

冠攣縮時のエンドセリンと  
プロスタノイドの関与につ  
いてInvolvement of endothelin  
and prostanoids in coronary  
vasospasm五十嵐慶一  
堀本 和志  
竹中 孝Keiichi IGARASHI  
Masashi HORIMOTO  
Takashi TAKENAKA

## Summary

The involvement of endothelin, an important endogenous vascular constrictor, and prostanoids in coronary vasospasm was evaluated in 14 patients with and 12 patients without coronary vasospasm who had normal coronary angiograms. Coronary vasospasm was defined as a total or subtotal occlusion or diffuse and intense constriction of the left coronary artery provoked by intracoronary acetylcholine administration and associated with electrocardiographic ischemic ST-segment shifts. Blood samples were taken from the left coronary ostium and the coronary sinus before and during coronary spasm. The blood concentrations of endothelin, 6-keto-PGF<sub>1α</sub>, and thromboxane B<sub>2</sub> were measured. Patients with and without coronary vasospasm demonstrated no significant changes in endothelin and thromboxane B<sub>2</sub> concentrations in the coronary sinus blood, or in the difference between left coronary ostium and coronary sinus blood. Patients with coronary vasospasm had 6-keto-PGF<sub>1α</sub> concentrations in the coronary sinus before and during coronary vasospasm of 133.6±32.5 and 179.4±46.7 pg/ml, respectively ( $p < 0.05$ ), and the differences between coronary sinus and coronary ostium concentrations were -25.7±29.5 and 41.6±22.6 pg/ml, respectively ( $p < 0.05$ ). Patients without coronary vasospasm showed no significant changes in 6-keto-PGF<sub>1α</sub> concentration. Endothelin and thromboxane A<sub>2</sub> are not involved in coronary vasospasm, while prostacyclin concentration rises during coronary vasospasm provoked by acetylcholine.

## Key words

Coronary vasospasm

Acetylcholine

Endothelin

Prostacyclin

## はじめに

冠攣縮は異型狭心症のみならず労作性狭心症や心筋梗塞の発症機転として重要であるが<sup>1-3)</sup>、その発症機序の詳細についてはいまだ不明である。近年、血管内皮細胞由来の血管弛緩物質や収縮物質の発見により、血管内皮細胞が血管のトーンズの調節に深く関与していることが明らかになってきた<sup>4,5)</sup>。われわれは冠攣縮時の血管作用性物質の関

与を明らかにするために、血管内皮由来血管弛緩物質の分泌刺激作用を持つ acetylcholine (ACh) により冠攣縮を誘発し、冠循環での endothelin (ET-1), thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) の動態を検討した。

## 対象と方法

安静時胸痛を主訴として当科に入院した患者で、冠攣縮誘発を目的にAChを冠動脈内に注入

国立札幌病院 循環器科  
札幌市白石区菊水 4-2 (〒003)

Division of Cardiology, Sapporo National Hospital, Kikusui  
4-2, Shiroishi-ku, Sapporo 003

Received for publication January 6, 1992; accepted October 30, 1992 (Ref. No. 38-131)

Table 1. Clinical profiles and results of coronary angiography in patients with coronary vasospasm

Patient No.	Sex	Age (yrs)	ACh dose ( $\mu$ g)	Site	CAG (%)	Ischemic change in ECG
1	M	64	20	7, 12	0→100	V <sub>2</sub> -V <sub>4</sub> ST↑
2	F	33	20	7	0→99	V <sub>5</sub> , V <sub>6</sub> ST↓
3	F	73	20	7	0→90	V <sub>4</sub> -V <sub>6</sub> ST↓
4	M	67	20	11	0→100	V <sub>5</sub> , V <sub>6</sub> ST↓
5	M	65	20	7, 11	0→100	V <sub>1</sub> -V <sub>6</sub> ST↑
6	M	53	50	7	0→99	V <sub>3</sub> -V <sub>6</sub> ST↓
7	M	67	50	7	0→99d	V <sub>2</sub> -V <sub>4</sub> ST↓
8	M	43	100	6	0→100	V <sub>2</sub> -V <sub>5</sub> ST↑
9	M	48	50	7	0→100	V <sub>3</sub> -V <sub>5</sub> ST↑
10	M	65	100	6, 11	0→99	V <sub>1</sub> -V <sub>5</sub> ST↑
11	M	57	20	6, 11	0→100	V <sub>1</sub> -V <sub>6</sub> ST↑
12	M	63	50	6	0→99d	V <sub>2</sub> -V <sub>5</sub> ST↑
13	M	64	20	6	0→100	V <sub>2</sub> -V <sub>6</sub> ST↑
14	M	54	50	6	0→100	V <sub>2</sub> -V <sub>5</sub> ST↑

ACh=acetylcholine; CAG=coronary angiography; Site=site of spasm in AHA segment; d=delayed filling.

