

## 心筋酸素需要増加時および反応性充血の冠動脈トーンスに対する $K_{ATP}$ channel の影響

岡山大学医学部循環器内科学教室 (指導: 原岡昭一教授)

小林 博 夫

(平成 6 年 2 月 10 日受稿)

**Key words :**  $K_{ATP}$  channel, glibenclamide, myocardial oxygen consumption, coronary conductance

### 緒 言

近年 ATP sensitive potassium channel ( $K_{ATP}$  channel) が血管平滑筋に存在し<sup>1)</sup>, 低酸素状態や虚血時に冠動脈 tonus の調節に関与している事が報告されている。すなわち 1991 年 Aversano ら<sup>2)</sup>は,  $K_{ATP}$  channel の選択的阻害薬である glibenclamide が一過性心筋虚血後の反応性充血を抑制することを示した。また Daut ら<sup>3)</sup>は, ラットの心臓において低酸素時の冠動脈の拡張に  $K_{ATP}$  channel が関与していることを示し, さらに Samaha ら<sup>4)</sup>は正常灌流時の冠動脈 tonus の調節にも,  $K_{ATP}$  channel が関与していることを示した。一方冠血流量は心筋酸素需要と密接な関係を有することは良く知られている。しかし心筋酸素需要増加の情報を冠動脈に伝える伝達因子や, 冠動脈細胞での情報受容の機構については不明のままである。 $K_{ATP}$  channel は心筋酸素需要増加時の冠血流量, 即ち冠動脈 tonus の調節にも関与している可能性が推測されるが, 現在までのところほとんど検討されていない。そこで著者は選択的  $K_{ATP}$  channel blocker である glibenclamide<sup>5)6)7)</sup>を用い, 麻酔開胸犬の in situ 心臓で, 心筋酸素消費量 ( $M\dot{V}O_2$ ) 増加時の冠血流増加に  $K_{ATP}$  channel が関与しているか否かについて検討した。

### 対象と方法

雑種成犬 15 頭 (体重 7~30kg) を pentobarbital sodium (30mg/kg) の静脈内投与で麻酔し, 気管

内挿管後, 陽圧人工呼吸器 [シナノ機, Model SN480-3] を用いて呼吸管理を行った。この際, 血液ガスを生理的範囲 ( $pO_2$  80~120mmHg,  $pCO_2$  35~45mmHg) に保つよう呼吸回数および吸気時の酸素濃度を調節し, さらに必要に応じて 7%  $NaHCO_3$  を使用して動脈血 pH を 7.40~7.45 に保った。左第 5 肋間にて開胸して心膜を切開後, pericardial cradle を作成した。次いで Fig. 1 に示すように左冠動脈前下行枝 (LAD) または回旋枝 (LCX) を近位部にて剥離し, 矩型波電

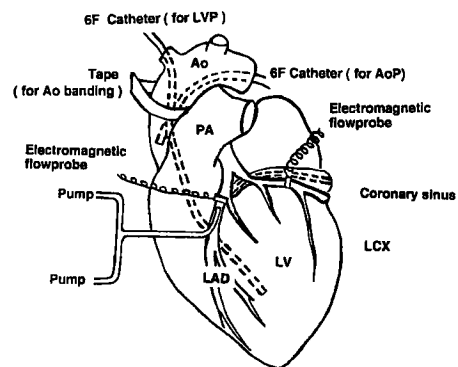


Fig. 1 Schematic illustration of instrumentations

- LVP : left ventricular pressure
- Ao : aorta, Aop : aortic pressure
- PA : pulmonary artery
- LV : left ventricle
- LAD : left anterior descending coronary artery
- LCX : left circumflex coronary artery

磁流量計プローブ [日本光電機, Model MFV-100] を装着した。その直末梢側に薬物注入用の細いポリエチレンチューブ (内径0.58mm, 外径0.965mm) を穿刺固定し, 2種類の薬剤が同時に投与できるようにYコネクターにより2個のシリンジポンプ [テルモ機, シリンジポンプSTC-521] に接続した。さらに対照として, 左冠動脈のもう一方の主要枝 (LAD または LCX) にも電磁血流計を装着して冠血流量を測定した。大腿動脈より上行大動脈にカテーテルを挿入して大動脈血圧を, 左頸動脈より左室内に挿入したカテーテルを介して左室内圧およびその一次微分 (LVdp/dt) を測定した [日本光電機, Model AP260G]。右心耳より冠静脈洞を経て大心静脈にカテーテルを留置し, 灌流領域の  $\dot{M}V\dot{O}_2$  測定のための静脈血採取に用いた。心筋酸素消費量 ( $\dot{M}V\dot{O}_2$ ) は大心静脈血と大動脈血との酸素分圧 [AVL medical instrument AG, Model 990], 酸素飽和度 [エルマ工学機, Oximeter Model PWA-200], 血液Hb濃度および冠血流量 (CBF) から次式を用いて算出した。  $\dot{M}V\dot{O}_2 = [\text{動脈血酸素含量 (vol \%)} - \text{大心静脈血酸素含量 (vol \%)}] \times \text{冠動脈血流量 (ml/min/100 g)}$ 。この際, 動静脈血の酸素含量は, 血液酸素含量 (vol %) =  $1.34 \times \text{Hb 濃度 (mg/dl)} \times \text{動脈血酸素飽和度 (\%)} \times 0.01 + 0.0031 \times \text{酸素分圧 (mmHg)}$  として算出した。冠血流量, 大動脈血圧, 左室圧, LVdp/dt は Jet 式記録器 [日本光電機, Model RIJ2180] を用いて, 紙送り速度2.5mm/sec で連続記録し, 必要に応じて100mm/sec の記録も行った。なお薬剤の冠動脈内注入は, 注入速度が CBF の5%を越えないように薬物濃度を調節した。

