

学 位 論 文

Doctor's Thesis

成犬を用いた実験的遅発性脳血管攣縮モデルの作成及び  
大槽内ウロキナーゼ投与による遅発性脳血管攣縮の予防

(Production of the Experimental Delayed Cerebral Vasospasm  
in Dogs and Prevention of the Delayed Cerebral Vasospasm by the Intrathecal  
Urokinase Infusion via Microcatheter into the Cisterna Magna)

水野 隆正

Takamasa Mizuno

指導教官

生塩 之敬 教授

熊本大学大学院医学研究科脳神経外科学

2003年3月

# 学 位 論 文

## Doctor's Thesis

成犬を用いた実験的遅発性脳血管攣縮モデルの作成及び  
大槽内ウロキナーゼ投与による遅発性脳血管攣縮の予防  
(Production of the Experimental Delayed Cerebral Vasospasm  
in Dogs and Prevention of the Delayed Cerebral Vasospasm by the Intrathecal  
Urokinase Infusion via Microcatheter into the Cisterna Magna)

著者名 : 水野 隆正

Takamasa Mizuno

指導教官名 : 脳神経外科学教授

生塩 之敬

審査委員名 : 循環器内科学担当教授 小川 久雄

神経内科学担当教授 内野 誠

第二解剖学担当教授 浴野 成生

神経分化学担当教授 田中 英明

2003年3月

—目次—

1	要旨	・・・5
2	参考論文	・・・7
3	謝辞	・・・8
4	略語一覧	・・・9
5	研究の背景と目的	
	5－(1) くも膜下出血	・・・10
	5－(2) 脳血管攣縮	・・・11
	5－(3) 遅発性脳血管攣縮のメカニズム及びその治療法	・・・12
	5－(4) くも膜下血腫に対する血栓溶解療法	・・・13
	5－(5) 血管内治療と脳血管攣縮予防	・・・14
	5－(6) 血栓溶解剤の注入位置と脳血管攣縮予防効果	・・・15
実験1	成犬を用いた実験的遅発性脳血管攣縮の作成	・・・16
6	実験方法	
	6－(1) 麻酔導入及びSAH作成前血管撮影	・・・17
	6－(2) 腹側大槽へのマイクロカテーテルの導入及び 動脈血の注入	・・・18
	6－(3) 血液注入群における脳底部の観察	・・・20
	6－(4) 脳底動脈の組織学的検討	・・・20
	6－(5) 脳底動脈径の経時的観察	・・・21
	6－(6) 脳底動脈径の経時的変化に対する統計学的解析	・・・21
7	実験結果	
	7－(1) マイクロカテーテルの腹側大槽への挿入	・・・21
	7－(2) 血液注入群における脳底部の観察	・・・22
	7－(3) 脳底動脈の組織学的検討	・・・22
	7－(4) 脳底動脈径の経時的変化の評価	・・・23
8	考察	・・・24
9	結語	・・・26
実験2	大槽内ウロキナーゼ投与による遅発性脳血管攣縮の予防	・・・27
10	実験方法	
	10－(1) イヌSAHモデルの作成	・・・27
	10－(2) 血栓溶解剤(ウロキナーゼ)の髄腔内投与	・・・27
	10－(3) 脳底動脈径の経時的観察	・・・28
	10－(4) 脳底部残存血腫の観察	・・・29

10 - (5) 大槽部およびシルビウス裂における UK 濃度の測定	29
10 - (6) 脳底動脈径及び UK 濃度測定値の統計学的解析	31
11 実験結果	
11 - (1) UK 投与部位による脳血管攣縮予防効果の差異	31
11 - (2) 腹側大槽およびシルビウス裂における UK 濃度	32
12 考察	33
13 結語	37
14 参考文献	39
15 図及びその説明	44

## 1. 要旨

破裂動脈瘤の開頭クリッピング術後、直視下でくも膜下腔内に血栓溶解剤を投与し早期のくも膜下血腫溶解を行うことは、遅発性脳血管攣縮予防のために有効な手段であることが以前より報告されてきた。一方で破裂脳動脈瘤に対する治療としては、近年血管内手術の頻度が増加してきている。血管内手術による瘤内塞栓術は開頭手術よりも非侵襲的な治療法であるが、くも膜下血腫に対する血栓溶解が行えないという欠点があった。これに対し、最近では動脈瘤塞栓術後に脊髄くも膜下腔に挿入したドレナージチューブから血栓溶解剤を投与する方法が試みられるようになった。我々は、腰椎穿刺の方法によって脊髄くも膜下腔にマイクロカテーテルを挿入し、これを大槽部にまで上行させることによって頭蓋内くも膜下血腫により近い位置から血栓溶解剤投与を行う方法を考案した。本法は臨床例において良好な成績を収めているが、血栓溶解剤の髄腔内投与部位とその脳血管攣縮予防効果との関係を明らかにした研究はなく、大槽部までカテーテルを上行させることの有効性については明確ではなかった。

我々は初めにイヌくも膜下出血 (SAH) モデルを新たに開発し、次にこの SAH モデルを用いて、髄腔内血栓溶解療法の研究を行った。血栓溶解剤であるウロキナーゼ (UK) を大槽部あるいは腰椎部より髄腔内投与して、それぞれの脳血管攣縮予防効果を比較検討し、血栓溶解剤の投与部位と脳血管攣縮予防効果との関係を明らかにすることを目的とした。

まず実験 1 として、SAH モデルの作成を行った。腰椎穿刺の方法を用いてイヌの腹側大槽にマイクロカテーテルを誘導した後、このマイクロカテーテルより動脈血を一回注入して SAH モデルを作成した。その後経時的に脳底動脈撮影を行い、脳底動脈の収縮程度及び収縮期間を観察した。また実験 2 として、SAH モデル作成の 2 4 時間後、大槽部あるいは腰椎部くも膜下腔から UK の髄腔内投与を行い、それぞれの投与方法における脳血管攣縮予防効果を経時的な脳底動脈撮影で評価した。またそれぞれの投与方法において大槽部、シルビウス裂における UK 濃度の測定も行った。

実験 1 の結果として、我々のイヌ SAH モデルは一定の遅発性脳血管攣縮を確実に生ずることが確認された。またこのモデルにおいては、注入血液量を変化させることにより脳血管攣縮の程度を変化させることが可能であった。実験 2 の結果として、髄腔内血栓溶解療法においては血栓溶解剤の投与部位が脳血管攣縮予防効果に影響を与えることが確認された。腹側大槽部まで挿入したマイクロカテーテルから UK を投与する方法は、腰椎部からの UK 投与に対し、より有効な血栓溶解効果及び脳血管攣縮予防効果を示した。また、大槽部及びシルビウス裂において測定された UK 濃度は、大槽部からの投与が有意に高値を

示した。

本研究により簡便な方法で確実な脳血管攣縮を生じるイヌ SAH モデルの作成が可能となり、これからの脳血管攣縮研究において有用であると思われた。また UK を用いた脳血管攣縮予防の研究においては、大槽部からの UK 投与の有効性が明らかにされた。本法は既に臨床応用されているが、今後薬剤投与までの時間、投与量、投与方法などの点について研究を行い、詳細に検討を加えることで、さらに脳血管攣縮予防効果を高めることが期待できるものと考えられた。

## 2. 参考論文

### 参考論文

1. Mizuno T, Hamada J, Kai Y, Todaka T, Morioka M, Ushio Y.  
Single blood injection into the ventral cisterna magna via microcatheter for the production of delayed cerebral vasospasm in dogs.  
*AJNR American Journal of Neuroradiology* (in press)
- 2. Mizuno T, Hamada J, Kai Y, Todaka T, Morioka M, Ushio Y.  
Intrathecal urokinase infusion via microcatheter into the cisterna magna to prevent cerebral vasospasm. -experimental study-  
*AJNR American Journal of Neuroradiology* (in press)

### その他の論文

1. Hamada J, Mizuno T, Kai Y, Morioka M, Ushio Y.  
Microcatheter intrathecal urokinase infusion into cisterna magna for prevention of cerebral vasospasm: preliminary report.  
*Stroke* 2000;31:2141-2148.
2. 水野隆正、甲斐 豊、戸高健臣、森岡基浩、濱田潤一郎、生塩之敬  
特発性内頸動脈海綿静脈洞瘻に対し顔面および眼角静脈経由で治療した1例  
脳神経外科 2001年29巻10号961-964

### 3. 謝辞

本研究を行うにあたり、全面的に支援していただきました熊本大学大学院脳神経外科学講座、生塩之敬教授に深く感謝いたします。

論文作成にあたりましては、熊本大学脳神経外科学講座講師 濱田潤一郎先生、同助手 甲斐豊先生をはじめ、熊本大学大学院医学研究科脳神経外科学講座の皆様に深く感謝いたします。

#### 4. 略語一覧

AMC; 7-amino-4methylcoumarin

BA; basilar artery

CM; cisterna magna

CSF; cerebrospinal fluid

LS; lumbar sac

MLCK; Miosine light chain kinase

PAI-1; plasminogen activator inhibitor-1

peptide-MCA; peptide-methylcoumarin amide

SAH; subarachnoid hemorrhage

SEM; standard error of the mean

t-PA; tissue-plasminogen activator

TXA<sub>2</sub>; Thromboxane A<sub>2</sub>

UK; urokinase

## 5 研究の背景と目的

### 5- (1) くも膜下出血

くも膜下出血 (SAH) はくも膜下腔への出血、すなわち髄腔内への出血であり、その85%は脳動脈瘤破裂によるものである。髄液中への動脈性出血であるために出血は瞬時に全くくも膜下腔に広がり、頭蓋内圧も急激に上昇する。こうした急激な変化により、全てのSAH発症患者のうち10%は病院到着前に死亡する。初回出血後の生存患者では破裂動脈瘤からの再出血が後遺症と死亡の大きな原因となる。再出血率は2週間以内に15~20%とされるが、最も頻度が高いのは第一病日で約4%を占める<sup>1)</sup>。このため近年では入院後早期の動脈瘤クリッピング術が推奨されるようになり、再出血による死亡率は低下する方向にある。一方脳神経外科施設に到着し、開頭クリッピング術を含む初期治療を受けた患者においては、脳血管攣縮により7%が死亡、7%に重篤な後遺症が生じることが報告されている<sup>2)</sup>。脳血管攣縮は、初期治療を受けたSAH患者における合併症の出現と死亡の最大の原因であり、現在では再出血などの動脈瘤破裂の直接的な影響を凌駕するとも考えられている。この脳血管攣縮の治療については、現在までに多くの治療法が考案施行されているが、決定的な治療法は未だ確立されていない。現在もその病態及び治療法について様々な研究が続けられている。

## 5 - (2) 脳血管攣縮

SAH 患者の脳血管撮影においては、破裂脳動脈瘤の近・遠位部血管に狭小化を認めることがある。これはその後の脳血管撮影で元の血管径に回復することが多いことから、機能的な狭窄、すなわち脳血管の攣縮であるとみなされている。脳血管攣縮はその他の頭蓋内疾患の脳血管撮影ではほとんどみられることがなく、SAH に特徴的な現象とされる。脳血管攣縮には、動脈瘤破裂直後（3～24 時間後）一過性に起こる早期攣縮（early vasospasm）と、その後一旦寛解し、発症 3 日目ごろより遅発性に長期間（1～2 週間）続く遅発性攣縮（delayed vasospasm）の 2 種類が区別される。早期攣縮は一過性の攣縮であるため重大な合併症を引き起こすことは少ない。これに対し遅発性脳血管攣縮は、脳動脈瘤破裂後 3～4 日目に出現し、7～10 日目にピークに達する持続性の動脈収縮である。現在までの報告では、SAH 患者の 40～70%において、動脈瘤破裂後 2 週間以内に血管撮影上あるいは経頭蓋骨ドップラー上で脳血管攣縮が認められる。その中で症候性の遅発性脳血管攣縮となるものは SAH 患者全体の 20～30%であるといわれている<sup>3)</sup>。症候性脳血管攣縮においては、症状の程度は血管収縮の程度と相関すると考えられており、収縮の程度が強まるに従って、高度な神経学的脱落症状を生じる脳梗塞及び脳浮腫を生じ、やがて昏睡、死亡へと症状が進行することになる。

