

第 III 章 : 動物実験

高周波数 QRS 電位と心機能の関連性

1. 目的

開心術後の心機能の回復状態を適確に判断してその回復に応じて術後管理を進めていくことが成績向上につながる。心拍出量の測定、経食道心臓超音波検査など直接的に心機能を評価することが最も有用であろう。しかしながら、体格が小さい小児の場合には機器の挿入や適応そのものに限界があり、未だ的確な指標がない。

松下ら [6] は成人開心術後の重症心不全例における QRS 複合電位の高周波数成分の変動の解析から、高周波数電位の変化率が補助循環の適応あるいは離脱の指標になりうる可能性を指摘した。これまでの検討では QRS 複合の高周波数電位の変動が直接心収縮機能との比較がされていないため、その意義が曖昧であった。本実験の目的は動物モデルを用いて、QRS 複合の高周波数電位の変化と心機能の変化の関連性を解析して、心機能の評価の新しい指標として QRS 複合の高周波数電位解析の可能性を検討することである。

2. 対象と方法

本研究に関わるすべての動物実験は、筑波大学動物実験取扱規定に基づいて遂行された。

(1) 動物

体重が 440-500g の 6 匹の雄性ラット (Wister 系) を用いた。

(2) 麻酔

ペントバルビタール 40mg/kg、硫酸アトロピン 0.02mg/kg をラット腹腔内へ注入して全身麻酔とした。気管切開を行い、ここから 16G テフロン製静脈留置用カテーテルを挿入して気道を確保した。これに小動物用容量制御型人工呼

吸器を接続した。筋弛緩薬に臭化パンクロニウム 0.1mg/kg を静脈内投与して調節呼吸を行った。呼吸器の条件は換気回数 100 回/分、1 回換気量 3ml、吸入酸素濃度 21%、呼気終末期陽圧 3cmH₂O を基準とした。実験中の麻酔の維持はペントバルビタール 40mg/kg/時の持続静脈内投与を行った。

(3) 術前処置 (図-14、15)

ラットを仰臥位に固定し、前述のように全身麻酔下に呼吸器条件を整えた。24G 静脈カテーテルを右大腿静脈に留置して、麻酔薬の投与経路とした。胸骨正中切開および左開胸を行い、心臓とその心尖部を露出した。データ集積における下大静脈閉塞用に 2-0 絹糸で下大静脈を確保した。

心内圧と心室容積を同時に測定するために 2Fr, 5 電極 (電極間距離 2mm) のコンダクタンスカテーテル (Unique Medical Co.,Ltd., Tokyo, Japan) と 2Fr tip micromanometer (Mikro-Tip catheter transducers SPC-320, Miller Instruments Inc., Houston, USA) を心尖部から左心室内へ留置した。5-0 ポリプロピレン糸により心尖部を挙上しながら 18G 注射針により心尖部を穿刺して、そこから上記 2 本のカテーテルを挿入して固定した。

加算平均心電図用に 7 個の試作心外膜電極 (Unique Medical Co.,Ltd., Tokyo, Japan) を心表面に刺着した。電極の位置は互いに直交する X,Y,Z 軸方向に近い電位が得られるように配置した。

(4) 実験手順 (図-16)

実験準備が終了した後、血行動態を安定させるため 10 分間の安定期間を設けた。

まず、前述の定常換気状態において加算平均心電図と左心室内圧-容積軌跡を同時記録し、これを基準値とした。その後、換気回数 40 回/分の低換気を 10 分間行い、続いて再び換気回数 100 回/分の定常換気を 10 分間行った。この間、加算平均心電図と左心室内圧-容積軌跡の同時記録を 5 分毎に行った。複数の圧-容積軌跡を記録するため下大静脈の一時的な閉塞により心臓前負荷を減弱

させた。これにより収縮期末心内圧-容積関係を決定した。

(5) 加算平均心電図

加算平均心電図は前述のベクトル・マグニチュード法により ART LP-Pac Q system (Arrhythmia Research Technology, Inc., Austin, Texas, USA) を使用して記録した。全身麻酔後に7個の電極を心臓外膜に直交する X、Y、Z の3方向ベクトルが得られるように刺着した (図-15)。QRS 複合テンプレート認識プログラムを使用して各測定点で1分間記録して、これを増幅、デジタル化、そして平均化した。この記録を磁気ディスクに記録保存した。

(6) 心内圧-容積関係

左心室内圧-容積関係軌跡は Integral 3 VPR-1001 system (Unique Medical Co., Ltd., Tokyo, Japan) を使用して記録した。

心室内容積はコンダクタンスカテーテル法を用いて計測した [45]。左心室内に留置したコンダクタンスカテーテルおよび tip micromanometer とそのコントロールユニット Model TCB-500 (Millar Instruments Inc., Houston, Texas, USA) を VPR-1001 system と接続して左室内圧と容積を同時に記録した。

全てのアナログ信号はサンプル周波数 1000Hz でパーソナルコンピュータ (PC-9821 La10, NEC, Tokyo, Japan) に取り込み。12ビットアナログ-デジタル変換により磁気ディスクに記録保存した。

実験中は心室内圧-容積関係軌跡をパーソナルコンピュータの画面上に表示させることにより連続的にモニタした。

心室容積の推定値決定に必要な血液電導性 [46] は、各実験の開始時と終了時に測定して、パーソナルコンピュータに入力した。平衡電導率は実験終了後に高張食塩水を静脈内注入して測定した [45]。

(7) 血液ガス分析

別の4匹のラットで血液ガス分析のデータを解析した。

前述した同じ方法で麻酔及び術前処置を行い、実験手順に沿って各測定点において血液サンプルを採取した。血液は左心室心尖部から 27G 針で直接穿刺により採取した。これを血液ガス分析装置 (Radiometer ABL system 615, Copenhagen, Denmark) により解析した。

(8) データ解析

(8-1) 加算平均心電図

記録された心電信号 QRS 複合の開始点から終点までを 80-250 Hz の双方向性デジタル帯域フィルターにより低周波数成分を除去して、これをフィルター処理後 QRS 複合とした。このフィルター処理後 QRS 複合 (80-250 Hz) から各測定点における二乗和平方平均電位を求めて高周波数 QRS 電位とした。各症例で高周波数 QRS 電位 (80-250 Hz) は基準値からの百分率 (%) で表した。

(8-2) 心内圧—容積関係

心室内圧—容積軌跡解析ソフトウェア (Unique Medical Co., Ltd., Tokyo, Japan) を使用してデータの集積及び解析を行った。

圧—容積軌跡から以下の左室収縮機能の指標を計算した (図-17)。

心拍数 (HR)

1 回心拍出量 (SV) = 拡張末期容積—収縮末期容積

心拍出量 (CO) = 1 回拍出量 × 心拍数

1 回仕事量 (SW) = 圧—容積軌跡の面積

心室収縮期末期圧—容積比 (Emax) ; 各測定点における複数個の圧—容積軌跡による収縮期末圧—容積関係から解析ソフトウェアによりその傾き Emax を算出した (図-17)。

心仕事量—拡張末期容積関係の勾配 (Mw) ; 各測定点において複数個の圧—容積軌跡における心仕事量 (SW) とその時の拡張末期容積 (EDV) をもとめ、これを SW を縦軸、EDV を横軸とした平

面上にプロットした。これより回帰直線をもとめて、その傾きを M_w とした (図-18)。

(9) 統計解析

結果は平均値±標準偏差で表した。高周波数 QRS 電位および心機能の各指標の変化は基準値の百分率で示した。基準値と各測定点における測定値の比較を paired Student's t 検定により行った。高周波数 QRS 電位の変化と各指標の変化の関連を直線回帰分析により解析した。統計学的な有意差は $p < 0.05$ を用いた。

すべての統計学的処理はコンピュータソフトウェア (STATVIEW-J 4.02, Abacus Concept Inc., Berkeley, Calif.)で行った。

