

脳虚血による圧受容体反射機構の障害と
各種脳循環代謝改善薬の作用に関する研究

栗原 順一

①

脳虚血による圧受容体反射機構の障害と
各種脳循環代謝改善薬の作用に関する研究

栗原 順一

目 次

緒 言	1
第1章 一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害	4
実験方法	4
1. 血圧, 心拍数, 椎骨動脈血流量, 頭蓋内圧および脳波の測定法	4
2. 脳血流量の測定法	4
2-1. 水素クリアランス法	5
2-2. 交叉熱電対法	5
3. 圧受容体反射活性 (Baroreflex sensitivity: BRS) の測定法	6
4. 一過性全脳虚血モデルの作製法	7
5. 虚血状態の評価法	8
6. 頸部迷走神経の電気刺激法	9
7. 使用薬物	9
8. 推計学的検定法	9
実験結果	10
1. 10分間虚血・再灌流時の循環器系パラメーターおよび脳波の変化	10
2. BRS に対する10分間虚血の影響	12
3. 虚血時間の影響	12
3-1. BRS の変化	12
3-2. rCBF の変化	15
3-3. 大脳皮質脳波の変化	16
4. 頸部迷走神経の求心路および遠心路電気刺激による心拍数減少反応に対する10分間虚血の影響	17
5. 5分間虚血・再灌流時の脳血流状態と BRS 低下との関連性	19
5-1. 大脳皮質と延髄背側部の虚血状態の比較	19
5-2. 虚血状態と再灌流時の BRS との関連性	19
5-3. 大脳皮質と延髄背側部の再灌流状態の比較	19
5-4. 再灌流時の脳血流量と BRS との関連性	21
6. 圧受容体反射の迷走神経系成分と交感神経系成分の障害の比較	21
6-1. BRS に対する迷走神経系と交感神経系の関与の比率	22

6-2. 迷走神経系成分に対する5分間虚血の影響	23
6-3. 交感神経系成分に対する5分間虚血の影響	25
考察	27
要約	33
第2章 一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害に対する麻酔薬の影響	
- barbiturates と halothane の比較	35
実験方法	35
実験結果	36
1. 5分間虚血・再灌流時の血圧, 心拍数, BRS および脳血流量変化 の比較	36
2. 5分間虚血・再灌流時の大脳皮質脳波変化の比較	37
3. 延髄背側部の虚血状態と再灌流時 BRS との関連性の比較	38
4. BRS 迷走神経系成分の障害の比較	39
5. 虚血直前に halothane を thiopental に置換した場合の BRS, 脳血流量および大脳皮質脳波の変化	40
考察	43
要約	47
第3章 圧受容体反射機構の虚血性障害に対する各種脳循環代謝改善薬の作用	48
実験方法	49
実験結果	50
1. Flunarizine hydrochloride の作用	50
2. Ifenprodil tartrate の作用	52
3. Papaverine hydrochloride の作用	54
4. Beraprost sodium の作用	55
5. Dizocilipine maleate の作用	59
考察	61
要約	68
総括	70
謝辞	72
引用文献	73

緒 言

生命維持に不可欠な循環器系の機能は、種々の全身性および局所性の調節機構により精密にコントロールされている。その全身性調節機構の一つである神経性調節機構は、循環器系を支配する自律神経系の活動性を調節するもので、延髄に存在する循環中枢がその中心的位置を占めている。そして、この循環中枢は、末梢の圧受容体や化学受容体を介する反射性の調節あるいは視床下部や大脳などの高位中枢からの調節などを受けることによって、各臓器への血液供給の維持に役立っている。

循環中枢が存在する延髄を含む脳幹部は一般的に、大脳皮質や皮質下の高位中枢に比べて虚血や低酸素状態に対する抵抗性が高いと考えられている。その根拠としては、体性感覚誘発電位の脳幹部由来成分が大脳由来の成分に比べて虚血抵抗性が高い（誘発電位が減弱する閾値血流量が低い）ことや¹⁾、一過性脳虚血後の組織学的損傷が脳幹部では現れにくいことなど²⁻⁴⁾が実験的に示されているが、これらは、脳幹部固有の機能（たとえば、循環器系の調節）が虚血性障害を受けにくいことを意味しているわけではない。事実、ある種の脳循環障害患者で認められている異常心電図⁵⁻⁷⁾や不整脈⁷⁾あるいは循環反射の減弱⁸⁻¹⁰⁾などは、循環系調節中枢の虚血性障害を必ずしも無視できないことを示唆しているのである。このような循環器系の障害は患者の予後を左右しうるのであるため、脳循環障害と循環器系調節機構の障害との関連性について理解を深めることは有意義なことであると思われる。

しかしながら、これまでの臨床報告では、患者の年齢、病型、罹病期間などのばらつき、合併症や薬剤使用の影響あるいは適当な対照群を得るのが困難であることなどのために、脳循環障害と循環器系の障害との因果関係は極めて曖昧である。たとえば、Appenzeller and Descarries⁸⁾は、40才以上の患者では脳循環障害の有無にかかわらず Valsalva 試験での循環反射が正常値以下であることを示し、加齢が循環反射の減弱の重要な因子であることを示唆しているが、加齢に伴う他の疾患（糖尿病など）が直接の原因である可能性が残されている。また、Johnson *et al.*⁹⁾は、70才以上の高齢者で起立性低血圧が著しい患者における循環反射障害に関して、反射の求心路と遠心路には障害がないことから中枢路に障害があることを示し、さらに、剖検所見で脳動脈硬化が認められたことから、循環反射の減弱は脳動脈硬化による脳循環障害の結果であると推定している。しかし、脳動脈硬化は70才台の老人では一般的なものであるため、循環反射の減弱と脳動脈硬化はどちら

も加齢によるもので、両者の間に因果関係はないとも考えられる。

そこで、本研究では、脳循環障害と循環器系調節中枢の機能障害との関連性を明らかにするために、循環器系の神経性調節機構の一つである圧受容体反射機構に及ぼす脳循環障害の影響に関して、イヌ一過性全脳虚血モデルを用いて検討した。圧受容体反射機構は、図1に示したように、頸動脈洞や大動脈弓にある圧受容体を介して血圧の変動に応じた循環器系の反射性調節を行う機構であるが、本研究では、心拍数の反射性調節に的を絞って実験を行った。その結果、比較的短時間の脳虚血により圧受容体反射機構の障害が生じることが明らかとなったので、その障害機序についてさらに薬理学的検討を加えた。また、この障害に対する各種脳循環代謝改善薬の効果を治験段階の薬剤も含めて検討し、薬効評価系としての応用を試みた。

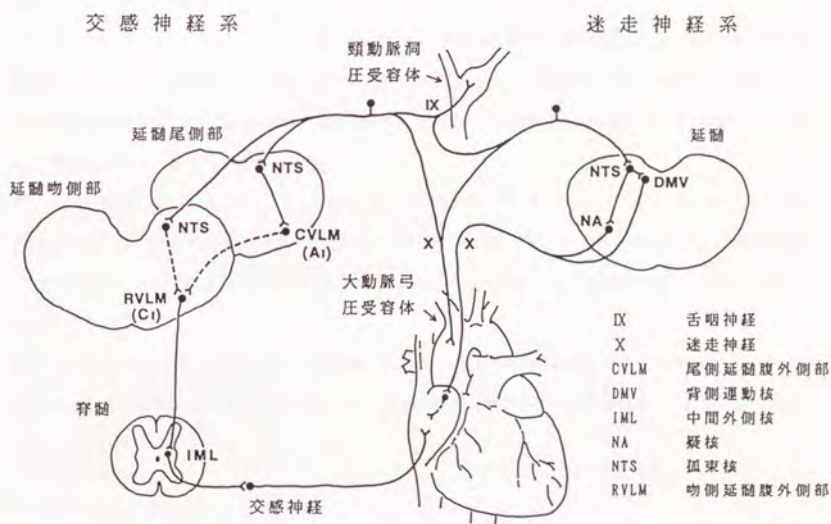


図1. 圧受容体反射機構の概略図。

本論文は、以下の論文を再構成してまとめたものである。

- 1) Kurihara, J., Nishimura, H., Oda, N. and Kato, H.: Deterioration of baroreceptor reflex by transient global cerebral ischemia in dogs. *Japan. J. Pharmacol.*, **49**, 255-265, 1989.
- 2) Kurihara, J., Sahara, T. and Kato, H.: Deterioration of baroreflex by transient global cerebral ischemia: Its correlation with degree of ischemia or post-ischemic hypoperfusion in the medulla oblongata. *Japan. J. Pharmacol.*, **51**, 493-499, 1989.
- 3) Kurihara, J., Oda, N. and Kato, H.: Effect of flunarizine on the attenuation of baroreflex by transient cerebral ischemia. *Europ. J. Pharmacol.*, **165**, 147-150, 1989.
- 4) Kurihara, J., Sahara, T. and Kato, H.: Protective effect of beraprost sodium, a new chemically stable prostacyclin analogue, against the deterioration of baroreceptor reflex following transient global cerebral ischemia in dogs. *Brit. J. Pharmacol.*, **99**, 91-96, 1990.
- 5) Kurihara, J., Sahara, T., Oda, N., Tomita, H. and Kato, H.: Selective dysfunction of the vagal component of baroreflex following cerebral ischemia: Protection by ifenprodil and flunarizine. *Europ. J. Pharmacol.*, **190**, 23-30, 1990.
- 6) Kurihara, J., Tomita, H. and Kato, H.: Influence of transient global cerebral ischemia on baroreflex in halothane-anesthetized dogs. in preparation.

第1章 一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害

実験方法

体重8～15 kg程度の雌雄の雑種成犬を sodium pentobarbital 32 mg/kg i.v. で麻酔し、口から気管カニューレを挿入した。人工呼吸器（シナノ製作所，SN-408-4）を用い、室内空気 20 ml/kg で1分間 20回の人工呼吸を施した上で，suxamethonium chloride 2 mg/kg i.v. により不動化した。さらに，実験中は，ブドウ糖電解質（テルモ，DM-3）に溶解した sodium pentobarbital 3.2 mg/kg/hr および suxamethonium chloride 1 mg/kg/hr を橈側皮静脈内に持続注入（1 ml/kg/hr）して麻酔と不動化を維持した。また，大腿動脈の筋枝に挿入したカニューレから適宜血液を採取してガス分圧を測定し，その酸素および二酸化炭素分圧がそれぞれ約 100 および 35 mmHg に保たれるように，室内空気への酸素および二酸化炭素添加量あるいは呼吸数や一回呼吸量などを調節した。直腸内温度は約 38 °C に維持した。

1. 血圧，心拍数，椎骨動脈血流量，頭蓋内圧および脳波の測定法

動脈血圧は，左大腿動脈から圧トランスデューサー（日本光電，TP-200T）およびキャリアアンプ（日本光電，AT-600G）を介して測定し，同時に，積分アンプ（日本光電，EI-600G）を用いて平均血圧を記録した。心拍数は，動脈波あるいは標準四肢第Ⅱ誘導心電図をトリガーとして瞬時心拍計（日本光電，AT-600G）により測定した。また，一部の動物においては，C7レベルの右椎骨動脈に電磁血流計プローブを装着して血流量を測定し，さらに，大槽内に挿入したカニューレを介して頭蓋内圧を測定した。

脳波は，耳孔を結ぶ線の約2 cm 吻側で左右の前頭骨に取り付けた2本のステンレス製ネジを介して双極性に導出し，生体電気用アンプ（日本光電，AB-620G）で増幅して記録した。さらに，脳波トレンドモニター（日本光電，OEE-7102B）を用いて，高速フーリエ変換による周波数解析を行った。

2. 脳血流量の測定法

イヌの頭部を脳定位固定装置（高橋商店，東大脳研型）に固定し，延髄を露出させる場合には，頭部を 30～45° 前傾させた。頭皮を正中切開し，筋肉を剥離して，前頭骨から後頭隆起まで（大脳露出時）と後頭骨尾側部から第一頸椎吻側部まで（延髄露出時）の部

分を露出した。耳孔を結ぶ線から約1 cm 吻側の位置で前後に約1 cm, 左右に約2 cm の楕円状に頭蓋骨を削り取り、硬膜を切開して大脳の緑回皮質を露出させた。また、後頭骨尾側部を削って大孔を拡大し、硬膜を切開して延髄背側部を露出させた。測定電極装着後は、露出部をビニールや生理食塩液で湿らせた脱脂綿で覆った。さらに、頭蓋内圧を測定する場合には、頭蓋骨欠損部をデンタルセメントで補填した。

2-1. 水素クリアランス法

先端約1 mm を残してテフロンで絶縁した直径約 300 μ m の白金電極（ユニークメディカル）を脳表から約1 mm の深さまで刺入した。人工呼吸器を介して一定濃度の水素ガスを2～3分間吸入させ、組織水素濃度の変化を水素クリアランス計（ユニークメディカル, UH-メーター, PHG-201）で連続的にモニターした。水素濃度がピークに達した時点から2分30秒後までは15秒間隔で、それ以降は30秒間隔で合計約7分間にわたって水素濃度を片対数グラフにプロットして半減期（ $T_{1/2}$ ）を求め、次式で局所脳血流量（rCBF）を算出した¹¹⁾。

$$rCBF \text{ (ml/min/100g)} = \frac{69.3}{T_{1/2}}$$

クリアランスカーブが二相性の場合には、各成分の血流量を上式で求め、それらの平均血流量を次式で算出した¹²⁾。

$$rCBF \text{ (ml/min/100g)} = \frac{I_s + I_f}{I_s/F_s + I_f/F_f}$$

ここで、 I_s と I_f はそれぞれ遅い成分と速い成分のY軸との交点（ピーク時の外挿水素濃度）を示し、 F_s と F_f はそれぞれ遅い成分と速い成分の血流量を示す。

2-2. 交叉熱電対法

プレートタイプの交叉熱電対プローブを大脳の緑回皮質あるいは延髄背側部（obexレベル）の表面に装着固定し、組織血流量計（ユニークメディカル, UMW-101）で血流量を連続的にモニターした。本測定法では、血流量の絶対値を求めることができないので、実験終了時に KCl で動物を殺した時のレベルを血流量ゼロとみなし、血流量は、原則として、後述の虚血処置直前の値を100 %として表した。

3. 圧受容体反射活性 (Baroreflex sensitivity: BRS) の測定法

L-Phenylephrine hydrochloride を $0.3 \sim 10 \mu\text{g/kg i.v.}$ の範囲内で 4~5 用量を左桡側静脈内に投与し、その際に生じる反射性の心拍数減少を指標として次のような手順で BRS を測定した。まず、平均血圧 (MBP) と心拍数 (HR) の変化量を読み取り、次に、心拍数の減少量を心拍間隔 (PI) の増加量に換算した。さらに、平均血圧と心拍間隔の変化量に関して最小二乗法で相関直線を求めた。本研究では、虚血・再灌流時にこの相関直線の傾きのみが変化したので、この傾きを BRS の測定値 (msec/mmHg) として用いた。

図 2 に測定の一例を示した。

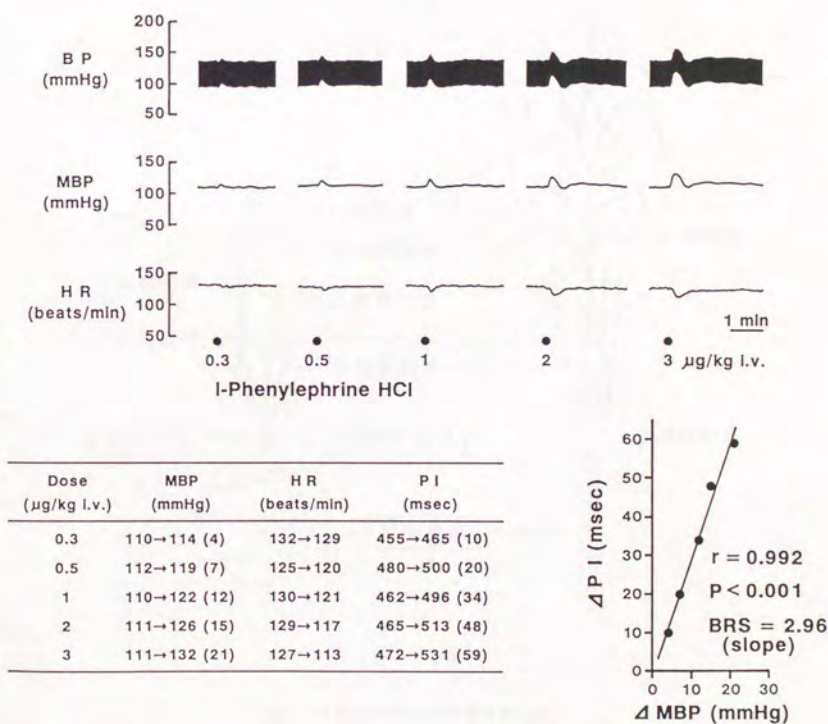


図 2. 圧受容体反射活性 (BRS) の測定法。

4. 一過性全脳虚血モデルの作製法

イヌ脳への主要な血液供給路は、図3に示したように、大動脈弓から上行性に分岐している腕頭動脈と左鎖骨下動脈に発する左右の内頸動脈と椎骨動脈であるが、これらに加えて、胸部大動脈から分岐する肋間動脈が脊髄動脈やその他の吻合を介する側副血行路として重要な役割を果たしている。そこで、左第5肋間で開胸し、肋間動脈を心臓側から12~14本（第10~11肋間レベルまで）結紮した上で、腕頭動脈と左鎖骨下動脈の起始部を鉗子で一定時間閉塞した動物を一過性全脳虚血モデルとして用いた。

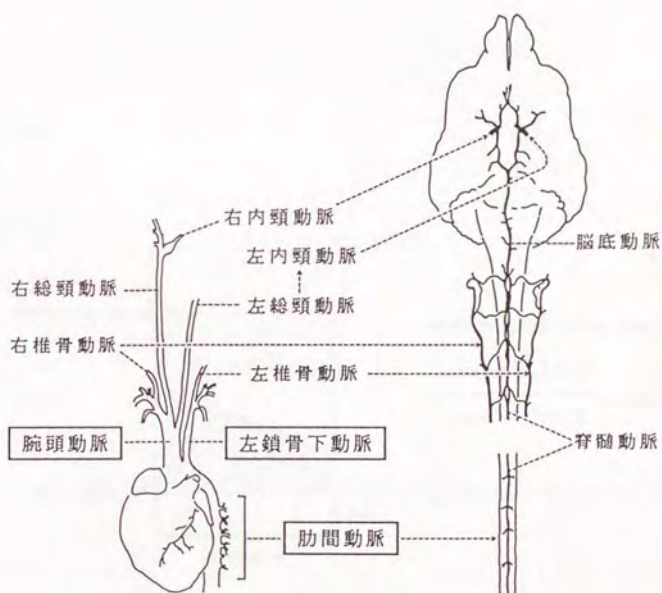


図3. イヌ脳への主要な血液供給路。

5. 虚血状態の評価法

交叉熱電対法による血流測定を行わなかった動物（実験結果1～5）では、大脳皮質脳波が虚血処置により消失した場合に充分な虚血状態に達したと判断した。また、交叉熱電対法による血流測定を行った動物では、次のような方法で虚血状態の評価を行った。

図4に示したように、虚血直前の血流量を100%，KCl致死後のレベルを0%として虚血中の血流量を30秒毎にプロットし、斜線部の面積を求めた。次に、四角形ABCDの面積に対する斜線部の面積の比を百分率で算出し、これを「虚血時平均残存血流量」として、虚血状態の指標に用いた。

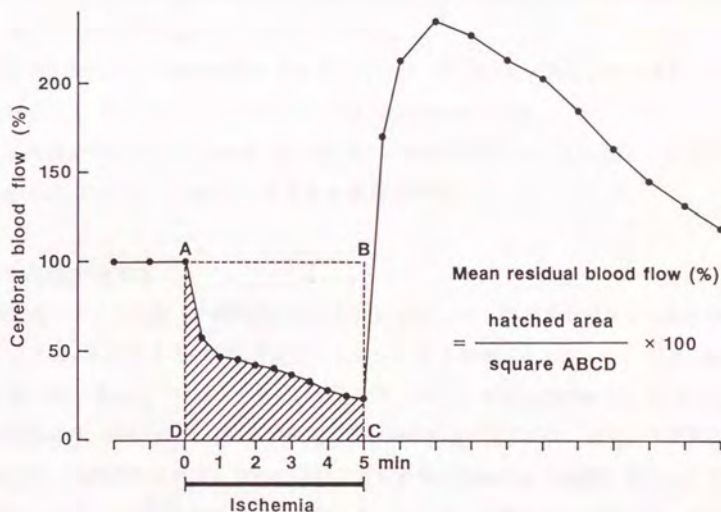


図4. 交叉熱電対法による虚血時平均残存血流量の算出法。四角形ABCDの面積に対する斜線部の面積の比率(%)を虚血時平均残存血流量とし、虚血状態の指標とした。

6. 頸部迷走神経の電気刺激法

左迷走神経を頸部で切断し、求心路刺激を行う際にはその中枢端に、遠心路刺激を行う際にはその末梢端に双極性の白金電極を装着し、矩形波電気刺激装置（日本光電、SEN-7103 M）を用いて刺激を行った。矩形波の幅は 0.3 msec、刺激頻度は 1~10 Hz とし、求心路刺激の場合は 5~10 V で 10 秒間、遠心路刺激の場合は 2~5 V で 5 秒間刺激した。求心路と遠心路の刺激は別々の動物で行った。

7. 使用薬物

第 1 章で用いた薬物は次の通りである。

Sodium pentobarbital (Somnopentyl®, Pitman-Moore; Nembutal®, Dainabot; 東京化成), suxamethonium chloride (東京化成), l-phenylephrine hydrochloride (Sigma), methylatropine bromide (Sigma)。

持続注入用のブドウ糖電解質液 (DM-3, テルモ) の組成 (W/V %) は次の通りである。
Glucose 2.7, NaCl 0.175, KCl 0.15, lactate sodium 0.224。

初回投与用の suxamethonium (20 mg/ml), phenylephrine (6~200 μ g/ml) および methylatropine (1 mg/ml) は生理食塩液に溶解した。

8. 推計学的検定法

結果はすべて平均値 \pm 標準誤差で表した。異なった 2 群の平均値間の比較を行う場合には、まず F 検定を行い、等分散である場合には Student's *t*-検定を、不等分散の場合には Aspin-Welch の *t*-検定を用いた。対応のある 2 群間の差の検定には paired *t*-検定を用いた。異なった 3 群以上の平均値間の比較を行う場合には、まず一元配置分散分析を行い、有意差があれば、それに続いて WSD 法 (Tukey's *t*-検定) あるいは CSD 法 (Dunnett's *t*-検定) による検定を行った。さらに、相関直線の比較には、共分散分析を用いた。いずれの場合も、 $P < 0.05$ の場合に有意差ありとした。

実験結果

1. 10分間虚血・再灌流時の循環器系パラメーターおよび脳波の変化

動脈血圧、心拍数、頭蓋内圧、椎骨動脈血流量、心電図および脳波に対する10分間虚血処置の影響を、あらかじめ肋間動脈を結紮せずに腕頭動脈と左鎖骨下動脈を10分間閉塞した場合（不完全閉塞群）と比較した。図5および6にそれぞれの一例を示す。

図5に示したように、虚血処置により動脈血圧が急激に上昇し、脈圧が増大した。心拍数は多くの場合、最初に増加し、その後に徐脈あるいは種々の不整脈が生じた。また、心電図のT波の巨大化あるいは逆転が認められた。しかし、これらの変化パターンには固体差が著しかった。これらの血圧、心拍数および心電図の異常は、再灌流30分後までにはほぼ正常化した。一方、10分間不完全閉塞群では図6に示した通り、閉塞時の血圧上昇

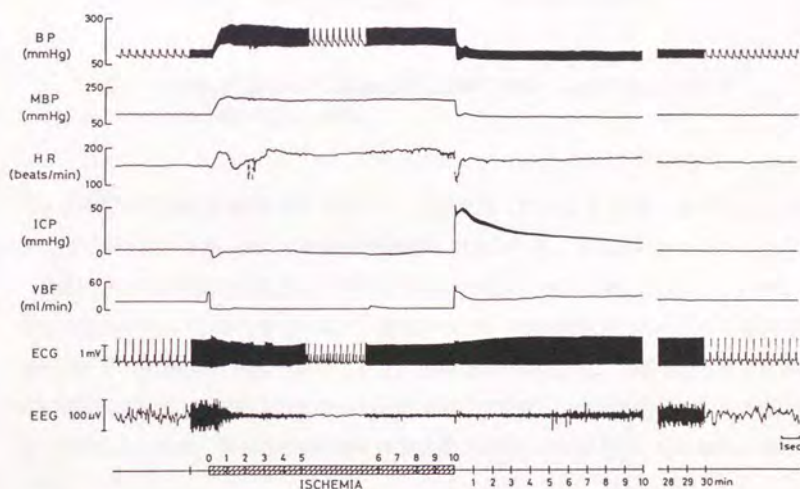


図5. あらかじめ肋間動脈を12本結紮したイヌで腕頭動脈と左鎖骨下動脈を10分間閉塞した場合の一例。BP: 動脈血圧, MBP: 平均動脈血圧, HR: 心拍数, ICP: 頭蓋内圧, VBF: 右椎骨動脈血流量, ECG: 標準四肢第II誘導心電図, EEG: 大脳皮質脳波。

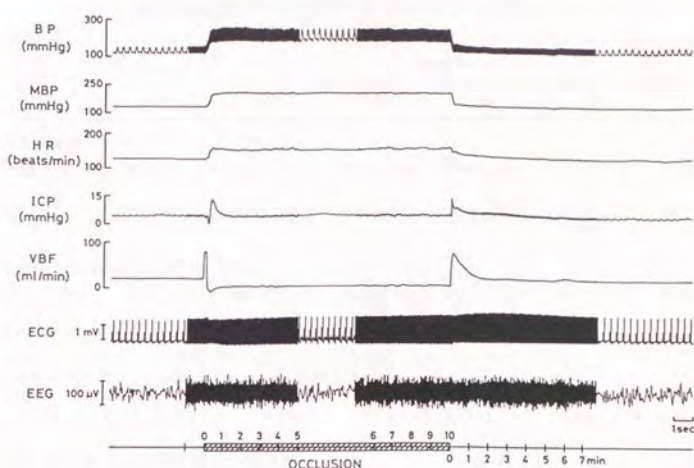


図6. 肋間動脈を結紮せずに腕頭動脈と左鎖骨下動脈を10分間閉塞した場合の一例。略語は図5を参照。

(平均血圧が 64 ± 9 mmHg 上昇, $n = 7$) は虚血群 (128 ± 8 mmHg 上昇, $n = 7$) に比べて有意に軽度であった。心拍数は閉塞時に増加したが、不整脈は生じなかった。

頭蓋内圧と右椎骨動脈血流量は、再灌流直後に一過性に増加した。これは、いわゆる反応性充血を反映していると思われるが、虚血群の方が不完全閉塞群に比べてその増加の程度が大きく、持続時間が長かった。しかし、再灌流60分以降には、頭蓋内圧と右椎骨動脈血流量の有意な変化は認められなかった。脳波は、虚血後1分程度で消失し、再灌流後数分で回復し始めたが、再灌流後の振幅には虚血前と比較してやや小さくなる傾向が認められた。

表1に示した通り、大脳皮質の局所血流量 (rCBF) は、虚血群では再灌流直後に有意に増加したが、以後経時的に減少し、再灌流60分以降では虚血前より有意に低いレベルに達した。一方、不完全閉塞群ではこのような rCBF 変化は認められなかった。

表 1. 10分間虚血あるいは10分間不完全閉塞後の大脳皮質の再灌流状態。

	Before	Reperfusion (min)				
	ischemia	5	30	60	120	180
10-min ischemia (n = 7)						
(ml/min/100g)	28.4 ± 2.3	55.5 ± 6.4**	24.2 ± 2.5	22.9 ± 2.7*	21.9 ± 2.3*	19.9 ± 2.3**
(%)	100	197.1 ± 18.5**	85.8 ± 6.2	81.0 ± 7.0*	78.1 ± 7.2*	70.9 ± 7.3**
10-min incomplete occlusion (n = 7)						
(ml/min/100g)	27.7 ± 2.3	28.5 ± 3.2	30.7 ± 3.3	29.8 ± 3.9	30.2 ± 4.2	26.0 ± 2.1
(%)	100	101.6 ± 4.3	110.3 ± 5.9	106.5 ± 8.6	107.7 ± 9.4	95.3 ± 6.1

*P < 0.05, **P < 0.01; significantly different from the value before ischemia.

