

# L-homocystein thiolactone および $\alpha, \beta$ -methylene adenosine 5'-diphosphate の冠動脈反応性充血に及ぼす影響

—— 細胞間隙 adenosine の生成経路に関する実験的検討 ——

岡山大学医学部第一内科学教室 (指導: 辻 孝夫教授)

美 馬 敦

(平成 5 年 9 月 17 日受稿)

**Key words:** 冠循環, 虚血, ect-5'-nucleotidase, S-adenosylhomocysteine

## 緒 言

冠循環調節における adenosine theory が Berne により提唱されて以来, Nucleoside に関し数多くの研究が, 冠循環調節との関連においてなされてきた<sup>1)</sup>. 数多くの実験結果は, 心筋代謝レベルと連動して組織間隙中 adenosine の冠循環調節への関与を, すくなくとも部分的には, 示唆している<sup>2,3,4)</sup>. 一過性冠閉塞後の反応性充血の解析は, 冠循環, ことに一定時間以上の冠閉塞後の反応性充血は, 虚血時における冠循環の代謝性因子の研究に広く用いられてきた. 細胞間隙 adenosine の反応性充血への関与を示唆する結果が報告されている<sup>5,6,7)</sup>.

我々の, 麻酔開胸犬を用いた, Forskolin の冠動脈反応性充血へ及ぼす影響の実験結果は, adenosine は adenylate cyclase 系を賦活化して, 冠拡張作用を発現することを明らかにしている<sup>7)</sup>. 他方, adenosine の生成経路として, 以下の 2 経路が報告されている. すなわち, 心筋細胞膜において, ect-5'-nucleotidase により AMP が脱リン酸化され adenosine が生成される経路<sup>8)</sup>と, 心筋細胞内において, S-adenosylhomocysteine (SAH) hydrlase により, SAH からの生成経路<sup>9)</sup>である. しかしながら, 虚血時の細胞間隙 adenosine 生成に関して, いずれの経路が主要な役割を果たしているかは, 尚, 十分に解明されていない.

そこで, 虚血時の adenosine の生成経路を検

討する目的で, SAH よりの経路に作用して, 細胞内 adenosine 濃度に影響を与える L-homocystein thiolactone (以下, L-homo) と, 細胞膜に存在する ect-5'-nucleotidase 阻害物質である,  $\alpha, \beta$ -methylene adenosine 5'-diphosphate (以下 AOPCP) の一過性冠閉塞後の冠動脈反応性充血へ及ぼす影響を検討した.

## 対象と方法

対象動物: 体重 12~15kg の雑種成犬を用いた.

## EXPERIMENTAL PREPARATION

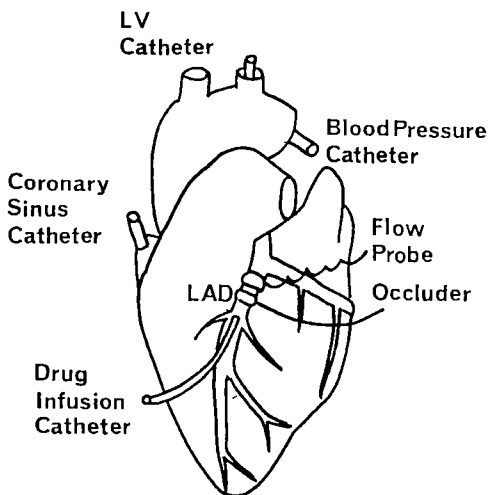


図 1 Schematic representation of experimental preparations. LV, left ventricle.

