



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

(JaLCD0I)

<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。



氏名・(本籍)	木 花 鋭 一 き はな えい いち	(愛媛県)
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)	
学位記番号	博い第816号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成4年12月31日	
学位論文題目	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 —	
審査委員	主査 教授 岡 田 昌 義 教授 尾 原 秀 史	教授 前 田 盛

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言並びに研究目的】

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。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 を効果的に産生し、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。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移行する、いわゆる oxygen paradox と呼ばれる現象が生じることは周知の事実である。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。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られており、心筋の代謝状態により、酸素加した心筋保護液を投与する際に oxygen paradox が発生する可能性がある。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、本研究に着手した。

【研究対象並びに方法】

心筋保護液に酸素並びに free radical scavenger の1つである superoxide dismutase (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並びに形態学的な見地から検討した。心筋保護液としては St. Thomas' Hospital 第2液 (組成: NaCl, 110.0mM; KCl,

16.0mM;MgCl₂,16.0mM;CaCl₂,1.2mM;NaHCO₃,10.0mM)を用いた。心筋保護液の酸素加は95% O₂+5%CO₂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(対象群):酸素加(-),SOD(-)である。心筋虚血の条件としては、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。実験方法として、15分間のLangendorff灌流を行ったのち、前負荷18cmH₂O、後負荷80cmH₂Oにて15分間のworking modeを行い虚血前の血行動態の評価を行った。即ち、working modeにおいて80cmH₂Oの後負荷に対してaortic chamberよりover flowしてくる1分間の液量を大動脈流量とし、さらにheart chamberから1分間に流出する液量を冠動脈流量と評価して、大動脈流量+冠動脈流量をもって心拍出量とした。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working mode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。虚血後心筋切片の形態学的な評価には、偏光顕微鏡を用いた複屈折試験(Birefringence test)による複屈折性の相対的変化量(以下birefringence ratio)、およびmyosin ATPase染色(Niles法による)における横紋構造および収縮帯の存在程度によるgrade分類(grade0~3)を行った。統計学的処理にはANOVA法を採用し、P<0.05をもって有意差ありと判定した。

【研究成績】

以上の実験的研究の結果、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群との間で有意差(P<0.05)が認められた。冠動脈流量の回復率は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、各群間で有意差はみられなかった。心拍出量の回復率では、I群79.5±9.7%、II群71.7±5.7%、III群77.8±9.6%、IV群62.7±13.2%であり、I群、III群はIV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)。一方、大動脈流量の回復率(Y)とbirefringence ratio(X)の間には $Y=29.7\pm 19.1X$ (R=0.74)という正の強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。MyosinATPase染色によるgrade分類では各群においてgrade2程度の収縮帯を伴う所見が多くみられ、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。

【結論】

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群はIV群(対照群)と比較して血行動態並びに生体物理学的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 は心虚血後の心機能を予測する上で有力な指標となしえた。

論文審査の結果の要旨

〔研究目的〕

現在、長時間の低温心停止下において、より良好に虚血心筋を保護するために、心筋保護液に酸素加を施す試みがなされている。今回心筋保護液に酸素並びに free radical scavenger の 1 つである superoxide dismutase (SOD) を添加して、低温虚血下における心筋保護効果を血行動態並びに形態学的に検討し、その効果を明らかにすることを本研究の目的とした。

〔研究対象並びに方法〕

SD 系ラットの摘出灌流モデルを用い、心筋保護液として St. Thomas' Hospital 第 2 液を使用した。心筋保護液の酸素加は 95% O₂ + 5% CO₂ 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 (対象群): 酸素加 (-)、SOD (-) である。心筋虚血の条件としては、22°C 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に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。実験方法は 15 分間 Langendorff 灌流を行った後、前負荷 18cmH₂O、後負荷 80cmH₂O にて 15 分間の working mode を行い、虚血前の血行動態を計測した。虚血時間終了とともに再び 37°C の Langendorff 灌流を 15 分間行い、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。虚血後心筋切片の形態学的評価には、偏光顕微鏡を用いた複屈折試験 (Birefringence test) による複屈折性の相対的变化量、即ち birefringenceratio、および myosin ATase 染色における横紋構造および収縮帯の存在やその程度による grade 分類を使用した。

〔研究成績〕

虚血作成前値に対する大動脈流量の回復率では、酸素加及び SOD を添加した I 群と対象群である IV 群間および酸素加のみを行った III 群と IV 群間との間で有意差が認められた。冠動脈流量の回復率は、各群間で有意差はみられなかった。一方、大動脈流量の回復率 (Y) と birefringence ratio (X) との間には $Y = 29.7 \pm 19.1 X$ ($R = 0.74$) という正の良好な相関が認められた。さらに、4 群間の birefringence ratio を比較すると、酸素加及び SOD を添加した I 群と対象群である IV 群間にのみ有意差が認められた。MyosinATase 染色による grade 分類では各群において grade 2 程度の収縮帯を伴う所見が多くみられ、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。

〔結論〕

1) ラット摘出心を用いた 22°C、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 群では IV 群（対照群）と比較して血行動態的には II 群と同等以上の心筋保護効果が確認された。2) さらに、生体物理学的にも有効な心筋保護効果が認められた。3) 虚血心筋に対する生体物理学的評価法である 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。

以上のごとく本研究は低温心停止下において、酸素加した心筋保護液に oxygen radical scavenger を添加することの意義について研究したものであるが、申請者は、血行動態的並びに従来行われていなかった偏光顕微鏡を用いた生体物理学的評価によりその有効性を証明し、本研究は価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。