



各種吸入麻酔薬の虚血再灌流不整脈に 及ぼす抑制作用の実験的検討： ラット摘出灌流心を用いて

田 倉 学

近畿大学医学部麻酔科学教室

抄 録

近年、吸入麻酔薬が、心筋細胞内カルシウムの蓄積を抑制し、虚血や再灌流時の心筋障害を防ぐ作用を有することが注目されている。しかし虚血再灌流不整脈における吸入麻酔薬の効果や機序については未だ十分に明らかにされていない。そこで本実験ではラットの摘出心標本を用いて、現在臨床的に使用される4種の吸入麻酔薬、すなわち、ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響を比較検討してその効果を明らかにすることを目的として実験を行った。雄性ウィスターラット (n=192, 16群, 各12) の摘出心標本を用いて Langendorff 法による灌流を行い、冠状動脈左前下枝の結紮および解除による局所心筋虚血に引き続く再灌流によって発生する心室細動 (VF) の発生頻度と持続時間を検討した。検討した全ての吸入麻酔薬で有意に虚血再灌流不整脈が抑制されたが、同 MAC (minimum alveolar concentration) の各吸入麻酔薬間の抑制効果の強さはハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの順であった。また、ハロセンは心拍数を減少させたが、ペーシングによって心拍数を一定にした時もペーシングをせずにハロセンによって心拍数が減少した時と同等に虚血再灌流不整脈の発生を抑制した。ハロセンは再灌流時のみの投与群では、虚血前からハロセンを投与した群に比較して虚血再灌流不整脈の抑制が弱かったが、虚血再灌流不整脈を抑制することができた。このことから、吸入麻酔薬は再灌流時だけでなく、虚血の最中からすでに抑制作用を発現しているものと考えられる。本研究において、現在臨床的に使用されている4種の吸入麻酔薬が虚血再灌流不整脈を抑制するが、著者はその抑制の強さは等力価の比較で、ハロセン \geq エンフルレン $>$ イソフルレン \geq セボフルレンの順であることを明らかにした。虚血再灌流障害に対する予防効果およびハロセンで示された虚血再灌流不整脈に対する抑制効果は、臨床使用に際して大きな特質となると考えられる。

Key words : Reperfusion, Arrhythmia, Ischemia, Halothane, Enflurane, Isoflurane, Sevoflurane

緒 言

虚血心筋や虚血再灌流不整脈に対する種々の麻酔薬の影響に関する知識は、虚血性心疾患を有する患者の麻酔管理にとって重要である。また、動物実験においては心筋虚血後に再灌流を行なうと重症不整脈を誘発することが知られている。心臓における再灌流障害は低酸素環境におかれた心筋細胞が急激な再酸素化を受けると細胞障害の進展がかえって促進される現象として認識され、冠動脈のスパズムの解除や血栓の融解による血流再開後に生じる重篤な心室性不整脈である再灌流不整脈はその代表例のひとつ

つとしてよく知られている¹⁻³。臨床的にも近年、この再灌流不整脈は血栓溶解療法や経皮経管冠動脈形成術などによる閉鎖冠動脈の血行再灌流療法、また麻酔中の冠動脈の攣縮後や人工心肺離脱時の再灌流における合併症として注目されている¹⁻³。

虚血再灌流不整脈の原因のひとつとして心筋の細胞内カルシウムイオンの過負荷が有力視されている⁴⁻¹¹。一方、吸入麻酔薬は虚血および再灌流時に心筋の細胞内カルシウムイオンの蓄積を抑制すると報告されている^{4,12}。吸入麻酔薬は臨床的には不整脈を誘発する薬剤であり、特にエピネフリンとの併用で著しいと考えられてきたが¹³、吸入麻酔薬の細胞内

カルシウムイオンに及ぼす影響から鑑みて、心筋虚血時や再灌流時の心臓において本質的には防衛的に作用し抗不整脈作用を有する可能性がうかがわれる^{4,14-18}。しかし、虚血再灌流不整脈における吸入麻酔薬の効果については未だ十分に明らかにされていない。そこで、ラット摘出心における虚血再灌流不整脈での現在臨床的に使用される吸入麻酔薬であるハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響を実験的に比較検討した。

対象および方法

1. 実験動物

270~300 g の雄性ウイスター系ラットを各群12匹、16群に分け計192匹を用いた。

2. 灌流モデルの作成および実験手順

ラットをエーテル麻酔下にヘパリンナトリウム200単位を大腿静脈から投与、1分後に心臓を摘出し4°Cの灌流液で冷却後、直ちにLangendorff法¹⁹による冠灌流を開始した。灌流液には95%酸素+5%炭酸ガスで飽和させた37°CのKrebs-Henseleit緩衝液 (mmol/l: NaCl 118.5, NaHCO₃ 25, KCl 3.2, KHPO₄ 1.19, MgSO₄ 1.18, CaCl₂ 6H₂O 2.5, Glucose 11) を用い、100 cm H₂Oの静水圧による冠灌流を行った。灌流液は使用前にフィルター(0.45 μm, ミリポア)にて濾過した。心電図電極を心尖部と大動脈起始部に装着、心電計 (HR-3, 三栄電子) でモニターしながら、記録計 (レクチコーダー、日

本光電工業)にて25 mm/secの紙送り速度で記録して心拍数の計測と不整脈の分析を行った (図1)。

図1の示す2本の液槽のうち、1本の液槽にはKrebs-Henseleit緩衝液のみを、他の液槽には気化器を通じて得られた後述する各濃度のハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンを通気することによってKrebs-Henseleit緩衝液中に溶解させた。

3. 虚血の作成法と再灌流の方法²⁰

冠状動脈起始部より約3 mm下流の左前下行枝周囲に針付き糸 (5-0ネスピレン, 日本商事) をまわし、糸の両端をプラスチックチューブのオクルーダーの中へ通した。10分間の灌流を行い安定した後、実験を開始した。虚血の作成はオクルーダーで前下行枝を結紮させ、再灌流はオクルーダーによる結紮を解除することにより行った。

4. 実験のプロトコール (図2)

実験1: ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

Krebs-Henseleit緩衝液のみのcontrol群およびハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンをそれぞれ1MAC, 2MAC, 3MACの各濃度で溶解させた計13群を作成した。

摘出心をKrebs-Henseleit緩衝液のみで10分間灌流し、心拍数および冠灌流量を一定に安定させた後、図2に示す測定点において後述の測定項目についてコントロールの測定を行った (測定点1)。その後、スイッチャーにより後述の各濃度のハロセン、エン

