脳虚血に対するバルビツレイト・マニトール・グリセロールの保護作用に関する実験的研究 (第2報)

畑下 鎮男

Protective Effects of Barbiturate, Mannitol and Glycerol on Experimental Global Cerebral Ischemia (Part II)

Shizuo HATASHITA

Department of Neurosurgery, Juntendo University, Tokyo

Abstract

Protective effects of thiopental, mannitol, and glycerol on global cerebral ischemia were histopathologically investigated.

Global cerebral ischemia was produced as reported previously (Part I). They were divided into four groups: no treatment; thiopental; mannitol; and glycerol-treated groups. Morphological change after ischemia was evaluated by electron microscopy of red blood cells, the luminal surface of the internal carotid artery, and of the cerebral cortex. In animals receiving no treatment, many erythrocytes underwent a shape change from discocytes to echinocytes or sphero-stomatocytes. The luminal surface revealed various "crater-like" defects. Neurones were shrunken with extremely dense cytoplasm containing swollen mitochondria or endoplasmic reticulum and capillary lumina were reduced to a slit. In contrast, in animals treated with thiopental, ischemic change of neurones and luminal surface of the internal carotid artery were minimal. In animals treated with mannitol or glycerol, deformed erythrocytes were less frequent. Capillary lumina remained patent and the swelling of perivascular glial processes was strikingly decreased. Moreover, in animals treated with glycerol, neurones underwent little ischemic change.

It is confirmed that thiopental can protect neurones and can also improve cerebral circulation, and that mannitol or glycerol can improve post-ischemic microcirculatory disturbance.

Key words: cerebral ischemia, barbiturate, mannitol, glycerol, electron microscopy

I はじめに

我々はネコにおいて20分および30分の胸腔内動脈結紮による global cerebral ischemia の実験的脳虚血モデルを作製し、脳虚血による障害に対して保護的に作用すると考えられているチオペンタール、マニトール、グリセロールを静脈内投与し、神経学的所見、脳波、体性知覚誘発電位などの観点より検討し、第1報として報告した。その結果、コントロール群は全例死亡したが、チオペンタール、マニトール、グリセロールの各薬剤投与群では、30分脳虚血例で

死亡率43%、生存可能状態7%、脳波と体性知覚誘発電位の再出現57%、一方20分脳虚血例で死亡率7%、生存可能状態79%、脳波と体性知覚誘発電位の再出現93%であった。20分脳虚血後の機能回復に対し、チオペンタール、マニトール、グリセロールの各薬剤間には有意な差は認められなかったが、30分脳虚血例に比してより効果的な結果が得られた。

今回我々は、第1報と同様の global cerebral ischemia のモデルを用いて、一時的脳虚血後の病態を血管内因子として赤血球、頭蓋内内頸動脈内壁、脳実質(神経細胞と毛細血

順天堂大学脳神経外科

Address reprint requests to: S. Hatashita, M. D., Department of Neurosurgery, Tokyo Metropolitan Hiroo General Hospital, 2-34-10 Ebisu, Shibuya-ku, Tokyo 150.

受稿 1982年4月9日 受理 1982年10月29日

管周囲)の形態学的変化を電顕的に検討し、脳虚血に対するチオペンタール、マニトール、グリセロールの作用機序を検索した。その結果、コントロール群では赤血球は変形し、頭蓋内内頸動脈内壁は膨隆し crater 様の欠損を認め、毛細血管腔は狭窄し、神経細胞の萎縮がみられた。しかしチオペンタール群では頭蓋内内頸動脈内壁や神経細胞の虚血性変化は少なく、一方マニトールやグリセロール群では赤血球の形態学的変化は少なく、毛細血管腔が保持され、さらにグリセロール群では、マニトール群に比べ神経細胞の虚血性変化が軽度である実験結果を得たので、第2報として報告する。

II 実験方法

体重2~3kgのネコ(シャムネコ、純系)15匹を用いた。動物実験に対する一般的処置、global cerebral ischemiaの脳虚血モデル、生理学的 monitorの種類と方法などは第1報と同様に行った。脳虚血時間は第1報で報告したごとく、チオペンタール、マニトール、グリセロールの各種薬剤投与が脳波、体性知覚誘発電位、神経学的所見などの観点よりみてもっとも効果的に作用したと考えられる20分間とした。

1. 治療剤の種類、量、投与方法

治療剤としてチオペンタール、マニトール、グリセロールを下記のように単独投与した。

- Group 1, control 群(生理食塩水)
- Group 2, thiopental 群(thiopental sodium)
- Group 3, mannitol 群(20% mannitol)
- Group 4, glycerol 群(10% glycerol + 5% fructose)

