
ミニ・レビュー

外傷性脳損傷における低体温療法の効果

小 泉 博 靖

山口大学医学部脳神経外科 宇部市南小串1-1-1 (〒755-8505)

Key words : 重傷頭部外傷, 低体温療法, 興奮性アミノ酸

はじめに

一般に重傷頭部外傷では、外傷性くも膜下出血や脳挫傷を認め、二次性に脳浮腫を来すなど脳損傷の形態や程度が非常に多様です。尚かつ患者は通常、頭蓋内圧の亢進から嘔吐を認め、意識障害の低下により誤嚥性肺炎を合併し、全身状態が著しく悪化することが少なくなく、一般に治療困難なことが多く、予後も不良です。合併する肺炎や血圧の低下は血中の酸素濃度の低下をもたらす、結果として神経細胞に低酸素状態を負荷することにより脳損傷を二次的に拡大する原因ともなります。

このような重傷頭部外傷症例に対し、現在唯一の治療法として低体温療法が注目されています。重傷頭部外傷症例に対する低体温療法の臨床報告はアメリカを中心に1993年頃より活発に報告されています。

Cliftonらは、重傷頭部外傷計46症例に対し、低体温を行ったグループと低体温を行わなかったグループとで受傷3ヶ月後の患者の転帰を比較した結果、低体温を施行した患者群の方が予後が良好であったと報告しています¹⁾。Marionらの報告では、重傷頭部外傷計40症例を経験し、低体温群20例と低体温を

行わなかった20例を比較したところ、低体温が有意に頭蓋内圧の亢進を軽減し、3ヶ月後の患者の転帰でも低体温群の治療成績が良好であったと報告しています²⁾。我が国でもいくつかの施設で低体温療法は早くから臨床的に試みられ、Shiozakiらは33症例の重傷頭部外傷患者のうち、低体温治療を施行した16例では頭蓋内圧の管理維持が良好で脳血液還流圧も改善し、コントロール群に比べ患者の生存率も有意に高かったと報告しています³⁾。Tateishiらは同じく重傷頭部外傷患者で低体温治療が頭蓋内圧亢進を改善したことを認めました⁴⁾。これらの臨床報告は重傷頭部外傷における低体温療法に関する一部ですが、アメリカをはじめとして我が国においても低体温療法の実践は臨床の現場において着実に浸透しつつあるといえます。

興奮性アミノ酸と遅発性神経細胞死

低体温が脳挫傷病変において治療効果を発現する作用機序にはたくさんのメカニズムが考えられています。その中の一つとして興奮性アミノ酸(excitatory amino acids)に対する影響があります。グルタミン酸やアスパラギン酸を始めとする興奮性アミノ酸は、本来、脳神経細胞中に存在する神経伝達物質の一つとして考えられていますが、その生理作用はあ

平成11年12月1日受理

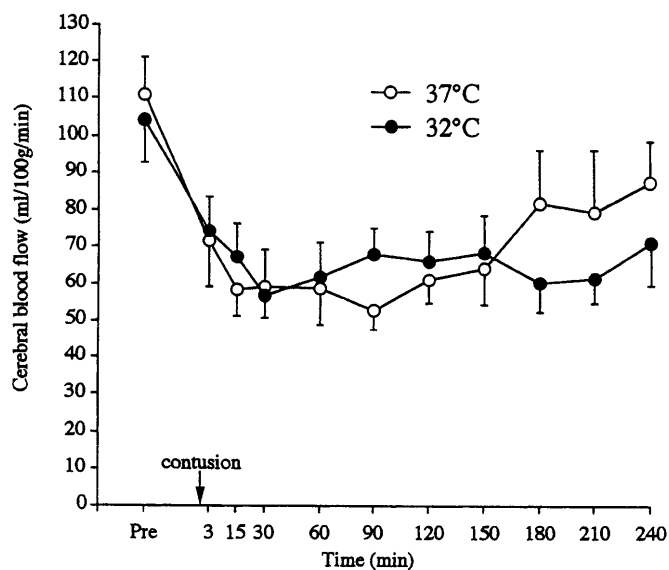


Fig. 1 : Cerebral blood flow changes within the area of contusion. Clear circles = normothermia group; solid circles = hypothermia group. There are no significant differences between the groups at any time points. Values are mean \pm S.E.M.

