



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	虚血心筋代謝変化におよぼすハイブリッド型 β -受容体遮断薬の作用に関する研究
Author(s)	早勢, 伸正
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬学)
Dissertation Number	乙第4732号
Issue Date	1995-03-24
DOI	https://doi.org/10.11501/3101628
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/50178
Type	doctoral thesis
File Information	000000285190.pdf



4932

虚血心筋代謝変化におよぼす
ハイブリッド型 β -受容体遮断薬
の作用に関する研究

早 勢 伸 正

略号表

ADP	adenosine diphosphate
AMP	adenosine 5'-phosphate
ATP	adenosine 3',5'-phosphate
CAMP	adenosine 3',5'-cyclic nucleotide
Ca ²⁺	calcium
CP	虚血心筋代謝変化におよぼす ハイブリッド型β-受容体遮断薬 の作用に関する研究
DMIC	
ECF	
ETCA	
FDP	
GDH	
PG-T	
GG-D	
AMPDH	
NEPES	
HR	早 勢 伸 正
ICP	
LAD	left anterior descend coronary artery (左冠動脈下行枝)
LCx	left circumflex coronary artery (左冠動脈横行枝)
LDH	
MA	

略号表

A D P	adenosine 5'-diphosphate
A M P	adenosine 5'-monophosphate
A T P	adenosine 5'-triphosphate
c A M P	adenosine 3',5'-cyclic monophosphate
c G M P	guanosine 3',5'-cyclic monophosphate
C P K	creatine phosphokinase
C r P	creatine phosphate
D M S O	dimethyl sulfoxide
E C P	energy charge potential
E D T A	ethylenediaminetetraacetic acid
F D P	fructose 1,6-diphosphate
G D H	α -glycerophosphate dehydrogenase
F 6 - P	fructose 6-phosphate
G 6 - P	glucose 6-phosphate
G 6 P D H	glucose 6-phosphate dehydrogenase
H E P E S	4-(hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid
H K	hexokinase
K _{ATP}	ATP-sensitive potassium channels
L A D	left anterior descending coronary artery (左冠動脈前下行枝)
L C X	left circumflex coronary artery (左冠動脈回旋枝)
L D H	lactate dehydrogenase
M K	myokinase

M O P S	3- [N-Morpholino]propanesulfonic acid
N A D ⁺	nicotinamide adenine dinucleotide, oxidized
N A D H	nicotinamide adenine dinucleotide, reduced
N A D P ⁺	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, oxidized
N A D P H	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced
N O	nitric oxide
P F K	phosphofructokinase
P G I	phosphoglucose isomerase
P K	pyruvate kinase
P K C	protein kinase C
T C A	tricarboxylic acid
T I M	triosephosphate isomerase
Δ S T	ST segment alteration (心電図における S T 部の変化量)
Δ T Q	TQ segment alteration (心電図における T Q 部の変化量)

目 次

序 論	1
第 I 編 ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす作用	4
実験方法	
1. 動物の処理	5
2. エネルギー代謝および糖代謝中間体の測定方法	8
3. 実験動物の群分け	8
4. 使用薬物	9
5. 統計処理	10
第 1 章 ニプラジロールの虚血心筋エネルギー代謝におよぼす作用	11
第 1 節 血圧, 心拍数, 冠血流量の変化	11
第 2 節 心筋 ATP, ADP, AMP および全ヌクレオチド含量の変化	13
第 3 節 ECP 値の変化	13
第 4 節 心筋 CrP, 乳酸含量の変化	16
第 5 節 考察	17
第 2 章 アモスラロールの虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす作用	20
第 1 節 血圧, 心拍数, 冠血流量の変化	20
第 2 節 心筋 ATP, ADP, AMP 含量および	

	E C P 値の変化	2 2
第 3 節	心筋 C r P 含量の変化	2 2
第 4 節	心筋グリコーゲン, グルコース含量の変化	2 5
第 5 節	心筋 G 6 - P, F 6 - P, F D P 含量および ([G6-P] + [F6-P])/[FDP] 比の変化	2 5
第 6 節	心筋乳酸, ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比 の変化	2 6
第 7 節	考察	3 0
第 3 章	チリソロールの虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝 におよぼす作用	3 3
第 1 節	血圧, 心拍数, 冠血流量の変化	3 3
第 2 節	心筋 A T P, A D P, A M P 含量および E C P 値の変化	3 5
第 3 節	心筋 C r P 含量の変化	3 5
第 4 節	心筋 G 6 - P, F 6 - P, F D P 含量および ([G6-P] + [F6-P])/[FDP] 比の変化	3 8
第 5 節	心筋乳酸, ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比 の変化	4 0
第 6 節	虚血による表面心電図の変化におよぼす プロプラノロール, チリソロールの作用	4 2
第 7 節	考察	4 4
第 II 編	ハイブリッド型 β - 受容体遮断薬の虚血心筋 p H 変化に およぼす作用	4 9

実験方法

1. 動物の処理	-----	5 1
2. 実験動物の群分け	-----	5 3
3. 使用薬物	-----	5 3
4. 統計処理	-----	5 3
第1章	ハイブリッド型 β -受容体遮断薬および プロプラノロールの虚血心筋pH変化に およぼす作用	----- 5 4
第1節	血圧, 心拍数, 冠血流量の変化	----- 5 4
第2節	虚血心筋pH値の変化	----- 5 6
第3節	考察	----- 5 8
第2章	チリソロールがもつ K_{ATP} チャネル開口作用は虚血心筋 pH値低下の改善効果に寄与するか	----- 6 2
第1節	血圧, 心拍数, 冠血流量の変化	----- 6 2
第2節	チリソロールの虚血心筋pH値低下の改善作用に 対するグリベンクラミドの影響	----- 6 4
第3節	虚血による表面心電図の変化におよぼす グリベンクラミド, チリソロールの作用	----- 6 4
第4節	考察	----- 6 7
結論	-----	7 1
謝辞	-----	7 4
引用文献	-----	7 5

序論

心臓はその個体の生命の続く限り、収縮と弛緩を繰り返して、血液を全身に送り出すポンプとして働いている重要な臓器である。このポンプ作用を維持するために心筋は大量のエネルギーを産生し、消費している。すなわち、心筋も骨格筋と同様にミオシンとアクチンのスライディングにより収縮が起こるが、この時、ATPの加水分解によって得られる化学エネルギーを必要とし、この化学エネルギーは心筋の好氣的代謝によって産生されている。そのために、心臓自身は冠動脈を通過して流れる血液から酸素や栄養分を得ている。しかし、何らかの原因で冠動脈に通過障害が起こると心筋に対する血液供給が不足して、その冠動脈の支配領域の心筋は酸素不足の虚血状態になる。

狭心症や心筋梗塞のような虚血性心疾患は、死亡原因の中でも常に上位を占める極めて危険な疾患である。心臓の冠動脈が狭窄して虚血が一時的に起こる場合、これは激しい胸痛を伴う狭心症となり、冠動脈の狭窄が持続すると心筋梗塞となり心筋細胞は壊死してしまう。狭心症治療薬として古くから用いられている β -アドレナリン受容体遮断薬のプロプラノロールは、心臓の収縮力と拍動数を減少させて心筋の酸素需要、すなわちエネルギー需要を低下させ、虚血によって起こる心筋の相対的エネルギー不足を解消することで抗狭心症効果を発揮する[1, 2]。一方、プロプラノロールは冠動脈を収縮させる作用があり、冠動脈攣縮に起因する狭心症では却って発作を誘発したり増悪することも知られている[3, 4]。これは、冠動脈には交感神経の α 受容体も β 受容体も分布しており、 β 遮断を行うと、それ自体による血管収縮と α 受容体の作用が強まり冠動脈が収縮し易くなるためと考えられている[4, 5]。

最近、 β -アドレナリン受容体遮断作用を有する化合物に血管拡張作用を付加した、いわゆるハイブリッド化合物が開発され、臨床的に使用され

ている。例えば、ニトログリセリン、 α_1 -アドレナリン受容体遮断薬およびATP感受性Kチャネル開口薬などの血管拡張作用の性質を β 遮断作用を有する化合物に付加した薬物としてそれぞれ、ニプラジロール[6]、アモスラロール[7]、チリソロール[8]などがある(チャート 1)。これらの化合物は、 β 遮断作用によって心筋の酸素需要を減少させる他に冠血管を拡張させてその血流量を増やし、心筋により多くの酸素を供給することで虚血障害から心筋をより強く改善することが期待されている[9-11]。

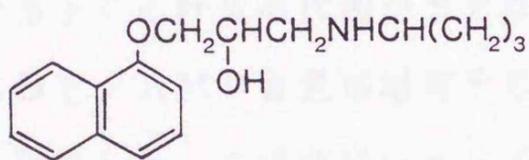
通常、心筋細胞は好氣的代謝によってエネルギーを得、筋収縮に利用していることは前述した。虚血によって酸素不足になると、心筋細胞は嫌氣的代謝を営むことが知られている[12, 13]。すなわち、心筋はグリコーゲンを分解し、解糖系を亢進して不足したエネルギーを少しでも補おうとする。結局、虚血になると好氣的代謝の抑制と嫌氣的糖代謝の亢進が起こり、虚血障害を改善する薬物は、これら虚血による代謝変化を起こさないように作用すると考えられる。すなわち、この虚血時の好氣的代謝の抑制および嫌氣的糖代謝の亢進という変化を指標に用い、もし虚血性心疾患治療薬にこれらの変化を改善する作用があれば治療薬として有効であると判定して評価することができる[14, 15]。

また、心筋が虚血になると解糖系の最終産物である乳酸が増加し、その組織内pH値は低下することが知られている[16, 17]。この事実は、心筋組織内pH変化と虚血時の心筋代謝変化は互いに密接に関係していることを示している[18]。これらのことから、本研究において著者は、ニプラジロール、アモスラロールおよびチリソロールを用い、これらハイブリッド型 β -受容体遮断薬によって虚血による心筋代謝変化が改善されるか否か、どのハイブリッド型 β -受容体遮断薬が虚血性心疾患治療薬として有用であるか否かを判定することを目的として種々の検討をおこなった。

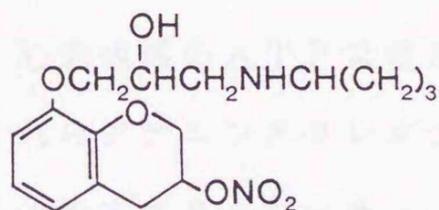
すなわち、まず最初に、ニプラジロール、アモスラロール、チリソロール各薬物の(I)虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす作用に

ついて、プロプラノロールと比較して検討した。次いで、プロプラノロールおよび各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の(Ⅱ)虚血心筋pH変化におよぼす作用について、心筋組織内pH値を連続測定して虚血心筋代謝変化を連続的に把握し、4種類の β 遮断薬の効果を相対的に比較検討した。

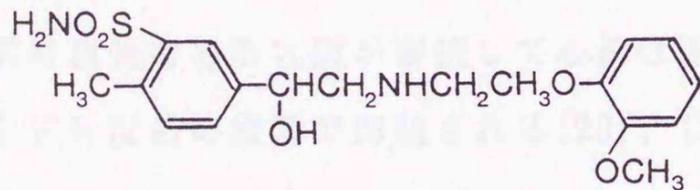
以下、得られた結果を二編にわたり論述する。



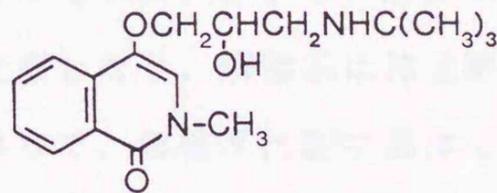
1. Propranolol



2. Nipradilol (Nitrate)



3. Amosulalol (α_1 遮断)



4. Tilisolol (K_{ATP} 開口)

()内は付加作用

チャート 1. プロプラノロールおよびハイブリッド型 β -受容体遮断薬

第 I 編 ハイブリッド型 β - 受容体遮断薬の虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす作用

エネルギーの需要と供給のバランスが崩れた虚血心筋におよぼす薬物の作用を研究するうえで、心筋代謝変動を調べることは非常に重要なことである。前述したように心臓は、冠動脈血によって運ばれてくる栄養分（基質）と酸素で、ミトコンドリアにおける呼吸鎖と T C A 回路をうまく回転させて効率良く A T P を産生している。しかし、冠動脈の障害によって虚血になるとこの好氣的代謝ができなくなり、心筋組織の A T P 含量が低下し、A D P, A M P 含量が増加する [19]。これらアデニンヌクレオチド含量から計算した、心筋組織のエネルギー状態を表すエネルギーチャージポテンシャル (E C P) [20] は虚血によって低下し、エネルギー貯蔵庫といわれる C r P 含量も著しく低下する [21]。酸素不足になった心筋では、嫌氣的解糖系が亢進してエネルギーを補おうとする [22]。しかし、解糖系の最終産物である乳酸が蓄積して心筋は還元状態となり、解糖系は律速酵素 P F K 反応の段階で抑制される [23]。したがって、解糖系代謝中間体である G 6 - P, F 6 - P 含量は増加し、F D P 含量は減少する [24]。また、解糖系の最終産物である乳酸が蓄積して心筋は還元状態（アシドーシス）になる。 β - 受容体遮断薬は虚血によるグリコーゲンの分解を抑制し、解糖系の流れが活発となることを抑制する。これは嫌氣的な A T P 産生を阻害することになり、エネルギーが不足している虚血心筋に良い効果を与えないことにもなるが、乳酸の蓄積を予防して心筋をアシドーシスから守ることにもなる。Ichihara [25, 26] らによれば、冠動脈閉塞による心筋 A T P, C r P 含量および心筋 p H 値の減少は、プロプラノロールによって著明に改善された。つまり、 β - 受容体遮断薬は A T P の産生を減少させる程度

よりも大きな程度でATPの消費を減少させ、虚血時の心筋エネルギー需要と供給のアンバランスを是正する。本実験では、心筋虚血時における糖代謝およびエネルギー代謝の変動という生理生化学的变化を指標に、各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋に対する効果を調べた。

実験方法

1. 動物の処理

雌雄雑種成犬(体重6.2~24.5 kg)にペントバルビタールナトリウム(30 mg/kg)を静脈内に投与して麻酔をかけ、頸部を切開して気管にカニューレを挿管後、人工呼吸器に連結した。

左側第4, 第5肋間より開胸して心臓を露出した。左冠動脈前下行枝(LAD)の起始部より1 cm位末梢側を丁寧に剝離して1本の糸を通し、その下方に電磁血流計のプローブを装着した。冠動脈結紮によって虚血になると思われる心筋部位に表面心電図導出用の電極を取付け、動脈圧は左頸動脈に挿入したポリエチレンカニューレから圧トランスデューサーを介して測定した。また、心拍数は四肢に電極を装着した第II肢誘導の心電図波形からタコメーターを介してポリグラフに入力、記録した。全ての準備が完了して各種の血行パラメーターが安定する約30分から1時間後に実験を開始した。

対照としての生理的食塩水あるいはプロプラノロール(1 mg/kg)、またはプロプラノロール(1 mg/kg)と同程度に心拍数を低下させる用量のニブラジロール(0.3 mg/kg)、アモスラロール(1 mg/kg, 他に低用量投与群として0.3 mg/kg)、チリソロール(0.2 mg/kg)の水溶液を、それぞれ0.5 ml/kgの容量になるように左大腿静脈より約30秒かけて投与した。生理的食塩水あるいは各薬物を投与して5分後に、LADに通した糸で冠動脈

を完全に結紮した。冠動脈結紮直前にLAD支配下領域の心筋を、あるいは冠動脈結紮3分後と30分後にLAD部位の虚血心筋を異なる別々の群よりハサミで素早く切り出し、液体窒素(-196℃)であらかじめ冷却しておいた金属性のクランプで瞬時に凍結固定した。この時、心筋に方向性を持たせてクランプに挟むことによって心筋内膜側と外膜側に分け、心筋内膜層側1/4の心筋のみをサンプルとして採取し[27]、液体窒素中に保存した。切り出してから凍結固定までの時間は10秒以内であった。図1に虚血心筋サンプルの作製と採取方法について模式的に示した。



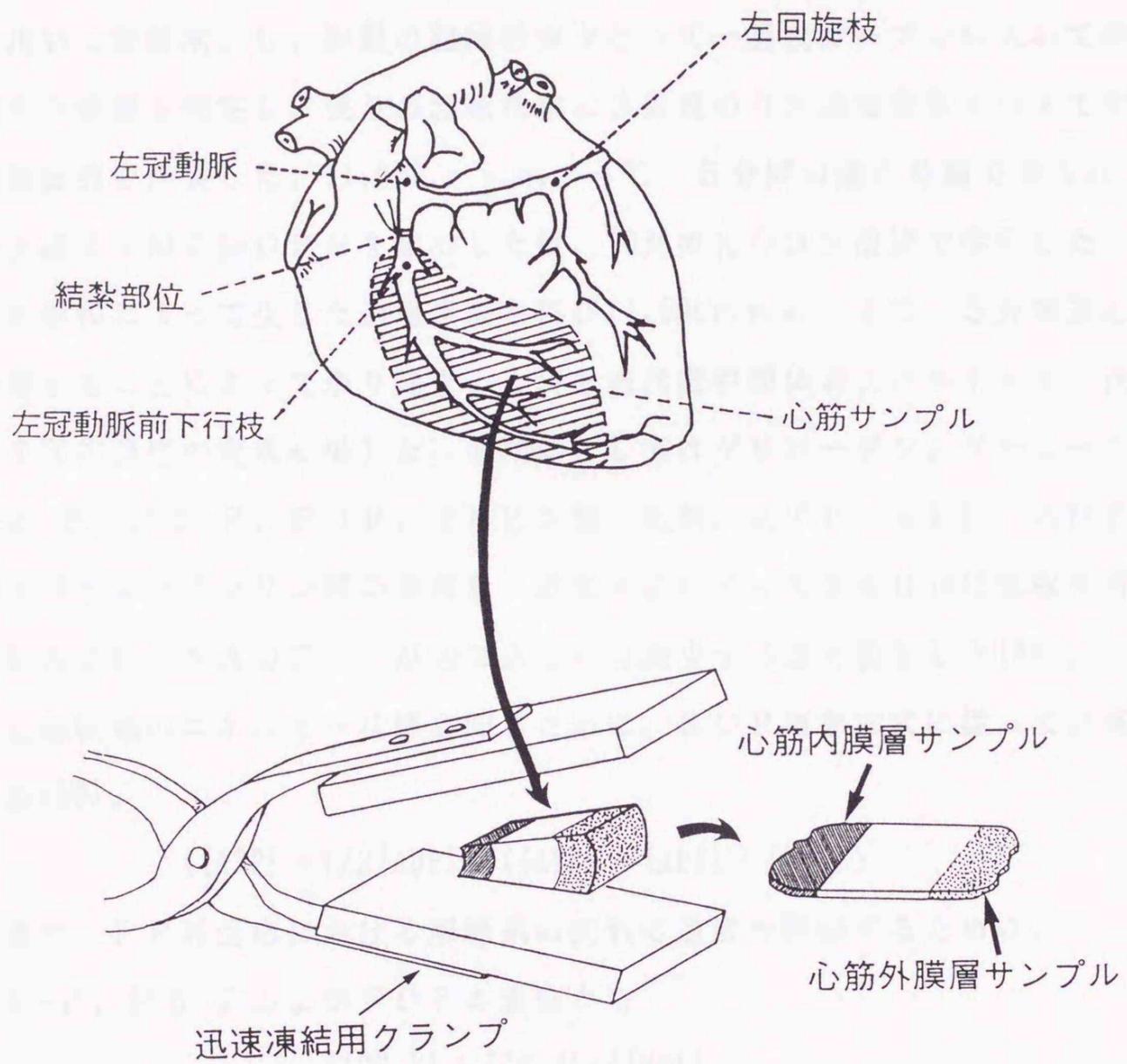


図1. 虚血心筋サンプルの作製と採取
心筋内膜層側、外膜層側に分けるために、方向性を持たせて挟む。

2. エネルギー代謝中間体および糖代謝中間体の測定方法

凍結保存した心筋内膜側の組織サンプルは液体窒素温度下で乳鉢と乳棒を用いて微粉末とし、少量の組織粉末をとって一昼夜オーブンに入れて組織水分含量を測定し、残りの組織粉末に3倍量の6%過塩素酸を加えて組織抽出液を作製した。11,000 r.p.m., 4°C, 5分間の遠心分離で得られた上清に1MのMOPSを添加した後、70%のKOH水溶液で中和した。この中和によって生じた過塩素酸を再び11,000r.p.m., 4°C, 5分間遠心分離することによって取り除き、上清を糖代謝中間体およびエネルギー代謝中間体濃度の定量に供した。中間体としてはグリコーゲン, グルコース, G6-P, F6-P, FDP, ピルビン酸, 乳酸, ATP, ADP, AMP およびクレアチンリン酸の濃度を、酵素反応によって340nmに吸収を持つNADH (NADPH) が増加あるいは減少する量で測定した[28]。

心筋組織のエネルギー状態を知るために、ECP値を次式に従って計算した[20]。

$$([ATP] + 1/2[ADP]) / ([ATP] + [ADP] + [AMP])$$

また、PFK反応における解糖系の流れの速度を評価するために、G6-P, F6-PおよびFDPの濃度から

$$([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$$

の式に従って、ヘキソースリン酸とヘキソースニリン酸の比を計算した[29]。

3. 実験動物の群分け

実験に用いられた犬は、心臓をいつ摘出したかによって次の3群に分けられた。すなわち、非虚血群（冠動脈結紮直前）、3分虚血群（冠動脈結紮3分後）および30分虚血群（冠動脈結紮30分後）である。各群の動

物はさらに対照群（生理的食塩水投与群）、薬物投与群（プロプラノロール、ニプラジロール、アモスラロール、チリソロール）に分けられた。各群とも5～12頭の犬を使用した。

4. 使用薬物

本編で用いた試薬は以下の通りである。

A D P	Sigma 社
アミログルコシダーゼ	Sigma 社
アモスラロール（塩酸塩、ラセミ体）	山之内製薬（株）より供与
A T P	Sigma 社
アルドラーゼ	Sigma 社
C P K	Sigma 社
E D T A	ドージン化学
G D H	Sigma 社
グルコース	和光純薬
グリシン	和光純薬
G 6 P D H	Sigma 社
H E P E S	半井化学
H K	Sigma 社
ヒドラジン	和光純薬
L D H	Sigma 社
M K	Sigma 社
M O P S	半井化学
N A D	Sigma 社
N A D H（還元型）	Sigma 社
N A D P	Sigma 社

NADPH (還元型)	Sigma 社
ニプラジロール (塩酸塩、ラセミ体)	興和新薬 (株) より供与
PGI	Sigma 社
ホスホエノールピルビン酸	Sigma 社
PK	Sigma 社
プロプラノロール (塩酸塩、ラセミ体)	ICIファーマ (株) より供与
ペントバルビタール (ナトリウム塩)	和光純薬
過塩素酸	和光純薬
チリソロール (塩酸塩、ラセミ体)	日清製粉 (株) より供与
TIM	Boehringer Mannheim

その他、エネルギー代謝中間体および糖代謝中間体の抽出および測定のための試薬類はすべて市販の特級品を用いた。

5. 統計処理

すべての値は、平均値 + (あるいは-) 標準誤差で表し、有意差検定は、スチューデントの *t* 検定を用いた (対応のあるものには対応のある検定を、対応のないものには対応のない検定を用いた)。P の値が 0.05 以下のものを有意差ありとした。

第1章 ニプラジロールの虚血心筋エネルギー代謝におよぼす作用 [30]

β -受容体遮断薬のプロプラノロールと同じように、亜硝酸化合物のニトログリセリンを投与すると冠動脈結紮によって虚血になっているはずの心筋があたかも好氣的代謝を営んでいるかのように見え、高エネルギー燐酸化合物減少の改善作用が観察される [31]。ニトログリセリンは冠循環を改善し、静脈還流量を減少させて虚血部分のエネルギー需要と供給のアンバランスを改善すると考えられている [32]。また、ニトログリセリンは体内で代謝されてNO（一酸化窒素）を産生し [33]、cGMPを増加させて虚血などで亢進するcAMPによる代謝変動を抑制することも報告されている [34]。したがって、 β -受容体遮断薬とニトログリセリンの二つの作用を併せ持つ薬物を投与すると、より強い虚血心筋の改善効果が現れると期待できる [35]。本章では、化学構造上ニトロ基を有し、ニトログリセリン様の強い血管拡張作用がある β 遮断薬ニプラジロール [36] の虚血心筋エネルギー代謝におよぼす効果について調べ、プロプラノロールと比較した。

第1節 血圧、心拍数、冠血流量の変化

対照群および薬物投与群における血行動態の変化のうち、冠動脈結紮30分後に心筋を切り出した30分虚血群の血行動態の変化を図2に示した。生理的食塩水、プロプラノロールあるいはニプラジロールを投与する直前の収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数、冠血流量の平均値はそれぞれ、143~154 mmHg, 99~107 mmHg, 140~149 beats/min, 10.8~17.4 ml/minであった。対照群においては、すべての血行動態のパラメーターは生理的食塩水投与によって変化を示さなかったが、冠動脈を結紮すると冠血流量は0 ml/minになり、収縮期血圧、拡張期血圧が低下傾向となって、心拍数は増加する傾向を示した。プロプラノロールを投与すると血圧が一過性

に低下するもののすぐに回復し、心拍数は投与直後より約25%減少した。一方、ニプラジロール投与群ではプロプラノロールを投与した場合とは異なり、その投与直後から速やかな血圧の低下が観察され、収縮期血圧で約19%低下し、心拍数はプロプラノロールと同程度に約26%減少した。また、冠血流量もプロプラノロール投与群に比べより強く減少し、投与5分後には約30%減少した。プロプラノロール投与群およびニプラジロール投与群とも冠動脈結紮により血圧、心拍数はさらに減少し、冠血流量は0 ml/minを示した。

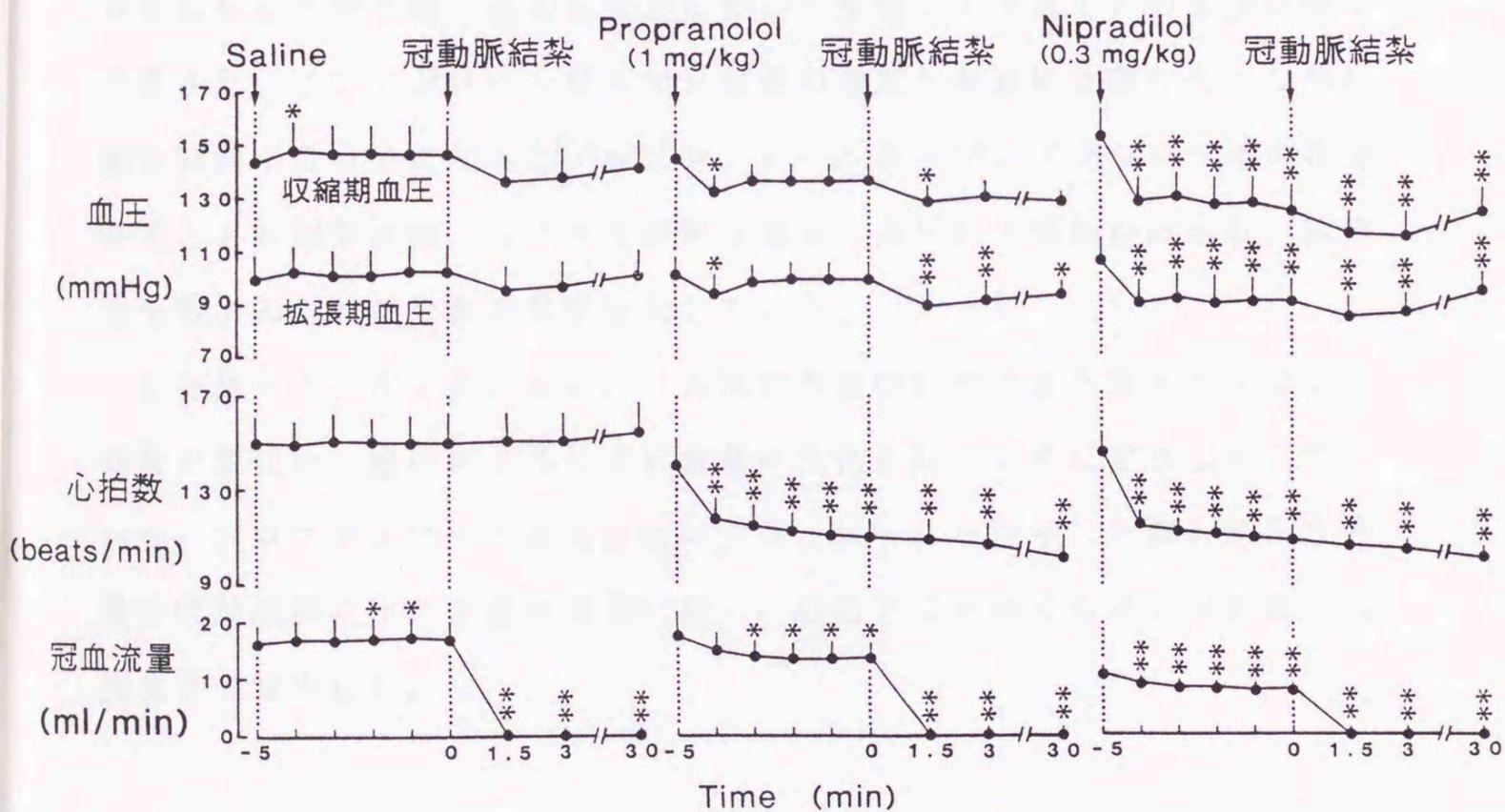


図2. 生理的食塩水, プロプラノロール, ニプラジロール投与および冠動脈結紮による血圧, 心拍数, 冠血流量の変化
各投与群とも「-5分」から「30分」における30分虚血群の変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。値は、平均値+標準誤差。(n=7~10) *P<0.05, **P<0.01 (「-5分」値と比較)

