

●特集・血流障害と高気圧酸素治療

心筋虚血・再灌流障害と高気圧酸素療法

八反尚一郎*, 中澤博江*

近年, 急性心筋梗塞の治療として, 血栓溶解療法による再灌流の有効性は確立してきている。しかし再灌流障害の存在も注目されており, その原因として活性酸素・フリーラジカルやCa過負荷の関与が示されている。高気圧酸素環境下では血中の活性酸素が増加するにもかかわらず, 動物実験では虚血・再灌流障害に対して高気圧酸素療法により心筋壊死領域が減少する成績がある。血栓溶解療法の補助として高気圧酸素療法の臨床応用が期待され, 時に致死的となる再灌流不整脈に対する効果は今後の検討課題と思われる。

キーワード: 心筋虚血, 再灌流障害, 活性酸素, カルシウム過負荷, 高気圧酸素療法

Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Hyperbaric Oxygen Therapy

Naoichiro Hattan* Hiroe Nakazawa*

*Department of Physiology 2, Tohoku University

Coronary reperfusion following ischemia induces further injury to the myocardium. Active oxygens including free radicals and Ca overload have been proposed to contribute to reperfusion injury.

Although hyperbaric oxygen therapy increases free radical levels in the blood, it was shown that the therapy limited infarct size in the reperfused heart in animal experiment. The effect on reperfusion arrhythmias remains to be examined.

Keywords: _____

ischemic myocardium
reperfusion injury
reactive oxygen species
Ca overload
hyperbaric oxygen therapy

はじめに

心筋梗塞症例に適切な時期に再灌流を実施すれば, 梗塞巣の縮小や左室機能の改善が得られる。したがって血栓溶解療法や経皮的冠動脈形成術(PTCA)による再灌流療法は確立された治療法となり, 死亡率の低下やQOLの改善に寄与している。一方では閉塞した冠動脈の再開通によって虚血障害は改善するものの再灌流による障害が生じる事も知られている¹⁾。この再灌流障害の原因としては活性酸素・フリーラジカルやCa過負荷の関与が注目されている。本稿では活性酸素・フリーラジカルに焦点をあてて再灌流障害の発生メカニズムについて概説し, 心筋虚血・再灌流障害に対する高気圧酸素療法の位置づけを述べる。

虚血・再灌流障害とは

再灌流障害には以下の4つの基本的な病態がある²⁾。① lethal reperfusion injury (再灌流心筋壊死): 不可逆的な心筋壊死が虚血の進行によるのではなく再灌流にともなって生じるもの。② vascular reperfusion injury (血管に対する再灌流障害): 再灌流によって微小循環の障害をきたすもので, 具体的には no reflow 現象や出血性壊死, 冠血管予備能の低下などを認める。③ stunned myocardium (気絶心筋): 心筋は壊死に陥っていないがその収縮力は血流が回復してもすぐに改善

*東海大学医学部生理2

表1 活性酸素種とその構造

	名 称	構 造
ラジカル	スーパーオキシド	O_2^-
	ヒドロパーオキシラジカル	$HOO\cdot$
	ヒドロキシルラジカル	$HO\cdot$
	アルコキシルラジカル	$LO\cdot$
	脂質パーオキシラジカル	$LOO\cdot$
	一酸化窒素	$NO\cdot$
	二酸化窒素	$NO_2\cdot$
非ラジカル	過酸化水素	H_2O_2
	一重項酸素	1O_2
	次亜塩素酸イオン	ClO^-
	過酸化脂質	$LOOH$
	パーオキシナイトライト	$ONOO^-$
	励起 ONOOH	$ONOOH^*$

