

論文の内容の要旨

虚血心筋保護における活動電位持続時間の役割に関する研究

氏名 濱 田 香 理

細胞外カリウム濃度は、虚血や急性腎不全によって上昇することが知られており、また細胞外カリウム濃度上昇やそれに伴う活動電位持続時間の短縮は、不整脈発生因子として捉えられている。この心筋虚血時の細胞外カリウム濃度上昇には、細胞内 ATP 濃度が減少することによって活性化される心筋細胞膜上の ATP 感受性カリウムチャンネルが関与していると考えられている。一方心筋に短時間の虚血を起こすことで、その後の虚血・再灌流による細胞障害（不整脈、心筋壊死及び心筋収縮力の低下）に対して保護効果を生じる現象（preconditioning）にも ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化が関与していることが報告されている。この preconditioning における ATP 感受性カリウムチャンネルの心筋保護作用は、活動電位持続時間の短縮によって膜電位依存性カルシウムチャンネルを介するカルシウムの細胞内への流入の減少により発揮していると考えられている。また ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬も、活動電位持続時間の短縮によって心筋保護作用を現していることが示されている。このように ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化は、心筋保護効果を発揮する一方で細胞外カリウム濃度の上昇あるいは活動電位持続時間の短縮といった不整脈発生因子を増加させるという 2 面性を有している可能性がある。しかしながらこれらの報告は、心筋保護作用と活動電位持続時間の変化あるいは細胞外カリウム濃度の変化を同時に検討したものではないため、活動電位持続時間の短縮と心筋保護効果の関係の詳細は明らかではない。

本研究は、虚血・再灌流に対する心筋保護作用が ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化あるいはそれに伴う活動電位持続時間の短縮を介して効果を現しているかを解明することを目的とした。この目的のため、麻酔イヌを用いて心筋細胞外カリウム、プロトン濃度及び活動電位を経時的かつ同時に測定する技術を開発し、虚血心筋保護における活動電位持続時間の関与について薬理的検証を行った。

1. 心筋細胞外カリウム濃度及び活動電位持続時間に対する ATP 感受性カリウムチャンネルの関与の研究

麻酔犬を用いて、心筋虚血時の活動電位持続時間の短縮に対する ATP 感受性カリウムチャンネルの関与を検討した。麻酔犬において、5 分間の塩化カリウムの静脈内持続投与は、細胞外カリウム濃度を上昇させ、活動電位持続時間を短縮させた。ATP 感受性カリウムチャンネルの阻害剤であるグリベンクラミドは、塩化カリウム投与による活動電位持続時間の短縮に作用を示さなか

った(図1)。左冠状動脈前下降枝の5分間結紮による心筋虚血は、細胞外カリウム濃度の上昇及び活動電位持続時間の短縮を引き起こした。グリベンクラミドは、虚血による活動電位持続時間の短縮を完全に抑制し、また部分的に細胞外カリウム濃度上昇を抑制した(図2)。これらの結果から、虚血時の活動電位持続時間の短縮に ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化が重要な役割を担っており、また塩化カリウム投与による活動電位持続時間の短縮は、ATP 感受性カリウムチャンネルとは異なるチャンネルが関与していることが明らかとなった。

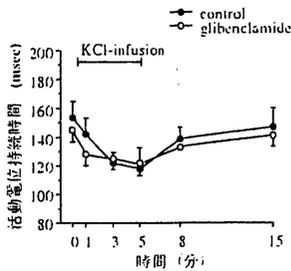


図1 塩化カリウム投与による活動電位持続時間の経時変化(B)及びグリベンクラミドの作用

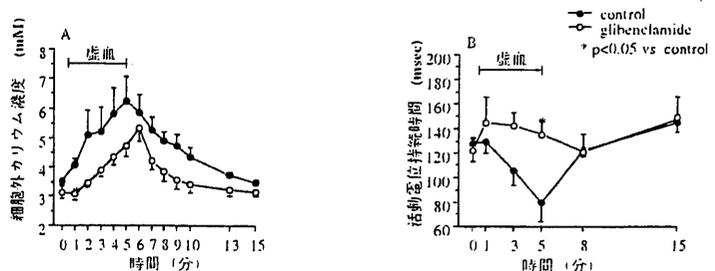


図2 心筋虚血による細胞外カリウム濃度(A)と活動電位持続時間の経時変化(B)及びグリベンクラミドの作用

2. 虚血心筋保護と活動電位持続時間の関連性に関する研究

1) Preconditioning 及び ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬の虚血心筋保護と活動電位持続時間の関連性に関する研究

