

一時的脳虚血における脳神経組織の  
reversibility に関する研究

奈良県立医科大学第2外科学教室

石 田 泰 史

EXPERIMENTAL STUDY ON REVERSIBILITY OF  
BRAIN FOLLOWING RECIRCULATION AFTER  
REGIONAL CEREBRAL ISCHEMIA

YASUHIITO ISHIDA

*The 2nd Department of Surgery, Nara Medical University*

Received September 28, 1990

*Summary*: This study was undertaken to determine the ischemic time threshold for brain damage and the critical time threshold for fatal damage after reperfusion using a middle cerebral artery (MCA) occlusion model in adult cats.

The MCA was exposed by the transorbital approach and temporarily obstructed by Zen's clip. Animals were divided into 10 groups of 8 cats each according to ischemic times of 10, 20, 30 minutes and 1, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 hours. A cranial window was made above the ectosylvian gyrus, which has poor anastomosis. The reactivity of the pial arteriole was observed through the cranial window and evaluated using an intravital microscope and videoangiometer, and regional cerebral blood flow (rCBF) was simultaneously continuously measured by laser doppler flowmetry. In each group, rCBF was quantitatively measured by autoradiography 5 hours after reperfusion and histological study was also performed.

For ischemic time of less than 20 minutes, vessel reactivity was preserved blood-brain barrier (BBB) intact; ICP was unchanged and rCBF promptly returned to pre-ischemic levels after reperfusion. Although no infarction was found at 30 minutes of ischemia, vessel reactivity was slightly impaired, BBB was disrupted, and ICP elevation persisted. Thus, it is thought that 20 minutes is the ischemic time threshold for brain damage.

When ischemic time was increased to more than 6 hours, the extent of the infarcted area markedly increased ( $P < 0.05$ ), with induction of hemorrhagic infarction and severe brain damage. It is desirable that circulatory reconstruction procedures during the acute stage of cerebrovascular occlusive disease be performed within 4 hours of onset.

In this MCA occlusion model in cats, there were strong correlations between the degree of disturbed vessel reactivity, state of BBB disruption, level of ICP elevation and extent of infarcted area.

**Index Terms**

cat, reversibility, cerebral ischemia, cerebral blood flow, vessel reactivity

## 緒 言

Microneurosurgery の発達は、今まで手術ができないと考えられていた病変に対する外科的治療も可能とさせた。そして病変部の剝離や摘出などの手術操作を適切に施行するためや予期せぬ出血をコントロールするために、脳の主幹動脈を一時的に遮断する操作（以下 temporary clipping）が行われる<sup>1)2)3)</sup>機会が多くなった。さらには、intravascular surgery の発達は、脳への血行を一時的に中断し、動脈瘤や動静脈瘻の閉鎖術や脳血管の内腔拡大術を行い再び血行を再開通させるという手段をとる機会を増加させてきている<sup>4)5)6)7)</sup>。そして同様の手術手技で脳動脈閉塞症の急性期に、血栓溶解剤を使用して再開通させる治療も行われるようになってきている<sup>8)9)</sup>。一方、脳は虚血に対し極めて弱い組織である<sup>10)</sup>こと、またある程度の時間を経て再開通させると著明な脳浮腫をきたしたり、さらには出血を起こして、極めて重篤な病態を脳に惹き起こせること<sup>11)12)</sup>が従来より知られており、この temporary clipping に脳が安全に耐えうる虚血程度や時間的な限度、再開通させる最適時間に関し、多くの研究<sup>13)14)15)16)17)</sup>がなされているにもかかわらず、今なお明確な結論が出ていないのが現状である。脳の虚血に対する耐性、血行再開通における回復性は、虚血時間と虚血程度<sup>16)</sup>に相関する。虚血の程度が強ければ、虚血時間が短くても重大な結果を起こし、虚血の程度が軽くても時間が長ければ、同様の結果となるであろう。最近の脳血管外科の進歩を考えると temporary clipping に耐えうる臨界時間、および血行再開通によって脳に重篤な障害を及ぼさない臨界時間を知ることは急務と言わねばならない。したがって、本研究では、この問題を解決するため以下の目的で実験を行った。つまり、1)臨床の場で最も実際に遭遇する局所的脳虚血が得られる実験モデル（猫の中大脳動脈閉塞モデル<sup>18)</sup>）を用いて虚血を作成し、血行を再開通させることで閉塞中および再開通後の局所脳血流（regional cerebral blood flow 以下 rCBF）はどのような経時的变化をとるのか、また最終的な rCBF の値はどうか。2)この時の脳血管、特に脳動脈の反応態度はどうか。3)虚血時間を変化させることにより血液脳関門はどのような障害をきたすのか。4)そして虚血の時間を変化させて脳浮腫や脳梗塞がどのような特徴で生じるのか、の4項目である。この4項目の目的に対し適切なる知見が与えられるならば microneurovascular surgery の発展に対して大いに貢献するものと思われる。

## 実験方法

雑種成猫（体重 2.2-4.1 kg）を雌雄の別なく使用した。

## I. 実験モデル作製法

## 1. 実験動物の管理・維持・手術法

## 1) 実験動物の管理・維持

猫に気管内チューブ（103-I. T., Mallinckrodt 社製）を挿管し、脳血流に比較的影響の少ない isoflurane を 0.5% で吸入麻酔し、0.2 mg/kg/h の pancuronium bromide を持続的に静脈内投与して無動化した。両鼠径動脈にカットダウンチューブ（JAPAN MEDICAL SUPPLY 社製 C 2 型）を挿入し、一側を日本光電社製圧トランスデューサー（TP-400T）に接続して、日本光電社製、多用途計測記録装置（RM-6200G）を用いて血圧を連続測定した。他側は採血用として用い、1時間ごとに動脈血ガス分析装置（Radiometer 社製、ABL330, Copenhagen）で血液ガスを測定した。一側鼠径静脈にポリエチレンチューブ（ヒビキ社製、Fr. No.3）を挿入し、4-5ml/kg/h の生理的食塩水を持続投与し、ヘマトクリット（以下 Hct）に変動をきたさぬように配慮した。頭蓋内圧（intracranial pressure 以下 ICP）は対側の小骨窓から硬膜下にポリエチレンチューブ（INTRAMEDIC, No 7400）を挿入、同様に圧トランスデューサー（TP-400T）と日本光電社製、多用途計測記録装置（RM-6200G）で連続測定した。実験中、体温は直腸体温計（TERUMO 社製、CTM-303）でモニターし、heating blanket にて体温を一定に調節維持、人工呼吸器（HARVARD 社製、Model 607）で調節呼吸を行い動脈血中酸素分圧（以下 PaO<sub>2</sub>）、動脈血中二酸化炭素分圧（以下 PaCO<sub>2</sub>）、pH および平均動脈血圧（mean arterial pressure 以下 MAP）を生理的状态に維持した。

## 2) 手術法

動物を腹臥位とし、東大脳研式動物固定台で頭部を固定、頭蓋正中中部で皮膚を切開、両側頭頂部を露出した。Auer<sup>19)</sup>の方法に準じ、左側で sagittal suture より 25 mm 側方、coronal suture より 15 mm 後方（猫の ectosylvian gyrus の直上に当たる）を中心に直径 10 mm の骨窓を歯科用電気ドリル（Minitor 社製、Standard type）を用いて作製した。硬膜を切開し、脳表を観察できるようにして直径 12 mm、厚さ 0.15 mm のカバーガラス（Matsunami No. 1）で閉鎖した後、acrylic glue（HISTOACRYL®）で固定（以下 cranial window）した。この操作は、手術用顕微鏡（Zeiss 社製）を用いて脳・脳表血管に熱や物理的外力のかからないように十分留意して施行した。また cranial window は側副血行路の発達の悪い

ectosylvian gyrus の真上にあることを実験後に確認している。O'Brien と Waltz の方法<sup>18)</sup>に準じて経眼窩的に MCA を露出した。左眼球を摘出後、視神経管上内側を歯科用ドリルで開放拡大して硬膜・くも膜を順次切開、MCA を露出した。これをできるだけ基部で Zen 式クリップを装着、解除することで一時的局所脳虚血のモデルを作製した。髄液の漏出を防ぐため、クリップ着脱時以外はポリエチレン膜でおおい、さらに人工髄液に浸した綿花を圧迫充填した。

なお、実験にさきがけ 5% CO<sub>2</sub> を吸入させ、PaCO<sub>2</sub> を 60mmHg 以上として、その時の血管径が 30% 以上拡張することで脳血管の CO<sub>2</sub> response が保たれていると判断、この CO<sub>2</sub> response の保たれた動物のみを使用した。

## 2. rCBF の経時的変化および絶対値の測定

### 1) rCBF の経時的変化の測定法

各群 8 匹の猫で MCA 閉塞・再開通における rCBF の経時的変化を連続測定した。laser doppler flowmeter (ADVANCE 社製, ALF 21) を用い、そのプローブ(内径 1.0 mm, 長さ 80 mm) を cranial window のカバーガラスに触れない程度に十分近づけて万能電極支持台 (NARISHIGE 社製, SM-15) で固定 (Photo. 1) して、30 分以上観察し十分安定して resting state になったことを確認してから実験を開始した。実験の全経過を通じ、連続測定を行い rCBF の経時的変化を記録計で記録した。

### 2) rCBF の絶対値測定

rCBF の絶対値測定のため、各群 8 匹中 4 匹を再開通 5 時間後に autoradiography にて定量測定した。方法は、Sakurada<sup>20)</sup>の方法に準じ、250 $\mu$ Ci の <sup>14</sup>C-iodoantipyrine を再開通 5 時間後に syringe infusion pump (Harvard apparatus pump 22) を用い、ramp-infusion 法で 1 分間で静脈内投与した。投与開始と同時に、動脈血を約 6 秒ごとにろ紙に採取し、投与終了時に KCl 10mEq を急速に静注して心臓を停止させ、さらに頸部を絞やくして脳血流を完全に遮断し、直ちに脳を摘出、-70°C に冷却したフロンで瞬間凍結させた。この凍結標本をクリオスタット (cryostat model: As, Bright 社製) を使用して 20 $\mu$ m の厚さで切片を作製、スライドガラスに乗せた後、60°C ホットプレートにて瞬時に乾燥させ、Kodak NMB film で 2~3 週間露光させて現像した。Canada Imaging Research 社製、Microcomputer imaging device (以後、画像解析装置) で画像を解析し optimal density を測定した。<sup>14</sup>C-iodoantipyrine の血中濃度測定は採取した血液をクレアゾル (Nacalai tesque 社製) で溶解混濁後、scintillation counter (Beckman 社

製) で radioactivity を測定した。これらから Sakurada<sup>20)</sup>らの算出した <sup>14</sup>C-iodoantipyrine に対する組織/血液分配数 0.8 を用いて rCBF を求めた。

### 3. 脳表血管の観察

cranial window から生体顕微鏡 (Nikon 社製, MEASURESCOPE 20) を使用し、直径 30-70 $\mu$ m の脳表の細動脈を 50 倍で観察した。この画像を video system (Hamamatsu photonics) で実験中録画した。video 画像はさらに画像解析装置を用いて、細動脈の血管径の変化を計測、MCA 閉塞・再開通におけるその経時的変化を観察した。

### 4. BBB の障害の観察

各群とも 4 匹ずつを再開通 5 時間後に 2% Evans' blue を 1.5 ml/kg 静注し、30 分後に開胸して 10% ホルマリン溶液を用いて、経心的に灌流固定を行った。直ちに脳を取り出し、さらに 10% ホルマリン溶液で 3 日以上浸潤固定してから Waltz et al.<sup>21)</sup>に準じて、temporal tip, chiasma, mamillary body を通る部位で冠状に脳を切り、脳の表面および冠状断面で Evans' blue の漏出を観察し、さらに画像解析装置でその大きさを分析した。

### 5. 組織学的検討

Evans' blue の漏出状態を観察した後、その脳の冠状断標本を上昇系エタノールで脱水してキシレンで置換した後、パラフィン包埋し、中大脳動脈の支配域が十分観察できる temporal tip, chiasma, mamillary body を通る冠状断面<sup>21)</sup>で、6 $\mu$ m 厚の切片を作製した。Hematoxylin-Eosin (HE) ならびに、Luxol fast blue (LFB) 染色を施し、光学顕微鏡で観察した。梗塞巣の面積は、光学顕微鏡で核の pyknosis や空胞化を認めた部分を梗塞と判断しその範囲を確かめた後、画像解析装置で定量的に測定してその面積を求めた。temporal tip, chiasma, mamillary body を通る 3 スライスの梗塞面積の平均を求め、その面積が患側半球を占める比率で梗塞の程度を表現した。

### 6. 統計学的処理について

各群間の統計学的な検定には、Student's t-test を用い、危険率 5% 以下をもって有意差を持つと判定した。

## II. 本実験における虚血時間の設定

本研究では、手術中の temporary clipping の安全時間を見いだすという目的、ならびに脳動脈閉塞症に対する急性期の血行再建術の影響を検討するという目的のため、MCA の閉塞時間を 10 分、20 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、8 時間、12 時間、および 24 時間に分けて行った。すなわち、虚血時間により 10 群に分類し、各群 8 匹ずつ MCA 閉塞後 5 時間の再灌流を施行、

8匹中4匹については2% Evans' blue 溶液 1.5 ml/kg を静注して, 30分後に屠殺してBBBの障害状況, 組織像を検討した. 各群とも残りの4匹については autoradiography 法で rCBF の定量的測定を行った. 実験の プロトコールを模式図的に Fig. 1 に示した.