第2節 心筋ATP, ADP, AMPおよび全ヌクレオチド含量の変化

図3に冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化を、図4には全ヌクレオチド含量の変化をそれぞれ示した。冠動脈結紮前(非虚血群)のATP, ADP, AMP含量は、対照群、プロプラノロール投与群およびニプラジロール投与群の間に、プロプラノロール投与群のAMP含量を除いて、有意な差は認められなかった。対照群において、冠動脈を結紮すると心筋ATP含量は結紮3分後、30分後と次第に有意に減少した。また、ADP, AMP含量は結紮3分後に一過性に増加し、結紮30分後には減少する変化を示した。プロプラノロールあるいはニプラジロールを投与した群では、結紮3分後において虚血によるATPの減少が強く改善され、ニプラジロールはAMP含量の増加も有意に改善した。しかし、結紮時間が30分になるとプロプラノロールおよびニプラジロールの各投与群とも対照群同様、ATPの有意な減少、AMPの増加がみられ、結紮3分後にみられた改善効果は消失していた。

したがって、ATP, ADP, AMP含量の総和である全ヌクレオチド含量の変化は、虚血によるATP含量の変化と同じように変化した。すなわち、プロプラノロールあるいはニプラジロールを投与した群の結紮3分後では対照群に比べ含量が有意に高く、結紮30分後になると対照群と同程度まで減少した。

第3節 ECP値の変化

ATP, ADP, AMPの各含量から計算したECP値の冠動脈結紮による変化を図5に示した。対照群では、冠動脈を結紮して虚血にすると、ATP含量の変化(図3)同様に、ECP値は結紮前値の0.90から結紮3分後0.84、結紮30分後0.83と著しく低下した。プロプラノロール投与群、

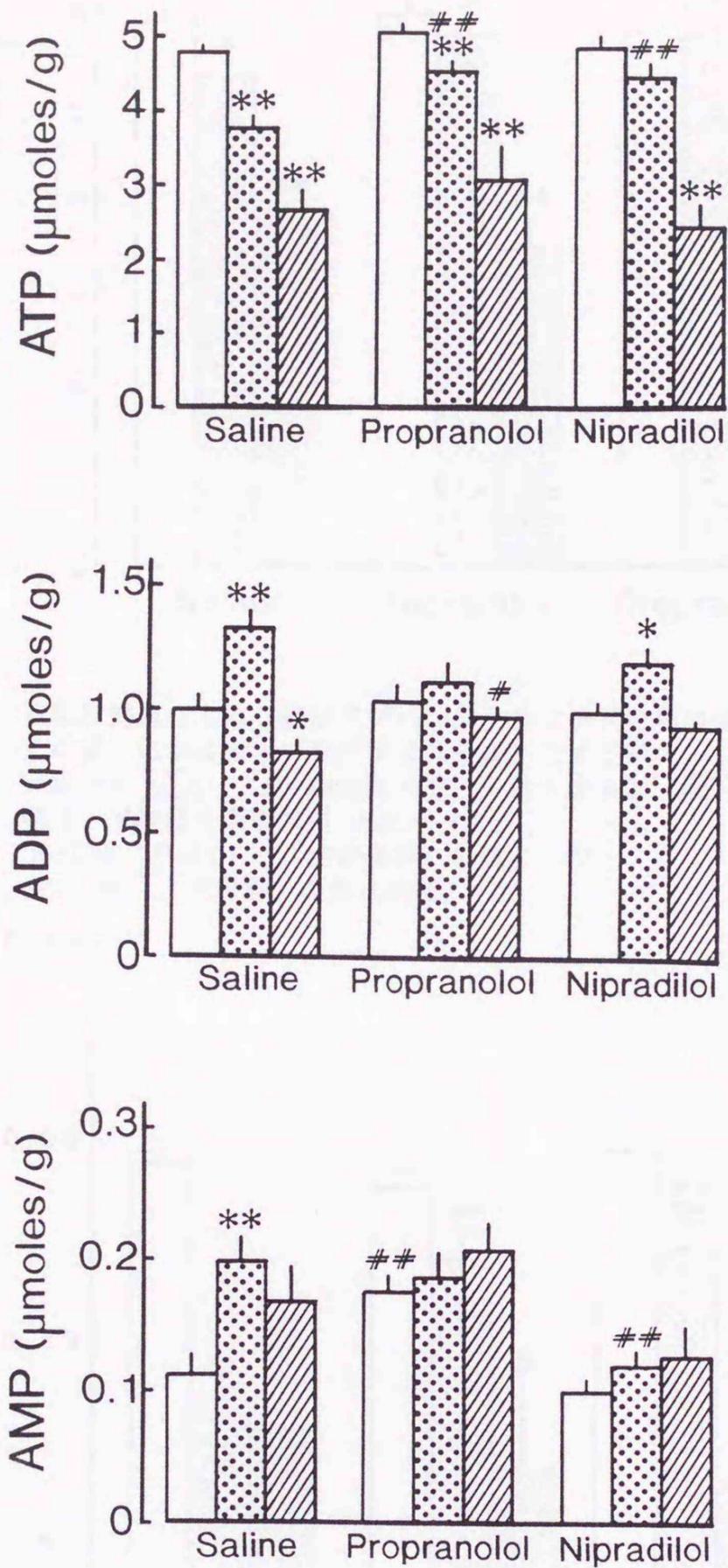


図3. 冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, ニプラジロールの作用
 冠動脈結紮直前(「非虚血群」; □), 結紮3分後(「3分虚血群」; ▨), 結紮30分後(「30分虚血群」; ▩)の値を平均値+標準誤差(n=5~12)で示してある。 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較) #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

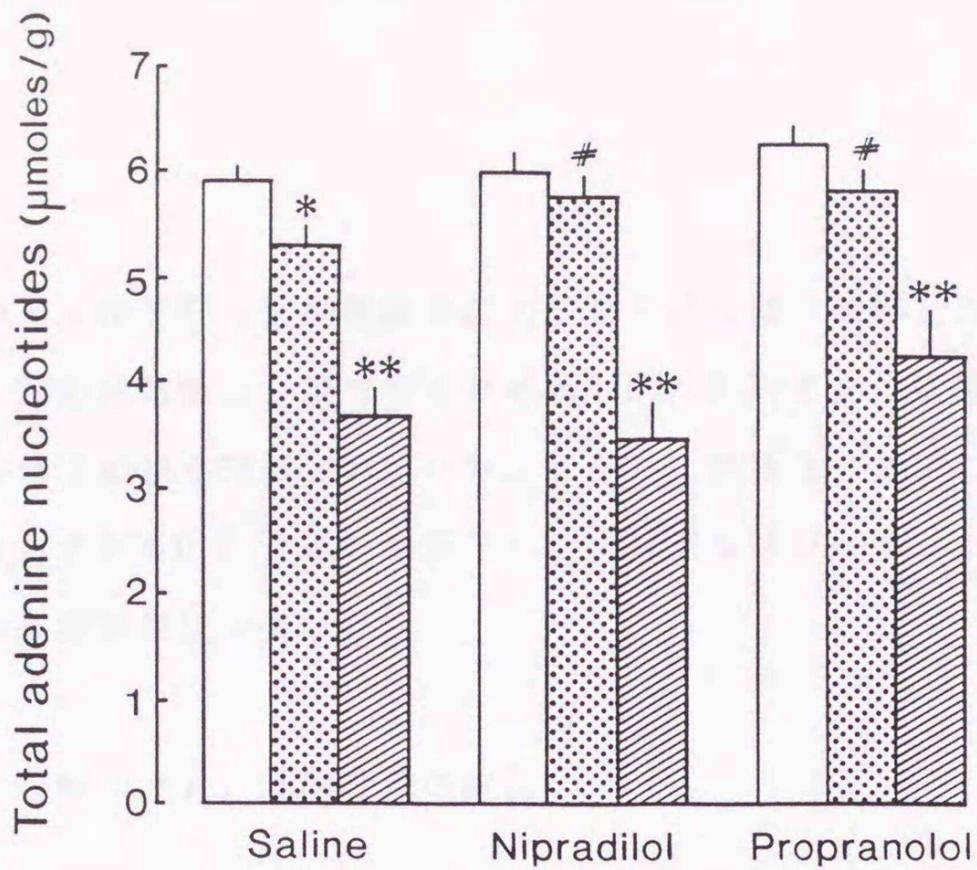


図4. 冠動脈結紮による心筋全アデニンヌクレオチド含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, ニブラジロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+標準誤差 (n=5~12)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05 (「対照群」の値と比較)

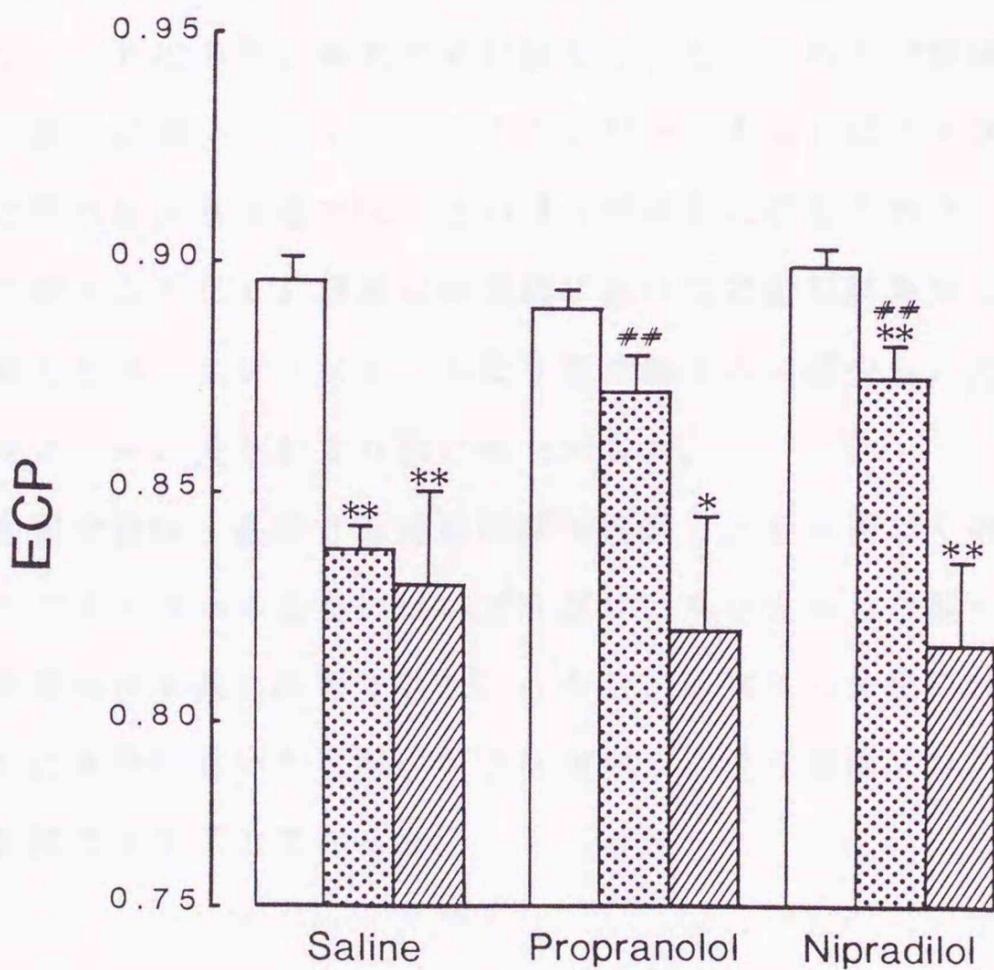


図5. 冠動脈結紮によるECP値の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, ニブラジロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+標準誤差 (n=5~12) *P<0.05, **P<0.01
 (「非虚血群」の値と比較) ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

ニプラジロール投与群の冠動脈結紮前のECP値には対照群との間に差はみられず、冠動脈結紮3分後ではそれぞれ0.87, 0.88と十分に値が高く、虚血による低下が強く改善されていた。しかし、結紮30分後になるとそれらの値はいずれも0.82と著しく低下し、プロプラノロールおよびニプラジロールの改善効果は消失した。

第4節 心筋CrP, 乳酸含量の変化

冠動脈結紮による心筋CrP含量および乳酸含量の変化を、図6に示した。冠動脈結紮前的心筋CrP含量は、対照群は $4.62 \pm 0.37 \mu\text{M/g}$ であったのに対し、プロプラノロール投与群では $5.66 \pm 0.46 \mu\text{M/g}$ 、ニプラジロール投与群では $6.85 \pm 0.17 \mu\text{M/g}$ と薬物投与群において高値であり、特にニプラジロール投与群は有意に高い値を示した。これらの値は冠動脈を結紮すると直ちに減少したが、プロプラノロールあるいはニプラジロールを投与した群の結紮3分後では、その減少が有意に改善された。また、虚血によって減少したCrP含量は対照群において冠動脈結紮30分後に再び上昇を示したが、ニプラジロール投与群ではさらに減少し、対照群およびプロプラノロール投与群より低い値を示した。

心筋乳酸含量は、各群とも虚血時間の経過とともに著しく増加した。一方、プロプラノロールあるいはニプラジロールを投与した群の結紮3分後ではその増加が有意に改善された。しかし、結紮30分後になるとニプラジロール投与群において乳酸が著明に増加し、その値はプロプラノロール投与群の値の2倍以上であった。

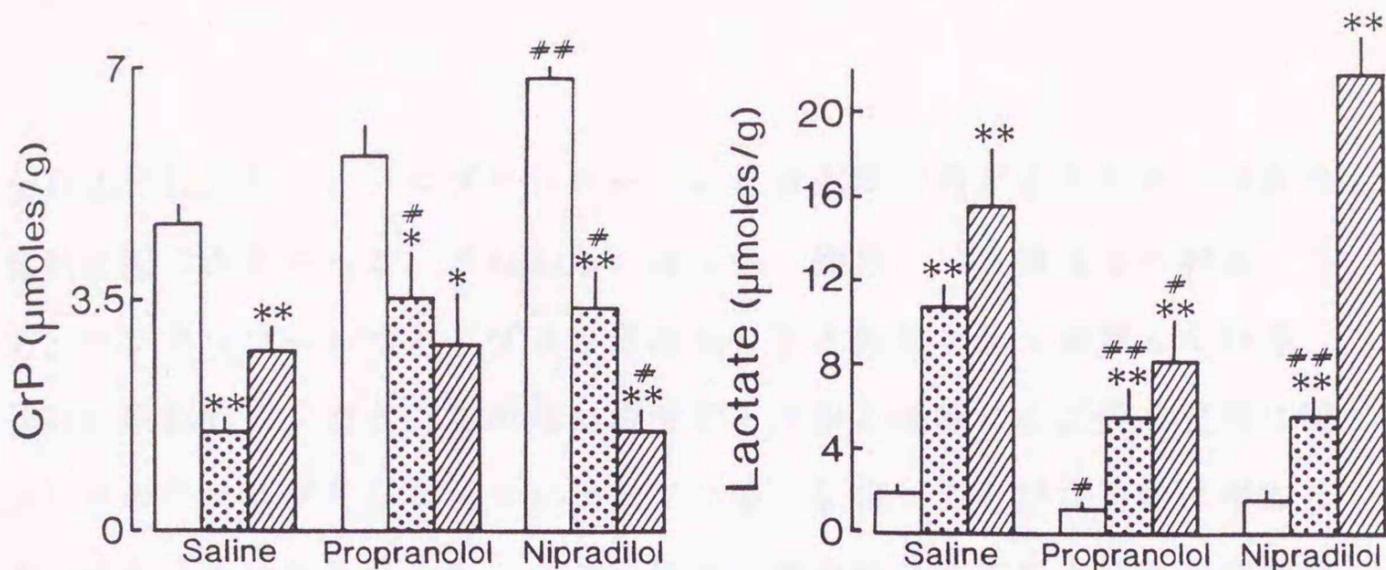


図6. 冠動脈結紮による心筋CrP, 乳酸含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, ニプラジロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値±標準誤差 (n=5~12)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

第5節 考 察

一般に、プロプラノロールを代表とするβ遮断薬は狭心症、特に労作性狭心症に有効であるとされているが、β遮断作用を有するため冠血管の拡張は期待されない薬物である[4, 5]。ニプラジロールはニトロ基を有するβ遮断薬であるため、強力な血管拡張作用を示す[36]。通常、プロプラノロールを投与してもその初期には血圧低下が観察されないが、本実験においても、プロプラノロール投与直後のショックによる一過性の血圧低下以外に有意な血圧低下は認められなかった。それに対してニプラジロールは、投与直後より持続する顕著な血圧低下が観察された(図2)。心拍数はプロプラノロール投与群、ニプラジロール投与群ともに、本実験で用いた用量で同程度に減少した。したがって、ニプラジロールの強い血圧低下作用は、分子構造中のニトロ基によると考えられる。血管が拡張して血圧が急に下がると生体では反射性に頻脈となり、これは血圧治療の問題点となっ

ている[51]。しかし、ニプラジロールには β 遮断作用があるため、反射性頻脈は起こらなかった。すなわち、血圧低下作用という観点から判断すると、ニプラジロールはハイブリッド機能による効果を強く発揮している[37]と思われる。逆に、この強い血圧低下作用と同時に心拍数も著明に減少したので、ニプラジロールによって血管が拡張しても冠血流量は増加せず、減少する結果となった。この結果は、虚血時の心筋により多くの酸素を供給して心筋を虚血障害から改善するという観点からみると、不都合な作用であると考えられる。

虚血による心筋代謝の変動は心筋内膜側で著しいことが知られている[27]ので、本研究では心筋エネルギー代謝や糖代謝に対する虚血の影響を明確に観察するために、心筋内膜側の心筋をサンプルとして採取した。冠動脈を結紮して心筋を虚血にするとATPおよびCrP含量が減少し、ADP, AMPおよび乳酸含量の増加が観察された。これらの事実は、虚血によって心筋はエネルギー不足になり、嫌氣的糖代謝が亢進していることを示している。冠動脈結紮3分後の虚血初期では、ニプラジロールを投与すると虚血によるATP含量の減少が有意に改善され、CrP含量の減少も軽減された(図3および図6)。また、AMP含量は冠動脈結紮によって約1.5倍に増加したが、ニプラジロールを投与すると、この増加も有意に改善された(図2)。さらに、ニプラジロールは全アデニンヌクレオチド含量の冠動脈結紮による減少も改善した。したがって、各アデニンヌクレオチド含量から計算したECP値は冠動脈結紮によって著しく低下したが、ニプラジロールはこの虚血によるECP値の低下を改善し、高値に保った。ここでECP値は、細胞内のエネルギー充足率を示し、すべてATPで満たされている時には1を示し、ATPが分解してADPになると0.5となり、AMPに分解してエネルギーが使い果たされると値は0になる。したがって、以上の実験結果は、虚血によって促進される高エネルギーリン酸化合物のAMPへの分解、さらにアデニンヌクレオシドへ分解

して心筋細胞から流出していくこと [38] をニプラジロールが抑制し、心筋エネルギー状態を良好に維持していることを示している。この虚血初期の心筋代謝変化に対するニプラジロールの改善効果は、プロプラノロールによる改善効果とほぼ同程度であった。

一方、長時間の虚血（冠動脈結紮 30 分後）では、ニプラジロールを投与しても虚血 3 分後の心筋で観察された効果、すなわち、ATP や CrP の減少および AMP や乳酸の増加を阻害する作用は認められず、心筋エネルギー状態は悪化して ECP 値も低下した。しかも、ほとんどのパラメーターが対照群あるいはプロプラノロール投与群の 30 分虚血群より重篤な虚血状態にあることを示していた。これは、ニプラジロール投与後、時間の経過とともに血圧や心拍数低下の影響が強くなり現れて心臓の正常部位から虚血部位への冠灌流量が対照群に比べて著しく減少し、虚血障害が増悪したためと考えられる。

プロプラノロールは β -受容体遮断作用の他に、膜安定化作用 [39] や中枢抑制作用 [40] をもつことが知られている。しかし、プロプラノロールの虚血心筋改善作用は、主にその β -受容体遮断作用による効果とされている [41]。本実験において、プロプラノロールおよびニプラジロールは同程度に心拍数を低下させたことから、それらの β 遮断効果はほぼ等しいと考えられる。したがって、虚血初期にプロプラノロールと同程度に認められたニプラジロールの虚血心筋改善効果は、その β -受容体遮断作用による効果であると推測され、ニトロ基によるハイブリッド効果は出現していないと思われる。

以上、ニプラジロールは虚血初期において著明な虚血性心疾患改善効果を発揮し、この効果はプロプラノロールと同程度に現れた。しかし、虚血時間が長くなると、この改善効果は消失することが明らかとなった。総合的に判断すると、ニプラジロールの虚血性心疾患改善効果は、プロプラノロールとほぼ等しいかあるいは若干弱いと考えることができる。

第2章 アモスラロールの虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝に およぼす作用 [42]

心臓が虚血状態になると、その刺激によって心臓交感神経が興奮しカテコラミンを遊離する [43]。この虚血時に遊離されるカテコラミンは α_1 -受容体や β -受容体を刺激し、 α_1 -受容体刺激はイノシトールリン脂質代謝回転を促進して PKC 活性の上昇および Ca^{2+} 含量の増加を引き起こす [44]。その結果、血管は収縮し、また β -受容体刺激同様に心筋糖代謝は亢進し [45]、心筋収縮力が増強する [46]。したがって、 α_1 -受容体の遮断は血管拡張作用だけではなく心仕事量減少にも寄与すると考えられる。事実、 α_1 遮断薬のブナゾシンやプラゾシンは虚血心筋を保護する [47, 48]。そこで本章では、 β -受容体遮断と α_1 -受容体遮断の両作用によるより有効な虚血心筋に対する改善作用を期待して、 α_1 -および β -受容体をほぼ同程度に遮断する α, β 遮断薬アモスラロール [7] の虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす効果について調べた。

第1節 血圧、心拍数、冠血流量の変化

対照群およびアモスラロール投与群における血行動態の変化のうち、30分虚血群の血行動態の変化を図7に示した。生理的食塩水、アモスラロール 0.3 mg/kgあるいはアモスラロール 1 mg/kgを投与する直前の収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数、冠血流量の平均値はそれぞれ、124~148 mmHg, 96~114 mmHg, 136~182 beats/min, 10.3~13.8 ml/minであった。対照群においては、すべての血行動態パラメーターが生理的食塩水投与によって変化しなかったが、冠動脈を結紮すると冠血流量は0 ml/minになり、収縮期血圧、拡張期血圧が低下傾向になり、心拍数は増加する傾向を示した。一方、アモスラロールを投与すると血圧は速やかに低下し、投与

5分後に収縮期血圧で0.3mg/kg投与群は約6%、1 mg/kg投与群は約19%低下し、1 mg/kg投与群でより著明に低下した。心拍数は各投与群全体で8~26%減少し、アモスラロールの1 mg/kg投与ではプロプラノロール(1 mg/kg)投与群と同程度(約26%)に減少した(第1章)。冠血流量はアモスラロール0.3 mg/kg投与群において、増加を示す個体もみられたが全体としては減少し、アモスラロール1 mg/kg投与群ではすべて減少した。すなわち、アモスラロールを投与すると用量依存的に血圧、心拍数、冠血流量は減少した。各投与群とも冠動脈結紮により血圧、心拍数はさらに減少し、冠血流量は0 ml/minを示した。

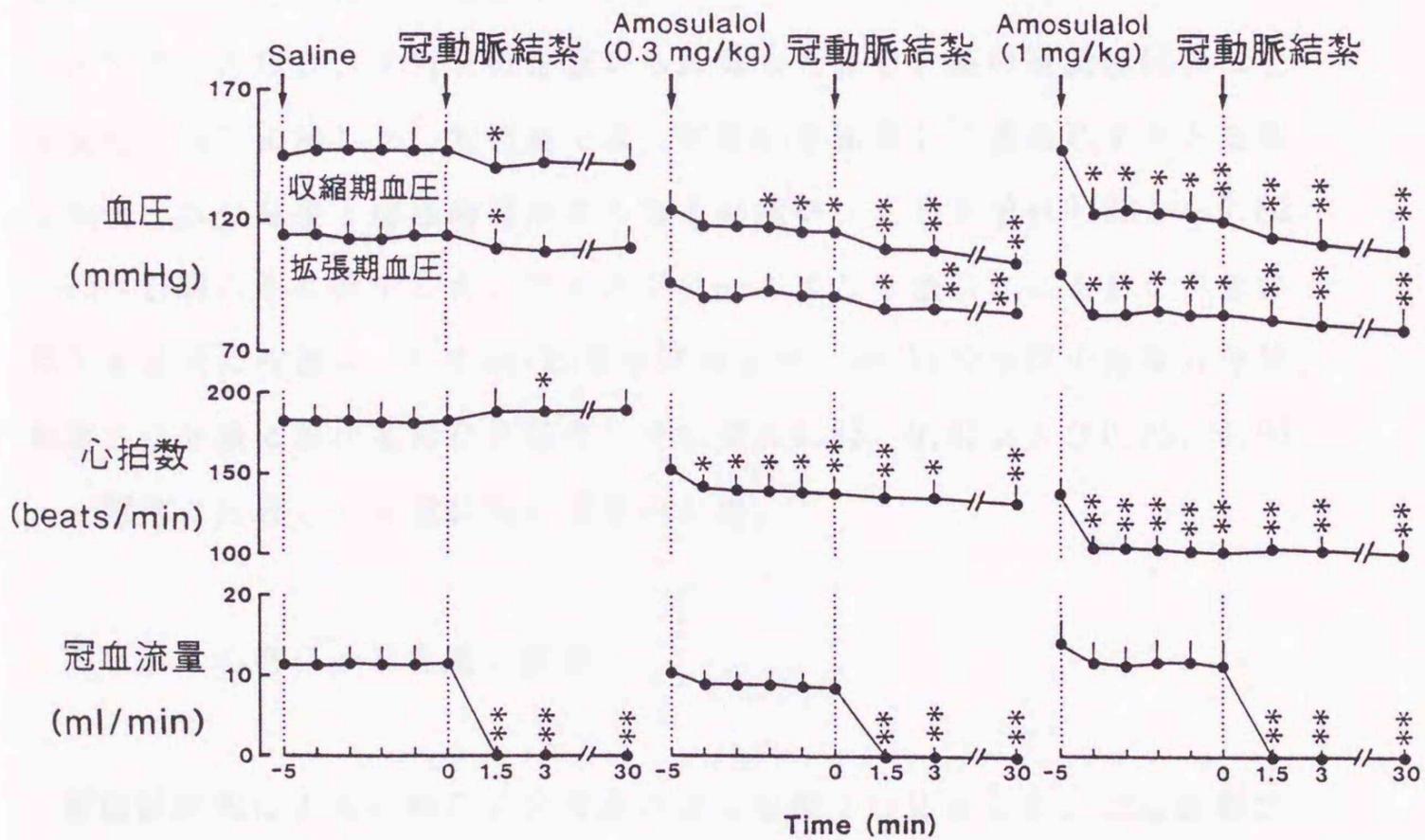


図7. 生理的食塩水, アモスラロール投与および冠動脈結紮による血圧, 心拍数, 冠血流量の変化
各投与群とも「-5分」から「30分」における30分虚血群の変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。
値は、平均値+標準誤差 (n=6~7)
*P<0.05, **P<0.01 (「-5分」値と比較)