2. BRS に対する10分間虚血の影響

10分間虚血・再灌流後60分, 120分および180分にそれぞれ約30分かけて BRS を測定し, 虚血前の BRS と比較したところ, 図 7 に示した通り, 再灌流時の BRS はいずれも虚血前に比べて有意に低下していた。また, 実験中に BRS が回復してくる傾向は認められなかった。一方, 図 8 に示した10分間不完全閉塞群では, 実験期間中に BRS の有意な変化は認められなかった。

3. 虚血時間の影響

3-1. BRS の変化

一過性全脳虚血による BRS 低下の虚血時間依存性を検討するために, 虚血時間を 0 分 (Sham 群), 2 分あるいは 5 分にした場合の BRS 変化を10分間虚血群と比較した。各群の BRS 変化を虚血前の値を100%として表し, 図 9 にまとめている。尚, 虚血前の値は Sham 群で 1.93 ± 0.33, 2 分間虚血群で 2.16 ± 0.28, 5 分間虚血群で 1.92 ± 0.24, 10分間虚血群で 2.14 ± 0.17 msec/mmHg (各群 7 例) で, 各群間に有意差は認められなかった。

Sham 群および 2 分間虚血群では再灌流 3 時間にわたって BRS の有意な変化は生じなかったが, 5 分間虚血群では再灌流 60 分以降に有意な BRS 低下が生じ, その低下の程度は10分間虚血群と同程度であった。

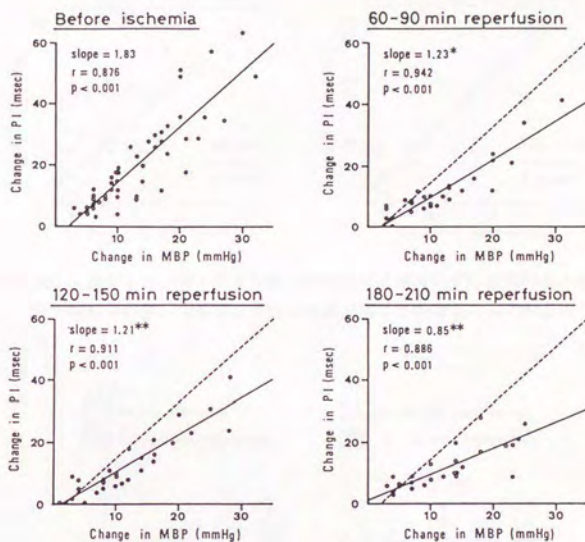


図7. BRS に対する10分間虚血の影響。横軸は phenylephrine による平均血圧 (MBP) の上昇量を示し、縦軸はその際の心拍間隔 (PI) の増加量を示す。7例の結果をまとめてプロットし、その相関直線を実線で示してある。Slope: 相関直線の傾き (すなわち BRS), r : 相関係数, P : 直線相関の有意性。再灌流時の結果には、比較のために、虚血前の相関直線を破線で示してある。* $P < 0.01$, ** $P < 0.005$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

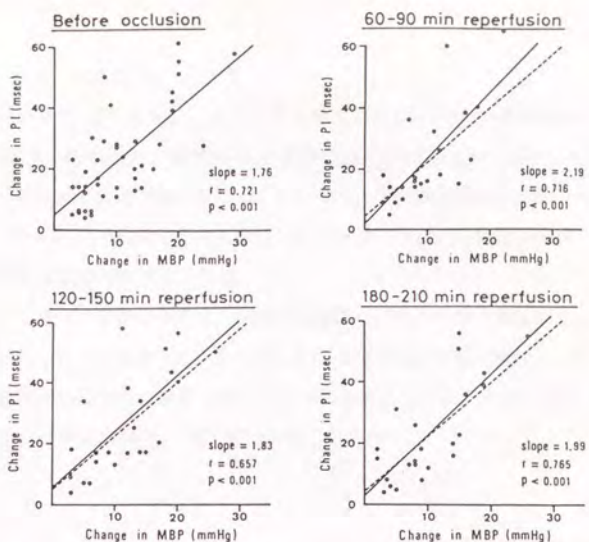


図 8. BRS に対する10分間不完全閉塞（肋間動脈を結紮せずに腕頭動脈と左鎖骨下動脈を閉塞）の影響。7例の結果を図7と同様な方法でまとめてある。

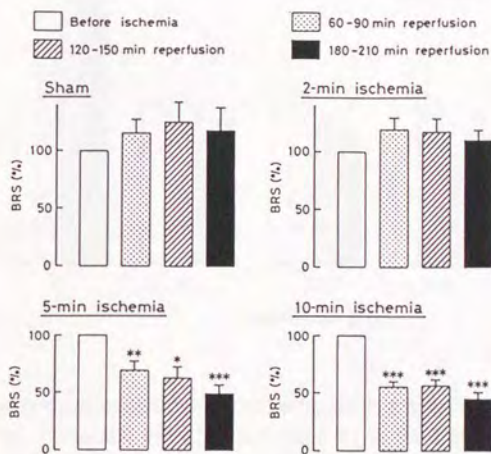


図 9. 一過性全脳虚血による BRS 低下に対する虚血時間の影響。各群 7例の結果について、虚血前の値を100%としてまとめてある。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

3-2. rCBF の変化

虚血時間を0分（Sham 群），2分あるいは5分間とした場合の再灌流時 rCBF 変化を10分間虚血群と比較した。図10には，各群の虚血前の値を100%として結果を表してある。尚，虚血前の値は Sham 群で 28.6 ± 2.7 ，2分間虚血群で 28.2 ± 2.6 ，5分間虚血群で 30.2 ± 4.4 ，10分間虚血群で 28.4 ± 2.3 ml/min/100g（各群7例）で，各群の間に有意差は認められなかった。

2，5および10分間虚血群では，再灌流直後に rCBF の有意な増加が生じ，その程度は虚血時間が長いほど大きかった。5分間虚血群では再灌流30分以降に，また，10分間虚血群では再灌流60分以降に有意な rCBF 減少が持続的に生じた。一方，sham 群および2分間虚血群では，再灌流時の rCBF 減少は生じなかった。

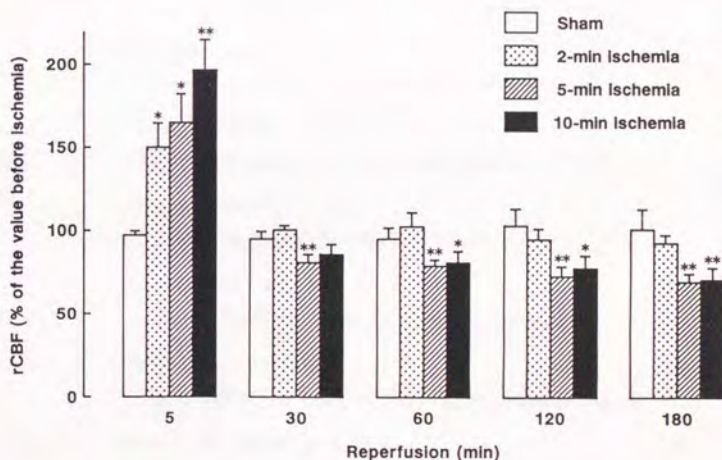


図10. 一過性全脳虚血後の大脳皮質の再灌流状態に対する虚血時間の影響。各群7例の結果について，虚血前の値を100%としてまとめてある。Sham: 虚血処置に必要な手術あるいは操作を全て行ったのみで，虚血時間0分に相当する群。* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

3-3. 大脳皮質脳波の変化

再灌流時の大脳皮質脳波の回復は、虚血時間が短いほど速やかであった。図11に5分間虚血・再灌流時の脳波変化の一例を示してあるが、この場合には再灌流1分ですでに脳波が回復し始めており、BRS 測定を行った再灌流60分以降には、脳波異常が認められなかった。さらに、周波数解析により5分間虚血群の脳波変化を定量的に検討したところ、表2に示した通り、いずれの周波数帯も再灌流5分後までに完全に回復していた。一方、10分間虚血群では、再灌流時に脳波の振幅が低下する場合が認められた。

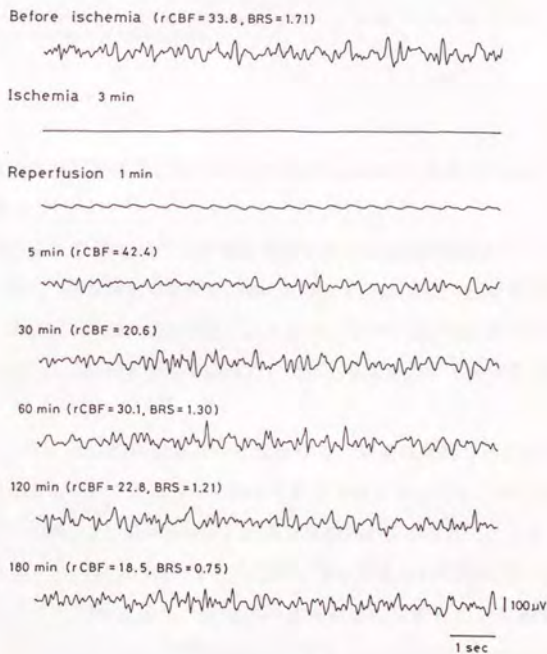


図11. 5分間虚血・再灌流時の大脳皮質脳波変化の一例。

表2. 5分間虚血・再灌流時の大脳皮質脳波の周波数解析。

	Before ischemia	Reperfusion (min)					
		0-2	5	30	60	120	180
Delta (1-3.5 Hz)	21.4±3.0	7.9±2.9*	22.7±2.7	23.2±2.4	22.6±2.5	25.5±2.0	23.5±2.2
Theta (4-7.5 Hz)	48.8±1.5	57.6±8.0	49.7±3.6	46.8±3.2	48.7±2.2	46.1±3.7	45.9±3.6
Alpha (8-12.5 Hz)	24.4±1.8	25.4±7.0	22.6±3.8	25.1±3.2	24.9±2.8	23.6±3.3	25.3±2.8
Beta (13-32 Hz)	5.5±2.1	9.1±2.9	5.1±2.6	5.0±2.3	3.8±1.5	4.8±2.0	5.4±2.5

Data represent the percent ratio of each component of the EEG power spectrum to the total power. Results from 6 animals are indicated as the mean±S.E.M. *P<0.05: significantly different from the value before ischemia.

4. 頸部迷走神経の求心路および遠心路電気刺激による心拍数減少反応に対する10分間虚血の影響

一過性全脳虚血による BRS 低下に圧受容体反射の中枢路の障害が関与しているかどうかを確認するために、迷走神経中枢から心臓への遠心路と大動脈弓圧受容体から孤束核への求心路を含む頸部迷走神経の電気刺激による反応に対する10分間虚血の影響を比較検討した。また、同時に、BRS および標準四肢第Ⅱ誘導心電図に対する10分間虚血の影響も検討した。

図12に示した通り、求心路刺激を行った場合には、頻度依存的な心拍数減少が生じ、8 Hzで反応が最大に達した。再灌流時に同様な刺激を行ったところ、再灌流90～210分にわたって6 Hz以上の頻度で心拍数減少反応の有意な減弱が認められた。一方、遠心路刺激を行った場合には、1～10 Hz のいずれの頻度による反応も10分間虚血の影響を受けなかった。また、表3に示した通り、迷走神経電気刺激の実験に用いた動物でも前述の結果と同様に、再灌流時に BRS の有意な低下が生じたが、これに伴って心電図の各パラメーターには有意な変化は認められなかった。

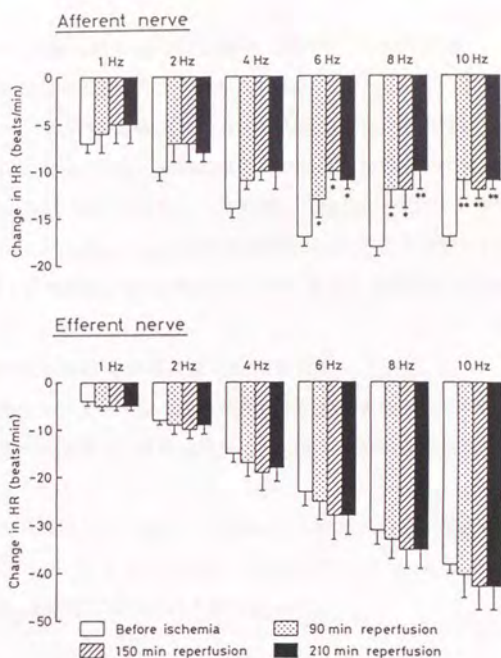


図12. 頸部迷走神経の求心路（上段）および遠心路（下段）の電気刺激による心拍数減少反応に対する10分間虚血の影響。各5例の結果をまとめてある。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

表3. 標準四肢第II誘導心電図とBRSに対する10分間虚血の影響。

	Before ischemia	Reperfusion (min)		
		60	120	180
P wave amplitude (mV)	0.31 \pm 0.03	0.32 \pm 0.03	0.31 \pm 0.02	0.29 \pm 0.02
R wave amplitude (mV)	1.87 \pm 0.38	1.99 \pm 0.39	1.98 \pm 0.39	1.96 \pm 0.39
PR interval (msec)	77.3 \pm 3.2	77.6 \pm 3.3	78.4 \pm 3.3	79.4 \pm 3.3
RR interval (msec)	384.5 \pm 11.1	377.0 \pm 12.7	384.4 \pm 12.6	391.5 \pm 13.6
BRS (msec/mmHg)	2.03 \pm 0.21	1.09 \pm 0.14***	1.25 \pm 0.13***	0.94 \pm 0.10***
(%)	100	55.8 \pm 5.8***	63.1 \pm 4.2***	50.0 \pm 6.3***

Results from 10 animals are indicated as the mean \pm S.E.M. *** $P < 0.001$: significantly different from the value before ischemia.

5. 5分間虚血・再灌流時の脳血流状態と BRS 低下との関連性

虚血・再灌流時の脳血流量変化は一般に次の通りである。まず、虚血処置中には血流量が減少しているが、一定時間の虚血による障害の程度はこの血流量減少の程度に依存しているはずである。再灌流すると、初期には反応性の血流量増加が生じるが、以後経時的に血流量が減少し、今回 BRS 測定を行った時期（再灌流60～210分）までには脳血流量が虚血前より低いレベルに達して二次的な血流障害が生じることが知られている。そこで、このような虚血・再灌流時の脳血流状態と BRS 変化との関連性を検討した。

5-1. 大脳皮質と延髄背側部の虚血状態の比較

今回用いた脳虚血モデルにおける虚血状態に部位差があるかどうかを調べるために、脳波測定部位である大脳皮質と圧受容体反射中枢のある延髄の虚血状態を交叉熱電対法で比較した。

肋間動脈を14～16本結紮した動物で5分間の虚血処置を行った場合の虚血時平均残存血流量は、大脳皮質では $39.8 \pm 6.3\%$ 、延髄背側部では $45.4 \pm 7.2\%$ （各7例）であり、両者の間には有意な差は認められなかった。

5-2. 虚血状態と再灌流時の BRS との関連性

図13に示した通り、延髄背側部の虚血時平均残存血流量と再灌流60～210分の BRS との間には有意な直線相関が認められ、延髄背側部の虚血状態が重度なほど再灌流時の BRS 低下が著しいことが判明した。一方、大脳皮質の虚血状態と再灌流時の BRS との間にはそのような相関関係が認められなかった。

5-3. 大脳皮質と延髄背側部の再灌流状態の比較

局所脳血流量（rCBF）を水素クリアランス法で測定し、その経時変化を観察した。虚血前の rCBF は、大脳皮質で 37.5 ± 2.8 、延髄背側部で 34.1 ± 5.2 ml/min/100g（各6例）で、両者の間には有意差は認められなかった。再灌流60分以降には、図14に示した通り、どちらの部位においても有意な rCBF 減少が認められた。また、その rCBF 減少の程度に関して両部位間に差は認められなかった。

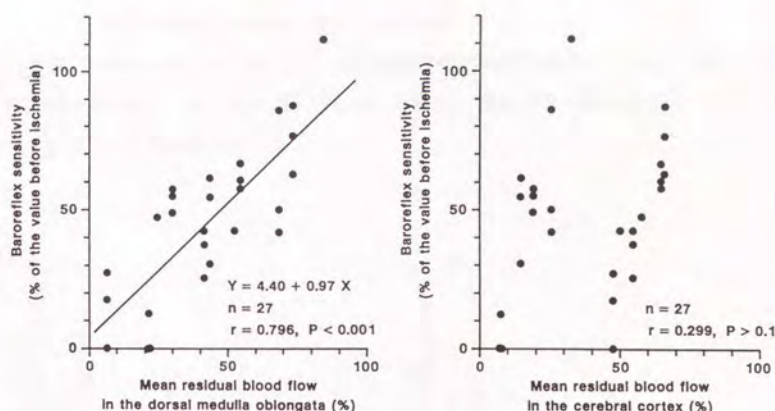


図13. 延髄背側部（左図）および大脳皮質（右図）の虚血状態と再灌流時 BRS との関連性。11例の動物を用い、5 分間虚血後再灌流60～210分に測定した BRS を虚血前の値を100 %として表し（縦軸）、虚血時平均残存血流量（横軸）と対応させてプロットしてある。左図中の実線は相関直線を示す。

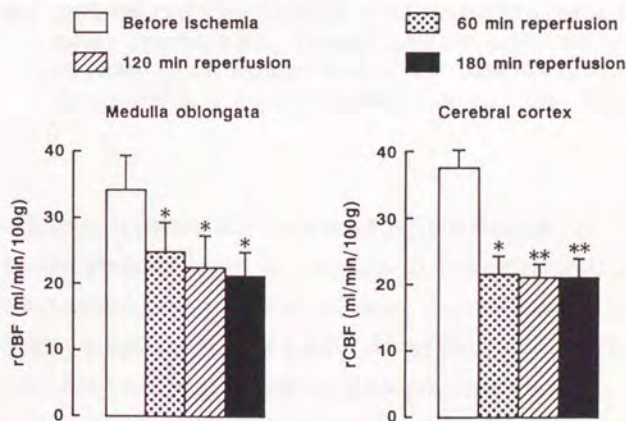


図14. 5 分間虚血後再灌流時の延髄背側部（左図）および大脳皮質（右図）の局所脳血流量（rCBF）変化。各6例の結果をまとめている。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

5-4. 再灌流時の脳血流量と BRS との関連性

再灌流60~210分の BRS と各 BRS 測定直前の延髄背側部あるいは大脳皮質の rCBF との関連性を検討したところ、図15に示した通り、再灌流時の脳血流量と BRS との間には相関性が認められなかった。

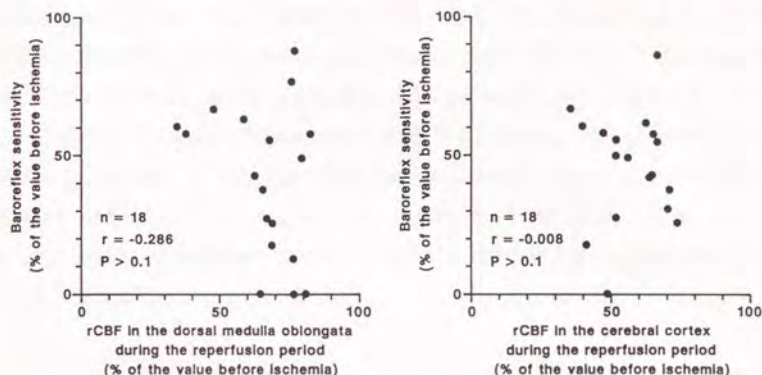


図15. 延髄背側部(左図)および大脳皮質(右図)の再灌流状態と BRS との関連性。6 例の動物を用い、5 分間虚血後再灌流60~210分に測定した BRS (縦軸)と、BRS 測定直前に測定した rCBF (横軸)を対応させてプロットしてある。どちらの値も虚血前の値を100 %として表してある。

6. 圧受容体反射の迷走神経系成分と交感神経系成分の障害の比較

今回圧受容体反射の指標として用いた phenylephrine による反射性徐脈には、迷走神経系成分と交感神経系成分が含まれている。すなわち、phenylephrine により血圧が上昇すると圧受容体から延髄の孤束核への求心性インパルスが増加するが、その後の経路は、迷走神経中枢(疑核や背側運動核)を刺激して迷走神経系を興奮させる経路と、延髄腹外側部を抑制して交感神経系を抑制する経路に分かれており、これらの総合的な結果として心拍数が減少すると考えられる(図1を参照)。そこで、このような2種類の経路の虚血性障害に差があるかどうかを比較検討した。

6-1. BRS に対する迷走神経系と交感神経系の関与の比率

BRS の迷走神経系成分を消失させるために、両側の頸部迷走交感神経幹を切断する処置 (vagotomy) あるいは methylatropine 0.1 mg/kg i.v. 投与を行った。Sham 群では、vagotomy により血圧と心拍数が一過性に増加したが、BRS 測定時には逆に vagotomy 前に比べてそれぞれ 16 ± 4 mmHg および 10 ± 4 beats/min 低いレベルに達していた。一方、methylatropine は血圧と心拍数を一過性に減少させたが、どちらも BRS 測定開始時 (投与約10分後) ままでに投与前のレベルに回復した。このように血圧と心拍数に対する作用には違いが認められたものの、どちらの処置も BRS に対しては同様な影響を及ぼした。すなわち、図16に示した通り、どちらの処置も BRS を有意に低下させ、その低下率は、vagotomy の場合は 49.1 ± 5.3 %, methylatropine の場合は 49.3 ± 7.6 % (各6例) で、両者の間に差は認められなかった。さらに、これらの処置に引き続いて propranolol 0.5~1 mg/kg i.v. を投与すると、BRS は完全に消失した。したがって、今回用いた実験条件下で測定した BRS には迷走神経系成分と交感神経系成分がほぼ 1 : 1 で関与していると思われる。