結 果

1. MAP, 血液ガス, Hct および体温のパラメーターについて

実験の全経過中の MAP の経時的变化を各群ごとに示

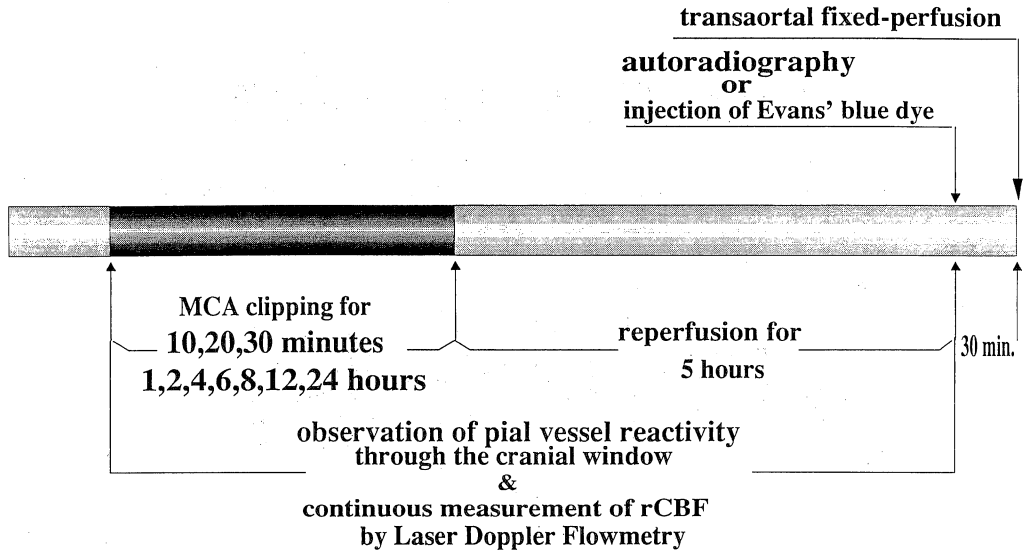


Fig. 1. Scheme of our experimental protocol.

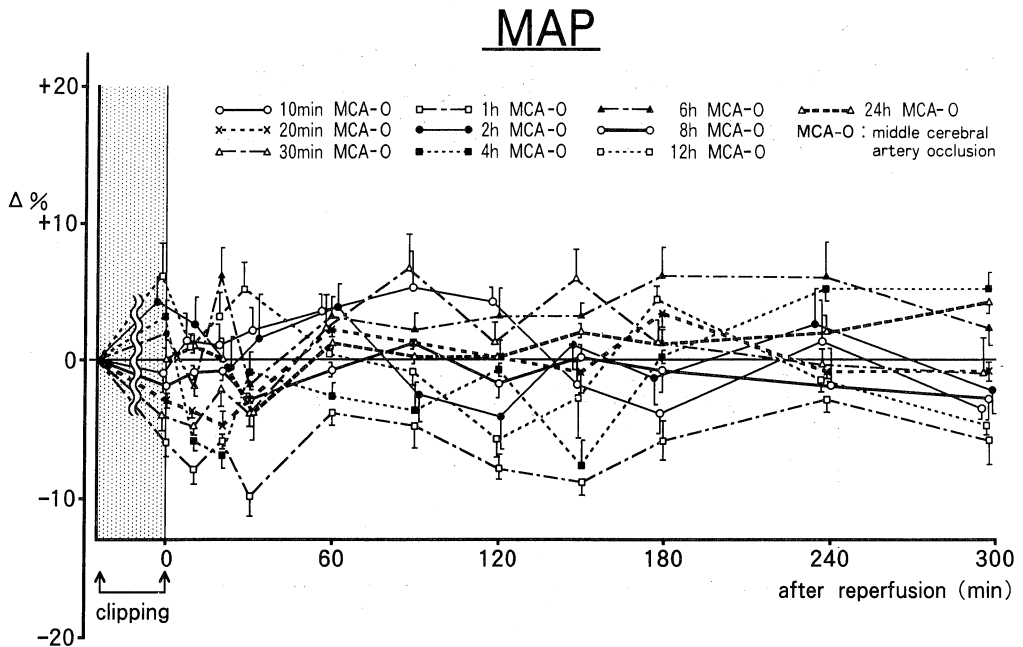


Fig. 2. The time course of mean arterial pressure (MAP). The changes of MAP are within 10% in each group.

した (Fig. 2). MAP は resting stage を基準とし、それに対する変化率をパーセントで表しているが、各群とも経過中 MAP の変化率はせいぜい±10%以内であった。実験の全経過中の動脈血ガスの PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, および pH について各群間の差異や、経時的変化は統計学的に有意差を認めず、その変化域は生理的狀態に維持された (Fig. 3). Hct の各群ごとの差異や経時的変化も統計学

的有意差を認めなかった (Fig. 4). 体温の変化も同様で各群間の差異や経時的変化は、統計学的に有意差を認めず、かつ生理的狀態にあった (Fig. 5). つまりこれらのパラメーターが、血管径の変化や rCBF の変化に影響しなかったと考えられた。

2. MCA 閉塞,再開通時における rCBF の経時的変化と再開通 5 時間後の rCBF について

## Arterial blood gas analysis

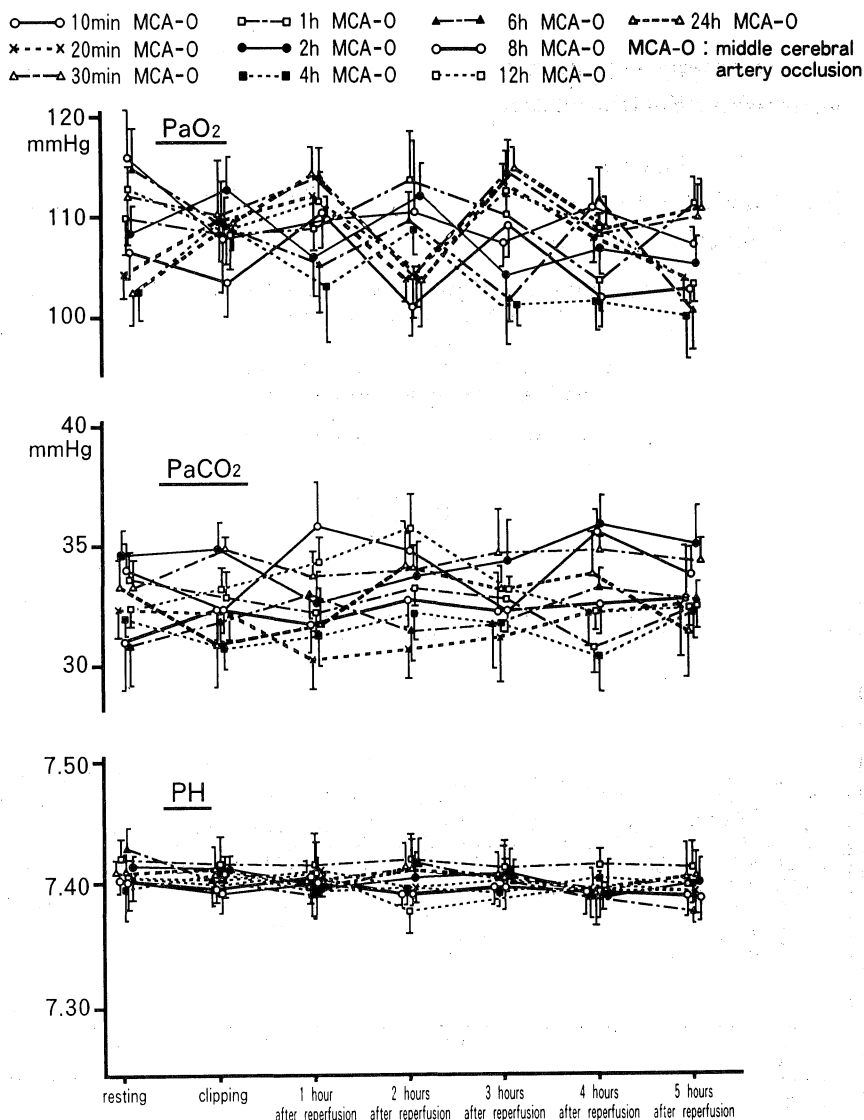


Fig. 3. Arterial blood gas analysis during reperfusion experiment. The changes of paO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub> and pH are minor within normal physiological condition in each group.

### Hematocrit

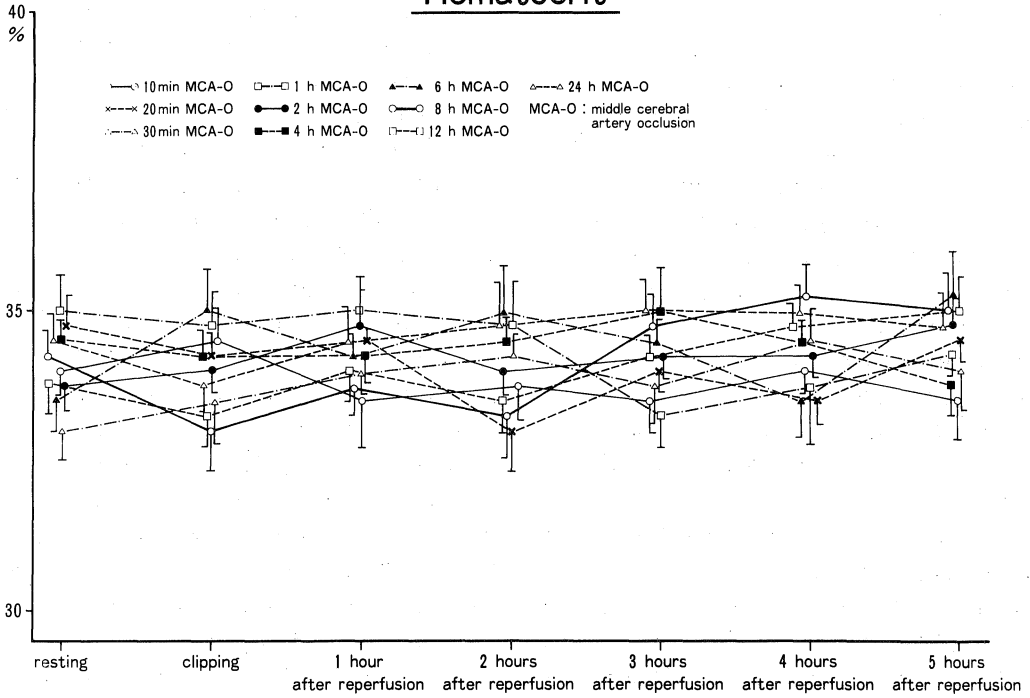


Fig. 4. The time course of hematocrit during experiment. The change of hematocrit is so small in each group that cannot affect rCBF.

