

揮発性吸入麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響

— in vivo ウサギモデルにおける検討 —

丸山久雄*, 吉田和希*, 神田元彦*
古屋宗孝*, 大澤昭義*

要 旨

本研究は, in vivo ウサギ心筋虚血再灌流モデルを用い, 循環動態, 虚血域 (以下 area at risk) 及び心筋梗塞サイズ (以下 infarct size) を指標にし3つの揮発性吸入麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響を検討した。

ウサギ (n=24) を全身麻酔下に開胸し, 左冠動脈前下行枝を結紮し30分間虚血を行った後, 3時間の再灌流を行った。実験中は血圧, 心拍数, 心電図を持続的にモニタリングした。

実験群はケタミン/ザイラジン(コントロール群 n=6, 35 mg·kg⁻¹·h⁻¹および5 mg·kg⁻¹·h⁻¹), ハロタン1.0% (H群 n=6), セボフルラン2.1% (S群 n=6), イソフルラン1.2% (I群 n=6) とした。Infarct size はテトラゾリウムによる染色で評価した。Infarct size はコントロール群が43.72±6.7に対し, H群24.85±7.0, S群30.24±4.5, I群41.72±4.7 (mean±SEM) であり, H群とS群において心筋梗塞サイズは有意に減少していた。またH群においては rate pressure product の有意な低下が認められた。

以上よりウサギ心筋虚血再灌流モデルにおいてハロタン, セボフルランは心筋に対して保護的に作用することが示唆された。また, ハロタンの心筋保護には心筋酸素消費量の減少が関与している可能性が示唆された。

緒 言

近年, 虚血性心疾患を有する全身麻酔症例の増加に伴い, 心筋虚血再灌流障害が注目されている。これは, 虚血状態におかれた心筋組織が急激な再酸素化に伴い, 組織障害が促進される現象で, 臨床的には心停止後に血流が再開された場合, 異型狭心性でスパズムが解除された場合, 急性心筋梗塞後に血流が自然に再開された場合, 経皮的冠動脈内血栓溶解療法や経皮的冠血管形成術で血流が再開された場合などに生じる。この虚血再灌流障害に対して抑制的に作用する ischemic preconditioning¹⁾や薬物^{2,3)}による心筋梗塞サイズの縮小が報告されている。

一方, ハロタン, セボフルラン, イソフルランなどの揮発性吸入麻酔薬が心筋に保護的に作用する可能性が示唆されている⁴⁻⁶⁾。しかし, 虚血心筋あるいは虚血再灌流障害にこれらの麻酔薬がどのような影響を及ぼすかは十分には解明されていない。本研究では in vivo ウサギ心筋虚血再灌流モデルを用い, 循環動態, 虚血域 (以下 area at risk) および心筋梗塞サイズ (以下 infarct size) を指標にし, 3つの揮発性麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響をケタミン/ザイラジン麻酔をコントロールとして比較検討した。

対象と方法

外科処置

ウサギ (New Zealand White, 2.6-3.2 kg, 雄) 24羽を対象とし, 無作為にケタミン/ザイラジン麻酔群 (コントロール群: n=6), ハロタン麻酔

*神奈川歯科大学麻酔学教室

群 (H 群: n=6), セボフルラン麻酔群 (S 群: n=6), イソフルラン麻酔群 (I 群: n=6) の 4 群に分類した。

麻酔導入はケタミン (35 mg/kg) / ザイラジン (5 mg/kg) の混合液を筋肉内投与にて行い, 全身麻酔下に気管切開をし, 気管内チューブ (ID 3.5 mm) を挿入した。

麻酔の維持はコントロール群がケタミン (35 mg·kg⁻¹·h⁻¹) / ザイラジン (5 mg·kg⁻¹·h⁻¹) 混合液の静脈内持続投与, H 群がハロタン (終末呼気濃度 1.0%) 吸入, S 群がセボフルラン (同 2.1%) 吸入, I 群がイソフルラン (同 1.2%) 吸入で行った。

