

Experimental Study on Ischemic Myocardium -Protective Effect of Nitroglycerin and Prostacyclin-

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/2297/7945

冠閉塞虚血心に関する実験的研究

—ニトログリセリン、プロスタサイクリンの保護効果について—

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

上 坂 敏 弘

(昭和62年3月5日受付)

ニトログリセリン (TNG) およびプロスタサイクリン (PGI_2) の虚血心筋保護効果を検討する目的で、実験的急性冠動脈閉塞犬を作成し、以下の実験を行った。すなわち、雑種成犬 36 頭を用い、麻酔下に管理し、非開胸 X 線透視下に左冠動脈前下行枝の大動脈起始部より約 1.5 cm の部位にバルーンカテーテルで急性冠閉塞を作成し、次の 2 種の実験を行った。1) 15 分間冠閉塞による短時間心筋虚血実験では、同一犬で同一冠動脈の閉塞を 1 時間以上の間隔において、薬剤投与と対照実験の 2 回行い、冠閉塞直後より薬剤群は TNG 300 μg 一回静注後、1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ の持続静脈内投与、または直後より PGI_2 20~40 (平均値 $\pm$ 標準偏差 33 ± 10) $\text{ng}/\text{kg}/\text{分}$ の静脈内持続投与を、対照群は生理的食塩液の静脈内持続投与を行い比較検討した。TNG 群は 14~15%、 PGI_2 群は 12% の血圧低下を認めたが、心拍数、左室拡張末期圧は有意の変化を示さず、冠静脈洞血流量は TNG 群で 10~16%、 PGI_2 群で 12~21% の減少を認めたが、これらは対照群との間には有意差を認めなかった。虚血指標の ΣST および乳酸代謝の検討では、TNG 投与で ST 上昇が有意に減少し、心筋乳酸摂取率の低下も抑制傾向がみられ、TNG の虚血保護効果が示唆されたが、 PGI_2 投与では有意な効果が得られなかった。以上より、前、後負荷軽減作用は同様であったが、両薬剤の効果には明らかな差異が認められた。2) 同様な操作で、冠閉塞を 7 時間行い、閉塞直後より短期虚血実験とほぼ同量の TNG (1.7 $\pm$ 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$)、 PGI_2 (37 $\pm$ 8 $\text{ng}/\text{kg}/\text{分}$) の投与を行った。TNG 群では 11~12%、 PGI_2 群では 12~15% の血圧低下を認めたが、心拍数、冠静脈洞血流量の変化は対照群と有意差はなく、短時間虚血実験と同様な血行動態変化を認めた。NBT 染色を用いて肉眼的に梗塞巣定量を行い、梗塞サイズを全心筋重量に対する割合で表した。結果は、対照群 22 $\pm$ 8 % に対し、TNG 群 10 $\pm$ 6 %、 PGI_2 群 9 $\pm$ 5 % を示し梗塞サイズの有意な縮小化を認めた。心筋乳酸摂取率は両薬剤群で対照群に比し有意な低値を認めた。血中の心筋逸脱酵素の測定では、血清 LDH、LDH アイソザイム I 分画、CPK のいずれも総活性値は両薬剤群で対照群に比し低値を示したが、 PGI_2 群では冠閉塞後の酵素活性値の上昇が対照群、TNG 群に比べ速やかに起こっており、洗い出し (wash out) 効果が示唆された。TNG 群では対照群と PGI_2 群の中間に経過した。以上より TNG および PGI_2 は共に虚血心筋保護効果を有するが、両者の作用機序には相違がみられ、TNG は虚血初期より効果がみられることより冠血管に対する直接作用が主体であり、 PGI_2 は虚血初期は効果がなく長時間虚血において初めて効果を認めたこと、逸脱酵素の動き、乳酸代謝よりみて抗血小板作用など microcirculation の改善作用および心筋細胞への直接的な保護作用が主体であることが示唆された。

Key words ニトログリセリン、プロスタサイクリン、心筋保護

最近、急性心筋梗塞に対する積極的な治療として percutaneous transluminal coronary recanalization (PTCR), percutaneous transluminal coronary

angioplasty (PTCA) が繁用されるようになり、心筋が虚血に陥ってから、これらの治療が行われるまでの心筋保護が極めて重要な課題となってきている。

Abbreviations: Ao, aorta; CPK, creatine phosphokinase; CS, coronary sinus; CSF, coronary sinus flow; HR, heart rate; IS, infarct size; LCX, left circumflex branch; LDH, lactate dehydrogenase; LER, lactate extraction rate; LV, left ventricle; LVEDP, left

ニトログリセリン (TNG) は抗狭心症薬として長く使用されてきたが、急性心筋梗塞には血圧低下、或は反射性頻脈を起こすおそれがあるとして最近まで禁忌とされていた¹⁾。しかし、近年、注射用製剤が開発され検討が行われた結果、実験的²⁾³⁾にも、臨床的⁴⁾⁵⁾にも有効とする報告が見られるようになってきているが、一方では、無効とする報告⁶⁾⁷⁾も少なくない。また、Jugdutt⁸⁾は血圧の低下度により効果が異なると述べており、その機序としては、前負荷、後負荷軽減、側副血行の発達、心筋内血流の再分布などが重要因子とされている⁷⁾⁹⁾がなお議論が多い。さらに、最近、TNGの作用として、血管内皮のプロスタグランジン代謝との関係が注目され¹⁰⁾¹¹⁾、TNGの有効性はプロスタグランジンを介しての作用とする推定も無視できない。

プロスタサイクリン (PGI_2) は主に血管内皮でアラキドン酸から生成される代謝産物で、強力な血管拡張作用と血小板凝集抑制作用を有している¹²⁾¹³⁾ことより心筋虚血に対する有用性が期待されている。Lefer¹⁴⁾、Ogletree¹⁵⁾、Jugdutt¹⁶⁾は有効な成績を得ており、後負荷減少による酸素需要の減少、血小板凝集抑制、細胞保護などの機序が示唆されると報告し、Melin¹⁷⁾は有効な機序として血流に依存しない直接的な効果が示唆されると述べている。しかし、Dix¹⁸⁾、Ribeiro¹⁹⁾は、冠閉塞犬で、 PGI_2 の投与の有無によって梗塞サイズに差異は認めなかったとしており、なお定説は得られていない。

今回、著者は、短時間及び長時間の冠動脈閉塞による心筋虚血を作成し、短時間虚血については、 ΣST 、乳酸摂取率を指標とし、長時間虚血については、乳酸摂取率、心筋逸脱酵素、肉眼的梗塞サイズを指標としてTNG及び PGI_2 の心筋虚血に対する保護効果を検討した。

対象および方法

1. 短時間冠閉塞実験

1. 対象

12.5~23 (平均値±標準偏差 17±5) kgの雑種成犬16頭をベントバルビタール (25 mg/kg) により静脈麻酔後、Harvard レスビレーターにより室内空気で行う人工呼吸を開始し、非開胸X線透視下に以下の実験操作を行った (図1)。

2. 方法

左頸動脈より挿入した冠動脈造影用 Judkins カテーテル (8F) をガイドカテーテルとしてその内腔を

通して Fogarty バルーンカテーテル (2F) を左冠動脈前下行枝の大動脈起始部より約1.5 cm 末梢に挿入し、造影剤でバルーンを膨らませて急性冠閉塞を作成した。

Webster 社製熱希釈法カテーテル (CCU7U-90B) を外頸静脈より冠静脈洞内大心静脈付近まで挿入し、太田²⁰⁾の報告に従い5%ブドウ糖液を6 ml/分の速度で注入し冠静脈洞血流量の測定を行い心筋100 g 当たりの血流量で表した。さらに先端多孔性カテーテル (7F) を同じく冠静脈洞内に挿入し、冠静脈洞血を採取した。

大腿動脈より挿入した Pigtail カテーテル (8F) を大動脈起始部へ留置し動脈圧測定を行った。さらに左心室内にも Pigtail カテーテル (8F) を留置し左心室内圧を測定した。

心電図記録として6誘導の胸部誘導心電図を記録し冠閉塞後に上昇したST偏位の総和を ΣST として心筋虚血の指標とした。ST偏位はQRS波の立ち上がりより100 msecの時点で計測した。

冠静脈洞血については、乳酸、LDH、LDH アイソザイムおよびCPKの測定を行った。

乳酸測定は

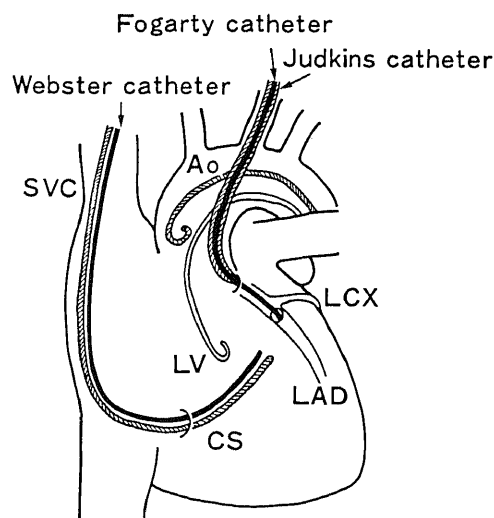


Fig. 1. Schematic representation of the positions of the catheters in the canine heart.

