

Inhibitory effects of beraprost sodium on the progression of pulmonary hypertension induced by monocrotaline in rats : a comparison with aspirin, nifedipine and enalapril

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9330

モノクロタリン誘発性肺高血圧ラットにおける ベラプロストナトリウムの効果についての研究： 他薬剤との比較検討

金沢大学医学部医学科小児科学講座 (主任：小泉晶一教授)

寺 尾 岳

肺高血圧症に対するベラプロストナトリウム (beraprost sodium, BPS) の効果を判定するため、モノクロタリン (monocrotaline, MCT) 誘発性肺高血圧ラットに対して、生存率、右室収縮期圧、右室心筋重量、肺細動脈の中膜肥厚について他薬剤と比較検討した。MCT (40mg/kg) を皮下投与したラットにBPSを4ppmの濃度に調整した飲用水を投与し (平均投与量500 μ g/kg/日)、8週後まで飼育した。比較のため、アスピリン (20mg/kg/日、経口)、ニフェジピン (10mg/kg/日、腹腔内)、エナラプリル (2.5mg/kg/日、経口) の投与を行った。 Kaplan-Meier 法による生存曲線を作製したところ、BPS投与群では他薬剤投与群に比較して有意な生存率の改善が認められた。BPS投与群では、右室収縮期圧の上昇および右室肥大が有意に抑制された。比較に用いたアスピリン、ニフェジピン、エナラプリルのうち、右室収縮期圧の上昇を抑制したのはエナラプリルだけであり、右室肥大を抑制したのはアスピリンのみであった。MCT投与4週後に径50-100 μ mの肺細動脈の中膜肥厚を検討したところ、MCT投与によって認められた肥厚が、BPS投与群では有意に抑制されたが、他薬剤では抑制されなかった。BPSの投与開始をMCT投与2週後としても、MCT投与直後からと同等の生存率の改善が認められたが、4週後からBPSを投与した群では生存率は改善しなかった。経時的に右室収縮期圧を測定したところ、BPSをMCT投与の直後および2週後より行った群においては右室収縮期圧の上昇が抑制できたが、MCT投与の4週後より行った群では抑制効果は認められなかった。以上の結果、BPSはMCT投与によって誘発される肺細動脈の中膜肥厚の進行を抑制することで右室収縮期圧の上昇を抑制し、その結果、生存率を改善することが推測された。従って、肺血管の組織変化の進行したラットに対しては右室圧の低下は期待できないと考えられた。

Key words pulmonary hypertension, monocrotaline, beraprost sodium, aspirin, prostacyclin

原発性肺高血圧症は徐々に肺高血圧が進行し、右心不全が悪化する治療が極めて困難な疾患である。先天性心疾患に合併した肺高血圧症も、心臓の手術後に残存する場合には術後の経過が不良になる場合がある。その治療としてこれまで酸素、 α 拮抗剤、カルシウム拮抗剤、亜硝酸剤、硫酸マグネシウムなどの血管拡張剤が試みられてきたが、いずれの効果も不十分であった。欧米では肺血管拡張作用と抗血小板作用を合わせ持つプロスタサイクリン (prostacyclin, PGI₂) の静注薬が用いられており、肺高血圧症に対しての急性効果が確かめられている¹⁵⁾。ベラプロストナトリウム (Beraprost sodium, BPS) は経口投与が可能で PGI₂ の安定誘導体として1992年末梢循環改善薬として発売されており、肺高血圧症に対する長期効果も期待されている¹⁶⁻²⁰⁾。中村の報告²¹⁾によるとモノクロタリン (monocrotaline, MCT) (Sigma, St. Louis, USA) 誘発性肺高血圧ラットにMCT投与直後よりBPSを6週間投与すると肺高血圧症が抑制され、長期効果が確かめられた。しかし、BPSと他薬剤とを比較した報告はまだない。そこで本研究では、BPSの肺高血圧症抑制効果を

を抗炎症作用、抗血小板作用や血管拡張作用を有する種々の他薬剤と比較するために、MCT誘発性肺高血圧ラットを用いて、生存率の改善、右室収縮期圧、右室心筋重量、肺細動脈の中膜肥厚について検討した。そして、BPSの投与開始時期によるその有効性と限界についても検討を加えた。

対象および方法

I. BPSの長期効果について (多剤との比較検討)

1. 使用動物

6週齢、体重170~270gのウイスター (Wistar) 近交系ラット (日本エスエルシー、浜松) 雄を実験に用いた。ラットは常温 (23 \pm 2 $^{\circ}$ C)、常湿 (55 \pm 15%)、人工照明 (明時間9時-20時30分) 下に飼育し、飼料CRF-1 (日本チャールスリバー、厚木) および飲用水 (水道水) は自由に摂取させた。1ケージ当たり3-4匹として飼育した。

2. 被験薬

BPS原末 (TRK-100, 東レ, 東京) は4ppmの濃度になるよう

平成9年3月19日受付, 平成9年4月22日受理

Abbreviations : ASP, aspirin; BPS, beraprost sodium; ENP, enalapril; LV, left ventricle; LV+S, left ventricle plus septum; MCT, monocrotaline; NIF, nifedipine; PGI₂, prostacyclin; RV, right ventricle

飲用水に溶解した。抗炎症作用と抗血小板作用を有するアスピリン (aspirin, ASP) (岩城, 東京) は20mg/mlとなるよう調整して用いた。カルシウム拮抗剤のニフェジピン (nifedipine, NIF) (バイエル, 大阪) は40mg/ml原液のまま腹腔内投与に用いた。ACE阻害剤であるエナラプリル (enalapril, ENP) (萬有, 東京) は2.5mg/mlとなるよう飲用水にて調整して用いた。

