

大脳深部の微小循環動態の特異性に関する研究

—局所脳血流量に及ぼす hemodilution の効果—

奈良県立医科大学第2外科教室

奥 地 一 夫

HEMORHEOLOGICAL STUDIES ON CHARACTERISTIC
MICROCIRCULATORY BLOOD FLOW OF THE DEEP BRAIN STRUCTURES
—EFFECTS OF HEMODILUTION ON REGIONAL CEREBRAL BLOOD FLOW
IN THE RAT BRAIN—

KAZUO OKUCHI

The 2nd Department of Surgery, Nara Medical University

Received March 28, 1990

Summary: The object of the present investigation is to study the effects of hemodilution on regional cerebral blood flow (rCBF) in the ischemic or non-ischemic rat brain. Regional CBF was measured by Laser-Doppler flowmetry, hydrogen clearance method, and autoradiography. The Laser-Doppler flowmeter (LDF) facilitates instantaneous and continuous measurement of rCBF, while autoradiography provides the absolute rCBF values in each cerebral structure. Isovolemic hemodilution was performed to gradually exchange 7 ml of human albumin for 7 ml of rat blood, after which the values of hematocrit (Hct) decreased by about 33%. The rCBF of the thalamus measured by LDF increased by 25.8%. The increase in rCBF correlated almost linearly with the decrease in Hct. In the measurement of rCBF by LDF, the rCBF value is proportional to the product of the mean red cell density and red cell velocity. The decrease in density caused by hemodilution in the tissue demonstrates a factor of rCBF which supports the theoretical basis of this method. In spite of the decrease factor, measured rCBF in fact increased. These findings suggest that a remarkable increase in the velocity of red cells must occur with hemodilution. The results of rCBF measurements in the non-ischemic rats obtained by autoradiography indicate that hemodilution significantly augments rCBF in the basal ganglia. In rats with middle cerebral artery (MCA) occlusion, rCBF decreased in the area of the MCA. When the changes in blood flow after hemodilution in the treated animals were compared with the changes at equivalent times in the animals without hemodilution, a significant recovery of rCBF in the caudate was seen, whereas the blood flow in the cerebral cortex showed no change. A heterogeneous response to hemodilution was observed, which may be explained by the fact that the basal ganglia is supplied by long and narrow perforated arteries.

Index Terms

hemodilution, cerebral blood flow, Laser-Doppler flowmeter, autoradiography, microcirculation

緒 言

脳血流量は脳灌流圧と脳血管抵抗により決定される。このうち脳灌流圧は全身血圧と頭蓋内圧の差として規定され、脳血管抵抗は主に血管径、血液粘度によって支配される。これらの諸因子の間には autoregulation といわれる脳血流調節機構が存在し、たとえ全身血圧が低下したとしても血管が拡張して脳血流量は一定に保たれる。この機序には筋性、代謝性、神経性因子等が関与するとされている。一方、血液粘度を中心とした hemorheologic factor も血管抵抗を決定する重要な因子である。Invitro ではヘマトクリット (Hct) の低下が血液の流動性を改善し血流量を増加させることはよく知られている¹⁾。しかし、ホメオスターシスを維持するために様々な feed back control の存在する生体においては、Hct の低下、すなわち hemodilution (HD) の局所脳血流量 (rCBF) におよぼす影響はそれほど単純なものではなく、今日に至るまで多くの議論がなされてきている。Isotope clearance 法を用いた大脳皮質血流量の測定結果によれば正常状態では HD に伴って皮質血流量がほとんど変化しないとされている²⁾。また反対に HD により血流量が増加するという報告³⁾もあり、その見解は一定していない。これに対して虚血病態では一般に、HD により有意な血流改善が認められるとの意見が多い⁴⁾⁵⁾。しかし、大脳深部における HD の影響については、従来の方法では rCBF の測定が困難なため検討は少ない。特に穿通枝と呼ばれる皮質とは血管構築の異なる血管系によって栄養される大脳基底核の血流が HD に伴ってどのように影響を受けるかに関して結論は出されていない⁶⁾。

今回著者はラット大脳において HD に伴う皮質および基底核部での rCBF の変化を観察した。まず、Laser Doppler Flowmeter (LDF) で連続的に rCBF を測定して時間的変動を捉え、またオートラジオグラフィ (ARG) を使用し、大脳各部位での rCBF を測定して血流量の空間的分布を捉えた。さらに、HD の虚血脳への影響をみるため、ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いて rCBF の変動および病理組織学的変化を観察した。以上の結果をふまえて虚血および非虚血下の大脳半球における hemorheology につき考察を展開し、特に脳虚血に対する HD の影響に関して検討を加えた。

実験方法

実験動物としては同一家系で繁殖させた 10~15 週齢、体重 250~350 g の Wistar 系ラットの雄 77 匹を使用した。

1. 正常ラットにおける hypervolemic hemodilution (HHD) に伴う rCBF の変動

実験には 10 匹のラットを用い、全ての操作は 1.5% halothane によるマスク吸入麻酔下に行なった。

(1) LDF による rCBF の測定

ラットを定位脳固定装置 (高橋商店) に腹臥位に固定した。頭皮を正中切開し翻転後、頭蓋骨を露出し、Bregma から 4 mm 尾側、中心線をはさんで 3 mm 外側の左右対称の位置に直径 2.5 mm の骨窓を作製した。顕微鏡下に硬膜を切開し、両部位の硬膜を開き、皮質血管を温存しつつ右側には Laser Doppler 血流計 (半導体レーザー式組織血流計: バイオメディカル, LBF-221) のニードル型のセンサー (LFN-50: 直径 0.55 mm) を Palkovits⁷⁾ のラットの解剖図譜に従って脳表より micromanipulator (Narisige) を使用して定量的に 4 mm 挿入し視床の外側腹側核を target point とし設置した。左側には脳皮質用のカテーテル型センサー (LFC: 直径 2.5 mm) をくも膜に接触させ頭頂葉皮質に設置した。血流測定開始後約 1 時間して血流値の安定するのを待って、これをそれぞれの血流値の control 値とした。

(2) HHD (Hypervolemic Hemodilution) の方法

ラットの大腿動脈にそれぞれ polyethylene catheter (PE50, Clay Adams) を挿入し、静脈ルートから血清に対する浸透圧比が 1 になるように 44 mg/ml に調整したアルブミン (ヒトアルブミン, ミドリ十字) 40 ml/kg をシリンジポンプ (STC-523, テルモ) を用いて静脈内に 1 時間かけて注入した。あわせて動脈ルートに圧センサー (P-50, GOULD) を接続して平均全身動脈血圧 (MABP) を連続的に測定した。アルブミンの注入前後で血液ガス分析器 (ABL 330, Radiometer) にて動脈血液ガス、Hct の測定を行なった。

2. 正常ラットにおける isovolemic hemodilution (IHD) に伴う rCBF の変動

1) LDF, 水素クリアランス法 (H₂ 法) による rCBF の測定

実験には 13 匹のラットを使用した。LDF の血流量の絶対値校正のために H₂ 法でも同時に rCBF の測定を行った。全ての操作は 1.5% halothane を用いたマスク吸入麻酔下に行なった。

(1) LDF および H₂ 法による同時測定の方法

ラットを定位脳固定装置に腹臥位に固定し、HHD と同様の方法で、Bregma から 4 mm 尾側、中心線から右へ 3 mm 外側に骨窓を作製し、硬膜を開き Laser Doppler 血流計のニードル型のセンサーと水素クリアランス式組織血流計 (MHG-D1: ユニークメディカル) の白

金電極 (UHE-100: 直径 0.3 mm) を定位的に micromanipulator を用いて刺入した。両者は刺入前に密着させ、脳表から 4 mm 刺入し視床の外側腹側核の同一部位の血流量を測定できるようにした。刺入後約 1 時間、LDF の血流値の安定するのを待ってこれを control 値とした。また、同時に Lyndsay Symon⁹⁾らの方法に準じて H₂ 法でも rCBF を測定した。吸気濃度が約 10 % となるように水素をマスクで吸入させ、クリアランス曲線を作製、Two Compartmental Analysis を用いて血流量を算定した。

(2) IHD (Isovolemic Hemodilution) の方法

前記と同じ方法でラットの動脈にそれぞれルートを確認し、動脈ルートから 1 ml (約 3.3 ml/kg) の脱血を行った後、血清に対する浸透圧比が 1 となるように調整されたアルブミンを脱血量と同容量 (1 ml) だけ静脈ルートより約 30 秒かけて注入した。脱血した動脈血にて血液ガス分析、Hct の測定を行なった。この操作を 5~10 分間隔で 7 回繰り返し総容量 7 ml (約 23.1 ml/kg) の血液-アルブミンの置換を行なった。これは HHD に使用したアルブミンの約 1/2 の容量に相当した。希釈操作の間連続して LDF で rCBF を測定し、その終了と同時に H₂ 法でも rCBF の測定を行なった。

