Protective Effects of Low-grade Hypothermia on Brain Dysfunction after 15-min Complete Cerebral Ischemia in Dogs : Study Using Auditory Brainstem Response and EEG Changes

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8294

金沢大学十全医学会雑誌　第101巻　第1号　34－45　(1992)

軽度低体温の15分間全脳虚血イヌに対する脳保護効果

－聴性脳幹反応および脳波による検討－

金沢大学医学部麻酔・蘇生学講座（主任：村上誠一教授）
廣　田　幸次郎

（平成4年1月7日受付）

雑種の成熟イヌ22頭を用いて15分間の全脳虚血モデルを作製し，聴性脳幹反応 (auditory brainstem response, ABR) と脳波によって，虚血前後の軽度低体温の脳保護効果を検討した．0.2%ハロセン麻酔下に，ヒートランプ，氷嚢などを用いて食道温を調節し，常温群 (37.5～38.5℃) 11頭と低温群 (34.5～35.5℃) 11頭の2群に無作為に分けた．脳波は，前頭部，頭頂部で双極誘導を用いて記録した．ABR は，イヌ用に作製したチューブ式音刺激装置を右外耳孔より挿入し，12.1 Hz, 80 dB normal hearing level (nHL) のクリック音により測定した．導出部位は，頭頂部，左右乳様突起部および鼻根部とし，分析時間10 msec，加算回数1000回，フィルター通過帯域を 300～1500 Hz とした．動脈血炭酸ガス分圧およびベース・エクセスを正常域内に補正したのち，基準値を測定し，全脳虚血を開始した．全脳虚血は，DeBakey 鉗子を用いて上行大動脈の血流を遮断することにより行い，次いで上大静脈と下大静脈をテープで絞扼した．15分間の全脳虚血後，循環再開後40時間までの経過を観察した．ABR の各波形は，両群ともに大動脈遮断後2分以内に消失した．循環再開後，低温群は全例速やかに波形が回復し，Ⅰ～Ⅴ波の全てが20分以内に出現した．一方，常温群では，Ⅲ，Ⅳ波の出現率は循環再開後20分から3時間，Ⅴ波は10分から6時間にわたり有意に低かった ($p<0.05$)．低温群の基準値の潜時は，常温群に比べて有意に延長した ($p<0.05$)．循環再開後の潜時は，両群ともに，基準値との間に有意差を認めなかった．常温群の振幅は，Ⅰ～Ⅴ波の全てが基準値の水準に回復しなかった．一方，低温群のⅠ，Ⅲ波の振幅は，循環再開後10分で基準値の水準に回復したが，Ⅴ波については完全に回復することはなかった．全脳虚血による脳波の消失時間は，常温群で20.3±1.1秒，低温群で22.3±1.4秒であり，両群間に有意差を認めなかった．しかし，脳波が循環再開後1時間以内に再出現した割合は，常温群の27.3%に対し，低温群では100%と低温群で有意に早い回復を認めた ($p<0.05$)．また，循環再開後40時間の生存率は，常温群の9.1% (1/11) に対し，低温群では63.6% (7/11) であり，両群間に有意差を認めた ($p<0.05$)．さらに，循環再開後4時間目の ABR 所見について，波形の有無，潜時および振幅により判定した重症度と生存時間の間に有意な負の相関 ($r_s=-0.77$, $p<0.01$) を認め，ABR 所見が生命予後の指標となることが確認された．以上より，3℃の体温の差でも，完全脳虚血後の脳幹機能と脳波の回復，および生存率に有意な影響を及ぼすと結論された．

Key words complete cerebral ischemia, low-grade hypothermia, auditory brainstem response, electroencephalography

完全脳虚血後の低酸素性脳症に対する治療法は未だ研究段階に止まっており，臨床的に有用な方法は確立されていない．その中にあって，低体温の脳保護作用は広く認められてきており，その機序として脳代謝の抑制[1]，あるいは各種神経伝達物質の生合成，放出ならびに再吸収の抑制が考えられている[2)3)]．しかし，低体温の脳保護作用に関する従来の研究の多くは，主として中等度あるいは高度の低体温で行われたものであり[4)5)]，これに随伴する寒冷反応，不整脈などの心肺機能障害[6)]が大きな問題である．従って，その臨床応用は心臓外科領域に限定されていた．これに対して，近年，全脳虚血前あるいは虚血中における34～35℃程度の軽度低体温が，著明な脳保護作用をもたらすことが指摘された[7)8)]．その結果，これまで積極的に用いられなかった低体温が，脳蘇生の治療法として注目を集めるようになってきた．

また，聴性脳幹反応 (auditory brainstem response, ABR) は意識状態や麻酔の影響を受けることなく，脳幹機能をよく反映する優れた検査法である．特に，ABR により重度脳障害患者の脳幹機能を評価することは，生命予後の予測を可能とすることから[9)10)]，脳死の判定においても重要な補助診断法と位置づける研究者もある[11)]．本研究では，全脳虚血前後の軽度低体温が，虚血後の脳幹機能および大脳の障害におよぼす影響を，聴性脳幹反応と脳波を用いて検討した．

対象および方法

対象および麻酔方法

実験には，体重 10～15kg の雑種の成熟イヌ22頭を用いた．

Abbreviations: ABR, auditory brainstem response; BE, base excess; CI, cardiac index; CO, cardiac output; CVP, central venous pressure; HR, heart rate; IPL, interpeak latency; MABP, mean arterial blood pressure; MPAP, mean pulmonary arterial pressure; nHL, normal hearing level; $PaCO_2$, carbon dioxide

被験動物を，軽度低体温群（以下，低温群）11頭と，常温対照群（以下，常温群）11頭の2群に分けた．塩酸ケタミン（三共，東京）20 mg/kg と硫酸アトロピン（田辺，東京）0.5 mg の筋肉内投与により麻酔を導入した．塩化サクシニルコリン（山之内，東京）20 mg の筋肉内投与で気管内挿管を行ない，人工呼吸器 LP6（IMI，埼玉）に接続した．人工呼吸中は，酸素40％：笑気60％：ハロセン0.5～1.0％の混合ガスの吸入で麻酔を維持するとともに，臭化パンクロニウム（日本オルガノン，東京）1 mg/hr を持続的に静脈内投与し，非動化した．人工呼吸は，5 cmH_2O の呼気終末陽圧を付加した間欠的陽圧呼吸とし，動脈血炭酸ガス分圧（carbon dioxide tension of arterial blood, $PaCO_2$）が 40 mmHg 前後となるように，1回換気量（10～20ml/kg）および換気回数（8～12 回/分）を設定した．

2．手術手技および監視装置

被験動物を仰臥位に固定して，術野を10％ポビドンヨード溶液で消毒し，準清潔操作にて以下の処置を行なった．大腿動脈よりカニューレを挿入・留置し，持続的動脈圧測定および採血に当てた．また，熱希釈式肺動脈カテーテル（Swan-Ganz, American Edwards Laboratories, Irvine, U. S. A.）を大腿静脈に挿入し，輸液と薬剤の投与の他，肺動脈圧（pulmonary arterial pressure, PAP），肺毛細血管楔入圧（pulmonary capillary wedge pressure, PCWP），中心静脈圧（central venous pressure, CVP），心拍出量（cardiac output, CO），血液温の測定に当てた．また，下腹部正中切開により膀胱瘻を作製し，時間尿量を測定して体液管理の指標とした．その後，頭部を固定したまま左側臥位とし，右第4肋間で開胸し，奇静脈より末梢の上大静脈および下大静脈にそれぞれ血管絞扼用テープを通した．また，大動脈遮断に備え，上行大動脈の腕頭動脈分岐部直前にテープを通した．これらの全ての手術操作は，1％メピバカイン（藤沢，東京）の局所浸潤麻酔を追加して行った．食道用体温計 42TA（Yellow Springs Instrument Co., Inc., Ohio, U. S. A.）を，心臓の高さに挿入し，ヒートランプ，ブランケット，氷嚢などにより体温を調節した．被験動物を常温群（37.5～38.5℃）11頭と，低温群（34.5～35.5℃）11頭の2群に無作為に分け，全経過中，各群の設定温度に維持した．

