

超低体温下循環停止に関する実験的研究

—重要臓器の組織呼吸の面からみた循環停止にたいする
Cytochrome C 及び Prednisolone の効果—

山口大学医学部外科学教室第1講座 (主任：八牧力雄教授)

石 田 益 偉

〔原稿受付：昭和43年1月20日〕

Experimental Studies on Circulatory Arrest during Deep Hypothermia

—Effect of Cytochrome C and Prednisolone on Tissue
Respiration of the Vital Organs—

by

MASUI ISHIDA

From the 1st. Surgical Division, Yamaguchi University Medical School
(Director : Prof. Dr. RIKIO YAMAKI)

It has been reported by TAMURA (Arch. Jap. Chir., **34** : 1295, 1965.) who worked in this laboratory, that total circulatory arrest of 60 minutes or less is well tolerated by the dog undergoing closed chest deep hypothermia below 10°C with extracorporeal perfusion, from the measurement of tissue respiration of the vital organs, i. e., brain, heart, liver and kidney.

In like manner with the exception of preliminary administration of following drugs, Cytochrome C of 2 mg/kg or Prednisolone of 60 mg per animal, dogs were cooled and then reverted following circulatory arrest of 30, 60, 70 and 90 minutes. Immediately after revival, tissue slices were made of those organs for the measurement of oxygen consumption which was performed by WARBURG's manometric technique every 10 minutes for 2 hours. For each organ, Q_{O_2} ($\mu\text{l}/\text{mg}/\text{hr.}$) was calculated and then compared with the data obtained by TAMURA.

RESULTS

1) It is concluded that Cytochrome C is beneficial to alleviate the deterioration of tissue respiration following circulatory arrest, because with this medication Q_{O_2} figures of the vital organs except kidney changed, depending on the length of arrest, more closely to the control values. The effect was remarkable in brain : when the agent was given, a decrease in Q_{O_2} below the control level did not occur even after 90 minutes of arrest and there was, otherwise, found a marked inability of the tissue to maintain adequate respiration subsequent to the same period of arrest. This medical avail was, however,

obscure in kidney. Presumably, it is due to that arrest of 90 minutes or less is well tolerated by this organ without any medication.

2) In view of changes of tissue respiration following circulatory arrest Prednisolone is not useful.

緒 言

心臓外科領域に於て一時的循環停止を行なう場合、体外循環と超低体温法の併用が行われているが、問題の焦点は、何度の体温で何分間の循環停止が安全に遂行され得るかと言うことである。Lesage 等¹⁶⁾ は犬を用い、灌流冷却による10°Cの超低体温下に於ける循環停止の安全限界は60分であると述べている。教室の兼行¹²⁾および田村²⁰⁾は Buffer Base の変動、生存率、主要臓器の病理組織学的所見および組織呼吸の面から同様な結論を得た。

著者は、組織呼吸を円滑にするために不可欠なものと考えられているCytochrome系のうち最も安定している Cytochrome C の投与を行なうとともに教室の王²²⁾が冬眠動物たるハムスターに Prednisolone の前処置を行なつたところ、著しく超低体温下循環停止時間の延長が可能であつたことから、また低体温時には副腎皮質ホルモン分泌の抑制が起るということから¹⁹⁾、Prednisolone の投与を行ない循環停止時間の限界を組織呼吸の面から検討した。

実験材料ならびに実験方法

実験動物としては7~13kgの雑犬を使用し、体外循環による灌流冷却を行なつた。人工心肺充填血として、あらかじめ生理的食塩水200ml と Heparin 80mgを入れた容器に1000~1200mlの同種血を採血し、4°Cで24時間保存したものをを用いた。

1. 灌流および冷却加温法

気泡型酸素附加装置、シグマモーター・ポンプ、熱交換器、除泡器を具えた人工心肺を用いた。血液約1000mlと生理的食塩水400mlで回路内を充填し、Tris bufferを400mg/500ml of bloodの割合で添加した¹²⁾。犬を Nembutal (40mg/kg)の静注で麻酔し、直ちに気管内挿管を行ない、気管チューブを高橋式動物人工呼吸器に連結した。実験中はサージスターを用い、脳温、中部食道温、直腸温を測定し、心電図を記録した。Heparin 20mg静注後、動静脈圧測定の為、右股動静脈にそれぞれビニール細管を挿入し、血圧計に接続した。左股動脈には送血用カテーテルを、右頸静脈お

よび左股静脈よりそれぞれ上下大静脈まで脱血用カニューレを挿入した。脱血は落差によつて行ない、ポンプ始動後送血、脱血のバランスが得られたならば、心室細動防止のため Quinidin 30mg/kgを回路内に注入し動脈圧の安定を待つて、灌流冷却を開始した。食道温25°C迄は、60ml/kg/min.またはそれ以上灌流量を維持することを原則とし、温度の下降につれて漸減した。食道温25°C以下では人工呼吸を中止した。

脳温、食道温、直腸温の3者が10°Cまたはそれ以下に下降した時を以て、種々なる時間(30分, 60分, 70分, 90分間)循環停止を行なつた。その間犬の体温上昇を防ぐ目的で身体表面を氷片で被つた。所定の時間後循環を再開し、加温蘇生を行なつた。即ち食道温が25°Cに達すると、人工呼吸を再開し、各部の温度が35.5°C以上となつた時に体外循環を停止した。なお、加温がすすむに従い心臓の搏動は自然に回復するのであるが、必要細動が発生した場合には除細動(開胸的心マッサージと counter shock)を行なつた。このようにしても正常調律に速かに復帰しないものは実験対象より除外した。

2. Cytochrome C および Prednisolone の投与

実験は Cytochrome C 投与群(C群)と Prednisolone 投与群(P群)に分けて行なつた。

即ち Cytochrome C は灌流冷却直前に2mg/kgを、Prednisolone は灌流冷却直前、食道温25°Cに下降した時、加温開始直前に各々20mg、総計60mgを体外循環回路内に注入した。

3. 血液 Buffer Base の測定

灌流開始直前、冷却終了直後、加温蘇生直後の動脈血を嫌氣的に採取し、CO₂含有量(Vol%)はVan Slyke and Neille³²⁾法、ヘマトクリット値(%)は毛細管ヘマトクリット計(Model MB, International Equipment CO.), pH値は電磁pH計(Model P, 堀場製作所)を用いて測定した。pH値は犬の食道温と直腸温の平均値に於て測定し、この値より Rosenthal²⁵⁾換算式で37°Cに於ける血漿pH値を求めた。CO₂含有量(Vol%)は0.45を乗ずることにより、mM/Lに換算した。以上求めたCO₂含有量、ヘマトクリット値、血漿pH値の3者から Singer and Hastings²⁸⁾の nomogram を用い、血

