

冠動脈閉塞領域における局所心筋血流量 と心筋壊死との関係

中井章至

近畿大学医学部第1内科学教室

Relation between regional myocardial blood flow after coronary
occlusion and myocardial necrosis in dogs

Shoji Nakai

First Department of Internal Medicine, Kinki University School of Medicine,
Osaka, Japan

ABSTRACT

Regional myocardial blood flow (RMBF) developing soon after myocardial infarction may minimize myocardial necrosis. To test this hypothesis, RMBF to the area of acutely occluded coronary artery was determined successively over 4 weeks in 11 open-chest dogs. Non-radioactive colored microspheres were injected into the left atrium before occlusion of the left anterior descending coronary artery, and RMBF was measured at 5 seconds, 3 hours and 12 hours after occlusion. The chest was closed and then re-opened 4 weeks later. Microspheres were injected again into the left atrium and the heart was removed to measure RMBF and determine 3 indices of myocardial necrosis: myocardial creatine kinase activity (CK), infarct size as determined by triphenyl tetrazolium chloride stain (TTC), and Azan-Mallory stain for visualization of myocardial fibrosis. RMBF measured 5 seconds after occlusion (Q1), 3 hours (Q2), 12 hours (Q3) and 4 weeks later (Q4) was $27 \pm 3\%$, $26 \pm 3\%$, $29 \pm 3\%$ and $35 \pm 3\%$ of control at the inner layer, respectively. While at the outer layer, RMBF was 36 ± 3 , 53 ± 4 , 50 ± 4 and $80 \pm 7\%$, respectively. These showed that both Q1 and the flow increase over the 4 weeks (Q4-Q1) were greater at the outer layer than the inner layer. The middle layer showed RMBF between those of the inner and outer layers. The inner layer showed a small flow increase between Q3 and Q4 ($Q4-Q3=6 \pm 3\%$). At the outer layer, there were conspicuous flow increases during Q1 to Q2 ($17 \pm 3\%$) and Q3 to Q4 ($27 \pm 6\%$). The middle layer showed increases between those of the inner and outer layers. No consistent flow change was seen between Q2 and Q3 at any of the three layers. Q1 showed good correlation with 3 indices of myocardial necrosis. Since Q1 was measured 5 seconds after occlusion, this good correlation indicated that the rich pre-existing collaterals are important in minimizing myocardial necrosis. Flow increases developing within 3 hours after occlusion (Q2-Q1) also showed

good correlations with the 3 indices, while that increasing after 12 hours (Q4-Q3) showed an inconsistent relation with those indices. This study demonstrated that there was a considerable flow increase until 3 hours after coronary occlusion and this flow increase may contribute to reducing myocardial necrosis.

Key words : Myocardial infarction, Myocardial necrosis, Regional myocardial blood flow, Collateral circulation, Non-radioactive colored microsphere technique

緒言

冠動脈が閉塞すると、その血管の支配領域に副血行が生ずることはよく知られている。この副血行には、冠閉塞前から存在しているものと、その後徐々に生ずるものがある。前者が豊富な心筋では、冠動脈が閉塞しても心筋壊死は少ないことが知られている¹。一方、後者は梗塞部の修復過程などに重要な役割を果たすとされている²。この徐々に発達する副血行にも、閉塞後比較的速やかに生ずるものと遅れて生ずるものがあり²、それぞれ役割が異なる可能性がある。閉塞後十分に早い時期に生じてくる血流は、心筋壊死を軽減させる効果が期待される。本研究の目的は、冠閉塞部への局所心筋血流量を経時的に計測し、閉塞後生ずる副血行血流を時期別に推定し、比較的速やかに生じる血流が心筋壊死を軽減させるのに役立っているか否かを明らかにすることである。

方 法

1. 実験手順

雑種成犬11頭、体重 20.7 ± 1.6 kg (\pm 標準誤差) をペントバルビタール 20 mg/kg による静脈麻酔後、気管内挿管した。実験犬は、右側臥位とし、陽圧換気下に左第5肋間から左側開胸した。開胸後は、動脈血ガスを正常化するように換気を調節し、動脈血ガスは pH 7.427 ± 0.010 , pO_2 124 ± 10 mmHg, pCO_2 33 ± 2 mmHg, BE -1.3 ± 0.7 に保った。冠動脈左前下行枝第1対角枝分岐部と第2対角枝分岐部の中央の心膜を約1 cm 切開し、左前下行枝を剝離し、結紮用の絹糸をかけた。同じく心膜を

約1 cm 切開し、左心耳を露出、多孔性の7Fポリエチレンカテーテルを約3 cm 左房内に挿入した。次に右大腿動脈からサーミスター付きの7Fカテーテルを胸部大動脈に進め、大動脈圧計測、熱希釈法による心拍出量測定、および動脈血採取用とした。計測は、大動脈圧、心拍数、1分間の期外収縮数、体重あたりの心拍出量および、後述する局所心筋血流量について、左前下行枝結紮前 (control)、結紮5秒後、3時間後、12時間後に行った (Fig. 1)。

局所心筋血流量の測定は Hale ら³ に従い、非放射性 colored microsphere を用いて行った。非放射性 colored microsphere は、直径 $11.9 \pm 1.9 \mu$ のポリスチレン製の球 (E-Z trac 社 USA 製) で、肉眼的に識別可能な色づけがされている。Control の測定は、赤と緑の microsphere で行いその平均値を計測値とした。冠閉塞5秒後、3時間後、12時間後は、それぞれ橙、黒、青色の microsphere を用いた。Microsphere は、赤血球と同じく比重1.050である。注入に先立ち microsphere の沈殿を防ぐため20%ブドウ糖と蒸留水を2:1の割合で混合させて比重1.050の溶液を作成し、その溶液10 ml にそれぞれの microsphere 400万個を浮遊させ、それを左房の多孔性カテーテルから注入した。注入後直ちに5%ブドウ糖20 ml で多孔性カテーテルを手動的に洗い流し (flush) した。Microsphere 注入の30秒前から、胸部大動脈に置かれたサーミスター付きカテーテルからハーバード社製 infusion/withdrawal ポンプ (model 915) を用いて 9.0 ml/min の吸引速度で動脈血吸引を開始し、合計1分30秒間吸引した。採取した動脈血は、局所心筋血流量

