

原 著

Ca 拮抗剤と心筋保護 : nifedipine の
効果に関する実験的研究

山本文雄* 内藤泰顕* 藤田 毅* 川副浩平*

Brambridge, M. V.** Hearse, D. J.**

要 旨

Isolated rat heart preparation を用い、nifedipine の心筋保護作用について検討した。常温虚血下、nifedipine を St. Thomas 液に添加して検討したところ、 $0.075 \mu\text{moles/l}$ を至適濃度とする bell 型の dose response curve を示したが、低温虚血下では、何ら心機能の回復率の増加を認めなかった。同様の実験モデルを用い、nifedipine が、St. Thomas 液と replace 可能か否かについて検討した。その結果常温虚血下では、ある程度の効果を認めるが、低温虚血下では有効性は認められず、nifedipine と hypothermia との保護効果に関する関連性が示唆された。又、nifedipine 単独では、St. Thomas 液の保護効果ほど有効でなく、nifedipine 単独で St. Thomas 液を replace することは困難であることが判明した。

はじめに

近年、心筋保護法の発達により、開心術の成績は著しく向上してきたが、様々な心筋保護液¹⁾²⁾³⁾ 4) が作成されており、どの液が最良かという点では意見の一致をみていない。さらに、虚血心筋障害の key factor が細胞内 Ca-overloading であると指摘⁵⁾ され、心筋保護液中の Ca 濃度の重要性⁶⁾ ならびに Ca 拮抗剤の心筋保護液への応用⁷⁾ 8)9) が試みられてきた。我々は、最近 verapamil¹⁰⁾

diltiazem¹¹⁾ の心筋保護効果を検討し、これらが常温虚血下、至適濃度下で、St. Thomas 液の心筋保護作用を増強させるが、低温虚血下では有効性を認めなかった実験結果を得ている。そこでこれら verapamil, diltiazem と全く化学構造式の異なる nifedipine が、どのような反応を示すかについての検討は、特に“温度と Ca 拮抗剤の効果”という観点から非常に重要であるのでこの検討結果を報告する。

1. 実験方法

1) 実験モデル (Figure 1) : 心筋保護法の効果を判定する実験モデルとして、我々は isolated rat heart preparation を用いた。この実験モデルの詳細は、Hearse ら¹²⁾ によって述べられている如く、 37°C の酸素化された Krebs-Henseleit bicarbonate buffer は 18 cm H_2O の高さから左房内に落差注入された後、左室から 100 cm H_2O の圧に抗して大動脈へ駆出される。その一部である冠動脈を経て冠静脈洞へ還った buffer は、biochemical analysis に供されるか、大動脈流量分とともに循環し、再び左房用 reservoir に還ってくる。Figure 1 に示されている如く、 T_3 , T_2 を clamp, T_1 を open することにより、100 cm H_2O の高さに置かれた Langendorff reservoir から逆行性に冠灌流を行うことにより、total cardiopulmonary bypass と同じ状況、すなわち empty beating と同じ状況を作り出すことができる。Ischemic cardiac arrest は、この T_1 を clamp することにより得られ、 T_4 を open し 60 cm の高さから cardioplegic solution を aortic cannula

*国立循環器病センター心臓外科

**The Rayne Institute, The St. Thomas Hospital
London, United Kingdom

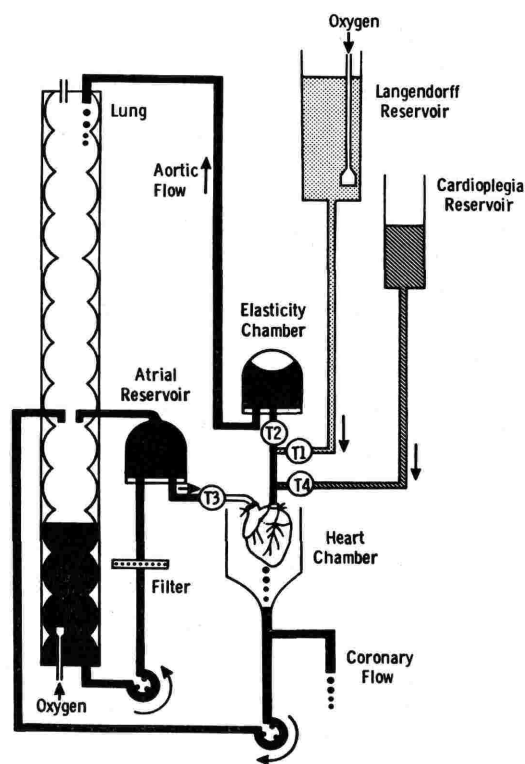


Figure 1. Experimental apparatus

の側孔から注入すれば、臨床上の心筋保護と全く同様の状況を得ることができる仕組みとなっている。用いられた、心臓は280~320gのWistar系雄ラットより摘出された。

