

一過性虚血時の冠血管トーン調節機構に関する研究 — 反応性充血に対するアデニレートサイクラーゼの関与 —

岡山大学医学部第一内科学教室 (指導: 辻 孝夫教授)

日 名 一 誠

(平成元年 8 月 29 日 受稿)

Key words: アデニレートサイクラーゼ, アデノシン,
反応性充血, forskolin, Ra レセプター

緒 言

冠動脈は、心筋酸素需要の増減に応じてそのトーンを変化させることにより冠血流量を調節し、心筋における酸素の需給バランスを維持している。しかし、冠動脈トーンと心筋酸素代謝とを直接結びつける因子については未だ定説に乏しい。一過性心筋虚血後の冠血管トーンの調節に、アデノシンが関与しているという報告は多い¹⁾²⁾。Saito ら³⁾は、外的に投与した少量のアデノシンが犬冠動脈の反応性充血を増大させることにより、アデノシンが一過性虚血時の冠動脈トーンの調節に関与している可能性を報告している。近年、冠動脈のアデノシンレセプターは、アデニレートサイクラーゼ刺激系の Ra レセプターであることを支持する幾つかの報告が見られる⁴⁾⁵⁾。従って虚血時に遊離したアデノシンは、アデニレートサイクラーゼを刺激することにより反応性充血に関与していることが示唆されるが、直接これを証明した報告はまだ見られない。Forskolin (以下 FSK) は、coleus forskohlii から抽出されたジテルペンであるが、レセプターを介さずに直接アデニレートサイクラーゼを活性化することが知られており、また低濃度では、レセプターを介してのアデニレートサイクラーゼ活性を増幅する特異的効果を持つと言われる⁶⁾。FSK は、この後者の作用により、アデニレートサイクラーゼのレセプター活性化に関与する物質を明らかにするための有用な物質と考えられている。実際に Kusachi ら⁷⁾は、開

胸犬の冠動脈で低濃度の FSK のこの特異的作用を利用し、アデノシンがアデニレートサイクラーゼを介して冠拡張作用を発現することを報告している。そこで著者は、アデニレートサイクラーゼと反応性充血の関係を明らかにすることを目的に、少量の FSK を用いて反応性充血を観察した。更に両者の関係がアデノシンを mediator としていることを明らかにするため、アデノシンレセプターの強力なブロッカーである 8-phenyltheophylline (以下 8-PT) の存在下では、FSK の反応性充血に及ぼす影響に変化を生じるかどうかを観察した。

対象と方法

実験動物：平均体重 12~25kg の雑種成犬を用いた。

実験方法：上記の雑種成犬を、ketamine hydrochloride (0.1mg/kg) 皮下注にて前麻酔後、pentobarbital sodium (30mg/kg) を用いて静脈麻酔を行い、人工呼吸下に左側第 5 肋間にて開胸した。動脈血ガスを生理的範囲内に保つように呼吸数及び吸気酸素濃度を調節し、また動脈血 pH は適宜 7% NaHCO₃ を投与することにより 7.35-7.45 に維持した。心膜切開後、図 1 のごとく左冠動脈前下行枝 (以下 LAD) 起始部に電磁流量計のプロープと occluder を装着し、末梢側に薬物注入用の 24G ポリエチレンチューブを挿入した。ポリエチレンチューブは、2 種の薬剤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自動注

入ポンプに連結した。さらに左頸動脈より逆行性に大動脈起始部に、心尖部より左室内に、それぞれカテーテルを挿入して、各々、大動脈圧、及び左室圧の測定に用いた。なお左室圧より一次微分（以下 LVdP/dt）を測定し、左室収縮力の指標として用いた。さらに、LAD 領域の心筋酸素消費量（以下 MVO_2 ）の計測用に、右心耳より冠動脈洞を経由して大心静脈まで採血用のカテーテルを挿入した。実験中の血行動態は、直記式 galvanometer を用い、紙送り速度 2.5mm/sec で連続記録した。FSK は 5% エタノール溶液に 0.1mM の濃度となるよう溶解し、持続注入ポンプを用いて冠動脈内に投与した。投与量は冠血流量がわずかに増加し（20% 以下）且つ血

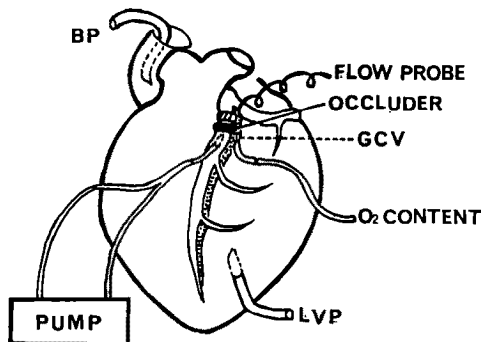


Fig. 1 Schematic representation of experimental procedure.

