

# 全脳虚血に関する実験的研究

—全脳虚血に及ぼす phenytoin の影響—

川崎医科大学 救急医学 (指導教授:小濱啓次)

福田 充 宏

(昭和56年1月30日受付)

## Experimental Studies on Total Cerebral Ischemia in Dogs

—The Effect of Phenytoin on Total Cerebral Ischemia—

Atsuhiko Fukuda

Department of Emergency Medicine,  
Kawasaki Medical School

(Accepted on January 30, 1981)

抗痙攣剤ではあるが虚血脳に対して保護作用を有するとされるフェニトインが、蘇生後脳症に対してどのように作用するかを雑種成犬 36 頭を用いて検討した。全脳虚血の作成は Aortic Occlusion Balloon Catheter 法にて 8～12 分間行ない、脳血流量、皮質脳波、脳酸素消費量、水分・電解質などを虚血前、血流再開 8～15 分後、30 分後、60 分後、120 分後に測定し、これを対照群と比較検討して、以下の結果を得た。

1. rCBF; 脳虚血後の post-ischemic hypoperfusion に対し、対照群に比べその減少率を和らげたが、脳血流分布の変化は生じなかった。
2. EEG; survival time の延長がみられ、血流再開後の recovery が良好であった。
3. CMRO<sub>2</sub>; 血流再開後にみられる低下傾向を改善しなかった。
4. Electrolytes, Free amino acids; 血流再開直後にみられる血漿 K 値と総遊離アミノ酸値の増加を抑制した。
5. Water content, Na/K; 脳組織水分含量に対しては対照群と同様に特に影響を示さなかった。脳組織 Na/K は対照群より低値を示した。

以上より、全脳虚血に対するフェニトインの作用として rCBF の増加、EEG の改善、水・電解質バランスの安定化を示唆する所見が得られ、これらはフェニトインの脳保護作用を示すものと思われた。

In order to examine the protecting effects of phenytoin, an anticonvulsant, on post-ischemic encephalopathy, total cerebral ischemia was produced for 8~12 minutes by aortic occlusion balloon catheter method in 36 adult mongrel dogs. rCBF, EEG, CMRO<sub>2</sub>, plasma electrolytes and others were measured before ischemia and 8~15, 30, 60, 120 minutes after recirculation.

The findings as compared to the control were demonstrated as follows;

1. rCBF: Post-ischemic hypoperfusion of rCBF was lessened, but the regional

distribution of rCBF was not changed.

2. EEG: Survival time was significantly prolonged and the recovery of EEG was improved.
3. CMRO<sub>2</sub>: A tendency to decrease after recirculation was not improved.
4. Electrolytes, Free amino acids: The increase of plasma potassium and total free amino acids were suppressed.
5. Water content, Na/K: No remarkable changes of brain water content was shown. Sodium-potassium ratio of brain tissues was lowered.

From these results, following conclusions were obtained. Phenytoin tended to increase rCBF and improved the recovery of EEG, and had the stabilizing action on water and electrolytes balance of brain tissue, suggesting the protecting effects on total cerebral ischemia.

## はじめに

心肺蘇生法を始めとする呼吸・循環管理の進歩は、いままで生存不可能であった各種疾患の救命を可能にした。しかしながら、同時に蘇生後脳症という従来あまり考えられなかった新しい疾患を作りつつある。このことに関しては、現在までに各種の実験や臨床における検討がなされ、ある程度の病態解明がなされているが、まだ十分な状態ではない。このことから、著者も実験的に全脳虚血モデルを作成し、いままで蘇生後における脳循環の変化を中心に検討<sup>1)~3)</sup>してきたが、今回、抗痙攣剤で虚血脳に対して保護作用を有する<sup>4),5)</sup>とされる phenytoin (以下 PHT と略す) が、蘇生後脳症に対してどのように作用するかを脳血流量、皮質脳波、脳酸素消費量、水分・電解質などを中心に測定検討してみた。

## 1. 実験方法

### 1) 実験材料

実験材料としては体重 12~15 kg の雑種成犬 36 頭を使用し、以下の 3 群に分け検討した。

- A 群: 全脳虚血対照群 15 頭
- B 群: 脳組織水分・電解質対照群 6 頭
- C 群: 全脳虚血前 PHT 投与群 15 頭

### 2) 実験準備

実験準備は、A 群も C 群も同様である。まづ前投薬として atropine sulfate 0.5 mg を筋注し、続いて ketamine hydrochloride 10 mg/kg を筋注する。10 分後 pancuronium bromide を 4 mg 静注して筋弛緩を得、気管内挿管をして人工呼吸器 (AIKA R-60: VT20 ml/kg, RR 15/min, air mix) に接続し、動脈血ガス分析で PaO<sub>2</sub> 90~150 mmHg, PaCO<sub>2</sub> 35~45 mmHg になるよう調節呼吸を行なった。その後両側上腕動脈より血圧測定用のカテーテルを、一側上腕静脈より輸液 (乳酸加リンゲル液 5 ml/kg/hr) 用のカテーテルを挿入し、さらに大腿動脈から全脳虚血作成のための aortic occlusion balloon catheter<sup>1)</sup> (以下 AOB カテーテルとする。Fig. 1) を左室腔内に挿入した。また静脈還流を減少させるための Fogarty balloon catheter<sup>®</sup> (8F) を大腿静脈より挿入し、下大静脈に留置した。

頭部には頭蓋骨を露出後、皮質脳波測定用銀ボール電極を両側前、中、後部の硬膜上に留置した。つぎにinion 前方 1 cm の場所に直径 10 mm の穴を開け、上矢状静脈洞に 19 G のエラストマー<sup>®</sup> 針を留置した。なおこれらの実験において、血液ガスは血液ガス分析器 IL-813 (IL meter 社)、脳波は脳波計 1 A 48 (三栄測器) を使い、血圧、心電図のモニターおよび記録には、多項目記録計 RM-85 (日本光電) を使用した。

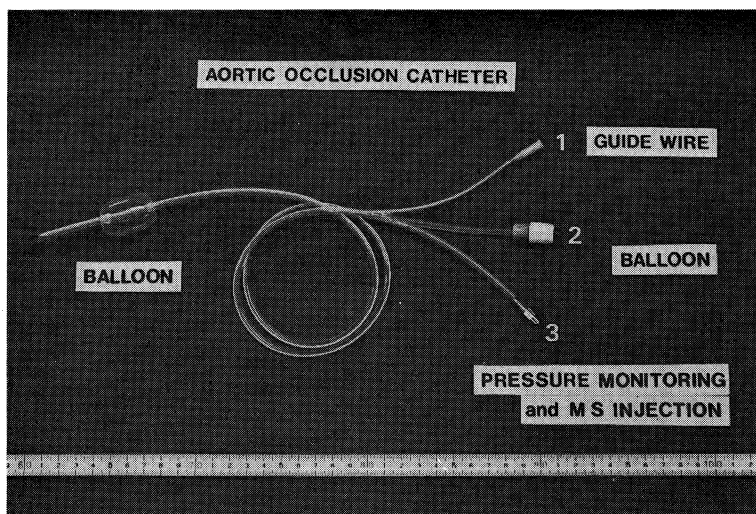


Fig. 1. Aortic occlusion balloon catheter. This catheter consists of tripple-lumen.