### Temperature

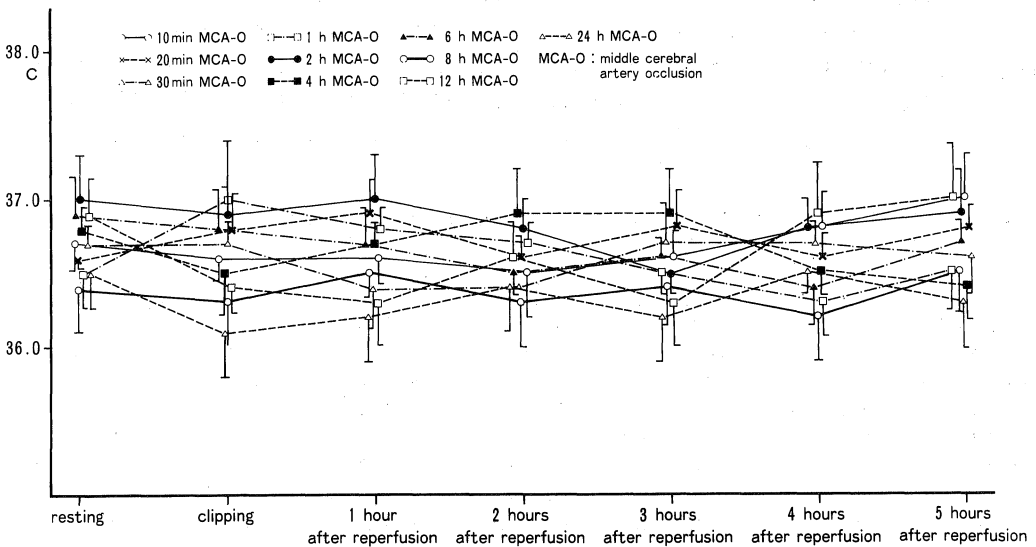


Fig. 5. The time course of animal temperature during experiment. The changes are within normal limit in each group.

1) rCBFの経時的变化について

MCA閉塞・再開通によってectosylviangyrusのrCBFは以下のように变化した。まず閉塞時の变化については、MCAを閉塞するとrCBFは急速に減少するが、完全に消失することなく2-3分以内に再度上昇を認めた。rCBFはresting stateの約20-50%の血流量まで回復した後、プラトーの状態になった。さらに長時間の虚血が持続するときわめて緩徐に減少するという傾向がみられた。再開通後のrCBFの経時的变化はさまざまに変化した。これらのパターンを分析した結果、以下のような3型に分類できた(Fig. 6)。

- 1型：再開通後、短時間でresting levelにもどり、以後ほとんど変化をしない。
- 2型：再開通後、hyperperfusionとなった後、徐々にresting levelに近づくが常にhyperperfusionを維持する。
- 3型：再開通後、ほとんどrCBFは上昇せず、常にhypoperfusionの状態にある。

20分以下の群では全例が1型のパターンとなった。30分群では1型が7匹、2型が1匹となった。1時間群では、1型が2匹、2型が6匹であった。2時間群では、1型が2匹、2型が5匹、3型が1匹となった。4時間群では、1型が1匹、2型が4匹、3型が3匹みられ、6時間群では、2型と3型が4匹ずつであった。8時間群では、2型が2匹で3型が6匹、12および24時間群では、2型が1匹、3型が7匹となった(Fig. 7)。

2) 再開通5時間後のrCBFについて

<sup>14</sup>C-iodoantipyrineを用いたautoradiographyで再開通5時間後のrCBFを各群4匹ずつ測定した。測定部位として、皮質部分はmarginal gyrus, suprasylvian gyrusおよびectosylvian gyrusを、白質部分はcorpus

callosumとinternal capsuleを、そして視床と尾状核をそれぞれ健側(contralateral)と虚血側(ipsilateral)の両方で血流測定した。白質は虚血時間を変化させてもrCBFは虚血側と健側の間に差を認めなかったのに対し、ectosylvian gyrus, 視床および尾状核では虚血側が健側に比して有意な変化を認めるものが多かった。ectosylvian gyrus, 視床および尾状核の再開通5時間後のrCBFを各群ごとに概観すると30分以下の群では健側と変わらないが、1時間虚血から6時間虚血の群で虚血側は有意に高いrCBFをきたしており、一方、12時間以上の虚血になると逆に有意なrCBFの低下を認めた(Table 1)。

3. 脳血管反応性の経時的变化について

実験をはじめるとき、各種パラメーターが一定で十分に安定した静止状態(以後、resting state)にあることを確認した。10分、20分、30分および1時間虚血群のMCA閉塞および再開通後の脳表細動脈の血管径の経時的变化を各群ごとに検討した(Fig. 8)。縦軸は、resting stateを基準としてその血管径の増加率をパーセントで表示している。横軸は経過時間である。MCA閉塞すると、すぐに血管は拡張しはじめ、平均70-80%に達し、プラトー状態になった。この変化は、虚血時間の長短で差異はなかった。再開通後の血管径の変化については、10分、20分群では再開通後にさらに拡張した後、速やかに回復し、30分前後で完全にresting levelまでもどったが、30分虚血群では再拡張後の回復はやや鈍く、完全には元に復せず、平均7%のレベルまでの改善にとどまった。1時間虚血では再開通後の回復はさらに悪くなり、resting stateの約20%拡張までしか改善しなかった。また再開通後約3時間を経過すると再び拡張をはじめた。

2時間、4時間、6時間、8時間、12時間および24時間

Table 1. Regional cerebral blood flow (ml/100g/min) 5 hours after reperfusion of MCA in cats

	Ectosylvian gyrus		Thalamus		Caudate nucleus	
	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral
10min.MCA-O	65.7±3.5	66.0±5.9	65.8±5.4	66.3±3.8	82.5±3.1	84.1±2.6
20min.MCA-O	63.2±3.3	66.4±4.3	68.7±5.0	70.2±5.5	80.8±7.9	83.5±6.4
30min.MCA-O	66.5±4.5	70.8±7.0	67.4±5.1	68.5±5.8	81.5±5.8	90.2±7.9
1h.MCA-O	66.7±3.8	128.9±17.5*	65.3±6.2	80.3±10.7	84.5±3.9	117.4±15.5**
2h.MCA-O	68.4±2.8	151.5±51.4**	67.1±5.2	85.9±9.2*	82.4±5.0	134.5±23.1**
4h.MCA-O	64.9±3.1	163.3±33.9**	67.4±4.5	95.3±16.5*	83.4±8.2	148.5±29.7*
6h.MCA-O	63.8±8.9	103.6±25.3*	65.8±4.1	78.5±23.5	80.1±5.3	95.7±12.3
8h.MCA-O	60.2±8.1	57.7±23.3	62.5±5.8	58.8±17.8	76.8±5.8	69.9±21.4
12h.MCA-O	52.4±6.9	18.8±10.2**	58.8±6.5	45.2±8.8*	70.5±6.3*	24.5±9.1**
24h.MCA-O	42.4±9.2*	13.8±4.3**	54.4±6.6*	24.9±10.2*	57.8±11.4*	17.3±9.3**

MCA-O: middle cerebral artery occlusion

Mean±S.D.

\*\*P<0.01

\*P<0.05

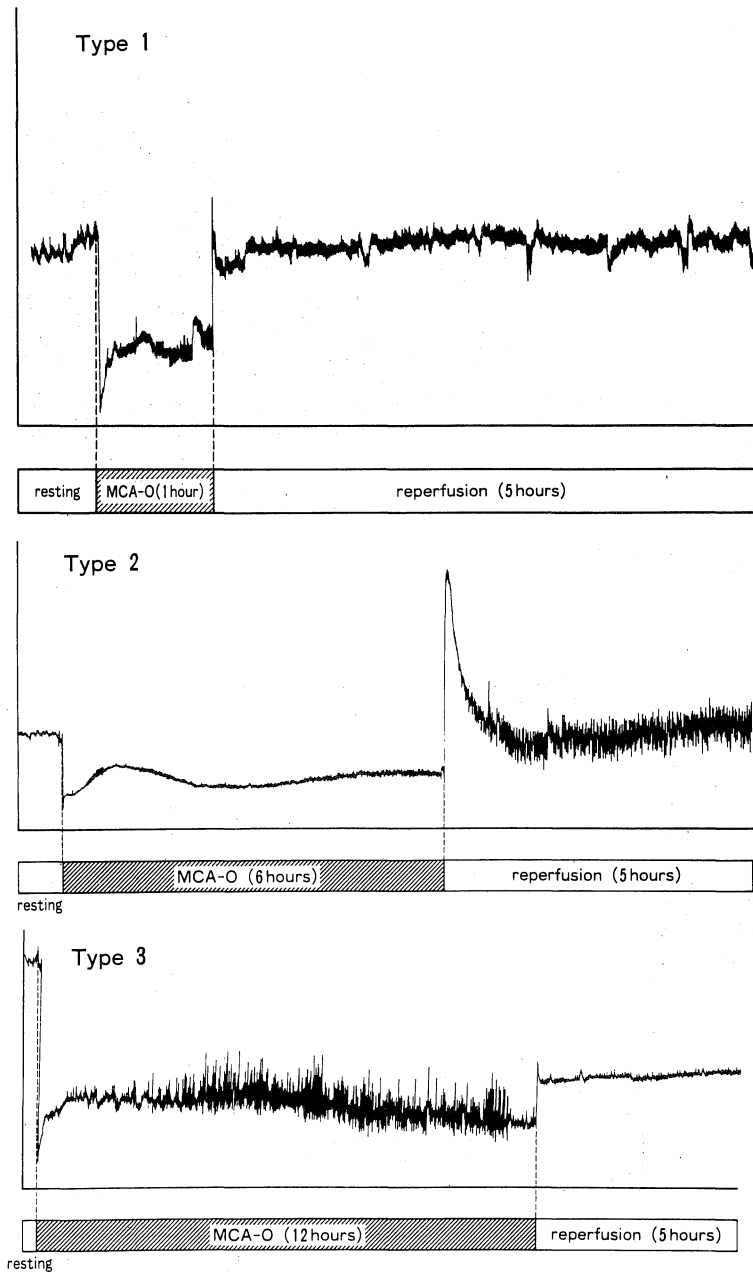


Fig. 6. Pattern of rCBF in ectosylvian gyrus during experiment. According to the change of rCBF after reperfusion, animals were divided into three types. Type 1: After reperfusion, rCBF quickly recovered to the resting state. Type 2: After reperfusion, rCBF revealed hyperperfusion. Type 3: After reperfusion, rCBF revealed hypoperfusion.



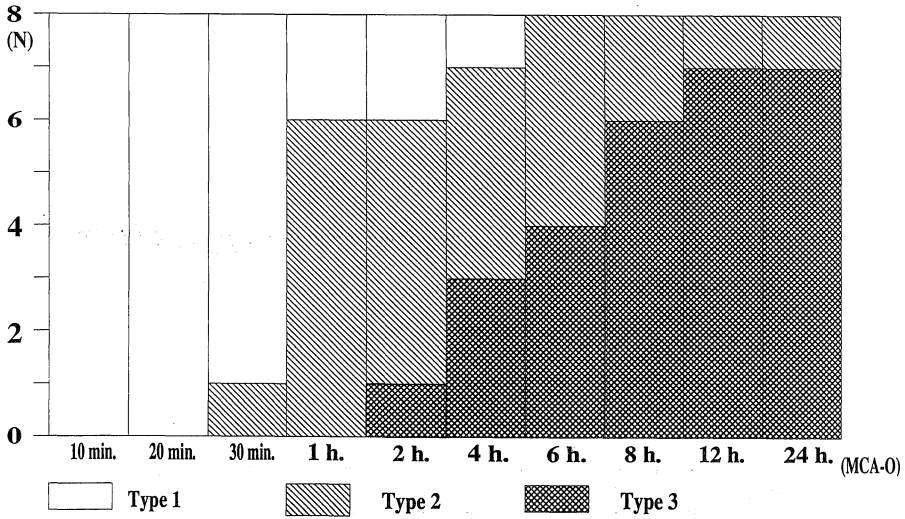


Fig. 7. The relation of rCBF pattern and ischemic duration.