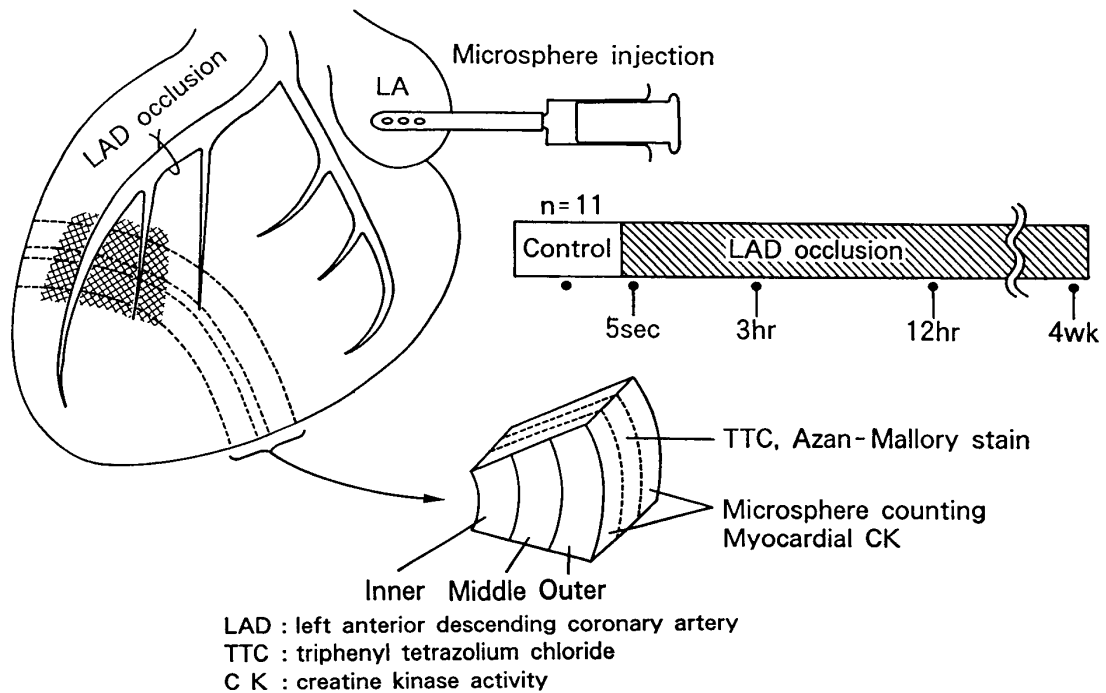


Fig. 1 Schematic representation of the experiment design

測定のための reference blood とした。

2. 冠動脈結紮後の手順

Control の計測終了後、左前下行枝を絹糸で結紮した。結紮 5 秒後および 3 時間後の計測終了後、左房の多孔性カテーテルの一端を体外に出して胸壁を一旦閉じた。12 時間後の計測終了後再び開胸し、左房の多孔性カテーテルを抜去閉胸し、4 週間飼育した。4 週間後初回と同様に麻酔開胸し、左房と末梢動静脈にカテーテルを挿入、局所心筋血流量を黄色の microsphere を用いて、同じ手順で計測した。

3. 摘出心臓の分析方法

計測終了後、心臓を摘出した。心臓全体の重量は 130 ± 7 g、左心室のみの重量は 76 ± 4 g であった。その後、左前下行枝結紮部と心尖部のほぼ中央部にあたる部位を約 5 mm の厚さで輪切りにし（中央スライス）、その中央スライスを中心として心基部（上流スライス）と心尖部（下流スライス）の両方向に 1 cm の厚さに輪切り切片を作成した（Fig. 1）。梗塞領域は左前下行枝本幹と第 2 対角枝に囲まれた部位に加え自由壁側は、第 2 対角枝から第 1 対角枝との中間まで、中隔側は、それと対称の距離を左前下行枝本幹から中隔方向にとり、梗塞領域とした。この領域の心筋をそれぞれ上流、下流のス

ライスから採取し、合計 6 個の切片を分離した。それぞれの心筋の切片を肉眼的に内層（inner）、中層（middle）、外層（outer）に 3 等分した。この小切片の中央から約 80 mg の心筋をとり心筋クレアチンキナーゼ活性値（CK）測定用とした。残りの心筋は microsphere を回収するために用いた（Fig. 1）。健常部の局所心筋血流量を知るため弁輪部に接する前壁心基部の心筋約 4 g を採取し、同様に内層、中層、外層に分割し、microsphere 回収用とした。

4. 局所心筋血流量の算出

局所心筋血流量測定のために採取した心筋切片は、梗塞部で 0.30 ± 0.01 g、健常部のそれは 1.43 ± 0.09 g であった。これらの心筋は、水酸化ナトリウム溶液中で 30 分間煮沸、溶解かくはんし、先端に 0.05 ml の目盛りを持つ 10 ml の遠心用試験管に移した後、遠心分離し microsphere を回収した。吸引した血液は blood hemolysis reagent を加えた後、遠心分離し上清みを吸引、さらに水酸化ナトリウム溶液を加え煮沸し、再度遠心分離を行い microsphere を回収した。回収された microsphere は Fuchs-Rosenthal 血球計算盤にとり顕微鏡でその数をかぞえ、心筋 1g 中の microsphere 数 (Cm) および血液中の microsphere 数 (Cr) を求めた。

Cm から局所心筋血流量 (Qm) の算出は放射性 microsphere と同様以下の式で与えられる。

$$Qm = (Cm \times Qr) / Cr$$

ただし、

Qr : 動脈血吸引速度 (9 ml/min)

Cr : 吸引した動脈血 (reference blood) 中の microsphere 数

この式から局所心筋血流量は、ml/min/g の単位で算出される。局所心筋血流量は control の局所心筋血流量を100として%表示 (% of control) した。各時期での局所心筋血流量を以下のごとく名付けた。

Q1 : 冠閉塞 5 秒後の局所心筋血流量

Q2 : 冠閉塞 3 時間後の局所心筋血流量

Q3 : 冠閉塞 12 時間後の局所心筋血流量

Q4 : 冠閉塞 4 週後の局所心筋血流量

Q1 から Q4 までの値の変化 (Flow increase: ΔQ) はそれぞれの値の差として Q2-Q1, Q3-Q2, Q4-Q3 のごとく算出した。

5. 心筋壊死の指標の測定

心筋壊死の指標として心筋クレアチンキナーゼ活性 (CK) 値, TTC 染色による梗塞サイズ, 肉眼的心筋出血, および Azan-Mallory 染色による心筋線維化所見を用いた。

心筋 CK の測定は, Shell ら⁴ に従い, 採取した心筋サンプルに sodium ethylenediaminetetraacetic acid solution を加えてホモジェナイズし, 1600G で10分間 0°C で遠心分離した後, 上澄を分析した。分析には NADPH-UV 法を用いた (Model TBA-80S, Toshiba, Japan)。求めた梗塞部の心筋 CK は, 非梗塞部である心基部後壁の心筋 CK を正常値 (100%) として, これに対する割合 (% of normal) で表した。次に, 5 mm 幅の中央スライス を TTC 染色した。TTC 染色で赤く染まらない部分を壊死100%, 赤く染色された部分を壊死0%とし, 梗塞部分の占める割合を%表示した。TTC 染色後この中央スライスは, 10%ホルマリン液中に歪まないように平板上に伸ばして2か月間固定した。このホルマリン固定した中央スライスから, Azan-Mallory 染色標本を作成した。

Azan-Mallory 染色では, 正常の心筋は赤染するが線維組織は青染する。線維化が全く認められない部分を0, すべて線維化を示す部分を5として6段階にわけ, その点数を線維化の程度 (extent of fibrosis) とした。

心筋出血についても, これのみられない切片を0, 心筋出血が全域に及ぶものを5とし, 0から5までの6段階に点数をつけて出血の程度を表した。

6. 統計学的処理

各計測値は, 平均±標準誤差で表した。平均値の有意性は, 各数値に対応のある場合は paired t-test を, 対応のない場合は non paired t-test を行って, 平均値の差の有意性を検討した。

結 果

1. 冠閉塞による血行力学上の変化

冠閉塞に伴う心拍数, 平均大動脈圧, 体重あたりの心拍出量, 心室性期外収縮, および健全部の局所心筋血流量を Table 1 に示した。冠閉塞 5 秒後では Control と比較して, 心拍数, 平均大動脈圧, 体重あたりの心拍出量, 心室性期外収縮の頻度に有意な変化はなかったが, 健全部の局所心筋血流量は内, 中, 外層いずれの層にも増加する傾向を認めた。冠閉塞 5 秒後から 3 時間後, 12 時間後, 4 週後の変化をみると, 3 時間後から 12 時間後にかけて心室性期外収縮が著明に増加するとともに, 平均大動脈圧が 117 ± 5 mmHg から 101 ± 4 mmHg へと有意な低下を示した。しかし 4 週後には心室性期外収縮はほぼ消失し, 平均大動脈圧は低値であるが他の計測値は冠閉塞前に近い値となった。

