負荷の程度は, LVEDPを指標とし20mmHg以上に上昇させ負荷を加えた。その結果, 左房負荷にともないLVpksが上昇し, また, 同時にPAmおよびRAmの上昇が観察され, 著明な心負荷の状態を示した。このような心負荷時における ANP 濃度は, 急激に上昇して分泌の亢進が認められ, 無負荷時の経時的な ANP 濃度の増加と比較して約2.6倍の上昇を示した。左右の心耳組織内 ANP 含有量を Kangawa らの方法で測定した結果, 正常犬においては, 右心耳で $34.4 \pm 6.7 \text{ ng/mg} \cdot \text{protein}$, 左心耳では $65.9 \pm 29.2 \text{ ng/mg} \cdot \text{protein}$ (n=5)であった。また, 3例について負荷前後における左右の心耳組織内 ANP 含有量を測定した結果, 負荷後における変化は2例で減少したが, 1例では増加傾向がみられた。

以上のごとく, 左房側からの急激な容量負荷を加えることによって右心系内圧の上昇も同時に観察され, 著明な心負荷の状態を示し, ANP 分泌は亢進したが, 必ずしも左房に対する負荷のみに起因するものではなく, 右心系の負荷も関与するものと考えられた。

3. 左心系の容量負荷時における ANP 濃度

心肺標本の循環において, 左房側から急激な容量負荷を加えることによって心負荷の状態となり, ANP 分泌が亢進し血中 ANP 濃度は急激に上昇することが観察された。

そこでさらに ANP 分泌に対する左心系負荷の影響を詳細に追求する目的で、左房への負荷が右心系に波及しないように右心室にカニューレを挿入し、負荷を緩衝する回路を構成すると同時に、右心系への血液還流量を減少させ、主として心肺循環を左心系のみに限定した。これに対し LVEDP を指標として左房に血液容量負荷を加え、その時の ANP 濃度の変化を観察した。

その結果、ANP 濃度の変化は無負荷時における経時的な変動と比較して有意な差は認められなかった。したがって、心負荷時にみられた急激な ANP 濃度の上昇は、左房の容量負荷に起因するものではないことが証明された。また、左房容量負荷の前後における左右の心耳組織内における ANP 含有量は、負荷前においては右心耳より左心耳組織内の ANP 含有量が高値を示した。しかしながら、負荷後における組織内 ANP 含有量は、3 例で減少、1 例で増加、他の 1 例では左右の心耳で異なる反応を示し、必ずしも血漿中濃度との関連はなかった。

以上のことから、急性の心負荷による血中 ANP 濃度の上昇に対し、左心系の負荷はほとんど関与していないことが判明した。

論文審査の結果の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (Atrial Natriuretic Peptide 以下 ANP) の生体内分泌は、物理的、生化学的ならびに神経的に調節されると考えられているが、血液中の ANP 濃度は、加齢、体位変換、高ナトリウム食摂取、心臓 pacing、心臓の急性または慢性の容量負荷などによる心房圧の変化とくに心房壁の伸展が ANP 分泌の重要な因子と考えられている。また、臨床的には、心不全、腎不全あるいは高血圧症において血中 ANP 濃度の上昇がみられることはよく知られており、心疾患の診断または治療薬としての有用性も検討されている。

小動物臨床においては、各種の先天性心疾患ならびに後天性心疾患の増加にともなって、その臨床診断ならびに治療技術も発展してきている。しかしながら、心負荷によって心機能が低下する心疾患の病態を把握するための診断は、必ずしも容易ではない。一般に心疾患の病態把握に用いられる検査法として造影 X 線診断法、カテーテル法あるいは超音波診断法等が活用されるが、近年では ANP の血中濃度が心負荷の診断に有用であることが知られてきたことから、各種の心疾患における血中 ANP 濃度の変動が注目されるようになってきた。

各種の心疾患における心負荷時の血中 ANP 濃度の変動については、さまざまな報告がみられ、ANP の分泌部位が問題となることが多い。これまでの報告では、心負荷とくに心房負荷によって血中 ANP 濃度が上昇することは知られているが、左右いずれの心房負荷に由来するかについては明らかにされていない。このことは、心疾患時に発現する前負荷または後負荷の病態把握に極めて重要な要因となる。

そこで著者は、左右心房のいずれから ANP の分泌が行われるかを知る目的で、犬の心肺標本を作製し、比較的純粋に左房に容量負荷をかけ、その時の血中 ANP 濃度について検討した。

1. 犬の心肺標本における血中 ANP 濃度の変化

心房に物理的な負荷をかけて心房筋を伸展させ、ANP の分泌を促進させるためには、心臓以外の ANP 分泌に関与する因子を排除し、心臓に対する前負荷と後負荷すなわち右房または左房負荷を規定して評価する必要があることから、体外循環用の人工心肺装置を使用して心肺標本を作製した。この心肺標本は、腹部

大動脈と大静脈からカニューレーションを行い、大動脈と大静脈部で固定する。そして大動脈—大静脈カニューレの中間に、人工心肺装置を置いて循環を維持した。また、前負荷はローラーポンプ、後負荷は、循環回路の途中に設置したスターリングレジスターによって調節した。

