北海道脳神経疾患研究所医誌第8・9巻 1997. 7. P59～71

ガンマナイフ照射がラット総頸動脈の弛緩および収縮反応に及ぼす影響

高橋州平[1,3]、戸島雅彦[2]、福岡誠二[1]、瀬尾善宣[1]
末松克美[1,3]、中村順一[1,3]、長嶋和郎[4]

1 中村記念病院脳神経外科、2 函館脳神経外科病院、
3 財団法人 北海道脳神経疾患研究所、4 北海道大学第二病理

Key Words : gamma knife radiosurgery, common carotid artery, endothelium, smooth muscle, rat

Effect of gamma knife radiosurgery on relaxation and contraction responses of the common carotid artery of the rat

SHUHEI TAKAHASHI, M.D.[1,3],MASAHIKO TOSHIMA, M.D.[2],SEIJI FUKUOKA, M.D.[1],YOSHINOBU SEO, M.D.[1],KATSUMI SUEMATSU, M.D.[1,3],JUN-ICHI NAKAMURA, M.D.[1,3],and KAZUO NAGASHIMA, M.D.[4]
1 Department of Neurosurgery, Nakamura Memorial Hospital, Sapporo, Japan
2 Department of Neurosurgery, Hakodate Neurosurgical Hospital, Hakodate, Japan
3 Hokkaido Brain Research Foundation, Sapporo, Japan
4 Department of Pathology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Japan

Abstract : This report concerns a pilot study of the short- and long-term effects of gamma knife radiosurgery on vascular responses. The investigation was carried out on male Sprague-Dawley rats, and the relaxation and contraction responses of the right common carotid artery (CCA) were assessed following irradiation (100 Gy). The non-treated CCA of the same animals served as internal controls. Non-irradiated rats were used to control the effect of normal aging on vascular function. Isometric tension was determined on in vitro preparations of arterial rings. Acetylcholine-mediated, endothelium-dependent relaxation was impaired one month after radiosurgery, as was endothelium-independent relaxation induced by sodium nitroprusside, but the effect on the later was minimal. The irradiated CCA was also impaired with respect to contraction responses induced by norepinephrine, endothelin-1 or phorbol dibutyrate. This impairment appeared to be biphasic, as it was evident one day after radiosurgery, followed by a partial recovery one week later, and again manifest after one month. At the light microscope level, the carotid arteries appeared to be well preserved throughout the experiment. However, obvious ultrastructural changes were noted in endothelial and smooth muscle cells of specimens obtained three months after radiosurgery. The present data indicate that high dose gamma knife radiosurgery affects the functions of both, the vascular endothelium and the vascular smooth muscles in an apparent time-dependent fashion. Because of its increasing application to

patients, there is the need for studying the effects of gamma knife radiosurgery on cerebral arteries, since functional vascular changes may occur in the absence of obvious histological alterations. Our results on CCAs point to the feasibility of such experimental investigations.

1. はじめに

近年、ガンマナイフは頭蓋内血管奇形[10,18]や脳腫瘍[10]の治療に頻繁に応用されるようになってきた。正確に破壊する領域を設定でき、その周囲組織に対する遅発性放射線障害を最小限に抑えることができる点で、従来の放射線療法とは大きく異なる[11]。しかしながら、多くの臨床的応用にも拘わらず、ガンマナイフの生物学的効果は充分には解明されていない。それにもかかわらず、脳動静脈奇形においては照射後の進行する内皮増殖と血栓化が閉塞を引き起こす主因と考えられている[8,18]。更に、実験的にはガンマナイフ照射後に急性ないしは遅発性に起こる脳動脈の組織学的変化に主眼をおいた研究がある[7,9,14]。ネコを用いた研究では、小さな脳動脈はガンマナイフ照射後には閉塞するが、脳底動脈のような大きな脳動脈は閉塞しないことが明らかとなった[14]。

放射線照射後の動脈の機能的変化は組織学的変化が明らかとなる前に出現するように思えるが、その本質については現在までのところ明らかとなっていない。最近、従来のX線を動脈に照射するとその機能が変化することが明らかとなった[12,19]。そこで、ガンマナイフ照射後に動脈の弛緩と収縮反応が受ける影響を知ることは、たとえ動脈の組織学的変化が僅かであったとしても、その機能の変化を理解する上で最も重要であると考えられる。今回の予備実験は内皮と平滑筋の機能に対するガンマナイフ照射の短期から長期における効果を調べるために行われた。我々は内皮依存性と内皮非依存性弛緩剤に対する血管弛緩反応と、収縮剤に対する血管収縮反応を調べた。この研究ではガンマナイフ照射後1日、1週間、1ヶ月および3ヶ月目におけるラット総頸動脈（CCA）の血管反応性を評価した結果を報告する。

2. 対象と方法

1） ガンマナイフ照射野の決定

ガンマナイフ照射野を決めるために、先ず6匹の雄Sprague-Dawley rat (S-D rat, 8-10週齢で体重300-360g、Charles River Laboratories) をペントバルビタール(30 mg/kg)の腹腔内投与とケタミン(50 mg/kg)の筋注にて麻酔した。Aydinらの方法に従い血管造影を行った[2]。簡単に説明すると、腹部に縦切開を加え、腹部大動脈を顕微鏡下に剝離した。カテーテル(Formocath 7620、Becton-Dickinson)を腎動脈の遠位側から挿入し、大動脈弓に置いた。ラットを動物用定位的頭部固定装置(Division of Stereotactic Surgery, Department of Neurosurgery, Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden)に固定し、正面および側面像の頸動脈造影を行った。照射野は右総頸動脈の遠位側1/2となる様に、第三頸椎の中心から右側に6.0 ± 0.4 mmで、第三頸椎の前縁の中心から腹側に1.4 ± 0.2 mmの点を照射野の中心とした。

2） ガンマナイフ照射の準備

63匹の雄S-D rat（8-10週齢で体重250-370g）を先ず2群に分けた。この内40匹はガンマナイフ照射を行った照射群で、残りの23匹は照射を行わない対照群として加齢現象が総頸動脈の血管反応性へ与える影響を評価した。

全てのラットに上記と同様に麻酔した。照射する40匹のラットは動物用定位的頭部固定装置に固定し、ガンマナイフ照射野を決めるために、正面および側面像のX線単純写真を撮影した。これらのラットには8 mmのコリメーターを用いて90% 線量分布が100Gyになる様に右総頸動脈（treated CCA）を照射した。同じラットの非照射側である左総頸動脈（untreated CCA）はinternal controlとした。麻酔から完全に覚醒した後に、動物舎へ戻した。全ての一連の操作において、ガンマナイフ照射を行った日を第0日とした。ラットの行動、表情、神経学的状態を屠殺時まで毎日確かめた。ガンマナイフ照射を受けた40匹のラットは10匹ずつ照射後1日、1週間、1ヶ月または3ヶ月目に屠殺した。対照群のラットも6匹ずつ（但し、3ヶ月目は5匹）同時期に屠殺した。実験プロトコールは財団法人北海道脳神経疾患研究所の動物実験管理委員会の承認を得た。動物の取扱と手術手技は財団法人北海道脳神経疾患研究所の動物実験指針と動物実験室利用内規に従って行われた。