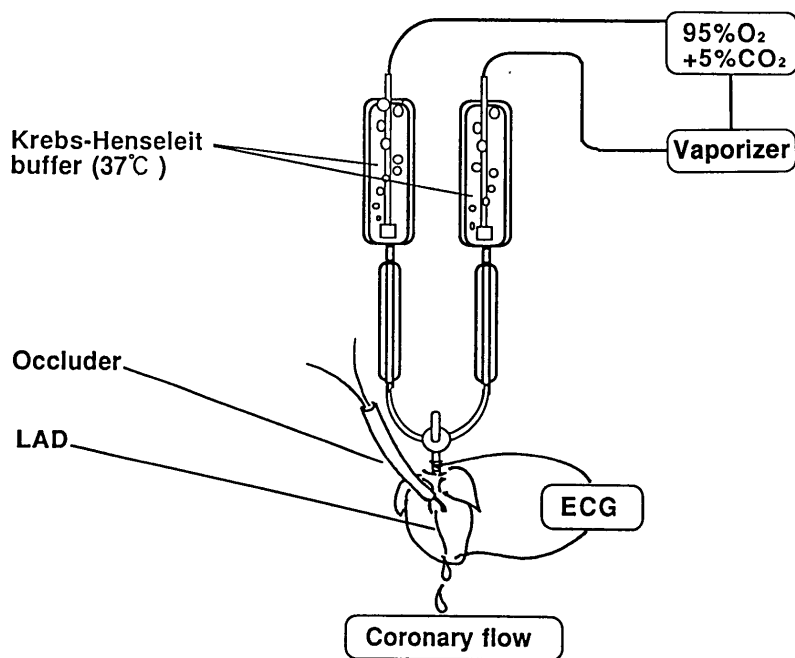


図1 実験モデルの模式図

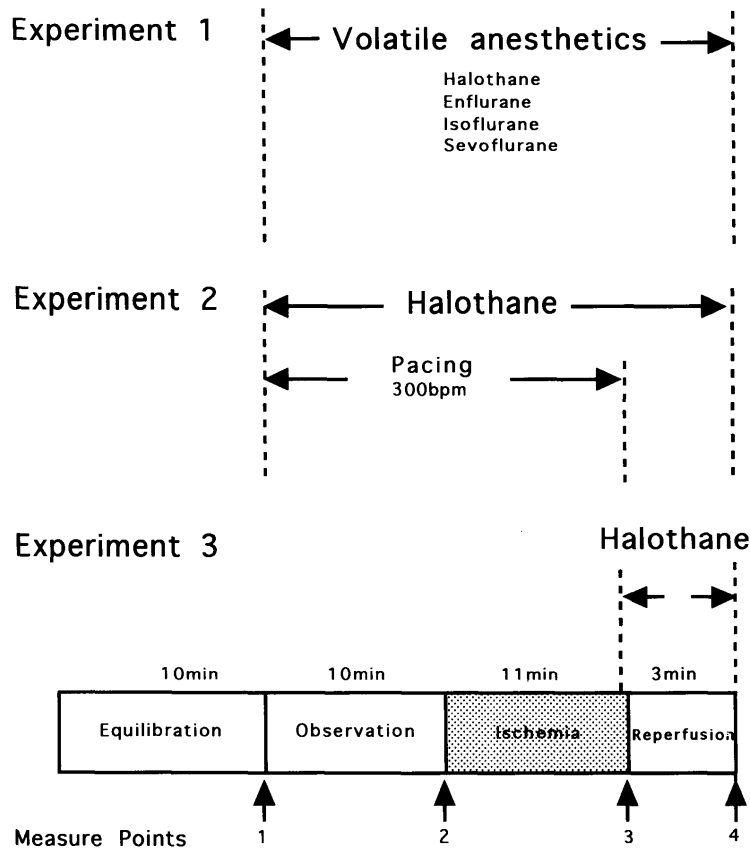


図2 実験のプロトコール

Experiment 1: ハロセン, エンフルレン, イソフルレン, セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

Experiment 2: 心拍数を一定にした時におけるハロセンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

Experiment 3: ハロセンの投与時期に関する虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

- 1: Pre-treatment: 10分間の平衡時間後に測定
- 2: Pre-ischemia: 冠動脈結紮直前に測定
- 3: Ischemia: 再灌流直前に測定
- 4: Reperfusion: 再灌流3分後に測定

フルレン, イソフルレン, セボフルレンを溶解させた Krebs-Henseleit 緩衝液に切り換えて灌流を行い, 10分間それぞれの濃度による灌流液による変化を観察した(測定点2). 11分間の虚血を行った後(測定点3), 結紮糸を切断し, 3分間の再灌流を行った(測定点4).

実験2: 心拍数を一定にした時におけるハロセンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

ペースメーカー (MODEL EV4543, フクダ電子) を用いて心拍数を300 bpm に固定した2群を作成し, 内1群は Krebs-Henseleit 緩衝液のみで灌流する control-ペースメーカー群, あと1群はハロセン 2MAC-ペースメーカー群とし, 実験1の非ペースメーカーにおける control 群, ハロセン 2MAC 群の計4群を比較検討した.

心拍数を300 bpm でペースメーカーさせた2群は, 実験1と同様にコントロールの測定を行った後, 300

bpm でペースメーカーを開始し, 以下実験1と同様の手順で実験を行った. なおペースメーカーは再灌流開始時まで持続させ, ペースメーカーリードは心尖部と大動脈起始部に装着した.

実験3: ハロセンの投与時期に関する虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

再灌流直前にハロセン 2MAC 投与を開始した群 (再灌流時ハロセン投与群) を新たに作成し, 実験1の control 群, ハロセン 2MAC 群 (虚血前ハロセン投与群) の計3群を比較検討した.

再灌流時ハロセン投与群は, 灌流液を再灌流の直前まで交換せず, 再灌流の直前にハロセン 2MAC を溶解させた Krebs-Henseleit 緩衝液に切り換える以外は実験1と同じ手順で実験を行った.

5. 吸入麻酔薬の濃度

各種の吸入麻酔薬の効力の等力価指標として, 最小肺胞内濃度 (minimum alveolar concentration:

MAC)を用い、Krebs-Henseleit 緩衝液にラットにおける1, 2および3MACに相当する濃度のハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンを溶解させた。それぞれの麻酔薬のラットにおける1MACは、ハロセン0.9%, エンフルレン2.2%, イソフルレン1.4%, セボフルレン2.3%とした。灌流液に溶解させる吸入麻酔薬濃度は、あらかじめ較正を行った吸入麻酔薬濃度測定装置 (Capnomac, Datex) によって測定し確認した。

6. 測定項目と測定方法

6-1. 冠灌流量の測定

図2に示す各測定点で20 ml のメスシリンダーを用い、肺動脈から流出する冠灌流量を各測定点の1分間で測定した。

6-2. 心拍数の測定と再灌流不整脈の解析法

心拍数は図2の各測定点の1分間記録した心電図から計測した。但し、測定点4において洞調律でない灌流心では測定は行わなかった。再灌流不整脈は再灌流直前から灌流後3分までの心電図を25 mm/sec で連続記録し、出現した不整脈を Lambeth Conventions ガイドライン²¹に従って分類し、心室頻拍、心室細動 (ventricular fibrillation: VF) および心室性期外収縮について判定し、VF についてのみ最重症不整脈とみなして分析した。再灌流後3分

の観察時間を過ぎてもVFが持続しているものをsustained VFとし、再灌流開始から3分間の観察時間内に認められたVFの合計時間(秒)をVF持続時間とした。

7. 統計処理

VF発現頻度の検定にはFisherの直接確率計算法を用い、VF持続時間は群内の検定ではStudent's paired t-testを用い解析した。群間の検定については分散分析を行い、有意差の生じたものについてはStudent's unpaired t-testにて解析を行い、 $p < 0.05$ を有意と判定した。

成 績

1. 実験1: ハロセン, エンフルレン, イソフルレン, セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

1-1. 心拍数の変化 (表1)

心拍数は吸入麻酔薬投与により全濃度で処置前に比較して有意に減少し、麻酔薬投与群ではcontrol群に比較して有意に減少した。また虚血時には、全群で虚血前と比較して虚血により減少したが、イソフルレン1, 2MAC, セボフルレン3MACの3群では統計的に有意差はなかった。またハロセン2MAC, イソフルレン3MAC, セボフルレン3MACの各群ではcontrol群に比較して有意に低値を示し

