

## 脳虚血に関する実験的研究

— 脳虚血および血行再開時における

prostaglandin-thromboxane 系代謝産物の関与について —

岡山大学医学部脳神経外科学教室 (指導: 西本 詮教授)

山 中 明 彦

(平成元年 7 月 31 日受稿)

Key words: 脳虚血, local cerebral blood flow, 血小板凝集能,  
OKY-1581, indomethacin

### 緒 言

脳血管閉塞に対する外科的血行再建術は、浅側頭動脈—中大脳動脈吻合術、頸部内頸動脈内膜剝離術をはじめとして種々の工夫がなされ、技術的にはほぼ確立されつつある<sup>1)</sup>。これらの方法は人為的血管閉塞を行う前の脳梗塞の予防や一過性脳虚血発作の治療を目的として行われ、安全で有用であることが広く認められるようになった<sup>2)</sup>。一方、脳梗塞に対する外科的血行再建は発症後の時期により脳腫脹、出血性梗塞などの危険を伴う<sup>3,4)</sup>ため、急性期には行われず慢性期まで待って行われてきた。しかし、この時期の血行再開では臨床症状を改善する効果は乏しく、適応となる症例は必ずしも多くない<sup>5)</sup>。そこで最近発症後 6~8 時間以内の超急性期の血行再開が試みられはじめ、著効例の報告<sup>6-8)</sup>がみられた。しかし一方では重篤な結果を招く例があるため否定的な見解をもつものも多い<sup>9,10)</sup>。このような背景のもとに、神経細胞が蘇生能力を失う虚血の程度と虚血の持続時間を確かめる実験的研究が行われるようになり<sup>11-14)</sup>、さらに虚血に対する耐性を増したり、critical period を延長するための脳保護物質の検討が行われてきた<sup>15-17)</sup>。他方、脳虚血によって cell damage を生ずる機序の研究からは、脳虚血そのものよりもむしろ血行再開が有害なのではないかとの見解が報告されるに至り<sup>18,19)</sup>、血行再開時の病態の研究が重要性をましてきた。最近、脳虚血によ

って細胞膜より多価不飽和脂肪酸が遊離され、血行再開を行うとこれらのうちのアラキドン酸から強力な生理活性を有する prostaglandin (PG)-thromboxane (TX) 系の代謝物が生成され、脳血行再開後の病態に大きな影響を及ぼしている可能性が報告されるようになった<sup>20)</sup>。そこで今回の実験では、thromboxane A<sub>2</sub> の合成阻害剤である sodium (E)-3-[4-(3-pyridylmethyl)phenyl]-2-methyl-propenoate (OKY-1581)<sup>21-25)</sup> と、cyclooxygenase を阻害して PG-TX 系全体の産生を抑制する indomethacin<sup>26,27)</sup> を用いて、脳虚血および血行再開後の脳循環動態に対する PG-TX 系の関与を実験的に検索した。

### 実験方法

#### 1. 実験動物および術前処置

実験には体重 7~14kg の健康な雑種成犬 35 頭を使用した。ketamine hydrochloride 5~10mg/kg, atropine sulfate 0.01~0.02mg/kg を筋肉内投与した後、気管内挿管を行い、succinylcholine chloride 1 mg/kg 筋肉内投与にて無動化し、respirator (ACOMA, AR300) にて調節呼吸を行った。一側大腿動・静脈を露出し、動脈内にポリエチレンチューブを挿入した。これを圧トランスデューサー (日本光電, MP-4) に接続して連続的に血圧測定を行うと同時に、同動脈より適宜採血し、Radiometer 社製 PHM, MK 2 にてガス分析を行い PaCO<sub>2</sub> が 35~40mm Hg に維

持されるように呼吸を調節した。大腿静脈からはハルトマン液を 5 ml/kg/hr の速度で点滴輸液を行った。また適宜直腸温を測定し 36~38℃ に保った。

## 2. 一側中大脳動脈および前大脳動脈共通幹の同時閉塞による脳虚血の作成および開頭

前述の術前準備につづき、衣笠<sup>28)</sup>宮田<sup>29)</sup>らにより開発された transorbital approach を用いて手術用顕微鏡下で左中大脳動脈起始部 ( $M_1$ ) および前大脳動脈共通幹 ( $A_2$ ) を露出し、これらを同時に閉塞した。まず犬を左上側臥位に固定し、下顎骨筋突起を前方へずらすため口腔内にガーゼを挿入して大きく開口させた。左外眼角より頬骨弓に沿って皮膚切開し、頬骨弓、下顎骨筋突起を切除した。咬筋を離断し、眼窩内容を骨膜下に剝離して摘出した。従来の  $M_1$  のみの閉塞のためには眼窩裂と視神経管の間に骨窓を作成していたが、 $A_2$  も閉塞するためにこの骨窓をさらに吻側および内側に拡大し視神経管を開放した。硬膜を開け  $M_1$  を剝離したのち、前大脳動脈 ( $A_1$ ) を末梢にたどった。犬では視神経交叉直上で反対側  $A_1$  と合流して前大脳動脈共通幹 ( $A_2$ ) を形成しており<sup>30)</sup>、これを剝離した。

次に局所脳血流量測定のための開頭を行った。すなわち、前述の皮切を頭頂に向け延長し側頭

筋を切除した後、左頭蓋円蓋部に広範な craniectomy を行った。硬膜を注意深く切開して左大脳半球を露出し、生理食塩水で湿した綿片で覆って保護した。 $M_1$  および  $A_2$  の閉塞は Scoville clip にて行い、閉塞後 2 時間目に clip を外すことにより血行を再開させた。

## 3. 薬物投与方法

以上のようにして脳虚血を作成し、さらに血行を再開させた 35 頭を次の 4 群に分け、以下の実験を行った (Fig. 1)。

### 1) 対照群 (A 群)

8 頭に対しては薬物を投与せず対照群とした。

### 2) OKY-1581 虚血前 1 回投与群 (B 群)

9 頭に対して血管閉塞 1 時間前に OKY-1581 を one shot で静脈内に投与した。OKY-1581 は生理食塩水に溶解し 75 mg/kg を投与した。

### 3) OKY-1581 持続投与群 (C 群)

9 頭に対し血管閉塞と同時に OKY-1581 を 100  $\mu$ g/kg/min で静脈内に投与しはじめ、血行再開 1 時間後まで投与を続けた。OKY-1581 は維持輸液であるハルトマン液 500 ml 中に 600 mg 溶解し、5 ml/kg/hr の速度で点滴した。

### 4) Indomethacin 虚血前 1 回投与群 (D 群)

9 頭に対し血管閉塞 1 時間前に indomethacin 4 mg/kg を one shot で静脈内に投与した。

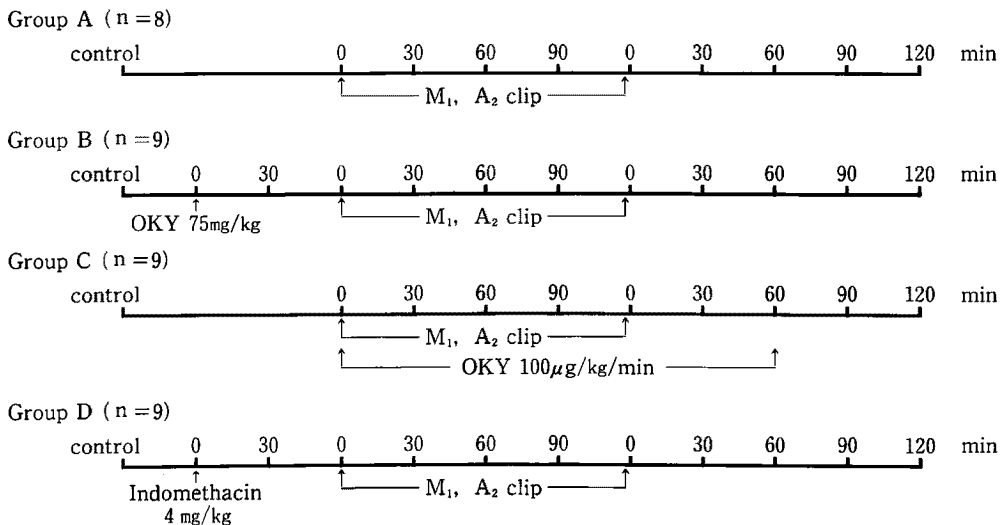


Fig. 1 Experimental protocol demonstrating drug administrations and cerebral blood flow measurements

indomethacin は150mM NaCl と6.6mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>の混合液に溶解し、2 mg/mlの濃度としたものを用いた。

#### 4. 局所脳血流量測定法

局所脳血流量 (local cerebral blood flow, 以下1-CBF)測定を水素クリアランス法<sup>31)</sup>にて行った。水素電極は、直径300 $\mu$ の白金電極の先端0.5mmに白金黒を付着させたもの(ユニークメディカル, UHE-100)を1実験に3本用い、各々 sigmoid gyrus, coronal gyrus, および anterior sylvian gyrus の皮質に刺入した。不関電極は銀/塩化銀電極を用い頭皮下に挿入した。7%水素ガスを4分間吸入させ、電位の変化をUHメーター(ユニークメディカル, PHG-201)にて増幅し、ペンレコーダー(ナショナル, VR-6541A)で記録した。クリアランスカーブの分析は水素ガス吸入停止後1分間を除外した後のtwo minutes initial clearance法<sup>32)</sup>により行い、1-CBFを算出した。なお、本実験で用いた脳虚血モデルでは強い脳虚血を生じ、クリアランスカーブの減衰に長時間を要する例があった。このような例では正確な1-CBFを算出できないため、5 ml/100 g/min以下の1-CBFは5 ml/100 g/minとして処理した。

1-CBF測定は脳血管閉塞前、閉塞直後、30分後、60分後、90分後、閉塞解除直後、30分後、60分後、90分後、120分後に各々行った。また、血管閉塞前に薬物をone shotで投与した2群(B群, D群)では、薬物投与直後と投与30分後にも1-CBFを測定した(Fig. 1)。

