

19001870

# 低体温における脳血流，脳代謝の 部位特異的变化の解明

(課題番号 08671560)

平成8年度～平成9年度 科学研究費補助金

(基盤研究C) 研究成果報告書

平成11年3月

研究代表者 佐古和廣

(旭川医科大学 医学部 脳神経外科)

## はしがき

心臓血管手術において体循環停止時の全身臓器特に脳保護のために高度低体温が用いられてきた。最近高度低体温ばかりでなく、軽度低体温も脳虚血、頭部外傷において脳保護作用があることが認められて以来、低体温療法として広く臨床で応用されつつある。しかし、低体温時の脳血流、脳代謝に関する研究は少なく、その多くは全脳レベルのもので脳局所の血流、代謝を測定した報告は少ない。

われわれは低体温の虚血脳の各種パラメーターに及ぼす影響および脳保護効果を研究中大脳皮質と深部核で低体温中の血流低下に差のあることを認めた。従来から低体温時脳血流が低下することはよく知られていたが、均一的に低下するのか否かについては詳細な検討はない。本研究は低体温時の局所脳血流、グルコース代謝から、低体温時の脳循環代謝を研究することを目的として始めた。

## 研究組織

研究代表者：佐古和廣（旭川医科大学 医学部 脳神経外科 講師）  
研究分担者：遠山義浩（旭川医科大学 医学部 脳神経外科 助手）  
研究分担者：米増祐吉（旭川医科大学 医学部 脳神経外科 教授）  
（研究協力者：杉村敏秀）

## 研究経費

平成8年度	1,400	千円
平成9年度	700	千円
計	2,100	千円

## 研究発表

### (1) 学会誌等

- 1) Sugimura T, Sako k, Tohyama Y, Yonemasu Y: Consecutive in vivo measurement of nitric oxide in transient forebrain ischemic rat under normothermia and hypothermia. *Brain Res* 808:313-316, 1998
- 2) Tohyama Y, Sako K, Yonemasu Y: Hypothermia attenuates hyperglycolysis in the periphery and ischemic core in rat brain. *Exp Brain Res* 122:333-338, 1998

### (2) 口頭発表

- 1) 杉村敏秀、佐古和廣、遠山義浩、米増祐吉：ラット一時的脳虚血再灌流モデルにおけるNO産生の経時的変化—normothermiaとhypothermiaの比較— 第8回日本脳循環代謝学会、1996/11/20、大阪
- 2) 杉村敏秀、佐古和廣、遠山義浩：ラット脳血流自動調節能における一酸化窒素の関与—in vivo microdialysis法による経時的測定— 第56回日本脳神経外科学会、1997/11/23、大阪

## 研究成果

### 研究目的

心臓血管手術において体循環停止時の全身臓器特に脳保護のために高度低体温が用いられてきた。最近高度低体温ばかりでなく、軽度低体温も脳虚血において脳保護作用があることが認められて以来<sup>4</sup>、低体温療法として広く臨床で応用されつつある。しかし、低体温時の脳血流、脳代謝に関する研究は少なく、その多くはは全脳レベルのもので<sup>5,7,13,17</sup>、脳局所の血流、代謝を測定した報告は少ない<sup>3,12</sup>。

われわれは脳虚血モデルラットにおいて低体温療法の脳保護効果の研究中に大脳皮質と深部核で低体温中の血流低下に差のあることを認め、低体温時の脳局所血流、局所グルコース代謝を測定し、低体温のこれらのパラメーターに及ぼす影響につき検討し、さらに低体温の脳血流調節因子に及ぼす影響についても検討することを目的とした。

### 方法

#### 1) 使用動物

雄性ウイスターラット（体重220～300 g）を使用した。脳血流、脳グルコース代謝の測定以外はすべての実験は軽度ハロセン麻酔下（0.5～1%）で行われた。体温測定用プローブを肛門から6 cm以上直腸に挿入し、直腸温を連続的に測定した。

#### 2) 脳温度の測定

脳温度の測定には直径16  $\mu$  mのthermocoupleプローブ(Physitemp Instrument, NJ, USA)を頭頂葉皮質と尾状核中心に定位的に挿入し、脳温度を連続的に測定した。