Preconditioning 及び ATP 感受性カリウムチャンネルの虚血・再灌流後の心収縮不全に対する改善効果が活動電位持続時間の短縮を介して作用を發揮しているかを検討した。対照群は、左冠状動脈前下降枝を10分間結紮することにより虚血し、その後120分間再灌流を行った。ピナシジル投与群は、虚血10分前より静脈内投与を開始し(0.03mg/kg, i.v. + 0.04mg/kg/hr)、その後10分間の虚血及び120分間の再灌流を行った。Preconditioning 群は、5分間虚血後10分間再灌流し、続けて10分間虚血後120分間の再灌流を行った。ピナシジル投与群及び preconditioning 群は、虚血・再灌流による心収縮不全を改善した(表1)。Control 群において、虚血によって細胞外カリウム濃度は上昇し、また活動電位持続時間は短縮した(図3)。Preconditioning 群において、虚血時の活動電位持続時間の短縮及び細胞外カリウム濃度の上昇を抑制した。ピナシジル

Group	BP	HR	LVP	dP/dt	C'BF	TF
Control						
base line	114 ± 3	161 ± 6	117 ± 5	2053 ± 61	24 ± 3	14.9 ± 2.4
8min occlusion	110 ± 4	165 ± 8	115 ± 7	1920 ± 114	0	-6.9 ± 2.5
120min reperfusion	112 ± 4	177 ± 10	122 ± 10	1835 ± 154	23 ± 2	-0.1 ± 1.9
Pinacidil						
base line	111 ± 8	161 ± 4	120 ± 7	1940 ± 272	25 ± 4	16.2 ± 1.6
8min occlusion	100 ± 9	162 ± 6	110 ± 5	1784 ± 147	0	-6.8 ± 4.4
120min reperfusion	101 ± 9	165 ± 6	118 ± 6	1832 ± 144	23 ± 2	13.8 ± 2.9*
Preconditioning						
base line	108 ± 8	162 ± 5	127 ± 6	1880 ± 183	25 ± 4	16.2 ± 1.6
8min occlusion	107 ± 6	159 ± 9	121 ± 6	1670 ± 173	0	-6.8 ± 4.4
120min reperfusion	110 ± 6	165 ± 12	130 ± 9	1877 ± 220	23 ± 4	13.8 ± 2.9*

Values are means ± S.E.M. BP= mean blood pressure (mmHg); HR= heart rate (beats/min); LVP= left ventricular pressure (mmHg); dP/dt= maximum rate of left ventricular pressure (mmHg/sec); C'BF= coronary blood flow (ml/min); TF= thickening fraction (%). *P<0.05

表1 心行動態に対する pinacidil 及び preconditioning の作用

投与群において、用いた用量では降圧等の心行動態に対して作用を示さず(表1)、またこの用量において虚血時の活動電位持続時間の短縮及び細胞外カリウム濃度の上昇に影響を与えなかった。これらの結果から、preconditioning及びATP感受性カリウムチャンネル開口薬の心筋保護作用に活動電位持続時間の短縮は必須なものではないことが判明した。