### 5 - (3) 遅発性脳血管攣縮のメカニズム及びその治療法

SAH 後に生じる遅発性脳血管攣縮は、くも膜下血腫あるいはその分解産物が原因物質となって引き起こされると考えられており、血管攣縮誘発物質の解明、攣縮血管の形態学的検索、血小板凝集亢進など多方面からの研究が続けられているが、未だにその病態は完全には解明されていない。脳血管攣縮のメカニズムとしては、血管平滑筋細胞内のカルシウム上昇による Miosine light chain kinase (MLCK) の活性化、あるいは膜リン脂質の過酸化に引き続いて生じる Thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) の過剰生成などが報告されており、こうした報告に基づいて、カルシウム拮抗薬や TXA<sub>2</sub> 産生阻害薬などの脳血管攣縮予防効果が研究されてきた。しかし実際の SAH に伴う脳血管攣縮では、単一原因物質の阻害による脳血管攣縮治療法は大きな効果を得ることができず、複数の原因物質が複雑に作用しあつた結果として血管攣縮が引き起こされると考えられるに至つた。また最近では SAH 後髄腔内で発生する炎症反応あるいは免疫反応が注目され、髄腔内で最も強い炎症反応を惹起し得る血液成分であるオキシヘモグロビンが、脳血管攣縮の最大の原因物質であると考えられるようになってきた<sup>4)</sup>。オキシヘモグロビンによる脳血管攣縮機序についても未だ詳細は不明であるが、以下のような機序が考えられている<sup>4)</sup>。オキシヘモグロビンは動脈外壁に付着したくも膜下血腫の溶解の過程で、赤血球から放出されるヘモグロビンの酸化代謝物で

ある。このオキシヘモグロビンはメトヘモグロビンに変化する際に、フリーラジカルである superoxide anion や hydroxyl radical を放出する。これらのフリーラジカルがくも膜下血腫によって動脈壁細胞間隙に蓄積され、膜リン脂質における過酸化反応 (lipid peroxidation) を惹起する。過酸化されたアラキドン酸は phospholipase A<sub>2</sub> により膜から切り離され、phosphatidylcholine cycles の賦活化が引き起こされる。この回路の賦活化により diacylglycerol の細胞内レベルが増大し、この結果として生じた protein kinase C の賦活化が Actin-myosin interaction の活性化を生ぜしめることにより、最終的に血管攣縮が出現すると考えられている。現在までに考えられている単独原因物質に対する阻害薬治療が効果的でなかったこと、およびオキシヘモグロビンが脳血管攣縮の主たる原因物質であるという新しい知見により、最近の脳血管攣縮治療は「可及的早期のくも膜下血腫除去」という基本的概念に立ち戻ってきている。

#### 5- (4) くも膜下血腫に対する血栓溶解療法

くも膜下血腫を速やかに除去することで脳血管攣縮を予防するという試みは以前より施行されており、1970年代から1980年代にかけては、開頭動脈瘤クリッピング術後、手術中にできるだけ血腫を直視下に摘出するという方法が考案された<sup>5, 6, 7)</sup>。しかし術操作による脳浮腫、脳出血などの合

併症が稀ならず認められること、さらに全ての血腫を摘出するためには開頭が複数必要になることもあることなどから、直視下血腫除去は次第に行われないうようになった。これに代わり1980年代後半からは血栓溶解剤の髄腔内投与によるくも膜下血腫溶解療法が行われるようになってきた。これは開頭手術により破裂脳動脈瘤の処置を行った後、術中に血栓溶解剤を血腫周囲の髄腔内に投与する方法であり、溶解した血腫はドレナージチューブから頭蓋外へ排出される。この方法は動物実験を経て<sup>8, 9, 10)</sup>既にヒトに応用されており、SAH発症後早期の血腫除去が可能となったことにより脳血管攣縮予防に大きな効果を示したことが報告されている<sup>11, 12)</sup>。

#### 5 - (5) 血管内治療と脳血管攣縮予防

1990年代より、破裂動脈瘤に対して経動脈的にマイクロカテーテルを瘤内に挿入し、動脈瘤内部を金属性コイルで塞栓するという方法が行われるようになり次第にその頻度を増しつつある。この方法は開頭を行う必要がなく、開頭クリッピング術に比べてより低侵襲的な治療法である。しかし開頭を行わないため、くも膜下血腫の除去あるいは血栓溶解剤の血腫への直接投与は不可能となり、血栓溶解療法が行えないという問題点があった。この問題に対し衣笠ら<sup>13)</sup>は、液体塞栓物質を用いて破裂動脈瘤の塞栓を行った後、腰椎部より脊

髄腔内に挿入したスパイナルドレナージチューブをできるだけ上行させ、上部胸椎レベルから tissue-plasminogen activator (t-PA) を投与してくも膜下血腫を溶解する方法を試み、脳血管攣縮予防に効果があることを報告した。一方、当教室の濱田ら<sup>14)</sup>は、腰椎部穿刺によりマイクロカテーテルをくも膜下腔に挿入し、これを大槽部にまで上行させてダイレクトに血腫近傍に血栓溶解剤を投与する方法を考案した。本法を用いることにより、開頭を行わなくても頭蓋内くも膜下腔に血栓溶解剤を投与することが可能となった。実際の臨床例において、破裂脳動脈瘤のコイル塞栓術と組み合わせて本法を用い、血栓溶解剤であるウロキナーゼを大槽内投与したところ、早期のくも膜下血腫除去及び脳血管攣縮予防に効果があることが強く示唆された。

#### 5 - (6) 血栓溶解剤の注入位置と脳血管攣縮予防効果

衣笠ら<sup>13)</sup>、濱田ら<sup>14)</sup>の報告により、脊髄髄腔内に挿入したカテーテルを用いてくも膜下腔に血栓溶解剤を投与する方法は、開頭手術を行わずにくも膜下血腫を除去することを可能とし、脳血管攣縮の予防に効果があると考えられるようになった。しかしカテーテル先端の位置、すなわち血栓溶解剤の投与部位によって、血栓溶解効果や脳血管攣縮予防効果に差があるかどうかに関しては一定の見解は得られていない。そこで我々は、新しく開発したイヌ SAH モ

デルを用いて実験を行い、髄腔内における異なる部位からの血栓溶解剤投与が脳血管攣縮予防効果に差を生ずるかどうかを検討することを目的とした。また髄腔内に投与された血栓溶解剤の血腫近傍における濃度を経時的に測定することとした。

### 実験1 成犬を用いた実験的遅発性脳血管攣縮の作成

遅発性脳血管攣縮の病態生理及びその治療法を研究するため、今までに数多くの動物 SAH モデルが考案されている<sup>15)</sup>が、その中でイヌを用いた SAH モデルは比較的多数を占める。1972年に桑山らが報告した「背側大槽穿刺による髄腔内への動脈血一回注入法」<sup>16)</sup>は、脳底動脈に遅発性血管攣縮を生ずることに成功したが、動脈収縮の程度、収縮期間にばらつきが認められた。その後桑山らの方法を改良し、Varsos らは「背側大槽穿刺による動脈血二回注入法」を1983年に報告した<sup>17)</sup>。これは背側大槽穿刺による動脈血の髄腔内注入を48時間の間隔をおいて2回行うものであり、これにより動脈収縮の程度が強まり、また収縮時間の延長が得られるようになった。以後現在にいたるまで、脳血管攣縮の研究に用いられるイヌ SAH モデル作成においては、この背側大槽穿刺による動脈血二回注入法が広く行われている。

Varsos らの方法は遅発性脳血管攣縮を生じる方法として優れた方法で

デルを用いて実験を行い、髄腔内における異なる部位からの血栓溶解剤投与が脳血管攣縮予防効果に差を生ずるかどうかを検討することを目的とした。また髄腔内に投与された血栓溶解剤の血腫近傍における濃度を経時的に測定することとした。

### 実験1 成犬を用いた実験的遅発性脳血管攣縮の作成

遅発性脳血管攣縮の病態生理及びその治療法を研究するため、今までに数多くの動物 SAH モデルが考案されている<sup>15)</sup>が、その中でイヌを用いた SAH モデルは比較的多数を占める。1972年に桑山らが報告した「背側大槽穿刺による髄腔内への動脈血一回注入法」<sup>16)</sup>は、脳底動脈に遅発性血管攣縮を生ずることに成功したが、動脈収縮の程度、収縮期間にばらつきが認められた。その後桑山らの方法を改良し、Varsos らは「背側大槽穿刺による動脈血二回注入法」を1983年に報告した<sup>17)</sup>。これは背側大槽穿刺による動脈血の髄腔内注入を48時間の間隔をおいて2回行うものであり、これにより動脈収縮の程度が強まり、また収縮時間の延長が得られるようになった。以後現在にいたるまで、脳血管攣縮の研究に用いられるイヌ SAH モデル作成においては、この背側大槽穿刺による動脈血二回注入法が広く行われている。

Varsos らの方法は遅発性脳血管攣縮を生じる方法として優れた方法で

あるが、二回の大槽穿刺及び血液注入を必要とする。また、一定の脳血管攣縮を生じるという点においては未だ改善の余地があった。我々は脳底動脈が脳幹の腹側に存在しているという解剖学的特徴を踏まえ、脳幹の腹側側である腹側大槽へ直接動脈血を注入すれば、一回の血液注入にてイヌ脳底動脈に充分かつ一定の遅発性脳血管攣縮を生ぜしめることが可能となるのではないかと考え、これを確かめることを目的として実験を行った。我々が考案したくも膜下腔への血液注入方法は、腰椎穿刺によりマイクロカテーテルを髄腔内に挿入した後、これを腹側大槽まで上行させ、脳底動脈の周囲に血液を直接注入する方法である。本法を用いた場合に一定の遅発性脳血管攣縮が生じるかどうかを評価し、また生じた脳血管攣縮の程度及び持続時間を従来の背側大槽穿刺による二回注入法の場合と比較検討した。さらに血液注入量を変化させることによって脳血管攣縮の程度を変化させ得るかどうかについても検討することとした。

## 6 実験方法

### 6- (1) 麻酔導入及びSAH作成前血管撮影

ペントバルビタール (25 mg/kg) の静脈内注射により全身麻酔を導入した後、イヌを仰臥位にして実験台上に固定した。内径5 mmの小児用気管内チューブを用いて気管内挿管を行い、レスピレーターを装着して持続的呼吸管理

を行った。その後20ゲージのサーフロー針を用いて片側大腿動脈を穿刺し、4Fの動脈留置用シースイントロデューサー及びカテーテルを大腿動脈に留置した。このカテーテルを用いて平均動脈圧を持続的に測定し、また適宜動脈血を採取測定することにより、血液ガス及びpHを生理学的正常値に保つようにレスピレーターの設定を調節した。また体温に関しては、ヒーティングパッドを実験台上に敷き、動物体温が37度前後に安定するようにして実験を行った。

