

プロポフォールの再灌流不整脈に及ぼす影響

小野 稔*, 中村 正人*, 榎田 高士**
田中 一彦***, 古賀 義久****

はじめに

心臓における再灌流障害とは、低酸素環境におかれた心筋細胞が急激な再酸素化を受けることによって、かえって新たな細胞障害が生ずる現象である。虚血心の血流再開後に生じる虚血再灌流不整脈も再灌流障害の代表例のひとつとして知られている¹⁻³⁾。この虚血再灌流不整脈の発生原因については諸説があるが、活性酸素の関与が成因のひとつとして重要視されており、虚血再灌流不整脈発生の予防における活性酸素のスカベンジャーの効果が期待されている^{1,4)}。一方、プロポフォールには過酸化水素に対するスカベンジャーとしての作用があることが報告されており、虚血再灌流における活性酸素の関与の重要性からみてプロポフォールに虚血再灌流不整脈の予防薬としての効果が期待できると考えられる⁵⁾。そこで、著者らはラット摘出灌流心においてプロポフォールの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響を明らかにする目的で本研究を行った。

対象および方法

実験動物として270~310 gの生後10週の雄性ウイスター系ラット各群12匹、5群、計60匹を用いた。ラットをエーテル麻酔下に、ヘパリン200単位を大腿静脈から投与し、1分後に心臓を摘出、4℃の灌流液で冷却後、直ちにランゲンドルフ法による冠灌流を開始した。灌流液は95%酸素+5%炭酸ガスで飽和させた37℃の Krebs-Henseleit 緩

衝液 (mM/l : NaCl 118.5, NaHCO₃ 25, KCl 3.2, KH₂PO₄ 1.19, MgSO₄·7H₂O 1.18, CaCl₂·6H₂O 2.5, glucose 11) を用い、100 cmH₂O の静水圧による冠灌流を行った。灌流液は使用前にフィルター (0.45 μm, ミリポア) により濾過した。心電図電極を心尖部と大動脈起始部に装着、心電図計 (HR-3, 三栄電子) でモニタリングしながら、記録計 (レクチコーダー, 日本光電工業) にて記録し、心拍数の計測と不整脈の分析を行った。2本の液槽のうち、1本の液槽には Krebs-Henseleit 緩衝液のみを、他の液槽には後述する各濃度のプロポフォールを混和した Krebs-Henseleit 緩衝液を入れ、バブリングを行った。15分間 Krebs-Henseleit 緩衝液のみで灌流を行い、心拍数および冠灌流量を安定させた後に実験を開始した。

再灌流モデルの作成は、冠状動脈起始部付近の左前下行枝周囲に針付き糸 (5-0ネスピレン, 日本商事) をまわし、糸の両端をプラスチックチューブのオクルーダーの中へ通すことによって結紮と解除を行い、心筋虚血と虚血後再灌流を作成した。著者らは従来よりこのモデルの安定性、虚血時間による虚血再灌流不整脈の発現頻度および虚血再灌流不整脈の観察時間について検討してきたが、本研究ではこの結果に基づき、標本の心拍数および冠流量が安定し、不整脈を高率に発生させる実験の条件として虚血時間を11分とした⁶⁾。

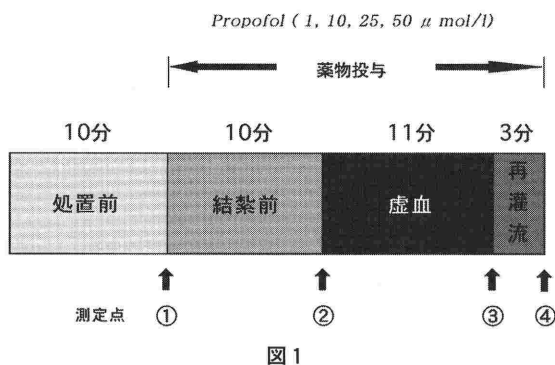
図1に示す測定点において後述の測定項目についてコントロールの測定を行なった後 (測定点1)、スイッチャーにより後述の各濃度のプロポフォールを混和した Krebs - Henseleit 緩衝液に切り換えて灌流を行い、10分間それぞれの濃度による灌流液による変化を観察した (測定点2)。オクルーダーで前下行枝を結紮することにより11分

