

れにより脳出血や脳梗塞による神経繊維の断裂が描出でき、予後を推測できる可能性を示した(図5)。また脳の代謝をMRSで短時間で評価でき、未だ脳梗塞に陥っていない領域でも代謝が退化している領域を描出できるようになった(図6)。

4) 血中酸化 LDL の測定

急性期脳卒中患者の血中酸化 LDL を測定すると、脳

梗塞患者は健常者より有意に高く、また脳出血より高い値を示した⁸⁾。特にラクナ梗塞より皮質に病巣を持つ患者の血中酸化 LDL が高かった⁸⁾(図7)。この血中酸化 LDL のピークは発症3日目にかけて認められ、2週間をすぎると base line に復した(図8)。また stroke MRI で DWL/PWI mismatch が大きく、ペナンブラ領域がある症例で血中酸化 LDL は高く、逆に mismatch のない大

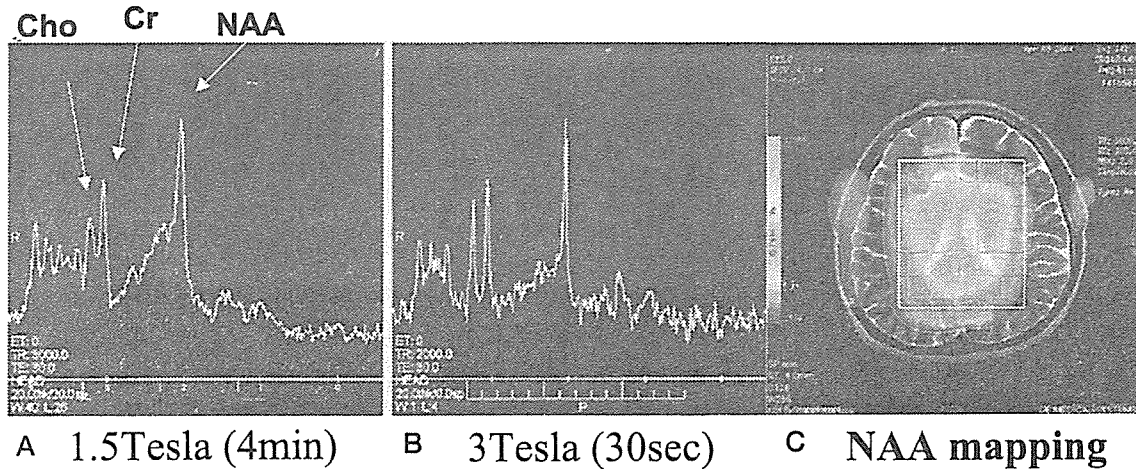


図6 MRSとNAA mapping

A : 1.5T-MRI による MRS では 4 分の測定時間がかかる。
 B : 3T-MRI では 40 秒の測定時間でかつ S/N 比がよい MRS が測定できる。
 C : 3T-MRI で spectroscopic imaging(CSI) により NAA を MRI 画像上に mapping ができる。

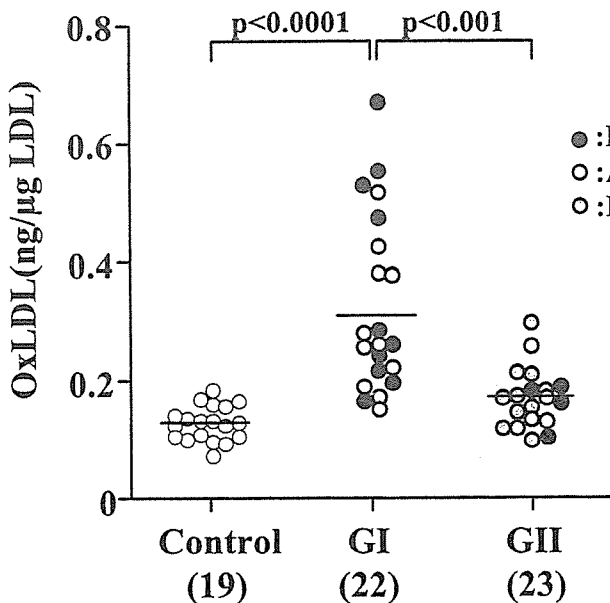


図7 急性期脳梗塞患者の血中 LDL

皮質に梗塞巣を持つ群(GI)はそれ以外の小梗塞群(GII)およびコントロール群の酸化 LDL に比較して有意に高値を示した。
 E : embolic stroke, A : atherosclerotic stroke, L : lacunar stroke

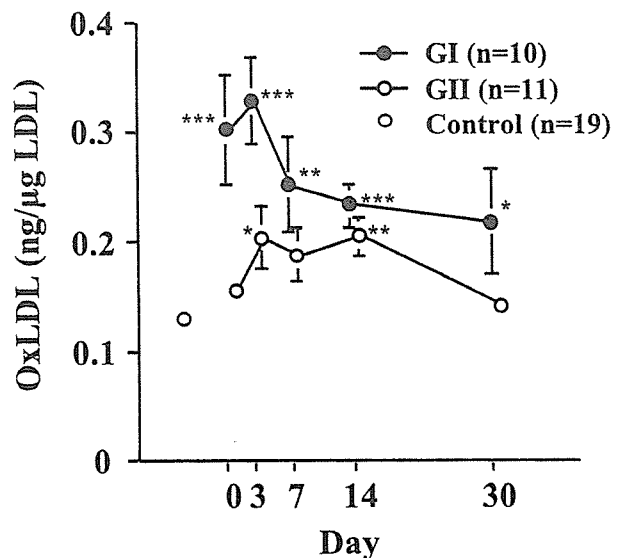


図8 血中酸化 LDL の脳梗塞患者での経時変化

皮質梗塞群(GI)は発症3日目にかけて高値を示し、2週間を過ぎて base line に復した。

梗塞例やラクナ梗塞では低かった⁹⁾。これらのことより血中酸化LDLを測定することで脳梗塞の重症度と治療可能域を反映できる可能性を示した。

考 察

MRIで拡散強調画像がとれるようになりそれが極短時間で施行できるようになってから、脳卒中の診断は飛躍的に進歩した。当院でも1.5TMRIが導入され、かつecho planar法が導入された1997年からは超急性期の脳卒中にstroke MRIで診断してきた。1999年11月からは国立大学では全国に先駆けてSCUを開設し、放射線科の協力のもと24時間体制でstroke MRIが施行できるようになった^{2,5,12)}。この結果、当院の脳卒中に対する診断はさらに向上し、これに伴い、適切な治療ができるようになったと確信している。すなわち、それまでは6時間以内の超急性期の脳虚血では症状があってもどの部位に虚血巣があり、またどの血管が閉塞しているかもわからず、画一的な治療法をとらざるを得なかった。また重症の患者には頭部CTやT₂MRIで虚血巣がなく、脳血管撮影で主要血管の閉塞を確認した後、血行再建術の適応を決定していた¹⁶⁾。Stroke MRIが導入されてからは大脳皮質の病巣は発症から1時間が経過すれば1mm³程度の小さな梗塞巣でも描出され、また主幹血管の狭窄、閉塞が瞬時にわかるようになった。また脳血流画像も同時に撮影でき、それによるDWI/PWI mismatchが血行再建術の適応基準として使えるようになった^{11,13,14)}。これにより適切な血行再建術が施行できるようになり、術後の出血が激減し、予後が良くなっている。3T-MRIが導入されてからは、撮影時間が短縮され、tractographyやMRSが追加して施行できるようになった。今後はこれらを解析して、症例の予後がinitial MRIで予測できる可能性があり、症例を重ねて検討したい。

画像診断は飛躍的に向上したが、脳卒中には心筋虚血の診断に使用している血中CPK、WBCなどの血中バイオマーカーがないのが実状である。もし、入院時の採血で脳卒中の重症度や病型が診断できれば、症例に対する治療法の効果判定や、予後予測に役立つと思われる。酸化LDLは動脈硬化に関与する重要な物質であるが、最近までは血中では測定できないものと考えられていた。板部らが開発した方法で血中にも血管壁の1/1000の濃度で存在することがわかり、心筋虚血例では健常人と比較して有意に上昇していることが報告されていた⁷⁾。わ

れわれは急性期脳梗塞では健常人と比較して有意に血中酸化LDLが上昇していることを初めて報告し、発症3日目までにそのピークがあることを報告した⁸⁾。またこの上昇は小さなラクナ梗塞より皮質梗塞で高く、DWI/PWI mismatchが高い症例ほど血中酸化LDLが高いことを示した^{8,9)}。以上より、放射線学的診断に加えて血中バイオマーカーとしての酸化LDLが今後脳梗塞の病型診断やその重症度、治療効果の判定に役立つ可能性を示した。

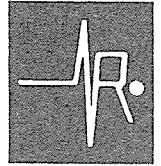
結 語

脳卒中の診断は日々進歩しており、症状が重症度や病型が瞬時に判断ができるようになってきた。Stroke MRIや血中バイオマーカーを駆使して、できるだけ迅速かつ正確な治療ができれば、脳卒中が原因で寝たきりになる率を下げ得ると考えている。

文 献

- 1) Langhorne, P., Williams, BO., Gilchrist, W., Howie K.: Do stroke unit save lives? *Lancet*, 342: 395-398, 1993
- 2) 宇野昌明, 新野清人, 松原俊二, 佐藤浩一 他: 脳梗塞の急性期治療. -Stroke Care Unitを中心として-. *四国医誌*, 56: 213-217, 2000
- 3) 宇野昌明, 永廣信治: 脳血管障害の最前線. 医育機関における脳卒中診療(2) -外科的立場から-. *医学のあゆみ*, 205: 864-868, 2003
- 4) 永廣信治, 宇野昌明, 佐藤浩一, 中寫教夫 他: Stroke Care Unitにおける脳卒中の診断と治療. 一国立大学病院での現状と問題点一. *脳卒中の外科*, 31: 396-401, 2003
- 5) 宇野昌明, 里見淳一郎, 鈴江淳彦, 中寫教夫 他: Stroke MRIによる急性期脳虚血の診断と治療. *脳卒中の外科*, 32: 262-266, 2004
- 6) 宇野昌明, 永廣信治: 頸動脈動脈硬化病巣の分子細胞病態. *分子脳血管病*, 3: 197-201, 2004
- 7) Itabe, H, Ueda, M., Uno, M., Takano, T.: Measurement of oxidized LDL present in human plasma and atherosclerotic lesions. *International Congress Series*, 1262: 87-90, 2004
- 8) Uno, M., Kitazato, K., Nishi, K., Itabe, H., *et al.*: Raised