第1報と同様にそれぞれの薬剤の投与量は、チオペンタール 30 mg/kg, マニトール 2g/kg, グリセロール 1 g/kgを約15~20分間で静脈内投与し、投与方法は血流遮断前にその投与量の約2/3を、遮断中に残り1/3を投与した。

2. 赤血球の形態観察

0.1 mol リン酸緩衝液で希釈した1%グルタルアルデヒド(pH 7.38~7.43, 浸透圧 310~320 mmOsM) 10 ccを注射器に取り、それに末梢静脈血0.5 ccを採取し、静かに攪拌しつつ室温にて30分間固定し、その後遠心操作にて赤血球を分離し、0.1 mol リン酸緩衝液で3回洗浄を行い、0.5%オスミウム酸で固定した。蒸留水で3回洗浄し、エタノール上昇系列で脱水・乾燥操作後、カーボン・金蒸着を行い、走査電子顕微鏡(日立、明石 mini SEM)にて形態観察を行った。正常形態を示す頻度は、赤血球数300以上を計数基準としてその比率を計算した。血液の採取は血流遮断解除後30分と90分の時点で行った。

Fig. 1 Histogram of the percentage of normal erythrocytes in cats untreated or treated with thiopental, mannitol, or glycerol, before ischemia (pre-clamp), 30 min. and 90 min. after ischemia (post-clamp). The results are given as means $\pm$ standard errors. The percentage of normal erythrocytes was significantly greater in cats treated with mannitol or glycerol than in those untreated.

3. 血管壁の形態観察

血流遮断解除後90分の時点で開胸し、上行大動脈より0.075 mol リン酸緩衝液で希釈した1.2%グルタルアルデヒド(pH 7.4 浸透圧320 mm OsM)を、圧125 mmHgで約500 ccにて灌流固定した。その後手術用顕微鏡にて頭蓋内内頸動脈を0.5 cm 取り出し、灌流液と同じグルタルアルデヒド内に120分間置いたのち、0.15 mol リン酸緩衝液で固定した。その後1%オスミウム酸にて固定し、エタノール上昇系列で脱水、臨界点乾燥操作後、カーボン・金蒸着を行い、走査電子顕微鏡にて観察した。

4. 脳実質の形態観察

血管壁の形態観察の場合と同様に、1.2%グルタルアルデヒドで灌流固定し、前頭葉の灰白質を小さなブロックとして取り出し、1 mol リン酸緩衝液で希釈した2%グルタルアルデヒドにて前固定した。ついで2%オスミウム酸で後固定後、エタノール上昇系列で脱水し、エポン812で包埋し、超薄切片を作製し、ウラニールアセテイトおよびリードチトレート溶液で二重電子染色を行い、透過電子顕微鏡(日立、H500)で観察した。

III 実験結果

1. 赤血球の形態変化

正常形態と思われる discocyte の赤血球は、脳虚血前では90%であった。しかし血流遮断解除後30分の時点で、正常な形態と思われる赤血球はコントロール群では約60%であり、チオペンタール群においてもほぼ同様の結果であった。マニトール群とグリセロール群では正常な形態と思わ

Fig. 2

Fig. 3

れる赤血球は70~80%であり、コントロール群に比べ正常な形態の赤血球数は高値を示した。血流遮断解除後90分の時点におけるそれぞれの薬剤投与群での正常形態の赤血球数は、血流遮断解除後30分の時点におけるそれに比べてわずかに増加していた (Fig. 1)。

次に各群でその代表例について検討してみると、脳虚血前は discocyte の形態学的に正常と思われる赤血球が、ほぼ規則的に配列しているのがみられた (Fig. 2A)。コントロール群では echinocyte や sphero-stomatocyte に変形した赤血球が数多くみられ、それらがそれぞれ互いに密着する傾向を示した (Fig. 2B)。チオペンタール群はコントロール群と同様に、主に echinocyte などの赤血球の変形がみられた (Fig. 2C)。一方マニトール群とグリセロール群では、異常形態の赤血球は少なく、正常の形態をした discocyte の赤血球がほとんどで、それらは相互間に一定の距離を保っていた (Fig. 2D, E)。

2. 頭蓋内内頸動脈内壁の形態変化

ななら処理を加えない正常な頭蓋内内頸動脈内壁では、細胞間境界がはっきりし、比較的平滑な部分と、内弾性板の収縮によると思われる規則正しく配列した fold の部分が認められた (Fig. 3A)。コントロール群では内皮細胞が膨隆し、その表面に種々の大きさの crater 様の血管内皮細胞の欠損がみられ、fold の部分では不規則で表面が不整となり、膨隆が認められた。またそれらの表面には血小板、赤血球、残屑物が附着していた (Fig. 3B)。チオペンタール群は、脳虚血前の状態と比べほとんど変化なく、少数の crater がみられ、赤血球の附着がわずかにみられるのみであった (Fig. 3C)。マニトール群は、コントロール群に比べれば数は少ないが大小不同の crater がみられ、内皮細胞は若干膨隆し (Fig. 3D)。グリセロール群はマニトール群より crater の数は少ないが、内皮細胞の膨隆の程度はかえって強かった (Fig. 3E)。