3. 実験方法

MCTは梶原らの方法²⁾に従って2%溶液に調整し、40mg/kgをラットの項部に皮下注射し、MCT誘発性肺高血圧ラットを作製した。6群(対照群, MCT群, MCT+BPS群, MCT+ASP群, MCT+NIF群, MCT+ENP群)に分けた。対照群は生理食塩水2ml/kgを皮下注射し、水道水で飼育した。MCT群はMCT 40mg/kg皮下注射し、水道水で飼育した。MCT+BPS群はMCT 40mg/kg皮下注射し、BPSを飲用水に4ppmの濃度に調整して自由に摂取させた。用意した調整液の減った量から1日毎の摂取量を計算した。MCT+ASP群はMCT40mg/kg皮下注射し、ASP20mg/kg/日を連日経口投与した。MCT+NIF群はMCT 40mg/kg皮下注射し、NIF 10mg/kg/日を連日腹腔内投与した。MCT+ENP群はMCT 40mg/kg皮下注射し、ENP 2.5mg/kg/日を連日経口投与した。ラットはMCT投与後最長8週まで飼育した。

4. 圧測定, 心筋重量測定, 肺組織標本作製方法

4週後に6群の圧測定, 心筋重量測定, 肺組織標本作製を行った。ペントバルビタール(大日本新薬, 大阪) 40mg/kgの腹腔内投与によって麻酔した。頸部を切開し、気管を切開後挿管して、小動物用従量式人工呼吸器SN-480-6 (シナノ製作所, 東京) に接続し1回換気量30ml/kg, 呼吸回数40回/分, 大気下の条件で呼吸管理を行った。頸動脈を露出剥離して24Gの血管留置針(テルモ, 東京) を挿入し、体血圧を圧記録装置MIC-6600 (フクダ電子, 東京) にてモニターした。さらに胸骨右縁を切開, 開胸し、心嚢膜を切開した。心臓直視下に24G血管留置針で右心室及び左心室を穿刺し、波形が安定するのを待って右室収縮期圧, 左室収縮期圧を測定した。測定後脱血屠殺し、心肺を摘出した。心臓はFultonらの方法²⁹⁾に従い、右室自由壁と左室+心室中隔に分け、それぞれ重量を測定し、右室重量, 左室重量とした。

摘出した肺で組織学的検討を行った。左肺を切り出し10%ホルマリンで浸漬固定した。パラフィン包埋し約3μm厚の切片を作製し、エラスチカ-ファンギーソン (Elastica van Gieson) 染色した後、鏡検にて肺血管病変を評価した。Kayらの方法²⁹⁾に従い肺細動脈の中膜の厚さを評価した。評価対象とした血管は直径50-100μmの筋性動脈で短軸断面で切断されているもののみを計測した。血管の長径と短径を計測し平均値をもって血管径とし、外弾性板と内弾性板の間を中膜厚とし4ヶ所計測し、平均値を血管壁厚とした。各標本につき最低10個の血管を計測し、血管壁厚/血管径を%で算出し中膜肥厚 (medial thickness) とした。(図1)

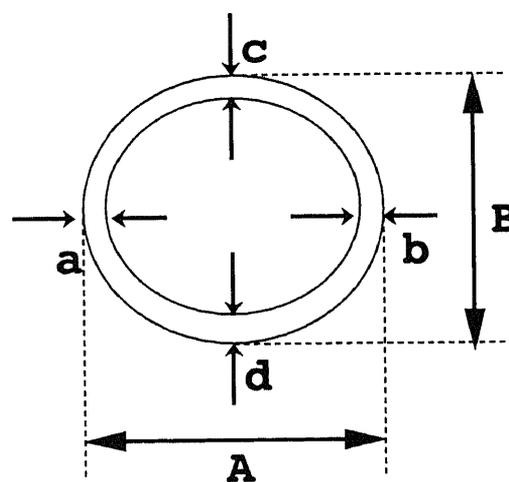


Fig 1. Estimation of medial thickness of muscular pulmonary arteries.

External diameter was estimated as the mean of two measurements between external elastic lamina (A and B). Wall thickness was estimated as mean of four measurements between external elastic lamina and internal elastic lamina (a, b, c and d), as follows:

$$\text{Medial thickness (\%)} = \frac{(a+b+c+d)/4}{(A+B)/2} \times 100$$

Table 1. Effects of beraprost sodium on body weight, ratio of right ventricular weight to left ventricular plus septum weight, and right and left ventricular systolic pressure in monocrotaline-injected rats

Group	Number of rats	Body weight (g)		RV weight / LV+S weight ratio	RV pressure (mmHg)	LV pressure (mmHg)
		0 week	4 weeks			
Control	8	196 ± 6	346 ± 6	0.28 ± 0.01	30 ± 1	131 ± 9
MCT	11	188 ± 5	246 ± 13##	0.73 ± 0.03##	86 ± 4##	114 ± 5
MCT+BPS	10	183 ± 5	264 ± 13	0.56 ± 0.05**	61 ± 6**	127 ± 3
MCT+ASP	8	187 ± 6	256 ± 5	0.57 ± 0.02*	83 ± 5	106 ± 3
MCT+NIF	8	204 ± 3	278 ± 7	0.61 ± 0.03	79 ± 3	98 ± 5*
MCT+ENP	8	196 ± 5	255 ± 9	0.61 ± 0.04	63 ± 4**	104 ± 6

Values are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS, monocrotaline and BPS-administered group; MCT+ASP, monocrotaline and aspirin-administered group; MCT+NIF, monocrotaline and nifedipine-administered group; MCT+ENP, monocrotaline and enalapril-administered group.

a) BPS, ASP and ENP were administered orally for 4 weeks after monocrotaline injection. NIF was administered intraperitoneally for 4 weeks after monocrotaline injection.

b) Body weight was measured at just before (0 week), and 4 weeks after monocrotaline injection (4 weeks).

p<0.01 (MCT group vs control group, Welch's t-test). * p<0.05, ** p<0.01 (compared with MCT group, Dunnett's procedure).