2) 実験経過: 次に述べるプロトコールに基づき、本実験は行なわれた。すなわち、5分間のLangendorff perfusion後、20分間のworking control perfusionとし、この間に、5分毎、大動脈流量、冠灌流量、心拍数、大動脈圧を測定し、続いて、3分間St. Thomas液ないしは、様々の濃度のnifedipineを含有するSt. Thomas液(Table 1)を

Table 1 The composition of the basic St Thomas' cardioplegic solution

Compound	Concentration (mmol·litre ⁻¹)
Sodium chloride	110.0
Potassium chloride	16.0
Magnesium chloride	16.0
Calcium chloride	1.2
Sodium bicarbonate	10.0
pH adjusted to 7.8	
Osmolarity=324 mosm·kg H ₂ O ⁻¹	

注入し、37°C 35分間ないしは、20°C 150分間の虚血(20°Cの虚血下では、30分毎に3分間のcardioplegic infusionを行なう multidose cardioplegiaを採用)に置き、さらに15分間のLangendorff reperfusionを施行した。この間、冠静脈洞から出てくるbufferを採取し creatine kinaseの総遊出量を測定した¹⁹⁾。この後、20分間のworking reperfusionとし、前述の心機面からの指標を測定し、虚血後の値を虚血前値で除し、パーセントで標示し比較検討した。尚、心拍出量は、大動脈流量と冠灌流量の和から、一回拍出量は心拍出量を心拍数で除して求められた。各グループは少なくとも6匹以上のrat heartからなり、成績はmean±S.E.で示した。有意差の検定はstudent t-testにより求められた。

2. 実験結果

1) Basic cardioplegic protection: 心筋保護液ないしは、それに添加した薬剤の効果を比較検討するためには、適当に心臓にdamageを与える虚血時間の設定が重要である。すなわち、虚血による障害が強すぎて、如何なる処置を構しても回復不能なほどの心臓を用いたり、又、あまりに障害が軽すぎて、ほとんどが100%近くそのパラメーターを回復しても比較検討は困難である。そこで、我々は動脈流量の回復がSt. Thomas液注入下、50~75%位に維持される様虚血時間を設定した。37°Cで30分、35分、40分の虚血時間を用い、検討すると、大動脈流量の回復率は、65.3±2.6, 47.9±5.2, 13.6±9.7%であり、37°Cでは、35分間を、20°Cでは、60分、120分、150分間の虚血で、その回復率は90.0±1.7, 80.0±2.5, 74.7±3.6%であり、20°Cでは150分間を虚血時間として設定した。Figure 2は、その結果をグラフに示したものであるが、心筋保護液を使用しない場合、すべての心臓は回復せず、又、心筋保護液注入により回復した心臓は、20分後のworking reperfusion modeにて、安定した成績を示していることがわかる。

2) Nifedipine 添加の効果

a) 常温(37°C)虚血に対する効果: 前述のプロトコールを用いて、37°C 35分間の虚血下、nifedipineの効果を検討した。0, 0.05, 0.075, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 1.0 μmoles/lをSt. Thomas液に添加し、cardiac functionの回復率ならびに

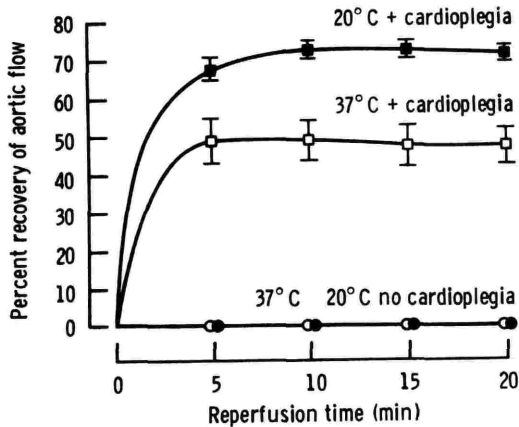


Figure 2. Basic Cardioplegic protection

creatine kinase の遊出量を示したのが Table 2 である。大動脈流量を指標として、dose response curve を描くと Figure 3 の如くなり、nifedipine の保護効果は、添加量と並行せず、0.075 $\mu\text{moles/l}$ をピークに、これ以上量を増加させるに従い心機能の回復率も減少し、いわゆる bell 型の dose response curve を有することが判明した。0.075 $\mu\text{moles/l}$ の至適 nifedipine 量を St. Thomas 液に添加することにより、大動脈流量の回復率は $47.9 \pm 5.2\%$ から、 $76.7 \pm 2.9\%$ ($P < 0.001$) と有意に増加することが判明した。他のパラメーターも同様の傾向を示し、creatine kinase の遊出量も 56.0 ± 3.8 から 27.7 ± 1.4 IU/15 min/g·dry·wt へと減少した。Figure 3 において、creatine ki-

