

# エンド・トキシンショック時の代謝および循環 動態に及ぼす Dibutyryl cyclic AMP の効果

東京女子医科大学外科学教室 (主任：織畑秀夫教授)

萩 原 英 夫  
オキ ヘラ ヒデ オ

(受付 昭和52年2月10日)

## **Effects of Exogenous db-cyclic AMP (Dibutyryl Cyclic Adenosin 3',5'- Monophosphate) on Hemodynamics and Metabolism in Experimental Endotoxin Shock**

**Hideo OGIHARA, M.D.**

Department of Surgery (Director: Prof. Hideo ORIHATA) Tokyo Women's Medical College

Liver and Plasma cyclic AMP, adenosin 3',5'-monophosphate, levels were measured after intraperitoneal administration of endotoxin. Results indicated a decline in the response of mouse liver in endotoxin shock. Sequential blood sample showed an increase in circulating cyclic AMP.

The experiments were carried out to study the survival rates after the administration of endotoxin. The 90 percent of mice treated by dibutyryl cyclic AMP before endotoxin administration survived 24 hours after endotoxin shock.

Endotoxin shock produces potentially damaging alterations in the metabolism of cyclic AMP, which is intracellular second messenger for many hormones. The hypothesis that the administration of exogenous cyclic AMP might have salutary effects on cardiovascular hemodynamics and metabolism of glucose and D $\beta$ H (Dopamin  $\beta$  hydroxylase) in endotoxin shock was tested in dog experiment.

Db-cyclic AMP, 10 mg/Kg body weight, was given intravenously before the administration of endotoxin and the following results were obtained.

- 1) db-cyclic AMP improved mean systemic blood pressure, cardiac out put, femoral artery blood flow and tachycardia in endotoxin shock.
- 2) db-cyclic AMP decreased D $\beta$ H activity in endotoxin shock.
- 3) db-cyclic AMP inhibited the elevation of blood glucose levels at 60 minutes after endotoxin administration and maintained 80 percent of the control blood sugar at 360 minutes.

From these results, the administration of exogenous db-cyclic AMP had appreciable effects on the cardiovascular system and metabolism in endotoxin shock.

## I. 緒 言

ショックの主たる病態は、各臓器や組織への血流が低下し、臓器の機能を維持するために必要な酸素およびその他の代謝物質の供給が障害されるという考えから、従来主として循環動態の解明が重要視されており、治療面でも、循環血液量の補充、心機能維持、末梢循環の改善等に重点が置かれていた。これらの処置が、早期に適確に行われることにより、比較的容易に急性期を脱することができるようになったが、なおかつ非可逆性ショックへ移行し、死の転帰をとることが少なくない。

最近では、ショックがあくまでも全身的に様々の複雑な障害をきたしており、これは単に灌流不全によるものだけではないという考えから、ショックの研究が、循環動態中心から、細胞レベルでのショック、代謝面からみたショックへと移行しつつある。

1968年に Sutherland<sup>1)</sup> によつて second messenger 説として提唱された如く、first messenger である各種のホルモンやアミン類は、その効果を発現する標的細胞に到達し、それぞれのホルモン、アミン類の受容体である adenylyl cyclase に作用して終る。adenylyl cyclase は ATP から cyclic adenosin 3',5'-monophosphate (cAMP) を合成しそれを細胞内に放出し、ホルモンまたはアミン類の本来の生理作用を発現するとされている。その後 cAMP に関する研究が進歩するに従つて、cAMP が単に伝達物質のみならず、代謝や核酸・蛋白質合成の調整はもとより、分泌、運動、神経刺激伝達から組織形成、分化、癌化に至るまで関連し、細胞反応の基本に重要な部分を占めていると考えられるようになった<sup>2)</sup>。

ショック時には、循環系のホメオスタシスの維持が最も重要であるが、これらのホメオスタシスを維持するホルモンやカテコールアミンは、cAMP によつて支配される<sup>3)</sup>。

このような考えが発端となり、ショック時における cAMP の動向について、種々の研究がされるようになった。Chiu と Hinchey は、出血性シ

ョックの際、血清中の cAMP 濃度は上昇し、腸粘膜の細胞内 cAMP 濃度は低下することを報告している<sup>4)</sup>。また Rutenburg らは、出血性ショックの犬の肝臓の cAMP 濃度が低下することを認め<sup>4)</sup>、in vitro で epinephrine の刺激に対する adenylyl cyclase の活性が低下し、これらの変化は、ショックの期間中進行性に持続することを報告している。

これら second messenger 系の不全が、ショックの病態と重要な関係があり、またヒトもしくはイヌにおいて cAMP の投与が、心筋収縮力を増強し、心拍出量を増加させる効果があることから<sup>7)8)</sup>、Chiu らは、出血性ショックのイヌに cAMP の誘導体である Dibutyryl cyclic AMP (d, bcAMP) を投与し、その効果を検討した<sup>9)</sup>。また Dibutyryl cyclic AMP の投与が、心に対する positive inotropic 効果、末梢血管拡張作用があるといわれており、ラットのドラムショックに対し、dibutyryl cyclic AMP の投与が、生存率を著しく改善する作用があると報告されている<sup>10)</sup>。

これらの観点から、著者はさらに複雑な障害をきたしていると考えられるエンドトキシンショック時にも、second messenger 系の不全があると考え、エンドトキシンショック時の cAMP の変動、エンドトキシンショックマウスに対する dibutyryl cyclic AMP の延命効果を検討した。

さらにエンドトキシンショック時における循環動態と糖代謝、Dopamin  $\beta$ -hydroxylase (D $\beta$ H) 活性の動向を検討し、cAMP の誘導体である (db-cAMP) の投与が、それらに対しどんな影響を与えるかについて本研究を行なつた。

