

ラット左・右心房筋におけるニコチンの変時・変力作用の比較

奈良県立医科大学薬理学教室

中谷敏昭, 佐藤広康, 成島至
松井一哲, 成尾一彦, 中嶋敏勝CHRONOTROPIC AND INOTROPIC EFFECTS OF NICOTINE IN RIGHT
AND LEFT ATRIAL MUSCLES OF RATTOSHIAKI NAKATANI, HIROYASU SATOH, ITARU NARUSHIMA,
KAZUNORI MATSUI, KAZUHIKO NARIO and TOSHIKATSU NAKASHIMA*Department of Pharmacology, Nara Medical University*

Received September 22, 1993

Abstract: Effects of nicotine on the sinus rate and the contractile force were investigated to compare the effects on the right and left atrial muscles of rats. Nicotine (300 μ M and 1 mM) produced negative chronotropic and inotropic effects in the right atrium. The effects were dose-dependent. The maximum responses were caused about 30 sec after nicotine administration (1 mM), and the recovery period was almost 30 min. The depressive effects were not modified by 1 μ M atropine. In the left atrial muscle, nicotine (300 μ M and 1 mM) caused a negative inotropic effect. The muscle was electrically driven at different stimulations (1 to 3 Hz). The depression was decreased with an increase in stimulation frequencies (1 to 3 Hz). The negative inotropic effect reached its maximum in about 60 sec and persisted for 30 min. The negative responses to nicotine (1 mM) were stronger by 23% in the right atrium than in the left atrium stimulated at 3 Hz. There was no difference between the negative inotropic effects by single and cumulative administrations of nicotine in both right and left atrial muscles. These results suggest that the negative chronotropic and inotropic effects of nicotine may be due to a direct action on the cell membrane of rat atria, but not mediated through muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors. The difference between the right and left atrial muscles might result from their characteristics for the sensitivity and/or binding sites of nicotine.

Index Terms

nicotine, chronotropic effect, inotropic effect, single and cumulative administrations, right and left atria, rat heart

緒 言

ニコチンは中枢神経系ばかりでなく心血管循環器系にも働いて種々の反応を引き起こすことが知られている²⁴⁾。ヒトで喫煙やニコチンの静注によって心拍数および血圧の上昇が生じることが明かになった¹³⁾²⁰⁾²¹⁾。近年、そのメ

カニズムについて、実験動物を用いて検討がなされてきた。哺乳動物の心室筋において、Leeら¹⁰⁾はニコチンが著しく収縮力を増大させ、Bassettら¹¹⁾もネコ乳頭筋で陽性変化を生じると報告した。一般的に、解剖学的見地から心室筋では心房筋よりも迷走神経支配が乏しいので、ニコチンによる作用は陽性変化が主に生じると考えてもよ

い³⁾。そのニコチンの陽性変時・変力作用は神経終末からのノルエピネフリン(NE)放出の容量反応曲線と一致する¹¹⁾¹⁷⁾。北畠ら¹³⁾はラットの単離心筋細胞で、ニコチンが収縮力を濃度依存的に高め、そのメカニズムが交感神経末端の貯蔵部位からカテコラミンを遊離させるとともに、心筋細胞内のCa²⁺貯蔵部位へ作用して収縮力の増強を生じることを実証した。

一方、心房筋(モルモット²⁾²³⁾、ウサギ⁴⁾¹⁵⁾、ネコ³⁾¹⁶⁾¹⁹⁾では、ニコチンは投与後、初期に陰性作用、二次的に陽性変時(chronotropic effect)・変力(inotropic effect)作用を示すことが報告されている。この二相性反応は、交感神経系と迷走神経系の同時刺激によるものと思われる¹⁹⁾。ラット心房筋でも同様に、初期陰性、後期陽性変時・変力作用を示したと報告している⁷⁾¹⁰⁾。ところが、ラット心筋細胞では³H-NEを用いた実験でニコチンによる³H-NE遊離作用が極めて弱いことが明らかになった⁸⁾²⁹⁾。その事実を裏づけるように Carrylら⁸⁾⁶⁾はニコチンが陰性変時反応しか生じなかったと報告している。そこで本研究では、ニコチン投与(単独投与と蓄積投与でも比較)がラットの心拍数と心収縮力にどのような影響を与えるのかを、解剖学的に交感・迷走神経支配の異なる左・右心房筋を用いて比較した。さらに、左心房筋では刺激頻度(1-3 Hz)を変えて頻度依存性の変化についても検討した。

方 法

1. 実験動物

実験動物は体重250~650 g、6~12週齢のWistar系雌性ラット(紀和実験動物研究所)を18匹使用した。飼育条件は、12時間の明暗サイクルとし、室内温度を23~27度、湿度を50~70%に設定し、オリエンタル固形飼料(MF)と水を自由に与え飼育した。

2. 実験標本作成

ラットをエーテル麻酔下に断頭し、胸部開胸して即座に心臓を摘出した。摘出心は、95% O₂および5% CO₂で十分ガス化したTyrode's solutionに移し、洞房結節を傷つけないように右心房と左心房を分離摘出した。実験標本は心筋細胞をできるだけ傷つけないように注意しながら、一方をピンで固定し、上部側をセルフインでクリップしてTransducerに連結させた。

3. 左・右心房筋の心拍数(sinus rate)および心収縮力(contractile force)の測定

標本作成後、飽和状態にガス化したTyrode's solution

を満たしたマグナス管に移し実験を行なった。Solutionの温度は36℃に設定した。標本をマグナス管中に懸垂し、張力を自然長の120%前後になるようにマニピュレーターで調節した後、Isometric transducer(TB-652 T:日本光電製)を用いて測定を行なった。右心房筋の心拍数の測定にはHeart rate counter(AT-601 G:日本光電製)を、左・右心房筋の収縮力の測定にはIsometric amplifier(EF-601 G:日本光電製)を用い、グラフィックペンレコーダ(SR-6335:Graphtec製)にて15 mm/minの紙送り速度で同時に記録した。左心房筋への電気刺激には、標本の両側に銀板電極を設置し、Electrical stimulator(SEN-3201:日本光電製)およびIsolator(SS-102 J:日本光電製)を用い、刺激持続時間を5 msec、閾値電位の1.5倍の、矩形波にて刺激した。刺激頻度は、1 Hz、2 Hz、3 Hzの3種類を用いて比較した。

