

くも膜下出血後の線溶系と脳血管攣縮についての 実験的研究

聖マリアンナ医科大学第2外科学教室
京都大学医学部脳神経外科学教室 (指導: 半田 肇教授)

吉 田 康 成

〔原稿受付: 昭和53年6月15日〕

Experimental Studies on Fibrinolytic Activity and Angiospasm Following Subarachnoid Hemorrhage in Dogs

YASUAKI YOSHIDA

The 2nd Surgical Department, St. Marianna University School of Medicine and
the Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

The present study was carried out to estimate the importance of fibrinolytic activity in rerupture of cerebral aneurysms. Artificial subarachnoid hemorrhage was induced in dogs by intrathecal arterial blood injection. The fibrinolytic activities of both the systemic blood and cerebrospinal fluid were measured from samples taken just before, and 2, 4, 7, 9, 14 and 21 days after the hemorrhage.

The methods employed to measure fibrinolytic activity were Lysin-sepharose affinity chromatography and the TNP method for plasminogen and anti-plasmin, the fibrin plate method for total plasmin activity, and the Latex method for fibrin and fibrinogen degradation products (FDP).

Results

In the cerebrospinal fluid, total plasmin activity and FDP reached maximum mean values 2 days after intrathecal injection of whole blood and then gradually decreased to the pre-hemorrhage levels. However, in regard to the relative changes of the plasminogen and anti-plasmin in the cerebrospinal fluid, it is difficult to determine at what stage fibrinolysis was at the maximum level.

As for the systemic blood, all the factors measured showed a gradual elevation

Key word : Fibrinolytic activity, Angiospasm, Subarachnoid hemorrhage, Aneurysm, Rerupture, Hemoglobin.

Present address : The 2nd Surgical Department, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki, Kanagawa, 213, Japan.

in activity, attained their maximum levels 7 or 9 days after the intrathecal injection, and then gradually decreased towards the pre-injection levels.

Statistically, reruptures of cerebral aneurysms took place most frequently about one week after the initial hemorrhage. Taking this fact into account, the results in this study suggest that increased fibrinolytic activity of systemic blood, rather than that of cerebrospinal fluid, may play the main role in the mechanism of aneurysmal rerupture.

Following this study, further experiments were carried out on dogs to determine the relation between angiospasm and fibrinolytic activity after Subarachnoid hemorrhage

After intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb or met-Hb, Euglobulinlisis time (ELT) and fibrinogen (Fbg.) of systemic blood were measured regularly for about 2 weeks, while angiospasm was estimated angiographically both 3 hours and 3 days afterwards.

The observed sequential changes in the two components (angiospasm and fibrinolysis), suggest the following conclusions :

1. With each of the three substances injected intrathecally, (arterial blood, oxy-Hb and met-Hb) angiospasm continuing for over 3 days was induced.
2. The re-elevation of the Fbg. value suggests either minor leakage or rerupture of the aneurysm rather than angiospasm.
3. The changes with time in the ELT of systemic blood correspond closely to those of FDP, plasminogen and anti-plasmin measured by the affinity chromatography method and to total fibrinolytic activity measured by the fibrin plate method.
4. No direct relation was found between fibrinolytic activity and angiospasm.

結 言

破裂脳動脈瘤の治療成績は、最近の手術手技の進歩に伴い、著しく向上してきているが、手術前の再出血の危険性の問題、および破裂後約1/3の症例で発生する脳血管攣縮の問題は、この疾患の治療を阻害する大きな要素である。この2つの問題点が、いわゆる線溶系の変動といかに関与しているかを検討する目的で以下の2つの実験を行った。

実験 1. くも膜下出血後の線溶動態

線溶系測定の意義

破裂脳動脈瘤の再出血の機序は、必ずしも明らかでないが、その1つの有力な原因として、線維素溶解能の変動があげられている。最初の報告は Mullan²⁷⁾²⁸⁾らによるもので、彼等は脳動脈瘤の再出血までの日数と intravascular thrombus の自然融解までの日数がほぼ一致すること⁵³⁾、出血早期より大量の抗線溶剤を投与することにより、再出血が高率に防止されること¹⁴⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾などを論拠として抗線溶剤の再出血防止の有

効性を強調した。次いで Tovi ら⁵⁵⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾は、破綻血管壁およびその周辺組織の有する局所線溶能の影響、さらに破綻部位に形成された小血栓の外側に灌流する脳脊髄液の中に含まれる線溶因子が再出血に関与することを提唱した。本邦でも、相羽¹⁾²⁾は臨床例についてクモ膜下出血後の髄液の線溶能の動態をフィブリン平板法を用いて測定し、再出血例で髄液線溶能の亢進が著しいと述べ、橋本¹⁶⁾らも、クモ膜下出血後の抗線溶剤の投与にあたっては、髄液線溶能を指標として行うべきであると報告している。

しかし、これらの考え方の妥当性は厳密に検討されたものとは言い難い。たとえば、クモ膜下出血の直後より血液および髄液の線溶は、それぞれどのような経時的変動を示し、且つ、両者はどのような相関を有して再出血に関与するかなどについては、殆んど検討されていない。そこで、これらの点を明確に把握するため以下の実験を行った。

実験方法

犬を用いて実験的にも膜下出血を作製し、その血

液および髄液における線溶活性の変動の経過を、異なる3種類の測定方法を用いて3週間にわたり測定した。用いた測定方法は下記の通りである。

1. Lysin-sepharose affinity chromatography 法および TNP 法による plasminogen および antiplasmin の測定⁹⁾²²⁾²⁶⁾。
2. Fibrin plate 法による total plasmin activity の定量²⁸⁾。
3. ラテックス法によるフィブリン体分解産物 (FDP) の測定¹⁹⁾²⁵⁾。

まず affinity chromatography 法により、出血後の個々の線溶因子の動きを髄液、血漿について検討し、その両者の変動の意義を考察した。同時に、総和としての線溶活性の把握の目的でフィブリン平板法を用いた。フィブリン体分解産物の測定は、線溶活性の直接的反応の結果としての意味だけでなく、それ自体も線溶能を有する点からも、線溶系の検討に際して有意のものと考えられる。

1. くも膜下出血犬の製作と試料採取

10~15kgの成犬を用い、ラボナールによる静脈麻酔下に後頭下穿刺を行い、0.3ml/kgの自家動脈血を、くも膜下腔内へ注入し、くも膜下出血犬を作製した。血液注入前に採取した髄液および末梢血を対照とし、出血作製以後は、2日、4日、7日、9日、14日および21日後の計6回にわたり、それぞれ初回同様の静脈麻酔下に、髄液および血液の採取を行った。なお、注入血液量を0.3ml/kgとしたのは、この注入量の場合、髄液におけるキサントクロミーの持続日数が1週間強程度となり、臨床例における平均持続日数¹⁷⁾約9日とほぼ一致するためである。

2. 線溶活性測定法

a. plasminogen および antiplasmin 定量測定は10頭の犬を対象とし、別に同量の生理食塩水を注入した2頭を対照群とした。髄液および、0.38%クエン酸塩加血漿 (いずれも -70°C にて保存) から、Lysin-sepharose affinity chromatography 法によって plasminogen および anti-plasmin を分離し、TNP 法によって測定した。この測定方法は、五十嵐¹⁸⁾²²⁾の方法には準じたが、とくに髄液の場合、新しい試みであったため、以下に詳述する。

Affinity chromatography 法および TNP 法による plasminogen と anti-plasmin の測定—操作法—

A: Affinity chromatography 法による線溶系の分別

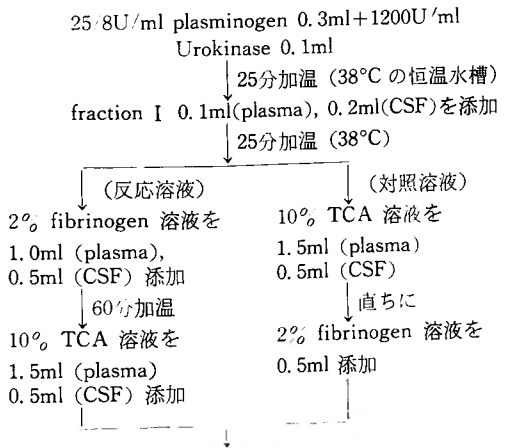
1) カラムの調整

- a) 5 ml ディスポ注射器のピストンを抜きとる。
- b) 濾紙の底部の大きさに合わせて切り、底部に水で密着させる。
- c) Lysin-sepharose 懸濁液を駒込ピペットで層表 1 ml になるように、静かに濾紙上に入れる (懸濁液の析出物は38°Cの恒温水槽で温め溶かす。)
- d) I 液 10 ml でカラムを洗浄する。(防腐剤を洗い流す。)

2) Plasma, CSF の線溶系の分別

- a) Fraction I (anti-plasmin)
カラムに plasma 0.5 ml (CSF 4 ml) を流し込み全部流れた後、I 液 0.5 ml を加え、カラム内に残留している未吸着部を洗浄する。この両流出液は混合されている (血漿蛋白90%以上含有)
全部流れた後、I 液 0.5 ml を加え、カラム内に残留している未吸着部を洗浄する。この両流出液は混合されている。(血漿蛋白90%以上含有)
- b) Fraction II (弱い吸着の蛋白, activator など)
カラムに II 液 0.75 ml を流して回収しない。
- c) Fraction III (Plasminogen, plasmin)
カラムに更に続けて 0.1 M 酢酸溶液 0.5 ml を流し、直ちに 0.5 M リン酸緩衝液 (PH 7.5) を 0.5 ml 加える。PH 試験紙 (BTB) により確認し、PH 7.5 より低い場合は、0.5 M NaOH で PH を 7.5 に調整する。
B: TNP 法による plasminogen と anti-plasmin の測定

a) Anti-plasmin (inhibitor) の測定 (fraction I)



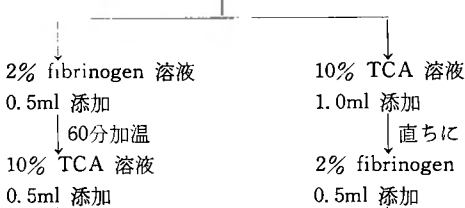
1) 30分間室温に放置後 2000rpm-10min 遠沈し上清を採取する。

- ② エチルエーテル 3 ml で3回洗浄を行う。
(TCA 溶液の除去)
- ③ 反応溶液, 対照溶液各々 0.5ml (blank は蒸留水)
0.5M PBS 0.5ml
12% TNBS 0.5ml

以上を褐色試験管に入れ加温する。90分後17% HCl 0.5ml を加え 340nm で吸光度測定を行う。

b) 使用した plasminogen の力価測定は fraction I 液の代わりに, I 液を 0.1ml (plasma) 0.2ml (CSF) 加える以外は全く同様に a) の操作を行う。

- c) Plasmin 及び plasminogen の測定 (fraction III)
fraction III 0.5ml + 1200/U/ml Urokinase 0.1ml



以下は anti-plasmin の測定と同様の操作を行う。

d) 検量線の作成

1U/ml, 2U/ml, 3U/ml, 5U/ml を段階希釈して調整し, 各々 0.1 ml + 0.4 ml (I 液) ずつ試験管にとり plasmin 及び antiplasmin の測定と同様の操作を行う。

註※ I 液……0.005M. PBS 加 0.85% NaCl
(PH7.5)

註※※ II 液……0.005M. PBS 加 1.0M. NaCl
(PH7.5)

b. フィブリン平板法による total plasmin 値の測定。測定は8頭の犬を対象とし, 別に2頭に同量の生理食塩水を注入して対照群とした。

測定方法は Astrup & Müllerty のフィブリン平板法に準じたが, 鮮明な溶解窓を得るために, 髄液と血漿では異なる平板を用いた。

髄液: Cohn エタノール分画II, ウシ, フィブリンノーゲン (第一化薬) を, 凝固性蛋白濃度が 0.2% となる様, リン酸食塩緩衝液 5ml で希釈したものをシャーレに入れ, これに 0.5M CaCl₂ 30 μ l, 25u/ml トロンビン 0.4ml (持田製薬) を添加して平板を作製した。試料は, 髄液 0.4ml (-70°C 保存) に 2000u/ml のウロキナーゼ 0.1ml を加え, 37°C で25分間活性化し, その 50 μ l を, 平板上に置いた小円形濾紙上に滴下した。

血漿: Chon エタノール分画 I, ウシ, フィブリンノーゲン (第一化薬) を, 凝固性蛋白濃度が 0.15% となるように, リン酸食塩緩衝液を 10ml で希釈したものをシャーレに入れ, これに 20u/ml のトロンビン (持田製薬) 0.5ml を添加して平板を作製した。試料は, 0.38% クエン酸塩加血漿 0.4ml (-70°C 保存) に, 2000u/ml のウロキナーゼ 0.1ml を加え, 37°C で活性化したもの 25ml を, 平板上において小円形濾紙上に滴下した。両者共, 37°C で18時間活性化した後, 5% フォルマリンで固定し, 更に 7% アミドブラックで染色の上, 溶解窓を測定した。

c. ラテックス法によるフィブリン体分解産物 (FDP) の測定

測定は, 8頭の犬を対照とし, 別の2頭に同量の生理食塩水を注入し, 対照群とした。採取した髄液 1ml に抗プラスミン剤を一滴添加, 血液の場合は抗プラスミン剤を2滴添加し, 室温にて20~30分間静置後, 髄液はそのまま材料として用い, 血液の場合は遠沈して血清を分離した。この髄液或は血清の各 0.1ml を希釈液にて倍数希釈し, ラテックス法 (帝国臓器) に従って判定した。

実験結果

1 plasminogen 及び anti-plasmin 活性

髄液: (Tab.1. Fig.1) plasminogen は, くも膜下出血前に平均 0.244cu/ml を呈し, 血液注入後急激に増加して, 4日後に最高値の平均 0.496cu/ml に達する。7日後迄はこれがほぼ維持されるが, 以後漸減する。(Fig. 1). なお最終試料採取時の3週後においても, 平均 0.292cu/ml を呈しており, 注入前値よりわずかながら高値となっているが, この場合の統計的な有意性は疑問である。anti-plasmin も髄液の場合は, plasminogen と酷似した変動傾向を示す。すなわち, 出血前値は平均 1.092cu/ml であり, 以後急激に増加して, 4日後に平均 2.473cu/ml の最高値を呈する。以後漸減し, 3週後には, 平均 1.10cu/ml となり, 注入前値に復する。plasminogen, anti-plasmin とともに, 最高値を呈する4日後において, その変動率は, 注入前値を100%とした場合, plasminogen は 203%, antiplasmin は 225%であった。

血漿: (Tab 2, Fig 2) plasminogen は, 出血前平均値 1.956cu/ml であり, 出血後ゆるやかな上昇傾向を示し, 7日後に平均 3.112cu/ml の最高値に達するが, これは出血前値の 189%に相当する。以後漸減して, 3週間後には, 平均 2.420cu/ml (127%) となり,

Table 1 Successive changes of plasminogen and Anti-Plasmin activities in CSF, prepared by affinity chromatography on Lysin-sepharose, measured by TNP-Method after a single intrathecal blood injection.