Ao, aorta; CS, coronary sinus; LAD, left anterior descending branch; LCX, left circumflex branch; LV, left ventricle; SVC, superior vena cava.

ventricular end-diastolic pressure; mBP, mean blood pressure; NBT, nitroblue tetrazolium; PGI_2 , prostacyclin; SVC, superior vena cava; TNG, nitroglycerin.

$\text{Lactate} + \text{NAD} \rightarrow \text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+$
 の反応で生じる NADH の増加を波長 340 m μ の吸光度の変化により測定する酵素法²¹⁾を用いて行った。

乳酸摂取率 (E) は、動脈血乳酸濃度 (La) と冠静脈洞血乳酸濃度 (Lc) の差を La で除した値

$$E = [(La - Lc)/La] \times 100$$

として求めた。

血清 LDH 測定は、ビルビン酸と NADH を使用し 340 m μ の吸光度減少より求める Wroblewski の UV 法の変法²²⁾²³⁾、LDH アイソザイム測定は、寒天ゲルを支持体とする Wieme らの方法²⁴⁾に改良を加えた吉田らの変法²⁵⁾による冷却寒天電気泳動法を用いて行い、CPK は、Oliver の変法²⁶⁾により測定した。

実験は上記の準備終了後、血行動態が安定するのを待って前値を測定し、記録後、冠動脈前下行枝を完全閉塞し、閉塞後 5 分、15 分に各々の記録、採血を行い、15 分後に閉塞を開放した。この実験を対照実験として、約 1 時間の間隔をおいて血行動態が安定したことを確認したのち、同一犬で、第 2 回目の実験として、再び閉塞前値を記録し、続いて冠動脈の第 1 回目と同一部位の閉塞を行った。閉塞直後より薬剤の投与を開始し、15 分後の閉塞解除まで投与を継続した。

薬剤として TNG 及び PGI₂ の 2 剤を用いた。TNG は日本化薬社製 pH 4.69 の水溶性 glyceryl-trinitrate を 0.9% 食塩液に溶解し、300 μg を一回静注し、続いて 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ (平均 0.31 ml/分) の速度で静脈内に持続注入した。PGI₂ は小野薬品工業より提供を受けた Na 塩をエタノールに溶解して原液とし、氷冷グリシン緩衝液 (pH 10.1) で適宜希釈し末梢静脈より持続注入した。その投与量は、TNG 投与の際と同程度の血圧低下となるように調整し、20~40 (33 $\pm$ 10) ng/kg/分とした。

薬剤非投与の対照実験及び薬剤投与実験の同一犬での実験は、偏りを避けるため各個体毎にその順序を変

えて行った。用いた実験犬は TNG 投与群が 8 頭、PGI₂ 群が 8 頭であった。

実験終了後、直ちに塩化カリウムを静注して屠殺し、心臓を切り出して、房室間溝に平行に 1 cm 厚に輪切りにし、nitroblue tetrazolium (NBT) 染色を施して心筋壊死の有無を観察した。NBT 染色法は 250 mg の NBT (シグマ社) を 80 ml のリン酸緩衝液に溶解し、720 ml の蒸留水で希釈した溶液に心筋を浸し、37°C で 10 分間反応させて行った。

II. 長時間冠閉塞実験

1. 対象

体重 12.5~21 (16 $\pm$ 4) kg の雑種成犬 20 頭を用いた。

対象は冠閉塞 5 分後に前胸部誘導の ST 変化を記録し V₁₋₆。で有意の ST 上昇を確認し得たものだけを選び無差別に対照群、TNG 群、PGI₂ 群の 3 群に区分した。その直後より薬剤投与を開始し、対照群は 7 頭で、0.9% 食塩液を 0.31 ml/分の速度で静脈内投与した。TNG 群は 7 頭で、短時間冠閉塞実験で用いたとほぼ同量で血圧を 10~15% 低下させる量として 1.5~3.0 (1.7 $\pm$ 0.6) $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ の量を持続静注した。PGI₂ 群は 6 頭で、TNG 群と同程度に血圧を低下させる量を指標として 20~40 (37 $\pm$ 8) ng/kg/分の速度で静脈内投与を行った。

2. 方法

短時間冠閉塞実験で用いた実験手技および条件下で 7 時間の冠閉塞を行った。この間、閉塞前、閉塞後 2 時間、5 時間、7 時間目に心拍数、動脈圧、冠静脈洞血流量、心筋乳酸摂取率の測定を行った。7 時間目に冠閉塞を開放して、7.5 時間目 (再灌流 30 分)、8 時間目 (再灌流 1 時間) の各値を測定して実験を終了した。また、閉塞前、閉塞後 5 時間、7 時間、7.5 時間目 (再灌流 30 分)、8 時間目 (再灌流 1 時間) に動脈血の採血を行い血清 LDH、LDH アイソザイム、CPK 活性値

Table 1. Hemodynamics in control and nitroglycerin-treated groups

	control			nitroglycerin		
	before	5 min	15 min	before	5 min	15 min
HR (beats/min)	171 $\pm$ 22	169 $\pm$ 22	169 $\pm$ 17	164 $\pm$ 20	172 $\pm$ 22*	171 $\pm$ 25
mBP (mmHg)	105 $\pm$ 14	101 $\pm$ 12	104 $\pm$ 13	105 $\pm$ 11	90 $\pm$ 10* ^{a,b}	89 $\pm$ 3** ^b
LVEDP (mmHg)(n=4)	3 $\pm$ 1	4 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1
CSF (ml/100g/min)	49 $\pm$ 11	41 $\pm$ 9	44 $\pm$ 7	45 $\pm$ 9	38 $\pm$ 9	41 $\pm$ 11

HR, heart rate; mBP, mean blood pressure; LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure; CSF, coronary sinus flow; *, p<0.05; **, p<0.02 compared with values of the same time of control group (paired t-test); a, p<0.01; b, p<0.005 compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean $\pm$ SD (n=8).

を測定した。

実験終了後、塩化カリウムを静注して屠殺後、直ちに心臓を取り出してNBT染色を施し、重量法を用いて梗塞巣を定量した。梗塞サイズは全心筋重量に対する梗塞心筋量の百分率で表した。

III. 統計処理

対応のある2群間の平均値の差の検定にはStudentのpaired t-testを用いて有意差検定を行った。また、多群間の検定には一元配置分散分析法を用い、続いてSchefféの多重比較法を行って、5%以下を有意差とした。なお、各数値は平均値±標準偏差で表した。但し、図中の表示のみ平均値±標準誤差で表した。

成 績

I. 短時間冠閉塞実験

各実験の閉塞前、再灌流15分後の血清LDH、LDHアイソザイムI分画、CPKの各値に変動はなく、対照群、TNG群、PGI₂群の間に全く差は認められなかった。また、全実験終了後の心筋の染色でも非染色部はなく、梗塞所見は全く認められなかった。

1. ニトログリセリン投与実験

表1に示すように冠動脈閉塞前の平均血圧、心拍数、冠静脈洞血流量は対照群、TNG群ともに同等であった。対照群の推移では冠閉塞後、心拍数、平均血圧は5分、15分ともに閉塞前と比べ有意な変化を示さな

かった。冠静脈洞血流量は49±11 ml/100 g/分から5分後、15分後にそれぞれ41±9 ml/100 g/分、44±7 ml/100 g/分と軽度だが減少傾向を示した。これに対し、TNG投与群では投与前から投与5分後にかけて心拍数は164±20/分から172±22/分へ約5%の軽度の増加を示し、平均血圧は逆に、105±11 mmHgから90±10 mmHg、89±3 mmHgへと約14~15%の有意の低下を認めた。冠静脈洞血流量は対照群と同様の変化を示した。また左室拡張末期圧は冠閉塞前後で有意

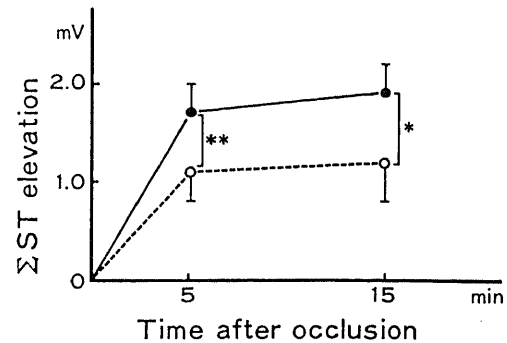


Fig. 2. Effect of nitroglycerin on ST-segment elevation during 15 minutes occlusion of left anterior descending branch. ●, Control; ○, TNG; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ (paired t-test) Each bar represents mean ± SEM (n=8).

Table 2. Effects of nitroglycerin on ST-segment elevation and lactate extraction rate

	control			nitroglycerin		
	before	5 min	15 min	before	5 min	15 min
ΣST (mV)	0	1.7±0.8	1.9±1.0	0	1.1±0.9**	1.2±1.0*
LER (%)	44±5	25±9 ^a	22±9 ^a	45±4	30±10 ^a	30±13 ^a

ΣST, sum of precordial ST-segment elevation; LER, lactate extraction rate; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ compared with values of the same time of control group (paired t-test); a, $p < 0.005$ compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean ± SD (n=8).

