代謝抑制後の心筋活動電位持続時間の 一過性延長について

笠間正文* 堤 健* 真島三郎*

代謝抑制による心室筋活動電位の短縮をみた後、再酸素化すると活動電位持続時間 (APD) の一過性延長 (rebound 現象) を認めた。この現象に対する代謝抑制の程度ならびに各種薬剤効果 (verapamil, nicorandil, glibenclamide, lanthanum : La, hexamethylene-amiloride : HMA) を検討した。犬心室筋を虚血類似液で20分間灌流後、正常 Tyrode 液にて再酸素化を行なった。APD は再酸素化後、代謝抑制前に比し平均 $21.0 \pm 7.3\%$ 延長し、その程度は代謝抑制の程度に依存した。Verapamil, nicorandil を代謝抑制前から灌流すると rebound 現象は抑制された。Verapamil を再酸素化の時点以後に加えても、rebound 現象に変化はみられず、La または HMA 添加により抑制された。以上より、この現象の機序として、代謝抑制時の細胞内カルシウム蓄積、ならびに再酸素化後の細胞内カルシウム濃度や pH の変化が関与していることが示唆された。
(心電図14 : No. 4, 242~252, 1994)

I. 緒 言

心筋が酸素欠乏の状態に陥ったとき、活動電位の持続時間 (APD) が短縮することはよく知られている¹⁾。近年、この APD 短縮の機序は主に ATP 依存性の過程により生じ、特に ATP 感受性 K チャネルによる外向き電流の増加が関与するとされている²⁾。一方、その

回復後に活動電位が逆に延長することは、虚血後の心電図 QT および T 波の変化などから推察されるものの、直接これを観察した研究は少ない。古くは Trautwein の記載があるが³⁾、必ずしも追認されていない⁴⁾。傳らは冠性 T 波の実験的研究の立場から、*in situ* の心室について虚血後の单相活動電位持続時間の一過性延長現象を観察している⁴⁾。我々も最近、同様の現象をイヌ心内膜標本で虚血類似液灌流後、再酸素化時に認めた⁵⁾。しかし本現象の成立条件や機序に関しては不明の点が多い。

そこでこの研究は再酸素化後の APD の一過性延長と代謝抑制の程度との関連性および

Key Words

- 虚血
- 再酸素化
- カルシウム拮抗薬
- K チャネル作用薬

* 昭和大学藤が丘病院循環器内科
(〒227 横浜市緑区藤が丘 1-30)

On the transient prolongation of cardiac action potential duration after metabolic inhibition
Masafumi Kasama, Takeshi Tsutsumi, Saburo Mashima

1994年1月5日 原稿受領/1994年5月17日 掲載承認

この現象に対する各種薬剤の効果を検討することにより、その機序の一端を考察することを目的とした。

II. 方 法

体重 8～12kg の雌雄雑種成犬をペントバルビタール(30mg/kg)にて静脈麻酔後、左開胸にて心臓摘出し、左室より直径 2～4 mm、長さ 4～6 mm の小肉柱ないし乳頭筋を切り出した。標本を灌流槽(有効容積 2.0ml)に固定し、95%O₂/5%CO₂飽和正常 Tyrode 液を 4 ml/分の速度で灌流した。流速は小児用微量点滴セットを用いて調節し、灌流液を変えるたびに一定の流速を保っているかどうかを確認した。灌流液の温度は 37.0±0.5°C に維持した。使用した正常 Tyrode 液の組成は以下のとおりである。NaCl 137.0, KCl 2.7, NaHCO₃ 12.0, NaH₂PO₄ 1.8, MgCl₂ 0.5, CaCl₂ 1.8, ブドウ糖 5.5(単位 mM), pH 7.3±0.05。標本はその遠位端より、双極吸引電極を用いて幅 2.0msec、拡張期閾値の 1.5～2.0 倍の定電圧を有する矩形波により、