		Anti-Plasmin Activity (cu/ml)						
Days		0	2	4	7	9	14	21
Sample No.								
12		0.722	2.671	3.210	3.210	2.223	3.294	2.886
13		2.032	2.176	1.432	2.230	2.746	1.687	1.563
14		0.557	2.470	1.990	1.324	0.588	0.790	0.751
20		0.918	2.290	2.872	-----	0.217	1.308	0.846
21		0.186	1.736	1.460	3.015	1.454	0.573	1.006
24		2.764	2.002	2.458	1.176	2.800	1.122	1.091
25		1.122	1.378	1.703	1.641	1.045	1.370	0.774
26		0.508	1.206	3.348	2.263	0.369	0.648	0.020
31		0.897	2.923	3.643	3.364	1.366	0.568	0.628
32		1.202	2.385	2.612	2.917	1.625	1.345	1.143
Mean		1.092	2.124	2.473	2.347	1.419	1.271	1.101
S.E.		0.244	0.173	0.252	0.274	0.293	0.256	0.238

		Plasminogen Activity (4×cu/ml)						
Days		0	2	4	7	9	14	21
Sample No.								
12		0.061	0.108	0.152	0.112	0.135	0.115	0.126
13		0.070	0.116	0.144	0.124	0.085	0.061	0.081
14		0.040	0.061	0.142	0.087	0.099	0.099	0.030
20		0.081	0.124	0.211	0.197	0.161	0.135	0.106
21		0.076	0.101	0.103	0.115	0.055	0.078	0.067
24		0.067	0.070	0.128	0.150	0.103	0.078	0.067
25		0.073	0.106	0.110	0.108	0.121	0.103	0.085
26		0.064	0.112	0.115	0.150	0.103	0.128	0.101
31		0.040	0.083	0.087	0.085	0.073	0.033	0.043
32		0.040	0.030	0.046	0.067	0.027	0.033	0.024
Mean		0.061	0.091	0.124	0.119	0.097	0.086	0.073
S.E.		0.005	0.015	0.014	0.016	0.012	0.011	0.014

出血前の値に近づく。(Fig. 2) 髄液中の plasminogen の変動に類似してはいるが、血漿の場合上昇の傾向は、やゝゆるやかであり、上昇の持続が長期化してのち下降するのが特徴である。

一方、anti-plasmin の出血前平均値は、19.72cu/ml であり、以後3週間にわたり有意の変動を呈さないのが特徴である。(Fig. 2) 尚対照群2頭については、髄

液、血漿ともに有意の変化を示さなかった。

2. total plasmin 活性

髄液：(Tab. 3, Fig. 3) 出血前平均値は、0.388 cu/ml であり、出血2日後に急激に上昇して161%に相当する0.656cu/mlとなるが、これを頂点として速やかに下降する。

7日後においては既に出血前値にほぼ一致し、以後

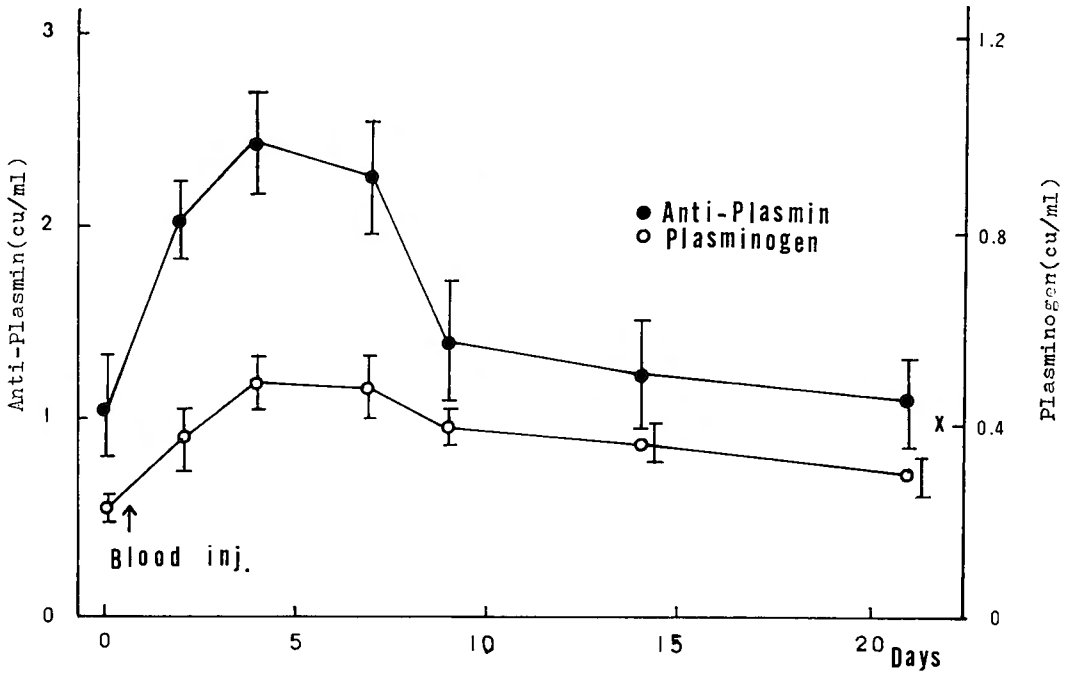


Fig. 1 Successive changes of plasminogen and Anti-Plasmin activity in CSF, prepared by affinity chromatography on Lysin-sepharose, measured by TNP-method after a single intrathecal blood injection. Vertical bars represent standard errors of the means for 10 dogs.

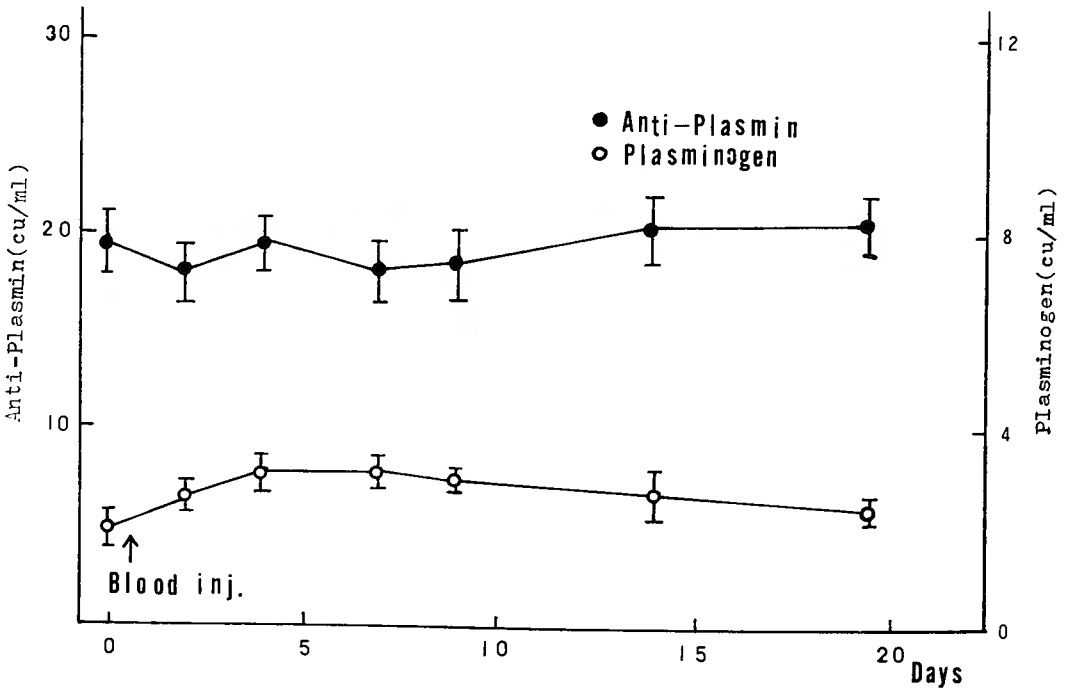


Fig. 2 Successive changes of Plasminogen and Anti-Plasmin activities in PLASMA, prepared by affinity chromatography on Lysin-sepharose, measured by TNP-method after a single intrathecal blood injection. Vertical bars represent standard errors of the means for 10 dogs.

Table 2 Successive changes of plasminogen and anti-plasmin activities in PLASMA, prepared by affinity chromatography on Lysin-sepharose, measured by TNP-method after a single intrathecal blood injection.

		Anti-Plasmin Activity (cu/ml)						
Sample No.	Days	0	2	4	7	9	14	21
14		11.01	11.85	11.18	10.61	7.97	11.18	10.84
20		11.01	9.33	11.40	10.51	13.03	10.84	11.35
31		22.47	23.27	22.47	23.40	25.65	24.75	22.83
33		14.62	11.37	15.41	14.05	11.63	12.14	-----
34		27.30	26.86	27.26	28.05	29.09	27.08	27.44
35		20.43	16.15	20.25	13.90	16.00	22.84	21.30
36		22.38	20.76	25.25	21.94	22.38	22.20	24.15
37		26.51	24.67	23.92	22.25	19.05	23.39	23.48
38		20.60	12.84	16.03	19.09	19.27	20.93	18.12
39		20.91	20.98	20.95	18.89	22.65	26.69	24.89
Mean		19.72	17.81	19.43	18.27	18.67	20.20	20.49
S.E.		1.82	1.98	1.79	1.85	2.08	2.00	1.69

		Plasminogen Activity (4×cu/ml)						
Sample No.	Days	0	2	4	7	9	14	21
14		0.462	0.681	0.735	0.862	1.152	0.717	0.699
20		0.608	0.681	1.456	0.844	0.844	1.274	0.862
31		0.584	0.535	0.608	1.001	0.584	0.916	0.735
33		0.243	0.662	0.880	0.971	0.584	0.462	0.608
34		0.681	1.061	0.880	0.644	0.644	0.535	0.626
35		0.559	0.292	0.608	0.662	0.844	0.626	0.584
36		0.268	0.584	0.341	0.316	0.559	0.735	0.195
37		0.481	0.486	0.486	0.808	0.699	0.789	0.510
38		0.341	0.789	0.771	0.826	0.880	0.699	0.626
39		0.662	0.644	0.880	0.844	0.510	0.753	0.608
Mean		0.489	0.642	0.764	0.778	0.730	0.751	0.605
S.E.		0.050	0.063	0.096	0.074	0.063	0.071	0.055

殆んど変動しない。(Fig.3)

血漿：(Tab. 4, Fig. 4) 出血前平均値は1.012cu/mlであり、出血後緩徐に上昇し、9日目において出血前値の165%に相当する1.676cu/mlを呈して最高値に至る。以後、軽度上昇のまゝの状態が3週間後においても認められる。(Fig. 4) 尚対照群2頭については、髄液、血漿共に有意の変動は認めていない。

3. FDP

髄液：(Tab. 5) 出血前のFDP値はすべて陰性、

すなわち、0.5 μ g/ml以下であった。出血2日後では、8例中5例が0.5 μ g/ml、1例が1.0 μ g/ml、残る2例は陰性であり、有意の増加を示した。4日後には、0.5 μ g/ml 1例、0.75 μ g/ml 1例の計2例が陽性を呈し、残る6例は陰性であった。以後7日後から3週間後に至る4回の試料採取による計32検体については、1検体が最小陽性0.5 μ g/mlを示した他は、すべて陰性であった。(Tab. 5)

換言すれば髄液中のFDP値は、出血直後に著明に

Table 3 Successive change of total plasmin activity in CSF by Fibrin Agar Plate-method after a single intrathecal blood injection.