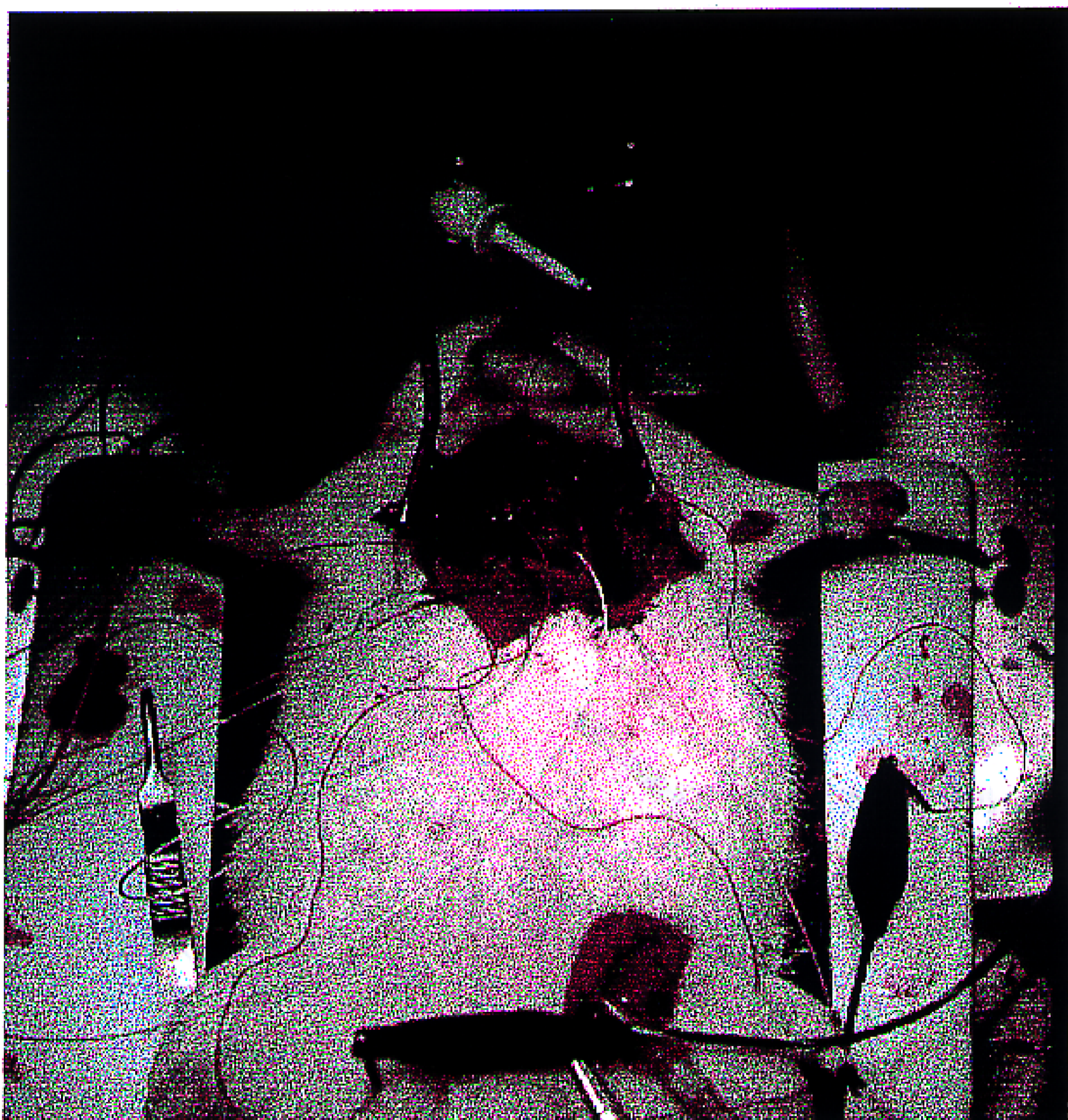


図-14 実験準備

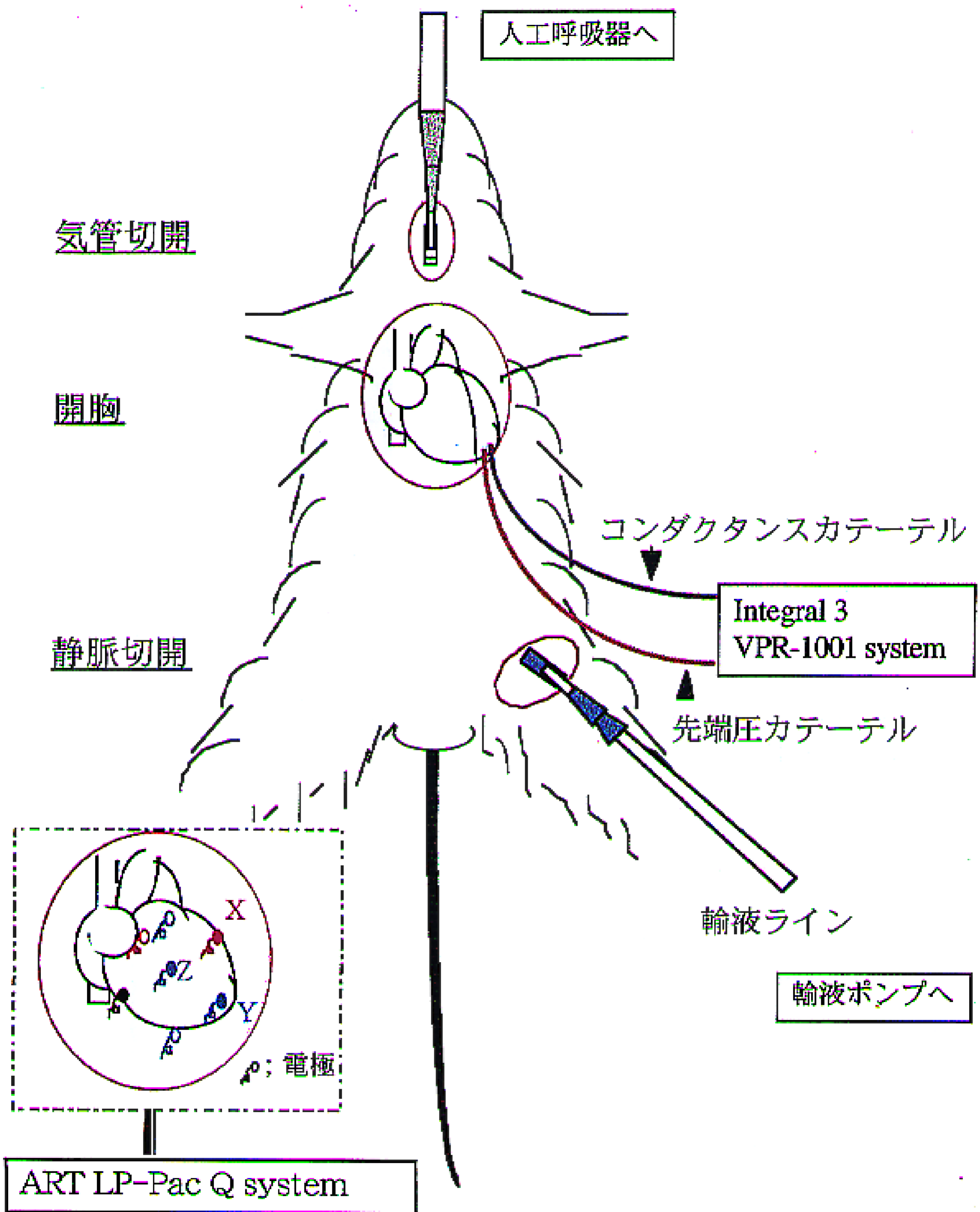


図-15 実験概略図

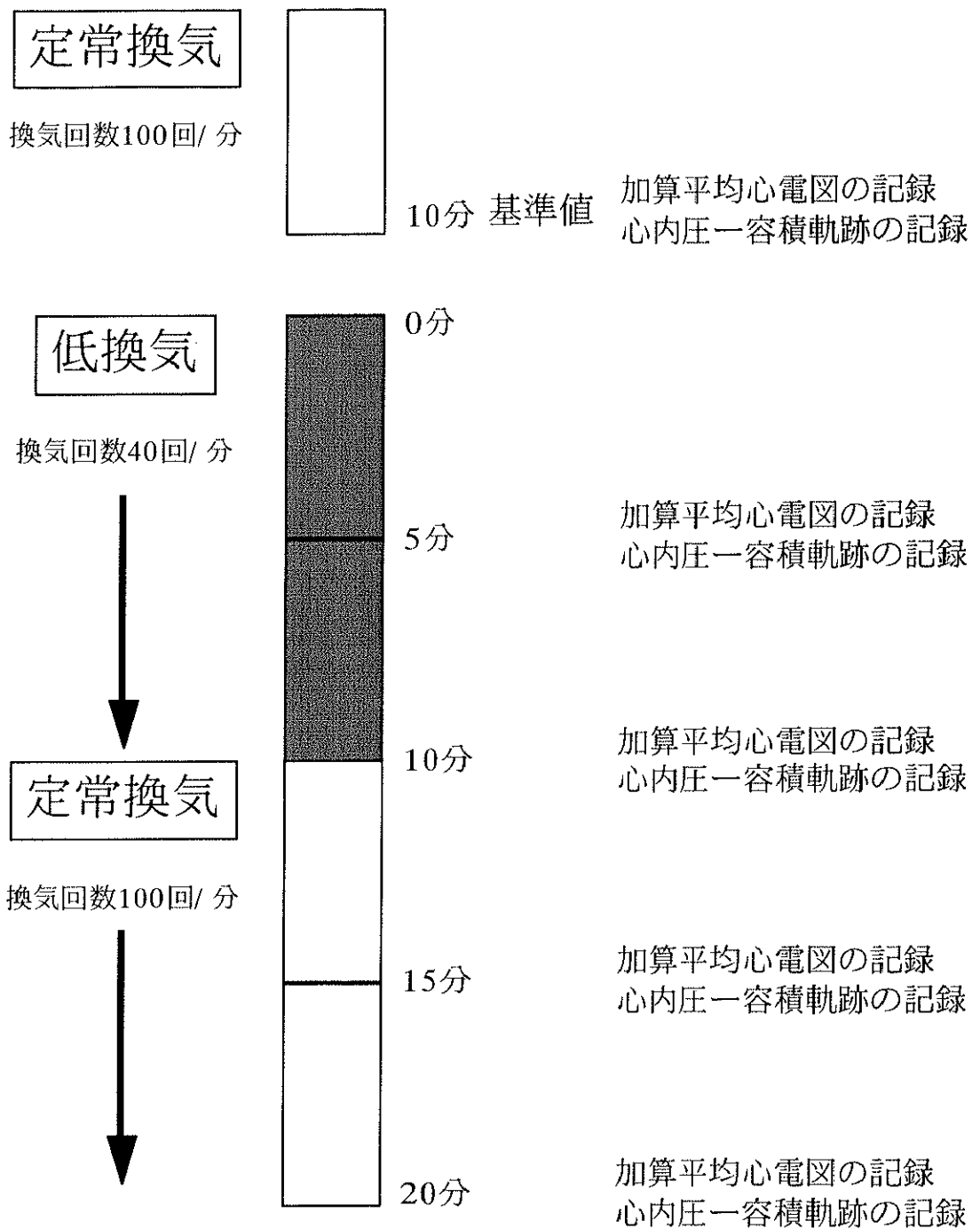
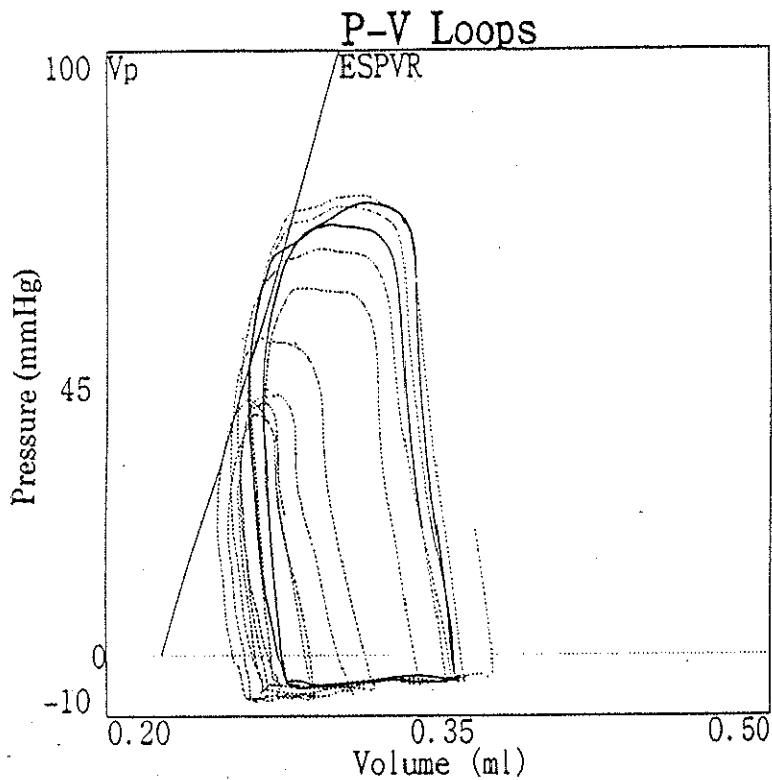


図-16 実験手順



測定パラメーター

| | | |
|-----------|--------|-------------|
| 電極間距離 | 2.0 | mm |
| 測定電流 | 122.8 | μ A |
| 血液抵抗率 | 194.8 | Ω cm |
| 基準生食抵抗率 | 60.0 | Ω cm |
| 校正抵抗 | 50.00 | Ω |
| アンプゲイン | 420.0 | |
| サンプリング周波数 | 1000.0 | Hz |
| 移動平均点数 | 4 | |

解析結果

| | | |
|------|------------|------------------------|
| Ees | 1259.077 | mmHg/ml |
| VO | 0.225 | ml |
| Eed | -107.43046 | mmHg/ml ² c |
| べき乗 | 1.00 | (固定) |
| Vp | 0.200 | ml |
| SW | 5.34 | mmHg·ml |
| PVA | 6.76 | mmHg·ml |
| ESP | 61.85 | mmHg |
| ESV | 0.273 | ml |
| EDP | -4.85 | mmHg |
| EDV | 0.284 | ml |
| Pmax | 73.30 | mmHg |
| Pmin | -5.15 | mmHg |
| Vmax | 0.358 | ml |
| Vmin | 0.266 | ml |
| 心拍数 | 329.67 | bpm |