Table 2 Nifedipine addition to cardioplegia: normothermia series (35 min 37°C)

Nifedipine concentration ($\mu\text{mol}\cdot\text{litre}$)	n=	Cardiac function					
		Aortic flow		Aortic pressure		Heart rate	
		Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value (cmHg)	Percentage recovery	Control value ($\text{beats}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery
0	9	63.8 ± 2.2	47.9 ± 5.2	201.4 ± 5.2	84.1 ± 3.0	264.4 ± 9.7	90.7 ± 3.1
0.050	6	67.2 ± 3.4	52.2 ± 5.1	205.8 ± 5.1	84.0 ± 1.5	261.7 ± 8.9	97.7 ± 5.9
0.075	6	64.6 ± 2.9	$76.7 \pm 2.9^*$	212.5 ± 7.2	90.8 ± 2.1	258.3 ± 9.8	92.2 ± 2.0
0.100	6	67.5 ± 1.1	$70.0 \pm 2.3^\dagger$	201.0 ± 5.1	91.7 ± 1.8	246.2 ± 7.8	93.0 ± 2.9
0.150	6	68.7 ± 1.8	64.3 ± 4.0	213.2 ± 3.7	91.0 ± 1.5	256.7 ± 8.7	87.3 ± 3.0
0.200	6	65.5 ± 1.2	54.3 ± 4.4	199.7 ± 5.6	88.8 ± 1.6	258.3 ± 8.9	80.5 ± 2.1
0.500	6	66.8 ± 1.6	55.7 ± 1.8	202.8 ± 5.6	91.2 ± 1.2	273.3 ± 13.5	84.7 ± 1.8
1.000	6	67.7 ± 3.0	45.0 ± 4.9	212.3 ± 10.6	86.5 ± 1.6	262.3 ± 10.7	87.5 ± 2.7

Coronary flow		Cardiac output		Stroke volume		Creatine kinase leakage (IU·15 min ⁻¹ ·g ⁻¹ dry wt)
Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value ($\text{ml}\cdot\text{beat}^{-1}$)	Percentage recovery	
20.3 ± 0.9	71.9 ± 2.3	84.1 ± 2.4	53.6 ± 4.5	0.320 ± 0.008	59.1 ± 4.9	56.0 ± 3.8
21.0 ± 0.6	77.0 ± 3.6	88.2 ± 3.7	58.0 ± 4.1	0.338 ± 0.013	59.8 ± 3.9	44.1 ± 3.6
21.2 ± 0.9	86.5 ± 2.9	85.8 ± 3.1	$79.0 \pm 2.8^*$	0.335 ± 0.020	$86.2 \pm 3.6^\dagger$	$27.7 \pm 1.4^*$
19.7 ± 0.4	$85.7 \pm 1.3^*$	87.2 ± 1.9	$71.8 \pm 3.0^\dagger$	0.355 ± 0.006	$81.3 \pm 2.1^\dagger$	$28.2 \pm 2.6^*$
21.3 ± 0.8	$89.2 \pm 2.2^*$	90.0 ± 1.9	$70.0 \pm 3.5^\ddagger$	0.352 ± 0.011	$80.5 \pm 2.1^\dagger$	$22.4 \pm 2.1^*$
20.8 ± 0.6	$83.8 \pm 2.0^\dagger$	86.3 ± 1.5	59.3 ± 4.6	0.337 ± 0.012	$76.3 \pm 3.6§$	$36.2 \pm 1.3^\ddagger$
22.0 ± 1.5	$90.5 \pm 4.0^*$	88.8 ± 2.9	64.3 ± 2.1	0.331 ± 0.021	$76.2 \pm 2.3§$	$31.1 \pm 2.4^*$
22.3 ± 0.9	$82.5 \pm 3.0^\ddagger$	90.0 ± 3.6	45.0 ± 4.9	0.344 ± 0.007	62.2 ± 3.4	$29.4 \pm 2.8^*$

Dose-response study for the effect of various concentrations of nifedipine in the St Thomas' cardioplegic solution. The table indicates the final recovery of various indices of cardiac function (expressed as a percent of their preischemic value) at the end of a 35 min post ischaemic reperfusion period. Values for cumulative creatine kinase leakage during reperfusion are also shown. All results are the mean of six or nine hearts and the standard error of the mean is indicated.

