

遅発性脳血管攣縮モデル犬における脳動脈の微細構造の経時的変化

著者	Nakazawa Takuya
雑誌名	滋賀医科大学雑誌
巻	10
ページ	73-85
発行年	1995-07
その他の言語のタイトル	Sequential ultrastructural changes of canine cerebral arteries in delayed vasospasm
URL	http://hdl.handle.net/10422/3156

遅発性脳血管攣縮モデル犬における 脳動脈の微細構造の経時的变化

中澤拓也

滋賀医科大学 脳神経外科学講座

Sequential ultrastructural changes of canine cerebral arteries in delayed vasospasm

Takuya NAKAZAWA

Department of Neurosurgery, Shiga University of Medical Science

Abstract: Chronological ultrastructural changes of cerebral arteries in spasm were studied using the established canine double-injection model. Cisternal injection of autologous blood was repeated twice with an interval of 48 hours, and the basilar arteries were obtained at autopsy 7, 14, 21, and 28 days after the first injection of the blood. These specimens were studied by light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope.

The morphometric study showed that the luminal diameter of the basilar artery reached the nadir on day 7 and thereafter returned gradually to the normal size. Histological changes such as convolutions of the intima and the elastic lamina, vacuole formation in the endothelium and craters of the endothelial surface were observed, suggesting the endothelial cell damages. Subendothelial thickening, thickening of the basement membrane of the smooth muscle cells and increased interstitial space in the media were observed in addition. These changes were most marked on day 14 as a whole, but severe morphological changes of myonecrosis which were described in several previous studies were observed scarcely. Smooth muscle cells containing numerous lysosomes were present on day 14. Morphological changes of the arterial wall were mostly reversed by day 28, except for a mild increase of collagen fibers.

It seems that hypoxia and poor supply of metabolic substrates due to flow reduction cause endothelial cell damage resulting in an increase in the permeability of the intima, and hence to the edematous changes of the arterial wall, which in turn result in an enhancement of lysosomal activities. And when the enhancement of lysosomal activities persists, it might play a pivotal role in the development of myonecrosis. Restoration of luminal blood flow by reexpansion of the spastic artery, when successfully performed in the early stage of vasospasm, may well prove to be effective in preventing the development of proliferative arteriopathy.

平成6年12月1日受理

滋賀医科大学脳神経外科学講座 〒520-21 滋賀県大津市瀬田月輪町

Key words: cerebral vasospasm, electron microscopy, dog, morphology, subarachnoid hemorrhage

はじめに

脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血患者の治療成績は、顕微鏡手術の発達による手術成績の著しい向上に伴って、最近では遅発性脳血管攣縮の発生の有無とその強さに影響されるところがきわめて大きくなった。そのヒト攣縮脳血管の微細構造の変化については剖検脳の検索によるいくつかの報告があり、その所見もほぼ意見の一致を見ている¹⁻⁵⁾。すなわち、主に血管内皮細胞の剝離や中膜筋細胞の壊死が注目されているが、検体が血管攣縮による脳虚血で死亡した症例から得られたものであるため、攣縮の程度が著しく強かったものが多いと思われる、また死後の二次的変化の影響もまったく無視するわけにはいかない。

一方、実験動物の脳血管攣縮モデルにおける検討では、中膜の筋細胞壊死を認めるもの⁶⁻⁹⁾と認めないもの^{10,11)}とに報告が二分され、一定の結論を得るにはいたっていない。さらに従来報告には血管攣縮の微細構造の変化を十分な期間、経時的に追ったものはほとんどない。また、実験動物を用いた血管攣縮因子に関する研究¹²⁻¹⁴⁾も多くなされているが、これらによっておこる血管攣縮の時間的経過と血管壁の形態学的な変化の時期のずれが指摘されている⁸⁾。本研究では、確立されたイヌ遅発性脳血管攣縮モデル¹⁵⁾を用い、経時的に血管壁の微細構造の変化を検討し、その病理発生を明らかにしようと試みた。

対象と方法

実験は“滋賀医科大学動物実験に関する指針”に基づいて行なった。

体重10~15kgの雑種成犬を用いて遅発性脳血管攣縮を作成した。作成の方法については既に報告している¹⁵⁾ので、以下その概略のみを述べる。

ペントバルビタール (Nembutal®) 腹腔内投与による麻酔後、X線透視下で大槽を穿刺し、新鮮自

家動脈血7mlを注入し、さらに2日後、同様に大槽内に新鮮自家動脈血3mlを注入した。

さきの報告¹⁵⁾では、初回の血液注入日を day 0として、day 0の血液注入前、day 7、day 14、day 21、day 28にそれぞれ脳血管撮影を行ない、脳底動脈の直径を計測した結果、day 7に最も高度となる遅発性脳血管攣縮の発生が常に確認された。今回は脳血管撮影による血管壁、特に内皮への影響を除くために脳血管撮影は行わず、対照としては生理食塩水の大槽内注入を行なった1頭以外は無処置犬を使用し、実験群としては大槽内新鮮自家血2回注入犬を day 7、day 14、day 21、day 28に使用した。

走査電顕での観察には、対照群 (n = 2) も実験群 (days 7, 14, 21, 28に各 n = 2) もペントバルビタール腹腔内投与で麻酔後開胸し、下行大動脈を結紮してその心臓側にポリエチレンチューブを挿入固定し、上大静脈を切断した。大動脈に挿入したチューブから250cm水柱の圧でヘパリン加生理食塩水1000mlを注入した後、pH 7.4の0.1Mリン酸緩衝2%グルタールアルデヒド溶液2000mlで灌流固定した。その後直ちに開頭して、脳底動脈、脳幹を含め全脳を摘出し、同固定液中で2時間浸漬固定後、脳底動脈を取り出して2分割し、長軸方向に切開を加え、さらに1時間1%オスミウム酸液で後固定した。アセトンで脱水し、臨界点乾燥法で乾燥後、白金パラジウム蒸着を行ない、走査電顕 (日立 S-500 AS) で観察した。

また、別に対照群および、days 7, 14, 21, 28の実験群各3頭について、同様に pH 7.4, 0.1Mリン酸緩衝2%グルタールアルデヒド・2%フォルムアルデヒド混合液で灌流固定後、全脳を摘出し、12時間同固定液中で浸漬固定し、脳底動脈を一部脳幹とともに5等分に横切し、6%ゼラチンで包埋した。脳底動脈の長軸方向に垂直に microslicer で200 μ mに薄切し、血管径を光顕下に測定した。この際、5等分した各動脈片につき2切片づつを選び、内径の最長と最短を計測し、その平均を直径とした。すなわち、1頭につき計10ヵ所で計測し、脳底動脈径の変化を比較した。その後、35°Cの恒温槽内でゼラチ

