

08672061

新生児・乳児の開心術および心移植における心筋保護

(課題番号08672062)

平成8年度～平成9年度科学研究費補助金 (基盤C一般)
研究成果報告書



平成10年4月

研究代表者 青木 満
(東京女子医科大学医学部講師)



新生児・乳児の開心術および心移植における心筋保護

(課題番号08672062)

平成8年度～平成9年度科学研究費補助金(基盤C一般)
研究成果報告書

平成10年4月

研究代表者 青木 満
(東京女子医科大学医学部講師)

目 次

はしがき	2
1. 研究課題名・研究組織・研究経費	3
2. 研究発表	4
3. 研究成果	
1) 概 要	5
2) 開心術後急性期の心機能とその規定因子の検討 - 新生児症例と乳児症例の比較	7
3) 未熟心筋保護における至適 pH strategy - 低温虚血再灌流時pHの心機能回復への影響	10
4) 未熟心筋におけるヒスチジンの保護効果と 心筋保護液の至適pHに関する実験的検討	17
5) 未熟心筋の虚血再灌流障害における血液成分の関与に関する実験的検討	25
6) Effects of Hemofiltration of Priming Blood on Postbypass Renal and Cardiorespiratory Function	27
7) 未熟心筋に対する溶血の影響—非虚血時と虚血再灌流時	32
8) 溶血が及ぼす心筋障害に対するハプトグロビンの効果 - 未熟心筋における実験的検討	42
9) Effects of hemolysis and deferoxamine on recovery of cardiac function after hypothermic cardioplegic ischemia in neonatal rabbit hearts	44
10) 心筋保護液中アデノシンの未熟心筋に対する効果	45
11) アデノシンの心筋保護効果とその作用機序 - 新生児家兎実験モデルでの検討	47
12) ATP感受性K ⁺ チャンネル開口薬の未熟心筋保護における実験的検討	49
13) 未熟心筋の外科的虚血再灌流時における L-Arginine 投与の有効性に関する実験的検討	51
14) 未熟心における Adenosine-Histidine Cardioplegia と St.Thomas の比較 - 心筋保護効果に関する実験的検討	53
15) 未熟心筋に対する外科的虚血再灌流時 Carnitine 投与の有用性に関する実験的検討	55
16) 未熟心筋における外科的虚血再灌流時の脂肪酸代謝に関する実験的検討	57
17) 未熟心筋における外科的虚血再灌流時の Carnitine 投与の有用性に関する 実験的検討— ¹²³ I-BMIPPのuptake/clearanceによる評価	64
18) 新生児補助循環における Warm Resuscitation 法の効果—実験的検討	66
19) 新生児補助循環モデルにおけるアデノシンの心機能回復に対する効果	68
20) 新生児開心術における心筋保護の基礎と実際	70

は し が き

新生児乳児期に治療を必要とする先天性心疾患の頻度は、3.5/1000 出生と言われており、平成5年の出生数から計算してわが国で年間4000人以上の患者が生まれていると推測される。これらの患者に対する根本的な治療は外科的治療以外にないが、現状では新生児乳児期の根治手術の成績は成人に比べ不良であるため、根治手術の時期を遅らせる目的で、新生児、乳児期に姑息手術が行われることが多い。これは患者一人あたりの手術回数の増加や根治手術までの内科的医療・生活制限など患者家族の経済的・精神的負担の増加を招き、また国家医療費の増大の一因ともなっている。また、有効な姑息手術がないため、あるいは手術時期を逸したために根治に至らず死亡する症例も多い。新生児、乳児期の根治手術成績が不良である主なる原因は、開心術に際した心虚血中の心筋保護法が未熟心筋に対して確立されていないことにある。

我々の過去の手術成績の推移を見ると、手術手技の向上、術前後の管理方法の進歩などと共に、1978年からの心筋保護液の導入、心虚血時間短縮、再灌流条件の調節など、術中の心筋保護法の進歩が手術成績の改善に重要な因子となっている。これまで海外との共同研究を含め未熟心筋に対する心筋保護法の研究を行い成績の向上と共に新生児乳児症例の割合が増加し現在20%程度を占めるに至っているが、長時間の心虚血時間を必要とする複雑心奇形や術前状態の不良な症例、あるいは来るべき心移植の際の長時間心保存に対しては、さらによりよい心筋保護法の開発が必要である。

この研究は、臨床条件に近い未熟心実験モデルを用いて未熟心筋の特性にあった心筋保護法を開発することを目的とし、基礎研究として心筋保護効果の向上が期待される新しい薬剤・方法の未熟心筋に対する効果を明らかにし、さらに有効性が認められた薬剤・方法に関して、臨床応用し効果を検討した。

未熟心筋が構造的・機能的に成熟心筋と大きく異なることは知られているが、現在臨床で行われている心筋保護方法は成熟心における実験的データに基づいて開発されたものあり、未熟心筋に対する保護効果は疑問視されている。世界的に見ても未熟心に対する心筋保護法の研究を行っている施設は少数で、実験的・臨床的データが不足している。とくに未熟心筋において臨床の開心術条件に近い血液灌流モデルを使用した心筋保護の研究は少なく、我々の研究の特色の一つである。また、我々の施設は、先天性心疾患に対する外科手術を単一施設としては国内で最も多く年間400～500例施行している。我々の研究の最大の特色は国内外をリードする臨床施設として、基礎研究と共にその成果を臨床応用し、新生児乳児期の心臓手術成績を向上させ、早期根治手術による先天性心疾患の社会的治療効率を向上に貢献したいと考えている。

研 究 組 織

代表研究者：青木 満 (東京女子医科大学医学部講師)

研究分担者：今井 康晴 (東京女子医科大学医学部教授)

柏木 潤一 (東京女子医科大学医学部助手)

坂本 貴彦 (東京女子医科大学医学部助手)

研究協力者：常 徳華

研 究 経 費

平成8年度 1、300千円

平成9年度 500千円

計

研究発表

1. 学会誌等

1) 常 徳華：未熟心筋保護における至適 pH strategy - 低温虚血再灌流時 pH の心機能回復への影響、日本小児循環器学会雑誌 1996 ; 12 : 470-476

2. 口頭発表等

1) 青木 満：開心術後急性期の心機能とその規定因子の検討 - 新生児症例と乳児症例の比較、1994年6月29日第30回日本小児循環器学会（横浜）

2) 常 徳華：未熟心筋保護における至適 pH strategy - 低温虚血再灌流時 pH の心機能回復への影響、1995年2月15日第25回日本心臓血管外科学会（横浜）

3) 柏木潤一：未熟心筋におけるヒスチジンの保護効果と心筋保護液の至適pHに関する実験的検討、1996年2月28日第26回日本心臓血管外科学会（京都）

4) 常 徳華：未熟心筋の虚血再灌流障害における血液成分の関与に関する実験的検討、1995年6月1日第31回日本小児循環器学会（宇都宮）、1995年9月1日第48回日本胸部外科学会（東京）

5) Mitsuru Aoki : Effects of Hemofiltration of Priming Blood on Postbypass Renal and Cardiorespiratory Function. Pathophysiology & Techniques of Cardiopulmonary Bypass : XVI, 16th Annual Cardiothoracic Surgery Symposium, February 29-March 2, 1996 (San Diego)

6) 常 徳華：未熟心筋に対する溶血の影響—非虚血時と虚血再灌流時、1996年2月28日第26回日本心臓血管外科学会（京都）

7) Shintaro Nemoto : Hemolysis impairs cardiac function in neonatal rabbit hearts. Pathophysiology & Techniques of Cardiopulmonary Bypass : XVI, 16th Annual Cardiothoracic Surgery Symposium, February 29-March 2, 1996 (San Diego)

8) 常 徳華：溶血が及ぼす心筋障害に対するハプトグロビンの効果 - 未熟心筋における実験的検討、1996年10月15日第49回日本胸部外科学会（京都）

9) 杉山喜崇：心筋保護液中アデノシンの未熟心筋に対する効果 1995年6月1日第31回日本小児循環器学会（宇都宮）

10) 杉山喜崇：アデノシンの心筋保護効果とその作用機序 - 新生児家兎実験モデルでの検討、1996年2月28日第26回日本心臓血管外科学会（京都）

11) 常 徳華：溶血が及ぼす心筋障害に対する Deferoxamine の効果 - 未熟心筋保護における実験的検討、1996年3月1日第32回日本小児循環器学会（大阪）

12) Effects of hemolysis and deferoxamine on recovery of cardiac function after hypothermic cardioplegic ischemia in neonatal rabbit hearts. The Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery, May 11, 1997 (Hawaii)

13) 根本慎太郎：未熟心筋に対する外科的虚血再灌流時 Carnitine 投与の有用性に関する実験的検討、1996年10月15日第49回日本胸部外科学会（京都）

- 14) 坂本貴彦：未熟心筋における外科的虚血再灌流時の脂肪酸代謝に関する実験的検討、1997年7月11日第33回日本小児循環器学会（京都）
- 15) 坂本貴彦：未熟心筋における外科的虚血再灌流時のCarnitine投与の有用性に関する実験的検討—¹²³I-BMIPPのuptake/clearanceによる評価—、1997年10月2日第49回日本胸部外科学会（東京）
- 16) 常 徳華：新生児補助循環におけるWarm Resuscitation法の効果—実験的検討、1997年7月11日第33回日本小児循環器学会（京都）
- 17) 常 徳華：新生児補助循環モデルにおけるアデノシンの心機能回復に対する効果、1997年10月1日第49回日本胸部外科学会（東京）
- 18) 青木 満：新生児開心術における心筋保護の基礎と臨床、1997年7月11日第33回日本小児循環器学会（京都）

概 要

従来の局所冷却・Cold GIK 液による心筋保護法を用いた場合、開心術後急性期のエコー評価による心機能 (Fractional Shortening, Stress-Velocity Index) を新生児と乳児で比較すると、乳児群では大動脈遮断時間との間に相関を認めなかったが、新生児群では大動脈遮断時間と有意な負の相関を示した。すなわち、新生児の開心術後急性期の心機能は大動脈遮断時間の影響を強く受け、現在の心筋保護法は新生児には効果が不十分であることが示唆された。我々は、基礎研究として家兎新生仔摘出心 Langendorff 血液灌流モデルを用い、20℃3時間虚血・再灌流復温後の心機能 (DP: 左室発生圧, dP/dt) の回復度 (%) を以下の群で比較した。1. 再灌流条件の比較 (心筋保護液は St. Thomas (ST) 液): K 群: Krebs-Henseleit (K) 液で再灌流, B 群: 気泡酸素化により活性化した同種全血で再灌流, W 群: 白血球除去同種血液で再灌流, S 群: 全血球成分除去後の同種血清で再灌流, H 群: free hemoglobin (Hb) + K 液で再灌流, HP 群: free Hb + Haptoglobin + K 液で再灌流, C 群: Carnitine + 同種血液で再灌流。2. 心筋保護液組成の比較 (灌流液は同種全血): GIK 群: GIK 液, ST 群: ST 液, AD 群: Adenosine + ST 液, H-7.4 群: L-Histidine + ST 液 (pH=7.4), H-6.8 群: L-Histidine + ST 液 (pH=6.8), H-6.2 群: L-Histidine + ST 液 (pH=6.2), A-H 群: 新しく考案した心筋保護液 NaCl 25 mM/L, NaHCO₃ 30mM/L, KCl 10mM/L, MgCl₂ 1.6mM/L, CaCl₂ 0.5mM/L, Glucose 10g/L, Adenosine 5mM/L, Histidine 160mM/L, Histidine-HCl 20mM/L, pH=7.0。結果を表に示す。平均±標準誤差。

群	max DP	max dP/dt	群	max DP	max dP/dt
K	103 ± 6	105 ± 6	GIK	79 ± 9	81 ± 9
B	82 ± 7	79 ± 26	ST	83 ± 9	84 ± 7
W	115 ± 10	115 ± 10	AD	99 ± 4	107 ± 7
S	95 ± 6	100 ± 7	CR	64 ± 8	70 ± 8
H	61 ± 8	54 ± 8	H-7.4	77 ± 5	70 ± 4
HP	101 ± 5	91 ± 9	H-6.8	110 ± 13	97 ± 11
C	103 ± 4	106 ± 5	H-6.2	62 ± 20	56 ± 18

白血球, 血漿成分, 溶血による free Hb 等の血液成分が関与した再灌流障害の防止が未熟心筋の保護に重要である。臨床上我々は体外循環中・虚血後の血液成分活性化による有害物質除去を目的に血液の洗浄濾過を行い、新生児で術後急性期心機能の有意な改善を認めた。心筋保護液組成としては、アデノシンの A₁ 作用とヒスチジンによる細胞内アシドーシス軽減による Ca イオン流入抑制の効果が期待できる。アデノシン、ヒスチジン共に生体由来の物質であり副作用の危険も少なく、新しく考案した心筋保護液 (A-H 液) は臨床使用可能と思われた。また、Carnitine, アミノ酸等による再灌流時の代謝補助も有望であり、実験データを基に、現在まで 8 例に臨床応用し良好な結果を得ている。

開心術後急性期の心機能とその規定因子の検討 新生児症例と乳児症例の比較

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

青木 満、今井康晴、星野修一、瀬尾和宏、寺田正次、磯松幸尚、浜脇正好、小出昌秋、長嶋光樹、篠崎雅人、森島重弘、打田俊司、佐藤一樹、岡村 達

【目的】

新生児に対する開心術の成績は向上しつつあるが、年長児と比較するとさらに改善が望まれる。周術期管理の問題点を明らかにするために、開心術後急性期の心機能をエコーにて評価し、多変量解析手法を用いてその規定因子を検出、新生児群と乳児群とで比較した。

【対象 方法】

新生児開心術症例 24 例 (d-TGA15 例, DORV1 例, TAPVR6 例, VSD1 例)、乳児 33 例 (d-TGA5 例, TAPVR3 例, VSD12 例, VSD+CoA,PAB 後 4 例, Truncus Arteriosus2 例, TOF3 例, TOF+PA1 例, ECD3 例) において術前と術後急性期 (体外循環離脱 4-8 時間後) にエコーにて左室拡張末期径 (EDD,%normal), Fractional Shortening (FS), Stress Velocity Index (SVI), 拡張末期左室後壁厚 (WTd, %normal), 収縮末期壁応力 (ESWS) を計測した。術後急性期の FS, SVI それぞれの規定因子をステップワイズ多変量回帰法を用い解析した。解析に含めた因子は、術前の FS, EDD, WTd, WTd/EDD 比, 左室/体血圧比, 大動脈遮断時間, 術後急性期の ESWS, カテコールアミン使用量である。大動脈遮断中の心筋保護には局所冷却、Cold GIK 液を用いた。

【結果】

術後急性期の FS は新生児群 0.08~0.29 (平均 0.19)、乳児群 0.12~0.36 (平均 0.23)、SVI は新生児群 -4.57~+2.95 (平均 -0.93)、乳児群 -3.95~+4.95 (平均 +0.86) であった ($p<0.05$., Fig 1)。新生児群では術後の FS、SVI とともに大動脈遮断時間 (0~130 分) と有意な ($p<0.05$) 負の相関を示した (Fig 2, 3)。一方、乳児群では FS、

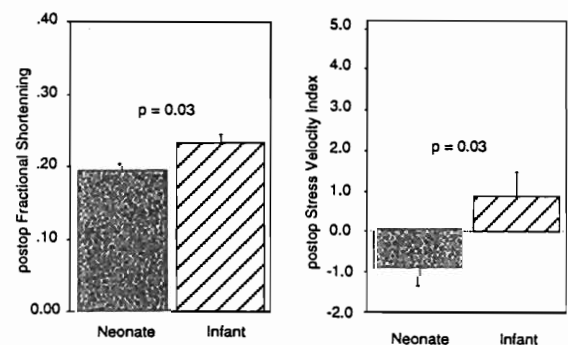


Fig 1

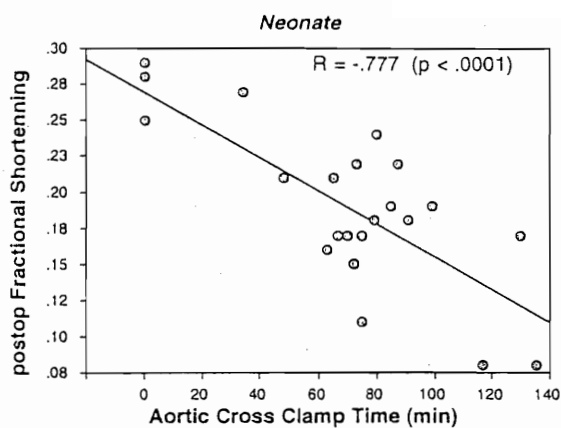


Fig 2

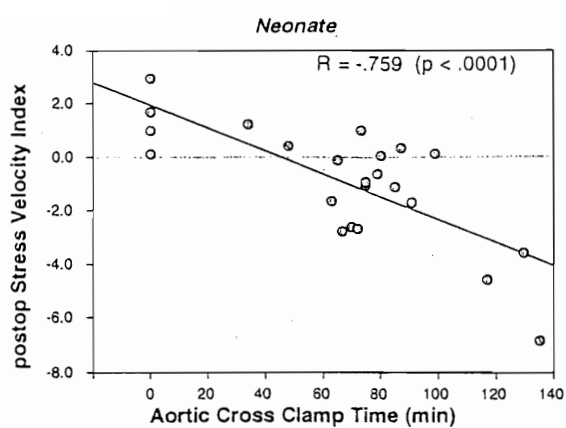


Fig 3

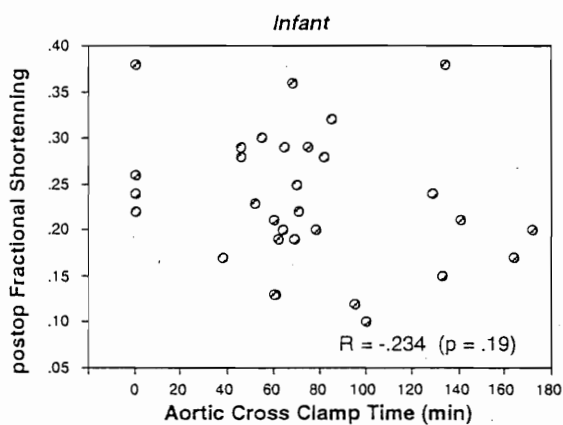


Fig 4

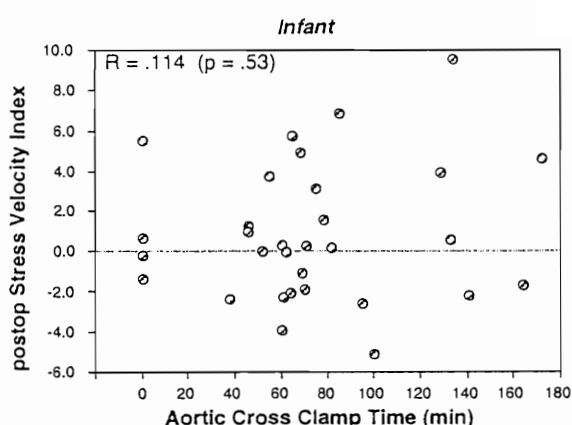


Fig 5

SVIとも大動脈遮断時間(0~172分)との相関は認めず、術後のFSが術前のFSと有意な正の相関を示した(Fig 4, 5)。新生児群における術後のFS、SVIの規定因子をステップワイズ多変量回帰法を用い解析した結果、FSは大動脈遮断時間、術後カテコールアミン使用薬剤数と有意な負の相関を示し、SVIは大動脈遮断時間と有意な負の相関を示した。(Table 1)。乳児群における術後のFS、SVIの規定因子をステップワイズ多変量回帰法を用い解析した結果、FSは術前のFS、EDDと有意な相関を示し、SVIは術前のFSと有意の正の相関を示したが、大動脈遮断時間との相関は認めなかった。(Table 2)

Multivariate analysis of the predictors of LV Function immediately after operation in Neonate

Predictors of Fractional Shortening

Variable	Standardized coefficient	p value
Aortic Cross Clamp Time (min)	- 0.87	<0.0001
Number of Inotropic Agents	- 0.47	0.0060

Multiple R = 0.90

Predictors of Stress-Velocity Index

Variable	Standardized coefficient	p value
Aortic Cross Clamp Time	- 0.75	0.0109

Multiple R = 0.75

Table 1

Multivariate analysis of the predictors of LV function immediately after operation in Infant

Predictors of Fractional Shortening

Variable	Standardized coefficient	p value
preop fractional shortening	+ 0.47	0.0049
preop end-diastolic dimension (%normal)	- 0.33	0.0429

Multiple R = 0.68

Predictors of Stress-Velocity Index

Variable	Standardized coefficient	p value
preop fractional shortening	+ 0.44	0.0229

