

氏名(本籍)	熊田佳孝(岐阜県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第 1319号
学位授与日付	平成 14年 12月 18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	心筋保護に関する検討 1) St.Thomas液, University of Wisconsin液, Bretschneider液の心保存能力の 温度依存性に関する検討
審査委員	(主査) 教授 廣瀬 一 (副査) 教授 藤原久義 教授 小澤 修

論文内容の要旨

背景と目的

心保存液の開発は、心保存時間の延長を可能とし、ドナー心の有効な利用に道を開くものと思われる。腎、肝、脾などの保存に、University of Wisconsin solution (UW液)の有効性が報告されて以来、心保存液としても使用されつつある。一方、細胞内液型心筋保護液であるBretschneider buffered solution (BR液)や、細胞外液型心筋保護液であるSt. Thomas' Hospital cardioplegic solution No. 2 (ST液)は、通常の開心術に際し臨床応用されている。しかし、単純浸漬保存時に用いられる温度帯で、いずれの液が優れているかの結論は得られていない。そこで、心移植時の心保存液としての使用を目的に、ST液、UW液、BR液の心保存効果が心保存温度により如何なる影響を受けるかという観点から、それらの液を比較検討した。

対象と方法

実験動物には、Wistar系雄性ラットを用いた。心摘出し、直ちに上行大動脈にカニューレーションを行い、Langendorff灌流し、その間に左房のカニューレーションを行った。灌流装置には、Neely, Hearseらにより開発された摘出灌流左心モデルを用いた。本実験では灌流圧100cmH₂OのLangendorff灌流用リザーバー、100cmH₂Oの後負荷、13cmH₂Oの前負荷とを有するworking灌流装置からなり、これらの灌流系は、恒温槽に連結された二重ガラス管によって37°Cに維持した。灌流液には、Krebs-Henseleit bicarbonate buffer液を用い、95%O₂と5%CO₂の混合ガスを吹送りpH=7.4を維持した。心保存液には、ST液、UW液、BR液を用い、それぞれをST群、UW群、BR群とした。保存前灌流は20分間のworking灌流を行い心機能を測定し、後述の実験プロトコルに従い、各注入温度に設定した心保存液中に浸漬保存し、保存後15分間のLangendorff再灌流と、20分間のworking灌流を行い、心機能を測定した。Langendorff再灌流中の冠灌流液はすべて採取し、CK濃度を測定し、心筋乾燥重量を測定した。実験1:37°CのST液、UW液、BR液の各液を3分間注入し、それぞれ注入した同様の液に35分間37°C浸漬保存した。実験2:120分間20°C、実験3:300分間4°C、実験4:450分間1°C浸漬保存を行った。大動脈流量と冠灌流量との和を心拍出量とした。保存終了後の大動脈流量、冠灌流量、心拍出量、心拍数、大動脈圧の変化を保存前のそれぞれに対する百分率として表し、各温度に対するそれぞれの液の心保存能力を検討した。

結果

実験1: UW液の注入量が他の2液の注入量に比し有意に少量であった。UW群、BR群では自己拍動が回復したものはなく、CK遊出量は、有意差を持ってUW群>BR群>ST群の順に高値を示した。再灌流量は、UW群で他の2群に比し少ない傾向にあった。実験2: 心保存液の注入量は有意差を持ちST群>BR群>UW群の順に少なくなった。大動脈流量回復率は、ST群>UW群>BR群の順に高値を示した。ST群はUW群、BR群に比し有意に高値を示したが、UW群とBR群間には有意差はなかった。CK遊出量は、UW群とBR群がST群に比し、有意に高値を示した。再灌流量には差を認めなかった。実験3: 心保存液注入量は、UW群が他の2液に比し有意に少量であった。大動脈流量回復率はUW群>ST群>BR群の順に高値を示した。UW群

と ST 群は、BR 群に比し有意に高値を示した。CK 遊出量は、BR 群が UW 群と ST 群に比し有意に高値を示した。再灌流量には有意差を認めなかった。実験 4：心保存液注入量は ST 群で他の 2 群に比し多かった。大動脈流量回復率は、UW 群が ST 群と BR 群に比し有意に高値を示し、ST 群は BR 群に比し有意に高値を示した。CK 遊出量は、BR 群が UW 群と ST 群に比し高値を示した。再灌流量には差を認めなかった。

