

3 虚血性心疾患

薬理作用と病態

はじめに

虚血性心疾患の治療は、冠動脈形成術の登場とともに劇的な変化を遂げた。冠動脈形成術が登場する前は、狭心症や心筋梗塞に対する治療は冠動脈の器質的狭窄を軽減する目的で、硝酸薬に代表される冠動脈拡張薬が主に使用された。それらに加えて、心筋虚血軽減効果を有するβ遮断薬が併用されることが多かった。これらの薬物治療で症状がコントロールできない場合は、冠動脈バイパス術による手術療法が行われていた。現在は、薬剤溶出性ステントなどによる冠動脈形成術が狭心症や心筋梗塞患者に対する治療の第一選択となり、冠動脈拡張薬やβ遮断薬などによる薬物療法の必要性が低下している。しかしながら、β遮断薬は長期予後改善効果が期待されることから、心筋梗塞患者における必要な薬物療法と考えられている。

分類

病態と治療

E B M

併用療法

症例の実例

留意点

梗塞サイズ縮小効果や心室性不整脈抑制効果などが期待される。一方、慢性期におけるβ遮断薬の有効性は、さまざまなメカニズムの関与が示唆されており、抗心筋虚血効果、再梗塞予防効果、心臓リモデリング抑制効果、抗不整脈作用などが挙げられる¹⁾。イヌの心筋梗塞モデルを用いたわれわれの検討からも、β遮断薬(カルベジロール)の急性期投与により、心筋梗塞サイズ縮小効果が60%も得られることがわかった²⁾(図1)。図1にあるように、われわれの検討ではβ遮断薬の薬理効果にアデノシンを介した心血管保護作用がオーバーラップする。また、β遮断薬(カルベジロール)のほかの薬剤にはない顕著な特徴として、再灌流時に認められる心室性不整脈の著明な抑制効果であった(図2)。このように、β遮断薬はさまざまな薬理作用により、心筋梗塞患者にとって急性期から慢性期へと有効性が期待される薬剤である。

1965年にSnowらが、初めて急性心筋梗塞患者に對す

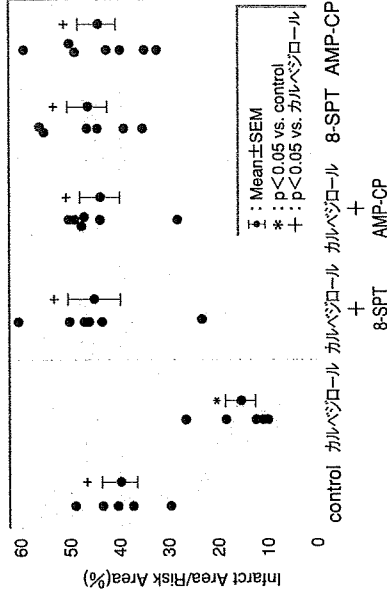


図1 カルベジロールの心筋梗塞サイズ縮小効果
8-SPT: アデノシン受容体拮抗薬, AMP-CP: アデノシン産生酵素阻害薬。
(文献2より引用)

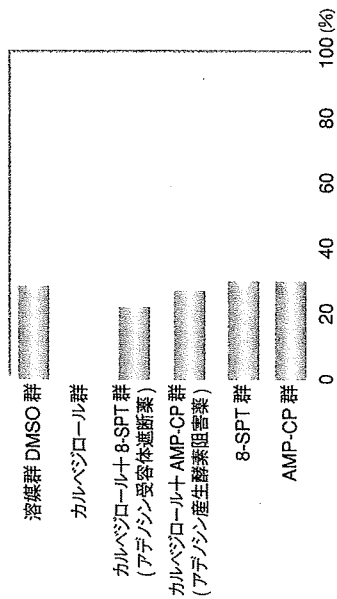


図2 β遮断薬による再灌流時における致死性不整脈抑制作用
(文献2より作成)

るβ遮断薬(プロプラノロール)の急性期投与により急性心筋梗塞患者における院内予後を改善することを報告した。その報告後、急性心筋梗塞患者に対するβ遮断薬の有効性を検討した臨床試験(Norwegian Multicenter Study, β-blocker heart attack trial, MIAMI trial)が次々に施行された。ISIS-1試験では、急性期からβ遮断薬(アテノロール)を投与することにより、心筋梗塞患者の予後が改善するかを検討した³⁾。β遮断薬の静注および1週間の内服により、梗塞発症後1週間の心血管死亡が15%減少した。この心血管死亡の減少効果は梗塞発症後1年間までは認められた。さらに、これらの臨床試験のメタアナリシスがなされ、心筋梗塞患者のβ遮断薬投与により総死亡を20%近く低下させることが明らかとなった。急性心筋梗塞に対する再灌流療法が登場するまでは、β遮断薬は心筋梗塞患者の二次予防効果を期待した重要な薬剤であった。

血栓溶解療法や冠動脈形成術などの再灌流療法が急性心筋梗塞患者に行われるようになり、急性心筋梗塞患者の予後は劇的に改善した。これらの再灌流療法による予後改善効果に加えて、β遮断薬の有効性が認められるかどうかは

まだ不明であり、これらの疑問を明らかにするために、いくつかの臨床試験が行われた。

TIMI II-B試験では、胸痛発症後4時間以内に血栓溶解療法を施行された急性心筋梗塞患者を対象に、β遮断薬(メトプロロール)を急性期から投与する群と発症6日後から投与する群と比較検討した⁴⁾。一次エンドポイントである退院時の左室駆出率は両群で変化が認められなかった。また、1年後の死亡および再梗塞などの心血管イベントの発現率も両群で差は認められなかった。ただし、低リスク患者においては、β遮断薬を急性期から投与した群では発症6週間の死亡例は認められなかったが、β遮断薬を第6病日から投与した群では、死亡例が7例認められた。また、再梗塞発現率は発症6週間後までは急性期投与群で低かったが、1年後にはその差は認められなくなった。うっ血性心不全の新規発症に関しては、急性期からβ遮断薬を投与した群に多い傾向にあったが有意差は認められなかった。同様の解析が、GUSTO-Iのサブ解析で行われ、30日後の死亡率はβ遮断薬(アテノロール)投与群で低いことが報告された⁵⁾。しかしながら、急性期にβ遮断薬の静注療法を行うことにより、心不全の発症、ショック、徐脈によるペースメーカー導入が増大することが指摘された。そのため、GUSTO-Iのサブ解析の結論として、β遮断薬の開始時期は、心筋梗塞後安定した時期から開始することが望ましいと結論づけられている。

最近、血栓溶解療法におけるβ遮断薬の効果を検討した4万例を超える心筋梗塞患者を対象にしたCOMMIT試験が発表された⁶⁾。発症24時間以内に急性心筋梗塞が疑われた45,852例に対して、割付直後よりβ遮断薬(メトプロロール)の静脈内投与と、それに引き続き28日間のβ遮断薬の内服投与が行われた。その結果、β遮断薬投与群においてプラセボ群と比較して、心血管イベントおよび総死亡のリスク軽減効果は認められなかった。再梗塞および心室