Multiple R = 0.47

Table 2

【考按】

我々は大動脈遮断時間を可能な限り短縮するように努めているが、新生児における開心術後急性期の心機能は、乳児に比べ比較的短時間であっても大動脈遮断時間の影響を強く受け、現在の心筋保護法は新生児に対しては効果が不十分と考えられた。虚血時間短縮の努力とともに、未熟心筋の特性を加味した新しい心筋保護法の開発は新生児開心術の成績向上に重要と考えられた。

未熟心筋におけるヒスチジンの保護効果と心筋保護液の至適 pH に関する 実験的検討

東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所循環器小児外科

柏木潤一、青木 満、杉山喜崇、根本慎太郎、佐藤一樹、常 徳華、高梨吉則、
今井康晴

要旨

ヒスチジンは、正常細胞内の生理的 pH である 6.8 付近で緩衝作用を持ち、アシドーシスを改善することにより心筋保護効果を増強すると報告され臨床応用されている。今回、未熟心筋におけるヒスチジンの効果と pH の関係から、作用機序と心筋保護の至適 pH に関し実験的検討を行った。方法：新生児家兎 (n=25) 摘出心を、冷却心停止の後 non-working Langenndorf 回路に装着した。灌流液には 5%CO₂ の混合ガスで酸素化した Krebs-Henseleit 溶液を用い、温度調節を行った。ミラーカテーテルを組み込んだラテックスバルーンを左室内に留置し、注排水することにより左室容量を変化させ、等容収縮中の左室内圧を測定し左室収縮機能と左室拡張機能を調べた。心筋虚血前常温時にベースラインを測定後、10分間で 15℃まで灌流冷却し、心筋を 20℃で 3 時間虚血とした。心筋保護液は 4℃で 30分毎に投与した。再灌流復温後、15分、30分に心機能を測定し、ベースラインを基準に回復度 (%) を評価した。使用した心筋保護液により以下の 4 群を設定した：心筋保護に St.Thomas 液単独 (pH: 7.4) を使用した群、St.Thomas 液に L-histidine と L-histidine · HCl をそれぞれ一定の割合加え、pH を 6.2、6.8、7.4 (37℃温度補正) に調整した 3 群。結果：左室発生圧 (DP) では、L-histidine を加え pH を 6.8 に調整した histidine-6.8 群が、再灌流 15 分後に 107.3 ± 9.3 と、St. Thomas 液単独の St.Thomas-7.4 群の 82.8 ± 3.7 と、L-histidine を加え pH を 7.4 に調整した histidine-7.4 群の 87.9 ± 4.8 と、L-histidine を加え pH を 6.2 に調整した histidine-6.2 群の 69.0 ± 7.5 に比べ有意 (p < 0.05) に良好な改善を示し、再灌流 30 分後の DP でも、histidine-6.8 群：109.6 ± 12.8 が、St.Thomas-7.4 群：80.1 ± 10.5、histidine-7.4 群：77.0 ± 5.3、histidine-6.2 群：56.7 ± 10.9 と有意に良好な改善を示した。再灌流 15 分後の左室発生圧の一次微分 (dP/dt) では、histidine-6.8 群：114.9 ± 9.9 が、St.Thomas-7.4 群：87.9 ± 4.2、histidine-7.4 群：92.4 ± 5.0、histidine-6.2 群：70.9 ± 9.8 と有意に良好な改善を示し、再灌流 30 分後の dP/dt でも、histidine-6.8 群：112.5 ± 12.7、St.Thomas-7.4 群：81.3 ± 7.6、histidine-7.4 群：83.3 ± 5.0、histidine-6.2 群：64.8 ± 10.4 にと有意に良好な改善を示した。左室拡張機能の指標として、拡張能を示す %dP/dt では、histidine-6.8 群において、再灌流 15 分後・30 分後ともに他の 3 群に比べ、有意に良好な改善を示した。結論：結果は、ヒスチジンの未熟心筋に対する心筋保護の有用性を示し、その効果と pH との密接な関連を示唆するもので、心筋保護液の至適 pH は 7.4 では

なく、正常細胞内 pH である 6.8 付近である可能性が示唆された。

キーワード：ヒスチジン、虚血、再灌流、未熟心筋、ランゲンドルフモデル

はじめに

近年の心筋保護法の進歩は開心術の安全性を著しく向上しつつあるが、新生児症例では、長時間の大動脈遮断後の心機能は不良で心筋保護は未だ満足の出来るものではなく、改善が望まれる。

ヒスチジン (図 1) は、そのイミダゾール基が正常細胞内の生理的 pH である 6.8 付近で血液と同様の強い緩衝作用を持ち (図 2)、細胞内に入りアシドーシスを改善することにより心筋保護効果を増強すると報告され、Bretshneider 液に臨床応用されている。

今回、未熟心筋におけるヒスチジンの効果と pH の関係から、作用機序と心筋保護の至適 pH に関し実験的検討を行った。

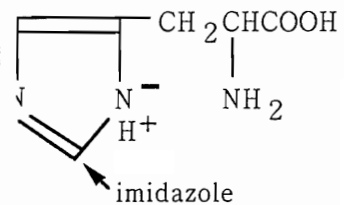


図 1

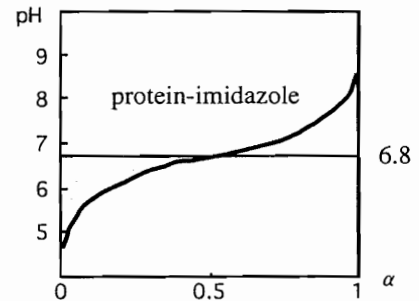


図 2

対象と方法

1. 実験動物と実験モデル

実験動物として、生後 5~10 日の家兎 (体重 70~90g) を、雌雄無作為に 25 羽使用した。麻酔は、pentobarbital (0.2 ml/kg、2 ml/kg) を用い、0.1 ml/kg のヘパリンとともに腹腔内に注入した。自発呼吸下、痛覚刺激に反応しなくなった時点で、開胸して心臓を摘出し、4℃の生理食塩水に浸し、心停止の後、Krebs-Henseleit 溶液を灌流液に用いた non-working モデルの Langendorff 回路に装着した。開胸から灌流開始までの時間は 2 分以内に行った。灌流液は、冷温水槽を用い温度調節を行った。摘出心は、冠状動脈流量測定時以外は、灌流液と同温度の生理食塩水に浸し、心筋温を灌流液の温度と同じに保った。Krebs-Henseleit 溶液の組成は、NaCl、118mM/L；NaHCO₃、25mM/L；KH₂PO₄、1.2mM/L；KCl、4mM/L；MgSO₄、1.2mM/L；Glucose、25mM/L で、95%O₂、5%CO₂ の混合ガスにて 37℃で酸素化を行った。

2. データの測定

摘出心左室内にミラーカテーテル (Millar microtip catheter mpc-500、Century Medical Inc.) を組み込んだラテックスバルーンを留置し、バルーン内に蒸留水を注排水することにより左室容量を変化させ、等容収縮中の左室内圧を測定した。測定には、日本光電社製の AP-630G 血圧アンプと 601G 微分アンプとを使用した。左室収縮機能の指標として、左室

発生圧 (developed pressure、DP) とその一次微分 (dp/dt)、また拡張末期圧が 10mmHg (生理的代表値) での左室発生圧 (DPV10) を、左室拡張機能の指標として、-dp/dt および拡張末期圧が 10mmHg でのバルーン容量 (V10) を調べた。

3. 実験のプロトコール

摘出心 Langendorff 血液灌流モデルに装着し、左室内バルーン挿入完了後 37°C にて約 15 分間灌流を行い安定な状態を得て、ベースラインの測定を行った。ベースラインの測定後、灌流液を 10 分間で 15°C まで冷却し灌流冷却後、灌流を停止した。心筋を生理食塩水に浸し、心筋温 20°C で 3 時間虚血とした。心筋保護液は 4°C で 30 分毎に投与した。室温の灌流液で、再灌流復温後、15 分、30 分に左室内バルーンにて心機能を測定し、心筋虚血前常温時に測定したベースラインを基準に、回復度を評価した。使用した心筋保護液により以下の 4 群を設定した。すなわち、心筋保護に St.Thomas 液単独を使用した 7 例を St.Thomas-7.4 群、St.Thomas 液に L-histidine 120mM/L と L-histidine · HCl 60mM/L を加え pH を 6.2 (37°C 温度補正) に調整した 5 例を histidine-6.2 群、St.Thomas 液に L-histidine 150mM/L と L-histidine · HCl 48mM/L を加え pH を 6.8 (37°C 温度補正) に調整した 5 例を histidine-6.8 群、St.Thomas 液に L-histidine 180mM/L と L-histidine · HCl 18mM/L を加え pH を 7.4 (37°C 温度補正) に調整した 8 例を histidine-7.4 群とした。

4. 統計処理

結果はすべて虚血前常温時の測定値をベースラインとして、それに対する回復度 (%recovery) にて示した。統計数値は平均値 ± 標準誤差で表記し、統計学的検定は、ANOVA、Fisher PLSD を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. ベースラインデータ (表 1)

ベースラインのデータは、4 群間で比較して有意差を認めなかった。

表 1 . Baseline values

	St.Thomas-7.4	Histidine-6.2	Histidine-6.8	Histidine-7.4
Max DP (mmHg)	58.1 ± 4.0	41.5 ± 3.3	50.0 ± 7.9	58.4 ± 4.5
Max dP/dt (dyn · cm/sec)	99.6 ± 11.6	97.0 ± 7.7	112.0 ± 20.0	105.6 ± 9.4
Max -dP/dt (dyn · cm/sec)	-88.7 ± 11.4	-76.0 ± 4.0	-97.8 ± 16.9	-96.9 ± 7.3
DP at V10 (mmHg)	54.8 ± 5.5	29.5 ± 8.0	43.2 ± 9.9	51.9 ± 3.2
dP/dt at V10 (dyn · cm/sec)	92.8 ± 14.0	75.0 ± 19.5	91.0 ± 21.8	94.0 ± 6.9
-dP/dt at V10 (dyn · cm/sec)	-85.4 ± 12.1	-51.0 ± 16.8	-84.4 ± 19.8	-85.1 ± 5.7
Coronary flow (ml/min/g)	2.1 ± 0.8	3.1 ± 1.2	1.9 ± 0.6	1.7 ± 0.3
O ₂ consumption (ml/min/g)	83.9 ± 9.8	91.5 ± 14.2	79.0 ± 8.4	78.0 ± 9.6
Heart weight (g)	0.47 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.38 ± 0.03
Heart rate (/min)	239 ± 10	223 ± 6	232 ± 8	240 ± 2

2. 心拍数の変化

再灌流後15分、30分時ともに、4群間で心拍数に有意差を認めなかった。

3. 左心機能の回復 (表2)

左室収縮能を示す%DPでは、pHを6.8に調整したhistidine-6.8群において、再灌流15分後に $107.3 \pm 9.3\%$ と、pHが7.4のSt. Thomas液単独のSt.Thomas-7.4群の $82.8 \pm 3.7\%$ と、pHを7.4に調整したhistidine-7.4群の $87.9 \pm 4.8\%$ と、pHを6.2に調整したhistidine-6.2群の $69.0 \pm 7.5\%$ に比べ、統計学的に有意に良好な改善を示した。また、histidine-6.2群に比べ、histidine-7.4群は統計学的に有意に良好な改善を示した。St.Thomas-7.4群は、histidine-6.2群、histidine-7.4群それぞれと比べ良好な改善を示したが、統計学有意差は認めなかった。再灌流30分後の%DPでは、histidine-6.8群において、再灌流30分後に $109.6 \pm 12.8\%$ と、St.Thomas-7.4群の $80.1 \pm 10.5\%$ と、histidine-7.4群の $77.0 \pm 5.3\%$ と、histidine-6.2群の $56.7 \pm 10.9\%$ に比べ、統計学的に有意に良好な改善を示した。また、St.Thomas-7.4群、histidine-7.4群、histidine-6.2群間には、有意差は認めなかった(図3)。

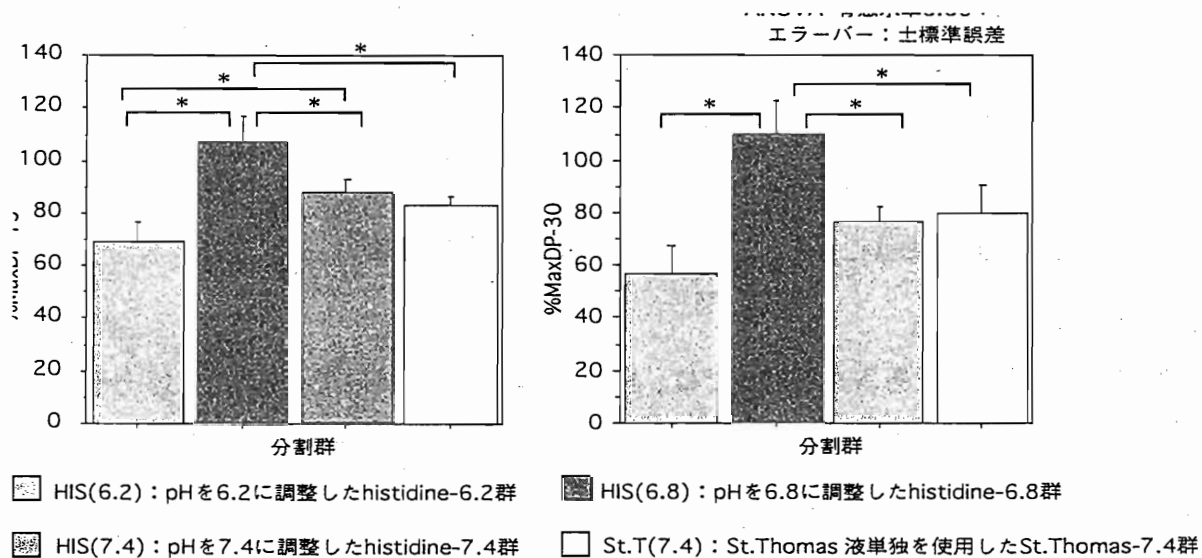


図3

%dP/dtでは、histidine-6.8群において、再灌流15分後に $114.9 \pm 9.9\%$ と、St.Thomas-7.4群の $87.9 \pm 4.2\%$ と、histidine-7.4群の $92.4 \pm 5.0\%$ と、histidine-6.2群の $70.9 \pm 9.8\%$ に比べ、統計学的に有意に良好な改善を示した。また、histidine-6.2群に比べ、histidine-7.4群は、統計学的に有意に良好な改善を示した。St.Thomas-7.4群は、histidine-6.2群、histidine-7.4群それぞれと比べ良好な改善を示したが、統計学有意差は認めなかった。再灌流30分後の%dP/dtでは、histidine-6.8群において、再灌流30分後に $112.5 \pm 12.7\%$ と、St.Thomas-7.4群の $81.3 \pm 7.6\%$ と、histidine-7.4群の $83.3 \pm 5.0\%$ と、histidine-6.2群の $64.8 \pm 10.4\%$ に比べ、統計学的に有意に良好な改善を示した。また、St.Thomas-7.4群、histidine-7.4群、histidine-6.2群間には、有意差は認めなかった(図4)。

%DPV10では、histidine-6.8群において、再灌流15分後・30分後に、他の3群に比べ、良好な改善を示したが、統計学的有意差はなかった(図5)。

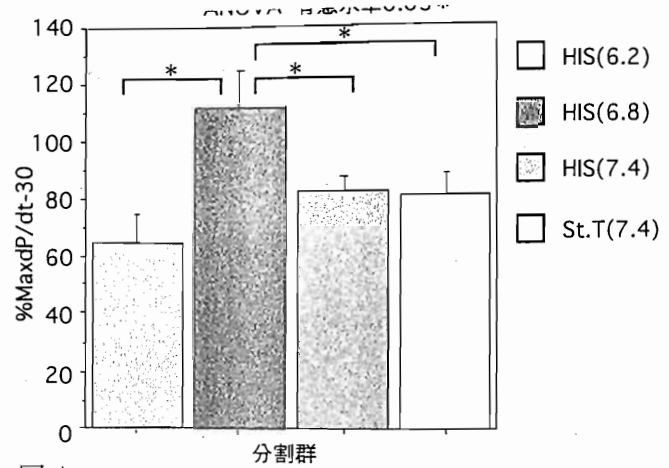
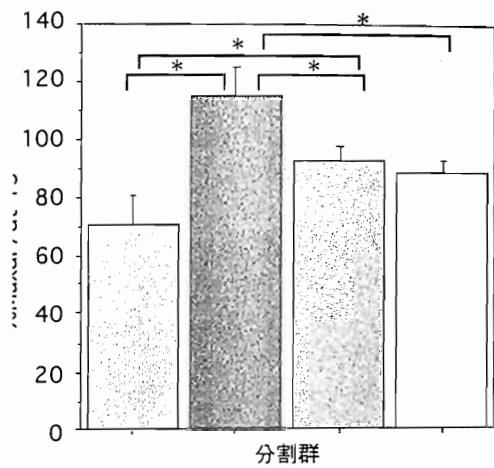


図 4

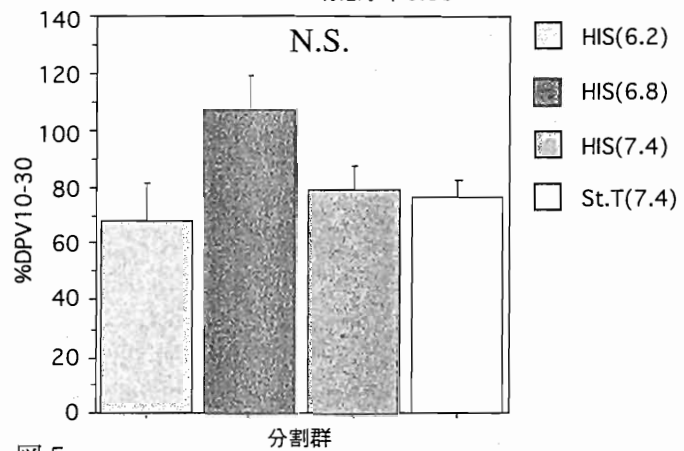
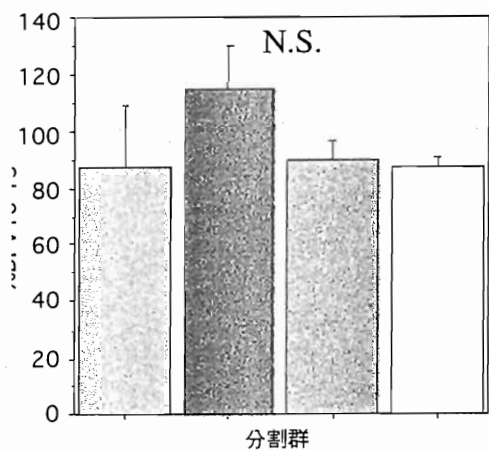


図 5

拡張能の指標の一つである %dP/dt では、histidine-6.8 群において、再灌流 15 分後・30 分後ともに、St.Thomas-7.4 群、histidine-7.4 群、histidine-6.2 群に比べ、統計学的に有意に良好な改善を示した。また、histidine-6.2 群に比べ、histidine-7.4 群は、統計学的に有意に良好な改善を示した。St.Thomas-7.4 群は、histidine-6.2 群、histidine-7.4 群それぞれと比べ良好な改善を示したが、統計学有意差は認めなかった (図 6)。

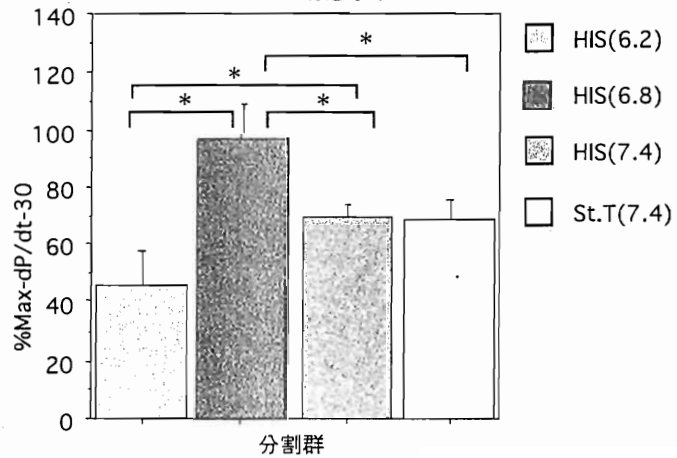
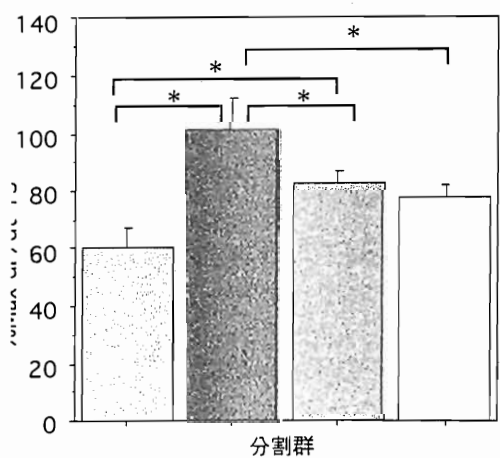