第2節 心筋ATP, ADP, AMP含量およびECP値の変化

冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化を図8に示してある。冠動脈結紮前(非虚血群)のATP, ADP, AMP含量は、アモスラロール1 mg/kg投与群のAMP含量を除き、各投与群の間に有意な差は認められなかった。冠動脈を結紮すると各投与群においてATP含量は減少し、ADP, AMP含量は増加した。しかし、アモスラロールを投与した群では、結紮3分後のATPの減少が減弱され、0.3 mg/kg投与群の結紮30分後ではATPの減少が有意に増加した。さらに、アモスラロールは虚血によるADP, AMPの増加を有意に抑制し、特にAMPの増加に対しては強い抑制効果を示した。

ATP, ADP, AMPの含量から計算したECP値の冠動脈結紮による変化を図9に示した。対照群では、冠動脈を結紮して虚血にすると結紮3分後、30分後と虚血時間が長くなるに従い、ECP値は0.88から0.82, 0.75へと明らかに低下した。アモスラロールはこの虚血によるECP値の低下を著明に改善し、0.3 mg/kg投与群および1 mg/kg投与群の結紮3分後、結紮30分後におけるECP値は、それぞれ0.85, 0.85および0.85, 0.83と対照群に比較して有意に高い値を示した。

第3節 心筋CrP含量の変化

冠動脈結紮による心筋CrP含量の変化を図10に示した。冠動脈結紮前の心筋CrP含量は、対照群では $5.19 \pm 1.15 \mu\text{M/g}$ であったのに対し、アモスラロール0.3 mg/kg投与群は $5.24 \pm 0.54 \mu\text{M/g}$ 、アモスラロール1 mg/kg投与群は $6.83 \pm 0.24 \mu\text{M/g}$ と薬物投与群において用量依存的に高い値を示した。しかし、これらの値は冠動脈を結紮すると急速に減少し、対照群では結紮3分後に結紮前値の約21%までに減少した。しかし、アモ

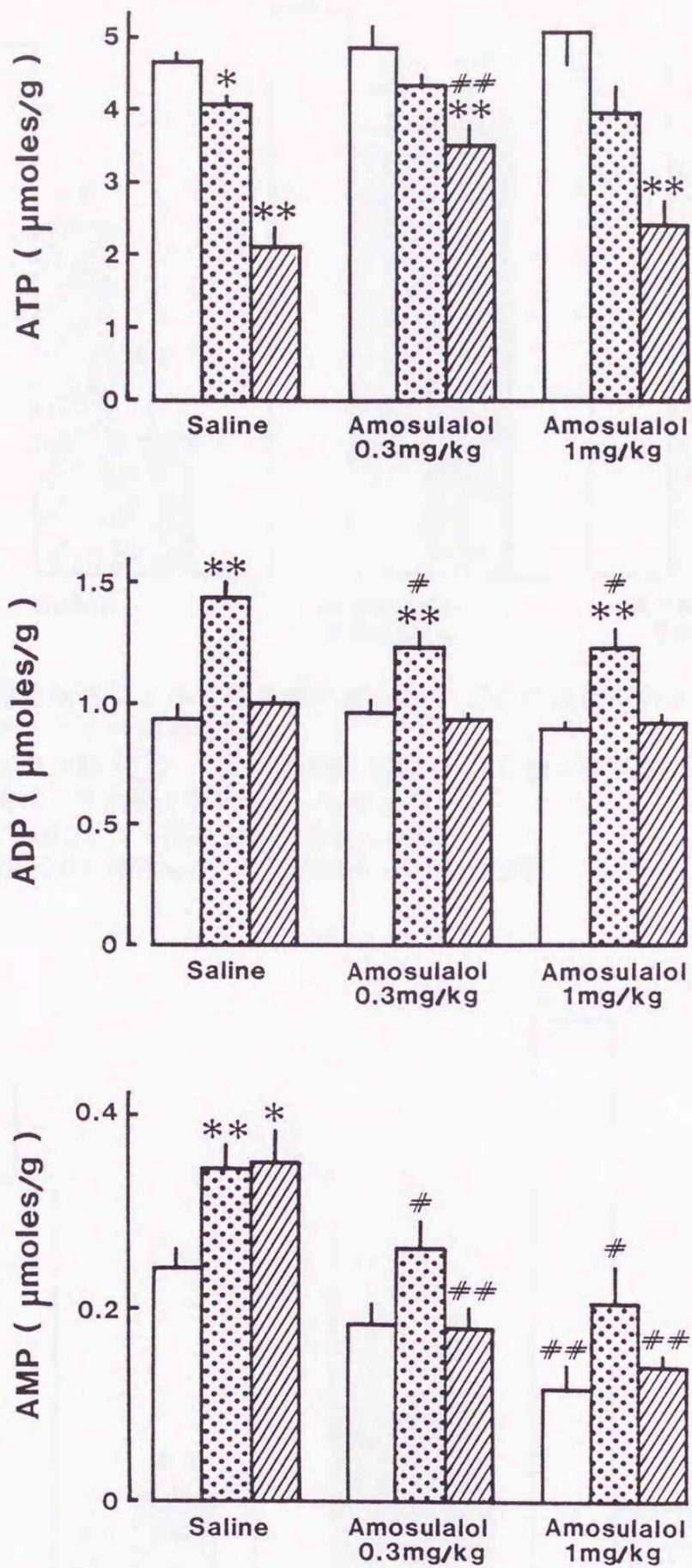


図8. 冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (■), 30分虚血群 (▨)
 値は、平均値+(-)標準誤差。(n=6~7)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

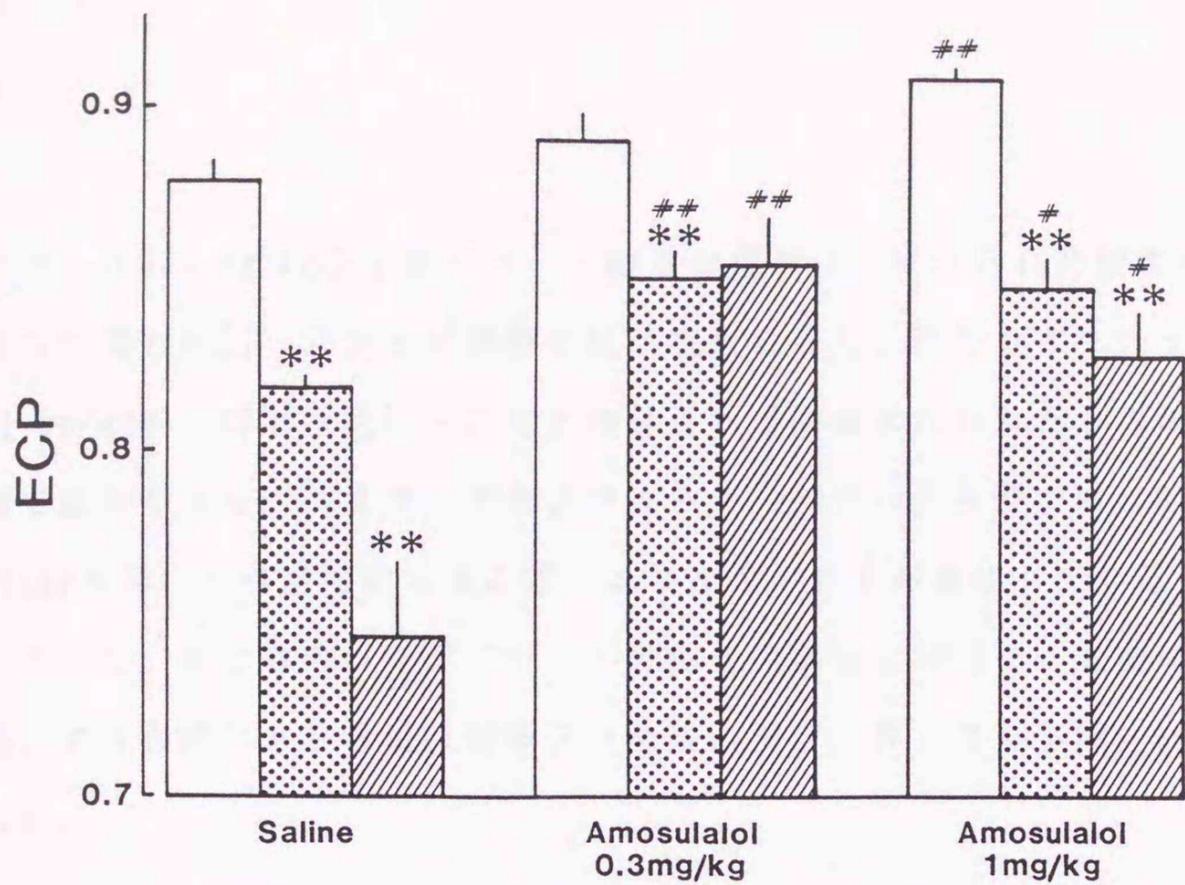


図9. 冠動脈結紮によるECP値の変化およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+標準誤差 (n=6~7)
 **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

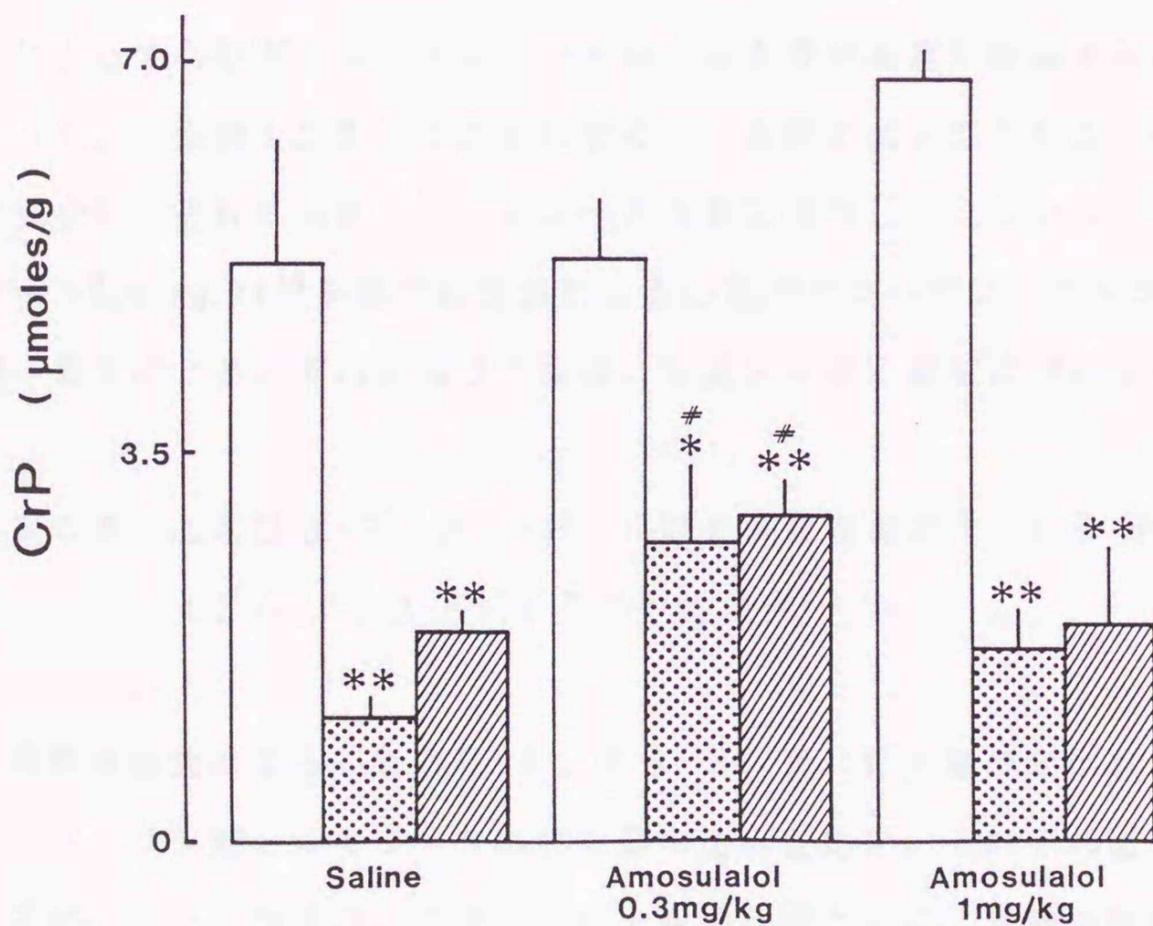


図10. 冠動脈結紮による心筋CrP含量の変化およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+標準誤差 (n=6~7)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05 (「対照群」の値と比較)

スラロール0.3 mg/kg投与群では、結紮3分後および結紮30分後の含量が結紮前値の約51~56%と対照群に比べ有意に高く、同じくアモスラロール1 mg/kg投与群では約25~29%と改善される傾向はみられたものの有意な差ではなかった。つまり、アモスラロール1 mg/kg投与群では、0.3 mg/kg投与群に比べ虚血による心筋のエネルギー状態が悪化していることが示された。第1章のニプラジロールの投与の場合と同様に、虚血によって減少する心筋CrP含量は結紮30分後に再び上昇してくる傾向が認められた。

第4節 心筋グリコーゲン，グルコース含量の変化

冠動脈結紮による心筋グリコーゲン，グルコース含量の変化およびその変化に対するアモスラロールの効果を図11に示した。アモスラロール投与によって心筋グリコーゲン，グルコース含量が有意に変化することはなかった。冠動脈を結紮して虚血にすると、各群においてグリコーゲン含量は減少し、それに対応してグルコース含量は増加した。しかし、アモスラロール0.3 mg/kg投与群では虚血による心筋グリコーゲン，グルコース含量の変化が、それぞれ結紮30分後、結紮3分後に有意に抑制されていた。

第5節 心筋G6-P，F6-P，FDP含量および $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比の変化

冠動脈結紮による心筋G6-P，F6-P，FDP含量の変化およびヘキソースリン酸とヘキソースニリン酸の比の変化を、それぞれ図12、図13に示した。対照群、アモスラロール投与群ともに、冠動脈結紮3分後には心筋G6-P，F6-P含量は著明に増加し、結紮30分後になると結紮前の値にもどる変化を示した。しかし、アモスラロール0.3 mg/kg投与

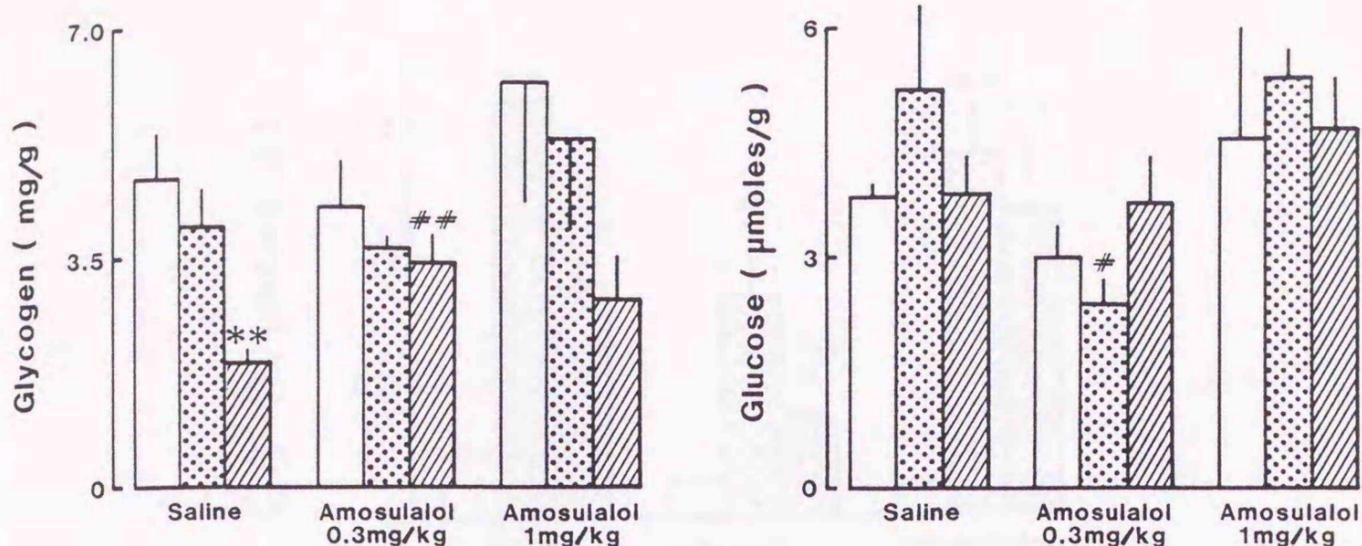


図11. 冠動脈結紮による心筋グリコーゲン, グルコース含量の変化およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+(-)標準誤差 (n=6~7)
 **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

群では結紮3分後のG6-P, F6-Pの増加が軽減され、さらに結紮30分後におけるそれらの含量も対照群に比較して有意に低下した。アモスラロール1mg/kg投与群ではこれらの効果は認められなかった。FDP含量は、全体として各投与群の間に有意な差が認められなかった。

図13に示したように、ヘキソースリン酸とヘキソースニリン酸の含量から $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ の比を計算すると、この比は冠動脈結紮によって著しく上昇し、結紮3分後に対照群で31.0となった。これに対しアモスラロールは、0.3mg/kg投与群で23.6, 1mg/kg投与群では26.0と増加を軽減させ、0.3mg/kg投与群の結紮30分値は統計上、結紮前値と有意差のない値を示した。

第6節 心筋乳酸, ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比の変化

冠動脈結紮による心筋乳酸およびピルビン酸含量と乳酸/ピルビン酸比の変化を図14に示した。アモスラロールを投与しても、冠動脈結紮前の

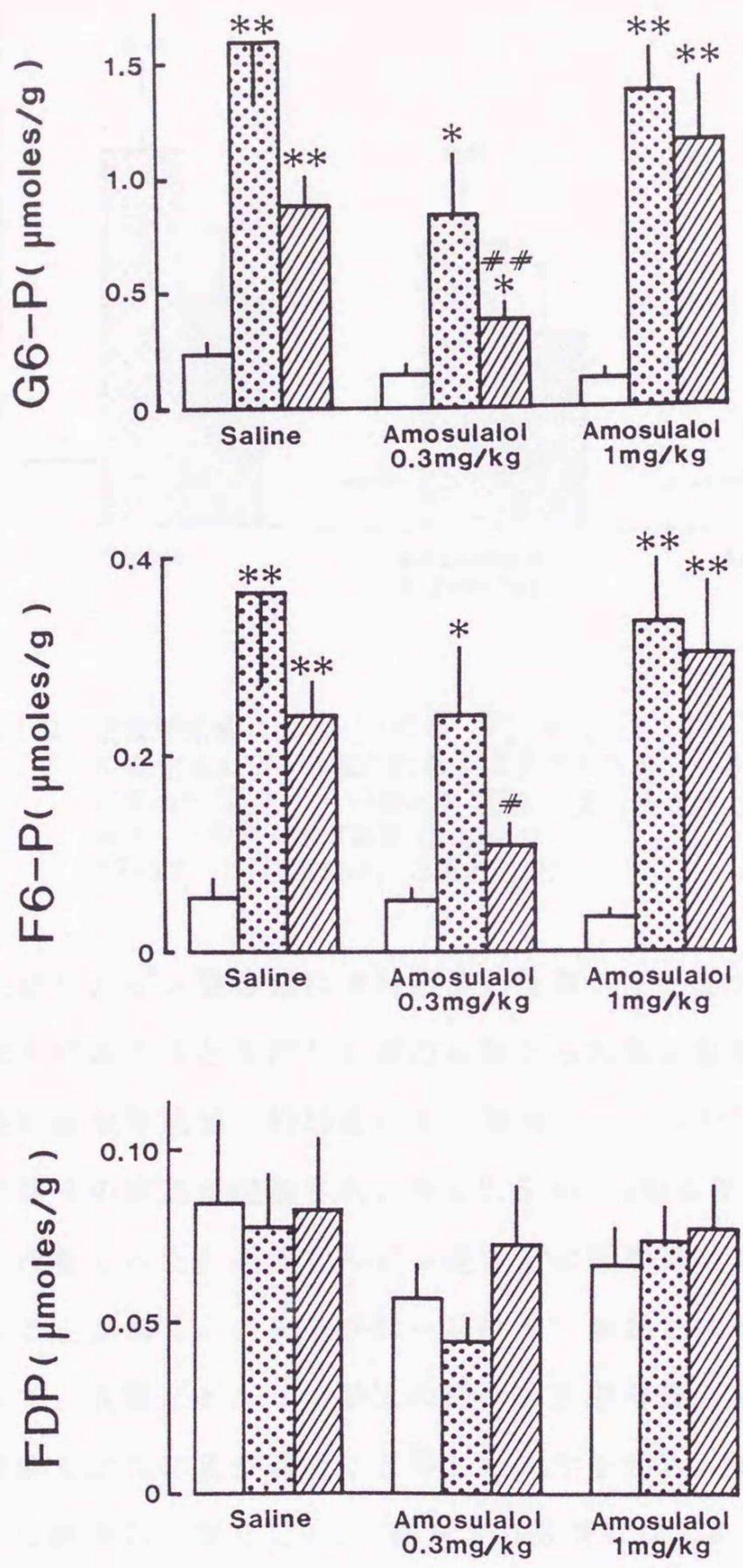


図12. 冠動脈結紮による心筋G6-P, F6-P, FDP含量の変化
 およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (■), 30分虚血群 (▨)
 値は、平均値+(-)標準誤差。(n=6~7)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

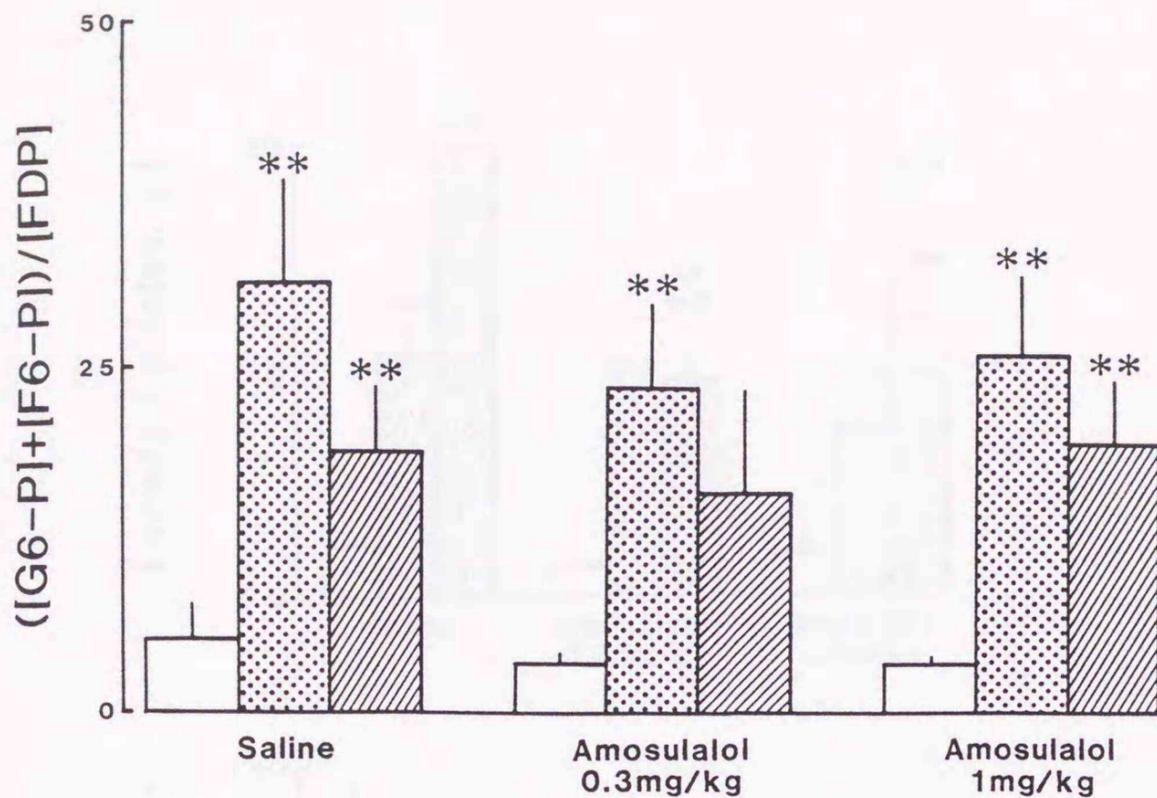


図13. 冠動脈結紮による ([G 6 - P] + [F 6 - P]) / [FDP] 比の変化およびその変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は、平均値+標準誤差 (n=6~7)
 **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)

心筋乳酸およびピルビン酸含量には対照群と比較して、差が認められなかった。冠動脈を結紮すると各群とも虚血初期から乳酸が蓄積し、対照群の結紮30分後には結紮前値の約10倍にまで増加した。しかし、アモスラロール投与群ではその増加が軽減され、特に0.3 mg/kg投与群の結紮30分後では著しく改善された。心筋ピルビン酸含量は冠動脈結紮によってほとんど変化することがなく、アモスラロール投与で修飾されることもなかった。したがって、乳酸/ピルビン酸比の変化は乳酸含量の変化に平行し、いずれの投与群も虚血により著明に上昇した。すなわち、対照群では結紮前値の32.2から結紮3分後で213.1, 結紮30分後には333.1まで上昇した。アモスラロールを投与するとこの比の上昇が、0.3 mg/kg投与群の結紮30分後で160.5, 1 mg/kg投与群の結紮3分後では98.4と有意に改善された。特に、アモスラロール0.3 mg/kg投与群において強い改善効果が認められた。