#### 3) 局所脳血流測定

ラットをハロセン麻酔下に大腿動静脈にカニューレションし、下半身をギプス固定し鉛のブロックに固定し麻酔より覚醒させた。体温をheating lampあるいはice packを用いて37℃あるいは30℃に調節し安定してから、静脈より14C-iodoantipyrine 30  $\mu$  Ciを30秒で注入し、約5秒間隔で動脈血を採取し、注入終了直前に断頭し、すばやく脳を取り出し、ドライアイスで冷却したイソペンタンで凍結固定する。凍結固定した脳をクライオスタットで20  $\mu$  mの厚さの連続切片とし、カバーガラス上に取り60℃のホットプレート上で乾燥固定し、乾燥固定した切片をすでに検定されているスタンダードと一緒にフィルムに密着させオートラジオグラフィを作成した。出来上がったフィルムのスタンダードからスタンダードカーブを作成し、脳組織のトレーサー濃度を算定した。一方採取した動脈血よりトレーサーの血中濃度を液体シンチレーションカウンターで測定し、Sakuradaら<sup>14</sup>により報告された演算式にて局所脳血流を求めた。

#### 4) 局所脳グルコース代謝測定

脳血流測定と同様に動物の準備をして、麻酔より覚醒させた。体温をlampあるいはice packを用いて37℃あるいは30℃に調節し安定してから、静脈より<sup>14</sup>C-deoxyglucose 30 μ Ciをbolusで注入し、一定の間隔で45分間にわたって14回動脈血を採取し、45分後に断頭し、以下<sup>14</sup>C-iodoantipyrine オートラジオグラフィーと同様の手順でオートラジオグラフィーを作成した。脳組織のトレーサー濃度と動脈血の経時的トレーサー濃度から、Sokoloffら<sup>16</sup>により報告された演算式より局所脳グルコース代謝を求めた

#### 5) 脳内一酸化窒素とアデノシンの測定

実験前日にペントバルビタール麻酔下にマイクロダイアリース用透析プローブのガイドカニューラを左頭頂葉皮質内と尾状核中心部に低位的に挿入、固定した。その後麻酔より覚醒させ24時間飼育した。翌日ハロセン麻酔下にマイクロダイアリース用透析プローブ (膜長 3 mm, straight double luminal type)を挿入し、Ringer液を2 μ l/minで灌流し、10分毎に回収した。回収液中のNO<sub>3</sub>はカドミウム還元カラムでNO<sub>2</sub>に還元され回収液はエイコムENO-10にて閉鎖回路で自動的にNO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>あるいはアデニン濃度が測定される。

### 結果

#### 1) 生理的パラメーター

常温と低体温時の生理的パラメーターの測定結果を Table 1に示した。両群間に統計学的に有意差は認めなかった。

**Table 1**

**Physiological parameters in normothermic and hypothermic rats**

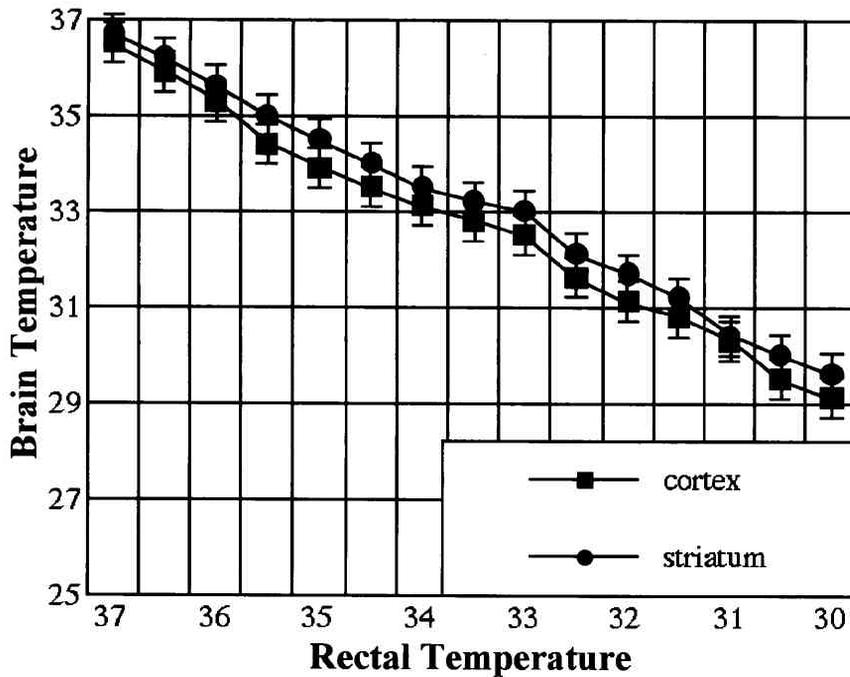
	Mean arterial pressure (mmHg)	Arterial PCO <sub>2</sub> (mmHg)	Arterial PO <sub>2</sub> (mmHg)	Arterial pH	
Hematocrit					(%)
Normothermia(n=14)	113 ± 8	38.2 ± 2.2	110 ± 23	7.41 ± 0.03	45 ± 2
Hypothermia(n=14)	104 ± 6	40.1 ± 3.1	116 ± 18	7.38 ± 0.03	47 ± 3

