Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-06

酸素並びにSODを添加したSt. Thomas' Hospital液による心筋保護効果に関する実験的研究 : 血行動態及び形態学的検討

木花, 鋭一

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
1992-12-31

(Date of Publication)
2014-01-29

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲1141

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.11501/3092462

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001141

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

酸素並びにSODを添加したSt.Thomas' Hospital液による心筋保護効果に関する実験的研究

――― 血行動態及び形態学的検討 ―――

神戸大学医学部外科学第二講座
（指導：岡田昌義　教授）
木　花　　鋭　一

索引用語：
St.Thomas' Hospital液、
Reperfusion injury、Oxygenation、
Superoxide dismutase、Birefringence test

論文概要

St.Thomas' Hospital液に酸素並びにfree radicalscavengerの１つであるSuperoxidedismutase(SOD)を添加し低温虚血下における心筋保護効果を３２匹のラット摘出心を用いて血行動態的並びに形態学的に検討した。心筋保護液の酸素加は95％O_2+5％CO_2で行い、SODは400mg/lの濃度で溶解し、投与した心筋保護液の性状により、以下の４群（各群n=8）に分類して検討を行った。即ち、I群：酸素加（＋）,SOD（＋）、II群：酸素加（－）,SOD（＋）、III群：酸素加（＋）,SOD（－）、IV群（対照群）：酸素加（－）,SOD（－）である。

実験方法として、まず22℃の低温下で180分間の大動脈遮断を行い、心筋を虚血状態としている間は心筋保護液を大動脈遮断時および以後30分間隔で３分間に40ml投与した。

その結果、虚血作成前値に対する大動脈流量の回復率は、I群76.7±11.7％、II群66.9±

7.1%、III群73.9±11.6%、IV群57.7±12.9%という値が得られ、I群とIV群間（$p<0.01$）およびIII群とIV群間との間で有意差（$p<0.05$）が認められた。一方、大動脈流量の回復率(Y)と心筋標本の複屈折性の相対的変化（以下birefringence ratio:X)との間には$Y=29.7+19.1X$（$R=0.74$）という正の良い相関が認められた。さらに、4群間のbirefringence ratioを比較するとI群2.49±0.53、II群1.96±0.44、III群2.04±0.29、IV群1.65±0.39という値が得られ、I群とIV群間にのみ有意差が認められた。このように低温心停止下において、St.Thomas' Hospital液へのSODのみの添加では十分な効果は確認されなかったが、酸素およびSOD両者の添加によって血行動態並びに形態学的に有効であるという事実が確認された。

我々は長時間の低温心停止下において、晶質心筋保護液の酸素加の有用性[1]およびoxygen radical scavengerの心筋保護液および再灌流液への添加により心筋保護効果の増強を確認してきた[2]。酸素加した心筋保護液を使用する目的は、心停止下の心筋代謝を好気性に維持することによってATPを効率的に生産し、さらに乳酸産生の抑制によるアシドーシスを抑制することにある。ところが現在このような効果を認める報告が多くみられるが[3)~7)]、その有効性を否定する報告も存在する[8) 9)]。一方、虚血心筋に酸素化された灌流液を再灌流することによって、心筋細胞内のCa濃度の上昇、心筋の静止張力の増加から心筋細胞の壊死へとつながる、いわゆるoxygen paradoxと呼ばれる現象が知られている[10) 11)]。このreperfusion injuryには活性酸素がkey mediatorとして大きく関与しているものと考えられている[12)]。したがってoxygen radical scavengerを心筋保護液あるいは再灌流液へ添加することの意義は

ここに存在するものと考えられるが、その投与方法については未だ確立されていないのが現状である。活性酸素の産生は、分子状酸素にある程度までは比例するものと考えれており[13]、心筋の代謝状態により、酸素加した心筋保護液（cardioplegic solution、以下CP液）を投与する際に、oxygen paradoxが生じる可能性がある。そこで、その際同時にoxygen radical scavengerを投与すれば、心筋保護の効果をより一層高めうるものと考えられる。今回この目的で、酸素加およびSOD添加を組み合わせた心筋保護液をラット摘出心の虚血モデルに対して応用し、その有効性の有無について検討した。

対象と方法

本研究には、体重280g～370gの雄性SDラット３２匹を用いた。Nembutal 30mg＋Heparin 5mgを腹腔内に投与した後、心臓を摘出し氷冷したKrebs-Henseleit-buffer液（以下KHB液,組成：NaCl,118mM；KCl,4.8mM；KH_2PO_4,1.0mM；$MgSO_4$,1.2mM；$CaCl_2$,1.2mM；$NaHCO_3$,27.2mM；glucose,11.1mM）に浸漬し心停止を得た。

1. Langendorff灌流法

上行大動脈を、動脈カニューレに装着固定し、Langendorff灌流を開始した（図１）。灌流液は上記KHB液を95%O_2＋5%CO_2の混合ガスで十分gas-mixture し37℃に保温したものを使用し、poresize 5.0μのHDCfilter(Pall社製)および各reservoirの手前でporesize 0.22μの輸液filter(東レ社製)を通過させた。続いて肺静脈にカニュレーションを行い、前負荷18cmH_2O、後負荷80cmH_2Oにて15分間のworking modeを行った（図２）。

2. 心筋虚血作成前の血行動態の測定

Working modeにおいて80cmH_2Oの後負荷に抗してaortic chamberよりover flowしてくる１分間の液量をaortic flow(AFml/min)とし、heart chamberから１分間に流出する液量をcoronary flow(CFml/min)とし、AF＋CFをもってcardiac output(COml/min)とした。

ついで２２℃の低温下に大動脈遮断を行って１８０分間のglobal ischemiaを維持した。心筋温はdigital thermometer(TAKARA DIGIMUL-TID611)を用いて左房内カニュレーション部で測定し、22±0.5℃を維持した。虚血中はCP液を大動脈基部より、大動脈遮断時および以後30分間隔で40mlを3分間で輸液pumpを用いて投与した。