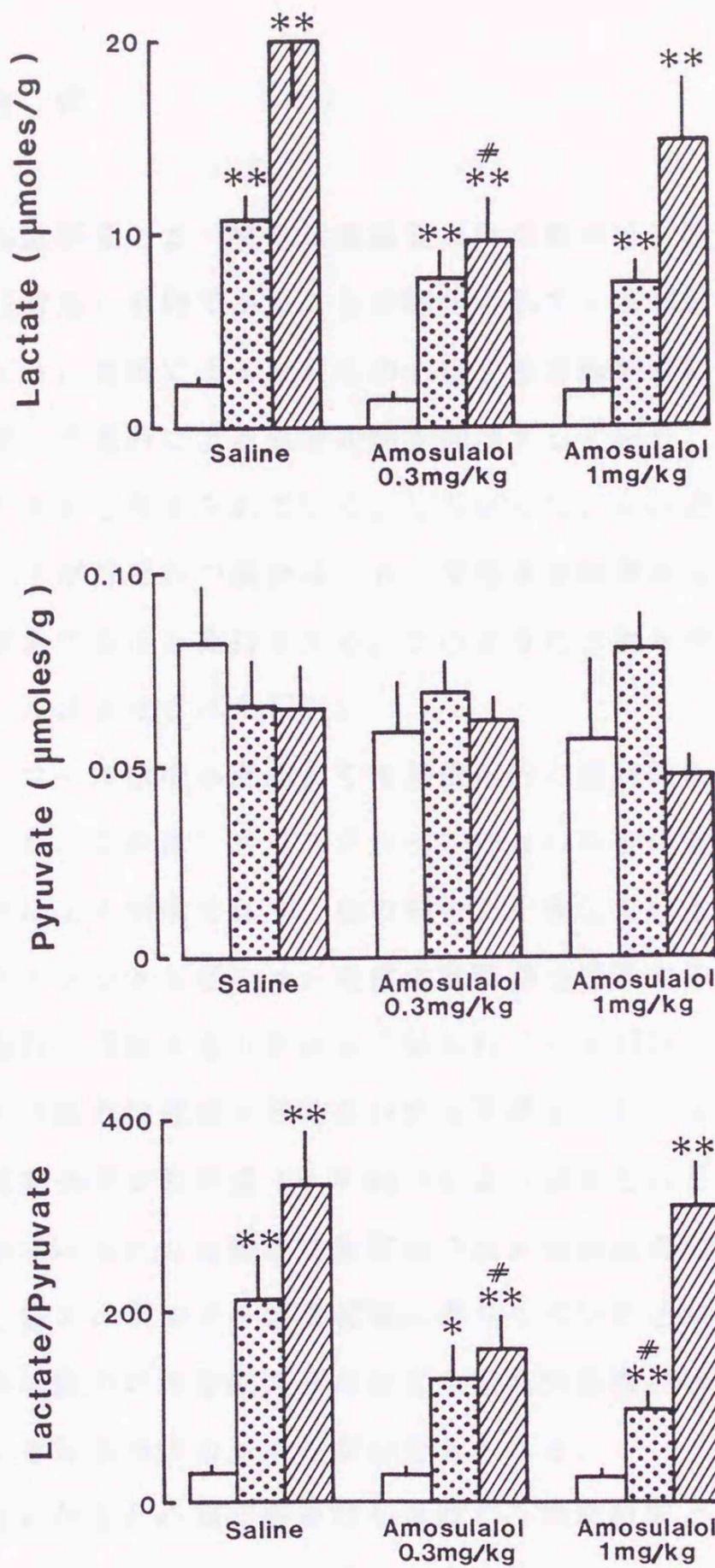


図14. 冠動脈結紮による心筋乳酸、ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比の変化とそれらの変化におよぼすアモスラロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (■), 30分虚血群 (▨)
 値は、平均値 + (-) 標準誤差。 (n=6 ~ 7)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05 (「対照群」の値と比較)

第7節 考 察

α_1 -受容体遮断薬と β -受容体遮断薬の併用療法は、臨床において高血圧患者の血圧管理に有効であることが報告されている[49]。この理由として、 β 遮断は α_1 -遮断による反射性の心臓交感神経刺激による反応を抑制し、 α_1 -遮断は β 遮断による血管収縮を抑制するという、それぞれの副作用を相殺するためと考えられている。したがって、 α_1 -遮断および β 遮断作用を同一分子が併せ持つ薬物は、 β -受容体遮断薬および α_1 -受容体遮断薬よりも有用であると期待される。このような目的を達成するために、アモスラロールは合成された[7]。

アモスラロールは投与直後より用量依存的に持続的な血圧低下と心拍数減少を示した。これは、アモスラロールの α_1 -受容体遮断作用と β -受容体遮断作用による効果であり、他の報告と一致している[50]。通常、プラゾシンやブナゾシンなどの α_1 -受容体遮断薬を投与すると、血圧の低下とともに心拍数が増加することはよく知られている[51]。それに対し、アモスラロールは反射性頻脈を伴わない血圧下降を示し、 α_1 -および β 遮断作用による補完効果が低用量(0.3 mg/kg)より認められた。さらにこの効果は、対照群でみられた冠動脈結紮直後の反射性頻脈においても充分発揮され、虚血心筋のエネルギー消費軽減に寄与していると考えられる。しかし、 α_1 -受容体遮断の血管拡張作用による冠血流量増加は認められず、動脈圧低下による冠灌流圧の減少作用が考えられる。

心臓が虚血になると心臓交感神経が興奮し、神経終末より心筋組織中にカテコラミンが強く遊離して心筋障害を引き起こす。また、虚血時の心筋では、 β -受容体の数とともに α_1 -受容体数も増加していること[52]から、カテコラミン遊離による α_1 -受容体刺激も虚血心筋障害に関与していると考えられる。 α_1 -受容体刺激はイノシトールリン脂質代謝回転を促進して、すべての筋肉細胞の収縮を引き起こす。したがって、エネルギー不足が起

きている虚血心筋で α_1 作用を遮断し、心収縮力を低下させることは理にかなっている。確かに、アモスラロールは虚血によるATPの減少やADP, AMPの増加を改善してECP値を虚血3分後、30分後いずれも高値に維持し、クレアチンリン酸の減少も改善して心筋エネルギー状態の悪化を防止した。虚血になった心筋細胞ではグリコーゲンホスホリラーゼが活性化し、グリコーゲン分解が促進する[22,23,27]。このグリコーゲン分解で増加するG6-Pは、HKをアロステリックに阻害してグルコースのリン酸化を抑制するため、グルコースの細胞内輸送や利用速度は減少する。これら虚血時のグリコーゲン含量の減少、グルコース含量の増加という解糖系の出発経路における変化をアモスラロール(0.3 mg/kg)は改善し、非虚血時のレベル近くに回復させた。また、虚血によって解糖系が亢進すると、PFK反応の段階(F6-P \rightarrow FDP)でPFKが乳酸などの蓄積で抑制されるため、G6-P, F6-P濃度は増加する[23, 24]。したがって、([G6-P] + [F6-P])/[FDP]比は虚血の程度を表す指標となり、虚血が軽度であれば、この比は小さく、重篤になれば大きくなる[29]。Opie [53]は解糖系の流れの速度を一時点での代謝中間体濃度から知ることは難しいと報告しているが、アモスラロールは虚血による([G6-P] + [F6-P])/[FDP]比の上昇を軽減した。また、虚血による乳酸の蓄積は、解糖系のピルビン酸 + NADH \rightarrow 乳酸 + NAD⁺反応が抑制されることを意味し、乳酸/ピルビン酸比は上昇して[NADH]/[NAD⁺]比が増大する。これは心筋細胞内の酸化還元状態を反映する指標となるが、アモスラロールは虚血による乳酸の蓄積および乳酸/ピルビン酸比の上昇を防いで、心筋細胞内の還元状態、アシドーシスを改善した。これらの実験結果は、アモスラロールが虚血による高エネルギーリン酸化合物の分解を抑制して流出を防ぎ、心筋細胞を酸素不足の嫌气的状態から好气的状態に改善していることを示している。血流の途絶えてしまう虚血心筋では、乳酸や水素イオンなどの有害物質の除去が円滑に行われないため、これらの蓄積を防ぐことは重要な意

味を持っている。これらアモスラロールの虚血心筋に対する改善効果は虚血初期ばかりではなく長時間の虚血においてもみられ、0.3 mg/kgの低用量投与群でより強く現れた。プロプラノロール(1 mg/kg)と同程度に心拍数が減少したアモスラロール1 mg/kg投与群では、0.3 mg/kg投与群に比べより強く血圧が低下した(図7)。アモスラロールを高用量で投与すると、 α_1 および β 遮断作用が強くなり、心拍数や血圧の低下が強まり、ニプラジロールの作用(図2)と同様、冠動脈に血液を送り込む冠灌流圧が減少することが考えられる。その結果、側副血行路などを通じた冠循環の代償機構が弱まり、虚血部の心筋は、ますます酸素不足になる。すなわち、血流の途絶えている虚血部位に周囲の正常部位から血流を補う作用(冠血流量の予備能)が消失したこと[54]が考えられる。したがって、虚血心筋に対するアモスラロールの改善作用は、血行動態にあまり大きな変化を起ささない低用量投与でより強い効果が期待できる。現在、臨床においても、虚血性心疾患患者の血圧をどこまで下げるべきかという議論[54, 55, 95]がなされており、第1章および本章の実験結果はその議論に重要な示唆を与えるものと思われる。

α 、 β 遮断薬では、しばしば、 α 遮断効果/ β 遮断効果比(α 、 β 遮断効果比)が問題となる。この比の大小で、 α 、 β 遮断薬といえども、 α 遮断薬あるいは β 遮断薬としての作用が大きく現れてくる。アモスラロールは α_1 の α_2 に対する選択性が500倍以上高く、 β_1 と β_2 に対する選択性はほぼ同等であり、 α 、 β 遮断効果比もほぼ同じである[7, 50]。したがって、この α 、 β 遮断効果比が前述した α 遮断および β 遮断による副作用の相殺効果として適切に現れ、特に低用量投与で良い作用を示したと考えられる。

以上、アモスラロールの虚血性心疾患改善効果を第1章で調べたプロプラノロールの効果と比較すると、同等、あるいは低用量を用いた場合には改善効果が勝ると判定することができる。

第3章 チリソロールの虚血心筋エネルギー代謝および糖代謝におよぼす作用 [56]

心筋が虚血になると組織内ATP含量が減少し、Kチャンネルの1つであるATP感受性Kチャンネル(K_{ATP}チャンネル)が活性化して開口する[57, 58]。K_{ATP}チャンネルが開口すると細胞膜は過分極を引き起し、電位依存性カルシウムチャンネルが抑制されて細胞内へのCa²⁺流入量が減少し、冠血管の拡張や心筋収縮力の抑制が起こる[59]。これは虚血心筋への血液供給の増加や心筋収縮エネルギーの節減、さらに心筋組織障害の一因である細胞内カルシウムイオンの異常増加の抑制になり、虚血心筋の改善作用につながると思われる。そこで本章では、K_{ATP}チャンネル開口作用を併せ持つβ遮断薬チリソロール[60]が虚血時の心筋エネルギー代謝や糖代謝にどのような影響をおよぼすかについて調べ、プロプラノロールの効果と比較した。

第1節 血圧、心拍数、冠血流量の変化

本実験における血行動態の変化のうち、30分虚血群の血行動態変化を図15に示した。生理的食塩水、プロプラノロール(1 mg/kg)あるいはチリソロール(0.2 mg/kg)を投与する直前の収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数、冠血流量の平均値はそれぞれ、124~143 mmHg, 95~111 mmHg, 152~198 beats/min, 11.6~19.0 ml/minであった。対照群では、第1章および第2章の実験と同じように、全ての血行動態パラメーターが生理的食塩水投与によって変化することなく、冠動脈を結紮すると冠血流量は0 ml/minになり、収縮期血圧、拡張期血圧の低下傾向と心拍数の増加傾向が観察された。プロプラノロールを投与すると、血圧が若干低下するもののすぐに回復し、心拍数は投与直後より約25%減少した。一方、チリソロール

を投与すると、プロプラノロールを投与した場合と同様に血圧には変化が見られず、心拍数は投与直後より減少して投与5分後にプロプラノロールと同程度に約26%減少した。冠血流量は、チリソロール投与直後より約16%減少し、結紮時まで持続した。すなわち、チリソロールの場合にも第1章のニプラジロールおよび第2章のアモスラロール同様に、冠血管拡張による冠血流量増加作用は認められなかった。各投与群とも冠動脈結紮により血圧、心拍数はさらに減少し、冠血流量は0 ml/minを示した。

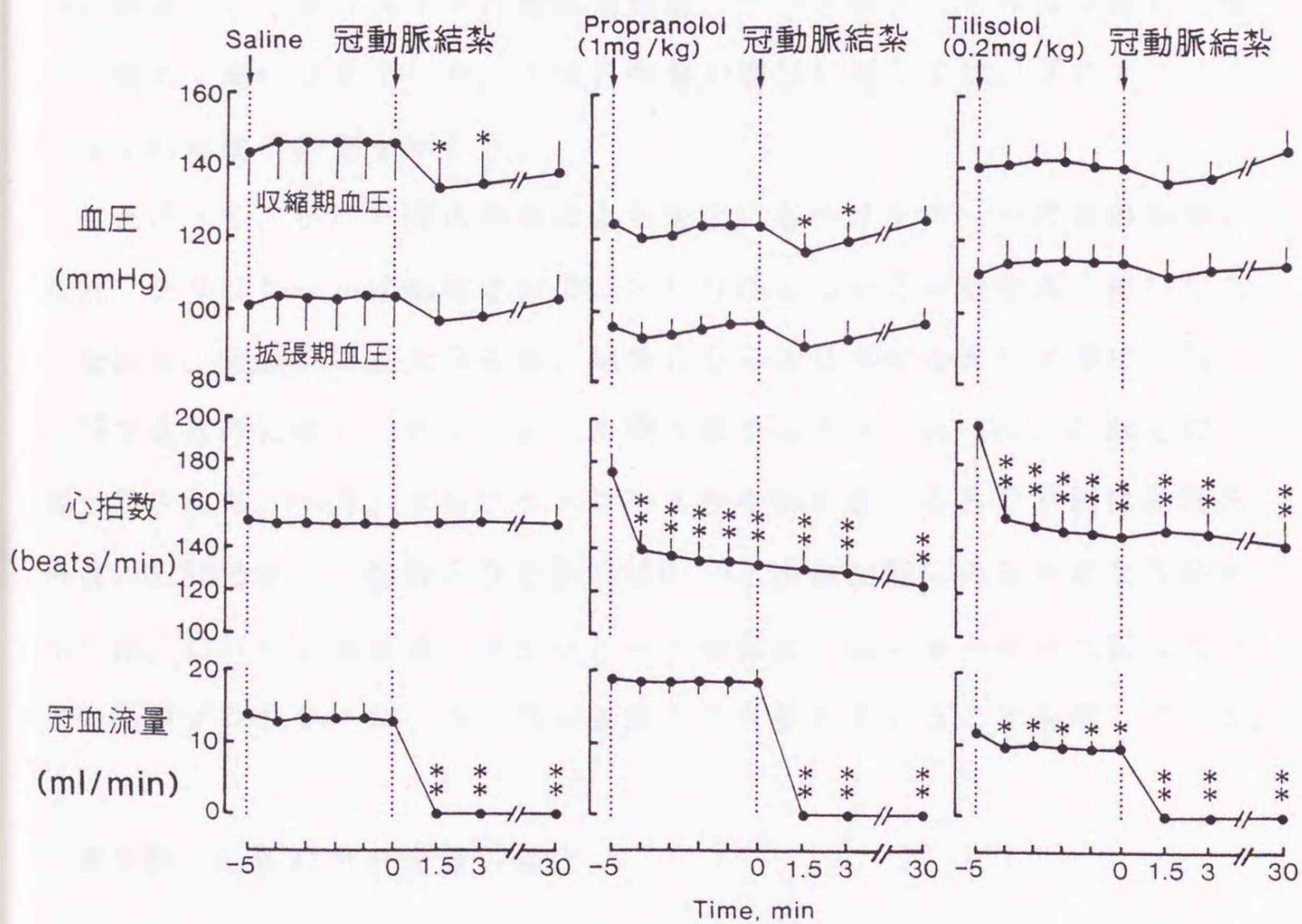


図15. 生理的食塩水、プロプラノロール、チリソロール投与および冠動脈結紮による血圧、心拍数、冠血流量の変化
各投与群とも「-5分」から「30分」における30分虚血群の変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。
値は、平均値+(-)標準誤差。(n=7~8)
*P<0.05, **P<0.01 (「-5分」値と比較)

第2節 心筋ATP, ADP, AMP含量およびECP値の変化

冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化を図16に、また、ECP値の変化を図17にそれぞれ示した。冠動脈結紮前（非虚血群）において、チリソロール投与群はATP, ADP含量が対照群に比べ有意に高い値を示した。冠動脈を結紮して虚血にすると、各投与群でATP含量は減少し、ADP, AMP含量は増加した。しかし、チリソロールは虚血によるATPの減少を結紮3分後、30分後ともに強く改善し、特に結紮30分後のATP含量は対照群、プロプラノロール投与群に比較して極めて高い値を示した。AMP含量の増加に対しては、プロプラノロールと同程度の抑制を示した。

したがって、ECP値の虚血による変化にもチリソロールの改善効果が現れ、チリソロールは結紮3分後、30分後ともにその値を高く維持した。すなわち、対照群の結紮3分後、結紮30分後におけるECP値は0.82, 0.76であるのに対し、チリソロール投与群ではそれぞれ0.85, 0.84と高い値が示された。一方、プロプラノロール投与群におけるECP値は結紮3分後に0.85であり、結紮30分後では0.79と虚血初期にのみ有意な改善を示した。これらの結果は、チリソロールの虚血心筋エネルギー代謝に及ぼす効果がプロプラノロールの改善効果よりも優れていることを示している。

第3節 心筋CrP含量の変化

冠動脈結紮による心筋CrP含量の変化を図18に示した。冠動脈結紮前の心筋CrP含量は対照群、プロプラノロール投与群、チリソロール投与群の間に有意な差を認めなかった。各投与群において、冠動脈を結紮すると心筋CrP含量は急速に減少した。虚血によって減少した心筋CrP含量は結紮30分後に再び回復してくる傾向が認められたが、特にチリソ

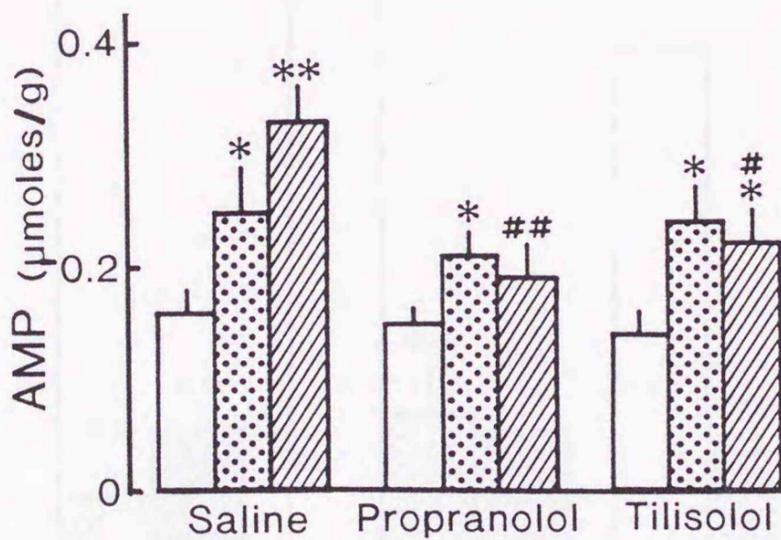
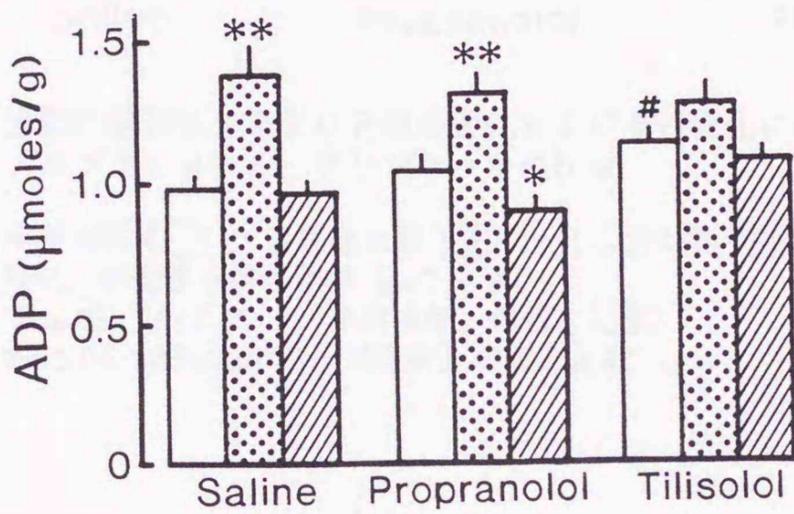
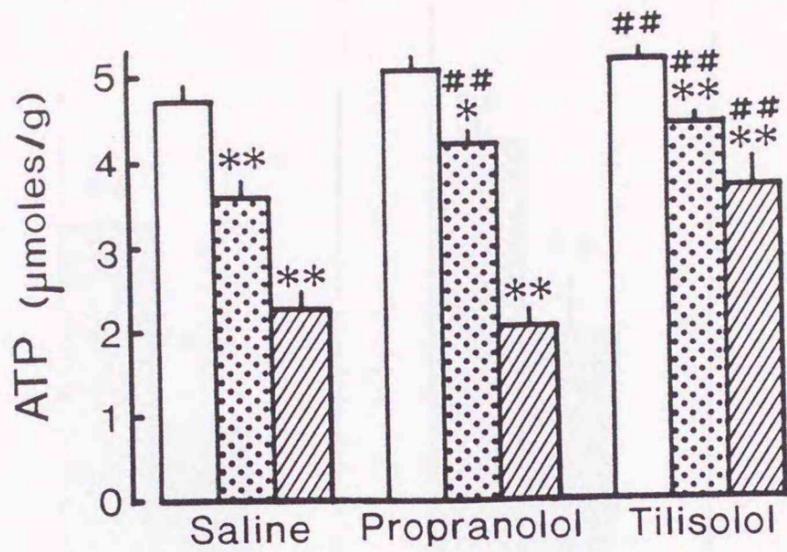


図16. 冠動脈結紮による心筋ATP, ADP, AMP含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, チリソロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▤), 30分虚血群 (▨)
 値は、平均値+標準誤差 (n=7~8)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

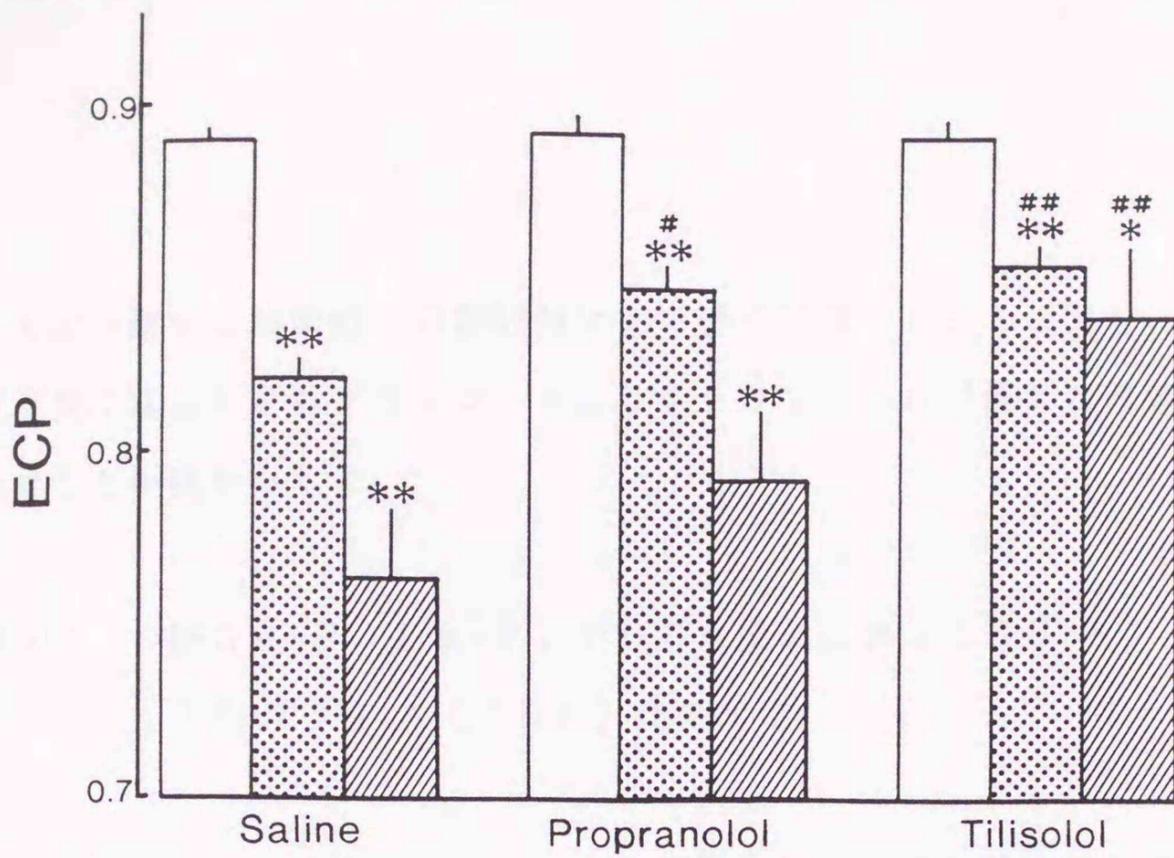


図17. 冠動脈結紮によるECP値の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, チリソロールの作用

非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は, 平均値+標準誤差 (n=7~8)
 *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

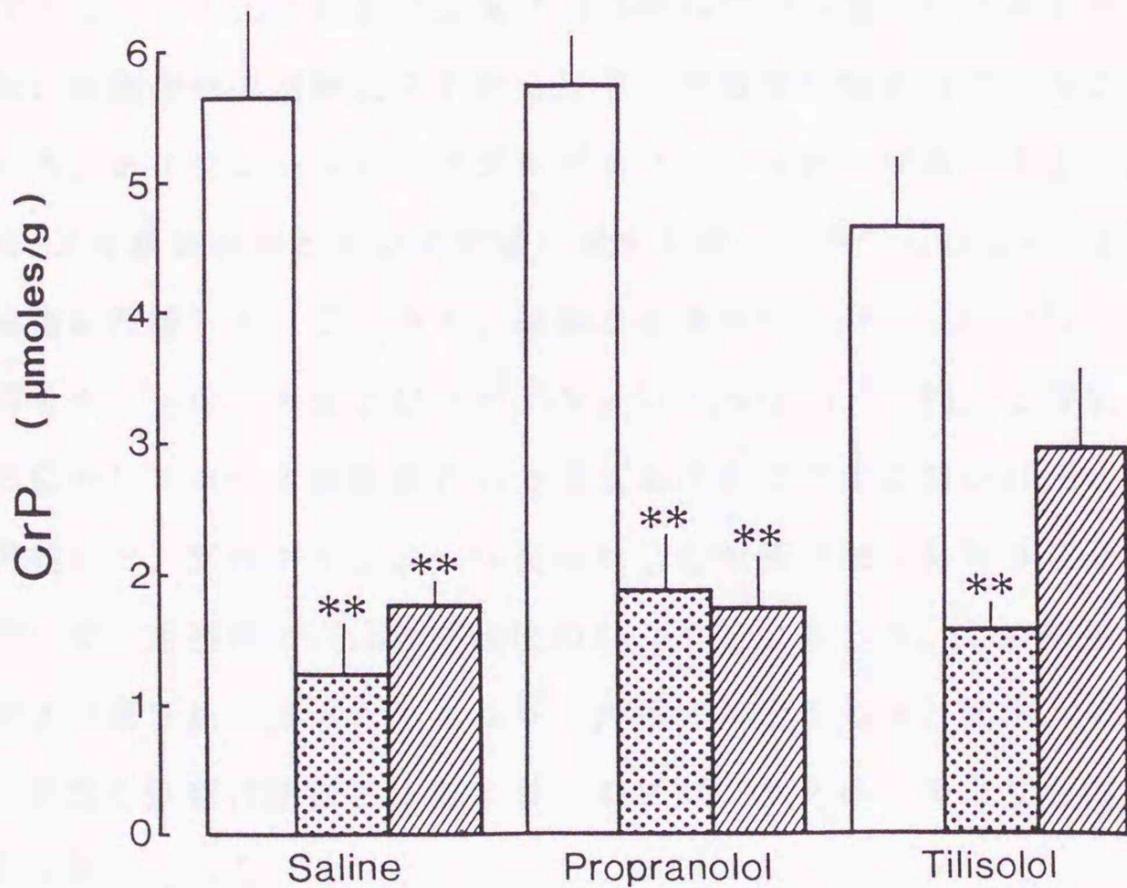


図18. 冠動脈結紮による心筋CrP含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, チリソロールの作用

非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は, 平均値+標準誤差 (n=7~8)
 **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)

ロール投与群では結紮前値の約63%にまで強く回復した。ここでも、虚血時間が長くなるとプロプラノロールよりもチリソロールが優れた改善効果を示すことが認められた。

第4節 心筋G6-P, F6-P, FDP含量および $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比の変化

