

心拍動下手術における虚血馴化とATP感受性カリウムチャンネル開口薬の心筋保護効果の研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9432

心拍動下手術における虚血馴化とATP感受性 カリウムチャンネル開口薬の 心筋保護効果の研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任: 渡邊洋宇教授)

池田 真 浩

短時間の虚血・再灌流を数回繰り返すことによって心筋の虚血耐性が増強し、その後の持続性虚血において梗塞縮小効果が得られる現象は虚血馴化 (ischemic preconditioning, IP) と呼ばれる。心拍動下冠状動脈バイパス手術では血管吻合の際に冠血流遮断は必須であるが、その際のIPの有効性は解明されていない。本研究ではイヌの冠血流遮断による心筋虚血・再灌流モデルにおいて、IP並びにATP感受性カリウムチャンネル開口薬の心筋保護効果を検討した。成犬を3群に分け、左冠状動脈前下行枝血流を遮断した。C群6頭では30分単純遮断を行った。P群6頭ではIP処置として5分毎の遮断と灌流を3回繰り返した後、30分遮断を行った。N群6頭ではATP感受性カリウムチャンネル開口薬ニコランジルを持続投与しつつP群と同様のIP処置を行った後に30分遮断を行った。3群とも引き続き3時間の再灌流を行った。コンダクタンスカテーテルを用いた左室圧容積曲線から心機能を経時的に測定した。左室収縮末期容積は3群とも30分遮断時に増加したが、N群がC、P群に比して低値であった (C群, $126 \pm 3\%$; P群, $123 \pm 3\%$; N群, $112 \pm 3\%$; $p < 0.05$)。再灌流後はN、P群がC群に比し早期の回復を示した。左室仕事量は30分遮断時に減少し、N群がC、P群に比し高値であった (C群, $59 \pm 3\%$; P群, $54 \pm 5\%$; N群, $77 \pm 3\%$; $p < 0.05$)。再灌流後はN群がC、P群に比し早期の回復を示した。左室拡張末期圧は3群とも虚血時に上昇し、再灌流後の回復は遅延した。再灌流後の左室最大エラストランスの虚血前値に対する比率はP、N群がC群に比して高値であった (C群, $78 \pm 3\%$; P群, $88 \pm 2\%$; N群, $95 \pm 3\%$; $p < 0.01$)。近赤外分光法で測定した心筋組織酸素飽和度はP、N群ではIP処置の5分遮断毎に次第に増加し、30分遮断時はC群に比して高値を示した (C群, $61 \pm 3\%$; P群, $68 \pm 2\%$; N群, $68 \pm 2\%$; $p < 0.05$)。心筋組織ヘモグロビン・ミオグロビン濃度はP、N群ではIP処置の5分遮断毎に次第に増加し、30分遮断時はC群に比して高値を示した (C群, $311 \pm 11 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$; P群, $408 \pm 11 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$; N群, $489 \pm 20 \text{ mm} \cdot \text{g/l}$; $p < 0.05$)。局所心筋血流量は血流遮断により減少し3群間に差はなかった。虚血心筋には病理組織学的に梗塞所見は認めなかったが、3時間再灌流後のトロポニンTはP、N群がC群よりも有意に低値を示した。以上より、IPは虚血中の心筋組織酸素飽和度の上昇と反応性充血によって心筋保護効果をもたらす、ATP感受性カリウムチャンネル開口薬はIPとの併用により虚血時の心収縮機能低下を軽減し、再灌流後の心機能回復を促進した。

Key words ATP-sensitive potassium channel opener, coronary artery bypass grafting, ischemic preconditioning, myocardial ischemia, myocardial protection

Murryら⁹⁾は1986年、心筋壊死を起こさない5分間の虚血と再灌流を数回繰り返すことによって心筋細胞の虚血耐性が増強し、その後の40分間の持続的虚血によって発生する心筋梗塞サイズが劇的に縮小することを報告した。この現象は虚血馴化 (ischemic preconditioning, IP) と呼ばれ、虚血時の心筋エネルギー代謝の低下、すなわち高磷酸化合物の消費と嫌気性解糖がともに低下することがその機序と考えられている¹⁰⁻¹¹⁾。またATP感受性カリウムチャンネル (ATP-sensitive potassium channel, KATP) 開口薬¹²⁾やアデノシンA1受容体作動薬¹³⁾を虚血前に投与することによってIPと似た梗塞縮小効果が得られることが報告されている。近年、外科治療の低侵襲化の流れを受けて人工心肺を使用しない低侵襲心拍動下冠状動脈バイパス術 (minimally invasive direct coronary artery bypass) が普及しつつ

ある¹⁴⁾。心拍動下手術では血管吻合の際に約20~30分の冠血流遮断が必要である。一般に側副血行がなく冠血流が完全に遮断された場合には20分を越えると不可逆性心筋障害が始まるとされ¹⁵⁾、冠血流遮断時の心筋傷害の発生が懸念される。30分程度の冠血流遮断においてIP前処置の効果を生体内で評価する手段がなかったため、心拍動下手術におけるIPの効果は確立されていない。一方、短時間の心筋虚血後に血流が回復し梗塞に到らないにもかかわらず心収縮性が低下している現象は心筋スタニング (myocardial stunning) と呼ばれる¹⁶⁾。心拍動下手術では虚血・再灌流後に心収縮機能の低下が危惧されるが、この心機能低下に対するIPやKATP開口薬の効果は不明である。

そこで、本研究ではイヌの冠血流遮断による心筋虚血・再灌流モデルにおいて、IP並びにKATP開口薬による心筋保護効果

平成11年5月14日受付, 平成11年7月7日受理

Abbreviations: Emax, maximal elastance; IP, ischemic preconditioning; KATP, ATP-sensitive potassium channel

をコンダクタンスカテーテルを用いた心室圧容積曲線の解析から心機能に対する効果を検討し、また近赤外分光法を用いて心筋組織酸素代謝の面から検討した。さらに心筋逸脱酵素の測定と心筋の病理組織学的検討により心筋障害の程度を評価した。

対象および方法

I. 実験動物

実験動物として体重8.5~13.4kg (平均11.4kg) の雑種成熟イヌ29頭を用いた。実験動物の使用は金沢大学宝町地区動物実験指針に従った。実験動物は以下の3群に分類した(図1)。30分冠血流遮断後に3時間再灌流を行ったC群(10頭)、5分間の冠血流遮断と5分間の再開通を3回づつ繰り返しIPとし、その

後30分虚血と3時間再灌流を行ったP群(9頭)、KATP開口薬を投与しつつC群と同様のIPを行った後に30分虚血と3時間再灌流を行ったN群(10頭)とした。N群ではKATP開口薬としてニコランジル(中外製薬, 大阪)を冠血流遮断15分前に100 μg/kgを静脈注射し、その後10 μg/kg/分で30分虚血終了時まで持続投与した¹²⁾。

II. 実験モデルの作成

塩酸ケタミン(三共, 東京)20mg/kgを筋肉内に注射後、ペントバルビタールナトリウム(田辺製薬, 大阪)30mg/kgおよびパンクロニウムプロマイド(日本オルガノン, 東京)0.1mg/kgを静脈内に投与し、気管内挿管下にハーバード型従量式人工呼吸器(Bodine Electric Company, Chicago, USA)を用い、純

