

虚血心筋の収縮能に与える ATP 感受性カリウムチャネルの影響

岡山大学医学部循環器内科学教室 (指導: 原岡昭一教授)

水 尾 浩 三

(平成 6 年 2 月 14 日受稿)

Key words : ATP-sensitive potassium channel, myocardial ischemia, regional myocardial function, segment shortening, glibenclamide

緒 言

ATP 感受性カリウムチャネル (K_{ATP} チャネル) は、心臓においては虚血時の冠動脈トーンズの調節にかかわる重要な役割をはたしていることが示唆されている。即ち、ラット摘出心や麻酔開胸犬を用いた実験から、一過性虚血後の反応性充血や虚血時の微小血管の自動調節反応に冠血管の K_{ATP} チャネルが関与することが報告されている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。これは虚血で冠動脈平滑筋の K_{ATP} チャネルが開くことにより膜電位が過分極し、 Ca^{++} の流入を抑えて血管平滑筋が弛緩し、冠血流量が増加すると考えられている⁵⁾。一方、最近 Grober ら⁶⁾⁷⁾ は摘出モルモット心の虚血再灌流モデルで種々の K_{ATP} チャネル開口薬が虚血心の機能的代謝的改善を促進し、この効果は K_{ATP} チャネル遮断薬である glibenclamide によって抑制されることを示した。また Autschampach ら⁸⁾ は犬の虚血再灌流モデルで、glibenclamide 投与群が再灌流後の心筋局所壁運動異常を悪化させることを示した。さらに Gross ら⁹⁾ は glibenclamide が preconditioning 効果を消失させたことを報告している。しかし、これらの研究はいずれも虚血心筋への血流量の変化と心筋収縮の変化が同時に起こっており、両者の分離が十分行われていない。虚血領域への心筋血流が減少すると、当然心収縮が異常を生じることから、 K_{ATP} チャネルが心筋の Ca^{++} 流入に直接影響を与えて心筋収縮をコントロールしているかどうかは心筋血流の影響を除外して

検討することが必要である。そこで著者は K_{ATP} チャネルが心筋収縮に直接影響を与えているか否かを明らかにする目的で、麻酔開胸犬を用い冠動脈狭窄モデルで定流量灌流を行って冠血流の影響を除くことにより、glibenclamide 及び K_{ATP} チャネル開口薬が虚血心筋の収縮に与える影響を検討した。

対象と方法

雑種成犬 14 頭 (体重 10-30 kg) を用い、ketamine hydrochloride (0.1 mg/kg) 皮下注にて鎮静後、sodium pentobarbital (30 mg/kg) で静脈麻酔し、酸素と空気の混合気にて陽圧人工呼吸 (Sumit Medical, Model B-3333F) を行った。次いで左第 5 肋間より開胸し、心膜を切開して pericardial cradle を作成した。一回換気量、換気回数および吸気酸素濃度を調節し、必要に応じ 7% $NaHCO_3$ を静脈内に点滴投与することにより動脈酸素分圧を 80-120 mmHg、炭酸ガス分圧を 35-45 mmHg、pH を 7.35-7.45 に維持した。ヘパリン 5000 単位静脈内投与後、Fig. 1 に示すように左冠動脈前下行枝近位部にポリエチレンチューブを挿入し、左頸動脈から自己血灌流した。バイパス回路内には電磁流量計プローブ [日本工電機, Model MVF-3100] を装着し、同時に冠灌流圧測定用ポリエチレンチューブを刺入した。さらに二本の薬物注入用の細いポリエチレンチューブを穿孔固定し、その先端をそれぞれ自動注入ポンプに接続した。左冠動脈前下行枝灌流域及び回旋枝灌流域の左室心筋内膜

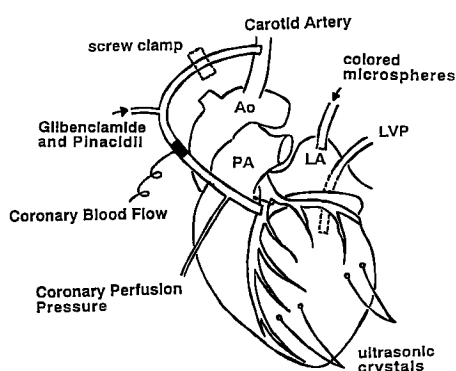


Fig. 1 Schematic illustration of instrumentations. Ao: aorta, PA: pulmonary artery, LA: left atrium, LVP: Left ventricular pressure.