Ⅱ. BPS投与開始時期の検討について

MCT投与直後よりBPS投与した群, MCT投与2週後よりBPS投与した群とMCT投与4週後よりBPS投与した群との間で, 生存率, 右室収縮期圧, 左室収縮期圧について比較検討した。

Ⅲ. BPSの急性効果について

MCT投与3週後のラット(平均体重260g)を用い, ペントバルビタール麻酔下に右外頸静脈から右心室へカテーテル(アーガイル18G 15cm)を挿入し右室収縮期圧を, また左総頸動脈に24G血管留置針を挿入し, 体血圧をそれぞれほぼ同時に測

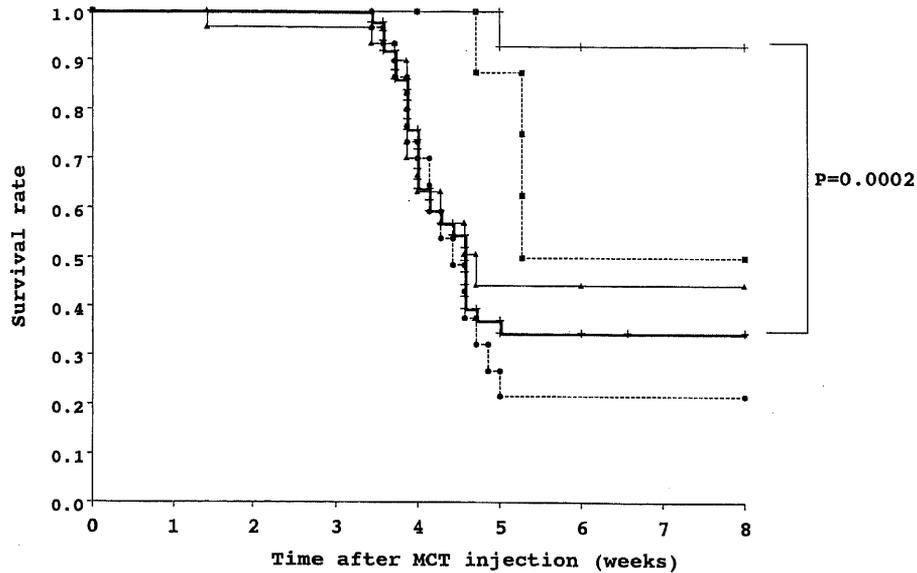


Fig. 2. Survival curves (Kaplan-Meier method). ---|--- , MCT(n=50); ---|--- , MCT+BPS (n=17); ---|--- , MCT+ASP (n=30); ---|--- , MCT+NIF (n=30); ---|--- , MCT+ENP (n=17). MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS, monocrotaline and beraprost sodium-administered group; MCT+ASP, monocrotaline and aspirin-administered group; MCT+NIF, monocrotaline and nifedipine-administered group; MCT+ENP, monocrotaline and enalapril-administered group; $p < 0.01$ (MCT group vs MCT+BPS group, Log-rank test).

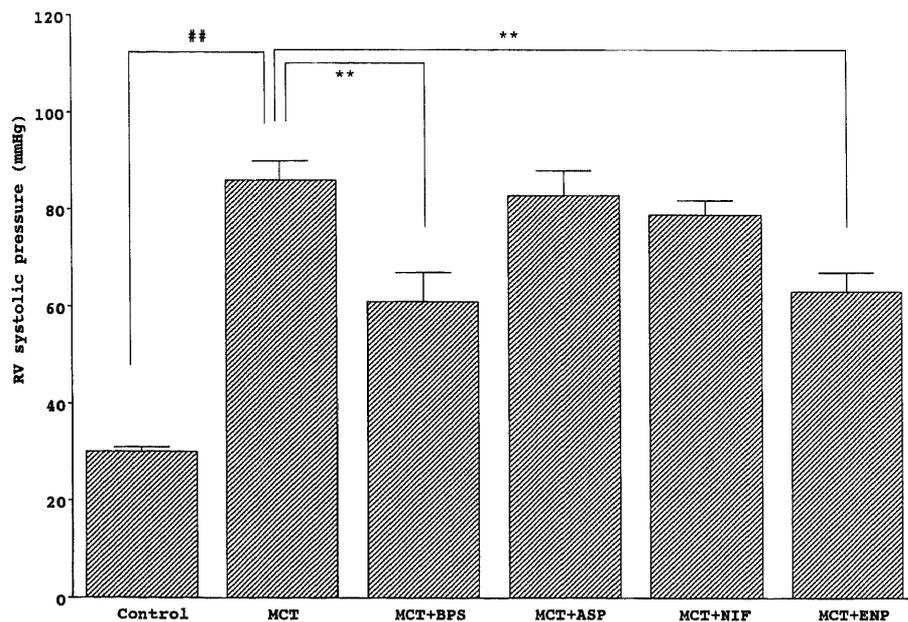


Fig. 3. RV systolic pressures of control, MCT, MCT+BPS, MCT+ASP, MCT+NIF and MCT+ENP groups after administration of the drugs for 4 weeks.

Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. Control, normal control group; MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS, monocrotaline and beraprost sodium-administered group; MCT+ASP, monocrotaline and aspirin-administered group; MCT+NIF, monocrotaline and nifedipine-administered group; MCT+ENP, monocrotaline and enalapril-administered group. ## $p < 0.01$ (MCT group vs control group, Welch's t-test).