液 Buffer Base (mEq/L) を算定した。

4. 組織呼吸の測定

実験動物が復温し、完全に蘇生したと認められたならば、灌流を中止し、直ちに大脳（前頭葉）、心筋（心尖部）、肝臓（最右葉）、腎臓（右側の上極）の順に各臓器の組織片を切除し、0℃に冷却したアルカリ等張液（0.15 mKCl 1000ml + 0.04 mKHCO₃ 8 ml）中に投入し、可及的速かに、0.3mm以下の厚さの切片を作成し、各薄片の組織呼吸を Warburg³⁴⁾ 法により測定した。即ち、教室の檜崎²⁰⁾が行なつた如く容器恒数既知の反応容器の主室には pH 7.4 の Krebs-Ringer 液 1.0ml を入れ、これに組織切片を浮遊させ、副室には、CO₂ 吸収剤として、20% KOH 0.2ml と反応面積を大にするため一端に多数の切痕を加えた円柱状濾紙を入れた。まずこの反応容器を比重 1.033 に調整した Brodie 液を入れた検圧計に接続し、37.5℃の恒温槽に移し、15分間活栓を開放したまま振盪して温度の平衡を企り、次いで活栓を閉じ、読みを開始した。読みは10分間隔で120分間行ない、測定中反応容器の振盪回数は88回/分とした。測定終了後、組織片を105℃で1時間30分乾燥し、これを秤量した。大気圧および恒温槽の温度変化による誤差をなくすために、測定値は温圧計により補正した。容器内で吸収された酸素の量が $x\mu$ l (0℃, 760mmHg) の時、検圧計の目盛が h mm を示したとすれば、

$$x = k \cdot h \quad \text{但し } k \text{ は容器恒数}$$

x を組織片の乾燥重量で除した値が O₂-uptake (μ l/mg) となり、測定開始より60分後の O₂-uptake を x_1 、120分後の O₂-uptake を x_2 とすると、

$$Q_{O_2} (\mu\text{l}/\text{mg}/\text{hr}) = \frac{x_1 + \frac{x_2}{2}}{2} \text{ となる。}$$

5. 対 照

対照として、健常雑犬に Succinyl Choline Chloride 40mg筋注後、気管内挿管を行ない、人工呼吸下に速かに頸動脈より脱血屠殺し、同様に各臓器の組織呼吸を測定した。

また教室田村³⁰⁾が行なつた超低体温下循環停止の実験結果を薬剤非投与群（N群）として、本実験の薬剤投与群（C群、P群）の組織呼吸と比較検討した。

実 験 成 績

灌流中心室細動を来したものの10匹（25%）でこれは循環停止時間に関係なく起り、循環停止後除細動を行なつても速かに正常調律に復帰しなかつたものの8匹

（この中6匹は右房内にフィラリア寄生）を実験の対象より除外したのでC群（Cytochrome C投与）ならびにP群（Prednisolone 投与）は各々16匹づつとなつた。

冷却より所期の超低体温を来すまでの時間はC群で平均57.3分（33～80分）、P群で平均45.6分（26～76分）であつた。蘇生に要した再加温時間は両群でそれぞれ平均43.5分（30～60分）、40.1分（25～50分）であつた。心拍停止および再開時の食道温はC群ではそれぞれ平均13.5℃（9.0～17.5℃）、16.1℃（12.5～22.5

表1 超低体温下循環停止時間別による Buffer Base の変化

群	循環停止時間 (分)	犬匹数	Buffer Base		
			灌流前	冷却終了後	加温終了時
チ投 ト与 ク群 ローム	30	4	43.4	29.8	33.3
	60	4	49.0	25.6	31.6
	70	3	39.5	24.6	30.1
	90	5	46.1	29.8	29.4
プン レ投 ド与 ニ群 ゾロ	30	4	43.4	29.8	33.3
	60	4	42.6	26.4	30.8
	70	4	41.7	26.0	30.0
	90	4	42.2	28.2	28.1

註：各群の平均値を示す

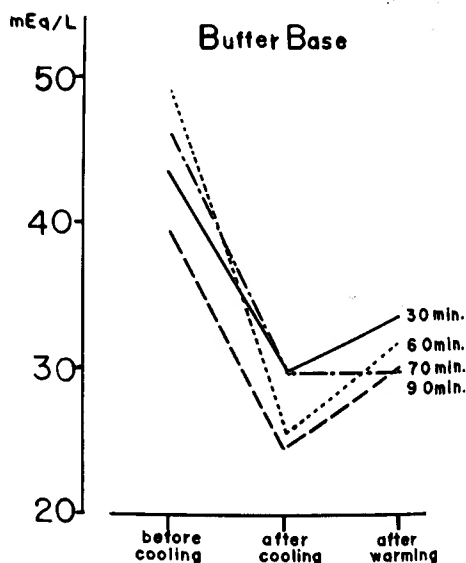


図1 Cytochrome C 投与群に於ける 超低体温下循環停止30分、60分、70分、90分に伴う血液 Buffer Base の変動 説明は本文参照のこと。

℃), P 群ではそれぞれ平均 13.5℃ (10.0~18.5℃), 17.4℃ (10.5~22.0℃) であつた。

血液 Buffer Base の変動を見ると C 群および P 群とも略々同様で, 加温蘇生後の値は, 90 分の循環停止を行なつたものを除いて, 冷却終了時のものに比較す

れば, 少々増加しているが, 灌流前に比してすべて著しい低値を示し, この傾向は循環停止の長い程甚しい (表 1, 2)。これは田村³⁰⁾ の行なつた薬剤非投与群 (N 群) の結果と同様である。

1) 大脳の組織呼吸

大脳組織の O_2 -uptake を循環停止時間別, 各群別 (対照群, N 群, C 群, P 群) の平均値は表 2 の如くで, 図 3 はこれを曲線で示したものである。循環停止 30 分, 60 分では, N, C, P の 3 群とも各々の酸素消費量は対照に比較して高値を示し, 時と共に増加している。循環停止 70 分となると, 3 群とも O_2 -uptake の増加率は減少してくるが, N, C 群では対照に近接した曲線を示し, P 群では対照より低値となる。循環停止 90 分となると N および P 群では対照より明かに低い値を示すが, C 群では極めて対照に近い曲線となる。

大脳組織の Q_{O_2} 値は表 6 に示す如くで, これを図示したものが, 図 4 である。N 群の Q_{O_2} 値は循環停止 60 分を境に急激に減少し, 循環停止 90 分ともなると対照値を遙かに下廻り, 大脳の組織呼吸が大きく障害されていることを示している。C 群では, Q_{O_2} 値は 70 分, 90 分循環停止においても, 急激に減少することなく, 対照値に近い値を示しており, N 群に比較して組織呼吸が障害される程度が軽度であることを示している。P 群は 60 分循環停止までは Q_{O_2} 値は対照値より高