Sample No.	Total Plasmin Activity (cu/ml)						
	0	2	4	7	9	14	21
41	0.418	0.500	0.526	0.408	0.400	0.400	0.392
42	0.392	0.526	0.510	0.400	0.418	0.392	0.392
43	0.338	0.462	0.562	0.510	0.392	0.408	0.344
47	0.378	0.500	0.550	0.490	0.344	0.378	0.378
49	0.392	0.732	0.480	0.370	0.392	0.400	0.408
50	0.392	0.706	0.500	0.378	0.392	0.392	0.392
51	0.408	1.004	0.480	0.378	0.408	0.392	0.378
52	0.392	0.816	0.434	0.330	0.408	0.452	0.392
Mean	0.388	0.656	0.505	0.408	0.394	0.402	0.385
S.E.	0.008	0.078	0.015	0.022	0.008	0.008	0.007

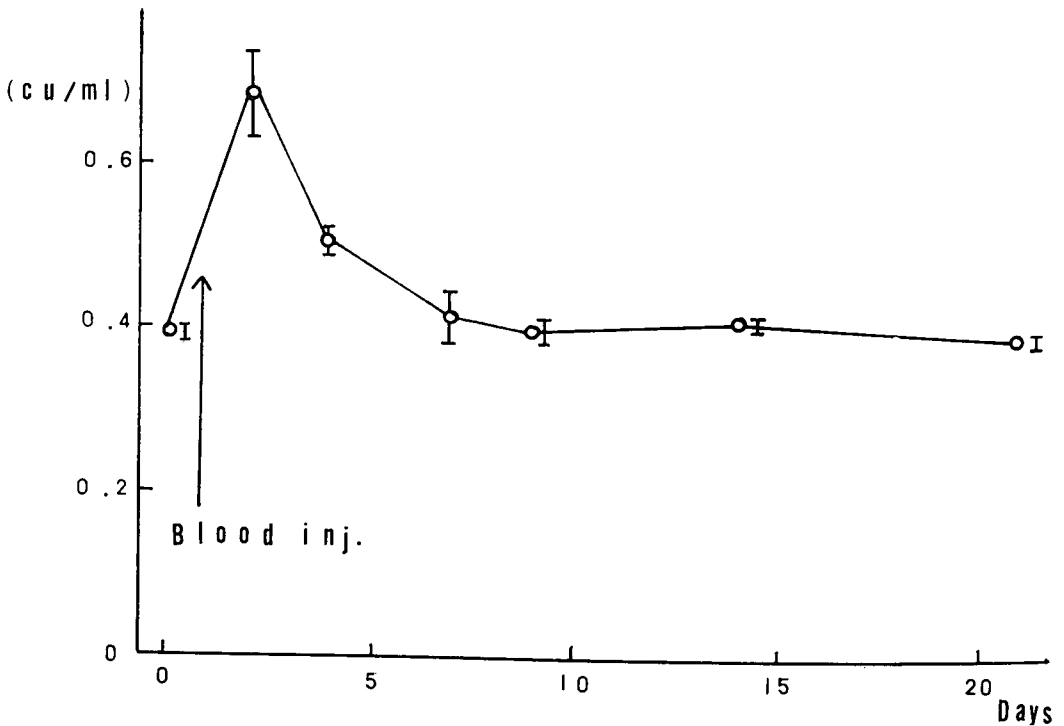


Fig. 3 Successive change of total plasmin activity in CSF by Fibrin Agar Plate-method after a single intrathecal blood injection. Vertical bars represent standard errors of the means of 8 dogs.

Table 4 Successive change of total plasmin activity in PLASMA by Fibrin Agar Plate-method after a single intrathecal blood injection.

Total Plasmin Activity (cu/ml)

Sample No.	Days						
	0	2	4	7	9	14	21
41	1.050	0.900	1.340	1.340	1.340	1.110	1.210
42	1.110	1.340	1.400	1.460	1.720	1.720	1.860
43	1.340	1.460	1.580	1.520	1.520	1.400	1.340
47	0.850	0.710	1.400	1.720	2.340	1.340	1.220
49	0.710	0.890	1.110	1.720	1.460	0.660	1.220
50	0.908	0.952	1.244	1.436	1.732	1.192	1.297
51	1.003	1.016	1.392	1.617	1.501	1.141	1.411
52	1.125	1.239	1.460	1.603	1.795	1.405	1.402
Mean	1.012	1.060	1.366	1.552	1.676	1.246	1.370
S.E.	0.068	0.091	0.057	0.048	0.100	0.076	0.076

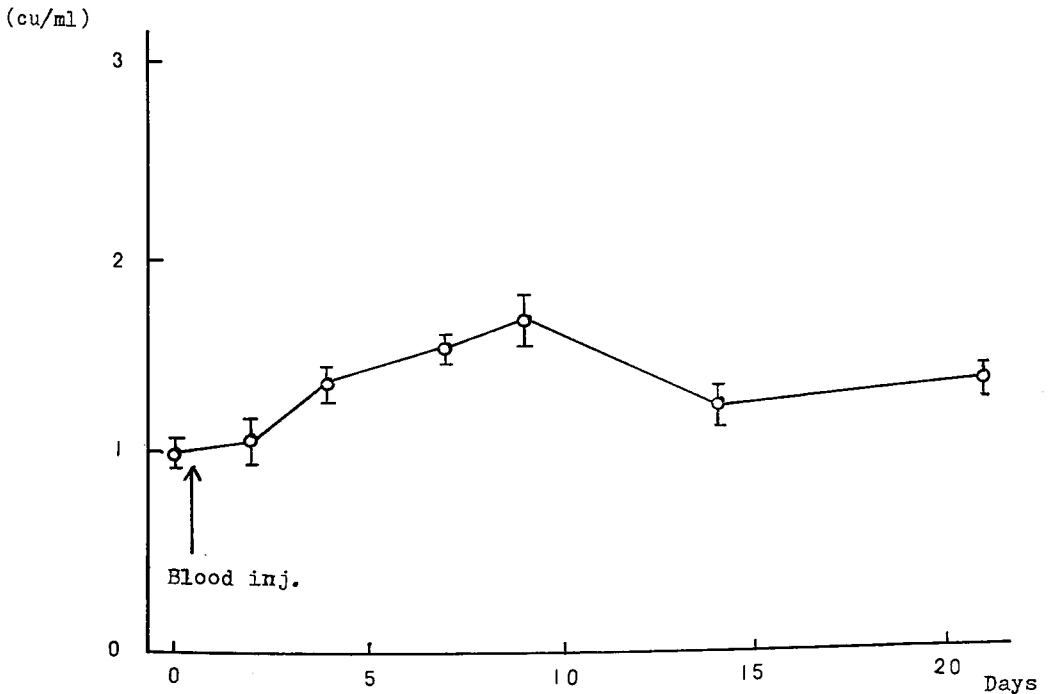
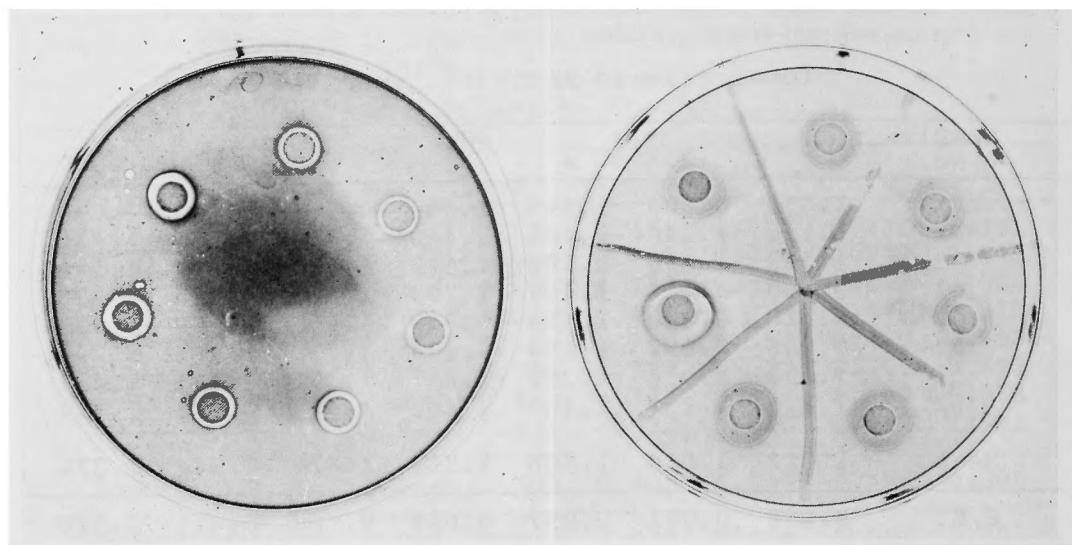


Fig. 4 Successive change of total plasmin activity in PLASMA by Fibrin Agar Plate-method after a single intrathecal blood injection. Vertical bars represent standard errors of the means for 8 dogs.



No. 41 CSF Plg. (-) Act. (+)

No. 41 Plasma Plg. (-) Act. (+)

Fig. 5 Fibrin Plate Method

Table 5 Successive change of FDP in CSF by LAT-method after a single intratheca blood injection.

Sample No.	Days						
	cont.	2	4	7	9	14	21
41	—	—	0.5	—	0.5	—	—
42	—	1.0	0.75	—	—	—	—
43	—	0.5	—	—	—	—	—
45	—	0.5	—	—	—	—	—
46	—	—	—	—	—	—	—
47	—	0.5	—	—	—	—	—
49	—	0.5	—	—	—	—	—
50	—	0.5	—	—	—	—	—

($\mu\text{g/ml}$)

増加するか、以後単純かつ、急速に減少する傾向を示している。

血清：(Tab. 6, Fig. 6) 出血前は平均 0.94mg/dl であり、出血後次第に増加してゆき、9日後に最高値に達し、出血前の 355% に相当する平均 3.33mg/dl となる。

以後、比較的ゆるやかな減少傾向を示すが、3 週後

においても平均 1.66mg/dl を呈し、出血前値の 177% に相当する値を保っている。なお control group においては、髄液、血清共有意の変動を示さなかった。

考 按

実験的にも膜下出血の作製法については、いくつかの方法があるが、大槽内血液注入法は、長時間麻酔、

Table 6 Successive change of FDP in PLASMA by LAT-method after a single intrathecal blood injection.

Sample No.	(μg/ml)							
	0	2	4	7	9	14	21	
41	0.5	1.5	2.0	3.0	6.0	2.0	2.0	
42	1.0	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	4.0	
43	1.0	2.0	3.0	6.0	6.0	6.0	4.0	
45	1.0	1.5	3.0	3.0	3.0	1.0	1.0	
46	1.0	1.0	3.0	2.5	2.0	0.75	0.5	
47	1.0	2.0	2.0	3.0	2.5	1.5	0.75	
49	1.0	1.0	2.0	1.5	1.25	0.75	0.5	
50	1.0	1.5	2.5	3.0	3.0	2.0	1.5	
Mean	0.398	1.500	2.438	3.125	3.334	2.032	1.658	
S. E.	0.078	0.177	0.175	0.451	0.618	0.618	0.519	

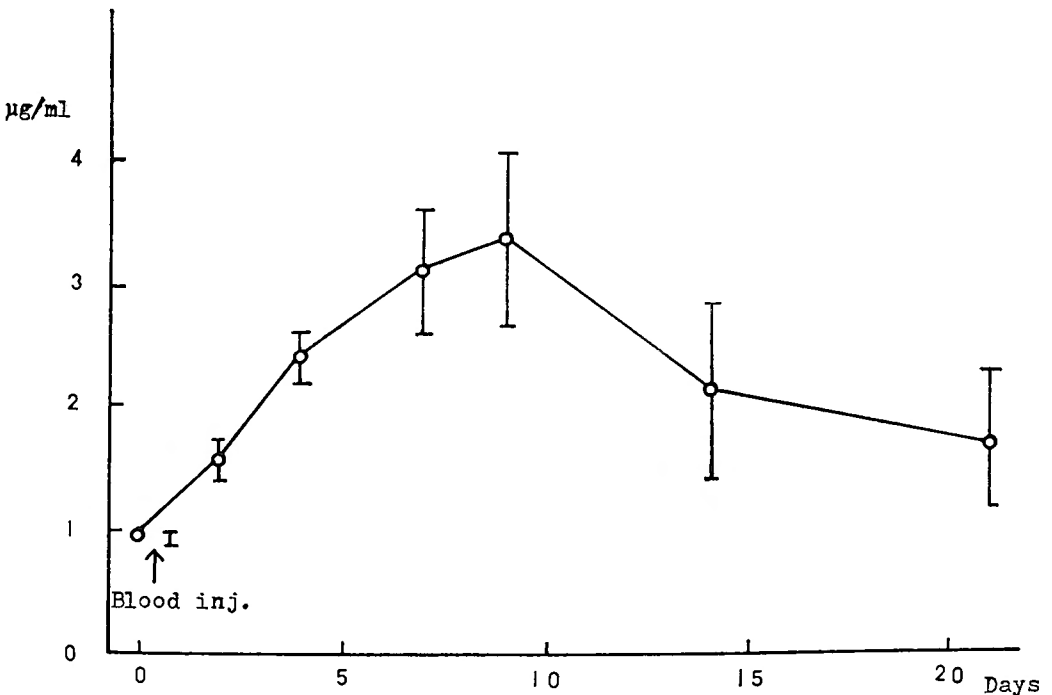


Fig. 6 Successive change of FDP in PLASMA by LAT-method after a single intrathecal blood injection.

Vertical bars represent standard errors of the means for 7 dogs.