1 Hz の頻度で刺激した。膜電位は微小ガラス電極法を用いて記録した。3 M KCl を満たした先端抵抗 15～30MΩ の電極を 2 本用い、片方は細胞内に刺入、もう一方を刺入された細胞にできるだけ近い細胞外におき、両電極間に生じる電位較差を記録することにより心筋活動電位を記録した。2 本の電極はそれぞれ Ag-AgCl 接合部を介して増幅器(モデル 750, W-P Inst., Inc., アメリカ)に接続した。活動電位はオシロスコープにモニターされボラロイドカメラにて撮影した。

標本は活動電位記録が安定するまで 60 分間正常 Tyrode 液にて灌流した。薬剤非使用のコントロール実験では、その後虚血類似液を 20 分間灌流し、代謝抑制とした。次に正常 Tyrode 液にて 60 分間 wash-out し、代謝抑制からの活動電位の回復過程を観察した。この間心筋活動電位を 5 分ごとに記録した。虚血類似液の組成を以下に示す。NaCl 150.0, KCl 8.0, NaHCO₃ 5.45, NaH₂PO₄ 0.9, MgCl₂ 0.5, CaCl₂ 1.8, ブドウ糖 0 (単位 mM)。虚血類似液は 95%N₂/5%CO₂ で飽和

図1 実験プロトコール

上段よりプロトコール I, II, IIIA および IIIB を示す。それぞれの薬剤は図に示したように灌流液に添加した。プロトコール II では虚血類似液灌流中の刺激頻度を 0.5, 1.0, 2.0Hz と変えた。プロトコール III では虚血類似液灌流中の刺激頻度は 2.0Hz とした。時間経過は再酸素化時を 0 分として表わした。

され、pH は 6.5 ± 0.05 であった。代謝抑制中の刺激頻度は0.5, 1.0, 2.0Hzのうち、2.0Hzで最も再酸化後のAPD延長が大であったことより、コントロール実験では代謝抑制中のみ2.0Hzで刺激した。

実験プロトコルを図1に示す。まずAPDの一過性延長が代謝抑制によらないAPD短縮からの回復過程で認められるかどうかについて検討を行なった。そこで代謝抑制を伴わないAPD短縮を起こす手段としてKチャンネル開口薬であるpinacidil ($10 \mu\text{M}$)を用いて予備実験を行なった(プロトコルI)。次に代謝抑制中の刺激頻度の影響をみるため、虚血類似液灌流中の刺激頻度を0.5, 1.0, 2.0Hzと変えて実験を行なった(プロトコルII)。薬剤効果をみる実験では、薬剤を正常Tyrode液に添加し、これらの薬剤を含む灌流液を30分間灌流、次にこれらの薬剤を含む虚血類似液を20分間灌流、その後薬剤添加正常Tyrode液を60分間灌流した(プロトコルIII A)。また、虚血類似液灌流終了時までは薬剤を添加せず、再酸化時から薬剤を添加した実験も行なった(プロトコルIII B)。プ

ロトコルIII Aを用いた実験では、代謝抑制時のカルシウム過負荷を抑止するため verapamil ($1 \mu\text{M}$)を代謝抑制前から灌流した。また、ATP感受性KチャンネルとAPDの一過性延長との関連性を知るため、nicorandil ($50 \mu\text{M}$)ないし glibenclamide ($5 \mu\text{M}$)を同様のプロトコルを用いて灌流した。プロトコルIII Bを用いた実験では、再酸化後の内向きカルシウム電流を抑制するために verapamil ($1 \mu\text{M}$)を、 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交換系を抑制するために lanthanum (La; $5 \mu\text{M}$)を使用した。また、 $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換系を抑制するためにAPDに影響を与えないとされている $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換系阻害薬である hexamethyleneamiloride (HMA; $2 \mu\text{M}$; Sigma)が添加された。Laの溶解に際しては、 $\text{HCO}_3^- / \text{CO}_2$ 緩衝液の代わりに、HEPES (5mM)を用いたTyrode液を用いてpHを調整した。

心筋活動電位の記録はコントロールと同様のプロトコルに従って行なった。記録された活動電位より90%再分極持続時間(APD)および静止膜電位(RMP)を測定し、その時間経過を分析した。