考察

心筋細胞は、その保存温度により多大な変化を来すことが指摘されており、各保存液は固有の至適温度を有することが想像される。よって、ST 液、UW 液、BR 液の保存温度の違いによる保存能力の変化を検討した。ST 液は、細胞外液型心筋保護液であり、高カリウム、高マグネシウムを特徴とし、数種類のイオンのみで構成されている。BR 液は、細胞内液型心筋保護液である。細胞外ナトリウムイオン濃度を低下させることで、細胞膜を介するナトリウムイオンの濃度勾配を減少させ、細胞の興奮性を低めるという概念より開発され、Histidine, Tryptophan を緩衝液として用いている。UW 液は低ナトリウム、高カリウム、無カルシウム、無クロールで構成され、lactobionate, raffinose 等の多数の薬剤が添加されている。37°Cでの心保存により、UW 群と BR 群において心機能は回復せず、しかも著しく高い CK 遊出量が見られたことは特筆すべき現象である。ST 液が 1.2mM のカルシウムを含有しているのに対し UW 液、BR 液はカルシウムを含まず、これが常温心保存においてはカルシウムパラドックスを引き起こしたと考えられ、無カルシウム液の使用に際し注意を要する点と思われる。UW 液と BR 液の CK 遊出量の違いに関しては、カリウム濃度の違いが関与していると考えられる。また、心保存液注入量、再灌流量のいずれにおいても UW 群で少なかったことより、高カリウムにより冠血管抵抗が増加した可能性が考えられる。20°C保存においても、ST 群が UW 群、BR 群に比し良好な保存効果を有していた。しかし、37°C保存とは異なり UW 群と BR 群の心機能が回復したことは、カルシウムパラドックスの発生に温度変化が影響していることを示唆し、低温がカルシウムパラドックスに対し保護的に働いたと考えられた。4°C保存、1°C保存と低温になるにつれ、UW 液の保存効果が他液に比し良好になってくる。これは、細胞障害のメカニズムの中心が、温度低下とともにカルシウムパラドックスの問題から、低温障害という問題への変化を示唆しているものと考えられる。低温により起因する障害としては、低温保存中に生じる細胞内カルシウムの分布異常や濃度調節障害、細胞膜の Na-K ATPase 活性が低下することによる細胞膨化が指摘されている。低温下で UW 液が良好な心保存効果を有する理由として、細胞内液型組成では、より高濃度の添加物を使用できるため、低温障害に対する薬物を添加できることが挙げられる。UW 液中に含まれる lactobionate や raffinose は、低温による細胞膨化を抑制することが知られており、1°Cでこういった凍害防止剤が有効性を発揮したと考えられる。

本実験結果より、ST 液と BR 液の比較より、いずれの温度帯においても細胞外液型保存液が有利である可能性が示唆された。加えて、保存温度が 4°C以下になると、低温障害が顕著になる恐れがあることから、細胞内液型、外液型いずれにおいても低温障害防止剤を添加し、低温障害に対する対策が必要であることが示唆された。

結論

浸漬心保存に関して、細胞外液型心保存液である ST 液と細胞内液型の UW 液、BR 液を、保存効果の温度依存性の点から比較検討した。37、20°Cでは、ST 液が、4°Cでは ST 液と UW 液が同等に、1°Cでは UW 液が他液に比し良好な心保存効果を示した。本実験結果より、心保存液の至適組成が、保存温度により異なること、および低温においては凍害防止剤添加等の低温障害に対する対策が重要であることを示したものとされた。

論文審査の結果の要旨

申請者 熊田佳孝は、ST 液、UW 液、BR 液の心保存能力を温度依存性の面から検討し、いずれの温度帯においても細胞外液型組成の心保存液が優位であることを示し、また、低温下では凍害防止剤の必要性を明らかにした。本研究は、心移植時の心保存法に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

St.Thomas 液, University of Wisconsin 液, Bretschneider 液の心保存能力の温度依存性に関する検討
日本胸部外科学会雑誌. 1997;45:1954~1960