* $P < 0.001$ † $P < 0.01$ ‡ $P < 0.02$ § $P < 0.05$

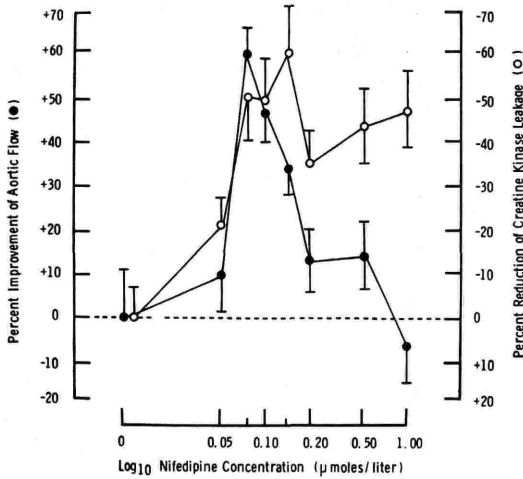


Figure 3. Nifedipine addition to cardioplegia

nase を指標として用いた dose response curve を示したが、大動脈流量の回復率を指標としたものとは若干異なり、0.075 µmoles/l 以上のすべての濃度で有意に減少していることがわかる。nifedipine の薬理作用の一つに vasodilating effect があり、この作用が心筋保護液の注入量ならびに Langendorff reperfusion の際の灌流量を増加させ、これが心筋保護作用を増強したかもしれないと考えられるため、注入心筋保護液量ならびに再灌流量について検討した。Table 3 は、その結果

Table 3 Nifedipine concentration and coronary flow

Nifedipine Concentration (µmol·litre ⁻¹)	Cardioplegic volume (ml·3 min ⁻¹ ·g ⁻¹ dry wt)	Reperfusion volume (ml·15 min ⁻¹ ·g ⁻¹ dry wt)
0	192.3±5.0	1272.3±32.5
0.050	189.7±4.6	1233.7±21.8
0.075	204.7±8.5	1399.5±89.3
0.100	193.3±5.5	1264.5±50.8
0.150	183.4±5.1	1171.5±48.5
0.200	201.5±6.4	1190.0±23.2
0.500	198.0±8.9	1318.3±50.8
1.000	197.0±7.0	1268.8±30.2

The relationship between the concentration of nifedipine in the cardioplegic infusate and (i) the volume of cardioplegic solution flowing through the coronary bed during the 3 min period of infusion (infusion pressure=60 cmH₂O); (ii) the volume of perfusate flowing through the coronary bed during the initial 15 min post ischaemic Langendorff reperfusion period (perfusion pressure=100 cmH₂O). Each value is the mean for six or nine hearts and the standard error of the mean is indicated.

を示したものであるが、nifedipine 添加により、これらの量は有意に変化していなかった。

b) 低温 (20°C) 虚血に対する効果：前述の如く nifedipine の至適濃度添加は、常温虚血下で St. Thomas 液の保護効果を増強するが、低温虚

Table 4 Nifedipine addition to cardioplegia: hypothermia series (150 min 20°C)

Nifedipine concentration (µmol·litre ⁻¹)	n=	Cardiac function					
		Aortic flow		Aortic pressure		Heart rate	
		Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (cmH ₂ O)	Percentage recovery	Control value (beats·min ⁻¹)	Percentage recovery
0	6	71.2±3.4	74.7±3.6	199.7±5.5	89.4±2.6	267.3±15.4	92.5±3.4
0.075	6	66.2±1.5	72.0±1.0	208.5±6.0	91.3±1.7	267.2±14.7	93.5±2.3

Coronary flow		Cardiac output		Stroke volume		Creatine kinase leakage (IU·15 min ⁻¹ ·g ⁻¹ dry wt)
Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (ml·beat ⁻¹)	Percentage recovery	
23.7±1.8	90.5±2.6	94.8±4.9	78.8±2.9	0.356±0.010	85.3±2.4	18.7±1.6
21.7±1.0	102.7±3.4*	87.8±2.1	79.8±1.4	0.332±0.011	85.8±3.0	14.7±0.9*

Study of the effect of nifedipine in the St Thomas' cardioplegic solution. The table indicates the final recovery of various indices of cardiac function (expressed as a percent of their preischaemic value) at the end of a 35 min postischaemic reperfusion period. Values for cumulative creatine kinase leakage during reperfusion are also shown. All results are the mean of six hearts and the standard error of the mean is indicated.