図2 コントロールにおける活動電位記録の一例

それぞれ虚血液灌流前(-80分)、虚血液灌流5分後(-15分)、20分後(0分)、再酸化後5分後(5分)、40分後(40分)、60分後(60分)における活動電位を示す。90%再分極持続時間はおのおの198, 144, 133, 179, 234, 217msecである。

分析に使用した実験はプロトコール中同一細胞に微小電極が維持されたものとし、結果は平均値±標準偏差(SD)で示した。統計学的検討はt検定を用い、 $p<0.05$ を有意差とした。

III. 結 果

最初に代謝抑制時間を決定するために活動電位が可逆的に完全に回復するかどうかに関し予備実験を行なった。完全回復は20分までの代謝抑制で常に認められ、30分以上では7例中3例で電気刺激に反応しなくなるため、分析可能な代謝抑制時間を20分以内とした。図2にコントロールの心筋活動電位変化の典型例を示す。APDは代謝抑制20分後、代謝抑

制前の198msecから133msecへ短縮し、RMPは脱分極方向へ偏位した。再酸素化後40分でAPDは逆に234msecへ延長し、RMPは代謝抑制前に比し軽度の過分極を示した。その後両者は再酸素化後60分で徐々に代謝抑制前の値へ復帰した。コントロールおよびpinacidil灌流におけるAPDのパーセント変化を図3に示す。コントロールでは代謝抑制後の再酸素化時に一過性のAPD延長が生じたのに対し、pinacidil灌流後のwash-outではAPDは直線的に回復し、その後一過性延長を認めなかった。したがってAPDの一過性延長を生じるためには代謝抑制条件が加わる必要があると考えられた。

次に再酸素化後のAPDの一過性延長に対

図3 コントロールおよび pinacidil 灌流における APD の % 変化

上段の○はコントロール(C: n=7)での APD の % 変化を示す。横軸は時間経過を示し、-20分から0分まで虚血類似液を灌流し、0分から再酸素化を行なった。バーはSDを示す。

下段は pinacidil 灌流における APD の % 変化を示す。●は pinacidil (P: 10 μ M, n=3) を-20分から0分まで正常 Tyrode 液に添加したときの APD 変化を示す。バーはSDを示す。

* $p<0.05$, ** $p<0.01$: コントロールとの有意差

表1 代謝抑制中の刺激頻度の影響

刺激頻度 (Hz)	n	%APD	
		虚血類似液	一過性延長
2.0	7	-45.0±10.8	21.0±7.3
1.0	5	-20.8±8.5**	14.8±7.0
0.5	5	-19.4±14.8**	7.0±4.9**

データは5から7データの平均±SDを示す。APDのパーセント変化(%APD)は虚血類似液灌流20分後、および再酸素化後の一過性延長時のコントロールに対するパーセントを示す。

** p<0.01: 刺激頻度2.0Hz との有意差

する代謝抑制中の刺激頻度の影響を検討した(表1)。代謝抑制中の刺激頻度が2.0Hzでは、APDは代謝抑制20分で45.0±10.8%短縮し、再酸素化後34.3±4.5分で代謝抑制前よりも21.0±7.3%延長した。刺激頻度が0.5, 1.0, 2.0Hzでは一過性延長はおおの7.0, 14.8, 21.0%であった。刺激頻度が多いほど一過性延長が大となった。

表2にコントロールおよび verapamil なし nicorandil 灌流下における、代謝抑制中および再酸素化後の APD および RMP の変化をまとめた。代謝抑制20分で APD, RMP ともにいずれの実験においてもコントロールと同様の減少がみられた。コントロールでは再酸素化後40分で APD は205.2から242.4 msec へと有意に延長したが、verapamil および nicorandil では APD は有意の延長を示さなかった。RMP はコントロールにおいて再酸素化後20分で代謝抑制前の-80.0mV か