1. For insertion of the guide wire.
2. For inflation of a balloon which is fastened 5 cm from the tip (volume: 12 ml).
3. For aortic pressure monitoring and injection of the microsphere (MS).

### 3) 全脳虚血の作成 (Fig. 2)

全脳虚血はまず Fogarty balloon catheter<sup>®</sup> のバルーンを膨張させて下大静脈を閉塞し、ついで AOB カテーテルのバルーンを膨張させ

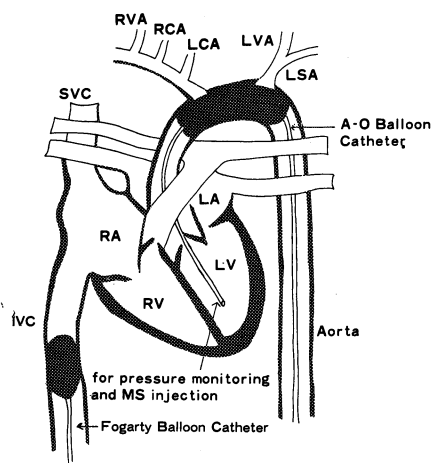


Fig. 2. Aortic occlusion balloon catheter method. Total cerebral ischemia is accomplished by inflating the balloons of AOB catheter and of Fogarty catheter.

て大動脈弓部を閉塞することにより作成した。全脳虚血が完全に行なわれていることの確認は、両側上腕動脈圧波の消失および脳波の平坦化によって行なった。また、両側上腕動脈圧波の消失の時をもって脳血流停止の時点とした。PHT の投与は、脳虚血作成前の全身状態の安定した時期に行ない、phenytoin Na(大日本製薬) 15 mg/kg を静注した。全脳虚血は 8~12 分間行ない、その後両バルーンの膨張を除くことによって血流の再開を行なった。観察時間

は血流再開後 120 分間とした。

経過中の不整脈に対しては 1% lidocaine や atropine を使用し、再開後の低血圧に対しては epinephrine, 代謝性のアシドーシスに対しては sodium bicarbonate の投与を適宜行ない、循環系の安定を保った。実験の終了時には、KCl を 20 mEq 投与して心停止を誘発した。心停止後、全脳、脊髓を摘出し、ドライアイスアセトンにより半固定を行ない、Singer ら<sup>6)</sup>の方法に従って個々の局所脳組織を採取した。

### 4) 測定項目

測定項目として局所脳血流量 (rCBF), 皮質脳波 (EEG), 脳酸素消費量 (CMRO<sub>2</sub>), 脳動静脈血電解質 (Na, K, Cl) および遊離アミノ酸 (FAA), 局所脳組織水分含量 (WC) および電解質含量 (Na, K) の測定を行ない検討した。

#### (1) 局所脳血流量 (rCBF)

rCBF の測定は、radioactive (<sup>125</sup>I, <sup>51</sup>Cr) carbonized microsphere (径 15 ± 3 μ, 比放射能 10 mCi/g, 生理食塩液懸濁, Tween 80

を含む。3M社, Minnesota) を用い行なった (tracer microsphere 法)。すなわち, 左室腔内に留置した AOB カテーテルより microsphere を虚血前, 血流再開 8~15 分後, 30 分後, 60 分後, 120 分後に注入し, この 5 時点のうちの 2 点を組み合わせ, 採取組織重量とおのの microsphere  $\gamma$  線値より, Marcus ら<sup>7)</sup> の方法 ( $CBF = Cb \times 100 \times RBF \div Cr$ , CBF: 脳血流量 ml/100g/min, Cb: counts/脳組織 1g, RBF: 標準血流量 ml/min, Cr: counts/標準血液全量) により算出した。標準血液は, 上腕動脈より血液ポンプ (2 ml/min) で microsphere 注入前後 7 分間に採取した動脈血である。 $\gamma$  線の測定はオートガンマカウンター 5320 (Packard 社) を使用した。なお今回の実験においては, すでに報告<sup>8)</sup> した全脳虚血前における局所脳血流量を 100% として, これが PHT 投与によりどのように変化するかを検討した。また対照群における血流再開後の局所脳血流量の変化も虚血前値を 100% として表わした。

## (2) 皮質脳波 (EEG)

皮質脳波は硬膜直上の電極と同側耳介を結ぶ単極誘導で測定し, Cal: 10 mm/50  $\mu$ V, TC: 0.1 sec, Fil: 30Hz で記録した。全脳摘出時, 電極の位置が前頭, 頭頂・側頭, 後頭葉領域にあることを確認した。脳波の評価は下記に示すように Hockaday ら<sup>9)</sup> の周波数分析による grade を参考に分類, 評価した。

Grade I: within normal limits

Grade II: a) predominant theta, with some alpha

b) predominant theta, with some delta

Grade III: a) delta, mixed with theta and alpha

b) diffuse delta

Grade IV: suppression burst with isoelectric phase

Grade V: flat EEG

(3) 脳酸素消費量 (CMRO<sub>2</sub>) および脳動脈血電解質 (Na, K, Cl), 遊離アミノ酸 (FAA)

脳酸素消費量は, 上腕動脈血と上矢状洞静脈血を虚血前, 血流再開後経時的にヘパリン加ガラスシリンジにおのおの約 4 ml 採血し, 血液ガス分析を行ない A-VDO<sub>2</sub> (vol%) を算出し, これと大脳半球の rCBF との積により算出した。

脳動脈血電解質 (Na, K, Cl) および遊離アミノ酸 (FAA) は, 血液ガス分析に使用した血液を血漿分離し, Na, K は電解質測定器 FLM-3 (Radiometer 社), Cl は M-920 (Corning 社) を用いて, FAA は自動アミノ酸分析器 L-7 (YANACO) を用いて測定した。

(4) 局所脳組織水分含量 (WC) および電解質 (Na, K) 含量

局所脳組織水分含量は乾燥重量法を用いて測定した。すなわち, 血流再開 120 分後に全脳を摘出し, ドライアイスアセトンにて半固定させた後脳組織のくも膜および脳表血管を可能な限り取り除き, 局所脳組織に分割して湿重量を測定する。さらにこの組織を 110°C dry oven にて 48 時間乾燥させ, 一定重量になった時期に乾重量を測定する。そして (湿重量 - 乾重量) / 湿重量  $\times$  100 (%) で水分含量を算出する。なお組織重量測定用には天ビン 2462 (Sartorius 社) を使用した。