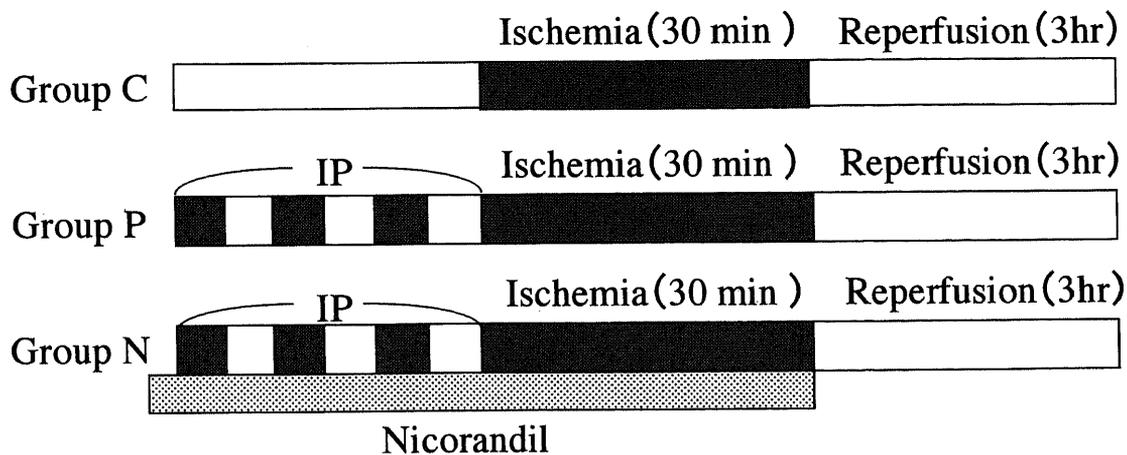


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental protocol. In the three groups, dogs were subjected to a 30-min occlusion of the left anterior descending coronary artery and 3-hr reperfusion. In groups P and N, ischemic preconditioning was performed by three episodes of 5-min coronary occlusion and 5-min reperfusion. In group N, ATP-sensitive potassium channel opener, nicorandil, was given intravenously (100 μg/kg by bolus infusion) and continued (10 μg/kg/min of drip infusion) during ischemic preconditioning and 30-min coronary occlusion. ■, ischemia; □, reperfusion; ▨, infusion of nicorandil. IP, ischemic preconditioning.

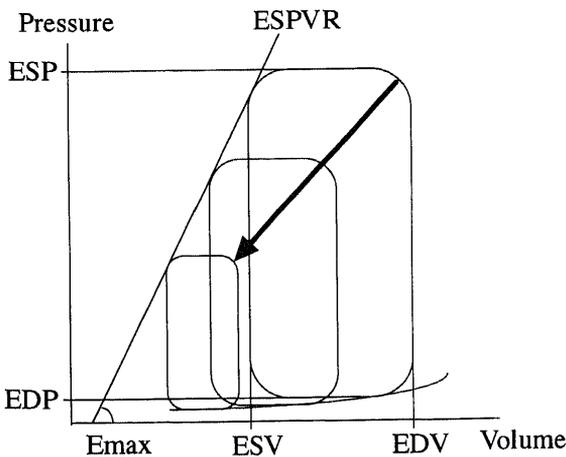


Fig. 2. Schematic diagram of the left ventricular pressure-volume loop. When the preload was decreased by occlusion of the inferior vena cava, the end-systolic pressure volume relationship (ESPVR) moves along a straight line whose slope is known as the maximal elastance (Emax). EDP, end-diastolic pressure; EDV, end-diastolic volume; ESP, end-systolic pressure; ESV, end-systolic volume.

酸素による調節呼吸を行った。また実験中適宜ペントバルビタールナトリウム、及びパンクロニウムプロマイドを静脈内に追加投与し、全身麻酔を維持した。四肢誘導により心電図をモニターし、大腿動脈よりカテーテルを挿入し動脈圧をモニターした。左胸骨傍切開にて開胸し、心膜を切開して心臓を露出した。左前下行枝の第一対角枝分岐後とそれより4cm末梢の2カ所に、ターニケットを設置して局所虚血・再灌流モデルを作成した。ヘパリンナトリウム(武田薬品, 大阪)300単位/kgを静注後、左心耳よりマイクロスフェア注入用のカテーテルを刺入し左心房内に留置した。コンダクタンスカテーテル電極KU-97035(ユニークメディカル)と左室内圧測定用の先端圧トランスデューサーカテーテル(Miller Instrument, Houston, USA)を心尖部から左室内へ挿入した。

コンダクタンスカテーテルは左室容量を鋭敏に反映するため、術中出血を可及的に防止した。また術中の急速輸液は行わず点滴速度は一定に維持した。カテコールアミンや硝酸薬などの心機能に影響を与える薬剤は使用しないことを原則とした。不整脈の予防のため2%塩酸リドカイン(藤沢, 東京)1mg/kgを冠血流遮断前と3時間再灌流直前に静脈内投与した。

Ⅲ. 測定項目と測定方法

1. 心機能

心機能は心室圧容積曲線を用いて測定した。任意の容積はその内部を満たす液体のコンダクタンス (伝導率) に比例するため、任意の時間 t における心内容積 $V(t)$ は任意の時間 t におけるコンダクタンスカテーテルから得られる心内血液のコンダクタンスの合計 $GM(t)$ に比例する。すなわち、

$$V(t) = (1/\alpha) L^2 \rho [GM(t) - GP]$$

ただし、 L はコンダクタンスカテーテルの電極間の距離、 ρ は血液の抵抗率、 GP はパラレルコンダクタンス (心腔外への電流の漏れ) である^{13)~15)}。

コンダクタンスカテーテルと先端圧測定用カテーテルからの信号は汎用心容積測定装置 VPR1001 (ユニークメディカル) を通じてパーソナルコンピューター PC9821Ls13 (日本電気、東京) に送られ、圧容積曲線測定用ソフトのインテグラル3 (ユニークメディカル) によって連続的に圧容積曲線が作成された。

左室圧容積曲線から収縮末期圧、収縮末期容積、拡張末期圧、拡張末期容積を算出した。圧容積曲線の面積は左室仕事量を示す (図2)。圧容積曲線において前負荷を変化させた時、左上方の角は一定の直線上を移動し、これは収縮末期圧容積関係 (end-systolic pressure volume relationship) と呼ばれる。この直線の勾配は収縮期最大エラスタンス (maximal elastance, E_{max}) と定義され、前後負荷に依存しない心収縮能の鋭敏な指標である¹⁶⁾¹⁷⁾。 E_{max} は下大静脈閉塞法¹⁸⁾ により測定した。 E_{max} について個体間の絶対値の比較には問題があるため¹⁹⁾、相対的変化の比較が用いられる²⁰⁾²¹⁾。そこで虚血前と3時間再灌流後の2回測定し、虚血前値に対する比率 (% E_{max}) で比較した。また左室容積と仕事量の変化も虚血前値に対する%比率で評価した。

