

虚血・代謝性冠微小血管拡張と過酸化水素 冠微小循環と内皮由来過分極因子としての 過酸化水素

矢田 豊隆

特集

心脈管作用物質研究の最前線 1

要約：冠微小循環は、心筋収縮を繰り返す心筋内を走行するために、心筋収縮に伴うメカニカルストレスによって、他臓器の循環に比べ収縮期の血管抵抗が高くなっている。このような不利な条件下においても、心筋細胞近傍の毛細血管まで血流を保ち、冠灌流圧や心筋酸素需要の変化に応じて血流を増減させる冠自動調節機能や代謝性血流調節機構を有している。本稿では、1. 心内膜側と心外膜側冠微小循環の特徴、2. 冠微小循環と内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived releasing factor : EDRF)、3. 心筋虚血時冠微小循環における内皮由来過分極因子 (endothelium-derived hyperpolarising factor : EDHF) としての過酸化水素 (H_2O_2) の役割、4. 心筋虚血時冠微小側副血行路における EDHF としての H_2O_2 の役割、5. 糖尿病を伴うペーシング負荷による代謝性冠微小血管拡張時の EDHF としての H_2O_2 の役割、について概説する。

1. 心内膜側と心外膜側冠微小循環の特徴

心筋内微小循環を観察するために生体顕微鏡が開発され、当初心外膜側微小血管の知見が数多く得られた。しかし、方法論的制約のため、その観察部位は心臓表面のみで、心筋虚血発生の場合である心内膜側冠微小血管の評価は皆無であった。1695年、Scaramucci(1)が仮説をたて収縮期に血管が虚脱することを唱えた。心筋内微小血管が心筋収縮による機械的な影響を受け冠血流に拍動的な変化を及ぼすが、特に心外膜側に比べ、心内膜側で変化が大きい。このことを解明するために、我々はニードル型 CCD 生体顕微鏡を開発し、この顕微鏡に血管圧迫防止のための先端にバルーンの付いたシースを作製した。このシースの先端から心内膜側内血液排除のための緩衝液を流すことが可能である。こ

のシースを装着したニードル型 CCD 生体顕微鏡を用いて、左心耳から、僧帽弁を介して左心室心室中隔側にアプローチし、心内膜側微小血管を観察することに成功した(2)。一方、心臓表面の心外膜側微小血管もシースを装着して観察する(図1)。この生体顕微鏡によって、ブタ生体内心内膜側細動脈の心周期における血管径変化が、拡張末期に比べ収縮末期には約20%減少し、収縮期に血管が虚脱するという Scaramucci(1)の仮説と異なり、血管径は減少したが、虚脱はしなかった。当教室では、心筋内血流として20-MHz超音波血流計を用いて心筋内血流の入口となる左冠動脈中隔枝で血流を計測したが、収縮期の血管外圧迫力によって、逆流を認めた(3)。その逆流と血管径減弱の収縮期のタイミングは、ほぼ一致する。この逆流は、無駄な血流で冠動脈閉塞時には、順流と逆流の割合が1:1となり to-and-fro のパターンとなり血流が停滞する。一方、心外膜側細動脈では、収縮期の血管径変化は数%変化するのみである。心外膜側血流計測時には、収縮期逆流は認められない。このような心筋の深さによる血流パターンおよび心外膜側と心内膜側冠微小循環の血管径変化の相違は重要であり、心内膜側冠微小血管の易虚血性の要因と考えられる。

2. 冠微小循環と内皮由来弛緩因子 (EDRF)

血管内皮は、プロスタサイクリン (PGI_2)、一酸化窒素 (NO)、内皮由来過分極因子 (EDHF) の3種類の弛緩因子を産生、遊離して、血管恒常性維持に重要な役割を果たしている(4)。EDRFの作用の場として、冠微小循環は重要な役割を示し、NOは主に100 μm 以上の太い血管(小動脈)で作用し、一方、EDHFは100 μm 未満の細い血管(細動脈)に作用することが

キーワード：冠微小循環、内皮由来過分極因子、過酸化水素、糖尿病
川崎医科大学 医用工学教室 (〒701-0192 倉敷市松島 577)