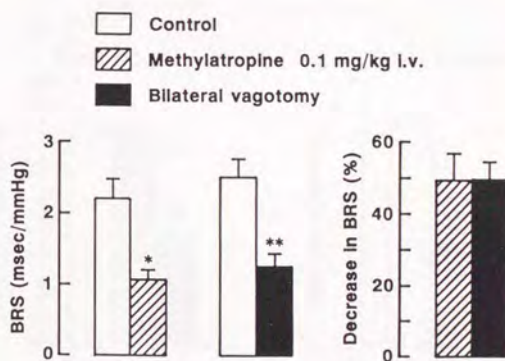


図16. BRS の迷走神経系成分の比率。各6例の結果をまとめてある。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: Control との間に有意差があることを示す。

6-2. 迷走神経系成分に対する5分間虚血の影響

図17に示したようなスケジュールで実験を行った。すなわち、BRSを測定後に5分間の虚血処置あるいは sham 処置を行い、再灌流60~90分に BRS を測定した後に BRS に対する vagotomy の影響を検討した。さらに続いて、propranolol 0.5~1 mg/kg i.v. 存在下で BRS を測定した。

Sham 群では、再灌流60~90分に相当する時期には BRS の変化は認められなかったが、この時点で vagotomy すると BRS が $49.4 \pm 5.1\%$ ($n=6$) 低下し、さらに propranolol により BRS が消失した。これに対し、虚血群（虚血時平均残存血流量は $43.3 \pm 5.0\%$, $n=8$ ）では、再灌流時の BRS が虚血前より $53.0 \pm 6.2\%$ 低下しており、この時点で vagotomy しても BRS がさらに低下することはなかった。しかし、これに引き続いて propranolol を投与すると、BRS は消失した。

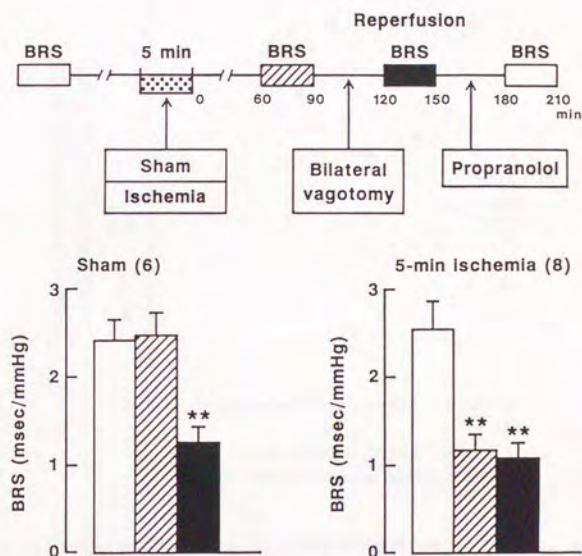


図17. BRS の迷走神経系成分に対する5分間虚血の影響。上段に示したスケジュールで実験を行った。Sham 群6例、5分間虚血群8例の結果をまとめてある。** $P < 0.01$: Sham 処置前あるいは虚血処置前の値との間に有意差があることを示す。どちらの群でも、両側迷走神経切断後の propranolol 投与により BRS が完全に消失した。

以上の結果は、5分間虚血群では、再灌流時の BRS に迷走神経系成分が寄与していないことを示唆している。そこで、この迷走神経系成分の障害と延髄背側部の虚血状態との関連性を次に検討した。

図18に示した通り、再灌流時の vagotomy の効果をその前後の BRS の比（処置後／処置前）で表し、その比を延髄背側部の虚血時平均残存血流量と対応させてプロットした。また、肋間動脈の結紮数を通常の14本から8あるいは0本に減らして虚血状態を軽度にした例および sham 群の結果も同様にプロットした。さらに、修正 Marquardt 法を用いた非線形最小二乗法によりこれらの点を次式のようなシグモイド曲線¹³⁾ にフィットさせた。

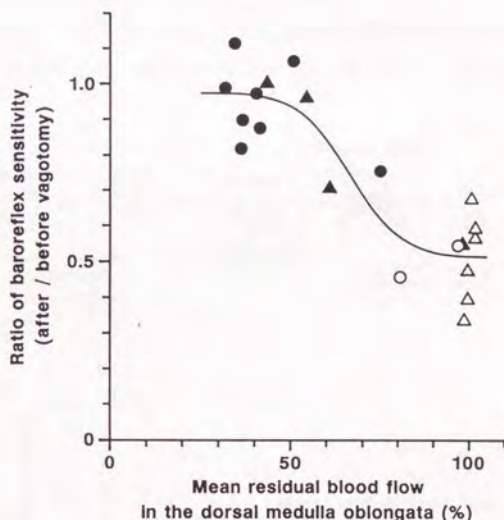


図18. BRS の迷走神経系成分の障害と延髄背側部の虚血状態との関連性。横軸は5分間虚血時平均残存血流量を示す。縦軸は再灌流時の両側迷走神経切断による BRS 低下の程度を、切断前後の比で示してある（比が1に近い程 BRS 低下の程度が少ないことを意味する）。●、▲および○は肋間動脈をそれぞれ14、8および0本結紮した上で虚血処置した動物を示し、△は Sham 群を示す。実線は、非線形最小二乗法による回帰曲線を示す。

$$Y = A_1 / [1 + \exp \{A_2 \times (X - A_3)\}] + A_4$$

ここで、Xは延髄背側部虚血時平均残存血流量、Yは vagotomy 前後の BRS 比を表す。また、 $A_1 \sim A_4$ は算出したシグモイド曲線の係数で、 A_1 はYの範囲、 A_2 は傾き、 A_3 はYの中央値に対応するXの値、 A_4 はYの最低値を表す。

延髄背側部の虚血時平均残存血流量が約80%以上の場合には、迷走神経系成分の障害は認められなかった。しかし、虚血の程度がさらに増すと、vagotomy 前後の BRS 比が次第に増加（すなわち、BRS に対する迷走神経系成分の寄与率が低下）し、残存血流量が約50%以下に達した場合には、BRS 比がほぼ1となり、迷走神経系成分の寄与がほぼ完全に消失していることが示唆された。

6-3. 交感神経系成分に対する5分間虚血の影響

図19に示した通り、vagotomy により BRS の交感神経系成分のみを残した動物で5分間虚血の影響を検討した。Vagotomy により BRS は $43.0 \pm 6.0\%$ ($n=8$) 低下

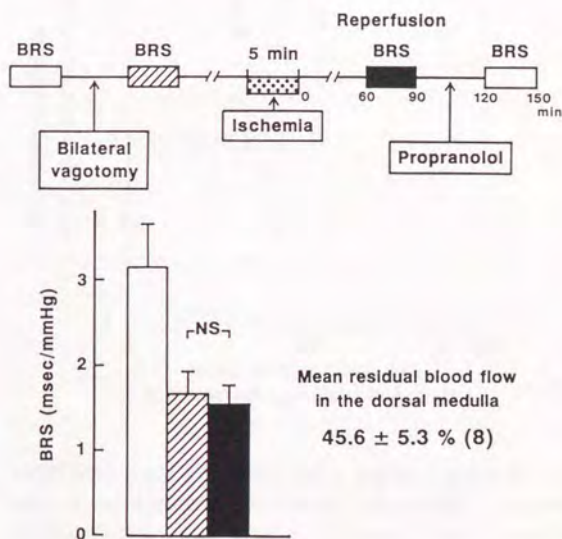


図19. BRS の交感神経系成分に対する5分間虚血の影響。上段に示したスケジュールで実験を行った。8例の結果をまとめてある。NS: 有意差なし。

したが、この低下の程度は前述の sham 群と同程度であった。これに引き続いて虚血処置を行ったところ、延髄背側部の虚血時平均残存血流量が 45.6 ± 5.3 % にまで低下したにもかかわらず、再灌流60~90分に BRS の有意な低下が生じなかったが、さらに、propranolol 0.5~1 mg/kg i.v. を投与すると、BRS は消失した。

また、再灌流時の BRS と延髄背側部の虚血状態との関連性について、vagotomy した動物と迷走神経が無傷な動物との間で比較検討した。その結果、図20に示した通り、迷走神経が無傷な動物では虚血状態に依存した BRS 低下が生じるのに対し、vagotomy した動物では虚血時平均残存血流量が30~50%に達しても顕著な BRS 低下が生じないことが明らかになった。したがって、BRS の交感神経系成分の方が迷走神経系成分に比べて虚血抵抗性が高いと思われる。

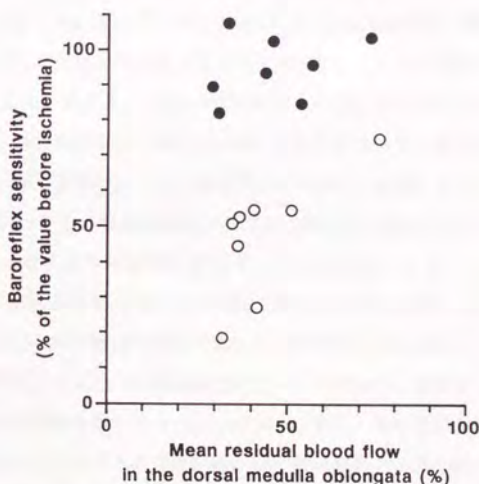


図20. 延髄背側部の虚血状態と再灌流時 BRS との関連性。再灌流60~90分に測定した BRS を虚血前の値を100 %として表し(縦軸)、5分間虚血時平均残存血流量(横軸)と対応させてプロットしてある。○は迷走神経が無傷の動物、●は両側の迷走神経を頸部で切断した動物での結果を示す。

考 察

第1章では、循環反射の一つである圧受容体反射に及ぼす脳虚血の影響について、イヌ一過性全脳虚血モデルを用いて検討した。その結果、5分間以上の全脳虚血後の再灌流時に圧受容体反射活性(BRS)の著しい低下が生じることが明らかとなった。一方、肋間動脈を結紮せずに腕頭動脈と左鎖骨下動脈を10分間閉塞した群(不完全閉塞群)、2分間虚血群あるいは sham 群ではそのような BRS 低下が生じなかったため、今回観察された BRS 低下は実験手技上のアーチファクトではなく、虚血負荷に起因するものであると考えられる。

今回 BRS の指標として用いた反射性徐脈の構成要素は、1) 圧受容体、2) 圧受容体から延髄の孤束核への求心路、3) 延髄を中心とする中枢路、4) 延髄から心臓への遠心路および5) 心臓であるが(図1)、この中のいずれに BRS 低下の原因となる虚血性障害が生じているのかがまず問題になる。今回の脳虚血モデルでは、腕頭動脈と左鎖骨下動脈を同時に閉塞しているので、圧受容体の存在する頸動脈洞も虚血にさらされていることになる。しかし、不完全閉塞群で示されたように、これらの動脈を閉塞しただけでは BRS 低下が生じなかったため、今回の実験条件下では頸動脈洞圧受容体に BRS 低下を説明するような障害はおそらく生じていないと思われる。求心路障害の有無については実験的証拠はないが、後述のように、解剖学的に近接した位置にあって虚血処置の影響を同程度に受けていると思われる遠心路には虚血性障害が認められないので、求心路にも BRS 低下の原因となるような障害は生じていないと推定される。

一方、頸部迷走神経の求心路および遠心路電気刺激の実験(図12)は、BRS 低下の原因が圧受容体反射の中枢路の障害であることを明確に示している。すなわち、求心路刺激による心拍数減少反応は10分間虚血後の BRS 低下に伴って減弱したが、遠心路刺激による反応は虚血の影響を受けなかったのである。また、求心路刺激の場合に虚血の影響を受けたのは6 Hz以上の刺激による反応で、低頻度刺激による反応は有意な影響を受けなかったが、この結果は、phenylephrine による血圧上昇と心拍間隔延長との間の相関直線が、再灌流時に虚血前と比べて平行移動せずに傾きが低下したこと(図7)と良く一致しており、再灌流時に BRS が低下していても軽度(10 mmHg 以下)の血圧変化には充分対応できることを示している。遠心路に関しては、さらに予試験として、迷走神経中枢の一つである疑核の電気刺激実験も行った。その結果、0.3 msec, 2~10Hz, 25~70 μ A (閾値の約3倍)、10秒間の定電流刺激による心拍数減少反応は5分間虚血の影響を受け

った。したがって、頸部より中枢側の遠心路にも障害は生じていないと考えられる。

心臓の障害については、交感神経系の活動の異常亢進による心電図異常や心筋細胞の壊死が脳卒中急性期に生じることが報告されている^{7, 14)}。今回の実験においても、虚血処置中の血圧の急激な上昇や不整脈などは、交感神経系の異常興奮が生じていることを示唆している。しかし、再灌流時の心電図波形あるいは迷走神経遠心路刺激に対する反応性に異常が認められなかったことから判断すると、BRS 低下の原因となるような障害が心臓に生じていたとは考えられない。おそらく、虚血時間が比較的短時間であったために心臓の障害には至らなかったのだと思われる。

今回の実験（特に5分間虚血群）では、再灌流時の BRS 低下は大脳皮質脳波の異常を伴わなかった。この結果は、比較的短時間の虚血により圧受容体反射機構に選択的な障害が生じることを示唆しているように思える。しかし、今回は再灌流3~4時間後までの極急性期の観察しか行っていないので、その後の変化については（低下した BRS が回復するのかという点も含めて）断言できないが、たとえば、砂ネズミやラットの脳虚血モデルでは、4~10分間虚血後の大脳皮質の障害は再灌流後数日経たないと現れないことが示されているので^{2, 4, 15)}、今回のモデルでも再灌流後の長期にわたって観察を続けると同様なことが起こる可能性があると思われる。

以上のように、今回の実験で観察された BRS 低下は、脳が一定の虚血状態にさらされたために生じる圧受容体反射中枢路の機能障害の結果であると考えられる。すでに臨床においてもこのような循環反射の減弱と脳循環障害の関連性について議論がなされている。たとえば、Gross¹⁰⁾は、頸動脈系と椎骨-脳底動脈系の循環障害が合併した患者における循環反射の減弱のみが例外的に脳循環障害の結果であり、それ以外の場合には加齢が循環反射減弱の主たる原因であると結論している。一方、加齢と脳循環障害のどちらが一義的な原因であるのかという結論を出すのが困難であると思われる報告も多数ある^{8, 9)}。このような点に関して、今回の結果は、比較的短時間の脳循環障害が循環反射減弱の一義的な原因となりうるという新しい実験的証拠を提供したものであり、また、一般的に虚血抵抗性が高いと考えられていた脳幹部の機能の中に虚血性障害をむしろ受けやすいものがあることを示した新しい知見であると考えられる。

虚血・再灌流時の脳血流状態との関連性

脳はエネルギー源となる glucose の貯蔵量が乏しいために、血流に対する依存性が特に高い臓器である¹⁶⁾。一般に、脳血流量が正常の40~50%以下にまで減少すると、自発

的な電気活動が停止し、脳波が消失する。さらに、20%以下に達すると細胞のイオンポンプが作動しなくなり、その状態が続くと細胞死に至るといわれている。したがって、特に今回用いた脳虚血モデルのように虚血処置中に血流が残存している不完全脳虚血モデルでは、虚血処置による障害の程度は、どの程度の血流減少がどれ位の時間持続したかで決定されると思われる。そこで、虚血状態を評価する方法として虚血時平均残存血流量を求める方法を考案し（図4）、脳のどの部位がどの程度の虚血にさらされるとBRS低下が生じるのか、あるいは、BRS低下に脳波異常が伴わなかったのは虚血の程度の部位差によるものであるのかという点について検討を加えた。その結果、5分間虚血後再灌流時のBRS低下は圧受容体反射中枢路の存在する延髄の虚血状態と相関しているが、大脳皮質の虚血状態とは関連性がないことが明らかとなった。今後さらに、その他の部位の虚血状態との関連性も検討する余地が残されているが、BRS低下の原因となっている障害部位は延髄に存在する可能性が高いと思われる。また、延髄と大脳皮質の虚血時平均残存血流量には差が認められなかったため、再灌流時のBRS低下に脳波異常が伴わなかったのは、圧受容体反射中枢路の虚血状態が大脳皮質より重度であったためではないと考えられる。

一過性脳虚血後の再灌流時には、no reflow現象¹⁷⁻¹⁹⁾や二次的な脳血流減少¹⁹⁻²⁴⁾が生じることが示されている。今回の実験においても、再灌流時のBRS測定時に延髄および大脳皮質血流量の有意な減少（20～60%の減少）が認められたので、このような再灌流時の血流障害とBRS低下との関連性を検討した。その結果、BRS低下の程度は延髄や大脳皮質の再灌流状態とは関連性がないことが明らかとなった。すでに報告されている種々の一過性脳虚血モデルを用いた実験においても、代謝あるいは組織学的障害の程度と二次的血流障害の程度との間に相関性が得られておらず^{21, 22, 25-28)}、今回の結果はこれらの報告と一致している。また、no reflow現象は、今回BRS低下が生じた5分間虚血より長時間の虚血を負荷しないと生じないようであるので^{19, 21)}、今回のBRS低下には関与していないと思われる。さらに、延髄血流量の減少の程度は、大脳皮質血流量の減少の程度と同程度であったことから、再灌流時に脳波異常を伴わずにBRSが低下するのは再灌流状態に部位差があるためではないと考えられる。したがって以上の結果は、再灌流時の二次的血流減少はBRS低下には寄与しておらず、虚血処置中に生じる障害がBRS低下の決定要因であることを示唆している。

圧受容体反射迷走神経系成分の選択的障害

延髄の圧受容体反射中枢路は、交感神経系を調節する経路と迷走神経系を調節する経路

とに分かれているが(図1), 循環器系の反射性調節に関与するそれぞれの比率は実験条件によってかなり異なるようである。覚醒・安静状態のイヌ²⁹⁻³²⁾あるいはヒト³³⁾では一般的に、動脈血圧の上昇あるいは頸動脈洞神経の電気刺激などによる反射性徐脈は主として迷走神経系の興奮によるもので、*vagotomy* や *atropine* ではほぼ完全に消失することが示されている。これに対して、麻酔下(特に *barbiturates* 麻酔下)では、自律神経系の関与の比率が変化している。たとえば、*Vatner et al.*³²⁾によれば、*pentobarbital* で麻酔したイヌの頸動脈洞神経電気刺激による徐脈は、主として交感神経系の抑制の結果であるとされている。また、*Scher and Young*³¹⁾は、イヌ大動脈の機械的な圧縮による血圧上昇に伴う反射性徐脈の交感神経系成分が *pentobarbital* により増加することを示している。さらに、*pentobarbital* で麻酔したウサギでは、頸動脈洞圧の変化による反射性の心拍数変化の約80%が交感神経系成分であると報告されている³⁴⁾。

一方、今回の実験では、*pentobarbital* 麻酔下のイヌでの反射性徐脈に迷走神経系成分が従来の報告以上の比率で関与していることが示された。すなわち、*Sham* 群では、*BRS* が *vagotomy* あるいは *methylatropine* のどちらによっても約50%低下し、それに引き続いて *propranolol* を投与すると *BRS* が消失したことから、交感神経系と迷走神経系の成分が同程度に関与していることが示唆されたのである。自律神経系の関与の比率がこのように従来の報告の結果と異なった正確な理由は不明であるが、圧受容体反射の評価法の違いあるいは開胸手術や人工呼吸などの実験手技上の違いが何らかの影響を及ぼしているのかもしれない。

これに対して、5分間虚血後の再灌流時の *BRS* は *vagotomy* の影響を受けず、*propranolol* により消失した。これは、再灌流時には迷走神経系成分がみかけ上全く機能していないことを示唆している。この結果を、再灌流時の *BRS* が虚血前の約50%であることや *sham* 群での迷走神経系成分が約50%であることと考え合わせると、5分間虚血による *BRS* 低下を、圧受容体反射迷走神経系成分の選択的障害で説明できるのではないかと思われる。そこで次に、延髄の虚血状態と迷走神経系成分の障害の関連性を検討したところ、5分間虚血の場合には、虚血時残存血流量が80%程度になると障害が現れ始め、50%程度になると迷走神経系成分がほぼ完全に消失してしまうことが明らかとなった。さらに、交感神経系成分は、虚血時平均残存血流量が30~70%の範囲内の5分間虚血の影響を受けなかったことから、迷走神経系成分より虚血抵抗性が高いことが示唆された。したがって、以上の結果は、今回の報告の範囲内の程度の5分間虚血の場合には、圧受容体反射の迷走

神経系成分の選択的な障害によって BRS 低下が生じていることを示しているが、さらに重度の虚血処置あるいは長時間の虚血処置の場合には交感神経系成分の障害も生じる可能性は残されている。

迷走神経系成分は、圧受容体からの求心路が到達する孤束核、孤束核から迷走神経中枢（イヌでは疑核と背側運動核³⁵⁾）に至る二次ニューロンおよび迷走神経中枢からの遠心路で構成されている^{36, 37)}。孤束核は交感神経系成分と共通であるので、この部位に障害が生じているとは考えにくい。したがって、孤束核からの二次ニューロンの機能障害（興奮伝導障害あるいは神経伝達物質の合成・遊離障害など）あるいは二次ニューロンや高位中枢からの伝達物質に対する迷走神経中枢の反応性低下などが、BRS 低下の原因となっているのかもしれない。

迷走神経系成分の選択的障害の機序の推定

虚血性障害は、細胞の機能あるいは骨格の維持に必要なエネルギーが十分に供給されないために生じるものである。脳の場合、エネルギー供給の大部分を血流に依存しているので、一定時間の虚血による障害の程度は血流量の減少の程度に依存している。今回の実験においても、前述の通り、BRS の低下は虚血時の延髄血流量が少ないほど著しかった。ただし、今回測定したのは obex レベルの延髄背側部のみであり、延髄各部の虚血状態に局所的な違いがあったかどうかについては不明である。しかし、延髄の迷走神経系調節路と交感神経系調節路は解剖学的に極めて近接した位置関係にあるので^{36, 37)}、両経路の虚血状態に、迷走神経系成分の選択的障害を説明しようような大きな違いがあったとは考えられない。

仮に迷走神経系調節路と交感神経系調節路へのエネルギー供給低下の程度が同じであるとすると、次に考えられることは、両経路のエネルギー消費の違いがエネルギー需要供給バランスの破綻（すなわち、虚血性障害）の違いに反映されているという可能性である。すなわち、虚血処置中に速やかに活動を停止してしまう部位の方が、活動を続けている部位よりも障害を受けにくいのではないかという考え方である。たとえば今回の実験で、大脳皮質と延髄が同程度の虚血負荷を受けたにもかかわらず、再灌流時の BRS 低下に大脳皮質脳波の異常が伴わなかったのはこれで説明できるのかもしれない。というのは、虚血処置により大脳皮質脳波は消失するが、延髄ではいわゆる脳虚血反応³⁸⁻⁴⁴⁾による持続的な興奮が生じることが知られているからである（事実今回の脳虚血モデルにおいても、虚血中に脳虚血反応によると思われる急激な血圧上昇や不整脈が観察されている）。しかし、

迷走神経系調節路と交感神経系調節路とを比較した場合には、迷走神経中枢と延髄腹外側部の血管運動中枢（交感神経系調節路）のどちらも脳虚血反応により興奮するので、興奮の程度に部位差がないと迷走神経系成分の選択的障害を説明できない。そのように興奮の程度に差が生じる可能性としては、次のような機序が考えられる。すなわち、今回の脳虚血モデルでは、大動脈弓の血流は保たれているので、虚血中の著しい血圧上昇により大動脈弓の圧受容体が刺激されて孤束核への求心性信号が持続的に増加する。したがって、孤束核からの興奮性ニューロンで支配されている迷走神経中枢では脳虚血反応による興奮に反射性の興奮が加算されることになる。これに対して、延髄腹外側部の血管運動中枢は孤束核から直接あるいは間接的に抑制性ニューロンの支配を受けているので^{36, 45)}、迷走神経中枢に比べて虚血中の興奮の程度が軽度になる可能性があるのである。そこで、予試験として、5分間虚血の15分前から trimethaphan 4.65~17.0 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. を持続注入して平均血圧を 56 ± 5 mmHg ($n = 7$) 低下させた状態で虚血処置を行い、さらに、虚血開始3分後まで持続注入を続けて血圧が trimethaphan 投与前のレベルより上昇しないようにした。その結果、虚血中の血圧上昇の累積値を無処置群での2分間虚血の場合と同程度（約30%）にまで減少させることができたが、再灌流時の BRS 低下は影響を受けなかった。したがって、虚血中の血圧上昇の影響は少ないと思われるが、この予試験では虚血中の血圧上昇が残っていたので、大動脈弓圧受容体を介する反射の影響を完全に否定することはできなかった。