## II. 実験目的と方法

**実験 A:** エンドトキシンショックマウスの肝および血液中の cAMP の変動

エンドトキシンショック時における肝細胞内および血液中の cAMP 濃度の変動を検討するために行なつた。

平均体重20g の D.D. マウス (♂) に致死量の精製 Shigella endotoxin (国立衛生試験所、石関博士御提供

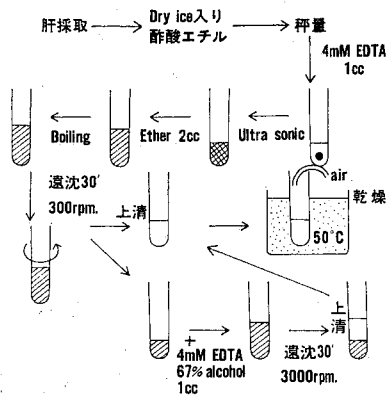


図1 肝の除蛋白の方法

Lot. No. 174, 181) 500 $\gamma$ を腹腔内投与した。経時的に10匹ずつ断頭屠殺した直後、肝および血液を採取し、cAMP濃度を測定した。測定には英国 Amersham Buckinghamshire. The Radio Chemical Center 製 cAMP assay kit を用いた。肝は図1の如くの方法で除蛋白した後に assay し、血液は凝血を予防し血漿中の酵素による cAMP の分解を阻止するために、0.5M EDTA (血液量に対し1%) を含む冷試験管に血液を採り、遠心分離し血漿を得、そのまま assay した。

**実験B:** エンドトキシンショックマウスに対する db-cAMP の延命効果

エンドトキシンショックマウスの経時的生存率に与える db-cAMP の効果を検討するために行なった。

平均体重20gのC<sub>3</sub>Hマウス(♂)を50匹ずつの3群に分け、第1群は Endotoxin (米国 DIFCO 社製 E. Coli : O26 : B6) 15mg/kg を腹腔内投与した。第2群では、Endotoxin 投与15分後に、db-cAMP (Boehringer-Manheim 山の内、試薬用) 20mg/kg を腹腔内投与した。第3群には、Endotoxin 投与1時間前に第2群と同量の db-cAMP のを投与した。各群の生存率を24時間まで観察した。

**実験C:** エンドトキシンショック犬に対する db-cAMP の影響

エンドトキシンショック時の血行動態ならびに血糖、Dopamine  $\beta$  hydroxylase (D $\beta$ H) の動向とそれらに及ぼす db-cAMP の影響を検討するために行なった。

体重12~23kgの雑種成犬(両性)20頭をネブプタール(25mg/kg)静注麻酔し、気管内挿管施行後仰臥位に四肢を固定し、自発呼吸下に放置した。Endotoxin は、

Escherichia Coli O55 : B5 (米国 DIFCO 社製) を生理的食塩水 (10mg/ml) に溶解し、5 mg/kg を約1分間で静脈内投与した。20頭を10頭ずつの2群に分け、第1群には Endotoxin 単独投与し、第2群では、Endotoxin 投与前30分に db-cAMP (10mg/kg) を、single shot で静脈内投与した。各群ともに Endotoxin 投与後15分、30分、60分、90分、120分、180分、240分、300分、360分の各時間に、採血と循環動態の測定を行なった。各パラメーターは次のようにして測定した。

#### 1) 動脈圧

ポリエチレンカテーテル内径2mmを、左大腿動脈より腹部大動脈内に挿入し、Pressure transducer (SHINKOH, MUP-0.5-290-0 III No. 419935) を使用し、Multipurpose polygraph (NIHON KOHDEN, Model VC-45 No. 17202190) にて、平均動脈圧および圧波形を記録した。

#### 2) 肺動脈圧

右大腿静脈より Swan-Ganz catheter を挿入し、先端を圧波形を観察しながら押しすすめ肺動脈起始部に留置し、Pressure transducer (SHINKOH, LPU-0.1-350. No. 206016) に接続、ポリグラフにて記録した。

#### 3) 大腿動脈血流量

右大腿動脈に NIHON KOHDEN 製の径2mmから4mmの Blood flow transducer を装着し、同社製の Square Wave Electromagnetic Flow Meter, Model MF-26 を用い、ポリグラフにて記録した。

#### 4) 心拍出量

Swan-Ganz catheter および Cardiac Output Computer (Edwards Laboratories, Model 9510) を用い、Thermodilution 法により測定した。

#### 5) 心拍数記録した心電図より読み取った。

#### 6) 心電図

脈拍と心電図は、標準四肢第2誘導をポリグラフにて記録した。

以下のパラメーターに必要な血液は、左大腿静脈から下大静脈に挿入したカテーテルから採取した。

#### 7) ヘマトクリット値

毛細管を用い高速遠心し測定した (3000回転15分)。

#### 8) 血糖値

採血後直ちに NaF 粉末を混和した後 Somogyi-Nelson 法にて測定した。

#### 9) D $\beta$ H (Dopamine $\beta$ -hydroxylase)

D $\beta$ H 活性の測定には、Dowex 50H<sup>+</sup> を用い分光学的測定法を施行した。

表1. Cyclic AMP levels of plasma and liver in endotoxin shock (mouse)

	control.		3 hours		6 hours		9 hours		12 hours	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
Plasma	1.46	0.28	*1.87	*0.40	*1.93	*0.28	*2.35	0.44	*2.19	0.49
Liver	1.02	0.07	/	/	*0.89	0.11	/	/	*0.72	0.17

Plasma : Picomoles/mg. wet weight

Liver : Picomoles/50ul

Significant differences from control at  $P < 0.01$   $n = 10$ 

### III. 実験成績

#### 実験 A

マウスの腹腔内に Endotoxin を投与すると、約10分頃より不穏状態となり、徐々に運動量が低下し、1カ所に集まって抱き合うようになった。さらに30分以上経過すると、全身の毛は逆立ち、下痢便をするようになった。実験成績は(表1, 図2)に示す如くである。肝は、1 mg, wet weight 当り、血漿は50 $\mu$ l 当りの cAMP 濃度を単位 picomole で表わした。正常マウスの肝の cAMP 濃度は、ほぼ 1 picomole/mg であり、ショックの

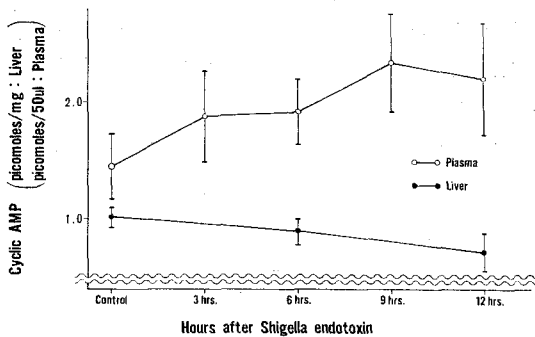


図2 Liver and Plasma cyclic AMP levels in experimental endotoxin shock. (mouse)

Endotoxin (each 500r) was given intraperitoneally. Vertical lines indicate standard deviation.

