

● 一般演題

肺全摘手術後の右心室負荷による催不整脈性に関する検討

防衛医科大学校集中治療部 高瀬 凡平・東村 悠子

防衛医学研究センター医療工学研究部門 田中 良弘・服部 秀美・石原 雅之

自衛隊中央病院 濱部 晃・永井 智雄

要 約

肺癌治療において片肺全摘手術は頻用される治療手技である。この際の術後不整脈の機序に関して詳細は不明である。そこで、片肺全摘ラットモデルにて摘出心臓にoptical mapping解析を実施し、不整脈の発生機序について検討を加えた。

方法:SDラットの左片肺を全摘出し、1日後、4日後、1週間後、2週間後、4週間後に肺動脈圧を測定するとともに、心臓を摘出し、Tyrode液で還流、Na channel脱分極感受性色素(di 4 ANEPPS)で染色し、心室の脱分極様式・速度・活動電位の不均一性(action potential duration dispersion : APDd)を測定した。また、心室頻拍(VT)・細動(VF)の誘発を試みた。

結果:片肺全摘手術後1日目から肺動脈圧は著明に上昇し、2週間持続、4週間後には正常値に代償した。肺動脈高血圧を呈した期間、右心室の伝導障害とAPDdの拡大、VT/VFの誘発頻度が増加した。

結語:片肺全摘手術後の心室性不整脈には、右心室圧の上昇に伴う右心室伝導障害・再分極の不均一性がその機序として関与することが示唆された。

はじめに

原発性肺動脈性肺高血圧の予後は不良で、約30%の症例が予期せぬ突然死をきたすと報告さ

れています^{1,2)}。また、肺癌に伴う肺全摘手術直後にも不整脈が頻発するとされている。すなわち、肺動脈性肺高血圧による右心負荷が右心室の催不整脈性を惹起すると報告されているもの³⁾、その機序に関しての詳細は不明である。

そこで、肺全摘手術実験モデルであるラットの左片肺を全摘出し、催不整脈の機序を、optical mapping analysis法とラットに対する不整脈誘発法および心筋伝導関連物質であるconnexin43の心筋内発現様式から検討した。

1 方 法

Sprague-Dawleyラット(male; 8 weeks old; 250~300g; n = 64)の皮下にketamine hydrochloride(5 mg/kg)を投与し麻酔した。麻酔下に気管内挿管し、人工呼吸下で左開胸し、左片肺全摘手術を施行した。ラットは覚醒させ、以下の実験操作を施行した。すなわち、左片肺全摘手術を作製してから2時間後、4時間後、16時間後、1日後、4日後、1週間後、2週間後、4週間後に以下の項目につき計測を実施した(n = 41)。

1) 肺動脈圧測定

ラットは、全摘手術と同様に再度麻酔した。右頸静脈をカットダウンし圧測定専用装置に付随したカテーテルをラット右心室内に挿入し、肺動脈まで進めた。肺動脈圧および右心室圧は小動物血管内圧想定装置(PhysioTel and DataquestTM, Data Sciences International,

St Paul, Minnesota, USA)にて直接法にて血管内圧を測定した。

2) 形態学的測定

ラットを麻酔後, 経時的に心臓超音波装置(8-MHz; UF-750XT, Fukuda Denshi Co Ltd., Tokyo, Japan)を用いて右心室の拡張度と右心室機能を各測定期点で計測した。さらに, 安樂死後に心筋をホルマリン固定後, 右心室(RV)の重量と左心室(LV)と心室中隔(interventricular septum: IVS)の重量を測定し, 右心室リモデリングの指標として, $RV/(LV + IVS)$ 重量を求めた。また, 心臓摘出直前の開胸時に視覚的に心筋壁運動について定性的に評価した。

3) optical mapping analysis法と不整脈誘発法

ラットを麻酔後, 正中切開にて開胸し, 迅速に心臓を摘出した。大動脈から冠動脈洞にカニューレを挿入した。酸素化し37°Cに保温したTyrode溶液(CaCl₂ [2], NaCl [140], KCl [4.5], dextrose [10], MgCl₂ [1], and HEPES [10, pH 7.4], in mmol/L)にてただちに灌流した。さらに, Tyrode溶液を一定容量で灌流している水槽に心臓を固定し, 大動脈に挿入したカニューレからNa感受性蛍色素(di-4-ANEPPS [15 μmol/L])を約40mL, 2分間かけて灌流染色した。さらに, 心臓の拍動を停止させるため2,3-butanedione monoxime(Wako Chemical, Tokyo, Japan, 20 mM)を灌流した。optical mapping analysisはhigh-quality charge couple device(CCD) camera(Leica 10447050, Geneva, Switzerland)を用いて4秒間撮像した。撮像は心筋が洞調律であることを確認してから, 左心室, 右心室外膜面の興奮伝播速度と伝播様式, 得られた活動電位の持続時間(APD)をcommercialized software(Ultima-6006; Sei Media, Inc., Tokyo, Japan)にて解析した。特に, 右心室心膜面の約5×5mmの関心部位(ほぼ右心室自由壁の中央)を任意に設定し, この部位におけるAPDの分布のヒストグラムと, APDの実波形を記録した。APDはAPD 60msを使用した。ヒストグラムより, 最大APDと最小APDの差からAPD dispersionを決定し, 左片肺全摘