4. Solutionおよび使用薬物

Tyrode's solutionの組成(mM)は、KCl 2.7, NaCl 137, NaHCO₃ 12, NaH₂PO₄ 0.4, MgCl₂ 1.0, CaCl₂ 1.8, Glucose 5.5とし、pHは7.4に調整した。使用薬物としては、(-)-ニコチン(SIGMA)、硫酸アトロピン(MERCK)、塩酸ヘキサメトニウム(SIGMA)を用いた。ニコチンは実験毎に蒸留水で0.1 Mの濃度に溶解した。投与は、標本の自動性または収縮力の大きさが十分安定するのを確認後(およそ20~30分)、bath solutionの中へ単独投与(single administration)または蓄積投与(cumulative administration)を行ないその反応を調べた。

5. 統計処理

測定したデータは平均値(mean)±標準誤差(SEM)にて示した。対照値と薬物投与量による作用の比較には一元配置の分散分析(ANOVA)を行なった。ニコチン投与による左・右心房筋の収縮力の比較にはStudent's t-testを用いた。有意水準はP<0.05とした。

結 果

1. 右心房筋に対するニコチンの変時・変力作用

ニコチン(30 μM から1 mM まで)の右心房筋に及ぼす変時・変力作用の変化を調べた。ニコチン300 μMでは18.9%の陰性変時作用および18.0%の陰性変力作用がみられた(Fig. 1 A)。1 mMではその作用は増強された(48.1%と54.3%)(Fig. 1 B)。Table 1にこれらの反応がまとめられている。右心房筋においては、変時作用および変力作用とも陽性変化はみられず、陰性変化の

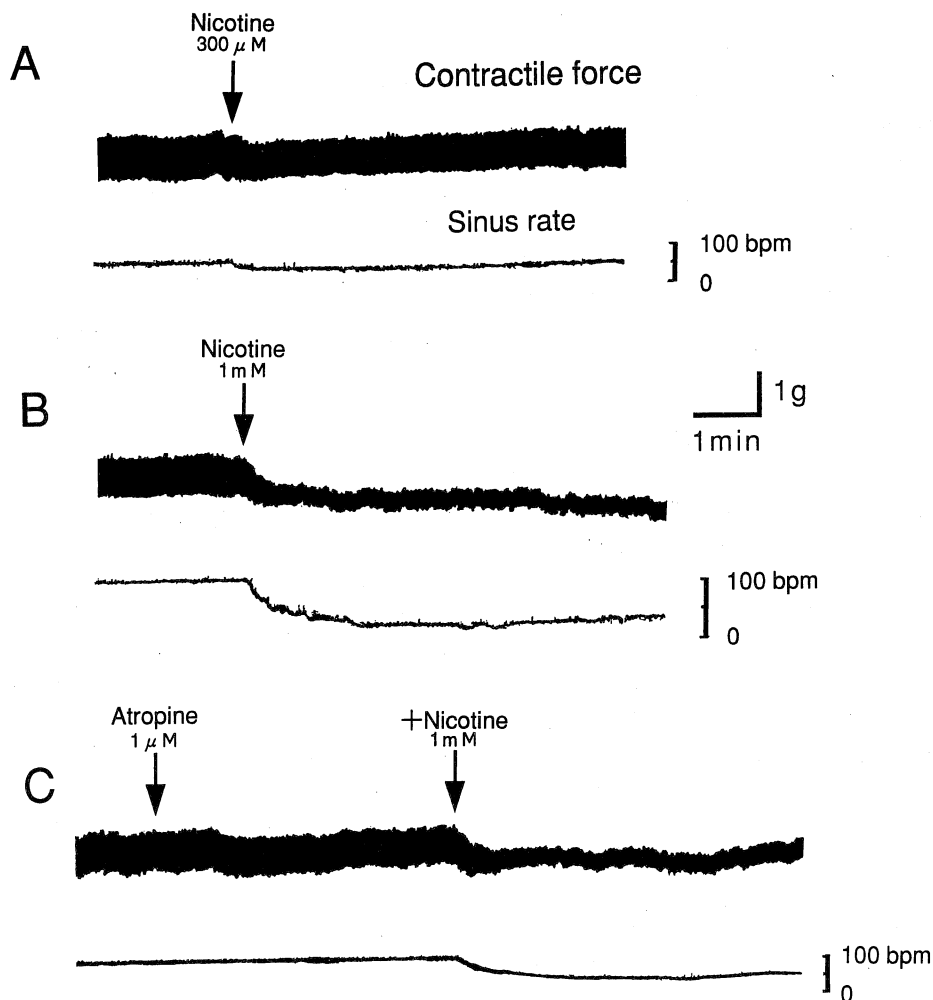


Fig. 1. Negative chronotropic and inotropic effects of nicotine in rat right atrial muscle. A : Contractile force and sinus rate recordings in 300 μ M nicotine. B : At 1 mM. C : Addition of nicotine (1 mM) in the pretreatment with atropine (1 μ m).

Table 1. Effects of nicotine on the sinus rate and the contractile force in rat right and left atrial muscles

n	Right atrial muscle		Left atrial muscle			
	Sinus rate	Contractile force	1 Hz Contractile force	2 Hz Contractile force	3 Hz Contractile force	
Control	7	229.6 \pm 14.6 bpm	1.1 \pm 0.1 g	0.5 \pm 0.2 g	0.6 \pm 0.2 g	0.7 \pm 0.2 g
Nicotine						
30 μ M	7	-1.9 \pm 1.8	2.1 \pm 0.6	-1.6 \pm 1.3	1.2 \pm 0.9	3.4 \pm 1.1
100 μ M	7	-8.4 \pm 1.5	-6.9 \pm 3.3	-9.8 \pm 2.3***	-9.1 \pm 2.0***	-7.0 \pm 1.8**
300 μ M	6	-18.9 \pm 2.8*	-18.0 \pm 4.0**	-15.7 \pm 2.6***	-18.3 \pm 4.2***	-11.7 \pm 2.0***
1 mM	7	-48.1 \pm 6.2***	-54.3 \pm 4.3***a	-42.5 \pm 1.8***	-38.6 \pm 5.8***	-31.3 \pm 5.0***

Values (%) represent mean \pm SEM.

bpm : beats/min. n : number of rats.

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$, with respect to control value.

a : $P < 0.01$, as compared between the effects at 3 Hz in right and left atrial muscles.

