

学位論文題名

高度血液希釈人工心肺手術モデルにおける
パーフルオロケミカルによる酸素供給効果の検討

学位論文内容の要旨

【背景】パーフルオロケミカルは一般式 C_nF_m で表されるフッ化化合物である。パーフルオロケミカルはほとんどのガスに対し高い溶解性を示し、なおかつ、生物学的にきわめて不活性で生体内では分解を受けない。この二つの理由から、輸血に変わる酸素運搬体として注目されたが、1970年代後半から1985年にかけて世界中で臨床試験が行われたにもかかわらず、投与手技の煩雑さや、適応疾患に限られるなどといった理由により実際に臨床応用されるまでには至らなかった。その後、製剤技術の進歩により、第2世代というべき新たなパーフルオロケミカルが開発され、酸素運搬体としてだけでなく、画像診断における造影剤、腫瘍の診断と治療への応用、虚血性疾患における局所循環の改善、臓器保存など、現在多様な分野への応用が試みられている。しかし、輸血に変わる酸素運搬体としての応用はすすんでいない。その理由としては、次の二つの特徴が挙げられる。一つ目は、パーフルオロケミカルの酸素運搬能は酸素分圧に比例するため、組織に十分に酸素を供給するためには高濃度酸素吸入が必要であることである。二つ目は、半減期が短いため投与後2から3日で呼気中より排泄されてしまうことである。このため、気管挿管下での使用に限られる、投与数日後輸血が必要になる、といった問題がおこっている。一方、人工心肺を用いた心臓手術では、人工心肺使用中は必ず気管内挿管されており、また、人工肺での酸素化も可能である。また、体外循環中の一時的な貧血さえ乗り切ることができれば、術後は回路内の血液を体内に戻すことによりヘマトクリット値を上昇させることから、パーフルオロケミカルが排泄されても問題ないと考えられる。このことからパーフルオロケミカルは心臓手術での輸血にかわる酸素運搬体として有用であると考えられた。

以上のことを証明するため、高度血液希釈下においてパーフルオロケミカルが十分な酸素供給を行えるかを次に示す実験モデルを作成し検討した。

【材料および方法】実験動物は雌ビーグル犬15頭(9.0kg~11.0kg)を使用し、Control群(n=5)、Anemia群(n=5)、PFC群(n=5)の3群にランダムに分け比較した。パーフルオロケミカルは神戸学院大学薬学部製剤学福島昭二講師より提供を受けた28% perfluorooctyl bromideを使用した。

体外循環: Ketamine hydrochloride と thiamylal sodium により麻酔導入、気管内挿管し人工呼吸器に接続。人工心肺回路は人工肺に小児用の safe Mini (POLYSTAN、デンマーク)、ポンプはローラー型を使用した。回路容量は600mlであり、540mlの酢酸リンゲル液と60mlの牛アルブミンでプライミングした。挿血は左大腿動脈、脱血は右大腿動脈よりおこなった。心電図、持続動脈血圧、中心静脈圧、尿量、膀胱温をモニターした。

まず、Anemia群およびPFC群では人工心肺開始直前に900mlの瀉血をおこないヘマトクリット値を14~15%に調整した。人工心肺回路内にAnemia群では酢酸リンゲル液900mlを、PFC群ではパーフルオロケミカル600mlと酢酸リンゲル液300mlを補充し、人工心肺を開

始した。Control 群ではすぐに人工心肺を開始した。ポンプ流量を 70~80ml/kg/min に保ち、膀胱温 34℃まで冷却。冷却後、2 時間この状態を維持した後、膀胱温 36℃まで復温し、人工心肺を離脱させた。この際、回路内の血液、および瀉血した血液を体内に返血した。このまま 8 時間麻酔を維持した。採血、バイタルサイン測定は(1)麻酔導入時、(2)人工心肺開始前、(3)冷却完了後、(4)人工心肺維持 1 時間後、(5)人工心肺維持 2 時間後、(6)復温完了後、(7)人工心肺離脱後、(8)人工心肺離脱 4 時間後、(9)人工心肺離脱 8 時間後とした。採血では血清乳酸値、動脈血酸素分圧、二酸化炭素分圧、塩基欠損、ヘマトクリット値を測定した。終了後、安楽死させ肺を摘出した。

【結果】収縮期動脈血圧は Anemia 群では人工心肺中では Control 群と比較し、人工心肺終了後は Control 群、PFC 群と比較し優位に低く血行動態維持が困難であった。心拍数、中心静脈圧、時間尿量に差はなかった。Anemia 群では人工心肺終了約 4 時間後に 5 例中 3 例が死亡した。血清乳酸値は Control 群では経過中上昇を認めなかったが、Anemia 群では開始時と比較し約 5 倍まで上昇し、他の二群と比較し優位に高値であった。PFC 群では、Anemia 群と同じく低ヘマトクリット値でありながら、Control 群と同様上昇を認めなかった。摘出した肺の重量を測定したところ、Anemia 群では著明な浮腫を認め Control 群 PFC 群と比較し約 30%の重量増加を認めた。

【考察】本実験では、3 群すべてにおいて体重、体温、人工心肺などの条件を一定のものとし、動物内のエネルギー需要量は一定であると仮定した。この状況下で、嫌気性代謝の指標である血清乳酸値が上昇することは、すなわち、酸素供給量の低下を示すと考えられる。Anemia 群では人工心肺開始後時間経過とともに血清乳酸値の上昇を認めた。これは、高度血液希釈のため低ヘモグロビンとなり、酸素供給が十分におこなわれず組織において嫌気性代謝が亢進していることを反映したものである。一方、PFC 群では同じ酸素需要量の元、同じヘモグロビン量であったにもかかわらず、Control 群と同様の血清乳酸値の変動を示した。これは、組織中でパーフルオロケミカルによる酸素供給が充分におこなわれていることを示していると考えられる。この結果より、人工心肺手術中に PFC を投与した場合、ヘモグロビンの代わりになることを示すことができた。