最後に、延髄の圧受容体反射中枢路を抑制性（視床下部、海馬）あるいは促進性（扁桃体、中隔）に修飾している高位中枢⁴⁶⁻⁴⁸⁾との関連性を考慮する必要があるであろう。というのは、これらの修飾は迷走神経系成分に選択的であることが示されているからである。たとえば、Gebber and Klevans⁴⁷⁾ は、ネコの扁桃体あるいは中隔を電気刺激すると反射性徐脈が増強されるが、vagotomy 後は増強効果が現れない（すなわち、迷走神経系成分は増強されるが、交感神経系成分は増強されない）ことを示している。したがって、理論的には、一過性全脳虚血による圧受容体反射迷走神経系成分の選択的障害は、延髄の圧受容体反射路に促進的に働いている高位中枢の障害あるいは促進性の修飾に対する延髄の反応性低下の結果であるという説明が可能で、今後の課題として非常に興味深い点である。

要 約

ある種の脳循環障害患者で報告されている循環器系調節機構の障害と脳循環障害との関連性を実験的に明らかにするために、循環器系の神経性調節機構の一つである圧受容体反射機構に及ぼす一過性全脳虚血の影響を検討した。実験には、pentobarbital で麻酔し、人工呼吸下で suxamethonium により不動化した雑種成犬を用い、phenylephrine による反射性徐脈を圧受容体反射活性 (BRS) の指標とした。

1. あらかじめ肋間動脈を12~14本結紮した上で腕頭動脈と左鎖骨下動脈の起始部を一定時間閉塞することにより一過性全脳虚血処置を行ったところ、5および10分間虚血後の再灌流60~210分にわたって、BRS の有意な低下(約50%)が生じた。一方、再灌流時の大脳皮質脳波には顕著な異常が認められなかった。
2. 2分間虚血群、sham 群あるいは10分間不完全閉塞群(肋間動脈を結紮せずに腕頭動脈と左鎖骨下動脈を閉塞した群)では、BRS の変化は生じなかった。したがって、再灌流時の BRS 低下は実験手技上のアーチファクトではなく、一定時間の虚血負荷が原因となって生じる変化であると考えられる。
3. 頸部迷走神経求心路の電気刺激による心拍数減少反応に対する10分間虚血の影響を調べたところ、再灌流時の BRS 低下にともなって、6~10Hzの刺激による反応が有意に減弱した。一方、頸部迷走神経遠心路の電気刺激による心拍数減少反応は虚血の影響を受けなかった。また、再灌流時には心電図波形の異常は認められなかった。したがって、BRS 低下は圧受容体反射の中枢路の障害の結果であると考えられる。
4. 圧受容体反射中枢が存在する延髄の虚血状態と BRS 低下との関連性を検討したところ、延髄背側部の虚血時平均残存血流量が少ないほど再灌流時の BRS 低下が著しいことが明らかとなった。また、大脳皮質の虚血状態は延髄背側部と同程度であったが、BRS 低下との間には相関性が認められなかった。したがって、BRS 低下には延髄の虚血性障害が関与していると思われる。
5. 5分間以上の虚血後の再灌流60分以降には、大脳皮質あるいは延髄局所脳血流量の二次的な減少が生じた。両部位の血流量減少の程度は同程度で、また、どちらも BRS 低下との間に関連性が認められなかった。したがって、再灌流時の二次的血流障害は BRS 低下に寄与していないと考えられる。
6. BRS に対する自律神経系の関与の比率を検討したところ、sham 群では、両側迷走神経切断(vagotomy)あるいはmethyldatropineによりBRSが約50%低下し、これに続

いて propranolol を投与すると BRS が消失したことから、迷走神経系と交感神経系がほぼ同程度に関与していることが明らかとなった。

7. 5分間虚血群では、sham 群とは対照的に、再灌流時の BRS が vagotomy の影響を受けなかったことから、再灌流時には迷走神経系成分がみかけ上全く機能していないことが示唆された。
8. 圧受容体反射迷走神経系成分の障害と延髄の虚血状態との関連性を検討したところ、延髄背側部の虚血時平均残存血流量が約80%以下になると迷走神経系成分の障害が現れ始め、約50%以下に達すると迷走神経系成分が消失することが明らかとなった。
9. あらかじめ vagotomy して交感神経系成分のみを残した動物では、延髄背側部の虚血時平均残存血流量が30~70%の範囲内の虚血を負荷しても、再灌流時に BRS 低下が生じなかった。したがって、交感神経系成分の方が迷走神経系成分より虚血抵抗性が高いと考えられる。
10. 以上、イヌ一過性全脳虚血モデルでは、5分間という比較的短時間の虚血により圧受容体反射の迷走神経系成分に選択的な障害が生じることが明らかとなった。この障害はおそらく虚血時の延髄血流量の減少が原因となって生じるもので、再灌流時の二次的な血流障害とは無関係であると思われる。この結果は、これまで一般的に虚血抵抗性が高いと考えられていた脳幹部の機能の中に、虚血性障害をむしろ受けやすいものがあることを示した新しい知見である。迷走神経系成分の選択的障害の機序に関しては、高位中枢から延髄への修飾系との関連性などを今後さらに検討する必要があると思われる。

第2章 一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害に対する麻酔薬の影響 — barbiturates と halothane の比較 —

第1章では、イヌ一過性全脳虚血モデルを用いて、5分間以上の全脳虚血により圧受容体反射機構の障害が生じることを明らかにした。この際の実験はすべて pentobarbital 麻酔下で行ったが、麻酔薬は一般に脳代謝に対する作用を有しているので、虚血時のエネルギー需要供給バランスの乱れに何らかの影響を及ぼしていると考えられる。特に、pentobarbital を代表とする barbiturates は脳代謝を抑制し、脳を虚血から保護するとされている⁴⁹⁾。したがって、第1章の実験では、虚血の影響を過少評価している可能性がある。また、圧受容体反射が麻酔の影響を受けていることも考慮すべきである⁵⁰⁾。これらの問題を解決する最良の方法は麻酔薬を使用せずに実験を行うことであろうが、少なくとも今回のイヌ一過性全脳虚血モデルでは、すべての実験を無麻酔下を行うには技術上および倫理上の問題がある。そこで、barbiturates に比べて脳保護作用が弱く、場合によっては障害をむしろ悪化させることもあると報告されている⁵¹⁻⁵⁵⁾ halothane 麻酔下で同様な実験を行い、両者の比較により、圧受容体反射機構の虚血性障害に対する麻酔薬の影響の解明を試みた。

実験方法

体重7～15kg程度の雌雄の雑種成犬を、超短時間型の麻酔薬である sodium thiopental (Ravonal®, 田辺製薬) 20～30 mg/kg i.v. で麻酔し、口から気管カニューレを挿入した。また、左右の桡側皮静脈(薬物投与用)、左大腿動脈(血圧測定用)および右大腿動脈筋枝(血液ガス分圧測定用)にそれぞれカニューレを挿入した。さらに、左右の前頭骨から双極性に脳波を導出した。麻酔からかなり覚醒した時点(大脳皮質脳波パワースペクトルの α 成分が約50%以上となるか、あるいは、体動が激しくなった時点)で、人工呼吸器(シナノ製作所, SN-408-4)を介して halothane (Fluothane®, 武田薬品) 2% を、平均血圧が75 mmHg を下回らない程度に約10分間吸入させ、その後は0.75～1.25%で麻酔を維持した。Halothane は、エアーポンプと専用気化器(シナノ製作所)を用いて室内空気に混ぜて人工呼吸器に供給し、呼吸量は20 ml/kg、呼吸数は1分間20回程度とした。また、呼吸は屋外に排出した。さらに、suxamethonium chloride 2 mg/kg i.v. で不動化し、実験中は1 mg/kg/hr i.v. を持続注入した。その他の実験手技は、第1章に記述し

た方法 (p. 4~9) に従って行った。なお、本章中の pentobarbital 麻酔下での結果は、第1章で行った実験結果に基づくものである。

実験結果

1. 5分間虚血・再灌流時の血圧、心拍数、BRS および脳血流量変化の比較

表4に示した通り、虚血処置前の血圧と心拍数は、halothane 麻酔下の方が pentobarbital 麻酔下に比べて有意に低値を示したが、BRS と延髄背側部血流量には差が認められなかった。また、この表に示した動物では、5分間虚血処置中の延髄背側部虚血時平均残存血流量 (図4参照) は、halothane 麻酔群では $40.5 \pm 6.5\%$ 、pentobarbital 麻酔群では $42.6 \pm 8.0\%$ (各8例) で、両群の虚血状態は同程度であった。

表4. Halothane あるいは pentobarbital 麻酔下での5分間虚血・再灌流時の平均血圧 (MBP)、心拍数 (HR)、BRS および延髄背側部血流量 (rCBF) の変化の比較。

	Before ischemia	Reperfusion (min)		
		60-90	120-150	180-210
Halothane (n=8)				
MBP (mmHg)	$97 \pm 4^{\dagger\dagger}$	92 ± 4	94 ± 4	95 ± 4
H R (beats/min)	$113 \pm 2^{\dagger\dagger}$	$123 \pm 4^{\dagger\dagger}$	$124 \pm 3^{\dagger\dagger}$	$125 \pm 4^{\dagger\dagger}$
BRS (msec/mmHg)	2.59 ± 0.31	2.08 ± 0.37	2.12 ± 0.33	1.97 ± 0.22
(%)	100	$79.4 \pm 6.9^*$	$81.3 \pm 5.9^{\dagger\dagger}$	$77.4 \pm 3.9^{\dagger\dagger}$
rCBF (ml/min/100g)	31.8 ± 2.8	28.1 ± 3.5	27.9 ± 3.5	$31.1 \pm 4.2^{\dagger}$
(%)	100	88.4 ± 8.0	$87.8 \pm 7.8^{\dagger}$	$98.2 \pm 10.0^{\dagger\dagger}$
Pentobarbital (n=8)				
MBP (mmHg)	126 ± 6	108 ± 7	108 ± 7	104 ± 7
H R (beats/min)	159 ± 7	160 ± 8	162 ± 9	162 ± 9
BRS (msec/mmHg)	2.77 ± 0.29	$1.63 \pm 0.41^*$	$1.37 \pm 0.29^*$	$1.27 \pm 0.26^{**}$
(%)	100	$53.9 \pm 10.3^{**}$	$46.9 \pm 5.8^{**}$	$43.4 \pm 5.9^{**}$
rCBF (ml/min/100g)	30.5 ± 4.5	21.7 ± 3.9	20.0 ± 3.9	19.0 ± 3.1
(%)	100	$70.1 \pm 5.5^{**}$	$64.7 \pm 6.0^{**}$	$63.3 \pm 6.0^{**}$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: significantly different from the value before ischemia. $^{\dagger}P < 0.05$,

$^{\dagger\dagger}P < 0.01$: significantly different from the corresponding value in pentobarbital group.

再灌流時には、どちらの群においても血圧と心拍数の有意な変化は認められなかった。一方、BRS は、再灌流60～210分にわたって有意に低下したが、その低下の程度は halothane 麻酔下の方が軽度で、再灌流120分以降の BRS は（虚血前の値を100%とした場合）pentobarbital 麻酔下より有意に高値を示した。また、halothane 麻酔下では、再灌流時に延髄背側部血流量の二次的減少が生じず、pentobarbital 麻酔下より有意に高いレベルに保たれた。

2. 5 分間虚血・再灌流時の大脳皮質脳波変化の比較

図21に示した通り、虚血前の大脳皮質脳波パワースペクトルはどちらの麻酔下でも θ

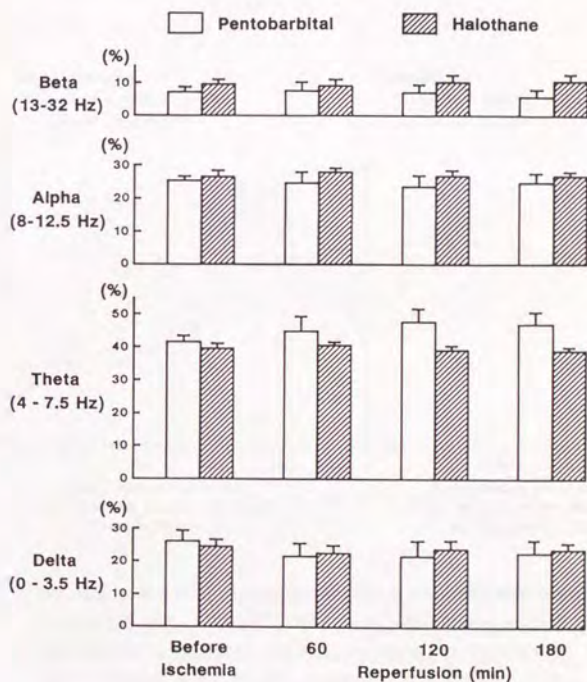


図21. Halothane あるいは pentobarbital 麻酔下での5分間虚血・再灌流時の大脳皮質脳波パワースペクトルの比較。各群8例の結果をまとめてある。

成分を中心とした分布となっており、いずれの周波数帯に関しても両群間に差が認められなかった。また、再灌流60分以降の BRS 測定時の脳波には、虚血前と比べて有意な変化は生じていなかった。

3. 延髄背側部の虚血状態と再灌流時 BRS との関連性の比較

5 分間虚血処置中の延髄背側部虚血時平均残存血流量と再灌流60~210分の BRS との関連性を調べたところ、図22に示した通り、halothane 麻酔下でも pentobarbital 麻酔下と同様に、延髄の虚血状態が重度なほど再灌流時の BRS 低下の程度が顕著であることが明らかとなった。しかし、両者の相関直線を比較すると、halothane 麻酔下の方が相関直線の傾きが有意に ($P < 0.01$) 低値であった。

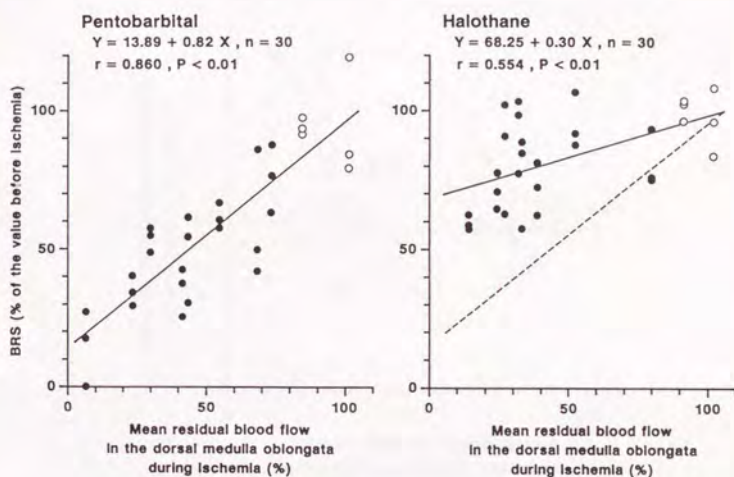


図22. Halothane あるいは pentobarbital 麻酔下での延髄背側部の虚血状態と再灌流時 BRS との関連性。各群ともに、肋間動脈を14本結紮した動物8例(●)と肋間動脈を結紮しなかった動物2例(○)を用い、再灌流60~210分に測定した BRS を虚血前の値を100%として表し(縦軸)、虚血時平均残存血流量(横軸)と対応させてプロットしてある。数式は実線で示した相関直線の式である。破線は pentobarbital 麻酔下での相関直線を比較のために重ねたものである。

4. BRS 迷走神経系成分の障害の比較

Sham 群の BRS に対する methylatropine 0.1 mg/kg i.v. の効果を halothane 麻酔下で調べたところ、BRS が $49.6 \pm 7.1\%$ (2.66 ± 0.51 から 1.25 ± 0.26 msec/mmHg, $n=6$) 低下した。この低下の程度は pentobarbital 麻酔下の場合 ($49.3 \pm 7.6\%$, 2.21 ± 0.26 から 1.06 ± 0.15 msec/mmHg, $n=6$) と同程度で、どちらの麻酔下でも迷走神経系と交感神経系がほぼ 1 : 1 で関与していることが示された。

5 分間虚血後の再灌流時に BRS の迷走神経系成分がどの程度残存しているかを調べるために、再灌流 180~210 分の BRS 測定後に vagotomy を行い、その前後の BRS 比と延髄背側部の虚血時平均残存血流量との関連性を検討した。その結果を非線形最小二乗法によりシグモイド曲線 (p.25 参照) にフィットさせたところ、図 23 に示した通り、虚血時平均残存血流量が約 30% 以下にまで減少しないと迷走神経系成分の障害が現れないこ

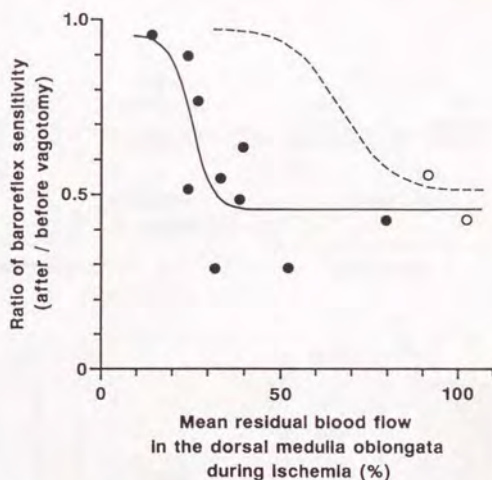


図 23. Halothane 麻酔下での BRS の迷走神経系成分の障害と延髄背側部の虚血状態との関連性。横軸は 5 分間虚血時平均残存血流量を示す。縦軸は再灌流時の vagotomy による BRS 低下の程度を、vagotomy 前後の比で示してある（比が 1 に近いほど BRS 低下の程度が少ないことを意味する）。肋間動脈を 14 本結紮した動物 10 例（●）と肋間動脈を結紮しなかった動物 2 例（○）の結果をまとめたものである。実線は、非線形最小二乗法による回帰曲線を示す。破線は、pentobarbital 麻酔下で同様にして求めた回帰曲線（図 18）を比較のために重ねたものである。

とが明らかとなった。この閾値は pentobarbital 麻酔下での閾値（約80%，図18）に比べて明らかに低値であった。

5. 虚血直前に halothane を thiopental に置換した場合の BRS, 脳血流量および大脳皮質脳波の変化

虚血時に使用した麻酔薬の種類が圧受容体反射の虚血性障害の程度を左右しているのかどうかを確認するために、図24に示したようなスケジュールで実験を行った。すなわち、虚血前の BRS および延髄背側部血流量の測定を halothane 麻酔下で行った後、麻酔薬の吸入を停止した。大脳皮質脳波パワースペクトルの α β 成分が図25の2段目のように充分増加したことを確認した上で（約15分間放置），thiopental 10 mg/kg i.v. を約3分間かけて投与した。大脳皮質脳波が再び halothane 麻酔下と同様に θ 成分を中心とした状態になり（図25の3段目），血圧や心拍数が安定した時点（投与終了約10

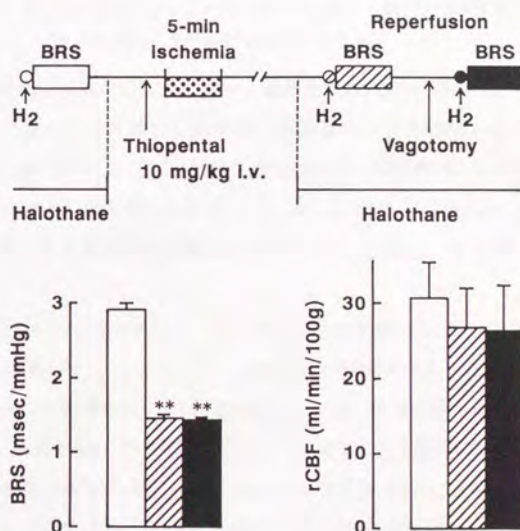


図24. 虚血直前に halothane を thiopental に置換した場合の BRS および延髄背側部血流量の変化。上段に示したスケジュールで実験を行った。6例の結果をまとめてある。* $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

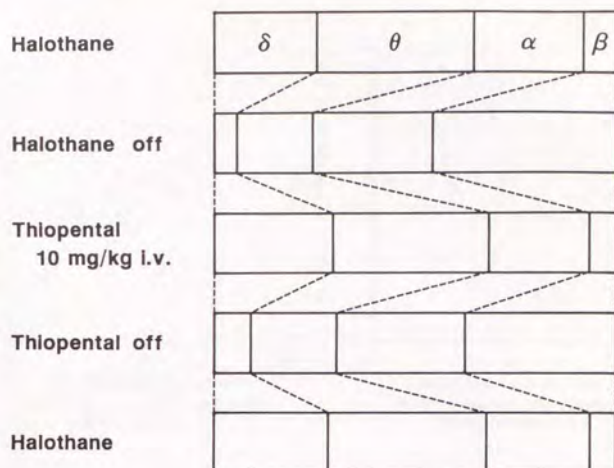


図25. 図24に示したスケジュールで麻酔を変更した際の大脳皮質脳波パワースペクトルの変化。6例の平均を示してある。

分後)で5分間虚血処置を行った。次に、再灌流後の大脳皮質脳波が halothane 吸入停止時と同様になった時点(図25の4段目、再灌流1~2時間後)で halothane 2%を約10分間吸入させ、以後 0.75~1.25% (虚血処置前と同じ用量)で麻酔を維持した状態で BRS と脳血流量の測定を行った。さらに、BRS に対する vagotomy の影響を検討した。なお、この実験における延髄背側部虚血時平均残存血流量は、 $38.1 \pm 5.8\%$ ($n=6$)であった。

図24に示した通り、再灌流時の BRS は虚血前の約50%にまで低下し、その低下の程度は、表4に示した pentobarbital 麻酔群と同程度であった。また、再灌流時の BRS は vagotomy の影響を全く受けなかった。一方、再灌流時の延髄背側部血流量には、表4に示した halothane 麻酔群と同様に、有意な変化が認められなかった。

さらに、再灌流時の BRS あるいは vagotomy 前後の BRS 比と延髄の虚血状態との関連性を調べ、pentobarbital 麻酔群(図18, 22)あるいは halothane 麻酔群(図22, 23)と比較したところ、図26に示した通り、どちらの場合も pentobarbital 麻酔群で得られた回帰直線あるいは曲線の方に良くフィットした。以上の結果をまとめて表5に示した。

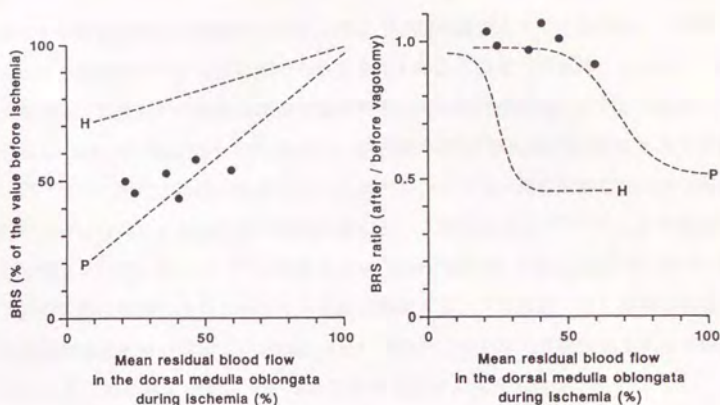


図26. 虚血直前に halothane を thiopental に置換した場合の再灌流時 BRS (左図) あるいは BRS の迷走神経系成分の障害 (右図) と延髄背側部の虚血状態との関連性。破線 H および P はそれぞれ, halothane あるいは pentobarbital 麻酔下での相関性 (図18, 22, 23) を比較のために示したものである。

表 5. 5 分間虚血・再灌流時の BRS 低下, vagotomy の効果あるいは二次的脳血流量減少に及ぼす麻酔薬の影響のまとめ。

Anesthetics			BRS	Vx	rCBF
Before Ischemia	Ischemia	Reperfusion			
P	P	P	↓ (50 %)	→	↓ (35 %)
H	H	H	↓ (20 %)	↓ (40 %)	→
H	TP	H	↓ (50 %)	→	→

P: pentobarbital, H: halothane, TP: thiopental, Vx: change in BRS by bilateral vagotomy

考 察

脳の虚血性障害に対する麻酔薬の効果、特にその脳保護薬としての有用性、に関しては主に barbiturates を中心に検討が行われてきている。これまでの報告によれば、一過性の局所脳虚血（実験的中大脳動脈閉塞や脳外科手術時の脳血管閉塞）に対して比較的高用量の barbiturates を前投与した場合に、脳保護作用が最も顕著に現れるようである^{49, 51, 56, 57}。また、今回の実験で用いたモデルのような一過性全脳虚血による障害に対しても barbiturates 前投与が予防的に働くという報告もあるが^{58, 59}、その有用性は必ずしも確立されていない^{49, 60}。このような barbiturates の脳保護作用の機序としては、1) 脳代謝の抑制によるエネルギーの需要供給バランスの改善、2) 健常部血管の収縮による虚血部血流量の増加（inverse steal 現象）、3) 脳血液量の減少による頭蓋内圧の低下、4) 脳浮腫の抑制、5) 細胞膜安定化などが考えられている。

Barbiturates 以外の麻酔薬についても脳保護作用の検討がすでに行われており、吸入麻酔薬の halothane⁶¹ や isoflurane⁶² あるいは静脈麻酔薬の ketamine⁶³ などにもある種の脳保護作用があることが示されている。しかし一般的に、これらの麻酔薬の脳保護作用は barbiturates に比べて弱いようである。たとえば、halothane と pentobarbital を比較した実験では次のような結果が得られている。