Abbreviations: BP, blood pressure; GCV, great cardiac vein; LVP, left ventricular pressure.

行動態、即ち大動脈圧、心拍数、LVdP/dt が変化しない量を用いた。

実験群と実験方法の詳細：実験は 2 群に大別し、各々プロトコルを図 2 に示した。実験 1 では FSK の投与が反応性充血に及ぼす影響について観察した。反応性充血は、5、10、15、20、及び 30 秒の冠動脈閉塞を順序無作為にそれぞれ 2 回ずつ施行し、Coffman と Gregg⁸⁾ に従い、repayment of flow debt と peak reactive hyperemic flow rate を求め、各々の平均値を比較検討した。冠動脈閉塞は、冠血流量が baseline に戻った後、少なくとも 1 分間の間隔をおいて施行した。まず、FSK の溶媒である 5% エタノール溶液を冠動脈内に持続注入しながら、上記冠動脈閉塞を行い反応性充血を観察、これをコントロールとした。次いで、FSK を持続注入し 15 分後より同様の観察を行い、最後に FSK 注入を中止し、再度溶媒に戻して 20 分後より反応性充血を観察し、ポストコントロールとした。なお、冠閉塞中は薬剤の蓄積を防ぐため一時的にポンプを停止し、開放と同時に再開するようにした。

実験 2 では、FSK の反応性充血に及ぼす効果に、アデノシンレセプターの遮断剤である 8-PT がどのような影響を与えるかを見ることを目的とした。まず実験 1 と同様に FSK が反応性充血に及ぼす影響を観察した後、8-PT の冠動脈血漿濃度が $10\mu\text{M}$ となる量で持続注入した。8-PT 開始 5 分後より各々の反応性充血を記録し、引

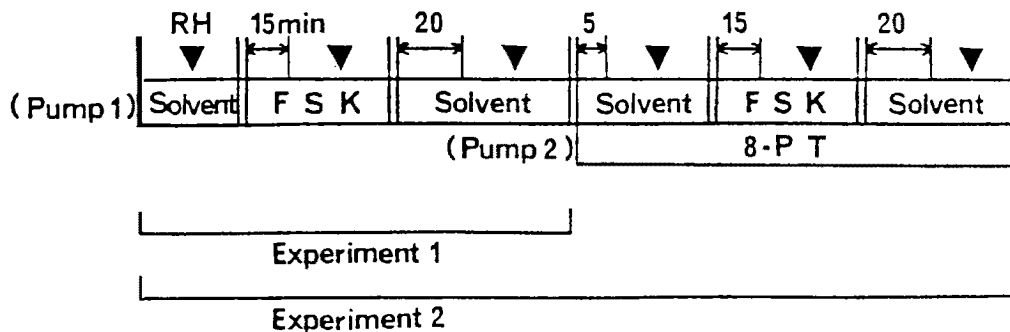


Fig. 2 Protocol of experiments.

Abbreviations: RH, reactive hyperemia (5, 10, 15, 20, 30-s); Solvent, 5% ethanol solution; FSK, forskolin; 8-PT, 8-phenyltheophylline.

き続き 8-PT はそのまま持続投与しながら, Y チューブのもう一端より FSK を注入した. 8-PT と FSK の同時注入開始15分後より反応性充血を観察した. 最後に, 8-PT はそのまま FSK のみ中止し, その20分後から同様の観察を行った. 8-PT は, 0.2MNaOH 含有の80%メタノール液で溶解後, 生理的食塩水で希釈し0.5mM 溶液としたものを用いた.

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並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 で犬を屠殺した後心臓を摘出し, LAD 近位部よりポリエチレンチューブを挿入固定して, 持続注入器にて既知の流速で血液を注入することで電磁流量計の絶対校正を行った. その後, 冠動脈内に0.5% Evans blue 液を注入して LAD の灌流領域を明瞭化し, Evans blue で染色された部分を切り出して冠血流量の重量補正に用いた. 冠血流量と心筋酸素消費量 (MVO₂) は, 心筋100g 当たりの値として表示した.

血液 O₂ 含量は, 各段階で血行動態の安定時に, 動脈血と大心静脈血を採血して, Corning model 165/2 及び Erma Optical Works model PWA-100 を用いて測定した. FSK の冠動脈血漿濃度は, 次の式で求めた. FSK 冠動脈血漿濃度 (M) = 注入 FSK 速度 (M/min) / [冠血流量 (ml/min) × 10⁻³ × (1 - hematocrit/100) × 0.92]. 最終的な FSK の冠動脈血漿濃度は, 実験 1 で 0.28 μM (0.22-0.34), 実験 2 の FSK 単独投与時 0.20 μM (0.16-0.25), 8-PT との同時投与時 0.21 μM (0.17-0.26) であった. 8-PT の注入速度は, 同じ式より 8-PT 冠動脈血漿濃度が 10 μM となるように個々の犬で冠血流量とヘマトクリットより計算して求めた. FSK と 8-PT 溶液の平均注入速度は, それぞれ 0.071 ml/min, 0.351 ml/min で, その速度は対照時の冠血流量のそれぞれ 0.5% 以下と 1.2% 以下であった.