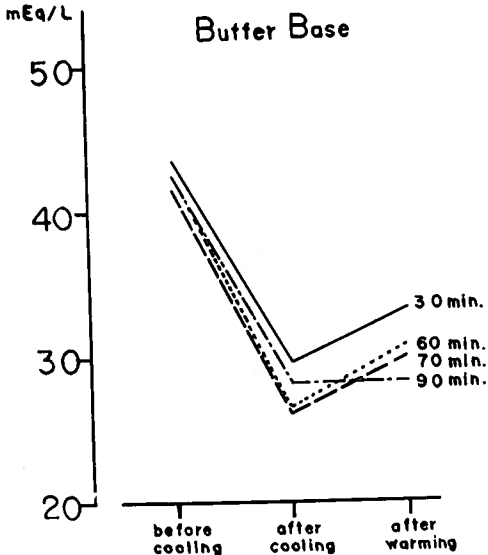
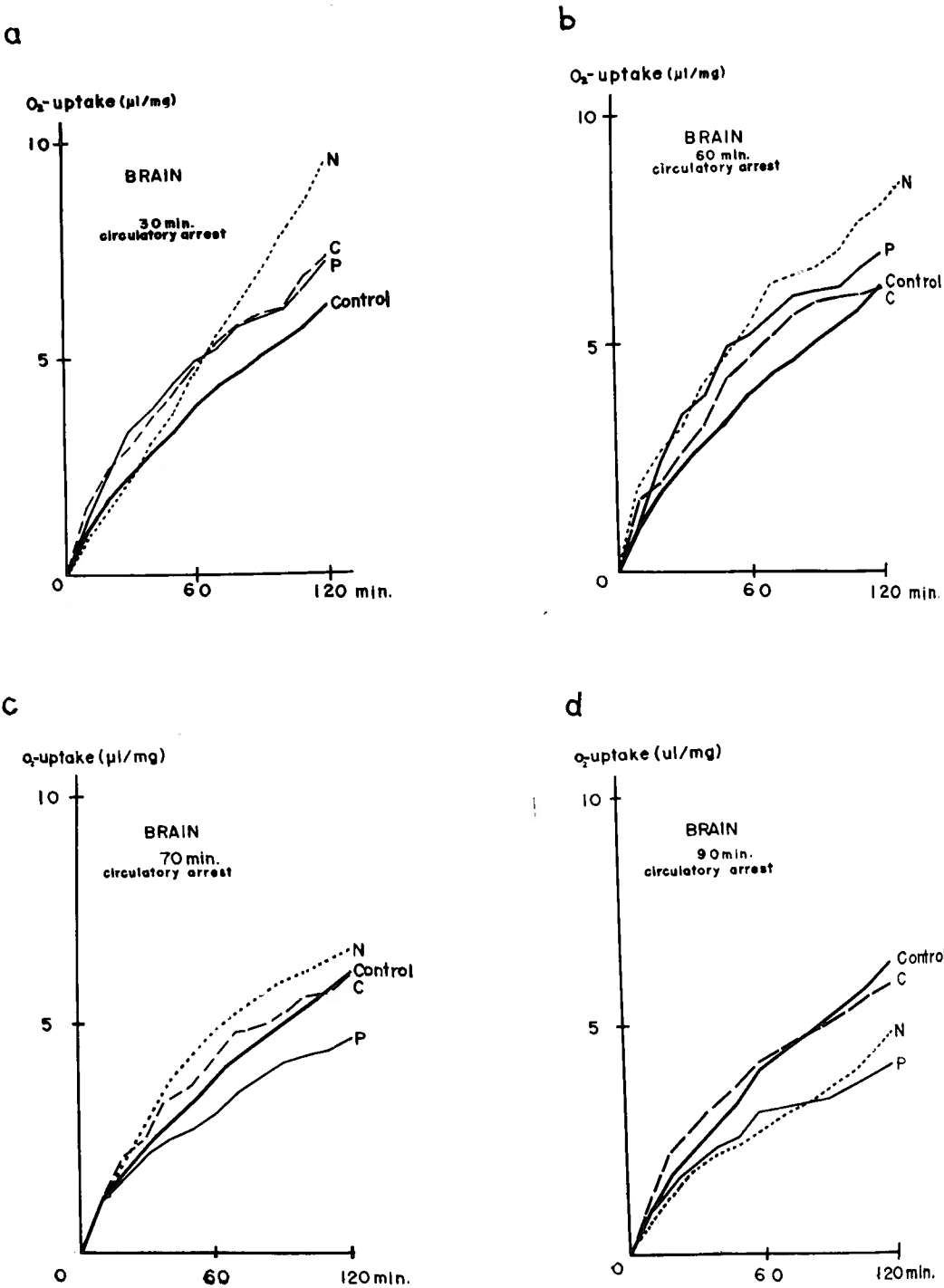


図 2 Prednisolone 投与群に於ける 超低温下循環停止 30 分, 60 分, 70 分, 90 分に伴う血液 Buffer Base の変動 説明は本文参照のこと。

表 2 大脳組織の O_2 -Uptake (μ l/mg)

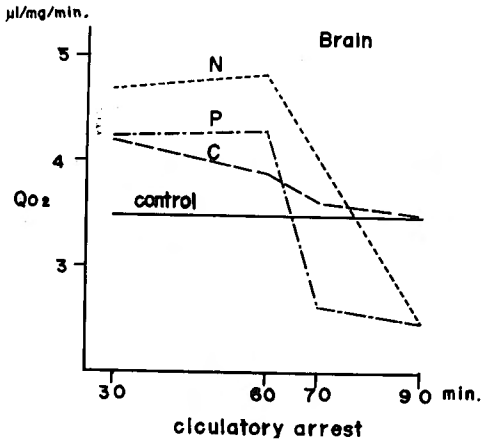
循環停止時間 (分)	群	例数	時 間 (分)											
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
30	N	4	0.84	1.51	2.21	3.07	3.70	4.62	5.50	6.20	6.98	7.78	8.46	9.41
	C	4	1.58	2.48	2.93	3.65	4.23	4.74	5.34	5.75	5.86	6.07	6.83	7.30
	P	4	1.28	2.28	3.03	3.78	4.44	4.87	5.20	5.71	5.84	6.06	6.63	7.13
60	N	5	1.88	2.56	3.29	4.16	4.72	5.34	6.23	6.56	6.96	7.62	7.93	8.47
	C	4	1.57	1.89	2.63	3.24	4.32	4.69	5.19	5.59	5.79	5.85	5.99	6.11
	P	4	1.01	2.36	3.42	3.87	4.85	5.12	5.59	5.99	6.06	6.12	6.62	6.82
70	N	5	1.00	1.86	2.75	3.79	4.29	4.85	5.23	5.58	5.93	6.02	6.30	6.56
	C	3	1.13	2.02	2.52	3.31	3.62	4.17	4.82	5.10	5.21	5.61	5.62	6.07
	P	4	1.06	1.59	2.08	2.45	2.68	2.97	3.45	3.75	4.15	4.38	4.40	4.59
90	N	6	0.72	1.35	1.79	2.14	2.41	2.64	2.92	3.17	3.50	3.75	4.13	4.69
	C	5	1.20	2.02	2.74	3.22	3.64	4.15	4.36	4.73	4.87	5.10	5.40	5.63
	P	4	0.83	1.52	1.92	2.35	2.50	3.05	3.08	3.10	3.29	3.52	3.78	3.83
Control		4	1.11	1.74	2.29	2.81	3.27	3.88	4.33	4.61	5.00	5.33	5.61	6.12

註: 各群の平均値を示す, N: 非投与群, C: Cytochrome C 投与群, P: Prednisolone 投与群



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群, P : Prednisolone 投与群,
a, b, c, d はそれぞれ循環停止30分, 60分, 70分, 90分に於ける O_2 -uptake を示す。説明は本文参照。

図3 循環停止時間の延長に伴う大脳組織の O_2 -uptake の変動



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群,
P : Prednisolone 投与群

説明は本文参照のこと。

図4 循環停止時間の延長に伴う大脳組織の Q_{O_2} の変動

く、酸素負債の状態にあるが、循環停止70分では急激に減少し、対照値より遙かに低い値を示している。

2) 心筋の組織呼吸

心筋組織の O_2 -uptake は表3, 図5に示した如くである。30分循環停止ではN, C, P 3群とも対照値と近値する。60分循環停止ではN, C群は対照に近いが、P群では対照値以下となつている。70分, 90分循環停

止では3群とも対照値以下となるが、C, N, P群の順に対照値に近い。

Q_{O_2} 値は表6, 図6に示した。N群では30分および60分の循環停止後対照と略々等しい値を示すが、70分, 90分では、これより低値となる。C群とN群の循環停止時間の推移に伴う Q_{O_2} 曲線は略々相似形を示しているが、前者は後者よりも70分および90分の循環停止においても Q_{O_2} 値は対照値に近い。P群の Q_{O_2} 値はいつれの時間の循環停止後でも対照値より低値を示し前2者の曲線とは全く異つた形を呈している。

3) 肝臓の組織呼吸

肝組織の O_2 -uptake は表4, 図7に示した。酸素消費量が終始対照に比して高い値を示しているのは70分循環停止群のみで、その他の群ではN, C, P群とも測定時間の40分を過ぎる頃より対照値以下となる。