心筋糖代謝におよぼすチリソロールの作用として、冠動脈結紮による心筋G6-P, F6-P, FDP含量の変化およびヘキソースリン酸とヘキソースニリン酸の比の変化を、それぞれ図19、図20に示した。冠動脈を結紮すると、対照群ではG6-P, F6-P含量の著明な増加とFDP含量の減少傾向が観察された。したがって、 $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比を計算すると、この比は結紮3分後に2.8から36.2へ著しい上昇を示した。これは、解糖系が律速酵素PFKの反応の段階で抑制されていることを示している。チリソロールおよびプロプラノロールは、虚血によるG6-P, F6-P含量の増加とFDP含量の減少を防ぎ、中でもG6-P含量の増加を有意に改善した。このため、結紮3分後の $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比の上昇をチリソロールおよびプロプラノロールは15.7, 14.1と有意に改善し、さらにチリソロールは結紮30分後におけるこの比の値が10.6と上昇を強く抑制した。プロプラノロール投与による改善効果は結紮30分後までは持続せず、対照群の31.8と同程度の35.5まで上昇した。この結果は、第2節および第3節で述べたエネルギー代謝に対する効果と同様、チリソロールの虚血心筋糖代謝におよぼす効果がプロプラノロールよりも優れていることを示している。

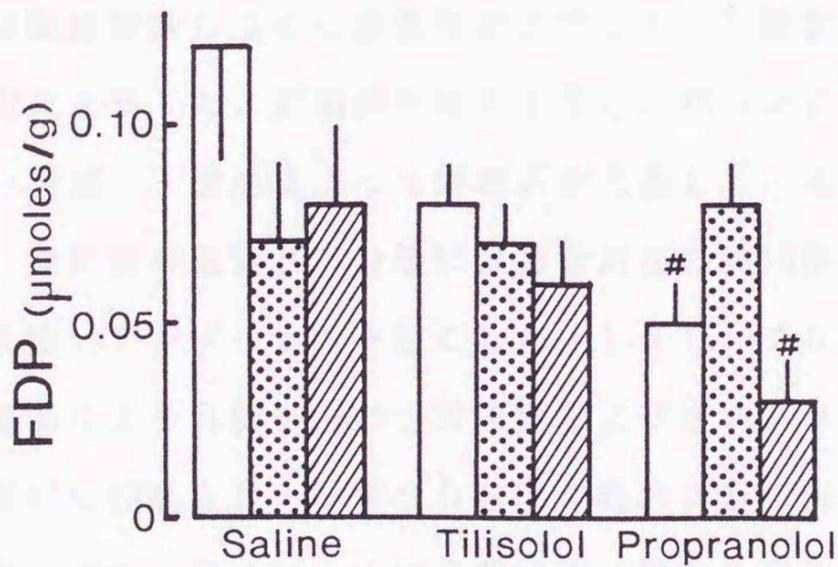
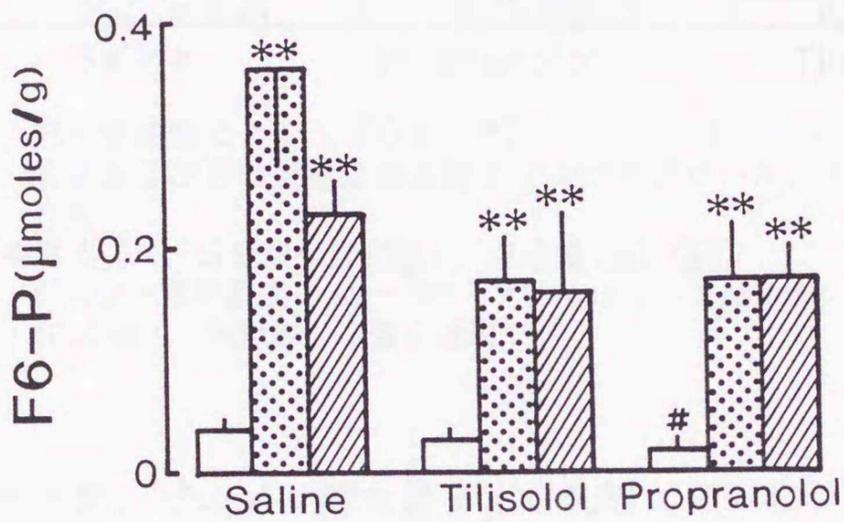
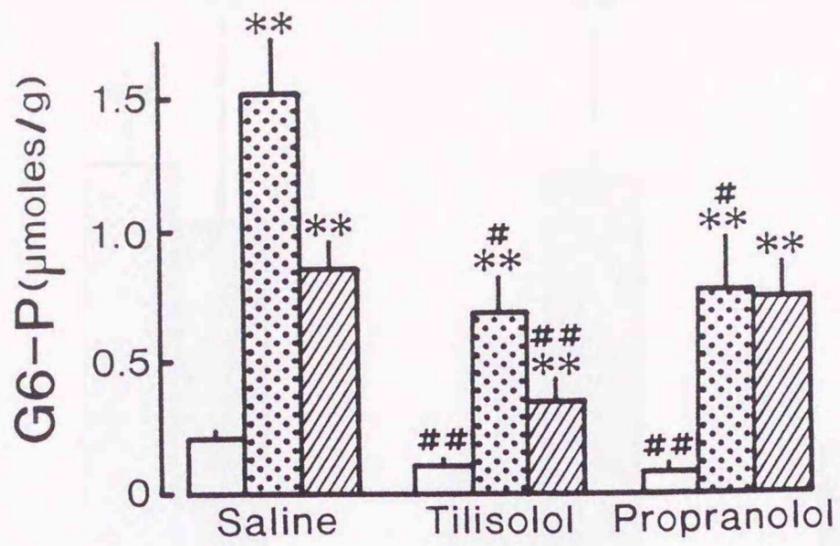


図19. 冠動脈結紮による心筋G6-P, F6-P, FDP含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, チリソロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は, 平均値 + (-) 標準誤差。 (n=7~8)
 **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較)
 #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

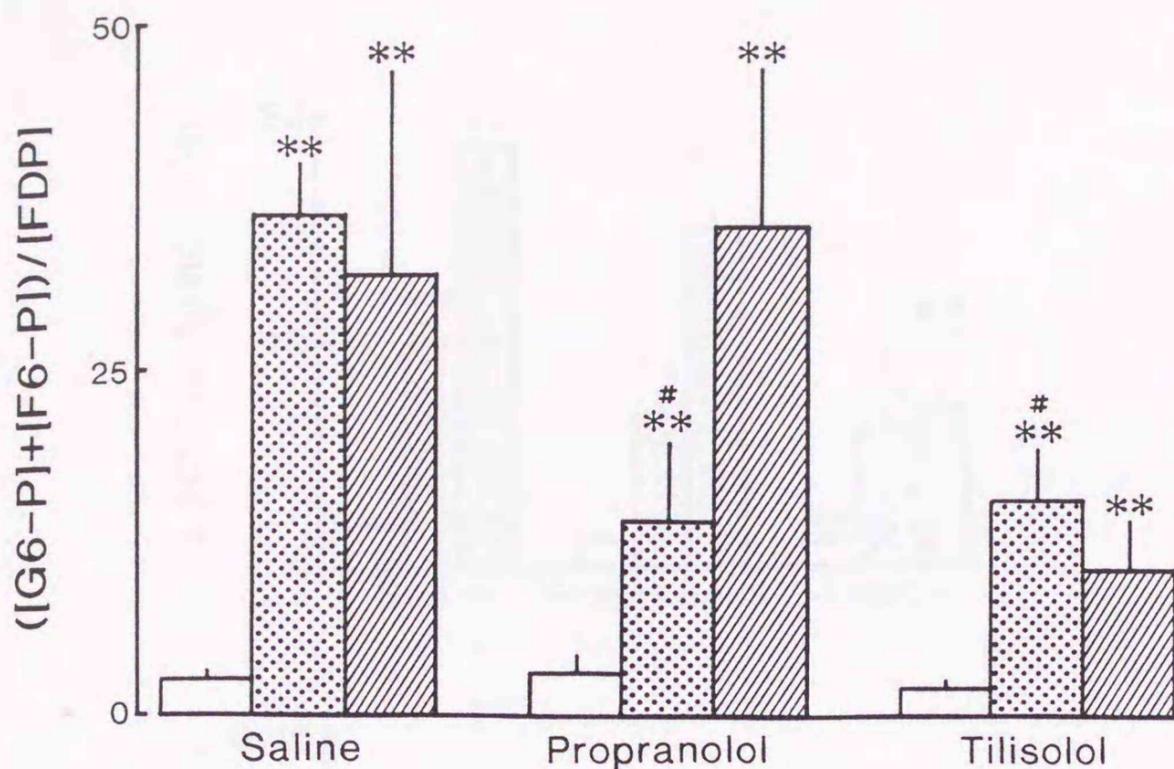


図20. 冠動脈結紮による $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール, チリソロールの作用
 非虚血群 (□), 3分虚血群 (▨), 30分虚血群 (▩)
 値は, 平均値+標準誤差 (n=7~8) **P<0.01 (「非虚血群」の値と比較) #P<0.05 (「対照群」の値と比較)

第5節 心筋乳酸, ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比の変化

図21に、冠動脈結紮による心筋乳酸およびピルビン酸含量と乳酸/ピルビン酸比の変化を示した。冠動脈を結紮すると、明らかに各群とも虚血初期から乳酸が蓄積し、虚血によって解糖系が亢進していることが示された。そのため、対照群の結紮30分後には結紮前値の約10倍にまで乳酸が蓄積し、心筋は強いアシドーシスを起こした。しかし、チリソロールを投与した群では虚血による乳酸の増加が対照群およびプロプラノロール投与群に比較して著明に抑制され、結紮30分後の乳酸含量は対照群の約38%に過ぎなかった。プロプラノロール投与群では、結紮30分後の乳酸含量は対照群とほぼ同程度であった。一方、ピルビン酸含量は、チリソロールを投与すると対照群でみられた虚血による減少が観察されずに逆に有意に増加し、プロプラノロール投与群では虚血にしても含量変化が起らなかった。したがって、乳酸/ピルビン酸比の変化は、対照群では結紮前値の20.9から結紮3分後で239.2, 結紮30分後で342.0と著しく上昇した。

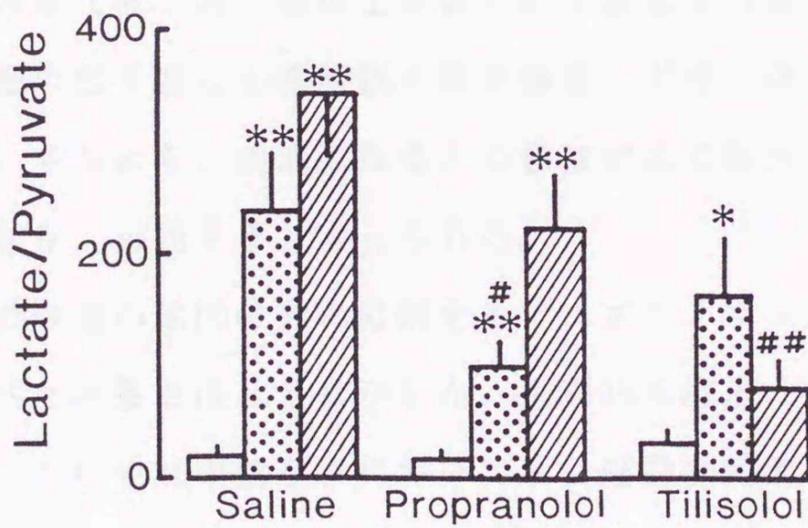
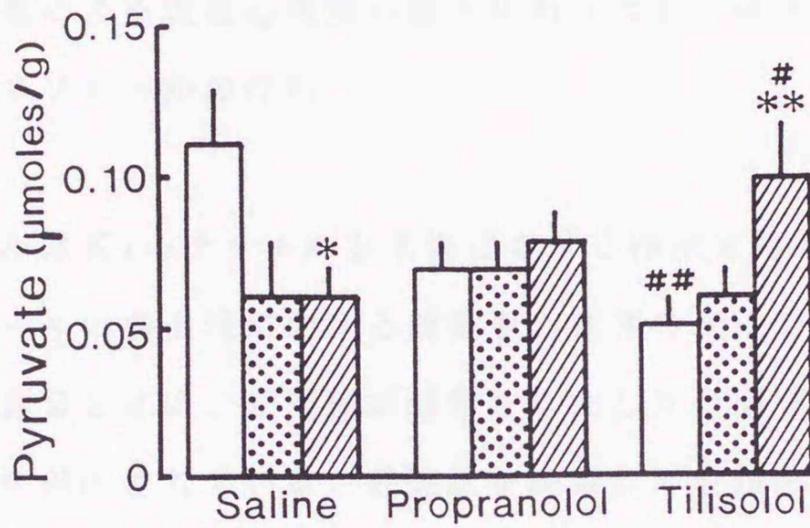
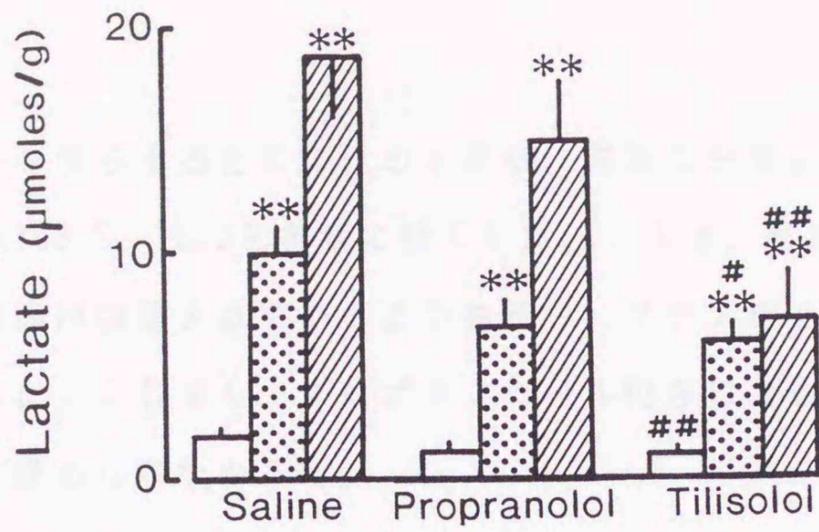


図21. 冠動脈結紮による心筋乳酸、ピルビン酸含量および乳酸/ピルビン酸比の変化とそれらの変化におよぼすプロプラノロール、チリソロールの作用

非虚血群 (□), 3分虚血群 (▤), 30分虚血群 (▨) 値は、
 平均値 + (-) 標準誤差。 (n=7 ~ 8) *P<0.05, **P<0.01 (「非虚血群」
 の値と比較) #P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」の値と比較)

チリソロールを投与するとこの比の上昇が、結紮3分後および結紮30分後にそれぞれ163.2, 78.9と有意に低下した。これは、虚血による心筋細胞内の還元状態が改善されていることを示し、プロプラノロールの効果よりも大であった。ここでも、プロプラノロール投与による改善効果は結紮30分後では認められなかった。

第6節 虚血による表面心電図の変化におよぼすプロプラノロール、チリソロールの作用

チリソロールは K_{ATP} チャネルを活性化させる作用を持つ薬物であるため、チリソロールの虚血時における効果を心電図の変化から電気生理学的に検討した。図22には、冠動脈が結紮されたLAD領域から記録した表面心電図の変化が示されている。冠動脈を結紮して心筋を虚血にすると、心電図波形のST部は著明に上昇し、TQ部は低下する変化を示した。電気生理学上この変化は、ST部の上昇は心筋活動電位の振幅と持続時間の増加を、TQ部の低下は心筋細胞膜の脱分極電位が浅くなることをそれぞれ示している。すなわち、虚血になると心筋は容易に脱分極を起こして活動電位は強くなり、持続すると考えられる。

この虚血時の表面心電図の変化に対するプロプラノロール、チリソロールの影響を調べた結果を図23に示した。生理的食塩水、プロプラノロール、チリソロールいずれの投与群においても、冠動脈結紮により著しいSTセグメント(ΔST)の増加、TQセグメント(ΔTQ)の低下が観察された。しかし、チリソロールを投与した群ではSTセグメントの増加が虚血7分、10分後において対照群に比べて有意に改善され、TQセグメントの低下も軽減された。これらの結果は、チリソロールが虚血による心筋の脱分極の増加を改善し、活動電位を抑制して持続時間を短縮することを示している。

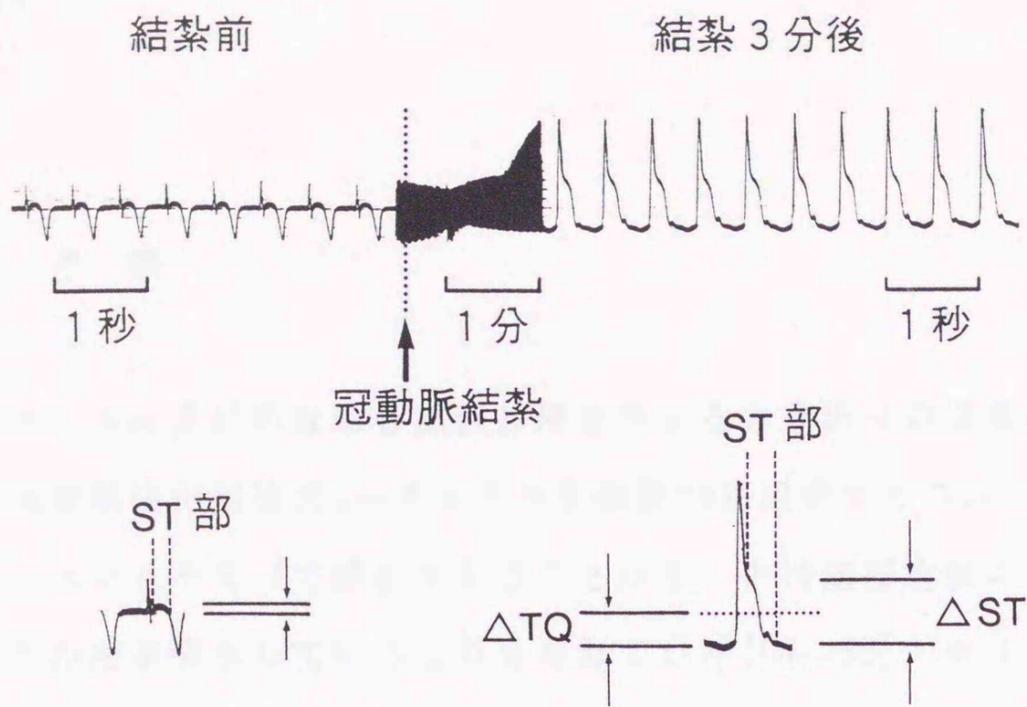


図22. 冠動脈結紮による表面心電図の変化
表面心電図のST部は著明に上昇し、TQ部は低下する変化を示した。

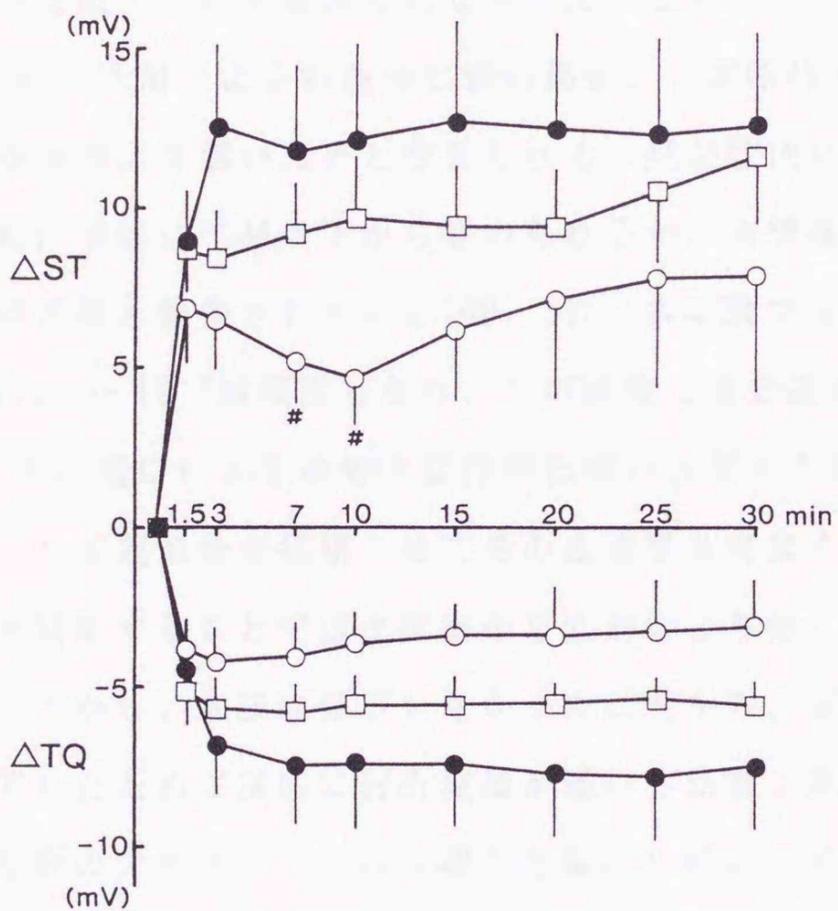


図23. 冠動脈結紮による表面心電図の変化におよぼす
プロプラノロール、チリソロールの作用
「30分虚血群」における変化を示してある。ΔST (ΔTQ)
は冠動脈結紮前後のST増加分 (TQ低下分) を表す。
生理的食塩水 (●), プロプラノロール (1 mg/kg; □),
チリソロール (0.2 mg/kg; ○) 値は、平均値 + (-) 標準誤差。 (n=7 ~ 8)
#P<0.05 (「対照群」の値と比較)

第7節 考 察

チリソロールは直接的な血管拡張作用を有する非選択性の β 遮断薬である。この血管拡張作用は K_{ATP} チャネルを特異的に阻害するスルホニル尿素薬のグリベンクラミドで拮抗されることから、平滑筋細胞膜の K_{ATP} チャネル開口作用が関与していると考えられている[60, 68]。チリソロール(0.2 mg/kg)を麻酔開胸犬に投与すると血圧にはあまり変化が見られず、心拍数はプロプラノロール(1 mg/kg)投与群と同程度に低下した。冠血流量はチリソロール投与直後より減少し、冠動脈結紮時まで持続した。すなわち、チリソロールが血管拡張作用を持つにもかかわらず、冠血管拡張によって血流量が増加する作用はみられなかった。これは、チリソロールの K_{ATP} チャネル開口作用による冠血管拡張効果が、 β 遮断作用によって冠血管が収縮する効果より弱いためと考えられる。試験管内におけるチリソロールの β 遮断作用は 10^{-7} M以下から認められるが、血管拡張作用は 10^{-5} M以上の濃度が必要と報告されている[60, 61]。本実験で使用した0.2 mg/kgの用量は 10^{-7} ~ 10^{-6} M程度となり、この濃度では β 遮断作用が主であり K_{ATP} チャネル開口による血管拡張作用は弱いと考えられる。すなわち、チリソロールが冠血管を拡張させてその血流量を増加させ、心筋により多くの酸素を供給することで虚血障害から心筋をより強く改善することは考えにくい。しかし、血圧は低下しなかったことから、冠血管は拡張しても血圧が低下したため二次的に冠血流量が減少した第1章のニプラジロールおよび第2章のアモスラロールの場合とは、心筋に対する影響が異なると思われる。過度の血圧低下は反射的に交感神経を興奮させ、 β 遮断を行ってもその効果を相殺して[62] β 遮断作用による虚血心筋の改善効果を減弱するのかもしれない。

チリソロールは虚血初期(3分虚血)および長時間虚血(30分虚血)による著しいATPの減少やAMPの増加を対照群に比べ有意に改善し、

EC P値を高いレベルに保持した。また、解糖系のG 6 - PやF 6 - Pの増加も強く改善して $([G6-P] + [F6-P]) / [FDP]$ 比の上昇を阻害し、乳酸の蓄積も防いだ。これらの結果は、チリソロールが虚血による酸素不足を軽減して心筋エネルギー状態を良好に保ち、虚血による心筋組織の還元状態を改善することを示している。一方、プロプラノロールは、冠動脈結紮3分後の短時間虚血による代謝変化を有意に改善したが、虚血時間が長くなると改善効果は消失した。つまり、チリソロールの虚血心筋改善作用はプロプラノロールよりも強いと思われる。本実験におけるチリソロールの β 遮断作用は、心拍数を指標にする限りプロプラノロールと同等であり、その他の β 遮断薬としての特性もプロプラノロールと良く類似している[8, 60, 61]。さらに、体内動態からみたチリソロールとプロプラノロールの体内消失半減期はそれぞれ12時間[63], 4時間[64]であり、実験中に心拍数が回復してくることはなかった。したがって、チリソロールが示したプロプラノロールより優れた虚血心筋の改善作用には、体内動態や β 遮断作用などの違いによる効果以外の作用が働いていると考えられる。

心臓が虚血になると、機序はまだ不明であるが、心筋細胞内への Na^+ や Ca^{2+} の膜チャネルを介した透過性が強まり、心筋興奮の電気現象に変化が起こる。この変化は、心電図上、P~T波形のST部の上昇およびTQ部の低下として出現する(図22)。電気生理学上この心電図変化を心筋活動電位の変化に対応させると、ST部の上昇は心筋活動電位の振幅と持続時間の増加を、TQ部の低下は心筋細胞膜の脱分極電位が浅くなることをそれぞれ意味している[65]。このため、虚血になると心筋は容易に脱分極を起こし、活動電位は強くなって持続して不整脈や心室細動の原因となり、心停止に結びつく。虚血後の表面心電図の変化においてチリソロールは、虚血によって起こる著しいSTセグメントの上昇、TQセグメントの低下、すなわち虚血による心筋活動電位の振幅や脱分極の増加をプロプラノロールに比べ著明に改善した(図23)。Kチャネルが活性化される

と、静止膜電位はより負の方向に変化して膜は過分極を起こし、脱分極を抑制する。その結果、電位依存性の Na^+ 、 Ca^{2+} の流入が抑制される。また、活動電位の再分極が促進されて、活動電位の持続時間が短縮する。これらの作用が、チリソロール投与後、その K_{ATP} チャネル開口作用によって現れ、心収縮力の抑制を招いて不整脈や心室細動の発生を防ぎ、エネルギー需要（ATP、CrPの消費）の軽減をもたらしたと考えられる。

最近、Auchampachら[66]やKamigakiら[67]は、 K_{ATP} チャネルの特異的阻害薬であるグリベクファミドが心筋虚血障害を悪化させることを報告し、 K_{ATP} チャネルの活性化は虚血心筋を障害から保護する生体防御機構の一つとして考えられている。 K_{ATP} チャネルを活性化させる因子には虚血によるATPの減少の他に、組織内pHの低下[69]、遊離脂肪酸の生成[70]、アデノシンの生成[71]などがある。これらいずれの因子も虚血後数十秒から数分以内でおこる現象であり、 K_{ATP} チャネルの活性化には充分に関与可能である。因みに、本実験で得られた冠動脈結紮による心筋全ヌクレオチド含量の変化（表1）からアデノシンの生成を推測してみると、どの群

表1. 冠動脈結紮による心筋全アデニンヌクレオチド含量の変化およびその変化におよぼすプロプラノロール、チリソロールの作用

	n	$\mu\text{M}(\text{g wet wt})^{-1}$ 全アデニンヌクレオチド
非虚血		
生理的食塩水	8	5.86±0.17
プロプラノロール	7	6.19±0.15
チリソロール	8	6.47±0.12 ##
3分虚血		
生理的食塩水	8	5.20±0.28 *
プロプラノロール	7	5.70±0.16 *
チリソロール	8	5.96±0.11 *,#
30分虚血		
生理的食塩水	8	3.54±0.22 **
プロプラノロール	7	3.14±0.38 **
チリソロール	8	4.98±0.38 **,##

値は、平均値±標準誤差

*P<0.05, **P<0.01（「非虚血群」の値と比較）

#P<0.05, ##P<0.01（「対照群」の値と比較）

においても結紮3分後より含量の有意な減少がみられ、ヌクレオチドからヌクレオシドへの流出、すなわち、アデノシンの生成が示唆された。また、Ishibashiら[97]は虚血時の心筋組織アデノシン含量の検討を行い、虚血直後より経時的に含量が増加することを証明している。したがって、チリソロールを投与しなくてもアデノシン等の他の経路で K_{ATP} チャネルは開口していると思われる。しかし、チリソロールは効率良く K_{ATP} チャネルを開口してこの生体の防御反応を作動させ、虚血障害をより強く改善したと考えられる。