ンを除去し、1%オスミウム酸で1時間後固定、エタノール系列で脱水して Epon 812 に包埋した。0.8 μ m の厚切り切片を光顕切片として脱レジン処理は行わず、メチレンブルー・アズールII・塩基性フクシンで染色した。超薄切片 (60~100nm) は酢酸ウラニル、クエン酸鉛による二重染色を施し、透過電顕 (Philips CM12) にて観察した。

結 果

血管径の経時的変化

対照群および days 7, 14, 21, 28 の実験群各々 3 頭の数値を用いた。対照のうち 1 頭では自家動脈血の代わりに生理食塩水を大槽内に 2 回注入したが、血管径についても、血管の形態についても他の 2 頭の無処置のものとは差はなかった。

血管径の時間的変化を Fig. 1 に示す。対照と比較し、day 7, day 14 で有意 ($p < 0.01$) の血管径の減少を認め、血管径は特に day 7 でもっとも小さかった。

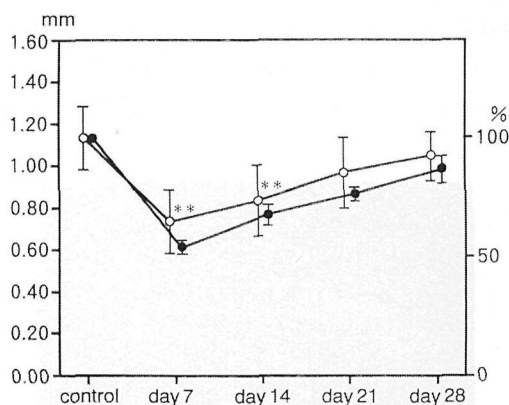


Fig. 1 Time course of diameter of basilar artery in double injection canine model of vasospasm. Open circles indicate diameter of fixed specimen in this study. **: $p < 0.01$, compared to the control. Diameters measured by angiography in the previous study¹⁵⁾ is shown for comparison purposes (closed circle). In angiographic measurement the diameter before the blood injection (control) was taken as 100%.

光顕所見の経時的変化

対照群の標本では、内皮細胞は扁平であり、内弾性板はほぼ環状で、内皮細胞により形成される血管内腔面と平行に配列し、また、内弾性板のごく一部に断裂像を認めるのみであった。中膜の平滑筋細胞は紡錘形で規則正しい配列を示していた (Fig. 2a)。

Day 7 では内弾性板の皺襞形成が認められ、それに伴って内膜も波状を示し、内皮細胞は丸みを帯びていた。内弾性板に近い中膜の平滑筋細胞も、内膜

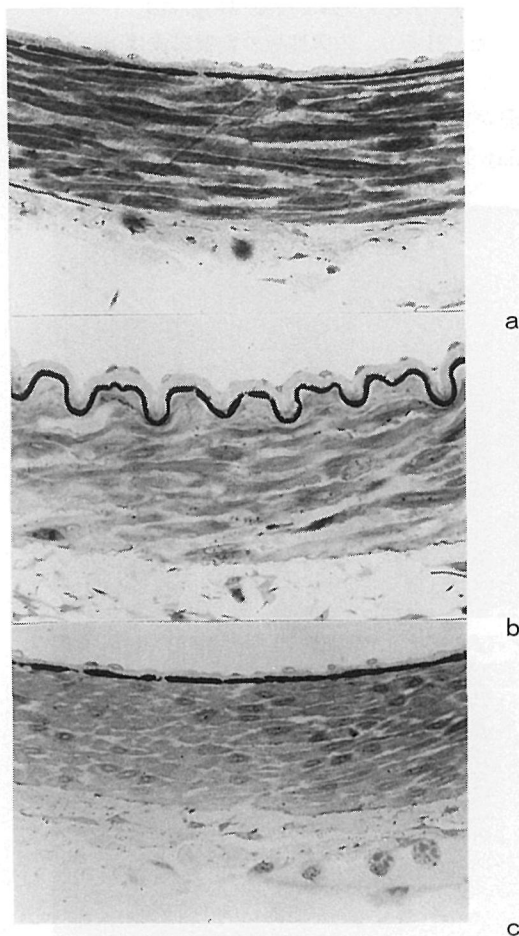


Fig. 2 Light micrographs of cross-sectional profiles of basilar artery from a control dog (a), dogs sacrificed on day 14 (b) and day 28 (c). Day 14 specimen showed convoluted intima and internal elastic lamina. In the tunica media, increased interstitial space was seen. Day 28 specimen showed similar profile to control one. (Methylene blue-azure II and basic fuchsin, $\times 200$)

面が血管内腔側に凸の部分では胞体が厚くなり、内
膜面が内腔側に凹の部分では胞体は薄くなって
いた。さらにより外側の平滑筋の形も不均一であ
った。

Day 14になると内皮細胞はさらに丸みが強くな
り、一部では内腔側に深く凹状をなす部分を内皮
細胞が覆うように存在する。内膜は肥厚し、内弾
性板の皺襞形成も不規則となる。中膜の細胞間
隙は広くなり、内腔に凸の部分の平滑筋には空
胞が出現して、変形が強く認められた。他の部
分の平滑筋細胞の形の不均一性もより強くなる
(Fig. 2b)。

Day 21でも、内弾性板の皺襞形成は day 14
よりはやや軽度で、不規則ながら持続し、部位
により強弱が認められるようになる。しかし、
内皮細胞は day 14よりはやや扁平となり、内
腔に凹を呈する