3. 脳組織の形態変化

1) 神経細胞の変化

コントロール群では神経細胞の細胞質や核質の電子密度は高く、核も変形し、神経細胞は萎縮、黒化しており、細胞質の mitochondria や endoplasmic reticulum の著明な膨化、崩壊による多数の microvacuoles がみられた。また神経細胞の周囲では astrocyte の突起の著明な膨化がみられ

た (Fig. 4A)。チオペンタール群ではコントロール群と異なり、萎縮を起こしている神経細胞は少なく、細胞質内の mitochondria や endoplasmic reticulum は膨化しているものもあるが、その形態学的変化は明らかに少ない。しかし astrocyte の突起は、コントロール群と同様に膨化していた (Fig. 4B)。マニトール群では、神経細胞の細胞質や核質の電子密度はコントロール群ほどではないが比較的高く、神経細胞は軽度の萎縮を示し、mitochondria や endoplasmic reticulum の膨化による多数の microvacuole がみられた。しかし神経細胞の周囲の astrocyte の突起の膨化は、コントロール群ほど著明ではなかった (Fig. 4C)。グリセロール群では、神経細胞は軽度萎縮しているが、その程度はマニトール群に比べ低く、また astrocyte の突起の膨化も軽度であった (Fig. 4D)。

2) 毛細血管ならびにその周囲の変化

コントロール群では毛細血管内皮細胞や pericyte が膨化し、それらの胞体内の小器管は種々の程度に崩壊および逆行性変化を示した。また毛細血管周囲の astrocyte の突起の著明な膨化がみられ、毛細血管内腔は不規則に狭小化していた (Fig. 5A)。チオペンタール群では毛細血管周囲の astrocyte の突起は膨化し、毛細血管内腔は不規則であったが、毛細血管内皮細胞や pericyte の細胞質の膨化や欠損は、コントロール群に比べれば少し軽度であった (Fig. 5B)。マニトール群では毛細血管周囲の astrocyte の突起の膨化は多少みられるが、その程度はコントロール群に比して低く、毛細血管内腔の狭窄や不規則化はなく平滑な管腔が保たれており、毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化も軽度であった (Fig. 5C)。グリセロール群では毛細血管周囲の astrocyte の突起の膨化は軽度みられるが、毛細血管内腔は平滑であり狭窄はなく、また毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化もみられず、胞体内の形態学的変化はマニトール群より軽度であった (Fig. 5D)。

4. 実験結果のまとめ

1) コントロール群では、赤血球の形態は echinocyte や sphero-stomatocyte に変化し、頭蓋内内頸動脈内壁には内皮細胞の crater 様の欠損と fold の不規則な膨隆がみられた。そして神経細胞は萎縮し、細胞内の mitochondria や endoplasmic reticulum は膨化・崩壊しており、また astrocyte の突起は膨化し、毛細血管内腔は不規則に狭小化

Fig. 2 Scanning electron micrograph of erythrocytes. $\times 3,500$, Bar = $10\ \mu\text{m}$. Note many discocytes before ischemia (A). Note many echinocytes and sphero-stomatocytes at 90 min. after ischemia for 20 min. in an untreated cat (B) and in a thiopental treated cat (C). Note discocytes and echinocytes in a mannitol treated cat (D) and in a glycerol treated cat (E).

Fig. 3 Scanning electron micrograph of the luminal surface of the intracranial internal carotid artery. $\times 3,500$, Bar = $10\ \mu\text{m}$. A: Before ischemia. Note normal-appearing luminal surface and endothelial cell nucleus [N] in a relative flat area. B, C, D and E: At 90 min. after ischemia for 20 min. Note "crater-like" defects (arrows) and extreme protrusion of endothelial cells in an untreated cat (B). Note nearly normal-appearing luminal surface in a thiopental treated cat (C). Er: erythrocyte. Note "crater-like" defects and moderate protrusion of endothelial cells in a mannitol treated cat (D) and in a glycerol treated cat (E).