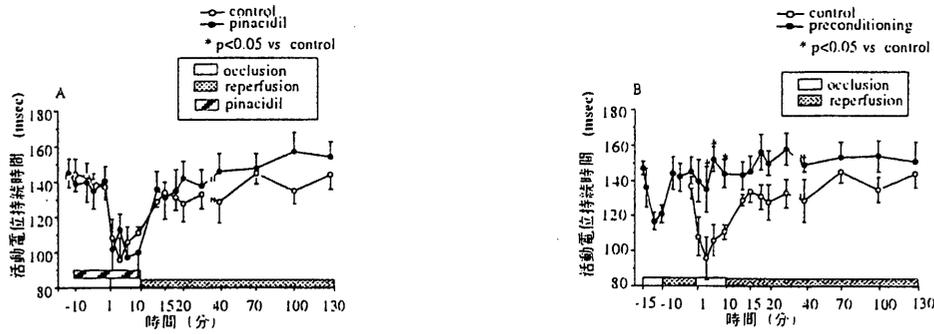


図3 心筋虚血による活動電位持続時間短縮に対するピナシジル(A)及び preconditioning (B)の作用

2) カルシウムチャンネル遮断薬の虚血心筋保護における心筋細胞外カリウム濃度及び活動電位持続時間の関連性に関する研究

カルシウムチャンネル遮断薬であるジルチアゼムの虚血・再灌流後の収縮不全に対する改善効果が活動電位持続時間の短縮を介して作用を發揮しているかを検討した。ジルチアゼム(0.02mg/kg/hr)を虚血10分前に静脈内投与し、その後10分間の虚血及び120分間の再灌流を行った。ジルチアゼムは、10分間虚血後の収縮不全を回復させ(図5)、また虚血時の細胞外カリウム濃度上昇及び活動電位持続時間の短縮を抑制した(図4)。虚血時の細胞外 pH は、細胞内 ATP の分解によって低下すると考えられている。ジルチアゼムが、虚血時の細胞外 pH の低下を抑制したことから(図5)、虚血による細胞内 ATP の減少を抑制したことが示唆された。これらの結果から、ジルチアゼムは、活動電位持続時間の短縮に影響せずに心筋保護効果を示すことが明らかとなった。またジルチアゼムによる ATP の減少の抑制は、ATP の減少によって開口する ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化を抑制し、細胞外カリウム濃度上昇及び活動電位持続時間の短縮を抑制したと推察された。

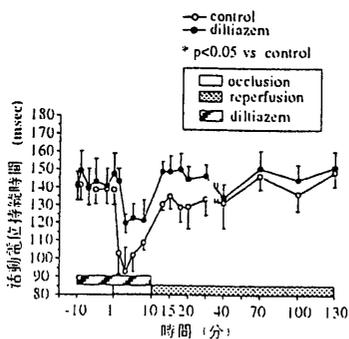


図4 心筋虚血による活動電位持続時間短縮に対するジルチアゼムの作用

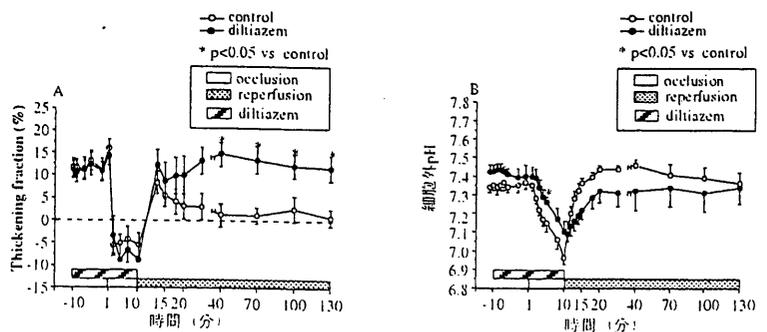


図5 心筋虚血による局所心筋収縮の低下(A)及び細胞外pHの低下(B)に対するジルチアゼムの作用

総括

1. ATP 感受性カリウムチャンネル阻害剤であるグリベンクラミドが、虚血時の細胞外カリウム濃度の上昇及び活動電位持続時間の短縮を抑制したことから、虚血によるこれらの変化に心筋細胞膜上の ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化が重要な役割を担っていることが明らかになった。グリベンクラミドが血中カリウム濃度上昇による活動電位持続時間の短縮を抑制しなかったことより、血中カリウム濃度上昇による活動電位持続時間の短縮に対して ATP 感受性カリウムチャンネルは関与していないことが明らかになった。
2. ピナシジルは、ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬の薬理的特徴である降圧作用を示さない用量において、虚血・再灌流による収縮不全を改善した。またこの時ピナシジルは、虚血による細胞外カリウム濃度上昇及び活動電位持続時間の短縮に対して影響を示さなかった。これらの結果より ATP 感受性カリウムチャンネル開口薬は活動電位持続時間の短縮を示さない用量においても、心筋保護効果を有することを明らかにした。
3. Preconditioning は、虚血による細胞外カリウム濃度上昇及び活動電位持続時間の短縮を抑制すると共に、虚血・再灌流後の収縮不全に対して改善効果を示したことから、preconditioning の心筋保護効果に心筋細胞膜上の ATP 感受性カリウムチャンネルの活性化の関与は少ないことが示唆された。
4. カルシウムチャンネル遮断薬は、虚血による細胞外カリウム濃度上昇及び活動電位持続時間の短縮を抑制すると共に、虚血・再灌流後の収縮不全に対して改善効果を示すことを明らかにした。

結語

以上のことより心筋保護効果に活動電位持続時間の短縮は必須なものではなく、また従来考えられていたことと異なり preconditioning の心筋保護効果に、ATP 感受性カリウムチャンネルの関与は少ないことを示した。これらの本研究の知見は、ピナシジル及び preconditioning の心筋保護効果に対する心筋細胞膜上の ATP 感受性カリウムチャンネルの関与を見直すきっかけとなり、現在においてはミトコンドリアの inner membrane に存在する ATP 感受性カリウムチャンネルの関与が注目されることとなった。

本研究は、麻酔イヌを用いて心筋細胞外カリウム濃度、活動電位持続時間及び局所心筋収縮力を、同一個体で同時に測定することによって、in vivo における心筋保護効果と活動電位持続時間の関与を明らかにし、心筋保護の作用機序の解明に貢献したと考える。