実験方法：ketamin-HCL (0.1mg/kg) の皮下注にて鎮静，sodium pentobarbital (30mg/kg) にて静脈麻酔，酸素・空気混合気にて陽圧人工呼吸を行った。動脈血血液ガス分圧は，実験全経過中，呼吸回数および吸気酸素濃度を調節し，生理的範囲内に保った。また，動脈血 pH を 7.35—7.45 に維持するために，適時適量の 7% NaHCO<sub>3</sub> を投与した。

実験の方法を図 1 に示す。左側第五肋間にて開胸，心膜を切開，心臓を露出した。左冠動脈前下行枝 (以下 LAD) 近位部を剝離し，電磁血流計プローブ (日本光電，MFV100，東京)，およびその近接末梢に occluder を装着した。薬物注入用に 24 gauge のポリエチレンチューブを occluder 末梢に挿入した。ポリエチレンチューブは，2 種の薬物を同時に異なった速度で注入できるように，Y connector に接続後，その先端をそれぞれの微量注入用シリンジポンプ (テルモ，STC521，東京) に接続した。

右大腿動脈より逆行性に胸部大動脈起始部に，左頸動脈より逆行性に左室内に，それぞれカテーテルを挿入，各部の圧を電氣的 (日本光電，AP-206G，東京) に測定した。また，左室圧の最大 1 次微分値 (LVmax dp/dt) も測定した。右心耳よりカテーテルを逆行性に大心静脈に挿入し，大心静脈よりの血液を採取し，左冠動脈前下行枝灌流領域の心筋酸素消費量の測定に供した。

実験中の各測定結果は，紙送り 2.5mm/秒にて連続記録した。

実験プロトコール：L-homo および AOPCP は生理的食塩水に溶解して用いた。各 L-homo および AOPCP の投与量は，冠血流量微増 (20%以下) にとどめ，かつ血行動態，すなわち，大動脈圧，心拍数，LV maxdp/dt が変化しない量とした。

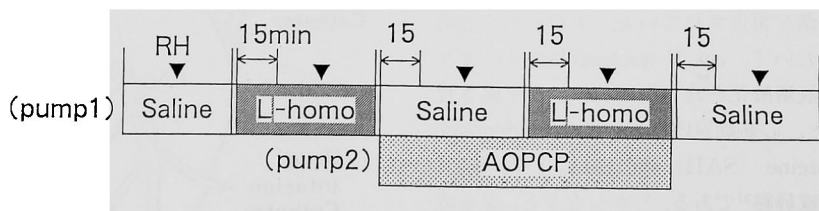
実験プロトコール (図 2 に示す) は，コントロール (生理的食塩水注入)，L-homo 注入，AOPCP 注入，L-homo および AOPCP の同時注入，post control (生理的食塩水注入) の 5 期を構成した。

各注入下に，5，10，15，20，30秒間の冠動脈閉塞による反応性充血を順序無作為に 2 回行った。各反応性充血は，冠血流量が baseline に戻った後，1 分間の間隔をおいて施行した。L-homo，AOPCP 注入下の反応性充血は，各薬物注入開始後 15 分より開始した。また，前の薬物注入中止後 20 分を経た後に，次の薬物注入を開始した。

なお実験中は，occluder による機械的閉塞時の血流ゼロレベルが常に安定していること，ならびに電氣的ゼロレベルと一致していることを繰り返し確認した。

実験終了後，KCl で対象を屠殺したのち，心臓を摘出，LAD 近位部にポリエチレンチューブを挿入固定，持続注入器にて，既知の流速で血液を注入し，電磁血流計の絶対校正を行った。次いで，0.5% の Evans blue 液を注入し，LAD 灌流域を明瞭化し，染色部を切り出し，冠血流量の単位心筋重量当たりの血流量の算出に用い

## PROTOCOL



RH ; reactive hyperemia (5, 10, 15, 20, 30s)  
L-homo ; L-homocysteine thiolactone  
AOPCP ;  $\alpha \cdot \beta$  methylene adenosine 5-diphosphate

図 2 Experimental protocol.