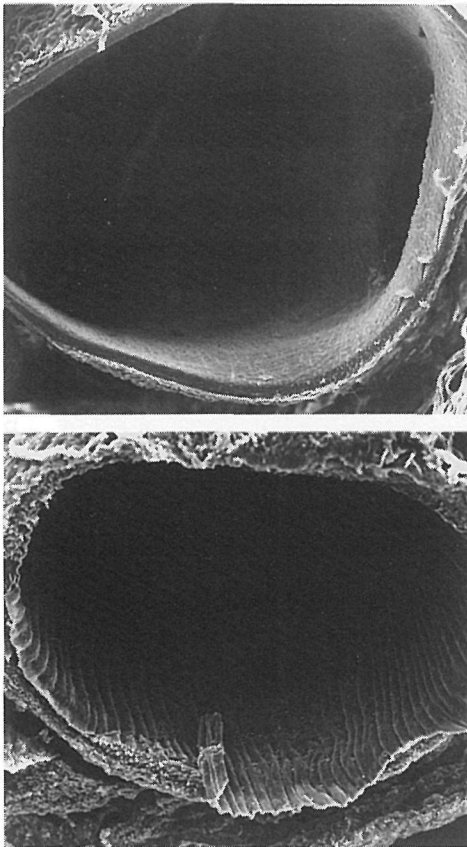


Fig. 3 Scanning electron micrographs of cross-cut surface of basilar artery observed at a slightly oblique plane. Control specimen(a) showed no waving of endothelium. Day 14 specimen(b) showed longitudinal folds of endothelium. (×100)

部分では内皮細胞が厚くなり、内弾性板の皺
襞形成の程度よりも内腔面でははるかに軽度
となる。

Day 28になると内皮細胞はなおやや丸みを
帯びたままながら、内膜の肥厚はほぼ消
失し、対照群と同程度となる。内膜、内弾
性板ともに皺襞形成は認めなくなる。中
膜では平滑筋細胞は長径がやや短く、不
均一性はなお残存するが、内弾性板に
近い場所でもほぼ正常に近い紡錘形と
なる。ただ対照群と比較すると、平
滑筋間の膠原線維はやや多い (Fig. 2c)。

走査電顕所見の経時的変化

走査電顕所見を Table 1上段にまとめた。

対照群の脳底動脈では、内皮細胞はほぼ平
滑で紡錘形を呈し、血流方向に長軸を向
けて規則正しい敷石状配列を示す (Fig. 3a, 4)。実験群の day 7, day 14では血管の長軸方向に平行に縦走する著明な皺襞形成 (corrugation) を認めたが (Fig. 3b, 5a), 内皮細胞の脱落 (denuded endothelium) や亀裂 (endothelial separation) はほとんど認められなかった。Day 14には陥凹周囲には膨化した内皮細胞が認められ、陥凹底部には大型化したものがみられた (Fig. 5b)。また、内皮細胞の血管内腔に突出した部分をつなぐように陥凹部にまたがる架橋状構造 (bridge-like structure) を認めたが、これは day 7より出現し、day 14, 21 (Fig. 6) と増加し、day 28では減少して、ほとんど認められなくなった。

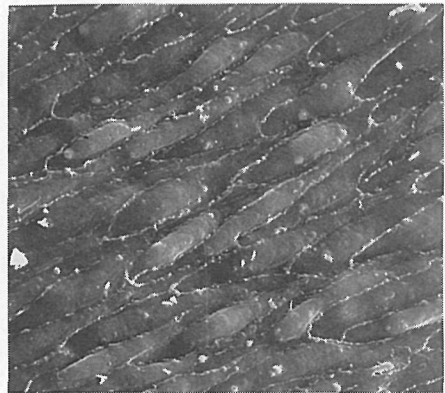
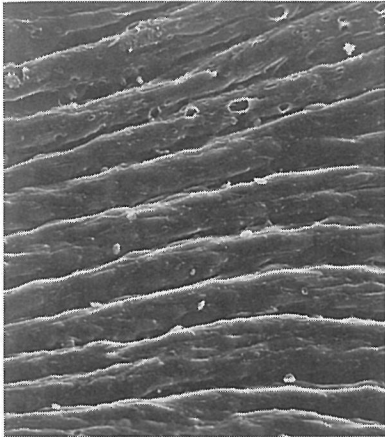
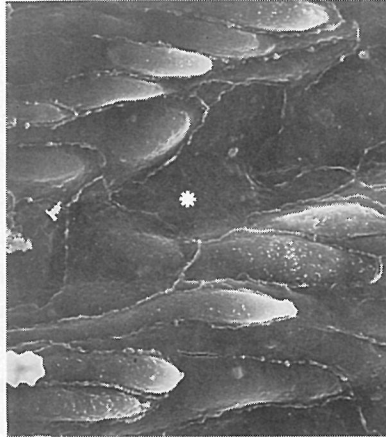


Fig. 4 Scanning electron micrograph of luminal surface in control specimen. It showed smooth endothelial surface with slight elevations in the central portion of the cells. (×1000)



a



b

Fig. 5 Multiple longitudinal folds of endothelial cell were seen in luminal surface on day 14 specimen(a). Large magnification of a fold was shown in b. In groove(*), endothelial cells were swollen and large in size. Scanning electron micrographs. (a×500, b×2000)

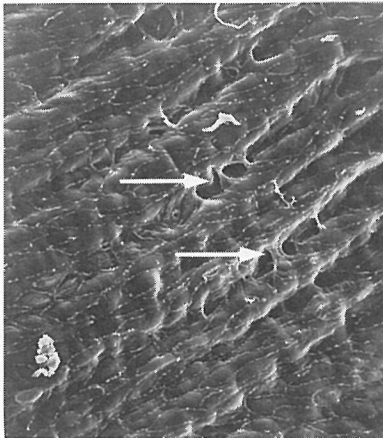


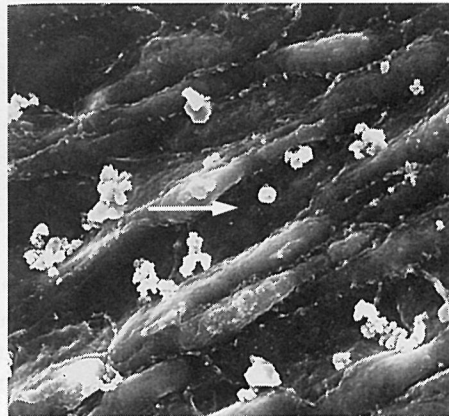
Fig. 6 Mild folds and many bridge-like structures (arrows) were seen on day 21. Scanning electron micrograph. (×500)

Day 21には皺襞形成は弱くなるが、内皮細胞の膨化を所々に認めた。day 28には、皺襞形成はほとんど消失し、内膜は対照群とほぼ同様に平滑となったが、膨化した内皮細胞がなお散見された (Fig. 7a)。内皮細胞表面の噴火口様の陥凹 (craters) は day 7ではごく一部に認められるのみであるが、day 14 (Fig. 8), day 21と頻度を増し、day 28では再び減少し、ごく一部となる。血小板の凝集および内膜への付着は散見される (Fig. 7b) のみで、