ABR の測定には，誘発電位検査装置 Compact Four™（Nicolet, Netherlands）を使用した．動物用に特別に作製したチューブ式音刺激装置を右外耳孔に挿入し，持続時間0.1 msec，音圧80 dB nHL（normal hearing level），刺激頻度12.1 Hz のクリック音を与えた．針電極を頭頂部，左右乳様突起部，鼻根部に刺入し，それぞれ関電極，不関電極および接地電極とした．また，分析時間 10 msec，加算回数1000回，フィルター通過帯域を300～1500 Hz とした．この他，多用途監視記録装置（ポリグラフシステム，日本光電，東京）を用いて，双極誘導（頭頂部，前頭部）による脳波および心電図（四肢誘導）を連続的に監視・記録した．

3．完全脳虚血の実施と循環再開後の管理

手術操作および監視装置の準備が完了した後，$PaCO_2$ を 40 mmHg 前後に再調整した．また，8.4％重炭酸ナトリウム（大塚，東京）の静脈内投与を行ない，ベイス・エクセス（base excess, BE）を±3 mEq/1 以内に補正した．その後，100％酸素，0.2％ハロセンの吸入ガスに変更し，呼気ガス測定装置（アコマ,東京）により監視したハロセン濃度が，吸気中濃度（0.2％）と等しくなった時点で，各測定を行ない，その値を基準値とした．

全脳虚血には，事前に通してあるテープを利用した．まず，腕頭動脈分岐直前で上行大動脈を DeBakey の血管鉗子により遮断することで行なった．次いで上大静脈と下大静脈を順次テープで絞扼した（図1）．特に常温群では，虚血中の左心室の後負荷増大に伴う心筋酸素消費量増大と異常な熱産生による心筋障害を防止するために，心筋表面を室温の乳酸加リンゲル液で浸した．なお，その場合には，肺動脈カテーテルで測定した血液温を指標とし，低温群の虚血中の血液温と同じ（約38℃）になるように調節した．15分間の全脳虚血後，上大静脈，下大静脈，次いで上行大動脈の順に遮断を解除した．循環再開後，収縮期血圧が 80 mmHg 以下の場合は，1～5 μg/kg/min のドーパミン（協和発酵，東京）を投与した．また，循環再開10分後の動脈血ガス分析の結果より，換気条件の変更と重炭酸ナトリウムの投与を行い，$PaCO_2$ と BE を正常域に補正した．循環再開2時間後までは，100％酸素と0.2％ハロセンの混合ガスで換気した．それ以後は，ハロセン濃度を0.2％に固定したまま吸気酸素中に空気を加え，PaO_2 が 100 mmHg 以上となるようにした．感染予防の目的で，循環再開6時間後および24時間後に，アンピシリンナトリウム 1g を静脈内投与した．また，循環再開後，心室性期外収縮が頻発する場合には 1 mg/kg/hr の塩酸リドカイン（藤沢，大阪）を持続的に静脈内投与した．さらに，PCWP が 20 mmHg 以上あるいは CVP が 15 mmHg 以上の場合には，フロセミド（ヘキスト，東京）5 mg を静脈内投与した．なお，実験動物が死亡するまでの間，体温を可及的に各設定温度内に維持した．

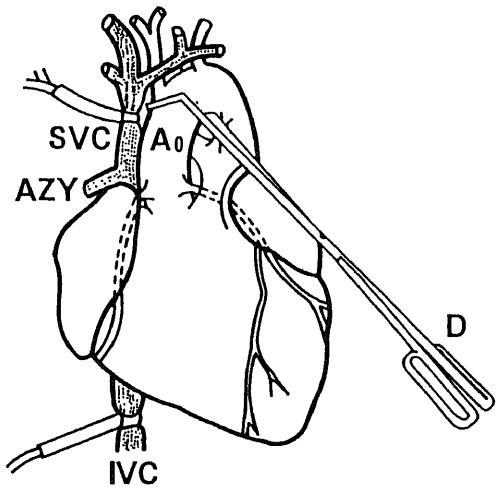

Fig. 1. Method for complete cerebral ischemia. Complete cerebral ischemia was induced by occluding the aorta with a DeBakey's vascular clamp placed in the proximity of brachiocephalic trunk. Superior and inferior vena cavae were also occluded with umbilical tapes. Ao, ascending aorta; SVC, superior vena cava; IVC, inferior vena cava; AZY, azygos vein; D, DeBakey's vascular clamp.

tension of arterial blood; PAP, pulmonary arterial pressure; PCWP, pulmonary capillary wedge pressure; PL, peak latency

4．測定時点および測定項目

各項目の測定時点は，基準値，循環再開後10，20，30，40，50，60，90分後，2，3，4，6，9，12，18，24，32および40時間後とした．測定項目は，平均動脈圧 (mean arterial blood pressure, MABP)，心拍数 (heart rate, HR)，PAP, PCWP, CO および ABR とした．

ABR の測定に際しては，少なくとも2回以上の測定を繰り返し，再現性の無い波形は除外した．また，最大波形の振幅が0.2 μV 以下の場合は，波形が出現していないものと見なした[12]．ABR 波形は，5～6個の陽性波と陰性波より成るが，一般には，5個の陽性波が測定の対象とされている．今回も，5個の陽性波について解析した．すなわち，陽性波を潜時の短い順にⅠ～Ⅴ波とし，刺激側の各波形の出現率，頂点潜時 (peak latency, PL)，Ⅰ－Ⅲ波間頂点間潜時 (interpeak latency, IPL)，Ⅲ－Ⅴ IPL，Ⅰ－Ⅴ IPL および振幅を測定した (図2)．PL は，クリック音による電気刺激の開始から各波形の頂点までとした．また振幅は，波形の頂点から下した垂線が陰性頂点を結ぶ線に至るまでとした．なお，循環再開後の潜時と振幅については，波形が出現しないイヌは除外した．また，振幅の個体差が著しいため，基準値を100%とした時の百分率で検討した．さらに，Hall Ⅲら[9]の分類を参考にして，循環再開後4時間目の ABR 所見を，波形の有無，潜時，振幅により分類し，その重症度と生存時間との関連を検討した．重症度は，Grade 0: 正常，Grade 1: 低電位 (基準値の60%以下) または IPL の延長 (標準偏差の2倍以上の延長)，Grade 2: 反応の一部消失，および Grade 3: 無反応の4群に分類した.心係数 (cardiac index, CI) は，体表面積を 0.112× (体重)$^{2/3}$ によって体重から推定[13]し，CO を体表面積で除して表した．

5．統計学的処理

測定値はすべて平均値±標準誤差で表した．波形の出現率と生存率については，Fisher の直接確率計算法を用いて検定した．その他の所見の有意差検定は，2元分散分析を行なった上で，群間比較には対応のない Student の t 検定，群内比較には対応のある t 検定を用いた．また，潜時の基準値に両群間で有意差があったため，循環再開後の比較は，群内のみとした．いずれも危険率 (p) が，0.05以下の場合を有意差とした．ABR の重症度分類と生存時間の相関は，Spearman の順位相関係数を求めた．

成　　績

1．体温，循環動態および血液ガス所見の変化 (表1)

pH, $PaCO_2$，血糖の基準値には両群間に有意差を認めなかった．循環再開10分後，両群ともに重度の代謝性アシドーシスを認め，特に常温群の pH が有意に低値を示した．これに対しては，重炭素ナトリウムの投与を行ない，直ちに補正した．$PaCO_2$ および血糖値には両群間に有意差を認めなかった．

MABP は大動脈遮断と同時に急墜するとともに拍動も消失し，15分間の全脳虚血中はほぼ 20 mmHg 前後に固定した．循環再開直後，MABP は急激に上昇し，一過性に高血圧状態となった．遮断解除直後にドーパミンの投与を行なったイヌは，常温群7頭 (64%)，低温群4頭 (36%) であるが，いずれも2～5分間であった．循環再開6時間以後，常温群の MABP は低