し, isosorbide dinitrate 5 mg 冠注後の冠動脈造影で器質的冠狭窄のない 26 例 (男 20 例, 女 6 例, 平均年齢 55.5 歳) を対象とした。冠攣縮誘発試験の 48 時間前より, 硝酸薬, Ca 拮抗薬の投与を中止し, 冠動脈造影前に左鎖骨下静脈より 6F の Good-Tail Rubin カテーテルを冠状静脈洞内に留置した。ACh 負荷時の徐脈に対して予防的に右心室心尖部に電極カテーテルを留置し 40 分の待期的ペーシングとした。

Judkins 法によるコントロール冠動脈造影で器質的冠狭窄あるいは冠攣縮のないことを確認し, 冠状静脈洞と左冠動脈口から同時に採血した後, Yasue らの方法に従って, 20, 50, 100  $\mu$ g の ACh を左冠動脈内に段階的に注入した。冠動脈造影は 1 分ごとに 5 分まで施行し, 冠攣縮確認後ただちに冠状静脈洞と左冠動脈口により同時採血した。冠攣縮は造影上 90% 以上の狭窄と胸痛が出現し, 心電図で虚血性 ST 変化を認めるときに陽性と判断した。冠攣縮が誘発されない場合には, ACh 100  $\mu$ g 負荷後 3 分で採血を施行した。ET-1 は EDTA 容器で採血し, 測定は Ando らの RIA 測定

系を用いた<sup>7)</sup>。また 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  と thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) はインドメサシン容器で採血し, ただちに冷却遠沈し, RIA 法で測定した。数値はすべて平均土標準偏差で示した。推計学的検討は Student の paired あるいは unpaired *t*-test を用い,  $p < 0.05$  を有意差ありとした。

## 結 果

26 例中 14 例に, 胸痛と心電図上 ST 変化を伴う冠攣縮が左冠動脈に誘発された。冠攣縮陽性群 (58.3 $\pm$ 11.0 歳) と冠攣縮陰性群 (52.3 $\pm$ 12.0 歳) との間で平均年齢, 性分布に有意差はなかった。冠攣縮陽性群の冠動脈造影所見と心電図変化とを Table 1 に示した。全例で冠攣縮時に 90% 以上の冠狭窄と心電図上 ST 変化を認め, 7 例に完全閉塞型の冠攣縮を認めた。なお前下行枝と回旋枝の近位部の同時閉塞を 2 例に認めた。冠攣縮は無処置あるいは isosorbide dinitrate の冠動脈内投与により消失した。冠攣縮陰性群では, 冠動脈造影で器質的狭窄を認めなかった。

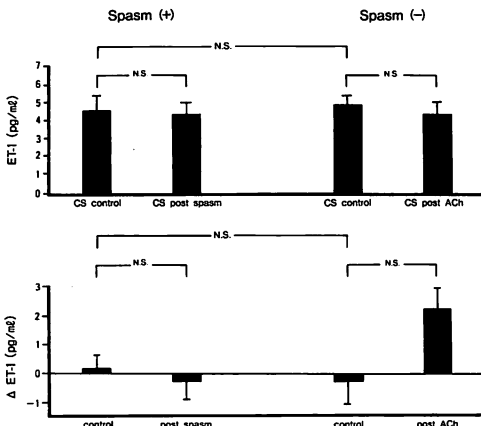


Fig. 1. ET-1 concentration before and after acetylcholine loading.

CS=coronary sinus; ACh=acetylcholine; Δ=difference between coronary sinus and left coronary ostium.