手術摘出心臓における, 経時のAPD dispersion変化を比較した。

さらに催不整脈性を調べるために, 右心室の3カ所, すなわち右心室心尖部, 心臓基部, 右室流出路を20回の連続刺激(burst pacing, 5, 50, 100V; 40-ms interval, 20trains)各voltageにて3回ずつ施行し, 致死性不整脈の誘発の有無を検討した。

4) 病理学的および免疫組織学的検討

摘出心臓を4% paraformaldehyde phosphate buffer solution(Wako Pure Chemical Industries Ltd.)にて48時間固定した。それぞれの標本は, 70% ethanolにて脱水しparaffin固定した。組織学的検討は, hematoxylin and eosin, Elastica van GiesonおよびMasson trichromeにて染色した。心筋伝導蛋白であるconnexin43の心筋組織内発現の程度を定性的に評価するため, 免疫組織染色を施行した。すなわち, Anti-connexin43 monoclonal antibody(1:2,000, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)を用いて, 心筋組織内の心筋gap-junction蛋白connexin43の発現を検討した。

2 結 果

1) 血行動態および心臓超音波所見

左片肺全摘手術後2時間から収縮期肺動脈圧に一致する右室収縮期圧は徐々に上昇し, 左片肺全摘手術後2週間目まで圧の上昇は持続した。しかし, 左片肺全摘手術後4週間では, 肺動脈圧, 右室収縮期圧は正常に復した。肺動脈圧の変化に一致して, 右心室の洞調律伝播速度, 伝播様式は遅延および異常化したものの, 左片肺全摘手術4週間後には正常に復した(図1)。APD dispersionも同様に, 肺動脈圧, 右室収縮期圧の上昇に一致して異常な延長を認めたものの, 左片肺全摘手術4週間後には正常に復した(図2)。肺動脈圧, 右室収縮期圧が著明に上昇し, 右心室の洞調律伝播速度, 伝播様式は遅延および異常化が認められ, APD dispersionの異常な延長が認められる時期に一致して, burst pacingにて致死性不整脈(多形性心室頻拍・心室細動)