反対側の大腿動脈に同様の方法を用いて4Fのカテーテルを導入した後、同カテーテルを透視下に左椎骨動脈に挿入し、第4頸椎の高さに留置した。少量の造影剤を用いてテストインジェクションを行い、脳底動脈が描出されることを確認した後、造影剤（イオパミロン300、シェーリング社）5mlを注入して単純X線による脳底動脈撮影を行った。造影剤の注入に際してはオートインジェクター（M-800C、根本杏林堂）を用いた。オートインジェクターの設定は常に一定とし、造影剤の一定量（5ml）を一定の速度（2ml/s）で注入した。また撮影条件も常に一定（曝露時間：1.5sec、撮影電圧：74kv、撮影電流：100mA、撮影距離：80cm）とした。

6-(2) 腹側大槽へのマイクロカテーテルの導入及び動脈血の注入

SAH 作成前の脳底動脈撮影を行った後、成犬を台上で側臥位あるいは腹臥位として腰椎穿刺を行い、シースイントロドューサーの留置を行った。17ゲージの硬膜外針を使用して第二、第三腰椎間を穿刺し、髄液の流出により、あるいはエックス線透視によりくも膜下腔に針先端が挿入されていることを確認したのち、4Fのシースイントロドューサー(Supersheath、メディキット社)をくも膜下腔に挿入した。このシースイントロドューサーを通してマイクロカテーテル(Tracker-18 microcatheter、Boston Scientific Corporation、Massachusetts、USA)及びマイクロガイドワイヤー(Terumo-GT microguidewire、Terumo、Natick, MA, USA)を脊髄くも膜下腔に導入し、X線透視を用いてカテーテルのモニタリングを行いながら腹側大槽まで上行させた。その際over-the-guidewire法を用いてマイクロカテーテルを進め、脊髄、神経根、あるいは血管などを損傷しないように丁寧なカテーテル操作を行った。マイクロカテーテルを腹側大槽に挿入した後、成犬頭部を30度下垂することにより、さらに注入血液の腹側側への沈着を促した。

以下に示すグループ別に、予定された量の自家血液あるいは生理食塩水の大槽内注入を行った。

第一グループ：0.5 ml/kgの生理食塩水注入(コントロール群：n=6)

第二グループ：0.25 ml/kgの自家血液注入(0.25-SAH群：n=7)

第三グループ：0.5 ml/kg の自家血液注入 (0.5-SAH 群：n=7)

注入に際しては、頭蓋内圧の急激な亢進を予防するために予定注入量と同量の髄液をあらかじめ採取しておいた。また自家血液あるいは生理食塩水の注入は 2 ml/min のスピードで施行した。その後 30 分間頭部下垂の姿勢のまま安静保持し、脳底部に血液が集積定着するようにした。

#### 6 - (3) 血液注入群における脳底部の観察

腹側大槽への血液注入後 24 時間の時点で、0.25-SAH 群及び 0.5-SAH 群よりそれぞれ一頭ずつをペントバルビタール (50 mg/kg) の投与により死亡させ、開頭して全脳を摘出し脳底部の観察を行った。

#### 6 - (4) 脳底動脈の組織学的検討

血液注入後 7 日目に、コントロール群及び血液注入群より一頭ずつ、計三頭をペントバルビタール (50 mg/kg) の静脈内投与により死亡させた。開頭脳摘出を行い、摘出脳をホルマリン溶液に一週間程度浸して固定を行った後、脳底動脈を取り外し、これをパラフィン包埋した。4.5  $\mu$ m 厚切片を作成し、elastica van Gieson 染色で染めた後、顕微鏡にて組織を観察した。

## 6 - (5) 脳底動脈径の経時的観察

脳底部の肉眼的観察及び脳底動脈の組織学的検討に用いたイヌを除いた各群5頭ずつに対して、腹側大槽への血液注入後、3日目、7日目、10日目、14日目に脳底動脈撮影を行い、経時的な血管径の変化を観察した。血管径の測定は脳底動脈の、a) 起始部より1 cm 遠位部、b) 全長の間中点、c) 終了部より1 cm 近位部の三箇所を測定部位として行った<sup>18)</sup>。各測定日における血管径は、血液注入前の血管径に対するパーセンテージで表示することとし、三箇所の測定部位の平均値として算出した<sup>18)</sup>。

## 6 - (6) 脳底動脈径の経時変化に対する統計学的解析

測定データは平均値±平均標準誤差で示した。任意の二群間の差は student's t-test を用いて検定を行い、 $P < 0.05$  を統計的に有意な差とした。

## 7 実験結果

### 7 - (1) マイクロカテーテルの腹側大槽への挿入

腰椎穿刺による脊髄髄腔内へのマイクロカテーテルの導入、および腹側大槽へのマイクロカテーテル誘導は、容易かつ安全に行うことが可能であった。腰椎部くも膜下腔より腹側大槽部までマイクロカテーテルを上行させるのに要

した時間は、平均約5分であった。Fig. 1(A)に示すごとく、マイクロガイドワイヤーの使用によりX線透視下でのマイクロカテーテルの視認性が高まり、腹側大槽部へのカテーテル挿入が容易となった。

#### 7- (2) 血液注入群における脳底部の観察

血液注入24時間後の脳底部の観察では、0.5-SAH群において脳幹腹側に著明なくも膜下血腫の形成を認めた (Fig. 1(B))。0.25-SAH群では、同様の所見を脳底部に認めたが血腫量は少量であった。また同時に行った autopsy では、マイクロカテーテルやマイクロガイドワイヤーによる脊髄損傷、神経根損傷、あるいは血管損傷などは認めなかった。

#### 7- (3) 脳底動脈の組織学的検討

血液あるいは生理食塩水を腹側大槽に注入後7日目の脳底動脈の光顕像を Fig. 2 に示す。コントロール群では明らかな組織変化は観察されなかった (Fig. 2 (A))。0.5-SAH群では、内腔の狭小化、内弾性板の皺形成、内膜下組織の肥厚及び増殖が観察され、現在までに報告されている脳血管攣縮の組織像に矛盾しなかった (Fig. 2 (B))。0.25-SAH群では0.5-SAH群と同様の組織所見を示したが、その変化は0.5-SAH群に比して軽度であった。

#### 7 - (4) 脳底動脈径の経時的変化の評価

コントロール群、0.25-SAH 群、0.5-SAH 群のそれぞれにおける代表的な椎骨動脈造影を Fig. 3 に示す。コントロール群では14日間を通じて、明らかな脳底動脈の攣縮は認められなかった (Fig. 3(A))。0.25-SAH 群では、血液注入後3日目に脳血管の強い収縮を認めるものの、その後血管径は次第に回復し、14日目にはほぼ血液注入前の状態に戻っていた (Fig. 3(B))。これに対して0.5-SAH 群では、やはり血液注入後3日目に脳血管が強く収縮しており、さらに7日目以後もこの収縮は同程度のまま持続した (Fig. 3(C))。各群における脳底動脈径の経時的推移を Fig. 4 に示す。コントロール群の脳底動脈は明らかな血管径の変化を示さなかった。0.25-SAH 群においては、脳底動脈径は血液注入後3日目に注入前の  $51.0 \pm 2.0\%$  にまで収縮したが、その後次第に回復し、7日目には  $66.8 \pm 5.4\%$ 、10日目には  $75.0 \pm 3.5\%$ 、14日目には  $90.1 \pm 5.3\%$  となった。コントロール群に比し、全測定日において脳底動脈は有意に収縮していた ( $p < 0.05$ )。0.5-SAH 群においては、3日目の脳底動脈径は  $55.6 \pm 5.7\%$  と明らかな収縮を示し、その後7日目にはさらに血管の収縮が強まり  $51.3 \pm 6.0\%$  と最も強い収縮を示した。その後も10日目  $54.3 \pm 6.1\%$ 、14日目  $55.9 \pm 6.4\%$  と持続的な収縮を認め、明らかな血管拡張は14日目まで認められなかった。0.25-SAH 群と0.5-SAH 群の両群間の比較では、3日目の血管収縮

は両群間で有意差はなかったが、7日目、10日目、14日目における脳底動脈の収縮度は0.5-SAH群で有意に高かった。すなわち0.5-SAH群において、より強い血管収縮が、より長く持続することが明らかとなった。

## 8 考察

現在までのイヌ SAH モデル<sup>16, 17)</sup>では、くも膜下腔への血液注入は背側大槽穿刺によって行われ、その後イヌを腹臥位とし頭部下垂体位をとらせることにより、重力を利用して注入された血液を脳幹腹側の脳底動脈周囲へ移動させていた。しかしこの方法では、確実な遅発性脳血管攣縮を引き起こすためには48時間後に血液注入を再度繰り返す必要があった。すなわち一回のみの血液注入では脳幹の腹側に十分な血腫が形成されなかったものと考えられる。また、腹側側に定着する血腫量にばらつきを生じるため、二回の血液注入を行っても、収縮程度、収縮時間にある程度のばらつきを生じていた。今回我々は脳幹腹側へ血液を直接注入し、脳底動脈周囲における血腫形成効果を高めようと考えた。我々が考案した脳幹腹側へのカテーテル挿入法は、腰椎穿刺の手法によりくも膜下腔にマイクロカテーテルを導入し、これを透視下に上行させて腹側大槽へ挿入する方法であるが、これにより脳幹腹側に直接血液を注入することが可能となった。本法を用いて0.5 ml/kgの血液を脳幹腹側に直接注入

した場合、一回だけの動脈血注入で脳底部に十分な血腫が形成されていることが確認された。さらに血液注入後7日目の脳底動脈の病理組織所見も、遅発性脳血管攣縮にみられる組織所見<sup>17, 19)</sup>と一致した。また血液注入後2週間にわたり施行された脳底動脈撮影にて、同動脈に3日目以後一定の強度の攣縮が持続することが明らかとなった。以上の結果により、我々の考案した腹側大槽への血液注入法は、一回のみの動脈血注入で脳底動脈周囲に十分な血腫を形成し、一定の強さの遅発性脳血管攣縮を引き起こすことが可能であると考えられた。

迫ら<sup>20)</sup>は従来の方法を用い、0.8 ml/kgの動脈血を背側大槽穿刺により48時間間隔で二回注入してイヌSAHモデルを作成して実験に用いている。彼らの報告によれば、このSAHモデルでは最初の注入から7日目に最も強い約60%の脳底動脈狭窄を認め、14日目にも約65%の狭窄が残存する。これに対し、我々が考案した脳幹腹側への直接血液注入法を用いて0.5 ml/kgの血液を一回注入したモデルでは、脳底動脈の最大狭小化はやはり7日目に認められ、その動脈径は約51%であった。また、この動脈収縮は14日間の観察期間中持続し、14日目の動脈径は約56%であった。すなわち我々の方法では、一度だけの、より少ない量の血液注入で、従来の二回注入モデルに匹敵する強さと持続期間を有する脳血管攣縮を生ぜしめることが可能となっている<sup>17, 20)</sup>。このことは、背側大槽からの血液注入に比べ、腹側大槽への直接血液注入

が脳底動脈周囲により効率的な血腫形成をもたらし、脳血管攣縮の増強を引き起こしたことを示している。

さらに我々のモデルでは、0.25 ml/kg の血液注入を受けたイヌでは、0.5 ml/kg の血液を注入された場合に比べて脳血管攣縮の程度が軽く、また持続期間も短かったことから、注入血液量を変化させることによって血管攣縮の程度と持続期間を変化させ得る可能性があることが示された。

腹側大槽への直接注入法のデメリットとしては、大槽部へのマイクロカテーテル挿入に伴う、脊髄、神経根などの損傷、及び脳底動脈に対する刺激による機械的攣縮の可能性が挙げられる。こうしたデメリットを避けるために、慎重なマイクロガイドワイヤー及びマイクロカテーテル操作を心がける必要がある。従って本法の実施にあたってはX線透視装置を持続的に使用し、脊髄くも膜下腔におけるカテーテル及びガイドワイヤーの動きを常時モニタリングすることが必要不可欠であると考えられた。