### 1. ET-1 の変化について (Fig. 1)

冠攣縮陽性群における ACh 負荷前後での ET-1 の冠状静脈洞濃度, 冠状動脈洞と左冠動脈口での濃度差は, それぞれ  $4.6 \pm 0.7$  pg/ml から  $4.3 \pm 0.7$  pg/ml,  $0.2 \pm 0.5$  pg/ml から  $-0.3 \pm 0.5$  pg/ml に変化した, 有意差はなかった. 一方, 冠攣縮陰性群では ACh 投与前後における ET-1 の冠状静脈洞濃度, 冠状静脈洞と左冠動脈口濃度差は, それぞれ  $4.9 \pm 0.5$  pg/ml から  $4.3 \pm 0.7$  pg/ml,  $-0.3 \pm 0.7$  pg/ml から  $2.3 \pm 0.6$  pg/ml に変化した, 有意差はなかった. また ACh 投与前の冠状静脈洞での ET-1 濃度についても, 冠攣縮陽性群と陰性群間に有意差を認めなかった.

### 2. TXB<sub>2</sub> の変化について (Fig. 2)

冠攣縮陽性群における ACh 負荷前後での TXB<sub>2</sub> の冠状静脈洞濃度, 冠状静脈洞と左冠動脈口の濃度差は, それぞれ  $352.2 \pm 156.0$  pg/ml から  $465.1 \pm 167.1$  pg/ml,  $263.1 \pm 153.3$  pg/ml から  $292.0 \pm 192.8$  pg/ml へと変化した, 有意差はなかった. 一方, 冠攣縮陰性群では ACh 投与前後において TXB<sub>2</sub> の冠状静脈洞濃度と冠状静脈洞と左冠動脈口の濃度差は, それぞれ  $128.5 \pm 29.1$  pg/ml から  $190.0 \pm 38.2$  pg/ml,  $68.3 \pm 29.4$  pg/ml から  $121.7 \pm 33.6$  pg/ml と変

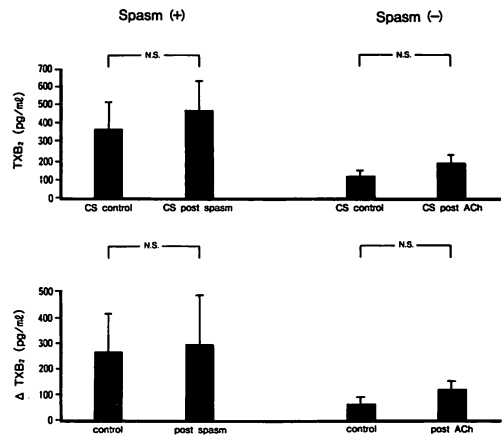


Fig. 2. TXB<sub>2</sub> concentration before and after acetylcholine loading.

Abbreviations as in Fig. 1.

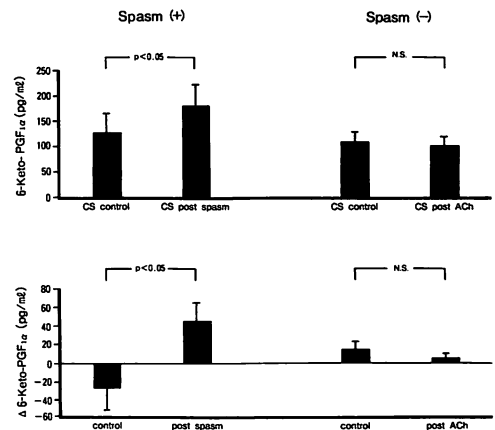


Fig. 3. 6-keto-PGF<sub>1α</sub> concentration before and after acetylcholine loading.

Abbreviations as in Fig. 1.

化した, 有意差はなかった. また冠攣縮陽性群と陰性群間で ACh 投与前の TXB<sub>2</sub> の冠状静脈洞濃度に有意差を認めなかった.

### 3. 6-keto-PGF<sub>1α</sub> の変化について (Fig. 3)

冠攣縮陽性群での冠状静脈洞における ACh 負荷前後の 6-keto-PGF<sub>1α</sub> は,  $133.6 \pm 32.5$  pg/ml から  $179.4 \pm 46.7$  pg/ml へと有意に上昇した ( $p < 0.05$ ). 冠状静脈洞と左冠動脈口の血中濃度差でも  $-25.7 \pm 29.5$  pg/ml から  $41.6 \pm 22.6$  pg/ml と有意に上昇し

た ( $p < 0.05$ ). 一方, 冠攣縮陰性群では ACh 投与前後での冠状静脈洞濃度および冠状静脈洞と左冠動脈口濃度差は, それぞれ  $111.8 \pm 18.7 \text{ pg/ml}$  から  $100.8 \pm 17.0 \text{ pg/ml}$ ,  $13.8 \pm 7.5 \text{ pg/ml}$  から  $2.5 \pm 9.9 \text{ pg/ml}$  とともに低下傾向を示したが, 有意な変化はなかった. また冠攣縮陽性群と陰性群間では ACh 投与前の冠状静脈洞濃度にも有意差を認めなかった.

