

## ラットの脳死モデルにおける心機能変化

岩崎 光生\*, 林 行雄\*  
上林 卓彦\*, 真下 節\*

### 要 旨

脳死後の心機能低下のメカニズムを検討する前提として、ラットの脳死モデルを用いて脳死後の心機能の変化を調べた。ラットの頭蓋内にフォガティカテーテルを挿入、膨らませて脳死状態を導入した群とセボフルレン麻酔で維持した群に分け、左心室の圧-容量曲線を描出し、心機能の変化を比較した。セボフルレン群では6時間後まで血圧は保たれ生存率は100%だったが、脳死群では50%であった。脳死群では一過性にMAPが上昇した後低下し、6時間後に有意な低下が見られたが、それより早期に駆出率、 $dP/dT \max$  (脳死3時間後)の有意な低下が見られた。

### はじめに

脳死に至ると日本人では約1週間後に90%が心停止に至る<sup>1)</sup>。脳死後に心停止に至る機序として脳死に伴う一過性の大量のカテコラミンの放出があげられているが、その詳細なメカニズムは明らかでない<sup>2,3)</sup>。その詳細なメカニズムが明らかになり、脳死後の心機能を維持する新たな方策が見出せれば、脳死ドナー心の機能維持に新たな方法を提供できる可能性があると思われる。

脳死後の様々な生体の変化を検証する上で、動物を用いた脳死モデルは重要な研究手段になりうると考えられる。これまで頭蓋内でフォガティカテーテルを膨らませることで脳死を導入し脳死モデルとし、脳死後の様々な生体の変化に関する研究がラット<sup>2~5)</sup>、ブタ<sup>6)</sup>、ウサギ<sup>7)</sup>等の動物を用いて行われてきた。今回、我々はPratschkeら<sup>8)</sup>によ

って確立されたラットの脳死モデルを用いて脳死後の心機能の時間的な変化を検討した。

### 方 法

この実験は大阪大学医学部の動物実験に関する倫理委員会の承認を得て、そのガイドラインに準じて行った。

Sprague-Dawley ラット(350g, 9週齢)を100%酸素、5%セボフルレンを用いて緩徐導入した後、気管切開し、40~60回/分、tidal volume 4~5mlで人工呼吸とした。吸入セボフルレン濃度は2~4%で維持した。連続的に第2誘導心電図をモニターし、総頸動脈にカテーテルを挿入して観血的動脈圧を測定し、外頸静脈にもカテーテルを挿入し輸液および薬剤投与ラインとした。脳死群(n=8)とセボフルレン(コントロール)群(n=6)に分け、脳死群では頭蓋内に4Fr fogarty カテーテルを挿入した。両群とも開胸して心尖部より左心室にmikro-tip catheter(Millar社製)とコンダクタンスカテーテル(unique medical社製)を挿入し、左心室の圧-容量曲線を描出した。動脈より0.5ml採血して血液粘性( $\rho$ )を決定し、20 $\mu$ lの高張食塩水を外頸静脈から投与した際の平行コンダクタンスを用いて容量のcalibrationを行った。測定は換気を止めて下大静脈をクランプした時の左心室の圧-容量曲線の波形変化から、収縮末期および拡張末期の左心室容量、一回拍出量、駆出率および $dP/dT \max$ を算出した(integral 3, VPR1002測定ソフト Ver. 2.26 unique medical社)。コンダクタンスカテーテル挿入後、循環動態の安定を待って最初の測定を行い、前値とした。測定項目は平均血圧、脈拍に加えて上記の値とした。

脳死群ではPratschkeらの方法に従って30分か

\*大阪大学大学院医学系研究科、麻酔集中治療医学講座

けて4Fr フォガティカテーテルを0.6mlの蒸留水で膨らませることで脳死を誘導した<sup>8)</sup>。その後セボフルレンを中止し、以後実験終了まで100%酸素で人工呼吸を続けた。脳死導入前、脳死導入直後、以降30分ごとに最長6時間までの測定結果を記録した。実験途中で心停止した場合はそこで実験を中止した。一方、セボフルレン群では酸素・セボフルレンで麻酔を維持した。前値の測定終了後、以後30分おきに6時間後まで脳死群と同様の測定を行った。

結果は平均±標準偏差で示した。ラットの両群間の生存率の比較はKaplan-Maier法を用いた。心機能の測定項目の統計処理は前値を共分散とした

共分散分析を用いて、脳死後の各時間帯で脳死群とセボフルレン群(コントロール群)を比較した。  
 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