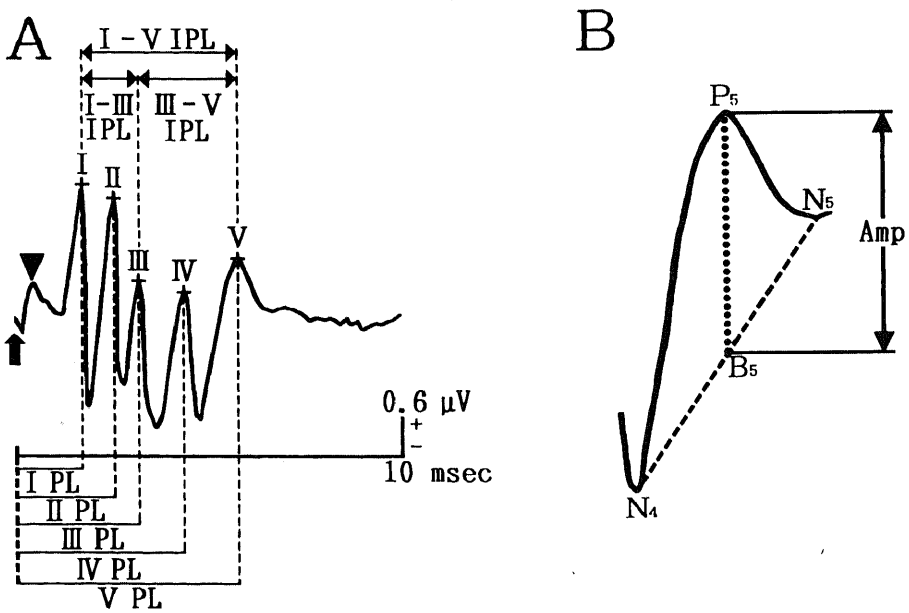

Fig. 2. Methods of measurement for peak latency, interpeak latency (A) and amplitude (B) of auditory brainstem response (ABR) waves. A, ABR waves obtained from a normal dog consist of 5 components which were designated I to V waves. The peak latency (PL) of each wave was measured from the electrical onset (⬆) of the click to the peak of the wave. The I-Ⅲ, Ⅲ-V and I-V interpeak latencies (IPLs) indicate the times from I to Ⅲ wave, Ⅲ to V wave and I to V wave, respectively. The initial deflection was an artifact following the electrical stimulation (▼). B, This trace shows V wave in Fig. 2 A. The dotted line indicates a vertical line from the positive peak (P_5). The broken line indicates a line from the negative peak (N_4) to the next negative one (N_5). Point B_5 is the cross point of these lines. Amplitude (Amp) of V wave was measured as the voltage difference between P_5 and B_5, and that of the other waves was measured by the same way. These traces show upward positive.

温群に比較して有意に低下した．この時期から死亡するまでに，常温群で11頭，低温群で6頭のイヌがドーパミンの投与を必要とした．循環再開6時間後までの急性期における CO および CVP は両群間に有意差を認めなかった．しかし，MPAP および PCWP は常温群で有意に高く，頻脈を認めた．また，食道温には両群ともに有意な変化を認めなかった．全経過を通じ，血液温は食道温より1.0〜1.3℃高かった．

2．ABR 各波の出現率（図3，4）

両群ともに，大動脈遮断後2分以内に ABR は平坦化した．常温群では，循環再開早期のⅢ，ⅣおよびⅤ波の回復が障害された（図3）．しかし，循環再開4〜6時間後より，波形の出現率と振幅は次第に増大した．一方，低温群では，循環再開10分後では11頭中9頭，20分後では全例に，Ⅴ波までの全ての波形が出現し，以後安定した波形が続いた．Ⅲ波とⅣ波の出現率は，20分後から3時間後まで（図4．A，図4．B），Ⅴ波は循環再開10分後から6時間後まで（図4．C），低温群で有意に高かった．Ⅰ，Ⅱ波についても，低温群では良好な回復を示したが，両群間に有意差はなかった．

3．ABR の PL および IPL（表2，図5）

基準値における各波の PL については，Ⅰ波を除いて低温群で有意な延長を認めた（表2）．また，Ⅰ－Ⅴ，Ⅲ－ⅤおよびⅠ－Ⅲ IPL も，この順に延長の程度が大きかった．循環再開後に出現したⅠ波とⅢ波の PL には，両群ともに大きな変化を認めなかった．Ⅴ波の PL は，循環再開10分後において両群ともに延長し，6時間以後はむしろ低温群で短縮した（図5）．IPL もほぼ同様な結果を示した．

4．ABR の振幅（図6）

常温群では，Ⅰ波とⅢ波の振幅は基準値の25〜70％（図6．A，図6．B），Ⅴ波は20〜50％（図6．C）の回復であった．また，常温群のⅠ波とⅢ波の振幅は，循環再開後次第に増大したが，60分から6時間にかけて再び減少する傾向を認めた．これに対し，低温群のⅠ波とⅢ波の振幅は，循環再開10分後で基準値の水準に回復し，9時間以後は基準値を上回った．しかし，Ⅴ波は30〜70％の回復であった．

5．脳波（表3）

脳波は，両群ともに虚血開始より数秒間で徐波化し，棘波の出現のあと消失した．大動脈遮断後，脳波が平坦化するまでの時間は，常温群で20.3±1.1秒，低温群で22.3±1.4秒と，両群間に有意差を認めなかった．低温群では，循環再開後1時間以内に，全例に脳波の再出現を認めたが，常温群の再出現率は27.3％に止まった．

6．生存時間および生存率（表3，図7）

循環再開後の平均生存時間は，常温群の24.2±2.7時間に比べ，低温群では34.5±2.8時間と有意に長かった（表3）．また，40時間後の生存率は，常温群（11頭中1頭生存）に比べて低温群（11頭中7頭生存）では有意に高かった．

Table 1. Circulatory and arterial acid-base status at baseline and after 15-min complete cerbral ischemia

	Group	Baseline	Time after recirculation				
			10 min	30 min	60 min	2 hr	6 hr
pH	Normo	7.37±0.01	7.15±0.02#	7.42±0.01#	7.39±0.01	7.36±0.07	7.37±0.05
	Hypo	7.37±0.01	7.21±0.02*#	7.42±0.01#	7.39±0.01	7.34±0.02	7.38±0.05
$PaCO_2$ (mmHg)	Normo	40.6±0.9	48.0±2.3#	37.3±0.9#	40.0±0.8	43.0±1.5	39.9±5.4
	Hypo	40.9±0.5	42.4±1.8	37.0±0.8#	37.9±0.9#	44.4±2.4	38.4±5.6
BE (mEq/L)	Normo	−1.9±0.5	−13.1±0.8#	−0.1±0.7	−0.5±0.8	−1.0±1.0	−1.9±2.2
	Hypo	−1.8±0.4	−11.0±0.5#	−0.9±0.5	−1.9±0.6	−2.5±0.6	−2.9±2.0
BS (mg/dl)	Normo	216±9	266±38	257±34	219±25	176±14	143±12
	Hypo	195±12	257±46	205±33	194±29	187±13	154±34
MABP (mmHg)	Normo	125±9	141±12	137±7	131±7	145±8	108±6
	Hypo	119±7	127±11	128±8	141±8	131±7	131±7*
HR (beat/min)	Normo	172±8	218±11#	203±10#	183±8	177±9	182±11
	Hypo	178±7	193±5	172±7 *	160±8	147±7*#	164±7
MPAP (mmHg)	Normo	20.8±1.5	26.6±2.3#	23.0±1.6	20.7±1.2	24.1±2.4	25.7±2.5#
	Hypo	19.6±1.4	19.5±1.2*	17.7±1.2*	17.5±1.3	17.8±1.3*	19.3±1.6*
PCWP (mmHg)	Normo	11.4±1.1	13.3±1.2	13.1±1.0	12.2±1.1	15.5±2.1	15.3±2.5
	Hypo	9.4±0.8	11.8±0.6#	10.9±0.9	12.1±1.1	11.2±1.1*	11.3±1.5*
CVP (mmHg)	Normo	8.7±0.7	8.9±0.7	9.2±0.8	8.5±0.8	8.3±0.8	7.8±0.7
	Hypo	7.9±0.6	7.8±0.8	7.5±0.8	7.6±0.7	7.8±0.8	7.1±0.7
CI ($L/min/m^2$)	Normo	2.57±0.23	3.10±0.33	3.05±0.29	2.33±0.17	1.88±0.15	2.06±0.22
	Hypo	2.79±0.33	2.91±0.38	2.58±0.30	2.28±0.22	1.97±0.24	1.96±0.27
ET (C°)	Normo	38.0±0.1	37.6±0.1	37.6±0.2	37.9±0.1	38.2±0.1	38.0±0.4
	Hypo	34.9±0.1*	34.9±0.1*	34.7±0.1*	35.1±0.1*	35.3±0.2*	35.5±0.6*
BT (C°)	Normo	39.1±0.04	38.7±0.2	38.7±0.2	39.2±0.2	39.5±0.2#	39.1±0.5
	Hypo	36.1±0.03*	36.0±0.1*	35.8±0.1*	36.1±0.1*	36.3±0.1*	36.7±0.6*#

Values are means±SEM (n=11). * $p<0.05$ vs the normothermic group. # $p<0.05$ vs the baseline value. Normo, normothermic group in which the esophageal temperature was maintiained at 37.5−38.5℃; Hypo, hypothermic group in which the esophageal temperauture was maintained at 34.5−35.5℃; BE, base excess; BS, blood sugar; MABP, mean arterial blood pressure; HR, heart rate; MPAP, mean pulmonary arterial pressure; PCWP, pulmonary capillary wedge pressure; CVP, central venous pressure; CI, cardiac index; ET, esophageal temperature; BT, blood temperature.