換気は動物用人工呼吸器 (SN-480-5, シナノ) と動物用麻酔器 (SN-487, シナノ) を用い空気で調節呼吸を行い, 必要に応じて酸素を加えた。換気数は 25~30 回/min に調節し, 呼吸ガスモニター (Capnox, 日本コーリン) を用い, 連続的に終末呼気二酸化炭素分圧が 35~45 mmHg になるように換気条件を設定した。さらに動脈血液ガス分析により PaO₂ は 100 mmHg 以上, PaCO₂ は 35~45 mmHg, pH は 7.35~7.45, および Base Excess は -3~+3 であることを確認した。体温は加温パッドシステム (SMS-1000 J, シーボック) を用いて直腸温を 37.5~38.5°C に維持した。輸液は左頸静脈に留置したポリエチレンカテーテルから生理食塩液を 15 ml/h で実験終了まで持続投与した。再灌流時の血栓防止のために 500 units·h⁻¹ のヘパリンを持続点滴静脈内投与した。

左第 4 肋間で開胸し, 心嚢膜を切開し, 心臓を露出させた。針付絹糸 (K-890H, Ethicon) を房室溝と心尖の中間線上の左冠状動脈前下行枝 (以下 LAD) の周りに一周させ, その絹糸の両端を内径 2 mm 長さ 2.5 cm のビニールチューブに通して結紮器を作成し, 結紮による急性心筋梗塞モデルを作成した。虚血は結紮器の糸を牽引して止血鉗子でビニールチューブを固定することにより行い, 閉塞は局所のチアノーゼ, 心電図上 ST の変化を指標とし確認した。

実験プロトコール

Fig. 1 に示すようにすべての実験群で循環動態を安定させるために外科手術後 15 分間放置後に, 実験操作に先行して循環動態のコントロール値を測定した。その後, 30 分間の虚血に引き続き 3 時

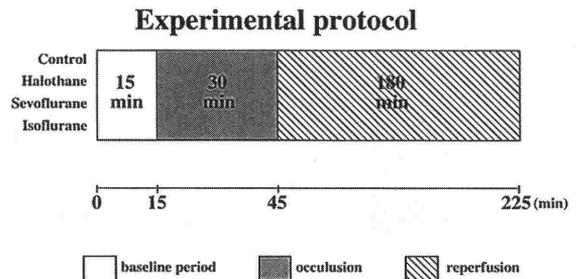


Fig. 1 Schematic diagram of the protocol. All rabbits were subjected to 30 min periods of LAD occlusion and followed by 180 min of reperfusion.

間の再灌流 (以下, 虚血再灌流) を行った。

実験に供した虚血域を同定するために LAD を再結紮し 10% Evans blue (E 2129, SIGMA) を経頸静脈的に投与して虚血部位と非虚血部位に明らかな境界ができるのを視認し, 再結紮したまま, 直ちに心臓を摘出し, 凍結させた。

循環動態の測定

循環動態, 心電図, 直腸温の測定および記録は心電図モニター (Life Scope 14, 日本光電) を使用し, 心拍数 (以下 HR), 収縮期血圧 (以下 SAP), 拡張期血圧 (以下 DAP), 平均血圧 (以下 MAP) を測定した。血圧は左頸動脈にポリエチレンカテーテルを留置し血圧トランスデューサ (TP 400-T, 日本光電) を介して測定した。心電図は第 II 誘導で持続的にモニタリングした。また, 心筋酸素消費量の指標として rate pressure product (以下 RPP) を算出した。

測定ポイントは虚血直前をベースラインとし, 虚血 15 分, 再灌流 15 分とした。

Area at risk / LV, Infarct size / area at risk の計測

Fig. 2 に示すように凍結した摘出心臓は 2 mm 厚にスライスし, その切片を 37°C, pH 7.4 に調整した 1% 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (T 8877, SIGMA) (以下, TTC 溶液) に浸漬, 染色した。染色した切片の area at risk, infarct size, 非虚血域の境界は透明アクリルシートに書写し, スキャナで取り込み, コンピュータ処理により各々の面積を計測し, area at risk の左心室 (LV) に占める百分率および infarct size の area at risk に占める百分率を算出した。