図 6

%V10では、histidine-6.2群において、St.Thomas-7.4群、histidine-7.4群、histidine-6.8群に比べ、改善が不良であったが、統計学有意差を認めるには至らなかった(図7)。

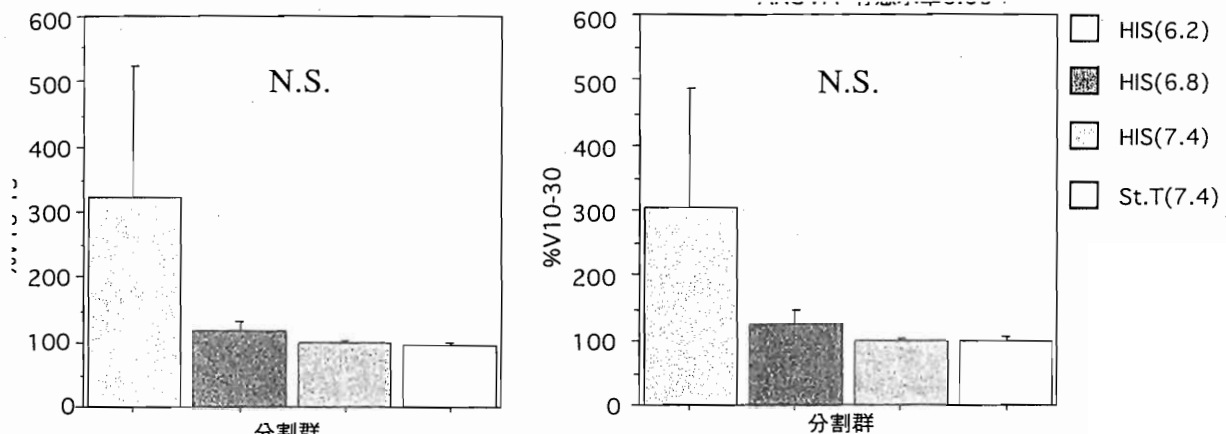


図7

表2 . Results

	St.Thomas-7.4	Histidine-6.2	Histidine-6.8	Histidine-7.4
%MaxDP-15	82.8 ± 3.7	69.0 ± 7.5	107.3 ± 9.3	87.9 ± 4.8
%MaxDP-30	80.1 ± 10.5	56.7 ± 10.9	109.6 ± 12.8	77.0 ± 5.3
%MaxdP/dt-15	87.9 ± 4.2	70.9 ± 9.8	114.9 ± 9.9	92.4 ± 5.0
%MaxdP/dt-30	81.3 ± 7.6	64.8 ± 10.4	112.5 ± 12.7	83.3 ± 5.0
%DPV10-15	87.6 ± 3.1	87.3 ± 21.2	115.7 ± 14.2	89.4 ± 6.9
%DPV10-30	76.7 ± 5.9	68.5 ± 12.8	107.3 ± 11.9	78.9 ± 8.2
%Max-dP/dt-15	77.6 ± 4.2	60.2 ± 7.3	101.4 ± 10.7	82.2 ± 4.5
%Max-dP/dt-30	69.6 ± 6.2	46.2 ± 11.6	97.2 ± 11.4	70.2 ± 4.0
%V10-15	96.6 ± 2.9	321.7 ± 202.3	117.6 ± 15.8	99.0 ± 3.1
%V10-30	100.5 ± 5.0	305.0 ± 180.4	127.1 ± 19.7	97.5 ± 3.4

考 察

histidine-6.8群は、St.Thomas-7.4群、histidine-7.4群、histidine-6.2群に比べ有意に良好な心機能の回復を示し、histidine-7.4群とSt.Thomas-7.4群間には有意差はなかった。さらに、histidine-6.2群は、St.Thomas-7.4群、histidine-7.4群、histidine-6.8群に比べ心機能の回復が不良であることが示された。これは、ヒスチジンの未熟心筋に対する心筋保護の有用性を示すと共に、その効果とpHとの密接な関連を示唆するもので、正常心筋細胞内pHが37℃で6.8付近であること1)、アシドーシスである方が無酸素時の培養細胞の生存率がより良い2) 3)、あるいは、カルシウムイオン関連の再灌流障害が少ないなどの基礎実験報告4) 5) を考慮すると、心筋保護液の至適pHを再考する必要があると考えられた。

おわりに

1. pHを6.8に調整したHistidine-6.8群は、St.Thomas-7.4群、pHを7.4に調整したHistidine-7.4群、pHを6.2に調整したHistidine-6.2群に比べ有意に良好な心機能の回復を示した。
2. これは、ヒスチジンの未熟心筋に対する心筋保護の有用性を示すと共に、その効果とpHとの密接な関連を示唆するもので、至適pHは7.4ではなく、正常細胞内pHである6.8付近である可能性が示唆された。

要旨の一部は、1996年2月、第26回日本心臓血管外科学会学術総会（京都市）において発表した。

参考文献

- 1) Swan H : The importance of acid-base management for cardiac and cerebral preservation during open heart operation. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1984 ; 158 : 391-414
- 2) Bing OH, Brooks WW, Messer JV : Heart muscle viability following hypoxia : Protective effects of acidosis. *Science* 1973 ; 180 : 1297-1298
- 3) Bonventre JV, Cheung JY : Effects of metabolic acidosis on viability of cells exposed to anoxia. *Am J Physiol* 1985 ; 294 : C149-159
- 4) Nayler WG, Panagiotopoulos S, Elz JS, Daly MJ : Calcium-mediated damage during postischemic reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 1998 ; 20 (Suppl 2) : 41-54
- 5) Panagiotopoulos S, Daly MJ, Nayler WG : Effect of acidosis and alkalosis on postischemic Ca gain in isolated rat heart. *Am J Physiol* 1990 ; 258 : H821-H828

英文抄録

Effects of histidine and pH during hypothermia on recovery of myocardial function after cold ischemia in neonatal rabbits.

Junichi Kashiwagi, Mituru Aoki, Yoshitaka Sugiyama, Shintarou Nemoto, Kazuki Sato, Chang Dehua, Yoshinori Takanashi, Yasuharu Imai

Department of Pediatric Cardiovascular Surgery, The Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

Purpose: This study was undertaken to study the effects of histidine and pH circumstance during hypothermia on the recovery of left ventricular function after cold ischemia in the neonatal rabbit heart.

Methods: Twenty five isolated, crystalloid perfused neonatal rabbit hearts using Langendorff model during hypothermic perfusion. That is St.Thomas alone for caldioplegia (ST-7.4) : 7, St.Thomas with L-histidine 1**mM/L and L-histidine HCl **mM/L(H-6.2)(pH: 6.2 (37 ^\circ C)): 5, St.Thomas with L-histidine 150mM/L and L-histidine HCl 48mM/L(H-6.8)(pH: 6.8 (37 ^\circ C)): 5, St.Thomas with L-histidine 180mM/L and L-histidine HCl 18mM/L(H-7.4)(pH: 7.4 (37 ^\circ C)): 8. The pH was controlled at each measured at 37 ^\circ C regardless of the perfusate temperature as the grope protocol, by altering carbon dioxide concentration in the oxygenating gas to the perfusate. The left ventricular maximum developed pressure(DP), dP/dt, and -dP/dt were measured before ischemia (baseline) and at 15 and 30 minutes after reperfusion. For statistical analysis, ANOVA and Fisher PLSD were used.

Results: The following results are shown as percent recovery of the baseline values. The histidine-6.8 group showed better functional recovery than thye other groups. DP: 107.3 \pm 9.3 (H-6.8) vs. 82.8 \pm 3.7 (ST-7.4) vs. 87.9 \pm 4.8 (H-7.4) vs. 69.0 \pm 7.5 (H-6.2) (p<0.05), dP/dt: 114.9 \pm 9.9 (H-6.8) vs. 87.9 \pm 4.2 (ST-7.4) vs. 92.4 \pm 5.0 (H-7.4) vs. 70.9 \pm 9.8 (H-6.2) (p<0.05), %DPV10: not significant, %-dP/dt: 101.4 \pm 10.7 (H-6.8) vs. 77.6 \pm 11.0 (ST-7.4) vs. 82.2 \pm 4.5 (H-7.4) vs. 60.2 \pm 4.2 (H-6.2) (p<0.05), %V10: not significant at 15 minutes of reperfusion. DP: 109.6 \pm 12.8 (H-6.8) vs. 80.1 \pm 10.5 (ST-7.4) vs. 77.0 \pm 5.3 (H-7.4) vs. 56.7 \pm 10.9 (H-6.2) (p<0.05), %dP/dt: 112.5 \pm 12.7 (H-6.8) vs. 81.3 \pm 7.6 (ST-7.4) vs. 83.3 \pm 5.0 (H-7.4) vs. 64.8 \pm 10.4 (H-6.2) (p<0.05), %DPV10: not significant, %-dP/dt: 97.2 \pm 11.4(H-6.8) vs. 69.6 \pm 6.2 (ST-7.4) vs. 70.2 \pm 3.9 (H-7.4) vs. 46.2 \pm 11.6 (H-6.2) (p<0.05), %V10: not significant at 30 minutes of reperfusion.

Conclusions: This study showed that histidin e has potential of usefulness for improvement of recovery of left ventricular function after 2 hours of cold ischemia in neonatal rabbit hearts. And this study showed that optimal pH is not 7.4 but around 6.8.

Key Words histidin, ischemia, reperfusion, neonatal heart, Langendorff model

未熟心筋の虚血再灌流障害における血液成分の関与に関する実験的検討

東京女子医大 心研 循環器小児外科

常 徳華、青木 満、杉山喜崇、篠崎雅人、萩野生男、根本慎太郎、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

新生児の未熟心筋に対する満足すべき心筋保護手段は未だ確立されていない。虚血再灌流の際に、血液成分中の白血球・補体・Kinin-Kallikrein系等の関与により障害が生ずると言われている。再灌流障害に対する血液成分の関与に関し実験的検討を行った。

【方法】

生後5-10日の家兎摘出心Langendorf還流モデルを用い、全例Krebs-Henseleit (K-H) 液灌流下にBaselineの心機能測定を行い、冷却後20℃にて3時間虚血とし、再還流復温15分、30分後に左室内バルーンにて心機能の回復度を評価した。再灌流液にK-H液を使用したK群 (n=8)、気泡酸素化により活性化した同種全血を使用したB群 (n=7)、白血球除去フィルターにて白血球を除去した同種血液を使用したW群 (n=7)、遠心分離により血球成分を除去した同種血清を使用したS群 (n=7)、遠心分離で得た血球成分のみをK-H液に加えヘマトクリット20%としたRBC群 (n=6) で比較した。心筋保護はSt. Thomas液を30分毎に投与した。統計学的検定は分散分析を用いた。

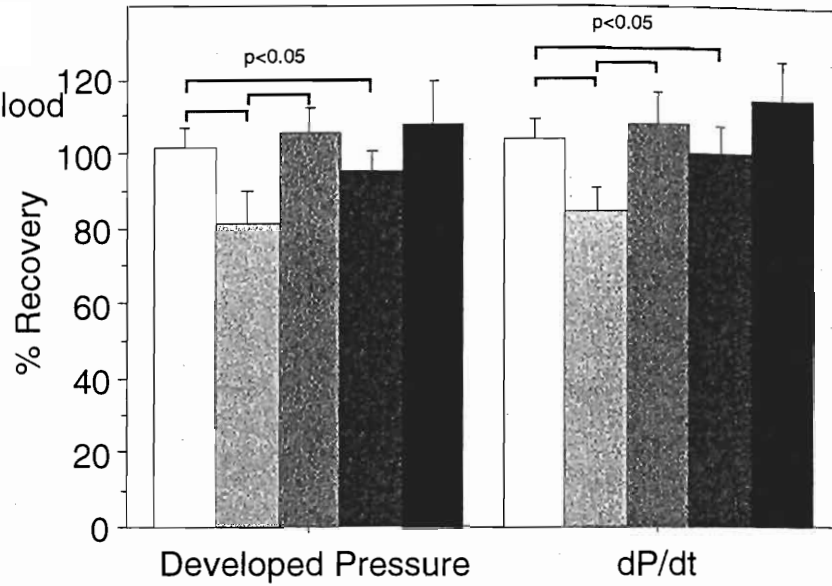
【結果】

虚血前値の%Recovery (mean ± S.E.) にて示す。

時間	項目	K群	B群	W群	S群	RBC群	p value
15分	mDP	104 ± 6	84 ± 8	125 ± 1	94 ± 9	113 ± 10	0.02
	mDP/dt	109 ± 6	89 ± 7	128 ± 10	95 ± 11	112 ± 11	0.02
	m-DP/dt	-97 ± 6	-69 ± 5	-110 ± 12	-82 ± 9	106 ± 11	0.01
	DPV10	107 ± 7	76 ± 10	123 ± 12	109 ± 21	103 ± 7	n.s.
	DP/dtV10	108 ± 8	87 ± 8	120 ± 11	101 ± 17	99 ± 10	n.s.
	-DP/dtV10	-93 ± 7	-69 ± 6	-107 ± 12	-93 ± 19	90 ± 11	n.s.
30分	mDP	103 ± 6	82 ± 7	115 ± 10	95 ± 6	109 ± 11	0.04
	mDP/dt	105 ± 6	84 ± 7	115 ± 10	100 ± 7	115 ± 10	0.05
	m-DP/dt	-93 ± 7	-67 ± 5	-100 ± 13	-85 ± 6	103 ± 11	0.05
	DPV10	102 ± 8	75 ± 10	103 ± 14	108 ± 21	95 ± 8	n.s.
	DP/dtV10	102 ± 8	84 ± 7	106 ± 13	109 ± 22	94 ± 7	n.s.
	-DP/dtV10	-87 ± 8	-67 ± 5	-91 ± 14	-95 ± 17	86 ± 8	n.s.

DP: 左室発生圧, V10: EDP10mmHgとなるバルーン容積

- Krebs
- ▨ Whole blood
- ▩ Leukocyte-depleted blood
- Krebs with serum
- Krebs with RBC



【考按・結論】

全血再灌流では心機能の回復が悪く、その影響は主に再灌流時に起こり再灌流障害における血液成分の関与が示された。W群での良好な回復は、血液成分の中でも特に白血球の重要性を示唆する。K群、S群の比較から、血漿成分単独では大きな影響を及ぼさないと考えられた。W群で Baseline (K-H 液灌流) と比較して心機能の回復度が100%を超える症例があること、またRBC群で回復が良好であることから、心機能の回復に赤血球の酸素運搬、緩衝作用が重要であると示唆された。

Effects of Hemofiltration of Priming Blood on Postbypass Renal and Cardiorespiratory Function in Neonates.

Mitsuru Aoki, MD, Yasuharu Imai, MD, Yoshinori Takanashi, MD, Shuichi Hoshino, MD, Mitsugi Nagashima, MD, Masafumi Yashima, MD.

Department of Pediatric Cardiovascular Surgery, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

Summary

Bank blood contains toxic metabolites such as NH_3 , as well as a cardiodepressant, citrate. Activation of chemical mediators such as complement and bradykinin begins during recirculation of priming blood in cardiopulmonary bypass (CPB) circuits before initiation of CPB. These substances can be washed out by hemo-filtration (HF). Effects of HF of the CPB priming blood on urinary volume (UV) and bicarbonate requirement for correction of metabolic acidosis (BC) during CPB, and postbypass alveolar-arterial oxygen tension difference (AaDO₂) and maximum serum creatinine (Cr) levels were reviewed retrospectively in 38 neonates with HF and 42 without HF, in a consecutive series of corrective procedures under continuous hypothermic CPB (26°C, flow rate: 100-120 ml/min/kg). Immediate postop cardiac function was assessed by echocardiographic stress-velocity index (SVI) in a subset who underwent primary arterial switch for d-TGA with intact ventricular septum (n=29). HF was performed during recirculation in the circuits before CPB using Toray HF1.0U® hemoconcentrator, and fourfold volume of the priming blood (800-1200 ml, 2-3 days after donation at Japan Red Cross) was replaced with a physiological crystalloid solution. Fluid removal during CPB by the same hemoconcentrator was performed to maintain adequate hematocrit levels in both groups. Results: During bypass, the hemofiltration group had significantly better urination (2.5 ± 2.8 vs 1.3 ± 1.7 ml/hr/kg) and less bicarbonate requirement for correction of acidosis (2.8 ± 3.3 vs 4.3 ± 2.9 ml/hr/kg). The alveolar-arterial oxygen tension difference, was smaller, that is better in the hemofiltration group than in the control group at 2 hours (272 ± 108 vs 371 ± 124 mmHg, $p < 0.05$) and 12 hours (292 ± 118 vs 394 ± 103 , $p < 0.05$) after bypass. The stress velocity index was better in the hemofiltration group than in the no HF group ($+0.21 \pm 1.52$ vs -1.20 ± 1.57 , $p < 0.05$) 4 hours after cardiopulmonary bypass. The creatinine levels measured at 12 hours after bypass were lower in the hemofiltration group than in the control group (0.94 ± 0.21 vs 1.09 ± 0.27 ml/dl, $p < 0.05$), and the postbypass maximum levels were also lower in the hemofiltration group than in the control group (1.00 ± 0.27 vs 1.44 ± 0.85 ml/dl, $p < 0.05$). These results suggest that HF of the priming blood prevents shock during CPB and improves postbypass renal and cardiorespiratory function in neonates.

Background

Early repair of congenital heart defects has been a trend. However, open heart surgery in the neonate is associated with an increased morbidity, because they are more at risk of postperfusion syndrome, characterized by generalized edema and depressed multiorgan function. Previous studies have suggested that this syndrome is a consequence of systemic inflammatory reactions triggered by cardiopulmonary bypass. There are reasons why the neonate is more susceptible to this syndrome. One is the large circuit foreign surface area relative to the body weight. Another factor is the Bank blood priming. Because of large priming volume, blood priming is almost inevitable in the neonate. However, the Bank blood contains toxic metabolites such as ammonia, as well as a cardio-depressant, citrate. Moreover, activation of chemical mediators that trigger the inflammatory response begins during recirculation of priming blood in the circuits before initiation of bypass. These substances can be washed out by hemofiltration. The purpose of the present study is to investigate the effects of hemofiltration of the bypass priming blood on cardiorespiratory and renal function in the neonate.

Patients and Methods

We have reviewed a consecutive 80 neonates undergoing corrective procedures under continuous hypothermic cardiopulmonary bypass (CPB) during a period from 1990 to 1995. The cardiac lesions include total anomalous pulmonary venous connection, d-transposition of great arteries, and similar anomalies. Thirty-eight neonates had hemofiltration of the priming blood (group HF), and 42 neonates did not (group no HF).

Urinary volume and bicarbonate requirement for correction of metabolic acidosis during bypass, postbypass alveolar-arterial oxygen tension difference (A-aDO₂) calculated at 12 and 24 hours after completion of bypass and serum creatinine levels measured at 12 hours and 1 to 3 days after bypass were compared between these two groups. Immediate postop cardiac function was assessed by echocardiographic stress-velocity index (SVI) in a subset who underwent primary arterial switch for complete transposition of great artery with intact ventricular septum at 4 to 6 hours after completion of CPB.

In the HF group changes in electrolyte composition, citrate, bradykinin, C3a, and elastase levels were measured.

Method of cardiopulmonary bypass and hemofiltration:

The bypass circuit consisted of a membrane oxygenator (VPCML, Cobe Inc, USA), arterial (VPCML) and cardiotomy (Dedeco) reservoirs, two roller pumps for pulsatile perfusion and control of venous drainage (Tonokura Ikkogyo, Tokyo), suction pumps, and a hemofiltration system using Toray HF1.0U® hemoconcentrator. The circuit was primed with 800-1,200ml of CPD Bank blood 2-3 days after donation. Hemofiltration was performed during recirculation in the circuit before cardiopulmonary bypass and fourfold volume of the priming blood was replaced with a physiological

crystalloid solution. Fluid removal during bypass was performed by the same hemoconcentrator to maintain adequate hematocrit levels (around 30% during hypothermia and 40% at the end of rewarming) in both groups. There were no statistically significant difference in the amount of fluid removed during CPB (560 ± 58 vs 480 ± 120 ml). The bypass flow was 100 to 150 ml/kg/min and moderate hypothermia (rectal temperature of 26 degrees Celcius) was employed. Alpha stat strategy was used by adjusting oxygen and air flow to the oxygenator by monitoring blood gas analysis at least every 15 minutes. Metabolic acidosis was corrected whenever encountered by blood gas analysis by injection of bicarbonate solution.