## 9 結語

イヌの腹側大槽にマイクロカテーテルを挿入し、脳底動脈周囲に動脈血を直接注入することにより、一度の血液注入のみで一定の強さの遅発性脳血管攣縮を生じる SAH モデルを作成することができた。本モデルにおける脳底動脈

収縮の程度及び持続期間は、従来行われてきた背側大槽穿刺による血液二回注入法と同程度と考えられた。また本法を用いれば、注入する血液の量を変化させることによって、イヌ脳底動脈における血管攣縮の程度と持続期間を変化させ得ることが可能と考えられた。

## 実験2 大槽内ウロキナーゼ投与による遅発性脳血管攣縮の予防

### 10 実験方法

#### 10- (1) イヌ SAH モデルの作成

イヌ SAH モデルについては、収縮度の強い脳血管攣縮を用いて実験を行うため、実験1における0.5 ml/kgの血液注入モデルを用いることとした。SAHモデル作成における詳細は、実験1の方法6- (1)、6- (2)に記載したごとく行った<sup>21)</sup>。

#### 10- (2) 血栓溶解剤（ウロキナーゼ）の髄腔内投与

新鮮な人尿から抽出分離し、高度に精製して凍結乾燥したウロキナーゼ(UK)製剤は、脳血栓症などの血管塞栓性疾患の治療薬として利用されている。その作用機序は血中のプラスミノゲンを活性化してプラスミンとなし、これが血中に生じるフィブリン塊を溶解除去することにある。髄液中には本来プラ

収縮の程度及び持続期間は、従来行われてきた背側大槽穿刺による血液二回注入法と同程度と考えられた。また本法を用いれば、注入する血液の量を変化させることによって、イヌ脳底動脈における血管攣縮の程度と持続期間を変化させ得ることが可能と考えられた。

## 実験2 大槽内ウロキナーゼ投与による遅発性脳血管攣縮の予防

### 10 実験方法

#### 10- (1) イヌ SAH モデルの作成

イヌ SAH モデルについては、収縮度の強い脳血管攣縮を用いて実験を行うため、実験1における0.5 ml/kgの血液注入モデルを用いることとした。SAHモデル作成における詳細は、実験1の方法6- (1)、6- (2)に記載したごとく行った<sup>21)</sup>。

#### 10- (2) 血栓溶解剤（ウロキナーゼ）の髄腔内投与

新鮮な人尿から抽出分離し、高度に精製して凍結乾燥したウロキナーゼ (UK) 製剤は、脳血栓症などの血管塞栓性疾患の治療薬として利用されている。その作用機序は血中のプラスミノーゲンを活性化してプラスミンとなし、これが血中に生じるフィブリン塊を溶解除去することにある。髄液中には本来プラ

スミノーゲンは微量であるが、血腫と UK との親和性は高く、UK は血腫中のプラスミノーゲンをプラスミンに変換することで血栓溶解を行うことが可能である。

我々は髄腔内に投与する血栓溶解剤としてウロキナーゼ（持田製薬、東京）を用いた。イヌ SAH モデル作成 24 時間後、SAH モデル作成時と同じ手技を用いてマイクロカテーテルを脊髄くも膜下腔へ誘導した。その後マイクロカテーテルの位置を腹側大槽部あるいは腰椎部くも膜下腔として、UK 溶液（UK 1000 IU/kg を生理食塩水 2 ml に溶解したもの）を髄腔内へ注入した。UK 投与量は臨床例における経験に基づいて決定した。実験はイヌ SAH モデル 18 頭を以下のように 6 頭ずつ 3 群に分けて行った。腰椎部くも膜下腔より UK 投与したものを腰椎群（Lumbar sac: LS 群）、腹側大槽部より UK 投与したものを大槽群（Cisterna magna: CM 群）とした。また腹側大槽に留置したマイクロカテーテルより 2 ml の生理食塩水のみを注入したものをコントロール群とした。

### 10 - (3) 脳底動脈径の経時的観察

脳底動脈径の経時的変化を観察するため、SAH 作成後 3 日目、7 日目、10 日目、14 日目においてそれぞれ脳底動脈撮影を行った。脳底動脈における血管攣縮の程度は、SAH 作成前の血管径に対するパーセント表示で表した。脳

底動脈径の測定部位と測定値の算出法は、実験 1 の 6 - (5) に記載した如く行った<sup>18)</sup>。

#### 10 - (4) 脳底部残存血腫の観察

UK あるいは生理食塩水投与後、24 時間経過の後にそれぞれのグループより一頭ずつを過量の静脈麻酔薬 (50 mg/kg) によって死亡させ、全脳を摘出して脳底部に残存するくも膜下血腫を観察した。

#### 10 - (5) 大槽部およびシルビウス裂における UK 濃度の測定

体重 10 ~ 15 kg の非くも膜下出血イヌ 10 頭を用いて実験をおこなった。UK の投与に先立って、まずイヌのシルビウス裂に髄液採取用のチューブを挿入した。右側頭骨にドリルを用いて穿頭を行い、直下の硬膜に 1 - 2 mm の切開を加えた後、この切開部分よりやわらかいビニール製チューブ (長さ 70 mm、外径 1.5 mm、内径 0.5 mm) をシルビウス裂に挿入した。少量のフィブリン糊を用いて硬膜切開部分をシールし、髄液の漏出を防いだ。続いて腰椎穿刺を行い、マイクロカテーテルを腹側大槽部あるいは腰椎部くも膜下腔に留置した。UK 溶液 (UK 1000 IU/kg を生理食塩水 2 ml に溶解) を腹側大槽 (CM 群: 5 頭) あるいは腰椎部くも膜下腔 (LS 群: 5 頭) に留置したマイクロ

カテーテルより投与し、その後腹側大槽、及びシルビウス裂の両方で同時に UK 濃度を測定することとした。LS 群では UK 投与は L2-3 レベルより行い、その後直ちにマイクロカテーテルを上行させて腹側大槽部に挿入し、腹側大槽からの髄液採取をおこなった。髄液採取は 15 分ごとに 4 時間までおこなった。髄液採取にあたっては、大槽部ではマイクロカテーテル内腔体積にあたる 0.6 ml を廃棄したあと、0.4 ml の髄液を採取し、これを直ちに -80 度にて凍結し、UK 濃度の解析に用いた。シルビウス裂ではチューブ内腔体積にあたる 0.2 ml を廃棄したあと 0.3 ml の髄液を採取して同様に直ちに凍結し、UK 濃度測定用の検体とした。

UK 濃度は森田らの方法により測定をおこなった<sup>22)</sup>。peptide-MCA (peptide-methylcoumarin amide) は UK の合成基質であるが、この peptide-MCA の加水分解により放出された 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) の透過性を測定することによって UK 濃度を決定した。1 ml の基質溶液 (50 mM Tris-HCl buffer、pH 8.0、100 mM の NaCl、10 mM の CaCl<sub>2</sub>、及び 0.1 mM の peptide-MCA を含む) を 37 度で 2 分半インキュベートし、その後 UK を含む検体を加えて、37 度で 10 分間反応させた後 1.5 ml の 17% アセトン酸を加えることで反応を停止させた。AMC の透過性は、励起波長 380 nm、収束波長

460 nmで測定した。この反応は、コントロールとして国際研究所のUK標準産物（1050 IU/vial）を用いて補正を行った。

#### 10 - (6) 脳底動脈径及びUK濃度測定値の統計学的解析

測定データは平均値±平均標準誤差で示した。任意の二群間の差は student's t-test を用いて検定を行い、 $P < 0.05$  を統計的に有意な差とした。

### 1.1 実験結果

#### 1.1 - (1) UK投与部位による脳血管攣縮予防効果の差異

各群における経時的脳底動脈撮影の代表例を Fig. 5 に提示した。コントロール群及びLS群では、脳底動脈は3日目、7日目、10日目、14日目と持続的な収縮を示した (Fig. 5(A)、5(B))。CM群では3日目に強い収縮を認めるものの、その後血管径は時間経過とともに徐々に回復した (Fig. 5(C))。各群の脳底動脈径の経時変化を Fig. 6 にグラフ化して示した。コントロール群における脳底動脈径は3日目に  $55.8 \pm 12.8\%$ 、7日目に  $49.0 \pm 2.8\%$ 、10日目には  $55.1 \pm 6.9\%$ 、14日目には  $55.9 \pm 5.5\%$  となった。最も強い血管収縮は7日目にみられ、その後も14日目まで持続した。LS群においては、3日目  $57.9 \pm 12.3\%$ 、7日目  $48.2 \pm 3.8\%$ 、10日目  $53.9 \pm 6.4\%$ 、14日

目  $58.9 \pm 7.7\%$  となり、収縮した脳底動脈は 14 日間の観察期間中明らかな拡張を認めず、コントロール群と比較して明らかな有意差は認めなかった。一方 CM 群では脳底動脈径は 3 日目に  $54.6 \pm 7.8\%$ 、7 日目に  $62.6 \pm 6.4\%$ 、10 日目に  $70.5 \pm 9.3\%$  となり、14 日目には  $82.3 \pm 4.9\%$  となった。LS 群及びコントロール群と同様に 3 日目には血管径は 50 %程度にまで収縮したものの、その後は時間経過とともに次第に拡張を認め 14 日目には約 80 %程度にまで回復した。CM 群と LS 及びコントロール群における差異は、7 日目、10 日目、14 日目において統計的有意であり ( $p < 0.05$ )、UK 投与部位が脳血管攣縮予防効果の発現に本質的な役割を果たしていることを示した。さらに、UK 投与 24 時間後における脳底部の観察では、LS 群のイヌは脳底動脈周囲に強い残存血腫を認め、これはコントロール群とほぼ同じ程度であった (Fig. 7(A))。これに対して CM 群では脳底動脈周囲の血腫はほとんど消失していた (Fig. 7(B))。

#### 11 - (2) 腹側大槽およびシルビウス裂における UK 濃度

腹側大槽において経時的に測定した UK 濃度を Fig. 8 に示した。腹側大槽においては、注入部位が腹側大槽であるか腰椎くも膜下腔であるかに関わらず、注入後 4 時間まで UK が検出された。CM 群では、平均最高濃度は  $3557.5 \pm 270.8$  IU/ml であった。UK 注入後最初の 60 分間は急速な UK 濃度低下を認め、

続く180分間ではなだらかに低下し30 IU/ml となった。LS 群では UK 注入後最初の60分間は次第に UK 濃度が増加し、平均最高濃度は  $1433.3 \pm 228.5$  IU/ml に達したが、これは CM 群における平均最高濃度の40%以下の値であった。その後は、CM 群と同様なだらかな濃度低下を示した。CM 群の平均最高濃度は LS 群の約2.5倍であった。測定開始後15分、30分における UK 濃度は有意差をもって CM 群が LS 群よりも高かった ( $p < 0.05$ ) が、45分以後では両群間の値に統計的有意差は認めなかった。

シルビウス裂において経時的に測定した UK 濃度を Fig.9 に示した。シルビウス裂においては、注入部位が腹側大槽であるか腰椎くも膜下腔であるかに関わらず、注入後2時間まで UK が検出された。CM 群では、平均最高濃度は  $2066.5 \pm 718.6$  IU/ml、LS 群では  $309.2 \pm 66.0$  IU/ml であり、CM 群において約6.7倍の値となった。また UK 注入後105分まで両群間に有意差が認められた。

## 1.2 考察

マイクロカテーテルを用いた大槽部への UK 投与は、実際の SAH 患者に対して遅発性脳血管攣縮予防効果があったことを我々は先に報告した<sup>14)</sup>。本治療を行った Hunt & Hess Grade III-IVの15人の患者では、最後の UK 注入から