#### 2) 体温 (直腸温) と脳内温度の関係

体温が37℃においては大脳皮質の温度は36.5 ± 0.3℃で尾状核は36.7 ± 0.2℃であった。体温をice packを用いて0.5℃ずつ徐々に30℃まで低下させた時の体温と脳内温度の関係をFigure 1に示した。体温と脳内温度はほぼ平行して低下した。30℃では皮質、尾状核それぞれ29.1 ± 0.2, 29.6 ± 0.3と脳内温度が直腸温より低い傾向を示した。

Figure 1

Relationship between rectal temperature and brain temperature



### 3) 局所脳グルコース代謝

常温，低体温時の脳局所グルコース代謝の測定結果をTable 2に示した。低体温では脳各部位のグルコース代謝は46～59  $\mu$  mol/100g/minの範囲であった。低下率は40.0～55.3%の範囲で，皮質の平均低下率は50.7%で，深部核の平均低下率は44.7%で両者間に有意差は認められなかった ( $p=0.146$ )。

### 4) 局所脳血流

常温，低体温時の局所脳血流の測定結果をTable 3に示した。低体温では脳各部位の脳血流は118～64 ml/100g/minの範囲であった。低下率は18.6～49.2%の範囲で，皮質の平均低下率は24.2%で，深部核の平均低下率は41.6%で両者間に有意差を認めた ( $p=0.003$ )。

**Table 2****Local cerebral glucose utilization in normothermia and hypothermia**

	Normothermia (n=7)	Hypothermia (n=7)	reduction rate	
<b>Cerebral Cortex</b>				
Frontal	102 ± 9	53 ± 18	48.1	
Sensorimotor	108 ± 18	56 ± 16	48.5	
Parietal	101 ± 13	52 ± 17	48.6	
Auditory	126 ± 15	59 ± 17	43.2	
Visual	105 ± 15	47 ± 13	55.3	
<b>Deep Seated Nucleus</b>				
Caudate	lateral	85 ± 15	51 ± 18	40.0
	medial	84 ± 12	46 ± 14	45.3
Thalamus	lateral	96 ± 15	52 ± 15	45.9
	medial	97 ± 14	51 ± 17	47.5

Values are mean ± S.D., in  $\mu$  mol/100g/min

**Table 3****Local cerebral blood flow in normothermia and hypothermia**

	Normothermia (n=7)	Hypothermia (n=7)	reduction rate	
<b>Cerebral Cortex</b>				
Frontal	116 ± 15	89 ± 8	23.2	
Sensorimotor	140 ± 24	114 ± 6	18.6	
Parietal	127 ± 19	91 ± 7	28.3	
Auditory	163 ± 26	118 ± 7	27.6	
Visual	117 ± 15	90 ± 6	23.1	
<b>Deep Seated Nucleus</b>				
Caudate	lateral	119 ± 22	74 ± 7	37.8
	medial	112 ± 20	75 ± 6	33.0
Thalamus	lateral	124 ± 22	68 ± 6	46.2
	medial	126 ± 28	64 ± 7	49.2

Values are mean ± S.D., in ml/100g/min

5) 一酸化窒素(NO)とアデノシン濃度

常温と低体温時のNO産生量をTable 4に示した。常温で皮質(parietal cortex)に比較して深部核(caudate nucleus)でNOの濃度が低い結果であった。低体温でNO産生量は皮質、深部核ともに低下するが両群間に有意差はなかった。

アデノシン濃度は (Table 5) 低体温で常温に比較し皮質、深部核ともに有意に低下し、さらに低体温時caudate nucleusの濃度がparietal cortexに比較して有意に低い結果であった。

**Table 4**  
**NO concentration in normothermia and hypothermia**

	37°C	30°C	reduction rate
Parietal Cortex	51.0±3.1	47.8±3.3	6.3
Caudate Nucleus	43.6±2.1*	41.8±2.5	4.3

p mol/20 μ l dialysate

\*p<0.005, comparison between parietal cortex and caudate nucleus in normothermia