3） 動脈リングと張力測定の準備

動物を再度麻酔し、頸部に正中切開を加えた。両側総

頸動脈を丁寧に剝離し、4-0の縫合糸で近位側と遠位側を結紮した後、可能な限り長い状態で摘出した。その後、ラットは両側総頸動脈より脱血死させた。総頸動脈はmodified Krebs' bicarbonate solution (mmol/L: NaCl, 120; KCl, 4.5; $MgSO_4$, 1.0; $NaHCO_3$, 27.0; KH_2PO_4, 1.0; $CaCl_2$, 2.5; glucose, 10.0) で満たした剝離用容器に入れ、動脈内腔の血液を25ゲージ針を用いて洗浄した。更に、動脈周囲の結合織を丁寧に除去し、照射部位を中心に、正確に3mmの長さに顕微鏡下に切断した。

各々の動脈リングはクレブス液の入った10mlのマグヌス管内に２本のL字型の金属棒で吊るし、95% O_2と5% CO_2の混合ガスにさらして37℃でpH 7.4-7.5に維持した[20]。等尺張力はトランスジューサー（Model TB-611T, Nihon Koden Instrument Co., Tokyo）とポリグラフ（Model AP-601G, Nihon Koden Instrument Co., Tokyo）を用いて測定し、レコーダー（Model WR3310, Graphtec Co., Yokohama）上に記録した。標本は薬剤の投与前に60から90分間平衡を保ち、適度な収縮を誘導するように安静時張力を2.0gに調節した[6]。平衡を保っている間、マグヌス管内のクレブス液は15分毎に新しいものに交換した。先ず最初に、各々の動脈リングを40 mmol/L KClに15分間さらした際の収縮反応を測定した。

弛緩反応を調べるために、10^{-7} mol/L のノルエピネフリン(NE)で血管を前収縮させた。収縮が安定した後、弛緩反応の用量反応曲線を得るために内皮依存性弛緩剤であるアセチルコリン(ACh: 10^{-9}-10^{-5} mol/L)を累積的に加えた。各々のAChの濃度は平衡状態になってから、次の濃度を加えた。この実験の最後には最大弛緩を得るために3×10^{-4} mol/L のパパベリン(Pap)を加え、その後に動脈リングを洗浄した。30分間の平衡後、同様の手順を内皮非依存性弛緩剤であるニトロプルシッド(SNP: 10^{-10}-10^{-5} mol/L)を用いて繰り返した。 AChとSNPによる弛緩反応は10^{-7} mol/L のNEによる収縮反応のパーセンテージで表現した。更に、30分間の平衡後、収縮反応の用量反応曲線を得るためにセロトニン(5-HT: 10^{-8}-10^{-4} mol/L)を累積的に投与した。各々の5-HTの濃度は平衡状態になってから、次の濃度を加えた。この実験の最後には3×10^{-4} mol/L のPapを加えた後に、動脈リングを洗浄した。30分間の平衡後、同様の手順をNE(10^{-10}-10^{-6} mol/L)、エンドセリン-1(ET-1: 10^{-11}-3×10^{-8} mol/L)とphorbol 12,13-dibutyrate(PDB: 10^{-10}-3×10^{-7} mol/L)を用いて繰り返した。5-HT、 NE、 ET-1そしてPDBによる収縮反応は収縮力(g)として表現した。

4） 薬剤の準備

特にここで触れてない場合には貯蔵用の薬剤の溶解は蒸留水で行った。 ET-1は0.1%の酢酸で溶解し、10^{-4} mol/Lとし、PDBは10%のdimethyl sulfoxide (DMSO)で溶解し、10^{-3} mol/Lの貯蔵薬剤液とした。全ての貯蔵した薬剤液は凍結保存し、使用時にクレブス液で希釈し、マグヌス管内に加える最終量が0.1mlとなるようにした。マグヌス管内の酢酸とDMSOの最高濃度は各々0.00003%と0.003%以下であった。

5） 組織学的検討

16匹の雄S-D rat（8-10週齢で体重300-360g）を８匹ずつ２つの群に分けた。８匹は上記同様に照射した照射群で、残りの８匹は加齢によるCCAの組織学的変化を評価するための正常対照群とした。８匹の照射したラットの内、２匹ずつ照射後１日、１週間、１ヶ月または３ヶ月後に屠殺した。対照群も同時期に２匹ずつ屠殺した。

照射群のラットの照射側と非照射側CCAと対照群のラットの両側CCAは200 mlの燐酸緩衝液(37℃でpH 7.4)と生食に溶解した250 mlの4%パラホルムアルデヒド(37℃でpH 7.4)で経心臓性灌流固定を行った後に摘出した。灌流は75 mmHgの圧で行った。CCAの標本は光顕と電顕で評価した。光顕用の標本はパラフィンに包埋し、hematoxylin-eosin (H&E)、Masson's trichromeとElastica van Gieson 染色を行った。更に、抗第Ⅷ因子関連抗原抗体（内皮細胞のマーカー: Dako, Glostrup, Denmark）の200倍希釈液と抗α平滑筋アクチン抗体（平滑筋細胞マーカー: Dako, Glostrup, Denmark）の100倍希釈液を用いて免疫染色を行った。電顕による評価のために、標本を2.5%グルタールアルデヒドと2%のオスミウムテトロキシドで固定し、エポンに包埋した。エポンブロックから超極薄の切片を用意し、uranyl acetateとlead citrateで染色し、日立 H-800電子顕微鏡で評価した。

6） 統計学的検討

データは平均値±標準誤差で表示した。照射群と対照群の両側総頸動脈の用量反応曲線の統計学的分析はSPSS statistical softwareを用いてtwo way analysis of variance (two way ANOVA)の後にpaired t-testで行った。弛緩反応と収縮反応におけるそれぞれの薬剤のEC50値(最大効果の50%の作用を引き起こす薬剤濃度)はSigma Plot softwareを用いてnonlinear regression analysisから求めた個々の用量反応曲線から算出した。同じ群の動物の

両側総頸動脈から得られたEC50値の比較はpaired t-testで行った。照射群と対照群の同側の総頸動脈のEC50値の比較はunpaired t-testで行い、群間における各時期の同側の総頸動脈のEC50値の比較はone way analysis of varianceの後にScheffe testで行った。これらの統計学的分析はSPSS statistical softwareを用いて行い、P値が0.05未満の際に統計学的に有意とした。