24時間以内にはCT上のくも膜下血腫は脳底槽及び近位部シルビウス裂からはほとんど消失していた。一人の患者が一時的な脳虚血症状を呈したが、脳血管攣縮による永続的な神経脱落症状の出現は一例も認めなかった。この結果は現在までに行われてきた脳血管攣縮治療の成績に比べて極めて良好なものであり、UK注入のためにマイクロカテーテルを大槽部まで上行させたことが症候性脳血管攣縮の予防に効果を示したものと考えられた。衣笠らも、血栓溶解療法の効果を高めるためスパイナルドレナージチューブを可及的に上行させ、上部胸椎部から投与することで良好な結果を得たとしている<sup>13)</sup>。両者は脊髄くも膜下腔にカテーテルを挿入して血栓溶解剤を投与するという点で同一であるが薬剤投与を行う位置が異なっている。髄腔内血栓溶解療法における薬剤投与部位の相違が脳血管攣縮予防効果に差異を与えるかどうかに関しては、現在まで研究報告がなく一定の見解は得られていなかった。今回の実験により、腹側大槽へのUK注入は腰椎部くも膜下腔へのUK注入よりも血栓溶解効果が高く、脳血管攣縮予防効果も高いことが示された。腰椎からの投与群では、UK投与24時間後の脳底動脈の周囲には血腫が強く残存しており、3日目に生じた脳血管攣縮は2週間の観察期間中明らかな回復をみていない。これに対して大槽からの投与群ではUK投与24時間後に脳底動脈周囲の血腫はほぼ消失しており、3日目に一度収縮した脳底動脈も7日目、10日目、14日目と時間の経過とともにその

径が回復していくことが示された。すなわち血栓溶解剤の投与部位は脳血管攣縮予防効果に影響を与えることが明らかとなり、血栓形成部により近い大槽部からの UK 投与の有効性を改めて示す結果となった。

一方今回の実験では、CM 群において UK 投与 24 時間後には脳底動脈周囲の血腫はほぼ消失しているにもかかわらず、3 日目に強い脳血管攣縮が生じている。Findlay らは、脳血管攣縮の収縮の強さは、くも膜下血腫と脳動脈が接している時間の長さに比例すると報告しており<sup>2,3)</sup>、血腫注入後 24 時間よりさらに早い時間に UK を大槽内投与することで、脳血管攣縮の程度がさらに軽度となる可能性がある。しかし血栓溶解だけでは防ぎきれない未知のメカニズムが脳血管攣縮の導入に関与している可能性もあり、さらなる研究が必要である。

非くも膜下出血イヌを用いた腹側大槽部での UK 濃度測定実験では、平均最高濃度は CM 群が LS 群の 2.5 倍高く、脳血管攣縮予防効果の差異は、この濃度差に基づくものと考えられた。LS 群において、腹側大槽部での UK 濃度が低下していることには二つの理由が考えられる。その一つは、腰椎部から大槽まで上行してくるまでに CSF の温度、pH などにより UK の酵素活性が減じられることであり、もう一つは髄液流に伴う UK の拡散希釈による濃度低下である。しかし人工髄液中に UK を溶解し、37 度でインキュベーションして経時的に UK 濃度を測定した我々の実験では、UK 濃度はほとんど減じられなかった。従って

LS 群における腹側大槽部での UK 濃度低下は、髄液の拡散による UK の希釈の可能性が高いと考えられた。

本実験では、LS 群における UK の平均最大濃度は 1 4 0 0 IU/ml であった。1 9 8 3 年に吉田らが行った *in vitro* の実験の結果によれば、UK が血栓溶解を行う至適濃度は 1 5 0 IU/ml 程度であり<sup>24)</sup>、LS 群の平均最大濃度は十分に血栓溶解を行い得る濃度である。しかし我々がおこなった脳血管攣縮予防実験においては、LS 群のイヌでは明らかな脳底部の血腫溶解は認められず、また脳底動脈の遅発性脳血管攣縮を予防することもできなかった。これには、SAH 後髄腔内に出現する plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) の影響があるものと推測される。この急性期反応タンパクはフィブリン溶解の阻害において重要な役割を果たしており、SAH 後の患者の髄液中に出現すること<sup>25)</sup> 及び UK の酵素活性を不活化することが知られている。血管攣縮予防実験における LS 群では、UK が腰椎部から大槽部にまで上行する間に、CSF 中の PAI-1 が UK 活性を低下させた可能性が考えられる。すなわち、非くも膜下出血イヌで計測された濃度よりも少ない濃度の UK しか大槽部に到達していない可能性が考えられ、このため有効な血栓溶解及び脳血管攣縮予防を行うことができなかったものと考えられた。一方大槽部への UK 直接投与では、CSF による UK の拡散希釈及び PAI-1 による UK の不活化を避けることが可能となり、高濃度の UK が直接血腫に作用

した結果、血腫溶解及び脳血管攣縮予防に明らかな有効性を示すことになったものと思われた。

シルビウス裂における UK の平均最高濃度は CM 群で有意に高く、LS 群と比較すると約 6.7 倍の濃度に到達していた。今回の研究では前方灌流における脳血管攣縮予防効果の評価は行えていない。しかしこの濃度差を考慮すれば、シルビウス裂における血栓溶解及び脳血管攣縮予防も、CM 群においてより有効に行われ得るものと考えられた。

髄腔内への血栓溶解剤用投与においては、一回大量投与よりも少量を頻回に投与する方が有効であるとする報告<sup>26)</sup>もある。我々の考案した大槽内ウロキナーゼ投与方法においても、投与の方法および投与量、あるいは血栓溶解剤を投与するタイミングに関して今後さらなる研究が必要となるものと思われた。

### 1.3 結語

UK を用いた髄腔内血栓溶解療法においては、UK の投与部位により脳血管攣縮予防効果に差異が生じる。我々の考案した大槽内 UK 投与方法は、腰椎部くも膜下腔からの UK 投与に比べ、血腫近傍で有意に高い UK 濃度を示し、より有効な血栓溶解及び脳血管攣縮予防を行うことがイヌ SAH モデルを用いた実験において示された。効果的な血栓溶解を行うためには血腫周囲に高濃度の UK が必

要であり、腰椎穿刺の方法によっても膜下腔に UK を投与する場合、大槽内 UK 投与法は有効な手段となるものと考えられた。

1 4 文献

1. Kassell NF, Torner JC, Jane JA, Haley EC Jr, Adams HP. The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery. Part 2: Surgical results. *J Neurosurg* 1990;73:37-47
2. Heros RC, Zervas NT, Varsos V. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: an update. *Ann Neurol* 1983;14:599-608
3. Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G. Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1985;16:562-572
4. Asano T. Vasospasm grand round. CVD grand round series vol. 1. Tokyo: Neuron; 1994:1-16
5. Suzuki J, Onuma T, Yoshimoto T. Results of early operations on cerebral aneurysms. *Surg Neurol* 1979;11:407-412
6. Taneda M. Effect of early operation for ruptured aneurysms on prevention of delayed ischemic symptoms. *J Neurosurg* 1982;57:622-628
7. Mizukami M, Kawase T, Usami T, et al. Prevention of vasospasm by early operation with removal of subarachnoid blood. *Neurosurgery*

1982;10:301-307

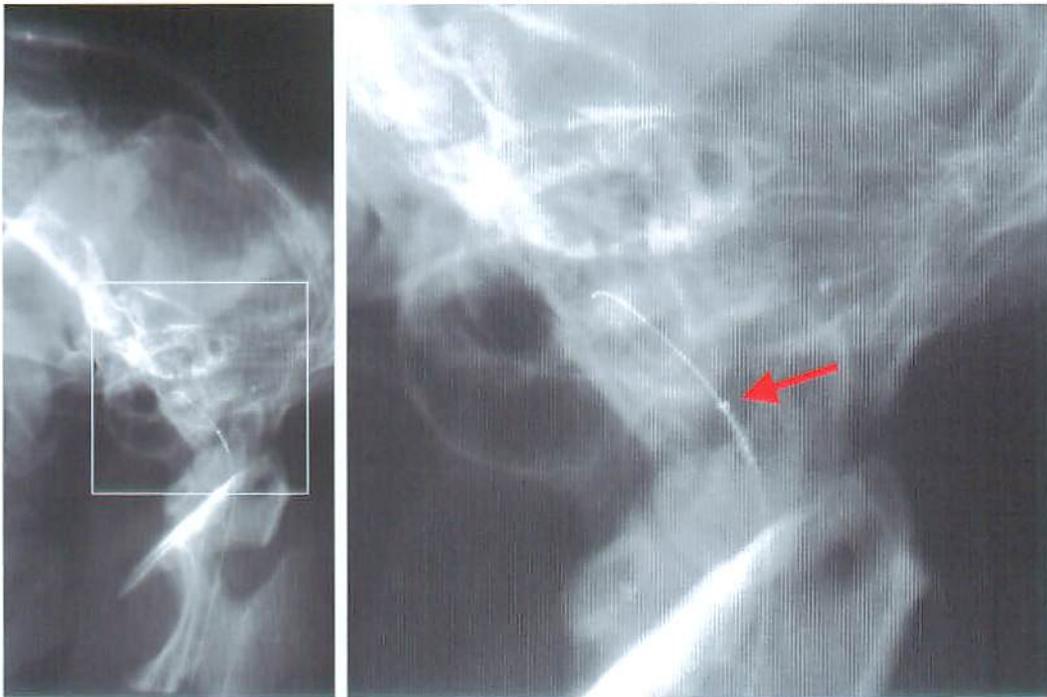
8. Alksne JF, Branson PJ, Bailey M. **Modification of experimental post-subarachnoid hemorrhage vasculopathy with intracisternal plasmin.** *Neurosurgery* 1986;19:20-25
9. Findlay JM, Weir BKA, Steinke D, Tanabe T, Gordon P, Grace M. **Effect of intrathecal thrombolytic therapy on subarachnoid clot and chronic vasospasm in a primate model of SAH.** *J Neurosurg* 1988;69:723-735
10. Findlay JM, Weir BKA, Gordon P, Grace M, Baughman R. **Safety and efficacy of intrathecal thrombolytic therapy in a primate model of cerebral vasospasm.** *Neurosurgery* 1989;24:491-498
11. Ohman J, Servo A, Heiskanen O. **Effect of intrathecal fibrinolytic therapy on clot lysis and vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage.** *J Neurosurg* 1991;75:197-201
12. Findlay JM, Kassell N, Weir BKA et al. **A randomized trial of intraoperative, intracisternal tissue plasminogen activator for the prevention of vasospasm.** *Neurosurgery* 1995;37:168-178

13. Kinugasa K, Kamata I, Hirotsune N. et al. Early treatment of subarachnoid hemorrhage after preventing rerupture of an aneurysm. *J Neurosurg* 1995;83:34-41
14. Hamada J, Mizuno T, Kai Y, Morioka M, Ushio Y. Microcatheter intrathecal urokinase infusion into cisterna magna for prevention of cerebral vasospasm: preliminary report. *Stroke* 2000;31:2141-2148
15. Megyesi JF, Vollrath B, Cook DA, Findlay JM. In vivo animal models of cerebral vasospasm: a review. *Neurosurgery* 2000;46:448-460; discussion 460-461
16. Kuwayama A, Zervas NT, Belson R, Shintani A, Pickren K. A model for experimental cerebral arterial spasm. *Stroke* 1972;3:49-56
17. Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, et al. Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nifedipine, or papaverine in a "two-hemorrhage" canine model. *J Neurosurg* 1983;58:11-17
18. Ohkuma H, Parney I, Megyesi J, Ghahary A, Findlay JM. Antisense preproendothelin-oligo DNA therapy for vasospasm in a canine model of subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1999;90:1105-1114

