

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 隆一

カルシウム (Ca^{2+}) チャンネルブロッカーは、歴史的には狭心症治療薬すなわち冠血管拡張薬として開発されたが、現在では高血圧症、不整脈等の治療薬としても重要な地位を占めている。代表的な3種の Ca^{2+} チャンネルブロッカー（ジヒドロピリジン系、ベンゾチアゼピン系、フェニルアルキルアミン系）は、L型 Ca^{2+} チャンネルの1サブユニット上にそれぞれの結合部位を有し、血管拡張、心筋抑制、伝導抑制などへの作用強度の差により臨床効果の違いを示す。また、各 Ca^{2+} チャンネルブロッカーは虚血や再灌流による障害から心筋を保護することが報告されているが、各薬物間で標本や条件によって効果の違いがあることが知られていた。

一方、虚血時には、心筋細胞外に K^+ と H^+ が蓄積し組織内のATP含量が低下する。摘出還流心では虚血時の細胞外 K^+ 濃度の上昇は特徴的な3相性を示す。この現象は虚血中に起きる細胞の生理学的経時変化の推移を反映していると考えられる。しかしながら、 Ca^{2+} チャンネルブロッカーの作用の、虚血時の細胞外イオン環境との関連の詳細は不明である。そこで、本研究では、虚血による細胞外 K^+ と H^+ の濃度の変化を経時的に同時測定し、 Ca^{2+} チャンネルブロッカーの心筋保護作用の違いと虚血中の環境との関連を明らかにすることを旨とした。

まず、モルモット摘出灌流心臓を用いて、心臓の拍動に追従可能な小型化したイオン選択性電極を作成し、虚血中の細胞外 K^+ 濃度、細胞外pHおよび心機能を同時に測定する実験系を確立した。

虚血中の環境と Ca^{2+} チャンネルブロッカーの心筋保護効果の関係を明らかにするには、心機能抑制を等しく示す濃度を注意深く設定しながら、種々の Ca^{2+} チャンネルブロッカーやその類似体の作用を比較することが重要である。次に、その実験系を用い、灌流を停止することにより虚血を模倣し、代表的な3種の Ca^{2+} チャンネルブロッカーであるジルチアゼム、ベ

ラパミル，ニフェジピンを処置したモルモット摘出灌流心臓の虚血後の時間依存的変化と心筋保護作用の関連を，虚血中の細胞外イオン濃度と代謝的指標に注目して検討した．3種の Ca^{2+} チャンネルブロッカーは，虚血初期（0-8分）の細胞外 K^+ 濃度上昇を同じように濃度依存的に遅延させたが，虚血後15-30分の後期相ではジルチアゼムとベラパミルは細胞 K^+ 濃度を濃度依存的に抑制するがニフェジピンは抑制せず， Ca^{2+} チャンネルブロッカーの細胞外 K^+ 濃度抑制作用は虚血後の時間依存的に異なることを示した．虚血中のpH低下に対しては，ジルチアゼムおよびベラパミルが初期相において抑制する傾向を示すが，虚血時間の終わりには対照群とほぼ同じ程度まで低下することを明らかにした．

左心室内圧に対する作用が同等の濃度のジルチアゼム（10 μM ），ベラパミル（1 μM ）およびニフェジピン（0.3 μM ）を用いて，心筋組織中の高エネルギーリン酸化合物であるATP，クレアチンリン酸および嫌氣的解糖産物である乳酸量に対する作用を虚血中経時的に測定すると，ジルチアゼムおよびベラパミルは虚血3分後から15分の心筋組織中のATPおよびクレアチンリン酸含量を保持し，乳酸の上昇を抑制するが，ニフェジピンにはこの作用は見られなかった． Na^+ - K^+ ポンプの抑制薬であるウアバインが選択的に後期相の K^+ 濃度を増強することが報告されていることから，解糖によるATP合成が後期 K^+ 上昇の抑制に影響する可能性が考えられる．実際に，本研究では虚血初期の高エネルギーリン酸化合物の保存が期待される低カルシウム処置，あるいは低頻度による刺激は後期 K^+ 上昇を顕著に抑制した．以上から，ジルチアゼムとベラパミルは虚血中のATPおよびクレアチンリン酸の保存能を有し，さらに解糖によるATP合成が可能な期間を延長させることにより，おそらくは Na^+ - K^+ ATPase活性の維持を介して後期 K^+ の上昇を抑制すると考えられた．

また，虚血時の細胞外 K^+ 濃度が上昇した状態で， Ca^{2+} チャンネルブロッカーの作用に差異が生じる可能性を検討するために，虚血初期を模した高 K^+ 濃度の灌流液を用いて心収縮力抑制作用を比較した．その結果，高 K^+ 濃度ではジルチアゼムとベラパミルの陰性変力作用が増強するが，ニフェジピンでは増強せず，虚血時の高 K^+ 状態では Ca^{2+} チャンネルブロッカ

ーの作用に違いがあることが明らかとなった。これらの結果から、本研究では、虚血初期に上昇した細胞外 K^+ による脱分極状態における作用の違いが、虚血中の高エネルギー燐酸化合物含量の保存程度の差異を生じ、これが虚血後期相における細胞外 K^+ 濃度、pH、虚血性拘縮および再灌流後の保護作用の著しい相違に繋がり得ることを病態生理学的に示した。

更に、ジルチアゼムの光学異性体であり、心筋保護作用が報告されている*l-cis*ジルチアゼムの細胞外 K^+ 濃度、アシドーシスおよび虚血後心機能回復に対する作用を検討した。*l-cis*ジルチアゼムのL型 Ca^{2+} チャネル抑制作用はジルチアゼムに比べ遙かに弱いことが知られている。ジルチアゼムの光学異性体である*l-cis*ジルチアゼムは、細胞外 K^+ 濃度上昇による心機能抑制作用の増強が少ないにもかかわらず、再灌流後の心機能の改善に著効を示したことから、*l-cis*ジルチアゼムの心筋保護作用にはL型 Ca^{2+} チャネル抑制による心機能抑制作用だけでは説明できない因子が関与していることが示唆された。

以上、本研究では、摘出心臓灌流標本を用い、細胞外 K^+ 濃度、pHおよび心機能を同時かつ経時的に測定する試験系を確立し、典型的な3種の Ca^{2+} チャネルブロッカーの作用および光学異性体間の作用を比較することによって、心筋虚血時における細胞外 K^+ 濃度上昇による脱分極状態での作用の違いが、 Ca^{2+} チャネルブロッカーの虚血心筋保護の差異において重要である事を明らかとし、本薬剤群の心筋保護機序の解明に貢献した。更に、ジルチアゼムの光学異性体を用いた研究から、*l-cis*ジルチアゼムの保護作用がL型 Ca^{2+} チャネル遮断以外の作用による可能性を示し、同剤の心筋保護作用の機序解明に寄与した。これらの知見は Ca^{2+} チャネルブロッカーの心筋保護作用の解析および心筋保護を標的とした新しい薬剤の薬効評価法の一つとして有用であり、博士（薬学）を授与するに値すると認めた。