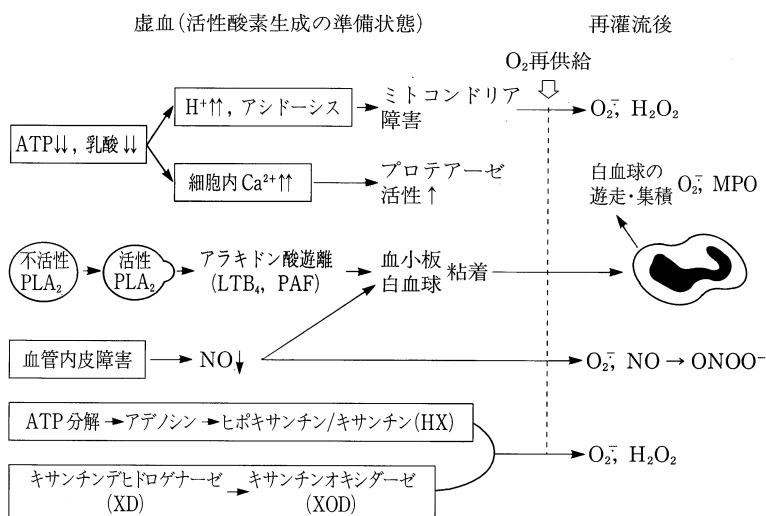


図1 虚血変化と活性酸素生成

せず、収縮障害が数時間から数日間持続する心筋の機能的障害。④ reperfusion arrhythmia (再灌流不整脈)：再灌流直後から数分以内に生じる心室頻拍や心室細動などの不整脈。

活性酸素・フリーラジカルとは³⁾

フリーラジカルとは1個ないし複数個の対電子(1電子だけで一つの原子軌道または一つの分子軌道を占有する電子)をもつ分子もしくは原子の総称である。したがって他の分子の電子を奪う

かあるいは他に電子を供与し、電子対を形成しようとするために一般に反応性に富む。一方、活性酸素とは酸化活性に富む酸素種の総称であり、表1に示すごとくフリーラジカルと非ラジカルが存在する⁴⁾。これらの活性酸素の中でOH⁻は特に反応性が高く組織障害性が強い。

虚血時の心筋代謝

心筋が必要とする莫大なエネルギーは、脂肪酸やブドウ糖を基質として主としてミトコンドリア

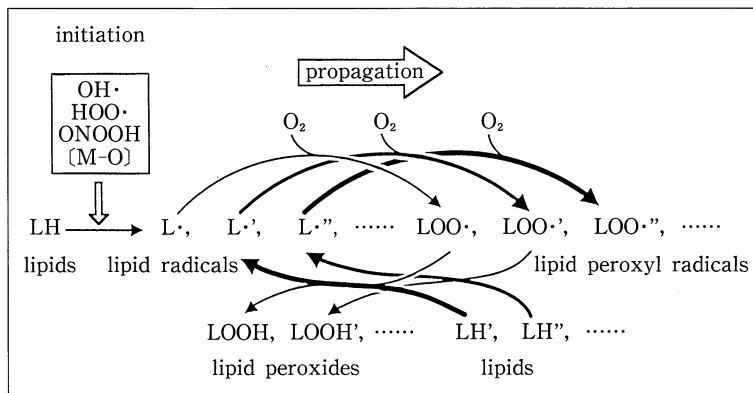


図2 活性酸素による脂質過酸化反応

での好氣的代謝（酸化的リン酸化）によって作られている。したがって心筋細胞は他の細胞に比較して大量のミトコンドリアを持つ（全細胞容積の1/3を占める）。作られたATPはクレアチンリン酸（CP）として貯えられ、アクチン、ミオシンの相互滑走時にクレアチンフォスフォキナーゼ（CPK）によってATPに変換されて利用される。虚血に陥った心筋では酸素供給の低下からミトコンドリアでの酸化的リン酸化によるATP産生が抑制され、CPは急激に減少し2分後には殆ど消費され無機リン酸となる。ATPの減少は20～30秒からはじまり5～15分で1/3以下になる。組織は嫌氣的解糖系亢進による乳酸の生成と、ATP分解によってプロトン（ H^+ ）が生じ、さらに血流低下によるこれら代謝産物のwash outの低下とあいまってアシドーシスとなる。