病態と治療

病態と治療

E B M

併用療法

症例の実際 標準上の治療

細動は、β遮断薬投与群で有意に軽減したが、心不全、心原性ショック、徐脈、血圧低下などのイベントは、β遮断薬投与群で逆に増加していた。心原性ショックの増加は、発症日から翌日にかけてみられたのに対して、再梗塞および心室細動の軽減作用はそれ以降に認められた。心筋梗塞に対するβ遮断薬療法は、血行動態が安定した段階からの投与が望ましいと結論づけられ、これはGUSTO-Iの結果と一致した内容であった。これらの結果から、血栓溶解療法を受けた急性心筋梗塞患者において、β遮断薬投与は有効であることが示唆されるが、超急性期から投与するのではなく、血行動態が安定した段階からの投与が望ましいと現段階では考えられる。

急性心筋梗塞発症から3～21日(平均10日以内)の患者を対象にβ遮断薬(カルベジロール)の有効性を検討したCAPRICORN試験が報告された⁷⁾。本試験の対象患者は、急性心筋梗塞発症後に左室機能低下(左室駆出率40%以下)を有し、ACE阻害薬の投与を48時間以上投与を受けている心筋梗塞患者であった。その結果、β遮断薬(カル

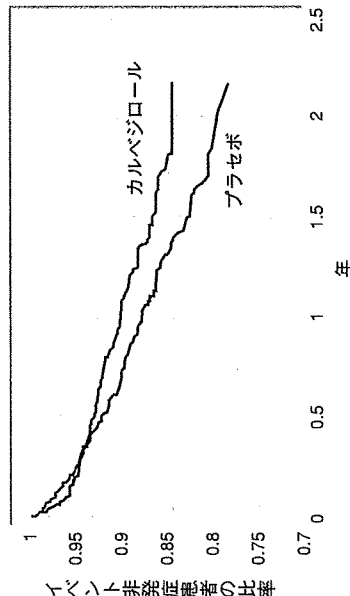


図3 β遮断薬投与による心筋梗塞患者の長期予後改善効果 (文献7より引用)

病態と治療

ベジロール)投与により、総死亡が23%減少することが明らかとなった。この結果は再灌流療法時代において、β遮断薬投与により長期の生存率を改善させたことを明らかにした初めての試験結果であった(図3)。さらに、β遮断薬(カルベジロール)投与により主要冠動脈イベントの発生も減少させることが明らかになった。この結果は、GUSTO-I試験やCOMMIT試験の結果とも矛盾せず、亜急性期以降にβ遮断薬を投与する有用性が明らかとなった。本試験では、対象疾患が発症後3～21日と幅が広く、今後はもう少し少し投与開始時期を狭めることにより、β遮断薬の効果がよりはっきりすることが期待される。また、これらの試験の多くは、primary PCIの症例が含まれていないことに注意する必要がある。日本における再灌流療法は、primary PCIからprimary stentingの時代に入っており、これらの結果を一概に現在の日本の臨床に外挿することは難しい。primary PCIを受けた急性心筋梗塞患者を対象にした臨床試験の結果はまだ少ない。CADILLAC試験のサブ解析として、primary PCIを受けた急性心筋梗塞患者におけるPCI施行前からのβ遮断薬投与の効果を検討した結果が報告された⁸⁾。30日後の死亡率においてはβ遮断薬静注効果が得られていたが、1年後においてもその傾向は認められるも有意差は得られなかった。また、この有益な効果は、発症前に経口β遮断薬投与を受けていなかった急性心筋梗塞患者に制限された結果であった。このように、primary PCIを受けた心筋梗塞患者におけるβ遮断薬の有益な効果はまだ確立されていない。血栓溶解療法での効果に近いことが推察され、現時点においては、血行動態が安定した時期からのβ遮断薬の投与が一番望ましいものと思われるが、今後の詳細な検討が必要である。

薬理作用と効果

分類

病態と治療

EBM

併用療法

症例の実際

備上の注意

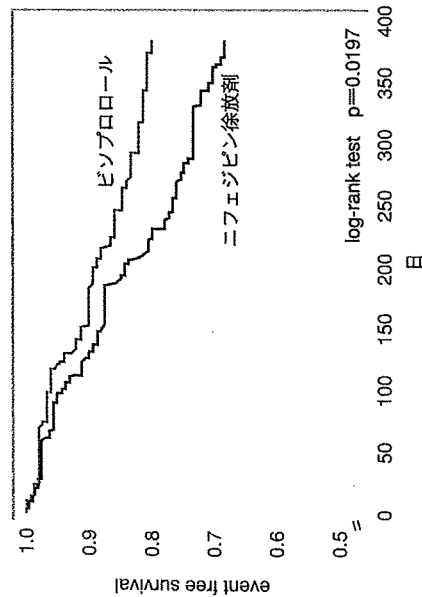


図4 安定労作性狭心症におけるβ遮断薬の有用性
(文献9より引用)

2 狭心症

労作性狭心症は、冠動脈の器質的狭窄のため、運動負荷時に心拍数や心拍出量増加に伴う心筋酸素消費量増大に見合うだけの冠血流量の供給が得られないために、心筋虚血による狭心痛が生じる。本症状を改善するためには、冠動脈拡張作用による冠動脈の器質的狭窄を軽減する硝酸薬、Ca拮抗薬、ニコランジルなどが有用であることは明らかである。一方、心筋虚血を改善する別の方策として、心筋酸素消費量を軽減させることを目的としたβ遮断薬による治療が行われる。β遮断薬は抗不整脈作用も有しており、硝酸薬やCa拮抗薬などは異なった作用機序による狭心症薬である。また、狭心症患者のβ遮断薬投与は、狭心症状改善の目的だけでなく、長期予後改善効果が得られることも明らかとなっている。安定労作性狭心症患者320例に対して、β遮断薬(ビソプロロール)とCa拮抗薬(ニフェジピン徐放剤)を比較したTIBBS試験では、虚血性イベントの発症は、Ca拮抗薬よりβ遮断薬(ビソプロロー

ル)で有意に抑制されることが報告された(図4)⁹⁾。このように、安定労作性狭心症においては、β遮断薬は有効な薬剤であるが、注意が必要なのは、日本人においては狭心症発作に冠攣縮が関与する割合が高いことである。労作性狭心症患者に冠攣縮が合併することも多く、β遮断薬投与により、冠攣縮を増悪させ、狭心症発作を増悪させることがある。そのため、狭心症に対してβ遮断薬を使用する場合には、冠血管拡張薬と併用することが多い。