Fig. 7 Minimal folds were noted(a) and endothelial cells increased in size to some degree were scattered(b) on day 28. Some platelets were observed on luminal surface in b. Larger endothelial cells were seen (arrow). Scanning electron micrographs. (a×500, b×1000)



a



b

時期による強弱の差も認めなかった。

透過電顕所見の経時的变化

透過電顕所見を Table 1 下段にまとめた。

対照群の血管は、楕円形の核を持ち、細胞小器官や小さな飲小胞 (pinocytotic vesicle) が多数認められる内皮細胞を有し、それら内皮細胞の内腔側の表面はほぼ平滑からやや凸面を示す。内皮下には内側から外側に向かって電子密度が次第に低くなっていく内弾性板が認められる (Fig. 9a)。さらに、その外側の中膜は紡錘形の平滑筋細胞よりなり、核は細長く、一般に細胞小器官はわずかに核の周囲に存在

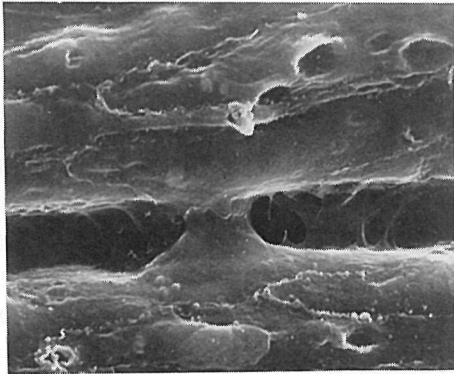


Fig. 8 Craters in the luminal surface and bridge-like structure were found on day 14. Scanning electron micrograph. (×1500)

するのみで、胞体の大部分を筋細線維 (myofilament) が占めるが、時に、細胞小器官のやや豊富な細胞も散見される (Fig. 9b)。細胞膜の直下に小胞 (surface vesicle) の見られる部位と、電子密度の高い、小胞のない部位とがみられる (Fig. 9c)。平滑筋細胞の周囲には膠原線維がわずかに認められる。まれに、内皮下細胞 (subintimal cell) が存在し、また一部平滑筋細胞が内弾性板を貫き内皮下に入り込んでいる部位が認められた (Fig. 9a)。

実験群の day 7 では、内皮細胞は膨隆し、核は丸みをおび、切れ込みを有するようになる。また、内膜の肥厚が認められ (Fig. 10)、内弾性板は皺襞形成をきたし、内皮細胞もそれに沿う形をとる。平滑筋細胞の形は不整になるが、これは特に内弾性板に近い部分で著しい。また時に空胞 (vacuole) を認め、筋細線維は種々の方向を向き、断裂して見える部分も認められる。内弾性板が血管内腔側に突出した部位に近接し、内弾性板にまるで挟み込まれるような形をとる平滑筋細胞では、核が折れ曲がり、あたかも多核であるかのようにみえることがある。細胞小器官は比較的少なく、細胞膜下の小胞もやや減少する。平滑筋細胞の間隙は広くなり、基底膜が肥厚する。

Day 14 になると内皮細胞は電子密度の高い小胞 (dense core vesicle) や空胞が多くなり、血管内腔側に対して凹をなす部位を埋めるように位置する

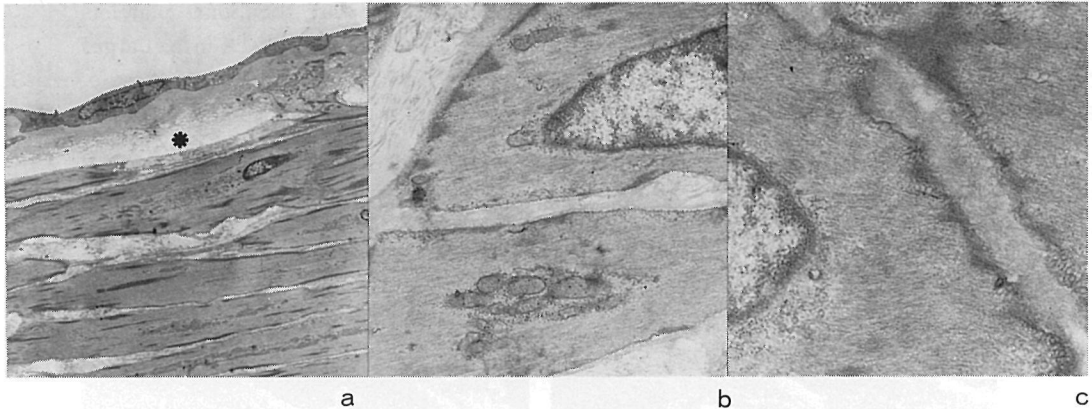


Fig. 9 Transmission electron micrographs in control specimen. Endothelial cells were flat and subintimal cell was observed. Internal elastic lamina (*) decreased its density gradually toward the ab-luminal side and was nonconvoluted(a). In the tunica media, smooth muscle cells had spindle-shaped nuclei and abundant myofilaments. Cell organelles were sparsely distributed and interstitial space contained few collagen fibers(b). Surface vesicles were arrayed beneath the muscle cell membrane and the electron dense area of cell membrane had no vesicles(c). (a×3000, b×10000, c×20000)

Animal Groups

Morphologic findings	Control	day 7	day 14	day 21	day 28
Scanning Electron Microscopy					
Corrugation	-	+++	+++	++	+
Craters	-	+	++	++	+
Endothelial separation	-	-	-	-	-
Denuded endothelium	-	±	-	-	-
Brigde-like structure	-	+	++	+	-
Platelet aggregation	-	+	+	+	-
Transmission Electron Microscopy					
Endothelium					
Convolution	-	+++	+++	++	+
Vacuole	±	++	+++	+	+
Subendothelium					
Thickening of elastica	-	+	+	+	+
Amputation of elastica	+	+	+	+	+
Subendothelial thickening	-	+	+++	++	±
Subendothelial cell	+	+	+	+	+
Media smooth muscle					
Vacuole	-	-	+	+	-
Surface vesicle	+++	++	+	+++	+++
Necrosis	-	-	+	-	-

Table 1. Sequential changes of vascular ultrastructure.