2. 近赤外光モニタリング

心筋組織代謝を測定するため近赤外分光法を利用した組織酸素飽和度 (tissue oxygen saturation, SO_2) 及び組織ヘモグロビン・ミオグロビン (tissue hemoglobin plus myoglobin, $Hb+Mb$) 測定装置 PSA-III N (バイオメディカルサイエンス、金沢) を使用した。この装置は 700 nm, 730 nm, 770 nm の3波長の近赤外光を組織表面に照射し、組織内に散乱した光の一部を照射点からある距離をおいた表面で受光し、その吸光度から Lambert-Beer の法則に基づいた理論式により、 SO_2 、 $Hb+Mb$ 量を無侵襲で測定する²²⁾。心拍動下での測定であるため左前行枝の虚血領域の心表面に測定用プローブを接着剤によってしっかりと固定し連続的にモニターした。

3. 局所心筋血流量

局所心筋血流量の測定には非放射性カラードマイクロスフェア (E-Z Trac, Los Angeles, USA) を用いた。このマイクロスフェアは放射線の代わりに特殊染料により標識されたポリスチレン/ジビニルベンゼン架橋結合体製の直径 15 μm 、比重 1.050 の微小球である。左心房に注入すると、赤血球と同様に血流に従って全身に分散し、最終的に各臓器の微小血管系に留まる。マイクロスフェアは、強酸・強塩基溶液を含め液体中で浸出することがなく、生体から抽出後に顕微鏡で明確に識別することが可能である。従来の放射性マイクロスフェア法と比較して安全かつ低コストで局所血流を測定できる利点があり、イヌを用いた冠状動脈閉塞後の局所血流測定では放射性マイクロスフェア法と $r=0.98$ という相関関係を示した²³⁾。マイクロスフェアの注入は冠状動脈結紮前、および30分虚血中の再灌流

直前に左房内留置カテーテルより行い、2色の異なる色のマイクロスフェアを一回に付き600万個注入した。マイクロスフェア注入と同時に局所血流量算出のための基準血液サンプルを大腿動脈より血液吸引ポンプを用いて一定速度 (7.5ml/分) で1.5分間採取した。

3時間再灌流後心臓を摘出し、虚血部位 (左前下行枝領域)、及び非虚血部位 (左回旋枝領域) の2カ所から2 cm 四方の心室壁を切除した。これをさらに心内膜側と心外膜側に2分し、合計4つの切片に分割した。マイクロスフェア抽出は専用の抽出試薬キット (E-Z Trac) を用いて行った。各切片の心筋重量を測定した後、加熱した2N-水酸化ナトリウム溶液で組織を融解し、遠心してマイクロスフェアのみを分離抽出した。マイクロスフェア数は赤血球算定盤を用いて顕微鏡で計測し、局所心筋血流量 (Q_m) を以下の式で算出した。

$$Q_m = (C_m \times Q_r) / Cr$$

ただし、 Q_m : 局所心筋血流量 (ml/分/g)

C_m : 組織 1g 当たりのマイクロスフェア数

Cr : 左房注入時に同時に吸引した動脈血中に含まれるマイクロスフェア数

Q_r : 動脈血吸引速度 (ml/分)

心外膜側と心内膜側それぞれの Q_m を算出し、その平均を心筋血流量として比較検討した。

4. 心筋逸脱酵素の測定

心筋虚血前と3時間再灌流終了後に採血し、心筋逸脱酵素である血清トロポニン T を免疫酵素抗体法を用いて測定し、心筋虚血・再灌流傷害の程度を判定した。

5. 形態学的ならびに病理組織学的評価

3時間再灌流終了後に心臓を摘出して、病理組織学的検査用の心筋サンプルを左前下行枝領域と回旋枝領域からそれぞれ 1.5cm 四方で切除した。これを 10% 中性ホルマリン液にて固定した。標本はパラフィン包埋後薄切し、HE 染色を行い、心筋傷害を評価した。

Ⅳ. 統計学的検定法

測定値は、すべて $\bar{x} \pm SEM$ で表示した。3群間の指標の経時的変化に関する有意差検定には反復測定のある分散分析法を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。有意差のあったものについてはさらに多重比較検定として Bonferroni 法を用い、任意の時点での比較を行った。各群内における虚血前後の差の検定には対応のある t 検定を用いた。心室細動の発生率の差の検定には Fisher の直接確率法を用いた。いずれの場合も $p < 0.05$ を有意差ありとした。

成 績

I. 不整脈

心筋虚血あるいは再灌流中に心室細動を発生したものは C 群、P 群、N 群でそれぞれ 4 頭、3 頭、4 頭で、3群間で発生率に差はなかった。このうち3時間再灌流中に心室細動が発生したのは C 群、P 群、N 群でそれぞれ 2 頭で、3群間で発生率に差はなかった。心室細動を発生したイヌは電気的除細動によって洞調律に戻り動脈圧が回復しても左室圧容積曲線の変形を生じた。そのため実験中に心室細動を発生したイヌは本研究の分析対象から除外した。その結果、対象は C 群 6 頭、P 群 6 頭、N 群 6 頭とした。

Ⅱ. 心機能

1. 心拍数, 左室圧

心拍数は虚血・再灌流を通じて有意な変動はなく, 3群間に有意差はなかった. 左室収縮末期圧は3群ともに虚血・再灌流を通じて有意な変動はなかった. 左室拡張末期圧は3群ともに30分虚血により有意に ($p < 0.001$) 上昇したが, 3群間に有意差はなかった. 再灌流後の左室拡張末期圧の回復は遅延したが, 3群間で有意差はなかった (表1).

2. 左室容積

P群とN群では左室収縮末期容積はIP中の5分虚血中に増加し, 灌流時に改善した. IP中はN群がP群より低い傾向を認められたが, 2群間に有意差はなかった. 左室収縮末期容積は30分虚血でC群 $126 \pm 3\%$, P群 $123 \pm 3\%$, N群 $112 \pm 3\%$ となり, 3

群ともに有意に ($p < 0.0001$) 増加したが, N群はC, P群に比して有意に ($p < 0.01$) 低値であった. また3時間再灌流後は3群とも30分虚血時より減少した. 再灌流後1時間ではN群がC, P群に比して有意に ($p < 0.005$) 低値で, 再灌流後2時間ではN群のみがC群より有意に ($p < 0.001$) 低かった. さらに再灌流後3時間ではN, P群はC群に比し低値であった ($p < 0.005$). すなわちN, P群がC群より早期の回復を示し, その経過はN群の方が早かった (図3). 左室拡張末期容積はIP中は収縮末期容積と同様の变化を示した. 左室拡張末期容積は30分虚血でC群 $111 \pm 3\%$, P群 $106 \pm 2\%$, N群 $107 \pm 3\%$ となり, 3群ともに有意に ($p < 0.05$) 増加したが, 3群間に有意差はなかった. 再灌流後の回復は遅延し, 3群間で有意差はなかった (図4).