#### 5. 血小板凝集能測定法

血小板凝集能測定には血小板凝集自動検査装置(BIO/DATA, PAP-3)を用いた。左内頸静脈を露出し、3.8%クエン酸ナトリウム1mlの入ったプラスチックシリンジに21G針をつけて穿刺し、ゆっくり9ml採血して混合し全量を10mlとした。プラスチック試験管を用いて1,000 rpm, 10minの遠沈でplatelet rich plasma (PRP)を得た後、3,000rpm, 15minでplatelet poor plasma (PPP)を得た。両者を密封し約1時間室温にてincubationしたのち測定に供した。

血小板凝集惹起物質としてADPを用いた。

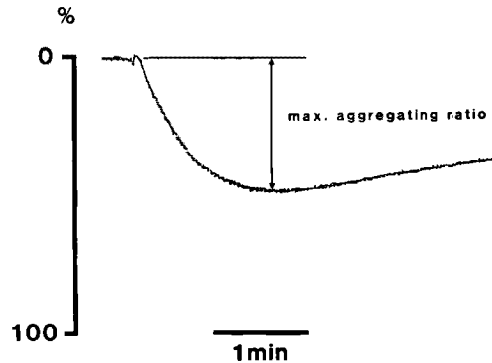


Fig. 2 Platelet aggregation curve

ADP(Sigma社)112mgを生理食塩水10mlに溶解し $2 \times 10^{-2}$ Mの溶液として0.5mlずつ分注して凍結保存しておき、使用時解凍したADP液0.1mlを生理食塩水10mlに溶解して200 $\mu$ Mの溶液とした。PRP, PPP各々0.45mlずつをtest tubeに入れておき、PRPに200 $\mu$ MのADP溶液0.05mlを加え(終濃度20 $\mu$ M)、その前後のPRPとPPPの間の透光度の差の変化を電子信号に変換し増幅記録し凝集曲線を得た。凝集能は最大凝集率で評価した(Fig. 2)。

採血は血管閉塞のための手術操作前、手術操作後、血管閉塞60分後、閉塞解除60分後に行った。また虚血前に薬物を投与した2群(B群, D群)では薬物投与30分後にも採血を加えた。

#### 6. 剖検

全例、血行再開120分後の1-CBF測定を行った後、KCl飽和溶液10mlを大腿静脈より注入して屠殺した。両側総頸動脈にポリエチレンチューブを挿入し、両側外頸静脈を切断開放した後、150cmの高さより10%ホルマリン2,000mlで脳を灌流固定した。全脳を摘出後10%ホルマリンに2週間浸漬固定し、5mm間隔の前額断を加えて脳切片を作成し、肉眼的に左大脳半球の脳腫脹の程度を観察した。視交叉を通る断面における左右大脳半球の最大幅の差を4段階(no swelling: 1mm未満, slight swelling: 3mm未満, moderate swelling: 5mm未満, severe swelling: 5mm以上)に分けて評価した(Fig. 3)。

## 7. 統計学的検討

統計学的検討は t-検定により行い, Cochran-Cox 法による補正も併用した. 多資料の同時比較には Kruskal-Wallis 検定法を用いた. また本

論文における数値はすべて平均値±標準誤差で示した.

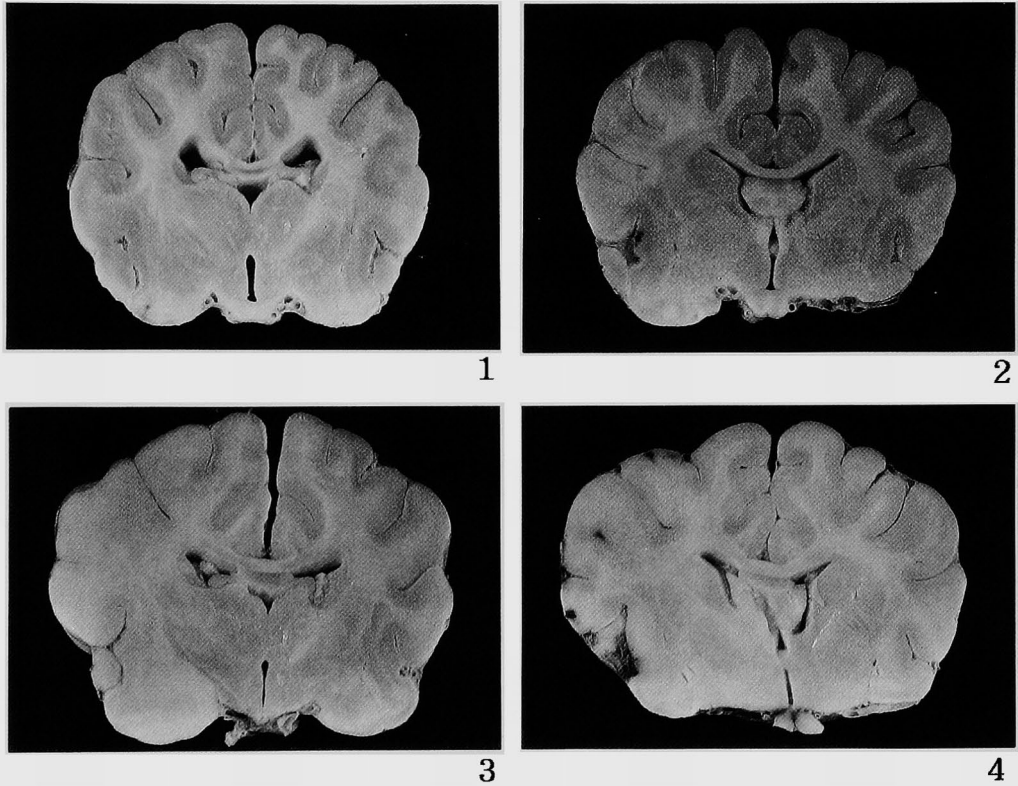


Fig. 3 Grading of macroscopic cerebral swelling 1 : no swelling 2 : slight swelling 3 : moderate swelling 4 : severe swelling

Table 1 Summary of mean arterial blood pressure (mm Hg)

	group A	group B	group C	group D
before surgical procedure	126.0±14.3	129.3±17.4	141.3±13.9	116.7±18.3
immediate after drug administration		67.0±15.3		120.8±20.1
30min after drug administration		120.4±12.5		123.7±18.0
during cerebral ischemia	134.9±16.2	124.8±20.2	138.6±22.3	122.6±19.8
during recirculation	127.1±23.0	129.0±14.9	131.6±19.8	122.7±17.7

実験結果

1. 血圧の変化

実験中の平均血圧の変化を各群ごとの平均値として Table 1 に示した。対照群 (A 群) では手術操作, 水素ガス吸入, 脳血管閉塞, 閉塞解除による平均血圧の有意の変動は認められなかった。OKY-1581 虚血前 1 回投与群 (B 群) では薬物投与直後に有意に平均血圧が低下した ( $p < 0.001$ )。しかし血圧の低下は全例一過性で, Fig. 4 に示す 1 例のように数分間のうちに速やかに回復を示し, 薬物投与 30 分後には投与前の値に復した。また, 以後の脳虚血操作によっても変動は見られなかった。OKY-1581 持続投与群 (D

群) では対照群と同様に実験中平均血圧は変動しなかった。

2. 1-CBF の変化

35 例すべての 1-CBF 値を各群ごとに Table 2 ~ 5 に示した。電極 No. は sigmoid gyrus に

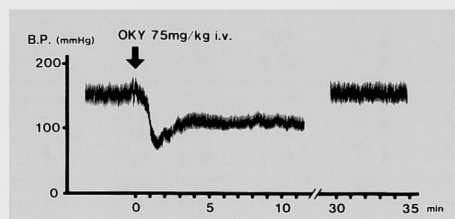


Fig. 4 Typical blood pressure change in the dog administered OKY-1581 75mg/kg i. v.

Table 2 Summary of 1-CBF (ml/100 g/min) data in group A (control)

Dog No.	Electrode No.	Pre-occlusion	Post-occlusion				Post-recirculation				
			immediate	30min	60min	90min	immediate	30min	60min	90min	120min
1	1	133.3	40.1	14.4	18.2	24.8	49.5	63.0	53.3	30.8	34.7
	2	139.0	40.8	55.4	—	56.3	107.0	77.0	86.6	81.5	112.0
	3	107.0	23.5	31.5	36.5	22.7	60.3	107.0	116.0	55.4	77.0
2	1	66.0	31.5	26.7	20.7	26.7	53.3	53.3	55.4	53.3	66.0
	2	77.0	5.0	5.0	5.0	8.2	39.6	60.3	55.4	50.2	63.0
	3	55.4	7.6	6.7	7.8	11.2	22.7	43.3	—	46.2	53.3
3	1	61.9	5.0	5.0	5.0	5.0	99.0	61.3	43.3	44.7	46.2
	2	55.4	34.7	31.5	34.5	34.7	86.6	31.2	38.5	37.5	69.3
	3	86.6	10.8	12.2	11.9	17.3	138.6	92.4	81.5	63.5	69.3
4	1	76.2	28.9	34.7	36.9	27.6	66.0	63.0	59.2	56.8	49.5
	2	65.4	9.9	5.5	5.0	5.0	44.7	34.7	23.3	24.5	22.6
	3	57.8	31.1	24.8	25.2	13.2	48.8	42.0	33.0	27.5	23.7
5	1	63.0	15.6	30.8	20.1	17.8	73.7	49.1	34.7	30.4	64.8
	2	78.8	34.7	59.7	53.3	43.3	99.0	75.3	55.4	60.3	85.6
	3	101.9	66.0	69.3	69.3	63.0	90.0	71.4	77.0	86.6	99.0
6	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	56.3	5.0	5.3	5.0	5.0	99.0	75.3	69.3	51.7	66.0
	3	60.3	11.4	16.7	16.7	15.3	103.4	84.5	55.0	45.9	68.6
7	1	88.8	5.0	20.3	11.6	12.8	72.2	34.7	29.4	31.9	32.2
	2	124.9	30.8	31.2	25.7	26.2	92.4	39.4	34.7	40.8	55.0
	3	100.5	36.5	34.7	32.8	34.7	67.3	45.3	43.0	46.2	57.8
8	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	54.9	53.3	26.7	16.1	17.8	41.7	46.8	99.0	63.0	47.8
	3	47.8	31.1	30.5	26.2	21.7	36.9	38.5	76.2	60.3	49.1

Table 3 Summary of 1-CBF (ml/100 g/min) data in group B (OKY-1581 75mg/kg)