## 考 察

ACh 負荷試験はヒト冠攣縮を検討するうえで有用な方法であり, Okumura ら<sup>8)</sup> は, 冠動脈内に ACh を投与し, 異型狭心症患者において高い特異性と感受性をもって冠攣縮を誘発しえたと述べている.

本研究では ACh 誘発冠攣縮時の冠循環での ET-1 産生増加を認めなかったが, Toyo-oka ら<sup>9)</sup> は左冠攣縮誘発時に冠状静脈洞中の ET-1 濃度が低下すると報告した. その機序として, まず強い冠攣縮により冠動脈の閉塞をきたし, 冠血管のずり応力が低下し ET-1 産生が減少した可能性, 次に冠攣縮により冠血流が低下し, ET-1 の血管平滑筋への取り込みや結合が増加した可能性, 最後に冠状静脈洞の血流は非虚血領域からの灌流が主体になる可能性の 3 つを挙げている. しかし, 彼らの方法では冠攣縮誘発に ACh あるいは ergonovine を用いており, 冠攣縮誘発の薬剤が統一されていない点と冠循環での ET-1 産生をより正確に知るために冠状静脈洞と大動脈の濃度差を検討していない点で, われわれの方法とは異なっている.

一方, Matsuyama ら<sup>10)</sup> はわれわれと同様の方法により, 冠状静脈洞中で乳酸産生が認められた冠攣縮群では, 冠状静脈洞中の ET-1 に有意な増加を認めたと報告した. その詳細な機序は不明としているが, 冠状静脈洞中の乳酸が増加したのは, 虚血領域を灌流したものであることを反映しており, 冠攣縮による心筋虚血を契機として ET-1 が産生されたのではないかと述べている. この結果は興味深い<sup>9)</sup>, われわれの 2 例の左冠動脈 2 枝同時

閉塞例では, 冠状静脈洞への灌流はほぼ虚血領域からと考えられるが, ET-1 濃度は対照時よりもむしろ低下しており, Matsuyama ら<sup>10)</sup> の結果とは一致しなかった.

ET-1 はわれわれの検討では有意な変化を示さなかったが, ACh 負荷時に生じる抵抗血管拡張による冠動脈内血流速度の増加と, それに引き続く心外膜冠動脈攣縮による冠動脈断面積の減少<sup>11)</sup> によって, 一過性の冠動脈内皮細胞に対する強いずり応力の発生が考えられる. 培養内皮細胞を用いた検討では, ずり応力が ET-1 の産生を増大するという報告がなされている<sup>12)</sup>. 今回, 冠攣縮群においてその産生増加が認められなかったのは, 1) 実際に ET-1 の産生増加がなかった可能性, 2) 内皮細胞から血管腔への ET-1 拡散量が少ない可能性, が考えられる. 1) については, Matsuyama ら<sup>10)</sup> の説明からみて, われわれの誘発した冠攣縮が乳酸産生をきたし, ET-1 を分泌させるほどの強い持続性のあるものではなかった可能性が考えられる. すなわち強い冠攣縮時に冠動脈内に血栓が形成されトロンビン<sup>5)</sup> や transforming growth factor  $\beta$ <sup>13)</sup> が直接血管内皮での ET-1 の産生, 分泌を促進する機序が考えられており, 上記の可能性を支持しうる.