Q_{O_2} の変動は表6, 図8に示す。各群は相似形の曲線を示す。即ち30分, 60分の循環停止では対照値より低い値を示し、70分で高くなり、90分で再び低い値となつており、肝に於ては循環停止70分で酸素負債の状態となり、90分で組織呼吸が著しく障害された状態となる。しかし、C群の Q_{O_2} 値は他の2群に比較して最も対照値に近接して変動している。

4) 腎臓の組織呼吸

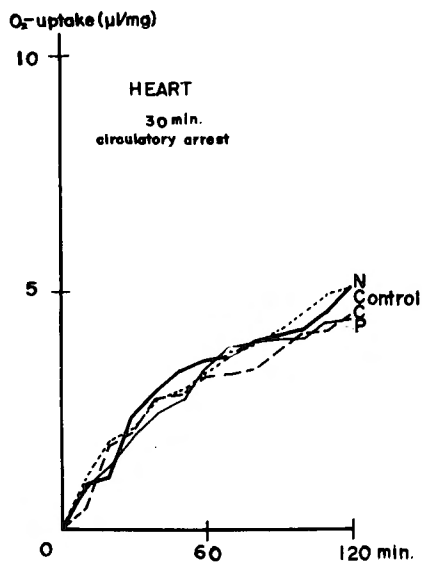
腎組織の O_2 -uptake は表5の如くで、これを図示す

表3 心筋組織の O_2 -Uptake (μ l/mg)

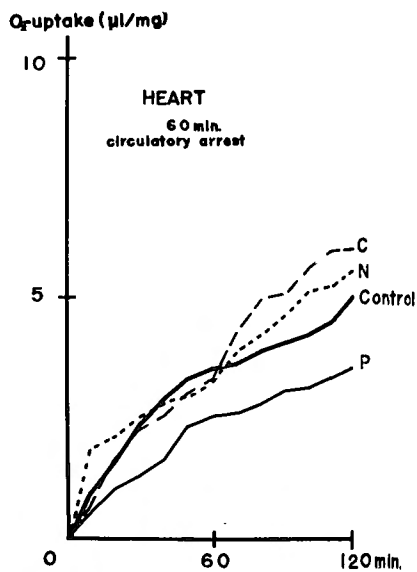
循環停止時間 (分)	群	例数	時 間 (分)											
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
30	N	3	1.09	1.84	2.22	2.72	2.98	3.26	3.61	3.85	4.28	4.50	4.81	5.30
	C	4	0.47	1.75	2.07	2.73	2.85	3.24	3.26	3.30	3.78	4.10	4.15	4.42
	P	3	0.80	1.38	1.90	2.44	2.74	3.28	3.80	3.85	3.90	3.99	4.30	4.36
60	N	4	1.82	2.28	2.55	2.74	2.97	3.23	3.88	4.25	4.73	5.11	5.23	5.58
	C	4	0.76	1.66	2.30	2.65	3.04	3.39	4.31	4.92	5.19	5.69	6.00	6.02
	P	4	1.56	1.13	1.38	1.70	2.34	2.57	2.64	2.82	3.08	3.15	3.36	3.51
70	N	5	0.76	1.21	1.62	1.91	2.07	2.17	2.26	2.54	2.66	2.81	2.91	3.14
	C	3	0.69	1.67	1.81	1.98	2.56	2.78	3.06	3.27	3.50	3.99	4.19	4.29
	P	4	1.14	1.35	1.55	1.63	2.10	2.31	2.57	3.28	3.56	3.73	3.91	4.02
90	N	4	0.48	1.35	1.69	1.98	2.20	2.61	2.84	3.07	3.46	3.60	3.81	4.35
	C	5	0.69	1.30	1.88	2.53	2.90	3.47	3.50	3.62	3.70	3.81	4.16	4.35
	P	4	0.54	1.27	1.52	1.57	2.37	2.55	2.73	2.97	3.18	3.24	3.54	3.91
Control		4	0.95	1.66	2.44	2.95	3.36	3.51	3.64	3.84	4.08	4.26	4.51	5.06

註：各群の平均値を示す。N：非投与群，C：Cytochrome C投与群，P：Prednisolone投与群。

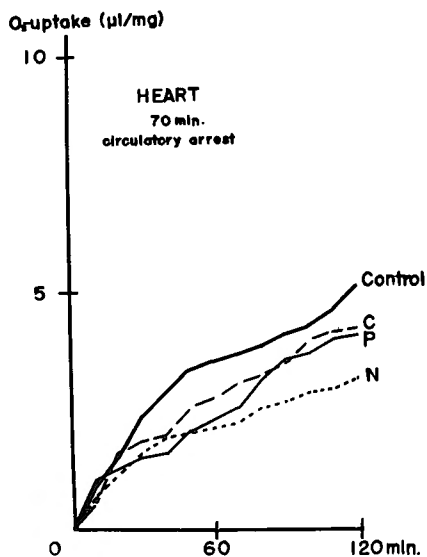
a



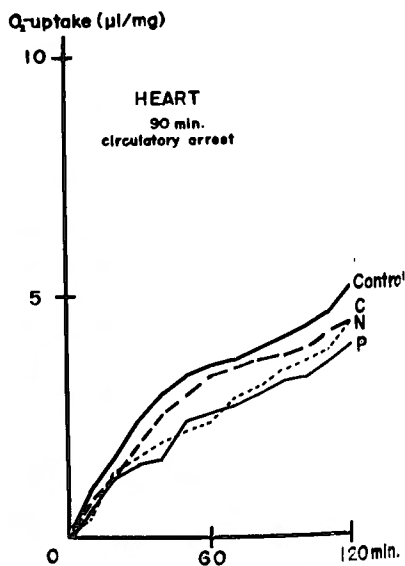
b



c



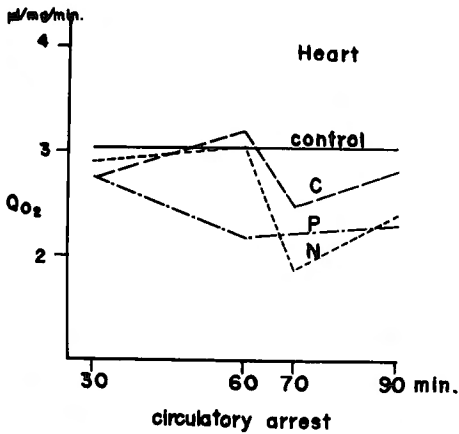
d



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群, P : Prednisolone 投与群

a, b, c, d はそれぞれ循環停止30分, 60分, 70分, 90分に於ける O_2 -uptake を示す。説明は本文参照。

図5 循環停止時間の延長に伴う心筋組織の O_2 -uptake の変動



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群,
P : Prednisolone 投与群

説明は本文参照のこと。

図6 循環停止時間の延長に伴う心筋組織の Q_{O_2} の変動

れば図9の如くなる。腎組織の O_2 -uptake は他臓器のものに比較して大きい。30分循環停止ではN, C, P群いずれも対照と近似するが、これより少々高い値を示す。60分ならびに70分停止では、3群とも対照値より低い。90分停止ではN群のみ対照値より高値を示すが、いずれも対照に近似する。

Q_{O_2} の変動は表6、図10に示す。N, C, P群とも30

分循環停止では対照値より少々高い値を示し、60分ならびに70分停止後は対照より低い値となり、90分停止後は再び増加して対照値に近くなる。従つて90分の停止後も腎臓の組織呼吸は著しく障害されないものと思われる。