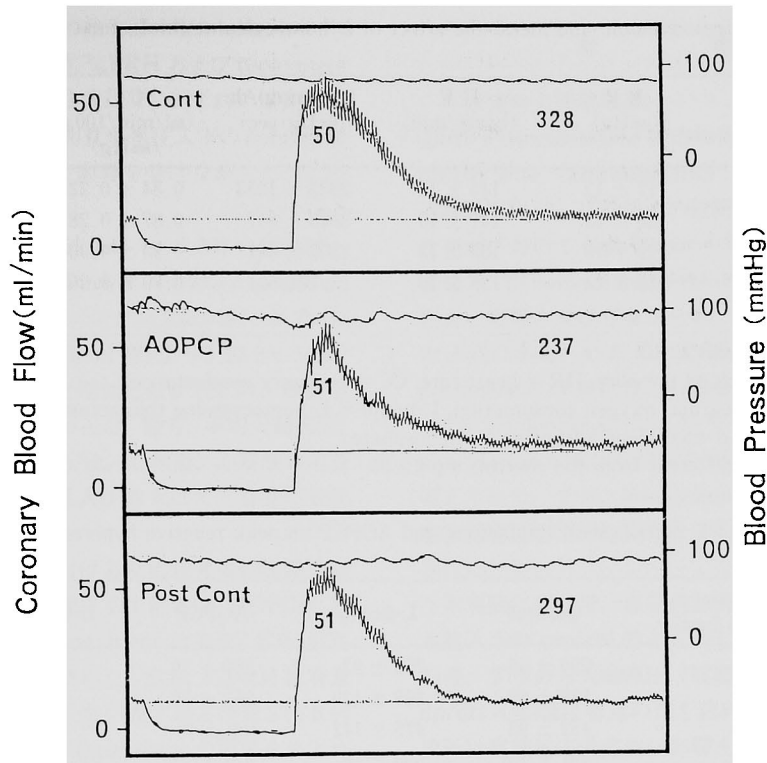


図3 The effects of AOPCP infusion on coronary reactive hyperemic response following 20s occlusion in one dog. Cont, control; post cont, post control.

た。冠血流量と心筋酸素消費量( $MVO_2$ )は、心筋100g当たりで求めた。

血液  $O_2$  含量は、各段階で血行動態安定時に、動脈血および大心静脈血を採血し、求めた。酸素飽和度 ( $SO_2$ ) は、Erma Optical Works Model PWA100 にて、酸素分圧 ( $PO_2$ ) は、Corning model 165/2を用いて測定した。血中 Hemoglobin (Hb) 量は、cyanomethemoglobin法にて測定した。酸素含量 (Cont.  $O_2$ ) は、次式で算出した。

$$\begin{aligned} \text{Cont. } O_2 (\text{vol}\%) &= 1.34 \times \text{Hb} (\text{g/dl}) \times SO_2 (\%) \\ &+ 0.0034 \times PO_2 (\text{mmHg}) \end{aligned}$$

また、LAD 灌流領域の心筋酸素消費量は  $MVO_2$  (vol%)

$$= (\text{動脈血酸素含量} - \text{大心静脈血酸素含量}) \times \text{冠動脈血流量} (\text{ml/min}/100 \text{g})$$

で算出した。

各薬物の冠動脈血漿中濃度 (Concent.) は次

式でもとめた。

$$\begin{aligned} \text{Concent (M)} &= \text{注入薬物速度 (M/min)} / [\text{冠血流量} \\ &(\text{ml/min}) \times 10^{-3} \times (1 - \text{hematocrit}/ \\ &100) \times 0.92] \end{aligned}$$

データ解析：個々の実験がコントロール状態で、以下の条件をみたしたもののみを解析に供した。平均大動脈圧80mmHg以上、15秒 LAD 閉塞時の、percent peak reactive hyperemic flow rate (%PRH)が300%以上、かつ動脈血酸素飽和度が90%以上を条件とした。反応性充血は、Coffman<sup>10)</sup>らにしたがい、percent repayment of flow debt (以下、repayment) と percent peak reactive hyperemic flow rate (以下、%PRH) を求め、各注入期における平均値を比較検討した。

比較の検定には、analysis of variance と Bonferroni の *t*-test を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。成績は、mean  $\pm$  SD で示した。

表1 Hemodynamic and metabolic effect of L-homocysteine thiolactone and AOPCP.