イヌ中大脳動脈の永久閉塞モデルを用いた Smith *et al.*⁶¹ の報告によれば、脳波が 1 Hz 以下になるような用量の pentobarbital を虚血直前に投与すると、以後の神経症状が良好となり、脳硬塞の発生が軽減されるのに対し、halothane 0.8% 麻酔下では無麻酔の場合と同様な障害が現れ、さらに、halothane 1.9% 麻酔下では障害がむしろ悪化することが示されている。また、Michenfelder and Milde⁶² は、リスザル中大脳動脈の 2 時間閉塞モデルを用い、halothane 1% 麻酔下の方が、pentobarbital 40 mg/kg i.v. 麻酔下 に比べて、虚血直後の脳内乳酸蓄積量が多く（約 2 倍）、48 時間後の障害（神経症状や硬塞巣の大きさ）の程度が著しいことを報告している。リスザル中大脳動脈閉塞モデルでは、また、halothane 1.1% 麻酔下の方が pentobarbital 35 mg/kg i.v. 麻酔下 に比べて 3 時間虚血時の大脳皮質 pH の低下が著しく、再灌流後も pH 低下が持続することが示されている⁶³。さらに、ネコ中大脳動脈 2 時間閉塞 4 時間再灌流モデルでも、halothane 麻酔下の方が pentobarbital 麻酔下 に比べて細胞障害の程度が著しいことを示唆する結果が得られている^{64, 65}。

このような報告から、第 1 章で行った pentobarbital 麻酔下の実験では虚血性障害を

過少評価している可能性があると考え、第2章では、脳保護作用が弱いと思われる halothane 麻酔下で実験を行って第1章の結果と比較した。ところが、今回の実験では予想に反して、pentobarbital 麻酔下より halothane 麻酔下の方が一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害が現れにくいという結果が得られた。すなわち、pentobarbital 麻酔下での5分間虚血・再灌流時には BRS が虚血前の約50%にまで低下したのに対し、halothane 麻酔下では約20%しか低下しなかったのである(表4)。また、この BRS 低下の程度の違いは、halothane 麻酔下では pentobarbital 麻酔下より重度の虚血を負荷しないと迷走神経系成分の障害が現れないためであることが明らかになった(図23)。

虚血前の BRS およびその迷走神経系成分の比率、虚血前の延髄背側部血流量、麻酔状態(大脳皮質脳波のパワースペクトル)などに関しては halothane 麻酔下と pentobarbital 麻酔下との間で差が認められなかったで、これらの因子は再灌流時の BRS 低下の程度の違いとは無関係であると思われる。一方、halothane 麻酔下では pentobarbital 麻酔下に比べて BRS 測定時の血圧と心拍数が有意に低く、再灌流時に延髄血流量の二次的減少が生じなかったで、これらの影響を考慮する必要があるかもしれない。しかし、虚血前後の BRS および脳血流量測定を halothane 麻酔下で行い、虚血処置を thiopental 麻酔下で行った実験(図24)では、BRS 測定時の血圧と心拍数が同様に低く、再灌流時に二次的血流減少が生じなかったにもかかわらず、pentobarbital 麻酔下と同様な BRS 低下が生じた。さらに、BRS 低下あるいは迷走神経系成分の障害の程度と延髄の虚血状態との関連性は、pentobarbital 麻酔下と同様であった。したがって、血圧、心拍数あるいは再灌流状態などの違いは BRS 低下の違いとは無関係であり、虚血処置中の麻酔薬の種類の違いがその一義的な原因であると考えられる。なお、第2章の実験で再灌流時に二次的な血流減少が生じなかったのは、おそらく halothane の脳血管拡張作用が強いことと関係があると思われる。事実、麻酔を halothane から thiopental に切り換えた際の延髄背側部血流量の変化を予試験で調べたところ、血流量が 36.9 ± 5.1 から 24.9 ± 2.4 ml/min/100g ($n=6$) に減少した。

以上のように halothane 麻酔下の方が pentobarbital 麻酔下に比べて脳の虚血性障害が生じにくいことを示した報告は、少なくとも脳虚血モデルを用いた実験では、今回が初めてのようである。このように従来の報告からの予想とは異なった結果が得られた原因としては次のような可能性が考えられる。まず、pentobarbital 麻酔下の方が虚血性障害

が軽度であることが示されているのは、中大脳動脈閉塞モデルのような局所脳虚血モデルであるのに対し、今回のモデルは一過性全脳虚血モデルであることを考慮する必要がある。このような全脳虚血モデルでは、前述のように、barbiturates の脳保護作用が必ずしも確立されていないのである。その原因の一つには、barbiturates による虚血部への血流増加 (inverse steal 現象) が全脳虚血モデルでは生じないことが関係しているのかもしれない。また、従来の報告の虚血時間が2時間以上であるのに対し、今回は5分間という短時間であることも何らかの影響を及ぼしているのかもしれない。さらに、従来の報告で脳の虚血性障害の指標として用いられていたのは、行動学的神経症状、大脳硬塞巣の大きさ、大脳皮質の乳酸量、pH あるいは細胞外 K^+ 濃度などであるのに対し、今回は、脳幹部の機能障害を圧受容体反射を指標にして評価しているので、観察している部位あるいはパラメーターの違いが従来の報告との不一致の大きな原因となっていると思われる。虚血性障害の程度は、一般に、その部位のエネルギー消費量に左右されると考えられるので、この脳幹部の代謝ないし機能に対する halothane と barbiturates の影響に関して何らかの違いがあるかどうかを考慮する必要があるが、少なくともネコの聴性脳幹誘発電位に関する実験では、脳幹部の電気生理学的活動に対する halothane 0.8~1% と pentobarbital 40 mg/kg i.p. の影響に差が認められていない⁶⁴⁾。また、今回の実験で虚血前の BRS には差がなかったことも、脳幹部の機能に対する抑制作用に差がないことを示唆している。この他、第1章で述べたように、一過性全脳虚血による圧受容体反射迷走神経系成分の機能障害に高位中枢からの修飾系の障害が関係している可能性があるので、このような圧受容体反射修飾系に対する麻酔薬の影響の違いも考慮する必要があるかもしれない。

最近、ラットの実験的脊髄損傷モデルを用いた実験で、halothane 麻酔下の方が pentobarbital あるいは N_2O 麻酔下に比べて障害が軽度であることを Salzman *et al.*⁶¹⁾ が報告している。この実験では、halothane 1.5 %, pentobarbital 62 mg/kg i.p. あるいは N_2O 70% 麻酔下で脊髄に物理的打撃 (10g の重りを 5~25cm の高さから落下させる) を与えた場合の脊髄神経障害の程度を比較しており、halothane 麻酔下では損傷直後の体性知覚誘発電位の回復が速く、1週間後の神経症状が他の麻酔薬の場合より良好であることが示されている。彼らは、 N_2O の opioid 遊離作用あるいは pentobarbital の phosphoinositides 代謝抑制作用が脊髄損傷の回復を妨げているのに対し、halothane にはこのように障害を悪化する作用がないために予後が良好となるという可能性を指摘し

ている。しかし、今回の実験における halothane と pentobarbital の差が、このような障害悪化作用の差によるのか、あるいは、脳保護作用の差によるのかという点に関しては今後の検討を待たねばならない。たとえば、虚血処置中に pentobarbital と halothane を併用すると BRS 低下が予防されるのか、あるいは、無麻酔下で虚血処置をした場合には再灌流時の BRS はどうなるのかというような点を検討すれば、この問題の解決の糸口が得られると思われる。また、両麻酔薬の影響の違いの原因がどうであれ、第 3 章で述べるような各種薬物の脳保護作用の検討には、比較的軽度の虚血負荷でも BRS 低下が生じる pentobarbital 麻酔下の方が適していると考えられる。

要 約

一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害に対する麻酔薬の影響を検討するために、一般に barbiturates と比べて脳保護作用が弱いと考えられている halothane 麻酔下で第1章の pentobarbital 麻酔下と同様な実験を行い、両者の比較を行った。

1. Halothane 0.75~1.25%麻酔下では、血圧と心拍数が pentobarbital 麻酔下に比べて有意に低かったが、虚血前の BRS、延髄背側部血流量あるいは大脳皮質脳波パワースペクトルには差が認められなかった。
2. Halothane 麻酔下で5分間虚血処置を行ったところ、再灌流60~210分にわたって BRS が約20%低下したが、その低下の程度は pentobarbital 麻酔下の場合(約50%)より軽度であった。また、halothane 麻酔下では、再灌流時の二次的な脳血流減少が生じなかった。さらに、再灌流時の大脳皮質脳波にも変化は認められなかった。
3. Halothane 麻酔下での BRS に対する自律神経系の関与の比率を調べたところ、pentobarbital 麻酔下と同様に、迷走神経系と交感神経系がほぼ1:1で関与していることが示された。
4. 再灌流時の BRS あるいはその迷走神経系成分の障害の程度と延髄背側部の虚血状態との関連性を検討したところ、halothane 麻酔下では pentobarbital 麻酔下より重度の虚血を負荷しないと、BRS 低下あるいは迷走神経系成分の障害が現れないことが明らかとなった。
5. 虚血前後の BRS および脳血流量の測定を halothane 麻酔下で行い、虚血処置を thiopental 麻酔下で行ったところ、再灌流時に pentobarbital 麻酔下の実験と同程度の BRS 低下(約50%)が生じた。一方、再灌流時の二次的な脳血流減少は生じなかった。また、この実験における再灌流時の BRS あるいは迷走神経系成分の障害の程度と延髄背側部の虚血状態との関連性は、pentobarbital 麻酔下で虚血処置を行った場合の結果と良く一致していた。
6. 以上の結果は、従来の報告からの予想に反して、halothane 麻酔下では barbiturates 麻酔下に比べて圧受容体反射機構の虚血性障害が現れにくいことを示している。従来の報告との不一致には、脳虚血モデルや脳機能障害の評価法の違いなどが関係していると思われる。今回のモデルにおける barbiturates と halothane の違いが、虚血性障害を悪化させる作用と抑制する作用のどちらの違いによるものであるかについては今後の検討が必要である。

第3章 圧受容体反射機構の虚血性障害に対する各種脳循環代謝改善薬の作用

社会の高齢化が進むにしたがって脳循環障害に基づく虚血性脳機能障害の有病率が増加してきており、虚血から脳を保護する薬剤への関心が高まっている。そのような薬剤の探索のために種々の実験モデルがすでに利用されているが、その際に脳障害の指標として用いられているのは主として行動学的、組織学的、電気生理学的あるいは生化学的パラメーターなどである。しかし、これらは生体位の脳に固有の生理的機能に対する保護作用を検討するのに必ずしも十分な指標であるとはいえない。これに対して、今回イヌ一過性全脳虚血モデルで見出された圧受容体反射機構の障害は、循環器系の神経性調節という脳固有の機能の虚血性障害であるので、この障害に対する薬物の作用を検討することによって、従来のモデルより臨床に近いレベルでの薬効評価ができるのではないかと考えられる。そこで、一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害に対する各種脳循環代謝改善薬の作用を治験段階の薬物も含めて検討し、薬効評価系としての応用を試みた。なお、本章で脳保護作用を検討した薬物の化学構造式は、図27の通りである。

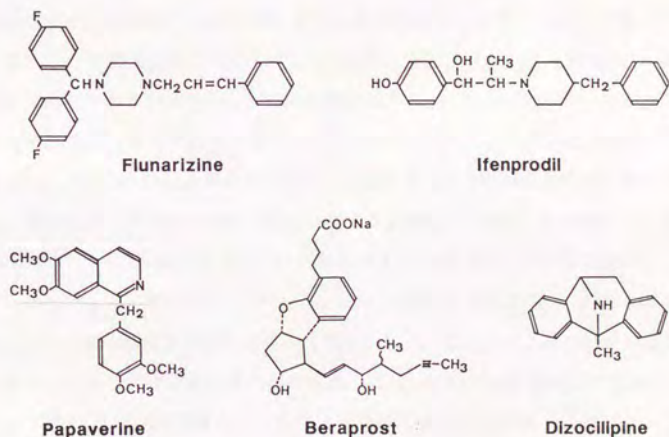


図27. 第3章で脳保護作用を検討した薬物の化学構造式。

実験方法

実験はすべて第1章の方法に準じて pentobarbital 麻酔下で行った。各薬物の調製および投与方法は次の通りである。なお、いずれの薬物も静脈内に投与した。

Flunarizine hydrochloride (協和酸酵) は、水に難溶性であるため、酒石酸 200 mg を蒸留水約 2 ml と dimethylacetamide 2 ml に溶かした溶媒に 100 mg を少しずつ溶かし、さらに蒸留水を加えて 10 mg/ml 溶液とした。投与は、虚血開始 5 分前に約 1 分間かけて行った。また、対照群には同量の溶媒を投与した。

Ifenprodil tartrate (フナイ) は、蒸留水に溶かして 10 mg/ml 溶液とした。投与は、虚血開始 5 分前に 0.1 ml/kg の割合で約 1 分間かけて行った。

Papaverine hydrochloride (Sigma) は、8.85 mg/ml/10kg の割合で生理食塩液に溶かし、虚血開始 5 分前から 0.566 ml/min の速度で 5 分間持続注入した。

Beraprost sodium (東レ) は、生理食塩液に溶かして 10 mg/ml 溶液として冷蔵保存し、用時に生理食塩液で希釈した。その希釈液を虚血開始 15 分前から 0.086 あるいは 0.172 ml/min の速度で持続注入し、0.1 μ g/kg/min の場合には虚血開始時あるいは再灌流 60～90 分の BRS 測定終了時に、1 μ g/kg/min の場合には虚血開始時に注入を停止した。対照群には、生理食塩液を 0.172 ml/min の速度で注入した。

Dizocilipine maleate (RBI) は、Michenfelder *et al.*⁶⁵⁾ の方法に準じて投与した。すなわち、生理食塩液に溶かして 1.25 mg/ml とし、まず 30 μ g/kg/min の割合で虚血開始 10 分前から 5 分間投与し、これに続き直ちに 1.25 μ g/kg/min の割合で虚血終了時まで持続注入 (注入速度 0.113 ml/min) した。なお、この方法で dizocilipine を投与すると、虚血中の血圧上昇が增強され、十分な虚血状態が得られなかったため、生理食塩液に溶解した trimethaphan camsylate (0.5 mg/ml/10kg) を 4.65～17.0 μ g/kg/min の割合で、約 15 分間持続注入し、平均血圧が 20～50 mmHg 下降して安定した時点で dizocilipine 投与を開始した。Trimethaphan の投与は虚血開始 3 分後に停止した。

Beraprost の血小板凝集阻害作用は、次のような方法で行った。Beraprost 投与前と投与開始後 10～12 分に大腿動脈筋枝から一定量の sodium citrate 存在下で血液 2.5～3 ml を採取し、150×g で 10 分間遠心して多血小板血漿を得た。さらに、1500×g で 5 分間遠心して乏血小板血漿を得た。血小板凝集計 (Sienco, DP-247E) を用い、ADP 10 μ M による凝集率を比濁法 (多血小板血漿の濁度を 100%，乏血小板血漿の濁度を 0% とする) で測定した。

実験結果

1. Flunarizine hydrochloride の作用

動脈血圧は, flunarizine 0.1 および 1 mg/kg i.v. により用量依存的に下降したが, 心拍数は変化しなかった。血圧の変化は一過性で, 虚血処置までに投与前のレベルに回復した。また, 溶媒 0.1 ml/kg i.v. は, 血圧と心拍数に影響を及ぼさなかった。

図28に示した通り, 溶媒投与群では, 5分間虚血後再灌流60~210分の BRS は, 虚血前の約50%にまで低下していた。これに対し, flunarizine 投与群では, どちらの用量の場合でも有意な BRS 低下が生じず, 再灌流時の BRS は溶媒投与群に比べて有意に高い値を示した。一方, 10分間虚血後の BRS 低下の程度は5分間虚血の場合と同程度であったが, これに対する flunarizine 1 mg/kg i.v. の予防作用は不完全であった。すなわち, flunarizine 投与群の再灌流時の BRS は, 無処置群に比べて有意に高かったものの, 虚血前の値との差(約20%低下)は有意であった。なお, 各群の虚血前の BRS には有意な差が認められなかった。また, 図には示していないが, sham 群に flunarizine

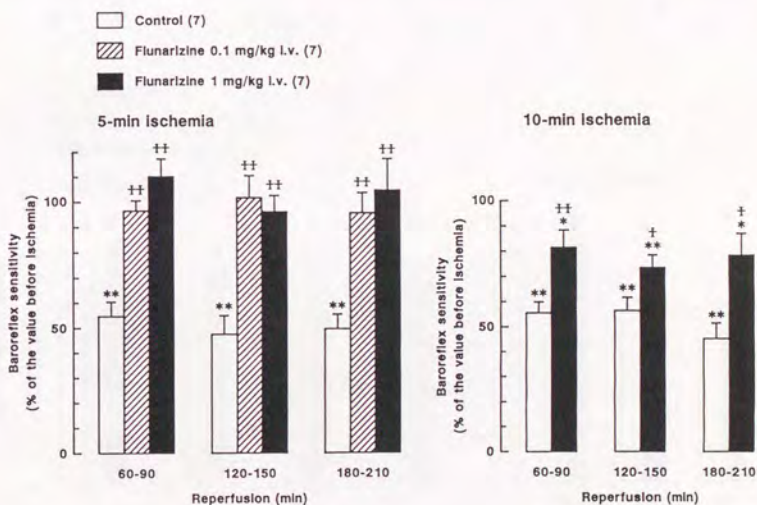


図28. 5分間(左図)および10分間(右図)虚血による BRS 低下に対する flunarizine の予防作用。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。† $P < 0.05$, †† $P < 0.01$: Control (左図では溶媒投与群, 右図では無処置群) との間に有意差があることを示す。

1 mg/kg i.v. を投与した場合には、再灌流60～210分に相当する時期の BRS に有意な変化が生じなかった。

溶媒投与群では、図29に示した通り、5分間虚血後再灌流30分以降に大脳皮質血流量の有意な減少が生じた。これに対し、flunarizine 0.1 mg/kg i.v. 投与群では、再灌流30分の血流量は虚血前と差がなく、60分以降に有意な減少が認められた。また、1 mg/kg i.v. 投与群では、再灌流180分の血流量のみが虚血前より有意に低い値を示した。一方、10分間虚血の場合には、再灌流60分以降に大脳皮質血流量の有意な減少が生じたが、これに対し、flunarizine 1 mg/kg i.v. は全く影響を及ぼさなかった。なお、各群の虚血前の大脳皮質血流量には有意な差は認められなかった。また、図には示していないが、sham 群に flunarizine 1 mg/kg i.v. を投与した場合には、再灌流30～180分に相当する時期の大脳皮質血流量に有意な変化が生じなかった。

Flunarizine 1 mg/kg i.v. あるいは溶媒投与群において、5分間虚血後再灌流時の BRS に対する迷走神経系成分の関与の比率を比較検討するために、再灌流180分に BRS を測定した後に、両側頸部迷走神経切断 (vagotomy) による BRS の変化率を調べた。表6に示した通り、溶媒投与群では vagotomy により BRS が変化しなかったの

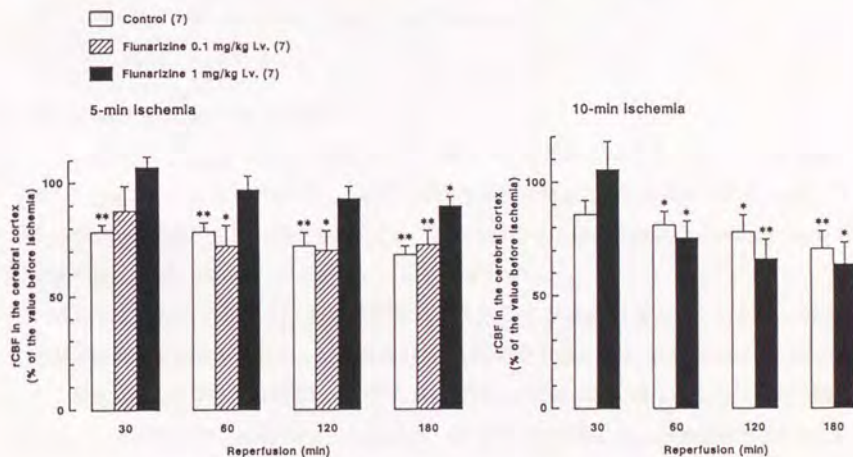


図29. 5分間(左図)および10分間(右図)虚血後再灌流時の大脳皮質血流量(rCBF)の二次的減少に対する flunarizine の予防作用。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

に対し, flunarizine 投与群では BRS が約50%低下した。この結果は, 5分間虚血による迷走神経系成分の障害を flunarizine が完全に予防したことを示している。

表 6. 5分間虚血の5分前に flunarizine 1 mg/kg i.v. あるいは溶媒 0.1ml/kg i.v. を投与した動物の再灌流時 BRS に対する両側頸部迷走神経切断 (vagotomy) の影響。

BRS (msec/mmHg)	Before ischemia	Reperfusion period		Ratio ^{a)}
		Before vagotomy	After vagotomy	
Flunarizine	2.27 ± 0.46 (100)	2.47 ± 0.53 ^{††} (106.7 ± 14.6)	0.95 ± 0.20 [*] (48.6 ± 10.1 ^{**})	0.49 ± 0.11 [†]
Solvent	1.99 ± 0.27 (100)	0.89 ± 0.12 ^{**} (46.7 ± 5.6 ^{**})	0.86 ± 0.14 ^{**} (48.5 ± 10.6 ^{**})	0.99 ± 0.16

Data from 6 animals in each group are indicated as mean ± S.E.M. The values in parentheses indicate the percent ratio to the corresponding pre-ischemic value.

^{a)}Ratio of BRS after to BRS before vagotomy during the reperfusion period.

^{*}P<0.05, ^{**}P<0.01: significantly different from the value before ischemia.

[†]P<0.05, ^{††}P<0.01: significantly different from solvent.