電解質 (Na, K) 含量は乾式灰化法で測定した。すなわち, 乾燥した局所脳組織を白金ルツボ内に入れ, 電気坩堝炉 (450~550°C) で 3 時間灰化し, これに 0.1 N HNO<sub>3</sub> を適量加えて溶液化する。そしてこれを炎光光度計 FLM-3 (Radiometer 社) で測定する。単位は mEq/kg dry weight で表わした。

なお, 今回の実験において, PHT の血中濃度は, 静注 5 分後で  $30 \pm 4.5 \mu$ g/ml, 血流再開時には  $16 \pm 2.6 \mu$ g/ml で, 以後実験終了まで平均 11~13  $\mu$ g/ml の血中濃度を維持できた。

## II. 実験結果

### 1) rCBF の変化 (Table 1)

(1) 虚血前 (Fig. 3)

対照群における虚血前の値はすでに報告<sup>8)</sup> し

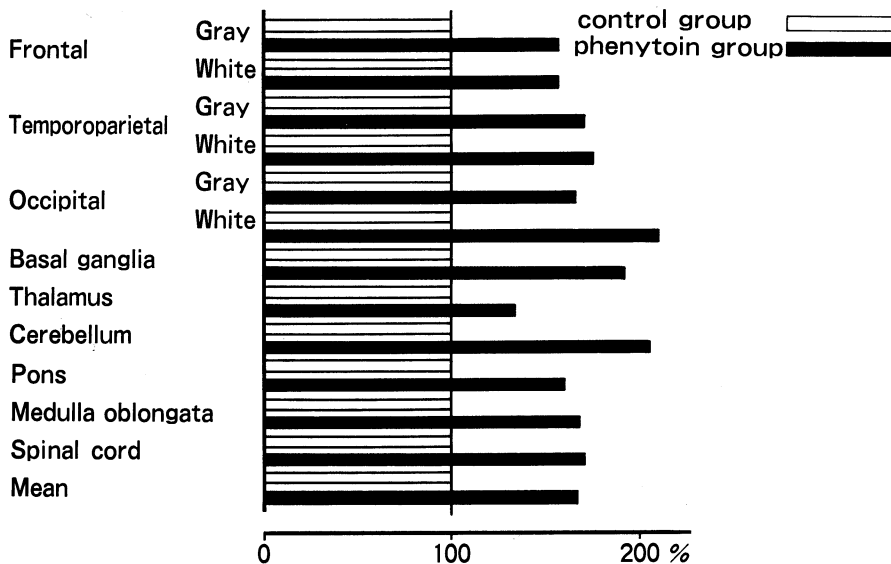
**Table 1.** rCBF (ml/100g/min) of PHT group in various areas of brain at preischemia and postischemia

Time(min)		Preischemia (n=6)	Postischemia			
			8~15 (n=6)	30 (n=6)	60 (n=6)	120 (n=6)
Frontal	Gray	84.0 ± 18.72°	328.0 ± 129.57*°	94.0 ± 5.07°	52.57 ± 8.18*°	35.43 ± 5.59*°
	White	59.43 ± 15.87	133.86 ± 30.52*	100.29 ± 33.09°	46.43 ± 14.64	26.29 ± 2.29*
Temporo- parietal	Gray	81.57 ± 16.57°	286.0 ± 87.02*°	104.14 ± 4.30*°	53.86 ± 6.36*°	44.40 ± 5.09*°
	White	53.14 ± 17.09	112.29 ± 8.06*	115.57 ± 14.21*°	46.14 ± 9.23°	26.57 ± 3.26*
Occipital	Gray	96.14 ± 25.53	326.71 ± 72.67*°	109.86 ± 16.07°	54.43 ± 11.40*	48.86 ± 4.56*°
	White	55.0 ± 18.12°	132.14 ± 22.30*	112.86 ± 27.35*°	47.71 ± 18.01°	28.71 ± 2.69*
Cerebral cortex		87.23 ± 20.15°	313.57 ± 111.35*°	102.66 ± 7.11°	53.62 ± 8.76*°	42.89 ± 5.11*°
Subcortical white		55.85 ± 17.36	126.09 ± 23.11*	109.57 ± 29.36*°	46.76 ± 13.92°	27.19 ± 3.02*
Basal ganglia		80.0 ± 6.83°	256.0 ± 34.97*	96.43 ± 29.79°	47.86 ± 4.49*°	40.14 ± 3.18*°
Thalamus		81.43 ± 29.06	312.0 ± 97.88*	126.71 ± 33.97°	65.71 ± 30.54	38.86 ± 6.39*
Cerebellum		79.86 ± 36.96	360.0 ± 44.21*°	214.86 ± 81.43*°	51.02 ± 9.42°	44.0 ± 10.72°
Pons		39.63 ± 12.91	364.12 ± 62.77*	246.33 ± 55.67*°	30.0 ± 11.32	20.08 ± 5.22*
Medulla oblongata		43.61 ± 12.39	393.71 ± 151.42*	210.43 ± 53.15*°	32.14 ± 29.73	23.57 ± 6.45*
Spinal cord		30.76 ± 8.62°	221.03 ± 68.23*	87.34 ± 37.21*°	18.48 ± 5.81	13.26 ± 2.67*

(Mean ± SD)

\*  $p < 0.05$  from preischemia

°  $p < 0.05$  from control



**Fig. 3.** rCBF at preischemia. rCBF of PHT group in various areas of brain increased than control group. (rCBF of control group was calculated as one hundred percent.)