不安定狭心症は、急性冠症候群を構成する疾患であり、冠動脈内粥腫の破綻による血栓形成が冠動脈を不完全閉塞することにより発症する。そのため、不安定狭心症に対する標準治療は冠動脈形成術が主体となっている。しかし、冠動脈形成術などの治療が何らかの理由で行えない場合には、薬物療法で経過観察することとなる。その際の薬物療法は抗血栓療法が最重要であるが、それに加えて安定労作性狭心症に準じた治療法が行われる。すなわち、冠動脈拡張薬およびβ遮断薬による治療である。不安定狭心症に対するβ遮断薬の効果は、心筋虚血軽減作用に加えて、カタコラミンによる不整脈誘発や血栓形成の抑制作用が考えられる。β遮断薬は、冠攣縮性狭心症には用いないのが一般的である。

おわりに

虚血性心疾患に対するβ遮断薬療法は有効な治療法である。しかし、冠動脈形成術の登場により予後が改善した現時点において、その効果をはっきりと示した臨床試験はまだまだ少ない。今後の検討が待たれるところである。

朝倉正紀

(国立循環器病センター臨床研究開発部臨床部門)

北風政史

(国立循環器病センター心臓血管内科・臨床研究開発部)

虚血性心疾患

EBM

併用療法

症例の実際

薬上の注意

●References

- 1) 吉川 勉：心筋梗塞の二次予防：慢性期薬物療法：β遮断薬とCa拮抗薬。新目でみる循環器病シリーズ10心筋梗塞症（吉野秀明 編），メジカルビュー社。東京，2007，p.286
- 2) Asanuma H, Minamino T, Sanada S et al：β-adrenoceptor blocker carvedilol provides cardioprotection via an adenosine-dependent mechanism in ischemic canine hearts. *Circulation* 109：2773-2779, 2004
- 3) Randomised trial of intravenous atenolol among 16027 cases of suspected acute myocardial infarction. ISIS-1. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. *Lancet* 2：57-66, 1986
- 4) Roberts R, Rogers WJ, Mueller HS：Immediate versus deferred β-blockade following thrombolytic therapy in patients with acute myocardial infarction. Results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) II-B study. *Circulation* 83：422-437, 1991
- 5) Pfisterer M, Cox JL, Grainger CB et al：Atenolol use and clinical outcomes after thrombolysis for acute myocardial infarction：the GUSTO-I experience. Global Utilization of Streptokinase and TPA (alteplase) for Occluded Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol* 32：634-640, 1998
- 6) Chen ZM, Pan HC, Chen YP et al：Early intravenous then oral metoprolol in 45,852 patients with acute myocardial infarction：randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 366：1622-1632, 2005
- 7) Dargie HJ：Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction：the CAPRICORN randomised trial. *Lancet* 357：1385-1390, 2001
- 8) Halkin A, Grimes CL, Cox DA et al：Impact of intravenous β-blockade before primary angioplasty on survival in patients undergoing mechanical reperfusion therapy for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 19：1780-1787, 2004
- 9) von Arnim T：Prognostic significance of transient ischemic episodes：response to treatment shows improved prognosis. Results of the Total Ischemic Burden Bisoprolol Study (TIBBS) follow-up. *J Am Coll Cardiol* 28：20-24, 1996

薬理作用

分類

療養と治療

E B M

併用療法

症例の実際

標準と治療

処方の実際

虚血性心疾患薬物療法

処方例

β遮断薬の禁忌項目（高度徐脈、房室ブロック、低血圧など）を有していない虚血性心疾患患者に対して、ピソプロロール（メインテート®）2.5～5mg（1日1回）、アテジロール（アーチノミン®）25～50mg（1日1回）、カルベジロール（アーチスト®）5～20mg（1日1回）などを血圧、脈拍などをみながら増減する。

注意事項

β遮断薬を投与することにより、冠動脈攣縮を惹起することがあることに注意する。また、β遮断薬を突然中止すると、さまざまな症状（リバウンド現象：高血圧、不整脈など）が出現することがあるので、患者に伝えておくこと。

療養と治療

2 循環器系の身体所見

はじめに

身体所見は、視診、聴診、打診、触診に大別される。BNP などによる液性因子の血中レベルの測定、心臓超音波法および心臓核医学などによる診断技術が画期的な進歩をした今日でも、問診ならびに身体所見の観察の重要性は変わらない。

1 外観所見と精神機能

問診を行いながらでも、姿勢や表情、意識状態などを把握することで、緊急性や心不全の重症度のある程度把握することが可能である。

a) 体格

心不全の罹患期間が長くなると、るい瘦（悪液質 cardiac cachexia）を呈することがある。

b) 顔貌

苦悶様顔貌、口唇チアノーゼ、眼瞼浮腫の有無を確認する。

c) 意識および精神状態

高度の低心拍出状態では、脳血流量が低下することにより、不穏や意識レベル低下をきたすことがある。意識レベル低下を認めれば、Japan Coma Scale や Glasgow Coma Scale による評価を行う。

d) 姿勢

心不全により呼吸状態が悪化すると、臥位をとることができず、机にうつぶせになったり、ベッドの上で座位になる（起坐呼吸）。この時、無理に臥位をとらせたり、心電図や胸部 X 線撮影目的でベッド水平にすると心停止に至ることもあるので、注意を要する。

e) 呼吸

心不全により肺うっ血が生じると、頻呼吸（20 回/分以上）や努力呼吸を呈し、重症例では、喘鳴や冷汗を伴う。また数秒から数十秒の無呼吸→過呼吸→減呼吸→無呼吸を周期的に繰り返す（Cheyne-Stokes）呼吸が認められることもある。

f) 頸静脈怒張および浮腫

座位の状態では、通常、頸静脈怒張は認められないが、右心不全症例では、頸静脈怒張が認められるようになる。また、右心不全症例では、下肢の浮腫を呈するようになる。下肢の浮腫は足背から出現しはじめ、増悪するにつれて下腿、大腿へと進行する。なお、長期臥床患者においては、大腿や体幹背側に浮腫が認められる。心不全による浮腫は、重力のかかる部位に左右対称に生じ、指で圧迫すると容易に圧痕ができるのが特徴である。浮腫が認められる場合、最低でも 3l 程度の組織間質液の増加が考えられる。

g) 黄疸

肝うっ血により、肝機能障害をきたし、時には黄疸を生じることがある。そのような患者では、皮膚や眼球結膜の黄染が認められる。

h) 貧血

近年、心血管危険因子として慢性腎臓病 chronic kidney disease (CKD) が注目されており、両者の病態には共通点が少なからず存在することが指摘されている (心腎連関)。腎性貧血は CKD ステージ 3 程度の比較的早期の段階で発症し、さらに貧血が CKD の要因となる。Silverberg らは、CKD-貧血-慢性心不全がお互いに悪影響を及ぼし、悪循環を形成する cardio-renal anemia (CRA) 症候群という新しい概念を提唱した¹⁾。心不全症例において貧血を合併している割合は、15～60%と幅広い報告があるが、心不全の重症化に伴い、貧血の合併頻度も高率となる。これらのことから、眼瞼結膜で貧血の有無を確認することも重要と考えられる。

i) ばち指 clubbed finger

爪床部を中心とした線維組織の増生により、指の先端が太鼓のばちのように局所的に膨らんだ状態で、通常 160°以下である皮膚と爪のなす角度が、慢性心不全患者では 190°を超える場合がある。線維組織の増生した爪床部は軟らかく、押すとくぼむが、離すと元に戻る。足の指よりも、手の指に認められやすい。