このような心肺標本を用いて右房圧、右室圧、左室圧ならびに大動脈圧を正常な心臓の循環圧に調整したのち、約90分間にわたって心肺標本の循環を維持した。その場合における右房、肺動脈、左室ならびに大動脈における血中 ANP 濃度は、直線的な増加を示した。また、各測定部位における血中 ANP 濃度に有意な差は認められなかった。

心肺標本を約90分間循環させた場合の心内圧は、わずかな変動が見られたが、おおむね正常範囲内の変動であったことから、心臓に対しては無負荷の状態であり、血中 ANP の分泌に対して直接的な影響をおよぼさないものと考えられた。また、循環血液の温度と血液ガスは、血液循環に直接的に影響をおよぼすことから、循環血液の温度、血液ガス、電解質ならびに浸透圧について測定を行って調整した。血液温度は38°C前後、血液ガスは純酸素の付加によって100mmHgと高値を示したが、二酸化炭素およびpHは正常範囲内で推移した。また、ナトリウム濃度および浸透圧は比較的高値を示したが、心肺標本の循環に大きな影響をおよぼす変化は認められなかった。さらに電解質はほぼ安定して推移した。

以上のことから、心肺標本では、血中 ANP 濃度の変動が実験例毎に異なるものの、心臓に対して無負荷の状態で約90分間循環させた場合には、ほぼ直線的な増加を示すことから、心肺標本の循環初期の濃度変化における血中 ANP 濃度の回帰式から、その増加率を推定することが可能であった。このことから、心肺標本を用いて前負荷または後負荷をかけた場合における無負荷分の血中 ANP 濃度を差し引けば、心負荷時における ANP 濃度を比較的純粋に評価することができるものと考えられた。

2. 心肺標本の心負荷時における血中 ANP 濃度の変化

ANP の分泌は、左房または右房から多く分泌されると考えられていることから、ここでは左房側から心臓に急速な容量負荷を加えた時の血中 ANP の変動について検討を行った。左房から加えた容量負荷は、人工心肺装置から直接に左房への回路を作り、その中間にローラーポンプをおいて容量負荷を調節した。すなわち、心肺標本を作製して30分間負荷の状態を循環させたのち、直接左房へ急速な容量負荷を加え、LVEDP を20mmHg 以上に上昇させると、LVpksが平均133.8mmHgに上昇すると同時に、PAmは平均35.0mmHg、RAmは平均28.6mmHgに上昇し、前負荷ならびに後負荷が著明となりいわゆる心負荷の状態を示す。このような心負荷時における血中 ANP 濃度は急激な上昇を示し、無負荷時の血中 ANP 濃度に比較して約2.6倍の増加を示した。このことから、左房側から急激な容量負荷を加えた心負荷の状態で血中 ANP 濃度の急激な上昇が認められたことは、左房負荷に起因するだけでなく、右心系の負荷も関与するものと考えられた。

一方、左右の心耳組織内における ANP 含有量について測定した結果、正常犬における心耳組織内の ANP 含有量は、右心耳では平均34.4ng/mg・protein、左心耳では平均65.9ng/mg・proteinで左心耳組織内の ANP が右心耳組織内の ANP に比較して約2倍量多かった。また、負荷前における両心耳組織内の ANP 含有量に比較して負荷後における両心耳組織内の ANP は減少した例と増加した例があり一定の傾向はみられなかった。

3. 左心系の容量負荷時における血中 ANP 濃度の変化

左房側からの心負荷の状態、血中 ANP の急激な上昇が認められたことから、さらに左心系に限定した負荷を加えた時の血中 ANP 濃度の変動について検討した。すなわち、心肺標本の回路に左房への負荷が右心系に波及しない回路として、右房への血液還流量を減少させると同時に右室から減圧する回路を作製し、主として心肺循環を左心系のみに限定した。そして LVEDP を平均 21.9mmHg に上昇させて容量負荷を加えた時の血中 ANP の変動を観察した。

その結果、左房負荷にともなって血中 ANP 濃度は経時的に上昇する傾向を示したが、その増加率はきわめて少なく、無負荷時における経時的な ANP 濃度の上昇に比較して有意な差は認められなかった。このことは、心負荷時における血中 ANP 濃度の上昇は、左房負荷に起因するものではないことを意味し、心負荷時に観察された血中 ANP 濃度の上昇には、左房負荷がほとんど関与しないことが明らかにされた。

また、この場合の両心耳の組織内における ANP 含有量を測定してみると、負荷前では右心耳組織内 ANP より左心耳の組織内 ANP 含有量が多かった。しかし、負荷後における左心耳組織内の ANP 含有量は、やや減少する傾向を示したが、血中 ANP 濃度は上昇しなかった。

以上の実験成績から、心肺標本を用いて心負荷を加えた時の血中 ANP 濃度の上昇は、左房負荷がほとんど関与しないことが立証された。このことは、前負荷または後負荷の病態を示す心疾患の病態把握に極めて重要な指標となり、医学ならびに獣医学の分野における心疾患の診断に大きく貢献するものと考えられる。よって、本論文は獣医学博士の学位を授与するにふさわしい業績と認める。