図-17 心内圧-容積関係

下大静脈閉塞により前負荷を変化させることで複数の圧-容積軌跡を得た。各軌跡から心仕事量、心内圧、心室容積などを求め、心収縮力の指標を計算した。複数個の圧-容積軌跡の収縮末期すなわち軌跡の左肩を結んだ直線の傾き、 E_{max} を求めた。

$$Y = -39.627 + 151.142 X; r^2 = 0.959$$

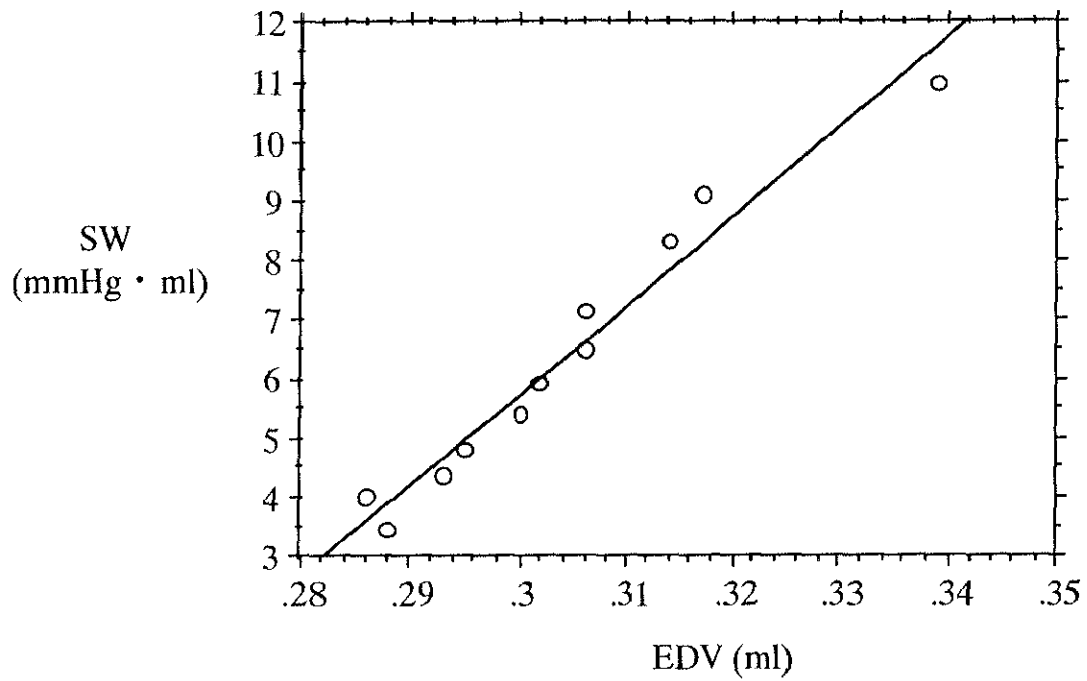


図-18 心仕事量—拡張期末容積関係

圧—容積軌跡から心仕事量 (SW) とその時の拡張期末容積 (EDV) を求めた。
直線回帰分析を行い、傾きを M_w とした。

3. 結果

(1) 血液ガス分析

(1-1) 酸素分圧、二酸化炭素分圧 (図-19)

酸素分圧は 73.2 ± 7.7 mmHg (基準値) から低換気時には 42.8 ± 1.7 mmHg (5 分値)、 43.3 ± 1.5 mmHg (10 分値) まで低下した。その後定常換気復帰により 58.6 ± 5.9 mmHg (15 分値)、 59.8 ± 7.1 mmHg (20 分値) まで回復した。

二酸化炭素分圧は相反するように、 36.2 ± 2.7 mmHg (基準値) から低換気状態により 56.3 ± 2.8 mmHg (5 分値)、 62.0 ± 1.9 mmHg (10 分値) にまで上昇した。その後は 44.2 ± 2.6 mmHg (15 分値)、 42.3 ± 1.4 mmHg (20 分値) に回復した。

(1-2) 動脈血酸素飽和度 (図-20)

同様に動脈血酸素飽和度は $93.4 \pm 4.5\%$ (基準値) から $48.0 \pm 4.7\%$ (5 分値)、 $45.1 \pm 0.9\%$ (10 分値) まで低下した。その後に回復は $76.8 \pm 8.1\%$ (15 分値)、 $80.3 \pm 6.9\%$ (20 分値) であった。

(1-3) pH (図-21)

7.456 ± 0.034 (基準値) から 7.261 ± 0.030 (5 分値)、 7.198 ± 0.025 (10 分値) まで低下した後、 7.332 ± 0.018 (15 分値)、 7.362 ± 0.014 (20 分値) と正常まで回復した。

(1-4) 塩基過剰 (図-22)

2.0 ± 1.4 (基準値) から -5.6 ± 1.2 (10 分値) まで低下した後、 -1.5 ± 1.5 (20 分値) まで回復した。

(2) 高周波数 QRS 電位の変化 (図-23)

低換気状態では基準値に対して $75.8 \pm 7.2\%$ まで有意に低下した。定常換気に復帰することによりほぼ基準値に回復した。

(3) 心機能指標の変化

(3-1) 心拍数 (図-24)

全過程を通して心拍数の変化は小さく、有意な変化はなかった。

(3-2) 心室収縮期末圧-容積比 (E_{max}) (図-25)

低換気状態では基準値に対して $61.4 \pm 12.7\%$ まで有意に低下した。定常換気に復帰することによりほぼ基準値に復帰した。

(3-3) 心仕事量-拡張期末容積関係 (M_w) (図-26)

低換気状態では基準値に対して $76.2 \pm 11.6\%$ まで低下した。定常換気に復帰することによりほぼ基準値に復帰した。

(3-4) 心拍出量 (図-27)

低換気状態では基準値に対して $72.8 \pm 19.1\%$ まで有意に低下した。定常換気に復帰することによりほぼ基準値に復帰した。

(4) 高周波数 QRS 電位の変化と心機能指標の変化の比較

低換気状態において E_{max} , M_w は高周波数 QRS 電位の変化と同様な変化の様態を示した (図-28、29)。心拍出量についてもほぼ同様な結果ではあったが、低換気 10 分において高周波数 QRS 電位と E_{max} および M_w は低換気 5 分よりも回復傾向を示しているのに対して、心拍出量は低下傾向のままであった。心拍出量は定常換気に戻して初めて回復傾向を示した (図-30)。心拍数は一定であり、高周波数 QRS 電位の変化とは関連がなかった (図-31)。

(5) 高周波数 QRS 電位の変化と心機能指標の変化の関連性

高周波数 QRS 電位の変化と心機能指標の変化の直線回帰分析の結果を図に示した。高周波数 QRS 電位の変化と心収縮能の指標である Emax や Mw はそれぞれ相関係数 $r=0.72$ ($p=0.0001$) (図-32)、 $r=0.61$ ($p=0.0014$) (図-33) の正の相関を認めた。高周波数 QRS 電位の変化と心拍出量との相関は $r=0.57$ ($p=0.037$) (図-34) で Emax や Mw に比較して低いものであった。