2 バイタルサインの診察

日常診療では一評価項目でしかないが、救急医療ではバイタルサインはしばしば診察の方向性を与える重要な初期情報となるため、まず最初に測定するものである。

a) 血圧

心原性ショックでは、少なくとも 30 分以上血圧が 90 mmHg 未満か、普段の血圧より 30 mmHg 以上低下しており、そのような症例では頰脈を呈することが多い。血圧が低下している場合の血圧の目安として、頸動脈が触知可能であれば 60 mmHg 以上、大腿動脈が触知可能であれば 70 mmHg 以上、橈骨動脈が触知可能であれば 80 mmHg 以上とされる。一方、過度の後負荷に対する代償機能不全 afterload mismatch による心不全では、血圧は高値である。血圧測定は、初診時には左右差の有無を確認する必要がある。

b) 脈拍

① 脈拍数

著しい徐脈の場合、洞不全症候群や II 度もしくは III 度房室ブロックの存在を考慮する。このような時は、一過性の意識障害や失神 (Adams-Stokes 症候群) をきたすことがある。高度徐脈の持続により、心拍出量が低下し、心不全や臓器循環不全から活動性の低下をきたすことがある。一方、著しい頻脈の場合も徐脈と同様に一過性の意識障害や失神、心不全をきたすことがある。頻脈は心不全の原因にもなりうるが、心原性ショックのように心不全の結果としても起こる。

② リズム

リズムが規則正しい場合を「整」、乱れている場合を「不整」と表現し不整脈とよぶ。上室

性・心室性期外収縮では脈が一つ抜けたように感じる（欠滞）、全く規則性がない不整脈を絶対性不整脈とよび、その原因として心房細動が多い。絶対性不整脈の時、心音の聴診やモニター心電図の心拍数に比し、脈拍数が少ない場合があり、脈拍欠損 pulse deficit とよばれるが、脈拍欠損も大脈と小脈が交互に繰り返す交互脈とともに心不全の兆候として重要である。

③ 大きさ

脈拍の大きさは、収縮期と拡張期の血圧差である脈圧を反映する。脈圧が大きいものを大脈、小さいものを小脈とよぶ。収縮期-拡張期（脈圧）/収縮期が 25 % 未満の場合、心係数が $2.2\text{l}/\text{min}/\text{m}^2$ 未満であることが多いとされる²⁾。

c) 動脈血酸素分圧 (PaO_2) とヘモグロビン酸素飽和度 (SaO_2)

酸素は血漿中の物理的に溶解している量 (PaO_2) よりも、赤血球のヘモグロビンと結合している量 (SaO_2) のほうがはるかに多い。 PaO_2 と SaO_2 とは平衡しており、両者には一定の関係がある（図 2-1）。全身の酸素化の指標として、 PaO_2 は動脈血液を採取して分析する必要があるが、 SaO_2 はパルスオキシメータにより非侵襲的に、リアルタイムに測定することが可能である (SpO_2)。ただし、 SpO_2 が 90 % でも PaO_2 は約 60mmHg に低下していることから、 SpO_2 のわずかな変化を見逃してはならない。

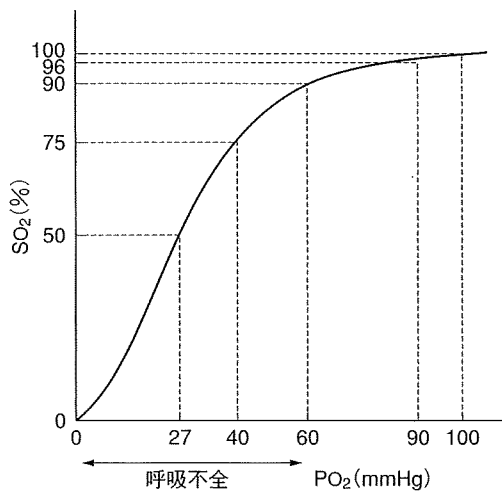


図 2-1 PaO_2 と SaO_2 の関係 (37°C , $\text{pH } 7.4$, $\text{PaCO}_2 40\text{ mmHg}$ におけるヘモグロビン酸素解離曲線)

3 心不全の身体所見

心不全には、「急速に心ポンプ機能の代償機転が破綻し、それに基づく症状や徴候が急速に出現した状態」である急性心不全と「慢性の心ポンプ機能の低下により末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血液量を拍出できず、肺または体静脈系にうっ血をきたし生活機能に障害を生ずる状態」である慢性心不全がある。心不全の罹患期間の違いはあるものの、慢性心不全の急性増

悪を含んだ急性心不全も慢性心不全も、身体所見においては類似する点も多い。表 2-2 に臨床で広く用いられている心不全基準である Framingham criteria を示す³⁾。心不全の程度や重症度の分類は、自覚症状による分類である NYHA (New York Heart Association) 心機能分類、他覚所見による分類である Killip 分類⁴⁾ や血行動態による分類である Forrester 分類⁵⁾ などがある。Killip 分類 (表 2-3) と Forrester 分類は、元来急性心筋梗塞症の重症度分類であるが、今日では心不全の重症度の指標として用いられることも少なくない。Nohria らは胸腹部と四肢を触診

表 2-2 うっ血性心不全の診断基準 (Framingham criteria)

大基準 2 つか、大基準 1 + 小基準 2 つ以上で心不全と診断する

[大基準]

発作性夜間呼吸困難または起坐呼吸
 頸静脈怒張
 ㄱ音
 心拡大
 急性肺水腫
 Ⅲ音奔馬調律
 静脈圧上昇 (16cmH₂O 以上)
 循環時間延長 (25 秒以上)
 肝・頸静脈逆流

[小基準]

下腿浮腫
 夜間咳嗽
 労作時呼吸困難
 胸水貯留
 肺活量の減少 (最大量の 1/3 以下)
 頻脈 (120/分以上)

[大または小基準]

5 日間の治療に反応して 4.5kg 以上の体重減少があった場合、それが心不全治療であれば大基準、心不全治療以外であれば小基準として扱う

表 2-3 Killip 分類

	身体所見	1 カ月後の院内死亡率
Class I	心不全徴候なし	6 %
Class II	軽度~中等度心不全 ㄱ音聴取領域が全肺野の 50 %未満	17 %
Class III	重症心不全 肺水腫, ㄱ音聴取領域が全肺野の 50 %以上	38 %
Class IV	心原性ショック 血圧 90mmHg 未満, 尿量減少, チアノーゼ 冷たく湿った皮膚, 意識障害	81 %