*市立貝塚病院麻酔科

**関西鍼灸短期大学

***大阪薬科大学臨床薬理学講座

****近畿大学医学部麻酔科学教室



間の虚血を行なった後(測定点3), 結紮糸を切断, 3分間の再灌流を行った(測定点4). プロポフォールはゼネカ薬品(株)より提供を受けた99.9% Propofol (MW=178.27)を使用し, Krebs-Henseleit 緩衝液中にプロポフォールを含まない control 群およびプロポフォールを1 μ M, 10 μ M, 25 μ M, 50 μ Mの各濃度に混和した計5群を作成した. 10 mlのメスシリンダーを用い, 肺動脈から流出する冠灌流量(Coronary flow: CF)を各測定点の前1分間で測定した. 心拍数(Heart rate: HR)は, 各測定点の前30秒間記録した心電図から計測し, 計測値を2倍して算出した. ただし測定点4においては心室頻拍(ventricular tachycardia: VT)および心室細動(ventricular fibrillation: VF)をきたしたものはHRを測定しなかった. 虚血再灌流不整脈は再灌流直前から灌流後3分までの心電図を25 mm/secで連続記録し, VT・VFについて分析した. 再灌流後3分の観察時間を過ぎてもVFが持続しているものをsustained VFとし, 再灌流開始から3分間の観察時間内に認めたVFの合計時間(秒)をVF持続時間とした. VTおよびVF発現頻度の検定にはFisherの直接確率計算法を用い, VT持続時間, VF持続時間において, 群内の検定はStudent's paired t-testを用い解析した. 群間の検定については分散分析を行ない, 有意差の生じたものについてはコントロール群とStudent's unpaired t-testにて解析を行い, $P < 0.05$ を有意と判定した.

結 果

プロポフォール投与の影響

1. CFの変化

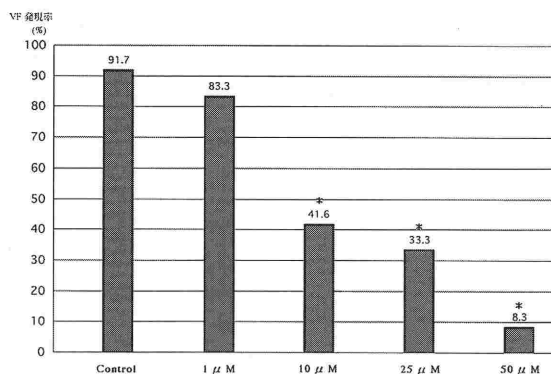


図 2

プロポフォール投与前の値と比較して, 全ての濃度においてプロポフォール投与によるCFの有意な変化は認められなかった. 虚血時にはCFが全ての群で約60%に減少し, 再灌流時には虚血前の値に比較して増加したが, 各群間には有意差が認められなかった.

2. HRの変化

全ての群でプロポフォールの投与によるHRの統計的有意な変化はなかった. 虚血時では全ての群で結紮前と比較して有意に低下したが, 各群間には有意差が認められなかった.

3. VFの発現頻度

VF発現頻度はコントロール群の100%に対し, プロポフォール1 μ M群で83.3%, 10 μ M群で41.6%, 25 μ M群で33.3%, 50 μ M群で8.3%と濃度依存的に低下した. コントロール群に比較して有意であったVF発現頻度の低下は1 μ M群を除いたすべての群で認められた.(図2)

4. Sustained VFの発現頻度

プロポフォール各濃度すべての群でControl群と比較して有意に発現頻度の低下を認めた. プロポフォールはVF発現頻度の抑制効果としては濃度依存的な抑制効果を示した.