ら-89.5mV へと一過性に過分極を示した。また RMP の一過性過分極は APD が一過性に延長する前に生じた。

図4は verapamil における APD のパーセント変化を示す。代謝抑制前から verapamil を加えると、APD の一過性延長は抑制された(プロトコールIII A)が、再酸素化時から verapamil を灌流すると、APD の一過性延長は抑制されなかった(プロトコールIII B)。

図5はKチャンネル作用薬における APD のパーセント変化を示す(プロトコールIII A)。Nicorandil では、一過性延長は消失した。Glibenclamide では代謝抑制中 APD は34.7±3.8%減少し、短縮の程度はコントロールよりも有意に小であったが、APD の回復経過はコントロールと同様であった。

ここで Na⁺-Ca²⁺交換系の関与を検討するため高濃度の La を用いて予備実験を行なった。

図6に La(100μM)添加正常 Tyrode 液を再酸素化時より灌流した際の活動電位変化を示す。再酸素化後15分で APD は復帰するが、20分では短縮し、activation time(刺激 artifact より活動電位発生までの時間)は著しく延長する(図6のパネルC, D)。ここで正常 Tyrode 液のみを灌流すると APD は延長し(図6のパネルE)、その後再び La 添加正常 Tyrode 液を灌流すると APD は軽度短縮するが、activation time はパネルC, D のようには延長しない(図6のパネルF)。このこと

表2 活動電位持続時間および静止膜電位に対する verapamil および nicorandil の効果

		-20分	0分	20分	40分	60分
control n=7	APD	205.2±20.8	102.8±18.4**	201.3±15.0	242.4±15.0**	206.8±20.4
	RMP	-80.0±2.2	-63.8±8.9**	-89.5±5.4**	-81.4±4.5	-80.5±3.1
verapamil 1 μM n=7	APD	214.0±21.9	109.8±21.8**	215.6±21.8	235.8±24.6	217.6±27.1
	RMP	-80.6±5.0	-57.0±7.7**	-81.7±2.8	-80.8±5.2	-81.2±3.8
nicorandil 50 μM n=6	APD	222.0±18.9	111.8±7.4**	213.5±24.1	202.8±14.5	175.3±22.4*
	RMP	-83.3±4.0	-60.8±8.2**	-82.3±6.5	-82.4±4.3	-81.3±3.9

データは再酸素化時からの時間経過に対する実測値を示す。Verapamil および nicorandil は虚血類似液灌流30分前から添加した。

APD: 90%再分極持続時間(msec), RMP: 静止膜電位(mV)

* p<0.05, ** p<0.01: -20分(虚血類似液灌流前)との有意差

図4 Verapamil 灌流における APD の%変化

上段は APD の%変化を示す。横軸は時間経過を示し、-20分から0分まで虚血類似液を灌流し、0分から再酸素化を行なった。■は verapamil (1 μ M, n = 7) を-50分から灌流(プロトコル IIIA)し、□は verapamil (1 μ M, n = 4) を0分から灌流(プロトコル IIIB)した。バーは SD を示す。

下段は活動電位波形の一例を示し、V (IIIB) はプロトコル IIIB による verapamil 灌流であり、V (IIIA) はプロトコル IIIA による verapamil 灌流である。

** p<0.01: コントロールとの有意差

より再酸素化後に生じる活動電位変化には Na^+ - Ca^{2+} 交換系の関与が示唆される。

図7に La および HMA における APD のパーセント変化を示す(プロトコル IIIB)。図のごとく両薬剤ともに APD の一過性延長を抑制した。

図8に APD の一過性延長に対する各種薬剤の効果のまとめを示す。コントロールでは APD は $21.0 \pm 7.3\%$ 延長したが、verapamil では $9.9 \pm 3.0\%$ と延長程度は有意に小であった。また、La および HMA では、一過性延長は著明に抑制された(おのおの 0.4 ± 4.6 , $2.7 \pm 2.1\%$)。しかし verapamil を再酸素化時から灌流すると、APD の一過性延長の程度に有意の変化はみられなかった($19.8 \pm 5.0\%$)。Glibenclamide でも同様の結果であった($15.5 \pm 5.7\%$)。