みであった。ニコチンの右心房筋に及ぼす陰性変時作用は濃度依存的に増強され、300 μM と 1 mM 投与では $-18.9 \pm 2.8\%$ ($n=6$, $P<0.05$) と $-48.1 \pm 6.2\%$ ($n=7$, $P<0.001$) で有意な抑制を受けた。また、陰性変力作用も濃度依存的に増強され、投与量 300 μM と 1 mM においては対照値に比較して有意な低下を示した [$-18.0 \pm 4.0\%$ ($n=6$, $P=0.01$) と、 $-54.3 \pm 4.3\%$ ($n=7$, $P<0.001$)]。Fig. 1 C に示すように、アセチルコリンのムスカリン受容体(迷走神経)拮抗薬であるアトロピンの前処置によりニコチンの陰性変時・変力作用は影響を受けなかった。これらのデータは Table 2 に統計

的に解析している。

ニコチン投与後の陰性変時作用の発現時間を調べるために Fig. 2A に投与後の変化を時間軸にプロットした。300 μM と 1 mM では投与 30 秒後にすでに有意な陰性変化を示し、ピークは 1 分後であった。この変化は 5 分後の時点でも維持される傾向にあった。Washout 後完全に回復するには 300 μM で約 15 分、1 mM で約 35 分を要した。一方、陰性変力作用の発現時間について検討すると、300 μM と 1 mM では投与 30 秒後に同様に有意な陰性変化を示した(Fig. 2B)。ピークは 300 μM では 30 秒後に、1 mM では 1 分後に現われた。陰性変力作用

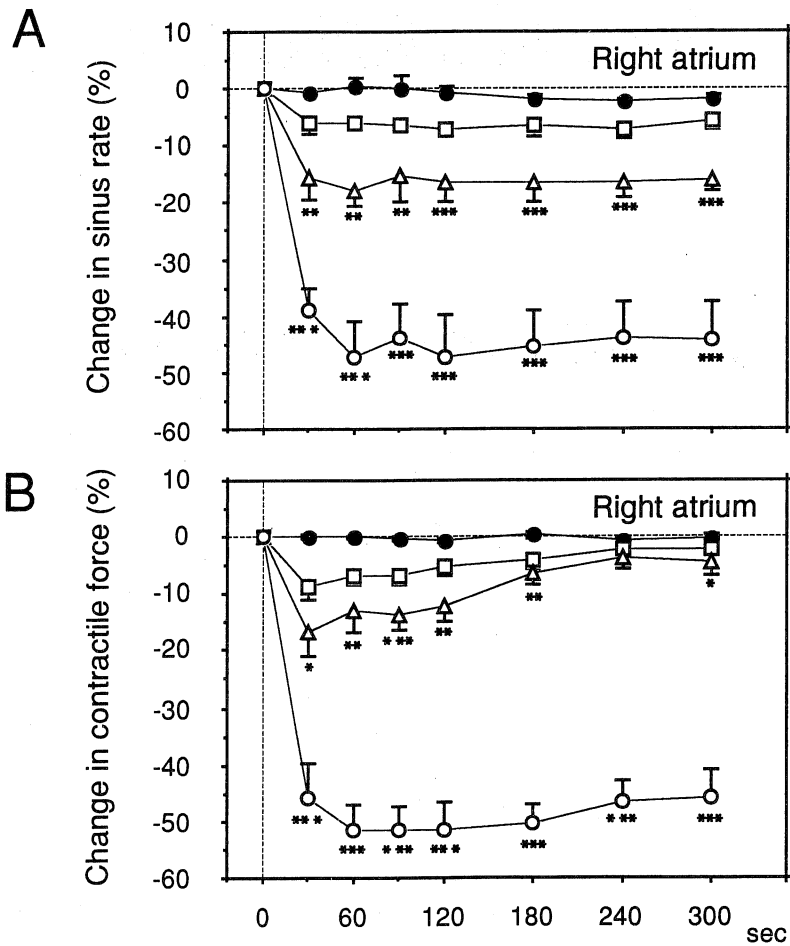


Fig. 2. Time-dependent changes after nicotine administrations in rat right atrial muscle.

A : Negative chronotropic effects at different concentrations (30 μM to 1 mM). B : Negative inotropic effects at different concentrations. Symbols used are 30 μM (filled circles), 100 μM (squares), 300 μM (triangles), and 1 mM (open circles). Values represent mean \pm SEM. * : $P<0.05$, ** : $P<0.01$, *** $P<0.001$, with respect to control value.

Table 2. Effects of nicotine on the sinus rate and the contractile force in rat right atrial muscle in the absence and presence of atropine

	n	Right atrial muscle	
		Sinus rate	Contractile force
Control	7	229.6±14.6 bpm	1.10±0.1 g
Nicotine (1 mM) alone	7	-38.6±1.5 %	-52.4±4.5 %
Nicotine (1 mM) + Atropine (1 μM)	6	-31.9±2.3 %	-52.6±2.7 %

Values represent mean ± SEM.
bpm : beats/min. n : number of rats.

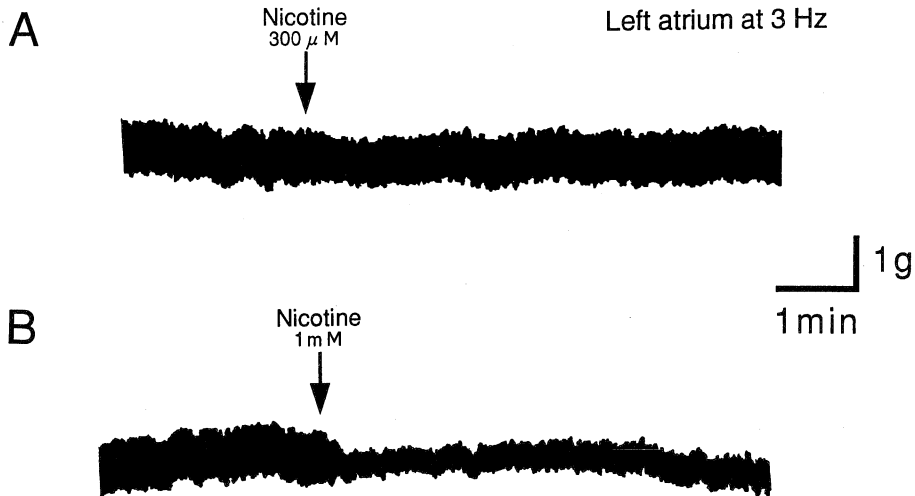


Fig. 3. Negative inotropic effects of nicotine in rat left atrial muscle. The preparation was driven at 3 Hz stimulation. A : Small depression of the contractile force induced by 300 μM nicotine. B : Inhibition induced by 1 mM nicotine application.