Dog No.	Electrode No.	Pre-occlusion	OKY i. v.		Post-occlusion				Post-recirculation				
			immediate	30min	immediate	30min	60min	90min	immediate	30min	60min	90min	120min
9	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	83.5	92.4	51.3	34.7	27.7	31.5	31.5	107.0	34.7	38.5	55.4	47.8
	3	107.0	99.0	69.3	20.4	13.9	5.3	6.0	66.0	60.3	40.8	53.3	60.3
10	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	63.0	63.0	44.7	23.1	12.2	17.8	5.0	66.0	—	—	—	—
	3	69.3	69.3	49.5	22.4	31.5	21.0	19.3	69.3	—	—	—	—
11	1	31.5	39.6	31.5	5.0	13.3	5.0	5.0	30.8	24.3	20.7	25.7	47.8
	2	36.5	47.8	30.1	5.0	5.0	5.0	5.0	57.8	24.3	25.7	30.1	42.0
	3	57.8	69.3	60.3	5.0	5.0	5.0	5.0	57.8	30.1	34.6	34.6	42.0
12	1	64.2	66.0	53.3	16.1	14.3	19.3	18.1	103.4	42.5	35.2	37.5	34.7
	2	92.4	77.0	60.8	13.9	15.1	12.5	15.9	141.4	43.9	29.1	31.5	30.8
	3	99.0	77.0	51.3	5.0	5.0	5.0	5.0	133.3	99.0	91.2	73.7	73.7
13	1	30.4	18.0	21.5	20.3	11.9	6.2	5.0	60.3	20.8	9.4	24.8	—
	2	43.3	69.3	19.3	10.3	7.6	6.2	6.2	80.6	38.5	48.5	36.5	38.5
	3	29.5	24.5	22.7	11.2	10.3	16.1	8.4	47.8	13.9	17.2	20.6	17.5
14	1	154.0	133.3	130.8	49.5	43.6	37.7	33.0	84.5	68.6	51.0	61.3	55.0
	2	113.6	111.8	115.5	49.5	40.3	31.4	24.9	66.0	57.3	42.5	49.5	41.0
	3	87.7	81.5	92.4	30.0	26.5	26.2	22.7	47.8	47.8	60.3	34.7	32.2
15	1	49.5	58.7	55.4	16.1	14.4	14.4	14.4	34.7	33.0	36.7	40.5	34.7
	2	87.7	73.7	84.5	19.5	11.7	7.3	17.5	49.5	40.8	45.0	34.7	30.4
	3	74.5	76.2	72.9	23.1	38.1	29.5	29.5	80.6	72.2	81.5	77.0	86.6
16	1	53.6	77.0	47.5	24.3	26.6	13.3	18.8	37.5	28.3	23.5	25.9	28.3
	2	113.7	96.3	88.8	8.4	—	18.0	14.6	130.8	48.8	45.6	79.7	70.7
	3	96.3	119.5	88.8	12.7	18.2	15.8	12.7	113.6	69.3	60.3	84.5	72.9
17	1	28.9	28.3	34.7	5.0	5.0	5.0	5.0	66.0	18.7	29.5	24.1	21.0
	2	33.0	45.9	46.2	5.0	5.0	5.0	5.0	31.2	15.6	16.9	13.1	16.1
	3	29.9	45.0	23.5	5.0	5.0	5.0	5.0	27.1	19.2	34.7	20.4	20.4

刺入したものを No. 1 とし, 以下 coronal gyrus, anterior sylvian gyrus のものをそれぞれ No. 2, No. 3 とした. 各群について各々の電極の位置ごとの 1-CBF を比較したところ, どの群においても有意な差を認めなかったため, 以下の分析は各群のすべての電極の測定値を皮質血流量として一括して行った. Fig. 5 には各群のすべての電極における 1-CBF の平均値の変化を示し, Fig. 6 では血管閉塞および薬物投与前の 1-CBF を 100% とした, % 1-CBF の平均値の変化を示した.

#### 1) OKY-1581 75mg/kg one shot 静注による血管閉塞前の 1-CBF の変化

Fig. 7 に OKY-1581 投与前, 投与直後, 投与 30 分後の個々の電極の, 投与前を 100% とした % 1-CBF の変化を示した. OKY-1581 投与直後には 1-CBF は増加, 不変, 減少と様々な変化を示したが, 30 分後には有意に減少し ( $p < 0.002$ ), 平均では投与前の 85.8% となった.

#### 2) indomethacin 4 mg/kg one shot 静注による血管閉塞前の 1-CBF の変化

indomethacin に対する反応を Fig. 8 に同様示した. indomethacin 投与直後には OKY-1581 投与前と同様に 1-CBF は一定の変化を示

Table 4 Summary of 1-CBF (ml/100 g/min) data in group C (OKY-1581 100 $\mu$ g/kg/min)

Dog No.	Electrode No.	Pre-occlusion	Post-occlusion				Post-recirculation				
			immediate	30min	60min	90min	immediate	30min	60min	90min	120min
18	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	69.3	34.7	47.8	28.9	28.9	72.9	47.8	38.5	37.5	38.5
	3	69.3	15.1	23.9	28.9	—	—	—	—	—	—
19	1	86.6	46.2	46.2	39.6	38.5	99.0	77.0	77.0	57.8	57.8
	2	66.0	5.0	6.0	11.6	8.1	92.4	34.7	23.9	22.4	13.9
	3	92.4	5.0	5.0	5.0	5.0	69.3	34.7	55.4	40.8	20.1
20	1	38.5	5.0	5.0	25.7	24.3	107.0	51.3	—	—	—
	2	63.2	5.0	5.0	5.0	5.0	86.6	49.5	—	—	—
	3	52.8	5.0	5.0	5.0	5.0	63.0	11.6	—	—	—
21	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	57.8	5.0	5.0	10.8	12.8	56.3	61.9	36.5	—	—
	3	54.6	18.2	23.1	17.3	11.0	52.8	30.9	19.8	30.1	26.7
22	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	100.4	36.5	34.7	24.3	20.4	198.0	86.6	81.5	72.9	72.9
	3	110.0	69.3	55.4	55.4	44.7	105.0	63.6	71.4	63.0	63.0
23	1	115.5	37.1	71.4	69.3	60.3	94.9	101.9	86.6	78.8	66.0
	2	77.0	37.9	50.2	43.3	42.0	48.8	55.9	47.5	53.3	54.1
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	1	88.8	5.0	5.0	5.0	5.0	138.6	86.6	49.1	34.7	27.7
	2	86.6	5.0	5.0	5.0	5.0	266.5	147.4	126.0	99.0	82.5
	3	88.8	25.7	5.0	8.3	8.6	113.6	85.6	115.5	81.5	72.9
25	1	87.7	30.8	28.9	24.3	23.5	115.5	42.8	58.2	57.8	60.3
	2	94.9	5.0	5.0	5.0	5.0	101.9	60.3	69.3	69.3	49.5
	3	69.3	5.0	5.0	5.0	5.0	99.0	34.7	41.5	46.2	34.7
26	1	99.0	24.3	14.7	5.0	5.0	103.4	121.6	59.2	49.5	48.8
	2	121.6	41.5	34.7	34.7	29.7	150.7	69.3	72.2	75.3	72.9
	3	83.5	8.7	6.5	6.5	8.1	44.4	31.2	31.2	32.7	34.7

さなかった。しかし、1-CBFの変化のばらつきはOKY-1581投与時に比し有意に小さかった ( $p < 0.05$ )。また indomethacin 投与30分後には有意の減少を示し ( $p < 0.002$ )、平均で投与前の88.1%となった。

3) 対照群における M<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>閉塞および閉塞解除による 1-CBF の変化

血管閉塞前79.9 $\pm$ 5.8ml/100 g/min であった平均 1-CBF は、閉塞直後25.4 $\pm$ 3.6ml/100 g/min と約70%減少し、閉塞中はほぼ一定の脳虚血が続いた。血管閉塞を解除し血行を再開すると、

直ちに 1-CBF は72.4 $\pm$ 6.2ml/100 g/min とほぼ閉塞前値に復した。その後再び 1-CBF は減少し、血行再開90分後には49.5 $\pm$ 3.5ml/100 g/min (約40%減少) と postischemic hypoperfusion を示した。

4) 脳虚血中の 1-CBF に対する薬物投与の影響

OKY-1581虚血前1回投与群(B群)の血管閉塞30分後および90分後、indomethacin 虚血前1回投与群(D群)の血管閉塞直後において、対照群(A群)に比し有意に低い 1-CBF を示した

Table 5 Summary of 1-CBF (ml/100 g/min) data in group D (indomethacin 4mg/kg)