データ解析: 個々の実験がコントロール状態で以下の基準を満たした時にのみ解析に用いた. 即ち, 大動脈圧 (冠灌流圧) が 80 mm Hg 以上で 15 秒閉塞時の peak reactive hyperemic flow rate が 300% 以上, かつ動脈血漿酸素飽和度が 90

% 以上であることを条件とした. Repayment of flow debt は reactive hyperemic flow と flow debt の比で表し, Peak reactive hyperemic flow rate はコントロール flow と peak reactive hyperemic flow との比を % で表示した. 成績は mean ± SEM で表示し, 統計には, analysis of variance と Bonferroni's t test を使用して, p < 0.05 を有意水準とした.

成 績

実験 1 の結果

実験開始時の動脈血 Po₂, Pco₂, pH は, 各々 183 ± 6.4 mm Hg, 31 ± 2.3 mm Hg, 7.41 ± 0.03 で, 実験経過中これらの値に有意な変化はなかった. 10 頭の血行動態の推移を図 3 に示す. 投与した FSK は, 大動脈圧, 心拍数, LVdP/dt, MVO₂

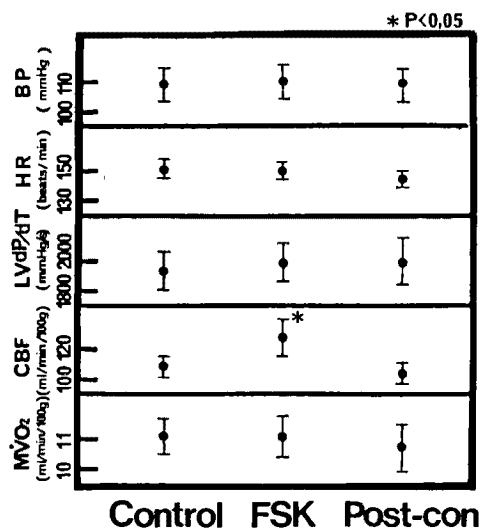


Fig. 3 Hemodynamic and metabolic effects of forskolin (the first experiment). Abbreviations: FSK, forskolin; Post-con, post-control; BP, blood pressure; HR, heart rate; LVdP/dt, maximum rate of left ventricular pressure rise; CBF, coronary blood flow; MVO₂, cardiac oxygen consumption rate. The data are means. Bars = SEM, n = 10. *Significantly different from the values of control and post-control at the level of p < 0.05.

を変化させることなく、又これらの指標は実験経過中を通じて安定していた。冠血流量は、FSK注入により約18%増加したが、注入中止によりbaselineに戻った。FSK注入が、冠動脈20秒閉塞後の反応性充血に及ぼす影響の1例を図4に示す。FSK注入前の大動脈圧、心拍数、LVdP/dt、 MVO_2 はそれぞれ92.6mm Hg、137.2/min、2,250mm Hg/s、10.0ml O_2 /min/100gで、経過中殆ど変動しなかった。冠血流量は、対照時67ml/min/100gで、FSK注入により約12%増加した。repayment of flow debtは、FSK注入により5.60から6.59と約18%増強されたが、peak reactive hyperemic flow rateはほぼ不変であった。FSKの注入中止により、冠血流量、repayment of flow debtは、いずれもコントロールレベルに戻っている。表1はFSKの反応性充血に及ぼす影響を、10頭の犬についてまとめたものである。FSKの注入により15、20、30秒の冠閉塞後の反応性充血では、それぞれ前後のコントロール値の平均と比較してrepaymentは、28、25、27%と著明に増強された。しかし、5、10秒の閉塞後の反応性充血ではFSKの増強効果は明らかではなかった。一方でpeak reactive hyperemic flow rateは、閉塞時間の長短にかかわらず殆ど影響を受けなかった。FSK注入前後のコントロールでは、反応性充血の大きさに差は無く、FSKによるこれらの変化が、一過性のものであることが確認された。