た通りである。

PHT 投与群は、PHT の投与によって30分後、脳血流量は **Table 1** に示すように変化した。これを対照群の脳血流量を100%として表わすと **Fig. 3** のようになり、対照群に比較して平均166%の脳血流の増加がみられた。

(2) 血流再開後 (Fig. 4)

PHT 投与群では、対照群においてみられたのと同様に血流再開後の増加がみられたが、直後では平均714%、30分後、60分後、120分後では、おのおの373%、120%、83%といずれも対照群における脳血流以上の変化を示した。

2) EEG の変化 (Fig. 5)

(1) 虚血前

対照群においては、大動脈弓部閉塞後速波の混在するα波を主成分とする EEG が、約2~3秒の free interval に続いて急速に高振幅、徐波化を示し、16±3秒 (survival time)

で平坦化した。

PHT 投与群においては、大動脈弓部閉塞後、EEG の変化としては対照群と同様の変化を示したが、その平坦化までの時間が25±5秒であり、明らかに survival time の延長が認められた。

(2) 血流再開後

対照群においては、血流再開後17±3分 (latency of recovery) で比較的高振幅の徐波が出現し、以後30分で grade IIIa、90分で IIb と改善したが、120分後においても完全な回復はみられなかった。

PHT 投与群においては、血流再開後18±2分 (latency of recovery) で electrical silence を伴う burst suppression pattern を80%に認め、30分で IIIa、60分で IIa、120分ではやや徐波の混入をみるが、ほとんどα波を主成分とする EEG となった。

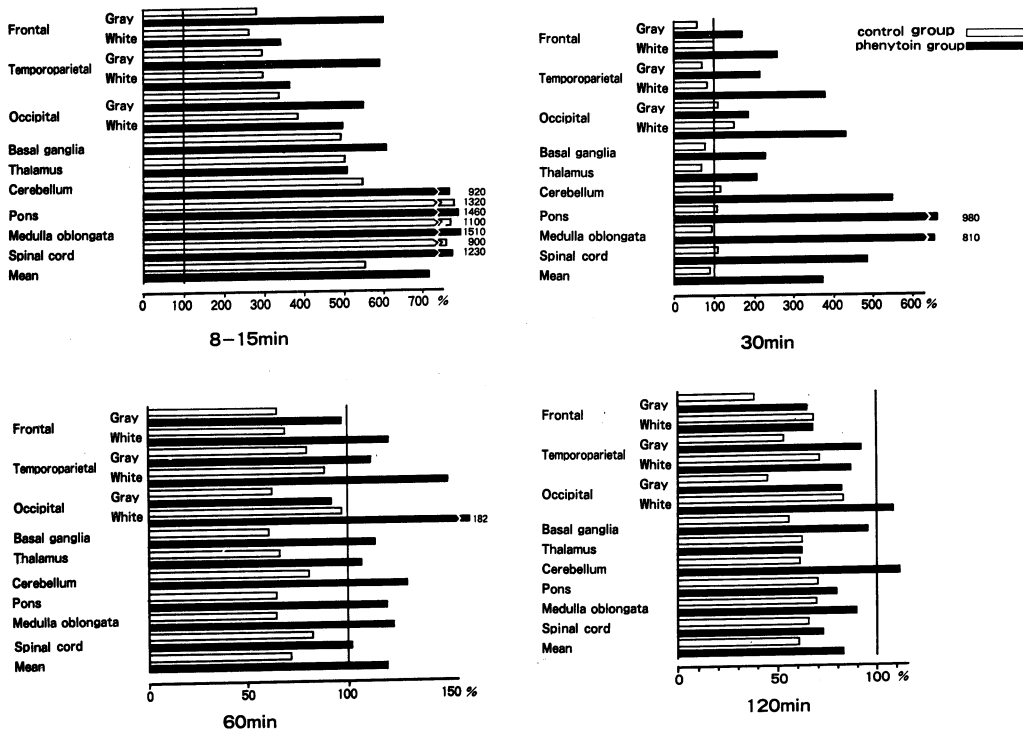


Fig. 4. rCBF at postischemia. rCBF of PHT group was more increased than control group after recirculation.

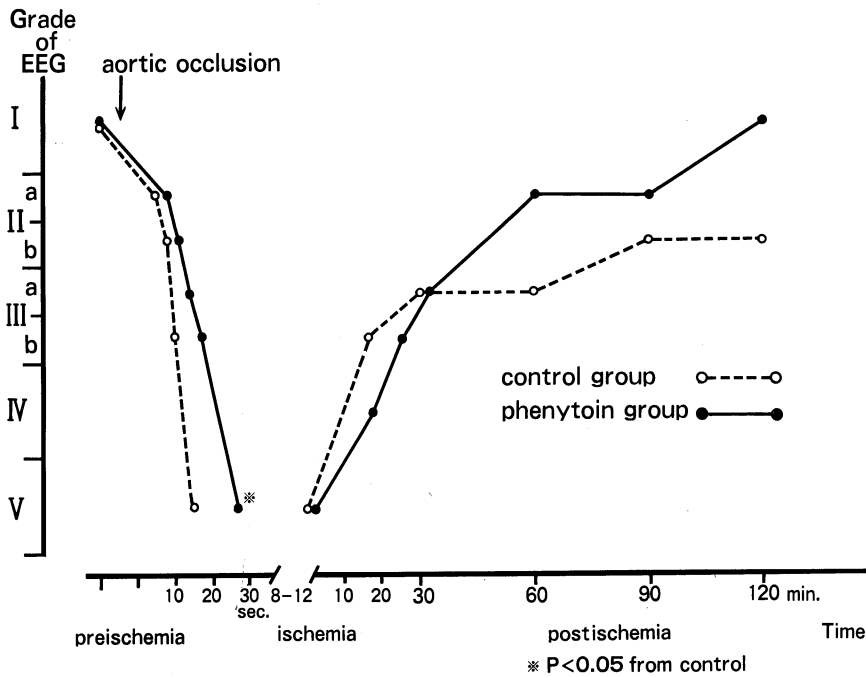


Fig. 5. Changes of EEG. Survival time of EEG in PHT group was significantly prolonged and the recovery of EEG after recirculation was better than control group.

3) A-V<sub>D</sub>O<sub>2</sub> および CMRO<sub>2</sub> の変化 (Table 2)

A-V<sub>D</sub>O<sub>2</sub> は、対照群においては虚血前 6.36 vol %であったのが、血流再開後、直後で 1.10 vol %と減少したが、30分後 5.72 vol %、60分後 7.52 vol %、120分後 8.58 vol %と増大した。

PHT 投与群においては、虚血前は 7.38 vol %で、血流再開直後には 0.95 vol %と減少し

たが、30分、60分、120分後にはおのおの 3.87、5.65、9.18 vol %と増大した。

CMRO<sub>2</sub> は、対照群においては虚血前 3.40 ml/100g/min であったのが、血流再開後、直後で 1.83 ml/100g/min、30分後 2.81 ml/100g/min、60分後 2.99 ml/100g/min、120分後 2.61 ml/100g/min と減少した。