CP液にはSt.Thomas' Hospital第２液（組成：NaCl,110.0mM；KCl,16.0mM；$MgCl_2$,16.0mM；$CaCl_2$,1.2mM；$NaHCO_3$,10.0mM）を用い、さらにCuZn-SOD(宇部興産製)を400mg/lの濃度で溶解、あるいは95%O_2＋5%CO_2の混合ガスで酸

素分圧が600mmHg以上になるよう十分gas mixtureし、その投与条件により以下の4群に分類した。即ち、I群：酸素加（＋）,SOD（＋）、II群：酸素加（－）,SOD（＋）、III群：酸素加（＋）,SOD（－）、IV群（対照群）：酸素加（－）,SOD（－）である（表1）。

3.心筋虚血作成後の血行動態の評価

虚血時間終了とともに再び37℃のLangendorff灌流を開始し、15分経過したのちにworkingmodeとし、さらに15分経過後、心機能を測定し、虚血作成前値に対する百分率（%recovery値）として評価した。

虚血作成後の値を測定した後、生体物理的および細胞化学的評価を行うために心臓の左室自由壁の一部を切除し、直ちに－80℃に冷却したn-hexaneに入れ凍結した。凍結した標本を－25℃に保ったクライオスタットで心臓内膜側を8μmの厚さに薄切し、birefringence testおよびmyosinATPase染色を行なって心筋障害の程度を観察した。

4. Birefringence test

Birefringence testでは教室の山中らの方法[14]に基づき、８μmの厚さに薄切した切片をスライドグラスにのせ、空気中で乾燥させた後、偏光顕微鏡の載物台にのせ、台を回転させて筋線維の縦軸方向がW-E方向に45°になるように固定した。ここでcompensatorのダイアルを回転させ、視野の中の心筋線維の無いところが最も暗くなる角度（図３B°）と心筋線維が一様に暗くなるときの角度（図３C°）を各々測定し、R=Rc・sin2(C°－B°)の式でretardation（R）を算出しair valueとした。ついで反応液を標本に滴下しカバーグラスで覆い、同様の操作を行ってretardation（ATPvalue）を求めた。Air valueに対するATP valueの比を各群間で比較した。

5. Myosin ATPase染色（図４）

Niles法[15]によりmyosin ATPase染色を行った。正常心筋のmyosin ATPase活性に対する反応は、横紋中にのみに認められたが、このような反

応をGrade 0とした。また横紋構造の染色に不鮮明な部分を認める場合はGrade 1とし、収縮帯が散在性に少数存在する標本はGrade 2と判定した。低機能心筋から得られた標本では、反応が不規則に認められ収縮帯も多数伴っていた（Grade 3)。

統計学的処理にはANOVA法を採用し、$p<0.05$をもって有意差有りと判定した。

結　果

1. 心筋の虚血作成前における血行動態

以下の血行動態値が得られた（表２a）。

a. Heart rate

I群では288.5±43.2bpm、II群では278.8±33.3bpm、III群では297.9±56.9bpm、IV群では282.8±20.1bpmであり、各群間に有意差はみられなかった。

b. Aortic flow

I群では72.5±11.4ml/min、II群では63.9±14.3ml/min、III群では70.8±8.1ml/min、IV群では67.1±11.4ml/minという値が得られ、各群間に有意差はみられなかった。

c. Coronary flow

I群では17.8±1.9ml/min、II群では16.7±2.3ml/min、III群では18.6±2.4ml/min、IV群では16.5±3.4ml/minという値が得られ、各群間には有意差はみられなかった。

d. Cardiac output

I群では90.3±13.0ml/min、II群では80.7±16.2ml/min、III群では89.3±9.4ml/min、IV群では83.6±14.3ml/minという値が得られたが、各群間に有意差はみられなかった。

2. 虚血作成後の血行動態の評価（%recovery値）

a. Heart rate

I群では95.8±9.8%、II群では91.4±12.5%、III群では90.6±9.8%、IV群では93.9±9.2%という値が得られ、心拍数の回復率は、各群間で有意差はみられなかった。

b. Aortic flow

I群では76.9±11.7%、II群66.9±7.1%、III群73.9±11.6%、IV群57.1±12.9%という値が得られた。このようにIV群（対照群）と比較し酸素加を行ったI群（$p<0.01$）、III群（$p<0.05$）において良好な大動脈流量の回復率が得られた。酸素加を行ったI群とIII群間との比較では、SODをCP液に添加したI群と添加しなかったIII群との間で、有意差はみられ

なかったが、IV群との比較において、I群でより良好な心筋保護効果が認められた（図5）。

c. Coronary flow

I群90.8±9.8%、II群85.3±9.4%、III群92.1±5.5%、IV群84.5±19.8%であり、冠動脈流量は各群間で有意差はみられなかった（図6）。

d. Cardiac output

I群79.5±9.7%、II群71.7±5.7%、III群77.8±9.6%、IV群62.7±13.2%であった。このように、I群、III群はIV群（対照群）と比較して、有意差をもって良好な心拍出量の回復率が得られた（$p<0.05$）。

3. 虚血後の生体物理的評価（Birefringence test）

反応液を滴下する前の心筋繊維の直線的光学路の違い（air Value）に対する反応液を滴下した後の光学路の違い（ATP Value）の比であるBirefringence ratioは、I群では2.49±0.53、II群1.96±0.44、III群2.04±0.29、IV群

1.65±0.39という値が得られた。このように、I群は対照群であるIV群と対比して良好な心筋保護効果が確認された（$p<0.05$）（図7）。

なお、再灌流後のbirefringence ratio(X)とaortic flowの%recovery値（Y）との間には、Y=29.7+19.1X(R=0.74)という正の良い相関が得られた（図8）。

4. 心筋傷害に伴う細胞の化学的変化

（myosinATPase染色によるgrade分類）

各群においてgrade 2程度のcontraction bandを伴う所見が多くみられた。酸素加を行わずにSODのみを添加したII群において、やや良好な結果が得られたが、各群間に有意差は認められなかった（表3）。