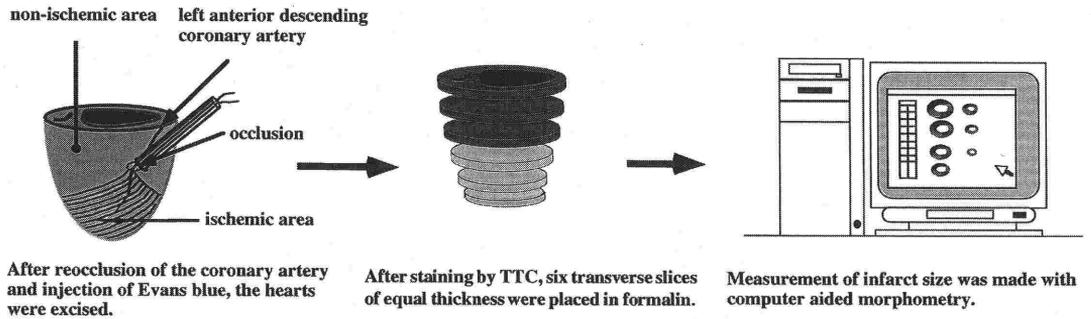


Fig.2 Measurement of infarct size

統計処理

各々の実験結果は平均値±標準誤差 (mean±SEM) で示した。

Infarct size/ area at risk, Area at risk/LV の統計処理は Kruskal-Wallis test を用い、 $p < 0.05$ で有意差が認められた場合には、Dunn procedure の多重比較検定を行い、 $p < 0.05$ にて有意差ありとした。HR, MAP, RPP の各測定ポイントにおける群間の比較は一元配置分散分析を用い、 $p < 0.05$ にて有意差が認められた場合には、Fishers PLSD の多重比較検定を行い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

結果

1 循環動態

循環動態は SAP, DAP, MAP, HR, RPP を指標とした。Table 1, Fig. 3 はベースライン、虚血15分後、再灌流15分後の RPP を示す。RPP は、ベースラインにおいて H 群はコントロール群と比較して低値を示した。虚血15分では H 群はベースライン同様コントロール群と比較して低値であった。再灌流の15分後では、H 群、S 群はコントロール群と比較して低値であった。

2 Infarct size および Area at risk

Fig. 4 は Area at risk/LV を示す。Area at risk/LV は各群間において統計的に有意な差は認められなかった。

Table 2, Fig. 5 は Infarct size/area at risk を示す。Infarct size/area at risk はコントロール群 $43.72 \pm 6.9\%$, H 群 $24.85 \pm 7.0\%$, S 群 $30.24 \pm 4.5\%$ で、H 群、S 群はコントロール群と比較して infarct

Table 1 Rate pressure product during ischemia and reperfusion

	base-line	occlusion	reperfusion
Control	12928.4±807.7	12792.0±820.6	13546.2±1543.4
Halothane	8982.0±908.6*	8030.7±659.6*	8390.7±433.7*
Sevoflurane	14708.3±1117.6	13625.6±786.1	13736.6±895.3
Isoflurane	11749.7±631.0	11021.3±475.5	9704.5±829.0*

※: $P < 0.05$ v.s control (mean±SEM)

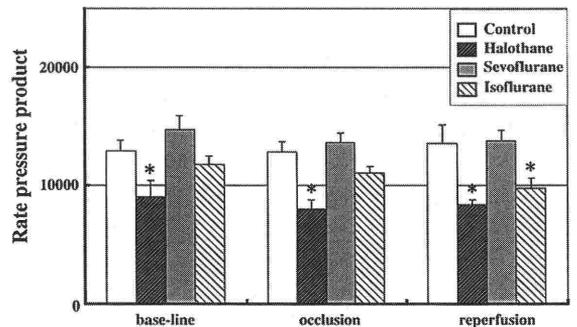


Fig. 3 Rate pressure product during ischemia and reperfusion. Data are expressed as mean ± SEM.

*Significantly ($p < 0.05$) different from control.

size は有意に縮小した。しかし I 群は $37.12 \pm 5.5\%$ であり、infarct size に影響はなかった。

考察

本研究は in vivo ウサギ心筋における30分の虚血と180分の再灌流による心筋梗塞サイズの大きさが、用いた麻酔薬によって異なることを示した

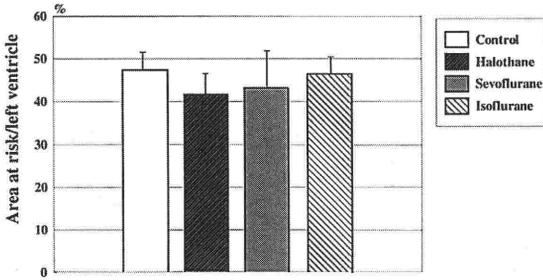


Fig. 4 The figure shown risk area expressed as percentage of anatomic left ventricle. Data are expressed as mean \pm SEM.