Dog No.	Electrode No.	Pre-occlusion	Indomethacin i.v.		Post-occlusion				Post-recirculation				
			immediate	30min	immediate	30min	60min	90min	immediate	30min	60min	90min	120min
27	1	49.5	47.8	37.5	27.7	29.5	32.7	30.1	46.2	29.7	43.3	52.5	63.0
	2	57.8	51.3	39.6	14.4	18.2	21.2	26.7	36.1	37.3	32.7	35.7	36.5
	3	55.4	47.5	29.7	5.0	27.1	27.0	40.8	49.5	40.8	55.4	60.3	70.7
28	1	42.0	34.7	31.2	20.4	22.4	21.3	20.4	42.3	37.5	41.0	49.5	51.3
	2	79.7	64.8	53.3	10.9	6.5	7.3	8.7	99.0	63.0	66.0	72.9	77.0
	3	60.3	63.0	60.3	19.8	19.3	22.4	22.4	108.3	51.3	69.3	86.6	72.9
29	1	99.0	108.3	99.0	5.0	8.9	5.0	5.0	91.2	55.4	101.9	63.0	70.0
	2	115.5	130.8	106.6	11.6	5.0	5.0	5.0	99.0	86.6	88.8	69.3	94.9
	3	119.5	119.5	99.0	14.0	14.4	8.9	11.2	99.0	106.7	111.8	106.6	75.3
30	1	33.0	38.5	33.0	—	5.0	5.0	5.0	—	55.4	39.4	40.8	46.2
	2	73.7	67.9	66.0	47.8	47.8	38.5	39.2	—	66.6	72.2	76.2	86.6
	3	47.8	43.3	41.3	5.0	5.0	5.0	19.0	43.3	34.7	42.8	47.8	55.4
31	1	61.3	55.4	51.7	31.1	51.7	50.2	40.8	45.9	55.4	51.7	59.7	62.0
	2	52.1	43.3	46.2	9.5	42.0	39.6	33.5	37.7	40.1	49.5	49.5	59.2
	3	51.3	50.2	39.8	13.9	33.0	32.7	30.0	30.1	36.5	42.5	46.2	49.5
32	1	55.4	57.8	55.4	8.0	11.4	14.0	17.5	34.7	28.2	29.4	32.5	34.7
	2	56.8	41.0	38.3	5.3	8.5	7.2	16.1	76.2	48.5	49.9	47.5	46.5
	3	138.6	115.5	106.6	5.0	5.0	32.4	20.1	133.3	68.6	58.2	108.3	81.5
33	1	57.8	69.3	63.0	5.0	5.0	5.0	5.0	—	—	—	—	—
	2	83.5	97.6	61.8	23.6	5.0	5.0	5.0	133.3	135.9	135.9	108.3	101.9
	3	63.6	68.6	81.5	5.0	5.0	5.0	5.0	110.0	94.9	110.0	113.6	103.4
34	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	64.2	79.7	64.2	36.5	33.0	30.9	28.9	53.3	37.9	32.2	33.0	33.5
	3	54.6	55.0	46.2	18.5	12.8	16.5	14.6	40.1	36.5	34.7	30.1	26.2
35	1	110.0	82.5	110.0	19.3	28.9	26.9	34.7	115.5	87.7	90.0	76.2	101.9
	2	77.0	60.3	86.6	30.5	27.7	30.8	24.8	81.5	86.6	85.6	63.0	92.4
	3	94.9	88.8	92.4	15.8	11.9	8.9	13.1	93.6	85.6	67.9	46.2	69.3

(順に  $p < 0.05$ ,  $p < 0.02$ , および  $p < 0.05$ ).

#### 5) 血行再開後の1-CBFに対する薬物投与の影響

M<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>閉塞時の1-CBFは、薬物投与群(B, C, D群)において対照群(A群)より低下する傾向を示した(Fig. 5, 6). OKY-1581持続投与群(C群)においては血行再開直後の1-CBFは103.6±10.9ml/100g/minとこの群の血管閉塞前値81.5±4.4ml/100g/minに比し明らかなhyperemiaを示し、他の3群と比べても有意に高い1-CBF値であった( $p < 0.05$ ). しかし、この群では血行再開後の時間経過とともに1-CBFは減少し続け、血行再開120分では閉塞前値の

55.7%にまで低下した. OKY-1581虚血前1回投与群(B群)では血行再開直後のhyperemiaは軽微であったが、血行再開30分後よりhypoperfusionが持続した. 一方、indomethacin虚血前1回投与群(D群)においては、血行再開直後の1-CBFは71.6±6.7ml/100g/minとこの群の閉塞前値69.2±6.7ml/100g/minにはほぼ復し、hyperemiaを認めなかった. さらに血行再開30分後以降も有意な1-CBFの低下を生ぜず、B群の血行再開30分後、60分後、120分後およびC群の血行再開120分後の1-CBFと比し有意に高値であった(順に  $p < 0.02$ ,  $p < 0.002$ ,  $p < 0.005$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.002$ ).



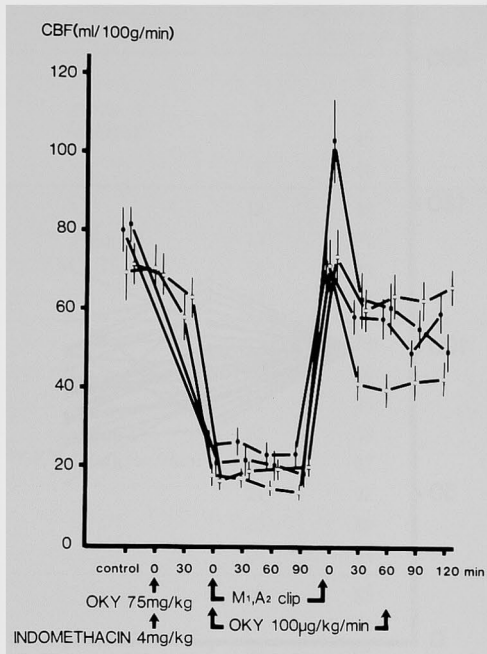


Fig. 5 Time course of the mean 1-CBF values ● : group A (control) ○ : group B (OKY -1581 75mg/kg) ■ : group C (OKY-1581 100µg/kg/min) □ : group D (indomethacin 4mg/kg)

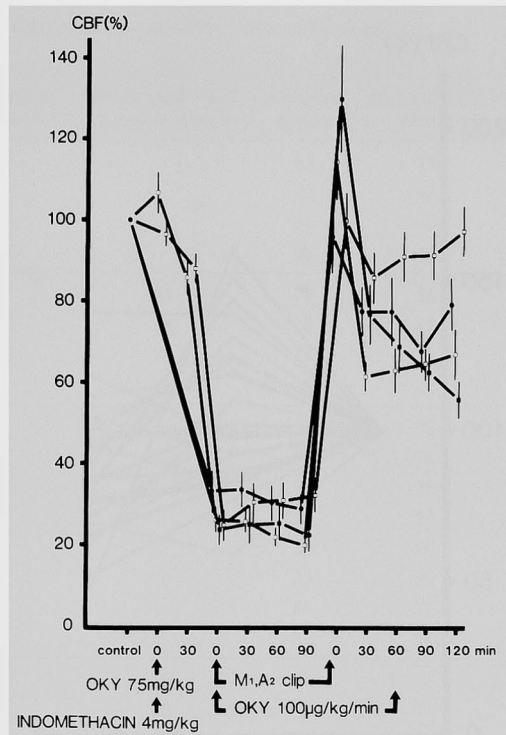


Fig. 6 Time course of the mean %1-CBF values ● : group A (control) ○ : group B (OKY -1581 75mg/kg) ■ : group C (OKY-1581 100µg/kg/min) □ : group D (indomethacin 4mg/kg)

3. 血小板凝集能の変化

血小板凝集能を測定できた25頭の data を Table 6 に示した。手術操作は各群で共通なため全例を平均すると ADP20µM に対する最大凝集率は手術前60.7±3.8%であったが、手術後には46.2±4.5%と有意に低下した (p<0.001)。手術操作後の凝集率の値を基準としたときの以後の凝集率の変化(Δ%aggregation)を Fig. 9 に示した。indomethacin 投与によって凝集率が有意に低下したが(p<0.05)、OKY-1581投与および脳虚血、血行再開によっては凝集率に有意の変化は見られなかった。

4. 剖検所見

Table 7 に脳腫脹の程度を4段階に分けて各群ごとの頭数を示した。統計学的には4群間の分布に有意差は認められなかった。なお、出血性変化を認めた例はなかった。

考 按

1. 実験方法について

1) 脳虚血作製法について

人為的に focal cerebral ischemia を作製する方法として、transorbital approach による一側中大脳動脈起始部(M<sub>1</sub>)の閉塞が猿、猫、家兎、などにおいて用いられてきた<sup>33-35</sup>。この方法は脳損傷がきわめて少ないすぐれた方法であり、慢性実験にも適している。入手しやすく取扱いが容易な犬においては、眼窩が深いためこの方法は難しいとされていたが<sup>36</sup>、衣笠<sup>28</sup>)により技術的に確立された。しかし、犬脳動脈においては副血行路が発達しているため<sup>30</sup>脳血流量(CBF)の減少は閉塞前の50%にとどまり<sup>37</sup>、虚血脳モデルとしては軽微ないし中等度の虚血とされている<sup>38</sup>。宮田<sup>29</sup>)はさらにこの方法を発展させ、M<sub>1</sub>

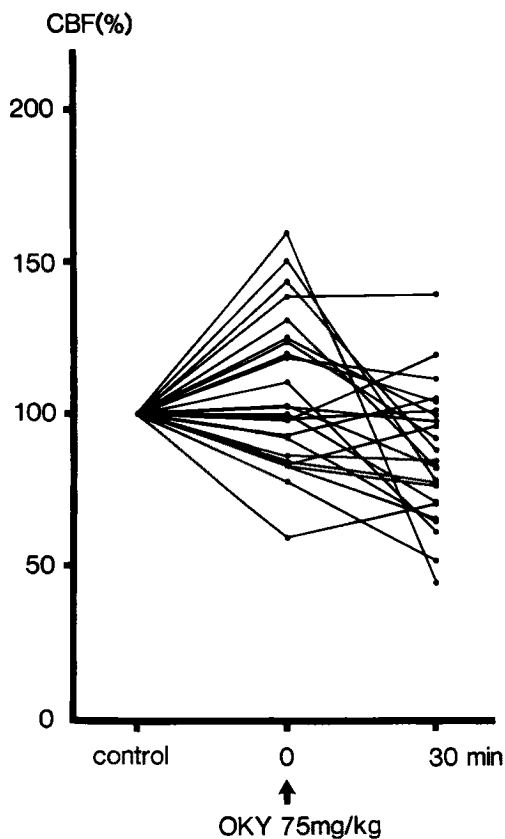


Fig. 7 Effects of OKY-1581 75mg/kg i. v. on CBF

に加えて前大脳動脈共通幹 ( $A_2$ ) をも同時に閉塞することにより、さらに高度の虚血を高頻度を得ることに成功した。すなわち、 $M_1$ 閉塞のみではもっとも虚血の強い anterior sylvian gyrus においても CBF の減少は約50%であったが、 $A_2$  閉塞を加えることにより約70%の CBF の減少が得られたと述べている。そこでより確実な focal cerebral ischemia のモデルとして、今回の実験でもこの新しい方法を用いた。

## 2) 薬物投与方法について

脳虚血および血行再開時の脳循環動態に及ぼす prostaglandin (PG)-thromboxane (TX) 系 (アラキドン酸代謝産物) の関与を検索する目的で、今回の実験では OKY-1581 と indomethacin の2種類の薬物を用いた。アラキドン酸から cyclooxygenase を介して種々の PG-TX 系