実験終了後心臓を摘出し, 各冠動脈灌流領域の心筋重量を測定し, CBF,  $\dot{M}V\dot{O}_2$  を心筋重量 (100 g) で補正して統計に用いた。glibenclamide [山ノ内製薬機] は0.02N NaOH 溶液で溶解後, 生理食塩水で1.0mmol/l の濃度に希釈した。pinacidil [塩野義製薬機] は0.1N HCL で溶解後, 生理食塩水で希釈し  $3.0 \times 10^{-3}$  または  $3.0 \times 10^{-4}$  mol/l の濃度とした。control としては glibenclamide, および pinacidil の溶媒液のみを用いた。

まず control 時 (glibenclamide および pina-

cidil の溶媒液のみの冠動脈内投与時), glibenclamide 投与時, glibenclamide と pinacidil 同時投与時に, 対象となる冠動脈を20秒間閉塞して開放後の反応性充血 (RH) を観察し,  $K_{ATP}$  channel が RH に及ぼす影響について検討した。

血行動態が安定後, control 状態で  $\dot{M}V\dot{O}_2$  を増加させるため isoproterenol [日研科学機] の静脈内投与 (7頭) または左室圧負荷 (8頭) を行った。Isoproterenol 投与は  $0.05 \mu\text{g/min}$  より開始し, 2~3分毎に  $0.075 \mu\text{g/min}$ ,  $0.1 \mu\text{g/min}$ ,  $0.125 \mu\text{g/min}$  と段階的に増量した。左室圧負荷 (AS) は上行大動脈に掛けたテープを用いて, 平均左室圧が狭窄前の1.3倍となるよう上行大動脈を狭窄して冠血流量の変化を観察した。

次いで glibenclamide を冠動脈内濃度が約  $5.0 \times 10^{-5}$  mol/l となるように冠動脈内に持続注入し, 上記と同様に isoproterenol の静脈内投与または AS 負荷を行った。最後に glibenclamide に加え, pinacidil を冠動脈内濃度が  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/l となるようにYコネクターの他側より同時注入し, isoproterenol または AS 負荷を加えて CBF,  $\dot{M}V\dot{O}_2$  の変化を観察した。

glibenclamide および pinacidil が心筋酸素需要増加時の冠動脈 tonus の変化に与える影響を定量的に検討するために, control 時, glibenclamide 投与時および glibenclamide と pinacidil の同時投与時について isoproterenol 負荷, AS 負荷前後の  $\dot{M}V\dot{O}_2$  と coronary conductance (C.C.) との関係を1次回帰し, 動物毎に回帰直線の傾きを算出した。次にその回帰直線の傾きについて, isoproterenol 負荷, AS 負荷のそれぞれについて, glibenclamide, pinacidil の影響を検討した。各測定値は平均±標準誤差 (SEM) で表し, 統計的検討は一元配置分散分析を行った後, paired Student's t-test を用い,  $p < 0.05$  を有意水準とした。

更に adenosine の冠拡張作用が  $K_{ATP}$  channel を介するものであるか否かを明らかにするために, glibenclamide が adenosine の dose-response curve へ与える影響について検討した。まずYコネクターの1側より生理食塩水を注入し, 他方側より  $5 \times 10^{-4}$  mol/l の濃度の adenosine (Sigma Chemical Co.) を投与した。

adenosine の投与速度は0.083ml/min から開始し1~2分ごとに段階的に増量し、最大冠拡張に達するまで行った。次に生理食塩水の代わりに glibenclamide を投与しながら同様の操作を行い、得られた adenosine の dose-response curve から、glibenclamide が adenosine の冠拡張作用に与える影響について検討した。

## 結 果

glibenclamide および pinacidil を6頭では LAD に、9頭では LCX に注入したが、LCX と LAD とで血管反応性に差は認められなかったため、両者の結果をまとめて注入動脈として検討した。

glibenclamide の RH に及ぼす影響については、RH 中の最大冠動脈コンダクタンス (max C. C.) は control では  $3.53 \pm 0.57$  ml/min/100 g/mmHg であったが、glibenclamide の投与により  $2.87 \pm 0.11$  ml/min/100 g/mmHg と有意に ( $p < 0.05$ ) 抑制された。これに pinacidil を加えると max C. C. は回復する傾向にあった。冠動脈の閉塞を解除後、CBF が閉塞前の値に戻るまでの時間 (duration) は、control では  $62.1 \pm 5.2$  sec であるのに対し、glibenclamide の投与下では  $51.2 \pm 3.8$  sec と有意に短縮した。glibenclamide と pinacidil の同時投与で  $71.1 \pm 8.2$  sec と回復する傾向にあった。さらに冠動脈の反応性を Coffman ら<sup>8)</sup>の方法にしたがって flow debt repayment として検討したところ % repayment は glibenclamide により減少し、glibenclamide と pinacidil の同時投与で増加する傾向を示したが有意水準には達しなかった (Table 1)。