Table 3. Hemodynamics in control and prostacyclin-treated groups

	control			prostacyclin		
	before	5 min	15 min	before	5 min	15 min
HR (beats/min)	161±12	159±17	159±16	157±10	156±16	158±16
mBP (mmHg)	98±5	95±9	95±10	99±4	87±9** ^b	87±10* ^b
LVEDP (mmHg)(n=4)	1±2	2±2	3±2	1±1	2±2	2±2
CSF (ml/100g/min)	48±10	39±13 ^b	42±15	45±11	36±14 ^a	40±13

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.02$ compared with values of the same time of control group (paired t-test); a, $p < 0.02$; b, $p < 0.005$ compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean ± SD (n=8).

の変化を示さず対照群と TNG 群でも有意の差を認めなかった。

表 2 および図 2 に示すように Σ ST は対照群で閉塞 5 分後に 1.7 ± 0.8 mV, 15 分後に 1.9 ± 1.0 mV 上昇したのに対し, TNG 群では 5 分後 1.1 ± 0.9 mV, 15 分後 1.2 ± 1.0 mV の上昇にとどまり, 5 分後, 15 分後の何れにおいても対照群に比べ有意に ST 上昇の抑制を示した。

乳酸摂取率は表 2 に示すように対照群で前値 $44 \pm 5\%$ から 5 分後 $25 \pm 9\%$, 15 分後 $22 \pm 9\%$ へと減少したのに対し, TNG 群では, 前値 $45 \pm 4\%$ から, 5 分後 $30 \pm 10\%$, 15 分後 $30 \pm 13\%$ へとその減少度は少なく, 対照群に比べ有意差はないが, 低下が抑制される傾向が認められた。

2. プロスタサイクリン投与実験

表 3 に示すように冠閉塞前の平均血圧, 心拍数, 冠静脈洞血流量は何れも対照群, PGI₂ 群間に有意差はなく同等の値を示した。冠閉塞後の推移をみると対照群では平均血圧, 心拍数は 5 分, 15 分後ともに閉塞前値に比べ変化を示さなかったが, 冠静脈洞血流量は冠閉塞前値 48 ± 10 ml/100 g/分から冠閉塞 5 分後 39 ± 13 ml/100 g/分へ, 15 分後 42 ± 15 ml/100 g/分へと有意の減少を示した。一方, PGI₂ 群では心拍数は対照群と全く同様の推移を示したが, 平均血圧は冠閉塞前 99 ± 4 mmHg から閉塞 5 分後 87 ± 9 mmHg, 15 分後 87 ± 10 mmHg と有意に低下し, その低下率は約 12% であった。冠静脈洞血流量は, 前値 45 ± 11 ml/100 g/分から 5 分後 36 ± 14 ml/100 g/分へと有意の低下を示し, 15 分後には 40 ± 13 ml/100 g/分と低下を示していたが何れの時点でも対照群と比較して有意差は認められなかった。また, 左室拡張末期圧は冠閉塞前後で, 両群とも有意の変動を示さず, 群間差も認められなかった。

表 4 及び図 3 に示すように Σ ST は対照群で冠閉塞 5 分後 1.9 ± 0.4 mV, 15 分後 2.3 ± 0.9 mV 上昇したのに対し, PGI₂ 群は冠閉塞 5 分後 2.9 ± 1.5 mV, 15 分後 3.3 ± 1.4 mV 上昇し, 対照群の Σ ST と比較すると

5 分後, 15 分後ともに, その ST 上昇は有意に高値を示した。

乳酸摂取率は, 表 4 に示すように対照群では冠閉塞前 $45 \pm 4\%$ から冠閉塞 5 分後 $26 \pm 11\%$, 15 分後 $27 \pm 11\%$ へと低下を示したが, PGI₂ 群でも $45 \pm 3\%$ から 5 分後 $23 \pm 11\%$, 15 分後 $23 \pm 10\%$ へと低下し, その低下率は両群とも, 全く同等であった。

II. 長時間冠閉塞実験

表 5 に示すように対象 3 群の体重, 心重量の間には有意差は認められなかった。冠閉塞 5 分後の Σ ST は, 対照群 2.9 ± 2.0 mV, TNG 群 3.2 ± 0.9 mV, PGI₂ 群 3.0 ± 1.2 mV で 3 群ともに同程度の ST 上昇を示した。

1. 血行動態

冠動脈閉塞前における心拍数, 平均血圧及び冠静脈洞血流量は表 6 に示すようにいずれも 3 群間に差を認めなかった。冠閉塞後, 対照群においては心拍数, 平均血圧は有意の変動を示さず, 冠閉塞後 7 時間まで同

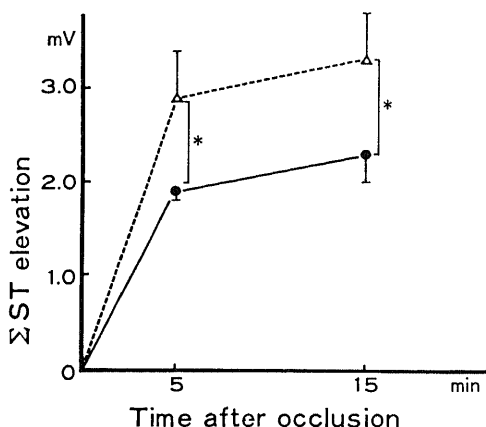


Fig. 3. Effect of prostacyclin on ST-segment elevation during 15 minutes occlusion of left anterior descending branch. ●, Control; △, PGI₂; *, $p < 0.02$ (paired t-test). Each bar represents mean $\pm$ SEM ($n = 8$).

Table 4. Effects of prostacyclin on ST-segment elevation and lactate extraction rate

	control			prostacyclin		
	before	5 min	15 min	before	5 min	15 min
Σ ST (mV)	0	1.9 ± 0.4	2.3 ± 0.9	0	$2.9 \pm 1.5^*$	$3.3 \pm 1.4^*$
LER (%)	45 ± 4	26 ± 11^a	27 ± 11^a	45 ± 3	23 ± 11^b	23 ± 10^b

*, $p < 0.02$; compared with values of the same time of control group (paired t-test); a, $p < 0.01$; b, $p < 0.005$ compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean $\pm$ SD ($n = 8$).

様であった。一方、TNG群では平均血圧は2時間後 93 ± 5 mmHg, 5時間後 93 ± 3 mmHg, 7時間後 92 ± 6 mmHg と冠閉塞前の 105 ± 13 mmHg に比べ 11~12%の有意の血圧低下を認めたが、心拍数は対照群と同様に全く変動を示さなかった。また、PGI₂群においては平均血圧は冠閉塞前の 102 ± 7 mmHg から閉塞2時間後 89 ± 8 mmHg, 5時間後 87 ± 9 mmHg, 7時間後 86 ± 8 mmHg へと 12~15%の有意の低下を示したが、心拍数には有意の変化を認めなかった。冠静脈洞血流量は3群とも冠閉塞後 16~29%の減少を認めたが、その変化率には群間差は認められなかった。

2. 心筋乳酸摂取率

表7及び図4に示すように冠閉塞前値は3群とも平均 44~46%であり、差は認めなかった。3群とも冠閉塞後に徐々に低下を示したが、TNG群とPGI₂群では対照群に比べてその低下は大きく、5時間ではTNG群が $18 \pm 8\%$, PGI₂群が $18 \pm 9\%$ であり、対照群 $32 \pm 9\%$ に比べて有意に低く、7時間でもPGI₂群が $9 \pm 5\%$ で対照群 $27 \pm 12\%$ に比べ有意差を認めた。再灌流1時間後には3群間に有意差は認めなかった。

3. 血中逸脱酵素の変動

表8に示すように血清LDHは冠閉塞前値は3群間に差は認めなかったが、閉塞後5時間から8時間(再灌流後1時間)にかけて、対照群の上昇に比べてTNG群は有意に低値であり、PGI₂群では7.5時間から8時間にかけて有意ではないが対照群に比べて低値の傾向であった。血清LDHアイソザイム1分画値についても同様な傾向が見られ、7.5時間(再灌流30分)から8時間(1時間)にかけて、対照群とTNG群間に有意差を認めた。血清CPK値では、8時間目において対照群に比べてTNG群が有意に低値を示したが、PGI₂群では7.5時間、8時間いずれでも対照群に比べ低値を示すものの有意差は認められなかった。

4. 梗塞サイズ

表9に示すように対照群は全心筋重量に対する梗塞心筋量の比が $22 \pm 8\%$ を示したのに対し、TNG群は $10 \pm 6\%$, PGI₂群は $9 \pm 5\%$ と有意に縮小しており、虚血保護効果が示唆された。

ところで、TNG, PGI₂群はともにほぼ同程度の梗塞量であるのに対し血中逸脱酵素値はPGI₂群で高値の傾向が認められたため、各個体ごとに梗塞心筋重量(g)に対する酵素逸脱の程度を、血清酵素値(IU)/梗

Table 5. Characteristics in control, nitroglycerin-treated and prostacyclin-treated groups

	control	TNG	PGI ₂
No. of cases	7	7	6
Body weight (kg)	17.4 ± 2.8	15.8 ± 2.4	15.6 ± 4.0
Heart weight (g)	141 ± 22	124 ± 38	125 ± 32
Σ ST (mV)	2.9 ± 2.0	3.2 ± 0.9	3.0 ± 1.2

Σ ST, sum of precordial ST elevation at 5 minutes after coronary occlusion; TNG, nitroglycerin; PGI₂, prostacyclin. Each value represents mean $\pm$ SD.