進行に伴い徐々に減少を示した。これに反し血漿の cAMP 濃度は、エンドトキシン投与後9時間までは上昇する傾向にあり、12時間でやや下降する傾向を示していた。

#### 実験 B

第1群では、6時間以内に100%死亡した。ま

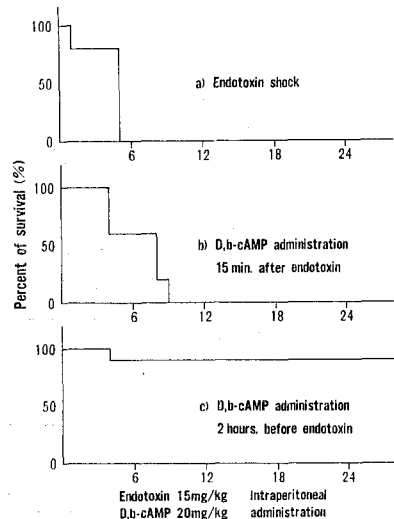


図3 Effects of db-c AMP on survival rate in experimental endotoxin shock. (mouse)

たエンドトキシン投与後に第2群では、わずかに生存率を改善するのみであった。これに反し、第3群では、90%が24時間生存した。この結果より実験Cでは、すべて db-cAMP を Endotoxin 前に投与した(図3)。

#### 実験 C

##### 1) 平均動脈圧

第1群では、エンドトキシン注入直後から著明な動脈圧下降を示し、投与後30分ぐらゐまでに徐々に回復する傾向があるが、その後は再び下降線をたどった。

第2群では、投与後平均動脈圧は軽度上昇した。エンドトキシン投与直後は、第1群と同様に著

表2 Effects of db-cAMP on mean arterial pressure in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	140mmHg	/	/	45	18.0	53	20.2	47	23.8	43	10.3	38	11.8	39	11.1	39	8.8	43	12.2	42	15.5
db-cAMP	141mmHg	105	4.7	63	23.0	73	25.2	67	21.4	66*	12.1	66*	13.4	71*	8.7	73*	8.5	67*	13.9	68*	18.1

M : Mean

S.D. : Standard deviation

n=5

\* Significant difference from control at P<0.01

\* Significant difference from control at P<0.05

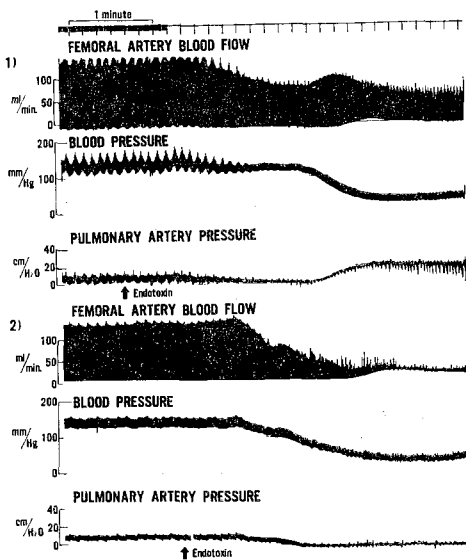


図4 Hemodynamical changes in endotoxin shock

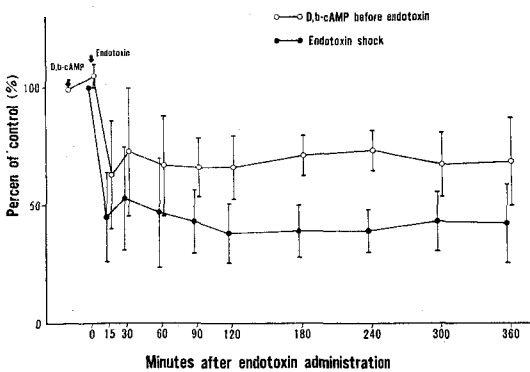


図5 Effects of db-cAMP on mean arterial pressure in endotoxin shock.

明な動脈圧下降を示した、90分以後では第1群が前値に比較し50%以下であるのに反し、70%前後を維持した(表2, 図4, 5)。

2) 肺動脈圧

本実験で肺動脈圧は、エンドトキシン注入直後に上昇するものと下降するものがあり、その後はいずれも下降する傾向にあつたが、データのばらつきが大きく、詳細な検討を加えなかつた(図5)。

3) 大腿動脈血流量

第1群では、エンドトキシン注入直後から著明に血流量が減少した。第2群では db-cAMP 投与30分後に、やや上昇しエンドトキシン注入後も、第1群に比しかなり良く保たれる(表3, 図6)。

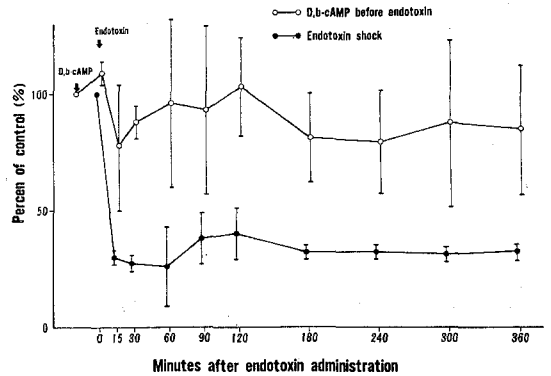


図6 Effects of db-cAMP on blood flow (femoral artery) in endotoxin shock. (dog)

表3 Effects of db-cAMP on blood flow (femoral artery) in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	39.7 ml/min	/	/	30	3.0	27	2.5	26	17.3	38	10.8	40	10.5	32	1.7	32	1.6	31	1.7	32	1.7
db- cAMP	33.3 ml/min	109	4.7	78	28.6	88*	7.1	96*	36.0	93	36.0	103*	21.2	81	18.5	79	22.0	87	34.0	84	27.5