次に isoproterenol の投与による  $\dot{M}\dot{V}O_2$  の増

加と C. C. の増加との関係について検討した。isoproterenol により control 時には心拍数は投与量と平行して増加し、投与前  $142 \pm 12$ /min であったものが  $0.125 \mu\text{g}/\text{min}$  投与時には  $161 \pm 9$ /min に達した。大動脈血圧は isoproterenol の投与によっても変化しなかった。これに伴い、 $\dot{M}\dot{V}O_2$  は  $9.39 \pm 0.70$  ml/min/100 g から  $12.7 \pm 0.71$  ml/min/100 g に、CBF は  $81 \pm 2.5$  ml/min/100 g から  $114 \pm 10.1$  ml/min/100 g へと有意に増加した。

glibenclamide 投与により isoproterenol 投与前の CBF は  $66.0 \pm 5.0$  ml/min/100 g へ、coronary conductance (C. C.) は  $0.632 \pm 0.061$  ml/min/100 g/mmHg へといずれも control 時と比べて有意に低下し、 $\dot{M}\dot{V}O_2$  も低下傾向を示した。isoproterenol の投与によって心拍数は  $138 \pm 8$ /min から  $155 \pm 7$ /min へ増加し、 $\dot{M}\dot{V}O_2$  は  $7.80 \pm 0.68$  ml/min/100 g から  $10.7 \pm 0.94$  ml/min/100 g へと増加した。これに伴い CBF は  $66.0 \pm 5.0$  ml/min/100 g から  $84.1 \pm 7.7$  ml/min/100 g へ有意に増加した。更に glibenclamide と pinacidil の同時投与時には isoproterenol の投与によって心拍数は  $125 \pm 11$ /min から  $145 \pm 7.0$ /min に増加し、 $\dot{M}\dot{V}O_2$  は  $10.3 \pm 0.39$  ml/min/100 g から  $13.3 \pm 0.80$  ml/min/100 g に、CBF は  $88.7 \pm 7.5$  ml/min/100 g から  $114.5 \pm 10.9$  ml/min/100 g へと有意に増加した (Table 2)。

次に glibenclamide が isoproterenol による C. C. の変化に与える影響について、C. C. -  $\dot{M}\dot{V}O_2$  関係を用いて検討した。この際、前述のごとく、C. C. と  $\dot{M}\dot{V}O_2$  との関係を動物毎に直線回帰して求め、control, glibenclamide 投与時、glibenclamide および pinacidil 投与時の直線の傾き

Table 1 Effect of glibenclamide on reactive hyperemia

	control (n=12)	glibenclamide (n=12)	glibenclamide+pinacidil (n=6)
max coronary conductance (ml/min/100 g/mmHg)	$3.53 \pm 0.57$	$2.83 \pm 0.53^*$	$3.12 \pm 0.45$
flow debt repayment (%)	$342 \pm 72$	$306 \pm 42$	$427 \pm 57$
duration (sec)	$62.1 \pm 5.2$	$51.2 \pm 3.8^*$	$71.1 \pm 8.2$

The data are mean  $\pm$  SEM.

\*statistically significant from controls at the level of  $p < 0.05$ .

Table 2 Effect of glibenclamide on isoproterenol-induced hemodynamic changes

	control (n=7)		glibenclamide (n=7)		glibenclamide+pinacidil (n=6)	
	before	iso	before	iso	before	iso
HR (/min)	142±12	161±9*	138±8	155±7*	125±11	145±7*
AoP (mmHg)	94±4	91±5	106±7	96±6	105±6	95±9
LVEDP (mmHg)	4.0±0.35	3.7±0.73	6.7±0.33	5.5±0.87	6.3±1.80	7.0±0.50
LV <sub>max</sub> dp/dt (mmHg/sec)	1900±290	2350±180	2000±140	2200±150	1800±450	2100±150
MVO <sub>2</sub> (ml/min/100 g)	9.39±0.70	12.7±0.71*	7.80±0.68 <sup>b)</sup>	10.7±0.94 <sup>***a)</sup>	10.3±0.39	13.3±0.80*
CBF (ml/min/100 g)	81.0±2.5	114.0±10.1**	66.0±5.0 <sup>ab)</sup>	84.1±7.7 <sup>***a)</sup>	88.7±7.5	114.5±10.9*
coronary conductance (ml/min/100 g/mmHg)	0.799±0.021	1.29*±0.183	0.632 <sup>ab)</sup> ±0.061	0.926 <sup>***a)</sup> ±0.136	0.756±0.077	1.26*±0.736

The data are expressed by mean±SEM.

iso : iso proterenol, HR : heart rate, Aop : aortic pressure, LVEDP : left ventricular end-diastolic pressure,

LV<sub>max</sub>dp/dt : maximum rate of left ventricular pressure rise, MVO<sub>2</sub> : myocardial oxygen consumption, CBF : coronary blood flow