3. 結　果

1）正常対照群における総頸動脈の弛緩反応

AChとSNPは共にラットCCAを用量依存的に弛緩させた。照射後1日目と3ヶ月目に相当する時期の右CCAのAChに対する弛緩反応が対側の左CCAより大きかったが、1週間と1ヶ月目では両側に有意差を認めなかった。更に、SNPに対する弛緩反応はどの時期においても両側CCA間で有意差を認めなかった。Tabel 1に示した様に、どの時期においてもどちらの薬剤のEC50値も左右差を認めなかった。

2）正常対照群における総頸動脈の収縮反応

対照群のラットの左右CCA間では40 mmol/L KClに対する収縮反応は統計学的有意差を認めなかった。一方、5-HT、NE、ET-1とPDBは動脈を用量依存的に収縮させた。どの時期においてもNEとPDBによる収縮力は左右のCCA間で差を認めなかった。しかしながら、1週間目のみ5-HTとET-1による右CCAの収縮力が対側の左CCAより大きかった。各収縮剤のEC50値はTable 1に表示した。1週間目のET-1を除き、5-HT、NEとPDBのEC50値は左右で差を認めなかった。NEによる収縮反応から算出した結果、10^{-7} mol/LがおおよそEC80に相当した。この濃度のNEは、AChとSNPの弛緩反応を測定する際のCCAを前収縮させるために投与することとした。Table 2に示した結果の如く、対照群の左右CCA間ではNEによる前収縮力には統計学的有意差を認めなかった。

3）総頸動脈の弛緩反応に与えるガンマナイフ照射の影響

照射群においては、ACh(10^{-9}-10^{-5} mol/L)は10^{-7} mol/L NEで前収縮させた照射側の右CCAを用量依存性に弛緩させた(Fig. 1)。照射側動脈の内皮依存性弛緩反応の障害はガンマナイフ照射後1ヶ月と3ヶ月目で明らかとなった。照射後1ヶ月と3ヶ月目のAChに対する最大弛緩反応は照射側ではそれぞれ76.7 ± 3.2%と70.4 ± 6.4%で、非照射側ではそれぞれ89.1 ± 2.8%と93.0 ±1.9%であった。AChによる弛緩反応におけるEC50値はTable 1に示した。統計学的には有意差は認めなかったが、照射側CCAのEC50値は非照射側CCAのそれより大きい傾向を示した。

SNP(10^{-10}-10^{-5} mol/L)もまた10^{-7} mol/L NEで前収縮させたCCAを用量依存性に弛緩させた(Fig. 2)。照射後1日目では差はなかったが、1週間目には10^{-7} mol/L SNPの濃度のみではあるが、非照射側に比べ照射側で弛緩反応が大きかった。しかしながら、内皮非依存性弛緩反応は照射側において照射後1ヶ月と3ヶ月目には障害されていた(Fig. 2)。SNPによる弛緩反応におけるEC50値はTabel 1に示したが、照射側と非照射側CCAの間で有意な差はなかった。これらの結果は内皮依存性と内皮非依存性弛緩反応の障害は照射後1ヶ月と3ヶ月目に明らかとなり、双方とも照射後の時間に関連していたことを示している。しかしながら、内皮依存性弛緩反応は内皮非依存性弛緩反応より強く障害されていた。これらのデータは著明な内皮機能障害と僅かな血管平滑筋反応性の低下を示している。

4）総頸動脈の収縮反応に与えるガンマナイフ照射の影響

40 mmol/L KClに対する収縮反応はガンマナイフ照射後1ヶ月目までは照射側と非照射側CCAの間で統計学的有意差を認めなかった。しかし、照射後3ヶ月目には照射側動脈の収縮力は非照射側CCAのそれに比べ大きかった。AChとSNPの効果を比較する際の10^{-7} mol/L NEによるCCAの前収縮の結果はTable 3に示した。照射後1週間では、AChによる弛緩反応の際の照射側CCAの収縮力は非照射側CCAのそれより大きかった。これとは対照的に、ガンマナイフ照射後1週間目に関するデータを除けば、SNPによる弛緩反応の際の照射側CCAの収縮力は非照射側CCAのそれより小さかった。

5-HT(10^{-8}-10^{-4} mol/L)は用量依存性収縮を引き起こした。照射後1週間と3ヶ月目では、照射側CCAにおける収縮力は非照射側CCAのそれに比べ大きかったが、照射後1ヶ月目には5-HTに対する収縮反応は明らかに障害されていた。5-HTのEC50値はTable 1に示したが、1日目には両側間で差はなかった。しかしながら、1週間までに照射側動脈のEC50値は非照射側CCAのそれより小さくなり、その差は照射後1ヶ月と3ヶ月目まで持続していた。

Fig. 3はNE(10^{-10}-10^{-6} mol/L)による用量依存性動脈収縮を示している。照射側CCAのNEに対する収縮反応性はガンマナイフ照射後1週間目を除き全ての時期で障害されていた。その一方、どの時期においてもNEのEC50値は左右間で差はなかった(Table 1)。ET-1(10^{-11}-3×10^{-8} mol/L)

による用量依存性収縮反応はFig. 4に表示した。ET-1に対する収縮反応の障害は照射後1週間を除いて全ての時期で明らかであった。Table 1に示した様に、ET-1のEC50値は照射側と非照射側CCAの間で相違はなかった。これに加え、PDB(10^{-10}-3×10^{-7} mol/L)による収縮力の差は、照射後1ヶ月より前には明らかでなかったが、照射後1ヶ月から3ヶ月目までは照射側CCAの収縮反応は障害されていた。一方、両側CCAのPDBのEC50値には差を認めなかった。

これらの結果は種々の薬剤に対する照射側CCAの収縮反応はガンマナイフ照射によって影響を受けたことを示してる。照射後の時間経過をみると収縮反応の障害は変化したが、これら全てのデータから血管平滑筋の反応性障害は二相性を呈することを示している。

5） 組織学的検討

光顕上ではCCAは照射後の全経過を通して変化を認めなかった。非照射側と照射側のCCAで弾性繊維の損傷は明らかでなかった(Fig. 5)。これに加え、照射側と非照射側CCAにおける内皮細胞と平滑筋細胞マーカーの免疫組織学的染色による発現は類似していた。しかしながら、電顕上では照射後3ヶ月目の標本でのみ内皮細胞と平滑筋細胞に著明な変化が現れた。細胞核は円形ないしは楕円形を呈し、正常に認められる不規則な輪郭は消失していた。核染色質は非照射側CCAでは辺縁に整列していたが、照射側動脈ではより弥漫性を呈していた。(Fig. 6)。更に、照射側動脈の内弾性板が非照射側CCAのそれに比べ肥厚していた。