- = normal ++ = moderate change ± = equivocal change
+ = mild change +++ = severe change

ものも認められる。内膜も肥厚し、その中に空胞、顆粒の集積が見られる (Fig. 11a) 内弾性板の電子密度の増加があり、中膜平滑筋細胞はさらに不整形となり、核も変形が著しい。ミトコンドリア、粗面小胞体などの細胞小器官は増加し、空胞、顆粒も多くなるが、細胞膜下の小胞は減少する。平滑筋細胞間はさらに広がり、基底膜の肥厚、顆粒、小胞などが増加する。また、膠原線維も増え、波状を示す (Fig. 11b)。

Day 21には、内皮細胞は内弾性板が血管内腔側に対して凹をなす部分をやや厚みを増して被う。したがって内膜の皺襞形成は内弾性板のそれよりも軽度となり、内皮細胞自体の弯曲も軽度となる。空胞もやや減少するが核は不整形を呈するものが多い。内皮下の肥厚、内弾性板の皺襞形成もやや軽減する。平滑筋細胞の変形は続いているが、day 7, day 14

に減少していた細胞膜直下の小胞は増加する。平滑筋細胞間はまだ広いが、基底膜の肥厚、顆粒、小胞等は減少し、かわって膠原線維が増加してくる (Fig. 12)。

Day 28になると、内皮細胞の膨化はなお散見されるが、内膜の肥厚、内弾性板の皺襞形成はほとんど認められなくなる。中膜の平滑筋細胞は紡錘形にもどり、核の変形も軽度となり、細胞小器官は減少する。平滑筋筋線維もほぼ一定し、内膜が血管内腔面と平行になる (Fig. 13a)。細胞膜直下の小胞はほぼ対照群と同様になり、平滑筋細胞間は狭くなり、膠原線維は密となる。基底膜の肥厚は認められなくなる (Fig. 13b)。

筋細胞壊死は day 14にごく稀に認められたほか、全期間を通じてほとんど認められなかった。また、一部に一層の限界膜で囲まれるリソソームを多数持

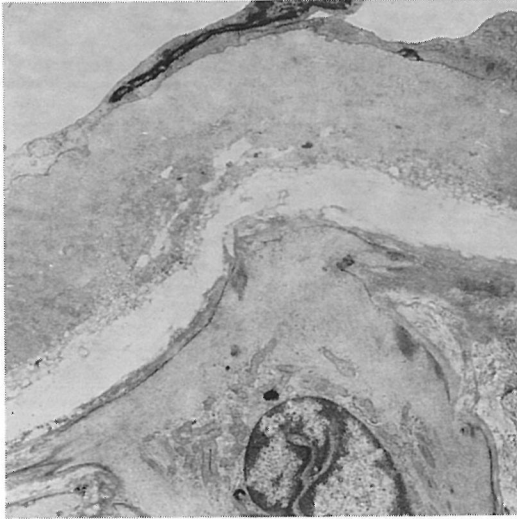


Fig. 10 Transmission electron micrograph in day 7 specimen. Irregular arrangement of nucleus in the smooth muscle cell and mild subendothelial thickening were obvious. ($\times 3810$)

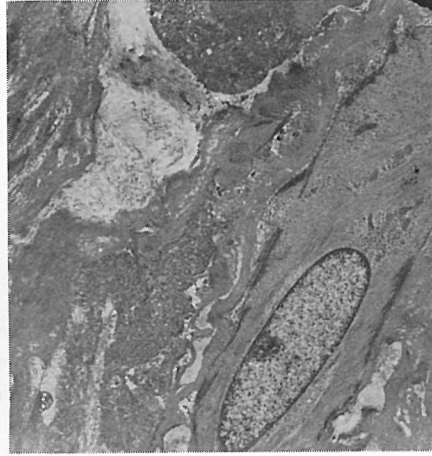
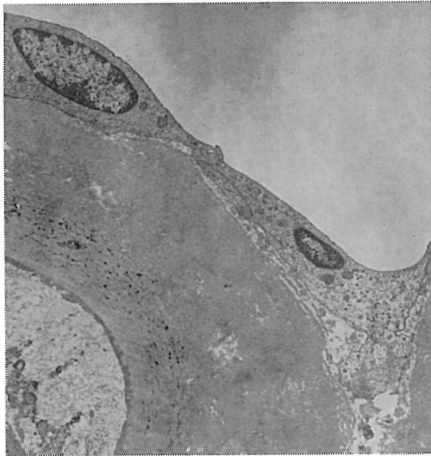


Fig. 11 Transmission electron micrographs in day 14 specimen. Subendothelial thickening became much more severe and vacuoles were recognized in endothelial cells(a). Smooth muscle cells had thick basement membrane and interstitial spaces were spread. (a $\times 6300$, b $\times 5000$)

a

b

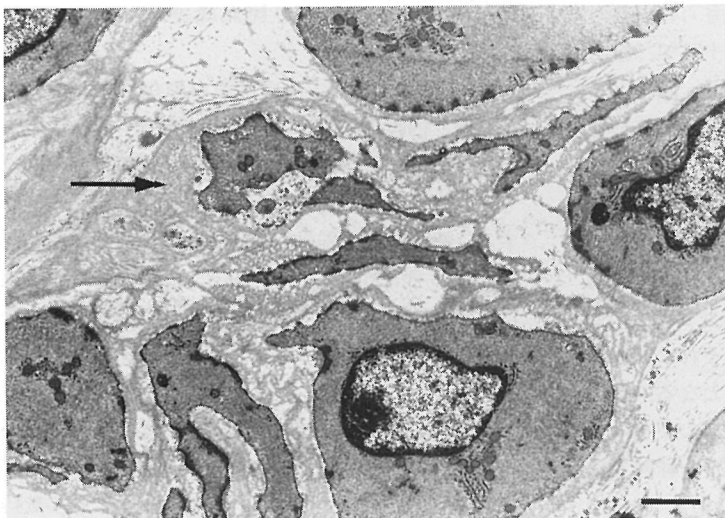


Fig. 12 Transmission electron micrograph in day 21 specimen showing thick basement membrane(arrow), irregular shaped smooth muscle cells and abundant collagen fibers in the wide interstitial space. ($\times 3000$, bar = $1\mu\text{m}$)