M : Mean %

S.D. : Standard deviation

n=3

\* Significant differences from control at P&lt;0.05

\* Significant differences from control at P&lt;0.01

表4 Effects of db-cAMP on cardiac output in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30min. after db-cAMP		15min. after endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	2.29 l/min.	/	/	26	9.3	35	4.1	49	3.7	43	10.2	38	10.3	31	9.3	30	12.2	30	7.2	31	9.6
db- cAMP	2.28 l/min.	124	19.4	50	27.6	58	19.6	55	11.7	51	10.3	52	8.0	54*	6.2	59*	11.0	57*	14.6	58*	12.5

M : Mean %

S.D. : Standard deviation

n=5

\* Significant differences from control at P&lt;0.01

## 4) 心拍出量

第1群では、エンドトキシン注入後著明に減少し、60分でやや回復するが、前値の50%以下に止まり、その後再び低下する。第2群ではdb-cAMPを投与すると心拍出量はやや増加し、エンドトキシン注入後は第1群とほぼ同様の傾向をたどる

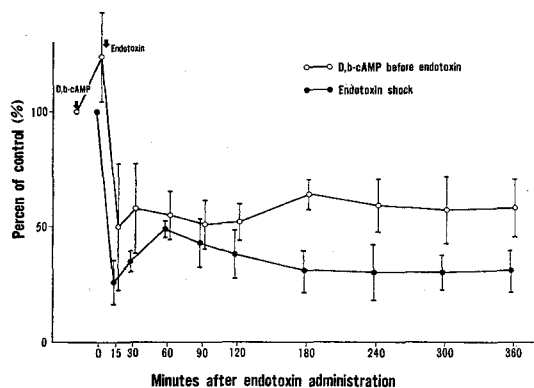


図7 Effects of db-cAMP on cardiac out put in endotoxin shock. (dog)

が、前値のほぼ50%以上を維持した(表4, 図7).

## 5) 心拍数

心拍数はエンドトキシン注入後両群共に一過性に下降し、30分頃から徐々に回復した。その第1

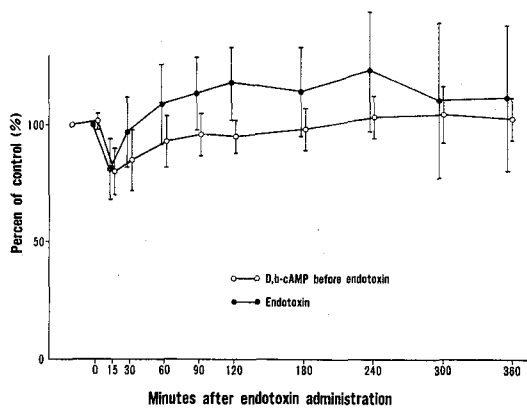


図8 Effects of db-cAMP on heart rate in endotoxin shock. (dog)

表5 Effects of db-cAMP on heart rate in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	159 /min.			81	12.5	97	15.7	109	17.1	113	15.9	118	15.0	114	18.9	123	24.8	110	33.2	111	31.4
D.b-cAMP	170 /min.	102	3.6	80	10.1	85	12.6	93	11.0	96	8.5	95	7.4	98	8.7	103	8.6	104	11.6	102	8.6

M : Mean %  
S.D. : Standard deviation  
n=5

表6 Effects of db-cAMP on hematocrit in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	37%	/	/	122	12.2	124	9.5	134	11.7	139	8.4	144	7.2	150	11.0	147	12.1	150	12.1	150	13.1
db-cAMP	41%	99	4.9	115	9.3	122	7.5	134	3.6	140	8.7	148	13.3	150	9.0	144	16.5	139	16.8	140	17.2

M : Mean %  
S.D. : Standard deviation  
n=3

群では前値に比較し 120%前後を示すのに反し、第2群では 100~ 110%と頻脈を抑制し得た。なお第2群において db-cAMP 投与30分後では、脈拍の軽度増加をきたした(表5, 図8)。

6) 心電図

著明な不整脈や, ST, T の定型的な虚血性変化は両群共に認められなかつたが, 第1群では, シ

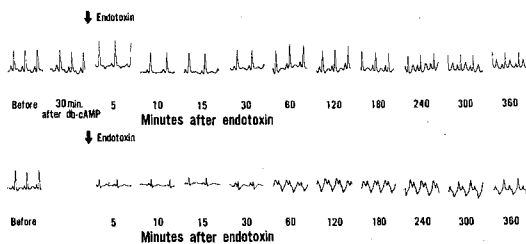


図9 Effects of db-cAMP on ECG in endotoxin shock. (dog)

ョックの進行に伴い, 幅広い QRS を示すようになることが多かつた(図9)。

7) ヘマトクリット値 (Ht)

両群共に50%程度の Ht 値上昇がみられ, 両群

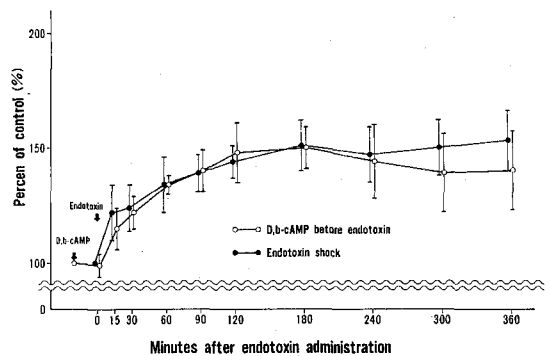


図10 Effects of db-cAMP on hematocrit in endotoxin shock. (dog)

の間にほとんど差が認められなかつた(表6, 図10)。

8) 血糖値

第2群では db-cAMP 投与30分後に血糖値は, 軽度上昇を示した。エンドトキシン投与後も60分をピークに上昇を続け, 60分以降は徐々に減少し, 前値の80%前後となつた。

第1群では, 60分まで著明な上昇を示し, その後は急激に低下をし, 6時間値では前値のほぼ40

表7 Effects of db-cAMP on blood sugar in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after Endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	97mg/dl	/	/	149	27.2	146	28.6	194	27.7	129	24.8	105	9.5	80	7.9	61	12.2	57	7.5	40	6.0
db-cAMP	89mg/dl	105	21.2	114	6.2	126	15.6	146	28.2	140	30.0	124	30.0	93	10.1	80*	8.5	79*	7.2	78*	6.0

M : Mean %

S.D. : Standard deviation

n=4

\* Significant differences from control at P&lt;0.01

\* Significant differences from control at P&lt;0.05

表8 Effects of db-cAMP on Dopamine  $\beta$ -hydroxylase in endotoxin shock (dog)