- plasma oxidised LDL in acute cerebral infarction. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 74 : 312-316, 2003
- 9) Uno, M., Harada, M., Takimoto, O., Kitazato, K.T., *et al.* : Elevation of plasma oxidized LDL in acute stroke patients is associated with ischemic lesions depicted by DWI and prediction of infarct enlargement. *Neurol. Res.*, 27 : 94-102, 2005
- 10) Morita, N., Harada, M., Yoneda, K., Nishitani, H., *et al.* : A characteristic feature of hyperacute hematoma in the human brain measured by diffusion-weighted echo planar images. *Neuroradiology*, 44 : 907-911, 2002
- 11) Uno, M., Harada, M., Yoneda, K., Matsubara, S., *et al.* : Can diffusion-and perfusion-weighted MRI evaluate the efficacy of acute thrombolysis in patients with ICA or MCA occlusion? *Neurosurgery*, 50 : 28-35, 2002
- 12) 宇野昌明, 佐藤浩一, 里見淳一郎, 鈴江淳彦 他 : 急性症候性内頸動脈閉塞の診断と治療。—Stroke MRI による治療法の決定— The Mt. Fuji Workshop on CVD, 21 : 81-86, 2003
- 13) Yoneda, K., Harada, M., Morita, N., Nishitani, H., *et al.* : Comparison of FAIR technique with different inversion times and post contrast dynamic perfusion MRI in chronic occlusive cerebrovascular disease. *Magn. Reson. Imaging*, 21 : 701-5, 2003
- 14) Harada, M., Uno, M., Yoneda, K., Hori, A., *et al.* : Correlation between flow-sensitive alternating inversion recovery perfusion imaging with different inversion times and cerebral flow reserve evaluated by single-photon-emission computed tomography. *Neuroradiology*, 46 : 649-654, 2004
- 15) Toi, H., Uno, M., Harada, M., Yoneda, K., *et al.* : Diagnosis of Acute Brainstem Infarction Using Diffusion-Weighted MRI. *Neuroradiology*, 45 : 352-356, 2003
- 16) Uno, M., Hamazaki, F., Kohno, T., Sebe, A., *et al.* : Combined therapeutic approach of intra-arterial thrombolysis and carotid endarterectomy in selected patients presenting with acute thrombotic carotid occlusion. *J. Vasc. Surg.*, 34 : 532-540, 2001



Original Contribution

Inhibition of brain damage by edaravone, a free radical scavenger, can be monitored by plasma biomarkers that detect oxidative and astrocyte damage in patients with acute cerebral infarction[☆]

Masaaki Uno^{a,*}, Keiko T. Kitazato^{a,c}, Atsuhiko Suzue^a, Kazuhito Matsuzaki^a,
Masahumi Harada^b, Hiroyuki Itabe^c, Shinji Nagahiro^a

^aDepartment of Neurosurgery, Graduate School of Health Biosciences, The University of Tokushima, Tokushima, 3-18-15, Kuramoto-cho, Tokushima, Japan

^bDepartment of Radiology, Graduate School of Health Biosciences, The University of Tokushima, Tokushima 770-8503, Japan

^cDepartment of Biological Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Showa University, Tokyo, Japan

Received 11 May 2005; revised 3 June 2005; accepted 3 June 2005

Abstract

We assess the availability of plasma biomarkers to monitor the brain damage and the therapeutic efficacy of edaravone. The study consisted of 51 patients with ischemic cerebral infarcts. They were divided into 2 groups: GI ($n = 24$) had cortical lesions, and GII ($n = 27$) had lesions in the basal ganglia or brain stem. Edaravone was administered to 27 randomly selected patients (GIa, $n = 13$; GIIa, $n = 14$) and its efficacy was studied by comparing their plasma OxLDL, S-100B, and MnSOD levels to those in patients without edaravone (GIb, $n = 11$, GIIb, $n = 13$). Three days after the start of edaravone, plasma OxLDL was significantly lower in GIa than GIb patients (0.177 ± 0.024 ng/ μ g apoB vs 0.219 ± 0.026 , $P < 0.05$). In GIIa patients, pre- and posttreatment plasma OxLDL was not significantly different (0.156 ± 0.013 vs 0.152 ± 0.020). In GIa patients, S-100B and MnSOD were significantly lower than in GIb patients ($P < 0.05$). The neurological condition at the time of discharge had recovered in GIa but not GIb patients. Ours is the first evidence to confirm the efficacy of edaravone by plasma biomarkers. In patients with cortical infarcts, edaravone reduced oxidative damage, thereby limiting the degree of brain damage.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Acute cerebral infarction; Free radical scavenger; Plasma biomarker; Free radicals

Introduction

Upon energy failure during brain ischemia, polyunsaturated fatty acids are released from membrane phospholipids. This is followed by activation of the arachidonate cascade

that includes the lipoxygenase pathway, the production of oxygen radicals, and lipid peroxidation, which is thought to contribute to neuronal injury [1–3].

Edaravone exerts antioxidant action that suppresses free radicals including hydroxy, peroxy, and alkoxy radicals; it has been used to treat patients with acute stroke [4]. Clinical and experimental studies [5–8] have shown that it exerts protective effects against oxidative actions. The neuroprotective efficacy of edaravone and its beneficial effect on functional outcomes have been demonstrated in patients with acute ischemic stroke [9]. However, the role of its antioxidant actions in its therapeutic effects remains to be elucidated. We previously reported that patients with atherothrombotic and cortical infarcts manifested significantly higher plasma oxidized low-density lipoprotein (OxLDL) levels than did patients with lacunar infarcts and

Abbreviations: OxLDL, oxidized low-density lipoprotein; NIHSS, NIH Stroke Scale; mAb, monoclonal antibody; SOD, superoxide dismutase; DWI, diffusion-weighted imaging; PWI, perfusion-weighted imaging; FLAIR, flow-sensitive alternating inversion recovery; IR, inversion-recovery; 8-OHdG, 8-hydroxydeoxyguanosine; MCAOR, middle cerebral artery occlusion/reperfusion.

[☆] This research was supported by Grants-in-Aid for Research C2 (No. 17591516) from the Ministry of Education, Science, Sports, and Culture of Japan.

* Corresponding author. Fax: +81 88 632 9464.

E-mail address: muno@clin.med.tokushima-u.ac.jp (M. Uno).

0891-5849/\$ - see front matter © 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.freeradbiomed.2005.06.001

age-matched controls [10]. Plasma OxLDL levels were correlated with the infarct volume and the admission NIH Stroke Scale (NIHSS) score but not with the modified Rankin scale on discharge [11]. On the other hand, not all patients with severe large infarcts over the hemisphere had high plasma OxLDL levels and to some degree, the increased plasma OxLDL level at stroke onset was associated with expansion of the infarct size 3 days after the insult. Our results suggested that since increased plasma OxLDL reflects brain oxidative damage in patients with moderate cortical infarction and predicts the presence of salvageable regions, it is helpful to monitor OxLDL in stroke patients.

Protein S-100B, an acidic Ca^{2+} -binding protein (20 kDa) that comprises a major component of cytosol, exists predominantly in astrocytes and Schwann cells [12–14]. It is produced and released by astrocytes and can stimulate the activation of microglia and astrocytes, and it plays a pivotal role in the occurrence of delayed infarct expansion and prolonged suppression of neuronal functions in the peri-infarct area [15–17]. S-100B levels in cerebrospinal fluid or plasma are now used as a biomarker for evaluating the presence and severity of brain damage and to predict the prognosis after acute ischemic or traumatic brain injury [18]. In patients with acute ischemic stroke, serum S-100B levels correlate with infarct size and neurological and functional outcomes [19,20]. Therefore, S-100B levels may be useful for the evaluation of neuroprotective therapies [21].

To investigate whether its efficacy is reflected in the level of plasma biomarkers of brain damage, we compared plasma OxLDL and S-100B levels in ischemic stroke patients who did, or did not, receive edaravone. Here we first demonstrate that the therapeutic efficacy of edaravone can be monitored by plasma biomarkers that detect oxidative and astrocyte damage in acute cerebral infarction.

Methods

Subjects

Our study population consisted of 51 patients with ischemic cerebral infarcts. They were 31 men and 20 women, ranging in age from 40 to 82 years (67.1 ± 12.5 , mean \pm SD). The controls were 19 age-matched healthy volunteers who had no history of cerebrovascular accidents (9 men and 10 women, aged 61.2 ± 9.6 years, range 35–78). The patients had been admitted consecutively between February 2002 and July 2003 to the Stroke Care Unit at the University of Tokushima Hospital. Prior informed consent was obtained from all study participants or their relatives. Our study was approved by the ethics committee of the University of Tokushima.

All patients underwent magnetic resonance imaging (MRI) examination immediately at admission; echocardiog-

raphy and extracranial duplex ultrasound were also performed in all patients. A diagnosis of stroke was based on clinical findings. An NIHSS [22,23] score was assigned at admission and discharge to determine neurological deficits. Baseline data (age, sex), conventional vascular risk factors (hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidemia), and previous atrial fibrillation were recorded. Patients whose pertinent data could not be evaluated at the time of stroke onset and those with hemorrhagic infarction were excluded from this study. Based on the location of the ischemic lesions [11], the patients were divided into two groups (Table 1 and Fig. 1A). In GI patients ($n = 24$), the infarct was located in cortical regions in the cerebral hemisphere and involved the frontal, parietal, and temporal lobe or the occipital lobe and cerebellum (Fig. 1A,a). In GII patients ($n = 27$), the infarct involved basal ganglia regions in the anterior circulation (putamen, caudate head), corona radiata, or brain stem and thalamus (Fig. 1A,b). The stroke subtypes were defined according to the TOAST classification system [23]. Of the 51 patients, 16 (31.4%) had cardioembolic, 13 (25.5%) had atherothrombotic, and 22 (43.1%) had lacunar infarcts. The atherothrombotic infarct group included patients with clinical and imaging findings of either significant stenosis or occlusion of a major artery or a branch of the cortical artery, presumably due to atherosclerosis. The cardioembolic infarct group included patients with arterial occlusion presumably due to an embolus arising in the heart. The lacunar infarction group included patients with one of the traditional clinical lacunar syndromes and no evidence of cerebral cortical dysfunction, and patients whose MRI did not show lesions exceeding 1.5 cm in diameter (Fig. 1A,b). Randomization was based on a computer-generated random number table; from this, a

Table 1
Characteristics of patients recruited in this study at admission

	Group I		Group II	
	GIa	GIb	GIa	GIb
Age	71.8 \pm 6.9	60.1 \pm 11.2	70.5 \pm 13.2	67.2 \pm 17.6
Male/female (n)	8/5	6/5	10/4	7/6
E/A/L	7/6/0	6/5/0	2/1/11	1/1/11
BP (mm Hg)				
Systolic	158.1 \pm 10.3	171.0 \pm 8.6	181.6 \pm 8.7	182.2 \pm 8.7
Diastolic	78.0 \pm 3.6	90.2 \pm 6.0	96.9 \pm 5.8	90.8 \pm 6.0
NIHSS	10.9 \pm 2.5	12.5 \pm 2.8	5.4 \pm 1.3	6.7 \pm 3.7
Clinical biochemistry				
CRP (mg/dl)	2.0 \pm 1.0	2.5 \pm 1.3	0.5 \pm 0.3	1.2 \pm 0.5
LDH (mg/dl)	231 \pm 15.8	261.3 \pm 25.2	228.9 \pm 23.6	280.3 \pm 41.9
TG (mg/dl)	98.4 \pm 15.7	100.6 \pm 13.2	120.8 \pm 16.3	86.2 \pm 20.3
TC (mg/dl)	151.7 \pm 7.6	151.1 \pm 11.3	196.5 \pm 13.4	188.8 \pm 16.7
LDL (mg/dl)	125.4 \pm 6.4	131.0 \pm 10.8	175.1 \pm 46.5	171.6 \pm 18.8
HDL (mg/dl)	42.3 \pm 3.4	44.6 \pm 3.1	46.5 \pm 3.0	42.2 \pm 2.9
BG (mg/dl)	116.2 \pm 8.1	125.0 \pm 3.7	127.7 \pm 7.2	154.2 \pm 35.3
BUN (mg/dl)	15.6 \pm 1.1	18.6 \pm 3.4	13.2 \pm 0.9	15.7 \pm 1.1
CRN (mg/dl)	0.8 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1

E, cardioembolic; A, atherothrombotic; L, lacunar infarction; BP, blood pressure; TC, total cholesterol; BG, blood glucose; CRN, creatine.