ここでもう一つの問題点として、本実験においてチリソロールを投与しても血管拡張は起こらず、血圧も低下しなかった。これは、チリソロール(0.2 mg/kg)の K_{ATP} チャネル開口作用が血管を拡張する程には強く働かなかったことを示す。なぜ、チリソロールは血管にはあまり作用しないのに、心筋には働いたと言えるのだろうか？ K_{ATP} チャネル開口薬の組織感受性は、一般に、血管平滑筋にくらべ心筋に高い[72]ことが指摘されており、血行動態に影響を与えない低用量で虚血心筋の梗塞サイズを減少させることが報告されている[72, 73]。この事実は、 K_{ATP} チャネルの開口が血流増加とは別の機序により心筋保護作用をもたらすことを示唆し、本実験結果とも良く一致する。

プロプラノロールは膜安定化作用を示す β 遮断薬であり、 K_{ATP} チャネル開口による膜の過分極作用は一種の膜安定化作用とも考えられる。しかし、本実験に用いたプロプラノロールの用量が膜安定化作用を示す濃度(10^{-5} M以上)より低かったためか、電気生理学的にも差異が見られた[74]。

以上、チリソロールの虚血心筋代謝変化におよぼす効果をプロプラノロールの効果と比較すると、チリソロールはプロプラノロールより強力な虚血性心疾患改善効果を有すると判定することができる。この効果には、チリソロールの β 遮断作用に加え K_{ATP} チャネル開口作用が関与しているこ

とが推測される。

心臓の血液循環と呼吸機能

第一に、心臓の血液循環と呼吸機能は、その構造と機能の両面から考察される。心臓は、全身の血液を循環させるためのポンプとして機能し、その構造は、心房と心室からなる。心房は、血液を受け入れる役割を担い、心室は、血液を送り出す役割を担う。また、心臓は、呼吸機能と密接に関連しており、肺循環を通じて、血液に酸素と二酸化炭素を供給する。このように、心臓は、全身の血液循環と呼吸機能を担う重要な臓器である。

第Ⅱ編 ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋pH変化におよぼす作用 [75, 76]

第Ⅰ編では、虚血時に起こる心筋代謝変化を指標にして各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋におよぼす効果を判定してきた。その結果、 β 遮断作用に冠血管拡張作用をもたせた薬物でも、その作用機序によって虚血心筋の改善効果に差があることが分かった。しかし、心筋を摘出して種々の生化学的パラメーターを測定する方法では、虚血時のある一時点での変化についての情報であるためバラツキが大きく、虚血時の心筋代謝変化の推移を連続的に知ることはできない。また、膨大な数の犬から心筋を摘出して種々のパラメーターを測定する必要があった。

心筋が虚血あるいは低酸素状態に陥ると心筋のpH値が低下することはよく知られている[16, 17, 77, 78]。Ichiharaら[79]は、虚血心筋におけるpH値の低下(=水素イオン濃度の上昇)と、その心筋の乳酸含量の増加およびATP含量の減少やCrP含量の減少は非常によく相関していることを報告した。また、心筋組織のpH値と pCO_2 値を同時に測定して、Henderson-Hasselbalchの式から重炭酸イオン濃度を計算すると虚血によってこの重炭酸イオンは著明に減少した[18]。このことは虚血時におけるpH値の低下が呼吸性のアシドーシスではなく、代謝性のアシドーシスであることを示唆し、虚血によって心筋代謝が変動し、なんらかの酸性物質が産生されたために起こるということを意味している。この酸性物質は、嫌氣的解糖が進行する過程で生ずる乳酸やATPの分解による水素イオン等が主な原因であると考えられている。すなわち、心筋pH値を連続的に測定することによって虚血心筋における代謝変化をある程度、連続的に推定することができると考えられる。

虚血による心筋代謝変化を改善するように、 β -受容体遮断薬のプロプ

ラノロールは虚血心筋におけるpH値の低下を減弱して心筋アシドーシスを改善する[25, 26, 80]。そこで本編では、心筋代謝変化を指標にして観察された虚血心筋に対するニプラジロール、アモスラロールおよびチリソロールの効果と心筋pH値を指標にして得られるそれらハイブリッド型β-受容体遮断薬の効果の関連性を調べる目的で、各薬物に対する虚血心筋pH値の変化を測定し、プロプラノロールで得られる反応と比較した。

実験方法

1. 動物の処理

雌雄雑種成犬（体重 11.6 ± 4.3 kg）にペントバルビタールナトリウム（30 mg/kg）を静脈内に投与して麻酔をかけた。人工呼吸下に左肋間から開胸し、心臓を露出した。LADを剝離し、電磁血流量計のプローブ（内径 2mm）をLADとLCXとの分岐部より下方のLADに装着した。さらにその下方に1本の糸を通し、この糸で冠動脈を結紮した。冠動脈結紮によって虚血になると思われる心筋部位に表面心電図導出用の電極を取付け、動脈圧は左頸動脈に挿入したポリエチレンカニューレから圧トランスデューサーを介して測定した。また、心拍数は四肢に電極を装着した第II肢誘導の心電図波形からタコメーターを介してポリグラフに入力、記録した。

冠動脈を結紮する前に、結紮しないため正常部位のままであるLCX領域（非虚血）と結紮して虚血状態になるLAD領域の心筋外膜層内二箇所、微小ガラスpH電極（直径1.5 mm，長さ10mm，反応速度20秒，Vascular Technology社製，U.S.A.）を直接挿入し、pHモニター（Khuri pH Monitor，Vascular Technology社製）で連続測定して記録した。pH電極は心筋外膜層に絹糸で固定し、心臓の拍動にともなって動くようにした（図24）。すべての準備が完了して各種の血行パラメーターおよび心筋pHの値が安定する約1時間～1時間30分後から実験を開始した。

まず実験1として、第I編のプロトコールに従い、プロプラノロールおよび各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋pH値の変化に対する効果を調べた。すなわち、対照としての生理的食塩水あるいは第I編の実験で使用した用量と同じ用量の各 β 遮断薬、プロプラノロール（1 mg/kg），ニプラジロール（0.3mg/kg），アモスラロール（0.3 mg/kg），チリソロール

(0.2mg/kg)の水溶液をそれぞれ 0.5 ml/kgになるように左大腿静脈より約 30秒かけて投与した。生理的食塩水あるいは各薬物を投与して5分後に冠動脈を糸で完全に結紮し、虚血になるLAD領域の組織内pH値を30分間連続測定した。

次に実験2として、実験1のチリソロールの効果を調べるにあたり、予めグリベンクラミドを静脈内に投与してからチリソロール投与を行う実験を、別に行った。すなわち、チリソロールを投与する5分前にグリベンクラミド(0.3 mg/kg)を投与し、以後、実験1と同様にして心筋組織内のpH値を測定した。この場合、グリベンクラミドの溶媒としてDMSOを用い、DMSO(0.2 ml/kg)を対照としてチリソロールあるいはグリベンクラミド単独の実験も並行して行った。

実験1および実験2における平均血圧(平均動脈圧)は、次式により計算して求めた。

$$\text{平均血圧} = \text{拡張期血圧} + (\text{収縮期血圧} - \text{拡張期血圧}) \div 3$$

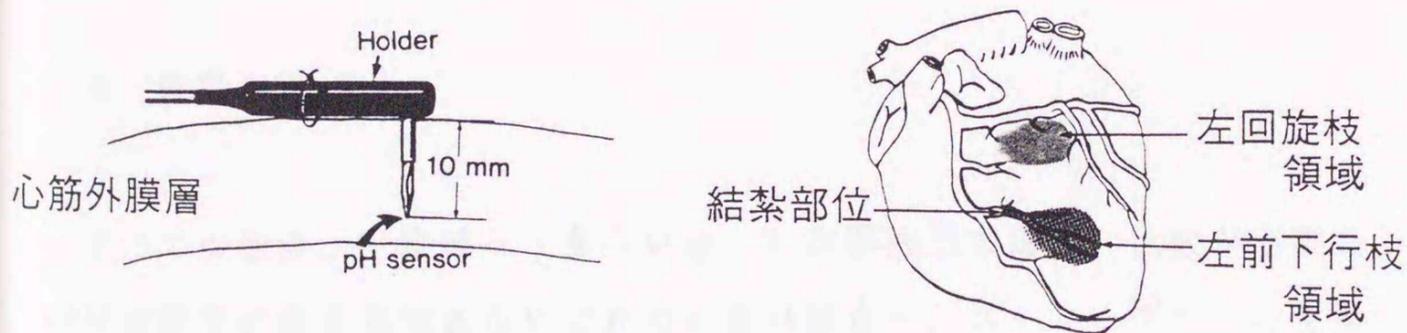


図24. 微小ガラスpH電極の心筋外膜層への挿入
pH電極は左回旋枝領域と左前下行枝領域の心筋外膜層内へ垂直に刺入し、絹糸でしっかりと固定した。左回旋枝領域は虚血になっていない。左前下行枝領域のみが虚血となっている。

2. 実験動物の群分け

この実験で使用した動物は、投与した薬物およびその溶媒別の各群に分けられた。すなわち、実験1では、生理的食塩水を投与した対照群、プロプラノロール投与群、ニプラジロール投与群、アモスラロール投与群およびチリソロール投与群の5群である。また、実験2では、DMSO投与群、DMSO+チリソロール投与群、グリベンクラミド投与群およびグリベンクラミド+チリソロール投与群の4群である。各群とも5～6頭の犬を使用した。

3. 使用薬物

本編では第I編に使用した試薬に加え、以下の試薬類を新たに用いた。

DMSO	和光純薬
グリベンクラミド	Sigma 社
フタル酸緩衝液 (pH4.00)	Fischer Scientific 社
リン酸緩衝液 (pH7.00)	Fischer Scientific 社

4. 統計処理

すべての値は、平均値+（あるいは-）標準誤差で表し、比較が必要な時には対応のある検定あるいは対応のない検定を、スチューデントのt検定を用いて行った。有意差は、Pの値が0.05以下のものを有意差ありと判定した。ただし、心筋pHの値は次式に従い、一度水素イオン濃度に換算してから平均値計算や統計計算を行い、再びpH値に換算して表した。

$$[H^+] = 10^{-pH}$$

第1章 ハイブリッド型 β -受容体遮断薬およびプロプラノロールの 虚血心筋pH変化におよぼす作用

第I編の心筋代謝実験において、ニプラジロールおよび高用量のアモスラロールは、虚血時間が長くなると代謝障害の改善作用を消失あるいは減弱することが確認された。その理由として、それら薬物による強い血圧低下作用が冠灌流圧を低下させ、正常部位から虚血部位への血流量を減少させることが考えられた。前述したように、心筋が虚血になってpHの値が低下するのは、主に嫌氣的糖代謝が進んで水素イオン等が血流の途絶えている心筋細胞内に蓄積するために起こる。したがって、虚血の状態であっても、もし血流があれば水素イオン等の酸性物質を細胞外へ洗い出すことができ、pH値の低下も軽減されることが考えられる[32, 81]。そのため、ニプラジロールおよびアモスラロールの冠血管拡張作用が冠血流量を増加させずに逆に減少させて長時間虚血では心筋障害を悪化させ、一方、血流量増加は起こらなくても強く虚血時の心筋障害を改善したチリソロールの効果を心筋組織内pH値の変化から調べることは、虚血領域の血流循環と代謝変化の関係を検証することにもなる。そこで、第I編の心筋代謝変化を指標にして調べたプロプラノロールおよび各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋におよぼす効果を、虚血時の心筋pH値変化におよぼす各薬物の相対的な効果と比較して検討した。

第1節 血圧、心拍数、冠血流量の変化

本実験の各群における血行動態の変化を図25に示した。生理的食塩水、プロプラノロールあるいはチリソロールを投与した群の平均血圧にはほとんど変化がみられず、ニプラジロール、アモスラロールを投与した群では投与直後より著しい血圧の低下が観察された。冠動脈結紮後、血圧はさら

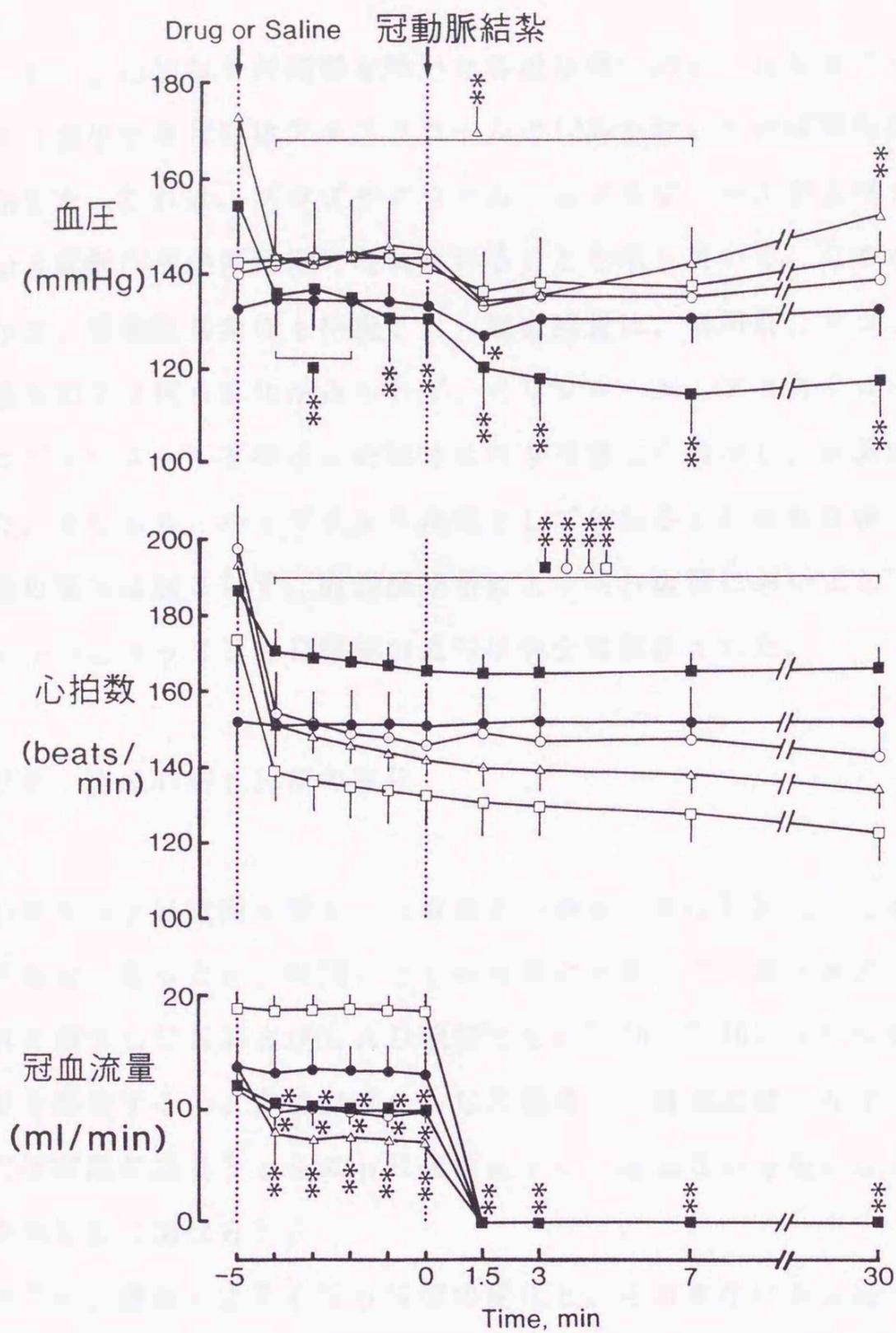


図25. 生理的食塩水, プロプラノロール, ハイブリッド型 β 遮断薬投与
 および冠動脈結紮による血圧, 心拍数, 冠血流量の変化
 生理的食塩水(●), プロプラノロール(1 mg/kg; □), チリソロール
 (0.2 mg/kg; ○), アモスラロール(0.3 mg/kg; ■), ニプラジロール
 (0.3 mg/kg; △) 各投与群とも「-5分」から「30分」における30
 分虚血群の変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。
 値は、平均値+(-)標準誤差。(n=6)
 *P<0.05, **P<0.01 (「-5分」値と比較)

に低下した。心拍数も対照群を除いた各投与群において投与後すぐに減少し、その減少する程度はアモスラロールの13%を除いてほぼ同程度の約25%を示した。これは、プロプラノロール、ニブラジロールおよびチリソロールの β 遮断作用が同程度に現れていることを示している。この心拍数減少作用は、冠動脈結紮後も持続した。冠血流量は、対照群、プロプラノロール投与群では何ら変化がみられず、チリソロール、アモスラロールあるいはニブラジロールを投与した群では投与直後より減少し、結紮時まで持続した。すなわち、ハイブリッド機能として付加された血管拡張作用で冠血流量の増加は起こらず、冠動脈結紮により何れの群においても冠血流量は0 ml/minとなってLAD領域の血流は完全に遮断された。

第2節 虚血心筋pH値の変化

微小ガラスpH電極を挿入した直後の心筋pH値は7.0以下でかなり低く、不安定であったが、時間とともに次第に上昇して、挿入後約90分以内でpHの値はLCXおよびLAD領域ともに7.30~7.40になり安定した。冠動脈を結紮すると、非虚血部のLCX領域のpH値は変化せず、LAD領域では時間の経過とともにpH値は低下して結紮30分後にはほぼ定常状態を示した(図26)。

図27に、虚血による心筋pH値の変化と、その変化におよぼす各 β 遮断薬の効果について示した。各薬物は、冠動脈結紮前の心筋pH値には影響をおよぼさなかった。生理的食塩水を投与した対照群では、冠動脈を結紮すると約7.40であった心筋pH値は低下し、結紮30分後には約6.31まで低下して心筋は強いアシドーシスを示した。しかし、チリソロールあるいはプロプラノロールを投与するところのpH値の低下が結紮7分後より有意に回復し、チリソロールでは結紮30分後でpH値約6.80、プロプラノロールでは約6.66と回復する程度はチリソロールの方が強く現れた。一方、

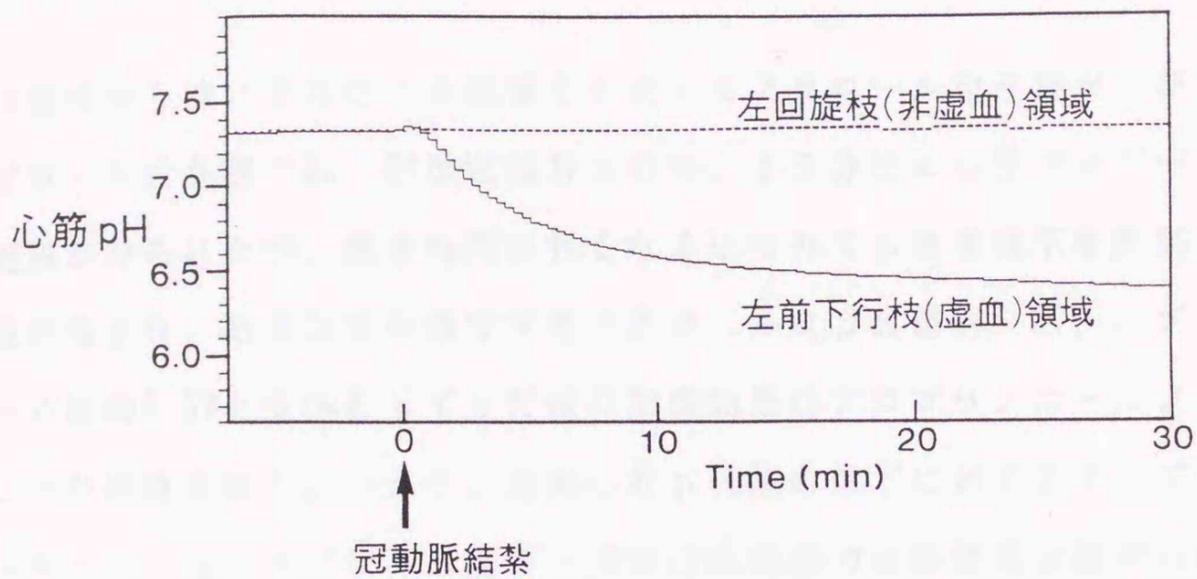


図26. 冠動脈結紮による心筋pH値変化の記録
虚血部の左前下行枝領域は経時的にpHの値が低下し、非虚血部の左回旋枝領域はpH値が変化しない。

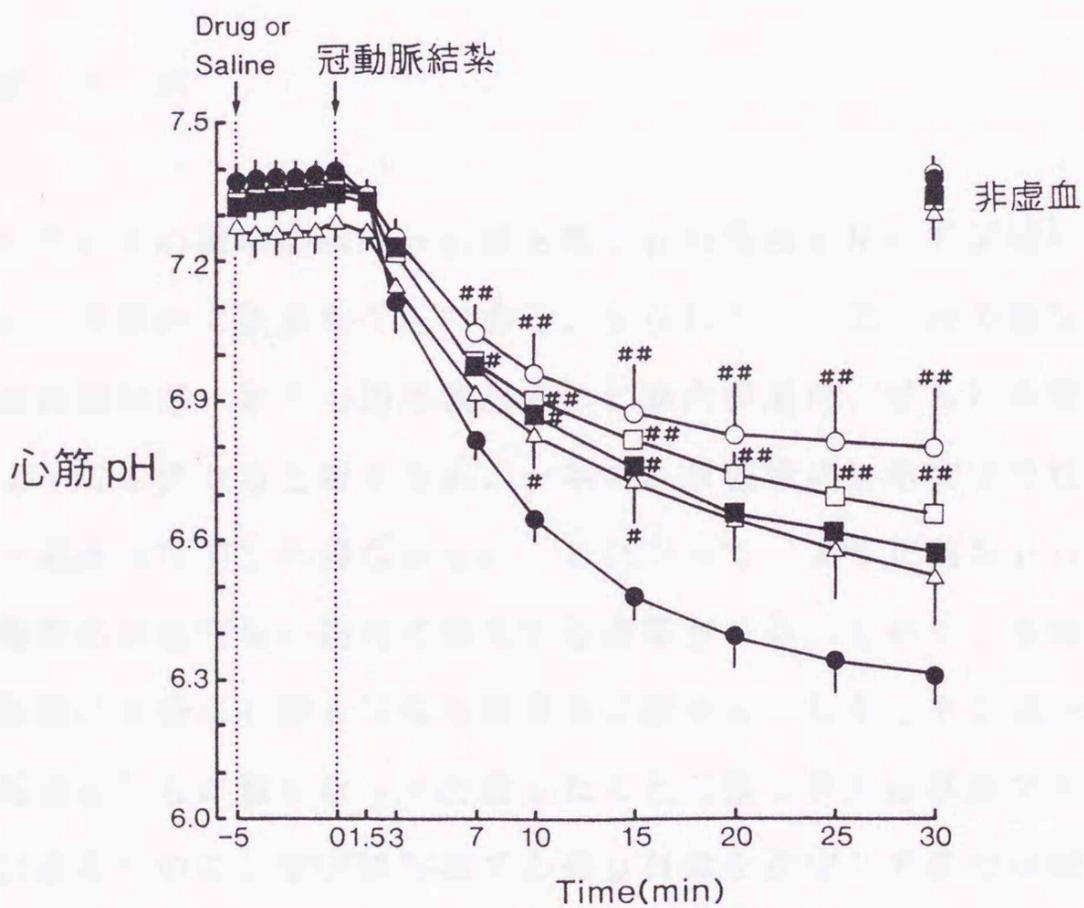


図27. 冠動脈結紮による心筋pH値低下におよぼすプロプラノロール、ハイブリッド型β遮断薬の作用
生理的食塩水(●), プロプラノロール(1 mg/kg; □), チリソロール(0.2 mg/kg; ○), アモスラロール(0.3 mg/kg; ■), ニプラジロール(0.3 mg/kg; △)各投与群とも「-5分」から「30分」における30分虚血時の心筋組織内pH値変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。値は、平均値+(-)標準誤差。(n=6)
#P<0.05, ##P<0.01 (「対照群」値と比較)

投与直後から強い血圧低下が観察されたアモスラロール投与群およびニプラジロール投与群では、冠動脈結紮10分、15分後に心筋アシドーシスの軽減がみられたが、虚血時間が長くなるにつれてpH値低下を抑制する効果は弱まり、結紮30分後でアモスラロールはpH値約6.57、ニプラジロールは約6.52と全体としてpH値の回復効果はプロプラノロールより弱いことが確認された。つまり、虚血心筋pH値の低下に対するプロプラノロールおよび各ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の改善効果を相対的に比較すると、チリソロール>プロプラノロール>アモスラロール=ニプラジロールの順に強くなった。非虚血部であるLCX領域のpH値は各群において、約7.28~7.39と安定していた。

第3節 考 察

拍動している心臓の組織内pH値を微小pH電極を用いて正確に測定することは、技術的に困難なことである。すなわち、心筋pHの値は心筋細胞内と細胞間隙部、また心筋外膜層内と心筋内膜層内、さらに血管の分布状態によっても異なると考えられ、一本のpH電極による測定では、ごく限られた局所的な値しか得られない。したがって、より正確なpH値を得るには複数個の電極を心筋内に挿入する必要がある。しかし、本実験において冠動脈結紮後に心筋pHの値は著明に減少し、しかもその減少が虚血時間の経過とともに強くなって持続したこと(図26)は事実であり、推測値ではあるものの、本実験方法で心筋pH値を測定して薬物の効果を調べることには妥当性があると考えられる。

虚血になるとなぜpH値が低下するのかについて、確立した説明はまだなされていない[82]。しかし、その大部分は、冠動脈結紮によって遠心性心臓交感神経終末から遊離したカテコラミンが β -受容体に作用して心筋細胞内に代謝変化を起こし、心筋pH値を低下させているものと考えられ

ている[17, 18, 43]。ゆえに、虚血によって遊離するカテコラミンを受容体部分で阻害する β 遮断薬はすべて、虚血時の心筋pH値の低下を改善することになる。実際、本研究で使用した β 遮断薬もすべて、冠動脈結紮後の心筋pH値低下を有意に改善した。しかし、その改善効果を相対的に比較すると、チリソロール>プロプラノロール>アモスラロール=ニプラジロールの順に高く、効果に差がみられた。心拍数を指標にする限り、アモスラロール(0.3 mg/kg)を除いた各薬物の β 遮断効果は同等と考えられる。 β_1 受容体と β_2 受容体が活性化する代謝系は異なっており、主に β_1 は脂質代謝に、 β_2 はグリコーゲン代謝に関与するという報告がある[83]。したがって、心筋pH値を減少させる原因がどちらの代謝系にあるのか、または両方の代謝系が関係しているのか、あるいは全く別の系に由来するのかが問題となる。しかし、虚血による心筋pH値の低下には、 β_1 -受容体が深く関係していることが示唆されている[84]。また、本実験で使用した β 遮断薬は全て非選択性であり、 β_1 および β_2 受容体を同程度に遮断する[7, 36, 61]。つまり、 β 遮断作用の違いによって異なる改善度を示したとは考えにくい。したがって、 β 遮断作用にハイブリッド機能として付加された血管拡張作用が、虚血心筋pH値低下の改善度を修飾していると考えられる。

虚血心筋pH値低下に対する血管拡張作用については、ニトログリセリンは、冠動脈狭窄によって低下した心筋pHの値を回復させる[32, 81]。これは、ニトログリセリンが細胞内のcGMPを増加させて虚血による水素イオンの産生を直接抑制するという考え[34]の他に、その血管拡張作用によって微小循環を改善し、心筋虚血部の局所血流量を増加させる効果も考えられている[85]。しかしその一方で、同じく強力な血管拡張薬であるジピリダモールやニフェジピンには虚血による心筋アシドーシスの改善効果は観察されていない[32, 86]。したがって、血管拡張作用による虚血心筋pH値低下の改善効果は一様ではない。