** $p < 0.01$ (MCT group vs MCT+BPS group, MCT+ENP group, Dunnett's procedure).

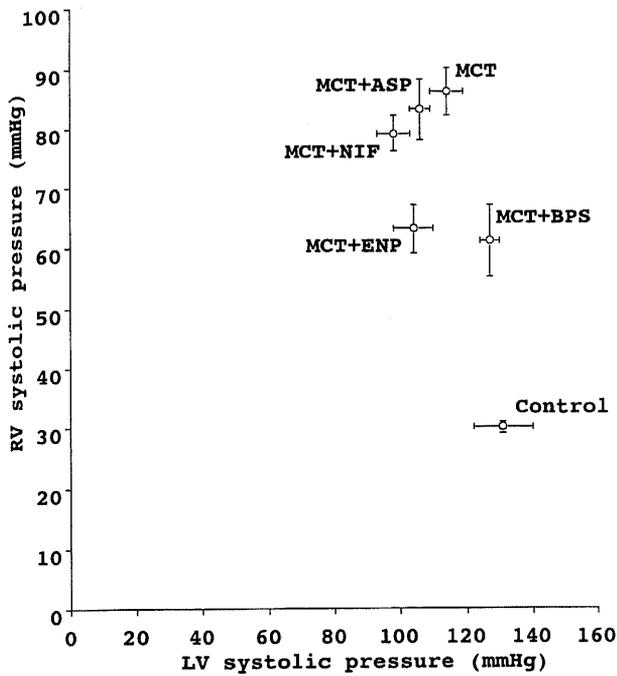


Fig. 4. LV and RV systolic pressures of control, MCT, MCT+BPS, MCT+ASP, MCT+NIF and MCT+ENP groups after administration of the drugs for 4 weeks. Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. Control, normal control group; MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS, monocrotaline and beraprost sodium-administered group; MCT+ASP, monocrotaline and aspirin-administered group; MCT+NIF, monocrotaline and nifedipine-administered group; MCT+ENP, monocrotaline and enalapril-administered group.

定した。両血圧とも安定した後にBPS 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 腹腔内投与、或いはNIF 10mg/kg の腹腔内投与を行い、両血圧とも安定した後に右室収縮期圧、左室収縮期圧を測定した。

IV. 統計学的検討

測定値は $\bar{x} \pm \text{SEM}$ で表示した。生存率はカプランマイヤー(Kaplan-Meier)法を用いて、生存曲線を作製し、ログランクテスト(Log-rank test)で検定した。多群であることを考慮し、薬剤の効果の比較では危険率0.5%未満を(5群で組み合わせが10通りあるため)、投与開始時期の検討では危険率0.83%未満を(4群で組み合わせが6通りあるため)危険率5%未満と判断し、有意差有りと判定した。

心筋重量、右室収縮期圧、左室収縮期圧、肺細動脈の中膜肥厚の検討では、多群の比較に一元配置分散分析を行い、群間に差があった時にはMCT群をコントロールとしたドナー(Dunnett)の検定を行い、差のある群を検出した。BPSの投与開始時期を検討した実験では、投与からの時期が一致しているMCT群とBPS群を比較した。対応のない2群の検定は分散に差のある群があることを考慮して、ウェルチ(Welch)の検定で統一した。各方法とも危険率5%未満を統計学的有意差有りとして判定した。

成 績

I. BPSの長期効果について(多剤との比較検討)

MCT投与8週後での生存率はMCT群35%, MCT+BPS群93%, MCT+ASP群22%, MCT+NIF群44%, MCT+ENP群50%であった。MCT+BPS群に於いてのみ、MCT群と比し、生存率に有意差を認めた。(図2)

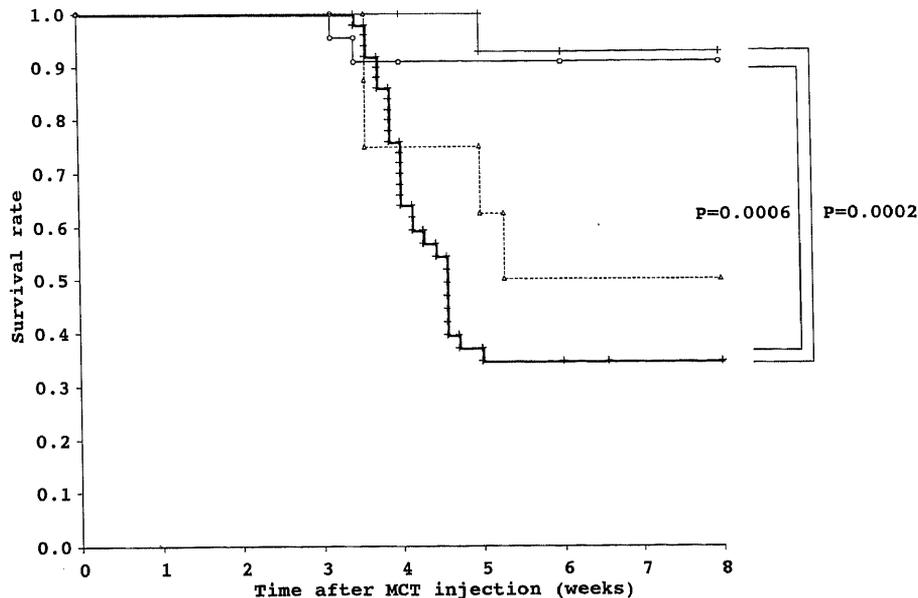


Fig. 5. Survival curves (Kaplan-Meier method). $\text{---}+\text{---}$, MCT (n=50); $\text{---}+\text{---}$, MCT+BPS (0-8W) (n=17); $\text{---}\text{---}\text{---}\text{---}$, MCT+BPS (2-8W) (n=22); $\text{---}\text{---}\text{---}\text{---}$, MCT+BPS (4-8W) (n=8); MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS(0-8W), monocrotaline and beraprost sodium-administered group. BPS was administered together with MCT for 8 weeks. MCT+BPS (2-8W), BPS was administered 2 weeks later the initiation of MCT. MCT+BPS (4-8W), BPS was administered 4 weeks later the initiation of MCT. $p < 0.01$ MCT group vs MCT+BPS(0-8W) group, MCT+BPS(2-8W) group.