Table 6. Effects of nitroglycerin and prostacyclin on hemodynamic variables

	Group	before	2 hr	5 hr	7 hr
HR (beats/min)	control	173 ± 20	173 ± 34	178 ± 29	174 ± 34
	TNG	173 ± 28	171 ± 20	168 ± 16	161 ± 22
	PGI ₂	175 ± 17	169 ± 29	165 ± 41	160 ± 37
mBP (mmHg)	control	108 ± 10	105 ± 9	100 ± 12	97 ± 11
	TNG	105 ± 13	$93 \pm 5^{*a}$	93 ± 3^a	92 ± 6
	PGI ₂	102 ± 7	$89 \pm 8^{*b}$	87 ± 9^b	86 ± 8^b
CSF (ml/100g/min)	control	38 ± 11	27 ± 10	28 ± 8	28 ± 8
	TNG	39 ± 14	30 ± 14	28 ± 12	24 ± 9
	PGI ₂	37 ± 8	31 ± 9	31 ± 13	29 ± 14

*, $p < 0.01$ compared with values of the same time of control group (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison); a, $p < 0.05$; b, $p < 0.01$ compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean $\pm$ SD.

塞心筋重量 (g) として算出し比較検討した (表 10). 梗塞心筋重量あたりの LDH 値は図 5 に示すように PGI₂ 群が, 5 時間から 8 時間にかけて対照群に比べ有意に高値であり, 7 時間から 8 時間にかけては TNG

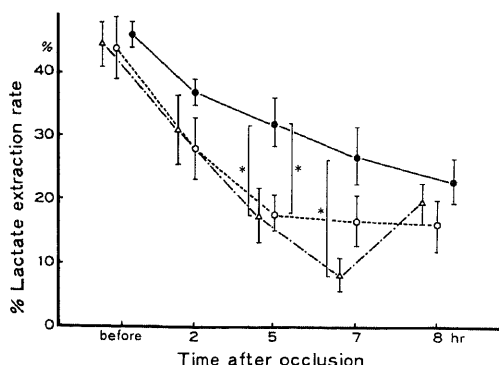


Fig. 4. Effects of nitroglycerin and prostacyclin on myocardial lactate extraction rate.

●, Control (n=7); ○, TNG (n=7); △, PGI₂ (n=6); *, p<0.05 (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison). Each bar represents mean±SEM.

群との間にも有意差をもって高値を示した. TNG 群は 5 時間から 7 時間で対照群より高値であった. LDH アイソザイム I 分画値も図 6 に示すように PGI₂ 群は対照群に比べて 5~8 時間で有意に高値を示し, 7.5~8 時間では TNG 群との間に有意差を認めた. TNG 群は 5~7 時間で対照群に比し有意に高値であった. CPK 値では図 7 に示すように PGI₂ 群は 5~8 時間にかけて対照群に比べ有意に高値であり, TNG 群も PGI₂ 群より低値ではあるが, 対照群に比べると高値であり 5~8 時間にかけて有意差を示した. 即ち, PGI₂ 群は逸脱酵素の上昇が早く起こることが示唆され, TNG 群との間に差を認めた.

考 察

今回の実験的心筋虚血に対する TNG, PGI₂ の心筋保護効果の検討に際し, 虚血心の作成は非開胸下に行った. この方法は開胸法に比べて侵襲が極めて少なく, 梗塞巣の大小に影響を及ぼす心臓支配神経の傷害がないことなど, より生理的に近い条件が得られる利点を有するが, X 線透視装置を必要とする制約があり, また直接冠動脈を視認し得ないため虚血冠動脈である左前下行枝の支配領域を確認できない欠点を有し

Table 7. Effects of nitroglycerin and prostacyclin on myocardial lactate extraction rate

	before (%)	2 hr (%)	5 hr (%)	7 hr (%)	8 hr (%)
control	46±6	37±6*	32±9 ^b	27±12 ^b	23±9*
TNG	44±12	28±12 ^b	18±8 ^{a,b}	17±9 ^b	16±9 ^b
PGI ₂	45±7	31±13*	18±9 ^{a,b}	9±5 ^{a,b}	20±7 ^b

*, p<0.05 compared with values of the same time of control group (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison); a, p<0.05; b, p<0.01 compared with "before" values of the same group (paired t-test). Each value represents mean±SD.

Table 8. Serum enzyme activities in control, nitroglycerin-treated and prostacyclin-treated groups

	Group	before	5 hr	7 hr	7.5 hr	8 hr
LDH (IU/l)	control	190±46	312±78	387±98	1042±404	1379±635
	TNG	167±48	221±66*	282±111*	377±157**	539±237**
	PGI ₂	196±58	323±75	468±226	719±492	977±666
LDH ₁ (IU/l)	control	38±7	77±28	134±53	468±203	693±251
	TNG	38±20	69±17	103±34	176±89**	268±134**
	PGI ₂	33±25	87±30	172±144	325±308	407±401
CPK (IU/l)	control	40±20	113±28	226±52	540±83	821±147
	TNG	35±19	106±35	201±87	367±189	528±236*
	PGI ₂	38±7	116±39	303±196	506±314	687±407

*, p<0.05; **, p<0.01 compared with values of the same time of control group (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison). Each value represents mean±SD.

Table 9. Effects of nitroglycerin and prostacyclin on myocardial infarct size

control group		TNG group		PGI ₂ group	
Exp. No.	IS (%)	Exp. No.	IS (%)	Exp. No.	IS (%)
1	30	1	15	1	6
2	29	2	8	2	4
3	16	3	6	3	8
4	18	4	9	4	19
5	22	5	23	5	6
6	10	6	5	6	9
7	31	7	7		
mean±SD	22±8		10±6*		9±5*

*, $p<0.01$ compared with control group (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison).

Table 10. Serum enzyme activities and myocardial infarct size in control, nitroglycerin-treated and prostacyclin-treated groups

	Groups	5 hr	7 hr	7.5 hr	8 hr
LDH/IS (IU/g)	control	9±2	11±2	30±11	41±13
	TNG	22±11	28±14	35±11	48±14
	PGI ₂	38±16	49±12	70±10	90±17
LDH _I /IS (IU/g)	control	3±1	4±1	14±5	20±5
	TNG	7±3	11±6	16±5	24±6
	PGI ₂	10±3	16±3	28±6	42±13
CPK/IS (IU/g)	control	3±1	7±1	16±3	23±6
	TNG	11±6	20±13	34±15	48±19
	PGI ₂	14±5	30±13	49±19	68±28

IS, infarct size (g). Each value represents mean±SD.

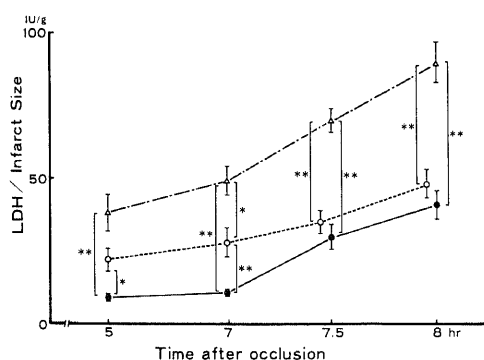


Fig. 5. Serum LDH and infarct size (LDH/infarct size) in control, nitroglycerin and prostacyclin groups.

●, Control (n=7); ○, TNG (n=7); △, PGI₂ (n=6); *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison). Each bar represents mean±SEM.

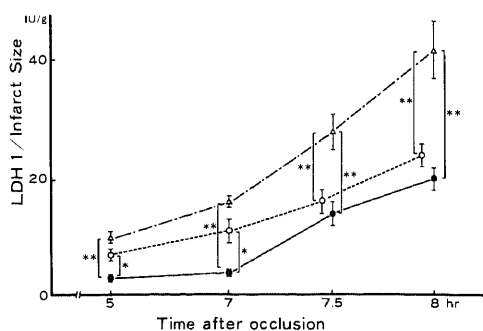


Fig. 6. Serum LDH isozyme-I and infarct size (LDH isozyme-I/infarct size) in control, nitroglycerin and prostacyclin groups.

●, Control (n=7); ○, TNG (n=7); △, PGI₂ (n=6); *, $p<0.05$; **, $p<0.01$ (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison). Each bar represents mean±SEM.