図27に示したように、ニトログリセリン様の効果が期待されたニプラジロールおよび α_1 遮断作用で血管拡張を示すアモスラロールは、プロプラノロールに比べ虚血心筋pH値低下の改善効果が弱かった。しかし、チリソロールは血管拡張を起こさないにもかかわらずプロプラノロールより強く心筋pH値の低下を改善した。すなわち、ニプラジロール、アモスラロールは強く血管を拡張して動脈圧を減少させ、ジピリダモールやニフェジピンに似て虚血部の血流量を却って低下させていると思われる。また、ジピリダモールやニフェジピンは正常な血管を拡張させても、虚血領域の血管を拡張させにくい。そのため、血流の多くは正常部位に多く流れ込み、虚血領域には分配しにくくなると考えられている（冠盗流現象）。これに似た現象がニプラジロールおよびアモスラロールにも現れ、虚血部の血流量が減少した可能性も考えられる。一方、チリソロールは血流量増加とは関係しない別の機序で虚血心筋pH値の低下を改善していることを示唆した。犬では冠動脈結紮後30分位から側副血行路が発達してきて蓄積している水素イオン等を洗い流し、そのため心筋pH値の低下は定常状態を示すようになると考えられている。ニプラジロール、アモスラロールはこの定常状態を示す傾向が見られず、側副血行路による血流循環が悪いことを示唆した。現在、各種の血管拡張薬が高血圧、心疾患治療に使用されているが、血管拡張作用と血流循環改善効果についてはまだ不明な点が多く、血管拡張作用が必ずしも血流改善に結び付かないため注意する必要がある。血流が途絶える虚血心筋の治療薬を開発する上で、血管拡張作用と血流循環改善効果について今後更に検討を続けねばならない。

ここでアモスラロールの用量は、第I編の心筋代謝変化におよぼす実験において、プロプラノロールより優れた効果を示した0.3 mg/kgを選んだ。しかし、本章の虚血心筋pH値低下に対しては、プロプラノロールと比較してアモスラロールの改善度は低かった。虚血による心筋pH値の変化は解糖系の亢進によって直ちに低下し、エネルギー代謝は糖代謝に少し遅れ

て変化するために差が生じたと考えられる。糖代謝は、A T Pを産生するための経路であるから当然ともいえる。実際、アモスラロールは虚血心筋の糖代謝異常を改善したが、エネルギー代謝変化に対する効果程には顕著でなかった（第 I 編、第 2 章）。

以上、ハイブリッド型 β -受容体遮断薬の虚血心筋 p H 値低下に対する改善効果は、 β 遮断作用は同じでも併せ持つ血管拡張作用の機序によって差があることが明らかとなった。血流量を増やすはずのニプラジロールおよびアモスラロールの血管拡張作用が、逆に、虚血部の血流量を減少させて心筋 p H の値を低下させ、血管が拡張せず血流も増加しないチリソロールは心筋 p H 値の低下を強く改善した。結局、これら虚血心筋 p H 値の変化に対するハイブリッド型 β -受容体遮断薬の効果は、第 I 編の心筋代謝変化におよぼす作用で得られた実験結果と非常に良く一致した。またこれは、酸素不足によって心筋代謝が変動し、その結果、心筋 p H 値が低下する [18] ことを裏付けている。

では、なぜチリソロールが他の β 遮断薬より強く虚血心筋 p H の低下を改善したのか？この点を、次章で検討した。

第2章 チリソロールがもつK_{ATP}チャネル開口作用は虚血心筋pH値低下の改善効果に寄与するか

前章において、虚血による心筋アシドーシスを指標にして相対的に判定したプロプラノロールおよびハイブリッド型β-受容体遮断薬の虚血性心疾患改善効果は、チリソロールが最も大であった。そこで、チリソロールがもつK_{ATP}チャネル開口作用が虚血心筋pH値低下の改善効果に関係しているかどうかについて調べた。

実験では、K_{ATP}チャネルの特異的阻害薬であるグリベンクラミド[66-68]を溶媒であるDMSOに溶かして投与し、その5分後にチリソロール投与を行った。K_{ATP}チャネル開口薬が虚血心筋pH値の変化に与える影響を調べた報告[87]はほとんどなく、興味を持たれる。

第1節 血圧、心拍数、冠血流量の変化

本実験の各群における血行動態の変化を図28に示した。溶媒のDMSOおよび阻害薬グリベンクラミドを投与すると、血圧がDMSO群では若干低下し、グリベンクラミド群では上昇する傾向を示した。しかし、これらは有意な変化ではなく、投与10分後の冠動脈結紮時にはほぼ投与前値まで回復していた。また、心拍数および冠血流量も有意に変化することではなく、冠動脈結紮後に冠血流量は0ml/minとなった。チリソロール投与群およびグリベンクラミド+チリソロール投与群では、これまでの実験同様、血圧にはあまり変化がみられず、心拍数は投与直後より約25%程度減少し、冠動脈結紮後もこの減少は持続した。冠血流量も、両群において減少し、冠動脈結紮後0ml/minになった。すなわち、本実験系におけるチリソロールの血行動態は、溶媒および阻害薬グリベンクラミドの影響を受けることはなく、これまでに行った第I編および前章の実験と同じ変化を

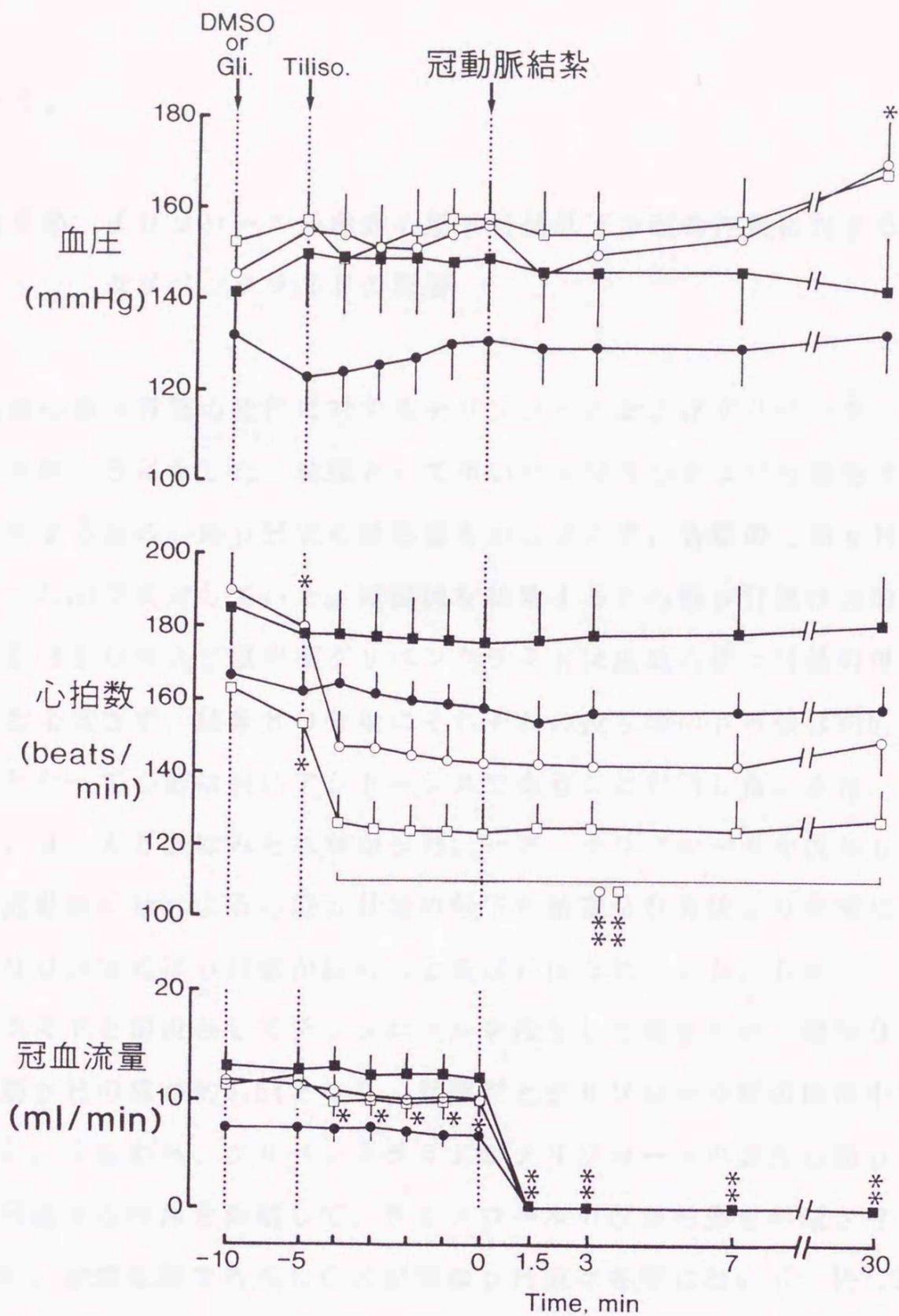


図28. DMSO, チリソロール, グリベンクラミドあるいはグリベンクラミド存在下チリソロール投与, および冠動脈結紮による血圧, 心拍数, 冠血流量の変化
 DMSO (●), チリソロール (0.2 mg/kg; ○), グリベンクラミド (0.3 mg/kg; ■), グリベンクラミド (0.3 mg/kg) + チリソロール (0.2 mg/kg) (□) 各投与群とも「-5分」から「30分」における30分虚血群の変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。
 値は、平均値+(-)標準誤差。(n=5~6)
 *P<0.05, **P<0.01 (「-5分」値と比較)

示した。

第2節 チリソロールの虚血心筋 pH 値低下の改善作用に対する グリベンクラミドの影響

虚血心筋 pH 値の変化に対するチリソロールおよびグリベンクラミドの効果を図 29 に示した。溶媒として用いた DMSO および各薬物は、冠動脈結紮する前の心筋 pH 値には影響をおよぼさず、各群の心筋 pH は約 7.27~7.36 で安定していた。冠動脈を結紮すると心筋 pH 値は急激に低下し、DMSO および阻害薬グリベンクラミドは虚血心筋 pH 値の低下に影響をおよぼさず、結紮 30 分後にそれぞれの投与群の pH 値は約 6.45, 6.41 となって心筋は強いアシドーシスであることを示した。また、両群の間に、ほとんど差はみられなかった。一方、チリソロールを投与した群では、冠動脈結紮による心筋 pH 値の低下が結紮 20 分後より有意に回復し、結紮 30 分後には pH 値が約 6.76 と高値に保たれていた。しかし、グリベンクラミドを前投与してチリソロールを投与した場合には、結紮 30 分後の心筋 pH の値が約 6.64 となり、対照群とチリソロール群のほぼ中間値を示した。すなわち、グリベンクラミドがチリソロールの虚血心筋 pH 値低下を回復する作用を抑制して、チリソロールの改善効果を半減させた。ここでも、非虚血部である LCX 領域の pH 値は各群において、約 7.26~7.34 と安定していた。

第3節 虚血による表面心電図の変化におよぼすグリベンクラミド、 チリソロールの作用

図 30 に、本実験における虚血時の表面心電図の変化を示した。
DMSO、グリベンクラミド、DMSO+チリソロール、グリベンクラミ

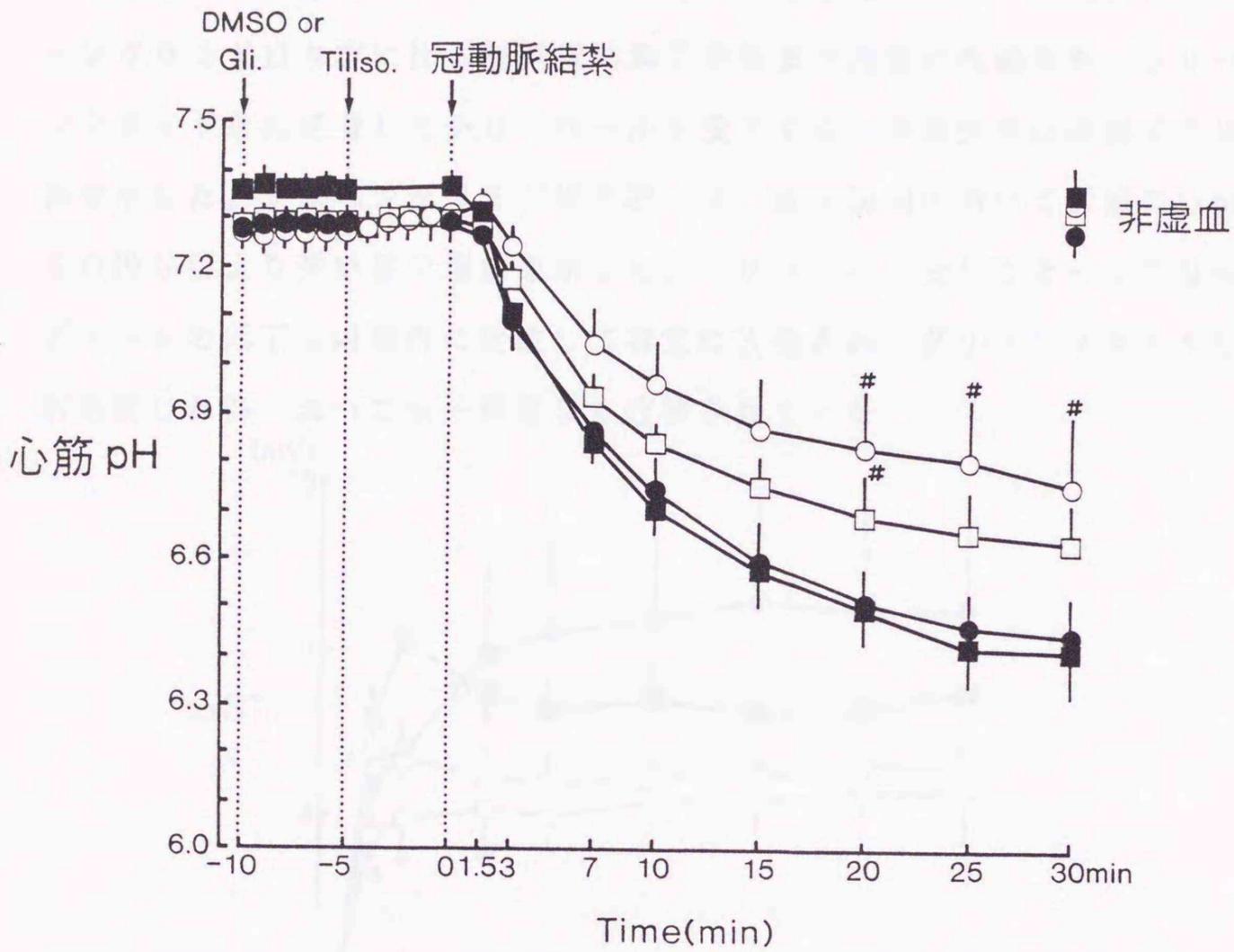


図29. チリソロールの虚血心筋pH値低下の改善作用に対するグリベンクラミド前処置の影響
 DMSO (●), チリソロール (0.2 mg/kg; ○), グリベンクラミド (0.3 mg/kg; ■), グリベンクラミド (0.3 mg/kg) + チリソロール (0.2 mg/kg) (□) 各投与群とも「-10分」から「30分」における30分虚血時の心筋組織内pH値変化を示し、冠動脈の完全結紮は「0分」で行った。値は、平均値+(-)標準誤差。(n=5~6)
 #P<0.05 (「対照群」値と比較)

ド+チリソロールいずれの群においても、冠動脈結紮により著しいSTセグメント (ΔST) の上昇とTQセグメント (ΔTQ) の低下が観察された。しかし、チリソロールを投与した群ではSTセグメントの増加がグリベンクラミド投与群に比べ冠動脈結紮7分後まで有意に改善され、グリベンクラミドを前処置してチリソロールを投与すると改善効果は減弱する傾向を示した。グリベンクラミド投与群では、虚血初期において対照のDMSO投与群より強いST増加を示した。チリソロール投与によってTQセグメントの低下も対照群に比較して有意に改善され、グリベンクラミドを前処置した群においては一層著しく改善されていた。

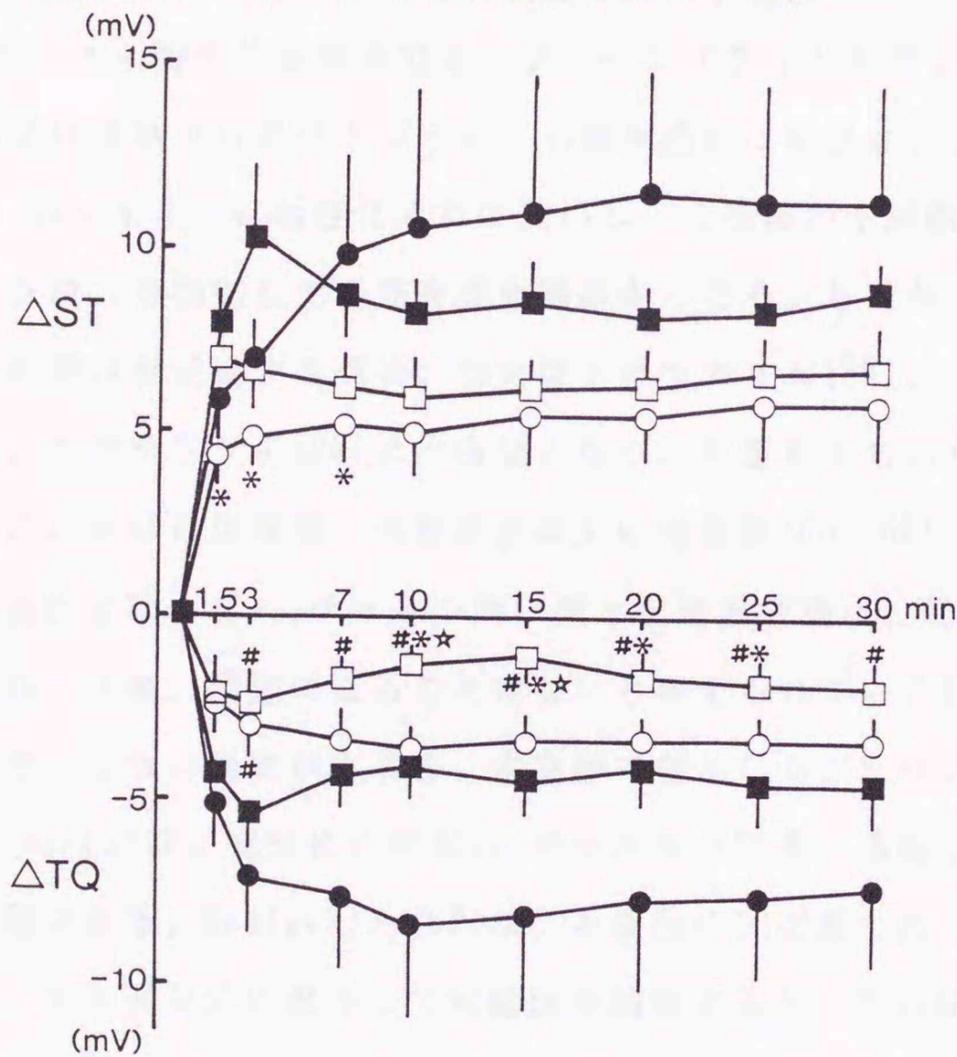


図30. DMSO, グリベンクラミド, チリソロールあるいはグリベンクラミド存在下チリソロール投与による虚血時表面心電図の変化
 図の構成は図23に準ずる。DMSO (0.2 ml/kg; ●), チリソロール (0.2 mg/kg; ○), グリベンクラミド (0.3 mg/kg; ■), グリベンクラミド (0.3 mg/kg) + チリソロール (0.2 mg/kg) (□)
 値は、平均値 + (-) 標準誤差。(n=5 ~ 6)
 #P<0.05 (「対照群」の値と比較)
 *P<0.05 (「グリベンクラミド投与群」の値と比較)
 ☆P<0.05 (「チリソロール投与群」の値と比較)

第4節 考 察

前章において、チリソロールは虚血心筋 pH 値の低下をプロプラノロールや他のハイブリッド型 β -受容体遮断薬に比べより強い改善効果を示し、その優れた効果は β 遮断作用以外の作用機序に基づくことが示唆された。すでに第 I 編の心筋代謝実験において、チリソロールは他の β 遮断薬より虚血心筋改善作用が強く、それはチリソロールの K_{ATP} チャンネル開口作用にあることが推測された。そこで本章では、チリソロールの K_{ATP} チャンネル開口作用が虚血心筋 pH 値低下の改善効果に寄与しているか否かを、 K_{ATP} チャンネルの特異的阻害薬であるグリベンクラミドを用いて調べた。

第 I 編の第 3 章でも述べたように、心筋が虚血になると ATP が分解するため K_{ATP} チャンネルは活性化されて開口し、心収縮力や細胞内へのカルシウムイオン流入を抑制して心筋を虚血障害から守る。したがって、 K_{ATP} チャンネルの開口を促進する薬物、例えばクロマカリム [88]、ピナシジル [89, 90]、ニコランジル [90] は治療薬となり、阻害薬であるグリベンクラミド等のスルホニル尿素薬（抗糖尿病薬）は増悪薬 [66-68] と成り得る。しかし、実際には、 K_{ATP} チャンネル開口薬と抗糖尿病薬は、組織感受性が異なるため、治療上問題になることはないと考えられている [91, 98]。するとここで、1 つの疑問が生じる。本実験で使用したグリベンクラミドの用量 (0.3 mg/kg) は、十分に心筋 K_{ATP} チャンネルを阻害する濃度であるのかという問題である。Kamigaki ら [67] は、本実験の 10 倍量である 3 mg/kg のグリベンクラミドを犬に投与して冠動脈を結紮すると、虚血時の心筋障害が増強されることを報告している。一方、Gross ら [92] は同じく犬の虚血実験で、血行動態に影響を与えない 0.3 mg/kg のグリベンクラミドが完全に K_{ATP} チャンネル開口薬の作用を抑制することを報告している。すなわち、生体の防御機構として開口する K_{ATP} チャンネルと薬物で活性化されて開口する K_{ATP} チャンネルとではグリベンクラミドに対する感受性が異なり、薬

物で開口が促進される K_{ATP} チャンネルに対しては 0.3 mg/kg の低濃度でグリベンクラミドは十分に同チャンネルを阻害していると考えられる。本実験においても、グリベンクラミドおよび溶媒の DMSO は血行動態にあまり影響しなかった。これに対してチリソロールは、第 I 編および前章の血行動態変化と同じように、血圧には変化を与えずに心拍数と冠血流量を減少させた。結局、グリベンクラミドおよび DMSO はチリソロールの血行動態に対しても影響を及ぼさないことがわかり、本実験におけるチリソロールの効果は心筋に対する直接作用であることが確認された。

溶媒の DMSO およびグリベンクラミドは虚血心筋 pH 値の変化にあまり影響をおよぼさず、心筋は強いアシドーシスとなり、チリソロールを投与するとこのアシドーシスは著しく改善された (図 29)。ところが、グリベンクラミドを前投与してからチリソロールを投与した場合には、虚血心筋のアシドーシスを改善する効果が減弱した。これはグリベンクラミドによる抑制作用であり、グリベンクラミドがチリソロールの K_{ATP} チャンネル開口作用を阻害したために生じた結果であると考えられる。つまり、チリソロールの虚血心筋アシドーシスを改善する効果のうち、グリベンクラミドによって阻害された部分が K_{ATP} チャンネル開口作用による効果であり、残りの部分は β 遮断作用による効果であると判断される。この判断に基づくと、グリベンクラミド前投与後にチリソロールを投与して観察された虚血 30 分後の心筋 pH 値 6.64 と、前章のプロプラノロールで観察された虚血 30 分後における心筋 pH 値 6.66 とは非常に良く一致する。すなわち、チリソロールのもつ K_{ATP} チャンネル開口作用は β 遮断作用に付加的に作用して、虚血心筋 pH 値の低下をより強く改善することが明らかになった。したがって、プロプラノロールにニコランジル [87] などの K_{ATP} チャンネル開口薬を併用させるとプロプラノロール単独以上の虚血心筋に対する改善効果が期待でき、本章の実験結果を確かなものとするためにも是非検討する必要がある。

グリベンクラミドは血糖を低下させるので、二次的に心筋に対する虚血の影響を増強することが考えられる。しかし、Schafferら[93]は、単離灌流ラットの心臓でスルホニル尿素薬のグリブライドがグルコースの利用と乳酸の産生を高めてATPを産生し、虚血障害から心臓を保護することを証明している。したがって、虚血心筋においてグリベンクラミドによる低血糖が心筋代謝障害を悪化しているとは考えにくい。代謝的にみて良くなるはずの薬物が虚血状態（心筋pH値の低下）を改善しないで却って抑制するのは、 K_{ATP} チャンネルに直接関係していることを示唆している。

K_{ATP} チャンネルの活性化が虚血心筋pH値低下の改善に奏効するのは、局所心筋収縮力を抑制してエネルギー消費を節減し、虚血時の心筋代謝変化を正常状態に近づけるためと推測される。チリソロールの K_{ATP} チャンネル開口作用は、血管においては $10^{-5}M$ 以上の濃度が必要である[60]にもかかわらず、心筋においては非常に強く作用していた。そこで、本実験においても、チリソロールの虚血心筋に対する効果を心電図変化から電気生理学的に解析した。図30に示したように、チリソロールは虚血後の ΔST の上昇および ΔTQ の低下をグリベンクラミドあるいはDMSOに比べ有意に改善して、虚血による膜脱分極の増加や活動電位の持続時間を短縮した。この現象は、 K_{ATP} チャンネル開口による過分極作用による[58, 94]と思われる、チリソロールの K_{ATP} チャンネル開口作用が心筋では、本実験に用いた用量で、充分発揮しているものと考えられる。

以上、本章において、チリソロールが示す虚血心筋pH値低下の改善効果には、 β -受容体遮断作用に加え K_{ATP} チャンネル開口作用が寄与していることが明らかになった。これまで、虚血心筋病態モデルの動物実験において、 β -受容体遮断薬の虚血心筋改善効果はプロプラノロールを越えることはないと思われてきた[14, 15, 77]。しかし本研究によって、生体本来が持っている防御機構を高める作用をハイブリッド機能として付加してやれば、プロプラノロールより強力な改善効果が得られることが判明した。

今後、血管拡張作用による虚血心筋微小循環の改善研究とともに、虚血心筋における K_{ATP} チャネル活性化作用についての研究が重要になると考えられる。

本報告では、 β_1 -受容体拮抗薬の作用を抑制する作用を有する β_1 -受容体拮抗薬を用いて、心筋虚血状態での虚血を抑制したハイブリッド型 β_1 -受容体拮抗薬が、より強い虚血抑制作用を示すことがわかった。虚血状態による虚血心筋での虚血を抑制する作用は、心筋虚血、特に虚血状態による虚血抑制作用を示した動物であり、その作用機序は、虚血状態による虚血抑制作用の機序と異なる機序を示すことがわかった。

本報告では、 β_1 -受容体拮抗薬の作用を抑制する作用を有する β_1 -受容体拮抗薬を用いて、心筋虚血状態での虚血を抑制したハイブリッド型 β_1 -受容体拮抗薬が、より強い虚血抑制作用を示すことがわかった。虚血状態による虚血心筋での虚血を抑制する作用は、心筋虚血、特に虚血状態による虚血抑制作用を示した動物であり、その作用機序は、虚血状態による虚血抑制作用の機序と異なる機序を示すことがわかった。虚血状態による虚血心筋での虚血を抑制する作用は、心筋虚血、特に虚血状態による虚血抑制作用を示した動物であり、その作用機序は、虚血状態による虚血抑制作用の機序と異なる機序を示すことがわかった。

心筋虚血状態での虚血抑制作用を示した動物であり、その作用機序は、虚血状態による虚血抑制作用の機序と異なる機序を示すことがわかった。虚血状態による虚血心筋での虚血を抑制する作用は、心筋虚血、特に虚血状態による虚血抑制作用を示した動物であり、その作用機序は、虚血状態による虚血抑制作用の機序と異なる機序を示すことがわかった。