表1 心拍数の変化

	処置前 (beats/min)	虚血前 (beats/min)	虚血時 (beats/min)	再灌流時 (beats/min)
Control 群	281±5	273±6	243±7 ^{ef}	全例 VF
Halothane 群				
1MAC	272±6	243±3 ^{ae}	226±6 ^{ef}	235±5 (n=9)
2MAC	281±4	240±5 ^{ae}	225±5 ^{aeef}	221±5 (n=10)
3MAC	276±5	244±6 ^{ae}	229±7 ^{ef}	239±7 (n=10)
Enflurane 群				
1MAC	272±7	251±5 ^{ae}	238±5 ^{ef}	255±7 (n=9)
2MAC	285±4	250±6 ^{ae}	241±5 ^{ef}	232±4 (n=11)
3MAC	278±5	244±5 ^{ae}	233±6 ^{ef}	228±6 (n=11)
Isoflurane 群				
1MAC	271±5	252±6 ^{ae}	247±6 ^{be}	245±15 (n=6)
2MAC	284±5	255±3 ^{abe}	244±9 ^e	235±9 (n=6)
3MAC	276±6	238±7 ^{ae}	222±6 ^{aeef}	220±6 (n=10)
Sevoflurane 群				
1MAC	276±5	248±3 ^{ae}	237±5 ^{ef}	232±6 (n=6)
2MAC	275±6	240±6 ^{ade}	230±5 ^{ef}	233±6 (n=5)
3MAC	270±6	222±5 ^{ae}	207±7 ^{abce}	205±5 (n=6)

m±SE

各群は各吸入麻酔薬の濃度によって分類した(各群12匹)。(n)は再灌流中に洞調律に回復した心臓の数を表わす。処置前: 10分間の平衡時間後の測定値, 虚血前: 冠動脈結紮直前の測定値, 虚血時: 再灌流直前の測定値, 再灌流時: 再灌流3分後の測定値, a: $p < 0.05$ Control に対する有意差, b: $p < 0.05$ 同 MAC の Halothane に対する有意差, c: $p < 0.05$ 同 MAC の Enflurane に対する有意差, d: $p < 0.05$ 同 MAC の Isoflurane に対する有意差, e: $p < 0.05$ 処置前に対する有意差, f: $p < 0.05$ 虚血前に対する有意差を表わす。

た。

1-2. 冠灌流量の変化 (表 2)

冠灌流量の虚血前の値は、吸入麻酔薬の投与によってハロセン 1MAC を除く全群で処置前に比較して増加が認められ、麻酔薬投与群では control 群に比

較して有意に高値を示した。虚血時には全濃度の全ての吸入麻酔薬で control 群に比較して増加した。また虚血時には control 群も含めて全群とも虚血前に比較して約65%程度に減少し再灌流時には虚血前値より各々増加した。

表 2 冠灌流量の変化

	処置前 (ml/min)	虚血前 (ml/min)	虚血時 (ml/min)	再灌流時 (ml/min)
Control 群	10.7±0.3	10.1±0.3	6.1±0.2 ^{ef}	14.1±0.4 ^{efg}
Halothane 群				
1MAC	10.7±0.4	10.1±0.4	7.1±0.4 ^{aef}	13.9±0.7 ^{efg}
2MAC	10.6±0.4	12.3±0.7 ^{ae}	8.2±0.5 ^{aef}	16.5±0.7 ^{aefg}
3MAC	11.3±0.4	12.4±0.5 ^{ae}	8.5±0.7 ^{aef}	16.7±0.7 ^{aefg}
Enflurane 群				
1MAC	11.0±0.3	13.3±0.6 ^{abe}	9.2±0.4 ^{abef}	15.3±0.3 ^{efg}
2MAC	11.2±0.4	17.3±0.7 ^{abe}	12.3±0.7 ^{abef}	17.6±0.7 ^{aeg}
3MAC	11.0±0.4	17.6±0.3 ^{abe}	11.7±0.4 ^{abf}	17.7±0.5 ^{aeg}
Isoflurane 群				
1MAC	10.5±0.4	15.0±0.7 ^{abe}	10.5±0.6 ^{abf}	16.5±0.6 ^{abefg}
2MAC	10.9±0.5	15.6±0.9 ^{abe}	9.4±0.9 ^{acf}	15.9±0.9 ^{eg}
3MAC	10.4±0.3	18.2±0.3 ^{abe}	12.8±0.3 ^{abef}	19.2±0.5 ^{abeg}
Sevoflurane 群				
1MAC	11.1±0.3	16.8±0.6 ^{abce}	10.8±0.6 ^{abcf}	19.4±0.4 ^{abcddefg}
2MAC	11.1±0.2	18.7±0.3 ^{abde}	12.0±0.3 ^{abdef}	19.0±0.3 ^{abdeg}
3MAC	11.1±0.3	18.8±0.3 ^{abe}	11.6±0.4 ^{abf}	18.8±0.4 ^{abeg}

m±SE

各群は各吸入麻酔薬の濃度によって分類した (各群12匹)。(n)は再灌流中に洞調律に回復した心臓の数を表す。処置前：10分間の平衡時間後の測定値，虚血前：冠動脈結紮直前の測定値，虚血時：再灌流直前の測定値，再灌流時：再灌流3分後の測定値，a：p<0.05 Control に対する有意差，b：p<0.05同 MAC の Halothane に対する有意差，c：p<0.05 同 MAC の Enflurane に対する有意差，d：p<0.05 同 MAC の Isoflurane に対する有意差，e：p<0.05 処置前に対する有意差，f：p<0.05 虚血前に対する有意差，g：p<0.05 虚血時に対する有意差を表す。

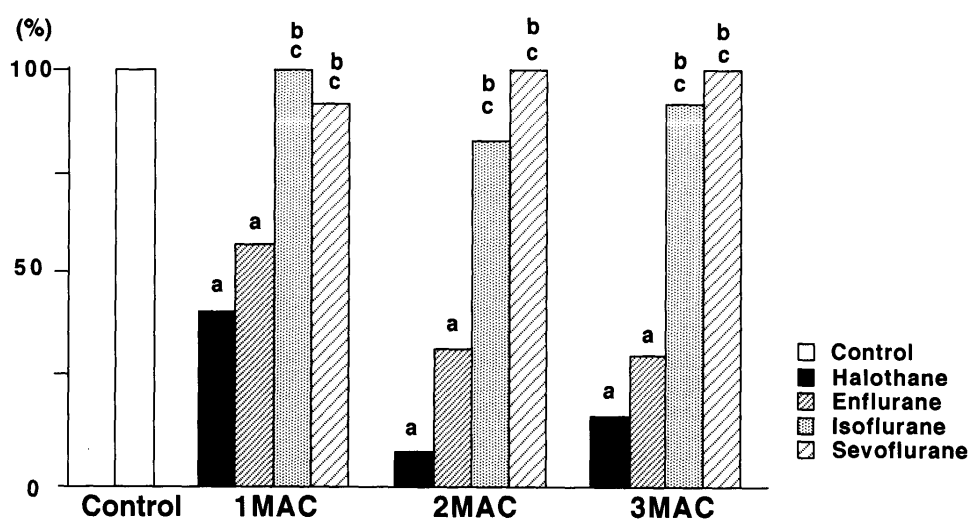


図 3 ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響 (各群12匹)：VFの発現頻度
a：p<0.05 Control 群に対する有意差，b：p<0.05 同 MAC のハロセン群に対する有意差，c：p<0.05 同 MAC のエンフルレン群に対する有意差を表す。

同 MAC の各吸入麻酔薬間を比較すると、ハロセンに比較して虚血前、虚血時共にエンフルレン、イソフルレン、セボフルレンは高値であった。再灌流時にはセボフルレンによる増加が顕著であった。

1-3. VF の発現頻度 (図3)