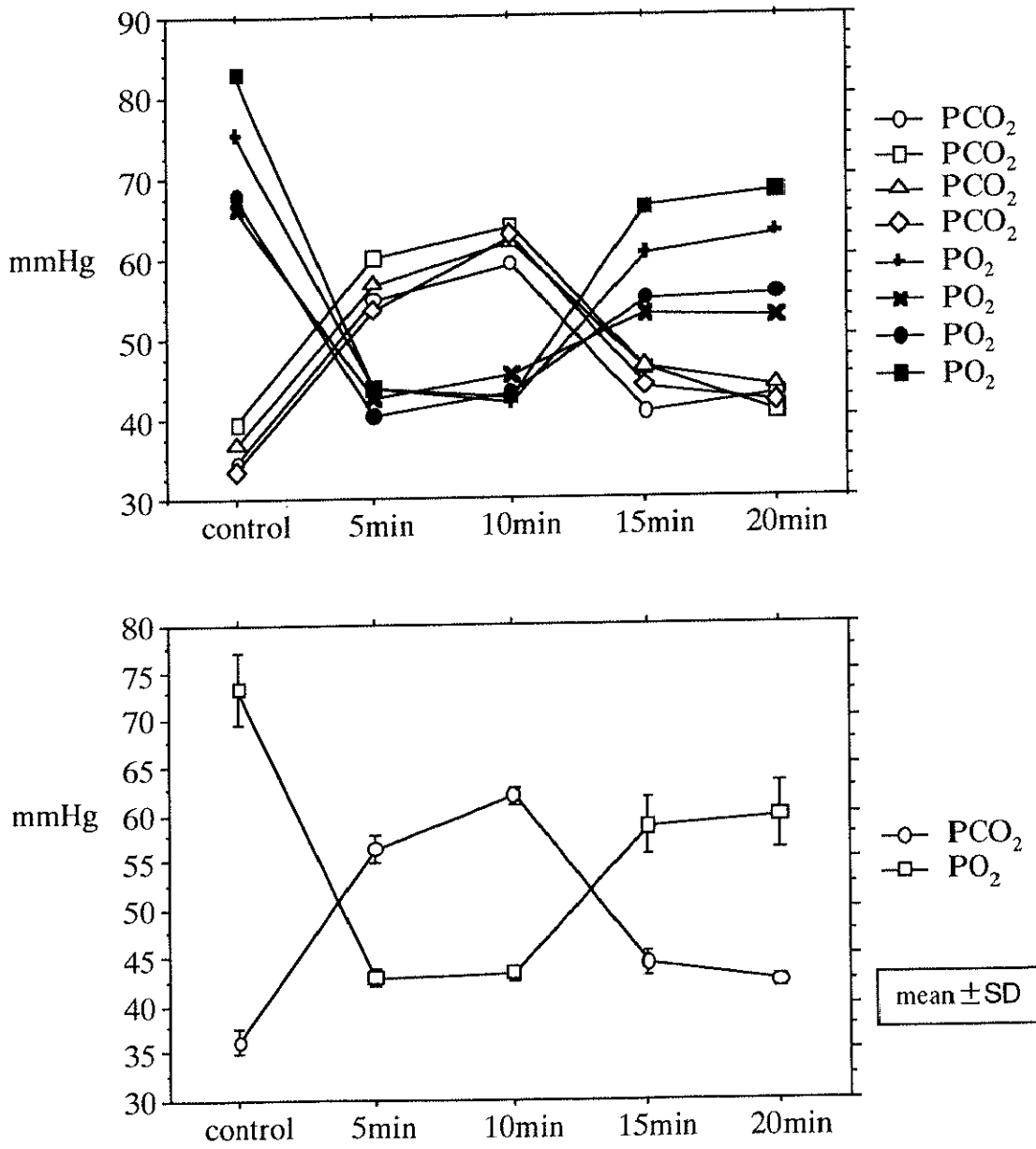


図-19 動脈血液ガス分析；酸素、二酸化炭素分圧

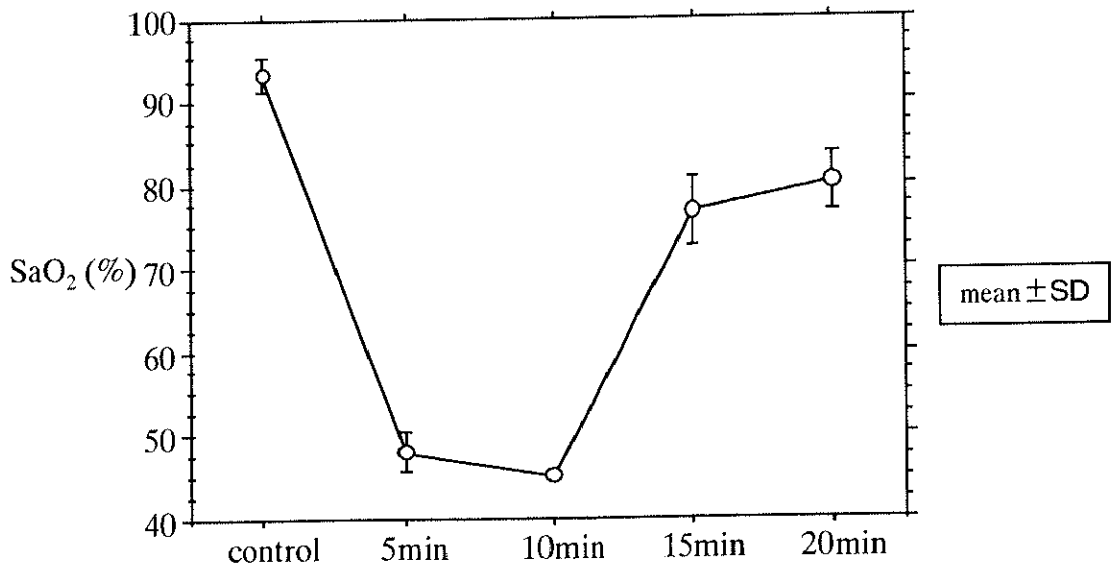
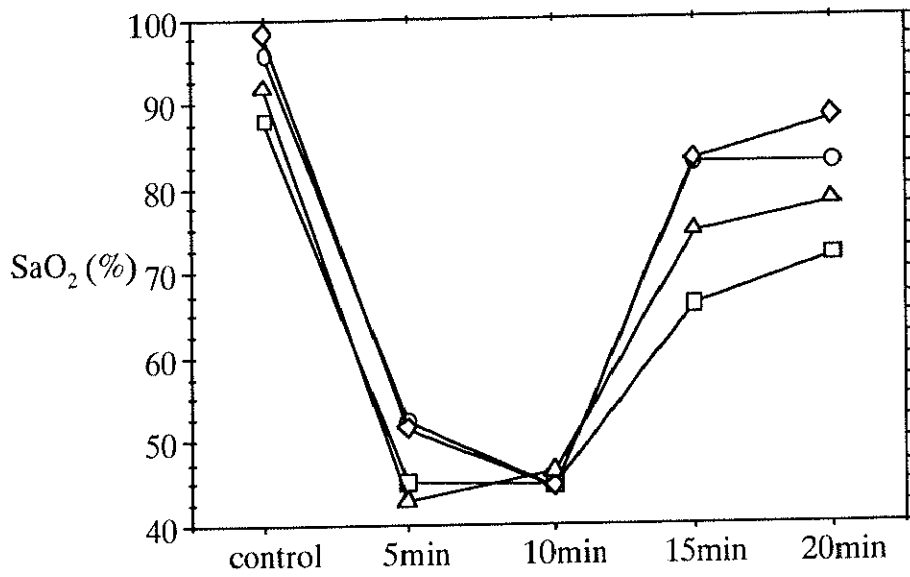


図-20 動脈血液ガス分析；酸素飽和度 (SaO₂)

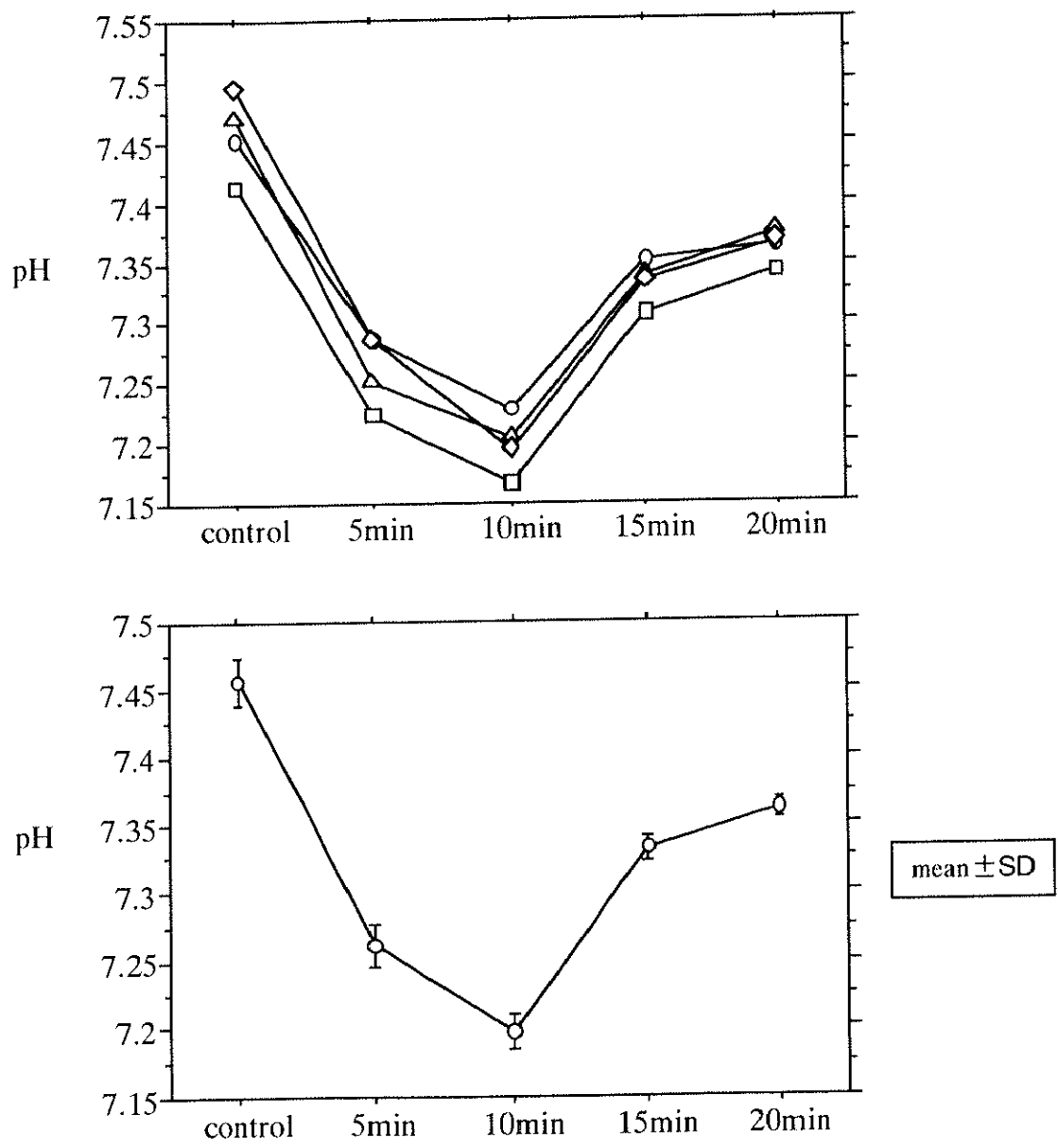


図-21 動脈血液ガス分析；pH

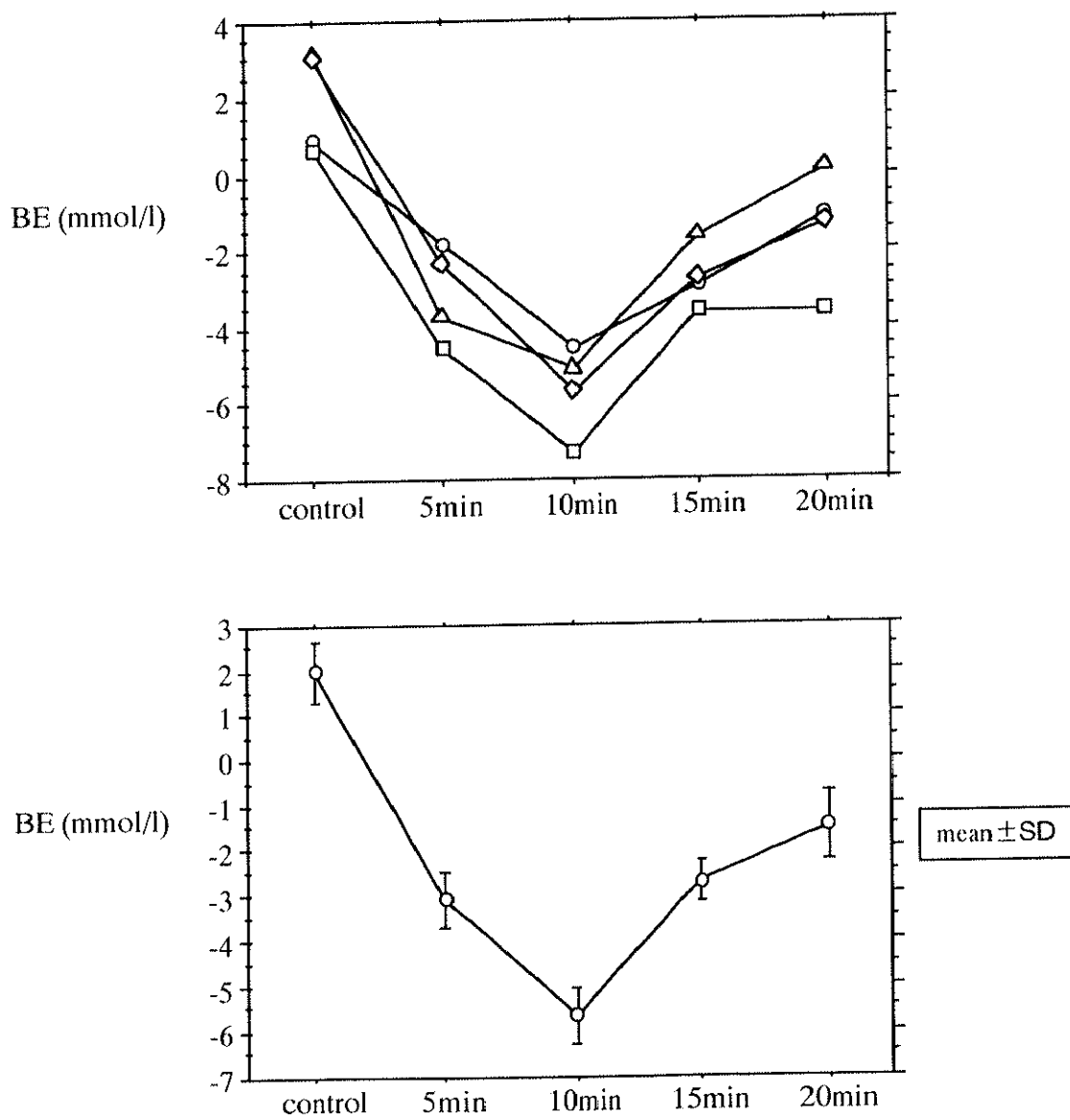


図-22 動脈血液ガス分析；塩基過剰 (Base excess)