Results

1: Effects of Hemofiltration on composition of priming solution

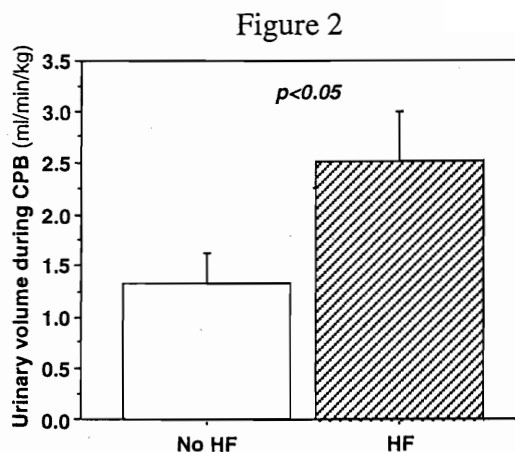
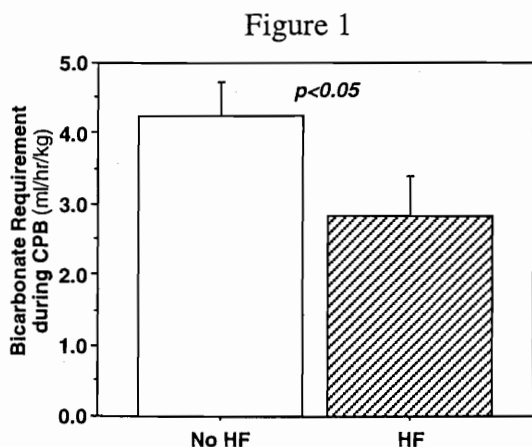
The the effects of hemofiltration on composition of the priming blood is summarized in Table 1. Before filtration, the prime contained high levels of citrate, ammonia, and bradykinin, however, these toxic substances were significantly reduced after hemofiltration. Electrolyte abnormalities were also corrected.

Tabel 1

	before HF	after HF	p value
Citrate (mg/dL)	2.9 ± 0.1	0.3 ± 0.5	< .01
NH3 + (g/dL)	172.5 ± 26.1	42.9 ± 34.6	< .01
Bradykinin (pg/mL)	3425 ± 1627	676 ± 405	< .001
Na +(mEq/L)	160 ± 6	138 ± 5	< .01
K +(mEq/L)	5.9 ± 0.7	2.5 ± 0.9	< .01
Ca 2+(mEq/L)	undetectable	0.05 ± 0.01	

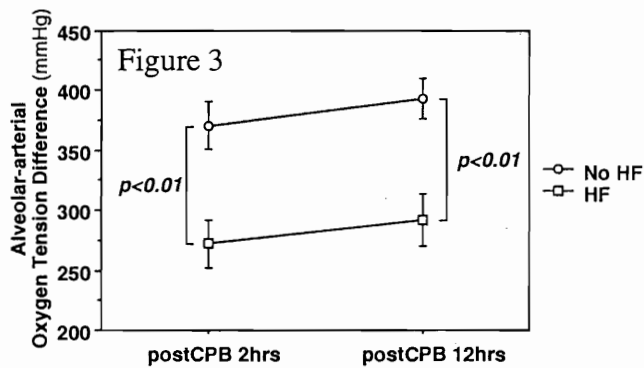
2: Effects of Hemofiltration on urinary volume and bicarbonate requirement (figures 1 and 2).

During bypass, the hemofiltration group had significantly better urination (2.5 ± 2.8 vs 1.3 ± 1.7 ml/hr/kg) and less bicarbonate requirement for correction of acidosis (2.8 ± 3.3 vs 4.3 ± 2.9 ml/hr/kg).



3: Effects of Hemofiltration on postbypass respiratory function (figure 3)

The alveolar-arterial oxygen tension difference, an index of pulmonary gas exchange was smaller, that is better in the hemofiltration group than in the control group at 2 hours (272 ± 108 vs 371 ± 124 mmHg, $p < 0.05$) and 12 hours (292 ± 118 vs 394 ± 103 , $p < 0.05$) after bypass.

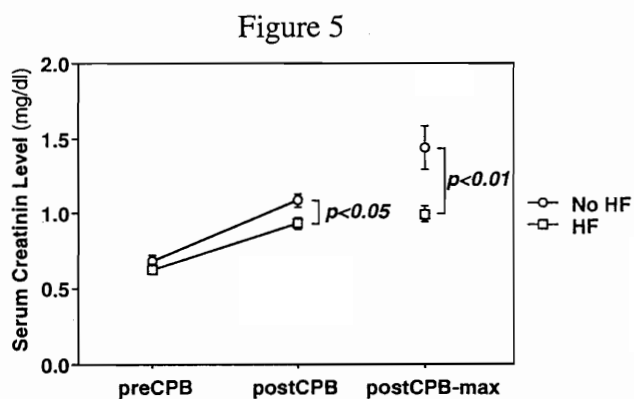
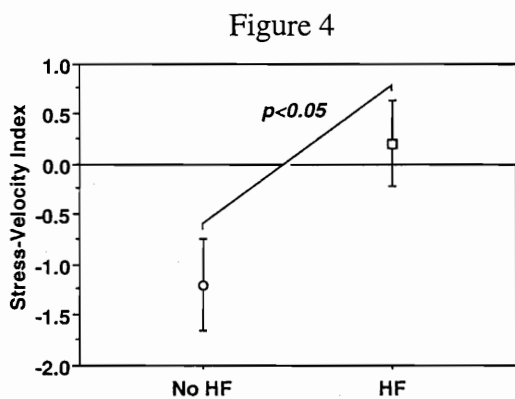


4: Effects of Hemofiltration on postbypass cardiac function (figure 4).

The stress velocity index was better in the hemofiltration group ($+0.21 \pm 1.52$ vs -1.20 ± 1.57 , $p < 0.05$) 4 hours after cardiopulmonary bypass.

5: Effects of Hemofiltration on postbypass renal function (figure 5).

The creatinine levels measured at 12 hours after bypass were lower in the hemofiltration group (0.94 ± 0.21 vs 1.09 ± 0.27 ml/dl, $p < 0.05$), and the postbypass maximum levels were also lower in the hemofiltration group than in the control group (1.00 ± 0.27 vs 1.44 ± 0.85 ml/dl, $p < 0.05$).



Comments

These results suggest that hemofiltration of the priming blood prevents acidosis and origuria during cardiopulmonary bypass and improves postbypass renal and cardiorespiratory function in the neonate. Hemofiltration effectively reduced the high levels of citrate, ammonia, and bradykinin in the priming blood and corrected electrolyte abnormalities. Bradykinin is a strong vasoactive substance produced by activation of the contact system that increases vascular permeability. During bypass, the hemofiltration group had significantly better urination and less bicarbonate requirement for correction of acidosis. These suggested a better renal and peripheral perfusion during bypass. The lower creatinine levels measured at 12 hours after bypass and the lower postbypass maximum creatinin levels in the hemofiltration group suggest preservation of renal function. The pulmonary

gas exchange is known to be impaired after cardiopulmonary bypass presumably by edema of the alveolar wall. The alveolar-arterial oxygen tension difference, an index of pulmonary gas exchange was smaller, that is better in the hemofiltration group than in the group without hemofiltration. The stress velocity index, a load-independent index of contractility, was better in the TGA with IVS with hemofiltration than in those with hemofiltration.

It was reported previously that hemofiltration during CPB improved ??? during CPB and after CPB. However, the present study focused the effects of manipulation of the priming blood in the neonates. In a previous study we have found that activation of vasoactive and inflammatory substances begins during recirculation of priming blood in bypass circuits. Because inactivation systems of some of substances, such as angiotension converting enzyme system for inactivation of bradykinin, are absent in the circuit, the level becomes extremely high. The high levels of activated inflammatory substances continue after initiation of CPB because of the large priming volume relative to the circulating blood volume in the neonate. Therefore it is begin hemofiltration during circuit recirculation.

From the results of the present study we conclude that hemofiltration of the priming blood prevents acidosis and origuria during cardiopulmonary bypass and improves postbypass renal and cardiorespiratory function in the neonate, and can be a useful adjunct to the neonatal open heart surgery.

未熟心筋に対する溶血の影響—非虚血時と虚血再灌流時

東京女子医科大学附属日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華、青木 満、大野英昭、根本慎太郎、坂本貴彦、星野修一、高梨吉則、今井康晴

要旨

目的：人工心肺の溶血による腎障害は広く知られているが、心筋特に未熟心筋に及ぼす影響の検討はいまだされていない。遊離ヘモグロビン中の鉄イオンは活性酸素の産生を触媒、促進し、特に虚血再灌流障害を増悪する危険性がある。今回我々は、この問題に対して溶血が心機能に及ぼす影響を非虚血時及び虚血再灌流時において家兎未熟心を用い実験的に検討した。方法：生後8-10日家兎摘出心Langendorff灌流モデル（Krebs-Henseleit溶液灌流、non working）を用い、millerカテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ非虚血（baseline 15分、30分後）及びSt.Thomas心筋保護液による180分の虚血前後（再灌流15分、30分後）の心機能（DP：LV developed pressure, dp/dt, -dp/dt, EDP）を測定し、後値の前値に対する回復率を算出した。それをK群（非虚血、溶血（-）、N = 9）、H群（非虚血、baseline測定後溶血による free Hb（1mg/dl）を添加、N = 8、K-I群（虚血、溶血（-）、N = 10）、及びH-I群（虚血、再灌流時に free Hb 添加、N = 7）で測定し、比較検討した。心臓より滴下する液を冠静脈還流液とし、溶存酸素、還流量より、心筋酸素消費量を求めた。有意差検定には unpaired T test を用い行なった。統計数値は平均値±標準誤差で表した。検定は repeated measures ANOVA にいて行なった。p < 0.05 を有意とした。結果： developed pressure の再灌流後15分時の回復度（%）はK群 100.3 ± 5.44, H群 85.3 ± 6.87, K-I群 106.2 ± 6.05, H-I群 71.4 ± 6.17、30分時はK群 98.8 ± 5.51, H群 79.7 ± 8.05, K-I群 104.5 ± 5.33, H-I群 60.9 ± 7.51（P = 0.004）。同様に再灌流後の dp/dt の最大値 %recovery である。再灌流後15分時の回復度（%）はK群 99.7 ± 6.27, H群 75.1 ± 6.12, K-I群 109.9 ± 5.18, H-I群 66.5 ± 7.18、30分時はK群 100.2 ± 6.27, H群 67.9 ± 7.37, K-I群 106.9 ± 5.02, H-I群 53.9 ± 7.95（P < 0.001）であった。V10での developed pressure の回復度（%）は再灌流後15分でK群 100.6 ± 7.53, H群 78.5 ± 7.63, K-I群 110.5 ± 10.85, H-I群 72.5 ± 5.27、30分値はK群 99.8 ± 6.65, H群 67.8 ± 7.41, K-I群 105.1 ± 10.40, H-I群 59.4 ± 8.20（P = 0.0019）。拡張能を示す -dp/dt の回復（%）は15分値K群 99.4 ± 6.09, H群 76.0 ± 5.52, K-I群 98.4 ± 5.37, H-I群 65.7 ± 4.65、30分値はK群 95.3 ± 5.06, H群 66.4 ± 7.00, K-I群 93.8 ± 5.38, H-I群 61.0 ± 7.29（P = 0.0001）であった。H群はK群に、H-I群はK-I群に比し、有意に低値であり特にH-I群で著しく回復が不良であった。結論：溶血は心筋能障害を招来し、特に虚血再灌流障害を増悪させた。よって、臨床では人工心肺による溶血予防、ハプトグロビン使用など積極的な対応が必要と考えられた。索引用語：溶血 虚血再灌流 溶血由来心筋障害

はじめに

今日、体外循環は開心術の補助手段として安全に行われるようになったが、長時間の体外循環に伴う溶血に対する完全な予防は今なお困難である。体外循環中の溶血によって生じた血漿中の遊離ヘモグロビン (Hb) は、種々の術後合併症の原因と考えられている^{1) 2)}。また溶血による腎障害は広く知られているが、心筋、特に未熟心筋に及ぼす影響の検討は未だなされていない。溶血による腎機能障害の機序は、遊離ヘモグロビン中の鉄イオンが、触媒産生する、活性酸素によるものと考えられており^{4) 5) 6)}、腎障害と同様の機序で虚血再灌流後に溶血による心機能障害がおこる可能性が考えられる。そこで今回、我々は溶血が非虚血時及び虚血再灌流時において心機能に及ぼす影響を、家兎未熟心を用いて実験的に検討した。

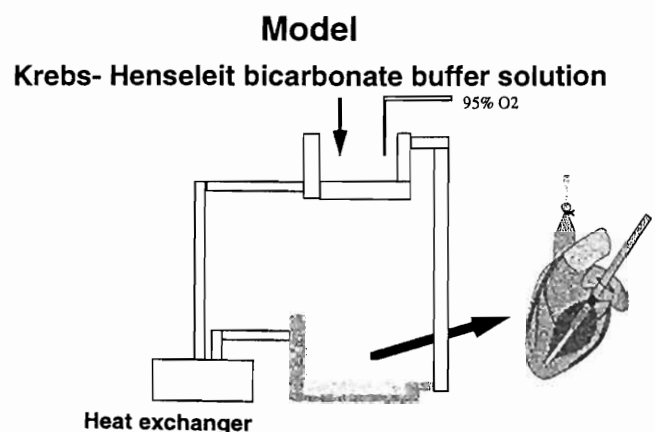
対象および方法

実験モデル (図 1)

実験動物は生後6-7日の家兎 (体重70-90g) 雌を使用した。麻酔はPentobarbital (2mg) を用い、0.1ccのヘパリンと共に腹腔内に注入した。自発呼吸下、痛覚刺激に反応しなくなった時点で開胸して心臓を摘出し、4° Cの生理食塩水中に浸し心停止の後、Krebs-Henseleit 溶液を灌流液に用いたLangendorff回路に装着した。開胸から灌流開始までの時間は2分以内で行った。灌流液は、冷温水槽を用い温度調節を行い、摘出心は冠動脈流量測定時以外は灌流液と同温度の生理食塩水に浸し、温度を一定に保った。Krebs-Henseleit 溶液の組成 NaCL, 118mM; NaHCO₃, 25mM; KH₂PO₄, 1.2mM; KCL, 4mM; MgSO₄, 1.2mM; Glucose, 11.1mM で、95% O₂, 5% CO₂ の混合ガスにて37° Cで酸素化を行った。

データ測定

ラテックスにて作製したバルーンを左房より左室内に挿入し、バルーン内に蒸留水を注入することにより左室容量を変化させ、等容収縮中の左室内圧の変化をバルーン内圧の変化としてカテーテルチップトランスデューサー (Millar microtip catheter MPC-500, Century Medical Inc.) にて測定した。測定には日本光電社製の AP-630G 血圧アンプと 601G 微分アンプを使用した。左室収縮能として左室発生圧 (developed pressure, DP) と収縮期心室内圧変化率 (dP/dt) のそれぞれ最大値 (Max) および虚血前ベースラインで EDP が 10mmHg となる時の心室内バルーン容量 (V₁₀) での値を、拡張能として拡張期心室内圧変化率 (-dP/dt) ,



EDPが10mmHgとなるときの心室内バルーン容量V10を測定した。心臓より滴下する液を冠静脈還流液とし、冠血流量(CBF)、動静脈溶存酸素をもとに下記の式に従って心筋酸素消費量(MVO2)を求めた(13)。心筋重量は実験終了後、心臓を右室、心室中隔、左室自由壁に分割しSartorius社製電子天秤A120Sを用い計測した。

$MVO2 \text{ (ml/min/g)} = (\text{冠動脈酸素含量} - \text{冠静脈酸素含量}) \times CBF / \text{心筋湿重量 (g)}$

$\text{酸素含量 (ml/dl)} = 1.39 \times \text{Hemoglobin 濃度 (mg/dl)} \times (\text{酸素飽和度 (\%)} / 100) + 0.0031 \times PO2 \text{ (mmHg)}$

なお、ペースングによる心拍数のコントロールは行わなかった。

実験プロトコール (図2)

図2

新生児家兎心を Langendorff 回路に装着、左室内バルーン挿入後 37℃にて約 15 分間灌流し安定状態としてからベースラインの測定を行った(表)。

34 匹の新生児家兎心を対象に以下 4 群に分け実験を行った。非虚血、溶血(-)の K 群 (N = 9) では、37℃の Krebs-Henseleit 溶液にて 15 分灌流を続け再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、3 度めの測定を行った。非虚血、溶血 (+) の H 群 (N = 8) では、

ベースライン測定後溶血による遊離ヘモグロビン (1 mg/dl) を添加した Krebs-Henseleit 溶液にて 15 分灌流を続け、再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、3 度めの測定を行った。虚血再灌流を行った K-I 群 (N = 10) では、ベースライン測定後、灌流液を 10 分間で 20℃まで冷却したのち灌流を停止し、St.Thomas 液を初回 3ml、以後 30 分毎に 1.5ml を追加投与し 3 時間虚血とした。虚血中は心臓を生理食塩水に浸し、20℃に維持した。3 時間の虚血後、室温の灌流液で再灌流を行い 15 分間で 37℃まで復温し、再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、再灌流後 2 度めの測定 (再灌流 30 分後) を行った。虚血再灌流時遊離ヘモグロビンを添加した H-I 群 (N = 7) では、K-I 群と同様に虚血とし、再灌流時に溶血による遊離ヘモグロビン (1 mg/dl) を添加した Krebs-Henseleit 溶液にて灌流し 15 分間で 37℃まで復温し、再度心機能等の測定を行った。さらに 15 分間灌流を続け、再灌流後 2 度めの測定 (再灌流 30 分後) を行った。

結果はすべて虚血前常温時の測定値をベースラインとして、それに対する回復率 (%Recovery) で示した。統計数値は平均値±標準誤差で表した。検定は repeated measures ANOVA, Student-Nueman-Keuls test にて行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

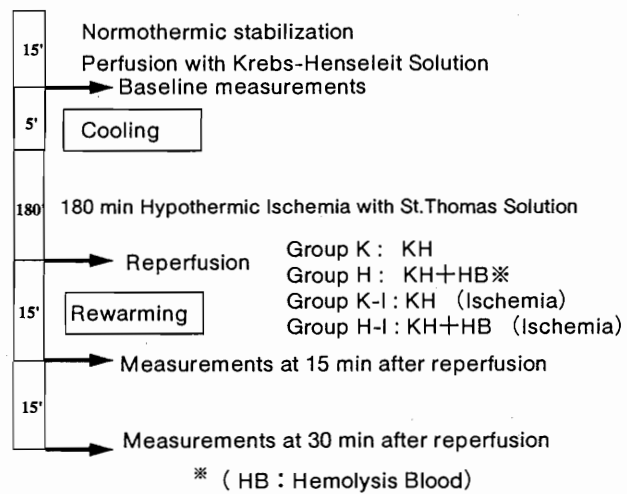


表. Baseline values

	group K	group H	group K-I	group H-I
Max DP (mmHg)	99.5 ± 3.8	92.6 ± 5.5	105.3 ± 3.93	66.1 ± 4.9
Max dP/dt (dyn · cm/sec)	99.9 ± 4.3	83.8 ± 6.9	108.4 ± 3.52	60.2 ± 5.4
Max -dP/dt (dyn · cm/sec)	97.4 ± 3.9	83.5 ± 6.0	96.1 ± 3.74	63.3 ± 4.2
DP at V10 (mmHg)	100.2 ± 4.9	83.0 ± 7.4	107.8 ± 7.34	65.9 ± 5.0
dP/dt at V10 (dyn · cm/sec)	101.2 ± 5.1	74.9 ± 8.18	108.4 ± 7.16	60.9 ± 5.5
dP/dt at V10 (dyn · cm/sec)	98.1 ± 5.3	74.9 ± 7.1	92.3 ± 6.32	64.9 ± 4.4
Coronary flow (ml/min/g)	77.6 ± 5.9	82.9 ± 10.58	88.0 ± 4.9	53.6 ± 6.5
O ₂ consumption (ml/min/g)	83.9 ± 10.25	91.5 ± 16.02	79.0 ± 8.4	60.5 ± 9.6
Heart weight (g)	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03
Heart rate (/min)	239 ± 11	223 ± 6	232 ± 8	240 ± 1