4. 考　察

今回の研究は高線量である100Gyのガンマナイフ照射がラット総頸動脈の内皮依存性と内皮非依存性の弛緩反応と平滑筋の収縮反応を障害することを示している。弛緩反応の障害は照射後1ヶ月目には明らかとなり、内皮依存性弛緩反応の障害程度は照射後の時間に依存し、内皮非依存性弛緩反応の障害程度は同様に照射後の時間に依存する傾向を呈している。一方、平滑筋の収縮反応の障害は二相性を示し、つまり照射後1日目に収縮力は低下し、一度回復するものの、1ヶ月後には再度低下する。照射側動脈の組織学的損傷は照射後3ヶ月目に電顕上でのみ明らかである。これらの所見は動脈の遅発性放射線障害を現している。

CCAにおけるガンマナイフの影響の時間依存性について正確に評価するためには、実験に使用した動物の加齢現象による影響を考慮する必要がある。Hongo等[6]が調べた14週齢と11月齢のラットの総頸動脈の機能的能力の比較は、今回我々が実験に用いたラットの月齢状況に関連している。彼らは内皮依存性弛緩反応は高齢のラットで障害されているが、内皮非依存性弛緩反応は障害されていなかったと報告した[6]。最近、Paterno等[15]は内皮依存性弛緩反応は加齢によって障害されるが、EDRF (endothelium-derived relaxing factor: 内皮依存性弛緩因子）の放出とニトロプルシッドに対する血管平滑筋の反応性は正常であることを示した。今回の研究では我々の測定における加齢現象の影響は個々の動物で照射側CCAを非照射側である対側CCAと比較することで対処した。更に、この対側CCAは照射中に遮蔽していないため、非照射ラットを正常対照の目的で我々の実験に追加した。

我々が知る限り、これまでにガンマナイフ照射後の動脈の機能的変化についての研究はない。それに比べ、従来のX線照射が動脈の機能に与える影響については幾つかのことが分かっている。例えば、Stewart-Lee等[19]はウサギ中心耳動脈を用いて一回45GyのX線照射が交感神経伝達機構に与える短期間の影響を報告した。彼らはNEに対する反応程度や感受性の変化はなかったが、組織内のNE量が照射後6週間目には有意に低下しており、交感神経伝達機構に対する損傷は照射による早期障害の一つである報告した[19]。一方、Maynard等[12]はウサギ中心耳動脈の内皮依存性と内皮非依存性弛緩反応は45GyのX線照射後1週間で障害されることを示し、血管弛緩機構は収縮機構より放射線感受性が高いかも知れないと示唆した。更に、内皮細胞は放射線障害に対して非常に敏感であり、結合織や外膜の血管も影響を受けるかも知れないことが示されている[4]。今回の我々の研究で観察された機能的変化とX線照射での先の研究の結果との明らかな相違は、用いた動物種の違い、研究に使用した動脈の部位や大きさ、照射線量や放射線の特徴の違い等、種々の理由によるものと考えられる。

大きな血管に対する放射線障害は普通軽度であり、動脈に限定されることが知られている[16]。大きな血管の内膜層に対する機械的障害はその修復過程で、その直下に存在する平滑筋細胞の著明な増殖を引き起こし、しばしば中膜層の肥厚をもたらす[4]。今回の結果より、たとえ動脈が組織学的に正常であっても、内皮と平滑筋の機能障害はガンマナイフ照射後それぞれ1ヶ月と1日目に明

らかになった。しかしながら、我々は大きな動脈としてラット総頸動脈を用いたため、ガンマナイフ照射が血管反応性に与える影響は幾分小さかったかもしれない。逆に、脳動脈のような小動脈を照射したら、ガンマナイフ照射後に検出できる機能的変化はより顕著に認めたかもしれない。

Fonkalsrud等[5]は犬大腿動脈に40Gyを照射して48時間から4ヶ月間における短期と長期の放射線による影響に関する研究を報告し、急性期には内皮は照射後48時間以内に中等度から高度の損傷を呈したが、中膜や外膜は影響を受けなかったことを発見した。それに比べ、慢性期には内皮は異常な内皮細胞に置き代わり、中膜は繊維化や局所の壊死により平滑筋細胞が脱落し、外膜は局所出血や慢性炎症に進展した。彼らはこれら全ての慢性的変化はおそらくvasa vasorumの障害によって起ると結論した[5]。主要動脈を照射の対象とする際には、そのvasa vasorumも照射されることを認識しておくことが重要である[16]。しかしながら、vasa vasorumの放射線生物学的特徴については幾つかの点しか解明されていないが、おそらくかなり放射線感受性が高いく[16]、大きな動脈のvasa vasorumの閉塞性変化が動脈壁の虚血とそれに続く損傷を引き起こすように[17]、動脈変化の病因として重要な役割を果たしているかも知れない[13]。

ガンマナイフ照射後の脳動脈の組織学的変化に関しては幾つかの報告がある。例えば、Kondziolka等[9]はラット脳にガンマナイフ照射し、70Gy以下の線量では組織学的変化を認めないが、100Gyを照射すると90日目には毛細血管内皮細胞変性を認めたと報告した。その一方、kihlstrom等[7]はウサギ脳底動脈と中大脳動脈にガンマナイフにて50Gyや100Gyを照射すると、照射後2年目では脳の壊死が存在するにも拘わらず、照射された主要血管は組織学的に正常を保っていたと報告した。しかしながら、そのような効果は10や25Gyの照射線量では認められなかった[7]。Nilsson等[14]はネコを用いて本質的に同様の結果を報告した。脳実質の小動脈は脳底動脈のような大きい血管より放射線感受性が高いとの見解より[1,3,17]、我々が頸動脈に用いたのと同線量を脳動脈に照射したら、ここで述べたような機能的障害はより強く引き起こされるものと推論される。

5. 結　果

今回の我々の研究は、100Gyのガンマナイフ照射はラット総頸動脈の内皮依存性と内皮非依存性弛緩反応のみならず、平滑筋収縮反応にも影響を与えることを示している。これらの機能的変化は、組織学的には明らかな変化は出現しないものの、照射後1ヶ月で顕著となる。今回の結果はガンマナイフ照射によって起こる頸動脈の機能的障害の最初の報告であるが、それを引き起こす正確な機構を明らかにするためには更なる研究が必要である。その上、ガンマナイフ照射は一般的に頭蓋内血管奇形や脳腫瘍などの脳疾患に対して応用されるため、脳底動脈などの脳動脈を用いてここで示したのと同様の手法を用いて研究をすべきであろう。