2) オートラジオグラフィ (ARG) による rCBF の測定

ラット 11 匹を control 群 (5 匹)、HD 群 (6 匹) に分けて実験を行なった。HD 群には前述の方法で IHD をアルブミンを用い行なった。

ARG による rCBF の測定法は Sakurada⁹⁾らの方法に準じて行なった。1.5 % halothane のマスク吸入麻酔下にラットの大腿動脈に血管ルートを確認し、石膏ギプスで下半身を固定し、さらに金属性の固定台に接着テープで固定した。約 1 時間後、麻酔から完全に覚醒させ、覚醒状態の動脈血液ガスを測定した。完全覚醒後は下半身固定のまま絶飲食で室内空気の自発呼吸を行なわせ、血流量測定直前に Hct、血液ガス、MABP の測定を行なった。IAP (¹⁴C]-iodoantipyrine, specific activity 45.5 mCi/mmol; New England Nuclear, Boston, Ma, U. S. A.) の 50 μCi を 1 ml の蒸留水で希釈し、それをシリンジポンプ (Model Pump 22; Harvard Apparatus, inc.) を用いて約 1 分かけて大腿静脈より注入し、この間 4~6 秒間隔で大腿動脈から約 0.01~0.02 ml の採血を行なった。採血した動脈血から液体シンチレーションカウンターで IAP の経時的動脈血中 RI 濃度を測定した。IAP の投与完了と同時に 1 ml の KCl を静注後断頭し、すばやく脳を摘出し、-70 °C の液体フロンで凍結固定

を行なった。凍結した脳はクリオスタット (Bright 社) で 20 μm の連続切片を作製しカバーガラス上に取り、ホットプレートで乾燥固定した。この組織を [¹⁴C]スタンダード (ARC-146A; American Radiolabeled Chemicals, Inc.) とともに片面乳剤フィルム (OM-1, Kodak) に 10 日間密着させ autoradiogram を作製した。このフィルムを用い MCID (Micro-Computer Imaging Device; Imaging Research, Inc., Canada) で画像解析を行ない、局所脳組織 RI 濃度を求めた。現像したフィルムの隣接 3 切片の RI 濃度の平均および血中 RI 濃度の推移から切片の各部位での rCBF を算出した。連続切片のうち 1 枚を crystal violet で染色し大脳の解剖的構造の確認を行った。control 群、HD 群とも大脳半球に皮質 3 カ所、基底核、間脳 3 カ所、白質 2 カ所の計 8 カ所の関心領域を設定し rCBF を算定した。統計処理には Student's t-test を用いて、危険率 0.05 以下を有意差ありと判定した。

3. 虚血ラットにおける IHD の影響

1) 中大脳動脈 (MCA) 閉塞モデルにおける rCBF の ARG による測定

(1) 実験計画

23 匹のラットを 4 群に分けて IHD 及び後述する方法で MCA 閉塞を行なった。

第 1 群 [I₁] (n=5) MCA の閉塞のみを行ない 4 時間後に IAP を注入して ARG による脳血流量の測定を行なった。

第 2 群 [HDa] (n=6) MCA の閉塞とその 3 時間後に IHD を行ない、MCA 閉塞の 4 時間後に IAP を注入して ARG による脳血流量の測定を行なった。

第 3 群 [I₂] (n=5) MCA の閉塞のみを行ない 2 時間後に IAP を注入して ARG による脳血流量の測定を行なった。

第 4 群 [HDb] (n=7) IHD を行なった直後に MCA の閉塞を行ない、その 2 時間後に IAP を注入して ARG による脳血流量の測定を行なった。

IHD と ARG による rCBF の測定は前述の方法によって施行した。IAP の注入直前に Hct、血液ガス、MABP の測定を行なった。4 群とも前述した大脳 8 カ所に caudate, globus pallidus を加えて計 10 カ所の関心領域を設け、rCBF を MCA 閉塞を行なった虚血側大脳半球 (Ipsilateral side)、その反対側の非虚血側大脳半球 (Contralateral side) に分けて算定した。統計処理には Student's t-test を用いて、危険率 0.05 以下を有意差ありと判定した。

(2) MCA 閉塞モデルの作製

Tamura¹⁰⁾らの方法に準じて中大脳動脈の閉塞を行なった。1.5%halothane マスク吸入麻酔下にラットを側臥位に固定し、すべての操作は手術用顕微鏡下に行なった。外眼角と外眼角と外耳孔とのほぼ中央で頬骨弓を横切るように皮膚切開をおき、側頭筋を切断し頬骨弓を露出し、これをできるだけ広範囲に除去した。さらに側頭筋をわけ下顎骨の coronoid process に到達し、付着した筋を剝離した後この突起を下顎骨から除去した。ついで筋を深部にまで剝離し三叉神経第3枝に沿って側頭骨の底部に達し、卵円孔と眼窩裂の中間に歯科用ドリルで直径約2 mmの骨窓を作製した。破膜を注意深く切開し、まず黄白色の嗅索を確認し、それを横切ると中大脳動脈本幹を露出した。嗅索の部分でくも膜を切開し、中大脳動脈を bipolar coagulator で電気凝固をくわえてこれを閉塞、切断した。オキシセルにて髄液の漏出をふせぎ閉創した。

2) 梗塞巣の組織学的検討

20匹のラットをMCAの閉塞のみを行なったI群(10匹)とMCAの閉塞とその閉塞直前にIHDを施行したII群(10匹)に分けて実験を行なった。両群とも36時間後に灌流固定した後、光顕標本を作製し梗塞巣の広がりを検討した。しかし、II群のうち2匹はMCAの閉塞操作中に出血を生じたため今回の検討から除外した。

(1) 光顕組織標本の作製

MCA閉塞36時間後にエーテル麻酔下に開胸し経心的灌流固定を行った。灌流液にはFAM(40% formaldehyde: glacial acetic acid: methanol, 1: 1: 8)¹¹⁾を用い、灌流圧は130 cm水柱圧とした。脳を取り出した後、FAMでさらに48時間浸透固定した。エタノール系列で脱水、キシレンで置換した後、パラフィン包埋した。冠状断面で6 μm厚の切片を、前交連を通る断面とそれを中心として吻側へ0.5 mm(尾状核の最も大きく現れる断面)、尾側へ0.5 mm(蒼蒼球の最も大きく現れる断面)の合計3カ所の部位で作製した。ヘマトキシリン-エオジンにて染色を施行し光顕的に梗塞巣の広がりを観察した。

(2) 定量的画像解析

梗塞面積を定量的に検討するために、上記の方法で作製した染色切片をMicro-Computer Imaging Deviceを用い画像解析を行なった。光顕的に確認した梗塞巣の面積を皮質と基底核部に分けて求め、半球面積に対する百分率として算定した。有意差検定にはStudent's t-testを用いた。

結 果

1. 生理学的パラメーターの変動

生理学的パラメーターに関して、麻酔下で行なったLaser-Doppler法およびH₂法の値をTable 1に、完全覚醒下で行なったARG法での値をTable 2に示す、マスク麻酔下ではPaCO₂がやや高値であるが、HDの経過中変動は無く一定であった。Laser-Doppler法ではcontrol値からの増加率を問題としているため、このPaCO₂の影響は少ないと考えられた。HHD施行時にMABPの上昇が予測されたが、ほとんど変動はなかった。IHDにおいては脱血時に一過性の血圧低下が認められたがアルブミン注入後はすみやかに元の値に復し、実験中全経過を通じてMABPの有意な変動は認めなかった。

2. 希釈操作によるHctの変化

(1) HHD

希釈操作直前と終了直後に測定したHctは44.8±3.5(以下mean±SD)から31.2±3.2へ有意な低下(P<0.001)を示した(Table 1)。

(2) IHD

希釈操作で得られた各々の動脈血を用いて測定したHctは段階的に減少し、1 mlのIHDによってHctは平均2.2の減少を示した。操作前に44.8±3.5であったHctが7回の希釈操作終了後31.7±3.2にまで直線的に低下した(Fig. 1) 希釈操作後も更にHctは低下し、最終的には操作終了後約30分で29.5±3.0に達し、以後は定常状態になった。

ARGでのrCBFの測定において、IHDを行なったHD群、HDa群、HDb群のHctはHD後に27.6~30.4の値を示し、これはHDをしなかった群に比して有意な減少であった(p<0.001)(Table 2)。

3. 正常ラットにおけるHHDのrCBFに及ぼす影響

希釈操作開始と同時にrCBFは大脳皮質および視床ともに徐々に増加し、皮質に比して視床では上昇率が高くHD終了時(開始後60分)に39%、その15分後に41%の有意の上昇がみられた。これに対し皮質では開始45分に12%の増加がみられたのみで、あとは10%前後の増加で経過した(Fig. 2)。

4. 正常ラットにおけるIHDのrCBFに及ぼす影響

(1) LDFによる視床のrCBFの測定

LDFによる連続的な視床外側腹側核におけるrCBFの変動状況を見た(Fig. 3)。図において数字は7回行なった脱血およびアルブミン注入の希釈操作を示す。一過性の脳血流の増減はあるが、HDが進むにつれて血流量は徐々に増加し、希釈操作終了後約30分で定常状態に達した。

13匹の動物で得られた結果を、control値に対する増加率として百分率で表しFig. 4に示した。血流量はHD

Table 1. Physiological measurements in the anesthetized rats during hemodilution

	Hemodilution		P
	Before	After	
Hct(%)	44.8±3.5	31.2±3.2	<0.001
Blood Gas			
pH	7.375±0.027	7.337±0.045	NS
PaCO ₂	51.9±3.3	53.6±5.3	NS
PaO ₂	107.4±8.9	115.7±14.2	NS
MABP(mmHg)	96±3	101±6	NS