考　察

1. 虚血条件設定について

現在、実地臨床面における開心術においては、大動脈遮断時間が2時間以内の症例では、従来のSt.Thomas' Hospital液により良好な心筋保護効果が認められているケースが多い。しかし大動脈遮断時間が3時間に及ぶと、この心筋保護液だけの使用では、安全性の面から問題点がみられる。この点を明らかにするために多くの研究がなされているが、まだ一定の見解が得られていない現状である。本研究ではこのような症例を想定し、虚血条件を心筋温22℃、虚血時間3時間と設定した。

2. 心筋保護液の酸素加について

心筋保護が不十分な場合、心筋はischemic contractureを呈しいわゆる不可逆性なstone heart

に陥ることが多い。このischemic contractureの発生までの時間は、心筋のenergy demandを減少させるか、energy supplyを増加させるか、あるいは心筋細胞内へのCa influxを減少させることにより延長しうるものと考えられている[16]。心筋へのenergy supplyを増加させるために、心筋保護液を酸素加しミトコンドリアによる好気的代謝を図り、より多くのATPを産生させようとする試みがなされている[2)~6)]。教室の迎山らのラット摘出心を用いた実験において、虚血心筋温22℃で酸素加したSt.Thomas' Hospital液を投与した群では、非酸素加群に比べ有意に良好な心機能の回復を認め、さらに心筋温12℃、非酸素加群との比較において同程度の心機能の回復が確認されている[1)]。心筋のischemic contractureは心筋内のATP量とは逆相関して発生するものと考えられ、Hearseら[16]は心筋ATP量が12μmoles／g dry weight以下になるとischemic contractureの発生が認められたと述べている。

またCoetzeeら[17] はラットを用いた20℃の低温下での虚血実験において、CP液の酸素加の有無にかかわらず、虚血時最後の心筋内ATPの濃度は虚血後の cardiac output、peak systolic pressure、total myocardial workとよい相関を示し、さらにCP液の酸素加により心筋ATP濃度は高値に維持されることを報告している。しかし、Rosenkranzらの報告[18] では、虚血後の心筋内ATP量と心機能の回復率とは良い相関を示さず、心筋内ATP量よりもミトコンドリアにおけるATP産生率や心筋の酸素利用能が虚血後心機能のpotential recoveryをより良く反映していることが示されている。一方、Lipastiら[19] は嫌気性および好気性代謝下における心筋内ATP量と左室静止圧との検討により、心筋内のATPにおけるcompertmentalisationという概念を導入し、心筋内のATP総量とischemic contractureとの発生には一定の関係はみられないが、ATPの分解とischemic contractureの発生とは同じ時期に見られたと報告している。

また、心筋保護液に酸素を添加することによっても有効性が認められないというLynch、Rousouらの報告も散見される[8) 9)]。しかし、今回の我々の実験的研究では、少なくとも血行動態学的に検討した結果、CP液に酸素加を行うことは、低温下の心筋における好気性代謝を維持し、ひいては心筋保護効果の増強に明らかに有効であったことが確認された。

3. 心筋保護液へのfree radical scavenger添加

心筋虚血を作成した後に十分酸素加された再灌流液を投与することにより発生する可能性のある高度の心筋傷害（oxygen paradox）の病態は酸素由来のfree radicalであるといわれている[10) 11) 12)]。これに対しfree radical scavengerの投与が有効であるという報告が多くみられる[20) ~24)]。教室の西川らによると、ラット摘出心を用いた２２℃１８０分の低温虚血実験において、St.Thomas' Hospital液へSODを０

～400mg/l投与したところ、400mg/lのSODを添加した群で最も良好な血行動態の回復を認め、CPK遊出率も低値に抑えられた[25]という成績が得られている。この所見に基づき本研究でも同様に400mg/lのSODを添加することとした。

一方Przyklenkら[26]によるとfree radical scavengerの投与により虚血心の心機能は著明に改善したが、ATP濃度の改善は認められなかったと述べており、free radical scavengerによる虚血後の心機能の温存には、虚血中のATP産生というよりは、ATPを利用した心筋の興奮収縮連関系に対する保護作用と考えられる。

このような原理から、酸素加した心筋保護液を投与する際にfree radical scavengerを添加することの意義があるものと考えられた。Hessら[27]の心筋小胞体を用いた実験では、free radical scavengerの一つであるSOD投与による効果は虚血時間に大きく左右され、虚血時間がより長時間（10～15分）に及ぶと.O_2^-あるいは.OHの発生により心筋傷害が生じるものとし

ている。しかし、この心筋傷害はSOD投与によっても何の影響もうけなかったが、SODにd-mannitolを加えることにより、はじめてこの障害を防止する効果が認められたとしている。今回のわれわれの実験的研究では、I群とIII群との間において血行動態上、心機能の回復率に有意差が認められなかった。この理由として、今回の心筋保護液を投与する方法では投与時間間隔などが関与し、SODの投与のみで活性酸素の発生を十分防止しえず、$.O_2^-$あるいは.OHの発生による心筋傷害が生じたものと考えられた。

4. 虚血心筋の形態学的評価法について

心筋の虚血初期の傷害を評価するためには、従来の光学および電子顕微鏡による方法ではあまり芳しくないとされている。そのため、今回は細胞化学（myosin ATPase活性）および生体物理学的（birefringence test)観点から評価することとした[28]。Myosin ATPase活性は形

態学的に定量化することは困難であり、Cankovic-Darracottら[29) 30)] の方法に従ってgradeの分類を行ったが、各群間に著明な差異は認められず、さらに鋭敏な染色法の開発が必要である。

一方、birefringence testでは、III群とIV群（対照群）間には有意差が認められなかったが、I群とIV群との間にのみ有意差が認められた。この事実より、St.Thomas' Hospital液への酸素加とSODとの添加は生体物理学的にも心機能を温存する上で有効であると結論された。

結　語

1. ラット摘出心を用いた２２℃、１８０分の虚血実験において、St.Thomas' Hospital液に酸素とSODの両者を添加したI群でIV群（対照群）と比較して血行動態並び生体物理学的な見地から有効な心筋保護効果が認められた。
2. St.Thomas' Hospital液に酸素のみを添加したIII群でもIV群（対照群）と対比して、血行動態的には心筋保護効果の増強はみられたが、生体物理学的には十分な効果は確認できなかった。
3. 虚血心筋に対する生体物理学的評価法としてのbirefringence testは虚血後の心機能を予測する上で有力な指標となしえた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った岡田昌義教授、及び病理学的見地から御指導頂いた神戸大学第２病理学教室前田　盛教授に深謝いたします。また、本研究に御協力頂いた神戸大学第２外科山本信一郎先生及び医局員各位に感謝いたします。
なお本論文の要旨は第２１回日本心臓血管外科学会総会（1991年５月：山梨）で発表した。

Effects of oxygenation and/or SOD on addition to St. Thomas' Hospital cardioplegic solution

Eiichi Kihana , M.D.