は、投与5分後でも有意な抑制が続いているが、投与後およそ2分過ぎから回復する傾向を示した。

2. 左心房筋に対するニコチンの変力作用と刺激頻度の影響

ニコチンが左心房筋へ及ぼす変力作用の変化を刺激頻度(1-3 Hz)を変えて調べた。Fig. 3では3 Hz刺激でのニコチン300 μMと1 mMの陰性変力作用(19.4%と50.4%)を示している。これらの変化をTable 1に集約した。左心房筋においては、1 Hz, 2 Hz, 3 Hzとも陰性の変力作用のみを示した。ニコチンの陰性変力作用(1 Hz刺激)は濃度依存的に増強され、投与量100 μM以上においては対照値に比べて有意な抑制を示した。この抑制は、刺激頻度を増しても(2-3 Hz)同様であった。また、刺激頻度を変化した場合、投与量100 μMと300 μMの場合は各頻度による抑制率はほとんど差はなかったものの、1 mMでは刺激頻度が高くなるにつれ、むしろ陰性変力作用は減弱する傾向にあった。

次に、ニコチン投与後の陰性変力作用の時間的変化について検討した(Fig. 4)。ニコチン投与量300 μMの場合は、刺激頻度1 Hzでは60秒後から120秒までは対照値に比較して有意な陰性変力作用を示したが、それ以後は回復する傾向を示した(Fig. 4A)。2 Hz刺激では60秒後にピークに達し有意な変化を示した。それ以後は回復する傾向を示した(Fig. 4B)。3 Hz刺激では投与後30秒で有意な陰性変力作用を示し、その反応は180秒まで維持された。また、ニコチン投与量1 mMの場合は、投与後60秒でピークに達し有意な陰性変力作用を起こした。この作用は徐々に回復するが、投与5分後でも有意な抑制効果が継続した。神経節遮断薬ヘキサメトニウム(1 mM)の前処置により左心房筋へのニコチンの陰性変力作用は影響を受けなかった(Table 3)。

3. ニコチンの左・右心房筋に及ぼす変力作用の比較

右心房筋は自動能を有する洞房結節と連結した特殊心房筋細胞であり、左心房筋とは神経支配が異なる。左・右

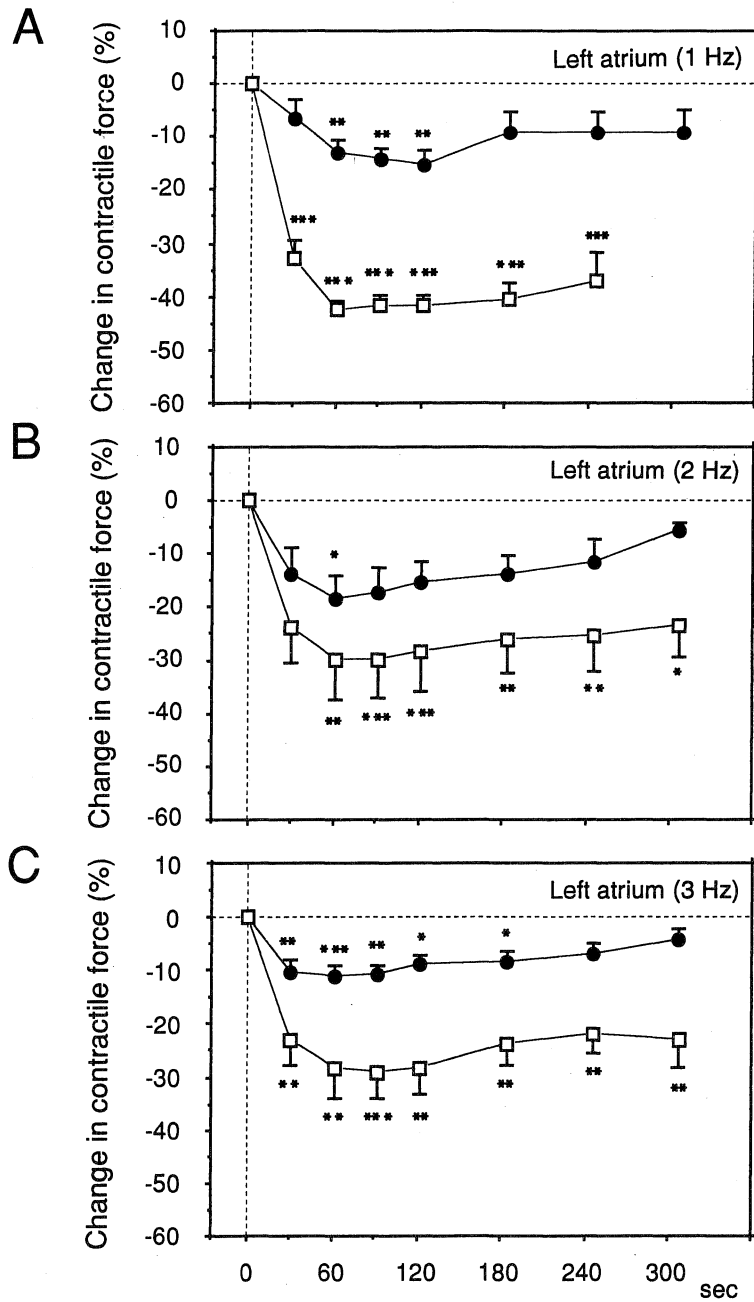


Fig. 4. Time-dependent changes after nicotine administrations in rat left atrial muscle. A: Negative inotropic effects at 1 Hz at different concentrations. B: Negative inotropic effects at 2 Hz. C: Negative inotropic effects at 3 Hz. Symbols used are 300 μ m (filled circles), and 1 mM (squares). Values represent mean \pm SEM. *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, with respect to control value.

Table 3. Effects of nicotine on the contractile force in rat left atrial muscle in the absence and presence of hexamethonium

	n	Left atrial muscle Contractile force
Control	7	0.50±0.2 g
Nicotine (1 mM) alone	7	-39.0±4.7 %
Nicotine (1 mM) + Hexamethonium (1 mM)	4	-52.5±6.0 %

Values represent mean ± SEM.

The left atrial muscle was constantly stimulated at 1 Hz.

n : number of rats.

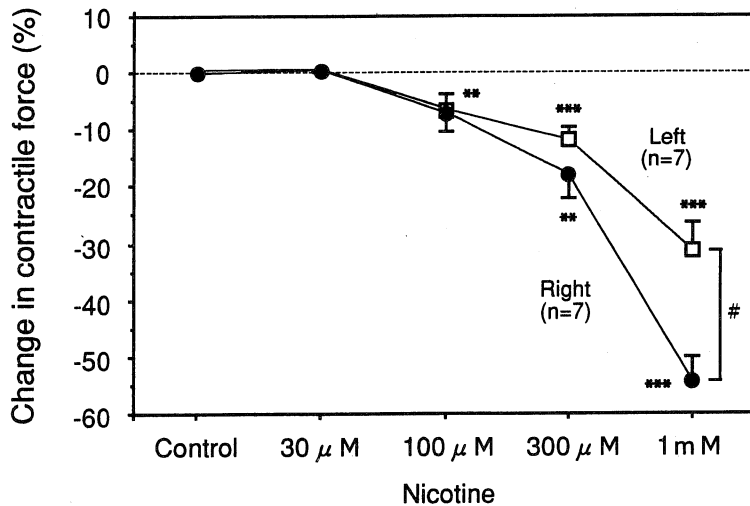


Fig. 5. Comparison between the negative inotropic effects of nicotine in rat right and left atrial muscles. Symbols used are right (filled circles) and left atrial (squares) muscles. Values represent mean ± SEM. #: $P < 0.01$, as compared between right and left atrial muscles. **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, with respect to control value.