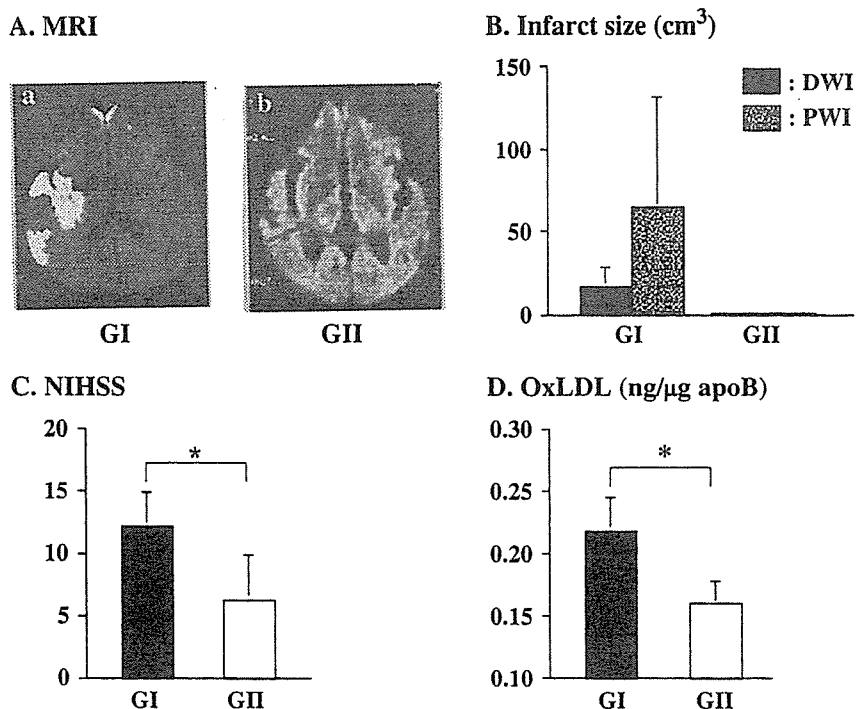


Fig. 1. MRI, infarct size, NIHSS, and plasma OxLDL levels at onset of acute cerebral infarction. In group I (GI, $n = 24$) the infarct was located in cortical regions in the cerebral hemisphere and involved the frontal, parietal, and temporal lobe or the occipital lobe and cerebellum (A,a). In group 2 (GII, $n = 27$), the infarcts (arrow) involved basal ganglia regions in the anterior circulation (putamen, caudate head), corona radiata, or brain stem and thalamus (A,b). The infarct size, determined by diffusion- and perfusion-weighted imaging (B), the NIHSS score (C), and plasma OxLDL levels (D) were significantly greater in GI than in GII patients. Data are the means \pm SD. * $P < 0.05$ by the Mann-Whitney U test.

study coordinator who was not involved in patient care created the randomization list assigning treatment group. The 51 patients were randomly divided into those who did ($n = 27$), and did not ($n = 24$), receive edaravone; 13 GI and 14 GII patients received the drug. Hereafter they are designated GIa and GIIa, respectively. Edaravone administration started within 24 h of stroke onset; it was infused at a dose of 30 mg, twice a day, for 14 days. Patients who did not receive edaravone are designated GIb ($n = 11$) and GIIb ($n = 13$). As other medicines, all patients with cardioembolic infarction of the GI group received glycerol (400 ml/day for 3–7 days), and all patients with atherothrombotic infarct of GI and GII groups and all with lacunar infarction of GII group received thromboxane A₂ synthetase inhibitors (160 mg/day for 7 to 14 days).

No patients with massive infarcts (ischemic volume $> 100 \text{ cm}^3$) that involved the cortex and basal ganglia were included in this study. MR angiography (MRA) or cerebral angiography revealed occlusion/stenosis of the internal carotid artery (ICA) or horizontal portion of the middle cerebral artery (MCA) in 16 of the 24 GI patients (66.7%).

Blood sampling

Venous blood samples for the OxLDL assay and other biochemical analyses were obtained immediately after MRI examination at admission, and on Days 3, 7, and 14 after

stroke onset. To measure plasma OxLDL, S-100B, and MnSOD levels, blood was drawn into tubes containing EDTA-2Na and separated by centrifugation at 4°C, 3000 rpm. Other routine chemical laboratory assays were performed according to protocols established by our Clinical Laboratory Department.

Isolation of LDL

LDL isolation was by potassium bromide stepwise density-gradient ultracentrifugation as described previously [24]. Standard OxLDL was prepared by incubating LDL with $5 \mu\text{M}$ CuSO_4 at 37°C for 3 h; anti-OxLDL (mAb) was prepared as described previously [24].

Determination of plasma levels of OxLDL, S-100B, and MnSOD

To measure the plasma OxLDL level we used the same procedure as in our previous study [10,11]. This procedure has been found acceptable by others [25,26]. Briefly, sandwich ELISA was performed with mAb against oxidative phosphatidylcholine (FOH1a/DLH3; DLH3) [27] and apoB IgG antibody (Boehringer, Germany). The complex was detected by phosphatase-conjugated donkey anti-sheep IgG antibody (Chemicon, USA) and visualized by incubation with a substrate solution containing 1 mg/ml disodium *p*-nitrophenylphosphate hexahydrate (Wako, Japan).

Absorbance at 405 nm was measured for comparison with a standard curve obtained under the same assay conditions. Simultaneously, we ran a parallel set of ELISA using anti-apoB mAb (OEM, USA) to determine the amounts of apoB in the same lipoprotein fractions. The OxLDL level was expressed as the amount of OxLDL per microgram of apoB protein.

S-100B levels were measured in triplicate by europium-based ELISA according to the manufacturer's instructions. In other clinical and experimental studies [28,29], plasma S-100B increased a little within 12 h after ischemia and peaked at 3 days postinsult. Therefore, we determined the level at 3 days after the insult. MnSOD was measured at the same time as S-100B using commercial kits (Amersham Bioscience, NJ).

Determination of ischemic lesion and size

MRI was performed with a 1.5 T unit (Sigma Horizon; GE Medical System, Milwaukee, WI) with echo-planar capabilities. The acquisition parameters for diffusion-weighted imaging (DWI) were 10,000 ms/95 ms (repetition time/echo time), 128 × 128 matrix, 5-mm-thick sections, 1.5-mm interslice gap, 12 axial sections, and diffusion gradients of 15 mT/m applied in three orthogonal directions. The *b* value was 0 and 1000 s/mm² [11].

Perfusion-weighted imaging (PWI) was performed using the flow-sensitive alternating inversion-recovery (FLAIR) method [30]. The FLAIR technique is based on inversion-recovery (IR)-prepared echo-planar imaging sequences. After the collection of slice-selective and non-slice-selective IR images, two different images were subtracted to obtain blood-flow images. The measurement conditions for FLAIR were time of repetition (TR) = 2 s, echo time (TE) = 10 ms, inversion time (TI) = 1200 ms, slice thickness = 8 mm, 5-mm interslice gap, field of view (FOV) = 24 cm, non-slice-selective pulse = 4 × the selective pulse, matrix = 96 × 96 pixels, and number of excitations = 100.

The volumes of hyperintensity on DWI and hypointensity on PWI were determined by a radiologist with 20 years of experience who was blinded to the clinical status of the patients. Utilizing GE calculating software, lesion-volume mismatches on DWI, PWI, and DWI-PWI were calculated. (DWI/PWI mismatch volume (cm³) = initial lesion volume on PWI minus initial lesion volume on DWI).

Statistics

Sequentially obtained data, expressed as the mean ± SD, were analyzed with the Mann Whitney *U* test for two-group comparisons; ANOVA followed by Scheffe's test was used for more than three-group comparisons. Statistical analyses were performed on a Macintosh computer running statistical software (Stat View 5.0). Statistical significance was considered as *P* < 0.05.

Results

Characteristics of patients with ischemic stroke

As shown in Table 1, there was no significant difference with respect to age, blood pressure at admission, and general biochemical data among the 51 patients in the four groups. The NIHSS score was significantly higher in GI than GII patients (*P* < 0.05, Table 1, Fig. 1C) and the infarct size at admission was larger in GI than GII patients (*P* < 0.05, Fig. 1B). There were DWI/PWI mismatches in most of GI patients (Fig. 1B).

Edaravone inhibits the increase of plasma OxLDL in the acute phase after cerebral infarction

As shown in Fig. 1D, plasma OxLDL at admission was significantly higher in GI than GII patients (0.219 ± 0.016 and 0.221 ± 0.028 ng/μg apoB for GIa and GIb vs 0.156 ± 0.013 and 0.157 ± 0.028 for GIIa and GIIb; *P* < 0.05). Of the 24 GI patients, 13 received edaravone; compared to pretreatment levels, their plasma OxLDL was significantly decreased 1 day after the start of treatment (*P* < 0.05); the difference from GI patients who did not receive edaravone was also significant (*P* < 0.01, Fig. 2A).

Plasma OxLDL in GIa patients continued to decrease gradually in the course of edaravone treatment and reached the baseline on Day 14 (Fig. 2A). In GIb patients, it increased until the third day; at that time it was significantly higher than in GIa patients (0.219 ± 0.026 vs 0.177 ± 0.024, *P* < 0.05; Fig. 3E). In the 19 normal age-matched controls, plasma OxLDL was 0.13 ± 0.009. At 7 days, OxLDL was significantly lower in GII patients who did (GIIa) than those who did not (GIIb) receive edaravone (*P* < 0.05, Fig. 2B). These results indicate that edaravone is efficacious against oxidative brain damage especially in patients with cortical infarcts (GI) and that OxLDL is an appropriate plasma biomarker for monitoring its effectiveness.

Decreased OxLDL levels after edaravone treatment are correlated with changes in plasma S-100B and MnSOD

On the third day after the insult, the S-100B level was significantly higher in GIb than GIIb patients (*P* < 0.05, Fig. 3A), suggesting that damage to astrocytes was more severe in patients with cortical than lacunar infarcts. Like plasma OxLDL, plasma S100-B levels were significantly lower in GIa than GIb patients (377 ± 98 ng/L vs 633 ± 179 ng/L, *P* < 0.05; Figs. 2A and 3A), there was no significant difference between GIIa and GIIb patients with respect to plasma S100-B (Fig. 3B). On the third day after the start of edaravone administration, plasma OxLDL levels were similar in GIIa and GIIb patients (0.152 ± 0.020 vs 0.161 ± 0.017, Fig. 3F) and not different from the levels obtained just after the insult (0.156 ± 0.013 vs 0.157 ± 0.028, Fig. 2B).