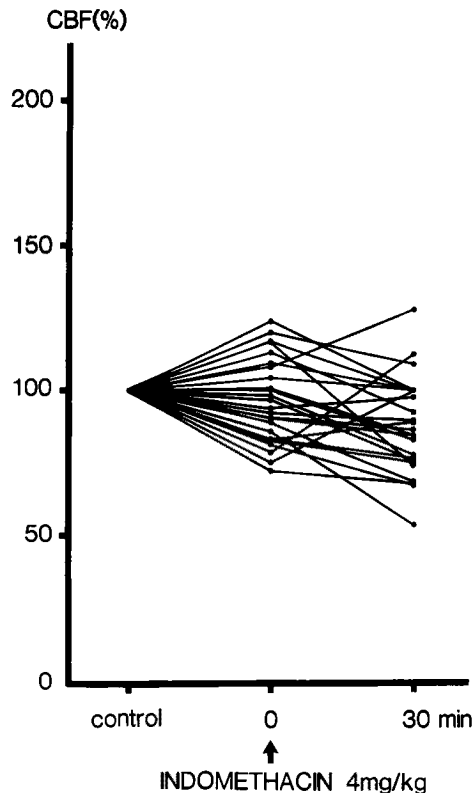


Fig. 8 Effects of indomethacin 4mg/kg i. v. on CBF

の代謝産物が生合成される過程については多くの総説<sup>39)40~42)</sup>に詳述されており、この概略と OKY-1581 および indomethacin の作用部位を Fig. 10 に示した。pyridine 誘導体である OKY-1581 は特異的で強力な  $TXA_2$  合成酵素の阻害作用を有しており<sup>21~25)</sup>、 $TXA_2$  過剰産生による病態の治療や予防への応用が期待されている<sup>25)43~45)</sup>。今回の実験ではこの酵素阻害剤が頭蓋外血管と脳血管のいずれに強く作用するかを調べる目的で75mg/kg という大量1回投与を一群で行なった。他の一群では虚血中および血行再開後を通して  $TXA_2$  の産生を阻害するため100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  で持続投与とした。一方、indomethacin は特異的な cyclooxygenase 阻害剤であり<sup>26)27)</sup>、効果の持続も長い<sup>46)47)</sup> 虚血前投与のみを行なった。投与量は Furlow および Hallenbeck<sup>48)49)</sup> に準じ 4 mg/kg とした。

Table 6 Summary of maximum platelet aggregating ratio(%) data in 25 dogs

	Dog No.	before surgical procedure	after surgical procedure	30min after OKY or indomethacin	occlusion 60min	recirculation 60min
group A (control)	4	58	90		57	74
	5	50	42		48	43
	6	45	59		42	56
	8	48	46		45	46
group B (OKY 75mg/kg)	12	48	37	35	28	25
	14	31	21	18	18	19
	15	39	22	22	12	11
	17	87	29	55	46	42
group C (OKY 100 $\mu$ g/kg/min)	19	76	66		60	47
	20	86	47		69	74
	21	35	28		22	18
	22	58	20		27	25
	23	67	42		38	29
	24	52	36		33	32
	25	80	78		60	77
	26	82	53		31	24
group D (indomethacin 4mg/kg)	27	58	28	8	4	7
	28	51	35	15	8	14
	29	65	61	23	20	30
	30	100	70	67	38	40
	31	68	67	46	35	44
	32	91	100	33	21	18
	33	59	26	12	28	15
	34	31	24	32	37	22
	35	52	28	19	34	39
	mean (n=25)		60.7 $\pm$ 3.8	46.2 $\pm$ 4.5		

### 3) 局所脳血流量測定法について

局所脳血流量(1-CBF)測定には水素クリアランス法<sup>31)</sup>を用いた。この方法は組織血流量を同時に複数部位で絶対値で求められる利点を有しており、継時的変化の追跡も可能であることより、実験的脳虚血の検索にひろく用いられている<sup>50-52)</sup>。水素ガスの濃度、吸入時間についてはPasztorら<sup>51)</sup>、田村ら<sup>52)</sup>、松本<sup>53)</sup>などの報告に基づき7%で4分間とした。水素ガス吸入停止後のarterial recirculationの影響は約40秒から1分間で無視できるとされており<sup>51)52)</sup>、著者は水素ガス吸入停止後1分間を除外した後のtwo minutes clearance法<sup>32)</sup>によって1-CBFを算出した。測定に際して水素電極を皮質内に刺入する

が、それによる脳組織損傷はごく軽微で、1-CBF測定の上で問題とならないことが既に示されている<sup>53)54)</sup>。

### 4) 血小板凝集能測定について

血小板凝集能測定法としてはBorn<sup>55)</sup>によって開発された透光度法が広く利用されており、著者もこの方法を用いた。血小板凝集惹起物質としてADP、アラキドン酸、コラーゲン、thrombinなどがあるが、最もよく用いられているADP凝集を用いた<sup>55-58)</sup>。得られた凝集曲線の評価法については諸説があるが<sup>56)59)60)</sup>、犬においてはクエン酸加血10mlより1ml程度のPRPしか得られないため、1~2回の測定でも評価が可能な最大凝集率<sup>57)58)</sup>で評価した。

2. 実験結果について

脳虚血により膜磷脂質より多価不飽和脂肪酸が遊離され脳内に蓄積することは, Bazán<sup>61)</sup>のラットの断頭による脳虚血, 吉田ら<sup>17)</sup>, 伊能ら<sup>62)</sup>の gerbil 両側総頸動脈閉塞による脳虚血モデルにおいて報告されている。いずれの実験においても, 遊離脂肪酸の中でもアラキドン酸の増加が著明であったという。さらに吉田ら<sup>17)</sup>, 伊能ら<sup>62)</sup>の実験では, 血流再開を行なうことにより増加した遊離脂肪酸が漸減するが, とりわけアラキドン酸の減少が急速であることが示されている。血流再開後のアラキドン酸の一部からは, 再供給された酸素の存在下に cyclooxygenase の作用により一群の prostaglandin (PG)-thromboxane (TX) 系の代謝産物が生成される。Gaudet ら

の一連の実験<sup>20)63)64)</sup>によると, gerbil の両側総頸動脈閉塞による complete cerebral ischemia では虚血中には脳内 PGs は増加しないが, 血流再開により PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> および TXA<sub>2</sub> の代謝産物である TXB<sub>2</sub> の急速な増加がみられ, これらは indomethacin の前投与でほぼ完全に抑制されたという。また, 一側総頸動脈閉塞による incomplete ischemia では, 酸素供給が完全には断たれないため虚血中に PG 生合成が進むことが示されている。一方, 脳卒中の臨床例においても髄液または血漿中に PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, TXB<sub>2</sub> などが増加することが Carasso ら<sup>65)</sup>, Wolfe ら<sup>66)</sup>, 大森ら<sup>67)</sup>により報告されている。これら脳虚血および血流再開に伴って増加する PG-TX 系代謝産物の中でも, とりわけ TXA<sub>2</sub> と PGI<sub>2</sub> の脳循環への影響は大きいといわれている<sup>68)</sup>。主に血小板で生合成される TXA<sub>2</sub> が細動脈を強く収縮させるのに比し, 血管内皮細胞で生合成される PGI<sub>2</sub>

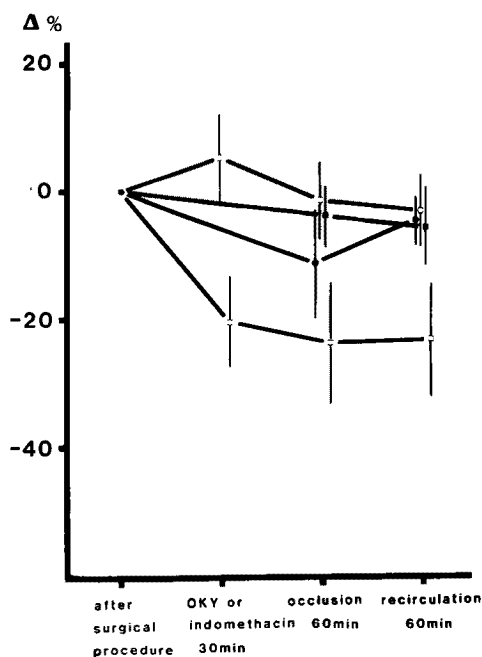


Fig. 9 Time course of the mean maximum platelet aggregating ratio values ● : group A (control) ○ : group B (OKY-1581 75mg/kg) ■ group C (OKY-1581 100μg/kg/min) □ : group D (indomethacin 4mg/kg)

Table 7 Grading of macroscopic cerebral swelling in 35 dogs

	group A	group B	group C	group D
no swelling	7	5	3	5
slight swelling	0	2	3	3
moderate swelling	1	1	3	1
severe swelling	0	1	0	0

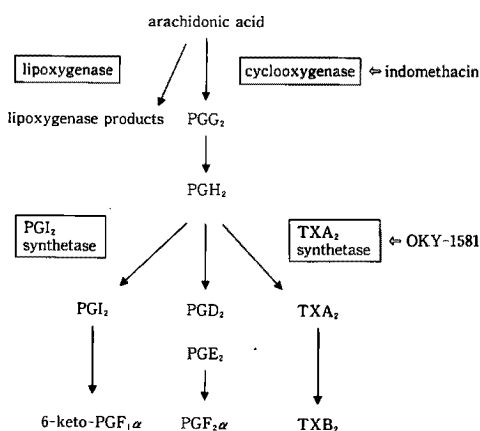


Fig. 10 Schema of transformations of arachidonic acid PG : prostaglandin TX : thromboxane ⇐ : inhibition

には強い細動脈拡張作用があり、両者のバランスによる vascular tonus の調節機序が注目されている<sup>69)70)</sup>。本研究における2時間の虚血後の再開通モデルにおいては、再開通後2時間にわたって著しい1-CBFの低下が認められたが、この血流低下の発現に TXA<sub>2</sub>の関与する可能性が考えられる。そこで、今回の実験では特異的な TXA<sub>2</sub>合成酵素阻害剤である OKY-1581<sup>21-25)</sup>と cyclooxygenase 阻害剤である indomethacin<sup>26)27)</sup>を用いて、脳虚血および血流再開後の脳循環動態に及ぼす PG-TX 系の関与を検索した。