心房筋に対するニコチン作用を比較するためには右心房筋の頻度に相当する刺激が必要とされる。そこで左心房筋への刺激頻度として 3 Hz を用い、右心房筋とのニコチン作用の比較検討を行なった。ニコチンによる左・右心房筋の変力作用の比較を Fig. 5 に示した。ニコチンの陰性変力作用は、右心房筋および左心房筋ともに濃度依存的に増強された。ニコチンが 30 μM , 100 μM , 300 μM のいずれの投与量でも左・右の心房筋間に有意な変力作用の差はなかったが、1 mM では左心房筋に比べて右心房筋でおよそ 23 % のより強力な陰性変力作用が起こり、有意差 ($P < 0.01$) が示された。

次に、ニコチン投与後の時間的变化について左・右心房筋を比較検討した。投与量 100 μM と 300 μM (Fig. 6 A-B) による陰性変力作用には左・右心房筋間に有意な差がなかったのに対して、ニコチン 1 mM では投与直後

(30 秒) から有意な差が観察された (Fig. 6 C)。投与後 5 分では徐々に回復する傾向にあるが、左・右心房筋間の陰性変力作用は有意に継続した。

4. ニコチンの単独投与と蓄積投与による心房筋変力作用の比較

ニコチンの左・右心房筋に及ぼす影響を単独投与の場合と蓄積投与をした場合とで比較検討した。右心房筋では単独投与と蓄積投与による陰性変力作用に有意な差は全くなかった (Fig. 7)。左心房筋の場合では、刺激頻度が 1 Hz でニコチン 100 μM 投与においてのみ有意な差がみられた (Fig. 8A)。他の刺激頻度での変力作用には投与方法の違いによる差は観察されなかった (Fig. 8B-C)。

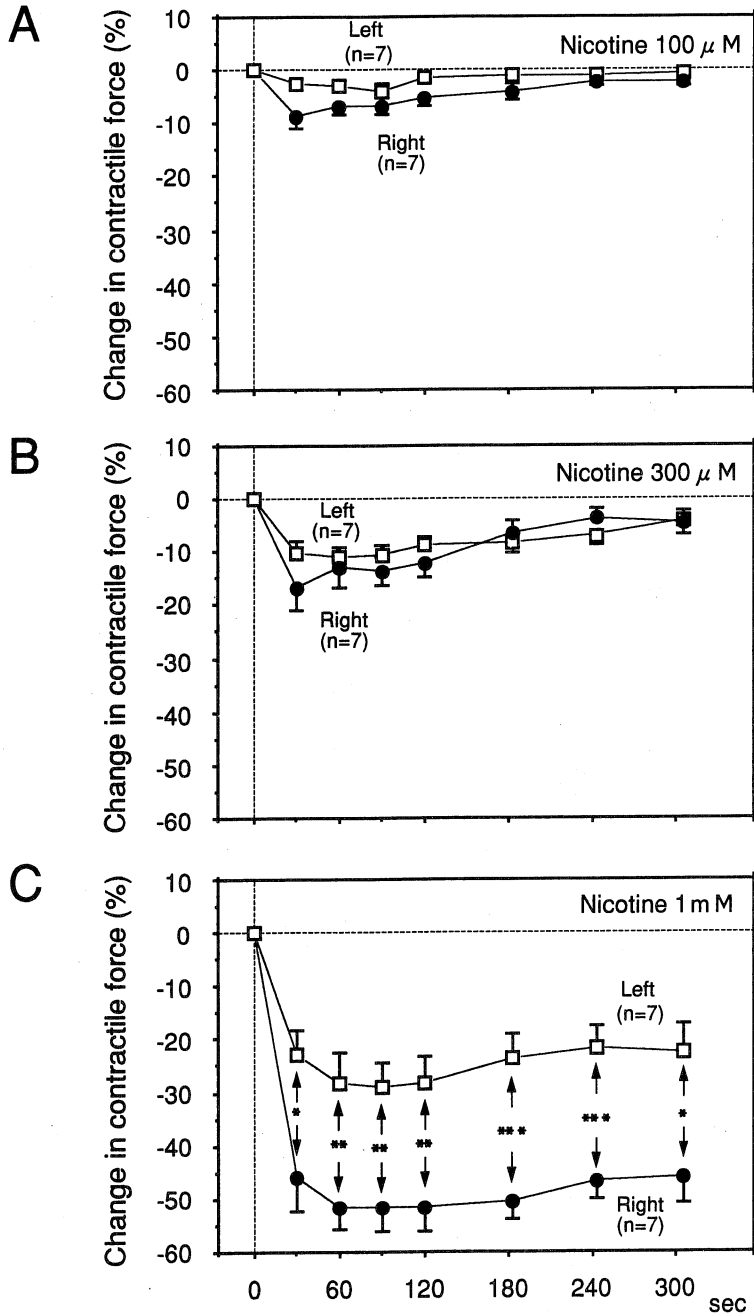


Fig. 6. Time-dependent changes in rat right and left atrial muscles by different concentrations of nicotine. A : 100 μ M nicotine. B : 300 μ M nicotine. C : 1 mM nicotine. Symbols used are right (filled circles) and left atrial (squares) muscles. Values represent mean \pm SEM. *P < 0.05, ** : P < 0.01, *** : P < 0.001, as compared between right and left atrial muscles.

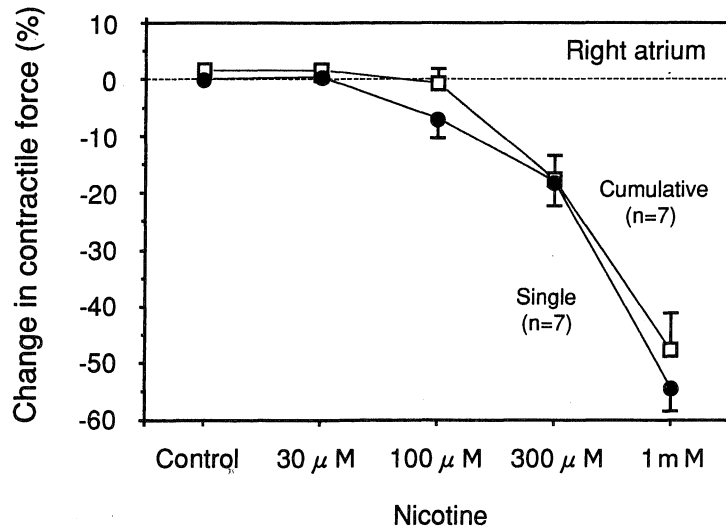


Fig. 7. Comparison between the negative inotropic effect by single and cumulative administrations of nicotine in right atrial muscle of rat. Values represent mean \pm SEM. Symbols used are single (filled circles) and cumulative (squares) administrations of nicotine.