再灌流時の活性酸素の産生⁵⁾（図1）

虚血心筋に於いて再灌流後数分以内に活性酸素が爆発的に発生することが実験的に証明されている⁶⁾。その機序として以下のことが挙げられる。

①ミトコンドリアからの産出：虚血により細胞内イオン環境の破綻をきたした状態ではミトコンドリア内の電子伝達系の障害による電子の漏れが生じ、再供給された酸素に電子が渡され O_2^- および H_2O_2 が産生される。②キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系による産生：虚血心筋ではATPの加水分解によりアデノシンを経てヒポキサンチン/キサンチンが蓄積する。一方血管内皮ではCa依存性プロテアーゼによりキサンチンデヒドロゲ

ナーゼがキサンチンオキシダーゼに変換されるため、酸素の再供給に伴い O_2^- および H_2O_2 が産生される。③アラキドン酸カスケード：血管内皮細胞では虚血によりホスホリパーゼ A_2 （ PLA_2 ）が活性化され膜リン脂質からアラキドン酸が遊離し、プロスタグランジン G_2 （ PGG_2 ）、ロイコトリエン B_4 （ LTB_4 ）、血小板凝集因子（PAF）などが生成される。 LTB_4 やPAFは白血球遊走因子として作用する。④活性化好中球による産生：好中球はNADPHオキシダーゼを持ち、活性化されると O_2^- を生成する。 O_2^- は白血球から放出されたミエロペルオキシダーゼ（MPO）によりCl⁻存在化で次亜塩素イオン（ OCl^- ）を生じる。 OCl^- は強い酸化力を持ち、またアンモニアの塩素化によりさらにモノクロルアミン（ NH_2Cl ）を生成する。⑤血管内皮の関与：血管内皮細胞は恒常的に一酸化窒素（NO）を産生しており、冠血管拡張や白血球接着抑制、血小板凝集抑制などの作用を有している。NOは再灌流によって生じる O_2^- と速やかに反応しパーオキシナイトライト（ ONOO^- ）を生成する。

活性酸素の障害性

再灌流によって生じた活性酸素の引き起こすラジカル反応は、図2に示すように相手の電子を奪うとその相手分子がラジカルとなるため、反応が連鎖して進行して行く特徴をもつ。その主なターゲットは膜脂質で、過酸化により膜の構造や機能の変性をもたらす。変性により膜透過性が亢進すると後述するCa過負荷にもつながる。他に活性

酸素は蛋白質を構成するアミノ酸の官能基, SH 基を攻撃する。また上述の ONOO⁻は脂質過酸化反応や-SH 基の酸化反応に加え、遷移金属イオンの存在化に NO₂⁺を生成しチロシンその他の芳香族アミノ酸残基をニトロ化する能力を有し、細胞障害分子として注目されている⁷⁾。

虚血により不可逆的な傷害を受けた心筋細胞はやがて壊死に至る。再灌流がこの過程を加速させることは知られているが⁸⁾、再灌流がまだ可逆的な障害しか受けていない心筋細胞を不可逆的な壊死にすることを証明するのは非常に困難である。その目的で施行された実験は多数あり、再灌流壊死を引き起こすと目されている再灌流時の活性酸素の発生の抑制(発生源である白血球の除去や接着抑制など)や、活性酸素消去剤(SOD)の投与実験などである。その結果は必ずしも一致していないが、われわれの教室での実験を含め再灌流後の心筋壊死領域の縮小効果を認めるものが多い⁹⁾¹⁰⁾。

血管に再灌流障害が生じると、虚血による LTB₄や PAF 産生亢進に内皮細胞障害による NO 産生低下も加わり、再開通した血流によって運ばれる白血球の遊走及び粘着や血小板の凝集が亢進し、微小血管の塞栓などを生じる。さらに局所で活性化された白血球より活性酸素が遊離され悪循環に陥る。

気絶心筋の病態は再灌流で生じた活性酸素によって心筋収縮蛋白の Ca 感受性が低下したことによって生じると考えられており、ATP の生成量低下などのエネルギー代謝の関与は否定的されている。