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 4 Electron micrographs of a neuron from the frontal cortex at 90 min. after ischemia for 20 min. $\times 8,640$, Bar = $1\ \mu\text{m}$. Note marked electron density of a shrunken neuron, and swollen or broken mitochondria and endoplasmic reticulum in dense cytoplasm in an untreated cat (A). Astrocytic processes [As] surrounding ischemic damaged neuron are extremely swollen. In a thiopental treated cat (B) a nearly normal-appearing neuron is seen although mitochondria in the cytoplasm are mildly swollen. In a mannitol

し、毛細血管内皮細胞や pericyte も膨化・損傷していた。

2) チオペンタール群では、赤血球の形態変化や毛細血管周囲の細胞の変化はコントロール群とほぼ同様であった。しかし頭蓋内内頸動脈内壁や神経細胞の虚血性変化、特に血管内皮細胞の crater 様欠損や神経細胞内の mitochondria の膨化・崩壊は、コントロール群に比べ著明に少なかった。

3) マニトール群とグリセロール群では、チオペンタール群とは異なり赤血球の形態変化は明らかに少なく、また perivascular glia の膨化、毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化もほとんどみられず、毛細血管内腔は平滑で保持されていた。しかし頭蓋内内頸動脈内壁や神経細胞の虚血性変化は、コントロール群に比べわずかに少ない程度であった。さらにグリセロール群では、マニトール群に比べ、神経細胞や毛細血管内皮細胞の構築学的変化は少なかった。

IV 考 察

一時的脳虚血後の機能回復に関しては種々の実験的脳虚血モデルで研究され、その機能回復の障害は、脳虚血による神経組織の直接損傷ばかりでなく、脳虚血後に発生する微小循環障害も主要な原因であろうと考えられている¹⁾。微小循環障害の原因として、毛細血管内皮細胞と perivascular glia の膨化や、bleb formation による毛細血管内腔の狭窄や閉塞⁹⁾、脳虚血後の脳浮腫に伴う頭蓋内圧亢進によって起こる脳灌流圧の減少³²⁾、postischemic hypotension⁸⁾ precapillary shunting¹⁶⁾、細胞外 K⁺ イオン濃度の増加による vascular constriction³⁴⁾、微小血栓、赤血球の sludging、血液の viscosity の上昇¹⁴⁾、血小板凝集能の増加¹²⁾ などが考えられている。我々はこれらのなかで、微小循環障害因子の原因となりうると考えられる赤血球、頭蓋内内頸動脈内壁、毛細血管周囲とさらに神経細胞の形態変化を中心に、20分の global cerebral ischemia を負荷した動物で検討した。さらに同様な検索をチオペンタール、マニトール、グリセロールによる治療群について行い、それら薬剤の作用効果を比較検討した。

変形した赤血球の微小循環に対する影響について、Braasch⁵⁾ は shock や重症熱傷時に、また金ら²²⁾ も実験的急性頭蓋内圧亢進による脳虚血後に、それぞれ変形した赤

血球が微小循環障害の原因として関与する可能性を指摘している。本実験結果も、脳虚血後変形した赤血球数が増加し、マニトールやグリセロールの投与で赤血球の変形が少なくなり、しかも脳虚血後の機能が改善されたことから、我々も変形した赤血球が脳虚血後の微小循環障害の一因であると推論した。赤血球の形態変化は *in vitro* では赤血球内の ATP の減少³⁶⁾、血液 pH の変化、高または低浸透圧¹⁸⁾、fatty acid や lysolecithin の chemical agents¹⁰⁾ などの赤血球の内外的環境の変化に基づいて起こると考えられているが、*in vivo* ではその原因について詳細な検討がなされておらず、ましてや臨床的に利用される hypertonic solution の *in vivo* における赤血球形態に対する影響について検討されていない。本実験において、脳虚血により赤血球の変形が起こった原因として、我々は局所浸透圧の上昇、赤血球内 ATP の減少、血流停滞、血管内皮細胞の損傷、毛細血管の狭窄などを考えた。また赤血球が変形することにより赤血球の membrane flexibility が低下し、その deformability の減少により脳虚血後微小循環が障害されると推定した。そしてマニトールやグリセロールの赤血球の変形に対する作用機序は、主に赤血球の内的因子の改善に加えて毛細血管狭窄などの機械的要因の除去、および血清浸透圧の変化によるものと推定される。

次に脳虚血に対する頭蓋内内頸動脈内壁について検討した。Nelson ら²¹⁾ は実験的に rabbit の総頸動脈を一時的に clip し、血管内壁の虚血性変化を走査電顕で形態学的に検討し、内皮細胞の crater 様の欠損と内皮細胞から内腔に半球状に突出した balloon の所見を報告した。しかし本実験のような global cerebral ischemia による頭蓋内内頸動脈内壁を形態学的に走査電顕で観察した報告はまだみられない。本実験で、20分脳虚血により Nelson らが指摘した種々の大きさの crater がみられ、それ以外に内皮細胞の膨隆、fold の乱れを認めた。このような血管内壁の形態学的変化の出現原因は、虚血による内皮細胞の代謝障害に基づくものであろうと推定されるが、しかし虚血以外にも、機械的損傷やコレステロールの高い食物を摂取している動物の血管壁にも同様な形態学的変化が認められる^{30,39)} ことから、その機序についての詳細はまだ不明である。しかしこのような形態学的変化は血栓形成の誘因となり、また血管

treated cat (C) a shrunken neuron with swollen mitochondria and endoplasmic reticulum in the cytoplasm is seen. Astrocytic processes are a little swollen. In a glycerol treated cat (D) a slight decrease in electron density of neuron with swollen mitochondria and endoplasmic reticulum is seen.