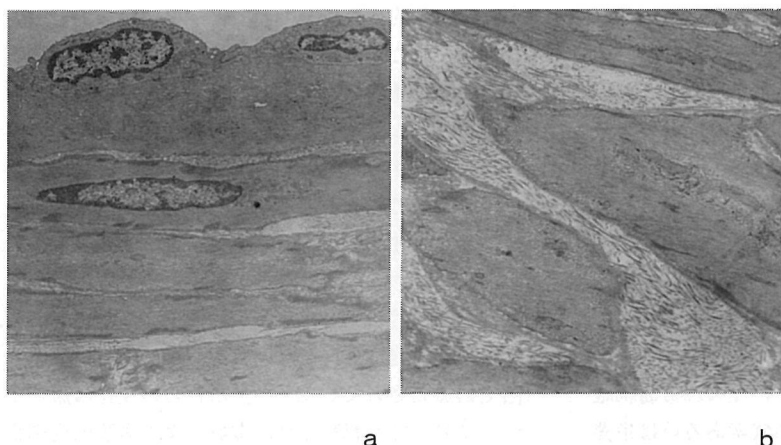


Fig. 13 Transmission electron micrographs in day 28 specimen. Every layer regained almost normal appearances(a) except for increased collagen fibers(b). (a $\times 5000$, b $\times 6300$)

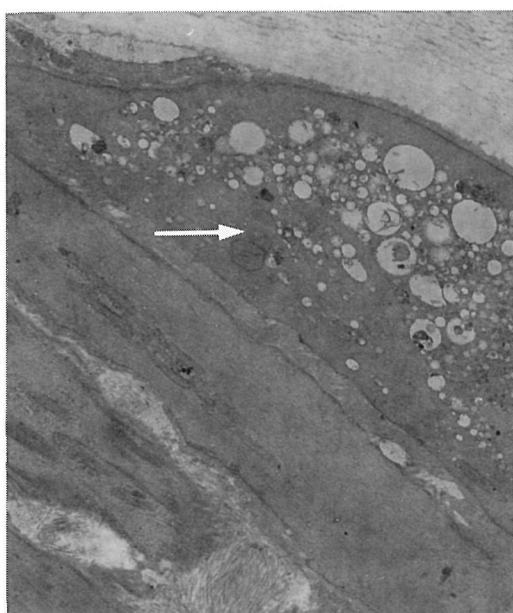


Fig. 14 Transmission electron micrograph in day 14 specimen. A smooth muscle cell(arrow) contained numerous lysosomes (membrane-bound vacuoles). ($\times 6300$)

つ平滑筋細胞を認めた (Fig. 14). 血管攣縮によって新たに起こったと思われる内弾性板の断裂はなく、マクロファージ (macrophage) の出現も認められず、day 28に到っても中膜平滑筋層の層数の減少はなかった。

考 察

我々は以前より雑種成犬の大槽内新鮮自家血2回注入により血管撮影上ヒトと同様の経時的変化を示す遅発性脳血管攣縮モデルを作製し¹⁵⁾、いろいろな時期の試料の血管反応性に関する薬理学的研究¹⁶⁾や、同じモデルでの脳循環の変化の検討¹⁷⁾などを行ってきた。この新鮮自家血2回注入法は脳血管攣縮の実験モデルとして広く用いられており、今回、この確立した実験モデルについてあらためて形態学的検討を経時的に行なった。その結果、形態学的には内皮細胞の透過性の亢進による浮腫性変化が主で、これも28日目にはほぼもとの形態に復し、脳血管攣縮早期における血流改善の有効性が示唆された。

Day 7には浮腫性変化である内皮下部分の増加が認められた。平滑筋細胞間隙は比較的広いが、平滑筋細胞周囲の基底膜は軽度肥厚するのみで、内膜に比べまだ軽度ではあるが中膜にも浮腫性変化が認められた。内皮細胞は皺襞形成が著しく、空胞などの増加が見られ、比較的早期から血管透過性が亢進する報告^{18,19,20)}から、浮腫性変化は内皮細胞の透過性の亢進による可能性が高い。

Day 14になると内膜および中膜の浮腫性変化はさらに強くなり、内皮下部分の増加、中膜では基底膜の肥厚、細胞間隙の拡大を認めた。内皮細胞には顆粒、空胞が増加して変性が進行し、さらに透過性が亢進したことを示していた。day 21になると内皮細胞には大きな空胞は減少し、内膜、中膜ともに浮腫性変化はやや軽減した。そして、day 28では

中膜での膠原線維の増加以外は対照群の形態に近くなった。

このように、この実験で認められた攣縮血管の形態学的変化は、ヒトの剖検例での従来の報告¹⁻⁶⁾とは著しく異なり、内皮細胞の脱落は認められず、中膜筋細胞壊死もほとんどなかった。経時的に形態学的変化をみると、Findlay らの報告⁹⁾と同様に血管径最小になるより遅れて第2週目に変化がもっとも強かったがそれでも浮腫的变化が主で、4週間目でも中膜筋層に層数の減少はみられなかった。これまでの形態学的変化の報告にしばしば見られる筋細胞壊死等の強い変化は攣縮血管への酸素あるいは栄養供給の低下を反映するもの^{21,22)}と言われている。すなわち、脳血管攣縮により狭小化した血管では血流量は少なく、流速が速くなるため血管壁への酸素供給が低下し、しかも血管外腔の髄液の灌流も血管周囲血腫のために阻害され、血管外からの血管壁への酸素や代謝基質供給も低下するが、その結果として、内皮細胞の透過性亢進や内膜、中膜の浮腫的变化が起こり得る。

同じモデルを用いた薬理学的研究では、1週間目および4週間目の脳底動脈において内皮依存性血管拡張因子を介するとされる血管拡張物質に対する反応が正常群と有意差がなく、内膜の損傷は軽度であることが予想されたが、血管収縮物質に対する反応は有意に増強されていた¹⁶⁾。また、別の実験では、血管径が最小の時点でも局所脳血流量及び体性感覚誘発電位に変化はなく、さらにこれに低血圧を負荷してもこれらのパラメーターはコントロール群と有意差はなく¹⁷⁾、このモデルでは、脳の虚血性要素は乏しく脳血管攣縮の程度は強度なものではなかったと考えられる。しかし、今回固定した試料について測定した血管径の経時的変化は以前の報告¹⁶⁾で血管撮影上得られた変化とはほぼ同様であり、またヒトにおいて高度の攣縮がもっとも発生しやすい時期²³⁾に一致して血管径が最小となった。今回は造影剤注入による血管内皮などへの影響を避けるために脳血管撮影は行なわなかった。固定した血管について測定した血管径がどの程度生前の血管径を反映するかは当然問題となるところではあるが、血管撮影で観察したものと程度も時間的経過もよく一致した結果が得られたことから、今回の実験群でも従来のものとほぼ同程度の血管攣縮が得られたものと考えた。

また、機械的な血管壁への損傷が脳血管攣縮に重要な役割をはたすとする報告²⁴⁾もあるが、この実験モデルでは脳槽内への自家血の注入のみで脳血管攣縮を生じ、少なくとも血管撮影の動脈攣縮発生への関与は否定できる。