**Table 5**  
**Adenosin concentration in normothermia and hypothermia**

	37°C	30°C	reduction rate
Parietal Cortex	221.5±15.9	131.5±10.4***	40.6
Caudate Nucleus	215.4±11.3	101.5±26.9*** #	52.9

p g/20 μ l dialysate

\*\*\*p<0.001, comparison between normothermia and hypothermia

#p<0.01, comparison between parietal cortex and caudate nucleus in hypothermia

## 考察

### 1) 直腸温と脳温の関係

直腸温と脳温の関係についてはMiyazawa and Hossmann<sup>9)</sup>はラットの線状体の温度が直腸温より1℃低いことを報告している。今回のデータは直腸温が37℃では皮質、線状体でそれぞれ $36.5 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 、 $36.7 \pm 0.2^\circ\text{C}$ と彼らの報告と同様の傾向を示した。直腸温の低下に伴って脳温も平行して低下し、直腸温30℃では皮質、線状体でそれぞれ $29.1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、 $29.6 \pm 0.3^\circ\text{C}$ であった。体温を徐々に下降させた時の皮質と線状体の脳温を比較した報告はないが、Bustoら<sup>4)</sup>、Miyazawa and Hossmann<sup>9)</sup>の脳温と側頭筋の温度を比較したデータでは、常温下で脳虚血（4血管閉塞）にすると両者とも低下するが、脳温の方がより高度の低下を示し、その理由として虚血により脳の代謝が早期に低下する結果<sup>4)</sup>、あるいは虚血により脳と側頭筋の血流低下の程度に差があり、側頭筋が残存血流が多いためと推察している<sup>9)</sup>。彼らの説明根拠を今回のデータにあてはめてみると、今回はice packで体温すなわち循環血液の温度を低下させているので血流の多い方が脳温はより低下することが推測される。すなわち脳温からは皮質の方が線状体より血流が多いことが予測された。

### 2) 低体温と脳グルコース代謝

Palmerら<sup>12)</sup>は新生犬を用いて、直腸温20℃まで下げた時の脳局所グルコース代謝を測定し、 $0.47 \sim 0.57 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ の範囲で比較的均一に低下することを報告している。これはコントロールの2.0~6.5%で、低下率では93.5~98%である。今回の我々のデータは直腸温が30℃であるので低下率は低いが、同様に $46 \sim 59 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ の範囲で、低下率では40.0~55.3%の範囲であった。McCullochら<sup>10)</sup>はラットで1℃の体温低下でグルコース代謝は6.5%低下することを報告しているが、今回の結果は彼らの報告と一致するものであった。

低体温時に何故代謝が低下するのかはいまだ明らかになっていない。Hagerdalら<sup>5)</sup>は低体温時においてもエネルギー要求に応じて代謝量が決められると言っている。

Michenfelderら<sup>8)</sup>は低体温時の脳波を記録し、37℃から27℃に低下させた時周波数の変化はないが、振幅が徐々に低下すると述べている。確かに30℃の低体温にするとラットはほとんど無動化し脳の活動も低下していることが推測される。低体温により神経伝達物質の生成、放出が抑制されるので<sup>2,6,10,19)</sup>低体温により脳機能が低下し、その結果グルコース代謝が低下するという可能性とグルコース代謝の低下の結果エネルギー不足にて神経伝達物質が生成されないという両方の可能性があるが、どちらが原因でどちらが結果かは今回の研究にみでは決定できない。

### 3) 低体温と脳血流

低体温時には脳血流も低下することは古くから知られていたが<sup>13)</sup>、その機序については代謝と同様によく分かっていない。低体温時の脳血流は代謝の低下に比較して変動があることが指摘されているが<sup>20)</sup>、その大きな要因として低体温時の血液ガス

(PCO<sub>2</sub>)の変化が強く関与していることが言われている<sup>15)</sup>。しかし今回の測定では低体温ラットはPCO<sub>2</sub>は高い傾向を示し、pHも酸性傾向を示しているが統計学的に有

意なものではなく、これらの要因の関与は考えがたい。

代謝の低下に従って血流が低下するという考えが一般的には支持されているが<sup>1)</sup>、皮質と深部核を比較すると、グルコース代謝は両者で有意差なく、かなり均一に低下したのに対し、血流は皮質で平均24.2%、深部核で平均41.6%とその低下率には明らかな解離が見られた。低体温に対する脳血流調節因子の反応に皮質と深部核で違いがあるのではないかという仮設に基づいて今回の研究が開始されたが、結果はNOは低体温でその産生が皮質、深部核ともに軽度低下を示したが、両者間に有意差はなく、一方アデノシンは低体温でのその産生の低下率は皮質では40.6%、深部核では52.9%と有意な差異を示した。