Fig. 5 Electron micrographs of a capillary from frontal cortex, at 90 min. after ischemia for 20 min. In an untreated cat (A) some swollen perivascular astrocytic feet [As] and damaged cytoplasm of endothelial cells are seen. The lumen [Lu] of capillary is reduced to a slit. $\times 27,000$. In a thiopental treated cat (B) swollen and damaged cytoplasm of endothelial cells and pericytes are seen. $\times 18,000$. In a mannitol treated cat (C), $\times 37,800$, and in a glycerol treated cat (D), $\times 12,600$, little swelling of endothelial cells and pericytes are present. The lumen of capillary is patent and the perivascular astrocytic feet are less swollen. Bar = $1 \mu\text{m}$.

内腔を狭小化し、循環障害の原因となる³¹⁾と考えられている。本実験においても、頭蓋内内頸動脈にこのような形態学的変化が認められており、また頭蓋内の細血管にも同様の形態学的変化が起こっていることが予想され、脳虚血後の循環障害の原因の1つとなっていると考えられる。本実験において、チオペンタールを投与すると crater の出現や内皮細胞の膨隆は少なくなるが、マニトールやグリセロールの投与ではほとんど変化がなかった。このことは、チオペンタールが内皮細胞の代謝に作用し、虚血に対して保護作用を及ぼしたものと推測され、さらに脳虚血後の循環障害が改善されるものと考えられる。

次に脳虚血に対する脳実質の電顕的形態変化については、anoxic-ischemia や focal cerebral ischemia の実験モデルを用いて数多く検索されているが、global cerebral ischemia の実験モデルを用いた報告は少ない。Global cerebral ischemia の実験モデルで Arsenio-Nunes ら³⁾は、ネコによる胸腔内動脈結紮によるモデルで、30分脳虚血後2.5時間では神経細胞の著明な変化はみられないが、perivascular glia cell の軽度膨化、毛細血管内皮細胞の膨化、毛細血管内皮細胞の pinocytotic vesicle の増加がみられ、90分脳虚血後2.5時間では、神経細胞内の mitochondria は膨化・崩壊し、神経細胞は萎縮し非可逆的な変化を起し、また毛細血管周囲では先に述べた所見に加え、pericyte の膨化、basement membrane の broadening などの所見を報告した。また Chiang ら⁹⁾は、ウサギの大動脈結紮による15分間脳虚血後30分の時点で、perivascular glia cell の膨化、毛細血管内腔の狭小化、毛細血管内皮細胞の膨化、bleb の形成、endothelial flap の所見を報告した。本実験の神経細胞では、20分間脳虚血後90分の時点で神経細胞は萎縮し、細胞内の mitochondria と endoplasmic reticulum は膨化・崩壊しており、Arsenio-Nunes らの90分脳虚血後2.5時間の時点と同様の変化で、彼らより短時間の脳虚血で重篤な神経細胞の虚血性変化が認められた。一方毛細血管周囲では Chiang らが示した毛細血管内腔の bleb の形成、endothelial flap、また Arsenio-Nunes らが報告した basement membrane の broadening や内皮細胞の pinocytotic vesicle の増加は認められなかったが、毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化、それらの胞体内小器官の退行性変化、perivascular glia cell の膨化、毛細血管内腔の狭小化などは彼らの所見とほぼ一致した。これらの所見から、脳虚血後の脳実質の病態として、神経細胞の脳虚血による直接損傷と毛細血管内腔の狭小化による微小循環の障害が考えられた。脳虚血による脳実質の電顕的形態変化に対するチオペンタール、マニトール、グリセロールの作用効果を比較検討してみると、チオペンタールは神経細胞内の小器