19. Seifert V, Eisert WG, Stolke D, Goetz C. Efficacy of single intracisternal bolus injection of recombinant tissue plasminogen activator to prevent delayed cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1989;25:590-598
20. Sako M, Nishihara J, Ohta S, Wang J, Sakaki S. Role of protein kinase C in the pathogenesis of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13:247-254
21. Mizuno T, Hamada J, Kai Y, Todaka T, Morioka M, Ushio Y. Single blood injection into the ventral cisterna magna via microcatheter for the production of delayed cerebral vasospasm in dogs. (unpublished data, 2003)
22. Morita T, Kato H, Iwanaga S, Takada K, Kimura, T. New fluorogenic substrates for alpha-thrombin, factor Xa, kallikreins, and urokinase. *J Biochem (Tokyo)* 1977;82:1495-1498
23. Findlay JM, Weir BKA, Kanamaru K, Grace M, Baughman R. The effect of timing of intrathecal fibrinolytic therapy on cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1990;26:201-206

24. Yoshida Y, Ueki S, Takahashi A, Takagi H, Torigoe H, Kudo S. Intrathecal irrigation with urokinase in ruptured cerebral aneurysm cases. Basic study and clinical application. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1985;25:989-997
25. Ikeda K, Asakura H, Futami K, Yamashita J. Coagulative and fibrinolytic activation in cerebrospinal fluid and plasma after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1997;41:344-349; discussion 349-350
26. Zabramski JM, Spetzler RF, Lee KS, et al. Phase I trial of tissue plasminogen activator for the prevention of vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1991;75:189-1961

Fig. 1 (A) イヌ頭蓋頸椎移行部単純レントゲン写真（側面像）



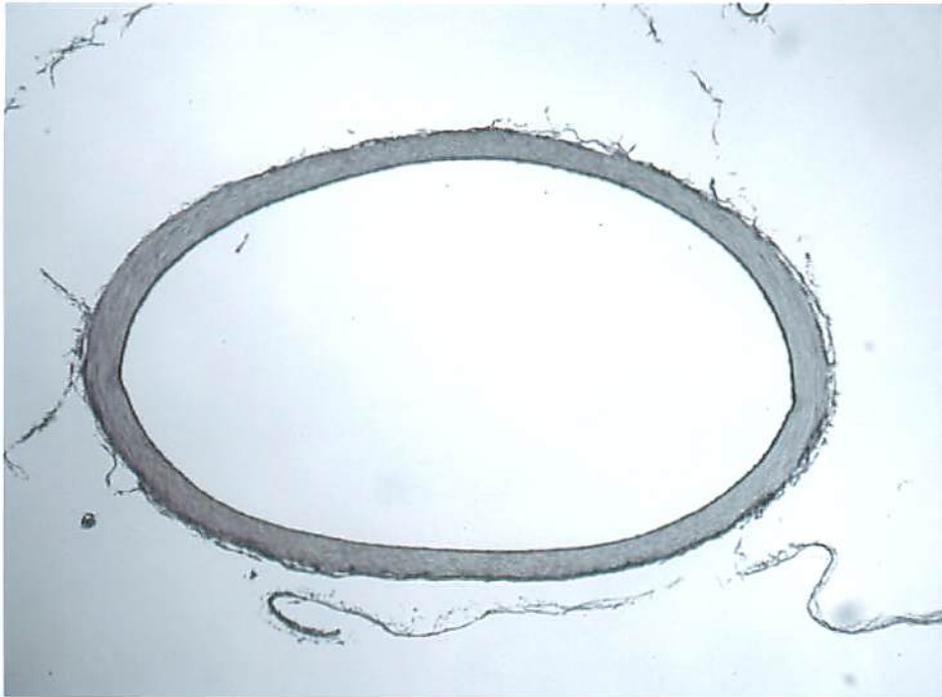
腹側大槽部にマイクロカテーテルを挿入したところを示す（矢印がマイクロカテーテル先端）。マイクロガイドワイヤーを使用することにより、X線透視下での視認性が良好となっている。

Fig. 1 (B) SAHモデル摘出脳の脳幹腹側部



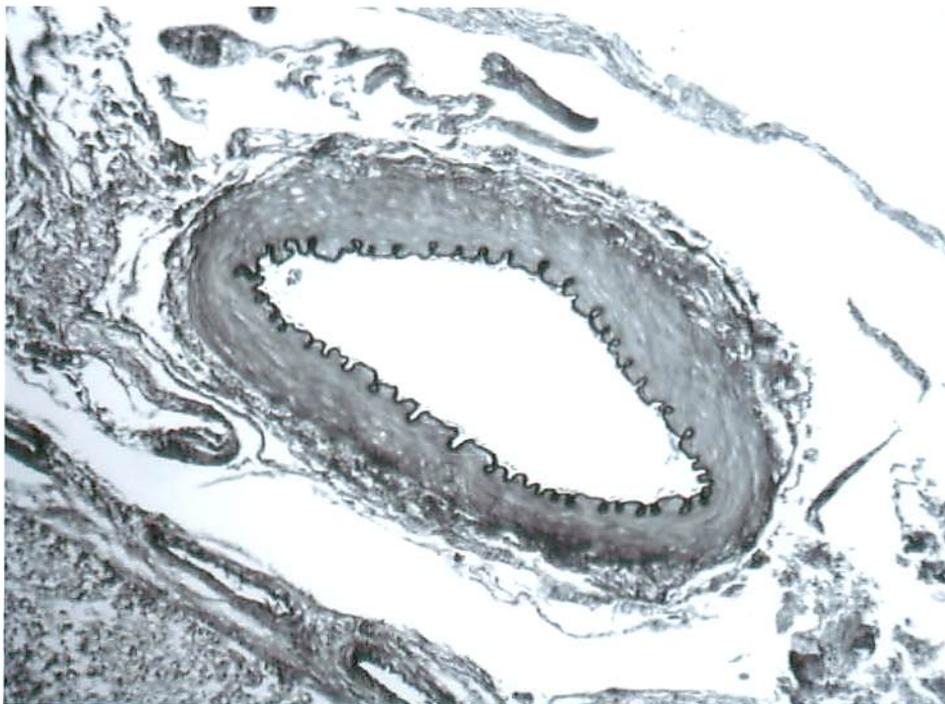
腹側大槽に挿入したマイクロカテーテルより0.5ml/kgの動脈血を一回注入したSAHモデルの脳幹腹側。脳底動脈周囲に強い血腫形成がみられている。

Fig. 2(A) 7日目におけるコントロール群の脳底動脈断面



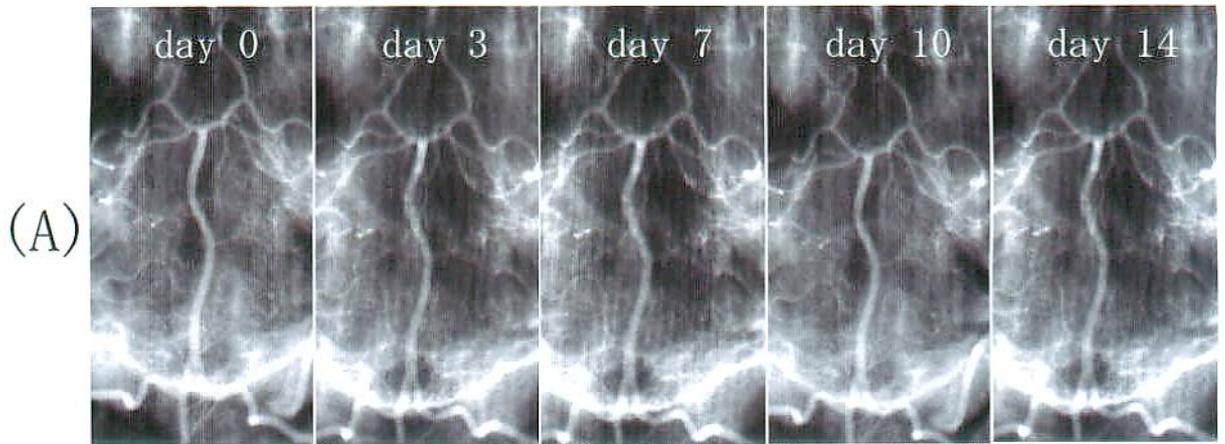
生理食塩水を腹側大槽に注入後7日目の脳底動脈断面。血管内腔の狭小化はなく、動脈壁にも異常は認めない。  
(x100, elastica van Gieson staining) Bar: 100  $\mu$  m

Fig. 2(B) 7日目における0.5-SAH群の脳底動脈断面

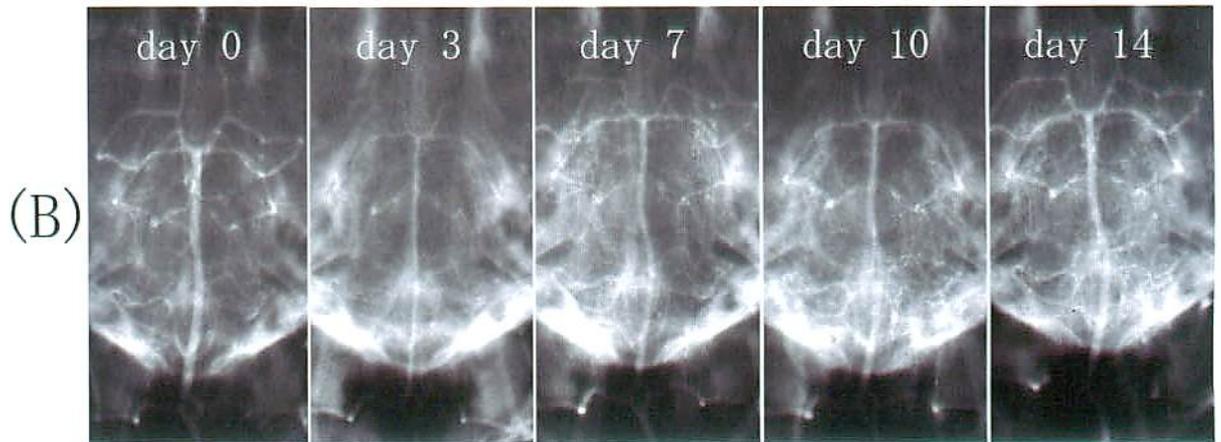


0.5ml/kgの動脈血を腹側大槽に注入後7日目の脳底動脈断面。血管内腔は狭小化し、内弾性版の皺形成、内膜の肥厚が認められる。  
(x100, elastica van Gieson staining) Bar: 100  $\mu$  m