	B P (mmHg)	H R (beats/min)	LVmaxdp/dt (mmHg·sec)	C C (ml/min/100 g /mmHg)	MYO <sub>2</sub> mlO <sub>2</sub> /min /100 g <sup>-1</sup>
Control	117 ± 12	143 ± 15	2933 ± 1033	0.84 ± 0.22	7.52 ± 2.53
L-homo	128 ± 22	141 ± 19	3048 ± 817	0.87 ± 0.28	8.85 ± 3.20*
AOPCP	122 ± 19	139 ± 13	2509 ± 841	0.93 ± 0.30	7.84 ± 2.52
Lhomo + AOPCP	117 ± 14	139 ± 18	2397 ± 621	0.89 ± 0.26	7.22 ± 2.15

Values are mean ± SD. n = 8.

BP = aortic blood pressure, HR = heart rate, CC = coronary conductance,

MYO<sub>2</sub> = myocardial oxygen consumption, L-homo = L-homocysteine thiolactone,

AOPCP = α, β-methylene adenosine 5'-diphosphate.

Significantly different from the control; \*p < 0.05.

表2 Effect of L-homocysteine thiolactone and AOPCP on peak reactive hyperemic flow rate. (%)

Occlusion duration (sec)	Control	L-homo	AOPCP	L-homo + AOPCP
5	290 ± 48	290 ± 83	269 ± 39	282 ± 38
10	388 ± 69	399 ± 129	363 ± 50	367 ± 61
15	452 ± 93	475 ± 142	405 ± 68	399 ± 60
20	494 ± 107	538 ± 167	424 ± 73	418 ± 65
30	526 ± 118	553 ± 200	465 ± 87	467 ± 110

Values are means ± SD. n = 8

L-homo, L-homocysteine thiolactone; AOPCP, α, β-methylene adenosine 5'-diphosphate.

表3 Effect of L-homocysteine thiolactone and AOPCP on the repayment of flow debt. (%)

Occlusion duration (sec)	Control	L-homo	AOPCP	L-homo + AOPCP
5	266 ± 57	276 ± 120	262 ± 72	263 ± 78
10	302 ± 131	347 ± 137	284 ± 82	237 ± 80
15	370 ± 97	347 ± 120	262 ± 82**	262 ± 60**
20	351 ± 91	378 ± 113	263 ± 83**	254 ± 57**
30	367 ± 120	356 ± 122	280 ± 86**	243 ± 38**

Values are means ± SD. n = 8

L-homo = L-homocysteine thiolactone; AOPCP, α, β-methylene adenosine 5'-diphosphate.

AOPCP = α, β-methylene adenosine 5'-diphosphate.

Significantly different from the control; \*\*p > 0.01, \*p < 0.5.

## 成 績

表1にコントロール時の血行動態および心筋酸素代謝の各指標値を示す。これらの各値は、L-homo 注入下の極く軽度の MVO<sub>2</sub> の増加を

除いて、実験全経過を通じて有意の変化を生じなかった。L-homo および AOPCP のLAD 血漿中濃度は、それぞれ223 ± 54.3 μM, 43.8 ± 20.6 μMであった。また、control と post control 間に、反応性充血の指標、すなわち%PRH および

repayment に有意の差を認めなかった。

反応性充血の指標, %PRH および repayment は L-homo 冠動脈注入にて, いずれの冠閉塞時間においても, 生理的食塩水注入下の control 時と有意の差はなく, 影響を受けなかった(表 2, 3)。

AOPCP の LAD 注入にて, LAD 血流量は, 平均 12ml/min より 14ml/min とわずかに増加し, したがって, 冠動脈コンダンスは  $0.84 \pm 0.22$  ml/min/100/mmHg (control 時) より  $0.93 \pm 0.30$  ml/min/100/mmHg へと増加したが(表 1), 統計学的には有意ではなかった。他方, 平均大動脈圧, 左室圧, LVmax dp/dt, 心拍数, 心筋酸素消費量は, AOPCP の LAD 注入にて, 有意の変化を認めなかった。