IV. 考 察

低酸素あるいは代謝抑制中に APD の短縮があることはよく知られている。その理由としては、近年 ATP 依存性の K チャネルが主要なものといわれるが、また ATP 枯渇以外にも代謝産物の蓄積、細胞内カルシウムの変化などによる影響も考えられる⁹⁾。McDonald らによれば、強度の代謝抑制では活動電位は再酸素化後に回復を示さないが、逆に代謝抑制が軽度であると、活動電位は APD の一過性延長なしに回復する¹⁾。本研究の結果、K チャネル開口薬によって生じる代謝抑制を伴わない APD 短縮からの回復過程では延長がみられず、再酸素化後の APD の一過性延長(rebound 現象)がみられる条件として代謝抑制が必要であると考えられる。さらに代謝抑制

図5 Nicorandil および glibenclamide 灌流における APD の%変化

上段は APD の%変化を示す。横軸は時間経過を示し、-20分から0分まで虚血類似液を灌流し、0分から再酸素化を行なった。▲は nicorandil (50 μ M, n=6) を-50分から灌流したときの APD 変化を示す。△は glibenclamide (5 μ M, n=6) を-50分から灌流したときの APD 変化を示す。バーは SD を示す。

下段は glibenclamide (G) および nicorandil (N) 灌流における活動電位波形の一例を示す。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: コントロールとの有意差

中の刺激頻度が多いほど APD の rebound 現象が大であった。このことは刺激頻度上昇中の酸素消費の増加と組織 ATP の低下が関与していることが考えられる⁷⁾。

現在 APD 延長の原因となりえるイオン電流変化としてカルシウム電流などの内向き電流の増加、またはカリウム電流などの外向き電流の抑制が考えられる。また、再酸素化時における $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 交換系または $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 交換系の働きが再酸素化後の APD を決定するイオン電流に影響することも考えられる。

今回の成績では、verapamil を代謝抑制前から灌流すると、rebound 現象の程度を減弱させた。しかし verapamil を代謝抑制後から灌流すると APD の延長はコントロールと同様であった。このことより、再酸素化後の APD 延長に関与するイオン電流として少なくとも内向きカルシウム電流の増加は考えに

くいと思われる。Murphy ら⁸⁾によると、hypoxia 前から verapamil を投与すると、再酸素化後の細胞内カルシウム濃度上昇は抑制されるが、hypoxia 後に verapamil を投与すると、再酸素化後の細胞内カルシウム濃度上昇は抑制されない。それゆえカルシウム拮抗薬前投与による rebound 現象抑制効果は、代謝抑制中ならびに再酸素化後のカルシウム流入を阻止し、細胞内カルシウム過負荷を抑制することにより生じる可能性がある。

また、ATP 感受性 K チャネル (I_{KATP}) 開口薬である nicorandil は rebound 現象を抑制した。この理由としては、nicorandil が再酸素化後も引き続き K チャネル開口薬として作用したこと⁹⁾、ならびに nicorandil が有するとされる心筋保護効果がカルシウム過負荷を軽減した可能性が示唆される^{10), 11)}。一方、glibenclamide では代謝抑制中の I_{KATP} の抑制によ

図6 Lanthanum 灌流における活動電位記録の一例

パネル A: 虚血類似液灌流前

パネル B: 虚血類似液灌流20分後

パネル C: 再酸素化15分後

再酸素化時より lanthanum 100 μ M 添加正常 Tyrode 液を灌流した。

パネル D: 再酸素化20分後

パネル E: 再酸素化25分後

再酸素化20分後より正常 Tyrode 液のみを灌流した。

パネル F: 再酸素化30分後

再酸素化25分後より再び lanthanum 100 μ M 添加正常 Tyrode 液を灌流した。

り APD 短縮をある程度軽減したが¹²⁾、この程度の変化では rebound 現象には影響を与えなかった。

虚血心筋では細胞内に H^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} などのイオンが過剰に蓄積していると考えられる。再灌流時にこれが回復する際に、 Na^+-H^+ 交換系、 Na^+-Ca^{2+} 交換系および Na^+-K^+ ポンプなどの関与があると思われる¹³⁾。虚血時に生じるアシドーシスは Na^+-H^+ 交換系の活性化により正常化し、さらに一過性にアルカローシスになるとの報告もある¹⁴⁾。