PGL<sub>2</sub> に関しては, その安定代謝産物である 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  が冠攣縮後に冠循環中で有意に増加し, 非攣縮群では変化しなかった. この理由としてまず, 冠攣縮に拮抗する目的で冠動脈内皮細胞での PGL<sub>2</sub> 産生が高まった. 次に, ACh による血管内皮の PGL<sub>2</sub> 分泌刺激の可能性が挙げられる. 後者に関してはすでに報告があるが, この機序では冠攣縮陽性群と陰性群での差異を説明できない. 以上から, PGL<sub>2</sub> は冠攣縮を契機として冠循環中に産生されると考えられた. この機序として, Grabouski ら<sup>14)</sup> と Frangos ら<sup>15)</sup> はずり応力によって PGL<sub>2</sub> の著しい産生増加を認めたとしているが, 前述したように ACh 誘発冠攣縮時には冠動脈内に強いずり応力の発生が考えられ, これが PGL<sub>2</sub> の上昇を説明しうると考えた.

## 要 約

本研究の目的は内因性血管収縮物質である endothelin (ET-1) と prostanoid の冠攣縮への関与を明らかにすることにある。対象は器質的冠狭窄のない冠攣縮群 ( $n=14$ ) と非冠攣縮群 ( $n=12$ ) とした。冠攣縮は左冠動脈内 acetylcholine (ACh) 注入で冠動脈造影上完全閉塞あるいは亜完全閉塞を示し、心電図上 ST 変化を伴った場合と定義した。冠攣縮誘発前と冠攣縮中に左冠動脈口と冠状静脈洞で同時に採血し、ET-1, 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ , TXB $_2$  を RIA で測定し、その変化を検討した。ET-1 と TXB $_2$  は冠攣縮群と非冠攣縮群ともに ACh 負荷前後での冠循環中で有意に変化しなかった。冠攣縮陽性群で冠状静脈洞における ACh 負荷前後での 6-keto-PGF $_{1\alpha}$  は、 $133.6 \pm 32.5$  pg/ml から  $179.4 \pm 46.7$  pg/ml へと有意に上昇した ( $p < 0.05$ )。冠状静脈洞と左冠動脈口の血中濃度差でも  $-25.7 \pm 29.5$  pg/ml から  $41.6 \pm 22.6$  pg/ml と有意に上昇した ( $p < 0.05$ )。冠攣縮陰性群では有意に変化しなかった。以上より ET-1 と TXA $_2$  は冠攣縮への関与は少ないと考えられたが、PGI $_2$  は ACh によって誘発された冠攣縮に拮抗するように分泌されていた。

## 文 献

- 1) Yasue H, Omote S, Takizawa A, Nagao M, Miwa K, Tanaka S : Exertional angina pectoris caused by coronary artery spasm. *Am J Cardiol* **43** : 647-652, 1979
- 2) Maseri A, Pesosa A, Marzilli M, Severi S, Parodi O : Coronary vasospasm in angina pectoris. *Lancet* **I** : 713-719, 1977
- 3) Oliva PB, Breckinridge JC : Arteriographic evidence of coronary artery spasm in acute myocardial infarction. *Circulation* **56** : 366-374, 1977
- 4) Furchgott RF, Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288** : 373-376, 1980
- 5) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T : A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332** : 411-415, 1988
- 6) Yasue H, Horio Y, Nakamura N, Fujii H, Imoto N,

TXB $_2$  については、自然冠攣縮時の TXB $_2$  が上昇したとする報告があり<sup>16)</sup>、Yui ら<sup>17)</sup> も異型狭心症患者の誘発冠攣縮時に冠循環中の TXB $_2$  に有意な上昇を認めたが、選択的 TXA $_2$  合成阻害剤投与では冠攣縮を予防できなかつたとし、TXB $_2$  の増加は冠攣縮の原因というよりも結果ではないかと指摘している。われわれの研究では冠攣縮に伴う TXB $_2$  の有意な変化を認めなかつたが、これは冠攣縮群全例で速やかに冠攣縮の解除が可能であったことや、前述の ET-1 産生の考察から、血小板活性化が十分ではなかつたものと推察した。

ACh により誘発される冠攣縮に冠動脈内皮細胞の EDRF 産生能低下が強く関与するといわれているが<sup>4)</sup>、今回の結果から、PGI $_2$  はむしろ発現した冠攣縮を解除する方向で分泌されていることから、冠攣縮性狭心症患者の血管内皮細胞の分泌機能が部分的に障害されている可能性がある。これまで、ヒトの動脈での検討で動脈硬化に陥った血管では正常な動脈に比べて PGI $_2$  の産生が低下しているとの報告<sup>18)</sup> や、労作狭心症患者の発作誘発時の 6-keto-PGF $_{1\alpha}$  の上昇率が正常者の運動負荷時と比べて有意に低下しているとする報告がある<sup>19)</sup>。しかし、Chierchia ら<sup>20)</sup> は 9 例の異型狭心症患者に PGI $_2$  を静注したところ、冠攣縮に対する予防効果を示したのは 1 例のみであったとしている。これは PGI $_2$  産生低下が冠攣縮の一因であるとする考えを支持しない。