結果

1. 左心機能の変化

developed pressure の灌流 (K および H 群) 再灌流後 (K-I および H-I 群) 15 分時の回復度 (%) は K 群 100.3 ± 5.4, H 群 85.3 ± 6.9, K-I 群 106.2 ± 6.1, H-I 群 71.4 ± 6.2、30 分時には K 群 98.8 ± 5.5, H 群 79.7 ± 8.1, K-I 群 104.5 ± 5.3, H-I 群 60.9 ± 7.5 (P = 0.004) であった。H 群は K 群に、H-I 群は K-I 群に比し、有意に低値であり特に H-I 群で回復が著しく不良であった (図 3)。

同様に dp/dt の回復度 (%) は 15 分値で K 群 99.7 ± 6.3, H 群 75.1 ± 6.1, K-I 群 109.9 ± 5.2, H-I 群 66.5 ± 7.2、30 分値では K 群 100.2 ± 6.3, H 群 67.9 ± 7.4, K-I 群 106.9 ± 5.0, H-I 群 53.9 ± 8.0 (P < 0.001) であった。dp/d では H 群と H-I 群はそれぞれ K 群、K-I 群と比較し有意に低値を示した。特に H-I 群は著明な低値を示した (図 4)。

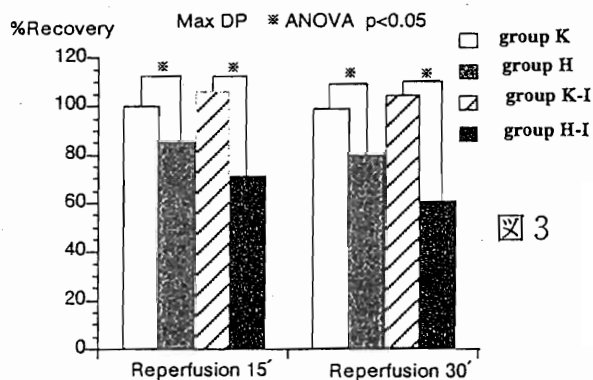


図 3

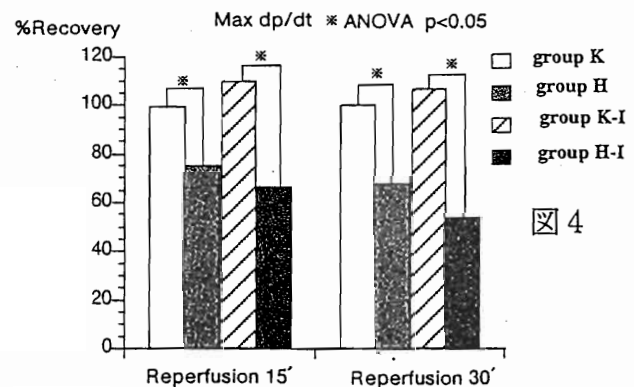
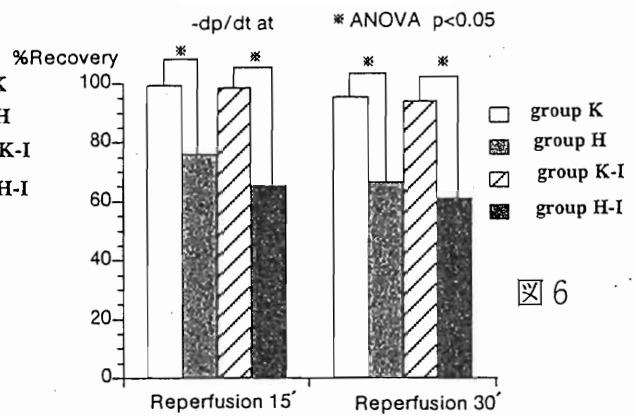
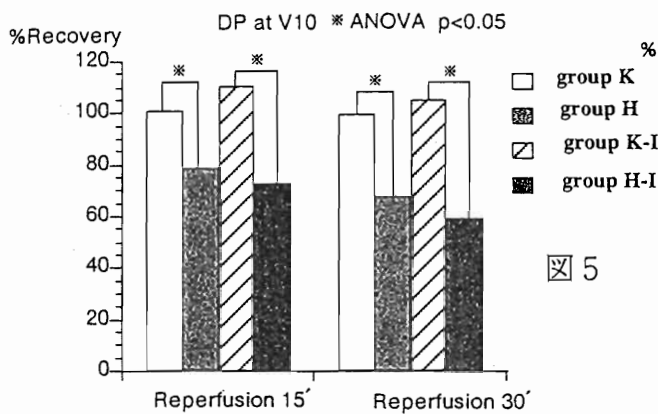


図 4

V10 での developed pressure の回復度 (%) は 15 分値で K 群 100.6 ± 7.5, H 群 78.5 ± 7.6, K-I 群 110.5 ± 10.9, H-I 群 72.5 ± 5.3、30 分値は K 群 99.8 ± 6.7, H 群 67.8 ± 7.4, K-I 群 105.1 ± 10.4, H-I 群 59.4 ± 8.2 (P < 0.005)。V10 での developed pressure では前述したの 2 つのパラメータと同様に H 群と H-I 群はそれぞれ K 群、K-I 群と比較し有意に低値を示した (図

5)。-dp/dtの回復(%)は15分値がK群99.4±6.1, H群76.0±5.5, K-I群98.4±5.4, H-I群65.7±4.7、30分値はK群95.3±5.1, H群66.4±7.0, K-I群93.8±5.4, H-I群61.0±7.3 (P<0.005)で、H群、H-I群はそれぞれK群、K-I群と比較し有意に低値を示した(図6)。



2、冠血流量 (CBF) の変化

再灌流後の冠動脈流量の回復度(%)は、灌流(KおよびH群)再灌流後(K-IおよびH-I群)15分値がK群80.4±8.4, H群100.9±29.4, K-I群90.8±7.4, H-I群57.4±10.2、30分値はK群74.8±8.7, H群67.4±10.1, K-I群85.2±6.9, H-I群49.7±8.6 (P=0.40)で有意差を認めなかった。

3、酸素消費量の変化

再灌流後の酸素消費量の回復度(%)は、灌流(KおよびH群)再灌流後(K-IおよびH-I群)15分値がK群92.6±15.1, H群116.4±47.9, K-I群68.7±13.7, H-I群70.7±16.6、30分値はK群75.2±14.1, H群64.1±8.7, K-I群89.2±9.4, H-I群50.3±9.5 (P=0.25)で有意差を認めなかった。

4、心拍数の変化

灌流(KおよびH群)再灌流後(K-IおよびH-I群)15分時の心拍数(/min)はK群236±18.3, H群179.3±8.4, K-I群219.6±14.4, H-I群180.0±0、30分時はK群236.0±18.3, H群169.3±9.7, K-I群196.0±9.8, H-I群160.0±10.7 (P=0.007)であり、H群とH-I群はそれぞれK群、K-I群と心拍数比較し有意に低値を示した。

考 察

体外循環により生じる溶血が開心術後の腎不全の重要な原因であることは広く知られている。14) 15) 16)。溶血により赤血球から大量に放出される遊離ヘモグロビンは通常はハプトグロビンと結合して肝臓で代謝されるが、ハプトグロビンの処理能力を越えてヘモグロビンが存在すると遊離ヘモグロビンとなって腎より排出される。そして腎系球体を通過した遊離ヘモグロビンは、一部尿細管上皮に取り込まれ、ヘモグロビンとヘムに分解されが、このヘムは尿細管上皮に対して毒性を示し急性尿細管壊死をもたらす

ことが知られている 17) 18)。またその詳しい機序としては、遊離ヘモグロビン中の鉄イオンが触媒産生する活性酸素が大きな役目を担っていると考えられる 4) 5) 6)。腎はエネルギー消費が多く、活性酸素生成量も多い。腎組織内の superoxide dismutase (SOD) 活性は、皮質、髄質外層帯、近位尿細管で高く、SOD は活性酸素を H₂O₂ に変換するため、これらの組織では H₂O₂ が多く生成される。大量の溶血によるヘム鉄や遊離鉄が提供されると、活性酸素は鉄イオンを触媒とする Haber-Weiss 反応を促進し、フリーラジカルが産生されることは容易に推測される 5)。一方、虚血再灌流後心機能障害においても、再灌流時に発生する活性酸素由来のフリーラジカルが重要な役割を果たすことが示唆されている 19)。これは、superoxide dismutase (SOD)、catalase, peroxidase 等のラジカルスカベンジャーの添加により、再灌流障害が軽減されるという多くの実験報告 20-23) と再灌流時に発生するフリーラジカルを電子スピン共鳴法 (ESR) や光化学的手法によって直接観察する実験報告から知ることができる 24-26)。虚血再灌流に際して、最初に生成される活性酸素はスーパーオキサイドアニオン ($\cdot\text{O}_2^-$) である。この $\cdot\text{O}_2^-$ は鉄イオンを触媒とする Haber-Weiss 反応によって、より細胞毒性の強いヒドロキシルラジカル ($\cdot\text{OH}$) に変化する 27) 28)。したがって鉄イオンキレート剤 Deferoxamine を用いて、これらの反応を阻止することにより、再灌流に伴う細胞障害が軽減されるという実験も報告されている 29)。

今回の実験結果から、溶血は未熟心筋に対して心機能障害を招来し、とくに虚血再灌流障害を著しく増悪させることが示唆された。この機序としては溶血により腎障害と同様の機序で虚血再灌流後心機能障害が起こる可能性が考えられ、体外循環中の溶血によって生じた遊離ヘモグロビン由来の鉄イオンは活性酸素の産生触媒し、虚血再灌流障害を増悪する危険性があると考えられる。臨床上、これらの溶血による心機能・腎機能障害の予防法としては体外循環回路の改善 30)、膜型肺の導入 31)、および種々薬剤の開発などが行われてきている。1988 年に Hashizume が初めてハプトグロビンが溶血性腎障害の防止に有効であることを報告した 32)。その作用機序として、1) 溶血由来の free heme に結合することで Fe 錯体の conformation の変化を引き起こし、活性酸素触媒作用を阻害する。2) free heme に結合し、分子量が大きくなり内皮細胞との interaction が減ずる、3) ハプトグロビン自体がフリーラジカル (free radical scavenger) 作用を持つことが考えられており 33) 34) 35)、フリーラジカルの過剰産生を抑えられると推測され、心機能障害の予防にも有効である可能性がある。鉄イオンは、スーパーオキサイド ($\cdot\text{O}_2^-$) や過酸化水素 (H₂O₂) から Haber-Weiss 反応、Fenton 反応を介して、より反応性の強いヒドロキシルラジカル ($\cdot\text{OH}$) が産生される過程の触媒であることが知られている。ヒドロキシルラジカルは細胞膜の脂質過酸化を引き起こし、アルコキシルラジカル、ペルオキシルラジカル等のフリーラジカルが、生成されて、細胞膜破壊に至る。この一連の反応にも鉄イオンが触媒として関与する 36)。このことから鉄イオンキレート剤 Deferoxamine はこれらの鉄依存性反応を阻害することで虚血再灌流に伴う細胞障害を軽減することが期待でき、心筋保護作用の点で臨床的に有用である可能性がある。

結 語

- 1、溶血は未熟心筋に対して心機能障害を招来し、とくに虚血再灌流障害を著しく増悪させた。
- 2、臨床においては体外循環に伴う溶血の予防、積極的な対応が重要であると考えられる。

文 献

- 1) Nevil WE, Kantaxix A, Gravn T and Clowes GHA : Postperfusion pulmonary vasculitis, Its relationship to blood trauma. Arch . Surg.,81 : 126,1963.
- 2) Ratliff NB, Young WG, Hackaal DB, Mikat E, Willson JW : Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation : Autopsy study . J.Thorac .Cardiovasc.Surg.,65 : 425,1973.
- 3) 田口一美、藤村顕治、鈴木朗夫：開心術における腎不全の発生と予防的、治療的考慮—長期体外循環の安全性の向上。胸部外科、19 : 520, 1966.
- 4) Southorn PA and Powis G : Free radicals in Medicine. I. chemical nature and biological reactions. Mayo Clin. Proc. 63 : 381,1988.
- 5) Menasche P and Piwnica A : Free radicals and myocardial protection : A surgical viewpoint. Ann.Thorac. Surg. 47 : 939,1989.
- 6) Hammond Band Hess ML : The oxygen free radical system : Potential mediator of myocardial injury. J.Am. Coll. Cardiol. 6 : 215, 1985.
- 7) Williams RE, JL and Flaherty JT : Treatment with deferoxamine during ischemia improves functional and metabolic recovery and reduces reperfusion-induced oxygen radical generation in rabbit hearts. Circulation 83 : 1006, 1991.
- 8) Lesnefsky EJ, Repine JE and Horwitz LD : Deferoxamine pretreatment reduces canine infarct size and oxidative injury. J. Pharmacol. Exp. Therap. 253 : 1103, 1990.
- 9) Ambrosio G, Zweir JL, Jacobus W E, Weisfeldt ML and Flaherty JT : Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxmine at the time of reflow : The role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. Circulation 76 : 906,1987.
- 10) Myers CL, Weiss SJ and Kirsh MM and Shlafer M : Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the “oxygen paradox” : Reduction of creatine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine, but not by superoxide dismutase. J. Mol. cell Cardiol. 17 : 675, 1985.
- 11) Ferreira R, Burgos M, Milei J, Llesuv S, Moltene L, Hourquebie H and Boveris A : Effect of supplementing cardioplegic solution with deferoxmine on reperfused human myocardium. J.Thorac. Cardivasc. Surg.100 : 708,1990.
- 12) JC Russell, D Lu, J Lyengar and DK Das : In “Pathophysiology of Reperfusion Injury” (D.K.Das,ed.) ,p.471.CRC Press, Boca Raton, Florida,1992.
- 13) Nomura F, Aoki M, Forbiss JM, Mayer JE Jr : Effects of hypercarbic acidotic reperfusion on

recovery of myocardial after cardioplegic ischemia in neonatal lambs. *Circulation* 90 (5 pt 2) : II 321-7,1994.

14) Yeb TJ, Brachney EL, Hall DP, et al : Renal complications of open-heart surgery : predisposing factors, prevention, and management. *J Thorac Cardiovasc Surg* 47 : 79-97, 1964

15) 白石義定, 村田真司, 西脇登 : 体外循環における血中遊離ヘモグロビンの推移。人工臓器 12 : 343-440, 1983.

16) 田中一彦, 吉矢生人, 島田康弘 : 開心術後急性腎不全の発症に関する定量的解析 第1報 術前および術中の各種項目による開心術後急性腎不全の発症予測。日胸外会誌 25 : 1602-1609, 1977.

17) 大城孟, 向井清, 洪性徳 : ハプトグロビン投与による溶血性腎障害の防止 (その1)。最新医学 30 : 656-667, 1975.

18) 大城孟, 本射滋己 : ハプトグロビン投与による溶血性腎障害の防止 (その2)。最新医学 30 : 879-885, 1975.

19) Hess M L and Manson NH : Molecular oxygen : Friend or foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J.Moll.Cell.Cardiol.* 16 : 969-985, 1984.

20) Menasche P, Grousset G, Gauduel, et al. : A comparative study of free radical scavengers in cardioplegic solutions. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 92 : 264-271, 1986.

21) Shlafer M, Kane PF and Kirsh MM : Superoxide dismutase plus catalase enhances the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic, reperfused heart. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* 83 : 830-839, 1982.

22) Werns SW, Shea MJ, Mitosos SE, et al. : Reduction of the size of infarction by allopurinol in the ischemic-reperfused canine heart, *Circulation* 73 : 518-524, 1986.

23) Badylak SF, Simmonds A, Turek J, et al. : Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by post ischemic deferoxamine and oxypurinol administration. *Cardiovasc.Res.* 21 : 500-506, 1987.

24) Arroyo CM, Kramer JH, Dickens BF, et al. : Identification of free radicals in myocardial ischemia/reperfusion by spin trapping with nitron DMPO. *FEBS Lett.* 221 : 101-104, 1987.

25) Kuzuya T, Hosida S, Kim Y, et al. : Detection of oxygen-derived free radical generation in the canine postischemic heart during late phase of reperfusion *Circ.Res.* 66 : 1160-1165, 1990.

26) Henry TD, Archer SL, Melson D, et al. : Enhanced chemiluminescence as a measure on oxygen-derived free radical generation during ischemia and reperfusion. *Circ.Res.* 67 : 1453-1461, 1990.

27) Halliwell B : Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron chelates. *FEBS Lett.* 92 : 321-326, 1978.

28) Halliwell B and Gutteridge JMC : Oxygen toxicity. Oxygen radicals, transitional metals and disease. *Biochem.J.* 219 : 1-14, 1978.

29) 三好博文 : 食道静脈瘤硬化療法におけるハプトグロビン投与の腎障害予防効果に関する研究。日消誌、86 : 280, 1989.

30) 川畑安正, 平塚博男 : 人工心肺の吸引回路の一工夫。体外循環技術、2 : 192, 1977.

- 31) Lade AJ, Edwards L, Block JH, Carlson RG, Subramanian VA, Asheim RS, Shiedt S, Fillmore S, Killip J and Lillehei CW : Clinical experience with emergence use of prolonged cardiopulmonary bypass. With membrane pump oxygenator. *Ann Thorac Surg.* 10 : 409,1970.
- 32) Hashizume M, et al. : Haptoglobin to protect against renal damage from ethanlamine oleate sclerosant. *Lancet* ii : 340,1988.
- 33) 長柄英男, 和田寿郎, 跡部正明, 平塚博男 : 体外循環におけるハプトグロビン投与Hp-Hb 複合、遊離 Hb、遊離 Hb の分別定量。日胸外会誌 27 : 172,1979.
- 34) Menasche P, Pasquier C, Bellucci S, et al : Deferoxamine reduces neutrophil-mediated free radical production during cardiopulmonary bypass in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988,96 : 582-9.
- 35) Ferreira R, Burgos M, Milei J, et al : Effect of supplemented cardioplegic solution with deferoxamine on reperfused human myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990,100 : 708-14.
- 36) Badylak SF, Simmons A, Turek J and Babbs CF : Protection from reperfusion injury in the isolated rat heart by post-ischemic deferoxamine and oxypurinol administration. *Cardiovasc. Res.* 21 : 500,1987.

英文抄録

Hemolysis impairs cardiac function during cardiopulmonary bypass in neonatal rabbit hearts

Chang Dehua, MD, Mitsuru Aoki, MD, Shintaro Nemoto, MD, Shuichi Hoshino, MD, Yasuharu Imai, MD

Department of Pediatric Cardiovascular Surgery, The Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

Purpose: Hemolysis that caused mechanically during cardiopulmonary bypass may impair cardiac function by producing superoxide anion which catalyzed by iron in free hemoglobin. Especially in ischemia-reperfusion period, it may be harmful to both endothelial cell and myocyte in the heart.

Methods: The hypothesis was investigated in an isolated crystalloid-perfused newborn rabbit (birth to 7 days) heart Langendorff model. The hearts were divided into four groups: (1) perfused with Krebs-Henseleit bicarbonate buffer gassed with 95% O₂, 5% CO₂ (KH, n=8, group K), (2) perfused 30 minutes after baseline measurements with KH containing free hemoglobin (1 mg/ml, n=8, group H), (3) induced 3 hours of cold global ischemia (20°C), with infusion of crystalloid cardioplegic solution, and reperfused with KH (n=8, group KI), and (4) with KH containing free hemoglobin (n=8, group HI). The maximum of the left ventricular developed pressure (maxDP), of the maximal change of this pulse pressure with time (max dP/dt) and of the minus one (-max dP/dt) were recorded with use of a compliant fluid-filled balloon catheter that was inserted into the left ventricle through the left appendage. The values were measured again at 15 and 30 minutes after baseline measurements in group K and H, and at 15 and 30 minutes of post ischemic reperfusion in group KI and HI. The

data were expressed as the percentages of recovery(%). For statistical analysis, repeated measures ANOVA and t-test were used.

Results: Data are expressed mean \pm standard error. v10: balloon volume at LVEDP 10 mmHg. The KH group and K-I group showed better functional recovery than H group and H-I group. maxDP: 98.8 ± 5.5 (K) vs. 79.7 ± 8.1 (H) vs. 104.5 ± 5.3 (KI) vs. 60.9 ± 7.5 (HI) ($p < 0.005$), max dp/dt: 100.2 ± 6.3 (K) vs. 67.9 ± 7.4 (H) vs. 106.9 ± 5.0 (KI) vs. 53.9 ± 8.0 (HI) ($p < 0.001$), DP at v10: 99.8 ± 6.7 vs. 67.8 ± 7.4 vs. 105.1 ± 10.4 vs. 59.4 ± 8.2 ($p < 0.005$), -maxdp/dt: 95.3 ± 5.1 vs. 66.4 ± 7.0 vs. 93.8 ± 5.4 vs. 61.0 ± 7.3 ($p < 0.0005$) at 30 minutes of reperfusion .