VF の発現頻度については、control 群が100%発

現したのに比較して、ハロセン、エンフルレンでは全濃度で有意に発現頻度が低下したが、イソフルレン、セボフルレンではどの濃度でも有意差は認められなかった。

また同 MAC の各吸入麻酔薬間でもハロセン、エンフルレンは、イソフルレン、セボフルレンに比較

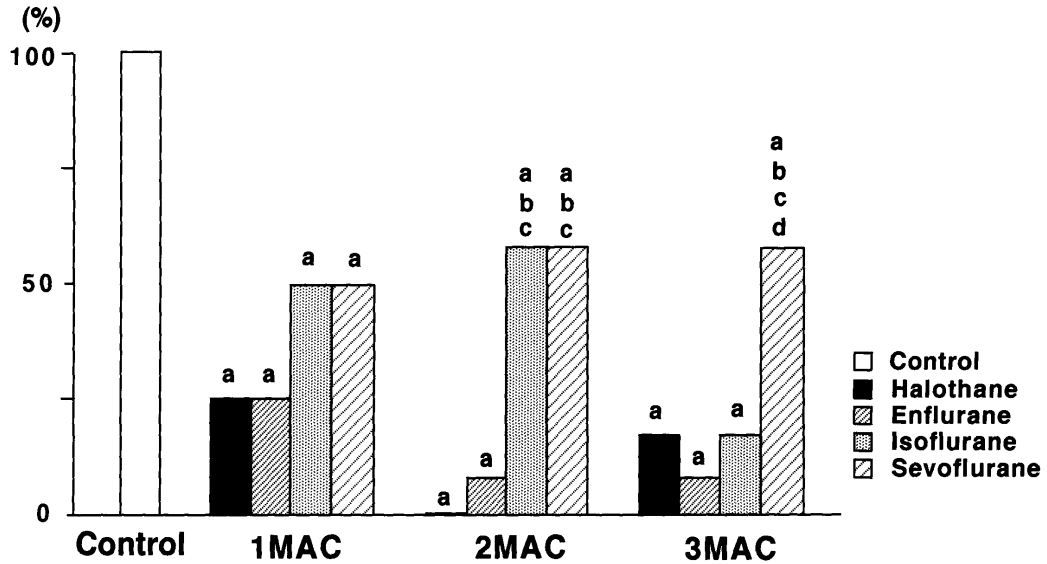


図4 ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響 (各群12匹) : Sustained VF の発現頻度
 a : $p < 0.05$ Control 群に対する有意差, b : $p < 0.05$ 同 MAC のハロセン群に対する有意差, c : $p < 0.05$ 同 MAC のエンフルレン群に対する有意差, d : $p < 0.05$ 同 MAC のイソフルレン群に対する有意差を表わす。

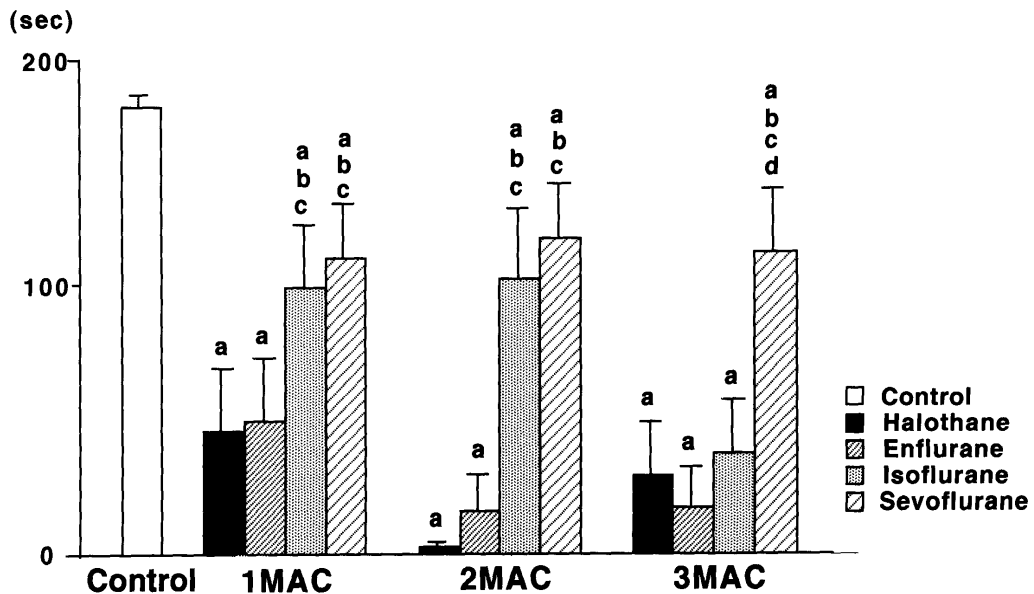


図5 ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響 (各群12匹) : VF 持続時間
 a : $p < 0.05$ vs Control 群に対する有意差, b : $p < 0.05$ vs 同 MAC のハロセン群に対する有意差, c : $p < 0.05$ vs 同 MAC のエンフルレン群に対する有意差, d : $p < 0.05$ vs 同 MAC のイソフルレン群に対する有意差を表わす。(m ± SE)

してVFの発現頻度は全濃度で有意に低かった。

1-4. Sustained VFの発生頻度(図4)

Sustained VFの発生頻度については、control群が100%発生したのに比較して、ハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの全群全濃度で低下した。

また、同MACの各吸入麻酔薬間では、1MACについては、各吸入麻酔薬間に有意差は認められなかったが、2MACについては、イソフルレン、セボフルレンに比較してハロセン、エンフルレンは有意に低く、3MACではハロセン、エンフルレン、イソフルレンは、セボフルレンに比較して有意に低かった。Sustained VFの発生頻度はハロセン2MACで最も低下し0%となった。

1-5. VF持続時間(図5)

VF持続時間は、Sustained VF発生頻度と同様、control群に比較して麻酔薬投与の全群全濃度で有意に短縮した。また、同MACの各吸入麻酔薬間では、1, 2MACについてはイソフルレン、セボフルレンと比較してハロセン、エンフルレンは有意に短く、

3MACについてはセボフルレンに比較してハロセン、エンフルレン、イソフルレンは有意に短かった。VF持続時間についてもハロセンは2MACで最短であり、エンフルレンにおいてもハロセン同様のVFに対する強い抑制作用を認めた。

2. 実験2: 心拍数を一定にした時におけるハロセンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

2-1. 心拍数および冠灌流量の変化(表3, 4)

虚血前において、ペーシングにより冠灌流量の変化は認められなかった。虚血前、虚血時においては、ペーシングの有無に関わらずハロセン投与群では、control群、control-ペーシング群に比較して有意に高値であった。また虚血時には全群とも虚血前に比較して冠灌流量が約65%程度に減少し、再灌流時では虚血前より有意に増加した。

2-2. VFの発現頻度(図6-A)

VFの発現頻度については、control群、control-ペーシング群が100%であったのに比較して、ハロセン2MAC、ハロセン2MAC-ペーシング群は有意に低下した。またハロセン2MACとハロセン2MAC-

表3 心拍数の変化

	処置前 (beats/min)	虚血前 (beats/min)	虚血時 (beats/min)	再灌流時 (beats/min)
Control群	281±5	273±6	243±7 ^{cd}	全例VF
Control-Pacing群	278±6	300 ^{ac}	300 ^{ac}	全例VF
Halothane				
2MAC群	281±4	240±5 ^{abc}	225±5 ^{abcd}	221±5 (n=10)
Halothane 2MAC				
-Pacing群	276±5	300 ^a	300 ^{ac}	221±5 (n=11)

m±SE

各群はPacingおよびHalothaneの投与によって4群に分類した(各群12匹)。(n)は再灌流中に洞調律に回復した心臓の数を表わす。処置前:10分間の平衡時間後の測定値,虚血前:冠動脈結紮直前の測定値,虚血時:再灌流直前の測定値,再灌流時:再灌流3分後の測定値,a:p<0.05Controlに対する有意差,b:p<0.05Control-Pacingに対する有意差,c:p<0.05処置前に対する有意差,d:p<0.05虚血前に対する有意差を表わす。

表4 冠灌流量の変化

	処置前 (ml/min)	虚血前 (ml/min)	虚血時 (ml/min)	再灌流時 (ml/min)
Control群	10.7±0.3	10.1±0.3	6.1±0.2 ^{cd}	14.1±0.4 ^{cde}
Control-Pacing群	10.6±0.4	10.4±0.3	6.5±0.5 ^{cd}	14.2±0.7 ^{cde}
Halothane				
2MAC群	10.6±0.4	12.3±0.7 ^{ab}	8.2±0.5 ^{abcd}	16.5±0.7 ^{abcde}
Halothane 2MAC				
-Pacing群	10.6±0.3	12.3±0.5 ^{ab}	7.4±0.3 ^{acd}	14.6±0.5 ^{cde}

m±SE

各群はPacingおよびHalothaneの投与によって4群に分類した(各群12匹)。処置前:10分間の平衡時間後の測定値,虚血前:冠動脈結紮直前の測定値,虚血時:再灌流直前の測定値,再灌流時:再灌流3分後の測定値,a:p<0.05Controlに対する有意差,b:p<0.05Control-Pacingに対する有意差,c:p<0.05処置前に対する有意差,d:p<0.05虚血前に対する有意差,e:p<0.05虚血時に対する有意差を表わす。