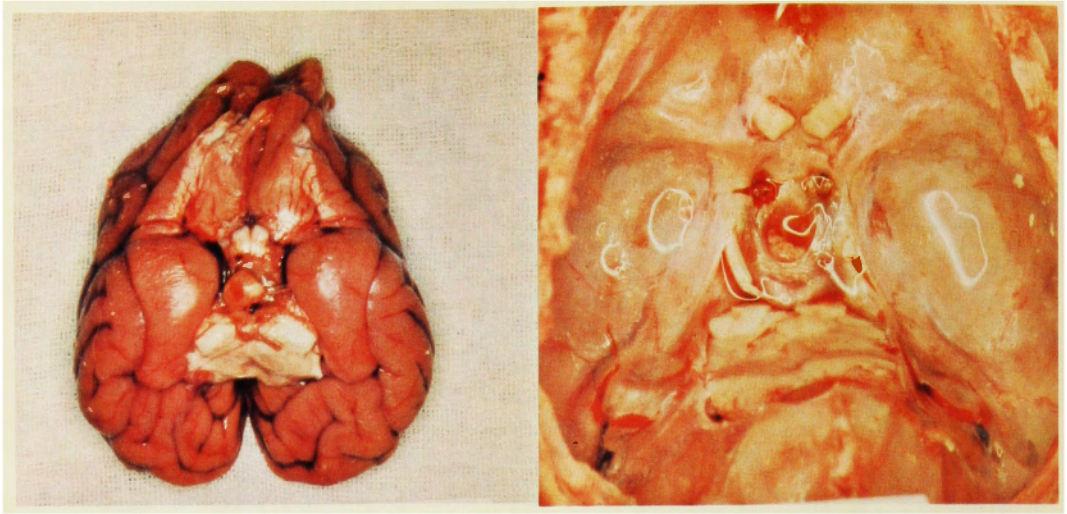


Fig. 7 Appearance of basal cistern in dog, 3 weeks after intrathecal injection of arterial blood.

あるいは複雑な手術操作が不要であるため、くも膜下出血以外の線溶系に対する影響を最小限にする意味では、最も適した方法と考えて、これを用いた。この方法によって作製したくも膜下出血犬の3週後の解剖所見は、脳底部に黄変した血液変性物の附着を確実に認め (Fig. 7)、かつ、脳室系も正常犬に比して常にわずかながら拡大を示している。(Fig. 8) これらの所見より、本法は、満足すべきくも膜下出血作製法と考えられた。

このようにして作製したくも膜下出血につき、上記の三種類の測定方法で得られた髄液および循環血液の線溶活性動態に関して、まず、個々の測定法および結果を検討した上で総括的な考察を加えることにする。

1. Plasminogen および anti-plasmin

Affinity Chromatography 法により plasminogen と anti-plasmin を分離し、TNP 法によって測定した。

髄液：従来、正常髄液中には、plasminogen は殆んど存在しないと考えられていたが、本法によれば、平均 0.244cu/ml の plasminogen が測定されていることから、血液、髄液関門由来のものが、常にある程度存在すると考えざるを得ない。髄液中の plasminogen が出血2日後よりも4日後において、最も高値を呈していることから単にくも膜下腔に散布された血液に含まれていた plasminogen のみを測定しているとは考えられず、この増加の由来については、さらに検討を要する問題である。anti-plasmin の変動も、plasminogen の動きに酷似しており、これを相関させて考えると、

この系において線溶の亢進の有無を単純に論ずることは困難で、他の総合的測定法にゆだねざるを得ない。むしろ注目すべき点は、anti-plasmin に関する循環血中の変化との明らかな差異にあると思われる。

循環血液：すなわち血漿中の plasminogen は7日後から9日後を頂点とする漸増、漸減の変動を呈するが、anti-plasmin は、これに全く相関せず、むしろほぼ不変の状態が持続する。両者の動きと FDP の動きを総合すると、循環血における plasminogen の変動は消費に伴う反応性の増加と考えるのが妥当であろう。

TNP 法による場合、とくに α_2 macroglobulin が高値を出しやすい点は考慮の必要があるとしても、今回の測定結果の判断にあたっては、特に問題ないと思われる。なお activator については、とくに髄液中では、free の状態で有意な程度に存在するとは考え難く、むしろ tissue activator としての要素が主であると思われるために、平板法および FDP によって activator の活性を含めた総合的活性を測定する方が有意義と考え、本実験では測定していない。

2. Total plasmin

フィブリン平板法によって線溶活性を測定する場合、求める線溶因子に応じて平板の種類を選ぶ必要があるが、個々の因子については、先に検討してあるため今回は、線溶活性の総合的な把握を目的として total plasmin 活性の測定を行った。そのため、既述したように、plasminogen free のフィブリン平板を用い、ウロキナーゼで活性化した試料を滴下して溶解面

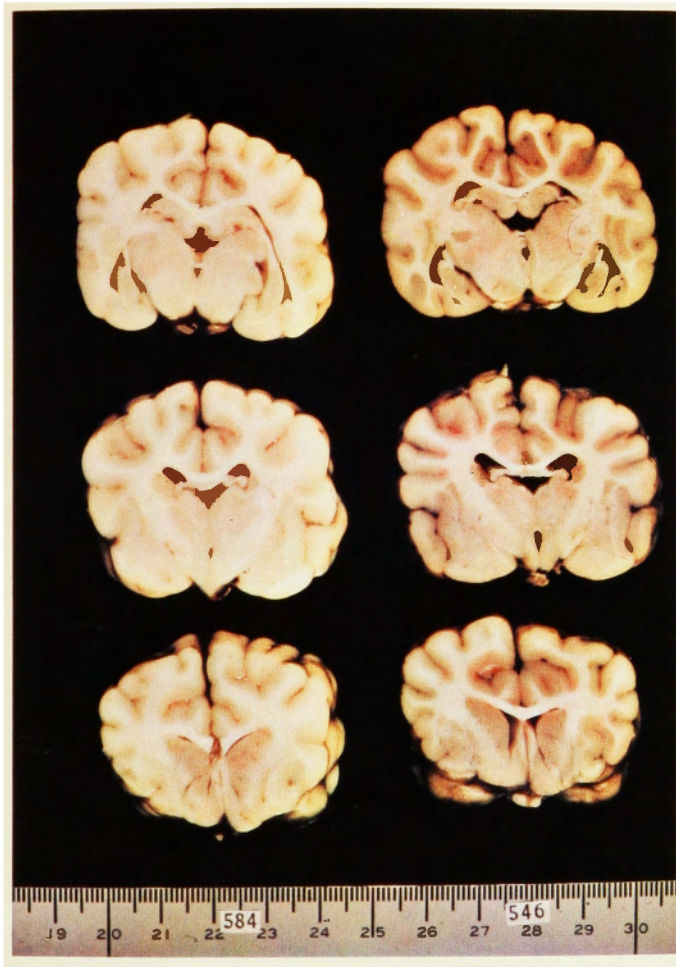


Fig. 8 Ventricular system after artificial SAH.

left : control

right : 3 weeks after intrathecal injection of arterial blood.

積を求め、これを純粋な plasminogen によって得た溶解窓に基いて換算し、total plasmin 値とした。現段階では、線溶の概要を把握する目的では、この方法が最も信頼できるものの1つと考えられる。

髄液：くも膜下出血後、2日目に採取した試料が出血前値の174%に相当する最高値を示し、以後次第に減少してゆく。この経過は注入された血液そのものに含まれていた線溶因子の作用を主に反映している可能性が大きい。ただ、局所に注入された線溶諸因子の活性期間については、正確な資料を欠くため、判定は尚不可能である。しかし線溶諸因子の由来が何処からであるにせよ、髄液系において、線溶活性の亢進は出血

直後より、2日後附近に最も顕著であり、以後急速に低下してゆくと言わざるを得ない。

循環血液：血漿の total plasmin 値は、出血後ゆるやかな上昇傾向を示し、9日後に出血前値の176%に相当する最高値を呈し、以後2週後に124%、3週後に140%と尚軽度の亢進を示している。この循環血液 total plasmin 値の上昇は局所における出血に対する反応としての全身線溶の亢進と考えれば十分理解出来る現象である。

3. フィブリン体分解産物 (FDP)

FDP 測定方法の決定に先立ち、ブドウ球菌凝集法による測定も試みたが、測定単位が詳細に過ぎる点で

むしろ難点があり、ラテックス法を用いることにした。又臨床例に於ける丸山³¹⁾³²⁾らの、本法を用いての髄液に関する報告においても、正常例ではほとんど全て陰性であり、中枢神経系に何らかの器質的疾患を有する場合、ほぼ確実に0.5 μ g/ml以上の陽性を呈したとのべている。

髄液：実験結果の項で述べた様に FDP が最も高値となるのは、出血2日後に採取した試料においてであり、以後は急速に減少する傾向を示している。この際の FDP 或は前駆物質の由来は、出血によって(または、血液注入によって)くも膜下腔に散布された血液に含まれていたものが大部分を占めている可能性が大きい。しかし由来のいずれを問わず、この FDP 前駆物質の分解が最も盛んであるのは、出血直後より2日後にかけてであり、決してそれ以後でないことは事実である。

循環血液：血液中の FDP 値の変動の経過は出血後次第に増加して9日目に至って最高値に達し以後漸減する。この傾向は血漿中の total plasmin 活性の変動経過と酷似しているし、血漿における plasminogen, anti-plasmin の動きともよく相関する。即ち循環血液については、この測定方法によっても線溶亢進が認められるのは、7日から9日頃と言うことになる。

以上のような結果を総合すると

1) 髄液系の線溶活性は、くも膜下出血後2日前後という極めて早期に亢進し、以後急速に減少する。

但し Lysin-sepharose affinity chromatography 法および TNP 法によって得た髄液の plasminogen および anti-plasmin については、由来および変動経過について尚、検討の必要を残す。

2) 循環血液中の線溶活性はくも膜下出血後次第に亢進し、7日前後に最も亢進する。以上の如く、くも膜下出血後局所と全身においては、線溶亢進の時期に明らかならずれが認められる。臨床的統計では、再出血が7日前後に最も頻繁であることより、脳動脈瘤の再出血に線溶系の亢進が関与しうるとすれば、それは、最近強調されているように脳脊髄液の線溶の亢進であるよりも、循環血液の線溶亢進による可能性が大きいことをこの結果は示唆している。即ち初回出血後に脳動脈瘤壁の破綻部位に形成された小血栓は、壁の外側を灌流する髄液の線溶活性によるよりも、内側を流れる循環血液の線溶活性の亢進によって再破綻に至る可能性が大きいということになる。従って脳動脈瘤患者の手術前の保存的治療にあたっては、循環血液中の線溶

活性を指標としてこれを行うのが妥当な方法であろうと考えられる。なおくも膜下出血の量が著しく大量である場合、または、小出血が断続的に生じている場合、あるいは血液、髄液関門が大巾に破綻されている場合等においては、局所と全身の線溶の関係は、本実験におけるような範ちゅうを越えた変動を示す可能性があり、これについては更に検討を要するものと考えられる。

実験 2. 脳血管攣縮と線溶動態

脳血管攣縮発生因子と線溶

くも膜下出血後の脳血管攣縮の原因となる物質については、現在まで多くの研究が行われてきたが、尚、完全に明らかにされたとは言い難い。最近血小板由来の原因物質として serotonin⁵⁾, prostaglandin⁶⁵⁾ が、血球由来のものとして、hemoglobin²⁴⁾³³⁾³⁸⁾⁴³⁾⁴⁴⁾⁵¹⁾³⁷⁾ (Hb) が注目されてきている。然し乍ら臨床的に重要な意義を持つ late spasm の原因物質としては、serotoninおよび prostaglandin については、種々の実験結果より、現在否定的な考え方が多く、目下の所、赤血球破壊産物または Hb の役割りが重要視されてきている。とくに血球由来の攣縮物質の成分については、苧坂⁴⁶⁾は血球破壊産物と総称しているが、宮岡³³⁾らは oxy-Hb あるいはこれによく似た polypeptide を挙げ、園部⁵¹⁾らも oxy-Hb によるとしている。しかしながら、梶川²⁴⁾らは oxy-Hb のみならず、その酸化物質である met-Hb も攣縮作用を有していると述べており、現在尚、議論の余地のある所である。

そこで、上述の血液由来の3つの成分を実験1と同様の手技で犬のくも膜下腔内に注入し、この際生じる脳血管の変化を血管撮影により観察し乍ら、この場合の線溶系の推移を実験1とは別の因子によって測定した。

これにより

1. 脳血管攣縮物質の検索
2. くも膜下出血時の線溶に関する更に十分な吟味
3. 脳血管攣縮と線溶との関係の検討

等の諸点を追求した。

尚、線溶系の測定は、実験1の結果に基づき、循環血液についてのみ行った。

実験方法

1. 脳血管攣縮の作製

10~15kgの成犬のくも膜下腔内へ、ラボナルによる静脈麻酔下での大槽穿刺によりA群として自家動脈血0.3mg/kgを、B群として全血に換算して0.3ml/kg

に相当する oxy-Hb を、更にC群として同様量に相当する met-Hb を、各群4頭宛それぞれ注入し、これによる脳底動脈の形状の変化を血管造影により2頭の対照群と比較して観察した。自家動脈血は採血直後に全血のまま注入し、抗凝固剤による処理は行っていない。oxy-Hb としては、ヘパリンを添加して得た動脈血を、3000回転10分間遠沈して、血球成分を分離し、これを生理的食塩水にて3回洗浄したのちに、生理的食塩水にて稀釈して処理前の量に戻し、超音波にて血球成分を破壊し、得たものを、上述の量宛、作製後2時間以内に注入した。

met-Hb は上記と同様の操作で得た oxy-Hb に、30%過酸化水素液を全血 2 ml につき1滴の割合で添加して酸化させたのち、発生した気泡を真空ポンプにて減圧除去して作製した。これを -20°C に冷凍保存し、注入に際しては室温に復温してのち行った。注入量は上述した如く、全血に換算して 0.3ml/kg であり、この際の met 化率は、van Assonndelft³⁵⁾ 法によって測定すると、全例60%前後の値を示した。この様にして得た3種類の成分について、それぞれが犬のくも膜下腔へ注入された後に生じる脳動脈の形態の変化を、注入約3時間後および3日後に、脳血管撮影によって脳底動脈を造影することによって検討した。