MABP: mean arterial blood pressure. NS: not significant.
Values are given as mean±SD

Table 2. Physiological measurements in the non-ischemic and ischemic groups (awake)

	Non-ischemic groups		Ischemic groups			
	Control (n=5)	HD (n=6)	I ₁ (n=5)	HDa (n=6)	I ₂ (n=5)	HDb (n=7)
Hct(%)	44.0±2.0	29.5±2.6 *	44.6±2.2	27.6±5.2 *	46.0±3.5	30.4±3.9 *
Blood Gas						
pH	7.414±0.07	7.434±0.03	7.404±0.06	7.382±0.02	7.385±0.02	7.401±0.05
PaCO ₂ (mmHg)	44.5±4.7	47.0±2.8	45.7±3.0	46.6±1.7	46.1±4.5	45.2±4.8
PaO ₂ (mmHg)	107.4±8.9	115.7±14.2	105.6±22.4	120.6±9.0	109.0±14.3	117.7±22.5
MABP(mmHg)	96±3	101 ±6	100±5	99±6	105±7	98±8

Values are means±S. D. MABP: mean arterial blood pressure. I₁, I₂: arterial occlusion without hemodilution.

HDa: hemodilution after arterial occlusion, HDb: hemodilution before arterial occlusion.

I₁, HDa: Measurements made 4 hours after arterial occlusion. I₂, HDb: Measurements made 2 hours after arterial occlusion

* different from control value (p<0.001)

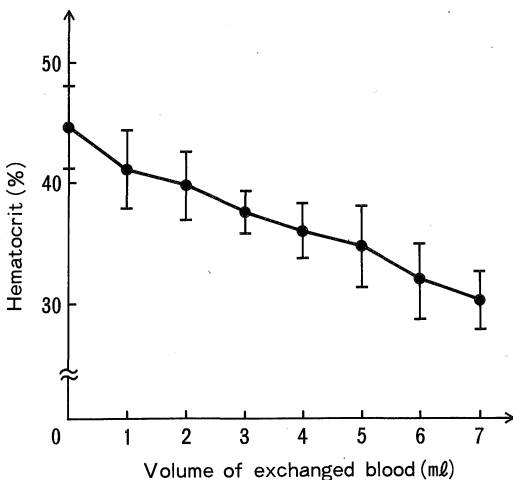


Fig. 1. The sequential changes of hematocrit (Hct) during isovolemic hemodilution; the Hct values gradually decreased in the course of the dilution process. After exchange of 7 ml albumin for 7 ml blood, the values decreased from 44.8 to 31.7 (p<0.001).

終了直後で25.8±7.3%, その後の最終的な定常状態では35.2±8.6%のいずれも有意な増加 (P<0.001) が認められた。

(2) H₂ 法による rCBF の測定

今回の実験に用いた13匹のラットのうち10匹においてH₂法によりHD前後のrCBFの測定を行なった。Fig.5に示すごとくHD前に87.3±25 ml/100 g/minであったものが希釈操作終了直後には105.0±25 ml/100 g/mlへと20.3%の有意な増加を認めた (P<0.01)。HD後のH₂法での増加率はLDFによる測定結果に比べて低かった。

(3) ARG による rCBF の測定

Table 3に示すとうり8カ所の関心領域においてrCBFを測定した。HD群はcontrol群に比してrCBFの値は全ての領域で高く、特に大脳深部に高い部位が集中して見られた。中でも視床で39.2% (P<0.01)、海馬で26.0% (P<0.05)の統計学的に有意な上昇が認められた。線状体は20.8%の上昇であったが、有意差を持つには至らなかった。これに対して皮質の上昇率は5~10

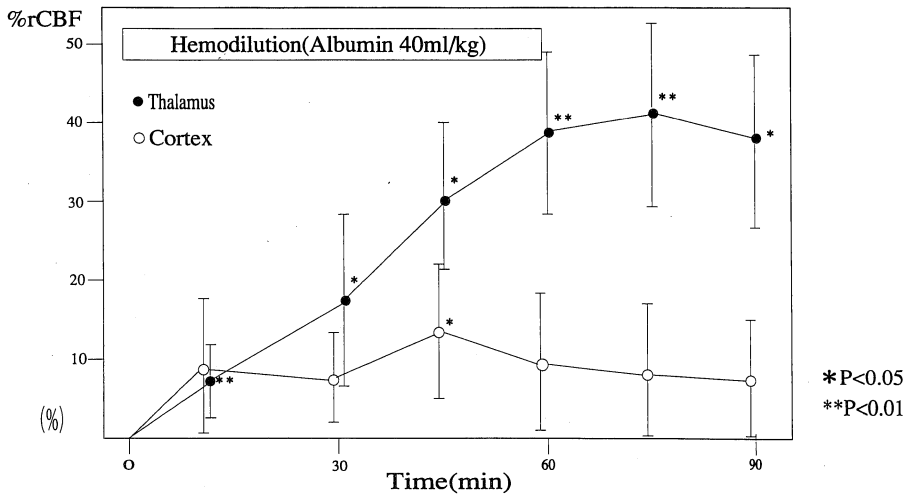


Fig. 2. Regional cerebral blood flow (rCBF) alterations in the thalamus and the parietal cortex measured by Laser-Doppler flowmeter during hypervolemic hemodilution. The remarkable elevation of rCBF in the thalamus compared to the cortex was demonstrated.

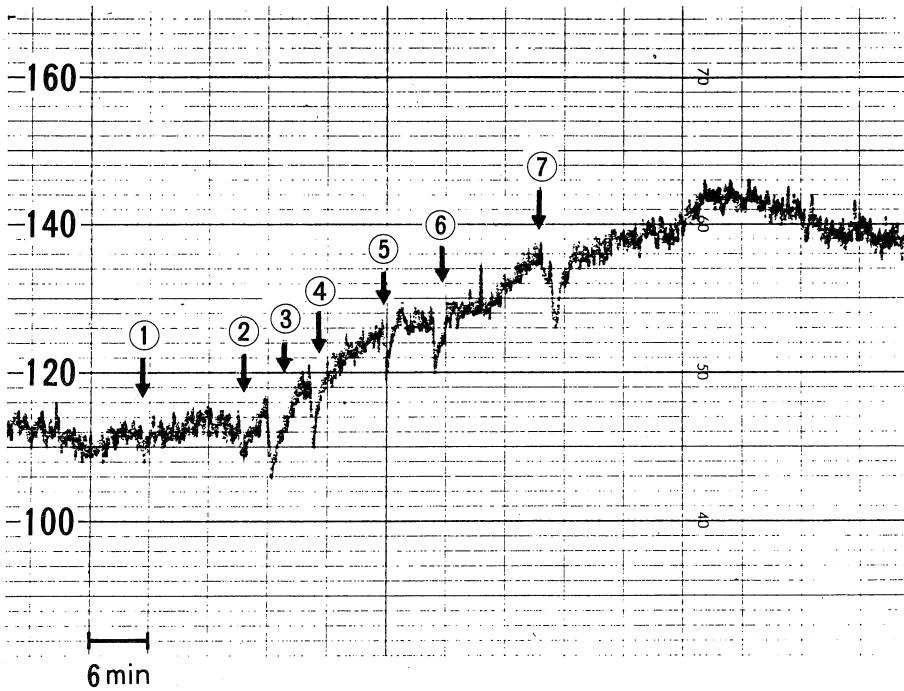


Fig. 3. Pattern of rCBF alterations in the thalamus continuously measured by Laser Doppler flowmeter during inolemic hemodilution. The numbers indicate the serial hemodilution.

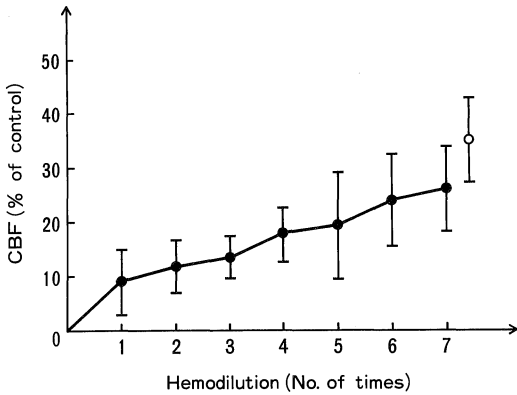


Fig. 4. Regional cerebral blood flow alterations (in per cent of control) in the tcalamus following the dilutional process. Open circle indicates the value of stable state.