Comments; These results suggest that hemolysis impairs cardiac function in neonatal hearts especially in ischemia-reperfusion period ,with possible vulnerability to the iron catalyzed superoxide anion. It may also be possible that the addition of iron-chelating agents or haptoglobin could prevent this injury. Further studies are required to support these speculations.

Key Words : ischemia reperfusion hemolysis hemolysis impairac function

溶血が及ぼす心筋障害に対するハプトグロビンの効果 —未熟心筋における実験的検討—

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華, 青木 満, 根本慎太郎, 杉山喜崇, 星野修一, 高梨吉則, 今井康晴

【目的】

我々は、溶血による free Hb が未熟心筋に機能障害を引き起こすこと、および Fe イオンキレート剤である Deferoxamine を添加することで、心機能回復が得られることを実験的に示し、この障害の一因に free Hb 由来の Fe イオンが触媒する活性酸素が関与している可能性を報告してきた。一般に臨床で溶血に対して使用されるハプトグロビンが、free Hb の網内系による処理を通じて間接的に腎尿細管障害を防止することは広く知られている。今回われわれは、溶血による心機能障害をハプトグロビンが直接的に防止できるかについて摘出心虚血再灌流モデルを用い、実験的に検討した。

【方法】

日令 5-7 日の家兎摘出心 Langendorf 灌流モデル (Krebs-Henseleit 液灌流, non working) を用い、Millar カテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ St. Thomas 液間歇投与による 180 分の心虚血 (20°C) 前後で心機能 (DP: LV 発生圧, dP/dt, -dP/dt, EDP) を測定した。再灌流後 (15 分, 30 分) の前値に対する回復率 (%) を算出した。Hb 濃度を 1 mg/ml に調節した Krebs-Henseleit 溶液で再灌流した B 群 (n=8), これに再灌流時にハプトグロビンを 0.08 単位/ml 投与した A 群 (n=8), Krebs-Henseleit 液のみで再灌流した C 群 (n=8) の 3 群で比較検討した。統計学的解析は、repeated measures ANOVA および Student-T test にて行った。

【結果】

数値は平均値±標準誤差を示す。

	再灌流後	C 群	A 群	B 群	ANOVA (p)
max DP	15 分	106 ± 6*	96 ± 11*	71 ± 6	<0.05
	30 分	105 ± 5*	101 ± 5*	61 ± 8	n. s.
max dP/dt	15 分	110 ± 5*	84 ± 8*	67 ± 7	<0.05
	30 分	107 ± 5*	91 ± 9*	54 ± 8	n. s.
max -dP/dt	15 分	98 ± 5*	94 ± 9*	66 ± 7	<0.05
	30 分	94 ± 5*	94 ± 6*	61 ± 8	n. s.

【考按・結論】

今回の摘出心での溶血再灌流モデルのA群とB群の比較から、ハプトグロビンは溶血による心機能障害作用を尿細管障害に対する機序と異なり直接的に防止する効果を有する可能性が示唆された。その作用機序として、1) 溶血由来の free heme に結合することでFe 錯体の conformation の変化を引き起こし、活性酸素触媒作用が block される, 2) free heme に結合し分子量が大きくなり内皮細胞との interaction が減る, そして3) ハプトグロビン自体が free radical scavenger 作用を持つことが考えられるが, さらに検討を加えていくことが必要である。

Effects of hemolysis and deferoxamine on recovery of cardiac function after hypothermic cardioplegic ischemia in neonatal rabbit hearts

Chang Dh, Aoki M, Nemoto S, Ohno H, Hoshino S, Takanashi Y, Imai Y
The Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

Background and Purpose:

It is known that hemolysis impairs renal function through mechanisms involving superoxide anion generation catalyzed by the iron ion in the free hemoglobin(F-Hb). We hypothesized that hemolysis might impair cardiac function especially during ischemia/reperfusion and that administration of an iron chelating agent, deferoxamine, might improve functional recovery after ischemia followed by reperfusion with hemolytic blood.

Methods:

Twenty-four isolated neonatal rabbit hearts (7 to 10 days old) were studied using crystalloid-perfused Langendorf model. All the hearts underwent 3 hours of cold(20°C) global ischemia with intermittent infusion of St. Thomas solution followed by reperfusion. The hearts were divided into three groups according to modification of the reperfusate: Group K, reperfused with Krebs-Henseleit(KH) buffer (n=8); Group H, reperfused with KH buffer containing 1 mg/ml of F-Hb (n=8), and Group D, reperfused with KH buffer containing 1 mg/ml of F-Hb and 1 mg/ml of deferoxamine (n=8). The left ventricular maximum developed pressure(DP), dP/dt, and -dP/dt were measured using intraventricular balloon before ischemia (baseline) and at 15 and 30 minutes of reperfusion.

Results:

The data were expressed as percentage of the baseline values, and statistically analyzed using ANOVA and t-test. *: p<0.01 vs. Group H.

Group	DP@15	DP@30	dP/dt@15	dP/dt@30	-dP/dt@15	-dP/dt@30
H	71.4±6.2	60.9±7.5	66.5±7.2	54.0±8.0	65.7±4.6	61.0±7.3
D	86.0±8.4*	86.6±7.5*	85.8±8.6*	78.0±8.9*	77.4±8.4*	72.6±7.1*
K	106.2±6.1*	104.5±5.3*	109.9±5.2*	106.9±5.0*	98.4±5.4*	93.8±5.4*

Conclusion:

The results show that the free hemoglobin in the reperfusate impaired recovery of cardiac function after ischemia/reperfusion in the neonatal rabbit heart, and this deleterious effect was partly offset by the addition of deferoxamine. These results suggest that iron plays an important role in pathogenesis of myocardial reperfusion injury by hemolysis.

心筋保護液中アデノシンの未熟心筋に対する効果

東京女子医大 日本心臓血圧研究所 循環器小児外科

杉山喜崇、青木 満、常 徳華、篠崎雅人、萩野生男、柏木潤一、根本慎太郎、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

新生児症例では長時間大動脈遮断後の心機能は不良で、心筋保護法は未だ満足いくものではない。アデノシンは心筋細胞 A1 レセプターを介し ATP dependent K⁺ channel に作用して Ca²⁺ 流入を阻害し、また白血球・血管内皮・平滑筋の A2 レセプターを介し再還流傷害を軽減すると報告されており、移植臓器保存液である University of Wisconsin solution (UW) に臨床応用されているが、開心術中の心筋保護液にアデノシンを使用した報告は少なく、特に未熟心筋に対する効果は不明である。新生児心筋保護におけるアデノシンの効果の実験的検討を行った。

【方法】

生後 5-10 日の家兎摘出心血液還流モデルを用い、還流冷却後 20℃ にて 3 時間虚血とし、再還流復温後 15 分、30 分に左室内バルーンにて心機能の回復度を評価し、心筋保護液に St. Thomas (ST) 液を用いた ST 群 (n=8)、UW を用いた UW 群 (n=5)、ST 液にアデノシンを 1.34mg/L 加えた AD 群 (n=7) で比較した。心筋保護液は 30 分毎に投与した。

【結果】

虚血前値の %Recovery (mean ± S.E.) にて示す。

再灌流時間	項目	ST 群	AD 群	UW 群	p value
15 分	maxDP	87 ± 5	112 ± 4	81 ± 10	<0.01
	maxDP/dt	92 ± 5	127 ± 7	81 ± 11	<0.005
	DPV10	93 ± 6	114 ± 8	78 ± 15	0.05
	DP/dtV10	96 ± 5	116 ± 10	82 ± 16	0.09
	%V10	98 ± 3	115 ± 8	78 ± 18	<0.05
30 分	maxDP	83 ± 9	105 ± 6	74 ± 11	0.08
	maxDP/dt	84 ± 7	113 ± 9	82 ± 12	<0.05
	DPV10	80 ± 6	103 ± 12	71 ± 16	n.s.
	DP/dtV10	86 ± 7	105 ± 12	79 ± 17	n.s.
	%V10	101 ± 4	120 ± 9	75 ± 19	<0.05

DP: 左室発生圧, V10: EDP10mmHg となるバルーン容積

【考察】

ST液では3時間の虚血に対する保護効果は不十分であった。AD群では有意に良好な心機能の回復を示し、また心拍数の低下等の副作用は見られず、新生児の未熟心筋においてもアデノシンの有用性が示唆された。UW群では新生児の心筋保護液としてはK⁺が高濃度であり頻回の投与により、血管内皮傷害等のため心機能の回復が不良であったと考えられる。

【結論】

アデノシンはSt. Thomas液中に加えることにより未熟心筋に対して有効な心筋保護効果を示し、新生児心筋保護への臨床応用の可能性が示唆された。

アデノシンの心筋保護効果とその作用機序 - 新生児家兎実験モデルでの検討 -

東京女子医大 心研 循環器小児外科

杉山喜崇、青木 満、柏木潤一、根本慎太郎、佐藤一樹、常 徳華、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

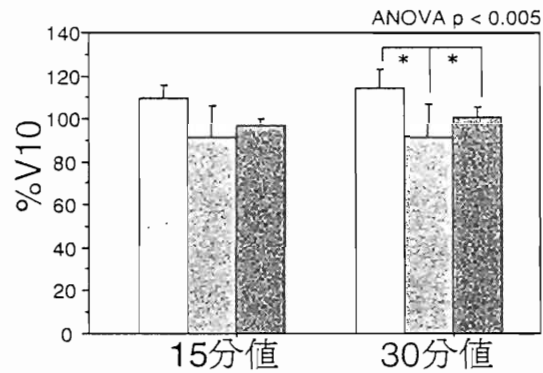
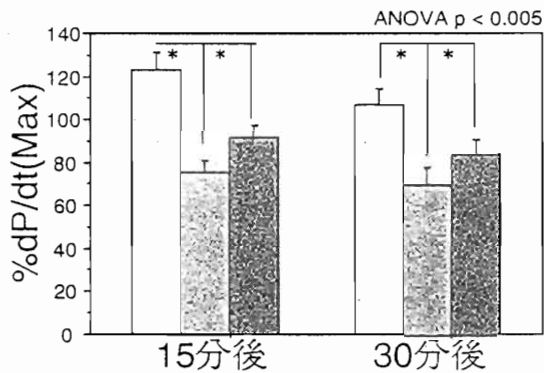
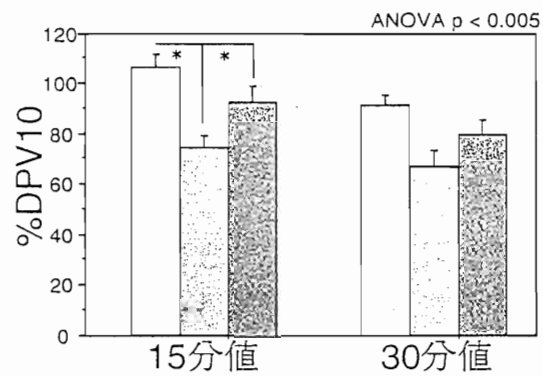
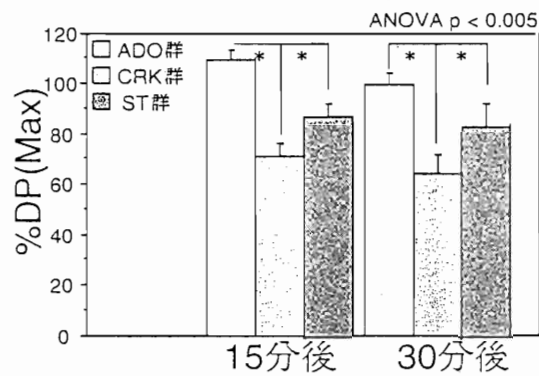
アデノシンは心筋 A1 レセプターを介した Ca²⁺ 流入阻害と白血球・血管内皮・平滑筋の A2 レセプターを介した作用により再灌流傷害を軽減する。A1 レセプターは G-protein を介し ATP-sensitive K⁺ channel に作用するされ、この channel opener は過分極心停止を起こす新しい心筋保護液として注目されている。心筋保護液中アデノシンの未熟心筋に対する保護効果とその作用機序における ATP-sensitive K⁺ channel の意義を明らかにするため、アデノシンと ATP-sensitive K⁺ channel opener であるクロマカリムの実験的検討を行った。

【方法】

生後 5-10 日の家兎摘出心血液還流モデルを用い、還流冷却後 20℃にて 3 時間虚血とし、再還流復温後 15 分、30 分に左室内バルーンにて心機能の回復度を評価した。心筋保護液に St. Thomas (ST) 液を用いた ST 群 (n=8)、ST 液にアデノシンを 1.34mg/L 加えた ADO 群 (n=6)、クロマカリム 10 μ M を加えた CRK 群 (n=7) で比較した。心筋保護液は 30 分毎に投与した。統計学的検定は Repeated measures ANOVA、t-test を用いた。

【結果】

グラフに示す。* : p<0.05 by t-test。V10 : EDP10mmHg となる心室バルーン容積。



【考察】

ADO 群では有意に良好な心機能の回復を示し、新生児の未熟心筋においても心筋保護液中のアデノシンの有効性が示された。一方、クロマカリムは今回用いた高 K⁺ 脱分極型心筋保護液 (ST 液) 中では効果を認めず、過分極心停止がその効果発現に必要なであること、低温での電解質チャンネル活性の違い、あるいは新生児の電解質チャンネルの未熟性などが考えられる。アデノシンの心筋保護効果における ATP- sensitive K⁺ channel の関与は少ないと考えられた。

ATP感受性K⁺チャンネル開口薬の未熟心筋保護における実験的検討

東京女子医大 心研 循環器小児外科

根本慎太郎、青木 満、常 徳華、杉山喜崇、柏木潤一、佐藤一樹、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

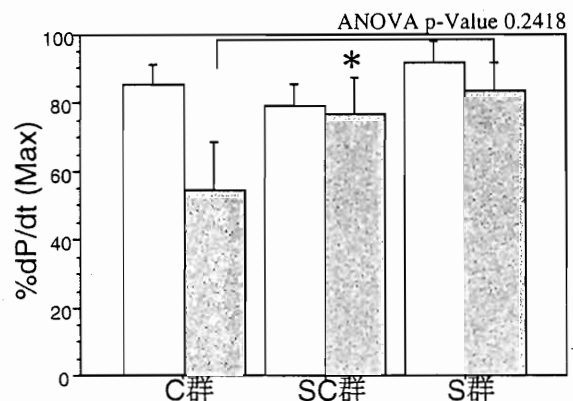
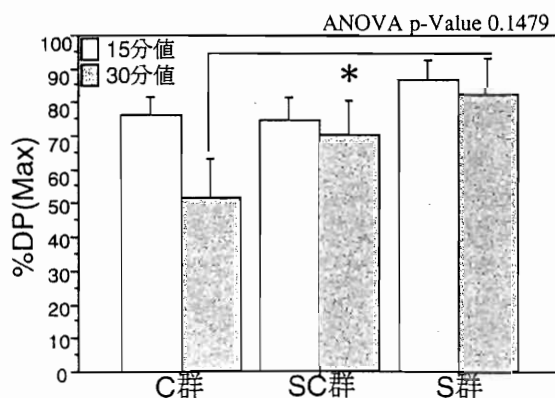
近年、ATP感受性K⁺チャンネル開口薬の持つ薬理作用（過分極による活動電位持続時間の短縮、電気的心停止によるエネルギー保持および再灌流時Ca overloadの防止）から、外科的心筋保護へ応用されるようになった。しかし未熟心筋における報告はなく、今回我々は、未熟心筋に対するATP感受性K⁺チャンネル開口薬（クロマカリム）の効果を従来の高K⁺心筋保護液に添加および比較し検討した。

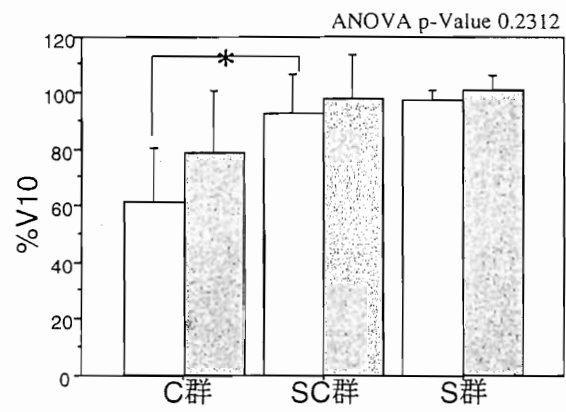
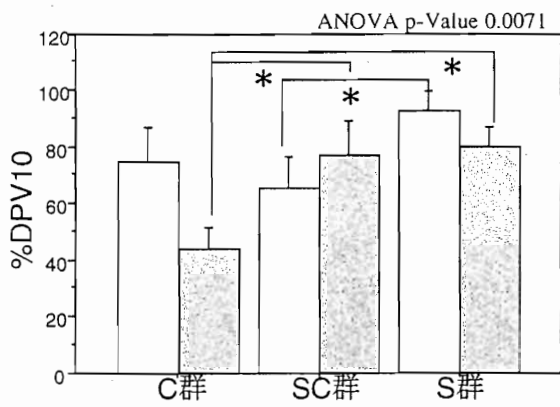
【方法】

日令5-7日の家兎摘出心Langendorf灌流モデル（希釈血液灌流, non working）を用い、Millerカテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ180分の虚血前後（再灌流15分, 30分後）の心機能（DP: LV developed pressure, dP/dt, -dP/dt, EDP）を測定し、虚血後の虚血前値に対する回復率を算出した。これを冷却後に生理的食塩水+クロマカリムで心停止としたC群（N=6）、クロマカリムを添加したSt.Thomas液で心停止としたSC群（N=8）、St.Thomas液のみで心停止としたS群（N=8）に分け、比較検討した。統計学的検定はt-testおよびrepeated measures ANOVAにて行った。

【結果】

グラフはmean ± S.E. で示し、*はp<0.05（t-test）。





【考案・結論】

C群とS群の比較からクロマカリム単独では高K+心筋保護液を凌駕する効果、及びSC群とS群の比較から高K+心筋保護液を増幅させる効果は共に認められなかった。更に投与方法、タイミングそして温度についても検討を加える必要があると思われた。

未熟心筋の外科的虚血再灌流時における L-Arginine 投与の有効性に関する実験的検討

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華、青木 満、高梨吉則、今井康晴

【目的】

NOは、血管内皮細胞でつくられ、血管中膜平滑筋細胞を弛緩するEDRF (endothelium derived relaxing factor) の本体として、生理活性物質である。NOの原料は、L-アルギニンで、多くの細胞に存在する。NOの作用機序は、活性化されたcyclic GMPのIP3抑制による細胞内Ca²⁺濃度減少、および収縮蛋白系のCa²⁺感受性減少による血管平滑筋弛緩が考えられており、NOといわゆるIP回路との関係は、虚血、再灌流心筋においても重要な役割を有すると考えられる。

【方法】

日令5-7日の家兔摘出心を用い、Langendorf灌流モデルを確立。灌流冷却後20℃で3時間虚血とし、再灌流復温後30分に左室内バルーンにて心機能の回復度を評価した。心筋保護液としてSt.Thomas (T群) (n=6)とSt.Thomas20ccにL-Arginine20mmol/Lを加えた(A群) (n=7) 2群で比較した。

【結果】

結果はbaselineに対する%recovery (mean ± S.D) で示し、*は群間の差に対してt-testにてp<0.05を表す。

虚血再灌流 15分後	A群	T群
Max DP	83.3 ± 13.6	80.0 ± 6.9
Max dP/dt	99.2 ± 2.9 *	84.6 ± 7.3
Max -dP/dt	98.5 ± 2.2	85.6 ± 11.2
DPV10	87.7 ± 14.8	85.5 ± 6.6
dP/dt V10	103.8 ± 8.1 *	89.7 ± 6.2
-dP/dt V10	103.9 ± 10.2 *	85.2 ± 10.2

虚血再灌流 30 分後	A 群	T 群
Max DP	75.4 ± 18.0	78.0 ± 29.9
Max dP/dt	99.8 ± 2.3 *	77.5 ± 19.0
Max -dP/dt	95.6 ± 7.0	75.0 ± 17.5
DPV10	77.1 ± 24.8	74.6 ± 16.1
dP/dt V10	99.7 ± 5.3	82.4 ± 20.2
-dP/dt V10	22.8 ± 103.3	79.0 ± 25.3

【結論】

A 群は Control 群に比し心機能の改善が優れていた。新生児未熟心筋において L-Arginine 投与した後心機能回復に有効である可能性が示唆された。

未熟心における Adenosine-Histidine Cardioplegia と St.Thomas の比較 —心筋保護効果に関する実験的検討—

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科
常 徳華、青木 満、萩野生男、新岡俊治、高梨吉則、今井康晴