再灌流不整脈を惹起する電気生理学的異常は多岐にわたり、再灌流時の空間的不均一な回復過程によるリエントリーの成立、Ca 過負荷や活性酸素の産生により促進されるトリガードアクティビティ、自動能の亢進などによるとされている。

心筋内 Ca 過負荷¹¹⁾¹²⁾

再灌流によって、細胞外 H⁺の wash out, Na-H 交換系を介した細胞内 Na の増加が生じる。ATP 枯渇により Na-K ATPase が機能しない状況では、この Na の増加は Ca-Na 交換系を逆方向に作動させ心筋内への Ca 流入を促進する。また Ca-ATPase 機能の低下も Ca 過負荷を助長す

る。Ca 過負荷は異常自動能の一つである後電位・遅延後脱分極(delayed afterdepolarization: DAD)を発生させ、これによりトリガードアクティビティと呼ばれる異常興奮をもたらす。また、細胞間の電氣的連絡路である gap junction 部のチャンネルは Ca 濃度によって開閉が調節されており、細胞内 Ca の上昇はこのチャンネルを閉じるよう働き、伝導遅延やブロックを生じることになる。また Ca 過負荷による中性プロテアーゼの活性化を起点として、細胞膜上のイオンポンプやチャンネルのみならず、細胞膜、細胞骨格収縮蛋白が障害を受け、心筋収縮性が低下する。さらに Ca 依存性プロテインキナーゼ C の活性化により troponin I がリン酸化されることによる心筋収縮の低下も関与する。

高気圧酸素療法と虚血再灌流

1960年代、心筋梗塞患者の入院中の死亡率は約30%であった。その後CCUで不整脈管理することにより死亡率は半減したが、ショックや重症心不全を合併した患者の死亡率は依然として高かった。再灌流法のなかった当時、虚血部周辺への酸素供給による心機能の改善を期待し高気圧酸素療法の適応が試みられている。動物実験に於いてはある程度の効果が得られたが、60年代当時、実際に心筋梗塞患者に適応された結果としては有意な死亡率の改善は得られていない¹³⁾。

前述の様に虚血心再酸素化時に酸素フリーラジカルの産生増加が示され、また高気圧酸素環境下でも活性酸素の基質である酸素濃度上昇により、血中の活性酸素の増加が証明されている¹⁴⁾。したがって活性酸素が再灌流障害の一因であることが示されている今日、心筋虚血に対し再灌流療法に高気圧酸素療法を組み合わせることは再灌流障害を増強させることが予想される。しかしながら実際に高気圧酸素環境下での虚血再灌流を検討した動物実験では心筋壊死領域の有意な減少が認められているためその成績を紹介する。

麻酔犬の冠動脈に血栓塞栓を作製し、2時間後に高圧酸素療法、血栓溶解療法および両者の併用を90分程実施した成績がある¹⁵⁾。血栓は左前降枝に銅コイルを留置することにより作製し、高気圧酸素は2気圧100%とし、血栓溶解療法にはt-PAを用いた。結果は図3に示すように、心筋壊死