以上から、器質的冠狭窄を有する血管と冠攣縮を生じる冠動脈造影上正常な血管とでは、冠動脈硬化による血管内皮細胞からの血管弛緩物質の分泌能低下に差のある可能性が示唆された。

## 結 論

ACh により誘発した冠攣縮時の冠循環で以下のことを認めた。

1. ET-1 は有意に変化しなかった。
2. PGI $_2$  は増加し、冠攣縮を解除するように作用していると考えられた。
3. TXB $_2$  は有意に変化しなかった。

- Sonoda R, Kugiyama K, Obata K, Morikami Y, Kimura T : Induction of coronary artery spasm by acetylcholine in patients with variant angina : Possible role of the parasympathetic nervous system in the pathogenesis of coronary artery spasm. *Circulation* **74** : 955–963, 1986
- 7) Ando K, Hirata Y, Shichiri M, Emori T, Marumo F : Presence of immunoreactive endothelin in human plasma. *FEBS Lett* **245** : 164–166, 1989
- 8) Okumura K, Yasue H, Matsuyama K, Goto K, Miyagi H, Ogawa H, Matsuyama K : Sensitivity and specificity of intracoronary injection of acetylcholine for the induction of coronary artery spasm. *J Am Coll Cardiol* **12** : 883–888, 1988
- 9) Toyo-oka T, Aizawa T, Suzuki N, Hirata Y, Miyauchi T, Shin WS, Yanagisawa M, Masaki T, Sugimoto T : Increased plasma level of endothelin-1 and coronary spasm induction in patients with vasospastic angina pectoris. *Circulation* **83** : 476–483, 1991
- 10) Matsuyama K, Yasue H, Okumura K, Saito Y, Nakao K, Shirakami G, Imura H : Increased plasma level endothelin-1-like immunoreactivity during coronary spasm in patients with coronary spastic angina. *Am J Cardiol* **68** : 991–995, 1991
- 11) Hodgson JM, Marshal JJ : Direct vasoconstriction and endothelium-dependent vasodilation : Mechanisms of acetylcholine effect on coronary flow and arterial diameter in patients with nonstenotic coronary arteries. *Circulation* **79** : 1043–1051, 1989
- 12) Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Yazaki Y : Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **161** : 849–854, 1989
- 13) Kurihara H, Yoshizumi M, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Himaoki M, Kato H, Yazaki Y : Transforming growth factor- $\beta$  stimulates the expression of endothelin mRNA by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **159** : 1435–1440, 1989
- 14) Grabowski EF, Jaffe EA, Weksler BB : Prostacyclin production by cultured endothelial cell monolayers exposed to step increase in shear stress. *J Lab Clin Med* **105** : 36–43, 1985
- 15) Frangos JA, Eskin SG, McIntire LV, Ives CL : Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science* **227** : 1477–1479, 1985
- 16) Tada M, Kuzuya T, Inoue M, Kodama K, Mishima M, Yamada M, Inui M, Abe H : Elevation of thromboxane B<sub>2</sub> levels in patients with classic and variant angina pectoris. *Circulation* **64** : 1107–1115, 1981
- 17) Yui, Y, Hattori R, Takasu Y, Kawai C : Selective thromboxane A<sub>2</sub> synthetase inhibition in vasospastic angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* **7** : 25–29, 1986
- 18) Siginger H, Feigl W, Silverbauer K : Prostacyclin generation in atherosclerotic arteries. *Lancet* **II** : 469–473, 1979
- 19) Mehta J, Mehta P, Horalek C : The significance of platelet-vessel wall prostaglandin equilibrium during exercise-induced stress. *Am Heart J* **105** : 895–900, 1983
- 20) Chierchia S, Patrono C, Crea F, Ciabattini G, DeCaterina R, Cinotti GA, Distanto A, Maseri A : Effects of intravenous prostacyclin in variant angina. *Circulation* **65** : 470–477, 1982