この実験の制限としては、投与量、長期予後、問題が挙げられる。本実験では過去の実験結果より、パーフルオロケミカル濃度が人工心肺開始後 12~13%となるよう投与量を決定した。しかし、28%パーフルオロケミカルでは 60ml/kg となり、投与量が多くなる。高濃度パーフルオロケミカルの作成が期待される。また、今回人工心肺終了後 8 時間までしか測定しておらず、体内からパーフルオロケミカルが消失した後の血行動態についても検討する必要がある。

以上の問題を解決することにより、パーフルオロケミカルは輸血に変わる酸素運搬体として臨床応用されることが期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 安 田 慶 秀
副 査 教 授 北 畠 顯
副 査 教 授 劔 物 修

学 位 論 文 題 名

高度血液希釈人工心肺手術モデルにおける パーフルオロケミカルによる酸素供給効果の検討

パーフルオロケミカルは一般式 C_nF_m で表されるフッ素化合物でほとんどのガスに対し高い溶解能を持つため、輸血に変わる酸素運搬体として注目されている。しかし、酸素溶解能は酸素分圧に比例すること、半減期が短く数日で排泄されてしまうという特徴のため、気管内挿管、人工呼吸器管理が必要であり、また、排泄後に輸血が必要となり、輸血量を減らすことができても回避することはできないという臨床試験データもあり、臨床応用には至っていない。ここで、本論文では心臓手術において人工呼吸器や人工心肺回路より高濃度酸素吸入が容易であること、輸血が必要となるのは人工心肺中の血液希釈時であり一時的であることに注目し、パーフルオロケミカルの臨床応用に適していると考えた。

【材料および方法】雌ビーグル犬 15 頭 (9.0kg~11.0kg) を使用し、Control 群(n=5)、Anemia 群(n=5)、PFC 群(n=5)の 3 群にランダムに分け比較した。パーフルオロケミカルは神戸学院大学薬学部製剤学福島昭二講師より提供をうけた 28% perfluorooctyl bromide を使用した。体外循環：Ketamine hydrochloride と thiamylal sodium により麻酔導入、気管内挿管し人工呼吸器に接続。人工心肺回路は人工肺に小児用の safe Mini(POLYSTAN、デンマーク)、ポンプはローラー型を使用した。回路容量は 600ml であり、540ml の酢酸リンゲル液と 60ml の牛アルブミンでプライミングした。挿血は左大腿動脈、脱血は右大腿動脈よりおこなった。心電図、持続動脈血圧、中心静脈圧、尿量、膀胱温をモニターした。

まず、Anemia 群および PFC 群では人工心肺開始直前に 900ml の瀉血をおこないヘマトクリット値を 14~15%に調整した。人工心肺回路内に Anemia 群では酢酸リンゲル液 900ml を、PFC 群ではパーフルオロケミカル 600ml と酢酸リンゲル液 300ml を補充し、人工心肺を開始した。Control 群ではすぐに人工心肺を開始した。ポンプ流量を 70~80ml/kg/min に保ち、膀胱温 34℃まで冷却。冷却後、2 時間この状態を維持した後、膀胱温 36℃まで

復温し、人工心肺を離脱させた。この際、回路内の血液、および瀉血した血液を体内に返血した。このまま 8 時間麻酔を維持した。麻酔導入時、人工心肺開始前、冷却完了後、人工心肺維持 1 時間後、人工心肺維持 2 時間後、復温完了後、人工心肺離脱後、人工心肺離脱 4 時間後、人工心肺離脱 8 時間後の各時点で採血およびバイタルサイン測定を行った。採血では血清乳酸値、動脈血酸素分圧、二酸化炭素分圧、塩基欠損、ヘマトクリット値を測定した。終了後、安楽死させ肺を摘出した。

【結果】収縮期動脈血圧は Anemia 群では人工心肺中では Control 群と比較し、人工心肺終了後は Control 群、PFC 群と比較し優位に低く血行動態維持が困難であった。心拍数、中心静脈圧、時間尿量に差はなかった。Anemia 群では人工心肺終了約 4 時間後に 5 例中 3 例が死亡した。血清乳酸値は Control 群では経過中上昇を認めなかったが、Anemia 群では開始時と比較し約 5 倍まで上昇し、他の二群と比較し優位に高値であった。PFC 群では、Anemia 群と同じく低ヘマトクリット値でありながら、Control 群と同様上昇を認めなかった。摘出した肺の重量を測定したところ、Anemia 群では著明な浮腫を認め Control 群 PFC 群と比較し約 30%の重量増加を認めた。

公開発表に際して、副査の劔物修教授から PFC の酸素溶解能と輸血製剤との比較、副作用について、北畠頭教授から PFC の投与量、過去の製剤との違い、今後の改良点について、また主査の安田教授から実験中の膠質浸透圧、さらに高濃度の PFC 作成についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は関連研究論文、自分自身の実験データを引用し概ね妥当な回答をなし得た。この研究は人工心肺による高度血液希釈下で、PFC が輸血に代り酸素供給が可能であることを示したことで高く評価され、今後、体外循環手術における PFC 導入による無輸血手術への臨床応用への基礎データとして重要な治験である。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。