6時間でセボフルレン群では死亡したラットは0匹だったが、脳死群では脳死導入6時間後に50%が死亡した(図1)。セボフルレン群では6時間後までMAP 80mmHg前後で推移したが、脳死群では一過性にMAPが上昇した後低下し続け、6時間後には41mmHgとなり、セボフルレン群より有意な低下が見られた(図2)。脈拍数はセボフルレン群、脳死群とも6時間で変化はなかった(図3)。拡張末

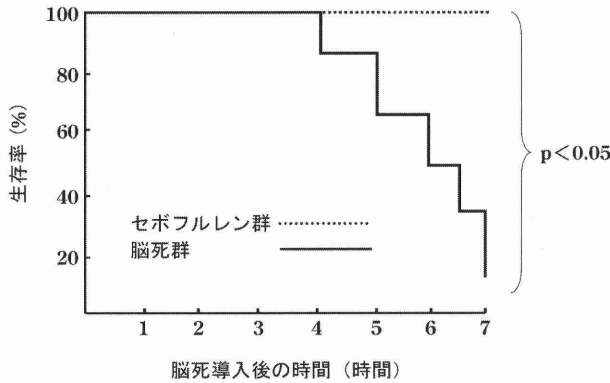


図1 脳死導入後の生存率の時間経過  
 脳死群とセボフルレン(コントロール)群の生存率の比較はKaplan-Meier法を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

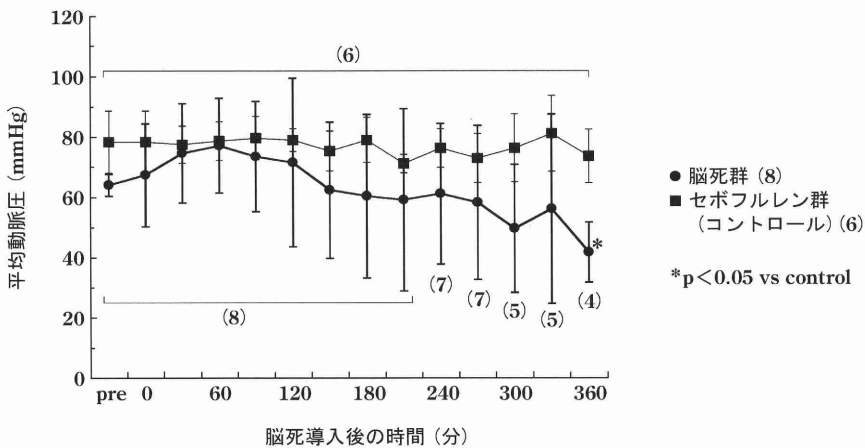


図2 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の平均血圧の変化  
 各測定時の比較は共分散分析法を用い、\* $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

期左心室容量はセボフルレン群，脳死群とも有意な変化はなかったが(図4)，収縮末期左心室容量は脳死 270 分後に有意に上昇した(図5)．駆出率はセボフルレン群では有意な変化はなかったが，脳死群では脳死 3 時間後から有意な低下が見られた(図6)．脳死群では一回拍出量は脳死 270 分後より有意に低下し(図7)，dP/dT max は脳死 180 分後に有意な低下が見られた(図8)．

考 察

本研究では脳死群はコントロール群(セボフルレン群)と比較して脳死導入後の血圧，脈拍は比較的保たれるが，駆出率は早期から徐々に低下した．

拡張末期左心室容量には両群間に有意な差は見られないが，収縮末期左心室容量の上昇が見られ，これが駆出率の低下の要因をなすものと考えられる．また，dP/dT max の低下もほぼ駆出率の低下と一致したことから早期からの収縮力の低下が示唆された．

脳死後の循環動態の変化についてはこれまでラット，イヌ，ブタを用いた研究の報告がある<sup>8~10)</sup>．いずれの報告も脳死後にいずれ心機能の低下を招くことでは一致している．我々の研究では脳死後の血圧はやや上昇したものの，有意な変化ではなかった．また脈拍も実験期間を通じて有意な変化は認められなかった．今回と同様に Pratschke ら<sup>8)</sup>