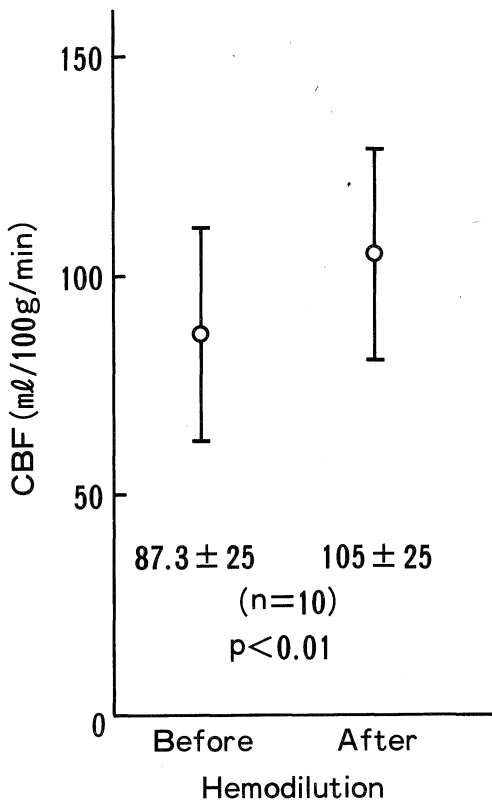


Fig. 5. Regional cerebral flow (rCBF) measured by hydrogen clearance method. After isovolemic hemodilution the value of rCBF increased significantly. Values are mean ± SD.

%程度で、白質は両者の中間の値であった。視床、皮質における測定結果はHHDに伴うrCBFの変化をLDFで連続測定した結果とよく一致していた(Photo 1,2).

5. 虚血ラットにおけるIDHの影響

(1) ARGによるrCBFの測定

10カ所の関心領域において得られた測定結果をTable 4に示す。MCAの閉塞のみを行なったI₁, I₂群では虚血側のMCA灌流領の大脳皮質、尾状核、線状体でのrCBFは非虚血側の約20%の値を示し、著名な血流量の低下が認められた(P<0.05)。視床、淡蒼球では80~90%の値であり、血流低下は大脳吻側により強く認められた。その血流値は皮質においてI₁群のほうがI₂群よりも高く、尾状核、線状体では逆にI₂群のほうが高かった。皮質の血流値に関してはIHDを行なったHDa, HDb群においても、虚血単独群(I₁, I₂)と比較して増加傾向はなかった。虚血負荷後にIHDを行なったHDa群では非虚血側視床で171±6.6(以下means±SEM, 単位はml/100g/min)であり、I₁群の非虚血側視床の148±34に比して有意の増加を認めた(P<0.05)。これは虚血操作をまったく加えない前述した正常control群とHD群の視床の結果と一致していた。しかし、虚血側視床では有意の増加を認めなかった。これに対して虚血負荷前にIHDを行なったHDb群の虚血側尾状核での血流量は101±13とI₂群尾状核の86±14に比して高値であり(P<0.05), IHDによる血流の改善が生じていると考えられた。(Photo 3, 4)

(2) 組織学的所見および梗塞面積の測定

光顕による組織学的検索ではARGで測定したrCBFの低下領域に一致してMCA灌流領域の大脳皮質、尾状核を中心に梗塞巣が認められた。虚血変化の強い部分では壊死のため組織の脱落を生じ、細胞骨格の残っている部位でも核のpyknosis, 細胞骨格の残っている部位でも核のpyknosis, 細胞質の空胞化がみられた。梗塞巣の外縁ではマクロファージの浸潤がみられ、正常部との区別は容易であった。梗塞面積は大脳半球面積に対する百分率であらわしその結果をTable 5に示す。IHDを虚血前に行なったII群は虚血のみを加えたI群に比して梗塞面積は小さい傾向を示したが有意差には至らなかった。しかし、皮質と基底核部に分けて検討した場合、尾状核を中心とした基底核部では有意な梗塞面積の縮小効果を示した(P<0.05)(Photo 5).

考 察

近年、HDに伴う脳血流の変動に関して多くの知見がかさねられている¹²⁾。これらの報告と今回の実験結果を

Table 3. Regional cerebral blood flow (ml/100g/min) in non-ischemic groups

Structure	Control (n=5)	HD (n=6)	%difference*	P
Frontal cortex	167±7.5	174±11	4.2	NS
Sensorimotor cortex	185±13	205±13	10.8	NS
Parietal cortex	161±4.3	172±8.2	6.8	NS
Thalamus	130±3.8	181±14	39.2	<0.01
Hippocampus	92±5.1	116±4.5	26.0	<0.05
Caudoputamen	125±27	151±12	20.8	NS
Corpus callosum	39±3.3	45±2.3	15.4	NS
Internal capsule	43±9.3	50±5.3	17.0	NS

Values are means±SEM. HD: hemodilution, NS: not significant. *All values increased

Table 4. Regional CBF(ml/100g/min)after occlusion of the left MCA with or without hemodilution

Structure	I ₁ (n=5)		HDa (n=6)		I ₂ (n=5)		HDb (n=7)	
	Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral
Frontal cortex	41±20*	161±36	27±4.7*	177±15	32±11*	175±15	34±6.3*	180±22
Sensorimotor cortex	49±28*	192±51	39±9.3*	196±22	30±12*	187±15	40±10*	189±12
Parietal cortex	50±18*	173±41	46±7.0*	192±8.7	37±9.9*	174±14	46±8.4*	188±13
Thalamus	121±24	148±34	133±6.1*	171±6.6	151±9.0	168±2.6	147±11*	183±6.3
Caudate	50±23*	104±28	59±9.3*	132±20	86±14*	134±17	101±13	144±9.5
Hippocampus	90±18	97±15	105±13	104±21	85±5.7	85±4.7	86±4.5	81±3.4
Caudoputamen	65±27*	112±21	52±14*	111±18	84±1.6*	124±5.3	88±14*	131±12
Globus pallidus	56±16*	80±15	46±12*	88±15	78±8.8*	91±9.7	79±4.7	79±8.1
Corpus callosum	50±3.1	53±8.6	49±4.9	46±6.5	48±4.5	54±5.8	49±1.5	46±1.7
Internal capsule	48±7.7	53±10	51±5.0	51±6.3	44±3.3	46±1.9	43±2.7	44±2.6

Values are means±SEM. MCA: Middle cerebral artery. I₁, I₂: arterial occlusion without hemodilution.

HDa: hemodilution after 3 hours after arterial occlusion

HDb: hemodilution immediately before arterial occlusion. * Significantly different from contralateral side.

I₁, HDa: Measurements made 4 hours after arterial occlusion. I₂, HDb: Measurements made 2 hours after arterial occlusion.

考察するにあたって注意せねばならない事は虚血条件下に行なわれたものであるのか、非虚血下のものかを認識することである。虚血条件下ではHDという処理にくわえて虚血侵襲後に生ずる様々な変化がrCBFに影響を及ぼすために、これら条件下の実験結果を一括して比較することはできない。まず、非虚血下で施行したHDのrCBFに対する影響を詳細に把握した上で虚血下における影響を検討することが重要であると考えられる。

虚血侵襲のない正常脳におけるHDの影響に関する報告は少ない。Thomas¹³⁾らHumphrey¹⁴⁾らは、Hctの高い多血症患者では正常者に比して脳皮質血流量が低下しており、瀉血してHctを50台から40台へ下げることによってrCBFが上昇したと報告した。Maruyama³⁾らは電磁血流量計を用いHctをきわめて低い値にまで段階的に低下させた場合の脳血流の変化について検討した結果、Hct値の低下に伴って全脳血流量は指数関数的に増

Table 5. Size of infarct area in the MCA occluded rats

	Infarct area(% of the hemisphere)		
	Cortex	Basal ganglia	Total area
Group I (n=10)	24.2±3.7	7.9±1.4	32.1±4.4
Group II (n=8)	22.6±3.1	3.8±1.1*	26.4±4.0

Values are means±SEM. MCA: middle cerebral artery

Group I: MCA occlusion without hemodilution,

Group II: MCA occlusion with hemodilution

*different from group I (p<0.05)

加すると報告した。しかし、Muizelaar¹⁵⁾はcranial window法で得られた所見により正常脳には血液粘性に対するautoregulationが存在し、血液粘度の低下が代償的な皮質の血管径の収縮をひきおこしてrCBFを一定に維持しているとして、正常脳に対するHDの効果に関