造影方法としては、ネムタールによる静脈麻酔下に左上膊部を切開して、上腕動脈を露出し、19G×63のエラスト針を刺入して行う逆行性左上腕動脈造影を用いた。

2. 線溶因子の測定

先に述べた如く、実験1の結果に基き、実験2においては、線溶系の測定は循環血液の線溶能のみを対称とした。更にその測定した因子も実験1とは異なり、ユーグロブリン溶解時間 (ELT) とフィブリノーゲン量 (Fbg) とした。これらは、先に測定した FDP を除く諸因子よりも比較的安定した測定が可能であること、これらが線溶系の臨床的指標として重要な意味を持つ要素と考えられていること等の為であり、類似の条件下の犬について、実験1とは異なるこれらの因子を用いて線溶動態を解析することは、より厳密な検討の為に意味のあることと考えたからである。尚、測定した試料の採取は、各成分注入前に1回、注入後2週或はそれ以上の間に、5ないし6回行った。

血漿 ELT 測定

試薬：1) 冷酢酸水 1%酢酸0.32容と蒸留水19容を混合し冷蔵庫に保存する。

2) 1/15M リン酸緩衝液, Serensen³⁶⁾ 法により $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 9.45 g, KH_2PO_4 1.8 g, 蒸留水 1000ml を加えて溶解し、PH 7.4として保存する。

3) トロンビン液, トロンビン (持田製薬 K.K.) を蒸留水で溶解し、50単位/ml とする。

実施：血漿 0.5 ml に前記冷酢酸水 9.5 ml を加え pH 5.2 とし、30分間水中に静置後、2000 rpm, 10分間遠沈し上清を捨て、沈渣を1/15Mリン酸緩衝液 0.5 ml で溶解し、トロンビン液 0.1 ml を添加し混合して、凝固した後恒温槽中に入れ、溶解迄の時間を測定した。

実験結果

1. 脳血管攣縮因子

全血 (動脈血), oxy-Hb および met-Hb を 0.3ml/kg あるいは全血としてこれに相当する量を、大槽穿刺によってくも膜下腔へ注入した際の、各群4例づつの脳底部動脈の血管攣縮の程度を以下の基準に基いて、grade 0 から grade III までの4段階に分類した。すなわち、grade 0 としては、脳底動脈の造影良好で脳底部動脈論も確実に確認しうるもの、grade I として、脳底動脈はほぼ正常かあるいは軽度の攣縮を示して造影されるが、脳底部動脈論が不十分な造影を呈したものの、grade II としては、脳底動脈は認められるが攣縮を示して狭小化し、脳底部動脈論の造影が認められないもの、grade III としては、脳底動脈も造影されないものとした。

各群の血管攣縮の程度の経時的变化は上記の分類に従うと以下のごとくであった。(Fig. 9, 10)

A. 全血注入群：注入3時間後においては、grade I が3例、grade II が1例であった。3日後には、

Grade	3 hours after inj.				3 days after inj.			
	0	I	II	III	0	I	II	III
control	● ●							
arterial blood		● ● ●	●			●	●	●
oxy-Hb			● ●	●		●	●	
met-Hb			●	● ●		●	●	

Fig. 9 Grade of angiospasm following intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

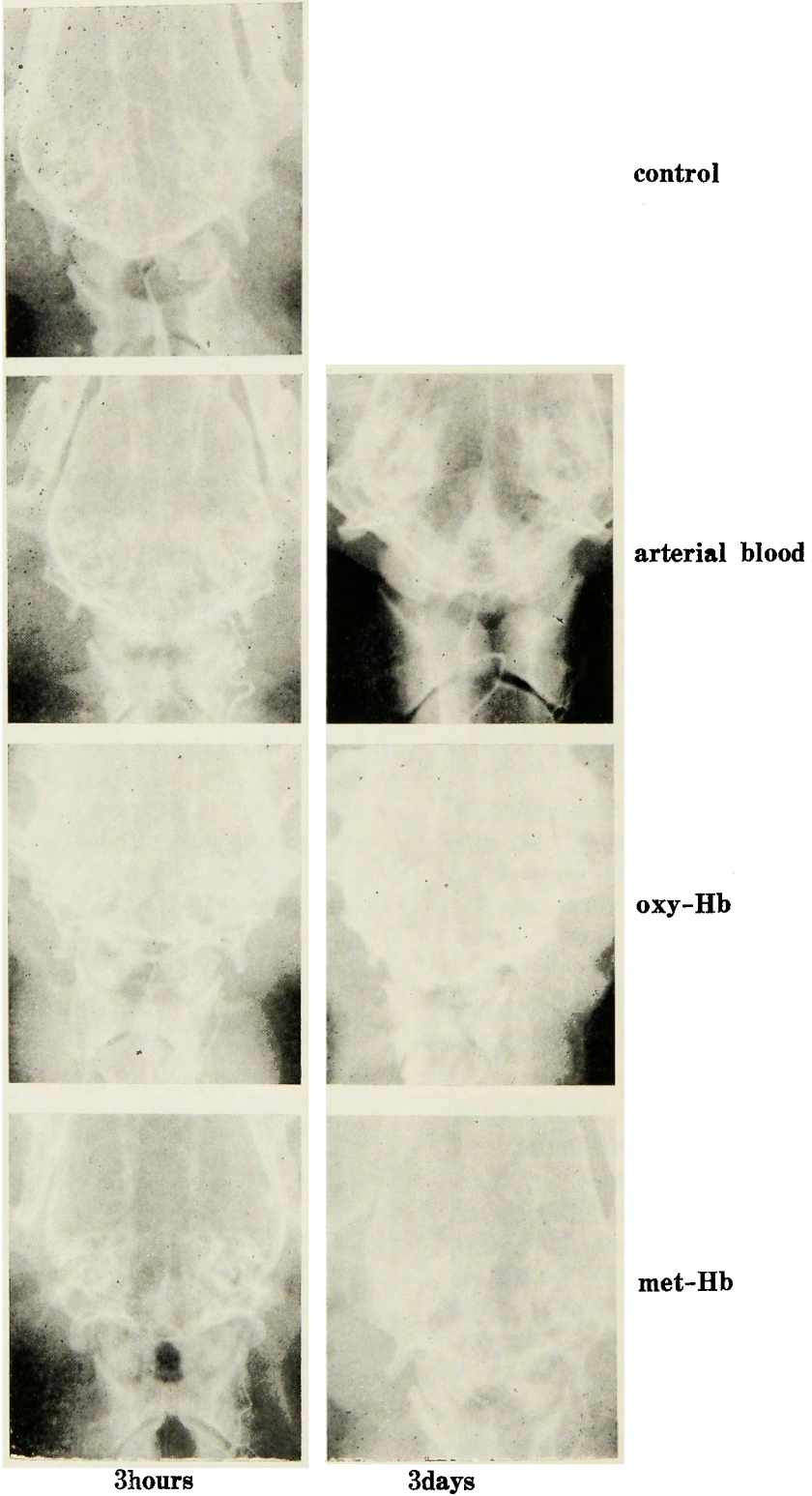


Fig. 10 Angiospasm induced by intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

grade I が 2 例, grade II が 1 例, grade III が 1 例であり, 時間的経過と共に, 初期に存在した軽度の攣縮が幾分増強しているのが認められた. しかも 3 日後の所見としては, 他の群の 3 日後におけるよりも, やや程度の強い攣縮が認められたのが特徴的である.

B. oxy-Hb 注入群

注入 3 時間後においては, grade II が 3 例, grade III が 1 例であった. 3 日後においては, grade I が 2 例, grade II が 2 例となり, 初期の中等度に存在した攣縮が 3 日後には, 軽度から中等度の攣縮となり, 改善の傾向を示すことが認められた.

C. met-Hb 注入群

注入 3 時間後においては, grade III が 3 例, grade II が 1 例と, 早期所見としては最も高度な攣縮を示した群であった. 3 日後においては, grade II が 1 例,

grade I が 3 例となり, この時期における 3 群の中では, met Hb 注入群が最も顕著な改善の傾向を示したのが特徴的である.

尚, 各群の臨床症状としては, 全血注入群が最も影響が少く, 犬は 1 週間弱の間幾分元気を失い, 2~3 日間にわたり軽い食思不振が認められる程度であった. oxy-Hb 注入群の場合, 1~2 日間は半数以上が立ち上ることを嫌がる状態となり, 食思不振も全血注入群より高度であった.

met-Hb 注入群の場合の臨床症状の変化が最も高度で, 注入後 48 時間以内に死亡したものが 3 例であり, 3~4 日間著しい食思不振を来すものが多く, 大部分の犬が 2~3 日の間, 立ち上ることがほとんど不可能な様子であった. 対照群として, 2 例に対して 0.3 ml/kg の生理食塩水を注入して, 3 時間後に血管撮影を行

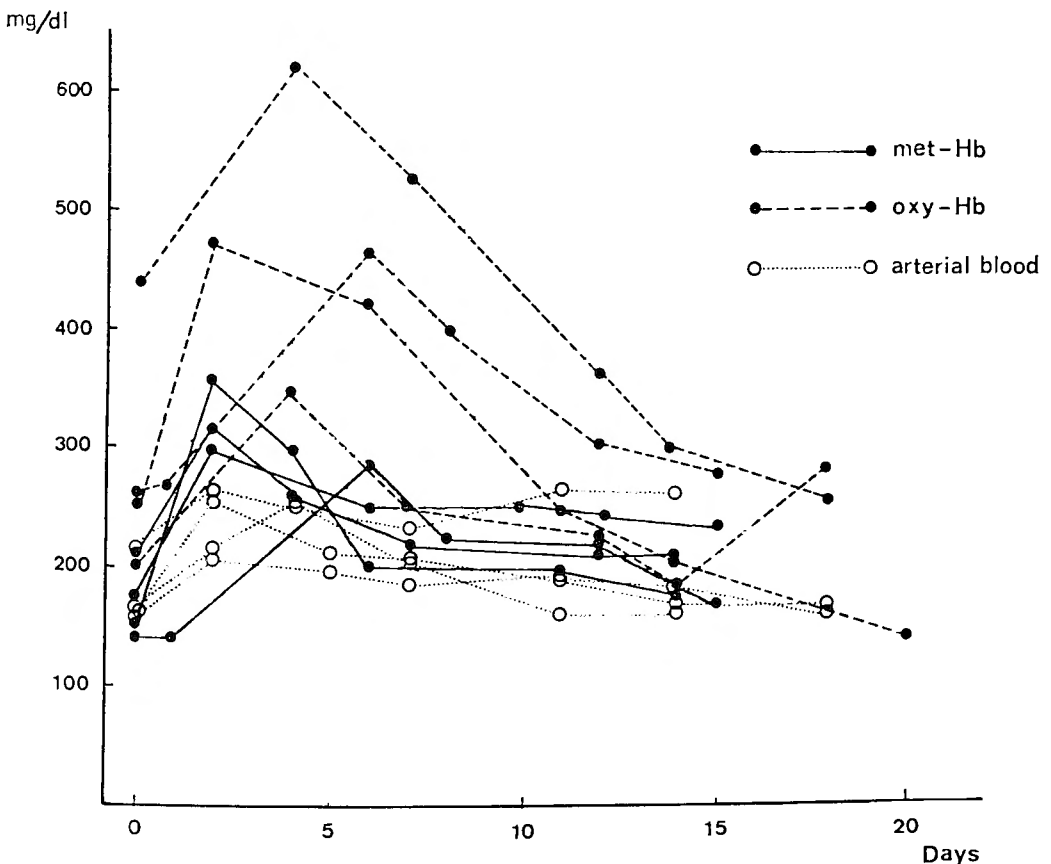


Fig. 11 Sequential change of plasma fibrinogen following intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

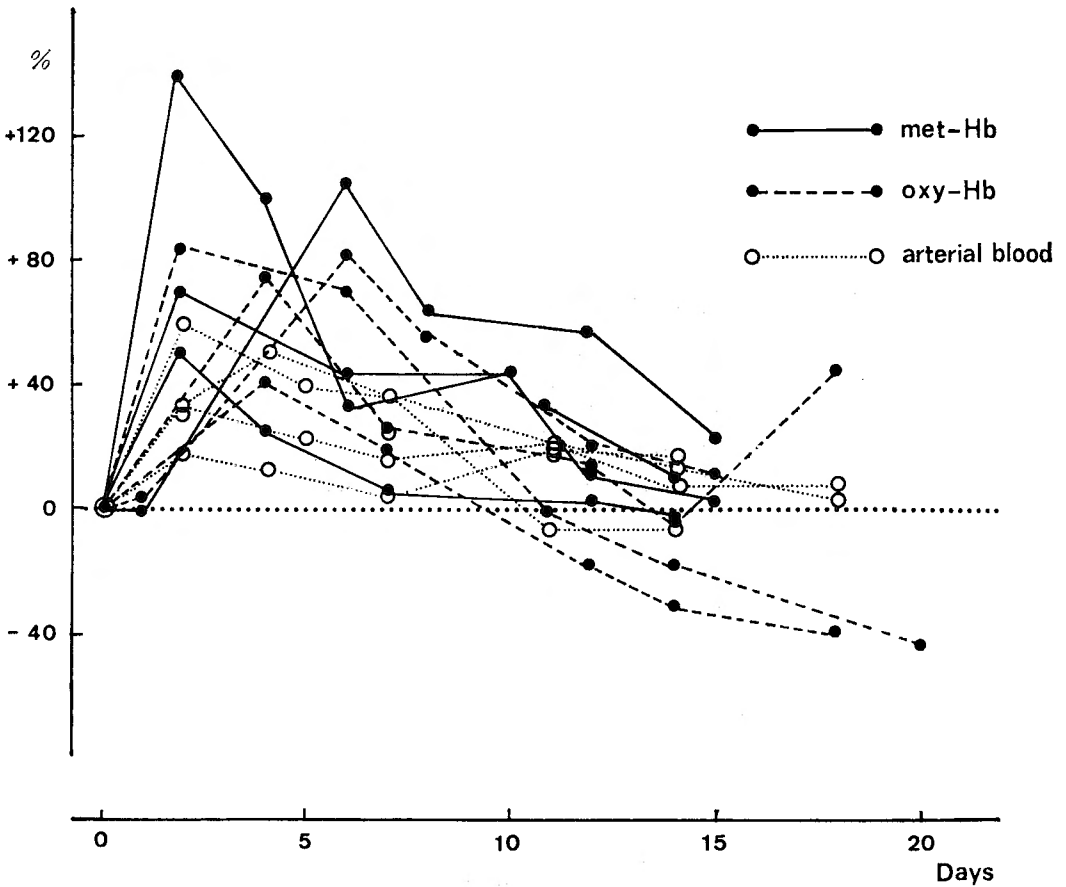


Fig. 12 Rate of sequential change of plasma fibrinogen following intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