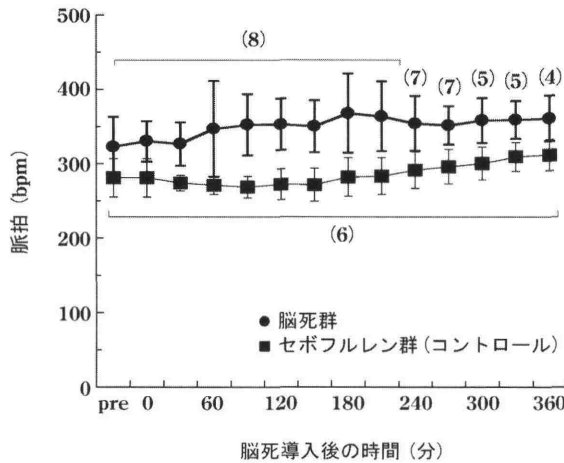


図3 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の脈拍の変化

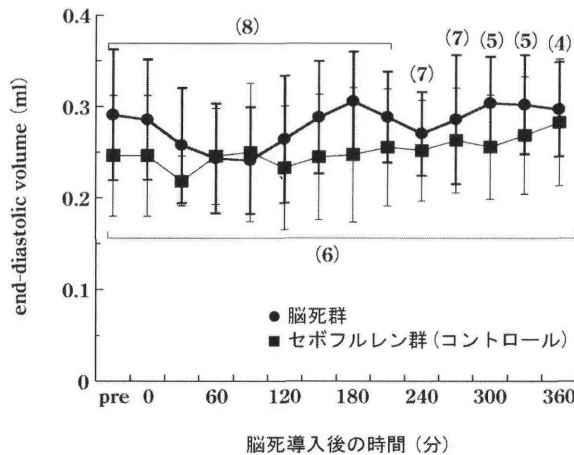


図4 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の拡張末期左心室容積の変化

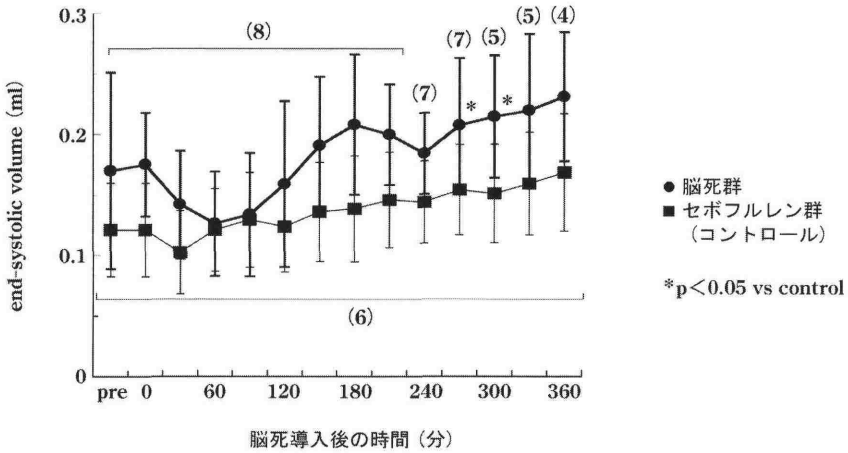


図5 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の収縮末期左心室容積の変化  
各測定時の比較は共分散分析法を用い、\*p<0.05をもって有意差ありとした。

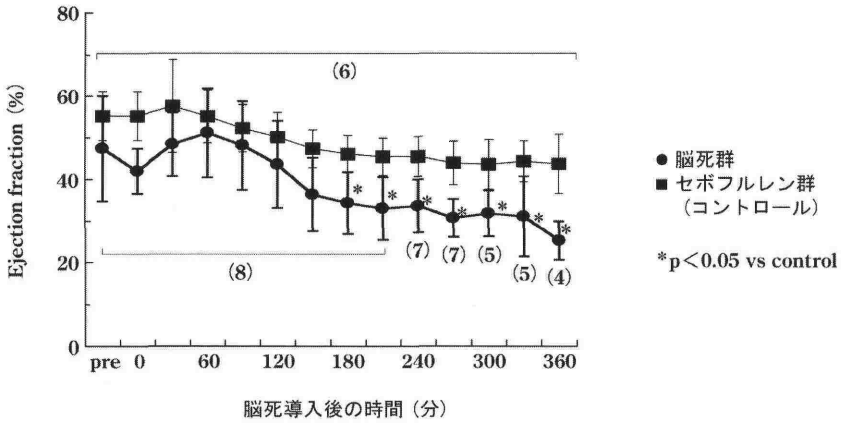


図6 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の駆出率の変化  
各測定時の比較は共分散分析法を用い、\*p<0.05をもって有意差ありとした。