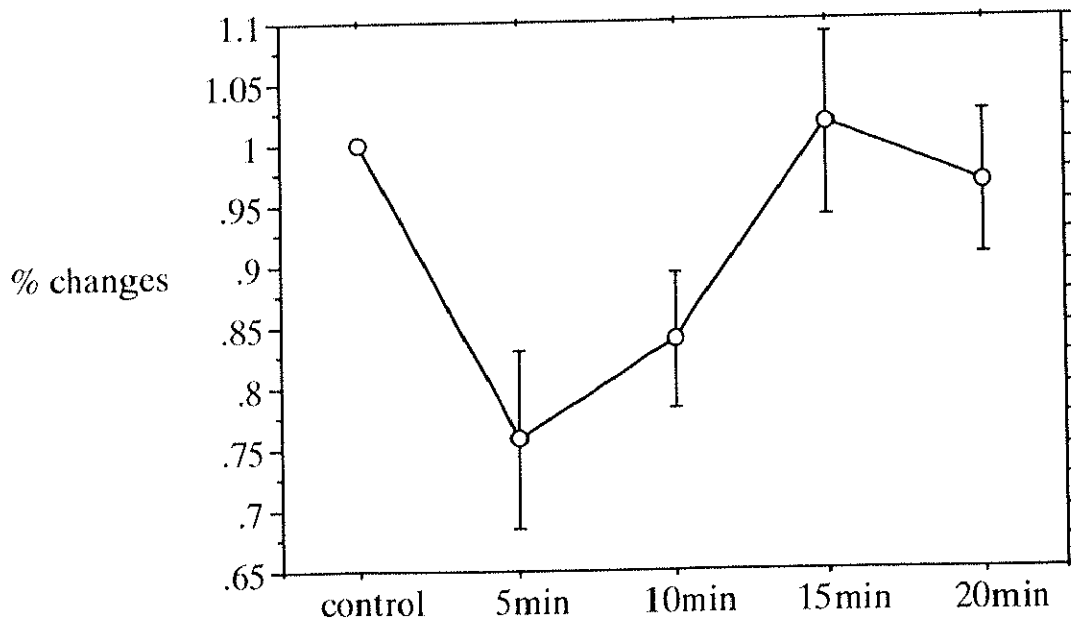
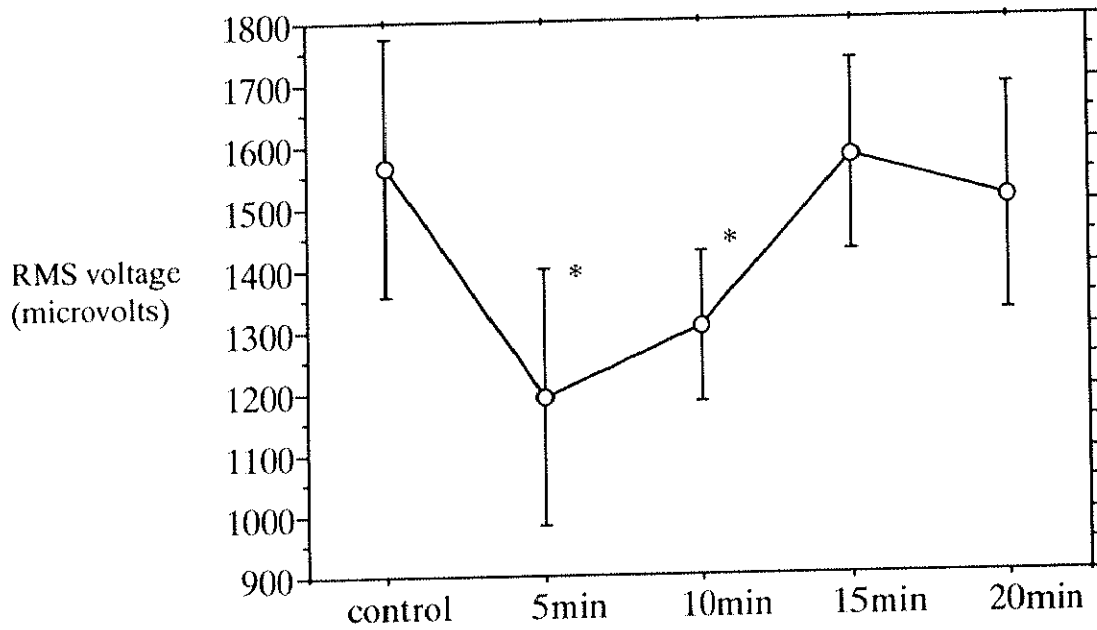


図-23 高周波数 QRS 電位の変化 (RMS voltage)

*P<0.05

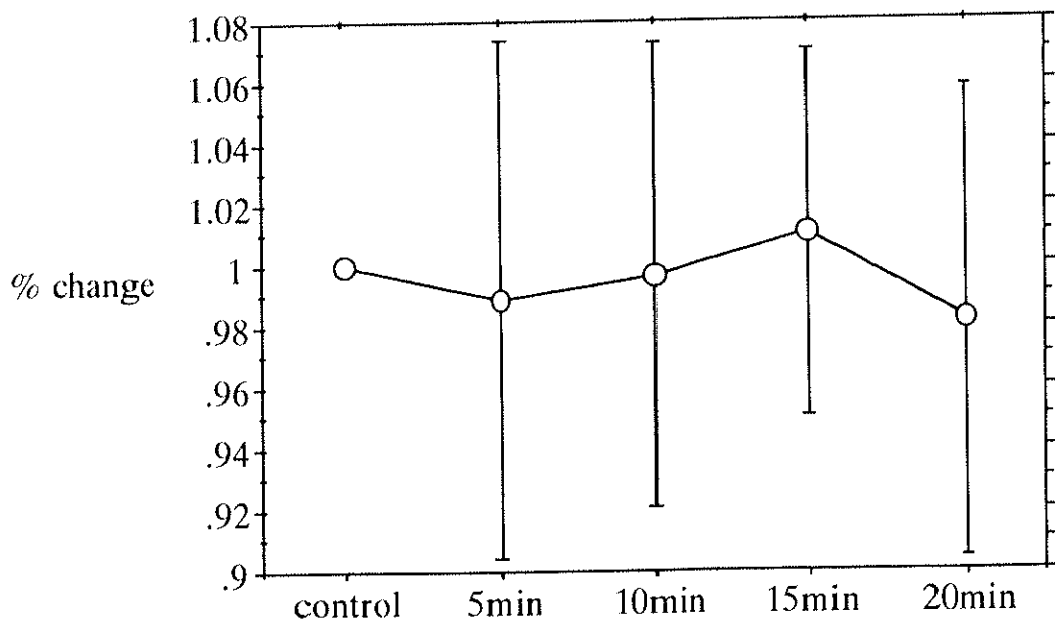
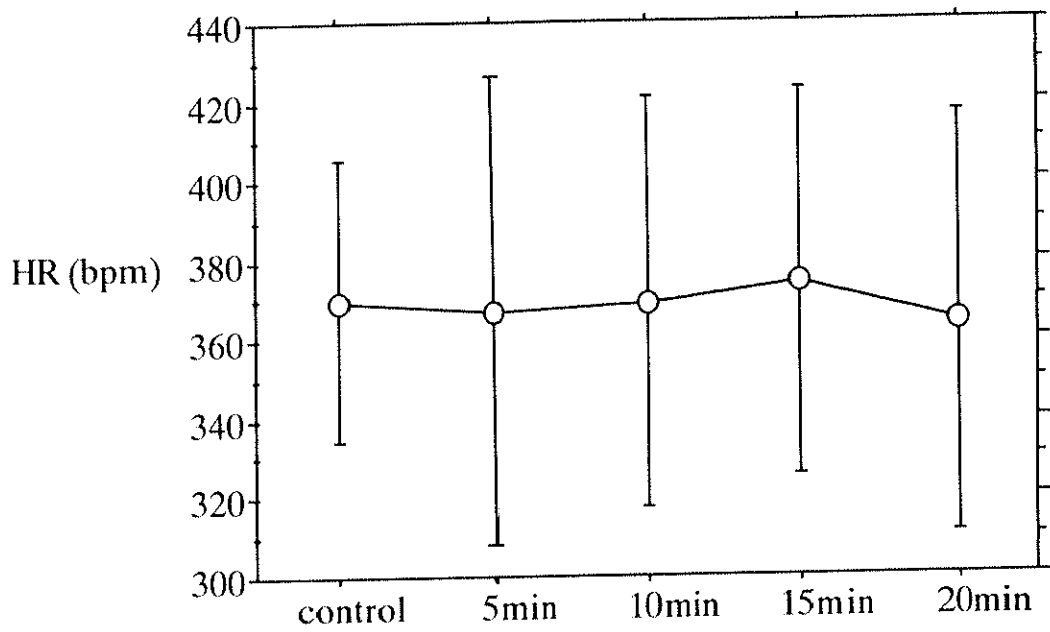


図-24 心拍数の変化 (HR)

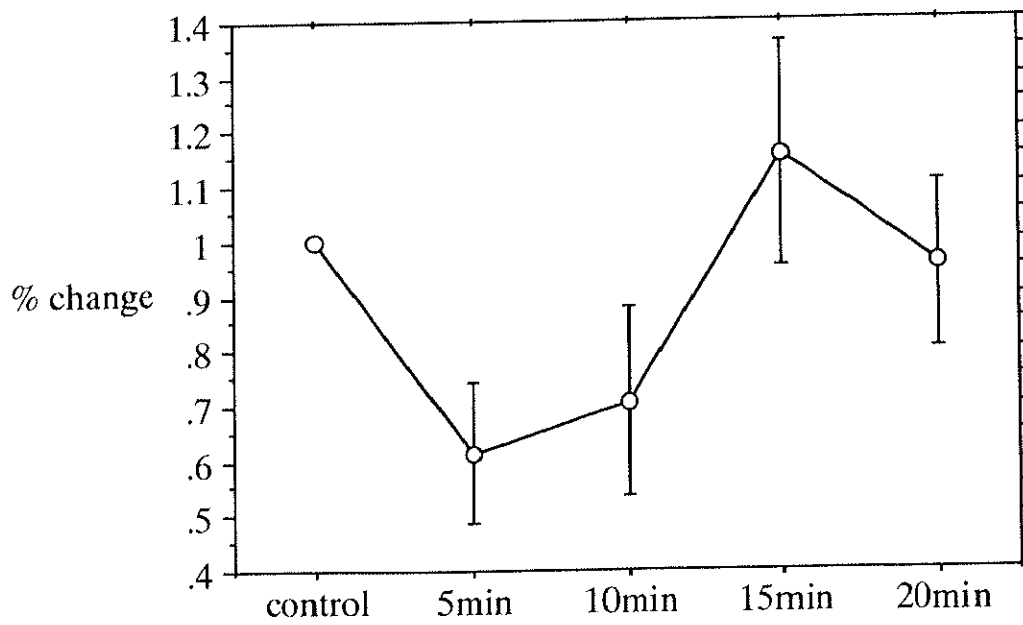
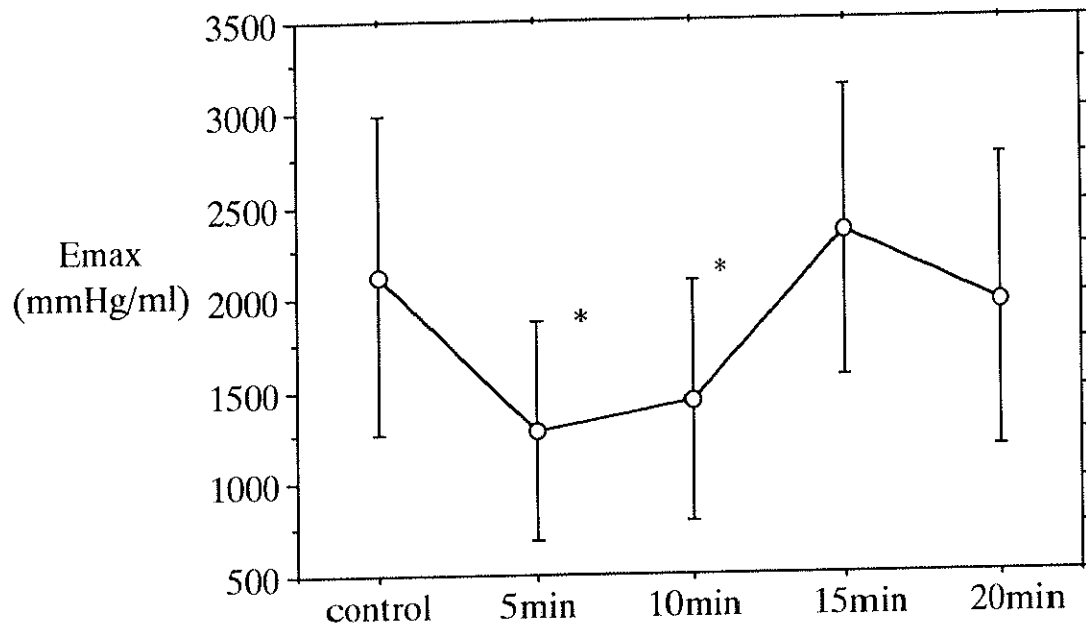


