

学位論文題名

ラット灌流心における低冠灌流量時の心仕事量と
高エネルギーリン酸および細胞内酸素濃度の検討

学位論文内容の要旨

はじめに

冠動脈血流量と心仕事量の間には密接な関係があることは良く知られており、冠血流が減少すると心機能は低下する。軽度～中等度の冠血流減少時には心筋収縮は低下するもののATPをはじめとする高エネルギーリン酸濃度にはほとんど変化がない状態があり、hibernating myocardiumとして知られている。Hibernating myocardiumにおいて高エネルギーリン酸濃度が不変なのは、ミトコンドリアでの酸化的リン酸化によるATP産生速度の低下と、心筋収縮によるATP消費速度の低下が釣り合っているためと考えられるが、そのメカニズムは未だ明かではない。冠血流減少時にミトコンドリアへの酸素供給の減少が原因となってATP産生能が低下し、それに均衡して収縮が低下するのではないかという考えが多いが、一方、酸素供給の減少とは無関係に何らかの機序によって収縮が低下し、ミトコンドリアのATP産生速度の方は「余裕を持ったまま」低下しているとも考えることもできる。心筋が常に前者のような、わずかな酸素供給の減少によってATP産生能力が低下するようなcriticalな状態にあるのかどうかを評価するためには、冠血流減少時の細胞内酸素濃度、特にミトコンドリアにおける酸素濃度の検討が不可欠であるが、そのような検討はほとんど行われていない。

本研究の目的は、ラット灌流心において冠流量を段階的に減少させた際の心仕事量、心筋細胞内の高エネルギーリン酸及び細胞内酸素濃度の関係を詳細に検討し、冠流量減少時の心収縮低下は酸素供給の減少によりミトコンドリアにおけるATP産生能力が低下した結果であるか否かを明らかにすることである。

方法

Wistarラットをペントバルビタールで腹腔内麻酔後に心臓を摘出し、Langendorff式に灌流した。灌流液は磷酸を含まないKrebs-Hen

seleit液を用い、液温は27℃とした。冠流量はペリスタポンプで調節し、5 ml/minをコントロールとして5分毎に段階的に減少させた。一部のラットにおいては、冠流量3 ml/minの状態ドブタミン0.1 μg/minを灌流回路内に注入した。左室圧および心拍数は左心室内へ挿入したラテックスバルーンにより連続的に測定し、左室仕事量は左室圧と心拍数の積として求めた。

高エネルギーリン酸は³¹P-NMRにより測定した。Oxford製7.1TのNMR装置を用い、45度パルス、繰り返し時間2秒、150回積算とした。

心筋細胞内酸素濃度は二波長分光法で求めた。ハロゲンランプの光をlight guideを介して左心室前壁へ照射し、反射光を再びlight guideを介して分光分析器へ導き、二組の差スペクトルを連続的に同時測定した。光の波長はミオグロビンの酸素化測定のためには580-617nmを、またチトクロームaa₃の酸化状態測定のためには605-617nmを使用した。

結 果

左室仕事量は冠灌流量の減少と共に減少した。冠流量2 ml/min以下での仕事量減少の傾きは、2 ml/min以上の時よりも大きかった。PCr/Pi比は冠流量2 ml/minまではほぼ一定に保たれ、それ以下で減少し始めた。ATPは冠流量0.5 ml/minまで明かな低下を示さなかった。ミオグロビンの酸素化の程度は冠流量2 ml/minまでは96%以上に保たれており、2 ml/min以下で低下した。チトクロームaa₃もミオグロビンと同様の挙動を示し、冠流量2 ml/minまではほぼ完全酸化の状態に保たれていたが、それ以下になるとミオグロビンの脱酸素化に平行して次第に還元された。

冠灌流量を3 ml/minに減少させたままドブタミン0.1 μg/minを灌流回路内へ注入すると、左室収縮期圧は79 mmHgから118 mmHgへ、心拍数は120/minから129/minへ上昇したが、ミオグロビンの酸素化度は100%から57%へ低下した。ドブタミンの注入を中止すると左室圧、心拍数は減少し、ミオグロビンの酸素化度は次第に上昇してほぼ100%へ戻った。

考 察

ラット摘出灌流心において冠灌流量を段階的に減少させたところ、左室仕事量は冠流量の減少と共に減少したが、2 ml/minまでは高エネルギーリン酸濃度は不変であり、またミオグロビン、チトクロームaa₃は十分に酸素化されていた。両者の酸素化の度合いはそれぞれ細胞質、ミトコンドリア近傍の酸素濃度を反映するので、冠流量2 ml/minまではミトコンドリアは酸素不足になっていなかった。エネルギー産生系は余裕を保ったまま左室仕事量は減少しており、冠流

量減少に応じて心収縮が低下するメカニズムはエネルギー産生系には非依存性であると考えられる。

冠流量が3 ml/minの時のドブタミン注入時に、細胞内酸素の消費と共に左室仕事量が増加したことも、軽度の冠流量減少時には心筋はエネルギー的にはまだ余裕を残していることを示している。また、ドブタミン注入を中止すると、左室仕事量が減少すると共にミオグロビンは酸素化され、細胞内は好気状態へ戻った。このことから、冠流量減少に対応して心収縮が低下するメカニズムは、心筋でのATP消費を減少させ、ミトコンドリアでの酸素需要を減らし、細胞内酸素濃度を保つように機能していると考えられる。