6. 謝　辞

稿を終えるにあたり、実験に際して技術的援助を惜しまなかった猿田武氏、藤田一哉氏、斎藤直美女史、佐藤真実女史、そしてガンマナイフ照射に協力して頂いた高梨正美先生、山岸仁氏、佐藤勝保氏、多くの放射線科の各氏、更に英文論文を御校閲頂いた沖垣達先生とFritz Herz先生、論文作成にあたって日夜、労を惜しまず協力して頂いた中村正文氏に心より厚く御礼申し上げます。

本研究の内容はActa Neurochirurgica (Wien)に投稿し、現在in pressの論文の日本語訳である。本研究の要旨は、第54回日本脳神経外科学会総会（1995年10月18日-20日、名古屋）、7th International Leksell Gamma Knife Society Meeting（1995年11月12日-15日、Lana'i, Hawaii）、第21回札幌市医師会医学会（1996年2月18日、札幌）において発表した。

尚、本研究の一部は平成7年度札幌市医師会医学研究活動補助金の研究助成により行われた。

TABLE 1

EC_{50} values of dilators and constrictors of control, treated and untreated CCAs *

	1 day				1 week				1 month				3 months			
	Rt	n	Lt	n	Rt	n	Lt	n	Rt	n	Lt	n	Rt	n	Lt	n
ACh																
Control	7.73 ± 0.07	6	7.61 ± 0.06	6	7.68 ± 0.06	6	7.64 ± 0.05	5	7.44 ± 0.22	6	7.49 ± 0.16	6	7.55 ± 0.15	5	7.49 ± 0.15	5
GKS	7.36 ± 0.10	10	7.60 ± 0.07	10	7.26 ± 0.09†	10	7.35 ± 0.07†	10	7.11 ± 0.09	10	7.27 ± 0.10	10	6.11 ± 0.35	10	7.26 ± 0.09	10
SNP																
Control	7.93 ± 0.05	6	7.87 ± 0.06	6	8.00 ± 0.11	6	7.94 ± 0.14	6	8.06 ± 0.19	6	8.09 ± 0.12	6	7.81 ± 0.11	5	7.85 ± 0.14	5
GKS	8.13 ± 0.12	10	8.17 ± 0.10	10	8.06 ± 0.07	10	7.98 ± 0.08	10	7.88 ± 0.04	10	7.95 ± 0.05	10	7.97 ± 0.10	10	8.01 ± 0.09	10
5-HT																
Control	5.18 ± 0.07	6	5.22 ± 0.10	6	5.33 ± 0.15	6	5.26 ± 0.13	6	5.40 ± 0.16	6	5.38 ± 0.14	6	5.46 ± 0.15	5	5.43 ± 0.16	5
GKS	5.35 ± 0.09	10	5.27 ± 0.06	10	5.35 ± 0.07‡	10	5.23 ± 0.07	10	5.43 ± 0.06§	10	5.27 ± 0.06	10	5.62 ± 0.05‡	10	5.22 ± 0.10	10
NE																
Control	7.95 ± 0.06	6	7.96 ± 0.07	6	7.85 ± 0.14	6	7.87 ± 0.16	6	7.79 ± 0.17	6	7.70 ± 0.12	6	7.73 ± 0.06	5	7.71 ± 0.05	5
GKS	7.24 ± 0.43	10	7.86 ± 0.10	10	7.84 ± 0.08	10	7.84 ± 0.09	10	7.37 ± 0.18	10	7.58 ± 0.16	10	7.80 ± 0.07	10	7.83 ± 0.05	10
ET-1																
Control	8.30 ± 0.03	6	8.32 ± 0.04	6	8.52 ± 0.11‡	6	8.41 ± 0.11	6	8.53 ± 0.08	6	8.52 ± 0.05	6	8.19 ± 0.08	5	8.22 ± 0.09	5
GKS	8.37 ± 0.07	10	8.38 ± 0.09	10	8.35 ± 0.06	10	8.41 ± 0.06	10	8.42 ± 0.08	10	8.45 ± 0.09	10	8.42 ± 0.06	10	8.36 ± 0.06	10
PDB																
Control	7.19 ± 0.10	5	7.23 ± 0.14	5	7.26 ± 0.12	5	7.24 ± 0.17	5	6.95 ± 0.25	6	7.15 ± 0.15	6	7.14 ± 0.04	5	6.98 ± 0.13	5
GKS	6.98 ± 0.13	7	7.22 ± 0.08	7	7.01 ± 0.04	8	6.99 ± 0.07	8	7.17 ± 0.06	6	7.11 ± 0.07	6	7.21 ± 0.08	10	6.73 ± 0.26	10

* The values are expressed as the mean plus or minus the standard error of the mean. The EC_{50} is expressed as - log(mol/L).

n: number of subjects. Rt: right common carotid artery of control and treated side of irradiated rats. Lt: left common carotid artery of controls and untreated side of irradiated rats. Control: non-treated rats. GKS: rats treated by gamma knife radiosurgery.

† $P<0.05$, compared with the same side of control.

‡ $P<0.05$, compared with the left CCA.

§ $P<0.01$, compared with the left CCA.

TABLE 2

Contractile force preinduced by 10^{-7} mol/L NE for assessing relaxation of control CCAs *

Interval †	ACh				SNP			
	Right (g)	n	Left (g)	n	Right (g)	n	Left (g)	n
1 day	0.55 ± 0.05	6	0.79 ± 0.08	6	0.79 ± 0.05	6	0.95 ± 0.06	6
1 week	0.59 ± 0.05	6	0.61 ± 0.08	5	0.73 ± 0.07	6	0.72 ± 0.07	6
1 month	0.62 ± 0.08	6	0.54 ± 0.11	6	0.72 ± 0.08	6	0.64 ± 0.11	6
3 months	0.52 ± 0.09	5	0.51 ± 0.02	5	0.70 ± 0.08	5	0.71 ± 0.07	5

* Data are expressed as the mean plus or minus the standard error of the mean.

† Interval before sacrifice.

n: number of subjects. NE was applied before testing the effects of ACh and SNP. There was no statistical significant difference between the right and the left common carotid arteries with either agents.

TABLE 3

Contractile force induced by 10^{-7} mol/L NE for relaxation studies of treated and untreated CCAs *

Interval †	ACh				SNP			
	Treated (g)	n	Untreated (g)	n	Treated (g)	n	Untreated (g)	n
1 day	0.69 ± 0.08	10	0.65 ± 0.08	10	0.64 ± 0.08§	10	0.84 ± 0.07	10
1 week	0.74 ± 0.08#	10	0.64 ± 0.07	10	0.80 ± 0.07‡	10	0.76 ± 0.06	10
1 month	0.70 ± 0.04	10	0.87 ± 0.12	10	0.52 ± 0.06§	10	0.88 ± 0.12	10
3 months	0.69 ± 0.05	10	0.73 ± 0.05	10	0.61 ± 0.05#	10	0.78 ± 0.02	10

* Data are expressed as the mean plus or minus the standard error of the mean.