考 察

ニコチンは心循環器に対しても直接的に作用しうるということが明かにされており、その機序については多くの推測を含めた報告がなされている。(1)交感神経節、副交感神経節、交感神経終末刺激による化学伝達物質遊離²⁰⁾、(2)心室筋細胞膜 Ca^{2+} チャネルへの直接作用¹⁴⁾、(3)心筋細胞内の Ca^{2+} 貯蔵部位への直接作用¹²⁾¹³⁾。それらの機序により、ニコチンが心筋細胞に作用して変時・変力作用を引き起こすことが考えられる。モルモット³⁾²⁸⁾、ウサギ⁴⁾、ネコ¹⁶⁾などでは、ニコチン投与によってNEの遊離作用が顕著であるという報告から、二次的に出現する陽性反応はNEを介して生じると考えられる。心房筋は交感神経よりも副交感神経支配が優勢であるため、ニコチンを投与すると最初に副交感神経筋への作用が大きく出現し、心拍数および収縮力の抑制を生じる。その後、交感神経節による作用が現われ、陽性反応が生じてくる。多くの哺乳動物の摘出心臓では、これが投与初期に陰性、のちに陽性の二相性変時・変力作用を示すことの理由と考えられる。しかし、高濃度のニコチンでは陰性作用のみが出現することから、NEの遊離は少なく心筋細胞にニコチンが直接的に作用することも推測される⁷⁾¹⁰⁾¹²⁾¹⁷⁾。実際に、ラット(Wistar系)の心臓ではニコチンによる³H-NEの遊離作用が極めて弱い⁸⁾、あるいは、ほとんどみられない²⁹⁾と報告されている。また、Sprague Dawley系

ラットでは、NEの遊離作用がみられなかったことから、交感神経終末にニコチン性受容体が存在しないと報告している²⁹⁾。このように、ラットではニコチンによる反応が他種の実験動物とは著しく異なるとともに、その系統による反応の違いも考えられる。本実験ではWistar系ラット(6-12 weeks)の雄だけを用いたが、ニコチンは陰性反応しか引き起こさなかった。以上のことから、Wistar系ラットの心臓におけるニコチン反応は、NE遊離作用が弱いため、概ね陰性変時・変力作用しか引き起こさないのではないかと考えられた。

陰性変時・変力作用の機序についてChiang & Leaders⁷⁾は、ラットにニコチンを投与すると心拍数を有意に低下させるが、収縮力は初期陰性後、のち陽性の二相性変力作用を示したと報告した。その陰性作用は神経節遮断薬ヘキサメトニウムによって拮抗されたことから、アセチルコリンの遊離を介した反応であることを示した。また、Carrylら⁸⁾は、ニコチンは二相性反応を示し初期の陰性反応はアトロピンの前処置により拮抗されたことからムスカリン受容体を介する作用であるとしたが、二次的な陽性反応のメカニズムについては不明であると報告した。本研究では、ニコチンは濃度依存的に陰性の変時・変力作用のみを示した。この陰性作用はアトロピンの前処置によって影響を受けなかった。ニコチン作用は神経節のニコチン受容体阻害薬であるヘキサメトニウムによっても拮抗されなかった。これは三須²⁰⁾の報告と一致し