### Vessel Diameter

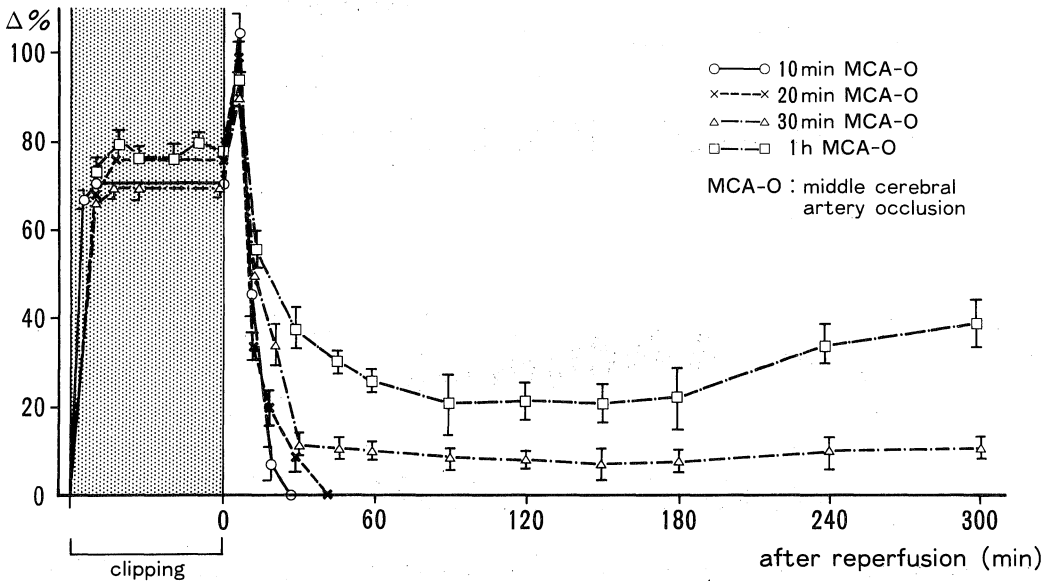


Fig. 8. Reactivity of pial arteriole (10, 20, 30 minutes, 1 hour ischemic group). The pial arteriole dilatated markedly soon after clipping of the middle cerebral artery. In less than 20 minutes ischemic group, the dilatated arteriole recovered to the resting state completely after reopening of the clip. In more than 30 minutes ischemic group, dilatated vessels could not turned back to the resting state after reperfusion.

間の長時間虚血群の血管径の経時的変化については、2時間虚血群では、再開通後の改善状態は1時間群の改善よりさらに悪く、resting stateの35%拡張までの回復にとどまった。4、6時間群では再開通後の回復はさらに強い障害を受け、resting stateの55%拡張までしか改善しなかった。12時間、24時間群ではMCA閉塞中にはresting stateの80-90%まで拡張したが、再開通後の血管径の変化は認めなかった (Fig. 9)。またこの時の脳表細動脈をcranial windowから観察すると、ソーセージ様の変形を認めることが多かった (Photo. 5-D)。再開通3時間程度にみられる再拡張現象も8時間以上の虚血群ではもはや認められなかった。

4. BBBの障害について

tempoeal tip, chiasma, mamillary bodyを通る冠状断の標本のEvans' blueの漏出状況からBBBの障害を判断した。10分、20分虚血群では全くEvans' blueの漏出はみられなかったが、30分虚血群では、ごくわずかながら尾状核、視床およびectosylvian gyrusに漏出がみられはじめた (Photo. 2)。1時間虚血では、尾状核、視床およびectosylvian gyrusを中心にEvans' blueの漏出は進展し、その内部に梗塞巣を認めた (Photo. 3)。2時間、4時間、6時間、8時間と虚血時間の延長とともにEvans' blueの漏出は重篤となった (Photo. 4)が、

12時間以上の虚血群ではEuans' blueの漏出は半球全体におよんでいたが、最も虚血の重篤であったectosylvian gyrusは、逆にほとんどEvans' blueの漏出はみられなかった (Photo. 5-A, B)。

一方、ICPの経時的推移は以下のごとくである。10分、20分、30分および1時間虚血群のICPの経時変化をresting stateを基準としてその変化率をパーセント表示すると、20分以下の群では統計学的に有意な変化はみられなかったのに対し、30分虚血群ではMCA閉塞中に上昇しなかったICPは再開通直後と再開通約3時間後頃で上昇を認めた (Fig. 10)。1時間群ではその傾向がさらに著明となった。次に2時間、4時間、6時間、8時間、12時間、24時間の長時間虚血群のICPの経時変化についてみるとMCA閉塞中のICPの上昇は、8時間をこえると急激に上昇していた。再開通後の変化は、やはり直後と再開通3時間頃に著明なICPの上昇が認められる傾向があった。しかし12時間以上の群ではICPの値がかなり高く、髄液の漏出がおり、データーに大きな誤差が生じたと考えられる部分があり、これは除外した (Fig. 11)。

5. 組織学的検討

1) 脳梗塞の面積

30分以下の虚血群では、梗塞が認められなかった。1

## Vessel Diameter

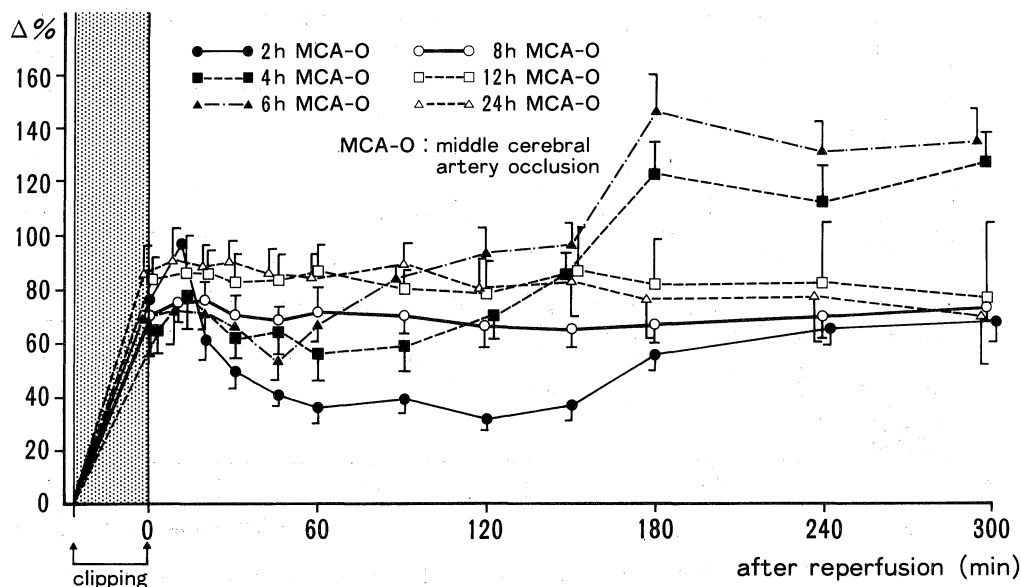


Fig. 9. Reactivity of pial arteriole (2,4,6,8,12,24 hours ischemic group). In more than 8 hours ischemic group, there were no response after reperfusion.

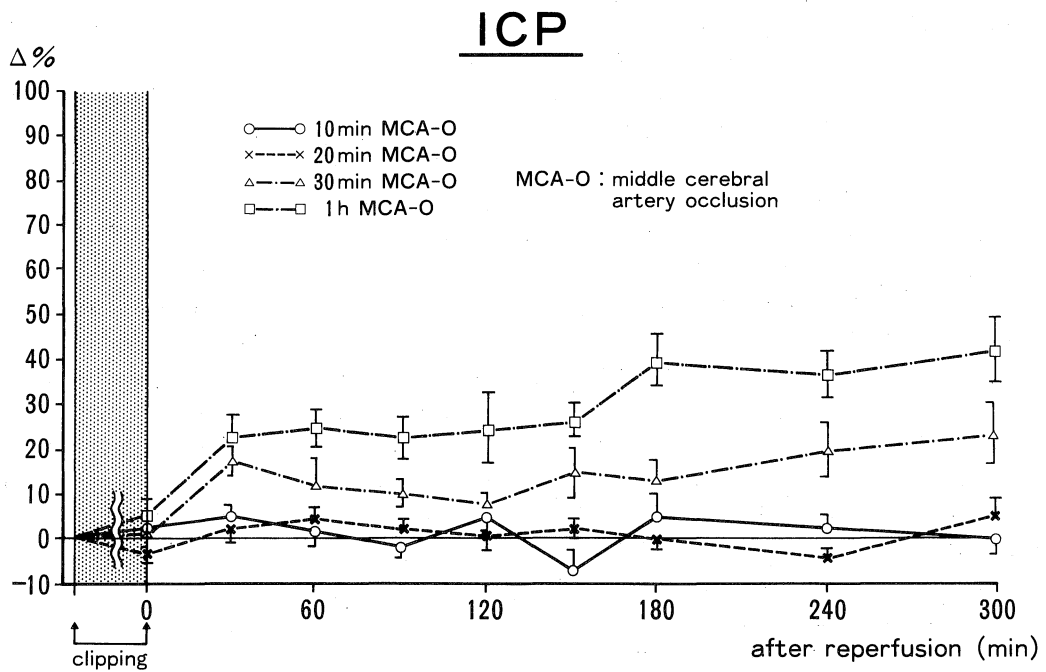


Fig. 10. Changes of intracranial pressure (ICP) in short ischemic duration groups. ICP increased significantly after recanalization in more than 30 minutes ischemic group.

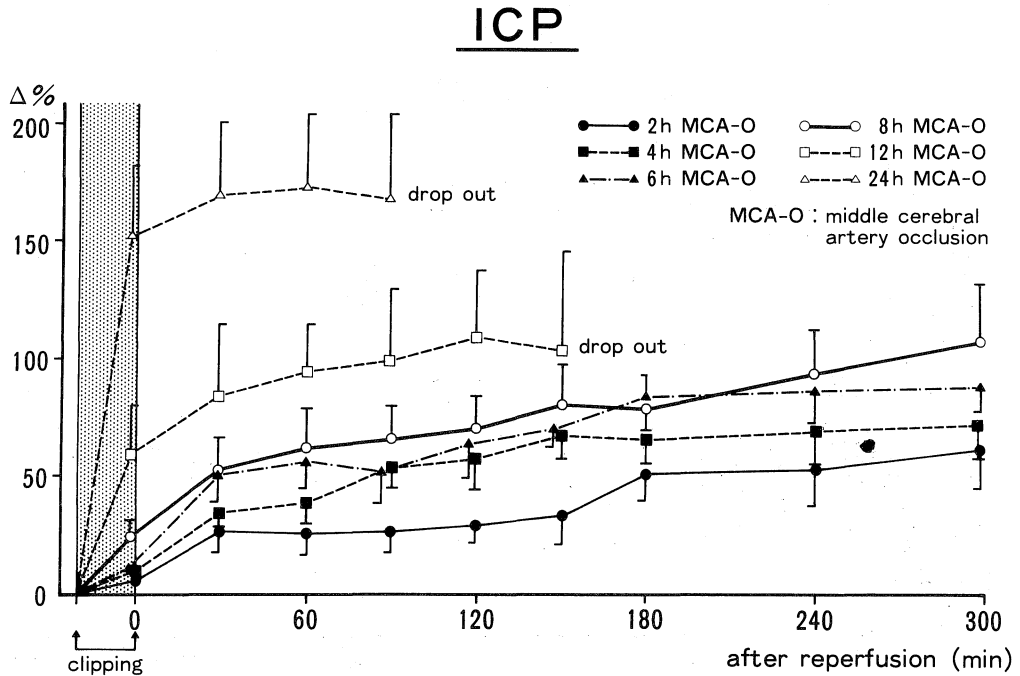


Fig. 11. Changes of ICP in long ischemic duration groups. ICP during clipping of middle cerebral artery markedly increased in more than 8 hours. After reperfusion, ICP continued increasing in these each group.