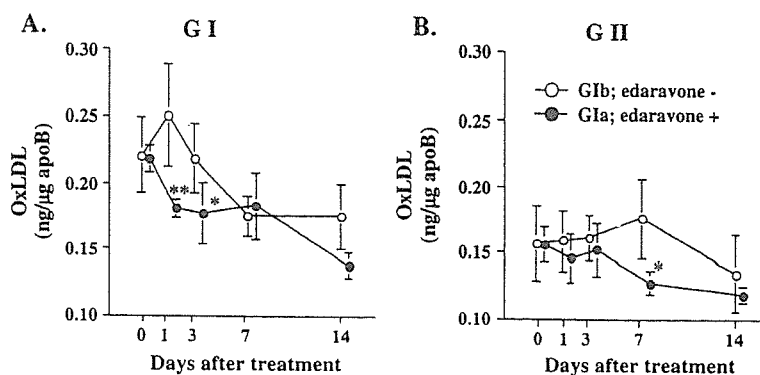


Fig. 2. Changes in plasma OxLDL levels in patients with cerebral infarcts receiving edaravone treatment. Plasma OxLDL levels in GIIa patients decreased starting with the first day of treatment compared to untreated (GIIb) patients (A). In the group of patients whose infarcts were primarily lacunar (GII), 7-day edaravone treatment resulted in a moderate decrease in the OxLDL level compared to untreated patients (B). Data are the means \pm SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ by the Mann-Whitney U test.

MnSOD is up-regulated in response to oxidative stress. As shown in Figs. 3C and 3D, the MnSOD level was significantly higher in GIIb than GIIa patients at 3 days after the insult ($P < 0.05$). Like plasma OxLDL, plasma MnSOD was significantly lower in GIIa than GIIb patients on Day 3 (288 ± 27 mg/dl vs 419 ± 67 mg/dl, $P < 0.05$, Fig. 3C).

There was no significant difference between GIIa and GIIb patients with respect to plasma MnSOD (Fig. 3D).

Recovery of neurological deficits by patients treated with edaravone

The admission NIHSS score was significantly higher in GI than GII patients ($P < 0.05$, Fig. 1C). As shown in Fig. 4, edaravone treatment resulted in a significant lowering of the score in GI patients (from 10.9 ± 2.5 to 7.0 ± 1.2 , $P < 0.05$, Fig. 4A) and correlated with the decrease in plasma OxLDL (Fig. 4C). The NIHSS score of GIIb patients did not change between admission (12.5 ± 2.8) and discharge (13.7 ± 4.2) (Fig. 4A); it decreased somewhat in GIIa patients (from 6.4 ± 2.3 to 3.6 ± 1.2) but not in GIIb patients (6.7 ± 3.7 (admission), 6.8 ± 3.6 (discharge)) (Fig. 4B). Based on our observations we conclude that edaravone helps to limit oxidative brain damage in patients with moderate cortical infarcts and thereby limits the degree of focal neurological deficits.

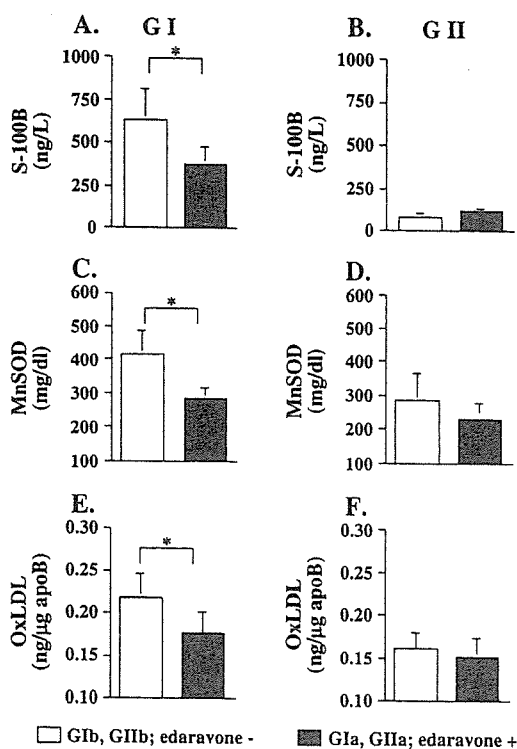


Fig. 3. Plasma levels of S-100B, MnSOD, and OxLDL on the third day after the start of edaravone treatment. The S100-B level was higher in GIIb than GIIa patients ($P < 0.05$; A and B). The S100-B level in GIIa patients was significantly lower than in GIIb patients (A) and mirrored the decrease in plasma OxLDL (E). The S-100B level in GIIa and GIIb patients was not significantly different (B). The MnSOD levels were significantly higher in GIIb than GIIa patients ($P < 0.05$; C and D). In GI patients, edaravone treatment significantly decreased the plasma MnSOD level (C) while in GII patients, edaravone had no significant effect (D). Data are the means \pm SD. * $P < 0.05$ by the Mann-Whitney U test.

Discussion

While edaravone has gained acceptance as a treatment for patients with acute cerebral infarction [31], the assessment of its therapeutic efficacy based on its antioxidant actions remains to be studied in detail. We compared plasma OxLDL, S-100B, and MnSOD levels in infarct patients who did, or did not, receive edaravone to determine whether its efficacy can be assessed by plasma biomarkers. In patients with acute cerebral infarction who received edaravone treatment, plasma OxLDL was decreased. In contrast, patients who were not treated manifested persistently high OxLDL levels. In particular, edaravone-treated patients with cortical infarcts exhibited a decrease in plasma S-100B and MnSOD levels at 3 days after the insult that paralleled a decrease in their OxLDL levels. Edaravone treatment led to the recovery of neurological deficits. Ours is the first

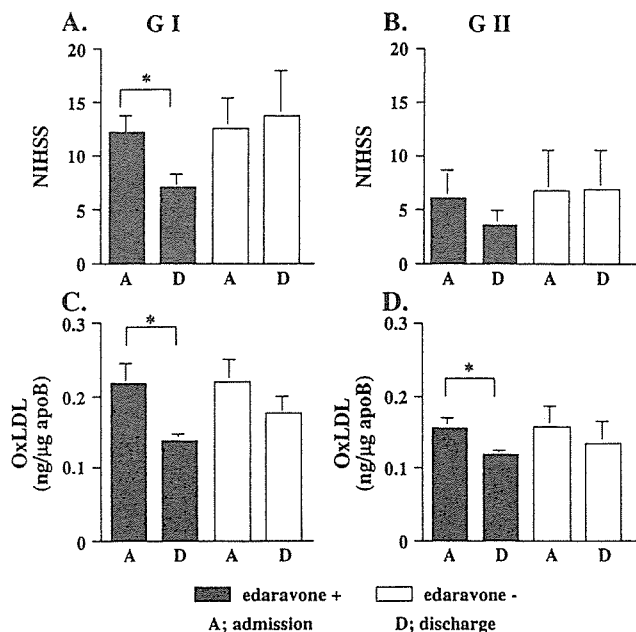


Fig. 4. Effect of edaravone on neurological deficits. The admission NIHSS score was significantly higher in GI than GII patients ($P < 0.05$) as shown in Fig. 1C (A and B). At the time of discharge, GIa patients had a significantly lower score than at admission (7.0 ± 1.2 vs 10.9 ± 2.5 , $P < 0.05$; A); this decrease was correlated with the decrease in their plasma OxLDL level (C). In GIb patients, the discharge score (13.7 ± 4.2) was not significantly different from the admission score (12.5 ± 2.8) (A). In GIIa patients there was a moderate difference between the admission (6.4 ± 2.3) and discharge score (3.6 ± 1.2) and in GIIb patients there was no change (6.7 ± 3.7 vs 6.8 ± 3.6) (B). Data are the means \pm SD. * $P < 0.05$ by the Mann-Whitney U test.

demonstration that edaravone effectively inhibits oxidative brain damage especially in patients with cortical infarcts, and that its efficacy is reflected by the level of the plasma biomarkers we studied.

Using 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of DNA oxidative damage in a middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAOR) model, we previously demonstrated by immunohistochemical analysis that damage was mainly present in the neuronal cells in the cortical region but not the caudate putamen and that it is augmented outside the infarct border, the so-called ischemic penumbra [32]. Cortical oxidative damage peaked at 24 h after MCAOR and then gradually decreased to the baseline at 7 days postischemia despite the presence of the infarct region. Moreover, the 8-OHdG level in the brain was reflected by the plasma level. These findings support our current observations that plasma oxidative biomarkers reflect cortical oxidative damage and that the antioxidative effects of edaravone result in the protection of neuronal cells in the peri-infarct area.

In our previous clinical studies [10,11] we showed that plasma OxLDL as an oxidative marker was correlated with the infarct size calculated from DWI and PWI studies and their mismatch in patients with moderate cortical infarcts. On the other hand, not all patients with severe hemispheric

infarcts manifested high OxLDL levels. Therefore, we postulated that patients with moderate cortical infarcts and increased OxLDL levels might benefit from treatment with edaravone.

Arachidonate itself and lipoxygenase products from the arachidonate cascade induce brain edema, partly due to disruption of microvascular integrity [33,34]. Edaravone prevents peroxidative cell damage due to hydroperoxyeicosatetraenoic acids from the arachidonate cascade and attenuates arachidonate-induced edema in a rat model [3]. Therefore, its anti-edema mechanism(s) may in part be related to the inhibition of ischemic neuronal and cerebrovascular cell injury by products of the arachidonate cascade [33,34]. Propyl galalate (PG), an *in vivo* and *in vitro* antioxidant, did not exhibit significant effects in a stroke model despite its strong activity in restraining superoxide radicals [35]. Studies are underway in our laboratory to examine what mechanism(s) other than free radical scavenging can explain the ability of edaravone to rescue the brain from cerebral ischemia.

The overproduction of S-100B might contribute to pathology via the participation in a glial activation cycle that leads to neuroinflammation and neuronal dysfunction. S-100B stimulates iNOS activity and mRNA levels in rat cortical astrocytes; therefore, it induces neuronal cell death through NO release from astrocytes [36]. Enhanced synthesis of S-100B by peri-infarct reactive astrocytes may play a role in the occurrence of delayed infarct expansion. The appearance of activated or reactive astrocytes, characterized by an increase in cell volume and elongated cytoplasmic processes, has been observed in several pathogenic conditions related to ischemic brain injury [12]. We found that among edaravone-untreated patients, those with cortical infarcts had significantly higher S-100B levels on the third postinsult day than patients with lacunar infarcts. Both necrotic cell damage in the penumbral zone of focal infarction and a breakdown in membrane integrity due to cytotoxic and vasogenic edema may result in the leakage of S-100B from the cytosol into extracellular compartments [37]. The parallel decrease in the plasma level of OxLDL and S-100B in edaravone-treated patients indicates that these biomarkers mirror the extent of substantial brain damage. Besides inhibiting oxidative damage in cortical neurons, edaravone may prevent microglia activation that leads to inflammation and dysfunction of neuronal cells. Using S-100B transgenic and knockout mice, Wainwright et al. [38] demonstrated that glial fibrillary acidic protein and S-100B levels were significantly increased in S-100B transgenic mice. This is consistent with heightened glial activation and neuroinflammation in response to injury. The decrease in the S-100B level by edaravone may shield astrocytes and result in limiting the extent of brain damage.