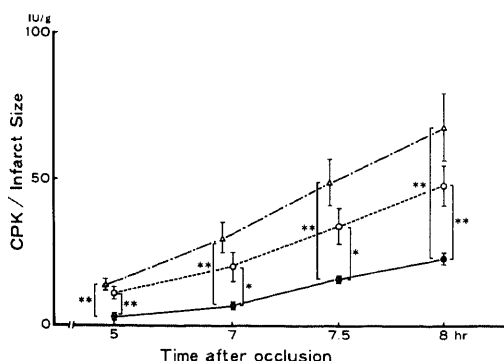


Fig. 7. Serum CPK and infarct size (CPK/infarct size) in control, nitroglycerin and prostacyclin groups.

●, Control (n=7); ○, TNG (n=7); △, PGI₂ (n=6); *, p<0.05; **, p<0.01 (ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison). Each bar represents mean±SEM.

た。この欠点を補い、個体間の冠動脈分布、側副血行路形成の相違による虚血心筋量のバラツキ²⁷⁾が薬剤投与・非投与の2群間で生じるのを避けるため、短期虚血実験では非可逆的心筋虚血を惹起しないとされる15分間冠閉塞²⁸⁾を同一犬で薬剤投与、非投与の2回行い、一対として比較した。実際、この実験の前後で比較した血清酵素値は全く変動なく、実験終了後の輪切り心筋のNBT染色でも非可逆的虚血は惹起されておらず、検討目的は十分達しえたものと考えられる。

長期虚血実験では実験の性格上、個体間のバラツキは避け得なかったが、薬剤投与、非投与群は無作意に割り付け、更に梗塞量を可及的一定にするため閉塞部位を前下行枝起始部より約1.5 cmとし、6胸部誘導心電図のST上昇程度(ΣST)がほぼ同等であるもののみを選択した。Marokoら²⁹⁾は冠閉塞15分後の心表面心電図上のST上昇程度とその部位の24時間後の心筋内CPK減少度が相関することから、冠閉塞直後のΣST上昇が虚血指標として優れていることを証明しており、今回、著者が選択した方法により個体間の心筋虚血のバラツキは最小限に抑え得たものと考えられる。

短期虚血実験におけるTNGの投与量は臨床例での投与量³⁰⁾を参考に、血圧低下が軽度で安全に使用しうる量として1.5 μg/kg/分を静脈内に持続投与し、PGI₂はTNGと同程度の血圧低下を目標とした結果、平均33±10 ng/kg/分の投与量であった。この量の投与で血圧はTNG投与群で平均14~15%、PGI₂投与群で平均12%とほぼ同程度の低下を示したが、心拍数は両群共に不変で、左室拡張末期圧、冠静脈洞血流量も各

対照群と有意な差を示さなかった。この様に両群とも、同様の血行動態変化、即ち軽度の後負荷減少効果を示した。しかし、ΣST変化と心筋乳酸代謝の成績をみると、TNG投与群では両成績ともに明らかな虚血保護効果を示していたのに対し、PGI₂投与群では両成績とも無効を示唆する成績であった。

TNGは血管平滑筋の弛緩作用を有しており³⁰⁾、冠循環に対しては、1)冠血管拡張、2)前負荷軽減による心内膜側血流分布改善と心筋酸素消費の減少、3)後負荷軽減による酸素消費の減少が主な作用としてあげられ³¹⁾、心筋虚血の保護効果が期待される。諸家の報告では実験的にST上昇を抑制し²⁾、梗塞サイズを縮小した³⁾とし、臨床的にもST上昇の有意の減少を認めた⁴⁾とされており、その機序については、冠循環に直接働くとするものと、全身的な効果を介して間接的に働くとするものの2つの考え方がある^{32)~35)}。後負荷の関与については、TNGによる血圧低下と反射性頻脈をα刺激剤で補正すると虚血域への血流がさらに増加³⁶⁾、または、ST上昇のより一層の抑制が認められた³⁷⁾ことなどから後負荷の軽減作用より冠血流を改善する作用の重要性が指摘されている。教室の神川³⁸⁾も狭心症に対するTNGの作用を検討した結果、主体は前負荷軽減作用でなく、冠血管に対する直接作用であるとの結論を得ている。しかし、一方では虚血保護効果を認めないとの報告もみられ³⁷⁾、これらにおいては心筋酸素需要の減少は認められるが血圧低下が大きいため、冠灌流圧の低下が高度で虚血保護に働かなかったものと推測されている。また、Jugdutt⁸⁾はTNGの投与量により血圧の低下度を10%、25%、50%の3群に分けて虚血保護効果を検討した結果、10%減少させた群においてのみ側副血行を増加させ、梗塞サイズの縮小を認めたが、他の群は対照群と差がなかったとして、後負荷軽減よりも冠灌流圧の維持の重要性を指摘している。Bussmannら³⁹⁾は過量投与は虚血を悪化させる場合があるため投与量に注意を払う必要があり血圧の減少を10%以内にすべきと述べている。

本実験ではTNG、PGI₂投与群ともに平均12~15%と同程度の血圧減少を示し群間に差は認めず、他の血行動態指標は左室拡張末期圧の変動も含めて対照群と同様であった。しかしTNG群では虚血保護効果を示し、PGI₂群では無効の結果を得たことは、後負荷、前負荷減少効果はともに本実験の条件下では虚血保護効果をもたらす主要な因子とはなり得ないことを示唆し、むしろ冠循環への直接効果が重要でTNGとPGI₂の間でこの効果に相違があるものと考えらるべきであろう。

以上のように短時間虚血実験においては、TNG、

PGI₂の冠循環に対する直接作用に相違があることが示唆されたため、同様の冠動脈閉塞作成手技を用いて、長時間心筋虚血に対する両薬剤の作用を検討した。この長時間実験では実験終了後、心筋虚血の絶対的指標としてNBT染色による梗塞範囲の同定を行った。本法は非虚血心筋の脱水素酵素反応を利用したもので、非虚血部は暗紫色に染色されるが、壊死部は脱水素酵素の逸脱のため非染色部として同定され、その境界が明瞭で梗塞部の早期検索に繁用されている手法である⁴⁰。本実験では再灌流をおこなっており、コハク酸脱水素酵素の洗い出し(wash out)現象をおこして⁴¹梗塞範囲同定がより容易になっていると考えられる。その結果をみると対照群で梗塞範囲が全心筋重量の22±8%を占めたのに対し、TNG投与群では10±6%、PGI₂群では9±5%と有意に梗塞サイズの縮小化を認め、短時間実験と異なり両薬剤とも明らかな虚血心筋保護作用を示していた。この実験におけるTNGとPGI₂の投与量は短時間実験とほぼ同じ量であり、血圧低下はTNG群で平均11~12%、PGI₂群で平均12~15%と有意差はなく、心拍数、冠静脈洞血流量等の血行動態変化も両群の間に差は認められず短時間実験と同様な変化を示した。しかし、PGI₂投与群においては短時間実験結果と異なり虚血に対して有効な成績が得られたことは、PGI₂及びTNGの虚血心筋保護効果の作用機序およびその相違を解明する手がかりとして極めて重要な意義を有するものと思われる。

TNGは、直接冠動脈に働く作用を有しており、Abrams⁴²によれば、冠動脈のレセプターのSH基に作用して冠拡張を起こし、通常の薬用量では主としてconductant vessel(容量血管)と呼ばれる太い部位を拡張させる^{43,44}。しかも、この作用はTNGの血中濃度が低下しても持続しており、TNGに極めて特異的な作用と考えられている。冠動脈造影法を用いてTNGの冠血管拡張作用をヒトで定量的に評価した成績によると10~20%の拡張が冠動脈の主幹部と分枝の太い部分に認められている⁴⁵。また、抵抗血管であるarteriole(細動脈)は自己調節が行われており薬用量のTNGでは拡張せず、大量投与によって初めて拡張効果が現れるとされている^{47,48}。狭窄ないし閉塞した血管より下流の領域では虚血のためarterioleは代謝的な効果により既に最大に拡張しているが⁴⁹、薬用量のTNG投与は太いレベルの血管を拡張させる^{48,50,51}。また、arterioleを拡張させるジピリダモール⁵²等の血管拡張剤と異なり、正常域のarterioleを拡張させないため、虚血域から正常域へのsteal現象が起らず、後負荷軽減による心内圧の減少効果も加わって虚血域の血流を改善させ、本実験の結果のよう

に梗塞サイズを減少させたものと考えられる。

作用の出現時間については、TNGを静脈内に投与すると、20秒後に一過性にarterioleが拡張するがすぐ元に戻り⁵³、その後太いレベルの血管が拡張するとされ⁵⁴、この直接的な効果が、投与初期から冠血管抵抗を減少させる⁵⁵。したがって、今回の短時間虚血実験においてTNGに虚血保護効果が認められたのは、この冠血管への直接効果によることが示唆される。