管、特に mitochondria に作用効果を示していたが、毛細血管内皮細胞に対しては、神経細胞におけるほど著明な保護作用を認めなかった。バルビツレイトの脳虚血に対する作用機序の一部として、脳代謝の抑制²⁾、mitochondria の膜構造物中に存在する磷脂質の遊離基反応の抑制²⁶⁾、また mitochondria 内での FAD (flavin adenin dinucleotide) と CoQ (coenzyme Q) の間の電子運搬に及ぼす作用¹⁶⁾などが考えられており、本実験結果は、形態学的にバルビツレイトが脳虚血中の神経細胞に直接作用していることを示唆している。またマニトールに関しては、Little²⁴⁾はネコの中大動脈の遮断による脳虚血モデルで、20%マニトール (1.2 g/kg) の投与で神経細胞の萎縮が軽減され、毛細血管内腔が良好に維持されていることを報告し、渡辺ら³⁵⁾は視床梗塞犬の実験モデルで、20%マニトール (2 g/kg) の血管遮断前の投与により神経細胞内の小腔胞や神経細胞の萎縮はみられず、gliacell の膨化も軽度であったと報告した。また蔭山²⁰⁾は rat における60分間脳乏血モデルで、マニトール (1.2 g/kg) の投与によっても乏血による神経細胞内の mitochondria の膨化や cristae の崩壊の所見は改善されなかったが、毛細血管周囲の細胞の浮腫性変化は抑制され、毛細血管内腔も比較的良好に保たれていたことを報告している。本実験結果では、astrocyte の突起の膨化は軽減され、perivascular glia cell の膨化を抑え、毛細血管内腔を保持する所見は Little や蔭山らと一致し、さらに毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化も軽減された。しかし神経細胞に対する所見は渡辺らと違い、神経細胞内の microvacuole や神経細胞の萎縮は、ほとんど改善されなかった。一方グリセロールに関して Dodson ら¹¹⁾は、サルの中大動脈の一時的遮断の脳虚血モデルで、10%グリセロール (0.08~0.8 g/kg) の脳虚血後6日間投与により astrocyte の突起の膨化が軽減され、神経細胞や astrocyte の胞体内の mitochondria や endoplasmic reticulum の膜の変化が少ないことを報告している。本実験結果でも、Dodson らの報告よりは作用効果は少ないが、神経細胞内の mitochondria や endoplasmic reticulum の膨化を防ぎ、それ以外に毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化を抑え、毛細血管内腔を保持していた。

本実験結果より、チオペンタールは高度な脳虚血に対して神経細胞に作用し、虚血による直接損傷から神経細胞を保護し、また頭蓋内内頸動脈内壁をも保護し、循環障害の改善にも寄与し、マニトールは perivascular glia cell の膨化、毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化を抑え、毛細血管内腔を保持し、また赤血球の形態学的変化を抑えることにより脳虚血後に発生する微小循環障害を改善し、グリセロールはマニトールと同様の作用以外に、虚血から神経細胞

を軽度ではあるが保護することが示唆された。

臨床で経験される脳虚血に対して、これらの各種薬剤が動物実験と同様の作用を示すか否かはまったく不明であるが、前もって予測される脳虚血状態に対して、脳に保護的作用を示すであろうことは本実験結果からも十分想像できる。たとえば、脳動脈瘤の手術時の一時的血流遮断の時間延長、脳虚血性病変に対する血管吻合術や内頸動脈の内膜除去術など外科的脳血行再建術に伴う一時的血流遮断による脳障害の予防などに応用可能と考えられる。さらに脳梗塞に対する治療、破裂脳動脈瘤に続発する血管攣縮とそれによる脳虚血、また脳出血、脳挫瘍などの占拠性病変による頭蓋内圧亢進に伴って引き起こされる脳虚血に対する治療などへの応用が考えられる。文献的にみると、バルビツレイトに関しては、脳動脈瘤手術時に一時的または恒久的な脳主幹動脈遮断に対し、ペントバルビタール (15 mg/kg/24時間) の2日間の治療を行い良好な結果を得たという報告¹⁹⁾や、頸動脈内膜除去術の麻酔で、頸動脈遮断前後にバルビツレイトを投与すると、術後神経症状が少なかったという報告³⁰⁾がみられ、またこれら以外にも重症頭部外傷²⁷⁾、心停止後の蘇生⁶⁾に対し、バルビツレイトが有効であることが報告されている。一方マニトールに関しては、破裂脳動脈瘤の根治手術で脳主幹動脈の一時的遮断が必要なとき、遮断前の20%マニトール500~1,000 ccの投与が、遮断許容時間の延長に有効であると報告³⁷⁾され、また脳動脈瘤の術後や、クモ膜下出血による脳血管攣縮に伴って発生する片麻痺に対し、マニトール (2.4 g/kg/24時間) とドパミンによる高血圧療法で片麻痺が改善されたとの報告⁷⁾もある。またグリセロールに関して、急性脳梗塞の患者にグリセロール (50 mg/日) を6日間投与し、神経学的徴候が改善したとする報告²⁸⁾をはじめ、比較的多くの報告例がみられる。このように、最近脳卒中急性期の治療や脳外科手術時の脳梗塞予防の手段として、これら各種薬剤が用いられるようになってきた。しかし脳虚血に対し、薬剤の有効な投与時期、投与量、投与方法など、まだ解決しなければならない問題は多い。特にバルビツレイトに関しては、動物実験では大量投与を行っており、そのまま臨床応用すれば不整脈、呼吸抑制、低血圧など全身に重篤な影響を及ぼすことは容易に想像できる。このため広く臨床的応用を行うには、チオペンタールにマニトール、またはグリセロールの併用投与をすることも一法であろう。バルビツレイトとマニトールやグリセロールはそれぞれその作用機序も異なることから、両者の併用はバルビツレイトの投与量を減じることも可能で、考慮する必要があると思われる。