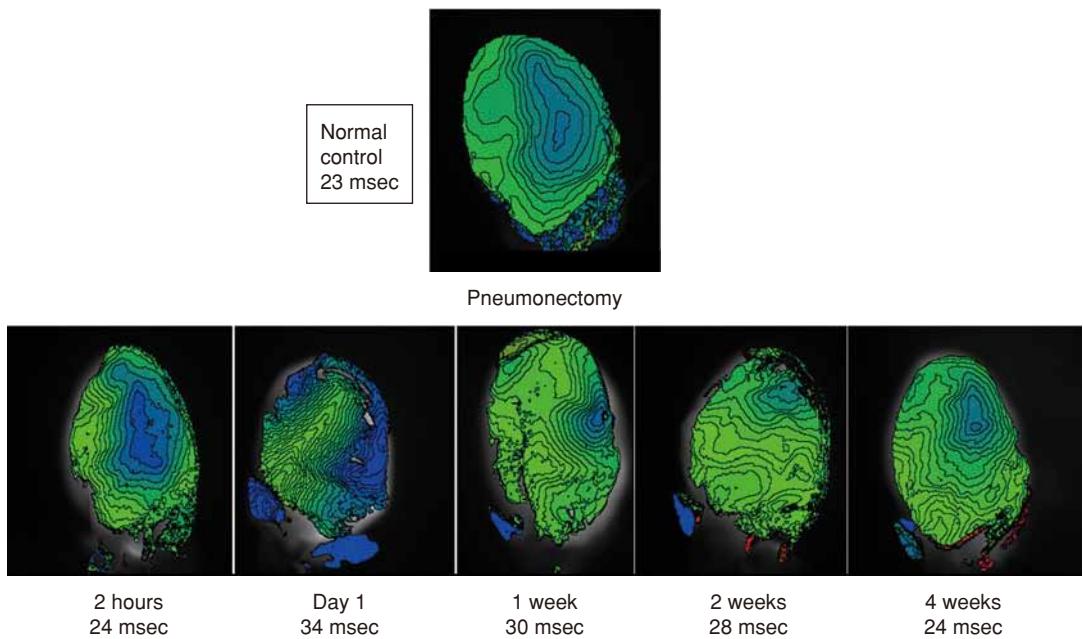


図1 左片肺全摘手術に伴う伝導様式・脱分極興奮伝播の経時的变化

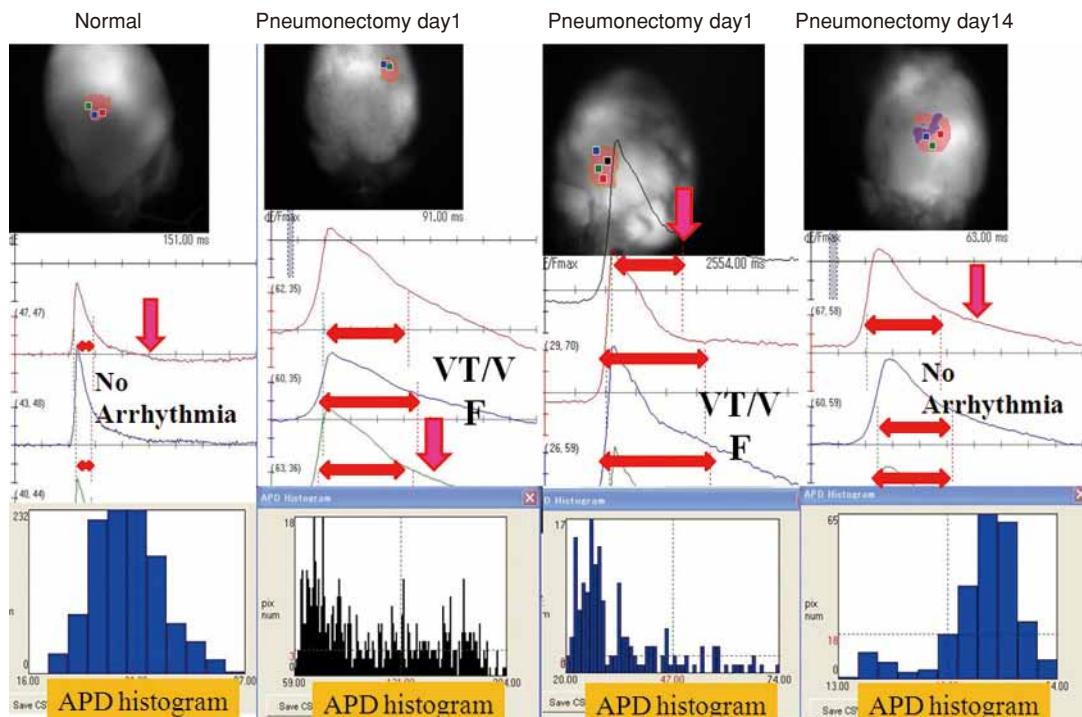


図2 左片肺全摘手術に伴う再分極過程(活動電位の持続時間[APD]のばらつき ADP dispersion)の経時的变化

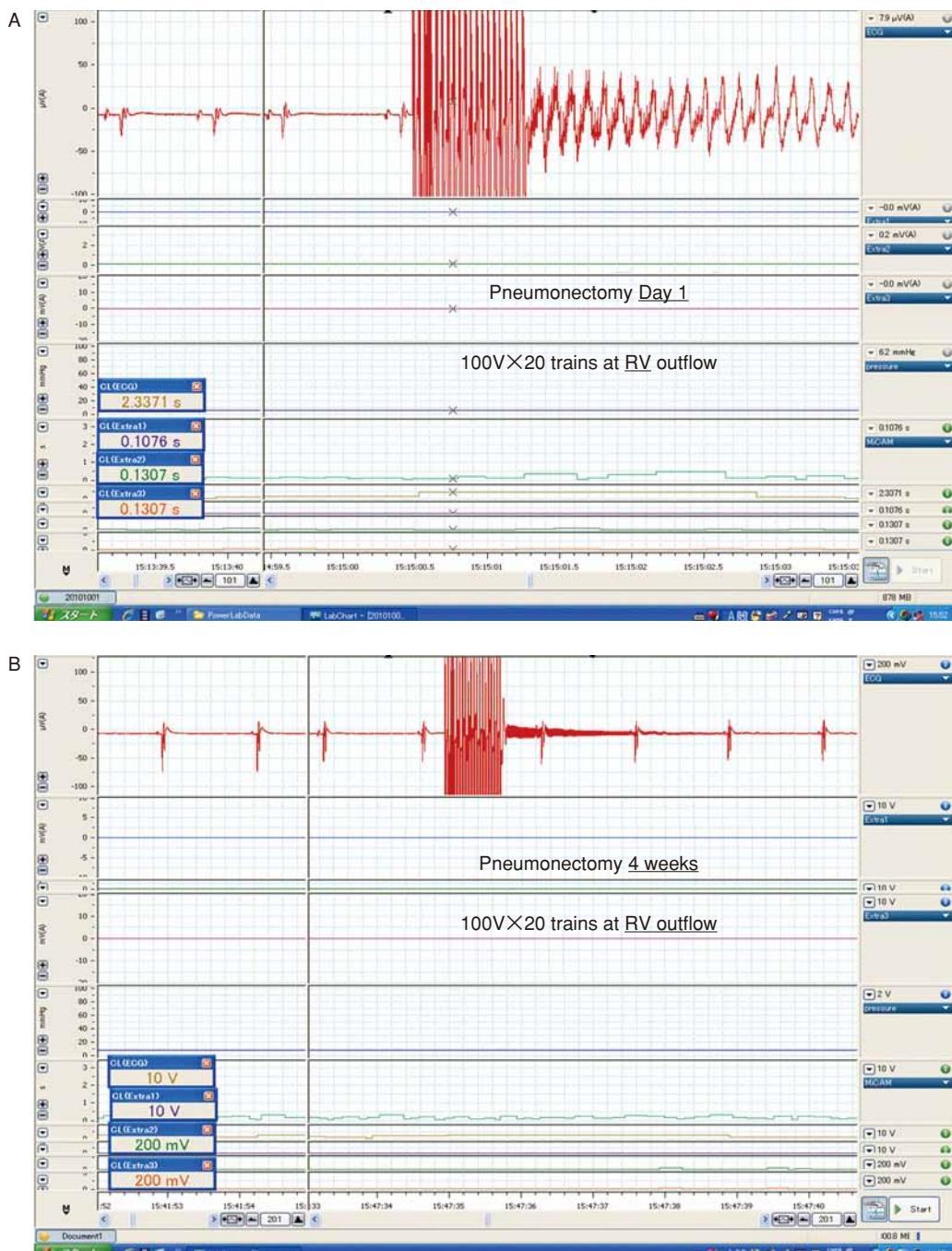


図3 burst pacingによる致死性不整脈誘発性の検討

A : 左片肺全摘手術後1日(100v×20 trains at RV outflow)
 B : 左片肺全摘手術後4週間後(100v×20 trains at RV outflow)

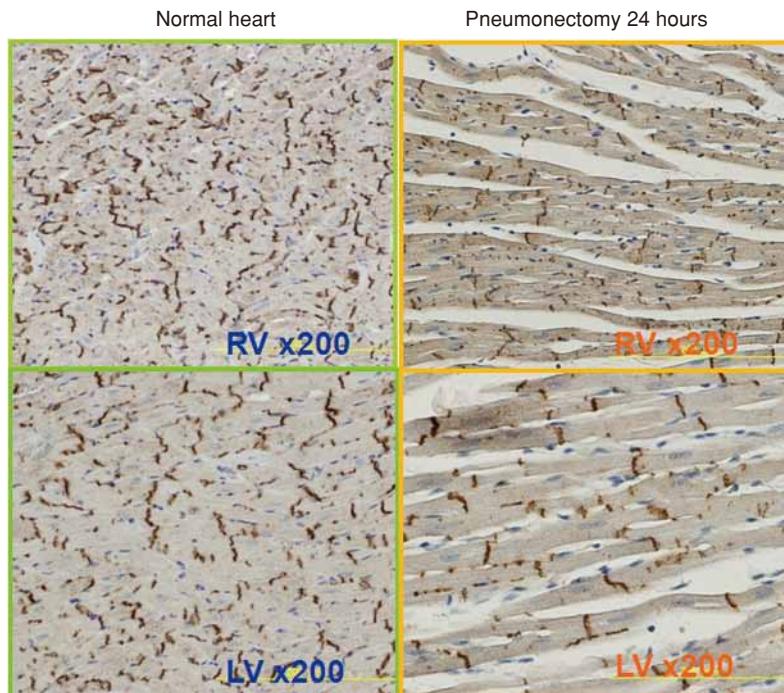


図4 心筋におけるconnexin43発現所見

表1 結果のまとめ

		Day 1 (n = 7)	Day 4 (n = 7)	1 week (n = 7)	2 weeks (n = 20)	4 weeks (n = 10)
sRVP(mmHg)	26.9 ± 3.6	51.9 ± 4.8 *	54.5 ± 4.8 *	44.0 ± 2.8 *	34.1 ± 3.4 *	29.6 ± 4.1
RAP(mmHg)	5.3 ± 1.0	5.4 ± 0.9	5.1 ± 0.8	5.6 ± 0.8	5.5 ± 0.5	5.7 ± 0.6
RV dilatation	—	+	+	+	+	—
RV conduction disturbance	—	+	+	+	+	—
VF/VT induction	—	+	+	+	+	—