Statistically significant at the level of

\* p<0.05 vs before isoproterenol, \*\* p<0.01 vs before isoproterenol,

+ p<0.05 vs control, ++ p<0.01 vs control,

a) p<0.05 vs pinacidil, b) p<0.01 vs pinacidil

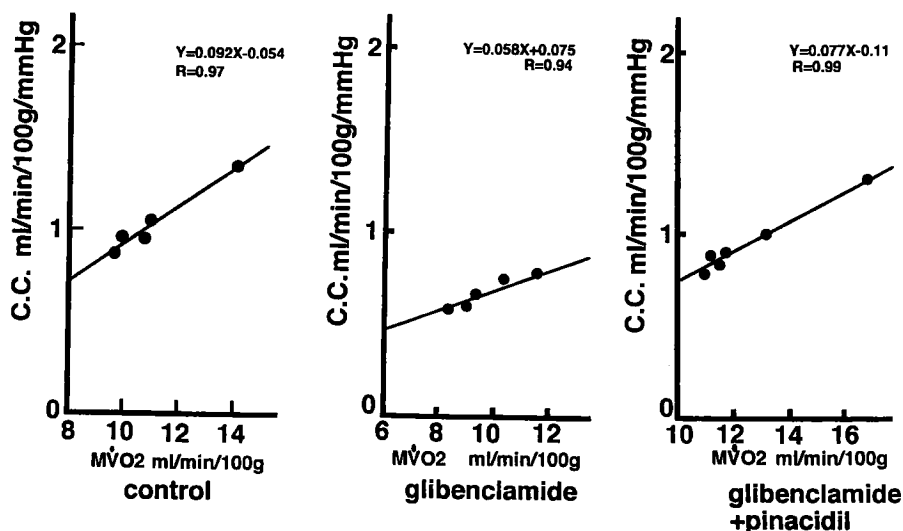


Fig. 2 Representative relationship between MVO<sub>2</sub> and coronary conductance obtained in a dog.

MVO<sub>2</sub> : myocardial oxygen consumption

C. C. : coronary conductance

を比較した。Fig. 2に1頭の犬から得られた control時(左), glibenclamide投与時(中央), および glibenclamide と pinacidil の同時投与時(右)に, isoproterenol 投与によって得られた C. C. と MVO<sub>2</sub>の関係を示した。C. C. と MVO<sub>2</sub>はいずれの場合も相関係数0.9以上の密接

な直線関係を示し, control時には直線の傾きは0.092であるのに対し, glibenclamide投与時には0.058と明らかに減少し, pinacidilを同時投与すると0.077へと回復した。Fig. 3に7頭から得られた control, glibenclamide, glibenclamide および pinacidil 同時投与時の回帰直線の

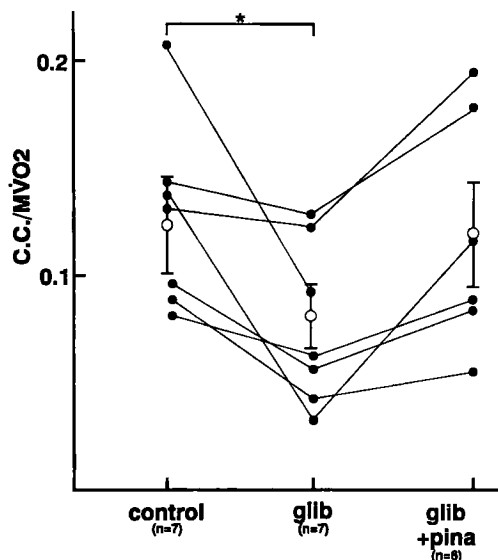


Fig. 3 Effects of glibenclamide on C.C./MVO<sub>2</sub> before and during isoproterenol infusion. glib.: glibenclamide, pina.: pinacidil, C. C.: coronary conductance, MVO<sub>2</sub>: myocardial oxygen consumption  
\* Statistically significant:  $p < 0.05$ .

傾き, すなわち C.C./MVO<sub>2</sub>を示した. control では C.C./MVO<sub>2</sub>は $0.123 \pm 0.017$ であるのに対し, glibenclamide では $0.076 \pm 0.014$ と有意に低下し, さらに glibenclamide および pinacidil の同時投与では $0.117 \pm 0.024$ とほぼ glibenclamide 投与前の値に回復した.

AS による左室圧負荷群では, control 時には負荷前の値は, 大動脈血圧 $97 \pm 10$ mmHg, MVO<sub>2</sub> $6.58 \pm 1.45$ ml/min/100 g, CBF $71.7 \pm 6.54$ ml/min/100 g, C. C.  $0.792 \pm 0.095$ ml/min/100 g/mmHg であった. AS 負荷により大動脈血圧は $121 \pm 13$ mmHg と約30%上昇し, MVO<sub>2</sub>は $10.3 \pm 2.41$  ml/min/100 g, CBF は $123.0 \pm 9.74$  ml/min/100 g, C. C. は $1.05 \pm 0.105$ ml/min/100 g へと有意に増加した. glibenclamide の投与時には, 負荷前の MVO<sub>2</sub>は glibenclamide 投与前の $6.58 \pm 1.45$ ml/min/100 g から $5.42 \pm 1.06$ ml/min/100 g へと有意に減少し, CBF, C. C. も低下傾向を示した. AS 負荷により大動脈血圧は $102 \pm 8$ mmHg から $124 \pm 10$ mmHg へと control 時とほぼ同程度に上昇した. MVO<sub>2</sub>は $5.42 \pm 1.06$  ml/min/100 g から $8.00 \pm 1.59$  ml/min/100 g に, CBF は $62.8 \pm 38.8$ ml/min/100 g から $84.9 \pm 3.95$ ml/min/100 g に, C. C. は $0.632 \pm 0.053$ ml/min/100 g/mmHg から $0.701 \pm 0.055$ ml/min/