*P<0.05

血下では、はたしてどうであろうか。常温虚血下の際の至適濃度を用いて、20°C 低温虚血下 multidose cardioplegia にて検討を試みた。Table 4 にその結果を示したが、心機能面での回復は有意でなく、creatin kinase の遊出量の減少のみが有意であった。

3) Cardioplegic solution の効果と nifedipine 単独の効果

前述の結果に示された如く、nifedipine は至適量添加により、St. Thomas 液単独の保護効果を増強させることが判明したが、それでは nifedipine 単独にて、St. Thomas 液によって得られるほどの心筋保護作用が得られるならば単純で、作成の簡単な nifedipine 単独液にて cardioplegia を施行する方が便利である。そこで、non-cardioplegic non-protective solution (NaCl 149.7 mmoles/l, NaHCO₃ 10.0 mmoles/l KCl 5.9 mmoles/l, MgCl₂ 1.2 mmoles/l, CaCl₂ 1.2 mmoles/l) で、しかも Krebs-Henseleit buffer の組成に良く似た液を作成し使用した。pH 7.8 を維持するため bicarbonate を減少させ、phosphate

を除去した液である。これに常温下虚血 (37°C 35分間) で nifedipine 0.075, 0.2 μ moles/l を、低温下虚血 (20°C 150分間) で 0.075 μ moles/l を添加し検討した。

a) 常温 (37°C) 下虚血における検討: 同様のプロトコールを用い、37°C 35分間虚血において検討した結果を Table 5 に示した。nifedipine の添加しない場合の心機能の回復率は非常に悪く、6匹中1匹のみが pump function を回復させたにすぎなかった。一方、0.075 μ moles/l の nifedipine を添加すると、6匹中4匹の心臓が回復し、大動脈流量の回復率も $4.2 \pm 4.2\%$ から、 $13.7 \pm 6.2\%$ へと増加したが、統計的有意差は認められなかった。

Rapid cardiac arrest は、心筋保護の重要な component のひとつであるが、0.075 μ moles/l の nifedipine が、これらの作用を有するか否かは疑問であるため、cardiac arrest を得るに充分な量 0.2 μ moles/l で検討を試みた。6匹中5匹が pump function の回復を示し、Table 5 に示された如く、心機能の回復率も有意に増強させること

Table 5 Nifedipine as an alternative to the St Thomas' cardioplegic solution: normothermia series (35 min 37°C)

Nifedipine concentration (n=)	n	Cardiac function					
		Aortic flow		Aortic pressure		Heart rate	
		Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (cmH ₂ O)	Percentage recovery	Control value (beats·min ⁻¹)	Percentage recovery
0	6	60.5±2.4	4.2±4.2	200.0±8.1	14.2±14.2	273.3±9.2	11.8±11.8
0.075	6	66.2±4.7	13.7±6.2	198.2±5.7	53.2±17.3	270.0±13.9	51.7±16.7
0.2	6	61.0±3.3	23.1±7.2§	200.0±7.7	71.5±14.4‡	261.7±9.8	67.0±13.8‡

Coronary flow		Cardiac output		Stroke volume		Creatine kinase leakage (IU·15 min ⁻¹ ·g ⁻¹ dry wt)
Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (ml·min ⁻¹)	Percentage recovery	Control value (ml·beat ⁻¹)	Percentage recovery	
20.3±1.1	11.2±11.2	80.8±3.1	6.0±6.0	0.299±0.020	8.5±8.5	73.0±7.3
20.7±1.0	45.8±14.9	86.8±5.3	21.5±8.1	0.322±0.015	27.3±10.2	68.7±9.0
19.0±1.2	59.0±11.9‡	80.8±4.1	33.2±7.4‡	0.307±0.017	40.0±9.9§	64.3±8.6

Dose-response study for the effect of various concentrations of nifedipine in a non-cardioplegic solution (for details see text). The table indicates the final recovery of various indices of cardiac function (expressed as a percent of their preischemic value) at the end of a 35 min postischemic reperfusion period. Values for cumulative creatine kinase leakage during reperfusion are also shown. All results are the mean of six hearts and the standard error of the mean is indicated.