Photo 1

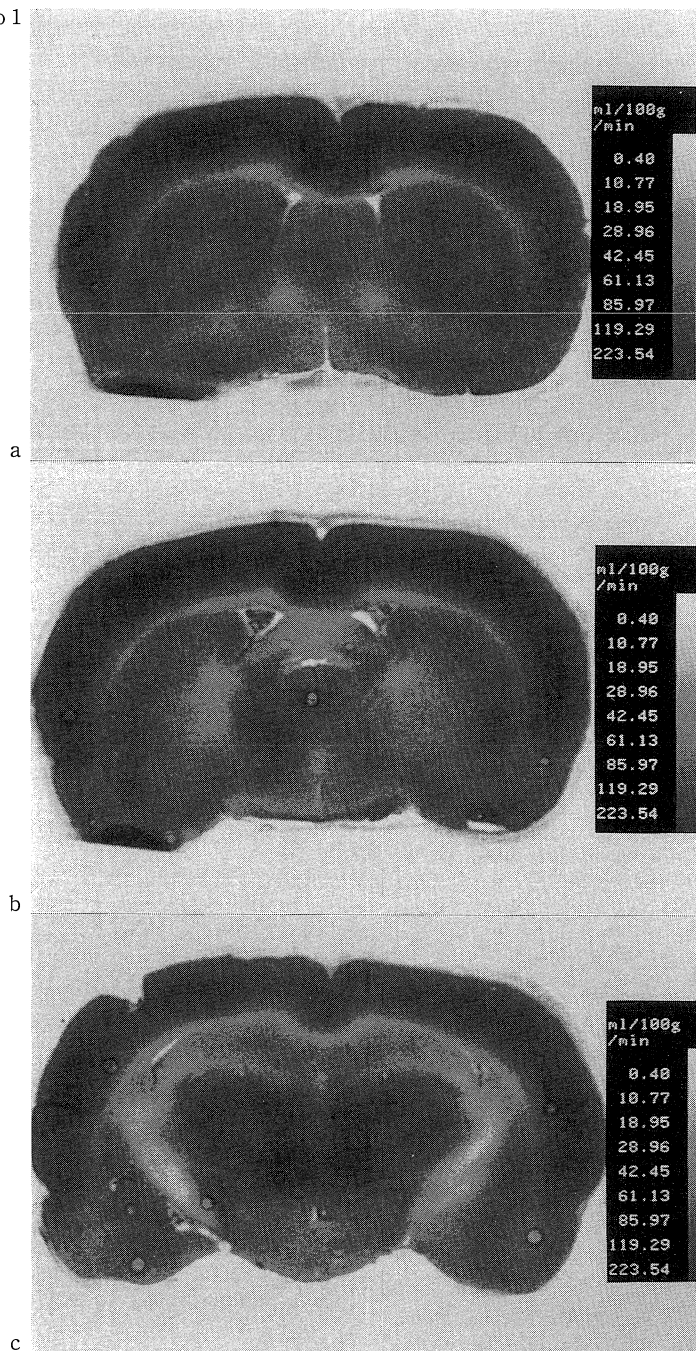


Photo 1. Autoradiograms of coronal sections in a normal rat brain; at the level of the caudate nucleus(a), the globus pallidus(b) and the hippocampus(c). Cerebral blood flow is bilaterally symmetrical throughout the brain.

Photo 2

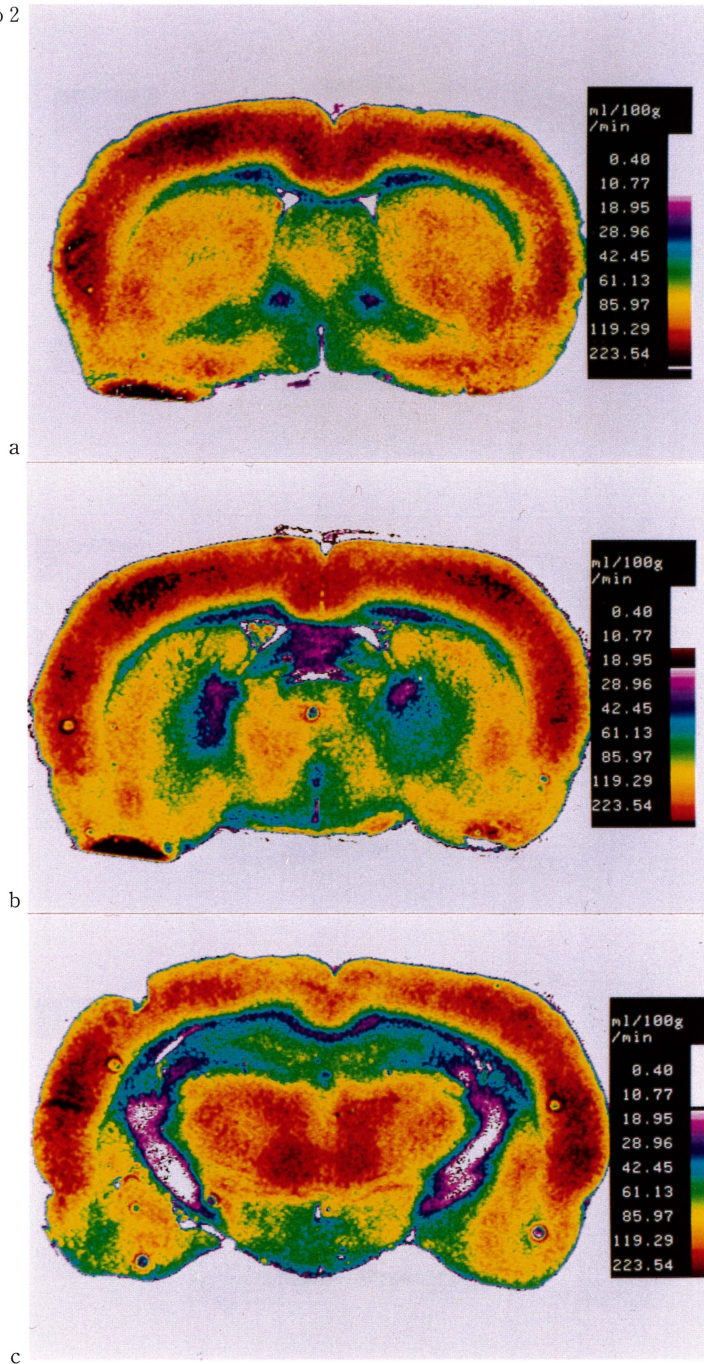


Photo 2. Color-coded autoradiograms in a normal rat brain; at the level of the caudate nucleus(a), the globus pallidus(b) and the hippocampus(c), these sections are the same in photo 1.

Photo 3

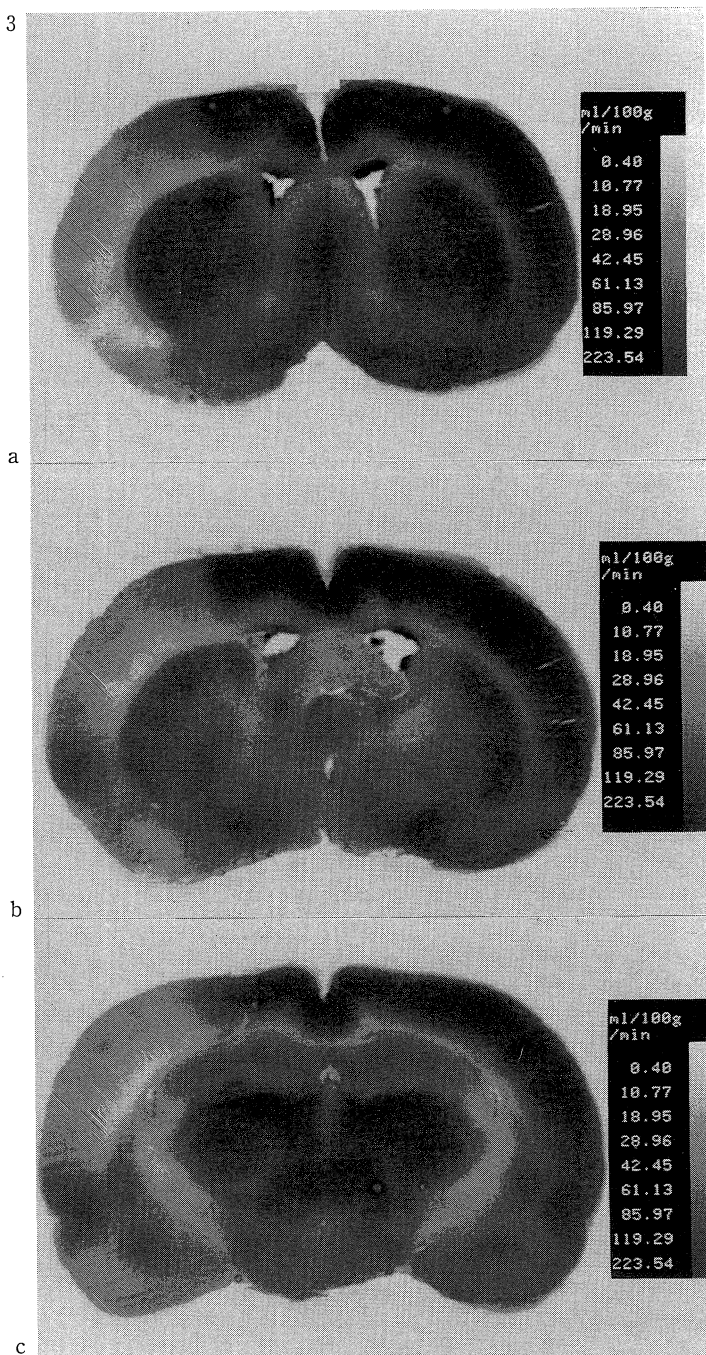


Photo 3. Autoradiograms of the rat brain obtained 2hr after occlusion of the middle cerebral artery; at the level of the caudate nucleus(a), the globus pallidus(b) and the hippocampus(c). Marked reductions in cerebral blood flow are present in the cortex ipsilateral to the occluded artery.