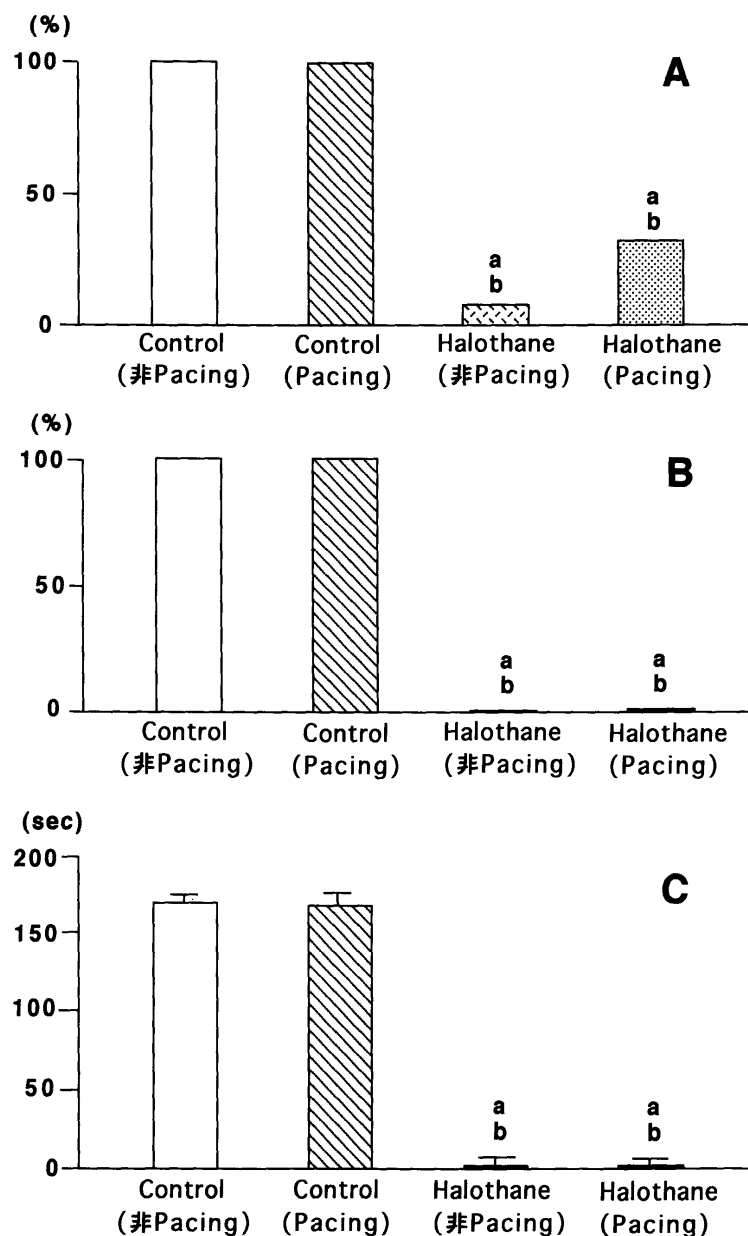


図6 心拍数を一定にした時におけるハロセンの虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

A: VFの発現頻度 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ Control-Pacing群に対する有意差を表わす。

B: Sustained VFの発生頻度 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ Control-Pacing群に対する有意差を表わす。

C: VF持続時間 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ Control-Pacing群に対する有意差を表わす。(m±SE)

ペースング群間では有意差は認められなかった。

2-3. Sustained VFの発生頻度 (図6-B)

Sustained VFの発生頻度については、control群、control-ペースング群が100%であったのに比較してハロセン2MAC、ハロセン2MAC-ペースング群は共に0%であった。

2-5. VF持続時間 (図6-C)

VF持続時間は、Sustained VF発生頻度と同様、control群、control-ペースング群に比較してハロセン2MAC、ハロセン2MAC-ペースング群は有意に短縮した。ハロセン2MAC-ペースング群はハロセン2MACと同等のVFに対する強い抑制作用を認めた。

3. 実験3: ハロセンの投与時期に関する虚血再灌

表5 心拍数の変化

	処置前 (beats/min)	虚血前 (beats/min)	虚血時 (beats/min)	再灌流時 (beats/min)
Control 群 虚血前	281±5	273±6	243±7 ^{cd}	全例 VF
Halothane 投与群 再灌流時	281±4	240±5 ^{ac}	225±5 ^{acd}	221±5 (10)
Halothane 投与群	280±2	275±2 ^b	246±5 ^{bcd}	237±5 (4)

m±SE

各群は Halothane の投与時期によって 3 群に分類した(各群12匹)。(n)は再灌流中に洞調律に回復した心臓の数を表わす。処置前：10分間の平衡時間後の測定値，虚血前：冠動脈結紮直前の測定値，虚血時：再灌流直前の測定値，再灌流時：再灌流 3 分後の測定値，a：p<0.05Control に対する有意差，b：p<0.05虚血前 Halothane に対する有意差，c：p<0.05処置前に対する有意差，d：p<0.05虚血前に対する有意差を表わす。

表6 冠灌流量の変化

	処置前 (ml/min)	虚血前 (ml/min)	虚血時 (ml/min)	再灌流時 (ml/min)
Control 群 虚血前	10.7±0.3	10.1±0.3	6.1±0.2 ^{cd}	14.1±0.4 ^{cde}
Halothane 投与群 再灌流時	10.6±0.4	12.3±0.7 ^a	8.2±0.5 ^{acd}	16.5±0.7 ^{acde}
Halothane 投与群	10.8±0.3	9.7±0.3 ^b	7.1±0.3 ^{acd}	13.9±0.5 ^{bcde}

m±SE

各群は Halothane の投与時期によって 3 群に分類した(各群12匹)。処置前：10分間の平衡時間後の測定値，虚血前：冠動脈結紮直前の測定値，虚血時：再灌流直前の測定値，再灌流時：再灌流 3 分後の測定値，a：p<0.05 Control に対する有意差，b：p<0.05虚血前 Halothane に対する有意差，c：p<0.05処置前に対する有意差，d：p<0.05虚血前に対する有意差，e：p<0.05虚血時に対する有意差を表わす。

流不整脈に及ぼす影響

3-1. 心拍数と冠灌流量の変化(表5, 6)

心拍数は虚血時においては，虚血前ハロセン群では control 群，再灌流時ハロセン投与群に比較して有意に減少した。

冠灌流量は虚血時においては，虚血前ハロセン投与群，再灌流時ハロセン投与群は，control 群に比較して有意に増加した。また再灌流時には control 群，再灌流時ハロセン投与群に比較して虚血前ハロセン投与群は高値であった。

3-2. VF の発現頻度(図7-A)

VF の発現頻度については，control 群は100%，再灌流時ハロセン投与群は92%であったのに比較して，虚血前ハロセン投与群は8%と有意に低下した。

3-4. Sustained VF の発現頻度(図7-B)

Sustained VF の発現頻度については，control 群が100%であったのに比較して，虚血前ハロセン投与群は0%，再灌流時ハロセン投与群67%と各々 control 群より有意に低下したが，虚血前ハロセン投与群は再灌流時ハロセン投与群に対しても有意な低下を示した。

3-5. VF 持続時間(図7-C)

VF 持続時間は，Sustained VF 発生頻度と同様，control 群に比較して，再灌流時ハロセン投与群，虚血前ハロセン投与群は有意に短かった。また虚血前ハロセン投与群は再灌流時ハロセン投与群に対しても有意に短かった。

考 察

急性心筋梗塞症の経過中に血栓溶解による血行の再開通が起きうる事実や，血栓溶解療法，血管形成術などの血行再建術の進歩により，虚血再灌流という状況に遭遇する機会が増え，その病態生理についての関心が高まっている。虚血再灌流に伴う心室性不整脈は臨床的には実験動物に見られるほど一般的なものではないが，虚血再灌流によって即時にまた確実に発現する特異的な事象であるため，虚血および再灌流に伴う心筋の障害のモデルとして確立されたものである²。特に，Langendorff 法¹⁹による摘出心標本モデルを用いた虚血再灌流不整脈についてはこれまでにも，多くの研究がなされてきた^{1,22,23}。我々は，従来よりこのモデルの安定性，虚血時間による虚血再灌流不整脈の発現頻度および虚血再灌流不整脈の観察時間について検討してきたが，本研究