*P<0.001 †P<0.01 ‡P<0.02 §P<0.05

がわかった。しかしながら、この回復率は St. Thomas 液単独の回復率又、St. Thomas 液 + nifedipine の回復率に比較すると問題にならないほど低く、nifedipine 単独による心筋保護に限界があることが示された。

b) 低温 (20°C) 下虚血における検討: 常温虚血下 nifedipine 単独の心筋保護効果が認められたが、低温虚血下では、はたしてどうであろうか。0.075 $\mu\text{moles/l}$ の nifedipine を用い、同様の低温下虚血 multidose infusion により150分間の虚血にて検討を加えたのが Table 6 である。nifedipine を添加しても、心機能の回復率及び creatine kinase leakage に有意な改善は認められなかった。さらに St. Thomas 液単独 (Table 4) と比較しても、nifedipine 単独の場合の回復率は悪く、常温虚血による実験結果と同様、nifedipine 単独では、St. Thomas 液におきかえることはできない結果を得た。

考 察

本研究において、常温虚血下での nifedipine の St. Thomas 液添加の効果は、St. Thomas 液の保護効果を増強させることが明白に示されたが我々の他の Ca 拮抗剤 verapamil⁹⁾, diltiazem¹⁰⁾ を

用いた実験結果と同様 bell 形の dose response curve を示すことが判明した。その至適濃度は nifedipine 0.075 $\mu\text{moles/l}$, verapamil 1.0 $\mu\text{moles/l}$, diltiazem 0.5 $\mu\text{moles/l}$ と、各薬剤間に著しい差があることが認められ、これらの違いは、それぞれの Ca 拮抗剤のもつ Ca 拮抗作用の強さの違いによるものとも推察できる様である¹⁴⁾。しかしながら、nifedipine も verapamil¹⁰⁾ diltiazem¹¹⁾ 同様、常温虚血に関しては有効であるものの、低温虚血下ではその保護効果はなく、やはり nifedipine において他の Ca 拮抗剤同様の結果を得るに至った。本稿においては、特に bell 型の dose response curve に関する考察と、温度依存性の問題について考察を加えてみる。

まず、bell 型の dose response curve についてであるが、この type の dose response curve はめずらしいことではない。例えば、St. Thomas 液の Mg の dose response curve¹⁵⁾ も calcium paradox study の Ca 拮抗剤の効果¹⁶⁾ も同様の dose response curve を有しており、これら薬剤の使用に関しては dose response curve の決定が重要であることを思わせる。しかし、何故にこの様な curve を生じるかは明らかでない。すなわ

Table 6 Nifedipine as an alternative to the St Thomas' cardioplegic solution: hypothermia series (150 min 20°C)

Nifedipine concentration n= ($\mu\text{mol}\cdot\text{litre}^{-1}$)		Cardiac function					
		Aortic flow		Aortic pressure		Heart rate	
		Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value (cmHg_2O)	Percentage recovery	Control value ($\text{beats}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery
0	6	65.7 \pm 2.9	33.3 \pm 5.3	202.3 \pm 3.2	76.2 \pm 1.9	269.8 \pm 12.9	87.0 \pm 3.1
0.075	6	61.3 \pm 4.3	43.3 \pm 6.3	210.0 \pm 5.9	84.3 \pm 3.0	252.3 \pm 12.3	93.2 \pm 3.4

Coronary flow		Cardiac output		Stroke volume		Creatine kinase leakage ($\text{IU}\cdot 15\text{ min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{ dry wt}$)
Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	Percentage recovery	Control value ($\text{ml}\cdot\text{beat}^{-1}$)	Percentage recovery	
18.8 \pm 0.5	66.7 \pm 4.5	84.5 \pm 3.3	40.8 \pm 5.1	0.315 \pm 0.011	46.0 \pm 5.0	55.3 \pm 5.5
20.3 \pm 1.5	81.7 \pm 4.3*	81.7 \pm 5.7	52.3 \pm 5.5	0.323 \pm 0.015	56.0 \pm 4.7	55.5 \pm 6.7

Study of the effect of nifedipine dissolved in a non-cardioplegic solution (for details see text). The table indicates the final recovery of various indices of cardiac function (expressed as a percent of their preischemic value) at the end of a 35 min postischemic period. Values for cumulative creatine kinase leakage during reperfusion are also shown. All results are the mean of six hearts and the standard error of the mean is indicated.