Photo 4

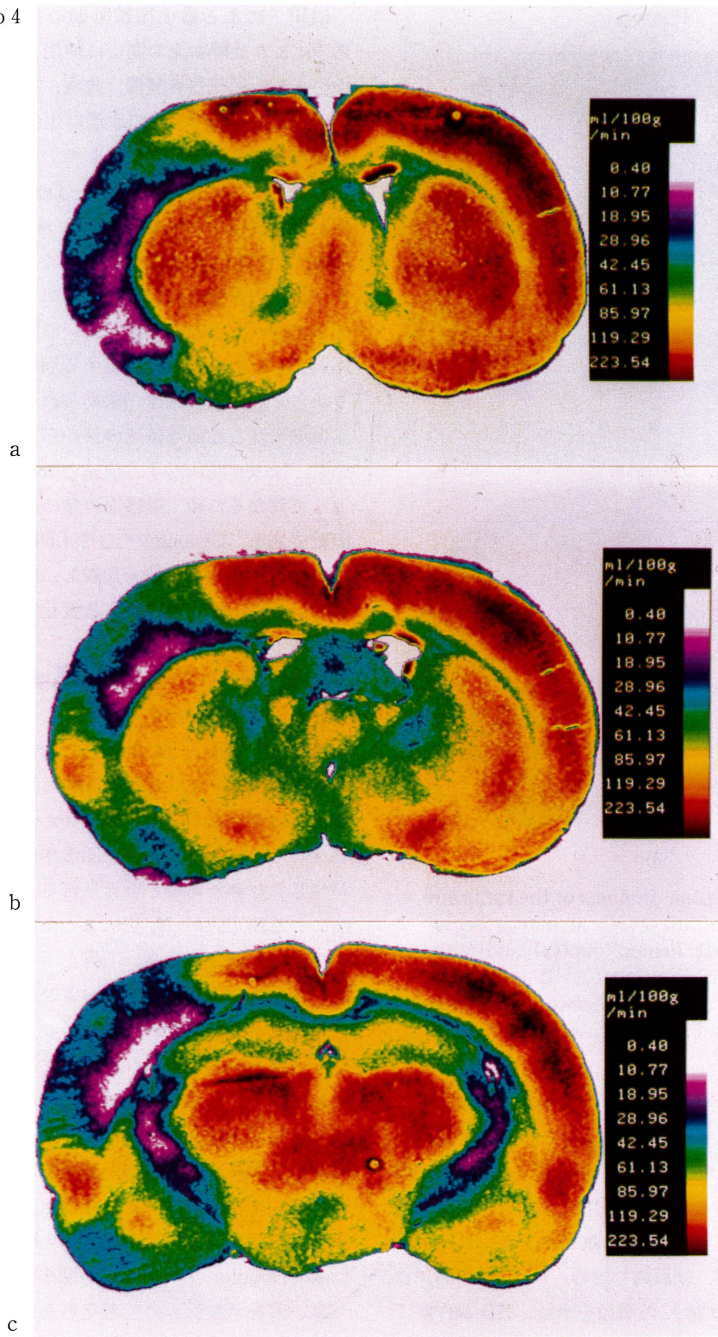
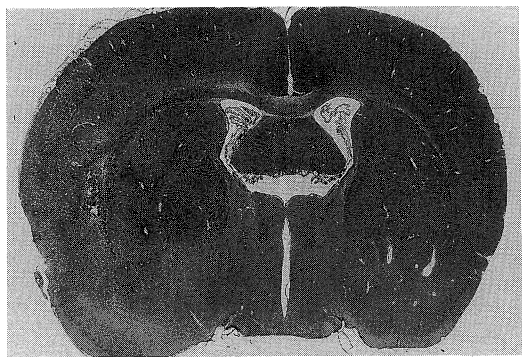
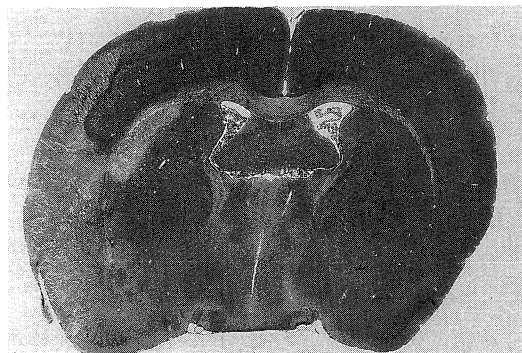


Photo 4. Color-coded autoradiograms after middle cerebral artery occlusion; at the level of the caudate nucleus(a), the globus pallidus(b), and the hippocampus(c), these sections are the same in photo 3.

Photo 5



a



b

Photo 5. Microscopic findings of the rat brain with middle cerebral artery occlusion with hemodilution (a) and without hemodilution (b). It is easy to detect the border between infarcted and noninfarcted tissue.

して否定的な意見を述べている。今回行なった IHD は Hct 値が約 30 となる中等度のものであるが、視床の rCBF は H_2 法および Laser Doppler 法ともに control 値に比して 25~30% の増加を示した。LDF による連続測定ではその時間的経過も捉える事ができた。HD 開始とほぼ同時に rCBF は漸増し始め、HD 終了時には control 値に対して約 26% の増加を示し、HD 操作終了後約 30 分で定常状態に達した。この 30 分間に Hct は約 2% の変動を示すにすぎないが、これに対し rCBF は control 値に対して約 10% の上昇を示した。大血管系と脳局所微小循環系の間には Hct の格差が存在する¹⁶⁾といわれており、この HD の終了から定常状態までの期間は、急速な HD に続いて起る血球と血漿の再分布が微小循環におよぶまでの時間を意味していると思われる。

LDF による微小循環動態の測定は 1975 年、Stern ら¹⁷⁾により皮膚血流の測定に使用されて以来、小腸、胃を中心とした消化器各臓器、皮膚、筋などの血流の測定に応用されてきた¹⁸⁾。その原理は生体に Laser 光を照射した場合赤血球のような運動しているものから後方散乱した光はドップラー周波数偏移 (Doppler-shift) を生ずるが、静止構造物からの散乱光は shift を生じないという Laser 光の特性を応用したもので、両者の光の強度の比から組織内運動赤血球密度が求められ、また shift の大きさは様々な方向に運動している各々の赤血球の流速に比例するため、この時発生する周波数スペクトルの広がりから平均赤血球流速が求められる。こうして得られた赤血球密度と赤血球流速の積から血流量が導かれる。しかし、Laser 光に対する組織の吸収率、透過率が部位によって異なるため、組織血流量の絶対値を求めることは困難である。Dirnagl¹⁹⁾らは LDF と autoradiography による rCBF の測定値を比較し、絶対値に関しては相関はないが control 値に対する変化率にはきわめて高い相関があると報告している。

視床における rCBF の増加の機序を考察する Laser-Doppler 法は重要な示唆を与えてくれる。Hct を低下させ Laser Doppler 法で rCBF を測定した場合、組織赤血球密度の減少という器械の特性上の血流低下因子が存在するはずである。それにもかかわらず測定値が有意に上昇したのは低下因子を上回る赤血球流速の飛躍的上昇が生じたためであると考えられる。また、Laser Doppler 法による測定値が H_2 法による測定値に比して同一部位の測定でありながら高い上昇を示したが、この相違は血液が赤血球という細胞成分および血漿という液体成分の 2 大成分から構成され、各々が独立した速度を持ち流動しているという事²⁰⁾から説明される。Laser Doppler 法において測定しているのは、主に赤血球因子であり、これに対して H_2 法では水素の移動の際に血漿因子がより関与しており、この相違が測定値に影響していると考えられる。すなわち、HD に伴う血流速度の増加において赤血球流速の上昇が血漿流速の上昇より大きいため、Laser Doppler 法による局所脳血流量が H_2 法のそれより高い値を示したものと考えられた。

HHD は粘性低下に加えて心拍出量を増加させ脳血流上昇に対して有利に作用する要素も多いが、頭蓋内圧の上昇と老年者に用いた際の心機能への負担が危惧されるので、最近はこれに代って IHD が臨床上用いられることが多い¹²⁾。そこで HHD で得られる脳血流増加作用が IHD でも得られるか否かを検討する目的で LDF と H_2 法により rCBF の変化を測定した。HD に伴う視床で

の rCBF の上昇率は HHD において約 40%，IHD では 25～30% であり，HHD のほうが血流量の増加に関して効果的であった。これらの HD の rCBF におよぼす影響の相違点を考察する時，両者と Hct の低下率はほぼ等しく，HHD の施行時にも血圧上昇がみられなかった事実より，HHD においては流動性の改善に加えて心拍出量及び血管内血液容量の増加による血管壁の機械的な拡張がラットのような小動物では特に顕著に生じたと推察される。一方，IHD に伴う rCBF の増加は血液粘度の低下による流動性の改善が主要因と考えられるが，Kummer⁹⁾の指摘するような血液希釈に基づく酸素運搬能力の低下に対する代償性血管拡張も要因として関与しているかもしれない。

著者の実験結果では，いずれの方法で行なった測定によっても HD に伴って正常脳の rCBF は増加した。この増加率は大脳各部で一定ではなく，LDF で測定した HHD に伴う rCBF の増加は大脳皮質では 10% 前後であったにもかかわらず視床では約 40% の有意の上昇を示した。IHD の際にも ARG での rCBF の測定で，ほぼ同様の結果が得られている。前頭葉および頭頂葉皮質が 4.2～10.8% の増加であるのに対して視床では 39.2% の増加を示した。すなわち，大脳深部では大脳皮質に比して HD に伴う粘性低下による血流増加効果が顕著であり，HD に対する rCBF の増加率には部位差が存在すると結論づけられる。