【目的】

アデノシンはA1レセプターを介したCaイオン流入阻害と白血球、血管内皮、平滑筋のA2レセプターを介した作用により再灌流障害を軽減する。ヒスチジンは、そのイミダゾール基が生理的pH付近で強い緩衝作用をもち細胞内アシドーシスを改善する。我々はこれまで未熟心においてアデノシン、ヒスチジンを単独でSt.Thomas液に付加することで心筋保護効果が増強されることを報告したが、今回両者を組み合わせた心筋保護液を作成しその効果と臨床応用の可能性を検討した。

【方法】

生後5-7日の家兎摘出心Langendorf血液還流モデルを用い灌流冷却後20℃で3時間虚血とし、再灌流復温30分後に左室内バルーンにて心機能の回復度を評価した。心筋保護液としてSt.Thomas液(T群:n=9)とNaCl 25mM/L, NaHCO₃ 30mM/L, KCl 10mM/L, MgCl₂ 1.6mM/L, CaCl₂ 0.5mM/L, Glucose 10g/L, Adenosine 5mM/L, Histidine 160mM/L、Histidine-HCl 20mM/L, pH 7.0 (37℃)に調整した心筋保護液(A-H群:n=7)を4℃で30分毎に投与し、2群で比較した。検定はt-testを用いた。

【結果】

平均値±標準偏差

	T 群	A-H 群
左室最大発生圧 (Max DP)	82.8 ± 26.8	88.9 ± 22.2
左室最大 dP/dt	83.8 ± 19.8	87.0 ± 15.0
左室最大 -dP/dt	81.8 ± 19.5	117.3 ± 54.2
V10における左室発生圧	79.9 ± 17.2	115.0 ± 32.9 *
V10における左室 dP/dt	86.4 ± 19.0	127.0 ± 31.1 *
V10における左室 -dP/dt	84.4 ± 23.8	107.4 ± 24.6 *
EDP20mmHgとなる左室容積 (V10は虚血前にEDP10mmHgとなる左室容積、* : p < 0.05)	95.3 ± 8.6	131.5 ± 54.0 *

【結論】

虚血再灌流後 A-H 群は、T 群に比べ心拡張機能の指標に優れており、心収縮機能の回復はほぼ同等であった。これはアデノシンの A1 作用とヒスチジンによる細胞内アシドーシス軽減による Ca イオン流入抑制の結果と考えられる。アデノシン、ヒスチジン共に生体由来の物質であり、それぞれ UW 液、Bretschneider 液として臨床に使用されているため副作用の危険も少なく、我々の考案した心筋保護液は臨床使用可能と思われた。

未熟心筋に対する外科的虚血再灌流時 Carnitine 投与の有用性に関する実験的検討

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

根本慎太郎, 青木 満, 常 徳華, 杉山喜崇, 星野修一, 高梨吉則, 今井康晴

【目的】

成熟心筋と異なり, 未熟心筋は細胞内脂肪酸代謝経路の酵素活性が低く, エネルギー産生を解糖系に依存している. またこの酵素活性は虚血再灌流によりさらに低値となり, 細胞内に酸性物質アシル CoA を蓄積させ, 細胞障害が生じる. Carnitine は, アシル CoA をミトコンドリア内に運搬し, β 酸化経路および TCA 回路による代謝を促進する. 従って, Carnitine 濃度が低い未熟心筋への投与は, 心筋エネルギー産生を高めると同時に細胞内環境を調整する効果が期待される. これを外科的虚血再灌流モデルを用い, その心機能を測定することで有用性を検討した.

【方法】

日令 5-7 日の家兎摘出心 Langendorf 灌流モデル (希釈血液灌流, non working) を用い, Millar カテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ 180 分の冷却心停止前後 (再灌流 15 分, 30 分後) の心機能 (収縮能として DP: developed pressure, dP/dt , 拡張能として $-dP/dt$, $V10$), 酸素消費量および冠血流量を測定し, 再灌流後の前値に対する回復率 (%) を算出した. 心筋保護液は St. Thomas 液を用いた. これを希釈血液のみで再灌流した N 群 (N=8), Carnitine を 1mg/ml 添加した希釈血液で再灌流した C 群 (N=8) に分け, 2 群を比較検討した. 統計学的解析は, repeated measures ANOVA にて行った.

【結果】

結果を表に示す. 数値は平均値 \pm 標準誤差。

	再灌流後	C 群	N 群	ANOVA (p)
max DP	15min	106.4 ± 6.4	86.9 ± 5.2	p< 0.05
	30min	103.3 ± 4.3	82.8 ± 9.5	n. s.
max dP/dt	15min	109.9 ± 5.2	83.8 ± 8.0	p< 0.05
	30min	106.9 ± 5.0	90.6 ± 8.7	n. s.
max -dP/d	15min	124.4 ± 15.5	91.9 ± 5.4	p< 0.05
	30min	111.9 ± 5.6	83.8 ± 7.0	n. s.
V10	15min	125.2 ± 7.4	97.6 ± 2.8	p< 0.05
	30min	130.5 ± 7.8	101.0 ± 4.4	n. s.
冠血流量	15min	183.1 ± 24.6	132.8 ± 20.6	p< 0.05
	30min	173.6 ± 23.9	108.3 ± 8.3	n. s.
酸素消費量	15min	200.9 ± 31.6	140.1 ± 14.0	p< 0.05
	30min	212.9 ± 34.1	107.0 ± 14.6	n. s.

V10; EDP が 10mmHg となるバルーン容量.

【考按・結論】

Carnitine 投与により, 左室収縮能および拡張能が有意に改善した. また, 冠血流量の増加と好氣的代謝の増大を示す酸素消費量の増加を有意に認め, 未熟心筋の虚血再灌流における Carnitine 投与の有用性が示唆された. 今後さらに, 実際の脂肪酸代謝の測定から評価を加える必要があると思われた.

未熟心筋における外科的虚血再灌流時の脂肪酸代謝に関する実験的検討

東京女子医大心研循環器小児外科、日本メジフィジックス株式会社創薬研究所*
坂本貴彦、根本慎太郎、常徳華、青木満、星野修一、高梨吉則、今井康晴
森下健一*、山道芳弘*、白神宜史*

はじめに

近年、各種心筋保護法や体外循環技術の進歩に相まって、心臓外科手術の成績は著しい発展を見た。しかし、新生児、乳児期の開心術の成績は成人のそれと比較し、いまだ満足いくものではない。その中でも特に新生児期開心術においては、その心筋虚血時間が術後心機能に与える影響が非常に大きく、心筋保護法¹⁾とそれに引き続く再灌流障害の研究が急務であると考えられる。さて未熟心筋の特徴の1つとして細胞内脂肪酸代謝経路の酵素活性が低いことが挙げられ、虚血再灌流時にはさらにそれが顕著となり心機能の低下が懸念される。

そこで今回、外科的虚血再灌流時における脂肪酸代謝に関して、新しい心筋脂肪酸イメージング製剤である ¹²³I-BMIPP (β -methyliodophenyl pentadecanoic acid)^{2) -4)} を用いて実験的検討を行い、脂肪酸代謝動態について若干の知見を得たので報告する。

対象と方法

実験モデル

実験動物として日齢7日の家兔を18羽使用した。麻酔は pentobarbital (0.2ml, 2mg) を用い、0.1mlのヘパリンとともに腹腔内に投与し心臓を摘出後、Langendorff灌流回路に装着した。灌流液は同種血液を5mM HEPES溶液 (pH=7.4) にて希釈し、ヘマトクリット15%として用い、冷温水槽にて温度調節を行った。また灌流液は95%O₂, 5%CO₂の混合ガスにて37℃で酸素化を行った。

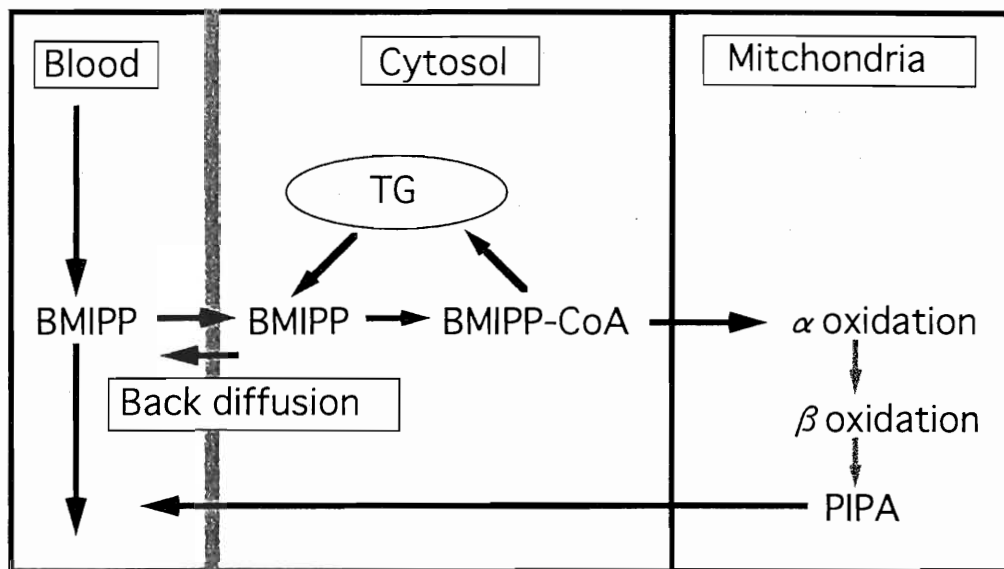
実験プロトコール

家兔摘出心を Langendorff 回路に装着後30分の灌流を行った対象群 (C群, N=9)、180分の冷却心虚血後30分間再灌流を行った虚血群 (I群, N=9) とに分け、それぞれ ¹²³I-BMIPP (40 μ Ci) を Bolus にて投与後30分間の uptake と clearance に関して検討した。虚血群では心筋保護液として30分毎に St. Thomas 液を注入した。なお、¹²³I-BMIPP の RI カウントは HITACHI 社製 Chromato-Integrator を用い、初期投与量に対する百分率 (%ID)、心重量単位あたりの値 (%ID/g) で表わし、同時に Time-Activity curve にて表現した。

BMIPP の集積機序³⁾ (図1)

天然の脂肪酸は血中から心筋の細胞質へ移行した後、一部はトリグリセリド等の脂質プールへ移行し、残りはミトコンドリア内へ移行しβ酸化を受けてアセチルCoAとなりクエン酸回路に入る。一方、BMIPPは脂肪酸としての心筋への取り込みは阻害されることなく天然の脂肪酸と同様に心筋内へ分布するが、メチル基の導入によりミトコンドリア内でのβ酸化への移行が遅れ、心筋内へ長く留まる。したがって、本剤の心筋内放射線量から脂肪酸代謝を評価することが可能となる。

図 1 : Uptake and metabolism of BMIPP



統計処理

統計学的検討には repeated measures ANOVA, unpaired t-test を用い、 $p < 0.05$ をもって有意とした。また心筋組織内での BMIPP による脂肪酸代謝動態に関して、数学的コンパートメントモデルを用いて解析をおこなった。

結果

1、体重、心重量、冠血流量 (表 1)

1) 体重 : C 群 $99.8 \pm 15.0\text{g}$ 、I 群 $92.6 \pm 11.4\text{g}$ と両群間に差を認めなかった。

2) 心重量 : C 群 $0.49 \pm 0.07\text{g}$ 、I 群 $0.45 \pm 0.04\text{g}$ と両群間に差を認めなかった。

3) 冠血流量 : 装着時 C 群 $0.79 \pm 0.07\text{ml/min}$ 、I 群 $0.78 \pm 0.17\text{ml/min}$ 、大動脈遮断解除後 I 群 $0.98 \pm 0.24\text{ml/min}$ 、

	Group C	Group I
Body weight (g)	99.8 ± 15.0	92.6 ± 11.4
Heart weight (g)	0.490 ± 0.066	0.447 ± 0.043
Coronary Flow (ml/min) first stage	$0.790 \pm 0.073^*$	$0.784 \pm 0.171^*$
after declamp	—	0.984 ± 0.236
during BMIPP	$0.803 \pm 0.093^\#$	$0.921 \pm 0.237^\#$

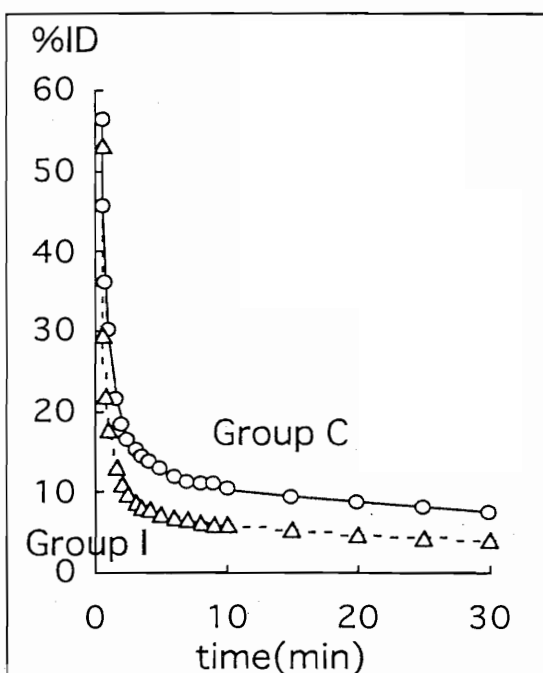
(mean \pm SD) *, # NS

BMIPP 投与測定時 C 群 $0.80 \pm 0.09\text{ml/min}$ 、I 群 $0.92 \pm 0.24\text{ml/min}$ と各点において有意差を認めなかった。

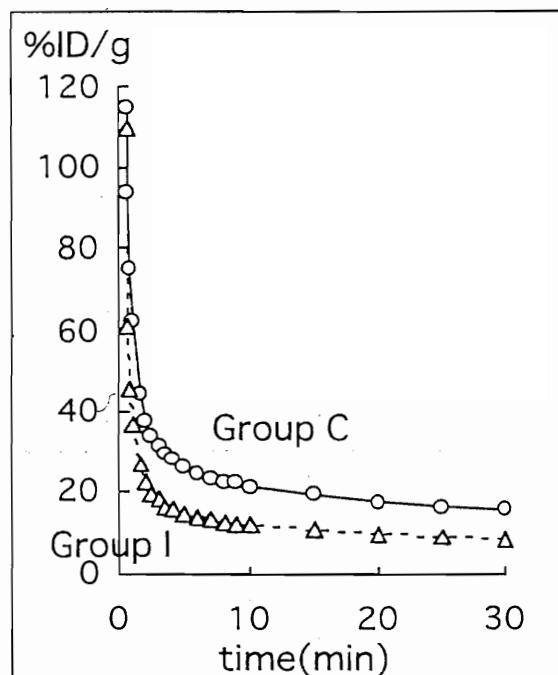
2、Time-Activity curve (図 2)

両群間の比較をしてみると、peak に達した後は一貫して I 群は C 群より有意に %ID、%ID/g が低値であった。特に初期の排泄率 (clearance) は I 群が C 群に比べ速く、また後半の clearance は I 群の方が有意に遅かった。BMIPP 投与後 30 分の時点では %ID は C 群 7.04 ± 2.05 、I 群 4.61 ± 1.29 であり、%ID/g は C 群 14.38 ± 4.21 、I 群 10.49 ± 3.49 とともに I 群の方が有意に低値を示した。

図 2 : Time-Activity curve



$p < 0.01$



$p < 0.01$

3、数学的コンパートメントモデル 5) (図 3、表 2)

心筋組織内での BMIPP およびその代謝産物の動態を知るために数学的コンパートメントモデルを用いて検討した。今回用いた 6 コンパートメントモデルにおいて、コンパートメント 1 は心筋細胞内の BMIPP を、コンパートメント 2 は BMIPP-CoA を、コンパートメント 3 は脂質プールを、コンパートメント 4 はミトコンドリアを、コンパートメント 5、6 は冠血管内をあらわすものである。また各コンパートメント間の k は速度定数をあらわし (解析を簡単にするために $k(1,3)$ と $k(5,4)$ はそれぞれ 0.02、0.4 に固定した)、 q は BMIPP 投与後 30 分の時点での各コンパートメントにおける放射エネルギーを示すものである。

$k(2,1)$ 、 q_3 、 q_4 、 q_5 では C 群が有意に高値を示し、また q_6 では I 群が有意に高値を示した。他のパラメータは両群間に有意差を認めなかった。

図 3 : Mathematical compartment model

1=BMIPP, 2=BMIPP-CoA, 3=TG pool, 4=Mitochondria, 5,6=Coronary vessel
 $k(1,3)$ and $k(5,4)$ were fixed as 0.02 and 0.4.

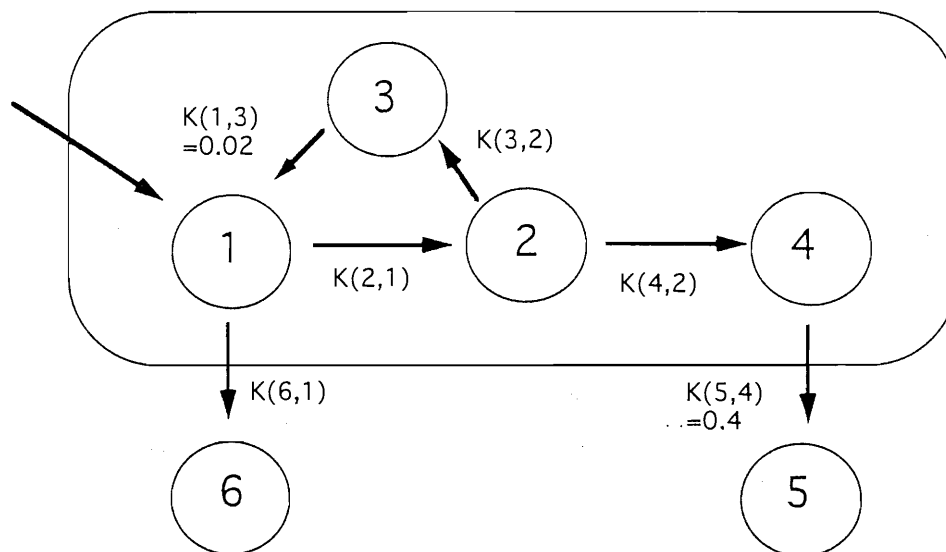


表 2 : Parameters in compartment model

	Group C	Group I	P value
K(2,1)	0.441±0.223	0.235±0.056	0.048
K(3,2)	0.715±0.427	1.274±1.195	0.223
K(4,2)	0.637±0.756	0.567±0.576	0.836
K(6,1)	2.345±1.519	2.201±0.491	0.816
q1	0.054±0.026	0.042±0.022	0.334
q2	0.025±0.017	0.014±0.015	0.191
q3	5.886±1.602	4.300±1.255	0.043
q4	0.021±0.011	0.007±0.003	0.014
q5	6.851±2.667	3.178±1.127	0.009
q6	87.163±3.294	92.462±1.222	0.005

考 察

心筋はエネルギー源として主に脂肪酸とブドウ糖を利用している。成熟心では通常の好气的状態においては、全酸素摂取量の60~70%を脂肪酸の β 酸化に依存し効率のよいエネルギー代謝を行っている⁶⁾。一方、新生児における未熟心では脂肪酸の利用は10~40%程度であると報告されており⁷⁾、未熟心筋におけるエネルギー代謝は効率がよくないとも言える。また脂肪酸の β 酸化は心筋虚血や低酸素状態により抑制され、この結果、心筋障害や心機能低下がもたらされる。以前よりわれわれは未熟心筋における外科的虚血再灌流時の心機能に関して、種々の実験的検討を行い報告してきた。加えて今までの未熟心筋の心筋保護とそれに引き続く再灌流障害の研究では、脂肪酸代謝の面からの報告は皆無である。一方、成熟心筋と異なり、未熟心筋は細胞内脂肪酸代謝経路の酵素活性が低く、外科的虚血再灌流時にはより強い細胞障害が生じることが予想され、また

心機能の低下が懸念される。事実、われわれはいままで虚血再灌流時の心機能はコントロール時の80%程度にまで低下することを報告してきた1)。そして虚血再灌流時の心機能低下に対する心筋代謝のメカニズムの究明は重要であると考えられ、その結果によっては虚血再灌流時の心機能の回復手段を知ることが可能と成り得る。ところで心筋脂肪酸イメージング製剤を用いれば、虚血再灌流時における心筋障害や心機能低下の程度とその詳細が評価できる可能性がある。そして心筋脂肪酸イメージング製剤であるBMIPPはその評価方法がSPECTであり、PETに比べて簡易でありかつ臨床応用されているものである8)。そこで今回、外科的虚血再灌流時における脂肪酸代謝に関してBMIPPを用いて実験的検討をおこない、心筋代謝の面から検討を加えた。

