

Effects of Low-Grade Hypothermia on Neurologic Outcome after 15 min Complete Cerebral Ischemia in Dogs

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/2297/8153

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

金沢大学医学部麻酔学講座 (主任: 村上誠一教授)

浅 地 直

(平成1年10月31日受付)

上行大動脈遮断法による15分間の全脳虚血犬モデルを作製し、予後に及ぼす体温の影響を検討した。体重 10~15kg の雑種成犬18頭を軽度低体温群 (以下低体温群) の9頭と、常温対照群 (以下常温群) の9頭に分けた。0.5~1.0%フローセンと60%笑気および酸素の吸入による全身麻酔に局所麻酔を併用、 PaO_2 および PaCO_2 を正常域に保つように調節呼吸を行い、右第4肋骨間で開胸し、大動脈起始部、上、下大静脈に血管絞縮テープを通した。ブランケット、ヒートランプ、氷嚢などを用いて、食道温を低体温群では34.0~35.5°Cに、常温群では37.0~38.5°Cの範囲に調節した。脳波は、前頭部、頭頂部で双極誘導を用いて持続的に記録した。続いて、フローセン0.2%と酸素100%で30分以上換気し全身状態が安定したのち、Debaquey 大動脈鉗子で上行大動脈をクランプするとともに、テープで上、下大静脈を順次絞縮する方法で15分間の完全脳虚血を行った。循環再開後、必要に応じてドーパミンを短時間投与したほかには、特に薬剤を投与しなかったが、全例とも速やかに血行動態は回復した。循環再開後2時間目に開胸し、以後 PaO_2 が 100mmHg 以上を保つように FiO_2 0.4~1.0で調節呼吸を続け、十分な自発呼吸が再現した時点で抜管し酸素ケージに移した。循環再開後3, 6, 12, 24, 48時間目に、神経機能障害度を点数化 (neurologic deficit score, NDS) し、神経機能の回復を評価した。観察項目は、1) 意識15点、2) 呼吸10点、3) 脳神経反射7項目計14点、4) 脊髄反射16点、5) 行動様式20点、および6) 歩行25点の6項目から成り、合計100点で最も重篤な神経機能障害を、0点で完全に正常に回復した状態を示す。大動脈遮断後脳波が平坦化するまでの時間は、常温群の23.8±4.5秒に対し低体温群では23.9±7.3秒と両群間に差はなかった。しかし、循環再開後脳波が出現するまでの時間は、常温群の63.8±33.2分に比べて低体温群では29.0±8.7分と有意に短かった。循環再開後の平均生存時間は、常温群の18.5±8.8時間に比べて低体温群では32.6±15.6時間と有意に長かった。48時間目の生存率は、常温群では9頭すべて死亡したのに対し低体温群では9頭中4頭が生存しており、両群間に有意差があった。神経機能障害度は、循環再開後3, 6, 12, 24, 48時間のすべての時点で、常温群に比べて低体温群では軽く、かつ常温群では回復が認められないのに対し、低体温群では時間の経過と共に障害の改善傾向が認められた。すなわち循環再開後脳波が早期に出現するほど神経機能の回復は良く、生存時間も長かった。また、NDS が早期に改善するほど神経機能の回復は順調であった。以上より、わずか3°Cの体温の差でも、完全脳虚血後の神経機能の回復および生存率に有意な影響を及ぼすことが明確にされるとともに、心停止前に低体温状態にあった患者では、蘇生後の中枢神経機能障害が軽度にとどまるという臨床知見が支持された。

Key words complete cerebral ischemia, low-grade hypothermia, neurologic outcome

Abbreviations: HE, hematoxylin-eosin stain; KB, Klüver-Barrera stain; MAP, mean arterial pressure; NDS, neurologic deficit score; PEEP, positive end-expiratory pressure

これまで、寒冷期の行き倒れや冷水中の溺水によって心停止に陥り30分間以上を経過した症例において、神経学的障害を残すことなく完全蘇生したという報告¹⁰⁾は少なくない。また、動物実験においても、低体温下では脳が虚血に耐える時間は大幅に延長することが確かめられている⁹⁾。これらのことから低酸素性脳症に対する低体温の脳保護作用は広く認められ、臨床的には心血管外科領域でしばしば利用されてきた。

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中等度ないし高度の低体温で行われた¹⁰⁾。このような低体温状態では、不整脈など心肺機能障害を初めとして種々の重篤な合併症をとまうことが指摘されている⁹⁾ので、臨床に汎用するには問題があった。これに対して、軽度低体温は心肺機能に対する有害な影響が比較少ないこと⁷⁾から、頭部外傷後における脳保護対策に多用されている。しかしながら、その脳保護作用の実態については未解明の点が少ない。

本研究は脳虚血後の神経学的予後ならびに生存率に及ぼす軽度低体温の影響を明らかにすることを目的として、脳虚血時間を正確に規定することが可能な15分間の完全脳虚血犬モデルを用いて検討を行った。

対象および方法

I. 対象と麻酔方法

体重 10~15kg の雑種成犬18頭を、軽度低体温群(以下低体温群)の9頭と、常温対照群(以下常温群)の9頭とに分けた。塩酸ケタミン 20mg/kg と硫酸アトロピン 0.5mg 筋注により麻酔を導入し、サクシニルコリン 2 mg/kg の筋注後、気管内挿管した。全脳虚血前は、笑気60%、酸素40%、ハロセン0.5~1%で麻酔を維持するとともに、臭化パンクロニウム (1mg/hr) で非動化し、 PaO_2 100mmHg 以上、 PaCO_2 35~40 mmHg を保つように調節呼吸 (FiO_2 0.4, 一回換気量 15~20ml/kg, 呼吸数12回/分, 終末呼気陽圧 (positive end-expiratory pressure, PEEP) 5cm H_2O) を行った。さらに局所には0.5%メピバカインの浸潤麻酔も併用した。

II. 手術および監視装置

術野を10%ポビドンヨード溶液で消毒し、手術操作は無菌的に行った。まず、右大腿動脈に挿入留置したカニューレを用いて持続的に動脈圧測定 (T12AD-R, SPECTRAMED, Singapore) を行うとともに、動脈血ガス分析 (ABL-2, Radiometer, Copenhagen) ならびに電解質測定 (NK-60P, JOKO, 東京) のための採血を行った。次に、右大腿静脈に挿入留置したカニューレを輸液 (乳酸加リンゲル液 2~10ml/kg/hr)

と薬剤投与ルートにあてた。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。体温計プローブ (43TA, Yellow Springs Instrument Co., Inc., Ohio) を心臓の高さの食道に挿入して体温を測定した。

これらの準備を進めながら、氷嚢で下半身を冷却したり、加温ブランケット、ヒートランプで全身を保温することによって、低温群では34.0~35.5°Cに、常温群では37.0~38.5°Cに食道温を調節した。上行大動脈遮断による完全脳虚血モデルの作製のために、右第4肋間で開胸し、大動脈起始部、下大静脈、および奇静脈よりも末梢側の上大静脈に、それぞれ絞縮用のテープを通すとともに、代謝性アシドーシスがある場合には8.4%重炭酸ナトリウムを静注して補正した。実験中はマルチチャンネルレコーダー (RM-6000, 日本光電, 東京) を用いて動脈圧、心電図 (四肢誘導)、および脳波 (頭頂-後頭双極誘導) を経時的に記録した。