Table 1. Hemodynamic parameters during myocardial ischemia and reperfusion

Factor	Group	Period										
		Baseline	Ischemic preconditioning						30 min-ischemia	After reperfusion for		
			O-1	R-1	O-2	R-2	O-3	R-3		1hr	2hr	3hr
HR (beats/min)	C	187±5						189±5	185±3	187±3	186±3	
	P	185±4	182±5	185±5	184±6	184±4	183±5	185±5	183±5	185±5	184±4	185±4
	N	186±5	185±5	187±5	186±5	186±5	185±5	188±5	183±3	186±4	186±5	187±5
ESP (mmHg)	C	127±4						124±5	125±7	123±6	123±6	
	P	124±5	114±7	126±3	118±5	123±3	121±4	123±3	123±3	123±3	120±6	124±5
	N	122±4	115±6	120±5	112±8	120±5	114±6	118±3	118±6	122±4	120±5	122±3
EDP (mmHg)	C	2.4±0.3						4.0±0.3*	3.6±0.4	3.6±0.4	3.5±0.3	
	P	2.5±0.4	3.9±0.3	3.3±0.4	3.9±0.3	3.3±0.4	3.9±0.3	3.3±0.4	3.9±0.3*	3.3±0.4	2.9±0.3	2.9±0.4
	N	2.4±0.3	3.6±0.7	3.0±0.7	3.4±0.6	2.8±0.6	3.5±0.5	2.8±0.6	3.4±0.6*	2.8±0.6	2.7±0.4	2.5±0.3

HR, heart rate; ESP, end-systolic pressure; EDP, end-diastolic pressure; O-1, first occlusion; O-2, second occlusion; O-3, third occlusion; R-1, first reperfusion; R-2, second reperfusion; R-3, third reperfusion. * $p < 0.05$, compared with the baseline value.

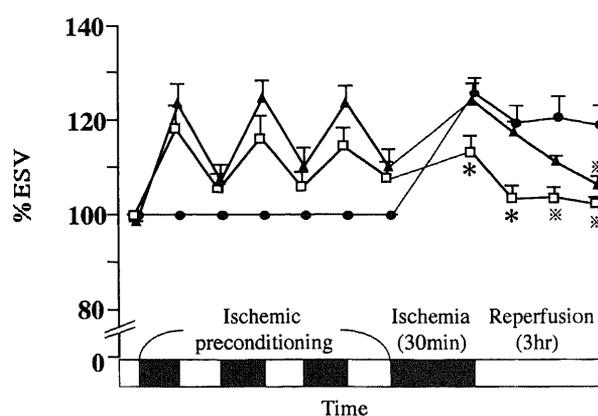


Fig. 3. Changes in the left ventricular end-systolic volume (LVESV). Data were obtained at the baseline, every 5-min occlusion and 5-min reperfusion, at the end of 30-min ischemia, and at 1, 2, and 3 hr after reperfusion. LVESV was normalized by the baseline value before coronary occlusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. ●, group C; ▲, group P; □, group N. ■, ischemia; □, reperfusion. * $p < 0.01$, group N versus groups C and P, * $p < 0.005$, group N or P versus group C, by repeated-measures analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

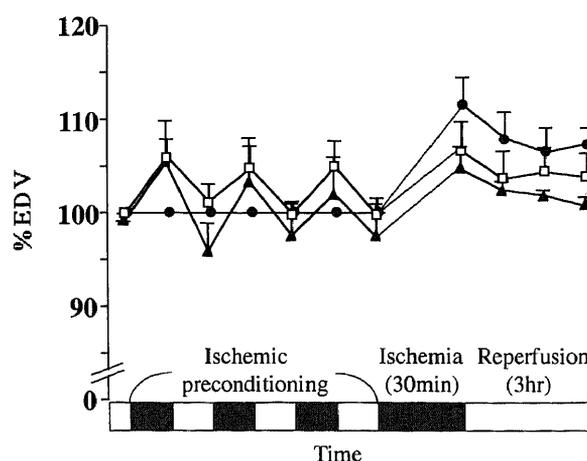


Fig. 4. Changes in the left ventricular end-diastolic volume (LVEDV). Data were obtained at the baseline, every 5-min occlusion and 5-min reperfusion, at the end of 30-min ischemia, and at 1, 2, and 3 hr after reperfusion. LVEDV was normalized by the baseline value before coronary occlusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. There were no significant differences among the 3 groups during 30-min ischemia and 3-hr reperfusion. ●, group C; ▲, group P; □, group N. ■, ischemia; □, reperfusion.

3. 左室仕事量

左室仕事量はIPの5分虚血中に低下し、灌流時に改善した。IPの虚血中の左室仕事量はN群がP群より有意に ($p < 0.05$) 高値を示した。左室仕事量は30分虚血でC群 $59 \pm 3\%$, P群 $54 \pm 5\%$, N群 $77 \pm 3\%$ となり、3群とも有意に ($p < 0.0001$) 低下した。その低下度はN群がC群とP群に比して有意に ($p < 0.05$) 小さかった。3時間再灌流後は3群ともに回復傾向を認めしたが、N群がC, P群に比べて有意に ($p < 0.05$) 高値で、早期の回復を示した (図5)。

4. % Emax

30分虚血時の% EmaxはC群 $78 \pm 3\%$, P群 $88 \pm 2\%$, N群

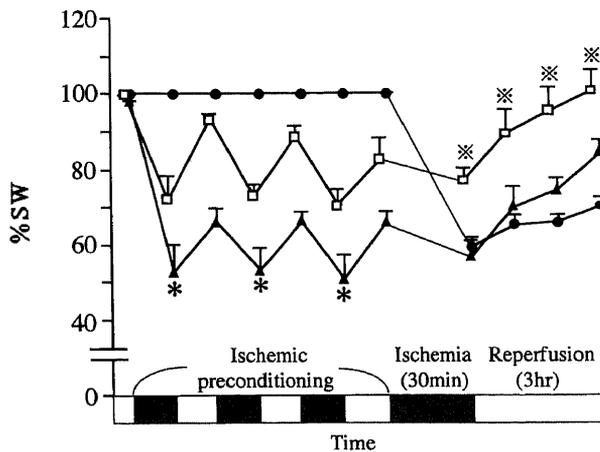


Fig. 5. Changes in the left ventricular stroke work (LVSW). Data were obtained at the baseline, every 5-min occlusion and 5-min reperfusion, at the end of 30-min ischemia, and at 1, 2, and 3 hr after reperfusion. LVSW was normalized by the baseline value before coronary occlusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. ●, group C; ▲, group P; □, group N. ■, ischemia; □, reperfusion. * $p < 0.05$, group P versus group N, ※ $p < 0.05$, group N versus groups C and P, by repeated-measures analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

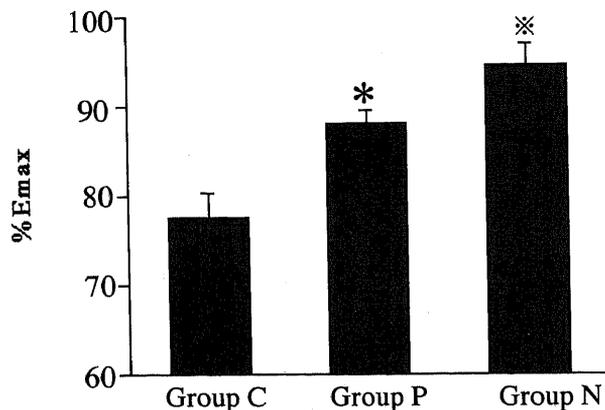


Fig. 6. Changes in the left ventricular maximal elastance (Emax). Emax was normalized by the baseline value before coronary occlusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. * $p < 0.005$, group P versus group C, ※ $p < 0.005$, group N versus group C, by one-way analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