図-25 Emax の変化

* p<0.05

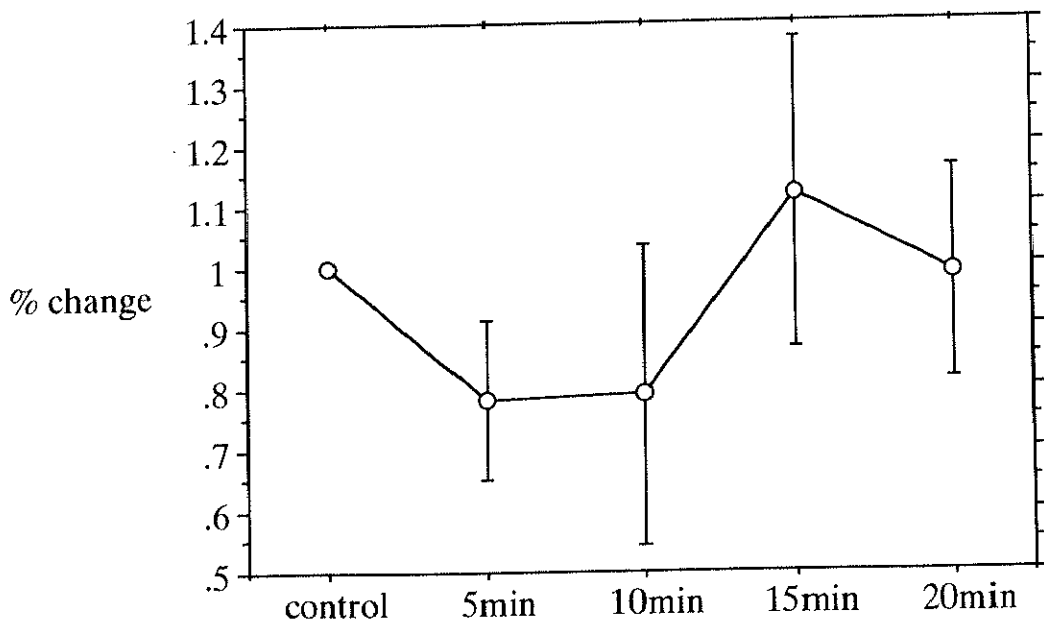
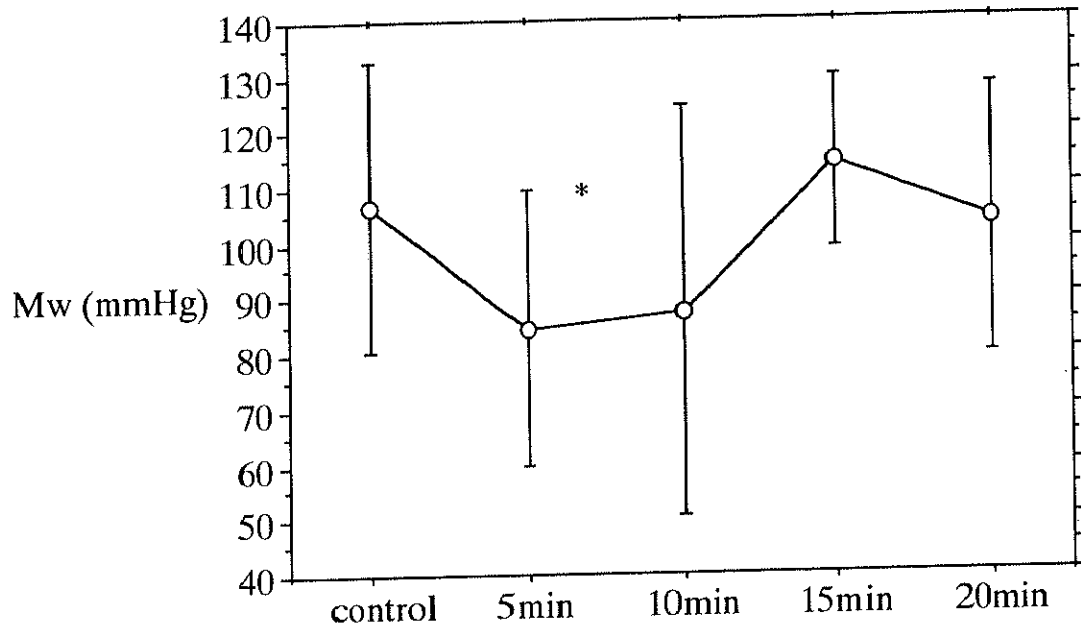


図-26 Mw の変化

*p<0.05

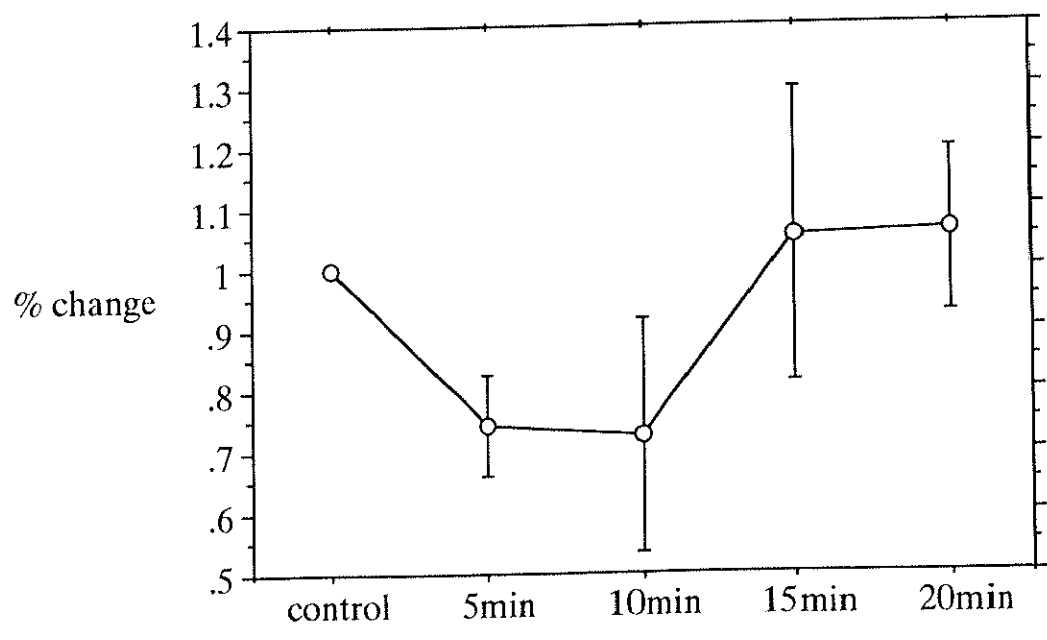
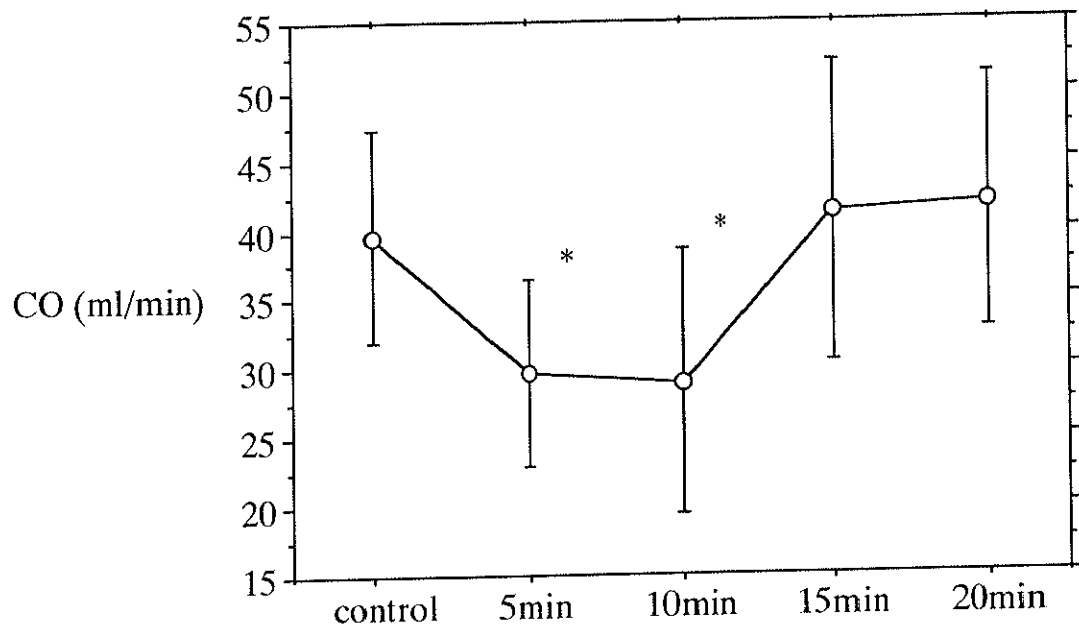


図-27 心拍出量の変化 (CO)