4週後に於ける各群の体重の変化, 右室/(左室+中隔)重量比, 右室収縮期圧, 左室収縮期圧を表1に示した. MCT投与4週後におけるMCT群の右室収縮期圧は 86 ± 4 mmHg, 左室収縮期圧は 114 ± 5 mmHgであり, 体血圧に近い肺高血圧症を発症させることができた. 飲水量から計算した1日当たりのBPS

摂取量は約 $500 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった. 図3に各群の右室収縮期圧を示した. MCT群と比べてMCT+BPS群及びMCT+ENP群で有意に右室収縮期圧が低かった. 図4に右室収縮期圧を縦軸に, 左室収縮期圧を横軸にとりて各群の分布を示した. MCT+BPS群はMCT群に比較して右室収縮期圧は低下するが, 左室収縮期圧は低下していなかった. それに対して, MCT+ENP群では右室収縮期圧も左室収縮期圧も低下する傾向が認められた.

右室/(左室+中隔)重量比では, MCT群に比べてMCT+BPS群およびMCT+ASP群において有意に低値を示した.

MCT投与4週後での肺細動脈の中膜肥厚については対照群 $16 \pm 1\%$, MCT群 $24 \pm 1\%$, MCT+BPS群 $19 \pm 1\%$, MCT+ASP群 $23 \pm 1\%$, MCT+NIF群 $26 \pm 1\%$, MCT+ENP群 $23 \pm 1\%$ であり, MCT群に比べてMCT+BPS群で中膜肥厚が抑制された.

以上よりBPSはMCT誘発性肺高血圧ラットでは肺高血圧を抑制するが, 体血圧の低下は少なく, 生存率を改善させることが明らかとなった.

II. BPS投与開始時期の検討について

BPS投与をMCT投与直後より行った群, MCT投与2週後より行った群の8週間後の生存率はそれぞれ93%, 91%と高く, MCT群に比べて生存率は有意に改善されていた. BPS投与を

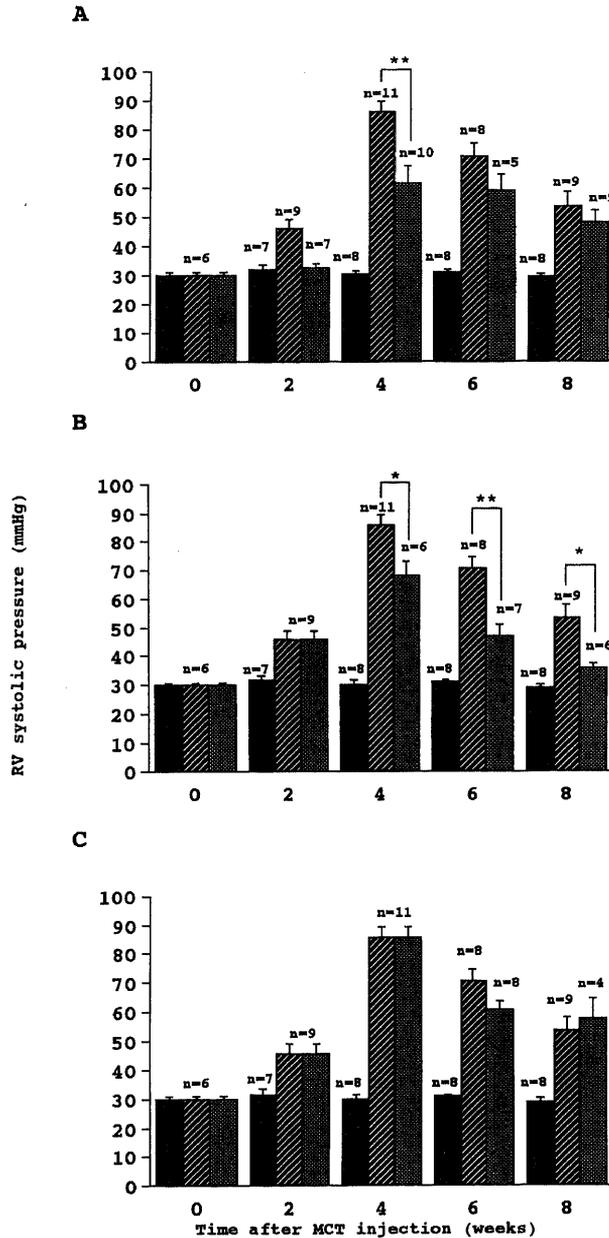


Fig. 6. Changes in RV systolic pressures after different initiation of BPS administration. ■, control; ▨, MCT; ▩, MCT+BPS. Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. Control, normal control group without MCT administration; MCT, monocrotaline alone-injected group; MCT+BPS, monocrotaline and beraprost sodium-administered group. (A) BPS was administered together with MCT for 8 weeks. (B) BPS was orally administered two weeks later the initiation of MCT for 6 weeks. (C) BPS was orally administered 4 weeks later the initiation of MCT for 4 weeks. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (MCT group vs MCT+BPS group, Welch's t-test).

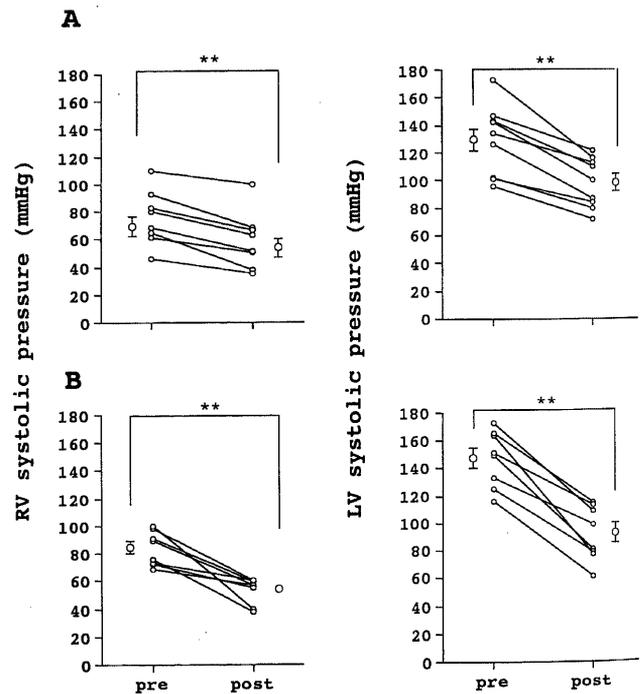


Fig. 7. Changes in RV and LV systolic pressures after intraperitoneal injections of BPS and NIF in MCT-treated rats. Three weeks after monocrotaline injection, RV and LV pressures were measured at just before (pre) and after intraperitoneal injection (post) of BPS ($500 \mu\text{g}/\text{kg}$) and NIF ($10 \text{mg}/\text{kg}$). (A) Pressure changes by beraprost. (B) Pressure changes by nifedipine. Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$ and individual data. ** $p < 0.01$ (pre vs post, paired t-test).