III. 完全脳虚血の実施と虚血後の全身管理

笑気の投与を止め、0.2%ハロセンを混ぜた100%酸素を30分間以上吸入させ、全身状態が安定したのち、硫酸アトロピン 1 mg を静注、大動脈起始部よりできる限り遠位の腕頭動脈分岐部直前で、Debaquey 大動脈鉗子を用いて上行大動脈を遮断するとともに、上、下大静脈をこの順でテープを用いて絞縮する方法⁹⁾により15分間の完全脳虚血を行った (図1)。

大動脈遮断中には、調節呼吸の条件を FiO_2 1.0, 一回換気量 15~20ml/kg, 呼吸数 5 回/分, PEEP 5cm H_2O とした。遮断解除後には、呼吸数を20回/分に増し、以後頻回に動脈血ガス分析を行いながら、 PaCO_2 が 35~40mmHg となるように換気量を調節するとともに、代謝性アシドーシスに対しては、遮断解除直後に8.4%重炭酸ナトリウム 1 ml/kg を、以後10分後の動脈血ガス分析の値を見てからベイスイクセス × 体重 (kg) × 0.2ml を投与して補正した。

循環再開後、ただちに血行動態の回復を認めた例が多かったが、血圧の上昇が遅延する傾向がみられた場合にはドーパミン 100~1000 μg を静注した。循環再開2時間後に、胸腔内にハイムリッヒ弁付きのトロッカーカテーテルを挿入留置して閉胸し、以後 PaO_2 が 100mmHg 以上を保つように FiO_2 を 0.4~1.0 として調節呼吸を続けた。その後十分な自発呼吸が再開したことを確認したのち抜管し、酸素ケージに移して観察を続けた。摂食不能例では乳酸化リンゲル液 (2~5 ml/kg/hr) と 5%ブドウ糖液 (2 ml/kg/hr) を持続点滴した。感染予防の目的で、循環再開直後および24時間後にセファロチンナトリウム 1 g を筋注した。

IV. 神経機能障害度の評価

循環再開後 3, 6, 12, 24, 48時間目に, Toddらの方法⁹⁾に準じて神経機能障害度を点数化 (neurologic deficit score, NDS) して評価した (表 1). 観察項目は, 1) 意識15点, 2) 呼吸10点, 3) 脳神経反射7項目計14点, 4) 脊髄反射16点, 5) 行動様式20点, および 6) 歩行25点の6項目より成り, 合計100点で最も重篤な神経機能障害を, 0点で完全に正常に回復した状態を示す.

なお神経機能障害度の評価期間中に死亡した犬では死亡後ただちに, 生存している犬では48時間の時点で15% KCl 20ml を静注して屠殺し, 脳を摘出した.

V. 脳組織標本の作製

摘出した脳を, ただちに10%中性ホルマリン溶液で10日間以上固定した後, 視交叉を基準に前額断で1cm毎に割をいれた. この標本を, セロイジン包埋後に厚さ 20 μ m の切片とし, ヘマトキシリン-エオジン染色 (hematoxylin-eosin stain, HE 染色) および cresyl violet & luxol fast blue 重染色 (Klüver-Barrera stain, KB 染色) を行って鏡検した.

VI. 検定法

測定値は平均値±標準偏差で示した. 得られた成績の比較に当たっては常温群と低温群の母集団について分散分析を行った上で, 生存率については χ^2 検定を

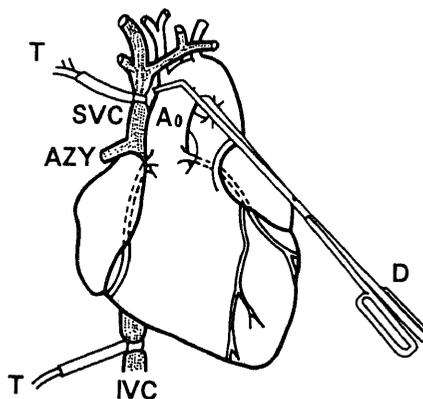


Fig. 1. Schema for vascular occlusion to obtain complete cerebral ischemia. The 15 min complete cerebral ischemia was induced by occluding the aorta with Debaquey's vascular clamp which was placed at just proximal to the brachiocephalic trunk. The superior and inferior venae cavae also were occluded with umbilical tapes 15 sec after the clamp of the aorta to avoid cerebral venous congestion. Ao, ascending aorta; SVC, superior vena cava; IVC, inferior vena cava; AZY, azygos vein; D, Debaquey's vascular clamp; T, umbilical tape.

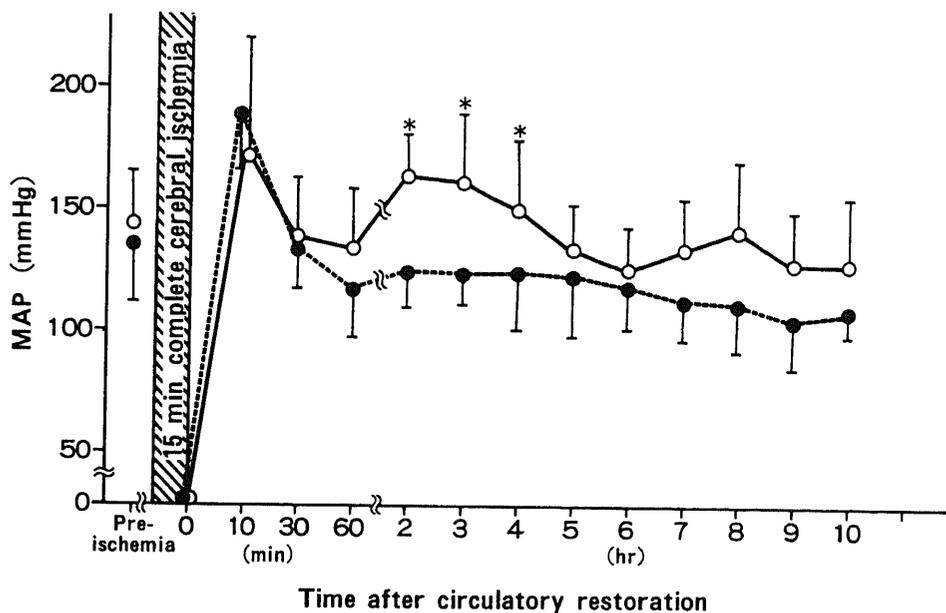


Fig. 2. Mean arterial pressure (MAP) values (mean±S. D.) before and after the 15 min complete cerebral ischemia. ○—○, hypothermic group; ●—●, normothermic group. * $p < 0.05$ versus the normothermic group.