ったが、2例共 grade 0 であった。

2. 線溶系の変動

全血注入群4例、oxy-Hb注入群4例、met-Hb注入群4例の計12例について、注入前の血中Fbg値は、1例のみ438mg/dlの高値を示したが他は全て120mg/dlから260mg/dlまでの間にあって、平均205mg/dlとなり、ヒトの正常値と大差のない値を呈した。一方、注入前の血漿ELT値は、同じく12例について平均258分であったが、90分から540分迄の著しい個体差を示した。従って、ELT値については特に、経時的変化に意義を求めるべきであろうと考えた。

A. 全血注入群

Fbg値：(Fig. 11, 12) この群の4例は、互によく類似した変動経過を示している。即ち、注入後4日

以内の初期に平均40%程度の増加を示したのち、漸減して、2週目頃には注入前値にほぼ復している。注入前の4例の平均値は179mg/dlであり、注入後2及至4日目の時期に19%から60% (平均41%) の増加を示して最高値に達する。(平均最高値249mg/dl) 以後漸減し、2週目頃における最終測定時の平均値は190mg/dlとなり、+5%の平均増加率となっている。

尚、1例のみ、11日目以降において、注入前値を下回る値迄(-6.2%) 下降した。また、他の1例においては、11日目に再度一過性の上昇を示した。全体として、この群のFbg値の変動巾は3群中最も穏やかなものであった。

ELT値：(Fig. 13, 14) この群における血漿ELT値は、注入後1週迄についてかなり個体差のある動き

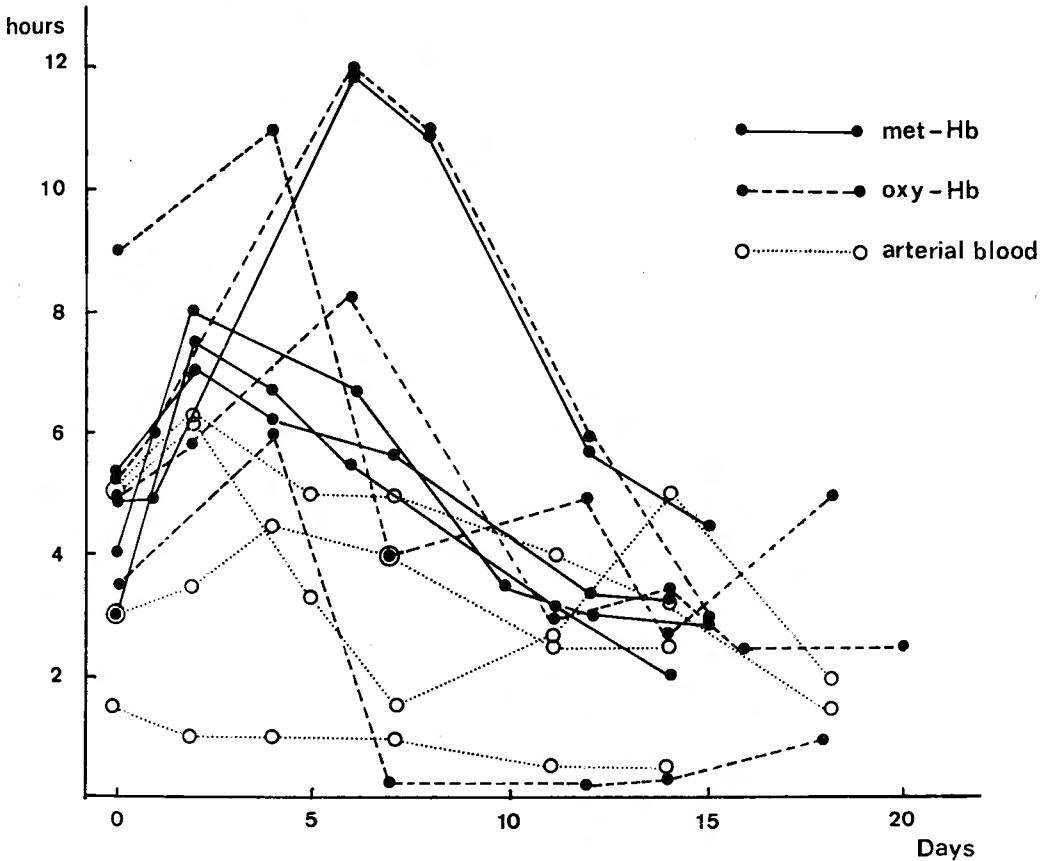


Fig. 13 Sequential change of plasma ELT following intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

を呈している。特徴的な点は、一週目において24例中2例が、更に11日目においては全例が注入前値をかなり下回る値を呈し、約2週を経過しても尚、短縮状態の回復が顕著でないことである。

4例の全血注入前の平均 ELT 値は 218 分であるが、個々には 90 分から 300 分に及ぶ値であり、個体差が著しい。

4 例中 3 例は、注入後 4 日以内の早期に、それぞれ +2.5% から +50% に及ぶ変化率を示して一過性に延長するが、以後は次第に短縮に向う。11 日目においては 3 例とも注入前値をかなり下回り、3 例の平均変化率が -38% という明らかな短縮状態に達している。残る 1 例については、全血注入以後 2 週間の測定期間中、常に注入前値を下回る状態が持続し、(-33% ~ -67%) しかも、漸減の傾向を示している。4 例の 2 週目

或はそれ以後の変動については、一旦注入前値に回復して再度短縮するもの、或は更に短縮の傾向を強めるもの等、一定しないがこの時期において尚、短縮の傾向が回復に向っていないことは明らかである。

B. oxy-Hb 注入群

Fbg 値：(Fig11, 12) この群の注入前平均値は 287mg/dl であるが、1 例のみ 438mg/dl の高値を呈した。しかし 4 例共、注入後 2 週間における変動の経過については、著しく共通した傾向を示している。すなわち、2 乃至 6 日迄の早期に、全例 +41.2% から +82.9% に及ぶ変化率 (平均 +69.3%) を示して最高値に達したのち、以後は単純に減少し、約 2 週後にほぼ注入前値に復するか、或はこれを下回る値迄下降している (平均 -11.7%)。尚、2 週以後の変動経過は、再増加するもの 1 例、更に減少するもの 2 例で一定し

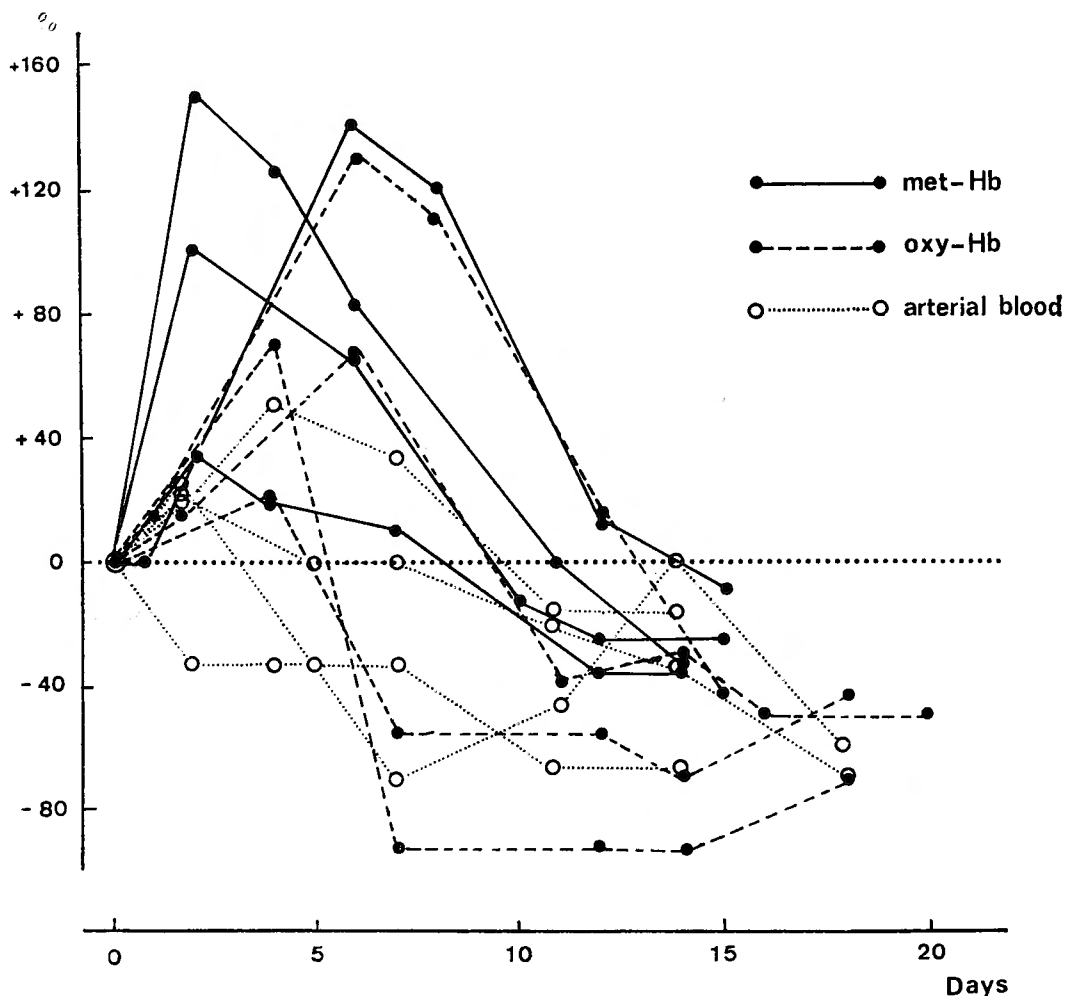


Fig. 14 Rate of sequential change about plasma ELT following intrathecal injection of arterial blood, oxy-Hb and met-Hb.

ていない。

ELT 値：(Fig 13, 14) 注入前値は210分から540分に及び(平均 341 分) 個体差が著しいが、変動の経過は4例共一貫した傾向を有している。即ち、全例が注入後4日から6日目に著しく延長して最長時間に達する。各最長時間の平均値は560分であり、注入前値に比して平均+75%の延長を呈している。以後は急速に短縮の傾向に移行し、2週目頃迄その傾向を更に強める。即ち、7日目には4例中2例が注入前値を下回り、それぞれの注入前値に比して平均-74.3%の変化率を示し著減している。11日目には4例中3例が注入

前値を下回り、その際の、注入前値に比してこの3例の平均変化率は、-52.8%となり、低値を呈する。更に2週目には全例が注入前値を下回り、4例の平均値は128分となり、注入前に比して-58.8%の変化率で著しい短縮の傾向を示している。2週以後についても、多少変動はあるが尚、注入前値に復するものはなく、短縮したままの状態が維持されている。

C. met-Hb 注入群

Fbg値：(Fig 11, 12) この群の4例の変動は比較的単純な経過を呈する。注入前値は139mg/dlの間にあり、平均168mg/dlである。3例が注入2日後に最高

値に達する急速な増加を示し、残る1例は6日後に最高値に達する。最高値の平均は270mg/dlであり、注入前値に比して平均61%の増加に相当する。最高値を呈して以後は、それぞれ単純な減少傾向を示し、約2週目においては平均180mg/dlと下降し注入前値にはほぼ近づくが、注入前値に比して尚、平均19%の増加を呈している。

ELT 値：(Fig 13, 14) 注入前値は180分から310分

の間にあり、平均値は258分を呈し、個体差の比較的少ない群である。3例は2日後に平均95%の増加率を示して、12日目以後には注入前値を下回る値に迄下降する。残る1例は、他の3例よりも遅れて、注入6日後に167%の増加を示して最高値に至る。それ以後は、他の3例よりも幾分高値を示しながら、且つ、やや遅れ気味ながら、傾向としては全く同様に下降し15日後には-10%の低値に達する。約2週後の最終測定時に

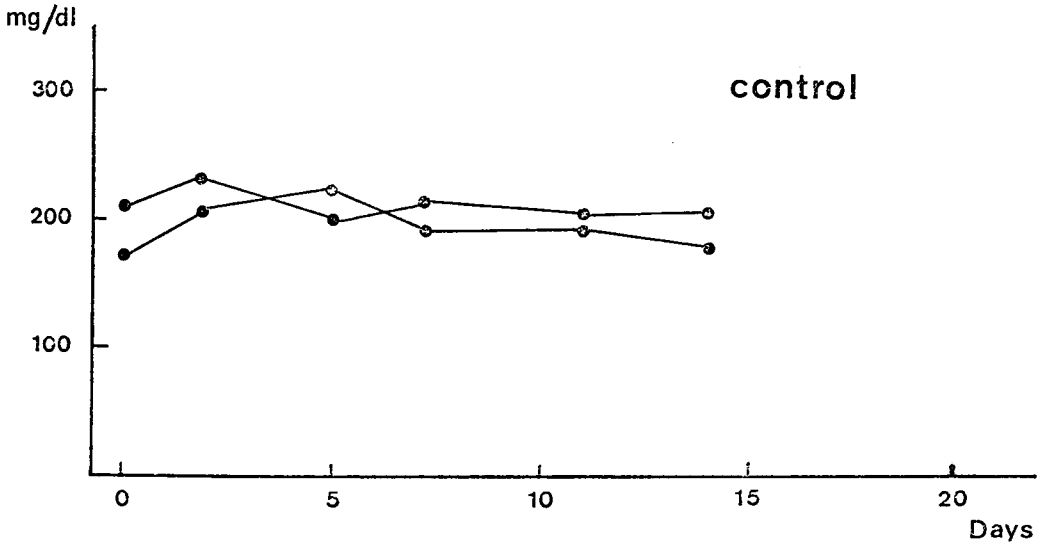


Fig. 15 Sequential change of plasma fibrinogen following intrathecal injection of physiological solution.