† Interval until sacrifice after gamma knife radiosurgery.

‡ $P<0.05$, compared with 1 month group.

§ $P<0.05$, compared with the left side.

# $P<0.01$, compared with the left side.

NE was applied before the relaxation studies with ACh and SNP.

n: number of subjects.

FIG. 1.

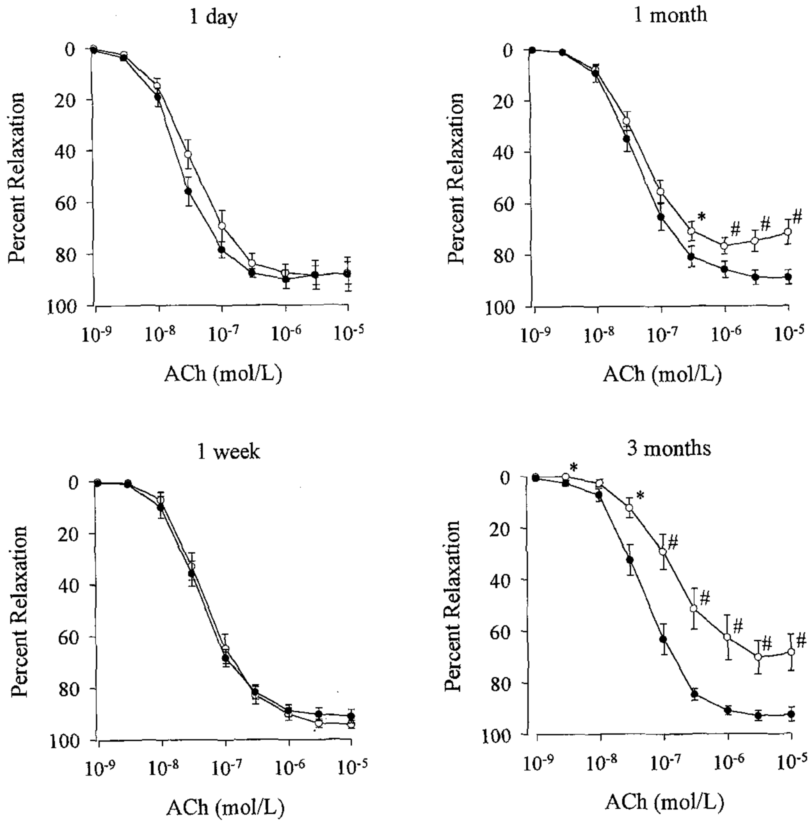

1 day
1 month
1 week
3 months
Percent Relaxation
ACh (mol/L)

FIG. 2.

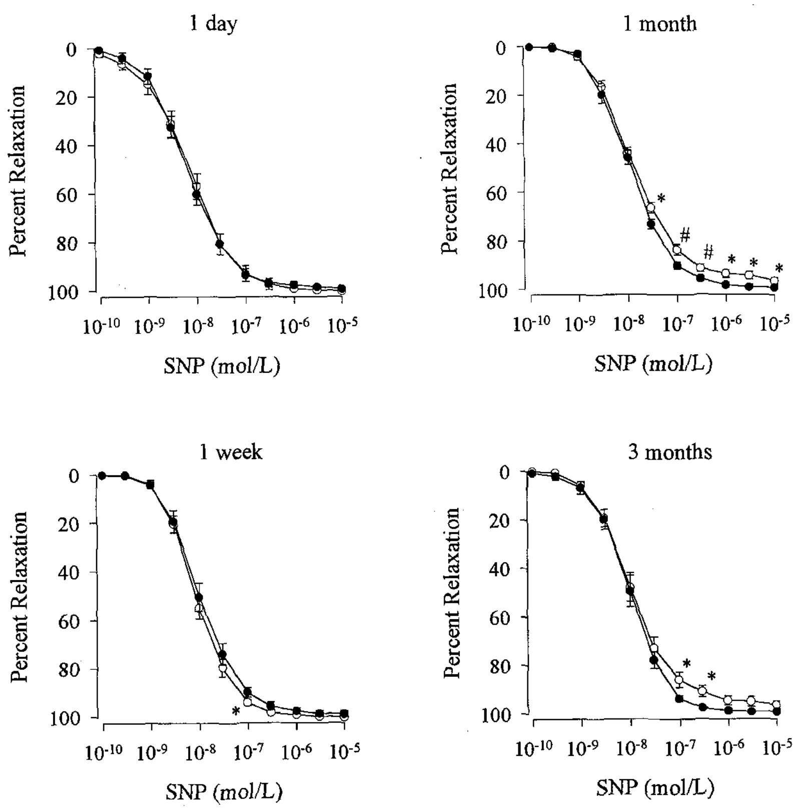

1 day
1 month
1 week
3 months
Percent Relaxation
SNP (mol/L)

FIG. 3.

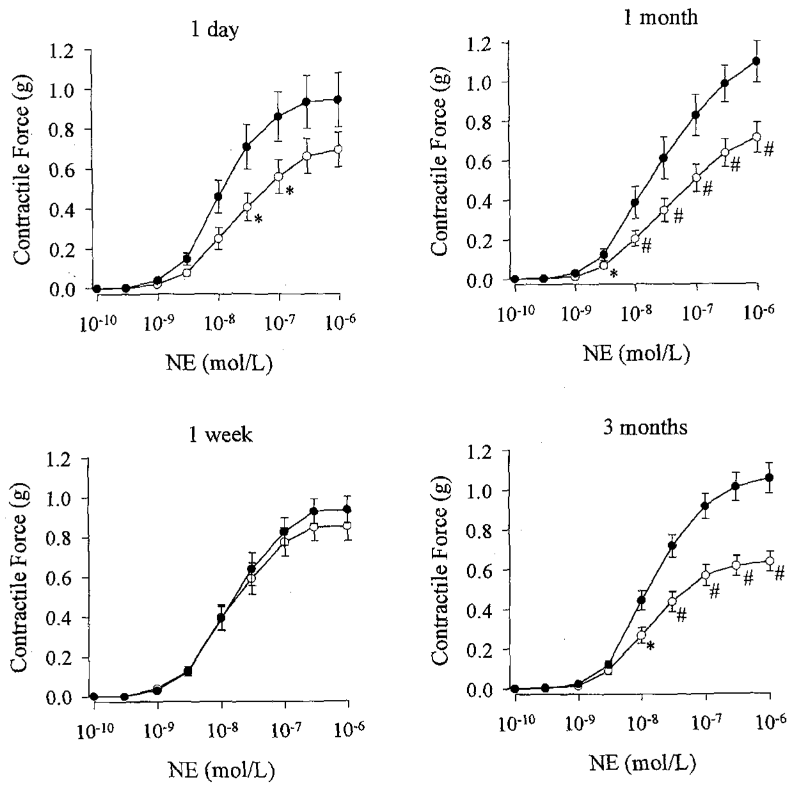

1 day
1 month
1 week
3 months
Contractile Force (g)
NE (mol/L)
10^{-10} 10^{-9} 10^{-8} 10^{-7} 10^{-6}
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2
*
#

FIG. 4.