用いて、大動脈遮断後脳波が平坦化するまでの時間、循環再開後脳波が出現するまでの時間、平均生存時間、動脈血ガス分析値、平均動脈圧 (mean arterial

pressure, MAP)、重炭酸ナトリウム投与量および NDS については Wilcoxon 検定を用いて、それぞれ統計解析を行った。いずれも危険率 5% をもって有意

Table 1. Neurologic deficit score for dogs

Neurologic Assessment	Points	Maximum Points
1. Level of Consciousness		15
Normal	0	
Clouded or delirious	5	
Stuporous	10	
Comatous	15	
2. Respiration		10
Normal	0	
Abnormal	5	
On ventilator	10	
3. Cranial Nerves		14
Pupil size (normal/abnormal/fixed)	0-2	
Light reflex (present/weak/absent)	0-2	
Oculocephalic reflex (present/weak/absent)	0-2	
Corneal reflex (strong/weak/absent)	0-2	
Facial sensation (strong/weak/absent)	0-2	
Auditory (strong/weak/absent)	0-2	
Gag reflex (strong/weak/absent)	0-2	
4. Spinal Reflexes		16
Muscle tone		
Trunk (normal/spastic/flaccid)	0-5	
Limbs (normal/spastic/flaccid)	0-5	
Flexor reflex to pain; pressure exerted on base of toe nail with hemostat		
Front (normal/depress/absent)	0-3	
Hind (normal/depress/absent)	0-3	
5. Behavioral Reactions		20
Wheelbarrowing; gait on forelimbs when hind limbs held off ground, note head position and symmetry	0-3	
Extensor posture thrust; lower animal to floor with hind limbs to touch, allow walking and observe symmetry	0-3	
Placing; paws to contact table edge, simultaneously and individually, observe for placement onto table		
Front (normal/ataxic/absent)	0-3	
Hind (normal/ataxic/absent)	0-3	
Feeding (yes/swallows when fed/absent)	0-4	
Cleaning (yes/absent)	0-4	
6. Gait		25
Normal	0	
Minimal paresis and ataxia; able to walk	5	
Able to stand and independently support self, but stumbles and falls frequently	10	
Unable to stand independently; stumbles and falls frequently when supported	15	
Unable to stand; purposeful movement when supported by tail.....severe paresis	20	
Absence of purposeful movement	25	

Maximum score=100 points (the most severe neurologic deficit or death)

Minimum score=0 point (normal)

差ありとした。

成 績

I. 血圧の変化

大動脈遮断と同時に動脈圧は急墜、脈圧は消失し、30秒前後でMAPは20mmHg前後となった。以後、遮断中を通じてこの値は一定していた。遮断解除後にドーパミンの投与を必要とした犬は、常温群では9頭中4頭(44%)、低温群では9頭中3頭(33%)で、両群間に有意差はなかった。循環再開後MAPは遮断前値を越えて上昇し、約30分間で大動脈遮断前値に復した。MAPの平均値は、循環再開2, 3, 4時間後で低温群において常温群より有意に高かったが、上記以外の時点では両群間に有意差を示さなかった(図2)。

II. 血液ガス、電解質の変化

循環再開後の呼吸性ならびに代謝性アシドーシス

は、換気量の調節と重炭酸ナトリウムの投与によりただちに補正された。循環再開後10分目のpH, PaCO₂, ベイスイクセスおよび循環再開後15分間までに投与した重炭酸ナトリウム量に、常温群と低温群との間で有意差があった(表2)。

III. 脳 波

大動脈遮断後脳波が平坦化するまでの時間は、常温群の23.8±4.5秒に対し低温群では23.9±7.3秒であり、両群間に有意差はなかった。循環再開後脳波が出現するまでの時間は、常温群の63.8±33.2分に比べて低温群では29.0±8.7分と有意に短かった。(表3)。

IV. 生存時間および生存率

循環再開後の平均生存時間は、常温群の18.5±8.8時間に比べて低温群では32.6±15.6時間と有意に長かった。また、48時間後の生存率は、常温群(9頭すべて死亡)に比べて低温群(9頭中4頭生存)では有意に

Table 2. Acid-base status of arterial blood and administered dose of sodium bicarbonate

	Group	Pre-ischemia	Post-ischemia (time after circulatory restoration)				
			10 min	30 min	60 min	2 hr	3 hr
pH	Hypo	7.37±0.02	7.30±0.04*	7.42±0.03	7.44±0.04	7.34±0.03	7.35±0.06
	Normo	7.37±0.03	7.16±0.08	7.41±0.07	7.42±0.06	7.44±0.06	7.44±0.07
PaCO ₂ (mmHg)	Hypo	38.9±2.4	40.4±5.7*	35.0±3.5	33.0±3.8	41.5±5.9	39.2±6.8
	Normo	39.0±2.1	37.3±8.8	37.4±6.3	35.2±4.1	38.3±4.4	35.2±5.7
BE (mEq/L)	Hypo	-2.7±1.3	-6.5±2.4*	-0.2±1.9	-1.0±1.4	-3.3±0.9	-4.2±1.5
	Normo	-2.7±1.3	-13.1±3.5	-1.1±2.1	-1.1±2.4	-0.8±2.6	0.08±2.2
NaHCO ₃ ^a (mEq/kg)	Hypo			1.9±0.6*			
	Normo			2.3±0.8			

Each value represents the mean±S. D.

* p<0.05 versus the normothermic group.

^a, Total dose of sodium bicarbonate administered within 30 min after the ischemia to maintain normal pH values of the arterial blood.

Hypo, hypothermic group; Normo, normothermic group.

Table 3. EEG changes and survival time

	Hypo	Normo
EEG Flat Time (sec)	23.9±7.3	23.8±4.5
EEG Return Time (min)	29.0±8.7*	63.8±33.2
Survival Time (hr)	32.6±15.6*	18.5±8.8

Each value represents the mean±S. D.

* p<0.05 versus the normothermic group.

EEG flat time is from the onset of cerebral ischemia until the EEG becomes isoelectric.

EEG return time is the period until the first EEG activity was seen after the circulatory restoration.

Survival time was calculated after the circulatory restoration.

Hypo, hypothermic group; Normo, normothermic group.

高かった(表3, 図3).

V. 神経機能障害度

神経機能障害度は、循環再開後3, 6, 12, 24および48時間すべての時点で、常温群に比べて低温群では軽度であった。また、循環再開後に常温群では回復の兆候が認められなかったのに対し、低温群では時間の経過と共に障害の改善傾向が認められた。個々の項目

では、3, 6, 12および24時間後の脳神経反射、脊髓反射、ならびに12および48時間後の意識障害の程度が、常温群に比べて低温群で有意に軽度であった。これらの点を除いて、神経機能障害度には両群間で有意差はなかった(表4, 図4)。

VI. 組織学的所見

常温群で43時間生存した犬の脳は全体に軽度の浮腫

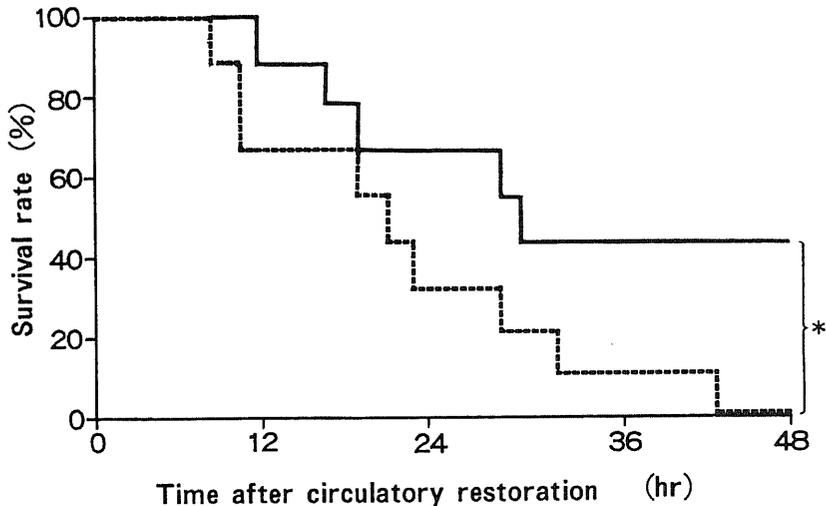


Fig. 3. Survival rate during 48 hr after the 15 min complete cerebral ischemia. The sample size of each the group is nine. —, hypothermic group; ----, normothermic group. * $p < 0.05$ versus the normothermic group.