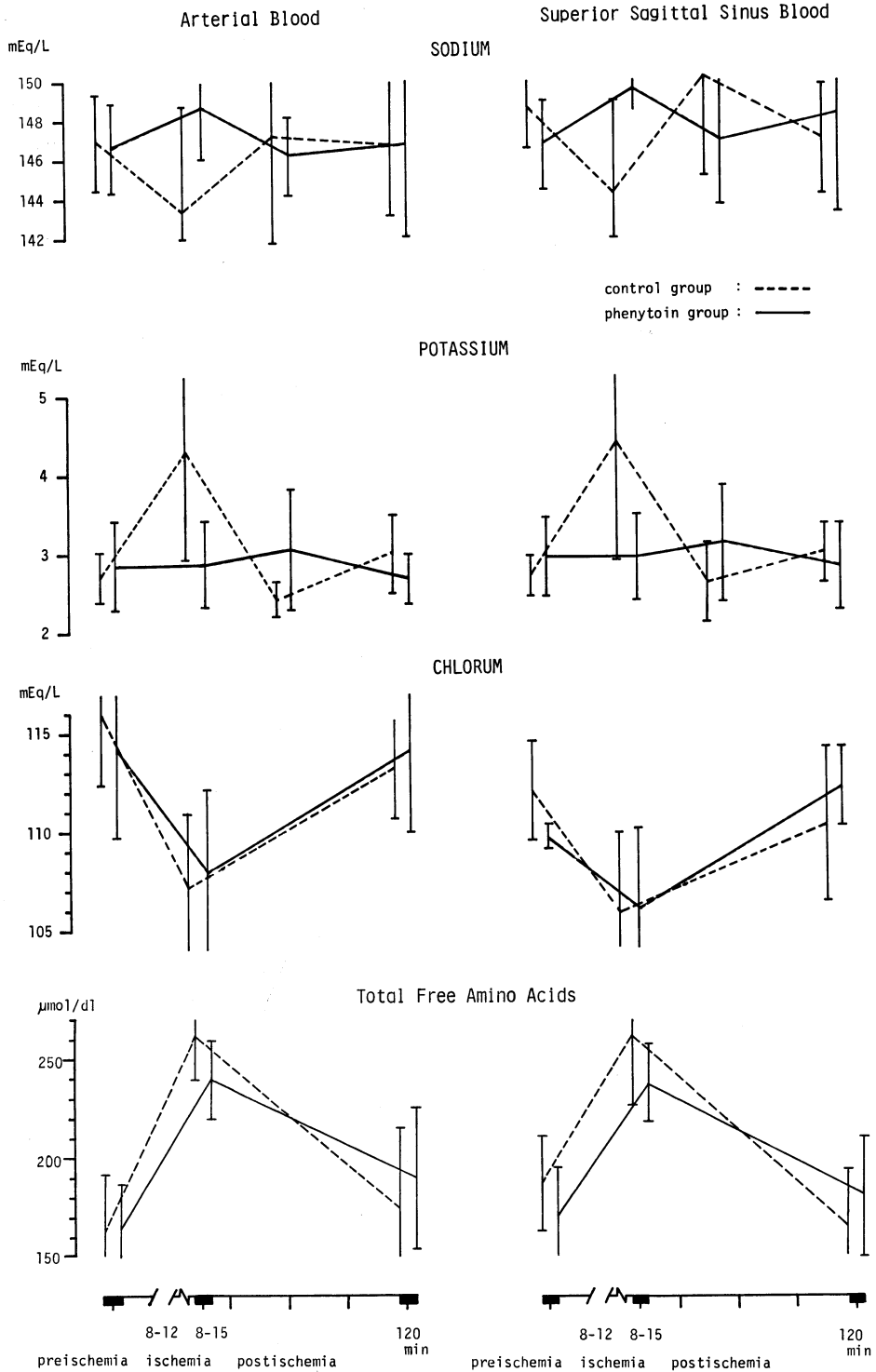
PHT 投与群においては、虚血前は 4.27 ml/100 g/min と対照群に比べてやや高いが、血流

Table 2. A-V<sub>D</sub>O<sub>2</sub> (vol%), CMRO<sub>2</sub> (ml/100g/min) at preischemia and postischemia

Group	Parameter	Time(min)	Preischemia (n=6)	Postischemia			
				8~15 (n=6)	30 (n=6)	60 (n=6)	120 (n=6)
Control group	A-V <sub>D</sub> O <sub>2</sub>		6.36 ± 1.70	1.10 ± 0.40*	5.72 ± 2.20	7.52 ± 2.66	8.58 ± 2.89
	CMRO <sub>2</sub>		3.40 ± 0.80	1.83 ± 0.66*	2.81 ± 1.06	2.99 ± 1.05	2.61 ± 0.88
Phenytoin group	A-V <sub>D</sub> O <sub>2</sub>		7.38 ± 2.45	0.95 ± 0.41*	3.87 ± 0.81*	5.65 ± 0.79	9.18 ± 3.51
	CMRO <sub>2</sub>		4.27 ± 0.92	1.68 ± 0.73*	3.34 ± 0.69	2.30 ± 0.31	2.60 ± 0.99

(Mean ± SD)

\* p < 0.05 from preischemia



**Fig. 6.** Changes of electrolytes and total free amino acids.  
The increase of plasma potassium and total free amino acids immediately after recirculation was suppressed in PHT group.



再開直後には1.68 ml/100 g/min, 30分, 60分, 120分後にはおのおの3.34, 2.30, 2.60 ml/100g/minと減少した。

両群の間に有意差はなかった。

4) 血漿 Na, K, Cl, FAA の変化 (Fig. 6)

血漿 Na は対照群で虚血前に動脈血で147.0 mEq/L, 静脈血で148.7 mEq/Lであったのが, 血流再開直後の動脈血で143.4 mEq/L, 静脈血で144.2 mEq/Lと低下傾向を示した。Kは虚血前に動脈血で2.72 mEq/L, 静脈血で2.71 mEq/Lあったのが, 血流再開直後に動脈血で4.3 mEq/L, 静脈血で4.4 mEq/Lと増加傾向を示した。Clは虚血前に動脈血で116.0 mEq/L, 静脈血で112.0 mEq/Lあったのが, 血流再開直後に動脈血で107.2 mEq/L, 静脈血で105.8 mEq/Lと虚血前より低下傾向を示した。FAAは虚血前に動脈血で162.1 μmol/dl, 静脈血で186.8 μmol/dlあったのが, 血流再開直後に動脈血で263.2 μmol/dl, 静脈血で263.5 μmol/dlと増加傾向を示したが, 120分後では虚血前にもどった。

PHT投与群では, 血漿 Na は血流再開後, 149.6~143.4 mEq/Lを示し, 対照群でみられた様な直後の低下はなかった。Kは血流再開直後で動脈血2.88 mEq/L, 静脈血2.95 mEq/Lを示し, 対照群でみられた増加傾向はなかった。Clは血流再開後, 114.2~105.8 mEq/Lで著変を示さなかった。FAAは血流再開後で対照群より低く(動脈血239.7 μmol/dl, 静脈血236.8 μmol/dl), 120分後で対照群より高かった。