考 按

本実験に於ける超低温は熱交換器を組み入れた人工心肺による灌流冷却のみによるもので、Wolfson 等³³⁾の主張する如き表面冷却の併用は行なわず、人工心肺充填血液には、血液 Buffer Base の減少を補足する意味で、Tris buffer を400mg/500mlの割合で添加した。その理由は血液 Buffer Base の変動の面より表面冷却を併用するよりは Tris buffer の添加が有利であるという教室の兼行¹²⁾の実験結果にもとづいたものである。本実験の Buffer Base の変動は、Cytochrome C 投与群、Prednisolone 投与群ともに略々同様で、30分、60分、70分循環停止群は冷却終了時に最低値を示し、加温蘇生後に少々増加するが、90分停止群のみは加温蘇生後も更に減少する。循環停止時間の長い程加温後の Buffer Base は低く、acidosis が高度となることを示している。

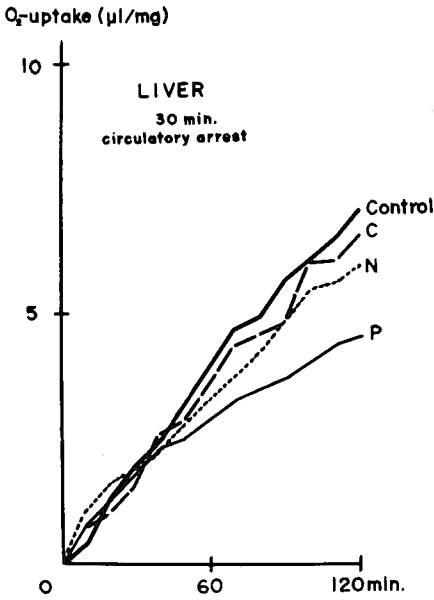
灌流量に関しては Neville 等²¹⁾は種々な流量で犬を10°Cまで冷却し、30分の循環停止を行なつたが、60 ml/kg/min. 以上の流量を保つた場合に acidosis を認め

表4 肝組織の O_2 -Uptake (μ l/mg)

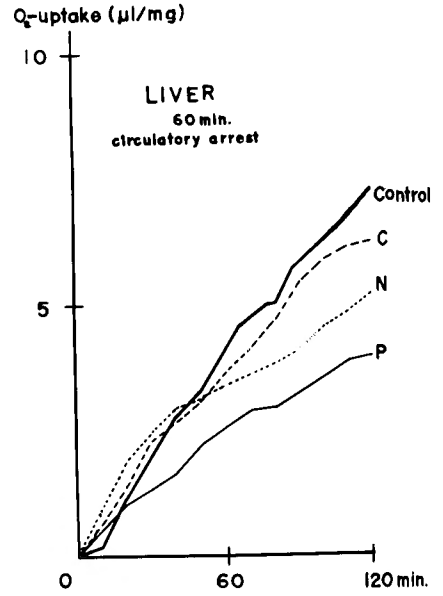
循環停止時間 (分)	群	例数	時 間 (分)											
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
30	N	4	1.10	1.71	1.97	2.27	2.86	3.33	3.73	4.23	4.83	5.15	5.61	5.94
	C	4	0.80	1.06	1.68	2.71	2.94	3.75	4.48	4.52	4.83	6.01	6.09	6.58
	P	3	0.79	1.30	1.83	2.35	2.59	2.91	3.35	3.53	3.78	4.18	4.45	4.59
60	N	3	0.96	1.97	2.49	2.93	3.25	3.43	3.62	3.82	4.19	4.55	4.87	5.21
	C	3	0.76	1.48	2.30	2.68	3.13	3.62	4.14	4.77	5.45	5.70	6.07	6.19
	P	4	0.51	1.06	1.35	1.72	2.21	2.62	2.81	2.96	3.24	3.51	3.81	3.97
70	N	5	0.84	1.78	2.81	3.59	4.18	4.87	5.45	5.74	6.41	7.07	7.42	7.96
	C	3	1.13	2.16	2.94	3.52	3.96	4.44	5.18	5.67	6.65	6.96	7.08	7.47
	P	4	1.82	2.83	3.58	4.51	4.80	5.71	5.98	6.00	6.37	6.76	6.96	7.69
90	N	6	0.53	0.94	1.51	1.91	2.37	2.97	3.40	3.96	4.60	5.05	5.29	5.84
	C	5	0.59	1.49	2.18	2.82	3.37	4.00	4.23	4.68	4.71	5.42	5.53	5.89
	P	4	0.77	1.56	2.38	2.73	3.31	3.70	3.98	4.38	4.90	5.00	5.34	5.84
Control		5	0.44	1.44	2.11	2.60	3.36	4.12	4.72	4.91	5.70	6.09	6.50	7.07

註：各群の平均値を示す。N：非投与群，C：Cytochrome C投与群，P：Prednisolone投与群。

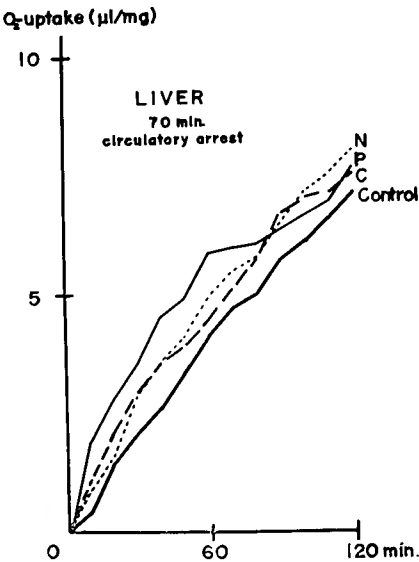
a



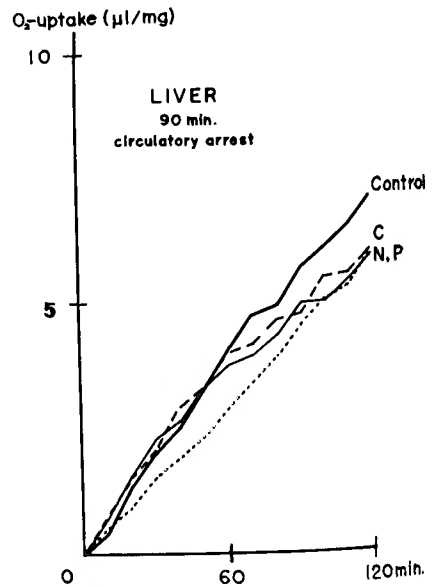
b



c



d



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群, P : Prednisolone 投与群
a, b, c, d はそれぞれ循環停止30分, 60分, 70分, 90分に於ける O_2 -uptake を示す。説明は本文参照。

図7 循環停止時間の延長に伴う肝組織の O_2 -uptake の変動

表5 腎組織のO₂-Uptake (μl/mg)

循環停止時間 (分)	群	例数	時 間 (分)											
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
30	N	4	1.28	2.43	3.39	4.06	5.12	6.23	6.82	7.61	8.66	9.36	10.26	11.26
	C	4	1.13	2.63	3.29	4.07	4.26	6.52	7.67	7.79	8.31	9.78	11.49	11.49
	P	4	1.44	2.29	3.83	4.20	4.86	6.07	6.57	7.95	8.39	9.74	10.41	10.41
60	N	3	1.07	1.88	2.42	3.47	4.49	5.05	5.84	6.46	7.51	8.22	8.75	9.61
	C	3	1.63	3.20	4.22	4.34	5.08	5.60	6.12	6.43	6.84	7.24	7.57	7.66
	P	3	1.21	1.67	2.65	3.50	3.88	4.68	5.09	5.37	5.74	5.93	6.63	6.78
70	N	5	0.87	2.15	2.99	3.80	4.69	5.43	6.12	6.83	7.32	7.87	8.36	8.74
	C	3	0.72	1.26	2.38	3.16	4.11	4.64	5.17	5.49	6.14	6.82	7.11	7.58
	P	4	0.92	1.65	2.65	3.26	4.05	5.56	6.06	6.31	7.59	8.62	8.81	9.62
90	N	3	1.66	2.54	3.09	3.89	4.87	6.33	7.41	7.96	9.01	9.65	10.55	11.27
	C	5	0.97	2.18	3.05	4.50	5.50	6.39	7.05	7.61	7.83	8.51	8.84	9.81
	P	4	1.27	2.12	3.62	4.12	5.26	5.97	6.94	7.50	8.03	8.26	8.96	9.56
Control		5	1.14	2.58	3.40	4.26	5.13	6.03	6.75	7.37	8.40	8.86	9.36	10.39

註：各群の平均値を示す，N：非投与群，C：Cytochrome C投与群，P：Prednisolone 投与群。

表6 各臓器組織切片のQ_{O2} (μl/mg/hr.)