Na^+-K^+ ポンプは Na^+ をくみ出す際に外向き電流を伴うことが知られている。今回再灌流時に、RMP の一過性過分極傾向が認められたのはポンプ電流の増大による可能性があ

る。一方、 Ca^{2+} の排出機構としての Na^+-Ca^{2+} 交換系は起電性であるとされ、細胞内 Ca^{2+} が高く、その排出方向に働くと内向き電流となる。本電流は膜電位の深いところで増大することが知られているが¹⁵⁾、膜電位の浅いところでも多少存在しているとすると、収縮期の膜抵抗は拡張期に比し大きいので、膜電位に影響することが示唆される。今回の成績で La が rebound 現象の抑制効果を有することが判明したが、これは Na^+-Ca^{2+} 交換電流を抑制するためであると思われる。

細胞内カルシウム濃度が正常より低下する時期があるという報告はみられないものの、再酸素化中のある時期に減少またはアルカローシスのためにイオン化した Ca^{2+} が少なく

図7 Lanthanum および hexamethylenamiloride 灌流における APD の%変化
 上段は APD の%変化を示す。横軸は時間経過を示し、-20分から0分まで虚血類似液を灌流し、0分から再酸素化を行なった。◇は lanthanum ($5\mu\text{M}$, $n=5$) を0分から灌流したときの APD 変化を示す。◆は hexamethylenamiloride ($2\mu\text{M}$, $n=6$) を0分から灌流したときの APD 変化を示す。バーは SD を示す。
 下段は hexamethylenamiloride (HMA) および lanthanum (La) 灌流における活動電位波形の一例を示す。
 * $p<0.05$, ** $p<0.01$: コントロールとの有意差

図8
 APD の一過性延長
 データは再酸素化後、最も APD が延長したときのパーセント変化を示す。○はコントロール ($C: n=7$) を示す。■では verapamil (V (III A): $1\mu\text{M}$, $n=7$) を-50分から灌流(プロトコール III A)し、□では verapamil (V (III B): $1\mu\text{M}$, $n=4$) を0分から灌流(プロトコール III B)した。△は glibenclamide ($G: 5\mu\text{M}$, $n=6$)、◆は hexamethylenamiloride (HMA: $2\mu\text{M}$, $n=6$)、◇は lanthanum (La: $5\mu\text{M}$, $n=5$) を示す。バーは SD を示す。
 ** $p<0.01$ コントロールとの有意差

なることが生じれば、遅延整流K電流(I_K)に影響を与え、その結果APDの延長を起こすことがあるかもしれない¹⁶⁾。なお単離心筋細胞を用いた実験で細胞内アルカローシスを作成するとAPDの延長がみられると報告されているが¹⁷⁾、これは細胞内 Ca^{2+} のイオン化抑制を介し I_K を変化させている可能性も考えられる。今回の実験結果で、 Na^+-H^+ 交換系阻害薬であるHMAがrebound現象を抑制することを観察したが、HMAが一過性のアルカローシスを抑制したことが、その機序として考えられる。

ただし、本研究では細胞内環境の変化に伴う各電流系の状態を測定していないので、どの電流が主体であるかを特定することはできなかった。

Rebound現象の臨床的意義として可逆性の虚血後、再灌流領域に一過性のAPD延長が生じるとすると、再分極過程が変化するため心電図上T波の変化が予測される。そこでrebound現象は、臨床的にみられるpost-ischemic T wave changeに対する細胞電気生理的基礎を提供すると思われる^{18),19)}。