Department of Surgery Division II, Kobe University School of Medicine, Kobe, Japan

(Director : Prof. Masayoshi Okada, M.D.)

The effects of oxygenation (95%O_2+5%CO_2) and/or SOD(400mg/l) on addition to St. Thomas' Hospital cardioplegic solution were examined by hemodynamic, cytochemical and biophysical assessments in the isolated working rat heart subjected to hypothermic ischemic arrest (22℃ in temperature, 180 min in ischemic time) with multidose cardioplegic infusion . According to the feature of used cardioplegic solution, thirty-two rats were divided into four groups (8 animals per group) : That is ,Group I; O_2(+)SOD(+) , Group II; O_2(-)SOD(+) ,Group III; O_2(+)SOD(-) ,Group IV(control); O_2(-)SOD(-) . Aortic flow(AF)

recovery, expressed as a percent of pre-arrest AF, was 76.7±11.7% in Group I, 66.9±7.1% in Group II, 73.9±11.6% in Group III and 57.7±12.9% in Group IV(mean ±SD). Differences in recovery between Group I vs III and Group III vs IV approached statistically significance (respectively, $p<0.01$, $p<0.05$). The birefringence ratio(ATP value/air value) of the biopsy specimen was 2.49±0.53 in Group I, 1.96±0.44 in Group II, 2.04±0.29 in Group III and 1.65±0.39 in Group IV(mean ±SD). Difference between Group I and Group IV indicated statistically significance ($p<0.05$). The birefringence ratio(X) had good correlation with the AF recovery ratio(Y): $Y= 19.1X +29.7$ ($R=0.74$). No statistical difference was seen from cytochemical assessment (myosin ATPase stain) in four groups. The efficacy of the oxygenation and SOD on addition to St. Thomas' Hospital solution under hypothermic ischemic arrest was confirmed hemodynamicly and biophysically.

1　迎山恭臣　山本信一郎

St.Thomas' Hospital液の酸素加の条件
心筋温と5%炭酸ガス加の影響

日胸外会誌
39 : 133— 143, 1991

2　Nishikawa Y, Yamamoto S, Ataka K, Nakamura K :

The effect of superoxide dismutase and catalase on myocardial reperfusion injury in the isolated rat heart

Jpn J Surg
21 : 1 — 10, 1991

3　Ledingham SJM, Braimbridge MV, Hearse DJ :

Improved myocardial protection by oxygenation of the St.Thomas' Hospital cardioplegic solutions

J Thorac Cardiovasc Surg
95 : 103 — 111, 1988

4　Guyton RA, Dorsey LMA, CraverJM, Bone DK, Jones EL, Murphy DA, Hatcher CR :

Improved myocardial recovery after cardioplegic arrest with an oxygenated crystalloid solution

J Thorac Cardiovasc Surg
89 : 877 — 887, 1985

5　Bodenhamer RM, DoBoer LWV, Geffin GA, O'Keefe DD, Fallon JT, Aretz TH, Haas GS, Daggett WM :

Enhanced myocardial protection during ischemic arrest Oxygenation of a crystalloid cardioplegic solution

J Thorac Cardiovasc Surg
85 : 769 — 780, 1983

6 Randolph JD, Toal KW, Geffin GA, DeBoer LWV, O'Keefe DD, Khuri SF, Daggett WM :

Improved myocardial preservation with oxygenated cardioplegic solutions as reflected by on-line monitoring of intramyocardial pH during arrest

J Vasc Surg
3 : 216 — 225, 1986

7 Oguma F, Imai S, Eguchi S :

Role played by oxygen in myocardial protection with crystalloid cardioplegic solution

Ann Thorac Surg
42 : 172 — 179, 1986

8 Lynch MJ, Bove EL, Zweng TN, Fox MH, Bolling SF, Gallagher KP :

Protection of the neonatal heart following normothermic ischemia : A comparison of oxygenated saline and oygenated versus nonoygenated cardioplegia

Ann Thorac Surg
45 : 650 — 655, 1988

9 Rousou JA, Engelman RM, Anisimowicz L, Lemeshow S, Dobbs WA, Breyer RH, Das DK :

Metabolic enhancement of myocardial preservation during cardioplegic arrest

J Thorac Cardiovasc Surg
91 : 270 — 276, 1986

10 Hearse DJ, Murphrey SM, Chain EB :

Abrupt reoxygenation of anoxic potassium arrested perfused rat heart : A study of myocardial enzyme release

J Mol Cell Cardiol
5 : 395 — 407, 1973

11 Hearse DJ, Humphrey SM, Bullock GR :

The oxygen paradox and the calcium paradox : Two facets of the same problem ?

J Mol Cell Cardiol
10 : 641 — 668, 1978

12 Guarnieri C, Flamigni F, Galdarera GM :

Role of oxygen in the cellular damage induced by re-oxygenation hypoxic heart

J Mol Cell Cardiol
12 : 797 — 808, 1980

13 Curtis MJ, Riva E :

What might we expect to gain by inhibiting free radical production and accumulation in the reperfused myocardium ?