MCT投与4週後より行った群の生存率は50%と低く、生存率の改善は認められなかった(図5)。

右室収縮期圧の推移で見ても、BPS投与をMCT投与直後より行った群、MCT投与2週後より行った群では右室収縮期圧が有意に低下し(図6A, B)、BPS投与をMCT投与4週後より行った群では右室収縮期圧が低下せず、MCT群と有意差がなかった(図6C)。

Ⅲ. BPSの急性効果について

MCT投与3週後にBPS 500 μ g/kgを腹腔内投与すると、右室収縮期圧が72 \pm 7mmHgから56 \pm 7mmHgに下がり、左室収縮期圧は129 \pm 9mmHgから98 \pm 6mmHgに下がった。NIF 10mg/kgを腹腔内投与すると、右室収縮期圧は83 \pm 4mmHgから53 \pm 3mmHgに下がり、左室収縮期圧は147 \pm 7mmHgから92 \pm 7mmHgに下がった。ラットにおけるBPSの急性効果として、BPS 500 μ g/kg腹腔内投与による右室収縮期圧の変化はNIF 10mg/kg腹腔内投与と同程度と思われた(図7)。

考 察

肺高血圧症の動物モデルには慢性低酸素負荷、左右短絡作製によるもの、肺静脈高血圧症によるもの、肺塞栓症によるもの、MCTによるものなどがある²⁶⁾。このMCT誘発性肺高血圧ラットではMCT投与3週～5週後で高度の末梢肺細動脈閉塞を起こし、肺血管床の減少により、高度の肺高血圧症を起こすことができた。右室収縮期圧はMCT投与4週後に大きく上昇し、6週後、8週後では、4週後に比べ、むしろ低下していた。投与4週後から死亡例が出始め、6週までに約65%が死亡しており、症状の軽いものだけが生き残ったものと思われるが、生き残った群では6週以降、肺高血圧症自体が軽快していくようであった。角坂ら²⁶⁾の報告によるとMCT投与3週後における肺病理組織所見では肺小血管中心に小円形細胞浸潤と肺小動脈の壁肥厚、肺胞隔壁の肥厚、肺胞腔内マクロファージ出現増加が認められ、9週後では、肺小血管の壁肥厚は依然として認められるが、その程度は軽くなっており、小円形細胞浸潤、肺胞内マクロファージは少ないと言う。このラットモデルでは6週以降で肺高血圧症が自然に軽快することが、ヒトの肺高血圧症と多少異なる点と思われる。

本研究から、MCT誘発性肺高血圧ラットに対するBPSの働きは、肺細動脈の中膜肥厚を軽減し右室圧上昇を抑え、右室肥大を抑制することが明らかになった。また、体血圧の低下は少なく、生存率も改善した。比較に用いた血管拡張剤のうち、ENP投与群では右室圧の上昇は抑制されたが、左室圧の低下も強かった。一方、NIF投与群では右室圧の上昇は抑制されず、左室圧の低下が強かった。原発性肺高血圧症の血管拡張療法の欠点は体血圧の低下であり、場合によっては右心不全の増悪を招くことがある²⁷⁾。このため、体血圧を低下させずに肺動脈圧を低下させるBPSは、肺高血圧症の治療に望ましい性質を備えているものと考えられる。

抗炎症作用と抗血小板作用を合わせ持つASPが、右室肥大を抑制したものの右室圧の上昇を抑制できなかったことから、肺高血圧症の治療には抗血小板作用や抗炎症作用だけでは不十分であり、BPSやENPの様な血管拡張作用を有する薬剤が必要であると考えられる。

今回のBPS投与量は、中村²¹⁾と同じ4ppmの濃度に調整し経口投与を行った。平野らの報告²⁸⁾では、2.4ppmの濃度で調整し

投与するとラットにおいて十分な抗血小板作用が現れ、ヒトの投与量20 μ g/kg/日と同等の影響を与えることができると言う。これを参考にしてBPSを4ppmで調整し投与した。計算すると摂取量は約500 μ g/kg/日となり、ラットでは大量投与を必要とした。これは種の感受性の違いによるもので、ヒトの投与量20 μ g/kg/日に相当するものと思われた。ラットにおいて、0.4ppm、0.04ppmの濃度での経口投与も行ったが、効果は十分ではなかった。

臨床例においては、佐治らが原発性肺高血圧症3例にBPSを投与し、臨床症状、心拍出量の増加、心指数の改善らの良好な結果を得たと報告している¹⁰⁾。臨床例においては長期効果の判定は難しく、本研究の結果が参考になるものと思われる。最近臨床例でBPSの効果があつたとする報告も認められる。生方らの報告では全身性エリテマトーデスに伴う肺高血圧症の24才女性にステロイド、NIF、在宅酸素療法を行ったが改善見られず、BPSを8ヶ月間投与したところ、肺動脈圧は63/33(平均値、42)mmHgから22/8(平均値、14)mmHgに改善したと言う¹¹⁾。原発性肺高血圧症に対する肺血管拡張療法が人によって差がある理由として、安藤は、(1)臨床診断による原発性肺高血圧症には真の原発性肺高血圧症、肺血栓塞栓症、肺静脈閉塞症等複数の疾患を含むこと、(2)各症例とも肺血管病変の進行度が色々である事、(3)肺血管の薬物に対する反応性には、自律神経系や遺伝的素因が関与した個体差がある可能性があること等によると言っている¹⁰⁾。症例によって治療効果に差があるのは仕方がないのかもしれない。