2. 冠閉塞に伴う灌流域の局所心筋血流変化

冠閉塞により局所心筋血流量は control を 100 とすると内, 中, 外層とも, それぞれ $27 \pm 3\%$, $22 \pm 3\%$, $36 \pm 3\%$ と著しく低下した (Fig. 2)。冠閉塞 5 秒後から 4 週後の変化をみると, 内, 中, 外層いずれも有意な増加を示した。内層では 5 秒後 (Q1) の $27 \pm 3\%$ が 4 週後 (Q4) には $35 \pm 3\%$ へと平均で $7 \pm 3\%$ 増加す

Table 1 Heart rate, aortic pressure, cardiac output and ventricular extrasystole during LAD occlusion

	Control	LAD occlusion			
		5sec	3hr	12hr	4wk
N	11	11	11	11	10
Heart rate (beats/min)	165±8	164±8	168±9	178±7	162±9
Mean aortic pressure (mmHg)	121±5	116±6	117±5	101±4	102±4
Cardiac output (l/min/kg)	0.13±0.01	0.21±0.08	0.14±0.03	0.12±0.01	0.20±0.07
Ventricular extrasystole (% of total heart beat)	0±0	0.6±0.4	9.5±9.1	64.1±11.6	1.6±1.6
RMBF at normal area (% of control)					
inner	100	114±9	91±7	99±7	86±8
middle	100	122±9	101±6	107±8	100±14
outer	100	122±11	100±8	95±9	108±13

mean±SE RMBF: regional myocardial blood flow LAD: left anterior descending coronary artery

るにとどまったが、一方、外層では $36 \pm 3\%$ (Q1) から $80 \pm 7\%$ (Q4) へと平均で $41 \pm 5\%$ と内層の約6倍の増加がみられ、Q4はQ1の2倍以上に達した。中層の変化は、内層と外層のほぼ中間であった。

3. 虚血の程度別にみた局所心筋血流量の低下

Q1の大小により、その後の血流増加が異なるか否かを知る目的で、Q1を0~10%, 11~25%, 26~50%, 51%以上の4段階に分けてQ2, Q3, Q4の値を比較した (Table 2, Fig. 3)。内層では、Q1の値によらず、血流量が大きく増加することはなかった。一方、外層ではQ1が比較的高い値のときに経時的に血流量増加が生じており、Q1が51%以上の群ではQ2-Q1は $21 \pm 9\%$ 、Q4-Q3は $50 \pm 15\%$ とより多くの血流増加がみられている。中層は、内層と外層の中間の変動を示した。

4週後の心筋に残存していた心筋CKの大小により血流の変化をみた (Fig. 4, Table 2)。すなわち、内層では、心筋CKの大小にかかわらず大きな血流増加はなかった。一方、外層では心筋CKが50%以下と壊死が比較強い所ではQ1 $21 \pm 3\%$ からQ4 $44 \pm 8\%$ と内層より大きな増加があった。心筋CKが51%以上保たれた壊死の軽い所ではQ1 $44 \pm 4\%$ から

Q4は $96 \pm 8\%$ と冠閉塞前の局所心筋血流量に近い値にまで回復している。中層については内層と外層の中間の動きを示した。

4. 冠閉塞による血流低下と心筋壊死の指標との関係

Q1と心筋壊死の各指標との相関係数をTable 3に示した。心筋CK, TTC染色による梗塞サイズ, Azan-Mallory染色による線維化の程度は、内層ではすべてQ1と有意な相関があった。中、外層も同様の有意な相関が認められた。外層についてQ1を大小別に4段階に分け、各指標との関係をFigure 5に示した。これではQ1が大のとき壊死が軽いことが示されている。

冠閉塞5秒後から3時間後にかけての血流増加(4Q: Q2-Q1)と心筋壊死各指標との相関を同じくTable 3に示した。Q2-Q1は、中、外層では各指標と有意な相関があった。Figure 6に外層でのこの関係を示した。Figure 5と同様Q2-Q1の大小は各指標の大小によく反映されている。内層は、この時間帯での血流増加がないため有意な相関はみられていない。

冠閉塞3時間後から12時間までの期間では、4Q (Q3-Q2)の発達はなく、各指標との相関は検出されなかった。冠閉塞12時間後から4週後にかけては、4Q (Q4-Q3)はかなりの高値

Table 2 Regional myocardial blood flow during LAD occlusion

	Regional myocardial blood flow (% of control)										Myocardial CK (% of normal)	Infarct size (% of risk area by TTC)	Macroscopic myocardial hemorrhage (0-5)	Extent of fibrosis by Azan-Mallory stain (0-5)
	Control				LAD occlusion									
	5sec (Q1)	3hr (Q2)	12hr (Q3)	4wk (Q4)	Q2-Q1	Q3-Q2	Q4-Q3	Q4-Q1	4 Q					
1) All	100	27±3	26±3	29±3	35±3	-1±2	1±2	6±3	7±3	26±3	71±4	1.1±0.1	3.8±0.2	
Inner	100	22±3	31±3	32±4	49±4	9±3	-1±4	15±4	26±4	40±4	63±5	0.8±0.2	2.6±0.2	
Middle	100	36±3	53±4	50±4	80±7	17±3	-4±3	27±6	41±5	63±4	32±5	0.3±0.1	1.8±0.2	
Outer	100	27±3	26±3	29±3	35±3	-1±2	1±2	6±3	7±3	26±3	71±4	1.1±0.1	3.8±0.2	
2) RMFB 5sec after occlusion(Q1)														
Inner	100	4±1	5±1	9±2	24±4	1±1	4±2	14±3	20±4	15±4	80±5	1.5±0.2	4.0±0.2	
Q1=0~10	100	16±1	22±4	21±3	29±4	7±4	-2±6	7±5	13±4	19±4	79±7	0.9±0.2	4.1±0.2	
Q1=11~25	100	35±2	37±7	39±7	34±8	2±6	2±6	-5±8	-2±8	26±6	68±11	0.8±0.2	4.3±0.4	
Q1=26~50	100	78±3	63±5	63±4	63±5	-16±4	0.6±4	0±7	-16±6	56±6	38±11	0.8±0.2	2.7±0.4	
Middle	100	4±1	8±3	10±4	23±5	5±2	2±2	9±3	19±5	18±7	85±5	1.6±0.4	2.8±0.3	
Q1=0~10	100	17±1	26±3	41±6	49±5	9±3	14±6	7±5	32±5	52±8	51±11	0.4±0.2	2.5±0.4	
Q1=11~25	100	38±2	56±6	38±5	69±8	19±7	-20±8	30±11	31±10	48±6	59±10	0.5±0.2	2.4±0.3	
Q1=26~50	100	76±13	57±11			-19±6						1.3±0.3		
Outer	100	6±1	14±3	14±4	33±12	9±3	1±2	17±8	16±9	29±1	66±12	1.0±0.3	3.0±0.5	
Q1=0~10	100	16±2	28±4	36±4	43±8	12±4	8±4	6±7	26±9	54±1	47±12	0.5±0.2	2.4±0.6	
Q1=11~25	100	36±1	55±5	54±4	78±7	19±5	-1±5	25±8	42±7	72±6	27±7	0.1±0.1	1.6±0.2	
Q1=26~50	100	71±3	92±9	79±5	129±14	21±9	-22±9	50±15	57±14	81±6	5±2	0.1±0.1	1.1±0.2	
3) Myocardial CK														
Inner	100	19±3	20±3	21±3	29±3	1±2	1±2	8±3	10±3	17±2	80±4	1.3±0.1	4.1±0.1	
CK≤50	100	60±10	54±9	56±6	57±6	-6±4	2±5	0±5	-4±8	66±3	33±9	0.2±0.1	2.9±0.5	
CK≥51	100	19±4	20±4	17±3	33±5	1±3	-3±3	14±5	12±5	13±3	93±3	1.2±0.3	3.4±0.2	
Middle	100	23±2	41±5	51±5	67±5	19±4	3±9	16±8	44±5	72±3	37±6	0.3±0.1	1.7±0.3	
CK≤50	100	21±3	25±4	27±4	44±8	2±3	3±3	16±7	20±7	21±4	73±7	0.7±0.2	3.1±0.3	
CK≥51	100	44±4	69±5	64±4	96±8	25±4	-9±5	32±7	51±7	87±3	13±3	0.1±0.1	1.1±0.1	
Outer	100	21±3	25±4	27±4	44±8	2±3	3±3	16±7	20±7	21±4	73±7	0.7±0.2	3.1±0.3	
CK≤50	100	44±4	69±5	64±4	96±8	25±4	-9±5	32±7	51±7	87±3	13±3	0.1±0.1	1.1±0.1	
CK≥51	100	19±4	20±4	17±3	33±5	1±3	-3±3	14±5	12±5	13±3	93±3	1.2±0.3	3.4±0.2	
CK≥51	100	23±2	41±5	51±5	67±5	19±4	3±9	16±8	44±5	72±3	37±6	0.3±0.1	1.7±0.3	