7．ABR 所見の重症度分類と生存時間（図 8）

循環再開 4 時間後の ABR 所見の重症度分類は，生存時間との間に有意な負の相関（$r_s = -0.77$，$p<0.01$）を認めた．

考 察

心停止後のような，完全な全脳虚血後の脳障害の転帰を動物モデルで検討する場合には，全脳が確実に虚血されていることと，虚血時間が正確に規定できることが重要である．今回用いた上行大動脈遮断法は，手術侵襲が少なく，側副血行路の多いイヌにおいても全脳の血流を確実に遮断し，さらに虚血時間を正確に規定できる点で有用である．特に，虚血時間は障害程度を大きく左右し，転帰を検討する研究では重大な影響を持つ．Brockman ら[14]によれば，10分以内の全脳虚血では確実な脳障害は起こらないとされている．また18分間の全脳虚血では，脳死に準ずるような脳障害が必発とされている[15]．そのため，障害程度の正確な評価や軽度の虚血に対して有効とされる治療方法の効果判定が困難となる．以上の理由から，本研究では15分間の全脳虚血を行なうこととした．

しかし，このモデルの一つの問題点として，虚血中に左心室の後負荷が増大するため，心不全や肺水腫が発生する可能性が

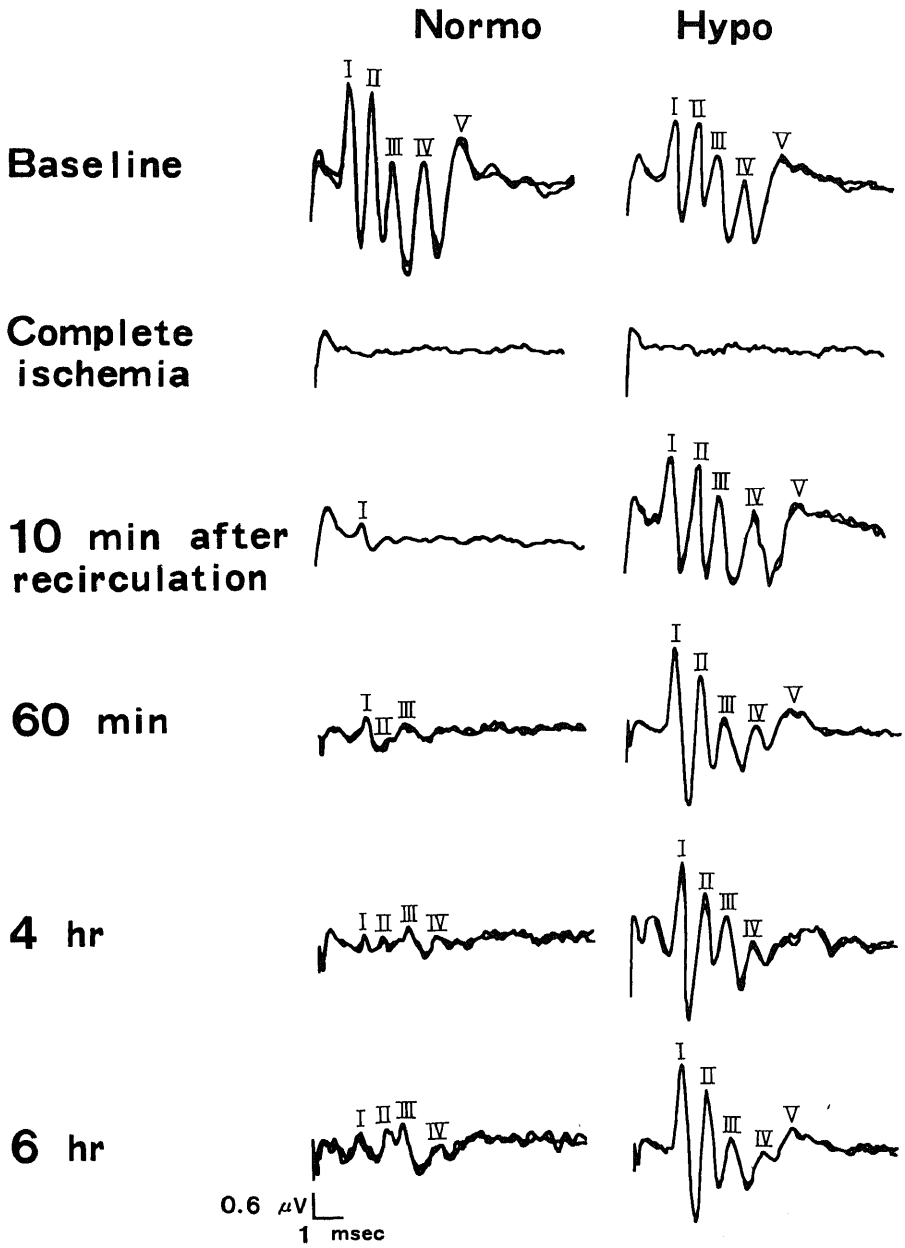

Fig. 3. Typical auditory brainstem response (ABR) changes before and after 15-min complete cerebral ischemia. ABR waves disappeared immediately after clamping the aorta in both groups. In the hypothermic group, all waves (I～V) could be recorded 10 min after recirculation. Yet, only I wave was recorded 10 min after recirculation in the normothermic group. Stimuli were monaural click sounds of 0.1 msec presented at a rate of 12.1 Hz and at an intensity level of 80 dB nHL. All traces show upward positive. Normo, normothermic group with the esophageal temperature maintained at 37.5－38.5℃; Hypo, hypothermic group with the esophageal temperature maintained at 34.5－35.5℃; nHL normal hearing level.

あることが挙げられる．特に，循環再開早期の MABP は，その後の脳機能の回復に多大な影響を及ぼすとされている[16]．そのため，上行大動脈遮断中における心肺機能の障害を軽減する目的で，大動脈起始部よりできるだけ遠位部で血流を遮断する[17]と同時に，常温群では心筋表面を室温の乳酸加リンゲル液で浸し，虚血中の異常な心筋温度の上昇を防止した．しかし，過度の心臓冷却は心機能の抑制や循環再開後の体温低下を招くので，低温群での虚血中の肺動脈血液温と等しくなるように緩徐に水冷した．その結果，心肺合併症が減少するとともに，ABR に影響を及ぼすような循環再開後の体温低下も防止する