一方、PGI₂は長時間虚血実験では有意の虚血保護効果を示したが、短時間実験では無効であったことより、TNGとは冠循環に対する効果が異なることが示唆される。PGI₂の血管拡張作用については、adenyl cyclase及びcyclic AMPを介して筋小胞体のCa²⁺放出を抑制するためと考えられている^{56,57}。冠血管に対する拡張作用も認められており⁵⁸、教室の太田²⁰も正常犬冠動脈で、PGI₂投与による有効冠血流量増加を示唆する所見を得ている。しかし、その血管拡張作用はTNGと異なり、抵抗血管側に優位とされており^{59,60}、全身血管への作用も強く、TNGは動脈圧をあまり低下させず冠血流を増加させるのに対し、PGI₂は、動脈圧の低下作用がより著しく、側副血行の減少も認められたとされている⁶¹。用量依存性の灌流圧の低下¹⁴や、冠動脈内投与では冠拡張を示すが全身投与の場合には冠血流量には殆ど変化がなかったとの報告⁶²もみられ、PGI₂とTNGでの冠血管に対する作用機序の相違が推測される。つまり、虚血下では抵抗血管であるarterioleは既に最大限に拡張していて⁴⁹反応せず、太い冠血管、側副血行への作用が弱いPGI₂は虚血域へ血流を増加させる効果がTNGほど十分には期待できないと考えられる。Melinら¹⁷のmicrosphereによる検討でもPGI₂の投与で、側副血行には有意の変化はなく、低灌流領域の範囲は対照群と差を認めなかったとされている。したがって、虚血に対するPGI₂の有有用性としては、血管拡張作用以外に指摘されている血小板活性化の抑制¹²、血小板凝集の解離⁶³、組織保護作用^{64,65}等の効果の方が大きいことが示唆される。心筋血流量を一定にした猫摘出心において、PGI₂投与により血小板凝集や冠拡張とは関係なく虚血心筋傷害の減少がみられたとの報告⁶⁶や、梗塞サイズの減少が認められたが側副血行の増加量は有意の心筋保護を行うには十分とは考えられないとの報告¹⁶、さらには、著者の結果と類似するが、PGI₂の保護効果は投与直後は現れず、投与中止後の血圧が回復した時点で遅れて現われたとの諸家の報告⁶⁷があり、PGI₂は血流を介する効果より、細胞代謝を介する直接的な効果が大きく作用すると考えられる。したがって、虚血初期、即ち、今回の実験では短時間虚血実験で保護効果を認めなかった

ものと推測される。PGI₂のライソゾームや他の膜安定化作用は直接保護効果の重要な一面とされ¹⁷⁾、虚血の際、心筋壊死の前に起こるライソゾーム酵素(ヒドラーゼ、プロテアーゼ)の逸脱⁶⁸⁾は、構造タンパクや、膜リン脂質の分解に寄与するとされるがPGI₂はこれらを安定化させる効果を有し⁶⁹⁾、本実験においてもこれらの効果が関与したことが示唆される。

そこで、著者の実験結果からこれらの効果について検討してみると、心筋乳酸摂取率については、冠閉塞後、TNG群およびPGI₂群で対照群より低値を示しており、実際の定量では梗塞サイズが縮小しているにもかかわらず、乳酸代謝のデータ上は心筋代謝が悪化しているように思われる。しかし、これについては、Apsteinら⁷⁰⁾のいう長時間冠虚血時の乳酸代謝の虚血指標としての限界を示すものとして解釈される。彼らによれば、乳酸産生は実験的冠閉塞後10~15分でピークに達し、冠閉塞の程度を変えなくても以後漸減し、長期に及ぶと一定せず、さらに、冠静脈洞血の乳酸値は正常心筋と虚血心筋からのものが混合されるため部分的な虚血の程度を必ずしも正確に反映しないとされる。即ち、虚血が長期に及び梗塞になると、既に壊死に陥った心筋は嫌気性代謝を行い得ず、その周囲の虚血領域の、壊死を免れた細胞でのみ嫌気性代謝が行われるため、この比較的虚血域の大小为冠静脈洞血の乳酸値に影響することになる。したがって、梗塞においては、冠静脈洞血の乳酸値は絶対的虚血に陥っている壊死中心部より、むしろ虚血境界領域の比較的虚血部分の代謝状態を反映することに注意する必要がある。

Melinら¹⁷⁾は成犬の冠動脈閉塞実験において、PGI₂を投与した場合、虚血領域のサイズには差がないがその中の梗塞サイズは著者の成績と同様に縮小したとして、低灌流虚血域内での保護効果を指摘し、その機序として、傷害心筋への直接作用、おそらくはライソゾーム膜安定化作用が示唆されるとし、特にこの直接効果の著しいことを強調している。この考え方はそのまま本実験に当てはまるものであり、低灌流虚血域の血流改善、及び傷害心筋への直接保護効果が、その領域心筋の壊死を抑制し、嫌気性代謝を続けさせることにより、乳酸産生を惹起したものと推測され、TNGにおいてもPGI₂を介した同様な効果が関与していることが考えられる。

さらに、梗塞心筋からの酵素逸脱について検討を加えると、TNG、PGI₂群は対照群に比べて血清酵素値は低値を示しており、梗塞サイズの縮小化に合致する所見であるが、PGI₂群では壊死心筋あたりの血清酵素活性の上昇が冠閉塞後速やかに起こっており、心筋内での酵素の洗い出し(wash out)がTNG群及び対照群

より良好であるのに対し、TNG群では酵素の洗い出し効果は対照群とPGI₂群の間に経過し、対照群と有意差はあまり認められなかった。この結果はPGI₂の虚血領域でのmicrocirculationの改善、抗血小板効果の関与を示唆すると思われる。

以上のように、今回の実験において、TNG、PGI₂ともに虚血保護効果が認められたが、その作用機序は前、後負荷軽減作用とは関連を有さなかった。TNGにおいては短期虚血で直接の冠拡張作用が、長期虚血ではおそらくPGI₂を介したmicrocirculationの改善作用が有効に作用したものと推測された。PGI₂の作用機序としては冠血管への直接効果は少なく、抗血小板作用などのmicrocirculation改善作用と細胞への直接的な保護効果が主体をなしていると推測された。

集約すれば、短期虚血においては冠血管に直接働く作用が優位に機能して、直接冠血管を拡張させるTNGが効果を示し、長期虚血においては冠血管に対する間接的な作用、すなわちmicrocirculation改善作用、細胞保護作用、ライソゾーム膜安定化作用などが優位に機能してPGI₂で著しい効果を認めたものと推測された。

最近、心筋梗塞に心筋保護剤としてTNGが繁用され、PGI₂も臨床応用されつつあるが、投与量は何れも少量で有効な成績が得られており、本実験からも、血圧低下が11~15%以内の血行動態に大きな変動を与えない少量持続投与が有効であると類推される。

結 論

雑種成犬を用い、非開胸透視下に実験的冠閉塞虚血心を作成し、ニトログリセリンおよびプロスタサイクリンの虚血保護効果について検討し、次の結論を得た。

1. 15分間の冠動脈閉塞による短時間心筋虚血では、TNG 1.5 μg/kg/分及びPGI₂ 20~40 ng/kg/分の静脈内持続投与により12~15%の血圧低下を認めたが心拍数、左室拡張末期圧は有意の変化を示さず、冠静脈洞血流量もともに対照群との間に有意差を認めなかった。

虚血指標のΣST、および乳酸代謝については、TNG投与でST上昇が減少し、心筋乳酸摂取率の低下も抑制されたが、PGI₂投与では有意な効果が得られず、両薬剤の効果に差が認められた。

2. 7時間の冠動脈閉塞による長時間心筋虚血ではTNG、PGI₂投与により短時間虚血実験と同様な血行動態を認めたが、両群とも、対照群に比し梗塞サイズの有意な縮小化を認めた。

心筋乳酸摂取率は両薬剤群で対照群に比し有意に低値を示した。

血中の心筋逸脱酵素の測定では LDH, LDH アイソザイム I 分画, CPK 値のいずれも PGI₂ 群は対照群に比し早期に有意の上昇を示し, TNG 群では PGI₂ 群と対照群の中間に経過した。

以上より, TNG 及び PGI₂ は共に虚血心筋保護作用を有するが, 両薬剤の作用機序には相違が認められ, TNG は冠血管に対する直接作用が主体であり, PGI₂ は抗血小板作用など microcirculation の改善作用及び心筋細胞への直接的保護作用が主体であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み, 御指導, 御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に衷心より深謝の意を表します。さらに終始, 御指導, 御助言を賜りました金沢大学保健管理センター, 元田憲教授に衷心より深謝の意を表します。併せて, 本研究の遂行にあたり, 御協力を戴きました金沢大学第二内科循環器グループの各位に深く感謝いたします。

なお, 本研究の一部は, 第 21, 25 回日本脈管学会総会 (昭和 55 年, 福岡, 昭和 59 年, 東京), 第 45 回日本循環器学会総会 (昭和 56 年, 東京), 日本循環器学会第 62 回東海第 47 回北陸合同地方会 (昭和 58 年, 名古屋) にて発表した。