循環停止時間 (分)	群	大脳	心筋	肝	腎
30	N	4.66	2.89	3.15	5.93
	C	4.20	2.73	3.52	6.14
	P	4.22	2.74	2.61	5.64
60	N	4.79	3.03	3.02	4.93
	C	3.88	3.20	3.36	4.72
	P	4.27	2.17	2.31	4.04
70	N	4.06	1.87	4.43	4.90
	C	3.61	2.47	4.09	4.22
	P	2.64	2.16	4.78	5.19
90	N	2.49	2.39	2.95	5.98
	C	3.49	2.83	3.48	5.65
	P	2.49	2.26	3.31	5.38
対 照		3.47	3.02	3.83	5.61

註：各群の平均値を示す。

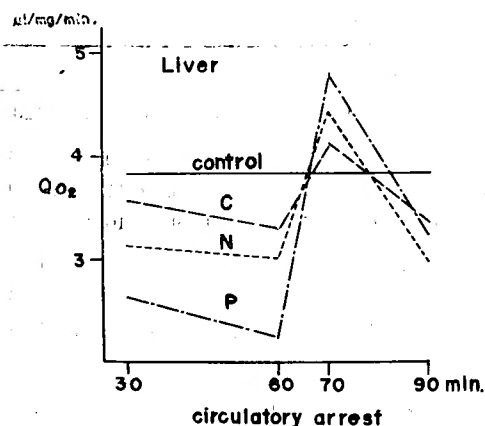
N：非投与群，C：Cytochrome C投与群，

P：Prednisolone 投与群。

酸素消費量は60ml/kg/min. の流量で最大となるという亀谷¹¹⁾の研究結果と一致し，流量は少くとも50～60 ml/kg/min. が必要と思われ，著者も冷却，加温の全過程を通じて60ml/kg/min またはこれ以上の流量を維持する様努めたが，高流量を維持したものでは，肺浮腫を高率に來すというLesage¹⁷⁾の説に反し，復温蘇生後，フィラリア寄生群の3例を除いて，1例も肺浮腫の症候を示した動物はなかつた。

Cytochrome CはCytochrome系のうち最も安定しているため，比較的容易に分離出来るもので，いわゆる酸化還元反応を司る酵素系の重要な1つである。呼吸と循環によりヘモグロビンの働きで細胞に達した酸素は細胞膜を通過するが，Cytochrome系はこの酸素を活性化する。即ちCytochrome Cの鉄イオンはCytochrome C酸化酵素ならびに還元酵素により2価となつたり3価となつたりするが，この間に酸素にエレクトロンが負荷されて酸素が活性化されるのである¹³⁾。従つてこのことが，脳，心筋，肝，腎，骨髓など主要臓器細胞の機能を賦活することになる²⁶⁾。組織内に酸素の欠乏状態が起つた場合，Cytochrome Cを体外より補給し，組織の酸素利用率を高めようとするのが，Cytochrome C投与の目的である。この場合，体外から補給されたCytochrome Cが果して細胞膜を通過して細胞内に入り，もともと生体内に存在していたCytochrome Cと同様に，その機能を発揮し得るかど

ず，Björk⁴⁾，Lesage等¹⁶⁾は25～50ml/kg/min.，Tredé等³¹⁾は50～100ml/kg/min. の灌流量を用い，各々良好な代謝状態を維持している。砂田等²⁹⁾，古賀¹⁵⁾は50～80 ml/kg/min.，遠藤等⁶⁾は40ml/kg/min. 以上の流量が適当であると報告している。このことは，10℃に於ける



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群,
P : Prednisolone 投与群
説明は本文参照のこと。

図8 循環停止時間の延長に伴う肝組織の Q_{O_2} の変動。

うかを考慮する必要がある。この点に関し、Beinert²⁾は放射性 Cytochrome C を用いた動物実験結果から正常状態では細胞膜を通過しないと云い、一方Bernaud³⁾は持続的酸素欠乏状態では、Cytochrome C の投与により、細胞内の酸素濃度が増加することから、このような場合には、細胞膜の透過性が増加するので本剤は細胞内に入り得るのではないかと述べている。Proger²³⁾は犬を用い、正常状態では Cytochrome C の投与は、殆ど代謝面に影響しないが、酸素欠乏状態では動脈酸素較差を増加せしめることから、酸素欠乏下では投与された Cytochrome C は、その作用の場所はともかく、組織の酸素摂取量を増加せしめる働きがあると云い、更に同氏²⁴⁾は臨床的にも酸素欠乏状態にある患者の脳波、心電図の異常を Cytochrome C により正常に回復されたと報告している。また埴⁹⁾は酸素欠乏状態にあるマウスに対し、Cytochrome C は延命効果を有すると述べている。Fuhrman⁷⁾によれば、マウスの心筋組織の Q_{O_2} は体温 37.7°C で $9.97\mu\text{l/mg/hr}$ であり、 10°C では $0.98\mu\text{l/mg/hr}$ に低下するが、全く 0 とはならない。かかる状態のもとで循環停止を行なえば、組織は一時的に窒息状態に置かれるわけである。著者の実験においても Cytochrome C をこのような超低体温下循環停止という酸素欠乏状態に於て使用したのである。