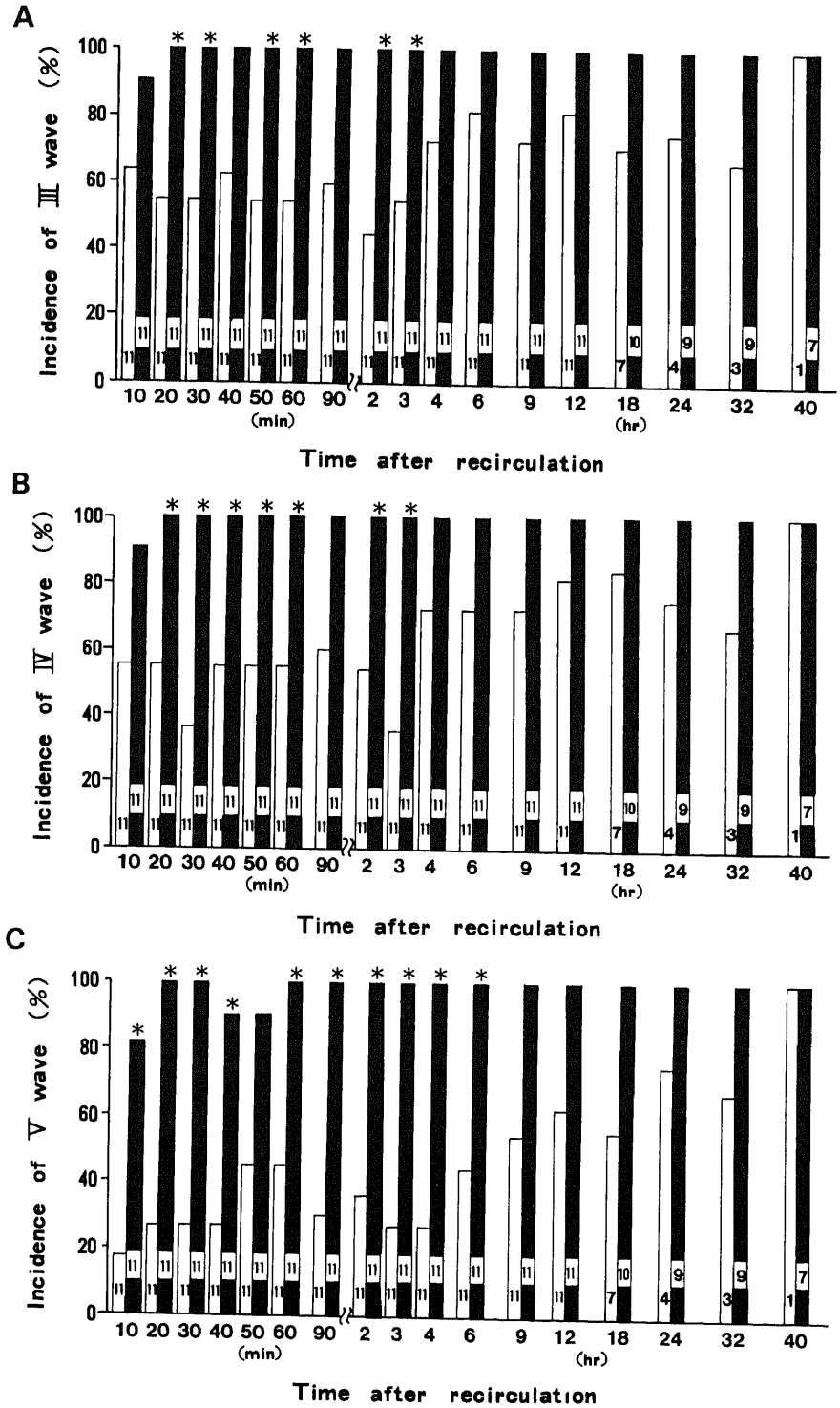

Fig. 4. Incidences of Ⅲ wave (A), Ⅳ wave (B) and Ⅴ wave (C) in auditory brainstem response (ABR) after 15-min complete cerebral ischemia. □, normothermic group with the esophageal temperature maintained at 37.5−38.5℃ ; ■, hypothermic group with the esophageal temperature maintained at 34.5−35.5℃. Star marks (*) in the hypothermic group show significant differences ($p<0.05$) from the normothermic group. Numbers in columns indicate the number of survival animals.

ことができた．以上の工夫により，循環再開直後の循環動態については，両群間に著しい差異を生じなかった．しかし，循環再開後2時間を経過すると，HR, MPAP, PCWP に両群間で有意差を生じ，6時間以後，常温群の MABP は低温群に比べ有意に低下した．体温は ABR の PL および IPL に影響を与えることから[18)19)]，本研究では循環再開後も各設定温度内に体温を維持した．そのため，循環再開後の軽度の低体温が，大動脈遮断という侵襲の加わったあとの循環動態に有利に働いた可能性があると考えられた．

Table 2. Baseline value of peak latency and interpeak latency in auditory brainstem response (ABR) in dogs

	Normothermic group(msec) (n=11)	Hypothermic group (msec) (n=11)
I wave PL	1.69±0.03	1.72±0.10
II wave PL	2.52±0.36	2.68±0.05*
III wave PL	3.27±0.03	3.53±0.08*
IV wave PL	4.27±0.05	4.60±0.05*
V wave PL	5.55±0.08	6.11±0.10*
I-V IPL	3.87±0.07	4.40±0.07*
I-III IPL	1.58±0.03	1.81±0.04*
III-V IPL	2.28±0.06	2.59±0.05*

Values are means±SEM. Star marks (*) in the hypothermic group show significant differences ($p<0.05$) from the normothermic group. Normothermic group, dogs with the esophageal temperature maintained at 37.5—38.5°C; Hypothermic group, dogs with the esophageal temprature maintained at 34.5—35.5°C; PL, peak latency; IPL, interpeak latency.

今回，神経機能の評価方法として使用した ABR は，脳幹から中脳に至るまでの聴覚中継核路の機能を反映する．各波形の起源については，I 波は蝸牛神経末端，II 波は蝸牛神経核，III 波はオリーブ核，IV 波は外側毛帯，V 波は下丘に対応するとされている[20)21)]．しかし，波形の成因がシナプス後電位であるのかあるいは活動電位であるのかなどの詳細は未だ明らかではない．また，IPL は音刺激で生じた神経興奮が聴覚路を上行するのに要する伝導時間を反映し，神経線維の圧迫，浮腫，血流障害などによって延長する．振幅は，個体差が大きく，その臨床的意義は明らかではない．しかし，音刺激の強さを変えると振幅が変化することなどから，振幅は定量的ではないが神経細胞の放電頻度を反映すると推定されている．

ABR 波形に影響を及ぼす因子として，音刺激や記録系に原因するものと対象部位に起因するものがある．音刺激や記録系に原因するものとしては，刺激音の種類，強さ，刺激頻度，刺激装置と鼓膜までの距離，電極の位置，フィルター帯域，加算回数などがある．対象部位に起因するものとして，被験動物の種類，年齢，聴力，体温あるいは麻酔がある．今回の実験に際しては，体温以外の影響因子をできるだけ除外するため，外耳

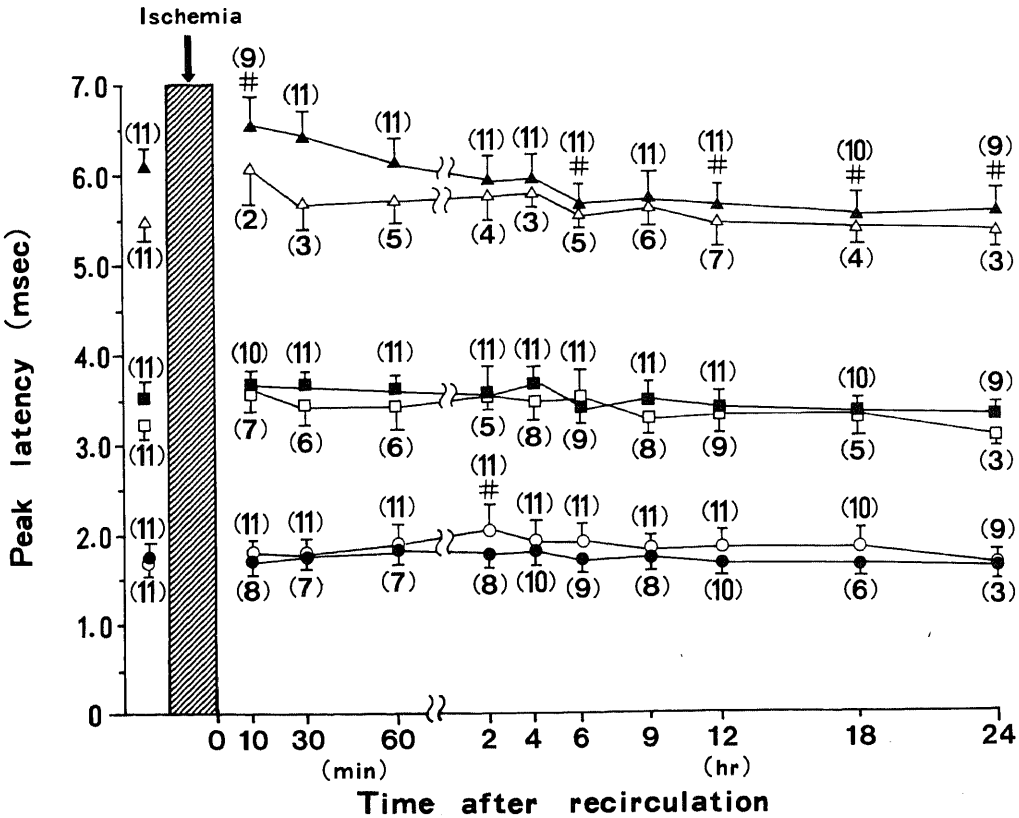

Fig. 5. Changes in peak latencies (PLs) of I wave, III wave and V wave in auditory brainstem response (ABR) after 15-min complete cerebral ischemia. ○, □ and △ indicate I, III and V PLs in the normothermic group, and ●, ■ and ▲ indicate I, III and V PLs in the hypothermic group, respectively. Values are means±SEM. Sharp marks (#) show significant differences ($p<0.05$) from the baseline value in each group. Numbers in parentheses indicate the number of animals which recovered the ABR waves.

