

イヌ急性膵炎における Thromboxan A₂ 合成酵素阻害剤持続動注療法の効果

聖マリアンナ医科大学第1外科学教室 (主任教授: 山口 晋)

長谷川 晃 一 郎

イヌを用いた自家胆汁急性膵炎モデルにおいて選択的 thromboxan A₂合成酵素阻害剤 CV-4151を投与し、その投与方法と効果を比較検討する目的で雑種成犬を次の4群に分け、(1群: 無処置対照群, 2群: one shot 静注群, 3群: 持続静注群, 4群: 持続動注群) 膵炎作製前, 作製後1時間, および3時間後に膵組織を採取, 組織中の phospholipase A₂, thromboxan B₂, 6-keto-PGF1 α をそれぞれ測定した。また各群における生存率を検討した。phospholipase A₂と thromboxan B₂は, 4群において1時間後, 3時間後に有意に抑制された。6-keto-PGF1 α において4群は3時間後に有意に抑制された。生存率は, 4群間において4群が最も高かった。CV-4151持続動注法は2群, 3群と同様の治療効果を期待できる一方, 生存率に関しては, 最も高成績を得ることができた。

Key words: acute pancreatitis, thromboxane B₂, prostaglandin I₂, arachidonic acid cascade

緒 言

急性膵炎は一過性の腹部症状のみで軽快する軽症例から, 今なお死亡例の高い重症例まで多岐にわたる。膵炎の重症化機序については様々な因子が考えられているが, なかでも膵の循環障害は膵炎の進展に大きな影響を与える。この膵臓の循環障害に関与する物質として内因性血管作動性物質である serotonin や bradykinin があり, 急性膵炎の重症化因子の一つとしてあげられている¹⁾²⁾。serotonin, kinin 以外にも内因性血管作動性物質は種々存在するが, なかでもアラキドン酸関連物質である thromboxan A₂ (以下, TXA₂と略記)は強力な血管平滑筋収縮作用と血小板凝集作用を有し, 急性膵炎の進展, 重症化の一因をなすことが報告されている^{3)~5)}。

TXA₂発生を阻止する選択的 TXA₂合成酵素阻害剤が開発され, 実験的急性膵炎に用いられている⁴⁾⁵⁾。膵組織の TXA₂産生は抑制されるが, 生存率の著明な改善までにはいたっていない⁵⁾。渡辺も指摘しているごとく⁵⁾, 末梢静脈よりの one shot 投与方法に問題があると考えられる。最近, 重症急性膵炎の臨床例で, 蛋白分解酵素阻害剤の局所動注療法が生存率を著明に改善することが報告されている⁶⁾⁷⁾。そこで著者はこれらの

報告より, イヌ急性膵炎において選択的 TXA₂合成酵素阻害剤の効果を増強する目的で, 同剤を局所持続動注, 持続静注し one shot 静脈投与との比較検討した。

方 法

1. 実験動物

雑種成犬32頭を雌雄別なく使用, 次の4群に分け検討した。

1群 (n=13): 無処置対照群

2群 (n=7): CV-4151 one shot 静注群

3群 (n=6): CV-4151持続静注群

4群 (n=6): CV-4151持続動注群

2. 使用薬剤

TXA₂合成酵素阻害剤は CV-4151 [武田薬品工業(株)社製, 大阪]を使用した。

3. 麻酔

実験犬は手術前日より絶飲食とした。麻酔は sodium pentobarbital (25mg/kg) 静脈内投与, 気管内挿管した後, 動物人工呼吸器 (R-60式レスピレーター) にて調節呼吸 (1回換気量200ml, 15回/min) を行った。術中輸液はリンゲル液20ml~30ml/kg/hr で維持した。

4. 手技

麻酔後, 仰臥位に固定し, 腹部正中切開にて開腹した。胃および大網を挙上し, 膵左葉を露出し, 後腹膜より剝離した後, 膵組織を全例約3g 採取し対照とし

た。

十二指腸壁に切開を加え、副膵管を露出、胆嚢穿刺にて得られた自家胆汁 (0.5ml/kg) を逆行性に手圧にて緩徐に注入し、急性膵炎を作製した⁸⁾。注入後十二指腸壁を二層に縫合閉鎖した。膵炎作製後、膵右葉鉤部より1時間後、3時間後に膵組織を約3g採取し、直ちに -70°C で凍結保存した。