MnSOD is up-regulated in response to oxidative stress because its promoter region contains response elements for the redox-sensitive transcription factors of many inflammatory-related genes [39] and its up-regulation may be a key

compensatory response to oxidative stress [40]. The decreased plasma MnSOD levels in our edaravone-treated patients may be reflective of the reduced oxidative stress as well as the decreased OxLDL levels after edaravone treatment.

Ours is the first evidence that the efficacy of edaravone can be assessed by measuring plasma biomarkers. Our findings indicate that edaravone is useful, especially in patients with cortical infarcts, for reducing oxidative damage and that it may thereby contribute to limiting brain damage in patients with infarction.

References

- [1] Zhang, R. L.; Lu, C. Z.; Ren, H. M.; Xiao, B. G. Metabolic changes of arachidonic acid after cerebral ischemia-reperfusion in diabetic rats. *Exp. Neurol.* **184**:746–752; 2003.
- [2] Hall, E. D.; Braughler, J. M. Central nervous system trauma and stroke: II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radical Biol. Med.* **6**:309–313; 1989.
- [3] Halliwell, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J. Neurochem.* **59**:1609–1623; 1992.
- [4] Watanabe, T.; Egawa, M. Effects of an antistroke agent MCI-186 on cerebral arachidonate cascade. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **271**:1624–1629; 1994.
- [5] Shichinohe, H.; Kuroda, S.; Yasuda, H.; Ishikawa, T.; Iwai, M.; Horiuchi, M.; Iwasaki, Y. Neuroprotective effects of the free radical scavenger edaravone (MCI-186) in mice permanent focal brain ischemia. *Brain Res.* **1029**:200–206; 2004.
- [6] Toyoda, K.; Fujii, K.; Kamouchi, M.; Nakane, H.; Arihiro, S.; Okada, Y.; Ibayashi, S.; Iida, M. Free radical scavenger, edaravone, in stroke with internal carotid artery occlusion. *J. Neurol. Sci.* **221**:11–17; 2004.
- [7] Zhang, W.; Sato, K.; Hayashi, T.; Omori, N.; Nagano, I.; Kato, S.; Horiuchi, S.; Abe, K. Extension of ischemic therapeutic time window by a free radical scavenger, Edaravone, reperused with tPA in rat brain. *Neurol. Res.* **26**:342–348; 2004.
- [8] Doi, K.; Suzuki, Y.; Nakao, A.; Fujita, T.; Noiri, E. Radical scavenger edaravone developed for clinical use ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Kidney Int.* **65**:1714–1723; 2004.
- [9] Edaravone Acute Infarction Study Group. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone (MCI-186), on acute brain infarction. Randomized, placebo-controlled, double-blind study at multicenters. *Cerebrovasc. Dis.* **15**:222–229; 2003.
- [10] Uno, M.; Kitazato, K. T.; Nishi, K.; Itabe, H.; Nagahiro, S. Raised plasma oxidised LDL in acute cerebral infarction. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **74**:312–316; 2003.
- [11] Uno, M.; Harada, M.; Takimoto, O.; Kitazato, K. T.; Suzue, A.; Yoneda, K.; Morita, N.; Itabe, H.; Nagahiro, S. Elevation of plasma oxidized LDL in acute stroke patients is associated with ischemic lesions depicted by DWI and predictive of infarct enlargement. *Neurol. Res.* **27**:94–102; 2005.
- [12] Endo, T.; Tanaka, T.; Isobe, T.; Kasai, H.; Okuyama, T.; Hidaka, H. Calcium-dependent affinity chromatography of S-100 and calmodulin on calmodulin antagonist-coupled Sepharose. *J. Biol. Chem.* **256**:12485–12489; 1981.
- [13] Fulle, S.; Pietrangelo, T.; Mariggio, M. A.; Lorenzon, P.; Racanicchi, L.; Mozrzymas, J.; Guarnieri, S.; Zucconi-Grassi, G.; Fano, G. Calcium and fos involvement in brain-derived Ca (2+)-binding protein (S100)-dependent apoptosis in rat pheochromocytoma cells. *Exp. Physiol.* **85**:243–253; 2000.
- [14] Zimmer, D. B.; Cornwall, E. H.; Landar, A.; Song, W. The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res. Bull.* **37**:417–429; 1995.
- [15] Stefansson, K.; Wollmann, R. L.; Moore, B. W. Distribution of S-100 protein outside the central nervous system. *Brain Res.* **234**:309–317; 1982.
- [16] Rothermundt, M.; Peters, M.; Prehn, J. H.; Arolt, V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc. Res. Tech.* **60**:614–632; 2003.
- [17] Matsui, T.; Mori, T.; Tateishi, N.; Kagamiishi, Y.; Satoh, S.; Katsube, N.; Morikawa, E.; Morimoto, T.; Ikuta, F.; Asano, T. Astrocytic activation and delayed infarct expansion after permanent focal ischemia in rats: Part I. enhanced astrocytic synthesis of s-100beta in the periinfarct area precedes delayed infarct expansion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **22**:711–722; 2002.
- [18] Bertsch, T.; Casarin, W.; Kretschmar, M.; Zimmer, W.; Walter, S.; Sommer, C.; Muehlhauser, F.; Ragoschke, A.; Kuehl, S.; Schmidt, R.; Eden, B. P.; Nassabi, C.; Nichterlein, T.; Fassbender, K. Protein S-100B: a serum marker for ischemic and infectious injury of cerebral tissue. *Clin. Chem. Lab. Med.* **39**:319–323; 2001.
- [19] Missler, U.; Wiesmann, M.; Friedrich, C.; Kaps, M. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke* **28**:1956–1960; 1997.
- [20] Herrmann, M.; Vos, P.; Wunderlich, M. T.; de Bruijn, C. H.; Lamers, K. J. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: a comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* **31**:2670–2677; 2000.
- [21] Elting, J. W.; Sulter, G. A.; Kaste, M.; Lees, K. R.; Diener, H. C.; Hommel, M.; Versavel, M.; Teelken, A. W.; De Keyser, J. AMPA antagonist ZK200775 in patients with acute ischemic stroke: possible glial cell toxicity detected by monitoring of S-100B serum levels. *Stroke* **33**:2813–2818; 2002.
- [22] Goldstein, L. B.; Samsa, G. P. Reliability of the National Institutes of Health Stroke Scale. Extension to non-neurologists in the context of a clinical trial. *Stroke* **28**:307–310; 1997.
- [23] Bamford, J.; Sandercock, P.; Dennis, M.; Burn, J.; Warlow, C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet* **337**:1521–1526; 1991.
- [24] Itabe, H.; Yamamoto, H.; Imanaka, T.; Shimamura, K.; Uchiyama, H.; Kimura, J.; Sanaka, T.; Hata, Y.; Takano, T. Sensitive detection of oxidatively modified low density lipoprotein using a monoclonal antibody. *J. Lipid Res.* **37**:45–53; 1996.
- [25] Toshima, S.; Hasegawa, A.; Kurabayashi, M.; Itabe, H.; Takano, T.; Sugano, J.; Shimamura, K.; Kimura, J.; Michishita, I.; Suzuki, T.; Nagai, R. Circulating oxidized low density lipoprotein levels: a biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **20**:2243–2247; 2000.
- [26] Ehara, S.; Ueda, M.; Naruko, T.; Haze, K.; Itoh, A.; Otsuka, M.; Komatsu, R.; Matsuo, T.; Itabe, H.; Takano, T.; Tsukamoto, Y.; Yoshiyama, M.; Takeuchi, K.; Yoshikawa, J.; Becker, A. E. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* **103**:1955–1960; 2001.
- [27] Itabe, H.; Takeshima, E.; Iwasaki, H.; Kimura, J.; Yoshida, Y.; Imanaka, T.; Takano, T. A monoclonal antibody against oxidized lipoprotein recognizes foam cells in atherosclerotic lesions. Complex formation of oxidized phosphatidylcholines and polypeptides. *J. Biol. Chem.* **269**:15274–15279; 1994.
- [28] Buttner, T.; Weyers, S.; Postert, T.; Sprengelmeyer, R.; Kuhn, W. S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* **28**:1961–1965; 1997.
- [29] Wunderlich, M. T.; Ebert, A. D.; Kratz, T.; Goertler, M.; Jost, S.; Herrmann, M. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* **30**:1190–1195; 1999.

- [30] Harada, M.; Uno, M.; Yoneda, K.; Hori, A.; Nishitani, H.; Matsuda, T. Correlation between flow-sensitive alternating inversion recovery perfusion imaging with different inversion times and cerebral flow reserve evaluated by single-photon-emission computed tomography. *Neuroradiology* **46**:649–654; 2004.
- [31] Toyoda, K.; Fujii, K.; Kamouchi, M.; Nakane, H.; Arihiro, S.; Okada, Y.; Ibayashi, S.; Iida, M. Free radical scavenger, edaravone, in stroke with internal carotid artery occlusion. *J. Neurol. Sci.* **221**:11–17; 2004.
- [32] Liu, H.; Uno, M.; Kitazato, K. T.; Suzue, A.; Manabe, S.; Yamasaki, H.; Shono, M.; Nagahiro, S. Peripheral oxidative biomarkers constitute a valuable indicator of the severity of oxidative brain damage in acute cerebral infarction. *Brain Res.* **1025**:43–50; 2004.
- [33] Dempsey, R. J.; Roy, M. W.; Cowen, D. E.; Maley, M. E. Lipoxygenase metabolites of arachidonic acid and the development of ischaemic cerebral oedema. *Neurol. Res.* **8**:53–56; 1986.
- [34] Chan, P. H.; Fishman, R. A.; Caronna, J.; Schmidley, J. W.; Prioleau, G.; Lee, J. Induction of brain edema following intracerebral injection of arachidonic acid. *Ann. Neurol.* **13**:625–632; 1983.
- [35] Ramos-Damian, M.; Acosta-Ruiz, R.; Hernandez-Delgado, J.; Vazquez-Valls, E.; Gomez-Estrada, H. Radioprotecting effect of propylgalate and butylated hydroxyanisol. *Arch. Invest. Med. (Mex.)* **12**:421–430; 1981.
- [36] Hu, J.; Castets, F.; Guevara, J. L.; Van Eldik, L. J. S100 beta stimulates inducible nitric oxide synthase activity and mRNA levels in rat cortical astrocytes. *J. Biol. Chem.* **271**:2543–2547; 1996.
- [37] Fassbender, K.; Schmidt, R.; Schreiner, A.; Fatar, M.; Muhlhauser, F.; Daffertshofer, M.; Hennerici, M. Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J. Neurol. Sci.* **148**:101–105; 1997.
- [38] Wainwright, M. S.; Craft, J. M.; Griffin, W. S.; Marks, A.; Pineda, J.; Padgett, K. R.; Van Eldik, L. J. Increased susceptibility of S100B transgenic mice to perinatal hypoxia-ischemia. *Ann. Neurol.* **56**:61–67; 2004.
- [39] Shatrov, V. A.; Brune, B. Induced expression of manganese superoxide dismutase by non-toxic concentrations of oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) protects against oxLDL-mediated cytotoxicity. *Biochem. J.* **374**:505–511; 2003.
- [40] Csonka, C.; Pataki, T.; Kovacs, P.; Muller, S. L.; Schroeter, M. L.; Tosaki, A.; Blasig, I. E. Effects of oxidative stress on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts. *Free Radical Biol. Med.* **29**:612–619; 2000.