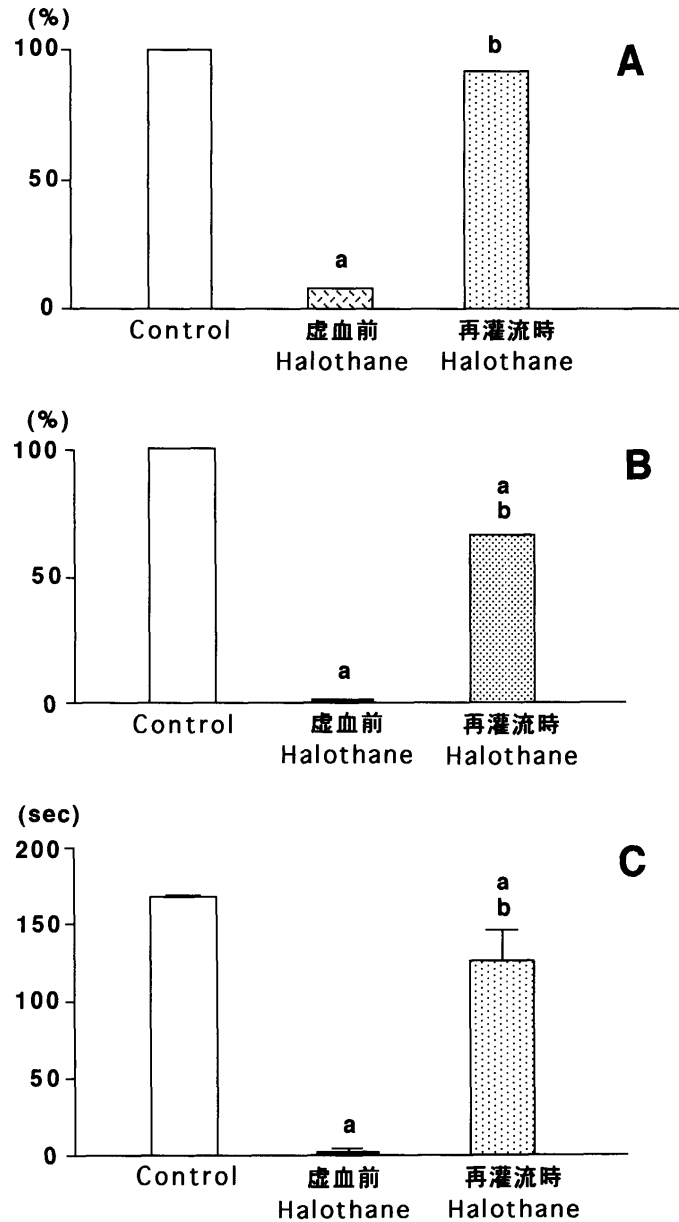


図7 ハロセンの投与時期に関する虚血再灌流不整流に及ぼす影響

A: VFの発現頻度 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ 虚血前ハロセン群に対する有意差を表わす。

B: Sustained VFの発生頻度 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ 虚血前ハロセン群に対する有意差を表わす。

C: VF持続時間 (各群12匹)

a: $p < 0.05$ Control群に対する有意差, b: $p < 0.05$ 虚血前ハロセン群に対する有意差を表わす。

ではこの予備実験の結果に基づき、標本の心拍数および冠流量が安定し、不整脈を高率に発生させる実験の条件として虚血時間を11分とした²⁰。このモデルでは虚血領域の大きさが不整脈発現頻度に大きな影響を与えるものと推察されるが、虚血領域の大きさは $37.9 \pm 6.7\%$ であった。また、著者らはVFの発生をみるような重篤な虚血再灌流不整脈の重症度の

分析にあたっては、PVCやVTの分析では重症度の判定が困難であるため主にVFについて分析を行うことが適当であることを報告した²⁰。再灌流後の観察時間も再灌流直後から10分間にわたって不整脈の発生を観察、分析した結果、一旦VFになったものは5分以上連続する傾向を示し、VF持続時間の観察時間も3分値、5分値、10分値においてはほぼ

同様な傾向を示したため、虚血再灌流不整脈の観察は再灌流直後から3分で評価が可能であることも報告した²⁰。この結果に基づき本研究でも再灌流後の観察時間は3分とした。

吸入麻酔薬は元来、心筋のペースメーカー細胞の正常な自動能を抑制し、伝導速度を遅延させ、麻酔薬による心筋のエピネフリン感受性を増強することから、催不整脈作用のある薬剤とみなされてきた¹³。しかし、Krollらが、ハロセンにイヌの急性冠動脈閉塞、再灌流時の悪性の心室性不整脈の予防効果を見だし¹⁶、また、Turnerらが急性心筋梗塞を起こした心臓のPurkinje線維で、ハロセンが催不整脈作用と抗不整脈作用を併せ持つことを報告してから¹⁷、吸入麻酔薬が虚血時や再灌流時の不整脈に対して抗不整脈作用を持つことが注目されるようになった^{4,14-18}。しかし、虚血再灌流障害に対する各々の吸入麻酔薬の及ぼす影響については報告されていたが、再灌流不整脈に対して4種の吸入麻酔薬を同等の条件下で比較したものはなかった。

心筋の虚血再灌流障害の機序として注目されてきたものとして、ATPを主とする高エネルギーリン酸化合物の欠乏、細胞内カルシウム制御異常およびカルシウム過負荷⁴⁻¹¹、活性酸素による障害の三つの要因が有力である。高エネルギーリン酸化合物の欠乏はエネルギー依存性の細胞膜カルシウムポンプや筋小胞体へのカルシウムの取り込みの障害によってカルシウム過負荷を引き起こす原因となる²⁴。また、一方では細胞内カルシウムの蓄積が、プロテアーゼやヌクレアーゼ、アデニルシクラーゼ、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaseなどの酵素活性を促進すると思われ、また、カルシウム増加による $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ の酵素活性促進がおこると、さらにATPの消耗が起こると共に産生も阻害されると考えられる。活性酸素はその直接の膜障害と、細胞膜に存在するイオンチャンネルや $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaseなどの蛋白の機能障害により細胞内カルシウム制御異常を引き起こし、カルシウムの催不整脈作用を増強すると言われている²。また細胞内カルシウムの蓄積は再灌流によって生じたフリーラジカルの細胞障害作用を増強することも報告されている²⁵。このように前述した三つの要因のどれについても単独では決定的な要因とはなりえずに、おそらくはこれらが相互に複雑に関連していると考えられるが、虚血再灌流時のカルシウムホメオスタシスの異常、特に持続性の細胞内カルシウムの蓄積が、虚血再灌流不整脈の直接的な発生原因として強く関与しているのは間違いないと考えられる^{25,26}。

事実、Murphyらは培養心筋細胞を用いて、虚血に

より心筋細胞内にカルシウムイオンが流入し、再灌流でさらにカルシウムの流入が増強することを示した。また、再灌流時のカルシウム流入は先行する虚血の程度が強いほど大きいことも報告した²⁵。虚血再灌流不整脈の機序として、細胞内カルシウムイオンの過負荷があげられることについての報告も多い⁴⁻¹¹。心筋虚血によるカルシウムの流入は再灌流によって次第に正常値に戻るとの報告もあるが、Steenbergen⁷、Lee⁹、Kihara⁶、Tani²⁷らは、心筋虚血に引き続く心室機能の回復と再灌流中の心筋内へのカルシウム流入の程度を調べて、再灌流中の心筋内へのカルシウム取り込みが多いほど心室機能の回復が悪いとしている。このように、心筋細胞内カルシウムは、虚血によって増加し、先行する虚血の程度に従って再灌流時にもその流入が持続するか、あるいは次第に正常回復するが、少なくとも再灌流の初期には高値を示し、再灌流時に高値となるほど心筋の障害程度が強くなるものと考えられる。