時間群では梗塞巣が認められ、その梗塞面積は患側半球の  $38.6 \pm 18.2\%$  であった。2時間群では、 $40.5 \pm 11.3\%$  の梗塞を認めた。以下同様に梗塞面積は4時間群では、 $45.3 \pm 8.9\%$ 、6時間群では、 $64.8 \pm 7.8\%$ 、8時間群では、 $69.3 \pm 9.1\%$ 、12時間群では、 $70.5 \pm 10.6\%$ 、24時間群では、 $75.8 \pm 12.8\%$  と虚血時間が長くなるほど大きな梗塞を認めた。しかし4時間群と6時間群の間には、統計学的に有意差がみられ ( $P < 0.05$ )、4時間をこえると梗塞が重篤となった (Fig. 12)。

2) 出血性梗塞の出現

4時間以下の虚血群では組織標本を観察しても梗塞部位に出血を認めなかったが、6時間以上の虚血群では、肉眼的に明らかな出血から光学顕微鏡ではじめてわかる程度の出血まで差はあるものの、6時間群では4匹中2匹 (50%)、8時間群では4匹中3匹 (75%)、12時間以上の群では全例に認められた。6時間以上の虚血群ではcranial windowを通して細静脈からの破綻性出血が点状に観察されることがあった (Photo. 4-B)。

考 察

I. rCBF に影響を与えるパラメーターについて

一時的脳虚血が rCBF に及ぼす影響を検討するとき、虚血以外の rCBF に影響を与える諸因子を実験中、可能

な限り一定にしておく必要がある。rCBF に影響を与える主な因子として MAP, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, pH, Hct および体温がある<sup>22)</sup>。

1) MAP の影響

正常脳の細動脈には autoregulation が働き、体血圧の上昇、下降に対して細動脈を収縮、拡張させて rCBF を一定に保とうとする機能がある。このことは犬を用いて Harper<sup>23)</sup> が実証し、MAP が 80mmHg から 180mmHg の間では rCBF はほぼ一定に保たれていることを示した。虚血脳で autoregulation の全く消失した状態 (vasomotor paralysis) では、理論的には rCBF は MAP とほぼ同期して直線的に変動すると考えられるが、本実験では、mild~moderate ischemia のモデルであり、せいぜい  $\pm 10\%$  以内の MAP の変動が rCBF に与えた影響は無視できると判断できる。

2) 血液ガスの影響

CO<sub>2</sub> は最も強力に rCBF に作用する物質であること<sup>24)</sup> が広く知られている。PaCO<sub>2</sub> の上昇にともない、脳血管は拡張し rCBF を増加させる。PaCO<sub>2</sub> が 20~60mmHg の範囲では rCBF はほぼ直線的に上昇する<sup>25)26)</sup> との報告が多く、そのコントロールは 50 $\mu$ m 以下の細動脈が、主にその役割を担っている<sup>27)</sup>。PaO<sub>2</sub> は PaCO<sub>2</sub> を一定の状態にすると、PaO<sub>2</sub> が 50mmHg 以上ではほとんど rCBF

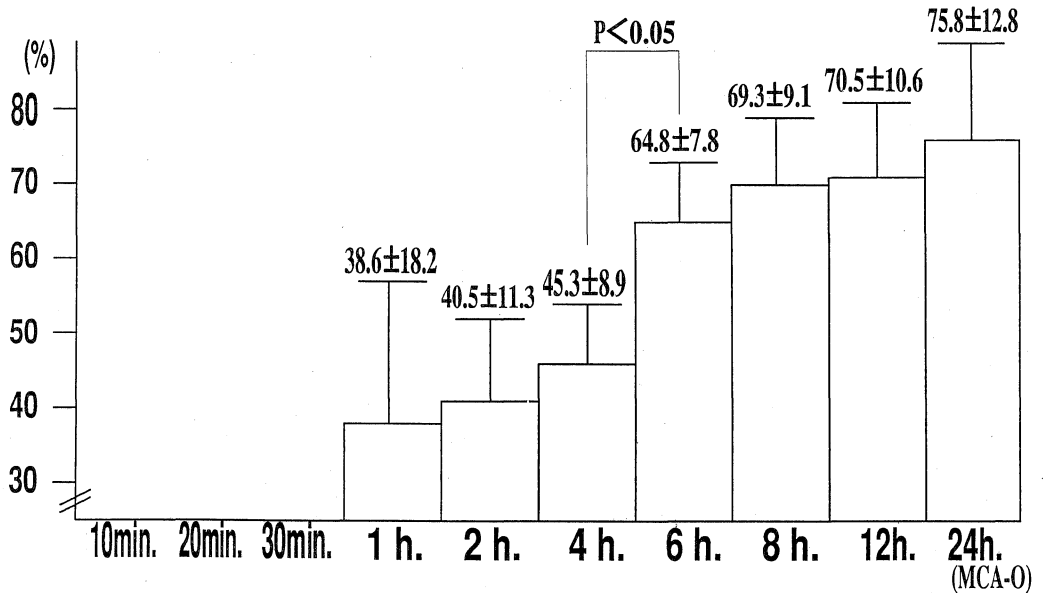


Fig. 12. Infarction (percentage of hemisphere). The size of infarction in 6 hour ischemic group was significantly larger than that of 4 hour ischemic group ( $p < 0.05$ ).

に変化をきたさず、50mmHg以下に低下するとrCBFは直線的に増加する<sup>28)29)</sup>。動脈血のpHについて、Harper & Bell<sup>30)</sup>はPaCO<sub>2</sub>を一定にしておけばpHを変化させてもrCBFが変わらないことを証明しており、rCBFに関する研究を施行する上でPaCO<sub>2</sub>を一定にしておくことは重要な事項である。本実験では各群とも実験中、血液ガスがrCBFに影響しないように生理的狀態に維持されている。

### 3) Hct の影響

rCBFは血液の粘稠度に影響を受ける。血液の粘稠度は、Hctで代用されるが、Hctが40以上のものが脳梗塞を多発するという<sup>31)</sup>。またHctが20~60%では血液粘度とHctは正の相関があるとの報告<sup>32)</sup>もあり、実験中は適切な補液によるコントロールが必要である。fig. 4に示したとおり、本実験ではその影響は無視できる。

### 4) 体温の影響

動物実験ではrCBFは体温の低下と比例して減少、32℃まで低下すると血管収縮が起こり、30℃以下では血管径は50%になると報告されている<sup>33)</sup>。また一方、体温の低下はそれ自体が脳の虚血に伴う梗塞の発生に影響を与える。したがって、本研究ではFig. 5に示したごとくrCBFに影響を与えないよう配慮されている。

以上、本研究においては、上述した諸因子がrCBFに影響を与えないようにコントロールされており、以下に述べる各群間の差異は、虚血負荷の差異に起因するものと考えてよい。

## II. 一時的局所虚血におけるrCBF、脳血管反応性の経時的变化、BBBの障害、脳梗塞、脳浮腫出現の特徴について

### 1. 一時的脳虚血によるrCBFの変化について

#### 1) rCBFの経時的变化

これまで一時的脳虚血によるrCBFの変化についての報告は多い<sup>30)34)35)36)37)</sup>が、それらは経時的なrCBFの変化を持続的に測定したものではなく、ある一時点でのrCBFの値の断続的な測定値にすぎなかった。rCBFは刻一刻と変化しており、その経時的变化のパターンにいかなる特徴があるのかは意外と知られていないのが実状である。最近、侵襲を加えずにrCBFの持続測定ができるということでlaser doppler flowmetry (以下LDF)が注目をあびている。LDFは絶対値には多少の問題はあるもののrCBFの経時的变化を知るには、きわめてすぐれており、その測定値は正確であることが報告されている<sup>38)</sup>。本実験ではLDFをcranial windowに装着することで血管径を観察している部分のrCBFの経時的变化を連続測定できた。またプローブを刺入せずにカバーク

ラスを通して測定しており、刺入時の外傷や接触などの物理的影響を与えることなく、生理的狀態で測定できる利点があった。

#### a) MCA閉塞時のrCBFの変化について

MCAを閉塞すると直ちにrCBFは減少するがゼロにはならず5分以内に再び上昇を始め、resting stateの20~50%のrCBFまで上昇するとプラトー状態になった。虚血程度としては、田村・佐野の2時間虚血時の不可逆的变化を生じる閾値の12~15ml/100g/min<sup>39)</sup>よりは多く、mild~moderate ischemiaに相当した。虚血時のrCBFの減少程度は実験動物の側副血行路の発達状況に強く依存する。猫ではsigmoid gyrus, marginal gyrusおよびposterior composite gyrusでは、anastomosisがきわめて発達しているのに対し、ectosylvian gyrusはanastomosisが乏しく<sup>39)</sup>、MCA閉塞時には最も虚血が重篤となると考えられる。しかしながら動物の個体差によって虚血程度が多様化するの clipを装着する場所が大きく関与すると考えられる。経眼窩の到達法にて閉塞できるMCA最近部位は正中から4~5mm遠位の部分である。またMCA基幹部よりの穿通枝(striate arteries)で最も近位部にあるものは、正中より3.3~7.8mm(平均5.1mm)にあり<sup>39)</sup>、これらの穿通枝と閉塞部位の位置関係が虚血程度の多様性の一原因になっている。Tamura et al.はMCAを内頸動脈よりの分岐直後で閉塞した場合とlateral striate artery起始部近くで閉塞した場合と死亡率が65%と15%と異なることを報告している<sup>40)</sup>。経眼窩の到達法は脳を圧迫せず、損傷を与えないことで優れた方法ではあるが、十分近位まで到達できない欠点がありこれが虚血程度のバラツキの原因にもなっている。MCA閉塞時間が長いものでは、rCBFは一度プラトーになった後、わずかながら徐々に減少していく傾向があり、これはICPの上昇が関与していると考えられる。

#### b) MCA再開通後のrCBFの変化型と虚血強度について

再開通後のrCBFの変化パターンを3つのタイプに分類したが、組織学的に梗塞を生じなかった30分以下の虚血群では、ほとんどが1型となり、1時間・2時間虚血群ではほとんどが2型、4時間・6時間群では2型と3型が半数ずつ、8時間以上の虚血群では、ほぼ3型の変化を示した。1型の変化パターンは、再開通後すぐにrCBFがresting levelにもどり、以後変化しないものであり、虚血による障害がきわめて軽度であったと考えられる。2型の変化パターンは、再開通後にいわゆるpost-ischemic hyperperfusionの状態が持続するものであり、

虚血により、脳組織に相当の障害があった群に認められた。3型は、再開通後もrCBFの回復がみられず、いわゆるpostischemic hypoperfusionを持続した群であり、組織学的にも大きな梗塞や出血性梗塞を呈した重症群にみられた。またこれらの群では、cranial windowを通して血管反応性の消失をきたし、ソーセージ様の変形をきたしたのもみられ、きわめて重篤な障害が虚血により惹起された場合のパターンと考えられた。Tamura et al.<sup>36)43)</sup>は、2時間閉塞した後、2時間再灌流した例で血流変動様式の脳組織障害の関連を調べたが、閉塞時に著しい虚血を呈した動物では再開通後にhyperperfusionかhypoperfusionを生じ、強い脳障害を惹起したのに対し、閉塞時の虚血程度が軽度のものでは、再開通後局所脳血流は速やかに閉塞前のレベルに回復し、組織障害も軽度であったことを述べている。前者はわれわれの2型、3型に当たり、後者はわれわれの1型に属するパターンである。虚血侵襲に対する脳の耐性、再開通後の回復性は虚血時間と虚血程度の二つの因子が関与する<sup>10)</sup>。Tamura et al.の実験では虚血時間を一定にし、虚血程度の差で評価しているが、本研究では虚血時間を変化させて評価した点で異なるが、再開通後のrCBFの変化パターンと脳組織障害の程度の相関関係は一致していた。

## 2) 再開通5時間後のrCBFの値について

虚血負荷で変化の著しかったectosylvian gyrus、視床および尾状核について考察を加える。脳血管反応性やEvans' blueの漏出、ICPの変化などいずれも生じなかった10分、20分虚血群の健側のrCBFはほぼresting stateの値と考えられる。この2群を母集団とし、rCBFを算出するとectosylvian gyrus、視床および尾状核のrCBFはそれぞれ $64.5 \pm 3.3$ 、 $67.3 \pm 4.9$ 、 $81.7 \pm 5.4$  ml/100g/min (平均 $\pm$ S. D.)となった。これらの値はSchuier et al.<sup>42)</sup>の報告と概ね一致するものであった。これらの値を基準として、各群の虚血側のrCBFとの間に統計学的有意差があるか否かを検討した(Table 1)。8時間虚血までは各群とも健側のrCBFは基準値と変わらないが、12時間、24時間群では有意な減少がみられた。これらの群では著明なICPの上昇を認めることより、ICPの亢進が対側の循環障害を惹起し、rCBFの低下を招くことが示唆された。一方、虚血側のrCBFに着目すると、30分以下の群ではrCBFはまったく有意な変化を認めておらず、再開通5時間後ではrCBFに関しては可逆的であったと考えられる。30分以下の虚血群では前述したようにrCBFの経時的変化は、1型を呈するものがほとんどであり、再開通後速やかにresting levelにもどったLDFの測定結果に一致した。1時間虚血から6時間虚血まで