【特別講演】

脳動脈解離と頭痛

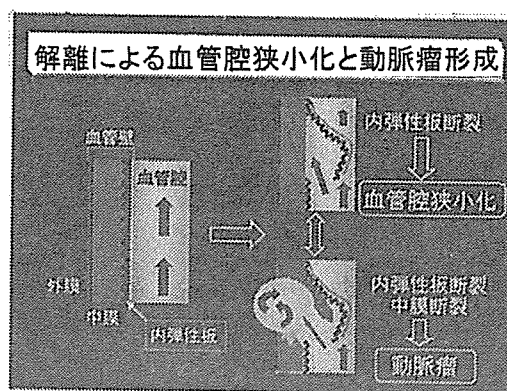
—稀な頭痛の原因—

東北大学大学院神経外科学分野

富永 悌二

脳血管障害には比較的高率に頭痛を伴うことはよく知られています。頭痛を伴いやすい血管障害としては、いわゆる三大脳卒中であるくも膜下出血・脳出血・脳梗塞が有名ですが、その他にも比較的稀な血管障害として脳動脈解離、静脈血栓症、もやもや病などが挙げられています。頻度的に多いもの、少ないものも合わせて、命に直結しかねない「怖い頭痛」の代表が脳血管障害といえます。本日はその中で脳動脈解離を取り上げてその臨床的特徴や治療方法などについて述べたいと思います。

脳動脈解離の状態を模式的に示しますとスライド1のようになります。動脈壁の内膜とその直下にある内弾性板に破綻が起こりますと、血液成分はその下にもぐりこみ、その結果、破綻した内膜・内弾性板は動脈内腔に向かってせり出して狭小化させ、一方、血圧が直接にかかるようになった中膜にさらに破綻が及んで行きますと結果として動脈の壁全体の破綻を来すこととなります。動脈の狭小化は血行力学的梗塞を



【スライド1】

、またもしその部位から穿通枝が出ていればその閉塞を、そして破綻した内弾性板にできた血栓が末梢に流出すれば塞栓症を起こすこととなり、そして中膜の破綻が動脈壁全体に及べばくも膜下出血を起こします。こうして脳動脈解離は結果として各種の梗塞やくも膜下出血を起こす原因となる病態の一つとなります。

脳動脈解離が初めて文献に報告されたのは1977年ですが、臨床的に広く知られるようになってきたのは1980年代になってからです。頭蓋内動脈の頻度が高く(頭蓋外は11%のみ)、発症時に頭痛発作が高頻度に起こり、椎骨脳底動脈系、特に椎骨動脈に多いことが分かっています(頸動脈系：椎骨脳底動脈系=1.5:8.5)。また男性は女性に比較して2倍多く、しかも40～50歳代の中年期に多いとされています。脳梗塞とくも膜下出血はほぼ同じ程度に起こるといわれています。

脳動脈解離と頭痛の関連(スライド2参照)ですが、もしくはくも膜下出血をおこせば脳動脈瘤破裂と同じく高頻度にかかるのは当然として、脳梗塞例でもその81%に頭痛が起こり、脳梗塞発作に先行して頭痛が見られるのは45%、その場合、頭痛出現から脳梗塞発作発症までの平均時間は14.5時間であったとの報告があります。場所は83%の例が後頭部で、持続

性頭痛が56%、拍動性頭痛が44%であったといわれています。ちなみに突発完成型の症候性頭痛を原因別にみてもスライド3のようで、くも膜下出血63%、低髄液圧14%、脳動脈解離13%、未破裂脳動脈瘤11%、静脈洞血栓症10%であったという報告があります。

脳動脈解離と頭痛	
頻度	脳梗塞例の81%
時期	脳梗塞に先行45%
頭痛-脳卒中発症	平均14.5時間
部位	後頭部痛83%
性状	持続性56% 拍動性44%

【スライド2】

突発完成型症候性頭痛	
くも膜下出血	63%
低髄液圧	14%
脳動脈解離	13%
未破裂脳動脈瘤	11%
静脈洞血栓症	10%

【スライド3】

最初に比較的少ない内頸動脈系の解離から少し詳細に紹介します。内頸動脈系の解離にも梗塞型と出血型がありますが、頻度は不明ですが、一般的には後者の方が多いいわれています。最初に梗塞型について述べます。

梗塞型はスライド4のように1980年以來、44例の文献報告があります。年齢は4~59歳平均して20.3歳と若く、発症時の状況がはっきりしている19例のうち16例がスポーツなどの活動中であったとのことで、頭痛は81%に認められ、症状としては意識障害が約40%にそして片麻痺は約90%の症例に認められていました。治療は抗凝固・ヘパリン・抗血小板療法などさまざま試みられ、結果として転帰良好群が28例/44例、死亡が12例/44例でした。

内頸動脈解離(梗塞型) 文献レビュー(広南 岡・清水)	
1980年以上	44例の報告
年齢	4-59歳 平均20.3歳
発症	スポーツ・活動中 16/19
発症時頭痛	頭痛26/32 (81%)
症状	意識障害18/44 片麻痺40/44
治療	抗凝固・ヘパリン・抗血小板療法等々
転帰	良好(GR+MD)28/44 死亡(D)12/44

【スライド4】

自験例を2例示します。第1例は14歳女性で、卓球の練習中に突然、右側頭部の拍動性頭痛が出現、ついで左麻痺と意識障害が起こり、搬入されています。右内頸動脈撮影で特徴的な頭蓋内内頸動脈の tapering 所見を認め、解離と診断しています。血圧のコントロールとラジカットの投与で、一旦は症状の改善を認めましたが、その後発症10日目に意識障害と左麻痺の再燃があり、血管再建術を試みましたが、既に中大脳動脈の広範な血栓化が進行しており、外減圧術にとどめた症例です。第2例は26歳男性で、シャワー中に突然、びりっという左側頭部痛とともに右片麻痺が起こり、救急搬入されました。MRIと頸動脈撮影で内頸動脈解離と診断し、ノバスタンとそれに続いて抗血小板薬で治療したところ、発症15日目に解離の進行を認めたため、浅側頭-中大脳動脈バイパス術を実施、症状の改

善を得て、独歩退院しました。

出血型では内頸動脈の前壁にできるいわゆる「血豆状動脈瘤」が知られています。これは予後の不良なもので、手術法についても色々試され、現時点では trapping+bypass 術が選択されることが多いのですが、それでもなかなか大変なものです。自験例では血豆状の動脈瘤を中大脳動脈に認めた症例のような例外的なものもありますが、発生する場所は一般的にほぼ決まっており、また動脈撮影上の所見も似たものが多いようです。

続いて椎骨脳底動脈系の解離についてお話しします。

椎骨動脈に多いことは前述したとおりですが、椎骨動脈でも解離は頭蓋内に多いとされています。頭蓋外にも起こりますが、多くは外傷が関与しており、急激な頸部の捻転に伴って起こる場合や、骨棘に血管が強く圧迫されたりする過程で起こることが多いようです。それに対して頭蓋内の椎骨動脈は、中膜のひ薄化や外弾性板の欠損、外膜の膠原線維が少ないことなどによって頭蓋外の動脈に対して相対的に脆弱になっていることが原因として指摘されています。10例の椎骨動脈の組織学的検討を行った Sato et Kodama によれば、硬膜を貫いたところから中膜の厚さは徐々に薄くなっていきますが、外膜はその部位から急速に薄さを増し、また内弾性板の欠損の箇所も後下小脳動脈の分岐部に至るまで急速に増えることが示されています。こうした組織学的な特徴が解離をもたらす要因になっていると推察されます。

さて最初に梗塞型について説明いたします。

椎骨動脈の解離が多発する部位は延髄を灌流する部位に一致します。したがって梗塞も延髄梗塞、なかでも延髄外側症候群 (Wallenberg 症候群) を呈することが多い特徴があります。自験例を示します。症例は 59 歳の弾性で、左後頭部から後頸部の突然のピットした痛みが出現、その 10 日後、ふらつき、起立困難をきたして受診したものです。受診時、左小脳失調、嘔声、右下肢・左顔面の知覚低下、左縮瞳を認め、MRI では左延髄外側に梗塞巣を、動脈造影では左椎骨動脈に特有な tapering 像を認め、椎骨動脈解離による延髄外側症候群と診断しました。これまで、スライド 5 のように 7 例の経験がありますが、7 例中 4 例に発症時頭痛を認めました。これらの椎骨動脈解離による梗塞への治療は抗血小板剤、抗トロンビン剤、フリーラジカル捕捉剤、抗凝固療法など、いくつかの報告がありますが、いずれもいわゆる evidence となるようなレベルのものではありません。実際、脳梗塞にくも膜下出血を併発したものが 2%、脳梗塞後にくも膜下出血をおこしたものが 6% あると報告されていますので、その点も薬物療法の選択の困難さを示唆していると思います。

椎骨動脈解離による脳梗塞の転帰					
症例	診断	頭痛	VA所見	入院時 JCS	退院時 mRS
65F	Wallenberg	+	狭窄	1	0
59M	小脳梗塞	-	狭窄	0	1
59M	Wallenberg	+	狭窄拡張	0	1
51M	Wallenberg	-	狭窄	0	1
50M	Wallenberg	-	閉塞	0	0
52M	脳幹梗塞	+	閉塞	0	1
61M	Wallenberg	+	狭窄	0	0

【スライド 5】

つづいて出血型を説明いたします。

自験例は 67 歳の女性です。プールから上がった時、突然の後頭部痛と嘔吐あり、その 3 日後、突然の頭痛を訴えた後、ほどなく意識障害（昏睡）となり、近医入院、さらに 3 日後に紹介されたものです。来院時、意識レベルは 200、右外転神経麻痺を認めました。頭部 CT では橋前部に強いくも膜下出血を認め、動脈造影では右椎骨動脈に数珠状の広狭不整像を認め、同部の解離によるくも膜下出血と診断し、血管内治療を実施しました。こうした出血型に対する治療としては血管内塞栓術、開頭によるトラッピング術などの手術的治療が提唱されていますが、残念ながらいまだ evidence となるようなレベルではありません。当院での血管内塞栓術の 3 ヶ月後の転帰を検討しますと、18 例/30 例（60%）が良好となっており、今後も期待できる治療法ではないかと考えています。