Progress in Pharmacology and Clinical Pharmacology
8/2 : 91 — 107, 1990

14 山中定二

開心術における術中心筋保護の評価法に関する検討
偏光顕微鏡によるbirefringence testの有用性について

日外会誌
89 : 1105—1113, 1988

15 Niles NR, Chayen J, Cunningham GJ, Bitensky L :

The histochemical demonstration of adenosine triphosphatase activity in myocardium

J Histochem. Cytochem.
12 : 740 — 743, 1964

16 Hearse DJ, Garlick PB, Humphrey SM :

Ischemic contracture of the myocardium : mechanisms and prevention

Am J Cardiol
39 : 989 — 993, 1977

17 Coetzee A, Kotze J, Honns BSc, Louw J, Lochner A :

Effect of oxygenated crystalloid cardioplegia on the functional and metabolic recovery of the isolated perfused rat heart

J Thorac Cardiovasc Surg
91 : 259 — 269, 1986

18 Rosenkranz ER, Okamoto F, Buckberg GD, Vinten-Johansen J, Allen BS, Leaf J, Bugyi H, Young H, Barnard RJ :

Studies of controlled reperfusion after ischemia II.Biochemical studies :Failure of tissue adenosine triphosphate levels to predict recovery of contractile function after controlled reperfusion

J Thorac Cardiovasc Surg
92 : 488 — 501, 1986

19 Lipasti JA, Nevalainen TJ, Alanen KA, Tolvanen MA :

Anaerobic glycolysis and the development of ischaemic contracture in isolated rat heart

Cardiovasc Res
18 : 145 — 148, 1984

20 Burton KP :

Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia

Heart Circ. Physiol
17 : H637—H643, 1985

21 Prasad K, Kalra J, Chan WP, Chaudhary AK :

Effect of free radicals on cardiovascular function at organ and cellular levels

Am Heart J
117 : 1196—1202, 1989

22 Zweier JL, Rayburn BK, Flaherty JT, Weisfeldt ML :

Recombinant superoxide dismutase reduces oxygen free radical concentrations in reperfused myocardium

J Clin Invest
80 : 1728—1734, 1987

23 Werns SW, Shea MJ, Driscoll EM, Cohen C, Abrams GD, Pitt B, Lucchesi BR :

The independent effects of oxygen radical scavengers on canine infarct size reduction by superoxide dismutase but not catalase

Circ Res
56 : 895 — 898, 1985

24 Heuer HJ, Muller E, Bernauer W :

Differential effects of superoxide dismutase on high energy phosphates,creatine kinase release,and arrhythmias during post-ischaemic reperfusion in isolated rat hearts

Basic Res Cardiol
83 : 149 — 157, 1988

25 西川育志、山本信一郎、迎山恭臣、岡田昌義、中村和夫

Free radical scavengerの心筋保護効果に関する実験的検討 — 投与温度と投与法について —

日心外会誌
20 : 636 — 638, 1990

26 Przyklenk K, Kloner RA :

Superoxide dismutase plus catalase improve contractile function in the canine model of the "stunned myocardium"

Circ Res
58 : 148 — 156, 1986

27 Hess ML, Okabe E, Ash P, Kontos HA :

Free radical mediation of the effects of acidosis on calcium transport by cardiac sarcoplasmic reticulum in whole heart homogenates

Cardiovasc Res
18 : 149 — 157, 1984

28 Hearse DJ, Braimbridge MV, Jynge P :

細胞化学および生体物理的評価
(Cytochemical and Biophysical Assessment)

心筋保護法　基礎と臨床　(名古屋大学出版会)
: 387 — 395, 1988

29 Cankovic-Darracott S, Braimbridge MV, Williams BT, Bitensky L, Chayen J :

Myocardial preservation during aortic valve surgery Assessment of five techniques by cellular chemical and biophysical methods

J Thorac Cardiovasc Surg
73 : 699 — 706, 1977

30 Brown AH, Niles NR, Braimbridge MV, Austen WG :

Assessment of the heart by histochemical and birefringence techniques as compared with ventricular function tests

J Cardiovasc Surg
19 :. 29 — 48, 1978

表１　実験群の内訳

実験群＼添加剤	酸素加	Superoxide dismutase
I　群	＋	＋
II　群	－	＋
III　群	＋	－
IV　群（対照群）	－	－

表２　血行動態の評価

a) 心筋の虚血作成前の血行動態

	ＨＲ	ＡＦ	ＣＦ	ＣＯ
Ⅰ　群	288.5±43.2	72.5±11.4	17.8± 1.9	90.3±13.0
Ⅱ　群	278.8±33.3	63.9±14.3	16.7± 2.3	80.7±16.2
Ⅲ　群	297.9±56.9	70.8± 8.1	18.6± 2.4	89.3± 9.4
Ⅳ　群	282.8±20.1	67.1±11.4	16.5± 3.4	83.6±14.3

Mean±SD

Legend: HR:Heart rate(beats/min), AF:Aorticflow(ml/min),
CF:Coronary flow(ml/min), CO:Cardiac output (ml/min)

虚血前値はⅠ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ群間においていずれも有意差なし

b) 心筋の虚血作成後の血行動態

	ＨＲ	ＡＦ	ＣＦ	ＣＯ
Ⅰ　群	276.5±49.5	55.3±10.2	16.1± 2.1	71.3±11.3
Ⅱ　群	254.1±41.7	42.8±11.0	14.9± 2.7	57.7±11.8
Ⅲ　群	268.0±47.6	56.3± 6.6	17.2± 2.8	69.8±13.1
Ⅳ　群	265.0±29.4	39.3±13.2	14.2± 4.9	53.4±17.6

Mean±SD

Legend: HR:Heart rate(beats/min), AF:Aorticflow(ml/min),
CF:Coronary flow(ml/min), CO:Cardiac output (ml/min)

c) 心筋の虚血作成後の前値に対する血行動態の比較

	HR	AF	CF	CO
I 群	95.7± 9.8	76.9±11.7*	90.8± 9.8	79.5± 9.7§
II 群	91.4±12.5	66.9± 7.1	85.3± 9.4	71.7± 5.7
III 群	90.5± 9.8	73.9±11.6**	92.1± 5.5	77.8± 9.6§§
IV 群	93.8± 9.2	57.1±12.9***	84.5±19.8	62.7±13.2§§