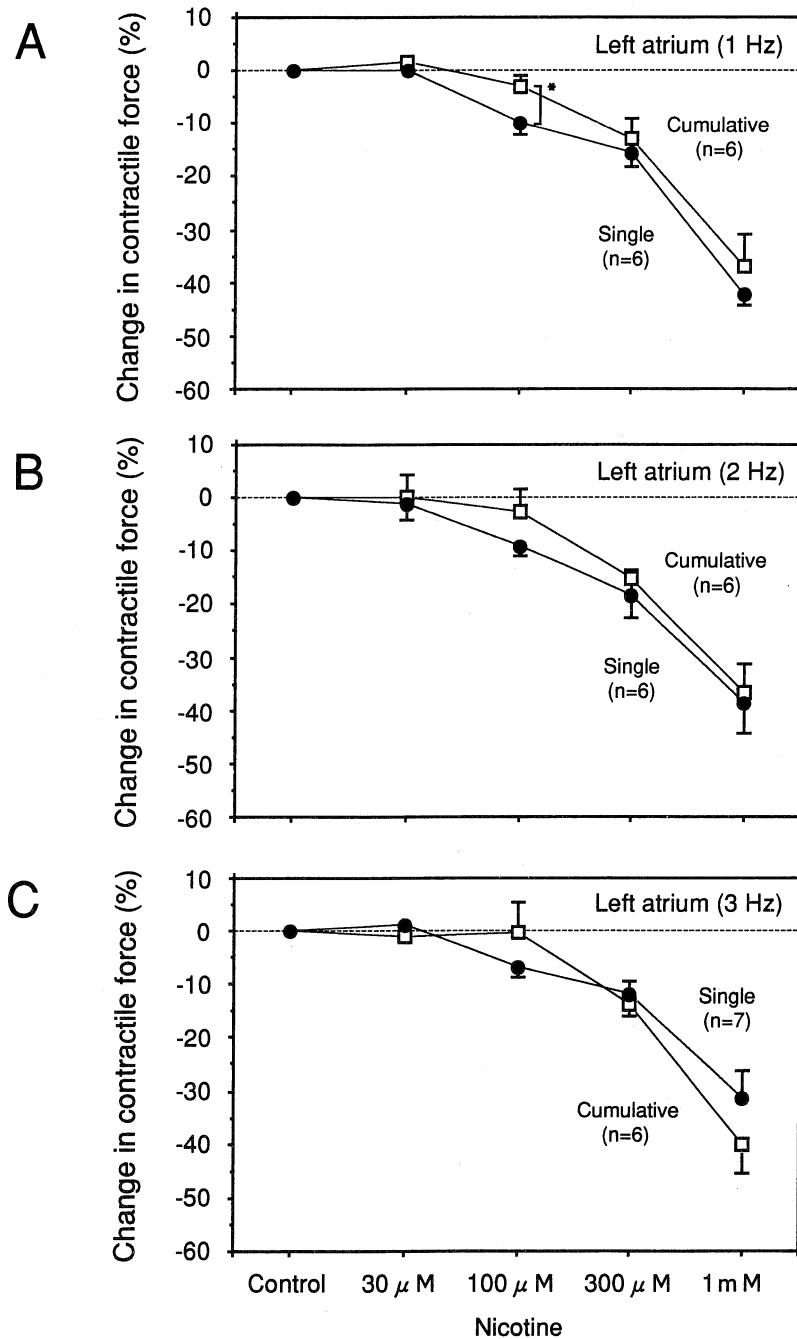


Fig. 8. Comparison between single and cumulative administrations of nicotine in left atrial muscle of rat. A : Negative inotropic effects of nicotine by the different administrations. The preparations were stimulated at 1 Hz. B : Negative inotropic effects at 2 Hz. C : Negative inotropic effects at 3 Hz. Symbols used are single administration (filled circles) and cumulative administration (squares). Values represent mean \pm SEM. * : $P < 0.05$, as compared between right and left atrial muscles.

ているが, Carryl ら⁶⁾と Chiang & Leaders⁷⁾の報告した内容と異なるものであった. その相違点は明確に説明できないが, 種差, 実験条件によるものかもしれない. 従って, 我々の実験における Wistar 系ラットの左・右心房筋では, ニコチンの陰性変力作用はアセチルコリンのニコチン受容体, ムスカリン受容体を介するものではなく, 心筋細胞およびペースメーカー細胞に直接作用することによって引き起こされたものと結論づけられる. 心筋細胞に対する作用としては, Na^+ チャネル, Ca^{2+} チャネルへの作用ばかりでなく, cAMP を介さずに抑制性の Gタンパク (G_i) が K^+ チャネルを開口する結果, 細胞内電位を過分極して心拍動を抑制した可能性も考えられている⁹⁾. この点に関しては, 我々の実験室にて現在電気生理学的に検討中である.

一般的に生理的な心拍数の範囲では刺激頻度が上がるとそれに応じて収縮力が増大する(陽性階段現象). この現象は哺乳動物に多くみられるが, ラットやイヌでは例外的に収縮力が減少することが知られている²²⁾. 刺激頻度が速くなるに従って, 陰性の変力作用を示す理由は, 筋小胞体での Ca^{2+} 取り込み部位から遊離部位への移動が間に合わなくなった結果, 筋小胞体からの Ca^{2+} 遊離量が減少したために生じたものと考えられている. 本研究のラット左心房筋では, 陰性階段現象は統計的に著明に現われなかった. これはニコチンの大量投与では, ラット心筋細胞への障害が大きく, 回復が遅かったり, 回復しない標本もあり, 実験条件毎に標本を交換した場合もあり, 同一標本での比較ではないためかもしれない.

左心房筋に対するニコチンの作用を刺激頻度を変えて比較した結果, 濃度依存的にその陰性効果を増大した. しかし, $100 \mu\text{M}$ から 1 mM では 1 Hz 刺激よりも $2-3 \text{ Hz}$ 刺激の方がその陰性作用は弱かった (Table 1 参照). ニコチン 1 mM では, 刺激頻度 ($1-3 \text{ Hz}$) が速くなるに従って陰性変力効果は約 $43\% \sim 31\%$ に抑えられる傾向を示した. これは, 細胞内 Ca^{2+} 濃度が過剰負荷 (Ca^{2+} overload) になったために発生したと考えてもよい.²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾ Ca^{2+} 過剰負荷状態では, 陰性階段現象が陽性に逆転するからである.

ニコチンの単独投与と蓄積投与では, 1 Hz で刺激した左心房筋の $100 \mu\text{M}$ での差を除いて大差はなかったので, ニコチンに対する耐性などの効果はないものと考えてよい. これは短時間 ($3 \sim 5$ 時間) の比較であるので, 長時間投与での耐性の出現は不明である.

自動能を有する右心房筋 (約 200 bpm) とその頻度に相当する刺激 (3 Hz) を与えた左心房筋でのニコチン作用の比較では, 左・右心房筋は同様に陰性変力作用を起

こすが, その作用はニコチン 1 mM においてのみ左・右心房筋間に有意な差が観察された. ニコチン $100 \mu\text{M}$, $300 \mu\text{M}$ では, 左・右心房筋間の作用に差がみられなかった. 左心房筋よりも右心房筋の方がより強い陰性変力作用がみられた (23%). ラットの左・右心房筋におけるムスカリン受容体の密度に差がなかったという報告¹⁸⁾もあるが, 左・右心房筋ともニコチンの抑制作用は上述のように心筋細胞への直接作用であると考えられる. 従って, 心筋細胞膜上のニコチン結合部位の数 (密度) に左・右差があるのではないかと推測される. また, 大量 (1 mM) 投与でしか有意差が現われないので, 左心房筋のその結合部位の感受性が右心房筋のそれと比較して低い可能性もある. この可能性は, 反応のピークに達するまでの時間が左心房筋の方が右心房筋に比べて 30 秒近く遅いことから十分に推測される. 左・右心房筋における交感・迷走神経支配やその神経節などの複雑な解剖学的・生理学的作用の違いによって生じた可能性もニコチンの直接作用といえども消去できない. さらに, 心筋細胞への直接作用として細胞内伝達系を含めた Ca^{2+} チャネルや Na^+ チャネルなどイオンチャネルへの作用も十分に推測され, 今後パッチクランプ法などの電気生理学的視点から, さらに検討することが必要であると思われる.

結 語

ニコチンの心筋作用について, ラット左・右心房筋を用いて心拍数と心筋収縮力を比較するとともに, 左心房筋では刺激頻度 ($1-3 \text{ Hz}$) を変えて検討した. 結果は以下のとおりである.

1. 右心房筋では, ニコチンは陰性変時・変力作用のみを示した. ニコチン ($30 \mu\text{M}$ から 1 mM) は濃度依存的にその陰性作用を増強した. 反応のピークは投与後 30 秒で起こり, 回復は非常に遅く 30 分近くを要した. ムスカリン受容体拮抗薬アトロピン ($1 \mu\text{M}$) の前処置によりニコチン作用は拮抗されなかったことから, 心筋細胞への直接作用によるものと考えられた.

2. 左心房筋では, ニコチンは右心房筋と同様に陰性変力作用のみを示した. その陰性変力作用は, 神経節遮断薬ヘキサメトニウム (1 mM) によって影響を受けなかった. 刺激頻度が速くなる ($1-3 \text{ Hz}$) に従って, 陰性変力作用は減弱する傾向を示した. 反応のピークは投与後 60 秒で回復は同様に遅かった.