下に、それぞれ一対の超音波クリスタルディメンジョンゲージ [日本工電機, Model ZA-70] を 8-10mm 間隔で左室短軸に平行となるように装着し、局所心筋長の変化 (局所心筋短縮率) を測定した。右大腿動脈より上行大動脈にカテーテルを挿入し大動脈圧を、左心耳より左室内にカテーテルを挿入し、左室圧およびその一次微分を測定した。さらに前下行枝領域の心筋酸素消費量および血中乳酸濃度の計測のために、右心耳より冠静脈洞を経て大心静脈まで採血用のカテーテルを挿入した。冠動脈血流量、冠動脈灌流圧、大動脈圧、左室圧及びその一次微分ならびに局所心筋長は直記式 Jet Recorder [日本工電機, Model RIJ-2108] を用いて紙送り速度 2.5mm/sec で連続記録し、必要に応じて 100mm/sec の記録も行った。血液ガス分析は血液採取後直ちに Blood Gas Analyzer [Sysmex(株), AVL-990] を用いて測定した。心筋酸素消費量は次の式で求めた。心筋酸素消費量 (ml/min/100g・心筋重量) = 冠動脈血流量 (ml/min/100g・心筋重量) × 冠動静脈血酸素濃度較差 (vol%) を用い、血液酸素濃度 (vol%) = $1.34 \times \text{Hb 濃度 (g/dl)} \times \text{酸素飽和度 (\%)} \times 0.01 + 0.0013 \times \text{酸素分圧 (mmHg)}$ とした。また乳酸は血液採取後直ちに 1.0N HClO₄ と混和し、血清を遠心分離後酵素法にて測定した。乳酸摂取率は冠動静脈血乳酸濃度較差を冠動脈血乳酸濃度で除して求めた。

血行動態の安定後、前下行枝を 20 秒間閉塞し、

開放後の反応性充血から冠動脈の反応性が正常に保たれていることを確認した後、血行動態、心筋短縮率の記録および採血を行いコントロール値とした。次いで、冠血流量が対照時の約 50% になるようにバイパスチューブに狭窄を加え、以後一定に保って定流量灌流を行いながら以下の検討を行った。

1. glibenclamide を冠動脈血中濃度が $150 \mu\text{M}$ となるように回路内に持続投与した。
 2. glibenclamide と同時に pinacidil を冠動脈血中濃度が $30 \mu\text{M}$ となるように持続投与した。
- なお glibenclamide は 0.02N NaOH で、pinacidil は 0.02N KCl で溶解した後、蒸留水で glibenclamide は 6.0mM, pinacidil は 0.9mM の濃度に希釈した。薬物を冠動脈注入する際には冠血流量の 5% を越えないように注入速度を設定した。

glibenclamide および pinacidil の冠動脈血漿濃度は以下の式により算出した。即ち、薬物血漿濃度 (M) = 薬物注入速度 (mol/min) / [冠血流量 (ml/min) × 10^{-3} × (1 - hematocrit/100) × 0.92]。また、冠血流の心筋内血流分布を検討するために、別に 4 頭の犬でコントロール時、狭窄時、glibenclamide 投与時、glibenclamide と pinacidil を同時投与時において、それぞれ色の異なる Colored Microsphere (E-Z Trac 社, 直径 $15 \mu\text{m}$) を、Kowallik らの方法¹⁰⁾ に従って各々約 1000 万個を左心耳から注入し、注入と同時に右大腿動脈より基準血液を 90 秒間定速度 (8 ml/min) で採取した。実験終了後、ポリエチレンチューブ内に 5% Evance Blue 溶液を注入し、冠動脈の支配領域を決定し、ディメンジョンゲージが各支配領域の内皮下心筋内に装着されているを確認した。その後、心臓を摘出して前下行枝領域の心筋重量を測定し、冠血流量を心筋重量 (100g) 当りの流量に換算した。また前下行枝及び回旋枝領域の心筋をそれぞれ 2-3g の切片として切除した後、心内膜層と心外膜層に 2 分し、その各 3-4 個を用いて局所心筋血流量の算出に供した。心筋内 Microsphere 数は各心筋標本を 16N NaOH で心筋組織を溶解遠沈し、沈渣を蒸留水で数回洗浄遠沈した後、顕微鏡にて色毎の Microsphere 数を計