Mean±SD

Legend: % recovery value = recovery value / control value×100 (%)

* $p<0.01$ ** $p<0.05$ § $p<0.05$ §§ $p<0.05$

表3 Myosin ATPase染色によるgrade分類

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
I 群	0	2	5	1
II 群	0	4	4	0
III 群	0	1	5	2
IV 群 (対照群)	0	2	4	2

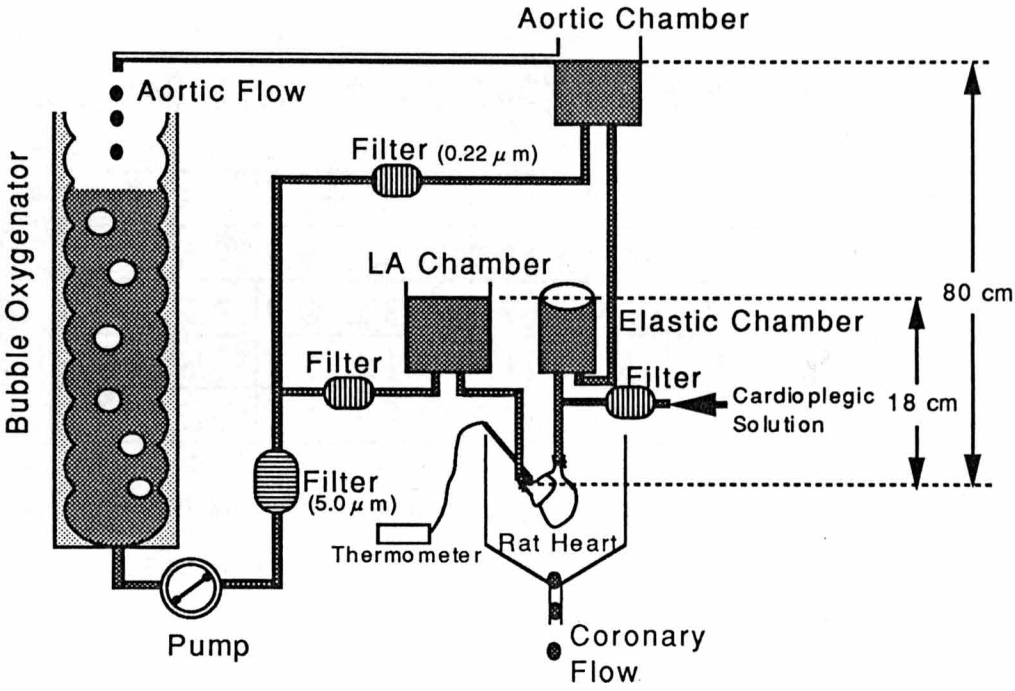


図１　実験回路のシェーマ

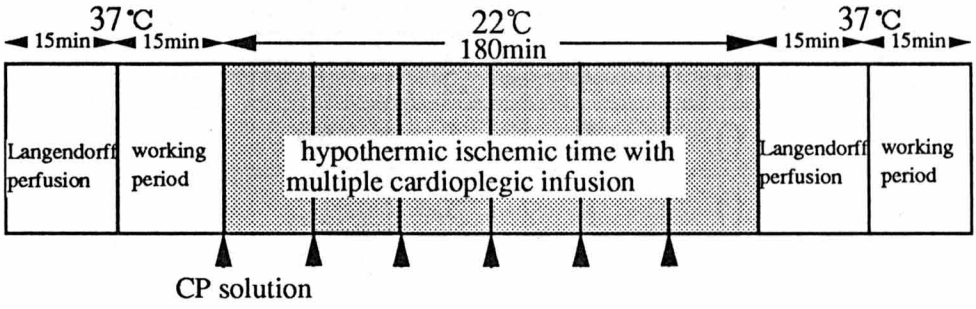
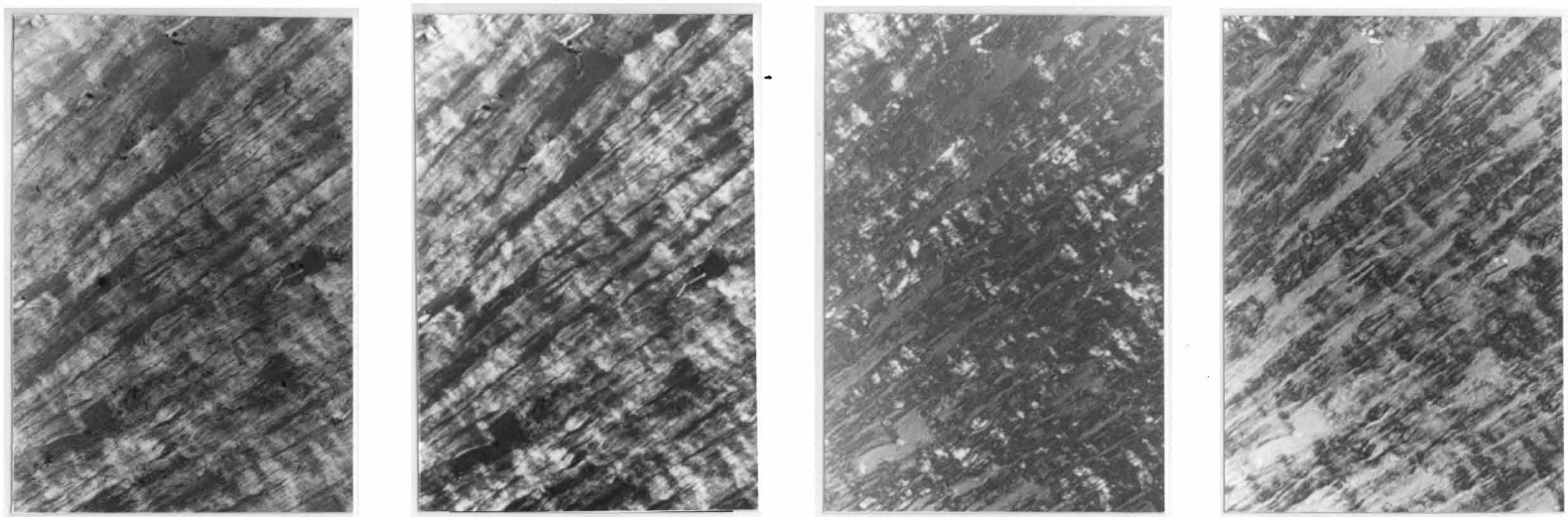