$95 \pm 3\%$ となった。N, P群はともにC群よりも有意に ($p < 0.005$) 高値であった。N群はP群より高い傾向を認めたが、2群間に有意差はなかった (図6)。

Ⅲ. 近赤外光モニタリング

1. 心筋SO₂測定

P群とN群ではIPの際に、心筋SO₂は冠血流5分遮断により低下し灌流により上昇した。IPの初回血流遮断中の心筋SO₂は

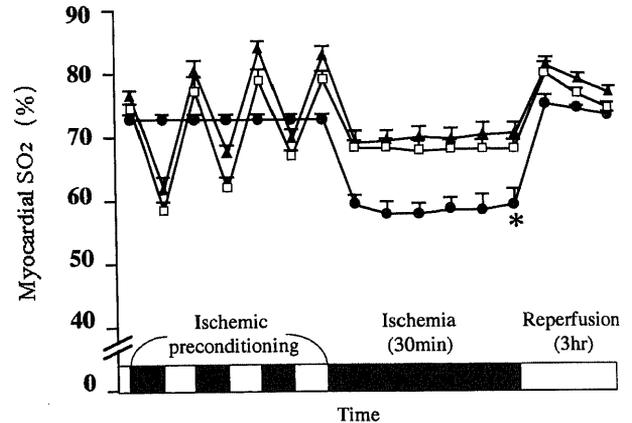


Fig. 7. Changes in the myocardial tissue oxygen saturation (SO₂). Data were obtained at the baseline, every 5-min occlusion and 5-min reperfusion, every 5 min during 30-min ischemia, and at 1, 2, and 3 hr after reperfusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. ●, group C; ▲, group P; □, group N. ■, ischemia; □, reperfusion. * $p < 0.01$, group C versus groups P and N at 30-min ischemia by repeated-measures analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

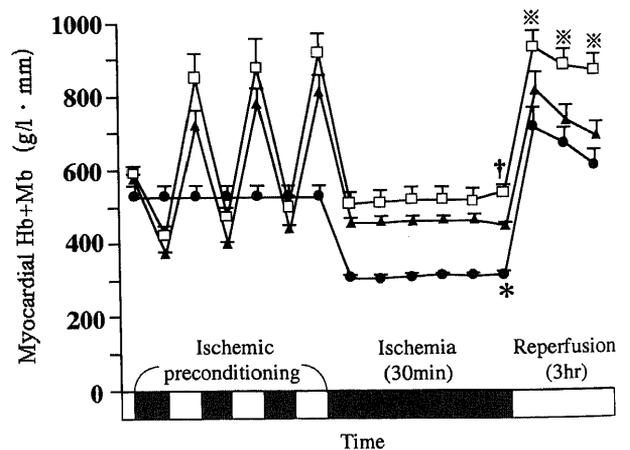


Fig. 8. Changes in the myocardial tissue hemoglobin plus myoglobin concentration (Hb+Mb). Data were obtained at the baseline, every 5-min occlusion and 5-min reperfusion, every 5 min during 30-min ischemia, and at 1, 2, and 3 hr after reperfusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. ●, group C; ▲, group P; □, group N. ■, ischemia; □, reperfusion. * $p < 0.0005$, group C versus groups P and N at 30-min ischemia, † $p < 0.01$, group N versus group P at 30-min ischemia, ※ $p < 0.01$, group N versus group C during 3-hr reperfusion, by repeated-measures analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

P群 $60 \pm 2\%$, N群 $59 \pm 1\%$ であったが、いずれも遮断回数が増す毎に上昇した。30分血流遮断中の心筋 SO_2 はP群 $68 \pm 2\%$, N群 $68 \pm 1\%$ であり、C群の $61 \pm 3\%$ に比しそれぞれ有意に ($p < 0.01$) 高値であった。再灌流後は3群とも回復し、その傾向に3群間で差はなかった(図7)。

2. 心筋Hb+Mb

P群とN群ではIPの際に、心筋Hb+Mbは冠血流5分遮断により低下し、再灌流により上昇した。IPの初回血流遮断時の心筋Hb+MbはP群 $334 \pm 7\text{mm} \cdot \text{g/l}$, N群 $373 \pm 25\text{mm} \cdot \text{g/l}$ であったが、遮断回数が増す毎に上昇し、30分血流遮断中の心筋Hb+MbはP群 $408 \pm 11\text{mm} \cdot \text{g/l}$, N群 $489 \pm 20\text{mm} \cdot \text{g/l}$ とそれぞれ有意に ($p < 0.01$) 上昇した。いずれもC群の $311 \pm 11\text{mm} \cdot \text{g/l}$ より有意に ($p < 0.0005$) 高値であり、N群がP群より有意に ($p < 0.01$) 高値であった。再灌流後は3群とも回復し、N群はC群より高値を推移した ($p < 0.01$) (図8)。

IV. 局所心筋血流量

左前下行枝領域及び回旋枝領域ともに虚血前は3群間に有意差はなかった。30分遮断中の左前下行枝領域の局所心筋血流量は3群とも有意に ($p < 0.0001$) 低下したが、3群間に有意差は

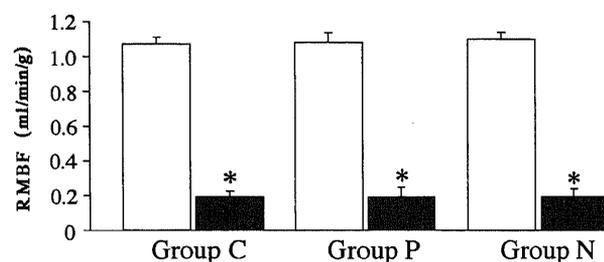


Fig. 9. Changes in the regional myocardial blood flow of area perfused by the left anterior descending coronary artery. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. There was no difference in the regional myocardial blood flow at 30-min ischemia among the three groups. □, baseline; ■, 30-min ischemia. * $p < 0.0001$, compared with the baseline values.

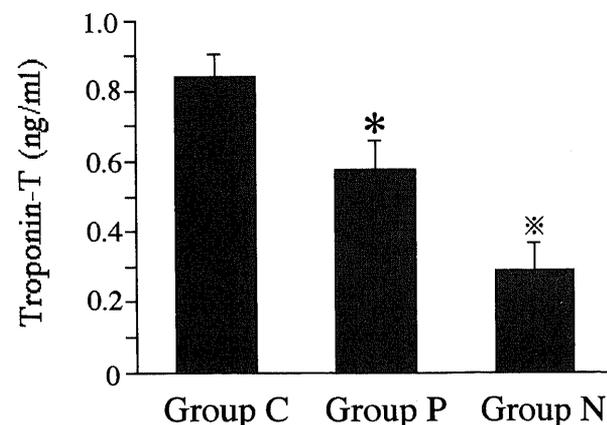


Fig. 10. Serum troponin-T concentration at 3 hr after reperfusion. Each value represents $\bar{x} \pm \text{SEM}$. * $p < 0.05$, group P versus group C, ** $p < 0.05$, group N versus group C, by one-way analysis of variance using Bonferroni's test for multiple comparison.