さて、吸入麻酔薬とカルシウムイオンの関係については、ハロセンがカルシウム流入を抑制することが示され²⁸⁻³⁰、また、ハロセン、エンフルレン、イソフルレンが、電位依存性カルシウムチャンネルを抑制すると報告されている^{31,32}。筋小胞体のカルシウム動態に対する吸入麻酔薬の作用についても、吸入麻酔薬が筋小胞体のカルシウムを枯渇させ、筋小胞体へのカルシウムの流入を抑制するなどの報告があり^{33,34}、これらが吸入麻酔薬による陰性変力作用の原因と考えられている。虚血、再灌流に伴う心筋細胞内カルシウムの上昇についても、ハロセンは細胞内カルシウム蓄積を抑制し¹²、また、虚血再灌流に伴う心筋細胞内カルシウムの上昇が、ハロセンによって抑制され、形態的变化も抑えられることが報告されている³⁵。心筋の筋線維鞘では、虚血によって、電位依存性カルシウムチャンネルが増加するが、虚血時にハロセンを投与すると電位依存性カルシウムチャンネルが有意に減少し、ハロセンによる虚血時の心筋障害抑制にカルシウムチャンネルが強く関与していることが示唆されている³⁶。これらのことはカルシウム拮抗薬によって、虚血再灌流不整脈が抑制される機構からも容易に理解される。

各々の麻酔薬の心筋細胞内のカルシウムイオン動態に及ぼす作用の差異については、ウサギの心筋スキンドファイバーでの筋小胞体からのカルシウム放出では、ハロセンはイソフルレンより強く^{37,38}、ハロセン、エンフルレン、イソフルレンの筋小胞体からのカルシウムの放出の仕方についても、吸入麻酔薬間に差が存在することが知られている³⁹。セボフルレンを含めた各々の吸入麻酔薬の心筋細胞内のカル

シウムイオン動態に及ぼす作用の差異については今まであまり報告がないが、気管平滑筋においては、同一の負荷%で比較した場合、細胞内カルシウム低下の程度が、ハロセン>エンフルレン \geq イソフルレン>セボフルレンの順であり⁴⁰、張力抑制の程度と一致する⁴¹とされている。各々の麻酔薬による心機能の抑制もほぼこの順となり⁴²、吸入麻酔薬間の陰性変力作用の差を心筋細胞内のカルシウムイオン動態に及ぼす作用の差異に求めるならば、心筋における細胞内カルシウム低下の程度もほぼこの順となると推察され、本実験における各麻酔薬の虚血再灌流不整脈抑制効果の強さと合致する。本実験では虚血再灌流不整脈に及ぼす影響が吸入麻酔薬によって異なることが明らかとなったが、この効果の差異についても、心筋細胞内のカルシウムイオン蓄積に及ぼす作用の差異が関与するものと推察される。

虚血再灌流不整脈の発生頻度に影響を与える因子の一つとして、心筋の虚血時の障害の程度が影響し、心筋の収縮力の抑制、心拍数の減少が虚血再灌流不整脈の発生頻度を低下させるとされている¹。実験1では、吸入麻酔薬の投与下での心拍数は一定させなかったため、心拍数の変化については心筋の酸素需要の減少による虚血再灌流不整脈の発生頻度の低下は否定できない。しかし、今回の実験での各群を比較すると心拍数の減少と虚血再灌流不整脈の発生頻度とは必ずしも一致せず、同等な心拍数の変化を示す群を見ても虚血再灌流不整脈の発生頻度は全く異なっている(表1, 図3, 4, 5)。また、この点をふまえて、実験2においてはペーシングをして虚血前から心拍数を一定に保ったモデルにおいても、ペーシングをせずにハロセンによって心拍数が減少した時と同等に虚血再灌流不整脈の発生を抑制した(図6-A, B, C)。また、Oguchiらはラットの摘出心標本で、1MACのハロセン、エンフルレン、イソフルレン、セボフルレンの4種の吸入麻酔薬の投与下での15分の虚血時に、心筋の酸素需要供給バランスが麻酔薬の投与をしなかった群と4種の吸入麻酔薬とのいずれの群の間にも差がなかったことを報告している⁴²。Maxwellらの各種実験動物における詳細な冠側副血行路に関して、ラットでは犬などに比較して非常に少なく、5-10%しか冠血管の側副血行路が存在しないことが判明しており⁴⁴、冠血管の結紮後には他の領域から虚血領域への灌流はほとんど存在しないと思われる。そのため、虚血後の冠灌流量は虚血中の虚血領域に影響が少ないと考えてよい。以上のことから考えて、今回の実験で吸入麻酔薬による心拍数の減少によって嫌氣的な代謝の抑制をしていることが、虚血再灌流不整脈の抑制の主な

原因ではないものと思われる。

臨床的にある薬剤が虚血再灌流の治療に有効であることを証明するためには、不整脈の発生時つまり再灌流時のみの投与で有効となる必要性が生じると考えられる。実験3において、ハロセンは再灌流時のみの投与では、虚血前からハロセンを投与した群に比較して抑制が弱かったが、虚血再灌流不整脈を抑制することはできた。各種のカルシウム拮抗薬やフリーラジカルスカベンジャーなどでも、再灌流時のみの投与で有効であったとの知見は少なく、虚血再灌流時に特異的に虚血再灌流不整脈に対して抑制効果を持つ薬物は今のところ見受けられない²。再灌流時にはカルシウムチャンネルがすでに不活化しているとの知見もあって⁴⁵⁻⁴⁸、虚血前からハロセンを投与した場合と再灌流時のみの投与で有効性に差を生ずる点や、カルシウム拮抗薬との作用の違いから考えて、吸入麻酔薬による虚血、再灌流に伴う心筋細胞内カルシウム濃度の増加の抑制機序については、カルシウムチャンネル以外の機序も関与していることが十分示唆されるが、未だ不明である。これらのことから、吸入麻酔薬は再灌流時だけでなく、虚血の最中から抑制作用を発現しているものと考えられる。

本研究において、著者は、現在臨床的に使用される4種の吸入麻酔薬が虚血再灌流不整脈を抑制するが、その抑制の強さはハロセン \geq エンフルレン>イソフルレン \geq セボフルレンの順であることを明らかにした。本実験は摘出心標本のモデルであり、中枢神経系の関与を除外したものであるため、この結果を直ちに臨床におけるこれらの薬剤の効果と考えることはできないが、虚血再灌流障害に対する予防効果およびハロセンで示された虚血再灌流不整脈に対しての顕著な抑制効果は、臨床使用に際して大きな利点となると考えられるが、これら4種の吸入麻酔薬の効果の差異を説明するためには、虚血再灌流不整脈の発生機序のさらなる解明を待たねばならない。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師、古賀義久教授に深甚なる謝意を捧げます。また直接御指導頂きました中村正人博士、榎田高士博士をはじめ様々な形で御協力頂きました末包慶太前教授(現ライフサイエンス研究所教授)、田中一彦博士(白鷺病院副院長)、教室の諸兄に厚く感謝申し上げます。

本論文の要旨およびその一部は1994年4月、第41回日本麻酔学会総会(東京)、1995年4月、第42回日本麻酔学会総会(浜松)で発表した。また、本研究の一部は1995年度文部省科学研究費補助金で行われた。