*p<0.05

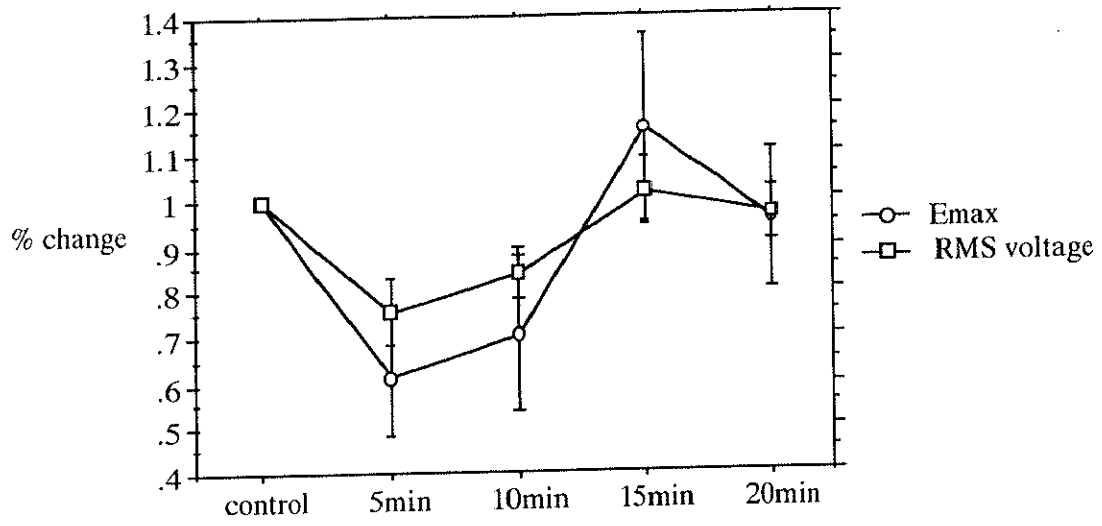


図-28 高周波数 QRS 電位と Emax の変化の比較

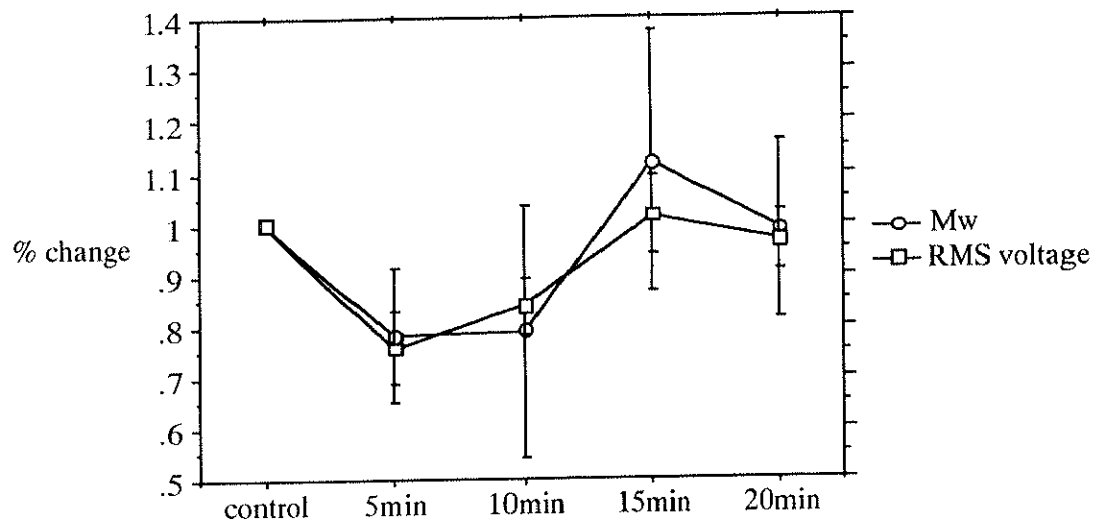


図-29 高周波数 QRS 電位と Mw の変化の比較

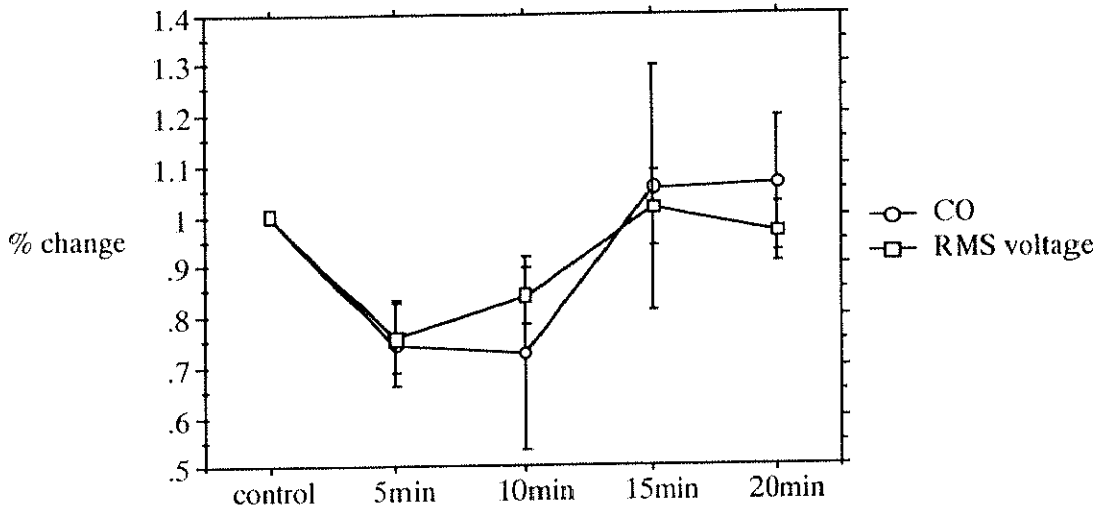


図-30 高周波数 QRS 電位と心拍出量の変化の比較

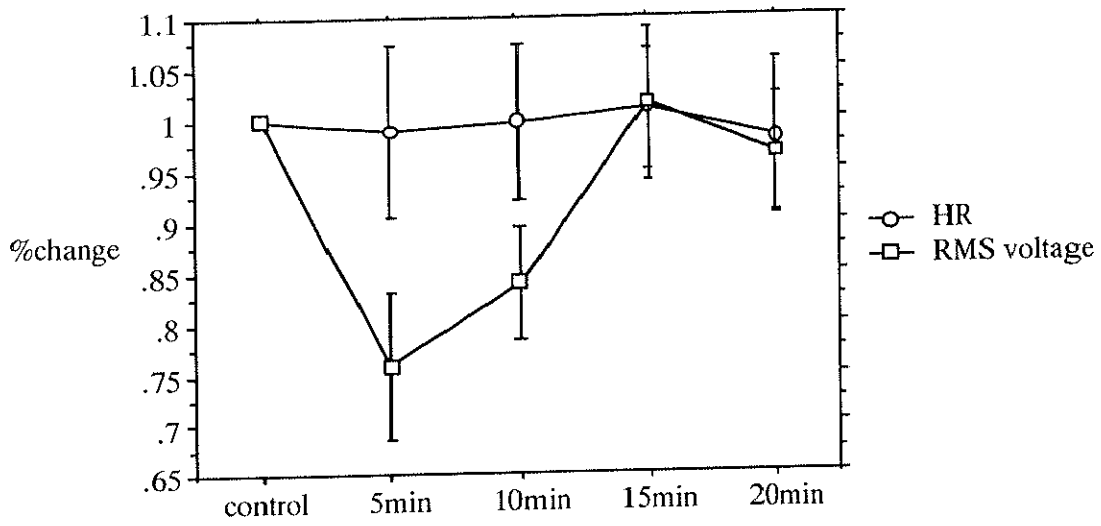


図-31 高周波数 QRS 電位と心拍数の変化の比較

$$Y = -0.568 + 1.594 X; r = 0.720, p < 0.0001$$

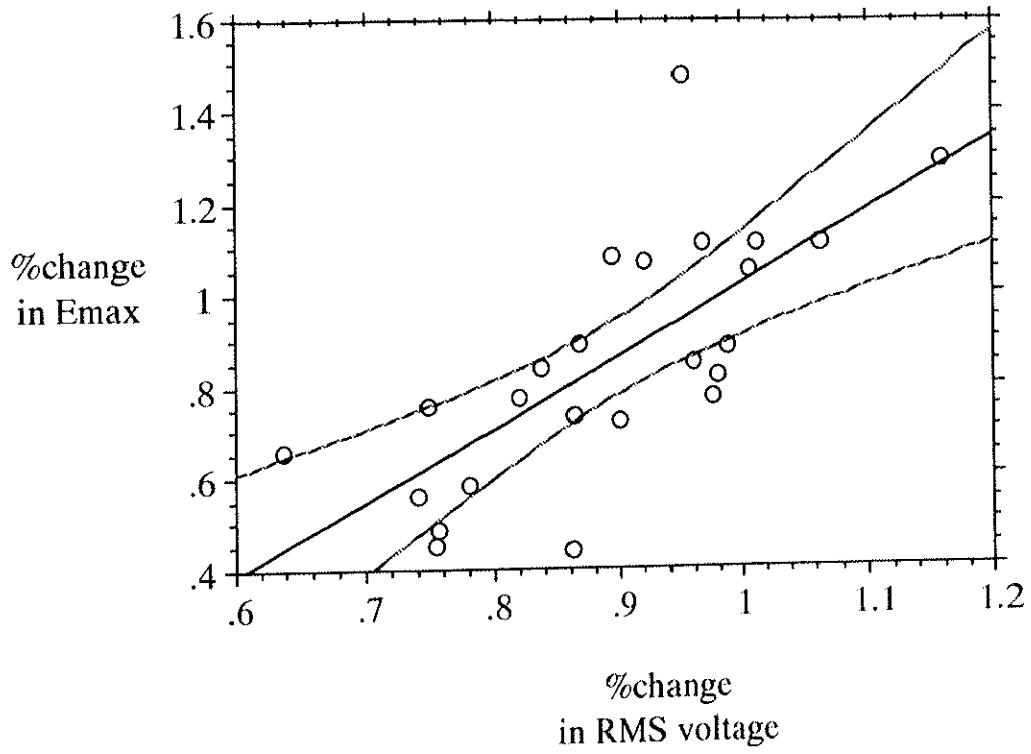


図-32 高周波数 QRS 電位と Emax の関係

$$Y = -0.175 + 1.218 X; r = 0.614, p = 0.0014$$

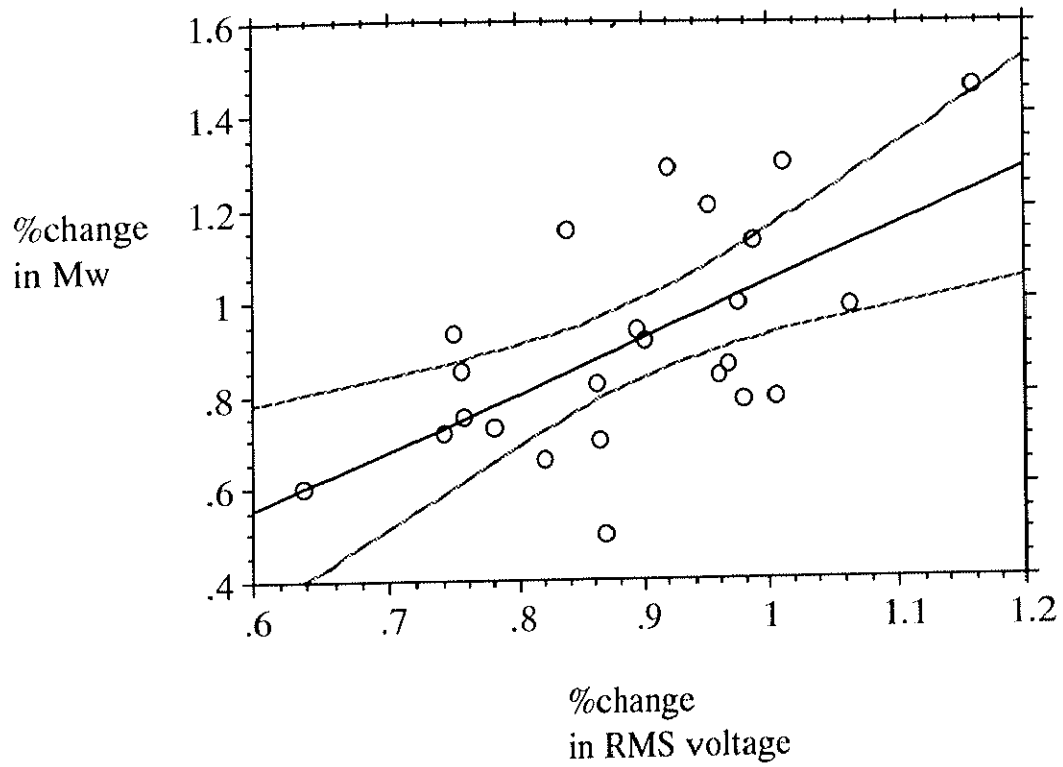


図-33 高周波数 QRS 電位と Mw の関係

$$Y = -0.085 + 1.088 X; r = 0.570, p = 0.037$$

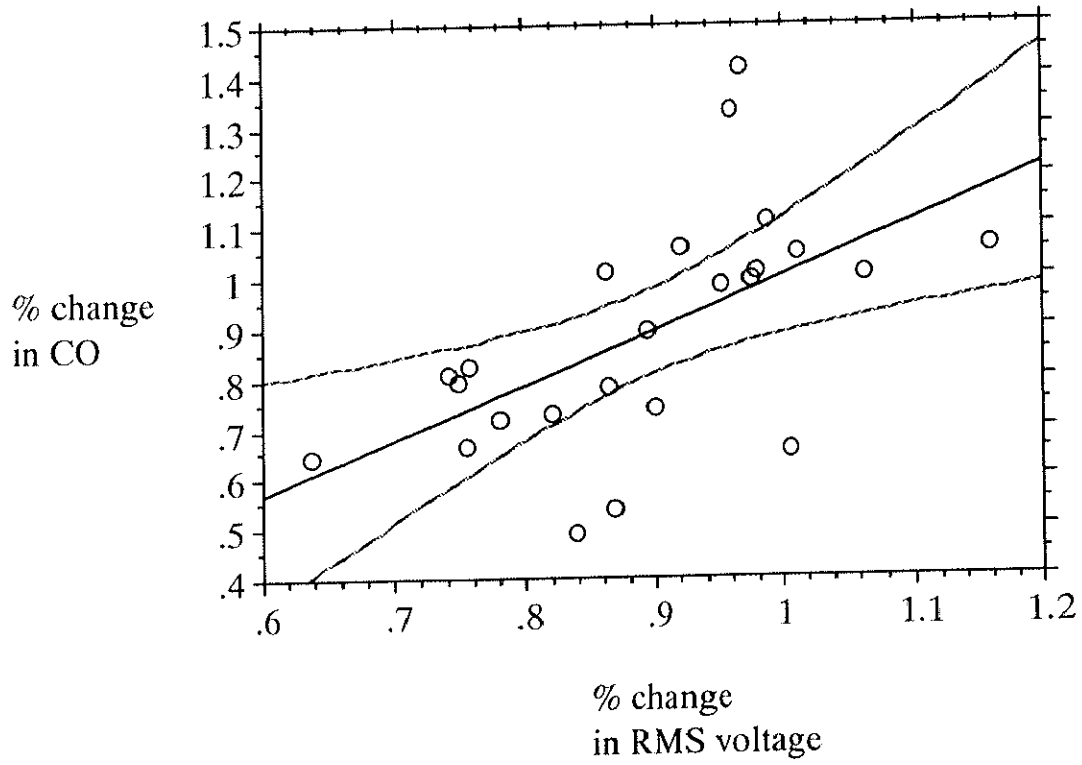


図-34 高周波数 QRS 電位と心拍出量 (CO) の関係

4. 考察

(1) 血液ガス分析

本実験においては安定して動脈血酸素飽和度 45% の低酸素状態と pH 7.2 のアシドーシスを作り出すことができた。また、低換気から定常換気への復帰により、動脈血酸素飽和度 80%、pH 7.362 に回復させることができた。これらは通常の臨床における血液ガス分析の結果と比較しても、十分に低酸素、アシドーシスの状態である。アシドーシスは生体の緩衝機能が働くため、酸素飽和度に比べて重症度は軽減されていると考えられた。

(2) 心拍数の影響

心収縮性が刺激頻度に依存して変化する現象は心筋レベル、生体心で知られている。刺激頻度の増加にともない発生張力が階段状に増加する陽性階段現象 (Bowditch 効果)、さらに刺激頻度を増加させたときに、逆に発生張力の低下が見られる陰性階段現象 (Woodworth 効果) がある。細胞内でのカルシウムの分布の変化と言われているが、その機序は完全に証明されていない [47]。

Maughan ら [48] は、イヌ摘出交叉灌流心において心拍数の変化による収縮性の変化を観察している。心拍数 60 から 120/分の範囲では収縮期末圧一容積比 (E_{max}) は心拍数の増加とともに増加して収縮力の増強が示されているが、心拍数 120 から 180/分の範囲では E_{max} の変化はなかった。

今回の実験では心拍数はほぼ一定であるため、心拍数の影響は無視できる。

(3) 心収縮能と低酸素、アシドーシス

本実験での低換気状態における E_{max} 、 M_w の変化に示された心収縮能の低下は以下のように考察した。

低酸素状態では酸化的リン酸化によるアデノシン三リン酸 (ATP) 産生の障害とともに嫌氣的解糖系を介する ATP 産生が刺激される。エネルギー産生障害の結果、細胞内代謝活性、イオン平衡を維持することが不可能となり収縮不全や

細胞障害に結びつく。細胞内での嫌気性代謝の亢進により、細胞内のアシドーシスも起こる。

アシドーシスそのものにより心筋の収縮不全が起こることは古くから知られている [49]。その機序としては収縮蛋白のカルシウム感受性の低下 [50、51]、筋小胞体の機能変性 [52、53] などがあげられている。虚血を伴わないアシドーシスにおいても E_{max} は低下することが確かめられている [54]。アシドーシス自体が心筋細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させることも知られている。 [55]。

(4) 高周波数 QRS 電位と低酸素、アシドーシス

QRS 複合の高周波数成分 (80-250Hz) の低下は、心筋における発生電位の低下と非同期性の増大を表している。本実験では心収縮能低下と同様、低酸素とアシドーシスによるアデノシン三リン酸 (ATP) 産生の低下とそれに伴う細胞内カルシウムの増加、細胞内外イオン環境の変化が刺激興奮伝導の低下を起こしたと考えられる。これが QRS 複合電位の高周波数成分 (80-250Hz) の低下として捉えられた。

(5) 高周波数 QRS 電位と心収縮能指標の変化の関連性

心収縮能の指標である E_{max} , Mw は高周波数 QRS 電位の変化と同様な変化の様態を示した。高周波数 QRS 電位の低下の背景にある興奮伝導および同期性の低下は、結果的には心収縮の同期性の低下を引き起こす。収縮の同期性が損なわれればそれだけ発生張力が低下することが想像される。