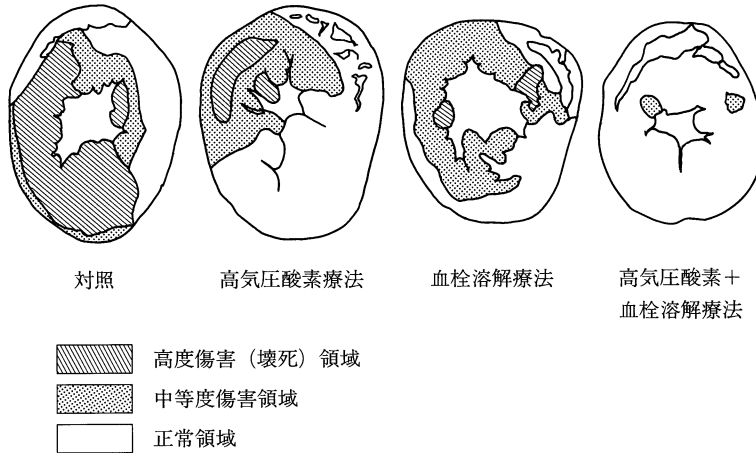


図3 犬心筋梗塞モデル TTC 染色による梗塞領域のトレース。(文献15より)。

対照：左前下降枝に血栓塞栓を作製し，無治療にて3時間30分観察。
 高気圧酸素療法：血栓作製2時間後より2気圧100%酸素を90分投与
 血栓溶解療法：血栓作製2時間後にt-PAを投与し90分観察
 高気圧酸素 + 血栓溶解療法：血栓作製2時間後より両治療を併用
 対照群は虚血部の殆どが壊死に陥ったが，高気圧酸素と血栓溶解療法の組み合わせが最も効果的に心筋壊死領域を縮小させた。

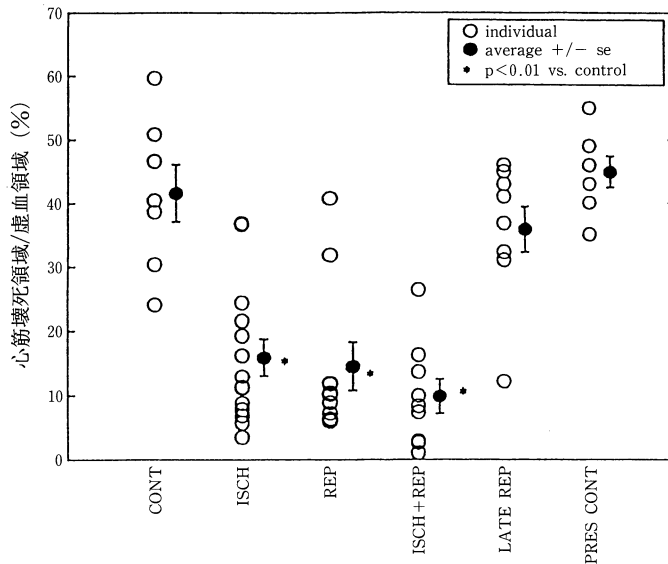


図4 兎虚血灌流モデルにおける高気圧酸素療法の効果。(文献16より)

CONT：100% 1気圧酸素下に冠動脈を30分結紮し，3時間再灌流を実施
 ISCH：虚血時30分のみ高気圧酸素療法（2.5気圧純酸素）実施後，再灌流
 REP：再灌流時のみ（結紮解除5分前より3時間）高気圧酸素療法実施
 ISCH+REP：虚血再灌流全過程で高気圧酸素療法実施
 LATE REP：再灌流後期のみ（再灌流終了前30分）高気圧酸素療法実施
 PRES CONT：虚血再灌流全過程を2.5気圧（40%酸素，60%窒素）で実施

領域の縮小と oxidative enzyme 活性の回復を認めている。

麻酔兔の冠動脈を30分結紮し、その後3時間再灌流を実施したモデルもある¹⁶⁾。1気圧純酸素下の虚血再灌流をコントロールとし、高気圧酸素療法(2.5気圧純酸素)実施を、虚血時のみ、再灌流時のみ(結紮解除5分前より3時間)、虚血再灌流全過程および再灌流後期のみ(再灌流終了前30分)の群に分け梗塞領域を検討したものである。結果は再灌流時のみを含めて早期より高気圧酸素投与した群で梗塞縮小効果が得られている(図4)。

虚血心筋を救うには一般に、出来る限り早急に血流を再開し酸素を供給することが重要である。上述の動物実験において再灌流前の高気圧酸素投与も急性心筋壊死に対し有効であった。すなわち酸素供給による利益が、増加した活性酸素による障害を上回ったことを示すものである。酸素供給のルートとして犬の場合、豊富な側副血行を介した可能性がまず考えられる。しかし、兎に関してはヒトと同様側副血行は発達しておらず、静脈レベルでの吻合により酸素が供給されている可能性が示唆されている。心臓の収縮拡張に伴い心外側の細動脈、毛細血管、細静脈いずれの血流も逆流が生じていることが観察されており¹⁷⁾、高気圧酸素によって豊富に酸素を含んだ静脈血が虚血領域の毛細血管床まで到達していることが考えられる。