mean±SE CK : creatine kinase activity TTC : triphenyl tetrazolium chloride
 RMFB : regional myocardial blood flow LAD : left anterior descending coronary artery
 IVS : interventricular septum

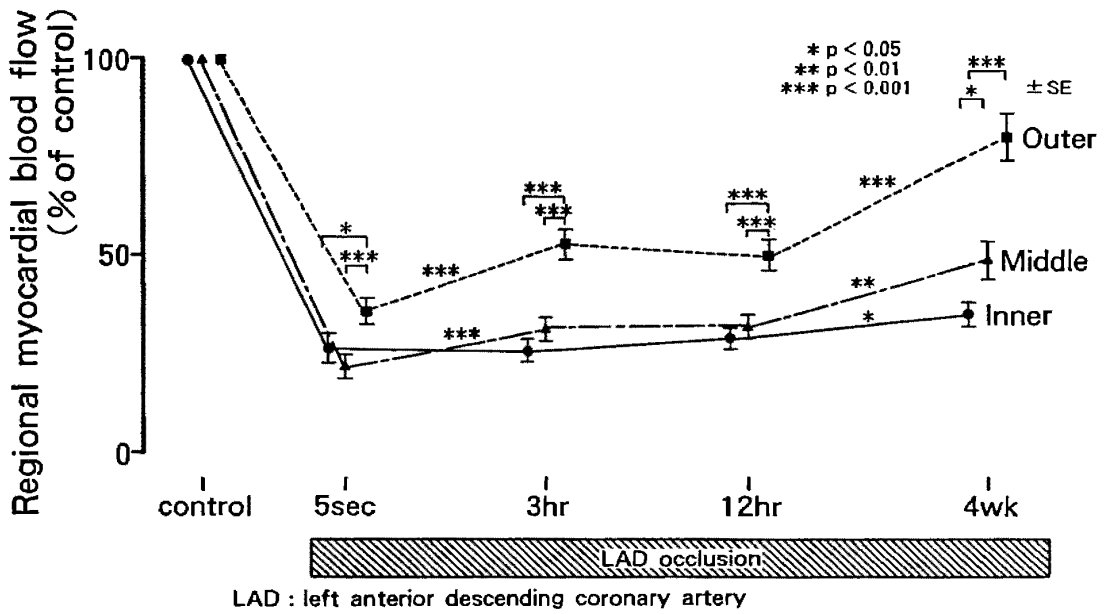


Fig. 2 Regional myocardial blood flow during left anterior descending coronary artery occlusion

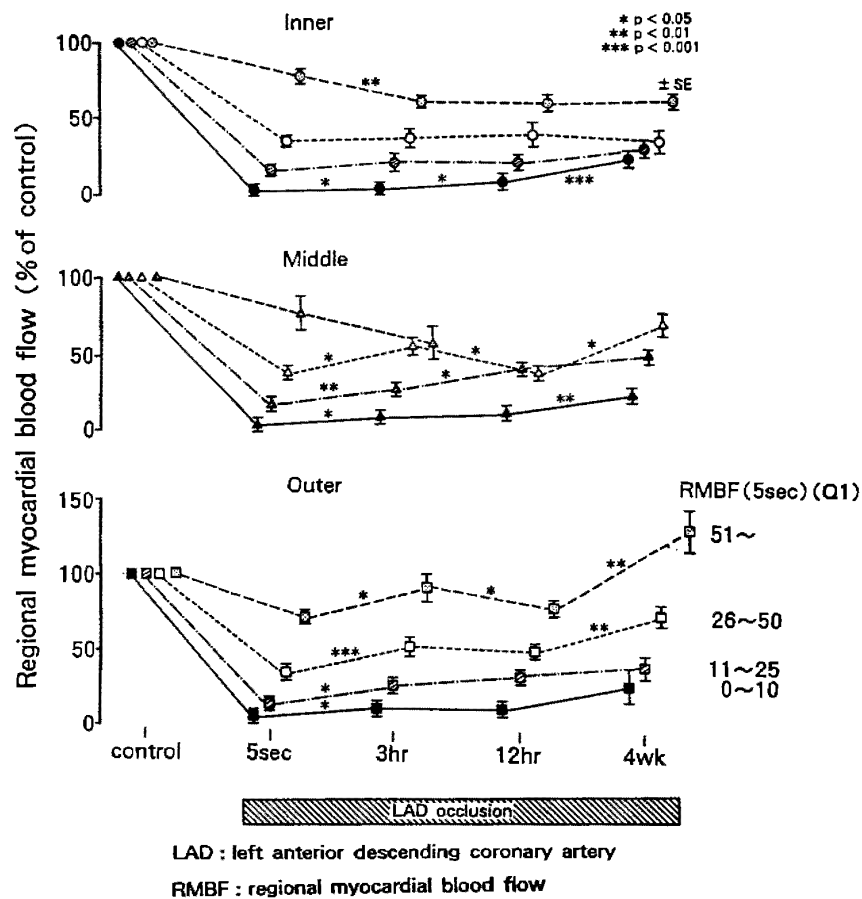


Fig. 3 Regional myocardial blood flows (RMBF) according to the flow measured 5 seconds after occlusion

Time course changes of RMBF after coronary occlusion depicted according to RMBF measured 5 seconds after occlusion (Q1). Q1 was divided into 4 groups: Closed circle (inner layer), triangle (middle layer) and square (outer layer) show the flow changes in which Q1 is 0~10%. Oblique lined circle, triangle and square show Q1 11~25%. Open circle, triangle and square show Q1 26~50%. Dotted circle, triangle and square show Q1 50~. The lower panel (outer layer) indicates that RMBF increased markedly when Q1 was more than 26%.