	Before Mean	30m. after db-cAMP		15m. after Endotoxin		30min.		60min.		90min.		120min.		180min.		240min.		300min.		360min.	
		M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.	M	S.D.
Control	29nmol/ml/min.	/	/	152	13.3	157	21.7	158	14.5	170	22.2	202	25.8	194	22.6	206	12.2	221	19.1	222	23.5
db-cAMP	26	106	7.7	116*	11.7	115	20.0	104*	15.2	111*	14.3	120*	18.9	121*	20.9	122*	19.3	122*	15.0	120*	9.3

M : Mean %

S.D. : Standard deviation

n=4

\* Significant differences from control at P&lt;0.05

\* Significant differences from control at P&lt;0.01

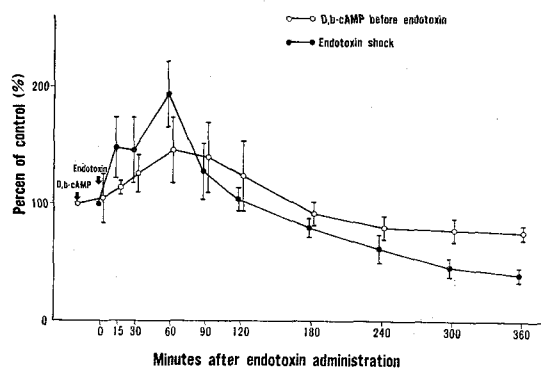


図11 Effects of db-cAMP on blood sugar in endotoxin shock. (dog)

%と低血糖状態をきたした(表7, 図11)。

9)  $D\beta H$ 

$D\beta H$  活性は、第1群では、注入直後から急激に上昇し、60分までに前値の150%、120分値では200%と高値を示した。さらに時間の経過に伴

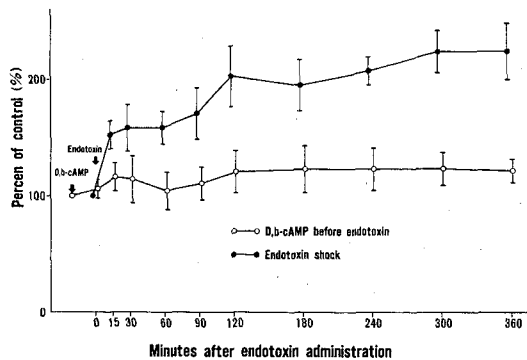


図12 Effects of db-cAMP on DBH activity in endotoxin shock. (dog)

い進行性に上昇した。これに反し第2群では、軽度上昇するに止まった(表8, 図12)。

## IV. 考案

近年外科的創傷感染症や感染性疾患は、減少しているといわれている<sup>10)</sup>。その反面、抗生物質の



汎用による耐性菌の増加，菌交代現象，弱毒難治性感染症の増加に伴って，重症感染症は増加しつつある<sup>17)</sup>。重症感染症に伴うショックは，しばしば重篤で，その病態像は極めて複雑であり，不可逆性変化をきたし，救命し得ない場合が未だ少なくない<sup>11)12)</sup>。

重症感染症に伴うショック，すなわち敗血症性ショック，もしくは細菌性ショックの解明は，精製エンドトキソンの使用により，ショックモデルを作ることが比較的容易になり，各種の動物を用いた様々の面から多くの実験が行われている。

本来，実験的用語であつたエンドトキシンショックは，敗血症性ショックもしくは細菌性ショックの大部分が，グラフ陰性桿菌の菌体内毒素つまりエンドトキソンによるところから，臨床でも敗血症性ショックもしくは細菌性ショックとほぼ同意義に用いられている<sup>41)</sup>。しかし厳密には，血液中にエンドトキソンが証明された場合に限るといふ意見もある<sup>18)</sup>。また動物におけるエンドトキシンショックモデルが，人間の細菌性ショックをどの程度 simulate しているかについて疑問を持つ者も少なくない。

エンドトキソンは，グラム陰性桿菌から産生される Phospholipid-polysaccharide-protein Complex であり<sup>13)</sup>，その分子量は $10 \times 10^5$ といわれている。各細菌から精製したエンドトキシンの反応は，生理学的にも病理学的にも非常に似ており<sup>15)</sup>，著者も当初 *Shigella endotoxin* を用い，マウスのエンドトキシンショックモデルを作製した。しかしながら，その反応は複雑であり，かつ種特異性を有しているともいわれ，実験Ⅱ，Ⅲでは Difco 社製 *E. Coli* 精製エンドトキソンを用いた。

ショックに対する正しい認識，種々のモニターの開発とその利用，輸液の進歩，ステロイド等の薬剤の使用により，ショック治療は格段の進歩をとげている。しかしショックの本態については不明な点も多く，如何なる機序によつて進行し，さらに不可逆性ショックへ移行するのかについて様々の面から研究がなされている。循環動態の解明はもとより，ショック時に起る種々の代謝異常，

細胞内微細構造物の不可逆性変化等が注目されている。

Sutherland ら<sup>1)28)</sup>によつて cAMP が epinephrine, glucagon による glycogenolysis 作用の mediator であることが発見され，second messenger theory として提唱されて以来，さらに多くのホルモン作用の mediator であることが知られるようになった。

ショック時には生体のホメオスターシス維持の一環として，交感神経，下垂体，副腎からのホルモン分泌に変化を来す。それらのホルモンの mediator である cAMP の変動についても研究がされ始めている。Rutenberg<sup>4)</sup>は，出血性ショックのイヌの肝の cAMP 濃度が低下するとし，Chiu, Hinchey<sup>8)</sup>らのイヌの出血性ショックの実験では，血漿中の cAMP 濃度は上昇し，腸粘膜では減少すると報告し，これは epinephrine 投与によつても同様の結果を得られたとしている。

著者のエンドトキシンショック時における実験でも，ほぼ同様の傾向を示し，肝での cAMP 濃度はショックの進行に伴い減少するのに対し，血漿中の cAMP 濃度は上昇する。ショックの際の細胞内 cAMP 濃度の低下の原因として，cAMP の前駆物質である ATP (adenosine triphosphate) の減少，細胞膜に対する anoxic damage の結果起る adenyl cyclase 活性の低下，および膜透過性の変化による細胞内 cAMP の細胞外への漏出等が考えられる<sup>9)</sup>。また血漿中の cAMP の増加は，細胞内からの漏出の結果と考えられ，血中に遊離した cAMP は再度細胞内に移行することなく，無効物質である可能性があるとして著者は考えている。