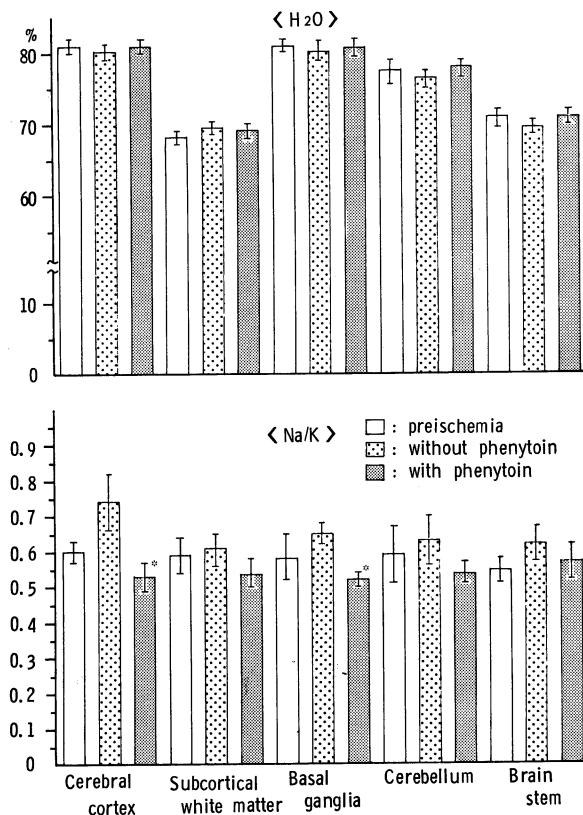
5) 局所脳組織水分含量および電解質 (Na, K) 含量の変化 (Fig. 7)

対照群の脳虚血前における脳組織水分含量は81.0~68.0%で脳皮質, 基底核, 小脳の順に高く, 脳幹, 皮質下白質で低かった。電解質含量においては,

Naは291(脳皮質)~148(皮質下白質) mEq/kgdw, Kは489(皮質)~249(白質) mEq/kgdwを示し, 脳皮質はNa, K共に高値を示した。Na/Kは0.60(皮質)~0.55(脳幹)で比較的一定傾向を示した。

脳虚血後120分において, 対照群では水分含量は80.4(基底核)~69.5(白質, 脳幹)%, 電解質においてNaは341(皮質)~139(白質) mEq/kgdw, Kは460(皮質)~227(白質) mEq/kgdwを示した。Na/Kは0.74(皮質)~0.61(白質)で全体的にやや高値を示した。

PHT投与群では脳虚血後の水分含量は81.2(皮質)~69.6(白質)%で対照群に比べて有意の変化はなく, 電解質においては, Naは255



\* P<0.05 from without phenytoin

Fig. 7. Water content and sodium-potassium ratio of regional cerebral tissues.

Water contents of brain tissues showed no remarkable changes in three groups. PHT group lowered the Na/K of brain tissues than control (without PHT) group.

(皮質) ~ 152 (白質) mEq/kgdw, Kは484 (皮質) ~ 282 (白質) mEq/kgdwであった。Na/Kは0.57 (脳幹) ~ 0.52 (基底核) と対照群に比べて低値を示し、特に大脳皮質、基底核においては対照群に比べて有意な低下を認めた。

### III. 考 察

心停止蘇生後の進行性脳障害(post-ischemic encephalopathy: PIE)の病因は、(1) primary ischemic insult, (2) secondary post-ischemic pathophysiological changesの2面より検討されており、脳細胞の脆弱性、血管因子、血液成分および組織化学反応の変化などについて追求されている。著者も全脳虚血の病態を研究するため、Jackson, Doleら<sup>9)</sup>の方法を改良したAOBカテーテル法を考案し、これにより完全な脳虚血と脳血流量の測定を行った。<sup>1)~3)</sup>

そして今回は、虚血脳に対して保護作用を有するとされているPHTが、全脳虚血後の脳循環や脳代謝に対してどのように影響を及ぼすかを、rCBF, EEG, CMRO<sub>2</sub>, water and electrolytes balanceなどを測定し検討した。

全脳虚血後の脳循環の特徴的現象として(1)血流再開直後のreactive hyperemia (luxury perfusion), (2)その後のpost-ischemic hypoperfusionが言われている。血流再開直後のhyperemiaはacid metabolites貯留によるvasoparalysis<sup>10)</sup>や極度のtransmural pressure上昇によるforced arterial dilatation<sup>11)</sup>のためと推測されているが、Hossmanら<sup>12)</sup>は虚血脳に対する代謝回復条件として十分なreperfusionが必要であると述べている。著者も、hyperemiaに伴う頭蓋内圧の上昇は一過性で持続しないため、hyperemiaの現象は生体にとって有益な因子であると考えた。また、PIEの成因とされるpost-ischemic hypoperfusionは、血流再開後時間を経過するにつれて出現し、その本態については、毛細管内皮細胞やグリア細胞の腫脹による微小血管の狭小化と閉塞、血液粘度の増加、赤血球の凝集による脳血流の低下・途絶などが考えられて

おり、Amesら<sup>13)</sup>はこれをno-reflow phenomenon (NRP)と言っている。Snyderら<sup>14)</sup>は、NRPは頭蓋内容積の代償範囲内で細胞内浮腫を生じ、regional brain pressureが上昇して発生すると考え、Wadeら<sup>15)</sup>は脳血管抵抗の上昇と同時に認められる虚血後の組織間液のK濃度の増加が、NRPに重要な役割りを果たすと述べている。今回の実験結果において、これらのことを考えると、PHT投与群では、血流再開30分後に対照群に比べて明らかなrCBFの増加を認めており(Fig. 4)、これはreactive hyperemiaに続いてPHTの血管拡張作用あるいは脳代謝への関与が間接的に反映されているものと思われる。PHTの脳血流分布への影響は、barbiturates<sup>16)</sup>と同様、全脳虚血においては認められず、PHTがselectiveに脳血管に作用するものでないことを示唆していると思われた。一方、Kennedyら<sup>17)</sup>はratにPHT静注(20~100 mg/kg)後2~4時間でrCBF (autoradiographic method)を測定し、海馬、小脳核では増加、聴覚皮質、下丘では減少することを認め、これらの変化は、PHTが局所脳組織に対してそのmetabolic rateを変えるためであろうと述べている、その他、PHTはてんかん患児におけるCBFの減少を正常域まで増加させたり、ischemic optic neuritisを改善するとも言われている。

EEGは、脳機能の変化を観察するのに最も簡便で有益な指標であり、今回の実験においても脳血流停止、酸素不足のために起こる皮質細胞の機能低下がEEGによって認められた。またPHTにより、そのsurvival timeが対照群に比べて有意な延長を認めたことは、PHTが急速な代謝の変化に対して何らかの作用を有することが示唆された。文献上、Naiman, Williamsら<sup>18)</sup>はPHTの前投与によりanoxia負荷に対するrespiratory survival timeの延長を認め、これを中枢神経系への直接作用によるとしている。また、Pincus<sup>19)</sup>は興奮した細胞膜の安定化作用、Baldy-Moulinier<sup>20)</sup>はhypoxiaで起こる細胞膜イオンポンプ障害の抑制作用、Broddle, Nelsonら<sup>21)</sup>は虚血脳内