Table 4. Neurologic deficit score during 48 hr after the circulatory restoration

	Group	3 hr	6 hr	12 hr	24 hr	48 hr
Total	Hypo	79±9*	69±18*	64±27*	54±37*	52±40*
	Normo	91±4	91±6	89±14	97±6	100±0
Level of Consciousness	Hypo	12±4	10±6	8±6*	7±8	6±8*
	Normo	15±0	14±2	13±4	13±4	15±0
Respirations	Hypo	7±3	5±4	5±5	4±5*	5±5
	Normo	6±2	7±3	8±4	9±1	10±0
Cranial Nerves	Hypo	8±3*	6±1*	7±4*	6±5*	7±7
	Normo	12±1	11±2	11±5	13±2	14±0
Spinal Reflexes	Hypo	8±3*	7±3*	7±6*	7±6*	8±9
	Normo	13±3	13±2	13±4	15±2	16±0
Behavioral Reactions	Hypo	20±0	19±4	17±5	13±8	11±10
	Normo	20±0	20±0	20±0	20±0	20±0
Gait	Hypo	25±0	23±5	21±8	16±10	14±12
	Normo	25±0	25±0	25±0	25±0	25±0

Each value represents the mean±S. D.

* $p < 0.05$ versus the normothermic group.

Hypo, hypothermic group; Normo, normothermic group.

を呈したが、大脳の灰白質、白質のいずれの部位にも大きな軟化巣はなかった。視床では内側核を中心に、神経細胞の Nissl 顆粒の染色性低下が見られた。HE 染色では eosinophilic に均質化した神経細胞が多くみられ、いわゆる断血性の変化を呈していた。小脳では、Purkinje 細胞の脱落を認めただけ、視床と同様に Nissl 染色での染色性低下と細胞体の色調に eosinophilic な変化を示す神経細胞が多数見られ、一部で Bergmann 細胞の増加も認められた。また、視床や大脳皮質には、血管外への漏出性変化や、血管外腔および perineuronal space の拡大がみられたが、これらは脳浮腫による変化と考えられる。海馬や脳幹の組織には著明な変化を認めなかった。低温群で48時間生存した犬の脳では、組織学的に上記のような変化を認めなかった (図5、6)。

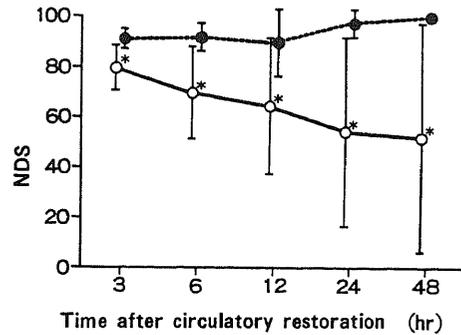


Fig. 4. Total neurologic deficit score (NDS, mean \pm S. D.) for 48 hr after the 15 min complete cerebral ischemia. \circ — \circ , hypothermic group; \bullet — \bullet , normothermic group. * $p < 0.05$ versus the normothermic group.

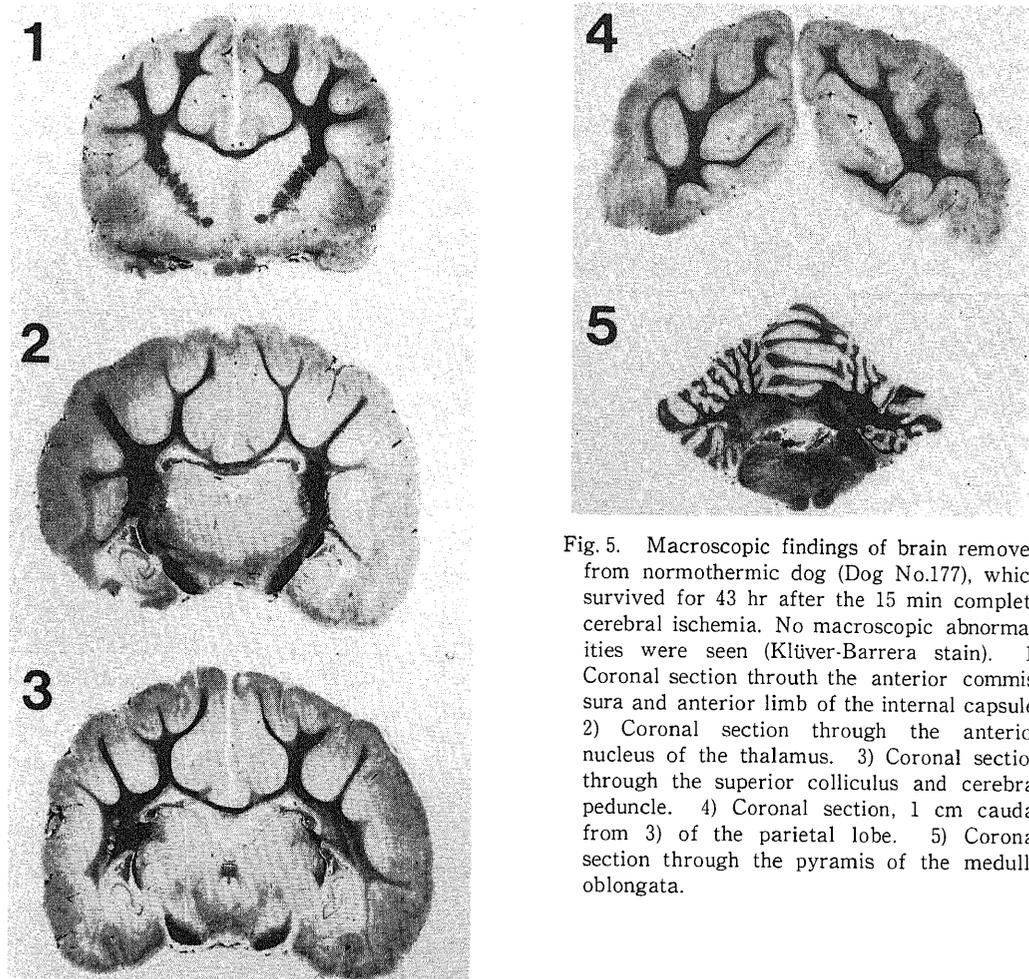
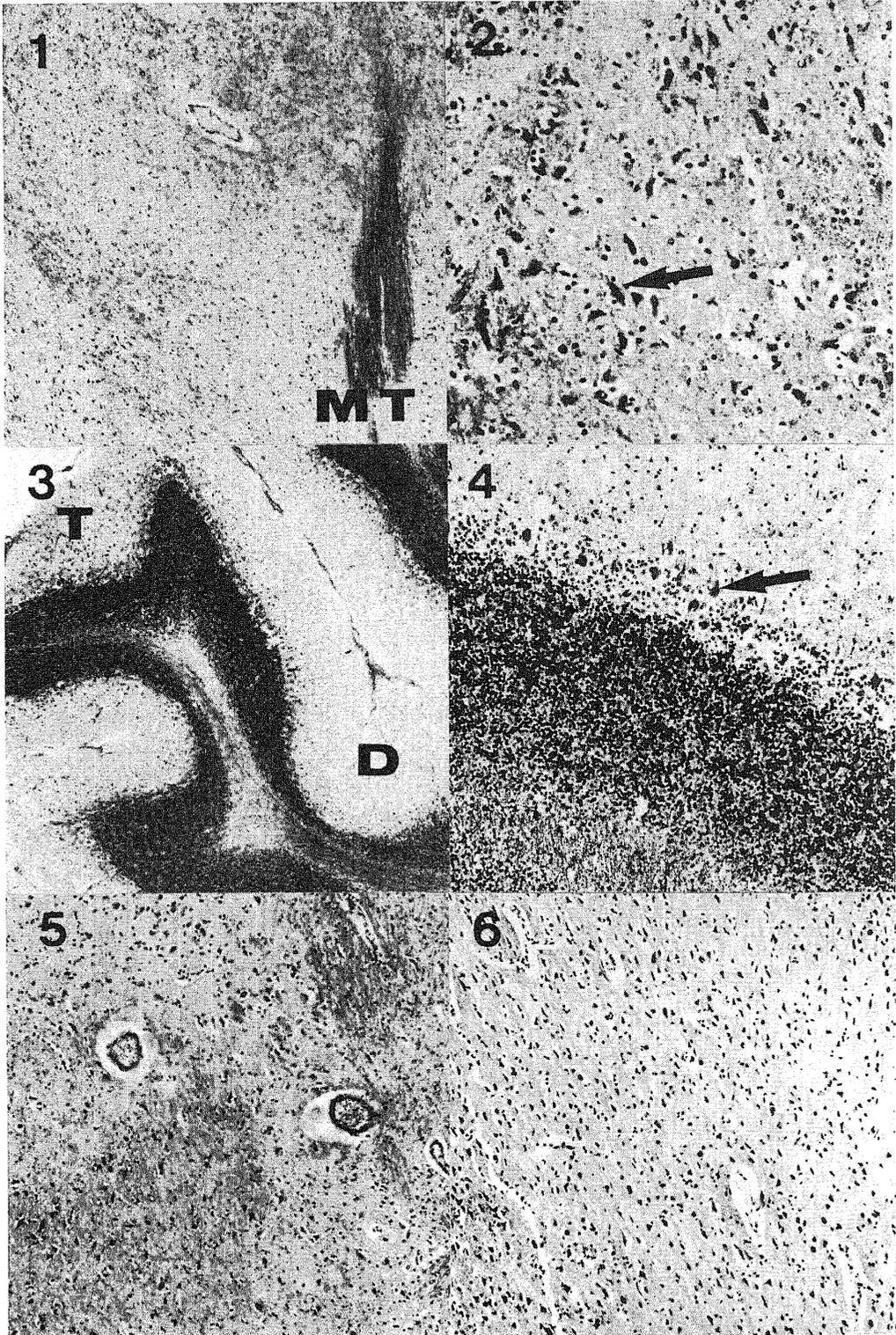