文 献

- 1) Friedberg, C. K.: Diseases of the Heart, 3rd ed., p.913. W. B. Saunders, Philadelphia and London, 1966.
- 2) Myers, R. W., Scherer, J. L., Goldstein, R. E., Kent, K. M. & Epstein, S. E.: Effects of nitroglycerin and nitroglycerin-methoxamine during acute myocardial ischemia in dogs with pre-existing multivessel coronary occlusive disease. *Circulation*, **51**, 632-640 (1975).
- 3) Jugdutt, B. I., Hutchins, G., Bulkley, B. H. & Becker, L.: Reduction of infarct size by intravenous nitroglycerin infusion in conscious dogs. *Circulation*, **58** (Suppl. II), II-98 (1978).
- 4) Flaherty, J. T., Reid, P. R., Kelly, D. T., Taylor, D. R., Weisfeldt, M. L. & Pitt, B.: Intravenous nitroglycerin in acute myocardial infarction. *Circulation*, **51**, 132-139 (1975).
- 5) Come, P. C., Flaherty, J. T., Baird, M. G., Rouleau, J. R., Weisfeldt, M. L., Greene, H. L., Becker, L. & Pitt, B.: Reversal by phenylephrine of the beneficial effects of intravenous nitroglycerin in patients with acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **293**, 1003-1007 (1975).
- 6) Bleifeld, W., Wende, W., Bussmann, W. D. & Meyer, J.: Influence of nitroglycerin on the size of experimental myocardial infarction. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **277**, 387-400 (1973).
- 7) Fukuyama, T., Schechtman, K. B. & Roberts, R.: The effects of intravenous nitroglycerin on hemodynamics, coronary blood flow and morphologically and enzymatically estimated infarct size in conscious dogs. *Circulation*, **62**, 1227-1238 (1980).
- 8) Jugdutt, B. I.: Myocardial salvage by intravenous nitroglycerin in conscious dogs: Loss of beneficial effect with marked nitroglycerin-induced hypotension. *Circulation*, **68**, 673-684 (1983).
- 9) Jugdutt, B. I., Becker, L. C., Hutchins, G. M., Bulkley, B. H., Reid, P. R. & Kallman, C. H.: Effect of intravenous nitroglycerin on collateral blood flow and infarct size in the conscious dog. *Circulation*, **63**, 17-28 (1981).
- 10) Morellio, E., Reid, P. R., Dubin, N., Ghodgankar, R. & Pitt, B.: Myocardial prostaglandin E release by nitroglycerin and modification by indomethacin. *Am. J. Cardiol.*, **45**, 53-57 (1980).
- 11) Levin, R. I., Jaffe, E. A., Weksler, B. B. & Tack-Goldman, K.: Nitroglycerin stimulates synthesis of prostacyclin by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, **67**, 762-769 (1981).
- 12) Moncada, S., Gryglewski, R., Bunting, S. & Vane, J. R.: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, **263**, 663-665 (1976).
- 13) Dusting, G. J., Moncada, S. & Vane, J. R.: Prostacyclin (PGX) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic acid. *Prostaglandins*, **13**, 3-15 (1977).
- 14) Lefer, A. M., Ogletree, M. L., Smith, J. B., Silver, M. J., Nicolaou, K. C., Barnette, W. E. & Gasic, P. G.: Prostacyclin: A potentially valuable agent for preserving myocardial tissue in acute myocardial ischemia. *Science*, **200**, 52-54 (1978).
- 15) Ogletree, M. L., Lefer, A. M., Smith, J. B. & Nicolaou, K. C.: Studies on the protective effect of prostacyclin in acute myocardial ischemia. *Eur. J. Pharmacol.*, **56**, 95-103 (1979).
- 16) Jugdutt, B. I., Hutchins, G. M., Bulkley, B.

- H. & Becker, L. C.: Dissimilar effects of prostacyclin prostaglandin E_1 and prostaglandin E_2 on myocardial infarct size after coronary occlusion in conscious dogs. *Circ. Res.*, **49**, 685-700 (1981).
- 17) Melin, J. A. & Becker, L. C.: Salvage of ischemic myocardium by prostacyclin during experimental myocardial infarction. *J. A. C. C.*, **2**, 279-286 (1983).
- 18) Dix, R. K., Kelliher, G. J., Lawrence, T. & Jurkiewicz, N.: Effect of prostacyclin on ventricular arrhythmias after coronary artery occlusion in cats. In B. Samuelsson, R. Ramwell, R. Paoletti (eds), *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research*. Vol. 7 p.651-652, Raven Press, New York, 1980.
- 19) Ribeiro, L. G. T., Brandon, T. A., Hopkins, D. G., Reduto, L. A., Taylor, A. A. & Miller, R. R.: Prostacyclin in experimental myocardial ischemia: Effects on hemodynamics, regional myocardial blood flow, infarct size and mortality. *Am. J. Cardiol.*, **47**, 835-840 (1981).
- 20) 太田 茂: 冠血液容量測定法に関する実験的研究—ジピリダモールおよびプロスタサイクリンの冠血管拡張作用の検討—。十全医会誌, **94**, 795-808 (1985).
- 21) Gutman, I. & Wagelfeld, A. W.: L-(+)-lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD. In H. U. Bergmeyer (eds), *Methods of Enzymatic Analysis*, p.1464-1468, Verlag chemie, Weinheim, 1974.
- 22) Bergmeyer, H. U.: Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für klinische chemie. Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. *Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem.*, **8**, 658-660 (1970).
- 23) Bergmeyer, H. U.: Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für klinische chemie. Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. *Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem.*, **10**, 182-192 (1972).
- 24) Wieme, R. J., Van Sande, M., Karcher, D., Lowenthal, A. & Van der Helm, H. J.: A modified technique for direct staining with nitroblue tetrazolium of lactate dehydrogenase isozymes upon agar gel electrophoresis. *Clin. Chem. Acta*, **7**, 750-754 (1962).
- 25) 吉田光孝, 北村元仕: LDH アイソザイム, 臨床病理, **19**, 96-109 (1967).
- 26) Oliver, I. T.: A spectrophotometric method for the determination of creatinine phosphokinase and myokinase. *Biochem. J.*, **61**, 116-122 (1955).
- 27) Mizutani, T., Katada, Y., Maekawa, K., Yokoyama, M. & Fukuzaki, H.: Coronary collateral circulation as an important factor to modify the ischemic injury of the myocardium in coronary ligated dogs. *Jap. Heart J.*, **20**, 485-493 (1979).
- 28) Jennings, R. B., Sommer, H. M., Smyth, G. A., Flack, H. A. & Linn, H.: Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch. Path.*, **70**, 82-92 (1980).
- 29) Maroko, P. R., Kjekshus, J. K., Sobel, B. E., Watanabe, T., Covell, J. W., Ross, J. Jr. & Braunwald, E.: Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation*, **43**, 67-82 (1971).
- 30) Hill, N. S., Antman, E. M., Green, L. H. & Alpert, J. S.: Intravenous nitroglycerin. A review of pharmacology, indications, therapeutic effects and complications. *Chest*, **79**, 69-76 (1981).
- 31) 友池仁暢, 中村元臣: 治療薬の作用機序, 使用法と問題点—亜硝酸剤—. 内科, **57**, 639-642 (1986).
- 32) Feldmann, R. L. & Conti, C. R.: Editorial: Relief of myocardial ischemia with nitroglycerin: What is the mechanism? *Circulation*, **64**, 1098-1100 (1981).
- 33) Maseri, A., Chierchia, S. & L'Abbate, A.: Pathogenetic mechanisms underlying the clinical events associated with atherosclerotic heart disease. *Circulation*, **62**(Suppl. V), V 3-V 13 (1980).
- 34) Brown, B. G., Bolson, E., Petersen, R. B., Pierce, C. D. & Dodge, H. T.: The mechanism of nitroglycerin action; stenosis vasodilatation as a major component of the drug response. *Circulation*, **64**, 1089-1097 (1981).
- 35) Klein, R. C., Grehl, T. M., Stengert, K. B. & Mason, D. T.: Evaluation of the effects of systemic nitroglycerin on perfusion of ischemic myocardium in coronary heart disease assessed intraoperatively by antegrade blood flow through intact saphenous vein bypass grafts. *Am. Heart J.*, **101**, 292-299 (1981).
- 36) Bache, R. J.: Effect of nitroglycerin and

arterial hypertension on myocardial blood flow following acute coronary artery occlusion in the dog. *Circulation*, **57**, 557-562 (1978).