まり明らかにされていません。これらの興奮性アミノ酸は脳虚血や脳低酸素状態のもとでは、細胞内のATPが枯渇し、presynaptic terminalより電氣的勾配により細胞外に放出されます。放出されたグルタミン酸はpostsynaptic terminalにある受容体と結合すると連鎖的に細胞外Caイオンの細胞内への流入を誘導します。細胞内のCa濃度が異常に高まると通常では活性化されない蛋白質分解酵素や磷脂質分解酵素が活性化され細胞骨格や細胞膜が破壊されます。以上の興奮性アミノ酸により誘導される一連の細胞内の現象は遅発性神経細胞死 (delayed neuronal death) と呼ばれ、既に動物の脳組織を用いた *in vivo* あるいは *in vitro* の虚血実験でこれらの興奮性アミノ酸が神経細胞外液中へ放出されることが確認されています。

低体温 (低脳温) と興奮性アミノ酸

Benvenisteらはratの両側総頸動脈を結紮して脳虚血モデルを作成し、興奮性アミノ酸の神経細胞外液中での濃度上昇を確かめました⁵⁾。さらにBustoらはいくつかの脳虚血によるアミノ酸の濃度上昇を低体温が抑制することを確認しました⁶⁾。そして興奮性ア

ミノ酸の濃度上昇は外傷性脳損傷における挫傷病変においても同様に認められ、Fadenらは興奮性アミノ酸が重傷頭部外傷における脳損傷の増悪因子であると指摘しました⁷⁾。実際、脳挫傷病変部においては血管構築が破壊され、周囲は脳浮腫を来し、脳虚血に近い病態が形成されます。このような経緯から外傷性の脳挫傷における高濃度の興奮性アミノ酸は低体温によりその濃度上昇が脳虚血と同様に抑制されるものと考えられました。

外傷性脳損傷における細胞外液中の興奮性アミノ酸

Palmerら⁸⁾は、ラットの体温を37°Cに維持した正常体温群と32°Cに維持した低体温群とで実験的に脳挫傷を作成し、両者の脳損傷の差を比較しました。彼らは、Hematoxylin-Eosin染色によるラット脳冠状断で脳挫傷容積を計測した結果、低体温群のラット脳挫傷容積が正常体温群に比べ有意に減少した(62%)ことを報告しています。彼らは同時にこの実験で脳挫傷領域における細胞外液中のグルタミン酸濃度を測定しました。グルタミン酸の細胞外液中濃度は正常体温群と低体温群とで共に外傷作成後著明に上昇しており、その平均値の比較では両者の間に有意差は認められませんでした。結論としてPalmerらの実験では、低体温は脳組織の損傷を軽減するものの、脳挫傷局所における興奮性アミノ酸濃度についてはその上昇を抑制し得ませんでした。

私たちは、この報告を検討するとともに興奮性アミノ酸の脳挫傷病変における興奮性アミノ酸濃度と病変部局所脳血流の関係を調べるために以下のような実験を行いました。Male Wistar ratをハロセン麻酔下に頭部を固定し、右頭頂部を一部開頭し、直下の頭頂葉皮質内に微小透析用プローブおよび水素クリアランス用電極一体型温度プローブを刺入しました。これらのプローブにより神経細胞外液中のアミノ酸濃度、脳血流および脳温の測定を行いました。脳挫傷は、硬膜上においたimpactor tip上に90cmの高さから、重さ2.75gの鉛の分銅を落下させて作成しました。実験群として脳温および直腸温を37°Cに維持した正常脳温群(n=9)と32°Cに維持した低脳