Diffusion/perfusion mismatchを有するアテローム血栓性梗塞におけるアルガトロバンの効果

Shimizu Hiroaki

清水 宏明¹⁾

Ohtomo Satoshi

大友 智²⁾

Fujiwara Satoru

藤原 悟¹⁾

Tominaga Teiji

冨永 悌二³⁾

要 約

アルガトロバンは、脳血栓症治療薬として広く用いられているが、脳血流に対する効果は臨床的に十分に検討されていない。今回、magnetic resonance imaging (MRI)で検出されたdiffusion/perfusion mismatchを3次元的に評価し、これを有するアテローム血栓性梗塞におけるアルガトロバンの効果について検討した。

対 象：発症48時間以内のアテローム血栓性梗塞で、アルガトロバンによる治療を行った患者のうち、入院時にdiffusion/perfusion mismatchを有し、4週後まで経過観察可能であった連続7例を対象とした。

方 法：入院時、48時間後および1週後に拡散強調MRIおよび灌流強調MRIを施行し、4週後にT₂強調MRIによる最終梗塞巣の判定を行った。また、各ポイントで神経症状を定量的に評価した。

結 果：神経症状は4例が改善、3例が不変であった。入院時拡散強調MRI上の梗塞巣と最終梗塞巣との大きさに有意な差はなかった($p=0.463$)。Mismatch領域の大きさは1週間で減少傾向を示した($p=0.060$)。Mismatch領域が大きいくほど、神経症状の改善も大きい傾向があった($r=-0.711$, $p=0.074$)。発症からアルガトロバン投与までの時間が短いほど、神経症状の改善がみられた($r=0.831$, $p=0.021$)。

結 論：解析した7例において、梗塞巣に統計的に有意な増大なくmismatch領域の縮小とともに神経症状の改善傾向がみられた。アテローム血栓性梗塞においてアルガトロバンはdiffusion/perfusion mismatchを小さくし、神経症状を改善する可能性を示唆され今後の検討が期待される。

はじめに

急性期脳梗塞の診断および治療において、既に梗塞に陥った回復不能な脳組織と、血流は低下しているが未だ梗塞に陥っていない回復可能な脳組織(ペナンプラ)を分けて考える必要がある。従来、急性期にこれらを診断することは困難であったが、最近の磁気共鳴画像(magnetic resonance imaging : MRI)をはじめとした画像診断の進歩により可能となってきた。すなわち、梗塞に陥った回復不能な脳組織は、一部例外はあ

るものの、拡散強調MRI(diffusion-weighted MRI : DWI)により発症早期から高信号病変で示される^{1,2)}一方、血流低下部位は灌流強調MRI(perfusion-weighted MRI : PWI)やsingle-photon emission computed tomography (SPECT)により描出可能である。DWIとPWIの病変領域の差(diffusion/perfusion mismatch)は、臨床的に回復可能なペナンプラと考えられ、急性期脳梗塞治療の主要なターゲット領域と考えられている^{3,4)}。脳梗塞分類¹¹⁾によると、アテローム血栓性梗塞は脳主幹動脈の狭窄・閉塞病変により生じ、典型的にはかなりの側副血行を有していることから、ペナンプラも大きくなる場合が多いと考えられる。これまでの報告によると、diffusion/perfusion mismatchを有

1) 広南病院脳神経外科 2) 仙台市立病院脳神経外科

3) 東北大学大学院脳神経外科学分野

する症例は抗血小板薬療法などを施行しても梗塞巣が増大するリスクが高いとされている^{8, 12, 13)}。

アルガトロバンは、わが国で脳血栓症急性期の治療薬として認可され、ヘパリン依存性抗体と相互作用せず、出血のリスクを増大することなく用量依存性に活性化部分トロンボプラスチン時間を延長する抗トロンビン薬である¹⁴⁾。本研究では、diffusion/perfusion mismatchの容積を測定し、この領域を有するアテローム血栓性梗塞に対するアルガトロバンの効果を検討したので報告する。

対 象

平成13年11月から平成15年9月までの間に当院に入院したアテローム血栓性梗塞患者を対象とした。対象患者は、以下の選択基準に合致し除外基準に抵触しないものとし、治療開始に先立ち文書による同意を得た。

1. 選択基準

- 1) 発症後48時間以内にアルガトロバンの投与が可能な患者。
- 2) DWI, PWIにてdiffusion/perfusion mismatchが認められた患者。
- 3) 文書による同意が得られた患者。

2. 除外基準

- 1) アルガトロバンの投与開始前に頭部CTにより出血病変が確認できた患者。
- 2) 意識レベル (Japan Coma Scale) 30~300 (Ⅱ-3~Ⅲ-3) の患者。
- 3) アルガトロバン投与開始前に局所線溶療法を実施した患者。
- 4) 高圧酸素療法、外科的処置を実施、または実施を予定している患者。
- 5) 消化性潰瘍、重篤な心、腎、肝疾患の合併のある患者。

方 法

MRIは1.5T装置を用い、入院時、48時間後および1週後にDWIおよびPWIを施行し、4週後にT₂強調MRI (T₂-weighted imaging: T₂WI) による最終梗塞巣の判定を行った。各ポイントで神経症状をJapan Stroke Scale (JSS)¹⁵⁾とNational Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)¹⁶⁾により定量的に評価した。アルガトロバンは、はじめの48時間はアルガトロバン60

mg/24時間で持続点滴静注し、その後5日間は12時間ごとにアルガトロバン10 mgを点滴静注した。アルガトロバン投与中は、抗凝固薬、抗血小板薬、線維素溶解薬、脳保護薬は評価に影響を与える可能性があるため併用禁止とした。研究計画は、広南病院倫理委員会の認可を得た。

DWIはsingle-shot echo planar imagingを用い、b値は1,000 sec/mm²とした。PWIはガドリニウム造影剤15 mLをボラス静注し、脳内のfirst passの間の信号変化からFunctool™ (GE社製)を用いて算出し、mean time to enhance (MTE)を指標とした (MTEはmean transit timeやtime to peakとはほぼ同じ意義をもつパラメータであり、脳血流量とよく相関するとされている^{7, 17)})。DWI高信号病変よりもPWIの血流低下領域が明らかに大きい場合にdiffusion/perfusion mismatchありとした。

MRI画像解析はMRI装置本体のコンピュータを用い、各ポイントのDWI, PWI, T₂WIにおける病巣 (DWI, T₂WIでは高信号部位、PWIではMTE延長部位) と両側大脳をすべてのスライスにおいて手でトレースし、それぞれの面積を測定した。その面積に各画像のスライス厚を乗じて足し合わせるにより体積を出した後、病変体積を両側大脳体積で割って病変スコアとした。PWI病変スコアからDWI病変スコアを引いたものをペナンプラ (Pen) スコアとした。各観察時間の各病変スコアは、例えば入院時のDWI病変スコアはDWI (0)、48時間後のDWI病変スコアはDWI (48h) などと表記した。JSSやNIHSSも同様に表記した。

統計解析はSAS version 8.2を用い、各観察ポイントにおける変化はtwo-tailed paired t-test、パラメータ間の相関にはPearson's correlation coefficientsを用いて検討し、いずれも有意水準を両側5%とした。

結 果

1) 選択基準に合致し、除外基準に抵触しない患者のうち、4週後まで経過観察が可能であった連続7例を解析対象とした。患者背景および臨床的パラメータをTable 1に示す。年齢は平均64歳、男性5例、女性2例。閉塞血管は中大脳動脈M1部5例、M2部1例、内頸動脈1例であった。発症から入院までの時間は5.6~29.0時間、平均16.4時間、発症からアルガトロバン投与開始までの時間は8.5~32.0時間、平均20.0時間であった。入院時神経症状は、JSS平均4.80、NIHSS平均

Table 1 解析対象症例の患者背景および臨床的パラメータ

No.	性	年齢	既往歴	閉塞血管	発症から		発症からアルガ			
					入院までの時間 (h)	JSS (0)	NIHSS (0)	トロパン投与開始までの時間	JSS (4W)	NIHSS (4W)
1	男	58	HT, DM, HL	lt. M1閉塞	21.0	-0.09	3	25.0	2.61	6
2	男	61	HT, DM	lt. M1狭窄	29.0	1.1	2	32.0	10.3	3
3	男	49	none	lt. M1閉塞	5.8	4.22	9	8.5	2.08	5
4	男	68	HT	rt. IC 閉塞	7.6	6.07	16	11.5	4.22	10
5	男	71	HT, Af	rt. M1狭窄	22.0	2.41	6	26.0	0.79	3
6	女	73	HL	lt. M1閉塞	5.6	17.6	25	9.3	15.90	17
7	女	69	HT	rt. M2狭窄	24.0	2.26	9	28.0	4.50	11
Mean		64			16.4	4.80	10.0	20.0		
SD		8.6			9.8	5.99	8.1	9.9		

HT: 高血圧, DM: 糖尿病, HL: 高脂血症, Af: 心房細動, MI: 心筋梗塞, IC: 内頸動脈, JSS: Japan Stroke Scale. NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale

Table 2 病変スコアの経時的変化

DWI病変スコア				PWI病変スコア			
	DWI(0)	DWI(48h)	DWI(1W)		PWI(0)	PWI(48h)	PWI(1W)
Mean	0.019	0.030	0.031	Mean	0.225	0.228	0.180
SD	0.014	0.018	0.024	SD	0.059	0.073	0.104
p value [#]		0.009	0.147	p value [#]		0.839	0.169

ペナンプラスコア				T ₂ WI病変スコア				
	Pen(0)	Pen(48h)	Pen(1W)		T ₂ WI(48h)	T ₂ WI(1W)	T ₂ WI(2W)	T ₂ WI(4W)
Mean	0.206	0.198	0.149	Mean	0.017	0.029	0.025	0.024
SD	0.056	0.075	0.095	SD	0.016	0.024	0.022	0.019
p value [#]		0.586	0.060	p value [*]	0.389	0.261	0.488	0.463

[#]: vs. 投与前

^{*}: vs. DWI(0), T₂WI(0)は発症早期の病変の検出感度が悪いいためDWI(0)と比較した検定法: two-tailed paired t-test

10.0で、神経症状の変化をNIHSSが4点以上変動した場合を変動ありとすると、4例が改善、3例が不変であった。

2) DWI, PWI, T₂WIの病変スコアとペナンプラスコアの経時的変化をTable 2に示す。DWI病変スコアは48時間後で有意に増大したが、1週後に統計的に差はなかった。PWI病変スコアとペナンプラスコアは1週後に著明な縮小を示す症例が2例あったものの、全体では有意な縮小を示さなかった。代表例の画像をFig. 1に示す。DWI(0)と最終梗塞巣のT₂WI(4W)とで大きさに有意な差はなく、20%以上の変動を変動ありとした場合^{*)}、増大1例、不変5例、縮小1例であった。