Table 2 Infarct size

	Control	Halothane	Sevoflurane	Isoflurane
Infarct size (%)	43.72 \pm 6.9	24.85 \pm 7.0*	30.24 \pm 4.5*	37.12 \pm 5.5

*: P < 0.05 v.s control (mean \pm SEM)

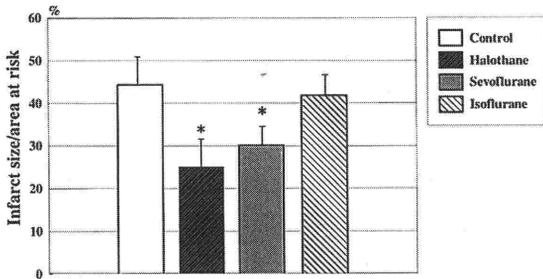


Fig. 5 The figure shown infarct size expressed as percentage of anatomic area at risk. Data are expressed as mean \pm SEM.

*Significantly (P < 0.05) different from control.

ものである。すなわちケタミン/ザイラジン麻酔下に比較し、ハロタン、セボフルラン麻酔下では心筋梗塞サイズが有意に小さく、心筋に保護的に作用する可能性があることを示唆している。

ハロタンの心筋梗塞抑制効果は心筋酸素消費量の指標の1つである rate pressure product が有意に減少していることから心筋における酸素需要量の減少がこの機序の1つであると考えられた。ラット摘出心臓を用いて虚血再灌流を行い、各種吸入麻酔薬の効果を検討した報告⁷⁾によると、ハロタン2.0%は対照群やイソフルラン、セボフルランと比較して再灌流後の心筋の酸素消費に対する酸素供給の比が有意に高く、冠血管の自己調節機構

の顕著な抑制をもたらすことが示唆されている。イヌを用いた急性心筋虚血モデルにおいても、ハロタンは心拍数を抑制する結果、非虚血部位と比較して虚血部位における酸素の需要と供給の関係を改善することが報告されている⁸⁾。このようにハロタンは他の吸入麻酔薬と異なり心筋酸素消費、すなわち心筋のエネルギー需要と酸素消費を下げることによって心筋保護効果をもたらすことが示唆される。しかし、ハロタンの心筋保護効果はアデノシンや protein kinase C が関与しているとする⁴⁾報告もあり、ハロタンの心筋保護効果のメカニズムについての詳細は今後の検討課題である。

一方、セボフルラン群においてはケタミン/ザイラジン群と比較して循環動態の有意な差は認められなかったが、心筋梗塞抑制効果は認められた。したがって、セボフルランの心筋保護効果の要因にはハロタンで考えられた心筋酸素需要量の減少は考えられず、別の要因が関与している可能性が示唆された。イヌを用いた実験⁹⁾で、セボフルランは心筋虚血による嫌気性代謝を容量依存性に抑制することが報告されている。そしてこの代謝の抑制は血圧、心拍数を一定にしても認められることから、セボフルランの心筋保護効果には循環抑制による心筋のエネルギー需要量と酸素消費量の減少以外の作用が示唆される。著者らは同様の実験系においてセボフルランの心筋梗塞抑制効果が、ATP感受性Kチャネルのブロッカーであるグリベンクラミドによって消失したことから、ATP感受性Kチャネルの開口が関与している可能性を報告した⁵⁾。本研究においても rate pressure product の有意な低下が認められなかったことからセボフルランの心筋保護効果は心筋酸素消費量の減少によるものではなく、セボフルラン固有の作用であることが示唆された。

本研究においてイソフルラン群には心筋梗塞抑制効果は認められなかった。Haesslerら¹⁰⁾もウサギに対してペントバルビタール、ケタミン/ザイラジン、イソフルランのいずれかを用いた全身麻酔下に、心筋に対して30分の虚血と180分の再灌流を行って心筋梗塞サイズを測定したが、本研究と同様にイソフルランに心筋梗塞抑制効果は認められないことを報告している。しかし、Copeら⁴⁾はウサギを用いた実験でペントバルビター

ル、プロポフォール、ケタミン/ザイラジンなどの静脈麻酔薬やハロタン、エンフルラン、イソフルランなどの吸入麻酔薬による全身麻酔下において、心筋に対し30分の虚血、180分の再灌流を行い、イソフルランが心筋梗塞抑制効果を有することを報告している。このような研究結果の相異は麻酔方法及び用いたイソフルラン濃度が関与していると考えられる。Copeらの研究ではイソフルラン1.15%で麻酔導入され、維持はイソフルラン1.7%で行われた。それに対し、本研究ではケタミン/ザイラジンの筋肉内投与にて麻酔導入され、イソフルラン1.2%で維持を行った。またイヌを用いた実験⁶⁾において虚血前にイソフルランを曝露すると60分の虚血と180分の再灌流による心筋梗塞サイズが縮小し、このメカニズムにATP感受性Kチャネルの活性化が関与することが示唆されている。今後は、イソフルランの心筋保護効果については吸入濃度、虚血時間、動物種による影響についても検討する必要がある。