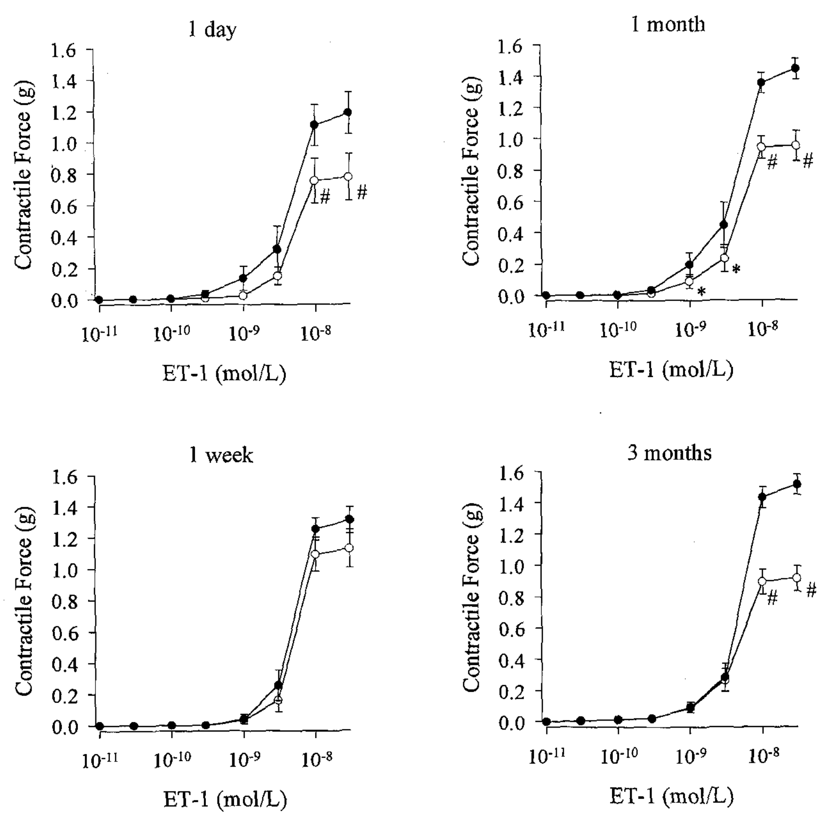

1 day
1 month
1 week
3 months
Contractile Force (g)
ET-1 (mol/L)
10^{-11} 10^{-10} 10^{-9} 10^{-8}
0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 1.4 1.6
*
#

FIG.5.

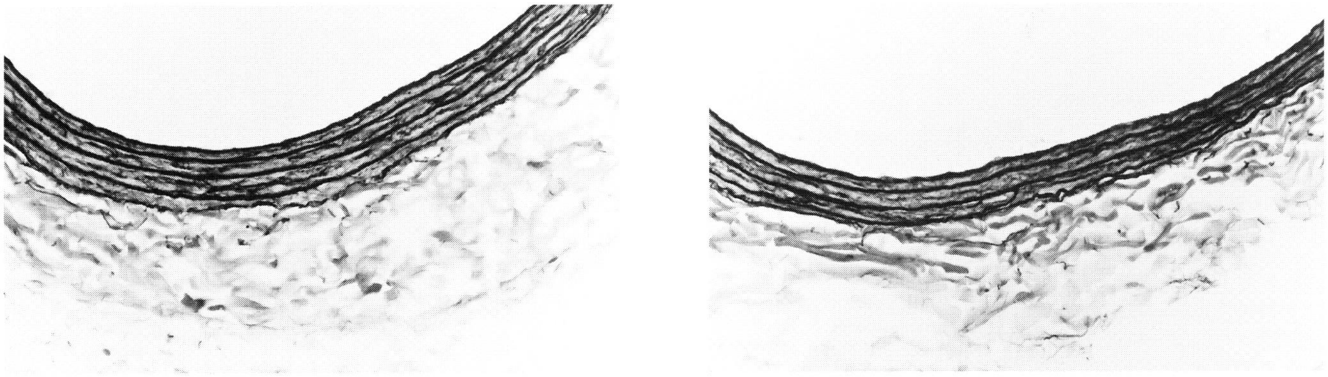
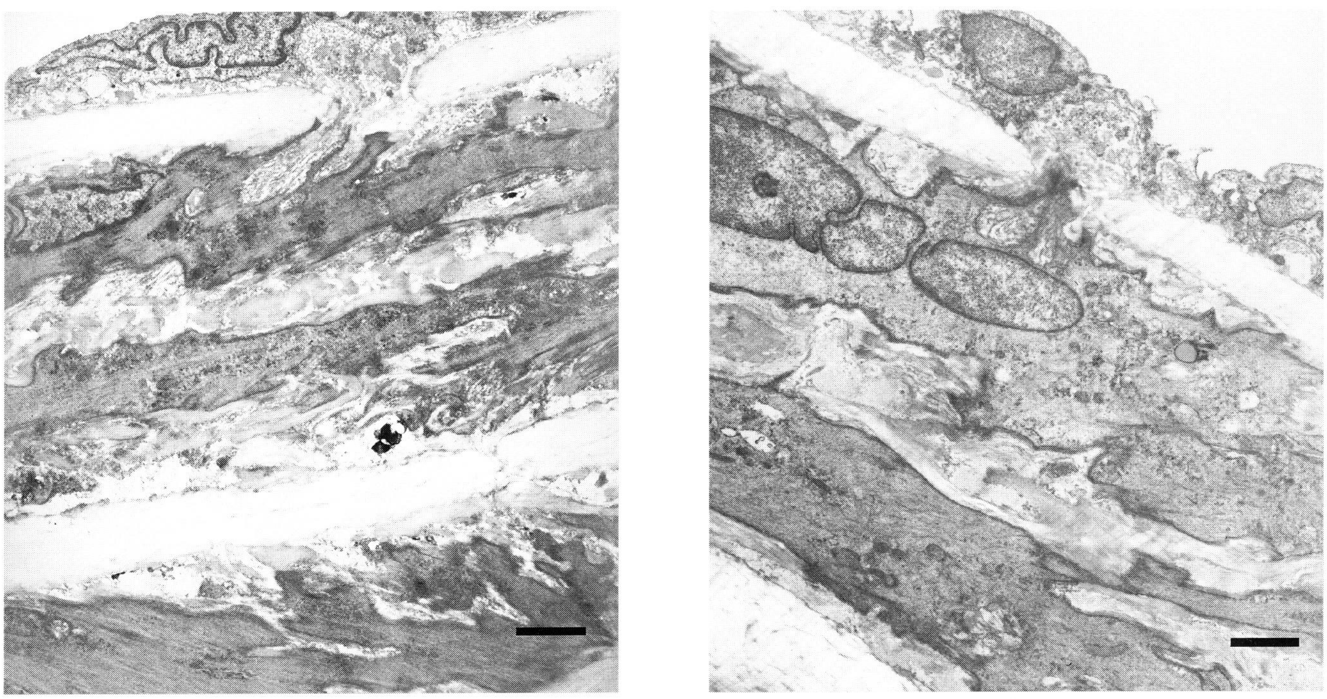