文 献

1. Manning AS, Hearse DJ, Yellon DM (1984) Reperfusion-induced arrhythmias mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 16: 497-518
2. Opie LH (1989) Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation* 80: 1049-1062
3. 杉山 理, 西中康人(1992)虚血心筋の生化学, エネルギー代謝. *代謝* 29: 1023-1032
4. Coetzee A, Brits W, Genade S, Lochner A (1991) Halothane does have protective properties in the isolated ischemic rat heart. *Anesth Analg* 73: 711-719
5. Bourdillon PDV, Poole-Wilson PA (1981) Effects of ischemia and reperfusion on calcium exchange and mechanical function in the isolated rabbit myocardium. *Cardiovasc Res* 15: 121-130
6. Kihara Y, Grossman W, Morgan JP (1989) Direct measurement of changes in intracellular calcium gradients during hypoxia and reperfusion of the intact mammalian heart. *Circ Res* 65: 1029-1044
7. Steenbergen C, Murphy E, Levy L, London RE (1987) Elevation in cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. *Circ Res* 60: 700-707
8. Nayler WG, Panagiotopoulos S, Elz JS, Daly MJ (1988) Calcium mediated damage during post-ischemic reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 20 (Suppl 2): 42-54
9. Lee HC, Smith N, Mohabir R, Clusin WT (1987) Cytosolic calcium gradients from the beating mammalian heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 7793-7797
10. Kleber AG, Wilde AMM (1986) Regulation of intracellular sodium ions in acute irreversible myocardial ischemia—a perspective. *J Mol Cell Cardiol* 18 (Suppl 4): 27-30
11. Borgers M, Shu LG, Xhonneux XR, Tone F, Van Overloop (1987) Changes in ultrastructure and calcium distribution in the isolated working rabbit heart after ischemia. *Am J Pathol* 126: 92-102
12. Hoka S, Bosnjak ZL, Kampine JP (1987) Halothane inhibits calcium accumulation following myocardial ischemia and calcium paradox in guinea pig hearts. *Anesthesiology* 67: 197-202
13. Atlee JL (1987) Halothane: cause or cure for arrhythmias? *Anesthesiology* 67: 617-618
14. Deutsch N, Hantler CB, Tait AR, Uprichard A, Schork MA, Knight PR (1990) Suppression of ventricular arrhythmias by volatile anesthetics in a canine model of chronic myocardial infarction. *Anesthesiology* 72: 1012-1021
15. Buljubasic N, Marijic JV, Stowe DF, Kampine JP, Bosnjak ZJ (1992) Halothane reduces dysrhythmias and improves contractile function after global hypoperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg* 74: 384-394
16. Kroll DA, Knight PR (1984) Antifibrillatory effects of volatile anesthetics in acute occlusion/reperfusion arrhythmias. *Anesthesiology* 61: 657-661
17. Turner LA, Bosnjak ZJ, Kapine JP (1987) Action of halothane on the electrical activity of Purkinje fibers from normal and infarcted canine hearts. *Anesthesiology* 67: 619-629
18. Tanaka K, Nakamura M, Umeda T, Izumi T, Takura M, Tsujimura K, Suekane K, Yamamoto F (1993) Effects of sevoflurane and halothane on reperfusion-induced arrhythmia in the isolated rat heart. *Clin Ther* 15: 1085-1093
19. Langendorff O (1985) Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pfluegers Arch* 61: 625-633
20. 棋田高士, 田中一彦, 中村正人, 田倉 学, 泉 貴文, 末包慶太(1994)ラット摘出心における虚血時間と再灌流不整脈との関係. *循環制御* 15: 430-436
21. Walker MJA, Curtis MJ, Hearse DJ (1988) The Lambeth Conventions: Guidelines for the study of arrhythmias in ischemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 22: 447-455
22. Bernier M, Curtis MJ, Hearse DJ (1989) Ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmias: importance of heart rate. *Am J Physiol* 256: H21-H31
23. Tosaki A, Hearse DJ (1987) Protective effect of transient calcium reduction against reperfusion-induced arrhythmias in rat hearts. *Am J Physiol* 253: H225-H233
24. Braunwald E, Kloner RA (1982) The stunned myocardium: prolonged postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 60: 1146-1149
25. Murphy JG, Marsh JD, Smith TW (1987) The role of calcium in ischemic injury. *Circulation* 75 (suppl): 15-24
26. Prielipp R, Zaloga GP (1991) Calcium action and general anesthesia. In: Stoelting RK, Barash PG, Gallagher TJ (eds): *Advances in Anesthesia*, Vol 8. St. Louis, MO, Mosby Year Book, pp 241-278
27. Tani M, Neely JR (1989) Role of intracellular Na⁺ and Ca²⁺ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. *Circ Res* 65: 1045-1056
28. Ikemoto Y, Yatani H, Arimura H, Yoshitake J (1985) Reduction of slow inward current of isolated rat ventricular cells by thiamylal and halothane. *Acta Anaesthesiol Scand* 29: 583-586
29. Lynch CIII, Vogel SA, Sperelakis N (1981) Halothane depression of myocardial slow action potentials. *Anesthesiology* 55: 360-368
30. 広田弘毅, 伊藤祐輔, 百瀬弥寿徳, 久世照五(1990)モルモット心室筋単一細胞の膜電位, Ca²⁺電流および細胞cAMPに及ぼすハロセンの影響. *麻酔* 39: 1460-1466
31. Drenger B, Quigg M, Thomas JJB (1991) Volatile anesthetics depress calcium channel blocker binding to bovine cardiac sarcolemma. *Anesthesiology* 74: 155-165
32. Bosnjak ZJ, Supan DF, Rusch NJ (1991) The effects of halothane, enflurane and isoflurane on calcium currents in isolated canine ventricular cells. *Anesthesiology* 74: 340-345

33. Katsuoka M, Ohnishi ST (1989) Inhalation anesthetics decrease calcium content of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Br J Anaesth* 62: 669-673
34. Wild DW, Davidson BA, Smith MD, Knight PR (1993) Effects of isoflurane and enflurane on intracellular Ca^{2+} mobilization in isolated cardiac myocytes. *Anesthesiology* 79: 73-82
35. Lochner A, Harper IS, Salie R, Genade S, Coetzee AR (1994) Halothane protects the rat myocardium against excessive total intracellular calcium and structural damage during ischemia and reperfusion. *Anesth Analg* 79: 226-233
36. Drenger B, Ginosar Y, Chandra M, Reches A, Gozal Y (1994) Halothane modifies ischemia-associated injury to the voltage-sensitive calcium channels in canine heart sarcolemma. *Anesthesiology* 81: 221-228
37. Komai H, Rusy BF (1987) Negative inotropic effects of isoflurane and halothane in rabbit papillary muscles. *Anesth Analg* 66: 29-33
38. Su JY, Bell JG (1986) Intracellular mechanism of action isoflurane and halothane on striated muscle of the rabbit. *Anesth Analg* 65: 457-462
39. Connelly TJ, Coronado R (1994) Activation of the Ca^{2+} release channel of cardiac sarcoplasmic reticulum by volatile anesthetics. *Anesthesiology* 81: 459-469
40. Yamakage M, Kohro S, Kawamata T, Namiki A (1993) Inhibitory effects of four inhaled anesthetics on canine tracheal smooth muscle contraction and intracellular Ca^{2+} concentration. *Anesth Analg* 77: 67-72
41. 古賀義久, 岩月尚文, 佐藤大三, 橋本保彦 (1987) インフルレンの気管平滑筋に及ぼす直接作用—ハロセン, イソフルレンとの比較—. *麻酔* 36: 1257-1263
42. Oguchi T, Kashimoto S, Yamaguchi T, Nakamura T, Kumazawa T (1995) Comparative effects of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane on function and metabolism in the ischaemic rat heart. *Br J Anaesth* 74: 569-575
43. Maxwell MD, Hearse DJ, Yellon DM (1987) Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent and myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 21: 737-740
44. Lefer AM, Polansky EN, Bianti CP, Naryan S (1979) Influence of verapamil on cellular integrity and electrolyte concentrations in ischemic myocardial tissue in the cat. *Basic Res Cardiol* 74: 555-567
45. Linden I, Brokker G (1980) Properties of cardiac contractions in zero sodium solution: intracellular free calcium controls slow channel conductance. *J Mol Cell Cardiol* 12: 457-458
46. Murphy JG, Smith TW, Marsh JD (1988) Mechanism of reoxygenation induced calcium overload in cultured chick embryo heart cell. *Am J Physiol* 254: H1133-1141
47. Watts JA, Koch CD, LaNoue KF (1980) Effects of Ca^{2+} antagonism on energy metabolism: Ca^{2+} and heart function after ischemia. *Am J Physiol* 238: H909-916