

氏 名	近藤 大資
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	医工博4甲 第293号
学 位 授 与 年 月 日	令和3年3月23日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
専 攻 名	生体制御学専攻
学 位 論 文 題 名	Effects of adrenaline and vasopressin on cerebral microcirculation in the normal state and during global brain ischemia/reperfusion injury in rabbits (ウサギにおける広範脳虚血と再灌流において、アドレナリンとバソプレシンが脳の微小循環に及ぼす影響)
論 文 審 査 委 員	委員長 教授 木内 博之 委 員 准教授 萩原 明 委 員 講 師 上村 拓治

## 学位論文内容の要旨

**Purpose:** We aimed to investigate the direct effects of adrenaline and vasopressin on cerebral microvasculature in both normal and ischemia/reperfusion states.

**Methods:** The closed cranial window method was used to visualize cerebral microcirculation and changes in the pial arteriole diameter. First, various adrenaline and vasopressin concentrations were administered to evaluate the response. Subsequently, the effects of adrenaline and vasopressin on the brain during ischemic/reperfusion injury were investigated. Global brain ischemia/reperfusion was induced by clamping the brachiocephalic, left common carotid, and left subclavian arteries for 15 min. Adrenaline, vasopressin, or artificial cerebrospinal fluid was infused 5 min after initiation of ischemia through 120 min after reperfusion. Pial arteriole diameter and hemodynamic and physiological parameters were recorded before ischemia, during ischemia, and after reperfusion.

**Results:** In the first experiment, adrenaline did not act directly on the cerebral pial arterioles in the normal state. At  $10^{-11}$  and  $10^{-7}$  mol/L, vasopressin tended to produce pial arteriolar dilation and constriction, respectively; however, these changes were not significant. In the second experiment, the pial arterioles were constricted in the control and vasopressin groups. Topical administration of adrenaline counteracted the vasoconstriction during ischemia/reperfusion injury, with no significant differences in hemodynamic and physiological parameters among the control, adrenaline, and vasopressin groups.

**Discussion:** This study showed that adrenaline had no direct effects on the pial arterioles. While low concentrations of vasopressin tended to produce pial arteriolar dilation, at high concentrations tended to induce pial arteriolar constriction.

During the ischemia-reperfusion period, pial arterioles were slightly dilated and then constricted

in the control group; adrenaline counteracted cerebral vasoconstriction during the global brain ischemia-reperfusion period. Conversely, vasopressin did not show any effect on pial arterioles during the global brain ischemia-reperfusion period.

In a previous global brain ischemia-reperfusion study, we had reported that pial arterioles temporarily dilated, subsequently constricting throughout the reperfusion period. Delayed hypoperfusion after brain ischemia has been reported to contribute to development of cerebral edema, concurrently, preventing cerebral vasoconstriction in the cerebral vasculature after ischemic stroke in female rats has been shown to improve long-term neurological outcomes. We assumed that cerebral vasodilation after brain ischemia may remove acidic metabolites from ischemic brain tissue. Additionally, cerebral vasodilation may provide sufficient oxygen and glucose to preserve normal neuronal function; thus, attenuation of cerebral vasoconstriction after brain ischemia is important. The current study demonstrated that adrenaline increased pial arteriolar diameter during the reperfusion period, and may counteract cerebral vasoconstriction during the global brain ischemia-reperfusion period, thus, adrenaline could be useful during a period of brain ischemia and reperfusion.

Vasopressin has been reported to constrict cerebral pial arterioles during the ischemia-reperfusion period. We observed that pial arterioles were constricted during the reperfusion period; however, pial arteriolar changes were similar between the control and vasopressin groups during the ischemia-reperfusion periods, suggesting that vasopressin did not exert its cerebrovascular-constricting effects during ischemia-reperfusion period. This result might coincide with Kumazawa's study, which showed that the vasoconstrictor effect of vasopressin was reduced after cerebral ischemia. Ristagno et al. reported that cerebral cortical microcirculatory blood flow was preserved with vasopressin after the restoration of spontaneous circulation from the cardiac arrest; this effect lasted up to 6 min after the restoration of circulation. Cerebral microcirculatory blood flow after resuscitation was equivalent to that before cardiac arrest. In agreement with their findings, pial arteriolar diameters at 5 and 10 min after reperfusion were comparable to those before brain ischemia in the vasopressin group in the present study; thus, vasopressin might not deteriorate cerebral circulation during the brain ischemia-reperfusion period.

Ristagno et al. demonstrated that adrenaline markedly cerebral cortical microcirculatory blood flow up to 6 min after the restoration of circulation; by contrast, adrenaline did not constrict pial arterioles at 5 and 10 min after reperfusion in the present study. There are several differences between Ristagno's study and our own; first, while brain ischemia was induced with cardiac arrest in their study, our study used arterial clamping. Second, adrenaline was injected into the right atrium in the Ristagno's study and continuously injected into the cranial window in this study. Pigs were used in Ristagno's study, whereas rabbits were used in this study. These differences may have affected the results. Contrary to their report, our study suggested that adrenaline did not impair cerebral circulation during the reperfusion period.