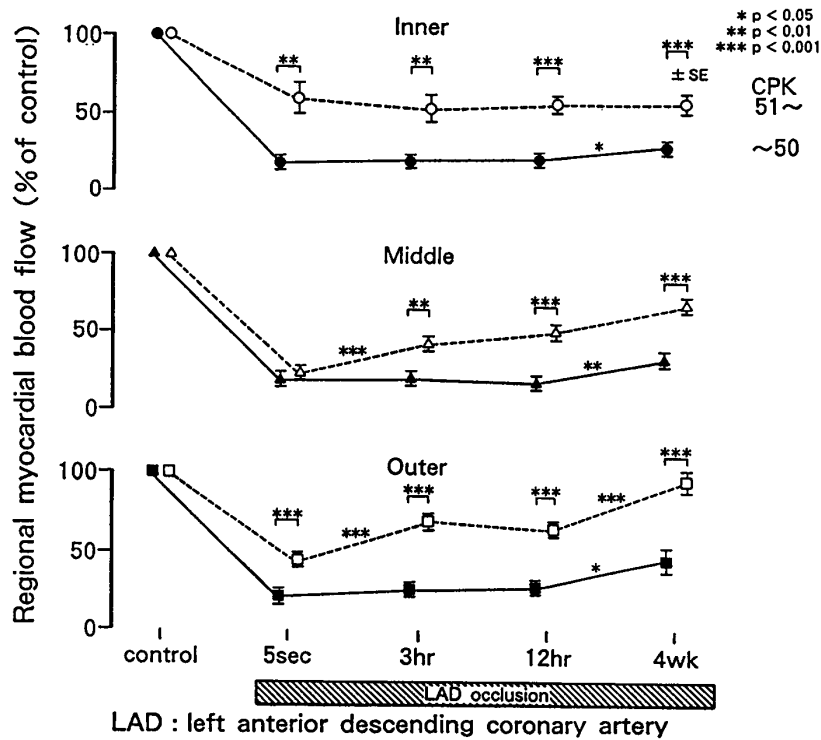


Fig. 4 Regional myocardial blood flow (RMBF) change after coronary occlusion according to myocardial creatine kinase activity

Time course changes of RMBF were divided into two groups: myocardial creatine kinase activity (CK) relatively well maintained (CK: 51% or more) and those less (CK: 50% or less). The increase of RMBF after occlusion was more prominent at the middle and outer layers where CK was well maintained. This increase was not present at the inner layer even when CK was high.

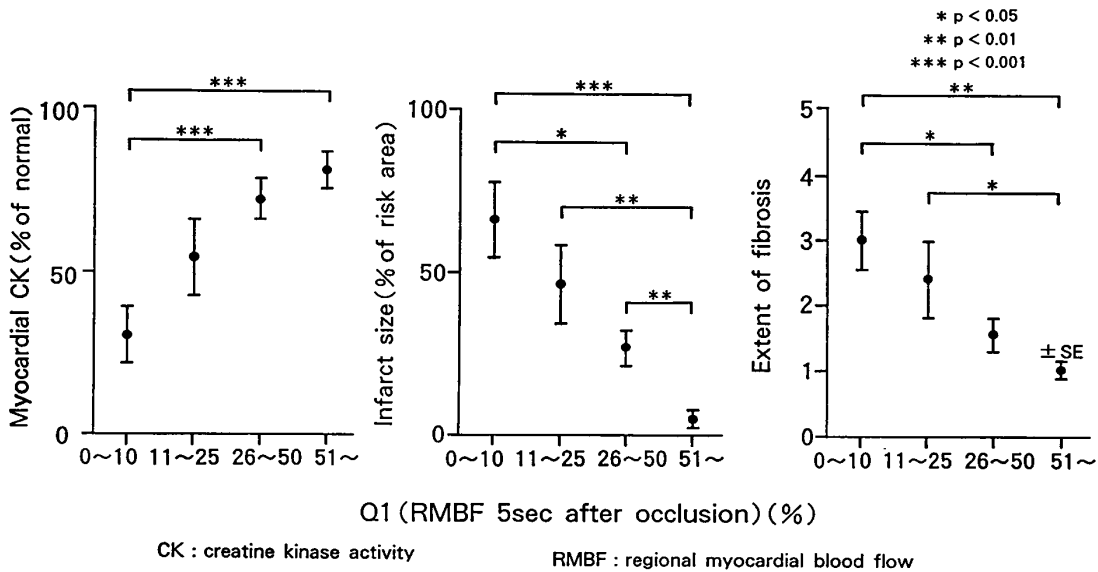


Fig. 5 Correlation between regional myocardial blood flow measured 5 seconds after occlusion (Q1) and 3 indices of myocardial necrosis at the outer layer

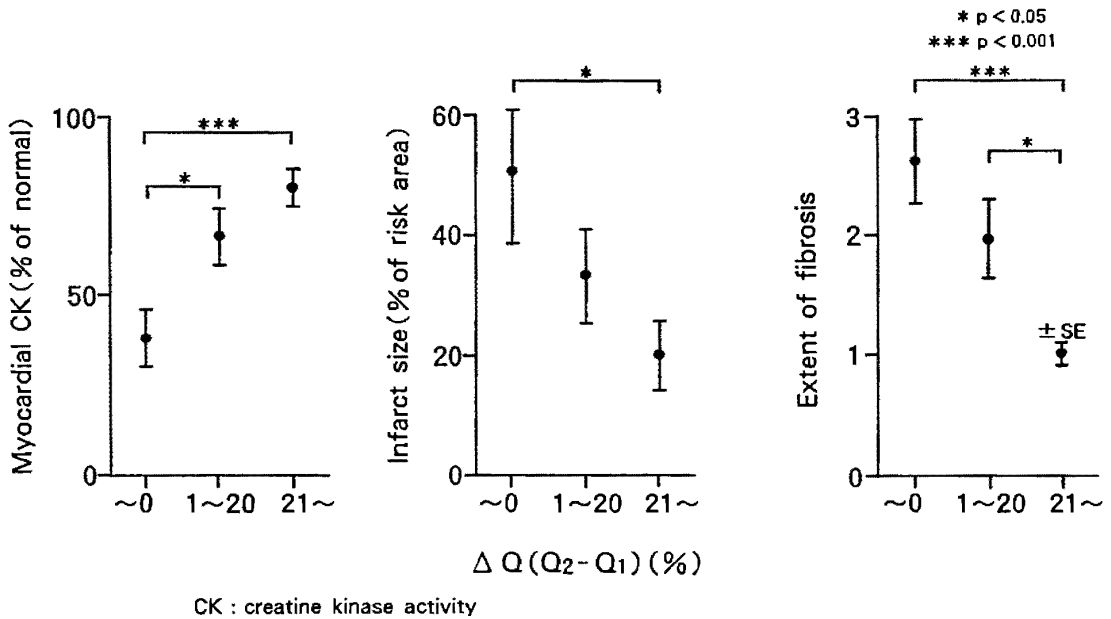


Fig. 6 Correlation between flow increase during the first 3 hours after coronary occlusion (ΔQ : Q2-Q1) and 3 indices of myocardial necrosis at the outer layer