5. 術後管理

術直後に cephalosporin 系抗生物質の塩酸セフトラム〔武田薬品工業(株), 大阪〕0.5gを生食100mlに溶解して点滴静注した。術後第1病日にリンゲル液500mlおよび前述の抗生物質を静注した。同時に飲水を開始し全身状態にあわせて食事を開始した。

6. CV-4151投与方法

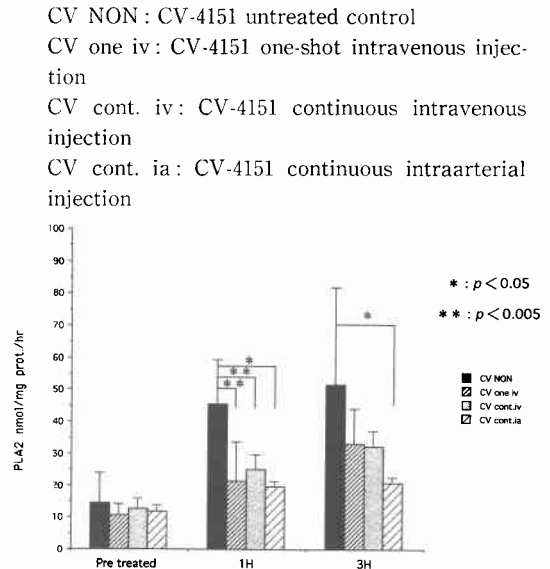
使用する CV-4151 は化学式 $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ 、分子量 281.35 の白色結晶性の粉末で、半減期は健康人で 1.18 ± 0.16 時間、イヌでは 1.9 時間である。強力な選択的 TXA_2 合成酵素阻害作用と prostaglandin I_2 (以下、 PGI_2 と略記) 生成促進作用を有する⁹⁾。CV-4151 投与群においては、膵炎作製直後より one shot 静注、3 時間持続動注または静注した。one shot 静注および 3 時間持続静注は左右いずれかの上肢静脈より、3 時間持続動注は左右いずれかの大腿動脈より血管留置カテーテル〔八光エラスト社製〕を挿入し、腹腔動脈直下に先端を静置し CV-4151 を注入した。投与量はイヌ急性心筋梗塞モデルにおいて、1mg/kg 静脈内投与が梗塞巣の大きさおよび TXB_2 を有意に抑制したこと¹⁰⁾より、今回、予備実験にて 1mg/kg 使用したが、生存率および組織 TXB_2 値の改善が認められなかったことと、膵組織内移行濃度が心臓に対して約 1/5 という結果¹¹⁾より、投与量を 5mg/kg とした。3 時間持続動・静注はインフュージョンポンプ〔テルモ社製 STC〕を用いて 280 $\mu\text{g}/\text{min}$ の速度で注入した。この注入速度は、1mg/kg 静脈内投与における C_{max} 0.745 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の血漿濃度が得られることより設定した。

7. 測定項目

(1) 膵組織中活性酸素関連物質

膵炎作成前、1 時間後、3 時間後に採取した膵組織中の phospholipase A_2 (以下、 PLA_2 と略記) 活性を測定した。イヌ膵組織に約 3 倍容の 1.15% KCl を加え、水冷下 Plytron20ST ホモジナイザー〔日本理化学器械、東京〕を用いて破碎してから、 4°C 、3,000 回転、5 分間遠心した後、その上澄を測定試料とした。 PLA_2 活性は、色素吸光度を測定することにより測定し、単

Fig. 1 PLA_2 level in the CV-4151 treated group and untreated group.



位は nmol/mg protein/hr で表した。

(2) 膵組織中 PG 関連物質

膵組織中の TXA_2 合成酵素活性および PGI_2 合成酵素活性を測定した。 TXA_2 合成酵素活性は、 TXA_2 の安定代謝産物である thromboxan B_2 (以下、 TXB_2 と略記) を radioimmunoassay (RI) 法 ($\text{TXA}_2 \text{I}^{125}$ assay system, Amersham 社, 英国) にて測定した。 PGI_2 合成酵素活性は PGI_2 の安定代謝産物である 6-keto- $\text{PGF}1\alpha$ を RI 法 ($\text{PGI}_2 \text{I}^{125}$ assay system, Amersham 社, 英国) にて測定した。