まず、OKY-1581 75mg/kg 静注により一過性の血圧下降を示したが、このことは全身血管の vascular tonus の一時的な低下とすみやかな回復を示しており、vascular tonus の調節に TXA<sub>2</sub> が関与しているものの、通常の状態では何らかの feed back 機構を介しておそらく PGI<sub>2</sub>の産生も抑制されることで恒常性が保たれたと考えられる。また、OKY-1581投与直後の1-CBFは部位により増加、不変、減少とさまざまな変化を示したが、これは脳への灌流圧低下に基づく脳血管 tonus の変化が多様であることを示すものと思われる。OKY-1581投与30分後には血圧が投与前値に復したにもかかわらず、1-CBFは約14%減少した。この機序として PG endoperoxide (PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>) から他の PGs 生合成が促進されたり<sup>39-41)</sup>、アラキドン酸から lipoygenase を介して leukotriene などの eicosanoids を産生する系<sup>42)</sup>が賦活化され、それら全体の効果として CBF が減少したとも考えられるが、詳細は不明である。

一方、indomethacin の投与によって全身血圧に変化を生じることなく CBF が減少することは諸家の報告に見られる<sup>71-74)</sup>。本実験においても、投与30分後には血圧の変動をみることなく1-CBFは平均約12%減少した。また、indomethacin には hypercapnea による CBF 増加 (CO<sub>2</sub> response) を抑制する作用があり、これは血管壁での cyclooxygenase 阻害によることを示唆している<sup>71)72)</sup>。

M<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>の同時閉塞による1-CBFの減少は平均68.2%であり、この方法で約70%の1-CBFの減少が得られたとする宮田の報告<sup>29)</sup>とよく一致し

た。Gaudet ら<sup>20)64)</sup>、Shohami ら<sup>75)</sup>が示すように focal incomplete cerebral ischemia では虚血中にも PG-TX 生合成が進行し得るが、本実験で示されたように虚血中の1-CBFを変化させる程度の影響は有していない。M<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>遮断中の脳血流は、薬物投与群において対照群 (A 群) よりもやや低下するという傾向がみられた。OKY-1581前処置群 (B 群) の血管閉塞30分後および90分後、indomethacin 投与群 (D 群) の血管閉塞直後において A 群に比し有意に低い1-CBFを示したが、%1-CBFではB群の閉塞90分後のみがA群と有意差を示しており、脳虚血中の1-CBFに対する薬物投与の影響は少ないものと考えられる。

これに対し、血行再開後の1-CBFは薬物投与によりさまざまに修飾された。このことは間接的ながら血行再開時のPG-TX系の生合成の促進とそれらによるCBFへの影響の大きさを示していると言ってよいであろう。OKY-1581持続投与群 (C 群) において血行再開後明らかな hyperemia が認められたが、D 群では hyperemia は生じなかった。postischemic hyperemia の原因としては lactoacidosis による vasoparalysis が重要視されてきたが<sup>76)77)</sup>、本実験の結果からは vasoparalysis だけではなく vasoactive PG の関与も重要と考えられる。postischemic hyperemia の意義については Hossmann ら<sup>78)</sup>は brain electrical activity の回復の必要条件であるとし、Osburn ら<sup>79)</sup>も有益なものと考えているが、一方では Heiss ら<sup>80)</sup>、Mchedlishvili ら<sup>81)</sup>のように脳浮腫を強め有害であると考えられる立場もあり、いまだ確立されていない<sup>82)</sup>。したがって TXA<sub>2</sub>の産生を阻害し postischemic hyperemia を助長することの意味づけも慎重でなければならない。

A 群において postischemic hypoperfusion が認められ、血行再開90分後には閉塞前値の約40%の1-CBFの減少が生じた。これは Nemoto ら<sup>83)</sup>、Levy ら<sup>84)</sup>の約50%のCBFの減少が生じたとする報告に近い。Furlow ら<sup>48)</sup>、Hallenbeck ら<sup>49)</sup>、Boulu ら<sup>85)</sup>は、indomethacin の虚血前投与により postischemic hypoperfusion が改善されたと報告しており、本実験もこれらの結果を支持するものであった。このことは postischemic

hypoperfusionにPG-TX系代謝産物の関与を示唆しており、とりわけTXA<sub>2</sub>の影響が考えられる。田伏<sup>86)</sup>は犬の全脳虚血8~10分後血行再開を行ない、TXA<sub>2</sub>合成酵素阻害剤を血行再開5分後より投与し、postischemic hypoperfusionの改善を得たと報告している。しかし、一方でMoufarrijら<sup>87)</sup>は猫の一側中大脳動脈閉塞4時間後の血行再開において、TXA<sub>2</sub>合成酵素阻害剤の前投与は脳梗塞の大きさをむしろ増大させたとして述べている。本実験の結果はMoufarrijらに近いもので、OKY-1581はpostischemic hypoperfusionをむしろ増強させる傾向にあった。MoufarrijらはTXA<sub>2</sub>生合成の阻害によりleukotrieneその他のlipoxygenaseを介する代謝産物の生合成が亢進することが脳組織損傷を促進するのではないかと考察している。しかし、indomethacinがhypoperfusionを改善した本実験の結果を考慮に入れると、PG endoperoxide (PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>)自体やそれらから産生されるその他のPGsの作用の総和がより重要ではないかと推察される。

さて、PG-TX系は脳血管径の変化だけでなく血小板機能にも影響を与えている。脳卒中急性期に血小板が賦活され形態変化を生じることがGilroyら<sup>88)</sup>、Barnhartら<sup>89)</sup>、Doughertyら<sup>90)</sup>により報告されており、動物実験による脳虚血においても同様の結果が示されている<sup>57)91)92)</sup>。血小板凝集塊は単に微小血管腔を機械的に閉塞するのみでなく、TXA<sub>2</sub>などの放出により血管を収縮させることによってもhypoperfusionに関与している可能性がある。血小板の賦活化にともないin vitroでの血小板凝集能は低下するとの報告が多く<sup>57)58)93)</sup>、金ら<sup>57)</sup>はすでに賦活化された血小板はin vitroでの反応性が低下しているためと説明している。本実験において、手術操作により血小板凝集能が有意に低下したのも血小板の賦活化によるものと理解される。しかし、脳虚血および血流再開後の血小板凝集能の変化は見出せなかった。また、灌流固定した脳の肉眼所見で見るとかぎりでは薬物投与の有無による脳腫脹の程度には有意差は認められなかった。このことより、OKY-1581投与によるpostischemic hypoperfusionの増強は脳浮腫の発生に伴って

生じているのではないと考えられる。

脳虚血後の血行再開により生合成されるPG-TX系代謝産物が脳循環動態に大きな影響を与えていることが本実験で確認された。TXA<sub>2</sub>合成阻害によりhyperemiaが増強される反面、それに続くhypoperfusionがむしろ増強された。これに対し、PG-TX系全体の生合成を阻害することにより、hyperemiaを生じることなくhypoperfusionも明らかに改善された。これらの結果は、脳血流量に関する限り、TXA<sub>2</sub>のみの合成を阻害するよりPG-TX系全体の生合成を阻害することの有用性を示唆しているが、それが生理学的な機能回復や脳梗塞の軽減に結びつくかどうかは未知であり、今後の研究が期待される場所である。

## 結 語

雑種成犬35頭を用い、transorbital approachにより一側中大脳動脈起始部(M<sub>1</sub>)および前大脳動脈共通幹(A<sub>2</sub>)を閉塞し脳虚血を作成した。虚血時間は2時間とし、血行再開2時間までの間、継時的に大脳半球皮質の1-CBFと頸静脈血の血小板凝集能を測定し、脳腫脹の程度も検討した。実験を4群に分け、8頭は薬物を投与せず対照群(A群)とした。9頭(B群)には選択的TXA<sub>2</sub>合成阻害剤であるOKY-1581を虚血1時間前に75mg/kg静注した。別の9頭(C群)にはOKY-1581を虚血開始と同時に100μg/kg/minで点滴静注した。さらに別の9頭(D群)ではcyclooxygenase阻害剤であるindomethacinを虚血1時間前に4mg/kg静注した。1-CBFの測定は水素クリアランス法により、血小板凝集能の測定はADP凝集で透光度法により行った。

1. OKY-1581 75mg/kg投与により一過性の全身血圧の低下が生じたが、数分間のうちに速やかに回復を示した。OKY-1581 100μg/kg/minおよびindomethacin 4mg/kg投与によっては全身血圧は変動しなかった。

2. OKY-1581 75mg/kg投与により、直後には1-CBFは増加、不変、減少と様々な反応を示したが、30分後には有意に減少した。

3. indomethacin 4mg/kg投与によっても30

分後に 1-CBF は有意に減少した。

4. A 群では  $M_1$ ,  $A_2$  の同時閉塞により 1-CBF は約 70% 減少し、閉塞中はほぼ一定の虚血が続いた。血行再開により 1-CBF はほぼ閉塞前値に復した後、再び約 40% 減少し、postischemic hypoperfusion を示した。

5. 脳虚血中の 1-CBF に対する薬物投与の影響は少なかった。

6. 血行再開後の 1-CBF は薬物投与により大きく影響された。C 群では明らかな hyperemia が認められ、それに続く hypoperfusion はむしろ増強された。D 群では hyperemia を生ぜず、hypoperfusion も明らかに改善された。

7. 手術操作により血小板凝集率が低下したが、脳虚血、血行再開によっては変化が見られなかった。indomethacin 投与によって ADP による凝集率が有意に低下した。

8. 肉眼的な脳腫脹の程度には薬物投与の有

無で差を認めなかった。

以上の結果より、脳虚血後の血行再開により生合成される PG-TX 系代謝産物が脳循環動態に大きな影響を与えていることが確認された。血流再開後の hypoperfusion を改善させるためには  $TXA_2$  の選択的合成阻害よりも PG-TX 系全体の生合成を阻害するほうが有用であることが示唆された。

稿を終わるに臨み、御懇篤なる御指導を賜った恩師、岡山大学脳神経外科西本 詮教授ならびに本研究につき直接御指導をいただいた香川医科大学脳神経外科大本 堯史教授に深謝いたします。また本実験に際し御助言、御協力いただいた宮田伊知郎先生、西垣慎一先生、脇本秀輝氏をはじめ教職員各位に感謝いたします。さらに小野薬品工業株式会社の御好意により OKY-1581 を提供していただいたことを付記いたします。