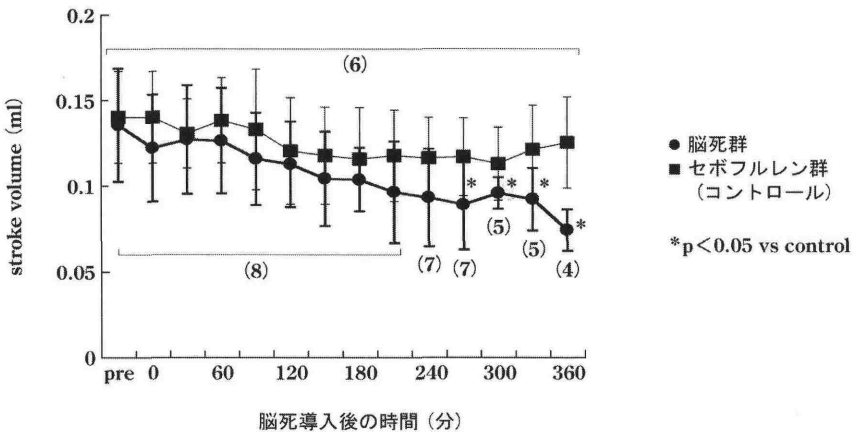


図7 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の一回拍出量の変化  
各測定時の比較は共分散分析法を用い、\*p<0.05をもって有意差ありとした。

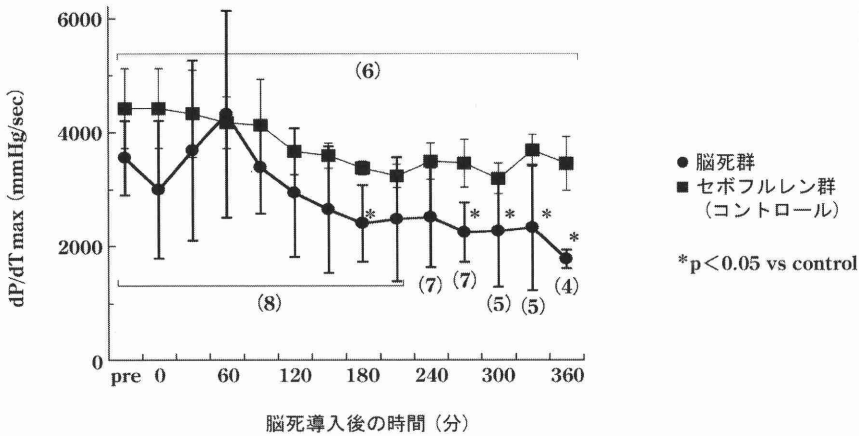


図8 脳死導入後の脳死群とセボフルレン(コントロール)群の dP/dT max の変化  
各測定時の比較は共分散分析法を用い、\*p<0.05 をもって有意差ありとした。

がラットを用いた研究では脳死後に一過性に血圧が 80~100mmHg に上昇した後 80mmHg を保っていたが、脳死 6 時間後に不整脈・低血圧により心機能が低下したとしている。我々の実験は彼らの結果に比べて循環動態の変化が顕著ではなかったが、おそらく我々が脳死導入を極めて緩徐に行っているためと思われる。一方、我々の方法では Pratschke ら<sup>8)</sup>の研究より心機能低下に至る時間経過が逆に短かった。これは開胸およびコンダクタンスカテーテルの心室内への挿入という極めて侵襲的な操作を行っているため、脳死後の心機能低下の変化が早期に現われたものと考えられる。イヌやブタ等の大動物を用いた研究でも脳死に伴う一過性の血圧、脈拍等の循環パラメータの上昇につづき、時間経過とともに dP/dT max 等の心収縮能の低下が報告されている<sup>9,10)</sup>。

今回の研究から脳死に伴い心機能の低下による循環虚脱が起こるが、血圧の変化が明らかになるより時間的に早期に駆出率の低下が起こることが明らかとなった。言い換えれば、脳死状態で血圧の低下に至った際には既に駆出率の低下、つまり心収縮能の低下はさらに深刻となっていることを示唆している。脳死に伴う心機能低下のメカニズムとして脳死に伴う大量のカテコールアミンの放出が引き金になっていると考えられているが<sup>11)</sup>、他に心筋における TNF- $\alpha$ 、IL-6 等のサイトカインの発現の報告もあり<sup>12,13)</sup>、いまだ十分解明されていない。