走査電顕で認められた内皮細胞の噴火口様の陥凹は、高血圧性血管病変によく見られ、陥凹表面に細胞表面に認められる構造が存在することより、またしばしば風船状の隆起とともに観察されることから、細胞内の空胞が破れて陥没したものが噴火口様の陥凹であるとされている^{25,26)}。これらの変化は虚血モデルにおいても観察され、虚血による血管内皮細胞障害の非特異的所見ともいわれている^{27,28)}。このような噴火口様陥凹は day 14から多く見られるようになり、数は day 21で多くなるものの、比較的小きなものも多く、透過電顕においても大きな空胞は減少する。これらの内皮細胞の退行性変化はやはり血管径の変化よりもピークは遅れ、虚血による変化と考えられる。この退行性変化と同時に、一部では進行性変化として内皮細胞の膨化、架橋状構造を認め、内皮細胞の回転が促進されていると考えられる。中膜平滑筋は day 7では不整形を呈し、不規則な収縮状態となり、多くはミトコンドリア、粗面小胞体に富む合成型の細胞となった。細胞膜下の小胞の減少など細胞膜の機能低下を示し、Ca⁺⁺等の輸送の障害が予想される²⁹⁾。犬の実験的くも膜下出血モデルで平滑筋細胞膜のCa⁺⁺-ATPase 活性の低下が報告³⁰⁾されており、細胞膜の機能低下で細胞内のCa⁺⁺の増加した状態が長く持続し平滑筋の収縮が遷延する可能性が高い。

Day 14にリソソームを多数含む平滑筋細胞が認められた。内皮細胞の透過性亢進により血清成分の中膜への侵入をきたし、リソソーム内で消化しようとするが、この際に活性化された種々の分解酵素が細胞障害性に働く可能性は高い。リソソームの集積した中膜筋細胞が認められることから、これは筋細胞壊死に至るひとつの過程であろうと考えられる。高血圧モデルでは内皮細胞の膜動輸送が亢進し、リソソーム酵素の活性増強がおこる。この活性化した分解酵素を持つリソソームは膜の破綻により自己融解をおこし、細胞間に排泄されると内皮細胞間の結合装置が障害され、脳血液関門の破綻が起きる。これによりさらに内膜の透過性が亢進する。そのため、

中膜平滑筋細胞内でもリソソームの活性増強が見られ、結果として退行性変性あるいは壊死に至ると言われている^{31,32)}。

くも膜下出血後の遅発性脳血管攣縮は、まだ患者の治療成績を大きく左右する重大な病態であり、その予防、治療に関して多くの試みがなされている³³⁻³⁵⁾。そのひとつに種々の血管拡張剤の使用があるが、攣縮血管に対して実験的にはある程度の効果があるが、攣縮血管に対して実験的にはある程度の効果を認める多くの血管拡張剤も実際に臨床例に応用するとほとんど効果が認められない³⁶⁾。これらの事実とも関連して、くも膜下出血後にみられる脳血管の内腔狭窄は、少なくとも早期には中膜平滑筋の収縮によるいわば機能的可逆的な変化であり得るが、長期にわたる収縮、血管壁の虚血、血小板由来成長因子の関与等により次第にある種の器質的血管変化をきたして内膜および中膜が肥厚し、この変化は少なくとも一部は不可逆性になるという説も提唱されている^{7,37,38)}。しかしながら、血管内腔が狭小化しても血管壁の虚血が軽度であれば、今回の実験で見られた様に形態学的変化も軽微にとどまり可逆的であり得ると思われる。したがって、早期より循環血液量増加、血液希釈、血圧上昇による狭窄部の血流改善、血管形成術等による攣縮血管の拡張、可及的速やか、かつ広汎な血管周囲血腫の除去などには、中膜平滑筋細胞壊死等への形態学的変化の進行に対する予防効果も期待でき、脳梗塞にまで至らないものであれば、攣縮血管でも膠原線維の増加は軽度認められるもののほぼ元の形態に回復すると考えられる。

結 語

経時的に脳血管攣縮モデル犬の血管壁を観察検討した。血管径の時間的経過はヒトでの経過とよく一致し、内皮細胞や内弾性板の皺襞形成や空胞の増加は認められたが、中膜平滑筋細胞壊死はほとんどなく、28日目には膠原線維の増加はあるもののほぼもとの形態に復した。第2週目の形態学的変化が最も強度であったが、内皮下の肥厚、中膜平滑筋の基底膜の肥厚、平滑筋細胞間隙の増大などの浮腫的变化が強くなり、内皮細胞の透過性亢進によるものと考えられた。その原因としては攣縮血管内外からの酸素あるいは

栄養供給の低下が考えられ、これらが軽度にとどまれば、攣縮血管は膠原線維の増加のみでほぼ元の形態に復し得ると思われる。したがって、脳血管攣縮早期において攣縮部の血流改善、内腔の拡張は増殖型血管症への移行を防止するにあたり有効であることが示唆された。

文 献

- 1) Hughes JT, Schianchi PM.(1978) Cerebral artery spasm. A histological study at necropsy of the blood vessels in cases of subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 48, 515-525.
- 2) Someda K, Morita K, Kawamura Y, Matsumura H. (1979) Intimal change following subarachnoid hemorrhage resulting in prolonged arterial luminal narrowing. Neurol Med Chir (Tokyo) 19, 83-93.
- 3) Conway LW, McDonald LW.(1972) Structural changes of the intradural arteries following subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 37, 715-723.
- 4) 榭 寿右, 谷掛龍夫, 京井喜久男, 内海庄三郎, 村田吉郎, 日浅義雄, 菊池晴彦. (1979) 遅発性脳血管攣縮の病理学的検討. 神経外科 19, 1085-1093.
- 5) Smith RR, Clower BR, Peeler DF, Yoshioka J.(1983) The angiography of subarachnoid hemorrhage: Angiographic and morphologic correlates. Stroke 14, 240-245.
- 6) Fein JM, Flor WJ, Cohan SL, Parkhurst J. (1974) Sequential changes of vascular ultrastructure in experimental cerebral vasospasm. Myonecrosis of subarachnoid arteries. J Neurosurg 41, 49-58.
- 7) Alksne JF, Branson PJ, Bailey M.(1988) Modification of experimental post-subarachnoid hemorrhage vasculopathy with intracisternal plasmin. Neurosurgery 23, 335-337.
- 8) Findlay JM, Weir BKA, Kanamaru K, Es-