Fig. 5. Macroscopic findings of brain removed from normothermic dog (Dog No.177), which survived for 43 hr after the 15 min complete cerebral ischemia. No macroscopic abnormalities were seen (Klüver-Barrera stain). 1) Coronal section through the anterior commissure and anterior limb of the internal capsule. 2) Coronal section through the anterior nucleus of the thalamus. 3) Coronal section through the superior colliculus and cerebral peduncle. 4) Coronal section, 1 cm caudal from 3) of the parietal lobe. 5) Coronal section through the pyramis of the medulla oblongata.



考 察

中等度ないし高度の低体温、とくに30°C以下の深低体温では、致死的な不整脈、心拍出量の低下、出血傾向などに加えて、復温時に rewarming shock が起こる危険性もあり、集中的な全身管理が不可欠である。本研究はこれらの危険性が比較的少ない34°C程度の軽度低体温の脳保護作用を、15分間完全脳虚血犬モデルを用いて検討した。

体温には、測定部位により食道温、直腸温、鼓膜温などがあるが、モニターが容易で侵襲が少ないことから、本研究では温度センサーを心臓のレベルに置いて食道温を測定した。ラットを用いた Busto らの研究¹⁰⁾では、環境の影響を受け易い小動物では照明用ランプによっても脳温が上がるため、脳温を比較的良好に反映する側頭筋温をモニターするのが良いとしている。しかし本研究では、犬を背臥位にし、加温時には実験室全体を暖めようとする新生児用の大型ヒートランプを用いて全身保温し、冷却時には大きな氷嚢を用いて腹部より下半身のみを冷却しており、脳だけが選択的に加温あるいは冷却されることはないという状態で、食道温のみをモニターした。

虚血後の神経機能回復の可能性については、さまざまな指標を用いて研究されているが、脳電気活動、エネルギー代謝、あるいは形態学的変化は虚血後の病態の一面を反映するに過ぎない。従って、これらだけでは神経機能が虚血前の状態に回復したかどうかを判定することは困難と考えられる。これに対して、神経機能障害度の評価は、中枢神経の諸機能を統括した高度な神経機能を、総合的に評価できるという方法といえる。従来から、神経機能障害度の判定方法には、行動を観察する方法もあるが、このほかに、意識、運動障害および簡単な反射を点数化 (NDS) する方法¹¹⁾、まとめて4段階に分類する方法¹²⁾、機能障害が一過性が永

続性かによって4段階に分類する方法¹³⁾、生存率だけで判定する方法¹⁴⁾などがある。このうち、NDSのみでは、各項目の点数配分を誤ると病態を正確に把握できないばかりか判定結果に重大な誤りをおかす可能性がある。また、生存率だけでは神経機能障害度を明確に評価することは困難である。本研究では、両群間で生存率を比較し、これに加えて病巣部位、障害の程度、回復経過等を評価できるとされている NDS をも用いて神経機能の回復を観察、評価した。

全脳虚血モデルについて神経学的予後を検討する場合、虚血作製の方法は最も重要な前提条件である。本研究においては、手術手技が容易で、手術侵襲が小さく、側副血行路の多い犬においてもすべての血流を遮断して完全な脳虚血を、しかも虚血時間を厳密に規定して実施することができる実験モデルを用いた。また、このモデルは大動脈起始部よりできるだけ遠位部で上行大動脈を遮断することにより、遮断中も冠血流を温存することができるために術後の心肺合併症もほとんどなく、長時間にわたる観察を必要とする実験に適したモデルでもある。全脳虚血が確実であるか否かは予後に影響を及ぼす可能性がある。脳の電気活動や代謝の面からは、不完全虚血の方がむしろ完全虚血よりも予後が悪いという報告¹⁵⁾¹⁶⁾もある。しかし Steen らは¹⁷⁾、10分間の完全虚血と不完全虚血では、不完全虚血の方が神経機能の回復がよいとしている。この点、本研究で用いた全脳虚血犬モデルについては、大動脈遮断中に左心室内へ造影剤を注入して撮影した血管写で脳血管がまったく描写されないこと、熱勾配式組織血流計による大脳皮質の血流測定で遮断中脳血流量が零を示すこと、およびラジオアイソトープによる検索で、大動脈遮断中は脳への血流が完全に途絶していることを、予備実験で確認した。