実験2の結果

図5は、7頭の平均血行動態の推移を示したものである。大動脈圧、LVdP/dt、 MVO_2 は全

経過を通じてほぼ一定であった。心拍数は時間とともに減少する傾向にあったが、統計的には有意ではなかった。冠血流量は、実験1同様に、

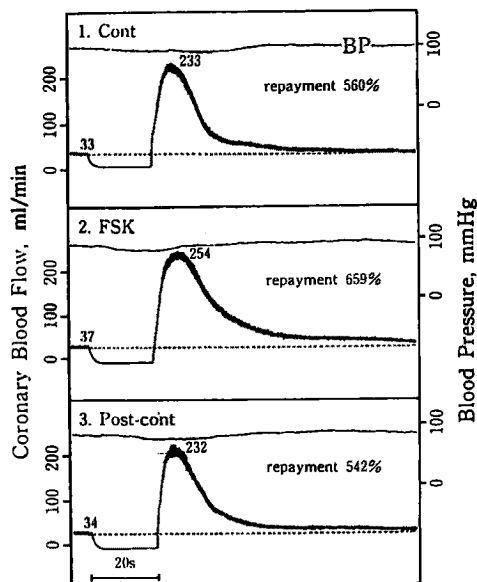


Fig. 4 Effect of an intracoronary forskolin infusion on the reactive hyperemic response to 20 seconds of coronary occlusion. The three panels, from top to bottom, hyperemic responses before, during, and 20 minutes after termination of forskolin infusion. Numbers refer to control and peak reactive hyperemic coronary flow rates (ml/min). Abbreviations: Cont, control; FSK, forskolin; Post-cont, post-control.

Table 1 Effects of forskolin on myocardial reactive hyperemia (the first experiment)

Durations of occlusion, s	Repayment of flow debt, ratio			Peak reactive hyperemic flow rate, %		
	(Cont)	(FSK)	(Post-cont)	(Cont)	(FSK)	(Post-cont)
5	2.25±0.24	2.37±0.29	2.24±0.31	244.6±19.2	218.3±19.7	236.6±19.2
10	3.03±0.49	3.18±0.38	2.84±0.40	360.0±36.9	327.5±32.9	347.5±29.9
15	3.12±0.35	4.00±0.41*	3.37±0.33	392.5±41.2	360.0±33.4	402.4±34.4
20	3.24±0.41	4.05±0.43*	3.22±0.31	422.9±44.9	388.2±38.7	410.3±35.1
30	3.18±0.39	4.03±0.39*	3.21±0.40	462.2±52.9	431.0±44.7	450.8±40.7

Abbreviations: Cont, control; Post-cont, post-control; FSK, forskolin.

The data are expressed as Mean±SEM; n=10.

*Significantly different from the values of control and post-control at the level of P<0.05.

FSK 注入後約16%増加したが、中止後注入前値に帰った。8-PT の注入により baseline の冠血流量は若干減少する傾向にあったが、FSK 注入の併用により、冠血流量は約18%と FSK 単独の場合と同程度に増加した。FSK 中止後は注入前のレベルに戻った。反応性充血の指標のうち、repayment of flow debt を表 2 に、peak reactive hyperemic flow rate を表 3 に示した。FSK 単独では、15、20、30秒の冠閉塞時、各々 repayment of flow debt を27、25、23%増強し、この結果は実験 1 とほぼ同様であった。8-PT 注入により、15、20、30秒の冠閉塞後の反応性充血は、8-PT 注入前（溶媒注入時）と比較して、repayment が約27%減少した。8-PT 存在下では FSK を投与しても、一過性虚血後の repayment は、わずかに増加傾向を示すにすぎず、8-PT により FSK の repayment 増強効果の消失が認められた。peak reactive hyperemic flow rate は、FSK と 8-PT の同時注入でも影響を受けなかった。

FSK の反応性充血に及ぼす影響が、8-PT の存在によりどのように変化するかをより明白にするため、FSK と 8-PT 同時注入での repayment の%増加率(各々の前後のコントロールの平均値と比較し)を図 6 に示した。この図から明らかのように、8-PT は、15、20、30秒の冠閉塞後の repayment に及ぼす FSK の影響を著明に減弱させた。

考 案

本実験は、少量の FSK がレセプターを介するアデニレートサイクラーゼ刺激作用を増強するという特異的性質を利用したものである。今回の結果では、FSK の冠動脈内注入により反応性充血は著明に増強され、この効果は 8-PT の存在下では消失した。これらの結果は、アデニレ

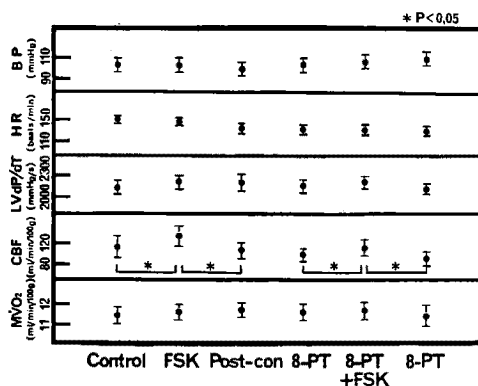


Fig. 5 Hemodynamic and metabolic data in the second experiment.

Abbreviations : FSK, forskolin ; Post-con, post-control ; 8-PT, 8-phenyltheophylline ; BP, blood pressure ; HR, heart rate ; LVdP/dt, maximum rate of left ventricular pressure rise ; CBF, coronary blood flow ; MVO₂, cardiac oxygen consumption rate.