測して counts/g で表した。局所心筋血流量の算出には Kowallik らの方法¹⁰⁾に従って下記の計算式を用いた。

$$Q_m = C_m \times Q_r / C_r$$

Q_m : 局所心筋血流量 (ml/min/g)

C_m : 心筋内 Microsphere 数 (counts/g)

Q_r : 基準血液の回収率 (ml/min)

C_r : 基準血液内の Microsphere 数 (counts)

結果は mean±SEM で表示し、コントロール時、低灌流時、および薬物負荷時の各々の群間の比較には一元配置分散分析および Bonferroni's modified Student t-test を用い、p < 0.05 を有意水準とした。

結 果

Table. 1 および Fig. 2 に低灌流時、薬物負荷時の血行動態、局所心筋長の変化を示す。低灌流時、薬物負荷時ともコントロール時と比べて心拍数、平均大動脈圧、左室拡張末期圧に有意な差は認めなかった。低灌流操作にて冠動脈血流量はコントロール時の49±1%へ、冠動脈

灌流圧は55±3%へと低下した (Table. 1)。左室末期心筋長はやや増大し、心筋短縮率は17.8±1.8%から13.2±1.9%へと低下した (Fig. 2)。glibenclamide の投与により冠血管低抗は有意に上昇するとともに、冠動脈灌流圧は62±3 mmHg と軽度上昇し、心筋短縮率は3.3±1.3%へと著明に低下した。これに pinacidil を同時投与すると、冠血管低抗の減少により、冠動脈灌流圧は49±3 mmHg と低下したが、心筋短縮率は11.4±1.5%へと glibenclamide 投与前の値にまで改善した。また、狭窄領域の局所心筋血流量は、狭窄により外層血流は変化しなかったが内層血流は1.48±0.10 ml/min/g から1.03±0.07 ml/min/g へと有意に減少し、その結果内層対外層血流比は、1.17±0.04 から0.82±0.05 へと有意に低下した (Fig. 3)。この状態で glibenclamide、あるいは glibenclamide と pinacidil を同時投与すると、冠血管抵抗の変動にもかかわらず心筋血流は内層、外層とも変化せず、心内層対外層血流比も glibenclamide 投与後0.94±0.07、glibenclamide と pinacidil 同時投与後には0.83±0.04 と有意な変化を示さなかつ

Table 1 Effects of interventions on hemodynamics.

	n	Control	stenosis	glibenclamide	glibenclamide + pinacidil
HR (bpm)	14	151±4	151±4	150±4	149±1
mAoP (mmHg)	14	97±4	96±3	98±4	97±3
LVEDP (mmHg)	8	6±0.6	6±0.6	6±0.7	6±0.7
LVmaxdP/dt (mmHg/sec)	11	3120±340	3250±360	3180±380	3220±380
CBF (ml/min/100 g)	14	80±1	39±1	39±1	39±1
			p < 0.001		
CPP (mmHg)	14	92±3	52±3	62±3	49±3
			p < 0.001		
				p < 0.05	
				p < 0.01	
CR (mmHg/ml/min/100 g)	14	1.15±0.04	1.35±0.06	1.65±0.08	1.24±0.07
			p < 0.05		
			p < 0.01		
			p < 0.001		

HR: heart rate, mAoP: mean aortic pressure, LVEDP: left ventricular end-diastolic pressure, LVmaxdP/dt: maximum rise of left ventricular pressure, CBF: coronary blood flow, CPP: coronary perfusion pressure, CR: coronary vascular resistance, Values are mean±SEM.