Table 3 Effect of glibenclamide on aortic stenosis-induced hemodynamic changes

	control (n=8)		glibenclamide (n=8)		glibenclamide+pinacidil (n=7)	
	before	AS	before	AS	before	AS
HR (/min)	153 ± 19	149 ± 12	144 ± 9	137 ± 7	149 ± 12	134 ± 9
AoP (mmHg)	97 ± 10	121 ± 13**	102 ± 8	124 ± 10**	108 ± 8	128 ± 12**
LVEDP (mmHg)	6.8 ± 2.0	12.0 ± 2.5	6.5 ± 1.3	8.9 ± 2.0	7.3 ± 1.9	10.3 ± 2.6
LV <sub>max</sub> dp/dt (mmHg/sec)	2300 ± 270	2600 ± 600	2700 ± 620	2940 ± 620	2400 ± 340	2770 ± 440
MVO <sub>2</sub> (ml/min/100 g)	6.58 ± 1.45	10.3 ± 2.41*	5.42 ± 1.06*	8.00 ± 1.59 <sup>a)</sup>	6.44 ± 1.19	9.97 ± 1.95*
CBF (ml/min/100 g)	71.7 ± 6.54	123.0 ± 9.74**	62.8 ± 38.8 <sup>a)</sup>	84.9 ± 3.95**	76.2 ± 5.67	119.0 ± 7.82**
coronary conductance (ml/min/100 g/mmHg)	0.792 ± 0.095	1.05** ± 0.105	0.632 ± 0.053	0.701 <sup>a)</sup> ± 0.055	0.752 ± 0.061	1.05** ± 0.126

The data are expressed by mean ± SEM.

AS: aortic stenosis, HR: heart rate, AoP: aortic pressure, LVEDP: left ventricular end-diastolic pressure,

LV<sub>max</sub>dp/dt: maximum rate of left ventricular pressure rise, MVO<sub>2</sub>: myocardial oxygen consumption, CBF: coronary blood flow

Statistically significant at the level of

\*  $p < 0.05$  vs before AS, \*\*  $p < 0.01$  vs before AS,

+  $p < 0.05$  vs control, ++  $p < 0.01$  vs control,

a)  $p < 0.05$  vs pinacidil, b)  $p < 0.01$  vs pinacidil

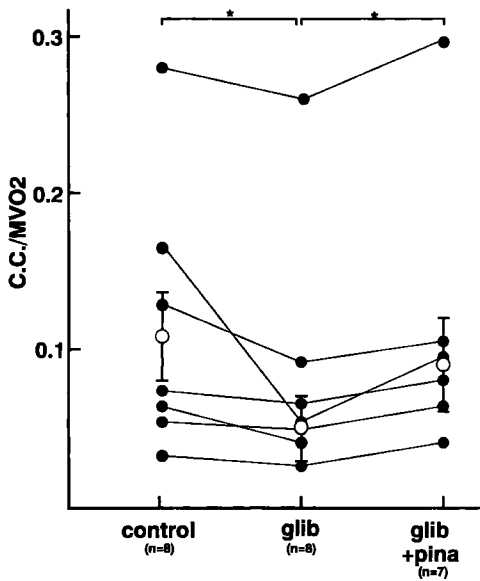


Fig. 4 Effects of glibenclamide on C.C./MVO<sub>2</sub> with aortic constriction. glib. : glibenclamide, pina. : pinacidil, C. C. : coronary conductance, MVO<sub>2</sub> : myocardial oxygen consumption  
\* Statistically significant : p < 0.05.

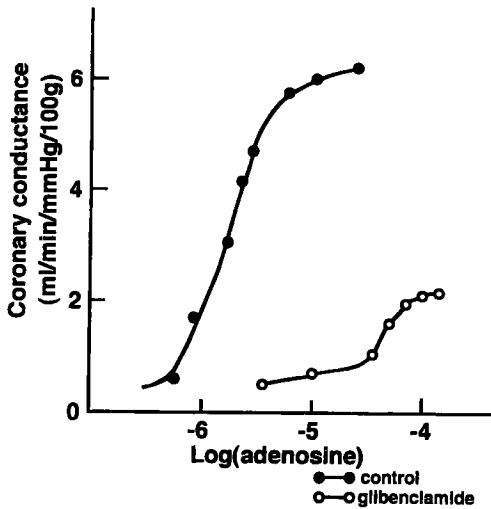


Fig. 5 Effect of glibenclamide on the dose-response curve of adenosine.