での lactate 産生や glucose, phosphocreatine 消費の抑制作用などが、PHT による脳虚血に対する保護作用の機序として考えられると述べている。これらは、いずれも今回の EEG 上の survival time 延長に関与しているものと思われる。血流再開後における EEG の latency of recovery は、一般に hypoxia の持続時間に比例し、EEG による脳機能の回復過程は、虚血作成時の EEG と逆の経過をとると言われている。このことから、PHT 投与群において血流再開後にみられた burst suppression pattern は PHT の影響が考えられ、その後の EEG の recovery が良好であったことから、これは PHT による良好な代謝回復過程を表現しているものと思われる。しかし、この EEG pattern は、臨床上 severe hypoxia の場合、予後不良の徴候とも言われている。

今回の実験において、血流再開直後に  $A-V_{D_2O}$  が低下したが (Table 2)、これは血流再開直後の血流量著増による動静脈血間シャントの増加、脳組織酸素摂取量の低下により、静脈血の酸素含量が増加したために生じたものと思われる。Spector<sup>22)</sup> は、rat brain で治療濃度にある PHT はマイクロゾームやシナプトゾーム標本の酸素消費量を減少させると述べているが、今回の実験では対照群と比較して血流再開後の  $CMRO_2$  は低下傾向を示したものの、両群の間に明らかな有意差を認めなかった (Table 2)。したがって、barbiturates が脳の低酸素症に対して保護的に働く作用機序の一つとして  $CMRO_2$  の低下作用にその理由を求めているが、PHT にはその作用の存在は明らかでないと言える。

上矢状洞静脈血、内頸静脈血は、脳代謝の状態を反映すると思われ、電解質変化において対照群でみられた血流再開直後の血漿 Na 低下、K 増加、Cl 低下傾向は、acute ischemic hypoxia による細胞膜イオンポンプ障害や代謝性アシドーシスの影響のため生じたものと考えられる。Meyer<sup>23)</sup> も anoxia による電解質異常を指摘し、脳組織への Na の取り込み、K の喪失を推測している。一方 PHT 投与群では、

血流再開直後にイオンポンプ障害を示唆するような Na 低下、K 増加の傾向を認めなかったが、これは前述の PHT の細胞膜安定化作用、すなわち hypoxic nerve の細胞内 Na 低下作用、細胞内 K 喪失抑制作用の関与が考えられた。Artru と Michenfelder<sup>24)</sup> は、PHT が虚血後に起こる髄液中の K 濃度増加を抑制すると述べ、この作用が虚血脳に対して最も保護的役割りを果たすと考えている。また今回の実験では、FAA の変化も K 値と同様、血流再開直後で増加したが (Fig. 6)、Bondoli ら<sup>25)</sup> も hypoxic hypoxia でその増加を認め、これを組織からのアミノ酸の遊離、組織でのアミノ酸の摂取率減少によるとしている。PHT 投与群において、血流再開直後の FAA の増加および 120 分後の低下傾向が対照群に比べて少ないのは、代謝の抑制が関与している可能性もある。

全脳虚血による脳障害は、脳組織の水・電解質バランスにも影響を及ぼし、虚血性脳浮腫という病態を形成する。Katzmann ら<sup>26)</sup> は、初期では cytotoxic type、その後時間の経過と共に組織液の移動を主体とする vasogenic type の edema に移行すると述べている。今回の実験では、PHT 投与群の血流再開 120 分後においても対照群に比べて局所水分含量に有意な変化を示さなかった。虚血により起こる水分移動は、臓器や細胞内外で生じ、それは代謝産物や電解質異常による osmolarity gradients<sup>27)</sup> とか anatomical space などの因子が相互に働くことにより引き起こされるとも考えられる。しかし、実験結果のように虚血前の水分含量に比べて虚血後に有意な変化がなくても、細胞内外での water shift、あるいは local swelling の可能性は否定し得ないと思われる。Lin ら<sup>28)</sup> も、蘇生 5 時間後で水分含量の変化を認めていない。組織の電解質比 (Na/K) は、定常状態ではほぼ一定の値をとるものと考えられるが、実験の対照群においては虚血前より虚血後は全体的にやや高い傾向を示した。一方 PHT 投与群では、対照群虚血前と近似した傾向が得られた (Fig. 7)。このことは、後者が前者より強い細胞膜の安定状態を示唆するもの

と思われ、EEGの recovery が良好であったことと共に、その原因としてPHTの関与が考えられる。Zimmermannら<sup>29)</sup>も、猿に60分間の isolated brain ischemia を作成し、脳組織の水・電解質バランスを経時的に検討したが、水分含量は血流再開直後で急速に増加し、時間の経過と共に回復することを認めた。そして、この水分含量と脳組織乳酸値の変動が相関することから、脳組織水分バランスの障害はエネルギー産生代謝の障害の結果であると推測した。またNa/Kも血流再開直後で高くなり、その正常化は水分含量のそれに比して遅れると述べている。

Kuttら<sup>30)</sup>によると抗痙攣剤としてのPHTの有効血中濃度は、10~20 µg/mlとされており、その脳中の濃度は、定常状態では血中と同様かやや高いと言われている。Ramsayら<sup>31)</sup>は、PHTの脳内摂取は静脈内投与で比較的緩徐な移行を示し、長時間一定濃度を維持できるとしている。またPHTは、脳細胞内のマイクロゾームやシナプトゾームと結合するとも言われている。今回の実験におけるPHTの投与量(15 mg/kg)は、副作用として投与直後の低血

圧をみたが、脳組織に及ぼす効果は十分得られたものと考えている。

最近、Aldreteら<sup>5)</sup>はPHT, thiopental, placeboを前投与した3群の兔に20分間の全脳虚血を作成し(pneumatic tourniquetを使用)、血流再開後のneurological deficit scoreと72時間後のhistological lesionを比較検討したが、両者ともPHT投与群で著効がみられ、necrotic injuryも認めなかったと述べ、組織学的な検索により、post-ischemic brain damageに対するPHTの有効性を報告している。

今回の著者の実験結果からも、全脳虚血に及ぼすPHTの影響としてrCBFの増加、EEGの改善、水・電解質バランスの安定化を示唆する所見が得られ、これらは相互に全脳保護作用に関与しているものと思われた。

(稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただいた恩師小濱啓次教授、また多大な御援助を頂いた田伏久之講師および教室員諸兄に厚くお礼申し上げます。)