5. VFの持続時間

プロポフォール25 μ Mと50 μ Mの2群でControl群のVF持続時間と比較して有意な低下を認めた. プロポフォールはVF持続時間の抑制効果と

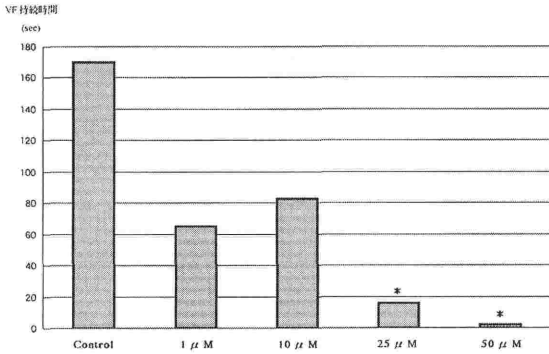


図 3

しては濃度依存的な抑制効果を示した。(図3)

6. VTの持続時間およびPVC数の変化

VT持続時間、PVCの数においてはControl群を含め、各プロポフォール添加群と統計的有意差は認められなかった。

考 察

心筋虚血再灌流不整脈の発生原因についてはカルシウムイオンのインフラックスの増加、再入現象等が報告されてきたが^{3,7)}、最近では活性酸素の関与も有力な仮説の一つとして提唱されている^{1,2,4,8)}。著者らと同様のランゲンドルフモデルを用いた実験においても、電子スピン共鳴法により虚血再灌流後の初期にバースト状にフリーラジカルが発生することが確認されている⁹⁾。一方、フリーラジカルスカベンジャーであるスーパーオキシド・デスマターゼ(SOD)、カタラーゼ、グルタチオン、などが虚血再灌流不整脈の発生を軽減させる作用のあることが報告されている^{4,10~12)}。これらのことからフリーラジカルスカベンジャーが虚血再灌流不整脈の有効な治療薬として期待されている¹⁾⁸⁾。

プロポフォールは構造的にフェノール、すなわちベンゼン環+OH基を基本骨格に持ち、これがフリーラジカルスカベンジャーであるビタミンEやブチルヒドロキシトルエンに類似していることから、プロポフォールにもラジカルの不対電子を受け取って不活化させる作用があると推測される。事実、プロポフォールは過酸化水素に対するスカベンジャー作用を持つと報告されており、このスカベンジャー作用は再灌流障害の抑制作用を

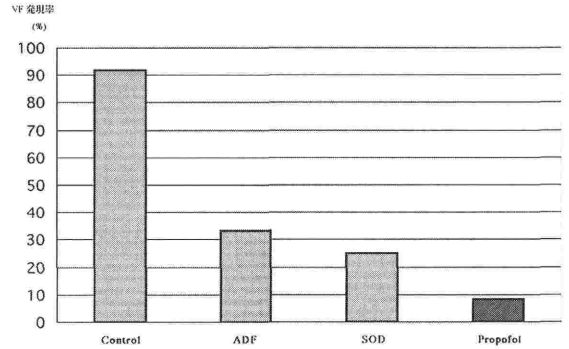


図 4 再灌流不整脈抑制効果の比較

ADF, SOD, Propofolのそれぞれにおいて再灌流不整脈の抑制に対し最大効果が得られた時のVF発現率を示す。adult T-cell leukemia由来因子(ADF)では、0.5 mg/lを最低とするベルシェイプ型の用量効果曲線となることがわかっており、この濃度でのVF発生頻度は33.3%であった¹⁴⁾。また、superoxide dismutase(SOD)では、1×10⁴ U/lを最低とする用量効果曲線となり、この濃度でのVF発生頻度は25%であった¹³⁾。これに対して、プロポフォールは50 μmolの濃度で8.3%とADFおよびSODに比べ強い抑制を示している。

持つと報告されている⁵⁾。今回の実験においてもプロポフォールが用量依存的に強い再灌流不整脈の抑制作用をもつことが示されたが、この結果をフリーラジカルスカベンジャーであるSODや成人T細胞白血病由来因子(ADF)で再灌流不整脈抑制効果を調べた著者らの実験結果と比較すると、その抑制効果の最大値はプロポフォールの方が強力であった^{13,14)}。(図4)プロポフォールの再灌流不整脈抑制作用がフリーラジカルスカベンジャーとしての作用を介して発現していると考えられるならば、プロポフォールがSODやADFより強いスカベンジャー作用を持っているかあるいは、非常に脂溶性が高いプロポフォールはSODやADFなどの高分子蛋白より心筋細胞内に到達しやすいため、再灌流直後の極めて短時間に十分量の濃度が維持されることで強い抑制を示した可能性を示唆している。しかし、むしろプロポフォールの再灌流不整脈抑制作用はフリーラジカル除去のみではなく、それ以外の機序が大きく関与している可能性が否定できない。