謝辞

稿を終えるにあたり、実験補助をして頂いた平川由枝、寺本千恵子両女史に深く感謝いたします。

本研究は一部文部省科学研究費(重点領域研究・心電活動)によった。

【文 献】

- 1) McDonald TF, MacLeod DP : Anoxia-recovery cycle in ventricular muscle : Action potential duration, contractility and ATP content. *Pflügers Arch* 325 : 305, 1971
- 2) Carmeliet E, Storms L, Vereecke J : The ATP-dependent K-channel and metabolic inhibition. In *Cardiac Electrophysiology, From Cell to Bedside*, ed by Zipes DP, Jalife J, WB Saunders Co., Philadelphia, 103, 1990

- 3) Trautwein W, Gottstein U, Dudel J : Der Aktionsstrom der Myokardfaser im Sauerstoffmangel. *Pflügers Archiv* 260 : 40, 1954
- 4) 傳 隆泰, 渡辺 坦, 加藤和三 : 冠性T波の成因. *心臓* 6 : 307, 1974
- 5) Tsutsumi T, Sekiya S, Tsunakawa H, Harumi K, Wei D : Computer simulation of post ischemic T wave inversion, based on alternation of action potential duration during and after metabolic inhibition (Abstract). *Jpn Circ J* 53 : 838, 1989
- 6) Jennings RB, Steenbergen C Jr : Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia. *Ann Rev Physiol* 47 : 727, 1985
- 7) Schaper W, Binz K, Sass S, Winkler B : Influence of collateral blood flow and of variations in $\dot{M}VO_2$ on tissue-ATP content in ischemic and infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 19 : 19, 1987
- 8) Murphy JG, Smith TW, Marsh JD : Mechanisms of reoxygenation-induced calcium overload in cultured chick embryo heart cells. *Am J Physiol* 254 : H1133, 1988
- 9) Hiraoka M, Fan Z : Activation of ATP-sensitive outward K^+ current by nicorandil (2-nicotinamidoethyl nitrate) in isolated ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 250 : 278, 1989
- 10) Nakamura Y, Kojima S, Mori H, Abe S, Miyamori R, Miyazaki T, Sakurai K, Hattori S, Takahashi M : Examination of the direct effects of nicorandil, verapamil, propranolol, and nitroglycerin on the hypoxic canine myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 10 (suppl 8) : S92, 1987
- 11) Irie H : Experimental studies on ischemic injury and reperfusion injury to the cardiac sarcoplasmic reticulum—The myocardial protective effect of nicorandil—. *Jpn Circ J* 52 : 563, 1988
- 12) Venkatesh N, Lamp ST, Weiss JN : Sulfonylureas, ATP-sensitive K^+ channels, and cellular K^+ loss during hypoxia, ischemia, and metabolic inhibition in mammalian ventricle. *Circ Res* 69 : 623, 1991
- 13) Piwnicka-Worms D, Jacob R, Shigeto N, Horres CR, Lieberman M : Na/H exchange in cultured chick heart cells : secondary stimulation of electrogenic transport during recovery from intracellular acidosis. *J Mol Cell Cardiol* 18 : 1109, 1986
- 14) Yee R, Brown KK, Bolster DE, Strauss HC : Relationship between ionic perturbations and

- electrophysiologic changes in a canine Purkinje fiber model of ischemia and reperfusion. *J Clin Invest* 82 : 225, 1988
- 15) Kimura J, Miyamae S, Noma A : Identification of sodium-calcium exchange current in single ventricular cells of guinea-pig. *J Physiol* 384 : 199, 1987
 - 16) Tohse N, Kameyama M, Irisawa H : Intracellular Ca^{2+} and protein kinase C modulate K^+ current in guinea pig heart cells. *Am J Physiol* 253 : H1321, 1987
 - 17) Kurachi Y : The effects of intracellular protons on the electrical activity of single ventricular cells. *Pflügers Arch* 394 : 264, 1982
 - 18) Cutts FB, Merlino F, Easton FW : Chest pain with inverted T waves, predominantly in precordial leads, as the only electrocardiographic abnormality. *Circulation* 16 : 599, 1957
 - 19) Mandel WJ, Burgess MJ, Neville J Jr, Abildskov JA : Analysis of T-wave abnormalities associated with myocardial infarction using a theoretic model. *Circulation* 38 : 178, 1968