3) 病変スコアと神経症状との相関はTable 3-1)に示すとおりであった。DWI(0)はJSS(0)およびNIHSS

(0)と強く相関し、JSS(4W)およびNIHSS(4W)とも有意に相関した。PWI(0)およびPen(0)はΔ(JSS(4W)-JSS(0))、すなわちJSS改善度と逆相関し、PWI(0)およびPen(0)が大きいほど、JSS改善が良好な傾向がみられた。しかしながら、これらの相関はNIHSSではみられなかった。

発症からアルゴトロパン投与開始までの時間と神経症状、および病変スコアの変化との相関はTable 3-2)に示すとおりであった。発症からアルゴトロパン投与開始までの時間とΔ(JSS(4W)-JSS(0))、Δ(NIHSS(4W)-NIHSS(0))は正の相関を示し、投与開始までの時間が短いほど神経症状の改善が大きかった。しかしながら、梗塞巣およびペナンプラスコアの変化との間(病変スコア)には相関はみられなかった。

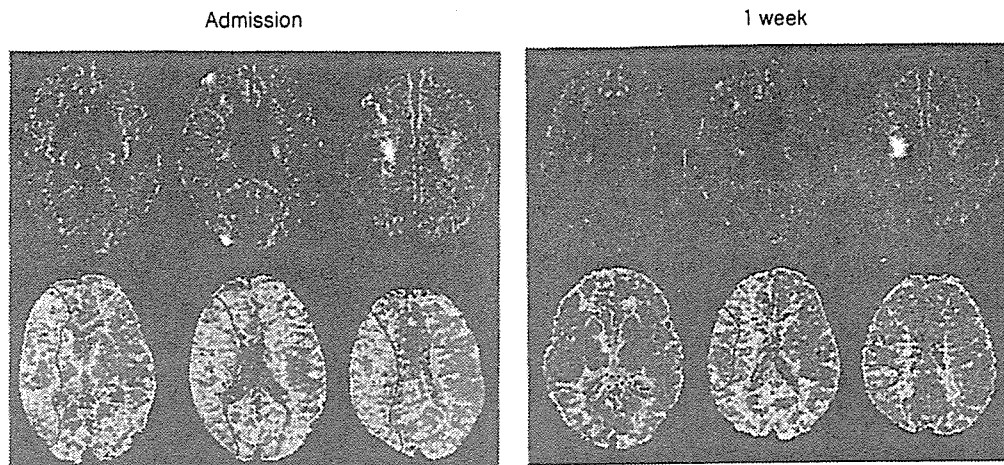


Fig. 1 症例5の拡散強調画像(DWI:上段)および灌流強調画像(PWI:下段)

左が入院時, 右が1週後である。PWIのパラメータはmean time to enhancementであり, 血流遅延があるほどより暖色を呈している。PWI上の病変(血流低下域)は, 線で囲まれた領域であり, 入院時に比べ1週後で顕著に縮小している。1週後のDWIでは病変増大はなく, むしろやや縮小している。

Table 3 各パラメータ間の相関性

1) 病変スコアと神経症状との相関

	T ₂ WI(4W)	JSS(0)	NIHSS(0)	JSS(4W)	NIHSS(4W)	Δ(JSS(4W)-JSS(0))	Δ(NIHSS(4W)-NIHSS(0))
DWI(0)	r=0.478 p=0.278	r=0.910 p=0.004	r=0.888 p=0.008	r=0.754 p=0.050	r=0.827 p=0.022	r=-0.331 p=0.469	r=-0.698 p=0.081
PWI(0)	r=-0.133 p=0.775	r=0.254 p=0.583	r=0.445 p=0.317	r=-0.291 p=0.526	r=0.244 p=0.598	r=-0.745 p=0.055	r=-0.557 p=0.194
Pen(0)	r=-0.257 p=0.578	r=0.049 p=0.916	r=0.258 p=0.577	r=-0.492 p=0.263	r=0.059 p=0.900	r=-0.711 p=0.074	p=-0.422 p=0.345

2) 発症から投与開始までの時間と神経症状および病変スコアの変化との相関

vs. Δ(JSS(4W)-JSS(0)) ; r=0.771, p=0.043
vs. Δ(NIHSS(4W)-NIHSS(0)) ; r=0.831, p=0.021
vs. Δ(T ₂ WI(4W)-DWI(0)) ; r=0.365, p=0.421
vs. Δ(Pen(1W)-Pen(0)) ; r=-0.539, p=0.212

考 察

急性期脳梗塞では, 従来の抗血小板薬あるいは抗凝固薬を用いた薬物治療を行っても病変が増大することが多いとされている^{8, 12, 13, 18)}。発症60時間以内の半球性梗塞の患者では, 43%に梗塞巣増大がみられ, 特にdiffusion/perfusion mismatchを有する患者では, 10例中7例(70%)に20%以上の梗塞巣増大が認められたと報告されている⁸⁾。これらの報告はすべて種々のタイプの脳梗塞を含んだ検討であり, アテローム血栓性梗塞に限定した検討は見当たらない。今回の研究は, 急性期アテローム血栓性梗塞に焦点を当て, その中でもdiffusion/perfusion mismatchを有する患者のみを対象としたことに大きな特徴がある。このような患者群は

脳梗塞巣増大リスクが極めて高い⁸⁾と考えられるが, 今回20%以上の梗塞巣増大を認めたのは7例中1例(14%)であった。

DWI(0)はJSS(0)およびNIHSS(0)のみならず, JSS(4W)およびNIHSS(4W)とも有意に相関したが, このことは他の報告とも一致しており^{2, 13, 18)}, 入院時DWI病変による予後予測が可能と考えられた。また, PWI(0)およびPen(0)が大きいほど, 神経症状(JSS)が改善する傾向が観察されたが, これはdiffusion/perfusion mismatchを有する患者では, 梗塞巣増大に伴い神経症状の増悪のリスクが高いとするこれまでの報告¹³⁾と相反する結果であった。しかし, diffusion/perfusion mismatchを有する患者では, 適切な治療によりその後の神経症状が改善しやすいとする報告¹⁹⁾もあり, 薬物治

療が奏効するかに左右されることが大きいものと推測された。

本結果の中で特筆すべきは、発症からアルゴトロバン投与までの時間がJSSやNIHSSの改善度と強い相関を示したことであると思われる。すなわち、投与までの時間が短いほど、JSSやNIHSSの改善度が大きかった。これは、ペナンプラに対する早期治療の重要性を示唆する結果と思われた。

本研究は症例数が少ないこともあり、結果の解釈は慎重である必要があるが、少なくとも外科的緊急性を要さないアテローム血栓性梗塞の患者において、アルゴトロバンはdiffusion/perfusion mismatchを縮小させ、神経症状を改善する可能性が示唆された。今後は、症例数を増やした、より大規模な検討を行う価値があるものと思われた。

結 論

Diffusion/perfusion mismatchを有するアテローム血栓性梗塞患者に対するアルゴトロバンの効果について検討した。アルゴトロバンには、梗塞巣増大抑制、diffusion/perfusion mismatch(ペナンプラ)の縮小、早期投与による神経症状の改善などの効果が示唆された。

文 献

- 1) Sorensen, A. G., Buonanno, F. S., Gonzalez, R. G. et al. : Hyperacute stroke : evaluation with combined multi-section diffusion-weighted and hemodynamically weighted echo-planar MR imaging. *Radiology* 199 : 391-401, 1996
- 2) Lovblad, K. O., Baird, A. E., Schlaug, G. et al. : Ischemic lesion volumes in acute stroke by diffusion-weighted magnetic resonance imaging correlate with clinical outcome. *Ann. Neurol.* 42 : 164-170, 1997
- 3) Warach, S., Dashe, J. F. and Edelman, R. R. : Clinical outcome in ischemic stroke predicted by early diffusion-weighted and perfusion magnetic resonance imaging : a preliminary analysis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16 : 53-59, 1996
- 4) Grant, P. E., He, J., Halpern, E. F. et al. : Frequency and clinical context of decreased apparent diffusion coefficient reversal in the human brain. *Radiology* 221 : 43-50, 2001
- 5) Abe, O., Aoki, S., Shirouzu, I. et al. : MR imaging of ischemic penumbra. *Eur. J. Radiol.* 46 : 67-78, 2003
- 6) Astrup, J., Siesjo, B. K. and Symon, L. : Thresholds in cerebral ischemia—the ischemic penumbra. *Stroke* 12 : 723-725, 1981
- 7) Beauchamp, N. J. Jr., Barker, P. B., Wang, P. Y. et al. : Imaging of acute cerebral ischemia. *Radiology* 212 : 307-324, 1999
- 8) Baird, A. E., Benfield, A., Schlaug, G. et al. : Enlargement of human cerebral ischemic lesion volumes measured by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Ann. Neurol.* 41 : 581-589, 1997
- 9) Hillis, A. E., Wityk, R. J., Beauchamp, N. J. et al. : Perfusion-weighted MRI as a marker of response to treatment in acute and subacute stroke. *Neuroradiology* 46 : 31-39, 2004
- 10) Wintermark, M., Reichhart, M., Thiran, J. P. et al. : Prognostic accuracy of cerebral blood flow measurement by perfusion computed tomography, at the time of emergency room admission, in acute stroke patients. *Ann. Neurol.* 51 : 417-432, 2002
- 11) National Institute of Neurological Disorders and Stroke Ad Hoc Committee : Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke* 21 : 637-676, 1990
- 12) Karonen, J. O., Vanninen, R. L., Liu, Y. et al. : Combined diffusion and perfusion MRI with correlation to single-photon emission CT in acute ischemic stroke. Ischemic penumbra predicts infarct growth. *Stroke* 30 : 1583-1590, 1999
- 13) Beaulieu, C., de Crespigny, A., Tong, D. C. et al. : Longitudinal magnetic resonance imaging study of perfusion and diffusion in stroke : evolution of lesion volume and correlation with clinical outcome. *Ann. Neurol.* 46 : 568-578, 1999
- 14) Kobayashi, S. and Tazaki, Y. : Effect of the thrombin inhibitor argatroban in acute cerebral thrombosis. *Semin. Thromb. Hemost.* 23 : 531-534, 1997
- 15) Gotoh, F., Terayama, Y. and Amano, T. : Stroke Scale Committee of the Japan Stroke Society : Development of a novel, weighted, quantifiable stroke scale : Japan stroke scale. *Stroke* 32 : 1800-1807, 2001
- 16) Brodt, T., Adams, H. P. Jr., Olinger, C. P. et al. : Measurements of acute cerebral infarction : a clinical examination scale. *Stroke* 20 : 864-870, 1989
- 17) Grandin, C. B., Duprez, T. P., Smith, A. M. et al. : Which MR-derived perfusion parameters are the best predictors of infarct growth in hyperacute stroke? Comparative study between relative and quantitative measurements. *Radiology* 223 : 361-370, 2002
- 18) Schwamm, L. H., Koroshetz, W. J., Sorensen, A. G. et al. : Time course of lesion development in patients with acute stroke : serial diffusion- and hemodynamic-weighted magnetic resonance imaging. *Stroke* 29 : 2268-2276, 1998
- 19) Pantano, P., Caramia, F., Bozzao, L. et al. : Delayed increase in infarct volume after cerebral ischemia : correlations with thrombolytic treatment and clinical outcome. *Stroke* 30 : 502-507, 1999