E-mail: yada@me.kawasaki-m.ac.jp 原稿受領日：2014年1月14日、依頼原稿

Title: Coronary microcirculation and hydrogen peroxide as an endothelium-derived hyperpolarizing factor

Author: Toyotaka Yada

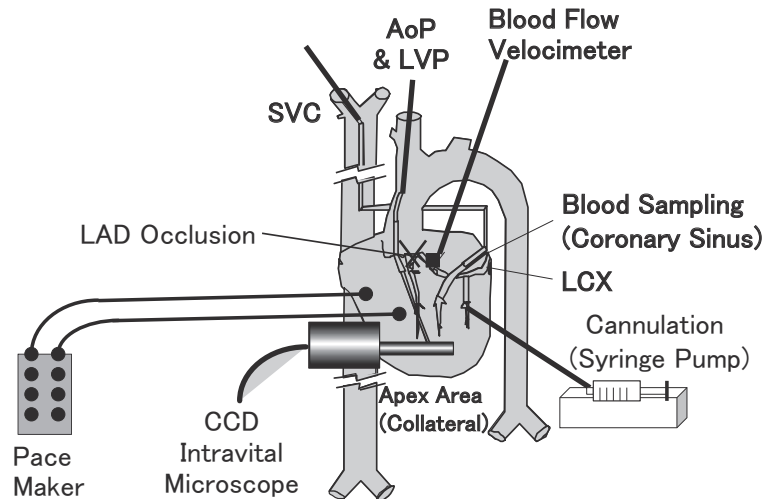


図1 ニードル型 CCD 生体顕微鏡による微小血管観察方法

ニードル型 CCD 生体顕微鏡を用いて、心臓表面の心外膜側微小血管を、シースを装着して観察する。

知られている(5)。PGI₂は、血管径のサイズに関わらずEDRFとしての関与が小さい。EDHFの本体に関する説として、Kイオン説、EETs説、gap junction説があるが、Matobaら(6)は、eNOS-KOマウス腸間膜動脈を用いて、EDHFの本体が過酸化水素(H₂O₂)であることを同定した。また、Cu,Zn-SOD-KOマウス腸間膜動脈を用いて、eNOSから生理的に産生されるsuperoxide anionがCu,Zn-SODによりH₂O₂に変換され、EDHFとして働いていることを示し、EDHFとしての産生経路を明らかにした(7)。以上より、EDHFの本体の候補は複数存在するが、少なくとも、有力な候補の一つとしてH₂O₂が存在する。Liuら(8)は、EDHFとしてのH₂O₂の血管拡張作用について、ヒト冠動脈摘出血管を用いて評価を行った。それによるとH₂O₂による血管拡張作用は、1~100 μM濃度において拡張することが明らかになっている。血管内皮で産生されるH₂O₂の産生ルートには、Cu,Zn-SOD以外に、NADPH, xanthine oxidase, lipoxxygenase, mitochondrial electron transport chain等のendothelial oxidaseが存在することが知られている。Takakiら(9)は、これら4つのendothelial oxidaseの阻害薬を用いてアセチルコリンによる血管拡張作用について評価を行ったが、これら4つのendothelial oxidase自体に血管拡張作用は存在せず、唯一Cu,Zn-SODのみが血管内皮におけるEDHFとしてのH₂O₂産生元であることを明らかにした。

3. 心筋虚血時冠微小循環におけるEDHFとしてのH₂O₂の役割

我々は、これまでにイヌ開胸生体内拍動心において、

①冠微小循環における冠自動調節能にEDHFとしてのH₂O₂が低灌流圧時の細動脈拡張に関与し、その反応は、H₂O₂分解薬であるcatalase投与により減弱すること、一方、NOの作用する小動脈において冠自動調節能に伴う拡張には、ほとんど関与せず、残存血管拡張反応としてNO消失に対するEDHF/H₂O₂の代償機構が作動すること(5)、②急性冠動脈閉塞後の虚血再灌流障害時にL-NMMA投与したEDHF優位群において、アセチルコリンに対する血管拡張反応は、コントロール群の血管拡張反応とほぼ同等で、その反応は、catalase投与により減弱し、H₂O₂が虚血再灌流障害時に心筋保護作用を持つこと(10)を明らかにした。以上より、冠自動調節能作動時および虚血再灌流障害時においてもNOとEDHF/H₂O₂が協調的、代償的に重要な役割を果たしている。

