

学 位 論 文 題 名

Temperature-response studies of the detrimental effects of multidose versus
singledose cardioplegic solution in the rabbit heart

（家兎摘出心における心筋保護液 multidose 投与法の
温度依存性効果に関する研究）

学位論文内容の要旨

I 研究目的

開心術中における心筋保護において、晶液性心筋保護液が臨床的及び実験的にも優れた効果があることは広く認められており、またその投与方法として虚血直後の初回注入にひき続き虚血中も間欠的に投与方法（multidose 法）が初回のみでの 1 回投与方法（singledose 法）に比し有効であり、臨床的にも multidose 法が広く用いられている。しかしながらこれらの心筋保護液の組成、投与方法の検討は成人（成熟心）を用いた結果であり新生児（未熟心）においてはその有効性について疑問がもたれてきており、特に新生児開心術の成績の不良な原因の一つとも考えられ、未熟心の心筋保護法が見直されてきている。実験的には現在使用されている心筋保護液の singledose 法が未熟心でもある程度有効であることが確認されているが、低温下の multidose 法ではむしろ傷害的に働くとの報告がありいまだ議論が多い。本研究では未熟心における singledose 法に対する multidose 法の効果を常温から低温にかけ広範囲の虚血温度の条件下で検討し、その温度依存性効果を明らかにすることを目的とした。

II 対象と方法

生後 7-10 日の New Zealand White rabbit (100-150 g) の摘出心（約 600mg）を用い、左室灌流モデルである isolated working heart model を使用した。pentobarbital にて麻酔して心臓を取り出し、大動脈にカニューレーションした後、Langendorff 冠灌流を 55cmH₂O の圧で行なった。続いて左房にカニューラを装着し 14cmH₂O の左房圧を前負荷とし、55cmH₂O の後負荷にて working 灌流を 20 分間行ない虚血前の心機能（心拍出量等）の評価を行った後プロトコールに

従った虚血条件（温度，時間，心筋保護液投与法）とした。虚血後15分間の Langendoff 再灌流を経て再び working 再灌流を20分間行い虚血後の心機能を再度評価し，その回復を虚血前値に対するパーセントで標示した。灌流液は Krebs Henseleit bicarbonate buffer (NaCl 118.5, NaHCO₃ 25.0, KCl 4.8, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, glucose 11.0mmol/litre) を用い95% O₂ + 5% CO₂ を吹送し pH7.4 (37°C) に保った，心筋保護液は St. Thomas 液 (NaCl 110, NaHCO₃ 10, KCl 16, MgCl₂ 1.2mmol/litre) を使用し，実験条件に応じ注入温度を変えた。

Ⅲ 実験プロトコール及び結果

実験1：multidose 法の温度依存性効果

各温度下 (37, 34.5, 32, 28, 20, 15, 10°C) の虚血保存における singledose 法に対する multidose 法の相対的効果を明らかにするため，まず pilot study を行い各温度における singledose 投与群の心拍出量回復率が55-75%となるように虚血時間を決定した。結果として虚血温度37, 34.5, 32, 28, 20, 15, 10°Cでの虚血時間は各々1, 1.5, 1.5, 3, 10, 12, 18時間に設定され，各温度において新たに singledose 群と multidose 群を randomization し各群 (n = 8/群) の心拍出量回復率を比較した。multidose 群の心筋保護液投与は3-18時間の虚血では60分毎に，また1-1.5時間の虚血実験では30分毎に2分間注入した。各温度下における singledose 群の心拍出量回復率は55.7±5.6%，68.5±6.8%，73.8±4.1%，54.6±5.3%，56.3±7.5%，59.5±7.7%，81.3±2.3%であったのに対し multidose 群では75.7±1.5%，78.4±4.8%，65.0±5.8%，36.7±5.8%，34.6±7.5%，25.9±6.0%，9.6±6.4%であり，37°Cにおいては multidose 群が singledose 群に比し有意に良好な回復率を示したが温度を下げるに従いその優位性は減少し，15°C以下では singledose 群より劣り10°Cにおいては有意に劣っており，multidose 法には温度依存性の効果があることが示された。

実験2：一定虚血温度下における虚血時間の影響

実験1においては singledose 群の回復率が55-75%となるように設定したため虚血温度を下るに従い虚血時間を延長する結果となった。そのため multidose 法の温度依存性効果が虚血時間の延長による結果である可能性があるため，本実験では虚血時間を変化させた時の multidose 法の効果を検討した。虚血温度を20°Cに固定し虚血時間を6, 8, 10, 12時間に延長し singledose 群，multidose 群及び心筋保護液を投与しない no cardioplegia 群の3群 (n = 6/群) の相対的効果を比較した。結果はいずれの虚血時間においても singledose 群の回復率が最も良好でついで multidose 群，no cardioplegia 群の順であり multidose 群，

no cardioplegia 群の効果はほぼ同等であった。従って実験 1 でみられた multidose 法の温度依存性効果は延長された虚血時間よりも温度そのものによる影響であることが示された。