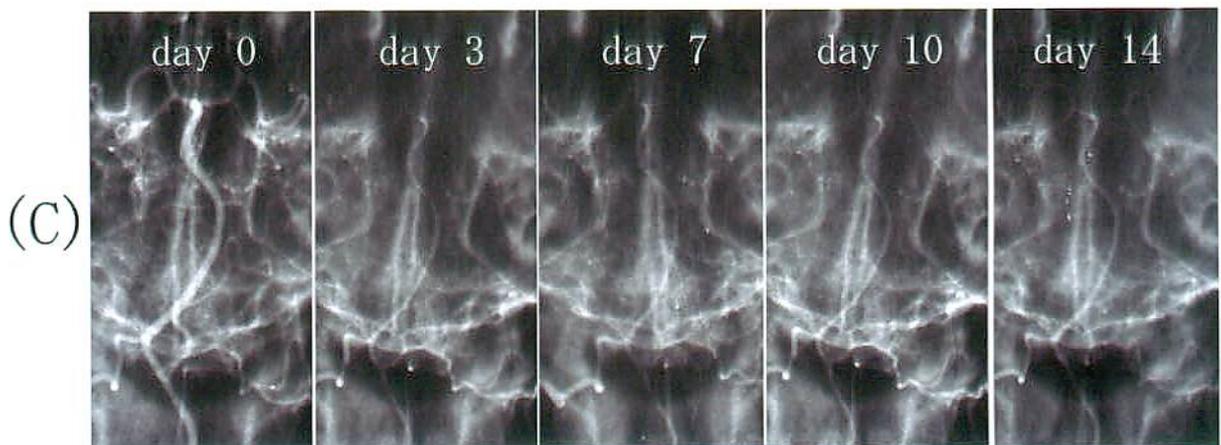
Fig. 3 経時的脳底動脈撮影



コントロール群では14日間の観察期間中に明らかな脳底動脈径の変化は認められない。

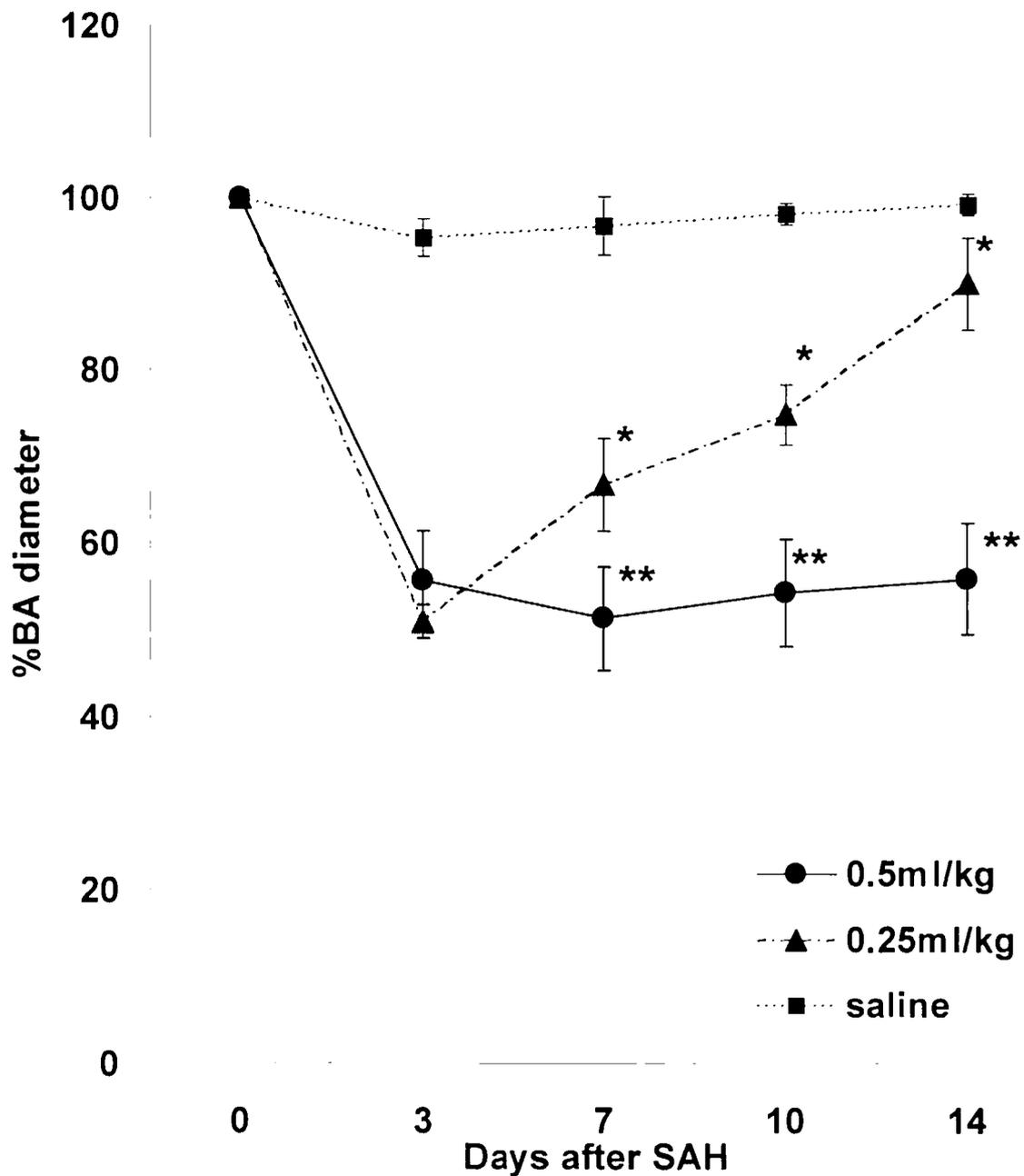


0.25-SAH群では脳底動脈は3日目に50%程度まで収縮するが、その後次第に回復し14日目ではほぼもとの血管径となっている。



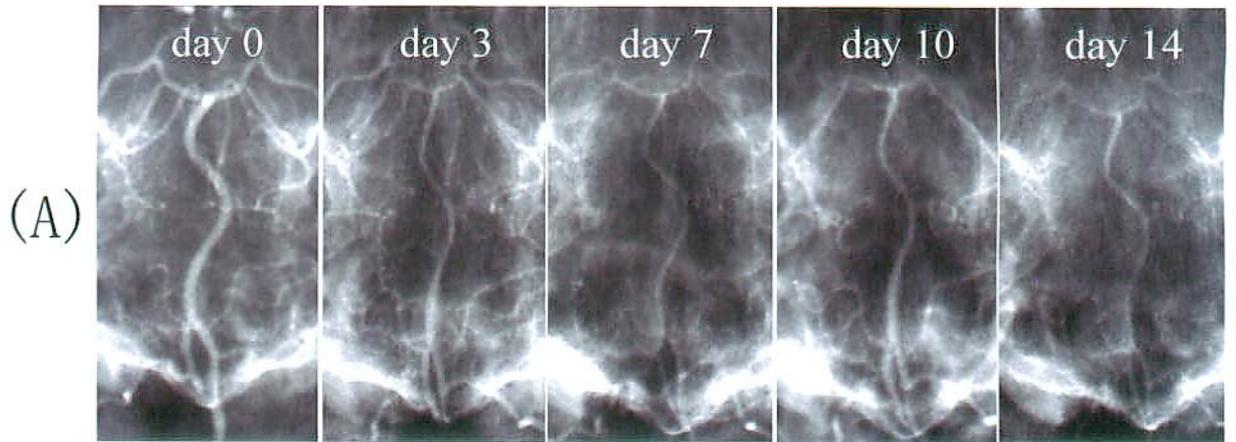
0.5-SAH群では脳底動脈は3日目に50%程度まで収縮し、その後明らかな血管径の回復は認められない。

Fig. 4 脳底動脈径の経時的変化

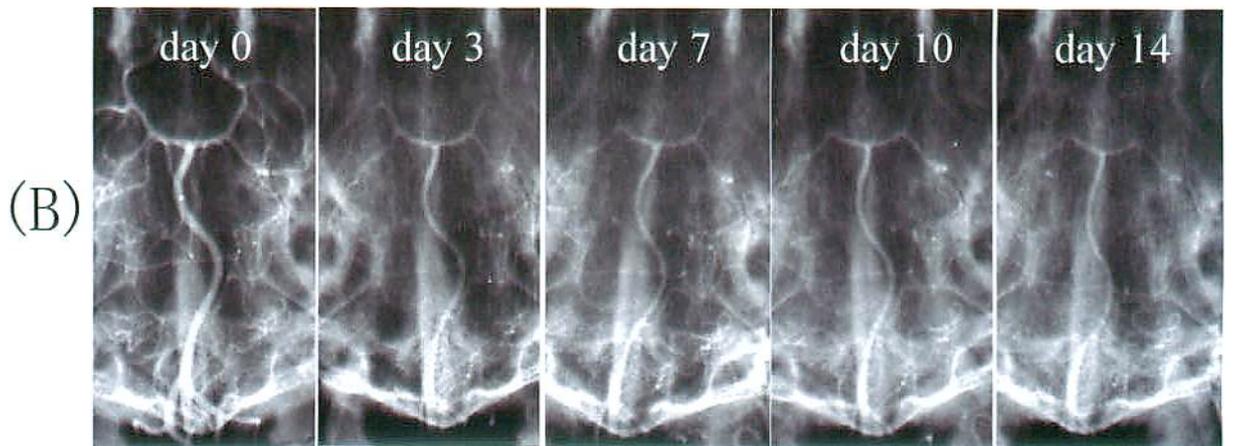


各群の脳底動脈径の経時的変化を示す。0.25-SAH群では全ての計測日でコントロール群に比べて有意な血管収縮を認める(\*,  $p < 0.05$ )。3日目に最大の収縮を示し、その後7日目、10日目、14日目と次第に血管径が回復している。これに対して0.5-SAH群では3日目以後も血管収縮が持続し、血管径の回復が認められない。7日目、10日目、14日目のそれぞれにおいて0.25-SAH群よりも強度の血管収縮が認められている(\*\*,  $p < 0.05$ )。