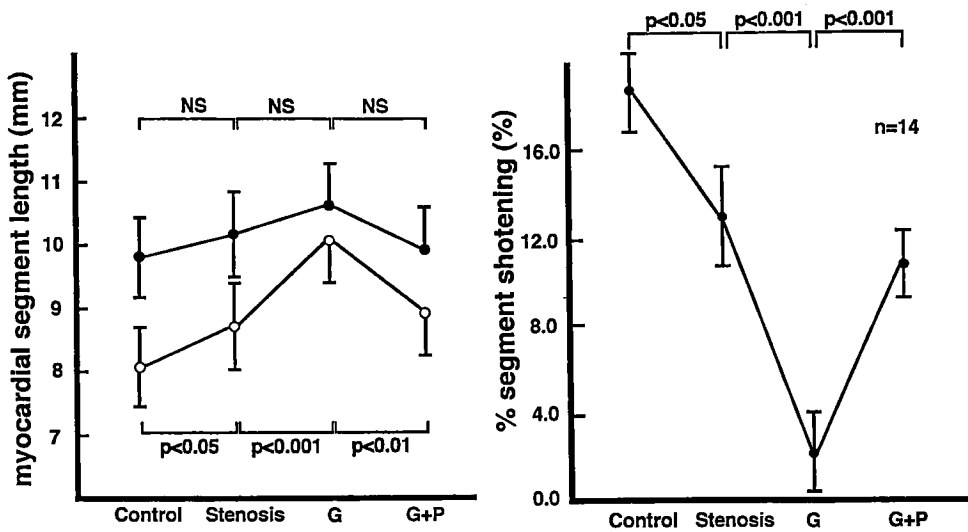


Fig. 2 Effects of interventions on regional wall motion in the ischemic myocardium (left anterior descending coronary area). The left panel shows the segment length and the right shows % segment shortening. Left panel: ●—● end-diastolic segment length (mm), ○—○ end-systolic segment length (mm). G: glibenclamide, G+P: glibenclamide+pinacidil. Value are mean±SEM. NS: not statistically significant.

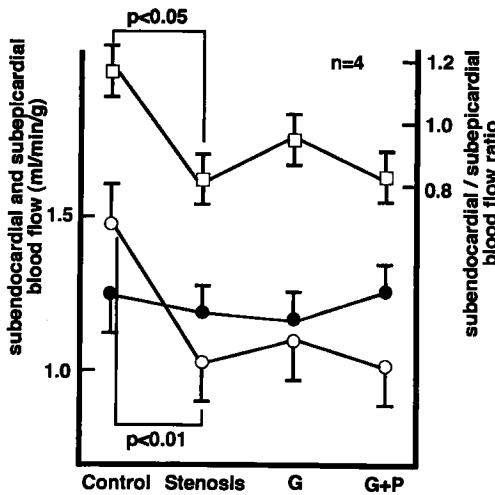


Fig. 3 Effects of interventions on regional myocardial blood flow in the ischemic region (left anterior descending coronary area). ○—○ subendocardial blood flow (ml/min/g), ●—● subepicardial blood flow (ml/min/g), □—□ subendocardial/subepicardial blood flow ratio. G: glibenclamide, G+P: glibenclamide+pinacidil. Value are mean±SEM.

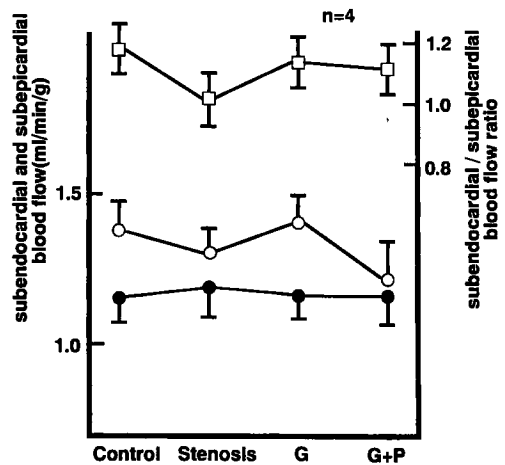


Fig. 4 Effects of interventions on regional myocardial blood flow in the non-ischemic region (left circumflex coronary area). ○—○ subendocardial blood flow (ml/min/g), ●—● subepicardial blood flow (ml/min/g), □—□ subendocardial/subepicardial blood flow ratio. G: glibenclamide, G+P: glibenclamide+pinacidil. Value are mean±SEM.

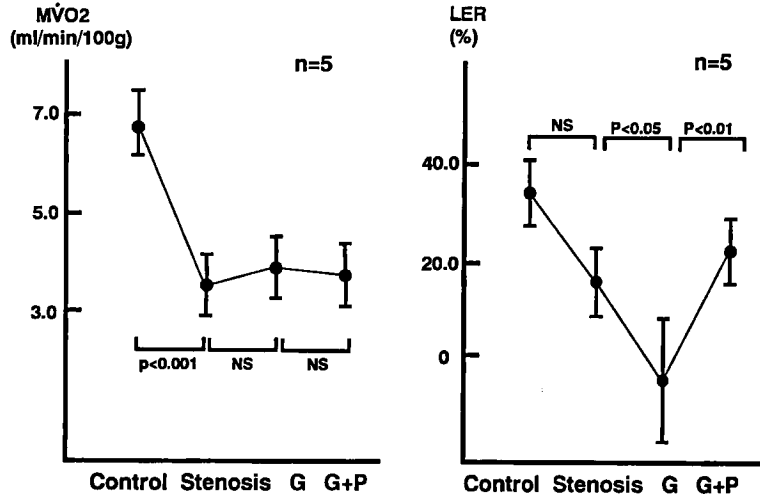


Fig. 5 Effects of interventions on myocardial oxygen and lactate metabolism in the ischemic region (left anterior descending coronary area). MVO2: Myocardial oxygen consumption (ml/min/100 g). LER: lactate extraction ratio (%). G: glibenclamide, G+P: glibenclamide+pinacidil. Valuse are mean \pm SEM. NS: not statistically significant.