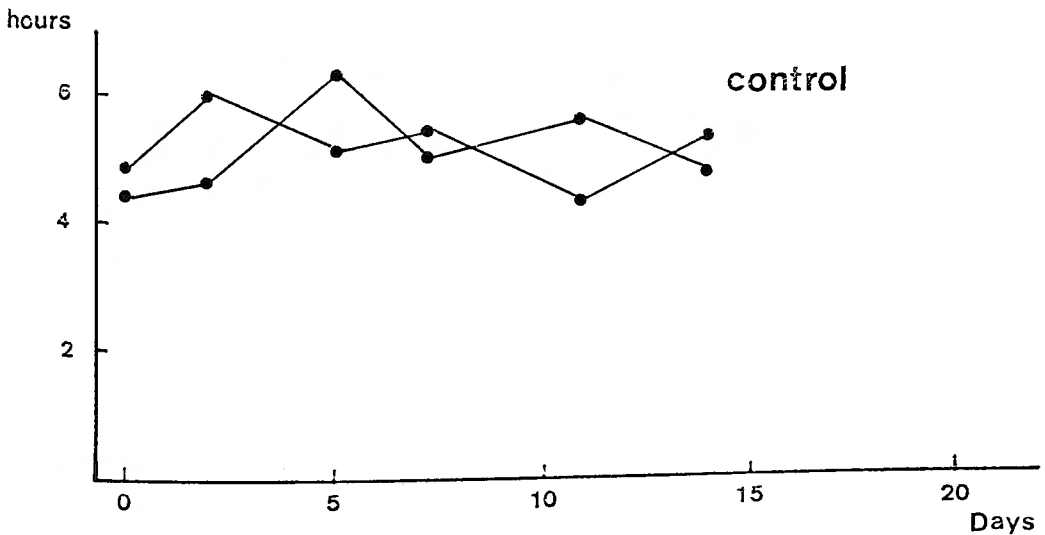


Fig. 16 Sequential change of plasma ELT following intrathecal injection of physiological saline solution.

おいては、上述のごとく全例、注入前値よりも低値となっており、その程度は平均-25%という短縮状態を示している。

尚、対照群として 0.3ml/kg の生理的食塩水を、同様に大槽穿刺により注入した 2 頭については、Fbg., ELT 共に 2 週間について有意の変動を呈していない。(Fig 15, 16)

各群についての、以上の如き血漿 Fbg 値の推移をまとめてみると、12例全例において、各成分注入後 1 週以内の早期に、必ず一旦、かなりの増加を呈する点が共通している。この際の注入前値に比しての増加率は、平均64%であった。大部分の例(9例)では、その後単純に減少して注入前値に接近するという経過をたどっている。約 2 週後に注入前値に比して、30%以上の増加或は減少を呈している場合が 3 例あり、内訳として増加しているもの 1 例、減少しているもの 2 例の計 3 例であるが、これらが全て、oxy-Hb 注入群であることは特徴的である。また、増減巾の最も少ない群は、全血注入群であり、met-Hb 群が最も高振巾の変動を示し、oxy-Hb 群がその中間であったが、14日目頃に、注入前値を下回る例が 3 例もある点が、oxy-Hb 群について目立つ点であった。血漿 ELT 値についても、12例中10例において、注入後 2 日から 6 日の早期に一旦延長し、以後短縮の傾向を次第に強めるという共通の経過が認められた。しかも興味ある点は、7 日以後の時期に全例において注入前値を下回る時期が存在することである。特に全血注入群及び oxy-Hb 注入群において顕著な減少傾向を示すことは上述した通りである。

考 按

Brawley⁷⁾ によって提唱された、くも膜下出血後の脳血管攣縮の二相性の変化については、現在ほぼ異論はないが、臨床上患者の予後に著しい影響を与えるのは、くも膜下出血直後に発生し、数時間以内に消退する early spasm ではなく、3~4 日後に発生して 1 週間或はそれ以上持続する late spasm である。この late spasm の存在する期間に行われる手術の予後は、きわめて不満足なものであり、再出血の危険はあるが攣縮の消退を待ってから手術をすすめる人が少なくないのが現状である。また、late spasm が著しく高度で且つ、長期化した場合神経学的脱落症状が非可逆的となり、外科的治療の対象となり得ないような場合も存在する。この late spasm の原因として、

1. 血管平滑筋細胞の変化⁴⁾⁽⁸⁾⁽¹²⁾
2. 血管運動神経の刺激¹¹⁾⁽³⁹⁾
3. 血管収縮性物質¹¹⁾⁽²³⁾⁽⁶⁴⁾

等が考えられているが、血管平滑筋細胞の変化は、血管攣縮の原因というよりも、長期間持続した攣縮の結果であろうという考え方がむしろ支配的である。血管運動神経の関与についても、これに反するいくつかの実験結果が Gurdjian¹³⁾ その他によって報告されており、尚、疑問視されている。したがって、現在最も重視されている因子は、血管壁に直接作用して収縮を起すと思われる、いわゆる血管収縮物質である。この様な作用の可能性のある物質の中でも、特に可能性の大きいものとして serotonin⁵⁾、prostaglandin⁴⁷⁾⁽⁶⁵⁾ 及び Hb³³⁾⁽³⁸⁾⁽⁴²⁾⁽⁴⁶⁾ が注目され検討されてきている。しかし、serotonin は出血後髄液中で早期に著減することや、抗 serotonin 薬が late spasm に対して無効である⁷⁾ 点等から、原因物質としては否定的に考えられており、prostaglandin についても、これによって長期持続する攣縮を来し得た実験報告が認められないことや、生理的濃度では血管攣縮を来し得ない点等¹⁵⁾⁽⁴³⁾ から、これも真の原因物質ではあり得ないとされている。Hb については最近、いくつかの実験が報告されているが、その攣縮原因物質としての根拠は、くも膜下腔内に散布、あるいは貯留された血球内の oxy-Hb が溶血により髄液中へ逸脱して増加する時期と、late spasm が増強する時期とが合致していることである³³⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁶⁾。しかし Hb についても、溶血赤血球の主成分である oxy-Hb のみならず、この酸化物質である met-Hb も攣縮を起しうる²⁴⁾ と言われており、いずれであるかについては尚、問題が残されている。そこで本実験では、まず全血、oxy-Hb、met-Hb を犬くも膜下腔内に注入し、注入成分による攣縮の差異或は特徴を検討した。同時に各成分注入後の循環血液の線溶能の推移を測定し、攣縮と線溶との相関性の有無につき考察した。

尚、oxy-Hb としては、Drabkin 法¹⁰⁾によらず、新鮮自家動脈血の赤血球を超音波で破壊して作製した溶血液を用いた。この場合、注入成分は Osaka⁴⁶⁾ の言う赤血球破壊産物に該当し、純粹の oxy-Hb のみではなく、met hemalbumin, catalase, hematin, hemin, bililubin などが含まれている筈であるが、oxy-Hb が主成分をなしており、且つ、最も顕著な血管攣縮作用を有する点から、この溶血液を oxy-Hb と呼称した。

met-Hb 溶液の作製にあたっては、酸化剤として NaNO₂ を用いることも考えたが、著しく稀釈された

H₂O₂の方が脳血管、或は脳組織に対して影響を呈さないであろうと判断してこの方法を用いた。事実1例について、同量のH₂O₂を生理食塩水にて同率に稀釈したものを、くも膜下腔内に注入して脳血管撮影を行ったが、格別の変化に気付いていない。

結果をまとめると、

(1) 注入直後に攣縮が最も著しいのはmet-Hb群であり、oxy-Hbがこれに次ぎ、全血群が最も軽度であった。

(2) 3日後においてmet-Hb群では、攣縮は全例に認められたものの攣縮の程度は著しく減少しており、oxy-Hbについては、攣縮は幾分の改善を示し、全血群の場合は逆に攣縮の傾向を強めている。

この結果より、野中³⁷⁾、園部⁵²⁾或は大本⁴³⁾らによって提唱されているoxy-Hbの攣縮起因性が確認されると同時に、met-Hbも攣縮を起しうることも明らかとなった。従ってoxy-Hbをmet-Hbに変化させることによって攣縮を除去するという園部らの方法⁵¹⁾は、不可能であると言わざるを得ない。oxy-Hb、met-Hbの両者共攣縮作用を有するという点では梶川ら²⁴⁾らの説に一致するが、本実験の場合、met-Hbの方がむしろ攣縮の作用が強いと考えられる点が異なる点である。

尚、両者によって生じた攣縮が3日後に共に改善している点については、両物質が髄液腔から移動しやすく、早期に稀釈される為ではないかと考えられる。

これとは逆に、全血注入群の場合、遅れて攣縮が増強するが、これは既に言われている様に³³⁾³⁸⁾⁴⁶⁾、血球被膜の破壊に必要な時間の問題に起因する現象と考えられる。しかしながら、Hbと同様に持続的な血管攣縮を来しうる物質が、生体内に他に存在しないかどうか、更にはHbが血管壁に作用する場合、如何なる機序で攣縮を生ぜしめるのか等、尚、未解決の点が残されている。従ってこれらの諸点が解明されて初めて、脳血管攣縮に対する真に有効な治療法が考え出されるものと思われる。

一方、各成分注入後の線溶系の推移の観察は、全血注入群の場合、病態生理上、有意義のものであるが、oxy-Hb、met-Hb注入群の場合、くも膜下腔内に突然これらの物質が多量に出現する事態はあり得ないから、これらについては、脳血管攣縮との関係を見ることを主な目的として測定した。くも膜下出血後の循環血液中のFbgの変動は、最近注目されるようになり、特に渡辺⁶²⁾らによって、臨床例について脳血管攣縮との相関が検討され、攣縮が著明な場合、血中Fbg

値が上昇することが示唆されているが、明確な結論は未だ出されていない。また、臨床例での研究の場合、抗プラスミン剤の大量投与が常になされている為、正確な評価をしがたい点が問題である。本実験において、Fbg.は、3群共、かなり類似した動態の経過を呈しており、大部分の例で注入後第1回の採血にあたる2日～3日目頃に最高値を呈し、以後漸減する。

血管攣縮の推移については、全血注入群とHb注入群とでは明らかに異なる経過をたどるのに反して、Fbg値の変動経過は、3群とも極めて類似していることを考えれば、脳血管攣縮と血中Fbg値の相関性は稀薄と考えるべきであろう。しかしながら、全血又はHb注入により、血中Fbg値が一過性に高値を呈すること自体は、明らかに証明され、この結果から考えると、臨床例に關しての渡辺⁶²⁾らの報告にみる如く、Fbg値の増加が破裂脳動脈瘤患者の急性期の予後の不安定性に關係ありとするならば、むしろ、脳動脈瘤からのminor leakageによる血中Fbg値の増加とみなして対処すべきものとする。そして、指摘されている脳血管攣縮はminor leakage後の結果とみなす方が妥当であろう。なお、全血注入群におけるよりも、Hb注入群の方が血中Fbg値の変動巾が著しいこと、oxy Hb注入群では、約2週後に注入前値をかなり下回る値迄低下するものがあることなどは、さらに検討を要する点であろう。ELT値はFbg値よりも更に直接的に線溶系を測定しうる方法であり、実験的にも膜下出血において、これを経時的に測定したという報告は未だ見ていない。臨床例においては、SK-ELT値を測定した渡辺⁶³⁾らの報告があるが、t-AMCHA大量投与下にある為、正常な評価が困難であり、しかも一貫した変動傾向を示していない。本実験では、正確を期する意味で、SKを用いずにELTを測定したが、注入7日以後において、3群共に共通して大部分の例で注入前値をかなり下回る短縮状態を来していることは、興味ある点である。ことに全血注入群の変動経過は、7日目以降の循環血液線溶能の亢進を来し、実験1の結果とよく符号して、この時期での再出血の頻度の高いこととの関連性を示唆するものであろう。くも膜下出血の場合、血液線溶系は活性を示さないという今永ら²⁾²⁰⁾²⁸⁾⁶⁰⁾の説に反して、実験1、2の結果共、破裂脳動脈瘤のfibrin plug融解には、循環血液の線溶能の果す役割の重要性を示していると考えられる。しかしながら、Fpg値の変動の場合と同様に、3群のELT値の変動の傾向は互いにほぼ類似してお

