

氏名	おお たけ みのる 大竹 実
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第539号
学位授与年月日	平成18年 3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Three-dimensional structural changes in cerebral microvessels after transient focal cerebral ischemia in rats: Scanning electron microscopic study of corrosion casts (一過性脳虚血ラットにおける三次元的脳血管構築の変化: 鋳型法を用いた走査型電子顕微鏡による研究)
学位論文審査委員	(主査) 渡辺 高志 (副査) 井上 貴央 小川 敏英

### 学位論文の内容の要旨

脳虚血の後に血流の再開通が起こると、脳浮腫、出血性梗塞等の病態が生じることが知られている。これは再灌流障害と言われ、神経細胞は虚血時間が90分を超えると障害が起こることが知られているが、脳血管についての詳細な検討はなされていない。一方、現在では血栓溶解剤や神経細胞保護剤による急性期脳虚血の治療がなされるようになり、これら薬剤の投与経路である脳血管の状態を調べることが必要となってきた。本研究では、一過性脳虚血ラットモデルを用いて脳血管の鋳型を作成し、その経時的な微細構造の変化を走査型電子顕微鏡にて三次元的に観察した。また、得られた像をコンピューターで処理することにより大脳半球全体のモンタージュ像を作成し、脳全体における虚血像を検討した。

#### 方法

実験にはWistar系ラット(体重250-300g)を用いた。ラットを6群に分け、それぞれ右中大脳動脈に塞栓系によって30分(n=7)、1時間(n=6)、3時間(n=7)、4時間(n=5)、5時間(n=6)、7時間(n=5)虚血を起こし、その後2時間再灌流を行った。このようにして作製した一過性脳虚血ラットに、グルタルアルデヒドにて前固定を行い、ポリエステル樹脂(Mercox CL-2R)を注入した。次亜塩素酸にて組織を腐食した後、出来上がった脳血管鋳型の冠状断を走査型顕微鏡(日立、S-4500)にて観察した。試料は脳虚血を起こしていない大脳半球に鋳型剤が充分充填されている標本を用い、それぞれの群の虚血側の脳を3個ずつ選び観察に用いた。

モンタージュ像を作成するために、低倍率(45倍)で撮影した電子顕微鏡像をコンピューター

一に取り込み、画像処理ソフト（Photoshop）を用いて結合した。得られた大脳半球の全体像より、鋳型剤の血管漏出数を計測し統計学的処理を行った。

## 結 果

樹脂が充填されない部位が前頭側頭葉と被殻部に認められた。これは梗塞が30分に及んだ時点ですでに認められ、梗塞が4時間を越えると頭頂葉にも広がった。梗塞が7時間を越えると、皮質及び髓質に広範囲に広がり、鋳型標本を得ることができなかった。

血管損傷を示唆する樹脂の漏出は、梗塞が3時間を越えると有意に上昇していた。樹脂漏出には4つのタイプを認め、球状の樹脂漏出を30分と1時間梗塞に、集塊状の樹脂漏出を3時間から5時間梗塞に、巨大塊状と芋虫状の樹脂漏出を4、5時間梗塞にそれぞれ確認した。

虚血巣周囲の動脈は、しばしばその直径に従って血管攣縮様の外観を呈し、直径が40-80  $\mu\text{m}$ の動脈には縦走する皺状像を、20-40  $\mu\text{m}$ の動脈には血管内皮細胞核の紡錘状の圧痕像を、そして20  $\mu\text{m}$ 以下の動脈には連続する環状収縮像を認めた。また、これらの血管の枝は途絶していた。梗塞が4時間を越えると、虚血巣周囲の動脈には著明な狭窄像を認めた。

虚血巣周囲の毛細血管は、梗塞時間が長くなるにつれて徐々に直径が減少し、梗塞が4時間を越えると細い糸状像を呈していた。

虚血巣周囲の静脈は、しばしば枯れ木状あるいは著明な拡張像を呈していた。

## 考 察

樹脂が充填されない部位は虚血巣と考えられ、中大脳動脈の枝から血流を受ける前頭側頭葉と被殻部に、梗塞の比較的早期より認められた。このことより、血流を充分に行き渡らせるためには、単なる血流の再開に加えて何らかの血栓溶解薬の投与が必要であると考えられた。損傷血管からの血漿成分の漏出あるいは出血を示す4つのタイプの樹脂漏出は、梗塞時間が長くなるほど激しくなる傾向にあり、血管損傷の程度とよく相関していた。今回用いたモデルでは、脳浮腫や出血性梗塞を予防するためには、再灌流療法は梗塞が起こって少なくとも3時間以内に行う必要があることが示唆された。虚血巣周囲の動脈に認めた血管攣縮は、脳虚血や再灌流時に脳組織や血漿中で増加すると報告されている血管収縮物質が影響しているものと考えられ、たとえ再灌流を行ったとしても、動脈の血管攣縮によって毛細血管へのさらなる低灌流をもたらす可能性が示唆された。虚血巣周囲の毛細血管の変化は、脳浮腫や脳出血によって頭蓋内圧が上昇したことが原因と考えられた。

## 結 論

本研究によって、一過性脳虚血ラットの脳血管における虚血巣、樹脂漏出、血管攣縮などの構造変化を、三次元的に詳細に観察することができた。これらの結果より、脳浮腫あるいは出血性梗塞を予防するためには、梗塞が起こって3時間以内に再灌流を行う必要があり、加えて、血管攣縮が脳虚血の一病態であることが示された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、一過性脳虚血ラットモデルを用いて脳血管の鋳型を作成し、その経時的な微細構造の変化を走査型電子顕微鏡にて三次元的に観察したものである。その結果、樹脂が充填されない虚血巣、血管損傷を示唆する樹脂漏出、虚血巣周囲の血管攣縮などの変化が観察され、これらは経時的に増悪していくことが明らかにされた。本論文の内容は、脳浮腫あるいは出血性梗塞を予防するためには、梗塞が起こって3時間以内に再灌流を行う必要がある、加えて、血管攣縮が脳虚血の一病態であることを示唆するものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。