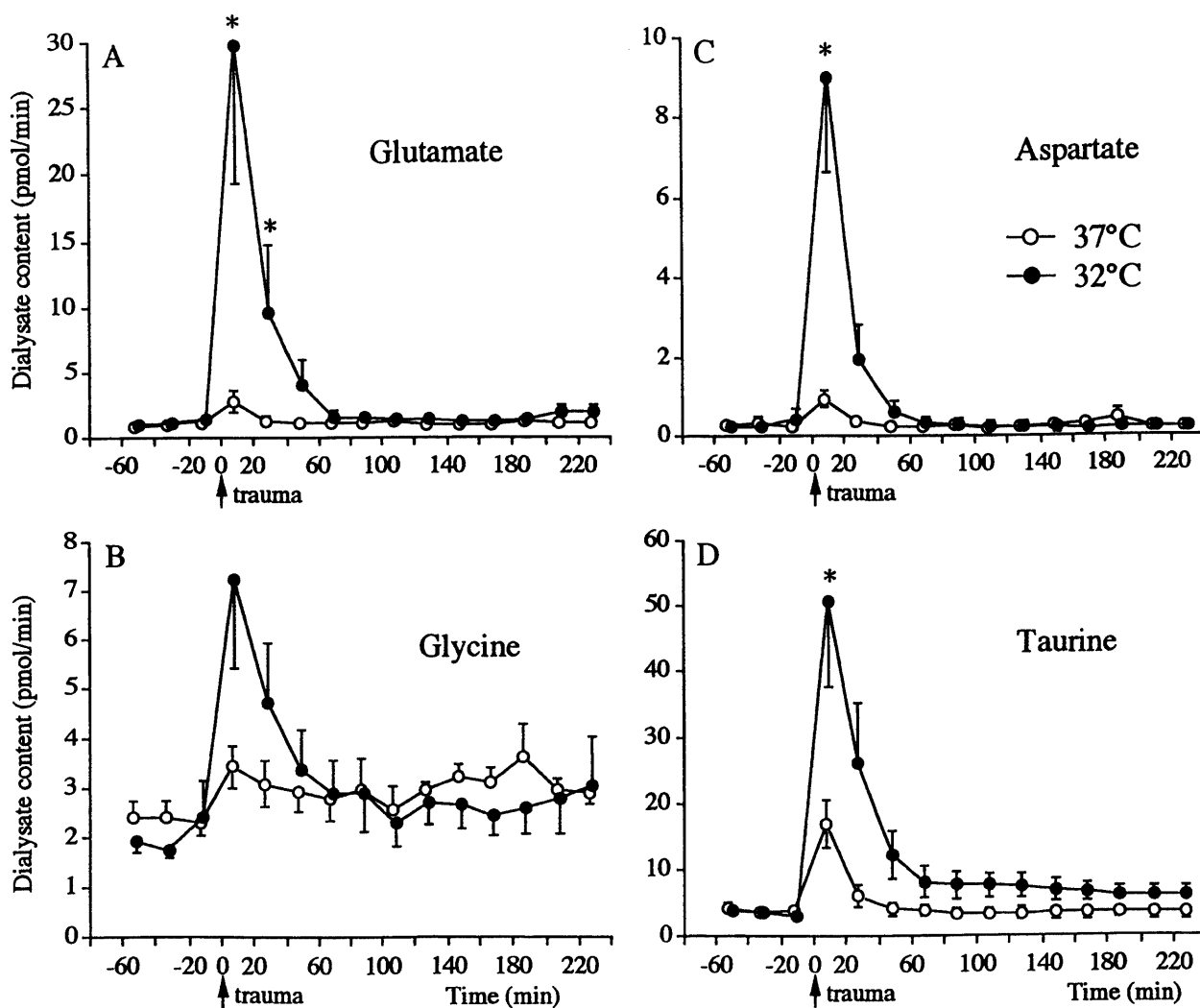


Fig 2 : Dialysate amino acid concentrations. Clear circles = normothermic rats; solid circles = hypothermic rats. The amino acid levels within the area of contusion are higher in the hypothermic than in the normothermic rats. Values are mean \pm S.E.M. Level of significant difference from the normothermia group (unpaired t-test): * $p < 0.05$