これまでの HD の効果に関する報告は大脳皮質または全脳血流について評価したものが多く²¹⁾²²⁾²³⁾，HD の脳内各部の rCBF に対する影響の差異に注目したものは少ない。特に非虚血正常脳の脳大脳皮質と基底核における rCBF の変化の差異を検討した報告は Tu²⁴⁾らの犬を用い IHD を行なった報告のみであった。この論文では，非虚血側大脳半球の基底核および皮質における rCBF 変動を Microsphere 法で測定しており，control 群 (Hct=47) に比して HD 群 (Hct=30) の rCBF は皮質では 3.1%，白質では 6.4% の上昇にとどまったにもかかわらず基底核では 20～22% の上昇が認められたとしている。この HD の負荷の程度とそれに基づく基底核での血流上昇率は著者の実験結果ときわめて類似している。

中小動物を用いた実験で虚血負荷を加えた脳における HD の影響を検討する場合には 2 つの問題点を考慮しなければならない。まず第一の問題点は動物の種差または個体差に基づく脳血管支配領域の差異である。つまり，これらの動物で一定の脳血管を閉塞したとしても，程度ならびに範囲の均一な梗塞を得ることが困難であった。本実験においてはこれを解決すべくラット MCA 閉塞

モデルを使用した。ラットの MCA 閉塞モデルは他のイヌ，ネコのモデルに比して大脳皮質，尾状核に比較的均一な梗塞巣を作製することができ，かつ効率的にも新しい治療法や薬剤の脳血流におよぼす作用，および梗塞に対する治療効果を検討する上に現時点では最も適していると考えられる。もう一つの問題点は虚血後二次的に生ずる乳酸アシドーシス等の代謝性変化である²⁵⁾。これらの変化に伴って末梢血管が拡張し脳血流は増加する。この虚血後の生体反応に起因する代謝性血流変化は虚血後時間をおって様々な程度に生ずるが，MCA 閉塞のみを行なった群とこれに HD を合せて施行した群間で MCA 閉塞から血流測定までの時間を一定にすることによって，この問題は解決し得ると考えた。

Wood²⁶⁾らは虚血を加えた犬において低分子デキストランで HD を施行し，radioisotope washout technique を用いて大脳皮質の rCBF の測定を行ない，特に虚血領域に血流の増加が認められたとしている。一般に，実験的に血管を閉塞し虚血を加えた脳血管では autoregulation は消失しており，低下した脳血流を代償するために脳微小血管は最大限に拡張するが，その流速は遅く share rate も低い²⁷⁾。このような虚血病態下では HD による血液粘性の低下が血液の流動性を改善し rCBF の増加をもたらすと考えられている²⁸⁾。今回の実験で MCA 閉塞 3 時間後に HD をくわえた群 (HDa 群) で，虚血側皮質領域の血流値は非虚血側皮質の 15.3～24.0% であり，血流改善効果はみられない。しかし，虚血側の視床，尾状核においては rCBF の上昇がみられている。これは HD による血流改善効果が虚血後 3 時間を経て広範な高度の虚血の生じている部位ではほとんど認められないことを示しており，これに対してその周辺部の視床，尾状核などの虚血侵襲の軽微な間脳，基底核領域では効果的であることを示唆しているものと考えられる。

虚血後の病理学および生化学的变化の進んだ状態下ではなく，虚血侵襲時の HD の効果を検討するために虚血直前に HD を行ない血流値の変化を測定した。一般に虚血直後に最も虚血領域の血流値が低下し，その後徐々に改善すると考えられている²⁹⁾ため，大脳皮質に限ってみれば HDb 群の虚血 2 時間後の血流値は I₁群の虚血 4 時間後に測定した値より低く，また，I₂群(虚血単独群)と比較しても改善傾向にはなかった。これに対して，大脳基底核部の尾状核では HDb 群の血流値は虚血 2 時間後で I₂群に比して 17.4% 高く有意の改善を認めた。前述したように非虚血正常脳の視床で HD 後，有意の血流増加がもたらされるため，虚血側視床でも HD による血流回復効果が予測されたが今回の実験では有意差は認

められなかった。これは視床には MCA のみならず大脳動脈からも血流供給があり本来存在する血流分布の差が HD の効果を上回っていたため有意差を生ずるに至らなかったと考えられた。また、続いて行なった HD の効果を梗塞巣の面積で評価した結果において、虚血前 HD 施行群の基底核部で梗塞面積が虚血前 HD 施行群の基底核部で梗塞面積が虚血単独群と比較して縮小したことを考え合せると、尾状核での rCBF の改善が梗塞の抑制に有効であることを示している。HD の梗塞の抑制作用および血流改善作用は、大脳半球全体を対象にして検討する限り、個体差などの様々な要素の介在のために不明瞭であるが、大脳基底核部だけに限局して評価をすれば今回提示したようにより明確になると考えられる。

HD が血流改善に関して皮質よりも大脳深部特に基底核部に有効である理由について、著者は皮質と基底核部の血管構築の差に起因すると考えている。脳の血管は脳の表面に分布し分枝を繰り返しながら脳内へ穿入する皮質枝と脳底部の動脈から直接細い枝として直ちに脳内へ穿入する穿通枝とに分けることができる³⁰⁾、皮質枝はお互に豊富な吻合を持っているが、穿通枝には副血行路が乏しい。MCA の主幹部を閉塞した時、皮質枝には副血行路からの血液供給がなされ、それで補いきれない領域が虚血に陥る。これに対して血流量の低下した穿通枝には吻合が少ないため、他の血流の保たれている穿通枝の血流量を増加し、毛細血管のネットワークを利用した血流の補充が行なわれる。穿通枝は本来細く経路が長いいため血管抵抗が高く、大量の血流増加の要求に答えることは困難である。しかし、粘性の低下により血液流動の効率化が計られるなら、相当な程度にまで虚血領域への血液補充が可能になると考えられる。今回 LDF による測定結果で得られた大脳深部において HD に伴って赤血球流速の増加が生ずるとの結論もこの機序を支持するものと思われる。

また、最近大脳各部の rCBF の差が各々の部位の毛細血管の分布密度に関係するとの報告がなされ、そのなかで大脳基底核部側副血行路としての leptomeningeal anastomosis を持たないため毛細血管の密度が高いと考えられている³¹⁾³²⁾。しかもこれらの血管のうち 10~20% は正常状態で開存せずに機能を果たしていないとされている³³⁾。このため基底核部の血管抵抗は高く、またこの部の脳血流動態に及ぼす微小循環環境の影響は大きいと考えられる。虚血に陥ると、この部ではほぼ 100% の毛細血管が開存するようになり、更にこれに HD による血液粘性の低下が加わることによって rCBF は飛躍的に増加しうるものと推察される。

虚血脳に対する保護効果を持つ薬剤には脳血管拡張剤、脳循環改善剤等の脳の血流を増加させるもの、またバルビツレート、ニゾフェノン等の細胞代謝を抑制し効果を見ず脳保護剤、これら両者の特質を持った Ca 拮抗剤などが知られている。HD の主な作用はこれらの薬剤の作用機序とは異なり血管の拡張を生じることなしに、血管抵抗を減少させ微小循環の改善をもたらすことである。その意味では赤血球変形能を高めるとされる pentoxifylline の作用に似ている。このような作用機序は概念的には理解し得るが、實際上、動物実験で確認された部分は少ない。虚血侵襲下の微小循環系の血行動態の評価は困難であり、特に脳微小循環の hemorheology には未知の分野が多く残されている。

虚血領域が最終的に不可逆性変化にまで到達するの否か、すなわち梗塞となるのかを決定するのは、従来その虚血程度と虚血時間によるものと考えられていた³⁴⁾。しかし、近年の研究³⁵⁾では虚血侵襲後の代謝異常、Ca ホメオスタシス、興奮性アミノ酸などの関与が強く提唱されており、特に中等以下の虚血状態ではこの 2 次的代謝異常が細胞の生死を決定するとまで考えられている。従って HD による保護効果は単に虚血域の rCBF の増加に伴う酸素およびブドウ糖の供給だけではなく、微小循環系において虚血侵襲後に生成し細胞傷害をもたらす代謝産物の洗い流しにも関与していると思われる。

臨床上用いられる脳梗塞急性期の治療法には様々なものがあるが、いずれの方法も有効性に関して決定的な結論は出されていない。そのため、HD も含めてその多くは確かな実験的根拠のないまま古くより用いられてきた。しかし、脳血流測定法の新しい技術の進歩が著しい今日、さらに詳細な研究がなされ、基礎的事実にうらづけた脳梗塞治療法が確立されることが期待される。

結 語

1. 虚血及び非虚血状態のラットを用い HHD および IHD を施行し、Laser Doppler 法、H₂ 法、ARG 法にて大脳各部における rCBF の測定を行った。
2. 非虚血状態で LDF を用いた連続測定の結果、Hct の低下に伴い rCBF は段階的に 30~40% 増加した。大脳深部の control 値に対する上昇率は大脳皮質に比して有意に高かった。この血流上昇には赤血球流速の増加が特に関与すると考えられた。同時に測定した H₂ 法でも 20.3% の rCBF の上昇を認めた。LDF の測定結果との相違は測定標の因子が異なるためと考えられた。
3. ARG での測定において非虚血ラットでは IHD に伴って視床、海馬において rCBF の増加がみられた。虚