## 文 献

- 1) 菊池晴彦, 唐沢 淳: 閉塞性脳血管障害の外科的治療. 脳神経 (1983) **35**, 61—70.
- 2) 米川泰弘, 半田 肇: 閉塞性脳血管障害の外科. 脳神経 (1980) **32**, 239—255.
- 3) Thompson JE, Austin DJ and Partman RD: Endarterectomy of the totally occluded carotid artery for stroke, results in 100 operations. Arch Surg (1967) **95**, 791—801.
- 4) 入野忠芳: 脳血管閉塞の再開通現象. 脳神経 (1978) **30**, 135—151.
- 5) Ito Z, Hen R, Nakajima K, Suzuki A, Moriyama T and Uemura K: Evaluation of functional reversibility of ischemic brain — to select appropriate patients with completed stroke for STA-MCA bypass surgery. Neurol Med Chir (1976) **16**, 121—129.
- 6) Rob CG: Operation for acute completed stroke due to thrombosis of the internal carotid artery. Surgery (1969) **65**, 862—865.
- 7) Chou SN: Embolectomy of middle cerebral artery. J Neurosurg (1973) **20**, 161—163.
- 8) 吉本高志, 鈴木二郎: 脳梗塞急性期の外科的治療. 日獨医報 (1984) **29**, 615—626.
- 9) Wylie EJ, Hein MF and Adams JE: Intracranial hemorrhage following surgical revascularization for treatment of acute strokes. J Neurosurg (1964) **21**, 212—215.
- 10) Gratzl O, Schmidek P, Spetzler R, Steinhoff H and Marguth F: Clinical experience with extra-intracranial arterial anastomosis in 65 cases. J Neurosurg (1976) **44**, 313—324.
- 11) Crowell RM, Olsson Y, Klatzo I and Ommaya A: Temporary occlusion of the middle cerebral artery in the monkey: clinical and pathological observations. Stroke (1970) **1**, 439—448.
- 12) Branston NM, Symon L and Crockard HA: Recovery of the cortical evoked response following temporary middle cerebral artery occlusion in baboons: relation to local blood flow and  $PO_2$ . Stroke (1976) **7**, 151—157.
- 13) Nakai K, Welch KMA and Meyer JS: Critical cerebral blood flow for production of hemiparesis

- after unilateral carotid occlusion in the gerbil. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (1977) **40**, 595—599.
- 14) Morawetz RB, DeGirolami U, Ojemann RG, Marcoux FW and Crowell RM : Cerebral blood flow determined by hydrogen clearance during middle cerebral artery occlusion in unanesthetized monkeys. *Stroke* (1978) **9**, 143—149.
- 15) Smith AL, Hoff JT, Nielsen SL and Larson CP : Barbiturate protection in acute focal cerebral ischemia. *Stroke* (1974) **5**, 1—7.
- 16) Yoshimoto T, Sakamoto T, Watanabe T, Tanaka S and Suzuki J : Experimental cerebral infarction, part 3 : protective effect of mannitol in thalamic infarction in dogs. *Stroke* (1978) **9**, 217—218.
- 17) 吉田伸一, 伊能 睿, 浅野孝雄, 佐野圭司, 久保田勝, 島崎弘幸, 植田伸夫, 安田 寛, 島田修史 : 実験的脳虚血による脳内遊離脂肪酸の変動と脳保護剤の効果. *脳神経* (1980) **32**, 931—939.
- 18) Siesjö BK : Cell damage in the brain : a speculative synthesis. *J Cereb Blood Flow Metab* (1981) **1**, 155—185.
- 19) 小暮久也, 吉田伸一 : 虚血と過酸化反応 — 治療面への示唆にふれて —. *脳神経* (1981) **33**, 47—57.
- 20) Gaudet RJ and Levine L : Transient cerebral ischemia and brain prostaglandins. *Biochem Biophys Res Commun* (1979) **86**, 893—901.
- 21) Miyamoto T, Taniguchi K, Tanouchi T and Hirata F : Selective inhibitor of thromboxane synthetase : pyridine and its derivatives. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* (1980) **6**, 443—445.
- 22) 大熊 稔, 高山博史, 内野治人, 近藤規元, 川崎晃義, 稲川久夫 : 血小板の凝集およびアラキドン酸代謝に及ぼす thromboxane 合成酵素阻害剤 (OKY-1581) 投与の効果. *血液と脈管* (1982) **13**, 435—439.
- 23) Hiraku S, Wakitani K, Katsube N, Kawasaki A, Tsuboshima M, Naito J, Ujiie A, Komatsu H and Iizuka K : Pharmacological studies on OKY-1581 : a selective thromboxane synthetase inhibitor. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* (1983) **11**, 241—244.
- 24) Ito T, Ogawa K, Sakai K, Watanabe J, Satake T, Kayama N, Hiraku S and Naito J : Effects of a selective inhibitor of thromboxane synthetase (OKY-1581) in humans. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* (1983) **11**, 245—251.
- 25) 内藤 淳, 平工誠治, 久我哲郎 : (E)-3-[4-(1-imidazolylmethyl) phenyl]-2-propenoic acid hydrochloride monohydrate (OKY-046) および sodium (E)-3-[4-(3-pyridylmethyl) phenyl]-2-methylpropenoate (OKY-1581) の Thromboxane 合成酵素阻害作用と治療薬としての可能性. *応用薬理* (1984) **27**, 267—287.
- 26) Flower RJ : Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol Rev* (1974) **26**, 33—67.
- 27) Moncada S, Needleman P, Bunting S and Vane JR : Prostaglandin endoperoxide and thromboxane generating systems and their selective inhibition. *Prostaglandins* (1976) **12**, 323—329.
- 28) 衣笠和孜 : 大脳の血管閉塞に関する実験的研究 — 犬における中大脳動脈血管閉塞後の microangiography 所見と病理組織学的所見について —. *岡山医誌* (1986) **98**, 1—20.
- 29) 宮田伊知郎 : 脳虚血に関する実験的研究 . 第1編 脳虚血モデルについて. *岡山医誌* (1988) **100**, 773—782.
- 30) 西丸雄也 : 脳血管障害の観点における脳動脈の構築学的研究 第1報 大脳動脈の副血行路について. *福岡医誌* (1963) **54**, 988—1006.
- 31) Aukland K, Bower BF and Berliner RW : Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ Res* (1964) **14**, 164—187.
- 32) Doyle TF, Martins AN and Kobrine AI : Estimating total cerebral blood flow from the initial slope of hydrogen washout curves. *Stroke* (1975) **6**, 149—152.
- 33) Hudgins WR and Garcia JH : Transorbital approach to the middle cerebral artery of the squirrel



- monkey : a technique for experimental cerebral infarction applicable to ultrastructural studies. *Stroke* (1970) **1**, 107-111.
- 34) O' Brien MD and Waltz AZ : Transorbital approach for occluding the middle cerebral artery without craniectomy. *Stroke* (1973) **4**, 201-206.
- 35) Albanese V, Tomosello F and Cioffi FA : An experimental occlusion of the middle cerebral artery by transorbital approach. *Surg Neurol* (1975) **3**, 58-60.
- 36) 浅利正二 : 脳血管閉塞症に対する血行再建術の実験的研究. *岡山医誌* (1977) **89**, 273-298.
- 37) Shibata S, Hodge CP and Pappius HM : Effect of experimental ischemia on cerebral water and electrolytes. *J Neurosurg* (1974) **41**, 146-159.
- 38) 中川 翼 : 虚血脳. *脳外* (1980) **8**, 409-422.
- 39) Samuelsson B : Prostaglandins and thromboxanes. *Annu Rev Biochem* (1978) **47**, 997-1029.
- 40) Lands WEM : The biosynthesis and metabolism of prostaglandins. *Annu Rev Physiol* (1979) **41**, 633-652.
- 41) 林 洋子, 山本尚三 : 必須不飽和脂肪酸由来の生理活性物質の生合成. *化と生物* (1979) **17**, 684-690.
- 42) Wolfe LS : Eicosanoids : prostaglandins, thromboxanes, leukotriens, and other derivatives of carbon-20 unsaturated fatty acids. *J Neurochem* (1982) **38**, 1-14.
- 43) Casey LC, Fletcher JR, Zmudka MI and Ramwell PW : Prevention of endotoxin-induced pulmonary hypertension in primates by the use of a selective thromboxane synthetase inhibitor, OKY-1581. *J Pharmacol Exp Ther* (1982) **222**, 441-446.
- 44) Kawasaki A and Needleman P : Contribution of thromboxane to renal resistance changes in the isolated perfused hydronephrotic rabbit kidney. *Circ Res* (1982) **50**, 486-490.
- 45) 堂前真理子, 広瀬隆士, 石橋正義, 池田東吾, 重松信昭, 松本法親, 長野 準 : 感作モルモット肺の気道壁縮にあずかる SRS-A の作用機序について. *呼吸* (1982) **1**, 235-241.
- 46) Abdel-Halim MS, Sjöquist B and Ånggård E : Inhibition of prostaglandin synthesis in rat brain. *Acta Pharmacol et Toxicol* (1978) **43**, 266-272.
- 47) Ruszczewski P : Release of prostaglandin-like substance into cerebral venous blood in conditions injurious to brain in the dog. *Acta Physiol Pol* (1978) **29**, 489-499.
- 48) Furlow TWJr and Hallenbeck JM : Indomethacin prevents impaired perfusion of the dogs brain after global ischemia. *Stroke* (1978) **9**, 591-594.
- 49) Hallenbeck JM and Furlow TWJr : Prostaglandin<sub>2</sub> and indomethacin prevents impairment of post-ischemic brain reperfusion in the dog. *Stroke* (1979) **10**, 629-637.
- 50) Fieschi C, Bozzao L, Agnoli A, Nardini M and Bartolini A : The hydrogen method of measuring local blood flow in subcortical structures of the brain, including a comparative study with the <sup>14</sup>C-antipyrine method. *Exp Brain Res* (1969) **7**, 111-119.
- 51) Pasztor E, Symon L, Dorsch NWC and Branston NW : The hydrogen clearance method in assessment of blood flow in cortex, white matter and deep nuclei of baboons. *Stroke* (1973) **4**, 556-567.
- 52) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 允佑, 間中信也, 平川公儀, 佐野圭司 : 水素クリアランス法による脳局所血流量の測定 — 方法および Venous Out Flow 法との相関 —. *脳神経* (1978) **30**, 47-54.
- 53) 松本章博 : 脳血管閉塞に関する実験的研究 — 犬の中大脳動脈閉塞における血行再開後の脳循環動態および病理組織学的所見について —. *岡山医誌* (1986) **98**, 145-162.
- 54) 山本祐司 : 頭蓋外 — 頭蓋内動脈吻合術における脳循環動態に関する実験的研究. *岡山医誌* (1985) **97**, 783-803.
- 55) Born GVR : Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* (1962)