道に挿入したチューブの位置，刺激条件，体温などを一定に保つように留意した．エンフルレンなどの一部の吸入麻酔薬による ABR 潜時の軽度延長[22)23)]が報告されているが，静脈麻酔薬はほとんど影響を及ぼさないとされている[24)25)]．むしろ最近は，麻酔や意識状態による影響を受けにくいという利点から，術中の脳幹機能の監視[26)]，意識障害症例の予後判定[9)]，脳死判定の補助診断法[11)]などでの有用性が報告されている．

本研究のように，完全全脳虚血モデルを用いて，長時間にわたり頻回に ABR を繰り返し判定した報告はあまり見受けられない．その結果，循環再開後，常温群は波形の出現率が低く，特に上部脳幹に対応するⅢ，ⅣおよびⅤ波の回復が著明に障害されることが明らかとなった．また，振幅も基準値の20～60％程度の回復に止まった．しかし，循環再開後に再び出現した各波の PL は，基準値に比較して有意差はなかった．このことより，本研究で用いた15分間の全脳虚血では，発電体である神経細胞の障害が強く，神経線維の障害の程度は可逆的であると考

Table 3. EEG changes and survival time of the dogs received 15-min complete cerebral ischemia

	Normothermic group (n=11)	Hypothermic group (n=11)
EEG flattening time (sec)	20.3±1.1	22.3±1.4
Rate of EEG reappearance within 1 hr after recirculation (%)	27.3%	100%*
Survival time (hr)	24.2±2.7	34.5±2.8*

Values are means±SEM. Star marks (*) in the hypothermic group show significant differences ($p<0.05$) from the normothermic group. Normothermic group, dogs with the esophageal temperature. maintained at 37.5−38.5℃; Hypothermic group, dogs with the esophageal temperature maintained at 34.5−35.5℃; EEG, electroencephalography; Flattening time, the period from the onset of the cerebral ischemia to the disappearance of EEG. Survival time was calculated after the recirculation.

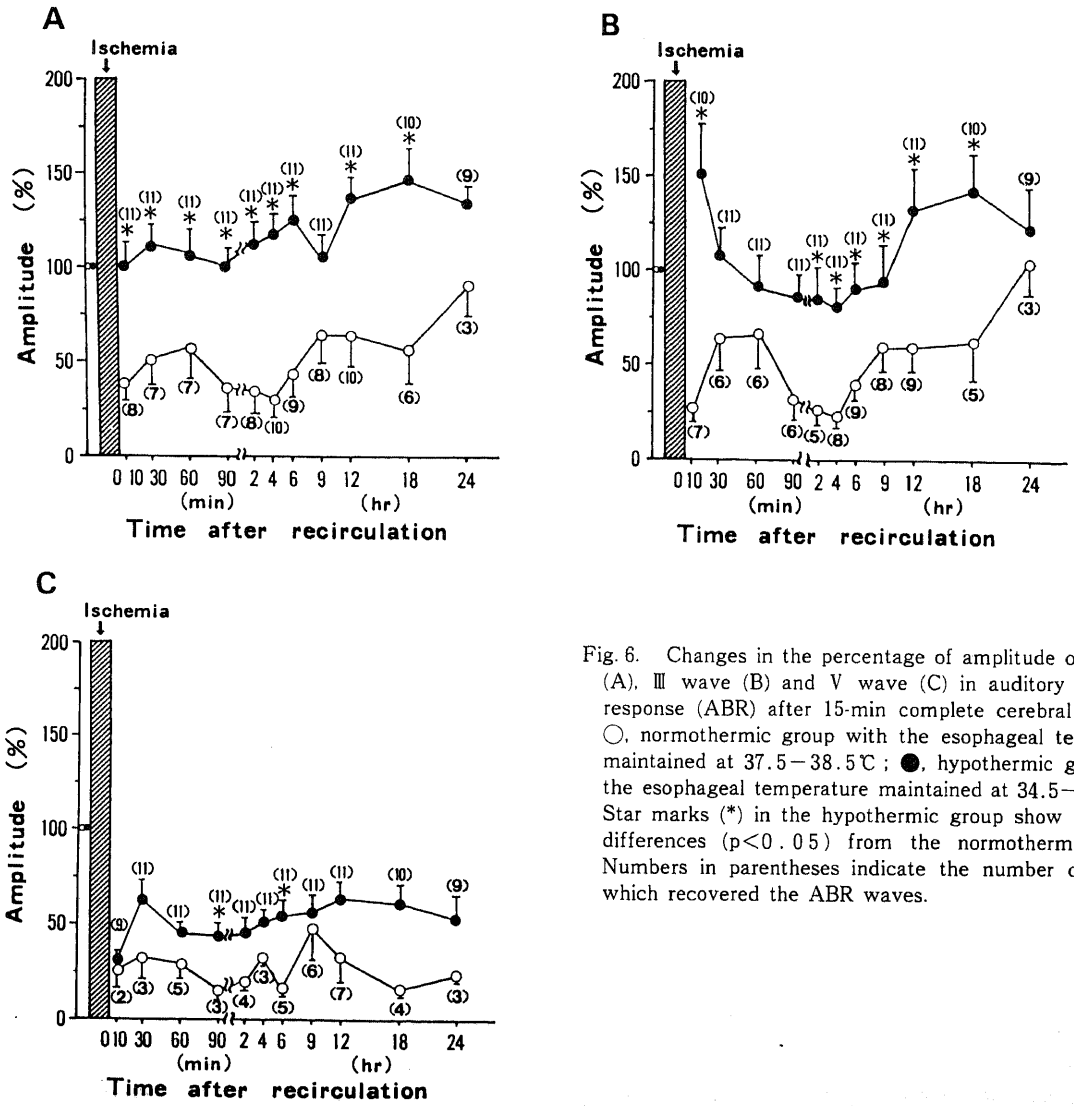

Fig. 6. Changes in the percentage of amplitude of Ⅰ wave (A), Ⅲ wave (B) and Ⅴ wave (C) in auditory brainstem response (ABR) after 15-min complete cerebral ischemia. ○, normothermic group with the esophageal temperature maintained at 37.5−38.5℃; ●, hypothermic group with the esophageal temperature maintained at 34.5−35.5℃. Star marks (*) in the hypothermic group show significant differences ($p<0.05$) from the normothermic group. Numbers in parentheses indicate the number of animals which recovered the ABR waves.

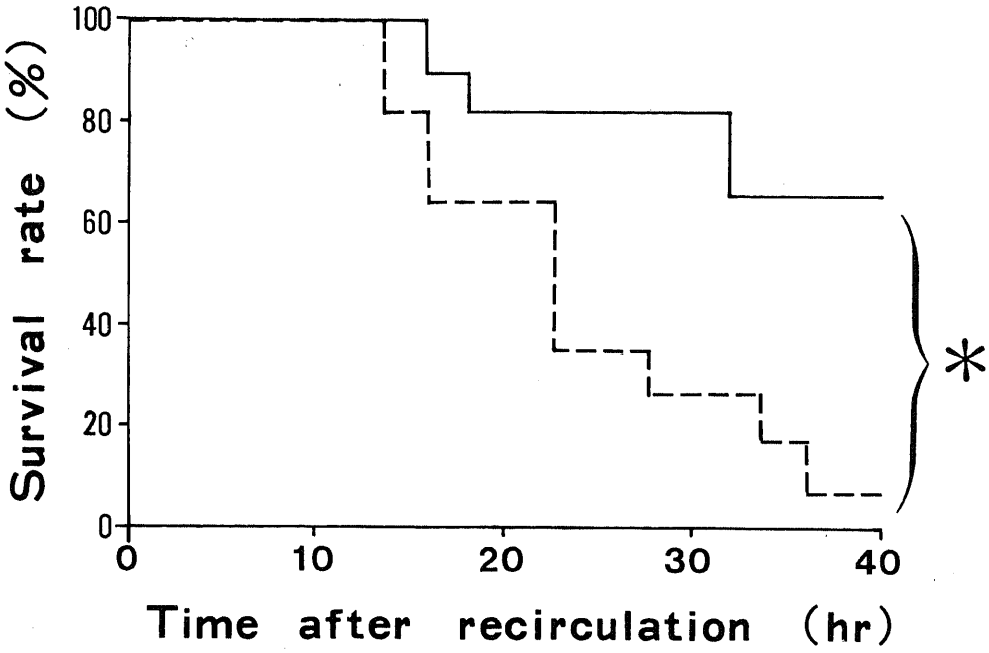

Fig. 7. Survival rate during the 40 hr after 15-min complete cerebral ischimia. Star mark (*) shows significant difference ($p<0.05$) between the two groups. The sample size of each group is eleven. ------, normothermic group with the esophageal temperature maintained at 37.5－38.5℃; ——, hypothermic group with the esophageal temperature maintained at 34.5－35.5℃.