(注) 1 カ月後の院内死亡率は、再灌流療法が普及する以前のデータであり、現在は大きく改善している。

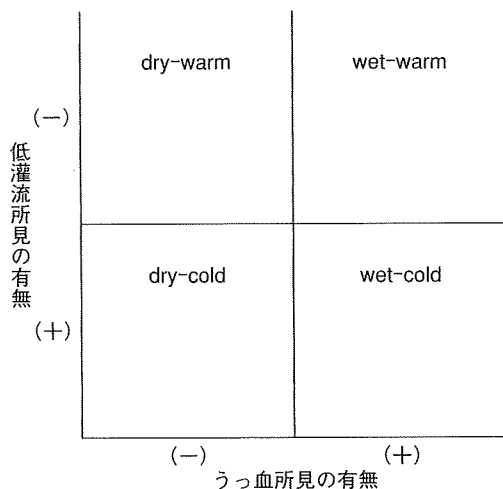


図2-2 触診による急性心不全の臨床病型

dry-warm が最も予後がよく、wet-cold が最も予後が悪い。

低灌流所見：脈圧狭小化，交互脈，症候性低血圧，四肢冷感，傾眠傾向

うっ血所見：起坐呼吸，頸静脈怒張，ラ音，肝・頸静脈逆流，腹水，浮腫

し、胸腹部の温度に比べ四肢が温かいか冷たいか、乾燥しているか湿っているかによって、心不全を4つの病型(図2-2)に分類する方法を提唱した⁶⁾。本法は、救急現場での触診だけで、患者の血行動態だけでなく、1年後の予後(死亡率や緊急移植のイベント)によく相関するため、大変有用と考えられる。

4 視診

a) 頸静脈の視診

右房との間に発達した弁がなく、右房や上大静脈から直線的な右内頸静脈は中心静脈を反映しやすいため、右内頸静脈で行う。内頸静脈は患者を仰臥位にすると心臓と同じ高さになり観察できる。上半身を45°にすると胸骨角(胸骨柄関節)の高さは、右房から約5cmの高さになる。この位置から右内頸静脈の拍動が確認できる最高点の高さを測定し、右房から胸骨角の高さである5cmを加えることで、中心静脈圧を推定することができる(図2-3)。座位で怒張している場合は右心不全によるうっ血が考えられる。一方、仰臥位でも頸静脈が観察できない場合(虚脱)は脱水が考えられるが、肥満者では観察できないこともあるため、評価には注意を要する。

b) 心尖拍動

通常は、座位において、第5肋間で胸骨中線から左側10cm以内の部位で観察できる。しかし、心尖拍動が、その外側にある場合は、左室拡大(容量負荷)が考えられる。また、心尖拍動が2峰性の場合、聴診でIVの存在が示唆され、心肥大など左室コンプライアンスが低下する病態が考えられる。

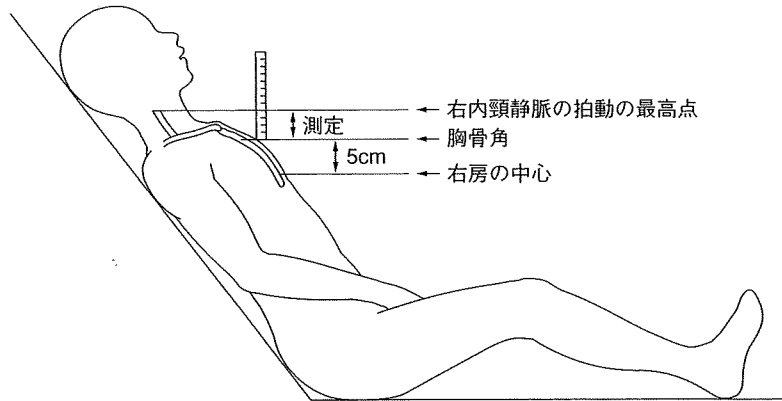


図2-3 中心静脈圧の推定

胸骨角から右内頸静脈の拍動が確認できる最高点の高さを測定して、その数値に5cmを加えた値が中心静脈圧に近似する。正常は8～9cmH₂Oまでである（1.36cmH₂O = 1.0mmHg）。

5 胸部の聴診

a) 呼吸音 respiratory sounds

正常で聴取しうる狭義の呼吸音 breath sounds と、正常では聴取できない副雑音 adventitious sounds に分類される。

① 狭義の呼吸音 breath sounds

正常で聴取しうる呼吸音には、気管呼吸音、気管支呼吸音、気管支肺胞呼吸音、肺胞呼吸音がある。気管呼吸音、気管支呼吸音、気管支肺胞呼吸音は、それぞれ前胸部の気管や気管支に沿った部位で聴取される。気管・気管支では気流速度が速く、空気の流入出で乱流が生じやすいため強い呼吸音が聴取され、末梢気道になるほど呼吸音は低音で弱くなる。肺うっ血が生じると、肺実質の含気量が低下し呼吸音の伝播が亢進することで、肺胞呼吸音が聴取される末梢領域で気管支肺胞呼吸音や気管支呼吸音が聴取されることがある。また、胸水貯留では呼吸音の減弱～消失が認められることがあり、左右差の有無をチェックする。

② 副雑音 adventitious sounds

肺内から発生するラ音 pulmonary adventitious sounds と肺外から発生する胸膜摩擦音や血管性雑音などその他の副雑音がある。ラ音には、①断続性ラ音、②連続性ラ音に分類される。断続性ラ音には、吸気初期に聴取される水泡音 coarse crackles と吸気終末に聴取される捻髪音 fine crackles がある。水泡音は、気道分泌物で形成された液体膜が破裂するときに発生する低調音で、心不全により肺うっ血が生じ、さらに肺水腫をきたした場合に聴取される。捻髪音は、閉塞した末梢気道の急激な開放に伴う圧較差の解消と気道壁張力の急激な変化によって発生する。捻髪音が聴取される代表的な疾患として、間質性肺炎があげられるが、心不全の初期で肺うっ血が認められる頃に、肺底部で聴取されることもある。一方、連続性ラ音は呼気に聴取されやすく、

高調の笛(様)音 wheezes と低調のいびき(様)音 rhonchi があり、ともに気道の攣縮、粘膜浮腫・腫脹、気道分泌物、腫瘍などにより、気道が狭窄したときに発生する。連続性ラ音が聴取される代表的な疾患として、気管支喘息があげられるが、心不全で肺うっ血や肺水腫をきたした場合、気管支の浮腫や気道分泌物による気道狭窄で聴取されることがあるため、注意を要する(心臓喘息)。心不全の時に発生する副雑音は、うっ血が生じやすい下肺野で聴取されやすい。

b) 心臓の聴診

心臓の聴診は、主に4つの弁から発生する心音、心雑音、過剰心音を、①大動脈弁領域(第2肋間胸骨右縁)、②肺動脈弁領域[第2,3(Erb領域)肋間胸骨左縁]、③三尖弁領域(第4肋間胸骨左縁)、④僧帽弁領域(心尖部)の4箇所聴診部位にて行う。