The data are means. Bars=SEM, n = 7. *Significantly different, p < 0.05.

Table 2 Effects of forskolin and 8-phenyltheophylline on repayment of flow dept (the second experiment)

Durations of occlusion, s	Repayment of flow debt, ratio					
	(Cont)	(FSK)	(Post-con)	(8-PT)	(8-PT+FSK)	(8-PT)
5	2.59±0.39	2.82±0.40	2.71±0.53	2.38±0.30	2.22±0.27	2.31±0.26
10	3.52±0.74	3.76±0.64	3.38±0.66	2.56±0.31	2.74±0.43	2.48±0.37
15	3.57±0.54	4.54±0.63*	3.57±0.55	2.53±0.32†	2.76±0.33	2.46±0.30
20	3.77±0.59	4.72±0.73*	3.49±0.55	2.57±0.37†	2.85±0.39	2.51±0.47
30	3.76±0.62	4.61±0.70*	3.70±0.65	2.77±0.49†	3.06±0.49	2.82±0.61

Abbreviation : 8-PT, 8-phenyltheophylline. Other abbreviations as in table 1.

The data are expressed as Mean±SEM ; n = 7.

* Significantly different from the values before and after administration of forskolin at the level of P<0.05.

† Significantly different from the values before administration of 8-phenyltheophylline at the level of P<0.05.

Table 3 Effects of forskolin and 8-phenyltheophylline on peak reactive hyperemic flow rate (the second experiment)

Duration of occlusion, s	Peak reactive hyperemic flow rate, %					
	(Cont)	(FSK)	(Post-cont)	(8-PT)	(8-PT+FSK)	(8-PT)
5	245.9±27.3	234.7±25.9	246.2±28.7	251.2±21.9	218.8±18.8	228.0±18.7
10	363.8±58.7	339.6±50.9	358.8±52.3	352.3±42.2	329.0±41.6	331.0±39.8
15	405.0±65.6	379.3±53.2	421.8±57.8	390.6±48.7	369.9±48.2	387.1±45.0
20	446.9±71.8	428.7±64.8	451.7±60.3	413.2±49.0	404.1±45.6	411.6±50.2
30	496.3±87.3	459.2±70.3	489.5±65.3	464.9±56.3	438.8±51.6	449.6±49.6

Abbreviations are as in Table 1 and 2.

The data are expressed as Mean±SEM; n=7.

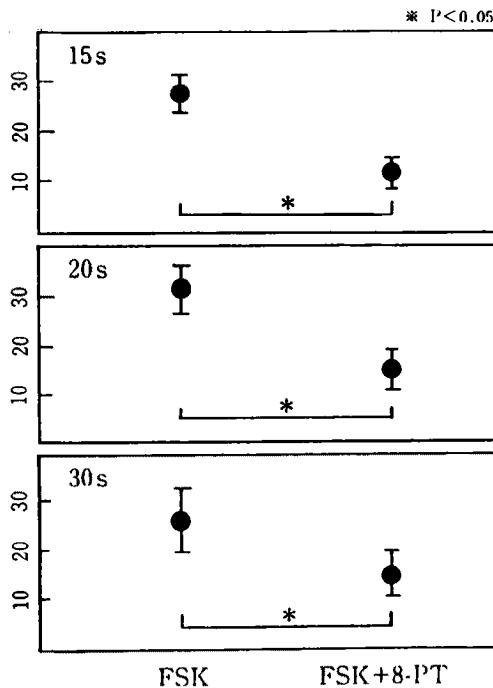


Fig. 6 Effect of 8-phenyltheophylline on the forskolin induced changes in repayment of flow debt following 15, 20 and 30 seconds occlusions in the second experiment. Percent increase in debt repayment were compared with average values before and after forskolin infusion. Forskolin potentiated the debt repayment by about 27% after each occlusion. But, under the existence of 8-phenyltheophylline, effects of forskolin were reduced significantly.

Abbreviations: FSK, forskolin; 8-PT, 8-phenyltheophylline.

The data are means. Bars=SEM, n=7.

*Significantly different, $p < 0.05$.