3. 右心房筋と 3 Hz で刺激した左心房筋でニコチン作用を比較した結果, 左心房筋よりも右心房筋の方でより強い陰性変力作用がみられた.

4. ニコチンの単独投与と蓄積投与の比較では大差が

なかったことから、ニコチン作用に対する耐性などの効果は少ないものと考えられた。

5. 以上の結果から、ニコチンの心筋作用は、心筋細胞への直接作用であると考えられる。左・右心房筋での反応の違いは、心筋細胞膜のニコチン結合部位の密度および感受性に差があるためと考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご協力、ご助言をいただきました奈良県立医科大学薬理学教室諸兄に心より感謝いたします。また、この研究は一部喫煙科学研究財団からの研究助成によってなされた。

文 献

- 1) Bassett, A. L., Wiggins, J. R., Danilo, P. Jr., Nilsson, K. and Gelband, H. : Direct and indirect inotropic effects of nicotine on cat ventricular muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **188**: 148-156, 1974.
- 2) Bhagat, B. : Response of isolated guinea-pig atria to various ganglionsimulating agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **154**: 264-270, 1966.
- 3) Blinks, J. R. : Field stimulation as a means of effecting the graded release of autonomic transmitters in isolated heart muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **151**: 221-235, 1966.
- 4) Burn, J. H. and Rand, W. J. : Action of nicotine on the heart. *Br. Med. J.* **1**: 137-139, 1958.
- 5) Carryl, O. R., Gallardo-Carpentier, A. and Carpentier, R. G. : Effects of nicotine (NIC) and ethanol (E) on the sinus node (SN). *FASEB J.* **2**: A 930, 1988.
- 6) Carryl, O. R., Gallardo-Carpentier, A. and Carpentier, R. G. : Cardiac chronotropic effects of nicotine and ethanol in the rat. *Alcohol* **8**: 103-107, 1991.
- 7) Chiang, T. S. and Leaders, F. E. : Mechanism of the secondary positive effect of nicotine in rat atria. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **172**: 333-346, 1968.
- 8) Fuder, H., Siebenborn, R. and Muscholl, E. : Nicotine receptors do not modulate the ³H-noradrenaline release from the isolated rat heart evoked by sympathetic nerve stimulation. *Naunyn-Schmiederg's Arch. Pharmacol.* **318**: 301-307, 1982.
- 9) 後藤秀樹 : 神経と化学伝達. 東京大学出版会, 東京, p91-109, 1988.
- 10) Gross, E. G., Whitacre, T. S. and Long, L. P. : Comparative studies of atrial responses following nicotine and transatrial stimulation. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **166**: 273-280, 1967.
- 11) Hoffmann, F., Hoffmann, E. J., Middleton, S. and Talesnik, J. : The stimulating effect of acetylcholine on the mammalian heart ; the liberation of an epinephrine-like substance by the isolated heart. *Am. J. Physiol.* **144**: 189-198, 1945.
- 12) Iwakura, K., Miyakoda, G., Iwai, K., Goto, K., Sato, H. and Kamada, T. : Positive inotropic effect of nicotine through enhanced intracellular Ca²⁺ release. *Circulation* **78**: II-37, 1988.
- 13) 北島 颯, 岩倉克臣, 阿部 裕 : 喫煙の循環生理に与える影響. *最新医学* **44**: 1371-1376, 1989.
- 14) Koley, J., Saha, J. K. and Koley, B. : The role of calcium channel in the effect of nicotine on contractility in isolated toad ventricle. *Naunyn-Schmiederg's Arch. Pharmacol.* **335**: 86-90, 1987.
- 15) Kottogoda, S. R. : Stimulation of isolated rabbit auricles by substances which stimulate ganglia. *Br. J. Pharmacol.* **8**: 83-86, 1953.
- 16) Lee, W. C. and Shideman, F. E. : Mechanism of the positive inotropic response to certain ganglionic stimulants. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **126**: 239-249, 1959.
- 17) Loffelholz, K. : Autoinhibition of nicotinic release of noradrenaline from postganglionic sympathetic nerves. *Naunyn-Schmiederg's Arch. Pharmacol.* **267**: 49-63, 1970.
- 18) Maxwell, D. M., Thomsen, R. H. and Baskin, S. I. : Species differences in the negative inotropic effect of acetylcholine and soman in rat, guinea pig, and rabbit heart. *Comp. Biochem. Physiol.* **100C**: 591-595, 1991.
- 19) Misu, Y. and Kirpekar, S. M. : Effects of vagal and sympathetic nerve stimulation on the isolated atria of the cat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **163**: 330-342, 1968.
- 20) 三須良実, 久保孝夫, 村松郁延, 藤原元始 : ニコチンと末梢性心血管系調節機構, *医学のあゆみ* **133**: 573-583, 1985.

- 21) 中西弘則, 藤原元始: 喫煙とニコチンの薬理. 最新医学 44: 1352-1358, 1989.
- 22) 中谷晴昭: 心臓の興奮収縮連関「不整脈のしくみと治療薬の働き」. 菅野盛夫, 西 勝英 橋本敬太郎編, 金原出版, 東京, p99-101, 1987.
- 23) Pappano, A. J. : Biphasic effect of nicotine on action potential repolarization in electrically driven guinea-pig atria. J. Pharmacol. Exp. Ther. 172: 255-265, 1970.
- 24) Rebertson, D., Tseng, C. J. and Appalsamy, M. : Smoking and mechanism of cardiovascular control. Am. Heart. J. 115: 258-263, 1988.
- 25) Satoh, H., Nakashima, T. and Tsuchida, K. : The responses to phorbol esters which stimulated protein kinase C in canine purkinje fibers. Gen. Pharmacol. 23: 847-852, 1992.
- 26) Satoh, H., Tsuchida, K., Kaneko, K. and Otomo, S. : Comparative mechanical and electrical actions of A 23187 and X-537 A in canine purkinje fibers. Gen. Pharmacol. 23: 1103-1109, 1992.
- 27) Satoh, H. : Positive and negative chronotropic effects of caffeine in spontaneously beating rabbit sino-atrial node cell. Gen. Pharmacol. 24: 1223-1230, 1993.
- 28) Westfall, T. C. and Brasted, M. : The mechanism of action of nicotine on adrenergic neurons in the perfused guinea-pig heart. J. Pharmacol. Exp. Ther. 182: 409-418, 1972.
- 29) Westfall, T. C. and Saunders, J. : Absence of nicotine receptors mediating the release of nor-epinephrine from adrenergic neurons in the rat heart. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 156: 476-479, 1977.