(3) 統計学的検定

結果を平均値 \pm 標準偏差 (Mean \pm S.D.) で示した。有意差検定は多重比較検定を使用し、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

成 績

1. 膵組織中活性酸素関連物質

膵組織中 PLA_2 活性 (nmol/mg protein/hr) の CV-4151 投与前の値は 1 群 14.4 ± 9.6 、2 群 10.7 ± 3.4 、3 群 12.8 ± 2.9 、4 群 11.8 ± 2.1 であり 1 時間後の値では、1 群と 2 群間、1 群と 3 群間、1 群と 4 群間にそれぞれ有意差を認め、さらに 3 時間後の値では、1 群と 4 群間に有意差を認めた (Fig. 1)。

2. 膵組織中 PG 関連物質

膵組織中 TXB_2 (ng/g) の CV-4151 投与前の値は 1 群 8.4 ± 3.6 、2 群 11.4 ± 8.1 、3 群 8.5 ± 2.1 、4 群 $8.4 \pm$

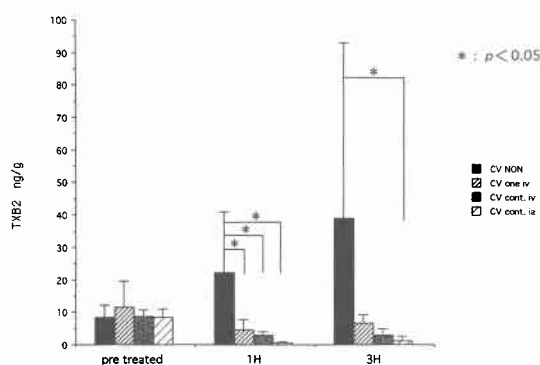
Fig. 2 TXB₂ level in the CV-4151 treated group and untreated group.

CV NON : CV-4151 untreated control

CV one iv : CV-4151 one-shot intravenous injection

CV cont. iv : CV-4151 continuous intravenous injection

CV cont. ia : CV-4151 continuous intraarterial injection



2.5であり、1時間後の値では1群と2群間、1群と3群間、1群と4群間にそれぞれ有意差を認めさらに3時間後の値では、1群と4群間に有意差を認めた (Fig. 2).

これにたいして膵組織中6-keto-PGF1 α (ng/g) の CV-4151投与前の値は1群7.8 \pm 1.6, 2群7.7 \pm 1.4, 3群8.1 \pm 0.8, 4群8.4 \pm 0.7であった。1時間後の値で有意差は、1群と2群間、1群と3群間にそれぞれ認め、3時間後の値では、1群と3群間、1群と4群間、さらに2群と4群間に有意差を認めた (Fig. 3).

3. 生存率

1群13頭中死亡したのは7頭で生存率は47%, 2群7頭中死亡したのは3頭で生存率は57%, 3群6頭中死亡したのは1頭で生存率は83%, 4群では全例生存し、生存率は100%であった。

考 察

Ooijen⁹⁾、渡辺⁵⁾らは実験的急性膵炎において TXA₂、PGI₂を重症化の因子としてあげ、TXA₂合成酵素阻害剤投与が重症化を防ぎ、生存率を高めることを報告しているがその生存率は満足すべきものではない。今回、著者は TXA₂合成酵素阻害剤の投与方法を持続的動脈内投与とし、one shot 静注、および持続静注と比較検討した。動脈内投与は静脈内投与に比べ一般に、

① 薬物が血液に希釈されず目標臓器に到達する。

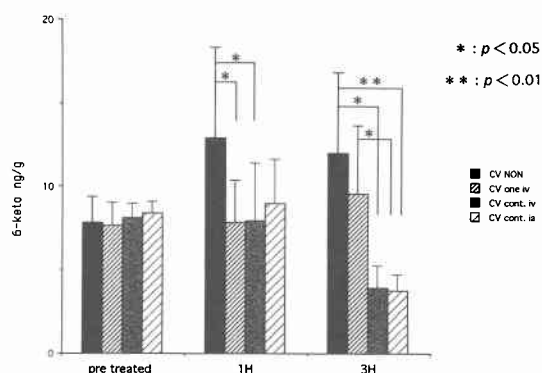
Fig. 3 6-keto-PGF1 α level in the CV-4151 treated group and untreated group.