全脳虚血の許容限界時間は、動物の種類、虚血方法、虚血後の全身管理などにより一定していないが、

Fig. 6. Histopathological findings of brain removed from normothermic dog (Dog No.177), which survived for 43 hr after the 15 min complete cerebral ischemia. 1) Large number of neuronal cells in the nucleus medialis showed decreased intensity of cresyl violet staining. Thalamus, MT, mamillothalamic tract, (Klüver-Barrera stain, ×40). 2) Surviving neurons were atrophied showing eosinophilic cytoplasm. The typical cell was indicated by arrow. Thalamus, (hematoxylin-eosin stain, ×200). 3) Many Purkinje cells markedly disappeared in the depth of the folia, but not in the top. Cerebellar hemisphere, D, depth of the folia; T, top of the folia, (Klüver-Barrera stain, ×40). 4) Surviving Purkinje cells were atrophied with eosinophilic cytoplasm. The typical cell was indicated by arrow. Cerebellar hemisphere, (hematoxylin-eosin stain, ×100). 5) Perivascular space were dilated and PAS (para aminosalicilate) positive materials were observed. Thalamus, (PAS, ×100). 6) Perineuronal space were dilated and PAS positive materials were observed in the small vessels. Cerebral white matter, (PAS, ×100).

犬では10~15分間といわれており^{13)17~19)}、10分間以内の虚血では神経機能障害を残さずに回復し、18分間以上の虚血では長時間の生存が得られず、したがって神経学的予後の判定が不可能になる。Lindら²⁰⁾は、大動脈をクランプする方法で15分間の脳虚血を試みたが、神経機能障害が激しいために観察が不可能となり20時間で実験を中断している。また Fleischerら²¹⁾も大動脈をテープで絞縮する方法では、48時間生存できる全脳虚血限界時間は11分としている。本研究では、できるだけ早期に自発呼吸を再現させ、十分に覚醒させ、神経機能を評価する管理方法をとった。その結果、常温群には48時間生存した例はないが、9頭中の5頭は20時間以上生存していることから、今回用いた方法では15分間という虚血時間がほぼ許容限界と考えられる。一方、低温群では、9頭のうち順調な回復を示しながら18時間目に動脈カテーテルの抜去により脱血死した1頭を除く残り8頭中の4頭が、48時間後にほぼ完全回復を示したことから、これ以上虚血時間が短い場合には神経機能障害を起こさない可能性もあると考えられた。これらの点から考えて常温群と低温群の神経機能回復の程度を比較するためには、15分間は妥当な虚血時間と思われる。

MAP 平均値は循環再開後10時間までは、2, 3, 4時間目を除いて両群間で有意差を示さず、いずれも100mmHg以上を保った。10時間以降では、死亡した犬もあり、また体動による血管カテーテル類の自然抜去の危険性があることから早期に動脈圧測定カテーテルを抜去した犬もあるため、MAPを10時間以降継続して比較できなかった。低温群で、2, 3および4時間後のMAP平均値が高い理由は、この時間帯に覚醒し自発呼吸も十分に回復してくるために気管内チューブの抜管可能となった犬が3頭あり、それらの操作にもなつて血圧も上昇したためと推定される。しかし、この3頭を除くと、循環再開後10時間までのMAP平均値には両群間で有意差がなく、いずれも十分なMAPを保っていることから、3, 6時間目のNDSに及ぼす循環系の影響は少ないと考えられる。

脳虚血後に脳波が平坦化するまでの時間は、正常体温では15~25秒以内と言われ²²⁾、今回の成績では両群ともほぼこの範囲内にあり両群間で有意差がないことから、脳波平坦化に関しては低温体の効果が現れていないと考えられる。しかし、脳虚血後に脳波が平坦化するまでの時間は、中等度~高度の低温体によって延長することが確かめられており²³⁾、ヒトでは体温が37°Cで12秒、31°Cで39秒、あるいは21°Cで120秒というように、体温低下にもなつて延長するとされている

が、34°C前後の詳細なデータはない。一方、犬を用いた実験では²⁴⁾脳波が平坦化するまでの時間は、30~33°Cと37~39°Cとの間では大差を示さず、27°Cを下回ると著しく延長するという。Caseyら²⁵⁾は、サルを無麻酔下で33°Cまで冷却すると、高血圧あるいは頻脈や心拍出量の増大とともに酸素消費量が260%増加すると報告している。このような代謝率増大の原因の多くは戦りつ、筋強直、末梢血管収縮、頻脈、心拍出量増大などともなう熱産生によるものと考えられるが、中枢神経においても低温下では代謝率増大は起こりうる。本研究では、血流遮断直前には犬は浅麻酔状態にあり、筋弛緩薬を用いても寒冷反応は完全に抑制されていなかったと考えられる。このため、脳の代謝率には低温群の犬でも常温群との間に大きな差が生ぜず、脳波が平坦化するまでの時間にも両群間で有意差が現れなかったのかも知れない。一方、血流が遮断されると、低温体による脳保護効果が現れ、脳波が回復するまでの時間が低温群で有意に短くなったものと思われる。このことから、浅麻酔下では、軽度低温の脳保護作用が果たす役割は虚血前よりも虚血中に大きいと推定される。

循環再開後48時間目の生存率は両群間で明らかな差を示し、低温群では有意に予後がよい。48時間以内に死亡した犬は、死亡直前まで正常な血圧と動脈血ガス所見を示すにもかかわらず、昏睡、過呼吸や無呼吸、脳幹反射消失、高熱(41°C以上)、異常伸展肢位など重篤な神経症状を呈しており、中枢神経系の高度な障害が疑われた。虚血後の神経機能の中では、脳波、脳神経反射、脊髄反射などが比較的早期に回復し、呼吸や意識状態の回復がこれに続く。これに対して、高次の神経機能の回復を必要とする行動様式や歩行の回復は最も遅れ、常温群ではこれらの回復はみられなかった。低温群では、常温群に比べて脳神経反射や脊髄反射は循環再開後早期に回復し、とくに完全回復した低温群の4頭の犬では、すべて12時間以内にNDSは50以下になっており、虚血後急速に回復したことを示している。一方、20時間以内に死亡した犬は、常温群で9頭中4頭、低温群で9頭中2頭あったが、いずれも12時間目のNDSは80以上でその後急速に神経機能障害が悪化している。Safar¹¹⁾や Nemotoら²⁶⁾の研究においても、虚血方法や虚血時間は様々ではあるが、NDSの改善は循環再開後24時間以内で著しく、48時間以降では症状が固定すると報告されている。これから考えて、循環再開後早期の神経学的評価によって神経学的予後を推定することが可能である。臨床的にも、Erhardtらの報告²⁷⁾では、蘇生後24時間目で収

縮期血圧が 90mmHg 以下、疼痛刺激に無反応、瞳孔散大、対光反射消失などが揃って認められた場合には 99.9%死亡するとされており、早期の神経学的評価は予後の判定に有用であるとしている。本研究では、48時間以内に死亡した犬の死因を脳死と心臓死とに厳密に区別することは困難であるが、常温群では循環系機能が保たれていながらも NDS が高値を示し改善傾向を示さなかったことから、中枢神経系の障害による死亡が強く示唆される。