100 g/mmHg に増加したものの、これらの値は control 時の AS 負荷中の値よりも低値を示した。glibenclamide と pinacidil の同時投与時には、大動脈血圧、MVO<sub>2</sub>、CBF、C. C. はいずれも負荷前に比べて有意に増加し、負荷中の最高値は glibenclamide 投与前の値に回復した (Table 3)。

AS による左室負荷においても、glibenclamide が MVO<sub>2</sub> と C. C. との関係に及ぼす影響について検討した (Fig. 4)。control では C.C./MVO<sub>2</sub> は 0.103 ± 0.032 であるのに対し、glibenclamide 投与時には 0.073 ± 0.027 と有意に減少し、glibenclamide、pinacidil 同時投与では 0.096 ± 0.035 と glibenclamide 単独投与時と比べ有意に増加し control 時の値に復した。

次に adenosine の冠拡張作用に対する glibenclamide の影響を検討した (Fig. 5)。control において adenosine は冠動脈の C. C. を 0.73ml/min/100 g/mmHg から最大 6.07ml/min/100 g/mmHg へと約 830% 増加させたのに対し glibenclamide 投与時には、C. C. は 0.43ml/min/100 g/mmHg から 1.90ml/min/100 g/mmHg へと約 430% の増加に留まり、adenosine の冠拡張作用は抑制された。また最大冠拡張の 50% の効果をもたらす adenosine 冠動脈血中濃度 (EC50) は control では 1.0 × 10<sup>-5.8</sup> mol/l であるのに対し glibenclamide 投与時は 1.0 × 10<sup>-4.3</sup> mol/l と右方に shift した。

考 察

本研究では選択的 K<sub>ATP</sub> channel blocker である glibenclamide を用い、安静時、一過性虚血時、および心筋酸素需要増加時の冠動脈 tonus の調節に、K<sub>ATP</sub> channel が関与している事を示した。

Aversano ら<sup>2)</sup>は 0.8 μmol/min および 3.7 μmol/min の glibenclamide を冠動脈内投与し、30秒間の冠動脈閉塞後の反応性充血の flow debt repayment が、投与前の平均 200% からそれぞれ 76%、50% へと著明に抑制されることを示した。この投与量を冠動脈血中濃度に換算すると、それぞれ 10~20、60~80 μmol/l 程度に相当すると考えられる。一方 Samaha ら<sup>4)</sup>は

80~100 $\mu\text{mol}/1$  になるような glibenclamide の投与では、主要冠動脈に狭窄はなくとも coronary conductance が上昇して組織に虚血が生じ、それに伴い冠血流に oscillating pattern が生じることを報告している。そこで著者は冠血流の oscillation の可能性を避け、かつ十分な効果を得るために glibenclamide の投与量を冠血中濃度が 50 $\mu\text{mol}/1$  になるよう設定した。

今回の検討では glibenclamide の投与により安静時 CBF は 12~20% 減少し、 $K_{ATP}$  channel 開口薬の pinacidil の追加投与により glibenclamide 投与前の値に復した。Aversano ら<sup>2)</sup>は冠動脈内濃度が 60~80 $\mu\text{mol}/1$  の glibenclamide を投与しても負荷前の冠血流量には変化がなかったことを報告しているが、Imamura ら<sup>9)</sup>は麻酔開胸犬において、Duncker ら<sup>10)</sup>は覚醒犬において 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  (冠動脈血中濃度が約 50 $\mu\text{mol}/1$ ) の glibenclamide により、著者と同様に CBF はそれぞれ 40% および 20% 減少したことを観察している。Aversano ら<sup>2)</sup>の成績との差異の理由については不明だが、著者、Imamura ら<sup>9)</sup>、Duncker ら<sup>10)</sup>の結果は、 $K_{ATP}$  channel が安静時冠動脈 tonus の調節にも関与している事を示唆している。

glibenclamide の投与により、CBF の減少とともに  $\dot{M}\dot{V}O_2$  も低下したにもかかわらず、心筋酸素需要の主要な規定因子である心拍数、大動脈血圧、LV EDP および  $LV_{\text{max}}dp/dt$  から求めた心筋収縮力には有意な変化は認められなかった。著者は心筋収縮力の指標として  $LV_{\text{max}}dp/dt$  を用いたが、この指標は左室全体の収縮力を示すもので、glibenclamide 投与領域の心筋収縮力が低下しても、glibenclamide 非投与領域の心筋収縮が代償性に充進すれば、結果的には  $LV_{\text{max}}dp/dt$  には有意な変化を生じない恐れがある。事実、Duncker ら<sup>10)</sup>は覚醒犬で glibenclamide により局所心筋血流の減少に伴い、その灌流領域の心筋収縮の減弱を報告している。さらに Samaha ら<sup>4)</sup>は glibenclamide を冠血中濃度が 80 $\mu\text{mol}/1$  となるような濃度で投与すると、灌流領域に虚血が生じ、心筋は乳酸摂取から産生に転ずるとしている。したがって glibenclamide により CBF が減少した結果、局所心筋に虚血を

生じ、これに伴い心筋の収縮力が低下して  $\dot{M}\dot{V}O_2$  が減少した可能性が考えられる。これに加えて glibenclamide により CBF が減少し、gardenhose 効果 (Gregg 効果)<sup>11)</sup>が低下したため、2 次的な  $\dot{M}\dot{V}O_2$  の減少も加わって  $\dot{M}\dot{V}O_2$  の有意な減少を来したものと考えられる。