CV NON : CV-4151 untreated control

CV one iv : CV-4151 one-shot intravenous injection

CV cont. iv : CV-4151 continuous intravenous injection

CV cont. ia : CV-4151 continuous intraarterial injection



② 短時間に効果の発現が期待できる。

③ 特に局所血流の低下する炎症性疾患などにおいては、より高濃度、高用量の薬剤を目標臓器に到達せしめることが可能である。

などの利点を挙げることができる。本邦では武田ら⁶⁾は静注に比較し動注の膵組織内メシル酸ナフアモスタット濃度は約5倍であると報告している。さらに、TXA₂合成酵素阻害剤はその作用機序から TXA₂の産生低下と並行して PGI₂への代謝亢進、すなわち6-keto-PGF1 α の増加をもたらすことが知られている。Ooijen⁹⁾はラット急性膵炎実験モデルにおいて TXA₂合成酵素阻害剤の投与により血中6-keto-PGF1 α の値がわずかに増加したことを報告している。一方、氏家¹²⁾はラット endotoxin shock モデルではあるが、TXA₂合成酵素阻害剤の投与により血中6-keto-PGF1 α の値が有意に増加を示し、しかも用量依存性であったと報告している。しかし、著者の結果では CV-4151投与群における膵組織内6-keto-PGF1 α の上昇は認められず、持続動注、静注群では3時間目で逆に低値を示した。TXA₂合成酵素阻害剤の持続投与により TXA₂が産生されない状態が続いた。この状態で PGI₂が上昇しつづければ、血管拡張作用は次第に強まり血管の tonus が破綻することが推定される。したがって、TXA₂合成酵素阻害剤の持続投与では、著者の結果の

ごとく PGI₂ 産生も抑制され、血管の tonus を維持しているものと考えられる。

PLA₂ 活性は膵炎作製後経時的に増加し、この増加は4群においてのみ1時間値、3時間値ともに有意に抑制された。虚血を引き金に活性化された PLA₂ はアラキドン酸を遊離する。産生されたアラキドン酸はシクロオキシゲナーゼによりプロスタグランジンエンドペルオキシドに変換され、さらにイソメラーゼにより TXA₂、PGI₂ など各種のプロスタノイドが産生される。いわゆるアラキドン酸カスケードがひきおこる。膵炎におけるアラキドン酸カスケードを含む一連の反応においては、TXA₂ の産生が亢進することで膵の虚血がさらに進行し、結果 PLA₂ がより活性化され、アラキドン酸カスケードが活発になるという悪循環を展開する。CV-4151 の投与によって TXA₂ 生成が抑制されることにより、PLA₂ の産生が抑制され膵炎の進展が阻止される。

敗血症性ショックの初期には血中 TXB₂ が上昇するが、末期には 6-keto-PGF_{1α} が増加するとの報告¹³⁾ や、外傷、敗血症から肝不全により死亡した症例での血中 6-keto-PGF_{1α} の上昇¹⁴⁾、さらに、肝切除後の合併症発生死亡例では 6-keto-PGF_{1α} の高値¹⁵⁾ などいずれの報告も 6-keto-PGF_{1α} が TXB₂ よりも重症度判定に有用であることが報告されている。今回、著者の結果でも TXB₂ については one shot と 3 時間持続静注、動注、3 群間に差は認められなかったが、6-keto-PGF_{1α} では 3 時間後では one shot と持続動注と有意差が認められたことより、生存率と 6-keto-PGF_{1α} との逆相関が確認された。

稿を終えるに当たり、本論文の御校閲を賜った聖マリアンナ医科大学第 1 外科学教室の山口 晋主任教授、直接本研究を御指導いただいた窪田 倭助教授に深く感謝いたします。また本研究に御協力いただいた佐藤忠昭先生をはじめ教室の関係各位に御礼申し上げます。