* $P < 0.005$

ち, nifedipine の場合, $0.075 \mu\text{moles/l}$ の至適濃度以上になると, 心機能の回復率は低下するものの creatine kinase leakage の程度は軽減されていることを考えると, residual drug effect も考慮に入れるべきと考える. nifedipine は “extra-cellular site” に強く結合することが知られており, このため, reperfusion に際しても wash-out されずこの薬剤の有する negative inotropic effect が虚血後の心機能に多大の影響を及ぼしたとも考えられるのである. 我々もこの点には充分留意し, 15分間の non-recirculating Langendorff reperfusion を心機能測定前に設けているが, こういった影響は完全に無視できず albumin 等の他の binding agent を添加しての検討が望まれる次第である.

次に, Ca 拮抗剤の心筋保護作用に関する温度依存性の問題について考察を加えてみる. 我々は, nifedipine 及び verapamil に関して全く同様の実験結果を得ている. すなわち心筋保護液に添加した場合も, 単独使用した場合も, 常温虚血下では効果があるものの, 低温虚血下では効果を認めないという結果であるが, これには二つの可能性が存在すると考えられる. そのひとつには, Ca 拮抗剤が低温下で, その作用を失うのではないかという可能性. もうひとつの可能性は, Hypothermia と Ca 拮抗剤が, 作用部位, 作用機序共に同一のものを有しているのではということである. これに関しては, ほとんど報告は成されていないが, 興味ある報告がある¹⁷⁾. すなわち, Hypothermia が slow calcium channel を activate するという報告であるが, これはカエルの心房筋を用いた実験であり, 必ずしも我々のラットの实验に引用できるかは疑問であるが, Hypothermia が何らかの形で slow calcium channel に影響を及ぼしている可能性が示唆されている. 一方, 我々は verapamil の温度依存性に関し, 興味ある結果を得ている¹⁸⁾が, それによると温度を低下させてゆくに従い Ca 拮抗剤の効果は $29^{\circ}\text{C} \sim 27^{\circ}\text{C}$ のあたりで消失することが判明した. すなわち, verapamil の作用と Hypothermia の作用とが, 共通の部位において, 共通の機序で成されている可能性が大であるという見地を支持するデータである. nifedipine と verapamil は化学構造式が全く異なるにもかかわらず, 両者共にほぼ同一の

結果を示したことから, nifedipine も verapamil 同様, この保護効果と低温による保護効果とが, slow calcium channel を変化させて生じているものと考えられ, この発生機序に関して Lipoprotein Phase Transition の関与が示唆されてくる. Verapamil に関しては, 我々はこの考え方になり確実性のある実験結果を示してきたが, nifedipine についても, 同様の追求が望まれる次第である.

最後に, nifedipine の臨床応用に関してであるが, 臨床条件下で均一な低温虚血を得ることは困難であり, もしこれら “Hot Spot” に対する効果を target として均一な保護を望むなら, 臨床応用の価値も増すものと考えられる. 我々の報告してきた実験結果は rat heart によるものであり, これら動物種の問題, Hypothermia との関連性など様々な問題点が解決されてはじめて, Ca 拮抗剤の外科的心筋保護法への応用が確立されるであろう.

文 献

- 1) Bretschneider, H. J., Hubner, G., Knoll, G., Lohr, B., Nordbeck, H., Spieckermann, P. G.: Myocardial resistance and tolerance to ischemia: Physiological and Biochemical basis. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* **16** : 241-260 1975.
- 2) Kirsch, U., Rodewald, G., Kalmar, P.: Induced ischemic arrest: Clinical experience with cardioplegia in open-heart surgery. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **63** : 121-130, 1972.
- 3) Braimbridge, M. V., Chayen, J., Bitensky, L., Hearse, D. J., Jynge, P., Cankovic-Darracott, S.: Cold cardioplegia or continuous coronary perfusion. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **74** : 900-906, 1977.
- 4) Buckberg, G. D.: A proposed “solution” to the cardioplegic controversy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **77** : 803-815, 1979.
- 5) Fleckenstein, A., Janke, J., Doring, H. J., Leder, O.: Key role of Ca^{+2} in the production of non-coronariogenic myocardial necrosis. In: *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism* vol. 6, p. 21-32. University Park Press, Baltimore 1984.
- 6) Yamamoto, F., Braimbridge, M. V., Hearse, D. J.: Calcium and Cardioplegia. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **87**(6) : 908-912, 1984.
- 7) Clark, E. R., Christlieb, I. Y., Ferguson, T. B., Weldon, C. S., Marburger, J. P., Biells, D. R., Roberts, R., Ludbrook, P. A., Sobel, B. E.: The first American clinical trial of nifedipine in car-