血をくわえたラットで HD による血流改善効果は大脳皮質ではほとんどみられなかった。しかし、虚血後 HD 群の虚血側の視床、尾状核で上昇傾向を示し、虚血前 HD 群の尾状核において有意の血流改善がみられた。また、虚血前に HD を行なうことによって基底核部における梗塞面積は有意に低下した。これらの HD の効果の部位的差異は皮質と基底核部の血管構築の差に起因して生ずると考えられた。

4. HD の梗塞予防効果は高度の虚血のおよぶ大脳皮質にはほとんど無効であり、比較的虚血侵襲の軽微な間脳、基底核領域に有効であることが示唆された。

本論文の要旨は第 14 回日本脳卒中学会総会(1989, 東京), 第 30 回日本神経学会総会 (1989, 水戸), 第 48 回日本脳神経外科学会総会(1989, 盛岡), 第 1 回日本脳循環代謝学会 (1989, 東京) において発表した。稿を終えるにあたって終始懇篤なる御指導御校閲を賜わった恩師内海庄三郎教授に深甚の謝意を捧げるとともに、御指導、御校閲を賜わった救急医学教室宮本誠司教授に深謝致します。更に御助言御指導頂いた京井喜久男助教授、平松謙一郎博士に感謝致します。脳血流量測定に協力して下さい森本かおる嬢に感謝いたします。

文 献

- 1) **Haynes, R. H. and Burton, A. C. :** Role of the non-Newtonian behavior of blood in hemodynamics. *Am. J. Physiol.* **197**: 943-950, 1959.
- 2) **Haggendal, E. and Norback, B. :** Effect of viscosity on cerebral blood flow. *Acta Chir. Scand. Suppl.* **364**: 13, 1966.
- 3) **Maruyama, M., Simoji, K., Ichkawa, T., Hashiba, M. and Naito, E. :** The effect of extreme hemodilution on the autoregulation of cerebral blood flow, electroencephalogram and cerebral metabolic rate of oxygen in the dog. *Stroke* **16**: 675-679, 1985.
- 4) **Wood, J. H. and Kee, D. B. :** Hemorheology of the cerebral circulation in stroke. *Stroke* **16**: 765-772, 1985.
- 5) **Little, J. R., Slugg, R. M., Latchaw, J. P. and Lesser, R. P. :** Treatment of acute focal cerebral ischemia with concentrated albumin. *Neurosurgery* **9**: 552-558, 1981.
- 6) **Kummer, R., Scharf, Jz, Back, T., Reich, H., Machens, H. G. and Wilderann, B. :** Autor-
regulatory capacity and the effect of isovolemic hemodilution on local cerebral blood flow. *Stroke* **19**: 594-597, 1988.
- 7) **Palkovits, M. and Brownstein, M. J. :** Maps and guide to microdissection of the rat brain. 1st. ed., Elsevier, New York, p120-140, 1988.
- 8) **Pasztor, E., Symon, L., Dorsch, N. W. C. and Branston, N. M. :** The hydrogen clearance method in assessment of blood flow. *Stroke* **4**: 556-567, 1973.
- 9) **Sakurada, O., Kennedy, C., Jehle, J., Brown J. D., Carbin, G. L. and Sokoloff, L. :** Measurement of local cerebral blood flow with iodoantipyrine. *Am. J. Physiol.* **234**(1): H59-H66, 1978.
- 10) **Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. and Teasdale, G. M. :** Focal cerebral ischaemia in rat. 1: Description of technique and early neurological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1**: 53-60, 1981.
- 11) **Pulsinelli, W. A. and Brierly, J. :** A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* **10**: 267-271, 1979.
- 12) **Heros, R. C. and Korosue, K. :** Hemodilution for cerebral ischemia. *Stroke* **23**: 31-36, 1988.
- 13) **Thomas, D. J., DuBoulay, G. H., Marshall, J., Pearnon, T. C., RossRussell, R. W., Symon, L. and Zilkha, E. :** Effect of hematocrit on cerebral blood flow in man. *Lancet* **24**: 941-943, 1977.
- 14) **Humphrey, P. R. D., DuBoulay, G. H. and Marshall, J. :** Cerebral blood flow and viscosity in relative polycythemia. *Lancet* **27**: 873-876, 1979.
- 15) **Muizelaar, J. P., Wei E. P., Kontos, H. A. and Becker, D. P. :** Cerebral blood flow is regulated by changes in blood pressure and in blood viscosity alike. *Stroke* **17**: 44-48, 1985.
- 16) **Lammertsma, A. A., Brooks, D. J., Beaney, R. P., Turton, D. R., Kensett, M. J., Heather, J. D., Marshall, J. and Jones, T. :** In vivo measurement of regional cerebral haematocrit using positron emission tomography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **4**: 317-322, 1984.
- 17) **Stern, M. D. :** In vivo evaluation of micro-circulation by coherent light scattering. *Nature* **254**: 56-58, 1975.

- 18) **Stern, M. D., Lappe, D. L., Brown, P. D., Chimosky, J. L., Holloway, G. A., Keiser, H. R. and Bowman, R. L.** : Continuous measurement of tissue blood flow by laser-doppler spectroscopy. *Am. J. Physiol.* **232** : H441-448, 1977.
- 19) **Dirnagel, U., Kaplan, B., Jacewicz, M. and Pulsinelli, W.** : Continuous measurement of cerebral cortical blood flow by Laser-doppler flowmetry in a rat stroke model. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **9** : 584-596, 1989.
- 20) **Tomita, M. and Goto, F.** : Which circulates faster through the cerebral microcirculatory system, red cell or plasma?. *Stroke* **13** : 722, 1982.
- 21) **Fan, F.-C., Chen, R. Y. Z., Schuessler, G. B. and Chien, S.** : Effects of hematocrit variation on regional hemodynamics and oxygen transport in the dog. *Am. J. Physiol.* **238** : H545-H552, 1980.
- 22) **Grotta, J., Ackerman, R., Correia, J., Fallick, and Chang, J.** : Whole blood viscosity parameters and cerebral blood flow. *Stroke* **13** : 296-301, 1982.
- 23) **Vorstrup, S., Andersen, A., Juhler, M., Brun, B. and Boysen, G.** : Hemodilution increase cerebral blood flow in acute ischemic stroke. *Stroke* **20** : 884-889, 1989.
- 24) **Tu, Y. K., Heros, R. C., Candia, G., Hyodo, A., Lagree, K., Callahan, R., Zervas, N. T. and Karacostas, D.** : Isovolemic hemodilution in experimental focal cerebral ischemia (Part 2). *J. Neurosurg.* **69** : 82-91, 1988.
- 25) **Hakim, A. M. and Arreta, M.** : Cerebral acidosis in focal ischemia : 1. A method for the simultaneous measurement of local cerebral pH with cerebral glucose utilization or cerebral blood flow in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **6** : 667-675, 1986.
- 26) **Wood, J. H., Simeone, F. A., Fink, E. A. and Golden, M. A.** : Hypervolemic hemodilution in experimental focal cerebral ischemia. *J. Neurosurg.* **59** : 500-509, 1983.
- 27) **Chien, S., Usami, S., Taylor, H. M., Lundberg, J. L. and Gregersen, M. I.** : Effects of hematocrit and plasma protein on human blood rheology at low shear rates. *J. Appl. Physiol.* **21** : 81-87, 1966.
- 28) **Kee, D. B. and Wood, J. H.** : Influence of blood rheology on cerebral circulation *in* Cerebral Blood Flow Wood, J. H. (ed.). New York, McGraw-Hill, p173-185, 1987.
- 29) **Bolander, H. G., Persson, L., Hillered, L., d'Argy, R., Ponten, U. and Olsson, Y.** : Regional cerebral blood flow and histopathologic changes after middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* **20** : 930-937, 1989.
- 30) **Huber, H.** : Cerebral angiography (Krayenbuhl and Yasargil). 2nd. ed., George Thieme Verlag, p178, 1892.
- 31) **Tyson, G., Gross, P., Tajima, T., Nakata, H., Pettigrew, K., Patlak, C. and Fenstermacher, J.** : Local cerebral blood flow, size of capillary beds and velocity of capillary blood flow in several brain structures. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **7** (Suppl. 1) : S341, 1987.
- 32) **Kuschinsky, W., Klein, B., Schrock, H. and Vetterlein, F.** : The local density of perfused capillaries in the rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **7** (Suppl. 1) : S333, 1987.
- 33) **Collins, R. C., Wagman, I. L., Lymer, L. and Matter, J. M.** : Distribution and recruitment of capillaries in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **7** (Suppl. 1) : S336, 1987.
- 34) **Heiss, W. D. and Rosner, G.** : Duration versus severity of ischemia as critical factors of cortical cell damage. *in* Cerebrovascular Disease (Reivich, M. and Hurtig, H. I., eds.). 13th, Princeton Conference, Raven Press, New York, p225-233, 1983.
- 35) **Siesjo, B. K. and Bengtsson, F.** : Calcium fluxes, calcium antagonists, and calcium-related pathology in brain ischemia, hypoglycemia, and spreading depression. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **9** : 127-140, 1989.