① 心音

心音には、I音、II音、III音、IV音があり、常に聴取されるのは、I音とII音だけである。表2-4に心音の異常と病態を示す。

(i) I音、II音

I音は房室弁(僧帽弁と三尖弁)の閉鎖により発生し、僧帽弁成分(I_M)と三尖弁成分(I_T)からなり、通常 $I_M \rightarrow I_T$ の順で聴取される。II音は半月弁(大動脈弁と肺動脈弁)閉鎖により発生し、大動脈弁成分(II_A)と肺動脈弁成分(II_P)からなり、通常 $II_A \rightarrow II_P$ の順で聴取される。

(ii) III音、IV音

III音は拡張早期の急速充満期の終了する付近で急速に心室の伸展が停止することで心臓や大血管が振動するために発生すると考えられている。III音は、弱い低調の音であるため、患者を左側臥位にしてベル型を軽く触れる程度で聴取する。若年者で聴取される生理的III音と病的III音があり、病的III音は心不全で認められる重要な聴診所見である。一方、IV音は拡張後期の心房収縮期付近でI音の直前に発生する音で、心室コンプライアンスが低下する病態で聴取される。I音、II音とIII音のリズム関係は「おっかさん」、IV音とI音、II音のリズム関係は「おとつぁん」のリズムに似たものとなり、奔馬調律 gallop rhythm とよばれる。

② 心雑音

心血管の構造的な異常により、血液の乱流が生じ心血管が振動するために発生することで聴取される。収縮期に出現する収縮期雑音、拡張期に出現する拡張期雑音、収縮期・拡張期にまたがり出現する連続性雑音がある。心雑音は、一般に心音よりも持続時間が長く、音量の程度により、6段階に分類される[Levine分類(表2-5)]。表2-6に心雑音の種類と病態を示す。

③ 過剰心音

(i) 駆出音 ejection sound

半月弁の開放により発生し、I音の後に聴取される。①大動脈や肺動脈の拡大、②半月弁狭窄、③半月弁を通過する血流増大(相対的半月弁狭窄)、④圧負荷などの存在により発生する。

表 2-4 心音の異常と病態

I 音	亢進	房室弁の硬化 (MS, TS) 心収縮力の増大 (甲状腺機能亢進症, 貧血, 発熱, 脚気) PQ 時間短縮 (WPW 症候群など) cannon sound (完全房室ブロック) 右室容量負荷 (ASD など)	
	減弱	MR 心収縮力の低下 (心不全, 甲状腺機能低下症など) PQ 時間延長 胸水, 心嚢液貯留	
II 音	亢進	II _A	高血圧, AR, 高度の動脈硬化
		II _P	肺高血圧, PR, MS, ASD
	減弱	II _A	低血圧, AS
		II _P	PS
	分裂	生理的分裂 (吸気時に II _P が遅れ II 音が分裂し, 呼気時に分裂が消失する)	
		病的分裂 (II _A ~ II _P の間隔が呼気・吸気ともに幅広く分裂する)	
		II _A が早くなる	MR, VSD
		II _P が遅れる	右脚ブロック, PS
固定性分裂 (II _A ~ II _P の間隔が呼吸の影響を受けずに一定)		ASD	
奇異性分裂 (II _P が II _A に先行し, 呼気時に分裂が出現し, 吸気時に分裂が消失する)			
II _A が遅れる		AS, 左脚ブロック	
II _P が早くなる		PDA, TR	
III 音	生理的	30 歳以下では 50 % 以上で聴取でき, 40 歳以上では聴取できない	
	病的	病的心拡大による拡張早期の急速充満障害 (拡張型心筋症, MR, AR) 心室コンプライアンスの低下 (肥大型心筋症)	
IV 音	心室コンプライアンスの低下 (肥大型心筋症)		

MS: 僧帽弁狭窄症, TS: 三尖弁狭窄症, ASD: 心房中隔欠損症, MR: 僧帽弁閉鎖不全症, VSD: 心室中隔欠損症, AR: 大動脈弁閉鎖不全症, PR: 肺動脈弁閉鎖不全症, AS: 大動脈弁狭窄症, PS: 肺動脈弁狭窄症, PDA: 動脈管開存症, TR: 三尖弁閉鎖不全症

表 2-5 Levine 分類

Levine I 度	きわめて微弱で, 注意深く聴診することにより, はじめて聴取できる
Levine II 度	弱い, 聴診器を当てることにより聴取できる
Levine III 度	中等度の雑音だが, 振戦を伴わない
Levine IV 度	高度の雑音で, 振戦を伴う
Levine V 度	著しく強い, 聴診器を胸壁から離すと聴取できなくなる
Levine VI 度	聴診器を胸壁から離しても聴取できる

表 2-6 心雑音の種類と病態

収縮期雑音	駆出性	AS, PS, HOCM, ASD, ECD, 機能的雑音 (hyperdynamic state)
	逆流性 (全収縮期)	MR, TR, VSD, 僧帽弁逸脱症候群
拡張期雑音	灌水性 (逆流性)	AR, PR
	拡張期ランブル	MS, TS, 重症の ASD・VSD
	前収縮期	MS
連続性雑音	PDA, Valsalva 洞動脈瘤破裂, A-P window (大動脈中隔欠損症), AV fistula (冠/肺動静脈瘻)	
to and fro (往復) 雑音	AR, AS + AR, PS + PR, VSD に合併した AR	
Rivero - Carvallo 徴候 Graham Steell 雑音 Carey Coombs 雑音 Austin Flint 雑音	右心系雑音が吸気時に、胸腔内圧低下→心肺血流量増加により増強する MS などにより著明な肺高血圧となると機能的 PR を生じる 相対的 MS による拡張期ランブル AR により拡張期に僧帽弁前尖が左房側に押し上げられて生じる MS 様ランブル	

AS : 大動脈弁狭窄症, PS : 肺動脈弁狭窄症, HOCM : 閉塞性肥大型心筋症, ASD : 心房中隔欠損症, ECD : 心内膜床欠損症, VSD : 心室中隔欠損症, AR : 大動脈弁閉鎖不全症, PR : 肺動脈弁閉鎖不全症, MS : 僧帽弁狭窄症, TS : 三尖弁狭窄症, PDA : 動脈管開存症