Zarins and Skinner<sup>2)</sup>は犬で低体温時に臓器間でその血流低下に差異があり、脳、心筋と言ったvital organでは低下率が低いことを報告し、Aoyagiら<sup>1)</sup>はサルで33℃から18℃に体温を下げた時、皮質の血流はかえって増加し、基底核、視床等は不変でありこれらの部位で血流の反応性に解離のあることを報告している。今回のデータも同じ脳内でも何らかの要因により、部位特異的に血流低下が調節されていることを支持する所見であり、その調節因子の一つとしてアデノシンが示唆された。今後さらに各種の血流調節因子として挙げられている物質につき検証することが、低体温時の脳循環動態の正確な把握はもちろん脳血流調節因子の解明にも寄与するものと考ええる。

## 文献

- 1) Aoyagi M, Flasterstein AH, Barnette J, Von Kock L, Ross JN, Kennedy JH: Cerebral effects of profound hypothermia (18°C) and circulatory arrest. *Circulation* 51-52, Suppl I: I52-I60, 1975
- 2) Boels PJ, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM: Moderate cooling depresses the accumulation and the release of newly synthesized catecholamines in isolated canine saphenous veins. *Experientia* 41:1374-1377, 1985
- 3) Busija DW, Leffler CW: Hypothermia reduces cerebral metabolic rate and cerebral blood flow in newborn pigs. *Am J Physiol* 253:H869-873, 1987
- 4) Busto R, Dietrich WD, Globus M YT, Valdes I, Scheinberg P, Ginsberg MD: Small differences in intraschemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 7:729-738, 1987
- 5) Hagerdal M, Harp J, Nilsson L, Siesjo BK: The effect of induced hypothermia upon oxygen consumption in the rat brain. *J Neurochem* 24:311-316, 1975
- 6) Haikala H, Karmalahti T, Ahtee L: The nicotine-induced changes in striatal dopamine metabolism of mice depend on body temperature. *Brain Res* 375:313-319, 1986
- 7) Michenfelder JD, Theye RA: Hypothermia : Effect on canine brain and whole body metabolism. *Anesthesiology* 29:1107-1112, 1968
- 8) Michenfelder JD, Milde JH: The relationship among canine brain temperature, metabolism, and function during hypothermia. *Anesthesiology* 75: 130-136, 1991
- 9) Miyazawa T, Hossmann KA: Methodological requirement for accurate measurements of brain and body temperature during global forebrain ischemia of rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 12:817-822, 1992
- 10) McCulloch J, Savaki HE, Jehle J, Sokoloff L: Local cerebral glucose utilization in hypothermic and hyperthermic rats. *J Neurochem* 39:255-258, 1982
- 11) Okuda C, Saito A, Miyazaki M, Kuriyama K: Alteration of the turnover of dopamine and 5-hydroxytryptamine in rat brain associated with hypothermia. *Pharmacol Biochem Behav* 25:79-83, 1986
- 12) Palmer C, Vannucci RC, Christensen MA, Brucklacher RM: Regional cerebral blood flow and glucose utilization during hypothermia in newborn dogs. *Anesthesiology* 71:730-737, 1989
- 13) Rosomoff H, Holaday DA: Cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption during hypothermia. *Am J Physiol* 179:85-88, 1954
- 14) Sakurada O, Kennedy C, Jehle J, Brown JD, Carbin GL, Sokoloff L: Measurement of local cerebral blood flow with iodo(14C)antipyrine. *Am J Physiol* 234:H59-H66, 1978
- 15) Siesjo B: Effects of hypothermia on brain energy metabolism, in *Brain Energy Metabolism*. Chichester, England, John Wiley & Sons, Inc, 1978, pp332-334
- 16) Sokoloff L, Reivich M, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, Sakurada O, Shinohara J: The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure and normal values in the conscious and

- anesthetized albino rat. *J Neurochem* 28:897-916, 1977
- 17) Steen PA, Milde JH, Michenfelder JD: The detrimental effects of prolonged hypothermia and rewarming in the dog. *Anesthesiology* 52:224-230, 1980
  - 18) Tohyama Y, Sako K, Yonemasu Y: Hypothermia attenuates hyperglycolysis in the periphery of ischemic core in rat brain. *Exp Brain Res* 122:333-338, 1998
  - 19) vanhoutte PM, Verbeuren TJ, Webb RC: Local modulation of the adrenergic neuroeffector interaction in the blood vessel wall. *Physiol Rev* 61:151-247, 1981
  - 20) Verhaegen MJJ, Todd MM, Hindman BJ, Warner D: Cerebral autoregulation during moderate hypothermia in rats. *Stroke* 24:407-414, 1993
  - 21) Zarins C, Skinner DB: Circulation in profound hypothermia. *J Surg Res* 14:97-104, 1973