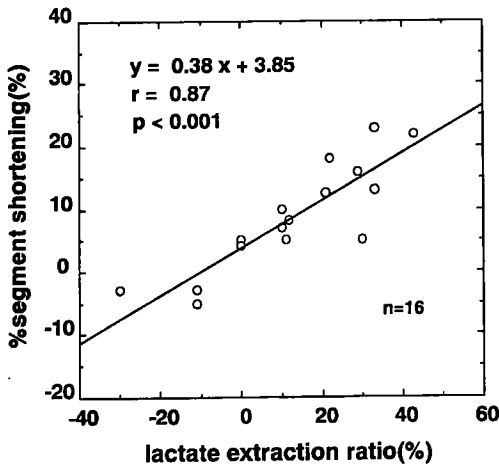


Fig. 6 The relationship between lactate extraction ratio and % segment shortening in the ischemic myocardium. (left anterior descending coronary area). The two measurement varied with a closed relationship; % segment shortening = 0.38 (lactate extraction ratio) + 3.85, $r = 0.87$, $P < 0.001$.

た(Fig. 3). 一方、回旋枝領域の局所心筋血流には、実験を通じて有意な変化は認められなかった(Fig. 4). 心筋酸素消費量はコントロール時の 6.75 ± 0.50 ml/min/100 g より低灌流により 3.54 ± 0.30 ml/min/100 g へと約52%に減少したが、glibenclamide 投与では 3.94 ± 0.3 ml/min/100 g, pinacidil 同時投与時には 3.82 ± 0.30 ml/min/100 g と、これらの薬物によりほとんど影響を受けなかった。一方、乳酸摂取率は低灌流時に $34 \pm 5\%$ より $19 \pm 5\%$ へと減少し、glibenclamide 投与により更に減少して $-7 \pm 12\%$ となり、乳酸産生に傾いた。これに pinacidil を同時投与すると、乳酸摂取率は $24 \pm 9\%$ へと glibenclamide 投与前の値にまで増大した(Fig. 5).

次に、局所心筋収縮率(%SS)と他のパラメーターとの関係について検討したところ、%SSは低灌流、薬剤投与の両者で著明な変動を示したのに対し、心筋酸素摂取量、冠血流量、心筋内血流量および心筋内血流分布は薬剤で変化せず、%SSとの間に一定の関係は認められなかった。これに対して%SSと乳酸摂取率(LER)の

間には Fig. 6 のごとく $\%SS=0.38 \text{ LER} + 3.85$ ($r=0.87$, $P<0.001$) で表される密接な正相関を認めた。

考 察

低流量灌流虚血時、 K_{ATP} チャンネル遮断薬である glibenclamide は、虚血領域の冠動脈血管抵抗を有意に上昇させ心筋収縮を低下させた。この冠血管抵抗の上昇および心筋収縮の低下が K_{ATP} チャンネル開口薬である pinacidil により改善したことは、これらの変化が K_{ATP} チャンネルを介するものと考えられる。

K_{ATP} チャンネルの遮断薬として glibenclamide, tolbutamide などの sulfonylurea 系の糖尿病治療薬があるが、十分な ATP の存在下では心筋細胞の K_{ATP} チャンネルを遮断するのに $400\mu\text{M}$ 程度の高濃度が必要で、平滑筋、膵臓 β 細胞での濃度の約 20 倍を必要とする¹¹⁾。しかし、低酸素状態や虚血心筋では、わずかな心筋内 ATP の低下で有意な K_{ATP} チャンネルの開口を生じており¹²⁾、より低濃度の glibenclamide で K_{ATP} チャンネルの遮断を来たし得ると考えられる。事実、Aversano ら¹³⁾ は、 $50\text{--}80\mu\text{M}$ の glibenclamide で、Duncker ら¹⁴⁾ も $10\text{--}50\mu\text{M}$ の冠動脈内濃度で K_{ATP} チャンネルが明らかに抑制されたことを報告している。そこで著者は低灌流虚血心筋の K_{ATP} チャンネル遮断に冠動脈内濃度が $150\mu\text{M}$ となるように glibenclamide を投与した。この投与量は Aversano らが用いた約 2 倍の濃度であり、冠動脈および心筋 K_{ATP} チャンネルの遮断には十分な濃度と考えられる。