BPS投与時期について、本研究ではMCT投与2週後の時点でBPS投与を開始しても右室圧の上昇は抑制され、生存率も改善した。しかし、MCT投与4週後からBPSを投与しても効果が認められなかった。これは、肺組織変化が進んだ高度の肺高血圧症では肺細動脈のほとんどが、可逆的な血管攣縮ではなく、不可逆的な閉塞性病変に陥っており、BPSによっても十分な肺血管床の拡張が得られないためと思われる。このような進行した肺組織変化に対しては肺血管拡張療法は効果が期待できず、肺移植による治療しか残されていないであろう。

以上、BPSは高度に進行した肺高血圧症に対しては効果は得られないものの、MCT誘発性肺高血圧ラットの右室圧上昇および右室肥大を抑制し、体血圧の低下も少なく、生存率を改善することが明らかとなった。但し、肺組織変化の軽い肺高血圧症にのみ有効で、肺組織変化の進んだ高度の肺高血圧症には無効であった。今後、BPSの臨床的応用を考えた場合、軽症の肺高血圧症に対して早期から投与し、肺高血圧の進行を防ぐ方法が支持できる。つまり、組織変化の進行した肺高血圧に対する治療法としては本剤では不十分であり、他剤との併用や新しい薬剤の開発を待たなければならない。

結 論

MCT誘発性肺高血圧ラットを用い、BPSの肺高血圧症に対する長期効果及び急性効果を他の薬剤と比較検討し、以下の結論を得た。

1. 長期効果としてBPSは肺高血圧症を軽減し、他の薬剤と比較し有意に生存率を改善した。
2. 急性効果としてはBPSはNIFと同等に肺血圧及び体血圧を低下させた。
3. ただし、進行した肺高血圧症に対しては効果が期待でき

ないことが判明した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導と御校閲を賜りました谷口昂名誉教授、小泉晶一教授に深謝いたします。また、終始直接ご指導、ご助言を戴きました谷口昌史助手、中村真人先生に心から深謝いたします。組織標本作製に御協力いただきました金沢大学第一内科片山明子技師、附属病院病理検査室の技術員の皆様に厚く御礼申し上げます。また、BPS原末をご提供下さいました山之内製薬、東レ株式会社に感謝いたします。なお、本論分の要旨は第31回日本小児循環器学会(宇都宮、1995)において発表した。

文 献

- 1) Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoeroides to, an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263: 663-665, 1976
- 2) Watkins WD, Peterson MB, Crone RK, Shannon DC, Levine L. Prostacyclin and prostaglandin E₂ for severe idiopathic pulmonary artery hypertension. *Lancet* 1: 1083, 1980
- 3) Szczeklik J, Szczeklik A, Nizankowski R. Prostacyclin for pulmonaly hypertension. *Lancet* 2: 1076, 1980
- 4) Rubin LJ, Groves BM, Reeves JT, Frosolono M, Handel F, Cato AE. Prostacyclin-injuced acute pulmonary vasodilation in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 66: 334-338, 1982
- 5) Rubin LJ, Mendoza J, Hood M, McGoon M, Barst R, Williams WB, Diehl JH, Crow J, Long W. Treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous prostacyclin (epoprostenol). *Ann Intern Med* 112: 485-491, 1990
- 6) Higenbottam T, Wheeldon D, Wells F, Wallwork J. Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with continuous intravenous epoprostenol (prostacyclin). *Lancet* 1: 1046-1047, 1984
- 7) Higenbottam TW, Spiegelhalter D, Scott JP, Fuster V, Dinh-Xuan AT, Caine N, Wallwork J. Prostacyclin (epoprostenol) and heart-lung transplantation as treatments for severe pulmonary hypertension. *Br heart J* 70: 366-370, 1993
- 8) Groves BM, Rubin LJ, Frosolono MF, Cato AE, Reeves JT. A comparison of the acute hemodynamic effects of prostacyclin and hydralazine in primary pulmonary hypertension. *Am Heart J* 110: 1200-1204, 1985
- 9) Jones DK, Higenbottam TW, Wallwork J. Treatment of primary pulmonary hypertension with intravenous epoprostenol (prostacyclin). *Br heart J* 57: 270-278, 1987
- 10) Jones K, Higenbottam T, Wallwork J. Pulmonary vasodilation with prostacyclin in primary and secondary pulmonary hypertension. *Chest* 96: 784-789, 1989
- 11) Palevsky HI, Long W, Crow J, Fishman AP. Prostacyclin and acetylcholine as screening agents for acute pulmonary vasodilator responsiveness in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 82: 2018-2026, 1990
- 12) Rozkovec A, Stradling JR, Shepherd G, Macdermot J, Oakley CM, Dollery CT. Prediction of favourable responses to long term vasodilator treatment of pulmonary hypertension by

short term administration of epoprostenol (prostacyclin) or nifedipine. *Br Heart J* 59: 696-705, 1988