本論文の要旨は、第 48 回日本消化器外科学会 (1996 年 7 月、東京) において発表した。

文 献

- Oguchi H, Teranishi M, Kawai T et al: Effect of the S₂-serotonergic receptor antagonist, ketanserin, on cerulein-induced pancreatitis in the rat. *Life Sciences* 50: 733-737, 1992
- Satake K, Rozmanith JS, Appert H et al: Hemodynamic change and bradykinin levels in plasma and lymph during experimental acute pancreatitis in dogs. *Ann Surg* 177: 659-662, 1973
- 小代正隆, 西 満正, Kakker VV ほか: 急性膵炎における凝固線溶, カリクレイン, TXA₂, PGI₂ の動態. *血と脈管* 15: 582-585, 1984
- Ooijen BV: Significance of thromboxane A₂ and prostagrandin I₂ in acute necrotizing pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci* 35: 1078-1084, 1990
- 渡辺泰治: 急性膵炎における活性酸素とアラキドン酸カスケードの役割. *聖マリアンナ医大誌* 21: 377-385, 1993
- 武田和憲, 松野正紀, 山内淳一郎ほか: 膵酵素阻害剤持続動注療法. *総合臨* 43: 290-294, 1994
- 武田和憲, 松野正紀: 重症急性膵炎に対する治療の新しいアプローチとしての蛋白分解酵素阻害剤持続動注療法. *胆と膵* 12: 869-873, 1991
- Ohlsson K, Eddeland A: Release of proteolytic enzymes bile-induced Pancreatitis in dogs. *Gastroenterology* 69: 668-675, 1975
- Shibata Y, Teranishi Z, Inada Y: Deray of the initiation of hypertension in spontaneously hypertensive rats by CV-4151, a specific thromboxan A₂ synthetase inhibitor. *Eur J Pharmacol* 129: 134-144, 1985
- Imamoto T, Terashita Z, Tanabe M: Protective effect of a novel thromboxan synthetase inhibitor, CV-4151, on myocardial damage due to coronary occlusion and reperfusion in the hearts of anesthetized dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 8: 832-839, 1986
- 前芝良宏, 三輪 清, 池田真弓ほか: 新規トロンボキサン A₂ 合成酵素阻害薬 CV-4151 のラット、イヌにおける体内動態. *薬理と治療* 23: 87-104, 1995
- 氏家新生: Thromboxane 合成特異的阻害剤 (E)-3-4-(1-imidazolylmethyl)-2-propenoic acid (OKY-046) の薬理作用. TXA₂ 産生抑制とそれに伴う PGI₂ 産生亢進の有無の検討. *応用薬理* 29: 659-685, 1985
- 馬場秀文: Thromboxane B₂, 6-keto-PGF_{1α} の変動からみたエンドトキシン血症の病態に関する実験的研究. *日外会誌* 89: 6-19, 1988
- Carmona RH, Taso TC, Trunkey DD: The role of prostacyclin and thromboxan in sepsis and septic shock. *Arch Surg* 119: 189-193, 1984
- 横井 一, 岩田 真, 川原田嘉文ほか: 手術侵襲に対する chemical mediator の変動と術後合併症. *日外会誌* 91: 1166-1169, 1990

Effect of Continuous Intraarterial Injection of Thromboxan A₂ Synthetase Inhibitor on the Canine Experimental Acute Pancreatitis

Kouichiro Hasegawa

First Department of Surgery, St. Marianna University School of Medicine

A selective thromboxan A₂ (TXA₂) synthetic enzyme inhibitor, CV-4151, was injected into an bile-induced acute pancreatitis model in dogs. Mongreal adult dogs were divided into 4 groups (group 1, untreated control; group 2, one-shot intravenous injection; group 3, continuous intravenous injection; group 4, continuous intraarterial injection) and the relative efficacy of each method of administration and the effects of CV-4151 were compared among the groups. Pancreatic tissue was harvested before and 1 and 3 hours after the induction of pancreatitis, and the levels of phospholipase A₂ (PLA₂), thromboxan B₂ (TXB₂), and 6-keto-PGF_{1α} in the tissue were measured. The survival rate for each group was determined. The results showed that PLA₂ and TXB₂ were suppressed significantly after 1 and 3 hours in group 4 and 6-keto-PGF_{1α} was suppressed significantly after 3 hours in group 4. Group 4 showed the highest survival rate among four groups. These findings indicate that a therapeutic effects similar to that seen in groups 2 and 3 can be expected from the continuous intraarterial injection of CV-4151. Furthermore, this method also yielded the highest survival rate.

Reprint requests: Kouichiro Hasegawa First Department of Surgery, St. Marianna University School of Medicine
2-16-1 Sugo, Miyamaeku, Kawasaki, 216 JAPAN