4. 心筋虚血時冠微小側副血行路におけるEDHFとしてのH₂O₂の役割

冠危険因子の存在、例えば高血圧によって心臓では、酸化ストレス増大に伴うNOの低下、血管内皮障害を伴う冠微小循環障害、冠血管予備能低下を引き起こし、臨床的にも心筋虚血を惹起することが知られており、最終的には動脈硬化、心筋梗塞へと進展する。一方、冠動脈閉塞時冠微小側副血行路の存在は、心筋虚血部冠血流を増加し、心筋梗塞範囲の改善を促す。Lampingらは(11)、イヌ冠動脈閉塞時冠微小側副血行路に作用する血流調節因子として、細動脈においてK_{ATP} channelが作動し血管拡張作用を認め、一般的に小動脈に主に作用するNOは、ほとんど血管拡張作用を認めないことを明らかにした。当教室では(12)、同

様のイヌ冠動脈閉塞モデルにおいて、EDHF としての H_2O_2 が冠微小側副血行路で冠血管拡張作用を示すか否かについて評価を行った。冠動脈閉塞後、100 μm 未満の冠微小側副細動脈において、虚血前に比較して血管拡張作用は減弱するものの残存し、その作用は、catalase によってほぼ消失した。一方、NO の作用する小動脈において、Lamping らの結果と同様で拡張作用を認めなかった。冠動脈閉塞時側副血行路においても、EDHF としての H_2O_2 が重要な心筋保護作用を持つことが明らかとなった。EDHF としての H_2O_2 が、 K_{Ca} channel を介した血管拡張を引き起こすメカニズムとして、虚血時の細胞内アシドーシス(13)や細胞内カルシウム濃度の上昇(14)が考えられている。

5. 糖尿病を伴うペーシング負荷による代謝性冠微小血管拡張時の EDHF としての H_2O_2 の役割

コントロール時の心臓ペーシング負荷後の代謝性冠血管拡張反応に H_2O_2 の作用する 100 μm 未満の細動脈が主に関与し、その反応は、catalase 投与により減弱し、 H_2O_2 に感受性の高い蛍光色素 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF) 投与時の血管内皮において、L-NMMA を投与した EDHF 優位群において、蛍光輝度の増加を認め、その反応は、catalase 投与により減弱し、 H_2O_2 が代謝性冠血管拡張反応に関与することが明らかとなった(15)。Alfa-adrenergic 受容体は、イヌ血管内皮で調節され(16)、beta-adrenergic 受容体は、ブタの K_{Ca} channel(17)、マウスの H_2O_2 (18)によって調節されることが知られている。このように代謝性冠血管拡張時においても NO と EDHF/ H_2O_2 が協調的、代償的に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。我々は、内因性 H_2O_2 が、ペーシングによるイヌ代謝性冠血管拡張反応に糖尿病が加わることによってどのような変化をするかを評価した(19)。ペーシング後のコントロール時の血管拡張反応は、100 μm 未満の冠微小細動脈において、有意な血管拡張を認めたが、100 μm 以上の冠微小小動脈において、わずかに血管拡張を認めるのみであった。糖尿病モデルにおいてコントロール群に比べて細動脈ではその拡張反応は、減弱するも残存した。一方、小動脈では、ほぼ消失した(図2)。Park ら(20)の糖尿病マウス摘出冠動脈の実験において、コントロール群のアセチルコリンに対する血管拡張反応における NO と EDHF の占める割合が 1:1 であったが、糖尿病マウスにおいては、2:8 となり、NO の減少分を EDHF が代償することを示している。我々のイヌ糖尿病モデルの実験においても NO の消失に対して EDHF