C. C. は  $\dot{M}\dot{V}O_2$  と密接な正相関を示して変化する事が知られている。このことは  $\dot{M}\dot{V}O_2$  が変化する場合には、C. C. 自体の変化のみでは、薬物や負荷が冠動脈に与える影響を判定することが困難なことを示している。glibenclamide も前述のごとく  $\dot{M}\dot{V}O_2$  を減少させることから、isoproterenol や AS による負荷で  $\dot{M}\dot{V}O_2$  を増加させた場合の C. C. の変化が、glibenclamide によりどの様な修飾を受けるかを検討する場合には、C. C. の変化自体からは判定できないことになる。そこで著者は、glibenclamide が isoproterenol および AS 負荷時の  $\dot{M}\dot{V}O_2$ -C. C. 関係に与える影響を検討した。これにより、心筋酸素需要の変化とは独立して glibenclamide が直接 C. C. に与える効果を検討することが可能となった。その結果、glibenclamide は isoproterenol 投与および AS 負荷により  $\dot{M}\dot{V}O_2$  を増加させた場合の C. C. の変化を抑制し、pinacidil の同時投与により glibenclamide の効果は消失した。従って心筋酸素需要増加時の冠血管の拡張作用には  $K_{ATP}$  channel が関与していることが示された。

本研究では心筋酸素需要増加時の  $K_{ATP}$  channel の活性化の機序については明らかにできなかった。しかし Saito ら<sup>22)</sup>の麻酔開胸犬を用いた検討では、isoproterenol や AS 負荷により C. C. は  $\dot{M}\dot{V}O_2$  と正相関し、同時に心筋内 adenosine 量とも密接な正相関を示すことから、 $\dot{M}\dot{V}O_2$  増加時の C. C. の増大には adenosine の関与が推測されている。一方 Aversano ら<sup>2)</sup>や Clayton ら<sup>13)</sup>によれば adenosine の冠動脈拡張作用は  $K_{ATP}$  channel を活性化することにより出現し、この効果は glibenclamide により著明に減弱することが報告されている。著者の検討でも glibenclamide は adenosine の最大冠拡張作用を抑制し、EC50 を増加させた。したがって isoproterenol や AS 負荷による心筋酸素需要増加時の  $K_{ATP}$  channel の活性化因子の一つと

して adenosine が推測された。一方著者の成績とは逆に Duncker ら<sup>10)</sup>の覚醒犬を用いた検討では, glibenclamide は運動負荷による C. C. の増加に影響を与えなかった。著者と Duncker ら<sup>10)</sup>の成績の違いの原因については十分には明らかではないが, 著者が麻酔開胸犬を用い, 心筋酸素需要を増加させるために isoproterenol の静脈内投与や AS 負荷による左室圧負荷を用いたのに対し, Duncker ら<sup>10)</sup>は覚醒犬に運動負荷を用いたことなど, 実験条件に差があることが関係しているものと考えられる。さらに Duncker ら<sup>10)</sup>は冠動脈 tonus の指標として C. C. ではなく, CBFを用いているため冠灌流圧(血圧)の変化の影響が除外できない事, 心筋酸素需要増加の指標として直接  $\dot{M}V\text{O}_2$  を測定せず, 心拍数で代用しているため,  $\dot{M}V\text{O}_2$  の変化が正確に反映されていない事なども関係しているかもしれない。

glibenclamide は20秒間の冠動脈閉塞後にみられた反応性充血の max C. C. および充血時間のいずれも明らかに抑制した。glibenclamide の反応性充血抑制機序については明らかではないが, pinacidil でこの抑制が消失することから  $K_{\text{ATP}}$  channel との関係が推測される。in vitro では  $K_{\text{ATP}}$  channel は ATP 存在下では不活性化されており,  $K_{\text{ATP}}$  channel が活性化されるためには, 細胞内 ATP 濃度が少なくとも  $100\sim 500 \mu\text{mol/l}$  以下に低下することが必要であり<sup>14)</sup>, Noma らもモルモット単離心筋にて同様の結果を報告している<sup>15)</sup>。また一過性虚血で心筋内 ATP 濃度が  $1 \text{ mmol/l}$  以下に達するには, 少なくとも40分間の冠閉塞を要することから, 著者

の観察した反応性充血が, 細胞内 ATP レベルの低下により  $K_{\text{ATP}}$  channel が活性化されたことに起因するとは考えにくい。Saito ら<sup>16)</sup>, Hina ら<sup>17)</sup>は adenosine deaminase や 8-phenyltheophylline に対する反応から, 5~60秒間の冠動脈閉塞後の反応性充血には, 心筋から遊離した adenosine が重要な役割を果たしていることを報告している。前述のごとく adenosine の冠拡張作用が  $K_{\text{ATP}}$  channel の活性化に基づく点を考慮すると, glibenclamide は心筋細胞間隙中に増大した adenosine が,  $K_{\text{ATP}}$  channel を活性化するのを阻害することにより反応性充血も抑制したと考えられる。従って, 一過性虚血後の反応性充血にも  $K_{\text{ATP}}$  channel を介する adenosine の作用が関与している可能性が高い。