著者は、局所心筋血流量の測定には Colored Microsphere を使用したが、一般に Microsphere を用いて局所心筋血流量を測定する際には注入量が問題となる。正常部の血流量の約 1/2 の血流を有する虚血域で $\pm 5\%$ の精度を要求する場合には、一回の注入量が約 500 万個以上を必要とすると考えられる¹⁴⁾。一方、大量の Microsphere を用いると血行動態の変化、特に心筋虚血を招来する可能性があるが、文献的には 2000 万個注入しても血行動態の変化は見られていない¹⁰⁾。そこで著者は十分な測定精度が得られ、かつ血行動態に影響を与えない Microsphere の投与量と

して 1000 万個を使用した。

心筋収縮力を変化させるものとして局所心筋血流の影響が考えられる。冠動脈に狭窄を作り冠灌流圧を autoregulation の範囲以下に低下させると、心内膜層/外膜層血流比が段階的に減少し、局所壁運動異常を生じることが知られている。Gallagher ら¹⁵⁾ は超音波ディメンジョンゲージにより測定した左室壁厚増加率の低下が、冠動脈狭窄時の心内膜下心筋血流量と密接に直線相関するが、心外膜側心筋血流量とは弱い相関しか示さないことを示した。そこで著者は平均冠血流量が約 50% 減少し、反応性充血が消失した状態で心内膜下心筋の心筋収縮を測定した。この状態では冠動脈灌流圧は 53mmHg と autoregulation の作動範囲を逸脱したと考えられる低値を示し、心筋局所短縮率、心内膜血流量、心内膜層/外膜層血流比は有意に減少を認めた。

冠血流量を低灌流状態に維持したまま、これに glibenclamide を投与すると、心筋血流量、心筋血流分布に有意な変化を示す事なく局所心筋短縮率の低下を認め、pinacidil により改善した。この間大動脈圧、左室拡張末期圧、心拍数など心筋酸素需要に影響する血行動態にも変化が認められなかったことより、局所心筋収縮の変化は、心筋血流量や血行動態の変化を介したのではなく、心筋細胞への glibenclamide の直接作用と推察される。

1950 年中頃、虚血早期より細胞外に K^+ が流出して固有心筋の活動電位持続時間が短縮することが見いだされた。その後多くの研究において glibenclamide が虚血早期より活動電位幅の短縮を抑制し¹⁶⁾、また細胞外への K^+ の流出を抑制する¹⁷⁾ ことが示されてきた。したがって虚血早期の活動電位幅短縮は主に K_{ATP} チャンネルの活性化が関与していると思われる。以前より虚血時には主として $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ 交換機構の障害により早期より心細胞内 Ca^{++} 濃度も上昇することが知られている¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。細胞内 Ca^{++} 濃度の著明な増加は、カルシウム依存性のリン酸化酵素や蛋白分解酵素を活性化させ、心筋収縮機構の異常をもたらす²¹⁾。虚血によって K_{ATP} チャンネルが開口することにより活動電位持続時間が短縮すると、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ 交換機構を介する内向きカルシウム流

入を減らすと考えられ、細胞内カルシウムオーバーロードを防ぎ心筋保護的に作用する。この際、glibenclamideにより K_{ATP} チャンネルを遮断するとカルシウムオーバーロードを助長し、心筋収縮の悪化を来すと考えられる。

一般に *in vitro* において nicorandil, pinacidil, cromakalim などの K_{ATP} チャンネル開口薬は、 $1\mu M$ 程度で血管拡張作用を有し $10-30\mu M$ の高濃度では心筋細胞の活動電位幅を短縮し収縮力を低下させる¹¹⁾。これらの K_{ATP} チャンネル開口薬は細胞内 ATP 濃度が正常な状態においても高用量でこのチャンネルを部分的に開口させる作用を持っており細胞内 ATP が減少した病的状態ではさらに低用量で開口薬としての効果が発現すると考えられる。著者は冠動脈血中濃度が $30\mu M$ となるような pinacidil の投与量を用いたが、この濃度は通常では心筋収縮力を低下させるような高濃度にもかかわらず、glibenclamide で引き起こされた心筋収縮の低下を明らかに改善した。従って本研究で認められた glibenclamide による虚血領域の心筋収縮の悪化は、 K_{ATP} チャンネルの遮断によるカルシウムオーバーロードの助長によって生じ、pinacidil はこれを改善したことが考えられる。