V 結 語

1. ネコの胸腔内動脈結紮による global cerebral ischemia の実験的脳虚血モデルで、脳虚血後の病態を血管内因子として赤血球、さらに頭蓋内内頸動脈内壁、脳実質、特に神経細胞、毛細血管、毛細血管周囲、glia cell などの変化を形態学的に電顕にて検討した。また脳虚血に対するチオペンタール、マニトール、グリセロールの作用効果を同様の観点より比較検索した。

2. 脳虚血後赤血球は変形し、頭蓋内内頸動脈内壁は膨隆し crater 様の欠損がみられ、神経細胞は萎縮、変形し、毛細血管内腔は狭小化し、一時的脳虚血後の機能回復が阻害される原因として、神経細胞の虚血による直接損傷と虚血後に発生する微小循環障害が考えられた。

3. チオペンタールは神経細胞、さらに頭蓋内内頸動脈内壁の内皮細胞に作用し、マニトールは perivascular glia cell の膨化と毛細血管内皮細胞や pericyte の膨化を抑えて毛細血管内腔を保持し、赤血球の変形を抑え、グリセロールはマニトールと同様の作用以外に、神経細胞に軽度であるが保護作用を有し、これらの作用により虚血に対する直接損傷から神経細胞を保護し、また脳虚血後に発生する微小循環障害を改善していると考えられた。

4. 本実験結果より、高度の脳虚血に対しても、チオペンタール、マニトール、グリセロールの作用効果は認められ、種々の原因に基づく脳虚血に対して、これらの薬剤の臨床応用の利用価値を示唆しているものと考えられる。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました順天堂大学脳神経外科 石井昌三教授に深甚の謝意を表します。また本研究に直接御指導頂きました上野日出男講師、御協力頂きました小池順平先生、若生直秀先生に深く感謝致します。

本論文の要旨は、第3回日本脳卒中学会総会 (1978年6月、秋田)、および第5回日本脳卒中学会総会 (1980年2月、東京、シンポジウムⅡ) において発表した。

文 献

- 1) Amess A III, Wright RT, Kowada M, Thurston JM, Majno G: Cerebral ischemia, II. The no-reflow phenomenon. *Amer J Path* 52: 437-453, 1968
- 2) Arnfred I, Secher O: Anoxia and barbiturates to tolerance to anoxia in mice influenced by barbiturates. *Arch Int Pharmacodyn* 139: 67-73, 1962
- 3) Arsenio-Nunes ML, Hossman KA, Farkas-Bargeton E: Ultrastructural and histochemical investigation of the cerebral cortex of cat during and after complete ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 26: 329-344, 1973