なかった。回旋枝領域では左前下行枝の血流遮断後も有意な変化は認めず、また3群間にも差はなかった(図9)。

V. 心筋逸脱酵素

虚血前のトロポニンTは3群とも全例で 0.10ng/ml 以下であった。3時間再灌流後はC群で $0.84 \pm 0.14\text{ng/ml}$, P群で $0.58 \pm 0.21\text{ng/ml}$, N群で $0.29 \pm 0.17\text{ng/ml}$ とすべて上昇した。C群に比しN群とP群は有意に ($p < 0.05$) 低値であった。N群はP群より低い傾向にあったが有意差はなかった(図10)。

VI. 病理組織学的評価

3群において、心外膜側にも心内膜側にも不可逆性心筋障害を示す収縮帯壊死や凝固壊死²⁾は認められず、光学顕微鏡的には心筋梗塞所見はなかった。

考 察

本研究により、30分の局所心筋虚血によって心筋逸脱酵素上昇と心機能低下を伴う心筋障害が発生し、5分毎の虚血・再灌流の繰り返しによるIPの前処置は心筋組織酸素飽和度の上昇と反応性充血をもたらし、30分虚血・再灌流後の心筋障害抑制効果を認め、心収縮機能回復を促進することが示された。さらにKATP開口薬はIPと併用することにより30分虚血時の心収縮機能低下を軽減し、再灌流後の心機能回復を促進することが示された。

心筋壊死を起こさない程度の短時間の虚血・再灌流に数回繰り返し曝された心筋は、その後の持続性虚血に対して心筋細胞自体の虚血耐性が増強する。この現象はIPと呼ばれ¹⁾、虚血と灌流の繰り返しによって心筋エネルギー代謝率が低下し、ATP消費が低下するとともに嫌気性解糖によるATP産生も低下する。それによって虚血中の乳酸などの代謝産物の蓄積並びに細胞内pH低下が軽減される^{11-14,24)}。IPの心筋保護効果は不可逆性心筋障害発生を遅延、すなわち心筋梗塞サイズの縮小として現れる。IPには動物の種による差異があり、ヒトに関しては実験的に右心耳切片²⁵⁾²⁶⁾や培養心筋細胞²⁷⁾においてIPの効果を確認たと報告されている。臨床的には、心筋梗塞を発症する前の狭心発作は患者の予後を改善したとの報告がある²⁸⁾²⁹⁾。また、経皮経管冠状動脈バルーン形成術の際にIPの前処置を行うとバルーン拡張による冠血流遮断時の胸痛やST上昇が軽減したと報告されている³⁰⁾。

IPによる梗塞縮小効果の詳細な機序は未だ解明されていないが、現在はアデノシンA1受容体⁷⁾やブラジキニンB2受容体³¹⁾などを介したプロテインキナーゼCの活性化⁷⁾³²⁾、及びKATPの開口⁵⁾⁶⁾が効果発現に関与すると考えられている²⁴⁾。動物実験でアデノシンA1受容体作動薬やKATP開口薬を前処置として虚血前に投与することによってIPと同様に梗塞縮小効果が得られたとの報告がある。IPによる心筋保護効果は糖尿病治療薬であるKATP阻害薬グリベンクラミドにより遮断され、KATPはIPの中心的役割を担うと考えられている³⁰⁾。アデノシンは血行動態を大きく変動させるため一般的に臨床使用は困難であるが⁷⁾、KATP開口薬であるニコランジルは冠状動脈攣縮の抑制に臨床使用されている。心臓外科領域でもKATP開口薬は人工心肺下心停止時の心筋保護や心機能回復の促進を期待して臨床応用されている³³⁾³⁴⁾。しかし心拍動下冠状動脈バイパス手術におけるIPやKATP開口薬の有効性についてはこれまで報告がない。

本研究では心筋酸素代謝の面からIP並びにKATP開口薬の効果を検討した。近赤外分光法による心筋 SO_2 モニタリングでは、

冠血流が遮断されると心筋 SO_2 は急激に減少し灌流によって回復した。IP の前処置を行った P 群と N 群では、5 分の血流遮断の回数毎に遮断中の心筋 SO_2 が段階的に上昇した。30 分遮断中は心筋 SO_2 はほぼ一定の値で推移し、これは側副血行路を介する酸素化赤血球の供給と虚血心筋の酸素消費が平衡状態になったためと考えられる。P 群と N 群では、30 分遮断中の心筋 SO_2 は初回 5 分遮断時よりも有意に高値で、また C 群の 30 分遮断時の心筋 SO_2 に比しても有意に高値であった。30 分遮断中の左室圧容積曲線は一定であり、しかも局所心筋血流量には 3 群間で差がないにもかかわらず心筋 SO_2 に差があったことは、IP 処置によって 30 分血流遮断時の心筋酸素代謝が抑制されたことを示唆する。

虚血刺激により虚血部位の血管床が増加し、再灌流時に充血状態が生じることは反応性充血と呼ばれる³⁹⁾。本実験で心筋 Hb+Mb は心筋 SO_2 と同様に IP 処置の 5 分血流遮断の回数毎にその値が段階的に増加し、30 分遮断時の心筋 Hb+Mb は P、N 群で C 群より有意に高かった。これは IP の血流遮断毎に反応性充血が次第に誘導され、虚血部位に存在する赤血球数が増加したことを反映している。しかも 30 分遮断時の心筋 Hb+Mb は N 群が P 群よりも有意に高く、また 3 時間再灌流中の回復過程では N 群が P、C 群より有意に高値で推移した。血流遮断時の局所心筋血流量は非虚血領域からの側副血行を介する血流を反映し、3 群間で差はなかった。一方、反応性充血は虚血部位に生じている血管床の増加現象であり、上述の局所心筋血流量とは異なるものである。従って、虚血領域で測定した心筋 Hb+Mb に 3 群間で差を認めたことは血流遮断時の局所心筋血流量の結果と矛盾しない。反応性充血により虚血領域に存在する酸素化赤血球数が増加すれば虚血心筋細胞へ供給し得る酸素量も増加する。それ故に IP 処置による虚血中の心筋酸素代謝の抑制に加えて反応性充血は虚血領域にとっては有利な環境をもたらす。心筋障害の軽減に寄与すると考えられる。反応性充血には KATP が関与するとの報告があり³⁹⁾、KATP 開口薬の併用は IP による反応性充血を増幅する可能性もある。

トロポニン T は筋原線維のフィラメントに結合している収縮蛋白の構成成分であり、この収縮蛋白の血中への逸脱は心筋細胞の壊死を意味し、その程度は壊死量と強い相関を示す³⁷⁾。本実験では病理組織学的に 3 群とも心筋梗塞所見は認めなかったが、トロポニン T は全例で上昇した。従って 30 分間という短時間虚血でも光学顕微鏡的に認識できない心筋傷害が発生することが示された。P 群のトロポニン T は C 群より低値で、IP によって 30 分虚血・再灌流による心筋傷害が軽減されたことを示す。また N 群のトロポニン T は有意差はないものの P 群より低い傾向にあり、KATP 開口薬は IP との併用により心筋傷害をさらに軽減することが示唆された。