一方、glibenclamide は心筋の K_{ATP} チャンネルを介さず、心筋細胞の代謝に直接影響を及ぼして、虚血心筋の収縮を悪化させた可能性も否定できない。従来より虚血再灌流モデルで、再灌流後の stunned myocardium では局所壁運動の低下を認めるにもかかわらず、虚血前に比べて局所心筋酸素摂取量は同じかあるいはむしろ増えていることが指摘されている²²⁾。Krause ら²³⁾ は、再灌流後には筋小胞体機能の抑制があり、

Ca^{++} 輸送、Ca, Mg-ATP_{ase}の傷害を認めており、この部位での ATP の供給に酸素が必要と考えている。glibenclamide 投与により虚血領域の酸素需給バランス自体には一見変化がないと思えるにもかかわらず、局所心筋収縮は悪化し乳酸産生に傾いた。しかも、乳酸摂取率の変化と%SS とが密接な正相関を示したことは、血流とは独立に心筋エネルギーの産生-利用機構に傷害を生じたことを示すものと考えられる。これは現象的には上記の Stunned myocardium との類似性を示しており、今後この方面からの検討が必要と考えられる。またWeiss ら²⁴⁾は、 K_{ATP} チャンネルと解糖系で産生された ATP とが相互作用を有する可能性を示唆しており glibenclamide による K_{ATP} チャンネルの遮断が解糖系による ATP 産生に影響を与え、その結果局所心筋収縮率の低下と乳酸産生を促進した可能性も否定できない。

結 論

麻酔開胸犬において虚血心筋に K_{ATP} チャンネル遮断薬および開口薬を投与し、 K_{ATP} チャンネルが虚血心筋の収縮維持に関与しているか否かを検討した。その結果 K_{ATP} チャンネルは血管平滑筋のトーンスを調節するだけでなく、心筋血流とは独立に局所心筋収縮の維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。

稿を終えるに臨み、御校閲を頂いた当教室の原岡昭一教授に深甚なる謝意を表すと共に、直接御指導、御教示を頂いた齊藤大治助教授に深謝致します。

本論文の要旨は第57回日本循環器病学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Duncker DR, Van Zon NS, Altman JD, Pavek TJ and Bache RJ: Role of K^+_{ATP} channels in coronary vasodilatation during exercise. *Circulation* (1993) **88**, 1245-1253.
- 2) Daut JW, Maier-Rudolph W, Von Beckerath N, Mehrke G, Gunther K and Goedel-Meinen L: Hypoxic dilatation of coronary arterioles mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science* (1990) **247**, 1341-1344.
- 3) Komaru T, Lamping KG and Easiham CL: Role of the ATP-sensitive potassium channels in coronary autoregulatory response. *Circ Res* (1991) **69**, 1146-1151.