(ii) 開放音 opening snap

房室弁の開放により発生し、II 音の後で聴取される。① 房室弁狭窄、② 房室弁を通過する血流増大 (相対的房室弁狭窄)、などの存在により発生する。

(iii) 収縮期クリック

僧帽弁逸脱症候群に特有の鋭い高調の過剰心音で、収縮中期から後期にかけて、僧帽弁が左室内圧により左房に押し出される時に発生する。

(iv) 心膜摩擦 (ノック) 音

収縮性心膜炎で聴取される高調の過剰心音で、II 音の後で、III 音より早い拡張早期の急速流入期に聴取される。炎症により肥厚、癒着、石灰化した心膜により、心室の拡張が制限されることで心臓や大血管が振動するために発生すると考えられている。III 音に比し、広範囲で聴取され、ベル型を胸壁に押し当てても音が消失しない。

6 触診

急性心不全では、肝臓が腫大し、肝被膜が急速に伸展されるために右季肋部の圧痛が出現することがある。右心不全では、中心静脈圧の上昇により、上腹部中央を 30 秒程度強く圧迫すると、頸静脈怒張が認められることがあり、この現象は肝・頸静脈逆流 hepatojugular reflux とよばれる。

■文献

- 1) Silverberg D, et al. The cardio - renal anaemia syndrome: does it exist? *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18(Suppl 8): viii7 - 12. Review.
- 2) Stevenson LW, et al. The limited reliability of physical signs for estimating hemodynamics in chronic heart failure. *JAMA*. 1989; 261: 884 - 8.
- 3) McKee PA, et al. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *N Engl J Med*. 1971; 285: 1441 - 6.
- 4) Killip T 3rd, et al. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol*. 1967; 20: 457 - 64.
- 5) Forrester JS, et al. Medical therapy of acute myocardial infarction by application of hemodynamic subsets (second of two parts). *N Engl J Med*. 1976; 295: 1404 - 13. Review.
- 6) Nohria A, et al. Clinical assessment identifies hemodynamic profiles that predict outcomes in patients admitted with heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 1797 - 804.

〈浅沼博司, 北風政史〉

Angiogenic Vessel-Targeting DDS by Liposomalized Oligopeptides

Tomohiro Asai and Naoto Oku

Abstract

Liposomal oligopeptides are one of the promising nanocarriers to deliver a drug, DNA or siRNA to target tissues. In this chapter, we describe our methodology to develop liposomal oligopeptides targeting to tumor angiogenic vessels. At first, we introduce our strategies to identify objective peptides. We performed *in vivo* biopanning using a phage-displayed peptide library and identified Ala-Pro-Arg-Pro-Gly (APRPG) peptide as a ligand for angiogenic vessels. To modify APRPG peptide on the surface of PEGylated liposomes, we synthesized a novel lipid derivative of the peptide, distearoylphosphatidylethanolamine-polyethyleneglycol-APRPG (DSPE-PEG-APRPG). The lipid derivative of APRPG peptide is expected to be readily incorporated into liposomal membrane and enables to present the peptides on the surface of PEGylated liposomes.

We next describe how to evaluate the advantages of liposomal oligopeptides using specific examples; (1) Intratumoral distribution of APRPG-PEG-modified liposomes, (2) Therapeutic efficacy of adriamycin encapsulated in APRPG-PEG-modified liposomes, (3) Preparation of 5'-*O*-dipalmitoylphosphatidyl 2'-*C*-cyano-2'-deoxy-1- β -*D*-*arabino*-pentofuranosylcytosine (DPP-CNDAC) liposomes modified with APRPG-PEG, and (4) Therapeutic experiment with APRPG-PEG-modified liposomal DPP-CNDAC.

Key words: Oligopeptides, Liposomes, Polyethyleneglycol, Angiogenic vessels, APRPG

1. Introduction

Active targeting to specific tissues such as tumors is achieved by modification of drug carriers with certain ligands (oligopeptides, proteins, antibodies, glycoconjugates, and so on). In this chapter, we describe the usefulness of liposomal oligopeptides for a drug delivery system. Liposomalization of oligopeptides requires only very simple technique by using lipid derivative of oligopeptides that is easily synthesized and readily incorporated into the liposomal membrane (1–4). In addition, oligopeptides can be bound

to a polyethyleneglycol (PEG)-lipid conjugate such as, PEG-distearoylphosphatidylethanolamine (PEG-DSPE) and can be presented on the surface of liposomes (5-7). PEG-coating of liposomes has been used in a liposomal DDS, since PEGylated liposomes characteristically remain in the blood circulation longer than non-modified ones through avoidance of reticuloendothelial system (RES)-trapping of drug carriers (8). PEG-coating of the liposomal surface is known to form a fixed aqueous layer around the liposome due to the interaction between the PEG and water molecules. Thus, PEGylated liposomes prevent the binding of certain serum proteins and opsonins that are responsible for the RES-trapping (9). In case of PEGylated liposomes modified with oligopeptides, this long circulating characteristic in the bloodstream increases the opportunity for specific binding of ligand-modified liposomes to target tissues. Here, we present methodologies and results from our recent studies on liposomal oligopeptides. We have developed liposomal oligopeptides to construct angiogenic vessel-targeting DDS for cancer chemotherapy. Angiogenic vessel-targeting DDS has become a focus of interest, since angiogenic vessels have properties different from those of the preexisting systemic vessels (10) and certain drugs or drug carriers first meet angiogenic vessels before extravasation into tissues such as tumors. Angiogenic endothelial cells express specific address molecules that are not or little expressed on preexisting ones (10). Therefore, specific oligopeptides against these address molecules are applicable for active targeting to angiogenic vessels.

For constructing angiogenic vessel-targeting DDS, we firstly isolated a peptide that specifically bound to tumor angiogenic vessels from a phage-displayed peptide library. The epitope sequence of the peptide is determined to be Ala-Pro-Arg-Pro-Gly (APRPG) (2). Then, we synthesized stearoyl-APRPG for the modification of liposomes and demonstrated that APRPG is a useful probe for angiogenic vessel-targeting liposomal DDS (2). In fact, liposomes modified with stearoyl-APRPG highly accumulated in the tumor implanted in mice, and the liposomes encapsulating anticancer drugs strongly suppressed the tumor growth (2, 11, 12). Next, we endowed angiogenic vessel-targeted liposomes with long-circulating characteristic by PEGylation. This approach is expected to cause passive targeting of liposomes in tumor tissues in addition to active targeting of them by oligopeptides, since the angiogenic vessels are quite leaky and PEGylated liposomes as well as macromolecules easily accumulate in the interstitial tissues of tumors due to enhanced permeability and retention (EPR) effect (13). For this purpose, we designed a novel conjugate composed of APRPG peptide, PEG and hydrophobic anchor, namely DSPE, and examined the applicability of APRPG-PEG-modified liposomes for cancer treatment (5-7). As a result, it has been demonstrated that APRPG-PEG modification is superior to just APRPG-modification

for enhancing antitumor activity of liposomal doxorubicin (14). Furthermore, APRPG-PEG-modified liposomes could deliver an antiangiogenic agent to angiogenic vessels, resulting in suppression of angiogenesis and tumor growth (15).