実験 3 : no cardioplegia 法に対する multidose 法の効果

各虚血温度下における singledose 群, multidose 群, no cardioplegia 群 (n = 8 / 群) の回復率を比較し各投与法の相対的効果, 特に no cardioplegia 法に対する multidose 法の効果を明らかにした。各虚血温度下 (37, 20, 10°C) における虚血時間, 心筋保護液投与法は実験 1 と同様に設定した。結果は 37°C では multidose 群が singledose より有意に良好な回復率を示し, また single, multidose 両群とも no cardioplegia 群に比し有意に良好な回復率を示した。しかし 10°C においてはこれらの優劣の関係はまったく逆転し multidose 群は singledose 群のみならず no cardioplegia 群に比してもその回復率は有意に劣っていた。

IV 考 察

成熟心 (成人) では虚血温度に関係なく multidose 法が singledose 法に比し, 優れていることは実験的, 臨床的にも広く認められているが, 新生児家兔摘出心を用いた本研究においては singledose 法に対する multidose 法の心筋保護効果は常温虚血では有効であるが温度を下げるに従い減少し, 特に極度の低温下 (10°C) ではむしろ傷害的に働き, 心筋保護液を用いない群に比してもその効果は劣っていた。これまでの未熟心の心筋保護に関する報告をみると一定虚血温度下, 多くは 15-28°C の範囲で行われている。本実験から multidose 法の効果は虚血温度に依存すること, またこの温度範囲では multidose 法が傷害的に働くようになっていく境界点であることから, この範囲のしかも一定温度の実験条件ではその効果の判定が難しいことが考えられ, 今まで多くの報告がされているにも拘わらず結論が一致していない大きな要因と思われた。

心筋保護液による multidose 法の利点としては虚血中に蓄積される lactate, 水素イオンなどの代謝産物の washout, 必要基質の補充及び心筋電気活動の停止など多くの理由が上げられているが一方その欠点であるカルシウム, ナトリウム, 水分などによる心筋細胞障害, 浮腫を助長することが指摘されている。低温では心筋の代謝速度が遅くまた電気活動も抑制され, さらに未熟心では成熟心に比べ虚血中の嫌気性代謝が盛んで lactate, 水素イオンによる抑制も少ないことから washout の必要性はさらに減少するため未熟心の低温 multidose 法ではむしろ欠点の方が強調されたのではないかと思われる。また一方, multidose 法の欠点としてのカルシウム, ナトリウム, 水分などによる細胞障害, 浮腫は成熟心では現在用いられている心筋保護液で最小限に抑えられているが未熟心においてはそうではない可能性があり, 新たに未熟心の特殊性を考

慮した心筋保護液の組成，投与法の再検討が必要である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 田 邊 達 三

副 査 教 授 北 畠 顯

副 査 教 授 安 田 慶 秀

体外循環・開心術において術中の心筋保護法は重要な課題である。教室でもこの問題について詳細な研究を続けてきているが，開心術中の心筋保護液投与として虚血中に間欠的に投与する multidose 法が初回のみ投与する singledose 法に比較し有効であることは臨床的，実験的に認められている。しかしこの投与法の検討は成熟心を用いた結果であり，未熟心では低温 multidose 法はむしろ傷害的に働くとの報告があり未だ議論が多い。本研究では未熟心における心筋保護液投与法の効果を広範囲の虚血温度の条件下で検討し， multidose 法には温度依存性効果のあることを明らかにした。

実験には生後7～10日の家兔摘出心を用い，左房灌流モデルである isolated working heart model を使用した。前負荷，後負荷を一定にし心拍出量を測定し虚血後の回復率を比較した。最初に各虚血温度（37，34.5，32，28，20，15，10℃）における singledose 法と multidose 法の効果を比較した結果，37℃においては multidose 法が singledose 法より有意に良好であったが温度を下げるに従いその優位性は減少し，28℃ではその効果が失われ10℃においては極度に劣っていた。また心筋保護液を用いない no cardioplegia 法と比較した場合，37℃では multisingledose 両法とも no cardioplegia 法に比し優れていたが，10℃においてはこれらの優劣の関係は全く逆転し multidose 法には温度依存性の効果があることが示された。

一般的に低温では心筋代謝が抑制されるため multidose 法の効果が減少すること，さらに未熟心では虚血中の嫌気性代謝が盛んで lactate，水素イオンなどの代謝産物による抑制が少ないことから washout の必要性がより減少するため，むしろ multidose 法の欠点である細胞障害，浮腫が強調されたものと考えられる。さらに，未熟心においては現在の心筋保護液組成では multidose 法の欠点が最小限に抑えられていない可能性があり，新たに未熟心の特殊性を考慮した心筋保護液の組成，投与法の再検討が必要である。

口頭発表にあたって安田教授より未熟心と成熟心の年令上の区別，構造的相違点，および動物種間にみられる相違，北島教授より低温 multidose 法の傷害機序，Ca-ブロッカーの効果について質問があったが，申請者はおおむね妥当な回答を行った。また，安田，北島教授には個別に審査を受け合格と判定された。新生児などの未熟心に用いられる術中心筋保護法について低温では multidose 法がかえって傷害性に働くことを指摘した本研究は臨床的意義が大きく，学位授与に値すると思う。