は有意なrCBFの上昇がみられ特に虚血が重篤と考えられるectosylvian gyrusにおいて著明であった。これらの群ではLDFによるrCBFの経時的変化のパターンは2型、すなわち再開通後にhyperperfusionを示すものが多く、postischemic hyperperfusionを表現したものであると考えられる。12時間以上の虚血群では、有意なICPの低下がみられ、特に24時間群では著明であった。これらの群はほとんど3型のrCBF変化パターンをとり、postischemic hypoperfusionを呈したLDFの測定結果に一致した。これは血管が反応性を失い、ソーセージ様に変形して血管自身がきわめて強い障害を受けたことに著明なICPの亢進が加わり、血流低下を生じたと考えられる。

## 2. 脳血管反応性の障害

### 1) 脳血管反応性の意義

脳血管自身の機能として、CO<sub>2</sub>に対する反応性(CO<sub>2</sub> response)と血圧に対する反応性(auto regulation)の二つがあり、これらは脳循環に関与するきわめて重要な因子である。すなわちCO<sub>2</sub> responseとは、正常脳では脳血管がCO<sub>2</sub>の増加に敏感に反応して拡張し、脳血流量を増加させる反応であり、PaCO<sub>2</sub>が30~70mmHgの変動時には、脳血流量は直線的に増加すると報告されている<sup>25)26)43)</sup>。またautoregulationとはMAPが約60mmHgから170mmHgの範囲でMAPの上昇あるいは下降に反応し、細動脈自らが収縮あるいは拡張して脳血流を一定に保とうとする機能である<sup>24)</sup>。そしてこれらの反応性は、虚血という負荷により消失し<sup>45)</sup>、血行再開通後の脳循環動態に変化をもたらせる。つまり血管反応性はその周囲の脳の環境をきわめて敏感に反映すると考えられ、かつ虚血による障害程度をも推察できる指標となりうるものである。

### 2) 脳血管反応性の障害程度と虚血時間の相関関係

20分以内の虚血群では再開通後の回復状況から血管反応性は正常に保たれていると考えられるが、30分虚血群では血管径は再開通後に完全には元に復さず、不可逆的な障害が起こりはじめたと考えられた。この群では器質的な不可逆的な変化である梗塞は認められていないが、BBBの障害やICPの有意な上昇ははじまっていた。いわゆる機能的変化のみが惹起されており、器質的な変化をきたそうとする前段階の状態と考えられる。虚血時間の増加にともない、血管径の回復の障害程度(血管反応性の障害)は6時間虚血群までは一致するが、8時間以上の虚血になると再開通後の血管径の変化そのものが極端に少なくなり、12時間以上ではほとんど変化を示さない。つまり虚血時の拡張が持続する。長時間虚血の方が

脳に与える障害が大きく、したがって、acidosisなどを反映する血管反応性もより大きな変化を示すものと予想されたが、虚血負荷が強すぎて、血管自体にも障害を与え、反応する機能さえ消失したためとも考えられる。12時間以上の群で細動脈がソーセージ様の変形が見られたことから血管自体の強い障害がおこっていること<sup>44)</sup>が示唆される。

### 3) 再開通後の脳表細動脈の再拡張の意味

血管反応性が障害されてはいるが完全には消失していない30分群から6時間群では、再開通直後と再開通3時間後頃に血管が再拡張する特徴がみられた。この再開通直後の再拡張現象の機序は、再開通による急激な血液の流入が血管内圧を上昇させ、血管壁平滑筋を伸展させたためと考えられる。一方、再開通後3時間頃の再拡張の機序は、乳酸などの蓄積によるacidosisが主原因<sup>46)</sup>と考えられるが、組織pHや乳酸濃度の測定など今後の検討を待たねばならない。8時間以上の群で上述の反応がみられなかったのは、血管自身の障害が強くなり、反応性を失ったためと思われる。

## 3. BBBの障害について

1) BBBの概念は、Ehrlichが青色色素を静注すると多くの臓器は青色に染まるが脳は染まらないという観察結果にはじまる<sup>47)48)</sup>。それ以後BBBの実態は、毛細血管内皮細胞間のtight junctionにあることが示され、主として分子量の大きな物質のbarrierと考えられている。Evans' blueの血管外漏出をみる方法は、血液中では速やかに血漿蛋白のアルブミンと結合するため、蛋白漏出の有無すなわちvasogenic edemaの検索手段として使われる<sup>49)50)</sup>。本実験では20分以下の虚血では、Evans' blueの漏出は全く認められなかったが、30分虚血群では、全例にごくわずかながら観察された。虚血時間が長くなるほど漏出面積も増加しており、BBBの破綻を生じさせない臨界虚血時間は20分と考えられる。

### 2) Evans' blueの漏出がおこる部位について

30分群で生じたEvans' blueの漏出は尾状核、視床およびectosylvian gyrusに認められた。虚血時間の延長にともない、Evans' blueの漏出面積は尾状核、視床およびectosylvian gyrusを中心として伸展・増大した。このことから同部分は、虚血に対し脆弱であると考えられる。12時間以上の虚血群では、虚血が最も重篤であったectosylvian gyrusにおいて、反対にごくわずかなEvans' blueの漏出しか認められなかった(Photo. 5-A, B)という興味深い特徴(paradoxical leakage)があり、これはno-reflow phenomenon<sup>51)</sup>の一表現であると考えられる。

### 3) ICPの経時的変化と虚血時間との相関関係

局所脳虚血では全脳虚血と異なり、側副血行路からの浮腫液の供給がなされるため強い脳浮腫をきたす<sup>52)53)</sup>とされている。Klatzoは猫中大脳動脈閉塞実験においてEvans' blueの漏出は永久閉塞では虚血後4~6時間後に灰白質でわずかにみられはじめ、時間経過とともに漏出部位は広がり、2日以上経って白質に出現すると述べている<sup>53)</sup>。虚血性浮腫の進行と消退は当然、ICPにもよく反映されており、Hayakawaは局所脳虚血後の硬膜外圧の経時的な測定で、虚血12時間後より硬膜外が急速に上昇し、18~23時間後にピークに達することを報告している<sup>54)55)</sup>。本実験でもMCA閉塞中は、8時間虚血群までは緩徐であるが、12時間以上では急激なICP上昇を認めており、Hayakawa & Waltz<sup>54)55)</sup>の結果と一致した。一方、血流再開通モデルでは、大量の血液(浮腫液)が傷害部に急速に流入するため、より早期に、より強い浮腫が発生する<sup>56)57)</sup>といわれている。Ito et al.は、再開通後の浮腫およびBBB傷害の進行速度と程度は、虚血時間に依存していることを報告している<sup>58)</sup>。われわれの実験結果でも虚血時間が長い群ほどEvans' blueの漏出範囲は広がり、ICPの上昇も著明となった。特に出血性梗塞が高頻度で認められた12時間以上の群ではICP上昇は激しく、死亡した動物もあった。

### 4) 再開通後のICP上昇パターン

ICPの有意な上昇は認めた30分以上の群では、再開通直後と再開通約3時間後の二点でICPの著明な上昇がみられる特徴が認められた。この二相性の変化は、前述した血管径の経時的変化にみられた特徴に一致し、ICPの変化が血管径に強く関与していることが示唆される。再開通直後のICPの上昇は、拡張した血管に血液が急激に流入することで血管床が増大し、いわゆる脳腫脹をきたした結果と考えられる。北川ら<sup>59)</sup>は、vasogenic edemaの病態解明のため、砂ネズミ片側脳虚血モデルを用いて再開通時におけるvasogenic edemaの発生・進展を抗アルブミン抗体を用いた免疫組織化学的手法により評価しているが、再開通3時間後よりアルブミンが漏出しはじめると述べている。すなわち、再開通後3時間頃よりvasogenic edemaが増強するという北川らの所見と本実験でvasoparalysisの状態の血管がさらに拡張する時期であったことを考慮すると、vasogenic edemaと脳腫脹の両者が相加的にはたらきICPを上昇させたと考えられる。このことは、temporary clipping後や血行再建術の術後には、脳圧のコントロールが治療上特に重要であることを示唆している。

## 4. 組織学的変化の特徴

## 1) 脳梗塞好発部位について

脳虚血によりもたらされる易損傷性は、部位により異なっていることが古くより知られており<sup>60)</sup>、この現象(選択的脆弱性)の発生メカニズムについても様々な議論がなされてきた。Spielmeyer et al.<sup>60)</sup>により提唱されたvascular theoryによると、神経細胞の障害は、それが存在する部位の血管細胞や障害は、それが存在する部位の血管構築や灌流状態に依存するという考え方であり、watershed infarctionはその典型例として臨床的にも実験的にもよくみられるものである。それに対し、Vogt et al.<sup>60)</sup>は、神経細胞そのものの物理化学的特性にその脆弱性を求めるtopistic theoryを提唱し、現在なおこの二説のどちらがより重要な因子であるのか決着をみていない。最近、広範囲脳虚血モデルによる検討で部位による脆弱性の差がより明らかになり<sup>62)</sup>、topistic theoryの重要さが強調されてきている。一方、松本<sup>63)</sup>は、虚血早期に完全虚血に近い高度の血流減少部分と、比較的血流の保たれている部分が互いに隣接している部分(blood flow cliff area)がいくつか存在し、この領域が虚血病変に陥りやすいことを指摘し、vascular theoryを微小循環レベルで十分考慮しなおす必要性を強調している。いずれにしても血管構築を念頭におくことは重要である。本実験の結果から尾状核、視床およびectosylvian gyrusが脆弱性の高い部分であると考えられるが、解剖学的にはectosylvian gyrusは側副血行部の発達がきわめて悪く、MCA閉塞で強い虚血状態になると思われる。大脳基底核では灌流血管がprecapillary anastomosisのないperforation terminal arteryである<sup>64)</sup>に加え、細く、長く、屈曲した走行の血管が灌流しているという解剖学的特徴があり、強い虚血状態ではこのような血管での循環障害がまず、はじめにおこるため脆弱度が高いと考えられる。

## 2) 脳梗塞面積の変化、出血性梗塞の発生と虚血時間の相関関係について

梗塞巣は1時間虚血で生じ、その後虚血時間が長くなるにつれ、梗塞面積も増大した。しかし虚血時間と梗塞面積の増大は平行関係にあるのではなく、4時間虚血群と6時間虚血群の間に統計学的に有意な差が認められた。すなわち、虚血時間が4時間をこえると生じる梗塞面積は著明に増大することが判明した。さらに、しばしば致命的障害となる出血性梗塞が6時間以上の群ではじめて惹起されたことと併せて考えると急性期の血行再建術を考慮するとき4時間がひとつの臨界時間になると考えられる。

## 5. 臨床への応用と問題点

猫での実験を直接臨床に当てはめることはできないが、冒頭で述べた臨床上的の諸問題点を解決する一助となろう。

1) 手術中のtemporary clippingの限界時間について  
実験的には20分以内の虚血であれば、再開通後も梗塞やBBBの障害を生じることなく、ICPの上昇も認めなかった。30分虚血では、梗塞はみられないがBBBの破綻が認められICPの有意な上昇も惹起された。30分虚血では器質的な不可逆的な変化をきたす前段階の状態と考えられ、理想的にはtemporary clippingは20分以内にとどめるべきであると考えられる。不幸にして30分以上の虚血を余儀なくされた場合、再開通直後と再開通3時間後頃の著明な脳浮腫(ICP亢進)に対する十分な脳圧降下剤の投与が治療上重要である。