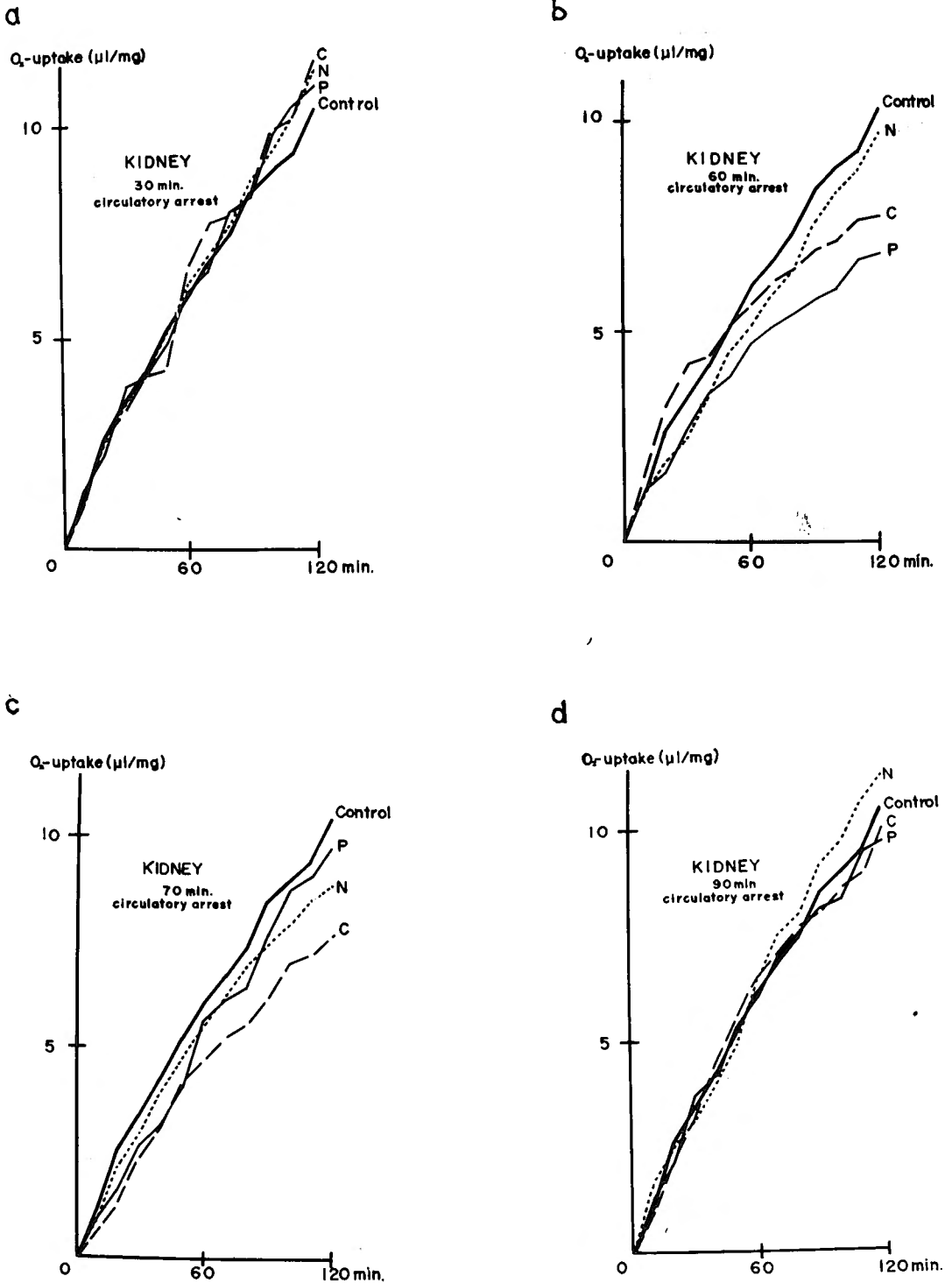
教室の王²²⁾は冬眠動物たるハムスターを用い、超低体温下循環停止に関する実験を行なつたが、Predni-

solone の前処置により安全な循環停止時間を大巾に延長するところが出来たが、彼は本剤の効果は Stress に原因する毛細管性出血の防止にあると推定した。著者は冷却・加温過程を通じ、総計 60mg の Prednisolone を投与し、重要臓器の組織呼吸の面からその効果をうかがわんとした。

Kayne 等¹⁴⁾は、マウスの肝臓の組織呼吸を Warburg 法で測定した際、一時的窒息状態におかれた場合かえつて酸素の消費量が増加すること、即ち、酸素負債の状態を示すと報告している。著者は、この酸素負債の状態は酸素欠乏に対する代償機能の営まれている状態で、いまだ充分組織呼吸を行ない得る能力があるものと解し、このような状態を呈する最長の循環停止時間を許容限界と断定した。

上述の如き立場からまず大脳についてみると非投与群では循環停止60分までは著明な酸素負債を示し、70分でも軽度ながら同様な状態にあるが、90分になると大巾に減少し、遙かに対照値以下となり、組織の酸素欠乏に対する代償機能が失われたことを示している。Cytochrome C 投与群では酸素負債の状態は前群に比較して著明でなく、循環停止時間が延長するにつれて徐々に Q_{O_2} 値は減少するが、90分循環停止においても対照値に近似する。従つて Cytochrome C を投与すれば、この時点においても可成りの組織呼吸を営み得る能力があるものと考えられる。著者の実験結果を裏付けるものとして相沢ら¹⁾は脳卒中後遺症および脳動脈硬化症の12例について、Cytochrome C 投与が脳血流量ならびに脳酸素消費量を上昇せしめることを報告している。これに反し Prednisolone 投与群は60分循環停止では酸素負債を示しているが70分、90分では対照値以下となり、組織呼吸の面から大脳組織への効果は認められない。

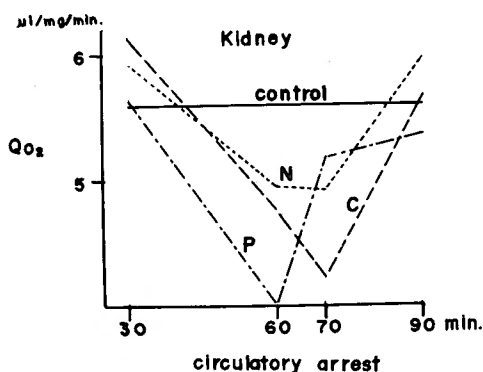
心筋においては非投与群は30分ならびに60分の循環停止では、対照とほぼ等しい値を示すが、70分ならびに90分の循環停止では、酸素欠乏に対する代償性酸素消費量の増加は認められず、対照値より低い値を示した。Cytochrome C 投与群は前者と相似の Q_{O_2} 曲線を示しているが、70分ならびに90分の循環停止に於てはより対照値に近い値を呈している。この点から考えると、Cytochrome C は大脳に於ける程著明な効果はないが、心筋に対してもある程度組織呼吸を改善するものと思われる。橋本¹⁰⁾は冠循環を遮断し、心筋を無酸素状態にして Cytochrome C の効果を検査しているが、心筋代謝障害や冠循環低下がある場合には Cytochrome C



N : 非投与群, C : Cytochrome C 投与群, P : Prednisolone 投与群

a, b, c, d はそれぞれ循環停止30分, 60分, 70分, 90分に於ける $\dot{V}_{O_2}$ -uptakeを示す。説明は本文参照。

図9 循環停止時間の延長に伴う腎組織の O_2 -uptake の変動



N : 非投与群。C : Cytochrome C 投与群,

P : Prednisolone 投与群

説明は本文参照のこと。

図10 循環停止時間の延長に伴う腎組織の Q_{O_2} の変動

は有効であると述べている。しかし Prednisolone 投与群ではその Q_{O_2} 曲線は前2者とは全く形を異にし、いづれの時間の循環停止に於ても対照値より低く、組織呼吸の面から心筋に対する効果は認め難い。

肝臓では、 Q_{O_2} 曲線は3群とも相似形で、70分循環停止に於てのみ酸素負債の状態を示した。従つて循環停止30分ならびに60分では、何ら組織呼吸は障害されないが、90分になると不可逆的組織呼吸障害のため、酸素消費量は対照値以下となつたものと考えられる。即ち肝臓では3群ともに70分が循環停止の限度であるとするのが妥当であろう。ただ Cytochrome C 投与群の Q_{O_2} 値が循環停止時間の延長とともに最も対照値に近接して変動しているので軽度ながら組織呼吸改善にあたり効果があつたものと考えられる。

既に田村³⁰⁾が報告した如く、組織呼吸の面から見れば、腎臓は何ら薬物を投与しなくても少くとも90分またはそれ以下の循環停止に充分耐え得るものと思われ。従つて著者が行なつた90分以内の循環停止実験では Cytochrome C ならに Prednisolone の効果は判然としないのは当然であろう。

総 括

健常雑犬に於て熱交換器を内臓した人工心肺を用い、灌流冷却により超低体温 (10°C) を来さしめ、所定の時間 (30分, 60分, 70分, 90分) 循環停止を行ない、復温蘇生直後、犬の重要臓器 (大脳, 心筋, 肝臓, 腎臓) の組織呼吸を Warburg 法で測定し、 Q_{O_2} 値を求め、これらの値を Cytochrome C 投与群 (2 mg/kg),