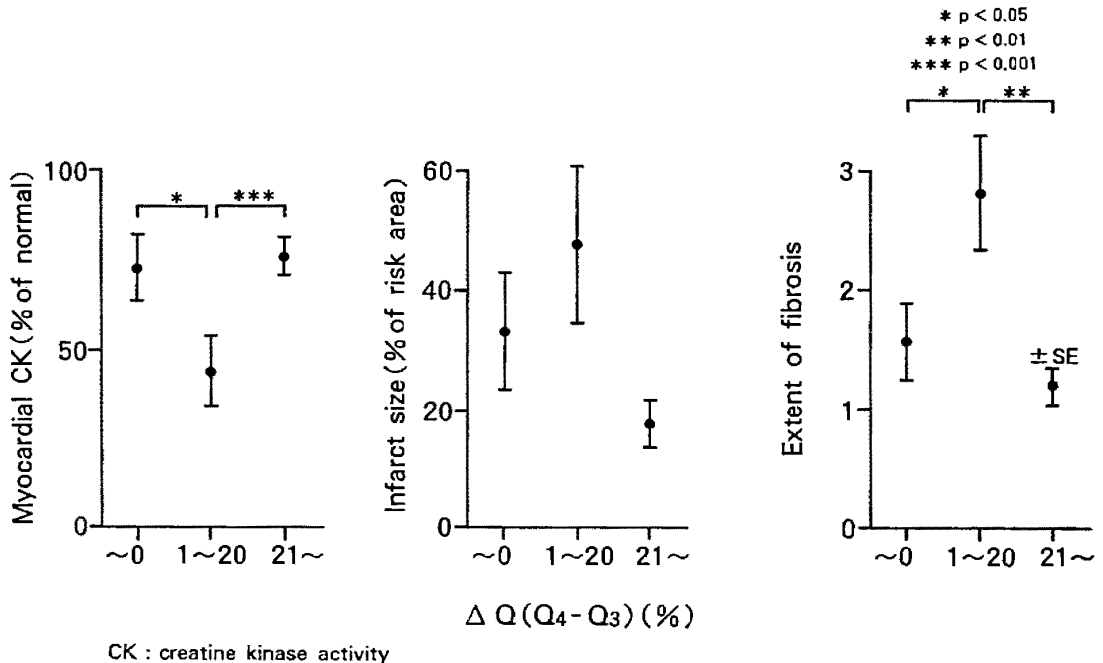


Fig. 7 Correlation between flow increase from 12 hours to 4 weeks after occlusion (ΔQ : Q4-Q3) and 3 indices of myocardial necrosis at the outer layer

に達したにもかかわらず、心筋壊死の各指標との相関はなかった (Table 3, Fig. 7).

考 察

冠閉塞後の局所心筋血流量と心筋壊死の関係については、クリアランス法⁵⁻⁸ や放射性 microsphere 法⁹⁻¹⁹ を用いて古くから数多く行わ

れている。冠閉塞後、徐々に発達する副血行は、主として梗塞部の癒痕修復などの治療過程に重要な役割を果たす² とされている。この血流のうち、冠閉塞後かなり早期に生ずるものは、これらの役割の他に心筋壊死を少なくする効果があると期待される。しかし、閉塞部に生ずる血流を長期間継続測定することは、クリア

Table 3 Correlation coefficients between regional myocardial blood flow and indices of myocardial necrosis

	Myocardial CK (% of normal)	Infarct size (% of risk area by TTC)	Extent of fibrosis by Azan-Mallory stain (0-5)
1) RMBF 5 sec after occlusion (Q1) vs indices of myocardial necrosis			
Inner	0.641 **	-0.499 **	-0.385 **
Middle	0.337 *	-0.227 *	0.026
Outer	0.472 **	-0.565 **	-0.424 **
2) Flow increase from 5 sec to 3 hours after occlusion (ΔQ : Q2-Q1)			
Inner	0.000	0.015	0.098
Middle	0.330 *	-0.350 *	-0.294 *
Outer	0.422 **	-0.275 *	-0.354 **
3) Flow increase from 12 hours to 4 weeks after occlusion (ΔQ : Q4-Q3)			
Inner	-0.0045	-0.182	-0.130
Middle	0.002	-0.008	0.076
Outer	0.104	-0.261	0.207

*p<0.05 **p<0.01 RMBF: regional myocardial blood flow

ランス法や放射性 microsphere 法では不可能であり、閉塞部に生ずる血流を時期別にわけそれぞれの役割を明らかにすることは不可能であった。本研究では、最近開発された非放射性 colored microsphere 法³の特徴を生かし、同一個体での局所心筋血流量を4週間にわたり継続して測定することができた。その結果、冠閉塞後3時間までに生ずる血流と12時間以降4週までに生ずるそれとを測定することができ、量的には後者が前者より多いものの、以下に述べる如く前者には心筋壊死を縮小する働きのあることを明らかにしえた。

1. Native collateral (Q1)

冠動脈を閉塞してもその直後からその灌流領域にはある程度の血流が存在することはすでに明らかとなっている。この血流は冠閉塞以前から潜在的に存在する副血行をあらわすと解釈されており、preexisting collateral あるいは native collateral などと呼ばれている²。本実験で冠閉塞5秒後に計測したQ1はnative collateral に対応すると思われる。MautzとGregg²⁰が1937年に記載した小さな導管 (tiny conduits) は native collateral の最初の形態的観察であろう。Native collateral はヒトでは直径20~200 μm ²¹、イヌでは40~100 μm ²²とさ

れている。Native collateral は動物の種類によって著しく差がある。ヤギ、ブタ、ヒヒではその血流量は冠閉塞前の約5%以下といわれ²³⁻²⁶、またイヌにおけるそれは冠閉塞前の10%から30%とされている^{10-12,14,15,19,27}。本実験で native collateral 量に相当するQ1は22~36%で、おおむねこれらの報告と同等とみなしうる。

前述の小さな管 (tiny conduits) は、その後次第に発達する。その成熟していく過程は、解剖学的に、また生化学的によく検討されている。最初の段階はこの小さな管が変形 (collateral transformation) を受け、徐々に機能を拡大する時期であり、initial stage と呼ばれている²。その後、いわゆる subacute stage がある。この時期は、1~2週とされている²。それから数週を経て、血管新生による完成した副血行が形成される。

2. Initial stage

この時期では native collateral は大きく変貌するといわれている。Native collateral は直径40 μm の小さな導管であったものが平均320 μm と受動的に拡大し (passive widening)²、引き伸ばされる (overstretch)²、この変形 (collateral transformation)² により native collateral は急速にその機能を拡大してゆ

く。

Marcus ら¹¹, Jugdutt ら¹² は, 冠閉塞30秒から5分で有意な血流の増加があると報告している。Marcus ら¹¹ は, 0.1 ml/min/g から0.22 ml/min/g と120%の増加を観察した。Jugdutt ら¹² は, 150%の血流増加を報告している。本実験では, Q2-Q1 が initial stage による血流増加と見なせよう。この値は, Table 2, Figure 2 をみると内, 中, 外層と同等ではない。すなわち, Q1 は外層の36%に対し, 内層27%であり, 内層も外層の約3分の2に相当する Q1 を有するものの, その後3時間後にかけての血流増加はまったくみられなかった (27 ± 3%から3時間後26 ± 3%)。一方, 外層では36 ± 3%から53 ± 4%へと大幅な血流増加が生じている。中層では外層に類似した増加がみられた。Native collateral の passive widening と overstretch による機能拡大は, 部位差があり, 主として外層でみられることが判明した。