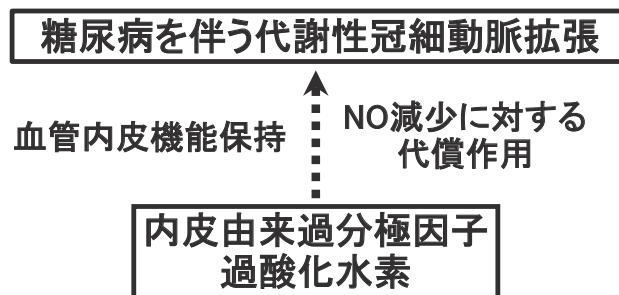


図2 糖尿病を伴う代謝性冠微小血管拡張時の EDHF/ H_2O_2 の関与

糖尿病を伴うペーシングによる代謝性冠微小血管拡張時には、主に 100 μm 未満の冠細動脈において、有意な血管拡張を認めるが、100 μm 以上の冠小動脈においては、わずかに血管拡張を認めるのみである。

が残存拡張機能を保つことで代償することが窺われた。

6. 結語

心内膜側と心外膜側の冠血管予備能を評価するうえで、冠微小循環の血流パターンと心周期血管径変化は重要であり、EDRF 中の血流調節因子の一つである EDHF としての H_2O_2 が、心筋虚血時や代謝性冠微小血管拡張時に重要な役割を持つことが明らかになっている。今後、EDHF としての H_2O_2 により、心血管病の病態解明や新たな治療が生まれることが期待される。

謝辞：本稿で述べた一連の研究に共同研究していただいた東北大学医学部循環器内科下川宏明先生、川崎医科大学の共同研究者の皆様に感謝申し上げます。研究の一部は、川崎医科大学プロジェクト研究費(25-3)、川崎医療福祉大学平成24年度医療福祉研究費C、スズケン Memorial 財団(2012)、平成25年度公益財団法人岡山医学振興会による補助を受けた。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Scaramucci J. Apud Joannem Baptistam Bustum. 1695;70-81.
- 2) Yada T, et al. Circ Res. 1993;72:939-946.
- 3) Goto M, et al. Circulation. 1992;85:2296-2304.
- 4) Shimokawa H. J Mol Cell Cardiol. 1999;31:23-37.
- 5) Yada T, et al. Circulation. 2003;107:1040-1045.
- 6) Matoba T, et al. J Clin Invest. 2000;106:1521-1530.
- 7) Morikawa K, et al. J Clin Invest. 2003;112:1871-1879.
- 8) Liu Y, et al. Circ Res. 2011;108:566-573.
- 9) Takaki A, et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2008;52:510-517.
- 10) Yada T, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006;291:H1138-H1146.
- 11) Lamping KG, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1994;266:H769-H778.
- 12) Yada T, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2010;299:H1928-H1935.
- 13) Siegel G, et al. Adv Exp Med Biol. 1992;311:53-72.
- 14) Steenbergen C, et al. Circ Res. 1987;60:700-707.

- 15) Yada T, et al. J Am Coll Cardiol. 2007;50:1272-1278.
- 16) Jones CJ, et al. Circulation. 1993;87:1264-1274.
- 17) Scornik FS, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 1993;265:H1460-H1465.
- 18) Tan CM, et al. Circ Res. 1995;277:710-717.
- 19) Yada T, et al. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2013:3861-3864.
- 20) Park Y, et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008;295:H1982-H1988.

著者プロフィール

矢田 豊隆 (やだ とよたか)

川崎医科大学 医用工学教室, 講師, 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床工学科, 教授. 医学博士.

◇ 1986 年川崎医科大学卒業, 川崎医科大学附属病院内科勤務, '89 年川崎医科大学附属病院循環器内科入局, '94 年川崎医科大学大学院 (システム循環器学) 博士課程修了, 川崎医科大学医用工学教室助手, '96 年日本学術振興会派遣研究員として米国ワシントン州立大学医学部 Physiology & Biophysics 留学, '97 年川崎医科大学医用工学教室専任講師, '07 年川崎福祉大学医療技術学部臨床工学科教授兼任, '11 年川崎医療福祉大学大学院医療技術学研究科臨床工学専攻指導教員, 現在に至る. ◇研究テーマ: 冠微小循環, 内皮由来過分極因子 (過酸化水素). ◇趣味: 読書, スポーツ観戦.