FIG.6.



図の説明

Fig.1. Effect of gamma knife radiosurgery on relaxation responses of the rat common carotid artery (CCA) to ACh. The relaxation effect of ACh was measured as described in the text. Data are expressed as percentages of the tonic phase of the contraction induced by 10-7 mol/L NE. The values shown are the mean ｱ SEM. The number of experimental animals in each group is 10. Symbols: Open circle, treated CCA, closed circle; untreated CCA. * indicates P<0.05 and # P<0.01 (treated vs. untreated CCAs).

Fig. 2. Effect of gamma knife radiosurgery on relaxation responses of rat CCA to SNP. The relaxation effect of SNP was measured as described in the text. Other details as in Fig 1.

Fig. 3. Effect of gamma knife radiosurgery on contraction responses of rat CCA to NE. The contraction effect of NE was measured as described in the text. Data are expressed as contractile force (g). Other details as in Fig. 1.

Fig. 4. Effect of gamma knife radiosurgery on contraction responses of rat CCA to ET-1. The contraction effect of ET-1 was measured as described in the text. Other details as in Fig. 3.

Fig. 5. Photomicrograph of the carotid artery three months after gamma knife radiosurgery. There are no significant differences between the non-irradiated (upper) and the irradiated arteries (lower). Elastica van Gieson, original magnification × 84.

Fig. 6. Electron micrograph of the carotid artery three months after gamma knife radiosurgery. The endothelial and smooth muscle cells of the non-irradiated artery have irregular shaped nuclei with the chromatin marginally arranged (left). The cells of the irradiated artery have round or oval nuclei with the chromatin being diffusely distributed (right). Note that the elastic laminae of the treated arteries are thicker than those of the non-irradiated control. Original magnification × 6000. Bars = 2 μm.

文　献

1) Ackerman LV (1972) The pathology of radiation effect on normal and neoplastic tissue. *Am J Roentgenol* 114: 447-459

2) Aydin LH, ｮnder A (1991) The effect of very early cisternal irrigation on basilar artery spasm after SAH in the rat model. *Acta Neurochir (Wien)* 113: 69-73

3) Berdjis CC (1971) The cardiovascular system. In: *Berdjis CC (ed) Pathology of irradiation.* Williams & Wilkins, Baltimore, p 377

4) Fajardo LF, Berthrong M (1988) Vascular lesions following radiation. *Pathol Annu* 23: 297-330

5) Fonkalsrud EW, Sanchez M, Zerubavel R, Mahoney A (1977) Serial changes in arterial structure following radiation therapy. *Surg Gynecol Obstet* 145: 395-400

6) Hongo K, Nakagomi T, Kassell NF, Sasaki T, Lehman M, Vollmer FG, Tsukahara T, Ogawa H, Torner J (1988) Effects of aging and hypertension on endothelium-dependent vascular relaxation in rat carotid artery. *Stroke* 19: 892-897

7) Kihlstrom L, Lindquist C, Adler J, Collins P, Karlsson B (1992) Histological studies of gamma knife lesions in normal and hypercholesterolemic rabbits. In: *Steiner L (ed) Radiosurgery: Baseline and Trends.* Raven Press, New York, pp 111-119

8) Kondziolka D, Linskey ME, Lunsford LD (1993) Animal models in radiosurgery. In: *Alexander III E et al (eds) Stereotactic radiosurgery.* McGraw Hill, New York, pp 51-64

9) Kondziolka D, Lunsford LD, Claassen D, Maitz AH, Flickinger JC (1992) Radiobiology of radiosurgery: Part 1. The normal rat brain model. *Neurosurgery* 31: 271-279

10) Kondziolka D, Lunsford LD, Flickinger JC (1993) Current concepts in gamma knife

radiosurgery. *Neurosurg Quarter* 3: 253-271

11) Larsson B (1992) Radiobiological fundamentals in radiosurgery. In: *Steiner L (ed) Radiosurgery: Baseline and Trends*. Raven Press, New York, pp 3-14

12) Maynard KI, Stewart-Lee AL, Milner P, Burnstock G (1992) X-irradiation attenuates relaxant responses in the rabbit ear artery. *Br J Pharmacol* 105: 126-128

13) Murros KE, Toole JF (1989) The effect of radiation on carotid arteries. A review article. *Arch Neurol* 46: 449-455

14) Nilsson A, Wennerstrand J, Leksell D, Backlund EO (1978) Stereotactic gamma irradiation of basilar artery in cat. Preliminary experience. *Acta Radiol Oncol* 17: 150-160

15) Paterno R, Faraci FM, Heistad DD (1994) Age-related changes in release of endothelium-derived relaxing factor from the carotid artery. *Stroke* 25: 2459-2462

16) Reinhold HS, Fajardo LF, Hopewell JW (1990) The vascular system. *Adv Rad Biol* 14: 177-226

17) Rubin P, Casarett GW (1968) Radiation histopathology. In: Rubin P, Casarett GW (eds) *Clinical radiation pathology*, Vol I. WB Saunders, Philadelphia, pp 38-61

18) Steiner L (1986) Radiosurgery in cerebral arteriovenous malformations. In: *Flamm E, Fein J (eds) Textbook of Cerebrovascular Surgery*. Springer Verlag, New York, pp 1161-1215

19) Stewart-Lee AL, Maynard KI, Lincoln J, Burnstock G (1991) Sympathetic neurotransmission in the rabbit isolated central ear artery is affected as early as one week following a single dose of X-irradiation. *Br J Pharmacol* 102: 23-26

20) Takahashi S, Kassell NF, Toshima M, Dougherty DA, Foley PL, Lee KS (1993) Effect of U88999E on experimental cerebral vasospasm in rabbits. *Neurosurgery* 32: 281-288