3. Subacute stage から副血行の完成まで

Initial stage では, 血流が増加すると報告するものが多い^{6-8, 11, 12} のに対して, それ以後の変動については意見は一致していない。Schaper と Pasyk¹³ は, その後血流が増えることはないとしており, Rees と Redding^{6, 7}, Weisse ら⁸ は, その後1時間後には逆に減少するとしている。本研究でも3時間後までは, 大幅な血流の増加をみせた外層でも, それから12時間後までは増加はみられなかった (Fig. 2)。それ以後の時期では monocyte が遊離し, 有糸分裂が vascular growth factor の影響を受けて増殖する時期にある。細胞増殖に必要な DNA の合成は, 虚血が起こってすぐ開始されるが血管内で合成されるサイクルは20時間から22時間かかる。そのため実際に副血行の channel が成長するのは一日後であるとされている²。この機序については, 最近 Kass ら²¹ によって詳しく総括されている。

血管内皮細胞での DNA の合成は, 結紮後著しく高まるが, 2, 3 週後にはこれも消褪すると

いう²⁸。Shaper ら²⁹ によると副血行路の基本構造の90%は4週間で完成しているという。本研究で計測された4週後の値 (Q4) は完成された副血行を示すものと考えられ, Q4-Q3 は血管新生による副血行の増加によるものと考えられる。この ΔQ は内層でも $6 \pm 3\%$ とある程度の増加が生じているが, 外層の $27 \pm 6\%$ に比べるとはるかに少量である。外層のこの血流増加は, initial stage での血流増加 ($17 \pm 3\%$) よりかなり大きく, 全過程を通じての ΔQ の主要な部分は血管新生によるものであることが判明した。

4. 内層と外層の差

冠閉塞による副血行は外層では良く発達し, 内層では生じないことはよく知られている^{10, 13, 16-18}。内層に副血行が増えない機序の1つとして “no reflow phenomenon”³⁰ があげられている。一般に虚血の強い内層では, 組織, 心筋の浮腫がおこり血流の増加を妨げると一般にいわれている。一方, Murdock Jr と Cobb¹⁹ は, この様な副血行の増加は虚血の強い所に逆に著しいと述べている。今回の結果では, 内層での冠閉塞直後の血流 (Q1) の大小はその後の血流増加と大きな関係はなく, いずれの場合も大幅な血流増加はなかった (Fig. 3)。内層を心筋 CK を指標とし, 壊死の強いところと弱いところに分けてみても同様のことがいえる。

一方, 外層では Q1 が 0 ~ 10%, と小さい部位でも $6 \pm 1\%$ から4週後には $33 \pm 12\%$ へと内層に比べれば大幅な増加があった。Q1 が51%以上の領域では, ΔQ (Q4-Q1) は $57 \pm 14\%$ ときわめて大量である。心筋 CK から壊死の強いところと軽いところに分けてみても, 外層ではいずれの場合も内層と比べより多くの副血行の形成がみられている。従って内層と外層の副血行の発達の差異は, “no reflow phenomenon” だけでは説明できない。すなわち, 冠閉塞後の副血行発達の大小は, 虚血の程度に左右されるというより, 内層, 外層の部位差が大きな規定因子であると結論された。この内層と外層の差は, Schaper³¹ の主張するごとく外層に

そもそも副血行の供給源である動脈が存在し、組織内圧が内層に比べ低いことが原因と考えられる。

5. 副血行と心筋壊死

冠動脈が閉塞してもその領域に血流が保たれれば心筋壊死は限定されることは古くからよく知られている^{19,32}。Hirzel ら³³ や、Kirk と Hirzel³⁴ の報告によると、冠閉塞10分後の血流量と24時間後に測った心筋 CK の低下とは相関しているという。本実験の成績でも、心筋に残存している CK, TTC 染色による梗塞サイズ、線維化の程度は冠閉塞5秒後の血流 (Q1) とよく相関している (Fig. 5)。これは、Q1 が心筋壊死を防いでいることを示すと考えられ、これまでの見解を支持している。冠閉塞後の血流増加と心筋壊死の各指標との関係を、Figures 6 and 7 に示した。冠閉塞3時間までに増加した血流 ($\Delta Q: Q2-Q1$) は、4週後の心筋壊死の各指標とすべて良い相関 (Table 3) があり、Figure 5 に示した Q1 と各指標との関係によく類似している。一般に、冠動脈閉塞が早期に回復すると心筋 salvage が得られ、梗塞サイズが縮小することはよく知られている。Reimer ら³⁵ によると実験的には犬で冠閉塞40分で再開通すると55%の心筋が salvage 可能であると報告しており、ヒトでは臨床的に6時間以内の再開通は心筋 salvage 効果があると考えられている。本研究では、3時間以内に、外層では17±3%の血流が回復し、この時期の血流増加が豊富であれば4週後の心筋壊死が軽いことが示された (Fig. 6)。冠閉塞後比較的早期に生じるこの血流は心筋壊死を軽減するのに役立っていると考えられる。

一方、12時間後から4週後にかけて生じた血流 ($\Delta Q: Q4-Q3$) は心筋 salvage をもたらすとは期待できない。同じく Reimer ら³⁵ の実験によると冠閉塞後3時間での再開通では心筋 salvage は10%であり、6時間での再開通はそれ以下となることが示されている。Table 3 をみても Q4-Q3 と心筋壊死の指標とは有意な関係はなく、Figure 7 には Figures 5 and 6 に

みられた相関はない。冠閉塞後はるかに遅れて生ずるこの血流増加が従来より考えられていた梗塞部の修復過程に役立っている² と思われる。

本実験により、initial stage に基づく血流増加と、血管新生によるそれを分離計測し、この時期を異にして生ずる2つの血流は量的には後者が大であることが判明し、前者には心筋壊死を抑える作用が示唆された。

6. 結論

冠閉塞後比較的早期に増加してくる血流が、心筋壊死を防ぐ効果があるか否かを明らかにする目的で、犬の冠閉塞部の局所心筋血流量を測定した。本研究は、非放射性 colored microsphere 法を用い、4週間にわたり局所心筋血流量を測定した初めての報告であり、以下のことが判明した。

1. 冠閉塞直後から閉塞領域には、相当量の心筋血流量 (Q1) が保たれ、その値は内層27±3% (閉塞前の血流量に対する%)、中層22±3%、外層36±3%であった。Q1 は、native collateral を示すと考えられた。
2. 局所心筋血流量を冠閉塞後3時間 (Q2)、12時間 (Q3)、4週 (Q4) の時点で計測した。Q4 は内層35±3%、中層49±4%、外層80±7%と増大しており、外層での血流増加が最も著明であった。
3. 外層での血流増加 (ΔQ) を計測時点別に区分すると、Q2-Q1 は17±3%、Q4-Q3 は、27±6%であった。Q2-Q1 は native collateral の initial stage、Q4-Q3 は、血管新生による血流増加と考えられた。冠閉塞部に生じる血流は後者が前者より量的に大きいことが示された。内層ではこれらの時期での血流増加は殆どなく、中層は内、外層の中間の変化をみせた。Q3-Q2 はいずれの部位でも有意な変動はなかった。
4. Q1 は、心筋壊死の指標と相関し、この血流が大きい時壊死は軽度であった。Q2-Q1 にも同様の関係が認められた。冠閉塞3時間までに生ずる Q2-Q1 は心筋壊死を縮小する