20秒間冠閉塞における反応性充血の実際の結果を図 2 に示す。図に示す例では AOPCP の LAD 注入にて, repayment は 328% より 237% へと 28% の減少を認めた。他方, %PRH は有意の変化を示さなかった。表 2 および表 3 は 8 例の各 %PRH および repayment の結果をまとめたものである。AOPCP 投与にて repayment は 15 秒以上の冠閉塞にて有意の減少を認め, 各約 30% の減少であった。他方, AOPCP は, 5 および 10 秒の冠閉塞時間の冠動脈反応性充血に, 有意の影響をもたらさなかった。

他方, %PRH は AOPCP 冠動脈注入にて, 減少傾向を示すも, 統計学的には有意には到らなかった(表 3)。

AOPCP の反応性充血に及ぼす影響は, 注入中止 20 分後に消失した。

L-homo および AOPCP 同時注入下による反応性充血の各指標, すなわち repayment および %PRH は, いずれの冠閉塞時間においても, AOPCP 単独注入下のそれらに比して有意の変化を認めなかった(表 2, 3)。L-homo および AOPCP 同時注入時の LAD 血流量は AOPCP 単独注入時に比し, 有意の変化を認めなかった(表 1)。同様に, L-homo および AOPCP 同時注入時における, 平均大動脈圧, 左室圧, LVmax dp/dt, 心拍数, 心筋酸素消費量は, AOPCP 単独注入下に比し, 有意の変化は認めなかった。

## 考 察

本研究の主要結果は,

① Ect-5'-nucleotidase 阻害物質である,  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene adenosine 5'-diphosphate (AOPCP) は, 15 秒以上の冠閉塞の冠動脈反応性充血において repayment を約 30% 減少した, ② 他方, L-homocysteine thiolactone は反応性充血に影響を及ぼさなかった, の 2 点にある。これらの結果は, 細胞間隙の adenosine の生成には, 心筋細胞膜に存在する ect-5'-nucleotidase による 5'-AMP の phosphorylation が重要な役割を果たしているものと考えられた。また, adenosine は反応性充血の約 30% 程度の部分へ関与しているものかと示唆された。

本実験において, 各薬剤注入時, 生理的食塩水注入下の control 時と比較して, 各血行動態指標, すなわち大動脈圧(冠灌流圧), LVmax dp/dt, 心拍数に有意の差を認めなかった。冠灌流圧は直接反応性充血に影響を与えることが報告されており<sup>11)</sup>, また, 心拍数, 心室圧, LV max dp/dt も, 反応性充血の大きさに密接な関係を有している。したがって, 薬物の反応性充血への影響を検討する際には, それらの反応性充血に及ぼす他の因子をコントロールすることが重要である。この点に関し, 本実験では, 前述の如くこれらの因子に, 全経過において, 特に薬物注入下において, 有意の変化を認めず, したがって生じた反応性充血の変化は薬物事態によるものと判断された。

また, 心筋酸素消費量と, reactive hyperemic flow の大きさは正相関すると報告されている<sup>12)</sup>。L-homo 注入時, 軽度ではあるが, MVO<sub>2</sub> は control 時に比し, 有意の増加を認めたが, 心筋酸素摂取率に変化を認めなかった。心筋酸素摂取率が変化を認めない条件下での, MVO<sub>2</sub> の変化は, flow debt と共に reactive hyperemic flow を同じ比率で変化させ, したがって, MVO<sub>2</sub> 上昇のみでは repayment (percent repayment of flow debt) は変化させない<sup>12)13)</sup>。L-homo 注入時の MVO<sub>2</sub> が生理学的に極く軽度であることに加え, 上記より, L-homo 注入下の反応性充

血の結果に、 $MVO_2$ の変化は関与していない(maskしてない)と考えられる。他方、AOPCP 注入下では、 $MVO_2$ は変化を認めず、したがって、生じた反応性充血の変化は薬物自体によるものと判断された。