今回の研究ではその方法で避けがたい限界があ

った。コントロール群においても開胸および心臓へのコンダクタンスカテーテルの挿入の侵襲的な操作が不可欠であるため、実験動物に麻酔を施す必要があった。そこで、セボフルレン麻酔下のラットをコントロール群とした。しかし、脳死群では脳死を導入した後はセボフルレンを中止しているため、コントロール群ではセボフルレンが心機能に影響を与えている可能性がある。さらに、本研究ではラットに胸骨正中切開し心臓にカテーテルを挿入しているため、その操作が心機能に影響を与えている可能性もある。

### 結 論

本研究の結果から脳死後に血圧、脈拍が保たれていても、収縮力の低下に起因する駆出率の低下が既に先行していることが示唆された。

### 文 献

- 1) Takeuchi K, Takeshita H, Takakura K, et al: Evolution of criteria for determination of brain death in Japan. *Acta Neurochir (Wien)* 1987; 87: 93-8.
- 2) Herijgers P, Borgers M, Flameng W: The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part I. Is the heart damaged? *Cardiovasc Res* 1998; 38: 98-106.
- 3) Herijgers P, Flameng W: The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part II. The cause of the in vivo haemodynamic changes. *Cardiovasc Res* 1998; 38: 107-15.
- 4) Avlonitis VS, Wigfield CH, Kirby JA, et al: The hemodynamic mechanisms of lung injury and systemic inflammatory response following brain death in the trans-

- plant donor. *Am J Transplant* 2005; 5: 684-93.
- 5) Kiyoshima A, Kudo K, Goto Y, et al: Changes of the cerebral mannitol concentrations in the course of brain death of a rodent model. *Leg Med(Tokyo)* 2004; 6: 117-24.
  - 6) Ryan JB, Wilson MK, Hicks M, et al: A brain dead donor model of porcine orthotopic cardiac transplantation for assessment of cardiac allograft preservation. *Heart Lung Circ* 2000; 9: 78-81.
  - 7) Yeh T, Wechsler AS, Graham L, et al: Central sympathetic blockade ameliorates brain death-induced cardiotoxicity and associated changes in myocardial gene expression. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 1087-98.
  - 8) Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al: A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation* 2000; 69: 427-30.
  - 9) Szabo G, Sebening C, Hackert T, et al: Influence of brain death and cardiac preservation on systolic and diastolic function and coronary circulation in the cross-circulated canine hearts. *World J Surg* 1999; 23: 36-43.
  - 10) Seguin C, Devaux Y, Grosjean S, et al: Evidence of functional myocardial ischemia associated with myocardial dysfunction in brain-dead pigs. *Circulation* 2001; 104 (Suppl 1): I197-201.
  - 11) Herijgers P, Leunens V, Tjandra-Maga TB, et al: Changes in organ perfusion after brain death in the rat and its relation to circulating catecholamines. *Transplantation* 1996; 62: 330-5.
  - 12) Birks EJ, Owen VJ, Burton PB, et al: Tumor necrosis factor- $\alpha$  is expressed in donor heart and predicts right ventricular failure after human heart transplantation. *Circulation* 2000; 102: 326-31.
  - 13) Segel LD, von Haag DW, Zhang J, et al: Selective over-expression of inflammatory molecules in hearts from brain-dead rats. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 804-11.

### Cardiac Function Following Experimental Brain Death in Rats

Mitsuo Iwasaki\*, Yukio Hayashi\*, Takahiko Kamibayashi\*, Takashi Mashimo\*

\*Department of Anesthesiology, Osaka University Medical School, Osaka, Japan

We investigated the cardiac function following experimental brain death in rats. Rats were anesthetized with sevoflurane. Experimental brain death was induced by inflating intracranial balloon and sevoflurane was discontinued after brain death. Control rats were continuously anesthetized without balloon. We inserted micro-tip catheter and conductance catheter into LV to measure cardiac function every 30 min following brain death.

Although mean blood pressure and heart rate was relatively maintained until 330 min following brain death, ejection fraction and dP/dT max significantly reduced 180 min after brain death. Only fifty percent of rats survived 6 hours after brain death, while no control rats died.

Our results suggest that cardiac function after brain death is impaired much earlier before blood pressure reduction becomes apparent.

**Key word** : brain death, cardiac function

(*Circ Cont* 2007; 28: 210-215.)