ートサイクラーゼが反応性充血に関与し、この際レセプターを介してアデニレートサイクラーゼを活性化している主たる物質は、アデノシンであることを示唆している。

反応性充血は、その基本的機序については今なお不明な点も多いが、複数の因子の総合作用による反応と考えられている。myogenic 説⁹⁾は、これは冠動脈内圧低下による血管平滑筋の反応性緊張低下に起因するとされているが、主に10秒以下の閉塞での反応性充血において大きな要素となっていると考えられている。より長い虚血の場合には、さらに代謝物質による要素が加わってくる¹⁰⁾。冠血流量を調節する、血管拡張性の代謝因子として多くの物質が検討されてきたが、そのうちでアデノシンが最も可能性が高いと考えられている。しかし、アデノシンの血管拡張作用も、低酸素状態¹¹⁾や二酸化炭素、水素イオンの増加¹²⁾などによって、微妙に修飾されるため、それらの因子も最終的な反応性充血の大きさを決定するのに影響してくる。さらに血行動態的因子も、反応性充血の大きさに影響を与えることが知られている。冠灌流圧は直接反応性充血の大きさに影響を与え¹³⁾、心筋酸素需要を増加させる因子、例えば心拍数や大動脈圧も、反応性充血の大きさと密接な関係を有し、特に $M\dot{V}O_2$ と reactive hyperemic flow の大きさは正相関するといわれている¹⁴⁾。このように、虚血中もしくは反応性充血中の化学的因子や血行動態変化などが複雑に作用して反応性充血に影響を与えるため、このことが反応性充血に関与する個々の因子の評価を困難なものにしている。

従って、反応性充血の検討に際しては、血行動態、特に冠灌流圧、 \dot{MVO}_2 、動脈血ガス分圧、pHなどを常に一定状態とした上で比較検討することが重要である。

FSKは、レセプターを介することなしにアデニレートサイクラーゼを強力に活性化する物質であり¹⁵⁾、低濃度では、レセプターを介してアデニレートサイクラーゼ活性を増強する特異的な作用を持つことが知られている⁹⁾。FSKのこの特異的作用は、様々な組織で、アデニレートサイクラーゼ系のレセプター活性に関連している物質を検討する際に利用されている。心血管系では、FSKはアデニレートサイクラーゼを活性化することにより、その濃度に比例して心筋収縮力を高め、心拍数を増加させ冠血管抵抗を減少させることが知られている¹⁶⁾。従ってFSKの持つこれらの陽性変力作用や変時作用は、得られた実験結果を修飾する可能性がある。しかし、Vadenら¹⁷⁾によると、FSKの冠血管拡張作用の EC_{50} は、摘出モルモット心では、陽性変時作用のその約7~10分の一で、陽性変力作用の約17~20分の一であったという。このことから、少量のFSKを使用した際に認められる冠拡張作用は、心筋酸素需要の増加による代謝性の間接作用ではなく、直接的な冠拡張作用によると考えられる。実際に、本実験で使用した冠動脈血漿濃度 $0.16-0.34\mu M$ のFSKでは、 $LVdP/dt$ 、心拍数、血圧(すなわち冠灌流圧)、 \dot{MVO}_2 を変化させることなしにわずかに冠血流を増加させた。これらの結果は、 $0.16-0.48\mu M$ のFSKを使用したKusachiら⁷⁾の成績と一致し、この程度の量では心筋代謝増加に伴う二次的冠血管拡張作用は無視し得ると考えられる。

第一の実験では、FSKは15~30秒冠動脈閉塞後のrepayment of flow debtを約27%増強した。もっともこの時にはFSKによりbasal flowが約18%増加しており、basal flowの増加がrepaymentを修飾した可能性も考えられる。しかし、既にSaitoら⁹⁾が報告しているように、パバペリンの冠動脈内注入でbasal flowを約10%増加させても反応性充血(repayment)の増強は認められず、basal flowの増加そのものは反応性充血の大きさに影響しないものと考えられる。

このことよりFSKによるrepaymentの増強は、虚血中にレセプターを介してアデニレートサイクラーゼを活性化する反応が出現し、FSKがそれを直接増幅してreactive hyperemic flowを増大させたためと考えられる。

著者の実験では、10秒以下の冠動脈閉塞ではdebt repaymentに明らかな変化は認めなかった。EikensとWilcken⁹⁾は、10秒以下の反応性充血では、冠動脈トームスのmyogenic controlが大きな役割を果たしていることを報告しており、その後の諸家の報告もほぼ同様の成績である。従って、レセプターを介するアデニレートサイクラーゼ活性の増加など代謝性の因子は、より短い閉塞ではその役割が小さいと考えられる。

現在のところ、代謝因子として最も有力と考えられているのは、アデノシンである。近年、冠動脈でのアデノシンレセプターは、 R_a レセプターであり、冠血管内のアデニレートサイクラーゼを活性化し、cyclic AMPを増加させることにより血管拡張作用を発現しているという報告⁴⁾⁵⁾が見られる。更に、FSKの冠動脈内注入が、アデノシンの冠動脈拡張作用の EC_{50} を低下させるという報告⁷⁾もあり、これらが事実であるならば、虚血により遊離したアデノシンが冠動脈 R_a レセプターを介してアデニレートサイクラーゼを活性化することにより冠血管トームスを低下させる際、FSKがこのアデノシンの効果を増強することにより反応性充血を増大させたと考えられる。そこで第二の実験では、アデノシンの作用をレセプターレベルでブロックした時に、反応性充血におけるFSKの増強効果がどのような影響を受けるかを観察することにより、反応性充血におけるアデノシンの役割を検討した。近年、8-PTは様々な組織においてアデノシンによるcyclic AMPの増加をテオフィリン以上に強力に阻害することが報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。また、テオフィリンはphosphodiesteraseの阻害効果を持つことが知られているが、8-PTはその作用がほとんど無いと言われている¹⁸⁾。従って8-PTの方が、cyclic AMPへの直接効果はより小さく、アデノシン受容体をブロックする効果はより選択的で強力であると考えられる。著者は、冠動脈血漿濃度が $10\mu M$ となるよう8-PT