一般にBMIPPは細胞内に取り込まれた後、脂肪酸の利用に応じて一部は脂質プールおよびミトコンドリア内に分布し、また一部は早期逆拡散 (Back diffusion) により血中に放出される。一方、ミトコンドリア内で代謝を受けたBMIPPは順次血中に放出される。今回の実験におけるTime-Activity curveは心筋組織および冠血管内に存在するBMIPPの量の時間推移を表したものである。C群においてはTime-Activity curve上、%ID、%ID/gはBMIPP投与後30秒程度でpeakに達し、1分くらいまでは急激に低下し、また後半5分から30分までは漸減した。BMIPPの心筋集積と代謝回転から考えて、前半はそのほとんどがBack diffusionを示し、後半はミトコンドリア内での脂肪酸代謝を反映すると予想できる3)。これよりI群とC群を比較すると、ともに投与後30秒程度で%IDおよび%ID/gはpeakに達したがその後は一貫してI群はC群より有意に%IDおよび%ID/gが低値であり、心筋内の脂肪酸uptakeは低下していたと考えられる。特に初期(30秒から1分)のclearanceはI群がC群に比べ速く、このことからI群では脂質プールおよびミトコンドリア内への分布よりもBack diffusionが有意であったことが考えられる。また後半(5分から30分)のclearanceはI群の方が有意に遅く、このことは虚血再灌流時のミトコンドリア内での脂肪酸代謝の低下の可能性を示唆するものである。

つぎにこのことにさらに深く検討を加えるために、数学的コンパートメントモデル5)による検討を導入した。速度定数 $k(2,1)$ はC群が有意に高値を示したことから、虚血再灌流時にはコンパートメント1からコンパートメント2への移行が遅れることにより脂肪酸代謝活性が低下することが考えられる。またBMIPP投与後30分の時点ではI群において q_3 、 q_4 は有意に低値を示したが、これは虚血再灌流時のミトコンドリア内および脂質プール内のBMIPPすなわち脂肪酸のuptakeの低下を示唆するものであり、Time-Activity curveの結果を薬物動態の面から示すものである。また逆に q_6 に関してはI群で有意に高値を示した。 q_6 は心筋組織内に取り込まれずにBack diffusionとして血中に放出されたBMIPP量を示したものであるが、このことからI群において脂質プールおよびミトコンドリア内への分布よりもBack diffusionが有意であったことが示唆される。次に q_5 はミトコンドリア内で代謝されその後血中に放出されたBMIPP量を示したものである。したがってこのことはI群すなわち虚血再灌流時のミトコンドリア内での脂肪酸代謝の低下を反映するものである。以上、数学的コンパートメントモデルを用いた検討からも外科的虚血再灌流時の脂肪酸代謝の低下が明らかとなった。加えてそのメカニズムとしては脂肪酸(FFA)がFFA-CoAとなる過程が障害を受け、停滞することが有力視される。今

後は Acyl-CoA 合成酵素や FFA-CoA のミトコンドリア内への移行を促進する Carnitine といった薬剤の投与等が脂肪酸代謝の活性化のために有用であると考えられ、その結果外科的虚血再灌流時の心機能の回復が期待できる 9)。

結 論

- 1、未熟心筋の外科的虚血再灌流時における脂肪酸代謝に関して、新しい心筋脂肪酸イメージング製剤である ¹²³I-BMIPP を用いて実験的検討を行った。
- 2、外科的虚血再灌流時には脂肪酸は脂質プールおよびミトコンドリア内への分布よりも Back diffusion が有意で、またミトコンドリア内での脂肪酸代謝は低下していることが示唆された。
- 3、今後は未熟心筋の虚血再灌流時において、脂肪酸代謝活性を高める薬剤の投与等が有用であると考えられた。

本論文の要旨は第 33 日本小児循環器学会総会（1997 年 7 月、京都）にて発表した。

参考文献

- 1) 常 徳華：未熟心筋保護における至適 pH strategy—低温虚血再灌流時 pH の心機能回復への影響—。日小循会誌 12：740—746, 1996
- 2) Goodman MM, Kirsch G and Knapp FF Jr：Synthesis and evaluation of radioiodinated terminal p-iodophenyl-substituted α - and β -methyl branched fatty acids. J Med Chem 27：390-397, 1984
- 3) Knapp FF Jr, Ambrose KR, and Goodman MM：New radioiodinated methyl-branched fatty acids for cardiac studies. Eur J Nucl Med 12：S39-S44, 1986
- 4) Knapp FF, Goodman MM, Callahan AP et al：Radioiodinated 15- (p-iodophenyl) -3,3-dimethylpentadecanoic acid：A useful new agent to evaluate myocardial fatty acid uptake. J Nucl Med 24：521-531, 1986
- 5) Ghezzi C, Keriél C, Pernin C et al：Iodoheptadecanoic Acid as a Tracer of Myocardial Metabolism. Nuc Compact 21：248-252, 1990
- 6) Liedtke, A.J.：Alteration of carbohydrate and lipid metabolism in acutely ischemic heart. Prog Cardiovasc Dis 23：321-333, 1981
- 7) Lopaschuk GD, Collins-Nakai RL, and Itoi T：Developmental changes in energy substrate use by the heart. Cardiovasc Res 26：1172-1180, 1992
- 8) 根本慎太郎、原田昌範、押富 隆ほか：新しい脂肪酸代謝イメージング剤 (¹²³I-BMIPP) を用いた心筋 SPECT による冠動脈バイパス術の適応と効果の検討。日心外会誌 25：113-119, 1996
- 9) Broderick TL, Quinney HA, Barker CC et al：Beneficial Effect of Carnitine on Mechanical

Recovery of Rat Hearts Reperfused After a Transit Period of Global Ischemia Is Accompanied by a Stimulation of Glucose Oxidation. *Circulation* 87 : 972-981, 1993

Summary

Experimental Study of Fatty Acid Metabolism after the Surgical Ischemia and Reperfusion in the Neonatal Heart -Evaluation using ¹²³I-BMIPP Scintigram-

Takahiko SAKAMOTO, M.D., Shintaro NEMOTO, M.D., Chang Dehua, M.D., Mitsuru AOKI, M.D., Shuichi HOSHINO, M.D., Yoshinori TAKANASHI, M.D., Yasuharu IMAI, M.D., Ken'ichi MORISHITA * , Yoshihiro YAMAMICHI * and Yoshifumi SHIRAKAMI, Ph.D. *

Department of Pediatric Cardiovascular Surgery,
The Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical College,
and Nihon Medi-Physics Central Research Laboratory * , Tokyo, JAPAN

Background : The immature heart has an insufficient fatty acid metabolism and it is further depressed during the surgical ischemic reperfusion. In general, the cardiac function was depressed during reperfusion, and therefore, it is important to study the mechanism of fatty acid metabolism during reperfusion.

Material and Method : Eighteen isolated, blood perfused neonatal (7-day-old) rabbit hearts using Langendorff model were studied. They were divided into 2 groups ; Group C (n=9) : control group, perfused for 30 minutes without ischemia, Group I (n=9) : simple ischemia group, reperfused for 30 minutes after 180 minutes of ischemia protected by St. Thomas cardioplegia. Forty microCi of ¹²³I-BMIPP was injected as a bolus at the onset of the perfusion/reperfusion and the uptake and clearance were evaluated as the percentage of the injection dose (%ID) . In addition, the myocardial time-activity curve is recorded with a detection system and mathematical compartmental analysis of the external detection curve provides data on fate of BMIPP. Repeated measures ANOVA and unpaired t-test were used for statistical analyses.

Results : In both groups, %IDs had a peak within a minute after the injection. Afterwards, in Group I, the %ID was consistently lower than in Group C (p<0.01) . The clearance of the %ID was significantly (p<0.01) delayed in Group I compared with Group C. In mathematical compartmental analysis, it was detected that the uptake of BMIPP was lower in Group I compared with the Group C and fatty acid metabolism was depressed in Group I.

Conclusions : The results showed that the uptake and clearance of fatty acid into the myocardium were depressed after ischemia suggesting inadequate fatty acid metabolism in the mitochondria. It is useful to inject the drug which would improve the activation of fatty acid metabolism, for the cardiac function during the surgical ischemic reperfusion.

未熟心筋における外科的虚血再灌流時の Carnitine 投与の有用性に関する実験的検討—¹²³I-BMIPP の uptake/clearance による評価—

東京女子医大心研循環器小児外科、日本メジフィジックス株式会社創薬研究所*

坂本貴彦、根本慎太郎、常 徳華、青木 満、星野修一、高梨吉則、今井康晴、森下健一*、山道芳弘*、白神宜史*

【目的】

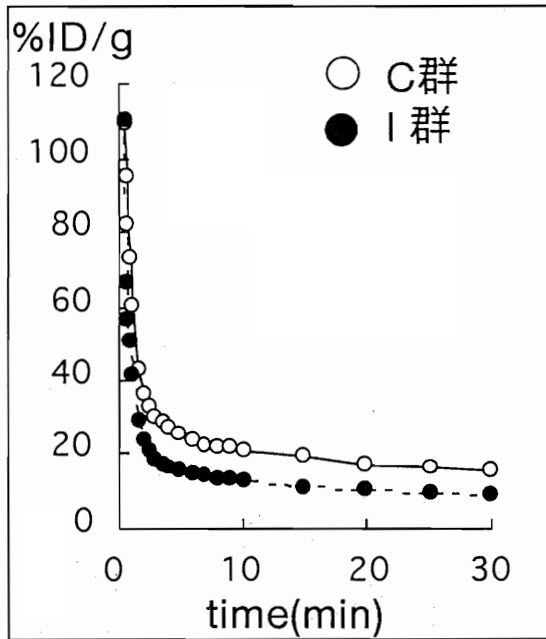
未熟心筋の特徴の1つとして細胞内脂肪酸代謝経路の酵素活性が低いことが挙げられ、虚血再灌流時にはさらにそれが顕著となる。Carnitine はアシル CoA をミトコンドリア内に運搬し、 β 酸化経路およびTCA回路による代謝を促進する。したがって、Carnitine 濃度が低い未熟心筋においては特に外科的虚血再灌流時に Carnitine を投与することで脂肪酸代謝活性が高まり、それによる心機能の改善が期待される。今回われわれは、外科的虚血再灌流時における脂肪酸代謝に対する Carnitine 投与の有用性に関して、¹²³I-BMIPP を用いて実験的検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

【方法】

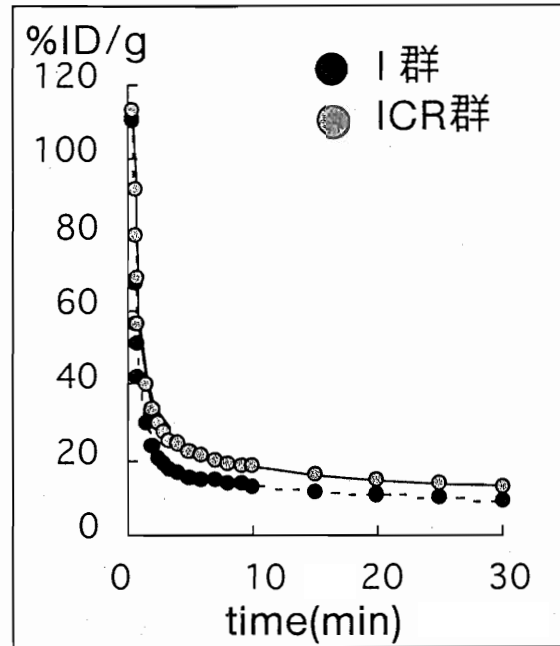
日齢7日の家兔摘出心 Langendorff 灌流モデル (希釈血液灌流:Ht 15%) を用い、装着後30分の灌流を行った対象群 (C群, N=10)、180分の冷却心虚血後30分間再灌流を行った単純虚血群 (I群, N=10)、再灌流時に 40 μ M Carnitine 添加血液を用いた Carnitine 虚血群 (ICR群, N=10) において ¹²³I-BMIPP 40 μ Ci を Bolus にて投与後30分間の uptake/clearance に関して検討した。虚血群では心筋保護液として30分毎に St. Thomas 液を注入した。なお3群間の体重、心重量に差は認めなかった。統計学的解析は repeated measures ANOVA ($p < 0.01$) にて行った。

【結果】

3群間で ¹²³I-BMIPP 注入時の冠血流量に有意差はなかった。¹²³I-BMIPP の RI カウントは初期投与量に対する単位心重量当りの百分率 (%ID/g) で表わした (図)。



$p < 0.01$



$p < 0.01$

【考察・結論】

3群ともに投与後30秒程度で%ID/gはpeakに達した。その後は一貫してI群はC群より有意に%ID/gが低値であり心筋内の脂肪酸uptakeは低下していた。また投与後1分以降のclearanceはI群の方が遅く、虚血再灌流時のミトコンドリア内での脂肪酸代謝の低下の可能性が示唆される。これに対してICR群はuptake/clearanceともにC群と有意差がなくCarnitine投与により脂肪酸代謝活性が高まっており、その有用性が示唆された。

新生児補助循環における Warm Resuscitation 法の効果 — 実験的検討 —

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華、青木 満、大野 瑛昭、根本慎太郎、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

新生児・乳児は postperfusion syndrome に代表される体外循環による悪影響を強く受けるため、長時間の補助循環からの離脱は難しい。我々は開心術後の人工心肺離脱困難に対する循環補助法として、選択的冠灌流により常温心停止下に酸素化血液にて灌流を行う方法（Warm Resuscitation 法）を提唱しその有効性を報告したが、今回、未熟心血液灌流モデルを用い Warm Resuscitation 法（以下 WR）と心拍動下に行う通常の補助循環法の心機能回復に対する有効性を比較検討した。

【方法】

日令 5-7 日の家兎摘出心を用い、Langendorf 灌流モデルを確立。その後 Miller カテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ、左室の developed pressure (DP), dP/dt, -dP/dt を測定、Baseline 値とした。30 分間の常温虚血で不全心を作成し心機能を測定した後、KCl 20 mM/L, MgSO₄ 1.6 mM/L, NaHCO₃ 4 mM/L, Glucose 10g/L, Insulin 2 IU/L を加えた酸素化血液にて心停止を誘導し冠灌流を 30 分間行った WR 群 (n=5) と、心拍動下に通常の酸素化血液による冠灌流を 30 分間継続した Control 群 (n=5) の 2 群に分類した。それぞれの群で灌流後の心機能の回復を評価した。

【結果】

結果は baseline に対する %recovery (mean ± S.D.) で示し、* は群間の差に対して t-test にて p<0.05 を表す。

常温虚血再灌流 15 分後	WR 群	Control 群
Max DP	65.4 ± 10.5	78.2 ± 13.6
Max dP/dt	65.1 ± 8.9	81.4 ± 15.2
Max -dP/dt	64.6 ± 13.8	78.0 ± 18.9
補助循環 30 分後	WR 群	Control 群
Max DP	61.8 ± 12.8	47.1 ± 13.3
Max dP/dt	66.5 ± 9.1 *	47.5 ± 14.7
Max -dP/dt	60.7 ± 10.3 *	47.0 ± 8.9

【結論】

WR 群は Control 群に比し心機能の改善が優れていた。補助循環中に電氣的機械的に心停止とし心筋のエネルギー蓄積を図る Warm Resuscitation 法は、新生児開心術後の補助循環の心機能回復に対する効果を高め補助循環時間短縮が期待でき、有用な方法と思われた。

新生児補助循環モデルにおける アデノシンの心機能回復に対する効果

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

常 徳華、青木 満、大野英昭、萩野生男、星野修一、高梨吉則、今井康晴

【目的】

新生児は体外循環による悪影響を強く受けるため、長時間の補助循環からの離脱は難しい。我々は開心術後の人工心肺離脱困難に対する循環補助法として、Glucose-Insulin-Potassium (GIK) 加酸素化血液による選択的冠灌流にて常温心停止下に補助循環を行う Warm Resuscitation 法の心機能回復に対する有効性を未熟心血液灌流モデルを用い報告したが、新生児では高カリウム血症による弊害がある。アデノシンは高濃度においては心停止が得られる anti-adrenergic action を有すると共に、A1 レセプター、ATP-sensitive potassium channel を介した心筋細胞内 Ca^{2+} 流入阻害作用、および A2 レセプターを介した白血球、血管内皮活性化抑制作用、血管拡張作用により再灌流障害を軽減する。今回、カリウムを使用せずアデノシン加常温酸素化血液の選択的冠灌流による補助循環法の心機能回復に対する有効性を実験的に通常の補助循環法と比較した。

【方法】

日令 5-7 日の家兎摘出心を用い、Langendorf 灌流モデルを確立。その後 Miller カテーテル組込みバルーンを左室内に挿入し容積を変化させ、左室の developed pressure (DP), dP/dt , $-dP/dt$ を測定、Baseline 値とした。30 分間の常温虚血後、30 分通常の血液にて再灌流し不全心を作成し心機能を測定した後、Adenosine 5 mM/L, $NaHCO_3$ 4 mM/L, Glucose 10g/L を加えた酸素化血液にて冠灌流を 30 分間行った ADO 群 (n=6) と、心拍動下に通常の酸素化血液による冠灌流を 30 分間継続した Control 群 (n=6) の 2 群に分類した。その後、それぞれの群でさらに通常の血液にて 30 分間灌流後に心機能の回復を評価した。

【結果】

結果は baseline に対する %recovery (mean \pm S.D) で示し、*は群間の差に対して t-test にて $p < 0.05$ を表す。

虚血再灌流 30 分後	ADO 群	Control 群
Max DP	79.9 ± 16.4	83.4 ± 14.7
Max dP/dt	78.5 ± 13.3	83.4 ± 9.7
Max -dP/dt	74.5 ± 24.1	75.6 ± 10.2
補助循環後 30 分	ADO 群	Control 群
Max DP	81.7 ± 14.4 *	50.8 ± 14.7
Max dP/dt	86.9 ± 12.2 *	53.1 ± 18.3
Max -dP/dt	86.5 ± 13.9 *	51.6 ± 13.0

【結論】

ADO 群は Control 群に比し心機能の改善が優れていた。新生児における補助循環中にアデノシン加常温酸素化血による選択的冠灌流を行うと心機能の早期回復に有効である可能性が示唆された。

新生児開心術における心筋保護の基礎と実際

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所循環器小児外科

青木 満、今井康晴、高梨吉則、瀬尾和宏、寺田正次、常 徳華、新岡俊治、平松健司、
太田 淳、杉山喜崇、小出昌秋、柏木潤一、萩野生男、森島重弘、根本慎太郎、打田俊
司、坂本貴彦

【基礎】

我々のこれまでの基礎実験・臨床データから、新生児の心筋保護には、1.人工心肺 (CPB) 充填血中に含まれる有害物質、2.体外循環中の血液成分の活性化と二次的な有害物質の発生、3.虚血中の心筋細胞内アシドーシスおよび心筋保護液注入による細胞内イオンバランスの変化、4.虚血による心筋代謝障害、5.心筋細胞の Ca²⁺ overload、6.再灌流時の機械的および白血球を介した血管内皮障害、が悪影響を及ぼしていることが示唆された。

【実際・現状】

我々が新生児に用いている間欠的 Cold GIK 液による心筋保護法の効果は、Echo での術後急性期心機能評価から見て十分ではないが、実験データ・臨床経験に基づき、現在以下の工夫を行っている。1.低温 Vf 下の心内操作併用による心筋虚血時間短縮、2.血液成分活性化で生じる有害物質の除去のための CPB 血洗浄濾過、3.有害物質産生を抑制する生体適合性の高い CPB 回路の使用、4.CPB 中の溶血予防と Haptoglobin の使用、5.Ca²⁺ overload 予防のため心筋虚血前後の血清 Ca²⁺ 濃度の調節、6.再灌流時の血管内皮障害を抑制するための低圧初期再灌流、7.白血球活性化を抑制するための Nitroglycerin 静注、8.CPB 離脱困難例に対する Warm blood cardioplegia による選択的冠灌流を併用した補助循環、9.補助循環中の持続血液濾過。CPB 血の白血球除去は、新生児では術後感染の問題があり行っていない。手術手技の進歩と心筋保護の工夫により、新生児開心術の病院死亡率は、61% (1985 以前) から 29% (1985-92) , 14% (1993 以降) と改善している。

【展望】

1.心筋保護液の改良。心筋保護効果に関する基礎実験データと安全性を考えあわせ、生体由来物質である Adenosine, Histidine, L-Arginine を添加した新しい心筋保護液の臨床応用をめざしている。その他、2.体外循環による血液成分活性化の薬剤による抑制と産生され

た有害物質の体外循環中～終了後の持続血液濾過による除去、3. 未熟心筋の代謝特性に合った再灌流時の代謝補助、の臨床応用を考慮中であるが、新しい薬剤の使用には副作用等の安全性に注意して慎重に行うべきと考えている。