- 13) Palevsky HI, Fishman AP. Comparison of acute hemodynamic responses to prostacyclin with standard vasodilators in patients with primary pulmonary hyperension. *Chest* 93: 179S, 1988
- 14) Kreiner G, Siostrzonek P, Heinz G, Pabinger I, Roden M, Gössinger H. Drug-testing in patients with pulmonary hyperension of unknown cause. *Eur Heart J* 13: 776-780, 1992
- 15) Scott JP, Higenbottam TW, Smyth RL, Wallwork J. Acute pulmonary hypertensive crisis in a patient with primary pulmonary hypertension treated by both epoprostenol (prostacyclin) and nitroprusside. *Chest* 99: 1284-1285, 1991
- 16) 佐地 勉, 小澤安文, 橋口玲子, 石北 隆, 山本 真, 青木 裕, 松尾準雄, 山崎純一, 斉藤 徹. プロスタサイクリン(PGL₂)と肺高血圧. *小児科診療* 56: 1845-1854, 1993
- 17) 生方幹夫, 茂木 充, 山洞善恒, 鈴木 忠. ベラプロストナトリウムの投与にて肺高血圧症の改善をみた全身性エリテマトーデスの1例. *日胸疾会誌* 33: 1307-1312, 1995
- 18) 門間和夫. 肺高血圧症治療の進歩. *日本小児循環器学会雑誌*. 10: 495-500, 1994
- 19) 安藤正彦. 原発性肺高血圧症. *小児科診療* 7: 1593-1600, 1989
- 20) Yuki H, Sato S, Arisaka Y, Kato S, Tomoike H. Orally administered beraprost sodium inhibits pulmonary hypertension injuced by monocrotaline in rats. *Tohoku J Exp Med* 173: 371-375, 1994
- 21) 中村真人. 経口プロスタサイクリン剤, ベラプロストナトリウムのモノクロタリン肺高血圧症ラットにおける肺高血圧症抑制効果の検討. *金沢大学十全医学会雑誌* 104: 680-688, 1995
- 22) 梶原博毅, 高梨 敦, 加藤芳明. モノクロタリン(monocrotaline)によるラット肺性心(右室肥大心)の作り方. 心筋代謝実験法, 135-137頁, 医歯薬出版, 東京, 1988
- 23) Fulton RM, Hutchinson EC, Morgan JA. Ventricular weight in cardiac hypertrophy. *Br Heart J* 14: 413-420, 1952
- 24) Kay JM, Keane PM, Suyama KL, Gauthier D. Angiotensin converting enzyme activity and evolution of pulmonary vascular disease in rats with monocrotaline pulmonary hypertension. *Thorax* 37: 88-96, 1982
- 25) 栗山喬之, 渡辺昌平. 実験的肺高血圧. *日本胸部臨床* 37: 509-519, 1978
- 26) 角坂育英, 金子 昇, 喜屋武邦雄, 藤田 明, 鈴木淳夫, 中野邦夫, 岡田 修, 梶田 隆, 栗山喬之, 渡辺昌平. 各種モノクロタリン投与量によるラット肺高血圧の成立とその消退に関する研究. *日胸疾会誌* 27: 51-56, 1989
- 27) 横山光宏, 福崎 恒. 肺性心・肺高血圧症の血管拡張療法とその限界. *医学のあゆみ* 148: 583-586, 1989
- 28) 平野哲也, 西村志真, 深津祐子, 亀岡加代子, 山口美津子, 山田尚弘, 遠藤 孝, 西尾伸太郎, 梅津照彦. ラット赤血球変形能, 血液粘度および血栓形成に対する beraprost sodium (TRK-100)の作用. *血栓止血誌* 1: 94-105, 1990

Inhibitory effects of beraprost sodium on the progression of pulmonary hypertension induced by monocrotaline in rats : a comparison with aspirin, nifedipine and enalapril Gaku Terao, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 — J. Juzen Med Soc., **106**, 312 — 319 (1997)

Key words pulmonary hypertension, monocrotaline, beraprost sodium, aspirin, prostacyclin

Abstract

This study was designed to evaluate inhibitory effects of beraprost sodium (BPS) on pulmonary hypertension induced by monocrotaline (MCT) in rats. Wistar male rats, aged 6 weeks, weighing 170-270g, were divided into 6 groups; the control group, MCT only, MCT+BPS, MCT+aspirin (ASP), MCT+nifedipine (NIF) and MCT+enalapril (ENP). MCT (40mg/kg) was given subcutaneously and saline was injected in the control group. For the MCT+BPS group, BPS was given at the concentration of 4.0PPM on distilled water. ASP (20mg/kg/day) was orally administered for the MCT+ASP group. NIF (10mg/kg/day) was injected intraperitoneally for the MCT+NIF group, and ENP (2.5mg/kg/day) was orally administered for the MCT+ENP group. Survival rates for 8 weeks were calculated by the Kaplan-Meier life-table method. After administration of the drugs for 4 weeks, right ventricular systolic pressure (RVSP) and left ventricular systolic pressure (LVSP) were measured under anesthesia. Rats were then sacrificed, and after the hearts were separated into right ventricular free walls and left ventricles plus ventricular septa, each of the parts was weighed. Lungs were fixed in 10% formaline, and then the slices of the lung tissues were studied with elastica van Gieson's staining. Medial hypertrophy of muscular pulmonary arteries was evaluated. The survival rate of the MCT+BPS group was higher than that of the MCT only group, (93% vs.35%, $P<0.01$), which showed a marked elevation of RVSP (control group, $30 \pm 1[\bar{x} \pm \text{SEM}]$ mmHg vs. MCT group, 86 ± 4 mmHg, $P<0.05$),. RVSP was significantly suppressed by BPS, (MCT group, 86 ± 4 mmHg vs. MCT+BPS group, 61 ± 6 mmHg, $P<0.05$). LVSP was not suppressed by BPS, (MCT group, 114 ± 5 mmHg, MCT+BPS group, 127 ± 3 mmHg). ASP showed no effect on RVSP. NIF was shown to decrease LVSP, but not RVSP. ENP significantly suppressed both RVSP and LVSP. The effects of delayed administration of BPS on the inhibition of MCT-induced pulmonary hypertension were then investigated. When BPS was administered 4 weeks after the initial MCT injection, no inhibitory effects were evaluated as compared to earlier administration of BPS, suggesting that BPS could prevent early and non-progressive pulmonary hypertension, but not prevent prolonged and severe pulmonary hypertension. These findings indicated that BPS was useful for the prevention of MCT-induced pulmonary hypertension in rats in the relatively early stage without induction of systemic hypotension.