り、脳血管攣縮の経過が、2種類に大別出来ることと相関せず、この場合にも線溶と血管攣縮とは有意の関係を示していないと言える。結局、破裂脳動脈瘤患者の手術待期中、血管攣縮の著明な場合、極端な量の抗線溶剤を投与して、血中 Fbg 値を増加させることは、末梢循環の点より好ましくない⁶³⁾ことは当然であるが、循環血液線溶能の変動に影響をうける可能性の大きい再出血の予防と、線溶系とは関係なく存在する脳血管攣縮の改善という2つの独立した面より管理される必要があると言えよう。

結 語

1) 循環血液の線溶能と髄液の線溶能のいずれが破裂脳動脈瘤患者の再出血により深い関係の有するかわかる目的で、犬の大槽内に自家動脈血を注入し、実験的にも膜下出血を作り、血液、髄液の線溶能の経時的変動を3週にわたり測定した。用いた測定方法は以下の3種類である。

- ① Lysin-sepharose affinity chromatography 法及び TNP 法による plasminogen 及び anti-plasmin の定量
- ② Fibrin plate 法による total plasmin activity の測定
- ③ Latex 法による FDP 測定。

この結果、循環血の線溶能は出血後次第に亢進し、7日から9日目に頂点に達した後漸減するが、髄液の線溶能は出血後2日以内に最高の線溶亢進を来したのち漸減した。再出血が最も高頻度であるのは、初回出血後1週間前後である点から、時期的な点より考えると、循環血液の線溶亢進が再出血により密接な関係を有している可能性が大きいと考えられる。

2) 上記の結果に基づき、さらに循環血液の線溶動態との脳血管攣縮との関係を検討した。脳血管攣縮は、犬大槽内に全血、oxy-Hb, met-Hb を注入して惹起し、脳血管撮影によって確認した。また、この際の血液線溶能は、ELT 値、Fbg 値によって測定した。

3種類成分注入後の血管攣縮と線溶能の推移を観察することにより、

- a) 自家動脈血、oxy-Hb, met-Hb のいずれによっても、3日以上持続する脳血管攣縮は作製可能である。
- b) 血中 Fbg 値の増加は、血管攣縮との関係よりも、くも膜下出血そのものの反映とみなす方が適切と思われる。

c) ELT 値測定による血液線溶系の動態は、他の方法によって測定した結果とほぼ共通した傾向を呈し、再出血と循環血液線溶との関係を更に示唆している。

d) 血管攣縮と線溶系とは有意の相関を示さない。以上のことを結論した。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜りました恩師、半田肇教授に深謝すると共に、研究の便宜をお計りいただいた聖マリアンナ医科大学第2外科、飯島登教授、測定法について御教示、御助言をいただいた東邦大学医学部生化学教室、五十嵐紀子講師、終始御鞭撻賜った聖マリアンナ医科大学形成外科学教室荻野洋一教授の諸氏に感謝致します。

文 献

- 1) 相羽直：脳動脈瘤の外科、とくに intentional delayed operation による成績とその問題について。日外会誌 72: 1579, 1971.
- 2) 相羽直：脳動脈破裂後の再出血、とくに出血機序と治療上の問題について。第14回プラスミン研究会報告集 1974, 京都。
- 3) 青木延雄：線溶療法。臨床と研究 53: 72, 1976.
- 4) Alksne JF and Greenhoot J II: Experimental catecholamine induced chronic cerebral vasospasm, myonecrosis in vessel wall. J Neurosurg 41: 440-445, 1974.
- 5) Allen GS, Henderson LM et al: Cerebral arterial spasm., 1: In vitro contractile activity of vasogenic agents on canine basilar and middle cerebral arteries J Neurosurg 40: 433-411, 1974.
- 6) Beattie A: Inhibitors of plasminogen activation in human blood. British J Hematology 32: 135, 1976.
- 7) Brawley BW, Strandness Jr DE et al: The biphasic response of vasospasm in experimental subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 28: 1-8, 1968.
- 8) Conway LW and Modonald LW: Structural changes of the intradural arteries following subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 37: 715-723, 1972.
- 9) Deutsch D: Plasminogen: Purification from human plasma by affinity chromatography. Science 170: 1095, 1970.
- 10) Drabkin SC: The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those other species. J Biol Chem 164: 703-723, 1946.
- 11) Echlin FA: Current concepts in the etiology and treatment of vasospasm. Clinic Neurosurg 15: 133-160, 1967.
- 12) Fein JM et al: Sequential changes of vascular

- ultrastructure in experimental cerebral vasospasm. myonecrosis of subarachnoid arteries. *J Neurosurg* 41: 41-58, 1974.
- 13) Gurdjian ES, Webster JE et al: Cinophotomicrography of the pial circulation. A study of factors influencing vascular caliber, Preliminary report. *AMA Archs Neurol Psychiat* 80: 418-435, 1958.
- 14) Gibbs J: Fibrinolysis in subarachnoid hemorrhage. *Postgrad Med J* 43: 779, 1967.
- 15) Heros RC, Zervas NT et al: Cerebral vasospasm. *Surg Neurol* 5: 354-362, 1976.
- 16) 橋本卓雄: 髄液線溶活性よりみた破裂脳動脈瘤再出血の予知(第1報)第34回日本脳神経外科学会、1975年10月(名古屋)
- 17) 半田肇: 脳神経外科学 476, 永井書店, 大阪, 東京, 1970.
- 18) 五十嵐紀子: プラスミン, プラスミノゲン, 抗プラスミン測定法. a) TNP 法. *臨床病理* 24: 308, 1976.
- 19) 池松正次郎: FDP 測定法. *臨床病理* 24: 329, 1976.
- 20) 今永浩寿, 大杉保, 他: くも膜下出血時の髄液線溶動態: 脳動脈瘤再出血との関連について. *脳神経外科* 5: 51-58, 1977.
- 21) 石井昌三, 野中利房: くも膜下出血時における脳血管攣縮: その機序について. *脳と神経* 29: 9-20, 1977.
- 22) 五十嵐紀子: アフィニティークロマトグラフィーを用いる線溶能の検査. *臨床検査* 17: 9, 1973.
- 23) Kapp J, Nahaley Jr MS et al: Cerebral arterial spasm, part 1: Evolution of experimental variable affecting the diameter of the exposed basilar artery. part 2: Experimental evaluation of mechanical and humoral factor in pathogenesis. part 3: Partial purification and characterization of a spasmogenic substance in feline platelets. *J Neurosurg* 29: 331-356, 1968.
- 24) 梶川博, 吉川幸弘, 他: 脳血管攣縮: 血清髄液とくにオキシヘモグロビンとメトヘモグロビンとの相関性並び血管内壁微細構造に関する臨床的実験的研究, 第36回脳神経外科学会総会(大阪) 1977年10月27日~29日.
- 25) 樋本恵: Fibrin 分解物の測定法とその臨床的意義. *臨床病理* 22: 559, 1974.
- 26) Liu T: Studies on plasminogen. (9) Purification of human plasminogen from Cohn Fraction 3 by affinity chromatography. *Canad J Biochem* 49: 1055, 1971.
- 27) Mullan S: An experimental approach to the problem of cerebral aneurysm. *J Neurosurg* 21: 838, 1964.
- 28) 美原恒: 実験的脳血腫による線溶亢進とその統御 *日本生理学雑誌*, 30: 431, 1968.
- 29) Mullan S: Antifibrinolytic therapy for intracranial aneurysm. *J Neurosurg* 28: 21, 1968.
- 30) 松田道生: 抗アクチベーター測定法. *臨床病理* 24: 325, 1976.
- 31) 丸山征郎: 中枢神経系の凝固線溶動態に関する研究(1)—髄液中 FDP の量的並びに質的解析—第17回脳神経学会総会1976.
- 32) 丸山征郎: 髄液中 FDP より見た各種脳神経疾患の臨床病理学的検討, 第22回臨床病理学会, 1976.
- 33) 宮岡誠: 脳血管攣縮に関する実験的研究=oxy hemoglobin の血管収縮能を中心として=日本外科学会誌, 第78回第4号1977年4月.
- 34) 松岡松三: 血液凝固検査の進め方と測定法, 金原出版, 新臨床医学文庫 18: 100~104, 1965.
- 35) 三輪史郎: 臨床検査技術全書 3巻血液検査. 医学書院 p 47~49
- 36) 三輪史郎: 臨床検査技術全書 3巻血液検査. 医学書院 p 517~518.
- 37) 野中利房, 宮岡誠, 他: 脳血管攣縮の成因と治療に関する研究. 第36回日本脳神経外科学会総会(大阪), 1977年10月27日~29日.
- 38) 野中利房: 脳血管攣縮の治療に関する実験的並びに臨床的研究. *Experimental and Clinical studies of treatment for prolonged vasospasm*. 日本外科学会雑誌, 第78回第4号1977年4月.
- 39) Nielsen KC and Ouman C: Contractile response and amine receptor mechanisms in isolated middle cerebral artery of the cat. *Brain Res* 27: 37-42, 1971.
- 40) Nibbelink D: Plasminogen depletion during administration of epsilon-aminocaproic acid. *Thrombos Diathes Hemorrh (Stuttg)* 29: 598, 1973.
- 41) Nibbelink D: Antifibrinolytic activity during administration of epsilon aminocaproic acid. *Stroke* 2: 555, 1971.
- 42) Osaka K: Experimental studies on cerebrovascular spasm in cat. *Arch Jap Chir* 38: 349-371, 1969.
- 43) 大本堯史, 諸岡弘, 他: 脳血管攣縮の成因に関する実験的検討. *神経外科* 16: 525-534, 1976.
- 44) 大本堯史, 諸岡弘, 他: クモ膜下出血後脳血管攣縮の発生機序とその寛解, 第36回日本脳神経外科学会総会(大阪) 1977年10月27日~29日.
- 45) 大本堯史: 脳血管攣縮寛解物質. *脳神経外科* 6: 229~234, 1978.
- 46) Osaka K: Prolonged vasospasm produced by the breakdown products of erythrocytes. *J Neurosurg* 47: 403-441, 1977.
- 47) Pennink M, White RP et al: Role of prostaglandin F in the genesis of experimental vasospasm angiographic study in dogs. *J Neurosurg* 37: 398-406, 1972.
- 48) Pool JL, Jacobson S et al: Cerebral vasospasm.

- Clinical and experimental evidence *J Aer Med Ass* **167**: 1599-1601, 1958.
- 49) Pechet L: Fibrinolysis (concluded). *New Engl J Med* **4**: 1024. 1965.
- 50) Richard H, Thomas T et al: Fibrin/Fibrinogen degradation products in cerebrospinal fluid of patients admitted to a psychiatric unit. *J Neurol Neurosurg and Psychiatry* **37**: 249-251, 1974.
- 51) 園部真, 堀重昭, 他: クモ膜下出血後の脳血管攣縮物質の解明とその攣縮解除薬物について. 第35回～本脳神経外科学会総会 (前橋) 1976年10月20日 日22日.
- 52) 園部真, 遠藤俊郎, 他: 破裂脳動脈瘤超早期手術例於ける血管攣縮の予防方法の検討. 第36回日本脳に神経外科学会総会(大阪)1977年10月27日～29日.
- 53) Sahs AL, Perret G et al: Intracranial aneurysmus and subarachnoid hemorrhage: A cooperative study. JB Lippincott Company Philadelphia and Toronto, 1969.
- 54) Sengupta R: Use of EACA in the preoperative management of ruptured intracranial aneurysmus. *J Neurosurg* **44**: 479, 1976.
- 55) Tovi D: Fibrinolysis and subarachnoid hemorrhage. Inhibitory effects of tranexamic acid-A clinical study. *Acta Neurol Scandinav* **48**: 393, 1972.
- 56) Tovi D: Ability of tranexamic acid to cross the blood-brain barrier and its use of in patients with ruptured intracranial aneurysmus. *Acta Neurol. Scandinav.*, **48**: 257, 1972.
- 57) Tovi D: The use of antifibrinolytic drugs to prevent early recurrent aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol. Scandinav.*, **49**: 136, 1973.
- 58) Tovi D: Fibrinolytic activity of human brain, A histochemical study. *Acta Neurol. Scandinav.*, **49**: 152, 1973.
- 59) 玉木紀彦: 脳動脈瘤の再破裂に関する研究. *脳神経外科* **3**: 647, 1975.
- 60) Tovi D, Nilsson LM et al: Fibrinolytic activity of the cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol Scandinav* **49**: 1-9, 1973.
- 61) 田中健蔵: 線溶現象の病理学的意義. *日病会誌 (Jr Soi Path Jap)* **66**: 3-26, 1977.
- 62) 渡辺博, 長谷川毅, 他: クモ膜下出血の fibrinogen の変動と意義. 第17回プラスミン研究会(名古屋) 昭和52年11月13日.
- 63) 渡辺博, 千ヶ崎裕夫, 他: 破裂脳動脈瘤における線溶動態の研究(第1報)SK-eugleblin 溶解時間, FDP 測定による抗線溶療法 of monitory. *脳神経外科* **5**: 857-863, 1977.
- 64) Wilson JL and Fieled JR: The production of intracranial vascular spasm by hypothalamic extract. *J Neurosurg* **40**: 473-479, 1974.
- 65) White RP, Hagen AA et al: Experimental study on the genesis of cerebral vasospasm. *Stroke* **6**: 52-57, 1975.