虚血再灌流不整脈の原因として活性酸素説と並んで虚血再灌流時の細胞内カルシウムイオンの

オーバーロードが大きな役割を果たすことはよく知られている¹⁶⁾。プロポフォールとカルシウムイオンのかかわりについて、プロポフォールが持つカルシウムイオンチャンネルの抑制効果が報告されており、これによるとプロポフォールがカルシウムチャンネル上のジヒドロピリジン結合部への直接作用によってL型電位依存性カルシウムチャンネルを抑制するとしている⁵⁾。プロポフォールが虚血再灌流時のカルシウムオーバーロードを抑制するという直接的な証拠はないが、カルシウムチャンネルブロッカーが再灌流不整脈を抑制する¹⁷⁾ことから考えて、プロポフォールの再灌流不整脈抑制の作用機序もフリーラジカルスカベンジャー作用だけではなく、カルシウムイオンの細胞内流入を抑制する機序が大きく関与していると考えられる。

今回の実験で検討したプロポフォールの濃度は通常麻酔中の血中濃度(10~50 μM)と比較して同程度である^{18,19)}。しかしながら、*in vivo*においてプロポフォールは血中アルブミンと非常に結合しやすく、そのため薬物活性をもつアルブミンと未結合のプロポフォールはわずか2.2%といわれている。Franksらはこれをもとに麻酔に必要なフリープロポフォールの50%効果濃度(EC₅₀)は0.4 μM であると報告した²⁰⁾。以上を考慮した場合、著者らの検討したプロポフォールの濃度は臨床使用濃度の約100倍の高濃度ということになる。したがって、今回の実験結果からただちに臨床使用濃度域でプロポフォールが再灌流不整脈抑制効果を発現するとは結論できないが、プロポフォールが心筋の再灌流障害を抑制する効果については臨床的な意義が見い出せると思われ、今後、臨床使用量における効果を検討する必要があると考えられる。

結 論

ウイスターラット摘出心によるランゲンドルフ灌流モデルを用い、プロポフォールの虚血再灌流不整脈への影響について検討した。あわせてフリーラジカルスカベンジャーであるSOD、ADFと比較し検討した。