L-homo は単独では反応性充血に有意な影響を及ぼさず、また AOPCP による反応性充血の減弱にも相加的な影響を及ぼさなかった。細胞内の adenosine は、S-adenosylhomocysteine (以下 SAH) より、S-adenosylmethionine を経て生成される代謝経路が報告されており、L-homo 投与は、本経路 (adenosine + L-homocysteine = SAH +  $H_2O$ ) に作用し、adenosine の SAH からの生成を抑制させると報告されている<sup>14)</sup>。本実験結果は、冠動脈血漿中濃度  $223 \pm 54.3 \mu M$  にも、L-homo は反応性充血に影響を及ぼさなかった。本濃度は、有意に細胞内 adenosine 濃度に影響を与えることが報告されている<sup>15)</sup>。したがって、本実験結果からは、adenosine theory において、反応性充血に於ける細胞間隙の adenosine は、少なくとも大きな部分は、細胞内の S-adenosylhomocystein 経路よりの心筋細胞内 adenosine 生成を源としていないと考えられた。この点に関し、Deussenら<sup>15)</sup>は、guinea pig の摘出灌流心および麻酔開胸犬において、虚血時、心組織中の total adenosine 量と平行して SAH の増加を認めたと報告している。彼らの実験においては、細胞間隙中の adenosine 濃度を測定しておらず、したがって単純に本実験結果との比較は不可能と考えられる。また、実験対象動物、実験方法等の差も、本実験結果との差の一因かと推測された。

本実験において、AOPCP の冠動脈血漿中濃度は、 $43.8 \pm 20.6 \mu M$  であった。この点に関して、Schutz ら<sup>14)</sup>は、guinea pig 摘出灌流心において、 $50 \mu M$  の濃度の AOPCP は、ect-5'-nucleotidase 活性の 85% を阻害することを認め、さらに Naito ら<sup>16)</sup>は、AOPCP の ect-5'-nucleotidase 活性に対する阻害定数 ( $K_i$ ) は、 $6 \text{ nM}$  と報告している。これらの報告から、本実験における AOPCP の投与量は、ect-5'-nucleotidase 活性を阻害するに充分であったと結論される。

15秒以上の冠閉塞においては、repayment は AOPCP 注入下で有意に減少したが、10秒以下の冠閉塞では、AOPCP は repayment に影響を与えなかった。Eikens ら<sup>17)</sup>は、10秒以下の反応性充血では、冠動脈のトーンズの制御に関しては、myogenic control が大きな役割をはたしていることを報告しており、その後の報告も同様の成績である。以上から、AOPCP が10秒以下の反応性充血に影響を認めなかった結果は説明される。

AOPCP は、15秒以上の冠閉塞に対する反応性充血の repayment を有意に減少させた。15秒以上の冠閉塞後の反応性充血には代謝性因子が大きく関与しているとされている。代謝性因子の中でも、adenosine は最も多く研究<sup>2-4)</sup>がなされ、adenosine は少なくとも部分的には、冠動脈血流の制御に関与していると考えられている。しかしながら、細胞間隙の adenosine の生成経路に関してはなお結論には到ってはいない。生成経路に関しては、細胞内よりとするもの、心筋細胞膜にあるものと見解が異なっている。adenosine の生成経路に関しては、前述の S-adenosylhomocystein 経路の他に、5'-AMP の脱リン酸化による経路がある。後者は、5'-nucleotidase を介して生成される。免疫組織、あるいは cell fractionation technique により、5'-nucleotidase は心筋細胞膜への存在が報告されて<sup>18,19)</sup>、ectoenzyme であることが明らかにされている<sup>20)</sup>。本実験結果において、5'-nucleotidase の阻害剤 AOPCP が反応性充血を有意に抑制したことより、虚血時における adenosine の生成増加に、心筋細胞膜に存在する、5'-nucleotidase による 5'-AMP の脱リン酸化が、重要な経路であると考えられた。