- 4) Bessis M: *Living-blood Cells and Their Ultrastructure*. Berlin, Springer-Berlag, 1973, 767 pp
- 5) Braasch D: Red cell deformability and capillary blood flow. *Physiol Rev* 51: 679-701, 1971
- 6) Breivik H, Fabritius R, Lind B, Lust P, Mollie A, Orr M, Renck H, Safar P, Snyder J: Brain resuscitation clinical feasibility trials with barbiturate. *Crit Care Med* 6: 113, 1978
- 7) Brown FD, Hanlon K, Mullan S: Treatment of aneurysmal hemiplegia with dopamine and mannitol. *J Neurosurg* 49: 525-529, 1978
- 8) Cantu RC: Factors influencing postischemic cerebral vascular obstruction. *Surg Forum* 20: 426, 1969
- 9) Chiang J, Kowada M, Ames A, Wright RL, Majno G: Cerebral ischemia. Vascular changes. *Amer J Path* 52: 455-476, 1968
- 10) Deuticke B: Transformation and restoration of biconcave shape of human erythrocytes induced by amphiphilic agent and changes of ionic environment. *Biochim Biophys Acta* 163: 494-500, 1968
- 11) Dodson RF, Tagashira Y, Wai-Fongchu L: The effects of glycerol on cerebral ultrastructure following experimentally induced cerebral ischemia. *J Neurol Sci* 26: 235-244, 1975
- 12) Dougherty JJ, Levy DE, Weksler BB: Experimental cerebral ischemia produces platelet aggregates. *Neurology (Minneapolis)* 29: 1460-1465, 1979
- 13) Ehrly AM: Rheologically induced impairments of the muscular microcirculation. A new pathophysiological concept of intermittent claudication. *Proceedings of the 9th International Congress of Angiology*. Florenz, 1974
- 14) Fischer EG, Ames A III: Studies on mechanisms of impairment of cerebral circulation following ischemia: Effect of hemodilution and perfusion pressure. *Stroke* 3: 538, 1972
- 15) Fischer EG, Ames A III: Reassessment of cerebral capillary changes in acute global ischemia and the relationship to the "No-reflow phenomenon". *Stroke* 8: 36-39, 1977
- 16) Flamm ES, Demopoulos HB, Seligman ML, Ransohoff J: Possible mechanisms of barbiturate-mediated protection in regional cerebral ischemia. *Acta Neurol Scand* 56 [Suppl 64]: 150-151, 1977
- 17) Garcia JH, Cox JV, Hudgins WR: Ultrastructure of microvasculature in experimental cerebral infarction. *Acta Neuropathol (Berl)* 18: 273-285, 1971
- 18) Hekmatpanah J: Cerebral blood flow dynamics in hypotension and cardiac arrest. *Neurology (Minneapolis)* 23: 174-180, 1973
- 19) Hoff JT, Pitts LH, Spetzler R, Wilson CB: Barbiturate for protection from cerebral ischemia in aneurysm surgery. *Acta Neurol Scand* 56 [Suppl 64]: 158-159, 1977
- 20) 蔭山武文: 実験的虚血脳に対する薬剤効果の検討. 脳卒中 2: 186-196, 1980
- 21) Kawamura J, Gertz D, Sunaga T, Renivels M, Nelson E: Scanning electron microscopic observations on the luminal surface of the rabbit common carotid artery subjected to ischemia by arterial occlusion. *Stroke* 5: 765-774, 1974
- 22) 金 是二, 佐野圭司: 脳微小循環障害における血小板・赤血球の役割. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 17 (Part II): 135-144, 1977
- 23) Levine S: Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Amer J Path* 36: 1-17, 1960
- 24) Little JR: Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol. *Stroke* 9: 4-9, 1978
- 25) Little JR, Kerr FWL, Sundt TM: Microcirculatory obstruction in focal cerebral ischemia, and electron microscopic investigation in monkeys. *Stroke* 7: 25-30, 1976
- 26) Majewski MD, Strosznajder J, Lazarewicz J: Effect of ischemic anoxia and barbiturate anesthesia on free radical oxidation of mitochondrial phospholipids. *Brain Res* 158: 423-434, 1978
- 27) Marchall JF, Shapiro HM: Barbiturate control of intracranial hypertension in head injury and other conditions: Iatrogenic coma. *Acta Neurol Scand* 56 [Suppl 64]: 158-159, 1977
- 28) Mathew NT, Meyer JS, Rivera VM, Charney JZ: Double-blind evaluation of glycerol therapy in acute cerebral infarction. *Lancet* 23: 1327-1329, 1972
- 29) Nelson E, Kawamura J, Sunaga T, Rennels ML, Gertzi SD: Scanning and transmission electron microscopic study of endothelial lesions following ischemia with special attention to ischemic and normal branch points, in Cervo's-Navarro J: *Pathology of Cerebral Microcirculation*. Berlin, Walter de Gruyter, 1974, pp 267-273
- 30) Smith AL: Barbiturate protection in cerebral hypoxia. *Anesthesiology* 47: 285, 1977
- 31) Stehbens WE, Ludatscher RM: Ultrastructure of the renal arterial bifurcation of rabbits. *Exp Mol Pathol* 18: 50-67, 1973
- 32) Symon L, Dorsch NWC, Crockard HA: The production and clinical features of a chronic stroke model in experimental primates. *Stroke* 6: 476, 1975
- 33) Takayanagi T, Rennels ML, Nelson E: An electron microscopic study of intimal cushions in intracranial arteries of the cat. *Am J Anat* 133: 415-430, 1972
- 34) Wade JG, Amtorp O, Sorenson S: No-flow state following cerebral ischemia. *Arch Neurol* 32: 381-384, 1975
- 35) 渡辺孝男, 吉本高志, 小川 彰, 坂本哲也, 鈴木二郎: mannitol の脳梗塞巣発現抑制効果. 脳神経外科 7: 859-866, 1979
- 36) Weed RJ, Lacelle PL, Merrill EW: Metabolic dependence of red cell deformability. *J Clin Invest* 48: 795, 1969

37) 吉本高志, 鈴木二郎: 常温平常血圧下脳動脈瘤の直接手術. 我々の血流一時遮断延長法を用いて. 脳神経外科 4 : 775-782, 1976

[別刷請求先: 〒150 東京都渋谷区恵比寿 2-34-10, 都立広尾病院脳神経外科, 畑下鎮男]