## 結 論

麻酔開胸犬において,  $K_{\text{ATP}}$  channel 阻害薬の glibenclamide および  $K_{\text{ATP}}$  channel 開口薬である pinacidil を用いて安静時, 虚血時, 心筋酸素需要増加時の冠動脈 tonus の調節に  $K_{\text{ATP}}$  channel が関与していることを明らかにし,  $K_{\text{ATP}}$  channel の活性化には adenosine が関与している可能性を示した。

稿を終えるに臨み, 御校閲をいただいた当教室の原岡昭一教授に深甚なる謝意を表すとともに, 直接御指導をいただいた斎藤大治助教授に深く感謝致します。

本文の要旨は第33回日本脈管学会総会(岡山1992)において発表した。

## 文 献

- 1) Standen NB, Quayle JM, Davies NW and Nelson MT: Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K channels in arterial smooth muscle. *Science* (1989) **245**, 177-180.
- 2) Aversano T, Ouyang P and Silverman H: Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *Circ Res* (1991) **69**, 618-622.
- 3) Daut J, Maier-Rudolph W, Beckerath N, Mehrke G, Gunther K and Goeder-Meinen L: Hypoxic dilatation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science* (1990) **247**, 1341-1344.
- 4) Samaha FF, Heineman FW, Ince C, Fleming J and Blaban RS: ATP-sensitive potassium channel is essential to maintain basal coronary tone in vivo. *Am J Physiol* (1992) **262**, 1220-1227.



- 5) Ashcroft FM : Adenosine 5-triphosphate-sensitive channels. *Annu Rev Neurosci* (1988) **11**, 97—118.
- 6) Cook NS : The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *Trend Pharmacol Sci* (1988) **9**, 21—28.
- 7) Sturgess NC and Ashford MLJ : The sulfonylurea receptor may be an ATP-sensitive potassium channel. *Lancet* (1985) **2**, 474—475.
- 8) Coffman JD and Gregg DE : Reactive hyperemia characteristics of the myocardium. *Am J Physiol* (1960) **199**, 1143—1149.
- 9) Imamura Y, Tomoike H, Narishige T, Takahashi T, Kasuya H and Takeshita A : Glibenclamide decreases basal coronary blood flow in anesthetized dogs. *Am J Physiol* (1992) **263**, 399—404.
- 10) Duncker DJ, Van Zon NS, Altman JD, Pavsek TJ and Bache RJ : Role of  $K^+_{ATP}$  channels in coronary vasodilation during exercise. *Circulation* (1993) **88**, 1245—1253.
- 11) Gregg DE : Effect of coronary perfusion pressure or coronary blood flow on oxygen usage of the myocardium. *Circ Res* (1963) **13**, 497—500.
- 12) Saito D, Nixon DG, Vomacka RB and Olsson RA : Relationship of cardiac oxygen usage, adenosine content, and coronary resistance in dogs. *Circ Res* (1980) **47**, 875—882.
- 13) Clayton FC, Hess TA, Smith MA and Grover GJ : Coronary reactive hyperemia and adenosine-induced vasodilation are mediated partially by a glyburide-sensitive mechanism. *Pharmacology* (1992) **44**, 92—100.
- 14) Gross GJ and Auchampach JA : Role of ATP dependent potassium channels in myocardial ischemia. *Cardiovasc Res* (1992) **26**, 1011—1016.
- 15) Noma A : ATP-regulated K channels in cardiac muscle. *Nature* (1983) **305**, 147—148.
- 16) Saito D, Nixon DG and Olsson RA : Effect of adenosine deaminase on myocardial reactive hyperemia : preliminary report. *Basic Res Cardiol* (1981) **76**, 369—371.
- 17) Hina K, Watanabe H, Ueeda M, Yamada N, Saito D, Haraoka S, Tuji T and Kusachi S : Forskolin potentiates myocardial reactive hyperaemia in the open chest dog : the contribution of adenylate cyclase. *Cardiovasc Res* (1989) **23**, 104—111.

**The role of the  $K_{ATP}$  channel in functional and reactive myocardial hyperemia**

**Hiroo KOBAYASHI**

**Department of Cardiovascular Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. S. Haraoka)**

To evaluate the role of the  $K_{ATP}$  channel in regulating coronary tonus in response to increases in myocardial oxygen consumption, and reactive hyperemia following ischemia, coronary blood flow was measured with glibenclamide, a  $K_{ATP}$  channel blocker ( $50\mu\text{mol/l ic.}$ ) and pinacidil, a  $K_{ATP}$  channel opener, ( $10\mu\text{mol/l ic.}$ )

The following interventions were applied in the control and during intracoronary infusions of glibenclamide alone or glibenclamide plus pinacidil : 1) intravenous infusion of isoproterenol ( $0.125\mu\text{g/kg/min}$ ), 2) aortic constriction to raise the mean aortic pressure by 30%.

The slope of the regression line of coronary conductance of myocardial oxygen consumption was significantly decreased with glibenclamide ( $p < 0.05$ ), but returned to the baseline with pinacidil, both during isoproterenol infusion and aortic constriction. Reactive hyperemia following a 20-sec coronary occlusion was also attenuated with glibenclamide and recovered with pinacidil.

These findings suggest that the  $K_{ATP}$  channel regulates coronary artery tonus during the increase in myocardial oxygen consumption and transient myocardial ischemia.