- 37) Epstein, S. E., Kent, K. M., Goldstein, R. E., Borer, J. S. & Redwood, D. R.: Reduction of ischemic injury by nitroglycerin during acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **292**, 29-35 (1975).
- 38) 神川 繁: 冠動脈狭窄症に対するニトログリセリンの虚血改善機序に関する臨床的研究. 十全医会誌, **94**, 921-934 (1985).
- 39) Bussmann, W. D., Passek, D., Seidel, W. & Kaltenbach, M.: Reduction of CK and CK-MB indexes of infarct size by intravenous nitroglycerin. *Circulation*, **63**, 615-622 (1981).
- 40) Nachlas, M. M. & Shnitka, T. K.: Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *Am. J. Path.*, **42**, 379-405 (1963).
- 41) Ganz, W., Buchbinder, N., Marcus, H., Mondkar, A., Maddahi, J., Charuzi, Y., O'Connor, L., Shell, W., Fishbein, M., Kass, R., Miyamoto, A. & Swan, H. J. C.: Intracoronary thrombolysis in evolving myocardial infarction. *Am. Heart J.*, **101**, 4-13 (1981).
- 42) Abrams, J.: Nitroglycerin and long-acting nitrates. *N. Engl. J. Med.*, **302**, 1234-1237 (1980).
- 43) Vatner, S. F., Pagani, M., Manders, W. T. & Pasipoularides, A. D.: Alpha adrenergic vasoconstriction and nitroglycerin vasodilation of large coronary arteries in the conscious dog. *J. Clin. Invest.*, **65**, 5-14 (1980).
- 44) Feldman, R. L., Pepine, C. J. & Conti, C. R.: Magnitude of dilatation of large and small coronary arteries by nitroglycerin. *Circulation*, **64**, 324-333 (1981).
- 45) 鍋山庄蔵, 下川宏明, 友池仁暢, 中村元臣: 無麻酔覚醒犬におけるニトログリセリンの血中濃度と冠動脈拡張作用の対比検討. 脈管学, **22**, 597 (1982).
- 46) Feldman, R. L., Pepine, C. J., Curry, R. C. & Conti, C. R.: Coronary arterial responses to graded doses of nitroglycerin. *Am. J. Cardiol.*, **43**, 91-97 (1979).
- 47) Mehta, J. & Pepine, C. J.: Effect of sublingual nitroglycerin on regional flow in patients with and without coronary disease. *Circulation*, **58**, 803-807 (1978).
- 48) Cohn, P. F., Maddox, D., Holman, B. L., Markis, J. E., Adams, D. F. & See, J. R.: Effect of sublingually administered nitroglycerin on regional myocardial blood flow in patients with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, **39**, 672-678 (1977).
- 49) McGregor, M.: The nitrates and myocardial ischemia. *Circulation*, **66**, 689-692 (1982).
- 50) Goldstein, R. E., Stinson, E. B., Scherer, J. L., Seningen, R. P., Grehl, T. M. & Epstein, S. E.: Intraoperative coronary collateral function in patients with coronary occlusive disease. Nitroglycerin responsiveness and angiographic correlations. *Circulation*, **49**, 298-308 (1974).
- 51) Marshall, R. J. & Parratt, J. R.: The effects of dipyridamole on blood flow and oxygen handling in the acutely ischemic and normal canine myocardium. *Br. J. Pharmacol.*, **49**, 391-399 (1973).
- 52) Gorman, M. W. & Sparks, H. V.: Nitroglycerin causes vasodilation within ischemic myocardium. *Cardiovasc. Res.*, **14**, 515-521 (1980).
- 53) Vyden, J. K., Carvalho, M., Boszormenyi, E., Leng, T. W., Bernstein, H. & Corday, E.: Effect of glyceryl trinitrate (nitroglycerin) on the systemic and coronary circulation of the dog. *Am. J. Cardiol.*, **25**, 53-58 (1970).
- 54) 藤谷和大, 竹内素志, 福崎 恒: 血管拡張剤の効用と限界. ニトロ化合物. 日本臨床, **41**, 2721-2727 (1983).
- 55) Trimarco, B., Cuocolo, A., Van Dorne, D., Ricciardelli, B., Volpe, M., De Simone, A. & Condorelli, M.: Late phase of nitroglycerin-induced coronary vasodilatation blunted by inhibition of prostaglandin synthesis. *Circulation*, **71**, 840-848 (1985).
- 56) Gorman, R. R., Bunting, S. & Miller, O. V.: Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX). *Prostaglandins*, **13**, 377-388 (1977).
- 57) Hopkins, N. K. & Gorman, R. R.: Regulation of endothelial cell cyclic nucleotide metabolism by prostacyclin. *J. Clin. Invest.*, **67**, 540-546 (1981).
- 58) Dusting, G. J., Moncada, S. & Vane, J. R.: Prostaglandins, their intermediates and precursors: cardiovascular actions and regulatory roles in normal and abnormal circulatory systems. *Prog.*

- Cardiovasc. Dis., 21, 405-430 (1979).
- 59) Szczeklik, J., Szczeklik, A. & Nizankowski, R.: Hemodynamic changes induced by prostacyclin in man. *Br. Heart J.*, 44, 254-258 (1980).
- 60) Chierchia, S., Patrono, C., Crea, F., Ciabattini, G., De Caterino, R., Cinotti, G. A., Distante, A. & Maseri, A.: Effects of intravenous prostacyclin in variant angina. *Circulation*, 65, 470-477 (1982).
- 61) Jentzer, J. H., Sonnenblick, E. H. & Kirk, E. S.: Specificity of prostacyclin as a coronary artery vasodilator. *Clin. Res.*, 27, 177A (1979).
- 62) Gryglewski, R. J.: Prostacyclin. *Pharmacology and clinical trials. Inter. Angio.*, 3, 89-97 (1984).
- 63) Moncada, S. & Vane, J. R.: Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N. Engl. J. Med.*, 300, 1142-1147 (1979).
- 64) Moncada, S., Radomski, M. & Vargas, J. R.: The use of prostacyclin for the separation and washing of human platelets from plasma. *Br. J. Pharmacol.*, 75, 165 (1982).
- 65) 沼野藤夫: プロスタサイクリンの組織保護作用. *医学のあゆみ*, 125, 250-251 (1983).
- 66) Araki, H. & Lefer, A. M.: Role of prostacyclin in the preservation of ischemic myocardial tissue in the perfused cat heart. *Circ. Res.*, 47, 757-763 (1980).
- 67) Szekeres, L., Krassoi, I., Pataricza, J. & Udvary, E.: Delayed antiischemic effect of prostaglandin I₂ and of a new stable prostaglandin I₂ analogue, 7-oxo-prostacyclin-Na, in experimental model angina in dogs. *Adv. Myocardiol.*, 6, 607-618 (1985).
- 68) Wildenthal, K., Decker, R. S., Poole, A. R., Griffin, E. E. & Dingle, J. T.: Sequential lysosomal alterations during cardiac ischemia. I. Biochemical and immunohistochemical changes. *Lab. Invest.*, 38, 656-661 (1978).
- 69) Araki, H. & Lefer, A. M.: Cytoprotective effect of prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. *Am. J. Physiol.*, 238, H176-H181 (1980).
- 70) Apstein, C. S., Gravino, F. & Hood, W. B.: Limitations of lactate production as an index of myocardial ischemia. *Circulation*, 60, 877-888 (1979).

Experimental Study on Ischemic Myocardium — Protective Effect of Nitroglycerin and Prostacyclin — Toshihiro Uesaka, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med. Soc.*, 96, 448—463 (1987)

Key words: nitroglycerin, prostacyclin, myocardial protection

Abstract

This study was performed to examine the effects of nitroglycerin (TNG) and prostacyclin (PGI₂) on the severity of myocardial ischemia. The left anterior descending coronary artery was occluded by balloon catheter in 36 anesthetized dogs under closed-chest and fluoroscopic control. The severity of myocardial ischemia was estimated by precordial ST-segment elevation (Σ ST) and myocardial lactate extraction rate (LER). Serum enzymes (LDH, LDH isozyme- I and CPK) were also determined. Infarct size was measured by planimetry of weighed rings of the heart. 1) Experiment of short-term myocardial ischemia for 15 minutes: Soon after coronary occlusion, the animals received an intravenous injection of 300 μ g TNG and then a continuous infusion of 1.5 μ g/kg/min, or an intravenous continuous infusion of 20-40 (33 ± 10) ng/kg/min of PGI₂. Mean blood pressure (mBP) in treated groups decreased significantly (TNG, 14-15%; PGI₂, 12%). However, there were no changes in heart rate (HR) and left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP). The decrease in coronary sinus flow (CSF) was 10-16% in TNG group and 12-21% in PGI₂ group which were not significant between treated groups and control group. The

elevation of Σ ST and the decrease in LER were improved by the infusion of TNG, suggesting the myocardial protection by TNG infusion. However, the improvement was not observed with PGI_2 infusion. 2) Experiment of long-term myocardial ischemia for 7 hours: The same doses of TNG and PGI_2 were administered. Although mBP was significantly decreased in treated groups (TNG, 11-12%; PGI_2 , 12-15%), the changes of HR and CSF showed no significant differences between treated groups and control group. The dogs were sacrificed after 8 hours and the infarct size (IS) was estimated morphologically. IS was significantly decreased in TNG ($10 \pm 6\%$) and PGI_2 ($9 \pm 5\%$) groups, compared with control ($22 \pm 8\%$). LER was significantly reduced in treated groups, compared with control group. Serum LDH, LDH isozyme- I, CPK in TNG group were significantly reduced, but not in PGI_2 group. However, in PGI_2 group the rapid increase (washout effect) of serum enzymes was dominant, compared with control and TNG groups. These results suggest that both TNG and PGI_2 have beneficial effects on myocardial ischemia, and each mechanism is different. TNG appears to have a direct vasodilatory effect on the coronary artery, and PGI_2 appears to improve microcirculation and have a direct cytoprotective effect.