図２　実験方法の手順

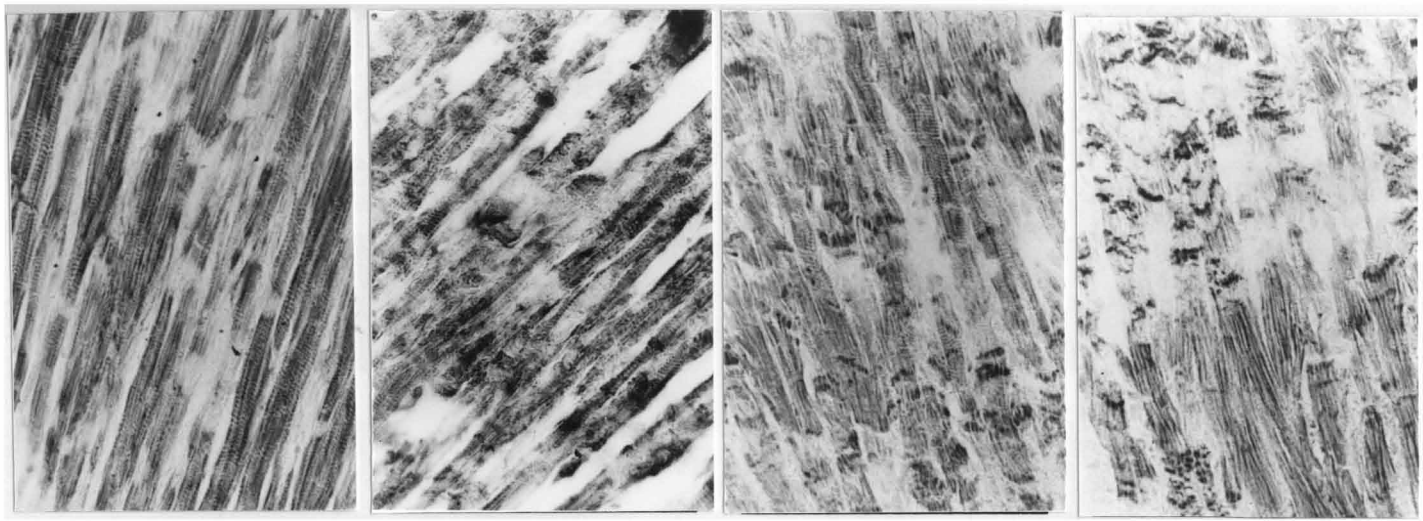


A° B° C° D°

compensatorの回転角度の増加

Compensator の回転角度をA° からD° へ増加させていくと、心筋繊維の無い暗い背景に心筋繊維が最も明るく見える角度（B° ）に達する。さらに、心筋繊維が一様に黒くなって消える（C° ）。さらに、回転角度を増加させると、再び背景は明るくなる（D° ）。

図３　Birefringence test



Grade 0　　Grade 1　　Grade 2　　Grade 3

図4　心筋傷害の細胞化学的評価

(×400、myosin ATPase染色)

正常心筋でのmyosin ATPase活性に対する反応は、横紋が明瞭である(Grade 0)。また横紋構造の染色に不鮮明な部分を認める場合はGrade1とし、収縮帯が散在性に少数存在する標本はGrade2と判定した。さらに低機能心筋から得られた標本では、反応が不規則に認められ、収縮帯も多数伴っていたが、これをGrade3と判定した。