- dioplegia *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **82** : 848-859, 1981.
- 8) Johnson, R. G., Jacokes, M. A., Aretz, T. H., Geffin, G. A., O'Keefe, D. D., Deboer, L. W. V., Guyton, R. A., Falloon, J. T., Daggett, W. M.: Comparison of myocardial preservation with hypothermic potassium and nifedipine arrest. *Circulation* **66**(Suppl 1) : I-73, 1982.
 - 9) Magee, P. G., Flaherty, J. T., Bixler, T. J., Glower, D., Gardner, T. G., Pulkley, B. H., Gott, V. L.: Comparison of myocardial protection with nifedipine and potassium. *Circulation* **60**(Suppl 1): I-151, 1979.
 - 10) Yamamoto, F., Manning, A. S., Braimbridge, M. V., Hearse, D. J.: Cardioplegia and slow calcium channel blockers: Studies with verapamil. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **86**(2) : 252-261, 1983.
 - 11) Yamamoto, F., Manning, A. S., Braimbridge, M. V., Hearse, D. J.: Calcium Antagonists and Myocardial Protection: Diltiazem during Cardioplegic Arrest. *Thorac. Cardiovasc. Surgeon.* **31**, 369-373, 1983.
 - 12) Hearse, D. J., Braimbridge, M. V., Jynge, P.: The working heart preparation. In Hearse, D. J., Braimbridge, M. V., Jynge, P., eds. protection of ischemic myocardium: cardioplegia. New York Ravan Press, 1981, p. 59-63.
 - 13) Urdel, P., Stromme, J. H.: Effect of Ca, Mg and EDTA on creatine activity in cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* **25** : 147-150, 1979.
 - 14) 今井昭一 : Ca²⁺拮抗薬と冠循環. 治療学 vol. 6(2), 181-186, 1981.
 - 15) Hearse, D. J., Stewart, D. A., Braimbridge, M. V.: Myocardial protection during ischemic arrest: the importance of magnesium in cardioplegic infusates. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **75** : 877-885, 1978.
 - 16) Baker, J. E., Hearse, D. J.: A comparison of the ability of slow channel calcium blockers to reduce tissue damage during the calcium paradox in the rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **13**(Suppl 1), 6, 1981.
 - 17) Goto, M., Tsuda, T., Yatani, A., Saito, M.: Effects of low temperature on the membrane currents and tension component of bullfrog atrial muscle. *Jpn. J. Physiol.* **28** : 211-224, 1978.
 - 18) Hearse, D. J., Yamamoto, F., Shattock, M. J.: Calcium antagonists and hypothermia: the temperature dependency of the negative inotropic and anti-ischemic properties of verapamil in the isolated rat heart. *Circulation* **70**(Suppl 1). 154-164, 1984.

Calcium Antagonists and cardioplegia: rat heart studies with the St. Thomas' cardioplegic solution

Fumio Yamamoto, M. D., Yasuaki Naito, M. D.
Tsuyoshi Fujita, M. D. et al

Department of Cardiovascular Surgery, National Cardiovascular
Center 5-7-1, Fujishirodai, Suita, Osaka, 565 Japan

The ability of nifedipine to enhance myocardial protection was assessed using an isolated rat heart model of cardiopulmonary bypass and ischaemic cardiac arrest. With normothermic ischaemic arrest, nifedipine addition improved the protective properties of the St. Thomas' cardioplegic solution. Optimal protection was observed with $0.075 \mu\text{mol nifedipine}\cdot\text{liter}^{-1}$, where post-ischaemic recovery of aortic flow was improved from $47.9 \pm 5.2\%$ to $76.7 \pm 2.9\%$ ($p < 0.001$) and creatine kinase leakage was reduced by approximately 50%. Despite the marked additional protection under normother-

mic conditions the drug was unable to improve contractile recovery after a period of hypothermic ischaemic arrest (150 min, 20°C).

In other studies, the ability of nifedipine to replace the cardioplegic solution was examined. Under normothermic conditions, it showed a good ability to protect against ischaemia, but this protection did not match that afforded by the St. Thomas' cardioplegic solution. Under hypothermic conditions the drug failed to substitute for the cardioplegic solution, suggesting that a common modality between hypothermia and nifedipine induced protection.

Key words: calcium antagonists, nifedipine, cardioplegia, myocardial protection, hypothermia