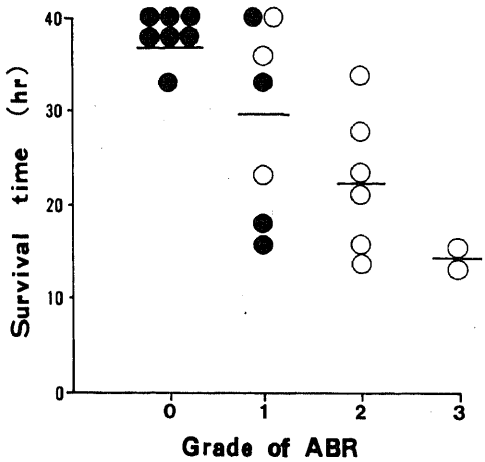

Fig. 8. Correlation between the grade of auditory brainstem response (ABR) findngs 4 hr after recirculation from 15-min complete cerebral ischemia and the survival time. The ABR findings were graded as follows: grade 0, normal; grade 1, reduced amplitude and/or prolonged interpeak latency; grade 2, absence of some ABR waves; garde 3, no ABR waves. There was a significant negative correlation (Spearman's correlation coefficient by ranks, $r_s=-0.77$, $p<0.01$). ○, normothermic group with the esophageal temperature maintained at 37.5－38.5℃; ●, hypothermic group with the esophageal temperature maintained at 34.5－35.5℃. The bars in each grade indicate the mean values.

えられた．また，循環再開後1時間から6時間は，脳血流が遅発性に減少する時期とされている．この時期に，常温群の波形の振幅が減少，あるいは消失しており，ABR は遅発性脳血流減少を反映している可能性が示唆された．

一方，低温群は極めて速やかな回復を示し，循環再開後20分以内に全ての波形が出現した．また，低温群では循環再開6時間以後，V波の PL の短縮を認めた．病的意義を持つ PL および IPL の短縮についての報告は少なく，ダウン症候群[27]や抗生物質による内耳の高音障害[28]などが報告されているのみである．生理学的には，体温の変動に伴う PL の変化が知られている．Picton ら[29]によれば，1℃の体温下降により，V波の PL が平均 0.17 msec 延長すると報告されている．本研究では，食道温と血液温を指標として，長時間にわたり可及的に厳密な体温管理を行った．しかし，低温群の V 波に認められた PL の短縮の原因を検討するためには，鼓膜温[30]あるいは脳温などの中枢神経温度を測定する必要があると考えられた．また，循環再開後，低温群の I 波と III 波の振幅は基準値を上回る増大を示した．しかし，V波の振幅の回復は障害されていることから，上位の抑制系の神経が障害され，脱抑制のような機序が働いているのではないかと推測される[31)~33)]．

さらに循環再開4時間後の ABR 所見について重症度分類を行なったところ，重症度と生存時間には強い相関を認め，重篤な脳障害時の生命予後判定に ABR 測定が有用であることが確認された．脳波の出現も低温群で有意に早く，3℃の低体温が脳幹を始め全脳に対して著しい保護作用を持つことが明らかとなった．本実験で用いた全脳虚血モデルにおいて脳波および ABR による神経機能評価を行なう場合に，循環再開早期の ABR による重症度判定と循環再開後1時間以内の脳波の再出現の有無が有用であると考えられた．

低体温による脳保護作用の機序としては，古くから脳神経細胞の代謝率や酸素消費量の減少が挙げられている[1]．特に低体温はバルビツレートなどの薬物による脳代謝抑制とは異なり，脳波活動に代表される機能面だけではなく，細胞の生命維持に関わる統合面も同等に抑制するとされている[34]．しかし，3℃程度の軽度の低体温による代謝や脳酸素消費量の減少は約15%

であること，またこの程度の低体温では虚血後の脳酸素消費量の変化の程度は常温と変わらないという報告[35]などを考慮すると，脳保護作用を脳代謝率の減少だけで説明することは困難である．このことに関して，最近の報告では，神経細胞膜機能の変化に対する低体温の影響が考えられている．特に，興奮性神経細胞に対する神経伝達物質の遊離[23]，脂質過酸化反応，フリーラジカル増加[36]などを低体温がどのように抑制するかということが注目・検討されている．Leonov ら[37]は，蘇生中や心拍再開後に低体温を施行しても有効であると報告しており，今後は臨床的な検討も同時に進める必要があるものと思われる．

結　　論

15分間の全脳虚血モデルにおいて，虚血前後の軽度低体温が循環再開後の神経機能の回復に及ぼす影響を聴性脳幹反応および脳波を用いて検討した．その結果，

1．低温群では，循環再開後速やかにⅠ波からⅤ波までの全波形が出現した．

2．常温群では，Ⅲ，ⅣおよびⅤ波の回復が著明に障害された．

3．全脳虚血によって脳波が消失するまでの時間は，両群間に差がなかった．しかし，循環再開後1時間以内に脳波が再出現する割合は，低温群で有意に高かった．

4．循環再開後40時間における低温群の生存率は常温群の生存率に比較して有意に高かった．また，循環再開後4時間目における聴性脳幹反応の所見と生存時間には相関が認められた．

以上より，3℃前後のわずかな低体温でも脳幹を始めとする全脳の機能の障害の程度は有意に軽減し，機能回復も有意に促進すると結論された．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師村上誠一教授に深甚の謝意を表します．また適切な御助言を賜わった小林勉助教授，終始実験に御協力を戴いた高岡市民病院麻酔科遠山一喜部長をはじめ吉田　豊講師，浅地　直博士，丁　正年大学院生らの脳蘇生実験グループならびに教室員一同に心から感謝致します．また，統計学的処理について御懇篤な御指導を戴きました金沢大学衛生学教室橋本和夫教授に深謝致します．

文　　献

1） **Anabtawi, I. N. & Brockman, S. K.**: Protective effect of hypothermia on total occlusion of the cerebral circulation: a quantitative study. Ann. Surg., **155**, 312-315 (1962).

2） **Okuda, C., Saito, A. & Miyazaki, M.**: Alteration of the turnover of dopamine and 5-hydroxytryptamine in rat brain associated with hypothermia. Pharmacol. Biochem. Behav., **25**, 79-83 (1986).

3） **Haikala, H., Karmalahti, T. & Ahtee, L.**: The nicotine-induced changes in striatal dopamine metabolism of mice depend on body temperature. Brain Res., **375**, 313-319 (1986).

4） **Drew, C. E.**: Profound hypothermia in cardiac surgery. Br. Med. Bull., **17**, 37-42 (1961).

5） **Edmunds, L. H. Jr., Folkman, L. J., Snodgress, A. B. & Brown, R. B.**: Prevention of brain damage during profound hypothermia and circulatory arrest. Ann. Surg., **157**, 637-648 (1963).

6） **Bigelow, W. G., Mustered, W. T. & Evans, J. D.**: Some physiologic concepts of hypothermia and their applications to cardiac surgery. J. Thorac. Surg., **28**, 463-480 (1954).

7） **浅地　直**：15分間全脳虚血犬の神経学的予後ならびに生存率に及ぼす体温の影響．十全医会誌，**98**, 1087-1100 (1989).

8） **Busto, R., Dietrich, W. D., Globus, M Y-T., Valdés, I., Scheinberg, P. & Ginsberg, M. D.**: Small differences in intra ischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. J. Cereb. Blood Flow Metab., **7**, 729-738 (1987).