2. Ifenprodil tartrate の作用

Ifenprodil 1 mg/kg i.v. は動脈血圧を下降させ, 心拍数を増加させた。5分間虚血群と sham 群のどちらにおいても, 血圧下降は投与3時間後でも認められ (約20 mmHg), その時点で平均血圧を15 mmHg 上昇させるには投与前の約2倍の用量の phenylephrineが必要であったが, 心拍数は投与前のレベルに回復していた。

図30の左図に示した通り, 無処置群では, 5分間虚血後の再灌流60~210分に BRS の有意な低下が認められたが, ifenprodil 投与群ではそのような BRS 低下が全く生じず, 再灌流時のいずれの時間帯においても無処置群より有意に高い値を示した。また, 図には示していないが, sham 群に ifenprodil を投与した場合には, 再灌流60~210分に相当する時間帯の BRS に有意な変化は認められなかった。

無処置群では, 図30の右図に示した通り, 5分間虚血後の再灌流30分以降に大脳皮質血流量の有意な減少が生じたが, ifenprodil はこの二次的血流減少の発現に影響を及

ばさなかった。また、図には示していないが、sham 群に ifenprodil を投与した場合に
は、再灌流30~180分に相当する時間帯の大脳皮質血流量に有意な変化は認められなかつ
た。

5 分間虚血後再灌流時の BRS に対する vagotomy の影響を ifenprodil 1 mg/kg i.v.
投与群で調べたところ、BRS は 2.11 ± 0.17 から 1.23 ± 0.23 msec/mmHg ($n=6$) に
低下した。この低下率 ($43.4 \pm 7.6\%$) は sham 群の場合と同程度であったので、
ifenprodil は 5 分間虚血による BRS 迷走神経系成分の障害を完全に予防したと考えら
れる。

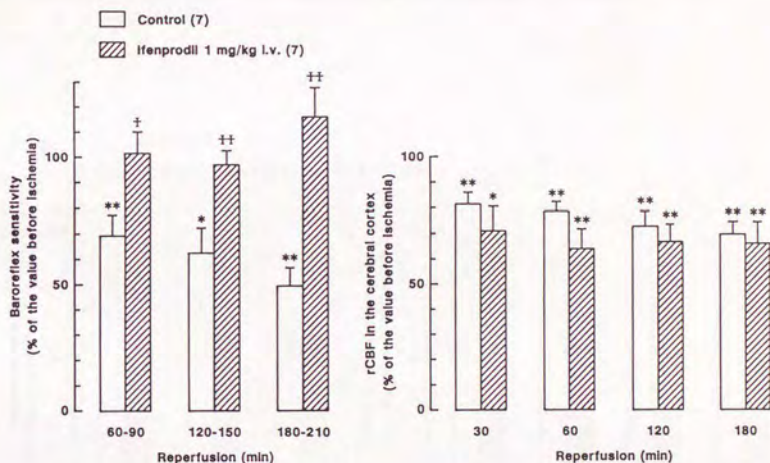


図30. 5分間虚血後再灌流時の BRS 低下(左図)および大脳皮質血流量の二
次的減少(右図)に対する ifenprodil の予防作用。* $P<0.05$, ** $P<$
 0.01 : 虚血前の値との間に有意差があることを示す。† $P<0.05$, †† $P<$
 0.01 : Control (無処置群)との間に有意差があることを示す。

3. Papaverine hydrochloride の作用

5分間虚血直前の5分間に papaverine 0.5 mg/kg/min i.v. を投与し、無処置群と比較した。Papaverine は血圧を下降させ、心拍数を増加させた。また、予試験によれば、この用量の papaverine による椎骨動脈血流量の増加は、flunarizine 0.1 mg/kg i.v. による増加と 1 mg/kg i.v. による増加の中間程度であった。

図31の左図に示した通り、papaverine 投与群では、再灌流60～210分に BRS の有意な低下が生じ、その低下の程度は無処置群と同程度であった。また、無処置群では、再灌流30～180分にわたって大脳皮質血流量の有意な減少が認められたが、papaverine 投与群では、再灌流120分以降の血流量のみが虚血前より有意に低い値を示した（図31の右図）。以上の結果は、papaverine は5分間虚血後再灌流時の脳血流量の二次的減少の発現を一部予防するが、BRS 低下には影響を及ぼさないことを示している。

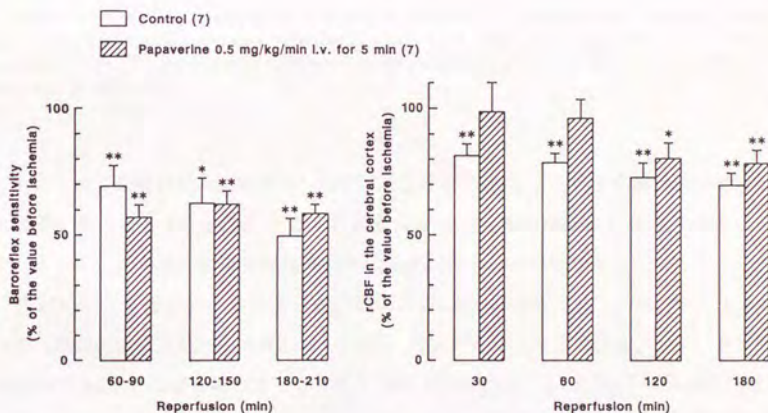


図31. 5分間虚血後再灌流時の BRS 低下（左図）および大脳皮質血流量の二次的減少（右図）に対する papaverine の予防作用。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。

4. Beraprost sodium の作用

Beraprost 0.1 および 1 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. を15分間持続注入したところ、表7に示した通り、動脈血圧は、収縮期、平均、弛緩期のいずれも同程度に下降し、その血圧下降高は用量依存的であった。この際の心拍数変化は二相性で、0.1 $\mu\text{g/kg/min}$ では主として頻脈が生じたが、1 $\mu\text{g/kg/min}$ では初期の頻脈に続いて顕著な徐脈が持続的に生じた。また、予試験によれば、これらの作用は持続注入停止後30分以内に消失した。

表7. 動脈血圧および心拍数に対する beraprost の作用。

Dose ($\mu\text{g/kg/min}$)	Blood pressure (mmHg)						Heart rate (beats/min)	
	Systolic		Mean		Diastolic			
	Before	Max.change ^{a)}	Before	Max.change ^{a)}	Before	Max.change ^{a)}	Before	Max.change ^{a)}
0.1	176 \pm 9	-12 \pm 4	149 \pm 7	-13 \pm 1	132 \pm 8	-14 \pm 2	152 \pm 7	5 \pm 2 -1 \pm 0.5
1	163 \pm 10	-59 \pm 6**	136 \pm 13	-67 \pm 8**	124 \pm 12	-71 \pm 7**	143 \pm 4	11 \pm 2 -20 \pm 3**

Data from 6 animals in each group are indicated as mean \pm S.E.M. ^{a)}Maximum change during 15 min infusion of beraprost. ** $P < 0.01$: significantly different from the corresponding value in the animals treated with the lower dose of beraprost.

Beraprost の持続注入開始後10~12分に採血して ADP による血小板凝集能を測定したところ、表8に示した通り、どちらの用量の場合も血小板凝集能が有意に低下していた。しかし、両用量の血小板凝集抑制率には差が認められなかった。

図32に示した通り、生理食塩液投与群および beraprost 0.1 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. 投与群（虚血開始15分前から再灌流60~90分の BRS 測定終了時まで投与）では、5分間虚血後の再灌流60~210分にわたって有意な BRS 低下が生じた。また、両群における BRS 低下の程度には差が認められなかった。一方、beraprost 1 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. 投与群（虚血開始直前の15分間のみ投与）では、再灌流時に BRS の低下が生じず、いずれの時間帯の BRS も生理食塩液投与群に比べて有意に高い値を示した。なお、各群の虚血前の BRS には有意な差は認められなかった。

表 8. ADP による血小板凝集に対する beraprost の作用。

Dose ($\mu\text{g/kg/min}$)	Platelet aggregation (%)		
	Before infusion	During infusion ^{a)}	% inhibition
0.1	63.6 \pm 4.3	26.1 \pm 3.7**	59.6 \pm 3.6
1	64.7 \pm 2.6	18.1 \pm 4.5**	72.7 \pm 6.0

Data from 6 animals in each group are indicated as mean \pm S.E.M.

^{a)}platelet aggregation of blood obtained at 10 to 12 min of infusion. ** $P < 0.01$: significantly different from the value before infusion.

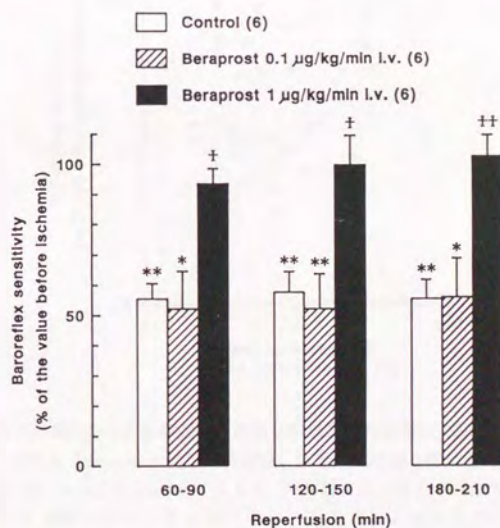


図 32. 5 分間虚血による BRS 低下に対する beraprost の予防作用。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。† $P < 0.05$, †† $P < 0.01$: Control (生理食塩液投与群) との間に有意差があることを示す。

図33に示した通り、生理食塩液投与群では、5分間虚血後再灌流時のBRSは延髄背側部の虚血状態と良く相関しており、虚血時平均残存血流量が少ないほどBRS低下が著しかった。Beraprost $1 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. 投与群においても再灌流時のBRSと延髄背側部の虚血時残存血流量との間に有意な直線相関が認められたが、相関直線の傾きは、生理食塩液投与群に比べて有意に緩やかであった。この結果は、beraprost投与群では生理食塩液投与群より重度の虚血を負荷しないとBRS低下が生じないことを示している。また、生理食塩液投与群およびberaprost $1 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. 投与群の虚血時平均残存血流量は、それぞれ $43.6 \pm 6.8\%$ および $39.9 \pm 5.7\%$ ($n=12$) で、両者の間に有意な差は認められなかった。さらに、図には示していないが、beraprost $0.1 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. も虚血時平均残存血流量に影響を及ぼさなかった。

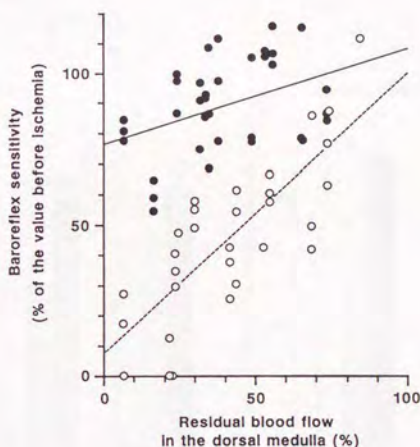


図33. 延髄背側部の5分間虚血時平均残存血流量と再灌流時BRSとの関連性に対するberaprost前投与の影響。生理食塩液投与群12例(○)およびberaprost $1 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. 投与群12例(●)の再灌流60~210分のBRSについてまとめている。破線 ($Y=7.52+0.93X$, $n=30$, $r=0.775$, $P<0.001$) および実線 ($Y=76.60+0.32X$, $n=35$, $r=0.395$, $P<0.05$) はそれぞれ○と●に関する相関直線を示す。両者の傾きの差は、推計学的に有意 ($P<0.005$) であった。

5分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少に及ぼす beraprost 前投与の影響を図34にまとめてある。生理食塩液投与群および beraprost 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ i.v. 投与群では、再灌流60~180分にわたって延髄背側部と大脳皮質の血流量が有意に減少した。両群における脳血流減少の程度はどちらの部位でも同程度であった。一方、beraprost 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ i.v. 投与群では、延髄背側部と大脳皮質のどちらにおいても再灌流時に二次的脳血流減少が生じなかった。また、再灌流時のいずれの時間帯においても beraprost 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ i.v. 投与群の脳血流量の方が生理食塩液投与群に比べて有意に高い値を示した。なお、各群の虚血前の脳血流量には有意な差が認められなかった。これらの結果は、5分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少を beraprost 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ i.v. が完全に予防したことを示している。

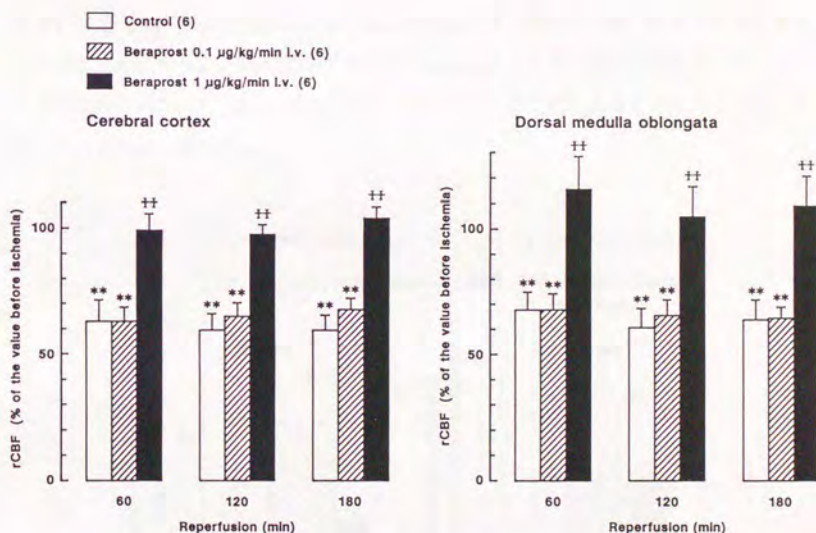


図34. 5分間虚血後再灌流時の大脳皮質(左図)および延髄背側部(右図)血流量の二次的減少に対する beraprost の予防作用。^{**} $P < 0.01$: 虚血前の値との間に有意差があることを示す。⁺⁺ $P < 0.01$: Control(生理食塩液投与群)との間に有意差があることを示す。

5. Dizocilipine maleateの作用

Dizocilipine 30 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. を5分間の sham 処置の10分前から5分間投与し、これに続いて 1.25 $\mu\text{g/kg/min}$ i.v. を sham 処置終了時まで持続注入したところ、図35の左図に示した通り、再灌流60~210分に相当する時期に BRS の有意な低下 (45~50%程度の低下) が生じた。また、これに続いて vagotomy を行うと、BRS がさらに低下した。この vagotomy による BRS の低下率は、 $49.2 \pm 2.3\%$ ($n=6$) で、無処置の sham 群の場合と同程度であった。これらの結果は、今回の用量の dizocilipine は圧受容体反射を投与後3時間以上にわたって有意に抑制するが、BRS の迷走神経系成分と交感神経系成分に対する抑制の程度は同程度で、これらの関与の比率には影響を与えないことを示している。

一方、同用量の dizocilipine を投与した5分間虚血群では、図35の右図に示した通り、再灌流60~210分にわたって sham 群の場合より著しい BRS 低下 (約60%の低下) が生じた。さらに、再灌流時の BRS は vagotomy の影響を全く受けなかった。これらの結果は、dizocilipine が5分間虚血による BRS 迷走神経系成分の障害を予防しなかったことを示している。

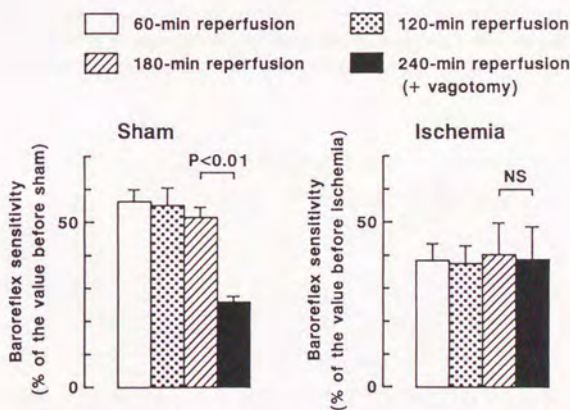


図35. Dizocilipine を前投与した sham 群 (左図) および5分間虚血群 (右図) における BRS の経時変化の比較。各6例の結果をまとめてある。

Dizocilipine を前投与した sham 群および 5 分間虚血群における延髄背側部血流量の経時変化は表 9 に示した通りであった。すなわち、dizocilipine は、sham 群の血流量には投与後 3 時間にわたって影響を及ぼさなかったが、虚血群における再灌流時の二次的脳血流減少の発現を予防した。なお、sham 群を用いた予試験によれば、dizocilipine 投与時に併用した trimethaphan は、再灌流時 60~210 分に相当する時期の BRS および延髄背側部血流量に影響を及ぼさなかった。

表 9. Dizocilipine を前投与した sham 群および 5 分間虚血群における延髄背側部血流量の経時変化の比較。

rCBF (ml/min/100g)	Before	Reperfusion (min)		
		60	120	180
Sham	37.7 \pm 6.2	37.9 \pm 7.0	37.9 \pm 5.5	39.7 \pm 7.5
	(100)	(101.2 \pm 9.1)	(101.6 \pm 6.5)	(104.1 \pm 8.7)
Ischemia	36.5 \pm 3.8	34.4 \pm 5.5	33.3 \pm 4.0	35.7 \pm 4.8
	(100)	(92.4 \pm 5.0)	(90.8 \pm 4.2)	(96.9 \pm 7.4)

Data from 6 animals in each group are indicated as mean \pm S.E.M. The values in parentheses indicate the percent ratio to the value before 5-min sham or ischemia.

考 察

現在臨床で行われている脳循環障害の治療は、発症直後の急性期と1ヶ月以上経過した慢性期とでは内容が大きく異なっている。急性期の治療の中心となっているのは、glycerol などによる抗脳浮腫療法で、この他にある種の脳代謝改善薬（脳循環改善薬を兼ねない補酵素や中間代謝物など）が補助的に使われたり、urokinase や tissue plasminogen activator による線溶療法、heparin や warfarin などによる抗凝固療法あるいは瀉血と dextran 40 による血液希釈療法などが病態に応じて試みられている。これらに対して、脳循環改善薬は急性期には禁忌とされており、脳代謝改善薬とともに慢性期の治療に用いられている。その理由としては、急性期には、1) 正常部の脳血管の拡張による脳内盗血 (steal) 現象が生じて虚血を増悪する、2) 脳浮腫および頭蓋内圧上昇を助長する、3) 全身血圧を下降させる場合には、自動調節能が低下している障害部位の血流量が減少する、4) 出血性障害の場合には出血量を増大するなどの可能性が考えられている。しかし最近では、脳循環改善薬の主流である脳血管拡張薬の中には、steal 現象や血圧下降を生じないもの、血液性状改善作用（抗血小板作用、赤血球変形能改善作用など）や抗脳浮腫作用を併せ持つもの、あるいは遅発性神経細胞壊死を予防するものなどがあることが明らかになってきており、これらの急性期での使用が見直されつつある。

脳組織は、ひとたび障害が生じてしまうとそれを完全に治療・再生することは困難で、障害を免れた部分を活性化して失われた機能を補償することが慢性期の治療の主体となっている。したがって、急性期の障害をいかに最小限に食い止めるかが脳循環障害の予後を左右していると考えられ、急性期に脳を虚血から保護する薬物への関心が高まっている。そこで、第3章では、一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害を指標として、薬理学的特徴の異なる5種の薬物の急性期脳保護作用を検討し、薬効評価系としての応用を試みた。

Flunarizine の作用

Flunarizine (Flunaril®) は Ca 拮抗薬 (WHO の分類の第IV群⁶⁶⁾) で、血管拡張作用は脳血管選択性が高く⁶⁷⁾、赤血球変形能改善作用⁶⁸⁾ を併せ持っている。また、種々の非生理的条件下で細胞を保護する作用が知られており、この作用には、 Ca^{2+} 過剰負荷抑制作用⁶⁹⁾、free radical 捕捉あるいは脂質過酸化抑制作用⁷⁰⁾ などが関与していると考えられている。

今回のモデルでは、flunarizine 0.1 および 1 mg/kg i.v. を虚血5分前に投与すると

再灌流時の BRS 低下が予防されたが、その予防作用は虚血時間が短いほど顕著であった。Flunarizine を前投与した動物では、再灌流時に vagotomy すると BRS が sham 群と同程度に低下したので、BRS 低下の予防は迷走神経系成分を虚血から保護した結果であり、交感神経系成分を増強して BRS 低下を補償した結果ではないと考えられる。また、この実験では、虚血時の残存血流量に及ぼす flunarizine 前投与の影響については検討していないが、虚血処置による大脳皮質脳波の消失率には影響がなかったので、虚血状態には影響を及ぼしていなかったと思われる。さらに、今回用いた用量は、イヌの一過性全脳虚血モデルで形態学的⁷¹⁾、神経学的⁷²⁾、電気生理学的^{72, 73)}あるいは生化学的⁷²⁾パラメーターの異常を予防すると報告されている用量とほぼ同程度であった。今回の結果は、これらに加えて、脳固有の生理的機能レベルでも flunarizine が脳を虚血から保護していることを示している。

Flunarizine 投与群では、5 分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少の発現が遅延した。この結果はイヌ一過性全脳虚血モデルで報告されている再灌流状態の改善作用^{72, 74, 75)}と一致している。Flunarizine には adenosine 取り込み阻害作用があり⁷⁶⁾、低酸素負荷後の反応性充血を増強することが示されているので⁷⁷⁾、今回の実験においても、虚血時に放出された adenosine の取り込みが阻害されて再灌流直後の一過性の血流増加反応が増強されたために、二次的脳血流減少の発現が見かけ上遅れたのかもしれない。しかし、いずれにしてもこの再灌流状態の改善作用は BRS 低下の予防には寄与していないと思われる。というのは、再灌流状態と BRS 低下との間には相関性がないことが第 1 章で示されており (p. 21, 図 15)、また、flunarizine 0.1 mg/kg i.v. は再灌流時の BRS 測定時の血流量には影響を及ぼさずに BRS 低下を予防したからである。後者の結果は Deshpande and Wieloch⁷⁸⁾ の報告と良く一致している。彼らはラット一過性全脳虚血モデルを用い、flunarizine が再灌流状態を改善せずに組織学的障害を予防することを示しているのである。したがって、今回認められた flunarizine の脳保護作用はその脳循環に対する作用とは独立した作用であり、脂溶性が高い flunarizine が血液-脳関門を容易に通過して脳神経系へ移行し、虚血が引き金となって生じる細胞内への Ca^{2+} 過剰流入あるいは脂質過酸化などを抑制した結果であると思われる。また、adenosine には脳保護作用があると考えられているので⁷⁹⁾、虚血により放出される adenosine の取り込みを阻害する作用が flunarizine の脳保護作用に寄与している可能性もある。

ifenprodil の作用

Ifenprodil (Cerocril®) は flunarizine と同様に血管拡張作用^{80, 81)}と赤血球変形能改善作用⁸²⁾を有している。しかし、血管拡張作用は α 受容体遮断作用と直接作用^{80, 83)}によるもので、さらに、ミトコンドリアの呼吸を賦活する作用⁸⁴⁾を併せ持っている点が flunarizine と異なっている。また、血小板凝集能抑制作用も示されている⁸⁵⁾。したがって、ifenprodil は脳循環改善作用と脳代謝改善作用を併せ持つ薬物に分類されている。

今回の実験では、ifenprodil 1 mg/kg i.v. は5分間虚血による BRS 低下を完全に予防したが、再灌流時の二次的血流減少には影響を及ぼさなかった。再灌流時の BRS は vagotomy により sham 群と同程度に低下したので、BRS 低下の予防は、flunarizine の場合と同様に、迷走神経系成分を虚血から保護した結果であり、その保護効果は脳循環に対する作用とは無関係であると考えられる。Ifenprodil の脳保護作用に関しては、高血圧自然発症ラットの両側総頸動脈結紮による脳虚血モデルにおいて、1 mg/kg i.p. (総頸動脈結紮1時間後に投与)が、lactate/pyruvate 比などの生化学的パラメーターを改善し、生存率を増加させることが報告されているが⁸⁶⁾、今回の結果は生理的機能レベルでも脳を虚血から保護しうることを示している。これらの脳保護作用の一部には、前述のようなミトコンドリア呼吸の賦活作用が関与しているのかもしれない。また最近、Gotti *et al.*⁸⁷⁾ はネコの中大脳動脈閉塞モデルで ifenprodil (1~3 mg/kg i.v. を閉塞5分後から3時間かけて投与)が硬塞巣を縮小することを明らかにし、その作用に興奮性アミノ酸 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体系の遮断作用が関与していることを示唆している。しかし、今回のモデルのような全脳虚血モデルでは一般に、中大脳動脈閉塞のような局所性脳虚血モデルに比べて NMDA 拮抗薬の脳保護作用が現れにくく^{85, 88, 89)}、今回のモデルでも後述のように NMDA 拮抗薬である dizocilpine は5分間虚血による BRS 迷走神経系成分の障害を予防していない。したがって、今回のモデルにおける ifenprodil の脳保護作用に NMDA 受容体系の遮断作用が一義的に関与しているとは考えられない。一方、Gustafson *et al.*⁹⁰⁾ はラット前脳虚血モデルにおける神経組織障害を α_2 受容体遮断薬の idazoxan が軽減することを示しているので、ifenprodil の α 受容体遮断作用が単独で、あるいは NMDA 受容体系遮断作用と協力し合って、脳保護作用に寄与している可能性が考えられ、今後の課題として興味深い点である。

Papaverine の作用

Papaverine は phosphodiesterase 阻害作用により平滑筋を弛緩させ、血管拡張作用には脳血管選択性がない。Papaverine の血管拡張作用の持続時間は flunarizine や ifenprodil に比べて短いの、今回の実験では虚血直前に 0.5 mg/kg/min i.v. を 5 分間持続注入したところ、5 分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少の発現が遅延したが、BRS 低下には影響がなかった。この結果は再灌流状態を良好に保っただけでは BRS 低下を軽減できないことを示している。Papaverine には flunarizine と同様な adenosine 取り込み阻害作用があるので⁹¹⁾、再灌流時の二次的脳血流減少発現の遅延にはこれが関与しているかもしれない。しかし、papaverine の中枢抑制作用は比較的高用量でしか現れないので、今回の用量では血液-脳関門通過量が不十分で、脳細胞レベルでの adenosine 取り込み阻害による脳保護効果が得られなかったのではないと思われる。

Beraprost の作用

Beraprost は化学的に安定で経口投与可能な PGI₂ 誘導体で、血小板凝集阻害作用、血小板凝集解離作用、血小板粘着阻害作用および血管拡張作用などが示されており⁹²⁻⁹⁵⁾、抗血小板薬として臨床試験中である。PGI₂ およびその誘導体にはこの他に細胞保護作用があり、血小板の保存⁹⁶⁾あるいは虚血や低酸素状態から組織を保護する作用⁹⁷⁻¹⁰⁵⁾に寄与していると考えられている。今回のモデルでは beraprost 1 μg/kg/min i.v. の 15 分間前投与により、5 分間虚血後再灌流時の BRS 低下が完全に予防され、beraprost が PGI₂ および従来の PGI₂ 誘導体と同様に脳保護作用を示すことが確かめられた。

脳卒中患者^{106, 107)}や実験的脳虚血モデル^{108, 109)}では、血小板の活性化が促進されていることが示されている。血小板が活性化されて凝集すると、微小血栓形成¹¹⁰⁾、血小板から放出された生理活性物質による血管収縮¹¹¹⁾や血管透過性の増大による浮腫形成¹¹²⁾などが生じ、循環障害の原因となる。したがって、PGI₂ やその誘導体による血小板凝集の阻害は、虚血後の循環障害や機能障害の予防に好都合であると考えられる。しかし今回の実験では、beraprost の抗血小板凝集作用と脳保護作用との間には相関性が認められなかった。すなわち、今回用いた 2 用量は同程度に血小板凝集を阻害したにもかかわらず、高用量 (1 μg/kg/min i.v.) のみが BRS 低下を予防したのである。今回の低用量 (0.1 μg/kg/min i.v.) での結果は、PGI₂ を用いた Hallenbeck and Furlow¹¹³⁾および Van den Kerckhoff *et al.*¹¹⁴⁾の報告と一致しており、少なくとも今回のモデルでは、beraprost による圧受容体反射系の保護に抗血小板凝集作用は関与していないことを示唆