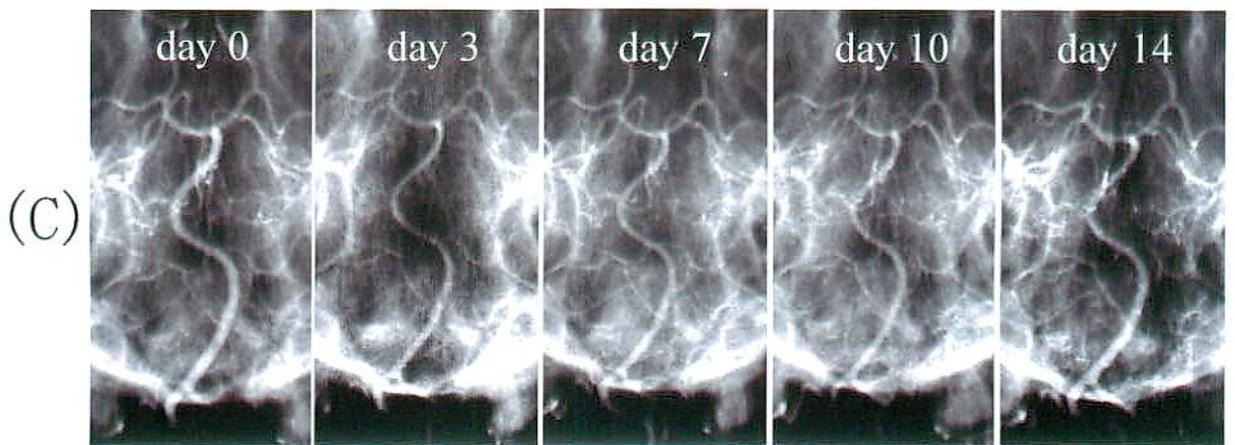
Fig. 5 経時的脳底動脈撮影



コントロール群では、脳底動脈は3日目に50%程度まで収縮したままであり、その後血管径の回復は認められない。

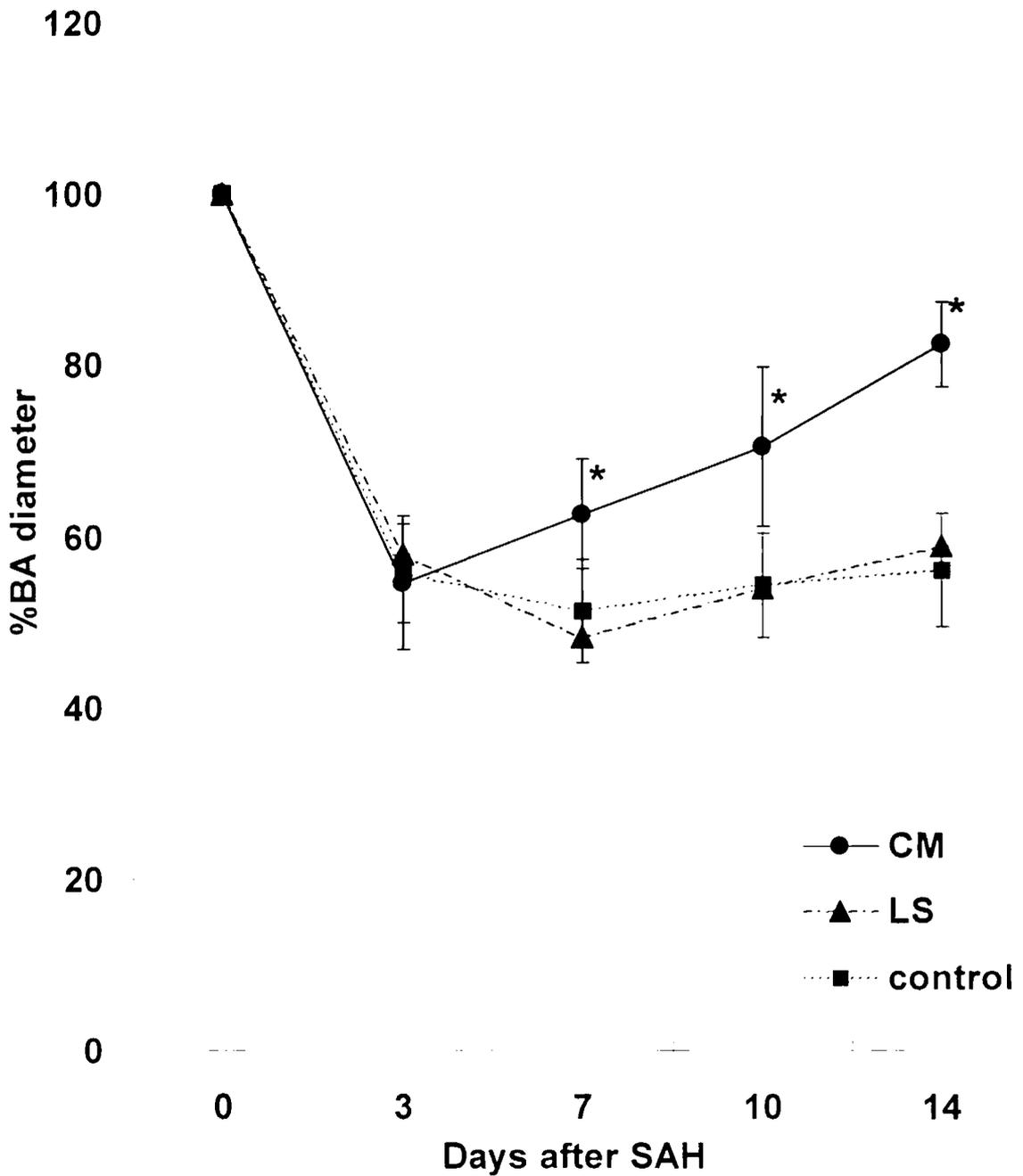


LS群では、脳底動脈はコントロール群と同様3日目に50%程度まで収縮し、その後明らかな血管径の回復は認められない。



CM群では、脳底動脈は3日目には約50%程度まで収縮するが、その後7日目、10日目、14日目と血管径が次第に拡張している。

Fig. 6 脳底動脈径の経時的変化

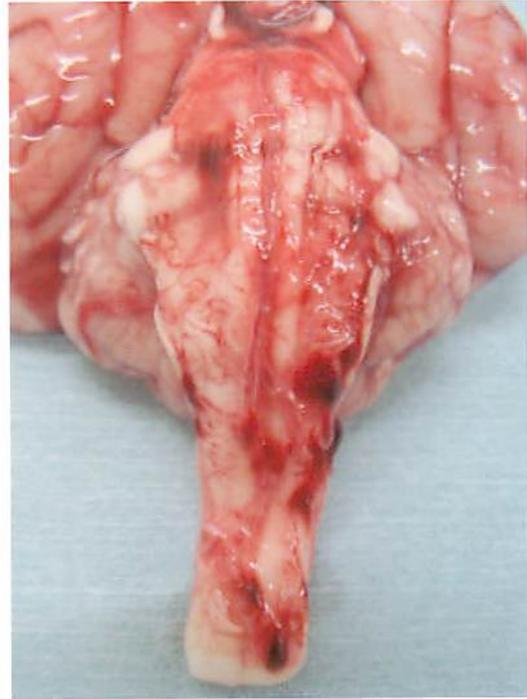
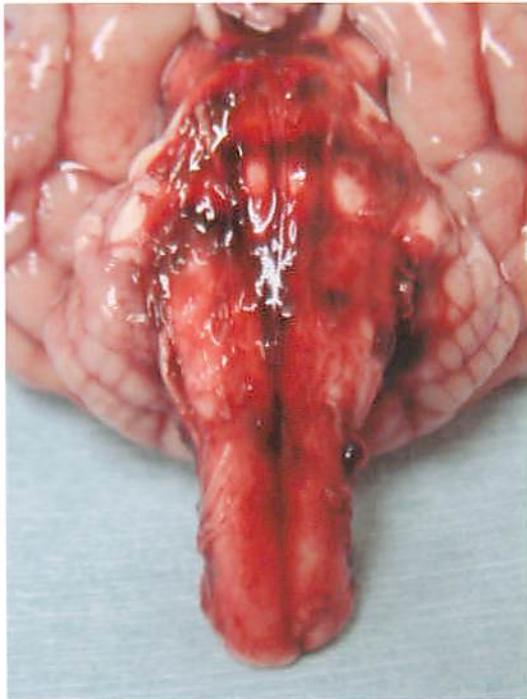


各群の脳底動脈径の経時的変化を示す。LS群では全ての計測日でコントロール群と有意な差はなく、脳底動脈の持続的な収縮を認める。これに対してCM群では、3日目には強度の収縮を示すが、その後7日目、10日目、14日目と次第に血管径が回復している。CM群における7日目、10日目、14日目の脳底動脈は他の二群に比べて有意な拡張を示している(\*、 $p < 0.05$ )。

## Fig. 7 脳底部残存血腫の観察

(A) LS群

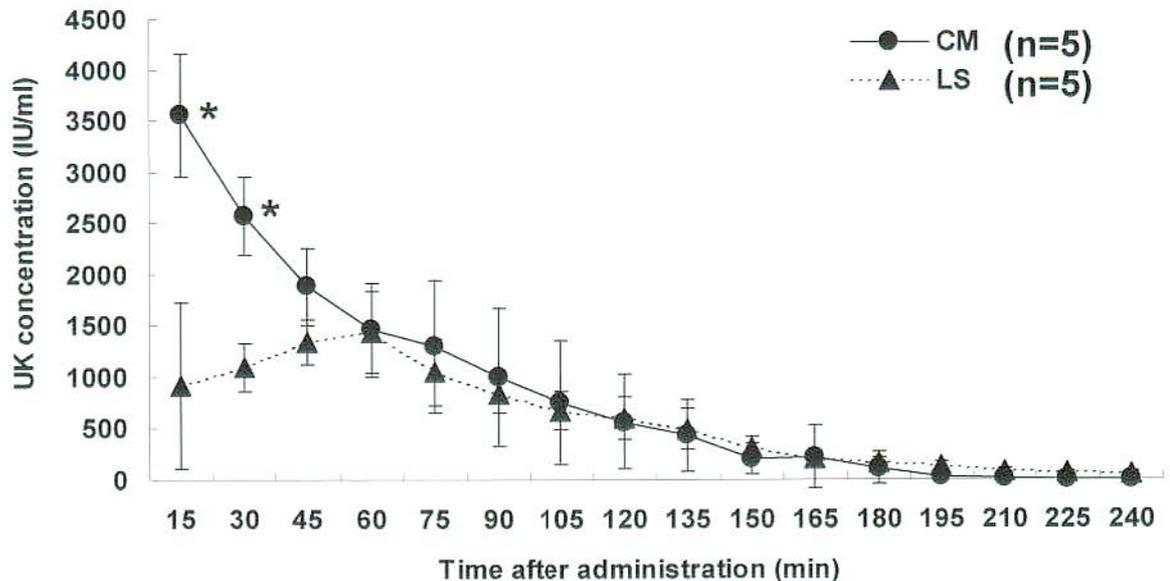
(B) CM群



SAH作成24時間後に、UK (1000 IU/kg) を腰椎部くも膜下腔から投与した場合。UK投与24時間後の摘出脳脳底部では脳底動脈周囲を含めた脳幹前面部に血腫の残存を強く認めている。

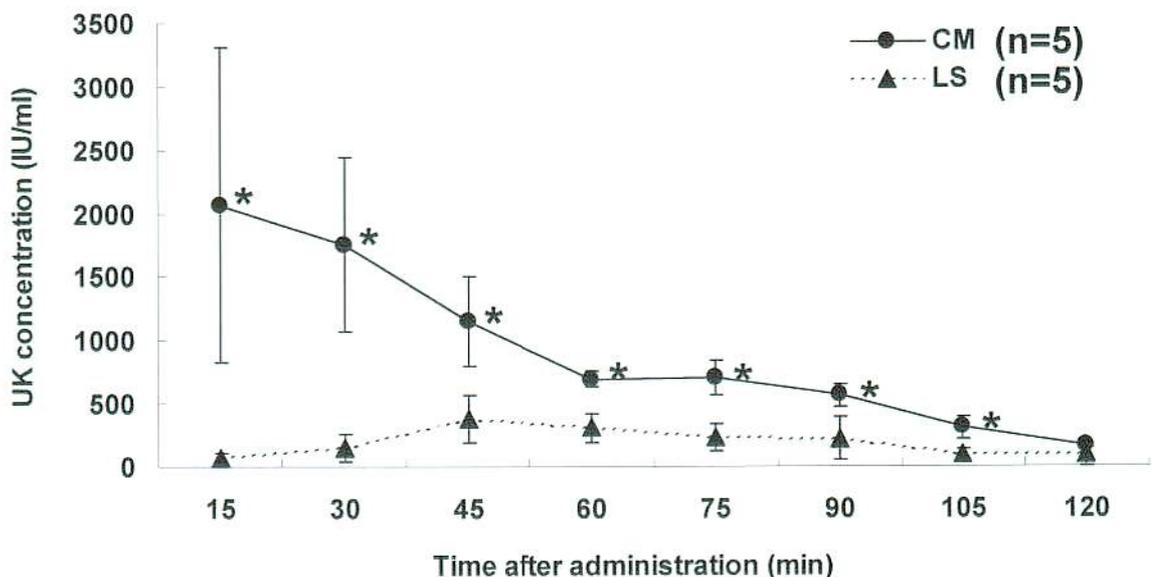
SAH作成24時間後に、UK (1000 IU/kg) を大槽部から投与した場合。UK投与24時間後の摘出脳脳底部では脳幹前面の血腫はほぼ消失している。

Fig. 8 UK濃度の経時的変化(大槽部)



1000 IU/kgのUKを大槽部あるいは腰椎部から注入し、腹側大槽部で濃度測定を行った場合のUK濃度の変化を示す。UK注入後最初の30分まではCM群がLS群よりも有意に高値である (\*,  $p < 0.05$ ) が、その後は有意差は認められない。CM群における平均最大濃度はLS群の平均最大濃度の2.5倍に達している。

Fig. 9 UK濃度の経時的変化 (シルビウス裂)



1000 IU/kgのUKを大槽部あるいは腰椎部から注入し、シルビウス裂部で濃度測定を行った場合のUK濃度の変化を示す。UK注入後105分までには、CM群がLS群よりも有意に高値を示している (\*,  $p < 0.05$ )。CM群における平均最大濃度はLS群の平均最大濃度の6.7倍に達している。