温群 (n=8) を比較検討しました。

今回私たちが作成した外傷作成モデルで損傷を受けた脳組織は、HE染色像で薄いくも膜下層の直下に染色性の弱い部分として認められました。同部位では、神経細胞の変性、アストロサイトの腫脹などの変化が認められました。このような神経細胞の変化は正常脳温群と同様に低脳温群のラット脳においても軽度ながら認められるものの、挫傷部位の染色性は保たれており、低脳温による脳保護作用が示唆されました。

脳血流の変化では、両群ともに外傷直後から脳血流の低下を認め、外傷作成15分後には、前値の約50%まで低下しています。その後両群とも脳血流は

徐々に回復しました。外傷作成前後の脳血流の変化について両群間で有意差は認められませんでした。また、この結果は、我々が作成した実験的外傷モデルにおいては脳血流の低下がいわゆる脳虚血閾値^{9,10)}とされる興奮性アミノ酸放出のトリガーとされる血流値まで低下しない軽度な脳損傷であることを示しました。(Fig. 1)

微小透析プローブを用いたin vivo microdialysisによる透析液中のアミノ酸濃度の測定結果では脳挫傷中心部の細胞外液中のグルタミン酸、アスパラギン酸の濃度変化は外傷作成直後より著しい上昇を認め、約1時間後にはほぼ受傷前のレベルに復帰しました。この実験結果では、低脳温がアミノ酸濃度に

Amino acid concentrations in normal rat plasma (μ mol/l)

glutamate	aspartate	glycine	taurine
107 \pm 7	2.7 \pm 0.2	326 \pm 19	184 \pm 10

Table 1: Values are means \pm S.E.M.

及ぼす影響は脳虚血と異なり、正常脳温群では、それぞれ前値の3倍から5倍近く(280%、460%)まで上昇したのに対し、低脳温群ではより激しい濃度上昇を認めました。(前値の2300%、5000%) (Fig. 2) タウリンについても同様の傾向でしたが、グリシンについては変化のパターンが異なりますが、やはり、低脳温群で高値となっています。

以上の実験結果は、脳虚血実験での低脳温による興奮性アミノ酸の神経細胞外液中への放出抑制とは異なる現象を示唆するものですが、外傷性脳損傷の場合、今回の実験結果のように低脳温が外傷後の濃度上昇を抑制出来ない理由として以下のような説明が考えられます。一つには、元々細胞内や血液中に存在するグルタミン酸が外傷による機械的ストレスにより逸脱することで細胞外液中の濃度が上昇するという説明です。シナプス間隙のグルタミン酸は、1 μ Mという低濃度ながら、シナプス小胞内には約100mM単位のグルタミン酸が含まれており、シナプトソームには、10mMの濃度でグルタミン酸が存在します。このような高濃度のグルタミン酸が外傷による機械的ストレスによって組織破壊を来し、脳虚血とは異なる現象として細胞外液中に逸脱してくる可能性が考えられます。実際に脳血流の測定では、外傷後の挫傷部位の血流は脳虚血閾値まで低下せず、この実験におけるアミノ酸の濃度上昇が脳虚血により神経終末より放出されたものではないことが分かります。また、血中由来のグルタミン酸の関与を調べるために私たちは、脳挫傷作成直後に 14 Cによりラベルしたグルタミン酸をラットの大腿静脈より静注(25 μ Ci)し、10分後に摘出した脳標本からautoradiogramを作成したところ、挫傷領域に血中の 14 C-glutamateの漏出を確認しました。実際に正常ラット血清中のアミノ酸濃度を測定した結果では、