- 4) Narishige T, Egashira K, Akatsuka Y, Katsuda Y, Numaguti K, Sakata M and Takeshita N : Glibenclamide, a putative ATP-sensitive K⁺channel blocker, inhibits coronary autoregulation in anesthetized dogs. *Circ Res* (1993) **73**, 771—776.
- 5) 柳沢輝行, 平 則夫 : 細胞内 Ca²⁺濃度からみた K⁺channel 開口薬の血管拡張作用機序. *Ther Res* (1990) **11**, 1361—1367.
- 6) Grover GJ, Dzwonczyk S and Sleph PG : Reduction of ischemic damage in isolated rat hearts by the potassium channel opener, RP 52891. *Eur J Pharmacol* (1990) **191**, 11—18.
- 7) Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS and Sleph PG : The protective effects of cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rat hearts and anesthetized dogs. *Cardiovasc Drugs Ther* (1990) **4**, 465—474.
- 8) Auchampach JA, Maruyama M, Cavero I and Gross GJ : Pharmacological evidence for a role of ATP-dependent potassium channels in myocardial stunning. *Circulation* (1992) **86**, 311—319.
- 9) Gross GJ and Auchampach JA : Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* (1992) **70**, 223—233.
- 10) Kowallik P, Schulz R and Guth BD : Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* (1991) **83**, 974—982.
- 11) Nichols CG and Lederer WJ : Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *Am J Physiol* (1987) **261**, H1675—H1686.
- 12) Lederer WJ and Nichols CG : Nucleotide modulation of the activity of rat heart ATP-sensitive K⁺ channels in isolated membrane patches. *J Physiol* (1989) **419**, 193—211.
- 13) Aversano T, Ouyang P and Silverman H : Blockade of ATP-sensitive potassium channel modulates reactive hyperemia in the canine coronary circulation. *Circ Res* (1991) **69**, 618—622.
- 14) 菊池 裕, 中村元臣 : 心筋局所血流量測定法 : 心臓薬理実験法, 田辺恒義, 安田寿一, 平 則夫, 管野盛夫編, 丸善, 東京 (1981) pp 156—173.
- 15) Gallagher KP, Matsuzaki M and Kojiol JA : Regional myocardial perfusion and wall thickening during ischemia in conscious dogs. *Am J Physiol* (1984) **247**, H727—H738.
- 16) Nakaya H, Takeda Y, Tohse N and Kanno M : Effects of ATP-sensitive K⁺ channel blockers on the action potential shortening in hypoxic and ischaemic myocardium. *Br J Pharmacol* (1991) **103**, 1019—1026.
- 17) Mitani A, Kinoshita K, Fukamachi K, Sakamoto M, Kurisu K, Tsuruhara Y, Fukumura F, Nakashima A and Tokunaga K : Effects of glibenclamide and nicorandil on cardiac function during ischemia and reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Physiol* (1991) **261**, H1864—H1871.
- 18) Steenbergen C, Murphy E, Levy L and London RE : Elevation of cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. *Circ Res* (1987) **60**, 700—707.
- 19) Marban E, Kitakaze M, Kusuoka H, Porterfield JK, Yue DT and Chacko VP : Intracellular free calcium concentration measured with ¹⁹F NMR spectroscopy in intact ferret hearts. *Proc Natl Acad Sci USA* (1987) **84**, 6005—6009.
- 20) Lee H, Smith N, Mohabir R and Clusin W : Cytosolic calcium transients from the beating mammalian heart. *Proc Natl Acad Sci USA* (1987) **84**, 7793—7797.
- 21) Quaife RA, Kohmoto O and Barry WH : Mechanisms of reoxygenation injury in cultured ventricular myocyte. *Circulation* (1991) **83**, 566—577.
- 22) Stahl LD, Weiss HR and Becker LC : Myocardial oxygen consumption, oxygen supply/demand heterogeneity, and microvascular patency in regionally stunned myocardium. *Circulation* (1988) **77**,

865—872.

- 23) Krause S and Hess ML : Characterization of cardiac sarcoplasmic reticulum dysfunction during short-term, normothermic global ischemia. *Circ Res* (1983) **55**, 176—182.
- 24) Weiss JN and Lamp ST : Cardiac ATP-sensitive K^+ channels : Evidence for preferential regulation by glycolysis. *J Gen Physiol* (1989) **94**, 911—935.

A role of ATP-sensitive potassium channel in the ischemic myocardial function

Kouzou MIZUO

Department of Cardiovascular Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. S. Haraoka)

To determine the role of the ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP} channel) in myocardial function during myocardial ischemia, we evaluated regional myocardial shortening and myocardial blood flow using a constant, low flow perfusion system in open-chest dogs.

Coronary blood flow was decreased to half the control level by constricting the perfusion line with a constant pressure throughout the experiment. Glibenclamide (G), a K_{ATP} channel blocker, and pinacidil (P), a K_{ATP} channel opener, was infused into the coronary perfusion line after the flow was reduced. When coronary flow was reduced, coronary perfusion pressure was decreased to 55% of the control value, segmental shortening (%SS) of the subendocardial myocardium from $18 \pm 2\%$ to $13 \pm 2\%$ (mean \pm SEM) ($P < 0.05$) and the subendocardial to subepicardial (endo/epi) blood flow ratio measured with colored microspheres ranged from 1.17 ± 0.04 to 0.82 ± 0.05 ($p < 0.05$). The infusion of G caused further reduction of %SS to $3 \pm 1\%$ ($p < 0.001$) without significant change in the endo/epi blood flow ratio. Additional infusion of P improved %SS to $11 \pm 2\%$, which did not significantly differ from the pre-G value.

The findings strongly suggest that K_{ATP} channels participate in maintaining myocardial function during ischemia.