している。

Beraprost は *in vitro* と *in vivo* のどちらにおいても PGI_2 様の血管拡張を生じることが示されているので^{92, 95)}、そのような血管拡張作用により虚血直前あるいは虚血時の脳血流量が増加して虚血性障害が軽減されたという可能性を考慮する必要がある。しかし、今回の実験では逆に、延髄背側部および大脳皮質の血流量は $1 \mu\text{g/kg/min i.v.}$ によりそれぞれ $19.3 \pm 4.3\%$ および $11.6 \pm 3.5\%$ (各12例) 減少した。これはおそらく、血圧が著しく下降したためであると思われる。また、この際に脳波には変化が現れなかったため、脳血流減少による脳機能の抑制 (すなわち、エネルギー消費量の減少) が脳保護に寄与していた可能性はないと思われる。この点に関して、Masuda *et al.*¹⁰³⁾ もマウスへの低酸素負荷時の PGI_2 の脳保護作用が中枢抑制作用によるものではないことを示唆している。さらに、虚血時の平均残存血流量は beraprost 前投与の影響を受けなかったため、血管拡張作用により側副血行路を介する血液供給が促進されて虚血状態が軽減されたために脳保護作用が現れたという説明は成り立たない。

Beraprost $1 \mu\text{g/kg/min i.v.}$ 投与群では、再灌流時の二次的脳血流減少が生じなかった。予試験によれば、循環器系および血小板に対する beraprost の作用は持続注入停止後30分以内に消失するので、beraprost が再灌流60~180分における二次的脳血流減少を直接阻害しているとは考えられない。おそらく、二次的脳血流減少に関与しているとされている内皮細胞、血管周囲グリア細胞、血球成分など¹¹⁵⁾の虚血性障害が beraprost の細胞保護作用により予防された結果であると思われる。しかしいずれにしろ、前述の通り、このような再灌流状態の改善が BRS 低下の予防に寄与しているとは考えられない。

以上今回の結果は、beraprost による BRS 低下の予防が、その抗血小板凝集作用および血管拡張作用とは独立した作用であることを示唆している。このような beraprost の脳保護作用には、おそらく、心筋虚血^{97, 99)}、肝臓への低酸素負荷⁹⁸⁾ あるいは出血性ショック¹¹⁶⁾ などに対する PGI_2 とその誘導体の保護作用の場合と同様な機序 (特に、細胞膜の安定化あるいは細胞障害性の酵素的放出阻害などによる細胞保護作用) が関与しているのではないと思われる。

Dizocilipine の作用

Dizocilipine (MK-801) は非競合的 NMDA 拮抗薬で、興奮性アミノ酸 NMDA 受容体と共役したイオンチャンネルを遮断する¹¹⁷⁾。興奮性アミノ酸は中枢神経系の神経伝達物質の一つとして重要な生理的役割を果たしているとともに、神経毒として種々の脳神経疾患に

関与していると考えられている^{118, 119)}。

前者の生理的機能の一つとしては圧受容体反射中枢路内での役割があり、孤束核、疑核、延髄腹外側部などで興奮性アミノ酸が心機能の反射性調節に関与していることが示されている^{45, 120, 121)}。圧受容体反射中枢路内の興奮性アミノ酸の種類あるいは受容体サブタイプの種類に関してはまだ完全には解明されていないが、今回の実験では dizocilipine が sham 群の BRS を投与後 3 時間以上にわたって有意に低下させたので、Gordon⁴⁵⁾ が報告しているように少なくとも一部には NMDA 受容体が関与していると思われる。また、vagotomy による BRS 低下率は dizocilipine の影響を受けなかったので、圧受容体反射の迷走神経系成分と交感神経系成分への NMDA 受容体の関与の程度は同程度であると考えられる。Perkins *et al.*¹²²⁾ は、今回用いた用量の dizocilipine が中枢作用により無麻酔犬の脳血流量を増加させることを示しているが、今回の実験では脳血流量に対する作用は認められなかった。Halothane 麻酔下の動物では dizocilipine 0.5 mg/kg i. v. が脳血流量に影響を及ぼさないか¹²³⁾、あるいは逆に脳血流量を減少させる¹²⁴⁾ ことが示されているので、Perkins *et al.*¹²²⁾ の結果と今回の結果との違いの原因はおそらく麻酔薬にあると思われる。

一方、興奮性アミノ酸の病態生理学的役割の一つとしては、脳の虚血性障害との関連性が特に最近注目されている。すなわち、虚血時に神経終末から過剰に放出された興奮性アミノ酸が NMDA 受容体を介して神経細胞内への Na^+ と Ca^{2+} の過剰流入を生じて細胞障害の引き金となると考えられている。そこで、これまですでに種々の実験的脳虚血モデルを用いて NMDA 拮抗薬による虚血性障害の予防あるいは治療の試みがなされており、中大脳動脈閉塞のような局所性脳虚血モデルでの有効性が示されているが、全脳虚血モデルでの有効性は必ずしも確立されていない¹²⁵⁾。今回の実験では、dizocilipine を投与した 5 分間虚血群の再灌流時 BRS が vagotomy の影響を受けなかったことから、迷走神経系成分の虚血性障害を dizocilipine が予防しないことが示された。この結果は、今回のモデルにおける圧受容体反射機構の虚血性障害には NMDA 受容体を介した経路以外の障害機序も関与していることを示唆している。たとえば、NMDA 受容体以外の興奮性アミノ酸受容体サブタイプ (kainate および quisqualate 受容体) やその他の神経伝達物質 (nor-epinephrine, dopamine, serotonin など) の関与の可能性が考えられ、今後の課題として残されている。一方、再灌流時の二次的脳血流減少の発現は dizocilipine により予防されたが、前述のように、sham 群では脳血流量に対する dizocilipine の影響が認めら

れていないので、この再灌流障害の予防は dizocilipine の直接的な作用によるものではない。最近、Stevens and Yaksh¹²³⁾ は、ネコ一過性全脳虚血モデルを用いた実験において、再灌流時の脳脊髄液中 thromboxane A_2/PGI_2 比の上昇を dizocilipine が抑制して再灌流状態を良好に保つことを示しているので、今回認められた二次的血流減少の予防にもこのような作用が寄与しているのかもしれない。

以上第3章の実験により、一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害を指標として、脳循環作用とは独立した脳保護作用を有する薬物の薬効評価を行えることが明らかとなった。前臨床段階での実験的薬効評価系の有用性は、臨床での有効性をいかに正確に予測できるかという点にあるが、従来の脳虚血モデルは必ずしもそういう条件を十分に満たしているとはいえない。たとえば、前臨床試験で多用されている脳虚血モデルで過去10年間に有用であると判定された25種の薬物がいずれも臨床で十分な成績をあげていないというように実情のようである¹²⁶⁾。したがって今回のモデルの場合も、臨床での成果の予測性という意味での有用性に関しては、今後さらに多種多様な薬物にわたって薬効評価を積み重ねる必要があると思われる。また、各薬物の作用機序の相違点と薬効評価結果との関連性を検討することにより圧受容体反射機構の虚血性障害の機序がさらに明らかになることが期待される。

要 約

一過性全脳虚血による圧受容体反射機構の障害および再灌流時の二次的脳血流減少に対する各種脳循環代謝改善薬前投与の効果を検討し、今回の実験モデルの薬効評価系としての応用を試みた。実験はすべて第1章の方法に準じて pentobarbital 麻酔下で行い、以下の結果を得た(表10)。

1. Ca 拮抗薬である flunarizine 0.1 あるいは 1 mg/kg i.v. を 5 分間虚血の 5 分前に投与したところ、再灌流時の BRS 低下が完全に予防された。BRS に対する vagotomy の影響から判断して、この BRS 低下の予防は迷走神経系成分を虚血から保護した結果であると考えられた。また、1 mg/kg i.v. は 10 分間虚血による BRS 低下も一部予防した。Flunarizine 投与群では、5 分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少の発現が遅延したが、再灌流状態と BRS 低下の予防との間には関連性がなかった。一方、10 分間虚血後の再灌流状態は flunarizine の影響を受けなかった。したがって、今回のモデルにおける flunarizine の脳保護作用は脳循環に対する作用とは独立した作用であると思われる。その作用機序としては、脳細胞内への Ca^{2+} 過剰負荷の抑制あるいは adenosine 増強作用などが推定される。
2. 脳循環改善作用と脳代謝改善作用を併せ持つ ifenprodil 1 mg/kg i.v. は、5 分間虚血による BRS 低下を完全に予防したが、再灌流状態には影響を及ぼさなかった。BRS に対する vagotomy の影響から判断して、この BRS 低下の予防は迷走神経系成分を虚血から保護した結果であると考えられた。この脳保護作用の一部には、ミトコンドリア呼吸の賦活作用が関係しているかもしれないが、ifenprodil の α 受容体遮断作用および NMDA 受容体系遮断作用との関連性についてはさらに検討が必要である。
3. 脳血管選択性のない血管拡張薬である papaverine 0.5 mg/kg/min i.v. (虚血直前の 5 分間投与) は、5 分間虚血後再灌流時の二次的脳血流減少の発現を遅延させたが、BRS 低下には影響を及ぼさなかった。この結果は、再灌流状態を良好に保っただけでは BRS 低下を軽減できないことを示している。
4. 化学的に安定な PGI_2 誘導体である beraprost 0.1 および 1 μ g/kg/min i.v. を 5 分間虚血直前に 15 分間投与したところ、高用量のみが再灌流時の BRS 低下と二次的脳血流減少を予防した。ADP による血小板凝集に対する阻害作用に関しては 2 用量間に差が認められなかったため、この予防作用は抗血小板凝集作用とは独立した作用であると思われる。また、beraprost は虚血時の残存血流量には影響を及ぼさなかったため、今

回の脳保護作用は虚血状態の軽減によるものではないと考えられる。おそらく、 PGI_2 の場合と同様に、細胞膜の安定化あるいは細胞障害性の酵素の放出阻害などによる細胞保護作用が関与しているのではないかと推定される。

5. 非競合的な NMDA 拮抗薬である dizocilipine を 5 分間虚血 10 分前から 5 分間は $30 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. , その後虚血終了時まで $1.25 \mu\text{g/kg/min}$ i.v. の割合で投与したところ、再灌流時に著しい BRS 低下が生じ、vagotomy は再灌流時の BRS に影響を及ぼさなかった。Sham 群でも投与後 3 時間以上にわたって BRS が低下したが、迷走神経系成分の比率には変化がなかった。したがって、dizocilipine は迷走神経系成分の虚血性障害を予防しないと考えられる。この結果は、今回のモデルにおける圧受容体反射機構の虚血性障害には NMDA 受容体を介した経路以外の障害機序が重要な役割を果たしていることを示唆している。一方、再灌流時の二次的脳血流減少は dizocilipine により予防された。これには、再灌流時の thromboxane/ PGI_2 比上昇の障害が一部関与しているかもしれない。
6. 以上の結果より、一過性全脳虚血による BRS 低下という現象は、脳虚血急性期の脳機能保護作用の検討のための有用な指標となることが期待される。

表10. 一過性全脳虚血による BRS 低下および脳血流量 (rCBF) の二次的減少に対する各種脳循環代謝改善薬前投与の効果のまとめ。

Drugs	Dose (i.v.)	Duration of ischemia	BRS	rCBF
Flunarizine	0.1 mg/kg	5 min	++	-
	1 mg/kg	5 min	++	+
	1 mg/kg	10 min	+	-
Ifenprodil	1 mg/kg	5 min	++	-
Papaverine	0.5 mg/kg/min for 5 min	5 min	-	+
Beraprost	0.1 $\mu\text{g/kg/min}$ for 15 min	5 min	-	-
	1 $\mu\text{g/kg/min}$ for 15 min	5 min	++	++
Dizocilipine	30 $\mu\text{g/kg/min}$ for 5 min + 1.25 $\mu\text{g/kg/min}$ for 10 min	5 min	-	++

-: no effect, +: incomplete protection, ++: complete protection.

総 括

圧受容体反射機構に対する一過性全脳虚血の影響

本研究の第1章では、循環器系の神経性調節機構の一つとして重要な役割を果たしている圧受容体反射機構に対する脳虚血の影響をイヌ一過性全脳虚血モデルで検討した。その結果、pentobarbital で麻酔した動物では、5および10分間虚血後の再灌流60~210分にかけて、phenylephrine による反射性徐脈を指標として測定した圧受容体反射活性(BRS)の有意な低下(約50%)が生じることが明らかとなった。一方、再灌流時の大脳皮質脳波には異常が認められなかった。再灌流時のBRS低下に伴って頸部迷走神経求心路の電気刺激に対する反応性も低下したが、遠心路刺激に対する反応性や心電図には変化が認められなかった。したがって、BRSの低下は圧受容体反射中枢路内の機能障害の結果であると考えられる。また、虚血時および再灌流時の脳血流量とBRS低下との関連性を検討したところ、BRS低下には延髄の虚血性障害が関与しており、再灌流時の二次的脳血流減少とは関連性がないことが示唆された。さらに、少なくとも5分間虚血によるBRS低下は圧受容体反射の迷走神経系成分の選択的障害の結果であり、交感神経系成分は虚血抵抗性が高いことが示された。迷走神経系成分の選択的障害の機序に関しては、高位中枢から延髄への修飾系との関連性などをさらに検討する必要があると思われる。以上の結果は、行動学的、組織学的、電気生理学あるいは生化学的パラメーターを脳の虚血性障害の指標として用いた従来の脳虚血モデルでは見出しえなかったもので、一般に虚血抵抗性が高いと考えられていた脳幹部の機能の中に虚血性障害をむしろ受けやすいものがあることを示した新しい知見である。

第2章では、第1章で用いたpentobarbitalが圧受容体反射機構の虚血性障害にどのような影響を及ぼしているかを比較検討するために、従来の報告ではbarbituratesに比べて脳保護作用が弱いとされているhalothane麻酔下で同様な実験を行った。その結果、予想に反して、halothane麻酔下の方が5分間虚血によるBRS低下が軽度(約20%)であることが明らかとなった。これは、BRSの迷走神経系成分の比率に違いがあるためではなく、halothane麻酔下ではpentobarbital麻酔下より重度の虚血を負荷しないと迷走神経系成分の障害が現れないためであった。さらに、虚血前後のBRS測定をhalothane麻酔下で行い、虚血処置をthiopental麻酔下で行った場合には、延髄の虚血状態と迷走神経系成分の障害の程度との関係はpentobarbital麻酔下と同様であった

ので、虚血時の麻酔薬の種類が圧受容体反射機構の虚血性障害の程度を左右していると考えられる。今回の結果と従来の結果との不一致には、脳虚血モデルや脳障害の評価法の違いなどが関係していると思われる。また、今回のモデルにおける barbiturates と halothane の違いが、圧受容体反射機構の虚血性障害を悪化させる作用と抑制する作用のどちらの違いによるものであるかは、今後の課題として残されている。しかしいずれにしろ、虚血性脳機能障害に対する薬物の脳保護作用を検討する場合には、比較的軽度の虚血負荷でも BRS 低下が生じる pentobarbital 麻酔下の方が適していると考えられる。

各種脳循環代謝改善薬の作用

第3章では、一過性全脳虚血による BRS 低下という現象を脳保護薬の薬効評価に応用できるかどうかを pentobarbital 麻酔下で検討した。実験には薬理学的特徴の異なる5種の薬物を用いた。この中で、細胞内への Ca^{2+} 過剰負荷抑制作用を併せ持つ脳循環改善薬である flunarizine、脳循環改善作用と脳代謝改善（ミトコンドリア呼吸賦活）作用を併せ持つ ifenprodil および化学的に安定な PGI_2 誘導体の beraprost を虚血前に投与した場合に、BRS の低下が予防された。虚血時あるいは再灌流時の脳血流状態に対する影響から判断して、今回のモデルにおけるこれらの脳保護作用はいずれも脳循環に対する作用とは独立したもので、脳細胞を虚血から直接保護した結果であることが示唆された。一方、非選択的平滑筋弛緩薬の papaverine および非競合的 NMDA 拮抗薬の dizocilipine は再灌流時の二次的脳血流減少を予防したが、BRS 低下には影響を及ぼさなかった。この結果は、再灌流状態を良好に保ただけでは BRS 低下を軽減できないことを示している。また、dizocilipine の結果は、脳の虚血性障害の機序として注目されている興奮性アミノ酸 NMDA 受容体系が BRS 低下の主たる原因とはなっていないことを示唆している。

以上のように、一過性全脳虚血による BRS 低下を指標として脳虚血急性期に脳保護作用を示す薬物の薬効評価が可能であることが明らかとなった。従来の薬効評価法で用いられてきた行動学的、組織学的、電気生理学あるいは生化学的パラメーターに比べ、BRS 低下は生体位の脳に固有の生理的機能の障害であるので、これを指標とするとより臨床に近いレベルでの薬効評価ができるかもしれない。しかし、今回のモデルの薬効評価系としての有用性に関しては、今後さらに多種多様な薬物にわたって実験を積み重ね、臨床での有効性をどの程度正確に予測しうるかという点を検討する必要があると思われる。また、各薬物の作用機序と有効性との関連性から、圧受容体反射機構の虚血性障害の機序がさらに解明されることが期待される。

謝 辞

本論文の発表にあたり、御懇切なる御指導を賜り、論文の御校閲をいただきました 東京大学薬学部教授 長尾 拓博士に謹んで感謝の意を表します。また、本研究遂行の機会をお与え下さり、終始有益な御助言をいただきました 帝京大学薬学部教授 加藤 仁博士に深く感謝致します。さらに、本研究の遂行にあたり、共同研究者として御協力いただきました西村 裕之、小田 伸行、佐原 立浩、富田 博の各氏をはじめ、帝京大学薬学部薬理学教室の皆様にご心より御礼申し上げます。なお、本研究は、昭和63年度および平成2年度の文部省科学研究費補助金奨励研究（A）ならびに昭和62年度田中記念医学研究助成基金の給付を受けた。

引用文献

- 1) Branston, N.M., Lodds, A., Symon, L. and Wang, A.D.: Comparison of the effects of the somatosensory evoked potential in brainstem, thalamus and cerebral cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **4**, 68-81, 1984.
- 2) Ito, U., Spatz, M., Walker, J.T. and Klatzo, I.: Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neuropathol.*, **32**, 209-223, 1975.
- 3) Kirino, T.: Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Res.*, **239**, 57-69, 1982.
- 4) Smith, M.-L., Auer, R.N. and Siesjö, B.K.: The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2-10 min of forebrain ischemia. *Acta Neuropathol.*, **64**, 319-332, 1984.
- 5) Cropp, G.J. and Manning, G.W.: Electrocardiographic changes simulating myocardial ischemia and infarction associated with spontaneous intracranial hemorrhage. *Circulation*, **22**, 25-38, 1960.
- 6) Srivastava, S.C. and Robson, A.O.: Electrocardiographic abnormalities associated with subarachnoid haemorrhage. *Lancet*, **2**, 431-433, 1964.
- 7) Myers, M.G., Norris, J.W., Hachinski, V.C., Weingert, M.E. and Sole, M.J.: Cardiac sequelae of acute stroke. *Stroke*, **13**, 838-842, 1982.
- 8) Appenzeller, O. and Descarries, L.: Circulatory reflexes in patients with cerebrovascular disease. *New Engl. J. Med.*, **271**, 820-823, 1964.
- 9) Johnson, R.H., Smith, A.C., Spalding, J.M.K. and Wollner, L.: Effect of posture on blood pressure in elderly patients. *Lancet*, **1**, 731-733, 1965.
- 10) Gross, M.: Circulatory reflexes in cerebral ischaemia involving different vascular territories. *Clin. Sci.*, **38**, 491-502, 1970.
- 11) Aukland, K., Bower, B.F. and Berliner, R.W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.*, **14**, 164-187, 1964.
- 12) Lassen, N.A., Høedt-Rasmussen, K., Sørensen, S.C., Skinhøj, E., Cronquist, S., Bodforss, B., Eng, E. and Ingvar, D.H.: Regional cerebral blood flow in

- man determined by krypton⁸⁵. *Neurology*, 13, 719-727, 1963.
- 13) Kent, B.B., Drane, J.W., Blumenstein, B. and Manning, J.W.: A mathematical model to assess changes in the baroreceptor reflex. *Cardiology*, 57, 295-310, 1972.
 - 14) Hachinski, V.C., Smith, K.E., Silver, M.D., Gibson, C.J. and Ciriello, J.: Acute myocardial and plasma catecholamine changes in experimental stroke. *Stroke*, 17, 387-390, 1986.
 - 15) Suzuki, R., Yamaguchi, T., Li, C.-L. and Klatzo, I.: The effects of 5-minute ischemia in Mongolian gerbils: II. Changes of spontaneous neuronal activity in cerebral cortex and CA1 sector of hippocampus. *Acta Neuropathol.*, 60, 217-222, 1983.
 - 16) Siesjö, B.K.: Cerebral circulation and metabolism. *J. Neurosurg.*, 60, 883-908, 1984.
 - 17) Ames, A., Wright, R.L., Kowada, M., Thurston, J.M. and Majno, G.: Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am. J. Pathol.*, 52, 437-453, 1968.
 - 18) Fischer, E.G.: Impaired perfusion following cerebrovascular stasis. *Arch. Neurol.*, 29, 361-366, 1973.
 - 19) Kågström, E., Smith, M.-L. and Siesjö, B.K.: Local cerebral blood flow in the recovery period following complete cerebral ischemia in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 3, 170-182, 1983.
 - 20) Snyder, J.V., Nemoto, E.M., Carroll, R.G. and Safar, P.: Global ischemia in dogs: Intracranial pressures, brain blood flow and metabolism. *Stroke*, 6, 21-27, 1975.
 - 21) Ginsberg, M.D., Budd, W.W. and Welsh, F.A.: Diffuse cerebral ischemia in the cat: I. Local blood flow during severe ischemia and recirculation. *Ann. Neurol.*, 3, 482-492, 1978.
 - 22) Pulsinelli, W.A., Levy, D.E. and Duffy, T.E.: Regional cerebral blood flow and glucose metabolism following transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, 11, 499-509, 1982.

- 23) Marcy, V.R. and Welsh, F.A.: Correlation between cerebral blood flow and ATPcontent following tourniquet-induced ischemia in cat brain. *J. Cereb. BloodFlow Metab.*, 4, 362-367, 1984.
- 24) Todd, N.V., Picozzi, P., Crockard, H.A. and Russell, R.R.: Reperfusion after cerebral ischemia. Influence of duration of ischemia. *Stroke*, 17, 460-466, 1986.
- 25) Kågström, E., Smith, M.-L. and Siesjö, B.K.: Recirculation in the rat brain following incomplete ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 3, 183-192, 1983.
- 26) Ginsberg, M.D., Graham, D.I., Welsh, F.A. and Budd, W.W.: Diffuse cerebral ischemia in the cat: III. Neuropathological sequelae of severe ischemia. *Ann. Neurol.*, 5, 350-358, 1979.
- 27) Pulsinelli, W.A., Brierley, J.B. and Plum, F.: Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.*, 11, 491-498, 1982.
- 28) Welsh, F.A.: Role of vascular factors in regional ischemic injury. *Prog. Brain Res.*, 63, 19-27, 1985.
- 29) Glick, G. and Braunwald, E.: Relative roles of the sympathetic and parasympathetic nervous system in the reflex control of heart rate. *Circ. Res.*, 16, 363-375, 1965.
- 30) Whitty, A.J. and Shepard, R.S.: Role of the vagus in control of cardiac output in the unanesthetized dog. *Am. J. Physiol.*, 213, 1520-1525, 1967.
- 31) Scher, A.M. and Young, A.C.: Reflex control of heart rate in the unanesthetized dog. *Am. J. Physiol.*, 218, 780-789, 1970.
- 32) Vatner, S.F., Franklin, D. and Braunwald, E.: Effects of anesthesia and sleep on circulatory responses to carotid sinus nerve stimulation. *Am. J. Physiol.*, 220, 1249-1255, 1971.
- 33) Robinson, B.F., Epstein, S.E., Beiser, G.D. and Braunwald, E.: Control of heart rate by the autonomic nervous system. *Studies in man on the inter-*

- relation between baroreceptor mechanisms and exercise. *Circ. Res.*, **19**, 400-411, 1966.
- 34) Stinnett, H.O., Sepe, F.J. and Mangusson, M.R.: Rabbit carotid baroreflexes after carotid sympathectomy, vagotomy, and β blockade. *Am. J. Physiol.*, **241**, H600-H605, 1981.
 - 35) Gunn, C.G., Sevelius, G., Puiggari, M.J. and Myers, F.K.: Vagal cardiomotor mechanisms in the hindbrain of the dog and cat. *Am. J. Physiol.*, **214**, 258-262, 1968.
 - 36) Ross, C.A., Ruggiero, D.A. and Reis, D.J.: Projections from the nucleus tractus solitarii to the rostral ventrolateral medulla. *J. Comp. Neurol.*, **241**, 511-534, 1985.
 - 37) Spyer, K.M.: Central nervous integration of cardiovascular control. *J. Exp. Biol.*, **100**, 109-128, 1982.
 - 38) Sagawa, K., Ross, J.M. and Guyton, A.C.: Quantitation of cerebral ischemic pressor response in dogs. *Am. J. Physiol.*, **200**, 1164-1168, 1961.
 - 39) Schrader, H., Hall, C. and Zwetnow, N.N.: Effects of prolonged supratentorial mass expansion on regional blood flow and cardiovascular parameters during the Cushing response. *Acta Neurol. Scand.*, **72**, 283-294, 1985.
 - 40) Dampney, R.A.L., Kumada, M. and Reis, D.J.: Central neural mechanisms of the cerebral ischemic response. Characterization, effect of brainstem and cranial nerve transections and stimulation by electrical stimulation of restricted regions of medulla oblongata in rabbit. *Circ. Res.*, **45**, 48-62, 1979.
 - 41) Kumada, M., Dampney, R.A.L. and Reis, D.J.: Profound hypotension and abolition of the vasomotor component of the cerebral ischemic response produced by restricted lesions of medulla oblongata in rabbit. Relationship to the so-called tonic vasomotor center. *Circ. Res.*, **45**, 63-70, 1979.
 - 42) Dampney, R.A.L. and Moon, E.A.: Role of ventrolateral medulla oblongata in vasomotor response to cerebral ischemia. *Am. J. Physiol.*, **239**, H349-

H358, 1980.