虚血・再灌流後に不可逆性心筋障害、すなわち心筋梗塞を認めないにもかかわらず心収縮性の低下を生じる現象は心筋スタンピングと呼ばれ¹³⁾、その機序として細胞内カルシウムの過負荷が重要とされる。虚血・再灌流時には細胞内カルシウムが上昇し、細胞膜ならびに構造蛋白やミトコンドリアの障害をもたらすために収縮機能障害や心筋細胞壊死が引き起こされる。心筋虚血時に起こる KATP の開口は心筋活動電位持続時間を短縮させ、電位依存性カルシウムチャネルを介したカルシウム流入が抑制され、心筋障害抑制的に働くと考えられる³⁹⁾。

IP や KATP 開口薬が虚血再灌流後の心収縮機能低下を軽減す

るか否かは解明されていない。これまでの虚血・再灌流後の心機能に対する IP の効果の検討は主に心筋局所収縮率を用いた、いわば二次元的な評価であった。一方、今回用いた心室圧容積曲線は心室容積の変化を加えた三次元的な評価であり、より精密な心機能の検討が可能である。心室収縮末期容積の増加は収縮障害を反映し、また Emax の変化は前負荷や後負荷に左右されない心収縮機能自体の鋭敏な指標である^{19)~21)}。本研究では、30 分虚血時の左室仕事量は P 群と C 群で同様に低下し差はなかったが、N 群では低下が軽減された。このことは KATP 開口薬の併用により虚血中の左室収縮機能が改善されたことを示す。冠血流遮断時の局所心筋血流量には 3 群間で差がなかったことから、この 30 分虚血時の心収縮機能の改善は側副血行路からの血液供給によるものではない。一方、3 時間再灌流時において、心室収縮末期容積の回復過程と再灌流後の % Emax は P 群が C 群より有意に良好であった。このことは、IP が虚血再灌流後の心収縮機能低下を軽減することを示唆する。さらに N 群の再灌流後の % Emax は P 群より高い傾向にあり、また再灌流後の心室収縮末期容積と左室仕事量に関しても N 群が P 群より早く回復した。従って、KATP 開口薬の併用は IP による再灌流後の心収縮機能低下の軽減をさらに促進する効果があると考えられた。

本研究では 3 群とも病理組織学的に心筋梗塞所見を認めなかったが、トロポニン T 値から見た心筋傷害の程度は C 群で高く、P 群、N 群となるにつれて低かった。3 時間再灌流時の心収縮機能の回復もこの順序で改善を示した。従って、虚血・再灌流後の心収縮機能低下は一部で心筋傷害の程度を反映すると考えられる。しかし、3 群において心筋傷害の程度は軽く、心筋梗塞に依らない心機能低下すなわち心筋スタンピングの関与も否定できない。さらに、N 群における 3 時間再灌流時の心筋 Hb+Mb の高値の持続、すなわち KATP 開口薬の併用による再灌流時の反応性充血の持続は心収縮機能の回復にも寄与すると考えられる。

本研究では 30 分間という比較的短時間の冠血流遮断によって心拍数や血圧、心電図で顕著な変化は認めなかったが、心室収縮・拡張機能とも障害されることが判明した。実際の心拍動下冠状動脈バイパス手術において心電図や動脈圧の変化が少ないことが多く、IP の効果を疑問視する意見もある。しかし、通常のモニターでは認識できないが、経食道心臓超音波検査では左室収縮・拡張障害が認められている。KATP 開口薬は IP との併用によって血行動態や不整脈の副作用もなく左室機能を改善することから、特に心機能低下症例の心拍動下冠状動脈バイパス手術において KATP 開口薬と IP の意義は大きいと考えられる。

結 論

イヌの冠血流遮断による心筋虚血・再灌流モデルにおいて、IP 並びに KATP 開口薬による心筋保護効果を心筋組織酸素代謝、心機能、並びに心筋障害の面から検討した。

1. 左冠状動脈前下行枝の 30 分血流遮断・再灌流によってトロポニン T の上昇と左室収縮・拡張機能低下を伴う心筋障害が生じた。

2. 5 分毎の虚血と灌流を 3 回繰り返す IP の前処置によって、心筋組織酸素飽和度が上昇し反応性充血が誘導され、引き続き 30 分虚血時にもこの効果が持続した。

3. IP の前処置によって 30 分虚血時の心機能の改善は認め

なかったが、再灌流後の心機能回復過程の改善を認め、心筋障害は軽減した。

4. KATP開口薬をIPと併用することにより心筋障害の軽減効果が増幅され、30分虚血時の心収縮機能低下の軽減を認めるとともに再灌流後の心機能回復が促進された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました渡邊洋宇教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究を直接御指導、後教授頂きました川筋道雄助教授に深く感謝いたします。最後に本研究の遂行にご協力いただいた金沢大学第一外科学教室員各位に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74: 1124-1136, 1986
- 2) Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 66: 913-931, 1989
- 3) Kida M, Fujiwara H, Ishida M, Kawai C, Ohura M, Miura I, Yabuuchi Y. Ischemic preconditioning preserves creatine phosphate and intracellular pH. *Circulation* 84: 2495-2503, 1991
- 4) Van Wylen DGL. Effect of ischemic preconditioning on interstitial purine metabolite and lactate accumulation during myocardial ischemia. *Circulation* 89: 2283-2289, 1994
- 5) Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 70: 223-233, 1992
- 6) Hearse DJ. Activation of ATP-sensitive potassium channels: a novel pharmacological approach to myocardial protection? *Cardiovasc Res* 30: 1-17, 1995
- 7) Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson DA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated via A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 84: 350-356, 1991
- 8) Robinson MC, Gross DR, Zeman W, Stedje-Larsen E. Minimally invasive coronary artery bypass grafting: A new method using an anterior mediastinotomy. *J Card Surg* 10: 529-536, 1995
- 9) Calafiore AM, Giammarco GD, Teodori G, Bosco G, D'Annunzio E, Barsotti A, Maddestra N, Paloscia L, Vitolla G, Sciarra A, Fino C, Contini M. Left anterior descending coronary artery grafting via left anterior small thoracotomy without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 61: 1658-1665, 1996
- 10) Miyazaki S, Fujiwara H, Onodera T, Kihara Y, Matsuda M, Wu DJ, Nakamura Y, Kumada T, Sasayama S, Kawai C, Hamashima Y. Quantitative analysis of contraction band and coagulation necrosis after ischemia and reperfusion in the porcine heart. *Circulation* 75: 1074-1082, 1987
- 11) Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 66: 1146-1149, 1982
- 12) Mizumura T, Nithipatikom K, Gross GJ. Effects of nicorandil and glyceryl trinitrate on infarct size, adenosine release, and neutrophil infiltration in the dog. *Cardiovasc Res* 29: 482-489, 1995
- 13) Bann J, Aouw Jong TT, Kerkhof PLM, Moene RJ, Van Dijk AD, Van Der Velde ET, Koops J. Continuous stroke volume and cardiac output from intraventricular dimensions obtained with impedance catheter. *Cardiovasc Res* 15: 328-334, 1981
- 14) Baan J, Van Der Verde ET, De Bruin HG, Smeenk GJ, Koops J, Van Dijk AD, Temmerman D, Senden J, Buis B. Continuous measurement of left ventricular volume in animals and humans by conductance catheter. *Circulation* 70: 812-823, 1984
- 15) Applegate RJ, Cheng CP, Little WC. Simultaneous conductance catheter and dimension assessment of left ventricle volume in the intact animal. *Circulation* 81: 638-648, 1990
- 16) Suga H, Sagawa K, Shoukas AA. Load independence of the instantaneous pressure volume ratio of the canine left ventricle and effects of epinephrine and heart rate on the ratio. *Circ Res* 32: 314-322, 1973
- 17) Suga H, Sagawa K. Instantaneous pressure volume relationships and their ratio in the excised, supported canine left ventricle. *Circ Res* 35: 117-126, 1974
- 18) Kass DA, Midei M, Graves W, Brinker JA, Maughan WL. Use of a conductance (volume) catheter and transient inferior vena caval occlusion for rapid determination of pressure-volume relationships in man. *Cathet Cardiovasc Diagn* 15: 192-202, 1988
- 19) Burkhoff D. The conductance method of left ventricular volume estimation. Methodologic limitations put into perspective. *Circulation* 81: 703-706, 1990
- 20) Boltwood Jr CM, Appleyard RF, Glantz SA. Left ventricular volume measurement by conductance catheter in intact dogs. Parallel conductance volume depends on left ventricular size. *Circulation* 80: 1360-1377, 1989
- 21) Glantz SA, Boltwood Jr CM, Appleyard RF, Applegate RJ, Cheng CP, Little WC. Volume conductance catheter [letter]. *Circulation* 81: 2028-2030, 1990
- 22) 安田 保. 開心術における間欠的常温血性心筋保護法の基礎的研究. *十全医学会誌* 105: 2-16, 1996
- 23) Hale LH, Alker KJ, Kloner RA. Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 78: 428-434, 1988
- 24) Kloner RA, Bolli R, Marban E, Reinlib L, Braunwald E, Participants. Medical and cellular implications of stunning, hibernation, and preconditioning. An NHLBI workshop. *Circulation* 97: 1848-1867, 1998
- 25) Yellon DM, Alkhalafi AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 342: 276-277, 1993
- 26) Speechly-Dick ME, Grover GJ, Yellon DM. Does ischemic preconditioning in the human involve protein kinase C and the ATP-dependent K⁺ channel? Studies of contractile function after simulated ischemia in an atrial in vitro model. *Circ Res* 77: 1030-1035, 1995
- 27) Ikonomidis JS, Weisel RD, Mickle DAG. Ischemic preconditioning: cardioprotection for cardiac surgery. *J Card*