- pinosa F. (1989) Arterial wall changes in cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 25, 736-746.
- 9) Liszczak TM, Varsos VG, Black PM, Kistler JP, Zervas NT. (1983) Cerebral arterial constriction after experimental subarachnoid hemorrhage is associated with blood components within the arterial wall. *J Neurosurg* 58, 18-26.
 - 10) Eldevik OP, Kristiansen K, Torvik A. (1981) Subarachnoid hemorrhage and cerebrovascular spasm. Morphological study of intracranial arteries based on animal experiments and human autopsies. *J Neurosurg* 55, 869-876.
 - 11) Swift DM, Solomon RA. (1988) Subarachnoid hemorrhage fails to produce vasculopathy or chronic blood flow changes in rats. *Stroke* 19, 878-882.
 - 12) Bevan JA, Bevan RD, Frazee JG. (1987) Functional arterial changes in chronic cerebrovasospasm in monkeys: An in vitro assessment of the contribution to arterial narrowing. *Stroke* 18, 472-481.
 - 13) Nakagomi T, Kassell NF, Sasaki T, Fujiwara S, Lehman RM, Torner JC. (1987) Impairment of endothelium-dependent vasodilation induced by acetylcholine and adenosine triphosphate following experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 18, 482-489.
 - 14) Takanashi Y, Weir BKA, Vollrath B, Kasuya H, Macdonald RL, Cook D. (1992) Time course of changes in concentration of intracellular free calcium in cultured cerebrovascular smooth muscle cells exposed to oxyhemoglobin. *Neurosurgery* 30, 346-350.
 - 15) Saito A, Nakazawa T. (1989) Cerebral vasospasm model produced by subarachnoid blood injection in dogs. *Jpn J Pharmacol* 50, 250-252.
 - 16) Saito A, Handa J, Toda N. (1991) Reactivity to vasoactive agents of canine basilar arteries exposed to experimental subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol* 35, 461-467.
 - 17) Miyamoto Y, Matsuda M. (1991) Cerebral blood flow and somatosensory evoked potentials in dogs with experimental vasospasm caused by double injection. *Arch Jpn Chir* 60, 289-298.
 - 18) Sasaki T, Kassell NF, Yamashita M, Fujiwara S, Zuccarello M. (1985) Barrier disruption in the major cerebral arteries following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 63, 433-440.
 - 19) Ohta T, Satoh G, Kuroiwa T. (1992) The permeability change of major cerebral arteries in experimental vasospasm. *Neurosurgery* 30, 331-336.
 - 20) Mayberg MR, Okada T, Bark DH. (1990) The significance of morphological changes in cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 72, 626-633.
 - 21) Espinosa F, Weir B, Shnitka T. (1986) Electron microscopy of simian cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage and after the injection of horseradish peroxidase. *Neurosurgery* 19, 935-945.
 - 22) Zervas NT, Liszczak TM, Mayberg MR, Black PM. (1982) Cerebrospinal fluid may nourish cerebral vessels through pathways in the adventitia that may be analogous to systemic vasa vasorum. *J Neurosurg* 56, 475-481.
 - 23) Weir B, Grace M, Hansen J, Rothberg C. (1978) Time course of vasospasm in man. *J Neurosurg* 48, 173-178.
 - 24) Clower BR, Smith RR, Haining JL, Lockerd J. (1981) Constrictive endarteriopathy following experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 12, 501-508.
 - 25) Kawamura J, Gertz SD, Sunaga T, Rennels ML, Nelson E. (1974) Scanning electron microscopic observations on the luminal surface of the rabbit common carotid artery subjected to ischemia by arterial occlusion.

Stroke 5, 765-774.

- 26) Hazama F, Ozaki T, Amano S.(1979) Scanning electron microscopic study of endothelial cells of cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats. Stroke 10, 245-252.
- 27) Gertz SD, Kurgan A, Wajnberg RS, Nelson E.(1979) Endothelial cell damage and thrombus formation following temporary arterial occlusion. Effect of pretreatment with aspirin or heparin. J Neurosurg 50, 578-586.
- 28) Nelson E, Gertz SD, Rennels ML, Forbes MS, Kawamura J.(1975) Scanning and transmission electron microscopic studies of arterial endothelium following experimental vascular occlusion. The cerebral vessel wall. 33-39. Raven Press, New York.
- 29) Devine CE, Somlyo AV, Somlyo AP.(1972) Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles. J Cell Biol 52, 690-718.
- 30) Wang J, Ohta S, Sasaki S, Araki N, Matsuda S, Sakanaka M.(1994) Changes in Ca^{++} -ATPase activity in smooth-muscle cell membranes of the canine basilar artery with experimental subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 80, 269-275.
- 31) Yukioka N, Yamada E, Sasahara M, Kawai J, Hayase Y, Amano S, Hazama F.(1988) Lysosomal enzyme activities in the cerebral microvessels in spontaneously and renal hypertensive rats. Exp Mol Pathol 49, 111-117.
- 32) Wolinsky H, Goldfischer S, Schillar B, Kasak LE.(1973) Modification of the effects of hypertension on lysosomes and connective tissue in the rat aorta. Circ Res 34, 233-241.
- 33) Seifert V, Eisert WG, Stolke D, Goetz C. (1989) Efficacy of single intracisternal bolus injection of recombinant tissue plasminogen activator to prevent delayed cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. Neurosurgery 25, 590-598.
- 34) Newell DW, Eskridge JM, Mayberg MR, Grady MS, Winn HR.(1989) Angioplasty for the treatment of symptomatic vasospasm following subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 71, 654-660.
- 35) Episnosa F, Weir B, Shnitka T, Overton T, Boisvert D.(1984) A randomized placebo-controlled double-blind trial of nimodipine after SAH in monkeys. Part 2: Pathological findings. J Neurosurg 60, 1176-1185.
- 36) Kanamaru K, Wier BKA, Findlay JM, Krueger CA, Cook DA.(1989) Pharmacological studies on relaxation of spastic primate cerebral arteries in subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 71, 909-915.
- 37) Kim P, Sundt TM, Vanhoutte PM.(1989) Alterations of mechanical properties in canine basilar arteries after subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg 71, 430-436.
- 38) Yanamoto H, Kikuchi H, Okamoto S, Nozaki K.(1992) Preventive effect of synthetic serine protease inhibitor, FUT-175, on cerebral vasospasm in rabbits. Neurosurgery 30, 351-357.