- 43) Guyenet, P.G. and Les Brown, D.: Unit activity in nucleus paragigantocellularis lateralis during cerebral ischemia in the rat. *Brain Res.*, **364**, 301-314, 1986.
- 44) Prabhakar, N.R., Mitra, J., Van De Graaff, W., Haxhiu, M.A. and Cherniack, N. S.: Effect of focal cooling of central chemosensitive areas on cerebral ischemic response. *Am. J. Physiol.*, **251**, R295-R302, 1986.
- 45) Gordon, F.J.: Aortic baroreceptor reflexes are mediated by NMDA receptors in caudal ventrolateral medulla. *Am. J. Physiol.*, **252**, R628-R633, 1987.
- 46) Hockman, C.H., Talesnik, J. and Livingston, K.E.: Central nervous system modulation of baroreceptor reflexes. *Am. J. Physiol.*, **217**, 1681-1689, 1969.
- 47) Gebber, G.L. and Klevans, L.R.: Central nervous system modulation of cardiovascular reflexes. *Fed. Proc.*, **31**, 1245-1252, 1972.
- 48) Gebber, G.L. and Snyder, D.W.: Hypothalamic control of baroreceptor reflexes. *Am. J. Physiol.*, **218**, 124-131, 1970.
- 49) Spetzler, R.F. and Hadley, M.N.: Protection against cerebral ischemia: The role of barbiturates. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, **1**, 212-229, 1989.
- 50) Marty, J. and Reves, J.G.: Cardiovascular control mechanisms during anesthesia. *Anesth. Analg.*, **69**, 273-275, 1989.
- 51) Smith, A.L., Hoff, J.T., Nielsen, S.L. and Larson, C.P.: Barbiturate protection in acute focal cerebral ischemia. *Stroke*, **5**, 1-7, 1974.
- 52) Michenfelder, J.D. and Milde, J.H.: Influence of anesthetics on metabolic, functional and pathological responses to regional cerebral ischemia. *Stroke*, **6**, 405-410, 1975.
- 53) Anderson, R.E. and Sundt, T.M.Jr.: Brain pH in focal cerebral ischemia and the protective effects of barbiturate anesthesia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **3**, 493-497, 1983.
- 54) Tanaka, K., Dora, E., Urbanics, R., Greenberg, J.H., Toffano, G. and Reivich, M.: Effect of the ganglioside GM1, on cerebral metabolism, microcirculation,

- recovery kinetics of ECoG and histology, during the recovery period following focal ischemia in cats. *Stroke*, **17**, 1170-1178, 1986.
- 55) Urbanics, R., Greenberg, J.H., Toffano, G. and Reivich, M.: Effect of GM1 ganglioside after focal cerebral ischemia in halothane-anesthetized cats. *Stroke*, **20**, 795-802, 1989.
 - 56) Nehls, D.G., Todd, M.M., Spetzler, R.F., Drummond, J.C., Thompson, R.A. and Johnson, P.C.: A comparison of the cerebral protective effects of isoflurane and barbiturates during temporary focal ischemia in primates. *Anesthesiology*, **66**, 453-464, 1987.
 - 57) Milde, L.N., Milde, J.H., Lanier, W.L. and Michenfelder, J.D.: Comparison of the effects of isoflurane and thiopental on neurological outcome and neuropathology after temporary focal cerebral ischemia in primates. *Anesthesiology*, **69**, 905-913, 1988.
 - 58) Nordström, C.-H., Rehncrona, S. and Siesjö, B.K.: Restitution of cerebral energy state, as well as of glycolytic metabolites, citric acid cycle intermediates and associated amino acids after 30 minutes of complete ischemia in rats anesthetized with nitrous oxide or phenobarbital. *J. Neurochem.*, **30**, 479-486, 1978.
 - 59) Calderini, G., Carlsson, A. and Nordström, C.-H.: Influence of transient ischemia on monoamine metabolism in the rat brain during nitrous oxide and phenobarbitone anaesthesia. *Brain Res.*, **157**, 303-310, 1978.
 - 60) Hossmann, K.-A.: Resuscitation potentials after prolonged global cerebral ischemia in cats. *Crit. Care Med.*, **16**, 964-971, 1988.
 - 61) Salzman, S.K., Mendez, A.A., Sabato, S., Lee, W.A., Ingeresoll, E.B., Choi, I.-H., Fonseca, A.S., Agresta, C.A. and Freeman, G.M.: Anesthesia influences the outcome from experimental spinal cord injury. *Brain Res.*, **521**, 33-39, 1990.
 - 62) Newberg, L.A. and Michenfelder, J.D.: Cerebral protection by isoflurane during hypoxemia or ischemia. *Anesthesiology*, **59**, 29-35, 1983.

- 63) Marcoux, F.W., Goodrich, J.E. and Dominick, M.A.: Ketamine prevents ischemic neuronal injury. *Brain Res.*, **452**, 329-335, 1988.
- 64) Cohen, M.S. and Britt, R.H.: Effects of sodium pentobarbital, ketamine, halothane and chloralose on brainstem auditory evoked responses. *Anesth. Analg.*, **61**, 338-343, 1982.
- 65) Michenfelder, J.D., Lanier, W.L., Scheithauer, B.W., Perkins, W.J., Shearman, G.T. and Milde, J.H.: Evaluation of the glutamate antagonist dizocilipine maleate (MK-801) on neurologic outcome in a canine model of complete cerebral ischemia: Connection with hippocampal histopathology. *Brain Res.*, **481**, 228-234, 1989.
- 66) Vanhoutte, P.M. and Paoletti, R.: The WHO classification of calcium antagonists. *T.I.P.S.*, **8**, 4-5, 1987.
- 67) Van Nueten, J.M. and Vanhoutte, P.M.: Selectivity of calcium-antagonism and serotonin-antagonism with respect to venous and arterial tissues. *Angiology*, **32**, 476-484, 1981.
- 68) Scott, C.K., Persico, F.J., Carpenter, K. and Chasin, M.: The effects of flunarizine, a new calcium antagonist, on human red blood cells *in vitro*. *Angiology*, **31**, 320-330, 1980.
- 69) Borgers, M., De Clerck, F., Van Reempts, J., Xhonneux, R. and Van Nueten, J.: Selective blockade of cellular Ca^{2+} -overload by flunarizine. *Int. Angiol.*, **3**, 25-31, 1984.
- 70) Kubo, K., Yoshitake, I., Kumada, Y., Shuto, K. and Nakamizo, N.: Radical scavenging action of flunarizine, a cerebral protective drug. *Arch. int. Pharmacodyn. Ther.*, **272**, 283-295, 1984.
- 71) Kumar, K., Krause, G., Koestner, A., Hoehner, T. and White, B.: Effect of flunarizine on global brain ischemia in the dog: A quantitative morphologic assessment. *Exp. Neurol.*, **97**, 115-127, 1987.
- 72) Edmonds, H.L.Jr., Wauquier, A., Melis, W., Van Den Broeck, W.A.E., Van Loon, J. and Janssen, P.A.J.: Improved short-term neurological recovery with flunarizine in a canine model of cardiac arrest. *Am. J. Emerg. Med.*,

- 3, 150-155, 1985.
- 73) Wauquier, A., Clincke, G., Van Den Broeck, W.A.E., Hermans, C., Melis, W. and Van Loon, J.: Global incomplete ischemia in dogs assessed by quantitative EEG analysis. Effects of hypnotics and flunarizine. *Prog. Brain Res.*, **62**, 217-233, 1984.
- 74) White, B.C., Gadzinski, D.S., Hoehner, P.J., Krome, C., Hoehner, T., White, J. D. and Trombley, T.H.Jr.: Effect of flunarizine on canine cerebral cortical blood flow and vascular resistance post cardiac arrest. *Ann. Emerg. Med.*, **11**, 119-126, 1982.
- 75) Marrannes, R., Edmonds, H.L.Jr., Wauquier, A., Melis, W. and Van Loon, J.: Measurement of ischemic changes in cerebral blood flow by the hydrogen clearance technique and brain cortical temperature. Influence of flunarizine. *Arch. int. Pharmacodyn. Ther.*, **281**, 209-229, 1986.
- 76) Phillis, J.W., Wu, P.H. and Coffin, V.L.: Inhibition of adenosine uptake into rat brain synaptosomes by prostaglandins, benzodiazepines and other centrally active compounds. *Gen. Pharmacol.*, **14**, 475-479, 1983.
- 77) Phillis, J.W., Delong, R.E. and Towner, J.K.: The effects of lidoflazine and flunarizine on cerebral reactive hyperemia. *Europ. J. Pharmacol.*, **112**, 323-329, 1985.
- 78) Deshpande, J.K. and Wieloch, T.: Flunarizine, a calcium entry blocker, ameliorates ischemic brain damage in the rat. *Anesthesiology*, **64**, 215-224, 1986.
- 79) Dragunow, M. and Faull, R.L.M.: Neuroprotective effects of adenosine. *T.I.P.S.*, **9**, 193-194, 1988.
- 80) Carron, C., Jullien, A. and Bucher, B.: Synthesis and pharmacological properties of a series of 2-piperidino alkanol derivatives. *Arzneim. Forsch.*, **21**, 1992-1998, 1971.
- 81) Mizusawa, H. and Sakakibara, E.: Effects of ifenprodil tartrate on the cardiovascular system. *Folia Pharmacol. Jap.*, **71**, 597-608, 1975.
- 82) Irino, O., Saitoh, K., Bando, K., Uchida, M. and Honda, H.: Effects of

- ifenprodil tartrate on erythrocyte deformability and cerebral blood flow. *Folia Pharmacol. Jap.*, **89**, 197-202, 1987.
- 83) Mizusawa, H. and Fujiwara, H.: Effects of ifenprodil on isolated arteries. *Folia Pharmacol. Jap.*, **70**, 785-799, 1974.
- 84) Yamashita, Y., Nishikawa, M., Mitsuhiro, S., Sakakibara, E. and Furukawa, T.: Effect of ifenprodil on mitochondrial respiration of guinea pig brain. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **49**, 209-217, 1979.
- 85) 安永 幸二郎, 寮 隆吉: 脳循環代謝改善剤 Ifenprodil tartrate の血小板機能に及ぼす影響. *内科宝函*, **25**, 213-219, 1978.
- 86) 藤島 正敏, 杉 東明, 尾前 照雄: Ifenprodil の実験的脳虚血に及ぼす影響—高血圧自然発症ラットにおける両側頸動脈結紮後の死亡率と脳組織乳酸, ビルビン酸, グルコースおよび ATP. *臨床と研究*, **51**, 3532-3536, 1974.
- 87) Gotti, B., Duverger, D., Bertin, J., Carter, C., Dupont, R., Frost, J., Gaudilliere, B., MacKenzie, E.T., Rousseau, J., Scatton, B. and Wick, A.: Ifenprodil and SL 82.0715 as cerebral anti-ischemic agents. I. Evidence for efficacy in models of focal cerebral ischemia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **247**, 1211-1221, 1988.
- 88) Fleischer, J.E., Tateishi, A., Drummond, J.C., Scheller, M.S., Grafe, M.R., Zornow, M.H., Shearman, G.T. and Shapiro, H.M.: MK-801, an excitatory amino acid antagonist, does not improve neurologic outcome following cardiac arrest in cats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **9**, 795-804, 1989.
- 89) Sterz, F.Y., Leonov, Y., Safar, P., Radovsky, A., Stezoski, S.W., Reich, H., Shearman, G.T. and Greber, T.F.: Effect of excitatory amino acid receptor blocker MK-801 on overall, neurologic, and morphologic outcome after prolonged cardiac arrest in dogs. *Anesthesiology*, **71**, 907-918, 1989.
- 90) Gustafson, I., Miyauchi, Y. and Wieloch, T.W.: Post-ischemic administration of idazoxan, an α -2 adrenergic antagonist, decreases neuronal damage in the rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **9**, 171-174, 1989.
- 91) Phillis, J.W. and Wu, P.H.: The effect of various centrally active drugs on adenosine uptake by the central nervous system. *Comp. Biochem. Physiol.*,

72c, 179-187, 1982.

- 92) Akiba, T., Miyazaki, M. and Toda, N.: Vasodilator actions of TRK-100, a new prostaglandin I₂ analogue. Brit. J. Pharmacol., 89, 703-711, 1986.
- 93) Umetsu, T., Murata, T., Tanaka, Y., Osada, E. and Nishio, S.: Anti-thrombotic effect of TRK-100, a novel, stable PGI₂ analogue. Jpn. J. Pharmacol., 43, 81-90, 1986.
- 94) Nishio, S., Matsuura, H., Kanai, N., Fukatsu, Y., Hirano, T., Nishikawa, N., Nameoka, K. and Umetsu, T.: The *in vitro* and *ex vivo* antiplatelet effect of TRK-100, a stable prostacyclin analog, in several species. Jpn. J. Pharmacol., 47, 1-10, 1988.
- 95) Toda, N.: Beraprost sodium. Cardiovasc. Drug Rev., 6, 222-238, 1988.
- 96) Blackwell, G.J., Rodomski, M., Vargas, J.R. and Moncada, S.: Prostacyclin prolongs viability of washed human platelets. Biochim. Biophys. Acta, 718, 60-65, 1982.
- 97) Ogletree, M.L., Lefer, A.M., Smith, J.B. and Nicolaou, K.C.: Studies on the protective effect of prostacyclin in acute myocardial ischemia. Europ. J. Pharmacol., 56, 95-103, 1979.
- 98) Araki, H. and Lefer, A.M.: Cytoprotective actions of prostaglandin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. Am. J. Physiol., 238, H176-H181, 1980.
- 99) Shrör, K., Ohlendorf, R. and Darius, H.: Beneficial effects of a new carbacyclin derivative, ZK 36374, in acute myocardial ischemia. J. Pharmacol. Exp. Ther., 219, 243-249, 1981.
- 100) Pluta, R.: Influence of prostacyclin on early morphological changes in the rabbit brain after complete 20-min ischemia. J. Neurol. Sci., 70, 305-316, 1985.
- 101) Pluta, R.: The influence of prostacyclin on the recovery of bioelectric cerebral activity after complete ischemia. Acta Neurol. Scand., 73, 44-54, 1986.
- 102) Masuda, Y. Ochi, Y., Ochi, Y. Karasawa, T., Hatano, N., Kadokawa, T. and

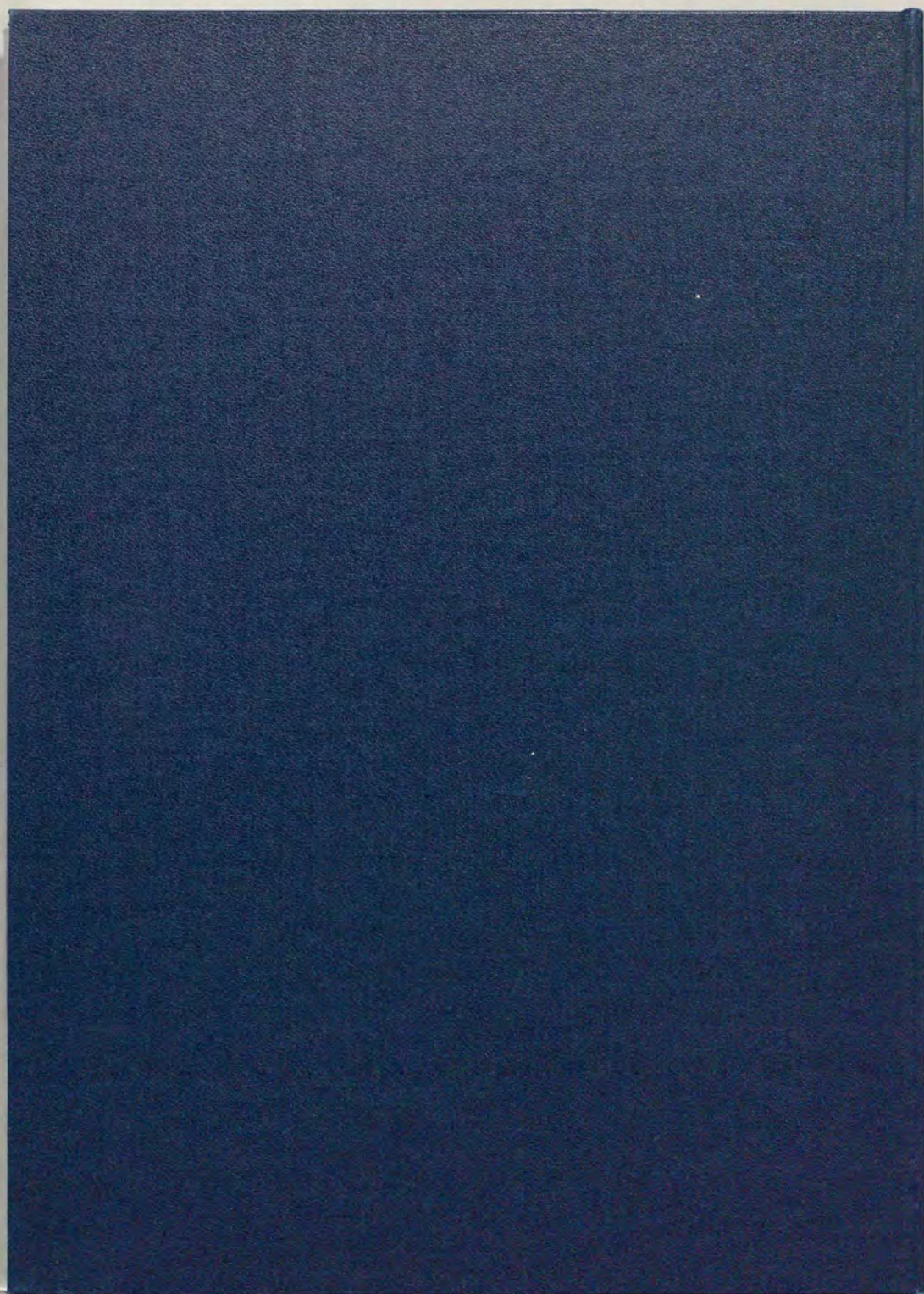
- Shimizu, M.: Protective effect of prostaglandins D₂, E₁ and I₂ against cerebral hypoxia/anoxia in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **334**, 282-289, 1986.
- 103) Masuda, Y., Ochi, Y., Ochi, Y., Karasawa, T., Hatano, N., Kadokawa, T. and Okegawa, T.: Protective effect of a new prostacyclin analogue OP-2507 against cerebral anoxia and edema in experimental animals. *Europ. J. Pharmacol.*, **123**, 335-344, 1986.
- 104) Masuda, Y., Yasuba, M., Zushi, K., Ochi, Y., Kadokawa, T. and Okegawa, T.: Effect of OP-2507, a stable prostacyclin analogue on cerebral ischemia induced by unilateral ligation of common carotid artery in gerbils. *Arch. int. Pharmacodyn. Ther.*, **294**, 125-136, 1988.
- 105) Terawaki, T., Takakuwa, T., Iguchi, S., Wakitani, K., Kira, H., Okegawa, T., Kawasaki, A. and Masuda, Y.: Effect of a prostacyclin analog OP-2507 on acute ischemic cerebral edema in cats. *Europ. J. Pharmacol.*, **152**, 63-70, 1988.
- 106) Shah, A.B., Beamer, N. and Coull, B.M.: Enhanced *in vivo* platelet activation in subtypes of ischemic stroke. *Stroke*, **16**, 643-647, 1985.
- 107) Joseph, R., Welsh, K.M.A., Grunfeld, S., Oster, S.B. and D'Andrea, G.: Baseline and activated platelet cytoplasmic ionized calcium in acute ischemic stroke. Effect of aspirin. *Stroke*, **19**, 1234-1238, 1988.
- 108) Dougherty, J.H., Levy, D.E. and Weksler, B.B.: Experimental cerebral ischemia produces platelet aggregates. *Neurology*, **29**, 1460-1465, 1979.
- 109) Petito, C.K.: Platelet thrombi in experimental cerebral infarction. *Stroke*, **10**, 192-196, 1979.
- 110) Obrenovitch, T.P. and Hallenbeck, J.M.: Platelet accumulation in regions of low blood flow during postischemic period. *Stroke*, **16**, 224-233, 1985.
- 111) Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **72**, 2994-2998, 1975.
- 112) Turčáni, P., Gotoh, F., Ishihara, N., Tanaka, K., Gomi, S., Takashima, S.

- and Mihara, B.: Are blood platelets involved in the pathogenesis of ischemic brain edema in gerbils? *Stroke*, **19**, 486-489, 1988.
- 113) Hallenbeck, J.M. and Furlow, T.W.: Prostaglandin I₂ and indomethacin prevent impairment of post-ischemic brain reperfusion in the dog. *Stroke*, **10**, 629-637, 1979.
- 114) Van Den Kerckhoff, W., Hossmann, K.-A. and Hossmann, V.: No effect of prostacyclin on blood flow, regulation of blood flow and blood coagulation following global cerebral ischemia. *Stroke*, **14**, 724-730, 1983.
- 115) Fischer, E.G.: Impaired perfusion following cerebrovascular stasis. *Arch. Neurol.*, **29**, 361-366, 1973.
- 116) Bitterman, H., Smith, B.A., Lefer, D.J. and Lefer, A.M.: Salutary effects of CG-4203, a novel, stable prostacyclin analog, in hemorrhagic shock. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **12**, 293-299, 1988.
- 117) Wong, E.H.F., Kemp, J.A., Priestley, T., Knight, A.R., Woodruff, G.N. and Iversen, L.L.: The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **83**, 7104-7108, 1986.
- 118) Greenamyre, J.T.: The role of glutamate in neurotransmission and in neurologic disease. *Arch. Neurol.*, **43**, 1058-1063, 1986.
- 119) Fagg, G.E., Foster, A.C. and Ganong, A.H.: Excitatory amino acid synaptic mechanisms and neurological function. *T.I.P.S.*, **7**, 357-363, 1986.
- 120) Guyenet, P.G., Filtz, T.M. and Donaldson, S.R.: Role of excitatory amino acids in rat vagal and sympathetic baroreflexes. *Brain Res.*, **407**, 272-284, 1987.
- 121) Leone, C. and Gordon, F.J.: Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius? *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **250**, 953-962, 1989.
- 122) Perkins, W.J., Lanier, W.L., Karlsson, B.R., Milde, J.H. and Michenfelder, J.D.: The effect of the excitatory amino acid receptor antagonist dizocilpine maleate (MK-801) on hemispheric cerebral blood flow and

metabolism in dogs: modification by prior complete cerebral ischemia.

Brain Res., 498, 34-44, 1989.

- 123) Stevens, M.K. and Yaksh, T.L.: Systematic studies on the effects of the NMDA receptor antagonist MK-801 on cerebral blood flow and responsivity, EEG and blood-brain barrier following complete reversible cerebral ischemia. J. Cereb. Blood Flow Metab., 10, 77-88, 1990.
- 124) Park, C.K., Nehls, D.G., Teasdale, G.M. and McCulloch, J.: Effect of the NMDA antagonist MK-801 on local cerebral blood flow in focal cerebral ischaemia in the rat. J. Cereb. Blood Flow Metab., 9, 617-622, 1989.
- 125) Buchan, A.M.: Do NMDA antagonists protect against cerebral ischemia: Are clinical trials warranted? Cerebrovasc. Brain Metab. Rev., 2, 1-26, 1990.
- 126) Wiebers, D.O., Adams, H.P.Jr. and Whisnant, J.P.: Animal models of stroke: Are they relevant to human disease? Stroke, 21, 1-3, 1990.





Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

C Y M

© Kodak, 2007 TM: Kodak