1. プロポフォールは心拍数、冠灌流量に対して変化を及ぼさず、sustained VF発現頻度の低下、VF持続時間を短縮させ、虚血再灌流不整脈の発

生を抑制する効果を認めた。その効果発現様式は濃度依存性であり有効濃度は10 μM ~50 μM であった。

2. プロポフォールの虚血再灌流不整脈発生の抑制効果はVF発現頻度を指標とした場合、SODやADFよりも強力な抑制効果を示した。

文 献

- 1) 山崎 昇: 心筋再灌流障害. 日内会誌 81: 131-136, 1992
- 2) Manning AS, Hearse DJ: Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 16: 497-518, 1984
- 3) Opie LH: Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation* 80: 1049-1062, 1989
- 4) Bernier M, Manning AS, Hearse DJ: Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *Am J Physiol* 256: H1344-H1352, 1989
- 5) Kokita N, Hara A: Propofol attenuate hydrogen peroxide-induced mechanical and metabolic derangements in the isolated rat heart. *Anesthesiology* 84: 117-127, 1996
- 6) 榎田高士, 中村正人, 田中一彦ら: ラット摘出心における虚血時間と再灌流不整脈との関係. 循環制御 15: 430-436, 1994
- 7) Murdock DK, Loeb JM, Euler DE, et al: Electrophysiology of coronary reperfusion: A mechanism for reperfusion arrhythmias. *Circulation* 61: 175-182, 1980
- 8) 杉山理, 西中康人: 虚血心筋の生化学, エネルギー代謝. 代謝 29: 1023-1032, 1992
- 9) Garlic PB, Davies MJ, Hearse DJ, et al: Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Cir Res* 61: 757-760, 1987
- 10) 山本文雄, 田中一彦, 藤原 良: Reperfusion-induced arrhythmiaに対する Human SODの効証に関する検討 (Isolated rat heart preparationを用いて). 循環制御 9: 69-72, 1988
- 11) 大井 至, 小沢尚美, 中村敬太: 麻酔ラットの非可逆性再灌流性不整脈に対する Recombinant human superoxide dismutase (r-h-SOD)の作用. 日薬理誌 101: 93-99, 1993
- 12) Woodward B, Zakaria M: Effect of freeradical scavengers on reperfusion induced arrhythmias in the isolated rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 17: 485-493, 1985
- 13) 榎田高士, 中村正人, 田倉 学ら: Superoxide Dismutase (SOD)の虚血再灌流不整脈に及ぼす影響. 基礎と臨床 29: 117-124, 1995
- 14) 榎田高士: 成人T細胞白血病由来因子(ATL-derived factor: ADF)の心筋虚血再灌流不整脈に及ぼす影響についての実験的検討. 近畿大医誌 20: 293-307, 1995
- 15) Kuzuya T, Hoshida 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

- 16) Opie LH : The heart, physiology , from cell to circulation. Lippincott-Raven Publishers 3rd ed : 563-588, 1998
- 17) Kinoshita K, Mitani A, Hearse DJ, et al : Reperfusion-induced arrhythmias in the conscious rat : a comparative study with three calcium antagonists. *J Surg Res* 47 : 166-172, 1989
- 18) Spelina KR, Coates DP, Monk CR, et al : Dose requirements of propofol by infusion during nitrous oxide anaesthesia in man : I-Patients premedicated with morphine sulfate. *Br J Anaesth* 58 : 1080-1084, 1986
- 19) Turtle MJ, Cullen P, Prys-Roberts C, et al : Dose requirements of propofol by infusion during nitrous oxide anaesthesia in man : II-Patients premedicated with lorazepam. *Br J Anaesth* 59 : 283-287, 1987
- 20) Franks NP, Lieb WR : Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature* 367 : 607-614, 1994

Effects of Propofol on Reperfusion-induced Arrhythmia in the Isolated Rat Heart

Minoru Ono*, Masato Nakamura*, Takashi Umeda**, Kazuhiko Tanaka***, Kazuhisa Koga****

*Department of Anesthesiology, Kaizuka City Hospital, Osaka, Japan

**Kansai College of Oriental Medicine, Osaka, Japan

***Clinacal Pharmacy and Clinical Pharmacokinetics, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Osaka, Japan

****Department of Anesthesiology, Kinki University, School of Medicine, Osaka, Japan

The effects of propofol on reperfusion-induced ventricular arrhythmia in the isolated perfused rat heart were investigated. Rat hearts were isolated and perfused with Krebs-Ringer's solution which contains various concentrations of propofol (0 (control), 1, 10, 25, or 50 μ M ; n=12 per group); each heart was subjected to regional ischemia (occlusion of left anterior descending coronary artery for 11 minutes) and three minutes of reperfusion (release of the ligation). Reperfusion-induced ventricular fibrillation (VF) occurred in all hearts, and the duration was 166 ± 4

(mean \pm SEM) seconds in the control group, however at 10, 25, and 50 μ M, propofol reduced the incidence of VF ($p < 0.05$ at 10, 25, and 50 μ M of propofol: respective incidences were 41.6%, 33.3%, and 8.3%) and reduced the duration of VF ($p < 0.05$ at 25, and 50 μ M of propofol, 15.5 ± 14.5 , 1.8 ± 1.8 seconds, respectively).

In the isolated rat heart, we found that propofol has antiarrhythmic effects against reperfusion-induced arrhythmia and that the inhibitory effects show dose-dependent fashion.

Key words : Propofol, Arrhythmia, Reperfusion, Ischemia, Ventricular fibrillation.

(*Circ Cont* 23 : 153~157, 2002)