Table 1のようにグルタミン酸は107 μ Mというかなりの高濃度で血中に含まれていることが分かります。脳挫傷部位では、一部で間質中への出血が認められ、また、血液成分の漏出による脳浮腫も重要な病態であり、このような高濃度の興奮性アミノ酸が細胞外液中の濃度上昇に関与している可能性は高いと考えられます。同時にこのようなアミノ酸の濃度上昇に対し、低脳温が脳虚血や低酸素状態における濃度上昇と同じように抑制すると理解するには困難が生じます。これらの議論は、正常脳温群と低脳温群との間で神経細胞外液中のアミノ酸濃度に有意差が無いことを説明することは可能ですが、今回の私たちの実験結果において、低脳温群で受傷後のアミノ酸濃度が正常脳温群よりも有意に高いことを説明することは出来ません。

そもそも脳には、アミノ酸の取り込み機構が、血管やアストロサイトが存在しています。これらの機構は、その機能発現に温度依存性を示すと考えられています^{13,14)}。従って低脳温の条件下では、これらのアミノ酸取り込み機構が抑制され、その結果として細胞外液中のアミノ酸濃度が低脳温群でより上昇したと考えられます。また、アミノ酸の細胞外液中での物理的拡散が低温度により抑制され、局所的に高濃度となった可能性もあります。以上は実験的根拠を得るため、更なる研究を重ねる必要があります。

Farooqueら¹⁵⁾は、脊髄損傷のモデルを用いて低体温が興奮性アミノ酸に与える影響を検討しました。彼らの実験結果では、細胞外液中のグルタミン酸とアスパラギン酸は、ともに外傷後より顕著に濃度上昇を認め、その後徐々に減少しますが、濃度上昇を迎えた後、低体温群における細胞外液中の興奮性アミノ酸濃度は、正常体温群の濃度よりも

高い濃度を維持しながら推移しています。この報告は、実験的外傷作成モデルの違いはあるものの、低体温が外傷後の興奮性アミノ酸の濃度上昇を抑制するであろうという希望的観測に反する結果となった私たちの実験結果を支持するdataの一つと成りうるものと考えます。

今回の実験結果で低脳温群では、外傷後、より高濃度の興奮性アミノ酸が間質中に存在したにも関わらず、低脳温が神経細胞保護効果を示しました。この理由については、未だ不明であり今後の検討が必要となりますが、グルタミン酸が細胞膜上の受容体と結合した後のカルシウム・イオンの細胞内流入に続く各種の有害な反応が温度依存性に低温度により抑制されるという可能性が考えられます。

低脳温による神経細胞保護については、外傷後の頭蓋内圧の上昇を抑制したり、窒素酸化物の生成を抑制するなど、まだまだたくさんの機序が考えられており、興奮性アミノ酸に対する影響はその中の一つに過ぎません。私たちは、その後の研究でimpact acceleration injury model を用いた脳損傷実験においてラット脳幹部に発生する神経軸索損傷が低体温によって軽減されることを確認しました¹⁶⁾。低体温は重傷頭部外傷にみられる瀰漫性軸索損傷 (diffuse axonal injury) の治療法として有効であることが示唆されます。低体温治療が臨床応用される一方で低体温治療による脳保護効果について私たちが理解を深めるべき余地はまだたくさん残っているといえます。今後も更なる研究を重ね、この治療法の未知なる可能性を発見すべく、臨床応用に貢献したいと考えています。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に御指導、御助言をいただきました山口大学名誉教授伊藤治英先生、救命救急医学教室前川剛志教授、脳神経外科藤澤博亮先生ならびに脳神経外科教室の皆様にご心より深謝致します。

引用文献

1) Clifton GL, Allen S, Barrodale P, et al. A phase II study of moderate hypothermia in severe brain

injury. *J Neurotrauma* 1993; **10**: 263-273

2) Marion DW, Obrist WD, Carlier PM, et al. The use of moderate therapeutic hypothermia for patients with severe head injuries: a preliminary report. *J Neurosurg* 1993; **79**: 354-362

3) Shiozaki T, Sugimoto H, Taneda M, et al. Effect of mild hypothermia on uncontrollable intracranial hypertension after severe head injury. *J Neurosurg* 1993; **79**: 363-368