正常の刺激伝導系を介した心室収縮は、QRS 幅が 0.08~0.12 秒の同期性の高い収縮である。この心筋収縮性の同期性が低下した場合、QRS 幅は広がり、等容性収縮の最大発生圧が低下して、 E_{max} も低下することが知られている [56]。この場合、心室収縮の非同期性の指標とした QRS 幅に比例して、 E_{max} が低下している。本実験でも、高周波数 QRS 電位と心収縮能の指標である E_{max} および Mw は平行して変動している。そして、これらの指標は正の相関関係を有してい

た。高周波数 QRS 電位の低下は心収縮の同期性の低下を示すものであり、前述の研究結果と一致する。

QRS 複合電位の高周波成分の低下は同期性の低下だけでなく、活動電位 0 相の立ち上がり速度や全体の起電力を反映しているものであるから、単なる QRS 幅という指標よりも心筋全体の状態を推測するには適している。一方で、E_{max} や M_w に較べると高周波数 QRS 電位と心拍出量との相関は低い結果になった。これは心拍出量が心機能だけではなく、そのほかの因子である静脈還流量や末梢血管抵抗などの前負荷、後負荷に大きく影響を受ける指標であることが考えられる。生理的な範囲での前負荷、後負荷が高周波数 QRS 電位に与える影響は不明であるが、心機能と独立して心筋の電気生理学的性質が変化するとは考えにくい。高周波数 QRS 電位は循環システムのうちの心臓の情報を含んでいるのであって、高周波数 QRS 電位から循環システム全体の変化を把握するには限界がある。

5. 本実験の限界と問題点

(1) 動物モデルにおける低酸素状態と実際の臨床での差異

今回使用した低換気状態の動物モデルは実際の臨床における開心術の状態とは大きく異なる。開心術では心筋保護法を行うとしても、そこには冠灌流の遮断による虚血が存在している。冠灌流の遮断すなわち虚血は、単に代謝基質の供給の欠如だけではなく、冠血流により除去されていた代謝産物の蓄積がある。したがって、実際の虚血を低酸素、アシドーシスで模倣した今回の実験では代謝的、イオンの環境が異なっていることが想像される。また、神経系の反射や内分泌因子による心血管系の反応を抑制していないため、結果が修飾されていることを認識する必要がある。

実験結果がどれだけ開心術における高周波数 QRS 電位と心収縮能との関係を表しているかは未知である。実験結果が限られた条件下で置いてのみ成立するのか、あるいは普遍的な高周波数 QRS 電位と心収縮能との関連を示しているの

かは現時点では不明である。しかしながら、限られた条件下ではあるが、高周波数 QRS 電位の変化と心収縮能の指標の変化との関連性が示されたことは重要である。

(2) 体表面電極と心外膜電極の感度の差

直接心表面にある心外膜電極に比べて体内軟部組織等で大きく隔てられた体表面電極では高周波数成分の減衰が大きく、感度に差があることが予想される。この実験結果から臨床の結果を類推するには、臨床で用いる体表面電極との感度の差を考慮しなければならない。本実験では高周波数 QRS 電位が基準値の 80%に低下した場合、心収縮力は 60%に低下していた。感度の差を考慮した場合、本実験での心収縮力の低下を体表面電極では高周波数 QRS 電位の有意な低下として捉えられない可能性がある。

一方で、開心術後における高周波数 QRS 電位の低下は術前値の 40%に及ぶことが臨床研究で示されている。このことは、体表面加算平均心電図で捉えた高周波数 QRS 電位の低下から推測する心収縮力の低下は本実験のそれよりも大きいと考えられる。

測定感度についての検証が必要であるが、体表面電極で捉える高周波数 QRS 電位の低下は心収縮能のより大きな変化を示している可能性がある。

(3) 心機能の指標

心収縮力の指標として用いた E_{max} も負荷への依存性が最近では明らかにされてきた [57]。収縮期末圧一容積関係が後負荷の増大により左上方へ偏移することが報告されている [58、59]。本実験では単離心臓での実験ではないため生体反応の影響での後負荷の変動があると予想される。しかしながら、後負荷増大による全体の偏移量は大きくない [59]。

また、後負荷と前負荷の変動では収縮期末圧一容積関係の勾配が異なることも指摘されている [60]。本実験の準備実験においても下大静脈閉塞による前負荷の変化に対して、上行大動脈閉塞による後負荷の変化のほうが収縮期末圧一

容積関係の勾配がより急峻であった。したがって複数の圧-容積軌跡を得るための負荷変化は実験を通して下大静脈閉塞による前負荷の変動に統一して行った。さらに、収縮期末圧-容積関係が直線性から外れることがあることも知られている [61]。

こうした E_{max} の限界を補正する意味で、もう一つの収縮力の指標として心仕事量-拡張期末容積関係の勾配 M_w を合わせて用いた。それにより収縮力を複合的に評価した。

6. 小括

I. 方法

ラットを用いた低酸素、アシドーシス状態において、QRS 複合電位の高周波数成分 (80-250 Hz) と心収縮能の指標である E_{max} 、 M_w の変化を観察した。

II. 結果

高周波数 QRS 電位 (80-250 Hz) の変化と E_{max} 、 M_w の変化は平行して、それらの指標は相互に正の相関を示した。

III. 結論

高周波数 QRS 電位 (80-250 Hz) の解析から、心収縮能の変化を推定することが可能である。