**Conclusions:** Adrenaline did not act directly on the cerebral pial arterioles, while vasopressin may have dilator and constrictor effects on cerebral pial arterioles in the normal state. During ischemia-reperfusion, adrenaline increased cerebral pial arteriolar diameters, and may thus counteract cerebral vasoconstriction during the global brain ischemia-reperfusion period.

## 論文審査結果の要旨

審査対象論文：近藤大資「Effects of adrenaline and vasopressin on cerebral microcirculation」

本論文はアドレナリンとバゾプレッシンの正常状態ならびに全脳虚血後の血流再開状態における脳軟膜血管への影響について検討したものである。野兔の頭蓋骨窓モデルを用いて、局所投与により血管径の変化を調べた結果、正常状態では、特に有意な変化を認めなかった。しかし、全脳虚血後の血流再開においては、バゾプレッシンは明らかな効果を示さなかったものの、アドレナリンは有意に血管系の縮小を改善し、拡張させることが明らかとなった。本結果は、救急の蘇生過程における薬物治療の選択に有用と考えられる。この論文について以下の審査が行われた。

Q1 全体的に標準偏差が大きいですが、これは個体差あるいは実験手技的なものによる影響か？

A1 個体差と実験手技によるものと考えますが、当研究室のこれまでと比較してもかなり大きい印象がある。

Q2 統計について、nonparametric 検定を行ってはどうか？ また、血管径についても log 表記にして検定してはどうか？統計学的解析方法を再検討してください。

A2 Intragroup および Intergroup において、それぞれ ANOVA を行っているが、それぞれに関する Bartlett 検定でアドレナリン  $P = 0.1597$ 、バゾプレッシン  $P = 0.2412$  と統計学的有意差を認めなかった。よって等分散であると判断し、パラメトリック解析を行った。他の方法としては、Newman-Keuls では、F 統計量を用いる多重比較のために ANOVA の必要性はあるかと思われるが、Dunnett は F 統計量を用いない多重比較であるため、ANOVA を行う必要性がないとも言われている。敢えてノンパラメトリックへ変更する必要性はないと思われる。

Q3 通常時のバゾプレッシン投与に関して、Fig. 1 の結果ではアドレナリン同様に有意な差はみられなかったが、Conclusion ではバゾプレッシンは血管の収縮・拡張に効果があったとみられる表現になっており、結果を拡大解釈しているように見受けられた。

→A3 バゾプレッシンは脳血管には有意な作用を示さないと訂正した。

Q4-1 Table 1 から 5 では動物の状態に関してモニターしており、特に Table 4 では脳虚血後のアドレナリン投与で血糖値濃度の有意な増加と BE の低下がみられている。しかしながら、Result や Discussion にもこれらに関する表記が見受けられず、特に血糖値の増加は神経細胞に対する Toxicity などの面で、アドレナリン投与による副反応を懸念するうえでも重要なデータであると思われる。

A4-1 脳虚血から 60 分までの血糖値の平均値 (mg/dl) を見ると、アドレナリンでは 139 から 238 に上昇し、バゾプレッシンでは 138 から 199 に上昇しています。血糖値の 139 mg/dl から 238 mg/dl への上昇と、138 mg/dl から 199 mg/dl への上昇の間に大きな意味があるとは考え難く、血糖値の上昇がアドレナリン特有の変化ではないと考える。

Q4-2 ご回答にある、上昇の間に大きな意味があるとは考え難いという結論は、統計という根拠に基づかない主観や経験的な判断だと思われる。今回の解析で、なぜ有意差が付いたケースとつかなかったケースになったのか？

A4-2 虚血開始から虚血後 40 分までの最小値はバゾプレッシンでより小さく、最大値はバゾプレッシンでより大きくなっている。標準偏差も虚血時から虚血後 40 分までは全てバゾプレッシンで大きくなっている。アドレナリンに比べてバゾプレッシンでの測定値のばらつきが大きかったことが、アドレナリンでは有意差がつき、バゾプレッシンでは有意差がつかなかった原因と考えられる。

Q4-3 Q4-1, 2 についての回答や Result の文章より、アドレナリン投与で見られた上昇は、有意な差はついたが血糖値の上昇としては誤差範囲の程度のものなのか、加えて、バゾプレッシン投与の際は有意な差はつかなかったが、ある程度の上昇が認められた。という判断なのか？意図するところが不明瞭である。これについてはどう考えるか？

A4-3 脳虚血後の血糖値の上昇は、アドレナリンとバゾプレッシンでほぼ同様の変化をしている。また、アドレナリンとバゾプレッシンでそれぞれの測定時間での 2 群間比較を行っても、有意差は認められない。アドレナリン投与で見られた上昇は、有意な差はついたが血糖値の上昇としてはバゾプレッシンと誤差範囲の程度のものであると思われる。

Q5 なぜ正常時には作用を発揮しないアドレナリンが、脳虚血後には拡張作用を示したのか？

A5  $\beta$  2 作用が寄与している可能性がある。またアドレナリンが、endothelin-1 に作用して脳虚血後の脳血管を拡張させた可能性がある。しかし、確たる証拠となる文献がないため、今後の課題と考える。

近藤氏は、このように、指摘された点、全てについて適切な回答、考察を行い、論文を改訂したので、審査委員は、本研究が博士論文の資格を十分に有するものであると全員が一致して判定した。