4) Tateishi A, et al. Feasibility of the titration method of mild hypothermia in severely head-injured patients with intracranial hypertension. *Neurosurgery* 1998; **42**: 1065-1070

5) Beveniste H, Drejer J, Schousboe A, et al. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; **43**: 1369-1374

6) Busto R, Globus MYT, Dietrich WD, et al. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989; **20**: 904-910

7) Faden AI, Demediuk P, Panter SS, et al. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science* 1988; **244**: 798-800

8) Palmer AM, Marion DW, Botscheller ML, et al. Therapeutic hypothermia is cytoprotective without attenuating the traumatic brain injury-induced elevations in interstitial concentrations of aspartate and glutamate. *J Neurotrauma* 1994; **10**: 363-372

9) Shimada N, Graf R, Rosner G, et al. Ischemic flow threshold for extracellular glutamate increase in cat cortex. *J Cereb Blood Flow Metab* 1989; **9**: 603-606

10) Takagi K, Ginsberg MD, Globus MYT, et al. Changes in amino acid neurotransmitters and cerebral blood flow in the ischemic penumbral region following middle cerebral artery occlusion in the rat: Correlation with histopathology. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; **13**: 575-585

11) Betz AL, Goldstein GW. Polarity of the blood-brain barrier: neutral amino acid transport into isolated brain capillaries. *Science* 1978; **202**: 225-227

- 12) Hutchison HT, Eisenberg HM, Haber B. High-affinity transport of glutamate in rat brain microvessels. *Exp Neurol* 1985; **87**: 260-269
- 13) Kimelberg HK, Pang S, Treble DH. Excitatory amino acid stimulated uptake of $^{22}\text{Na}^+$ in primary astrocyte cultures. *J Neurosci* 1989; **9**: 1141-1149
- 14) Oldendorf WH, Szabo J. Amino acid assignment to one of the three blood-brain barrier amino acid carriers. *Am J Physiol* 1976; **230**: 94-98
- 15) Farooque M, Hillered L, Holtz A, et al. Effects of moderate hypothermia on extracellular lactic acid and amino acids after severe compression injury of rat spinal cord. *J Neurotrauma* 1997; **14**: 63-69
- 16) Koizumi H, Povlishock JT. Posttraumatic hypothermia in the treatment of axonal damage in an animal model of traumatic axonal injury. *J Neurosurg* 1998; **89**: 303-309

Effects of Mild Hypothermia on Cerebral Blood Flow-Independent Changes in Cortical Extracellular Levels of Amino Acids Following Contusion Trauma in the Rat

Hiroyasu KOIZUMI

Department of Neurosurgery¹⁾,

Yamaguchi University School of Medicine

1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

SUMMARY

In this present study, the effects of mild hypothermia on the changes in cortical extracellular amino acids and cerebral blood flow (CBF) caused by cerebral contusion created in the rat parietal cortex were investigated. CBF in both normothermia (37° C) and hypothermia (32° C) groups, which was monitored using the hydrogen clearance technique, decreased significantly after contusion, but never fell below the threshold for ischemia. Cortical levels of glutamate and aspartate, which were measured by intracerebral microdialysis, were significantly increased after contusion in each group. However these increases were greater in the hypothermic than in the normothermic rats. Normal plasma amino acid levels were high, and autoradiography following intravenous injection of ¹⁴C-labeled glutamate revealed marked extravasation of [¹⁴C]glutamate at the site of cortical impact. These results suggest that the post-traumatic increase in extracellular amino acids occurs independently of CBF reduction, and that extravasation of amino acids from the vascular compartment partly contributes to this increase.

Hypothermic cerebroprotection in TBI is thus likely to occur through a mechanism other than reduction in interstitial excitatory amino acids. In TBI, it is postulated that the postsynaptic effects of hypothermia may be more important than the presynaptic effects, when CBF is kept above the ischemic threshold.

(Brain Research 747; 304-312, 1997)