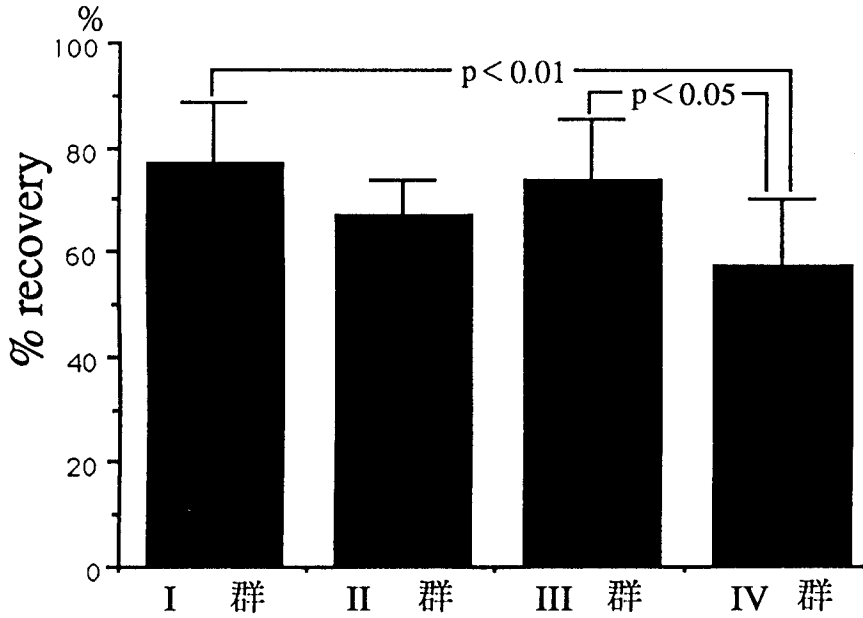


図５　大動脈流量の回復率

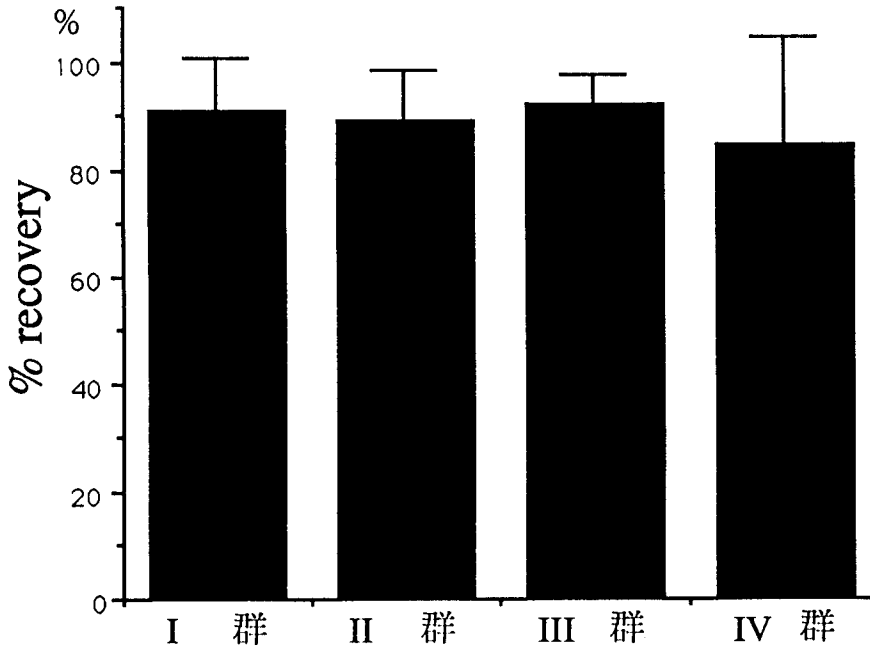


図６　冠動脈流量の回復率

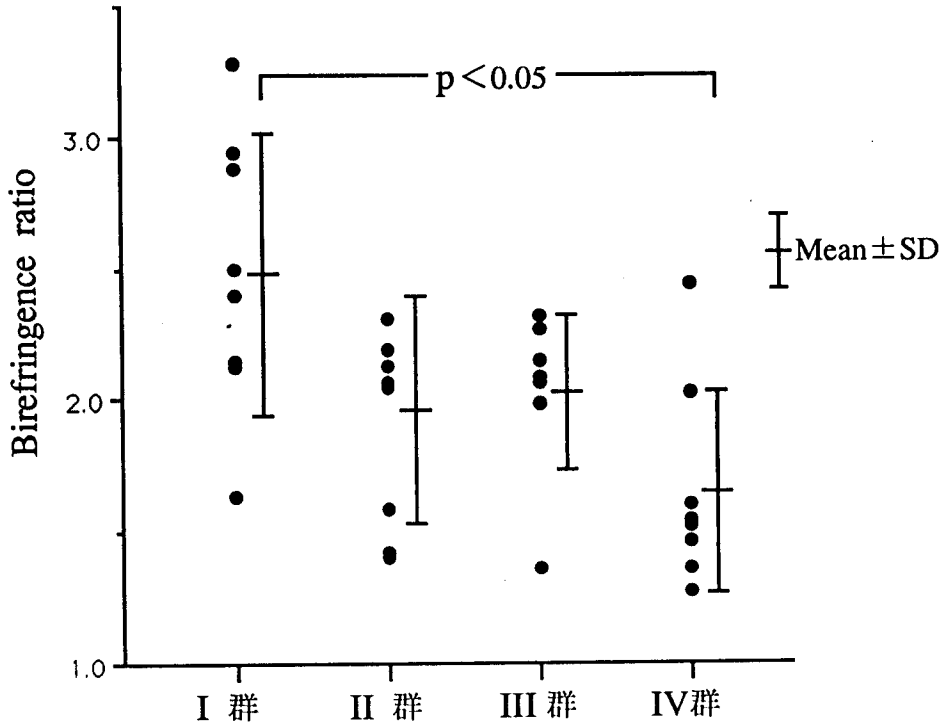


図 7　Birefringence test

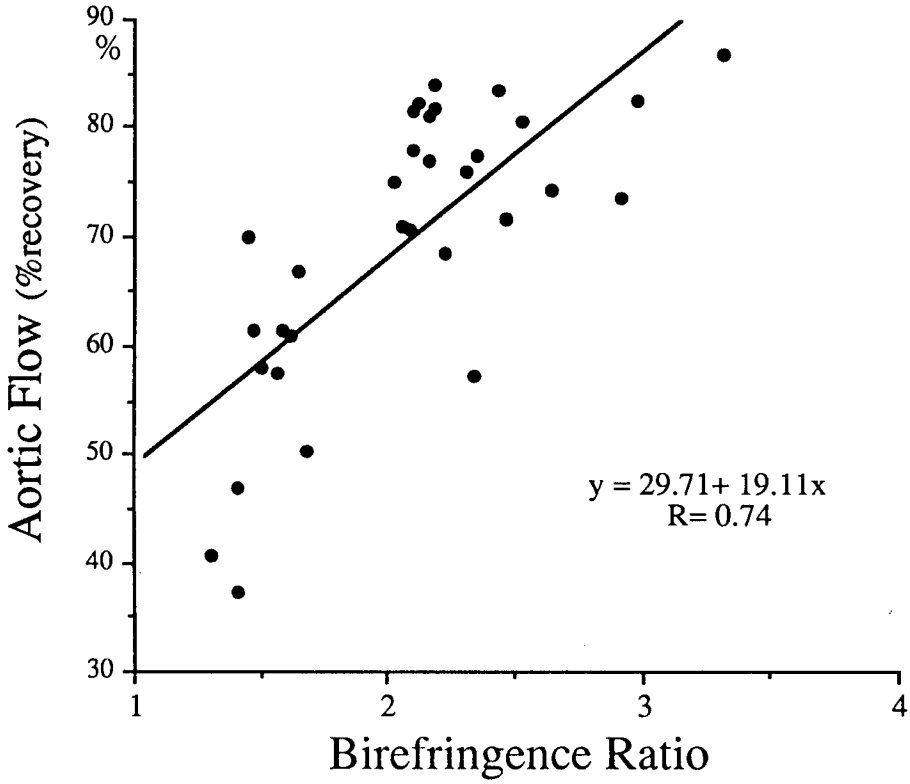


図８　Birefringence ratio と大動脈流量の回復率との関係