脳の組織学的変化は神経学的所見の重篤さに比べて軽度であった。虚血による組織学的変化は、脳虚血終了後直ちに認められるものではなく、血流再開後一定時間経過して初めて現れる²⁹⁾とされている。すなわち、脳虚血後短時間で死亡した場合では、神経学的所見に比べて組織学的変化が過小に評価される可能性がある²⁹⁾。本研究でも、常温群で48時間以内に死亡した例では、NDS が高値を示したにもかかわらず組織学的変化は軽度であった。つまり光顕レベルで組織学的損傷の見られた部位のみが傷害されているのではなく、さらに広範な脳の損傷があることは神経学的所見からみても明確である。組織学的変化が神経学的所見と合致するためには、病変の成熟に一定の時間経過を要するものと考えられる。脳虚血によって傷害される部位としては、選択的易障害部位である海馬、小脳、線状体、大脳皮質など、あるいは非再灌流現象(no-reflow phenomenon)の好発部位である視床、小脳、大脳基底核などが考えられるが、本研究ではこのうち視床、小脳および大脳皮質に組織学的変化を認めた。

低体温の脳保護作用の機序として次のような説明がある。すなわち、低体温によって全身の代謝が抑制され組織酸素消費量が減少する。とくに中枢神経の酸素消費量の減少は他の臓器に比べて大きく、37~22°Cの範囲では1°Cにつき5~10%の割合で減少する^{30)~32)}。つまり3~4°Cの体温の低下によって脳の代謝は20%前後低下することになり、脳虚血中のエネルギー需給バランスが限界線にあるとすれば、この低下は脳障害を有意に防止するものと思われる。また、酸素解離曲線の左方移動³³⁾によって動脈血酸素含量を増大させるという点でも低体温は優れた作用を有しており、これにより脳の代謝性アシドーシスの進行が抑制されるという報告もある。しかし一方、酸素解離曲線の左方への移動によって、ヘモグロビンの酸素親和性が高くなり、PO₂の低下している虚血中の脳組織では酸素の放出が抑制されるため、酸素運搬量はかえって減少するという³⁴⁾も指摘されている。また、ラットの低

酸素モデルを用いた実験で、3~5°Cの体温低下によって、虚血中の脳組織の乳酸の蓄積やアシドーシスの進行が抑制されることに加えて、adenosine triphosphate や phosphocreatinine の減少も軽減されることが示されている³⁵⁾³⁶⁾。本研究では、脳組織の酸一塩基平衡やエネルギー代謝の検討は行わなかったが、循環再開後の全身のアシドーシスの程度や、その補正のために投与した重炭酸ナトリウム量からみて、酸一塩基平衡の面でも低体温は神経機能回復に有利に作用しているものと推定される。また、近年の報告では、低体温は、種々の神経伝達物質の生合成、放出ならびに再吸収を抑制するとともに、脳内の神経伝達物質やそのレセプターの機能を変化させるために、脳虚血による障害を軽減させている可能性があるともいわれている³⁷⁾³⁸⁾。

以上より、軽度低体温下に心停止を起こした症例では、蘇生後の中枢神経系の障害が軽度にとどまる可能性があることが判明した。また、脳外科手術で脳血流を一時的に停止させる必要のあるときや、大量出血、低酸素血症、低血圧状態などにより脳で酸素負債が生ずることが危惧される場合には、事前に軽度低体温にしておくことは中枢神経障害の抑止に有用であると思われる。また、軽度低体温による脳保護効果は、心停止前に体温が低下しているために発揮されるのではなく、心停止中に低体温であることによってもたらされる。したがってわずかに3.0°C前後の軽度低体温でも脳保護作用が得られるという事実から考えれば、心停止直後に心肺蘇生法を行うとともに、脳を急速冷却することができれば、脳蘇生に効果があるものと思われる。

結 論

循環再開後に脳波が早期に出現した低温群では、神経機能障害は軽度にとどまり、機能障害の回復は速やかで、生存時間も長かった。すなわち、3.0°C前後のわずかな体温の差でも、15分間完全脳虚血後における神経機能障害の程度と回復傾向および48時間後までの生存率に大きな影響を及ぼすことが明確にされた。この結果から、心停止前に体温が低下している患者では、心拍再開後の中枢神経系の障害が軽度にとどまる可能性があることが示唆される。

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わった恩師村上誠一教授に深甚の謝意を表します。また御指導賜わった小林勉助教授、実験に御協力いただいた高岡市民

病院麻酔科遠山一喜部長の他、実験グループの吉田豊助手、廣田幸次郎大学院生、ならびに教室員一同に心から感謝致します。また組織学的所見について貴重な御助言をいただいた金沢大学医学部神経精神医学教室小林克治助手、池田輝男技師に感謝致します。

本論文の要旨は、第35回日本麻酔学会総会(金沢)で発表した。

文 献

- 1) Siebke, H., Rod, T. & Breivik, H.: Survival after 40 minutes' submersion without cerebral sequelae. *Lancet*, **1**, 1275-1277 (1975).
- 2) Conn, A. W., Edmonds, J. F. & Barker, G. A.: Near-drowning in cold fresh water: Current regimen. *Can. Anaesth. Soc. J.*, **25**, 259-265 (1978).
- 3) 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).
- 4) Young, R. S., Oleginski, T. P. & Yagel, S. K.: The effect of graded hypothermia on hypoxic-ischemic brain damage: A neuropathologic study in the neonatal rat. *Stroke*, **14**, 929-934 (1983).
- 5) Michenfelder, J. D. & Theye, R. A.: The effect of anesthesia and hypothermia on canine cerebral ATP and lactate during anoxia produced by decapitation. *Anesthesiology*, **33**, 430-439 (1970).
- 6) Bigelow, W. G., Mustered, W. T. & Evans, J. D.: Some physiologic concepts of hypothermia and their applications to cardiac surgery. *J. Thorac. Surgery*, **28**, 463-480 (1954).
- 7) Marshall, L. F., Smith, R. W. & Shapiro, H. M.: The outcome with aggressive treatment in severe head injuries. *J. Neurosurg.*, **50**, 26-30 (1979).
- 8) 遠山一喜, 吉田 豊, 廣田幸次郎: 上行大動脈遮断による全脳虚血犬モデルの検討. *麻酔*, **37**, 1341-1345 (1988).
- 9) Todd, M. M., Chadwick, H. S. & Shapiro, H. M.: The neurologic effects of thiopental therapy following experimental cardiac arrest in cats. *Anesthesiology*, **57**, 76-86 (1982).
- 10) Busto, R., Dietrich, W. D. & Globus, M. Y.-T.: Small differences in intras ischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J. Cereb. Blood Flow and Metab.*, **7**, 729-738 (1987).
- 11) Safar, P., Stezoski, W. & Nemoto, E. M.: Amelioration of brain damage after 12 minutes' cardiac arrest in dogs. *Arch. Neurol.*, **33**, 91-93 (1976).
- 12) Goldstein, A., Wells, B. A. & Keats, A. S.: Increased tolerance to cerebral anoxia by pentobarbital. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **161**, 138-143 (1966).
- 13) Brockman, S. K. & Jude, J. R.: The tolerance of the dog brain to total arrest of circulation. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **106**, 74-84 (1960).
- 14) Crowell, J. W., Sharpe, G. P. & Lambright, R. L.: The mechanism of death after resuscitation following acute circulatory failure. *Surgery*, **38**, 696-702 (1955).
- 15) Hossmann, K.-A. & Zimmermann, V.: Resuscitation of the monkey brain after 1 hour complete ischemia. I. Physiological and morphological observations. *Brain Res.*, **81**, 59-74 (1974).
- 16) Nordstroem, C. H., Rehncrona, S. & Siesjö, B. K.: Restitution of cerebral state after complete and incomplete ischemia of 30 min duration. *Acta Physiol. Scand.*, **97**, 270-272 (1976).
- 17) Steen, P. A., Michenfelder, J. D. & Mild, J. H.: Incomplete versus complete cerebral ischemia: Improved outcome with minimal blood flow. *Ann. Neurol.*, **6**, 389-398 (1979).
- 18) Vaagenes, P., Cantadore, R. & Safar, P.: Effect of 2 calcium entry blockers on neurological outcome after 10 minutes' ventricular fibrillation cardiac arrest in dogs. *Anesthesiology*, **61**, 3A (1984).
- 19) 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).
- 20) Lind, B., Snyder, J. & Kampschulte, S.: A review of total brain ischemia models in dogs and original experiments on clamping the aorta. *Resuscitation*, **4**, 19-31 (1975).
- 21) Fleischer, J. E., Lanier, W. L. & Milde, J. H.: Effect of lidoflazine on cerebral blood flow and neurologic outcome when administered after complete cerebral ischemia in dogs. *Anesthesiology*, **66**, 304-311 (1987).