- 194, 927—929.
- 56) 小林逸郎：血小板 ADP 凝集にかんする研究 — ADP 凝集の強さの測定法, 再現性, 個体差についての検討. 日内会誌 (1971) **60**, 736—741.
- 57) 金 是仁, 佐野圭司：脳微小循環障害における血小板, 赤血球の役割. *Neurol Med Chir* (1979) **17** Part II, 135—144.
- 58) Fujimoto S, Roccaforte PR, Patel AR and Moody RA : Intravascular aggregation after intracranial hypertension by epidural balloon compression in cats. *J Neurosurg* (1982) **57**, 210—218.
- 59) O' Brien JR, Heywood JB and Heady JA : The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds : a study in relation to myocardial infarction. *Thromb Diath Haemorrh* (1966) **16**, 752—767.
- 60) 三品頼甫：血小板凝集能. 血液と脈管 (1976) **7**, 523—532.
- 61) Bazán NG Jr : Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim Biophys Acta* (1970) **218**, 1—10.
- 62) 伊能 睿, 吉田伸一, 佐野圭司：実験的脳虚血における脳内遊離脂肪酸とりん脂質の動態 — 血流再開後の脂質過酸化現象の意義 —. *脳神経* (1980) **32**, 829—838.
- 63) Gaudet RJ, Alam I and Levine L : Accumulation of cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism in gerbil brain during reperfusion after bilateral common carotid artery occlusion. *J Neurochem* (1980) **35**, 653—658.
- 64) Gaudet RJ and Levine L : Effect of unilateral common carotid artery occlusion on levels of prostaglandins D<sub>2</sub>, F<sub>2α</sub> and 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> in gerbil brain. *Stroke* (1980) **11**, 648—652.
- 65) Carasso RL, Vardi J, Rabay JM, Zor U and Streifler M : Measurement of prostaglandin E<sub>2</sub> in cerebrospinal fluid in patients suffering from stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (1977) **40**, 967—969.
- 66) Wolfe LS and Mamer OA : Measurement of prostaglandin F<sub>2α</sub> levels in human cerebrospinal fluid in normal and pathological conditions. *Prostaglandins* (1975) **9**, 183—191.
- 67) 大森啓造, 矢島途好, 沼野藤夫, 前沢秀憲, 小田倉力：脳卒中患者における血漿 Thromboxane B<sub>2</sub>濃度について. *脳卒中* (1981) **3**, 63—68.
- 68) 鹿取 信：血小板凝集と内因性プロスタグランジン. *脳外* (1980) **8**, 717—722.
- 69) Moncada S and Vane JR : Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *N Engl J Med* (1979) **300**, 1142—1147.
- 70) Needleman P, Wyche A and Raz A : Platelet and blood vessel arachidonate metabolism and interactions. *J Clin Invest* (1979) **63**, 345—349.
- 71) Pickard JD and Mackenzie ET : Inhibition of prostaglandin synthesis and the response of baboon cerebral circulation to carbon dioxide. *Nature New Biol* (1973) **245**, 187—188.
- 72) Dahlgren N, Nilsson B, Sakabe T and Siesjö BK : The effect of indomethacin on cerebral blood flow and oxygen consumption in the rat at normal and increased carbon dioxide tensions. *Acta Physiol Scand* (1981) **111**, 475—485.
- 73) Iannotti F, Crockard A, Ladds G and Symon L : Are prostaglandins involved in experimental ischemic edema in gerbils? *Stroke* (1981) **12**, 301—306.
- 74) Harris RJ, Bayhan M, Branston NM, Watson A and Symon L : Modulation of the pathophysiology of primate focal cerebral ischemia by indomethacin. *Stroke* (1982) **13**, 17—24.
- 75) Shohami E, Rosenthal J and Lavy S : The effect of incomplete cerebral ischemia on prostaglandin levels in rat brain. *Stroke* (1982) **13**, 494—499.

- 76) Lassen NA : The luxury-perfusion syndrome and its possible relation to acute metabolic acidosis. *Lancet* (1966) **2**, 1113—1115.
- 77) Kogure K, Scheinberg P, Reinmuth OM, Fujishima M and Buto R : Mechanisms of cerebral vasodilatation in hypoxia. *J Appl Physiol* (1970) **29**, 223—229.
- 78) Hossmann K-A, Lechtape-Gruter H and Hossmann V : The role of cerebral blood flow for the recovery of the brain after prolonged ischemia. *Z Neurol* (1973) **204**, 281—299.
- 79) Osburn RC and Halsey JH : Cerebral blood flow. a predictor of recovery from ischemia in the gerbil. *Arch Neurol* (1975) **32**, 457—461.
- 80) Heiss WD, Hayakawa T and Waltz AG : Patterns of changes of blood flow and relationship to infarction in experimental cerebral ischemia. *Stroke* (1976) **7**, 454—459.
- 81) Mchedlishvili G, Kapuscinski A and Nikolaisvili L : Mechanisms of post-ischemic brain edema : contribution of circulatory factors. *Stroke* (1976) **7**, 410—416.
- 82) Waltz AG : Clinical relevance of models of cerebral ischemia. *Stroke* (1979) **10**, 211—213.
- 83) Nemoto EM, Snyder JV, Carroll RG and Morita H : Global ischemia in dogs : cerebrovascular CO<sub>2</sub> reactivity and autoregulation. *Stroke* (1975) **6**, 425—431.
- 84) Levy DE, VanUitert RL and Pike CL : Delayed postischemic hypoperfusion : a potentially damaging consequence of stroke. *Neurology* (1979) **29**, 1245—1252.
- 85) Boulu RG, Gueniau C, Plotkine M and Sofeir M : Recovery from global cerebral ischemia in rabbits : influence of indomethacin. *Eur Neurol* (1981) **20**, 230—234.
- 86) 田伏久之 : 全脳虚血による局所脳血流量の変動 — 第2報 : 抗血小板剤 (Pyridine 誘導体, Indomethacin) の虚血後投与による影響. *脳神経* (1981) **33**, 1157—1164.
- 87) Moufarrij NA, Little JR, Skrinska V, Lucas FV, Latchaw JP, Slugg RM and Lesser RP : Thromboxane synthetase inhibition in acute focal cerebral ischemia in cats. *J Neurosurg* (1984) **61**, 1107—1112.
- 88) Gilroy J, Barnhardt MI and Meyer JS : Treatment of acute stroke with dextran 40. *J Am Med Assoc* (1969) **210**, 293—298.
- 89) Barnhart MI, Gilroy J and Meyer JS : Dextran 40 in cerebrovascular thrombosis. *Thromb Diath Haemorrh* (1970) **42**, 321—342.
- 90) Dougherty JHJr, Levy DE and Weksler BB : Platelet activation in acute cerebral ischemia. serial measurements of platelet function in cerebrovascular disease. *Lancet* (1977) **1**, 821—824.
- 91) Denton ICJr, Robertson JT and Dugdale M : An assessment of early platelet activity in experimental subarachnoid hemorrhage and middle cerebral artery thrombosis in the cat. *Stroke* (1971) **2**, 268—272.
- 92) Dougherty JHJr, Levy DE and Weksler BB : Experimental cerebral ischemia produces platelet aggregates. *Neurology* (1979) **29**, 1460—1465.
- 93) Kobayashi I, Fujita T and Yamazaki H : Platelet aggregability measured by screen filtration pressure method in cerebrovascular disease. *Stroke* (1976) **7**, 406—409.

Experimental study of cerebral ischemia in dogs  
— Effect of inhibition of cyclooxygenase and thromboxane $A_2$   
synthetase on cerebral blood flow —

Akihiko YAMANAKA

Department of Neurological Surgery,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. A. Nishimoto)

The left middle cerebral artery and the common trunk of the anterior cerebral artery were simultaneously occluded via a transorbital approach in 35 dogs. Local cerebral blood flow (1-CBF) and platelet aggregability were measured during 2 hours of arterial occlusion followed by 2 hours of recirculation. The animals were divided into four groups according to drug administration. Eight dogs were control animals. Nine dogs received OKY-1581, a selective thromboxane  $A_2$  synthetase inhibitor 75mg/kg intravenously 1 hour before cerebral ischemia. In another 9 dogs, OKY-1581 was infused intravenously at a rate of 100 $\mu$ g/kg/min during the ischemia and recirculation periods. The remaining 9 dogs received indomethacin, a selective cyclooxygenase inhibitor 4mg/kg intravenously 1 hour before occlusion of the vessels. Both OKY-1581 75mg/kg and indomethacin 4mg/kg resulted in a slight reduction in mean 1-CBF before ischemia. In control animals, mean 1-CBF decreased by 70% following clipping of the arteries. By releasing the clips, mean 1-CBF was restored to near the pre-occlusion level, followed by another decrease (postischemic hypoperfusion). In animals which received OKY-1581 100 $\mu$ g/kg/min, hyperemia was apparent in the immediate post-recirculation period, followed by aggravation of hypoperfusion. In animals which received indomethacin 4mg/kg, neither hyperemia nor hypoperfusion was demonstrated through recirculation period. Changes in platelet aggregability induced by ADP was not observed by cerebral ischemia and restoration of circulation. The platelet aggregability was reduced only by surgical procedures and by administration of indomethacin.

These results suggest that the postischemic recirculation is strongly influenced by arachidonic acid degradation products, such as thromboxane  $A_2$  and other cyclooxygenase products. It seems that the inhibition of cyclooxygenase is more beneficial than that of thromboxane  $A_2$  synthetase, in the protection of hypoperfusion after recirculation of cerebral blood flow.