が容易に誘発された(図3)。肺動脈圧が著明に上昇し、右心室の洞調律伝播速度、伝播様式が遅延および異常化し、APD dispersionが延長している際に右心室心筋のconnexin43発現を調べると、図4に示したように異常は認められなかった。

これらの結果を一覧にして表1に示した。左片肺全摘手術後の右心室における致死性不整脈の誘発性は肺動脈圧、右室収縮期圧の著明な上昇、右心室の洞調律伝播速度、伝播様式の遅延および異常化、APD dispersion延長に相関して

いた。

3 考 察

表1にまとめたように、左片肺全摘手術の1日後から1~2週間後の間には著明な肺動脈圧の上昇が認められ、この間に右心室伝播速度・伝播様式の異常化とAPD dispersion延長があり、致死性不整脈が容易に誘発された。しかし、この際心筋組織中の心筋伝導蛋白connexin43の発現は正常であった。これらの結果から、左片肺全摘手術に伴った一過性の肺高血圧は、

APD dispersion の延長に認められる右室心筋再分極性の異常と、右心室伝播速度・伝播様式の異常により明らかである右心室脱分極の異常の双方が関与している可能性が示唆された。

左片肺全摘手術による肺動脈圧の上昇は一過性のものであり、その持続時間も長くとも3～4週間以内であり、短期間の圧負荷ではconnexin43変化^{4,5)}のような器質的变化は認められず、右心室伝播速度・伝播様式の異常やAPD dispersion異常で認められるような機能的变化が主体であることが示唆される。左片肺全摘手術における肺動脈圧上昇に伴う右心室圧負荷は、右心室の致死性不整脈に対する催不整脈の増悪に十分であると考えられる。その機序としては、本研究からはその詳細は不明であるものの、心臓内圧が上昇すると容易にstretch-activated ion channel(SAC)が誘導され、伝導様式・脱分極興奮伝播の変化やAPDの変化を容易にきたすと考えられる。左片肺全摘手術に伴う致死性不整脈の誘発性の亢進に関しては、connexin43発現変化よりもむしろSACなどの機序を介した病態が示唆される。また、肺高血圧症におけるAPD dispersion異常と致死性不整脈発生に関する関係はこれまでの報告に一致する^{6,7)}。

今後、左片肺全摘手術に伴う一過性の肺高血圧と致死性不整脈誘発性との関係において、その機序解明には、SACの選択的拮抗物質である

tarantula venom由来のpeptide(GsMTx-4)を用いたさらなる研究が必要と考えられる。

文 献

- 1) Rubin LJ. Introduction: Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guideline. *Chest* 2004;126:7S-10S.
- 2) Kuriyama T. Clinical aspect of precapillary pulmonary hypertension, *Nihon Kyobu Sikkan Gakkai Zasshi (JPJ Respir Disease)* 1992;30:3-11.
- 3) Umar S, Lee JH, da Lange E, Iorga A, Partow-Navid R, Bapat A, et al. Spontaneous ventricular fibrillation in right ventricular failure secondary to chronic pulmonary hypertension. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2012;5:181-90.
- 4) Koura T, Hara M, Takeuchi S, Ota K, Okada Y, Miyoshi S, et al. Anisotropic conduction properties in canine atria analyzed by high-resolution optical mapping: preferential direction of conduction block changes from longitudinal to transverse with increasing age. *Circulation* 2002;105:2092-8.
- 5) Sasano C, Honjo H, Takagishi Y, Uzzaman M, Emdad L, Shimizu A, et al. Internalization and dephosphorylation of connexin43 in hypertrophied right ventricles of rats with pulmonary hypertension. *Circ J* 2007;71:382-9.
- 6) Kohl P, Bollendorff C, Garny A. Effects of mechanosensitive ion channels on ventricular electrophysiology: experimental and theoretical models. *Exp Physiol* 2006;91:307-21.
- 7) Morris CE, Juranka PF. Na^+ channel mechanosensitivity: activation and inactivation accelerate reversibly with stretch. *Biophys J* 2007;93:822-33.