の投与量を調節した。この濃度は幾つかの文献¹⁸⁾¹⁹⁾を参考にし、血行動態、 $M\dot{V}O_2$ に影響を与えず、かつFSKの冠拡張作用にも影響しない量を選んだ。その結果、8-PTの存在下ではFSKの単独投与時に認められた repayment の増強効果は消失した。この結果は、FSKによる反応性充血の増強作用が、レセプターを介するアデノシンのアデニレートサイクラーゼ活性化刺激効果を増幅することに起因することを示していると考えられる。

8-PTの存在下でも、FSKにより、統計学的に有意では無かったが、反応性充血が増強する傾向を示した。このことは、8-PTの量がアデノシンを完全にブロックするのに不十分であった可能性も考えられる。しかし、8-PTの注入による repayment の減少度が約27%と、アミノフィリンやテオフィリンを用いた従来の報告²⁰⁾²¹⁾とほぼ同程度であったことから、ここで用いた8-PTの量は、アデノシンをブロックするのに十分な量であったと思われる。従って、アデノシン以外にもFSKによって増強される反応性充血に関与している代謝因子の存在する可能性も考えられるが、仮にそうであったとしても、その役割は極めて小さなものであると思われる。

実験2では実験に要した時間が約3.5時間と長く、また冠動脈の閉塞回数も計60回と多かった。この繰り返しの閉塞や時間的な要素が、冠動脈の反応性や心筋に影響を与えることが懸念された。このため、実験時間や冠動脈閉塞の繰り返しが心筋や冠動脈に非可逆性の変化を与えていないことを確認するために、各薬物投与の前後で常にコントロールの反応性充血を観察するようにした。その結果、血行動態並びに $M\dot{V}O_2$ は個々の実験で経過中安定し、コントロールの反応性充血は、各薬物投与前後で差を認めなかった。さらに、冠動脈閉塞相互の影響を排除するために、反応性充血は注意深く施行した。即ち、各々の閉塞は冠血流量がベースラインに戻って

から少なくとも1分間の間隔をおいて行い、その順序は無作為に施行した。従って、冠動脈閉塞を繰り返したこと自体及びその相互作用、あるいは実験が比較的長時間を要したことなどが、今回の成績に有意な影響を与えたとは考えられない。

結 語

一過性虚血後の冠血管トーンズの調節における、アデニレートサイクラーゼ及びアデノシンの役割を明らかにするために麻酔犬を用いて、forskolin及び8-phenyltheophylline冠動脈投与前後での反応性充血を検討した。

- 1) 少量の forskolin は、15～30秒間の反応性充血で repayment of flow debt を23～28%増強した。
- 2) 8-phenyltheophylline の単独投与では、15～30秒閉塞後の repayment は約27%減少した。
- 3) Forskolin の反応性充血増強作用は、8-phenyltheophylline を併用することにより消失した。

以上より反応性充血には、虚血時に増加したアデノシンが、 R_a レセプターを介したアデニレートサイクラーゼを活性化することにより関与し、forskolinはこの作用をより増強するものと考えられた。

稿を終えるに臨み、御指導と御検閲をいただいた、当教室の辻 孝夫教授に深甚なる謝意を表わします。また、直接御指導をいただいた岡山大学医学部臨床検査医学教室の原岡昭一教授、斉藤大治講師と、実験に際し、御指導、御協力をいただいた当教室の草地省蔵博士、山田信行博士、谷 秀樹博士、渡辺博史学士に感謝いたします。

(本文の要旨は昭和62年第51回日本循環器学会総会および第28回日本脈管学会総会において発表された。)

文 献

- 1) Rubio R and Berne RM : Release of adenosine by the normal myocardium in dogs and its relationship to the regulation of coronary resistance. *Circ Res* (1969) 25, 407—415.