おわりに

虚血・再灌流と活性酸素・フリーラジカルについては、これまでに多くの総説²³⁾¹⁰⁾があるので詳細はそれにゆずり、本稿では高気圧酸素療法を関連させて述べた。高気圧酸素下では心拍数減少にともなう心拍出量の低下や、左室収縮力の低下を示唆する結果も認められ、静脈吻合を介した酸素供給と共に虚血心筋に対し保護的に作用すると考えられる。心筋壊死という観点からは血栓溶解療法の補助として、高気圧酸素療法は臨床応用が期待される。また再灌流不整脈を検討したものはなく、興味のある所ではあるが、万一高気圧酸素療法実施中に致死的不整脈が生じた場合、その対処は困難と思われ、今後の検討課題であろう。

[参考文献]

- 1) Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest* 76: 1713-1719, 1985
- 2) Robert A, Kloner. Does Reperfusion Injury Exist in Humans? *J Am Coll Cardiol* 21: 537-545, 1993
- 3) Nakazawa H, Genka C, Fujisima M. Pathological aspect of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 46: 15-32, 1996
- 4) 伴 和信, 吉武基之, 中澤博江. 冠循環とフリーラジカル. *循環器科* 40: 561-565, 1996
- 5) 星合清隆, 中澤博江, 広田有希. 心筋虚血. *臨床検査* 40: 166-170, 1996
- 6) McCord JM. Free radicals and myocardial ischemia: overview and outlook. *Free Rad Biol Med* 4: 9-14, 1988
- 7) Ishida H, Ichimori K, Hirota Y, Fukahori M, Nakazawa H. Peroxynitrite-induced cardiac myocyte injury. *Free Rad Biol Med* 20: 343-350, 1996
- 8) Fishbein MC. Reperfusion injury. *Clin Cardiol* 13: 213-217, 1990
- 9) Nakazawa H, et al. The link between free radical and myocardial injury. *Jpn Circ J* 52: 151, 1988
- 10) Nakazawa H. Is free radical generation an important component of ischemia/reperfusion injury? Part I. *Redox Report* 1: 177-179, 1995
- 11) 宮崎利久, 小川 聡. 虚血再灌流と不整脈. *nano GIGA* 2: 816-822, 1993
- 12) 北風政史, 堀 正二, 鎌田武信. 心筋 Na^+ ・ Ca^{2+} 動態よりみた虚血再灌流障害とアデノシンの心筋保護効果. *進歩する心臓研究* XV: 7-18, 1995
- 13) Whalen RE, Saltzman HA. Hyperbaric oxygenation in the treatment of acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis.* 10: 575-583, 1968
- 14) Narkowicz CK, Vial JH, McCartney PW. Hyperbaric oxygen therapy increases free radical levels in the blood of humans. *Free Rad Res Comms.* 19: 71-80, 1993
- 15) Thomas MP, Brown LA, Sponseller DR, Williamson SE, Diaz JA, Guyton DP. Myocardial infarct size reduction by the synergistic effect of hyperbaric oxygen and recombinant tissue plasminogen activator. *Am Heart J.* 120: 791-800, 1990
- 16) Sterling DL, Thornton JD, Swafford A, Gottlieb SF, Bishop SP, Stanley AWH, Downey JM. hyperbaric oxygen limits infarct size in ischemic rabbit myocardium in vivo. *Circula-*

- tion. 88 (part 1) : 1931-1936, 1993
- 17) Ashikawa K, Kanatsuka H, Suzuki T, Takishima T. Phasic blood flow velocity pattern in

epimyocardial microvessels in the beating canine left ventricle. *Circ Res.* 59:704-711, 1986