心筋への酸素供給を減少させる方法は、灌流液の酸素分圧を低下させる方法と、冠流量を減少させる方法の二通りがある。荒木らは、ラット灌流心において灌流圧一定のまま灌流液の酸素分圧を段階的に低下させたとき、心筋は直ちに脱酸素化されるが、左室仕事量は細胞内酸素濃度が10 μ M以下に低下するまでは好気状態と同じレベルを維持する事を示している。これに対し、冠流量を減少させたときは左室仕事量は直ちに減少し、細胞内酸素濃度は冠流量が2 ml/min以下に減少するまでは好気状態に保たれていた。これらの結果より、冠流量減少時の心収縮力低下は酸素供給の減少によって引き起こされるのではなく、冠流量または冠灌流圧そのものの減少によって生じると考えられる。

結 語

(1) ラット灌流心において冠流量を段階的に減少させたとき、左室仕事量は流量減少と共に減少したが、2 ml/minまでは高エネルギーリン酸濃度に変化はなく、細胞内酸素濃度も好気状態に保たれていた。(2) 冠流量減少に伴う心収縮力低下は、酸素供給の減少によるATP産生能の低下によってもたらされたものではない。(3) 冠流量または灌流圧そのものの減少ないし低下が引き金となって何らかの機序により心収縮力は低下し、そのメカニズムはなるべくエネルギーを保つように機能していると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 北 畠 顕

副 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 剣 物 修

学位論文題名

ラット灌流心における低冠灌流量時の心仕事量と 高エネルギーリン酸および細胞内酸素濃度の検討

冠動脈血流が低下すると心収縮力が低下することは良く知られている。収縮に必要なATPは主にミトコンドリアでの酸化的リン酸化によって産生されるので、酸素供給の低下によってATP産生能が低下し、それに対応して収縮が低下するのではないかと一般的には考えられている。しかし、実際にそのような状況で細胞内酸素濃度を測定した研究はわずかしかない。本研究では、ラット灌流心において冠流量低下時の心仕事量、高エネルギーリン酸、細胞内酸素濃度の関係を明らかにし、冠流量低下時の心収縮力の低下は、酸素供給の減少によるATP産生能の低下によってもたらされるのかどうかを検討した。

ラット摘出心は、27度のリン酸を含まないKrebs-Henseleit液でランゲンドルフ式に灌流し、左室内へ挿入したラテックスバルーンにより左室圧と心拍数をモニターした。冠流量はペリスタポンプで調節し、5ml/minをコントロールとして5分毎に段階的に減少させた。一部のラットにおいては収縮予備力の有無を調べるために、冠流量3ml/minの状態でドブタミン0.1 μ g/minを灌流回路内へ注入した。高エネルギーリン酸は ^{31}P -NMRにより測定した。細胞内酸素濃度は二波長分光法により求め、光の波長はミオグロビンの酸素化については580-617nm、チトクロームaa₃の酸化還元状態については605-617nmを使用した。

その結果、左室圧と心拍数の積で求めた左室仕事量は、冠流量の減少と共に低下した。一方、PCr/Pi比は冠流量2ml/minまではほぼ一定に保たれ、それ以下で低下した。ATPは冠流量0.5ml/minまで明かな低下を示さなかった。また、ミオグロビンの酸素化の割合は冠流量2ml/minまでは96%以上に保たれており、それ以下で低下した。チトクロームaa₃も2ml/min以下になったときに、ミオグロビンの脱酸素化と共に還元された。以上より、冠流量2ml/min以上では細胞内は酸素不足になっておらず、このレベルでの心仕事量の低下は酸化的リン酸化によるATP産生能が低下したためではないことが示唆された。

冠流量を3ml/minに減少したままドブタミン0.1 μ g/minを灌流回路内へ注入する

と、左室収縮期圧は79 mmHgから118 mmHgへ増加し、ミオグロビンの酸素化度は100%から57%へ低下した。ドブタミン注入を中止すると左室圧は減少し、ミオグロビンの酸素化度は次第に上昇してほぼ100%へ戻った。この結果から、心臓は冠流量減少に応じて予備力を保ったまま収縮を低下させ、細胞内酸素を保つようにしている事が示唆された。

仕事量の低下は酸素供給の減少によってもたらされたのかを検討するため、以上の結果を、以前に行われた低酸素実験の結果と比較した。灌流圧一定のまま灌流液の酸素濃度を低下したときは細胞内酸素濃度が10 μ Mに低下するまで一定の心仕事量を保っていた。これに対し、冠流量減少時は心仕事量が低下してなるべく細胞内を好気状態に保とうとしていた。このことから、冠流量減少時の心仕事量の低下は、酸素供給の減少に対応したものではなく、冠流量または灌流圧そのものの低下が引き金になって生じることが示唆された。

口頭発表の審査会において、安田教授より、冠流量低下時にドブタミンを負荷した時の高エネルギーリン酸濃度の変動について、開心術後の低心拍出量症候群に対しIABPなどの機械的補助とドブタミンなどの薬物投与を併用した際のweaningについての質問がなされた。剣物教授より、冠流量低下時に心拍数を上げたときの細胞内酸素濃度に対する影響について、rate-pressure productを心仕事量の指標とすることの妥当性について、冠流量5 ml/minをコントロールとすることの妥当性について、さらに心筋のhibernationとstunningの違いについての質問がなされた。小山教授より、心筋の外表面での反射光を解析しているが、心筋壁内膜の低酸素状態を検出できているのかどうか、また冠流量低下と共に心仕事量が低下するメカニズムについての質問がなされた。これらに対し、申請者は概ね妥当な回答を行った。その後に行われた安田、剣物両審査教授との試問においても、概ね妥当な回答がなされた。

本研究は、冠流量減少にともなう心収縮力の低下は、酸素供給の減少によるATP産生能の低下によってもたらされたものではなく、むしろ心臓は収縮力の低下によってエネルギーを保存するようにしていることを明らかにしたものであり、有意義な研究と考えられ、学位授与に値する。