Prednisolone 投与群 (60mg per dog), 非投与群の各群別に比較し、次の結果を得た。

1) Cytochrome C は超低体温下循環停止後の組織呼吸を改善する。これは特に大脳において著しく、少くとも組織呼吸の面から循環停止許容時間を70分より90分に延長することが出来る。心筋, 肝臓に関しては本剤を投与した場合、循環停止時間の延長に伴い Q_{O_2} 値は非投与群に比較してより対照値に近接して変動するのでやはり有効であると云える。しかし腎の組織呼吸に対する本剤の効果は循環停止90分までの実験では判然としなかつた。

2) Prednisolone は組織呼吸に関する限り有害無益である。

結 語

重要臓器の組織呼吸の面から見て、超低体温下循環停止を行なう場合、Cytochrome C を投与することは有利である。

本論文の要旨は第18回日本胸部外科学会総会に於て発表した。擧筆するに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りたる恩師八牧力雄教授に感謝の意を捧げると共に、本実験に御便宜を頂いた衛生学教室有蘭初夫教授並びに教室員諸兄姉、また本研究遂行の為に御協力を賜つた教室員各位に対し厚く御礼申し上げる。

文 献

- 1) 相沢豊三, 田崎義昭, 五藤雄一郎, 工藤英子, 海老原進一郎, 秋山 実, 高木康行: Cytochrome C の脳血管障害に対する影響。内科, 8: 957, 1961.
- 2) Beinert, H., Matthew, P. and Richey, E.O.: Studies on the incorporation of injected cytochrome c into tissues cells. J. Biol. Chem., 186: 167, 1950.
- 3) Bernaud, T. and Vannotti, A.: Variation du taux du cytochrome c dans les etats dinaniation chez le lapin. Schweiz. Med. Wschr., 85: 174, 1955.
- 4) Björk, V.O. and Hultquist, G.: Brain damage in children after deep hypothermia for open heart surgery. Thorax, 15: 284, 1960.
- 5) Cleveland, W.W., Clerch, A.R., Slonim, R., Gadboy, H.L. and Litwak, R. S.: Adrenal

- function during extracorporeal circulation. Arch. Surg., **90** : 868, 1965.
- 6) 遠藤三樹男, 三宅 有, 片根敏郎, 山田 満, 井上四郎, 能坂 丹, 森山 満, 鈴木 昇, 高橋雅俊: 人工心肺による低体温時に於ける酸塩基平衡の問題について. 麻酔, **11** : 641, 1961.
- 7) Fuhrman, G.J., Fuhrman, F.A. and Field, J. : Metabolism of rat heart slice with special reference to effects of temperature. Am. J. Physiol., **165** : 642, 1950.
- 8) 原 三郎: 薬理学入門. 369, 1966.
- 9) 堀 嘉之, 小林 登, 土橋静雄: Cytochrome C の応用に関する基礎的並びに臨床的研究—特に無酸素症と関係ある新生児疾患について—. 臨床内科小児科, **17** : 801, 1962.
- 10) 橋本虎六: Cytochrome C (酵母) の cardiac arrest に対する影響. チトクロン文献集, 基礎篇: 44, 1963.
- 11) 亀谷 忍: 血液冷却による低体温下の酸素消費量の実験的及び臨床的研究. 日胸外会誌 **11** : 21, 1962.
- 12) 兼行俊博: 超低温下循環停止に関する実験的研究—特に血液 Buffer Base の変動及び主要臓器の病理組織学的所見—日本外科宝函, **34** : 760, 1965.
- 13) 加瀬正夫, 小野順一, 中尾 恵, 安永君代, 吉益暢夫: Cytochrome C とその臨床的応用. 治療, **42** : 1706, 1960.
- 14) Kayne, H.L., Taylor, N. and Alpert, N.R. : Regulation of oxygen consumption in rat liver slice. Am. J. Physiol., **206** : 1091, 1964.
- 15) 古賀 昇: 人工心肺の研究, 特に体外循環による酸塩基平衡の変動及びその病態生理に関する実験的研究. 久留米医誌, **24** : 1683, 1960.
- 16) Lesage, M.A., Sealy, W.C., Young, W.G. and Lee, J.M. : Experimental studies on profound hypothermia induced and reverted with a pump oxygenator. Ann. Surg., **156** : 831, 1963.
- 17) Lesage, M.A., Tsuchioka, H., Young, W.G. and Sealy W.C. : Tolerance of dogs to deep hypothermia. Arch. Surg., **89** : 677, 1964.
- 18) Mark, L.J., King, D.W., Kingsbury, P.F., Boyett, J.E. and Dell, E. S. : Physiologic role of adrenal cortex in the maintenance of plasma volume following hemorrhage or surgical operation. Surg., **58** : 510, 1965.
- 19) 長坂 信: 低体温に於ける副腎皮質機能の実験的研究. 名古屋医学, **79** : 1871, 1958.
- 20) 檜崎靖人: 超低温下循環停止に関する実験的研究—重要臓器の組織像並びに組織呼吸に及ぼす循環停止の影響—. 日本外科宝函, **34** : 1028, 1965.
- 21) Neville, W.E., White, W.E. and Verdura, J. : Relationship of flow rate, "Excess Lactate" and buffer base during closed chest profound hypothermia perfusion. Surg., **55** : 281, 1964.
- 22) 王 照宗: 冬眠動物ゴールデン・ハムスターに於ける超低温下循環停止に関する実験的研究. 日本外科宝函, **34** : 760, 1965.
- 23) Proger, S., Dekaneas, D. and Schmidt, G. : Some observation on the effect of injected cytochrome c in animals. J. Clin. Invest., **24** : 864, 1945.
- 24) Proger, S. and Dekaneas, D. : Some effects of injected cytochrome c in myocardial and cerebral anoxia in man. J. Pediatr., **29** : 729, 1946.
- 25) Rosenthal, T.B. : The effect of temperature on the pH of blood and plasma in vitro. J. Biol. Chem., **173** : 25, 1948.
- 26) 三共株式会社編: チトクロン文献集, 基礎篇 1, 1962.
- 27) 佐藤 了: 細胞呼吸の生化学. 科学, **33** : 161, 1963.
- 28) Singer, R.B. and Hastings, A.B. : An improved method for estimation of disturbances of acid base balance of human blood. Medecine, **27** : 223, 1948.
- 29) 砂田輝武, 稲田 潔, 松岡 潔, 寺本 滋, 勝村達喜, 浜村 宏, 石合省三, 中西正三, 小林一郎, 木村 博, 和木秀文, 安井 巖: 超低温による開心術. 胸部外科, **14** : 100, 1962.
- 30) 田村陽一: 超低温下循環停止に関する実験的研究—重要臓器の組織呼吸に及ぼす循環停止の影響—. 日本外科宝函, **34** : 1295, 1965.
- 31) Trede, M., Foote, A. V. and Maloney, J.V. : Pathophysiologic aspects of profound hypothermia with extracorporeal circulation. Ann. Surg., **154** : 210, 1961.
- 32) Van Slyke, D.D. and Neille, J.M. : The determination of gases in blood and other solution by vacuum extraction and by manometric measurement. J. Biol. Chem., **61** : 523, 1924.
- 33) Wolfson, S.K., Yalav, E. and Eisenstat, S. : An isothermic technique for profound hypothermia and its effect on metabolic acidosis. J. Thorac. and Cardiovas. Surg., **45** : 466, 1963.
- 34) 吉川春寿, 小倉安之, 関根隆光, 森田茂広, 高橋甫: ワールブルグ検圧計. 化学の領域増刊, **13**, 1963.