On the other hand, we developed angiogenic vessel-targeting liposomal 2'-C-cyano-2'-deoxy-1- β -D-*arabino*-pentofuranosyl-cytosine (CNDAC). CNDAC has a novel anticancer mechanism and induces DNA strand breaks after its incorporation into tumor cell DNA (16). We previously designed 5'-O-dipalmitoylphosphatidyl CNDAC (DPP-CNDAC) to incorporate it into the liposomal bilayer (17), since CNDAC itself is not suitable for the efficient encapsulation in liposomes (see Note 1). APRPG-modified liposomes containing DPP-CNDAC actually caused tumor growth suppression through damaging angiogenic endothelial cells (11). However, in vivo behavior of the liposomes was affected by the presence of the cyano group of DPP-CNDAC on the liposomal surface. It induced aggregation of liposomes, resulting in reduced blood circulation of liposomes. In this case, the potential of APRPG-modification would be attenuated in the blood circulation. Therefore, we masked the CNDAC moiety on the liposomal surface with APRPG-PEG conjugate to erase this undesirable property of DPP-CNDAC in liposomalization (see Note 2). As a result, the improvement of the blood circulation afforded by the use of APRPG-PEG conjugate enhanced the accumulation of the liposomes in the tumor, enabled targeting to the angiogenic endothelial cells, and caused efficient damage to the tumor cells (18). Our studies suggest that PEG-shielding of the liposomal surface should be useful for designing active targeting DDS with oligopeptides as well as passive targeting.

2. Materials

2.1. Lipids, Cells, and other Materials

1. Distearoylphosphatidylcholine (DSPC), DSPE and cholesterol were the products of Nippon Fine Chemical Co., Ltd. (Takasago, Hyogo, Japan).
2. A phage-displayed random peptide library expressing pentadecamer amino acid residues at the N terminus of pIII phage coat protein of M13 phage was kindly provided by Dr. Hideyuki Saya at Keio University.
3. Colon 26 NL-17 colon carcinoma cells were established by Dr. Yamori (Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo, Japan) and kindly provided by Dr. Nakajima (Johnson & Johnson K.K., Tokyo, Japan).
4. A fluorescence dye for labeling liposomes, 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindolyl-carbocyanine perchlorate

(DiI C18), was purchased from Molecular Probes Inc. (Eugene, OR, USA).

5. Other materials: Reduced Triton X-100 and fetal bovine serum were purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

2.2. Animals

1. Five-week-old BALB/c, C57BL/6, or BALB/c nu/nu male mice were obtained from Japan SLC Inc. (Shizuoka, Japan). The animals were cared according to the animal facility guideline of the University of Shizuoka.

3. Methods

3.1. Identification of Peptide

1. Angiogenic model mice: Angiogenic vessels were formed on murine dorsal skin for in vivo biopanning (19). Highly metastatic murine B16BL6 melanoma cells (1×10^7 cells/ring) were loaded into a Millipore chamber ring. The chamber rings were dorsally implanted into 5-week-old C57BL/6 male mice. Five days after the implantation, these mice bearing angiogenic vessels on the dorsal skin were used for in vivo biopanning.
2. In vivo biopanning was performed by a modified method as described by Paspualini et al. (20, 21). The phage-displayed peptide library (1×10^{13} cfu) was intravenously injected into angiogenic vessel-bearing mice. Four minutes after the injection, the phages that had accumulated in angiogenic vessels were recovered and titrated. The skin attached to the Millipore chamber ring where the angiogenic vessels had been formed was dissected, minced, and homogenized with ice-cold DMEM containing 1 mM phenyl methyl sulphonyl fluoride. This homogenate was washed three times ($30,000 \times g$ for 10 min) with ice-cold DMEM containing 1% BSA, and the accumulated phages were recovered by infecting *E. coli* K91KAN with them. A part of the phages in the homogenate was used for the titration of the accumulated phages, and the remaining phages were amplified in *E. coli* K91KAN and purified. Then, a second round of biopanning was performed similarly as per the first round. These biopanning steps were repeated for five cycles. At the fifth round of biopanning, the recovery rate of the phage (recovered phage titer to input phage titer) increased about thousand-fold over that of the first round, suggesting that selection of high-affinity phage clones capable of accumulating in the angiogenic site was successful (see Note 3).

- The selected phages were cloned and the sequence of presented peptides was determined. For in vivo screening, 1.0×10^6 cells of B16BL6 were implanted subcutaneously into the posterior flank of 5-week-old C57BL/6 male mice. Each sample of phage clones (1.0×10^{11} cfu) was injected into tumor-bearing mice via a tail vein when the tumor size had become about 10 mm in diameter. Four minutes after the injection, the phages that had accumulated in the tumor were recovered and titrated. Similar experiment was performed in Meth A sarcoma-bearing mice. As a result, we demonstrated that PRPGAPLAGSWPGTS-presented phage clone highly accumulated in two types of murine tumor.

3.2. Characterization of Peptides

- Pentadecamer peptides were synthesized by use of Rink amide resin (0.4–0.7 mmol/g) and a peptide synthesizer ACT357, resulting in an amide at the carboxyl terminus.
- To confirm the capability of the synthetic peptides to accumulate in the tumor, we co-injected $0.25 \mu\text{mol}$ of synthetic peptide (PRPGAPLAGSWPGTS) and 5×10^8 cfu of corresponding phage clone into B16BL6 melanoma-bearing mice. Four minutes after injection, the titer of phages that had accumulated in the tumor was determined. Tumor accumulation of phage clone was inhibited in the presence of the corresponding synthetic peptide, although a random peptide, GLDLLGDVRIPVRR, did not affect the phage accumulation.
- To determine the epitope sequences of the peptides, we synthesized various short peptides based on original 15-mer sequence and examined the inhibitory effect of these peptides against tumor accumulation of the corresponding phage clone. Our results indicated that APRPG in original 15 mer sequences was essential for their affinity.

3.3. Synthesis of DSPE-PEG-APRPG

- We designed the structure of DSPE-PEG-APRPG (1) as shown in Fig. 1. At first, we synthesized DSPE-PEG-SA (4) (Schemes 1 and 2) and APRPG respectively, and then condensed them to obtain DSPE-PEG-APRPG (1).

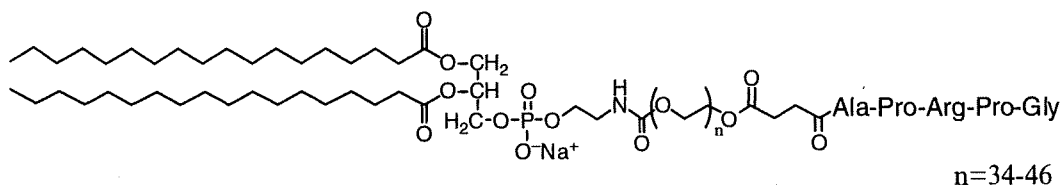


Fig. 1. Structure of DSPE-PEG-APRPG (1). Reproduced with permission from (5)