ショック時には first messenger である各種のホルモンによる regulation の異常と共に，second messenger である cAMP の減少も，shock の進行，重症度と重要な関連があると思われる。細胞内 cAMP の低下を補うためには，いくつかの方法が考えられる。すなわち，① cAMP の前駆物質である ATP の細胞内での増加を介し

て cAMP を増産させる方法, ② cAMP の細胞内分解酵素である cAMP-phodiesterase の作用を抑制し cAMP を増加させる方法, ③ ATP から cAMP を合成する酵素である adenylyl cyclase を賦活して cAMP を増やす方法, ④ cAMP を直接体外から投与して細胞内移行を図り, 細胞内 cAMP を増加する方法, の4つが考えられる。このうち, adenylyl cyclase の賦活に関しては, 現在のところ実用方法が無い。ATP の投与については, ATP 単独投与では細胞内移行しないとされているが, Chaudry<sup>26)</sup> らは ATP Mg-Cl<sub>2</sub> を投与することにより, ショック動物の生存率が改善されるとし, これは ATP が細胞内移行するためと推定している。cAMP phosphodiesterase の抑制物質としては, パパペリンやキササンチン誘導体が知られ, 特に Theophylline またはその誘導体を用いられている。しかし, それらの inhibitor としての効果は弱い。また最近では 3-bromo-5,7-dimethyl-pyrazole (1,5a) pyrimidine が用いられ, イヌの心筋収縮力と循環動態に好影響を与えるとされている<sup>27)</sup>。

体外投与した cAMP は肝臓以外<sup>28)</sup>では細胞内に移行しにくいとされ, 数多く検討された結果, db-cAMP は cAMP よりも脂溶性であり, それ故に細胞膜を容易に通過し<sup>24)</sup>, cAMP 類似の作用をあらわし, また phosphodiesterase による分解が cAMP よりも遅いといわれている。しかし, Ryan, Durick らの如く cAMP の方がより容易に細胞内に移行するという考えもある<sup>25)</sup>。

一方, Neelon らは細胞内での cAMP 作用の発現には, N<sup>6</sup>-monobutyryl cAMP が最も有効であるとしている。

db-cAMP は心臓に対し positive inotropic action を有し<sup>29)~33)</sup>, 末梢血管拡張作用, 末梢血管抵抗減少, 腎動脈および上腸間膜動脈の血流量増加作用がある<sup>31)</sup>ことなどから, 抗ショック作用を期待し, いくつかの実験が行われている。

吉武<sup>10)</sup>は Drum shock rat の生存実験で, drumming 前に投与した db-cAMP は効果が無いが, drumming 後に投与した場合には, 生存率を

著明に改善する作用があると報告している。また临床上, 体外循環施行後の low output syndrome を呈する患者で isoproterenol に反応しないものでも, db-cAMP の投与により循環を維持できることが多いと報告している。

著者のエンドトキシンショックにおける生存実験では, db-cAMP の前投与が生存率を高めるのに極めて有効であった。

国分<sup>19)</sup>はヒトに 5 mg/kg の db-cAMP を 5 分間で投与し, 収縮期圧はほとんど変化なく, 拡張期圧の低下に伴い脈圧は増加する傾向にあり, 平均動脈圧には低下する傾向を示したが有意差は無いとしている。また Nozaki<sup>20)</sup> らも平均動脈圧が, わずかに下降すると報告している。Levin<sup>8)</sup>はイヌに 4~8 mg/kg の db-cAMP を投与し, 一過性の低血圧をみている。しかし著者の実験では, 麻酔犬に 10mg/kg の db-cAMP を投与し, エンドトキシン注入前の 30 分間の観察で平均動脈圧は軽度上昇することが多かつた。

イヌの出血性ショック時に 2 mg/kg の db-cAMP を投与した MacRae<sup>9)</sup> らの実験では, 心血管系に何らの変化をもきたさなかつたとしている。これは投与量が少なく, 出血性ショックにはあまり有効でないことなどが考えられる。

著者の実験で db-cAMP 前処置をした群では, エンドトキシン単独投与群と比較し, 血圧維持に有意の差が認められた。

また大腿動脈血流量についても, Nozaki<sup>20)</sup> らの Renal artery, Superior mesenteric artery における結果と同様に, db-cAMP 投与後 30 分間の観察では増加を示していた。

心拍出量についても同様に, 国分<sup>19)</sup> Nozaki<sup>20)</sup> Levin<sup>8)</sup> らの報告と同様に, db-cAMP 投与後 30 分間で増加を認めた。db-cAMP 前処置群とエンドトキシン単独投与群との比較では, db-cAMP 前処置群が無処置群と比較し血流量, 心拍出量の維持に有意の差があつた。

一般に頻脈は, 頸動脈洞の減圧に基づく, 交感神経を遠心路として行われる洞性頻脈反射によるものであり<sup>34)</sup>, 極端な頻脈は心臓のポンプ作用を

障害し、かえつて心拍出量を低下させることになる。単独投与で心拍数増加作用がある<sup>19)20)83)</sup>。dbcAMPが、著者の実験のエンドトキシンショック下では、エンドトキシン単独投与群に比較し、頻脈を抑制するのは興味深い。

エンドトキシン単独投与群では、時間の経過に伴って著明なQRS時間の延長がみられたが、なんらかの伝導障害をきたしたものと考える。db-cAMP前投与群ではこれが軽度で止まるのは、国分ら<sup>19)</sup>が報告している重症ショック患者の二段脈が、db-cAMP投与によつて洞調律にもどつたことを考え合せ、心筋の刺激伝導に好影響を与えるものとする。

エンドトキシンショック時には、血漿成分の血管外漏出のために、ヘマトクリット値が上昇することが知られている<sup>21)22)</sup>。またショック時動脈較差が低下すると血流が遅くなつてくる。この血流低下により血流粘度は増してくる。すると粘度上昇のために血流抵抗がさらに増加し、このために赤血球のaggregationさらにはthrombusも発生してきて、再びこのために血液粘度が上昇するという悪循環になる<sup>81)</sup>。db-cAMPを前投与してもヘマトクリット値の上は防ぎ得なかつたので、十分な輸液と共に使用すべきであることが示唆される。