- 2) Olsson RA, Snow JA and Gentry MK : Adenosine metabolism in canine myocardial reactive hyperemia. *Circ Res* (1978) **42**, 358—362.
- 3) Saito D, Hyodo T, Takeda K, Abe Y, Tani H, Yamada N, Ueeda M and Nakatsu T : Intracoronary adenosine enhances myocardial reactive hyperemia after brief coronary occlusion. *Am J Physiol* (1985) **248**, H812—H817.
- 4) Kukovetz WR, Pösch G, Holzmann S, Wurm A and Rinner I : Role of cyclic nucleotides in adenosine-mediated regulation of coronary flow. *Adv Cyclic Nucleotide Res* (1978) **9**, 397—409.
- 5) Kusachi S, Thompson RD and Olsson RA : Ligand selectivity of dog coronary adenosine receptor resembles that of adenylate cyclase stimulatory (Ra) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* (1983) **227**, 316—321.
- 6) Seamon KB and Daly JW : Forskolin : A unique diterpene activator of cyclic AMP-generating systems. *J Cyclic Nucleotide Res* (1981) **7**, 201—224.
- 7) Kusachi S, Bugni WJ and Olsson RA : Forskolin potentiates the coronary vasoactivity of adenosine in the open-chest dog. *Circ Res* (1984) **55**, 116—119.
- 8) Coffman JD and Gregg DE : Reactive hyperemia characteristics of the myocardium. *Am J Physiol* (1960) **199**, 1143—1149.
- 9) Eikens E and Wilcken 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.
- 10) Belloni FL : The local control of coronary blood flow. *Cardiovasc Res* (1979) **13**, 63—85.
- 11) Gellai M, Norton JM and Detar R : Evidence for direct control of coronary vascular tone by oxygen. *Circ Res* (1973) **32**, 279—289.
- 12) Merrill GF, Haddy FJ and Dabney JM : Adenosine, theophylline, and perfusate pH in the isolated, perfused guinea pig heart. *Circ Res* (1978) **42**, 225—229.
- 13) 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.
- 14) Robert JB, Frederick RC and Joseph CG : Effects of increased myocardial oxygen consumption on coronary reactive hyperemia in the awake dog. *Circ Res* (1973) **33**, 588—596.
- 15) Ammon HPT and Müller AB : Forskolin : From an ayurvedic remedy to a modern agent. *Planta Med* (1985) **6**, 473—477.
- 16) Lindner E, Dohadwalla AN and Bhattacharya BK : Positive inotropic and blood pressure lowering activity of a diterpene derivative isolated from *Coleus forskohli* : Forskolin. *Arzneim-Forsch* (1978) **28**, 284—289.
- 17) Vaden SL and Adams HR : Inotropic, chronotropic and coronary vasodilator potency of forskolin. *Eur J Pharmacol* (1985) **118**, 131—137.
- 18) Smellie FW, Davis CW, Daly JW and Wells JN : Alkylxanthines : Inhibition of adenosine-elicited accumulation of cyclic AMP in brain slices and of brain phosphodiesterase activity. *Life Sci* (1979) **24**, 2475—2482.
- 19) Mustafa SJ and Askar AO : Evidence suggesting an Ra-type adenosine receptor in bovine coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* (1985) **232**, 49—56.
- 20) Saito D, Steinhart CR, Nixon DG and Olsson RA : Intracoronary adenosine deaminase reduces canine myocardial reactive hyperemia. *Circ Res* (1981) **49**, 1262—1267.
- 21) Curnish RR, Berne RM and Rubio R : Effects of aminophylline on myocardial reactive hyperemia. *Proc Soc Exp Biol Med* (1972) **141**, 593—598.

The contribution of adenylate cyclase to myocardial reactive hyperemia in the open-chest dog

Kazuyoshi HINA

First Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. T. Tsuji)

Many lines of evidence suggest that adenosine partly regulates coronary vascular tone in response to myocardial ischemia after a brief coronary occlusion. However, the basic mechanisms of blood flow regulation of myocardial reactive hyperemia still remain unknown. This experiment was performed using the selective effect of forskolin to enhance the effects of agonists which exert receptor-mediated stimulation of adenylate cyclase. We exploited the potentiating effect of forskolin to test the hypothesis that activation of adenylate cyclase contributes to myocardial reactive hyperemia, especially by release of adenosine at the time of brief coronary occlusions. In ten open-chest dogs, intracoronary forskolin infusions, which produced plasma concentrations between 0.22 and 0.34 μM , slightly increased coronary blood flow and had no effect on hemodynamics or myocardial metabolism. Under these conditions, although peak reactive hyperemic flow rates were not affected, forskolin infusions reversibly increased repayments of flow debt significantly by 28, 25 and 27% following coronary occlusions of 15, 20 and 30 second, respectively ($p < 0.05$). In other seven dogs, after observations of the effects of forskolin (0.16–0.26 μM), 10 μM of 8-phenyltheophylline, a potent adenosine antagonist, was intracoronarily infused simultaneously with forskolin. Forskolin potentiated debt repayments by about 23–27% following 15, 20 and 30 second occlusions. However, with simultaneous 8-phenyltheophylline, the effects of forskolin were eliminated significantly ($p < 0.05$). The present results demonstrate that adenylate cyclase contributes to myocardial reactive hyperemia and adenosine has a significant role as metabolic regulator of reactive hyperemia through activation of adenylate cyclase.