一方、AOPCP は反応性充血を完全には抑制せず、15秒以上の冠閉塞時間において、約 30% であった。本検討で採用した AOPCP 投与量は 5'-nucleotidase 阻害に充分であったと考えられ、AOPCP が 5'-nucleotidase の阻害が不完全であったことは考えにくい。従来、adenosine receptor blocker を用いた実験においても、同様に約 1/3 の減少が報告されており<sup>6,7)</sup>、本実験結果と、これらの報告を合わせると、反応性充

血の代謝性因子の約30%を、adenosine が占めていることが示唆された。

### 結 語

心筋細胞間隙中の adenosine が冠循環調節に重要な役割を果たしているとの報告は多い。そこで細胞間隙 adenosine の生成経路を解明する目的で、心筋細胞内 adenosine 濃度に影響を与える L-homocystein thiolactone (以下、L-homo)の反応性充血への影響を検討した。他方、細胞膜に局在し、5'-AMP の脱リン酸化による adenosine 生成への関与が示唆されている ect-5'-nucleotidase の阻害剤である  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene adenosine 5'-diphosphate (以下 AOPCP) 投与下で反応性充血を検討した。麻酔開胸犬を用い、左冠動脈前下降枝血流を測定、上記薬物を持続注入し、各薬剤注入下で、冠閉塞による反応性充血を検討した。

結果は、

1) L-homo は反応性充血に有意の影響をも

たらさなかった。

2) 他方、AOPCP は15秒以上の冠閉塞における反応性充血の repayment of flow debt を有意に約30%減弱させた。

これらの結果は、心筋細胞膜における ect-5'-nucleotidase による 5'-AMP の phosphorylation が、虚血時、細胞間隙の adenosine の生成に重要な役割を果たしていると考えられた。また、adenosine は冠動脈反応性充血の代謝性因子の約30%程度の部分へ関与しているものと示唆された。

稿を終えるにあたり、終始ご指導・ご校閲をいただいた辻 孝夫教授と草地省蔵助手に深甚なる謝意を表します。また研究に際し、ご助力をいただいた岡山大学循環器内科、原岡昭一教授、斉藤大治助教授に深謝いたします。

尚、本論文の要旨は、第30回日本脈管学会、第53回日本循環器学会総会に於て発表した。

### 文 献

- 1) Berne RM : Cardiac nucleotides in hypoxia : Possible role in regulation of coronary blood flow. *Am J Physiol* (1963) **204**, 317-322.
- 2) Berne RM and Rubio R : Coronary circulation ; in *Handbook of Physiology : The cardiovascular system*, section 2, vol. 1, Berne RM and Sperelakis N eds, American Physiological Society, Washington DC (1979) pp 873-952.
- 3) Olsson RA and Beunger R : Metabolic control of coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Dis* (1987) **29**, 369-387.
- 4) Marcus ML : Metabolic regulation of coronary blood flow ; in *The coronary circulation in health and disease*, Marcus ML ed, McGraw-Hill, New York (1983) pp 65-92.
- 5) Olsson RA, Snow JA and Gentry MK : Adenosine metabolism in canine myocardial reactive hyperemia. *Circ Res* (1978) **42**, 358-362.
- 6) Curnish RR, Berne RM and Rubio R : Effect of aminophylline on myocardial reactive hyperemia. *Proc Soc Exp Biol Med* (1972) **141**, 593-598.
- 7) Hina K, Watanabe H, Ueeda M, Yamada N, Sito D, Haraoka S, Tsuji T and Kusachi S : Forskolin potentiates myocardial reactive hyperemia in the open chest dog : The contribution of adenylate cyclase. *Cardiovasc Res* (1989) **23**, 104-111.
- 8) Berne RM : The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ Res* (1980) **47**, 807-813.
- 9) Schrader J, Schutz W and Bardenheuer H : Role of A-adenosylhomocysteine hydrolase in adenosine metabolism in mammalian heart. *Biochem J* (1981) **196**, 65-70.