ショックの際のhomeostasis維持機構として交感神経緊張とカテコールアミン分泌増加は重要な意義を持ち、初期においては末梢領域での血管収縮が強く起り、心や脳循環は比較的良好に保たれる。しかしこの過緊張状態が長く続くと他の末梢臓器においては、代謝異常、細胞微細構造物の不可逆性変化をきたすようになる。

交感神経系の活動を把える手段として、従来、血中、尿中のカテコールアミンおよびその代謝産物の定量がなされてきた。しかし、カテコールアミンの定量は測定操作の煩雑さ、結果の不確かさ、多量の検体を要するなどの問題から一般化されていない<sup>85)</sup>。DβHは生体内では交感神経節後線維や副腎髄質のカテコールアミン含有顆粒、脳、心臓、精囊など交感神経分布の豊富な組織に多く

存在し、カテコールアミン生成系の調節作用をなしていると考えられている。このDβH活性の測定が比較的容易となり、しかもカテコールアミン定量により交感神経活動状態をより忠実に反映していると考えられる<sup>86)</sup>。DβH活性はエンドトキシンショック時に著明に上昇し、db-cAMPでそれが抑制されている。これはショック時に細胞内cAMP濃度の低下をきたし、いわゆるsecond messengerとしての機能を果せないために、カテコールアミンが増々分泌され、本来は循環のHomeostasis維持機構である交感神経系興奮→カテコールアミン分泌増加が、結果的には増々末梢血管を収縮させることになり、末梢組織での循環障害をきたすものと考えられる。db-cAMP前投与群では、DβH活性が抑制されることから、細胞内cAMP濃度が十分に保たれsecond messengerとしての機能が維持されていれば、交感神経系の興奮も最少限に止まるものとする。

エンドトキシン注入後血糖値は著明に上昇するが、これは血中カテコールアミンの上昇により、cAMPを介して肝のphosphorylaseの活性化をきたすため<sup>87)</sup>とエンドトキシンによるインシュリン分泌抑制とが考えられる。しかし、その後は著明に血糖値が減少していく。db-cAMPはInsulin分泌促進作用のある可能性もあり<sup>88)</sup>、エンドトキシン投与直後の過血糖を抑制するのかもしれない。

ショックの進行に伴い好気性代謝は抑制され、解糖によつてエネルギー産生が続けられている。解糖の結果、乳酸の蓄積によりアシドーシスをきたすのでpH補正が重要である<sup>89)</sup>。

今回の実験で、乳酸、ピルビン酸、L/P、excess lactateについても検討したが、未だデータが少なく、今後の課題にしたい。

吉武はヒトにおいて200mgのdb-cAMPを20分間で静脈内に持続投与すると、lactate値は変化しないがpyruvateの増加によりL/Pおよびexcess lactateが減少し、代謝面からみてdb-cAMPのショック状態における有用性を報告している((19)より引用)。

ショック時には、細胞内 cAMP 濃度は減少し、各種ホルモンの mediator としての作用が低下するために、生体のホメオスタシス維持機構に何らかの障害をきたすと考えられる。細胞内移行しやすいといわれる db-cAMP の体外投与がショック時の循環動態の改善、代謝の改善に有効であることが示唆される。

## V. 結 語

マウス、イヌを用いてエンドトキシンショックを作製しその際の肝ならびに血漿中の cAMP 活性を測定した。さらに db-cAMP 前処置した場合の生存率の上昇を確認しこの事実を血行動態、糖代謝、D $\beta$ H 活性に注目して種々の検討を加え次の結論を得た。

1) マウスの腹腔内にエンドトキシンを投与すると経時的に、肝細胞内 a,d-cAMP 濃度は低下し、血漿中 cAMP 濃度は上昇する。

2) マウスに db-cAMP を前投与しておくことエンドトキシン投与後の生存率を著しく改善する。

3) イヌに db-cAMP を投与すると、心拍数、大腿動脈血流量、平均腹部大動脈圧、心拍出量のいずれもが軽度上昇する。

4) db-cAMP を前投与した場合には、対照群に比較し、頻脈の抑制と血圧、心拍出量、大腿動脈血流量の維持作用が、有意の差をもつて認められる。

5) エンドトキシンショック時には、時間の経過につれ D $\beta$ H 活性の上昇がみられるが、db-cAMP を前投与しておくこと抑制される。

6) db-cAMP 前投与群では、エンドトキシン注入直後の過血糖を抑制し、ショックの進行につれ生ずる低血糖を防止する傾向がある。

以上の結果より、エンドトキシンショック時には、細胞内 cAMP 濃度が低下し、second messenger 作用が阻害されるので、体外から投与した db-cAMP は、細胞内 cAMP 濃度を高め、second messenger 作用を回復し、循環動態の改善、代謝障害の改善をすることにより、抗エンドトキシンショック作用を示すものと考えられる。

稿を終るに臨み、終始ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜った恩師織畑秀夫教授に深甚なる感謝の意を捧げるとともに、ご懇切なるご教示ご鞭達を頂いた太田八重子教授、倉光秀磨助教授に心から謝意を表します。