## 2) 脳動脈閉塞症の急性期の血行再建術のタイミングについて

脳梗塞の発症後数時間以内に血行再建術を行い、梗塞巣周辺のischemic penumbraに血流を増加させることで神経脱落症状を回復あるいは最小限にとどめることができる<sup>65)66)67)</sup>。しかし出血を惹起したり、浮腫を増悪したりすることもあり、いままの問題点を有する。本実験では4時間虚血までは出血性梗塞を認めず、かつ6時間虚血では梗塞面積が急増することから、発症4時間以内の超急性期に血行再建術を行うべきであることが示唆される。しかしながら、実際には脳神経外科医が脳梗塞患者を発症後4時間以内に診察・診断することは稀であり、発症後4時間以内の血行再建は現実的には困難である。そのため適切な脳保護剤を使用し、手術まで脳のreversibilityを保つことが重要となる。脳保護剤として、脳代謝抑制により虚血閾値を改善する方法(低体温療法<sup>68)</sup>、barbiturate療法<sup>69)70)</sup>、phenytoin療法<sup>71)</sup>)、虚血時の側副血行路の血流を維持してpenumbraへの血流を保つことを期待したカルシウム拮抗剤の投与<sup>72)</sup>、虚血時に血圧を上昇させ血流を維持する方法<sup>41)73)</sup>、虚血下に十分な酸素を供給することを目的とした高気圧酸素療法<sup>74)</sup>、微小循環改善を目的としたhemodilution療法<sup>75)</sup>、血管壁安定化を目的としたステロイド療法<sup>76)</sup>、free radical scavenger<sup>77)</sup>としてマニトール、ビタミンEなどを投与するなど多くの薬剤の開発が行われ、実験的・臨床的に保護効果の検討がなされているが、いまだ決定的なものではなく研究が急がれる。

## 3) 慢性期実験の必要性について

1982年Kirino<sup>78)</sup>は砂ネズミで虚血後48時間を経てはじめて光学顕微鏡上明らかな変化をきたす、きわめて緩徐に進行する特異的な病態を見つけ、遅発性神経性壊死



と称した。Pulsinelli et al.<sup>79)</sup>はラットの虚血モデルでも遅発性神経性壊死が出現することを報告したが、猫において遅発性神経性壊死の出現を報告した論文はない。これは猫では安定した一定の虚血モデルの作製が困難であることによると考えられるが、この現象は砂ネズミ・ラットのみに限ったものとは考えにくい。本実験では、再開通5時間までの経時的变化しか観察しておらず、この期間で障害を認めなかった20分虚血でもあるいは長期間を経て障害をもたらすかも知れず、今後、慢性期実験の検討を待たねばならない。

## 結 語

1. 猫中大脳動脈閉塞モデルにおいて虚血時間を変化させ、その後5時間の再開通を行った。ectosylvian gyrus直上にcranial windowを作製し、これを通して脳表細動脈の経時的变化を生体顕微鏡で観察、同時にlaser doppler flowmetryでrCBFを連続的に測定した。

2. 20分以下の虚血では、細動脈の反応性は保持され、BBBも破綻されず、ICPの変化もきたさなかった。再開通後のrCBFも速やかにresting stateに回復し、梗塞巣を生じなかった。30分虚血になると梗塞は認めないが、わずかに血管反応性が障害され、BBBが破綻され、ICPの上昇が持続した。脳神経組織に障害を与えない安全なtemporary clippingの限界時間は20分であると考えられる。

3. 虚血時間が6時間以上になると梗塞面積が急激に増大し、出血性梗塞が惹起されて重篤な脳組織障害を呈しやすくなった。脳血管閉塞症に対する急性期の血行再建術は、4時間以内に行うのが望ましい。

4. 猫中大脳動脈閉塞モデルのMCA閉塞・再開通により惹起される血管反応性の障害程度、BBBの破綻状態、ICP上昇程度、脳梗塞面積にはたがいに強い相関関係がみられた。

本論文の要旨は、第48回日本脳神経外科学会総会(1989盛岡)、THE 1st. INTERNATIONAL STROKE CONGRESS (1989 Kyoto)、第1回日本脳循環代謝学会総会(1989 東京)、第15回日本脳卒中学会総会(1990盛岡)、第31回日本神経学会総会(1990 横浜)において発表した。稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師 寿右教授に深甚の謝意を捧げるとともに、御指導、御校閲を賜った第1内科学教室石川兵衛教授、第2病理学教室日浅義雄教授に深謝致します。実験に終始ご協力して下さった森本かおる嬢に感謝致します。

## 文 献

- 1) Batjer, H. T., Frankfurt, A. I., Purdy, P. D., Smith, S. S. and Samson, D. S. : J. Neurosurg. 68: 234-240, 1988.
- 2) Batjer, H. H. and Samson, D. S. : Neurosurgery 25 : 904-916, 1989.
- 3) Yasargil, M. G. and Fox, J. L. : Surg. Neurol. 3: 7-14, 1975.
- 4) Higashida, R. T., Halbach, V. V., Cahan, L. D., Brant-Zawadzki, M., Barnwell, S., Dowd, C. and Hieshima, G. B. : J. Neurosurg. 71: 648-653, 1989.
- 5) Newell, D. W., Eskridge, J. M., Mayberg, M. R., Grady, M. S. and Winn, H. R. : J. Neurosurg. 71, 654-660, 1989.
- 6) Bockenheimer, S. A. M. and Mathias, K. : AJNR. 4: 791-792, 1983.
- 7) Hieshima, G. B., Higashida, R. T., Wapenski, J., Halbach, V. V., Cahan, L. and Bestson, J. R. : J. Neurosurg. 65: 413-416, 1986.
- 8) Takahashi, A. and Suzuki, J. : in Advances in surgery for Cerebral Stroke (Suzuki, J., ed. ). Springer-Verlag, Tokyo, Berlin, Heidelberg, p589-594, 1988.
- 9) 新井弘之, 宮川照夫, 桜川信男: 脳卒中 6: 144-147, 1984.
- 10) Brierley, J. B., Meldrum, B. S. and Brown, A. W. : Arch. Neurol. 29: 367-374, 1973.
- 11) Caplan, L. R., Skillman, J., Ojemann, R. and Fields, W. S. : Stroke 9: 457-460, 1978.
- 12) Wylie, E. J., Hein, M. F. and Adams, J. E. : J. Neurosurg. 21: 212-215, 1964.
- 13) Crowell, R. M., Olsson, Y., Klatzo, I. and Ommaya, A. : Stroke 1: 439-448, 1970.
- 14) Sundt, T. M., Jr. and Michenfelder, J. D. : Crit. Res. 30: 703-712, 1972.
- 15) 田村 晃, 佐野圭二: 脳神経 31: 49-59, 1979.
- 16) Jones, T. H., Morawetz, R. B., Crowell, R. M., Marcoux, F. W., Fitzgibbon, S. J., DeGirolami, U. and Ojemann, R. G. : J. Neurosurg. 54: 773-782, 1981.
- 17) 小泉仁一, 吉田洋二, 西ヶ谷和之, 金井秀樹, 大根田玄寿: 脳卒中 11: 11-17, 1989.
- 18) O'Brien, M. D. and Waltz, A. G. : Stroke 4: 201

- 206, 1973.
- 19) **Auer, L. M.** : *Acta Neurochir.* 27 (Suppl) : 1-111, 1978.
- 20) **Sakurada, O., Kennedy, C., Jehle, J., Brown, J. D., Carbin, G. L. and Sokoloff, L.** : *Am. J. Physiol.* 234 : H59-66, 1978.
- 21) **Waltz, G.** : *Neurology* 18 : 613-621, 1968.
- 22) 間部英雄, 永井 肇 : *日本臨牀* 43 : 341-348, 1985.
- 23) **Harper, A. M.** : *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 29 : 398-403, 1966.
- 24) **Sokoloff, L.** : *Pharmacol. Rev.* 11 : 1-85, 1969.
- 25) **Reivich, M.** : *Am. J. Physiol.* 206 : 25-35, 1964.
- 26) **Harper, A. M. and Glass, H. I.** : *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 28 : 449-452, 1965.
- 27) **Gotoh, F., Muramatsu, F., Fukuuchi, Y. and Amano, T.** : *Stroke* 4 : 327, 1973.
- 28) **Kogure, K., Scheinberg, P., Reinmuth, O. M., Fujishima, M. and Busto, R.** : *J. Appl. Physiol.* 29 : 223-229, 1970.
- 29) **Borgstrom, L., Johannsson, H. and Siesjo, B. K.** : *Acta Physiol. Scand.* 93 : 423-432, 1975.
- 30) **Harper, A. M. and Bell, R. A.** : *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 26 : 341-344, 1963.
- 31) 亀山正邦 : *脳と神経* 35 : 51-60, 1983.
- 32) 新見英幸, 田代幹雄, 山口武典, 山川隆司 : *神経内科* 12 : 124-130, 1980.
- 33) **Meyer, J. S. and Hunter, J.** : *J. Neurosurg.* 14 : 210-227, 1957.
- 34) 河瀬 斌, 水上公宏, 田沢俊明, 荒木五郎, 長田 乾 : *脳と神経* 34 : 1137-1144, 1982.
- 35) 峰松一夫, 熊谷芳夫, 長木淳一郎, 田代幹雄, 山口武典 : *脳卒中* 7 : 29-36, 1985.
- 36) 田村 晃, 佐野圭司 : *脳と神経* 31 : 1005-1015, 1979.
- 37) 宝金清博, 上野一義, 多田光宏, 井原 博 : *Neurol. Med. Chir.* 28 : 1163-1169, 1988.
- 38) **Dirnagl, U., Kaplan, B., Jacewicz, M. and Pulsinelli, W.** : *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 9 : 589-596, 1989.
- 39) **Kamijyou, Y. and Gracia, J. H.** : *Stroke* 6 : 361-369, 1975.
- 40) **Tamura, A., Asano, T., Sano K., Tsumagari, T. and Nakajima, A.** : *Stroke* 10 : 126-134, 1979.
- 41) **Tamura, A., Asano, T. and Sano, K.** : *Stroke* 11 : 487-493, 1980.
- 42) **Schuijer, F. J., Jones, S. C., Fedora, T. and Reivich, M.** : *Am. Physiol. Soc.* 253 : H1289-1297, 1987.
- 43) 中川 翼, Yamamoto, Y. L., Meyer, E., Hodge, C. P. and Feindel, W. : *Neurol. Med. Chir.* 18 : 713-723, 1978.
- 44) **Mackenzie, E. T., Strandgaard, D. S., Graham, D. I., Jones, J. V., Harper, A. M. and Farrar, J. K.** : *Circ. Res.* 39 : 33-41, 1976.
- 45) 中川 翼 : *脳神経外科* 8 : 409-422, 1980.
- 46) **Michenfelder, J. D. and Sundt, T. M.** : *Stroke* 2 : 319-326, 1971.
- 47) 若井 晋 : *脳と神経* 33 : 1077-1092, 1981.
- 48) 伊藤梅男 : *神経進歩* 28 : 539-554, 1984.
- 49) **Steinwall, O. and Klatzo, I.** : *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 25 : 542-559, 1966.
- 50) **Tschirgi, R. D.** : *Am. J. Physiol.* 163 : 756, 1950.
- 51) **Ames, A., Wright, R. L., Kowada, M., Thurston, J. M. and Majno, G.** : *Am. J. Pathol.* 52 : 437-453, 1968.
- 52) **Gotoh, O., Koide, T., Takakura, K., Tamura, A. and Sano, K.** : *in* Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema (Go, K. G. and Baethmann, A., eds.). Plenum, New York, p499-508, 1984.
- 53) **Klatzo, I., Suzuki, R., Orzi, F., Schuijer, F. and Nitsch, C.** : *in* Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema (Go, K. G. and Baethmann, A., eds.). Plenum, New York, p1-10, 1984.
- 54) **Hayakawa, T. and Waltz, A. G.** : *J. Neurosurg.* 43 : 399-407, 1975.
- 55) **Hayakawa, T. and Waltz, A. G.** : *J. Neurol. Sci.* 26 : 319-333, 1975.
- 56) **Iannotti, F. and Hoff, J.** : *Stroke* 14 : 562-567, 1983.
- 57) 馬杉則彦, 松居 徹, 浅野孝雄, 佐野圭司 : *脳と神経* 34 : 383-391, 1982.
- 58) **Ito, U., Ohno, K., Nakamura, R., Saganuma, F. and Inaba, Y.** : *Stroke* 10 : 542-547, 1979.
- 59) 北川一夫, 松本昌泰, 上田周一, 半田伸夫, 福永隆三, 井坂吉成, 木村和文, 鎌田武信 : *脳浮腫研究会報告集* 11 : 73-83, 1988.
- 60) **Spielmeier, W.** : *Z. Neurol. Psychiat.* 99 : 756, 1925.
- 61) **Vogt, C. and Vogt, O.** : *J. Psychol. Neurol.* 47 :