結 論

ハロタン、セボフルランにはウサギ心筋虚血再灌流モデルにおいて心筋梗塞に対して保護的に作用することが確認された。ハロタンの心筋保護には心筋酸素消費量の減少が関与していることが示唆された。一方イソフルランには心筋梗塞抑制効果は認められなかった。最大の心筋保護効果をもたらす揮発性吸入麻酔薬の至適吸入濃度、さらには心筋保護効果のメカニズムの解明は今後の検討課題である。

本研究の一部は平成7～8年度文部省科学研究費補助金（基盤研究C、課題番号07807187）および平成10年度文部省科学研究費補助金（基盤研究C、課題番号1067193）で行われた。

文 献

- 1) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemia myocardium. *Circulation* 74 : 1124-1136, 1986
- 2) Kitakaze M, Weisfeldt ML, Marban E : Acidosis during early reperfusion prevents myocardial stunning in perfused ferret hearts. *J Clin Invest* 82 : 920-927, 1988
- 3) Tamura Y, Chi LG, Driscoll EM Jr, et al : Superoxide dismutase conjugated to polyethylene glycol provides sustained protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in canine heart. *Circ Res* 63 : 944-959, 1988
- 4) Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, et al : Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 86 : 699-709, 1997
- 5) Sawada H, Yoshida K, Kukreja RC : Blockade of ischemic preconditioning by glibenclamide in rabbits anesthetized with sevoflurane. *The Bulletin of Kanagawa Dental College* 25 : 65-71, 1997
- 6) Kersten JR, Schmelting TJ, Pagel PS, et al : Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of KATP channels. *Anesthesiology* 87 : 361-370, 1997
- 7) Oguchi T, Kashimoto S, Yamaguchi T, et al : Comparative effect of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane on function and metabolism in ischaemic rat heart. *Br J Anaesth* 74 : 569-575, 1995
- 8) Smith G, Rogers K, Thorburn J : Halothane improves the balance of oxygen supply to demand in acute experimental myocardial ischaemia. *Br J Anaesth* 52 : 577-583, 1980
- 9) Takahata O, Ichihara K, Ogawa H : Effect of sevoflurane on ischaemic myocardium in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand* 39 : 449-456, 1995
- 10) Haessler R, Kuzume K, Chien GL, et al : Anaesthetics alter the magnitude of infarct limitation by ischaemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 28 : 1574-1580, 1994

Effects of Volatile Anesthetics on Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury
—A Study in in-vivo Rabbit Model—

Hisao Maruyama*, Kazu-ichi Yoshida*, Munetaka Furuya*,
Motohiko Kanda*, Akiyoshi Ohsawa*

*Department of Anesthesiology, Kanagawa Dental College, Kanagawa, Japan

We evaluated the effects of inhalation anesthetic agents, halothane, sevoflurane, isoflurane on myocardial infarction within a quantified ischemic risk area in rabbit hearts subjected to a regional ischemia-reperfusion injury.

In-vivo rabbit hearts (n=24) were received regional ischemia by 30 min. of the left anterior descending artery occlusion and followed by 180 min. of reperfusion under general anesthesia. The anesthetics studied were : ketamin/xylazine (35mg/kg and 5mg/kg respectively, n=6), halothane 1.0% (n=6), sevoflurane 2.0% (n=6), and isoflurane 1.2% (n=6). The infarct size determined by tetrazolium staining was : $43.72 \pm$

6.9% in ketamin/xylazine, $24.85 \pm 7.0\%$ in halothane, $30.74 \pm 4.5\%$ in sevoflurane, and $37.12 \pm 5.5\%$ in isoflurane. The infarct size was smaller in the halothane and sevoflurane groups than in the ketamine/xylazine group. It was observed that rate pressure product was decreased in the halothane group.

It was suggested that halothane and sevoflurane could protect myocardium against ischemia-reperfusion injury. It was also suggested that cardioprotection by halothane was related to decrease in myocardial oxygen consumption.

Key words : Ischemia-reperfusion injury, Myocardial protection, Halothane, Sevoflurane, Isoflurane

(Circ Cont 20 : 288~293, 1999)