Surg 9 (suppl): 526-531, 1994

28) Kolner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson CM, Poole WK, Cannon CP, McCabe CH, Braunwald E, for the TIMI 4 Investigators. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4: a clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 91: 37-47, 1995

29) Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, Rusticali F. Prodromal angina limits infarct size: a role for ischemic preconditioning. *Circulation* 91: 291-297, 1995

30) Cribier A, Korsatz L, Koning R, Rath P, Gamra H, Stix G, Merchant S, Chan C, Letac B. Improved myocardial ischemic response and enhanced collateral circulation with long repetitive coronary occlusion during angioplasty: a prospective study. *J Am Coll Cardiol* 20: 578-586, 1992

31) Goto M, Liu Y, Yang X-M, Ardelle JL, Cohen MV, Downey JM. The role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 77: 611-621, 1995

32) Liu Y, Ytrehus Y, Downey JM. Evidence that translocation of protein kinase C is a key event during ischemic

preconditioning of rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 26: 661-668, 1994

33) Menasche P, Mouas C, Grousset C. Is potassium channel opening an effective form of preconditioning before cardioplegia? *Ann Thorac Surg* 61: 1764-1768, 1996

34) Dorman BH, Hebbard L, Zellner JL, New RB, Houck WV, Acsell J, Nettles C, Hendrick JW, Sampson AP, Mukherjee R, Spinale FG. ATP-sensitive potassium channel activation before cardioplegia ~ effects on ventricular and myocyte function. *Circulation* 98: II 176-II 183, 1998

35) Coffman JD, Gregg DE. Reactive hyperemia characteristics of the myocardium. *Am J Physiol* 199: 1144-1149, 1960

36) Aversano T, Ouyang P, Silverman H. Blockade of the ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *Circ Res* 69: 618-622, 1991

37) Katus HA, Remppis A, Neumann FJ. Diagnostic efficacy of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 83: 902-912, 1991

Cardioprotective Effects of Ischemic Preconditioning and an ATP-Sensitive Potassium Channel Opener in Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting Masahiro Ikeda, Department of Surgery (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juzen Med Soc.*, **108**, 410 — 418 (1999)

Key words ATP-sensitive potassium channel opener, coronary artery bypass grafting, ischemic preconditioning, myocardial ischemia, myocardial protection

Abstract

Ischemic preconditioning (IP) is the phenomenon in which sublethal episodes of myocardial ischemia result in increased tolerance to a later, potentially lethal, episode of ischemia. To evaluate the cardioprotective effect of IP and an ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP}) opener, 18 dogs were subjected to a 30-minute occlusion of the left anterior descending coronary artery followed by a 3-hour reperfusion. Six dogs (group C) received a simple 30-minute ischemia and reperfusion. Six dogs (group P) underwent ischemic preconditioning including three 5-minute episodes of coronary occlusion and reperfusion before the 30-minute ischemia. Six dogs (group N) received an intravenous K_{ATP} opener, nicorandil, in addition to the ischemic preconditioning. Cardiac function was evaluated by left ventricular pressure-volume loops using a conductance catheter. The myocardial tissue oxygen saturation (SO_2) and the hemoglobin plus myoglobin concentration (Hb+Mb) were measured by near-infrared spectroscopy. The regional myocardial blood flow was measured using the colored microsphere method. Troponin-T was measured to evaluate the extent of myocardial injury after the 3-hour reperfusion. During the 30-minute ischemia, the left ventricular end-systolic volume was significantly low in group N (C, $126 \pm 2\%$; P, $123 \pm 3\%$; N, $112 \pm 3\%$; $p < 0.01$), and the stroke work was significantly high in group N (C, $59 \pm 3\%$; P, $54 \pm 5\%$; N, $77 \pm 3\%$, $p < 0.05$). The postischemic recovery of the left ventricular end-systolic volume in groups P and N and that of the left ventricular stroke work in group N were significantly better than in group C. After the 3-hour reperfusion, the left ventricular maximal elastance was significantly higher in groups P and N than in group C (C, $78 \pm 3\%$; P, $88 \pm 2\%$; N, $95 \pm 3\%$; $p < 0.005$). In groups P and N, the myocardial SO_2 was seen to gradually increase at the second and third 5-minute episodes of ischemia. During the 30-minute ischemia, the myocardial SO_2 was significantly higher in groups P and N than in group C (C, $61 \pm 3\%$; P, $68 \pm 2\%$; N, $68 \pm 1\%$; $p < 0.01$). The change in myocardial Hb+Mb was similar to that in the myocardial SO_2 , suggesting that IP induced reactive hyperemia. During the 30-minute coronary occlusion, there was no difference among the three groups in regional myocardial blood flows at the ischemic area. Troponin-T was significantly lower in groups P and N than in group C. In conclusion, pretreatment with IP provided a cardioprotective effect during the subsequent 30-minute ischemia by increasing the myocardial SO_2 and inducing reactive hyperemia. The concomitant use of IP and K_{ATP} opener both ameliorated cardiac dysfunction during the 30-minute ischemia and improved the postischemic functional recovery.