また本研究の機会を与えてくださいました聖マリアンナ医大第2外科飯島登教授をはじめ、教室員の皆様に心より御礼申し上げます。

(本論文の要旨は第2回関東救急医学研究会において表した)。

## 文 献

- 1) Sutherland, E.M.: On the biological Role of Cyclic AMP J A M A 214 1281~1288 (1970)
- 2) 西塚泰美: Cyclic AMP の作用機構. 最新医学 27 967~977 (1971)
- 3) MacArdle, A.H., C.J. Chiu and E.J. Hinchey: Intestinal and Plasma cyclic AMP response to epinephrine and to hemorrhagic shock. Arch Surg 110 316~320 (1975)
- 4) Rutenberg, A.M., M.L. Bell, R.W. Butcher, et al.: Adenosine 3,5-monophosphate levels in hemorrhagic shock. Ann Surg 174 461~468 (1971)
- 5) Rutenberg, A.M., P. Dolgar, M. Bell, et al.: Adenosine 3,5-monophosphate metabolism in liver in experimental shock. Surg 74 660~665 (1973)
- 6) Robinson, G.A., R.W. Butcher, E.W. Sutherland: Cyclic AMP, New York Academic Press, New York (1971)
- 7) Levine, R.A.: Effects of exogenous adenosine 3,5-monophosphate in man III. Increased response and tolerance to the dibutyl derivative. Clin Pharmacol Thera 11 238~243 (1970)
- 8) Levine, R.A., J.A. Vogel: Cardiovascular and metabolic effects of cyclic adenosine 3,5-monophosphate in unanesthetized dogs. Pharmacol Exp Ther 151 262~272 (1966)
- 9) MacRace, M.L., C.J. Chiu, E.J. Hinchey: Effects of exogenous cyclic adenosine monophosphate in hemorrhagic shock. Surg 78 254~260 (1975)
- 10) 吉武潤一: ショックと代謝. 最新医学 30 1700~1707 (1975)
- 11) Nagui, J. and D.G. Trater: Bacteremic Shock as An Acute Medical Emergency. The Lancet (1965) 1357.
- 12) Weil, M.H., H. Shubin: Diagnosis and Treatment of Shock. Williams & Wilkins Co., Baltimore (1967) 156.

- 13) **Stuart, E.G.:** Possible Mechanism of Action on the Bacterial Polysaccharide Complex. *Amer J Physiol* **171** 771 (1952)
- 14) **Ravin, H.A.:** Intestinal Endotoxin and the Host. *Gastroenterology* **44** 73 (1963)
- 15) 早坂 滉: エンドキシンショックの本態およびその特異な治療法. ショックその基礎と臨床 真興交易出版 東京 (1975) 319頁
- 16) 石川浩一: 外科的感染症の変貌. 外科治療 **16** 1403~1409 (1974)
- 17) 石山俊次: 外科感染症の変貌. 医学のあゆみ **89** 161 (1974)
- 18) 玉態正悦・和田信昭・杉浦有重・斎藤英昭: 細菌性ショック. 外科診療 **10** 944~1000 (1976)
- 19) 国分寿子・高橋光太郎・新井 敬・遊佐津根雄・岩月腎一: 代謝および循環動態に及ぼす Dibutyryl Cyclic AMP の臨床的検討. 麻酔 **25** 40~44 (1972)
- 20) **Nozaki, H. and A. Okuaki:** Response to exogenous dibutyryl adenosine 3,5-monophosphate of cardiac output and blood flow in the renal, superior mesenteric and carotid arteries in anesthetized dogs. *Tohoku J exp Med* **115** 145~154 (1975)
- 21) **Chien, S.:** Blood Volume and its Distribution in Endotoxin Shock. *Amer J Physiol* **210** 1411 (1966)
- 22) **Rao, P.S. and D. Cavanagh:** Endotoxin shock in the Subhuman Primate. *Arch Surg* **102** 486~490 (1971)
- 23) **Sutherland, E.W. and T.W. Rall:** Fractionation and Characterization of a cyclic adenosine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem* **232** 1077 (1958)
- 24) **Posternak, T., E.W. Sutherland and E.F. Hension:** Derivatives of cyclic 3,5-adenosine monophosphate. *Biochem Biophys Acta* **65** 558 (1962)
- 25) **Ryan, W. and M.A. Durick:** Adenosine 3',5'-monophosphate and N--2'G-dibutyryl adenosine 3',5'-monophosphate transport in cells. *Science* **177** 1002 (1972)
- 26) **Chaudry, I.H., M.M. Sayeed and A.E. Baue:** Effect of adenosine triphosphate-magnesium chloride administration in shock. *Surgery* **75** 220~226 (1974)
- 27) **Kohl, M.K., W.B. Jolly and L.L. Smith:** Alteration of cardiac contractility and hemodynamics by phosphodiesterase inhibition. *Surg Forum* **25** 158~160 (1974)
- 28) **Levine, R.A., S.E. Lewis, J. Shulman and A. Washington:** Metabolism of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-8---C by isolated, perfused rat liver. *J Biol Chem* **244** 4014 (1969)
- 29) **George, I.D. and J.H. Susan:** Inotropic and Chronotropic Effects of Dibutyryl Cyclic AMP. *Advances in Cyclic Nucleotide Research Vol. 1.* Raven Press, New York (1972) p 302~316.
- 30) **Iwatsuki, N. and K. Iwatsuki:** Effects of Dibutyryl Cyclic AMP on Contractile Performance of Isolated Heart Muscle Depressed by Thiomyal and Halothane. *Tohoku J exp Med* **113** 357~363 (1974)
- 31) 岡田和夫・小杉 功: 麻酔 **25** 227~236(1976)
- 32) **Skelton, C.L., G.S. Levey and S.E. Epstein:** Positive Inotropic Effects of Dibutyryl Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate. *Circulation Res* **26** 35~40 (1970)
- 33) **Ahren, K., A. Hjalmarson and O. Isaksson:** Inotropic and Metabolic Effects of Dibutyryl Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate in the Perfused Rat HEART. *Acta Physiol Scand* **82** 79~90 (1971)
- 34) 福田 保監修: 重症低反応性ショック. 医学書院 東京 (1973) 59頁
- 35) 田中孝夫・古川哲二: Dopamine  $\beta$ -hydroxy lase について. 麻酔 **24** 847~ 852 (1975)
- 36) **Weinshilboum, R.M.:** Proportional release of norepinephrine and dopamine  $\beta$ -hydroxylase from sympathetic nerve. *Science* **174** 1349 (1971)
- 37) **Sutherland, E.W., G.A. Robinson and R.W. Butcher:** Some aspects of the biological role of adenosine 3',5'-monophosphate. *Circulation* **37** 279~306 (1968)
- 38) 末盛郁男: Dibutyryl cyclic AMP に関する実験的研究. 第1報 ヒトの代謝に及ぼす影響. 麻酔 **25** 457~464 (1976)
- 39) 吉武潤一: 組織レベルでのハイポキシア. 臨床生理 **3** 148 (1973)
- 40) 末盛郁男: Dibutyryl cyclic AMP に関する実験的研究. 一第2報 抗ショック作用について. 麻酔 **25** 547~ 557 (1976)
- 41) 隅田幸男: 細菌性ショック. 大塚薬報 ( 279) 42~48 (1976)