9） **Hall J. W. Ⅲ & Huangfu, M., Gennarelli, T.,**: Auditory function in acute severe head injury. Laryngoscope, **92**, 883-890 (1982).

10) **Uziel, A. & Benezech, J.**: Auditory brain-stem responses in comatose patients: Relationship with brain-stem reflexes and levels of coma. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., **45**, 515-524 (1978).

11) **Starr, A.**: Auditory brain-stem responses in brain death. Brain, **99**, 543-554 (1976).

12) **猪　忠彦**：意識障害．聴性脳幹反応（鈴木篤郎，船坂宗太郎，大西信治郎編），第1版，270-276 頁，メジカルビュー社，東京，1985.

13) **Guyton, A. C., Jones, C. E. & Coleman, T. G.**: Circulatory Physiology: Cardiac Output and its Regulation, 2nd ed., p12, W. B. Saunders, Philadelphia Toront London, 1973.

14) **Brockman, S. K. & Jude, J. R.**: The tolelance of the dog brain to total arrest of circulation. Bull. Johns Hopkins Hosp., **103**, 74 (1960).

15) **塚原　勲**：イヌにおける全脳虚血限界時間および虚血後神経機能の回復過程．麻酔，**36**, 1737-1746 (1987).

16) **Kuroiwa, T., Shibutani, M. & Okeda, R.**: Non-hyperemic blood flow restoration and brain edema in experimental focal cerebral ischemia. J. Neurosurg., **70**, 73-80 (1989).

17) **遠山一喜，吉田　豊，廣田幸次郎，小林宏充，山本　健，小林　勉，村上誠一**：上行大動脈遮断による全脳虚血モデルの検討．麻酔，**37**, 1341-1345 (1988).

18) **Rossi, G. T. & Britt, R. H.**: Effects of hypothermia on the cat brainstem auditory evoked responses. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 57, 143-155 (1984).

19) **Marsh, R. R., Yamane, H. & Potsic, W. P.**: Auditory brainstem response and temperature: relationship in the guinea pig. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., **57**, 289-293 (1984).

20) **Møller, A. R., & Jannetta, P. J.**: Neural generators of the auditory brainstem response. *In* J. T. Jacobson (ed.), The Auditory Brainstem Response. 1st ed., p13-31, Taylor & Francis, London, 1985.

21) **船井洋光**：ABR の起源の局在診断の可能性．J. Otolaryngol. Head Neck Surg., **5**, 298-304 (1989).

22) **Thornton, C., Catley, D. M., Jordan, C., Lehane, J. R., Royston, D. & Jones, J. G.**: Enflurane anesthesia caused graded changes in the brainstem and early cortical auditory evoked response in man. Br. J. Anaesth., **55**, 479-486 (1983).

23) **Thornton, C., Heneghan, C. P. H., James, M. F. M. & Jones, J. G.**: Effects of halothane or enflurane with controlled ventilation on auditory evoked potentials. Br. J. Anaesth., **56**, 315-323 (1984).

24) **Bobbin, R. P., May, J. G. & Lemoine, R. L.**: Effects of pentobarbital and ketamine on brainstem auditory potentials. Arch. Otolaryngol., **105**, 467-470 (1979).

25) **Shapiro, S. M., Mϕ ller, A. R. & Shiu, G. K.**: Brain-stem auditory evoked potentials in rats with high-dose pentobarbital. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., **58**, 266-276 (1984).

26) **Rauzens, P. A. & Shetter, A. G.**: Intraoperative monitoring of brainstem auditory evoked potentials. J. Neurosurg., **57**, 341-348 (1982).

27) **Folsom, R. C., Widen, J. E. & Wilson, W. R.**: Auditory brain-stem response in infants with Down's syndrome. Arch. Otolaryngol., **109**, 607-610 (1983).

28) **Guerit, J. M., Mahieu, P., Giurgea, S. H. & Herbay, S.**: The influence of ototoxic drugs on brainstem auditory evoked potentials in man. Arch. Otorhinolaryngol., **233**, 189-199 (1981).

29) **Picton, T. W. & Stapells, D. R.**: Auditory evoked potentials from the human cochlea and brainstem. J. Otolaryngol., **9**, 1-41 (1981).

30) **双津正博**：鼓膜温度変化に対応する聴性脳幹反応潜時変化について．脳神経，**40**, 939-945 (1988).

31) **Przybylski, A.**: Activity pattern of visceral cortex neurons during asphyxia. Exp. Neurol., **32**, 12-21 (1971).

32) **Heiss, W. D., Hayakawa, T. & Waltz, A. G.**: Cortical neuronal function during ischemia. Effects of occlusion of one middle cerebral artery on single-unit activity in cats. Arch. Neurol., **33**, 813-820 (1976).

33) **Hall, J. W. Ⅲ, Mackey-Hargadine, J. R. & Edmund, Kim E.**: Auditory brainstem response in determination of brain death. Arch. Otolaryngol., **111**, 613-620 (1985).

34) **Steen, P. A., Newberg, L., Milde, J. H. & Michenfelder, J. D.**: Hypothermia and barbiturates: individual and combined effects on canine cerebral oxygen consumption. Anesthesiology, **58**, 527-532 (1983).

35) **吉田　豊**：15分間全脳虚血犬での脳血流および脳酸素消費量の変化に及ぼす軽度低体温の影響．十全医会誌，**100**, 565-574 (1991).

36) **Busto, R., Globus, M. Y-T., Dietrich, W. D., Martinez, E., Valdés, I. & Ginsberg, M. D.**: Effect of mild hypotherrmia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. Stroke, **20**, 904-910 (1989).

37) **Leonov, Y., Sterz, F., Safer, P., Radovsky, A., Oku, K., Tisherman, S. & Stezoski, S. W.**: Mild cerebral hypothermia during and after cardiac arrest improves neurologic outcome in dogs. J. Cereb. Blood Flow Metab., **10**, 57-70 (1990).

Protective Effects of Low-grade Hypothermia on Brain Dysfunction after 15-min Complete Cerebral Ischemia in Dogs : Study Using Auditory Brainstem Response and EEG Changes

Koujirou Hirota, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920－J. Juzen Med Soc., **101**, 34－45 (1992)

Key words complete cerebral ischemia, low-grade hypothermia, auditory brainstem response, electroencephalography

Abstract

The protective effects of low-grade hypothermia on brain dysfunction following 15-min complete cerebral ischemia were studied in 22 mongrel dogs anesthetized with 0.2% halothane. Controlling the esophageal temperature with heatlamp and/or ice packs, the animals were divided into two groups, normothermic (n=11, 37.5-38.5℃) and hypothermic (n=11, 34.5-35.5℃). Then, complete cerebral ischemia was induced by clamping the ascending aorta. Auditory brainstem response (ABR) disappeared roughly 2 min after the induced ischemia. ABR of the hypothermic group recovered faster than that of the normothermic group. In the hypothermic group, all (Ⅰ to Ⅴ) waves reappeared with in 20 min after recirculation; the incidences of Ⅲ and Ⅳ waves from 20 min to 3 hr and Ⅴ wave from 10 min to 6 hr after recirculation were significantly higher in the hypothermic group than those in the normothermic group ($p<0.05$). Peak latencies and interpeak latencies at baseline showed significant prolongation in the hypothermic group. Yet, after recirculation, no apparent prolongation was observed compared with the baseline values in both groups. Percent changes in the amplitudes of Ⅰ, Ⅲ and Ⅴ waves in the normothermic group decreased below the baseline level after recirculation. In contrast, those in the hypothermic group showed an increase in Ⅰ, Ⅲ waves and a decrease in Ⅴ wave. The disappearance time of electroencephalography (EEG) was not significantly different between the hypothermic group (22.3±1.4 sec, mean±SEM) and the normothermic group (20.3±1.1 sec). The rate of reappearance of EEG within 1 hr after recirculation was higher in the hypothermic group

(100%) than in the normothermic group (27.3%). Survival time was significantly longer in the hypothermic group (34.5 ±2.8 hr) than the normothermic group (24.2±2.7 hr). There was a significant difference between the survival rate of the hypothermic group (7/11) and the normothermic group (1/11) 40 hr after recirculation ($p<0.05$). There was a significant negative correlation between the grade of ABR findings 4 hr after recirculation and the survival time ($r_s=-0.77$, $p<0.01$). The results indicated that a difference of around 3℃ in body temperature exerted a significant influence over recovery of ABR and EEG, as well as the survival rate, after 15-min complete cerebral ischemia.