- 237, 1937.
- 62) **Pulsinelli, W. A.** : *in* Progress in Brain Research (Kogure, K., Hossmann, K. A., Siesjo, B. K. and Welsh, F. A., eds. ). vol. 63, Elsevier, Amsterdam, p69, 1985.
- 63) 松本昌泰 : 血管 **10** : 155-165, 1987.
- 64) 山村武夫, 河原裕憲 : 最新医学 **25** : 1675-1687, 1970.
- 65) 金子満雄 : 脳卒中 **6** : 150-152, 1984.
- 66) **Yonekawa, Y., Handa, H. and Terano, M.** : *in* Microsurgery for cerebral ischemia (Peerless, S. J. and McCormic, C. W., eds. ). Springer, New York, p275-282, 1980.
- 67) 吉本高志, 鈴木二郎 : 外科 Mook 脳血管障害. 金原出版, p186-196, 1983.
- 68) **Bering, E. A.** : J. Neurosurg. **39** : 199-205, 1974.
- 69) **Selman, W. R.** : J. Neurosurg. **56** : 685-690, 1982.
- 70) **Spetzler, R. F., Selman, W. R. and Roski, R. A.** : Surg. Neurol. **17** : 111-115, 1982.
- 71) **Artru, A. A. and Michenfelder, J. D.** : Stroke **11** : 377-382, 1980.
- 72) **Harris, R. J., Branston, N. M., Symon, L., Bayhan, M. and Watson, A.** : Stroke **13** : 759-766, 1982.
- 73) 森本哲也, 横山和弘, 榊 寿右, 衣川一彦, 谷掛龍夫, 宮本誠司, 京井喜久男, 内海庄三郎 : 脳と神経 **33** : 665-671, 1981.
- 74) **Kapp, J. P., Phillips, M., Markov, A. and Smith, R. R.** : Neurosurgery **11** : 496-499, 1982.
- 75) **Vorstrup, S., Andersen, A., Juhler, M., Brun, B. and Boysen, G.** : Stroke **20** : 884-889, 1989.
- 76) **Ito, U., Ohno, K. and Sukanuma, Y.** : Stroke **11** : 166-172, 1980.
- 77) 吉田伸一, 伊能 睿, 浅野孝雄, 佐野圭司, 久保田勝, 島崎弘幸, 植田伸夫, 安田 寛, 島田修史 : 脳と神経 **32** : 931-939, 1980.
- 78) **Kirino, T.** : Brain Res. **239** : 57-69, 1982.
- 79) **Pulsinelli, W. A., Brierley, J. B. and Plum, F.** : Ann. Neurol. **11** : 491-498, 1982.

Explanation of photographs

- Photo 1. Trogh the cranial window on the left ectosylvian gyrus, rCBF was measured continuously by laseu doppler flowmetry. We observed the reaction of pial arteriole at the same time using the intravital microscope.
- Photo 2. 30 minutes ischemic group.  
 A: coronal section    B: external appearance  
 C: HE stain    D: photograph of microcomputer imaging device (MCID)  
 Showing minor leakage of Evans' blue and edema (arrows)
- Photo 3. 1 hour ischemic group.  
 A: coronal section    B: external appearance  
 C: HE stain    D: photograph of MCID  
 Leakage of Evans' blue and edema were advanced. Infarcted region were seen in the left basal ganglia and ectosylvian gyrus (arrows)
- Photo 4. 6 hours ischemic group.  
 A: coronal section    B: intravital microscopic photograph through the cranial window  
 C: HE stain    D: photograph of MCID  
 Showing severe leakage of Evans' blue and hemorrhagic infarction (arrows). Pial arteriole were dilatated as the condition of vasoparalysis.
- Photo 5. 12 hours ischemic group.  
 A: coronal section    B: external appearance  
 C: HE stain    D: intravital microscopic photograph through the cranial window  
 Leakage of Evan's blue extended to the all region of left cerebral hemisphere. In seriously ischemic region (ectosylvian gyrus), minor leakage of Evans' blue was recognized paradoxi-  
 cally (arrows). Pial arteriole were transformed lipe a sausage (arrowheads).



Photo 1.

**30 min. MCA-O**

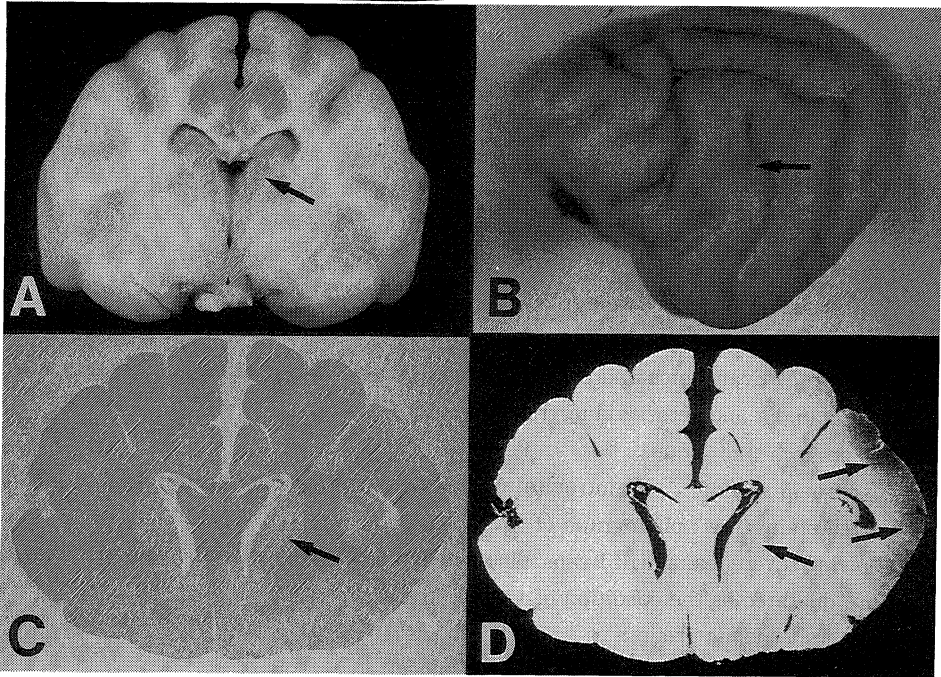


Photo 2.

**1 h. MCA-O**

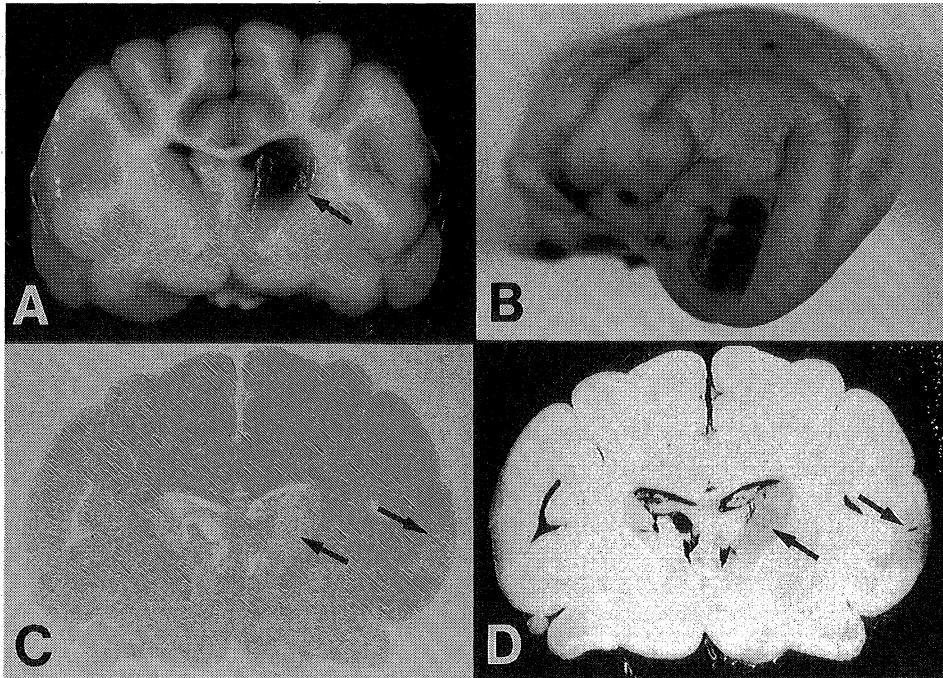


Photo 3.

**6 h. MCA-O**

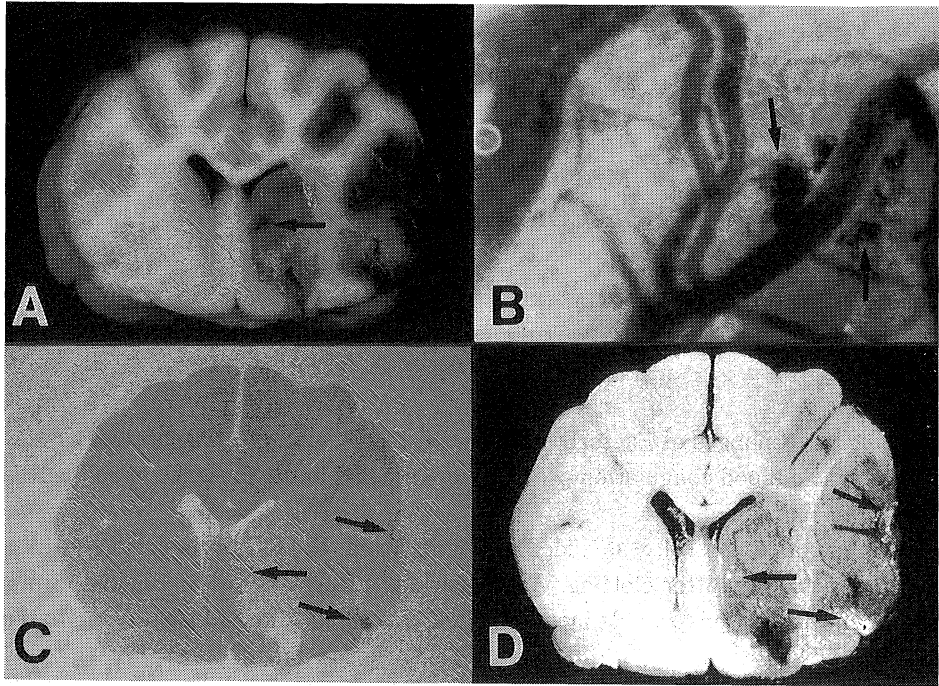


Photo 4.

**12h. MCA-O**

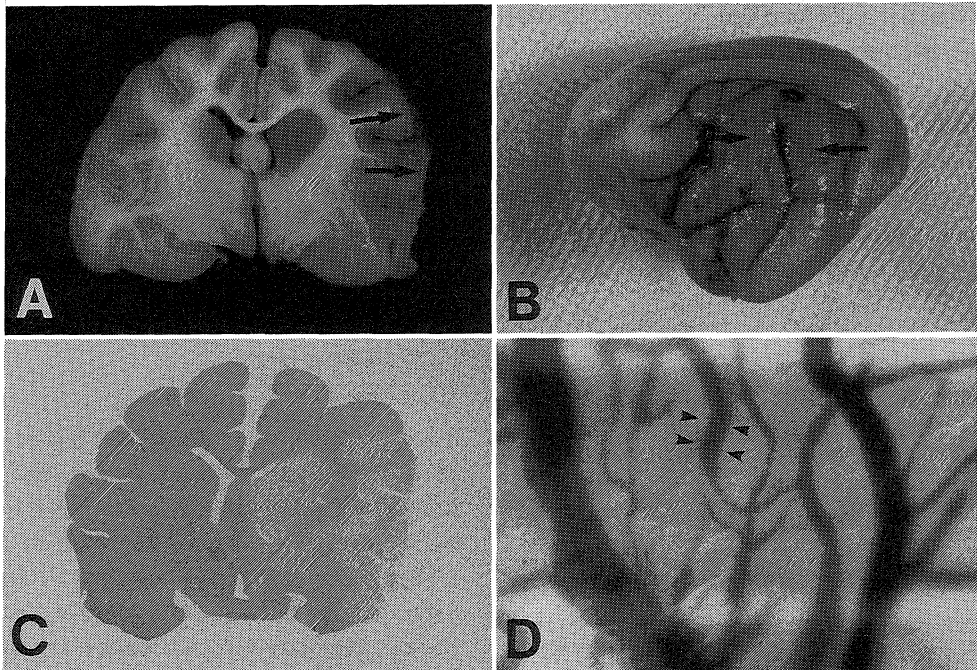


Photo 5.