- 22) **Siesjö, B. K.**: Brain Energy Metabolism. 1st ed., p89, John, Wiley Sons Inc., New York, Toront, 1978.
- 23) **Weiss, M., Weiss, J. & Cotton, F.**: A study of the electroencephalogram during surgery with deep hypothermia and circulatory arrest in infants. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **70**, 316-329 (1975).
- 24) **岡村 宏**: 超低体温麻酔時ならびに低温下心血流遮断時の脳波観察. 麻酔, **8**, 334-346 (1959).
- 25) **Casey, L. C., Ballantyne, H. K. & Fletcher, J. R.**: Development of a primate model of exposure hypothermia. *Adv. Shock Res.*, **9**, 233-237 (1983).
- 26) **Nemoto, E. M., Bleyaert, A. L. & Stezoski, S. W.**: Global brain ischemia: A reproducible monkey model. *Stroke*, **8**, 558-564 (1977).
- 27) **Erhardt, L. R., Sederholm, M. & Gertz, I.**: Emergency room resuscitation of patients with cardiac arrest outside hospital. *Acta Med. Scand.*, **206**, 55-59 (1979).
- 28) **Ito, U., Spatz, M. & Walker, J. T.**: Experimental cerebral ischemia in mongolian gerbils. I. Light microscopic observations. *Acta Neuropathol.*, **32**, 209-223 (1975).
- 29) **坂部武史, 武下 浩, 藤原義樹**: 脳虚血の形態と機能. 循環制御, **7**, 719-729 (1986).
- 30) **Hägerdal, M., Harp, J. & Nilsson, L.**: The effect of induced hypothermia upon oxygen consumption in the rat brain. *J. Neurochem.*, **24**, 492-495 (1980).
- 31) **Michenfelder, J. D. & Theye, R. A.**: Hypothermia: Effect on canine brain and whole body metabolism. *Anesthesiology*, **29**, 1107 (1968).
- 32) **Rosomoff, H. L. & Holaday, D. A.**: Cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption during hypothermia. *Am. J. Physiol.*, **179**, 85-88 (1954).
- 33) **Brown, W. E. L. & Hill, A. V.**: The oxygen-dissociation curve of blood and its thermodynamical basis. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol.]*, **94**, 297-334 (1923).
- 34) **Shappell, S. D. & Lenfant, C. J. M.**: Adaptive, genetic, and iatrogenic alterations of the oxyhemoglobin-dissociation curve. *Anesthesiology*, **37**, 127-139 (1972).
- 35) **Berntman, L., Welsh, F. A. & Harp, J. R.**: Cerebral protective effect of low-grade hypothermia. *Anesthesiology*, **55**, 495-498 (1981).
- 36) **Hägerdal, M., Welsh, F. A. & Keykhah, M. M.**: Protective effects of combinations of hypothermia and barbiturates in cerebral hypoxia in the rat. *Anesthesiology*, **49**, 165-169 (1978).
- 37) **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).
- 38) **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).

Effects of Low-Grade Hypothermia on Neurologic Outcome after 15 min Complete Cerebral Ischemia in Dogs Sunao Asaji, Department of Anesthesiology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 1087—1100 (1989)

Key words complete cerebral ischemia, low-grade hypothermia, neurologic outcome

Abstract

The effects of low-grade hypothermia on the neurologic outcome following 15 min complete cerebral ischemia was studied in 18 mongrel dogs. They were anesthetized with 0.5–1.0% halothane and 60% nitrous oxide in oxygen. Their PaCO₂ and PaO₂ were maintained within normal limits. Thoracotomy was performed through the right fourth intercostal space. Umbilical tapes were placed around the ascending aorta and the inferior and superior venae cavae. The esophageal temperature was maintained at 34.0–35.5°C and 37.0–38.5°C in a hypothermic and a normothermic group, respectively. Their EEG's were continuously monitored during the experiment. After the animals were ventilated with 0.2% halothane in 100% oxygen for 30 min, the aortic arch was occluded for 15 min with a Debakey's vascular clamp proximal to the brachiocephalic trunk, and then the superior and inferior venae cavae were occluded. Although brief infusions of dopamine were administered in some cases, spontaneous circulation was restored immediately in all animals after releasing the occlusions. Two hours after circulatory restoration, the chest was closed, and the ventilation was adjusted to maintain the PaO₂ above 100mmHg with FiO₂ 1.0–0.4. The time of flattening of the EEG from the onset of the ischemia, was not significantly different between the hypothermic group (23.9±7.3 sec, mean±S.D.) and the normothermic group (23.8±4.5 sec). After circulatory restoration, the EEG reappeared significantly earlier in the hypothermic group (29.0±8.7 min) than in the normothermic group (63.8±33.2 min). When adequate spontaneous respiration resumed, the animals were extubated and transferred to an oxygen cage. The Neurologic deficit score (NDS) was evaluated at 3, 6, 12, 24 and 48 hr after circulatory restoration. In the NDS, the following items were assessed with assigning points: level of consciousness, 15; type of respiration, 10; reactivity of cranial nerves, 14; spinal reflexes, 16; behavioral reactions, 20; ability of gait, 25. A hundred points in sum of these score indicated the most severe abnormalities, and 0 point the least. The NDS was consistently less in the hypothermic group than in the normothermic group at 3, 6, 12, 24 and 48 hr after circulatory restoration. Some time-related recovery tendencies in the NDS were observed in the hypothermic group, but not in the normothermic group. The survival time was significantly longer in the hypothermic group (32.6±15.6 hr) than in the normothermic group (18.5±8.8 hr). The survival rate at 48 hr after circulatory restoration was significantly different between the hypothermic group (4/9) and the normothermic group (0/9). The above results indicate that the difference of only 3°C in the body temperature exerts a significant influence in recovery of neurologic functions, as well as the survival rate after the 15 min complete cerebral ischemia. The present findings support the clinical observation that central nervous dysfunction after revival from cardiac arrest is less striking in patients with hypothermia.