のに役立つと考えられた。Q4-Q3 と心筋壊死の指標との相関はみられなかった。

以上から、冠閉塞部に3時間までに生じる血流増加は、心筋壊死を防ぐ効果のある事が明らかにされた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師香取瞭教授に深甚なる謝意を表すと共に直接の御指導、御助言を頂いた石川欽司教授に深謝いたします。また本研究を遂行するにあたり御協力を頂きました第1内科学教室の各位に感謝の意を表します。

本論文の要旨は第33回日本脈管学会総会（平成4年10月、岡山）において発表した。

文 献

1. Sasayama S, Fujita M. Recent insights into coronary collateral circulation. *Circulation* 1992; 85: 1197-1204.
2. Marcus ML. The coronary collateral circulation. In: Marcus ML, eds. *The coronary circulation in health and disease*: New York: McGraw-Hill Book Company, 1983; 221-241.
3. Hale SL, Aiker KJ, Kloner RA. Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 1988; 78: 428-434.
4. Shell WE, Kjekshus JK, Sobel BE. Quantitative assessment of the extent of myocardial infarction in the conscious dog by means of analysis of serial changes in serum creatine phosphokinase activity. *J Clin Invest* 1971; 50: 2614-2625.
5. Rees JR, Redding VJ. Anastomotic blood flow in experimental myocardial infarction: A new method, using ¹³³Xenon clearance, for repeated measurements during recovery. *Cardiovasc Res* 1967; 1: 169-178.
6. Rees JR, Redding VJ. Experimental myocardial infarction by a wedge method: Early changes in collateral flow. *Cardiovasc Res* 1968; 2: 43-53.
7. Redding VJ, Rees JR. Early changes in collateral flow following coronary artery ligation: The role of the sympathetic nervous system. *Cardiovasc Res* 1968; 3: 219-225.
8. Weisse AB, Senft A, Khan MI, Regan TJ. Effect of nitrate infusions on the systemic and coronary circulations following acute experimental myocardial infarction in the intact dog. *Am J Cardiol* 1972; 30: 362-370.
9. Jugdutt BI, Hutchins GM, Bulkley BH, Becker LC. Myocardial infarction in the conscious dog: Three-dimensional mapping of infarct, collateral flow and region at risk. *Circulation* 1979; 50: 1141-1150.
10. Bishop SP, White FC, Bloor CM. Regional myocardial blood flow during acute myocardial infarction in the conscious dog. *Circ Res* 1976; 38: 429-438.
11. Marcus ML, Kerber RE, Ehrhardt J, Abboud FM. Effects of time on volume and distribution of coronary collateral flow. *Am J Physiol* 1976; 230: 279-285.
12. Jugdutt BI, Becker LC, Hutchins GM. Early changes in collateral blood flow during myocardial infarction in conscious dogs. *Am J Physiol* 1979; 237: H371-H380.
13. Shaper W, Pasyk S. Influence of collateral flow on the ischemic tolerance of the heart following acute and subacute coronary occlusion. *Circulation* 1976; 53 (Suppl 1): I-57-I-65.
14. Davenport N, Goldstein RE, Bolli R, Epstein SE. Blood flow to infarct and surviving myocardium: Implications regarding the action of verapamil on the acutely ischemic dog heart. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 956-965.
15. Rivas F, Cobb FR, Bache RJ, Greenfield JC Jr. Relationship between blood flow to ischemic regions and extent of myocardial infarction: Serial measurement of blood flow to ischemic regions in dogs. *Circ Res* 1976; 38: 439-447.
16. Cox JL, Pass HI, Wechsler AS, Oldham HN Jr, Sabiston DC Jr. Evolution and transmural distribution of collateral blood flow in acute myocardial infarction. *Surg Forum* 1973; 24: 154-156.
17. Cox JL, Pass HI, Wechsler AS, Oldham HN Jr, Sabiston DC Jr. Coronary collateral blood flow in acute myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 69: 117-125.
18. Hirzel HO, Nelson GR, Sonnenblick EH, Kirk ES. Redistribution of collateral blood flow from necrotic to surviving myocardium following coronary occlusion in the dog. *Circ Res*

- 1976 ; 39 : 214-222.
19. Murdock RH Jr, Cobb FR. Effects of infarcted myocardium on regional blood flow measurements to ischemic regions in canine heart. *Circ Res* 1980 ; 47 : 701-709.
 20. Mautz FR, Gregg DE. Dynamics of collateral circulation following chronic occlusion of coronary arteries. *Proc Soc Exp Biol Med* 1937 ; 36 : 797-801.
 21. Kass RW, Kotler MN, Yazdanfar S. Stimulation of coronary collateral growth: Current developments in angiogenesis and future clinical applications. *Am Heart J* 1992 ; 123 : 486-496.
 22. Schaper W. The morphology of collaterals and anastomoses in human, canine and porcine hearts. In: *The collateral circulation of the heart*: New York: American Elsevier Publishing, 1971 ; 5-18.
 23. Vastesaegeer MM, van der Straeten PP, Friart J, Candaele G, Ghys A, Bernard RM. Les anastomoses intercoronariennes telles qu'elles apparaissent a la coronarographie post mortem. *Acta Cardiol* 1957 ; 12 : 365-401.
 24. Most AS, Williams DO, Millard RW. Acute coronary occlusion in the pig: Effect of nitroglycerin on regional myocardial blood flow. *Am J Cardiol* 1978 ; 42 : 947-953.
 25. Lubbe WF, Peisach M, Pretorius R, Bruyneel KJJ, Opie LH. Distribution of myocardial blood flow before and after coronary artery ligation in the baboon. Relation to early ventricular fibrillation. *Cardiovasc Res* 1974 ; 8 : 478-487.
 26. Grayson J, Irvine M. Myocardial infarction in the monkey: Studies on the collateral circulation after acute coronary occlusion. *Cardiovasc Res* 1968 ; 2 : 170-178.
 27. Cohen MV. Quantitation of collateral and ischemic flows with microspheres and diffusible indicator. *Am J Physiol* 1978 ; 234 : H487-H495.
 28. White FC, Carroll SM, Magnet A, Bloor CM. Coronary collateral development in swine after coronary artery occlusion. *Circ Res* 1992 ; 71 : 1490-1500.
 29. Schaper W, Flameng W, Winkler B, et al. Quantification of collateral resistance in acute and chronic experimental coronary occlusion in the dog. *Circ Res* 1976 ; 39 : 371-377.
 30. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974 ; 54 : 1496-1508.
 31. Schaper W. Collateral pressure-flow relationships in acute and chronic coronary artery occlusion. In: *The collateral circulation of the heart*: New York: American Elsevier Publishing, 1971 ; 151-179.
 32. Cohen MV, Eldh P. Experimental myocardial infarction in the closed-chest dog: Controlled production of large or small areas of necrosis. *Am Heart J* 1973 ; 86 : 798-804.
 33. Hirzel HO, Sonnenblick EH, Kirk ES. Absence of a lateral border zone of intermediate creatine phosphokinase depletion surrounding a central infarct 24 hours after acute coronary occlusion in the dog. *Circ Res* 1977 ; 41 : 673-683.
 34. Kirk ES, Hirzel HO. Critical role of coronary collateral blood flow in the pathophysiology of myocardial infarction. In: Kaltenbach M, Lichtlen P, Balcon R, Bussmann W-D, eds. *Coronary heart disease: 3rd international symposium Frankfurt: Stuttgart: Georg Thieme, 1978 ; 11-20.*
 35. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death: 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977 ; 56 : 786-794.