- 10) Coffman JD and Gregg DE : Reactive hyperemic characteristics of the myocardium. *Am J Physiol* (1960) **199**, 1143—1149.
- 11) Dole WP, Montville WJ and Bishop VS : Dependency of myocardial reactive hyperemia on coronary artery pressure in the dog. *Am J Physiol* (1981) **240**, H709—H715.
- 12) Bache RJ, Cobb FR and Greenfield JC Jr : Effects of increased myocardial oxygen consumption on coronary reactive hyperemia in the awake dog. *Circ Res* (1973) **33**, 588—596.
- 13) Watanabe H, Kusfachi S, Saito D, Hina K, Tani H, Ueeda M, Mima T, Uchida S, Haraoka S and Tsuji T : Reactive hyperemic flow characteristics of right coronary artery compared to the left anterior descending coronary artery in the open-chest dog. *Pflügers Arch Eur J Physiol* (1990) **417**, 410—417.
- 14) Schutz W, Schrader J and Gerlach E : Different sites of adenosine formation in the heart. *Am J Physiol* (1981) **240**, H963—H970.
- 15) Deussen A, Borst M and Schrader J : Formation of S-adenosylhomocystein in the heart. I : An index of free intracellular adenosine. *Circ Res* (1988) **63**, 240—249.
- 16) Naito Y and Lowenstein Y : 5'-Nucleotidase from rat heart membranes : Inhibition by adenine nucleotides and related compounds. *Biochem J* (1985) **226**, 645—651.
- 17) Eikens E and Wilken DEL : Reactive hyperemia in the dog heart : Effects of temporarily restricting arterial inflow and of coronary occlusions lasting one and two cardiac cycles. *Circ Res* (1974) **35**, 702—712.
- 18) Olsson RA, Gentry MK and Townsend RS : Adenosin metabolism : properties of dog heart microsomal 5'-nucleotidase; in *Current topics in coronary research*, vol 39, Puenum, New York (1973) pp 27—39.
- 19) Rubio R, Berne RM and Dobson JG : Sites of adenosin production in cardiac and skeletal muscle. *Am J Physiol* (1973) **225**, 938—953.
- 20) Baner HP and Drummond GI : Catabolism of adenine nucleotides by the isolated perfused heart. *Proc Soc Exp Biol Med (USA)* (1968) **127**, 33—36.



**$\alpha$ ,  $\beta$ -Methylene adenosine 5'-diphosphate attenuates myocardial reactive hyperemia in the open chest dog**

**Tsutomu MIMA**

**First Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. T. Tsuji)**

Adenosine, a potent vasodilator, may be involved in the metabolic control of coronary blood flow. However, the site of adenosine formation remains unclear. Evidence has demonstrated that L-homocysteine (L-homo) can decrease the cytosolic adenosine level and  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene adenosine 5'-diphosphate (AOPCP) can inhibit ect 5'-nucleotidase which catalyzes the formation of adenosine from 5'-AMP at the myocyte membrane. We examined the effects of L-homo and AOPCP on coronary reactive hyperemia following transient coronary occlusion in the open chest dog. Intracoronary L-homo infusion with coronary plasma concentration of  $223 \pm 54.3 \mu\text{M}$  did not affect myocardial reactive hyperemia. Intracoronary AOPCP infusion, which produced coronary plasma concentration of  $43.8 \pm 20.6 \mu\text{M}$  and had no effect on hemodynamics or myocardial oxygen consumption, significantly attenuated repayment of flow debt by approximately 30% following coronary occlusions longer than 15 s. Concomitant infusion of L-homo and AOPCP did not change the attenuation of the repayment by AOPCP infusion alone. Percent peak reactive hyperemic response was not affected by L-homo or AOPCP infusion.

These results indicated that ect 5'-nucleotidase contributed to adenosine formation during transient ischemia and adenosine is involved in approximately 1/3 of metabolic vasodilation following transient coronary occlusion.