(本稿の要旨は、第8回日本救急医学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) 田伏久之, 福田充宏, 青山喬, 小濱啓次: イヌにおける全脳虚血 (total cerebral ischemia) の新しい実験モデル. 医学のあゆみ 114: 87-89, 1980
- 2) 田伏久之, 福田充宏: 心肺蘇生後の中枢神経系病変. 第1報全脳虚血モデル犬の作製—Aortic occlusion balloon catheter 法—. 救急医学 5: 317-323, 1981
- 3) 田伏久之, 福田充宏: 心肺蘇生後の中枢神経系病変. 第3報全脳虚血による局所脳血流量の変化. 救急医学 (投稿中)
- 4) Cullen, J. P., Aldrete, J. A., Jankovsky, L. and Romo-Salas, F.: Protective action of phenytoin in cerebral ischemia. Anesth. Analg. 58: 165-169, 1979
- 5) Aldrete, J. A., Romo-Salas, F., Jankovsky, L. and Franatovic, Y.: Effect of pretreatment with thiopental and phenytoin on postischemic brain damage in rabbits. Crit. Care Med. 7: 466-470, 1979
- 6) Singer, M.: The brain of the dog in section. Philadelphia, W. B. Saunders, 1962
- 7) Marcus, M. L., Heistad, D. D., Ehahardt, J. C. and Abboud, F. M.: Total and regional cerebral blood flow measurement with 7-10-, 15-, 25-, and 50-µm microspheres. J. appl. Physiol. 40: 501-507, 1976
- 8) Hockaday, J. M., Potts, F., Epstein, E., Bonazzi, A. and Schwab, R. S.: Electroencephalographic changes in acute cerebral anoxia from cardiac or respiratory arrest. Electroenceph.

- clin. Neurophysiol. 18: 575—586, 1965
- 9) Jackson, D. L. and Dole, W. P.: Total cerebral ischemia. A new model system for the study of post-cardiac arrest brain damage. *Stroke* 10: 38—43, 1979
  - 10) Lassen, N. A.: The luxury-perfusion syndrome and its possible relation to acute metabolic acidosis localized within the brain. *Lancet* 2: 1113—1115, 1966
  - 11) Strandgaard, S., Mackenzie, E. T., Sengupta, D., Rowan, J. O., Lassen, N. A. and Harper, A. M.: Upper limit of autoregulation of cerebral blood flow in the baboon. *Cir. Res.* 34: 435—440, 1974
  - 12) Hossman, K. A., Lechtape-Grüter, H. and Hossmann, V.: The role of cerebral blood flow for the recovery of the brain after prolonged ischemia. *Z. Neurol.* 204: 281—299, 1973
  - 13) Ames III, A., Wright, R. L., Kowada, M., Thurston, J. M. and Majno, G.: Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am. J. Pathol.* 52: 437—453, 1968
  - 14) Snyder, J. V., Nemoto, E. M., Carroll, R. G. and Safar, P.: Global ischemia in dogs. Intracranial pressures, brain blood flow and metabolism. *Stroke* 6: 21—27, 1975
  - 15) Wade, J. G., Amtorp, O. and Srensen, S. C.: No-flow state following cerebral ischemia. Role of increase in potassium concentration in brain interstitial fluid. *Arch. Neurol.* 32: 381—384, 1975
  - 16) Steen, P. A., Milde, J. H. and Michenfelder, J. D.: Cerebral metabolic and vascular effects of barbiturate therapy following complete global ischemia. *J. Neurochem.* 31: 1317—1324, 1978
  - 17) Kennedy, C., et al.: The effect of diphenylhydantoin on local cerebral blood flow. *Neurol. (abst.)*, 22: 451—452, 1972
  - 18) Naiman, J. G. and Williams, H. L.: Effects of diphenylhydantoin on the duration of respiratory activity during anoxia. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 145: 34—41, 1964
  - 19) Pincus, J. H., Grove, I., Marino, B. B. and Glaser, G. E.: Studies on the mechanism of action of diphenylhydantoin. *Arch. Neurol.* 22: 566—571, 1970
  - 20) Baldy-Moulinier, M.: Cerebral blood flow and membrane ionic pump. Cerebral blood flow and intracranial pressure. *Proc. 5th int. symp., Roma-Siena 1971, part I. Europ. Neurol.* 6: 107—113, 1971/72
  - 21) Broddle, W. and Nelson, S. R.: The effect of diphenylhydantoin on energy reserve levels in brain. *Fed. Proc.* 27: 751, 1968
  - 22) Spector, R. G.: The influence of anticonvulsant drugs on formyl tetrahydrofolic acid stimulation of rat brain respiration in vitro. *Biochem. Pharmacol.* 21, 3198—3201, 1972
  - 23) Meyer, J. S., Gotoh, F., Ebihara, S. and Tomita, M.: Effects of anoxia on cerebral metabolism and electrolytes in man. *Neurology* 15: 892—901, 1965
  - 24) Artru, A. A. and Michenfelder, J. D.: Cerebral protective, metabolic and vascular effects of phenytoin. *Stroke* 11: 377—382, 1980
  - 25) Bondoli, A., Magalini, S. I., Camaioni, D., Gagliardi, A. and Barbi, S.: Amino acid distribution in guinea pig plasma, cerebrospinal fluid and brain tissue in acute experimental hypoxia. *Resuscitation* 8: 85—93, 1980
  - 26) Katzmann, R., Clasen, C. R., Klatzo, I., Meyer, J. S., Pappius, H. M. and Waltz, A. G.: Brain edema in stroke. *Stroke* 8: 512—540, 1977
  - 27) Bandaranayake, N. M., Nemoto, E. M. and Stezoski, S. W.: Rat brain osmolarity during barbiturate anesthesia and global brain ischemia. *Stroke* 9: 249—253, 1978
  - 28) Lin, S. R., Morris, T. W. and Violante, M. R.: Cerebral water content, blood flow and EEG

- changes after cardiac arrest in the dog. *Invest. Radiol.* 12 : 325—332, 1977
- 29) Zimmermann, V. and Hossmann, K.-A.: Resuscitation of the monkey brain after one hour's complete ischemia. II. Brain water and electrolytes. *Brain Res.* 85 : 1—12, 1975
- 30) Kutt, H., Winters, W., Kokenge, R. and McDowell, F.: Diphenylhydantoin metabolism, blood levels, and toxicity. *Arch. Neurol.* 11 : 642—648, 1964
- 31) Ramsay, R. E., Hammond, E. J., Perchalski, R. J. and Wilder, B. J.: Brain uptake of phenytoin, phenobarbital, and diazepam. *Arch. Neurol.* 36 : 535—539, 1979