結論

本研究では、 β -受容体遮断薬の欠点である冠攣縮誘発作用を是正して心筋虚血部位への血流量増加を期待したハイブリッド型 β -受容体遮断薬が、より強い虚血心筋の改善効果を示すかどうかを、冠動脈結紮による虚血心筋病態モデルを用いて調べた。その結果、同じ β 遮断作用に冠血管拡張作用を持たせた薬物でも、その血管拡張作用の作用機序によって、虚血心筋代謝変化や虚血心筋pH値変化の改善効果に差が現れることが明らかとなった。

すなわち、ニプラジロールおよびアモスラロールの高用量投与で認められたように、 β -受容体遮断薬の心拍数低下作用に血管拡張作用が加わると過度の血圧低下が起こり、これは冠血流量の増加を起こさずに却って血流の途絶えている虚血部位の微小循環を悪くするため、虚血時間が長くなると心筋障害が増悪することが判明した。したがって、虚血によるエネルギー代謝変化を強く改善したアモスラロールの低用量投与の場合のように、少なくとも $\alpha\beta$ -受容体遮断薬では、血行動態に極端な血圧低下や心拍数減少といった大きな変化を起こさない用量で治療すると、 β 遮断作用による効果以上に優れた虚血心筋改善効果を期待できると考えられる。これらの知見は、現在、降圧薬療法で取り上げられている「高血圧を治療しても虚血性心疾患を予防できない症例が多い。どうしてなのだろうか?」、また「心筋梗塞による死亡率は降圧とともに減少し、85mmHg以下に降圧すると死亡率は再度上昇する(J字現象)。」という問題[54, 55, 95]に、一つの答えを与えるかもしれない。

心筋細胞の K_{ATP} チャネル開口作用は虚血時の心筋障害を軽減し、この作用を促進するチリソロールは、その β 遮断作用による効果に加えてより強く虚血時の心筋障害を改善した。このチリソロールの付加的効果は、 K_{ATP} チャネル開口作用によって血管が拡張し、冠血流量が増加したため

に現れたのではなく、血圧に変化を及ぼさない程度の低用量で発現した。したがって、心筋 K_{ATP} チャネルは虚血時の心筋障害の改善に重要な役割を演じていることが示唆された。最近、Preconditioning(単回、あるいは数回の短い時間の虚血を繰り返すと、次の長い虚血で生ずる障害を軽減する)という現象に K_{ATP} チャネルが強く関与していることが判明しており[92, 96]、 K_{ATP} チャネル開口薬はPreconditioningと同じ状況を作り出す人工的Preconditioningと考えられる。すなわち、 K_{ATP} チャネル開口薬は血流増加作用等に関係しない新しい機序で虚血心筋に奏効し、心筋細胞膜の過分極作用がその役割を演じている本体と思われる。

また、以上の薬物効果の判定にあたり、心筋代謝変化を指標にして検討したハイブリッド型 β -受容体遮断薬の効果と心筋pH値を指標にして得られた結果は非常によく一致した。酸素不足によって心筋代謝が変動し、その結果心筋pHが低下するのであれば当然ともいえる。

冠血管拡張という本研究に着手する動機であった作用と β 遮断作用を併せ持つハイブリッド型 β -受容体遮断薬は、本研究で用いたin vivoの病態モデル動物で冠血流量増加作用をほとんど発現しなかった。この理由として、確かにこれら薬物によって血管は拡張するが、この血管拡張作用による動脈圧の低下が逆に冠動脈に血液を送り込む圧力、冠灌流圧を低下させ、冠動脈を流れる血流量を減少させることが考えられる。したがって、ニトロ基、 α_1 -遮断、あるいは K_{ATP} チャネル開口などによる血管拡張作用で、 β 遮断作用による効果以上に心筋虚血障害の改善効果を高めることは期待できないと考えられる。血管ではなく直接心筋自体に働いて虚血による代謝変化を改善する作用が有効であり、心筋細胞の K_{ATP} チャネル開口作用は虚血時の心筋障害を改善し、しかも β 遮断作用による改善効果に付加的に働くため、チリソロールは優れたハイブリッド型 β -受容体遮断薬であると判定できる。

冠循環によって心筋細胞が養われ、その集合体である心臓は機能する。

そのため、冠動脈に通過障害が起きて発生する虚血性心疾患の治療に冠血管拡張薬を用いることが、非常に理にかなった説得力のある治療方法になっている。しかし、最近では冠血管拡張薬が必ずしも有効な狭心症治療薬とはならないことが指摘されている。正常な血管を拡張するのではなく、ニトログリセリンのように虚血病巣部の血管を拡張して血流を増加させることが重要であり、そのような薬物の開発、評価が今後必要である。ニブラジロールはニトログリセリンと同じように強く血管を拡張するが、その虚血心筋におよぼす効果はニトログリセリンとは異なり、虚血部の血流循環を改善しないことが判明した。

一方、チリソロールの効果で明らかにされたように、血管拡張作用、すなわち血流増加作用に固執しない K_{ATP} チャネル開口作用のような新しいメカニズムによる奏効機序についても、今後さらに研究しなければならない。

謝 辞

本研究は旭川医科大学医学部薬理学講座（安孫子保教授）において行われた。

本研究に際して終始親身に御指導、御鞭撻下さいました安孫子保教授、並びに、北海道薬科大学 市原和夫教授、旭川医科大学医学部附属病院薬剤部 稲垣俊一部長に心より厚く御礼申し上げます。

また、終始御協力戴いた旭川医科大学医学部附属病院薬剤部の千葉 薫先生に深謝いたしますとともに、多大の御協力を頂きました旭川医科大学医学部薬理学講座の横山忠彦氏をはじめ同講座の皆様および、旭川医科大学医学部附属病院薬剤部、北海道薬科大学薬理学講座の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

本稿をまとめるにあたり、適切な御助言を頂きました北海道大学薬学部 栗原堅三教授 並びに 徳光幸子助教授、三宅教尚助教授に深く感謝の意を表します。

引用文献

1. Gillam, P. M. S. and Prichard, B. N. C. (1965) Use of propranolol in angina pectoris. *Brit. Med. J.* 2: 337-339.
2. Epstein, S. E. and Braunwald, E. (1966) Beta-adrenergic receptor blocking drugs mechanisms of action and clinical applications. *New. Engl. J. Med.* 275: 1106-1112.
3. Robertson, R. M., Wood, A. J. J., Vaughn, W. K. and Robertson, D. (1982) Exacerbation of vasotonic angina pectoris by propranolol. *Circulation* 65: 281-285.
4. Vatner, S. F. and Hintze, T. H. (1983) Mechanism of constriction of large coronary arteries by β -adrenergic receptor blockade. *Circ. Res.* 53: 389-400.
5. Kugiyama, K., Yasue, H., Horio, Y., Morikami, Y., Fujii, H., Kojima, A. and Takahashi, M. (1986) Effects of propranolol and nifedipine on exercise-induced attack in patients with variant angina : assessment by exercise thallium-201 myocardial scintigraphy with quantitative rotational tomography. *Circulation* 74: 374-380.
6. Uchida, Y., Nakamura, M., Tsuruta, T. and Yoshimura, M. (1987) Nipradilol, In: Scriabine, A. (ed.) *New Cardiovascular Drugs*, Raven Press, New York, pp. 95-115.
7. Takenaka, T. (1987) Amosulalol, In: Scriabine, A. (ed.) *New Cardiovascular Drugs*, Raven Press, New York, pp. 117-134.
8. Suzuki, Y., Sugai, T. and Kobayashi, A. (1981) A new potent beta-adrenergic blocking agent, N-696 (Abstract), In: 8th International Congress of Pharmacology (Tokyo) p. 382.

9. Van Zwieten, P. A. (1990) Pharmacology of antihypertensive agents with multiple actions. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 38: S77-S81.
10. Frishman, W. H. (1985) Pharmacology of the nitrates in angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 56: 81-131.
11. Kaski, J. C., Rodriguez-Plaza, L., Brown, J. and Maseri, A. (1985) Efficacy of carvedilol (BM14,190), a new beta-blocking drug with vasodilating properties, in exercise-induced ischemia. *Am. J. Cardiol.* 56: 35-40.
12. Bing, R. J. (1965) Cardiac metabolism. *Physio. Rev.* 45: 171-213.
13. Kubler, W. and Spieckermann, P. G. (1970) Regulation of glycolysis in the ischemic and the anoxic myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1:351-377.
14. Abiko, Y., Ichihara, K. and Izumi, T. (1979) Effects of antianginal drugs on ischemic myocardium metabolism, In: Winbury, M. M. and Abiko, Y. (ed) *Ischemic myocardial metabolism*, Raven Press, New York, pp. 155-169.
15. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1988) Cardiac metabolism as an indicator of oxygen supply/demand ratio. *Adv. Exp. Med. Biol.* 222: 431-435.
16. Gebert, G., Benzing, H. and Strohm, M. (1971) Changes in interstitial pH of dog myocardium in response to local ischemia, hyper- and hypocapnia, measured continuously by means of glass microelectrodes. *Pflugers. Arch.* 329: 72-81.
17. Ichihara, K., Ichihara, M. and Abiko, Y. (1979) Involvement of beta-adrenergic receptors in response of myocardial pH during ischemia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 209: 275-281.

18. Ichihara, K., Haga, N. and Abiko, Y. (1984) Is ischemia-induced pH decrease of dog myocardium respiratory or metabolic acidosis? *Am. J. Physiol.* 246: H652-H657.
19. Opie, L. H. (1971/72) Substrate utilization and glycolysis in the heart. *Cardiology* 56: 2-21.
20. Atkinson, D. E. and Walton, G. M. (1967) Adenosine triphosphate conversion in metabolic regulation. Rat liver citrate cleavage enzyme. *J. Biol. Chem.* 242: 3239-3241.
21. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1984) Rebound recovery of myocardial creatine phosphate with reperfusion after ischemia. *Am. Heart. J.* 108: 1594-1597.
22. Opie, L. H. (1976) Effects of regional ischemia on metabolism of glucose and fatty acids. Relative rates of aerobic and anaerobic energy production during myocardial infarction and comparison with the effects of anoxia. *Circ. Res.* 38 (Suppl.): 52-73.
23. Ui, M. (1966) A role of phosphofructokinase in pH-dependent regulation of glycolysis. *J. Biol. Chem.* 241: 310-322.
24. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1982) Crossover plot study of glycolytic intermediates in the ischemic canine heart. *Jpn. Heart J.* 23: 817-828.
25. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1977) Inhibition of end- and epicardial glycogenolysis by propranolol in ischemic heart. *Am. J. Physiol.* 232: H349-H353.
26. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1983) Effects of diltiazem and propranolol on irreversibility of ischemic cardiac function and metabolism in the isolated perfused rat heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 5: 745-751.

27. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1975) Difference between endocardial and epicardial utilization of glycogen in the ischemic heart. *Am. J. Physiol.* 229: 1585-1589.
28. Bergmeyer, H. U. (1974) (ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, pp. 1127-1131 (glucose, glycogen), 1238-1242 (G6P, F6P), 1314-1319 (FDP), 1492-1495 (lactate), 2101-2110 (ATP, CrP), 2127-2131 (ADP, AMP).
29. Weishaar, R. E., Ashikawa, K. and Bing, R. J. (1979) Effect of diltiazem, a calcium antagonist, on myocardial ischemia. *Am. J. Cardiol.* 43: 1137-1143.
30. Hayase, N., Chiba, K., Ichihara, K., Inagaki, S. and Abiko, Y. (1990) Effect of nipradilol on myocardial energy metabolism in the dog ischaemic heart. *J. Pharm. Pharmacol.* 42: 419-422.
31. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1975) Glycogen metabolism and the effect of nitroglycerin on the glycogen metabolism in the normal and ischemic myocardium. *Experientia* 31: 477-478.
32. Shibano, T. and Abiko, Y. (1983) Effects of nitroglycerin, dipyridamole and propranolol on myocardial pH and pO_2 during regional ischemia in the dog heart. *Arch. int. Pharmacodyn.* 264: 274-289.
33. Servents, D., Delaforge, M., Ducrocq, C., Mansuy, D. and Lenfant, M. (1989) Nitric oxide formation during microsomal hepatic denitration of glyceryl trinitrate: Involvement of cytochrome P-450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 163: 1210-1216.
34. Laustiola, K. (1984) On the role of cyclic GMP as a modulator of the cell metabolism of hypoxic and ischemic rat heart — with special reference to the mode of action of vasoactive organic

- nitrate. In: Acta Universitatis Tamperensis, Academic
dissertation, series A, Vol.178, Finland, University of Tampere.
35. Noguchi, K., Sakanashi, M. (1987) Effects of nipradilol on
myocardial ischaemia produced by coronary stenosis in dogs.
Br. J. Pharmacol. 91: 411-419.
36. Uchida, Y., Nakamura, M., Shimizu, S., Shirasawa, Y. and Fujii,
M. (1983) Vasoactive and β -adrenoceptor blocking properties of
3,4-dihydro-8-(2-hydroxy-3-isopropylamino)propoxy-3-nitroxy-2H-
1-benzopyran (K-351), a new antihypertensive agent. Arch. int.
Pharmacodyn. 262: 132-149.
37. Sakanashi, M., Takeo, S., Ito, H., Noguchi, K., Miyamoto, Y. and
Higa, T. (1984) Effects of an antihypertensive agent, nipradilol,
on isolated coronary artery of the dog. Pharmacology 29: 241-246.
38. Reibel, D. K. and Rovetto, M. J. (1978) Myocardial ATP synthesis
and mechanical function following oxygen deficiency.
Am. J. Physiol. 234: H620-H624.
39. Barrett, A. M. and Cullum, V. A. (1968) The biological
properties of the optical isomers of propranolol and their
effects on cardiac arrhythmias. Br. J. Pharmacol. 34: 43-55.
40. Heel, R. C., Brogden, R. N., Pakes, G. E., Speight, J. M. and
Avery, G. S. (1980) Nadolol: a review of its pharmacological
properties and therapeutic efficacy in hypertension and angina
pectoris. Drugs 20: 1-23.
41. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1987) Effects of nadolol, a β -
adrenoceptor blocking agent, on myocardial metabolism in the dog
ischaemic heart. J. Pharm. Pharmacol. 39: 604-608.
42. Hayase, N., Chiba, K. and Ichihara, K. (1993) Effects of

- amosulalol, a combined α_1 - and β -adrenoceptor blocking agent, on ischemic myocardial energy metabolism. *J. Pharm. Sci.* 82: 291-295.
43. Sakai, K. and Abiko, Y. (1981) Acute changes of myocardial norepinephrine and glycogen phosphorylase in ischemic and non-ischemic areas after coronary ligation in dogs. *Jap. Circul. J.* 45: 1250-1255.
44. Steinberg, S. F., Kaplan, L. M., Inoue, T., Zhang, J. F. and Robinson, R. B. (1989) Alpha-1 adrenergic stimulation of 1,4,5,-inositol triphosphate formation in ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250: 1141-1148.
45. Keely, S. L., Corbin, J. D. and Lincoln, T. (1977) Alpha adrenergic involvement in heart metabolism: Effects on adenosine cyclic 3',5'-monophosphate, adenosine cyclic 3',5'-monophosphate dependent protein kinase, guanosine cyclic 3',5'-monophosphate, and glucose transport. *Mol. Pharmacol.* 13: 965-975.
46. Scholz, J., Schaefer, B., Schmitz, W., Scholz, H., Steinfath, M., Lohse, M., Schwabe, U. and Puurunen, J. (1988) Alpha-1 adrenoceptor-mediated positive inotropic effect and inositol triphosphate increase in mammalian heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 245: 327-335.
47. Yoshida, R., Ichihara, K. and Abiko, Y. (1990) Effects of bunazosin, a selective α_1 -adrenergic blocking agent, on myocardial energy metabolism in ischemic dog heart. *Jpn. J. Pharmacol.* 53: 435-441.
48. Nayler, W. G., Gordon, M., Stephens, D. J. and Sturrock, W. J. (1985) The protective effect of prazosin on the ischaemic and

- reperfused myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 17: 685-699.
49. Majid, P. A., Meer, M. K., Benami, M. E., Sharma, B. and Taylor, S. H. (1974) Alpha- and beta-adrenergic blockade in the treatment of essential hypertension. *Br. Heart. J.* 36: 588-596.
 50. Takenaka, T., Asano, M., Berdeaux, A. and Giudicelli, J-F. (1982) Adrenoceptor blocking, hemodynamic and coronary effects of YM-09538, a new combined α - and β -adrenoceptor blocking drug in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.* 85: 35-50.
 51. Constantine, J. W. (1974) Analysis of the hypotensive action of prazosin, In: Citti DWK, Prazosin-evaluation of a new antihypertensive agent, *Excerpta Medica, Amsterdam*, pp. 16-36.
 52. Mukherjee, A., Wong, T. M., Buja, L. M. and Lefkowitz, R. J. (1979) Beta adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in canine myocardium. *J. Clin. Invest.* 64: 1423-1428.
 53. Opie, L. H. (1976) Effects of regional ischemia on metabolism on glucose and fatty acids. Relative rates of aerobic and anaerobic energy production during myocardial infarction and comparison with effects of anoxia. *Circ. Res.* 38(Suppl.1): 152-168.
 54. Cruickshank, J. M., Thorp, J. M. and Zacharias, F. J. (1987) Benefit and potential harm of lowering high blood pressure. *Lancet* 1: 581-584.
 55. Farnett, L. (1991) The J-curve phenomenon and the treatment of hypertension. *JAMA* 265: 489-495.
 56. Hayase, N., Chiba, K., Ichihara, K. and Abiko, Y. (1994) Effects of tilisolol on ischemic myocardial metabolism in dogs. *Eur. J. Pharmacol.* 260: 183-190.
 57. Wilde, A. A. M., Escande, D., Schumacher, C. A., Thuringer, D.,

- Mestre, M., Fiolet, J. W. T. and Janse, M. J. (1990) Potassium accumulation in the globally ischemic mammalian heart. A role for the ATP-sensitive potassium channel. *Circ. Res.* 67; 835-843.
58. Cole, W. C., Mcpherson, C. D. and Sontag, D. (1991) ATP-regulated K^+ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage. *Circ. Res.* 69: 571-581.
59. Barry, W. H. (1991) Calcium and ischemic injury. *Trends Cardiovasc. Med.* 1: 162-166.
60. Sugai, T., Kojima, K., Iwakami, N., and Suzuki, Y. (1991) Vasorelaxant and hypotensive effects of tilisolol hydrochloride (N-696) in isolated rat thoracic aorta and pithed rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 57; 367-375.
61. Nakagawa, Y., Sugai, T., Chin, W.-P., Shibuya, K., Hashimoto, K. and Imai, S. (1984) Pharmacological profile of a new β -adrenoceptor blocker, 4-[3-(tert-butylamino)-2-hydroxypropoxy]-N-methylisocarbostyryl hydrochloride (N-696). *Arzneim.-Forsch.* 34; 194-199.
62. Cambridge, D., Whiting, M. V., Butterfield, L. J. and Allan, G. (1992) The effects of combined angiotensin converting enzyme inhibition and β -adrenoceptor blockade on plasma renin activity in anaesthetized dogs. *Br. J. Pharmacol.* 106: 342-347.
63. Sasaki, H., Sekino, M., Munakata, K., Kishida, H., Hayakawa, H. Satoh, K. and Yonezawa, K. (1987) A phase 1 study of N-696, a new β -adrenoceptor blocking agent (Abstract), *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 18: 497.
64. Nace, G. S. and Wood, A. T. (1987) Pharmacokinetics of long acting propranolol: Implication for therapeutic use. *Clin. Pharmacokin.*

- 13: 51-64.
65. Kleber, A. G., M. J. Janse, F. J. L. Van Capelle and D. Durrer (1978) Mechanism and time course of S-T and T-Q segment changes during acute regional myocardial ischemia in the pig heart determined by extracellular and intracellular recordings. *Circ. Res.* 42: 603-613.
66. Auchampach, J. A., Maruyama, M., Caverro, I. and Gross, G. J. (1992) Pharmacological evidence for a role of ATP-dependent potassium channels in myocardial stunning. *Circulation* 86: 311-319.
67. Kamigaki, M., Ichihara, K. and Abiko, Y. (1994) Enhancement of ischemic myocardial metabolic derangement by glibenclamide. *Jpn. J. Pharmacol.* 65: 121-129.
68. Caverro, I., Mondot, S. and Mestre, M. (1989) Vasorelaxant effects of cromakalim in rats are mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 248: 1261-1268.
69. Findly, I. (1992) Effects of pH upon the inhibition by sulphonylurea drugs of ATP-sensitive K⁺ channel in cardiac muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262: 71-79.
70. Donghee, K. and Richard, A. D. (1990) Regulation of K⁺ channels in cardiac myocytes by free fatty acids. *Circ. Res.* 67: 1040-1046.
71. Grover, G. J., Sleph, P. G. and Dzwonczyk, S. (1992) Role of myocardial ATP-sensitive potassium channels in mediating preconditioning in the heart and their possible interaction with adenosine A₁ receptors. *Circulation* 86: 1310-1316.
72. Auchampach, J. A., Maruyama, M., Caverro, I. and Gross, G. J. (1991) The new K⁺ channel opener aprikalim (RP 52891) reduces

- experimental infarct size in dogs in the absence of hemodynamic changes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 259; 961-967.
73. Nakajima, T. (1991) Y-27152: Along-acting K^+ channel opener with less incidence of tachycardia. *Cardiovasc. Drug Rev.* 9: 372-384.
74. 石井正昭, 小森貞嘉, 佐藤廣康, 太田哲郎, 元村 成, 橋本敬太郎, (1984) 新しい β 遮断薬, N-696のイヌ実験不整脈に対する作用. *日薬理誌*, 84: 259-266.
75. Hino, T., Hayase, N., Chiba, K., Ichihara, K. and Abiko, Y. (1989) Nipradilol, a β -adrenoceptor antagonist having a vasodilatory action, attenuates myocardial acidosis induced by coronary artery occlusion in dogs. *Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 11: 373-378.
76. Hayase, N., Chiba, K. Abiko, Y. and Ichihara, K. Tilisolol, a β -adrenoceptor blocking agent having a K_{ATP} channel opening action, attenuates myocardial acidosis during ischemia in dogs. (1995) *Jpn. J. Pharmacol.* (in press)
77. Abiko, Y., Ichihara, K. and Sakai, K. (1984) Myocardial pH: A useful indicator for evaluation of the antianginal drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 5: 513-517.
78. Waston, R. M., Markle, D. R., Ro, Y. M., Goldstein, S. R., McGurine, S. R., McGurine, D. A., Peterson, J. I. and Patterson, R. E. (1984) Transmural pH gradient in canine myocardial ischemia. *Am. J. Physiol.* 246: H232-H238.
79. Ichihara, K. and Abiko, Y. (1982) Effects of diltiazem, a calcium antagonist, on myocardial pH in ischemic canine heart. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 222: 720-725.
80. Nakazawa, M., Katano, Y., Imai, S., Matsushita, K. and Ohuchi, M.

- (1983) Effects of l- and d-propranolol on the ischemic myocardial metabolism of the isolated guinea pig heart, as studied by ^{31}P -NMR. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 7: 700-704.
81. Winbury, M. M., Howe, B. B. and Weiss, H. R. (1971) Effects of nitroglycerin and dipyridamole on epicardial and endocardial oxygen tension — further evidence for redistribution of myocardial blood flow. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 176: 184-199.
82. Dennis, S. C., Genvers, W. and Opie, L. H. (1991) Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23: 1077-1086.
83. Irie, Y., Igawa, T., Hosokawa, T. and Saitoh, Y. (1979) Alterations in blood levels of carbohydrate and lipid metabolites and of cyclic AMP mediated by β_1 - and β_2 -adrenoceptors in beagle dogs: effects of procaterol, a new selective β_2 -adrenoceptor agonist. *Eur. J. Pharmacol.* 53: 351-358.
84. Sakai, K. and Abiko, Y. (1984) Attenuation by atenolol of myocardial acidosis during ischemia in dogs: Contribution of beta-adrenoceptors to myocardial acidosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232: 810-816.
85. Fam, W. M. and McGregor, M. (1968) Effect of nitroglycerin and dipyridamole on regional coronary resistance. *Circ. Res.* 22: 649-659.
86. Ichihara, K., Sakai, K. and Abiko, Y. (1986) Effects of nifedipine and niludipine on myocardial pH in the ischemic canine heart. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 280: 58-73.
87. Abiko, Y., Nishimura, T. and Sakai, K. (1984) Nicorandil attenuates myocardial acidosis during coronary occlusion in dogs.

- Br. J. Pharmacol. 81: 409-411.
88. Thomas, P., Dixon, S., Winterton, S. J. and Sheridan, D. J. (1990) Acute haemodynamic effects of cromakalim in patients with angina pectoris. Br. J. Pharmacol. 29: 325-331.
89. Arrigoni-Martelli, E. and Finucane, F. (1985) Pinacidil. In: Scriabine, A. (ed) New Cardiovascular Drugs, Raven Press, New York, Vol.3, pp. 133-151.
90. Garrett, G., Galen, P., Neil, E. F., David, W. and Harold, H. (1989) Effects of nicorandil on coronary circulation and myocardial ischemia. Am. J. Cardiol. 63: 11J-17J.
91. 猪岡 元, 丸山芳夫: (1993) ATP感受性カリウムチャンネルとインスリン分泌調節-倉智嘉久(編)イオンチャンネルと疾患, 羊土社, 東京, pp. 119-132.
92. Gross, G. and Auchampach, A. (1992) Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. Circ. Res. 70: 223-233.
93. Schaffer, S. W., Tan, B. H. and Mozaffari, M. S. (1985) Effect of glyburide on myocardial metabolism and function. Am. J. Med. 79 (Suppl. 3B): 48-52.
94. Nichols, C. G., Ripoll, C. and Lederer, W. J. (1991) ATP-sensitive potassium channel modulation of the guinea pig ventricular action potential and contraction. Circ. Res. 68: 280-287.
95. D'Agostino, R. B., Belanger, A. J., Kannel, W. B. and Cruickshank, J. M. (1991) The relation of low diastolic blood pressure to coronary heart disease death in the presence of myocardial infarction. The Framingham Study. BMJ 303: 385-389.
96. Murray, C. E., Jennings, R. B. and Reimer, K. A. (1986)

Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74: 1124-1136.

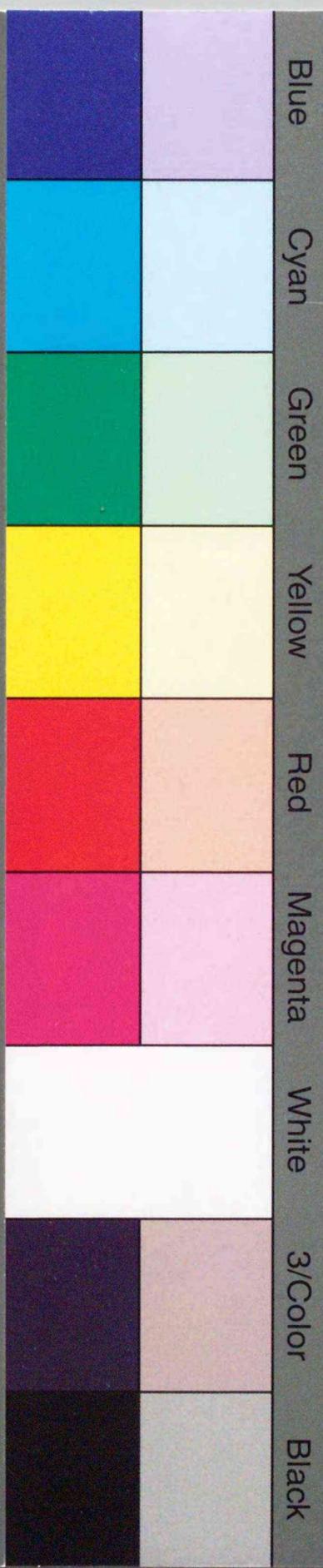
97. Ishibashi, T., Ichihara, K. and Abiko, Y. (1985) Difference in the time course between increase in coronary flow and in effluent adenosine concentration during anoxia in the perfused rat heart. *Japan. Circ. J.* 1090-1098.
98. Ashroft, F. M. (1988) Adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channels. *Ann. Re. Neurosci.* 11:97-118.



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

